



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



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

Doktora Tezi

Ecz. Merve SAYLAM

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

İzmir

2020

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

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

Ecz. Merve SAYLAM

Danışman
Prof. Dr. Mehmet Varol PABUÇÇUOĞLU

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı
Doktora Programı

İzmir
2020

Tez Deęerlendirme Kurulu Üyeleri

Danışman : Prof.Dr. M. Varol PABUÇÇUOĞLU

Üye : Doç.Dr. Zeynep SOYER

Üye : Prof.Dr. N. Aysun PABUÇÇUOĞLU

Üye : Prof.Dr. Vildan ALPTÜZÜN

Üye : Prof.Dr. Mutlu AYTEMİR

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin İSTANBULLU

Doktora Tezinin kabul edildięi tarih: 11.12.2020

Önsöz

Bilinçli şekilde çevremi ve dünyayı algılamaya başladığım çocukluk zamanlarımdan hatırladığım ve yaşantımı şekillendiren en önemli şey sorgulayıcılığım olmuştur. Her zaman etrafımda gerçekleşen olaylardan daha çok bu olayların süreçlerini çözmeye çalıştım. Bunu ilk aşamalarda kendi gözlemlerimle, daha sonra ailemin beni yönlendirmesiyle bilimsel temellerini araştırarak yapmaya başladım. Rasyonelliğe ve bilime olan yatkınlığım tercihlerimi şekillendirerek beni öncelikle lisans eğitimimde Eczacılık Fakültesi'ne, doktora sürecinde ise Farmasötik Kimya'ya yönlendirdi.

Doktora eğitimimin başlangıcında laboratuvarımda geçirdiğim zamanlardan son aşamamda bilgisayar başında geçirdiğim uzun saatlere kadar geçen bütün bu süreçte verdiğim kararın ve olmak istediğim yerin doğruluğuna her an daha çok inandım. Çözmem gereken sorunlar, sorgulamam gereken bulmacalar günden güne biriktikçe işlerinde kaybolmaktan daha çok keyif aldım. Bu kara deliğin içerisinde bazı zamanlarda uzak geçmişte öğrendiğim ufacık bir bilgi, bazı zamanlarda ise arkadaşlarımı bıktırana kadar sorduğum “neden” sorularına sabırla verilen cevaplarla beyaz deliği buldum. Ancak bütün bunlar beni durduracak sürtünme kuvveti olmak yerine yolculuğuma ivme sağladı.

Şubat 2015'te başladığım bu yolculukta 2017 yılında katıldığım ESMEC yaz okulu bilimsel bilgiye bakış açımı değiştiren en önemli etken oldu. 2018 yılında ise araştırma ve bilgiye ulaşma şeklim tamamen değişerek biçimlendi. Teorik ve pratik çalışmalarımda yaşadığım başarısızlıklar bazı zamanlarda motivasyonumu düşürse de çoğunlukla öğretici oldu ve her felaketin aslında tırmanışa geçmek için bir fırsat olduğunu öğrendim.

Bütün bu sürecin bana hissettirdiği her şey aslında Richard Feynman'ın deyimiyle “keşfetmenin hazzı”dır.

Bundan sonraki yaşantımda daha çok cevaplanamayacak soruyu sorgulayabileceğim, bilimsel bilgilerle dolu bir gelecek umuduyla.

İzmir, 18.11.2020

Merve SAYLAM

Özet

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

Enzimler vücuttaki birçok biyokimyasal reaksiyonun gerçekleşmesine aracılık eden protein yapısındaki makromoleküllerdir ve bu nedenle ilaç geliştirme çalışmalarında terapötik olarak önemli hedeflerdir. Bugün tedavide kullanılan ilaçların büyük bir kısmı enzim inhibitörü olarak etkinlik göstermektedir.

Miyeloperoksidaz (MPO) nötrofillerde bulunan ve antibakteriyel etkinliğin gerçekleştirilmesine aracılık eden bir enzimdir. Fagozom içerisinde hidrojen peroksit (H_2O_2) ile çeşitli halojenler arasındaki reaksiyonu katalizleyerek hipohalöz asitlerin sentezine aracılık eder. Hipohalöz asitler ise bakterilerin biyomoleküllerini oksitleyerek antibakteriyel etkinliği sağlar. MPO sadece hücre içinde değil hücre dışında da aktiftir ve çeşitli sebeplerle nötrofil içerisinde salındığında enzimatik döngüsünü hücre dışı ortamda bulunan reaktif biyoajanlarla gerçekleştirir ve oluşan hipohalöz asitler konağa ait biyolojik makromolekülleri oksitleyerek inflamasyon oluşma sürecini tetikleyen kimyasal değişikliklere sebep olur. Akut ve kronik inflamasyon süreçleri, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, nörodejeneratif hastalıklar, romatoid artrit, renal hastalıklar gibi birçok durumun patolojisinde rol oynamaktadır. MPO'nun önemli patofizyolojik olaylarda görev aldığı tespit edilerek birçok inflamatuvar hastalıkla ilişkilendirilmesi, bu hastalıkların tedavi stratejileri açısından yeni ve etkin MPO inhibitörlerinin geliştirilmesini önemli bir hedef haline getirmiştir. Son yıllarda gerçekleştirilen çalışmalarda MPO'nun yapısının daha detaylı aydınlatılmasıyla birlikte MPO enzimi, ilaç geliştirme çalışmalarında ilgi çeken bir terapötik hedef olmuştur.

Tez çalışması kapsamında, MPO inhibitör etkinlik göstermesi beklenen benzimidazol türevi bileşiklerin tasarımı, sentezi, biyoaktivite ve sanal moleküler kenetlenme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla benzimidazol-2-tiyon halkasının azot atomunun, amit, hidrazit ve hidroksamik asit fonksiyonel grupları taşıyan yan zincirle sübstitüe edilmesi planlanmıştır. Benzimidazol-2-tiyon halkasının azot atomundan alkilasyonu denenmiş ancak reaksiyon benzimidazol-2-iltiyo alkanamit türevleri ile sonuçlanmıştır. Bu nedenle çalışmamıza benzimidazol-2-iltiyo alkanamit türevleri de dahil edilmiştir. 2-tiyokso-benzimidazol alkanamit, alkanhidrazit, alkanhidroksamik

asit türevlerinin sentezi için ise farklı yeni bir sentez yolağı geliştirilmiştir. Bu yöntemde ilk olarak benzimidazol-2-on halkası aracılığıyla 2-klorobenzimidazol elde edilmiş, sonrasında hedef bileşikler olan 2-tiyokso-benzimidazol alkanamit, alkanhidrazit ve alkanhidroksamik asit türevleri sentezlenmiştir.

Sentezi tamamlanan bileşiklerin yapıları IR, ¹H NMR, 2D NMR (HSQC-HMBC), ¹³C NMR ve Kütle Spektroskopileri, bazı örneklerde ise elementel analiz kullanılarak doğrulanmıştır. Ayrıca yapının kesinleştirilmesi amacıyla iki bileşiğin (**B10** ve **BS6**) X-Ray analizleri yapılmıştır.

Biyolojik aktivite testleri hem kükürt hem de azot süstitüe türevler için gerçekleştirilmiştir. Ayrıca kükürt atomunun bileşikteki varlığının MPO inhibisyonu üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla ara ürün olarak sentezlenen 2-klorobenzimidazol türevlerinin de aktiviteleri test edilmiştir. %70 ve üzeri MPO inhibisyonu gösteren bileşiklerin IC₅₀ değerleri belirlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda en iyi aktivite gösteren bileşik **BS18** [2-(2-tiyokso-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetohidrazit] (IC₅₀: 0.393 µM) olarak tespit edilmiştir. Bu bileşikten sonraki en aktif türevler **BS12** [N-(2-metoksifenil)-2-(2-tiyokso-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit] (IC₅₀: 3.718 µM) ve **BS10** [N-(3-metilfenil)-2-(2-tiyokso-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit] (IC₅₀: 3.855 µM) kodlu bileşiklerdir.

Moleküler kenetlenme çalışmaları %90 ve üzerinde MPO inhibitör etkinlik gösteren bileşikler için gerçekleştirilmiş ve bileşiklerin yapısal farklılıklarının enzim aktif yöresindeki etkileşimleri üzerinde yol açtığı olası değişimler incelenmiştir.

Benzimidazol-2-tiyon türevlerinin MPO inhibitör geliştirme çalışmaları açısından iyi bir başlangıç olabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler; benzimidazol-2-tiyon, benzimidazol-2-iltiyo, amit, hidrazit, hidroksamik asit, miyeloperoksidaz

Abstract

Synthesis and Biological Activity Screening of Amide, Hydrazide and Hydroxamic Acid Derivatives of a Group of Heterocyclic Compounds

Enzymes are protein structured macromolecules and mediate various biochemical reactions in body therefore, they are significant therapeutic targets in drug discovery studies. Most of the drugs, used in treatment today, demonstrate their efficiency as enzyme inhibitors.

Myeloperoxidase (MPO) is an enzyme found in neutrophils and mediates antibacterial activity. It catalyses the reaction between hydrogen peroxide (H_2O_2) and various halogens which results in synthesis of hypohalous acids those provide antibacterial activity through oxidizing biomolecules of bacteria. MPO is active not only inside but also outside of the cells and when it is released from neutrophils due to various reasons, it completes its enzymatic circle via reactive bioagents in extracellular environment. The synthesized hypohalous acids there oxidize biologic macromolecules of the host and this leads to trigger inflammation process by certain chemical changes. Acute and chronic inflammation have roles in the pathology of complications such as cardiovascular diseases, cancer, neurodegenerative diseases, rheumatoid arthritis, renal diseases etc. Since the understanding of MPO expanded, it has been unveiled that MPO plays role on important pathophysiological cases in many inflammatory diseases. On this basis, development of novel and effective MPO inhibitors emerged as one of the significant strategies in the treatment of these diseases. As recent studies have clarified the structure of MPO in detail, it has been an attractive therapeutical target in drug discovery studies.

In this dissertation, in the pursuit of MPO inhibitors, benzimidazol derived compounds designed and synthesized, then biological activity and molecular docking studies were carried out. To attain this aim, substitution of nitrogen atom on benzimidazole-2-thione ring with a side chain carrying amide, hydrazide and hydroxamic acid functional groups has been planned. The alkylation of benzimidazole-2-thione ring on nitrogen atom had been tried first but the reaction resulted in benzimidazole-2-ylthio alkanamide derivatives. Therefore, benzimidazol-2-ylthio alkanamide derivatives were also included in our study. A new synthesise pathway has been developed for the

synthesis of 2-thioxo-benzimidazole alkanamide, alkanhydrazide and alkanhydroxamic acid derivatives. In this method, 2-chlorobenzimidazole has been realized through benzimidazole-2-one, then the targeted 2-thioxo-benzimidazole alkanamide, alkanhydrazide and alkanhydroxamic acid derivatives were synthesized.

The structures of synthesized compounds have been verified by IR, ^1H NMR, 2D NMR (HSQC-HMBC), ^{13}C NMR and MASS Spectroscopical methods and elemental analysis for some compounds. Additionally, the X-ray structures of two compounds (**B10** and **BS6**) have been revealed.

Biological activity studies have been performed on both sulphur and nitrogen substituted derivatives. Also, to evaluate the impact of presence of sulphur atom in the structure on MPO inhibition, the biological activity of 2-chlorobenzimidazole derivatives has been investigated. IC_{50} values have been determined for the compounds over 70% MPO inhibitory activity. Considering the obtained data, **BS18** [2-(2-thioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)acetohydrazide] (IC_{50} : 0.393 μM) has been found as the most active compound, followed by **BS12** [N-(2-methoxyphenyl)-2-(2-thioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)acetamide] (IC_{50} : 3.718 μM) and **BS10** [N-(3-methylphenyl)-2-(2-thioxo-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)acetamide] (IC_{50} : 3.855 μM).

Molecular docking studies have been performed on the compounds demonstrating over 90% MPO inhibitor activity and possible interactional changes caused by structural disparities of the compounds have been investigated at the enzyme active site.

It has been concluded that benzimidazole-2-thione derivatives would be a good starting point on MPO inhibitor development studies.

Keywords; benzimidazole-2-thione, benzimidazol-2-ylthio, amide, hydrazide, hydroxamic acid, myeloperoxidase

İçindekiler

Önsöz	I
Özet.....	II
Abstract.....	IV
İçindekiler	VI
Tablolar Dizini.....	XIII
Şekiller Dizini	XV
Şemalar Dizini	XVIII
Kısaltma Listesi	XIX
1. Giriş	1
1.1. Enzim İnhibisyonu	1
1.1.1. Geri Dönüşümsüz İnhibisyon.....	2
1.1.2. Geri Dönüşümlü İnhibisyon	2
1.1.2.1. Kompetitif İnhibisyon.....	2
1.1.2.2. Nonkompetitif İnhibisyon.....	3
1.1.2.3. Unkompetitif İnhibisyon.....	3
1.2. Enzim Aktivasyonu	4
1.3. Miyeloperoksidaz (MPO)	4
2. Genel Bilgiler	6
2.1 MPO Sentezi	6
2.2. MPO Enzimi, Yapısı ve Tepkimeleri.....	8
2.2.1. Genel Yapı	8
2.2.2. Hem Yapısı.....	9
2.2.3. Kalsiyum Bağlanma Yöresi.....	11
2.3. Hidrojen Peroksit Aktivasyonu ve Bileşik-I Oluşumu	12
2.4. Halojenasyon Yolağı	14
2.5. Peroksidasyon Yolağı.....	15
2.6. Ferri Miyeloperoksidaz Reaksiyonları.....	16
2.6.1. Süperoksit ile Reaksiyon	17
2.6.2. HOCl ile Reaksiyon.....	17
2.6.3. Peroksinitröz Asit (HOONO) ile Reaksiyon	17
2.6.4. Klorür (Cl ⁻) ile Reaksiyon	18
2.6.5. Nitrik Oksit (NO) ile Reaksiyon	18

2.7. Ferro Miyeloperoksidaz Reaksiyonları.....	18
2.8. Bileşik-III Yapısı ve Reaksiyonları.....	19
2.9. Nötrofil Fagozomu İçerisinde MPO Aktivitesi.....	21
2.9.1. Amino Asit, Protein, Peptit Yapılarının Oksidasyonu	22
2.9.1.1. Kükürt İçeren Yapıların (Sistein, Metiyonin, Glutasyon) Oksidasyonu	22
2.9.1.2. Aminler, α -amino Grupları ve Lizin Amino Asidinin Oksidasyonu.....	25
2.9.1.3. Heterosiklik Yapı Taşıyan Histidin ve Triptofan Amino Asitlerin Oksidasyonu	25
2.9.1.4. Aromatik Yan Zincir Taşıyan Tirozin Amino Asidinin Oksidasyonu...	26
2.9.2. Nükleobazların Oksidasyonu	27
2.9.3. Fosfolipitlerin Oksidasyonu	28
2.9.4. Karbonhidratların Oksidasyonu	28
2.10. MPO Hücre Dışı Aktivitesi ve Çeşitli Hastalıklardaki Rolü	29
2.10.1. Kardiyovasküler Sistem Hastalıkları ve Ateroskleroz	29
2.10.2. Renal Hastalıklar	31
2.10.3. Kanser	32
2.10.4. Nörodejeneratif Hastalıklar	32
2.10.4.1. Alzheimer Hastalığı.....	34
2.10.4.2. Parkinson Hastalığı.....	34
2.10.4.3. İnme.....	35
2.10.4.4. Depresyon	35
2.10.4.5. Multiple Skleroz (Çoklu Skleroz-MS).....	35
2.10.4.6. Epilepsi.....	35
2.10.5. Romatoid Artrit.....	36
2.11. MPO İnhibisyon Mekanizması	36
2.11.1. MPO İnhibitörü Geliştirme Çalışmaları.....	37
2.11.1.1. Rastgele Taramalarla Gerçekleştirilen Çalışmalar	37
2.11.1.1.1. Doğal Bileşikler	37
2.11.1.1.1.1. Flavonoidler	37
2.11.1.1.1.2. Polifenoller	38
2.11.1.1.1.3. Şalkonlar	38
2.11.1.1.1.4. İndol Türevleri.....	39
2.11.1.1.2. İlaçlar	39

2.11.1.1.2.1.	Non-Steroida Antiinflatuar İlaçlar.....	39
2.11.1.1.2.2.	Serotonin Geri Alım İnhibitörü İlaçlar	40
2.11.1.1.2.3.	Sülfon ve Sülfonamit Türevleri	41
2.11.1.2.	Yapısal Modifikasyon ile Tasarlanan Bileşikler	42
2.11.1.2.1.	Benzoik Asit Hidrazitleri.....	42
2.11.1.2.2.	Hidroksamik Asitler	43
2.11.1.2.3.	Triptamin Türevleri.....	45
2.11.1.2.4.	İndazol ve İndazon	46
2.11.1.2.5.	Tiyopirimidin Halkası İçeren Yapılar	47
2.11.1.2.6.	Triazolopirimidin	51
2.11.1.2.7.	Benzoksazon	52
2.12.	Planlanan Çalışma	53
3.	Gereç ve Yöntem	60
3.1.	Sentez Çalışmaları.....	60
3.1.1.	Materyal.....	60
3.1.1.1.	Kromatografik Yöntemler.....	60
3.1.1.1.1.	İnce Tabaka Kromatografisi (İ.T.K.).....	60
3.1.1.1.2.	Sütun Kromatografisi	61
3.1.2.	Spektral Analizler	61
3.1.3.	Sentez Yöntemi.....	62
3.1.3.1.	1,3-Dihidro-2 <i>H</i> -benzo[d]imidazol-2-tiyon Bileşiğinin (BS) Sentezi.....	62
3.1.3.2.	1,3-Dihidro-2 <i>H</i> -benzo[d]imidazol-2-on Bileşiğinin (BO) Sentezi	62
3.1.3.3.	2-Kloro-1 <i>H</i> -benzo[d]imidazol Bileşiğinin (BCL) Sentezi	63
3.1.3.4.	<i>N</i> -Süstitüe-2-kloroasetamit Ara Ürünlerinin (1-17) Sentezi.....	64
3.1.3.4.1.	<i>N</i> -Süstitüe-Fenil/Benzil-2-kloroasetamit Türevlerinin (1-15) Sentezi	64
3.1.3.4.2.	4-(2-Kloroasetil)morfolin (16) ve 1-(2-Kloroasetil)piperidin (17) Bileşiklerinin Sentezi.....	64
3.1.3.5.	<i>N</i> -süstitüe-2-(2-Kloro-1 <i>H</i> -benzo[d]imidazol-1-il)asetamit Türevi Ara Ürünlerin (BCL1-BCL17) Sentezi	65
3.1.3.6.	Etil 2-(2-kloro-1 <i>H</i> -benzo[d]imidazol-1-il)asetat Bileşiğinin (BCL18) Sentezi.....	66

3.1.3.7. Etil 2-(2-tiyokso-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -benzo[d]imidazol-1-il)asetat Bileşiğinin (BSE) Sentezi	66
3.1.3.8. <i>N</i> -süstitüe-2-[(1 <i>H</i> -benzo[d]imidazol-2-il)tiyo]asetamit Türevi Final Bileşiklerinin (B1-B17) Sentezi	67
3.1.3.9. <i>N</i> -süstitüe-2-(2-Tiyokso-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -benzo[d]imidazol-1-il)asetamit Türevi Final Bileşiklerinin (BS1-BS17) Sentezi	67
3.1.3.10. 2-(2-Tiyokso-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazit Bileşiğinin (BS18) Sentezi	68
3.1.3.11. 2-(2-Tiyokso-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -benzo[d]imidazol-1-il)asetohidroksamik asit Bileşiğinin (BS19) Sentezi	68
3.2. X-Ray Kristalografisi Çalışmaları.....	69
3.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	69
3.3.1. Taurin Kloramin Yöntemi ile MPO Enzim Aktivitesi İnhibisyonunun Tayini.....	69
3.3.1.1. Taurin Kloramin Yönteminde Kullanılan Çözeltiler	70
3.3.1.2. MPO Aktivitesine Yönelik İnhibisyon Çalışmaları	71
3.3.1.2.1. Çalışmalarda Kullanılacak En Uygun MPO Konsantrasyonunun Belirlenmesine Yönelik Deneyler	71
3.3.1.2.2. Standart MPO İnhibitörü ABAH kullanılarak MPO Enzim Aktivitesi % İnhibisyonunun Belirlenmesi.....	74
3.3.1.2.3. Sentezlenen Bileşiklerin MPO Enzimi Üzerindeki % İnhibisyon Etkinliklerinin ve IC ₅₀ Değerlerinin Belirlenmesi.....	75
3.4. Moleküler Kenetlenme Çalışmaları.....	76
4. Bulgular	78
4.1. Spektral Bulgular	78
4.1.1. Ara Ürünlerin Spektral Bulguları	78
4.1.1.1. BS Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	78
4.1.1.2. BO Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	79
4.1.1.3. BCL Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları	80
4.1.1.4. 1 No lu Bileşiğin Spektral Bulguları	81
4.1.1.5. 2 No lu Bileşiğin Spektral Bulguları	82
4.1.1.6. 3 No lu Bileşiğin Spektral Bulguları	83
4.1.1.7. 4 No lu Bileşiğin Spektral Bulguları	84

4.1.1.8. 5 No lu Bileşğin Spektral Bulguları	85
4.1.1.9. 6 No lu Bileşğin Spektral Bulguları	86
4.1.1.10. 7 No lu Bileşğin Spektral Bulguları	87
4.1.1.11. 8 No lu Bileşğin Spektral Bulguları	88
4.1.1.12. 9 No lu Bileşğin Spektral Bulguları	89
4.1.1.13. 10 No lu Bileşğin Spektral Bulguları	90
4.1.1.14. 11 No lu Bileşğin Spektral Bulguları	91
4.1.1.15. 12 No lu Bileşğin Spektral Bulguları	92
4.1.1.16. 13 No lu Bileşğin Spektral Bulguları	93
4.1.1.17. 14 No lu Bileşğin Spektral Bulguları	94
4.1.1.18. 15 No lu Bileşğin Spektral Bulguları	95
4.1.1.19. 16 No lu Bileşğin Spektral Bulguları	96
4.1.1.20. 17 No lu Bileşğin Spektral Bulguları	97
4.1.1.21. BCL1 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları	98
4.1.1.22. BCL2 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları	99
4.1.1.23. BCL3 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları	100
4.1.1.24. BCL4 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları	101
4.1.1.25. BCL5 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları	102
4.1.1.26. BCL6 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları	103
4.1.1.27. BCL7 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları	104
4.1.1.28. BCL8 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları	105
4.1.1.29. BCL9 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları	106
4.1.1.30. BCL10 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları	107
4.1.1.31. BCL11 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları	108
4.1.1.32. BCL12 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları	109
4.1.1.33. BCL13 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları	110
4.1.1.34. BCL14 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları	111
4.1.1.35. BCL15 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları	112
4.1.1.36. BCL16 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları	113
4.1.1.37. BCL17 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları	114
4.1.1.38. BCL18 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları	115
4.1.1.39. BSE Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları	116
4.1.2. Final Ürünlerinin Spektral Bulguları	117

4.1.2.1. B1 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	117
4.1.2.2. B2 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	118
4.1.2.3. B3 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	119
4.1.2.4. B4 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	120
4.1.2.5. B5 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	121
4.1.2.6. B6 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	122
4.1.2.7. B7 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	123
4.1.2.8. B8 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	124
4.1.2.9. B9 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	126
4.1.2.10. B10 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	127
4.1.2.11. B11 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	128
4.1.2.12. B12 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	129
4.1.2.13. B13 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	130
4.1.2.14. B14 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	131
4.1.2.15. B15 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	132
4.1.2.16. B16 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	133
4.1.2.17. B17 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	134
4.1.2.18. BS1 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	135
4.1.2.19. BS2 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	137
4.1.2.20. BS3 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	138
4.1.2.21. BS4 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	139
4.1.2.22. BS5 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	140
4.1.2.23. BS6 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	141
4.1.2.24. BS7 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	142
4.1.2.25. BS8 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	143
4.1.2.26. BS9 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	144
4.1.2.27. BS10 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	145
4.1.2.28. BS11 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	146
4.1.2.29. BS12 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	147
4.1.2.30. BS13 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	148
4.1.2.31. BS14 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	149
4.1.2.32. BS15 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	150
4.1.2.33. BS16 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	151

4.1.2.34. BS17 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	152
4.1.2.35. BS18 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	153
4.1.2.36. BS19 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	154
4.2. X-Ray Analiz Bulguları	155
4.3. Biyolojik Aktivite Bulguları	167
4.4. Moleküler Kenetlenme Bulguları	170
5. Tartışma	176
5.1. Spektrel Bulguların Değerlendirilmesi	182
5.1.1. IR Bulgularının Değerlendirilmesi	182
5.1.2. NMR Bulgularının Değerlendirilmesi	184
5.1.2.1. ¹ H NMR Bulgularının Değerlendirilmesi.....	185
5.1.2.2. HSQC ve HMBC NMR Bulgularının Değerlendirilmesi	195
5.1.2.3. ¹³ C NMR Bulgularının Değerlendirilmesi.....	197
5.1.2.4. Kütle Bulgularının Değerlendirilmesi	200
5.2. X-Ray Bulgularının Değerlendirilmesi	201
5.3. Biyolojik Aktivite Bulgularının Değerlendirilmesi	202
5.4. Moleküler Kenetlenme Bulgularının Değerlendirilmesi	203
Sonuç ve Öneriler.....	208
Kaynaklar	209
Teşekkür	229
Özgeçmiş	230

Tablolar Dizini

Tablo 1-1. Enzim aktivatörü ve enzim inhibitörü ilaç örnekleri	4
Tablo 2-1. Bazı flavonoid türevi bileşikler ve MPO inhibisyon değerleri.....	37
Tablo 2-2. Şalkon türevi bileşikler ve MPO inhibisyon değerleri	38
Tablo 2-3. Bazı NSAİ ilaçların MPO inhibisyon değerleri.....	40
Tablo 2-4. Sülfon ve sülfonamit grubu bazı ilaçların MPO inhibisyon değerleri	41
Tablo 2-5. 5-konumundan süstitüe indol ve triptamin bileşikleri ve MPO inhibisyon değerleri.....	45
Tablo 2-6. Tiyoksantin türevi bileşikler ve MPO inhibisyon değerleri.....	48
Tablo 2-7. Benzoksazolone türevi en aktif bileşikler	52
Tablo 2-8. Tez kapsamında tasarlanan bileşikler ve kodları	58
Tablo 3-1. Enzim optimizasyon çalışmalarında elde edilen MPO aktivite sonuçları.....	73
Tablo 3-2. ABAH % inhibisyon değerleri.....	75
Tablo 4-1. B8 kodlu bileşiğın NOESY, HSQC ve HMBC NMR bulguları (Spektrum 137-139).....	125
Tablo 4-2. BS1 kodlu bileşiğın HSQC ve HMBC NMR bulguları (Spektrum 180, 181)	136
Tablo 4-3. B10 bileşiğine ait X-ışını kırınımı ve yapı arıtım verileri.....	156
Tablo 4-4. B10 bileşiğine ait bağ uzunlukları	156
Tablo 4-5. B10 bileşiğine ait bağ açıları	157
Tablo 4-6. B10 bileşiğine ait torsiyon açıları	158
Tablo 4-7. B10 bileşiğının kristal yapısı içindeki hidrojen bağları ve zayıf etkileşmeler (Å, °).....	159
Tablo 4-8. BS6 bileşiğine ait X-ışını kırınımı ve yapı arıtım verileri.....	161
Tablo 4-9. BS6 bileşiğine ait bağ uzunlukları.....	162
Tablo 4-10. BS6 bileşiğine ait bağ açıları	163
Tablo 4-11. BS6 bileşiğine ait torsiyon açıları	164
Tablo 4-12. BS6 bileşiğının kristal yapısı içindeki hidrojen bağları ve zayıf etkileşmeler (Å, °).....	165
Tablo 4-13. Aktivitesi test edilen bileşiklerin MPO % inhibisyon sonuçları....	167

Tablo 4-14. %70 üzerinde MPO inhibisyon gösteren bileşiklerin IC₅₀ sonuçları	
.....	168
Tablo 4-15. Moleküler kenetlenme çalışmaları bulguları	174
Tablo 5-1. Biyolojik aktiviteleri test edilen bileşikler ve CAS numaraları	181



Şekiller Dizini

Şekil 1-1. Enzim inhibisyon çeşitleri.....	2
Şekil 1-2. Enzim inhibisyon türlerine göre substrat ve inhibitör bağlanma şekilleri	3
Şekil 2-1. 75 kDa ağırlığındaki ara ürünün sentezi.....	7
Şekil 2-2. MPO sentezi	7
Şekil 2-3. MPO genel yapısı.....	8
Şekil 2-4. Hem grubunun A, B, C ve D pirol halkaları.....	9
Şekil 2-5. His-336, Asn-421 ve Arg-333 amino asitlerinin yerleşimi.....	10
Şekil 2-6. MPO'nun yay şeklindeki yapısı	11
Şekil 2-7. Ca ⁺⁺ bağlanma yöreni ve beşgen bipiramit yapı	12
Şekil 2-8. His-95 aracılığıyla Bileşik-I'in oluşumu	13
Şekil 2-9. Enzimin halojenasyon ve peroksidasyon yolları	14
Şekil 2-10. Miyeloperoksidaz enzimi katalitik döngüsü	20
Şekil 2-11. MPO'nun nötrofil fagozomundaki reaksiyonları.....	22
Şekil 2-12. Nükleobaz yapılarının HOCl oksidasyon ürünleri	28
Şekil 2-13. Beyindeki artan MPO sonucunda gelişen hastalıklar.....	34
Şekil 2-14. Kafeik ve ferulik asidin IC ₅₀ değerleri	38
Şekil 2-15. Melatonin ve Triptofan bileşiklerinin IC ₅₀ değerleri	39
Şekil 2-16. ABAH molekülünün açık formülü ve IC ₅₀ değeri.....	42
Şekil 2-17. Hidroksamik asit türevlerinin MPO inhibisyon değerleri	44
Şekil 2-18. MPO-HX1 kristal yapısı	45
Şekil 2-19. En aktif triptamin türevi bileşikler.....	46
Şekil 2-20. İndazol ve indazolon türevlerinin genel yapıları.....	47
Şekil 2-21. TX2 bileşiğinin enzimin bağlanma yörenindeki pozisyonu	49
Şekil 2-22. TX2 ve TX5 bileşiklerinin enzim cebindeki pozisyonları	49
Şekil 2-23. Propiltiourasil türevi ve MPO inhibisyon değeri	50
Şekil 2-24. Kinazolin türevlerinin ana yapısı.....	50
Şekil 2-25. Kinazolin türevlerindeki yapı-aktivite çalışmaları	51
Şekil 2-26. Triazolopirimidin türevi bileşik.....	51
Şekil 2-27. Triazolopirimidin türevinin enzim cebindeki pozisyonu.....	52
Şekil 2-28. Benzimidazol türevi ilaçlar.....	54

Şekil 2-29. 5 ve 6 üyeli halkaların kaynaştırılması ile oluşturulan çekirdek yapılar ve MPO inhibisyon değer aralıkları	55
Şekil 2-30. Halkasal tiyoüre işlevsel grubuna sahip bileşikler ve MPO inhibisyon değer aralıkları	56
Şekil 2-31. Çalışma kapsamında tasarlanan bileşiklerin ana yapısı	57
Şekil 3-1. Enzim optimizasyon çalışmaları sonucunda elde edilen absorbanst-zaman grafiği	73
Şekil 3-2. ABAH bileşiğinin MPO aktivitesi-zaman grafikleri	75
Şekil 4-1. B10 bileşiğinin asimetrik birimdeki moleküler yapısının %30 olasılık düzeyinde çizilmiş termal elipsoit görünümü	155
Şekil 4-2. B10 bileşiğine ait N2–H2...O2 hidrojen bağı ile oluşan R22(14) dimerik motif.....	159
Şekil 4-3. B10 kodlu bileşiğin birim hücre içerisinde <i>b</i> ekseninden bakıldığında oluşan paketlenme gösterimi.....	160
Şekil 4-4. BS6 bileşiğinin moleküler yapısının %30 olasılık düzeyinde çizilmiş ORTEP görünümü.....	161
Şekil 4-5. BS6 bileşiğinin N1–H1...S1 hidrojen bağları ile ortaya çıkan oluşan R228 dimerik motifi.	165
Şekil 4-6. BS6 bileşiğinin birim hücre içerisinde <i>a</i> ekseninden bakıldığında oluşan paketlenme gösterimi.	166
Şekil 4-7. BS1 bileşiğinin kenetlenme pozu.....	170
Şekil 4-8. BS2 bileşiğinin kenetlenme pozu.....	171
Şekil 4-9. BS9 bileşiğinin kenetlenme pozu.....	171
Şekil 4-10. BS10 bileşiğinin kenetlenme pozu.....	172
Şekil 4-11. BS12 bileşiğinin kenetlenme pozu.....	172
Şekil 4-12. BS18 bileşiğinin kenetlenme pozu.....	173
Şekil 4-13. B10 bileşiğinin kenetlenme pozu	173
Şekil 5-1. Tasarlanan bileşikler.....	177
Şekil 5-2. BCL kodlu bileşiklerin proton atamalarında kullanılan numaralandırma	185
Şekil 5-3. B kodlu bileşiklerin proton atamalarında kullanılan numaralandırma	189

Şekil 5-4. BS kodlu bileşiklerin proton atamalarında kullanılan numaralandırma	192
Şekil 5-5. BS1 bileşiğinin HSQC ve HMBC bulguları	196
Şekil 5-6. B8 bileşiğinin HSQC ve HMBC bulguları	197
Şekil 5-7. BS18 kodlu bileşiğin kenetlenme bulguları.....	204
Şekil 5-8. BS kodlu bileşiklerin kenetlenme bulguları.....	205
Şekil 5-9. B10 ve BS10 kodlu bileşiklerin kenetlenme bulguları	206
Şekil 5-10. BS12 ve BS18 kodlu bileşiklerin kenetlenme bulguları	207



Şemalar Dizini

Şema 2-1. Sisteinin HOCl ile reaksiyonu	23
Şema 2-2. Glutasyon-HOCl reaksiyon mekanizması	24
Şema 2-3. Metiyonin amino asidinin HOCl tarafından oksidasyonu.....	24
Şema 2-4. HOCl'nin indol türevleriyle reaksiyonları.....	26
Şema 2-5. Tirozinin HOCl tarafından oksidasyonu	26
Şema 2-6. Tirozinin HOCl tarafından oksidasyonu	27
Şema 2-7. Kardiyovasküler hastalıklar gelişim şeması	31
Şema 3-1. 1,3-Dihidro-2 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-2-tiyon bileşiğinin sentez şeması..	62
Şema 3-2. 1,3-Dihidro-2 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-2-on bileşiğinin sentez şeması.....	62
Şema 3-3. 2-Kloro-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol bileşiğinin sentez şeması	63
Şema 3-4. <i>N</i> -Süstitüe-fenil/benzil-2-kloroasetamit türevlerinin sentez şeması	64
Şema 3-5. 1-(2-Kloroasetil)piperidin ve 4-(2-Kloroasetil)morfolin bileşiklerinin sentez şeması.....	64
Şema 3-6. <i>N</i> -süstitüe-2-(2-Kloro-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-1-il)asetamit türevlerinin sentez şeması	65
Şema 3-7. Etil 2-(2-kloro-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-1-il)asetat bileşiğinin sentez şeması	66
Şema 3-8. Etil 2-(2-tiyokso-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-1-il)asetat bileşiğinin sentez şeması	66
Şema 3-9. <i>N</i> -süstitüe-2-((1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-2-il)tiyo)asetamit türevlerinin sentez şeması.....	67
Şema 3-10. <i>N</i> -süstitüe-2-(2-Tiyokso-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-1-il)asetamit türevlerinin sentez şeması.....	67
Şema 3-11. 2-(2-Tiyokso-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-1-il)asetohidrazit bileşiğinin sentez şeması	68
Şema 3-12. 2-(2-Tiyokso-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-1-il)asetohidroksamik asit bileşiğinin sentez şeması	68
Şema 5-1. B1-B17 kodlu bileşiklerin sentezi	178
Şema 5-2. BS1-BS17 kodlu bileşiklerin sentezi	179
Şema 5-3. BCL18, BSE, BS18 ve BS19 bileşiklerinin sentezi.....	180

Kısaltma Listesi

ABAH	: 4-aminobenzoik asit hidraziti
ANCA	: Anti-nötrofil sitoplazmik antibody
APO-A1	Apolipoprotein A1
APO-B100	: Apolipoprotein B100
Arg	: Arjinin
Asn	: Asparajin
Asp	: Aspartik asit
ATP	: Adenozin trifosfat
BHA	: Benzil hidroksamik asit
Cys	: Sistein
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
Gln	: Glutamin
Glu	: Glutamik asit
GSH	: Glutatyon
HDL	: Yüksek yoğunluklu lipoprotein
His	: Histidin
IC ₅₀	: %50 inhibitör konsantrasyon
İ.T.K.	: İnce Tabaka Kromatografisi
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein

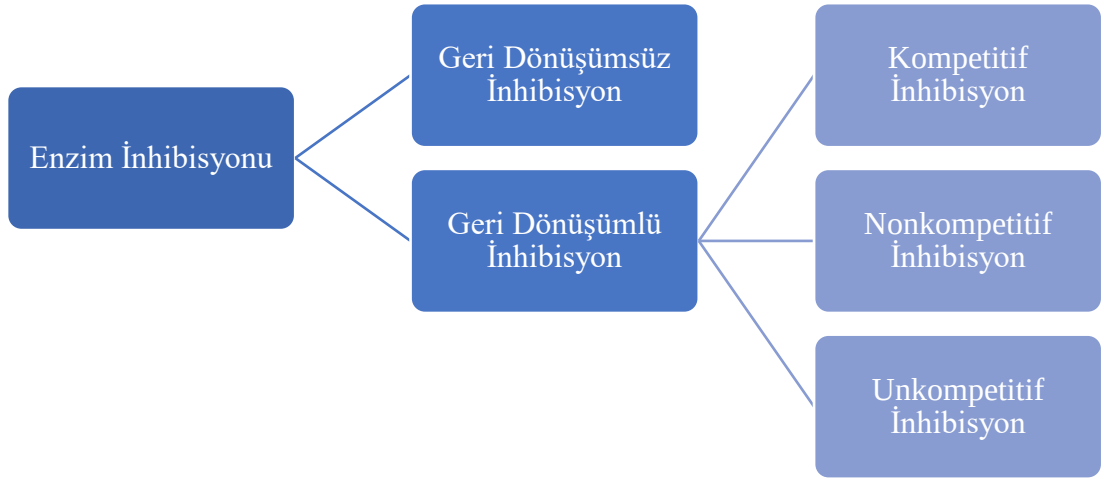
Lys	: Lizin
Met	: Metiyonin
MPO	: Miyeloperoksidaz
MS	: Çoklu skleroz
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
Phe	: Fenilalanin
Pro	: Prolin
PTU	: Propiltiyourasil
RNA	: Ribo nükleik asit
Ser	: Serin
SHA	: Salisilhidroksamik asit
SOD	: Süperoksit dismutaz
TauNHCl	: Taurin kloramin
Thr	: Treonin
TMB	: 3,3',5,5'-Tetrametilbenzidin

1. Giriş

İlaç keşfine yönelik araştırmalar, tedavisi hedeflenen hastalığa karşı azami düzeyde fayda sağlarken vücutta asgari toksisite gösteren ve güvenle kullanılacak bileşiklerin bulunmasını amaçlar. Keşif süreci, hastalıkta terapötik açıdan kritik öneme sahip olduğu düşünülen hedefin belirlenmesi ile başlamaktadır. Hastalığın patolojisinde ve tedavisinde önemli olduğu düşünülen hedefin belirlenmesi, klinikte kullanılması amaçlanan ilaç molekülünün keşfedilebilmesi için en kritik adımdır. Vücutta hücre membranları, iyon kanalları, reseptörler ve enzimler ilaç hedefleri arasındadır. Bu yapılar arasında enzimler, hücre içerisinde gerçekleşen makromolekül sentezi, anabolik proses, metabolizma, sinyal iletimi ve döngüler gibi biyokimyasal reaksiyonlarda aktivasyon enerjisini düşürerek anahtar bir rol oynadığı için terapötik olarak önemli bir hedef olmuştur ve bugün klinikte kullanılan ilaçların neredeyse yarısı enzimler üzerindeki aktiviteleri aracılığıyla etki göstermektedir (R. a. Copeland, 2013; Kenakin, 2017). Enzimin aktif yöreni substrat moleküllerinin bağlanarak kimyasal değişikliğe uğrayıp ürün olarak ayrıldıkları bağlanma bölgeleridir. Aktif yöre dinamik bir yapıya sahiptir ve substratın ürüne dönüştüğü reaksiyon yolağındaki her bir ara basamakta farklı bir konfigürasyona sahiptir (R. A. Copeland, Harpel, & Tummino, 2007). Enzimler farklı özellikteki uyaranlar tarafından inhibe edilerek biyolojik etkinliğini kaybedebilir veya aktive edilerek biyolojik etkinliğini kazanabilir.

1.1. Enzim İnhibisyonu

İnhibisyon, enzim inhibitörlerinin bağlanma şekillerine bağlı olarak geri dönüşümsüz (irreversible) veya geri dönüşümlü (reversible) olarak gerçekleşir. Geri dönüşümlü inhibisyon, inhibitörün enzimdeki bağlanma yoresindeki farklılıklara göre kompetitif, unkompetitif ve nonkompetitif olarak alt başlıklara ayrılır (Şekil 1-1).



Şekil 1-1. Enzim inhibisyon çeşitleri

1.1.1. Geri Dönüşümsüz İnhibisyon

Bu tarz inhibisyonda inhibitör özellik gösteren molekül enzimin aktif yoresine kovalent veya kovalent olmayan etkileşimlerle kuvvetli şekilde bağlanarak bölgeden ayrılmaz veya çok yavaş ayrılır. Bazı durumlarda ise moleküller aktif yöredeki önemli fonksiyonel grupların yapılarını bozarak etki gösterir. Bu tür inhibitörler enzimi tamamen bloke ettikleri veya enzimin yapısında kalıcı değişikliğe yol açtıkları için kısıtlı terapötik kullanım alanına sahiptir (Kenakin, 2017; Kennelly & Rodwell, 2015; Nelson & Cox, 2013; Sharma, 2012).

1.1.2. Geri Dönüşümlü İnhibisyon

Geri dönüşümlü inhibisyonda inhibitör bileşik ile enzim arasındaki etkileşimler enzim yapısında kalıcı bir değişikliğe yol açmaz ve bileşiğin aktif yöreden ayrılma süresi görece daha kısadır.

1.1.2.1. Kompetitif İnhibisyon

İnhibitör, enzimin aktif yoresini işgal ederek substratın bu bölgeye bağlanmasını engeller. Oluşan enzim-inhibitör kompleksi herhangi bir reaksiyonu katalizlemediği

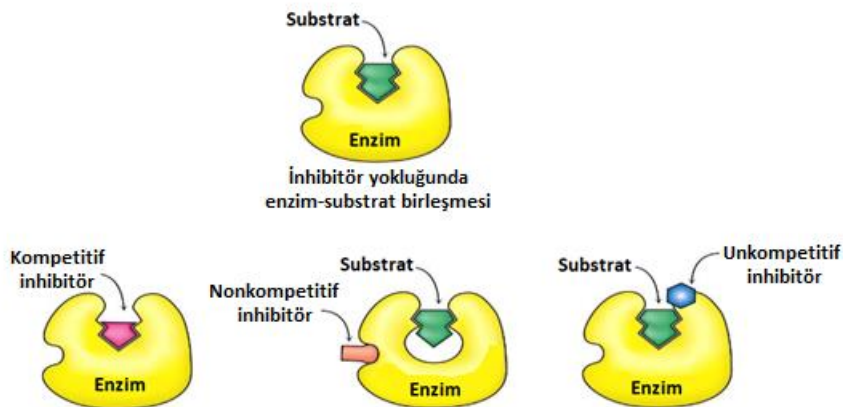
için enzimin aracılık ettiği ürünün oluşmasını engeller. Bu tarz inhibisyon konsantrasyona bağımlıdır ve ortamda artan substrat konsantrasyonu inhibitörün aktif yöreden uzaklaştırılmasını sağlayarak enzimin fizyolojik fonksiyonunu geri kazanmasına aracılık eder. Substrat yapısı bilindiği ve inhibitörün substrata benzer bir yapıda olması gerektiği için substrata benzer bileşiklerin ilaç adayı olarak tasarlanması açısından avantaj sağlamaktadır ve bu inhibitörler substrat analogları olarak da isimlendirilir.

1.1.2.2. Nonkompetitif İnhibisyon

Bu tarz inhibisyona yol açan inhibitörler enzimin aktif yöresine değil enzim üzerinde farklı bir bölgeye bağlanırlar. Nonkompetitif inhibitörler hem enzimle hem de enzim-substrat kompleksiyle etkileşebilir. Konsantrasyondan bağımsız olduğu için ortamda artan miktardaki substrat, inhibitörün etkisini ortadan kaldıramaz.

1.1.2.3. Unkompetitif İnhibisyon

Bu tarz inhibisyonda ise substrat enzime bağlandıktan sonra enzimin aktif yöresinden farklı bir bölgede meydana gelen konformasyonel değişiklikler inhibitörün bağlanabileceği bir cep oluşturur. Bu nedenle unkompetitif inhibitörler sadece enzim-substrat kompleksine bağlanabilir. Konsantrasyondan bağımsızdır ve artan substrat konsantrasyonu inhibitörün etkisini ortadan kaldıramaz (Kennelly & Rodwell, 2015; Nelson & Cox, 2013).



Şekil 1-2. Enzim inhibisyon türlerine göre substrat ve inhibitör bağlanma şekilleri

1.2. Enzim Aktivasyonu

Aktivatör özellik gösteren bileşikler enzime geri dönüşümlü olarak bağlanıp reaksiyonun katalizlenmesini artırıcı yönde etki ederler. Bu moleküller substratın enzime bağlanmasını engellemek için aktif yöreden farklı bir bölgeye bağlanmalıdır (Kenakin, 2017; Leskovac, 2003).

Moleküler biyoloji ve bilgisayar teknolojisi alanında son yıllarda meydana gelen gelişmeler hastalıkların tedavisinde etkili olabilecek farklı hedeflerin bulunmasını ve yapılarının aydınlatılmasını sağlamıştır.

Enzimleri aktive veya inhibe ederek etki gösteren ilaçlardan bazıları Tablo 1-1’de özetlenmiştir.

Tablo 1-1. Enzim aktivatörü ve enzim inhibitörü ilaç örnekleri

AKTİVATÖR	İNHİBİTÖR		
	Geri Dönüşümsüz İnhibitör	Geri Dönüşümlü İnhibitör	
		Kompetitif	Allosterik (Unkompetitif/Nonkompetitif)
Riosiguat	Pridostigmin	Metotreksat	İmatinib
Plekanatid	Pargilin	Propiltiourasil	Trametinib
Linaklotit	Fenelzin	Atorvastatin	

1.3. Miyeloperoksidaz (MPO)

Miyeloperoksidaz (MPO) enzimi nötrofillerde bulunur ve fagozom içerisinde hidrojen peroksit (H_2O_2) ile çeşitli halojenler arasındaki reaksiyonu katalizleyerek antibakteriyel etkili hipohalöz asitlerin sentezine aracılık eder (Winterbourn & Kettle, 2012). Bunun yanı sıra bu enzimin ekstraselüler sıvıda konağa ait olan biyomolekülleri de oksitlemesi, kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve nörodejeneratif hastalıkların sebeplerinden biri olan inflamasyona neden olur (Forbes & Kettle, 2018). MPO, bu hastalıklardaki rolünün daha iyi anlaşılması ile tedavide farklı ve umut vadeden bir hedef haline gelmiştir.

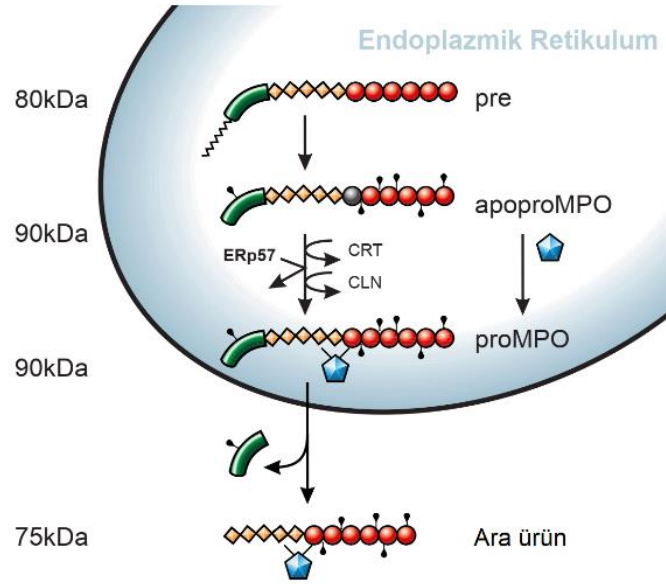
Tez çalışmamızda ilaç geliştirme sürecindeki rasyonel yaklaşım kapsamında enzim hedefi esas alınmış ve MPO enzimine yönelik inhibitör özellik gösterebileceği düşünülen bileşiklerin sentez, saflaştırma, biyolojik aktivite ve moleküler kenetlenme çalışmalarının gerçekleştirilmesi planlanmıştır.



2. Genel Bilgiler

2.1 MPO Sentezi

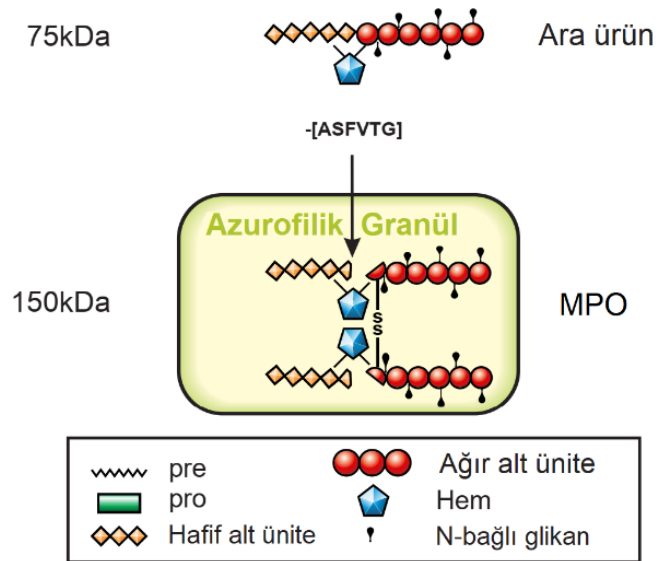
MPO, nötrofil hücrelerinin farklı çeşitlerdeki sitoplazmik granüllerinden bir tanesi olan birincil granüllerin içerisinde bulunur. Bu granüllerin sentezi nötrofil hücrelerinin gelişim aşamalarından promiyelosit safhasındayken başlayıp miyelosit safhasının başında sona erer (Klebanoff, 2005; Prokopowicz, Marcinkiewicz, Katz, & Chain, 2012). Dolayısıyla MPO sentezi de bu gelişim aşamaları sırasında gerçekleşmektedir. MPO sentezinin başlangıç materyali 80 kDa'luk bir proteindir. Bu proteinin 90 kDa ağırlığında ve enzimatik olarak inaktif apoproMPO yapısına dönüşmesi 3 basamakta gerçekleşmektedir. İlk aşamada başlangıç proteininin yapısındaki 41 amino asit uzunluğundaki sinyal peptit, proteolitik olarak yapıdan ayrılır. Bunu N-bağlı glikozilasyon ve sonrasında mannozca zengin oligosakkarit yan zincirinin kısıtlı deglikozilasyonu takip eder. ApoproMPO geçiş ürünü, MPO enzim aktivitesinde önemli bir rol oynayan, ortasında demir atomu taşıyan porfirin halka yapısındaki hem grubunu içermez ve endoplazmik retikulumda göreceli olarak uzun yarı ömre sahiptir. MPO sentezinin endoplazmik retikulum içerisindeki en önemli adımı, hem prostetik grubunun apoproMPO yapısının içerisine girmesiyle enzimatik olarak aktif proMPO'nun oluşumudur (Hansson, Olsson, & Nauseef, 2006; Klebanoff, 2005; Prokopowicz et al., 2012). ProMPO yapısından 125 amino asitlik bir peptidin proteolitik olarak ayrılmasıyla yarı ömrü kısa olan 75 kDa'lık bir protein oluşur (Şekil 2-1). Bu yapı da ikinci bir parçalanmaya uğrayarak 59 kDa'lık ağır ve 13.5 kDa'lık hafif alt üniteyi meydana getirir (Klebanoff, 2005; Olsen & Little, 1984).



Şekil 2-1. 75 kDa ağırlığındaki ara ürünün sentezi

Endoplazmik retikulum içerisinde başlangıç materyalinden 75 kDa ağırlığındaki proteinin sentezi (Nauseef, 2018)

Bir çift ağır-hafif alt ünitenin, ağır üniteler arasındaki disülfür bağıyla homodimerizasyonu sonucunda ağırlığı yaklaşık 150 kDa olan MPO sentezlenmiş olur (Şekil 2-2) (Andrews & Krinsky, 1981; Nauseef, 1998; Prokopowicz et al., 2012). Yapıdaki hem grupları, ağır alt ünitelere kovalent bağ ile bağlanmış durumdadır (Hansson et al., 2006; Klebanoff, 2005; Nauseef, 2018).



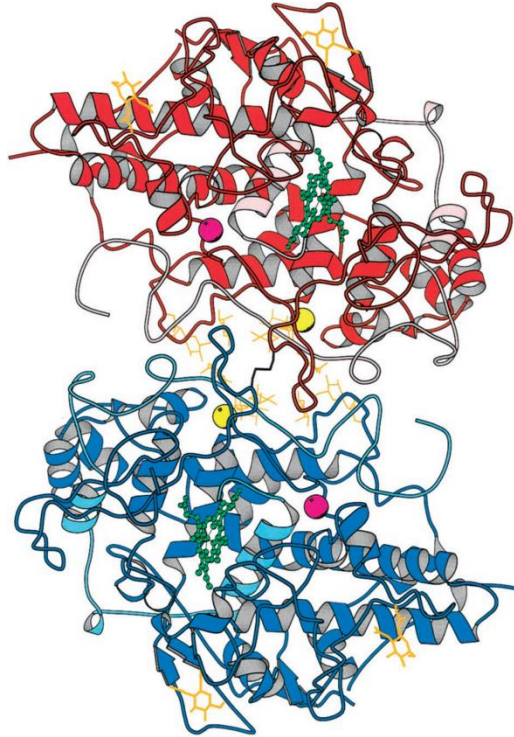
Şekil 2-2. MPO sentezi

75 kDa ağırlığındaki ara üründen MPO'nun sentezi (Nauseef, 2018)

2.2. MPO Enzimi, Yapısı ve Tepkimeleri

2.2.1. Genel Yapı

İki ayrı ağır ünitedeki Cys-153 amino asitleri arasında meydana gelen tek bir kovalent disülfür bağı, birbiriyle tamamen aynı olan iki yapıyı birbirine bağlayarak MPO'nun dimerik yapısının oluşmasını sağlar. Enzimin ikincil yapısı çoğunlukla α -sarmal, küçük bir kısmı da β -sarmal yapıdadır. MPO molekülünün her bir yarısı hem içeren 5 sarmallı merkezi bir çekirdekten oluşmaktadır. Sarmalların 4 tanesi büyük, 1 tanesi ise küçük polipeptit zincirinden meydana gelmiştir. Büyük polipeptidin kalan kısmı 4 ayrı bölgeye ve merkezi çekirdeği çevreleyen tek bir açık döngüye katlanır. Küçük olan polipeptit zinciri ise molekülün yüzeyini sarar (Şekil 2-3). Sadece karboksil ucu merkezi çekirdeğin bir kısmını oluşturacak şekilde içeri bölgeye penetre olmuş durumdadır (Fiedler, Davey, & Fenna, 2000; Zeng & Fenna, 1992).



Şekil 2-3. MPO genel yapısı

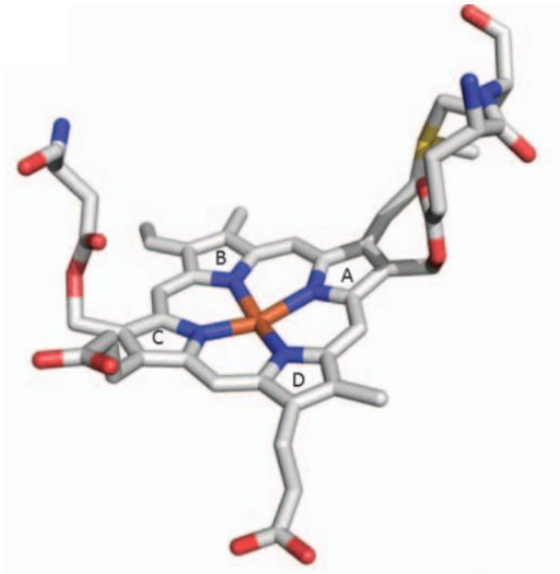
Hem grupları yeşil olarak gösterilmiştir. Büyük polipeptit zincirleri mavi ve kırmızı olarak gösterilmişken küçük polipeptit zincirleri açık mavi ve açık kırmızı renktedir ve birbiriyle tamamen aynı olan iki yapı siyahla gösterilen disülfür bağı ile birbirine bağlanmıştır (Fiedler et al., 2000)

2.2.2. Hem Yapısı

Hem, protoporfirin IX yapısının merkezinde demir atomu içeren bir türevidir. Hem grubu, enzimin yüzeyinden 10 Å çapında ve 15-20 Å derinliğindeki dar bir kanalın sonundaki genişleyen bölgede bulunmaktadır.

Enzimin aktif yöresinin görece dışta kalan bölgesi (distal yöre) hidrojen peroksitin (H_2O_2) heterolitik parçalanmasını sağlayarak aktivitede önemli bir rol oynarken (Grishkovskaya et al., 2017) daha iç kısımda kalan bölgesi (proksimal yöre) ise demirin redoks özellikleri açısından önemlidir (Paul G. Furtmüller et al., 2006)

Protoporfirin yapısında A, B, C ve D olarak harflendirilmiş pirol halkaları bulunmaktadır (Şekil 2-4). A ve B halkaları, üzerlerinde, metil ve vinil grupları taşıırken C ve D halkaları metil ve propiyonat grupları taşımaktadır. Bu işlevsel gruplar hem grubunun enzime bağlanma noktaları açısından büyük öneme sahiptir (Zeng & Fenna, 1992).

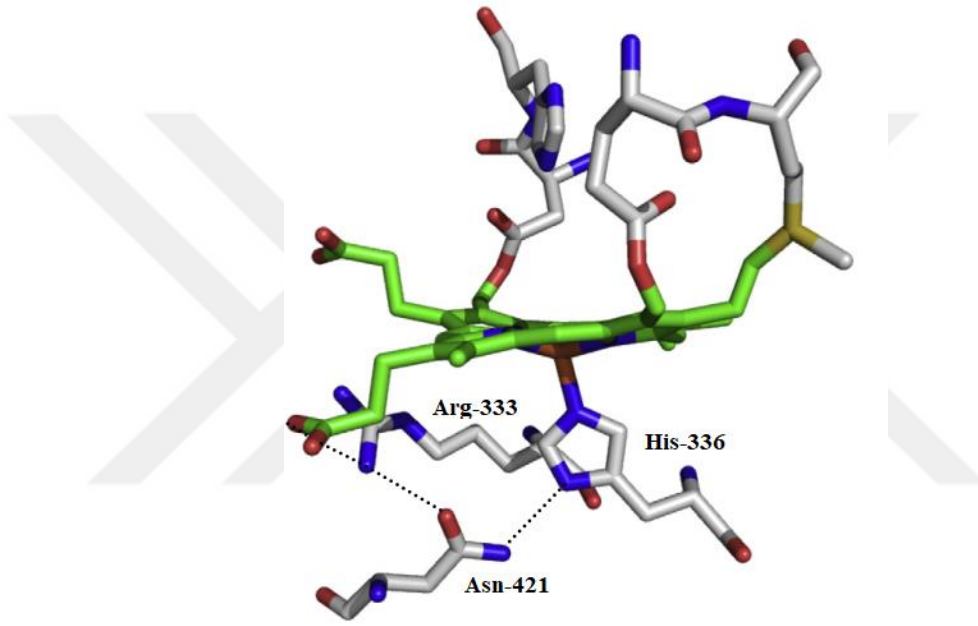


Şekil 2-4. Hem grubunun A, B, C ve D pirol halkaları

(Anthony J. Kettle & Winterbourn, 2016)

Protoporfirin yapısının D halkası ve bu halkaya bağlı propiyonat grubu enzim aktif cebinden dışarıya doğru yönelmişken B halkası cebin iç bölgesinde, kanalın arka tarafında bulunmaktadır. Hem grubuyla ve birbirleriyle direkt veya dolaylı olarak etkileşimde bulunan His-336, Arg-333 ve Asn-421 amino asitleri bu bölgedeki enzim

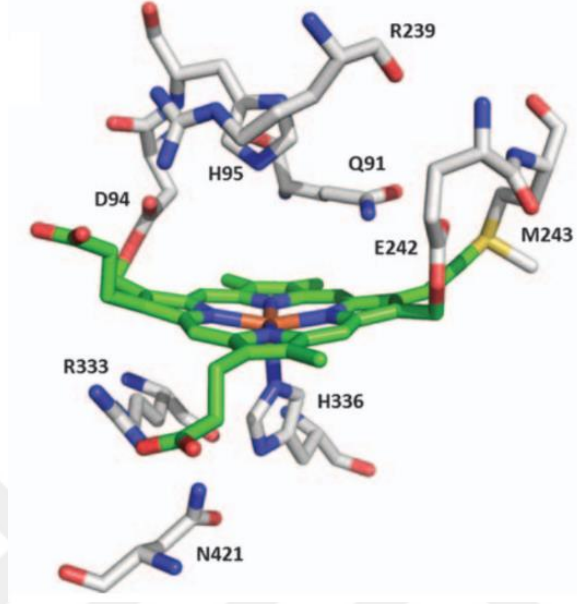
yapısını şekillendirir (Şekil 2-5). Bu etkileşimlerin bozulması enzim aktivitesini düşürmektedir (Anthony J. Kettle & Winterbourn, 2016; Stampfer et al., 2011; Zeng & Fenna, 1992) His-336, demir atomuyla koordine haldeyken diğer taraftan Asn-421 ile hidrojen bağı yapmaktadır. Asn-421'in karbonil grubu ile Arg-333'ün guanidin grubu arasında da hidrojen bağı bulunmaktadır. Bunun yanı sıra Arg-333'ün D pirol halkası üzerindeki propiyonat grubu ile arasındaki elektrostatik etkileşim demir atomunun dolaylı yoldan propiyonat grubuyla bağlanmasını sağlar ve bu bölgedeki enzim yapısını şekillendirir (Stampfer et al., 2011).



Şekil 2-5. His-336, Asn-421 ve Arg-333 amino asitlerinin yerleşimi
(Stampfer et al., 2011)

C halkasının propiyonat grubu Asp-98'in karboksil ve Thr-100'ün NH grubuyla etkileşmektedir (Fiedler et al., 2000). Hem yapısının A ve C halkaları üzerindeki metil grupları, bu yapının proteine kovalent bağ aracılığıyla bağlanmasını sağlamaktadır. A halkasının metil grubu Glu-242 amino asidinin karboksil oksijeniyle ester bağı yaparak hem grubunun ağır alt üniteye kovalent bağ ile bağlanmasını sağlar. Ayrıca bu halkanın vinil karbonu ile Met-243 amino asidinin kükürt atomu arasında pozitif yüklü vinil-sülfanyum bağı bulunmaktadır. C halkası ise metil grubunun Asp-94 ile yaptığı ester bağı aracılığıyla hafif alt üniteye bağlanır. B ve D halkaları her ne kadar düzlemsel olsalar da A ve C halkalarının çevre amino asitlerle yaptıkları bu

etkileşimler sonucunda hem grubunun düzlemselliği bozulur ve yay şeklinde bir yapı oluşur (Şekil 2-6) (Fenna, Zeng, & Davey, 1995; Fiedler et al., 2000; Anthony J. Kettle & Winterbourn, 2016).

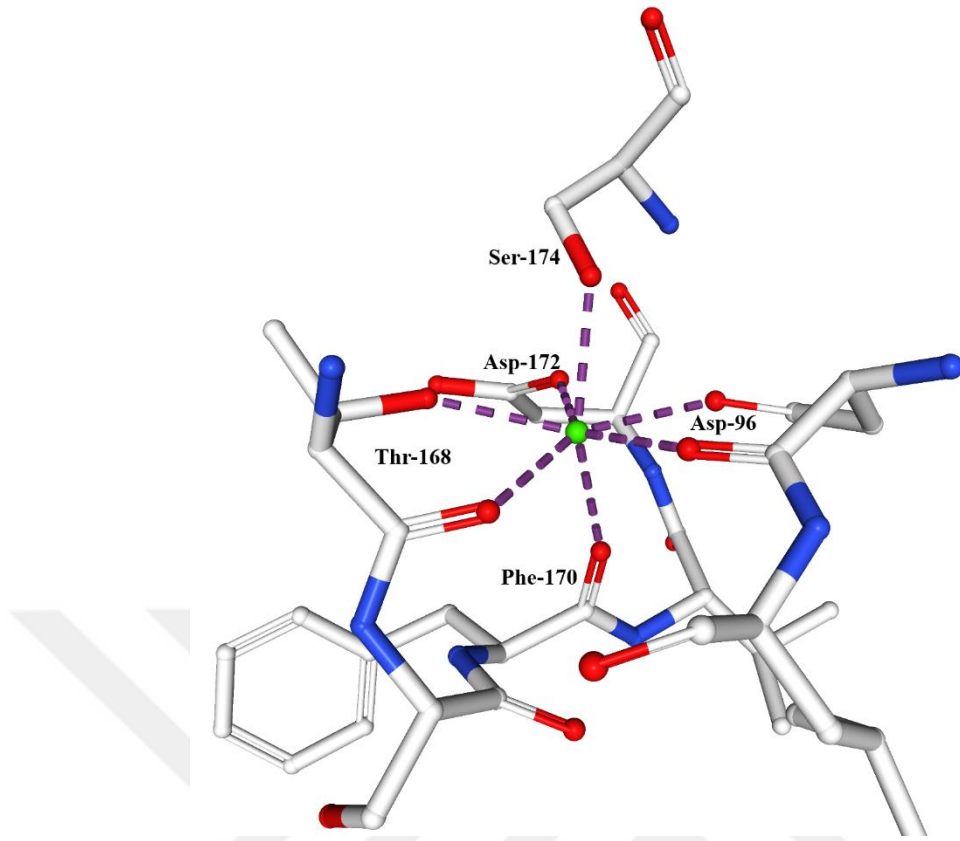


Şekil 2-6. MPO'nun yay şeklindeki yapısı
(Kettle, 2016)

Distal bölgedeki en önemli amino asitler His-95, Arg-239 ve Gln-91'dir. Bu aminoasitler C halkasının propiyonat grubu ile etkileşim göstermektedir (Zeng, 1992; Fiedler, 2000; Kettle, 2016).

2.2.3. Kalsiyum Bağlanma Yöresi

MPO'nun her bir yarısı hem grubuna kovalent bağlı bir demir ve bundan ayrı olarak bir kalsiyum içerir. Kalsiyum bağlanma yöresi beşgen bipiramit yapıya sahiptir (Şekil 2-7). Bu yapıyı Ser-174, Phe-170, Asp-96, Thr-168 ve Asp-172 amino asitleri oluşturmaktadır. Ser-174 amino asidinin -OH oksijeni ile Phe-170 amino asidinin peptit karbonil oksijeni aksiyal ligandları oluştururken; Asp-96'nın karbonil oksijenleri, Thr-168 hidroksili ve peptit karbonil oksijeni ile Asp-172'nin karboksil oksijeni neredeyse aynı düzlem üzerindedir.



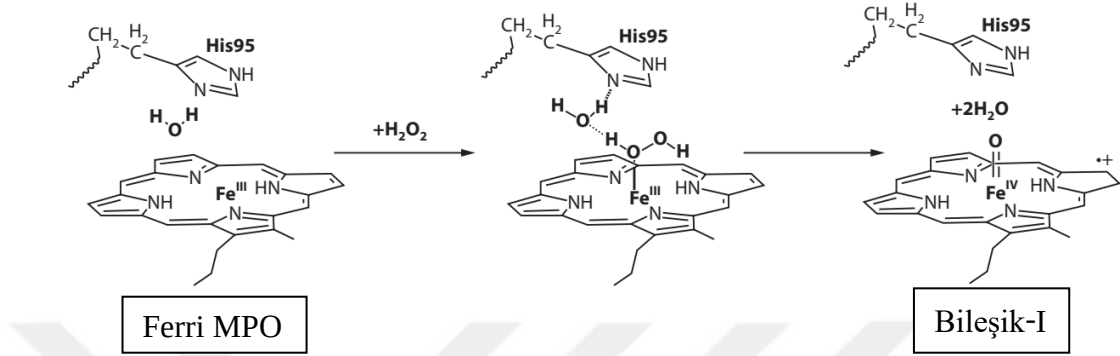
Şekil 2-7. Ca⁺⁺ bağlanma yören ve beşgen bipiramit yapı
5FIW Kodlu Protein yapısı

Bu ligandların 5 tanesi büyük polipeptit zincirinin bir parçasıdır. Sadece Asp-96, küçük polipeptit zincirindeki His-95'e yakın olarak durmaktadır. Bu durum enzim yapısındaki kalsiyum iyonunun küçük ve büyük polipeptitlerin arasındaki etkileşimi de sağladığını göstermektedir (Fiedler et al., 2000; Paul G. Furtmüller et al., 2006; Zeng & Fenna, 1992).

2.3. Hidrojen Peroksit Aktivasyonu ve Bileşik-I Oluşumu

Miyeloperoksidaz enziminin aktivasyonu H₂O₂'nin aktif yöreye bağlanmasıyla gerçekleşir. Hem grubundan iki elektronunun uzaklaştırılması ve ardından ferri [Fe(III)] halde bulunan +3 değerlikli demir atomuna bir adet oksijen bağlanmasıyla Bileşik-I adı verilen, demirin oksiferril [Fe(IV)=O] halde bulunduğu ve π -katyon radikalinin heme grubu üzerinde delokalize olduğu bir yapı oluşur. Bileşik-I, MPO-(⁺PorFe⁴⁺=O) olarak da gösterilir. Bu reaksiyon distal bölgede His-95 ve Arg-239 aminoasitleri aracılığıyla sağlanmaktadır. His-95, bir asit-baz katalizörü gibi

davranarak H_2O_2 'nin heterolitik olarak parçalanmasını sağlar. Bu parçalanma sonucunda ortaya çıkan oksijen, ferri demire bağlanarak $MPO-(^{++}PorFe^{4+}=O)$ yapısını oluşturur (Şekil 2-8).

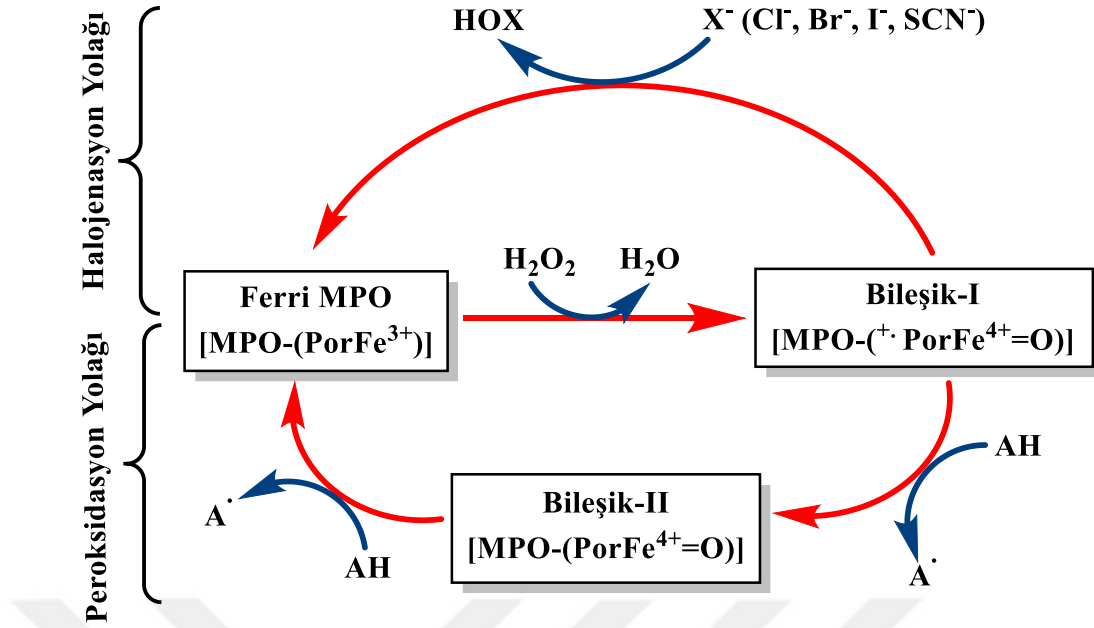


Şekil 2-8. His-95 aracılığıyla Bileşik-I'in oluşumu

H_2O_2 , His-95 amino asidine su molekülü aracılı H-bağıyla bağlanıp heterolitik olarak parçalanarak Bileşik-I'in oluşumuna aracılık eder (Forbes & Kettle, 2018)

Bu yapıda bulunan oksijenin altı adet değerlik elektronunun oluşu Bileşik-I'i stabil olmayan, potansiyel bir oksidan molekül haline getirir, bu nedenle yapının X-ray kristalografisi alınamamaktadır (Anthony J. Kettle & Winterbourn, 2016). Fakat görece daha stabil olduğundan yapısı aydınlatılabilmiş olan ferri MPO-siyanid kompleksinin ($MPO-CN$) Bileşik-I ile yapı benzerliğinin bulunması, Bileşik-I'in yapısı hakkında da bilgi vermektedir (Blair-Johnson, Fiedler, & Fenna, 2001).

Bileşik-I'in indirgenme eğilimi yüksektir ve bu yapının ferri MPO'ya dönüşümü halojenasyon ve peroksidasyon adı verilen iki farklı yoldan bir tanesi üzerinden gerçekleşmektedir (Şekil 2-9). Halojenasyon yolağı, halojenürlerin hipohalöz asitlere dönüştürüldüğü, tek basamakta iki elektronlu redüksiyon içeren bir reaksiyondur. Peroksidasyon yolağı ise iki basamakta birer elektronlu redüksiyon içerir ve ilk basamağın sonucunda Bileşik-II adı verilen ara ürün oluşur (Forbes & Kettle, 2017).



Şekil 2-9. Enzimin halojenasyon ve peroksidasyon yolları

Halojenasyon yolağı üzerinde iki elektronlu redüksiyon tek basamakta gerçekleşirken peroksidasyon yolağı üzerinde bir elektronlu redüksiyon reaksiyonları iki ayrı basamakta gerçekleşir

2.4. Halojenasyon Yolağı

Bu yolakta Bileşik-I, klorür (Cl⁻), bromür (Br⁻), iyodür (I⁻) ve tiyosiyanat (SCN⁻) iyonlarından iki elektron alarak üzerindeki oksijeni kaybeder ve enzimin orijinal hali olan ferri MPO [MPO-(PorFe³⁺)] yapısına geri döner. (Forbes & Kettle, 2017; Anthony J. Kettle & Winterbourn, 2016).

Halojen bağlanma yörenesi, A ve D pirol halkaları arasındaki metilen köprüsünün bulunduğu distal bölgededir. Bu bölge, Met-243 ve hem arasındaki pozitif yüklü sülfanyumdan dolayı elektronca fakirdir, bu yüzden anyonların bağlanması için uygun bir yöredir (Fiedler et al., 2000; Forbes & Kettle, 2017). Sülfanyum yapısı, pozitif yükü ve elektron çekme kapasitesi ile enzimi stabilize eder. Ayrıca bu yapı hem grubunun indirgenme eğilimi üzerinde etkili olmanın yanı sıra grubun düzlemselliğini de bozar. Met-243 üzerindeki mutasyonlar klorür ve bromür oksidasyonunu azaltırken iyodür ve tiyosiyanat oksidasyonunu artırır. Sülfanyum yapısının yok edilmesi ise klorür iyonunun oksidasyonu ortadan kaldırır, bromür oksidasyonunu belirgin bir şekilde azaltır ancak iyodür ve tiyosiyanat oksidasyonu azalsa da devam eder

(Battistuzzi et al., 2011; Anthony J. Kettle & Winterbourn, 2016; Zederbauer, Furtmüller, Ganster, Moguilevsky, & Obinger, 2007).

Bileşik-I yapısı fizyolojik ortamda klorür, bromür, iyodür ve tiyosiyanat yapılarını oksitleyerek karşılık gelen hipohalöz [hipokloröz (HOCl), hipobromöz (HOBr), hipoiyodöz (HOI) ve hipotiyosiyanöz (HOSCN)] asitleri oluştururken kendisi [MPO-(PorFe³⁺)] haline geri döner. İyonların yükseltgenme eğilimleri, yapısal farklılıklarına, indirgenme eğilimlerine ve fizyolojik ortamdaki konsantrasyonlarına bağlı olarak değişmektedir. Bu yüzden her iyon aynı miktarda oksitlenmez ve oluşan hipohalöz asitlerin oranları birbirinden farklıdır. İyodür daha kolay oksitlenebilir ancak fizyolojik ortamdaki konsantrasyonunun düşük olması (0.1-0.6 µM), halojen bağlanma yöreni için büyük bir yapıda olması ve distal hem yörenin yapısını bozmasından dolayı Bileşik-I için iyi bir substrat değildir (Anthony J. Kettle & Winterbourn, 2016). Bromür, fizyolojik ortamda oksitlenebilen bir substrattır (Senthilmohan & Kettle, 2006; van Dalen, Whitehouse, Winterbourn, & Kettle, 1997). Bileşik-I tarafından en çok tercih edilen anyonlar klorür ve tiyosiyanattır. (Anthony J. Kettle & Winterbourn, 2016). İki iyon karşılaştırıldığında ise tiyosiyanat, Bileşik-I için en iyi elektron donörüdür ve klorürden daha iyi bir substrattır ancak klorür fizyolojik ortamda en çok bulunan iyon olduğundan (Cl⁻: 100-140 mM, Br⁻: 20-100 µM, I⁻: 0.1-0.6 µM, SCN⁻: 20-120 µM) MPO'nun halojenasyon yolağında en yüksek oranda ortaya çıkan ürün HOCl'dir (Paul Georg Furtmüller, Burner, & Obinger, 1998; van Dalen et al., 1997).

2.5. Peroksidasyon Yolağı

Bileşik-I'in ferri MPO'ya dönüşebilmesi için diğer bir seçenek peroksidasyon yolağıdır. Bu yolda Bileşik-I, uygun substrattan bir elektron alarak substratın serbest radikalini oluştururken kendisi bir oksoferil kompleksi olan Bileşik-II [MPO-(PorFe⁴⁺-OH)] yapısına dönüşür. Bileşik-II ise diğer bir substrat ile etkileşerek ferri MPO'ya indirgenirken bir substrat radikali daha ortaya çıkar.

Peroksidaz döngüsü ile oksitlenebilen fizyolojik substratlar; serotonin, ürik asit, tirozin, askorbik asit ve hidrojen sülfürdür. Nitrit, Bileşik-I tarafından kolaylıkla oksitlense de Bileşik-II için çok iyi bir substrat değildir. Parasetamol, klozapin, mitoksantron ve etopsid gibi anti-inflamatuar ve antikanser ilaçların yanı sıra

epikateşin, kuersetin, mirisitrin gibi besinsel polifenol yapıları da peroksidasyon yolağı tarafından oksitlenebilen çeşitli ksenobiyotiklerdendir.

Substratların MPO döngüsündeki ara ürünler tarafından oksitlenebilme potansiyelleri farklı etkenlere bağlıdır. Bileşik-I, bir elektronlu indirgenme eğilimi yüksek olduğu için çok farklı substratları oksitleyebilmektedir. Bazı durumlarda bu reaksiyonun hız sabiti substrattaki elektronik ve yapısal değişikliklere bağlı olabilir. Örneğin, Bileşik-I ve II için substrat olarak kabul edilen benzoik asit hidraziti yapılarının bu reaksiyondaki hız sabitleri aromatik yapının üzerindeki elektron verici sübstitüentlere bağlı olarak değişmektedir. Aromatik halkaların hem ile etkileşimleri oksidasyona uğrama ihtimallerini artırır. Öte yandan negatif yüklü substratlar ise hem grubundaki D halkasının propiyonat grubu tarafından engellendikleri için Bileşik-I ve II tarafından oksitlenemezler.

Bileşik-II, düşük indirgenme eğilimine sahip olması nedeniyle Bileşik-I'in aksine daha az sayıda substratla etkileşir ve indirgenme reaksiyon hızı Bileşik-I'e göre daha yavaştır. Bu yüzden peroksidasyon döngüsünün tamamlanma hızını Bileşik-II'nin ferri MPO'ya dönüş basamağı belirler. Süperoksit radikali ve serotonin Bileşik-II için en iyi fizyolojik substratlardır.

Süperoksit radikali hem Bileşik-I hem de Bileşik-II için fizyolojik substrat olarak bilinir ve bu redoks ara ürünleri ile çok hızlı tepkimeye girebilir. Fakat fizyolojik ortamda Bileşik-I ile süperoksit radikali arasında gerçekleşen reaksiyon, ortamdaki klorür varlığından etkilenir ve klorür tarafından inhibe edilir (Anthony J. Kettle & Winterbourn, 2016).

MPO'nun fizyolojik döngüsünde yukarıda halojenasyon ve peroksidasyon olarak açıklanan yolakların dışında ferri MPO ve diğer ürünlerin reaksiyonları sonucunda ortaya çıkan farklı dış döngüler ile yan reaksiyonlar da bulunmaktadır.

2.6. Ferri Miyeloperoksidaz Reaksiyonları

Ferri MPO [MPO-Por(Fe^{3+})] yapısının başlıca fizyolojik substratı H_2O_2 'dir ve bu reaksiyon Bileşik-I'i oluşturarak enzimi halojenasyon veya peroksidasyon yolağına sokar. H_2O_2 başlıca substratı olsa bile süperoksit, HOCl, peroksinitröz asit (HOONO), klorür, nitrik oksit (NO) gibi farklı fizyolojik substratlar da ferri MPO ile etkileşebilir (Anthony J. Kettle & Winterbourn, 2016).

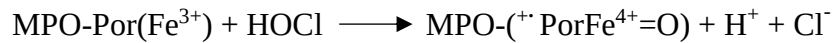
2.6.1. Süperoksit ile Reaksiyon

Süperoksit, moleküler oksijenin (O_2) tek bir ortaklanmamış elektron taşıyan hali olup, net yükü -1'dir ve $O_2^{\cdot -}$ olarak gösterilir. Nötrofillerde NADPH-oksidaz tarafından üretilir. Bu yapılar ferri MPO ile hızlı şekilde etkileşir ve oksimiyeloperoksidaz [MPO-(PorFe²⁺-O₂)] yapısındaki Bileşik-III'ü oluşturarak enzimi normal döngüsünden uzaklaştırır. Bileşik-III'ün oluşumu hem klorinasyon hem de peroksidasyon döngülerini inhibe etmektedir (Anthony J. Kettle, Anderson, Hampton, & Winterbourn, 2007; Anthony J. Kettle & Winterbourn, 2016).



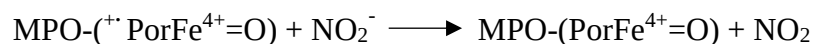
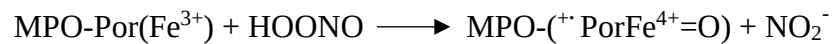
2.6.2. HOCl ile Reaksiyon

HOCl, enzimin aktif yöresinde H₂O₂ ile aynı bölgeye yarışmalı olarak bağlanma eğilimi gösterir ve ferri MPO ile reaksiyonu sonucunda Bileşik-I oluşur. Ancak HOCl aynı zamanda ortamda bulunan diğer aktif hedeflerle de yüksek oranda reaksiyona girme eğiliminde olduğundan dolayı ortamdan hızlıca uzaklaştırılır. Bu yüzden ferri MPO-HOCl etkileşimi çok sıklıkla görülmez. (René Floris & Wever, 1992; Anthony J. Kettle & Winterbourn, 2016).



2.6.3. Peroksinitröz Asit (HOONO) ile Reaksiyon

Peroksinitröz asit, H₂O₂ ile karşılaştırılabilecek kadar yüksek bir oranda ferri MPO ile reaksiyona girerek Bileşik-II'yi oluşturup enzimi halojenasyon döngüsünden uzaklaştırır. Bu reaksiyonun ilk basamağında Bileşik-I oluşsa da yan ürün olarak ortaya çıkan nitrit (NO₂⁻), Bileşik-I ile çok hızlı reaksiyona girerek onun tek elektronlu redüksiyonunu sağlar ve Bileşik-II oluşur (R. Floris, Piersma, Yang, Jones, & Wever, 1993; Anthony J. Kettle & Winterbourn, 2016).



2.6.4. Klorür (Cl⁻) ile Reaksiyon

Klorür, fizyolojik ortamda H₂O₂ ile yarışarak hem aktif yöresine geri dönüşümlü olarak bağlanır ve diğer substratların bağlanmasını engeller. Bu bağlanma sonucunda hipokloröz asit (HOCl) üretimi inhibe edilmiş olur (Anthony J. Kettle & Winterbourn, 2016).



2.6.5. Nitrik Oksit (NO) ile Reaksiyon

Nitrik oksit de ferrik MPO yapısına geri dönüşümlü olarak bağlanır ve MPO-nitrosil kompleksi (MPO-Fe(III)·NO) oluşturur (Abu-Soud & Hazen, 2000).



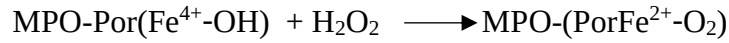
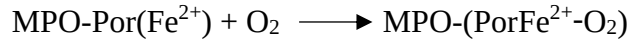
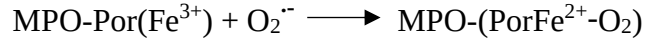
2.7. Ferro Miyeloperoksidaz Reaksiyonları

Peroksidasyon döngüsünde Bileşik-I ve II tarafından oksitlenen bazı substratların açığa çıkan serbest radikal yapıları, ferri enzimi [MPO-Por(Fe³⁺)] ferro miyeloperoksidaz [MPO-Por(Fe²⁺)] yapısına indirger. Ferri MPO yapısının indirgenme eğiliminin düşük olmasından dolayı bu reaksiyonun gerçekleşebilmesi için ortaya çıkan serbest radikallerin kolaylıkla oksitlenebilen yapılar olması gerekmektedir. Substratın hidrofobikliği ve distal hem cebinde H-bağı yapabilme potansiyeli, ferri MPO'yu redükleyebilme özelliğini belirler. Oluşan ferro MPO [MPO-Por(Fe²⁺)], moleküler oksijen (O₂), nitrik oksit (NO), karbon monoksit (CO) ve hidrojen sülfür (H₂S) ile etkileşerek enzimi geri dönüşümlü olarak normal döngüsünden uzaklaştırır ve hipohalöz asit oluşumunu inhibe eder (Anthony J. Kettle & Winterbourn, 2016).

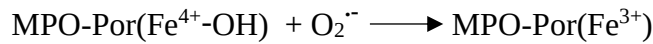
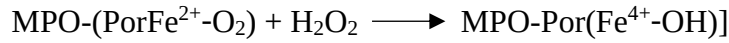
Ferro MPO'nun O₂ ile çok basamaklı reaksiyonu sonucunda Bileşik-III yapısı oluşurken; NO, CO, H₂S ile tek basamaklı reaksiyonları sonucunda sırasıyla [MPO-Por(Fe²⁺)·NO], [MPO-Por(Fe²⁺)·CO], [MPO-Por(Fe²⁺)·H₂S] kompleksleri meydana gelir (Abu-Soud, Raushel, & Hazen, 2004; Bolscher & Wever, 1984; Jantschko, Furtmüller, Zederbauer, Jakopitsch, & Obinger, 2004; Murphy, Maréchal, Segal, & Rich, 2010; Pálincás et al., 2015).

2.8. Bileşik-III Yapısı ve Reaksiyonları

Bileşik-III [MPO-(PorFe²⁺-O₂)], MPO katalitik döngüsündeki ara ürünlerdendir. Ferri enzimin [MPO-Por(Fe³⁺)] süperoksitle (O₂^{•-}), ferro enzimin [MPO-Por(Fe²⁺)] moleküler oksijenle (O₂) veya Bileşik-II'nin [MPO-Por(Fe⁴⁺-OH)] hidrojen peroksit (H₂O₂) ile reaksiyonu sonucunda oluşmaktadır (Odajima & Yamazaki, 1972).



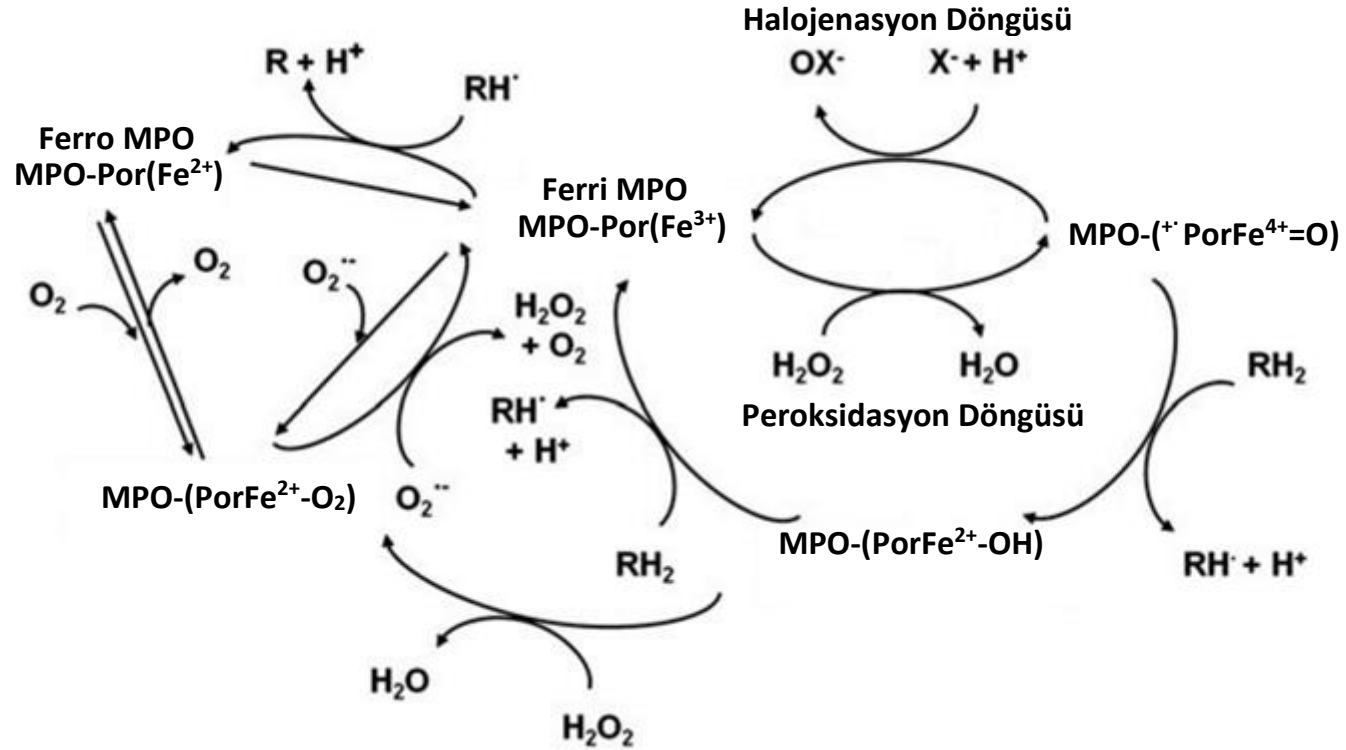
Bileşik-III yapısının halojenasyon ve peroksidasyon döngülerine katkı sağlayabilmesi için Bileşik-I yapısına dönüşmesi gerekmektedir ve bu dönüşüm birkaç basamakta gerçekleşebilir. Bileşik-III, öncelikle H₂O₂ ile etkileşerek Bileşik-II yapısını oluşturur. Ortamda bulunan süperoksit radikalleri (O₂^{•-}) ile reaksiyona giren Bileşik-II ise redüksiyona uğrar ve enzim orijinal ferri formuna geri döner. Bu şekilde Bileşik-I oluşumu için gerekli olan başlangıç haline ulaşılmış olur (Anthony J. Kettle & Winterbourn, 1988).



Ortamda bulunan süperoksitler ferri enzimle etkileşerek Bileşik-III'ü oluşturduğu için inhibitör gibi görünse de aynı zamanda Bileşik-II yapısının ferri enzime redüksiyonuna da aracılık ettikleri için aktivatör özellik göstermektedirler (A. J. Kettle & Winterbourn, 1989).

Bileşik-III, askorbat ve serotonin aracılığıyla da redüklenir. Ortamda redükleyici ajan bulunmaması durumunda ise Bileşik-III, yavaş bir şekilde ferri enzime dönüşmektedir (Anthony J. Kettle & Winterbourn, 2016).

MPO enziminin katalitik döngüsü ve döngüde sentezlenen ürünler Şekil 2-10'da gösterilmiştir.

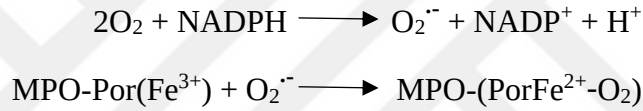


Şekil 2-10. Miyeloperoksidaz enzimi katalitik döngüsü

Ferri durumda bulunan enzim H₂O₂ ile reaksiyona girerek Bileşik-I'i oluşturur ve bu yapı halojenasyon döngüsündeki iki elektronlu tek basamakta gerçekleşen redüksiyon sonucunda hipohalöz asitleri oluşturarak veya birer elektronlu iki basamakta gerçekleşen peroksidasyon döngüsü üzerinde Bileşik-II'yi oluşturarak ferri MPO'ya geri döner. Peroksidasyon döngüsünde oluşan serbest radikaller ferri MPO ile reaksiyona girerek enzimi katalitik döngüsünden uzaklaştırır ve ferro MPO'yu oluştururlar. Bunların dışında ise ferro MPO'nun O₂ ile, ferri MPO'nun süperoksitler ile ve Bileşik-II'nin H₂O₂ ile reaksiyonu Bileşik-III adı verilen farklı bir enzim formunun oluşumuna aracılık eder (Nussbaum, Klinke, Adam, Baldus, & Sperandio, 2013)

2.9. Nötrofil Fagozomu İçerisinde MPO Aktivitesi

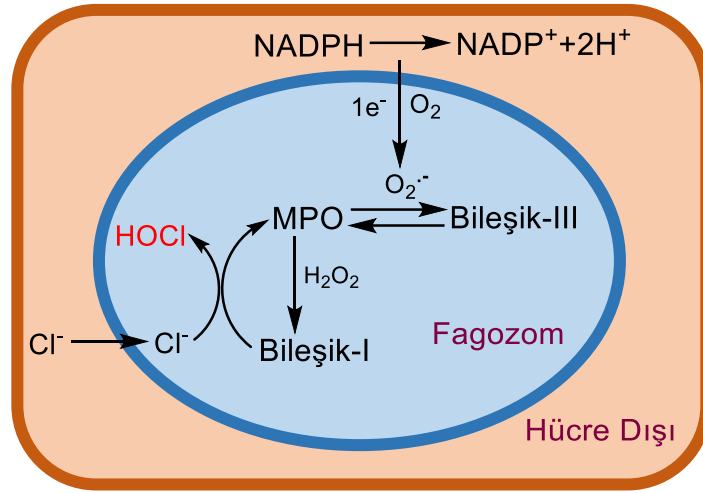
Nötrofiller bağışıklık sisteminde görev alan başlıca hücrelerdendir. Bakteriye fagozom adı verilen hücre içi bir kapsül içerisine hapsederler. Hücre içerisine alınan bakteri ile etrafında oluşturulan fagozom membranı arasında neredeyse yok denilecek kadar az bir boşluk vardır ve bu yapı bakteriyi çok sıkı bir şekilde sarar. İçerisinde miyeloperoksidazın yanı sıra yüksek konsantrasyonda antimikrobiyal peptit ve protein bulunduran azurofilik granüllerin içeriği bu dar bölgeye boşaltılır (Forbes & Kettle, 2017; Winterbourn, Kettle, & Hampton, 2016). Nötrofil fagozomundaki antibakteriyel etkili redoks reaksiyonları NADPH oksidaz enziminin aktivasyonu ile başlar. Moleküler oksijen (O_2), NADPH ile süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) radikallerine indirgenir. Bu radikaller fagozomun içerisine salınırlar ve ferri MPO ile reaksiyona girerek Bileşik-III'ü oluşturur (Forbes & Kettle, 2017; Winterbourn & Kettle, 2012).



Oluşan Bileşik-III yapısı süperoksitlerle tepkimeye girer ve enzimin ferri haline geri dönüşerek H_2O_2 ve moleküler oksijen (O_2) açığa çıkarır. (Cuperus, Muijsers, & Wever, 1986; Forbes & Kettle, 2017; Winterbourn & Kettle, 2012).



Ortamdaki H_2O_2 belirli bir seviyeye geldiğinde ferri enzimin aktif yörenesi ile etkileşir ve Bileşik-I oluşur. Bileşik-I, klorür, bromür, iyodür ve tiyosiyanat gibi iki elektron sağlayan bir donör aracılığıyla hipohalöz asitleri oluşturarak ferri enzime geri dönüşür. Klorür, fagozom içerisinde ve kanda en yüksek konsantrasyonda bulunan iyon olduğu için MPO'nun majör ürünü hipokloröz asittir (HOCl) ve nötrofil fagozomunun içerisinde üretilir (Şekil 2-11) (Winterbourn & Kettle, 2012).



Şekil 2-11. MPO'nun nötrofil fagozomundaki reaksiyonları

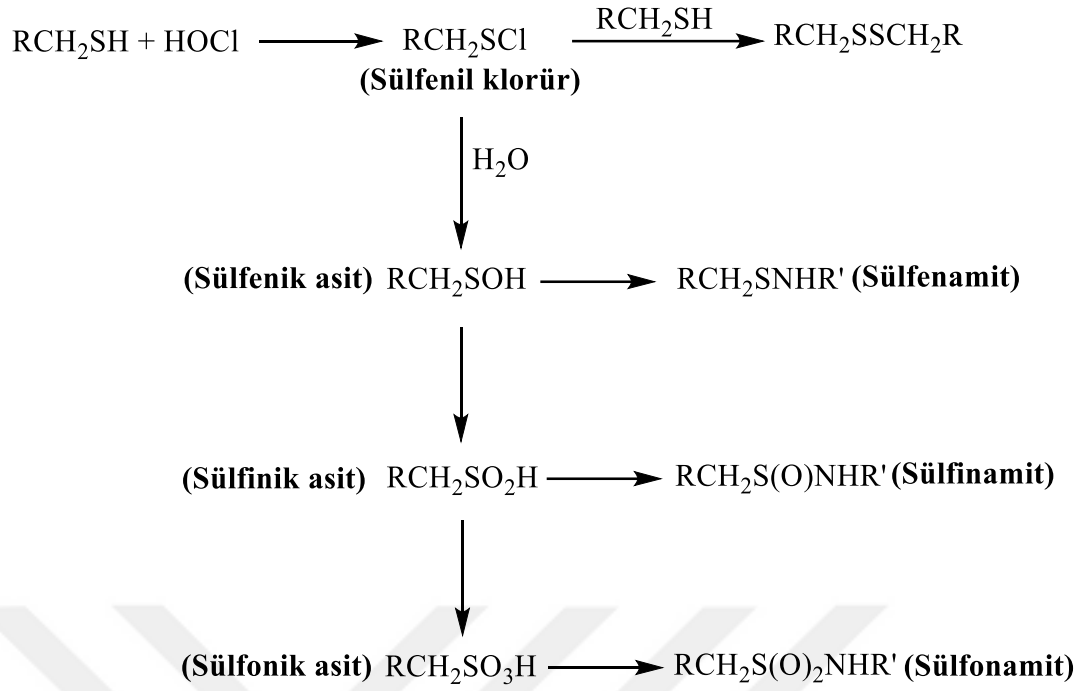
HOCl, amino asit, protein, DNA, lipid, karbonhidrat gibi biyolojik yapıların azotlu ve kükürtlü gruplarını oksitleyerek antimikrobiyal aktivite göstermektedir.

2.9.1. Amino Asit, Protein, Peptit Yapılarının Oksidasyonu

HOCl, fizyolojik ortamda amino asitlerin elektronca zengin merkezleriyle (tiyol, tiyoeter, amin, amit ve aromatik halka) iki elektronlu oksidasyon aracılığıyla etkileşir.

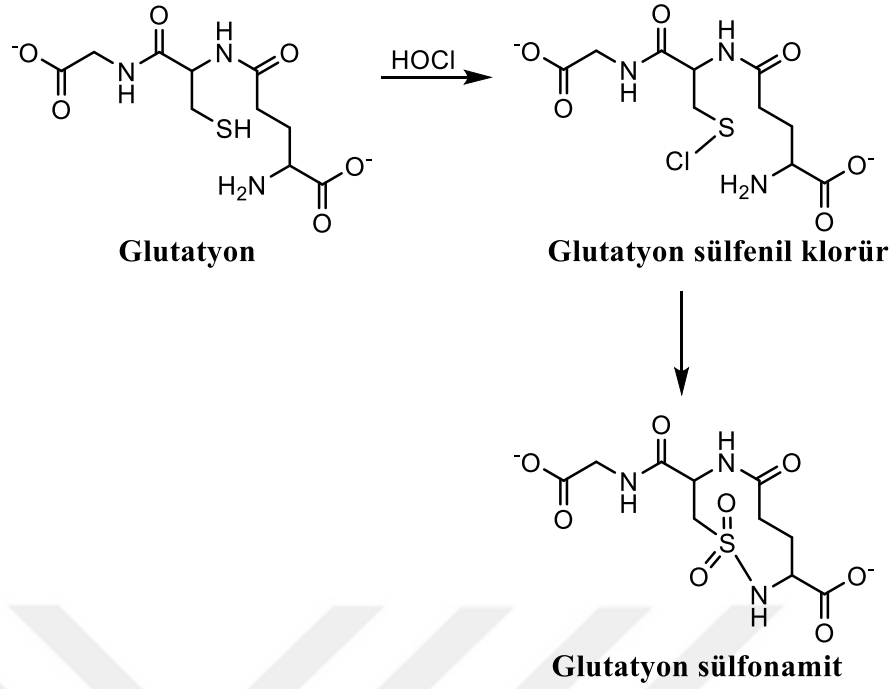
2.9.1.1. Kükürt İçeren Yapıların (Sistein, Metiyonin, Glutasyon) Oksidasyonu

Sistein (Cys) ve HOCl arasındaki reaksiyon sonucunda stabil olmayan sülfenil klorür (RCH_2SCl) oluşur. Bu ara ürün suyla hidroliz olarak önce sülfenik (RCH_2SOH) ve sülfınik ($\text{RCH}_2\text{SO}_2\text{H}$) asitleri ardından sülfonik asidi ($\text{RCH}_2\text{SO}_3\text{H}$) meydana getirir. Bu asitlere arjinin (Arg), lizin (Lys) gibi amino asitlerin yan zincirlerindeki amino grupları veya farklı amin gruplarının yapacağı nükleofilik atak sonucunda ise sülfenamit ($\text{RCH}_2\text{SNHR}'$), sülfınamit ($\text{RCH}_2\text{SONHR}'$) ve sülfonamit ($\text{RCH}_2\text{SO}_2\text{NHR}'$) oluşur. Ayrıca sülfenil klorürün (RCH_2SCl) ikinci bir Cys tiyol grubuyla reaksiyona girmesiyle disülfür yapısı ($\text{RCH}_2\text{SSCH}_2\text{R}$) meydana gelir (Şema 2-1) (Hawkins, Pattison, & Davies, 2003; Pattison & Davies, 2006).



Şema 2-1. Sisteinin HOCl ile reaksiyonu

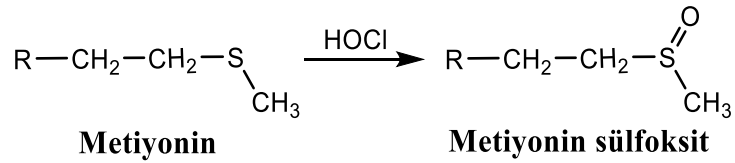
Glutatyon (γ -Glu-Cys-Gly, GSH), serbest tiyol grubu içerdiğinden dolayı HOCl'nin yarattığı hücresel hasarda önemli bir rol oynamaktadır. Tiyol grubunun sülfenil klorür yapısına dönüşmesinin ardından glutamyl yan zincirindeki terminal amin grubuyla arasında molekül içi halkalaşma reaksiyonu gerçekleşir ve HOCl'nin amino asit oksidasyonu için özgün bir belirteç olan glutatyon sülfonamit yapısı meydana gelir (Şema 2-2).



Şema 2-2. Glutatyon-HOCl reaksiyon mekanizması

GSH ile HOCl reaksiyonu sonucunda oluşan bir diğer ürün ise sistein örneğinde olduğu gibi dimerizasyon sonucunda oluşan disülfür yapısıdır (GSSG). Bu oksitlenmiş glutatyon bileşiği HOCl ile yeniden etkileşebilir ve süpürücü ajandır (Hawkins et al., 2003; Pattison & Davies, 2006; Prütz, 1996).

Tiyol grubu içeren bir diğer amino asit olan metiyonin (Met), yan zincirinin HOCl tarafından oksidasyonu sonucunda ise metiyonin sülfoksit meydana gelmektedir (Şema 2-3). Bu yapı stabil bir üründür ve farklı reaksiyon yollarına girmemektedir (Hawkins et al., 2003).



Şema 2-3. Metiyonin amino asidinin HOCl tarafından oksidasyonu

2.9.1.2. Aminler, α -amino Grupları ve Lizin Amino Asidinin Oksidasyonu

Serbest amino gruplarının HOCl ile reaksiyonu, stabil olmayan mono- (RNHCl) ve di- (RNCl₂) kloramin yapılarını oluşturur ki bu yapılar da orta düzeyde oksitleyici ajanlardır ve üzerlerindeki klor atomlarını diğer substratlara veya komşu amin yapılarına transfer edebilirler (Hawkins et al., 2003). Kloramin yapıları ortamda oksitleyebilecekleri substratların olmaması durumunda hidroliz olur ve ilk olarak iminlere daha sonra aldehitlere dönüşerek serbest amonyak (NH₃) açığa çıkarırlar. NH₃ ortamda bulunan HOCl ile etkileşerek bakterisit özelliğe sahip amonyum kloramin (-NH₂Cl) ve amonyum dikloramin (-NHCl₂) yapılarını oluştururken oluşan aldehitler de protein ve lipidlerdeki amin gruplarıyla reaksiyona girerek Schiff bazı iminlerini oluşturur (Hawkins et al., 2003; Anthony J. Kettle & Winterbourn, 2016; Pattison & Davies, 2006).



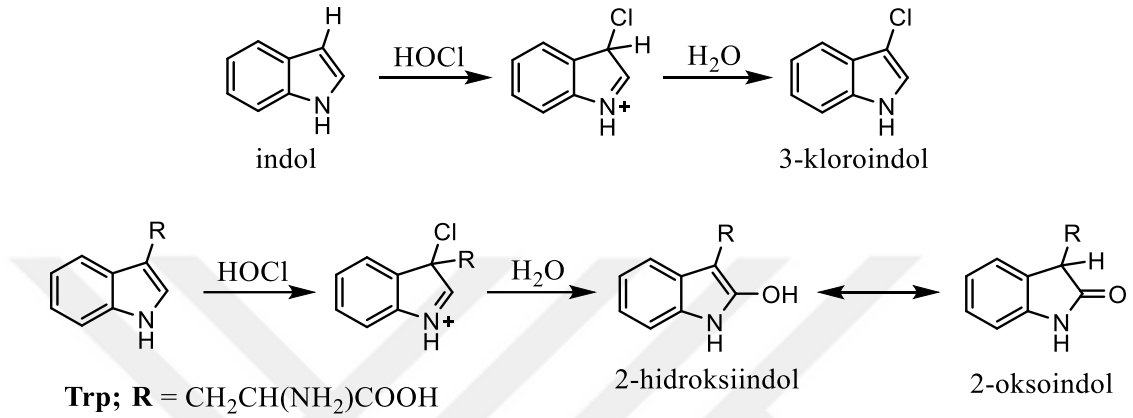
Kloramin yapıları HOCl'den daha uzun ömürlüdür ve hücre aralarına difüze olabilir. Hücrelerin kloraminlere maruziyeti DNA hasarı, apoptotik yolağın modülasyonu ve hücre içi enzimlerin inhibisyonuyla sonuçlanabileceğinden dolayı amin içeren yapılar her ne kadar HOCl süpürücü ajanlar olsa da oluşan kloraminler hücrede hasar yaratabilir (Pattison & Davies, 2006).

2.9.1.3. Heterosiklik Yapı Taşıyan Histidin ve Triptofan Amino Asitlerin Oksidasyonu

Histidin (His) amino asidinin serbest amino grubunun HOCl ile reaksiyonu sonucunda kısa ömürlü kloramin yapıları oluşur. İmidazol halkası üzerinden gerçekleşen reaksiyon mekanizması henüz tam olarak aydınlatılmamış olsa da final ürünün 2-okso-His olabileceği düşünülmektedir.

Triptofanın (Trp) HOCl tarafından oksidasyon basamakları tam olarak aydınlatılmamış olsa da yapılan farklı çalışmalar bu reaksiyonun mekanizmasına ve olası yapılara yol gösterir niteliktedir. İndol halkasının HOCl ile etkileşmesi 3-kloroindol yapısını oluşturur. Ancak 3-metilindol gibi 3 konumundan süstitüe olan

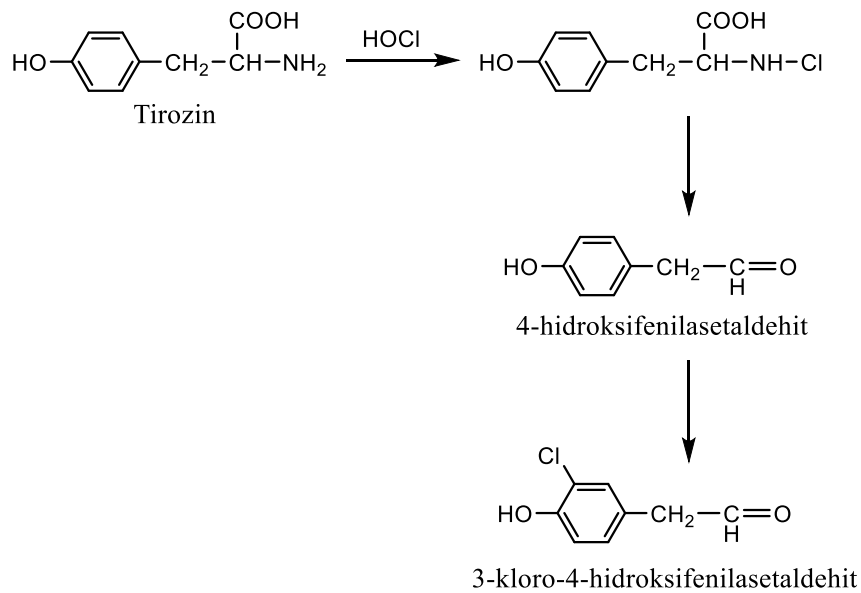
indol halkalarında 2-hidroksiindol yapısı meydana gelir ve primer ürün olarak tautomerik formu olan 2-oksoindol yapısına dönüşür (Şema 2-4). Trp amino asidine benzer bu yapıların verdikleri reaksiyon sonucunda oluşan ürünler ile Trp'nin reaksiyonu sonucunda oluşacak olan ürünlerin benzer olabileceği düşünülmektedir (Hawkins et al., 2003; Pattison & Davies, 2006).



Şema 2-4. HOCl'nin indol türevleriyle reaksiyonları

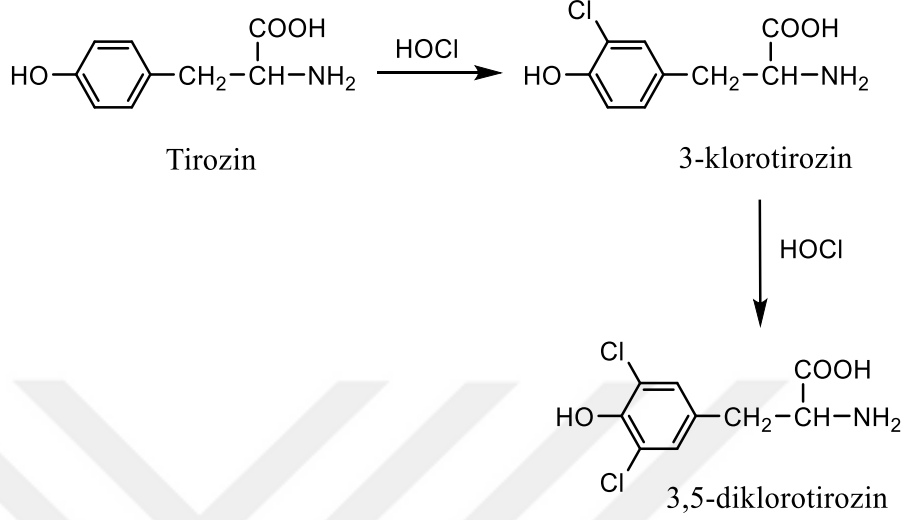
2.9.1.4. Aromatik Yan Zincir Taşıyan Tirozin Amino Asidinin Oksidasyonu

Bu reaksiyon iki farklı major yolak aracılığıyla gerçekleşmektedir. Bunlardan ilkinde α -amino grubu üzerinden önce 4-hidroksifenilasetaldehit ara ürünü, daha sonra 3-kloro-4-hidroksifenilasetaldehit final ürünü meydana gelir (Şema 2-5) (Hazen, D'Avignon, Anderson, Hsu, & Heinecke, 1998)



Şema 2-5. Tirozinin HOCl tarafından oksidasyonu

İkincisinde ise reaksiyon aromatik halka üzerinden gerçekleşerek önce 3-klorotirozin ara ürünü ve sonrasında 3,5-diklorotirozin final ürünü oluşur (Şema 2-6) (Fu, Wang, Davies, & Dean, 2000; Hawkins et al., 2003).



Şema 2-6. Tirozinin HOCl tarafından oksidasyonu

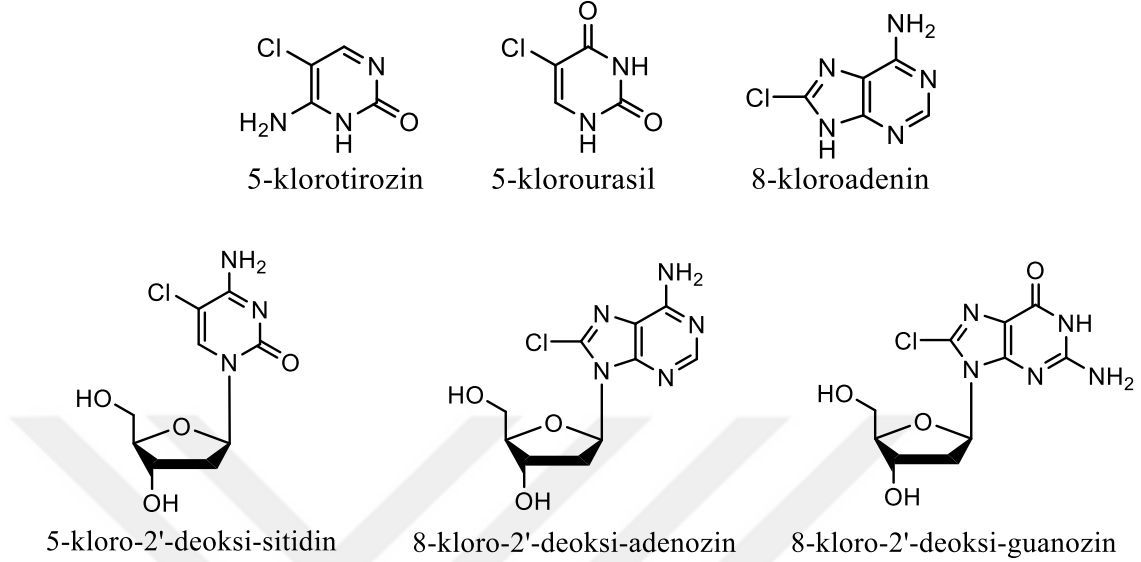
Tirozin (Tyr) amino asidinin HOCl tarafından oksidasyonu sonucunda oluşan klorlu ürünler, HOCl aracılı protein hasarının *in-vivo* olarak belirlenmesinde kullanılan özgün belirteçlerdir ve HOCl'nin proteinlerle reaksiyonu sonucunda ortaya çıkan en stabil ürünlerdir (Pattison & Davies, 2006).

2.9.2. Nükleobazların Oksidasyonu

HOCl'nin nükleobaz, nükleozit ve nükleotitlerle reaksiyonu, bu yapıların azot atomu üzerindeki ortaklanmamış elektron çiftleri aracılığıyla veya aromatik halkaları üzerinden gerçekleşir. Azot üzerinden gerçekleşen reaksiyonlar kloraminlerin sentezi ile sonuçlanır. Bu reaksiyon, timidin ve üridin nükleobazlarında görüldüğü gibi heterosiklik halkaların azotları üzerinden endosiklik olarak veya sitozin ve adenozin nükleobazlarında olduğu gibi serbest amin grupları üzerinden ekzosiklik olarak gerçekleşebilir. Ekzosiklik reaksiyonların hızı endosikliklere göre daha yavaştır. Guanozin, yapısından dolayı hem endosiklik hem de ekzosiklik reaksiyon verir.

HOCl ve nükleobaz reaksiyonu stabil ürünlerle sonuçlanır. Bu ürünler 5-klorotirozin, 5-klorourasil, 8-kloroadenin, 5-kloro-2'-deoksi-sitidin, 8-kloro-2'-deoksi-adenozin ve

8-kloro-2'-deoksi-guanozin yapılarıdır (Şekil 2-12) ve *in vivo* HOCl aracılı DNA hasarı için potansiyel belirleyici olarak kullanılmaktadır (Pattison & Davies, 2006).



Şekil 2-12. Nükleobaz yapılarının HOCl oksidasyon ürünleri

2.9.3. Fosfolipitlerin Oksidasyonu

Fosfolipit yapıları, hem fosfat taşıyan polar özellikteki hidrofilik baş grubu hem de doymamış yağ asitlerinin yan zincirlerini taşıyan kuyruk grubu üzerinden HOCl ile etkileşir. Lipit baş gruplarının reaksiyonları amin içerdiklerinden dolayı kloraminlerin senteziyle; kuyruk grubu reaksiyonları ise klorohidrin senteziyle sonuçlanmaktadır. Klorohidrinler kloraminlere göre daha yavaş oluşur (Pattison & Davies, 2006; Winterbourn, van den Berg, Roitman, & Kuypers, 1992).

2.9.4. Karbonhidratların Oksidasyonu

HOCl, glikozamin yapılarının amin veya süstitüe amin gruplarıyla etkileşmektedir ve glikozaminoglikan zinciriyle reaksiyona girerek ekstraselüler matriksin yapısında bulunan proteoglikanlardan polisakkarit fragmanlarının ayrılmasına neden olur.

2.10. MPO Hücre Dışı Aktivitesi ve Çeşitli Hastalıklardaki Rolü

Miyeloperoksidaz sadece fagolizozom içerisinde değil, hücre dışı ortamda da aktif bir enzimdir. Enzimin nötrofil içerisinde salınma mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamış olsa da bu konuyla ilgili çeşitli mekanizmalar vardır:

(i) Nötrofiller uyarıldıklarında oksidatif stres artabilir ve mieloperoksidaz dışarıya salınır (L. Lefkowitz, Mone, & S. Lefkowitz, 2010).

(ii) Eğer bakteri nötrofil için çok büyükse fagolizozom kapanamaz ve nötrofil içeriği dışarıya salınır (Forbes & Kettle, 2017; L. Lefkowitz et al., 2010).

(iii) Nötrofillerin, nötrofil hücre dışı kapanı (Neutrophil Extracellular Trap-NET) adı verilen, içerisinde mieloperoksidazın da bulunduğu içeriği hücre dışına ortama salıp burada mikrobi öldüren farklı bir antimikrobiyal etki mekanizması da vardır. Miyeloperoksidaz aynı zamanda bu mekanizma ile de hücre dışı ortama salınmaktadır (Forbes & Kettle, 2017; Winterbourn et al., 2016).

(iv) Nötrofiller apoptotik hücre ölümüne benzeyen farklı bir mekanizmayla sistematik olarak parçalanırlar ve içerikleri yine hücre dışı ortama salınır (Forbes & Kettle, 2017; Winterbourn et al., 2016).

MPO, hücre dışı ortamda bulunan ajanlarla katalitik döngüsünü gerçekleştirir ve HOCl ile az miktarda serbest radikal üretir. Bu redoks ara ürünleri konağa ait olan biyolojik yapıları oksitleyerek akut ve kronik inflamasyon süreçlerine sebep olur (Forbes & Kettle, 2017).

2.10.1. Kardiyovasküler Sistem Hastalıkları ve Ateroskleroz

Miyeloperoksidaz, düşük yoğunluklu lipoproteinleri (LDL) ve yüksek yoğunluklu lipoproteinleri (HDL) oksitleyerek yapılarını bozar ve köpük hücrelerinin oluşmasına, nitrik oksidi (NO) tüketerek endotel dokunun bozulmasına sebep olur. Bu yapıların bozulması ve köpük hücrelerinin oluşması ateroskleroza yol açan sebeplerdir.

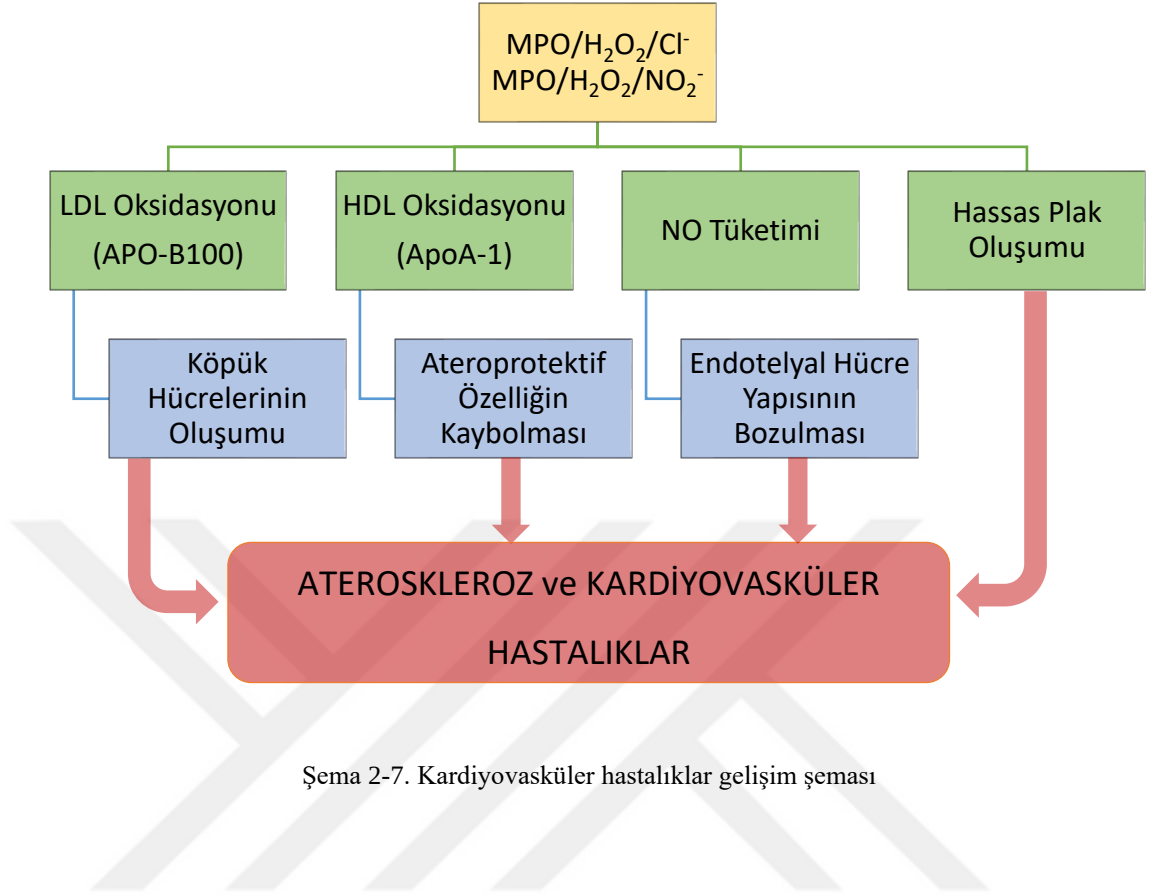
LDL dolaşımında en çok kolesterol içeren yapıdır, dolayısıyla yapısında meydana gelen değişiklikler köpük hücreleri ve aterosklerozun oluşumunda kritik bir basamaktır. Miyeloperoksidaz, farklı yollar üzerinden LDL'nin oksitlenmesine sebep olur. Bunlardan en özgün olanı MPO tarafından oluşturulan HOCl'nin LDL yapısındaki L-tirozin bölgelerini oksitlemesi ve bu bölgelerin klorlanması sonucunda MPO'nun özgün belirteçlerinden biri olan 3-klorotirozin yapılarının oluşmasıdır. Aterosklerotik plaklar 3-klorotirozince zengindir ve kardiyovasküler sistem hastalarının kanındaki

LDL’de 3-klorotirozin tespit edilmiştir (Hazen & Heinecke, 1997; Klebanoff, 2005; Koeth, Haselden, & Tang, 2013; Nicholls & Hazen, 2005). LDL’nin en baskın lipit bileşeni olan APO-B100 proteininin lizin yöresi de HOCl tarafından okside edilmektedir. Bu yapısal değişiklik LDL’nin geri emilimini artırarak köpük hücrelerinin birikimine sebep olur (Hazell, van den Berg, & Stocker, 1994; Klebanoff, 2005; Koeth et al., 2013; Nicholls & Hazen, 2005). MPO/H₂O₂/Cl⁻ sistemine ek olarak MPO/H₂O₂/NO₂⁻ yolağında ortaya çıkan reaktif türevler de LDL’nin köpük hücrelerini oluşturan proaterojenik forma dönüşmesine sebep olur (Klebanoff, 2005; Koeth et al., 2013; Nicholls & Hazen, 2005).

HDL, periferel yörelerdeki kolesterolün karaciğere taşınmasındaki en önemli yapıdır ve normal fizyolojik şartlarda ateroskleroza karşı koruyucu bir özelliğe sahiptir (Koeth et al., 2013; Lazarevic-Pasti, Leskovac, & Vasic, 2015; Nicholls & Hazen, 2005). Fakat yapısında meydana gelen değişiklikler ateroprotektif özelliklerinin kaybolmasına ve kardiyovasküler hastalıklara yol açmasına sebep olur. MPO, spesifik olarak HDL’nin ApoA-1 yöresini MPO/H₂O₂/Cl⁻ ile MPO/H₂O₂/NO₂⁻ yolları üzerinden oksitleyerek 3-klorotirozin ile 3-nitrotirozin oluşumuna sebep olur. ApoA-1’in yapısında meydana gelen bu değişiklik, köpük hücrelerinden kolesterolün geri emilimini azaltarak ateroprotektif özelliği ortadan kaldırır ve ateroskleroz oluşumuna sebep olur (Koeth et al., 2013; Nicholls & Hazen, 2005; Zheng et al., 2004).

Endotelial hücre yapısının bozulması aterojenezisin bir özelliğidir ve nitrik oksit (NO) miktarının azalmasıyla karakterizedir. NO, normal endotelial hücrede ve vasküler reaktivitede önemli bir yapıdır ve biyoyararlanımının azalması ateroskleroza sebep olabilir. NO, MPO için iyi bir substrattır ve MPO tarafından üretilen reaktif yapılar NO tüketimini artırır. Bunun yanı sıra, arjinin aminoasidi NO sentezi için önemli bir substrattır ve HOCl tarafından okside edilebilir. Klorlanmış arjinin, NO sentezini gerçekleştiren nitrik oksit sentaz (NOS) enzimini direkt olarak inhibe ederek NO metabolizmasını bozar (Koeth et al., 2013; Nicholls & Hazen, 2005).

MPO’nun LDL ve HDL’nin oksidasyonu ile endotelial doku hasarı dışında hassas plak oluşumunda da etkisi vardır. Endotelial hücrelerin HOCl aracılı apoptozunun hassas plak oluşumunda etkisi olduğu düşünülmektedir (Şema 2-7) (Hazen, 2004; Koeth et al., 2013; Soubhye et al., 2016).



Şema 2-7. Kardiyovasküler hastalıklar gelişim şeması

2.10.2. Renal Hastalıklar

Nötrofiller glomerüler tabandaki membranlara bağlanarak bu bölgede MPO aracılı oksidatif hasar oluşturur. MPO katyonik bir yapıdır ve membranlardaki negatif yüklü bölgelere iyonik bağ aracılığıyla bağlanır. Bu bölgelere infüze olan H_2O_2 varlığında ise HOCl üreterek glomerüler morfolojik değişikliklere ve endotelial hasara sebep olur.

Anti-nötrofil sitoplazmik antibody (ANCA) olarak bilinen otoantibody yapıları fizyolojik ortamda nötrofilleri hedef alan ve otoimmün hastalıkların tespiti için kan tahlillerinde belirleyici olarak kullanılan bileşiklerdir. Bu yapının alt türlerinden birisi olan ve spesifik olarak MPO'ya bağlanan MPO-ANCA'nın glomerülonefrit hastalarında tespit edilmesi renal hastalıklarda MPO'nun etkisi olduğunu göstermektedir. Nötrofiller ANCA tarafından uyarılır ve aktive edilen nötrofiller MPO salgılar. MPO endotelial yüzeye bağlanarak HOCl üretir ve membranda hasara sebep olur. Ayrıca MPO-ANCA yapısı MPO'nun fizyolojik inhibitörlerinden olan seruloplazminin MPO inaktivasyonu yapmasını engeller ve zamanla MPO tarafından

daha çok üretilen HOCl'nin sebep olduğu oksidatif hasar artar (Klebanoff, 2005; Malle, Buch, & Grone, 2003). Bunlara ek olarak kronik hemodiyaliz hastalarında önemli miktarlarda tespit edilen 3-klorotirozin, MPO'nun bu hastalıklarda rolünün olduğunu göstermektedir (Klebanoff, 2005; Soubhye et al., 2016).

2.10.3. Kanser

Endojen oksidatif ajanların DNA/RNA üzerinde oluşturdıkları hasar, mutasyona sebep olarak kansere yol açabilir. Bu oksidatif hasar direkt nükleik asitler/bazlar üzerinde veya lipit, protein yapılı ara ürünler üzerinde gerçekleştirilebilir. MPO, DNA/RNA'yı oksitleyebilen endojen ajanlardan bir tanesidir. Spesifik olarak ürettiği 5-klorourasil ve 5-bromourasil, hücre döngüsünün düzenini etkileyebilecek mutajenik yapılardır. MPO, direkt DNA oksidasyonunun yanı sıra serbest nükleobazları da endosiklik veya ekzosiklik amino grupları üzerinden klorlayarak 5-klorotirozin, 5-klorourasil, 8-kloroadenin, 5-kloro-2'-deoksi-sitidin, 8-kloro-2'-deoksi-adenozin ve 8-kloro-2'-deoksi-guanozin gibi mutajenik yapıların oluşumuna sebep olur ve bu bileşikler hücre içerisine girerek direkt olarak karşılık geldikleri deoksinükleositlere dönüşürler. Oluşan bu deoksinükleositler replikasyon sırasında DNA'ya dahil edilerek mutasyona yol açabilirler (Soubhye et al., 2016).

Histonlar, Lys ve Arg aminoasitleri bakımından zengin, DNA ile kovalent olmayan etkileşimler içerisinde olan yapılardır ve histon proteinleri, HOCl'nin yaratacağı oksidasyon açısından hücre içerisindeki DNA'ya göre daha iyi hedeflerdir. Oksitlenerek kloramin türevlerine dönüştürülmüş olan bu yapılar hücre içerisine girerek çekirdek DNA'ları ile etkileşirler ve hasara sebep olurlar (Mika & Guruvayoorappan, 2011).

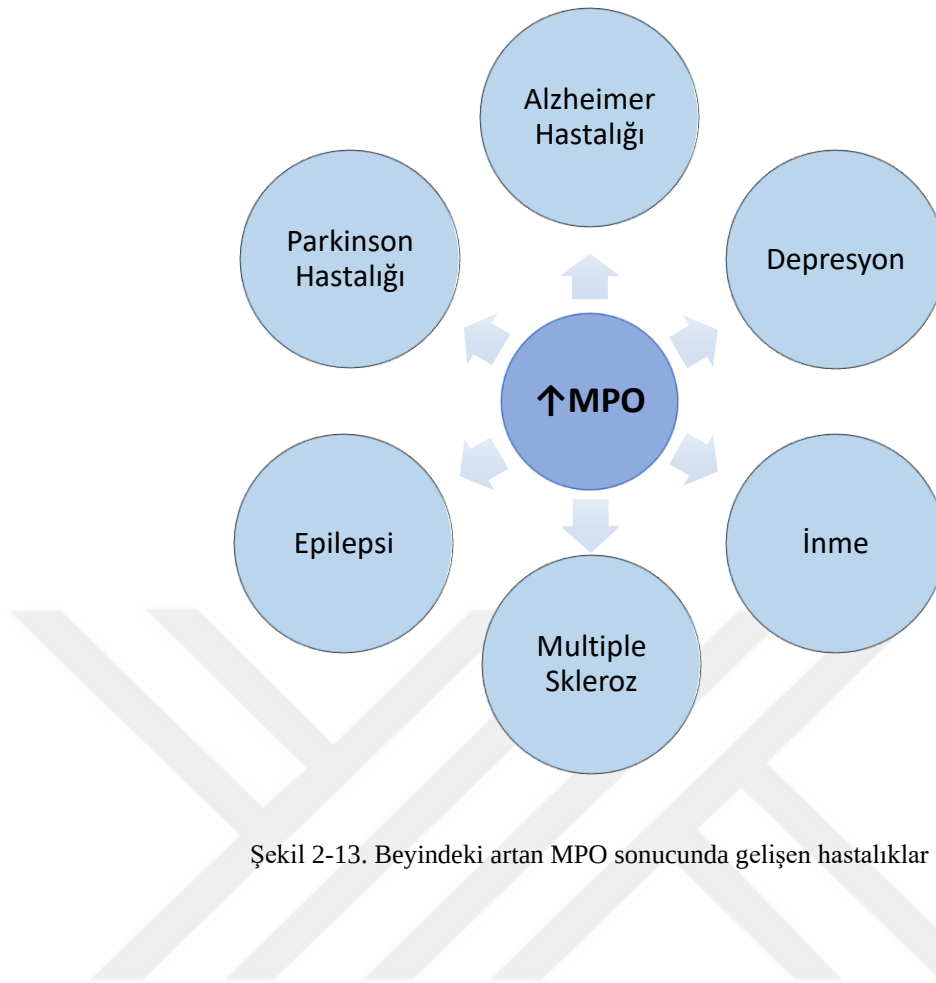
MPO, benzen ve benzopiren gibi pro-karsinojenik ksenobiyotiklerin yapılarında değişikliğe sebep olarak onları karsinojenik formlarına çevirir. Bu yapılar DNA'ya kovalent olarak bağlanır ve mutasyona sebep olur (Mika & Guruvayoorappan, 2011; Soubhye et al., 2016).

2.10.4. Nörodejeneratif Hastalıklar

Nörodejenerasyonla bağlantılı nörolojik hastalıkların en önemli sebepleri, beyinde nöron kaybı, programlanmış hücre ölümü, oksidatif stres, protein kümelenmesi ve adenozin trifosfat (ATP) tüketimidir. Artan MPO ve dolayısıyla HOCl miktarı ile

bağlantılı 3-klorotirozin oluşumu, beyinde hücrel hasar yaratarak hücre ölümüne sebep olmaktadır. Ayrıca plazma membranlarından difüze olan HOCl, ATP ile etkileşerek hücrelerin mitokondriyal enerji metabolizmasını bozmaktadır (Pravalika et al., 2018).

Astrosit ve mikroglia hücreleri, toplam beyin hücrelerinin %90 kadarını oluşturur ve bu hücrelerin görevleri arasında beyinde patojen ve lokal nöronal hasara karşı immün cevap oluşturmak vardır. MPO da beyinde mikroglia ve astrositler tarafından immün sistemi desteklemek amacıyla üretilmektedir. Beyin, oksidatif strese karşı çok hassas bir organdır ve stres altındayken mitokondriyal solunum döngüsü ve mikroglialar tarafından süperoksit anyonu (O_2^-) salınır ve süperoksit dismutaz (SOD) enzimi bu süperoksitleri hidrojen peroksit (H_2O_2) dönüştürür. Öte yandan, aktive edilmiş olan mikroglia hücreleri MPO salımı da gerçekleştirmektedir. MPO, ortaya çıkan H_2O_2 ile etkileşerek HOCl oluşturur ve klorinatif strese yol açar. Ayrıca diğer bir yoldan indüklenabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) enzimi salınır ve NO üretilir. NO'nun dönüştüğü NO_2Cl ve süperoksit ile etkileşerek oluşturduğu peroksinitrit ($ONOO^-$) yapıları nöronal hasara sebep olmaktadır. Nitrit (NO_2^-) ve nitrat (NO_3^-) ise NO'nun otooksidasyonu sonucunda ortaya çıkan yapılardır. NO_2^- , MPO ile etkileşerek MPO/ H_2O_2 / NO_2^- yolağını aktive eder ve nitratif strese sebep olur. Klorinatif ve nitratif stres, lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu, DNA hasarı gibi durumlara yol açtığından dolayı MPO'nun nörodejeneratif hastalıklarda potansiyel bir rolü olduğu belirlenmiştir (Pravalika et al., 2018; Ray & Katyal, 2016). MPO'nun sebep olduğu nörodejeneratif hastalıklar Şekil 2-13'te özetlenmiştir.



Şekil 2-13. Beyindeki artan MPO sonucunda gelişen hastalıklar

2.10.4.1. Alzheimer Hastalığı

Alzheimer, beyinde β -amiloid plakların birikmesi ile karakterize, ilerleyici bir nörodejeneratif hastalıktır. MPO'nun bu plaklardaki varlığı ve Alzheimer hastalarının beyinlerinde yüksek miktarlarda tespit edilen 3-klorotirozin ve ditirozin yapıları, bu enzimin hastalığın patolojisinde rol oynadığını göstermektedir (Green et al., 2004; Pravalika et al., 2018; Ray & Katyal, 2016; Soubhye et al., 2016).

2.10.4.2. Parkinson Hastalığı

Parkinson, beyinde dopaminerjik sinirlerin kaybına bağlı olarak gelişen, ilerleyici bir hastalıktır. Hastaların beyinde etkilenen bölümlerde 3-klorotirozine rastlanmıştır. Bunun yanı sıra dopaminerjik sistemin klasik nörotransmitteri olan serotonin, fizyolojik ortamda MPO'ya en yüksek yakınlık ile bağlanan substrattır ve MPO tarafından oksitlenerek serotonin dimerlerine veya triptamin-4,5-dion yapısına dönüştürülür. Bu da MPO'nun Parkinson hastalığının patolojisinde oynadığı rolü göstermektedir (Ray & Katyal, 2016; Soubhye et al., 2016).

2.10.4.3. İnme

İnme, bir takım inflamatuvar reaksiyonlar ile süperoksit, peroksinitrit, hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinin üretimini içeren biyokimyasal ve moleküler değişikliklerin bir sonucudur. MPO'da bu hastalığın patolojisinde rol oynayan mikrogliyalardan salınan bir enzimdir ve inme hastalarında artmış miktarlarda MPO'ya rastlanılmıştır (Pravalika et al., 2018).

2.10.4.4. Depresyon

Depresyonun inflamasyonla bağlantılı olabileceği belirlenmiştir. MPO'nun depresyon patolojisi üzerine direkt etkisi olmasa da oluşturduğu HOCl'nin inflamasyona sebep olması enzimi bu hastalığın tespitinde önemli bir biyobelirteç haline getirmiştir (Pravalika et al., 2018).

2.10.4.5. Multiple Skleroz (Çoklu Skleroz-MS)

Multiple skleroz, merkezi sinir sisteminde ortaya çıkan otoimmün bir hastalıktır. MPO, MS lezyon bölgelerinde mikrogliya ve makrofajlar tarafından aktive edilerek HOCl üretir ve miyelin kılıfa zarar verir. Bu durum sinir ölümüne ve nörodejenerasyona yol açmaktadır (Nagra et al., 1997; Pravalika et al., 2018; Ray & Katyal, 2016).

2.10.4.6. Epilepsi

Tutarık kaynaklı olarak ortaya çıkan beyin hasarı, nöronal aşırı uyarılma ve hücre ölümüne sebep olan serbest radikallerin aşırı miktarlarda salınması sonucunda ortaya çıkmaktadır. Bu şartlar altında MPO'nun sebep olduğu klorinatif stres ise beynin oksidatif ve inflamatuvar hasara uğramasına ve dolayısıyla epilepsinin gelişmesine sebep olur (Pravalika et al., 2018; Ray & Katyal, 2016).

MPO'nun beyindeki dokularda bulunması ve sebep olduğu nörodejenerasyon, bu enzimin nörolojik hastalıkların gelişmesinde önemli bir neden olduğunu göstermektedir.

2.10.5. Romatoid Artrit

Romatoid artrit, el ve ayak eklemlerindeki sinovyal sıvının iltihaplanmasıyla karakterize kronik bir otoimmün hastalıktır. İltihaplı sıvı içerisinde hücre içi ve dışı MPO'ya rastlanarak hastalardaki MPO miktarının sağlıklılara göre daha fazla olduğu belirlenmiştir. Ayrıca sinovyal sıvıda yüksek miktarda MPO ile 3-klorotirozin bulunması ve antiromatik ilaçlarla tedavi sonucunda MPO miktarının azalması bu enzimin bu hastalık üzerinde direkt etkisi olduğunu gösterir (Khan, Alsahli, & Rahmani, 2018; Strzepa, Pritchard, & Dittel, 2017).

Bu hastalıkların dışında MPO'nun obezite, diyabet, karaciğer hastalıkları, kistik fibroz, tüberküloz, astım gibi akciğer hastalıkları, peptik, gastrik ve duodenal ülser, kolit, pankreatit gibi sindirim sistemi hastalıklarında rolünün belirlenmesi bu enzimi önemli bir terapötik hedef haline getirmiştir (Khan et al., 2018).

2.11. MPO İnhibisyon Mekanizması

MPO'nun nötrofillerin antimikrobiyal aktivitesi üzerinde anahtar bir rolü olsa da reaksiyon ara ürünlerinin hücre dışı ortamda da devam eden oksidatif aktivitesi enzimi inflamasyon kaynaklı hastalıklara sebep olan potansiyel bir terapötik hedef haline getirmiştir. Enzimolojisinin ve farmakolojik özelliklerinin zamanla daha iyi anlaşılmasıyla birlikte bu enzime yönelik inhibitör bileşikler keşfetmek amacıyla tarama testleri gerçekleştirilmiş, inhibitör bileşikler geliştirilmiş ve aktivite çalışmalarıyla bu bileşiklerin inhibisyon mekanizmaları aydınlatılmaya çalışılmıştır.

Literatürde kayıtlı olan MPO inhibitör yapılarını etki mekanizmalarına göre geri dönüşümlü inhibitörler ve geri dönüşümsüz inhibitörler olarak ikiye ayırmak mümkündür. Geri dönüşümsüz olarak MPO'yu inhibe eden bileşikler enzimin aktif cebindeki hem grubuna kovalent bağ aracılığıyla bağlanarak H_2O_2 'nin bu bölgeye girişini engellerler ve enzimi inaktif hale getirirler. MPO'nun geri dönüşümlü inhibitörleri ise enzim substratlarıyla aktif yöreye bağlanmak için yarışır ve MPO'yu halojenasyon döngüsünden uzaklaştırarak etki gösterirler. Bu inhibitörler Bileşik-I ile çok yüksek oranda etkileşir ve bir elektron transferi ile bu yapıyı MPO'nun inaktif formu olan Bileşik-II'ye dönüştürürler. Bileşik-II ile inhibitörler arasındaki etkileşim yavaştır bu yüzden enzim bir süre inaktif halde kalmaktadır. Bu tarz bir inhibisyon için önemli olan nokta inhibitörün indirgenme eğiliminin Bileşik-I'i redükleyip Bileşik-II'yi redükleyemeyeceği değerler olan 0.97 V ile 1.35 V

arasında olmasıdır. Bileşik-II fizyolojik ortamda triptamin, askorbat, serüloplazmin gibi endojen substratlarla Ferri MPO'ya dönüştürülünceye kadar enzim inaktif halde kalır (Galijasevic, 2019; Lazarevic-Pasti et al., 2015; Soubhye et al., 2016).

2.11.1. MPO İnhibitörü Geliştirme Çalışmaları

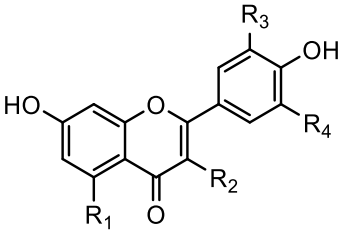
2.11.1.1. Rastgele Taramalarla Gerçekleştirilen Çalışmalar

2.11.1.1.1. Doğal Bileşikler

2.11.1.1.1.1. Flavonoidler

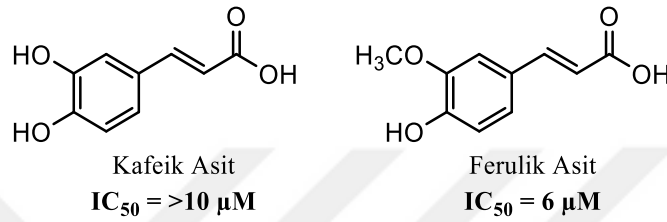
Pterogyne nitens bitkisinden pterogynoside, kemferol, afzelin, kaempferitin, kuersetin, izokuersetin ve rutin isimli flavonoid türleri izole edilmiş ve yapılan çalışmalarda hepsinin farklı konsantrasyonlarda MPO inhibitör aktivitesine sahip oldukları, içlerinden en aktif yapının ise kuersetin olduğu belirlenmiştir (Regasini et al., 2008). Farklı bir çalışmada ise kuersetin analoglarının yapılarındaki -OH gruplarının MPO inhibitör aktivite üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla ise taksifolin, fisetin, kemferol, luteolin ve kuersetin yapıları karşılaştırılmıştır (Tablo 2-1). Bu yapılar arasında da kuersetin ($IC_{50} = 1.27 \mu M$) en aktif bileşik olarak rapor edilmiştir (Shiba et al., 2008).

Tablo 2-1. Bazı flavonoid türevi bileşikler ve MPO inhibisyon değerleri

					
Bileşik Adı	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	IC ₅₀ (μM)
Kuersetin	OH	OH	OH	H	1.27
Kemferol	OH	OH	H	H	2.08
Luteolin	OH	OH	H	H	4.22
Fisetin	H	OH	OH	H	3.87
İzokuersetin	OH	O-Glukoz	OH	H	3.75
Taksifolin	OH	OH	H	OH	6.63

2.11.1.1.2. Polifenoller

Flavonoidlerin dışında fenol grubu içeren yapılarda yapılan çalışmaların sonucunda resveratrolün de iyi bir MPO inhibitörü olduğu gösterilmiştir (Kohnen et al., 2007). Ayrıca birçok bitkide bulunan kafeik asit ve ferulik asit yapılarının MPO aktivitesi test edilmiş, aromatik halkası üzerinde bir metoksi ve bir hidroksil grubu taşıyan ferulik asidin iki hidroksil grubu taşıyan kafeik aside göre daha iyi bir MPO inhibitörü olduğu belirlenmiştir (Şekil 2-14) (Boufadi et al., 2014).

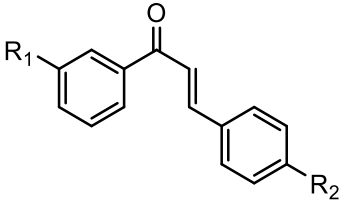


Şekil 2-14. Kafeik ve ferulik asidin IC_{50} değerleri

2.11.1.1.3. Şalkonlar

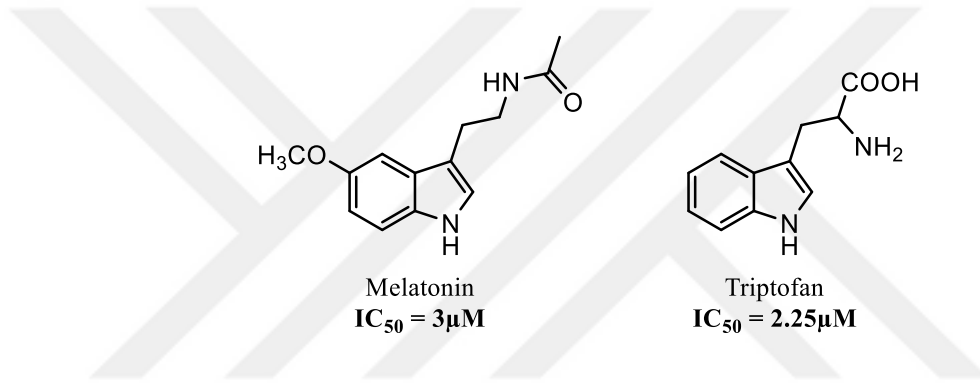
Şalkonlar flavonoid sentezinde kullanılan ara ürünlerdir. Bu yapının türevleri üzerinde yapılan çalışmalarda MPO aktivitesi tespit edilmiştir (IC_{50} : 11 - 204 μM) (Edwards, Stemerick, Sabol, Diekema, & Dinerstein, 1994). Bu çalışmanın sonuçları üzerinden geliştirilmiş olan farklı 4'-aminoşalkon türevlerinin de MPO inhibitör bileşikler olduğu tespit edilmiştir (Tablo 2-2) (Zeraik et al., 2012).

Tablo 2-2. Şalkon türevi bileşikler ve MPO inhibisyon değerleri

			
Bileşik	R ₁	R ₂	IC_{50} (μM)
1	H	NH ₂	0.26
2	F	NH ₂	0.25
3	CH ₃	NH ₂	0.25
4	OH	NH ₂	>50
5	H	OH	>50
Şalkon	H	H	>50

2.11.1.1.4. İndol Türevleri

Melatonin, indol ana yapısı içeren fizyolojik bir bileşiktir. Aktive edilmiş nötrofiller tarafından oksidasyona uğradığı belirlendiğinden MPO inhibitör aktivitesi üzerinde çalışmalar yapılmış ve mekanizması aydınlatılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda melatoninin Bileşik-I ile hızlı bir şekilde, Bileşik-II ile daha yavaş bir şekilde etkileştiği ve IC_{50} değerinin $3 \mu M$ olduğu rapor edilmiştir (Allegra et al., 2001; Galijasevic, Abdulhamid, & Abu-Soud, 2008). Diğer bir indol yapısına sahip fizyolojik substrat olan triptofan üzerinde yapılmış çalışmalar ise bu yapının Bileşik-I ile hızlı bir şekilde etkileşirken Bileşik-II ile reaksiyon hızı ölçülemeyecek kadar yavaş etkileştiğini göstermiştir (Şekil 2-15) (A.J. Kettle & Candaeis, 2000).



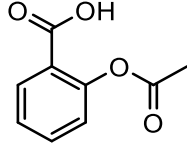
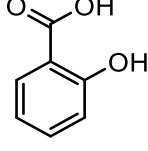
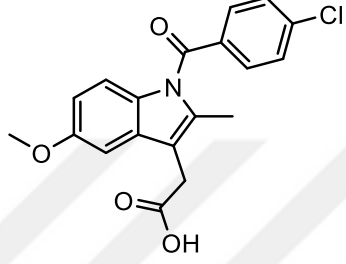
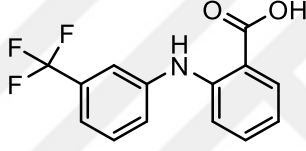
Şekil 2-15. Melatonin ve Triptofan bileşiklerinin IC_{50} değerleri

2.11.1.1.2. İlaçlar

2.11.1.1.2.1. Non-Steroidal Antiinflamatuvar İlaçlar

MPO'nun oksidatif ürünlerinin inflamasyona yol açtığına bulunması bu enzim inhibitörleri üzerine olan çalışmalarının başlangıcını non-steroidal antiinflamatuvar ilaçların denenmesi olarak yönlendirmiştir. Bu amaçla ilk denenilen ilaçlar indometazin, flufenamik asit ve naproksendir (Theron, Lubbe, & Van Zyl, 1979). Bu ilaçların MPO inhibitör potansiyellerinin olduğunun belirlenmesinin ardından bu ilaç grubu üzerindeki çalışmalar artırılmış ve farklı grup ilaçların aktiviteleri değerlendirilmiştir (Tablo 2-3) (Anthony J Kettle & Winterbourn, 1991; Shacter, Lopez, & Pati, 1991; Van Antwerpen et al., 2007).

Tablo 2-3. Bazı NSAI ilaçların MPO inhibisyon değerleri

İlaç Adı	Yapısı	IC ₅₀ (μM)
Asetilsalisilik Asit		>200
Salisilik Asit		9.8
İndometazin		61.6
Flufenamik Asit		1.1

Flufenamik asidin iyi bir aktiviteye sahip olduğunun belirlenmesinin ardından (Van Antwerpen et al., 2007). bu yapı üzerinde çalışmalar yapılmış, farklı konsantrasyonlarda MPO inhibitörü olan yeni flufenamik asit türevi bileşikler keşfedilmiştir (Van Antwerpen et al., 2008).

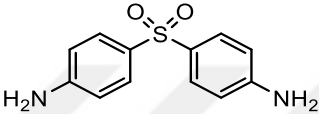
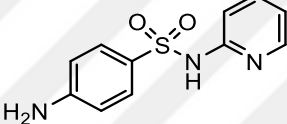
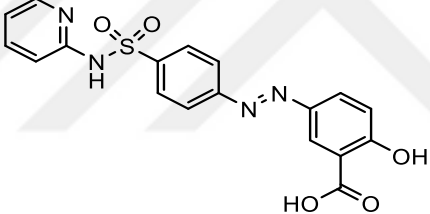
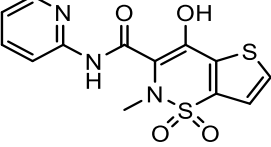
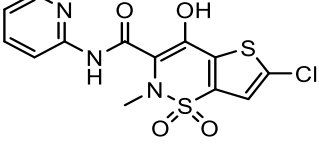
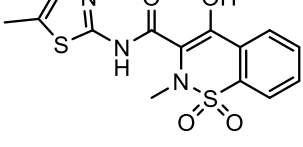
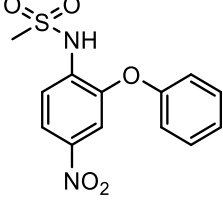
2.11.1.1.2.2. Serotonin Geri Alım İnhibitörü İlaçlar

Serotoninin MPO inhibitörü olarak belirlenmesi ve bu ilaçla yapısal olarak benzerlik gösteren indol türevlerinin de MPO'yu inhibe etmesinin keşfedilmesi üzerine bazı serotonin geri alım inhibitörü ilaçların da MPO inhibitörü yapılar olabileceği düşünülmüş ve bu amaçla sitalopram, essitalopram, fluvoksamin, fluoksetin ve paroksetinin MPO aktivitesi test edilmiştir. Bu çalışmalar sonucunda sadece paroksetinin aktif çıktığı belirlenmiş (IC₅₀ = 22 nM), diğer ilaçlar inaktif olarak rapor edilmiştir (Soubhye et al., 2014).

2.11.1.1.2.3. Sülfon ve Sülfonamit Türevleri

Sülfon ve sülfonamit grubu taşıyan ilaçlar üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda özellikle sülfapiridin ve dapsonun düşük konsantrasyonlarda enzimi inhibe ettiği bilgisi literatüre kazandırılmıştır (Anthony J Kettle & Winterbourn, 1991). Ayrıca sülfonamit türevi olan non-steroidal antiinflatuar olan oksikam grubu ilaçların ve nimesulidin de potansiyel MPO inhibitörü oldukları literatürde rapor edilmiştir (Tablo 2-4) (Van Antwerpen et al., 2007).

Tablo 2-4. Sülfon ve sülfonamit grubu bazı ilaçların MPO inhibisyon değerleri

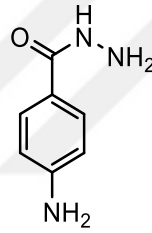
İlaç Adı	Yapısı	IC ₅₀ (µM)
Dapson		0.42
Sülfapiridin		1
Sülfasalazin		10
Tenoksikam		10
Lornoksikam		8
Meloksikam		11
Nimesulid		2.1

2.11.1.2. Yapısal Modifikasyon ile Tasarlanan Bileşikler

Rastgele tarama çalışmalarının verdiği sonuçlar ve yapı-aktivite çalışmaları, araştırmacıları yeni MPO inhibitörü olabilecek yapılar tasarlamaya ve bu yapıların aktiviteleri ile etki mekanizmalarını araştırmaya yönlendirmiştir. Bu amaçla yapılan çalışmalarda bazı genel kimyasal yapılar ve bunların aktiviteleri aşağıdaki başlıklar altında verilmiştir.

2.11.1.2.1. Benzoik Asit Hidrazitleri

Fenil halkası üzerinde farklı süstitüent taşıyan benzoik asit hidrazitleri ile yapılan çalışmada benzoik asit hidrazitlerinin süstitüsyon farklılıklarının aktiviteye olan etkisi araştırılmış ve en aktif olarak bulunan bileşik 0.3 μM IC_{50} değerine sahip 4-aminobenzoik asit hidraziti (ABAH) olmuştur (Şekil 2-16) (Kettle, Gedye, Hampton, & Winterbourn, 1995).



4-Aminobenzoik asit hidraziti (ABAH)
 $\text{IC}_{50} = 0.3 \mu\text{M}$

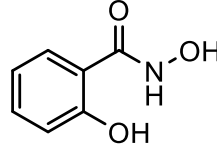
Şekil 2-16. ABAH molekülünün açık formülü ve IC_{50} değeri

Daha sonrasında bu bileşik üzerinde gerçekleştirilen ileri çalışmalarla etki mekanizması aydınlatılmış ve ABAH'ın geri dönüşümsüz MPO inhibitörü olduğu ortaya konmuştur. ABAH, MPO'nun klorinasyon ve peroksidasyon döngülerini hem Bileşik-I hem de Bileşik-II ile hızlı bir şekilde reaksiyona girerek inhibe eder. Bu reaksiyonlar sonucunda ortaya çıkan ABAH radikalleri MPO'nun ferri [(MPO-Por(Fe^{3+}))] hali ile etkileşerek enzimi ferro [MPO-Por(Fe^{2+})] haline dönüştürür. Ferro halde bulunan enzim, moleküler oksijen (O_2) varlığında MPO'nun inaktif formlarından bir tanesi olan Bileşik-III yapısına dönüşür ve enzimi geri dönüşümsüz olarak inhibe eder. Oksijen yokluğunda ise ortamda ferro MPO birikir ve bu durum

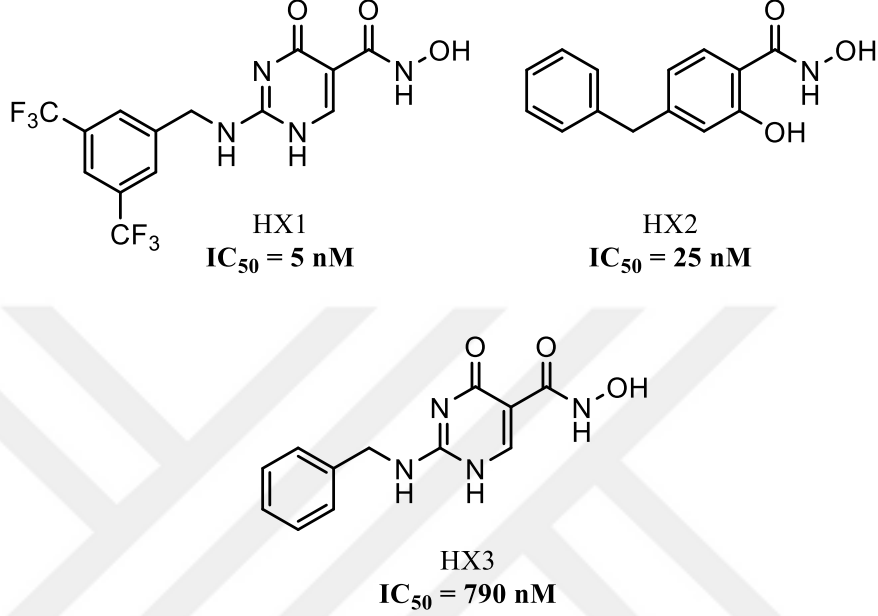
hem grubunun parçalanmasına yol açarak enzimin geri dönüşümsüz inaktivasyonuna neden olur (Kettle, Gedye, & Winterbourn, 1997).

2.11.1.2.2. Hidroksamik Asitler

Bu grupta ilk olarak salisilhidroksamik asit (SHA) molekülünün MPO enzimi üzerindeki olası aktivitesi araştırılmıştır. Yapılan bu çalışmada SHA'nın hem Bileşik-I hem de Bileşik-II'nin redüksiyonunu sağladığı ancak bu reaksiyonun farklı H_2O_2 konsantrasyonlarından etkilendiği bulunmuştur. Bu yüzden SHA'nın enzim için geri dönüşümlü bir inhibitör olduğu ve H_2O_2 ile yarışmalı inhibisyona girdiği rapor edilmiştir (Davies & Edwards, 1989). SHA'nın MPO üzerindeki inhibitör etkisinin bulunmasının ardından benzohidroksamik asidin (BHA) inhibitör potansiyeli ölçülmüş ancak SHA'dan daha düşük aktivite gösterdiği bulunmuştur. Bu da SHA'nın fenol grubunun enzime bağlanmasında bir etkisinin olabileceği yorumunu ortaya çıkarmış, bu durum SHA-MPO kompleksinin yapısının X-ray kristalografisi ile aydınlatılması sonucunda fenol -OH'ı ile Arg-239 aminoasidi arasında gözlenen hidrojen bağı ile desteklenmiştir. (Davey & Fenna, 1996; Ikeda-Saito et al., 1991). Hidroksamik asit türevlerinin MPO üzerindeki inhibitör etkilerinin bulunmasının ardından yapı-aktivite çalışmaları gerçekleştirilmiştir (Forbes et al., 2013).

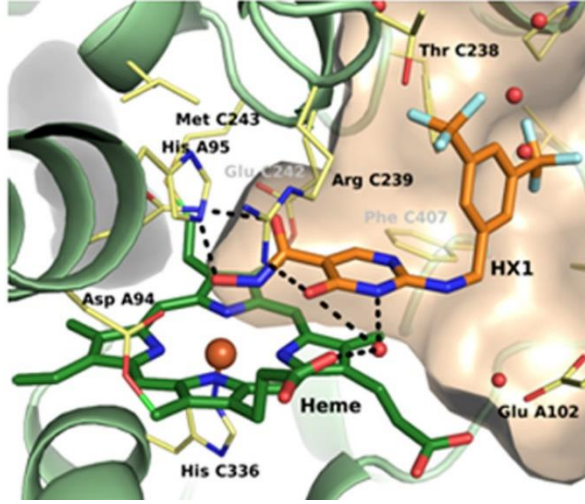


Salisil Hidroksamik Asit (SHA)



Şekil 2-17. Hidroksamik asit türevlerinin MPO inhibisyon değerleri

Bu çalışmada HX koduyla tasarlanan ve aktiviteleri araştırılan bileşiklerin, aktif yöreni işgal ederek enzimi geri dönüşümlü olarak inhibe ettiği bulunmuştur (Şekil 2-17). Bu üç bileşik arasında en aktif olan HX1'in enzim aktif yoresindeki yapısı X-ray kristalografisi ile aydınlatılmıştır. HX1'in hidroksamik asit grubu, SHA ile aynı noktalardan hidrojen bağı yapmıştır (Şekil 2-18). Yapıdaki pirimidin halkası ile hem arasında bir etkileşim olduğu gözlenmiştir. Ayrıca triflorometil gruplarının enzim aktif yoresinin girişinde sterik bir engel oluşturarak aktiviteye katkı sağladığı belirtilmiştir (Forbes et al., 2013).



Şekil 2-18. MPO-HX1 kristal yapısı

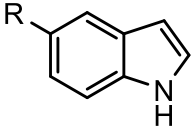
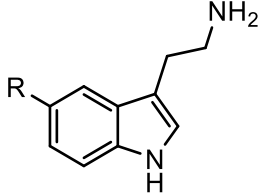
HX1 ile enzim arasındaki etkileşimler siyah kalın kesik çizgilerle belirtilmiştir

2.11.1.2.3. Triptamin Türevleri

İndol ve triptamin halkalarının Bileşik-I ile reaksiyona girecek ancak Bileşik-II'nin birikmesine neden olarak enzimi inaktif formda bırakacak redoks potansiyeline ($0.97V < E < 1.35V$) sahip olduğunun belirlenmesi üzerine bu halkalar çeşitli süstitüentlerle türevlendirilmiştir.

Yapılan ilk çalışmada indol ve triptamin yapıları 5-konumlarından süstitüe edilmiş, triptamin yapılarının indole göre daha aktif olduğu bulunmuş ve 5-konumundan halojen süstitüsyonunun aktiviteye katkı sağladığı rapor edilmiştir (Tablo 2-5) (Jantschko et al., 2005).

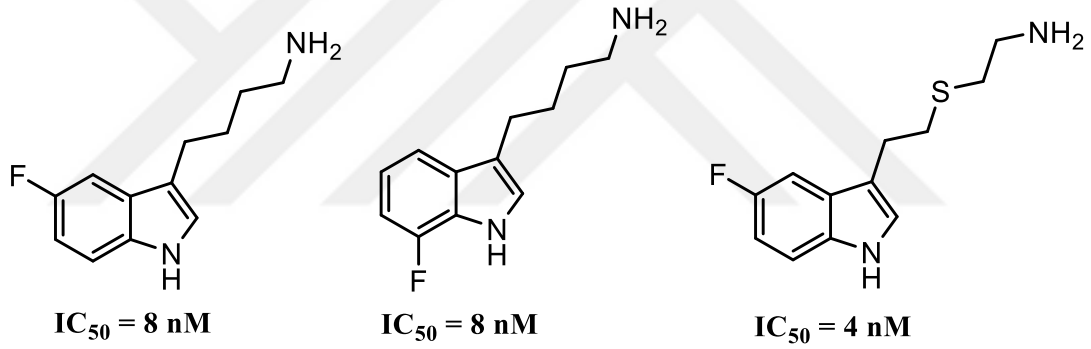
Tablo 2-5. 5-konumundan süstitüe indol ve triptamin bileşikleri ve MPO inhibisyon değerleri

			
R	IC ₅₀ (µM)	R	IC ₅₀ (µM)
-H	12.3	-H	0.77
-NO ₂	29	-F	0.79
-CN	13.2	-Cl	0.73

5-florotriptamin molekülünün aktif bir bileşik olduğunun bulunması üzerine bu yapıda farklı yapı-aktivite çalışmaları geliştirilmiştir. Bu amaçla yapılan değişiklikler şu şekilde listelenebilir:

- 3-konumundaki yan zincirinin uzunluğunun değiştirilmesi
- Serbest amino grubuna farklı süstitüentler bağlanması
- İndol halkası üzerindeki florun konumunun değiştirilmesi
- Yan zincire kükürt atomunun eklenmesi
- Yan zincirdeki amino grubunun farklı işlevsel gruplarla değiştirilmesi

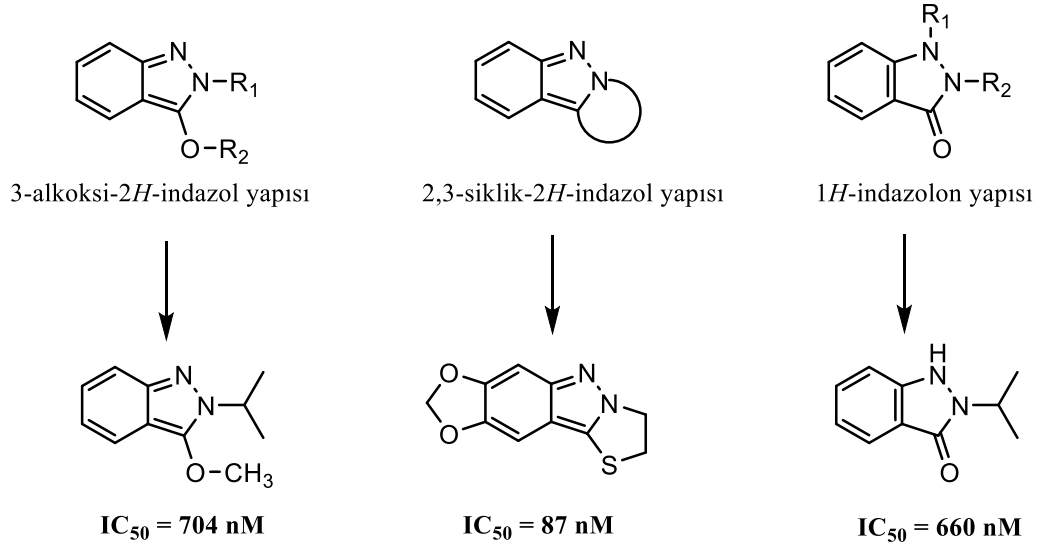
Çalışmalar sonucunda yan zincir uzunluğunun 5 karbona kadar artırılması aktiviteyi artırmıştır ($IC_{50} = 8 \text{ nM}$). Ancak serbest amino grubuna süstitüent bağlanması veya bu grubun farklı işlevsel gruplarla değiştirilmesi aktiviteyi azaltmıştır. Florun halka üzerindeki konumu ise aktiviteyi etkilememiştir (Şekil 2-19) (Soubhye et al., 2013, 2010).



Şekil 2-19. En aktif triptamin türevi bileşikler

2.11.1.2.4. İndazol ve İndazolon

İndol ve hidroksamik asit yapılarının MPO inhibitör aktiviteye sahip olduğunun rapor edilmesinin ardından Roth ve ark. bu iki grubun hibridizasyonu sonucunda tasarlanan bir grup 2H-indazol ve 1H-indazolon ana yapısındaki bileşiği sentezleyerek MPO aktivitelerini test etmişlerdir (Şekil 2-20). Bu çalışma sonucunda düşük konsantrasyonlarda MPO inhibitör aktivite gösteren bileşikler keşfedilmiş ve yapı-aktivite ilişkileri aydınlatılmıştır (Roth et al., 2014).

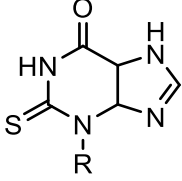
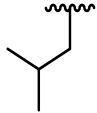
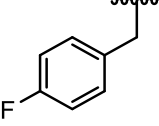
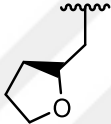
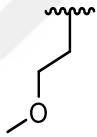


Şekil 2-20. İndazol ve indazolon türevlerinin genel yapıları

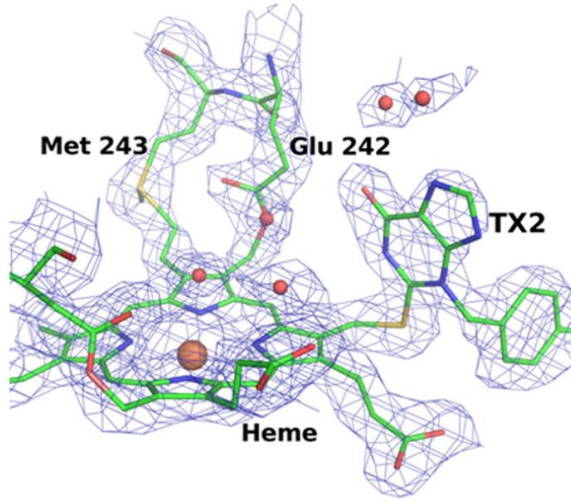
2.11.1.2.5. Tiyopirimidinon Halkası İçeren Yapılar

Yapılan çalışmalarda tiyopirimidinon halkası taşıyan yapılar şu şekilde özetlenebilir: 2-tiyoksantin ana halkası ile yapılan çalışmada MPO inhibitör özellik gösteren bileşikler keşfedilmiş ve bu moleküllerin geri dönüşümsüz enzim inhibitörü olduğu belirlenmiştir (Tablo 2-6).

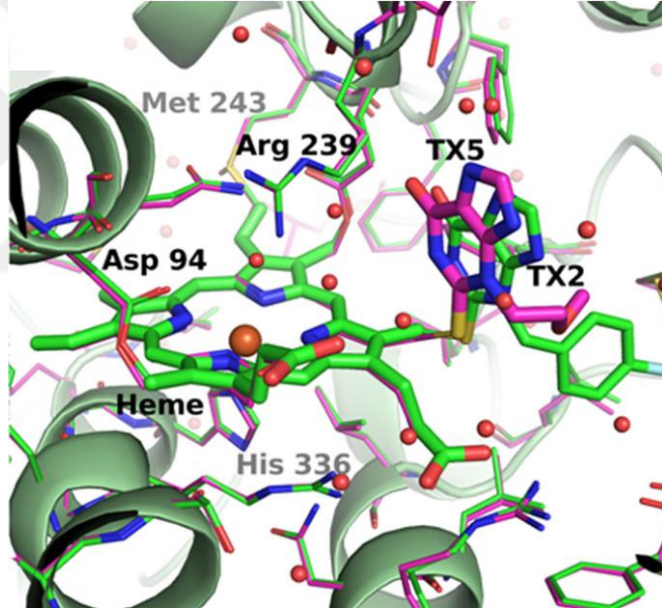
Tablo 2-6. Tiyoksantin türevi bileşikler ve MPO inhibisyon değerleri

		
Bileşik Kodu	R	IC ₅₀ (μM)
TX1		1
TX2		0.2
TX3		0.4
TX4		0.2
TX5		0.4

Etki mekanizmasını belirlemek amacıyla yapılan ileri çalışmalar, bu bileşiklerin H₂O₂ varlığında enzim tarafından okside edildiğini ve oksidasyon sonucu oluşan yeni bileşiğin enzime bağlanarak yapıda modifikasyona sebep olduğu, dolayısıyla, enzimi geri dönüşümsüz bir şekilde inhibe ettiğini göstermiştir. Enzim yapısında meydana gelen modifikasyonları aydınlatmak için X-ray kristalografisinden faydalanılmıştır. TX2 ve TX5 bileşikleriyle yapılan çalışmalar bu bileşiklerin enzim cebinin girişinde, hem grubuna dik olarak durduğunu göstermiştir (Şekil 2-21, Şekil 2-22). Moleküllerde birçok hidrojen bağı alıcı ve verici grupları olmasına rağmen herhangi bir polar etkileşim izlenmemiştir. Enzim ve bileşikler arasında belirlenen tek etkileşim, bileşiklerin kükürt atomuyla hem metil grubunun arasında meydana gelen kovalent tiyoeter bağıdır. Bu bağ sebebiyle enzim yapısında meydana gelen modifikasyon geri dönüşümsüz inhibisyona neden olmaktadır (Tidén et al., 2011).



Şekil 2-21. TX2 bileşiğinin enzimin bağlanma yöresindeki pozisyonu

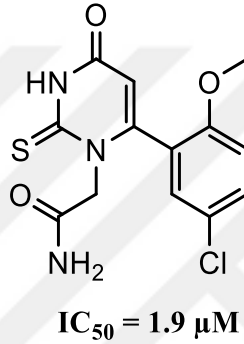


Şekil 2-22. TX2 ve TX5 bileşiklerinin enzim cebindeki pozisyonları

TX2 bileşiği yeşil, TX5 bileşiği pembe ile gösterilmiştir. İki yapı da girişte hem grubuna dik pozisyonda durmaktadır ve enzimle tiyoeter bağı yapmaktadır (Tidén et al., 2011)

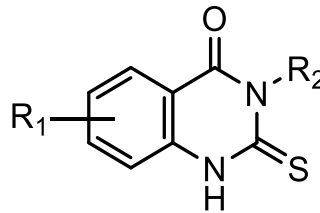
Propiltiourasil (PTU), tiroid tedavisinde kullanılan ve peroksidaz aktiviteyi inhibe ettiği bilinen bir ilaç olduğu için bu bileşiğin MPO üzerindeki etkisi test edilmiş ve hem halojenasyon hem de peroksidasyon yolağını inhibe ettiği bulunmuştur (E. Lee, Miki, Katslira, & Kariya, 1990). Ruggeri ve ark. tiyoksantin ve PTU yapısında ortak olarak bulunan 4-okso-2-tiyokso-3,4-dihidropirimidin halkasını ana yapı olarak

belirleyerek 1 ve 6 konumlarından farklı sübstitüsyonlarla tasarlanan moleküllerin MPO inhibitör özellikleri üzerinde çalışma yapmışlar ve bileşiklerin düşük konsantrasyonlarda (0.5-11 μM) inhibisyon gerçekleştirdiğini bulmuşlardır (Şekil 2-23). Ayrıca ileri çalışmalarla moleküllerin farmakokinetik özelliklerini, *in vitro* ADME profillerini ve *in vivo* aktivitelerini aydınlatarak aşağıda açık formülü verilen molekülü umut vaat eden bileşik olarak rapor etmişlerdir. Bu yapı, Bileşik-I tarafından oksitlendikten sonra tiyourasil radikali oluşur ve bu radikal Bileşik-II'nin hem grubunun pirol halkasına kovalent olarak bağlanarak geri dönüşümsüz inhibisyon sağlar (Ruggeri et al., 2015).



Şekil 2-23. Propiltiourasil türevi ve MPO inhibisyon değeri

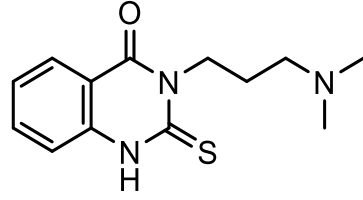
Farklı bir çalışmada ise tiyokso-dihidrokinazolin-on halkasına sahip yapılar tasarlanmış ve yapı-aktivite ilişkileri aydınlatılmıştır (Şekil 2-24).



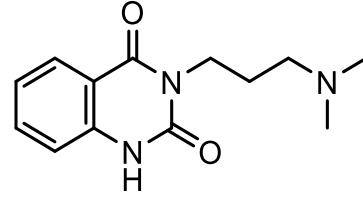
Şekil 2-24. Kinazolin türevlerinin ana yapısı

Kinazolinin fenil halkası farklı pozisyonlarda mono ve di-halojenlerle sübstitüe edilmiş, en iyi aktivitenin 6 konumundan flor sübstitüsyonu ile olduğu belirlenmiştir. 3-konumundaki azot üzerine ise alkil ve amit grupları bağlanmış, amit taşıyan yan zincire sahip bileşiklerin aktivitelerinin daha iyi olduğu rapor edilmiştir. Ana halka

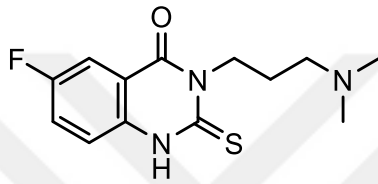
üzerindeki kükürtün oksijenle değiştirilmesi sonucunda aktivitenin ortadan kalkması ise kükürtün yapıdaki önemini göstermiştir (Şekil 2-25). Bu çalışmadaki çoğu bileşiğin aktivitesi 0.1-2 μM aralığındadır (Li et al., 2015).



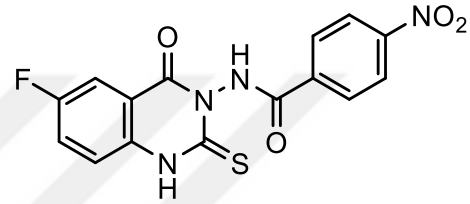
$\text{IC}_{50} = 1.3 \mu\text{M}$



$\text{IC}_{50} = \text{inhibisyon yok}$



$\text{IC}_{50} = 0.6 \mu\text{M}$

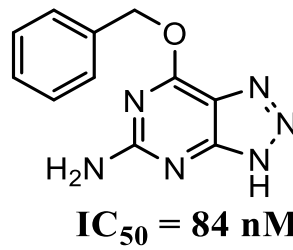


$\text{IC}_{50} = 0.1 \mu\text{M}$

Şekil 2-25. Kinazolin türevlerindeki yapı-aktivite çalışmaları

2.11.1.2.6. Triazolopirimidin

Triazolopirimidin ana yapısı üzerinde gerçekleştirilen çalışmada geri dönüşümlü MPO inhibitörleri keşfedilmiştir (Şekil 2-26).

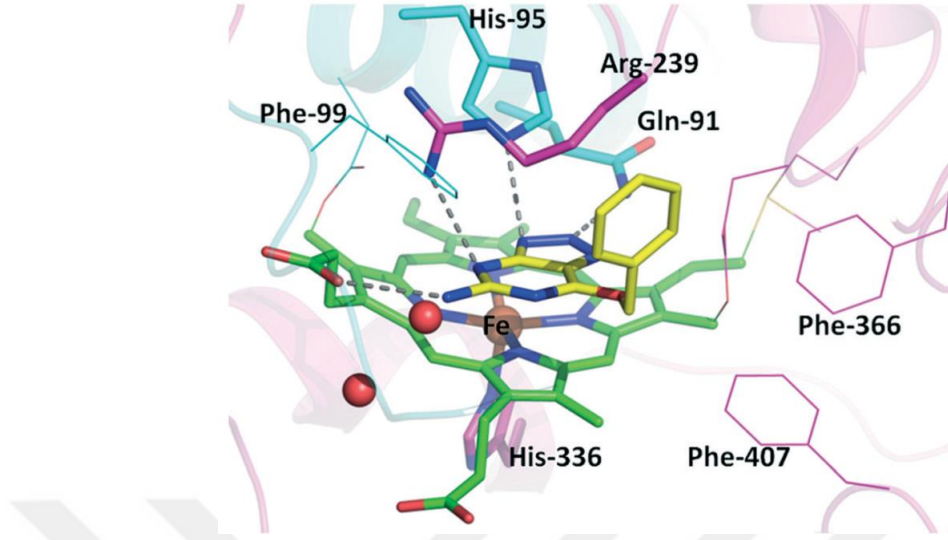


$\text{IC}_{50} = 84 \text{ nM}$

Şekil 2-26. Triazoloprimidin türevi bileşik

Ayrıca en aktif bulunan bileşiğin enzim aktif yoresindeki kristal yapısı aydınlatılmış, Gln-91, His-95, Arg-239 aminoasitleri ile hidrojen bağı yaptığı, fenil halkasının ise

Arg-239'un metilen grubuyla hidrofobik etkileşimler gösterdiği rapor edilmiştir (Şekil 2-27) (Duclos et al., 2017).

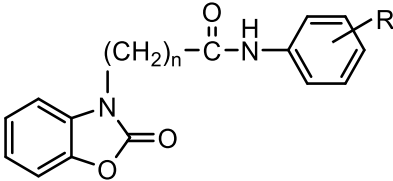


Şekil 2-27. Triazolopirimidin türevinin enzim cebindeki pozisyonu
Bileşik sarı olarak belirtilmiştir

2.11.1.2.7. Benzoksazolon

Benzoksazolon halkasının azot üzerinden farklı uzunluktaki amit işlevsel grubu taşıyan zincirlerle sübstitüsyonu sonucunda da MPO inhibitör özelliğe sahip olan bileşikler keşfedilmiştir (Tablo 2-7) (Soyer, Bas, Pabuccuoglu, & Pabuccuoglu, 2005).

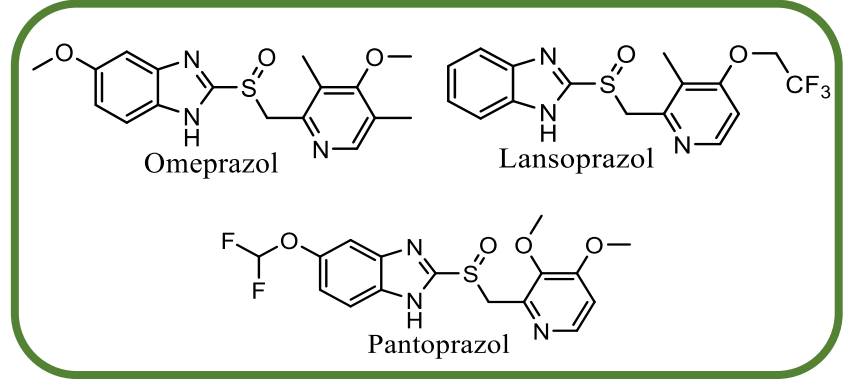
Tablo 2-7. Benzoksazolon türevi en aktif bileşikler

			
Bileşik	n	R	% İnhibisyon Değeri
3	1	<i>o</i> -CH ₃	90.80
4	1	<i>m</i> -CH ₃	73.40
13	2	<i>m</i> -Cl	85.20
18	2	<i>o</i> -NO ₂	79.20
20	2	<i>p</i> -NO ₂	94.10

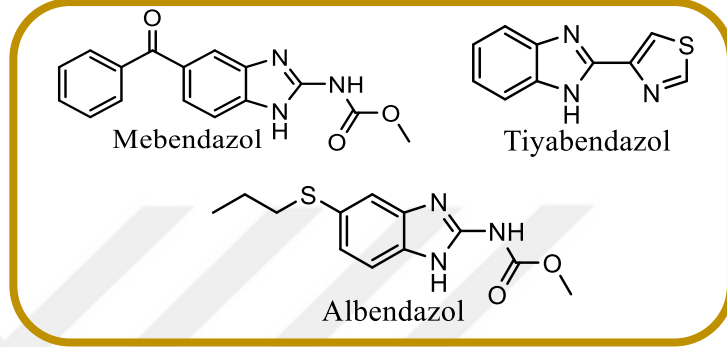
2.12. Planlanan Çalışma

Benzimidazol halkası benzen ve imidazol yapılarının kaynaşmasıyla oluşmuş aromatik heterosiklik bir bileşiktir. Yapılan ilk çalışmalarda benzimidazol halkasının biyolojik etkisinin pürin bazına benzeyen yapısından dolayı ortaya çıktığı belirlenmiştir (Woolley, 1943). Daha sonra yapılan çalışmalar B12 vitamininin bozunma ürünlerinden biri olan 5,6-dimetilbenzimidazol yapısının da B12 vitamin etkilerini gösterdiğini ortaya koymuştur (Emerson et al., 1950). Bu sonuçlar benzimidazol halkasının ve türevlerinin potansiyel biyolojik aktivitelerinin araştırılması açısından öncü olmuş ve yapıyı biyolojik açıdan önemli bir hedef haline getirmiştir. Günümüze kadar gerçekleştirilen araştırmalar, benzimidazol yapısının farklı türevlerinin antiparaziter, antiviral, antifungal, antikonvülzan, analjezik, antikanser, antikoagülan, antiinflamatuvar, antihistaminik, antiülser ve antihipertansif etkinliklerini ortaya koymuştur. Aktif yapıların optimizasyonu sonucunda ise albendazol, mebendazol, tiyabendazol (antihelmintik); omeprazol, lansoprazol, pantoprazol (proton pompası inhibitörü); astemizol (antihistaminik); kandesartan ve telmisartan (antihipertansif) isimli ilaçlar keşfedilmiş ve tedavide aktif olarak kullanılmak üzere sunulmuştur (Şekil 2-28) (Bansal & Silakari, 2012).

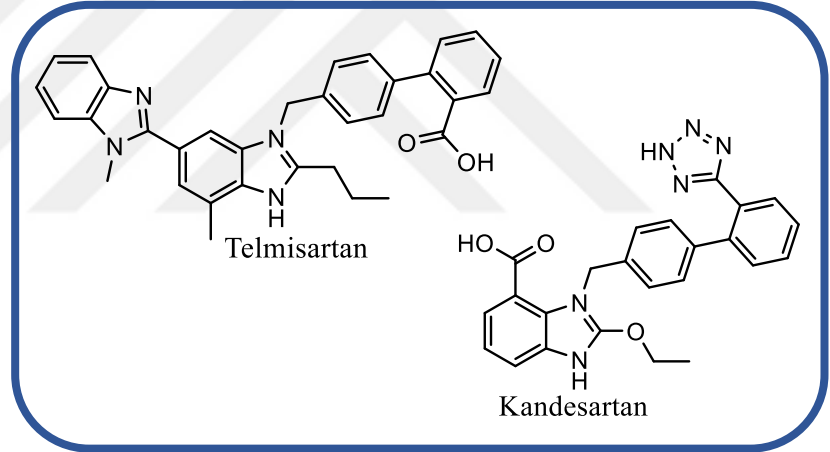
**Proton pompası
inhibitörü**



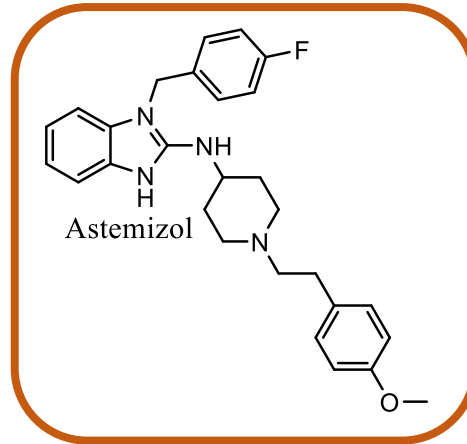
Antihelmintik



Antihipertansif



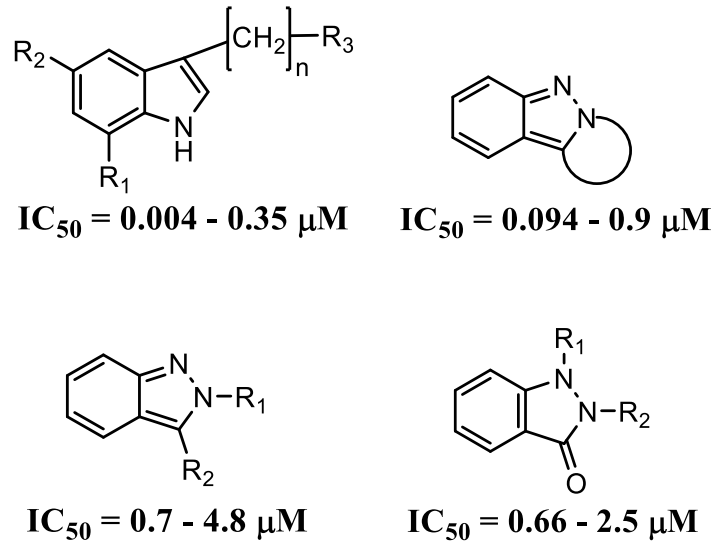
Antihistaminik



Şekil 2-28. Benzimidazol türevi ilaçlar

Farklı şekillerde türevlendirilmiş 2-merkaptobenzimidazol halkası üzerinde gerçekleştirilen biyolojik aktivite çalışmalarında bu yapıya sahip bileşiklerin antibakteriyel (Hosamani & Shingalapur, 2011; Shahnaz, Kaur, Parkash, & Parsad, 2018; Tahlan et al., 2019), antifungal (Edraki & Zaarei, 2018; Hosamani & Shingalapur, 2011), antiparaziter (Valdez et al., 2002), antimikrobiyal (Ozturk et al., 2020; Yadav et al., 2017), antioksidan (Ali et al., 2018; Miyajima et al., 2018; Teng, Zou, Huang, & Chen, 2014), anksiyolitik (Spasov et al., 2020), antikonvülzan (Anandarajagopal et al., 2010; Shingalapur, Hosamani, Keri, & Hugar, 2010), antidiyabetik (Shingalapur et al., 2010), antikanser (Tahlan et al., 2019) ve antimelanin (J.-H. Lee et al., 2010) etkileri ortaya koyulmuştur.

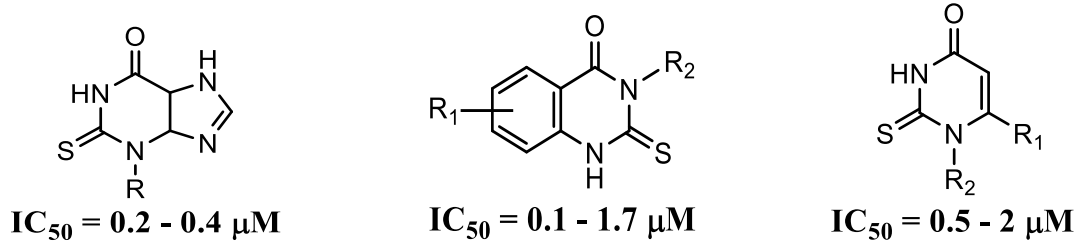
Miyeloperoksidaz inhibitörleri üzerine yapılan literatür taraması sonucunda düşük konsantrasyonlarda etki gösteren moleküllerin genellikle 5 ve 6 üyeli halkaların kaynaştırılması ile oluşturulan bir çekirdek yapıya sahip olduğu ve 5 üyeli halkaları üzerinde bir veya iki adet azot atomu taşıdıkları belirlenmiştir. Bu çekirdek yapılarının modifikasyonları ile tasarlanan bileşiklerin aktiviteleri değerlendirilmiş ve farklı çalışma grupları tarafından rapor edilmiştir (Roth et al., 2014; Soubhye et al., 2013, 2010) (Şekil 2-29).



Şekil 2-29. 5 ve 6 üyeli halkaların kaynaştırılması ile oluşturulan çekirdek yapılar ve MPO inhibisyon değer aralıkları

Ayrıca bu literatür çalışmalarının incelenmesi sonucunda halka içi tiyoüre/izotiyöüre yapısı taşıyan moleküllerin de miyeloperoksidaz inhibitör özellik gösterdiği ve

yapıdaki kükürt atomunun aktiviteyi artırıcı yönde etki sağladığı belirlenmiştir (Li et al., 2015; Ruggeri et al., 2015; Tidén et al., 2011) (Şekil 2-30).

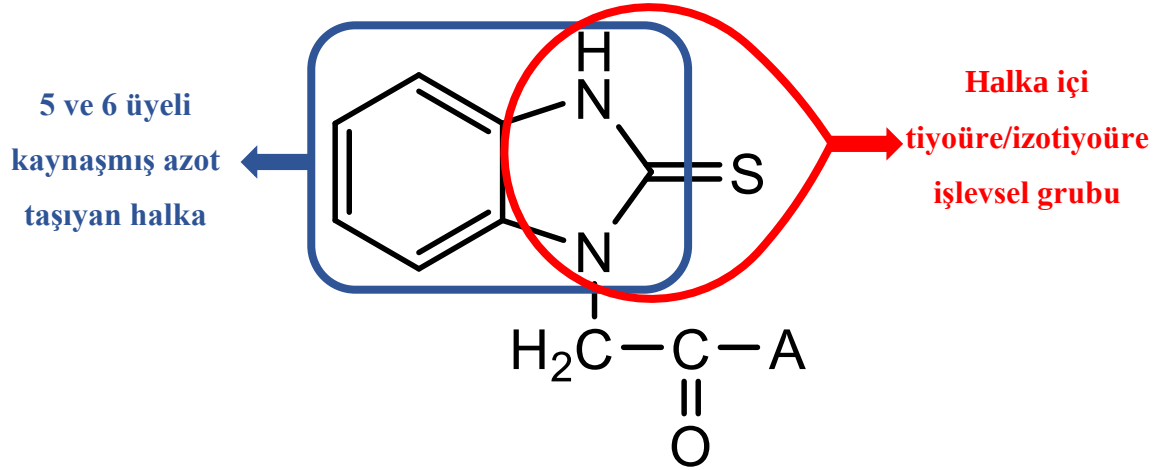


Şekil 2-30. Halkasal tiyoüre işlevsel grubuna sahip bileşikler ve MPO inhibisyon değer aralıkları

Daha önce yapılan çalışmalarda yan zincir üzerinde amit işlevsel grubu taşıyan moleküllerin de MPO inhibitör aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Soyer et al., 2005). Ayrıca MPO enzimine karşı inhibitör etkinliğin belirlenmesi amacıyla ilk yapılan çalışmalar kapsamında taranan ve etki gösterdiği rapor edilen moleküller benzoik asit hidraziti ile salisilhidroksamik asit türevleridir (Davies & Edwards, 1989; Anthony J Kettle, Gedye, Hampton, & Winterbourn, 1995).

Rapor edilen bu bilgiler değerlendirildiğinde, çalışmamız kapsamında ana halka olarak 5 ve 6 üyeli, üzerinde azot bulunduran ve halka içi tiyoüre/izotiyoüre işlevsel grubu taşıyan 1,3-dihidro-2*H*-benzo[*d*]imidazol-2-tiyon molekülü ana halka olarak seçilmiştir.

Bileşiklerin türevlendirilmesinin, azot atomundan sübtitüe, amit, hidrazit ve hidroksamik asit grupları taşıyan yan zincirlerle yapılması hedeflenmiştir. Bu kapsamda amit türevlerindeki azot atomu farklı elektronik ve sterik özellikte sübtitüentler taşıyan fenil halkası ve benzil ile sübtitüe edilmiştir. Bunların yanında amit azotunu halka içi azot haline getiren piperidin ve morfolin türevleri de tasarlanmıştır (Şekil 2-31).

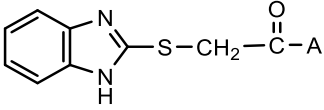
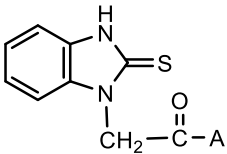
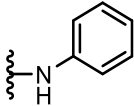
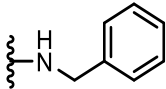
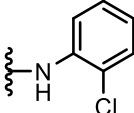
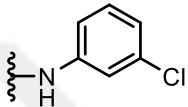
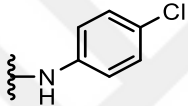
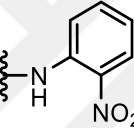
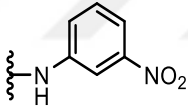
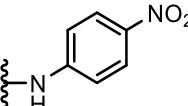
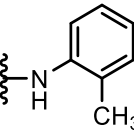
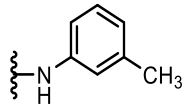
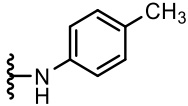
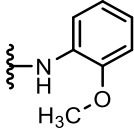
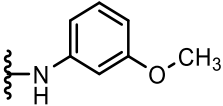


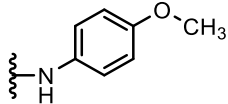
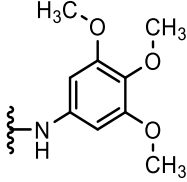
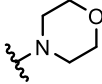
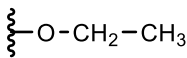
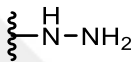
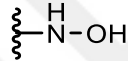
Şekil 2-31. Çalışma kapsamında tasarlanan bileşiklerin ana yapısı

Tasarlanan bileşiklerin sentezi için 1,3-dihidro-2*H*-benzo[*d*]imidazol-2-tiyon halkasının alkilasyonu denenmiş ancak süstitüsyonun kükürt atomu üzerinden gerçekleştiği tespit edilmiştir. Elde edilen kükürt süstitüe bileşikler de tasarımlarımıza dahil edilmiştir. Tez kapsamında tasarlanarak sentezlenen bileşikler ve kodları Tablo 2-8’de özetlenmektedir.

Sentezlenen bileşiklerin MPO enzim inhibisyonlarının taurin-kloramin deneyi ile ölçümü ve aktivite sonuçlarına göre belirlenecek bileşikler için moleküler modelleme çalışmasının yapılması planlanmıştır.

Tablo 2-8. Tez kapsamında tasarlanan bileşikler ve kodları

A		
	B1	BS1
	B2	BS2
	B3	BS3
	B4	BS4
	B5	BS5
	B6	BS6
	B7	BS7
	B8	BS8
	B9	BS9
	B10	BS10
	B11	BS11
	B12	BS12
	B13	BS13

	B14	BS14
	B15	BS15
	B16	BS16
	B17	BS17
		BSE
		BS18
		BS19

3. Gereç ve Yöntem

3.1. Sentez Çalışmaları

3.1.1. Materyal

Sentez çalışmalarında kullanılan o-fenilendiamin Alfa Aesar firmasından; fosforoksiklorür Acros firmasından; üre Carlo Erba firmasından; 2-kloroanilin, 3-kloroanilin, 4-kloroanilin, 2-nitroanilin, 3-nitroanilin, 4-nitroanilin, 2-toluidin, 3-toluidin, 2-anisidin, 3-anisidin ve 4-anisidin Fluka firmasından; 4-toluidin, anilin, benzilamin, morfolin, piperidin, kloroasetil klorür, etil bromo asetat, karbon sülfür, hidrazin hidrat, potasyum hidroksit, sodyum hidroksit, susuz sodyum sülfat, trietilamin, glasiyel asetik asit, Silica gel 60 ve alüminyum destek maddeli TLC Silica gel 60 F254 Merck firmasından; potasyum karbonat, 3,4,5-trimetoksi anilin ve hidroksilamin hidroklorür Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir. Çözücü olarak kullanılan etil asetat, aseton, absolü etanol, asetonitril, diklorometan, metanol, kloroform, DMF, n-hekzan, THF ise Merck, VWR ve Sigma-Aldrich firmalarına ait olup, hepsi analitik saflıktadır.

3.1.1.1. Kromatografik Yöntemler

3.1.1.1.1. İnce Tabaka Kromatografisi (İ.T.K.)

Sentez çalışmalarında reaksiyonların ilerleyişini izlemek ve elde edilen bileşiklerin saflığını kontrol etmek amacıyla ince tabaka kromatografisinden (İ.T.K.) yararlanıldı. İ.T.K. analizinde Merck firmasına ait TLC silika gel 60 F254 hazır alüminyum kromatografi plakları (20x20 cm) kullanıldı. Çalışmalar oda sıcaklığında yapıldı ve developman işlemi tankların çözücü buharlarıyla doyurulmasını takiben gerçekleştirildi. Sürüklemeye işlemleri tamamlandıktan sonra açık havada kurutulan plakların üzerindeki lekeler 254 nm dalga boyundaki ultraviyole ışığı altında veya iyot buharları kullanılarak tespit edildi. İ.T.K. uygulamalarında çözücü sistemi olarak metanol:kloroform (1:9), etilasetat:n-hekzan (1:1), metanol:kloroform:n-hekzan (0.5:6:3) karışımları kullanıldı.

3.1.1.1.2. Sütun Kromatografisi

Sabit faz olarak silika gel 60, mobil faz olarak ise etilasetat:n-hekzan (2:1) çözücü sistemi kullanıldı.

3.1.2. Spektral Analizler

Ara ürünlerin yapıları erime derecesi değerleri, IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR ve kütle spektroskopisi yöntemleri ile, sentezlenen final bileşiklerin yapıları IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR, HSQC, HMBC NMR ve kütle spektroskopileri ile aydınlatıldı, saflıkları ise elementel analiz yöntemiyle belirlendi.

Bileşiklerin IR spektrumları, Perkin Elmer Spectrum 100 FT-IR Spektrofotometresinde ATR (Attenuated Total Reflectance) tekniği kullanılarak alındı ve dalga sayısı (cm^{-1}) cinsinden değerlendirildi.

^1H , ^{13}C ve 2D (HSQC, HMBC, NOESY) NMR spektrumları DMSO- d_6 çözücüsünde Varian AS 400 Mercury Plus NMR ve Agilent 600 Premium Compact NMR spektrofotometrelerinde alındı. Kimyasal kayma değerleri (ppm) δ skalasına göre ve referans pik olarak kullanılan çözücü alınarak değerlendirildi, etkileşme değişmezleri Hertz (Hz) olarak verildi.

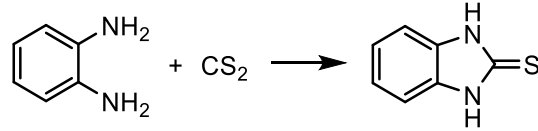
Kütle spektrumları analitik saflıktaki metanol içerisinde Thermo MSQ Plus marka LC-MS cihazlarında atmosferik basınçta kimyasal iyonizasyon (MS-APCI) yöntemi ile alındı.

Bileşiklerin erime derecesi tayinleri Stuart SMP30 marka erime derecesi tayin cihazında gerçekleştirildi ve erime derecesi değerleri düzeltilmeden verildi.

Final bileşiklerin elementel analizleri (C, H, N, S), LECO CHNS 932 Elementel Analiz cihazı kullanılarak yapıldı.

3.1.3. Sentez Yöntemi

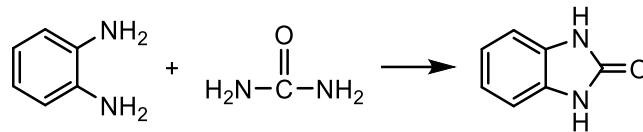
3.1.3.1. 1,3-Dihidro-2H-benzo[d]imidazol-2-tiyon Bileşiğinin (BS) Sentezi



Şema 3-1. 1,3-Dihidro-2H-benzo[d]imidazol-2-tiyon bileşiğinin sentez şeması

1,2-Fenilendiamin (0.01 mol), KOH (0.01 mol) ve CS₂ (0.01 mol), 10 ml %95 etanol ve 1.5 ml su içerisinde geri çeviren soğutucu altında üç saat kaynatıldı. Bu süre sonunda reaksiyon ortamına 0.115 g aktif kömür eklendi. Reaksiyon geri çeviren soğutucu altında on dakika daha kaynatılarak sürdürüldükten sonra aktif kömür süzülerek uzaklaştırıldı. Süzüntü 60-70°C'ye getirildi, 10 ml ılık su eklendi ve hızlıca karıştırılırken %20'lik asetik asitle asitlendirildi, bir gece buzdolabında bekletildi. Çöken katı madde süzüldü, bol suyla yıkandı, kurutuldu ve sudan kristallendirildi (Şema 3-1) (Maske, Lokapure, Nimbalkar, & Disouza, 2012).

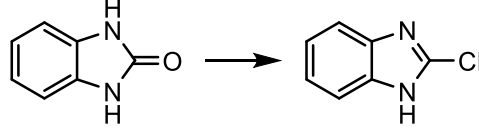
3.1.3.2. 1,3-Dihidro-2H-benzo[d]imidazol-2-on Bileşiğinin (BO) Sentezi



Şema 3-2. 1,3-Dihidro-2H-benzo[d]imidazol-2-on bileşiğinin sentez şeması

1,2-Fenilendiamin (0.02 mol) ve üre (0.1 mol), 10 ml %25 tetrahidrofuran/su karışımı içerisinde çözündürüldü ve 1-2 damla glasiyel asetik asit reaksiyon ortamına ilave edildi. Karışım, 120°C sıcaklıkta geri çeviren soğutucu altında beş saat kaynatıldıktan sonra oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Çöken katı madde süzülerek bol suyla yıkandı, kurutuldu ve sudan kristallendirildi (Şema 3-2) (Abbas, Hameed, & Kressler, 2013).

3.1.3.3. 2-Kloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol Bileşiğinin (BCL) Sentezi

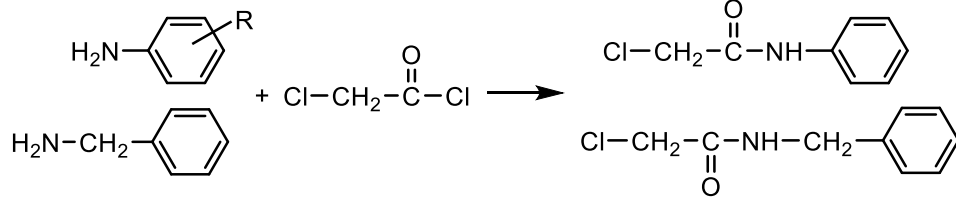


Şema 3-3. 2-Kloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol bileşiğinin sentez şeması

1,3-Dihidro-2*H*-benzo[*d*]imidazol-2-on (0.013 mol) üzerine POCl₃ (0.052 mol) yavaşça ilave edildi ve reaksiyon 110°C sıcaklıkta geri çeviren soğutucu altında dört saat karıştırıldı. Karışım oda sıcaklığında soğumaya bırakıldıktan sonra buz banyosu içerisinde soğutulmuş olan 5 ml suya dikkatlice döküldü ve 6M NaOH çözeltisi ile pH=7 olacak şekilde nötralleştirildi. Çöken katı madde süzüldü ve bol suyla yıkandıktan sonra kurumaya bırakıldı. Kuruyan katı ürün sütun kromatografisinde etil asetat:n-hekzan (2:1) mobil faz kullanılarak saflaştırıldı ve ardından etanolden kristallendirildi (Şema 3-3) (Kilchmann et al., 2016).

3.1.3.4. N-Süstitüe-2-kloroasetamit Ara Ürünlerinin (1-17) Sentezi

3.1.3.4.1. N-Süstitüe-Fenil/Benzil-2-kloroasetamit Türevlerinin (1-15) Sentezi

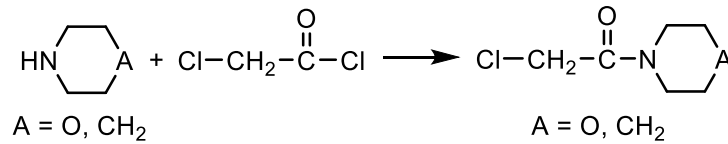


Şema 3-4. N-Süstitüe-fenil/benzil-2-kloroasetamit türevlerinin sentez şeması

Uygun aminler (0.001 mol) ve K₂CO₃ (0.001 mol) aseton:su (1:2) karışımındaki çözeltisi buz banyosunda soğutuldu ve üzerine damla damla kloroasetil klorür (0.001 mol) ilave edildi. Karışım, bir saati buz banyosunda, bir saati oda sıcaklığında olmak üzere iki saat karıştırıldı. Bu sürenin sonunda reaksiyon karışımı soğuk suya döküldü, çöken katı madde süzüldü, soğuk suyla yıkandı, açık havada kurutuldu ve etanol:su (1:1) karışımından kristallendirildi (Şema 3-4) (Ren et al., 2015).

3.1.3.4.2. 4-(2-Kloroasetil)morfolin (16) ve 1-(2-Kloroasetil)piperidin (17)

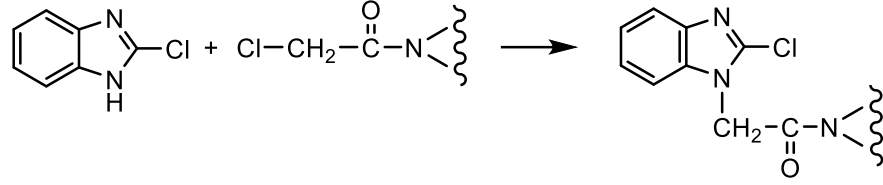
Bileşiklerinin Sentezi



Şema 3-5. 1-(2-Kloroasetil)piperidin ve 4-(2-Kloroasetil)morfolin bileşiklerinin sentez şeması

Uygun aminler (0.001 mol) ve trietilamin (0.001 mol) diklorometan içerisinde buz banyosunda soğutuldu ve damla damla kloroasetil klorür (0.001 mol) ilave edildi. Karışım, bir saati buz banyosunda, bir saati oda sıcaklığında olmak üzere iki saat karıştırıldı. Bu sürenin sonunda reaksiyon karışımı önce 3x15 ml doymuş NaCl çözeltisiyle ve daha sonra 3x15 ml suyla yıkandı. Birleştirilen organik faz susuz Na₂SO₄ ile kurutuldu ve rotaevaporatör yardımıyla yoğunlaştırıldıktan sonra ürünler elde edildi (Şema 3-5) (D. Lee et al., 2015).

3.1.3.5. *N*-sübstitüe-2-(2-Kloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit Türevi Ara Ürünlerin (BCL1-BCL17) Sentezi

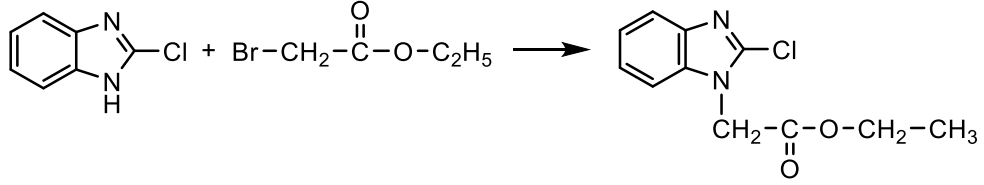


Şema 3-6. *N*-sübstitüe-2-(2-Kloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit türevlerinin sentez şeması

2-Kloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol (0.002 mol), *N*-sübstitüe-2-kloroasetamit ara ürünleri (0.002 mol) ve K₂CO₃ (0.002 mol) 5 ml dimetilformamid içerisinde oda sıcaklığında karıştırıldı. Reaksiyon İ.T.K. yöntemi ile takip edilerek bittiği tespit edildikten sonra buz banyosu içerisinde soğutulmuş olan suya döküldü. Çöken katı madde süzüldü, kurutuldu ve çeşitli solvanlar (asetonitril veya metanol) aracılığıyla kristallendirilerek saflaştırıldı (Şema 3-6) (Bonfanti et al., 2007).

3.1.3.6. Etil 2-(2-kloro-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetat Bileşiğinin (BCL18)

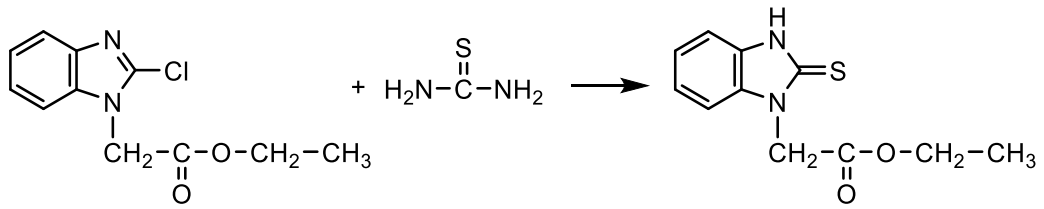
Sentezi



Şema 3-7. Etil 2-(2-kloro-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetat bileşiğinin sentez şeması

2-Kloro-1H-benzo[d]imidazol (0.002 mol) ve K₂CO₃ (0.002 mol) 10 ml aseton içerisinde süspanse edildi. Karışım üzerine dikkatli bir şekilde etil bromo asetat (0.003 mol) ilave edildi ve reaksiyon 60 °C sıcaklıkta geri çeviren soğutucu altında bir buçuk saat karıştırıldıktan sonra soğutuldu. Reaksiyon ortamına çökme tamamlanana kadar soğuk su eklendi. Çöken katı madde süzüldü, bol suyla yıkandı ve kurutuldu (Şema 3-7) (Soyer et al., 2005).

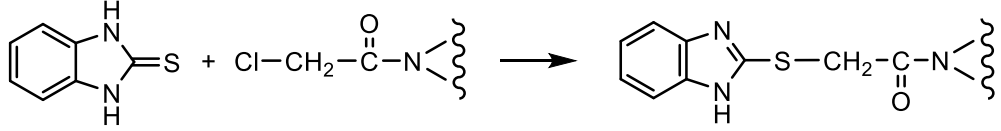
3.1.3.7. Etil 2-(2-tiyokso-2,3-dihidro-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetat Bileşiğinin (BSE) Sentezi



Şema 3-8. Etil 2-(2-tiyokso-2,3-dihidro-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetat bileşiğinin sentez şeması

Etil 2-(2-kloro-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetat (0.001 mol) ve tiyoüre (0.001 mol) 12 ml tetrahidrofuran ve 4 ml etanol karışımında çözündürüldü. Reaksiyon, 90 °C sıcaklıkta üç saat boyunca geri çeviren soğutucu altında karıştırıldı. Önce oda sıcaklığına getirilen karışım daha sonra buzdolabında bir gece bekletildi ve çöken madde süzülerek kurutuldu (Şema 3-8) (Susanto, Jung, & Bräse, 2016).

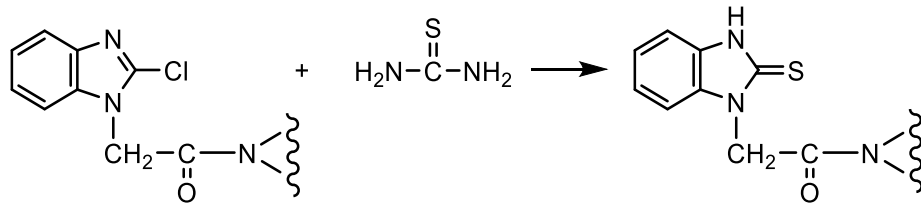
3.1.3.8. *N*-süstitüe-2-[(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)tiyo]asetamit Türevi Final Bileşiklerinin (B1-B17) Sentezi



Şema 3-9. *N*-süstitüe-2-[(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)tiyo]asetamit türevlerinin sentez şeması

1,3-Dihidro-2*H*-benzo[*d*]imidazol-2-tiyon (0.003 mol), *N*-süstitüe-2-Kloroasetamit ara ürünleri (0.003 mol) ve K₂CO₃ (0.003 mol) 15 ml aseton içerisinde 60°C sıcaklıkta geri çeviren soğutucu altında bir buçuk saat karıştırıldıktan sonra soğutuldu. Reaksiyon ortamına çökme tamamlanana kadar soğuk su eklendi. Çöken katı madde süzülde, bol suyla yıkandı, kurutuldu ve çeşitli solvanlar (asetonitril veya metanol) aracılığıyla kristallendirildi (Şema 3-9) (Soyer et al., 2005).

3.1.3.9. *N*-süstitüe-2-(2-Tiyokso-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit Türevi Final Bileşiklerinin (BS1-BS17) Sentezi

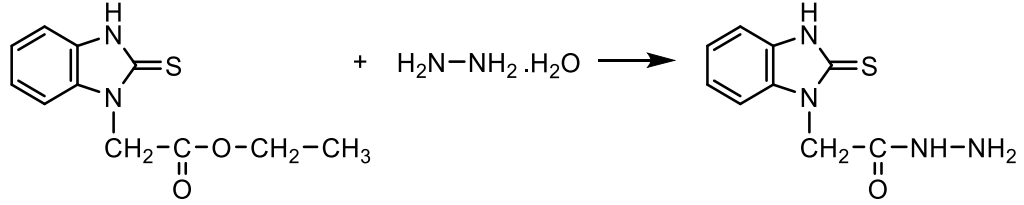


Şema 3-10. *N*-süstitüe-2-(2-Tiyokso-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit türevlerinin sentez şeması

N-süstitüe-2-(2-Kloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit türevleri (0.001 mol) ve tiyoüre (0.001 mol) 10 ml metanol içerisinde çözündürüldü ve 70°C sıcaklıkta geri çeviren soğutucu altında bir saat karıştırıldı. Reaksiyon ortamı oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve çöken katı madde süzülerek soğuk metanolla yıkandıktan sonra çeşitli solvanlardan kristallendirildi. (Şema 3-10) (Pothier et al., 2012).

3.1.3.10. 2-(2-Tiyokso-2,3-dihidro-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazit

Bileşiminin (BS18) Sentezi

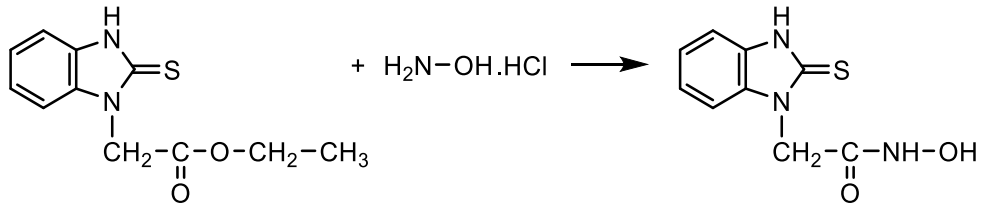


Şema 3-11. 2-(2-Tiyokso-2,3-dihidro-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidrazit bileşiminin sentez şeması

Etil 2-(2-tiyokso-2,3-dihidro-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetat (0.001 mol) 10 ml Etanol içerisinde çözündürüldü ve üzerine dikkatlice hidrazin hidrat (0.006 mol) ilave edildi. Reaksiyon 25-30°C sıcaklıkta bir saat süreyle karıştırıldı ve çöken katı madde süzülerek soğuk etanolle yıkandı. Kuruyan ham ürün metanolden kristallendirildi (Şema 3-11Şema) (D'amico & Bollinger, 1988).

3.1.3.11. 2-(2-Tiyokso-2,3-dihidro-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidroksamik

asit Bileşiminin (BS19) Sentezi



Şema 3-12. 2-(2-Tiyokso-2,3-dihidro-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetohidroksamik asit bileşiminin sentez şeması

KOH (0.005 mol) ve hidroksilamin hidroklorür (0.005 mol) 10 ml metanol içerisinde süspande edilerek buz banyosunda yarım saat süreyle karıştırıldı. Reaksiyon sonucunda oluşan KCl süzülerek uzaklaştırıldı ve süzüntüye etil 2-(2-tiyokso-2,3-dihidro-1H-benzo[d]imidazol-1-il)asetat (0.001 mol) ilave edildi. Reaksiyon oda sıcaklığında dört saat süreyle karıştırıldı. Buzdolabında bir gece bekletildikten sonra

Çöken katı süzöldü, soğuk metanolle yıkandı ve metanolden kristallendirildi (Şema 3-12) (Cerniauskaite, Rousseau, Sackus, Rollin, & Tatibouët, 2011).

3.2. X-Ray Kristalografisi Çalışmaları

Bu tez çalışmasında sentezlenen **BS6** ve **B10** bileşiklerinin yapıları tek kristal X-ışını kırınımı yöntemiyle belirlenmiştir. X-ışını Kırınımı şiddet verileri, Rigaku Oxford-Xcalibur, EOS difraktometresinde Mo-K α ışması ile w taramasıyla oda sıcaklığında toplanmıştır. Veri toplama, hücre arıtımı ve veri indirgeme CrysAlisPro programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen verilere Lorentz, polarizasyon ve analitik soğrulma düzeltmeleri (Clark & Reid, 1995) uygulanmıştır. Bileşiklerin moleküler ve kristal yapıları, OLEX2 (Dolomanov, Bourhis, Gildea, Howard, & Puschmann, 2009) paket programı içinde bulunan ShelXT (Sheldrick, 2015) programı ile çözülmüştür. ShelXL arıtım programı ile En Küçük Kareler yöntemi kullanılarak parametreler daha duyarlı hale getirilmiştir. H-atomları hariç tüm atomlar anizotropik olarak arıtılmıştır. H-atomları hesaplanan konumlarına geometrik olarak yerleştirilmiş ve izotropik olarak arıtılmıştır. **BS6** ve **B10** kristallerinin non-merohedral ikiz olduğu gözlenmiş ve bu ikizlik yapı arıtım süreçlerinde dikkate alınmıştır.

3.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

3.3.1. Taurin Kloramin Yöntemi ile MPO Enzim Aktivitesi İnhibisyonunun Tayini

Biyoaktivite çalışmalarında kullanılan miyeloperoksidaz enzimi (MPO, E.C.1.11.1.7, tür Human Polymorphonuclear Leukocytes), 3,3',5,5'-Tetrametilbenzidin (TMB), katalaz (E.C.1.11.1.6, tip Bovine Liver (sığır karaciğeri)), DMSO ($\geq 99.9\%$), 4-aminobenzoik asit hidraziti (4-ABAH) ve taurin (min. 99%) Sigma-Aldrich (Almanya) firmasından; potasyum dihidrojen fosfat ve di-potasyum hidrojen fosfat Merck (Almanya) firmasından; potasyum iyodür Carlo Erba firmasından; sodyum klorür ve hidrojen peroksit VWR firmasından temin edilmiştir. Hazırlanan çözeltilerdeki ultra saf su PURELAB Prima marka cihazdan elde edilmiştir. Tartımlar için Denver Instrument SI-234 model hassas terazi, spektrofotometrik ölçümler için Thermo Scientific Varioskan Flash marka çoklu okuyucu kullanılmıştır.

3.3.1.1. Taurin Kloramin Yönteminde Kullanılan Çözeltiler

Taurin Çözeltisi (100 mM)

12.5 mg taurin tartılarak 1 mL ultra saf su ile çözüldü.

H₂O₂ Çözeltisi (1 mM)

Stok H₂O₂ (%30) çözeltisinden 100 µL alınarak 8.690 mL ultra saf su içerisine eklendi. Ardından 100 mM konsantrasyonda H₂O₂ içeren bu ara stoktan 100 µL alındı ve üzerine 9.900 mL ultra saf su ilave edilerek 1 mM konsantrasyonda H₂O₂ çözeltisi hazırlandı.

Katalaz Çözeltisi (1 mg/mL)

1 mg katalaz 1 mL 50 mM (pH:7.4) NaCl içermeyen fosfat tamponu içerisinde çözündürüldü.

Asetik Asit Çözeltisi (0.8 mM)

22.8 mL glasiyel asetik asit distile su ile 500 mL'ye tamamlandı.

KI Çözeltisi (200 µM)

17 mg KI 500 mL 0.8 mM glasiyel asetik asit çözeltisi içerisinde çözündürüldü.

TMB Çözeltisi (14 mM)

15 mg TMB 2.5 mL DMF içerisinde çözündürüldü. Üzerine 2.5 mL 200 µM KI çözeltisi ilave edildi.

Fosfat Tamponu (50 mM, pH: 7.0)

21.1 mL 1 M KH₂PO₄ ve 28.9 mL 1 M K₂HPO₄ çözeltileri karıştırıldı. Üzerine 750 ml ultra saf su ilave edildi ve pH değeri 7.0'a ayarlandı. Ardından hacmi 1 L'ye tamamlandı.

Fosfat Tamponu (10 mM, pH: 7.4)

9.4 mL 1 M KH₂PO₄ ve 40.6 mL 1 M K₂HPO₄ çözeltileri karıştırıldı. Üzerine 600 ml ultra saf su ilave edildi ve pH değeri 7.4'e ayarlandı. Ardından çözeltiye 16.33 g NaCl eklendi ve hacmi ultra saf su ile 1 L'ye tamamlandı.

MPO İnhibitör Çözeltisi

1.5 mg 4-aminobenzoik asit hidraziti (4-ABAH) tartıldı ve 1 mL DMSO içerisinde çözündürülerek maddenin 10 mM konsantrasyondaki çözeltisi hazırlandı. Deney protokolü için gereken konsantrasyonları bu stok kullanılarak hazırlandı.

MPO Enzim Çözeltisi

Liyofilize halde tüpte bulunan 100 µg MPO enzimi üzerine 834 µL ultra saf su ilave edilerek enzimin 800 nM konsantrasyondaki çözeltisi hazırlandı. Deney için kullanılacak farklı konsantrasyonlardaki enzim çözeltisi bu stoktan seyreltilerek hazırlandı.

3.3.1.2. MPO Aktivitesine Yönelik İnhibisyon Çalışmaları

Sentezlenen final bileşiklerin MPO enzimine yönelik inhibitör etkinlikleri taurin-klorinasyon deneyi ile ölçülmüştür (Zeraik et al., 2012). Deneyin prensibi, MPO enziminin klorinasyon döngüsü sırasında açığa çıkan hipokloröz asitin (HOCl) ortamda bulunan taurin ile reaksiyonu sonucu oluşan taurin kloramin (TauNHCl) bileşiğinin TMB'yi oksitleyerek 655 nm dalga boyunda maksimum absorpsiyon gösteren mavi renkli kararlı bir son ürün açığa çıkarması esasına dayanmaktadır.

Tez çalışmamızda yapılan klorinasyon deneyleri 96 kuyucuklu, düz tabanlı, şeffaf polistiren plakalarda gerçekleştirilmiştir. Deney koşullarında, enzim aktivitesi için en önemli unsurlardan birisi olan sıcaklık faktörüne göz önünde bulundurulmuş olup reaksiyon ortamı hazırlandıktan sonra inkübasyon süresince 37°C sıcaklığa sabitlenmiş mikroplaka okuyucu cihaz içerisinde bekletilmiştir. Her çalışma öncesinde deneyde kullanılan çözeltilerin pH'sı kontrol edilmiştir.

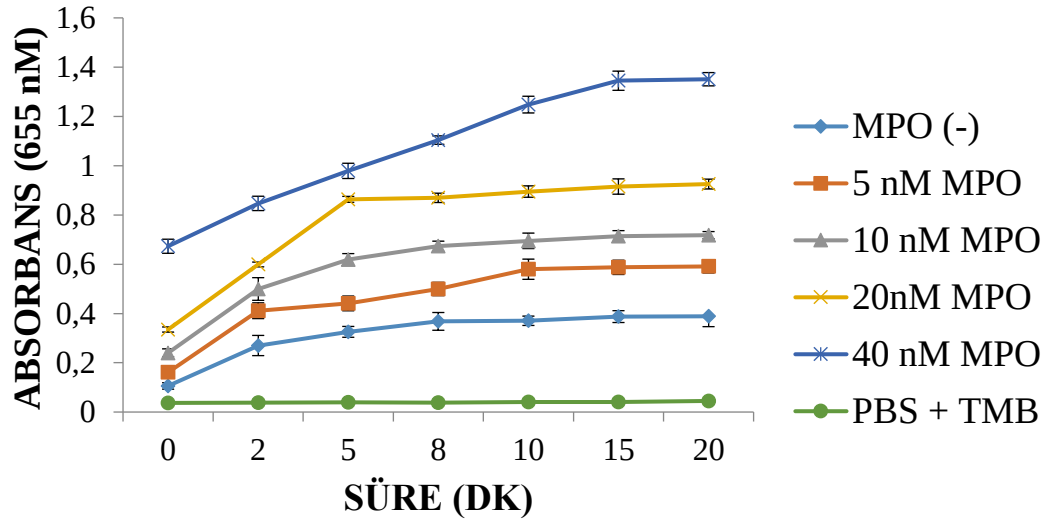
3.3.1.2.1. Çalışmalarda Kullanılacak En Uygun MPO Konsantrasyonunun Belirlenmesine Yönelik Deneyler

Gerçekleştirilecek taurin kloramin deneyi için kullanılacak en uygun MPO enzimi konsantrasyonunu tespit etmek amacıyla farklı konsantrasyonlardaki MPO enzimi kullanılarak kuyucuklardaki reaksiyon ortamlarının 655 nM'de absorpsiyonlarının zamana karşı değişiklikleri ölçülerek karşılaştırıldı. Kuyucuklara sırası ile 0.1 mM, 0.2 mM, 0.4 mM veya 0.8 mM MPO stok çözeltisi (10 µl), 0.1 mM taurin çözeltisi (10 µl), 10 mM PBS çözeltisi (170 µl), 1 mM'lık H₂O₂ çözeltisi (10 µl) eklendi. Hazırlanan

plaka 30 dk süresince 37°C sıcaklıkta inkübe edildi. Sürenin sonunda kuyucuklara 1mg/mL'lik katalaz çözeltisi (5 µl) ilave edilerek reaksiyon durduruldu. Son olarak reaksiyon ortamına 14 mM TMB çözeltisi (50 µl) eklendi. Mikroplaka okuyucu spektrofotometrede her bir kuyucuğun 655 nm dalga boyundaki absorbans değişimi ölçüldü. Deneyde enzim dışındaki kalan tüm reaksiyon çözeltilerini içerecek şekilde hazırlanan kuyucuklar kör olarak kullanıldı.

Literatürde yer alan referans çalışmalarda, klorinasyon deneylerinde kullanılan MPO enzim konsantrasyonlarının 5 ila 40 nM arasında farklılık gösterdiği belirlenmiştir (Malvezzi, Queiroz, de Rezende, Augusto, & Amaral, 2011; Soubhye et al., 2010; Tidén et al., 2011; Van Antwerpen et al., 2007, 2008; Zeraik et al., 2012) Ayrıca incelenen protokollerde deneyin son aşamasında, katalaz ilavesi ile reaksiyonun durdurulmasını takiben kararlı son ürün oluşumu için gerekli süre ile ilgili de net bir bilgiye rastlanmamıştır. Bu doğrultuda, çalışmamız için en uygun enzim konsantrasyonunu belirlemek amacıyla 0, 5, 10, 20 ve 40 nM konsantrasyonda MPO enzimi kullanılarak deney tekrar edildi. Deneyin sonlandırılmasının ardından 20 dakika süresince 655 nm dalga boyunda MPO enzimi içermeyen kör kuyucuğuna karşı çalışma kuyucukların absorpsiyon değişikliği ölçüldü. Elde edilen sonuçlar ortalama absorbans $\pm$ standart sapma olarak Tablo 3-1'de, bu veriler kullanılarak çizilen zaman-absorbans grafiği ise Şekil 3-1'de sunulmuştur.

MPO Enzim Konsantrasyonunun Optimizasyonu



Şekil 3-1. Enzim optimizasyon çalışmaları sonucunda elde edilen absorbans-zaman grafiği

Tablo 3-1. Enzim optimizasyon çalışmalarında elde edilen MPO aktivite sonuçları

	Süre (dk)						
	0	2	5	8	10	15	20
PBS + TMB	0.037	0.038	0.039	0.038	0.041	0.041	0.045
MPO (-)	0.106	0.27	0.3255	0.368	0.3705	0.3874	0.3887
5 nM MPO	0.161	0.41125	0.441	0.4995	0.5798	0.5874	0.5911
10 nM MPO	0.24	0.4995	0.61895	0.673	0.695	0.714	0.718
20nM MPO	0.335	0.599	0.8635	0.8695	0.895	0.9154	0.9255
40 nM MPO	0.673	0.847	0.979	1.104	1.248	1.345	1.351

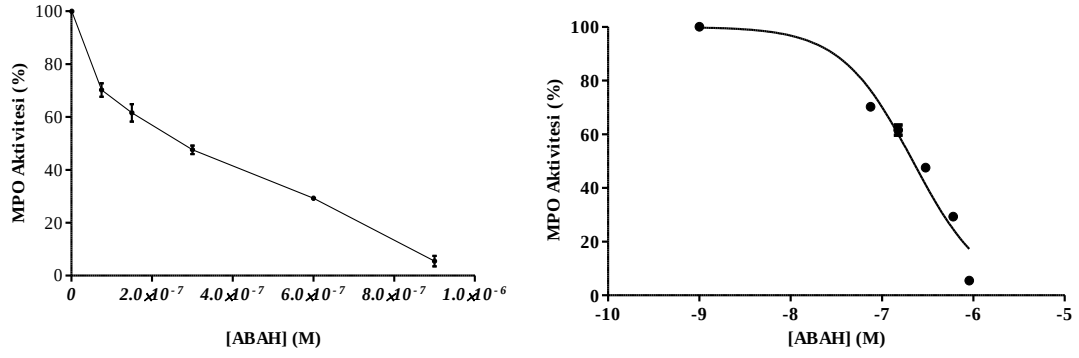
Standart Sapma (S.S.)						
0.013	0.041	0.022	0.036	0.019	0.024	0.042
0.021	0.032	0.03	0.027	0.041	0.029	0.026598
0.016408	0.046	0.02416	0.0207	0.0315	0.0224	0.0146
0.010286	0.0098	0.012	0.019	0.023	0.031	0.02
0.028591	0.02912696	0.031	0.017	0.034	0.039	0.027

3.3.1.2.2. Standart MPO İnhibitörü ABAH kullanılarak MPO Enzim Aktivitesi

% İnhibisyonunun Belirlenmesi

Tez çalışmamızda oluşturduğumuz MPO inhibisyonu tayini protokolünün doğruluğunu ve geçerliliğini test etmek amacıyla, farklı konsantrasyonlarda ABAH çözeltisi ile gerçekleştirilen deneyler ile % MPO inhibisyonu belirlenmiştir.

Bu amaçla, kuyucuklara sırası ile 0, 1.5, 3, 6, 12 veya 18 μM 'lık ABAH çözeltisi (10 μl), 0.2 mM MPO stok çözeltisi (10 μl), 0.1 mM taurin çözeltisi (10 μl); 10 mM PBS çözeltisi (160 μl), 1 mM'lık H_2O_2 çözeltisi (10 μl) eklendi. Hazırlanan plaka 30 dk süresince 37 °C sıcaklıkta inkübe edildi. Sürenin sonunda kuyucuklara 1mg/mL'lik katalaz çözeltisi (5 μl) ilave edilerek reaksiyon durduruldu. Son olarak reaksiyon ortamına 14 mM TMB çözeltisi (50 μl) eklendi. Mikroplaka okuyucu spektrofotometrede, her bir kuyucuğun 655 nm dalga boyundaki absorbans değişimi ölçüldü. Deneyde enzim dışındaki kalan tüm reaksiyon çözeltilerini içerecek şekilde hazırlanan kuyucuk kör olarak kullanıldı. İnhibitör eklenmeyen ancak MPO içeren kuyucuklardaki absorbans değişimi, %100 klorinasyon aktivitesi olarak hesaplandı ve ABAH bileşiğinin inhibitör etkinliği bu değere göre % inhibisyon olarak ifade edildi. ABAH bileşiğinin konsantrasyona bağlı olarak MPO enzim aktivitesini inhibe ettiği bilinmekte olup standart MPO inhibitörü olarak kabul edilmiştir (Anthony J. Kettle et al., 1997). Optimizasyon çalışmalarının ardından, gerçekleştirilen deney protokolünün doğruluğunun kontrolü için standart MPO inhibitörü olarak tanımlanan ABAH bileşiğinin reaksiyon ortamındaki son konsantrasyonu 0, 75, 150, 300, 600 ve 900 nM'lık olacak şekilde farklı konsantrasyonları hazırlanarak reaksiyon ortamı oluşturuldu. ABAH'ın 10 nM konsantrasyonda kullanılan MPO enziminin aktivitesi üzerine olan % inhibitör etkinliği belirlendi. Elde edilen sonuçlar ortalama absorbans $\pm$ standart sapma olarak Tablo 3-2'de, bu veriler kullanılarak çizilen zaman-absorbans grafiği ise Şekil 3-2'de sunulmuştur.



Şekil 3-2. ABAH bileşiğinin MPO aktivitesi-zaman grafikleri

Tablo 3-2. ABAH % inhibisyon değerleri

[ABAH] (nM)	% MPO Aktivitesi	S.S.
0	100.000000	0.286675
75	70.232870	2.550240
150	61.558150	3.294632
300	47.583200	1.617101
600	29.261820	0.497516
900	5.480500	2.000644

Yapılan çalışmalar sonucunda referans olarak seçilen ABAH bileşiğinin IC_{50} değeri $0,217 \pm 0.035 \mu M$ olarak bulunmuştur.

3.3.1.2.3. Sentezlenen Bileşiklerin MPO Enzimi Üzerindeki % İnhibisyon Etkinliklerinin ve IC_{50} Değerlerinin Belirlenmesi

Sentez edilen tüm yeni bileşiklerin $20 \mu M$ konsantrasyondaki MPO aktivitesi üzerindeki inhibitör etkileri test edildi.

Genel tarama amacıyla yapılan testlerde deney kuyucuklarına sırası ile 0.4 mM 'lık test edilecek bileşik çözeltisi ($10 \mu l$), 0.2 mM MPO stok çözeltisi ($10 \mu l$), 0.1 mM taurin çözeltisi ($10 \mu l$); 10 mM PBS çözeltisi ($160 \mu l$), 1 mM 'lık H_2O_2 çözeltisi ($10 \mu l$) eklendi. Hazırlanan plaka 30 dk süresince $37^\circ C$ sıcaklıkta inkübe edildi. Sürenin sonunda kuyucuklara 1 mg/mL 'lik katalaz çözeltisi ($5 \mu l$) ilave edilerek reaksiyon durduruldu. Son olarak reaksiyon ortamına 14 mM TMB çözeltisi ($50 \mu l$) eklendi.

Mikroplaka okuyucu spektrofotometrede, her bir kuyucuğun 655 nm dalga boyundaki absorbans değişimi ölçüldü. Her çalışmada 1.5, 3, 6, 12 ve 18 μM 'lık ABAH çözeltileri kullanılarak hazırlanan kuyucuklar pozitif kontrol olarak kullanıldı. Ayrıca enzim dışındaki kalan tüm reaksiyon çözeltilerini içerecek şekilde hazırlanan kuyucuk kör olarak kullanıldı. İnhibitör veya test bileşiği içermeyen ancak MPO içeren kuyucuklardaki absorbans değişimi, %100 klorinasyon aktivitesi olarak hesaplandı ve test bileşiklerinin inhibitör etkinliği bu değere göre % inhibisyon olarak ifade edildi. Genel tarama deneyleri sonucunda elde edilen bulgulara 20 μM konsantrasyonda %70 ve üzerinde MPO enzim aktivitesi inhibisyonuna neden olduğu belirlenen her bir bileşik 0.1, 0.5, 1, 5, 10 ve 20 μM konsantrasyonlarda test edilerek IC_{50} değerleri belirlendi.

IC_{50} çalışmalarında; deney kuyucuklarına sırası ile 0, 0.002, 0.02, 0.1, 0.2 veya 0.4 mM'lık test edilecek bileşik çözeltilerin (10 μl), 0.2 mM MPO stok çözeltisi (10 μl), 0.1 mM taurin çözeltisi (10 μl); 10 mM PBS çözeltisi (160 μl), 1 mM'lık H_2O_2 çözeltisi (10 μl) eklendi. Hazırlanan plaka 30 dk süresince 37 °C sıcaklıkta inkübe edildi. Sürenin sonunda kuyucuklara 1mg/mL'lik katalaz çözeltisi (5 μl) ilave edilerek reaksiyon durduruldu. Son olarak reaksiyon ortamına 14 mM TMB çözeltisi (50 μl) eklendi. Mikroplaka okuyucu spektrofotometrede, her bir kuyucuğun 655 nm dalga boyundaki absorbans değişimi ölçüldü. Her çalışmada 1.5, 3, 6, 12 ve 18 μM 'lık ABAH çözeltileri kullanılarak hazırlanan kuyucuklar pozitif kontrol olarak kullanıldı. Ayrıca enzim dışındaki kalan tüm reaksiyon çözeltilerini içerecek şekilde hazırlanan kuyucuk kör olarak kullanıldı. İnhibitör veya test bileşiği içermeyen ancak MPO içeren kuyucuklardaki absorbans değişimi, %100 klorinasyon aktivitesi olarak hesaplandı ve test bileşiklerinin inhibitör etkinliği bu değere göre mikromolar (μM) olarak ifade edildi.

3.4. Moleküler Kenetlenme Çalışmaları

Moleküler kenetlenme çalışmaları kapsamında Molecular Operating Environment (MOE) programı moleküllerin çizimi, çalışma için hazırlanması ve sonuçların görüntülenmesi amacıyla; GOLD programı ise kenetlenme çalışmalarının gerçekleştirilebilmesi için kullanılmıştır. İnsan miyeloperoksidazının siyanid ve tiyosiyanat kompleksli (1DNW) 3 boyutlu kristal yapısı Protein Veri Bankası'ndan (PDB, <https://www.rcsb.org>) alınmıştır.

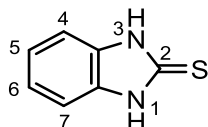
Bu çalışma için öncelikle enzimin yapısı MOE programı kullanılarak hazırlanmıştır. Enzim, amino asit dizilimleri açısından tamamen aynı olan iki yapıdan oluştuğu için bu iki yapılardan bir tanesi üzerinde çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda A ve C olarak adlandırılan zincirler seçilmiş, bütün su molekülleri ve hem ile Ca^{++} dışındaki ligandlar yapıdan kaldırılmıştır. Kalan enzim yapısı protone edilmiş ve enerji minimizasyonuna tabi tutulmuştur. Simülasyonda kullanılacak enzim cebinin tayin edilmesi amacıyla enzim cebini oluşturan amino asitler belirlenmiş ve literatürde rapor edilen moleküler modelleme çalışmaları incelenmiştir (Aldib et al., 2012; Duclos et al., 2017; Fenna et al., 1995; Fiedler et al., 2000; Paul G. Furtmüller et al., 2006; Anthony J. Kettle & Winterbourn, 2016; Soubhye et al., 2013, 2010; Stamper et al., 2011; Zeng & Fenna, 1992) Enzime bağlanma pozisyonları belirlenecek ligandlar MOE programı kullanılarak çizilmiş, protone edilmiş ve enerji minimizasyonları gerçekleştirilmiştir. Enzim ve ligandlar hazırlandıktan sonra kenetlenme çalışması için GOLD programı kullanılmıştır. Literatür çalışmaları sonucunda belirlenen aminoasitleri ve enzimin aktivitesinde anahtar rol oynayan hem grubunu içeren enzim cebi, Gln-91 aminoasidi merkez alınarak 10 Å yarıçapındaki alan olarak belirlenmiştir. Programın varsayılan ayarlarında Chemscore parametreleri ile her bileşik için 100'er poz olacak şekilde çalışma başlatılmıştır. Sonuçlar MOE programıyla görüntülenmiş ve her bileşik için en iyi bağlanma pozisyonu görsel seçim yöntemiyle seçilmiştir.

4. Bulgular

4.1. Spektral Bulgular

4.1.1. Ara Ürünlerin Spektral Bulguları

4.1.1.1. BS Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları



1,3-Dihidro-2*H*-benzo[d]imidazol-2-tiyon

Erime derecesi: 292 °C (Su) [Lit. 290-293°C (Etanol:Su) (Britsun, Esipenko, & Lozinskii, 2006) 301-302°C (Su) (Suri, Khajuria, Saxena, Rawat, & Atal, 1982)]

Verim: %61

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 1)

3150 (N-H gerilmesi), 3113 (Aromatik C-H gerilmesi), 1173 (C=S gerilmesi)

^1H NMR (Spektrum 2)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 7.07-7.17 (4H, m, H4, H5, H6 ve H7) ppm

^{13}C NMR (Spektrum 3)

(100 MHz, DMSO- d_6)

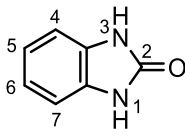
δ 109.5 (C4 ve C7), 122.1 (C5 ve C6), 132.6 (C7a ve C3a), 168.1 (C=S) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 4)

m/z (% Bağıl bolluk)

192.30 [$\text{M}+\text{CH}_3\text{CN}+\text{H}^+$] (16), 151.29 [$\text{M}+\text{H}^+$] (100)

4.1.1.2. BO Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



1,3-Dihidro-2*H*-benzo[*d*]imidazol-2-on

Erime derecesi: 309°C (Su) [Lit. 300°C (Etanol) (Scott & Wood, 1942), 318°C (Etanol) (Yang, Wang, Li, Ye, & Liu, 2009)]

Verim: %93

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 5)

3018 (Aromatik C-H gerilmesi), 1711 (C=O gerilmesi)

^1H NMR (Spektrum 6)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 6.91 (4H, s, H4, H5, H6 ve H7), 10.59 (2H, s, NH) ppm

^{13}C NMR (Spektrum 7)

(100 MHz, DMSO- d_6)

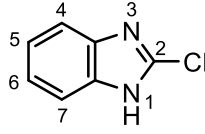
δ 108.5 (C4 ve C7), 120.4 (C5 ve C6), 129.7 (C7a ve C3a), 155.3 (C=O) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 8)

m/z (% Bağlı bolluk)

176.34 $[\text{M}+\text{CH}_3\text{CN}+\text{H}]^+$ (100), 135.28 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (25)

4.1.1.3. BCL Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



2-Kloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol

Erime derecesi: 203°C (Metanol) [Lit. 202-206°C (Etil asetat:Eter) (Blythir et al., 1986)]

Verim: %57

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 9)

3062 (Aromatik C-H gerilmesi)

^1H NMR (Spektrum 10)

(400 MHz, DMSO- d_6)

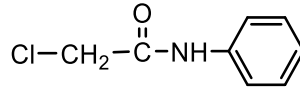
δ 7.19-7.24 (2H, m, H5 ve H6), 7.51 (2H, s, H4 ve H7), 13.23 (1H, s, NH) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 11)

m/z (% Bağlı bolluk)

194.35 $[\text{M}+\text{CH}_3\text{CN}+\text{H}]^+$ (13), 155 $[\text{M}+\text{H}+2]^+$ (36), 153.28 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100)

4.1.1.4. 1 No lu Bileşiğin Spektral Bulguları



2-Kloro-N-fenilasetamit

Erime derecesi: 134°C (Etanol:Su) [Lit. 134-135°C (Iwamoto & Farson, 1946), 134-135°C (Harte & Gunnlaugsson, 2006)]

Verim: %43

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 12)

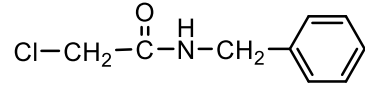
3266 (N-H gerilmesi), 3055 (Aromatik C-H gerilmesi), 2947 (Alifatik C-H gerilmesi), 1668 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1557 (N-H eğilmesi, amit II bandı)

MS (PI-APCI) (Spektrum 13)

m/z (% Bağıl bolluk)

213.35 $[\text{M}+2+\text{CH}_3\text{CN}+\text{H}]^+$ (18), 211.37 $[\text{M}+\text{CH}_3\text{CN}+\text{H}]^+$ (51),
172.26 $[\text{M}+2+\text{H}]^+$ (13), 170.26 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (65)

4.1.1.5. 2 No lu Bileşğin Spektral Bulguları



2-Kloro-*N*-benzilasetamit

Erime derecesi: 90°C (Etanol:Su) [Lit. 93-94°C (Buehler & Mackenzie, 1937), 93.4-94.8 (Hernández-Núñez et al., 2009)]

Verim: %52

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 14)

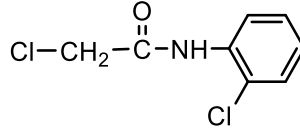
3276 (N-H gerilmesi), 3064 (Aromatik C-H gerilmesi), 2952 (Alifatik C-H gerilmesi), 1647 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1553 (N-H eğilmesi, amit II bandı)

MS (PI-APCI) (Spektrum 15)

m/z (% Bağlı bolluk)

225.38 $[\text{M}+\text{CH}_3\text{CN}+\text{H}]^+$ (16), 184.30 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (3), 91.19 $[\text{C}_7\text{H}_7]^+$ (100)

4.1.1.6. 3 No lu Bileşiğin Spektral Bulguları



2-Kloro-*N*-(2-klorofenil)asetamit

Erime derecesi: 70°C (Etanol:Su) [(Lit. 73°C (Gowda, Usha, & Jayalakshmi, 2003)]

Verim: %83

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 16)

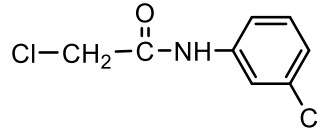
3259 (N-H gerilmesi), 3044 (Aromatik C-H gerilmesi), 2950 (Alifatik C-H gerilmesi), 1670 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1530 (N-H eğilmesi, amit II bandı)

MS (PI-APCI) (Spektrum 17)

m/z (% Bağlı bolluk)

245.32 $[\text{M}+2+\text{CH}_3\text{CN}+\text{H}]^+$ (15), 245.32 $[\text{M}+\text{CH}_3\text{CN}+\text{H}]^+$ (23), 206 $[\text{M}+2+\text{H}]^+$ (7), 204.31 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (11)

4.1.1.7. 4 No lu Bileşğin Spektral Bulguları



2-Kloro-*N*-(3-klorofenil)asetamit

Erime derecesi: 95°C (Etanol:Su) [Lit. 101°C (Beckurts & Frerichs, 1915), 98-100°C (K. S. Lee, Adhikary, Lee, Lee, & Lee, 2003)]

Verim: %95

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 18)

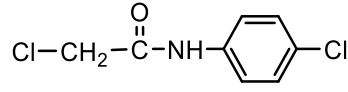
3270 (N-H gerilmesi), 3089 (Aromatik C-H gerilmesi), 2949 (Alifatik C-H gerilmesi), 1677 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1547 (N-H eğilmesi, amit II bandı)

MS (NI-APCI) (Spektrum 19)

m/z (% Bağlı bolluk)

206 $[\text{M}+4-\text{H}]^-$ (10), 204 $[\text{M}+2-\text{H}]^-$ (65), 202.13 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (100)

4.1.1.8. 5 No lu Bileşiğin Spektral Bulguları



2-Kloro-*N*-(4-klorofenil)asetamit

Erime derecesi: 170°C (Etanol:Su) [Lit. 169°C (Beckurts & Frerichs, 1915), 168-170°C (K. S. Lee et al., 2003)]

Verim: %71

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 20)

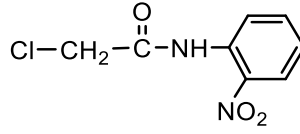
3264 (N-H gerilmesi), 3084 (Aromatik C-H gerilmesi), 2953 (Alifatik C-H gerilmesi), 1667 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1548 (N-H eğilmesi, amit II bandı)

MS (NI-APCI) (Spektrum 21)

m/z (% Bağlı bolluk)

206 $[\text{M}+4-\text{H}]^-$ (10), 204 $[\text{M}+2-\text{H}]^-$ (65), 202.13 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (100)

4.1.1.9. 6 No lu Bileşğin Spektral Bulguları



2-Kloro-*N*-(2-nitrofenil)asetamit

Erime derecesi: 83°C (Etanol:Su) [Lit. 88°C (Etanol) (Beckurts & Frerichs, 1915)]

Verim: %58

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 22)

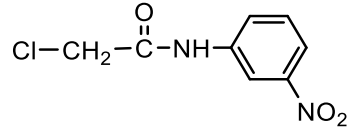
3307 (N-H gerilmesi), 3019 (Aromatik C-H gerilmesi), 2961 (Alifatik C-H gerilmesi), 1683 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1557 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1496 (Aromatik NO₂ asimetrik gerilmesi), 1336 (Aromatik NO₂ simetrik gerilmesi)

MS (NI-APCI) (Spektrum 23)

m/z (% Bağlı bolluk)

213.13 [M-H]⁻ (1), 136.88 [C₆H₅N₂O₂]⁻ (100)

4.1.1.10. 7 No lu Bileşiğin Spektral Bulguları



2-Kloro-*N*-(3-nitrofenil)asetamit

Erime derecesi: 98°C (Etanol:Su) [Lit. 101-102°C (Metanol) (Harvill, Herbst, & Schreiner, 1952)]

Verim: %65

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 24)

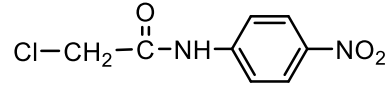
3301 (N-H gerilmesi), 3086 (Aromatik C-H gerilmesi), 2955 (Alifatik C-H gerilmesi), 1682 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1522 (N-H eğilmesi, amit II bandı ve Aromatik NO₂ asimetric gerilmesi), 1348 (Aromatik NO₂ simetric gerilmesi)

MS (NI-APCI) (Spektrum 25)

m/z (% Bağlı bolluk)

215.15 [M+2-H]⁻ (33), 213.14 [M-H]⁻ (100)

4.1.1.11. 8 No lu Bileşiğin Spektral Bulguları



2-Kloro-*N*-(4-nitrofenil)asetamit

Erime derecesi: 177°C (Etanol:Su) [Lit. 182°C (Beckurts & Frerichs, 1915), 181-183°C (K. S. Lee et al., 2003)]

Verim: %62

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 26)

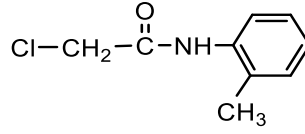
3275 (N-H gerilmesi), 3106 (Aromatik C-H gerilmesi), 2943 (Alifatik C-H gerilmesi), 1685 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1567 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1503 (Aromatik NO₂ asimetric gerilmesi), 1335 (Aromatik NO₂ simetric gerilmesi)

MS (NI-APCI) (Spektrum 27)

m/z (% Bağlı bolluk)

215.16 [M+2-H]⁻ (35), 213.14 [M-H]⁻ (100)

4.1.1.12. 9 No lu Bileşiğin Spektral Bulguları



2-Kloro-*N*-(2-metilfenil)asetamit

Erime derecesi: 110°C (Etanol:Su) [Lit. 111°C (Metanol) (Kim & Kwon, 1982), 109-110°C (Jablonkai, 2003)]

Verim: %76

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 28)

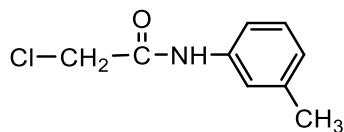
3267 (N-H gerilmesi), 3044 (Aromatik C-H gerilmesi), 2961 (Alifatik C-H gerilmesi), 1662 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1540 (N-H eğilmesi, amit II bandı)

MS (PI-APCI) (Spektrum 29)

m/z (% Bağlı bolluk)

225.35 $[\text{M}+\text{CH}_3\text{CN}+\text{H}]^+$ (14), 186 $[\text{M}+\text{H}+2]^+$ (9), 184.30 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (37), 108.25 $[\text{C}_7\text{H}_8\text{N}]^+$ (100)

4.1.1.13. 10 No lu Bileşiğin Spektral Bulguları



2-Kloro-*N*-(3-metilfenil)asetamit

Erime derecesi: 90°C (Etanol:Su) [Lit. 90-91°C (Beckurts & Frerichs, 1915), 92-93°C (Matulenko et al., 2004)]

Verim: %82

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 30)

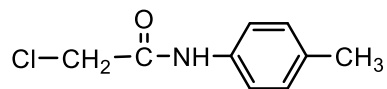
3294 (N-H gerilmesi), 3093 (Aromatik C-H gerilmesi), 2961 (Alifatik C-H gerilmesi), 1666 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1556 (N-H eğilmesi, amit II bandı)

MS (PI-APCI) (Spektrum 31)

m/z (% Bağlı bolluk)

225.35 $[\text{M}+\text{CH}_3\text{CN}+\text{H}]^+$ (29), 186 $[\text{M}+2+\text{H}]^+$ (19), 184.29 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (73), 108.28 $[\text{C}_7\text{H}_8\text{N}]^+$ (100)

4.1.1.14. 11 No lu Bileşğin Spektral Bulguları



2-Kloro-*N*-(4-metilfenil)asetamit

Erime derecesi: 163°C (Etanol:Su) [Lit. 163°C (Harvill et al., 1952), 163°C (Harte & Gunnlaugsson, 2006)]

Verim: %78

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 32)

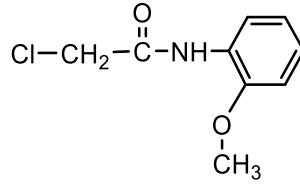
3273 (N-H gerilmesi), 3093 (Aromatik C-H gerilmesi), 2954 (Alifatik C-H gerilmesi), 1670 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1552 (N-H eğilmesi, amit II bandı)

MS (PI-APCI) (Spektrum 33)

m/z (% Bağlı bolluk)

225.38 $[\text{M}+\text{CH}_3\text{CN}+\text{H}]^+$ (6), 184.29 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (14), 108.28 $[\text{C}_7\text{H}_8\text{N}]^+$ (100)

4.1.1.15. 12 No lu Bileşiğin Spektral Bulguları



2-Kloro-*N*-(2-metoksifenil)asetamit

Erime derecesi: 39°C (Etanol:Su) [Lit. 48.5-49°C (Heidelberger & Jacobs, 1919), 40-43°C (Matulenko et al., 2004)]

Verim: %95

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 34)

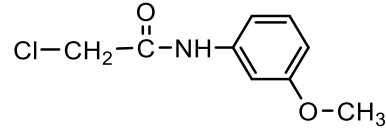
3278 (N-H gerilmesi), 3107 (Aromatik C-H gerilmesi), 2942 (Alifatik C-H gerilmesi), 1675 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1558 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1212 (Aril alkil eter C-O asimetrik gerilmesi), 1047 (Aril alkil eter C-O simetrik gerilmesi)

MS (PI-APCI) (Spektrum 35)

m/z (% Bağlı bolluk)

202.32 $[\text{M}+2+\text{H}]^+$ (3), 200.30 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (11), 124.32 $[\text{C}_7\text{H}_8\text{NO}]^+$ (100), 109 $[\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}]^+$ (98)

4.1.1.16. 13 No lu Bileşiğin Spektral Bulguları



2-Kloro-*N*-(3-metoksifenil)asetamit

Erime derecesi: 87°C (Etanol:Su) [(Lit. 90.5-91.5 °C (Heidelberger & Jacobs, 1919), 92-94 (Matulenko et al., 2004)]

Verim: %67

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 36)

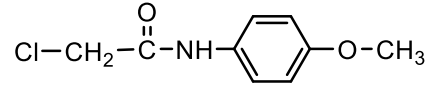
3274 (N-H gerilmesi), 3106 (Aromatik C-H gerilmesi), 2961 (Alifatik C-H gerilmesi), 1672 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1561 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1215 (Aril alkil eter C-O asimetrik gerilmesi), 1048 (Aril alkil eter C-O simetrik gerilmesi)

MS (PI-APCI) (Spektrum 37)

m/z (% Bağlı bolluk)

202.34 $[\text{M}+2+\text{H}]^+$ (4), 200.31 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (12)

4.1.1.17. 14 No lu Bileşiğin Spektral Bulguları



2-Kloro-*N*-(4-metoksifenil)asetamit

Erime derecesi: 120°C (Etanol:Su) [Lit. 122°C (Beckurts & Frerichs, 1915), 119-121°C (K. S. Lee et al., 2003)]

Verim: %75

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 38)

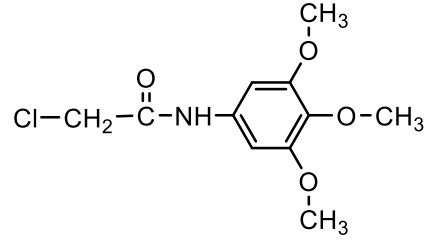
3293 (N-H gerilmesi), 3071 (Aromatik C-H gerilmesi), 2959 (Alifatik C-H gerilmesi), 1662 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1543 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1245 (Aril alkil eter C-O asimetric gerilmesi), 1029 (Aril alkil eter C-O simetric gerilmesi)

MS (PI-APCI) (Spektrum 39)

m/z (% Bağlı bolluk)

241.37 $[\text{M}+\text{CH}_3\text{CN}+\text{H}]^+$ (23), 202 $[\text{M}+2+\text{H}]^+$ (20), 200.29 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (80),
124.31 $[\text{C}_7\text{H}_8\text{NO}]^+$ (100)

4.1.1.18. 15 No lu Bileşiğin Spektral Bulguları



2-Kloro-*N*-(3,4,5-trimetoksifenil)asetamit

Erime derecesi: 91°C (Etanol:Su) [Lit. 97-98°C (Benington, Morin, & Clark, 1955)]

Verim: %82

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 40)

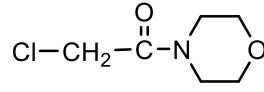
3277, 3220 (N-H gerilmesi), 3107 (Aromatik C-H gerilmesi), 2967 (Alifatik C-H gerilmesi), 1681 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1566 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1227 (Aril alkil eter C-O asimetric gerilmesi), 1007 (Aril alkil eter C-O simetric gerilmesi)

MS (PI-APCI) (Spektrum 41)

m/z (% Bağlı bolluk)

262 $[\text{M}+2+\text{H}]^+$ (25), 260.35 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (96), 226.40 $[\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{NO}_4]^+$ (100)

4.1.1.19. 16 No lu Bileşiğin Spektral Bulguları



2-Kloro-1-morfolinoetan-1-on

Verim: %52

IR ν_{maks} (cm^{-1}) (Spektrum 42)

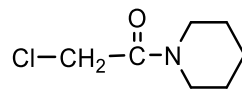
2968 (Alifatik C-H gerilmesi), 1642 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1111 (Alifatik eter asimetrik C-O gerilmesi)

MS (PI-APCI) (Spektrum 43)

m/z (% Bağlı bolluk)

205.36 $[\text{M}+\text{CH}_3\text{CN}+\text{H}]^+$ (18), 166 $[\text{M}+\text{H}+2]^+$ (21), 164.27 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (21), 88.19 $[\text{C}_4\text{H}_8\text{NO}]^+$ (100)

4.1.1.20. 17 No lu Bileşiğın Spektral Bulguları



2-Kloro-1-piperidinoetan-1-on

Verim: %76

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 44)

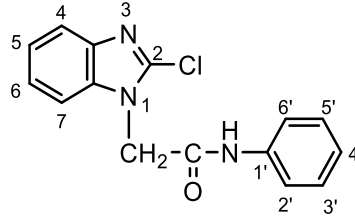
2968 (Alifatik C-H gerilmesi), 1642 (C=O gerilmesi, amit I bandı)

MS (PI-APCI) (Spektrum 45)

m/z (% Bağlı bolluk)

203.38 $[\text{M}+\text{CH}_3\text{CN}+\text{H}]^+$ (10), 164 $[\text{M}+2+\text{H}]^+$ (25), 162.31 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100)

4.1.1.21. BCL1 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



2-(2-Kloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)-*N*-fenilasetamit

Erime derecesi: 196°C (Metanol)

Verim: %67

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 46)

3295 (N-H gerilmesi), 3058 (Aromatik C-H gerilmesi), 2928 (Alifatik C-H gerilmesi), 1660 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1538 (N-H eğilmesi, amit II bandı)

^1H NMR (Spektrum 47)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 5.16 (2H, s, CH₂), 7.07 (1H, t, $J=7.5$ Hz, H4'), 7.23-7.33 (4H, m, H5, H6, H3' ve H5'), 7.56-7.63 (4H, m, H4, H7, H2' ve H6'), 10.50 (1H, s, NH) ppm

^{13}C NMR (Spektrum 48)

(100 MHz, DMSO- d_6)

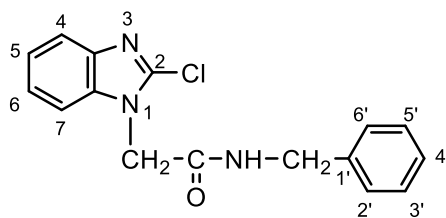
δ 46.7 (CH₂), 110.5, 118.6, 119.1, 122.4, 123.1, 123.7, 128.9, 135.8, 138.4, 140.7, 140.9, 164.5 (C=O) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 49)

m/z (% Bağlı bolluk)

288.41 [M+2+H]⁺ (23), 286.43 [M+H]⁺ (59), 250.41 [C₁₅H₁₁N₃O]⁺ (100)

4.1.1.22. BCL2 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N-Benzil-2-(2-kloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit

Erime derecesi: 236°C (Metanol)

Verim: %48

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 50)

3300 (N-H gerilmesi), 3064 (Aromatik C-H gerilmesi), 2875 (Alifatik C-H gerilmesi), 1654 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1552 (N-H eğilmesi, amit II bandı)

^1H NMR (Spektrum 51)

(400 MHz, DMSO- d_6)

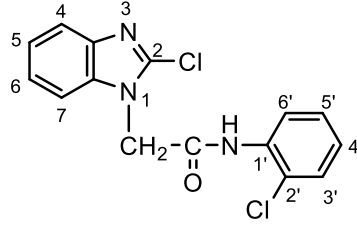
δ 4.34 (2H, d, $J=5.9$ Hz, NH-CH₂), 5.02 (2H, s, CH₂), 7.23-7.36 (7H, m, H5, H6, H2', H3', H4', H5' ve H6'), 7.54 (1H, d, $J=8.7$ Hz, H4 veya H7), 7.62 (1H, d, $J=7.4$ Hz, H4 veya H7), 8.88 (1H, t, $J=5.4$ Hz, NH) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 52)

m/z (% Bağlı bolluk)

302.41 $[\text{M}+2+\text{H}]^+$ (10), 300.40 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (47)

4.1.1.23. BCL3 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N-(2-Klorofenil)-2-(2-kloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit

Erime derecesi: 198°C (Asetonitril)

Verim: %51

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 53)

3253 (N-H gerilmesi), 3059 (Aromatik C-H gerilmesi), 2935, (Alifatik C-H gerilmesi), 1670 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1539 (N-H eğilmesi, amit II bandı)

^1H NMR (Spektrum 54)

(400 MHz, DMSO- d_6)

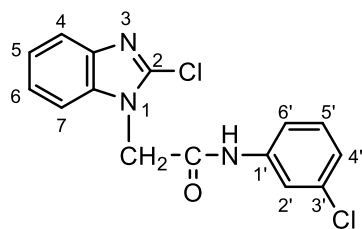
δ 5.29 (2H, s, CH₂), 7.20-7.35 (4H, m, H5, H6, H4' H5'), 7.53 (1H, dd, $J=8.0$; 1.5 Hz, H3'), 7.60-7.64 (2H, m, H4 ve H7), 7.73 (1H, dd, $J=8.1$; 1.6 Hz, H6'), 10.13 (1H, s, NH) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 55)

m/z (% Bağlı bolluk)

322.38 $[\text{M}+2+\text{H}]^+$ (27), 320.34 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (53), 286.35 $[\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{ClN}_3\text{O}+2]^+$ (27), 284.36 $[\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{ClN}_3\text{O}]^+$ (92), 221.37 $[\text{C}_{10}\text{H}_7\text{ClN}_3\text{O}]^+$ (100)

4.1.1.24. BCL4 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N-(3-Klorofenil)-2-(2-kloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit

Erime derecesi: 190°C (Asetonitril)

Verim: %37

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 56)

3302 (N-H gerilmesi), 3061 (Aromatik C-H gerilmesi), 2922 (Alifatik C-H gerilmesi), 1669 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1542 (N-H eğilmesi, amit II bandı)

¹H NMR (Spektrum 57)

(400 MHz, DMSO-*d*₆)

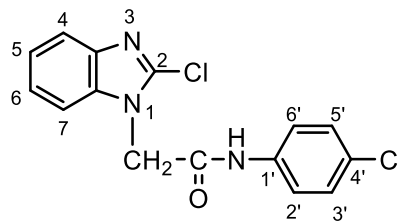
δ 5.19 (2H, s, CH₂), 7.14-7.16 (1H, m, H4'), 7.25-7.33 (2H, m, H5 ve H6), 7.37 (1H, t, *J*=8.2 Hz, H5'), 7.44-7.47 (1H, m, H6'), 7.59-7.61 (1H, m, H4 veya H7), 7.62-7.65 (1H, m, H4 veya H7), 7.77 (1H, t, *J*=2.1 Hz, H2'), 10.73 (1H, s, NH) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 58)

m/z (% Bağlı bolluk)

324 [M+4+H]⁺ (6), 322 [M+2+H]⁺ (23), 320.36 [M+H]⁺ (66),
286.34 [C₁₅H₁₀ClN₃O+2]⁺ (25), 284.33 [C₁₅H₁₀ClN₃O]⁺ (100)

4.1.1.25. BCL5 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları



N-(4-Klorofenil)-2-(2-kloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit

Erime derecesi: 191°C (Asetonitril)

Verim: %47

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 59)

3232 (N-H gerilmesi), 3029 (Aromatik C-H gerilmesi), 2943 (Alifatik C-H gerilmesi), 1699 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1548 (N-H eğilmesi, amit II bandı)

¹H NMR (Spektrum 60)

(400 MHz, DMSO-*d*₆)

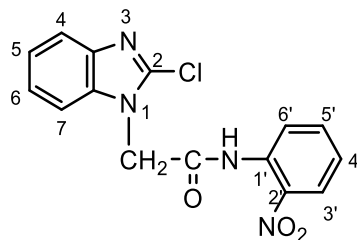
δ 5.18 (2H, s, CH₂), 7.24-7.32 (2H, m, H5 ve H6), 7.38 (2H, d, *J*= 8.8 Hz, H3' ve H5'), 7.59-7.64 (4H, m, H4, H7, H2' ve H6'), 10.69 (1H, s, NH) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 61)

m/z (% Bağıl bolluk)

324 [M+4+H]⁺ (4), 322 [M+2+H], (24), 320.36 [M+H]⁺ (37),
286 [C₁₅H₁₀ClN₃O+2]⁺ (30), 284.33 [C₁₅H₁₀ClN₃O]⁺ (96)

4.1.1.26. BCL6 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N-(2-Nitrofenil)-2-(2-kloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit

Erime derecesi: 228°C (Asetonitril)

Verim: %21

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 62)

3057 (Aromatik C-H gerilmesi), 2976 (Alifatik C-H gerilmesi), 1633 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1561 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1526 (Aromatik NO₂ asimetric gerilmesi), 1355 (Aromatik NO₂ simetric gerilmesi)

¹H NMR (Spektrum 63)

(400 MHz, DMSO-*d*₆)

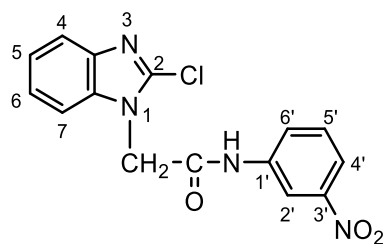
δ 5.08 (2H, s, CH₂), 7.17 (1H, td, $J=7.5$; 1.5 Hz, H5 veya H6), 7.22 (1H, td, $J=7.6$; 1.4 Hz, H5 veya H6), 7.45-7.47 (1H, m, H4 veya H7), 7.50-7.52 (1H, m, H4 veya H7), 7.79-7.83 (1H, m, H4'), 7.94 (1H, dd, $J=8.0$; 1.5 Hz, H6'), 8.01 (1H, td, $J=7.7$; 1.5 Hz, H5'), 8.26 (1H, dd, $J=8.2$; 1.4 Hz, H3') ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 64)

m/z (% Bağıl bolluk)

333.40 [M+2+H]⁺ (16), 331.39 [M+H]⁺ (53), 295.32 [C₁₅H₁₀N₄O₃]⁺ (48)

4.1.1.27. BCL7 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N-(3-Nitrofenil)-2-(2-kloro-1*H*-benzo[d]imidazol-1-il)asetamit

Erime derecesi: 182°C (Asetonitril)

Verim: %37

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 65)

3232 (NH gerilmesi), 3061 (Aromatik C-H gerilmesi), 2957 (Alifatik C-H gerilmesi), 1702 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1552 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1522 (Aromatik NO₂ asimetrik gerilmesi), 1342 (Aromatik NO₂ simetrik gerilmesi)

¹H NMR (Spektrum 66)

(400 MHz, DMSO-*d*₆)

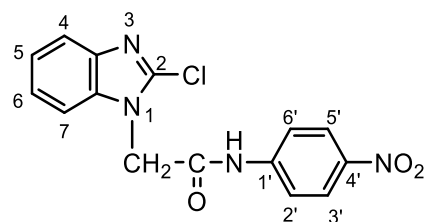
δ 5.24 (2H, s, CH₂), 7.26-7.34 (2H, m, H5 veya H6), 7.61-7.67 (3H, m, H4, H7 ve H5'), 7.91-7.97 (2H, m, H4' ve H6'), 8.58-8.59 (1H, m, H2'), 10.05 (1H, s, NH) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 67)

m/z (% Bağlı bolluk)

331.33 [M+H]⁺ (44), 295.30 [C₁₅H₁₀N₄O₃]⁺ (100)

4.1.1.28. BCL8 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları



N-(4-Nitrofenil)-2-(2-kloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit

Erime derecesi: 193°C (Metanol)

Verim: %29

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 68)

3217 (N-H gerilmesi), 3089 (Aromatik C-H gerilmesi), 2971 (Alifatik C-H gerilmesi), 1713 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1567 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1505 (Aromatik NO₂ asimetrik gerilmesi), 1343 (Aromatik NO₂ simetrik gerilmesi)

¹H NMR (Spektrum 69)

(400 MHz, DMSO-*d*₆)

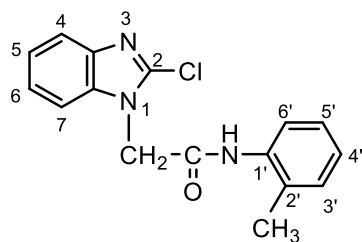
δ 5.26 (2H, s, CH₂), 7.25-7.34 (2H, m, H5 ve H6), 7.63 (2H, t, *J*=8.2 Hz, H4 ve H7), 7.84 (2H, d, *J*=9.0 Hz, H2' ve H6'), 8.25 (2H, d, *J*=9.0 Hz, H3' ve H5'), 11.16 (1H, s, NH) ppm

MS (NI-APCI) (Spektrum 70)

m/z (% Bağlı bolluk)

329.21 [M-H]⁻ (48), 293.22 [C₁₅H₁₀N₄O₃]⁻ (100)

4.1.1.29. BCL9 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N-(2-Metilfenil)-2-(2-kloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit

Erime derecesi: 206°C (Su)

Verim: %80

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 71)

3256 (N-H gerilmesi), 3057 (Aromatik C-H gerilmesi), 2935 (Alifatik C-H gerilmesi), 1662 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1538 (N-H eğilmesi, amit II bandı)

^1H NMR (Spektrum 72)

(400 MHz, DMSO- d_6)

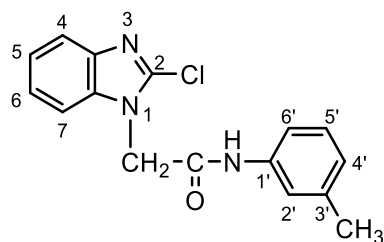
δ 2.26 (3H, s, CH₃), 5.22 (2H, s, CH₂), 7.10 (1H, t, $J=7.4$ Hz, H4'), 7.16 (1H, d, $J=7.6$, H5'), 7.23-7.34 (3H, m, H5, H6 ve H3'), 7.40 (1H, d, $J=7.8$ Hz, H6'), 7.61-7.64 (2H, m, H4 ve H7) 9.86 (1H, s, NH) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 73)

m/z (% Bağlı bolluk)

302.41 [M+2+H]⁺ (10), 300.41 [M+H]⁺ (35), 264.39 [C₁₆N₁₃N₃O]⁺ (100)

4.1.1.30. BCL10 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N-(3-Metilfenil)-2-(2-kloro-1*H*-benzo[d]imidazol-1-il)asetamit

Erime derecesi: 198°C (Asetonitril)

Verim: %74

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 74)

3313 (N-H gerilmesi), 3053 (Aromatik C-H gerilmesi), 2928 (Alifatik C-H gerilmesi), 1665 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1548 (N-H eğilmesi, amit II bandı)

^1H NMR (Spektrum 75)

(400 MHz, DMSO- d_6)

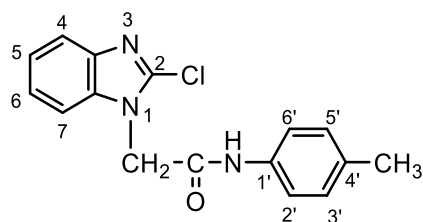
δ 2.27 (3H, s, CH₃), 5.16 (2H, s, CH₂), 6.90 (1H, d, $J=7.5$ Hz, H4'), 7.20 (1H, t, $J=7.8$ Hz, H5'), 7.24-7.33 (2H, m, H5 ve H6), 7.35 (1H, d, $J=8.3$ Hz, H6'), 7.43 (1H, s, H2'), 7.59 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H4 veya H7), 7.63 (1H, d, $J=7.8$ Hz, H4 veya H7), 10.45 (1H, s, NH) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 76)

m/z (% Bağlı bolluk)

302.41 [M+2+H]⁺ (12), 300.41 [M+H]⁺ (46), 264.41 [C₁₆N₁₃N₃O]⁺ (93)

4.1.1.31. BCL11 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N-(4-Metilfenil)-2-(2-kloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit

Erime derecesi: 196°C (Asetonitril)

Verim: %41

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 77)

3299 (N-H gerilmesi), 3086 (Aromatik C-H gerilmesi), 2914 (Alifatik C-H gerilmesi), 1657 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1546 (N-H eğilmesi, amit II bandı)

¹H NMR (Spektrum 78)

(400 MHz, DMSO-*d*₆)

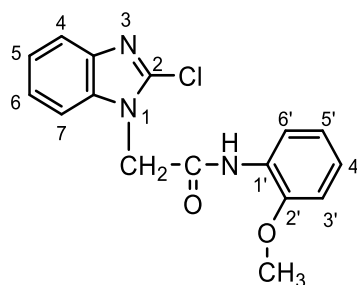
δ 2.25 (3H, s, CH₃), 5.16 (2H, s, CH₂), 7.13 (2H, d, *J*=8.2 Hz, H3' ve H5'), 7.24-7.33 (2H, m, H5 ve H6), 7.47 (2H, d, *J*=8.3 Hz, H2' ve H6'), 7.59 (1H, d, *J*=8.1 Hz, H4 veya H7), 7.63 (1H, d, *J*=7.8 Hz, H4 veya H7), 10.44 (1H, s, NH) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 79)

m/z (% Bağlı bolluk)

302.39 [M+H+2]⁺ (21), 300.41 [M+H]⁺ (61), 264.38 [C₁₆N₁₃N₃O]⁺ (100)

4.1.1.32. BCL12 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları



N-(2-Metoksifenil)-2-(2-kloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit

Erime derecesi: 189°C (Asetonitril)

Verim: %61

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 80)

3304 (N-H gerilmesi), 3075 (Aromatik C-H gerilmesi), 2930 (Alifatik C-H gerilmesi), 1666 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1542 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1229 (Aril alkil eter C-O asimetrik gerilmesi), 1042 (Aril alkil eter C-O simetrik gerilmesi)

¹H NMR (Spektrum 81)

(400 MHz, DMSO-*d*₆)

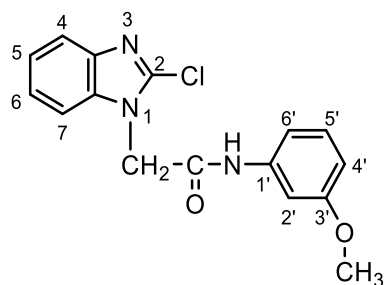
δ 3.71 (3H, s, OCH₃), 5.17 (2H, s, CH₂), 6.67 (1H, ddd, *J*=8.2; 2.6; 0.9 Hz, H3' veya H6'), 7.09-7.12 (1H, m, H3' veya H6'), 7.23-7.33 (4H, m, H5, H6, H4' ve H5'), 7.59-7.61 (1H, m, H4 veya H7), 7.62-7.65 (1H, m, H4 veya H7), 10.53 (1H, s, NH) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 82)

m/z (% Bağlı bolluk)

318.44 [M+2+H]⁺ (9), 316.38 [M+H]⁺ (30), 280.42 [C₁₆H₁₃N₃O₂]⁺ (100)

4.1.1.33. BCL13 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N-(3-Metoksifenil)-2-(2-kloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit

Erimе derecesi: 188°C (Asetonitril)

Verim: %53

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 83)

3303 (N-H gerilmesi), 3071, 3017 (Aromatik C-H gerilmesi), 2929, 2829 (Alifatik C-H gerilmesi), 1665 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1542 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1228 (Aril alkil eter C-O asimetrik gerilmesi), 1042 (Aril alkil eter C-O simetrik gerilmesi)

^1H NMR (Spektrum 84)

(400 MHz, DMSO- d_6)

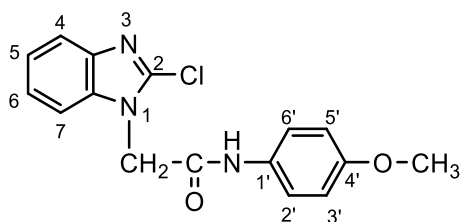
δ 3.71 (3H, s, OCH₃), 5.17 (2H, s, CH₂), 6.67 (1H, dd, $J=8.2$; 2.5 Hz, H4' veya H6'), 7.09-7.12 (1H, m, H4' veya H6'), 7.24-7.33 (4H, m, H5, H6, H2', H5'), 7.60 (1H, d, $J=8.1$ Hz, H4 veya H7), 7.63 (1H, d, $J=7.9$ Hz, H4 veya H7), 10.54 (1H, s, NH) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 85)

m/z (% Bağıl bolluk)

318.38 [M+2+H]⁺ (10), 316.41 [M+H]⁺ (29), 280.40 [C₁₆H₁₃N₃O₂]⁺ (100)

4.1.1.34. BCL14 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları



N-(4-Metoksifenil)-2-(2-kloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit

Erime derecesi: 188°C (Asetonitril)

Verim: %51

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 86)

3287 (N-H gerilmesi), 3057 (Aromatik C-H gerilmesi), 2932 (Alifatik C-H gerilmesi), 1665 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1535 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1238 (Aril alkil eter C-O asimetric gerilmesi), 1033 (Aril alkil eter C-O simetric gerilmesi)

¹H NMR (Spektrum 87)

(400 MHz, DMSO-*d*₆)

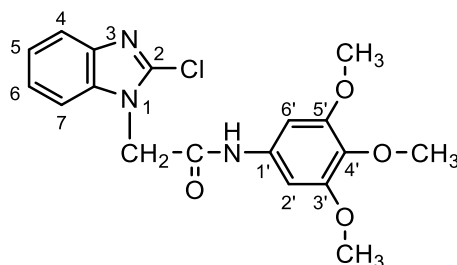
δ 3.72 (3H, s, OCH₃), 5.14 (2H, s, CH₂), 6.90 (2H, d, $J=9.0$ Hz, H3' ve H5'), 7.24 (2H, m, H5 ve H6), 7.50 (2H, d, $J=9.0$ Hz, H2' ve H6'), 7.58-7.61 (1H, m, H4 veya H7), 7.61-7.64 (1H, m, H4 veya H7), 10.39 (1H, s, NH) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 88)

m/z (% Bağlı bolluk)

318.41 [M+2+H]⁺ (9), 316.39 [M+H]⁺ (34), 280.38 [C₁₆H₁₃N₃O₂]⁺ (100)

4.1.1.35. BCL15 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N-(3,4,5-Trimetoksifenil)-2-(2-kloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit

Erime derecesi: 211°C (Asetonitril)

Verim: %60

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 89)

3267 (N-H gerilmesi), 3064 (Aromatik C-H gerilmesi), 2936 (Alifatik C-H gerilmesi), 1677 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1544 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1230 (Aril alkil eter C-O asimetrik gerilmesi), 994 (Aril alkil eter C-O simetrik gerilmesi)

¹H NMR (Spektrum 90)

(400 MHz, DMSO-*d*₆)

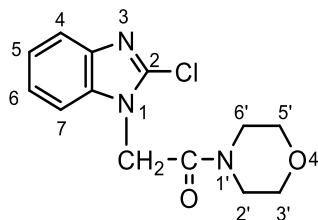
δ 3.62 (3H, s, OCH₃-4'), 3.72 (6H, s, OCH₃-3' ve OCH₃-5'), 5.15 (2H, s, CH₂), 6.97 (2H, s, H2' ve H6'), 7.26 (1H, td, *J*=7.5; 1.4 Hz, H5 veya H6), 7.31 (1H, td, *J*=7.6; 1.4 Hz, H5 veya H6), 7.58-7.60 (1H, m, H4 veya H7), 7.62-7.64 (1H, m, H4 veya H7), 10.50 (1H, s, NH) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 91)

m/z (% Bağlı bolluk)

376.48 [M+H]⁺ (11), 340.42 [C₁₈H₁₇N₃O₄]⁺ (100)

4.1.1.36. BCL16 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



2-(2-Kloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)-1-morfolinoetan-1-on

Erime derecesi: 206°C (Su)

Verim: %43

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 92)

2982, 2896 (Alifatik C-H gerilmesi), 1649 (C=O gerilmesi, amit I bandı)

^1H NMR (Spektrum 93)

(400 MHz, DMSO- d_6)

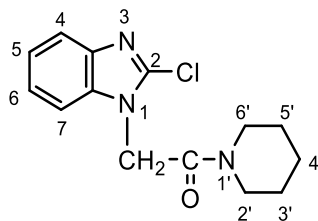
δ 3.44-3.46 (2H, m, Morf-H), 3.58-3.63 (4H, m, Morf-H), 3.70-3.72 (2H, m, Morf-H), 5.31 (2H, s, CH₂), 7.22-7.30 (2H, m, H5 ve H6), 7.53-7.56 (1H, m, H4 veya H7), 7.59-7.62 (1H, m, H4 veya H7) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 94)

m/z (% Bağıl bolluk)

282.38 [M+2+H]⁺ (29), 280.38 [M+H]⁺ (100)

4.1.1.37. BCL17 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları



2-(2-Kloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)-1-(piperidin-1-il)etan-1-on

Erime derecesi: 237°C (Su)

Verim: %60

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 95)

3057 (Aromatik C-H gerilmesi), 2938 (Alifatik C-H gerilmesi), 1647 (C=O gerilmesi, amit I bandı)

^1H NMR (Spektrum 96)

(400 MHz, DMSO- d_6)

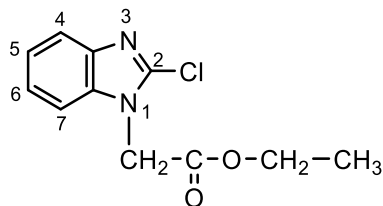
δ 1.46 (2H, s, Pip-H), 1.62-1.65 (4H, m, Pip-H), 3.43 (2H, t, $J=5.6$ Hz, Pip-H), 3.55 (2H, s, Pip-H), 5.27 (2H, s, CH₂), 7.21-7.29 (2H, m, H5 ve H6), 7.51-7.54 (1H, m, H4 veya H7), 7.59-7.61 (1H, m, H4 veya H7) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 97)

m/z (% Bağlı bolluk)

280.40 $[\text{M}+2+\text{H}]^+$ (33), 278.42 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100), 242.42 $[\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}]^+$ (90)

4.1.1.38. BCL18 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



Etil 2-(2-kloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetat

Erime derecesi: 99°C (Metanol) [Lit. 107-108°C (Logachev, Povstyanoi, & Kochergin, 1976)]

Verim: %83

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 98)

3021 (Aromatik C-H gerilmesi), 2975 (Alifatik C-H gerilmesi), 1737 (C=O gerilmesi), 1217 (Alifatik eter asimetrik C-O gerilmesi)

^1H NMR (Spektrum 99)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 1.22 (3H, t, $J=7.1$ Hz, CH₃), 4.19 (2H, q, $J=7.1$ Hz, CH₂), 5.26 (2H, s, CH₂), 7.25-7.33 (2H, m, H5 ve H6), 7.62-7.64 (2H, m, H4 ve H7) ppm

^{13}C NMR (Spektrum 100)

(100 MHz, DMSO- d_6)

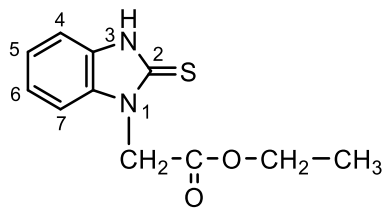
δ 13.9, 45.0, 61.6, 110.5, 118.6, 122.6, 123.2, 135.4, 140.4, 140.9, 167.4 ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 101)

m/z (% Bağlı bolluk)

241.35 [$\text{M}+2+\text{H}$]⁺ (26), 239.32 [$\text{M}+\text{H}$]⁺ (100), 211.31 [$\text{C}_9\text{H}_6\text{ClN}_2\text{O}_2$]⁺ (90)

4.1.1.39. BSE Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



Etil 2-(2-tiyokso-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetat

Erime derecesi: 139°C (Metanol)

Verim: %91

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 102)

3144 (N-H gerilmesi), 2992 (Aromatik C-H gerilmesi), 2957 (Alifatik C-H gerilmesi), 1729 (C=O gerilmesi), 1215 (Alifatik eter asimetrik C-O gerilmesi), 1196 (C=S gerilmesi)

^1H NMR (Spektrum 103)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 1.21 (3H, t, $J=7.1$ Hz, CH₃), 4.16 (2H, q, $J=7.1$ Hz, CH₂-CH₃), 5.11 (2H, s, CH₂), 7.16-7.24 (3H, m, Benzimi-H), 7.35-7.40 (1H, m, Benzimi-H), 12.88 (1H, bs, NH) ppm

^{13}C NMR (Spektrum 104)

(100 MHz, DMSO- d_6)

δ 13.9, 14.1, 44.6, 61.2, 66.9, 109.8, 122.4, 123.1, 130.7, 132.8, 160.1, 161.8, 167.4, 169.0 ppm

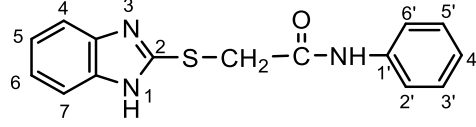
MS (NI-APCI) (Spektrum 105)

m/z (% Bağlı bolluk)

237.17 [M+2-H]⁻ (2), 235.16 [M-H]⁻ (29)

4.1.2. Final Ürünlerinin Spektral Bulguları

4.1.2.1. B1 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları



2-((1*H*-Benzo[d]imidazol-2-il)tiyo)-*N*-fenilasetamit

Erime derecesi: 203°C (Asetonitril) [Lit. 202.5-204.5 °C (Metanol) (Venkatachala, Highstown, & Rudiger, 1973)]

Verim: %13

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 106)

3266 (N-H gerilmesi), 3041 (Aromatik C-H gerilmesi), 2955 (Alifatik C-H gerilmesi), 1675 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1527 (N-H eğilmesi, amit II bandı)

¹H NMR (Spektrum 107)

(400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 4.26 (2H, s, CH₂), δ 7.05 (1H, t, *J*=7.4 Hz, H4'), 7.12-7.16 (2H, m, H5 ve H6), 7.31 (2H, t, *J*=7.9 Hz, H3' ve H5'), 7.45 (2H, bs, H4 ve H7), 7.56-7.59 (2H, m, H2' ve H6'), 10.49 (1H, s, Amit-NH), 12.63 (1H, s, Benzimi-NH) ppm

¹³C NMR (Spektrum 108)

(100 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 36.2 (CH₂), 119.4, 121.5, 123.5, 128.8, 138.8, 149.8 (C-S), 166.1 (C=O) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 109)

m/z (% Bağlı bolluk)

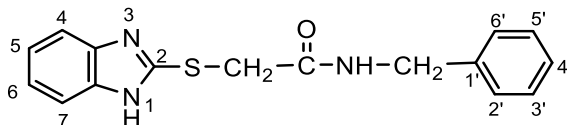
284.31 [M+H]⁺ (38), 191.23 [C₉H₆N₂OS]⁺ (98), 163.19 [C₈H₇N₂S]⁺ (100)

Elementel Analiz (%) C₁₅H₁₃N₃OS. 1H₂O. 0.05CH₃CN

Hesaplanan: C, 59.77; H, 5.03; N, 14.08; S, 10.57

Bulunan: C, 60.18; H, 4.90; N, 13.69; S, 10.37

4.1.2.2. B2 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları



2-((1*H*-Benzo[*d*]imidazol-2-il)tiyo)-*N*-benzilasetamid

Erime derecesi: 191°C (Asetonitril) [Lit. 188-189°C (Etanol) (Mustafa, Ali, & Abou-State, 1970)]

Verim: %11

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 110)

3302 (N-H gerilmesi), 3070 (Aromatik C-H gerilmesi), 2922 (Alifatik C-H gerilmesi), 1651 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1545 (N-H eğilmesi, amit II bandı)

¹H NMR (Spektrum 111)

(600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 4.09 (2H, s, CH₂), 4.32 (2H, d $J=5.8$ Hz, NH-CH₂), 7.11-7.15 (2H, m, H5 ve H6), 7.19-7.22 (1H, m, H4'), 7.24-7.25 (4H, m, H2', H3', H5' ve H6'), 7.43-7.45 (2H, m, H4 ve H7), 8.80 (1H, s, Amit-NH), 12.60 (1H, bs, Benzimi-NH) ppm

¹³C NMR (Spektrum 112)

(100 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 35.0 (CH₂), 42.5 (NH-CH₂), 121.4, 126.7, 127.0, 128.2, 139.0, 149.8 (C-S), 167.4 (C=O) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 113)

m/z (% Bağlı bolluk)

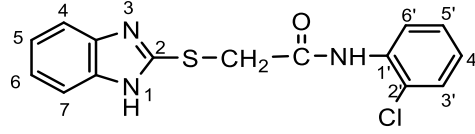
298.27 [M+H]⁺ (20), 191.23 [C₉H₆N₂OS]⁺ (100)

Elementel Analiz (%) C₁₆H₁₅N₃OS

Hesaplanan: C, 64,62; H, 5.08; N, 14.13; S, 10.78

Bulunan: C, 64.75; H, 5.06; N, 13.69; S, 10.76

4.1.2.3. B3 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları



N-(2-Klorofenil)-2-((1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)tiyo)asetamit

Erime derecesi: 155°C (Metanol)

Verim: %13

IR ν_{maks} (cm⁻¹) (Spektrum 114)

3165 (N-H gerilmesi), 3064 (Aromatik C-H gerilmesi), 2986 (Alifatik C-H gerilmesi), 1661 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1548 (N-H eğilmesi, amit II bandı)

¹H NMR (Spektrum 115)

(400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 4.26 (2H, s, CH₂), 7.12-7.17 (3H, m, H5, H6 ve H4'), 7.30-7.34 (1H, m, H5'), 7.45-7.48 (3H, m, H4, H7 ve H3'), 7.96 (1H, d, *J*=8.2 Hz, H6'), 10.30 (1H, s, Amit-NH),
 δ 12.76 (1H, bs, Benzimi-NH) ppm

¹³C NMR (Spektrum 116)

(100 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 35.5 (CH₂), 113.9, 121.5, 124.0, 124.6, 125.7, 127.5, 129.4, 134.9, 139.6, 150.1 (C-S), 167.3 (C=O) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 117)

m/z (% Bağıl bolluk)

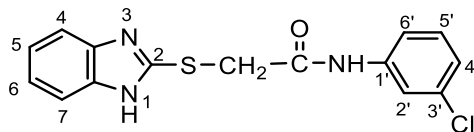
320 [(M+2+H)⁺, 15], 318.36 [(M+H)⁺, 39], 191.37 [(C₉H₆N₂OS)⁺, 100]

Elementel Analiz (%) C₁₅H₁₂ClN₃OS

Hesaplanan: C, 56.69; H, 3.81; N, 13.22; S, 10.09

Bulunan: C, 56.52; H, 4.12; N, 13.12; S, 10.01

4.1.2.4. B4 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları



N-(3-Klorofenil)-2-((1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)tiyo)asetamit

Erime derecesi: 172°C (Metanol)

Verim: %14

IR ν_{maks} (cm⁻¹) (Spektrum 118)

3170 (N-H gerilmesi), 3057 (Aromatik C-H gerilmesi), 2985 (Alifatik C-H gerilmesi), 1676 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1553 (N-H eğilmesi, amit II bandı)

¹H NMR (Spektrum 119)

(600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 4.28 (2H, s, CH₂), 7.11-7.14 (3H, m, H₅, H₆ ve H_{4'}), 7.34 (1H, t, *J*=8.1 Hz, H_{5'}), 7.42-7.45 (3H, m, H₄, H₇ ve H_{6'}), 7.79 (1H, s, H_{2'}), 10.69 (1H, s, Amit-NH), 12.65 (1H, bs, Benzimi-NH) ppm

¹³C NMR (Spektrum 120)

(100 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 36.2 (CH₂), 117.5, 118.6, 121.6, 123.2, 130.5, 133.2, 140.3, 149.7 (C-S), 166.6 (C=O) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 121)

m/z (% Bağlı bolluk)

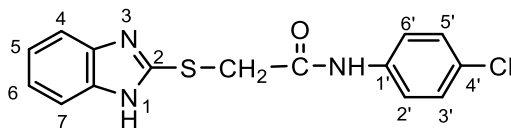
318.17 [M+H]⁺ (16), 191.24 [C₉H₆N₂OS]⁺ (100)

Elementel Analiz (%) C₁₅H₁₂ClN₃OS. 0.25H₂O

Hesaplanan: C, 55.90; H, 3.91; N, 13.04; S, 9.95

Bulunan: C, 55.92; H, 3.90; N, 12.91; S, 10.17

4.1.2.5. B5 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N-(4-Klorofenil)-2-((1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)tiyo)asetamit

Erime derecesi: 208°C (Metanol) [Lit. 198.5-200°C (Metanol) (Venkatachala et al., 1973)]

Verim: %13

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 122)

3078 (Aromatik C-H gerilmesi), 2977 (Alifatik C-H gerilmesi), 1663 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1553 (N-H eğilmesi, amit II bandı)

^1H NMR (Spektrum 123)

(600 MHz, DMSO- d_6)

δ 4.27 (2H, s, CH₂), 7.11-7.12 (2H, m, H5 ve H6), 7.37 (2H, d, $J=8.9$ Hz, H3' ve H5'), 7.44-7.45 (2H, m, H4 ve H7), 7.61 (2H, d, $J=9.0$ Hz, H2' ve H6'), 10.67 (1H, s, Amit-NH), 12.65 (1H, bs, Benzimi-NH) ppm

^{13}C NMR (Spektrum 124)

(100 MHz, DMSO- d_6)

δ 36.2 (CH₂), 113.9, 120.6, 121.3, 127.0, 128.7, 132.3, 137.9, 139.8, 150.1 (C-S), 166.5 (C=O) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 125)

m/z (% Bağlı bolluk)

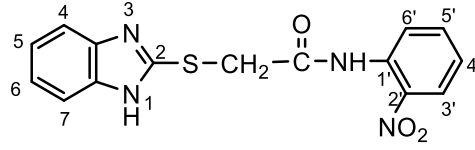
318.19 [M+H]⁺ (12), 191.24 [C₉H₆N₂OS]⁺ (100)

Elementel Analiz (%) C₁₅H₁₂ClN₃OS

Hesaplanan: C, 56.69; H, 3.81; N, 13.22; S, 10.09

Bulunan: C, 56.52; H, 3.98; N, 13.05; S, 10.46

4.1.2.6. B6 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları



N-(2-Nitrofenil)-2-((1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)tiyo)asetamit

Erimе derecesi: 206°C (Asetonitril)

Verim: %19

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 126)

3284 (N-H gerilmesi), 3060 (Aromatik C-H gerilmesi), 2986 (Alifatik C-H gerilmesi), 1666 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1585 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1492 (Aromatik NO₂ asimetrik gerilmesi), 1336 (Aromatik NO₂ simetrik gerilmesi)

¹H NMR (Spektrum 127)

(600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 4.28 (2H, s, CH₂), 7.12-7.13 (2H, m, H5 ve H6), 7.35 (1H, t, *J*=7.8 Hz, H4'), 7.46 (2H, brs, H4 ve H7), 7.72 (1H, t, *J*=7.9 Hz, H5'), 7.91 (1H, d, *J*=8.3 Hz, H3' veya H6'), 7.99 (1H, d, *J*=8.2 Hz, H3' veya H6'), 10.95 (1H, bs, Amit-NH), 12.69 (1H, bs, Benzimi-NH) ppm

¹³C NMR (Spektrum 128)

(100 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 35.6 (CH₂), 114.0, 121.6, 124.4, 125.0, 125.1, 131.6, 134.4, 140.9, 149.5 (C-S), 167.1 (C=O) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 129)

m/z (% Bağlı bolluk)

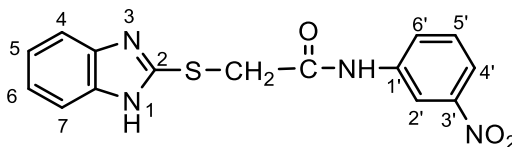
329.11 [M+H]⁺ (22), 191.23 [C₉H₆N₂OS]⁺ (100)

Elementel Analiz (%) C₁₅H₁₂N₄O₃S

Hesaplanan: C, 54.87; H, 3.68; N, 17.06; S, 9.76

Bulunan: C, 54.48; H, 3.84; N, 16.80; S, 10.12

4.1.2.7. B7 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları



N-(3-Nitrofenil)-2-((1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)tiyo)asetamit

Erime derecesi: 220°C (Metanol) [Lit. 218-219°C (Venkatachala et al., 1973)]

Verim: %12

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 130)

3184 (N-H gerilmesi), 3064 (Aromatik C-H gerilmesi), 2985 (Alifatik C-H gerilmesi), 1668 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1566 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1523 (Aromatik NO₂ asimetrik gerilmesi), 1341 (Aromatik NO₂ simetrik gerilmesi)

¹H NMR (Spektrum 131)

(600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 4.32 (2H, s, CH₂), 7.11-7.12 (2H, m, H5 ve H6), 7.44-7.45 (2H, m, H4 ve H7), 7.62 (1H, t, *J*=8.2 Hz, H5'), 7.89 (1H, d, *J*=8.2 Hz H4' veya H6'), 7.92 (1H, d, *J*=8.2 Hz H4' veya H6'), 8.62 (1H, s, H2'), 11.00 (1H, bs, Amit-NH), 12.66 (1H, bs, Benzimi-NH) ppm

¹³C NMR (Spektrum 132)

(100 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 36.2 (CH₂), 113.2, 118.0, 121.5, 125.0, 130.2, 139.9, 148.0, 149.6 (C-S), 167.0 (C=O) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 133)

m/z (% Bağıl bolluk)

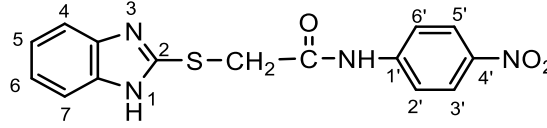
329.09 [M+H]⁺ (33), 191.24 [C₉H₆N₂OS]⁺ (100)

Elementel Analiz (%) C₁₅H₁₂N₄O₃S

Hesaplanan: C, 54.87; H, 3.68; N, 17.06; S, 9.76

Bulunan: C, 54.57; H, 3.95; N, 16.99; S, 9.56

4.1.2.8. B8 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları



N-(4-Nitrofenil)-2-((1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)tiyo)asetamit

Erime derecesi: 213°C (Metanol) [Lit. 198-199°C (Venkatachala et al., 1973)]

Verim: %20

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 134)

3165 (N-H gerilmesi), 2858 (Alifatik C-H gerilmesi), 1673 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1572 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1507 (Aromatik NO₂ asimetrik gerilmesi), 1333 (Aromatik NO₂ simetrik gerilmesi)

¹H NMR (Spektrum 135)

(600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 4.33 (2H, s, CH₂), 7.11-7.12 (2H, m, H5 ve H6), 7.43-7.45 (2H, m, H4 ve H7), 7.84 (2H, d, *J*=9.0 Hz, H2' ve H6'), 8.23 (2H, d, *J*=8.9 Hz, H3' ve H5'), 11.24 (1H, bs, Amit-NH), 12.60 (1H, bs, Benzimi-NH) ppm

¹³C NMR (Spektrum 136)

(100 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 36.3 (CH₂), 118.8 (C2' ve C6'), 121.5 (C5 ve C6), 125.0 (C3' ve C5'), 142.4, 144.9, 149.6 (C-S), 167.2 (C=O) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 140)

m/z (% Bağlı bolluk)

329.11 [M+H]⁺ (43), 191.24 [C₉H₆N₂OS]⁺ (100)

Elementel Analiz (%) C₁₅H₁₂N₄O₃S

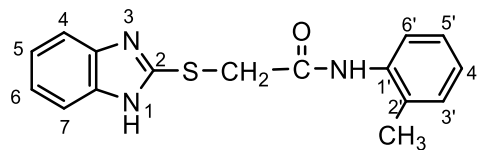
Hesaplanan: C, 54.87; H, 3.68; N, 17.06; S, 9.76

Bulunan: C, 54.55; H, 3.88; N, 17.05; S, 9.53

Tablo 4-1. **B8** kodlu bileşğin NOESY, HSQC ve HMBC NMR bulguları (Spektrum 137-139)

H	¹H NMR (δ)	NOESY (δ)	HSQC (δ)	HMBC (δ)
CH ₂	4.33	11.24, 12.60	36.3	149.6 (C-S), 167.2 (C=O)
H5, H6	7.11-7.12	7.43-7.45	121.5	121.5
H4, H7	7.43-7.45	7.11-7.12	-	121.5
H2', H6'	7.84	8.23	118.8	118.8, 125.0, 142.4, 144.9
H3', H5'	8.23	7.84	125.0	125.0, 142.4, 144.9
Amit-NH	11.24	12.60	-	-
Benzimi-NH	12.60	11.24	-	-

4.1.2.9. B9 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları



N-(2-Metilfenil)-2-((1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)tiyo)asetamit

Erime derecesi: 140°C (Metanol) [Lit. 150-151°C (Venkatachala et al., 1973)]

Verim: %6

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 141)

3151 (N-H gerilmesi), 3068 (Aromatik C-H gerilmesi), 2980 (Alifatik C-H gerilmesi), 1661 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1552 (N-H eğilmesi, amit II bandı)

¹H NMR (Spektrum 142)

(600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 2.21 (3H, s, CH₃), 4.22 (2H, s, CH₂), 7.04 (1H, t, *J*=7.4 Hz, H4' veya H5'), 7.10-7.12 (2H, m, H5 ve H6), 7.15 (1H, t, *J*=7.7 Hz, H4' veya H5'), 7.18 (1H, d, *J*=7.6 Hz, H3'), 7.44-7.45 (2H, m, H4 ve H7), 7.56 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H6'), 10.05 (1H, bs, Amit-NH), 12.63 (1H, bs, Benzimi-NH) ppm

¹³C NMR (Spektrum 143)

(100 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 17.8 (CH₃), 35.6 (CH₂), 121.6, 123.9, 125.0, 126.0, 130.3, 130.7, 136.2, 150.1 (C-S), 166.6 (C=O) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 144)

m/z (% Bağıl bolluk)

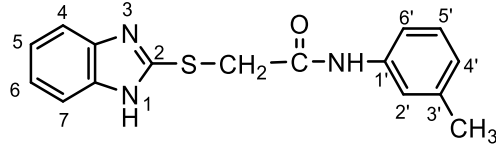
298.22 [M+H]⁺ (34), 191.24 [C₉H₆N₂OS]⁺ (100)

Elementel Analiz (%) C₁₆H₁₅N₃OS

Hesaplanan: C, 64.62; H, 5.08; N, 14.13; S, 10.78

Bulunan: C, 64.34; H, 5.20; N, 14.04; S, 10.67

4.1.2.10. B10 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N-(3-Metilfenil)-2-((1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)tiyo)asetamit

Erime derecesi: 120°C (Metanol)

Verim: %24

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 145)

3298 (N-H gerilmesi), 3057 (Aromatik C-H gerilmesi), 2932 (Alifatik C-H gerilmesi), 1667 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1560 (N-H eğilmesi, amit II bandı)

¹H NMR (Spektrum 146)

(600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 2.26 (3H, s, CH₃), 4.25 (2H, s, CH₂), 6.87 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H4'), 7.12-7.14 (2H, m, H5 ve H6), 7.18 (1H, t, $J=7.8$ Hz, H5'), 7.35 (1H, d, $J=8.2$ Hz, H6'), 7.43-7.52 (3H, m, H4, H7 ve H2'), 10.41 (1H, s, Amit-NH), 12.64 (1H, s, Benzimi-NH) ppm

¹³C NMR (Spektrum 147)

(100 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 21.2 (CH₃), 36.2 (CH₂), 116.3, 119.6, 121.5, 124.2, 128.6, 138.0, 138.8, 149.8 (C-S), 166.1 (C=O) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 148)

m/z (% Bağıl bolluk)

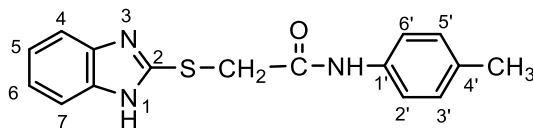
298.25 [M+H]⁺ (16), 191.25 [C₉H₆N₂OS]⁺ (100)

Elementel Analiz (%) C₁₆H₁₅N₃OS. 1H₂O

Hesaplanan: C, 60.93; H, 5.43; N, 13.32; S, 10.17

Bulunan: C, 60.59; H, 5.29; N, 13.39; S, 10.60

4.1.2.11. B11 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N-(4-Metilfenil)-2-((1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)tiyo)asetamit

Erime derecesi: 184°C (Asetonitril) [Lit. 193-195°C (Etanol:Su) (Mustafa et al., 1970)]

Verim: %10

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 149)

3340, 3255 (N-H gerilmesi), 3073 (Aromatik C-H gerilmesi), 2971 (Alifatik C-H gerilmesi), 1671 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1542 (N-H eğilmesi, amit II bandı)

¹H NMR (Spektrum 150)

(600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 2.24 (3H, s, CH₃), δ 4.24 (2H, s, CH₂), 7.10-7.14 (4H, m, H₅, H₆, H_{3'} ve H_{5'}), 7.44-7.47 (4H, m, H₄, H₇, H_{2'} ve H_{6'}), 10.43 (1H, s, Amit-NH), 12.64 (1H, bs, Benzimi-NH) ppm

¹³C NMR (Spektrum 151)

(100 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 20.4 (CH₃), 36.2 (CH₂), 113.9, 119.1, 121.3, 129.2, 132.4, 136.4, 139.7, 150.1 (C-S), 166.0 (C=O) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 152)

m/z (% Bağlı bolluk)

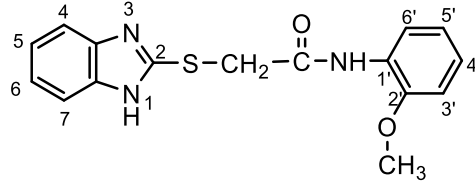
298.24 [M+H]⁺ (19), 191.24 [C₉H₆N₂OS]⁺ (100)

Elementel Analiz (%) C₁₆H₁₅N₃OS. 1.25H₂O

Hesaplanan: C, 60.07; H, 5.51; N, 13.14; S, 10.02

Bulunan: C, 59.74; H, 5.09; N, 12.91; S, 9.92

4.1.2.12. B12 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları



N-(2-Metoksifenil)-2-((1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)tiyo)asetamit

Erime derecesi: 138°C (Asetonitril) [Lit. 127.5-129.3°C (Macchi et al., 2018)]

Verim: %15

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 153)

3194 (N-H gerilmesi), 3068 (Aromatik C-H gerilmesi), 2968 (Alifatik C-H gerilmesi), 1672 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1535 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1252 (Aril alkil eter C-O asimetrik gerilmesi), 1019 (Aril alkil eter C-O simetrik gerilmesi)

¹H NMR (Spektrum 154)

(600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 3.68 (3H, s, CH₃), 4.22 (2H, s, CH₂), 6.89 (1H, t, *J*=7.6 Hz, H5'), 6.98 (1H, d, *J*=8.2 Hz, H3'), 7.03 (1H, t, *J*=7.6 Hz, H4'), 7.15-7.17 (2H, m, H5 ve H6), 7.49 (2H, bs, H4 ve H7), 8.09 (1H, d, *J*=8.2 Hz, H6'), 9,94 (1H, s, Amit-NH), 12,72 (1H, bs, Benzimi-NH) ppm

¹³C NMR (Spektrum 155)

(100 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 35.5 (CH₂), 55.7 (OCH₃), 111.0, 120.3, 120.4, 121.7, 124.2, 127.3, 148.8, 150.0 (C-S), 166.9 (C=O) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 156)

m/z (% Bağlı bolluk)

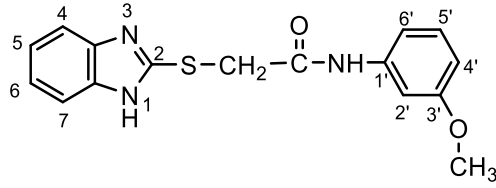
314.26 [M+H]⁺ (16), 191.24 [C₉H₆N₂OS]⁺ (100)

Elementel Analiz (%) C₁₆H₁₅N₃O₂S

Hesaplanan: C, 61.32; H, 4.82; N, 13.41; S, 10.23

Bulunan: C, 61.24; H, 4.82; N, 13.19; S, 10.45

4.1.2.13. B13 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N-(3-Metoksifenil)-2-((1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)tiyo)asetamit

Erime derecesi: 158°C (Asetonitril)

Verim: %11

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 157)

3058 (Aromatik C-H gerilmesi), 2830 (Alifatik C-H gerilmesi), 1664 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1573 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1264 (Aril alkil eter C-O asimetrik gerilmesi), 1038 (Aril alkil eter C-O simetrik gerilmesi)

¹H NMR (Spektrum 158)

(600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 3.72 (3H, s, OCH₃), 4.26 (2H, s, CH₂), 6.64 (1H, d, *J*=8.2 Hz, H4'), 7.10-7.13 (3H, m, H5, H6 ve H6'), 7.21 (1H, t, *J*=8.1 Hz, H5'), 7.28 (1H, s, H2'), 7.44-7.46 (2H, m, H4 ve H7), 10.53 (1H, s, Amit-NH), 12.66 (1H, bs, Benzimi-NH) ppm

¹³C NMR (Spektrum 159)

(100 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 36.2 (CH₂), 55.0 (OCH₃), 104.9, 108.9, 111.3, 121.5, 129.6, 140.0, 149.8 (C-S), 159.6, 166.2 (C=O) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 160)

m/z (% Bağlı bolluk)

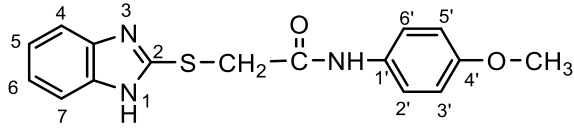
314.24 [M+H]⁺ (24), 191.24 [C₉H₆N₂OS]⁺ (100)

Elementel Analiz (%) C₁₆H₁₅N₃O₂S

Hesaplanan: C, 61.32; H, 4.82; N, 13.41; S, 10.23

Bulunan: C, 60.99; H, 4.69; N, 13.41; S, 10.39

4.1.2.14. B14 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N-(4-Metoksifenil)-2-((1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)tiyo)asetamit

Erimme derecesi: 206°C (Asetonitril) [Lit. 203-205°C (Etanol) (Mustafa et al., 1970)]

Verim: %18

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 161)

3071, 3035 (Aromatik C-H gerilmesi), 2954, 2932 (Alifatik C-H gerilmesi), 1656 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1562 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1231 (Aril alkil eter C-O asimetrik gerilmesi), 1032 (Aril alkil eter C-O simetrik gerilmesi)

¹H NMR (Spektrum 162)

(600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 3.71 (3H, s, OCH₃), 4.23 (2H, s, CH₂), 6.88 (2H, d, *J*=8.6 Hz, H3' ve H5'), 7.12-7.13 (2H, m, H5 ve H6), 7.44-7.46 (2H, m, H4 ve H7), 7.49 (2H, d, *J*=8.7 Hz, H2' ve H6'), 10.39 (1H, s, Amit-NH), 12.64 (1H, bs, Benzimi-NH) ppm

¹³C NMR (Spektrum 163)

(100 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 36.1 (CH₂), 55.1 (OCH₃), 113.9, 120.6, 121.5, 132.0, 149.9 (C-S), 155.4, 165.7 (C=O) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 164)

m/z (% Bağıl bolluk)

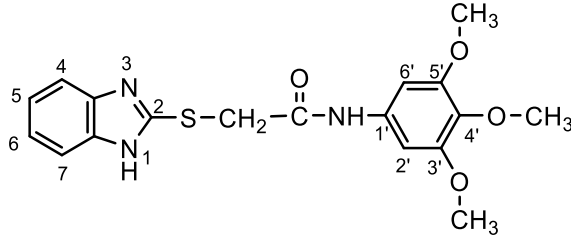
314.25 [M+H]⁺ (14), 191.22 [C₉H₆N₂OS]⁺ (100)

Elementel Analiz (%) C₁₆H₁₅N₃O₂S

Hesaplanan: C, 61.32; H, 4.82; N, 13.41; S, 10.23

Bulunan: C, 61.17; H, 4.66; N, 13.40; S, 10.39

4.1.2.15. B15 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları



N-(3,4,5-Trimetoksifenil)-2-((1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)tiyo)asetamit

Erime derecesi: 176°C (Asetonitril)

Verim: %13

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 165)

3218 (N-H gerilmesi), 3000 (Aromatik C-H gerilmesi), 2909 (Alifatik C-H gerilmesi), 1639 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1578 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1226 (Aril alkil eter C-O asimetrik gerilmesi), 1007 (Aril alkil eter C-O simetrik gerilmesi)

¹H NMR (Spektrum 166)

(400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 3.60 (3H, s, CH₃-4'), 3.72 (6H, s, CH₃-3' ve CH₃-5'), 4.24 (2H, s, CH₂), 6.96 (2H, s, H₂' ve H₆'), 7.11-7.15 (2H, m, H₅ ve H₆), 7.45 (2H, brs, H₄ ve H₇), 10.47 (1H, s, Amit-NH), 12.67 (1H, s, Benzimi-NH) ppm

¹³C NMR (Spektrum 167)

(100 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 36.2 (CH₂), 55.7 (OCH₃-3' ve OCH₃-5'), 60.1 (OCH₃-4'), 96.9, 121.6, 133.7, 135.0, 149.8 (C-S), 152.8, 166.0 (C=O) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 168)

m/z (% Bağlı bolluk)

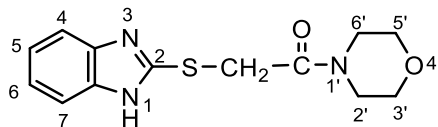
374.48 [M+H]⁺ (14), 225.42 [C₁₁H₁₄NO₄]⁺ (100)

Elementel Analiz (%) C₁₈H₁₉N₃O₄S

Hesaplanan: C, 57.90; H, 5.13; N, 11.25; S, 8.59

Bulunan: C, 57.96; H, 4.98; N, 11.12; S, 9.00

4.1.2.16. B16 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları



2-((1*H*-Benzo[*d*]imidazol-2-il)tiyo)-1-morfolinoetan-1-on

Erime derecesi: 176°C (Metanol)

Verim: %31

IR ν_{maks} (cm⁻¹) (Spektrum 169)

3068 (Aromatik C-H gerilmesi), 2964 (Alifatik C-H gerilmesi), 1634 (C=O gerilmesi, amit I bandı)

¹H NMR (Spektrum 170)

(400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 3.45-3.47 (2H, m, Morf-H), 3.55-3.59 (4H, m, Morf-H), 3.62-3.65 (2H, m, Morf-H), 4.39 (2H, s, CH₂), 7.09-7.14 (2H, m, H5 ve H6), 7.41-7.44 (2H, m, H4 ve H7) 12.51 (1H, bs, NH) ppm

¹³C NMR (Spektrum 171)

(100 MHz, DMSO-*d*₆)

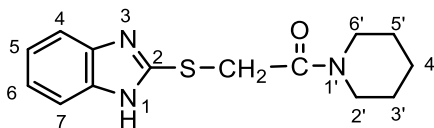
δ 34.8 (CH₂), 42.0, 46.0, 66.0, 110.3, 117.3, 121.2, 121.7, 135.4, 143.6, 149.7 (C-S), 165.9 (C=O) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 172)

m/z (% Bağlı bolluk)

278.38 [M+H]⁺ (45), 191.32 [C₉H₆N₂OS]⁺ (100)

4.1.2.17. B17 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları



2-((1*H*-Benzo[*d*]imidazol-2-il)tiyo)-1-(piperidin-1-il)etan-1-on

Erime derecesi: 166°C (Metanol) [Lit. 158-159°C (Bütanol) (VanALLAN, 1956)]

Verim: %55

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 173)

3054 (Aromatik C-H gerilmesi), 2947 (Alifatik C-H gerilmesi), 1634 (C=O gerilmesi, amit I bandı)

¹H NMR (Spektrum 174)

(400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 1.41-1.47 (2H, m, H4'), 1.57-1.59 (4H, m, H3' ve H5'), 3.43-3.46 (2H, m, H2' veya H6'), 3.49-3.51 (2H, m, H2' veya H6'), 4.39 (2H, s, CH₂), 7.09-7.13 (2H, m, H5 ve H6), 7.43 (2H, bs, H4 ve H7) 12.49 (1H, bs, NH) ppm

¹³C NMR (Spektrum 175)

(100 MHz, DMSO-*d*₆)

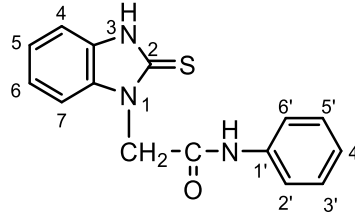
δ 23.9, 25.2, 25.9, 35.3 (CH₂), 42.5, 46.6, 110.3, 117.3, 121.2, 121.6, 135.4, 143.7 150.0 (C-S), 165.2 (C=O) ppm

MS (PI-APCI) (Spektrum 176)

m/z (% Bağlı bolluk)

276.43 [M+H]⁺ (85), 191.38 [C₉H₆N₂OS]⁺ (100)

4.1.2.18. BS1 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N-Fenil-2-(2-tiyokso-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit

Erime derecesi: 283°C (Metanol)

Verim: %67

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 177)

3197 (N-H gerilmesi), 2919 (Alifatik C-H gerilmesi), 1673 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1542 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1191 (C=S gerilmesi)

^1H NMR (Spektrum 178)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 5.15 (2H, s, CH₂), 7.04 (1H, tt, J = 7.4; 1.2 Hz, H-4'), 7.14-7.24 (3H, m, Benzimi-H), 7.28-7.33 (2H, m, H-3' ve H-5'), 7.33-7.37 (1H, m, Benzimi-H), 7.58 (2H, d, J =7.4 Hz, H-2' ve H-6'), 10.39 (1H, s, Amit-NH), 12.83 (1H, bs, Benzimi-NH) ppm

^{13}C NMR (Spektrum 179)

(100 MHz, DMSO- d_6)

δ 46.2 (CH₂), 109.6 (C4 veya C7), 110.0 (C4 veya C7), 119.0 (C2' ve C6'), 122.2 (C5 veya C6), 122.8 (C5 veya C6), 123.4 (C4'), 128.8 (C3' ve C5'), 130.6 (C3a veya C7a), 133.4 (C3a veya C7a), 138.7 (C1'), 164.8 (C=O), 169.1 (C=S) ppm

MS (NI-APCI) (Spektrum 182)

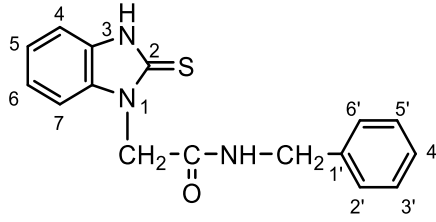
m/z (% Bağlı bolluk)

284 [M+2-H]⁻ (4), 282.23 [M-H]⁻ (100)

Tablo 4-2. **BS1** kodlu bileşiğin HSQC ve HMBC NMR bulguları (Spektrum 180, 181)

H	¹H NMR (δ)	HSQC (δ)	HMBC (δ)
CH ₂	5.15	46.2 (CH ₂)	46.2 (CH ₂), 133.4, 164.8 (C=O), 169.1 (C=S)
H4'	7.04	123.4 (C4')	119.0 (C2' ve C6'), 128.8 (C3' ve C5'), 138.7 (C1')
Benzimi-3H	7.14-7.24	109.6, 122.2, 122.8	110.0, 122.2, 130.6, 133.4
H3' ve H5'	7.28-7.33	128.8 (C3' ve C5')	119.0 (C2' ve C6'), 128.8 (C3' ve C5'), 138.7 (C1')
Benzimi-1H	7.33-7.37	110.0	122.8, 130.6
H2' ve H6'	7.58	119.0 (C2' ve C6')	119.0 (C2' ve C6'), 123.4 (C4'), 128.8 (C3' ve C5'), 138.7 (C1')
Amit-NH	10.39	-	46.2 (CH ₂), 119.0 (C2' ve C6'), 138.7 (C1'), 164.8 (C=O)
Benzimi-NH	12.83	-	

4.1.2.19. BS2 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N-Benzil-2-(2-tiyokso-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit

Erime derecesi: 210°C (Etanol)

Verim: %55

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 183)

3308 (N-H gerilmesi), 3064 (Aromatik C-H gerilmesi) 2942 (Alifatik C-H gerilmesi), 1658 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1541 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1194 (C=S gerilmesi)

^1H NMR (Spektrum 184)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 4.32 (2H, d, $J=5.9$ Hz, NH-CH₂), 4.99 (2H, s, CH₂), 7.14-7.35 (9H, m, Benzimi-H ve Fenil-H), 8.72 (1H, t, $J=5.9$ Hz, Amit-NH), 12.82 (1H, bs, Benzimi-NH) ppm

^{13}C NMR (Spektrum 185)

(100 MHz, DMSO- d_6)

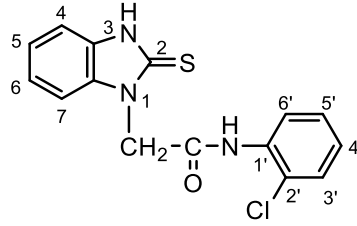
δ 42.2 (NH-CH₂), 45.8 (CH₂), 109.6 (C4 veya C7), 109.9 (C4 veya C7), 122.2 (C5 veya C6), 122.8 (C5 veya C6), 126.8 (C4'), 127.2 (C2' ve C6' veya C3' ve C5'), 128.3 (C2' ve C6' veya C3' ve C5'), 130.8 (C3a veya C7a), 133.4 (C3a veya C7a), 139.1 (C1'), 166.2 (C=O), 169.1 (C=S) ppm

MS (NI-APCI) (Spektrum 186)

m/z (% Bağıl bolluk)

296.23 [M-H]⁻ (38), 161.13 [C₈H₇N₂S]⁻ (100)

4.1.2.20. BS3 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N-(2-Klorofenil)-2-(2-tiyokso-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit

Erime derecesi: 260°C (Metanol)

Verim: %50

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 187)

3270 (N-H gerilmesi), 3062 (Aromatik C-H gerilmesi), 2922 (Alifatik C-H gerilmesi), 1664 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1534 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1192 (C=S gerilmesi)

^1H NMR (Spektrum 188)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 5.24 (2H, s, CH_2), 7.18-7.23 (4H, m, Benzimi-H ve $\text{H}_{4'}$), 7.30-7.36 (2H, m, Benzimi-H ve $\text{H}_{5'}$), 7.52 (1H, d, $J=8.1$ Hz, $\text{H}_{3'}$), 7.75 (1H, d, $J=8.1$ Hz, $\text{H}_{6'}$), 9.98 (1H, s, Amit-NH), 12.87 (1H, s, Benzimi-NH) ppm

^{13}C NMR (Spektrum 189)

(100 MHz, DMSO- d_6)

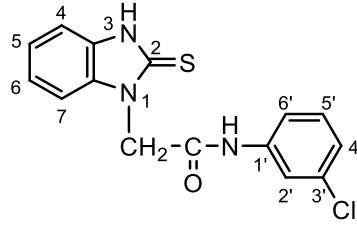
δ 46.1 (CH_2), 109.7 (C4 veya C7), 109.9 (C4 veya C7), 122.3 (C5 veya C6), 122.9 (C5 veya C6), 125.7, 126.1, 126.4, 127.5, 129.6, 130.7 (C3a veya C7a), 133.3 (C3a veya C7a), 134.5 ($\text{C}_{1'}$), 165.5 (C=O), 169.1 (C=S) ppm

MS (NI-APCI) (Spektrum 190)

m/z (% Bağlı bolluk)

318 [$\text{M}+2\text{-H}$] $^-$ (34), 316.17 [M-H] $^-$ (100), 189.24 [$\text{C}_9\text{H}_7\text{N}_2\text{OS}$] $^-$ (99)

4.1.2.21. BS4 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N-(3-Klorofenil)-2-(2-tiyokso-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit

Erime derecesi: 272°C (Metanol)

Verim: %48

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 191)

3278 (N-H gerilmesi), 3062 (Aromatik C-H gerilmesi), 2925 (Alifatik C-H gerilmesi), 1664 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1535 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1188 (C=S gerilmesi)

^1H NMR (Spektrum 192)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 5.16 (2H, s, CH₂), 7.11-7.14 (1H, m, H_{4'}), 7.16-7.25 (3H, m, Benzimi-H), 7.33-7.41 (2H, m, Benzimi-H ve H_{5'}), 7.43-7.46 (1H, m, H_{6'}), 7.78 (1H, t, $J=2.0$ Hz, H_{2'}), 10.61 (1H, s, Amit-NH), 12.85 (1H, s, Benzimi-NH) ppm

^{13}C NMR (Spektrum 193)

(100 MHz, DMSO- d_6)

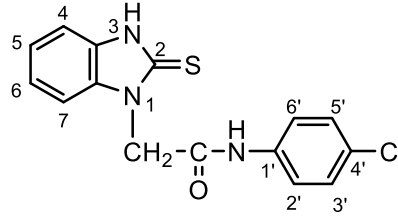
δ 46.3 (CH₂), 109.7 (C4 veya C7), 110.0 (C4 veya C7), 117.4, 118.5, 122.3 (C5 veya C6), 122.9 (C5 veya C6), 123.2, 125.7, 130.6 (C3a veya C7a), 133.2 (C3a veya C7a), 133.4, 140.1 (C1'), 166.3 (C=O), 169.0 (C=S) ppm

MS (NI-APCI) (Spektrum 194)

m/z (% Bağlı bolluk)

318.17 [M+2-H]⁻ (41), 316.16 [M-H]⁻ (100)

4.1.2.22. BS5 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N-(4-Klorofenil)-2-(2-tiyokso-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit

Erime derecesi: 268°C (Metanol)

Verim: %63

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 195)

3270 (N-H gerilmesi), 3062 (Aromatik C-H gerilmesi), 2986 (Alifatik C-H gerilmesi), 1670 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1539 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1192 (C=S gerilmesi)

^1H NMR (Spektrum 196)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 5.15 (2H, s, CH₂), 7.15-7.24 (3H, m, Benzimi-H), 7.35-7.39 (3H, m, Benzimi-H, H3' ve H5'), 7.59-7.63 (2H, m, H2' ve H6'), 10.55 (1H, s, Amit-NH), 12.77 (1H, bs, Benzimi-NH) ppm

^{13}C NMR (Spektrum 197)

(100 MHz, DMSO- d_6)

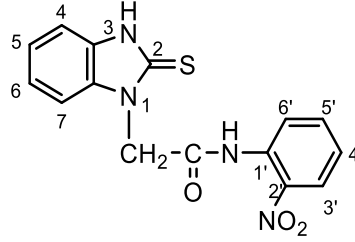
δ 46.2 (CH₂), 109.6 (C4 veya C7), 110.0 (C4 veya C7), 120.5 (C2' ve C6'), 122.3 (C5 veya C6), 122.9 (C5 veya C6), 126.9 (C4'), 128.8 (C3' ve C5'), 130.6 (C3a), 133.4 (C7a), 137.7 (C1'), 165.0 (C=O), 169.0 (C=S) ppm

MS (NI-APCI) (Spektrum 198)

m/z (% Bağlı bolluk)

318.16 [M+2-H]⁻ (31), 316.15 [M-H]⁻ (100)

4.1.2.23. BS6 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N-(2-Nitrofenil)-2-(2-tiyokso-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit

Erime derecesi: 268°C (Metanol)

Verim: %14

IR ν_{maks} (cm⁻¹) (Spektrum 199)

3315 (N-H gerilmesi), 3060 (Aromatik C-H gerilmesi), 2982 (Alifatik C-H gerilmesi), 1684 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1588 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1513 (Aromatik NO₂ asimetrik gerilmesi), 1337 (Aromatik NO₂ simetrik gerilmesi), 1187 (C=S gerilmesi)

¹H NMR (Spektrum 200)

(400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 5.22 (2H, s, CH₂), 7.17-7.25 (3H, m, Benzimi-H), 7.28-7.32 (1H, m, H4'), 7.36-7.41 (1H, m, Benzimi-H), 7.72-7.75 (2H, m, H5' ve H6'), 7.97 (1H, d, *J*=7.6 Hz, H3') 10.69 (1H, s, Amit-NH), 12.89 (1H, bs, Benzimi-NH) ppm

¹³C NMR (Spektrum 201)

(100 MHz, DMSO-*d*₆)

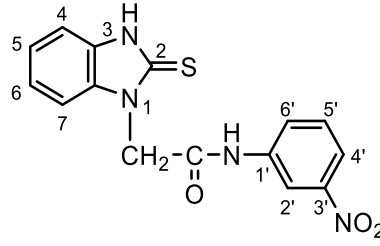
δ 46.2 (CH₂), 109.7 (C4 veya C7), 109.9 (C4 veya C7), 122.3 (C5 veya C6), 123.0 (C5 veya C6), 125.1, 125.2, 125.5, 130.7 (C3a veya C7a), 133.1 (C3a veya C7a), 134.2 (C1'), 142.1 (C2'), 166.6 (C=O), 169.2 (C=S) ppm

MS (NI-APCI) (Spektrum 202)

m/z (% Bağlı bolluk)

327.16 [M-H]⁻ (12)

4.1.2.24. BS7 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N-(3-Nitrofenil)-2-(2-tiyokso-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit

Erime derecesi: 305°C (Metanol)

Verim: %93

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 203)

3160 (N-H gerilmesi), 3061 (Aromatik C-H gerilmesi), 2972 (Alifatik C-H gerilmesi), 1673 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1549 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1524 (Aromatik NO₂ asimetrik gerilmesi), 1341 (Aromatik NO₂ simetrik gerilmesi), 1183 (C=S gerilmesi)

¹H NMR (Spektrum 204)

(400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 5.20 (2H, s, CH₂), 7.17-7.25 (3H, m, Benzimi-H), 7.38-7.42 (1H, m, Benzimi-H), 7.63 (1H, td, *J*=8.2; 1.3 Hz, H5'), 7.89-7.95 (2H, m, H4' ve H6'), 8.60-8.62 (1H, m, H2'), 10.94 (1H, s, Amit-NH), 12.89 (1H, bs, Benzimi-NH) ppm

¹³C NMR (Spektrum 205)

(100 MHz, DMSO-*d*₆)

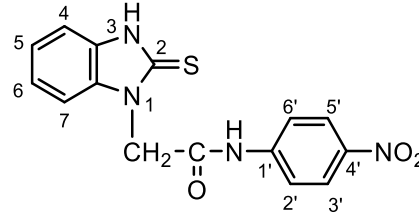
δ 46.3 (CH₂), 109.7 (C4 veya C7), 110.0 (C4 veya C7), 113.2 (C2'), 118.0 (C4'), 122.3 (C5 veya C6), 122.9 (C5 veya C6), 125.0 (C6'), 130.4 (C5'), 130.7 (C3a veya C7a), 133.4 (C3a veya C7a), 139.8 (C1'), 148.0 (C3'), 165.8 (C=O), 169.1 (C=S) ppm

MS (NI-APCI) (Spektrum 206)

m/z (% Bağlı bolluk)

327.16 [M-H]⁻ (22)

4.1.2.25. BS8 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N-(4-Nitrofenil)-2-(2-tiyokso-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit

Erime derecesi: 280°C (Metanol)

Verim: %73

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 207)

3292 (N-H gerilmesi), 3051 (Aromatik C-H gerilmesi), 2934 (Alifatik C-H gerilmesi), 1681 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1548 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1504 (Aromatik NO₂ asimetrik gerilmesi), 1338 (Aromatik NO₂ simetrik gerilmesi), 1199 (C=S gerilmesi)

¹H NMR (Spektrum 208)

(400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 5.22 (2H, s, CH₂), 7.16-7.24 (3H, m, Benzimi-H), 7.39-7.43 (1H, m, Benzimi-H), 7.83 (2H, d, *J*=9.2 Hz, H2' ve H6'), 8.24 (2H, d, *J*=9.2 Hz, H3' ve H5'), 11.07 (1H, s, Amit-NH), 12.89 (1H, bs, Benzimi-NH) ppm

¹³C NMR (Spektrum 209)

(100 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 46.4 (CH₂), 109.8 (C4 veya C7), 110.0 (C4 veya C7), 118.8 (C2' ve C6'), 122.3 (C5 veya C6), 122.9 (C5 veya C6), 125.1 (C3' ve C5'), 130.6 (C3a veya C7a), 133.4 (C3a veya C7a), 142.4 (C4'), 144.8 (C1') 165.9 (C=O), 169.0 (C=S) ppm

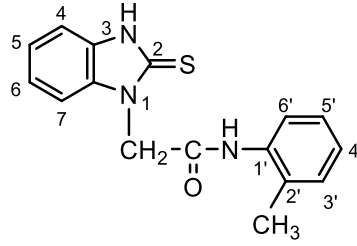
MS (NI-APCI) (Spektrum 210)

m/z (% Bağlı bolluk)

329 [M+2-H]⁻ (6), 327.16 [M-H]⁻ (96), 189.18 [C₉H₇N₂OS]⁻ (97),

136.98 [C₆H₅N₂O₂]⁻ (100)

4.1.2.26. BS9 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N-(2-Metilfenil)-2-(2-tiyokso-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit

Erime derecesi: 276°C (Etanol:Su)

Verim: %24

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 211)

3269 (N-H gerilmesi), 3062 (Aromatik C-H gerilmesi), 2989 (Alifatik C-H gerilmesi), 1656 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1536 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1191 (C=S gerilmesi)

^1H NMR (Spektrum 212)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 2.26 (3H, s, CH₃), 5.18 (2H, s, CH₂), 7.08 (1H, t, $J=7.8$ Hz, H4'), 7.14 (1H, d, $J=7.8$, H3'), 7.16-7.23 (4H, m, Benzimi-H ve H5'), 7.34-7.37 (1H, m, Benzimi-H), 7.40 (1H, d, $J=7.9$ Hz, H6'), 9.71 (1H, s, Amit-NH), 12.82 (1H, bs, Benzimi-NH) ppm

^{13}C NMR (Spektrum 213)

(100 MHz, DMSO- d_6)

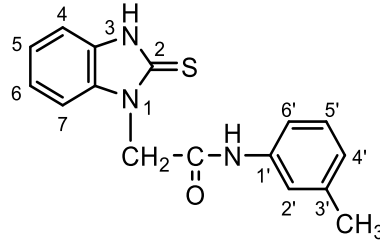
δ 18.0 (CH₃), 46.0 (CH₂), 109.6 (C4 veya C7), 109.9 (C4 veya C7), 122.2 (C5 veya C6), 122.8 (C5 veya C6), 124.5, 125.4, 126.0, 130.4, 130.7 (C3a veya C7a), 131.8, 133.4 (C3a veya C7a), 135.8, 166.0 (C=O), 169.1 (C=S) ppm

MS (NI-APCI) (Spektrum 214)

m/z (% Bağlı bolluk)

298 [M+2-H]⁻ (5), 296.17 [M-H]⁻ (96)

4.1.2.27. BS10 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları



N-(3-Metilfenil)-2-(2-tiyokso-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit

Erime derecesi: 266°C (Metanol)

Verim: %67

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 215)

3287 (N-H gerilmesi), 3063 (Aromatik C-H gerilmesi), 2989 (Alifatik C-H gerilmesi), 1664 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1543 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1193 (C=S gerilmesi)

^1H NMR (Spektrum 216)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 2.26 (3H, s, CH₃), 5.14 (2H, s, CH₂), 6.88 (1H, d, $J=7.4$ Hz, H4'), 7.15-7.24 (4H, m, Benzimi-H ve H5'), 7.34-7.37 (2H, m, Benzimi-H ve H6'), 7.44 (1H, t, $J=1.9$ Hz, H2'), 10.34 (1H, s, Amit-NH), 12.86 (1H, bs, Benzimi-NH) ppm

^{13}C NMR (Spektrum 217)

(100 MHz, DMSO- d_6)

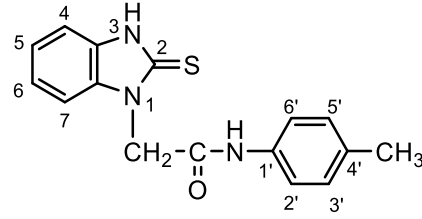
δ 21.2 (CH₃), 46.2 (CH₂), 109.6 (C4 veya C7), 110.0 (C4 veya C7), 116.2, 119.6, 122.3 (C5 veya C6), 122.8 (C5 veya C6), 124.1, 128.7, 130.7 (C3a veya C7a), 133.5 (C3a veya C7a), 138.0, 138.7, 164.8 (C=O), 169.1 (C=S) ppm

MS (NI-APCI) (Spektrum 218)

m/z (% Bağlı bolluk)

296.23 [M-H]⁻ (45), 189.20 [C₉H₇N₂OS]⁻ (96), 161.12 [C₈H₇N₂S]⁻ (100)

4.1.2.28. BS11 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları



N-(4-Metilfenil)-2-(2-tiyokso-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit

Erime derecesi: 276°C (Metanol)

Verim: %24

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 219)

3282 (N-H gerilmesi), 3063 (Aromatik C-H gerilmesi), 2986 (Alifatik C-H gerilmesi), 1655 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1532 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1190 (C=S gerilmesi)

¹H NMR (Spektrum 220)

(400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 2.25 (3H, s, CH₃), 5.13 (2H, s, CH₂), 7.11 (2H, d, *J*=8.2 Hz, H3' ve H5'), 7.17-7.23 (3H, m, Benzimi-H), 7.33-7.37 (1H, m, Benzimi-H), 7.46 (2H, d, *J*=8.4 Hz, H2' ve H6'), 10.31 (1H, s, Amit-NH), 12.82 (1H, bs, Benzimi-NH) ppm

¹³C NMR (Spektrum 221)

(100 MHz, DMSO-*d*₆)

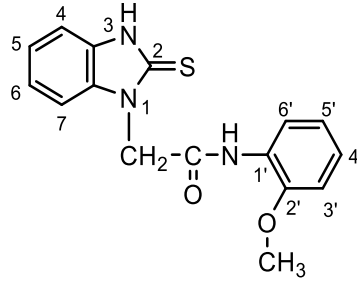
δ 20.5 (CH₃), 46.2 (CH₂), 109.6 (C4 veya C7), 110.0 (C4 veya C7), 119.0 (C2' ve C6'), 122.3 (C5 veya C6), 122.8 (C5 veya C6), 129.2 (C3' ve C5'), 130.7 (C3a veya C7a), 132.4 (C1' veya C4'), 133.5 (C3a veya C7a), 136.3 (C1' veya C4'), 164.6 (C=O), 169.0 (C=S) ppm

MS (NI-APCI) (Spektrum 222)

m/z (% Bağlı bolluk)

296.22 [M-H]⁻, (24), 161.13 [C₈H₇N₂S]⁻, (100)

4.1.2.29. BS12 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları



N-(2-Metoksifenil)-2-(2-tiyokso-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit

Erime derecesi: 235°C (Metanol)

Verim: %62

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 223)

3259 (N-H gerilmesi), 3069 (Aromatik C-H gerilmesi), 2939 (Alifatik C-H gerilmesi), 1660 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1546 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1235 (Aril alkil eter C-O asimetric gerilmesi), 1191 (C=S gerilmesi), 1050 (Aril alkil eter C-O simetric gerilmesi)

^1H NMR (Spektrum 224)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 3.71 (3H, s, OCH₃), 5.14 (2H, s, CH₂), 6.62-6.66 (1H, m, H3'), 7.09-7.12 (1H, m, H6'), 7.15-7.26 (4H, m, Benzimi-H ve H4' veya H5'), 7.32 (1H, t, $J=2.3$ Hz, H4' veya H5'), 7.34-7.39 (1H, m, Benzimi-H), 10.46 (1H, s, Amit-NH), 12.82 (1H, bs, Benzimi-NH) ppm

^{13}C NMR (Spektrum 225)

(100 MHz, DMSO- d_6)

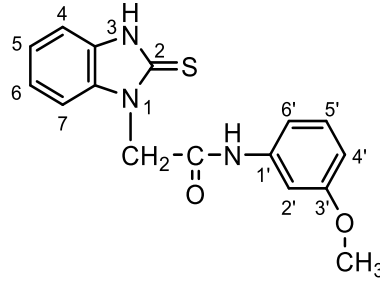
δ 46.2 (CH₂), 55.0 (OCH₃), 104.7 (C3'), 109.0 (C6'), 109.6 (C4 veya C7), 110.0 (C4 veya C7), 111.2 (C5'), 113.9 (C3' ve C5'), 122.3 (C5 veya C6), 122.9 (C5 veya C6), 129.7 (C4'), 130.6 (C3a veya C7a), 133.5 (C3a veya C7a), 140.0 (C1'), 159.6 (C2'), 164.9 (C=O), 169.0 (C=S) ppm

MS (NI-APCI) (Spektrum 226)

m/z (% Bağlı bolluk)

312.22 [M-H]⁻, (53), 189.21 [C₉H₇N₂OS]⁻ (98), 161.12 [C₈H₇N₂S]⁻ (100)

4.1.2.30. BS13 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları



N-(3-Metoksifenil)-2-(2-tiyokso-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit

Erime derecesi: 235°C (Metanol)

Verim: %19

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 227)

3261 (N-H gerilmesi), 3061 (Aromatik C-H gerilmesi), 2918 (Alifatik C-H gerilmesi), 1660 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1544 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1236 (Aril alkil eter C-O asimetrik gerilmesi), 1191 (C=S gerilmesi), 1049 (Aril alkil eter C-O simetrik gerilmesi)

^1H NMR (Spektrum 228)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 3.71 (3H, s, OCH₃), 5.14 (2H, s, CH₂), 6.64 (1H, dd, $J = 8.3; 2.5$ Hz, H4' veya H6'), 7.09-7.11 (1H, m, H4' veya H6'), 7.16-7.24 (4H, m, Benzimi-H ve H5'), 7.31 (1H, t, $J = 2.3$ Hz, H2'), 7.34-7.38 (1H, m, Benzimi-H), 10.41 (1H, s, Amit-NH), 12.83 (1H, bs, Benzimi-NH) ppm

^{13}C NMR (Spektrum 229)

(100 MHz, DMSO- d_6)

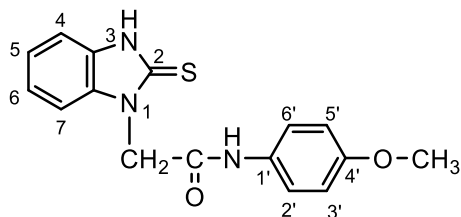
δ 46.3 (CH₂), 55.0 (OCH₃), 104.7, 109.0, 109.6 (C4 veya C7), 110.0 (C4 veya C7), 111.2, 122.3 (C5 veya C6), 122.9 (C5 veya C6), 129.7 (C5'), 130.6 (C3a veya C7a), 133.5 (C3a veya C7a), 140.0 (C1'), 159.6 (C3'), 164.9 (C=O), 169.0 (C=S) ppm

MS (NI-APCI) (Spektrum 230)

m/z (% Bağlı bolluk)

314.23 [M+2-H]⁻ (5), 312.21 [M-H]⁻ (100)

4.1.2.31. BS14 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları



N-(4-Metoksifenil)-2-(2-tiyokso-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit

Erime derecesi: 272°C (Metanol)

Verim: %34

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 231)

3264 (N-H gerilmesi), 3068 (Aromatik C-H gerilmesi), 2957 (Alifatik C-H gerilmesi), 1672 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1542 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1246 (Aril alkil eter C-O asimetrik gerilmesi), 1195 (C=S gerilmesi), 1025 (Aril alkil eter C-O simetrik gerilmesi)

¹H NMR (Spektrum 232)

(400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 3.71 (3H, s, OCH₃), 5.11 (2H, s, CH₂), 6.89 (2H, d, *J*=9.0 Hz, H3' ve H5'), 7.15-7.23 (3H, m, Benzimi-H), 7.33-7.36 (1H, m, Benzimi-H), 7.49 (2H, d, *J*=8.6 Hz, H2' ve H6'), 10.27 (1H, s, Amit-NH), 12.85 (1H, bs, Benzimi-NH) ppm

¹³C NMR (Spektrum 233)

(100 MHz, DMSO-*d*₆)

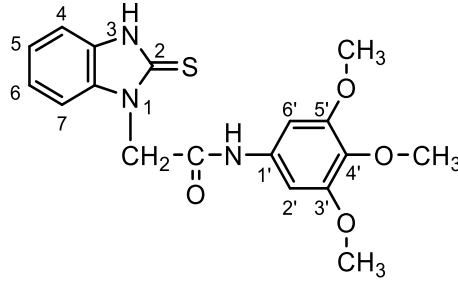
δ 46.1 (CH₂), 55.1 (OCH₃), 109.6 (C4 veya C7), 110.0 (C4 veya C7), 113.9 (C3' ve C5'), 120.5 (C2' ve C6'), 122.2 (C5 veya C6), 122.8 (C5 veya C6), 130.6 (C3a veya C7a), 131.9 (C1'), 133.5 (C3a veya C7a), 155.3 (C4'), 164.2 (C=O), 169.0 (C=S) ppm

MS (NI-APCI) (Spektrum 234)

m/z (% Bağıl bolluk)

312.23 [M-H]⁻ (26), 161.12 [C₈H₇N₂S]⁻ (100)

4.1.2.32. BS15 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



N-(3,4,5-Trimetoksifenil)-2-(2-tiyokso-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit

Erime derecesi: 264°C (Metanol)

Verim: %76

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 235)

3146 (N-H gerilmesi), 3061 (Aromatik C-H gerilmesi), 2942 (Alifatik C-H gerilmesi), 1660 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1568 (N-H eğilmesi, amit II bandı), 1231 (Aril alkil eter C-O asimetrik gerilmesi), 1189 (C=S gerilmesi), 1005 (Aril alkil eter C-O simetrik gerilmesi)

^1H NMR (Spektrum 236)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 3.61 (3H, s, OCH₃-4'), 3.72 (6H, s, OCH₃-3' ve OCH₃-5'), 5.12 (2H, s, CH₂), 6.98 (2H, s, H2' ve H6'), 7.15-7.23 (3H, m, Benzimi-H), 7.33-7.37 (1H, m, Benzimi-H), 10.44 (1H, s, Amit-NH) ppm

^{13}C NMR (Spektrum 237)

(100 MHz, DMSO- d_6)

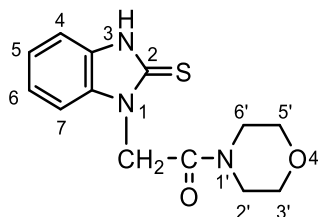
δ 46.2 (CH₂), 55.7 (OCH₃-3' ve OCH₃-5'), 60.1 (OCH₃-4'), 96.6 (C2' ve C6'), 109.6 (C4 veya C7), 110.0 (C4 veya C7), 122.3 (C5 veya C6), 122.9 (C5 veya C6), 130.7 (C3a veya C7a), 133.4, 133.5, 135.0 (C1' veya C4'), 152.8 (C3' ve C5') 164.7 (C=O), 169.1 (C=S) ppm

MS (NI-APCI) (Spektrum 238)

m/z (% Bağlı bolluk)

374 [M+2-H]⁻ (6), 372.37 [M-H]⁻ (99), 189.21 [C₉H₇N₂OS]⁻ (100)

4.1.2.33. BS16 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



1-Morfolino-2-(2-tiyokso-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)etan-1-on

Erime derecesi: 212°C (Metanol)

Verim: %64

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 239)

3064 (Aromatik C-H gerilmesi), 2939 (Alifatik C-H gerilmesi), 1638 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1189 (C=S gerilmesi).

^1H NMR (Spektrum 240)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 3.44-3.45 (2H, m, Morf-H), 3.57-3.59 (2H, m, Morf-H), 3.64-3.69 (4H, m, Morf-H), 5.19 (2H, s, CH₂), 7.13-7.21 (3H, m, Benzimi-H), 7.24-7.27 (1H, m, Benzimi-H) 12.79 (1H, s, NH) ppm

^{13}C NMR (Spektrum 241)

(100 MHz, DMSO- d_6)

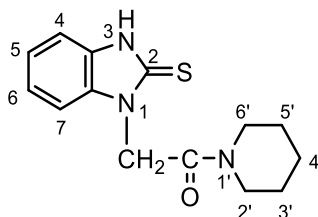
δ 42.0, 44.5, 44.9, 66.1, 109.6 (C4 veya C7), 110.1 (C4 veya C7), 122.1 (C5 veya C6), 122.8 (C5 veya C6), 130.6 (C3a veya C7a), 133.4 (C3a veya C7a), 164.4 (C=O), 169.0 (C=S) ppm

MS (NI-APCI) (Spektrum 242)

m/z (% Bağlı bolluk)

278 [M+2-H]⁻ (6), 276.20 [M-H]⁻ (100)

4.1.2.34. BS17 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



1-(Piperidin-1-il)-2-(2-tiyokso-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)etan-1-on

Erime derecesi: 237°C (Metanol)

Verim: %27

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 243)

3056 (Aromatik C-H gerilmesi), 2939 (Alifatik C-H gerilmesi), 1658 (C=O gerilmesi, amit I bandı), 1200 (C=S gerilmesi)

^1H NMR (Spektrum 244)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 1.45 (2H, bs, Pip-H), 1.62 (4H, s, Pip-H), 3.42 (2H, t, $J=5.5$ Hz, Pip-H), 3.55 (2H, bs, Pip-H), 5.17 (2H, s, CH_2), 7.13-7.23 (4H, m, Benzimi-H), 12.78 (1H, bs, NH) ppm

^{13}C NMR (Spektrum 245)

(100 MHz, DMSO- d_6)

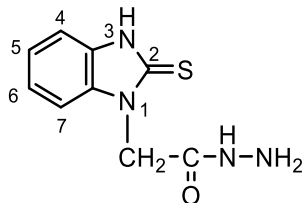
δ 24.0, 25.3, 26.0, 42.6, 44.6, 45.4, 109.5 (C4 veya C7), 110.0 (C4 veya C7), 122.1 (C5 veya C6), 122.7 (C5 veya C6), 130.6 (C3a veya C7a), 133.4 (C3a veya C7a), 163.7 (C=O), 169.0 (C=S) ppm

MS (NI-APCI) (Spektrum 246)

m/z (% Bağlı bolluk)

274.25 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (52)

4.1.2.35. BS18 Kodlu Bileşğin Spektral Bulguları



2-(2-Tiyokso-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetohidrazit

Erime derecesi: 212°C (Etanol)

Verim: %26

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 247)

3318 (Primer N-H gerilmesi), 3139 (Sekonder N-H gerilmesi), 3061 (Aromatik C-H gerilmesi), 2936 (Alifatik C-H gerilmesi), 1665 (C=O gerilmesi), 1195 (C=S gerilmesi)

^1H NMR (Spektrum 248)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 4.28 (2H, s, NH₂), 4.88 (2H, s, CH₂), 7.13-7.23 (4H, m, Benzimi-H), 9.34 (1H, s, NH), 12.78 (1H, bs, Benzimi-NH) ppm

^{13}C NMR (Spektrum 249)

(100 MHz, DMSO- d_6)

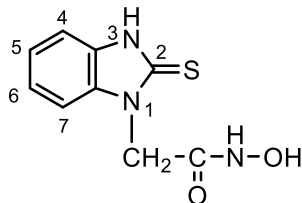
δ 44.4 (CH₂), 109.6 (C4 veya C7), 109.9 (C4 veya C7), 122.2 (C5 veya C6), 122.9 (C5 veya C6), 130.7 (C3a veya C7a), 133.3 (C3a veya C7a), 165.6 (C=O), 169.0 (C=S) ppm

MS (NI-APCI) (Spektrum 250)

m/z (% Bağlı bolluk)

221.15 [M-H]⁻ (44)

4.1.2.36. BS19 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları



N-Hidroksi-2-(2-tiyokso-2,3- dihidro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetamit

Erime derecesi: 208°C (Metanol)

Verim: %36

IR $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$ (Spektrum 251)

3156 (N-H ve O-H gerilmeleri), 2944 (Alifatik C-H gerilmesi), 1760 (C=O gerilmesi), 1198 (C=S gerilmesi)

^1H NMR (Spektrum 252)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 3.69 (2H, s, OH ve NH), 5.13 (2H, s, CH₂), 7.16-7.24 (3H, m, Benzimi-H), 7.36-7.40 (1H, m, Benzimi-H) ppm

^{13}C NMR (Spektrum 253)

(100 MHz, DMSO- d_6)

δ 44.5 (CH₂), 52.3, 109.8 (C4 ve C7), 122.4 (C5 veya C6), 123.1 (C5 veya C6), 130.7 (C3a veya C7a), 132.8 (C3a veya C7a), 167.9 (C=O), 169.0 (C=S) ppm

MS (NI-APCI) (Spektrum 254)

m/z (% Bağlı bolluk)

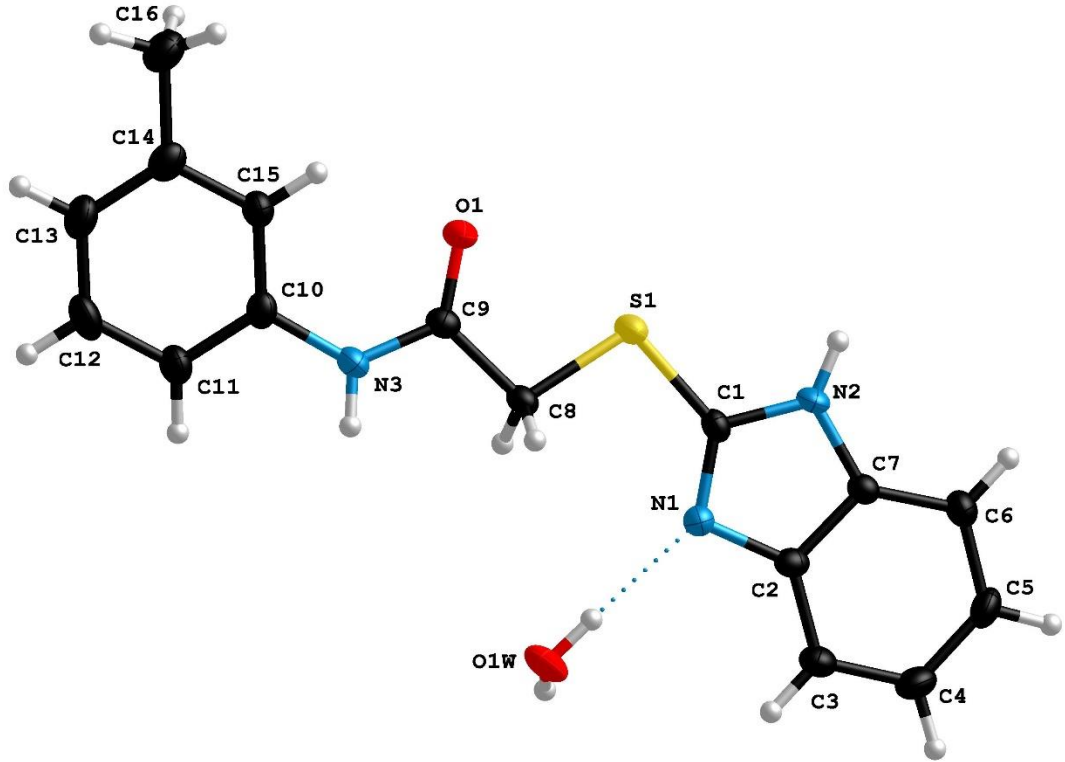
222.15 [M-H]⁻ (6)

4.2. X-Ray Analiz Bulguları

Tez çalışması kapsamında sentezlenen bileşiklerin yapılarını kesinleştirmek amacıyla X-ray analizleri gerçekleştirilen **B10** ve **BS6** kodlu bileşiklere ait bulgular aşağıda özetlenmiştir.

B10 bileşiğine ait termal elipsoid görünümü Şekil 4-1, X-ışını kırınımı ve yapı arıtım verileri Tablo 4-3, bağ uzunlukları Tablo 4-4, bağ açıları Tablo 4-5, torsiyon açıları Tablo 4-6, kristal yapı içindeki hidrojen bağları ve zayıf etkileşmeler Tablo 4-7, hidrojen bağları sonucunda oluşan dimerik motif Şekil 4-2, birim hücre içerisindeki görüntüsü ise Şekil 4-3'teki gibidir.

B6 kodlu bileşiğe ait ORTEP görünümü Şekil 4-4, X-ışını kırınımı ve yapı arıtım verileri Tablo 4-8, bağ uzunlukları Tablo 4-9, bağ açıları Tablo 4-10, torsiyon açıları Tablo 4-11, kristal yapı içindeki hidrojen bağları ve zayıf etkileşmeler Tablo 4-12, hidrojen bağları sonucunda oluşan dimerik motif Şekil 4-5, birim hücre içerisindeki görüntüsü ise Şekil 4-6'daki gibidir.



Şekil 4-1. **B10** bileşiğinin asimetrik birimdeki moleküler yapısının %30 olasılık düzeyinde çizilmiş termal elipsoid görünümü

Tablo 4-3. **B10** bileşiğine ait X-ışını kırınımı ve yapı arıtım verileri.

Formül	C ₁₆ H ₁₇ N ₃ O ₂ S	ρ_c (mg m⁻³)	1.360
M_r (g/mol⁻¹)	315.38	μ (mm⁻¹)	0.221
Kristal rengi ve şekli	Renksiz, prizmatik	<i>F</i> (000)	664
Kristal boyutları (mm)	0.28×0.13×0.10	2θ (°)	6.486–50.052
Sıcaklık (K)	295 (2)	<i>h</i>	-19,17
Dalgaboyu (Å)	0.71073	<i>k</i>	-4,5
Kristal sistemi	Monoklinik	<i>l</i>	-18,22
Uzay grubu, <i>Z</i>	<i>P</i> 2 ₁ / <i>n</i> , 4	Toplam yansıma	5142
<i>a</i> (Å)	16.326(2)	Bağımsız	2713 [<i>R</i> (int)=0.071]
<i>b</i> (Å)	4.9530(7)	Data/parametre	5142/203
<i>c</i> (Å)	19.058(3)	GooF	0.983
α (°)	90	<i>R</i> indisi [<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>)]	<i>R</i> ₁ =0.066, <i>wR</i> ₂ =0.077
β (°)	91.559(13)	<i>R</i> indisi (tüm data)	<i>R</i> ₁ 0.167, <i>wR</i> ₂ =0.104
γ (°)	90	$\Delta\rho_{\max}/\Delta\rho_{\min}$ (eÅ⁻³)	0.20/-0.23
Birim hücre	1540.5(4)		

Tablo 4-4. **B10** bileşiğine ait bağ uzunlukları

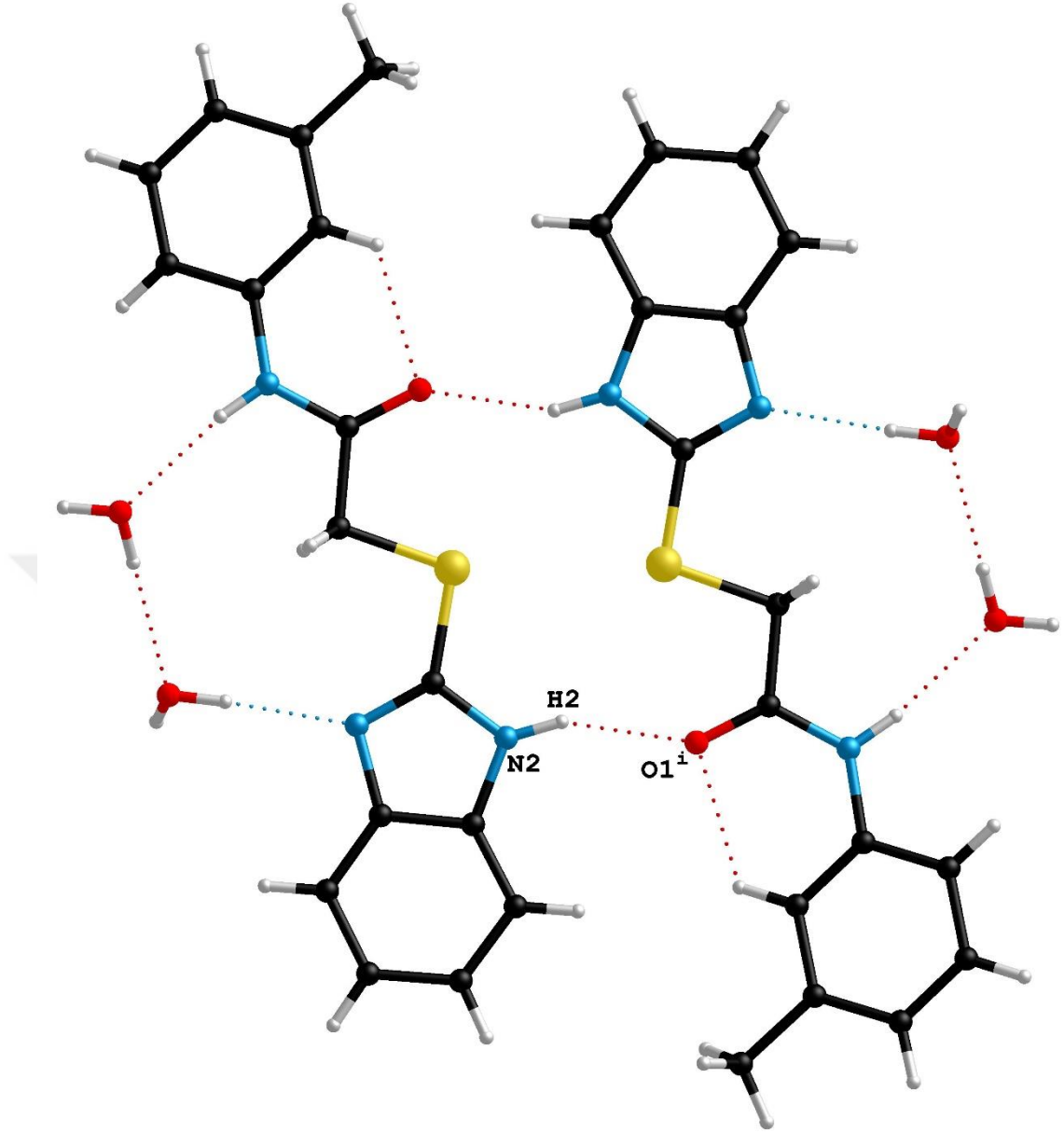
Atom (1)	Atom (2)	Uzunluk / Å
S1	C1	1.742(4)
S1	C8	1.800(4)
N1	C1	1.302(5)
N1	C2	1.399(4)
N2	C1	1.372(4)
N2	C7	1.384(4)
C2	C3	1.382(5)
C2	C7	1.387(5)
C3	C4	1.384(5)
C4	C5	1.386(5)
C5	C6	1.381(5)
C6	C7	1.383(5)

Tablo 4-5. **B10** bileşğine ait bağ açıları

Atom (1)	Atom (2)	Atom (3)	Açı / °
C1	S1	C8	99.93(19)
C1	N1	C2	104.1(3)
C1	N2	C7	106.2(3)
N1	C1	S1	128.3(3)
N1	C1	N2	113.9(4)
N2	C1	S1	117.7(3)
C3	C2	N1	129.6(4)
C3	C2	C7	119.8(4)
C7	C2	N1	110.5(4)
C2	C3	C4	118.2(4)
C3	C4	C5	120.9(4)
C6	C5	C4	122.1(4)
C5	C6	C7	116.0(4)
N2	C7	C2	105.3(3)
C6	C7	N2	131.6(4)
C6	C7	C2	123.1(4)
C9	C8	S1	104.6(3)

Tablo 4-6. **B10** bileşiğine ait torsiyon açıları

Atom (1)	Atom (2)	Atom (3)	Atom (4)	Açı / °
S1	C8	C9	O1	-2.1(5)
S1	C8	C9	N3	176.7(3)
N1	C2	C3	C4	177.8(4)
N1	C2	C7	N2	0.3(4)
N1	C2	C7	C6	-177.9(3)
C1	S1	C8	C9	178.8(2)
C1	N1	C2	C3	-178.9(4)
C1	N1	C2	C7	-0.4(4)
C1	N2	C7	C2	-0.1(4)
C1	N2	C7	C6	177.8(4)
C2	N1	C1	S1	177.9(3)
C2	N1	C1	N2	0.3(4)
C2	C3	C4	C5	0.0(6)
C3	C2	C7	N2	179.0(3)
C3	C2	C7	C6	0.8(6)
C3	C4	C5	C6	0.3(7)
C4	C5	C6	C7	-0.1(6)
C5	C6	C7	N2	-178.1(4)
C5	C6	C7	C2	-0.5(6)
C7	N2	C1	S1	-177.9(3)
C7	N2	C1	N1	-0.1(4)
C7	C2	C3	C4	-0.5(6)
C8	S1	C1	N1	8.4(4)
C8	S1	C1	N2	-174.1(3)

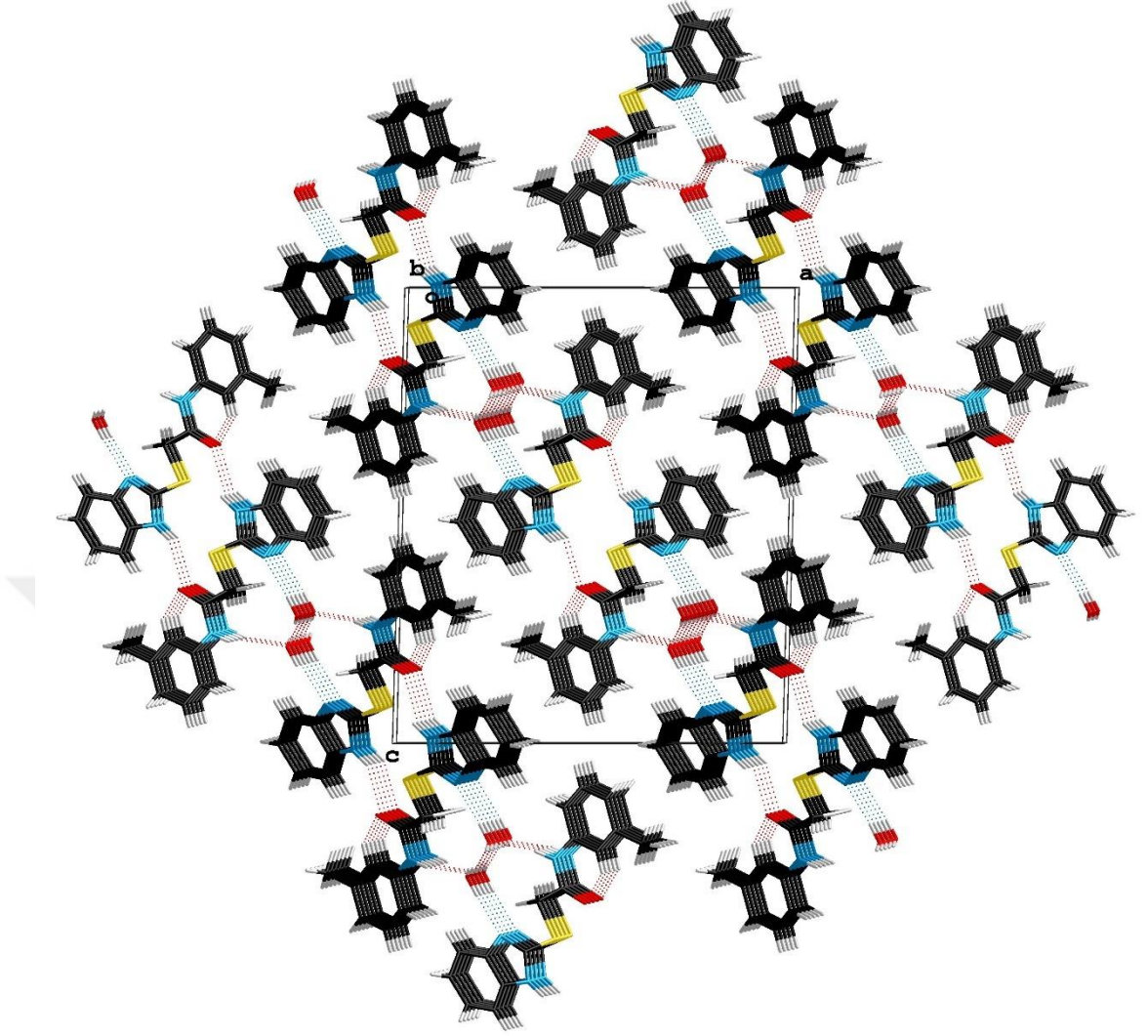


Şekil 4-2. **B10** bileşiğine ait N2–H2···O2 hidrojen bağı ile oluşan $R_2^2(14)$ dimerik motif.

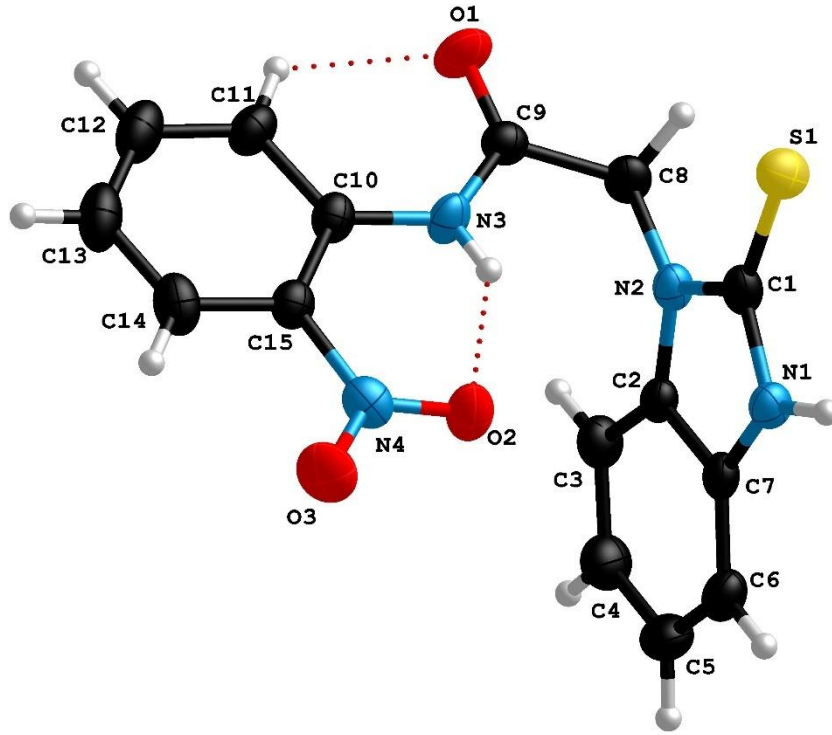
Tablo 4-7. **B10** bileşiğinin kristal yapısı içindeki hidrojen bağları ve zayıf etkileşimler (Å, °).

D–H···A	D–H (Å)	H···A (Å)	D···A (Å)	D–H···A (°)
O1W–H1WA···N1	0.85	2.00	2.843(4)	171
N2–H2···O1ⁱ	0.86	2.17	2.945(4)	150

Simetri kodu: (i) 1-x, 1-y, 1-z; (ii) 3/2-x, -1/2+y, 3/2-z; (iii) 3/2-x, 1/2+y, 3/2-z



Şekil 4-3. **B10** kodlu bileşiğin birim hücre içerisinde *b* ekseninden bakıldığında oluşan paketlenme gösterimi.



Şekil 4-4. **BS6** bileşiğinin moleküler yapısının %30 olasılık düzeyinde çizilmiş ORTEP görünümü.
Molekül içi H bağları kesik çizgilerle gösterilmiştir.

Tablo 4-8. **BS6** bileşiğine ait X-ışını kırınımı ve yapı arıtım verileri.

Formül	C ₁₅ H ₁₂ N ₄ O ₃ S	ρ_c (mg m⁻³)	1.485
M_r (g/mol⁻¹)	328.35	μ (mm⁻¹)	0.242
Kristal rengi ve şekli	Sarı, Prizmatik	<i>F</i> (000)	340
Kristal boyutları (mm)	0.27×0.08×0.07	2θ (°)	6.282–51.362
Sıcaklık (K)	295 (2)	<i>h</i>	-7,6
Dalgaboyu (Å)	0.71073	<i>k</i>	-11,10
Kristal sistemi	Triklinik	<i>l</i>	0,18
Uzay grubu, Z	<i>P</i> -1, 2	Toplam yansıma	2773
<i>a</i> (Å)	5.8295(5)	Bağımsız	1858 [R (int) = merged]
<i>b</i> (Å)	9.0655(9)	Data/parametre	2773/217
<i>c</i> (Å)	14.9241(17)	GooF	1.014
α (°)	105.636(9)	<i>R</i> indisi [<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>)]	<i>R</i> ₁ = 0.055, <i>wR</i> ₂ = 0.095
β (°)	98.402(9)	<i>R</i> indisi (tüm data)	<i>R</i> ₁ = 0.093, <i>wR</i> ₂ = 0.112
γ (°)	99.345(8)	$\Delta\rho_{\max}/\Delta\rho_{\min}$ (eÅ⁻³)	0.23/-0.26
Birim hücre	734.32(13)		

Tablo 4-9. **BS6** bileşiğine ait bağ uzunlukları

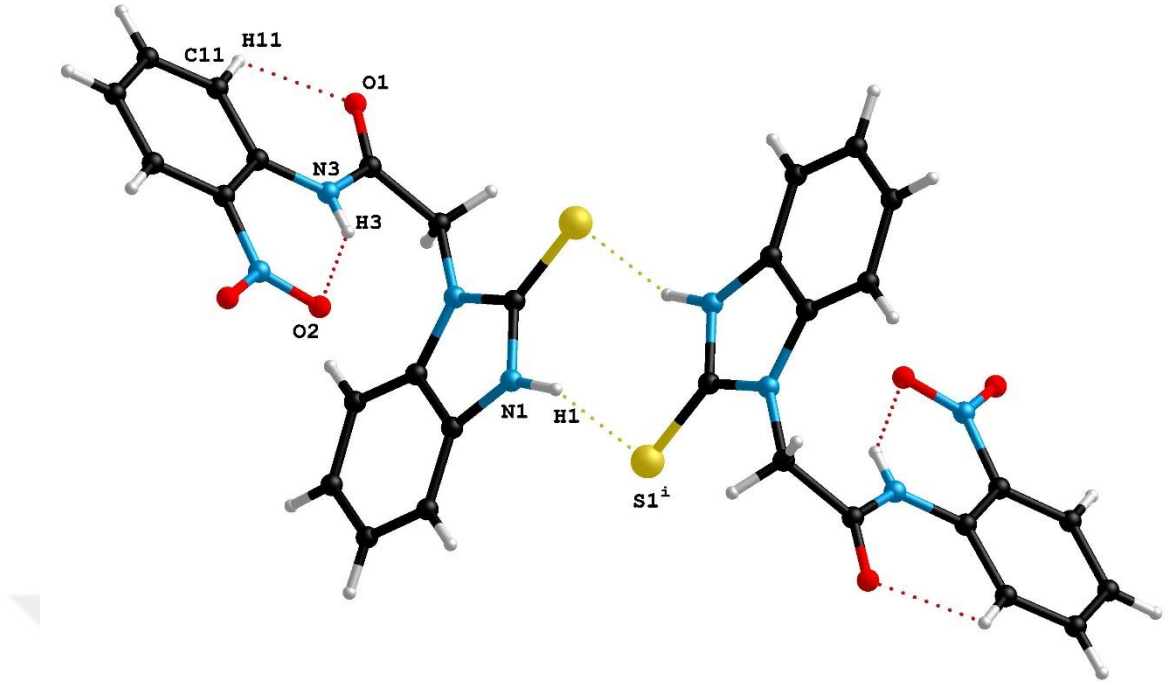
Atom (1)	Atom (2)	Uzunluk / Å
S1	C1	1.663(5)
N1	C1	1.355(5)
N1	C7	1.388(5)
N2	C1	1.376(4)
N2	C2	1.386(5)
N2	C8	1.447(4)
C2	C3	1.379(6)
C2	C7	1.392(5)
C3	C4	1.378(6)
C4	C5	1.384(6)
C5	C6	1.373(6)
C6	C7	1.365(6)

Tablo 4-10. **BS6** bileşiğine ait bağ açıları

Atom (1)	Atom (2)	Atom (3)	Açı / °
C1	N1	C7	111.3(3)
C1	N2	C2	110.7(3)
C1	N2	C8	123.8(4)
C2	N2	C8	125.4(3)
N1	C1	S1	128.4(3)
N1	C1	N2	105.3(4)
N2	C1	S1	126.2(3)
N2	C2	C7	106.4(3)
C3	C2	N2	132.4(3)
C3	C2	C7	121.2(4)
C4	C3	C2	117.0(4)
C3	C4	C5	121.4(5)
C6	C5	C4	121.3(5)
C7	C6	C5	117.6(4)
N1	C7	C2	106.2(4)
C6	C7	N1	132.3(4)
C6	C7	C2	121.4(4)
N2	C8	C9	116.2(3)

Tablo 4-11. **BS6** bileşğine ait torsiyon açıları

Atom (1)	Atom (2)	Atom (3)	Atom (4)	Açı / °
N2	C2	C3	C4	179.0(4)
N2	C2	C7	N1	-0.3(4)
N2	C2	C7	C6	179.4(4)
N2	C8	C9	O1	179.2(4)
N2	C8	C9	N3	-2.3(5)
C1	N1	C7	C2	-0.2(4)
C1	N1	C7	C6	-179.9(4)
C1	N2	C2	C3	-178.7(4)
C1	N2	C2	C7	0.7(4)
C1	N2	C8	C9	-95.0(4)
C2	N2	C1	S1	179.1(3)
C2	N2	C1	N1	-0.8(4)
C2	N2	C8	C9	89.3(5)
C2	C3	C4	C5	1.1(7)
C3	C2	C7	N1	179.2(4)
C3	C2	C7	C6	-1.1(6)
C3	C4	C5	C6	-0.5(8)
C4	C5	C6	C7	-0.9(7)
C5	C6	C7	N1	-178.8(4)
C5	C6	C7	C2	1.6(6)
C7	N1	C1	S1	-179.3(3)
C7	N1	C1	N2	0.6(4)
C7	C2	C3	C4	-0.3(6)
C8	N2	C1	S1	2.8(5)
C8	N2	C1	N1	-177.1(3)
C8	N2	C2	C3	-2.5(7)
C8	N2	C2	C7	176.9(3)

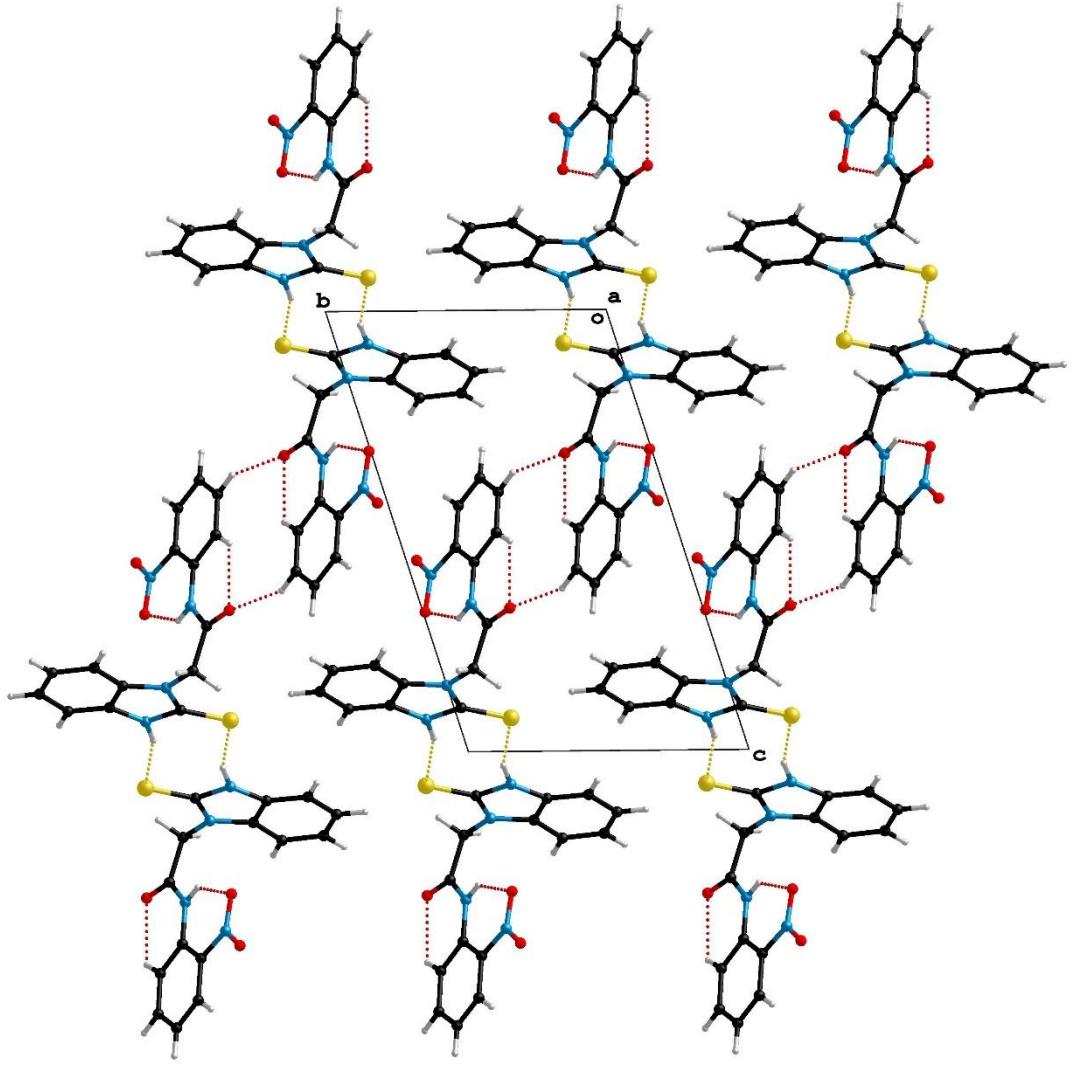


Şekil 4-5. **BS6** bileşiğinin N1–H1...S1 hidrojen bağları ile ortaya çıkan oluşan $R_2^2(8)$ dimerik motifi.

Tablo 4-12. **BS6** bileşiğinin kristal yapısı içindeki hidrojen bağları ve zayıf etkileşmeler (Å, °).

D–H...A	D–H (Å)	H...A (Å)	D...A (Å)	D–H...A (°)
N1–H1...S1 ⁱ	0.94	2.41	3.307(4)	160
C8–H8B...S1	0.97	2.76	3.169(4)	106

Simetri kodu: (i) 1-x, -y, -z, (ii) -x, 1-y, 1-z

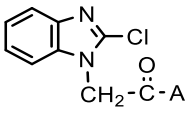
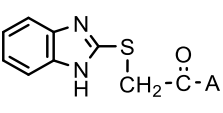
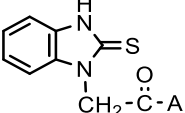


Şekil 4-6. **BS6** bileşiğinin birim hücre içerisinde *a* ekseninden bakıldığında oluşan paketlenme gösterimi.

4.3. Biyolojik Aktivite Bulguları

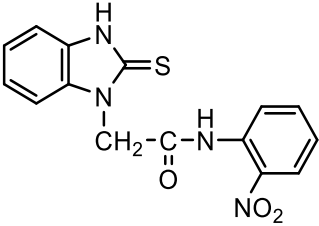
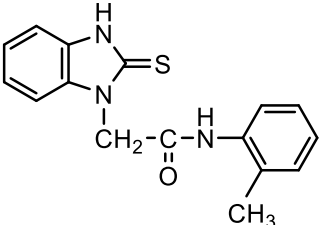
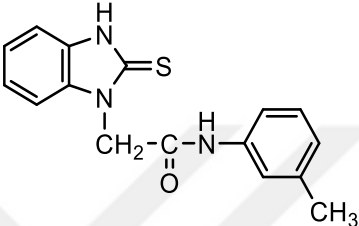
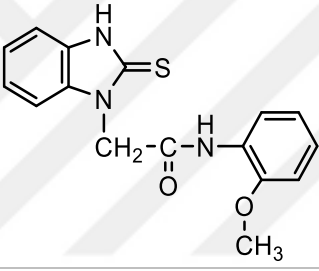
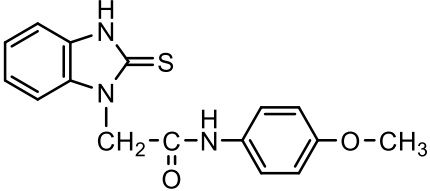
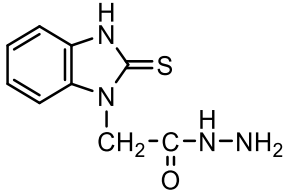
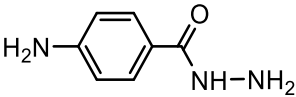
MPO taurin kloramin yöntemi ile aktiviteleri test edilen bütün bileşiklerin 20 µM konsantrasyonda % inhibisyon değerleri Tablo 4-13'te verilmiştir. Ayrıca %70 ve üzeri aktivite gösteren bileşikler için gerçekleştirilen IC₅₀ deney sonuçları da Tablo 4-14'te özetlenmiştir.

Tablo 4-13. Aktivitesi test edilen bileşiklerin MPO % inhibisyon sonuçları

	% İnhibisyon		% İnhibisyon		% İnhibisyon
BCL1	27.89±2.12	B1	50±1.531	BS1	91.94±1.41
BCL2	24.85±2.52	B2	63.61±4.46	BS2	95.26±0.08
BCL3	21.91±1.47	B3	54.42±1.28	BS3	89.44±1.88
BCL4	67.78±3.32	B4	56.08±4.56	BS4	75.65±2.12
BCL5	63.75±0.40	B5	52.63±2.44	BS5	85.31±3.03
BCL6	31.76±1.19	B6	48.55±8.06	BS6	70.16±0.72
BCL7	43.95±11.5	B7	62.27±3.88	BS7	61.89±1.37
BCL8	53.99±0.6	B8	62.06±9.98	BS8	61.40±5.53
BCL9	28.49±2.05	B9	44.9±10.82	BS9	93.03±0.65
BCL10	34.75±3.38	B10	92.47±2.08	BS10	91.38±3.82
BCL11	36.53±9.62	B11	72.99±3.40	BS11	41.10±0.36
BCL12	39.34±7.06	B12	72.56±7.08	BS12	94.30±0.22
BCL13	46.64±8.16	B13	61.42±4.83	BS13	65.55±1.63
BCL14	36.85±4.83	B14	50±4.33	BS14	81.70±0.58
BCL15	35.70±3.48	B15	68.92±3.88	BS15	62.60±1.99
BCL16	32.69±0.39	B16	35.85±2.43	BS16	52.24±3.54
BCL17	29.14±3.84	B17	31.98±2.41	BS17	58.22±0.43
BCL18	33.32±0.62			BSE	51.30±1.30
				BS18	93.21±0.29
				BS19	51.20±1.95

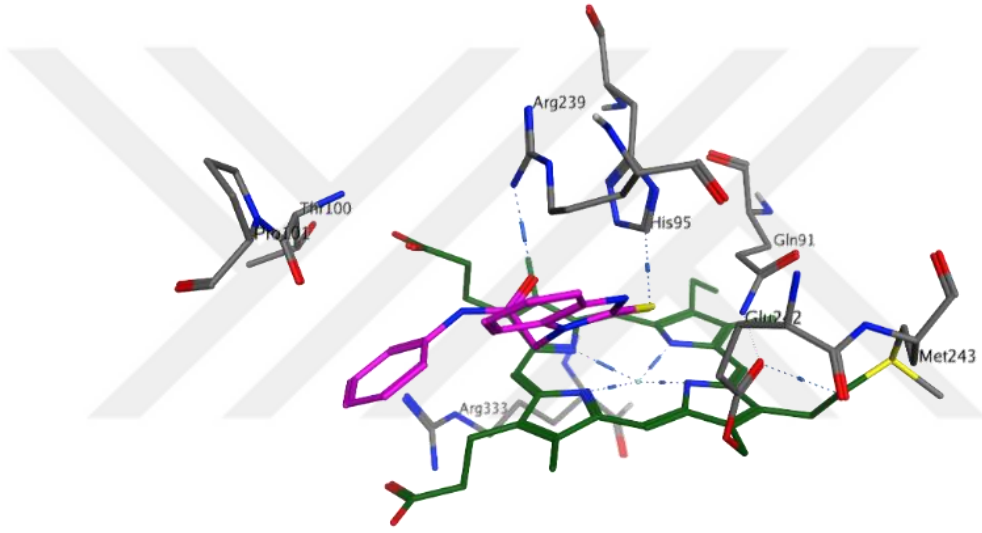
Tablo 4-14. %70 üzerinde MPO inhibisyon gösteren bileşiklerin IC₅₀ sonuçları

Bileşik Kodu	Açık Formülü	% İnhibisyon	IC ₅₀ (μM)
B10		92.47±4.46	6.41±0.082
B11		72.99±3.40	8.505±0.032
B12		72.56±7.08	10.42±0.039
BS1		91.94±1.41	5.636±0.05
BS2		95.26±0.08	4.328±0.085
BS3		89.44±1.88	6.67±0.055
BS4		75.65±2.12	9.44±0.05
BS5		85.31±3.03	7.762±0.035

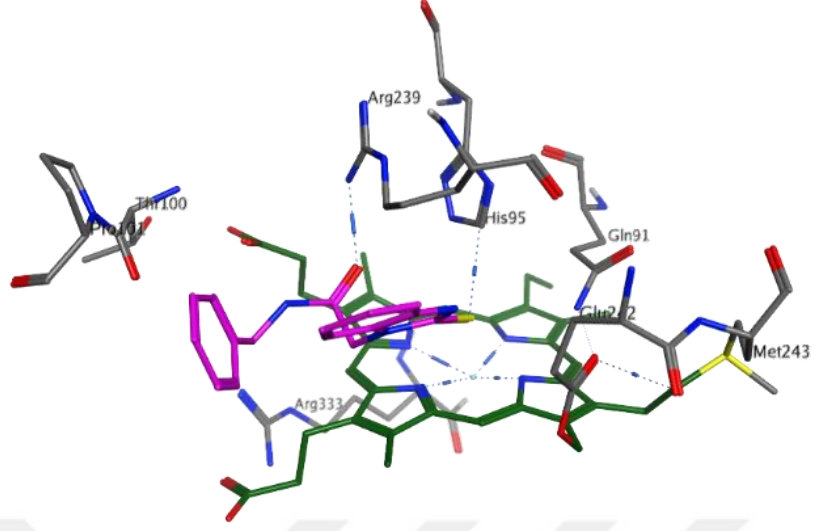
BS6		70.16±0.72	5.618±0.076
BS9		93.03±0.65	4.258±0.037
BS10		91.38±3.82	3.855±0.071
BS12		94.30±0.22	3.718±0.053
BS14		81.70±0.58	4.079±0.061
BS18		93.21±0.29	0.393±0.03
ABAH			0.217±0.035

4.4. Moleküler Kenetlenme Bulguları

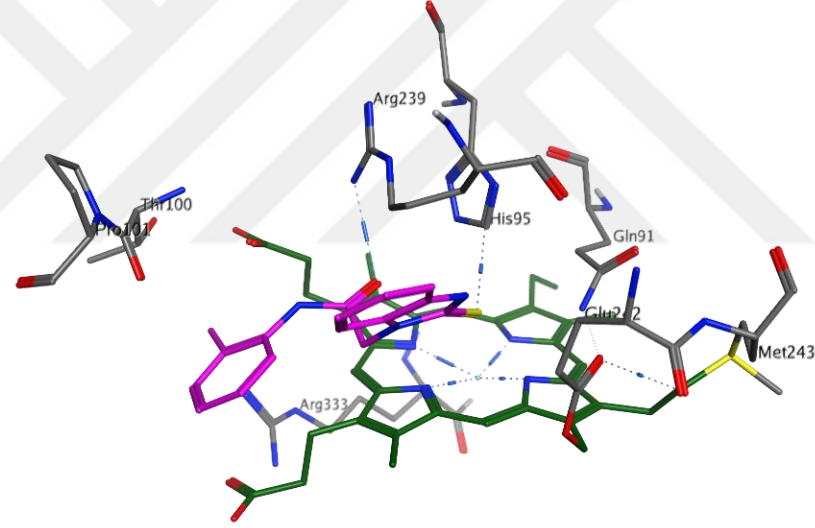
Tez çalışmamız kapsamında biyolojik aktiviteleri test edilen ürünlerden %90 ve üzerinde MPO inhibisyonu gösteren bileşiklerin (**BS1**, **BS2**, **BS9**, **BS10**, **BS12**, **BS18**, **B10**) enzimin aktif yöresindeki kenetlenme pozları Şekil 4-7, Şekil 4-8, Şekil 4-9, Şekil 4-10, Şekil 4-11, Şekil 4-12, Şekil 4-13 ve etkileşim bulguları Tablo 4-15’te özetlendiği gibidir. Şekillerde bileşikler pembe, hem grubu yeşil olarak renklendirilmiştir.



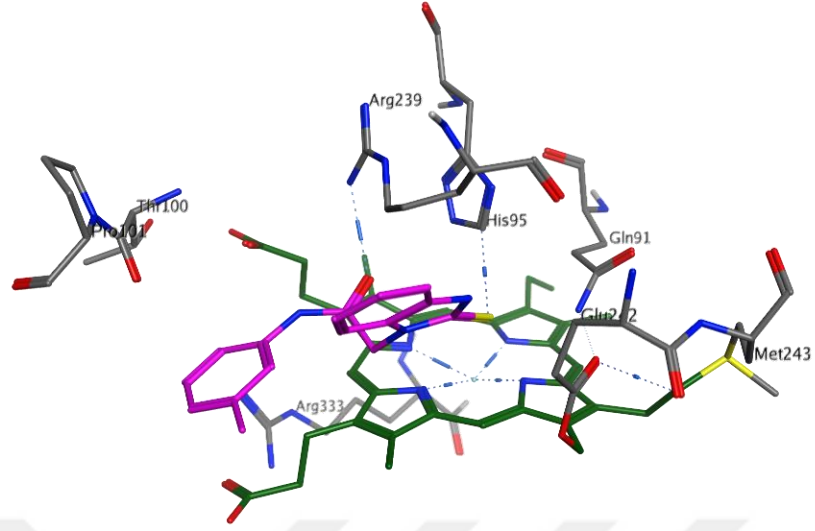
Şekil 4-7. **BS1** bileşiğinin kenetlenme pozu



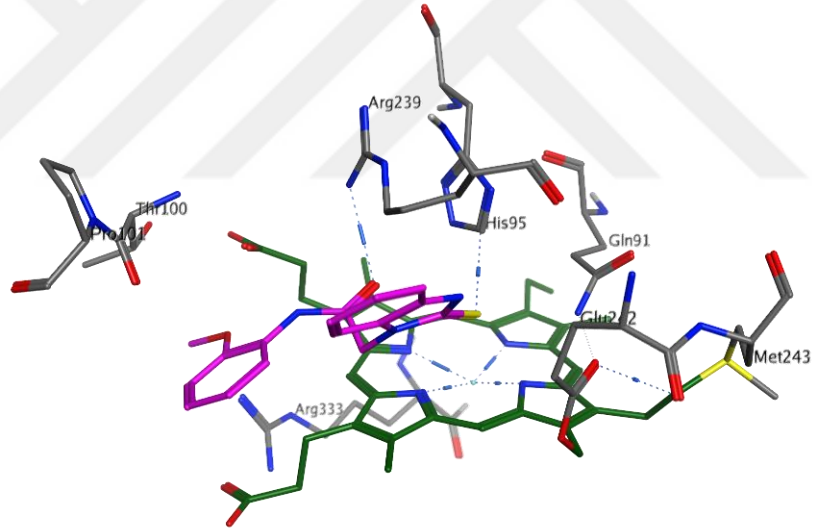
Şekil 4-8. **BS2** bileşiğinin kenetlenme pozu



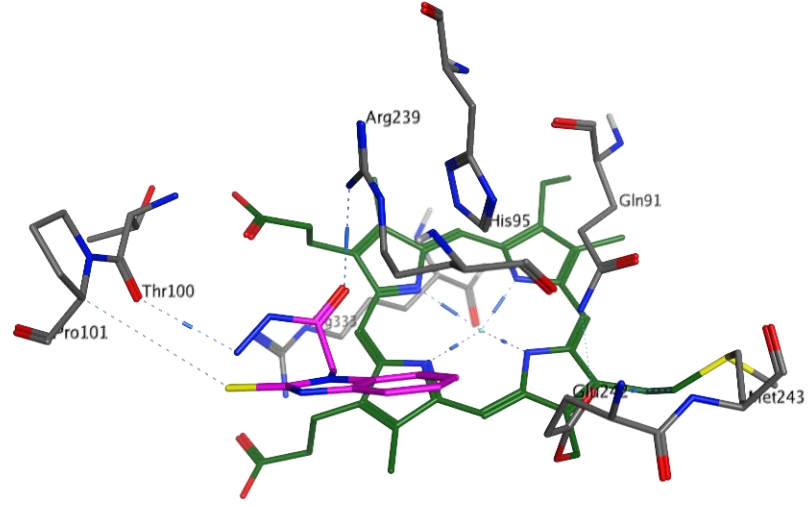
Şekil 4-9. **BS9** bileşiğinin kenetlenme pozu



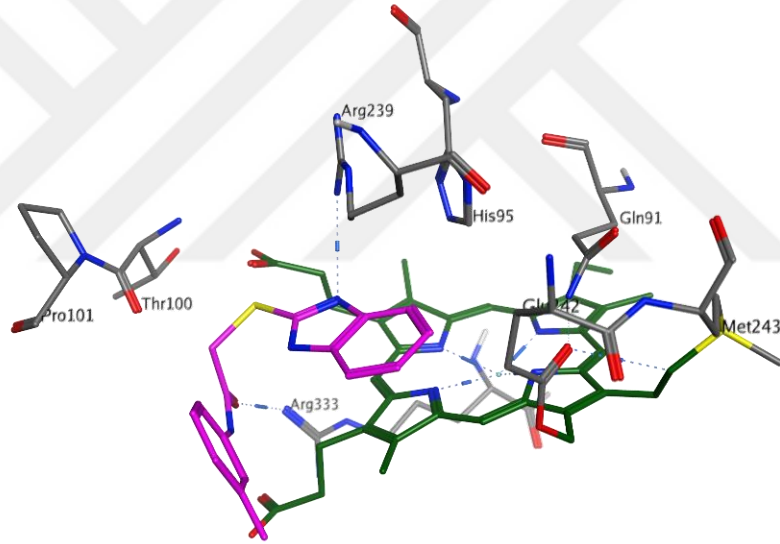
Şekil 4-10. **BS10** bileşiğinin kenetlenme pozu



Şekil 4-11. **BS12** bileşiğinin kenetlenme pozu

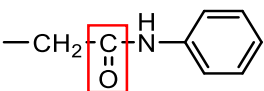
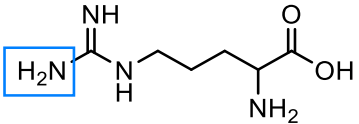
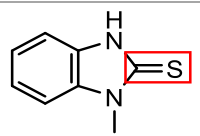
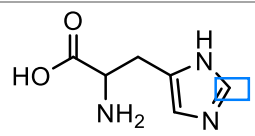
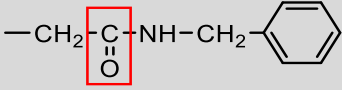
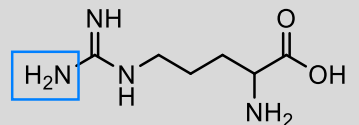
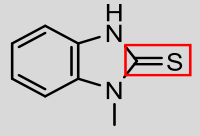
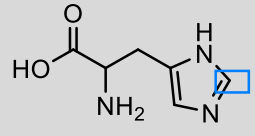
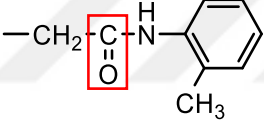
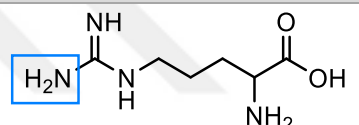
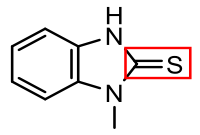
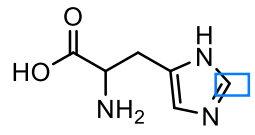
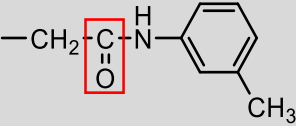
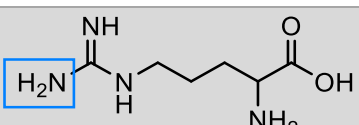
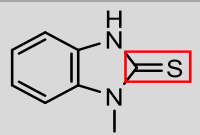
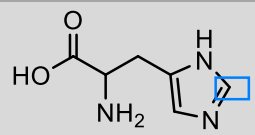
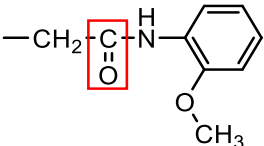
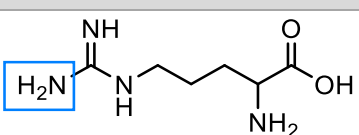
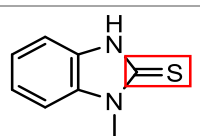
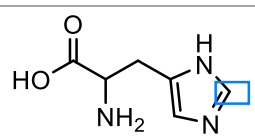


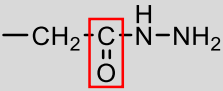
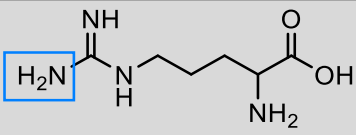
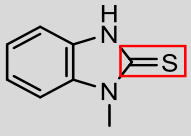
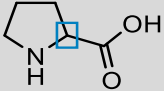
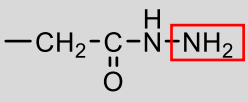
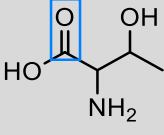
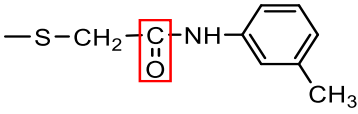
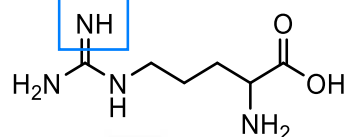
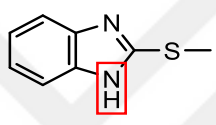
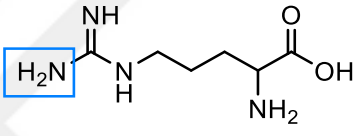
Şekil 4-12. **BS18** bileşiğinin kenetlenme pozu



Şekil 4-13. **B10** bileşiğinin kenetlenme pozu

Tablo 4-15. Moleküler kenetlenme çalışmaları bulguları

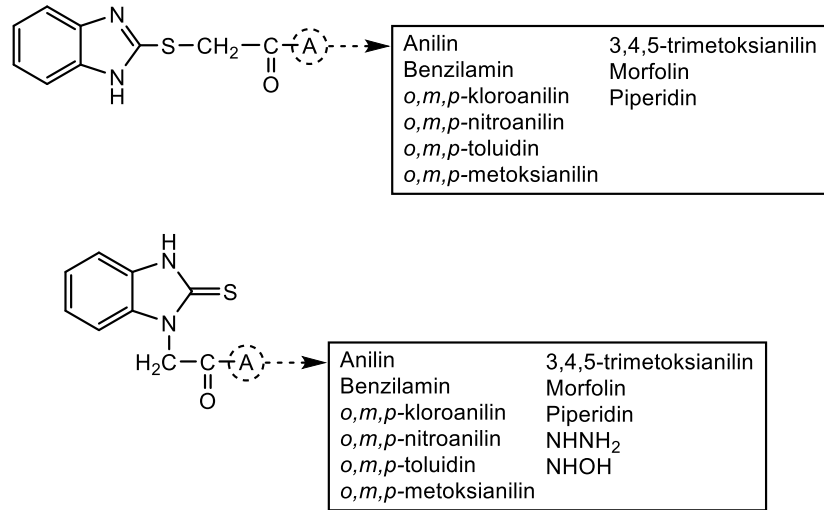
Bileşik Kodu	Bileşiğin Etkileşen Grubu	Etkileştiği Amino Asit	Etkileştiği Amino Asit Bölgesi
BS1		Arg-239	
		His-95	
BS2		Arg-239	
		His-95	
BS9		Arg-239	
		His-95	
BS10		Arg-239	
		His-95	
BS12		Arg-239	
		His-95	

BS18		Arg-239	
		Pro-101	
		Thr-100	
B10		Arg-333	
		Arg-239	

5. Tartışma

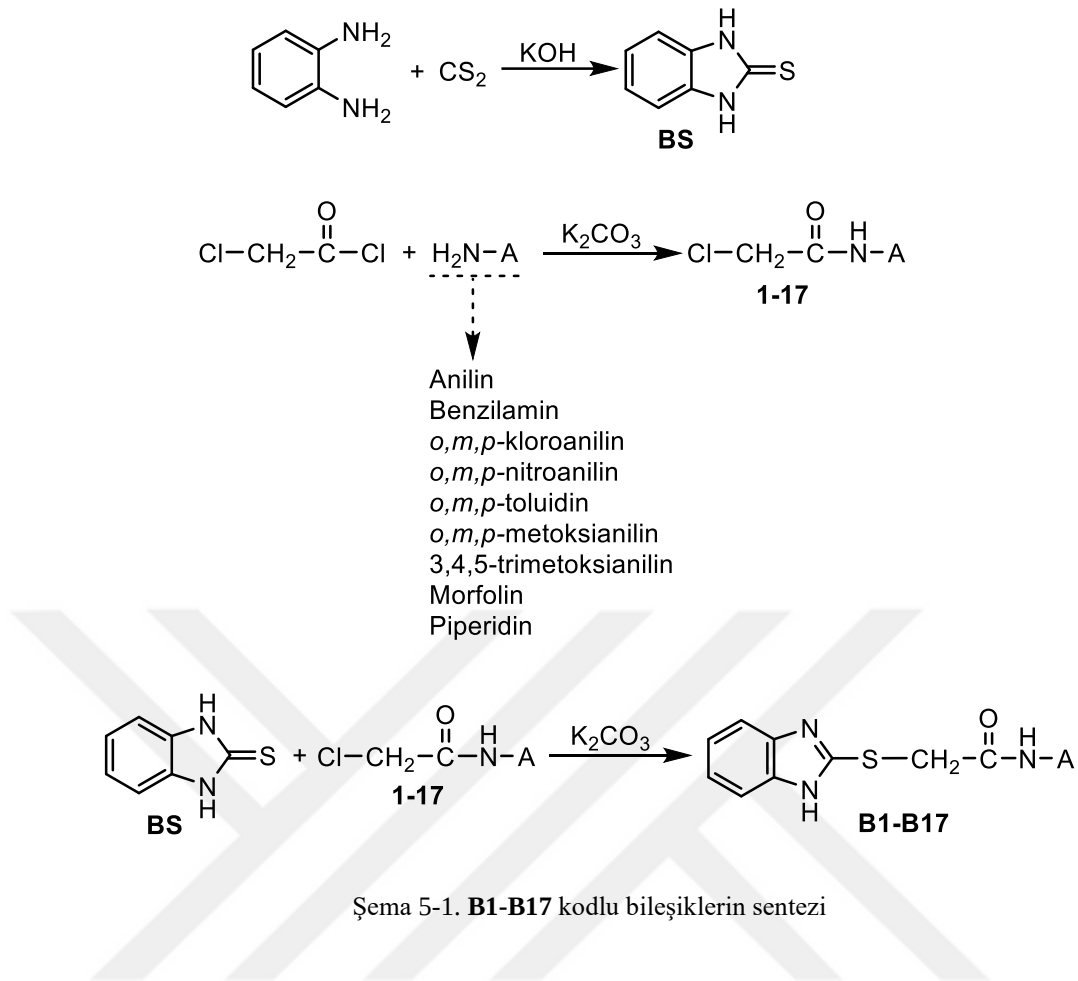
Miyeloperoksidaz (MPO) enzimi nötrofillerde bulunur ve oksidan hipohalöz asitlerin sentezine aracılık ederek antibakteriyel etkinliğin sağlanmasında immün sisteme yardımcı olur. Ancak bu enzimin ekstraselüler sıvıda konağa ait biyomolekülleri de oksitlemesi inflamasyon oluşum sürecini tetikleyerek kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve nörodejeneratif hastalıkların gelişmesine sebep olmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarla yapısı, etkinliği ve hastalıklardaki rolü daha iyi aydınlatılan MPO enzimi, ilaç geliştirme çalışmalarında önemli bir terapötik hedef haline gelmiştir (Forbes & Kettle, 2017; Winterbourn & Kettle, 2012).

Çalışmamızda MPO hedef olarak seçilmiş ve MPO enzimini inhibe edecek moleküllerin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda yapılan literatür çalışmalarında MPO inhibisyonu gösteren bileşiklerin genellikle 5 ve 6 üyeli halkaların kaynaştırılması ile oluşturulan bir çekirdek yapıya sahip olduğu ve 5 üyeli halka üzerinde bir veya iki adet azot atomu taşıdıkları belirlenmiştir (Roth et al., 2014; Soubhye et al., 2013, 2010). Ayrıca halka içi tiyoüre/izotiyooüre yapısının da MPO inhibisyonunda etkili olduğu, kükürt atomunun aktiviteyi artırıcı bir etkinliğe sahip olduğu literatürde rapor edilmiştir (Li et al., 2015; Ruggeri et al., 2015; Tidén et al., 2011). Bu bilgiler ışığında 1,3-dihidro-2*H*-benzo[d]imidazol-2-tiyon yapısına sahip olan molekül ana halka olarak belirlenmiş ve azot atomunun, amit, hidrazit ve hidroksamik asit fonksiyonel grupları taşıyan yan zincirle sübstitüe edilmesi planlanmıştır. Amit türevi bileşikler için farklı elektronik ve sterik özelliklerde sübstitüent taşıyan *N*-fenil halkası ve benzil sübstitüsyonu ile de olası etkinlik farklılıklarının gözlemlenmesi hedeflenmiştir. Ayrıca azotu halka içi hale getirecek morfolin ve piperidin türevleri de tasarlanmıştır. Tasarlanan bileşiklerin sentezi amacıyla gerçekleştirilen ön çalışmalarda benzimidazol-2-tiyon halkasının *N*-sübstitüe-2-kloroasetamit ara ürünleriyle alkilasyonu çalışılmış ancak spektral veriler ve detaylı literatür çalışmalarının doğruladığı üzere alkilasyonun azot yerine kükürt atomu üzerinden gerçekleştiği tespit edilmiştir (Bespalov et al., 2015; E. El Ashry et al., 2015; Trzhtinskaya & Abramova, 1991). Bu kapsamda benzimidazol-2-iltiyoo alkanamit türevi bileşikler de çalışma kapsamına dahil edilmiştir (Şekil 5-1).

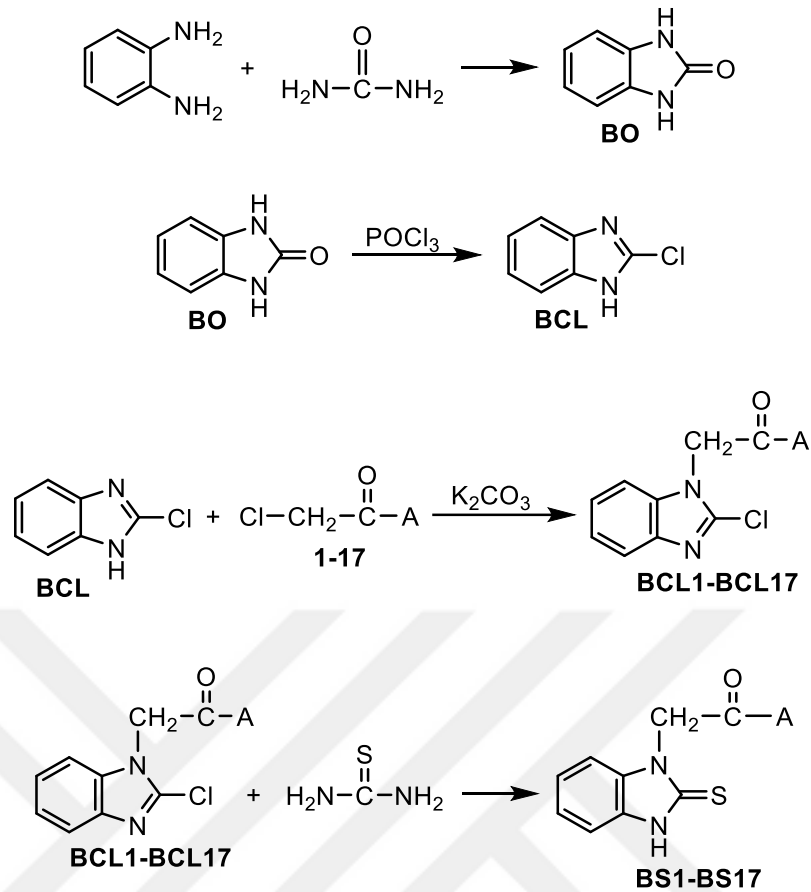


Şekil 5-1. Tasarlanan bileşikler

Ön çalışmalarda elde edilen kükürt süstitüe **B** serisi bileşiklerin sentezi kapsamında ilk olarak 1,2-fenilendiamin CS₂ ile reaksiyona sokularak 1,3-dihidro-2*H*-benzo[*d*]imidazol-2-tiyon bileşiği (**BS**) elde edilmiştir. Bu halka yapısı süstitüe anilin, benzilamin, morfolin ve piperidin 2-kloroasetil klorür ile tepkimeye sokularak elde edilen **1-17** ara ürünleri ile K₂CO₃ varlığında reaksiyona sokulmuştur (Şema 5-1).

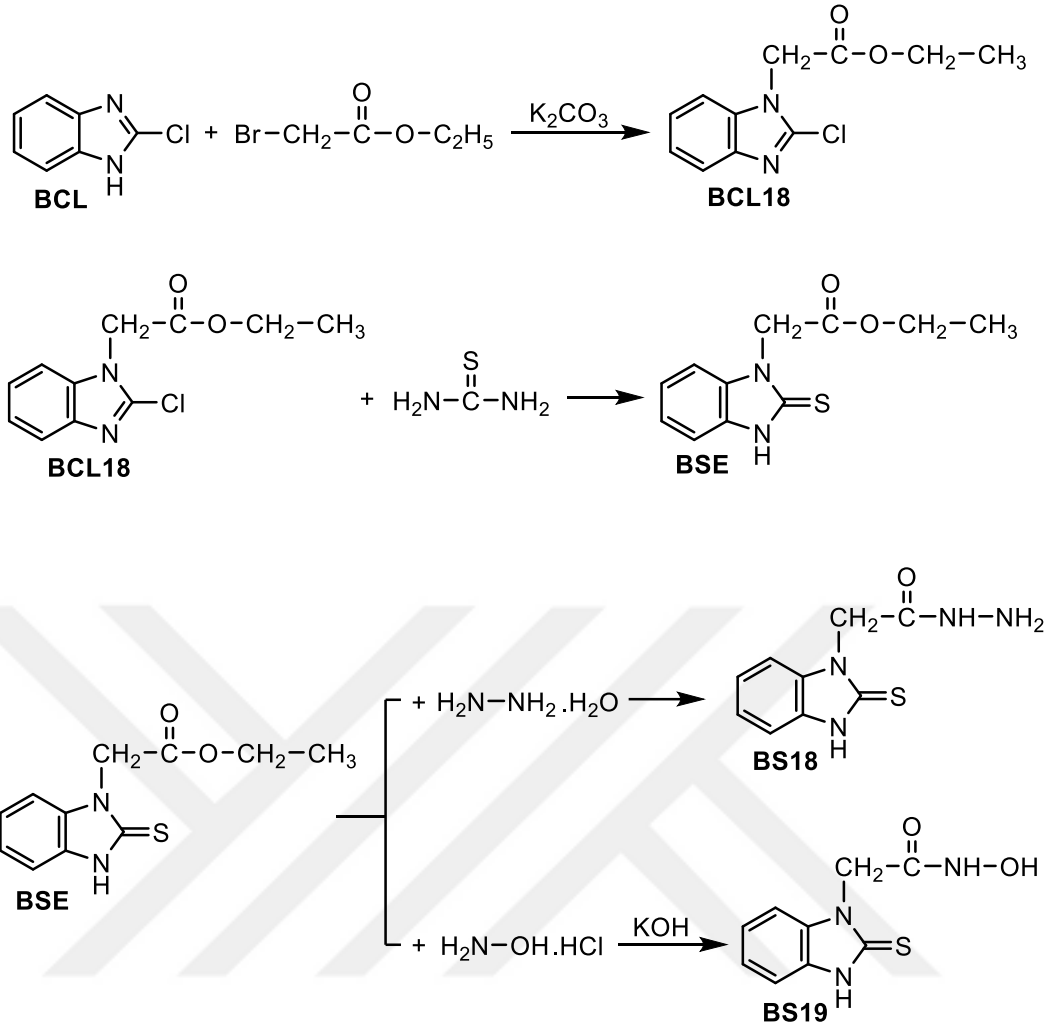


Çalışmada tasarlanmış olan 2-tiyokso-benzimidazol alkanamit, alkanhidrazit ve alkanhidroksamik asit bileşiklerinin sentezi için ise farklı bir sentez yolu geliştirilmiştir. Bu yöntemde 2-klorobenzimidazol halkasının alkilasyonunun ardından 2-konumundaki klor atomunun kükürt ile süstitüsüyonu sonucunda **BS** serisi nihai bileşiklerin sentezinin gerçekleştirilmesi planlanmıştır. Bu amaca yönelik olarak 1,2 fenilendiamin ve üre reaksiyona sokularak 1,3-dihidro-2*H*-benzo[*d*]imidazol-2-on (**BO**) sentezlenmiş ve bu bileşikten 2-kloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol (**BCL**) elde edilmiştir. **BCL**'nin **1-17** numaralı ara ürünlerle reaksiyonu sonucunda **BCL1-BCL17** kodlu bileşikler hazırlanmıştır. **BCL** serisi bileşiklerin tiyoüre ile reaksiyona sokulmasıyla **BS** serisi nihai ürünlerin (**BS1-BS17**) sentezi gerçekleştirilmiştir (Şema 5-2).



Şema 5-2. **BS1-BS17** kodlu bileşiklerin sentezi

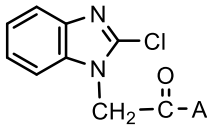
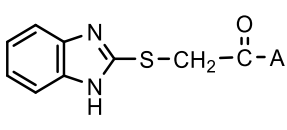
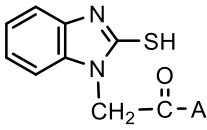
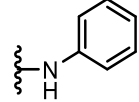
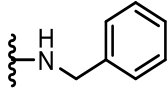
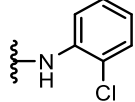
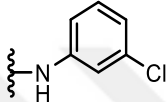
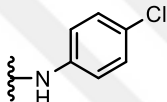
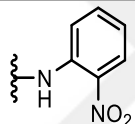
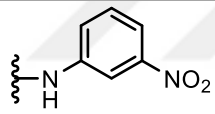
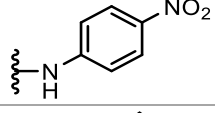
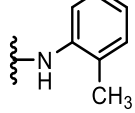
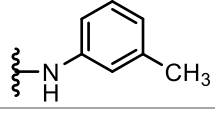
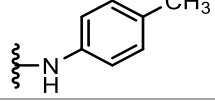
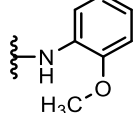
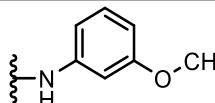
Hidrazit ve hidroksamik asit türevlerinin sentezlerine yönelik gerçekleştirilen literatür çalışmalarında etil esterlerin hidrazin hidrat ile tepkimesi sonucunda hidrazit; hidroksilamin ile reaksiyonu sonucunda ise hidroksamik asitlerin sentezlendiği belirlenmiştir (Cerniauskaite et al., 2011; D'amico & Bollinger, 1988). Bu nedenle ilk olarak **BCL** bileşiğinden hareketle Etil 2-(2-kloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)asetat (**BCL18**) sentezlenmiştir. Bu bileşiğin hidrazin hidrat veya hidroksilamin ile tepkimesi sonucunda reaksiyonun benzimidazol halkasının 2-konumundaki klor atomu üzerinden yürüyeceği literatürde rapor edildiğinden dolayı öncelikle bahsedilen klorun kükürt ile sübstütüsyonu gerçekleştirilmiştir (Da Settimo et al., 2001; Xuebao, 2003) **BSE** ara ürünü elde edildikten sonra hidrazit ve hidroksamik asit türevlerinin (**BS18**, **BS19**) sentezi tamamlanmıştır (Şema 5-3).



Şema 5-3. **BCL18**, **BSE**, **BS18** ve **BS19** bileşiklerinin sentezi

Çalışmamızda sentezi gerçekleştirilen ve MPO inhibitör aktiviteleri tayin edilen bileşiklerden **B1-B14**, **B17** ve **BCL1**, **BCL18** ve **BSE** bileşikleri daha önce literatürde rapor edilmiş ve çeşitli biyolojik aktiviteleri (HIV-1, GPR17 reseptör modülatörü) test edilmiştir (Abbraccio et al., 2013; Xiaohe, Yu, Hong, Xiuqing, & Rugang, 2010) ancak MPO enzim inhibitör özellikleri ilk defa çalışmamız kapsamında incelenmiştir. Buna karşın **B15**, **B16**, **BCL1-BCL5**, **BCL10-BCL12**, **BCL14-BCL17**, **BS2**, **BS11**, **BS17**, **BS18** kodlu bileşikler Chemical Abstract Service (CAS) numarasına sahip olmakla birlikte bu bileşiklerle ilgili bir bilimsel literatür tespit edilmemiştir. **BCL6-BCL8**, **BCL13**, **BS1**, **BS3-BS10**, **BS12-BS16** ve **BS19** (19 adet) bileşikler ise ilk kez bu çalışmada bildirilmektedir. Çalışmamızda sentezi yapılan bileşiklerin CAS numaraları Tablo 5-1’de özetlenmektedir.

Tablo 5-1. Biyolojik aktiviteleri test edilen bileşikler ve CAS numaraları

Süstitüent	Ana Yapı		
			
	680211-21-6	30065-33-9	-
	202065-59-6	30065-32-8	917749-51-0
	919443-86-0	361184-65-8	-
	919410-00-7	386764-12-1	-
	919421-38-8	41215-89-8	-
	-	41215-97-8	-
	-	41215-97-8	-
	-	41215-93-4	-
	919443-83-7	30065-34-0	-
	919409-97-5	51171-43-8	-
	919421-35-5	30065-35-1	694501-18-3
	919253-34-2	83408-88-2	-
	-	83408-89-3	-

	919409-52-2	30065-36-2	-
	919254-87-8	919449-14-2	-
	919421-32-2	30065-31-7	-
	914350-15-5	337488-07-0	917749-43-0
	59769-22-1		329708-07-8
			329708-09-0
			-

5.1. Spektral Bulguların Değerlendirilmesi

Spektral bulgular değerlendirilirken ara ürünler ve son ürünlerin yapılarındaki amit, ester, hidrazit ve hidroksamik asit işlevsel gruplarına, aromatik yapılara ve değişen aromatik sübstitüsyona ait spektral verilerin tespit edilmesi, sentezlenmesi amaçlanan bileşik yapılarının doğruluğunu teyit etmiştir. IR, ¹H NMR, HSQC-HMBC, ¹³C NMR ve Kütle Spektroskopilerinden elde edilen sonuçlar ayrı başlıklar altında incelenmiş ve bulgular değerlendirilirken ilk olarak ara ürünlerin (**BS**, **BO**, **BCL**, **1-17**, **BCL1-BCL18** ve **BSE**), daha sonra final ürünlerinin (**B1-B17** ve **BS1-BS19**) verileri ele alınmıştır.

5.1.1. IR Bulgularının Değerlendirilmesi

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

BS kodlu bileşiğin IR spektrumunda, yapıdaki C=S grubundan dolayı 1200-1050 cm⁻¹ aralığında görülmesi beklenen sinyal (Robert M. Silverstein, Webster, Kiemle, & Bryce, 2014) 1173 cm⁻¹ dalga sayısında izlenmiştir. **BO** bileşiğinde ise karbonile ait bant 1711 cm⁻¹'de gözlenmektedir.

1-17 numaralı ara ürünlerin yapılarında bulunan amit grubuna ait, 1640 cm^{-1} civarında görülmesi beklenen karbonil bantlarının izlenmesi yapı teyidi açısından büyük önem taşımaktadır (Robert M. Silverstein et al., 2014). Ayrıca **1-15** numaralı bileşikler sekonder amit yapısına sahip olduğundan $3460\text{-}3060\text{ cm}^{-1}$ bölgesindeki N-H gerilme bantlarının da spektrumdaki varlığı yapılarının teyidi açısından belirleyicidir (Hesse, Meier, & Zeeh, 2014; Nakanishi & Solomon, 1977; Robert M. Silverstein et al., 2014). **16** ve **17** numaralı morfolin ve piperidin halkaları taşıyan ürünler tersiyer amit yapısı taşıdığı için bu bileşiklere ait spektrumlarda N-H gerilme bölgesinde sinyal beklenmemektedir. Spektrumlar değerlendirildiğinde, $3307\text{-}3259\text{ cm}^{-1}$ aralığındaki bantlar sekonder amit grubuna ait N-H gerilme bantlarıdır ve öngörüldüğü gibi tersiyer amit taşıyan bileşiklerde (**16** ve **17**) bu bölgede N-H bandı gözlenmemiştir. $3070\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ arasında aromatik; $2967\text{-}2837\text{ cm}^{-1}$ arasında ise alifatik C-H gerilme bantları gözlenmiştir. Bileşiklerdeki karbonil grubuna ait gerilme bantları $1685\text{-}1646\text{ cm}^{-1}$ aralığında belirlenmiştir. Ayrıca amit yapısının C-N gerilme ve N-H eğilme etkileşimlerinden kaynaklanan ve amit II olarak bilinen bantlar sekonder amit türevlerinde, $1567\text{-}1522\text{ cm}^{-1}$ aralığında gözlenmiştir. Fenil halkasının 2 veya 4 konumunda NO_2 süstitüenti taşıyan türevlerin (**6**, **8**) asimetric ve simetric NO_2 gerilme bantlarının rezonans etki nedeniyle 3 konumunda NO_2 taşıyan türeve (**7**) göre daha düşük frekans değerlerinde çıkması beklenmektedir (Robert M. Silverstein et al., 2014). **6** ve **8** numaralı bileşiklerin asimetric NO_2 gerilme bantları $1503\text{-}1496\text{ cm}^{-1}$; simetric NO_2 gerilme bantları ise 1335 cm^{-1} civarındayken; **7** numaralı bileşiğin asimetric NO_2 gerilme bandı 1522 cm^{-1} , simetric NO_2 gerilme bandı 1348 cm^{-1} değerinde izlenmiştir. Fenil halkası üzerinde metoksi süstitüenti taşıyan bileşiklerin (**12-15**) spektrumlarında $1287\text{-}1212\text{ cm}^{-1}$ arasında alkil aril eterlere ait olan C-O-C asimetric gerilme; $1048\text{-}1007\text{ cm}^{-1}$ arasında ise C-O-C simetric gerilme bantları bulunmaktadır.

BCL1 - BCL17 kodlu bileşiklerin yapılarındaki amit grubuna ait karbonil bandı $1677\text{-}1654\text{ cm}^{-1}$ aralığında belirlenmiştir. Amit II bantları ise öngörüldüğü gibi sadece sekonder amit taşıyan türevlerde (**BCL1 - BCL15**) izlenmiştir ve $1561\text{-}1535\text{ cm}^{-1}$ değerleri aralığındadır. **BCL1 - BCL15** bileşiklerinin N-H gerilme bantları $3313\text{-}3232\text{ cm}^{-1}$ frekans aralığında izlenirken morfolin ve piperidin taşıyan **BCL16** ve **BCL17** bileşiklerine ait spektrumlarda beklendiği gibi bu bölgede N-H gerilme bantları bulunmamaktadır. Metoksi süstitüe türevlerde (**BCL12 - BCL15**) aril alkil eter

gruplarına ait C-O-C asimetric gerilme bantları 1238-1229 cm^{-1} ; C-O-C simetric gerilme bantları ise 1042-994 cm^{-1} frekans aralığındadır.

BCL18 ve BSE kodlu bileşikler ester grubu taşımaktadır ve karbonil gerilme bantları spektrumunda 1737-1727 cm^{-1} aralığında belirlenmiştir. Ayrıca 1217-1196 cm^{-1} aralığındaki bantlar ester yapısındaki C-O gerilmeleridir.

B1 - B17 ve BS1 - BS17 kodlu final bileşiklerinin spektrumları değerlendirildiğinde ise N-H gerilme bantları 3330-3240 cm^{-1} aralığında belirlenmiştir. Yapıda bulunan aromatik C-H gerilmelerine ait bantlar 3089-3038 cm^{-1} ; alifatik C-H gerilmelerine ait titreşimler ise 2990-2830 cm^{-1} aralığında çoklu bantlar şeklindedir. 1684-1639 cm^{-1} aralığında görülen bantlar yapıdaki amit işlevsel grubunun C=O gerilme titreşimleridir. Bunun yanı sıra amit II bantları ise 1578-1527 cm^{-1} arasındadır ve çoğu türevde C=O gerilme bandıyla neredeyse aynı şiddettedir. Morfolin ve piperidin türevlerinde (**B16, B17, BS16, BS17**) tersiyer amit grubu olduğundan dolayı amit II bandı bu türevlerde gözlenmemiştir. Fenil halkasının 2 veya 4 konumlarında NO₂ bulunan türevlerdeki (**B6, B8, BS6, BS8**) asimetric NO₂ gerilmeleri 1500-1460 cm^{-1} ; simetric NO₂ gerilmeleri ise 1340-1330 cm^{-1} aralığında gözlenmiştir. Öte yandan 3-NO₂ türevlerde (**B7, BS7**) 1524 cm^{-1} civarında asimetric; 1341 cm^{-1} civarında ise simetric NO₂ gerilme bantları bulunmaktadır. **B12 - B15 ve BS12 - BS15** bileşiklerinde bulunan metoksi süstitüentine ait C-O-C asimetric gerilme bantları 1264-1225 cm^{-1} ; C-O-C simetric gerilme bantları 1051-1005 cm^{-1} arasında gözlenmiştir. Hidrazit türevi final bileşiğinin (**BS18**) IR spektrumunda 3318 cm^{-1} frekansında yapıdaki NH₂'ye ait; 3139 cm^{-1} 'de ise NH'a ait N-H gerilme bantları bulunmaktadır (Hesse et al., 2014; Robert M. Silverstein et al., 2014). **BS** kodlu bileşiklerin yapılarında bulunan C=S gerilmeleri 1200-1183 cm^{-1} aralığında şiddetli pikler olarak görülmektedir.

5.1.2. NMR Bulgularının Değerlendirilmesi

Sentezini hedeflediğimiz bileşiklerin yapı doğrulamasını destekleyen en önemli bulgular NMR verileriyle sağlanmıştır. NMR spektrumlarında gözlenen hidrojen ve karbonlara ait sinyallerin yapı ile eşleştirilmesi ve diğer türevlere de örnek teşkil etmesi açısından **B8 ve BS1** kodlu bileşiklerin HSQC ve HMBC analizleri de gerçekleştirilmiştir. Bütün bileşiklerin ¹H ve ¹³C NMR analizleri ile 2D NMR analizlerinde çözücü olarak DMSO-*d*₆ kullanılmıştır. Bütün NMR spektrumlarında

bileşiklere ait kimyasal kayma değerleri, etkileşme değişmezleri ve bölünmeler bileşiklerin öngörülen yapıları ile uyum içerisinde.

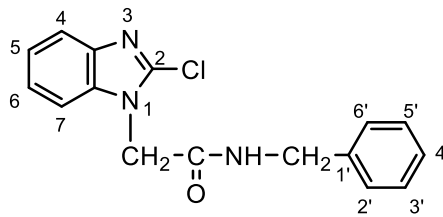
5.1.2.1. ¹H NMR Bulgularının Değerlendirilmesi

BS kodlu bileşiğe ait spektrumda δ 7.07-7.17 ppm kimyasal kayma değerleri arasında dört protona eşdeğer bir multiplet sinyal tespit edilmiştir. Bu yapının NH protonları ise değişebilen proton olduğu için öngörülebileceği üzere spektrumda izlenmemiştir.

BO kodlu başlangıç ürününe ait spektrumda δ 6.91'de dört protona karşılık gelen singlet sinyal benzimidazol halkası üzerindeki protonları temsil etmektedir. Bunun yanı sıra δ 10.59 ppm'de iki protona karşılık gelen diğer singlet sinyalin ise yapıdaki iki NH grubuna ait olduğu ve bu halkasal yapının keto tautometik formda bulunduğunu düşündürmektedir. ¹³C NMR verileri de bu durumu destekler niteliktedir.

BCL bileşiğine ait spektrumda ise benzimidazol halkasına ait δ 7.19-7.24 ppm aralığında iki protonluk multiplet ve δ 7.51'de iki protonluk singlet sinyal bulunmaktadır. Ayrıca NH grubuna ait proton δ 13.23 ppm'de singlet sinyal vermiştir.

BCL1 - BCL17 kodlu bileşiklerde ortak olarak gözlenmesi beklenen metilen (CH₂) grubuna ait protonlar δ 5.02-5.31 ppm kimyasal kayma değerleri arasında iki protona karşılık gelen entegrasyonda singlet sinyaller olarak gözlenmiştir. Sekonder amit yapısı taşıyan bileşiklerin (**BCL1 - BCL15**) amit işlevsel grubuna ait NH protonlarının kimyasal kaymaları ise δ 9.86-11.16 ppm aralığında, bir proton entegrasyonunda, singlet veya yayvan singlet özellikte izlenmiştir. Sadece **BCL2**'de bu proton, komşu metilen grubunun varlığı sebebiyle triplet olarak δ 8.88'de gözlemlenmiştir. Bu bileşiklerde ortak olarak bulunan benzimidazol halkasının üzerindeki dört adet protona ait olan sinyaller δ 7.17-7.34 ppm ve δ 7.45-7.65 ppm kimyasal kayma değerleri arasında ikişer protona karşılık gelecek şekilde izlenmiştir.



Şekil 5-2. **BCL** kodlu bileşiklerin proton atamalarında kullanılan numaralandırma

BCL1 bileşiğinin spektrumunda δ 7.07 ppm'de görülen triplet sinyal H-4' protonuna aittir. Fenil halkasındaki benzer kimyasal çevreye sahip H-3' ve H-5' protonları ile H-2' ve H-6' protonları ise benzimidazole ait protonlarla birlikte sırasıyla δ 7.23-7.33 ppm ile δ 7.56-7.63 ppm' de multiplet sinyal vermiştir.

BCL2 bileşiğinde bütün fenil protonları δ 7.23-7.36 ppm aralığında, iki adet benzimidazol protonuyla birlikte toplam yedi protonluk entegrasyonda multiplet olarak sinyal vermiştir. Bunun dışında benzimidazole ait olan H-4 ve H-7 proton sinyalleri δ 7.54 ve δ 7.62 ppm değerlerinde iki farklı dublet olarak izlenmiştir.

BCL3 bileşiğinde δ 7.20-7.35 ppm aralığında dört proton entegrasyonundaki multiplet sinyalin H-5, H-6, H-4' ve H-5' protonlarına ait olduğu düşünülmektedir. δ 7.53'te gözlenen bir protonluk dublet H-3' protonuna; δ 7.60-7.64 ppm aralığındaki iki protonluk multiplet ise H-4 ve H-7 protonlarına aittir. δ 7.73'te bir protonluk dublet-dublet sinyalin ise H-6' protonuna ait olduğu düşünülmektedir.

BCL4 kodlu bileşiğin spektrumunda δ 7.14-7.16 ppm aralığında çıkan bir protonluk sinyal H-4' ve δ 7.37'de triplet olarak izlenen sinyal H-5' protonuna aittir. δ 7.44-7.47 değerlerinde izlenen multiplet sinyalin H-6' protonuna; δ 7.77'de küçük etkileşme değişmeziyle gözlenen triplet sinyalin ise H-2' protonuna ait olduğu düşünülmektedir.

BCL5 bileşiğinin spektrumunda *para* süstitüsyondan kaynaklı olarak gözlenmesi beklenen ikişer protonluk iki farklı dublet sinyalin bir tanesi δ 7.38'de H-3' ve H-5' protonlarına ait olarak izlenirken diğer dublet sinyal δ 7.59-7.64 ppm değerleri aralığında benzimidazolün H-4 ve H-7 protonlarıyla birlikte multiplet olarak gözlenmiştir.

BCL6'ya ait spektrumda kimyasal kayma değerleri δ 7.17 ve δ 7.22 olan bir proton entegrasyonunda, triplet-dublet bölünme gösteren, H-5 ve H-6 protonlarına ait iki farklı sinyal izlenmektedir. Ayrıca H-4 ve H-7'ye ait sinyaller de iki ayrı multiplet olarak δ 7.45-7.47 ve δ 7.50-7.52 ppm değerleri arasında tespit edilmiştir. Fenil halkasındaki protonlara ait olan sinyaller spektrumun daha aşağı alanında çıkmış ve böylelikle benzimidazol protonlarının sinyallerden ayrılmıştır. δ 7.79-7.83 ppm aralığında multiplet olarak izlenen sinyal H-4' protonuna aittir. H-6' ve H-3' protonları sırasıyla δ 7.94 ve δ 8.26 ppm'de dublet-dublet sinyal vermiştir. H-5' ise δ 8.01 ppm'de triplet-dublet olarak gözlenmiştir.

BCL7 bileşiğindeki H-5' protonuna ait sinyal, H-4 ve H-7 proton sinyalleriyle birlikte olarak δ 7.61-7.67 ppm aralığında görülmüştür. δ 7.91-7.97 ppm kimyasal kayma değerleri arasında multipler olarak izlenmiş olan sinyaller H-4' ve H-6' protonlarına; δ 8.58-8.59 ppm değerlerinde multipler olan sinyal ise H-2' protonuna aittir.

BCL8 spektrumunda H-4 ve H-7 için gözlenmesi beklenen iki ayrı dublet sinyal δ 7.63 ppm değerinde bir tripler oluşturmıştır. Fenil üzerindeki protonların ikişer protonluk iki farklı dublet sinyali δ 7.84 ve δ 8.25 ppm kimyasal kayma değerlerindedir ve sırasıyla H-2' ve H-6' ile H-3' ve H-5' protonlarına aittir.

Fenil halkası üzerinde metil sübstitüenti taşıyan bileşiklerde (**BCL9 - BCL11**) izlenmesi gereken metil protonları singlet olarak *orto* türevde (**BCL9**) δ 2.26; *meta* türevde (**BCL10**) δ 2.27; *para* türevde (**BCL11**) ise δ 2.25 ppm'de sinyal vermiştir.

BCL9'un spektrumunda δ 7.10 ve 7.14 ppm'de tripler olarak izlenmiş olan sinyaller sırasıyla H-4' ve H-5' protonlarına aittir. H-3' protonunun sinyali δ 7.23-7.34 ppm kimyasal kayma değerleri arasında benzimidazol protonlarıyla birlikte izlenmiştir. H-6' protonu ise δ 7.40'ta dublet sinyal vermiştir.

BCL10 bileşiğinde aromatik sahada en yukarı alanda gözlenmesi beklenen H-4' proton sinyali δ 6.90 ppm değerinde bir dublettir. δ 7.20'deki tripler sinyal ise H-5' protonuna ait olarak belirlenmiştir. H-6' proton sinyali kimyasal kayma değeri δ 7.53 olan bir dublet, H-2' proton sinyali ise kimyasal kayma değeri δ 7.43 olan bir singlettir.

BCL11'in spektrumunda izlenmesi beklenen ikişer protonluk iki dublet sinyal benzimidazol protonlarının sinyallerinden izole olarak δ 7.13 ve δ 7.47 ppm değerlerinde gözlenmiştir.

Fenil halkasında metoksi sübstitüenti taşıyan türevlerde (**BCL12 - BCL15**) alifatik sahada gözlenmesi beklenen metoksi grubuna ait sinyaller *orto* ve *meta* türevlerde (**BCL12, BCL13**) δ 3.71; *para* türevde (**BCL14**) ise δ 3.72 ppm kimyasal kayma değerine sahiptir. 3,4,5-trimetoksi türevinde (**BCL15**) ise 4'-konumundaki metoksi sinyali δ 3.62 ppm'de izlenirken kimyasal çevreleri aynı olan 3'- ve 5'-konumlarındaki metoksi gruplarının proton sinyalleri toplamda altı proton entegrasyonunda bir singlet olarak δ 3.72'de görülmüştür.

BCL12 bileşiğinin spektrumunda δ 6.67 ppm'de bir proton entegrasyona sahip dublet-dublet-dublet sinyalin ve δ 7.09-7.12 ppm değerleri arasındaki multipler sinyalin, kimyasal çevreleri göz önüne alındığında H-3' ve H-6' protonlarına ait olduğu

düşünülmektedir ancak proton atamaları tam olarak yapılamamıştır. H-4' ve H-5' proton sinyalleri ise δ 7.23-7.33 ppm değerleri arasında benzimidazole ait proton sinyalleriyle birlikte multipler halinde izlenmiştir.

BCL13'e ait spektrumda δ 6.67'deki dublet-dublet sinyalin ve δ 7.09-7.12 aralığındaki multipler sinyalin H-4' ve H-6' protonlarına ait olduğu düşünülmektedir. H-3' ve H-5' proton sinyalleri ise δ 7.24-7.33 ppm aralığındaki benzimidazol sinyalleriyle birlikte toplamda dört protonluk bir multipler olarak gözlenmiştir.

BCL14 bileşiğindeki H-3' ve H-5' protonları aynı kimyasal çevreye sahiptir ve iki protonluk dublet sinyalleri δ 6.90 ppm'dedir. Aynı şekilde H-2' ve H-6' proton sinyalleri ise dublet olarak δ 7.50 ppm'de izlenmiştir.

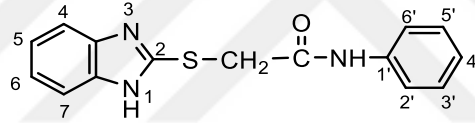
BCL15 bileşiğinde fenil halkası üzerindeki iki protonun kimyasal çevreleri benzer olduğundan δ 6.97 ppm'de bir singlet sinyal vermişlerdir.

BCL16 ve **BCL17** bileşiklerinin aromatik sahalarında benzimidazole ait olduğu düşünülen sinyaller bulunmakla birlikte bu bileşiklerde alifatik sahada morfolin ve piperidin halkalarına ait sinyaller tespit edilmiştir.

BCL18 kodlu ara ürünün NMR spektrumunda alifatik alanda görmeyi beklediğimiz üç farklı proton grubuna ait sinyal bulunmaktadır. Bunlardan bir tanesi benzimidazol halkasına bağlı olan metilene ait sinyaldir ve δ 5.26'da bir singlettir. Yapıdaki esterin etil grubuna ait protonlar δ 4.19 ppm'de iki protonluk kuartet ve δ 1.22 ppm'de üç protonluk tripler olarak izlenmiştir. Bunların dışında aromatik alanda görmeyi beklediğimiz toplamda dört protonluk entegrasyona sahip sinyaller ise diğer **BCL** türevlerinde olduğu gibi iki protonluk entegrasyonda iki farklı sinyal olarak izlenmiştir. Bunların bir tanesi δ 7.25-7.33; diğeri ise δ 7.62-7.64 aralığındadır.

BSE kodlu ara ürünün spektrumunda ise **BCL18**'de olduğu gibi alifatik alanda üç farklı sinyal bulunmaktadır. Bunlardan metilen protonları δ 5.11 ppm'de singlet sinyal vermiştir. Etil grubuna ait metilen ve metil grupları ise sırasıyla δ 4.16 ppm'de kuartet ve δ 1.21 ppm'de tripler olarak sinyal vermiştir. Bu bileşiğin benzimidazol halkasına ait olan protonların sinyalleri iki farklı multipler olarak karşımıza çıkmıştır ve δ 7.16-7.24 ppm ile δ 7.35-7.40 ppm kimyasal kayma değerlerine sahiptirler. Benzimidazol üzerindeki NH grubunun protonu ise oldukça aşağı alanda, δ 12.88 ppm'de yayvan singlet olarak izlenmiştir.

B1 - B17 kodlu bileşiklerin NMR spektrumları incelendiğinde yapıda ortak olan metilen (CH_2) grubuna ait protonlar δ 4.22-4.33 ppm kimyasal kayma değerleri arasında iki protona karşılık gelen entegrasyonda singlet sinyaller olarak gözlenmiştir. **B2** kodlu bileşiğin metilen protonları daha yukarı alanda δ 4.09 ppm kimyasal kayma değerinde tespit edilmiştir. Bu bileşiklerin amit grubunun NH protonları δ 9.94-11.24 ppm aralığında, singlet veya yayvan singlet olarak izlenmiştir. **B2** bileşiğine ait bu protonun sinyali, komşu metilen grubunun oluşturabileceği gölgeleme etkisiyle yukarı alana kaymış ve δ 8.80'de gözlemlenmiştir. Benzimidazol halkasındaki NH protonuna ait olan sinyaller ise δ 12.60-12.76 ppm aralığında, genellikle yayvan singlet olarak gözlenmiştir. Bütün bileşiklerde ortak olarak bulunan benzimidazol halkasının üzerindeki dört adet protona ait olan sinyaller iki ayrı grup halinde gözlenmiştir. Bunlardan H-5 ve H-6 protonları δ 7.09-7.17 ppm kimyasal kayma değerlerinde iki protona denk gelen entegrasyonda multipler, H-4 ve H-7 protonlarına ise δ 7.41-7.46 ppm değerleri arasında iki protona karşılık gelen multipler sinyaller vermiştir.



Şekil 5-3. **B** kodlu bileşiklerin proton atamalarında kullanılan numaralandırma

B1 bileşiğinin spektrumu incelendiğinde H-4' protonu δ 7.05'te triplet sinyal vermiştir. Kimyasal çevreleri benzer olan H-3' ve H-5' protonlarının sinyali δ 7.31'deki iki proton entegrasyonunda triplet olarak gözlenmiştir. H-2' ve H-6' protonları ise δ 7.56-7.59 ppm aralığında iki protonluk multipler sinyal vermiştir.

B2 bileşiğinin spektrumunda benzil grubuna ait metilen protonları δ 4.32 ppm'de ve komşu NH grubuyla etkileşerek dublet olarak sinyal vermiştir. Benzil halkasının üzerindeki aromatik protonlar tam olarak birbirinden ayıramamış ve verdikleri sinyaller δ 7.19-7.22 ile δ 7.24-7.25 ppm değerlerinde multipler olarak gözlenmiştir.

B3 bileşiğinin H-4' protonu δ 7.12-7.17 ppm aralığındaki, H-3' protonu ise δ 7.45-7.48 ppm aralığındaki benzimidazole ait proton sinyalleriyle birlikte gözlenmiştir. δ 7.30-7.34 ppm'de izlenen multipler sinyal H-5' protonuna aittir. Ayrıca daha aşağı alanda çıkması beklenen H-6' protonunun sinyali δ 7.96 ppm'de bir dublet olarak izlenmiştir.

B4 spektrumunda H-4' ve H-6' protonlarına ait sinyaller tam olarak ayıramamış ve sırasıyla δ 7.11-7.14 ve δ 7.41-7.45 ppm değerlerindeki benzimidazol sinyalleriyle birlikte çıkmıştır. δ 7.34'te triplet olarak gözlenen bir proton entegrasyonundaki sinyal H-5'e aittir. Ayrıca H-2' protonunun sinyali ise δ 7.79 ppm'de singlet olarak izlenmiştir.

B5 türevinde iki proton entegrasyonunda beklenen iki farklı dublet sinyalinden H-3' ve H-5' protonlarına ait olanı δ 7.37 ppm'de ve H-2' ve H-6' protonlarına ait olanı ise δ 7.61 ppm'de gözlenmiştir.

B6 türevinde H-4' protonu δ 7.35 ppm kimyasal kayma değerinde triplet sinyale sahiptir. δ 7.72 ppm'deki triplet sinyal ise H-5' protonuna aittir. Ayrıca bu yapıdaki H-3' ve H-6' protonları iki ayrı dublet olarak δ 7.91 ve δ 7.99 ppm'de sinyal vermiştir. Fakat bu protonların atamaları kimyasal çevrelerinin ve kimyasal kayma değerlerinin yakınlığından dolayı tam olarak yapılamamıştır.

B7 bileşiğinde δ 7.62'de triplet olarak izlenen sinyal H-5' protonuna, δ 8.62'de singlet olarak izlenen sinyal ise H-2' protonuna aittir. Bunun yanı sıra δ 7.89 ve δ 7.92 ppm'de gözlenen iki ayrı dublet sinyal H-4' ve H-6' protonlarına aittir.

B8 türevinde δ 7.84 ve δ 8.23 ppm değerlerinde ikişer proton entegrasyonda iki farklı dublet sinyal bulunmaktadır ve bunlardan yukarı alanda bulunan sinyal H-2' ve H-6' protonlarına aitken aşağı alandaki sinyal H-3' ve H-5' protonlarına aittir.

Fenil halkasında metil grubu taşıyan bileşiklerin (**B9-B11**) spektrumunda alifatik sahada bu gruba ait, üç protonluk entegrasyonda singlet sinyaller görülmesi beklenmektedir. Bu sinyaller *orto*, *meta* ve *para* türevler için sırasıyla δ 2.21, δ 2.26 ve δ 2.24 ppm değerlerinde gözlenmiştir.

B9 türevinde δ 7.04 ve δ 7.15 ppm'de triplet olarak izlenen sinyallerin bir tanesi H-4' diğeri ise H-5' protonuna aittir ancak kimyasal çevrelerinin benzerliğinden dolayı kesin bir atama yapılamamıştır. Bunun dışında δ 7.18'de gözlenen dublet sinyal H-3' protonuna aitken δ 7.56'da gözlenen sinyal ise H-6' protonuna aittir.

B10 spektrumunda aromatik sahanın yukarı alanında gözlenmiş olan δ 6.87 ppm değerindeki dublet sinyalin H-4' protonuna ait olduğu düşünülmektedir. H-5'e ait sinyal δ 7.18 ppm değerinde triplet olarak; H-6'ya ait sinyal ise δ 7.35 ppm değerinde dublet olarak gözlenmiştir. H-2' proton sinyalinin δ 7.43-7.52 değerleri aralığında, benzimidazol protonlarına ait olan sinyal içerisinde bulunduğu düşünülmektedir.

B11 bileşiğinin spektrumunda gözlenmesi beklenen ikişer protonluk iki dublet, gölgeleme etkilerinin ve kimyasal çevrelerinin etkisi ile benzimidazol sinyalleriyle birlikte izlenmiştir ve spektrumun aromatik alanında her biri dört proton entegrasyonunda olan iki adet multiplet sinyal bulunmaktadır.

o-, *m*- ve *p*- metoksi sübstitüenti taşıyan türevlerde (**B12** - **B14**) alifatik alanda üç proton entegrasyonundaki singlet sinyaller δ 3.68, δ 3.72 ve δ 3.71 ppm kimyasal kayma değerlerinde gözlenmiştir. 3,4,5-trimetoksi sübstitüentli türevin (**B13**) ise δ 3.60 ppm'de üç protonluk, δ 3.72 ppm'de ise altı protonluk iki adet singlet sinyali bulunmaktadır.

B12 türevinde kimyasal kayma değeri δ 6.89 olan triplet sinyal H-5'; kimyasal kayma değeri δ 7.03 olan triplet sinyal ise H-4' protonuna aittir. H-3''e ait olması beklenen sinyal δ 6.98 ppm'de bir dublet olarak gözlenmiştir. H-6' protonunun sinyali ise daha aşağı alanda, δ 8.09 ppm'de bir dublettir.

B13 spektrumunda δ 6.64 ppm değerindeki dubletin H-4' protonuna ait olduğu düşünülmektedir. H-5' proton sinyali ise δ 7.21'de bir triplettir. δ 7.28 ppm kimyasal kayma değerindeki singlet sinyali ise H-2' protonuna aittir. Yapıdaki H-6' proton sinyali benzimidazol halkasına ait protonlarla birlikte izlenmiştir.

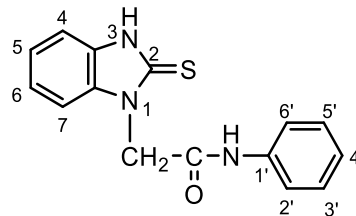
B14 spektrumunda δ 6.88 ppm'de H-3' ve H-5''e ait; δ 7.49 ppm'de ise H-2' ve H-6' protonlarına ait ikişer proton entegrasyonunda iki farklı dublet sinyal bulunmaktadır.

B15 bileşiğinin spektrumundaki aromatik alanda benzimidazol halkasının sinyallerine ilave olarak fenil halkasına ait iki proton entegrasyonunda δ 6.96 ppm kimyasal kayma değerine sahip singlet sinyal bulunmaktadır.

B16 ve **B17** bileşiklerine ait spektrumların aromatik alanında benzimidazol protonlarından başka sinyal bulunmamakla birlikte bu bileşiklerde alifatik sahada morfolin ve piperidin halkalarına ait sinyaller bulunmaktadır.

BS1 - **BS19** kodlu bileşiklerde ortak olarak gözlenmesi beklenen metilen (CH₂) grubuna ait protonlar δ 5.12-5.24 ppm kimyasal kayma değerleri arasında iki protona karşılık gelen entegrasyonda singlet sinyaller olarak gözlenmiştir. Sadece **BS2** kodlu bileşiğe ait olan spektrumda bu protonlar, diğerlerinden daha yukarı alanda ve δ 4.99 ppm kimyasal kayma değerinde tespit edilmiştir. Bu sinyallerin **B** serisi bileşiklere ait olan sinyallerden daha aşağı alanda izlenmesi, alkilasyonun azot atomu üzerinden gerçekleştiğinin belirlenmesi yapı teyidi açısından önem taşımaktadır. Bu bileşiklerin

amit işlevsel grubuna ait NH protonlarının kimyasal kaymaları δ 9.71-11.07 ppm aralığında, singlet veya yayvan singlet olarak izlenmiştir. **BS2** türevine ait proton, komşu metilen grubunun varlığının yarattığı gölgeleme etkisi sebebiyle δ 8.72 ppm kimyasal kayma değerinde ve triplet olarak gözlemlenmiştir. Benzimidazol halkasındaki NH protonuna ait olan sinyaller ise δ 12.77-12.89 ppm aralığında, genellikle yayvan singlet olarak izlenmiştir. Benzimidazol halkasının dört protonuna ait olan sinyaller δ 7.14-7.25 ppm aralığında üç proton entegrasyonunda multiplet ve δ 7.33-7.43 ppm değerleri arasında bir protona karşılık gelen multiplet olarak izlenmiştir. Bu sinyallerin benzimidazol halkasına ait olduğunun doğrulanmasında **BS1** türevinin HSQC ve HMBC NMR spektrumlarından faydalanılmıştır. Ayrıca *para* süstitüe türevlerin (**BS5**, **BS8**, **BS11**, **BS14**) spektrumları incelendiğinde de fenil halkasına ait olan protonların spesifik olarak iki protona karşılık gelen dublet sinyaller olarak izlenmesi ile benzimidazol halkasına ait protonların sinyalleri rahatlıkla diğer aromatik sinyallerden ayrılmıştır. Bunların dışında morfolin türevinin benzimidazol halkasından başka aromatik bir yapı taşıyor olması ve bu türeve ait spektrumda da yukarıda bahsedilen kimyasal kayma değerlerinde üç ve bir protonluk iki ayrı multiplet sinyal izlenmesi yine bunların benzimidazole ait olduğunu doğrulamaktadır.



Şekil 5-4. **BS** kodlu bileşiklerin proton atamalarında kullanılan numaralandırma

Fenil halkası üzerinde süstitüent taşımayan **BS1** ve **BS2** bileşiklerinin NMR spektrumları incelendiğinde, **BS1** bileşiğinin H-4' protonunun triplet-triplet bölünme göstererek δ 7.04 ppm kimyasal kayma değerinde ve bir protona karşılık gelen entegrasyonda sinyal verdiği belirlenmiştir. H-3' ve H-5' protonlarına ait sinyaller δ 7.28-7.33 ppm aralığında, iki protonluk multiplet olarak izlenmiştir. H-2' ve H-6' protonları ise δ 7.58 ppm'de iki protonluk dublet olarak sinyal vermiştir. **BS2** bileşiğinin spektrumunda ise benzimidazol ve fenil yapılarına ait sinyaller aynı bölgede dokuz protonluk bir multiplet halinde gözlemlendiğinden atamalar tam olarak

yapılamamıştır. Benzilik metilen sinyali δ 4.33 ppm değerinde iki proton entegrasyonunda ve komşu NH grubundan dolayı dublet bölünme ile izlenmiştir.

BS3 kodlu bileşiğin NMR spektrumunda H-4' ve H-5' protonları ve benzimidazol protonlarının birlikte sinyal verdiği belirlenmiştir. H-3' ve H-6' protonları ise sırasıyla δ 7.52 ve δ 7.75 ppm kimyasal kayma değerlerinde birer protonluk dublet sinyaller olarak belirlenmiştir.

BS4 kodlu bileşiğin H-4' protonuna ait sinyal δ 7.11-7.14 ppm; H-6' protonuna ait sinyal ise δ 7.43-7.46 ppm aralığında bir protona karşılık gelen entegrasyonda multipleret olarak izlenmiştir. H-5' protonu, benzimidazol halkasına ait sinyallerle birlikte izlenmiştir. δ 7.78 değerinde, *meta* bölünmeye ait etkileşme değişmeziyle izlenen bir protonluk sinyal ise H-2' protonuna aittir.

BS5 bileşiğinin iki protonluk entegrasyona sahip dublet-dublet olarak izlenmesi gereken H-3' ve H-5' protonları, benzimidazole ait aromatik sinyallerle birlikte δ 7.35-7.39 ppm kimyasal kayma aralığında belirlenmiştir. H-2' ve H-6' protonlarına ait sinyal ise δ 7.59-7.63 değerleri arasında bir multipleret olarak izlenmiştir.

BS6 bileşiğinin δ 7.28-7.32 ppm aralığında multipleret olarak verdiği bir protonluk sinyal H-4' protonuna aittir. H-5' ve H-6' protonlarına ait sinyaller multipleret olarak gözlenmiştir ve δ 7.72-7.75 aralığındadır. H-3' protonun sinyali ise δ 7.97 ppm kimyasal kayma değerine sahip dublet olarak izlenmiştir.

BS7 bileşiğindeki fenil protonları benzimidazol protonlarından izole bir bölgede sinyal vermiştir. δ 7.63 ppm kimyasal kayma değerinde bir protonluk triplet-dublet bölünmeye sahip sinyal öngörülebileceği gibi H-5' protonuna aittir. Bu protonun 1.3 Hz'lik etkileşme değişmezi, *para* konumunda bulunan H-2' protonuyla etkileştiğini göstermektedir. H-4' ve H-6' protonlarına ait sinyaller multipleret olarak δ 7.89-7.95 aralığında gözlenmiştir. H-2' protonunun sinyali ise δ 8.60-8.62 değerleri arasındaki multiplerettir.

BS8 bileşiğinin fenil halkası üzerindeki protonları iki ayrı dublet olarak gözlenmiştir. Bu sinyallerin net olarak ayrılabilmesi, benzimidazol protonlarının tespitinde de önemli rol oynamıştır. H-2' ve H-6' protonlarına ait sinyal δ 7.83 ppm; H-3' ve H-5' protonlarına ait sinyal ise δ 8.24 ppm değerindedir. Her iki sinyal de ikişer protonluk entegrasyon değeri vermiştir.

Metil sübstütüe bileşiklerde (**BS9 - BS11**) alifatik alanda fenil halkası üzerinde bulunan metil grubuna ait üç protonluk singlet sinyaller *orto* ve *meta* türevler (**BS9, BS10**) için δ 2.26 ppm, *para* türev (**BS11**) için δ 2.25 ppm değerinde izlenmiştir.

BS9 bileşiğinde aromatik bölgede δ 7.08 ppm'de gözlenen bir protonluk triplet sinyal H-4'; δ 7.14'teki bir protonluk dublet H-3'; δ 7.40 ppm değerindeki bir protonluk dublet ise H-6' protonuna aittir. H-5' ise, δ 7.16-7.23 değer aralığındaki benzimidazol protonlarının sinyallerinin içerisinde izlenmiştir.

BS10 bileşiğinin spektrumunda δ 6.88 ppm'de dublet olarak gözlenmiş olan bir protonluk sinyal H-4''e aittir. Kimyasal kayması δ 7.44 ppm olan, triplet sinyal ise H-2' protonuna ait ve beklendiği gibi küçük etkileşme değişmezine sahiptir. Yapıdaki H-5' proton sinyali **BS9**'da olduğu gibi yukarı alanda çıkan benzimidazol sinyalleriyle birlikte izlenmiştir. H-6' protonu ise daha aşağı alandaki benzimidazol sinyalleri içerisinde belirlenmiştir.

BS11 bileşiğinde fenil grubuna ait protonlar iki ayrı dublet olarak gözlenmiştir. δ 7.11'de çıkan iki protonluk sinyal H-3' ve H-5'; δ 7.46'da çıkan iki protonluk sinyal ise H-2' ve H-6' protonlarına aittir.

Metoksi sübstütüenti taşıyan bileşiklerin (**BS12 - BS15**) spektrumlarında alifatik alanda fenil grubu üzerinde bulunan metoksi sübstütüentinin protonlarına ait sinyaller izlenmiştir. *orto*, *meta*, *para* türevlerin (**BS12 - BS14**) hepsinde üç protonluk entegrasyona sahip singlet halinde gözlenen bu protonlar δ 3.71 ppm kimyasal kayma değerine sahiptir. **BS15** bileşiğinde ise fenil halkası üzerinde bulunan üç adet metoksi grubundan 3 ve 5 konumundakiler eşdeğer davranmış ve bunlara ait altı proton entegrasyonundaki singlet sinyal δ 3.72 ppm değerinde izlenmişken 4 konumundaki gruba ait olan singlet sinyal δ 3.61 ppm değerinde belirlenmiştir.

BS12 türevinde multipler olarak gözlenen δ 6.62-6.66 ve δ 7.09-7.12 aralığındaki birer protona karşılık gelen sinyaller sırasıyla H-3' ve H-6' protonlarına aittir. δ 7.32'de küçük etkileşme değişmezine sahip ve triplet olarak gözlenen sinyal ile δ 7.15-7.26 ppm arasında izlenen sinyalin H-4' ve H-5''e ait olduğu düşünülmektedir. Fakat bu protonların gölgeleme değişmezleri göz önüne alınarak hesaplanan kimyasal kayma değerleri birbirlerine yakın olduğu ve teorik olarak benzer bölünme özelliklerine sahip oldukları düşünüldüğünden tam olarak atamaları yapılamamıştır.

BS13 bileşiğinde δ 6.64'te gözlenen dublet-dublet sinyal ile δ 7.09-7.11 ppm değerleri arasında multiplet olarak gözlenmiş sinyalin H-4' ve H-6' protonlarına ait olduğu düşünülmektedir. Hesaplanan gölgeleme değişmezlerinin ve bölünme özelliklerinin birbirine yakın olması nedeniyle bu protonların atamaları tam olarak yapılamamıştır. δ 7.16-7.24 ppm arasında benzimidazol sinyalleriyle birlikte çıkan ve H-5' protonuna ait olduğu düşünülen sinyal bulunmaktadır. δ 7.31 ppm değerinde küçük etkileşme değişmeyle triplet olarak bölünmüş olan sinyal ise H-2' protonuna aittir.

BS14 türevinde fenil protonları ile benzimidazol protonları birbirlerinden ayrı olarak çıkmıştır. δ 6.89'daki iki protonluk sinyalin H-3' ve H-5' protonlarına, δ 7.49 ppm değerindeki iki protonluk sinyalin ise H-2' ve H-6' protonlarına ait olduğu belirlenmiştir.

BS15 bileşiğinin aromatik sahasında fenil halkasına ait sadece bir adet iki proton entegrasyonuna sahip singlet sinyal δ 6.98 ppm değerinde gözlenmiştir ve bu sinyal eşdeğer protonlar olan H-2' ile H-6''ne aittir.

BS16 ve **BS17** bileşiklerine ait spektrumların aromatik sahasında benzimidazol protonlarına ait olan sinyallerden farklı bir sinyal bulunmamaktadır. Bu yapıların alifatik sahasında ise yapılarıdaki morfolin ve piperidin halkasına ait olan sinyaller bulunmakla birlikte hangi protonlara ait olduğunun ayrımları tam olarak yapılamamıştır ancak entegrasyonları yapıyla uyum içerisindedir.

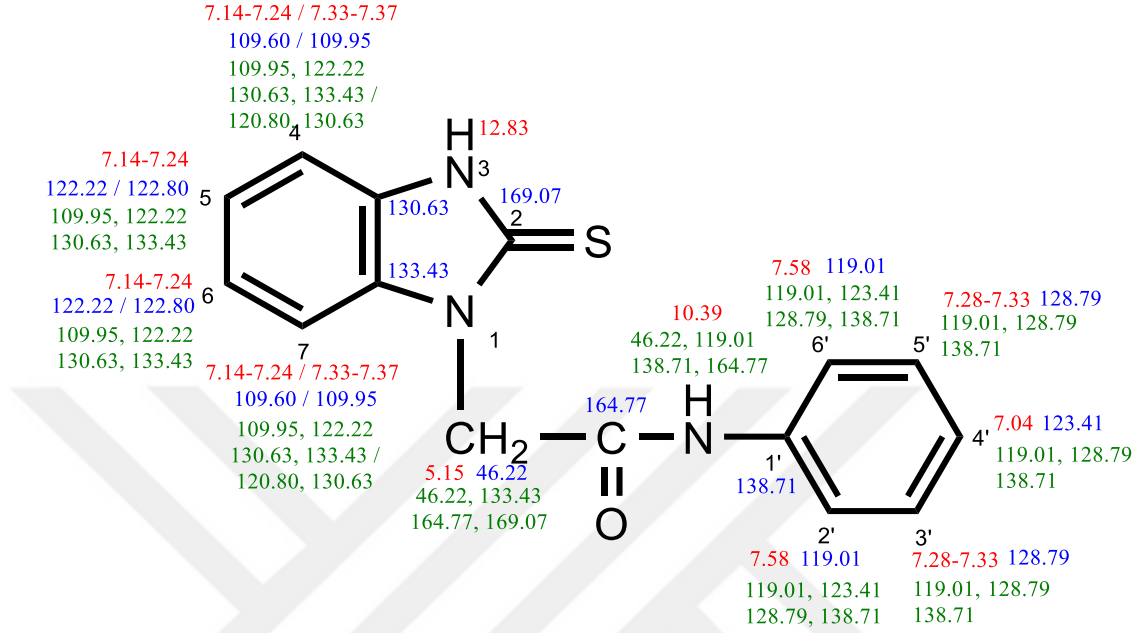
BS18 kodlu bileşiğin spektrumunda hidrazit işlevsel grubundan dolayı görülmesi beklenen NH₂ ve NH protonları sırasıyla δ 4.28 ve δ 9.34 kimyasal kayma değerlerinde, uygun entegrasyonlarda sinyal vermiştir.

BS19 bileşiğinin hidroksamik asit yapısından kaynaklı olarak izlenmesi beklenen NH ve OH sinyalleri δ 3.69 değerinde izlenmiştir.

5.1.2.2. HSQC ve HMBC NMR Bulgularının Değerlendirilmesi

B ve **BS** türevi bileşiklerin yapı doğrulamaları ve NMR bulgularını karşılaştırmak amacıyla her bir seriden birer bileşiğe (**B8**, **BS1**) HSQC ve HMBC NMR analizleri yapılmıştır. Bu analizler hem yapı doğrulamada hem de serilerdeki diğer türevlere ait ¹H ve ¹³C NMR spektrumlarının değerlendirilmesinde referans olarak kullanılmış ve proton ile karbon atamalarında yol gösterici olmuştur.

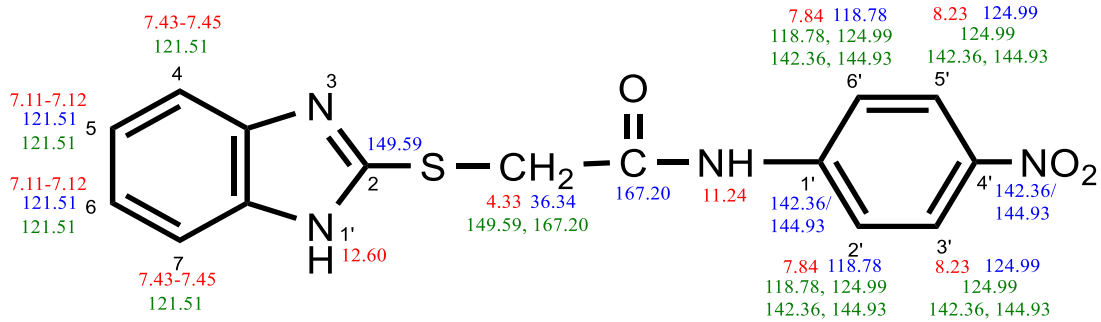
BS kodlu bileşikler temsilen alınan **BS1** kodlu bileşiğin HSQC ve HMBC NMR detayları göz önüne alınmış ve proton ile karbon atamaları yapıldığında aşağıdaki tablo ortaya çıkmıştır.



Şekil 5-5. BS1 bileşiğinin HSQC ve HMBC bulguları

Mavi ile gösterilen sayılar ilgili protonun bağlı olduğu karbonun kimyasal kayma değerlerini gösterirken yeşil ile gösterilen sayılar ilgili protonun bağ aracılığıyla etkileştiği karbonları göstermektedir

BS1 bileşiğindeki amit grubuna ait karbonil karbonu ile benzimidazol halkasında kükürtün bağlı olduğu karbonun kimyasal kaymaları karşılaştırıldığında daha düşük kimyasal kayma değerine sahip olan sinyalin karbonil karbonunu temsil ettiği gözlenmiştir. Bütün yapılarda ortak olarak bulunan benzimidazol halkasının karbonlarına ait kimyasal kaymalar incelendiğinde ise C-4 ve C-7 karbonlarına ait olan sinyallerin δ 109 ppm; C-5 ve C-6 karbonlarına ait sinyallerin δ 122 ppm; C-3a ve C-7a karbonlarına ait sinyallerin ise δ 130-133 ppm civarında absorpsiyon yaptığı belirlenmiştir. Ayrıca **BS** yapısına ait NMR spektrumu ve mevcut literatür verileri de bu bilgiyi destekleyici niteliktedir (E. S. H. El Ashry, Aly, Aouad, & Amer, 2010; Azizi, Khajeh-Amiri, Ghafuri, & Bolourtchian, 2011; Liang, Tan, Piao, & Liu, 2008). **B** serisini temsilen spektrumu alınan **B8** bileşiğinin verileri incelendiğinde ise şu şekilde bir tablo ortaya çıkmaktadır:



Şekil 5-6. B8 bileşiğinin HSQC ve HMBC bulguları

Mavi ile gösterilen sayılar ilgili protonun bağlı olduğu karbonun kimyasal kayma değerlerini gösterirken yeşil ile gösterilen sayılar ilgili protonun bağ aracılığıyla etkileştiği karbonları göstermektedir

Spektral veriler yapıda kükürtün bağlı olduğu benzimidazol karbonunun kimyasal kayma değerinin δ 150 ppm civarında olduğunu göstermektedir. Bu bilgi azot süstitüe türevler (**BS1 - BS19**) ile kükürt süstitüe türevlerin (**B1 - B17**) yapısal farklılıklarının kanıtlanması açısından önemlidir.

5.1.2.3. ^{13}C NMR Bulgularının Değerlendirilmesi

Bileşiklere ait ^{13}C NMR bulguları değerlendirilirken HSQC ve HMBC NMR bulguları ile gölgeleme etkisinin hesaplanan katkılarından faydalanılarak bilgilerin birbirini desteklediği doğrultuda atamalar yapılmıştır (Hesse et al., 2014).

BS bileşiğinin spektrumunda δ 109.5'teki sinyal C-4 ve C-7; δ 122.1 ppm'deki sinyal C-5 ve C-6; δ 132.6 ppm'deki sinyal ise C-3a ve C-7a karbonlarına aittir. C=S yapısındaki karbonun kimyasal kayma değeri ise δ 168.1'dir. Bu spektrumdan elde edilen bilgiler literatür ile uyum içerisindedir (E. S. H. El Ashry et al., 2010; Azizi et al., 2011; Liang et al., 2008).

BO halkasının spektrumunda C-4 ve C-7 karbonlarının sinyali δ 108.5 ppm'de, C-5 ve C-6 karbonlarının sinyali δ 120.4 ppm'de, C-3a ve C-7a karbonlarının sinyali ise δ 129.7 ppm'de izlenmiştir. Bu halkada C=O yapısının karbon atomu δ 155.3 ppm kimyasal kayma değerine sahiptir.

BCL kodlu bileşiklerde sadece **BCL1** bileşiği için ^{13}C NMR analizi yapılmıştır. Bu bileşikte spesifik değerlerde görülmesi beklenen metilen karbon sinyali δ 46.7 ppm'de, C=O yapısının karbon sinyali ise δ 164.5 ppm'de izlenmiştir. Diğer karbon atamaları yakın kimyasal kaymalar nedeniyle yapılamamıştır.

BCL18 ara ürününün spektrumunda yapıdaki metilen grubunun sinyali δ 45.0 ppm'de izlenmiştir. Ester grubuna ait olan metilen sinyali δ 61.6 ppm'de; metil sinyali ise δ 13.6 ppm'de gözlenmiştir. Ester yapısının karbonil grubundaki karbon ise δ 167.4'te izlenmiştir.

B kodlu bileşiklerin spektrumları incelendiğinde ise yapıda ortak olarak bulunan gruplara ait sinyallerle ilgili şu değerler verilebilir: Metilen grubunun karbon atom sinyali δ 35.0-36.3 aralığında bulunmaktadır. Amit işlevsel grubunun karbonil karbon sinyali ise δ 165.7-167.4 aralığındadır. Benzimidazol halkasının karbon sinyalleri incelendiğinde, bu halkanın kükürte bağlı karbon atomunun δ 149.5-150.1 ppm aralığında sinyal verdiği belirlenmiştir. **B** grubu bileşiklerin genel yapısının proton-karbon eşleşmelerini sağlayabilmek amacıyla **B8** bileşiğinin HSQC ve HMBC NMR spektrumları örnek alınmıştır. Bu genel yapıdaki bütün ^{13}C NMR spektrumları incelenmiş ve benzimidazol halkasına ait olan sinyaller tespit edilmeye çalışılmıştır. *p*-süstitüe türevler bu konuda yol gösterici olmuştur. Spektrumlar analiz edildiğinde bütün hepsinde δ 121.5 ppm civarında bir sinyal bulunmaktadır ve **B8** bileşiğinde de bulunan bu sinyalin C-5 ve C-6 karbonlarına ait olduğu bilinmektedir. Bunun yanı sıra **B3, B5, B6, B7, B9, B11, B14** bileşiklerinde δ 113 ve δ 139 civarında karşılaşılan ortak sinyallerin varlığı tespit edilmiştir. Bunlardan δ 113.2-113.9 arasında karşılaşılan sinyalin C-4 ve C-7 karbonlarına; δ 139.5-139.9 ppm kimyasal kayma değerlerindeki sinyalin ise C-3a ve C-7a karbonlarına ait olduğu düşünülmektedir. Sinyallerin yapıdaki hangi karbonlara ait olduğuyula ilgili eşleştirme çalışmaları yapılarındaki kimyasal kayma değerleri yakın olduğundan dolayı gerçekleştirilememiştir.

BS kodlu bileşiklerin ^{13}C NMR spektrumları incelendiğinde yapılarında ortak bulunan karbon atomlarının oldukça yakın ppm değerlerinde sinyal verdikleri tespit edilmiştir. Bileşiklerdeki metilen grubuna ait karbon δ 46.1-46.4 aralığında; amit işlevsel grubunun karbonil karbonu δ 164.3-165.9 aralığında sinyal vermiştir. Benzimidazol halkası incelendiğinde ise bu halkanın kükürte bağlı karbon atomunun bütün türevlerde δ 169 ppm'de sinyal verdiği belirlenmiştir. Halkanın üzerindeki diğer karbonlar da bütün türevlerde oldukça yakın ve spesifik değerlerde sinyale sahip oldukları için kolaylıkla diğer sinyallerden ayrılmıştır. C-4 ve C-7 karbonları δ 109.6-109.7 ve δ 110.0 ppm'de iki ayrı sinyal; C-5 ve C-6 karbonları δ 122.2-122.3 ve δ 122.8-122.9 ppm'de iki ayrı sinyal vermiştir. Bu sinyallerin karbonlara özgü atamaları

kimyasal kayma değerlerinin ve kimyasal çevrelerinin yakınlığından dolayı net olarak yapılamamıştır. C-7a karbonunun δ 133.4-133.5 ppm'de ve C-3a karbonunun ise δ 130.6 ppm'de verdikleri sinyal de bu spektrumlarda gözlenmiştir.

BS1 kodlu bileşiğe ait spektrum incelendiğinde fenil halkasında C-1' karbonunun sinyali δ 138.71 ppm'de, C-4' karbonunun sinyali ise δ 123.41 ppm'de izlenmiştir. Bu halkada kimyasal çevreleri benzer olan C-3' ve C-5' karbonlarına ait sinyal δ 128.79'da; yine benzer kimyasal çevreye sahip olan C-2' ve C-6' karbonlarına ait sinyal ise δ 119.01 ppm'de gözlenmiştir.

BS2 bileşiğine ait C-1' ve C-4' karbonlarının sinyali sırasıyla δ 139.1 ve δ 126.8'de izlenmiştir. Benzil halkasına ait olan diğer karbonların sinyalleri ise δ 127.2 ve 128.3 ppm'de görülmüştür ancak kimyasal kayma değerleri yakın olduğu için net bir atama yapılamamıştır.

BS5 bileşiğindeki C-1' karbon sinyali δ 137.7 ppm'de izlenmiştir. Diğer bir katarnar karbon olan C-4' sinyali ise δ 126.9 ppm kimyasal kayma değerine sahiptir. Kimyasal çevreleri benzer olan karbonlardan C-2' ve C-6' ile C-3' ve C-5' karbonlarının sinyalleri δ 120.5 ve δ 128.8 ppm değerlerinde her atom grubu için ayrı olacak şekilde izlenmiştir.

BS7 kodlu molekülün C-2' karbonu δ 113.2'de; C-4' karbonu ise δ 118.0'de sinyal vermiştir. δ 125.0 ve δ 130.4'de karşılaşılan sinyaller ise sırasıyla C-6' ve C-5' karbonlarına aitken δ 139.8 ve δ 148.0 ppm sinyalleri C-1' ve C-3' karbonlarına aittir.

BS8 bileşiğinde fenil halkasındaki sübstitüe nitro grubunun elektronik özelliklerinden dolayı C-1' ve C-4' karbonlarına ait sinyaller diğer bileşik gruplarından daha yüksek değerlerde ve sırasıyla δ 144.8 ile δ 142.4 ppm'de izlenmiştir. Kimyasal çevreleri benzer olan C-2' ve C-6' karbon sinyalleri δ 118.8; C-3' ve C-5' karbon sinyalleri ise 125.1 ppm değerlerindedir.

BS11 kodlu bileşiğin C-2' ve C-6' karbonlarına ait sinyal δ 119.0 ppm; C-3' ve C-5' karbonlarına ait sinyal δ 129.2 ppm kimyasal kayma değerine sahiptir.

BS14 bileşiğinde fenil halkasındaki metoksi sübstitüentine ait karbon atomu δ 55.1 ppm kimyasal kayma değerine sahiptir. Ayrıca bu sübstitüentin yarattığı elektronik etkilerden dolayı bağlı olduğu C-4' karbonunun kimyasal kayma değeri diğerlerine göre oldukça yüksektir ve δ 155.3 ppm değerindedir. Bu halkadaki C-1' karbonu ise δ

131.9'da sinyal vermiştir. Spektrumda bulunan δ 113.9'daki sinyal C-3' ve C-5' karbonlarına; δ 120.5'teki sinyal ise C-2' ve C-6' karbonlarına aittir.

BS15 molekülünün yapısında bulunan 3 ve 5 konumlarındaki metoksi gruplarının sinyali δ 55.7'de, 4 konumundaki metoksi grubunun sinyali ise δ 60.1'de izlenmiştir. C-2' ve C-6' karbonlarına ait sinyal δ 96.6 ppm'de görülmüştür. C-3' ve C-5' karbonlarının sinyaline ise δ 152.8 ppm'de karşılaşılmıştır.

BS16 bileşiğinin morfolin yapısına ait olan alifatik sinyaller δ 42.0, 44.5, 44.9 ve 66.1 ppm kimyasal kayma değerlerinde izlenmiştir.

5.1.2.4. Kütle Bulgularının Değerlendirilmesi

Sentezlenen tüm bileşiklerin kütle spektrumları APCI yöntemine göre alınmış ve pozitif ya da negatif iyonizasyon spektrum verileri deneysel bölümde özetlenmiştir.

Ara ürün olarak sentezlenen **1-17** numaralı bileşiklerin spektrumlarında farklı bağıl bolluklarda gözlenen $[M+H]^+$ ile $[M-H]^-$ moleküler iyon piklerinin hesaplanan ve beklenen molekül ağırlıklarıyla tam bir uyum içerisinde olduğu görülmektedir. Yapıdaki klor atomundan kaynaklanan $[M+2-H]^-$ ile $[M+2+H]^+$ izotop pikleri bütün bileşiklerin spektrumlarında ve moleküler iyon pikine bağlı olarak farklı bolluklarda gözlenmiştir. Ayrıca fenil halkası üzerinde klor sübstitüenti taşıyan türevlerde (**3-5**) her iki klor atomuna ait izotop pikleri beklenen değerlerde ve 9:6:1 oranına uygun bağıl bollukta tespit edilmiştir (Hesse et al., 2014; Robert M. Silverstein et al., 2014). **4, 5, 7, 17** bileşiklerinde moleküler iyon piki aynı zamanda temel piktir. **1** ve **15** bileşiklerinde ise temel pik, yapıdan klor iyonunun ayrılmasıyla ortaya çıkan $[M-Cl]^+$ yapısına karşılık gelen değerdedir. Bunların yanı sıra **9-11, 12, 14, 16** bileşiklerinin spektrumlarında gözlenen temel pik, amit işlevsel grubundaki karbonil grubunun C tipi bölünme sonucunda α - parçalanmaya uğramasıyla ortaya çıkan yapılara aittir. Bileşiklerin pozitif iyonizasyon ile analiz edilen türevlerinin bazılarında (**1-3, 9-11, 14, 16, 17**) $[M+41]^+$ piklerinin varlığının analiz sırasında ortamda bulunan asetonitril çözgeninden kaynaklanmış olduğu düşünülmektedir.

BCL kodlu bileşiklerin spektrumları APCI yöntemine göre pozitif iyonizasyon ile alınmıştır. Bileşiklerin spektrumlarında farklı bağıl bolluklarda gözlenen $[M+H]^+$ moleküler iyon piklerinin hesaplanan ve beklenen molekül ağırlıklarıyla tam bir uyum içerisinde olduğu görülmektedir. Ana halkadaki klor atomundan kaynaklanan

$[M+2+H]^+$ izotop piki bu yapıya sahip bütün bileşiklerin spektrumlarında ve $[M+H]^+$ pikinin bağıl bolluğuna bağlı olarak farklı bolluklarda gözlenmiştir. Ayrıca fenil halkası üzerinde klor sübstitüenti taşıyan **BCL3 - BCL5** bileşiklerinde toplamda 2 adet klor atomu bulunması nedeniyle hem $[M+2+H]^+$ hem de $[M+4+H]^+$ pikleri tespit edilmiştir. İzotop piklerinin bağıl bollukları literatür verileri ile uyum içerisindedir (Hesse et al., 2014; Robert M. Silverstein et al., 2014).

B kodlu bileşiklerin spektrumları ise APCI yöntemine göre pozitif iyonizasyon ile alınmıştır. Bileşiklerin spektrumlarında farklı bağıl bolluklarda gözlenen $[M+H]^+$ moleküler iyon piklerinin hesaplanan ve beklenen molekül ağırlıklarıyla tam bir uyum içerisinde olduğu görülmektedir. Yapısında klor içeren bileşiklerde (**B3 - B5**) $[M+2+H]^+$ izotop pikleri gözlenmiştir ve bağıl bollukları literatür verileri ile uyum içerisindedir (Hesse et al., 2014; Robert M. Silverstein et al., 2014). Bileşiklerde gözlenen ortak fragmentasyonlar C tipi bölünmeden kaynaklanmaktadır.

BS kodlu bileşiklerin spektrumları APCI yöntemine göre negatif iyonizasyon ile alınmıştır. Bileşiklerin spektrumlarında farklı bağıl bolluklarda gözlenen $[M-H]^-$ moleküler iyon piklerinin hesaplanan ve beklenen molekül ağırlıklarıyla tam bir uyum içerisinde olduğu görülmektedir. Yapıdaki kükürt atomundan kaynaklanan $[M+2-H]^-$ izotop piki 24:1 oranında izlendiğinden bu piklerin varlığı sadece $[M-H]^-$ pikinin yüksek bağıl bollukta gözlendiği bileşiklerde (**BS1, BS8, BS9, BS13, BS15, BS16**) belirlenebilmiştir. Ayrıca klor içeren bileşiklerde (**BS3 - BS5**) de $[M+2-H]^-$ izotop pikleri gözlenmiştir. Her iki atom için de izotop piklerinin bağıl bollukları literatür verileri ile uyum içerisindedir (Hesse et al., 2014; Robert M. Silverstein et al., 2014). Bileşiklere ait spektrumlarda gözlenen ortak fragmentasyonlar C tipi bölünmeye bağlıdır. **BS1, BS3 - BS5, BS13, BS16** bileşiklerinde $[M-H]^-$ iyonuna karşılık gelen sinyaller aynı zamanda temel piktir. Buna karşın **BS2, BS10 - BS13** türevlerinde 161, **BS15** türevinde ise 189 değerine sahip olan fragmanlar temel pik olarak gözlenmiştir.

5.2. X-Ray Bulgularının Değerlendirilmesi

B10 bileşiğinin monoklinik sistemde ve $P2_1/n$ uzay grubunda kristallendiği belirlenmiştir. Kristal yapının asimetrik biriminde, moleküle hidrojen bağı ile bağlı olan su molekülleri bulunmaktadır. Kristal yapı içindeki moleküller, $N-H\cdots O$ tipi hidrojen bağları ile $R_2^2(14)$ motifinde, sentrosimetrik dimerler oluşturmaktadır. Çıkan

dimerler ile su molekülleri N-H...O ve O-H...N tipi hidrojen bağları yaparak birleşmektedir. Su moleküllerinin oluşturduğu bu köprüler sonucu iki boyutlu süpramoleküler yapı ortaya çıkmaktadır.

BS6 bileşiği Triklinik sistemde kristallenmiş olup P-1 uzay grubundadır. Kristal yapı içinde moleküller, N-H...S tipi hidrojen bağları ile $R_2^2(8)$ motiflerinde sentrosimetrik dimerler şeklinde bulunmaktadır. Ortaya çıkan dimerler de zayıf C-H...O etkileşmeleriyle birbirine bağlanarak, kristal yapı içinde bir boyutlu sonsuz zincirleri oluşturmaktadır. Kristal yapı; molekül içi, moleküller arası hidrojen bağları ve zayıf etkileşmelerle kararlı haldedir.

5.3. Biyolojik Aktivite Bulgularının Değerlendirilmesi

Sentezlenen **B1 - B17** ve **BS1 - BS19** kodlu final bileşikler ile **BCL1 - BCL18** ve **BSE** kodlu ara ürünlerin MPO enzimine karşı inhibitör aktiviteleri taurin-kloramin test yöntemiyle ölçülmüş ve referans olarak 4-aminobenzoik asit hidraziti (4-ABAH) kullanılmıştır. Aktivite sonuçlarına göre 20 µM konsantrasyonda bütün bileşikler değişen inhibisyon oranlarında MPO'ya karşı inhibitör etki göstermektedir. Sentezlenen bileşikler içerisinde MPO inhibitör aktivitesi en yüksek olan bileşik **B2** (% 95.26) olarak tespit edilmiştir. Bu bileşiği sırasıyla **BS12** (% 94.30), **BS18** (% 93.21), **BS9** (% 93.03) ve **B10** (% 92.47) bileşikler takip etmiştir. Ana halkalardaki yapısal farklılıkların aktiviteye etkisi açısından karşılaştırma yapıldığında **BS7, BS8, BS10, BS11, BS15** hariç bütün yapılarda **BS** kodlu bileşikler diğer bileşiklere göre daha yüksek aktivite gösterirken **BCL4** ve **BCL5** haricinde **BCL** kodlu bileşikler en düşük aktiviteye sahiptir.

Süstitüentlerin konum farklılıklarının aktiviteye etkisi değerlendirildiğinde genel olarak *orto* ve *meta* konumlarında süstitüent taşıyan bileşiklerin daha yüksek biyolojik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. **BCL** serisinde metoksi süstitüenti taşıyan **BCL12** bileşiği haricindeki *orto* türevler, *meta* ve *para* türevlerine göre düşük aktivite göstermiştir. **B** serisinde **B13** hariç *meta* süstitüe bileşikler en yüksek aktivite değerlerine sahiptir. **BS** serisinde *orto* süstitüe bileşikler (**BS3, BS6, BS9, BS12**) en yüksek aktiviteyi göstermiştir.

Aynı konumlarda bulunan süstitüentlerin elektronik ve sterik etkilerinin aktivite üzerindeki etkisi incelendiğinde ise *orto* süstitüe yapılarda bütün serilerde en aktif bileşikler metoksi süstitüenti taşıyan türevlerdir. *Meta* süstitüe ürünlerde **B** ve **BS**

grubu bileşiklerde metil türevleri (**B10, BS10**); **BCL** grubunda klor sübstitüenti taşıyan **BCL4** türevi en aktifken *para* sübstitüe yapılarda **B** serisi bileşiklerde metil sübstitüenti taşıyan **B11**; **BCL** ve **BS** serilerinde ise klor sübstitüentine sahip **BCL5** ve **BS5** en aktiftir. Genel olarak bakıldığında *orto* konumunda metoksi sübstitüenti bulunan bileşiklerin (**BCL12, B12, BS12**), *meta* ve *para* konumlarında ise klor ve metil sübstitüentleri taşıyan ürünlerin (**BCL4, BCL5, BCL10, BCL11, B4, B5, B10, B11, BS4, BS5, BS10, BS11**) diğerlerine göre daha yüksek biyolojik aktivite değerlerine sahip olduğu söylenebilir.

Benzilamin türevlerinde (**BCL2, B2, BS2**) yan zincirdeki amino ile fenil halkası arasına metilen grubunun girişi **B** ve **BS** türevlerinde aktiviteyi artırırken **BCL** türevinde aktiviteyi azaltmıştır.

3,4,5-trimetoksi sübstitüentine sahip bileşiklerde (**BCL15, B15, BS15**) en yüksek aktivite **B** serisinde tespit edilmiştir.

Genel yapıda aromatik amin grubu yerine piperidin ve morfolin halkaları getirildiğinde daha düşük biyolojik aktivite izlenmiştir. Piperidin yapısı taşıyanların (**BCL17, B17, BS17**) morfolin taşıyanlara (**BCL16, B16, BS16**) göre **B** ve **BCL** serilerinde daha yüksek; **BS** serisinde ise daha düşük aktivite değerine sahip olduğu görülmüştür.

Yan zincirin ester ve hidroksamik asit taşıması durumunda (**BCL18, BSE, BS19**) biyolojik aktivite değerleri düşmüştür. Bunun yanı sıra hidrazit grubu (**BS18**) aktiviteyi önemli oranda artırmıştır.

Bütün bileşikler değerlendirildiğinde en yüksek aktivitenin **BS** serisinde; en düşük aktivitenin ise **BCL** serisinde görüldüğü belirlenmiştir. Bu durum genel yapıda kükürt varlığının aktiviteyi artırıcı yönde etki ettiğini göstermektedir (Li et al., 2015; Ruggeri et al., 2015; Tidén et al., 2011). Yan zincirde amit, hidrazit ve hidroksamik asit gruplarının aktiviteye katkıları değerlendirildiğinde hidrazit grubunun aktiviteye önemli oranda katkı sağladığı belirlenmiştir.

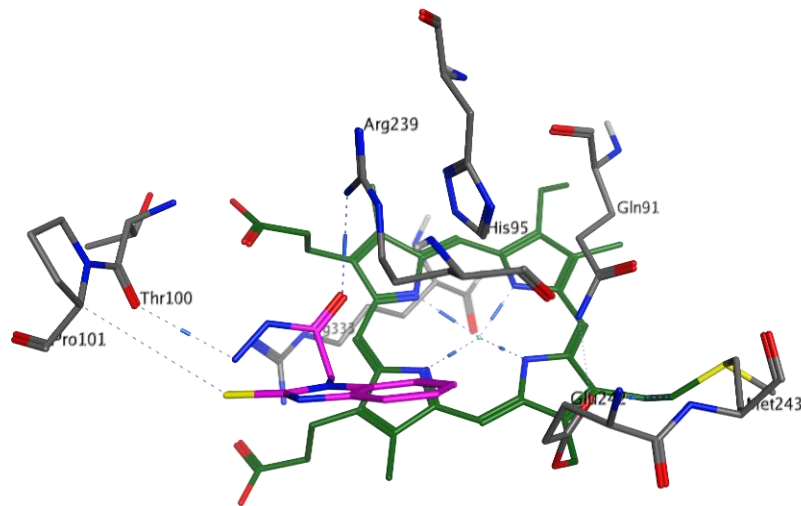
5.4. Moleküler Kenetlenme Bulgularının Değerlendirilmesi

Tez çalışmamız kapsamında MPO inhibitör aktivitesi tayin edilen bileşiklerin enzimin aktif cebinde etkileştiği aminoasitlerin ve etkileşim türlerinin de aydınlatılması planlanmıştır. Bu amaçla biyolojik aktiviteleri test edilen bileşiklerden %90 ve üzeri MPO inhibisyonu gösteren **BS1, BS2, BS9, BS10, BS12, BS18** ve **B10** kodlu bileşikler

için moleküler kenetlenme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Moleküllerin ve enzimin hazırlık çalışmaları ve sonuçların görüntülenmesi MOE yazılımı ile, kenetlenme çalışmaları ise GOLD programı kullanılarak yapılmıştır. Bileşiklerin en iyi bağlanma pozisyonları seçilirken Chemscore puanları ve etkileşme türleri göz önüne alınmıştır. Seçilen pozlar değerlendirildiğinde, amit işlevsel grubu taşıyan azot süstitüe **BS1**, **BS2**, **BS9**, **BS10** ve **BS12** kodlu bileşiklerin hepsinde yapıdaki karbonil grubu (C=O) ile enzimin aktif cebindeki Arg-239 amino asidinin NH₂ grubu arasında hidrojen bağı tespit edilmiştir. Ayrıca bileşiklerin yapısındaki kükürt atomunun, His-95 amino asidinin imidazol halkasında bulunan 2 numaralı karbon ile etkileşim gösterdiği belirlenmiştir.

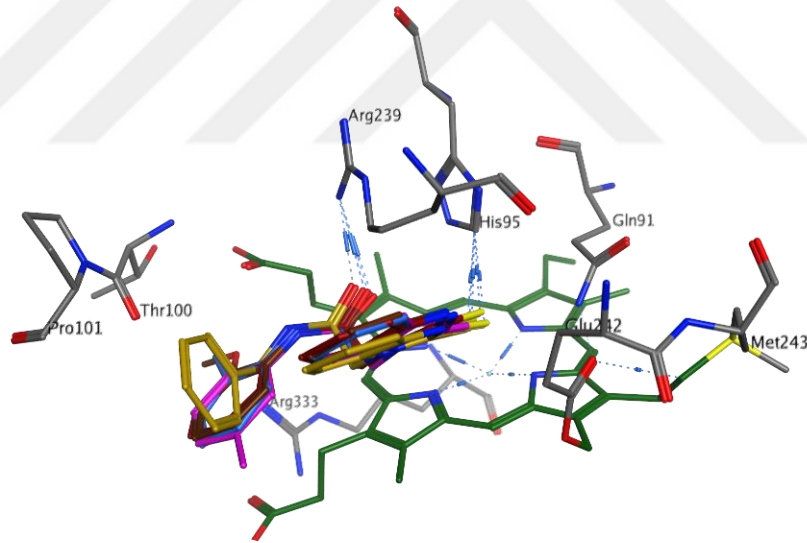
Yan zincirin kükürt üzerinden süstitüe olduğu **B10** kodlu bileşiğin en iyi kenetlenme pozunda, yapıdaki karbonil grubunun Arg-333 amino asidindeki NH ile; benzimidazol halkasındaki NH grubunun ise Arg-239 amino asidinin NH₂ grubu ile hidrojen bağı aracılığı ile etkileştiği belirlenmiştir.

Biyolojik aktivite testleri sonucunda en aktif olarak belirlenen **BS18** kodlu bileşik, yapısındaki karbonil grubunun oksijen atomu üzerinden Arg-239 amino asidinin NH₂ grubuyla hidrojen bağı aracılı etkileşim göstermiştir. Ayrıca kükürt ile Pro-101 amino asidinin karbonu arasında etkileşim belirlenmiştir. Bu bileşiğin yapısındaki hidrazit işlevsel grubu enzim yöresinde bağlantı açısından avantaj sağlamış ve NH₂ ile Thr-100 amino asidinin karbonil oksijeni arasında hidrojen bağı gerçekleşmiştir (Şekil 5-7).



Şekil 5-7. **BS18** kodlu bileşiğin kenetlenme bulguları

Moleküler kenetlenme bulguları değerlendirildiğinde sadece fenil üzerindeki sübstituentler ve pozisyonları açısından farklılıklara sahip olan **BS1**, **BS9**, **BS10** ve **BS12** kodlu bileşiklerin enzim cebinde yapılarında ortak gruplar üzerinden enzimin aynı amino asitleri ve gruplarıyla etkileştiği belirlenmiştir. Bahsedilen bileşiklerin hepsi benzimidazol halkasına bağlı kükürt atomu ve amit işlevsel grubuna ait karbonil oksijeni aracılığıyla enzime bağlanmıştır. Bu nedenle enzim cebindeki yönelimleri ve duruş açıları benzer özellik göstermektedir. Amit grubunda benzil sübstitüenti taşıyan **BS2** kodlu bileşiğin enzim yöresindeki duruşu incelendiğinde ise yapısındaki benzimidazol halkası ve amit grubunun **BS** kodlu diğer bileşiklerle aynı şekilde yönelim gösterdiği fakat bu moleküllerden farklı olarak fenil halkasının farklı bir pozisyonda bulunduğu belirlenmiştir. Bunun sebebinin benzil amit yapısından kaynaklı olarak amit fonksiyonel grubunun azot atomu ile bileşiğin fenil halkası arasında bulunan metilen grubunun moleküle sağladığı esneklikten kaynaklı olduğu düşünülmektedir (Şekil 5-8).

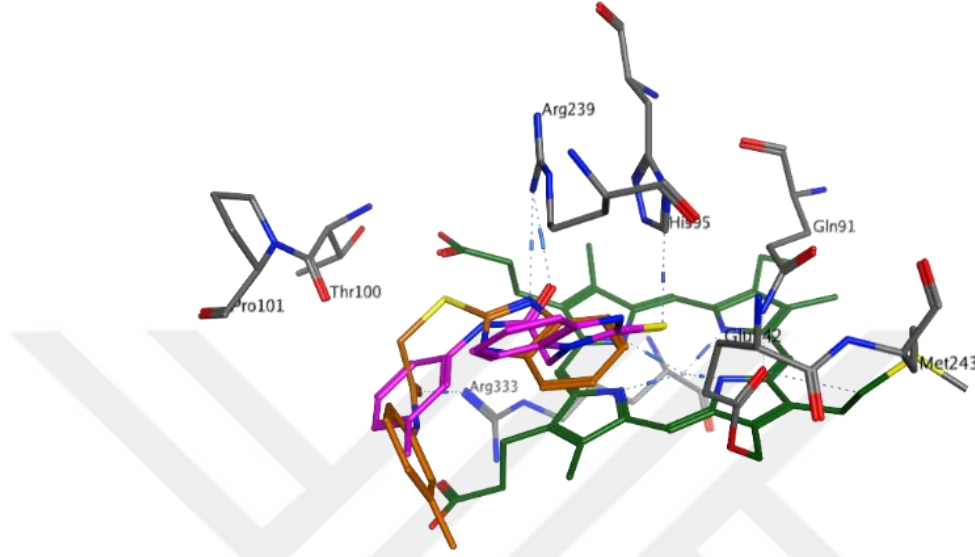


Şekil 5-8. **BS** kodlu bileşiklerin kenetlenme bulguları

BS1 kırmızı, **BS2** sarı, **BS9** mavi, **BS10** pembe, **BS12** bileşiği ise kahverengi renkle temsil edilmiştir

B10 kodlu bileşiğin yapısında enzim cebiyle etkileştiği yapılar da **BS** serisi bileşiklerde olduğu gibi benzimidazol halkası ve karbonil oksijenidir. Ancak bu gruplar **BS** serisinden farklı amino asitlerle etkileşmektedir. **BS** kodlu bileşiklerde karbonil oksijeni ile Arg-239 amino asidi arasında hidrojen bağı tespit edilmişken **B10**

bileşiğinin oksijen atomu Arg-333 amino asidi ile hidrojen bağı kurmaktadır. Ayrıca **BS** türevlerinde benzimidazole bağılı kükürt ile His-95 amino asidi arasında etkileşim tespit edilmişken **B10** bileşiğinin benzimidazol NH grubu Arg-239 amino asidine bağlanmıştır. Bahsedilen bu yönelimler **B10** bileşiğinin enzim cebinde farklı bir pozisyonda bulunduğunu göstermektedir (Şekil 5-9).



Şekil 5-9. **B10** ve **BS10** kodlu bileşiklerin kenetlenme bulguları

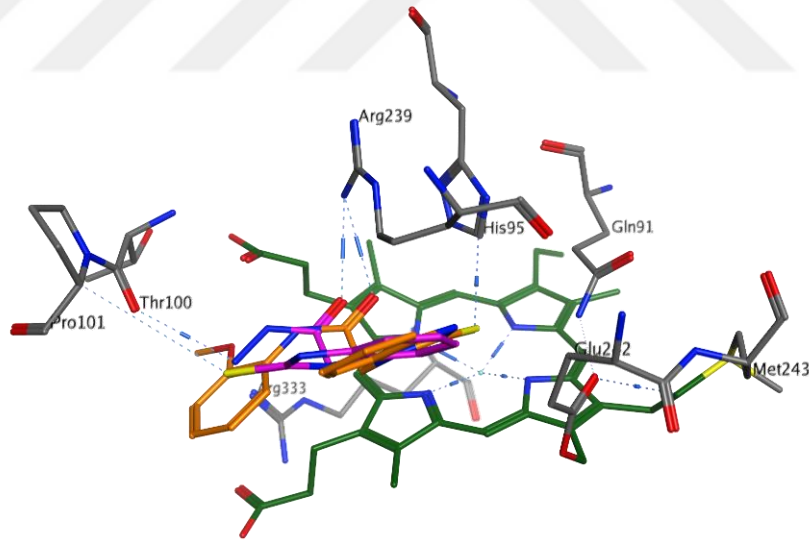
B10 kodlu bileşik turuncu, **BS10** kodlu bileşik pembe renk ile temsil edilmektedir

MPO'nun H_2O_2 ile reaksiyonu sonucunda oksidan bir molekül olan Bileşik-I'in sentezi gerçekleşmektedir. Bu reaksiyon sırasında enzim cebindeki Arg-239 ve His-95 aminoasitleri, H_2O_2 'nin heterolitik parçalanmasını sağlayarak önemli bir rol oynamaktadır (Forbes & Kettle, 2017). MPO inhibitörlerinden bir tanesi olarak bilinen salisilhidroksamik asit molekülünün enzim yöresindeki kristalizasyon çalışmaları sonucunda, bileşiğin enzim cebindeki Arg-239, His-95 ve Gln-91 aminoasitleri ile etkileşim gösterdiği literatürde bildirilmiştir (Davey & Fenna, 1996). Ayrıca literatürde düşük konsantrasyonlarda MPO inhibitörü olduğu rapor edilen bileşiklerden hidroksamik asit türevi **HX-1** ($IC_{50} = 5$ nM) (Forbes et al., 2013) ve triazoloprimidin türevi **6** ($IC_{50} = 84$ nM) (Duclos et al., 2017) moleküllerinin enzim cebine Arg-239, His-95 ve Gln-91 aminoasitleri aracılığıyla bağlandıkları belirtilmiştir. Triptamin türevleri arasında ise 5-florotriptamin bileşiğinin ($IC_{50} = 8$ nM) Thr-100 ve Glu-102 aminoasitleriyle hidrojen bağı yaptığı rapor edilmiştir (Soubhye et al., 2013).

Tez çalışması kapsamında moleküler kenetlenme çalışmalarının sağladığı bulgular değerlendirildiğinde, bileşiklerin tamamının enzim aktivitesinde önemli rol oynadığı düşünülen aminoasitlerden olan Arg-239 ve His-95 ile etkileştiği tespit edilmiştir. Bu aminoasitlerin özellikle Bileşik-I'nin senteziyle sonuçlanan reaksiyonda görev alması sentezlenen bileşiklerin inhibitör etkinliklerini değerlendirmek açısından önemli olabilir.

Biyolojik aktivite taramaları sonucunda en aktif bulunan **BS18** bileşiğinin kenetlenme pozisyonunun diğer bileşiklerden farklı oluşu ve daha fazla etkileşime sahip olması, bileşiklerin IC₅₀ değerleri arasındaki anlamlı farklılığın yorumlanabilmesinde yol gösterici olarak düşünülebilir. (Şekil 5-10) Ayrıca bu bileşiğin bulgularında, düşük konsantrasyonda etki gösterdiği rapor edilen 5-florotriptamin molekülüyle benzer olarak, Thr-100 aminoasidiyle gerçekleşen hidrojen bağı tespit edilmiştir.

Moleküler kenetlenme bulgularının literatürde kayıtlı çalışmaların sonuçlarıyla benzerlik göstermesi, tasarlanan ve tez çalışması kapsamında sentezlenerek biyolojik aktiviteleri test edilen bileşiklerin, MPO inhibitörü olabilecek yeni moleküllerin tasarımı açısından yol gösterici olabileceğini düşündürmektedir.



Şekil 5-10. **BS12** ve **BS18** kodlu bileşiklerin kenetlenme bulguları

BS12 kodlu bileşik turuncu, **BS18** kodlu bileşik pembe renk ile temsil edilmektedir

Sonuç ve Öneriler

Tez çalışmamız kapsamında tasarladığımız ve sentezlediğimiz bileşiklerin biyolojik aktivite sonuçları MPO inhibitör özellikleri açısından umut vadedicidir. Gerçekleştirilen çalışmaların bulguları değerlendirildiğinde aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır:

- (i) Benzimidazol halkasının 2 konumunda kükürt taşıyan türevlerin değişen yüzde inhibisyon değerlerinde MPO enzimini inhibe ettiği belirlenmiştir. Ana halkanın benzimidazol-2-tiyon yapısında olması, yani kükürt atomunun üzerinde süstitüent taşımaması ve serbest halde bulunması durumunda ise aktiviteye daha çok katkı sağladığı tespit edilmiştir.
- (ii) Yan zincir üzerinde çalışılan farklı işlevsel grupların arasında hidrazit grubunun aktiviteye çok önemli bir katkı sağladığı belirlenmiştir.
- (iii) 2 numaralı konumunda kükürt taşıyan benzimidazol halkasının etkin MPO inhibitörü olabilecek yeni bileşiklerin tasarımında önemli bir başlangıç noktası olabileceği, ayrıca tasarlanacak yeni moleküllerde süstitüe hidrazit türevleri üzerine yoğunlaşılmasının önem taşıdığı düşünülmektedir.

Kaynaklar

- Abbas, M. A., Hameed, S., & Kressler, J. (2013). Preparation of 2(3H)-benzimidazolone and its derivative under aqueous condition as a potential agent for antidiabetic compounds. *Asian Journal of Chemistry*, 25(1), 509–511. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2013.13372>
- Abbracchio, M. P., Battaglia, Mario Alberto Eberini, I., Fumagalli, M., Parravchini, C., Sensi, C., & Zaratin, P. (2013). GPR 17 Receptor Modulators.
- Abu-Soud, H. M., & Hazen, S. L. (2000). Nitric oxide is a physiological substrate for mammalian peroxidases. *Journal of Biological Chemistry*, 275(48), 37524–37532. <https://doi.org/10.1074/jbc.275.48.37524>
- Abu-Soud, H. M., Raushel, F. M., & Hazen, S. L. (2004). A novel multistep mechanism for oxygen binding to ferrous hemoproteins: Rapid kinetic analysis of ferrous-dioxy myeloperoxidase (compound III) formation. *Biochemistry*, 43(36), 11589–11595. <https://doi.org/10.1021/bi049541h>
- Aldib, I., Soubhye, J., Boudjeltia, K. Z., Vanhaeverbeek, M., Rousseau, A., Furtmu, P. G., ... Ne, J. (2012). Evaluation of New Scaffolds of Myeloperoxidase Inhibitors by Rational Design Combined with High-Throughput Virtual Screening. *Journal of Medicinal Chemistry*, 55, 7208–7218.
- Ali, M., Ali, S., Khan, M., Rashid, U., Ahmad, M., Khan, A., ... Latif, A. (2018). Synthesis, biological activities, and molecular docking studies of 2-mercaptobenzimidazole based derivatives. *Bioorganic Chemistry*, 80(April), 472–479. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.06.032>
- Allegra, M., Furtmüller, P. G., Regelsberger, G., Turco-Liveri, M. L., Tesoriere, L., Perretti, M., ... Obinger, C. (2001). Mechanism of reaction of melatonin with human myeloperoxidase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 282(2), 380–386. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2001.4582>
- Anandarajagopal, K., Tiwari, R. N., Bothara, K. G., Anbu Jeba Sunilson, J., Dineshkumar, C., & Promwichit, P. (2010). 2-Mercaptobenzimidazole Derivatives: Synthesis and Anticonvulsant Activity. *Advances in Applied Science Research*, 1(2), 132–138.

- Andrews, P. C., & Krinsky, N. I. (1981). The reductive cleavage of myeloperoxidase in half, producing enzymically active hemi-myeloperoxidase. *Journal of Biological Chemistry*, 256(9), 4211–4218.
- Ashry, E. S. H. El, Aly, A. A., Aouad, M. R., & Amer, M. R. (2010). Revisit to the Reaction of O -Phenylene Diamine with Thiosemicarbazide to Give Benzimidazole-2-Thione Rather than Benzotriazine-2-Thione and its Glycosylation. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, 29(9), 698–706. <https://doi.org/10.1080/15257770.2010.501777>
- Azizi, N., Khajeh-Amiri, A., Ghafari, H., & Bolourtchian, M. (2011). Toward a practical and waste-free synthesis of thioureas in water. *Molecular Diversity*, 15(1), 157–161. <https://doi.org/10.1007/s11030-010-9236-7>
- Bansal, Y., & Silakari, O. (2012). The therapeutic journey of benzimidazoles: A review. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 20(21), 6208–6236. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2012.09.013>
- Battistuzzi, G., Stampfer, J., Bellei, M., Vlasits, J., Soudi, M., Furtmüller, P. G., & Obinger, C. (2011). Influence of the covalent heme-protein bonds on the redox thermodynamics of human myeloperoxidase. *Biochemistry*, 50(37), 7987–7994. <https://doi.org/10.1021/bi2008432>
- Beckurts, H., & Frerichs, G. (1915). Ueber Arylamide der Rhodanessigsäuren und Arylthiohydantoine. *Archiv Der Pharmazie*, 253(1–5), 233–265. <https://doi.org/10.1002/ardp.19152530119>
- Benington, F., Morin, R. D., & Clark, L. C. (1955). Mescaline Analogs. IV. SUBSTITUTED 4,5,6-TRIMETHOXYINDOLES. *The Journal of Organic Chemistry*, 20(10), 1454–1457. <https://doi.org/10.1021/jo01127a026>
- Bespalov, A. Y., Gorchakova, T. L., Ivanov, A. Y., Kuznetsov, M. A., Kuznetsova, L. M., Pankova, A. S., ... Avdontceva, M. S. (2015). Alkylation and Aminomethylation of 1,3-Dihydro-2H-Benzimidazole-2-Thione. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 50(11), 1547–1558. <https://doi.org/10.1007/s10593-014-1623-z>
- Blair-Johnson, M., Fiedler, T., & Fenna, R. (2001). Human myeloperoxidase: Structure of a cyanide complex and its interaction with bromide and thiocyanate

- substrates at 1.9 Å resolution. *Biochemistry*, 40(46), 13990–13997. <https://doi.org/10.1021/bi0111808>
- Blythir, D. J., Kaminski, J. J., Domalski, M. S., Spitler, J., Solomon, D. M., Conn, D. J., ... McPhai, A. T. (1986). Antiinflammatory Activity of Substituted 6-Hydroxypyrimido[2,l-f]purine-2,4,8(1H,3H,9If)-triones. Atypical Nonsteroidal Antiinflammatory Agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, 29(6), 1099–1113. <https://doi.org/10.1021/jm00156a032>
- Bolscher, B. G. J. M., & Wever, R. (1984). The nitrosyl compounds of ferrous animal haloperoxidases. *Biochimica et Biophysica Acta*, 791, 75–81.
- Bonfanti, J. F., Doublet, F., Fortin, J., Lacrampe, J., Guillemont, J., Muller, P., ... Andries, K. (2007). Selection of a respiratory syncytial virus fusion inhibitor clinical candidate, part 1: Improving the pharmacokinetic profile using the structure-property relationship. *Journal of Medicinal Chemistry*, 50(19), 4572–4584. <https://doi.org/10.1021/jm070143x>
- Boufadi, Y. M., Soubhye, J., Riazi, A., Rousseau, A., Vanhaeverbeek, M., Nève, J., ... Van Antwerpen, P. (2014). Characterization and antioxidant properties of six Algerian propolis extracts: Ethyl acetate extracts inhibit Myeloperoxidase activity. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(2), 2327–2345. <https://doi.org/10.3390/ijms15022327>
- Britsun, V. N., Esipenko, A. N., & Lozinskii, M. O. (2006). Some chemical properties of 2,3-dihydro-4H-[1,3]thiazino[3,2-a]benzimidazol-4-one and 2-aryl-2,3-dihydro-4H-[1,3]thiazino[3,2-a]benzimidazol-4-ones. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 42(3), 396–402. <https://doi.org/10.1007/s10593-006-0099-x>
- Buehler, C. A., & Mackenzie, C. A. (1937). The Action of Benzylamine on Aliphatic Esters. *Journal of the American Chemical Society*, 59(2), 421–422. <https://doi.org/10.1021/ja01281a502>
- Cerniauskaite, D., Rousseau, J., Sackus, A., Rollin, P., & Tatibouët, A. (2011). Glucosinolate synthesis: A hydroxamic acid approach. *European Journal of Organic Chemistry*, (12), 2293–2300. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201001438>
- Clark, R. C., & Reid, J. S. (1995). The analytical calculation of absorption in multifaceted crystals. *Acta Crystallographica Section A*, 51(6), 887–897.

<https://doi.org/10.1107/S0108767395007367>

Copeland, R. a. (2013). *Evaluation of enzyme inhibitors in Drug discovery*. Wiley.

Copeland, R. A., Harpel, M. R., & Tummino, P. J. (2007). Targeting enzyme inhibitors in drug discovery. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 11(7), 967–978. <https://doi.org/10.1517/14728222.11.7.967>

Cuperus, R. A., Muijsers, A. O., & Wever, R. (1986). The superoxide dismutase activity of myeloperoxidase; formation of Compound III. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)/Protein Structure and Molecular*, 871(1), 78–84. [https://doi.org/10.1016/0167-4838\(86\)90135-4](https://doi.org/10.1016/0167-4838(86)90135-4)

D'amico, J. J., & Bollinger, F. G. (1988). Synthesis of 2-oxo-3-benzothiazolineacetyl chloride, 5-chloro-2-oxo-3-benzothiazolineacetyl chloride and derivatives. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 25, 1183–1190.

Da Settimo, F., Primofiore, G., Da Settimo, A., La Motta, C., Taliani, S., Simorini, F., ... Boldrini, E. (2001). [1,2,4]Triazino[4,3- a]benzimidazole Acetic Acid Derivatives: A New Class of Selective Aldose Reductase Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 44(25), 4359–4369. <https://doi.org/10.1021/jm0109210>

Davey, C. A., & Fenna, R. E. (1996). 2.3 Å Resolution X-ray Crystal Structure of the Bisubstrate Analogue Inhibitor Salicylhydroxamic Acid Bound to Human Myeloperoxidase: A Model for a Prereaction Complex with Hydrogen Peroxide. *Biochemistry*, 35(33), 10967–10973. <https://doi.org/10.1021/bi960577m>

Davies, B., & Edwards, S. W. (1989). Inhibition of myeloperoxidase by salicylhydroxamic acid. *Biochemical Journal*, 258, 801–806.

Dolomanov, O. V., Bourhis, L. J., Gildea, R. J., Howard, J. A. K., & Puschmann, H. (2009). OLEX2: A complete structure solution, refinement and analysis program. *Journal of Applied Crystallography*, 42(2), 339–341. <https://doi.org/10.1107/S0021889808042726>

Duclos, F., Abell, L. M., Harden, D. G., Pike, K., Nowak, K., Locke, G. A., ... Kick, E. K. (2017). Triazolopyrimidines identified as reversible myeloperoxidase inhibitors. *MedChemComm*, 8(11), 2093–2099. <https://doi.org/10.1039/C7MD00268H>

- Edraki, M., & Zaarei, D. (2018). Modification of montmorillonite clay with 2-mercaptobenzimidazole and investigation of their antimicrobial properties. *Asian Journal of Green Chemistry*, 2(July 2019), 189–200. <https://doi.org/10.22034/ajgc.2018.61073>
- Edwards, M. L., Stemerick, D. M., Sabol, J. S., Diekema, K. A., & Dinerstein, R. J. (1994). Inhibition of Myeloperoxidase Release from Rat Polymorphonuclear Leukocytes by a Series of Azachalcone Derivatives. *Journal of Medicinal Chemistry*, 37(25), 4357–4362. <https://doi.org/10.1021/jm00051a013>
- El Ashry, E., El Kilany, Y., Nahas, N., Barakat, A., Al-Qurashi, N., Ghabbour, H., & Fun, H.-K. (2015). Synthesis and Crystal Structures of Benzimidazole-2-thione Derivatives by Alkylation Reactions. *Molecules*, 21(1), 12. <https://doi.org/10.3390/molecules21010012>
- Emerson, G., Brink, N. G., Holly, F. W., Koniuszy, F., Heyl, D., & Folkers, K. (1950). Vitamin B 12 . VIII. Vitamin B 12 -Like Activity of 5,6-Dimethylbenzimidazole and Tests on Related Compounds. *Journal of the American Chemical Society*, 72(7), 3084–3085. <https://doi.org/10.1021/ja01163a078>
- Fenna, R., Zeng, J., & Davey, C. A. (1995). Structure of the green heme in myeloperoxidase.pdf. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 316(1), 653–656.
- Fiedler, T. J., Davey, C. A., & Fenna, R. E. (2000). X-ray Crystal Structure and Characterization of Halide-binding Sites of Human Myeloperoxidase at 1.8 Å Resolution. *Journal of Biological Chemistry*, 275(16), 11964–11971. <https://doi.org/10.1074/jbc.275.16.11964>
- Floris, R., Piersma, S. R., Yang, G., Jones, P., & Wever, A. (1993). Interaction of myeloperoxidase with peroxynitrite. A comparison with lactoperoxidase, horseradish peroxidase and catalase. *European Journal of Biochemistry*, 215(3), 767–775.
- Floris, René, & Wever, R. (1992). Reaction of myeloperoxidase with its product HOCl. *European Journal of Biochemistry*, 207(2), 697–702. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1992.tb17097.x>
- Forbes, L. V., & Kettle, A. J. (2017). Myeloperoxidase: Unleashing the Power of

- Hydrogen Peroxide. In M. C. M. Vissers, M. B. Hampton, & A. J. Kettle (Eds.), *Hydrogen Peroxide Metabolism in Health and Disease* (pp. 281–303). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781315154831-15>
- Forbes, L. V., & Kettle, A. J. (2018). A multi-substrate assay for finding physiologically effective inhibitors of myeloperoxidase. *Analytical Biochemistry*, 544(October 2017), 13–21. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2017.12.022>
- Forbes, L. V., Sjögren, T., Auchère, F., Jenkins, D. W., Thong, B., Laughton, D., ... Kettle, A. J. (2013). Potent Reversible Inhibition of Myeloperoxidase by Aromatic Hydroxamates. *Journal of Biological Chemistry*, 288(51), 36636–36647. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.507756>
- Fu, S., Wang, H., Davies, M., & Dean, R. (2000). Reactions of Hypochlorous Acid with Tyrosine and Peptidyl-tyrosyl Residues Give Dichlorinated and Aldehydic Products in Addition to 3-Chlorotyrosine. *The Journal of Biological Chemistry*, 275(15), 10851–10858. <https://doi.org/10.1074/jbc.275.15.10851>
- Furtmüller, Paul G., Zederbauer, M., Jantschko, W., Helm, J., Bogner, M., Jakopitsch, C., & Obinger, C. (2006). Active site structure and catalytic mechanisms of human peroxidases. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 445(2), 199–213. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2005.09.017>
- Furtmüller, Paul Georg, Burner, U., & Obinger, C. (1998). Reaction of Myeloperoxidase Compound I with Chloride, Bromide, Iodide, and Thiocyanate. *Biochemistry*, 37(51), 17923–17930. <https://doi.org/10.1021/bi9818772>
- Galijasevic, S. (2019). The development of myeloperoxidase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 29(1), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2018.11.031>
- Galijasevic, S., Abdulhamid, I., & Abu-Soud, H. M. (2008). Melatonin Is a Potent Inhibitor for Myeloperoxidase. *Biochemistry*, 47(8), 2668–2677. <https://doi.org/10.1021/bi702016q>
- Gowda, B. T., Usha, K. M., & Jayalakshmi, K. L. (2003). ¹H and ¹³C NMR Spectral Studies on N-(Aryl)-Substituted Acetamides, C₆H₅NHCOCH₃-iXi and 2/4-XC₆H₄NHCOCH₃-iXi (where X = Cl or CH₃ and i = 0, 1, 2 or 3). *Zeitschrift Für Naturforschung A*, 58(12), 801–806. <https://doi.org/10.1515/zna-2003-1214>

- Green, P. S., Mendez, A. J., Jacob, J. S., Crowley, J. R., Growdon, W., Hyman, B. T., & Heinecke, J. W. (2004). Neuronal expression of myeloperoxidase is increased in Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry*, 90(3), 724–733. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2004.02527.x>
- Grishkovskaya, I., Paumann-Page, M., Tscheliessnig, R., Stampfer, J., Hofbauer, S., Souidi, M., ... Obinger, C. (2017). Structure of human promyeloperoxidase (proMPO) and the role of the propeptide in processing and maturation. *Journal of Biological Chemistry*, 292(20), 8244–8261. <https://doi.org/10.1074/jbc.M117.775031>
- Hansson, M., Olsson, I., & Nauseef, W. M. (2006). Biosynthesis, processing, and sorting of human myeloperoxidase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 445(2), 214–224. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2005.08.009>
- Harte, A. J., & Gunnlaugsson, T. (2006). Synthesis of α -chloroamides in water. *Tetrahedron Letters*, 47(35), 6321–6324. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2006.06.090>
- Harvill, E. K., Herbst, R. M., & Schreiner, E. G. (1952). Haloalkyltetrazole and Aminoalkyltetrazole Derivatives. *The Journal of Organic Chemistry*, 17(12), 1597–1616. <https://doi.org/10.1021/jo50012a006>
- Hawkins, C. L., Pattison, D. I., & Davies, M. J. (2003). Hypochlorite-induced oxidation of amino acids, peptides and proteins. *Amino Acids*, 25(3–4), 259–274. <https://doi.org/10.1007/s00726-003-0016-x>
- Hazell, L. J., van den Berg, J. J. M., & Stocker, R. (1994). Oxidation of low-density lipoprotein by hypochlorite causes aggregation that is mediated by modification of lysine residues rather than lipid oxidation. *Biochemical Journal*, 302(1), 297–304.
- Hazen, S. L. (2004). Myeloperoxidase and plaque vulnerability. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 24(7), 1143–1146. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000135267.82813.52>
- Hazen, S. L., D'Avignon, A., Anderson, M. M., Hsu, F. F., & Heinecke, J. W. (1998). Human neutrophils employ the myeloperoxidase-hydrogen peroxide-chloride system to oxidize α -amino acids to a family of reactive aldehydes: Mechanistic

- studies identifying labile intermediates along the reaction pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 273(9), 4997–5005. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.9.4997>
- Hazen, S. L., & Heinecke, J. W. (1997). 3-Chlorotyrosine, a specific marker of myeloperoxidase-catalyzed oxidation, is markedly elevated in low density lipoprotein isolated from human atherosclerotic intima. *Journal of Clinical Investigation*, 99(9), 2075–2081. <https://doi.org/10.1172/JCI119379>
- Heidelberger, M., & Jacobs, W. A. (1919). CERTAIN AMINO AND ACYLAMINO PHENOL ETHERS. *Journal of the American Chemical Society*, 41(9), 1450–1472. <https://doi.org/10.1021/ja02230a014>
- Hernández-Núñez, E., Tlahuext, H., Moo-Puc, R., Torres-Gómez, H., Reyes-Martínez, R., Cedillo-Rivera, R., ... Navarrete-Vazquez, G. (2009). Synthesis and in vitro trichomonocidal, giardicidal and amebicidal activity of N-acetamide(sulfonamide)-2-methyl-4-nitro-1H-imidazoles☆. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44(7), 2975–2984. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.01.005>
- Hesse, M., Meier, H., & Zeeh, B. (2014). Spectroscopic Methods in Organic Chemistry, 2nd Edition 2007, 450.
- Hosamani, K. M., & Shingalapur, R. V. (2011). Synthesis of 2-mercaptobenzimidazole derivatives as potential anti-microbial and cytotoxic agents. *Archiv Der Pharmazie*, 344(5), 311–319. <https://doi.org/10.1002/ardp.200900291>
- Ikeda-Saito, M., Shelley, D. A., Lu, L., Booth, K. S., Caughey, W. S., & Kimura, S. (1991). Salicylhydroxamic acid inhibits myeloperoxidase activity. *Journal of Biological Chemistry*, 266(6), 3611–3616.
- Iwamoto, H. K., & Farson, D. (1946). A contribution to the chemistry and pharmacology of glycolanilide. *Journal of the American Pharmaceutical Association (Scientific Ed.)*, 35(2), 50–52. <https://doi.org/10.1002/jps.3030350206>
- Jablonkai, I. (2003). Alkylating reactivity and herbicidal activity of chloroacetamides. *Pest Management Science*, 59(4), 443–450. <https://doi.org/10.1002/ps.634>

- Jantschko, W., Furtmüller, P. G., Zederbauer, M., Jakopitsch, C., & Obinger, C. (2004). Kinetics of oxygen binding to ferrous myeloperoxidase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 426(1), 91–97. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2004.03.019>
- Jantschko, W., Furtmüller, P. G., Zederbauer, M., Neugschwandtner, K., Lehner, I., Jakopitsch, C., ... Obinger, C. (2005). Exploitation of the unusual thermodynamic properties of human myeloperoxidase in inhibitor design. *Biochemical Pharmacology*, 69, 1149–1157. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2005.02.006>
- Kenakin, T. P. (2017). Enzymes as Drug Targets. In *Pharmacology in Drug Discovery and Development* (pp. 131–156). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803752-2.00006-5>
- Kennelly, P. J., & Rodwell, V. W. (2015). Enzymes: Kinetics. In V. W. Rodwell, D. A. Bender, K. M. Botham, P. J. Kennelly, & P. A. Weil (Eds.), *Harper's Illustrated Biochemistry* (30th ed.). <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.6b03449>
- Kettle, A. J., Gedy, C. A., Hampton, M. B., & Winterbourn, C. C. (1995). Inhibition of myeloperoxidase by benzoic acid hydrazides. *Biochemical Journal*, 308(2), 559–563. <https://doi.org/10.1042/bj3080559>
- Kettle, A. J., & Winterbourn, C. C. (1989). Influence of superoxide on myeloperoxidase kinetics measured with a hydrogen peroxide electrode. *Biochemical Journal*, 263(3), 823–828. <https://doi.org/10.1042/bj2630823>
- Kettle, A.J., & Candaeis, L. P. (2000). Oxidation of tryptophan by redox intermediates of myeloperoxidase and inhibition of hypochlorous acid production. *Redox Report*, 5(4), 179–184. <https://doi.org/10.1179/135100000101535726>
- Kettle, Anthony J., Anderson, R. F., Hampton, M. B., & Winterbourn, C. C. (2007). Reactions of Superoxide with Myeloperoxidase. *Biochemistry*, 46(16), 4888–4897. <https://doi.org/10.1021/bi602587k>
- Kettle, Anthony J., Gedy, C. A., & Winterbourn, C. C. (1997). Mechanism of inactivation of myeloperoxidase by 4-aminobenzoic acid hydrazide. *Biochemical Journal*, 321(2), 503–508. <https://doi.org/10.1042/bj3210503>

- Kettle, Anthony J., & Winterbourn, C. C. (1988). Superoxide modulates the activity of myeloperoxidase and optimizes the production of hypochlorous acid. *Biochemical Journal*, 252, 529–536. <https://doi.org/10.1002/047084289X.rh073>
- Kettle, Anthony J., & Winterbourn, C. C. (2016). Myeloperoxidase: Structure and Function of the Green Heme Peroxidase of Neutrophils. In *RSC Metallobiology* (pp. 272–308). <https://doi.org/10.1039/9781782622628-00272>
- Kettle, Anthony J, Gedye, C. A., Hampton, M. B., & Winterbourn, C. C. (1995). Inhibition of myeloperoxidase by benzoic acid hydrazides. *Biochemical Journal*, 308, 559–563.
- Kettle, Anthony J, & Winterbourn, C. C. (1991). Mechanism of Inhibition of Myeloperoxidase by Anti-inflammatory Drugs. *Biochemical Pharmacology*, 41(10), 1485–1492.
- Khan, A., Alsahli, M., & Rahmani, A. (2018). Myeloperoxidase as an Active Disease Biomarker: Recent Biochemical and Pathological Perspectives. *Medical Sciences*, 6(2), 33. <https://doi.org/10.3390/medsci6020033>
- Kilchmann, F., Marcaida, M. J., Kotak, S., Schick, T., Boss, S. D., Awale, M., ... Reymond, J. L. (2016). Discovery of a Selective Aurora A Kinase Inhibitor by Virtual Screening. *Journal of Medicinal Chemistry*, 59(15), 7188–7211. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b00709>
- Kim, S.-C., & Kwon, B.-M. (1982). A New Convenient Synthesis of Hydantoin Derivatives by the Phase-Transfer Method. *Synthesis*, 1982(09), 795–796. <https://doi.org/10.1055/s-1982-29951>
- Klebanoff, S. J. (2005). Myeloperoxidase: friend and foe. *Journal of Leukocyte Biology*, 77(301), 598–625. <https://doi.org/10.1189/jlb.1204697.1>
- Koeth, R. A., Haselden, V., & Tang, W. H. W. (2013). *Myeloperoxidase in Cardiovascular Disease. Advances in Clinical Chemistry* (1st ed., Vol. 62). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800096-0.00001-9>
- Kohnen, S., Franck, T., Van Antwerpen, P., Zouaoui Boudjeltia, K., Mouithys-Mickalad, A., Deby, C., ... Serteyn, D. (2007). Resveratrol Inhibits the Activity of Equine Neutrophil Myeloperoxidase by a Direct Interaction with the Enzyme. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(20), 8080–8087.

<https://doi.org/10.1021/jf071741n>

L. Lefkowitz, D., Mone, J., & S. Lefkowitz, S. (2010). Myeloperoxidase: The Good, the Bad, and the Ugly. *Current Immunology Reviews*, 6(2), 123–129. <https://doi.org/10.2174/157339510791111691>

Lazarevic-Pasti, T., Leskovac, A., & Vasic, V. (2015). Myeloperoxidase Inhibitors as Potential Drugs. *Current Drug Metabolism*, 16(3), 168–190. <https://doi.org/10.2174/138920021603150812120640>

Lee, D., Kim, D., Lee, S., Kim, T., Kim, J., Kim, S., ... Lee, T. (2015). Efficient syntheses of 1,2,3-triazoloamide derivatives using solid- and solution-phase synthetic approaches. *Molecules*, 20(11), 19984–20013. <https://doi.org/10.3390/molecules201119673>

Lee, E., Miki, Y., Katsljra, H., & Kariya, K. (1990). Mechanism of inactivation of myeloperoxidase by propylthiouracil. *Biochemical Pharmacology*, 39(9), 1467–1471. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(90\)90428-N](https://doi.org/10.1016/0006-2952(90)90428-N)

Lee, J.-H., Thanigaimalai, P., Lee, K.-C., Bang, S.-C., Kim, M.-S., Sharma, V. K., ... Jung, S.-H. (2010). Novel Benzo[d]imidazole-2(3H)-thiones as Potent Inhibitors of the α -Melanocyte Stimulating Hormone Induced Melanogenesis in Melanoma B16 Cells. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 58(7), 918–921. <https://doi.org/10.1248/cpb.58.918>

Lee, K. S., Adhikary, K. K., Lee, H. W., Lee, B.-S., & Lee, I. (2003). Nucleophilic substitution reactions of α -chloroacetanilides with benzylamines in dimethyl sulfoxide. *Org. Biomol. Chem.*, 1(11), 1989–1994. <https://doi.org/10.1039/B300477E>

Leskovac, V. (2003). *Compherensive Enzyme Kinetics*.

Li, Y., Ganesh, T., Diebold, B. A., Zhu, Y., McCoy, J. W., Smith, S. M. E., ... Lambeth, J. D. (2015). Thioxo-dihydroquinazolin-one Compounds as Novel Inhibitors of Myeloperoxidase. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 6(10), 1047–1052. <https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.5b00287>

Liang, F., Tan, J., Piao, C., & Liu, Q. (2008). Carbon Tetrabromide Promoted Reaction of Amines with Carbon Disulfide: Facile and Efficient Synthesis of Thioureas and Thiuram Disulfides. *Synthesis*, 2008(22), 3579–3584.

<https://doi.org/10.1055/s-0028-1083199>

- Logachev, E. V., Povstyanoi, M. V., & Kochergin, P. M. (1976). Synthesis of 1-carboxymethyl-2-chlorobenzimidazole derivatives. *Ukrainskii Khimicheskii Zhurnal*, 42(4), 401–403.
- Macchi, F. S., Pissinate, K., Villela, A. D., Abbadi, B. L., Rodrigues-Junior, V., Nabinger, D. D., ... Machado, P. (2018). 1H-Benzo[d]imidazoles and 3,4-dihydroquinazolin-4-ones: Design, synthesis and antitubercular activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 155, 153–164. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.06.005>
- Malle, E., Buch, T., & Grone, H.-J. (2003). Myeloperoxidase in kidney disease. *Kidney International*, 64(6), 1956–1967. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2003.00336.x>
- Malvezzi, A., Queiroz, R. F., de Rezende, L., Augusto, O., & Amaral, A. T. -d. (2011). MPO Inhibitors Selected by Virtual Screening. *Molecular Informatics*, 30(6–7), 605–613. <https://doi.org/10.1002/minf.201100016>
- Maske, P. P., Lokapure, S. G., Nimbalkar, D., & Disouza, J. I. (2012). Synthesis and antiprotozoal activity of nitro and halogeno substituted some novel mercaptobenzimidazole derivatives. *Der Pharma Chemica*, 4(3), 1283–1287.
- Matulenko, M. A., Hakeem, A. A., Kolasa, T., Nakane, M., Terranova, M. A., Uchic, M. E., ... Stewart, A. O. (2004). Synthesis and functional activity of (2-aryl-1-piperaziny)-N-(3-methylphenyl)acetamides: selective dopamine D4 receptor agonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 12(13), 3471–3483. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2004.04.035>
- Mika, D., & Guruvayoorappan, C. (2011). Myeloperoxidase: The yin and yang in tumour progression. *Journal of Experimental Therapeutics and Oncology*, 9(2), 93–100.
- Miyajima, A., Kuroda, Y., Sakemi-Hoshikawa, K., Usami, M., Mitsunaga, K., Irie, T., ... Sunouchi, M. (2018). In vitro metabolism of 4-methyl- and 5-methyl-2-mercaptobenzimidazole, thyrotoxic and hepatotoxic rubber antioxidants, in rat liver microsomes. *Fundamental Toxicological Sciences*, 5(3), 113–116. <https://doi.org/10.2131/fts.5.113>

- Murphy, E. J., Maréchal, A., Segal, A. W., & Rich, P. R. (2010). CO Binding and Ligand Discrimination in Human Myeloperoxidase. *Biochemistry*, 49(10), 2150–2158. <https://doi.org/10.1021/bi9021507>
- Mustafa, A., Ali, M. I., & Abou-State, A. (1970). Reaktionen von 2.3-Dihydrothiazolo[3.2-a]benzimidazol-3(2H)-on-(3) und 2-substituierten Derivaten. *Justus Liebigs Annalen Der Chemie*, 740(1), 132–141. <https://doi.org/10.1002/jlac.19707400115>
- Nagra, R. M., Becher, B., Tourtellotte, W. W., Antel, J. P., Gold, D., Paladino, T., ... Reynolds, W. F. (1997). Immunohistochemical and genetic evidence of myeloperoxidase involvement in multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology*, 78(1–2), 97–107. [https://doi.org/10.1016/S0165-5728\(97\)00089-1](https://doi.org/10.1016/S0165-5728(97)00089-1)
- Nakanishi, K., & Solomon, P. A. (1977). Infrared Absorption Spectroscopy. 2nd Edition, 287.
- Nauseef, W. M. (1998). Insights into myeloperoxidase biosynthesis from its inherited deficiency. *Journal of Molecular Medicine*, 76(10), 661–668. <https://doi.org/10.1007/s001090050265>
- Nauseef, W. M. (2018). Biosynthesis of human myeloperoxidase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 642(January), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2018.02.001>
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2013). *Lehninger Principles of Biochemistry* (6th ed.).
- Nicholls, S. J., & Hazen, S. L. (2005). Myeloperoxidase and Cardiovascular Disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 25(6), 1102–1111. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000163262.83456.6d>
- Nussbaum, C., Klinke, A., Adam, M., Baldus, S., & Sperandio, M. (2013). Myeloperoxidase: A Leukocyte-Derived Protagonist of Inflammation and Cardiovascular Disease. *Antioxidants & Redox Signaling*, 18(6), 692–713. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4783>
- Odajima, T., & Yamazaki, I. (1972). Myeloperoxidase of the leukocyte of normal blood. *Biochimica et Biophysica Acta*, 284, 355–359.

- Olsen, R. L., & Little, C. (1984). Studies on the subunits of human myeloperoxidase. *Biochemical Journal*, 222(3), 701–709. <https://doi.org/10.1042/bj2220701>
- Ozturk, I. I., Yazar, S., Gürkan, M., Ceyhan, D., Panagiotou, N., Tasiopoulos, A. J., ... Aral, C. (2020). Novel binuclear antimony(III) halide complexes of 5-methoxy-2-mercaptobenzimidazole: synthesis, structural characterization, and biological studies. *Journal of Coordination Chemistry*, 73(3), 485–505. <https://doi.org/10.1080/00958972.2020.1735003>
- Pálinkás, Z., Furtmüller, P. G., Nagy, A., Jakopitsch, C., Pirker, K. F., Magierowski, M., ... Nagy, P. (2015). Interactions of hydrogen sulfide with myeloperoxidase. *British Journal of Pharmacology*, 172(6), 1516–1532. <https://doi.org/10.1111/bph.12769>
- Pattison, D. I., & Davies, M. J. (2006). Reactions of Myeloperoxidase-Derived Oxidants with Biological Substrates: Gaining Chemical Insight into Human Inflammatory Diseases. *Current Medicinal Chemistry*, 13(27), 3271–3290. <https://doi.org/10.2174/092986706778773095>
- Pothier, J., Riederer, M. A., Peter, O., Leroy, X., Valdenaire, A., Gnerre, C., & Fretz, H. (2012). Novel 2-(2-(benzylthio)-1H-benzo[d]imidazol-1-yl)acetic acids: Discovery and hit-to-lead evolution of a selective CRTh2 receptor antagonist chemotype. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 22(14), 4660–4664. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.05.087>
- Pravalika, K., Sarmah, D., Kaur, H., Wanve, M., Saraf, J., Kalia, K., ... Bhattacharya, P. (2018). Myeloperoxidase and Neurological Disorder: A Crosstalk. *ACS Chemical Neuroscience*, 9(3), 421–430. <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.7b00462>
- Prokopowicz, Z., Marcinkiewicz, J., Katz, D. R., & Chain, B. M. (2012). Neutrophil Myeloperoxidase: Soldier and Statesman. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 60(1), 43–54. <https://doi.org/10.1007/s00005-011-0156-8>
- Prütz, W. A. (1996). Hypochlorous Acid Interactions with Thiols, Nucleotides, DNA, and Other Biological Substrates. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 332(1), 110–120. <https://doi.org/10.1006/abbi.1996.0322>
- Ray, R. S., & Katyal, A. (2016). Myeloperoxidase: Bridging the gap in

- neurodegeneration. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 68, 611–620. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.06.031>
- Regasini, L. O., Velloso, J. C. R., Silva, D. H. S., Furlan, M., de Oliveira, O. M. M., Khalil, N. M., ... Bolzani, V. S. (2008). Flavonols from *Pterogyne nitens* and their evaluation as myeloperoxidase inhibitors. *Phytochemistry*, 69(8), 1739–1744. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.01.006>
- Ren, J. L., Zhang, X. Y., Yu, B., Wang, X. X., Shao, K. P., Zhu, X. G., & Liu, H. M. (2015). Discovery of novel AHLs as potent antiproliferative agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 93, 321–329. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.02.026>
- Robert M. Silverstein, Webster, F. X., Kiemle, D. J., & Bryce, D. L. (2014). Spectrometric Identification of Organic Compounds, 8th Edition, 2014.
- Roth, A., Ott, S., Farber, K. M., Palazzo, T. A., Conrad, W. E., Haddadin, M. J., ... Kurth, M. J. (2014). Inhibition of myeloperoxidase: Evaluation of 2H-indazoles and 1H-indazolones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 22, 6422–6429. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2014.09.044>
- Ruggeri, R. B., Buckbinder, L., Bagley, S. W., Carpino, P. A., Conn, E. L., Dowling, M. S., ... Kalgutkar, A. S. (2015). Discovery of 2-(6-(5-Chloro-2-methoxyphenyl)-4-oxo-2-thioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2 H)-yl)acetamide (PF-06282999): A Highly Selective Mechanism-Based Myeloperoxidase Inhibitor for the Treatment of Cardiovascular Diseases. *Journal of Medicinal Chemistry*, 58(21), 8513–8528. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00963>
- Scott, A. W., & Wood, B. L. (1942). Some hydroxylamine derivatives of anthranilic acid. *The Journal of Organic Chemistry*, 07(6), 508–516. <https://doi.org/10.1021/jo01200a008>
- Senthilmohan, R., & Kettle, A. J. (2006). Bromination and chlorination reactions of myeloperoxidase at physiological concentrations of bromide and chloride. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 445, 235–244. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2005.07.005>
- Shacter, E., Lopez, R. L., & Pati, S. (1991). Inhibition of the myeloperoxidase-H₂O₂-Cl⁻ system of neutrophils by indomethacin and other non-steroidal anti-

- inflammatory drugs. *Biochemical Pharmacology*, 41(6–7), 975–984. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(91\)90204-I](https://doi.org/10.1016/0006-2952(91)90204-I)
- Shahnaz, M., Kaur, P., Parkash, J., & Parsad, D. (2018). Synthesis, characterization of 2-substituted benzimidazole derivatives and evaluation of antimicrobial activity. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 8(5), 460–464. <https://doi.org/10.22270/jddt.v8i5.1909>
- Sharma, R. (2012). Enzyme Inhibition: Mechanisms and Scope. In R. Sharma (Ed.), *ENZYME INHIBITION AND BIOAPPLICATIONS*. InTech.
- Sheldrick, G. M. (2015). SHELXT - Integrated space-group and crystal-structure determination. *Acta Crystallographica Section A: Foundations of Crystallography*, 71(1), 3–8. <https://doi.org/10.1107/S2053273314026370>
- Shiba, Y., Kinoshita, T., Chuman, H., Taketani, Y., Takeda, E., Kato, Y., ... Kawai, Y. (2008). Flavonoids as Substrates and Inhibitors of Myeloperoxidase: Molecular Actions of Aglycone and Metabolites. *Chemical Research in Toxicology*, 21(8), 1600–1609. <https://doi.org/10.1021/tx8000835>
- Shingalapur, R. V., Hosamani, K. M., Keri, R. S., & Hugar, M. H. (2010). Derivatives of benzimidazole pharmacophore: Synthesis, anticonvulsant, antidiabetic and DNA cleavage studies. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45, 1753–1759. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.01.007>
- Soubhye, J., Aldib, I., Delporte, C., Prevost, M., Dufrasne, F., & Van Antwerpen, P. (2016). Myeloperoxidase as a Target for the Treatment of Inflammatory Syndromes: Mechanisms and Structure Activity Relationships of Inhibitors. *Current Medicinal Chemistry*, 23, 1–34.
- Soubhye, J., Aldib, I., Elfving, B., Gelbcke, M., Furtmüller, P. G., Podrecca, M., ... Van Antwerpen, P. (2013). Design, Synthesis, and Structure–Activity Relationship Studies of Novel 3-Alkylindole Derivatives as Selective and Highly Potent Myeloperoxidase Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 56(10), 3943–3958. <https://doi.org/10.1021/jm4001538>
- Soubhye, J., Aldib, I., Prévost, M., Elfving, B., Gelbcke, M., Podrecca, M., ... Dufrasne, F. (2014). Hybrid molecules inhibiting myeloperoxidase activity and serotonin reuptake: a possible new approach of major depressive disorders with

- inflammatory syndrome. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 66, 1122–1132. <https://doi.org/10.1111/jphp.12236>
- Soubhye, J., Prévost, M., Van Antwerpen, P., Zouaoui Boudjeltia, K., Rousseau, A., Furtmüller, P. G., ... Dufrasne, F. (2010). Structure-Based Design, Synthesis, and Pharmacological Evaluation of 3-(Aminoalkyl)-5-fluoroindoles as Myeloperoxidase Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 53(24), 8747–8759. <https://doi.org/10.1021/jm1009988>
- Soyer, Z., Bas, M., Pabuccuoglu, A., & Pabuccuoglu, V. (2005). Synthesis of Some 2(3H)-Benzoxazolone Derivatives and their in-vitro Effects on Human Leukocyte Myeloperoxidase Activity. *Archiv Der Pharmazie*, 338(9), 405–410. <https://doi.org/10.1002/ardp.200500106>
- Spasov, A. A., Zhukovskaya, O. N., Maltsev, D. V., Miroshnikov, M. V., Skripka, M. O., Sultanova, K. T., & Morkovnik, A. S. (2020). Anxiolytic Activity of 11H-2,3,4,5-Tetrahydro[1,3]Diazepino[1,2-a]Benzimidazole and 2-Mercaptobenzimidazole Derivatives. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 46(1), 107–114. <https://doi.org/10.1134/S1068162020010124>
- Stampler, J., Bellei, M., Soudi, M., Gruber, C., Battistuzzi, G., Furtmüller, P. G., & Obinger, C. (2011). Manipulating the proximal triad His–Asn–Arg in human myeloperoxidase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 516(1), 21–28. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2011.09.007>
- Strzepa, A., Pritchard, K. A., & Dittel, B. N. (2017). Myeloperoxidase: A new player in autoimmunity. *Cellular Immunology*, 317, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2017.05.002>
- Suri, O. P., Khajuria, R. K., Saxena, D. B., Rawat, N. S., & Atal, C. K. (1982). Synthesis and spectral studies of 2-mercapto-benzimidazole derivatives. I. *Journal of Heterocyclic Chemistry*. <https://doi.org/10.1002/jhet.5570200363>
- Susanto, S., Jung, N., & Bräse, S. (2016). Solid phase syntheses of: S, N -substituted 2-mercaptobenzoimidazoles. *RSC Advances*, 6(46), 39573–39576. <https://doi.org/10.1039/c6ra05702k>
- Tahlan, S., Narasimhan, B., Lim, S. M., Ramasamy, K., Mani, V., & Shah, S. A. A. (2019). 2-Mercaptobenzimidazole Schiff Bases: Design, Synthesis,

- Antimicrobial Studies and Anticancer Activity on HCT-116 Cell Line. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 19(13), 1080–1092. <https://doi.org/10.2174/1389557518666181009151008>
- Teng, Y., Zou, L., Huang, M., & Chen, Y. (2014). Molecular Interaction Mechanism between 2-Mercaptobenzimidazole and Copper-Zinc Superoxide Dismutase. *PLoS ONE*, 9(8), e106003. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106003>
- Theron, C. N., Lubbe, S., & Van Zyl, A. (1979). Inhibitory Effects of Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs on Human Myeloperoxidase. *South African Medical Journal*, 670–675.
- Tidén, A.-K., Sjögren, T., Svensson, M., Bernlind, A., Senthilmohan, R., Auchère, F., ... Kettle, A. J. (2011). 2-Thioxanthines Are Mechanism-based Inactivators of Myeloperoxidase That Block Oxidative Stress during Inflammation. *Journal of Biological Chemistry*, 286(43), 37578–37589. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.266981>
- Trzhtinskaya, B. V., & Abramova, N. D. (1991). Imidazole-2-Thiones: Synthesis, Structure, Properties. *Sulfur Reports*, 10(4), 389–421. <https://doi.org/10.1080/01961779108048760>
- Valdez, J., Cedillo, R., Hernández-Campos, A., Yépez, L., Hernández-Luis, F., Navarrete-Vázquez, G., ... Castillo, R. (2002). Synthesis and antiparasitic activity of 1H-benzimidazole derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 12(16), 2221–2224. [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(02\)00346-3](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(02)00346-3)
- Van Antwerpen, P., Dufrasne, F., Lequeux, M., Zouaoui, K., Lessgyer, I., Babar, S., ... Moguilevsky, N. (2007). Inhibition of the myeloperoxidase chlorinating activity by non-steroidal anti-inflammatory drugs : Flufenamic acid and its 5-chloro-derivative directly interact with a recombinant human myeloperoxidase to inhibit the synthesis of hypochlorous acid, 570, 235–243. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2007.05.057>
- Van Antwerpen, P., Prévost, M., Zouaoui-Boudjeltia, K., Babar, S., Legssyer, I., Moreau, P., ... Dufrasne, F. (2008). Conception of myeloperoxidase inhibitors derived from flufenamic acid by computational docking and structure modification. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16(4), 1702–1720.

<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.11.025>

- van Dalen, J. C., Whitehouse, W. M., Winterbourn, C. C., & Kettle, J. A. (1997). Thiocyanate and chloride as competing substrates for myeloperoxidase. *Biochemical Journal*, 327(2), 487–492. <https://doi.org/10.1042/bj3270487>
- VanALLAN, J. A. (1956). 2-Carboxymethylmercaptobenzimidazole and Related Compounds. *The Journal of Organic Chemistry*, 21(1), 24–27. <https://doi.org/10.1021/jo01107a004>
- Venkatachala, L. N., Highstown, & Rudiger, D. (1973). Mercaptobenzimidazole Derivatives.
- Winterbourn, C. C., & Kettle, A. J. (2012). Redox Reactions and Microbial Killing in the Neutrophil Phagosome. *Antioxidants & Redox Signaling*, 1–19. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4827>
- Winterbourn, C. C., Kettle, A. J., & Hampton, M. B. (2016). Reactive Oxygen Species and Neutrophil Function. *Annual Review of Biochemistry*, 85(1), 765–792. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060815-014442>
- Winterbourn, C. C., van den Berg, J. J. M., Roitman, E., & Kuypers, F. A. (1992). Chlorohydrin formation from unsaturated fatty acids reacted with hypochlorous acid. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 296(2), 547–555. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(92\)90609-Z](https://doi.org/10.1016/0003-9861(92)90609-Z)
- Woolley, D. W. (1943). Some Biological Effects Produced by Benzimidazole and Their Reversal by Purines. *J. Biol. Chem.*, (152), 225–233.
- Xiaohe, Z., Yu, Q., Hong, Y., Xiuqing, S., & Rugang, Z. (2010). Synthesis, Biological Evaluation and Molecular Modeling Studies of N-aryl-2-arylthioacetamides as Non-nucleoside HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitors. *Chemical Biology & Drug Design*, 76(4), 330–339. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0285.2010.01017.x>
- Xuebao, Z. D. (2003). Synthesis of 1-substituted 2-hydroxyaminobenzimidazoles. *Lixueban*, 30(6), 671–673.
- Yadav, S., Narasimhan, B., Lim, S. M., Ramasamy, K., Vasudevan, M., Shah, S. A. A., & Selvaraj, M. (2017). Synthesis, characterization, biological evaluation and molecular docking studies of 2-(1H-benzo[d]imidazol-2-ylthio)-N-(substituted

- 4-oxothiazolidin-3-yl) acetamides. *Chemistry Central Journal*, 11(1), 137.
<https://doi.org/10.1186/s13065-017-0361-6>
- Yang, Z., Wang, J., Li, L., Ye, C., & Liu, H. (2009). Synthesis and characteristic of 5,6-dinitro and 5,6-diaminobenzimidazolone-2. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 46(4), 788–790. <https://doi.org/10.1002/jhet.104>
- Zederbauer, M., Furtmüller, P. G., Ganster, B., Moguilevsky, N., & Obinger, C. (2007). The vinyl-sulfonium bond in human myeloperoxidase: Impact on compound I formation and reduction by halides and thiocyanate. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 356(2), 450–456.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.02.157>
- Zeng, J., & Fenna, R. E. (1992). X-ray crystal structure of canine myeloperoxidase at 3 Å resolution. *Journal of Molecular Biology*, 226(1), 185–207.
[https://doi.org/10.1016/0022-2836\(92\)90133-5](https://doi.org/10.1016/0022-2836(92)90133-5)
- Zeraik, M. L., Ximenes, V. F., Regasini, L. O., Dutra, L. A., Silva, D. H. S., Fonseca, L. M., ... Bolzani, V. S. (2012). 4'-Aminochalcones As Novel Inhibitors of the Chlorinating Activity of Myeloperoxidase. *Current Medicinal Chemistry*, 19(31), 5405–5413. <https://doi.org/10.2174/092986712803833344>
- Zheng, L., Nukuna, B., Brennan, M.-L., Sun, M., Goormastic, M., Settle, M., ... Hazen, S. L. (2004). Apolipoprotein A-I is a selective target for myeloperoxidase-catalyzed oxidation and functional impairment in subjects with cardiovascular disease. *Journal of Clinical Investigation*, 114(4), 529–541.
<https://doi.org/10.1172/JCI200421109>

Teşekkür

Doktora eğitimim süresince her konuda bilgi, birikim ve tecrübelerini sabır, özveri ve hoşgörüsüyle benimle paylaşan, yardım ve destekleriyle bana yol gösteren çok değerli danışman hocam Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi **Sayın Prof. Dr. Varol PABUÇÇUOĞLU'na**,

Tez çalışmama değerli fikirleri ve tecrübeleriyle sağladıkları katkılardan dolayı **Sayın Prof. Dr. Aysun PABUÇÇUOĞLU ve Doç. Dr. Zeynep SOYER'e**,

Biyolojik aktivite çalışmalarının gerçekleştirilmesini sağlayan ve bu süreçte ihtiyaç duyduğum her an yanımda olduğunu hissettiren **Sayın Dr. Öğr. Üyesi Fadime AYDIN KÖSE'ye**,

Her konudaki fikir, tecrübe ve yardımını benden esirgemeyerek doktora sürecimi şekillendirmemde emeği olan İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Başkanı **Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin İSTANBULLU'ya**,

IR, kütle ve elementel analizlerin yapılmasındaki katkılarından dolayı **E.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmasötik Bilimler Araştırma Laboratuvarı FABAL'a**,

NMR spektrumlarının alınmasındaki katkılarından dolayı **E.Ü. NMR EBİLTEM Uydu Laboratuvarı'na**,

X-Ray analizlerinin gerçekleştirilmesinde ve yorumlanmasındaki emeklerinden dolayı Dokuz Eylül Üniversitesi öğretim üyesi **Sayın Doç. Dr. Muhittin AYGÜN'e**,

Tez çalışmalarım sırasında her zaman desteklerini hissettiğim **sayın hocalarım ve sevgili çalışma arkadaşlarıma**,

Bu süreçte yaşadığım her türlü zorlukta yanımda olup, mutlulukta sevincimi paylaşan, desteklerini her zaman bir dostluk mesafesinde hissettiğim meslektaşlarım **Gülşah BAYRAKTAR ve İrem TATAR'a**,

Hayatım boyunca bana gösterdikleri sevgi, özveri ve sabır sayesinde bu sürece başlayabildiğim, varlıklarının verdiği huzur ve güç sayesinde bu süreci tamamlayabildiğim, yaşantımın en önemli ve en büyük iki parçasına, mutluluğun asıl sahipleri olan **canım annem ve canım babama**

Sonsuz, içten ve derin teşekkürlerimi sunarım.

İzmir, 19.11.2020

Merve SAYLAM

Özgeçmiş

1991 yılında Sivas'ta doğdum. Lisans eğitimime 2009 yılında Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde başladım. Bu süreçte Erasmus Staj Hareketliliği bursu kapsamında 3 ay süre ile Brno Veterinerlik ve Eczacılık Bilimleri Üniversitesi'nde bulundum. 2014 yılı Haziran ayında lisans eğitimimi tamamladım. 2015 yılı Şubat ayında Öğretim Üyesi Yetiştirme Programı ile İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'nda açılan Araştırma Görevlisi kadrosuna atandım. Yine 2015 yılı Şubat ayında Yüksek Öğretim Kurumu tarafından açılan Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Kimya Anabilim Dalı doktora programına kayıtlandım. Halen İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım.

e-posta: merve.saylam@ikcu.edu.tr, saylammerve@gmail.com



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



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

Ekler

Doktora Tezi

Ecz. Merve SAYLAM

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

İzmir
2020

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

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

Ekler

Ecz. Merve SAYLAM

Danışman
Prof. Dr. Mehmet Varol PABUÇÇUOĞLU

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı
Doktora Programı

İzmir
2020

Spektrum Dizini

Spektrum 1. BS Kodlu Bileşimin IR Spektrumu.....	1
Spektrum 2. BS Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	2
Spektrum 3. BS Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	3
Spektrum 4. BS Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu	4
Spektrum 5. BO Kodlu Bileşimin IR Spektrumu.....	5
Spektrum 6. BO Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	6
Spektrum 7. BO Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	7
Spektrum 8. BO Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	8
Spektrum 9. BCL Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	9
Spektrum 10. BCL Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	10
Spektrum 11. BCL Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu	11
Spektrum 12. 1 No lu Bileşimin IR Spektrumu.....	12
Spektrum 13. 1 No lu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	13
Spektrum 14. 2 No lu Bileşimin IR Spektrumu.....	14
Spektrum 15. 2 No lu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	15
Spektrum 16. 3 No lu Bileşimin IR Spektrumu.....	16
Spektrum 17. 3 No lu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	17
Spektrum 18. 4 No lu Bileşimin IR Spektrumu.....	18
Spektrum 19. 4 No lu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	19
Spektrum 20. 5 No lu Bileşimin IR Spektrumu.....	20
Spektrum 21. 5 No lu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	21
Spektrum 22. 6 No lu Bileşimin IR Spektrumu.....	22
Spektrum 23. 6 No lu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	23
Spektrum 24. 7 No lu Bileşimin IR Spektrumu.....	24
Spektrum 25. 7 No lu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	25
Spektrum 26. 8 No lu Bileşimin IR Spektrumu.....	26
Spektrum 27. 8 No lu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	27
Spektrum 28. 9 No lu Bileşimin IR Spektrumu.....	28
Spektrum 29. 9 No lu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	29
Spektrum 30. 10 No lu Bileşimin IR Spektrumu.....	30
Spektrum 31. 10 No lu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	31
Spektrum 32. 11 No lu Bileşimin IR Spektrumu.....	32

Spektrum 33. 11 No lu Bileşğin Kütle Spektrumu	33
Spektrum 34. 12 No lu Bileşğin IR Spektrumu	34
Spektrum 35. 12 No lu Bileşğin Kütle Spektrumu	35
Spektrum 36. 13 No lu Bileşğin IR Spektrumu	36
Spektrum 37. 13 No lu Bileşğin Kütle Spektrumu	37
Spektrum 38. 14 No lu Bileşğin IR Spektrumu	38
Spektrum 39. 14 No lu Bileşğin Kütle Spektrumu	39
Spektrum 40. 15 No lu Bileşğin IR Spektrumu	40
Spektrum 41. 15 No lu Bileşğin Kütle Spektrumu	41
Spektrum 42. 16 No lu Bileşğin IR Spektrumu	42
Spektrum 43. 16 No lu Bileşğin Kütle Spektrumu	43
Spektrum 44. 17 No lu Bileşğin IR Spektrumu	44
Spektrum 45. 17 No lu Bileşğin Kütle Spektrumu	45
Spektrum 46. BCL1 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu	46
Spektrum 47. BCL1 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	47
Spektrum 48. BCL1 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	48
Spektrum 49. BCL1 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu	49
Spektrum 50. BCL2 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu	50
Spektrum 51. BCL2 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	51
Spektrum 52. BCL2 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu	52
Spektrum 53. BCL3 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu	53
Spektrum 54. BCL3 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	54
Spektrum 55. BCL3 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu	55
Spektrum 56. BCL4 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu	56
Spektrum 57. BCL4 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	57
Spektrum 58. BCL4 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu	58
Spektrum 59. BCL5 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu	59
Spektrum 60. BCL5 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	60
Spektrum 61. BCL5 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu	61
Spektrum 62. BCL6 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu	62
Spektrum 63. BCL6 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu	63
Spektrum 64. BCL6 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu	64
Spektrum 65. BCL7 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu	65

Spektrum 66. BCL7 Kodlu Bileşimin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu	66
Spektrum 67. BCL7 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu	67
Spektrum 68. BCL8 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	68
Spektrum 69. BCL8 Kodlu Bileşimin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu	69
Spektrum 70. BCL8 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu	70
Spektrum 71. BCL9 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	71
Spektrum 72. BCL9 Kodlu Bileşimin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu	72
Spektrum 73. BCL9 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu	73
Spektrum 74. BCL10 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	74
Spektrum 75. BCL10 Kodlu Bileşimin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu	75
Spektrum 76. BCL10 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu	76
Spektrum 77. BCL11 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	77
Spektrum 78. BCL11 Kodlu Bileşimin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu	78
Spektrum 79. BCL11 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu	79
Spektrum 80. BCL12 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	80
Spektrum 81. BCL12 Kodlu Bileşimin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu	81
Spektrum 82. BCL12 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu	82
Spektrum 83. BCL13 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	83
Spektrum 84. BCL13 Kodlu Bileşimin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu	84
Spektrum 85. BCL13 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu	85
Spektrum 86. BCL14 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	86
Spektrum 87. BCL14 Kodlu Bileşimin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu	87
Spektrum 88. BCL14 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu	88
Spektrum 89. BCL15 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	89
Spektrum 90. BCL15 Kodlu Bileşimin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu	90
Spektrum 91. BCL15 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu	91
Spektrum 92. BCL16 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	92
Spektrum 93. BCL16 Kodlu Bileşimin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu	93
Spektrum 94. BCL16 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu	94
Spektrum 95. BCL17 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	95
Spektrum 96. BCL17 Kodlu Bileşimin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu	96
Spektrum 97. BCL17 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu	97
Spektrum 98. BCL18 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu	98

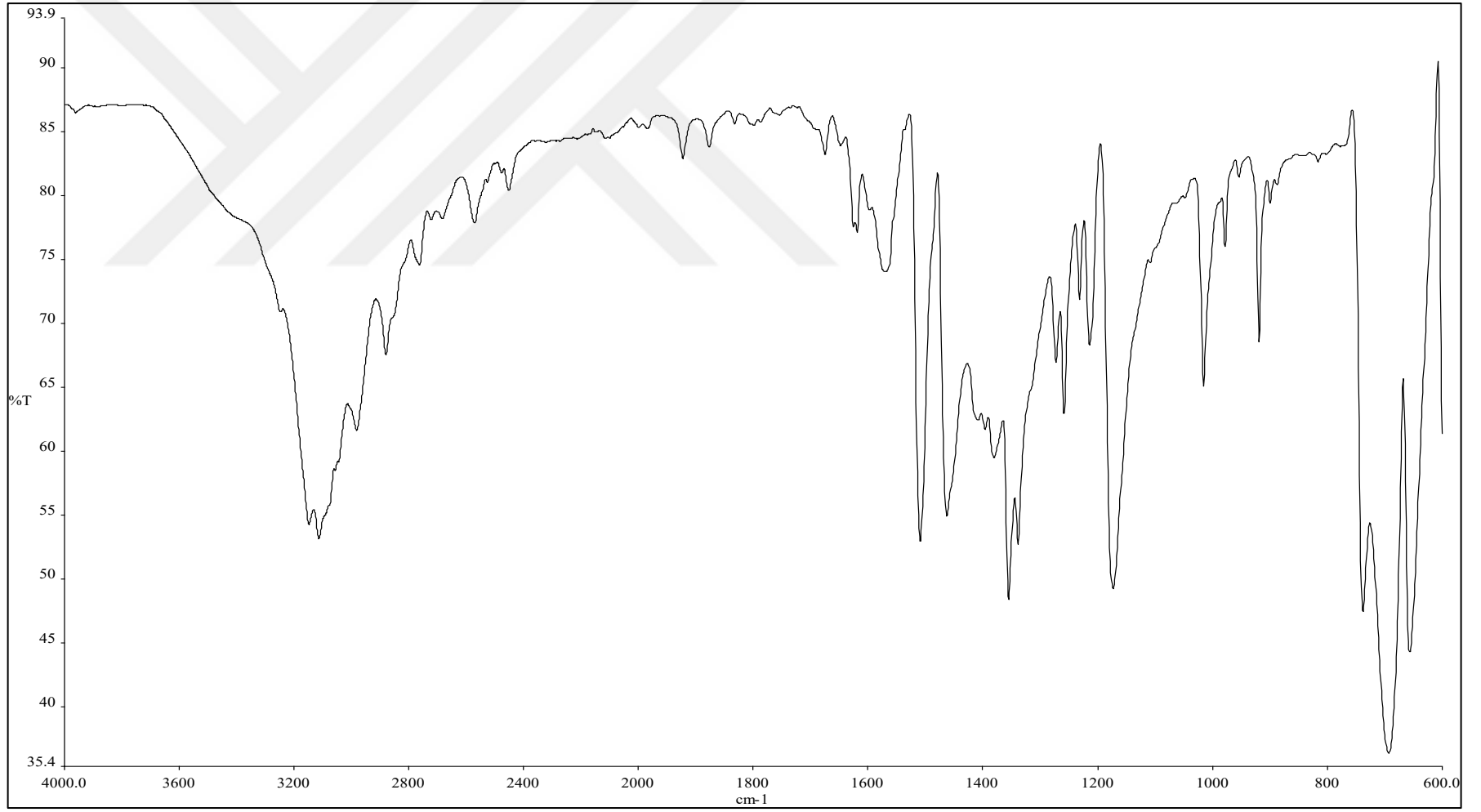
Spektrum 99. BCL18 Kodlu Bileşiğın ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	99
Spektrum 100. BCL18 Kodlu Bileşiğın ^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	100
Spektrum 101. BCL18 Kodlu Bileşiğın K�tle Spektrumu	101
Spektrum 102. BSE Kodlu Bileşiğın IR Spektrumu	102
Spektrum 103. BSE Kodlu Bileşiğın ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	103
Spektrum 104. BSE Kodlu Bileşiğın ^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	104
Spektrum 105. BSE Kodlu Bileşiğın K�tle Spektrumu	105
Spektrum 106. B1 Kodlu Bileşiğın IR Spektrumu	106
Spektrum 107. B1 Kodlu Bileşiğın ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	107
Spektrum 108. B1 Kodlu Bileşiğın ^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	108
Spektrum 109. B1 Kodlu Bileşiğın K�tle Spektrumu	109
Spektrum 110. B2 Kodlu Bileşiğın IR Spektrumu	110
Spektrum 111. B2 Kodlu Bileşiğın ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	111
Spektrum 112. B2 Kodlu Bileşiğın ^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	112
Spektrum 113. B2 Kodlu Bileşiğın K�tle Spektrumu	113
Spektrum 114. B3 Kodlu Bileşiğın IR Spektrumu	114
Spektrum 115. B3 Kodlu Bileşiğın ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	115
Spektrum 116. B3 Kodlu Bileşiğın ^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	116
Spektrum 117. B3 Kodlu Bileşiğın K�tle Spektrumu	117
Spektrum 118. B4 Kodlu Bileşiğın IR Spektrumu	118
Spektrum 119. B4 Kodlu Bileşiğın ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	119
Spektrum 120. B4 Kodlu Bileşiğın ^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	120
Spektrum 121. B4 Kodlu Bileşiğın K�tle Spektrumu	121
Spektrum 122. B5 Kodlu Bileşiğın IR Spektrumu	122
Spektrum 123. B5 Kodlu Bileşiğın ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	123
Spektrum 124. B5 Kodlu Bileşiğın ^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	124
Spektrum 125. B5 Kodlu Bileşiğın K�tle Spektrumu	125
Spektrum 126. B6 Kodlu Bileşiğın IR Spektrumu	126
Spektrum 127. B6 Kodlu Bileşiğın ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	127
Spektrum 128. B6 Kodlu Bileşiğın ^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	128
Spektrum 129. B6 Kodlu Bileşiğın K�tle Spektrumu	129
Spektrum 130. B7 Kodlu Bileşiğın IR Spektrumu	130
Spektrum 131. B7 Kodlu Bileşiğın ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu	131

Spektrum 132. B7 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu.....	132
Spektrum 133. B7 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu.....	133
Spektrum 134. B8 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu.....	134
Spektrum 135. B8 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu.....	135
Spektrum 136. B8 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu.....	136
Spektrum 137. B8 Kodlu Bileşğin NOESY Spektrumu	137
Spektrum 138. B8 Kodlu Bileşğin HSQC Spektrumu.....	138
Spektrum 139. B8 Kodlu Bileşğin HMBC Spektrumu.....	139
Spektrum 140. B8 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu.....	140
Spektrum 141. B9 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu.....	141
Spektrum 142. B9 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu.....	142
Spektrum 143. B9 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu.....	143
Spektrum 144. B9 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu.....	144
Spektrum 145. B10 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu.....	145
Spektrum 146. B10 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu.....	146
Spektrum 147. B10 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu.....	147
Spektrum 148. B10 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu.....	148
Spektrum 149. B11 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu.....	149
Spektrum 150. B11 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu.....	150
Spektrum 151. B11 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu.....	151
Spektrum 152. B11 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu.....	152
Spektrum 153. B12 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu.....	153
Spektrum 154. B12 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu.....	154
Spektrum 155. B12 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu.....	155
Spektrum 156. B12 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu.....	156
Spektrum 157. B13 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu.....	157
Spektrum 158. B13 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu.....	158
Spektrum 159. B13 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu.....	159
Spektrum 160. B13 Kodlu Bileşğin Bileşğinin Kütle Spektrumu.....	160
Spektrum 161. B14 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu.....	161
Spektrum 162. B14 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu.....	162
Spektrum 163. B14 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu.....	163
Spektrum 164. B14 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu.....	164

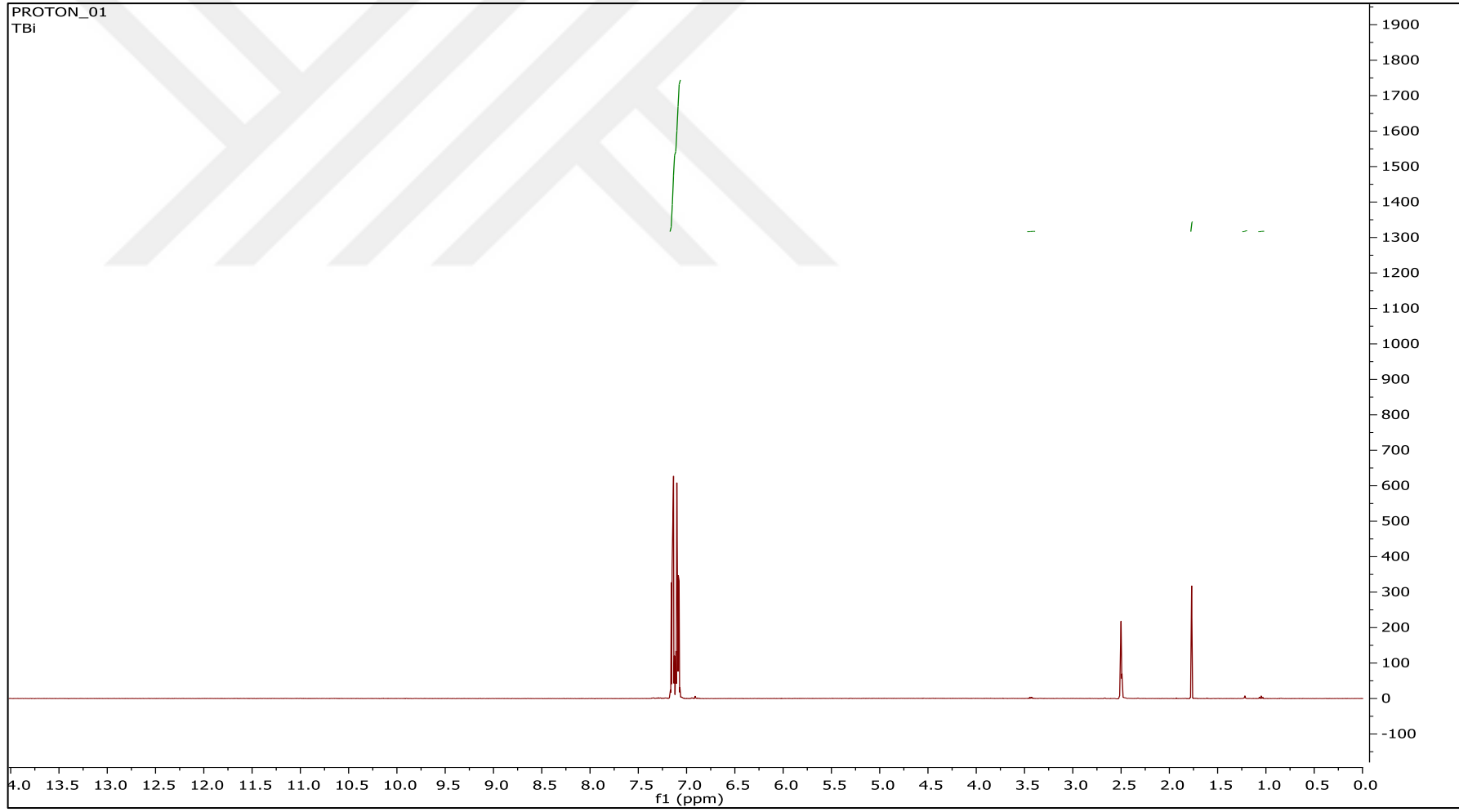
Spektrum 165. B15 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu.....	165
Spektrum 166. B15 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	166
Spektrum 167. B15 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	167
Spektrum 168. B15 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	168
Spektrum 169. B16 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu.....	169
Spektrum 170. B16 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	170
Spektrum 171. B16 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	171
Spektrum 172. B16 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	172
Spektrum 173. B17 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu.....	173
Spektrum 174. B17 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	174
Spektrum 175. B17 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	175
Spektrum 176. B17 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu.....	176
Spektrum 177. BS1 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu.....	177
Spektrum 178. BS1 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	178
Spektrum 179. BS1 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	179
Spektrum 180. BS1 Kodlu Bileşimin HSQC Spektrumu.....	180
Spektrum 181. BS1 Kodlu Bileşimin HMBC Spektrumu.....	181
Spektrum 182. BS1 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu	182
Spektrum 183. BS2 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu.....	183
Spektrum 184. BS2 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	184
Spektrum 185. BS2 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	185
Spektrum 186. BS2 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu	186
Spektrum 187. BS3 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu.....	187
Spektrum 188. BS3 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	188
Spektrum 189. BS3 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	189
Spektrum 190. BS3 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu	190
Spektrum 191. BS4 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu.....	191
Spektrum 192. BS4 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	192
Spektrum 193. BS4 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	193
Spektrum 194. BS4 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu	194
Spektrum 195. BS5 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu.....	195
Spektrum 196. BS5 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	196
Spektrum 197. BS5 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	197

Spektrum 198. BS5 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu	198
Spektrum 199. BS6 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu.....	199
Spektrum 200. BS6 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	200
Spektrum 201. BS6 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	201
Spektrum 202. BS6 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu	202
Spektrum 203. BS7 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu.....	203
Spektrum 204. BS7 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	204
Spektrum 205. BS7 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	205
Spektrum 206. BS7 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu	206
Spektrum 207. BS8 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu.....	207
Spektrum 208. BS8 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	208
Spektrum 209. BS8 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	209
Spektrum 210. BS8 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu	210
Spektrum 211. BS9 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu.....	211
Spektrum 212. BS9 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	212
Spektrum 213. BS9 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	213
Spektrum 214. BS9 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu	214
Spektrum 215. BS10 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu.....	215
Spektrum 216. BS10 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	216
Spektrum 217. BS10 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	217
Spektrum 218. BS10 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu	218
Spektrum 219. BS11 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu.....	219
Spektrum 220. BS11 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	220
Spektrum 221. BS11 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	221
Spektrum 222. BS11 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu	222
Spektrum 223. BS12 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu.....	223
Spektrum 224. BS12 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	224
Spektrum 225. BS12 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	225
Spektrum 226. BS12 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu	226
Spektrum 227. BS13 Kodlu Bileşimin IR Spektrumu.....	227
Spektrum 228. BS13 Kodlu Bileşimin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	228
Spektrum 229. BS13 Kodlu Bileşimin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	229
Spektrum 230. BS13 Kodlu Bileşimin Kütle Spektrumu	230

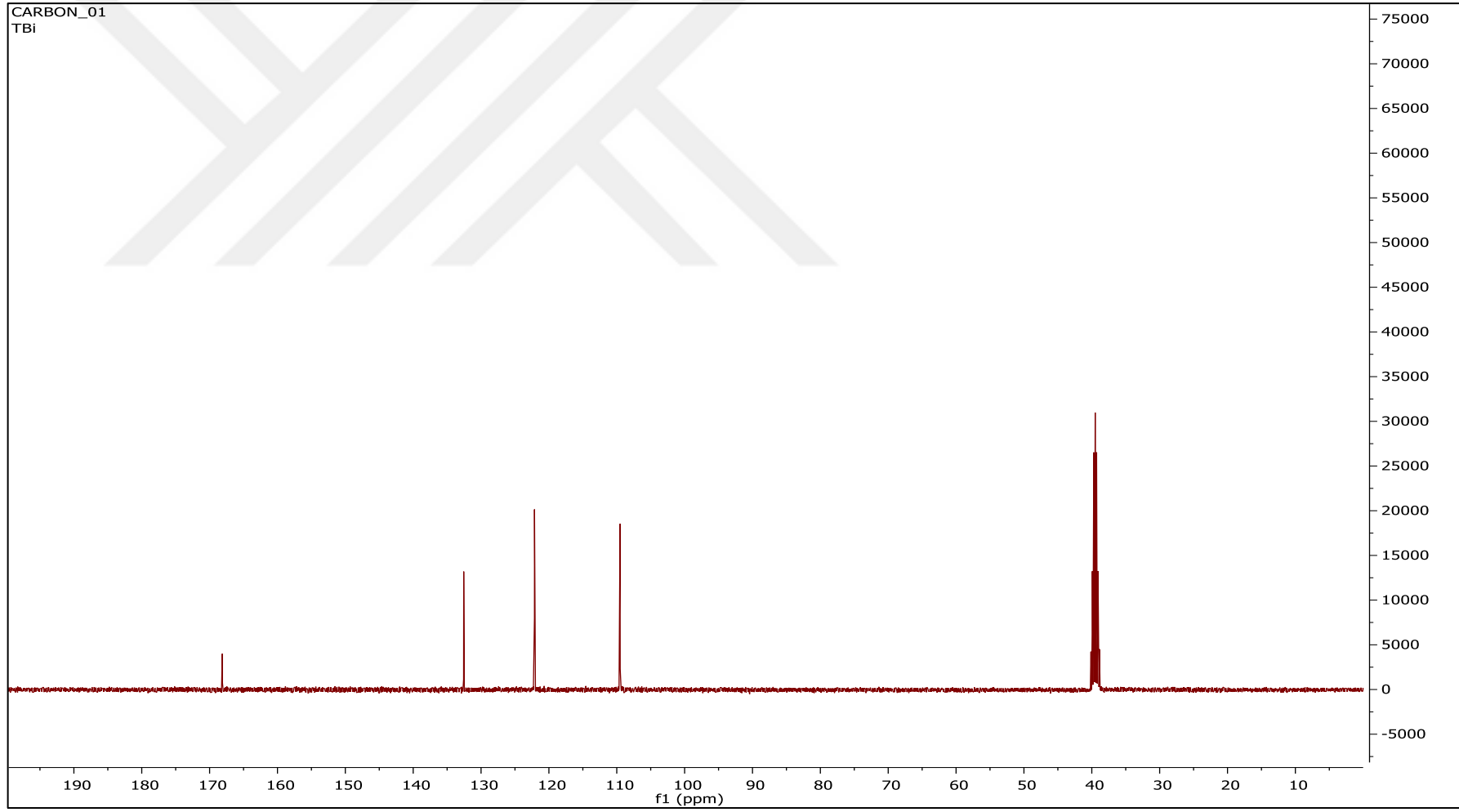
Spektrum 231. BS14 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu.....	231
Spektrum 232. BS14 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	232
Spektrum 233. BS14 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	233
Spektrum 234. BS14 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu	234
Spektrum 235. BS15 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu.....	235
Spektrum 236. BS15 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	236
Spektrum 237. BS15 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	237
Spektrum 238. BS15 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu	238
Spektrum 239. BS16 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu.....	239
Spektrum 240. BS16 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	240
Spektrum 241. BS16 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	241
Spektrum 242. BS16 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu	242
Spektrum 243. BS17 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu.....	243
Spektrum 244. BS17 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	244
Spektrum 245. BS17 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	245
Spektrum 246. BS17 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu	246
Spektrum 247. BS18 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu.....	247
Spektrum 248. BS18 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	248
Spektrum 249. BS18 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	249
Spektrum 250. BS18 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu	250
Spektrum 251. BS19 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu.....	251
Spektrum 252. BS19 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	252
Spektrum 253. BS19 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu.....	253
Spektrum 254. BS19 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu	254



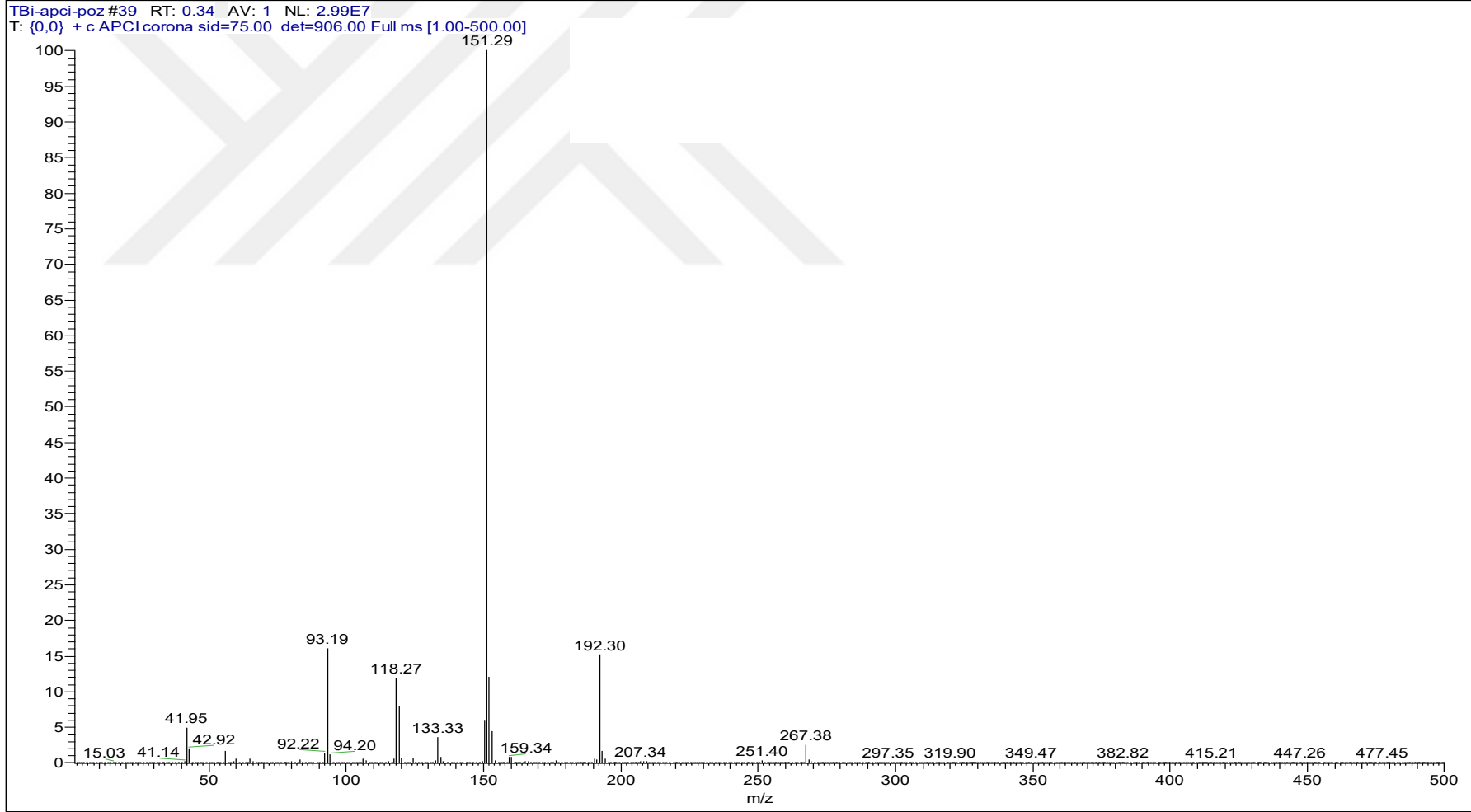
Spektrum 1. BS Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



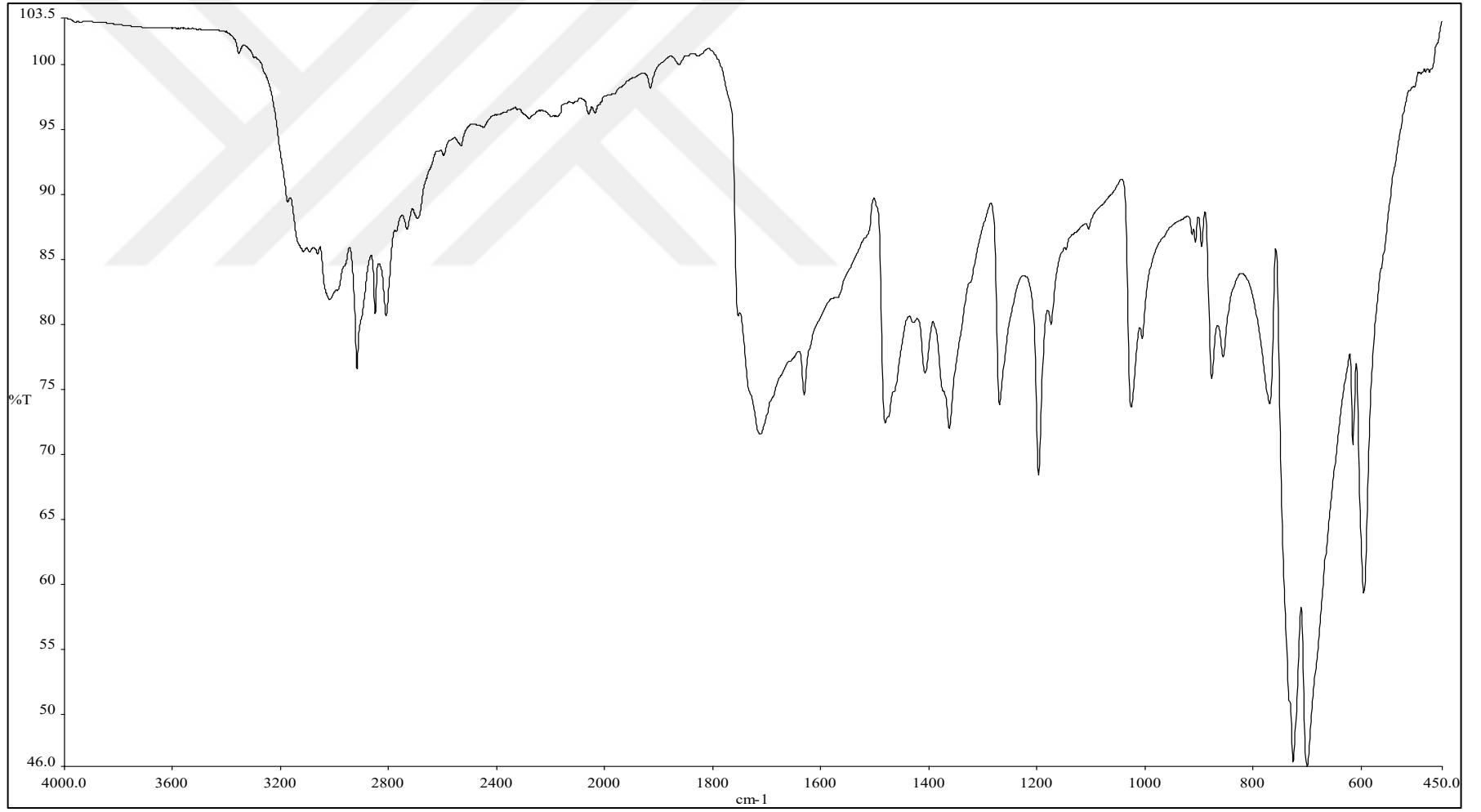
Spektrum 2. BS Kodlu Bileşiğın ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



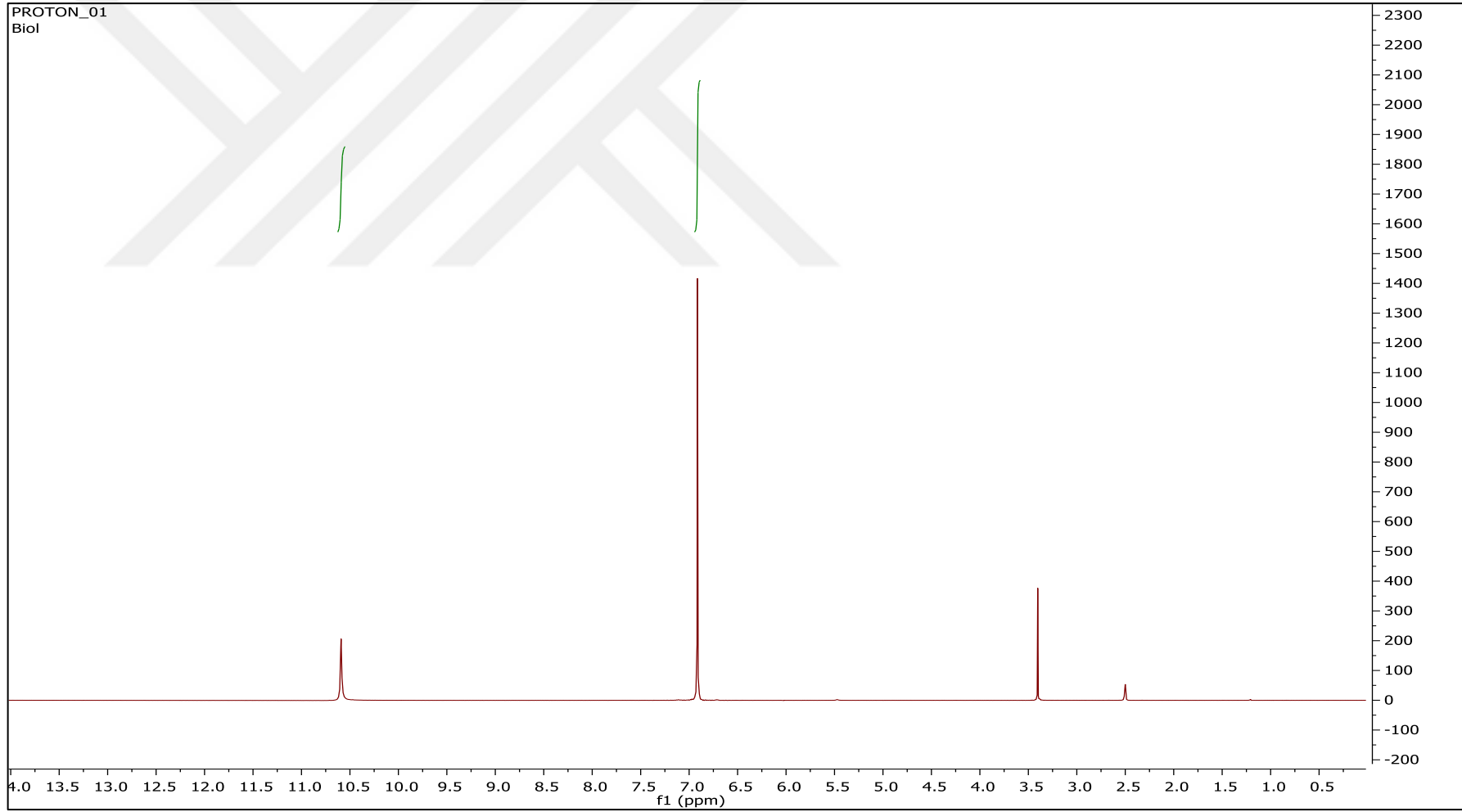
Spektrum 3. BS Kodlu Bileşigin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



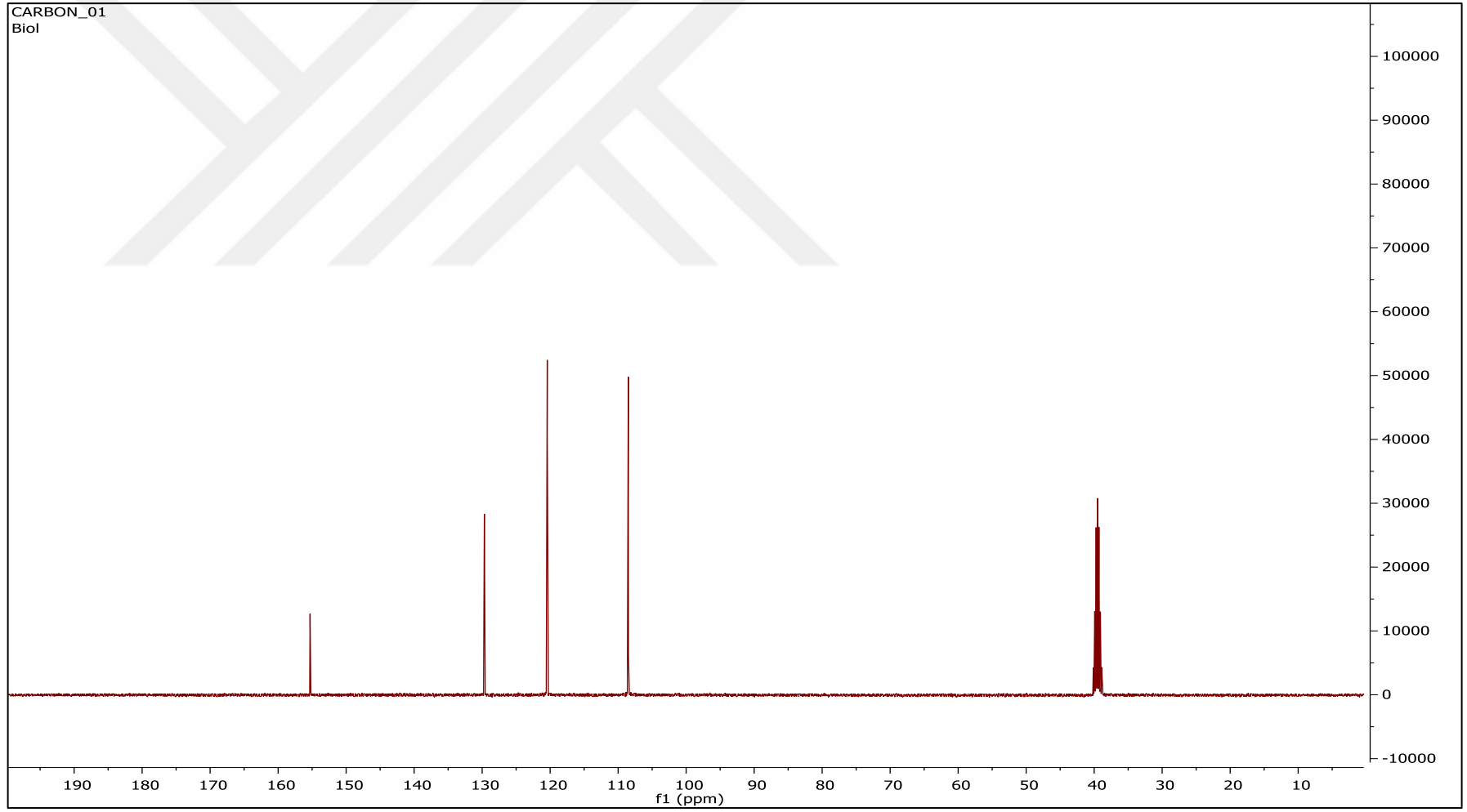
Spektrum 4. BS Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



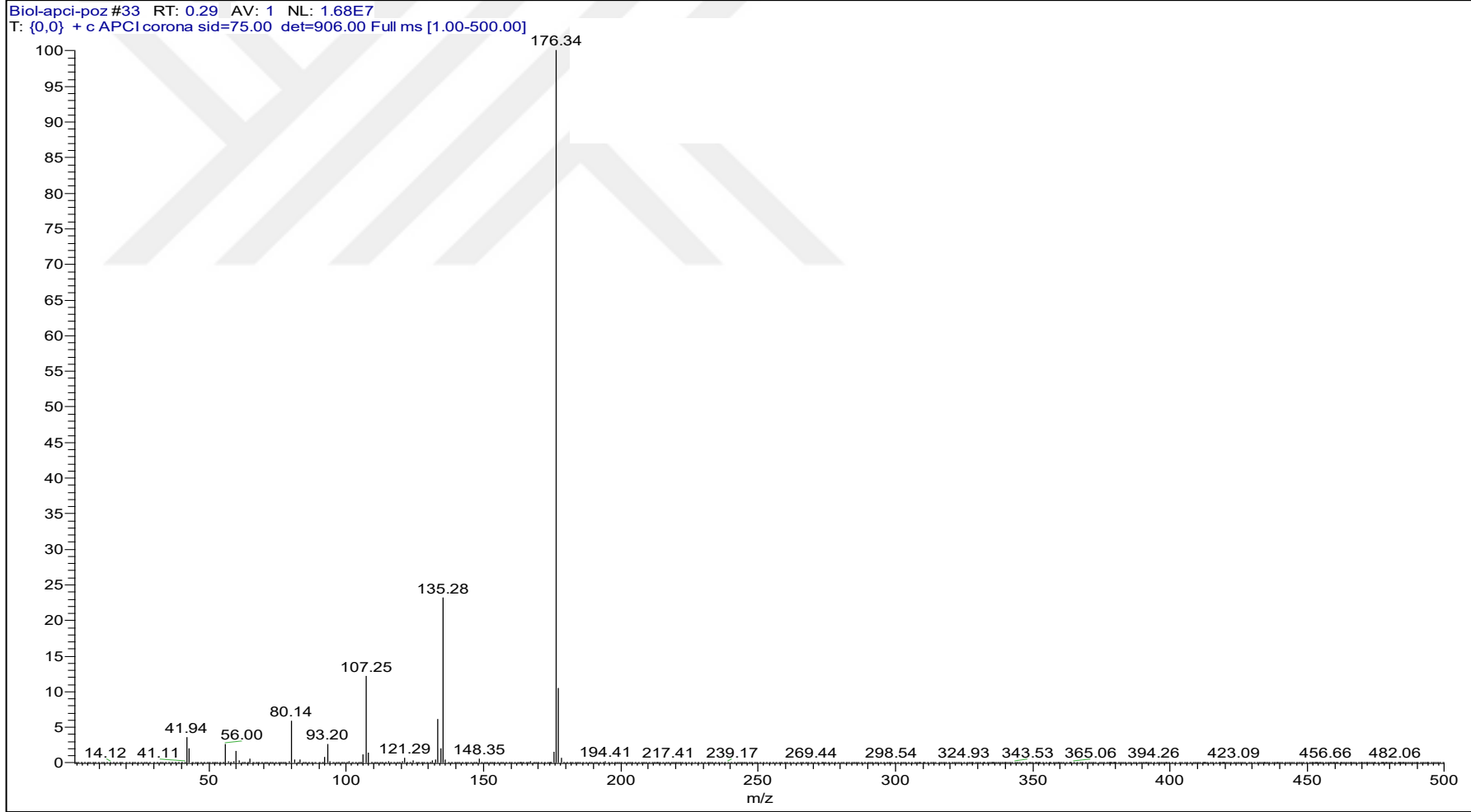
Spektrum 5. BO Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



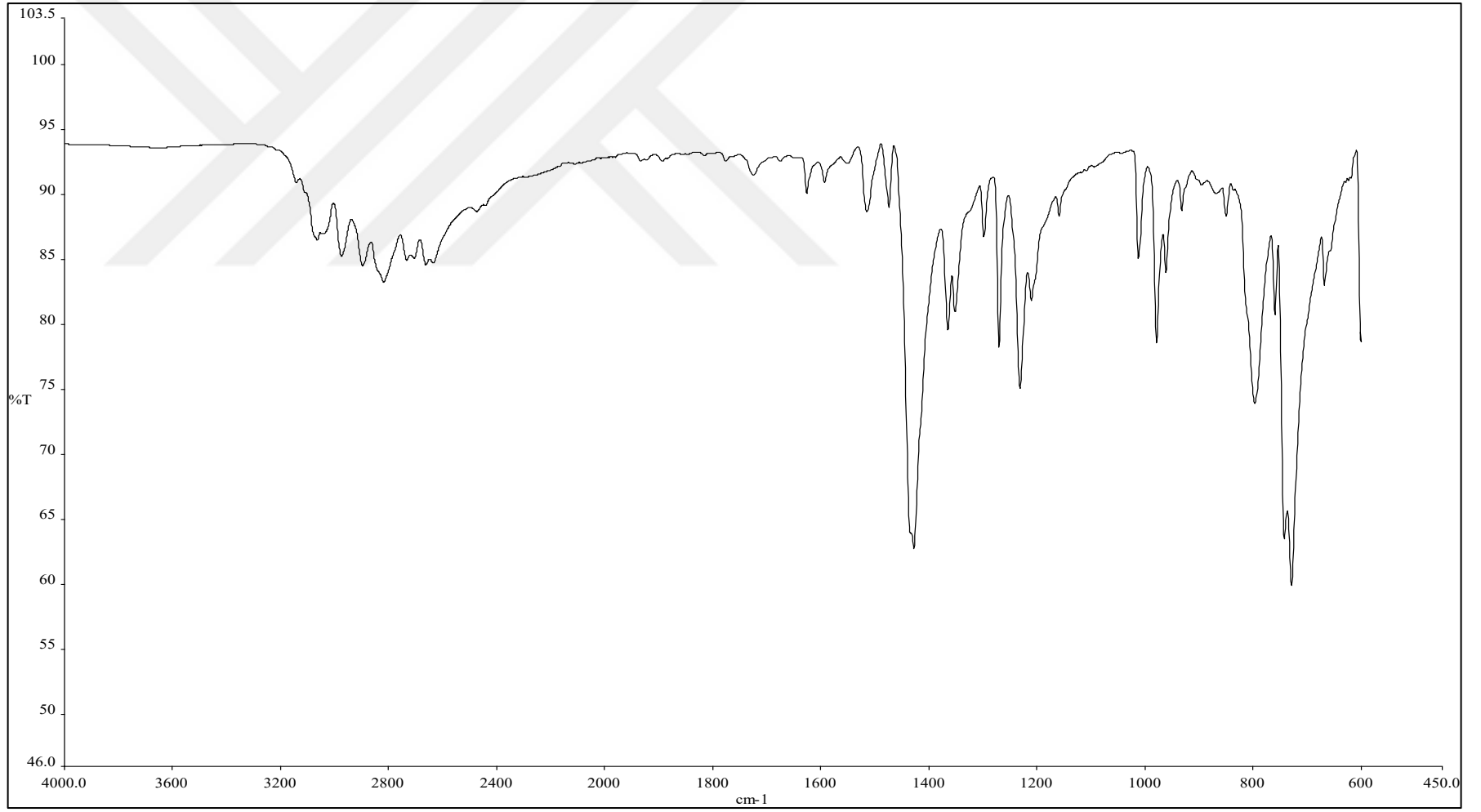
Spektrum 6. BO Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



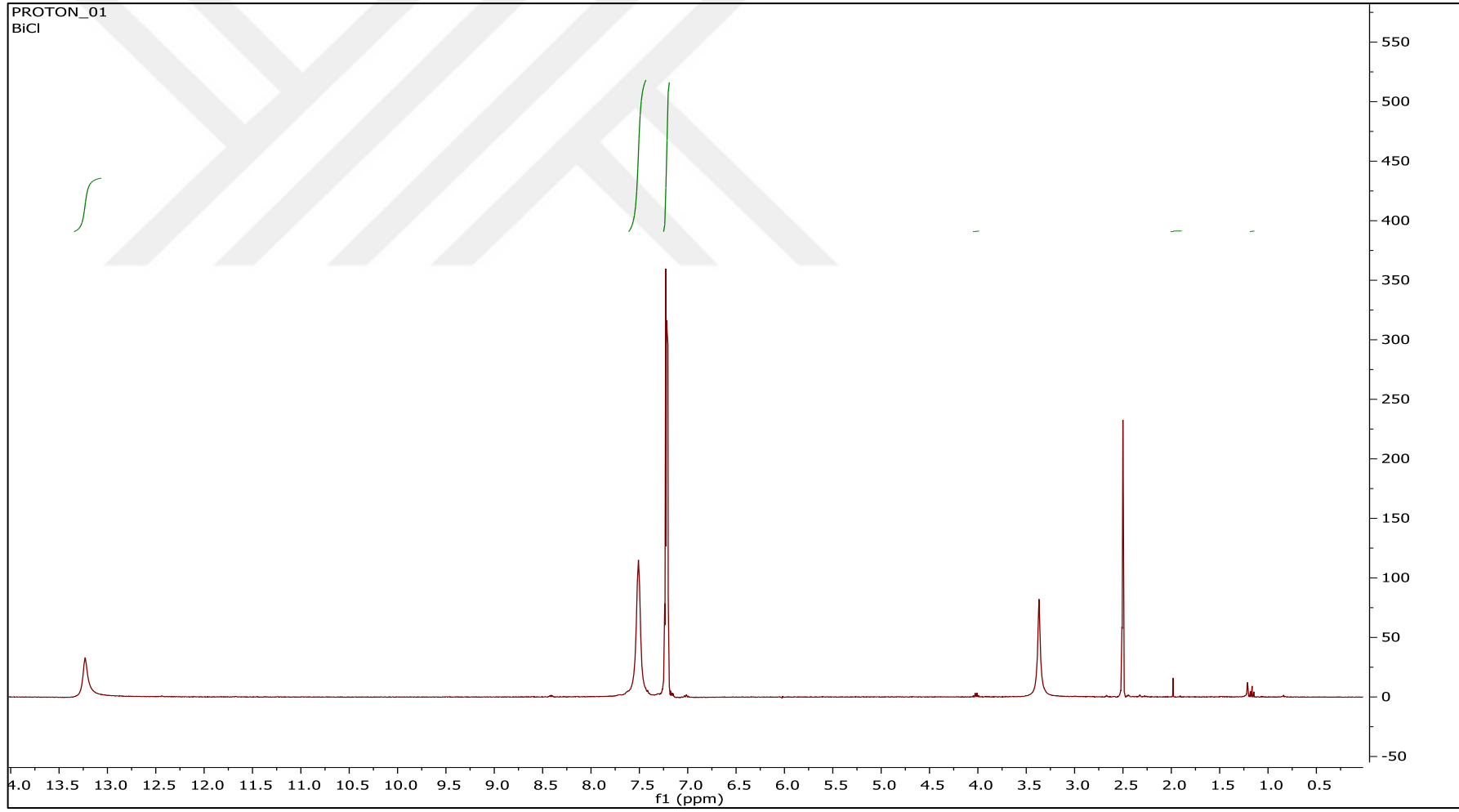
Spektrum 7. BO Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



Spektrum 8. BO Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu

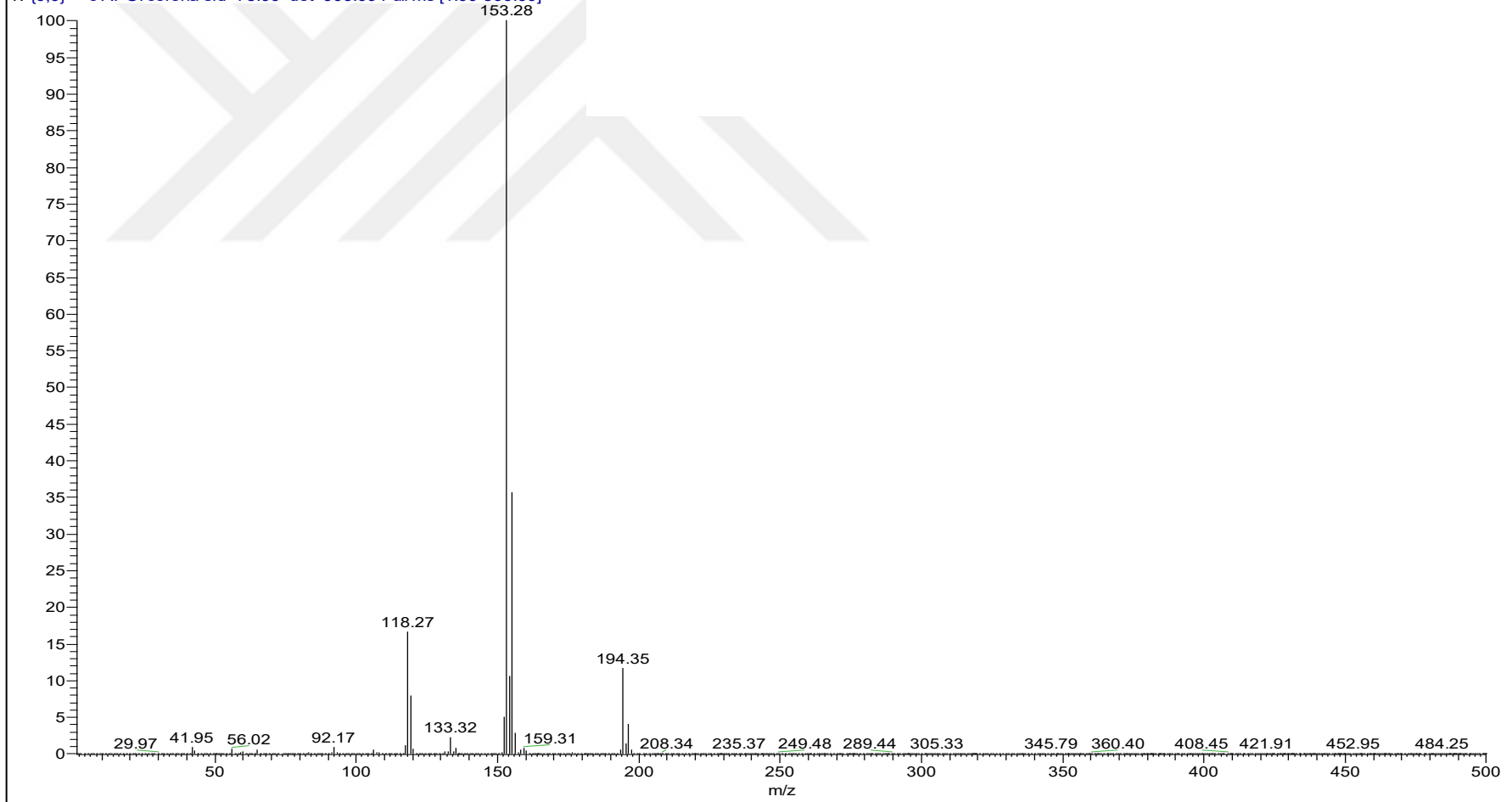


Spektrum 9. BCL Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

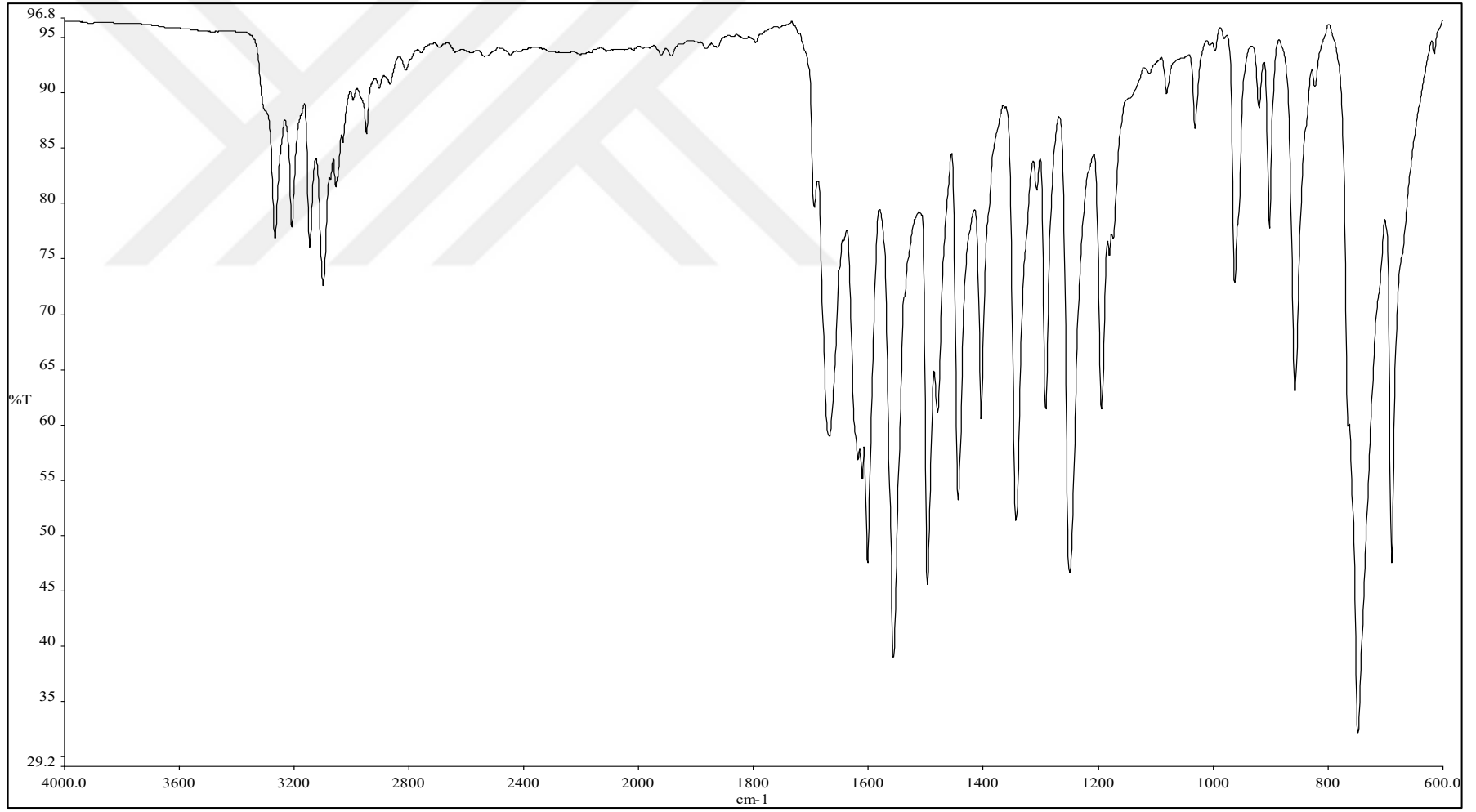


Spektrum 10. BCL Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

BicI-apci-poz #36 RT: 0.32 AV: 1 NL: 3.22E7
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]

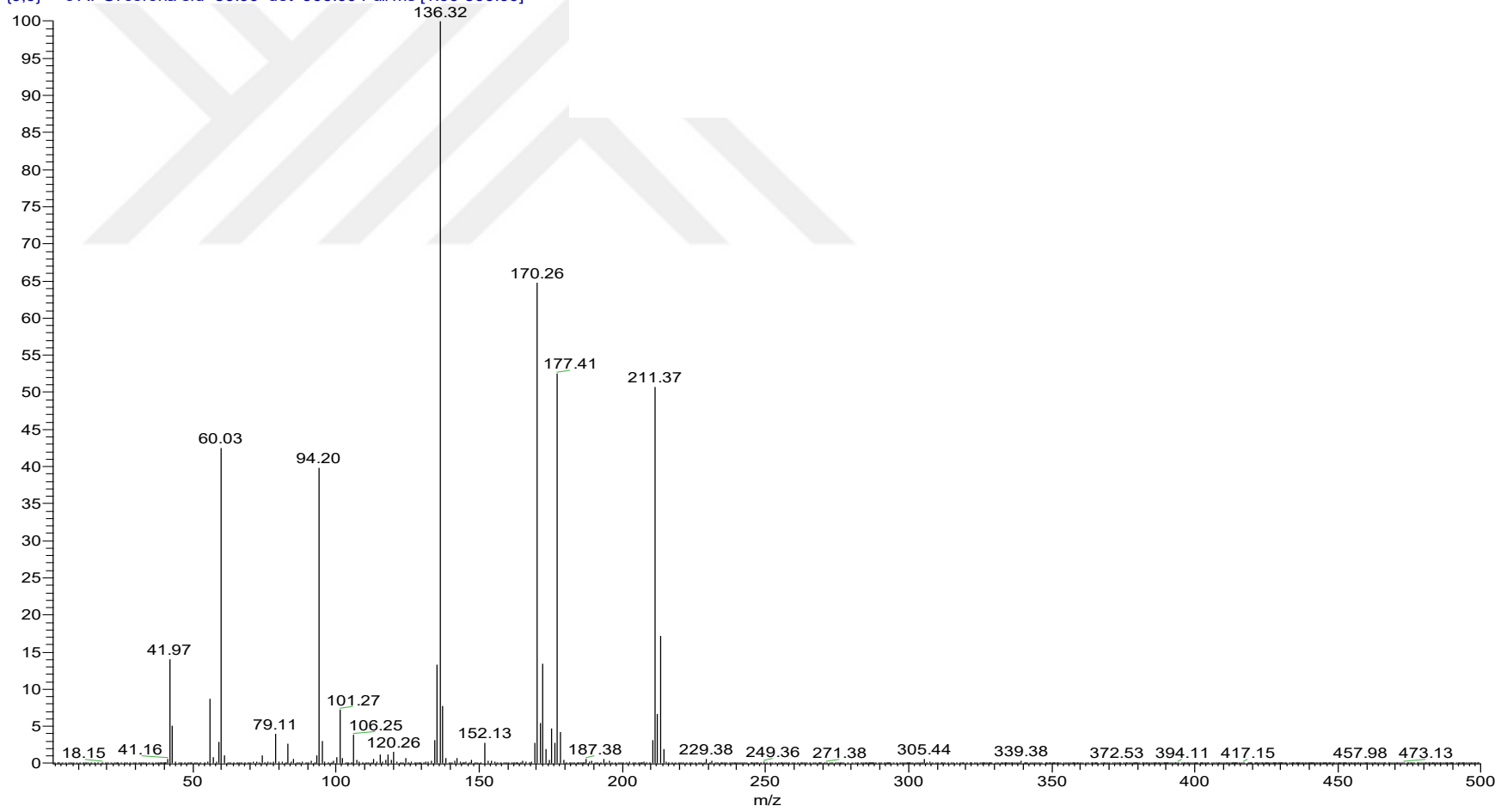


Spektrum 11. BCL Kodlu Bileşigin Kütle Spektrumu

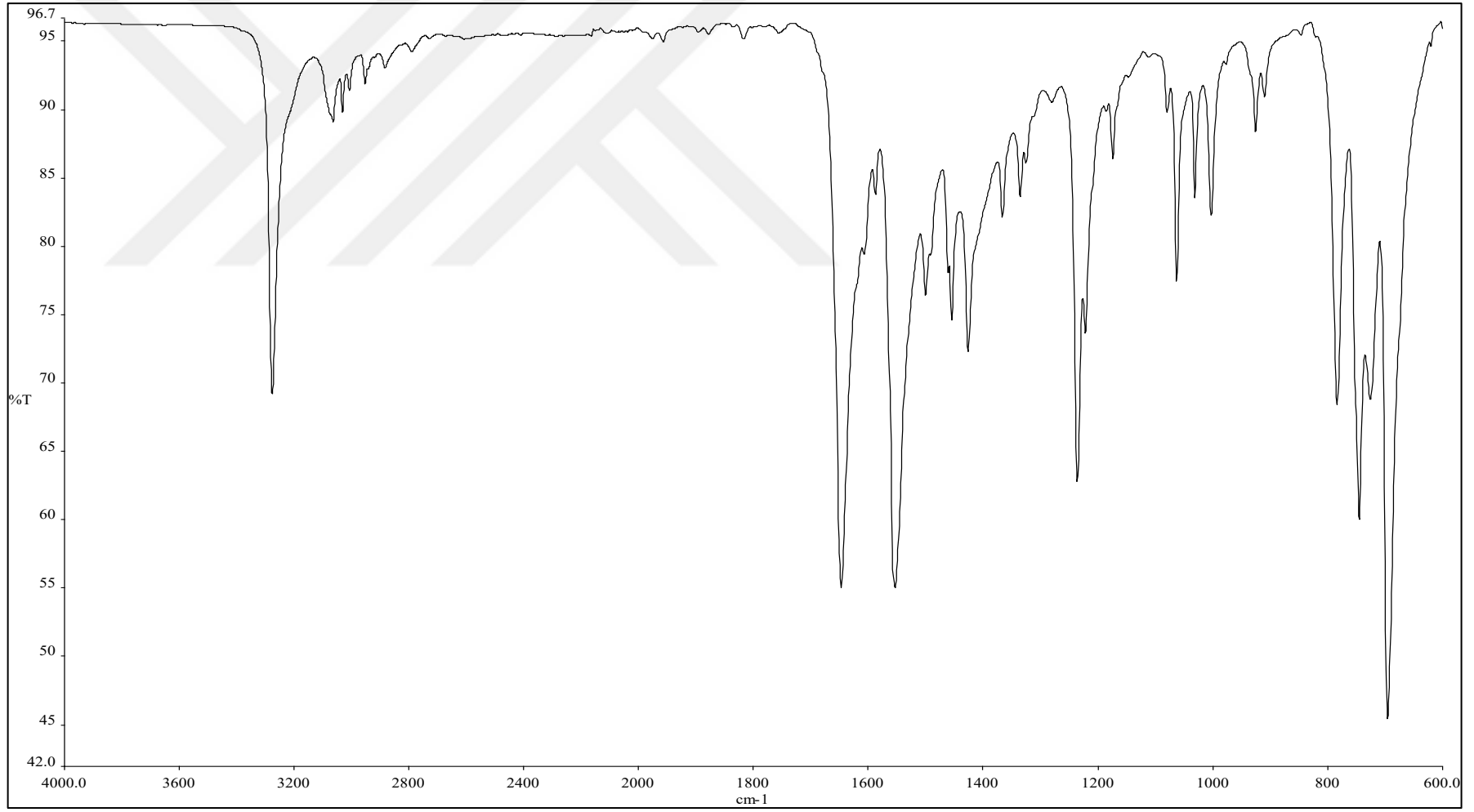


Spektrum 12. 1 No lu Bileşğin IR Spektrumu

non-aat-apci-poz #44 RT: 0.39 AV: 1 NL: 6.57E6
T: {0,0} + c APCLcorona sid=50.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]

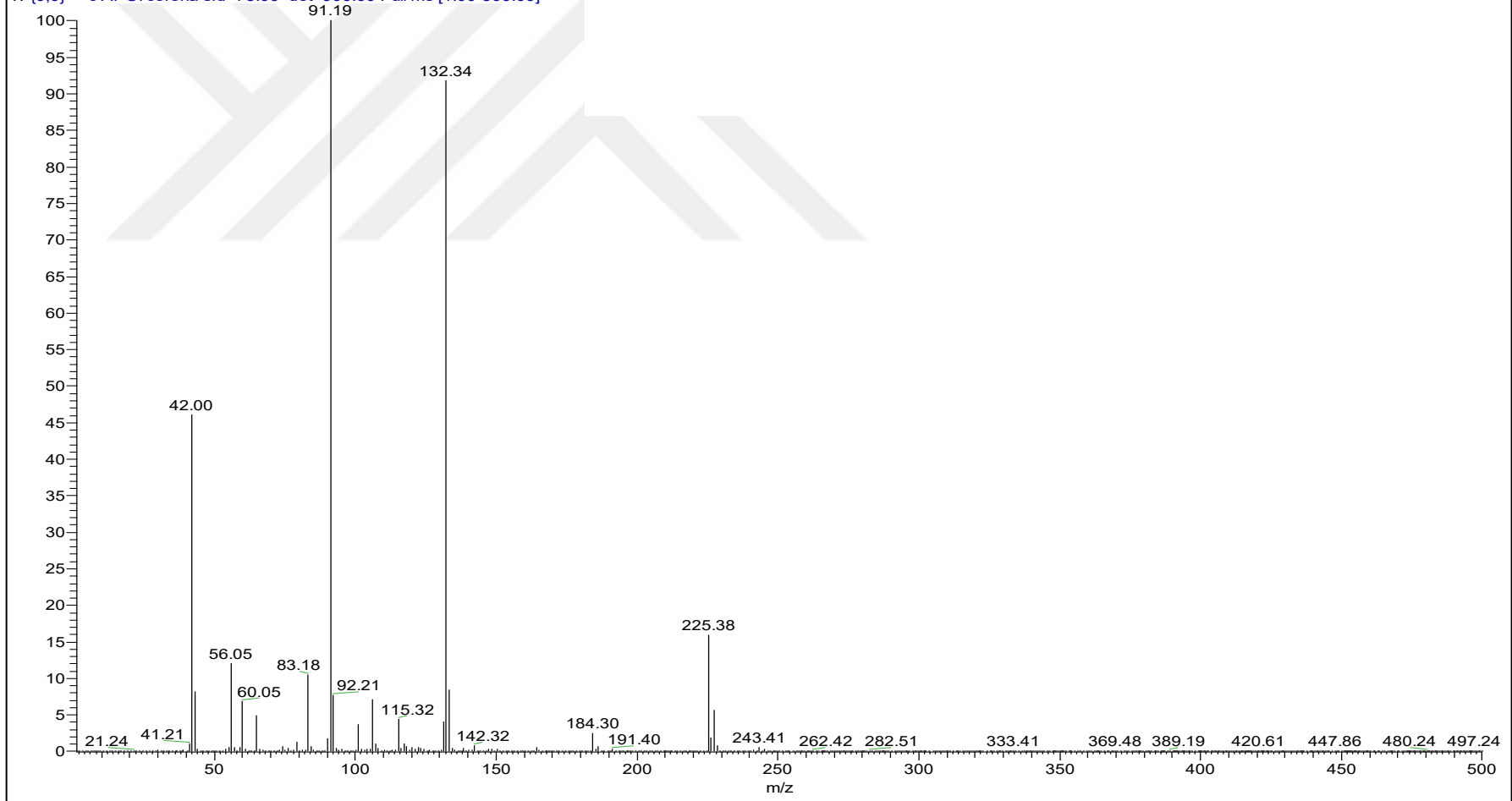


Spektrum 13. 1 No lu Bileşğin Kütle Spektrumu

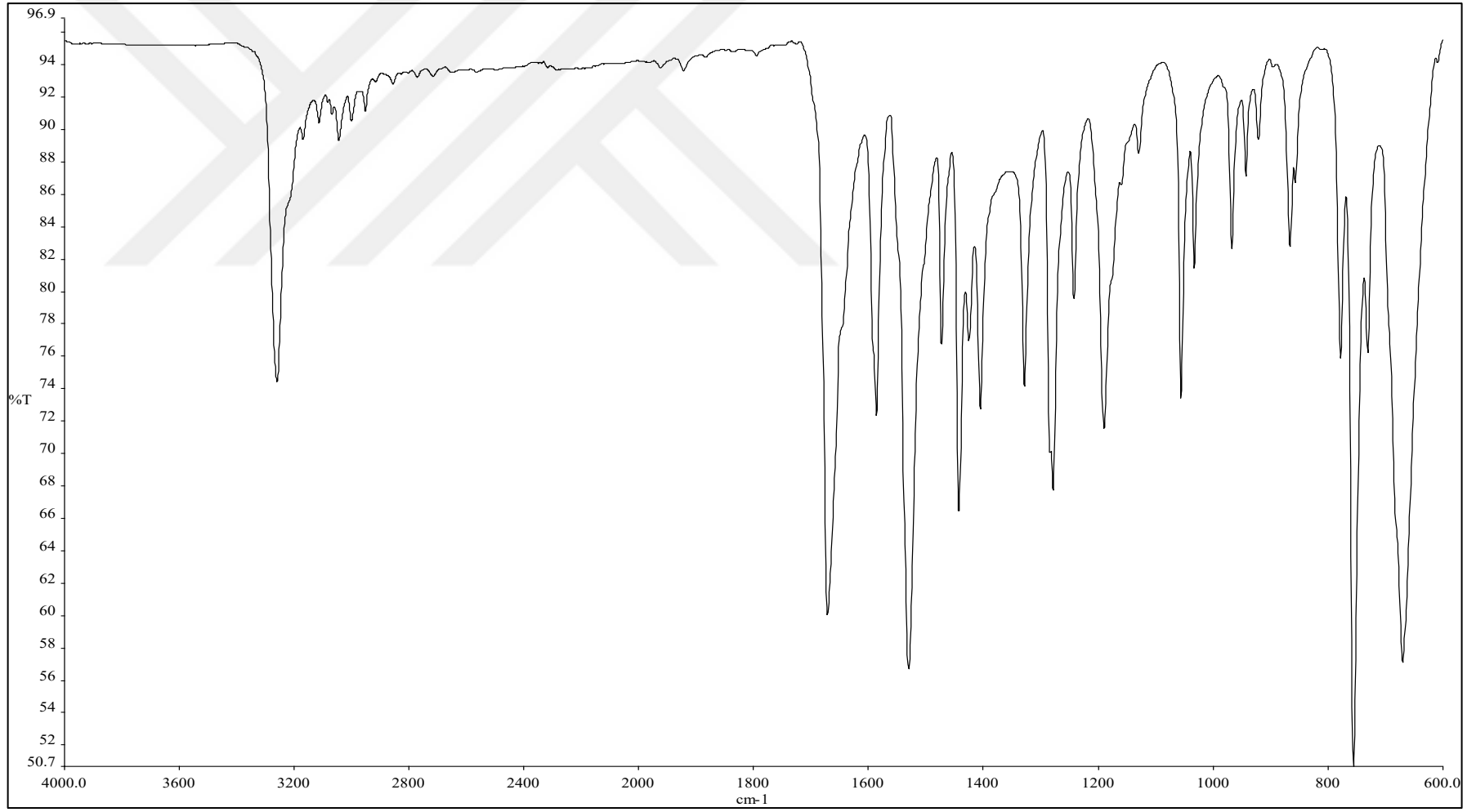


Spektrum 14. 2 No lu Bileşğin IR Spektrumu

BAaat-apci-poz #50 RT: 0.44 AV: 1 NL: 1.19E7
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]

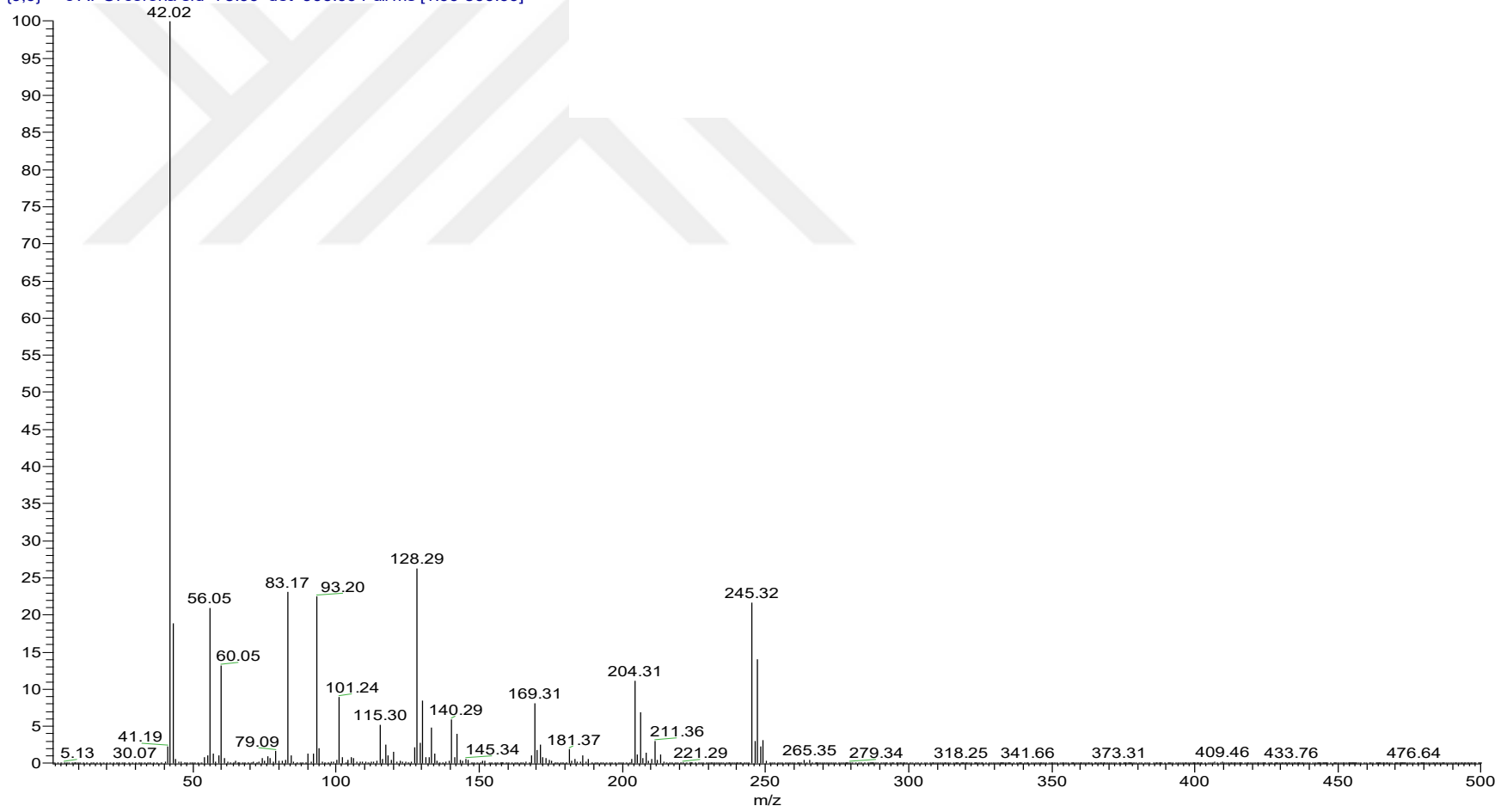


Spektrum 15. 2 No lu Bileşigin Kütle Spektrumu

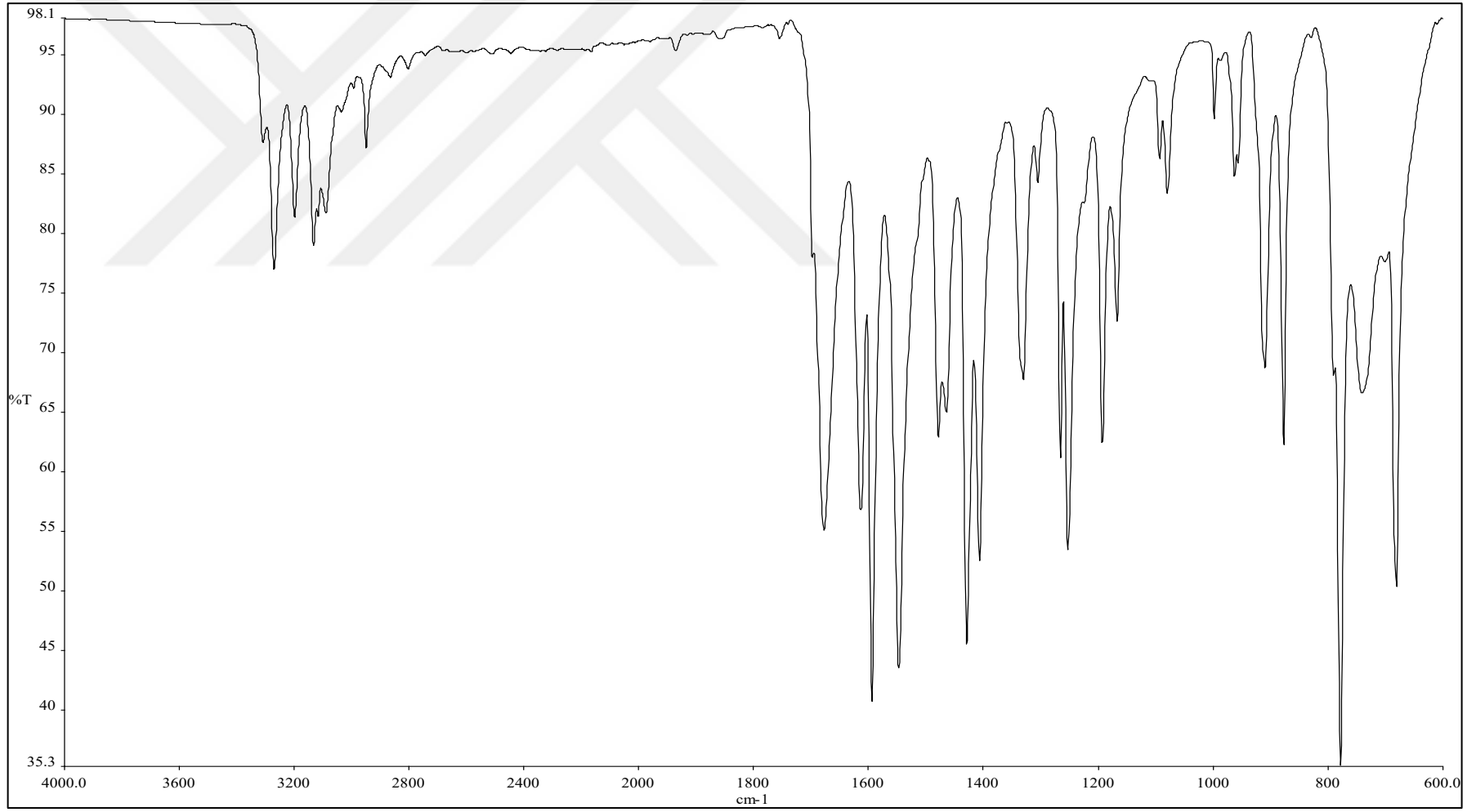


Spektrum 16. 3 No lu Bileşğin IR Spektrumu

oClaat-apci-poz #61 RT: 0.54 AV: 1 NL: 7.23E6
T: {0,0} + c APCL corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]

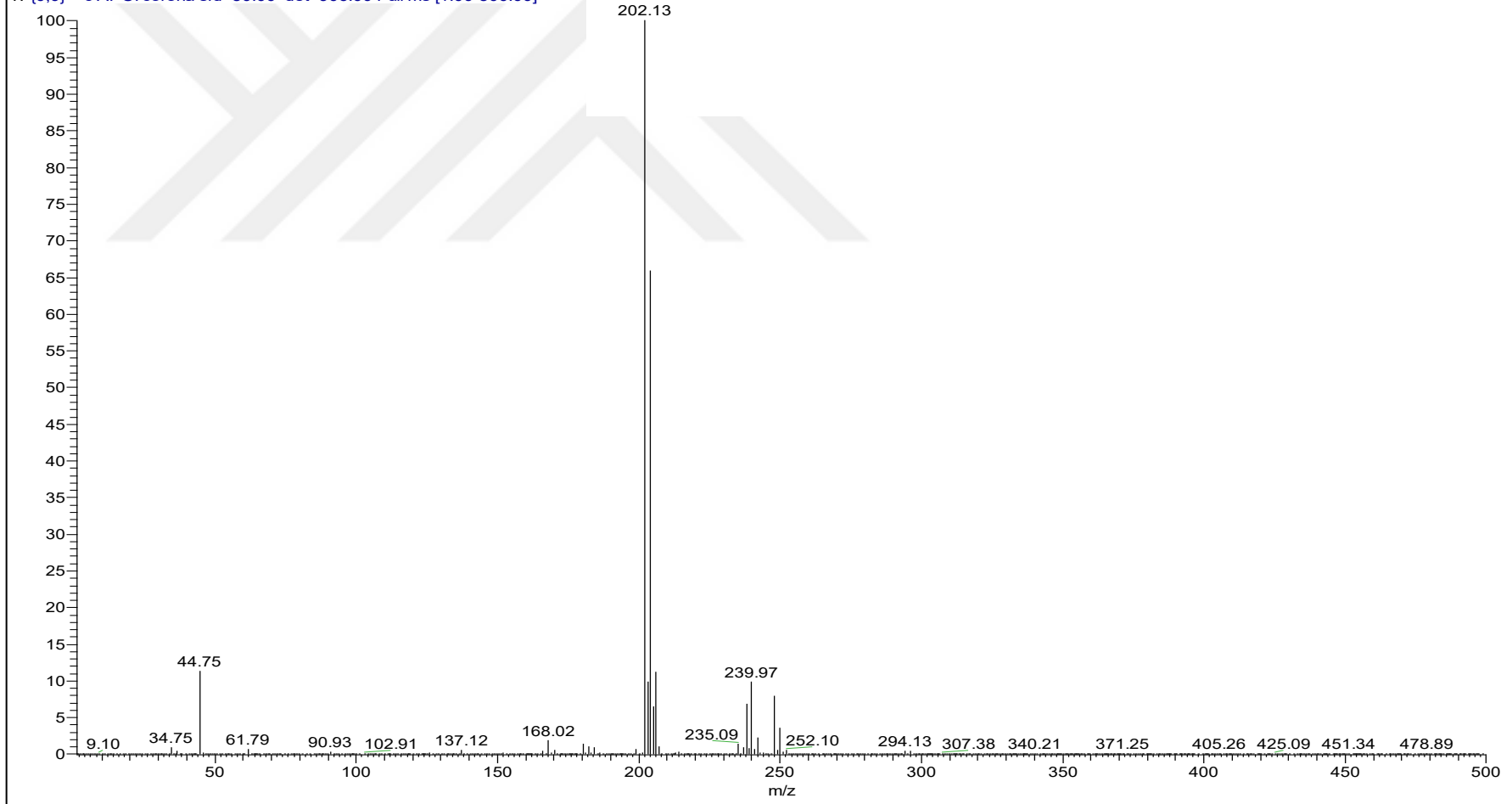


Spektrum 17. 3 No lu Bileşğin Kütle Spektrumu

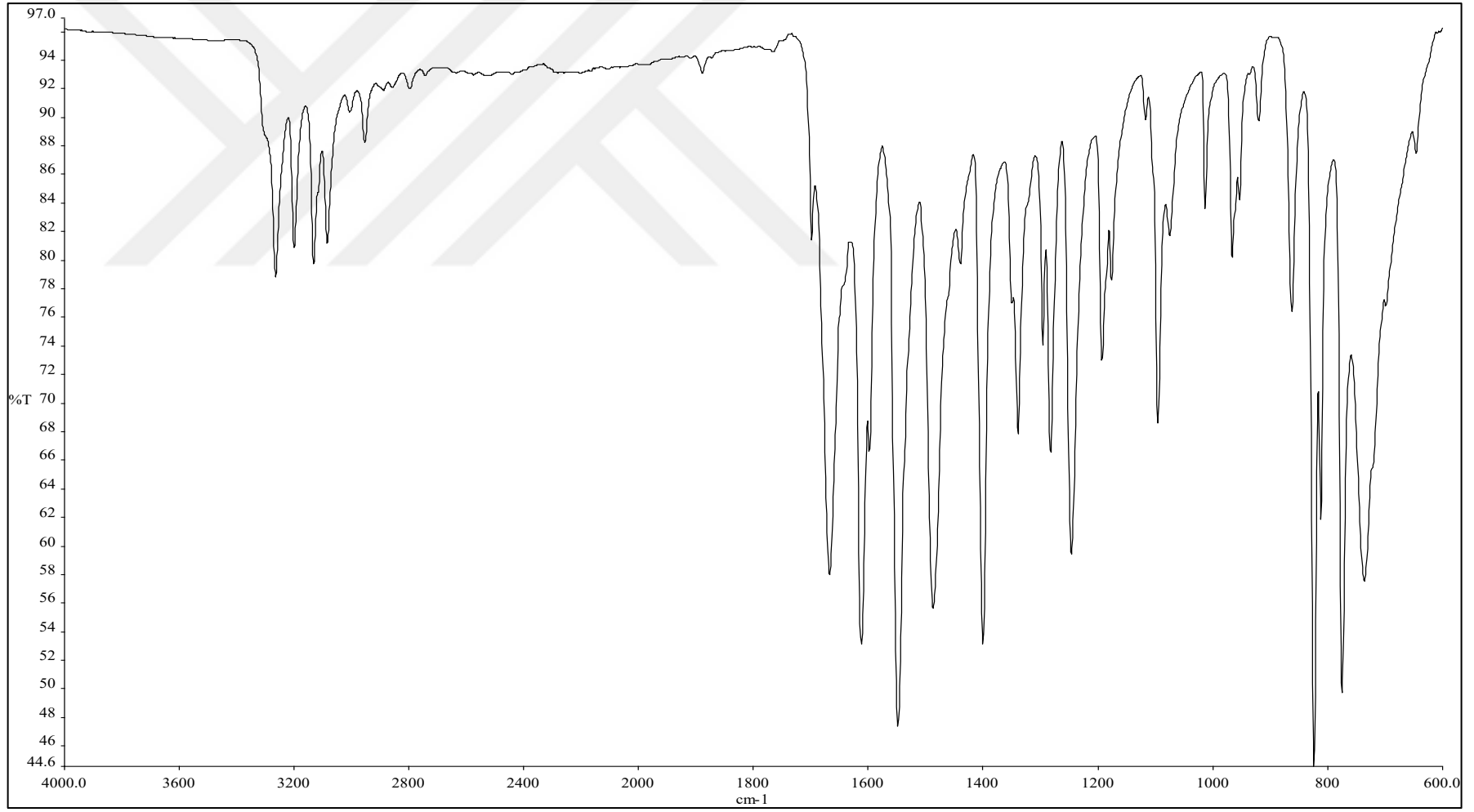


Spektrum 18. 4 No lu Bileşğin IR Spektrumu

mCl-aat-apci-neg #53 RT: 0.47 AV: 1 NL: 1.23E7
T: {0,0} - c APCl corona sid=50.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]

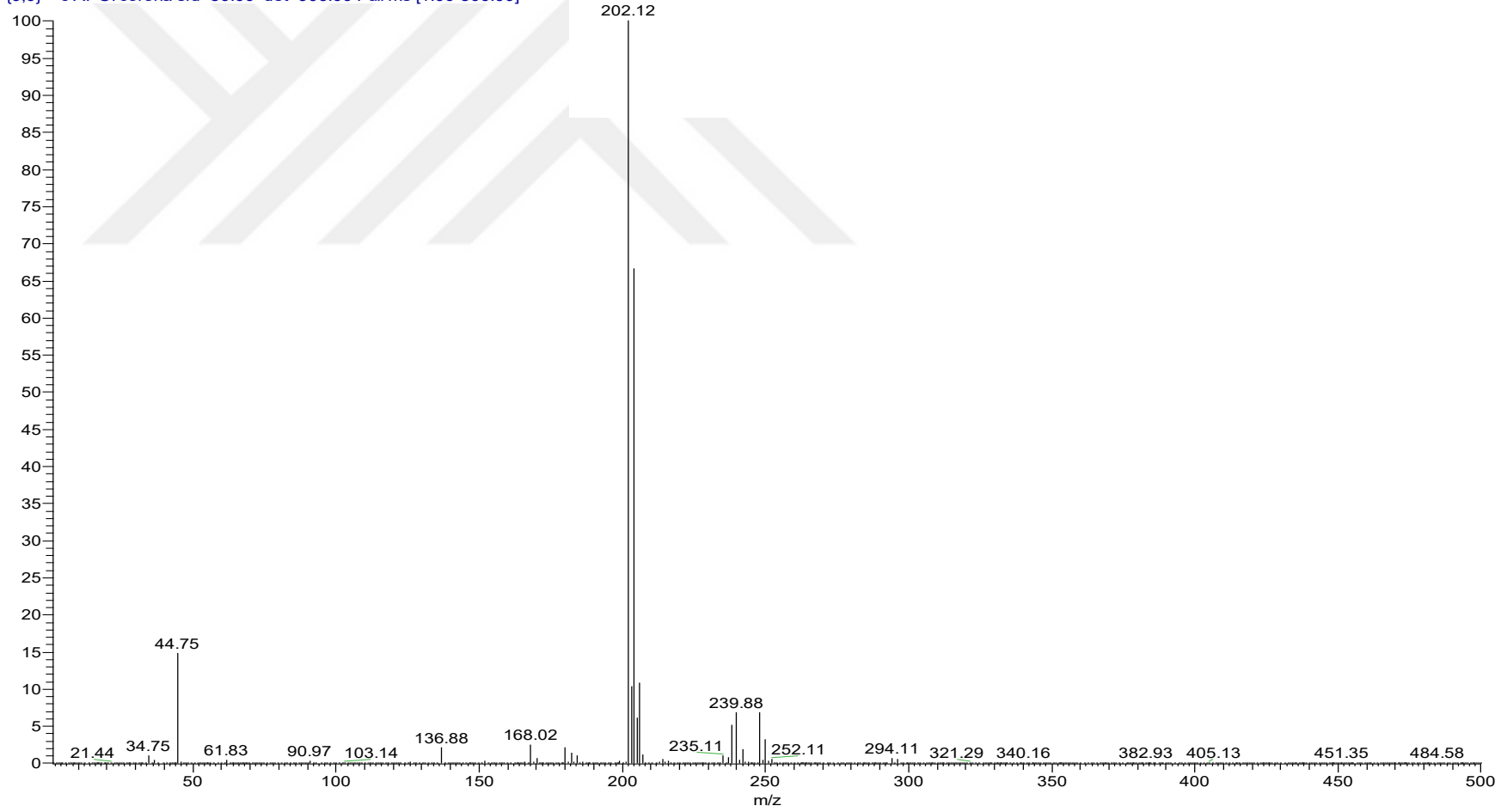


Spektrum 19. 4 No lu Bileşğin Kütle Spektrumu

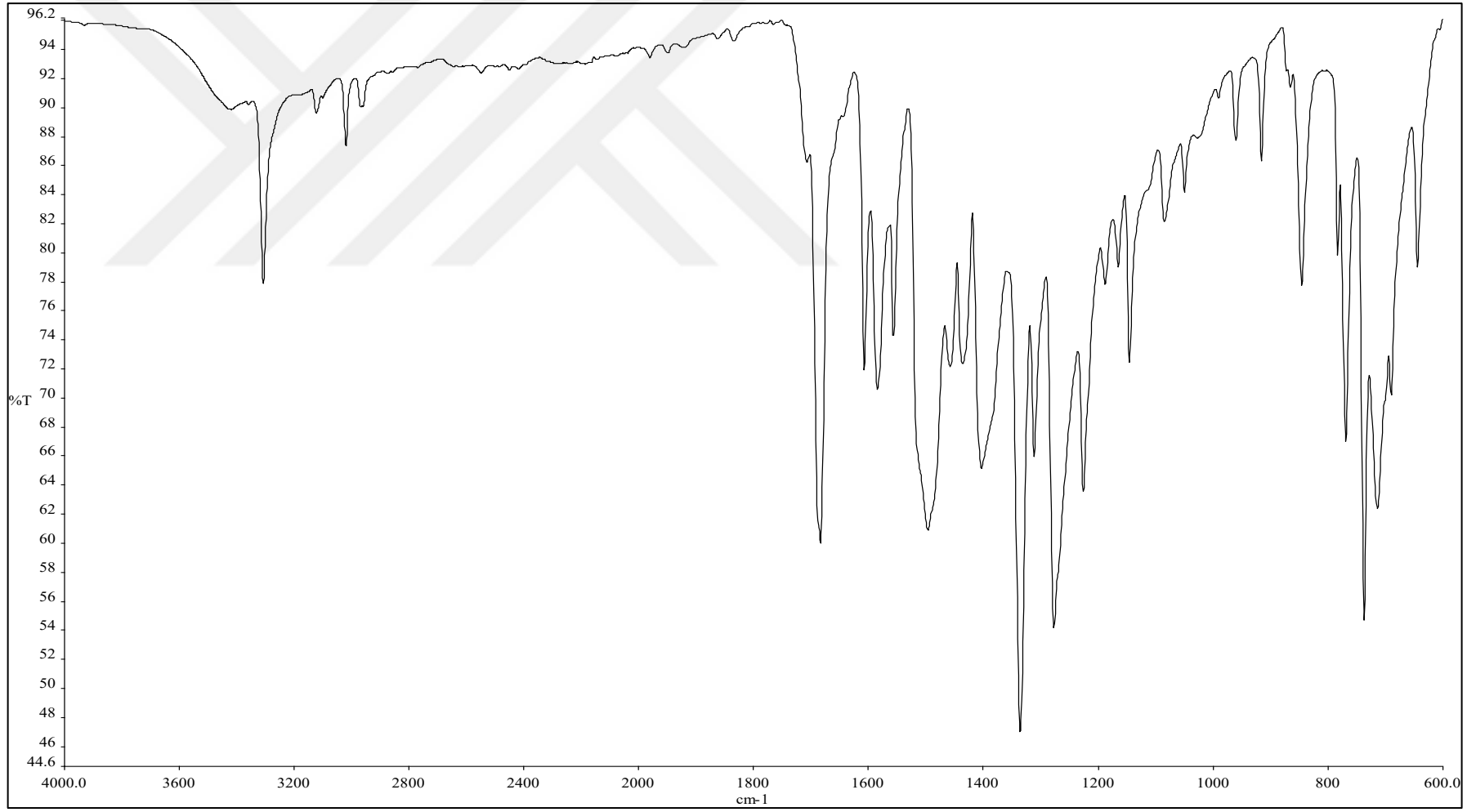


Spektrum 20. 5 No lu Bileşiğın IR Spektrumu

pCl-aat-apci-neg #54 RT: 0.48 AV: 1 NL: 1.08E7
T: {0,0} - c APCL corona sid=50.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]

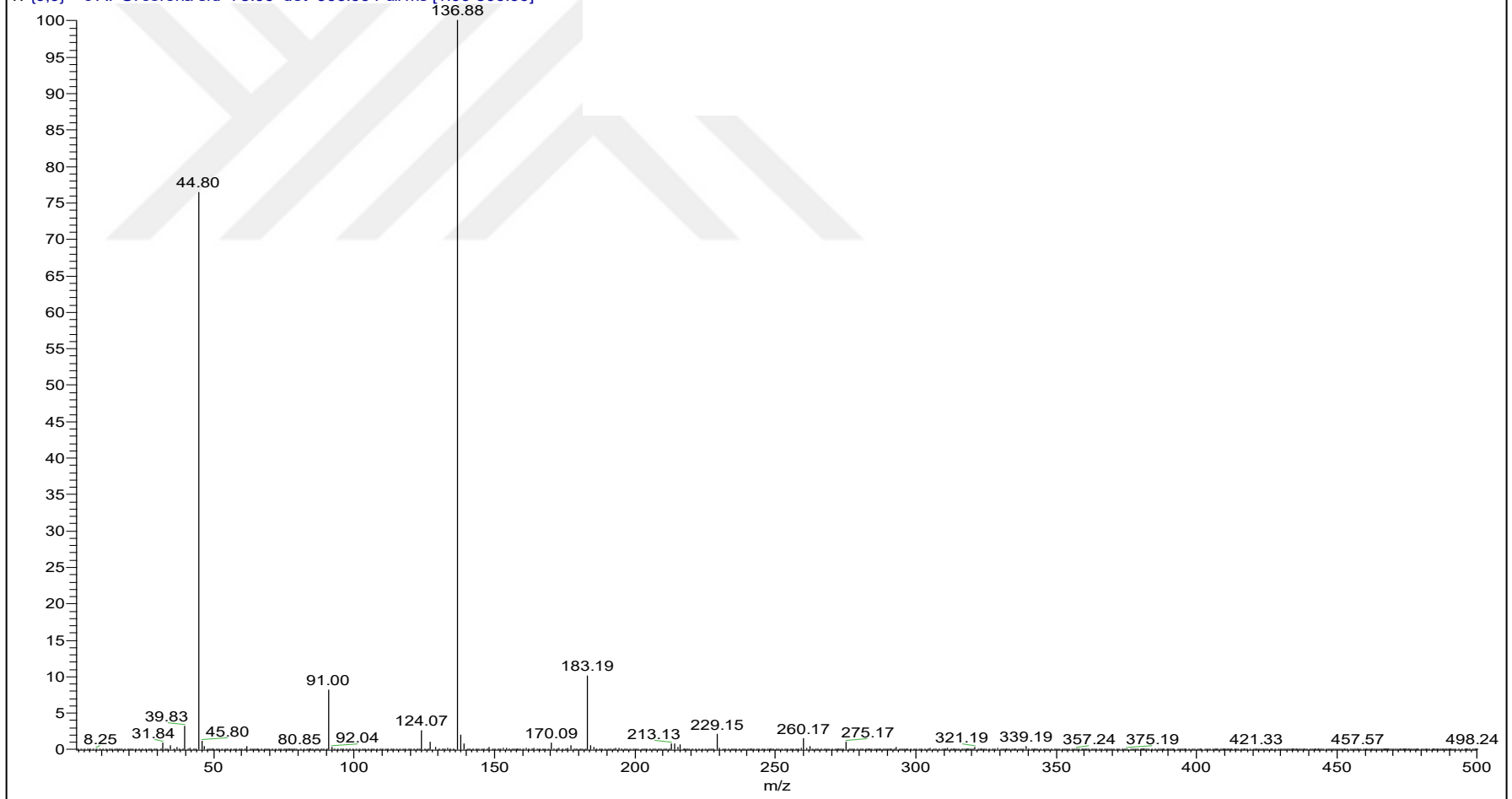


Spektrum 21. 5 No lu Bileşğin Kütle Spektrumu

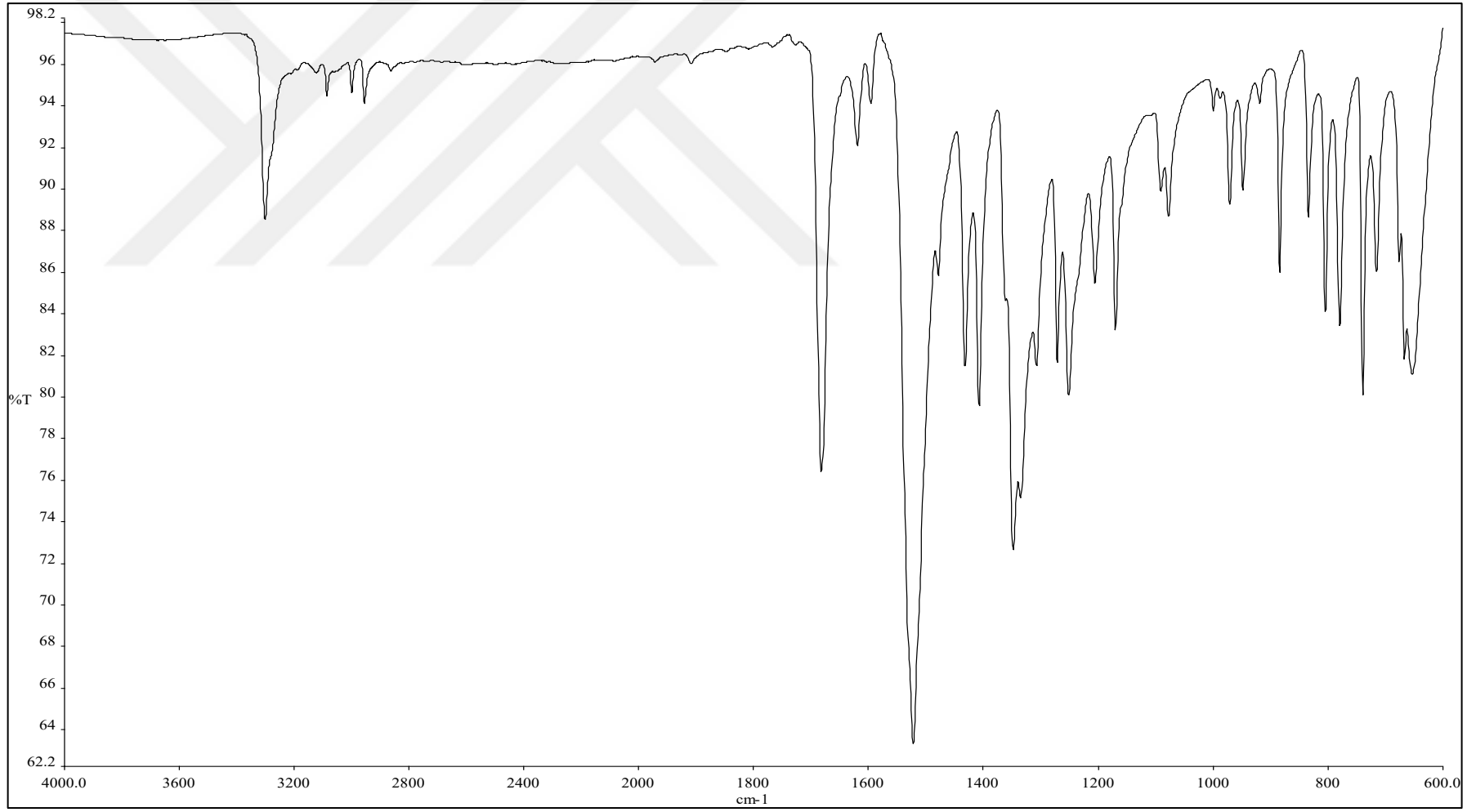


Spektrum 22. 6 No lu Bileşğin IR Spektrumu

oNO2aat-apcineg4 #60 RT: 0.53 AV: 1 NL: 7.24E6
T: {0,0} - c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]

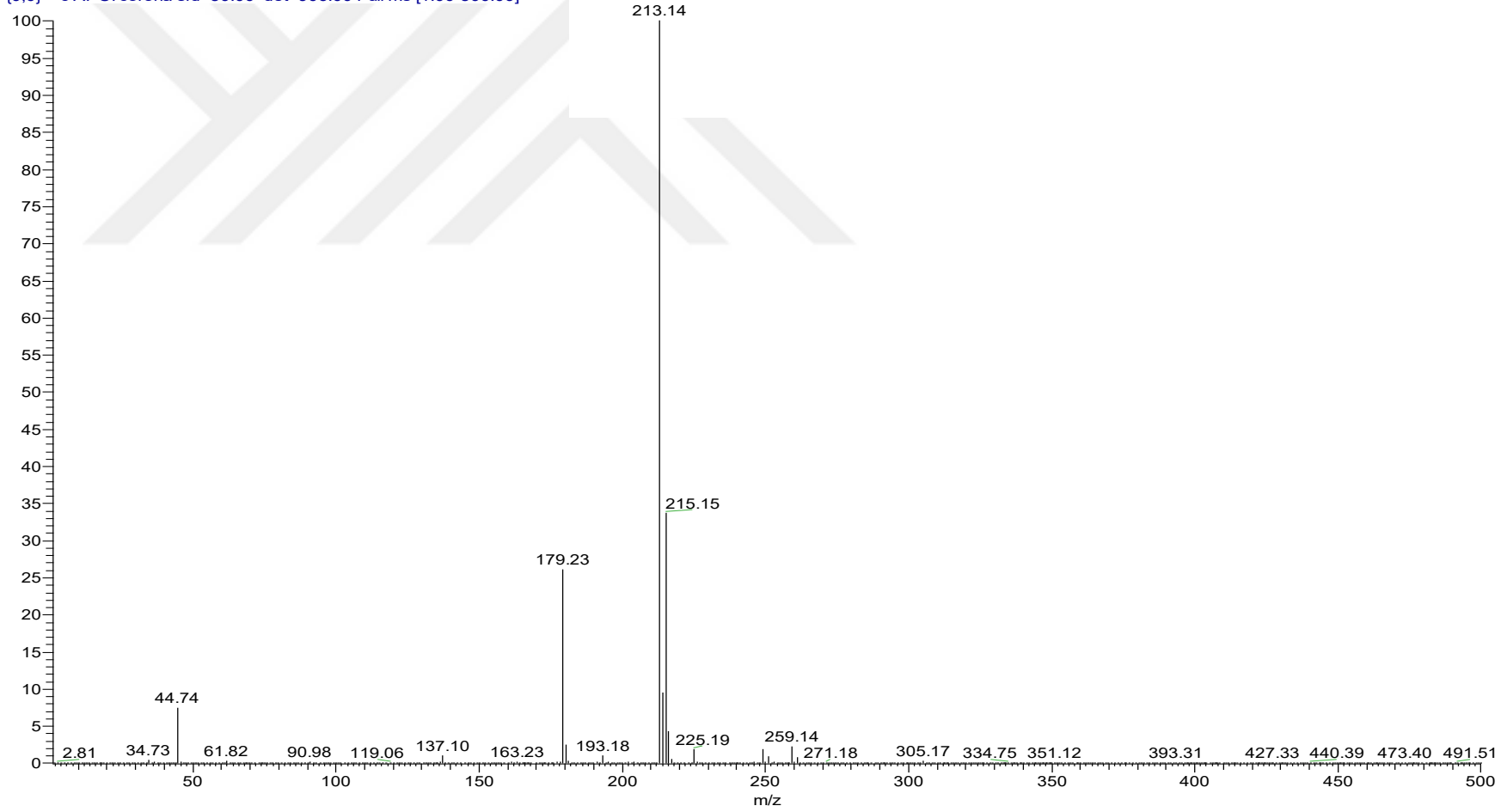


Spektrum 23. 6 No lu Bileşğin Kütle Spektrumu

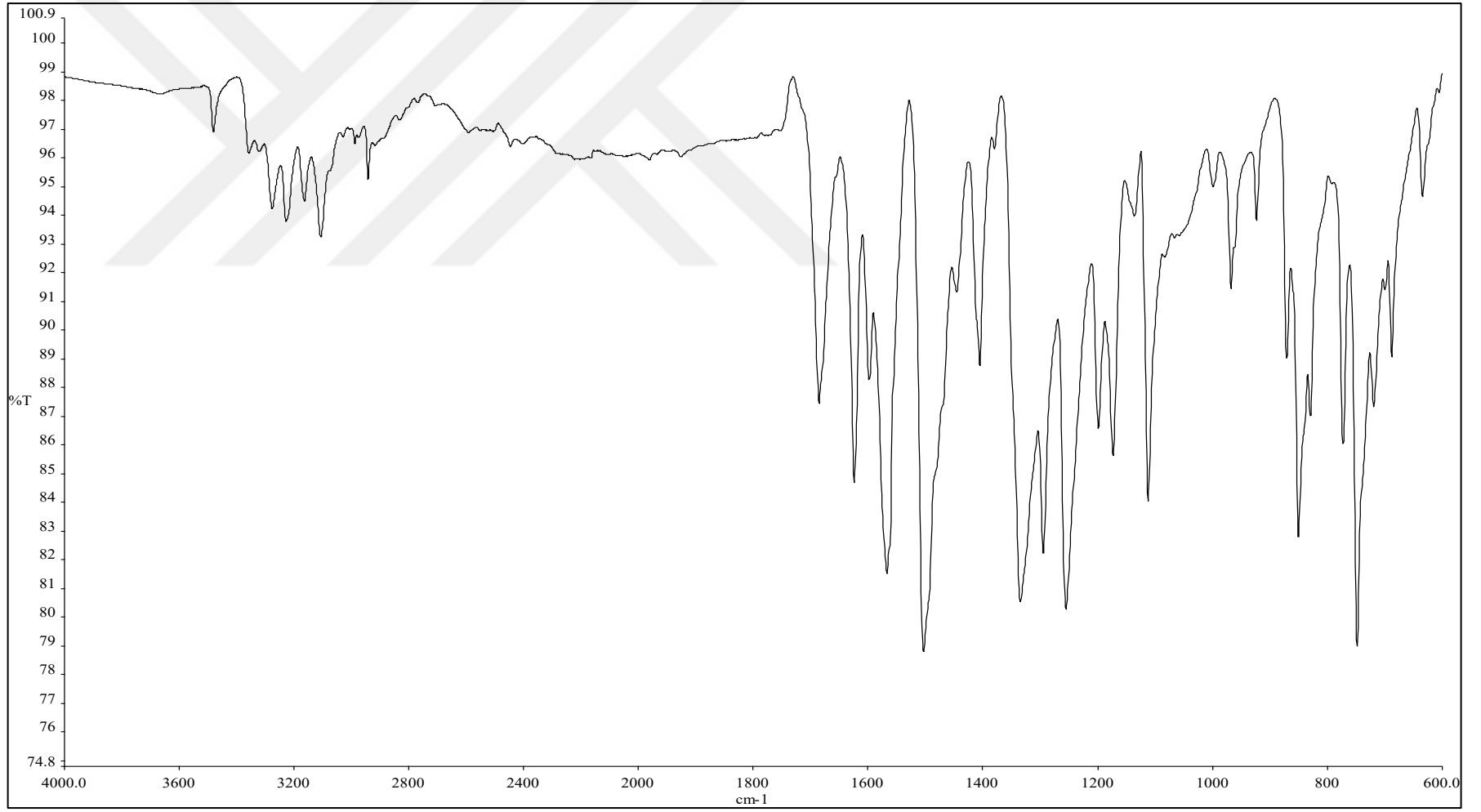


Spektrum 24. 7 No lu Bileşğin IR Spektrumu

mNO2-aat-apci-neg #48 RT: 0.42 AV: 1 NL: 2.02E7
T: {0,0} - c APCI corona sid=50.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]

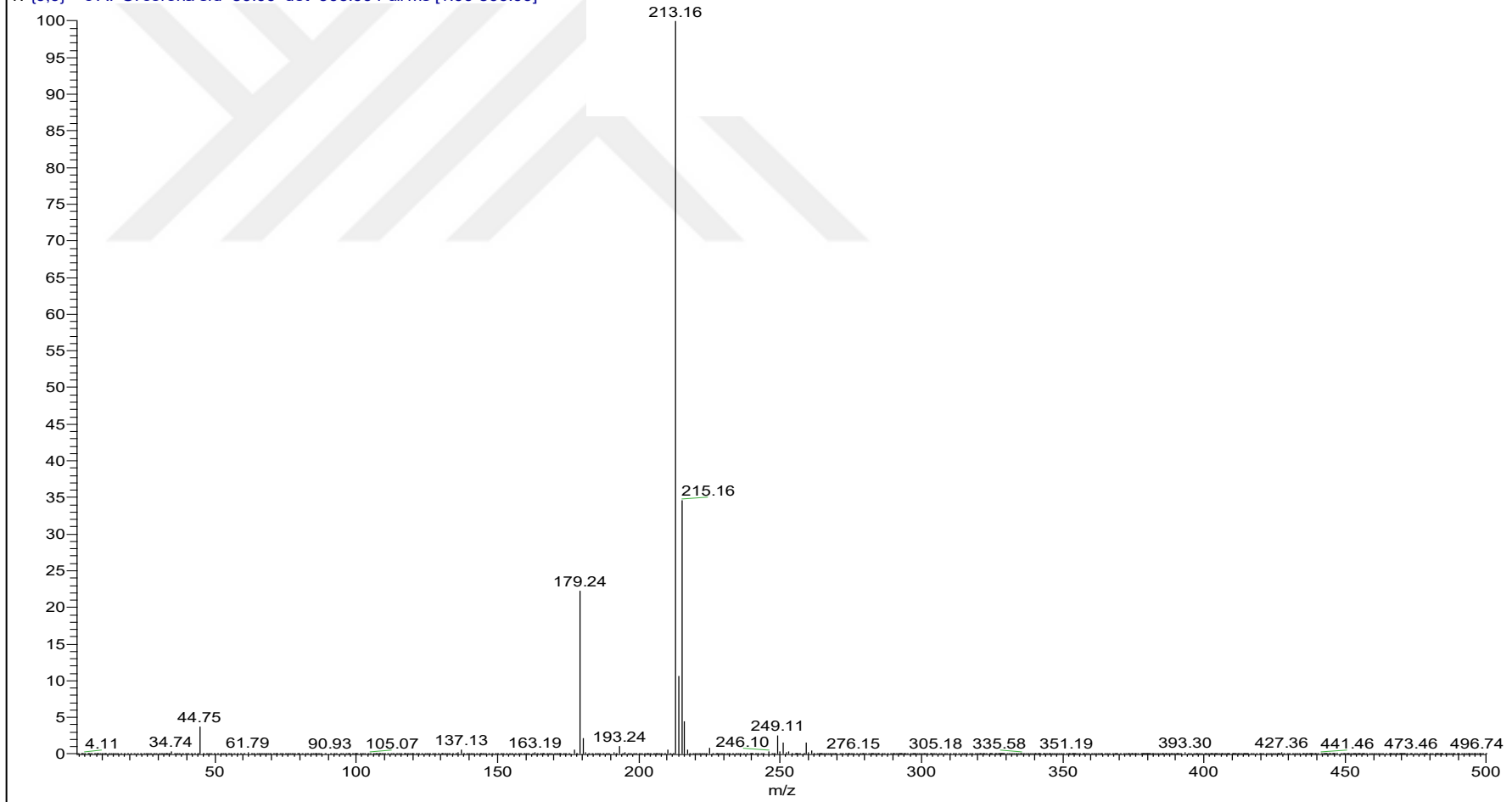


Spektrum 25. 7 No lu Bileşğin Kütle Spektrumu

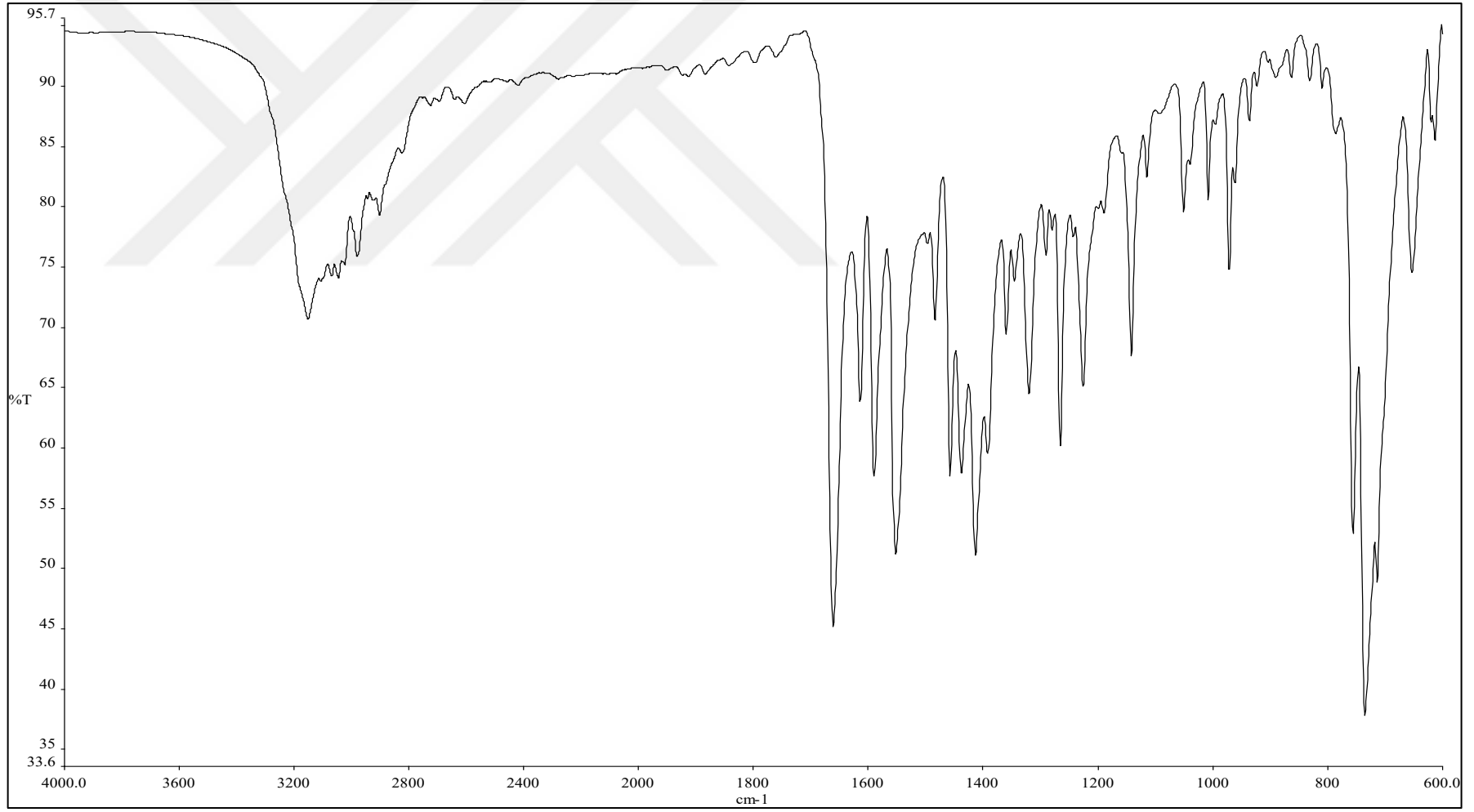


Spektrum 26. 8 No lu Bileşğin IR Spektrumu

pNO2-aat-apci-neg #50 RT: 0.44 AV: 1 NL: 2.51E7
T: {0,0} - c APCI corona sid=50.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]

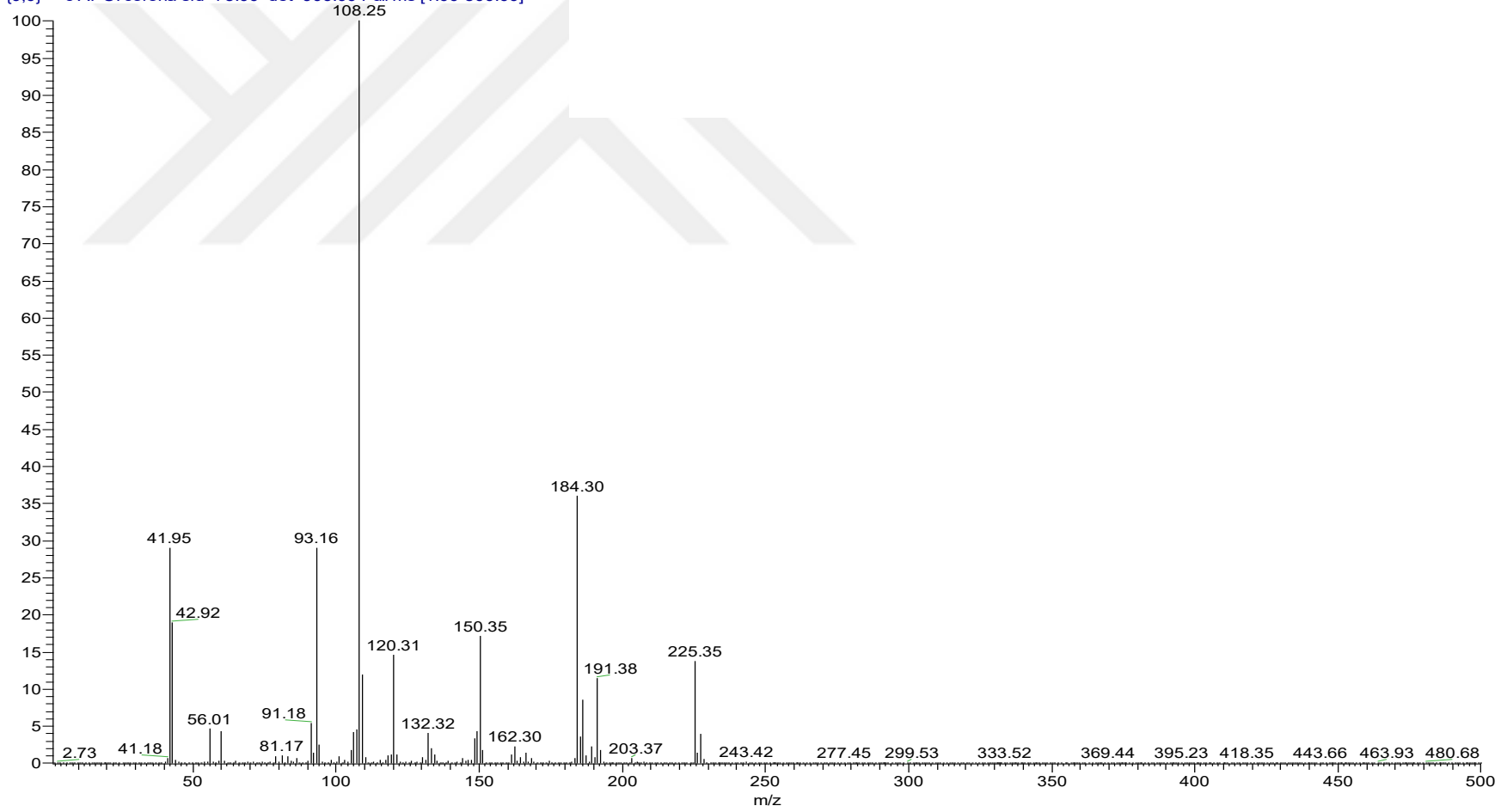


Spektrum 27. 8 No lu Bileşğin Kütle Spektrumu

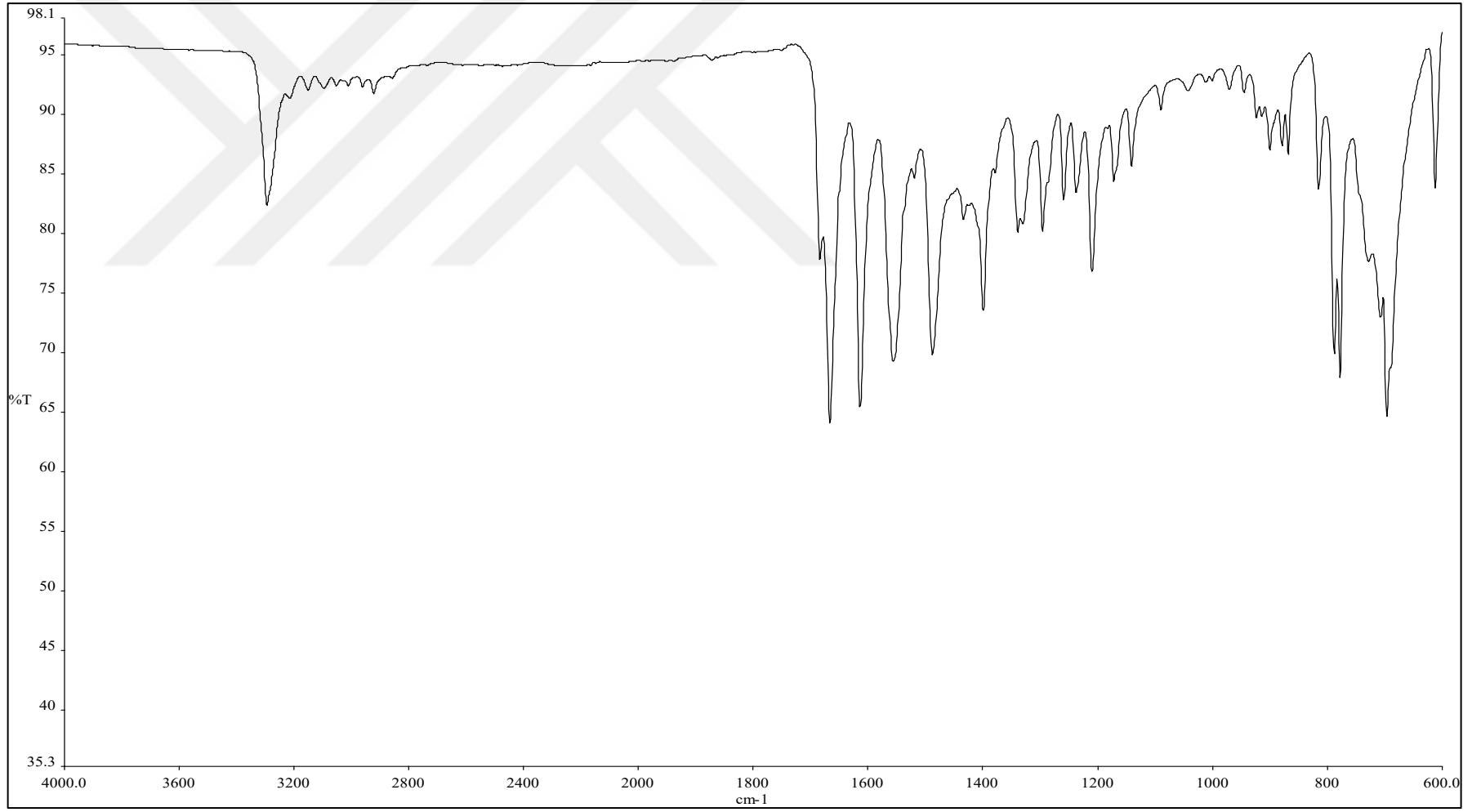


Spektrum 28. 9 No lu Bileşğin IR Spektrumu

ome-aat-apci-poz #44 RT: 0.39 AV: 1 NL: 1.11E7
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]

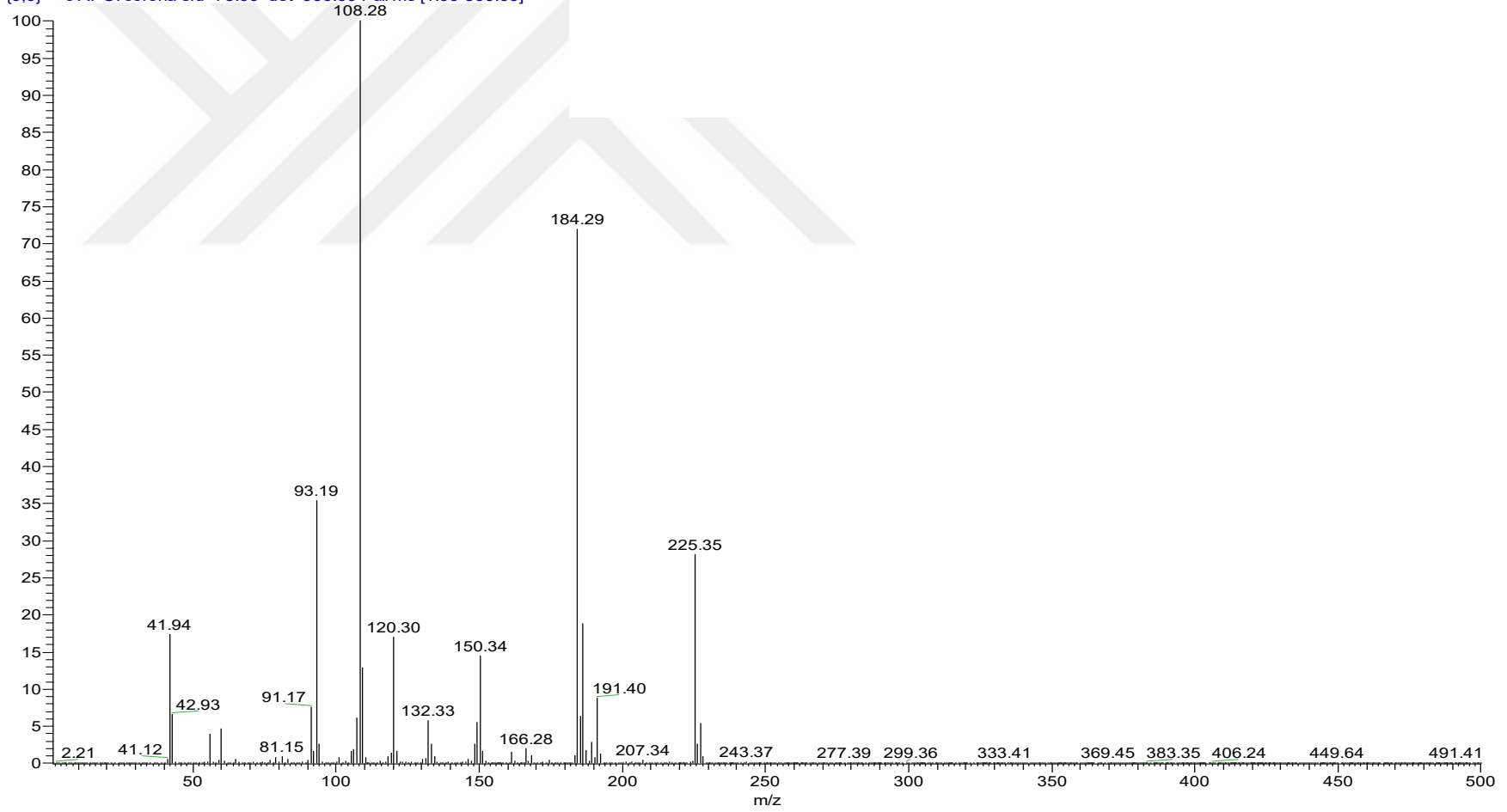


Spektrum 29. 9 No lu Bileşğin Kütle Spektrumu

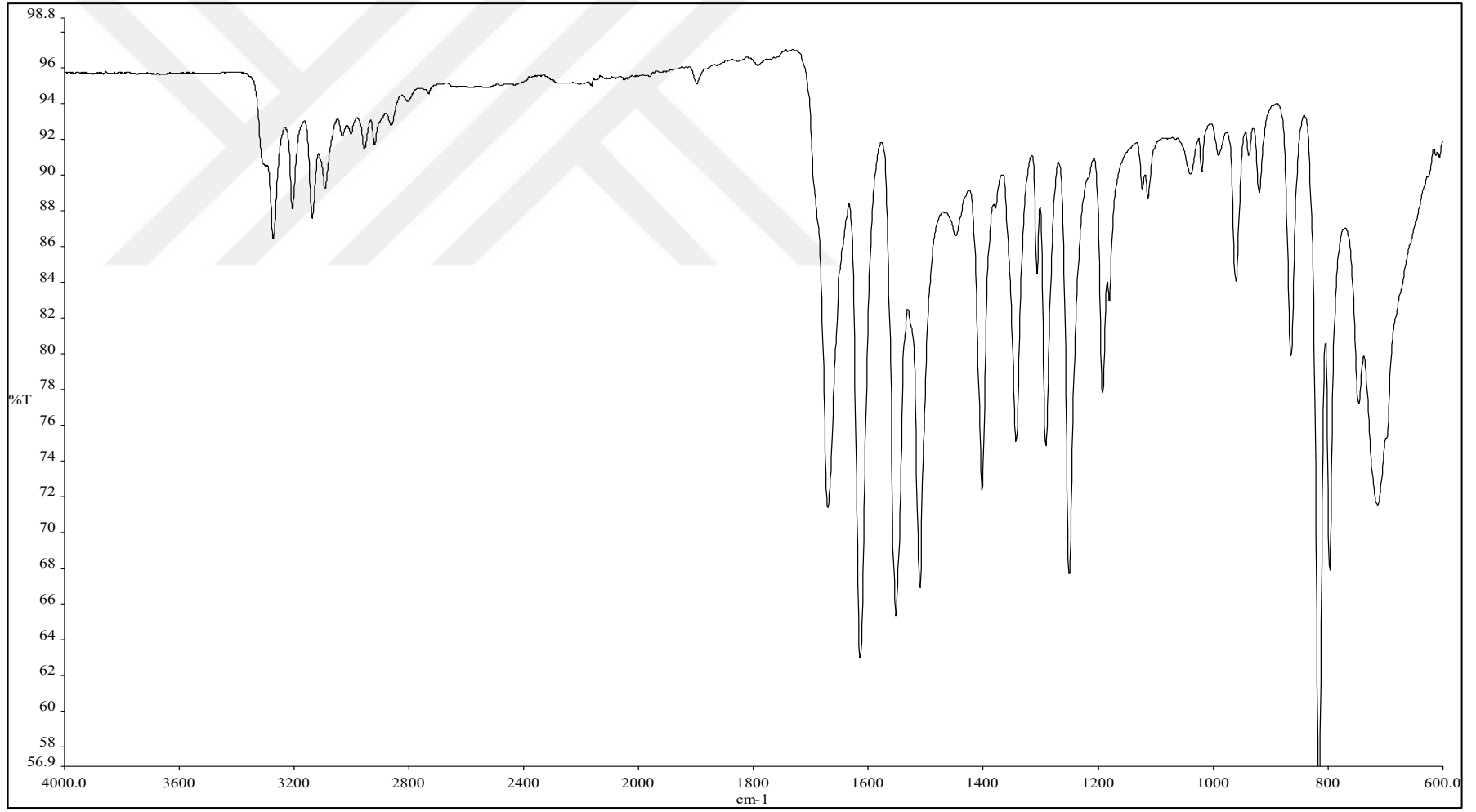


Spektrum 30. 10 No lu Bileşğin IR Spektrumu

mME-bici-apci-poz #48 RT: 0.42 AV: 1 NL: 1.31E7
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]

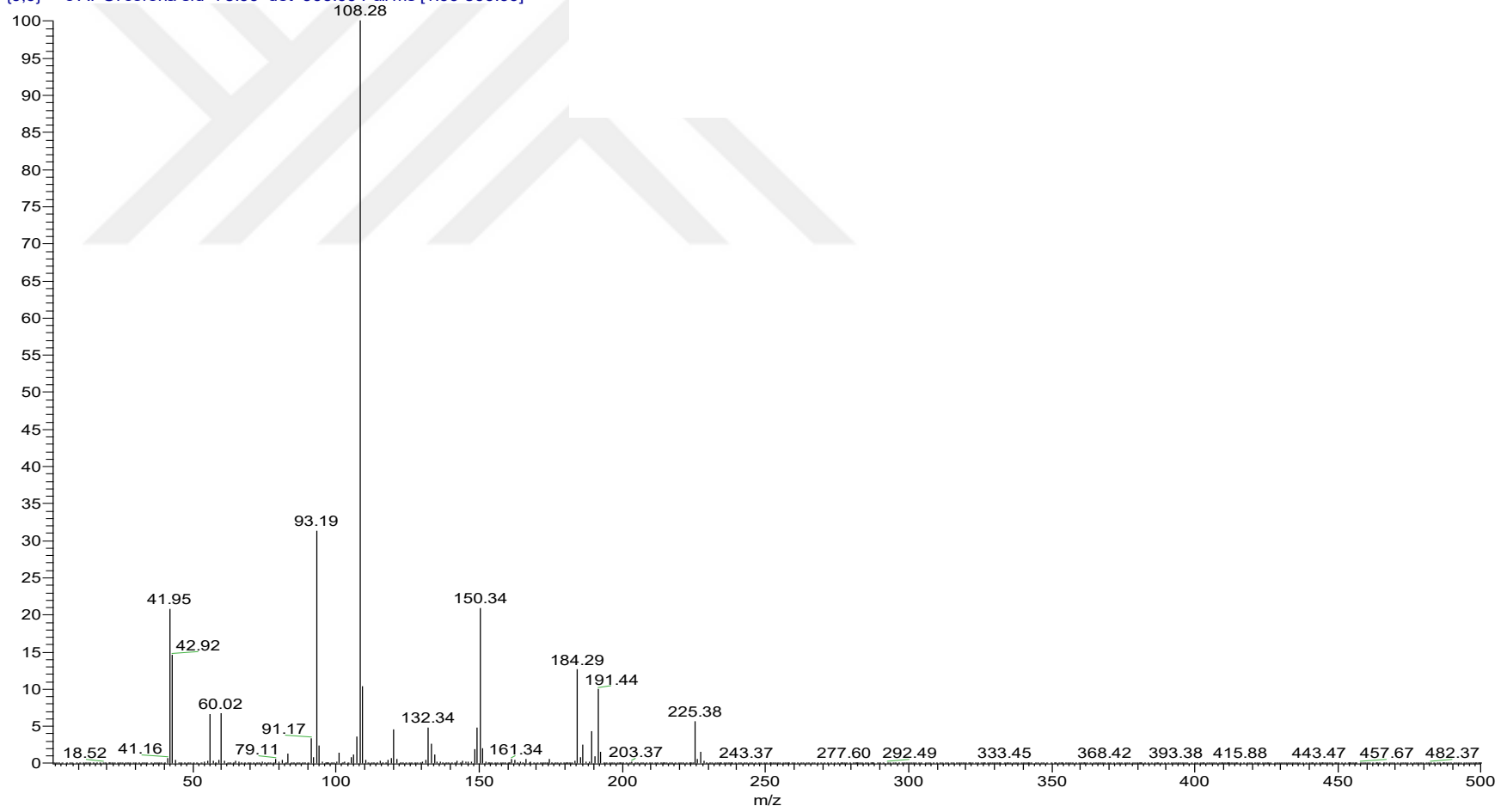


Spektrum 31. 10 No lu Bileşğin Kütle Spektrumu

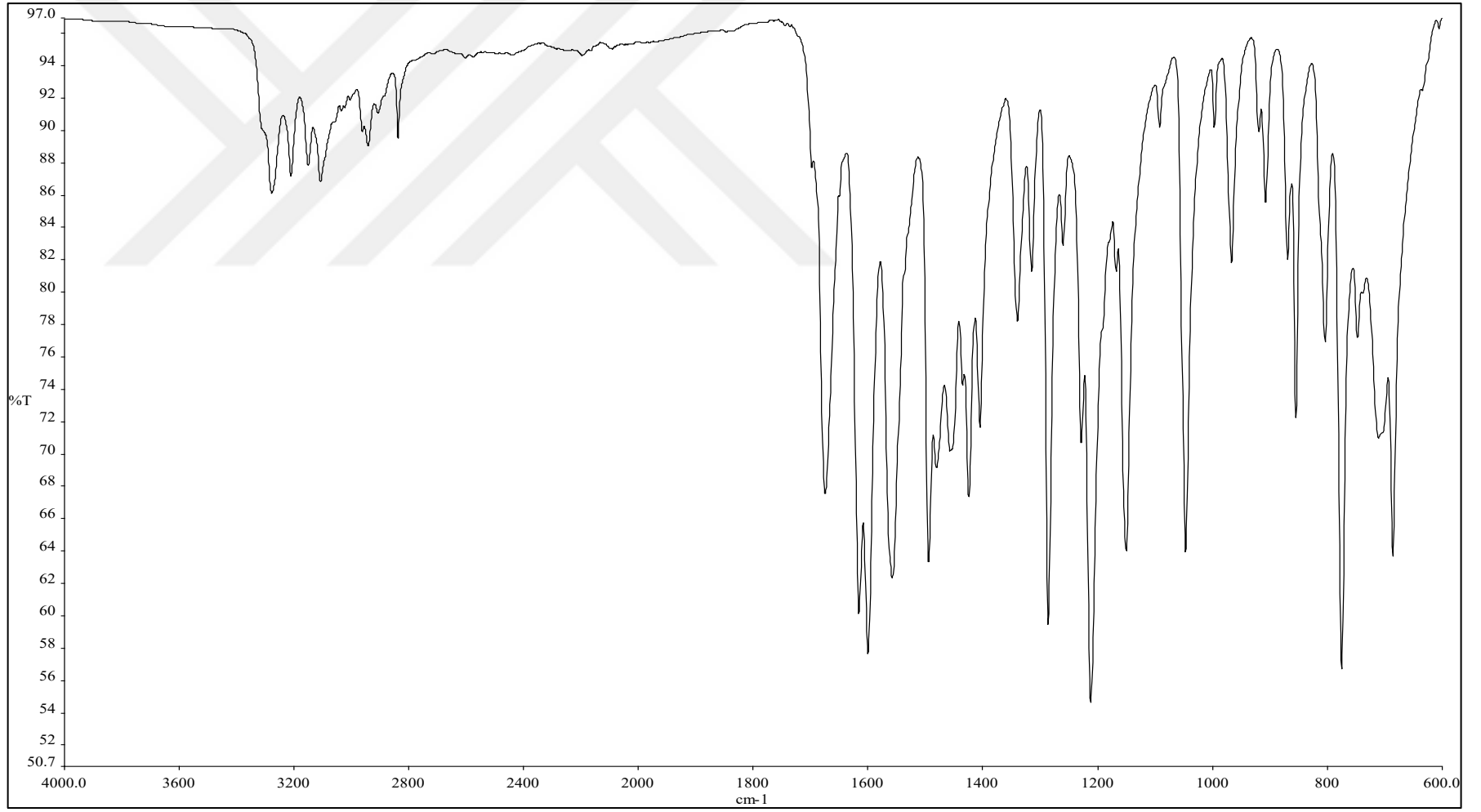


Spektrum 32. 11 No lu Bileşğin IR Spektrumu

pME-aat-apci-poz #48 RT: 0.42 AV: 1 NL: 1.37E7
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]

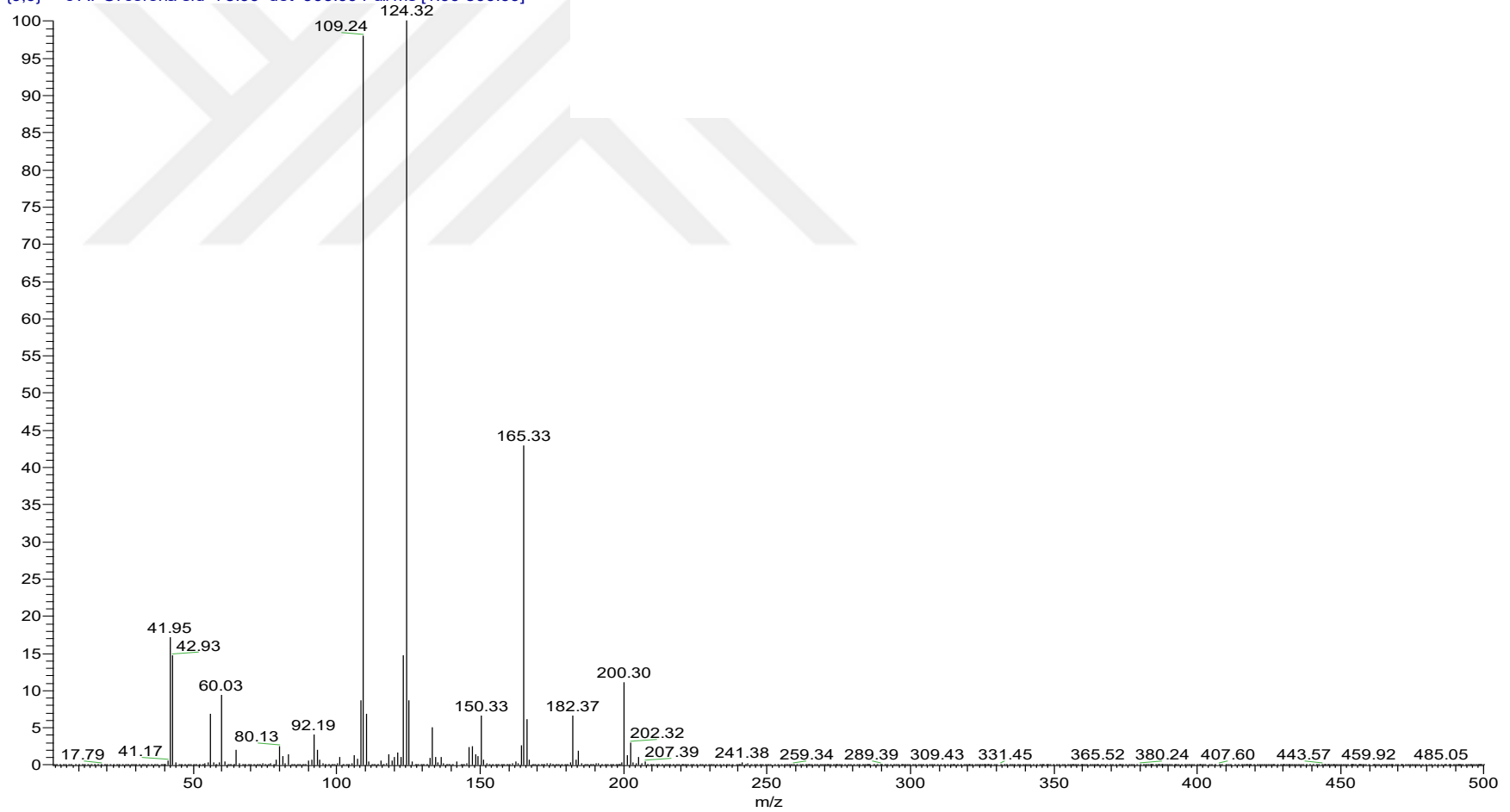


Spektrum 33. 11 No lu Bileşğin Kütle Spektrumu

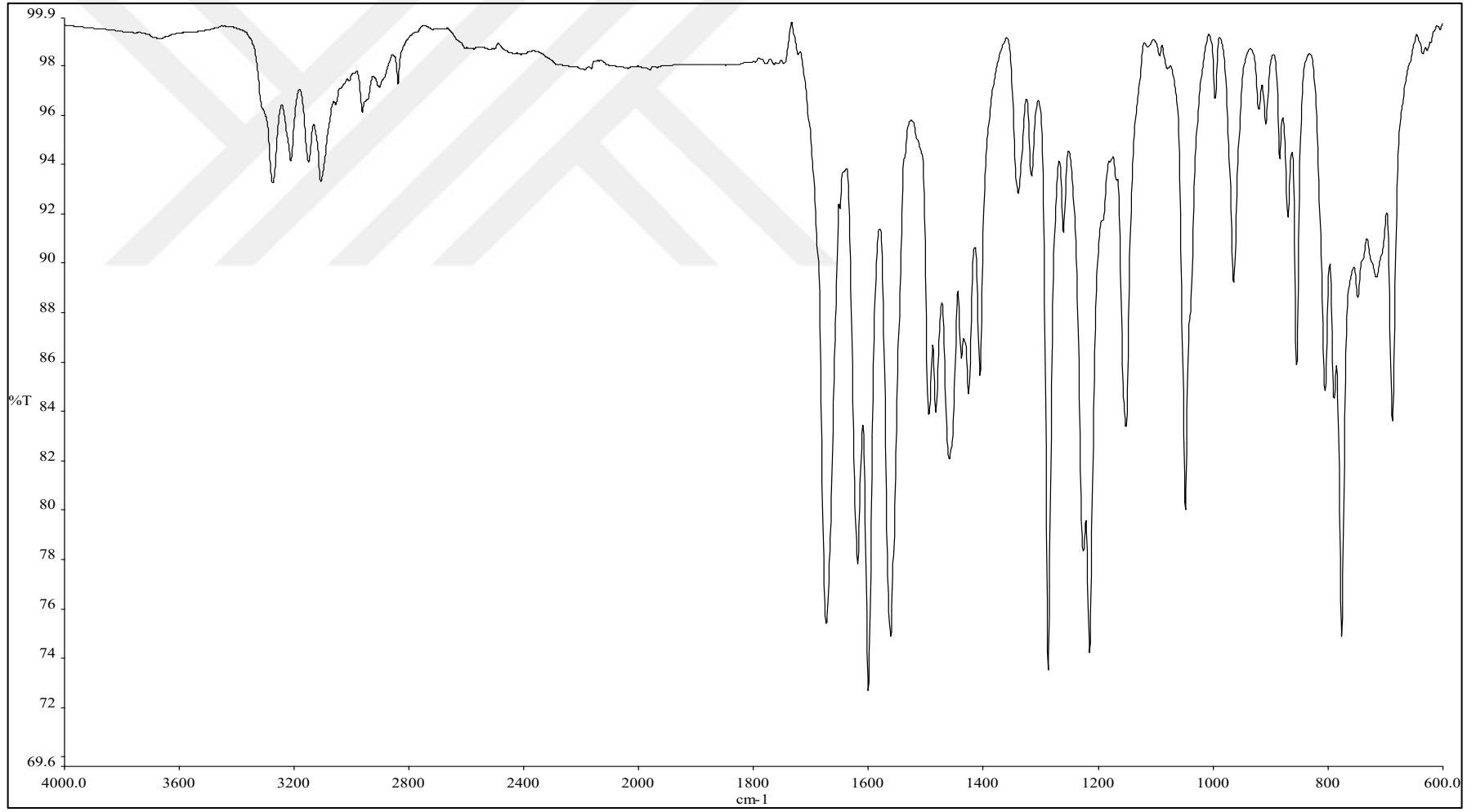


Spektrum 34. 12 No lu Bileşğin IR Spektrumu

ooME-aat-apci-poz #52 RT: 0.46 AV: 1 NL: 1.06E7
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]

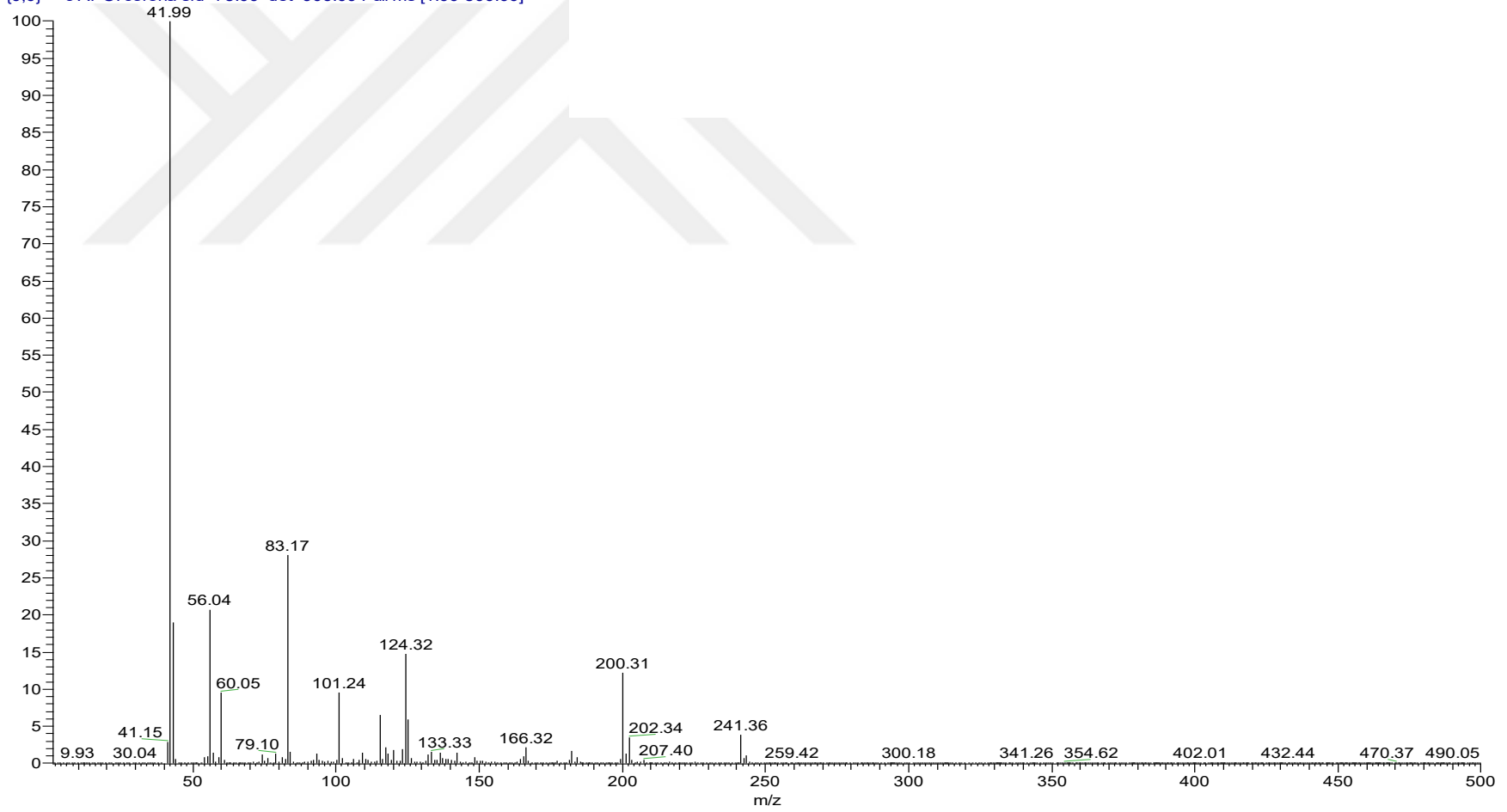


Spektrum 35. 12 No lu Bileşğin Kütle Spektrumu

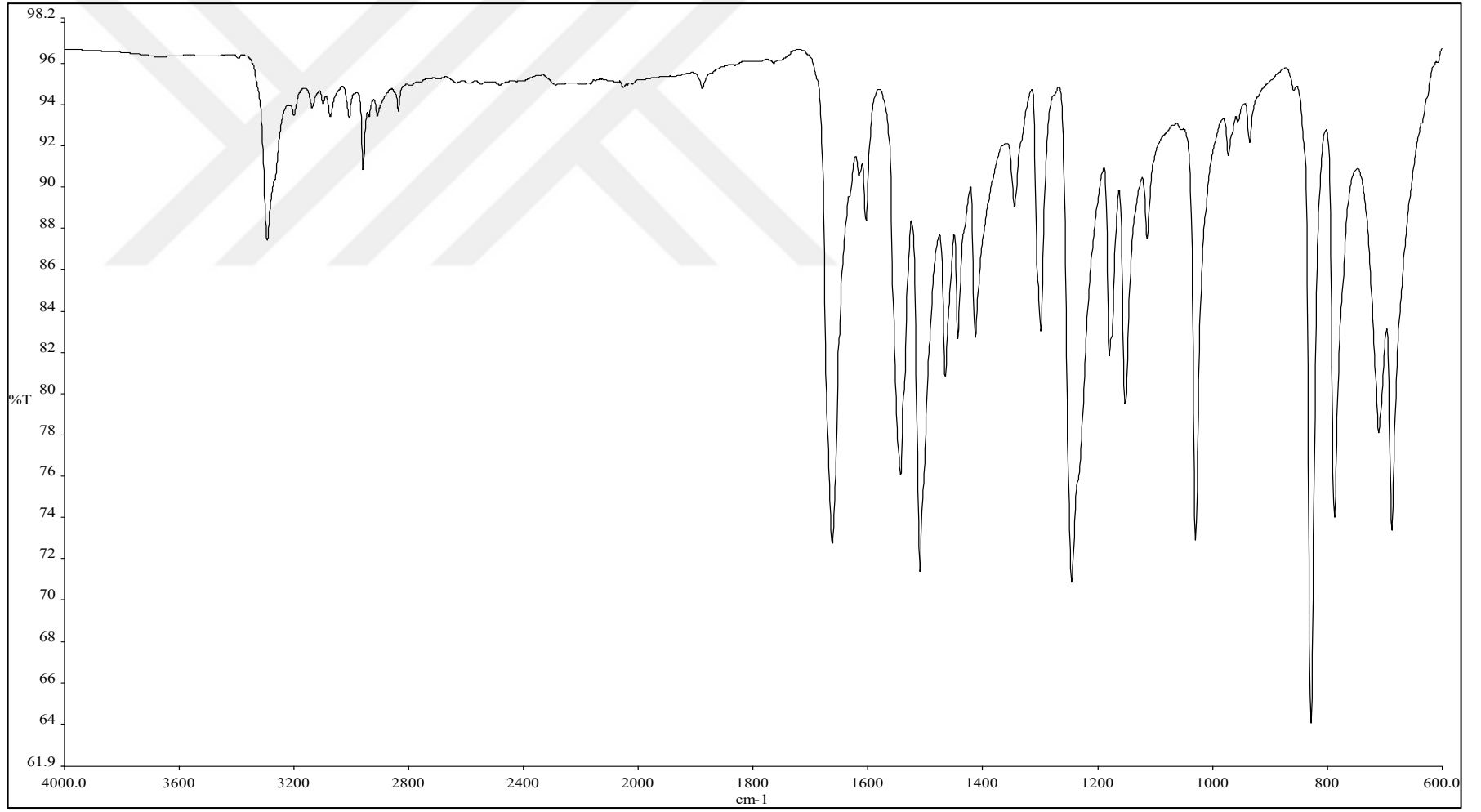


Spektrum 36. 13 No lu Bileşğin IR Spektrumu

moMeaat-apci-poz #53 RT: 0.47 AV: 1 NL: 7.43E6
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]

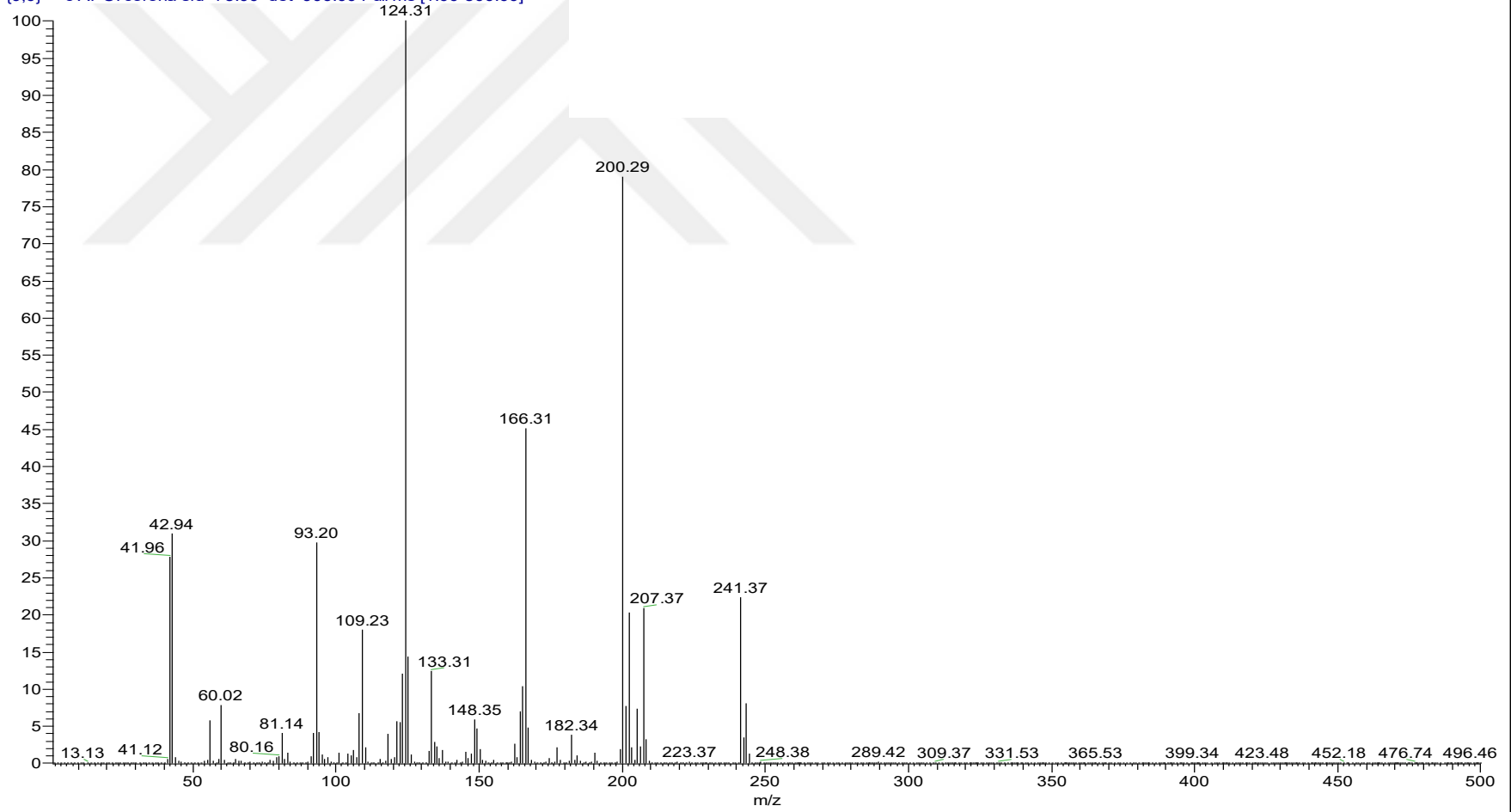


Spektrum 37. 13 No lu Bileşğin Kütle Spektrumu

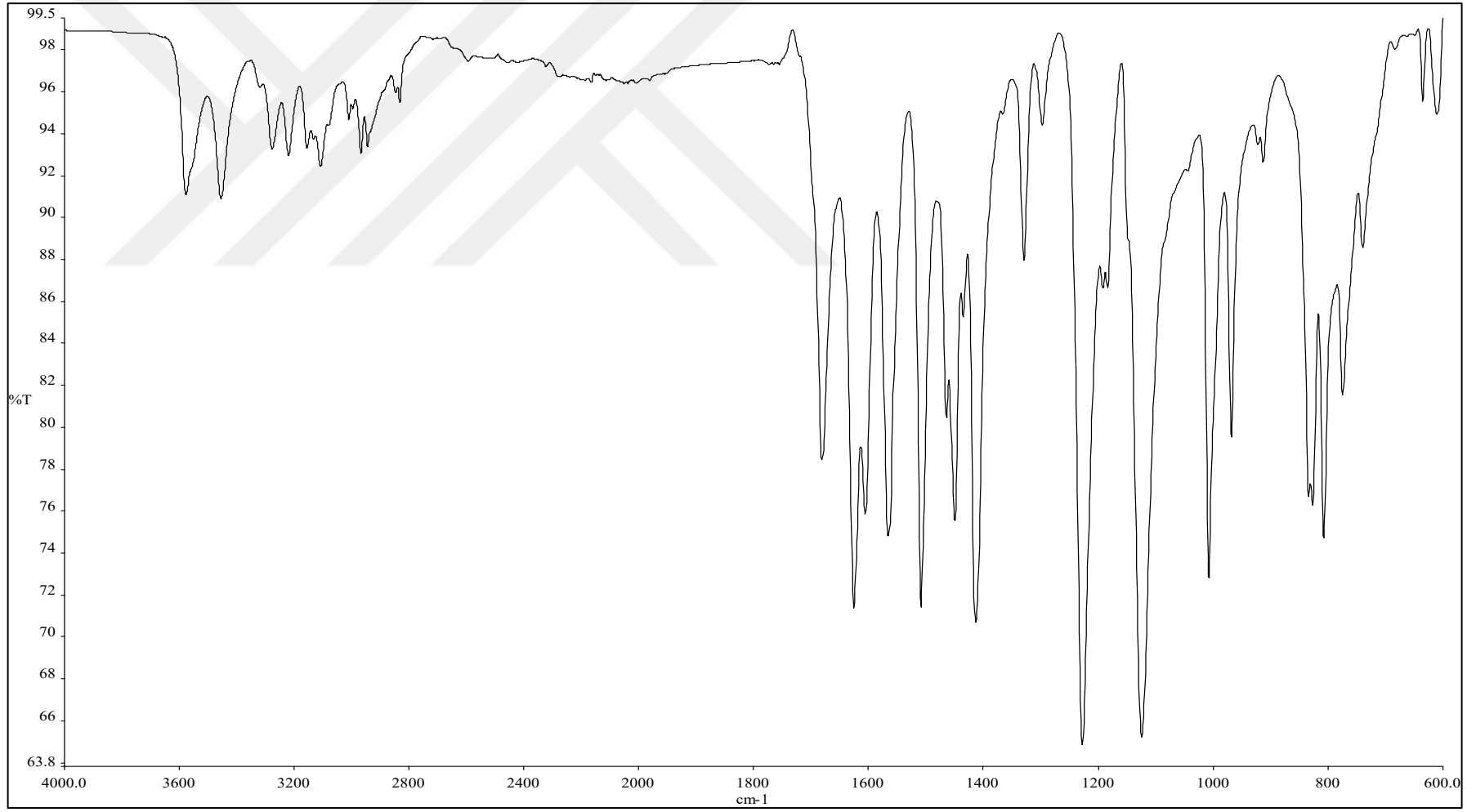


Spektrum 38. 14 No lu Bileşğin IR Spektrumu

poME-aat-apci-poz #43 RT: 0.38 AV: 1 NL: 7.93E6
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]

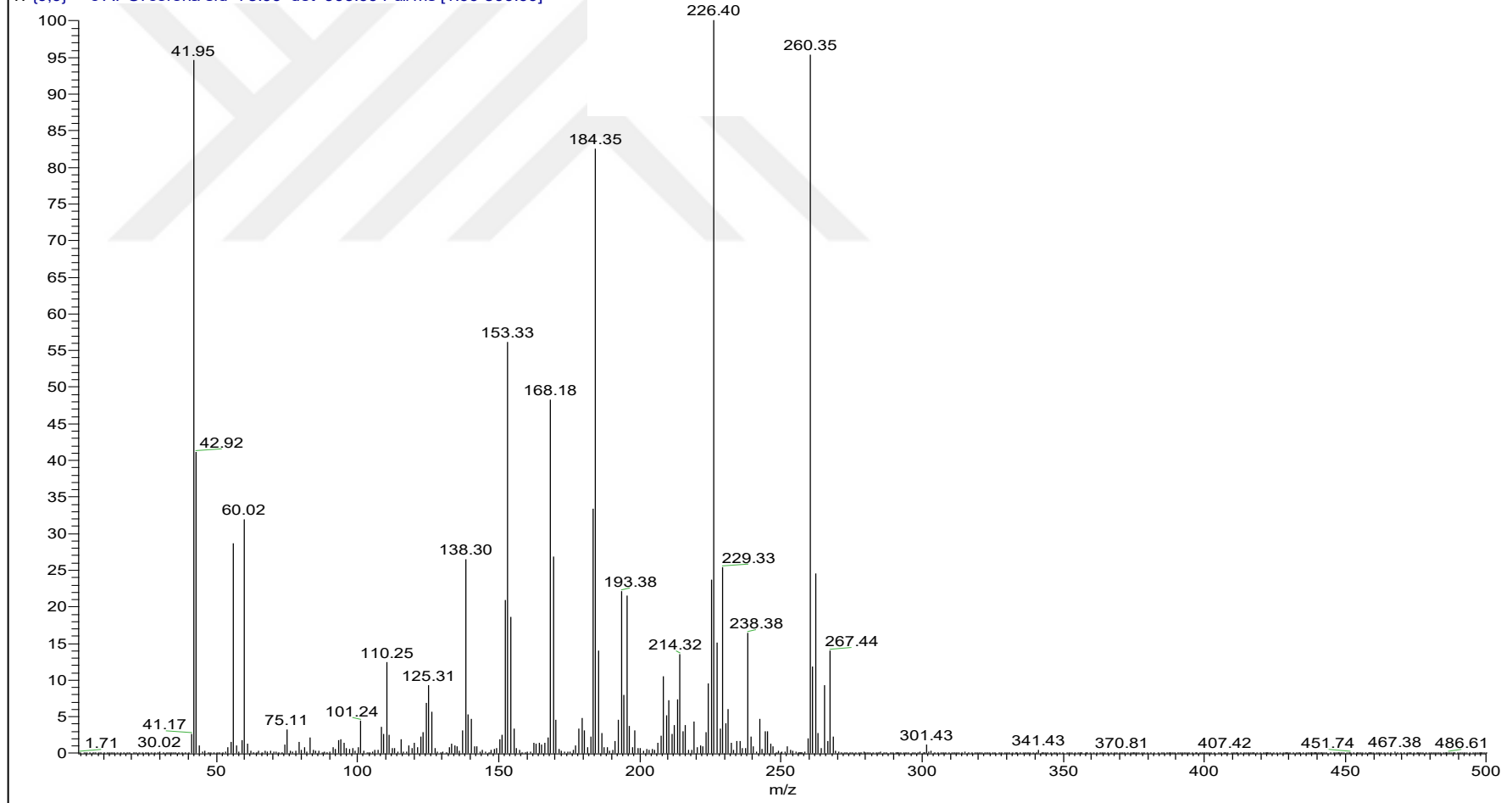


Spektrum 39. 14 No lu Bileşğin Kütle Spektrumu

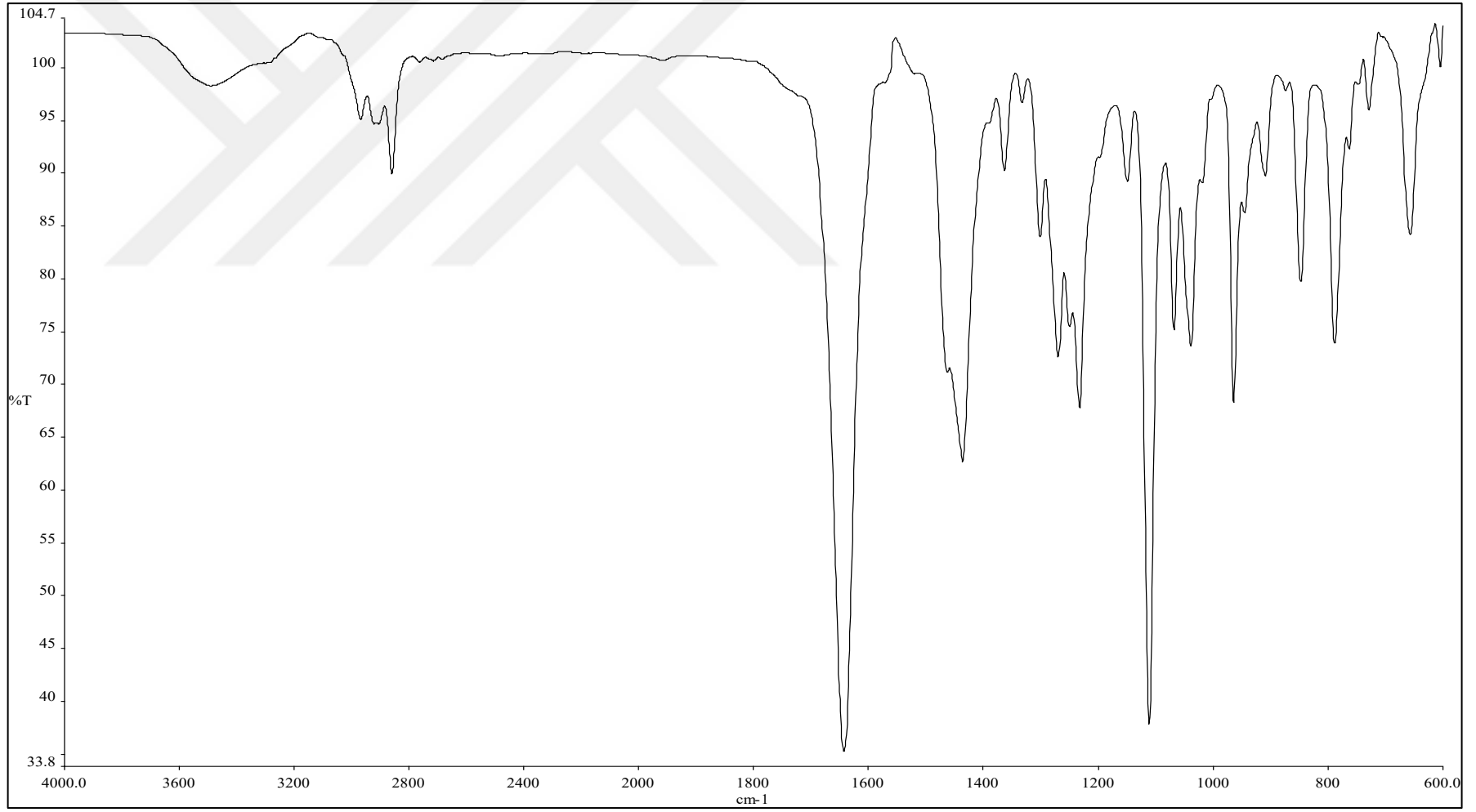


Spektrum 40. 15 No lu Bileşğin IR Spektrumu

toME-aat-apci-poz #43 RT: 0.38 AV: 1 NL: 3.31E6
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]

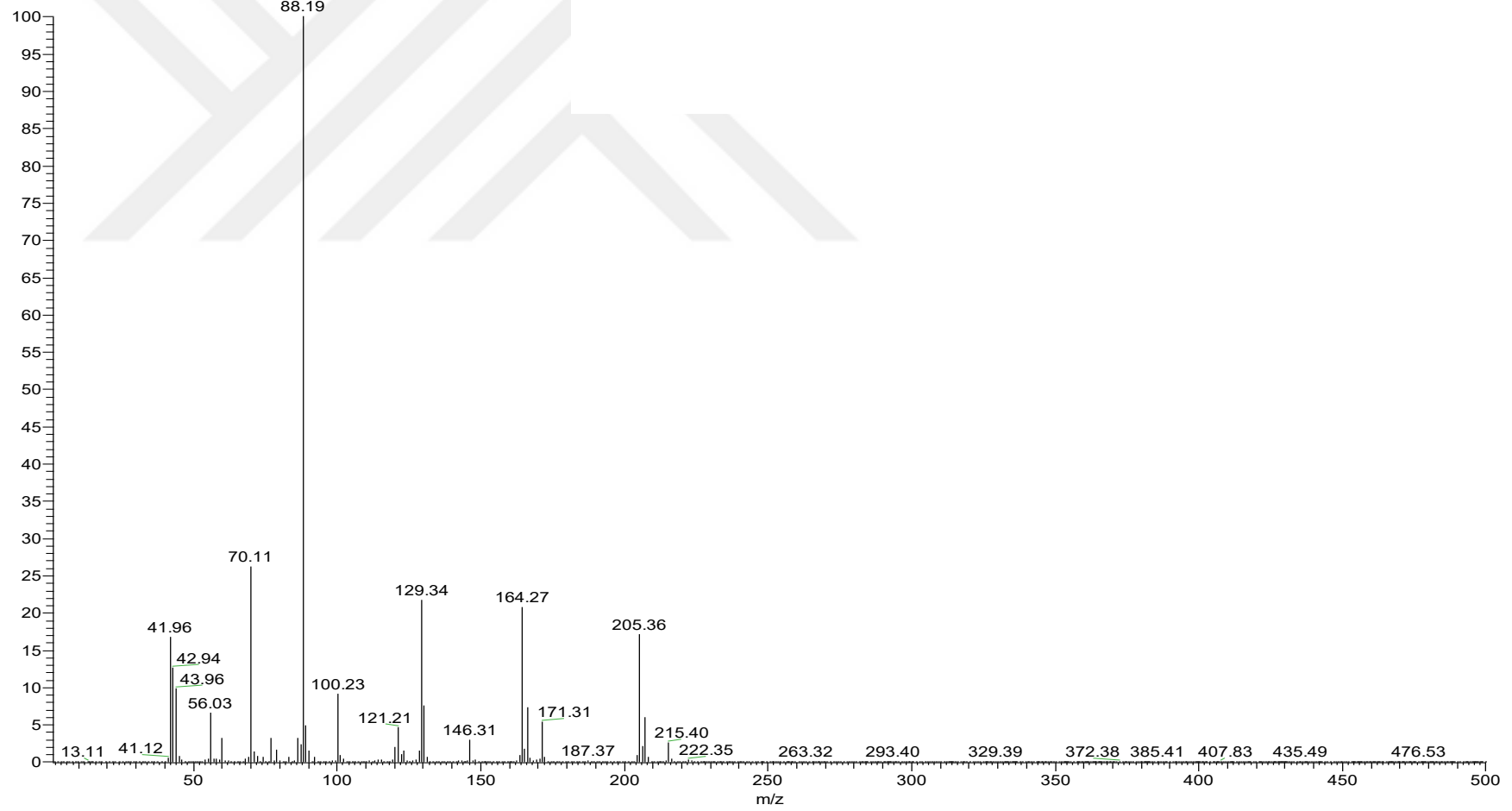


Spektrum 41. 15 No lu Bileşğin Kütle Spektrumu

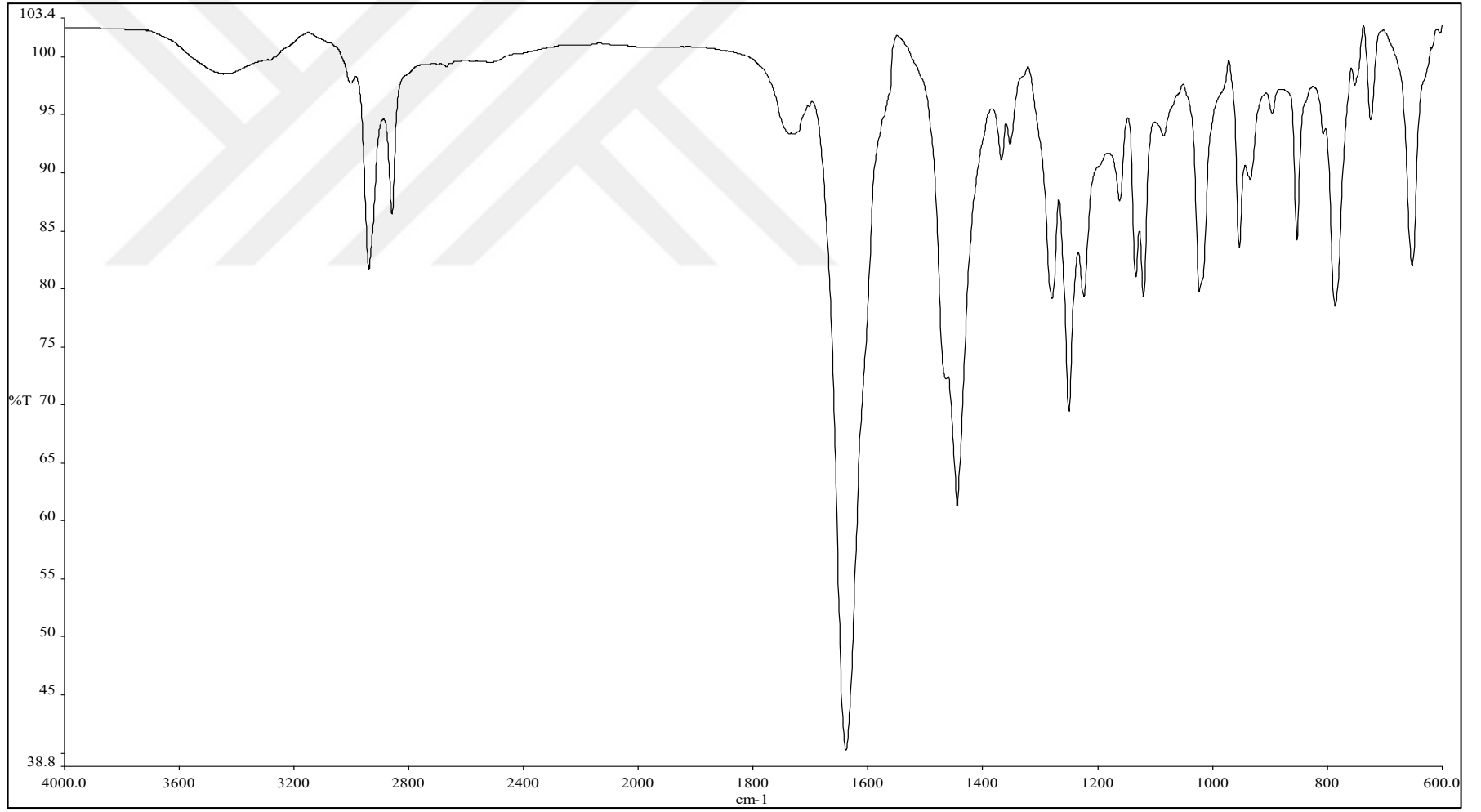


Spektrum 42. 16 No lu Bileşigin IR Spektrumu

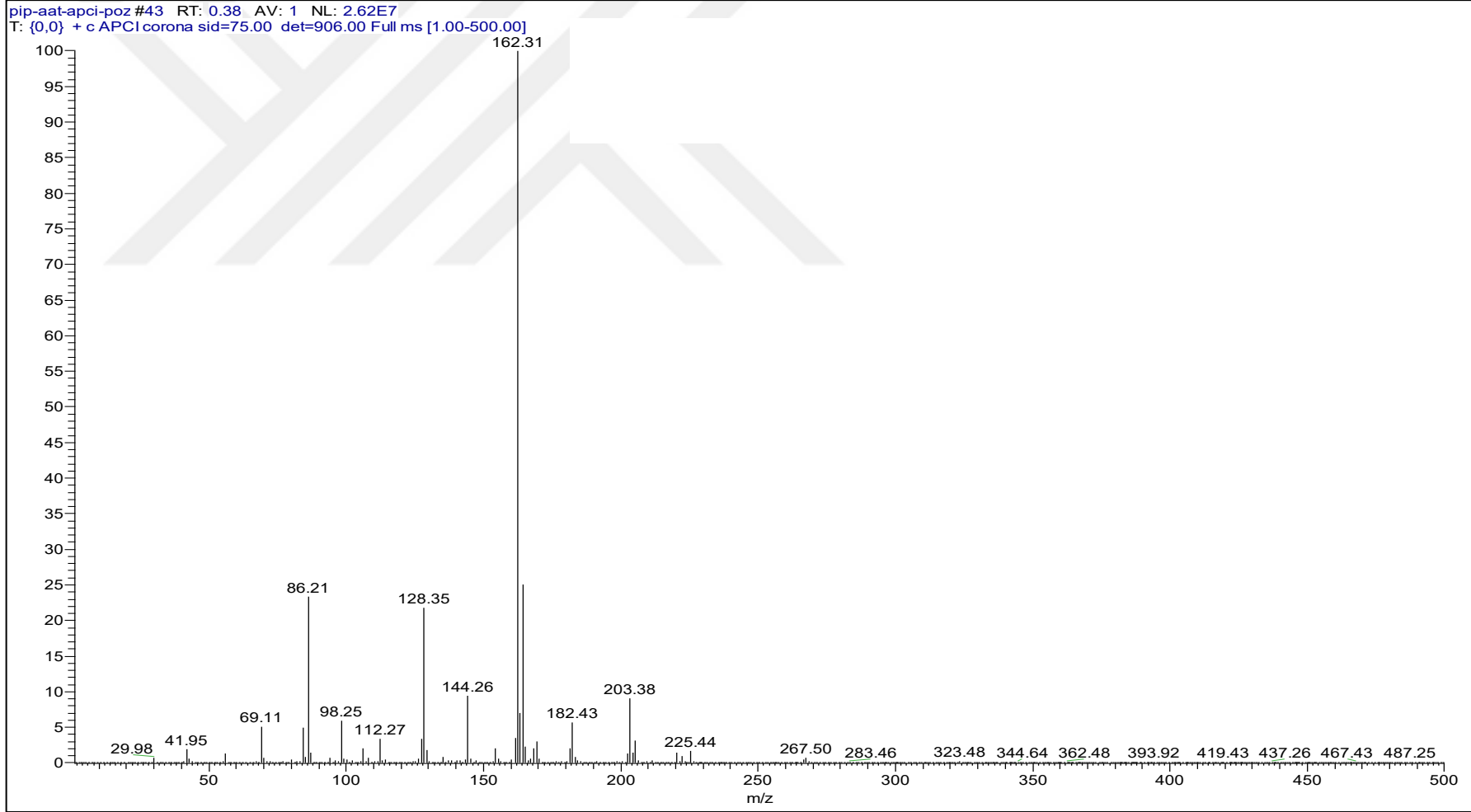
morf-aat-apci-pos #39 RT: 0.34 AV: 1 NL: 1.10E7
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]



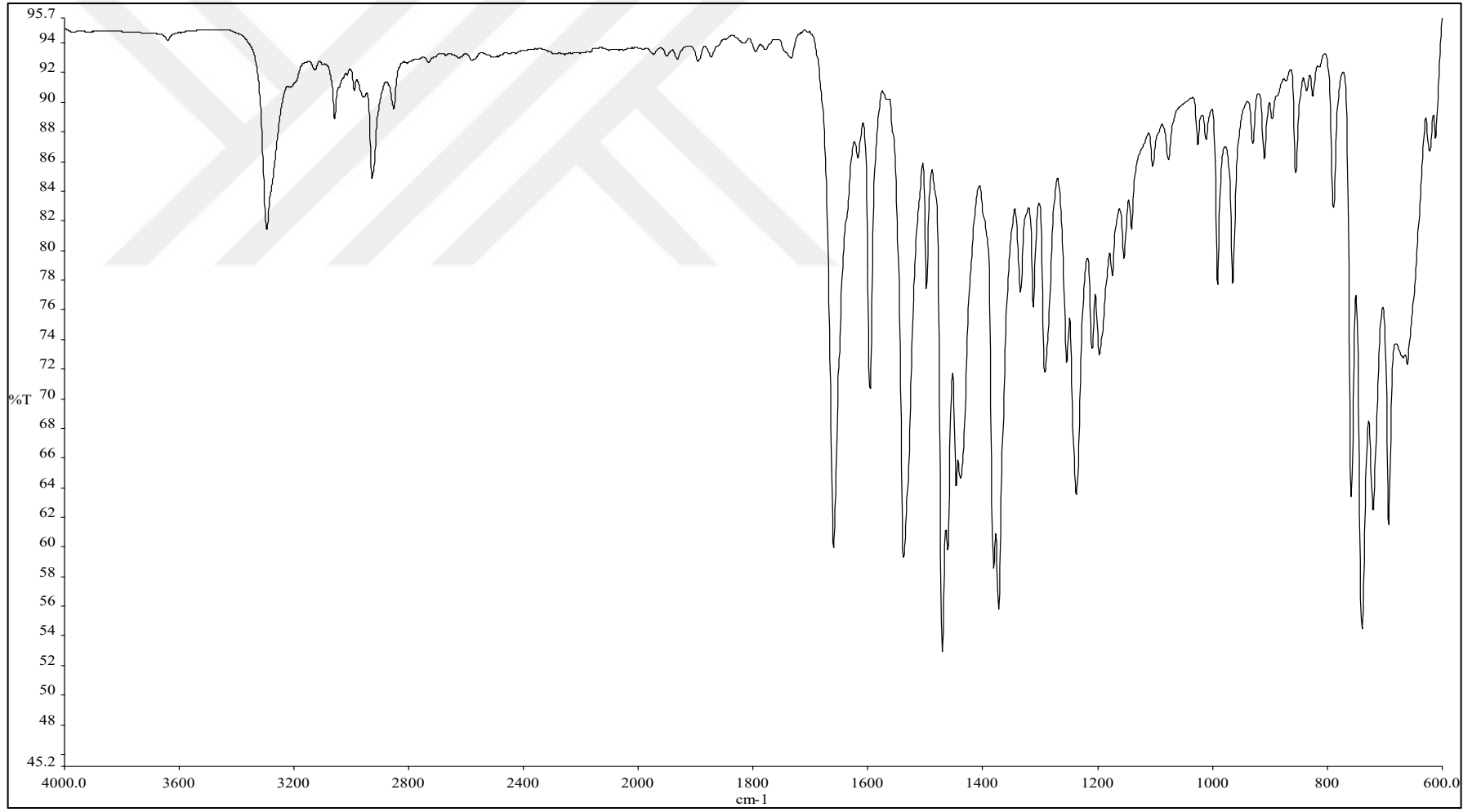
Spektrum 43. 16 No lu Bileşğin Kütle Spektrumu



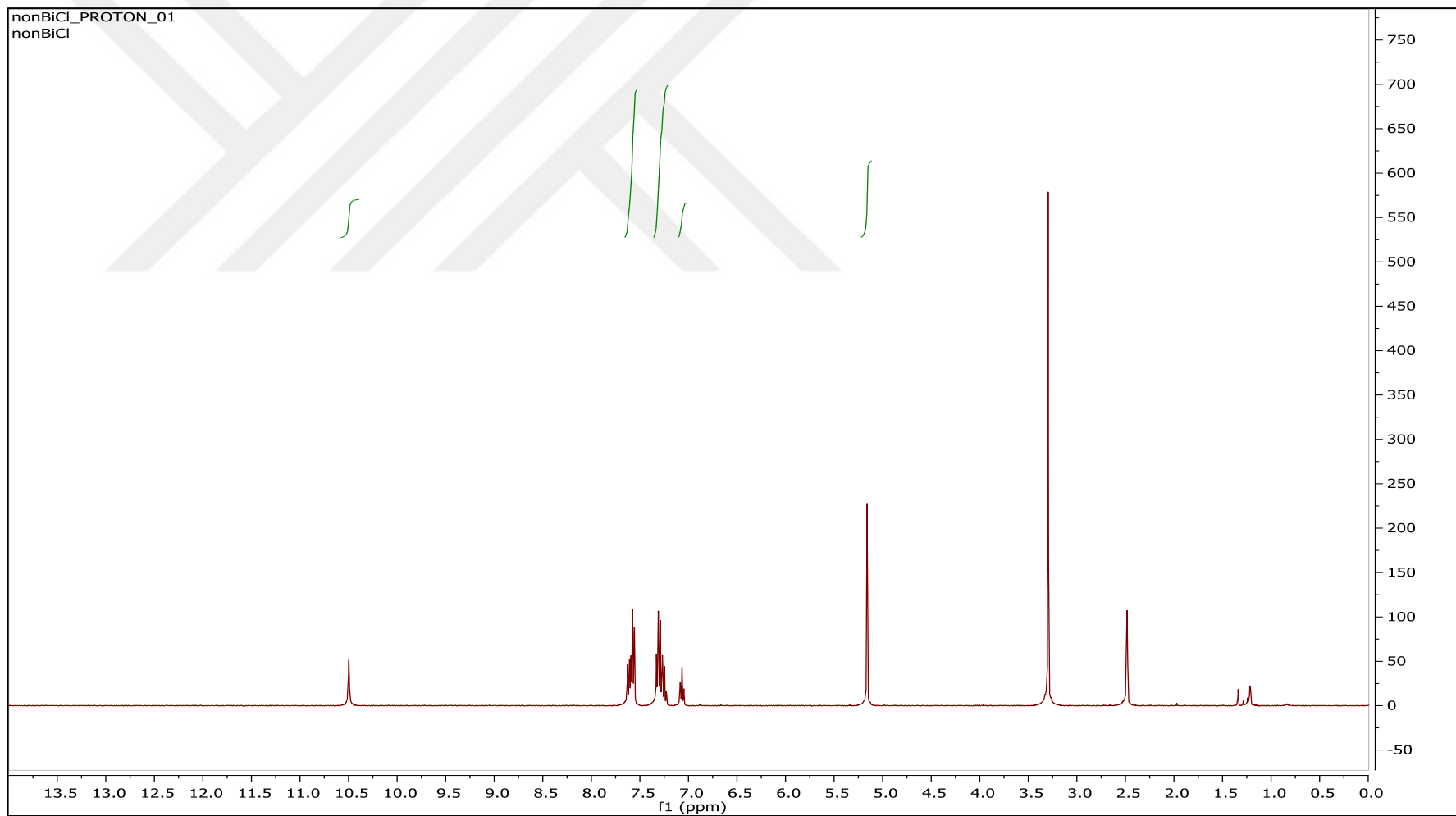
Spektrum 44. 17 No lu Bileşğin IR Spektrumu



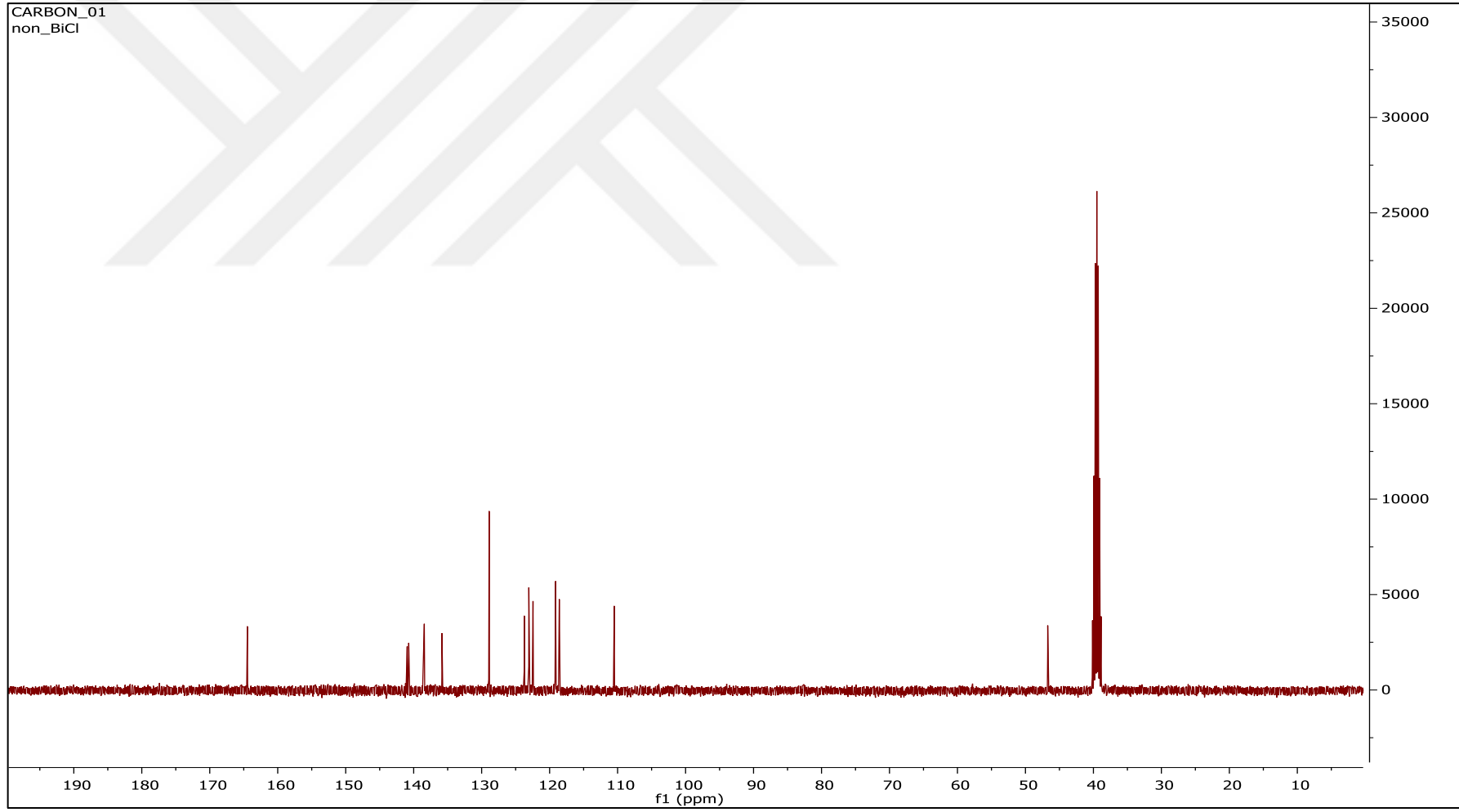
Spektrum 45. 17 No lu Bileşğin Kütle Spektrumu



Spektrum 46. BCL1 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

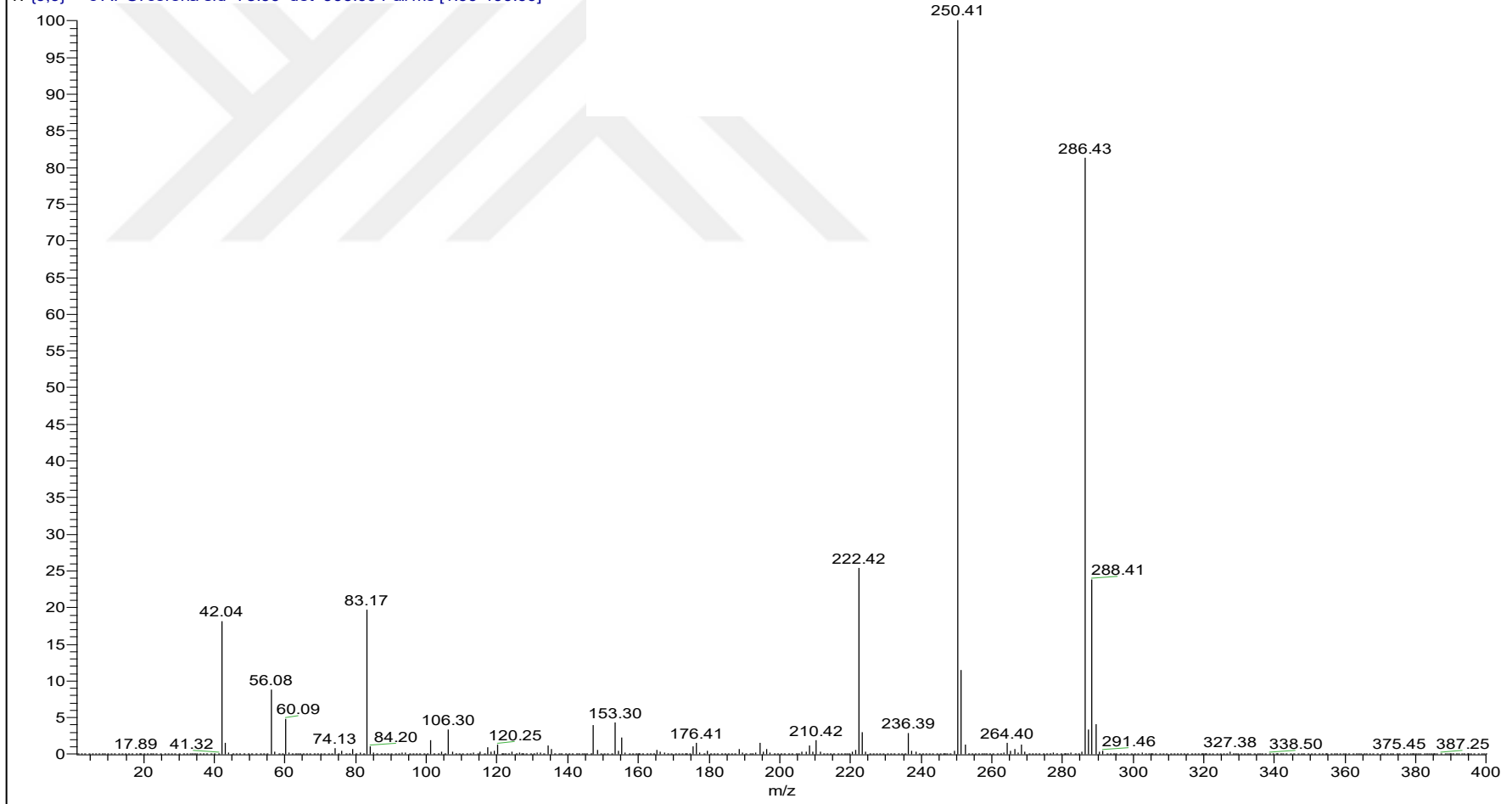


Spektrum 47. BCL1 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

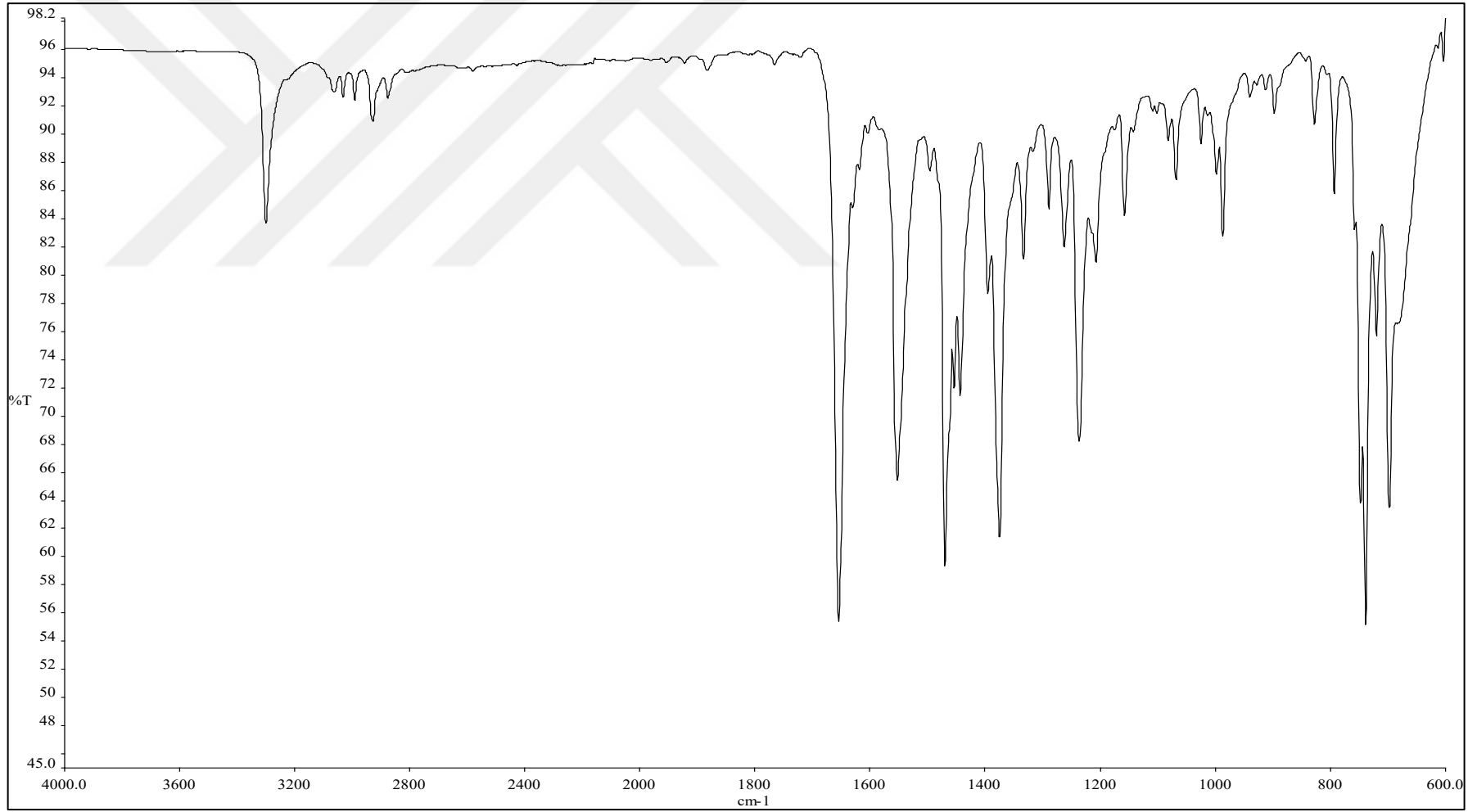


Spektrum 48. BCL1 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

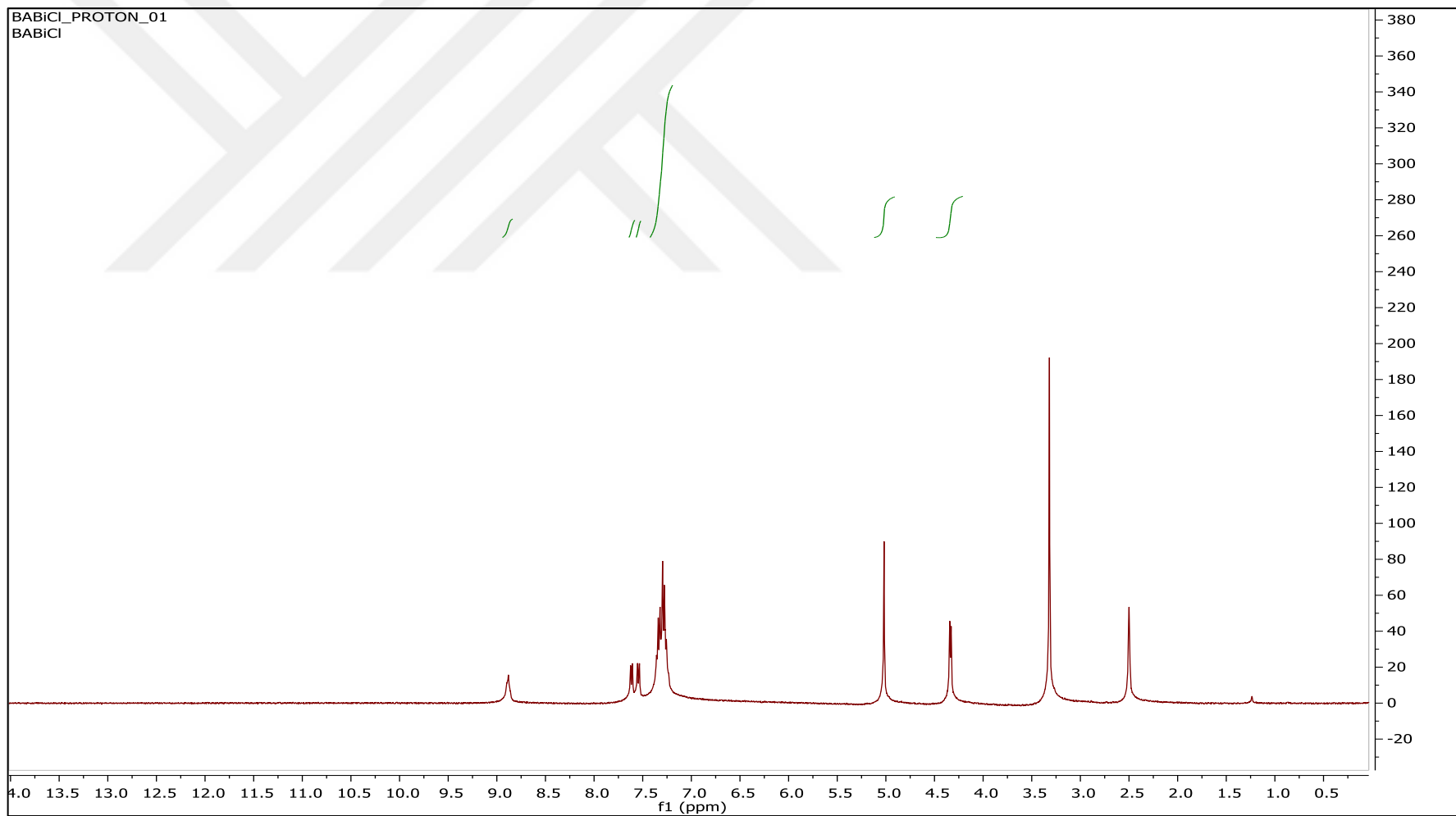
nonBic1 #72 RT: 0.63 AV: 1 NL: 6.11E6
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-400.00]



Spektrum 49. BCL1 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu

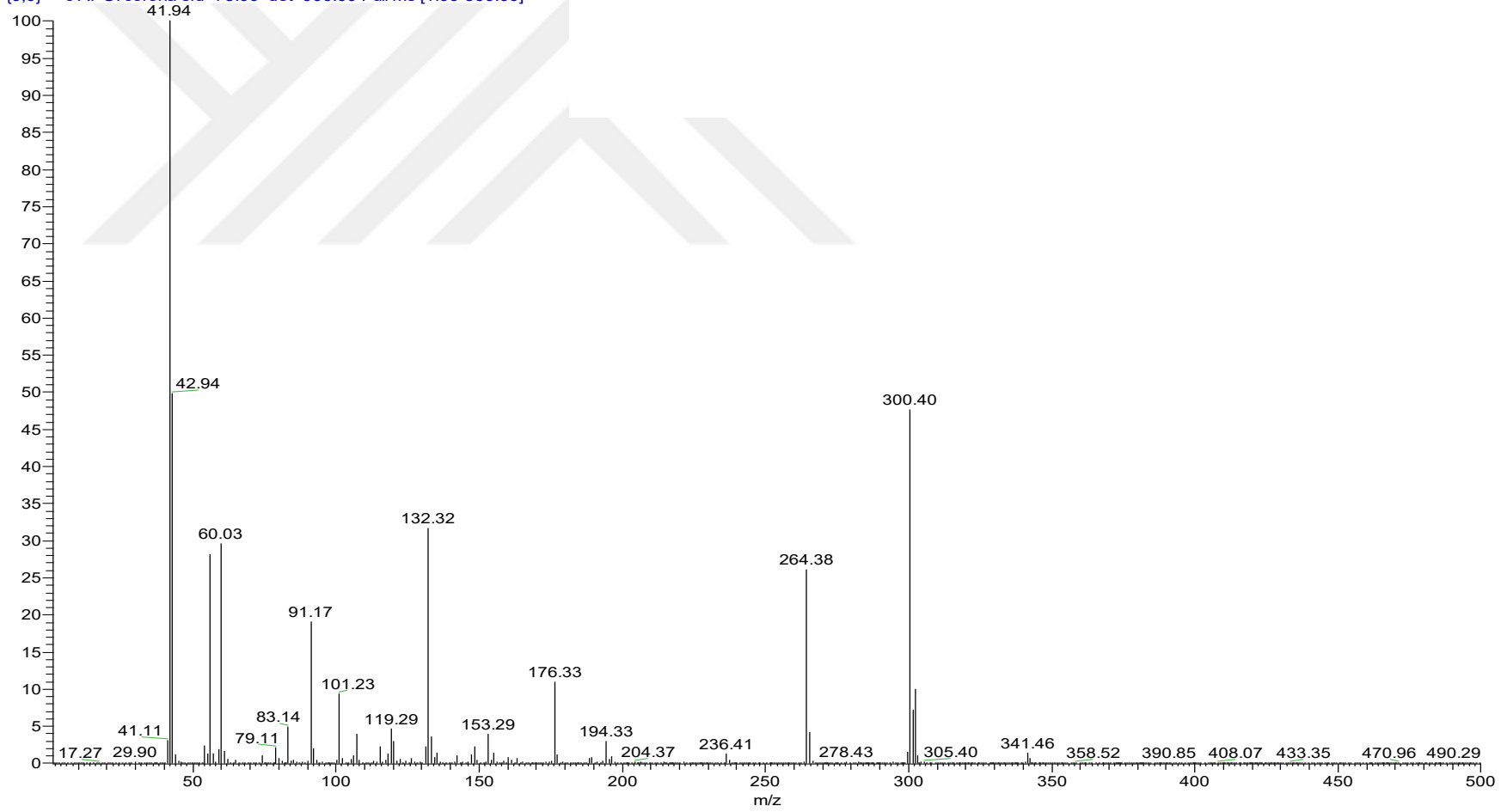


Spektrum 50. BCL2 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

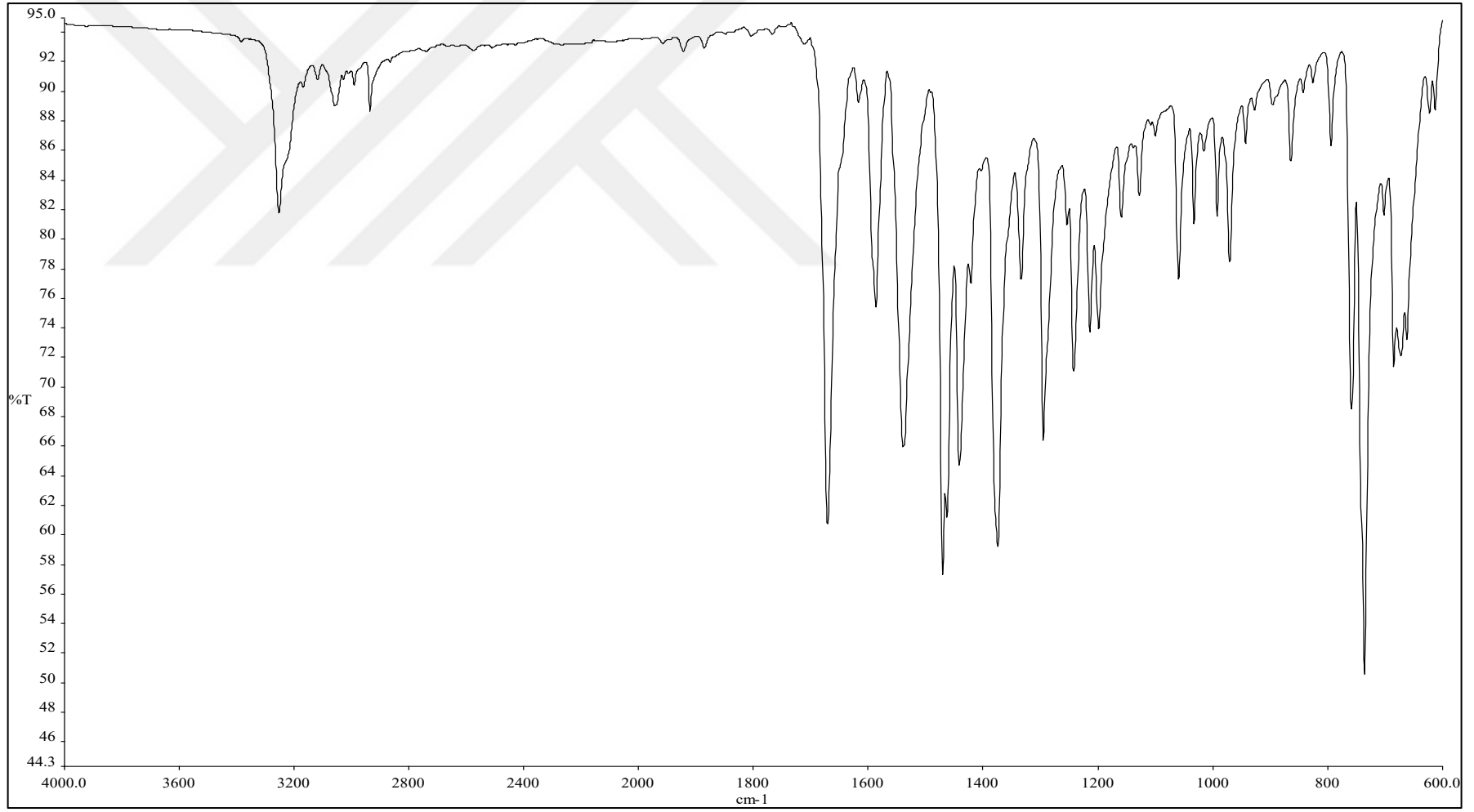


Spektrum 51. BCL2 Kodlu Bileşiğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

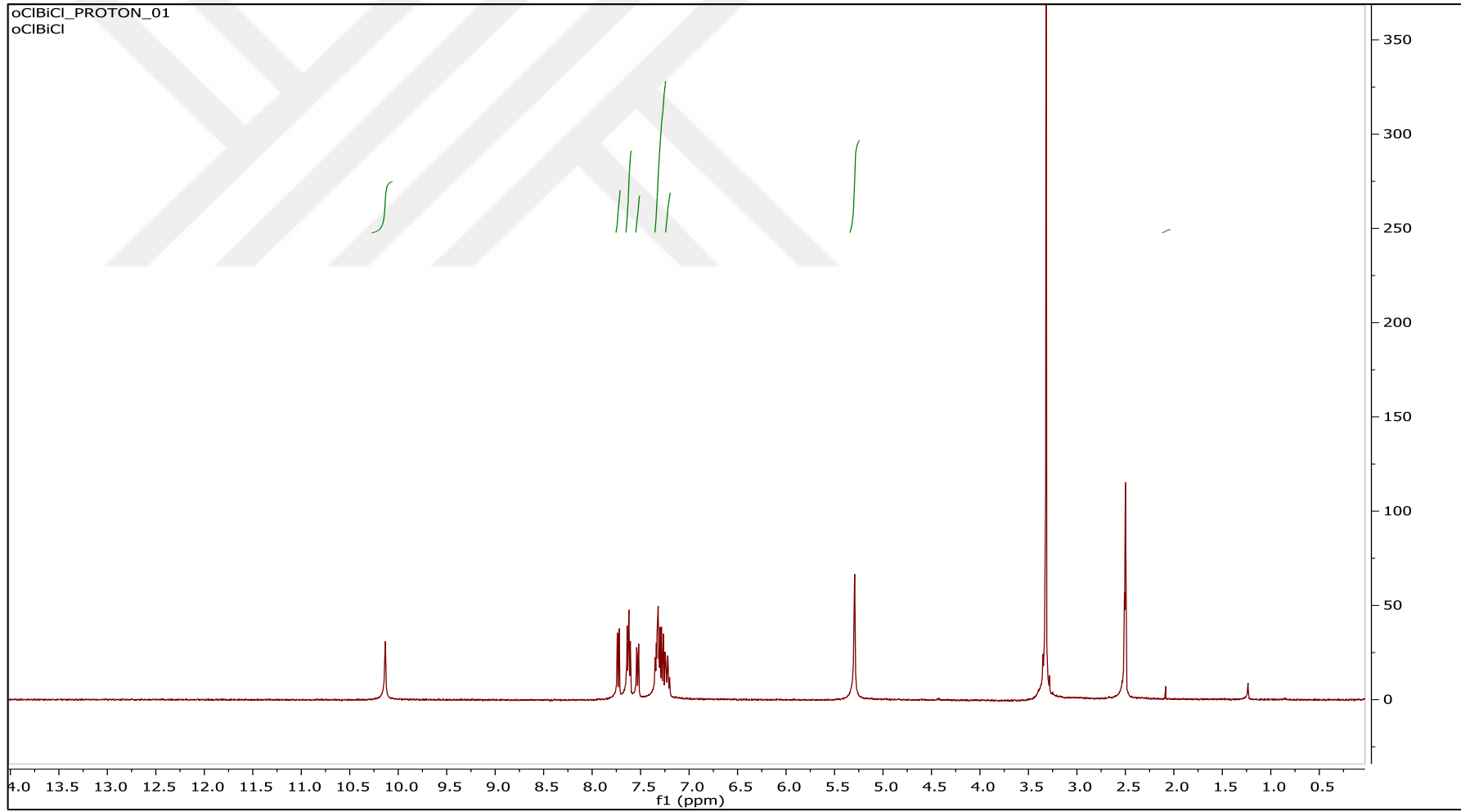
BA-Bicl-apci-poz #43 RT: 0.38 AV: 1 NL: 3.43E6
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]



Spektrum 52. BCL2 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu

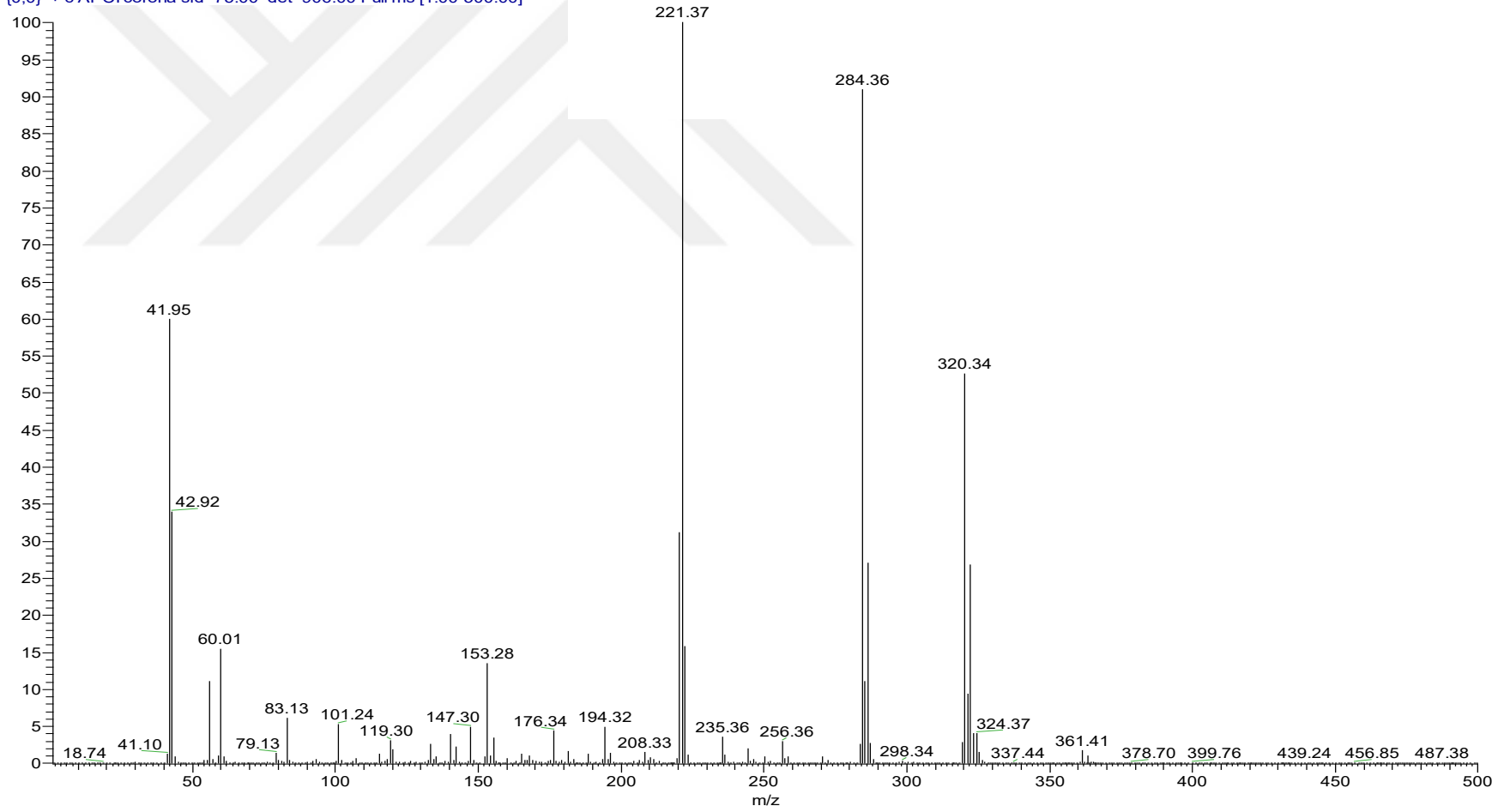


Spektrum 53. BCL3 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

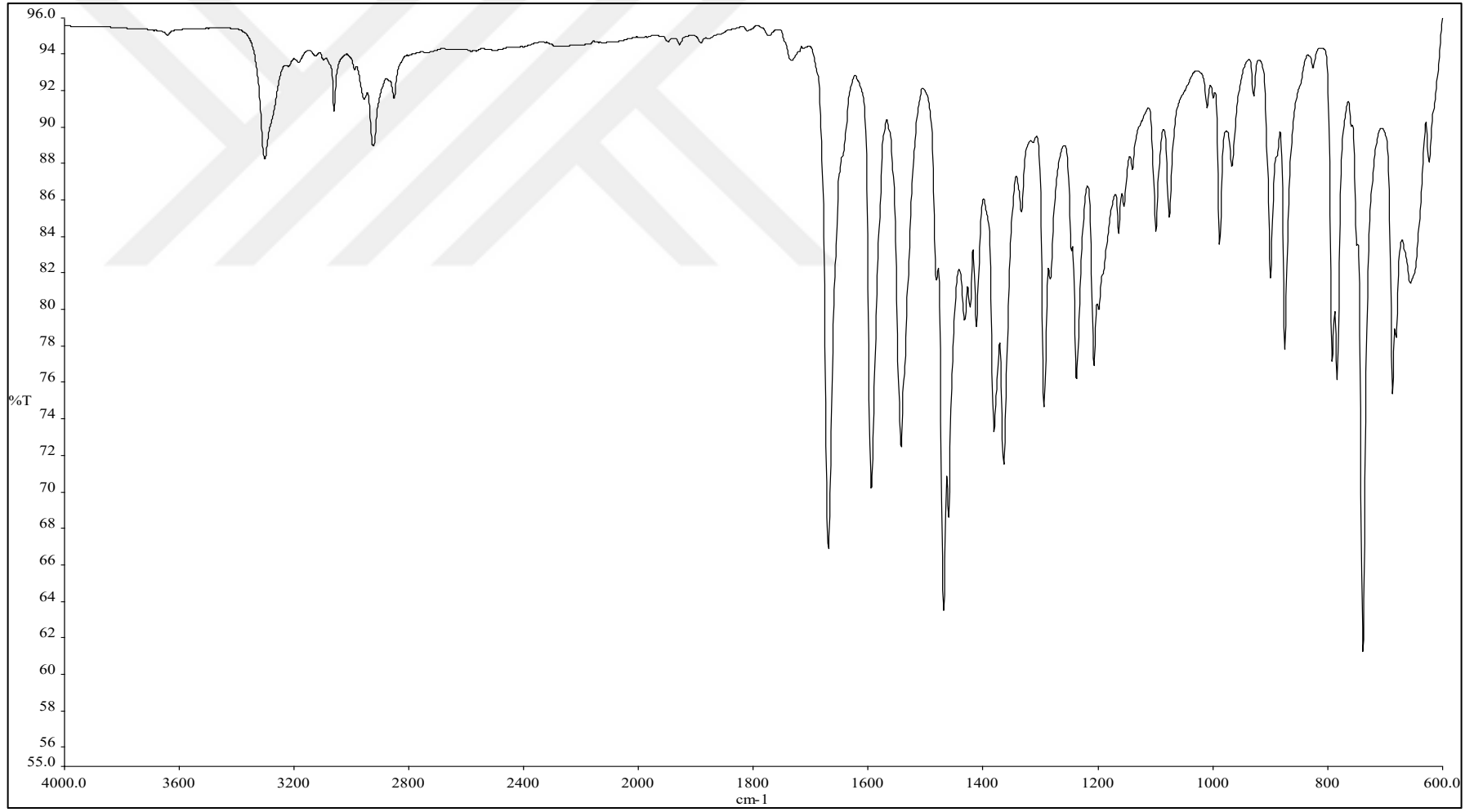


Spektrum 54. BCL3 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

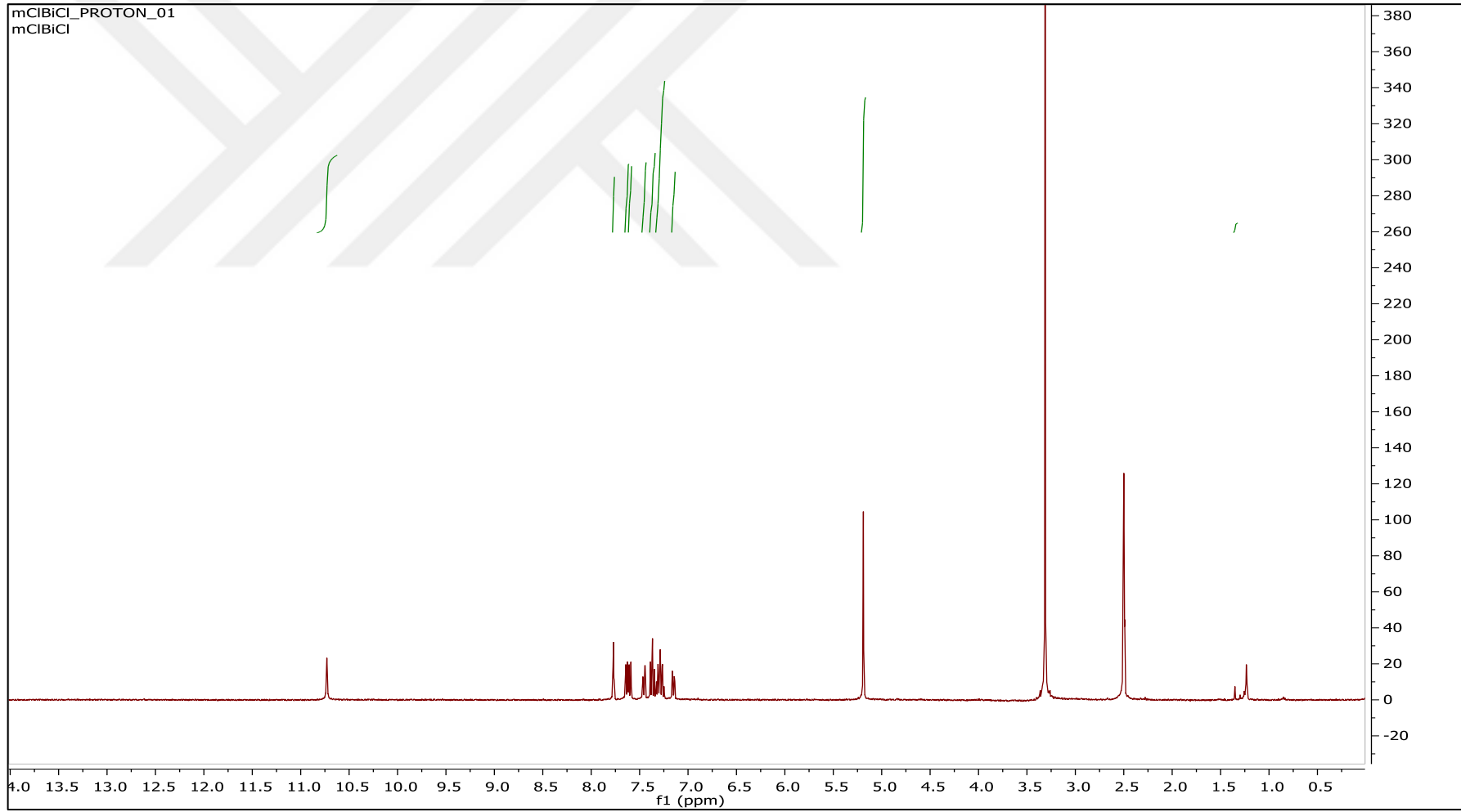
oCl-Bicl-apci-poz #64 RT: 0.57 AV: 1 NL: 4.41E6
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]



Spektrum 55. BCL3 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu

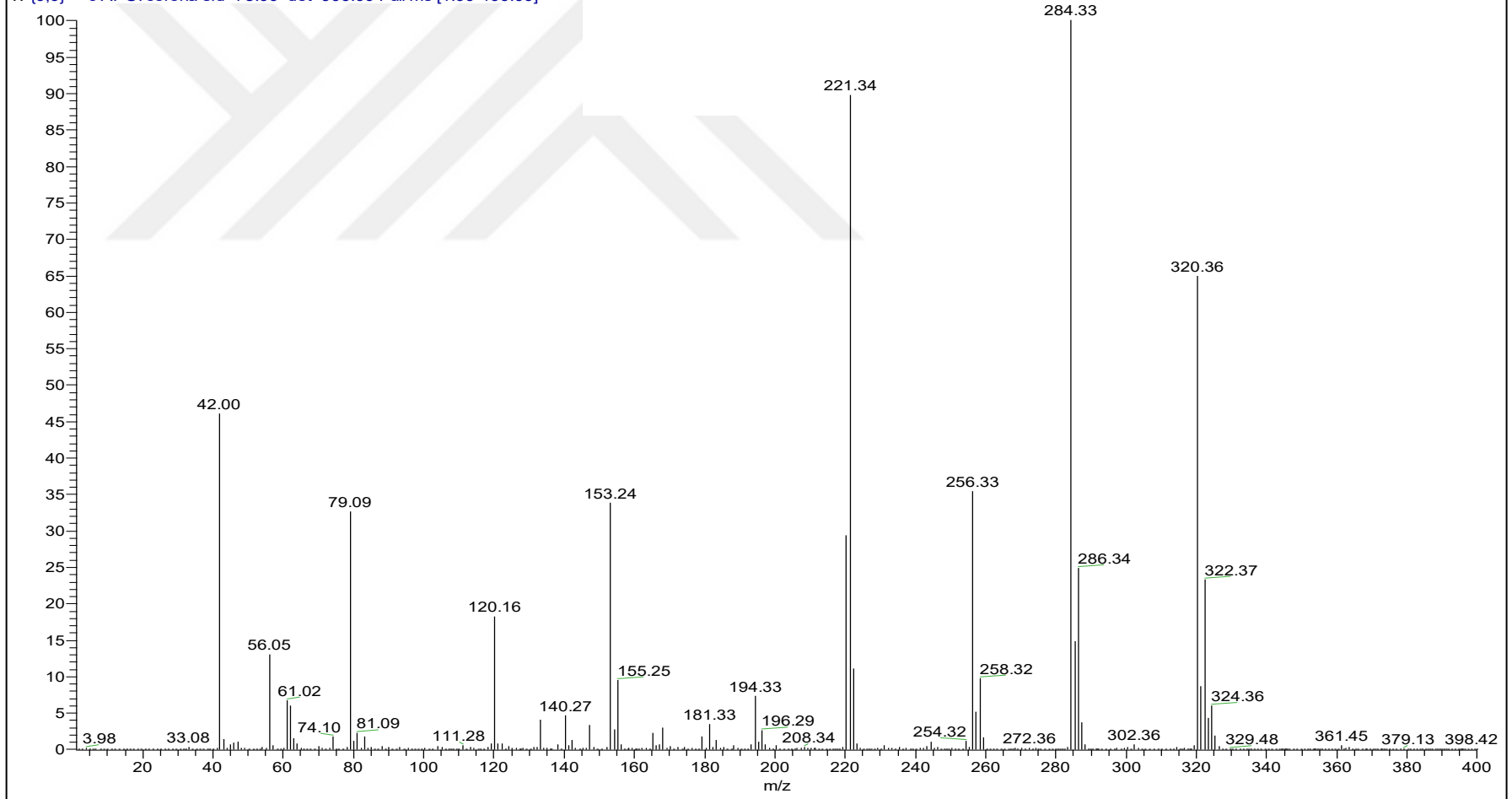


Spektrum 56. BCL4 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

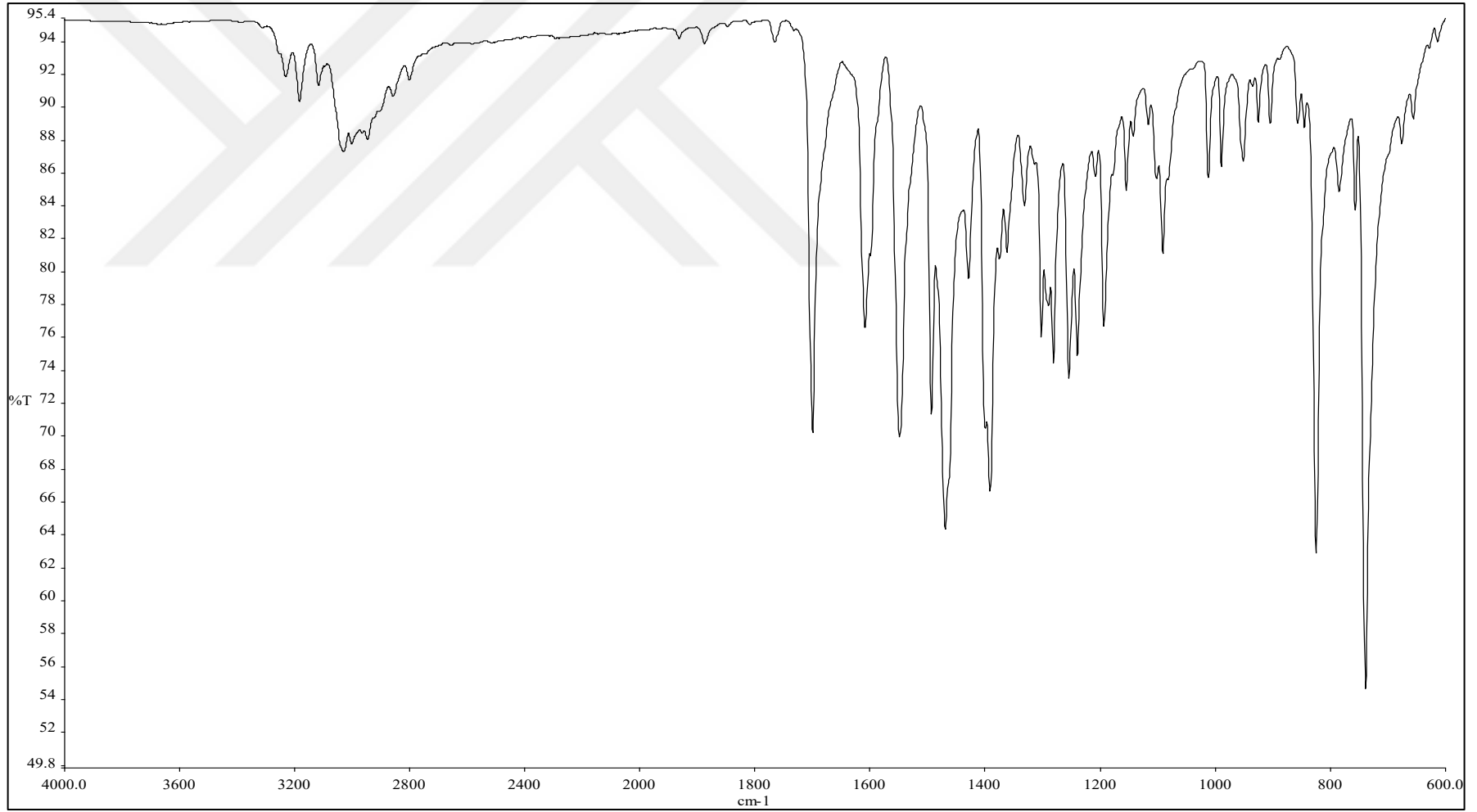


Spektrum 57. BCL4 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

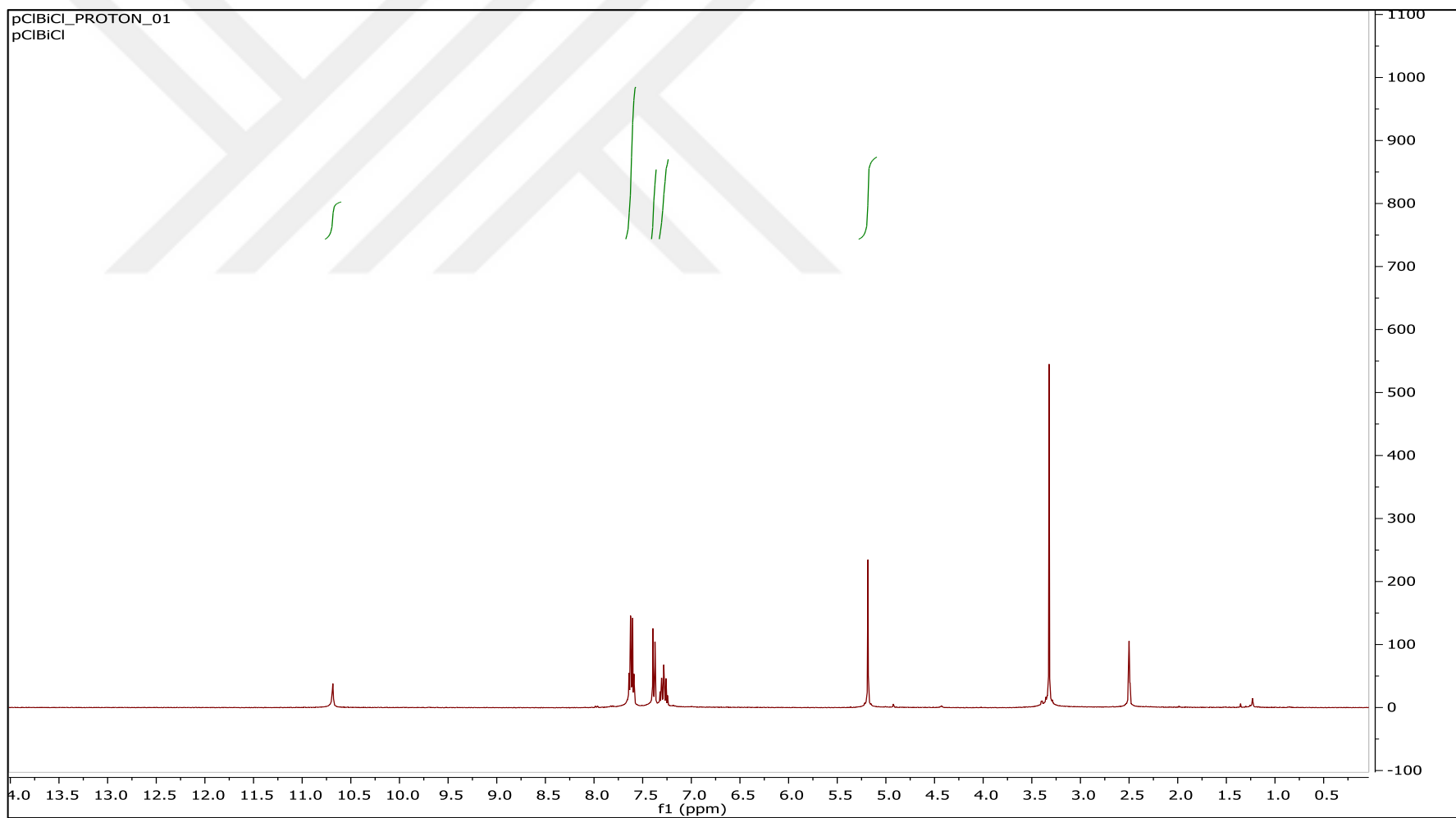
mCIBicl #39 RT: 0.34 AV: 1 NL: 1.38E6
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-400.00]



Spektrum 58. BCL4 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu

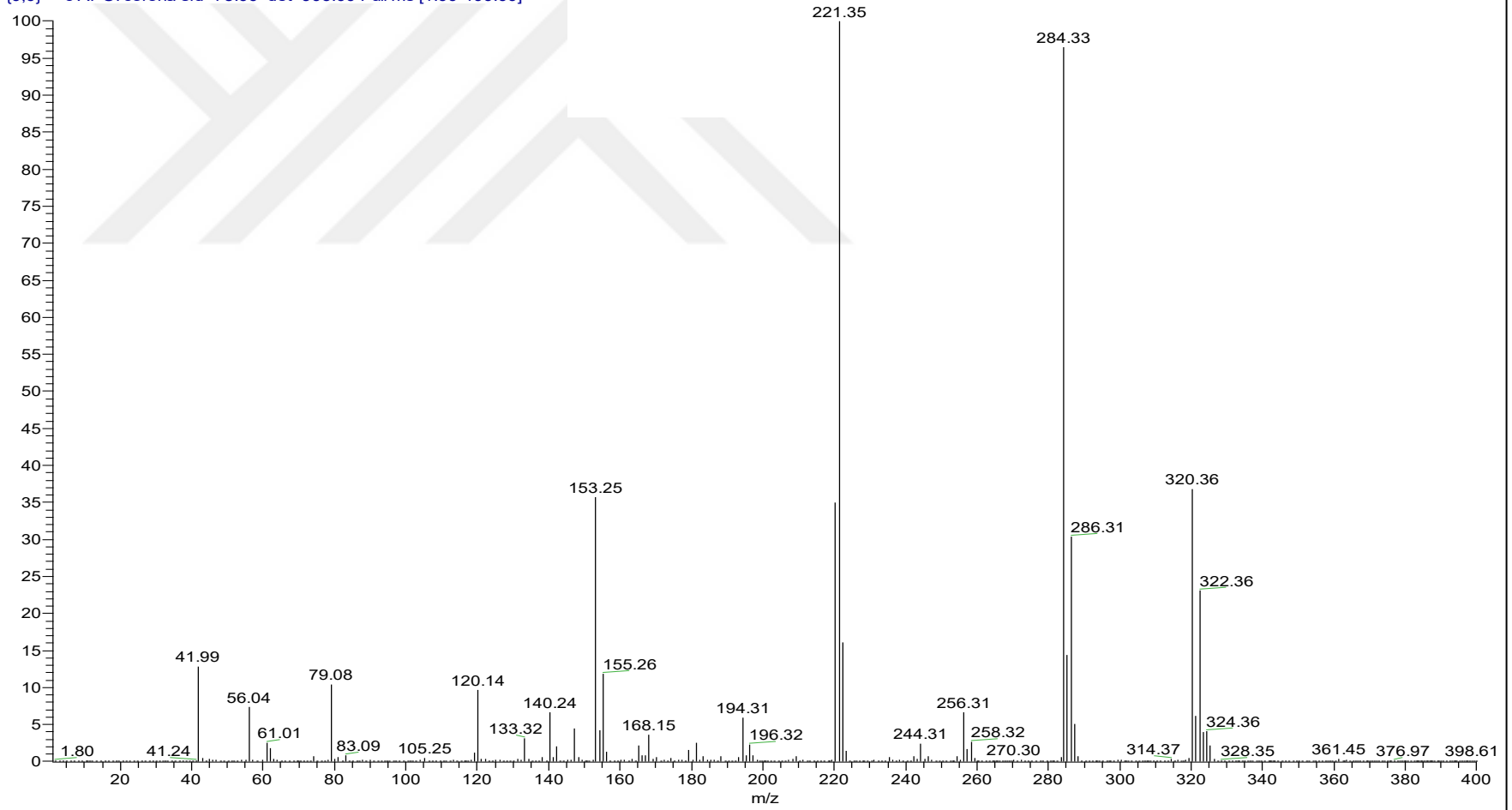


Spektrum 59. BCL5 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

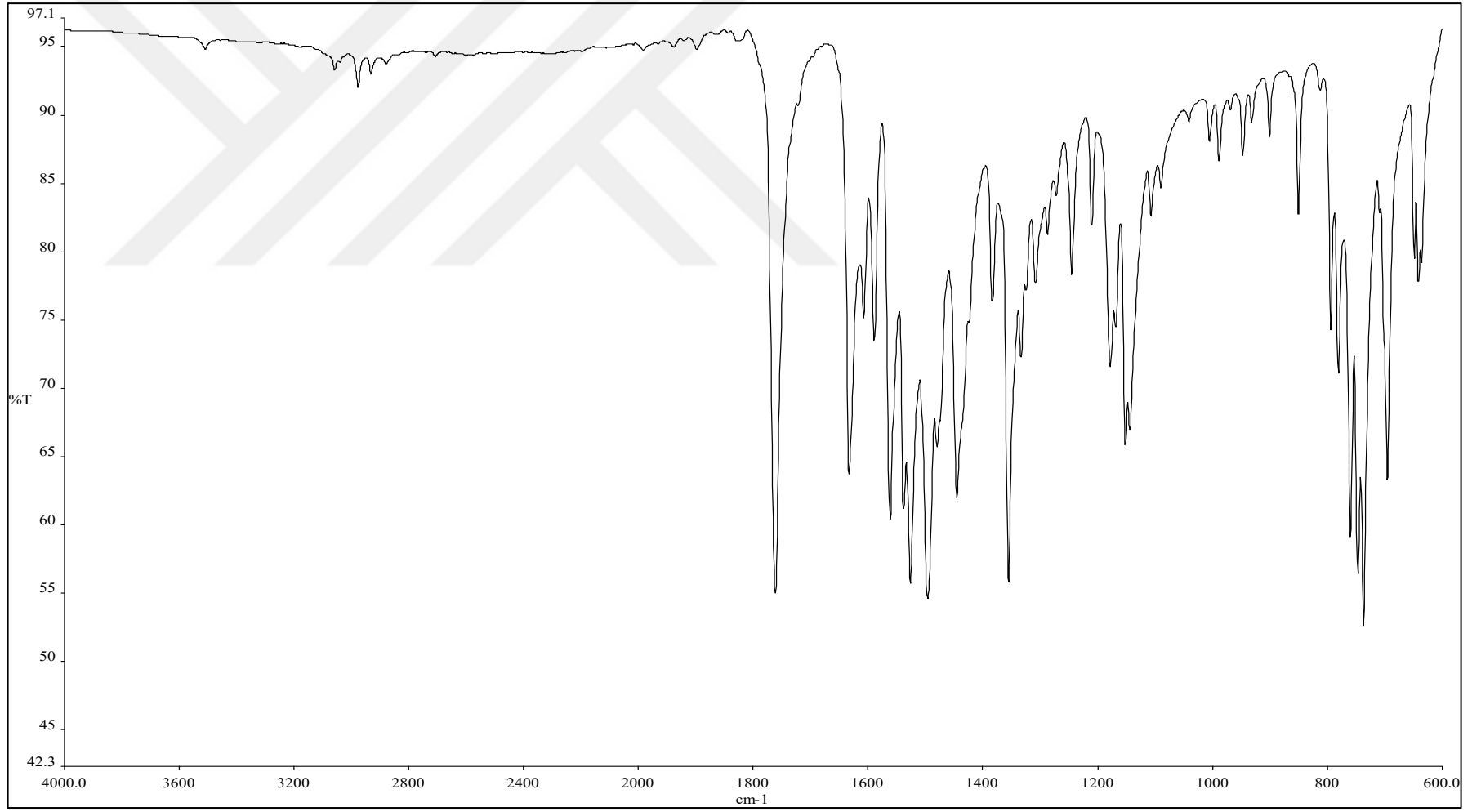


Spektrum 60. BCL5 Kodlu Bileşiğin ¹H NMR (DMSO-*d*₆) Spektrumu

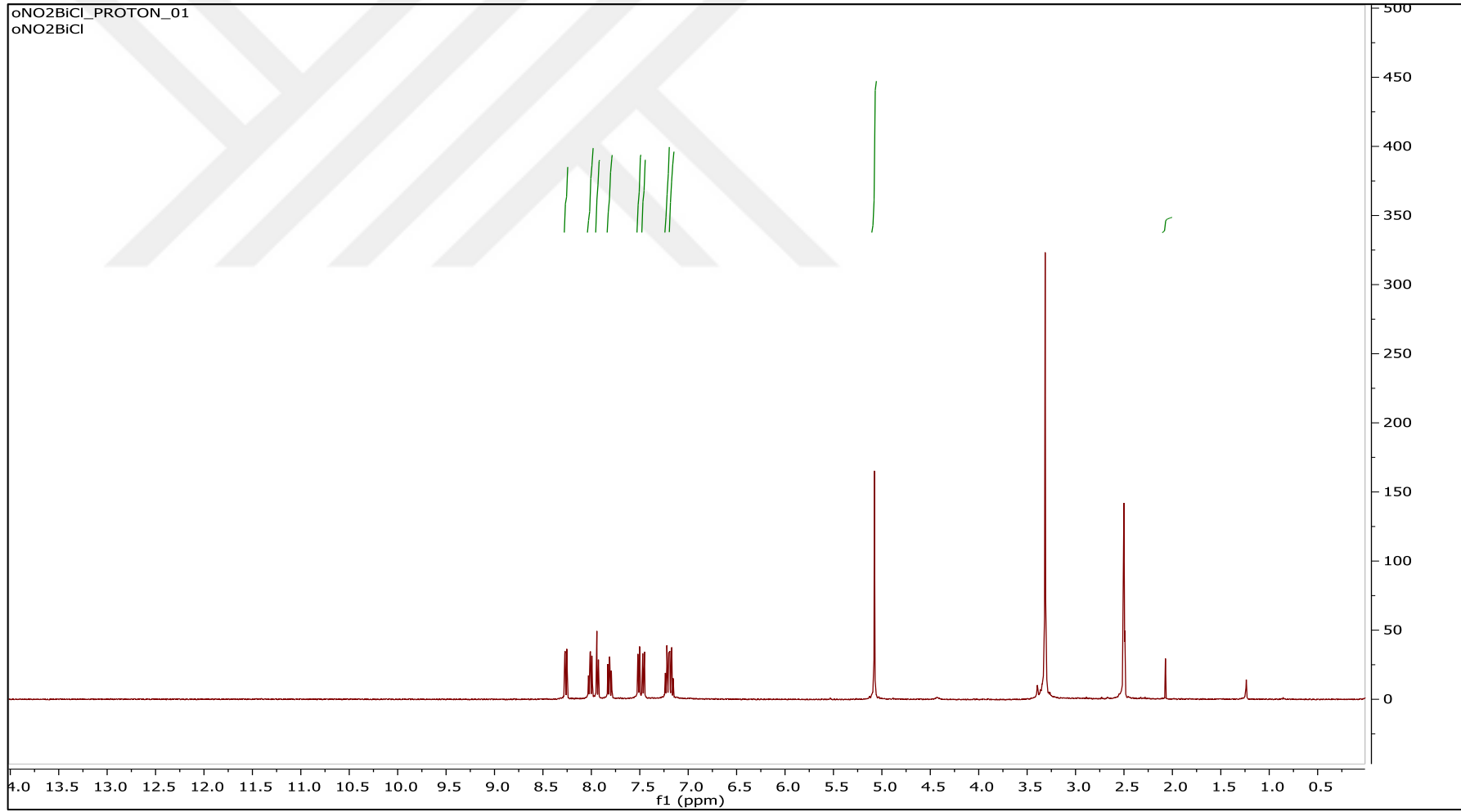
pCIBicI #39 RT: 0.34 AV: 1 NL: 2.69E6
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-400.00]



Spektrum 61. BCL5 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu

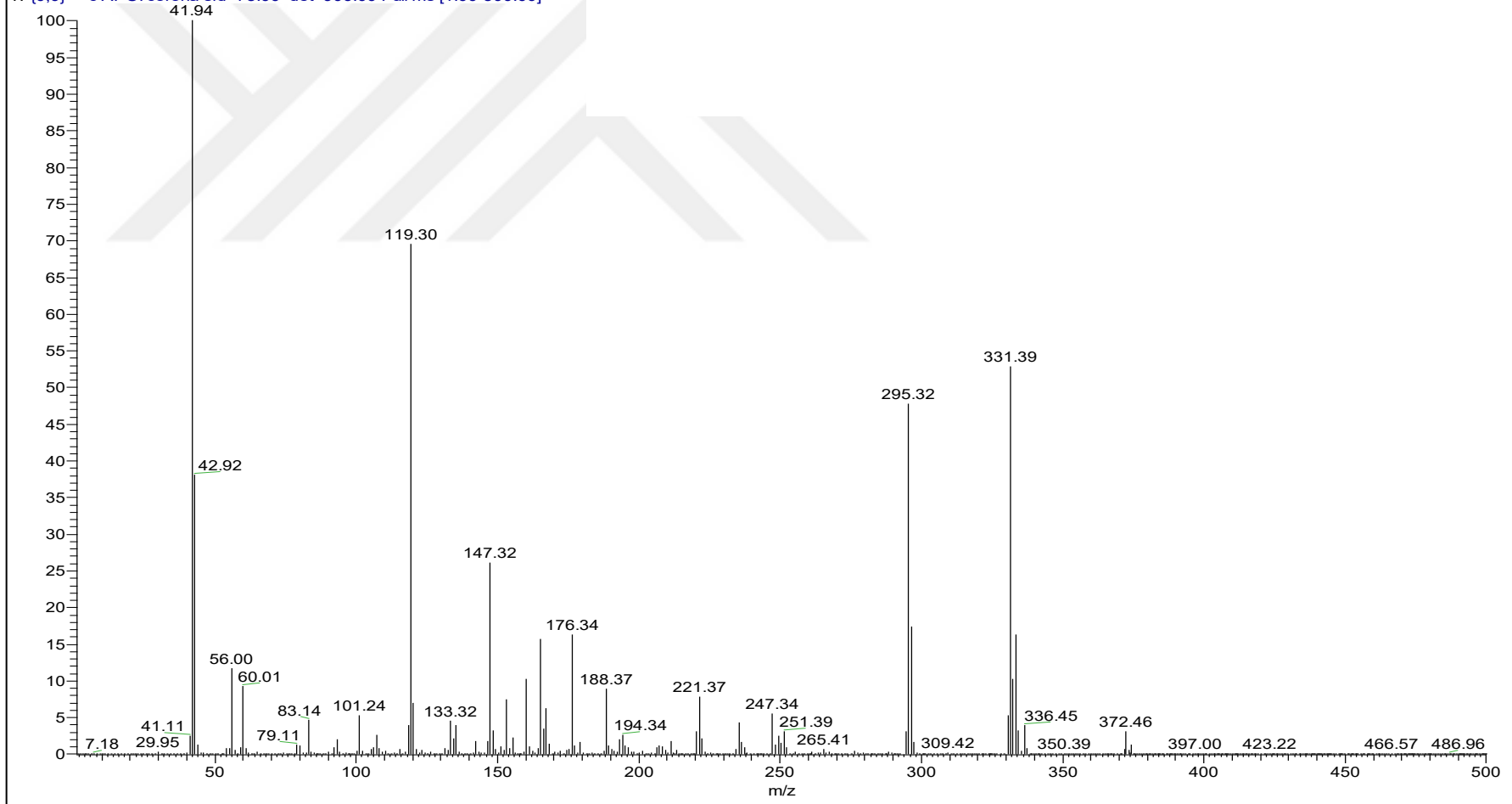


Spektrum 62. BCL6 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

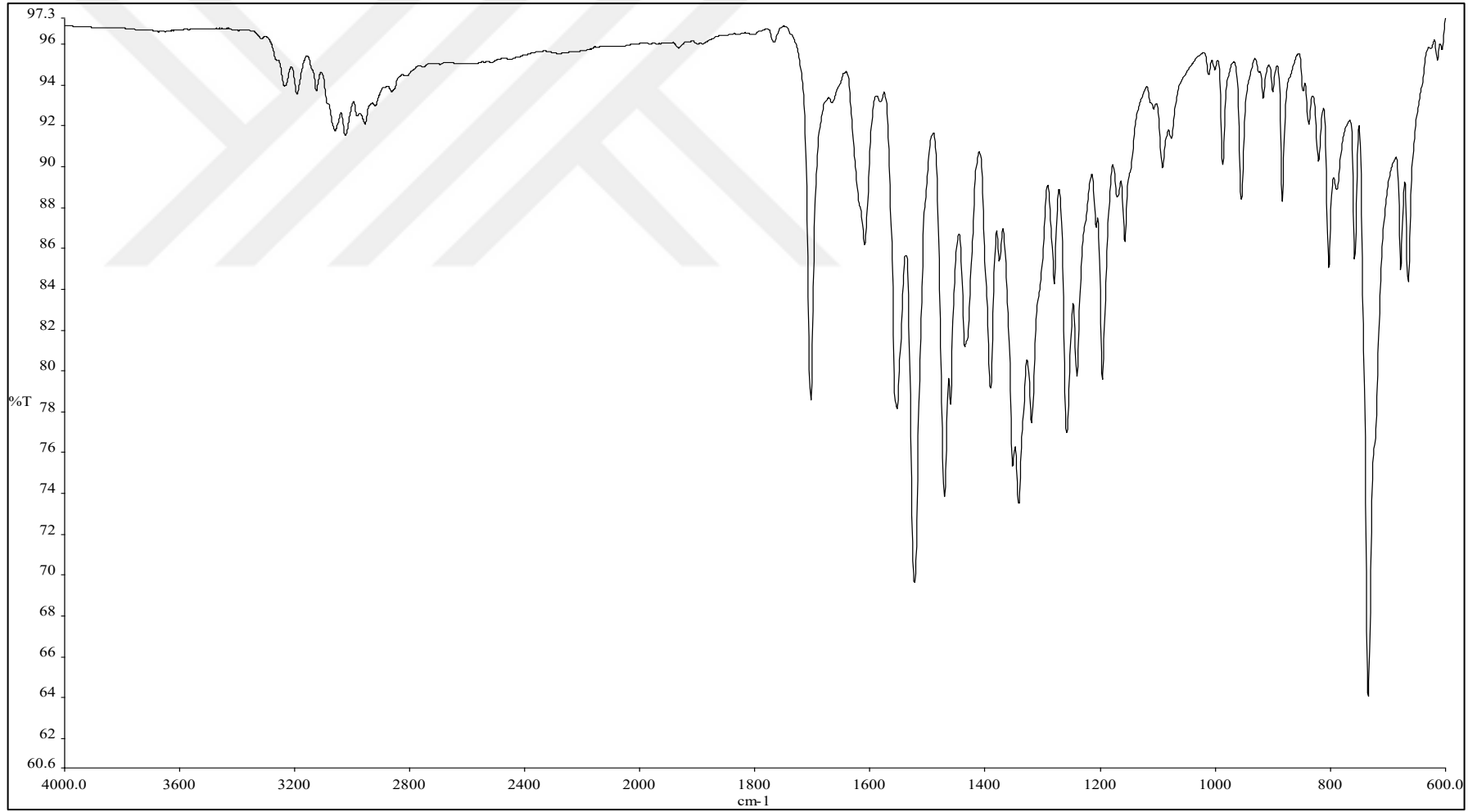


Spektrum 63. BCL6 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu

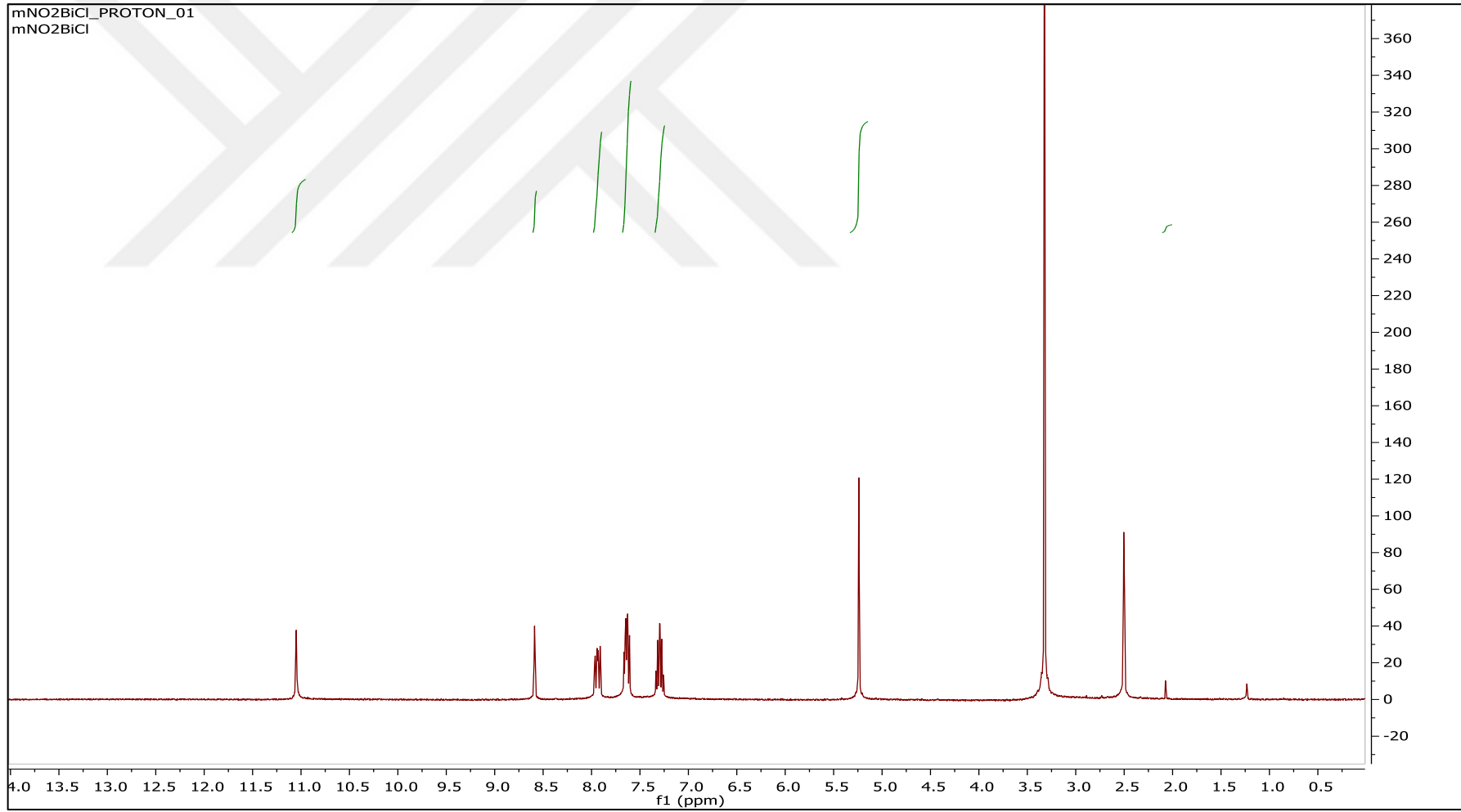
oNO2-bicl-apci-poz #59 RT: 0.52 AV: 1 NL: 3.92E6
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]



Spektrum 64. BCL6 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu

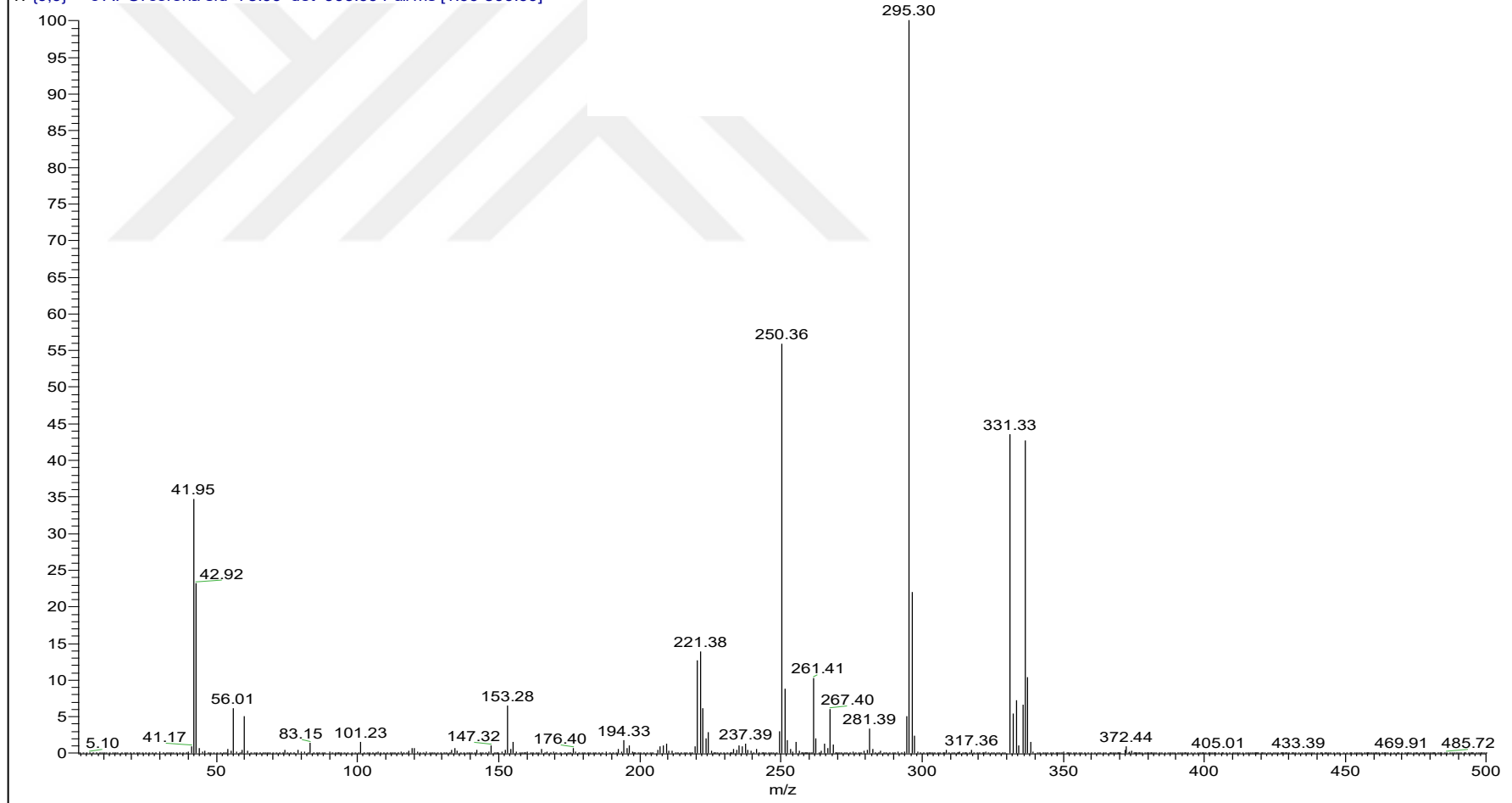


Spektrum 65. BCL7 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

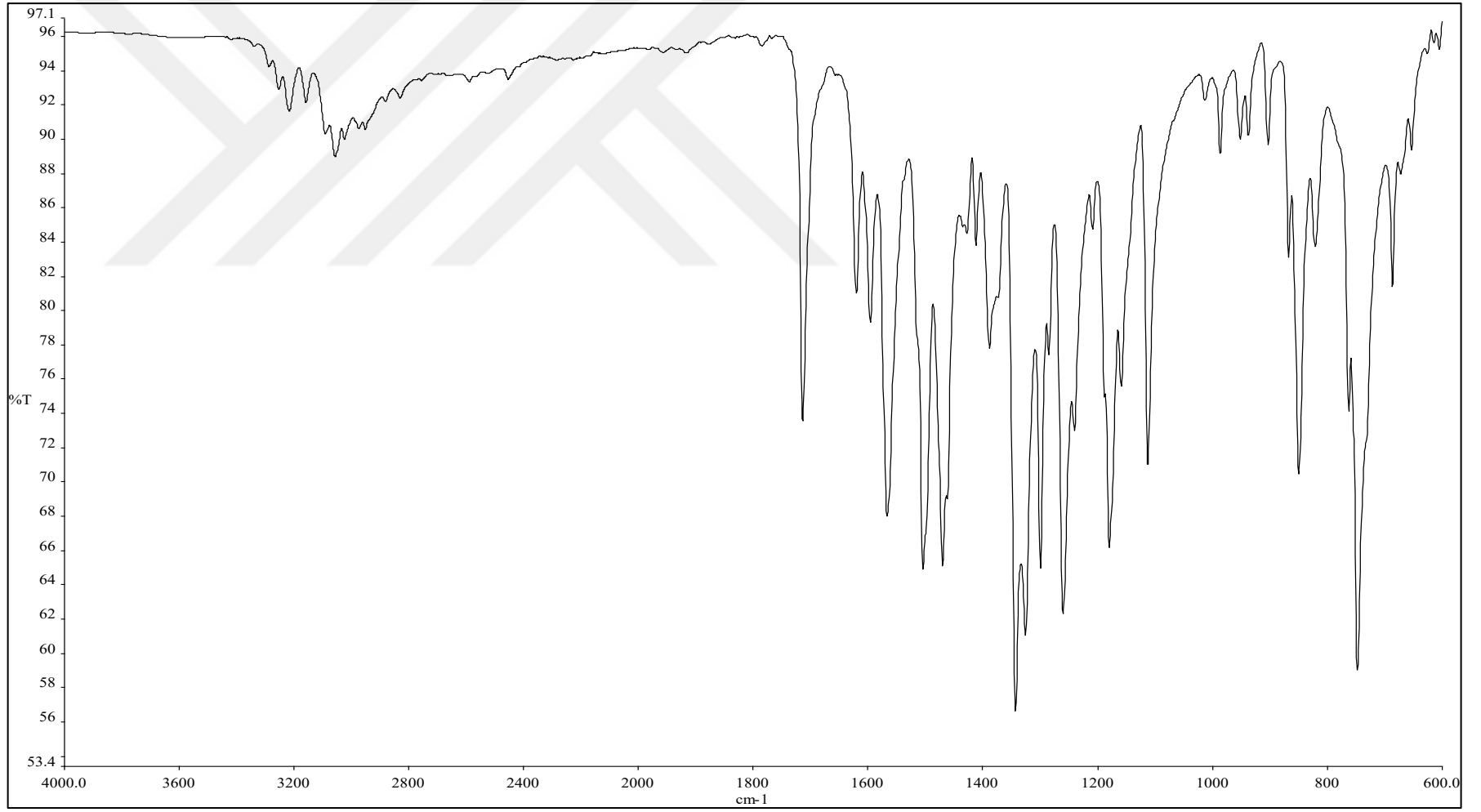


Spektrum 66. BCL7 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

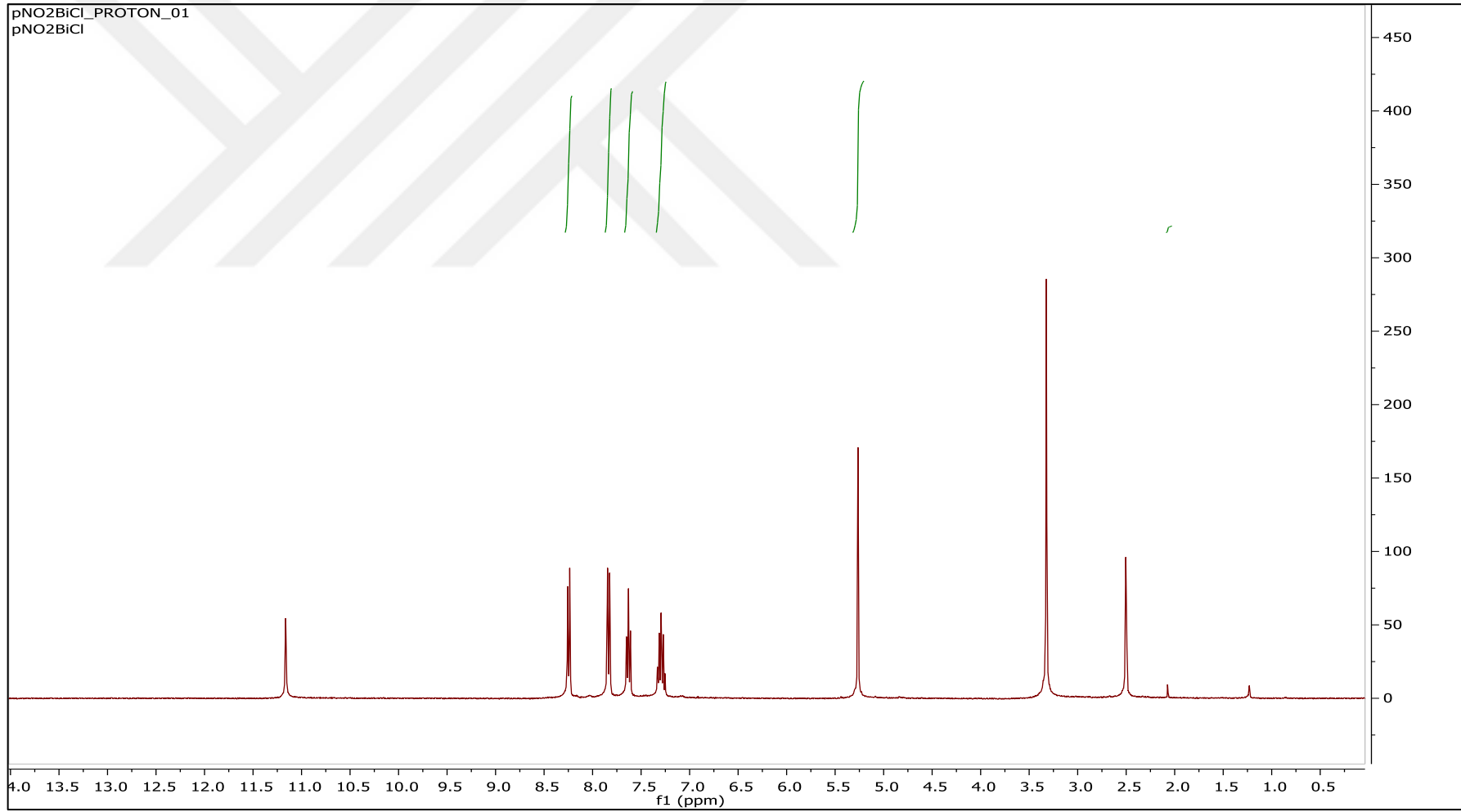
mNO2-Bic-apci-poz #51 RT: 0.45 AV: 1 NL: 4.34E6
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]



Spektrum 67. BCL7 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu

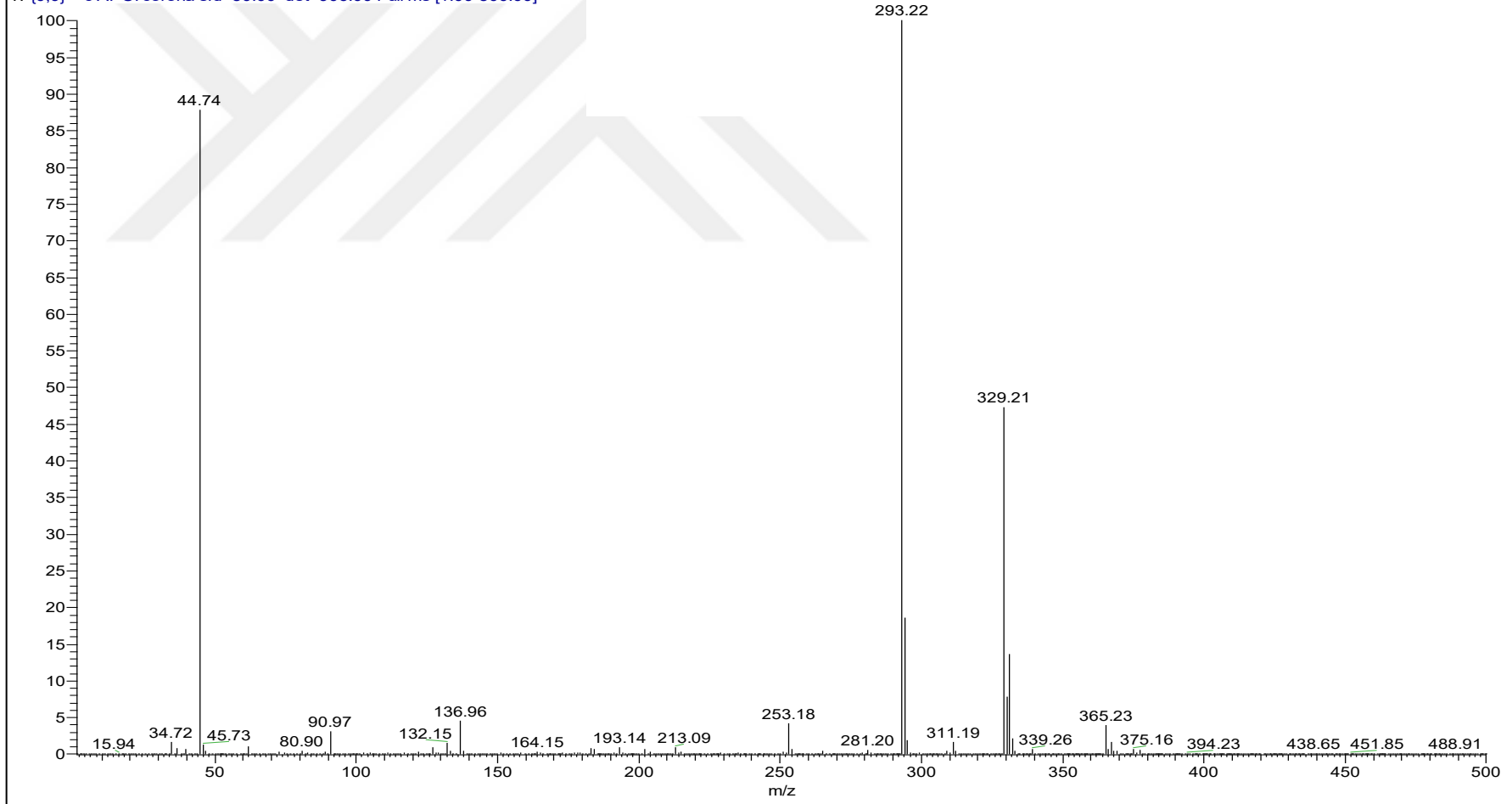


Spektrum 68. BCL8 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

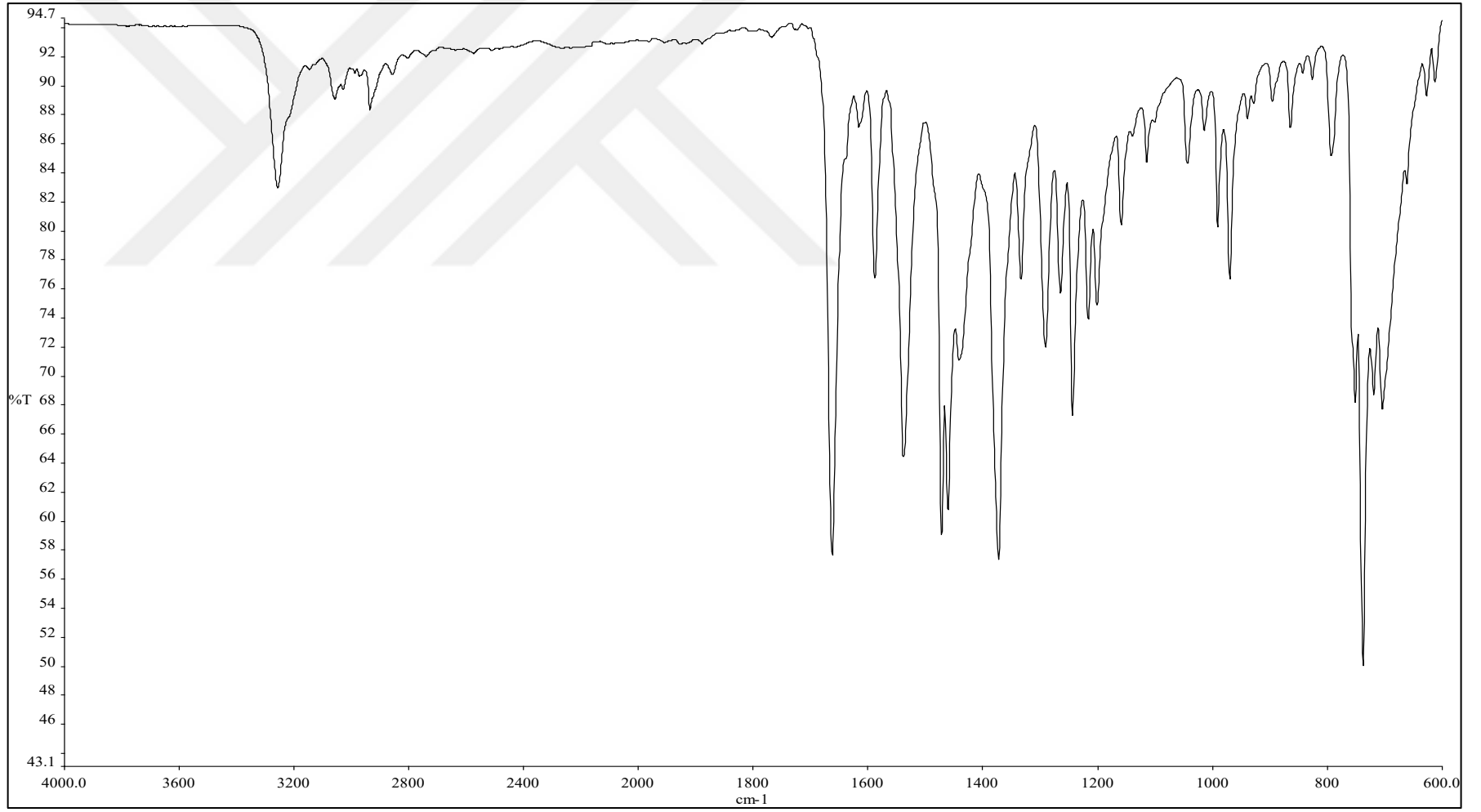


Spektrum 69. BCL8 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

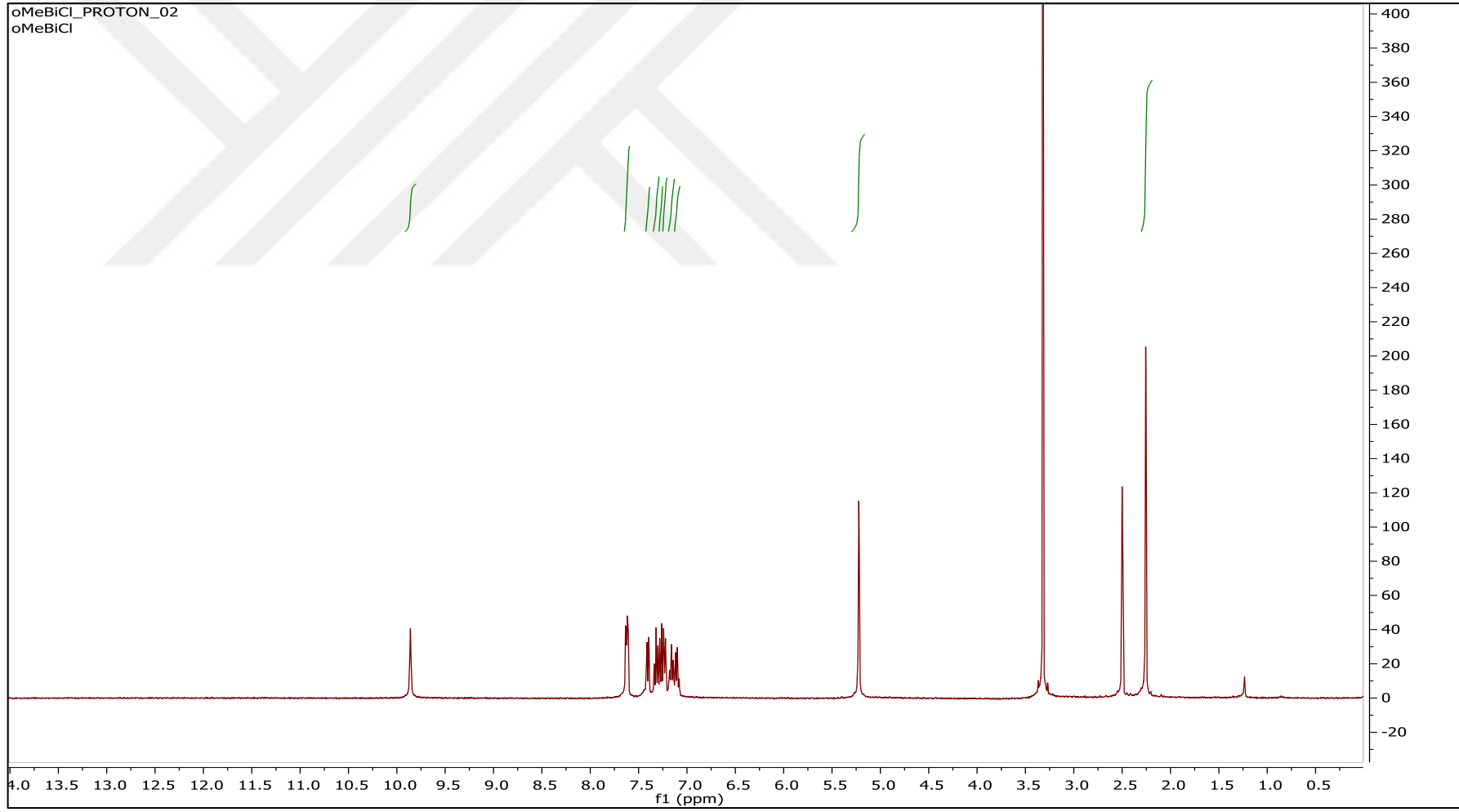
pNO2-Bilc-apci-neg #53 RT: 0.47 AV: 1 NL: 2.80E6
T: {0,0} - c APCL corona sid=50.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]



Spektrum 70. BCL8 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu

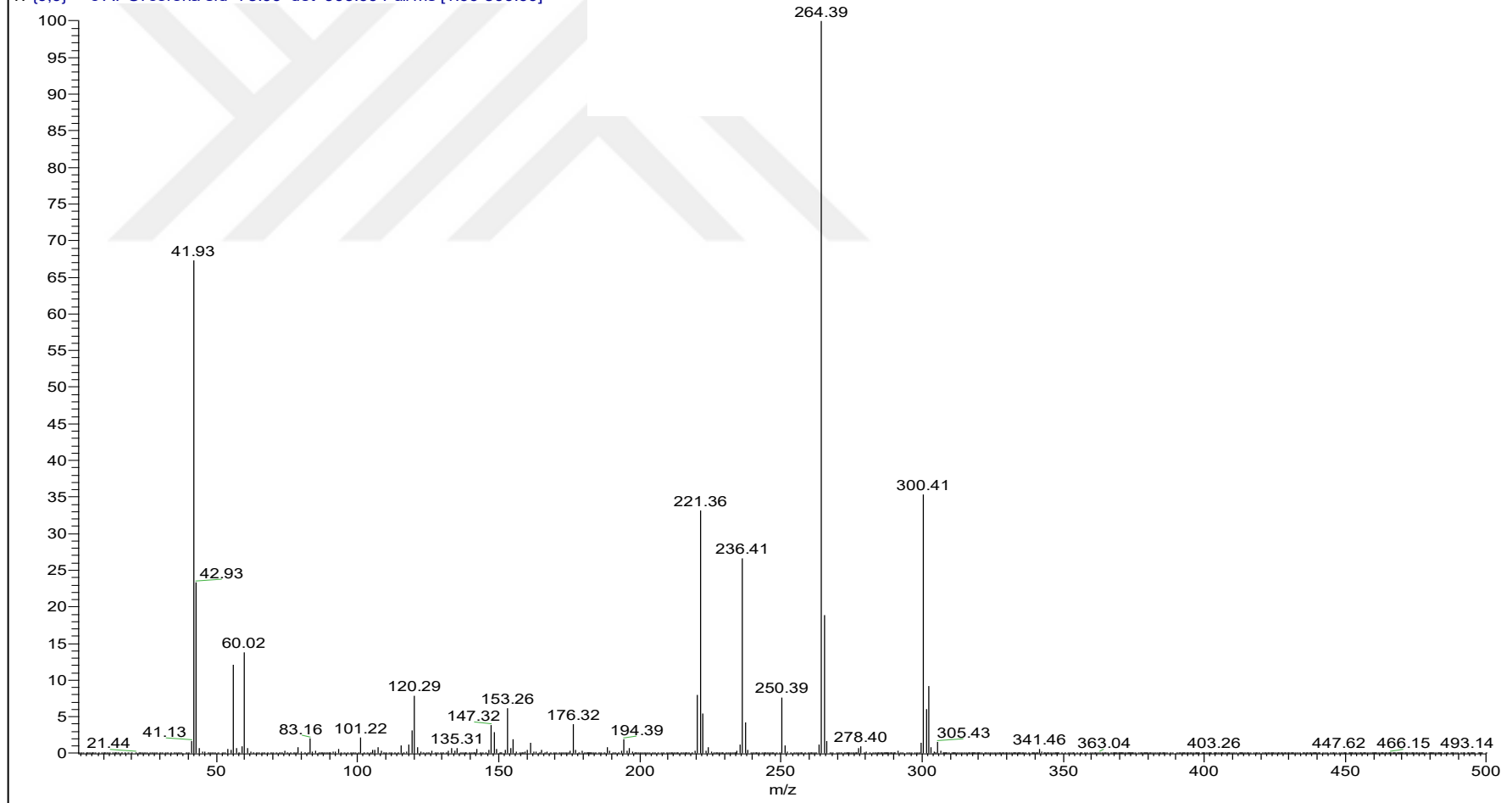


Spektrum 71. BCL9 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

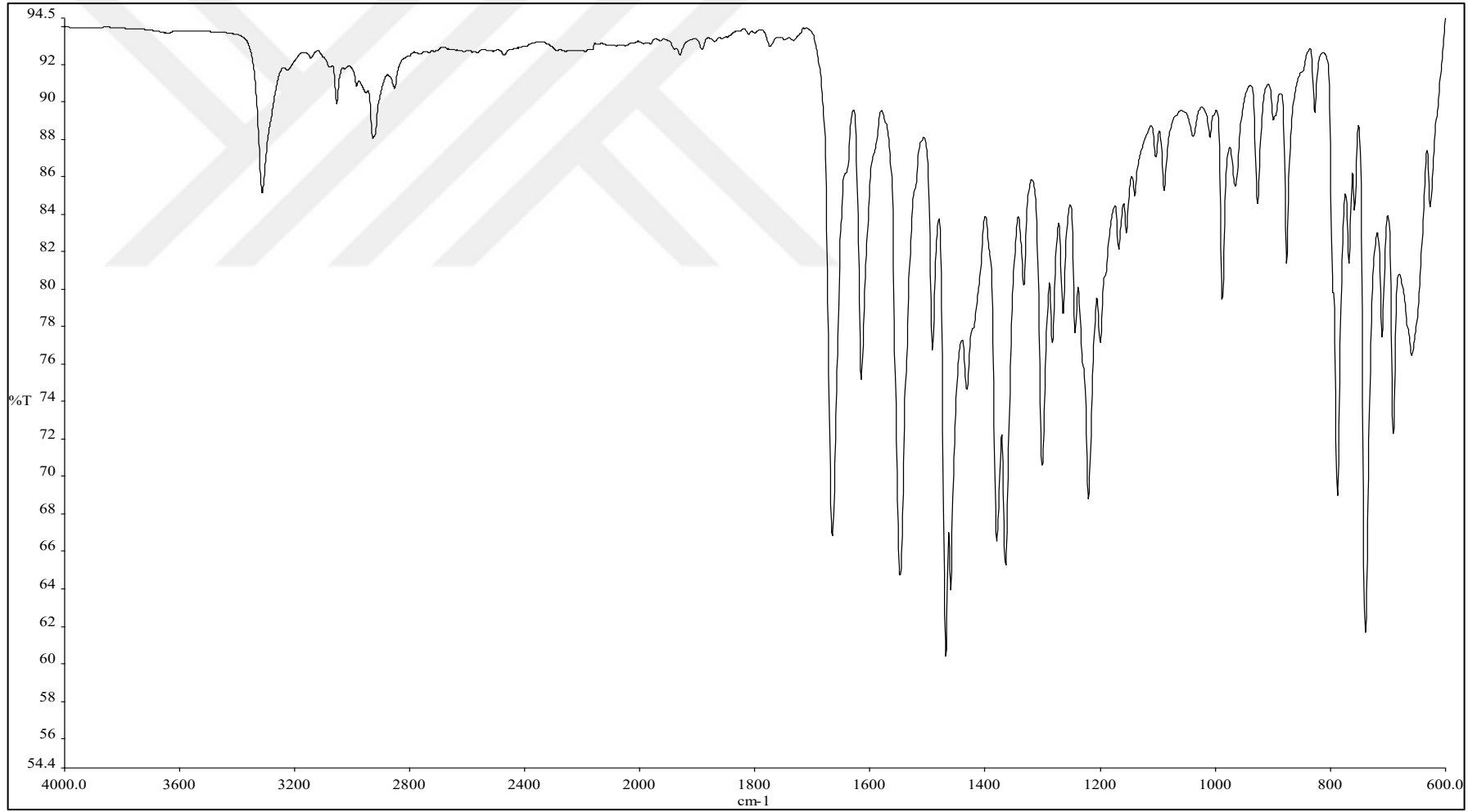


Spektrum 72. BCL9 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

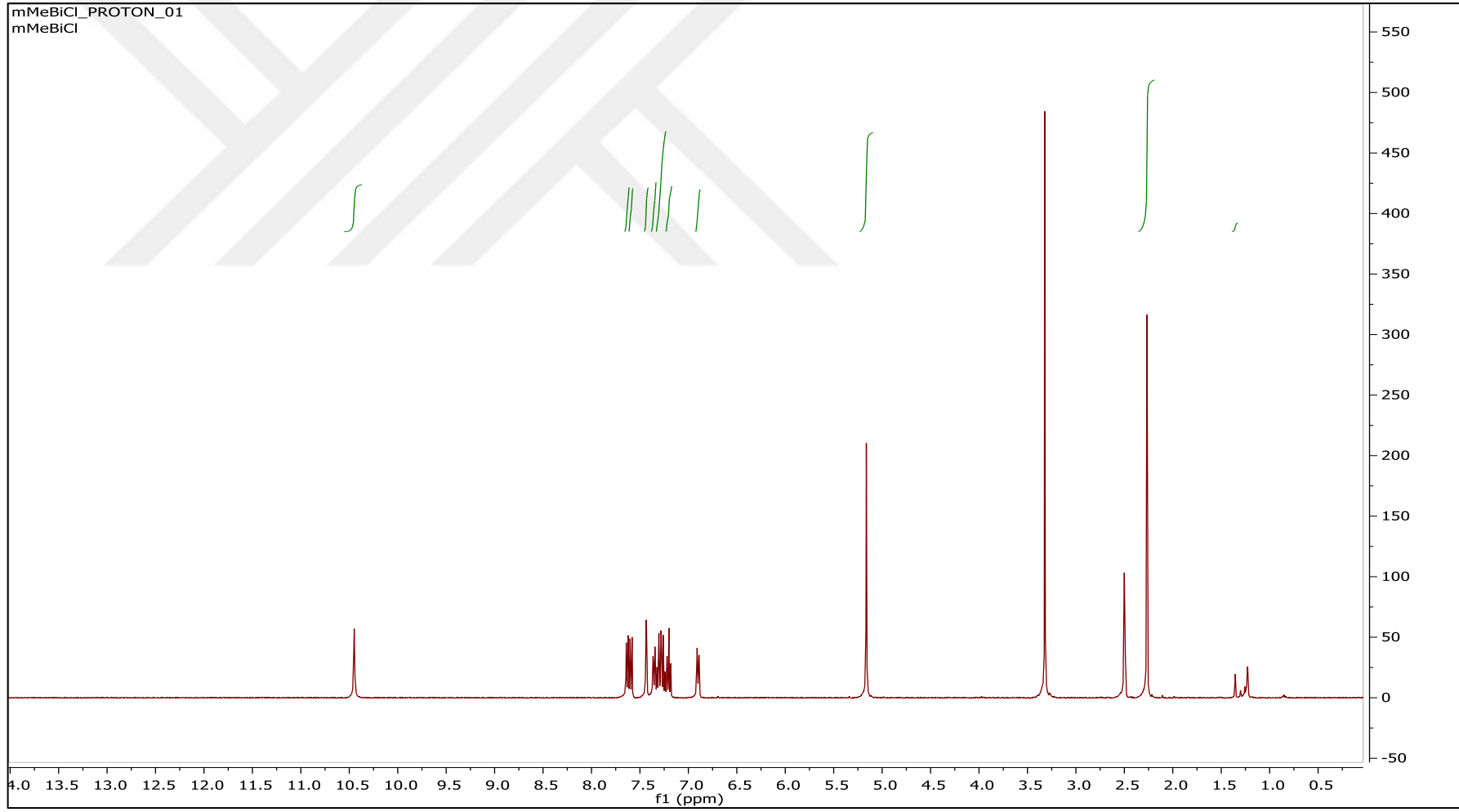
ome-Bicl-apci-poz #49 RT: 0.43 AV: 1 NL: 6.59E6
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]



Spektrum 73. BCL9 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu

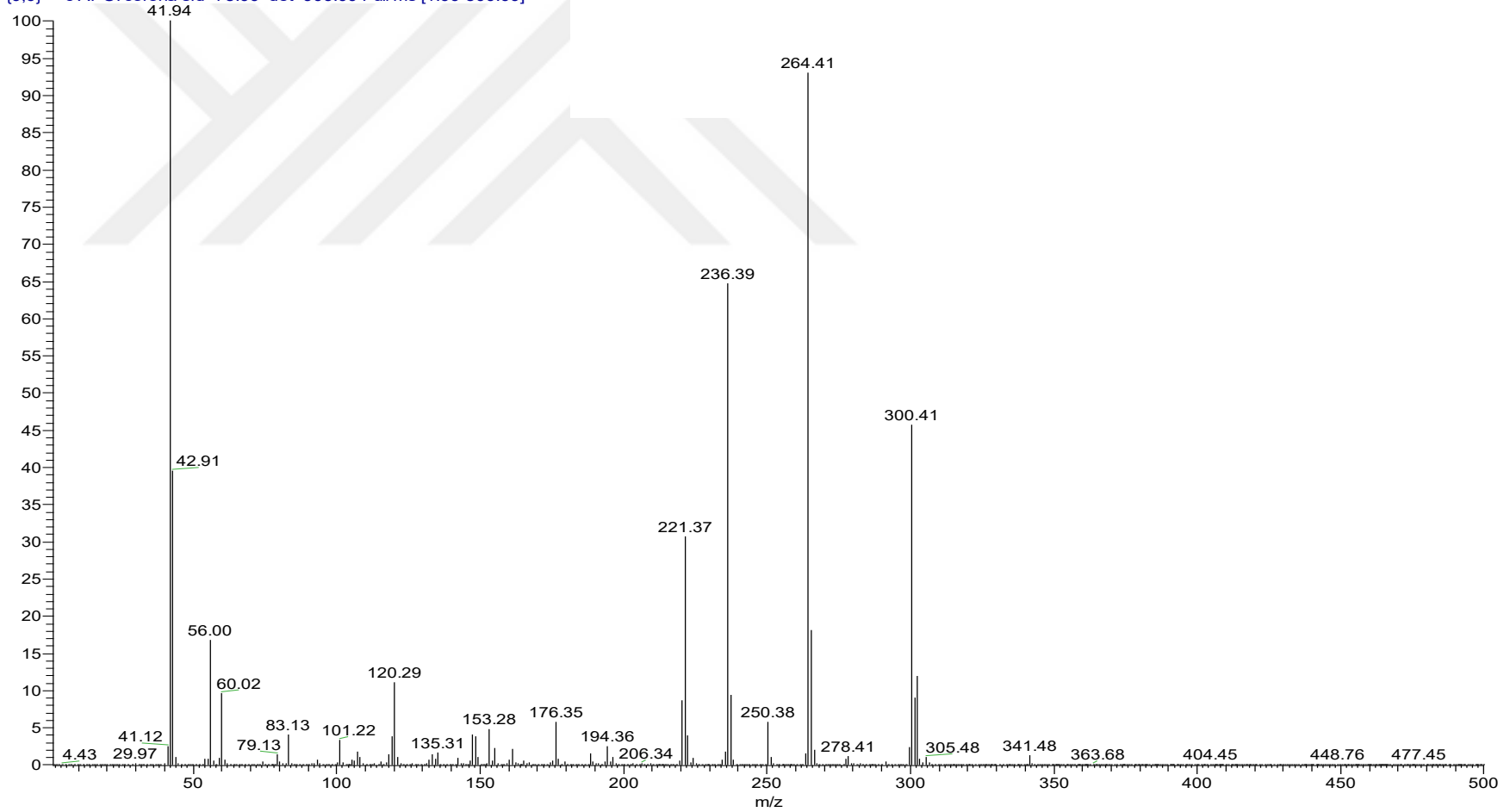


Spektrum 74. BCL10 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

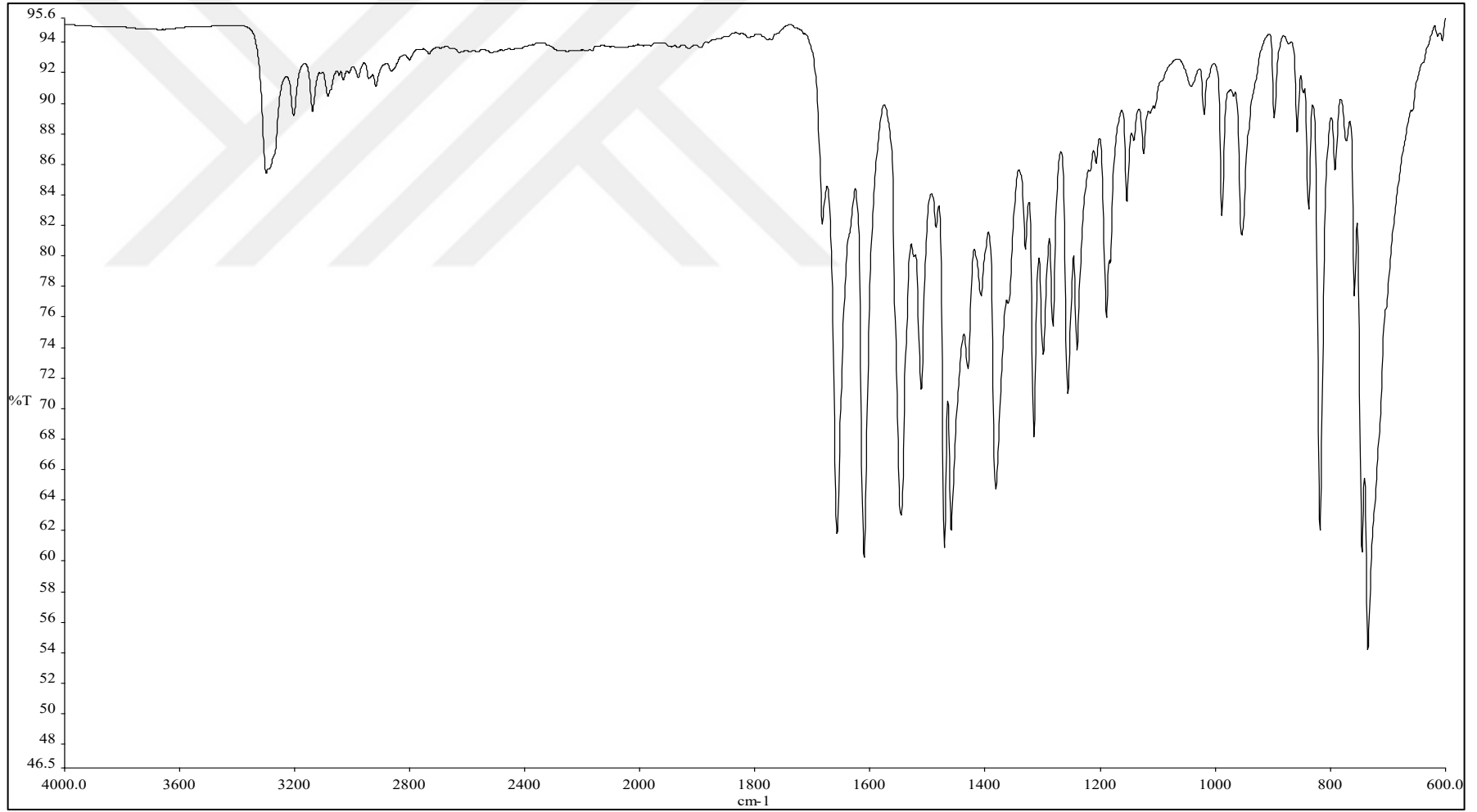


Spektrum 75. BCL10 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

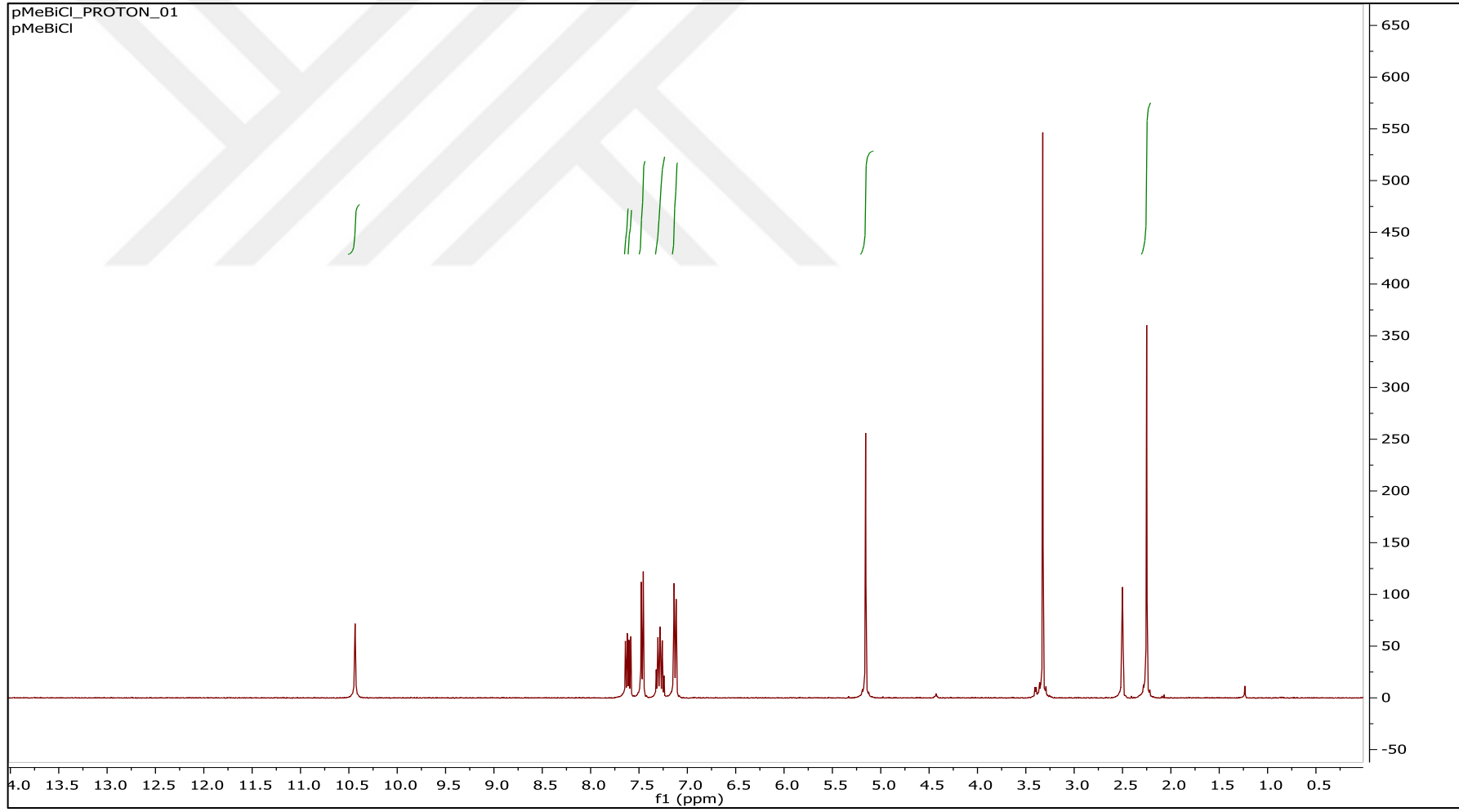
mME-bicl-apci-poz #51 RT: 0.45 AV: 1 NL: 4.97E6
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]



Spektrum 76. BCL10 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu

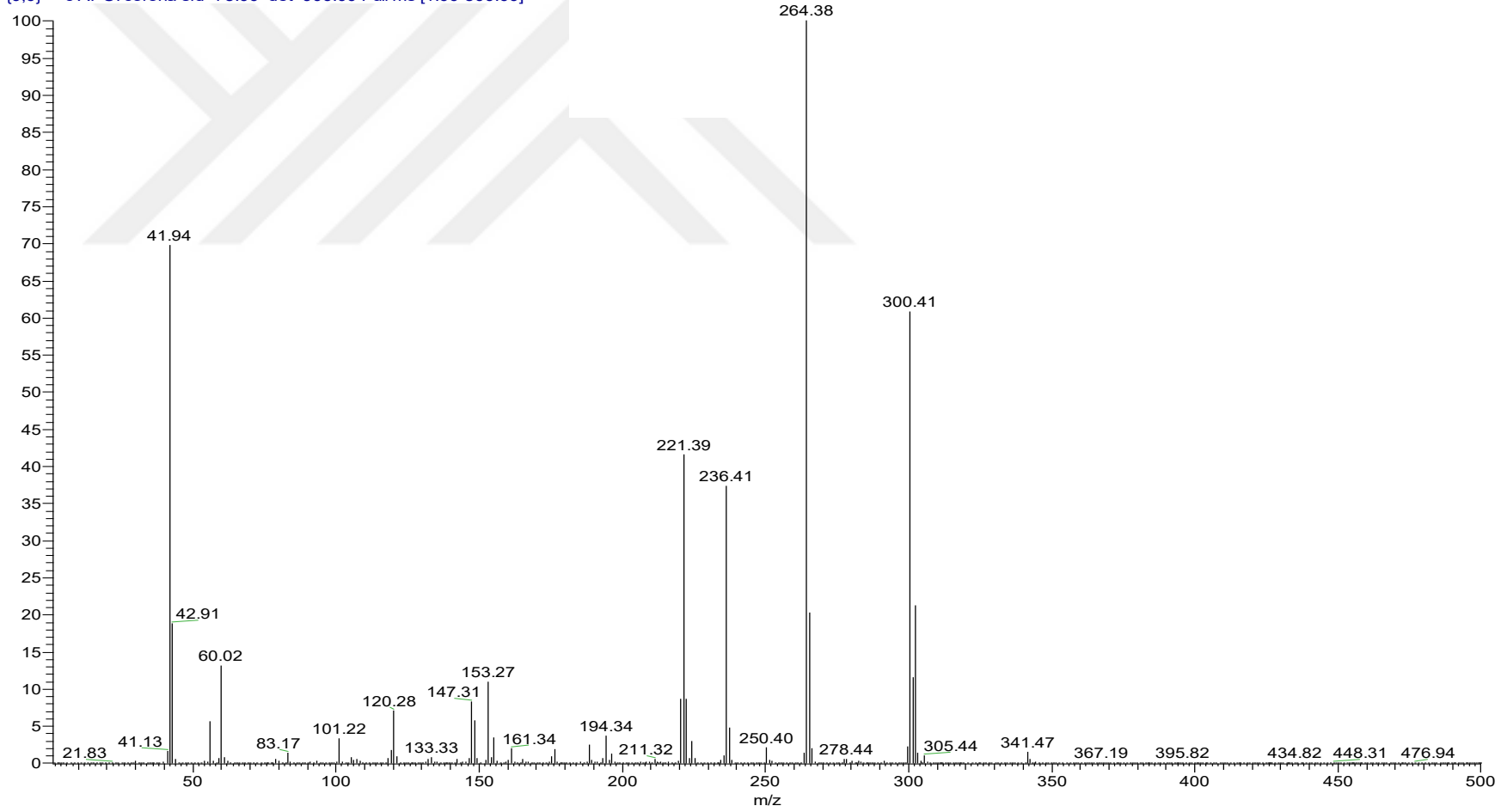


Spektrum 77. BCL11 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

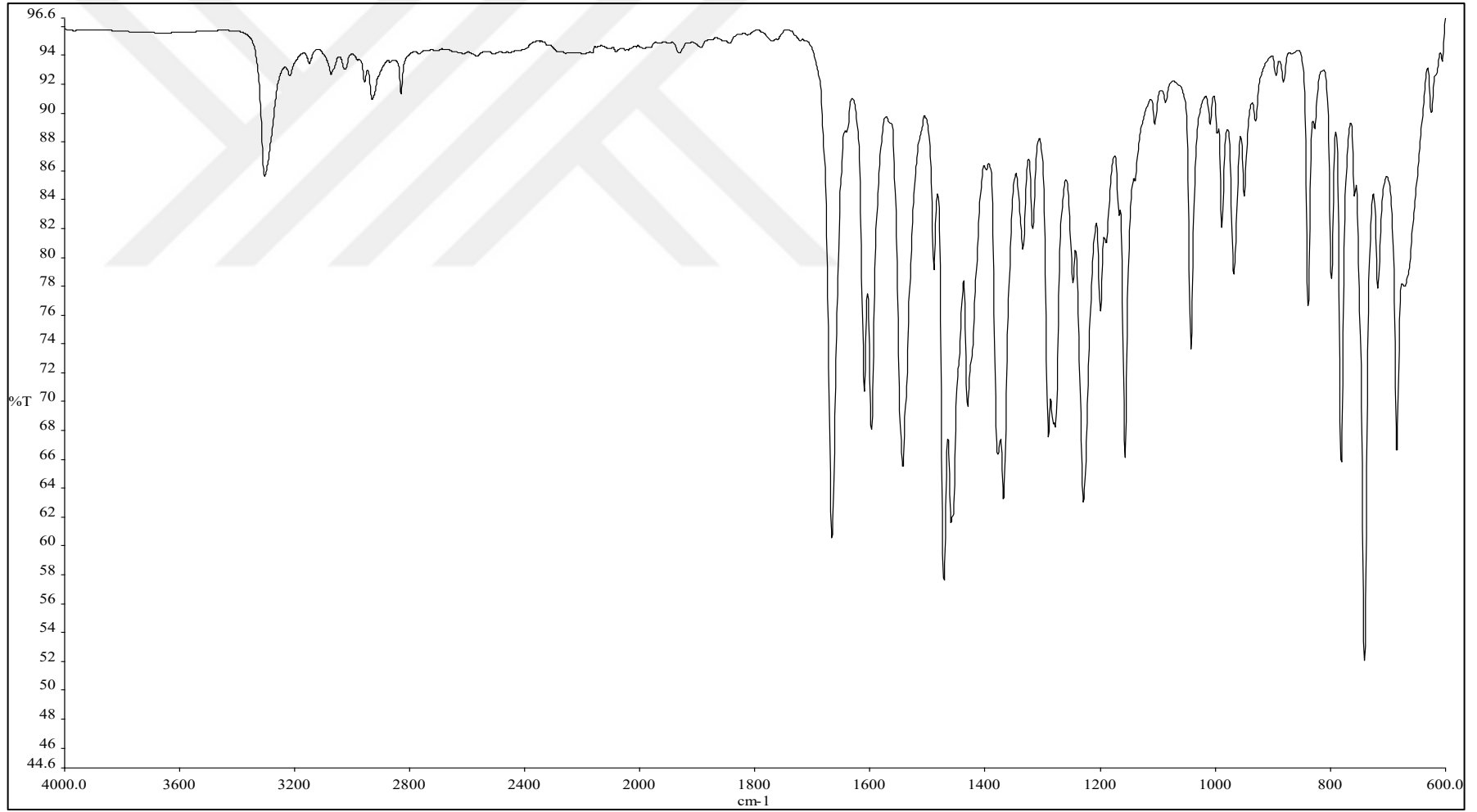


Spektrum 78. BCL11 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

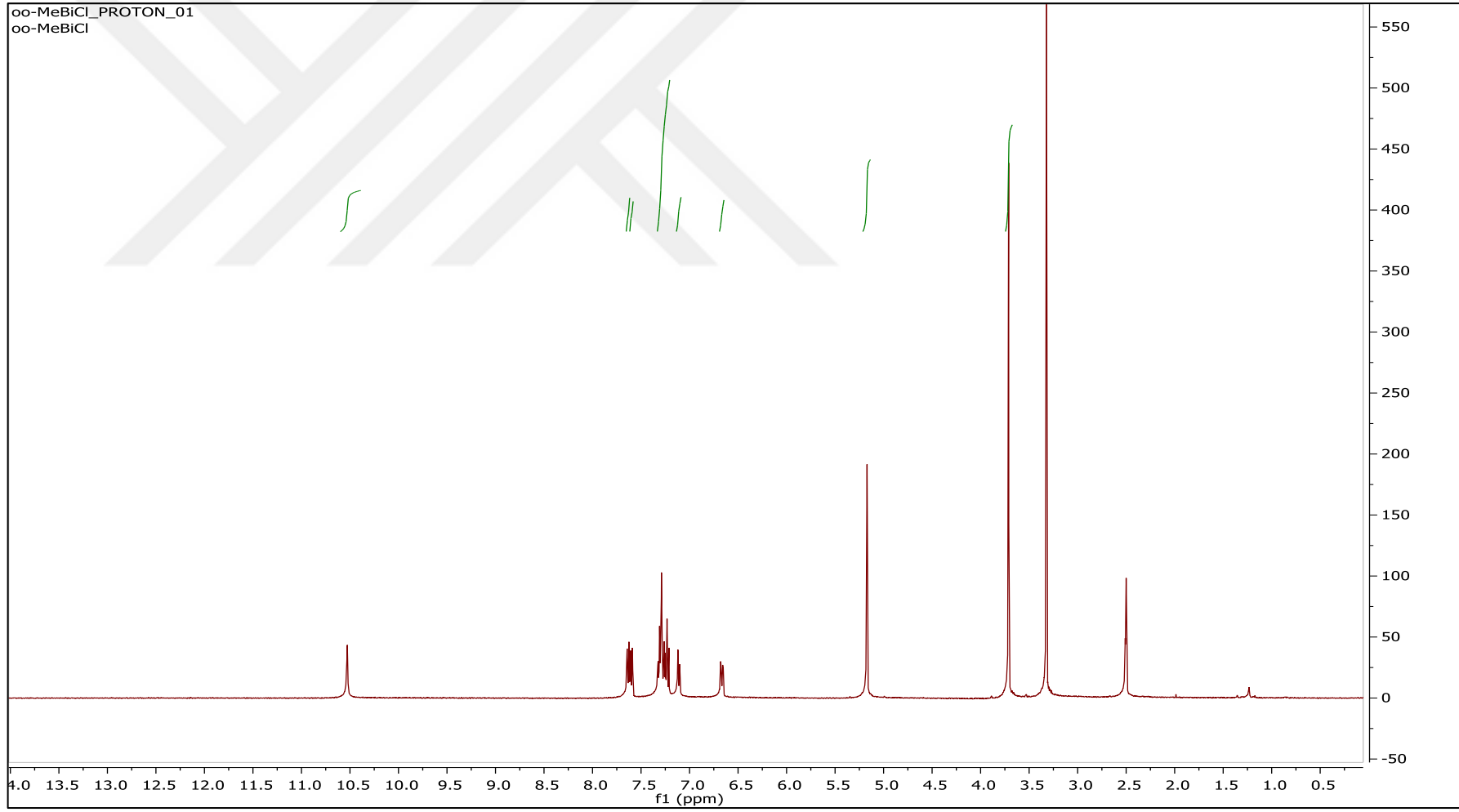
pME-BicI-apci-poz #82 RT: 0.73 AV: 1 NL: 3.28E6
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]



Spektrum 79. BCL11 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu

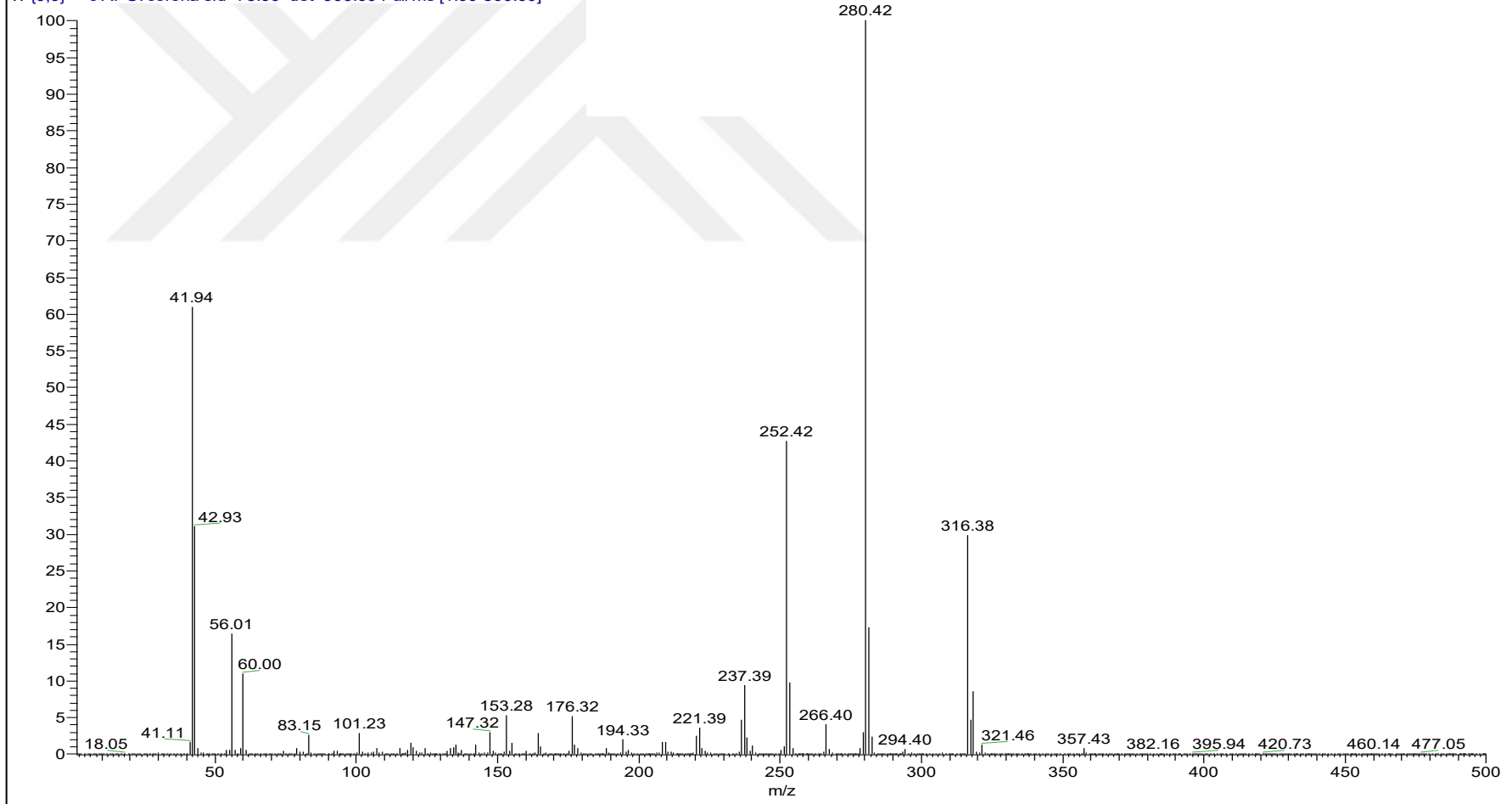


Spektrum 80. BCL12 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

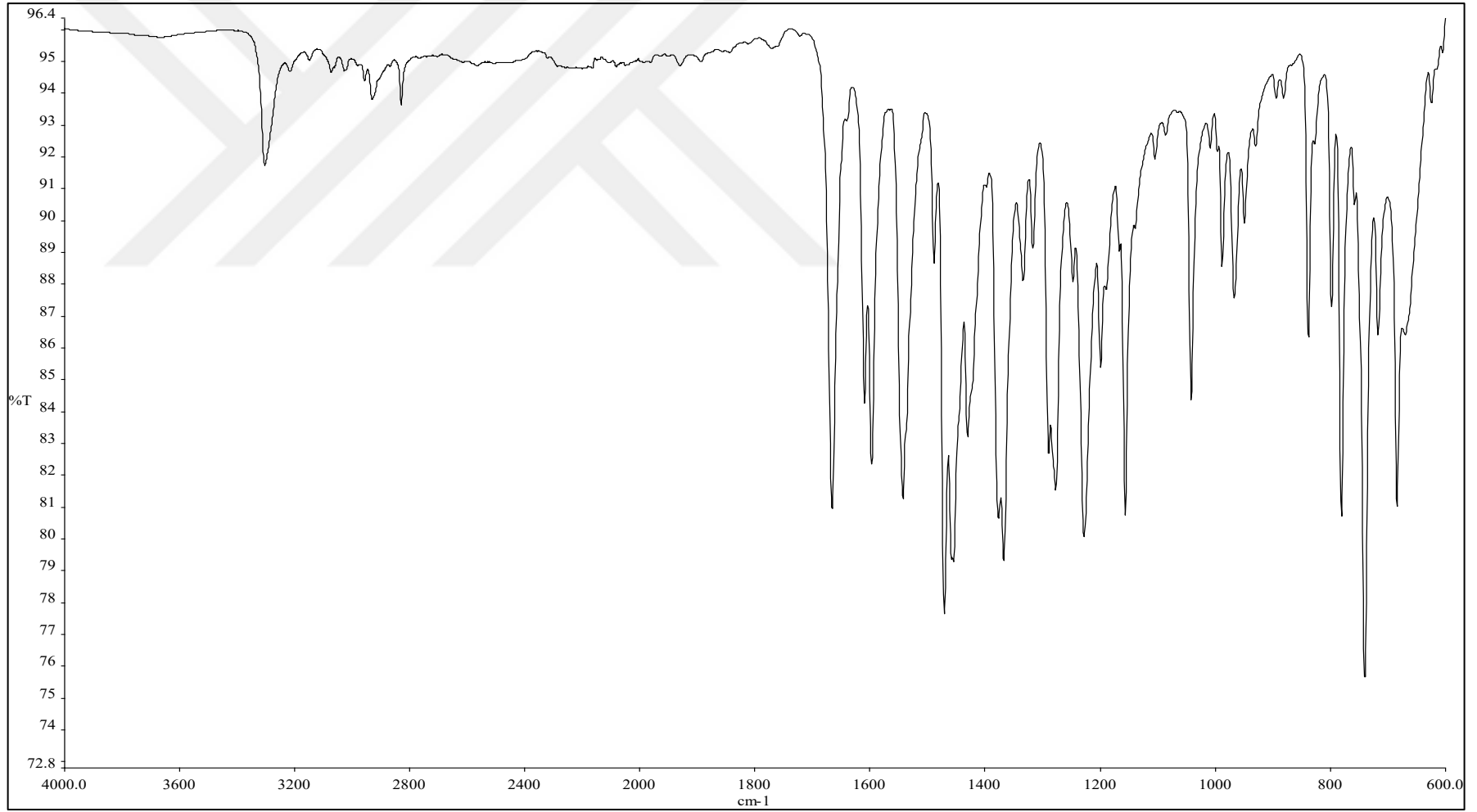


Spektrum 81. BCL12 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu

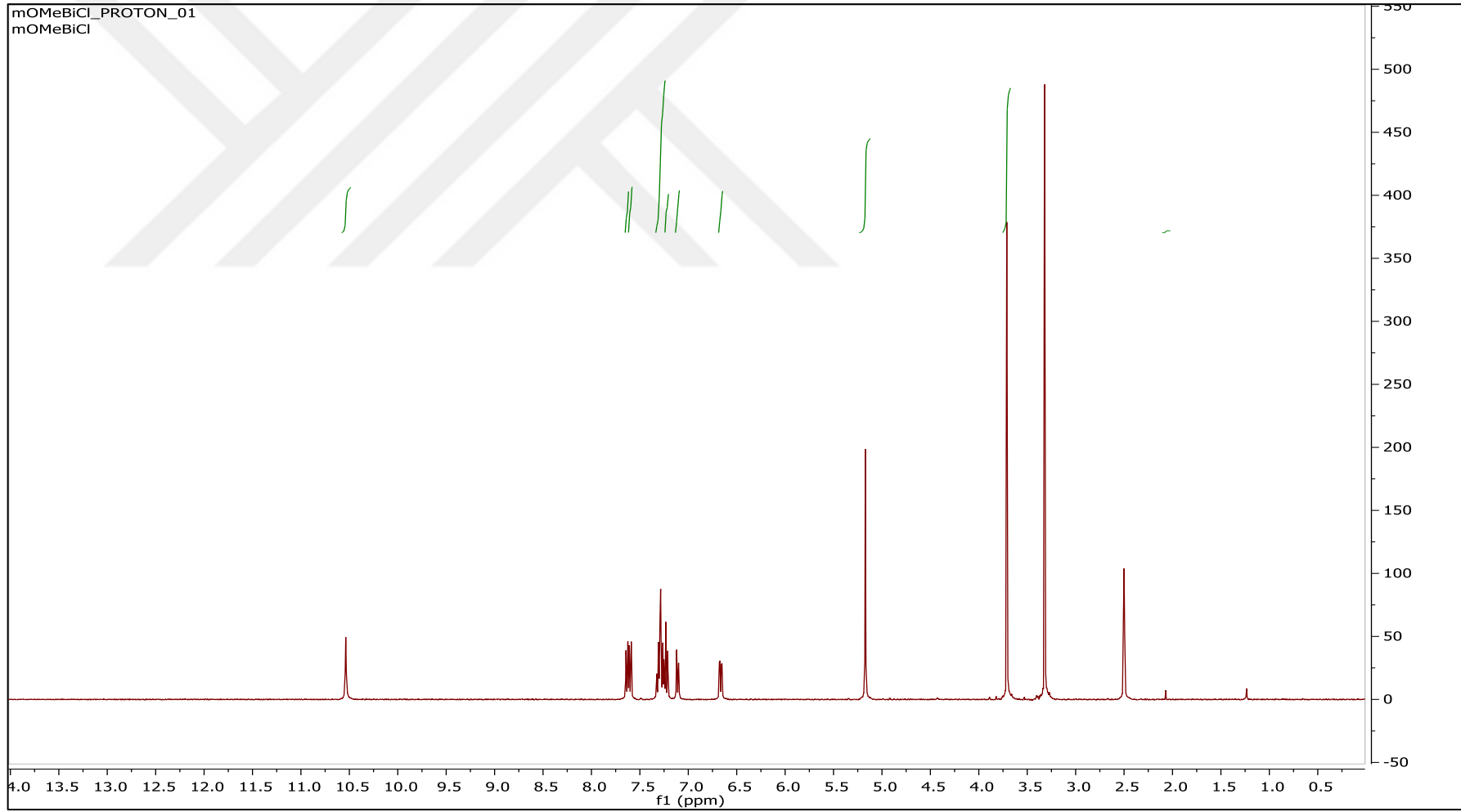
ooME-Biclapci-poz #51 RT: 0.45 AV: 1 NL: 5.35E6
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]



Spektrum 82. BCL12 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu

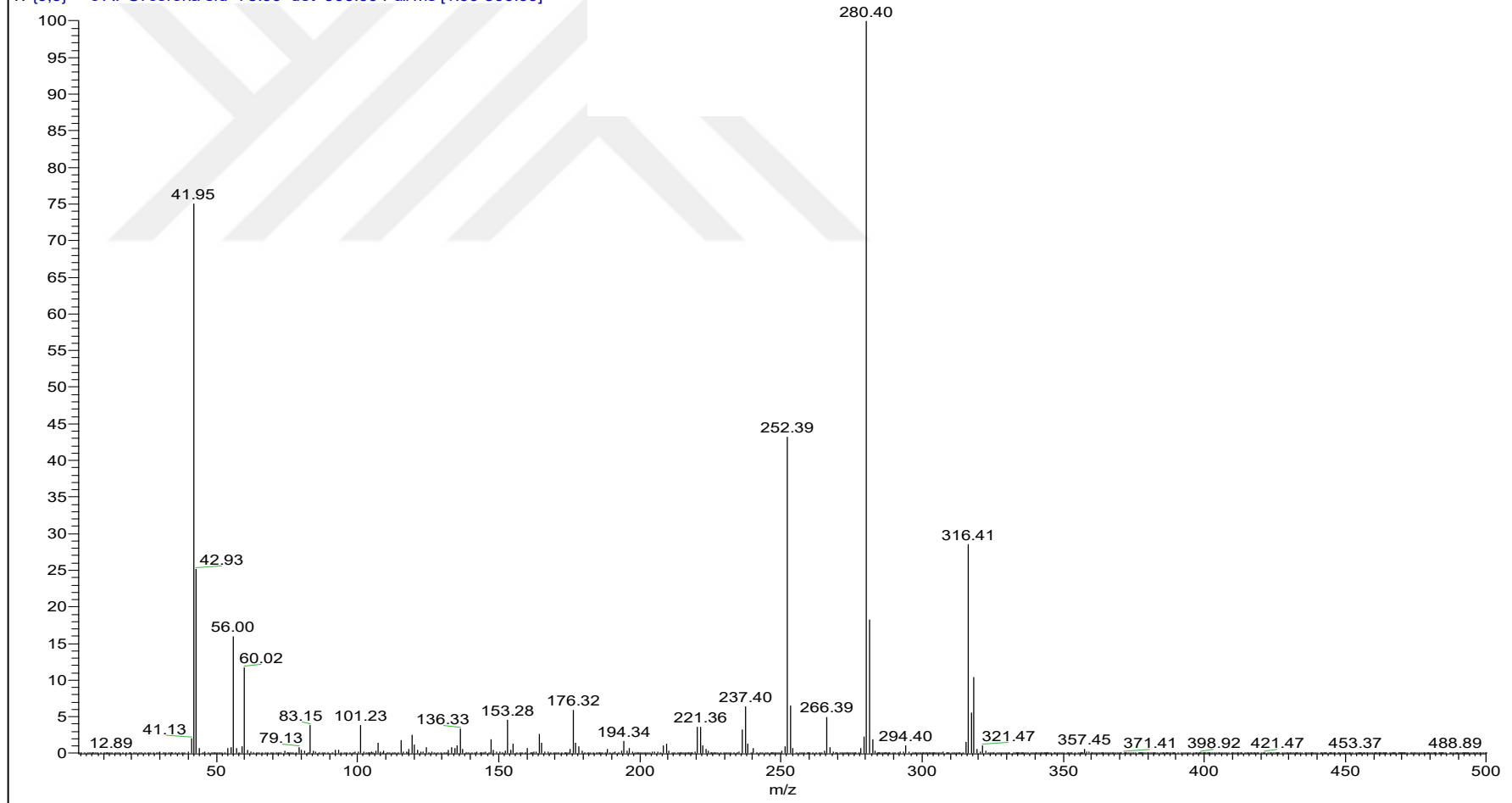


Spektrum 83. BCL13 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

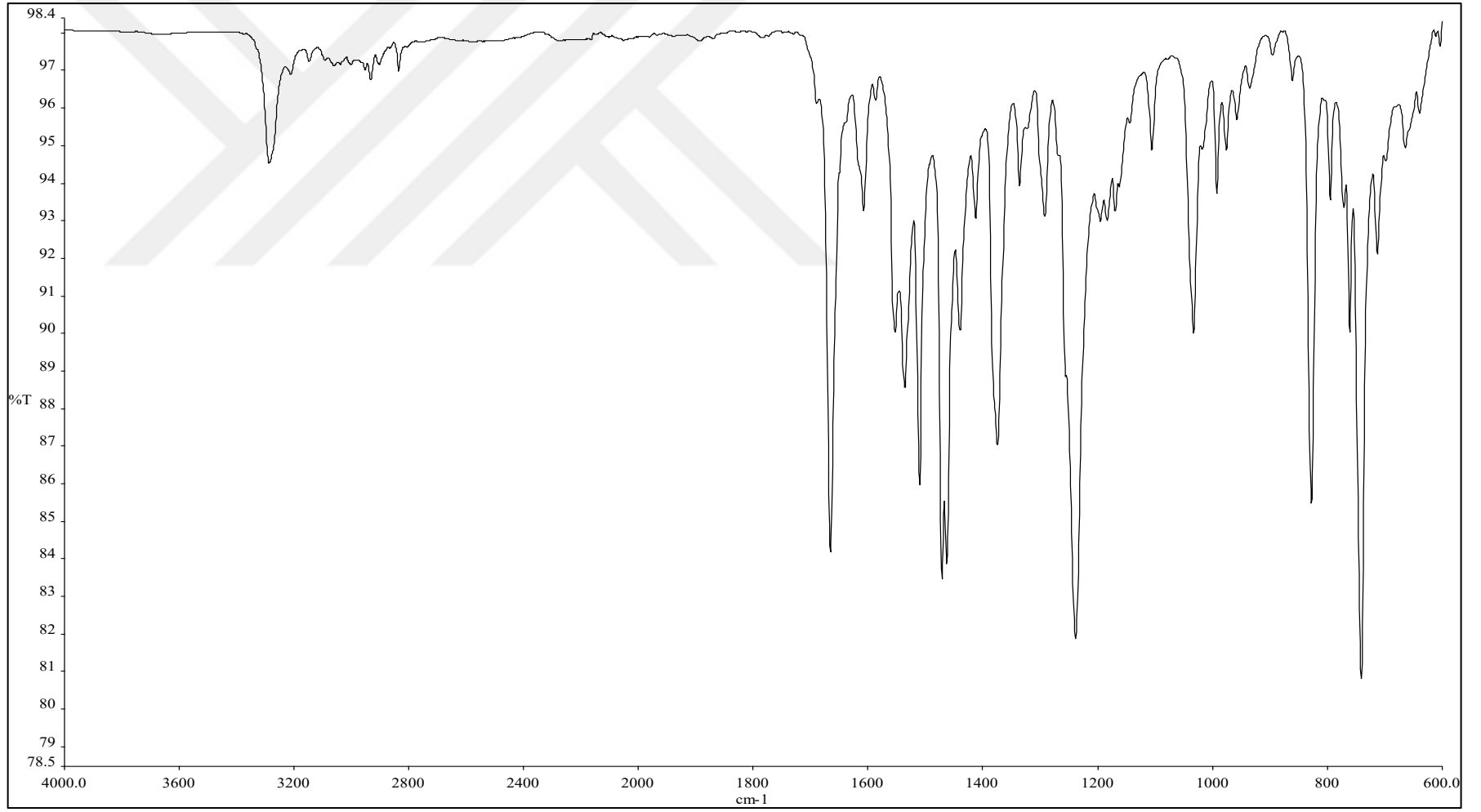


Spektrum 84. BCL13 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

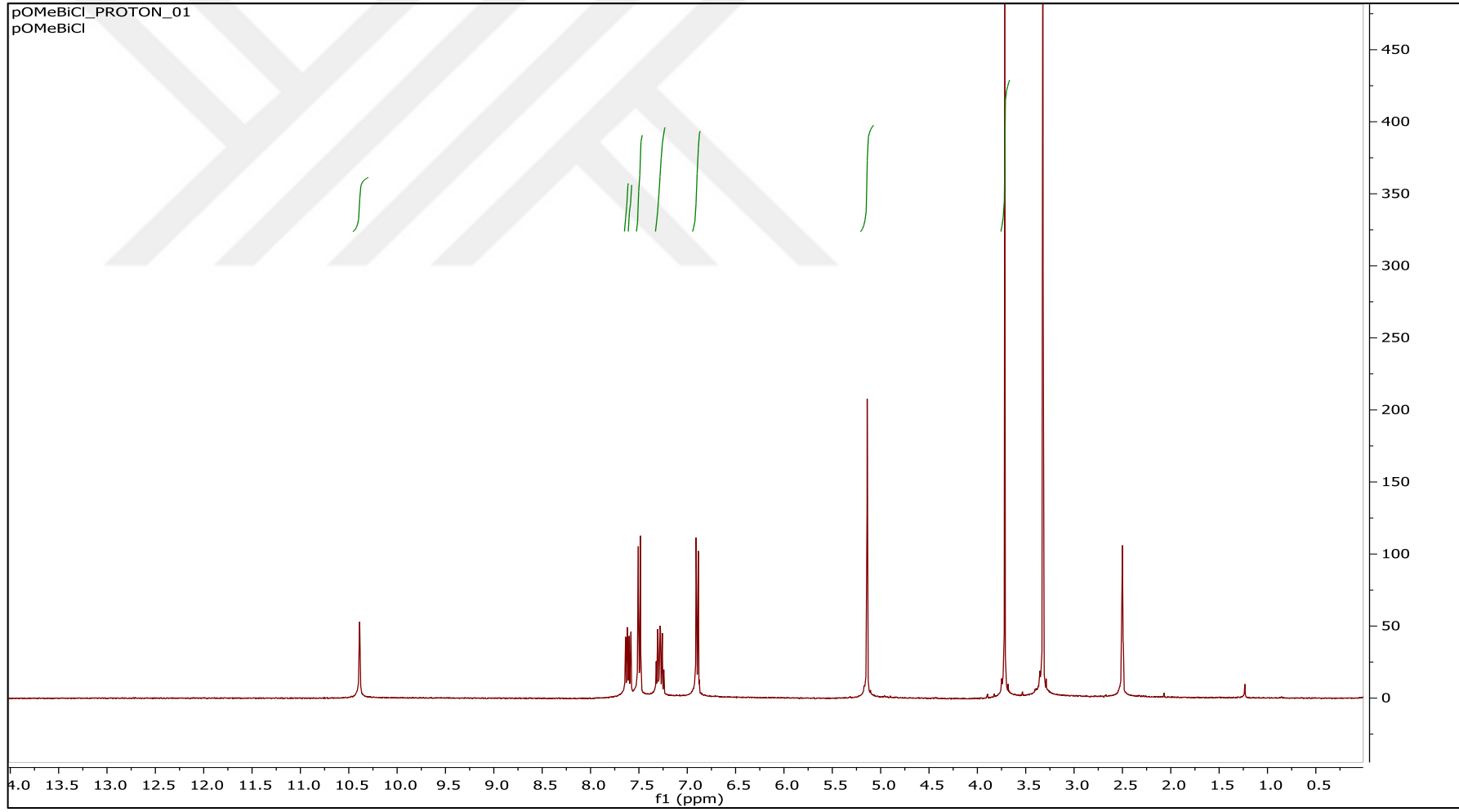
mome-Bic-apci-poz #51 RT: 0.45 AV: 1 NL: 5.13E6
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]



Spektrum 85. BCL13 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu

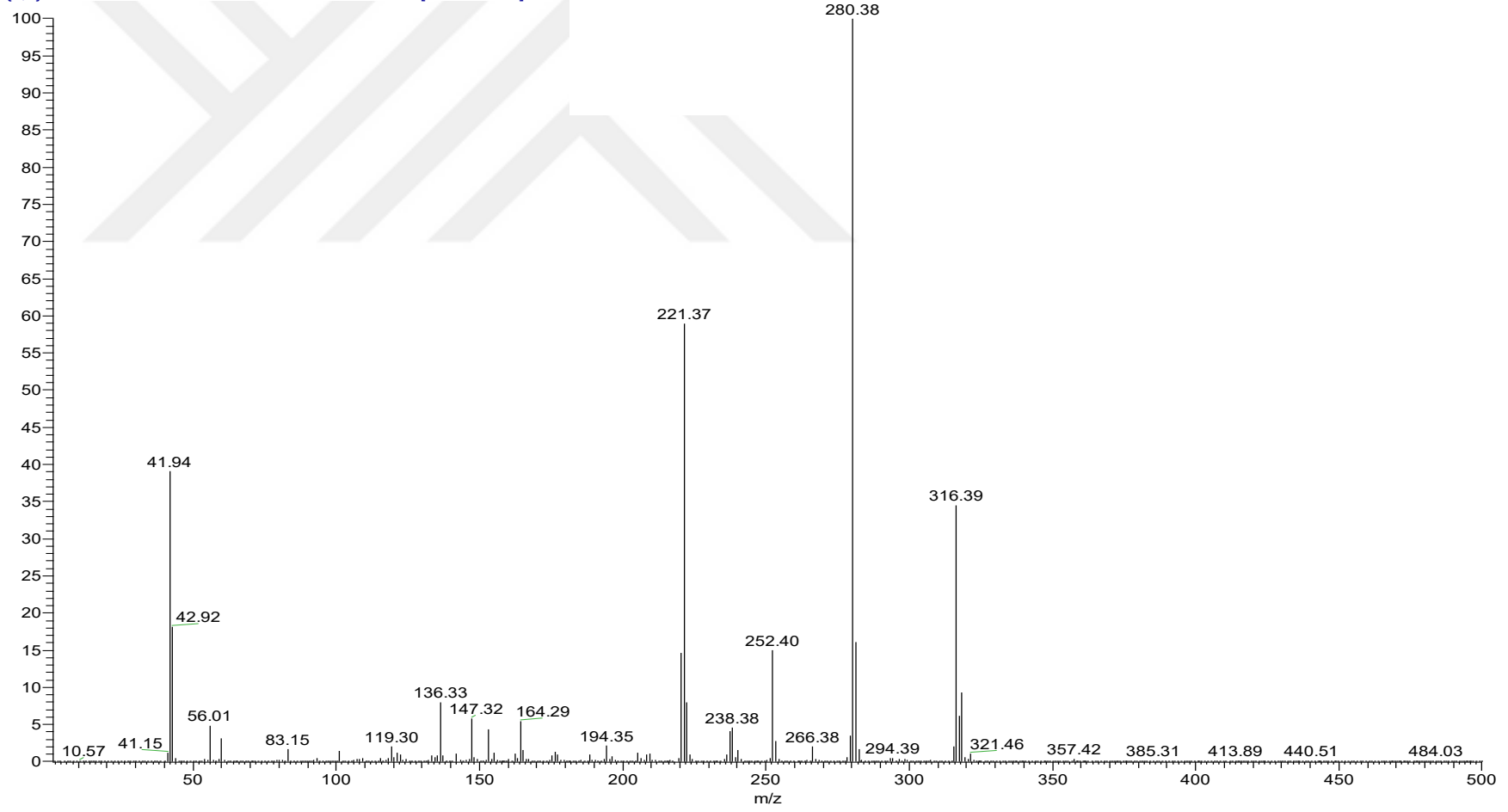


Spektrum 86. BCL14 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

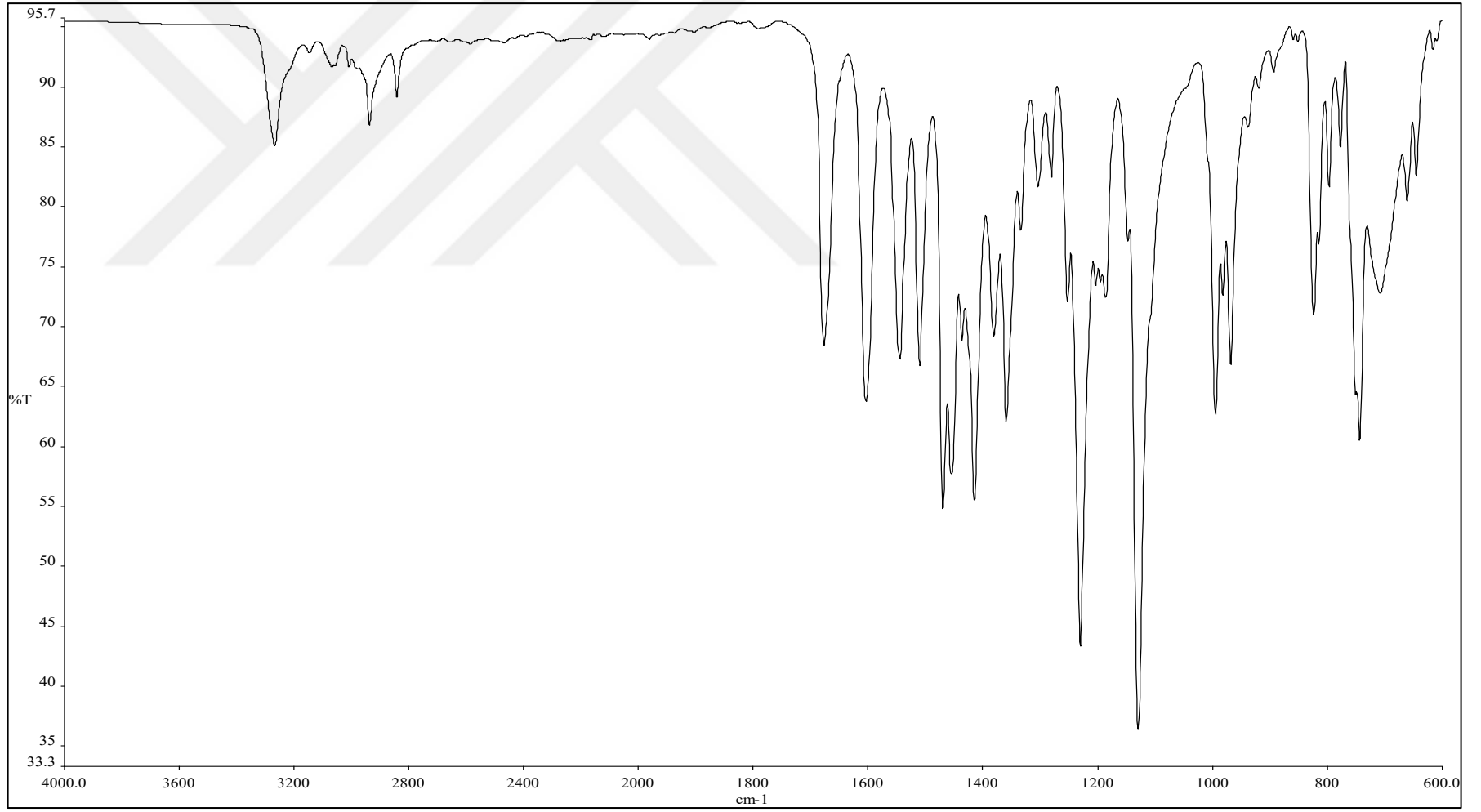


Spektrum 87. BCL14 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

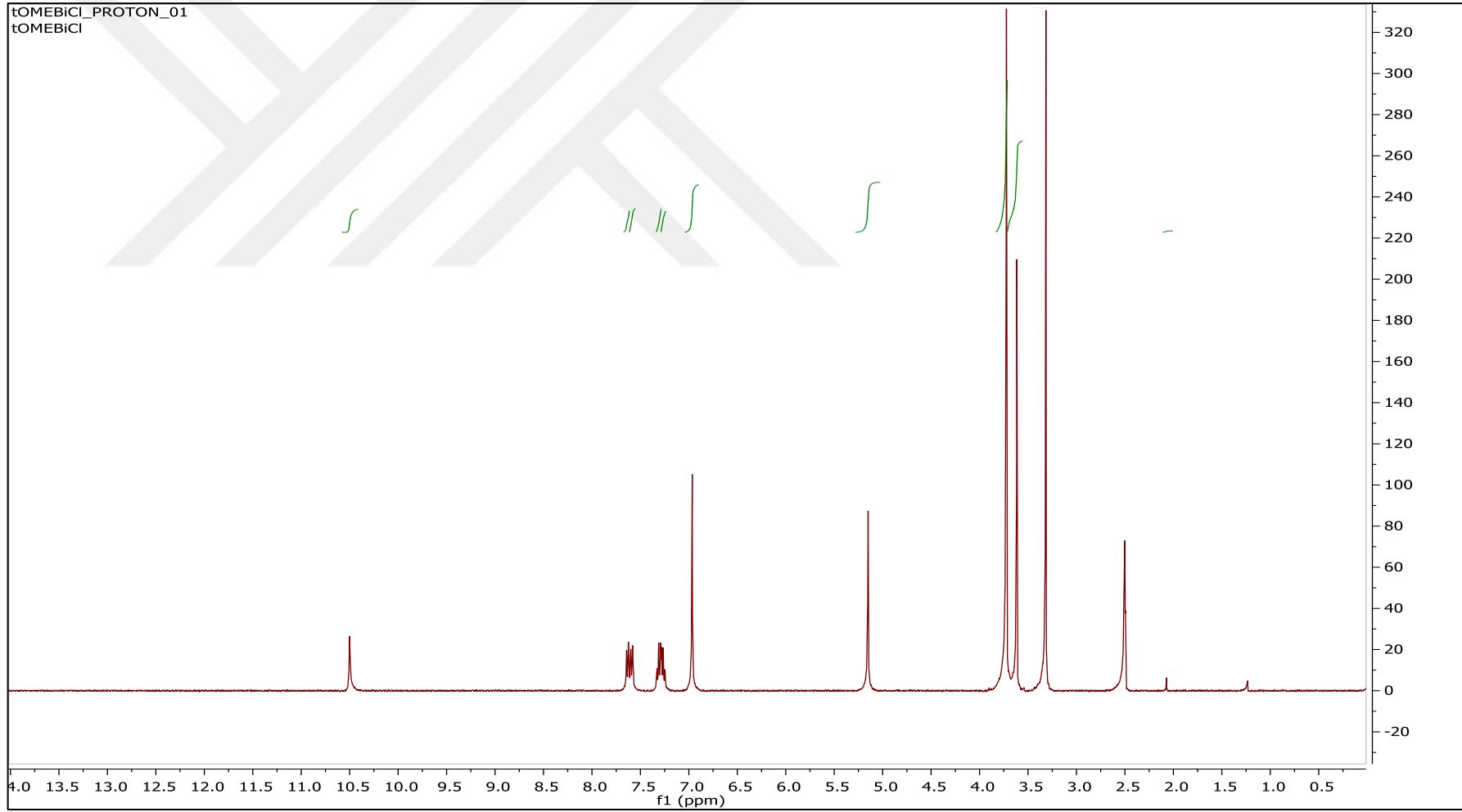
poME-BicI-apci-poz #67 RT: 0.60 AV: 1 NL: 6.59E6
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]



Spektrum 88. BCL14 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu

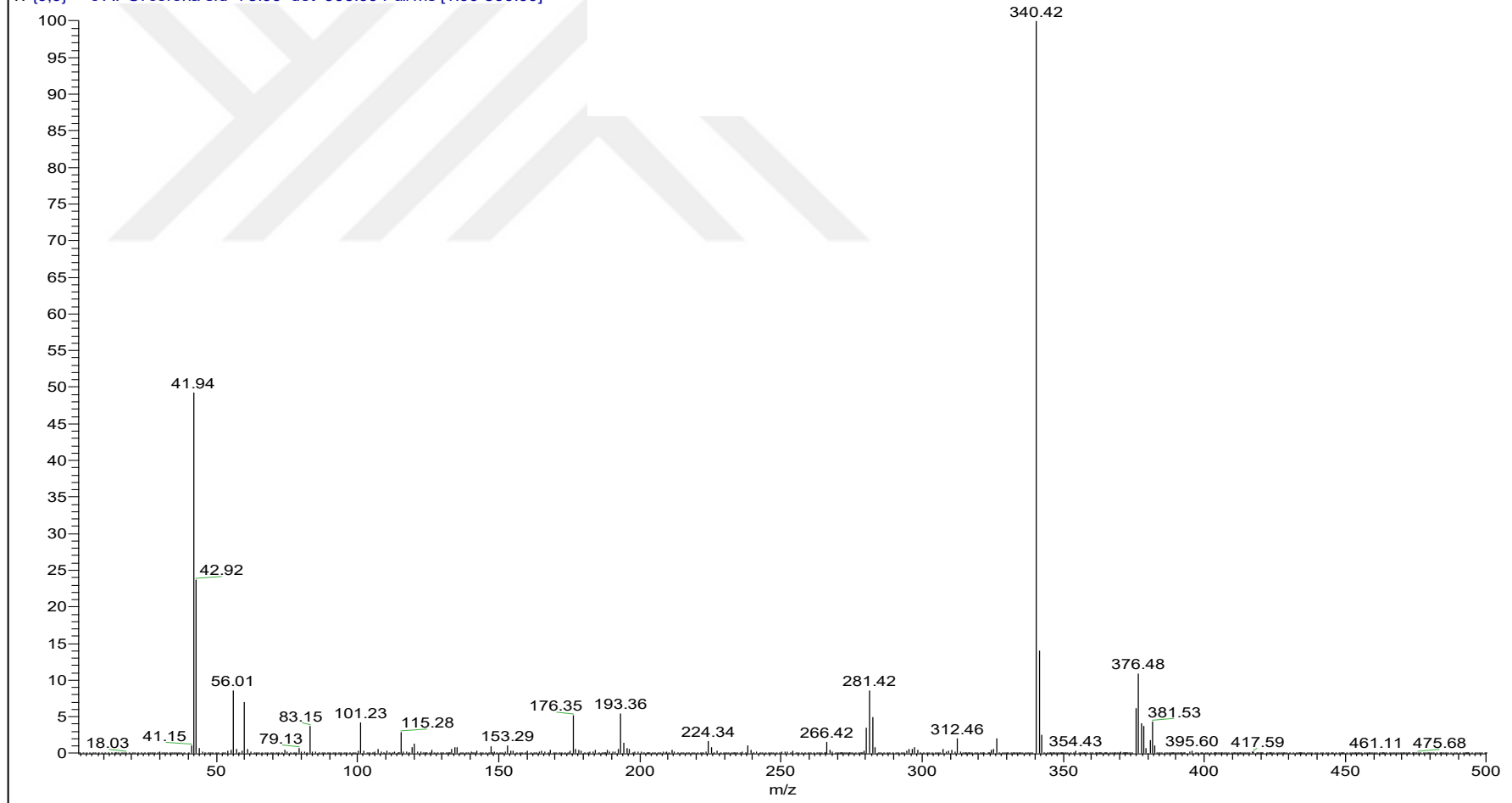


Spektrum 89. BCL15 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

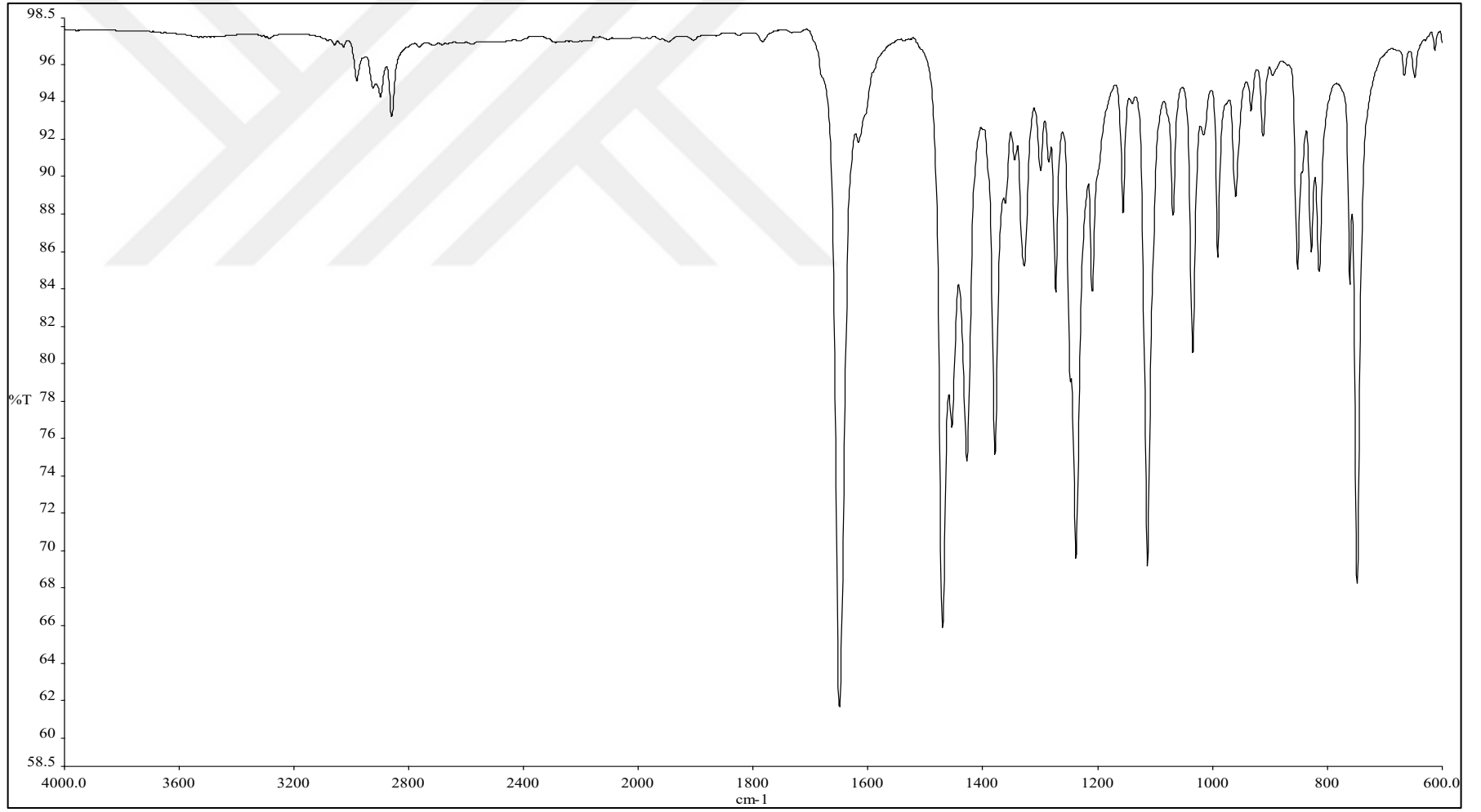


Spektrum 90. BCL15 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu

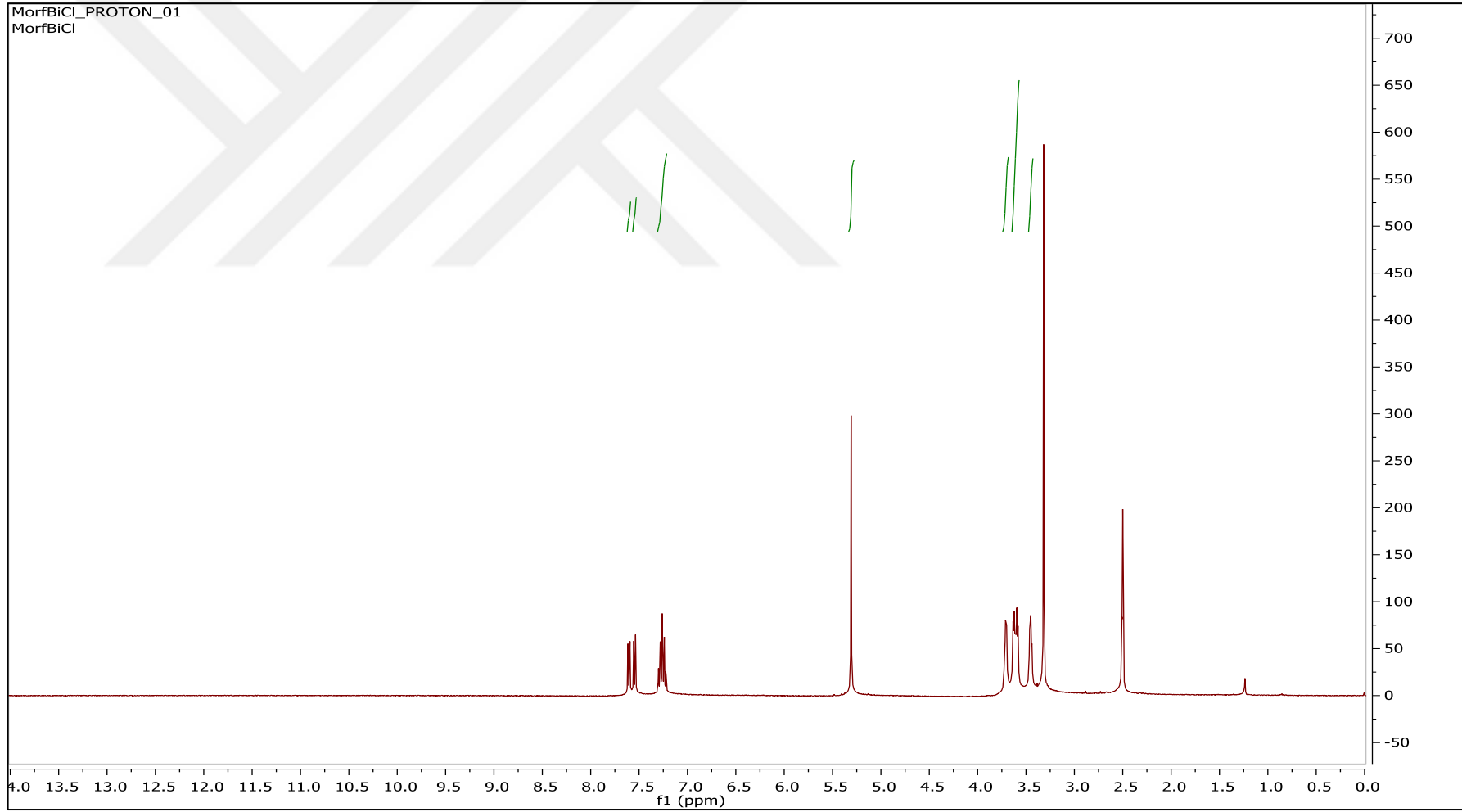
toME-Bicl-apci-poz #47 RT: 0.42 AV: 1 NL: 6.43E6
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]



Spektrum 91. BCL15 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu

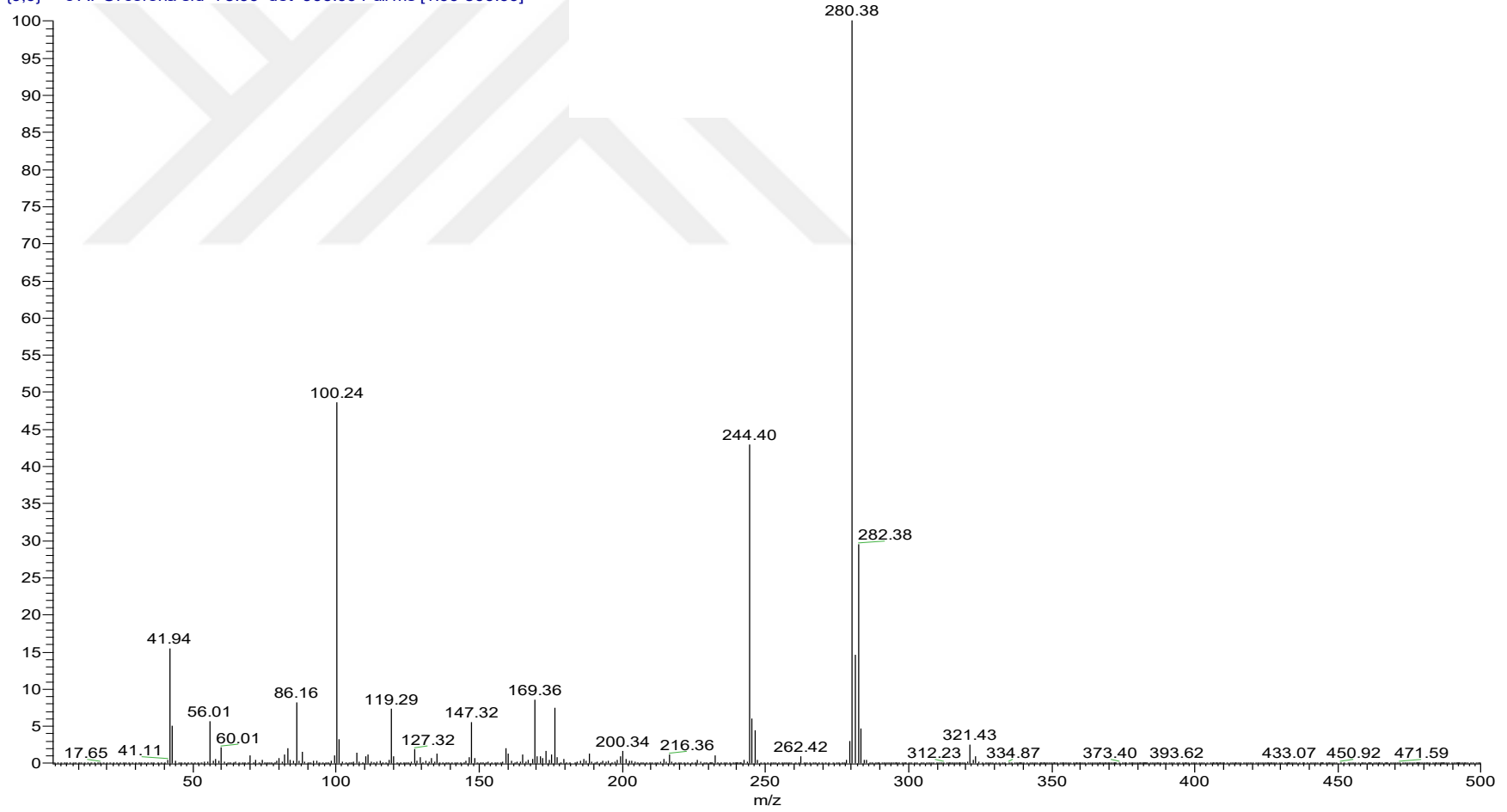


Spektrum 92. BCL16 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

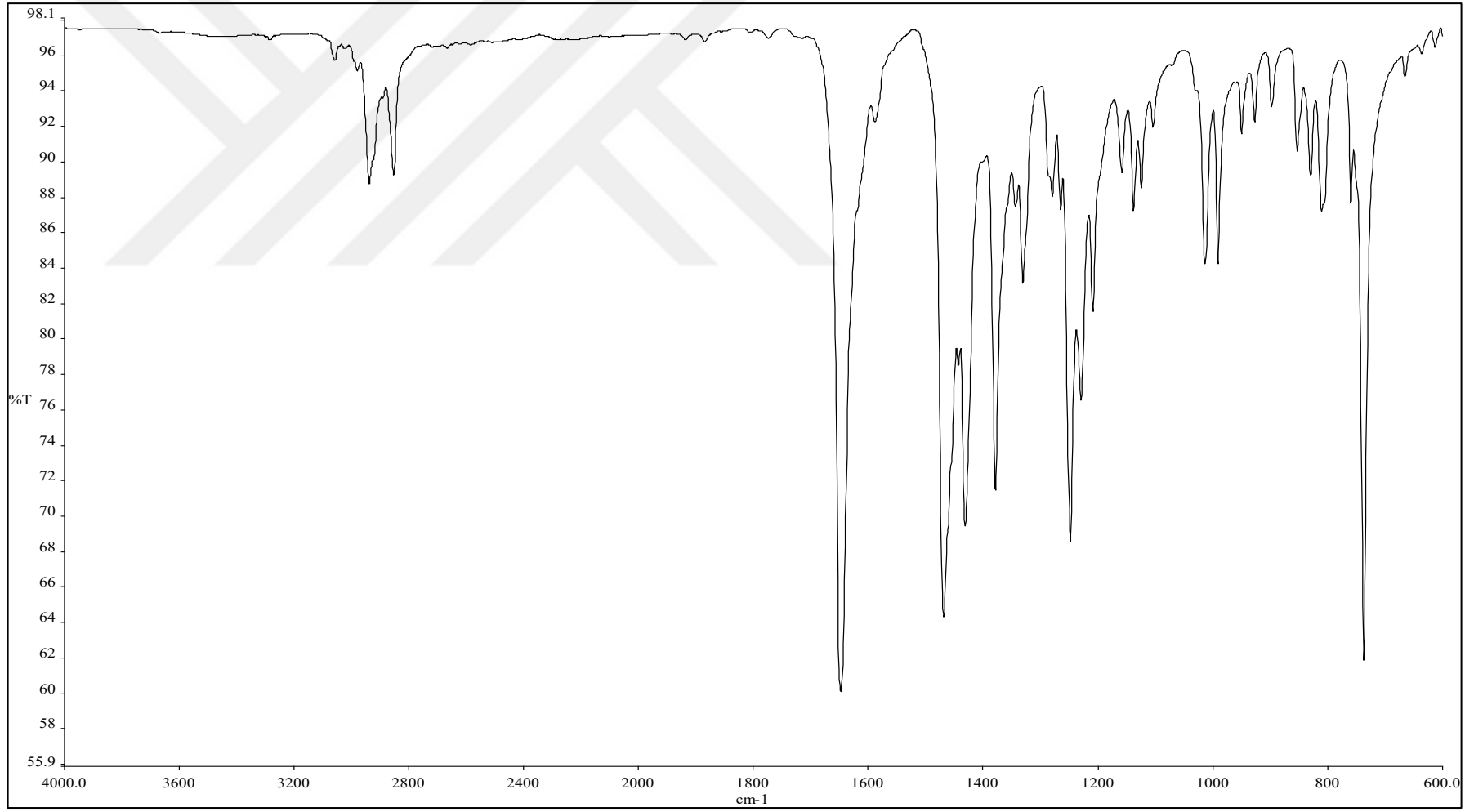


Spektrum 93. BCL16 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

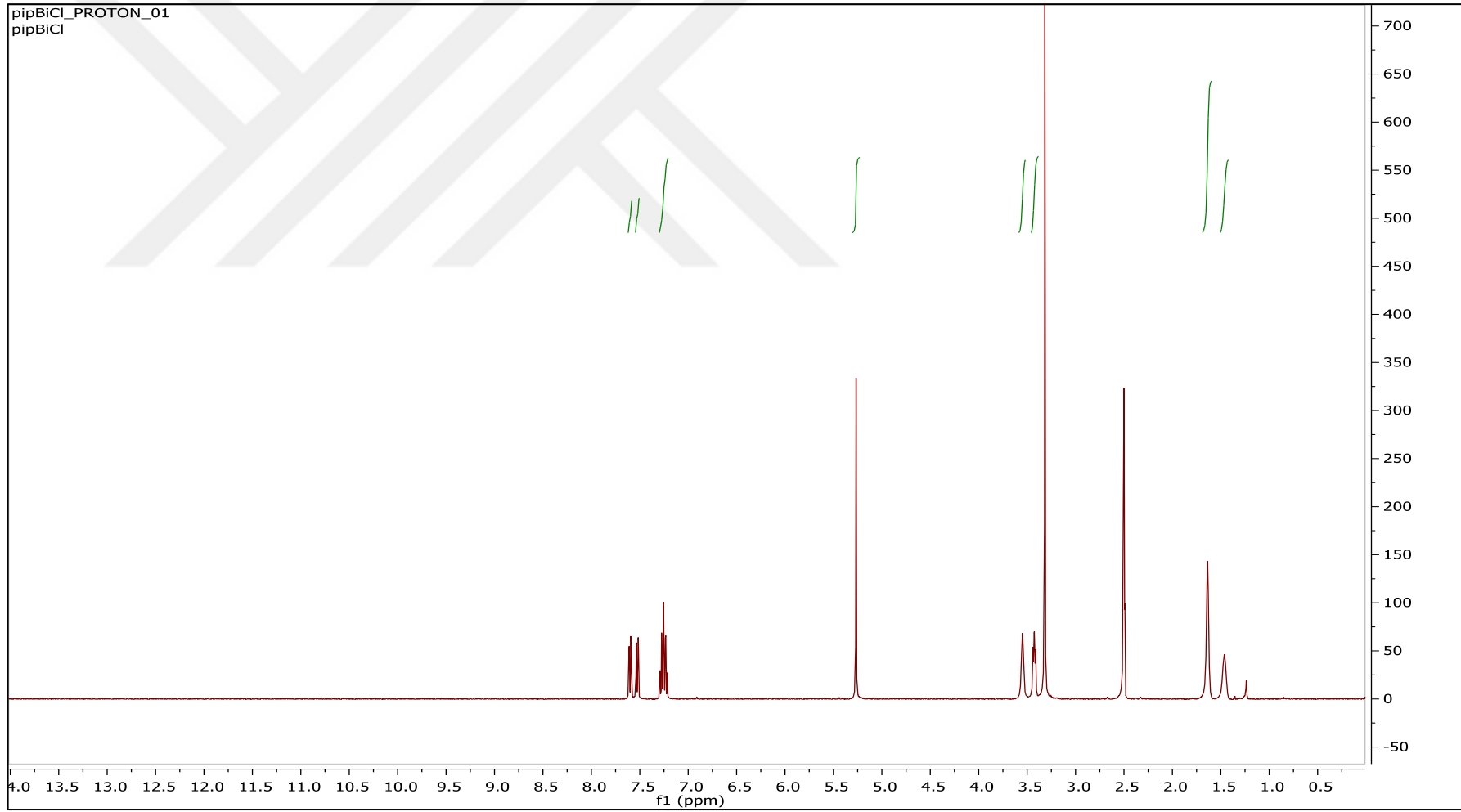
morf-BicI-apci-pos #39 RT: 0.34 AV: 1 NL: 7.67E6
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]



Spektrum 94. BCL16 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu

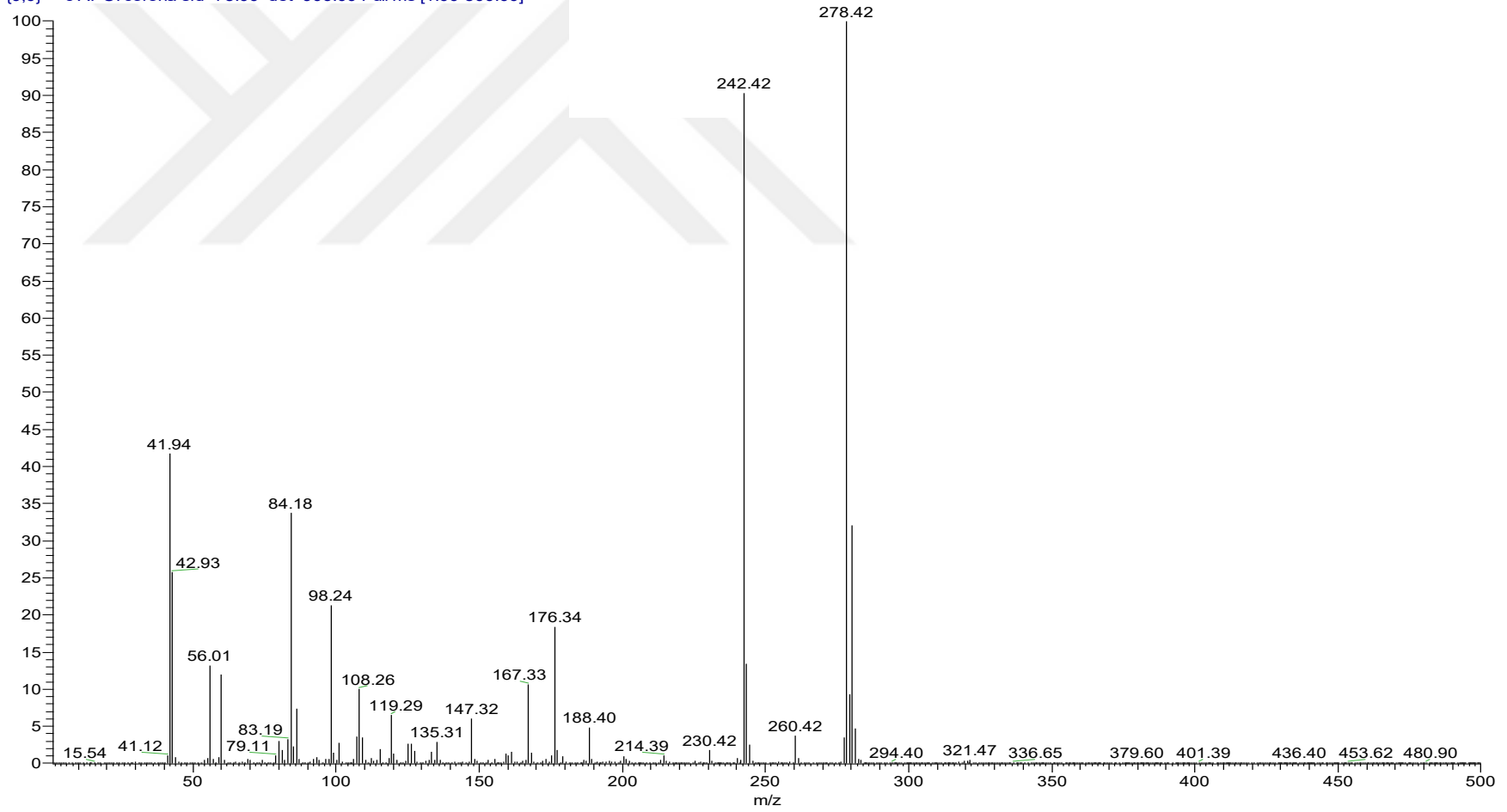


Spektrum 95. BCL17 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

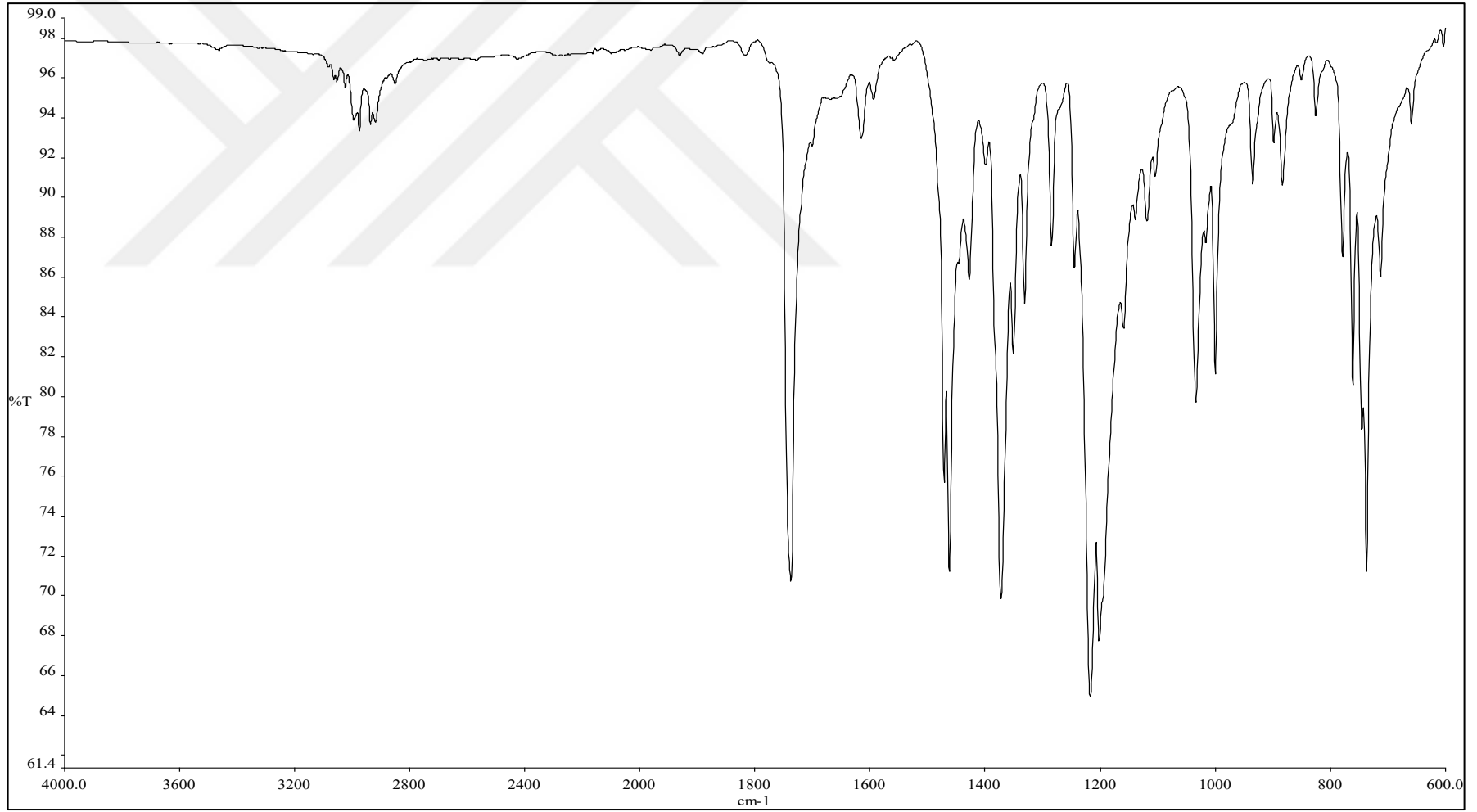


Spektrum 96. BCL17 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu

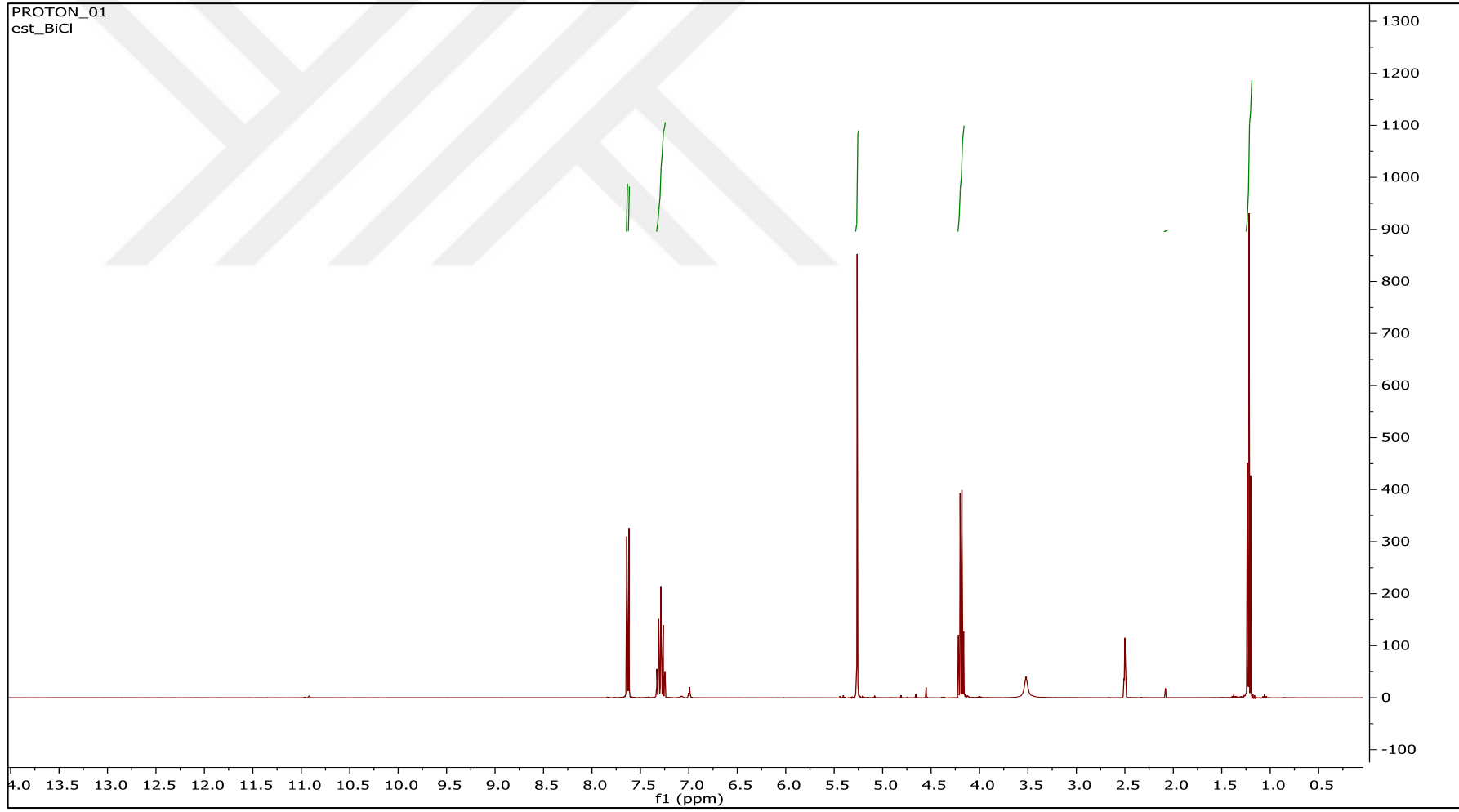
prp-Bicl-apci-poz #45 RT: 0.40 AV: 1 NL: 6.40E6
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]



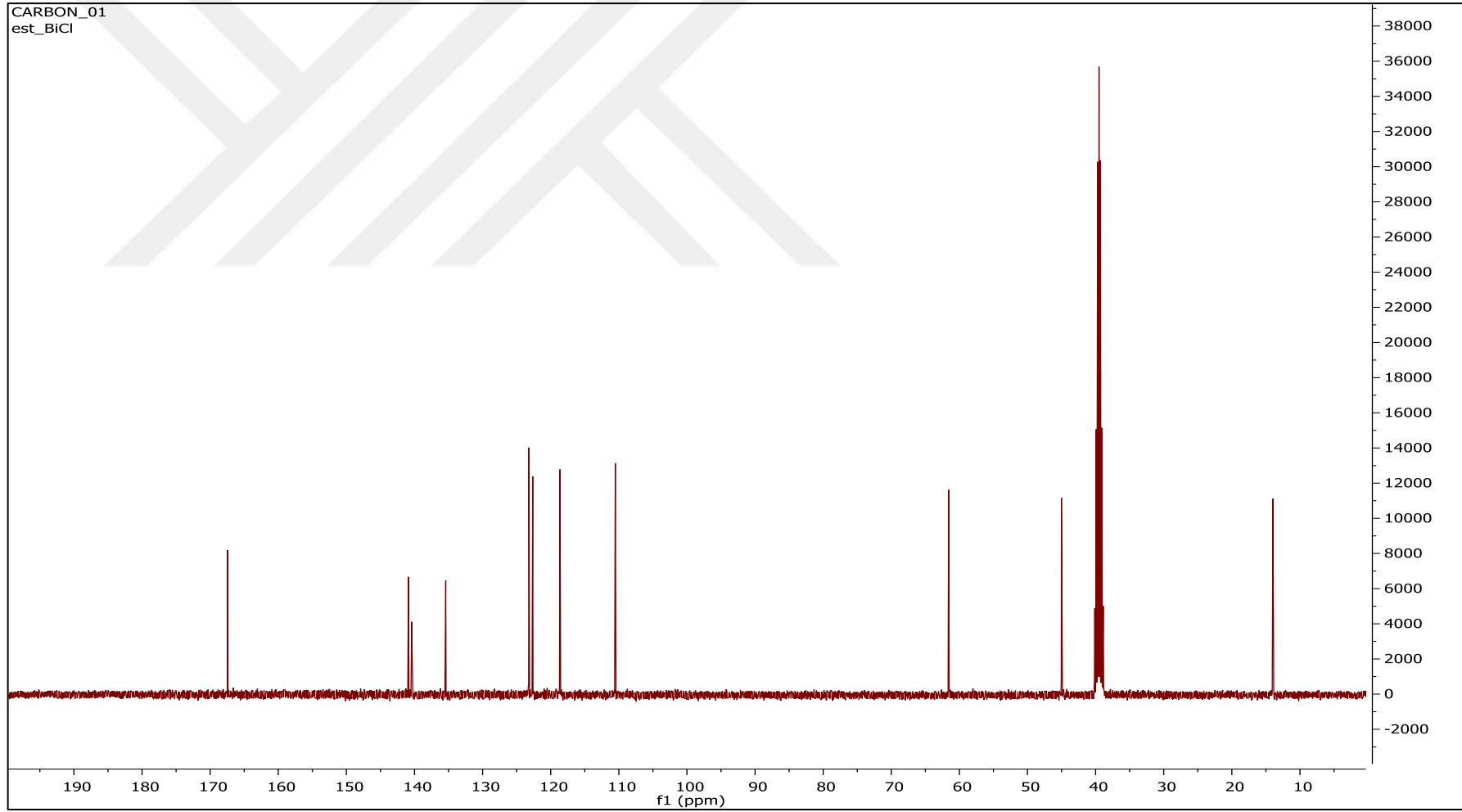
Spektrum 97. BCL17 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



Spektrum 98. BCL18 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

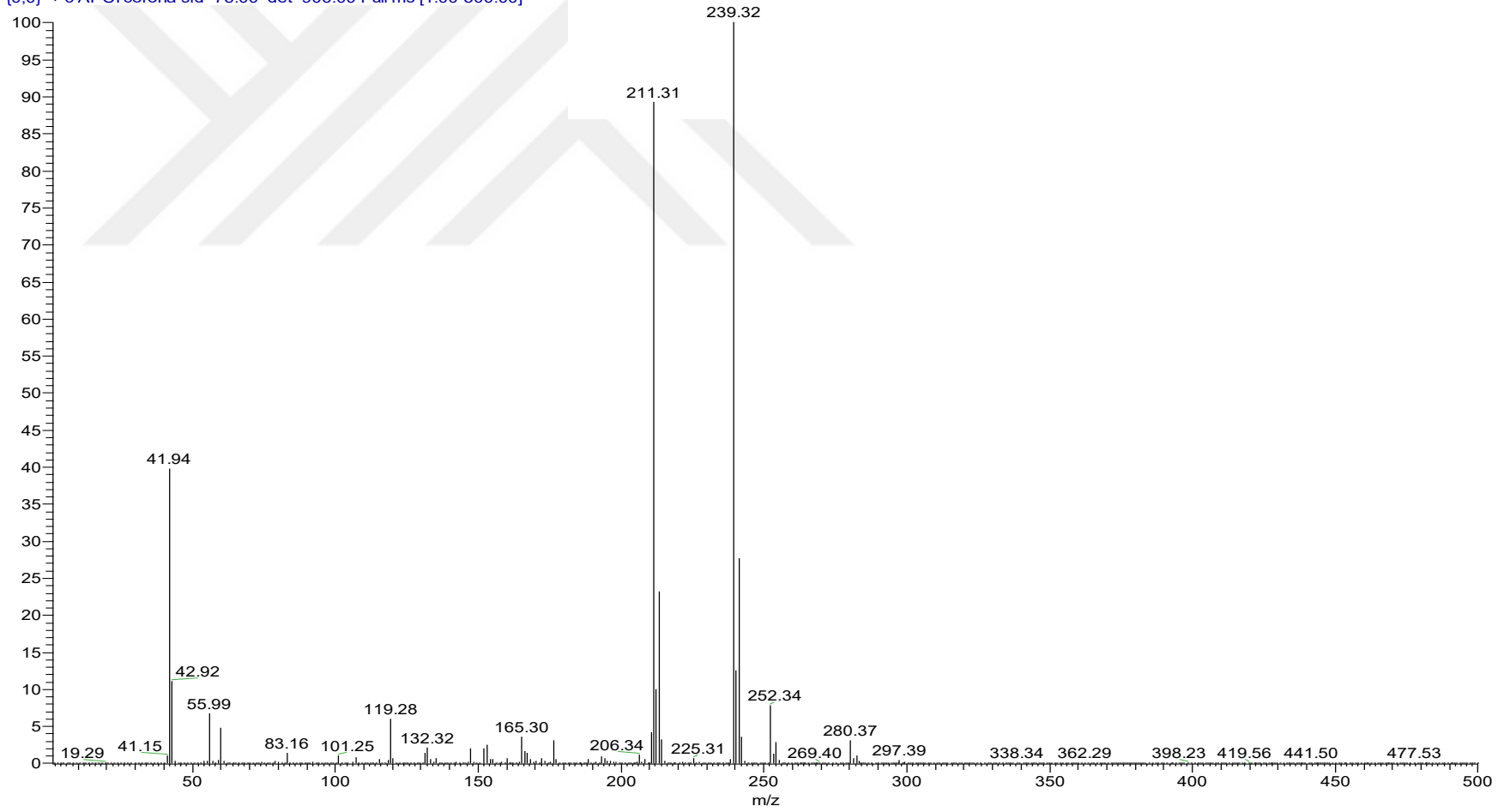


Spektrum 99. BCL18 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

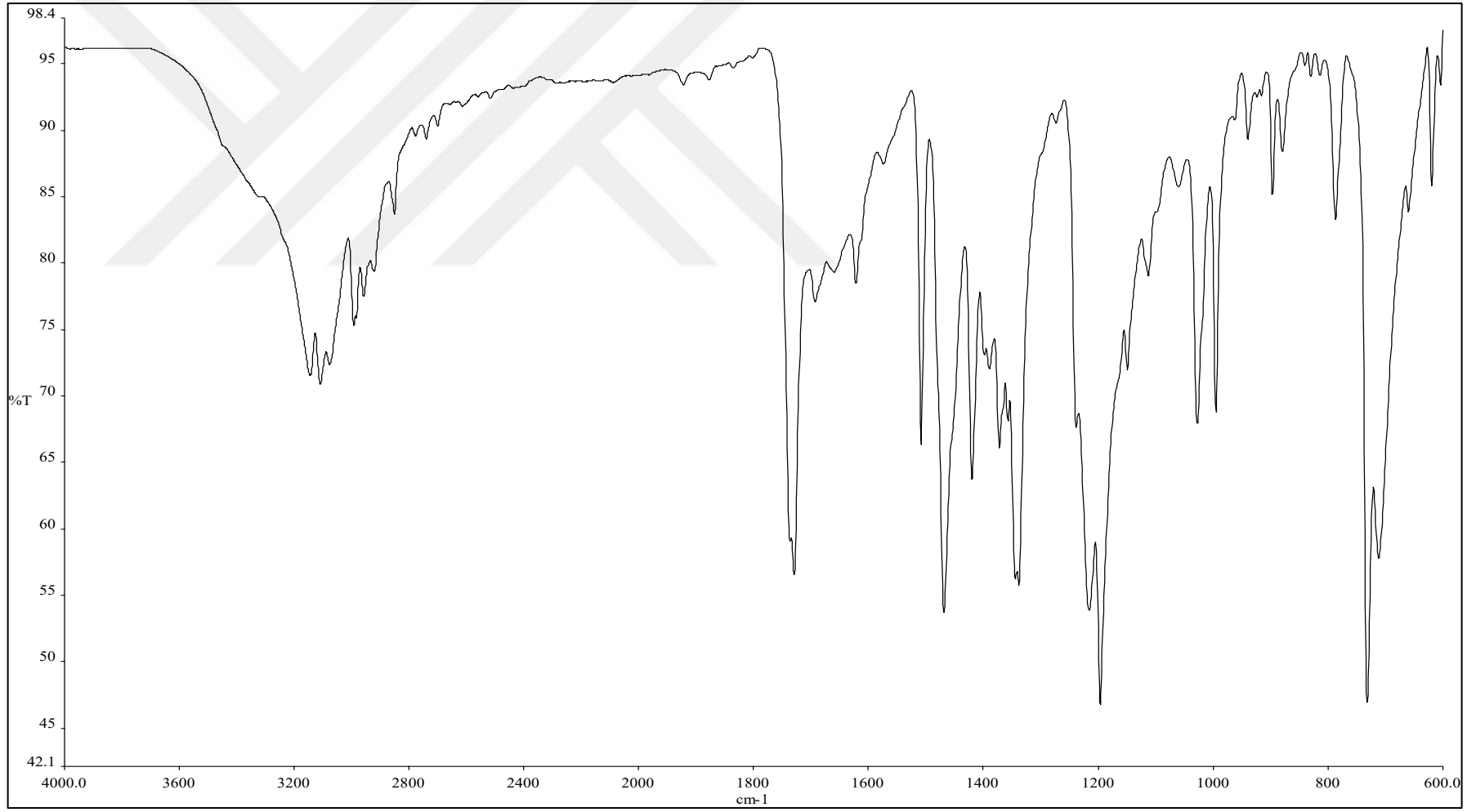


Spektrum 100. BCL18 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

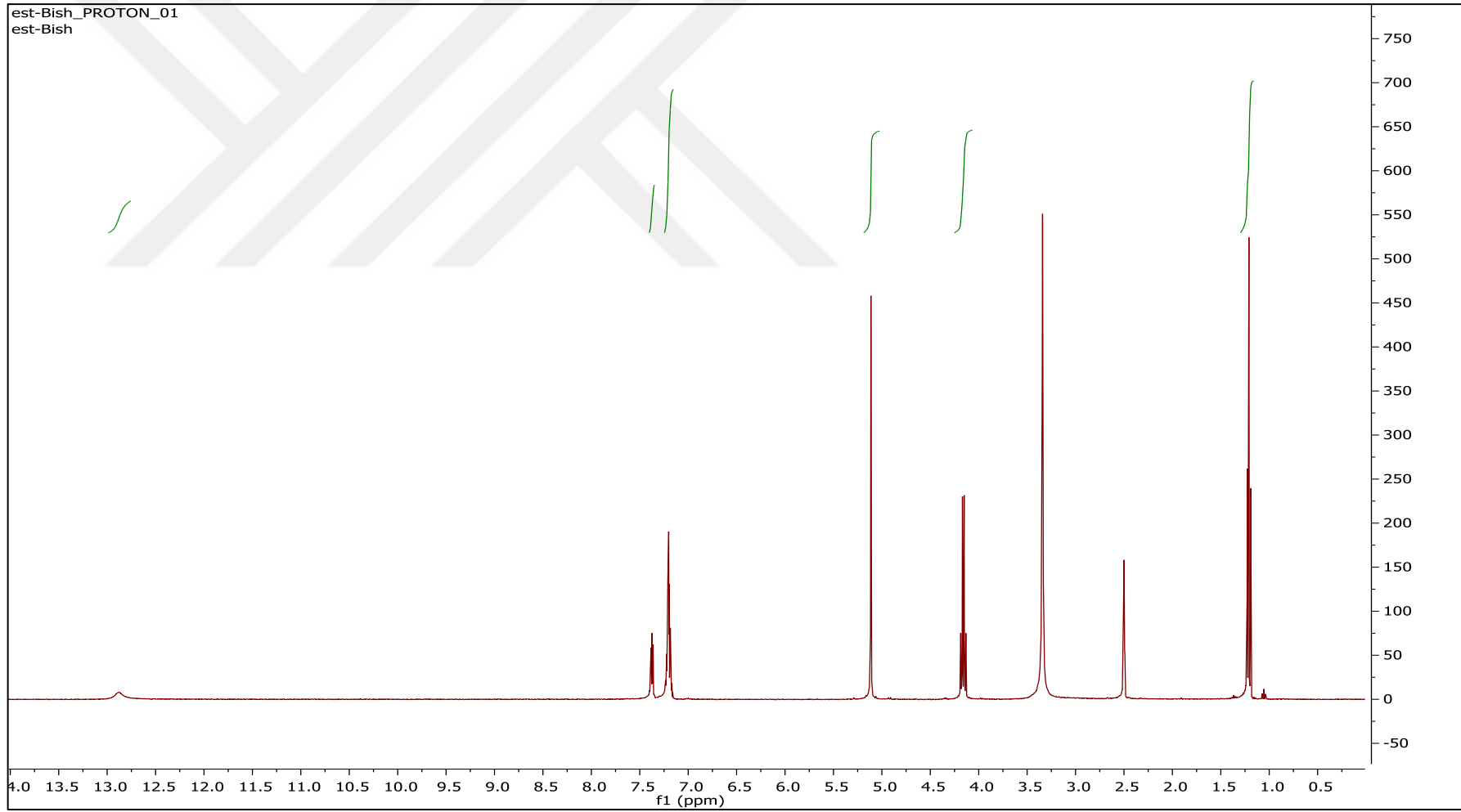
est-BicI-apci-poz #53 RT: 0.47 AV: 1 NL: 9.80E6
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]



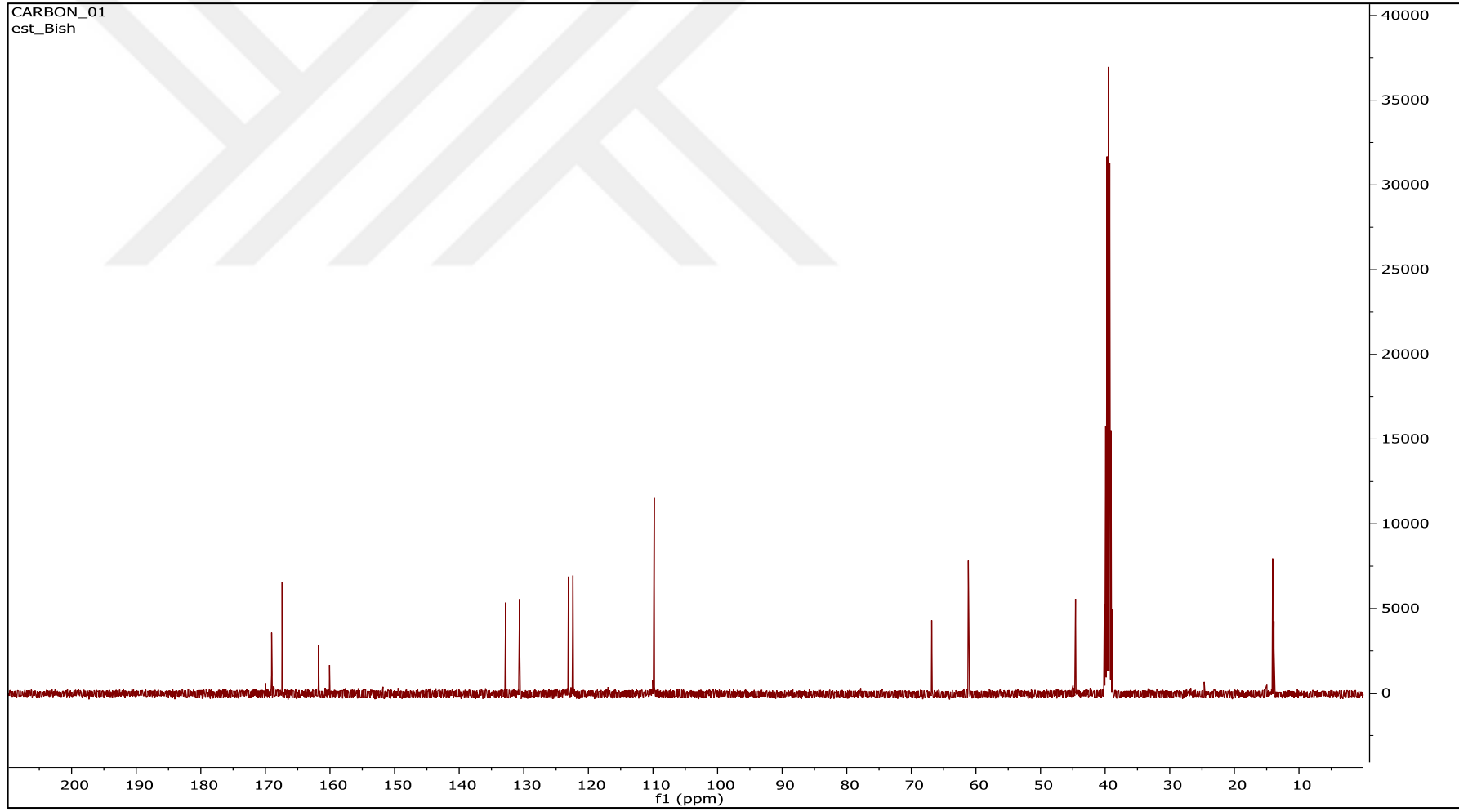
Spektrum 101. BCL18 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



Spektrum 102. BSE Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

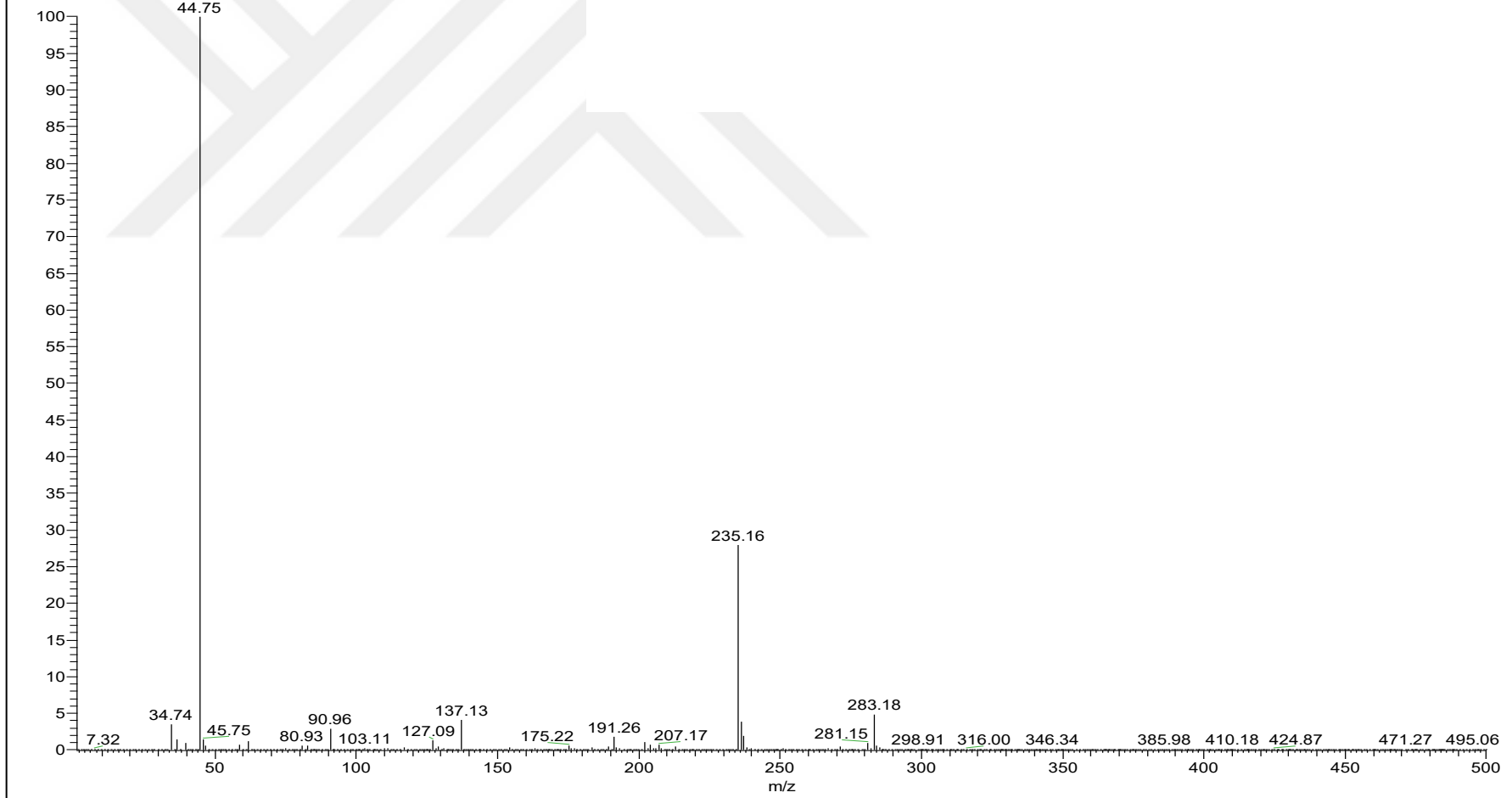


Spektrum 103. BSE Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

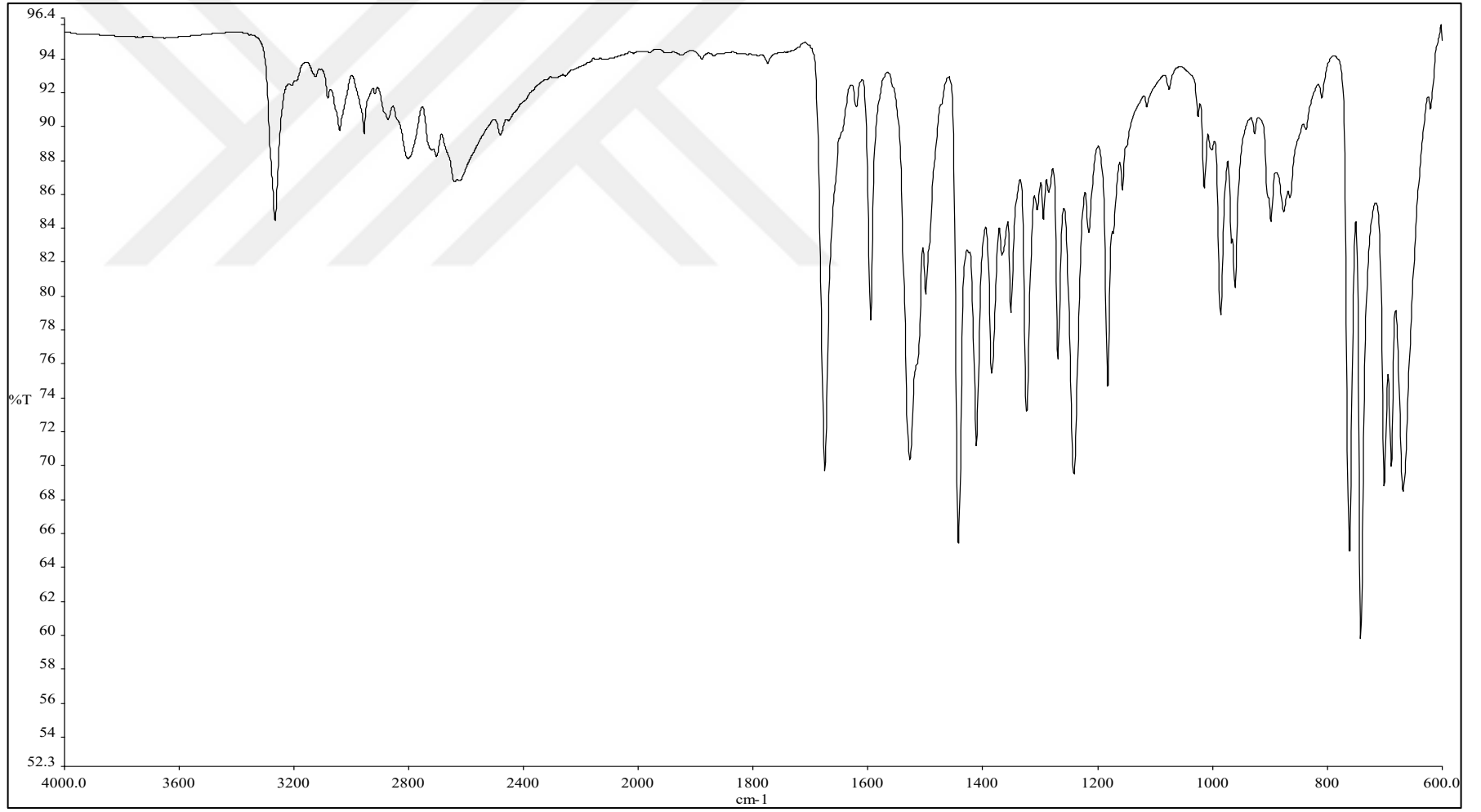


Spektrum 104. BSE Kodlu Bileşigin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

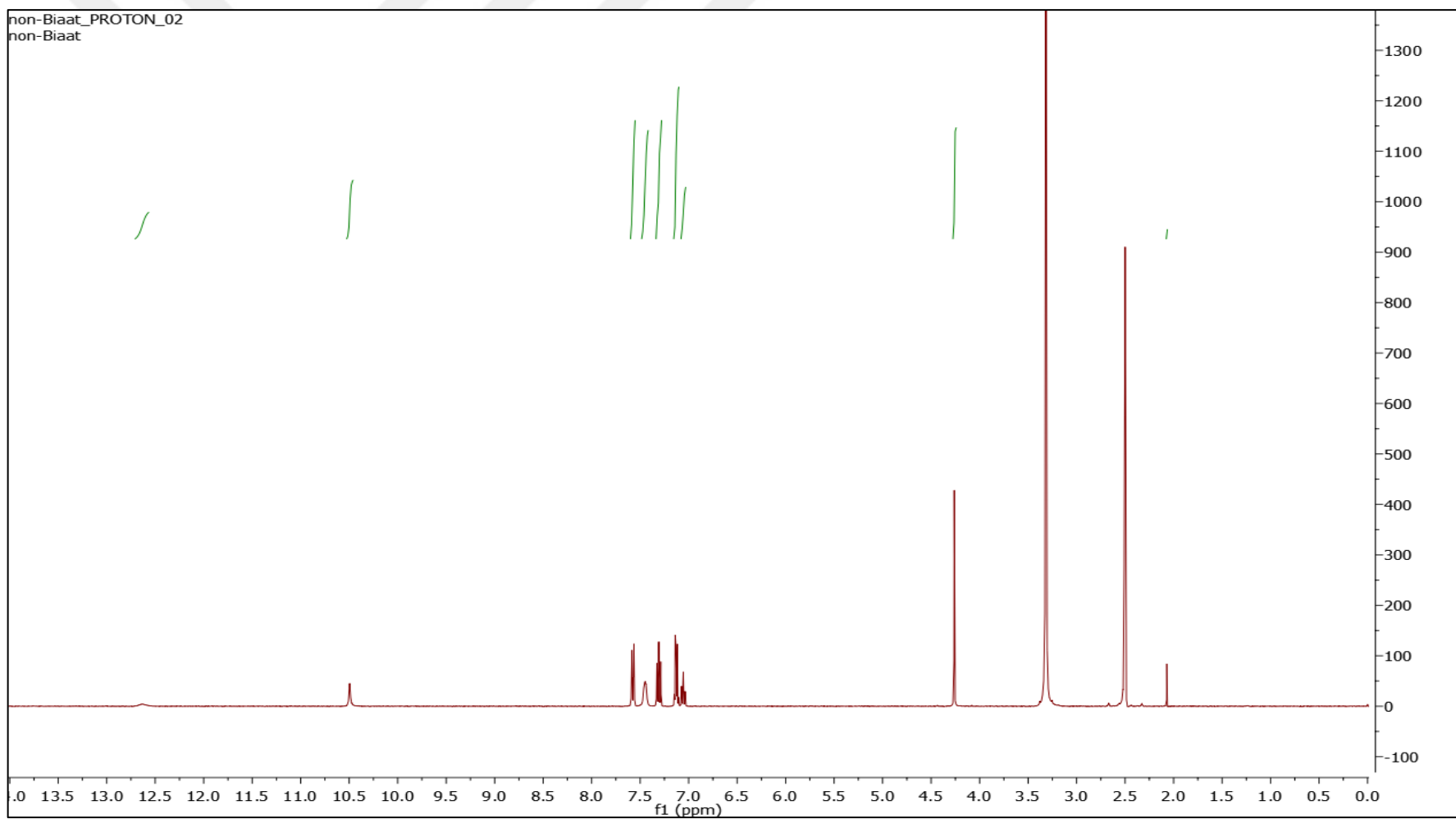
est-Bish-apci-neg #37 RT: 0.32 AV: 1 NL: 2.41E6
T: {0,0} - c APCL corona sid=50.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]



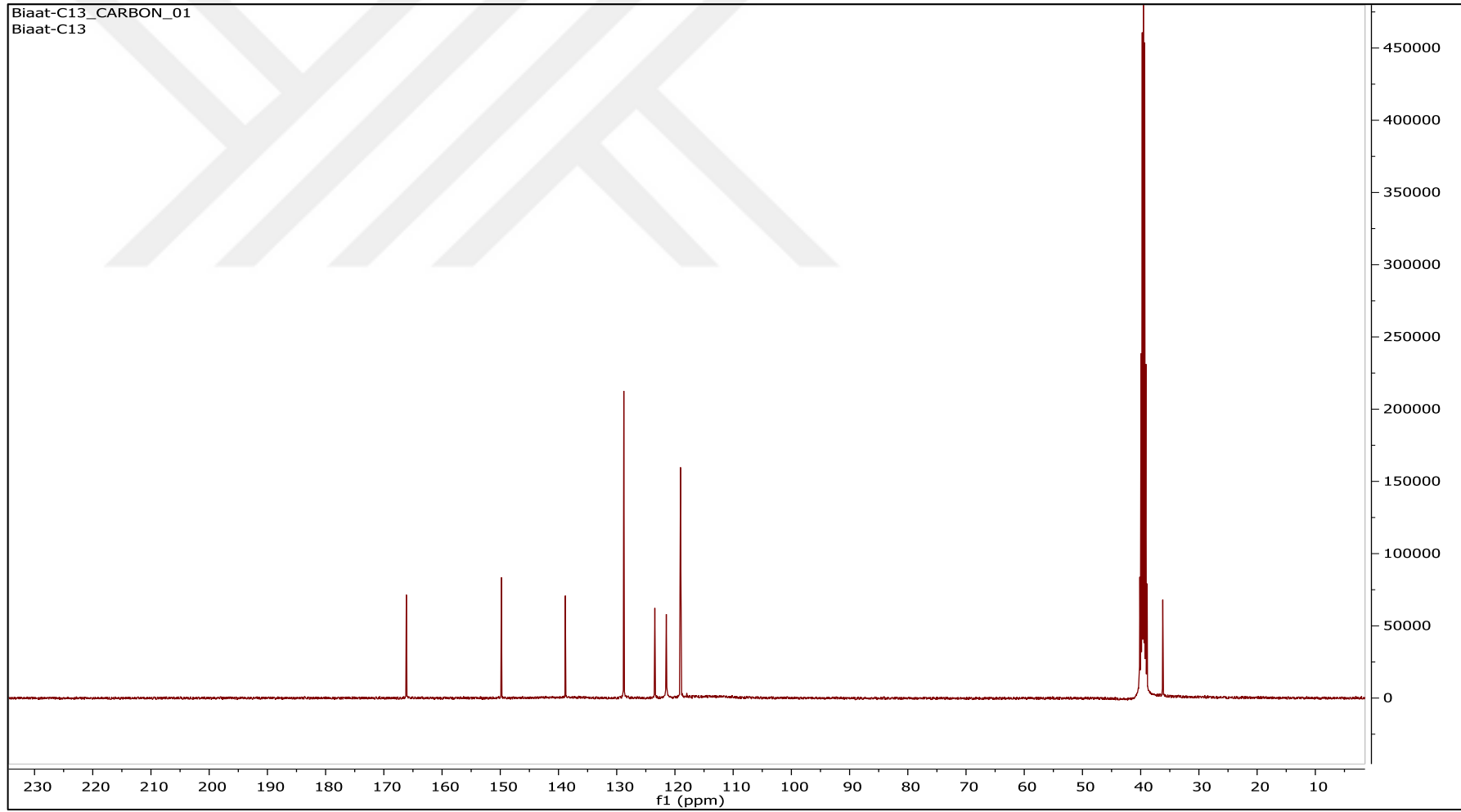
Spektrum 105. BSE Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



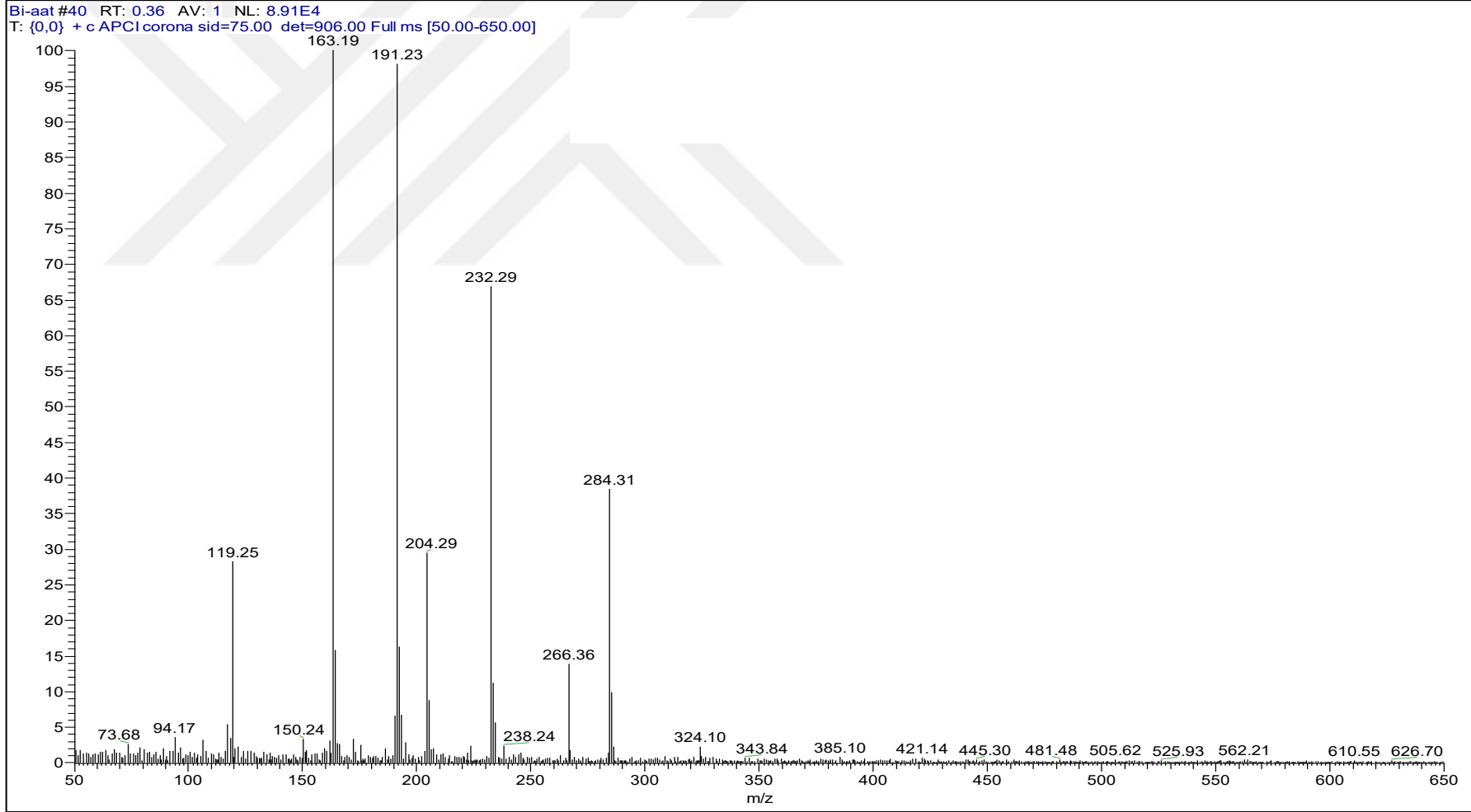
Spektrum 106. B1 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



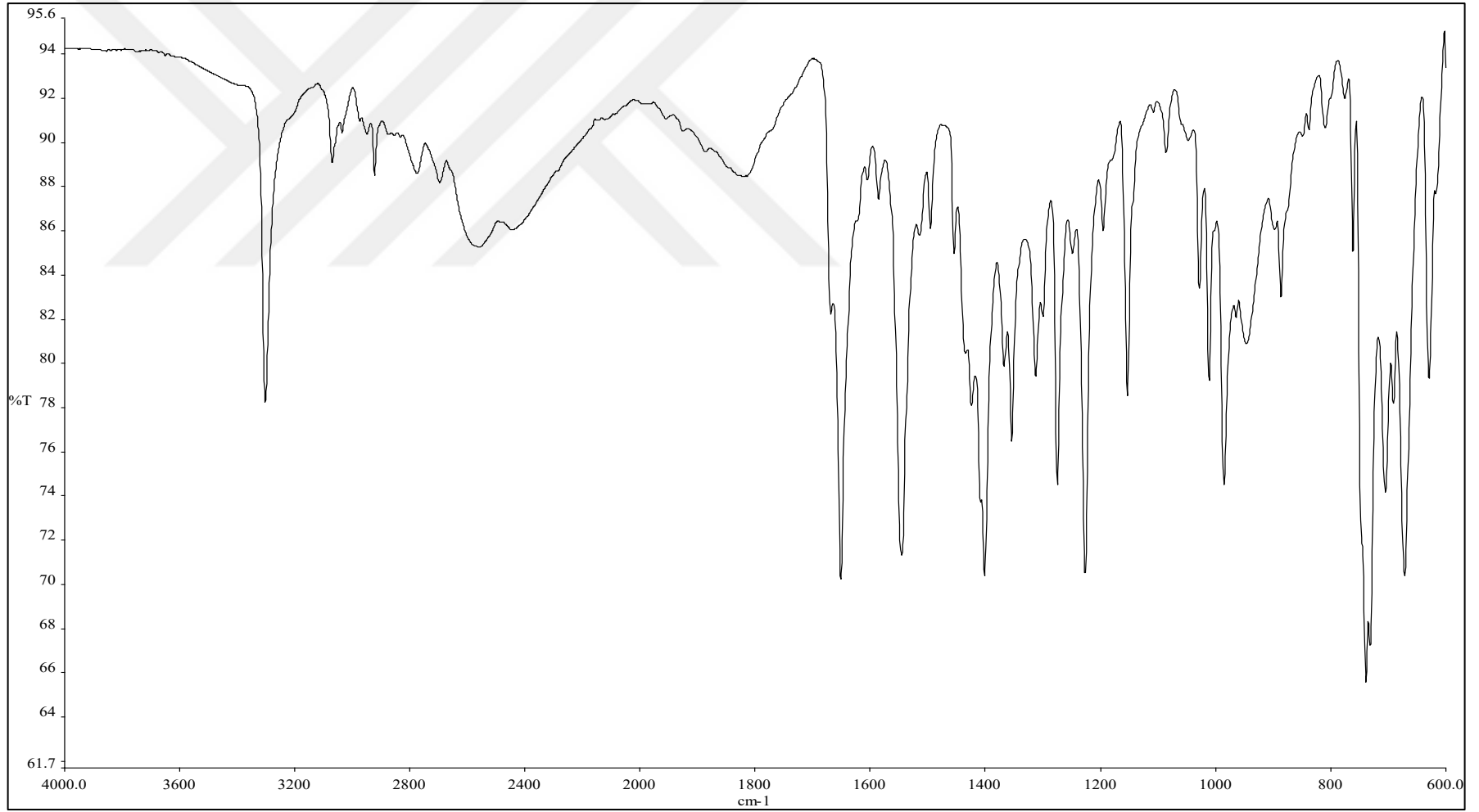
Spektrum 107. B1 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



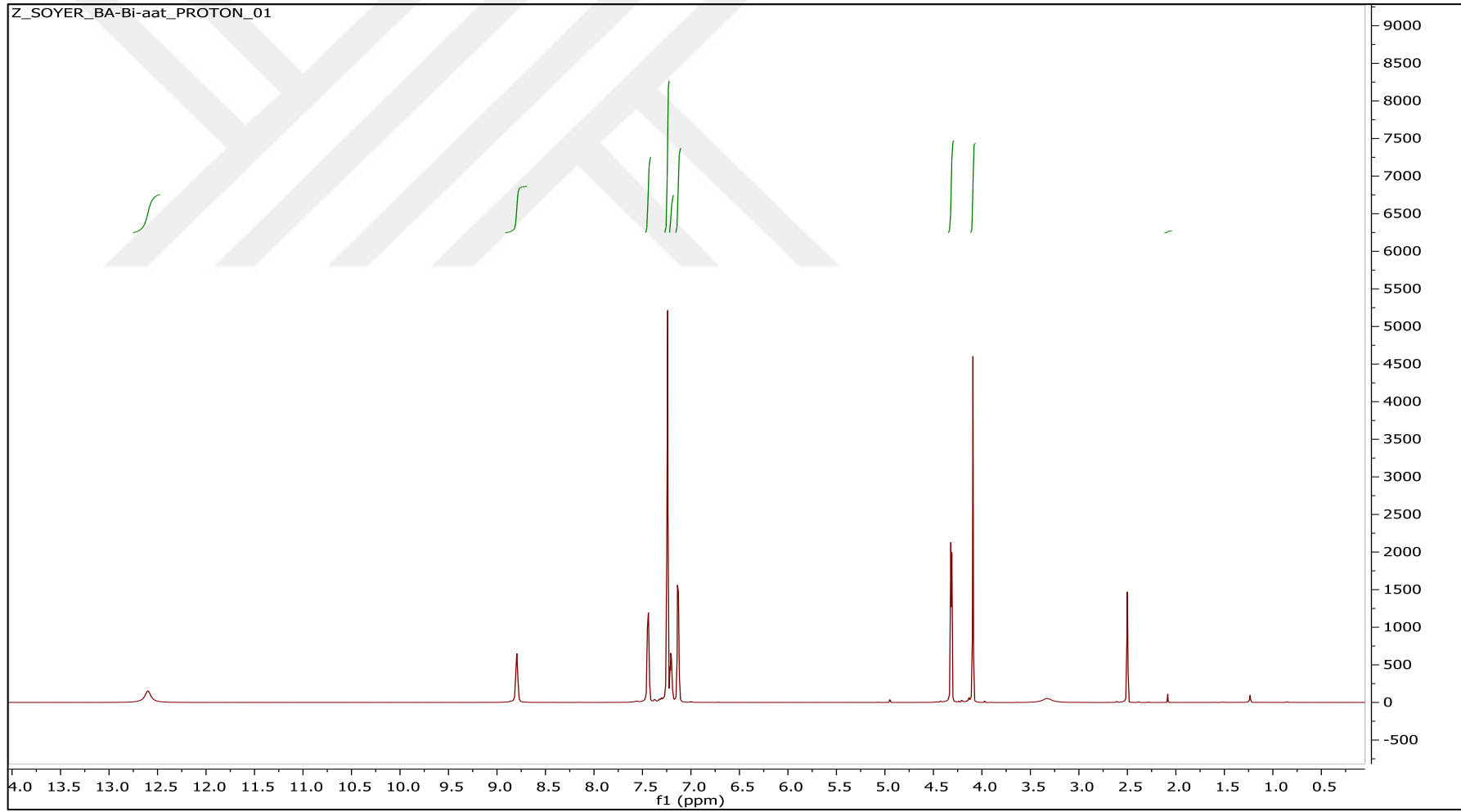
Spektrum 108. B1 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



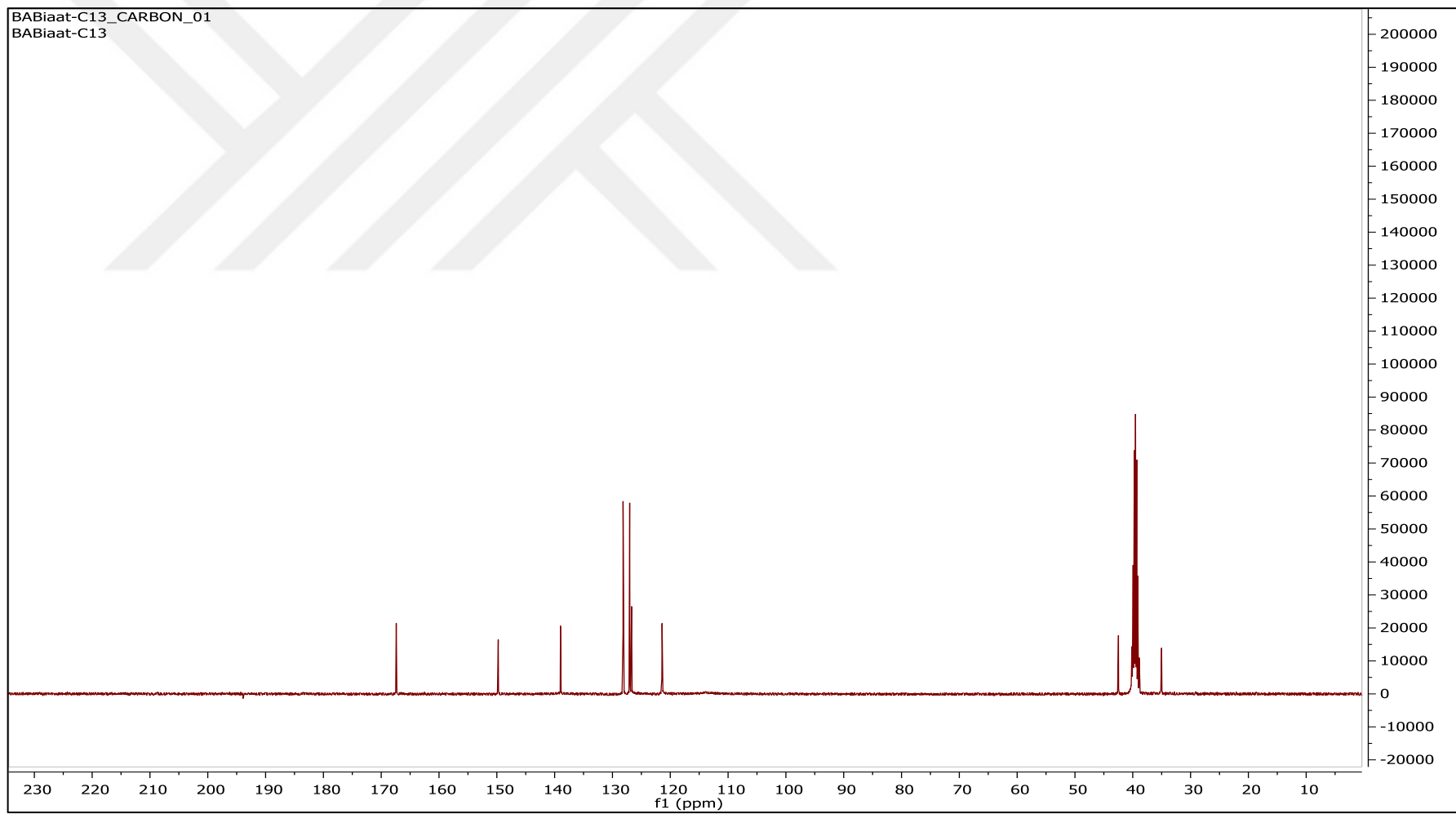
Spektrum 109. B1 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



Spektrum 110. B2 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

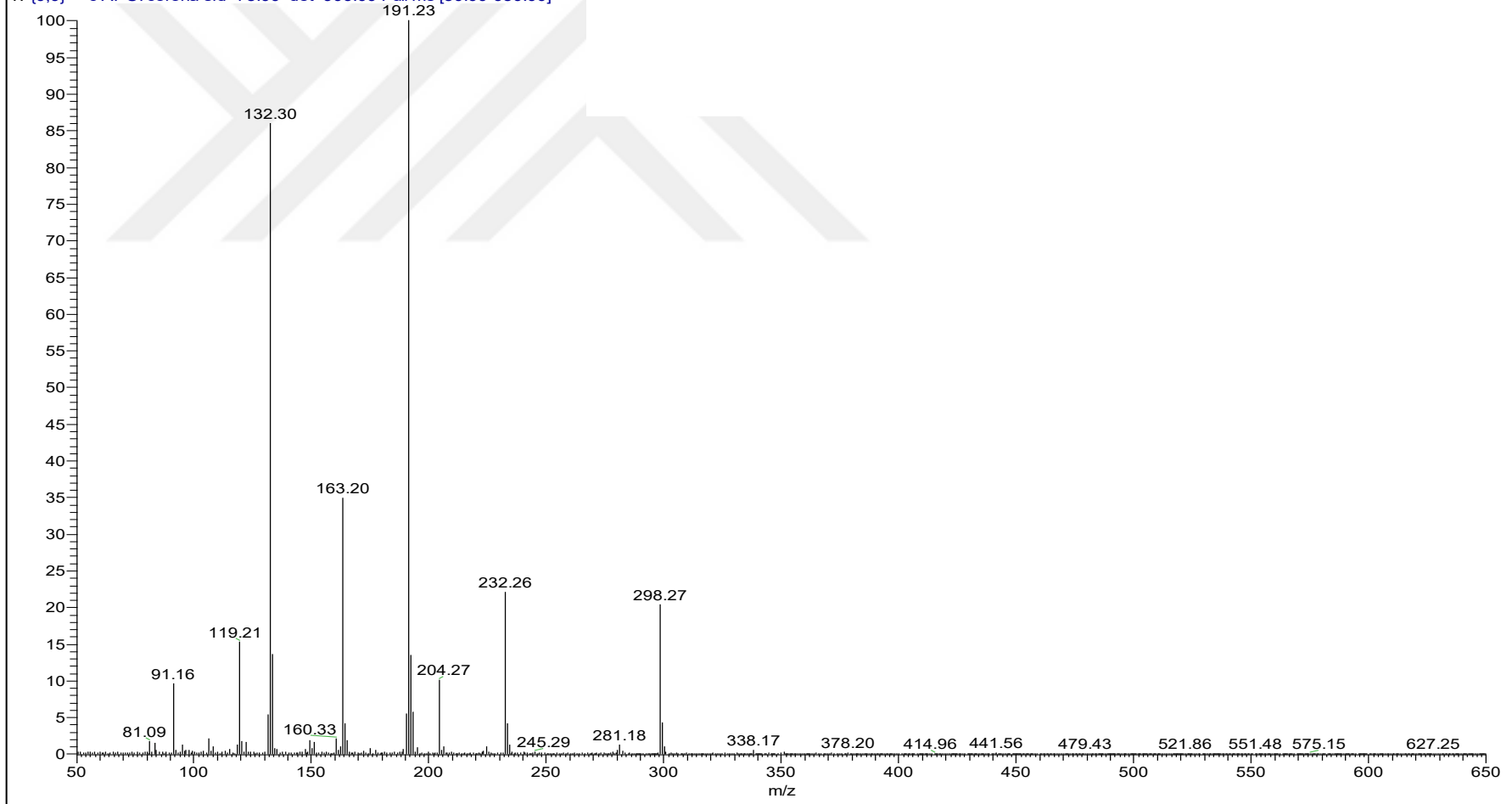


Spektrum 111. B2 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

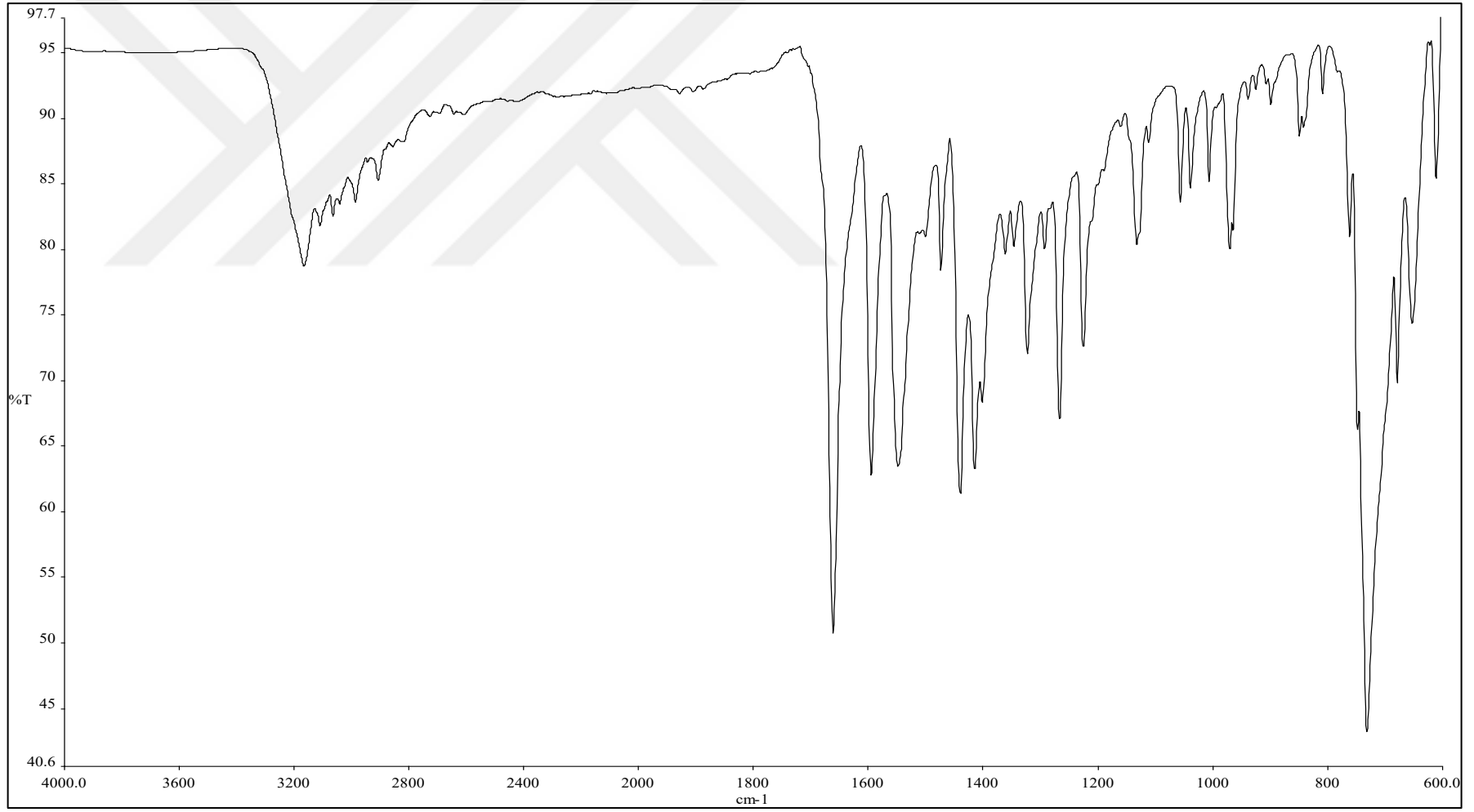


Spektrum 112. B2 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

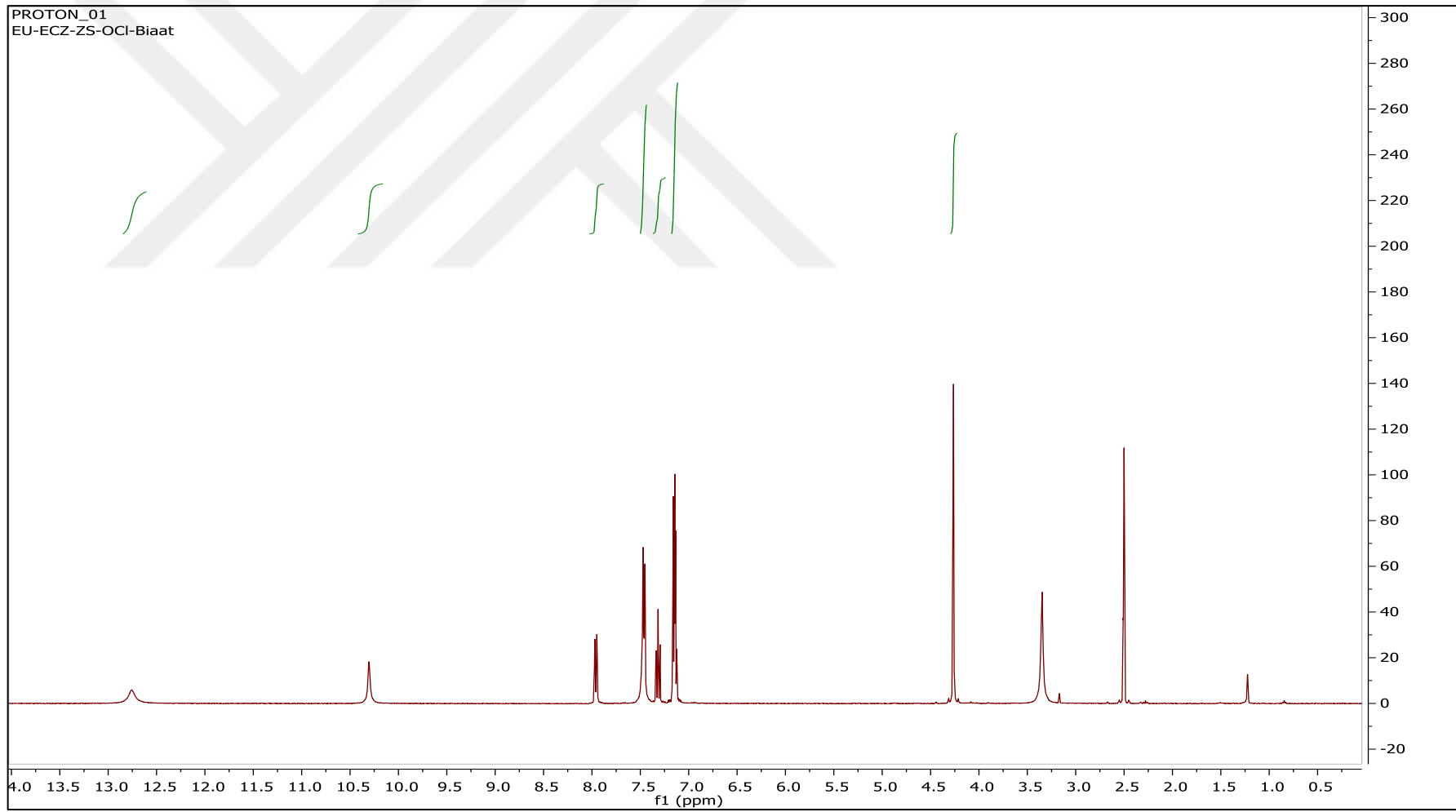
Ba-Bi-aat #37 RT: 0.33 AV: 1 NL: 5.29E5
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [50.00-650.00]



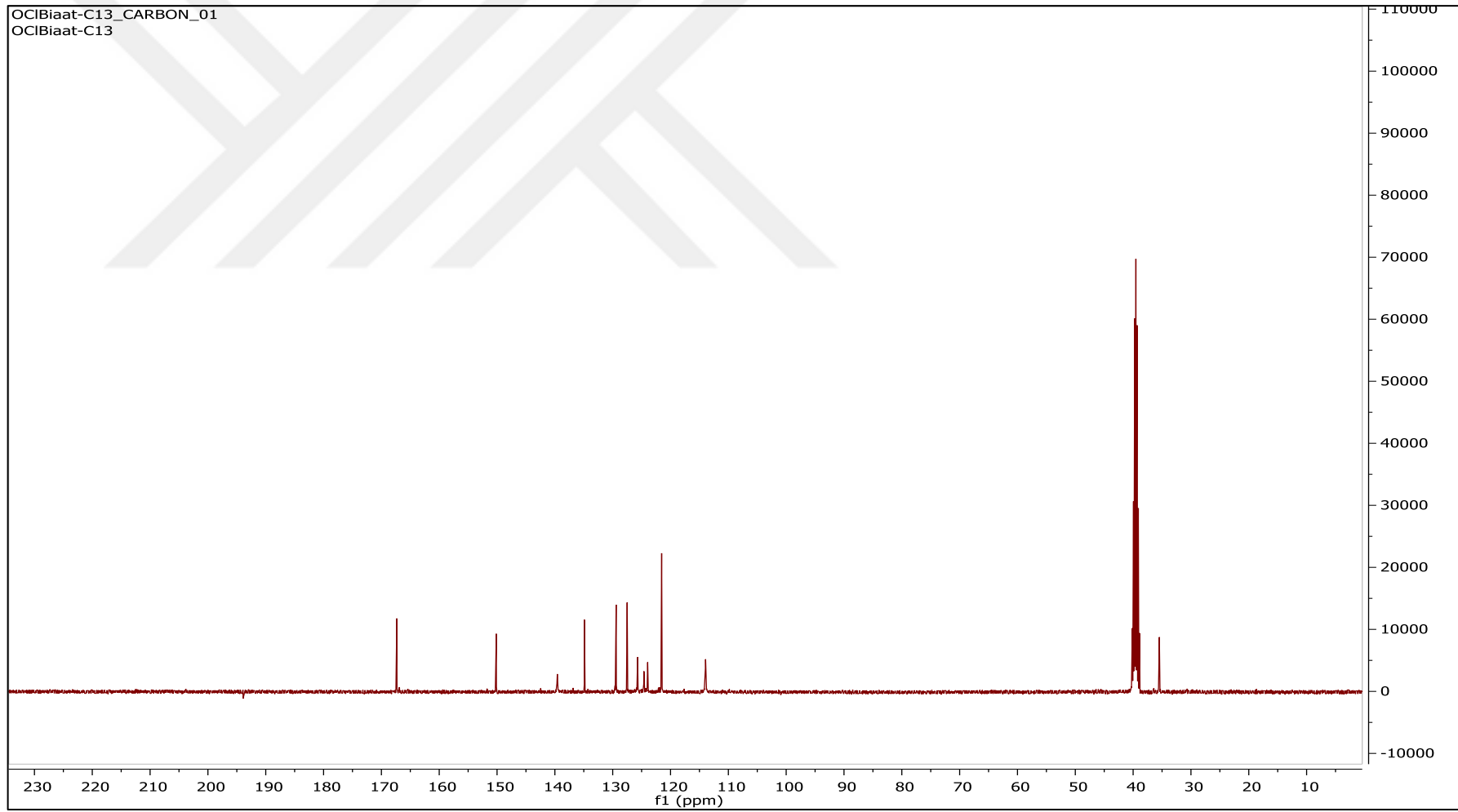
Spektrum 113. B2 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



Spektrum 114. B3 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

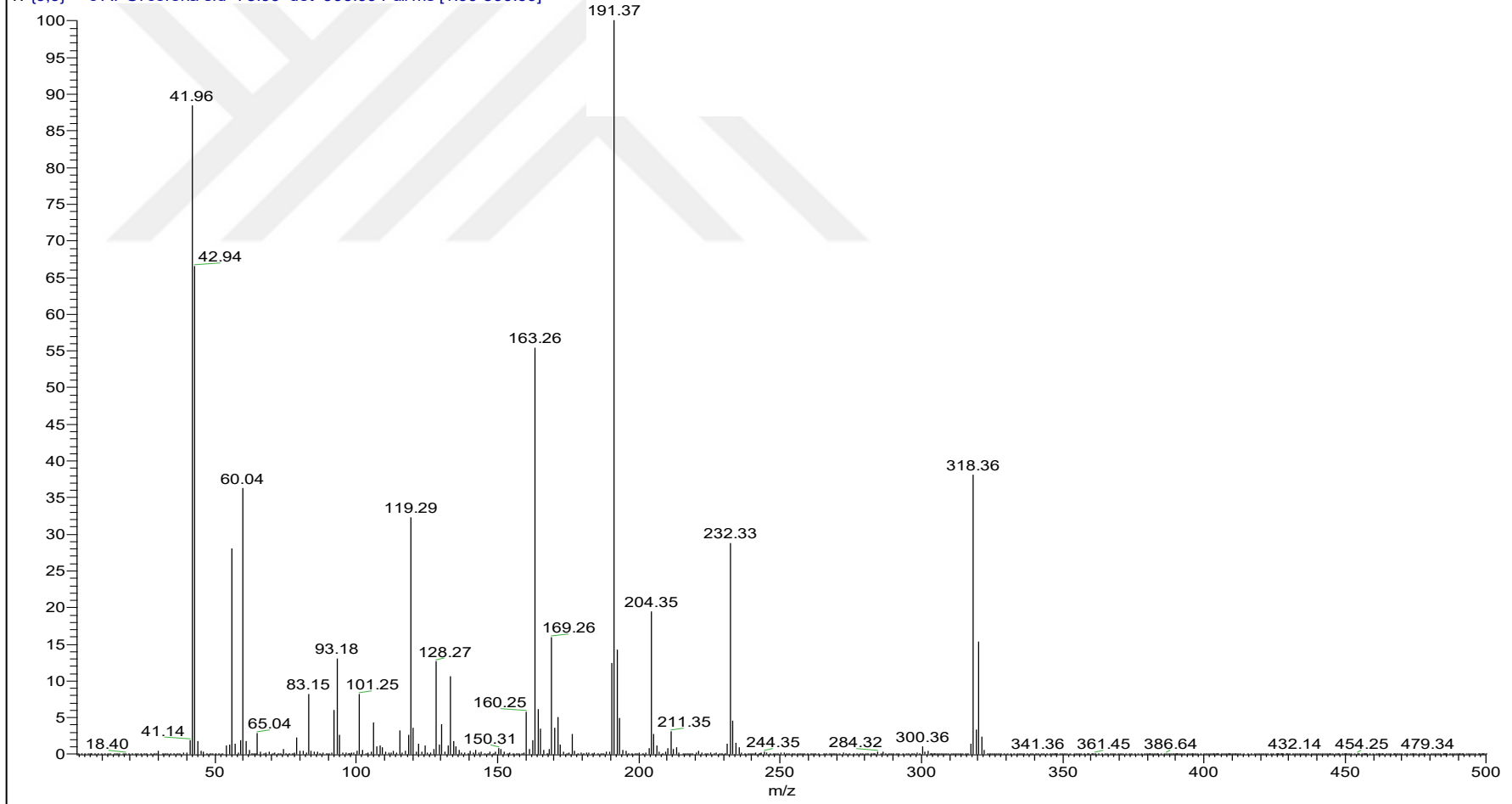


Spektrum 115. B3 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

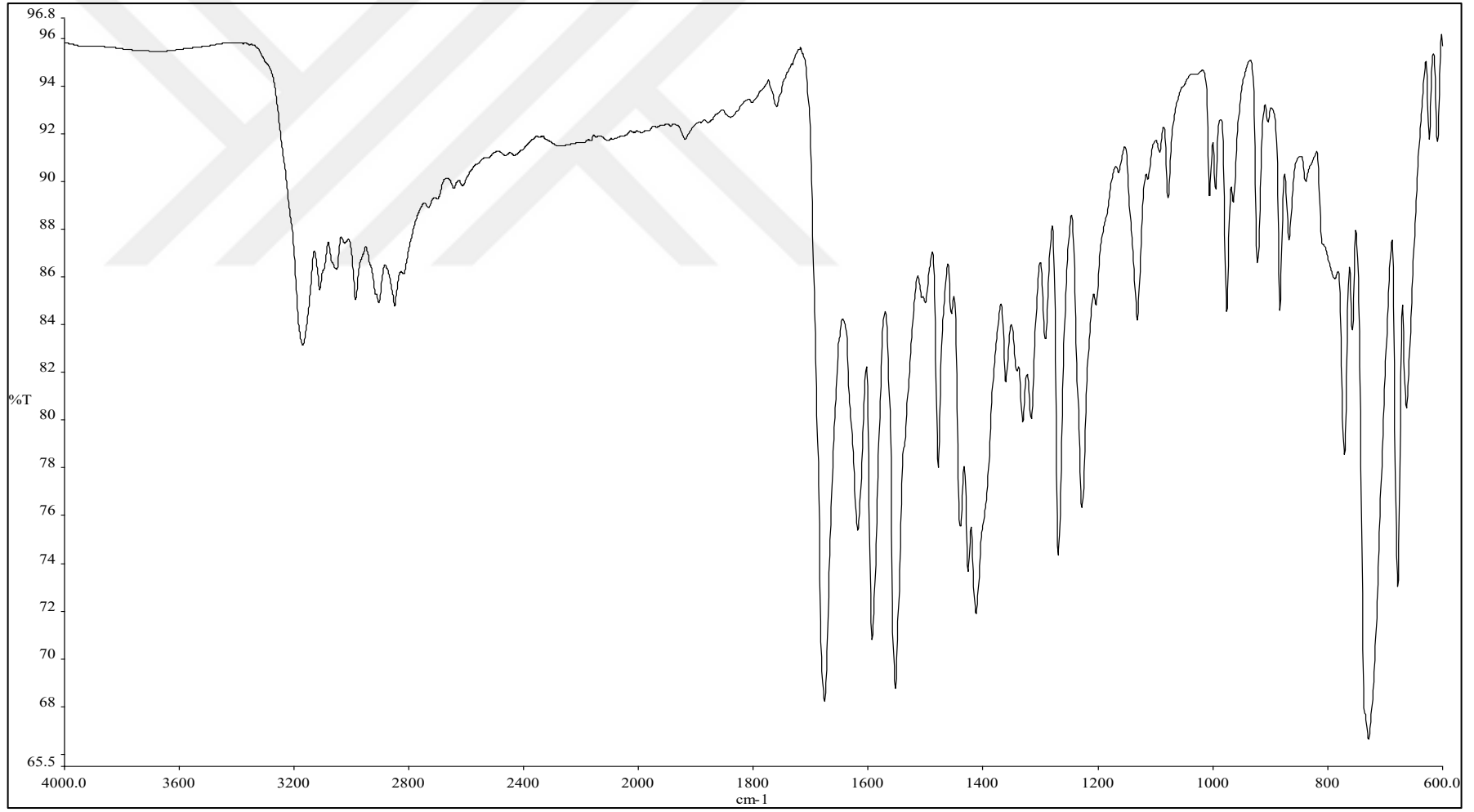


Spektrum 116. B3 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

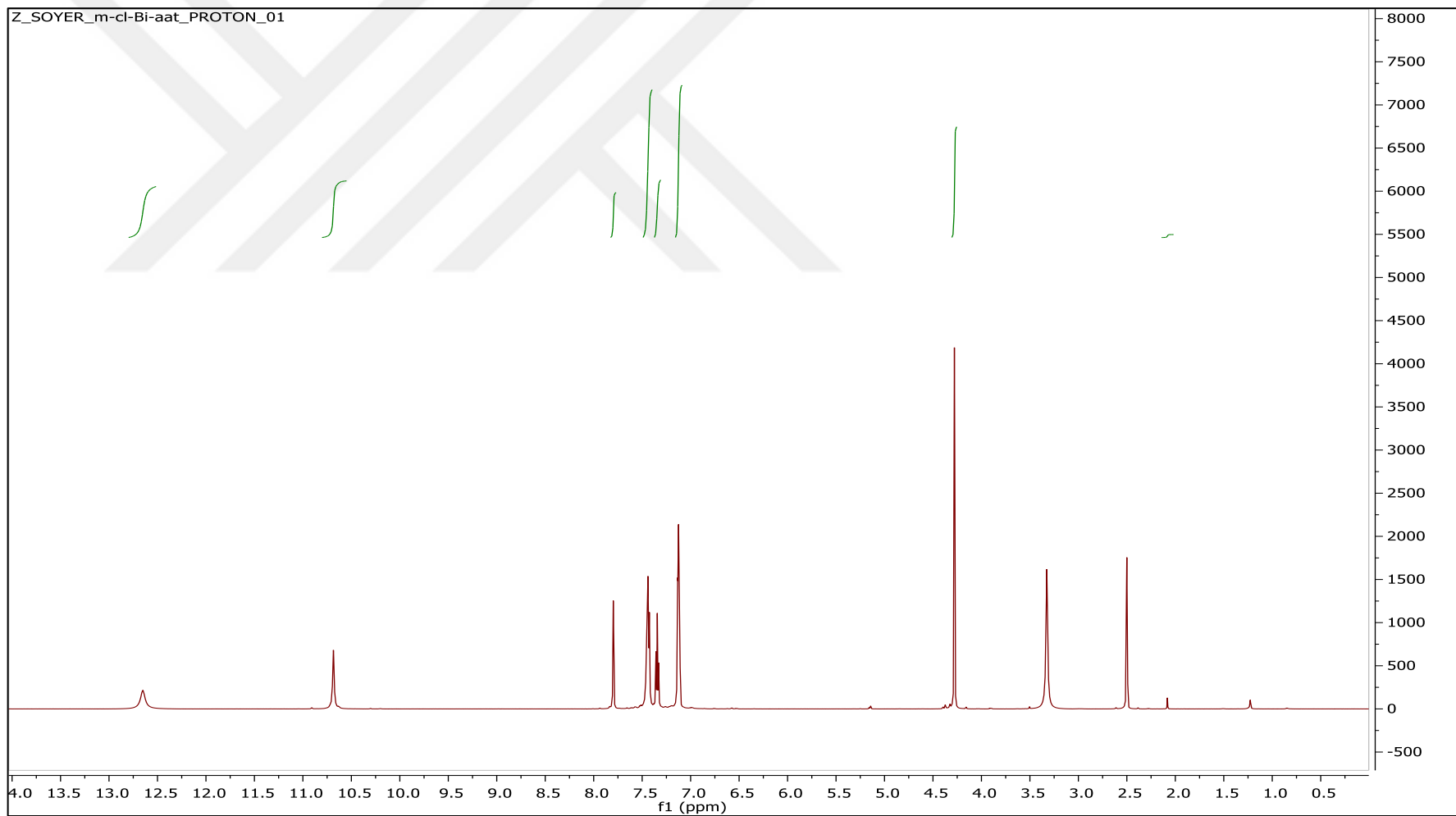
oCl-biaat-apci-poz #52 RT: 0.46 AV: 1 NL: 2.91E6
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]



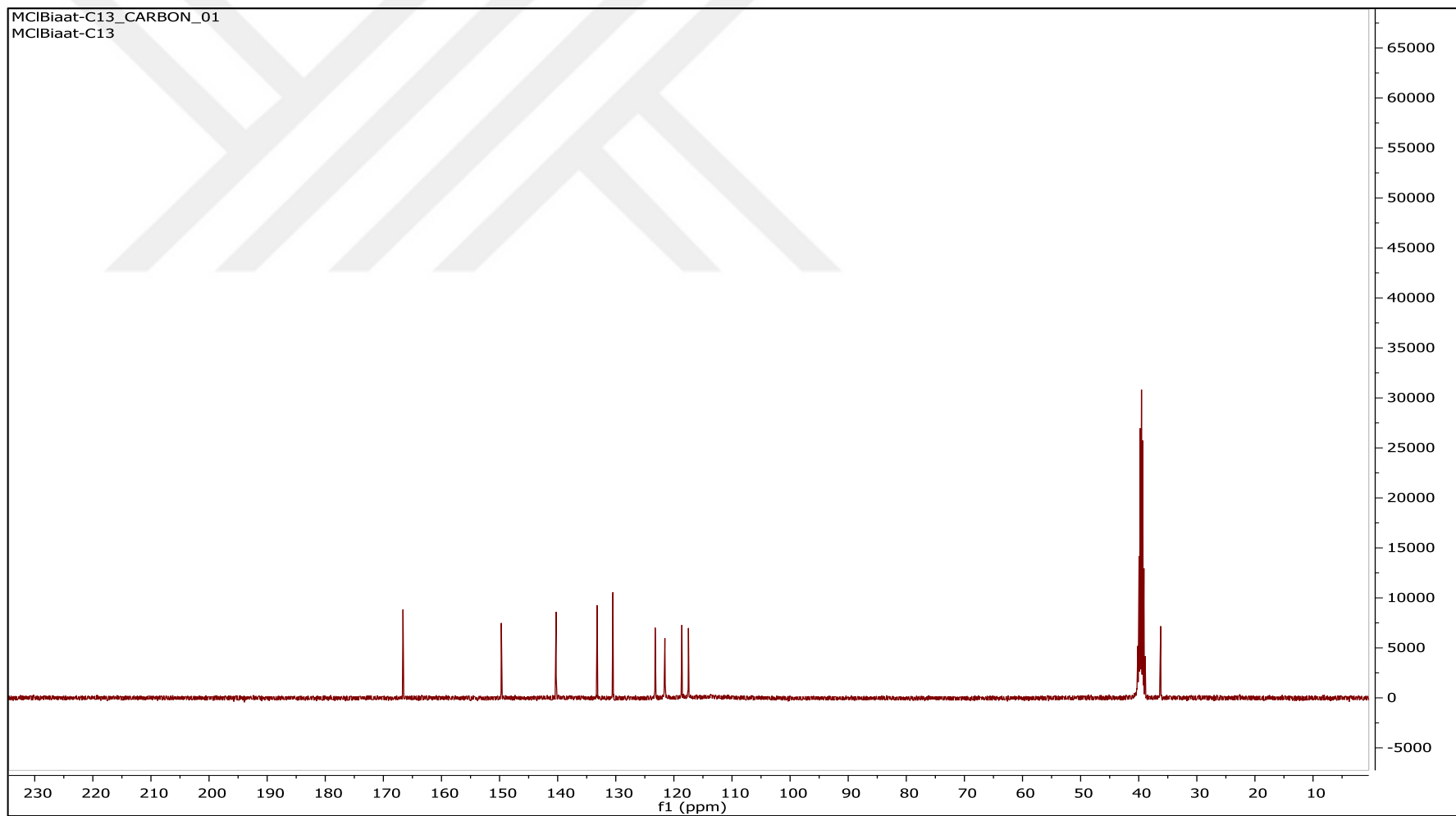
Spektrum 117. B3 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



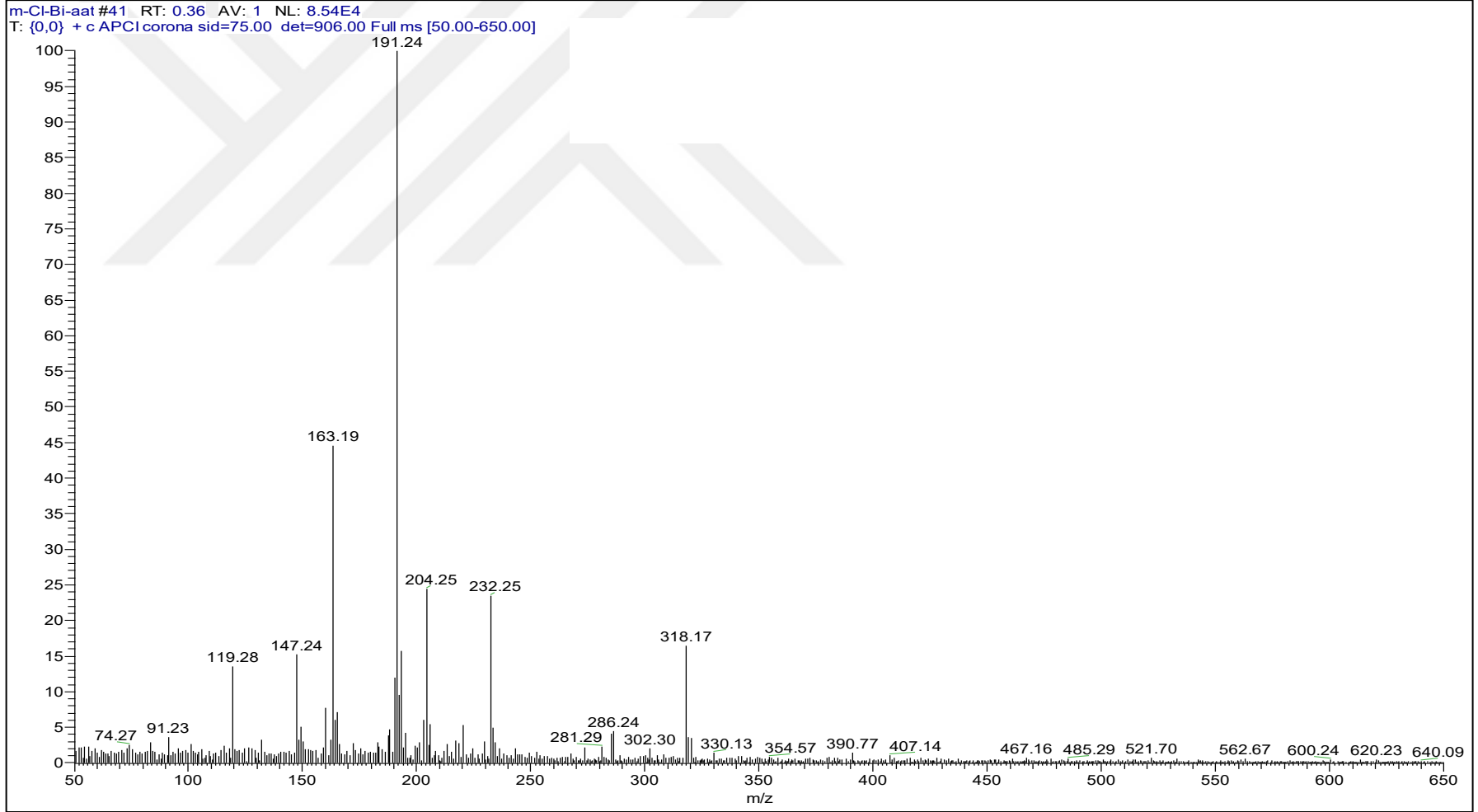
Spektrum 118. B4 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



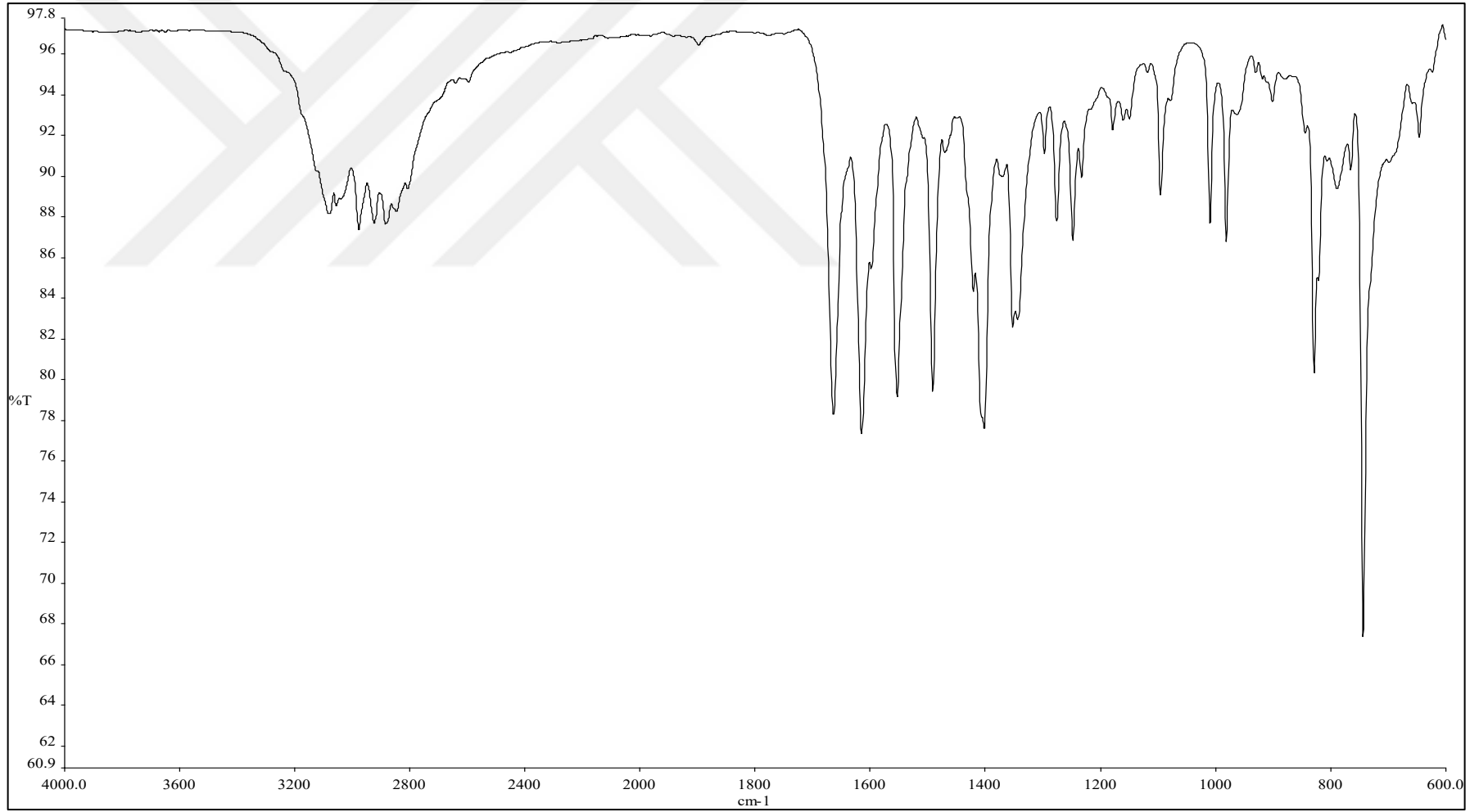
Spektrum 119. B4 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



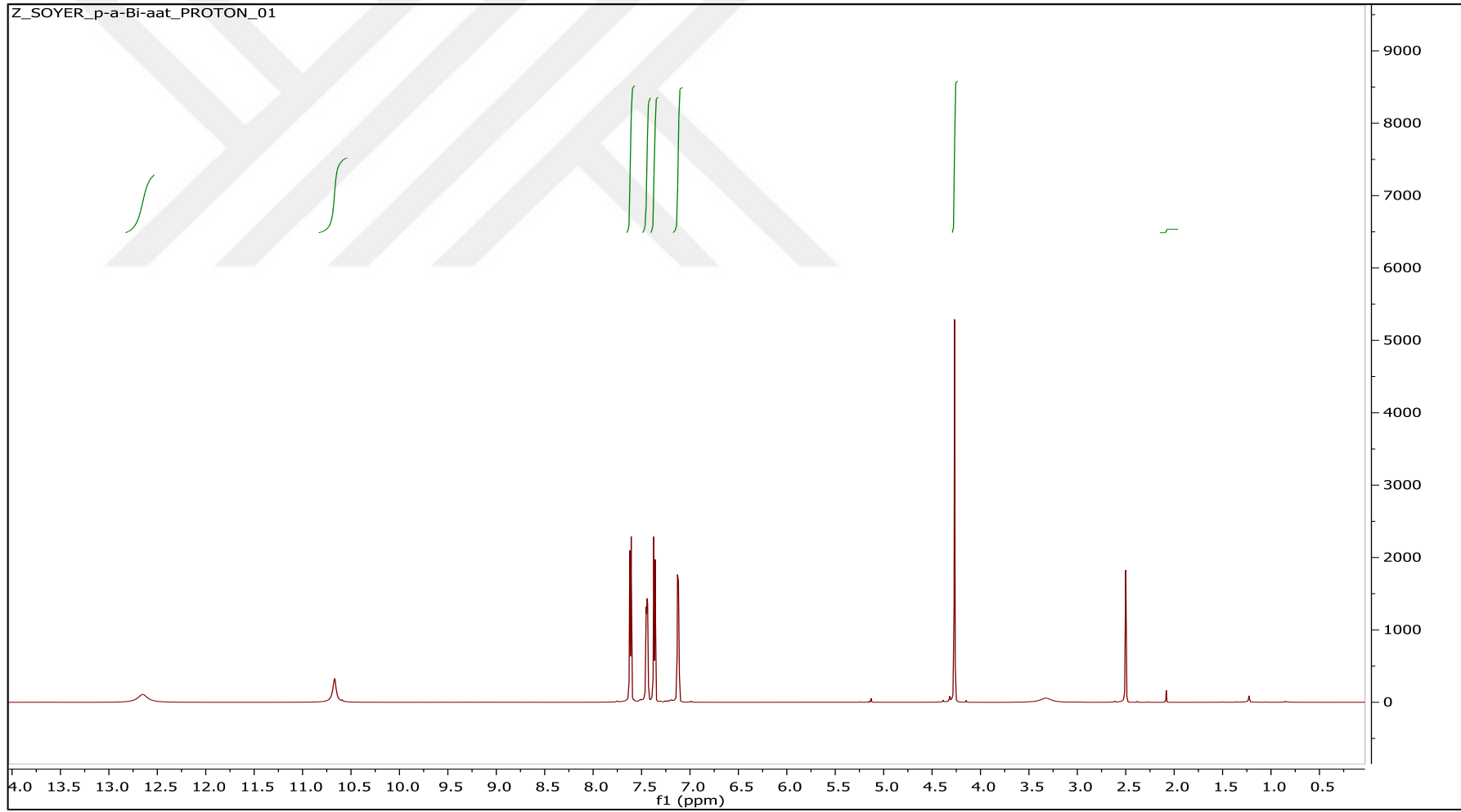
Spektrum 120. B4 Kodlu Bileşiğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



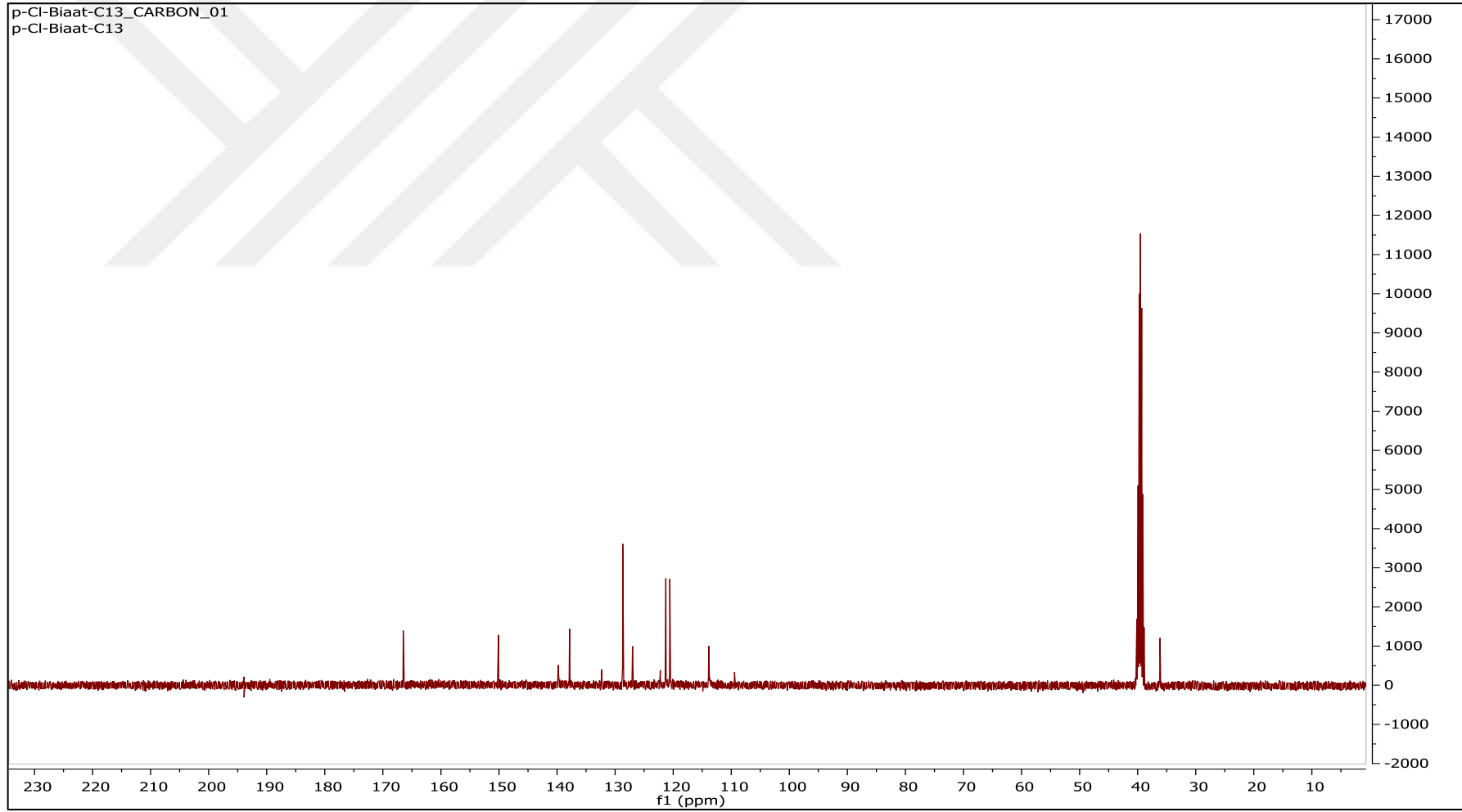
Spektrum 121. B4 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



Spektrum 122. B5 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

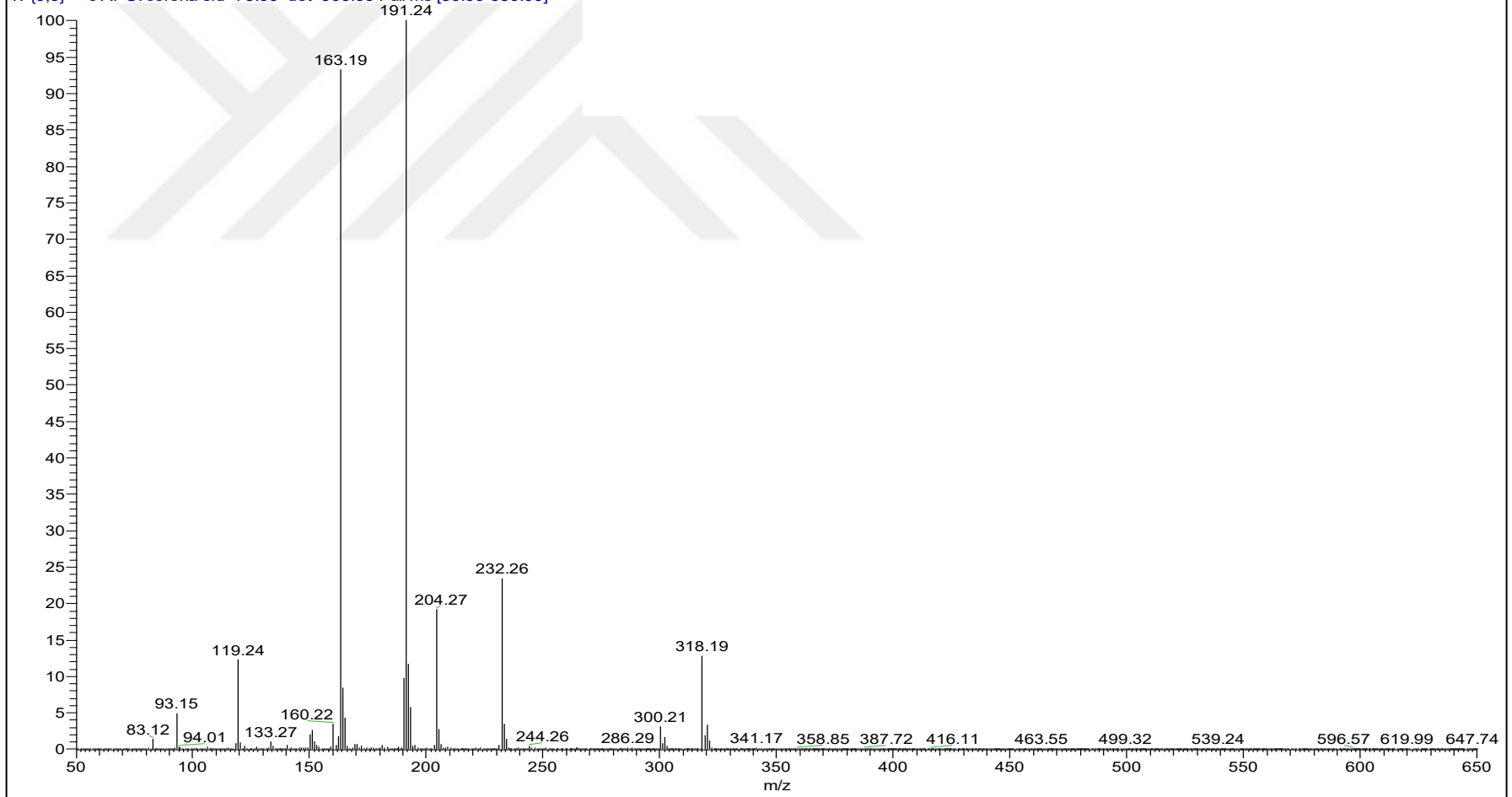


Spektrum 123. B5 Kodlu Bileşiğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

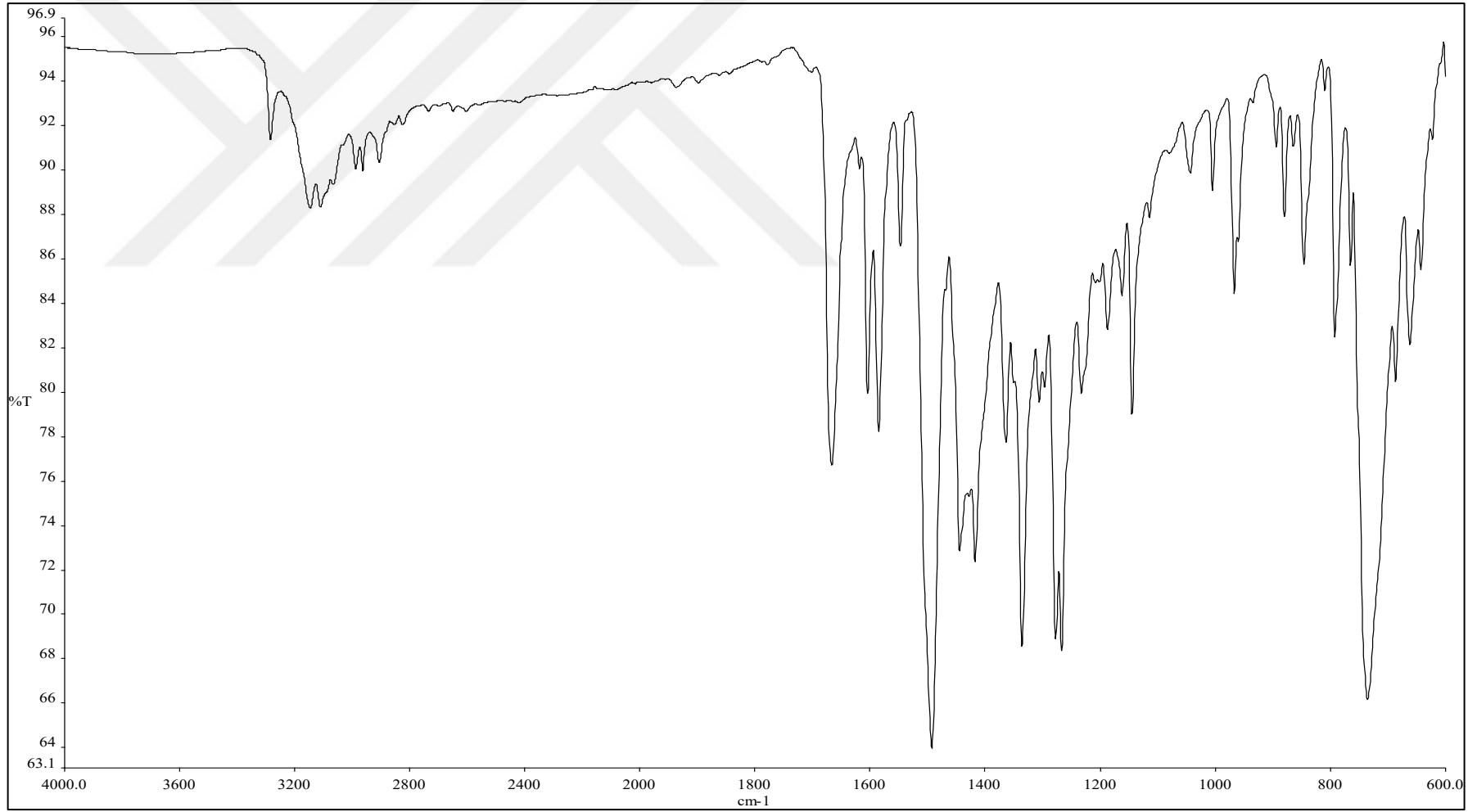


Spektrum 124. B5 Kodlu Bileşiğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

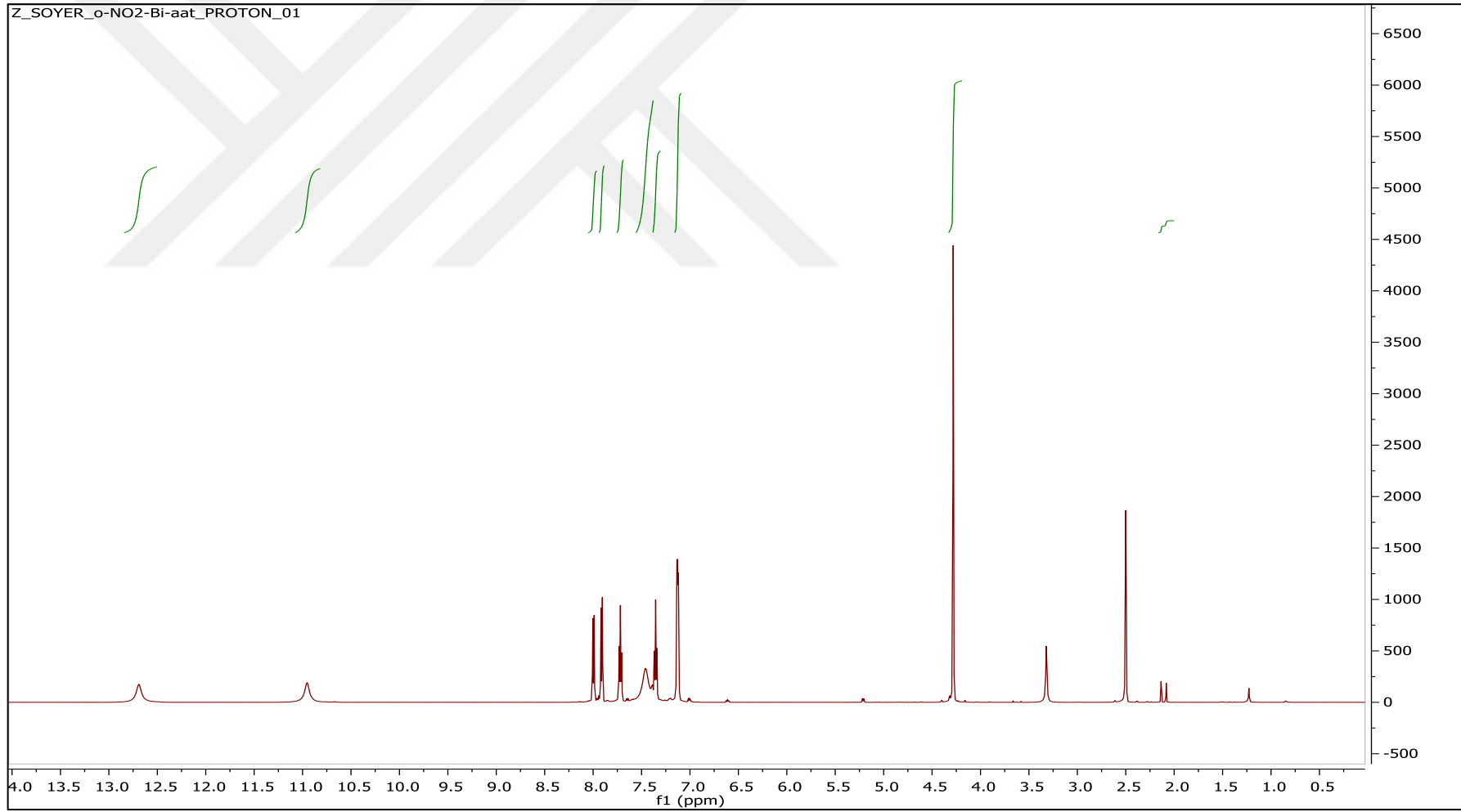
p-Cl-Bi-aat #66 RT: 0.59 AV: 1 NL: 1.99E6
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [50.00-650.00]



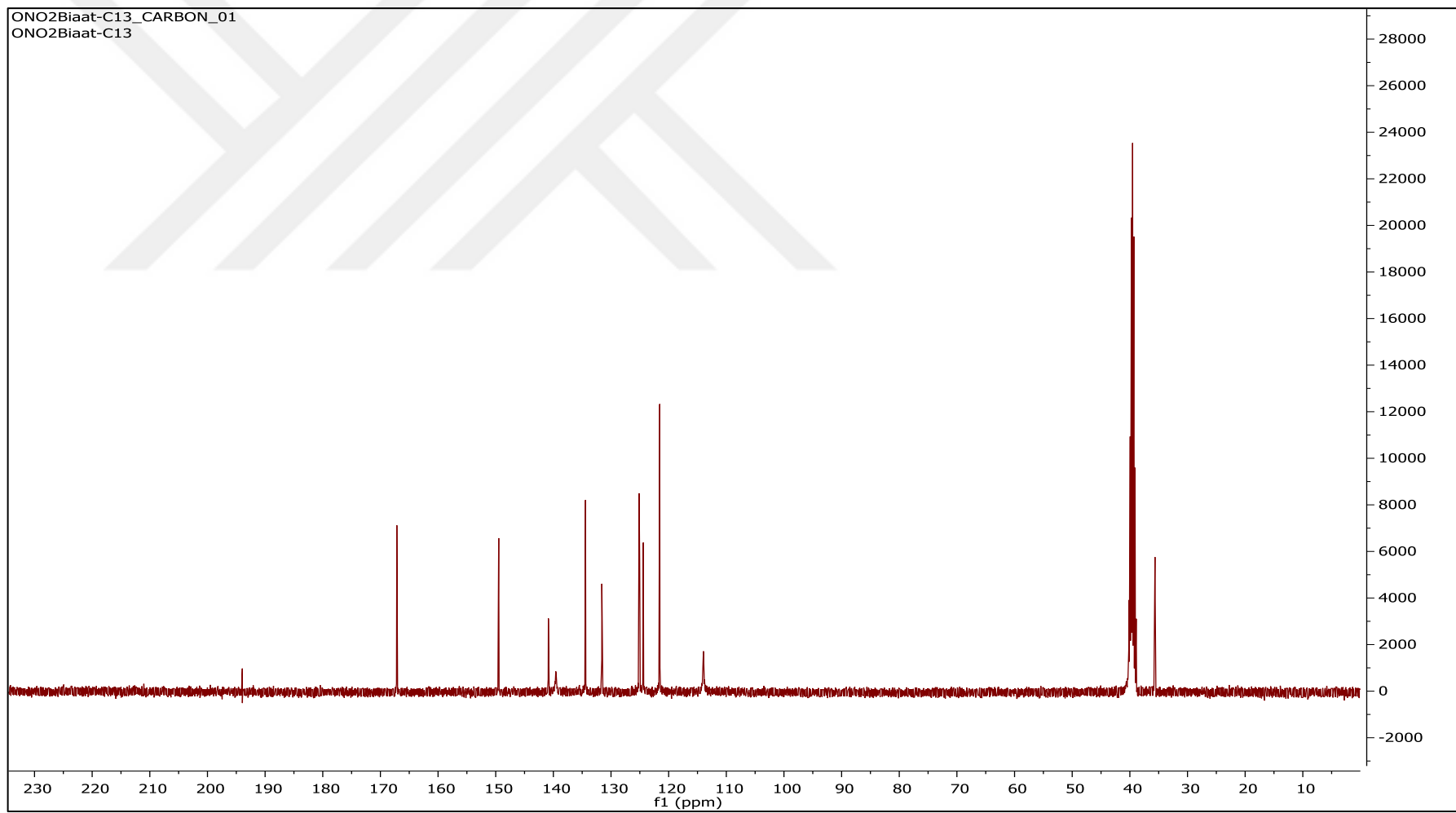
Spektrum 125. B5 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



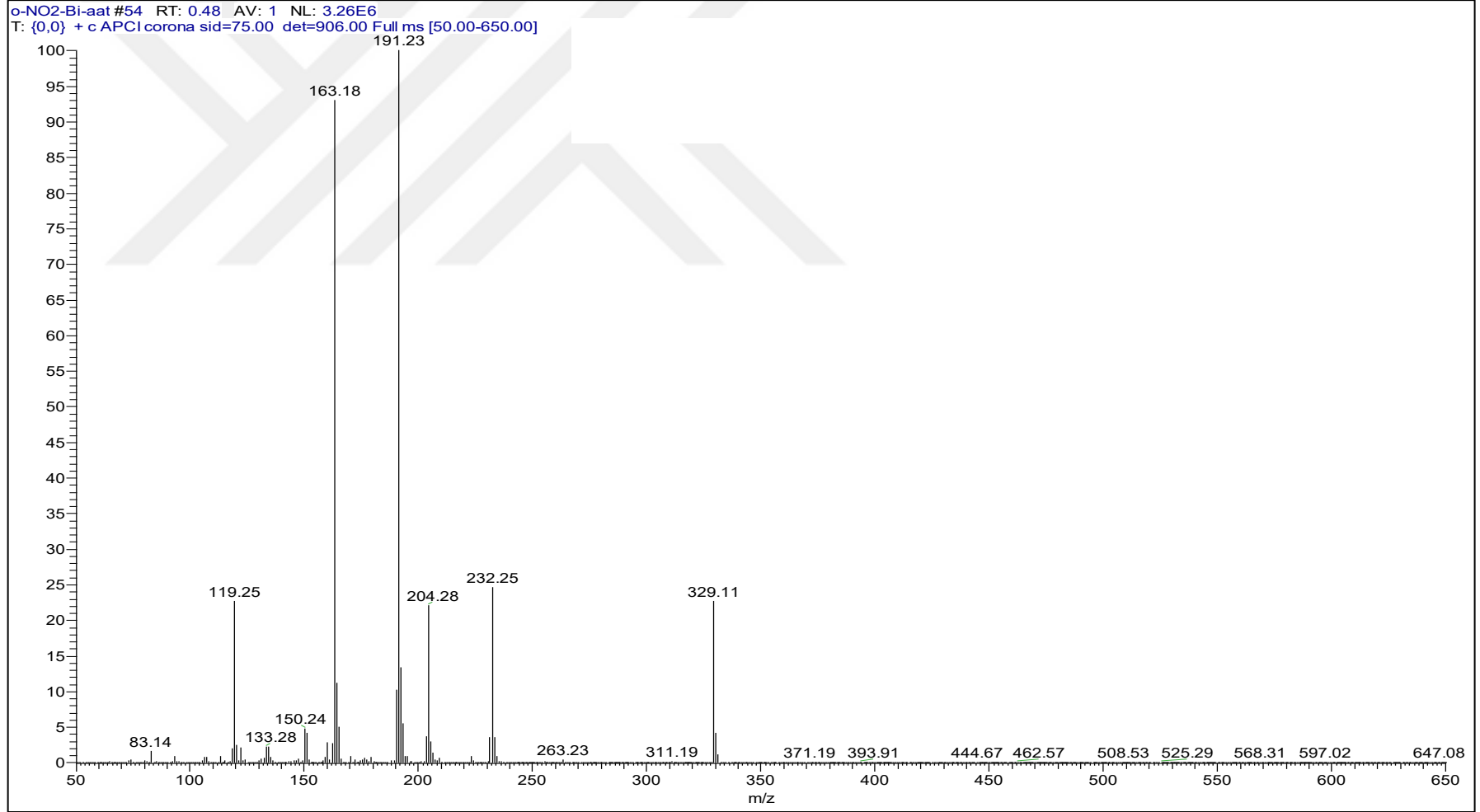
Spektrum 126. B6 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



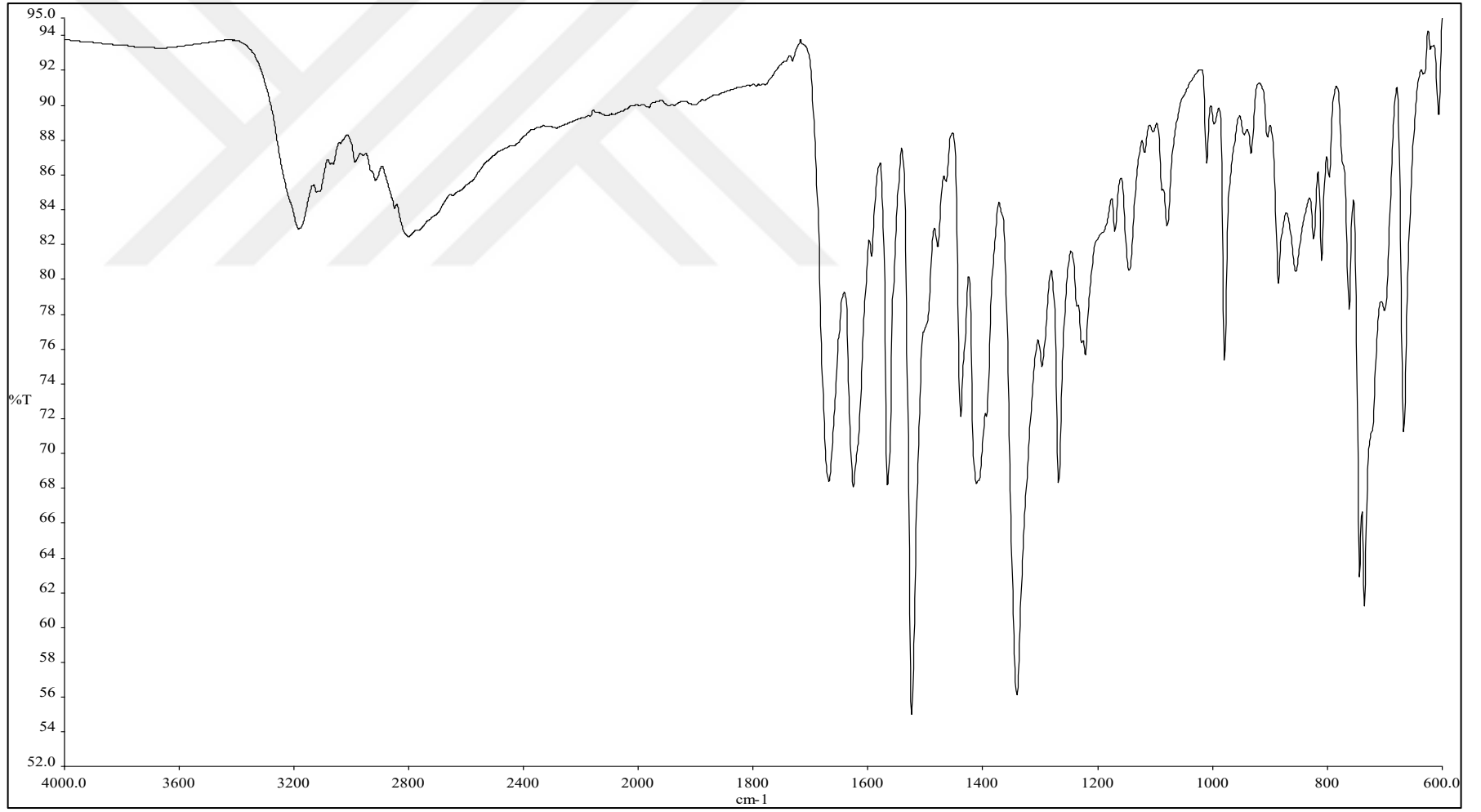
Spektrum 127. B6 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



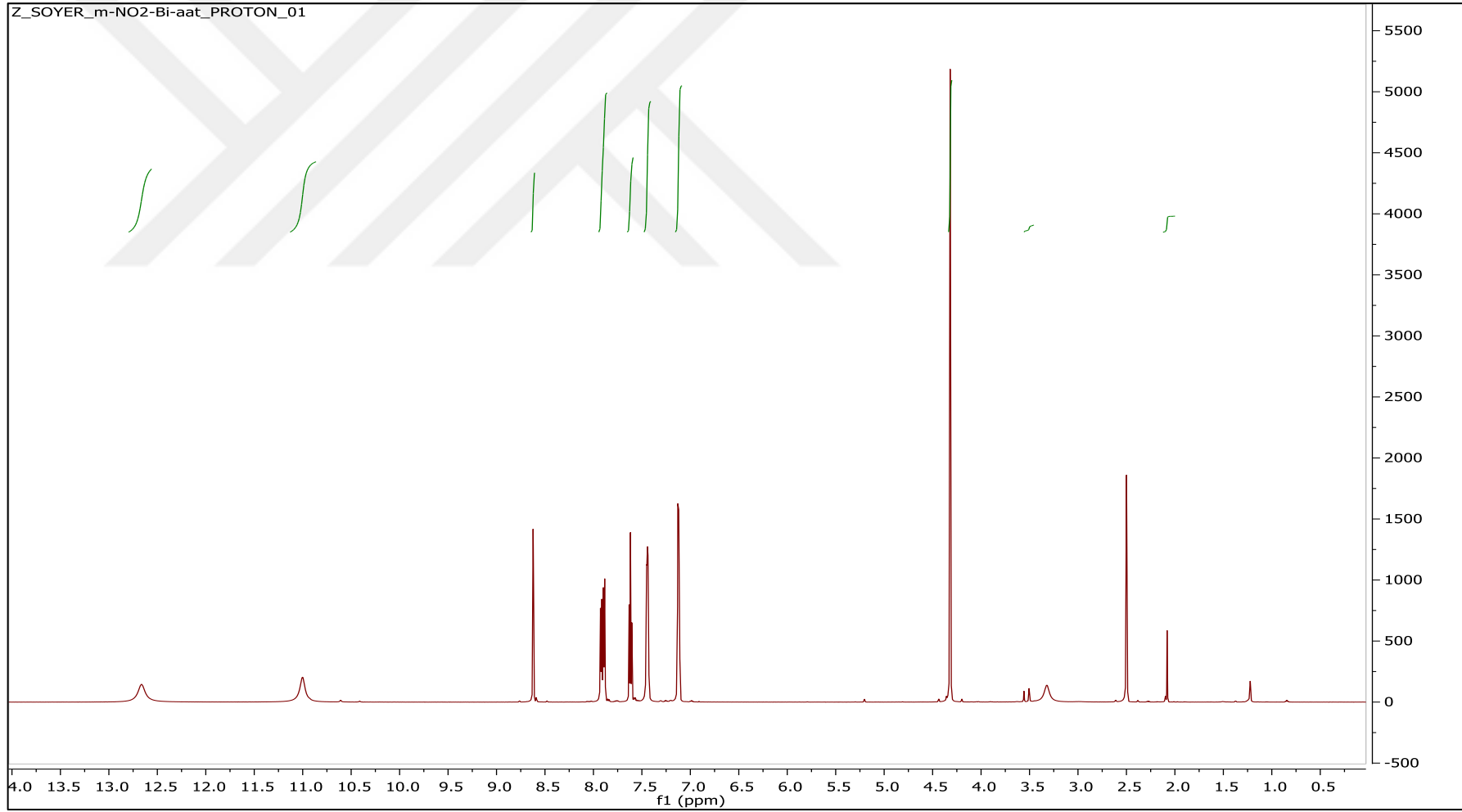
Spektrum 128. B6 Kodlu Bileşiğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



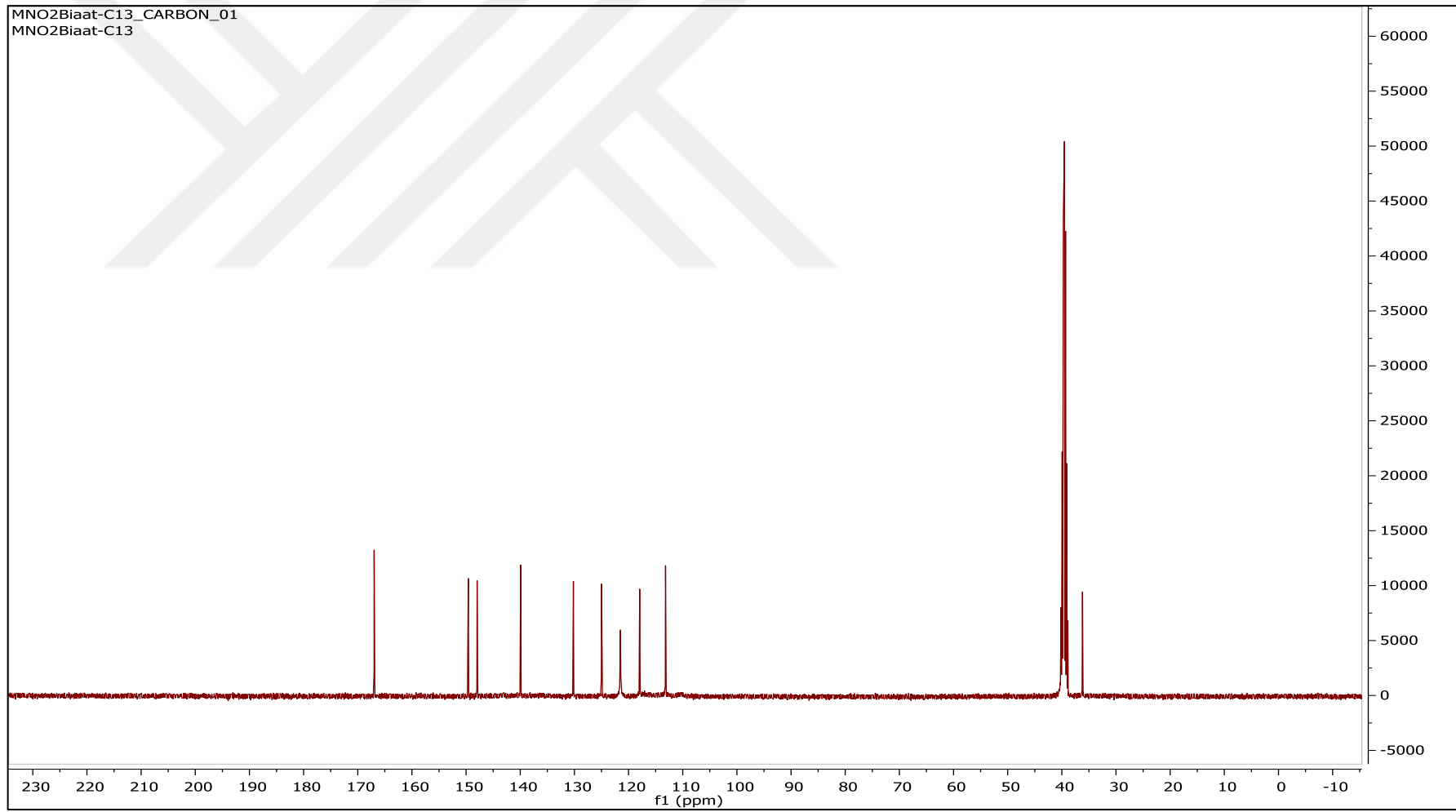
Spektrum 129. B6 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



Spektrum 130. B7 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

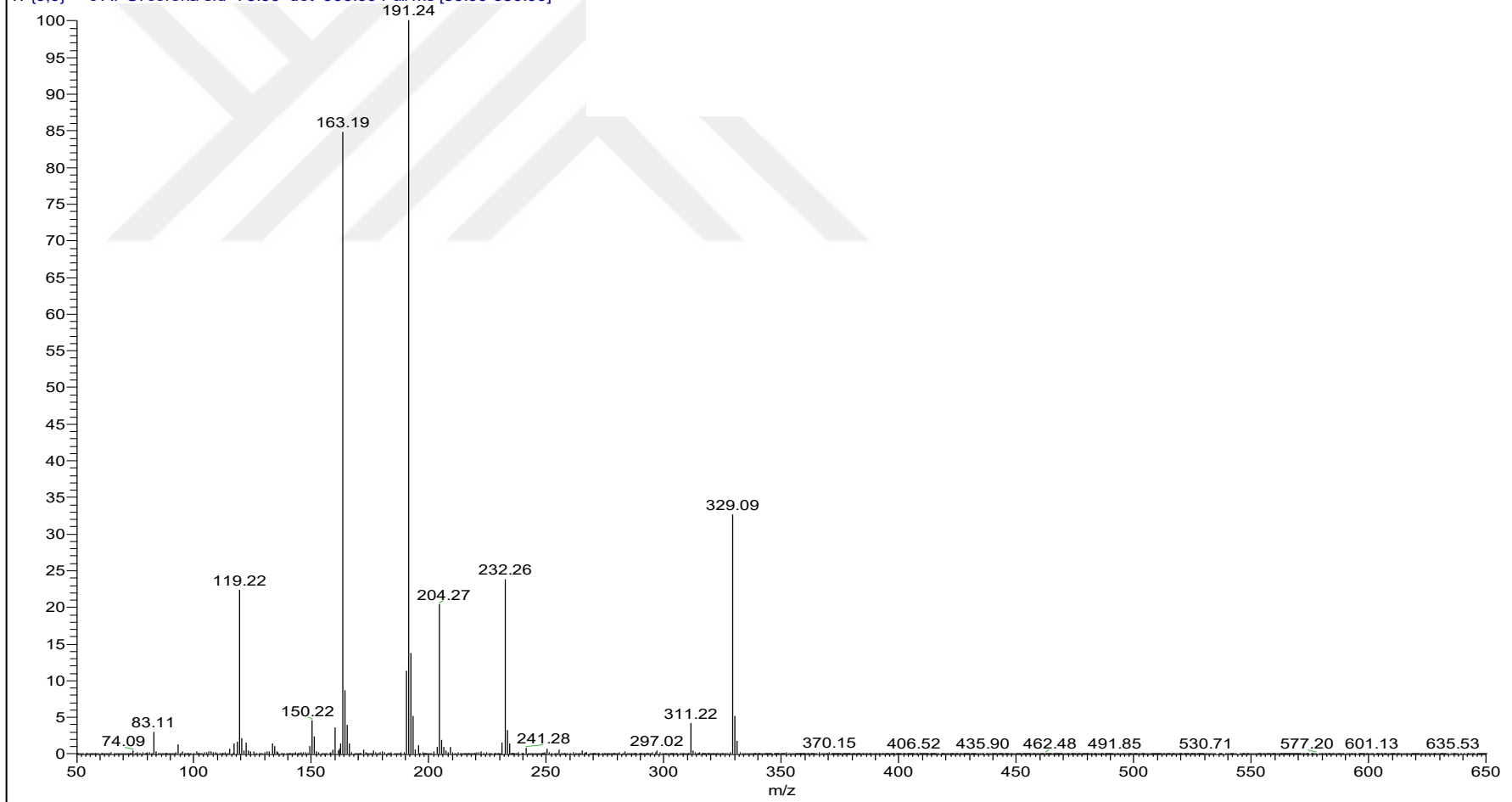


Spektrum 131. B7 Kodlu Bileşğin ¹H NMR (DMSO-*d*₆) Spektrumu

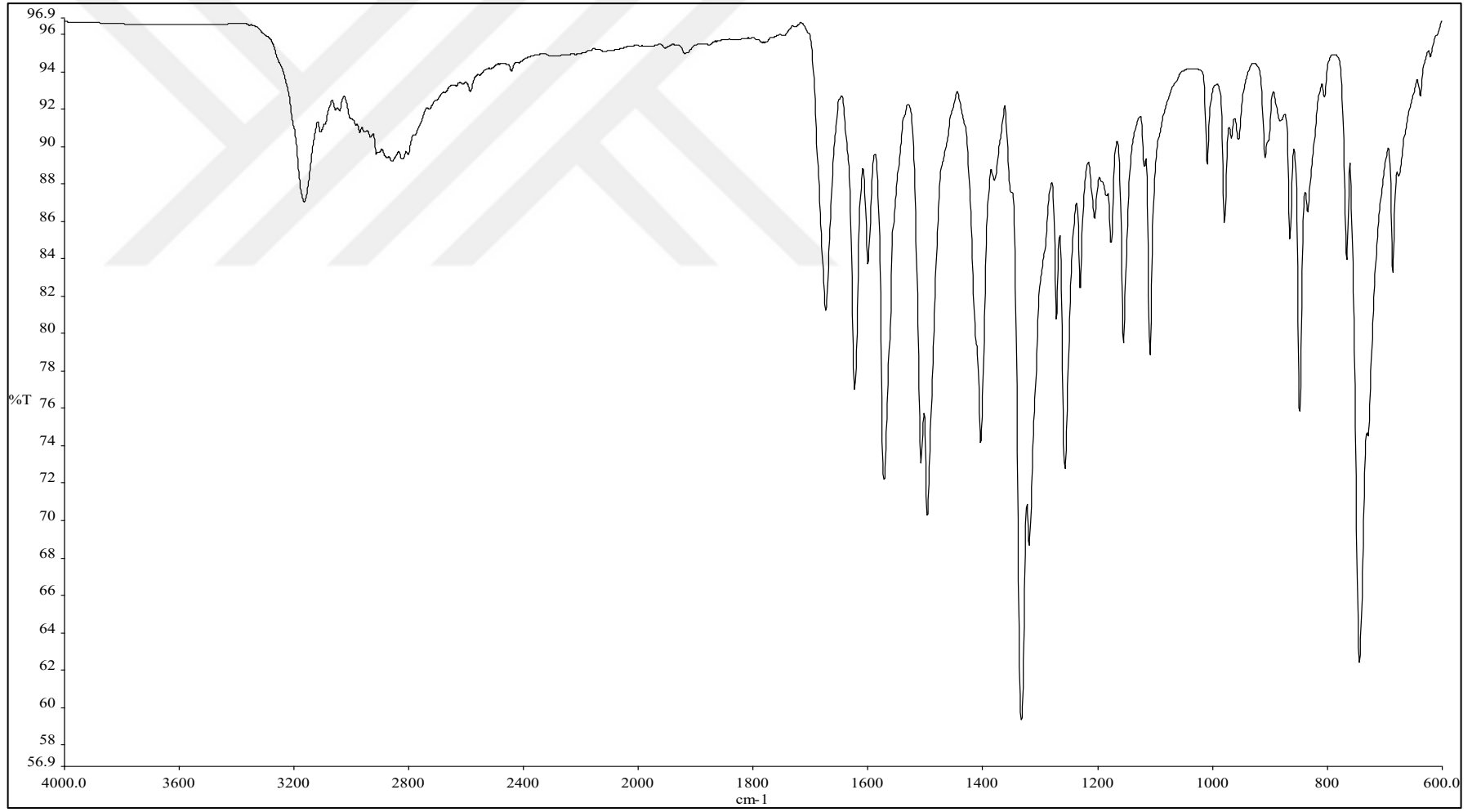


Spektrum 132. B7 Kodlu Bileşiğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

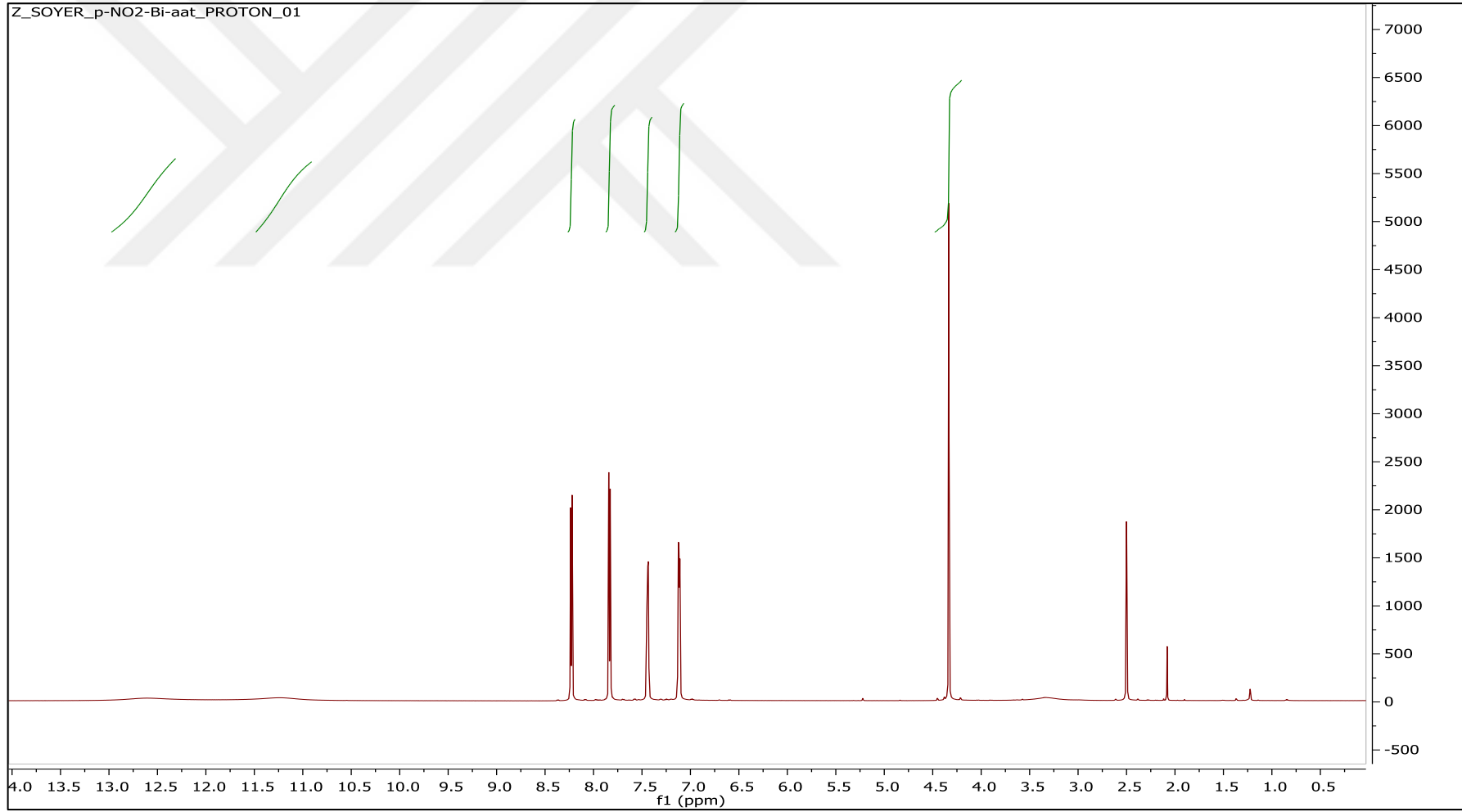
m-NO2-Bi-aat #56 RT: 0.50 AV: 1 NL: 1.43E6
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [50.00-650.00]



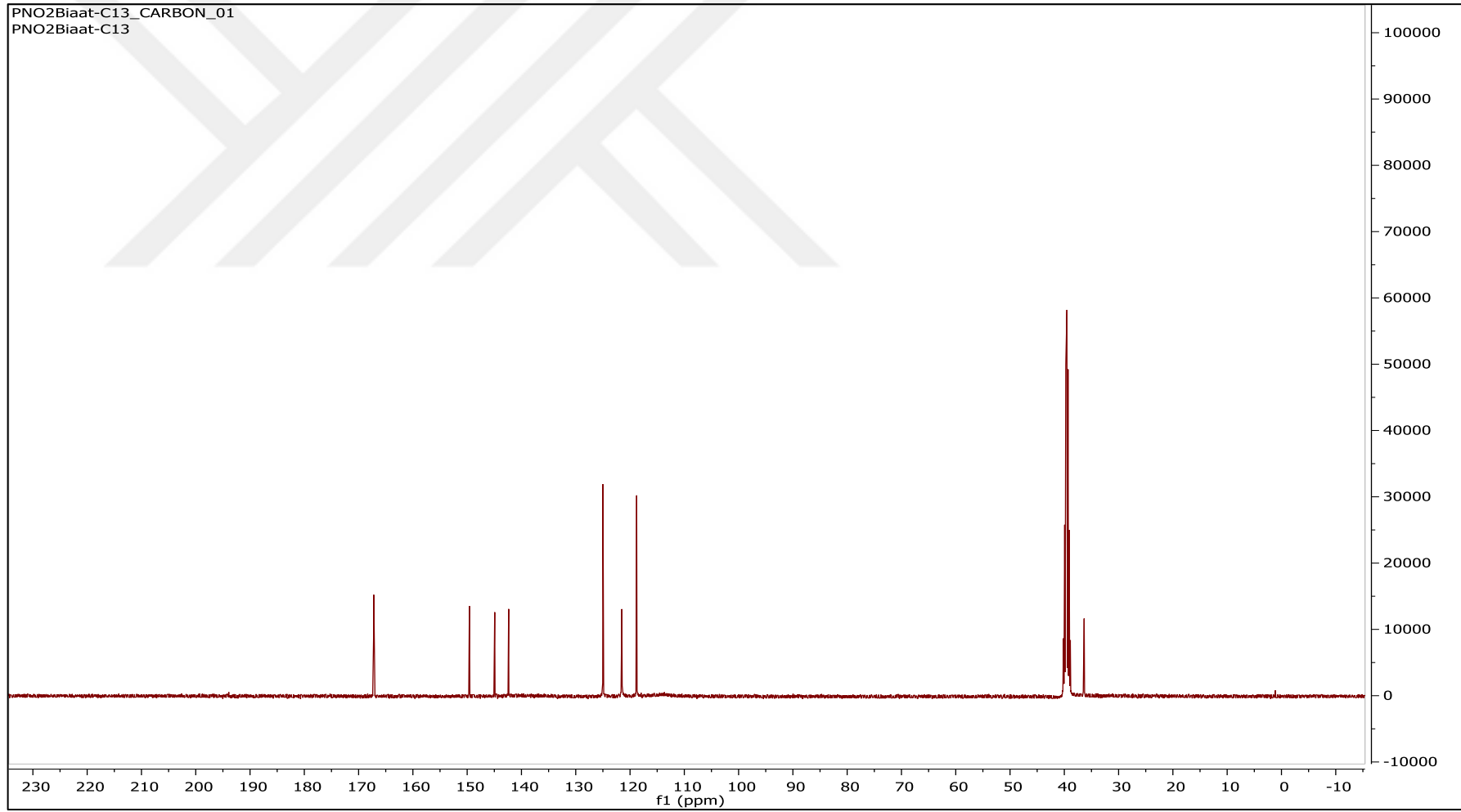
Spektrum 133. B7 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



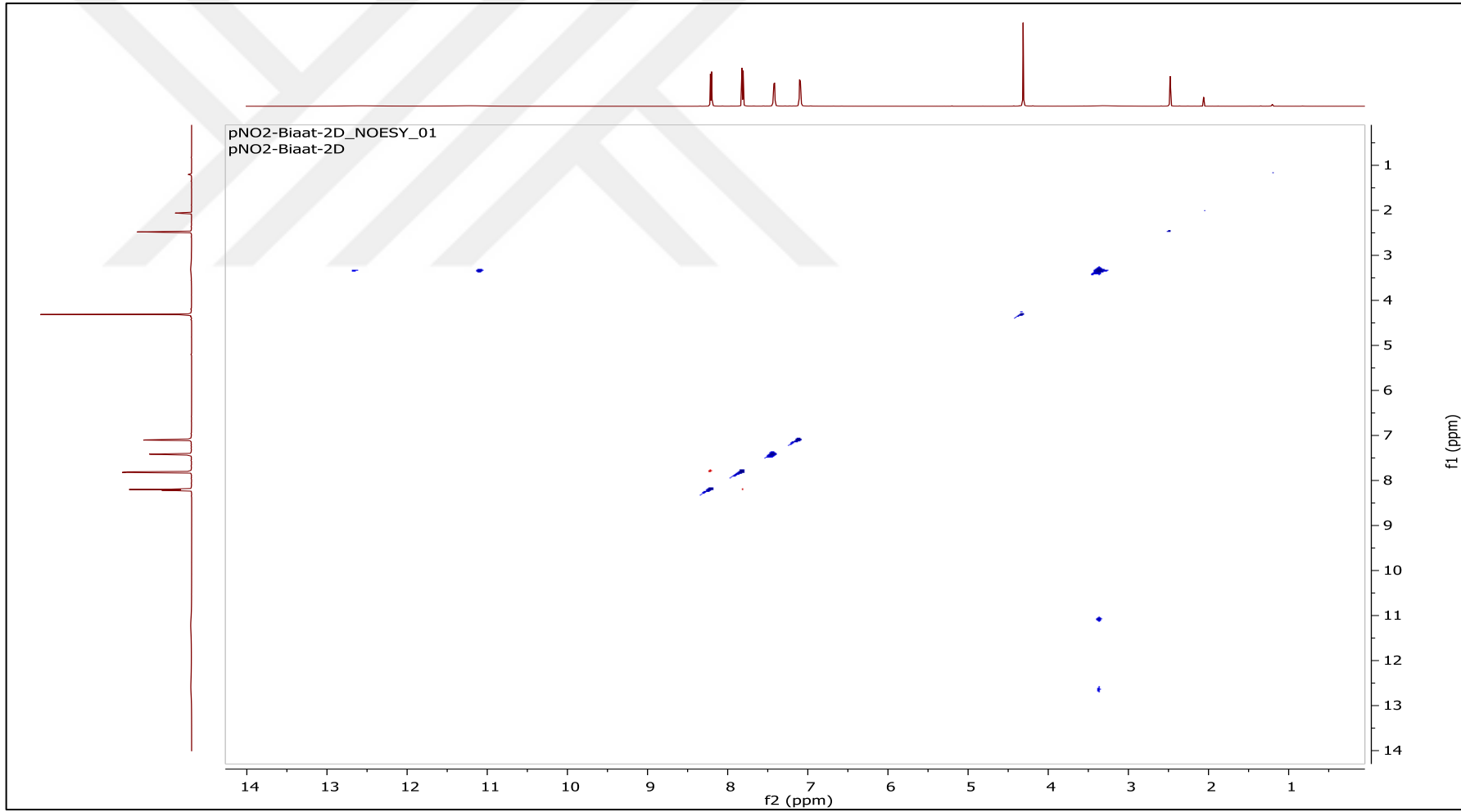
Spektrum 134. B8 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



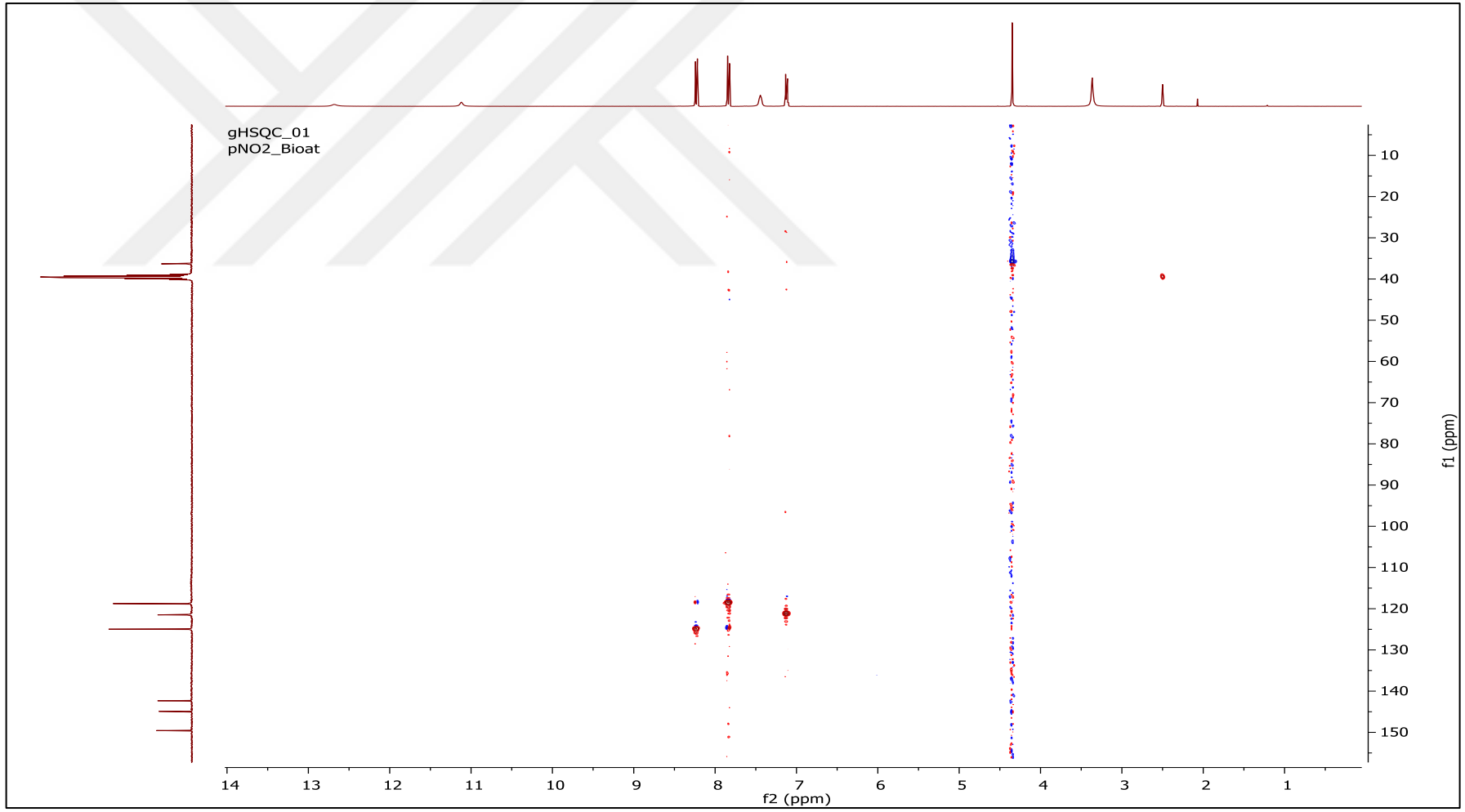
Spektrum 135. B8 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



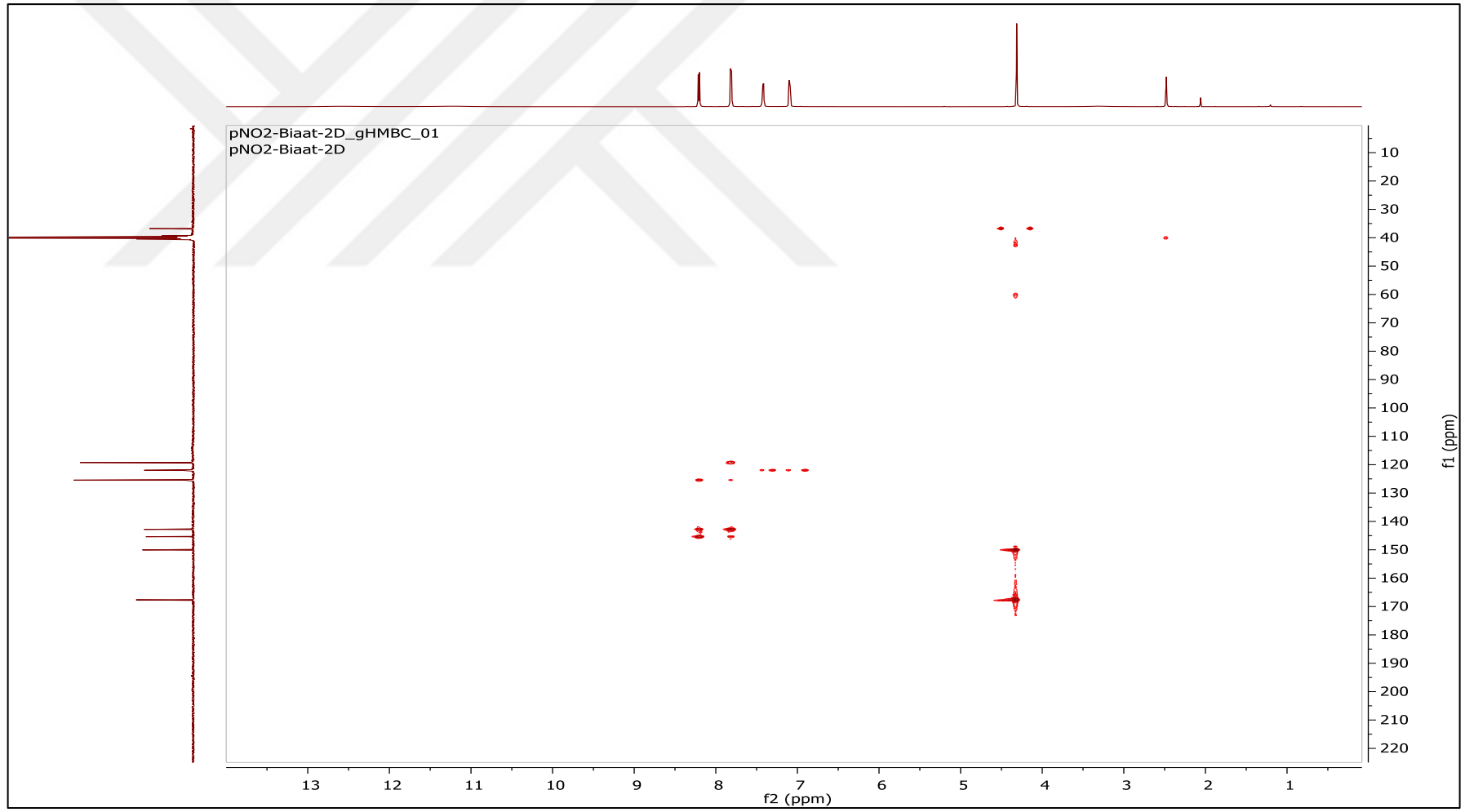
Spektrum 136. B8 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu



Spektrum 137. B8 Kodlu Bileşğin NOESY Spektrumu

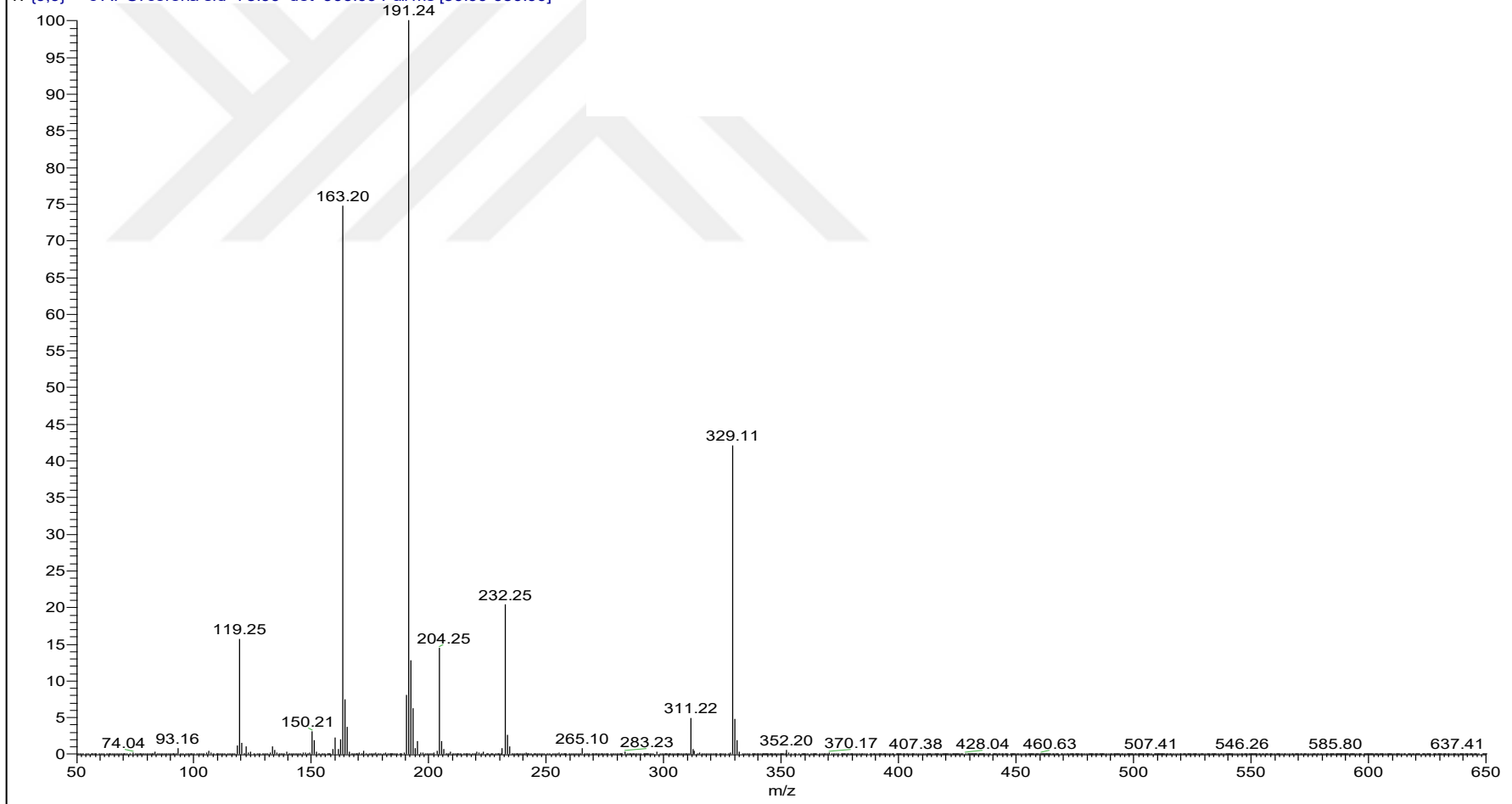


Spektrum 138. B8 Kodlu Bileşğin HSQC Spektrumu

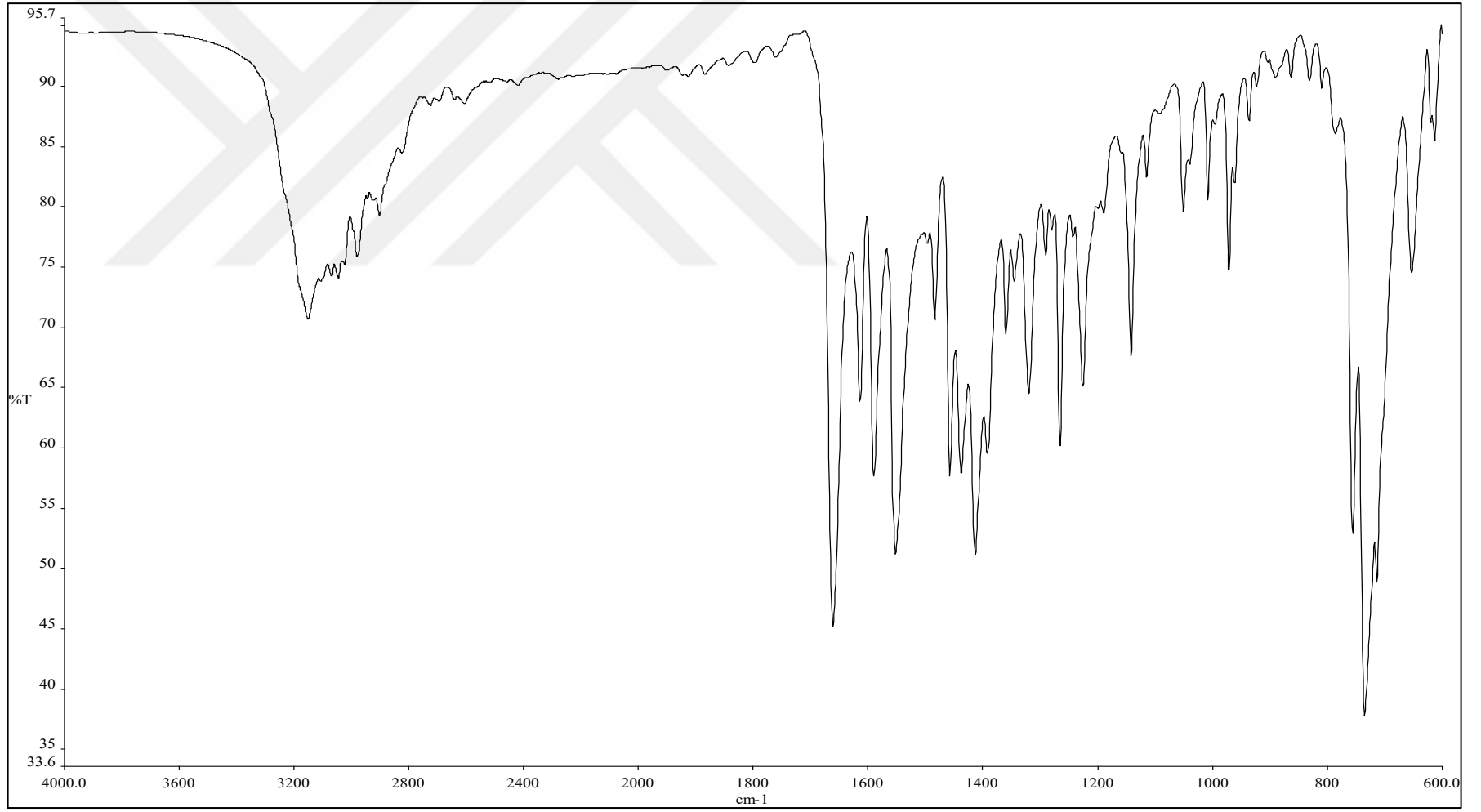


Spektrum 139. B8 Kodlu Bileşğin HMBC Spektrumu

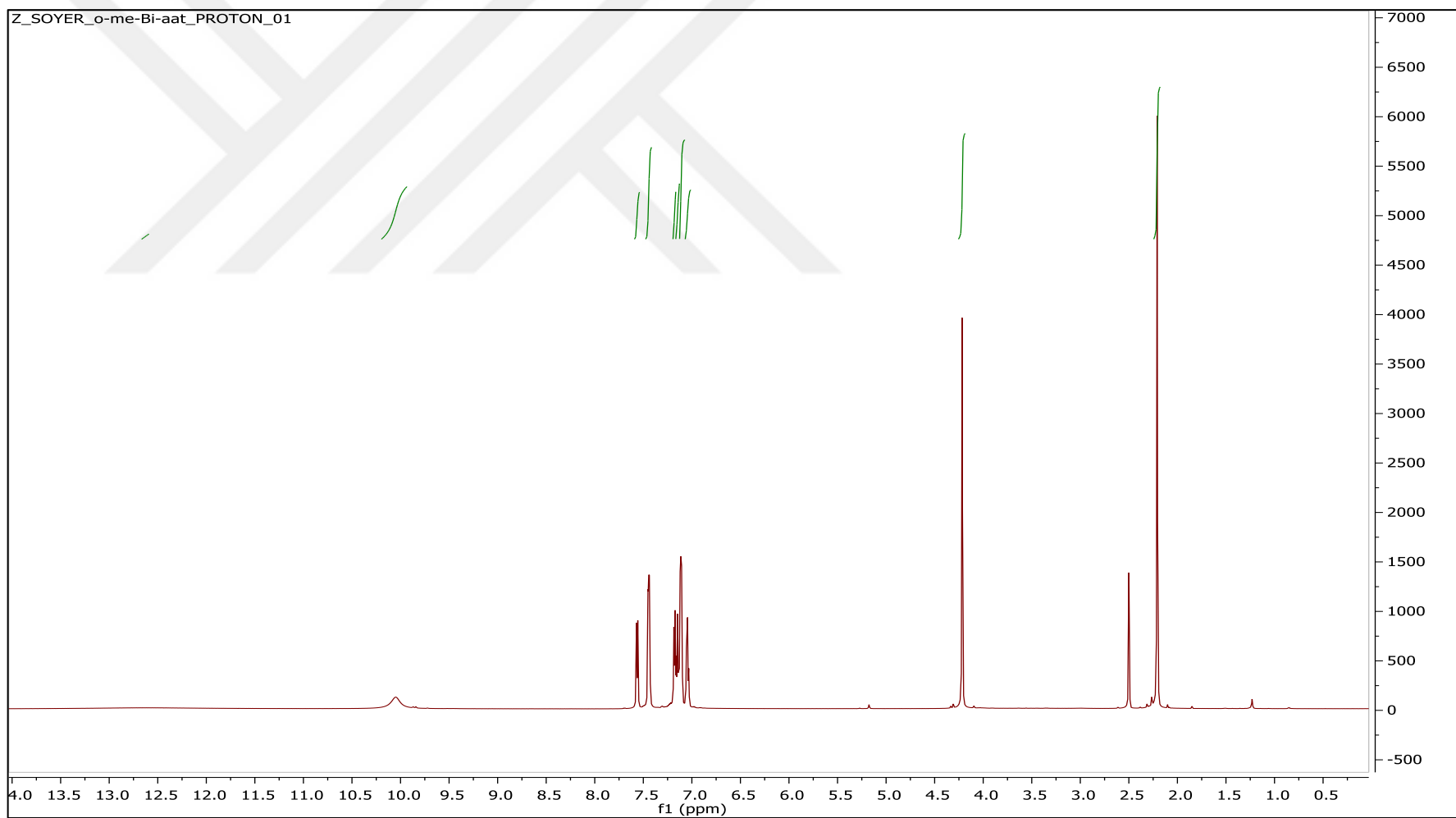
p-NO2-Bi-aat #37 RT: 0.33 AV: 1 NL: 6.58E6
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [50.00-650.00]



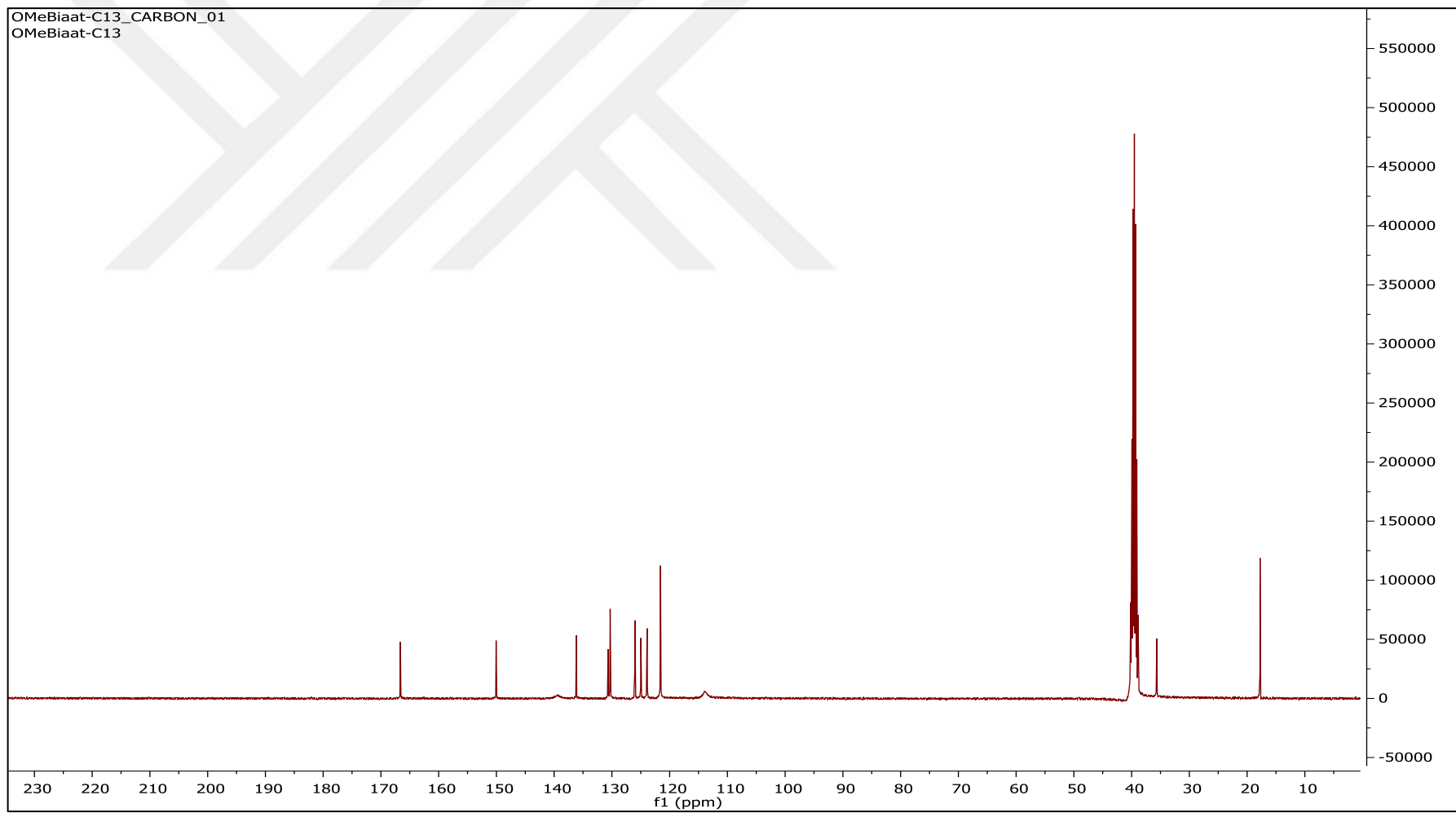
Spektrum 140. B8 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



Spektrum 141. B9 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

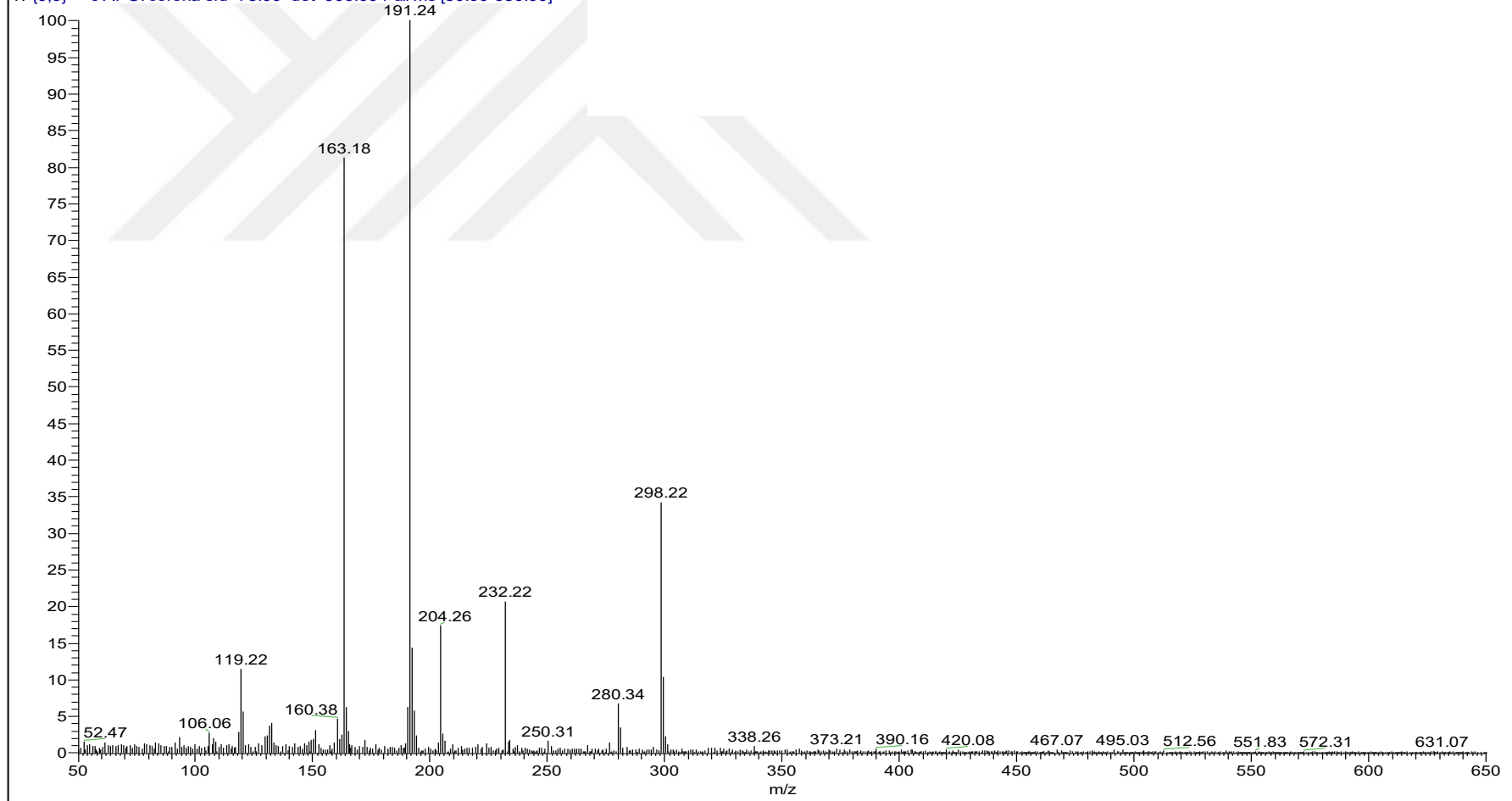


Spektrum 142. B9 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

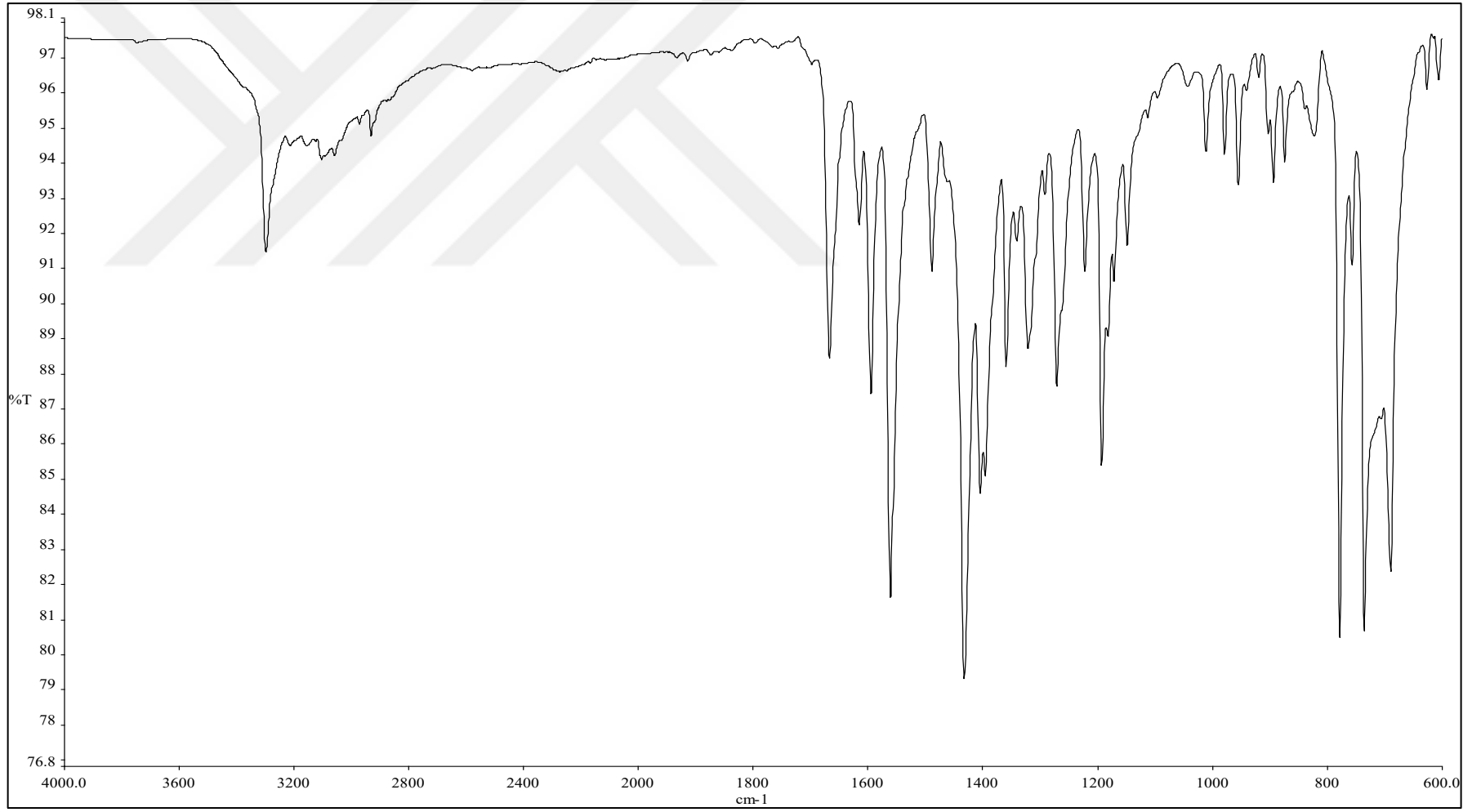


Spektrum 143. B9 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

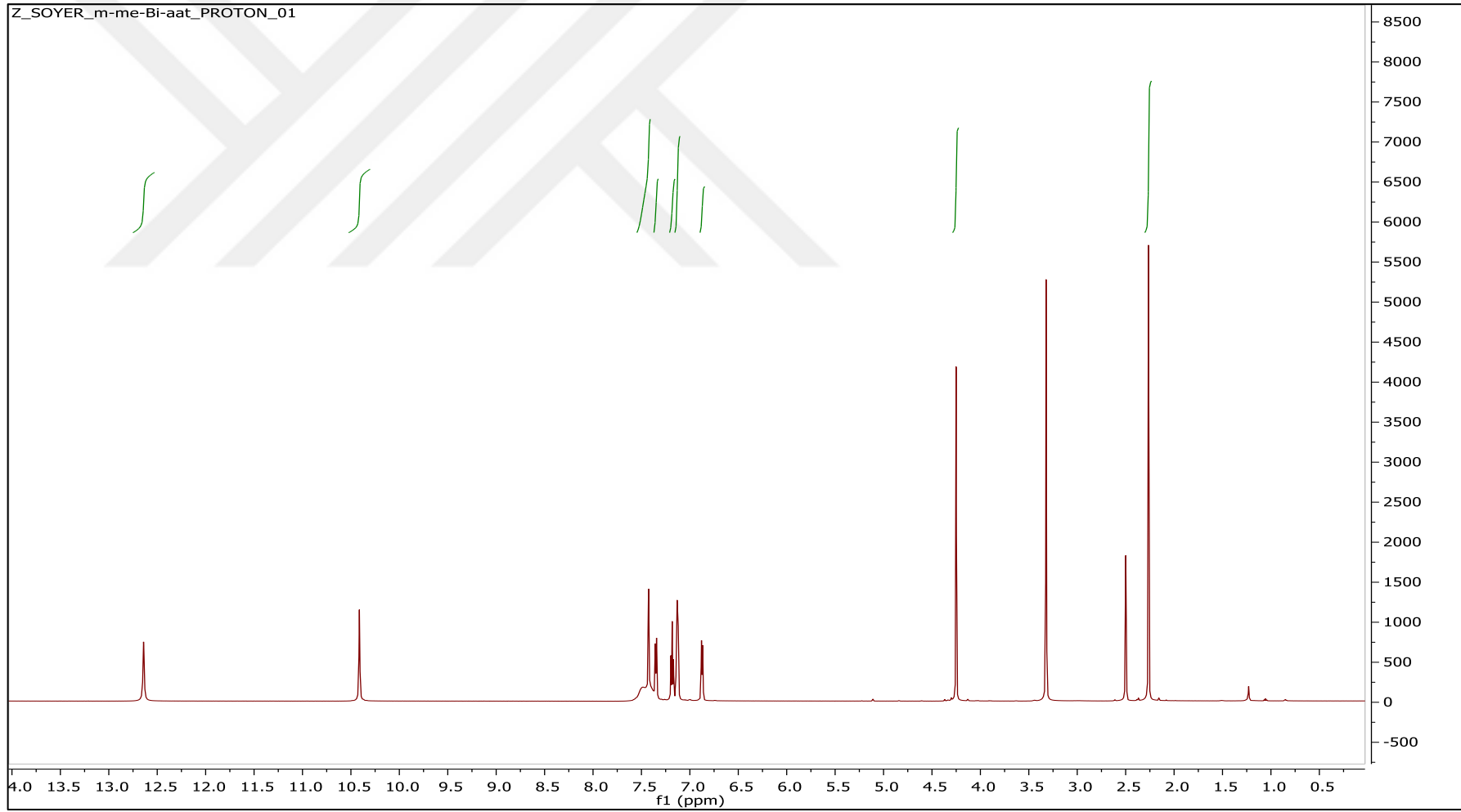
o-Me-Bi-aat #49 RT: 0.44 AV: 1 NL: 1.40E5
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [50.00-650.00]



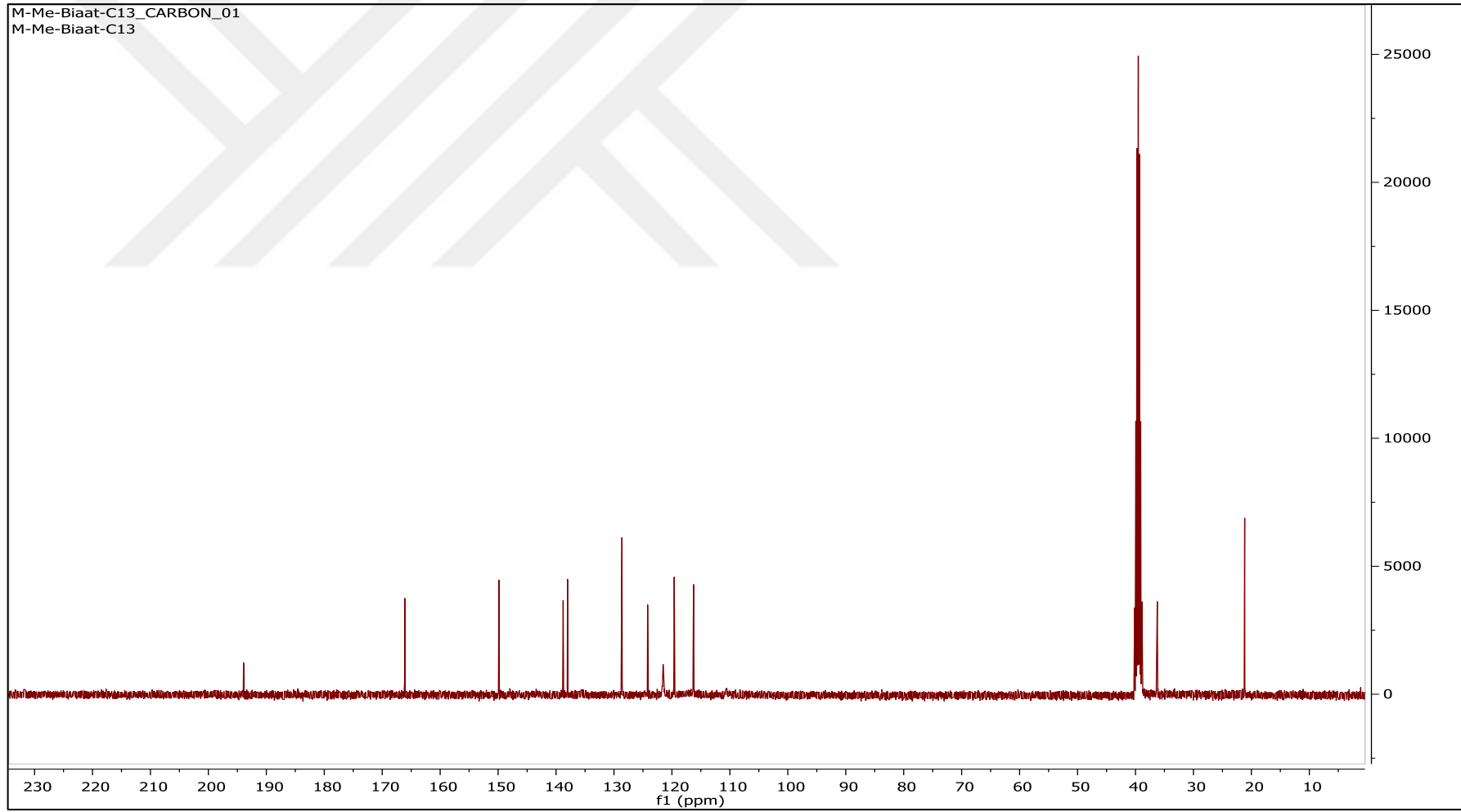
Spektrum 144. B9 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



Spektrum 145. B10 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

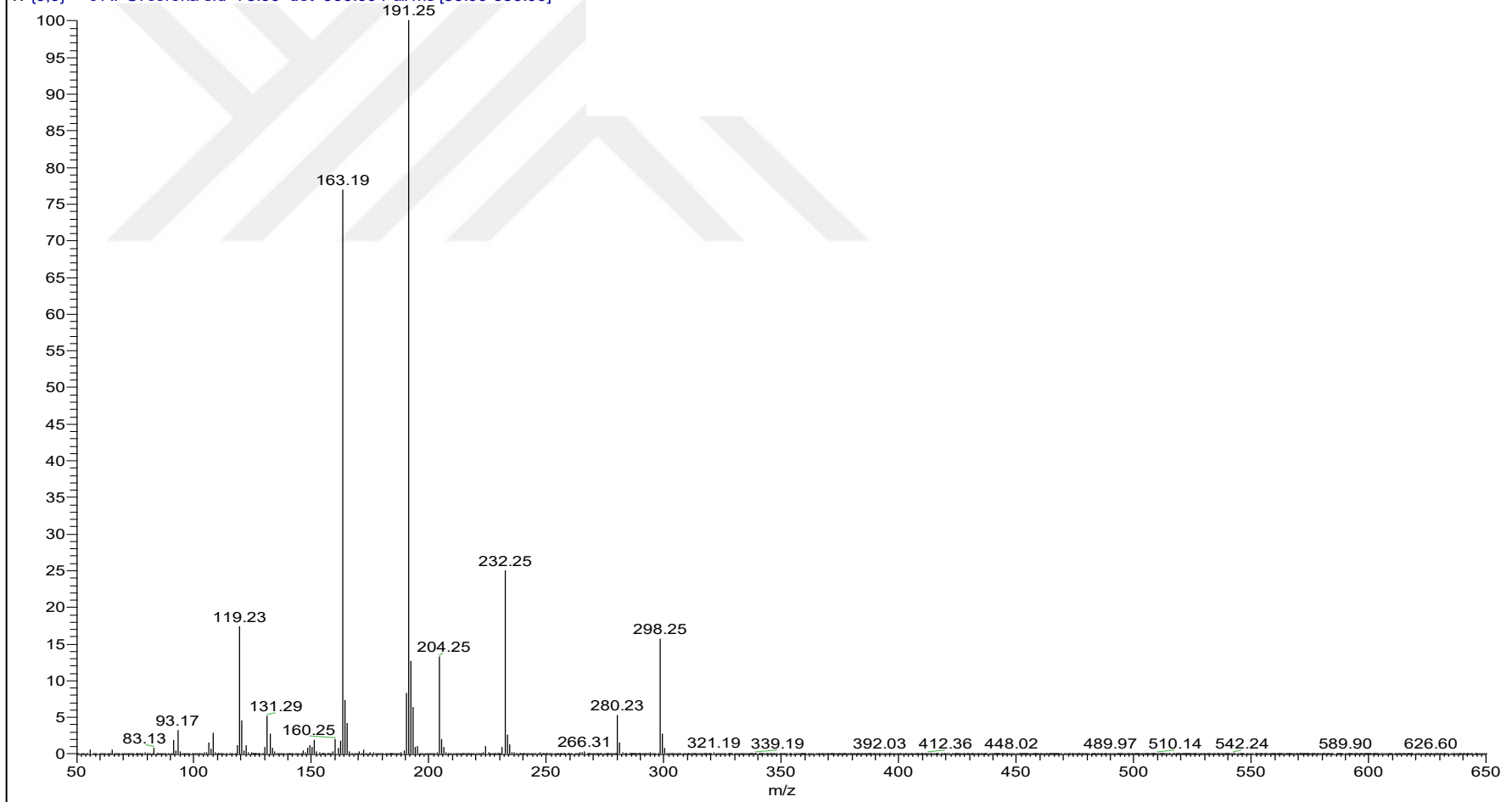


Spektrum 146. B10 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

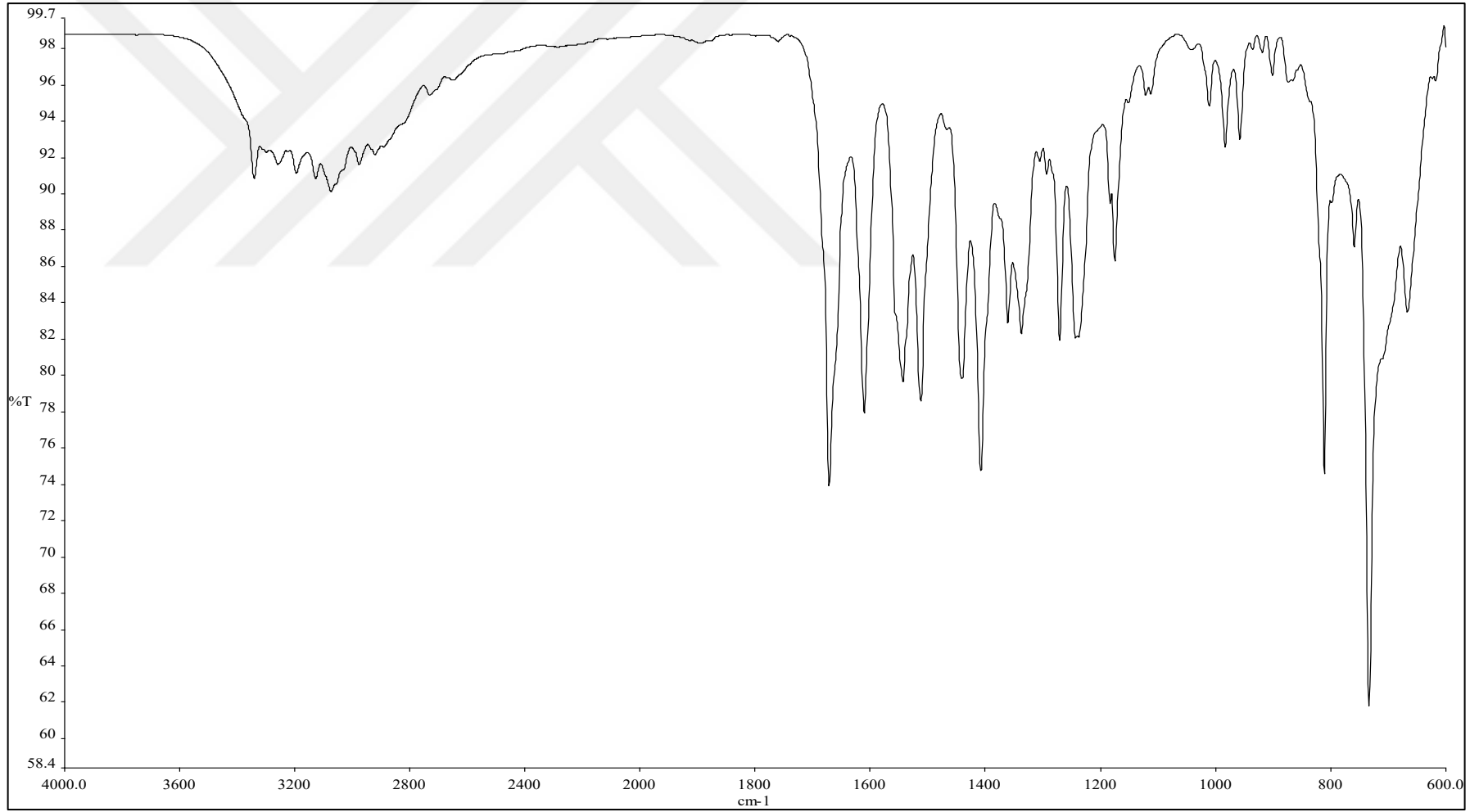


Spektrum 147. B10 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

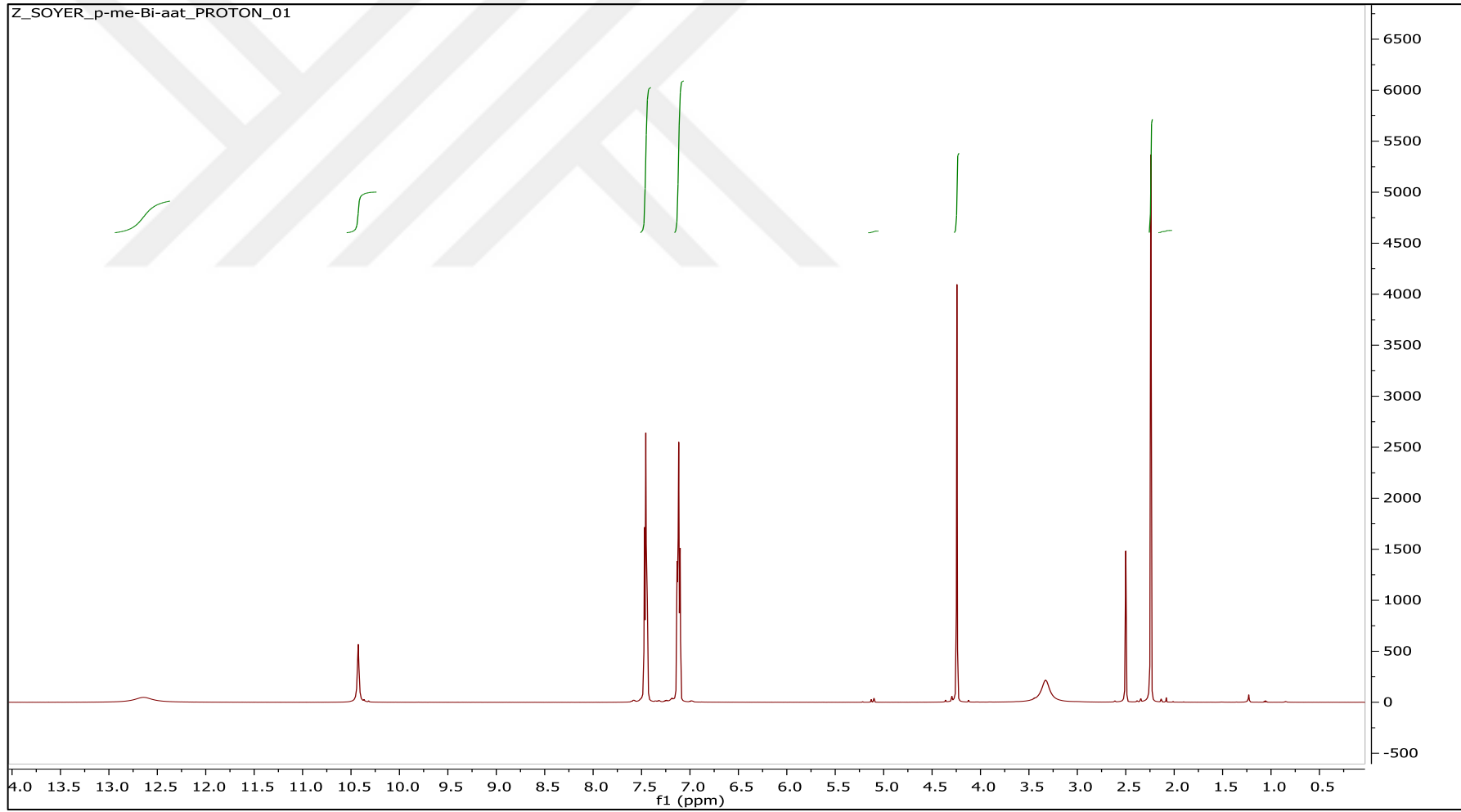
m-Me-Bi-aat #57 RT: 0.51 AV: 1 NL: 5.95E6
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [50.00-650.00]



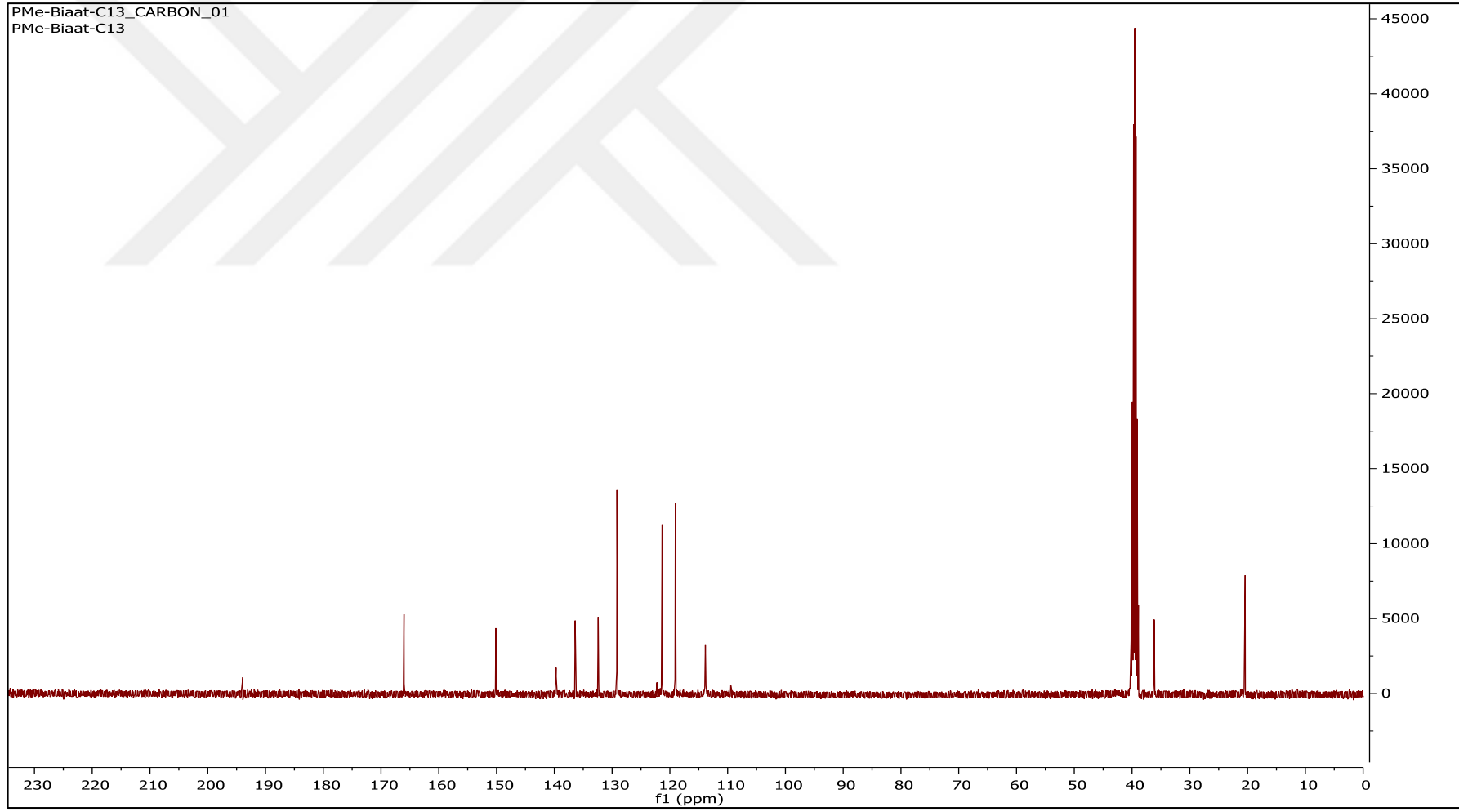
Spektrum 148. B10 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



Spektrum 149. B11 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

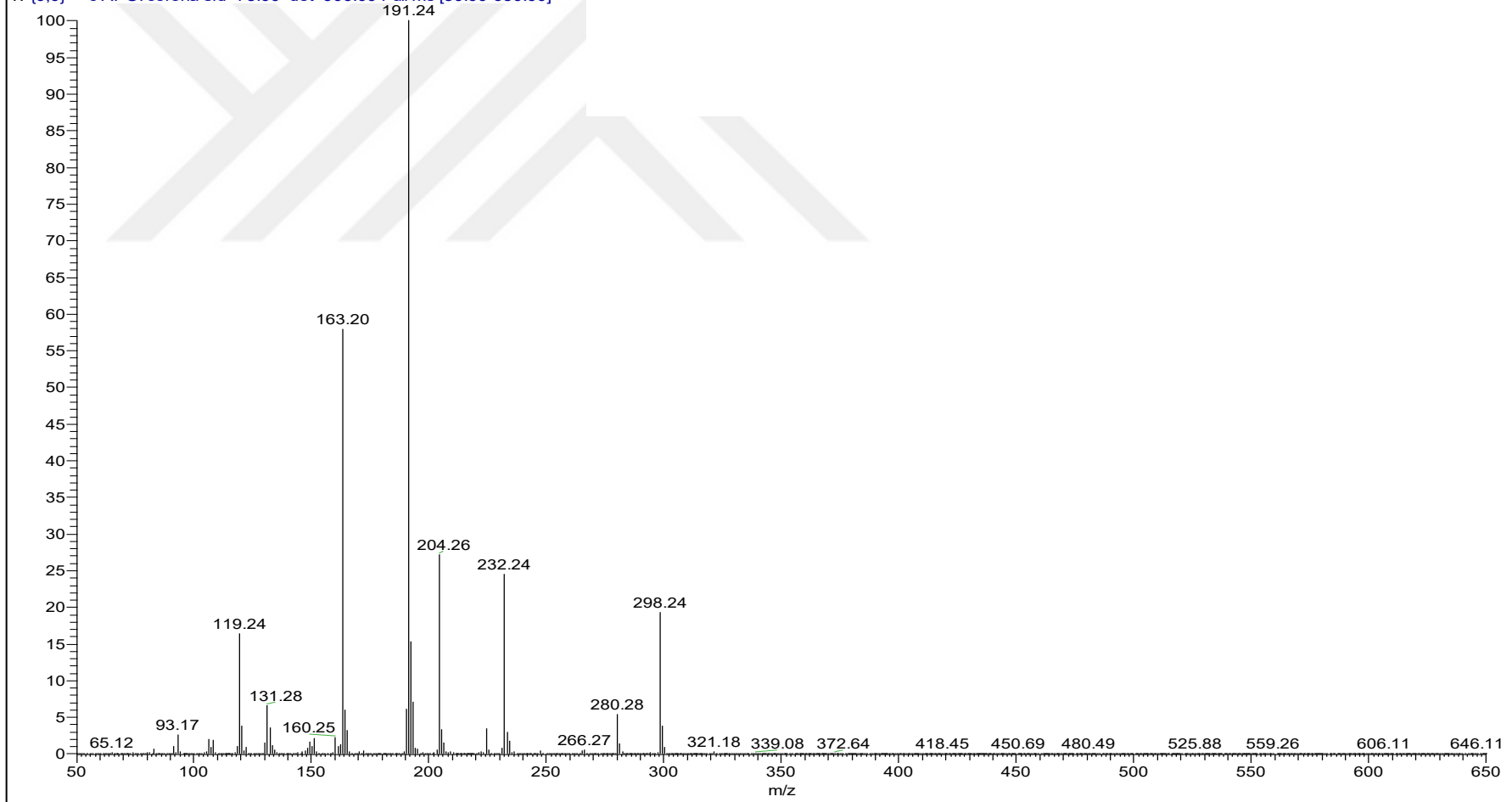


Spektrum 150. B11 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

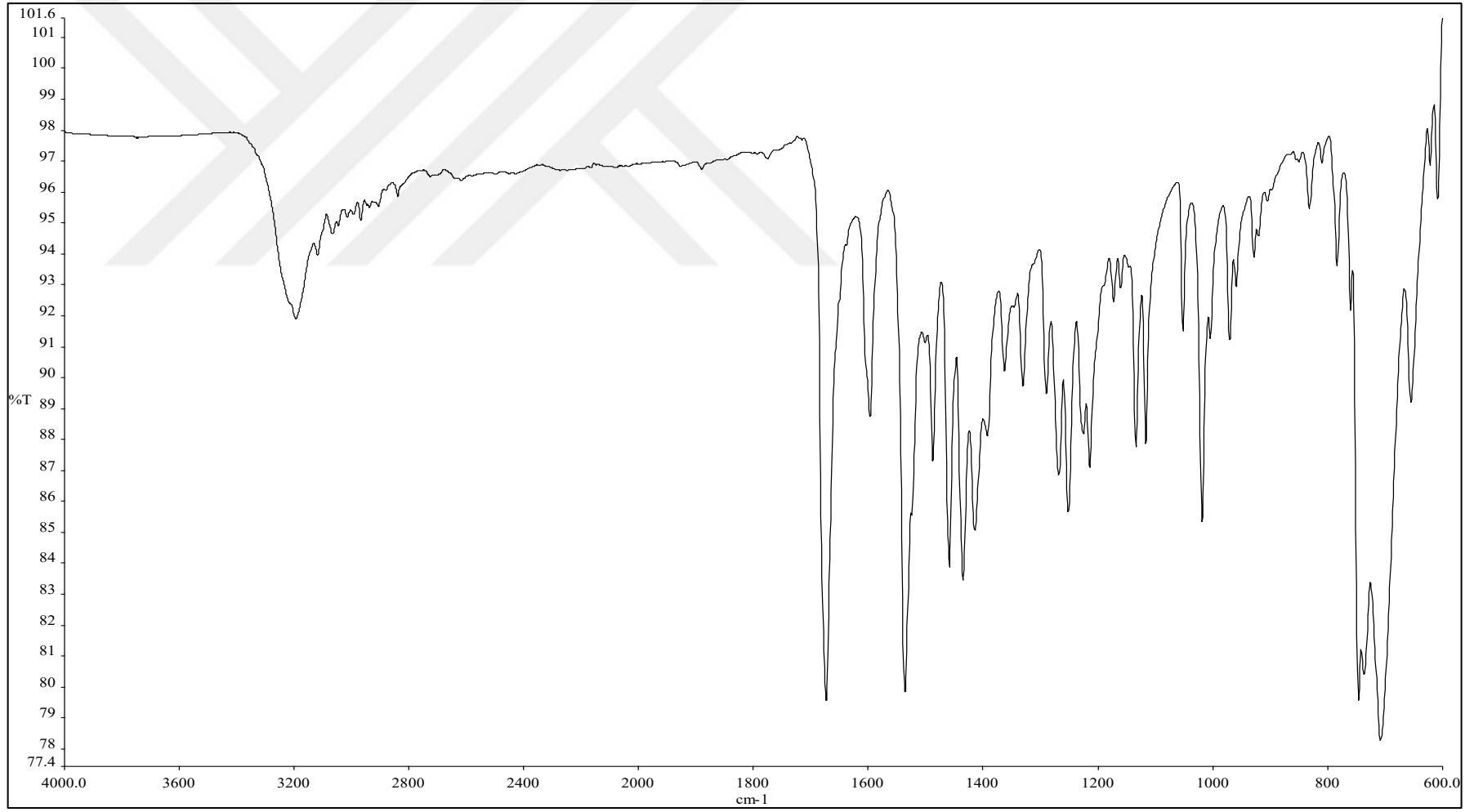


Spektrum 151. B11 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

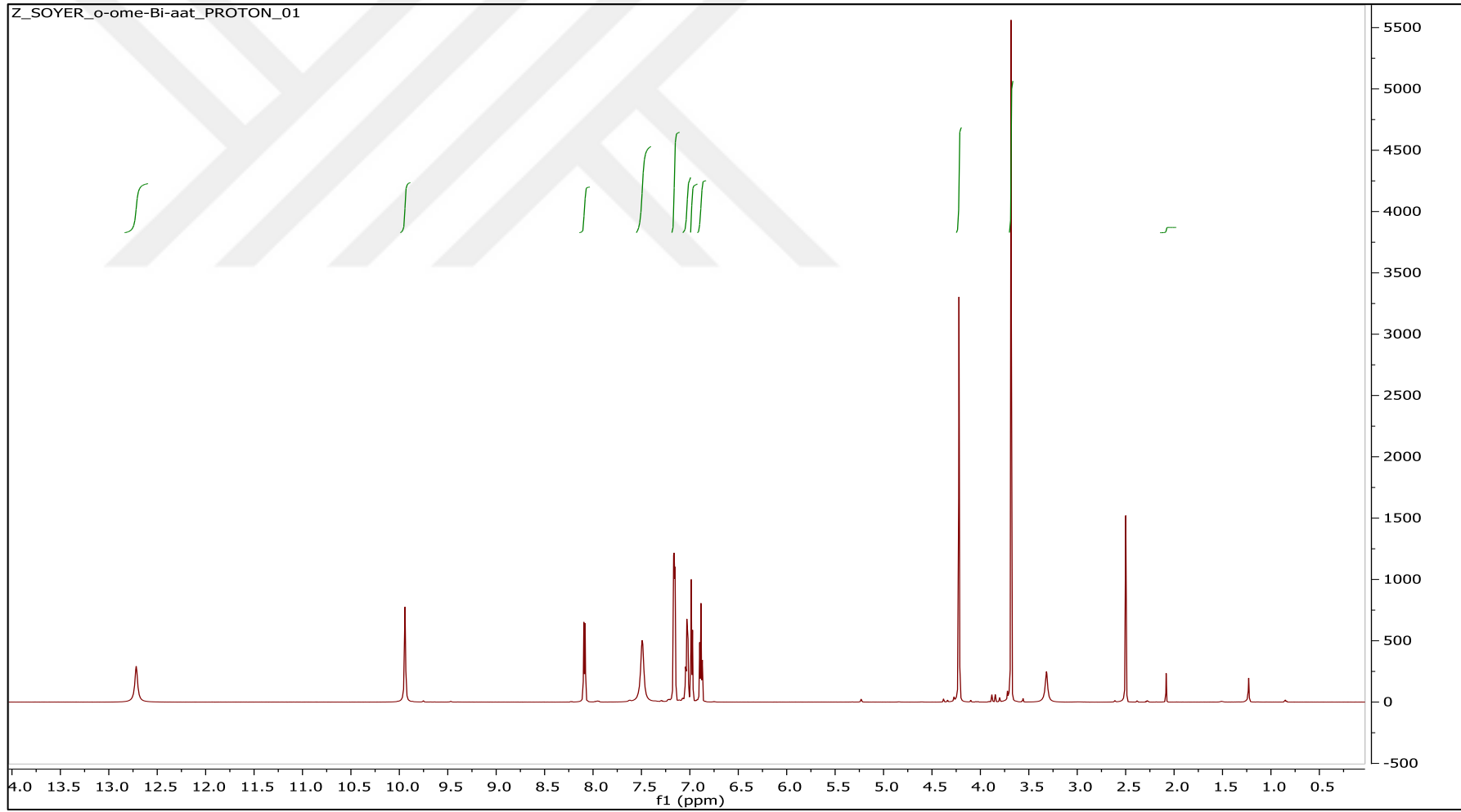
p-Me-Bi-aat #65 RT: 0.58 AV: 1 NL: 3.26E6
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [50.00-650.00]



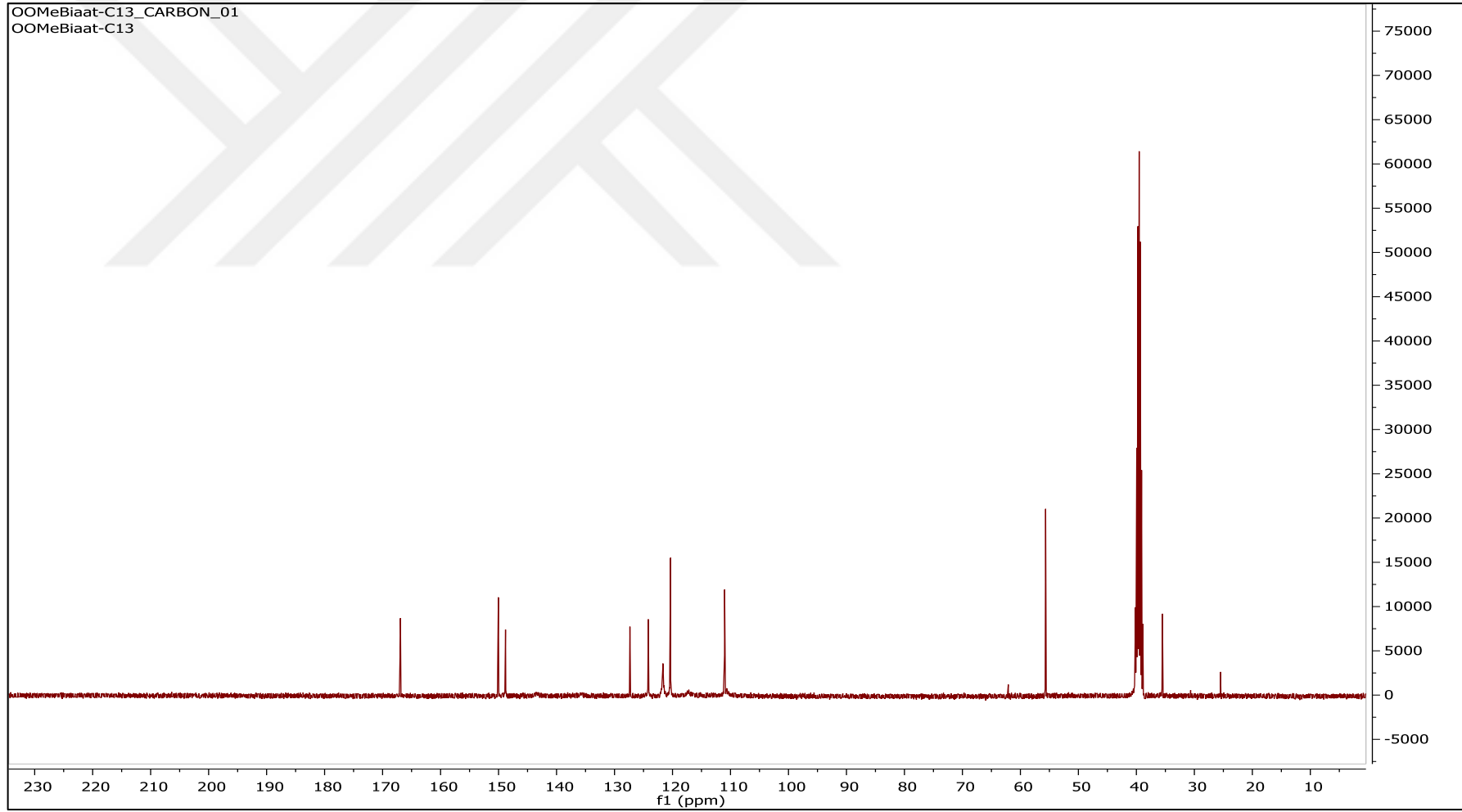
Spektrum 152. B11 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



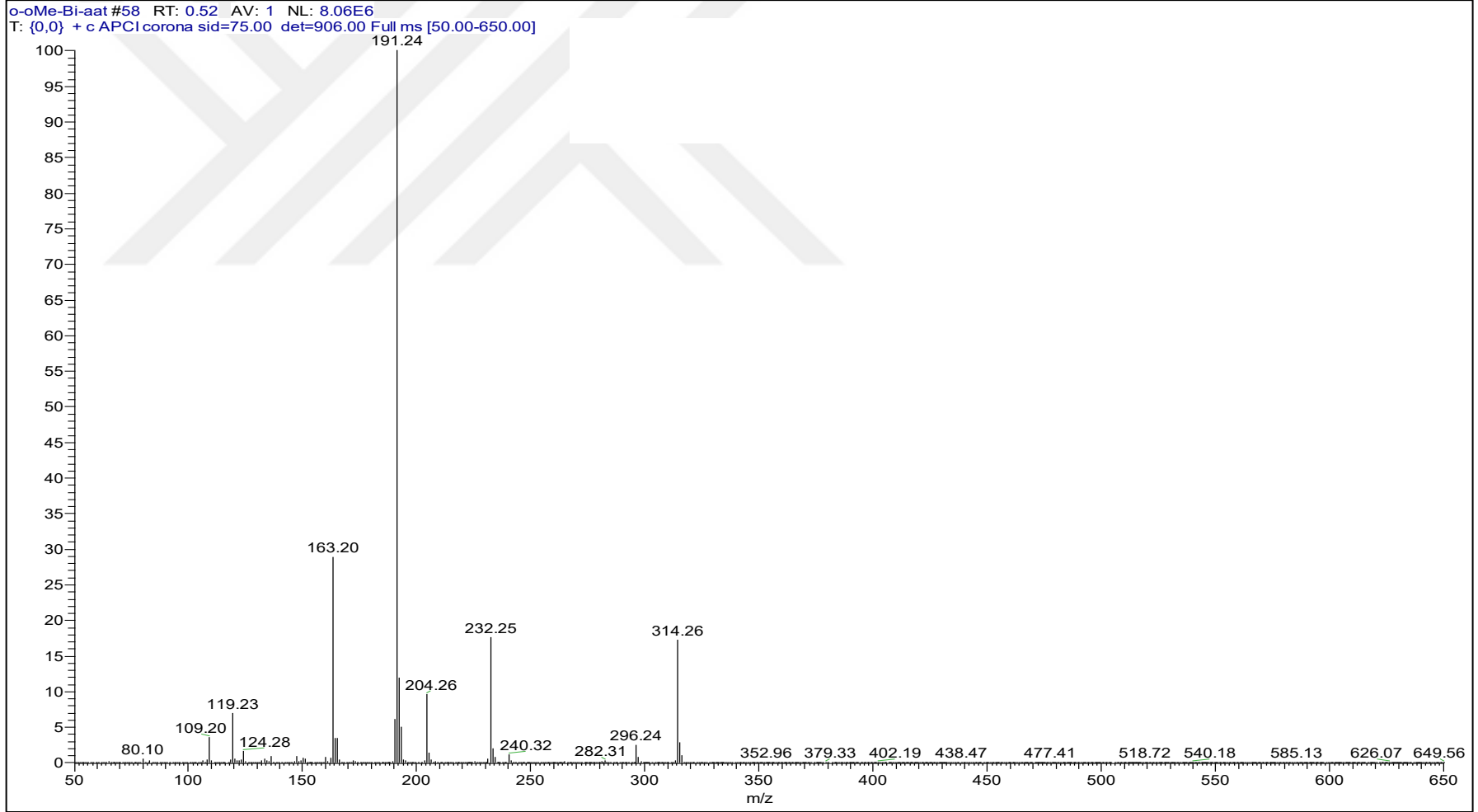
Spektrum 153. B12 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



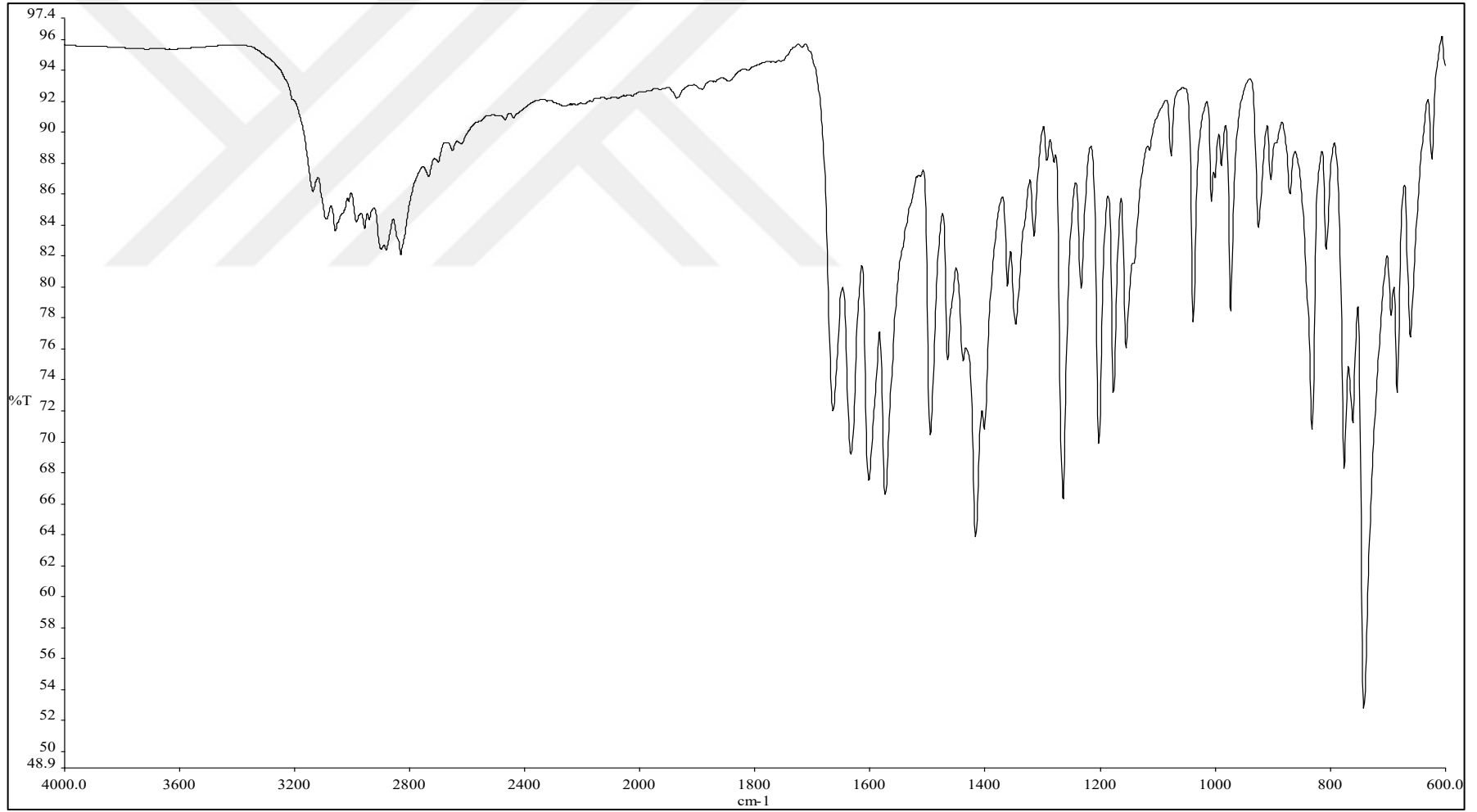
Spektrum 154. B12 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



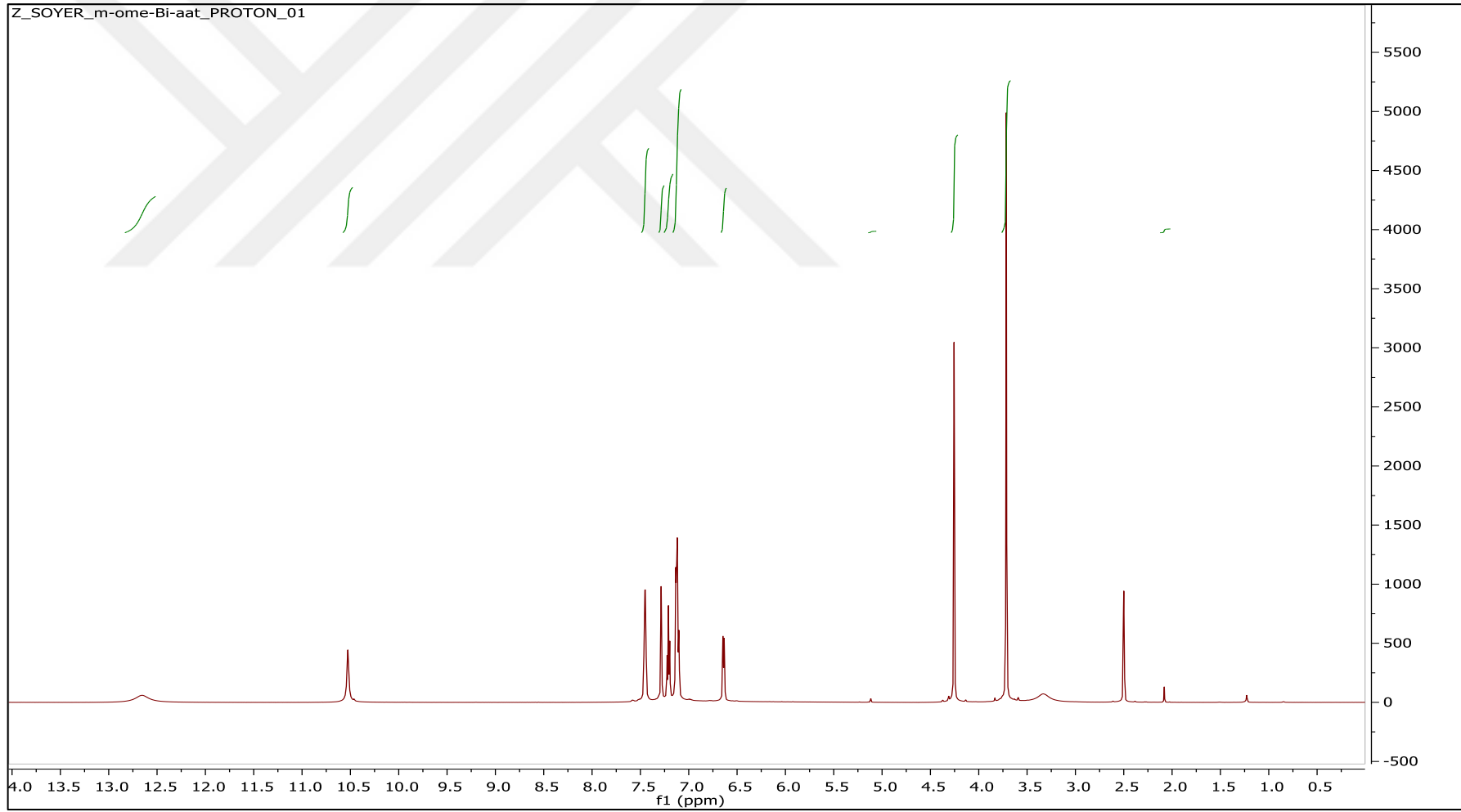
Spektrum 155. B12 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



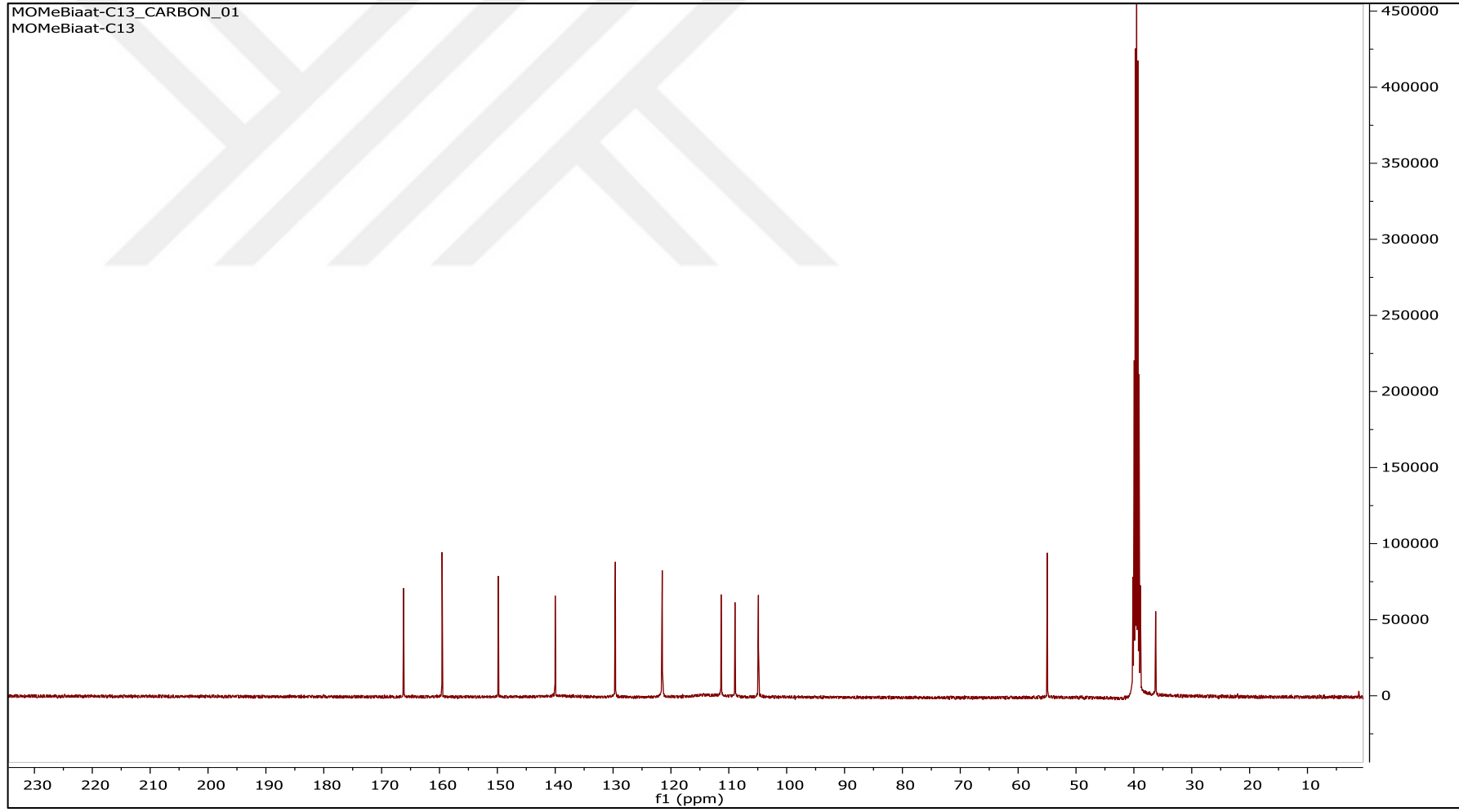
Spektrum 156. B12 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



Spektrum 157. B13 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

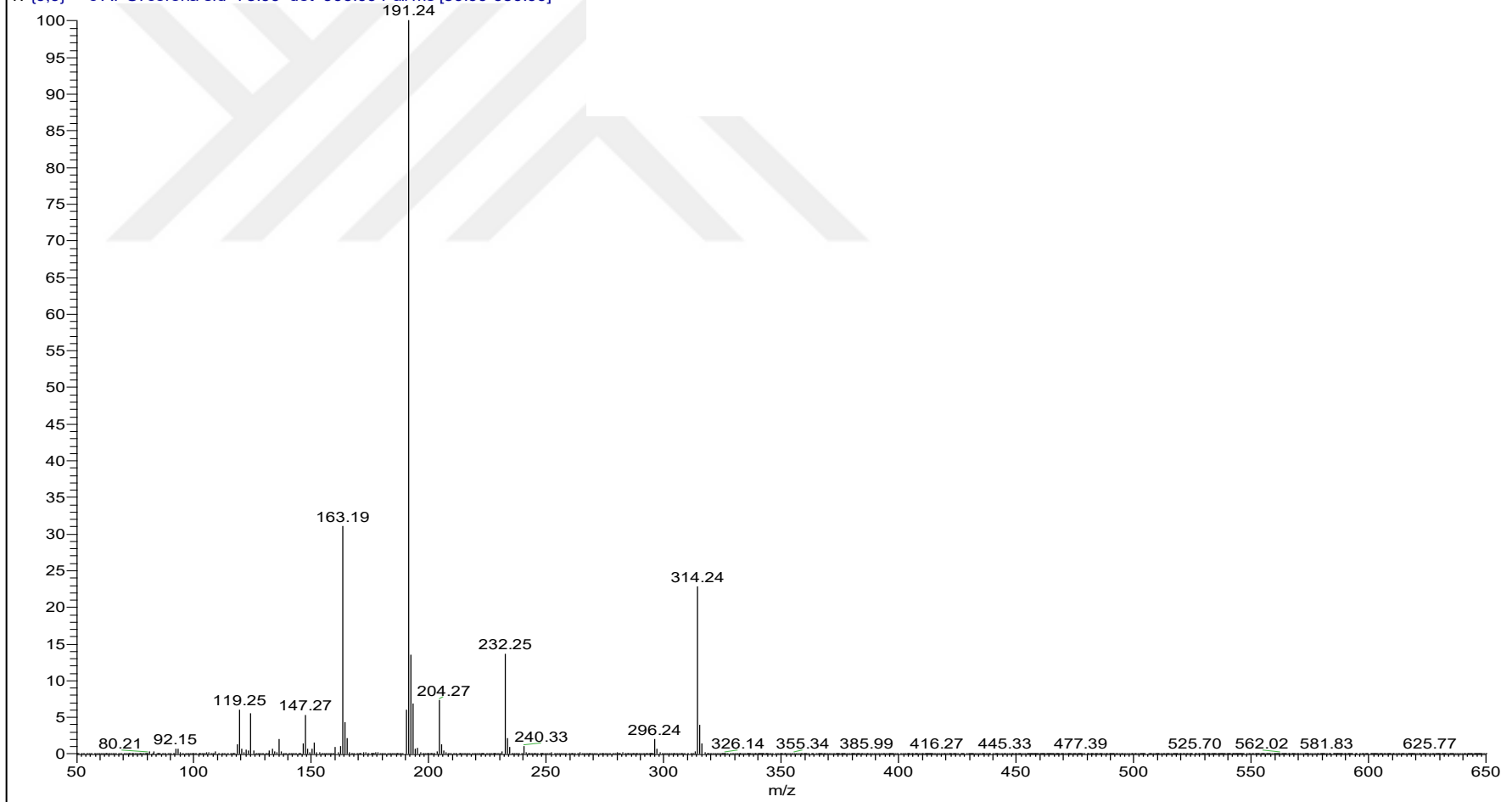


Spektrum 158. B13 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

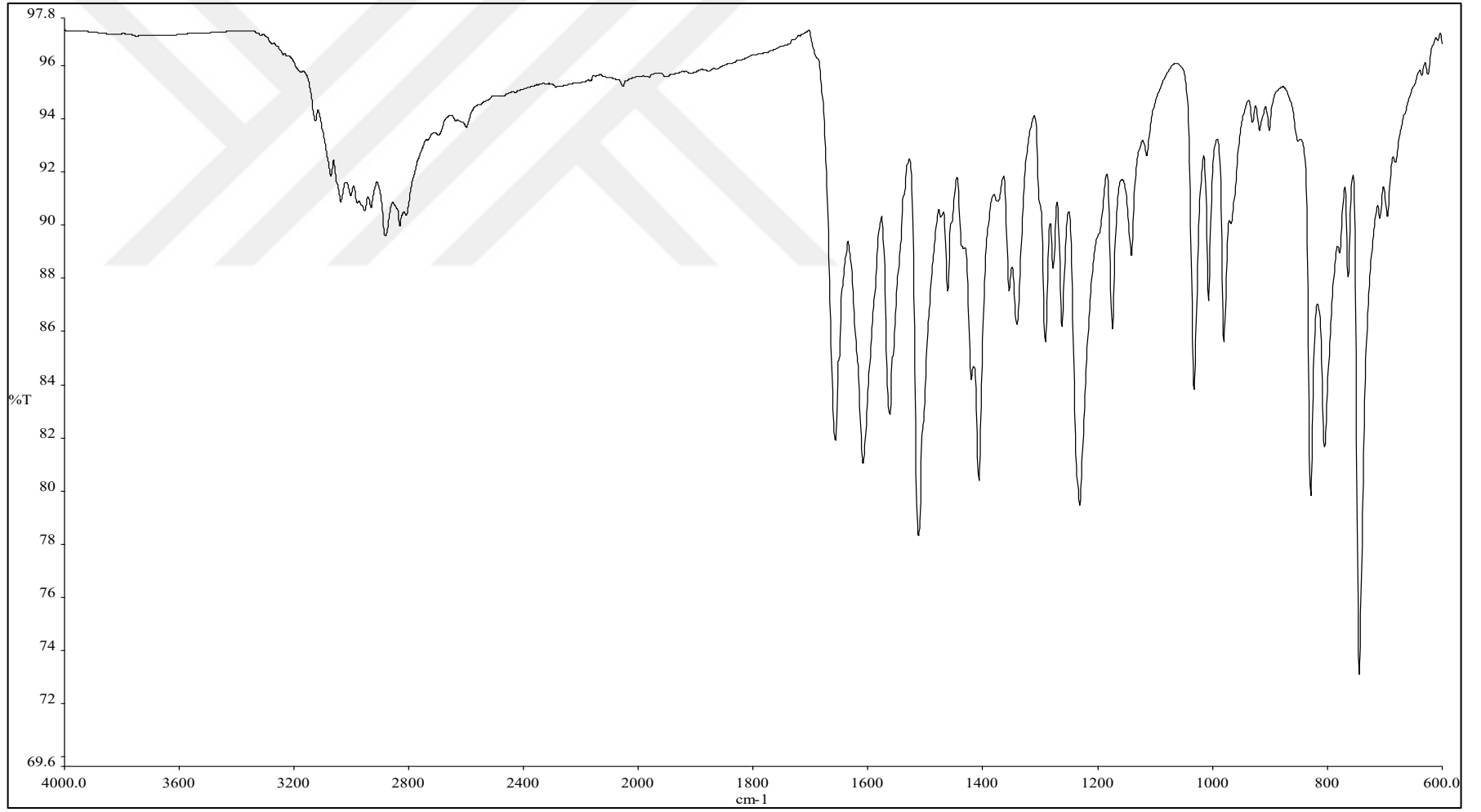


Spektrum 159. B13 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu

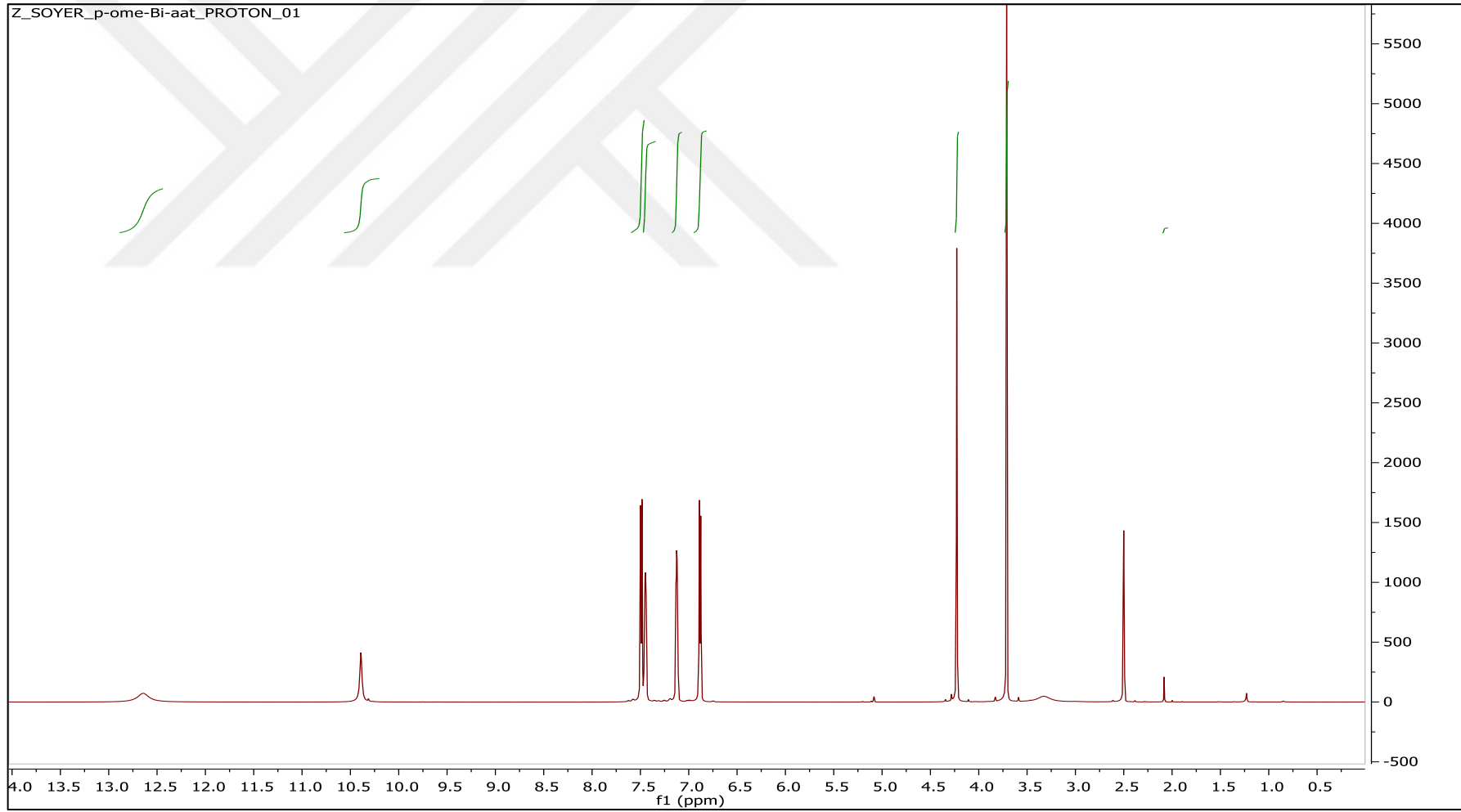
m-oMe-Bi-aat #56 RT: 0.50 AV: 1 NL: 4.51E6
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [50.00-650.00]



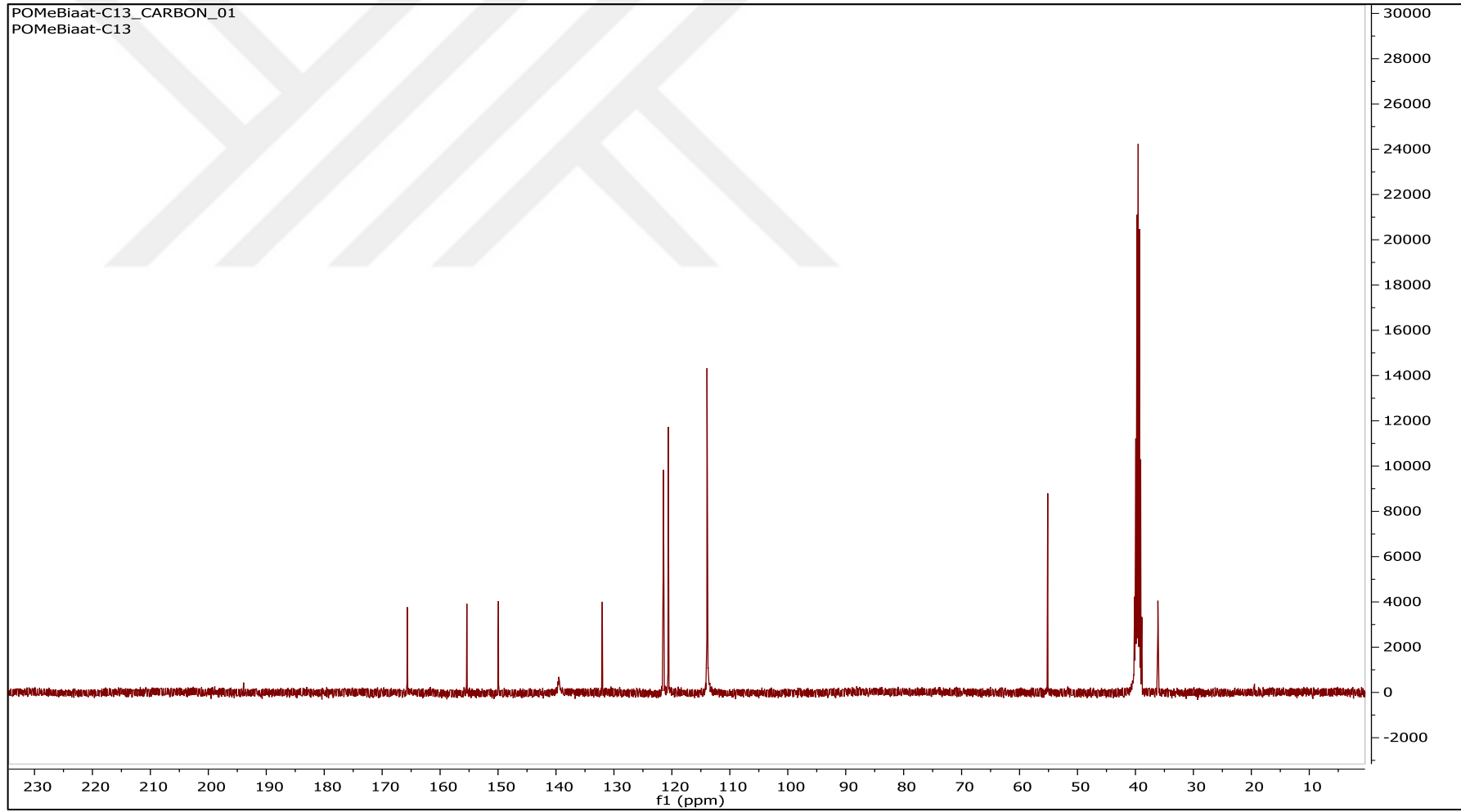
Spektrum 160. B13 Kodlu Bileşğin Bileşğinin Kütle Spektrumu



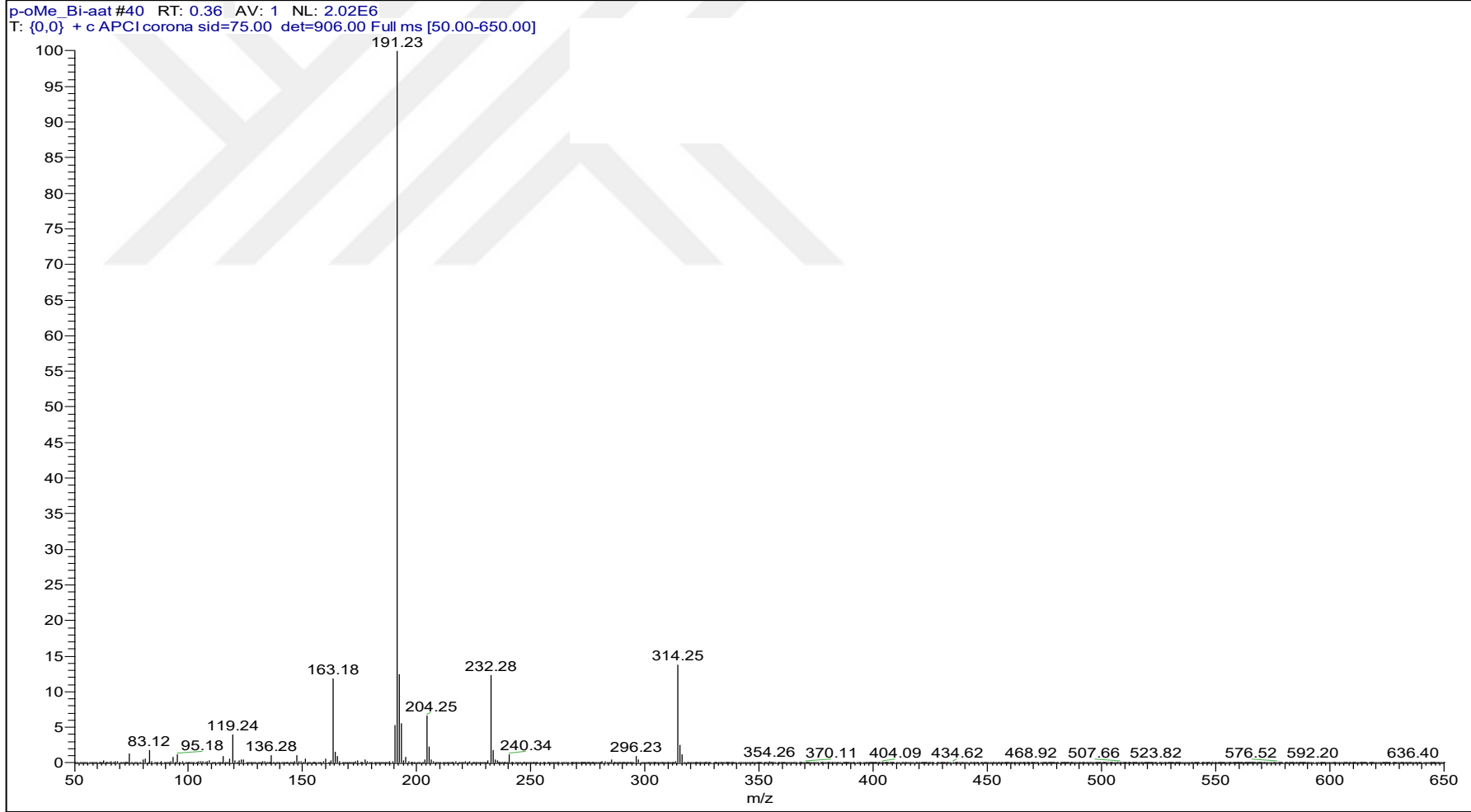
Spektrum 161. B14 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



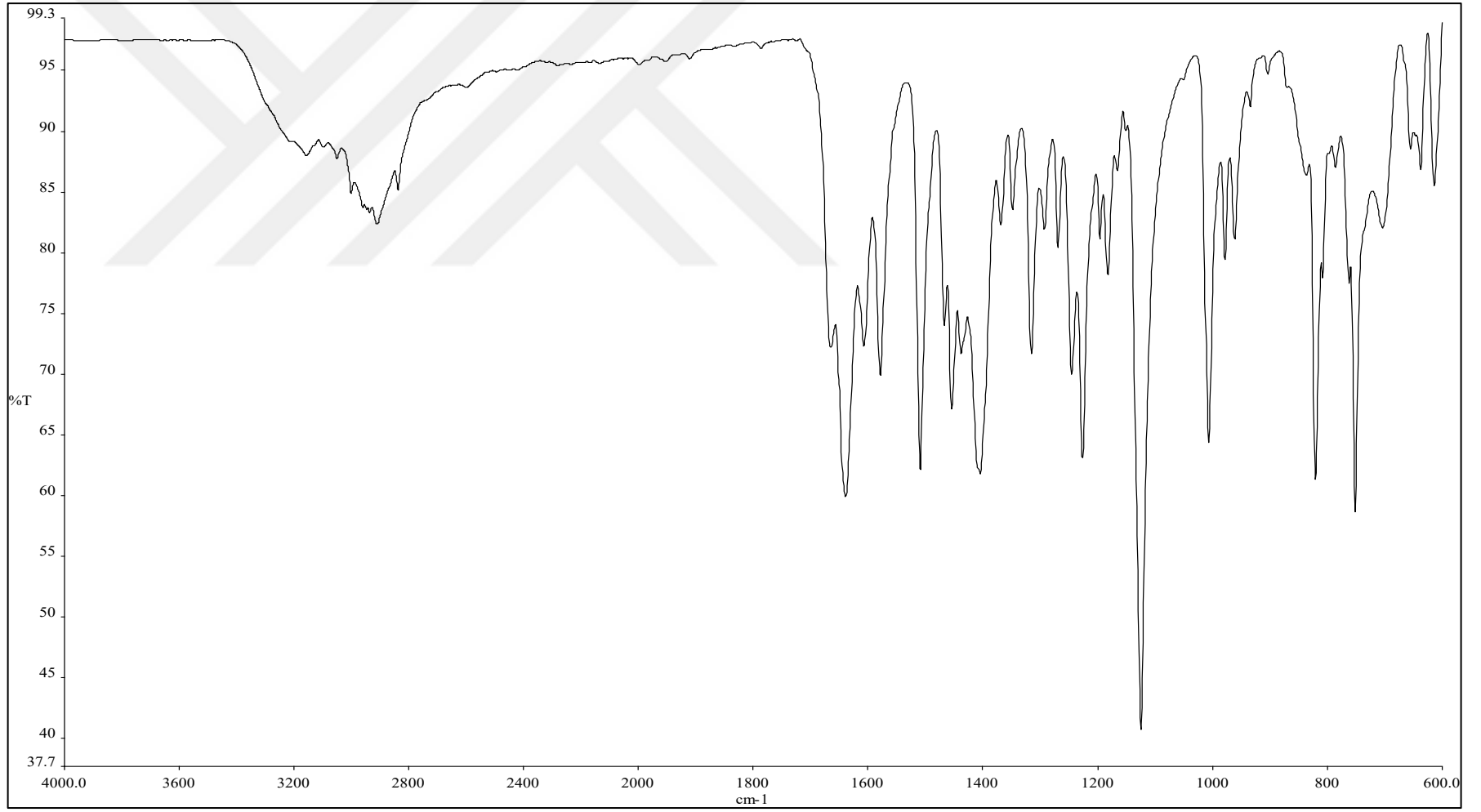
Spektrum 162. B14 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



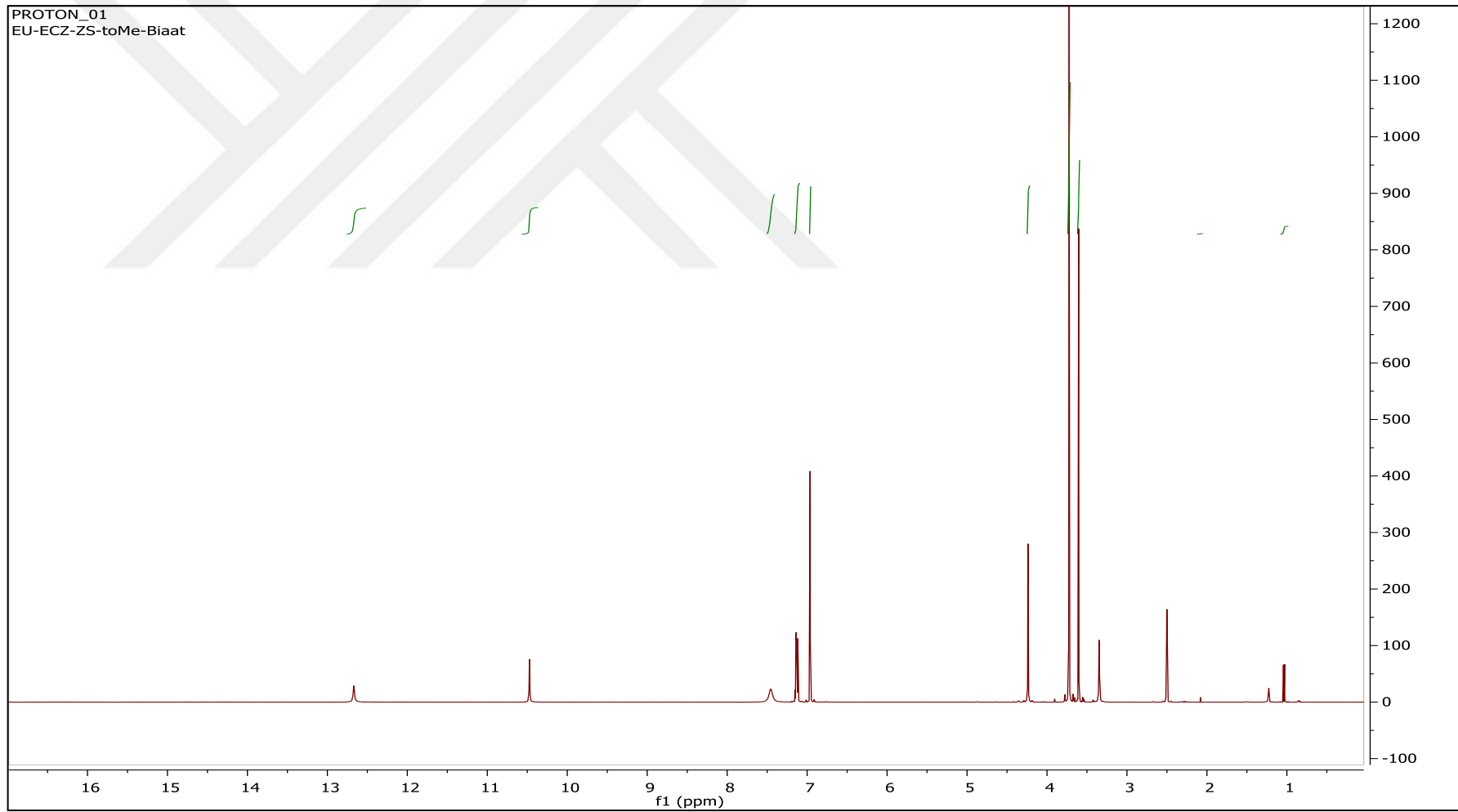
Spektrum 163. B14 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu



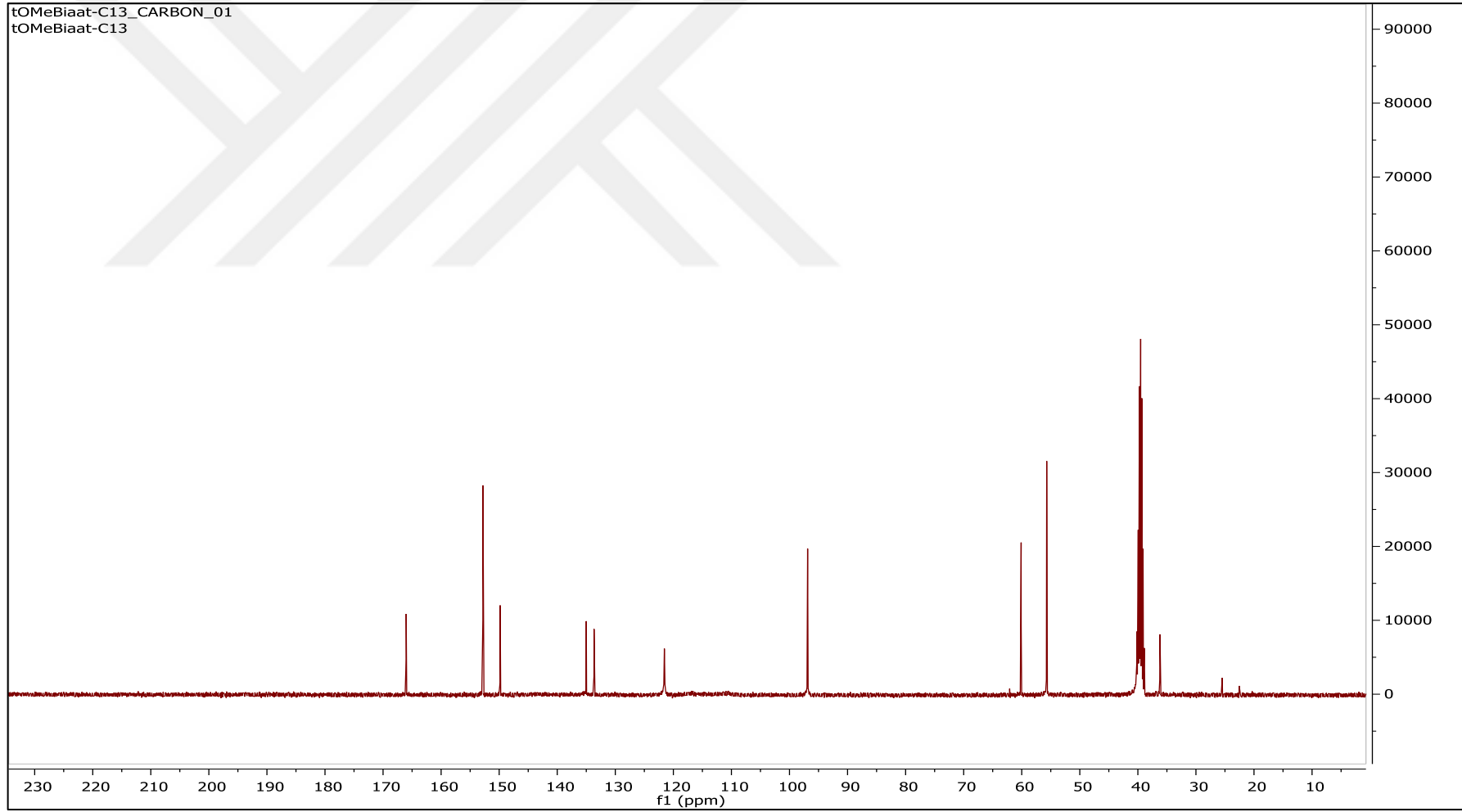
Spektrum 164. B14 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



Spektrum 165. B15 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

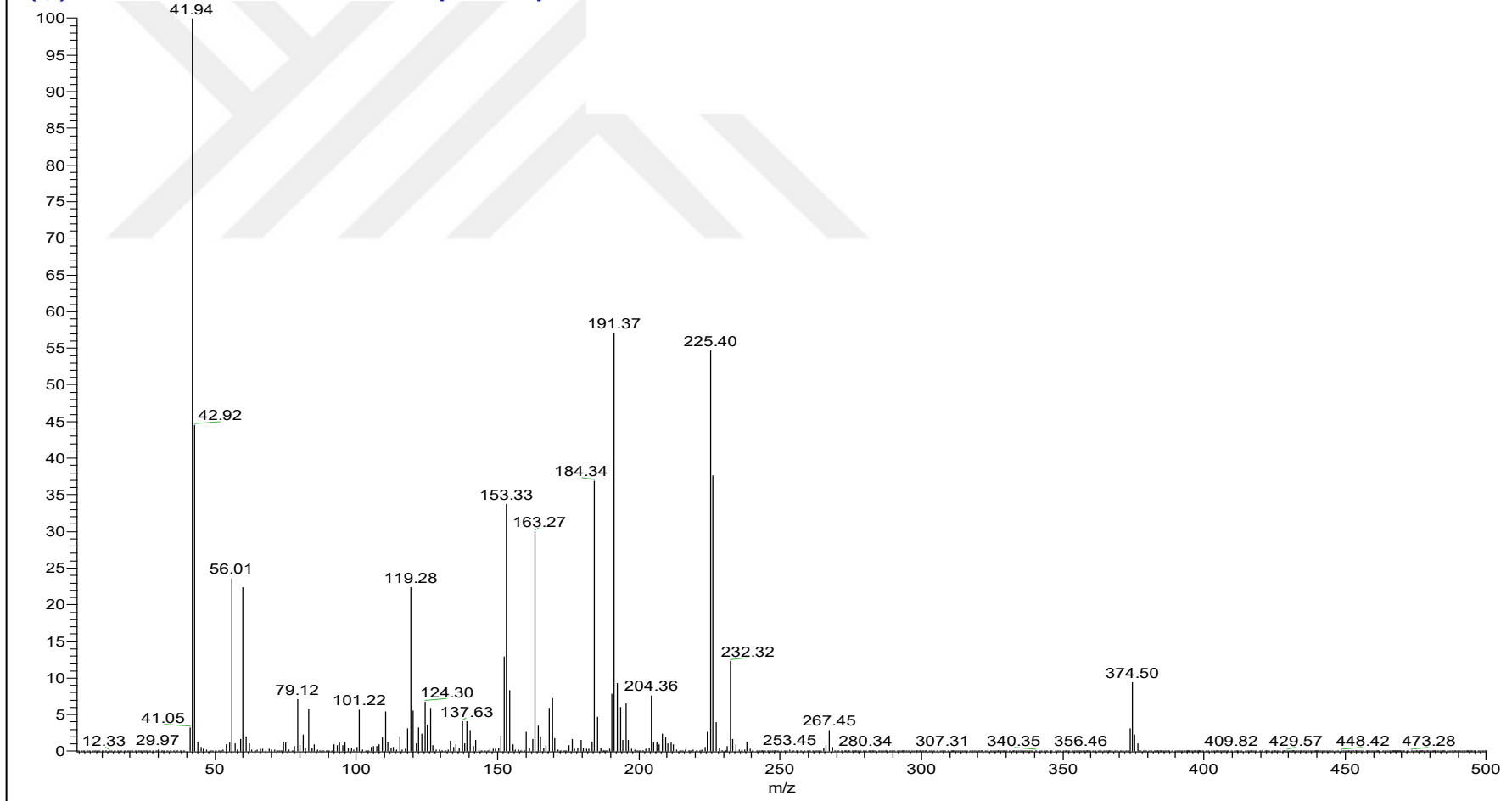


Spektrum 166. B15 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

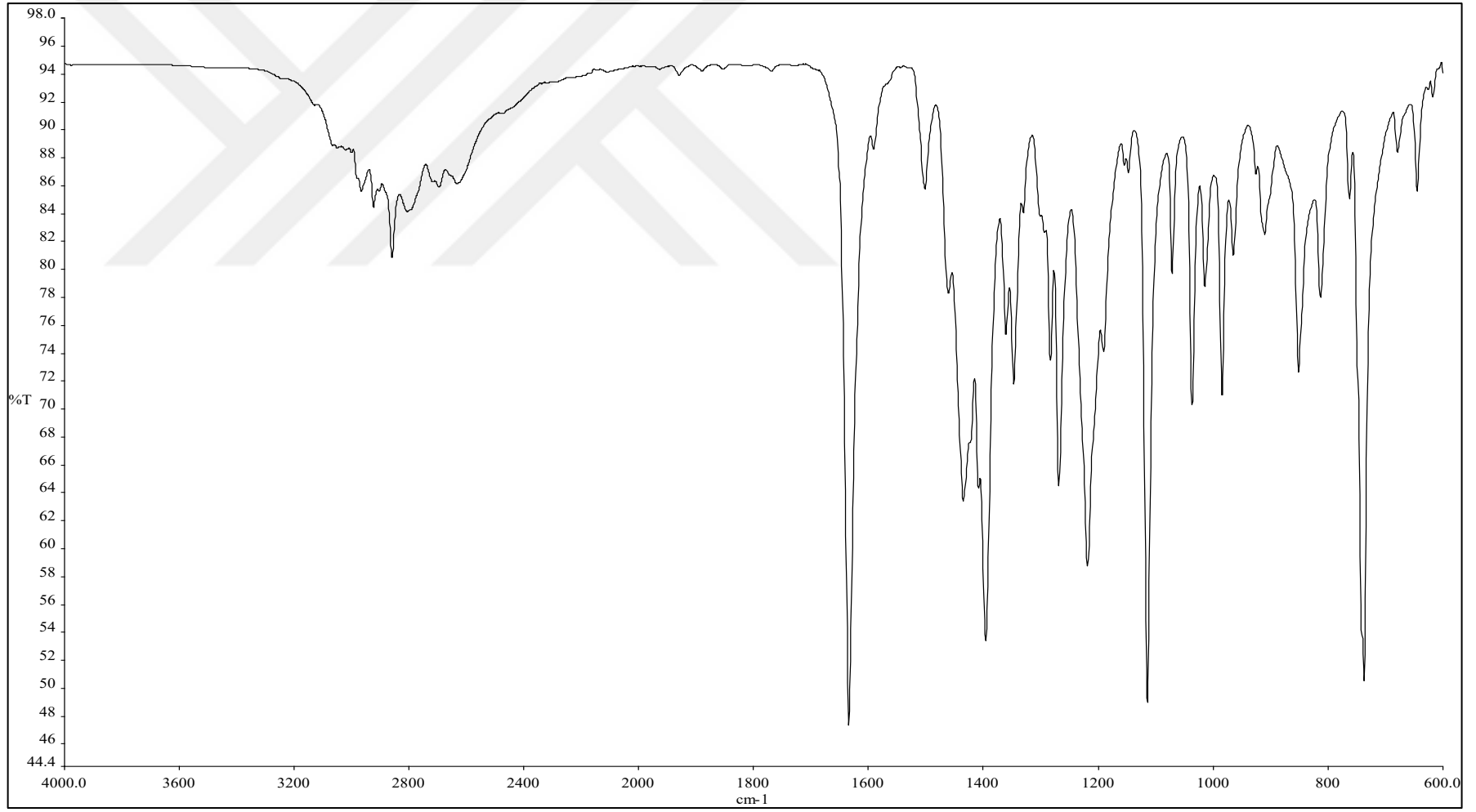


Spektrum 167. B15 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

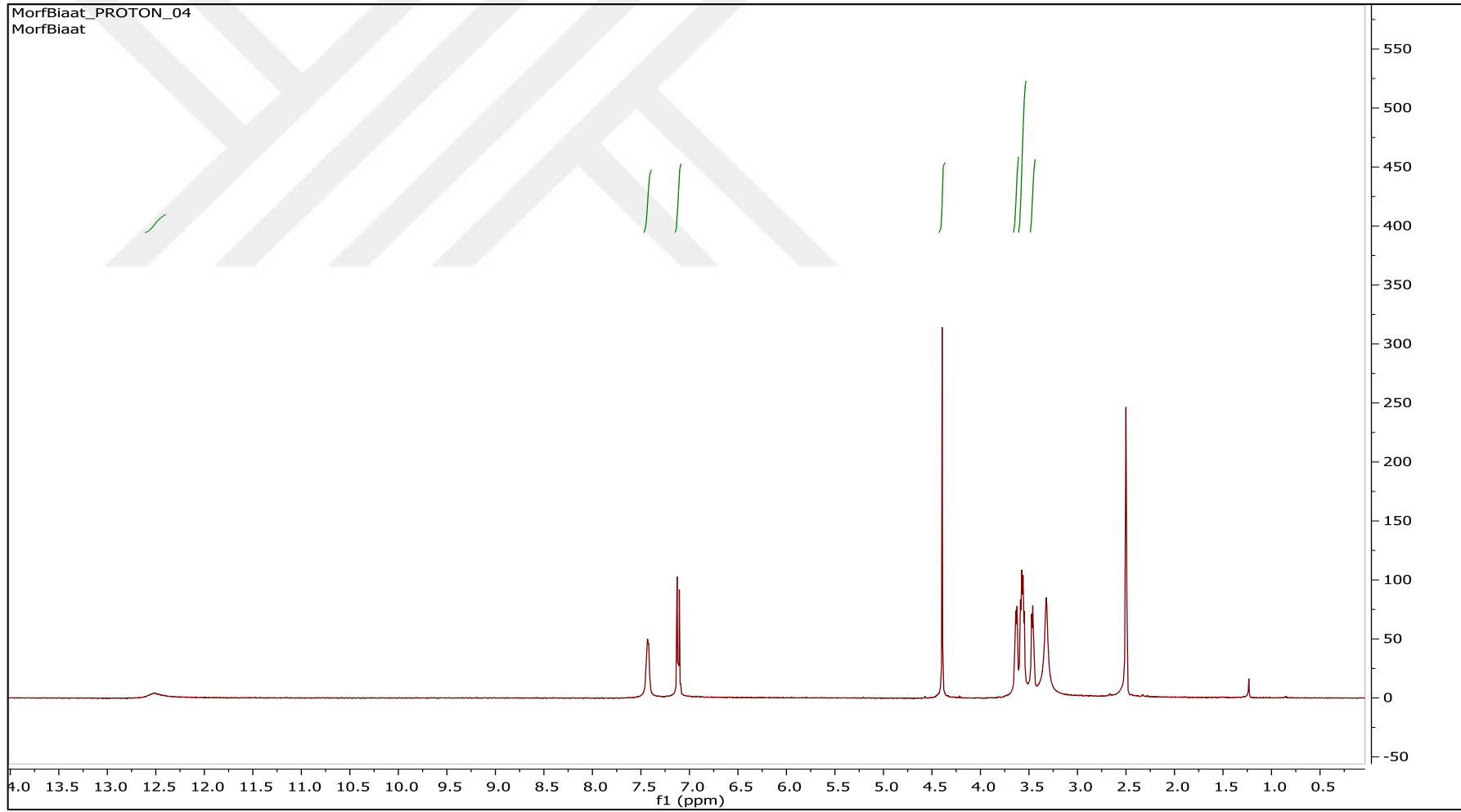
toME-apci-poz #42 RT: 0.37 AV: 1 NL: 3.50E6
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]



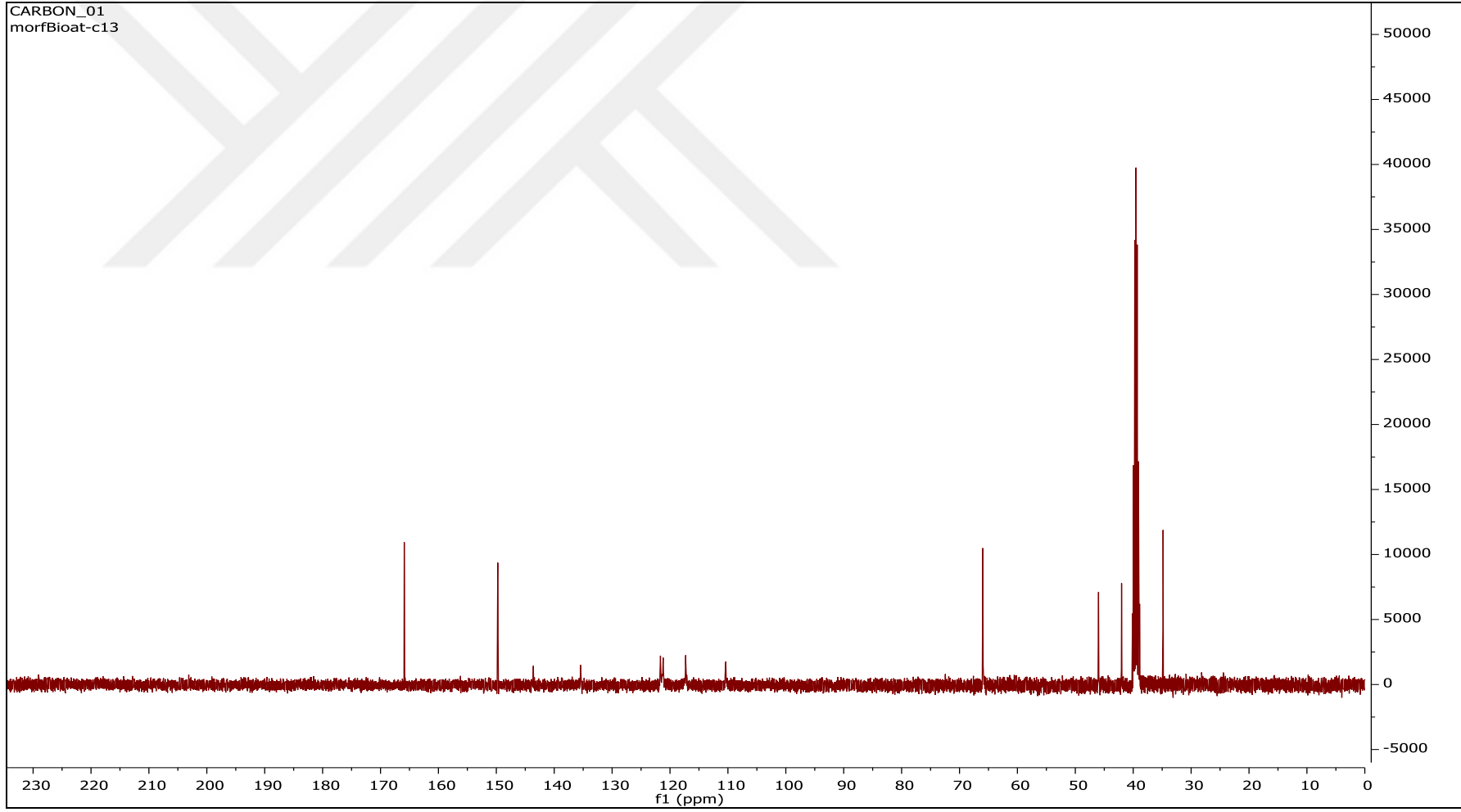
Spektrum 168. B15 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



Spektrum 169. B16 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

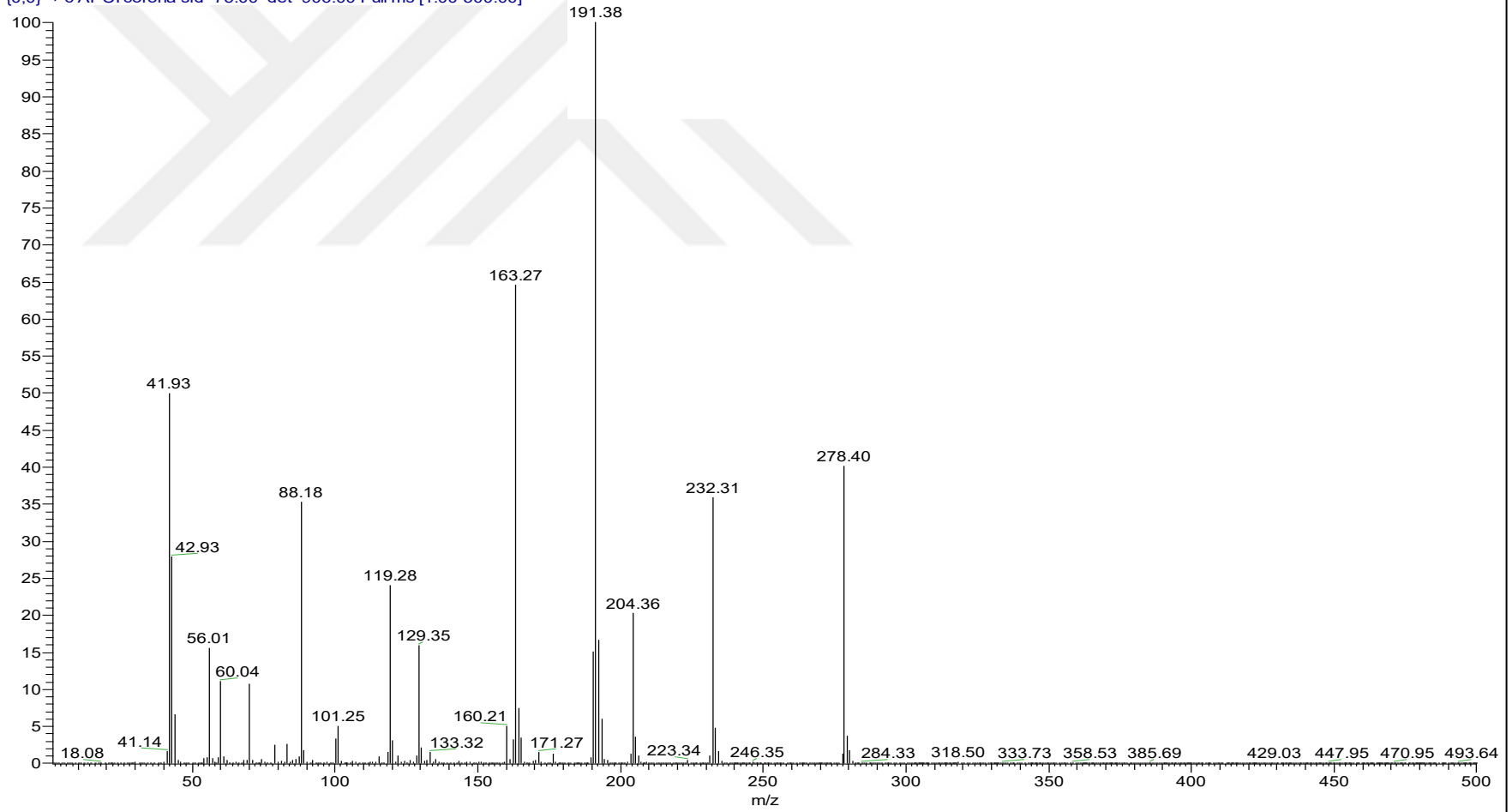


Spektrum 170. B16 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

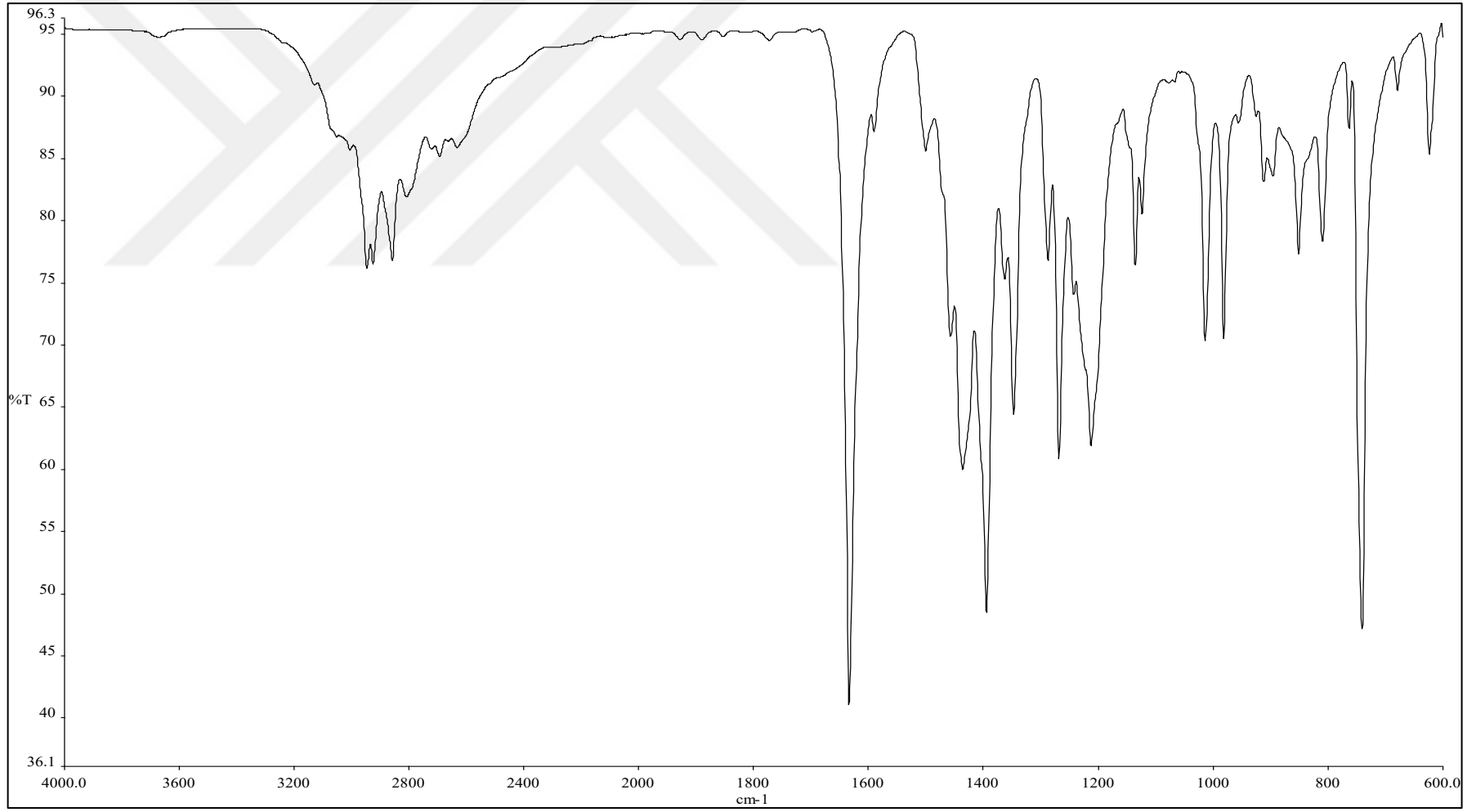


Spektrum 171. B16 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

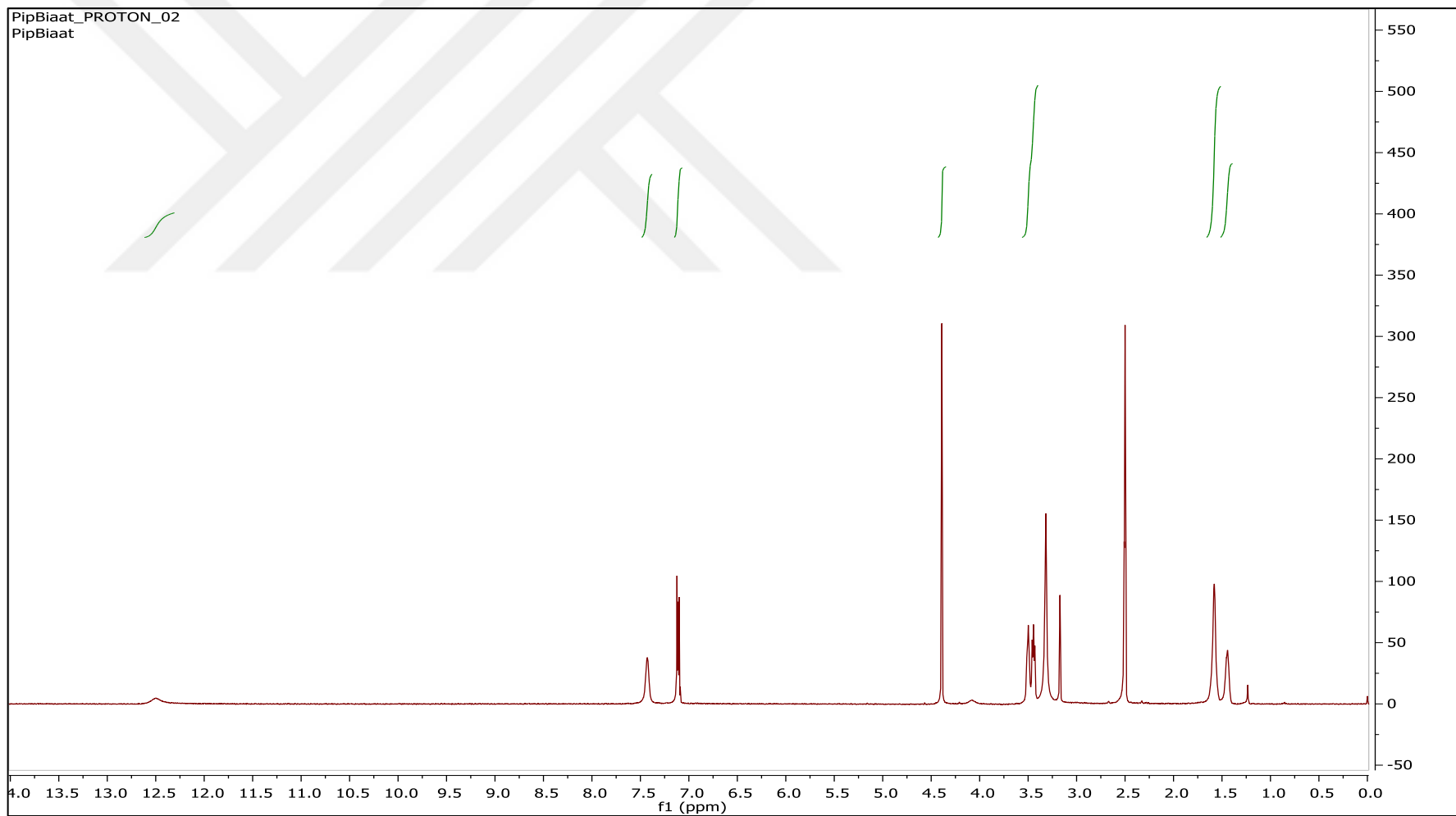
morf-Biaat-apci-poz #36 RT: 0.32 AV: 1 NL: 2.54E6
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]



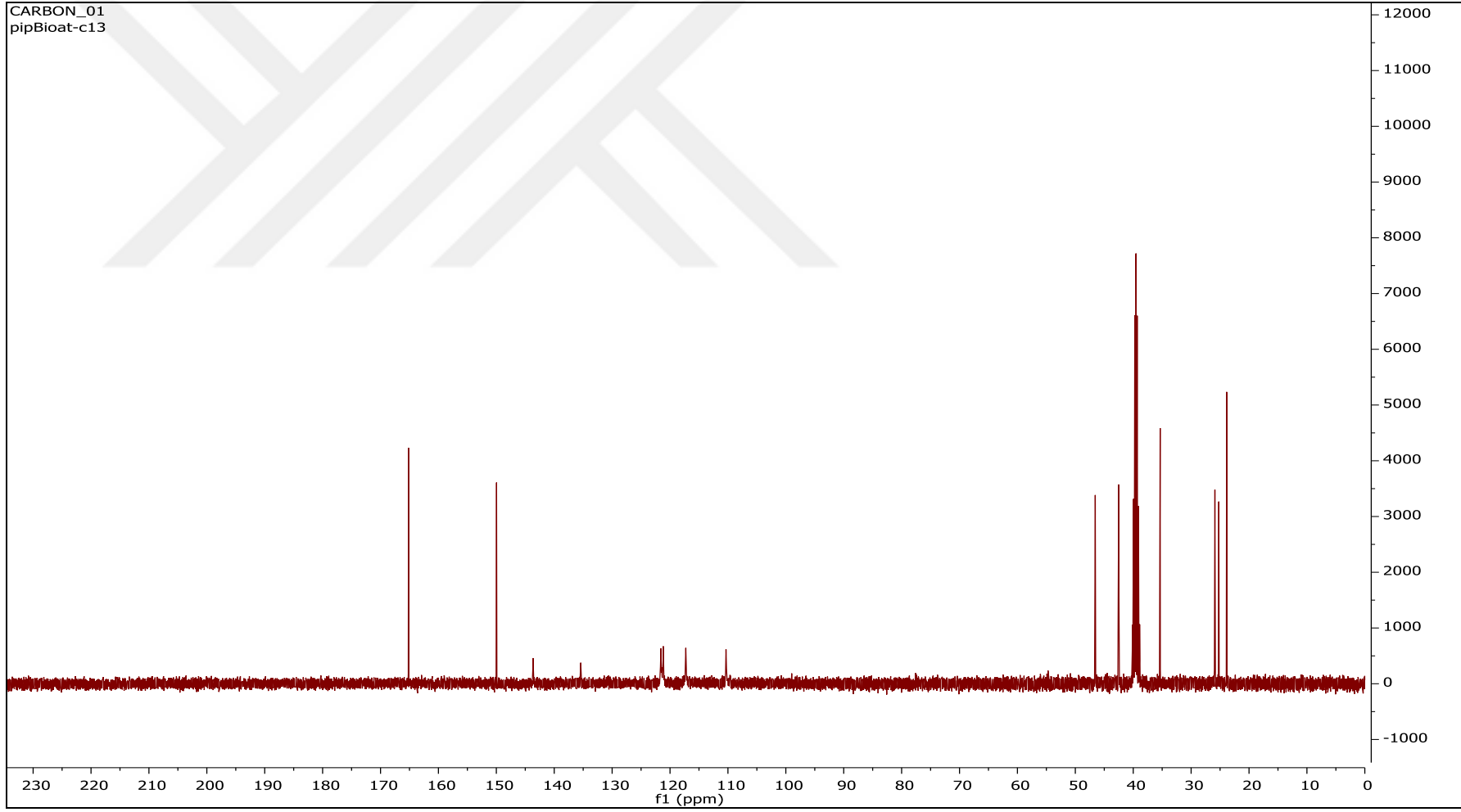
Spektrum 172. B16 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



Spektrum 173. B17 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

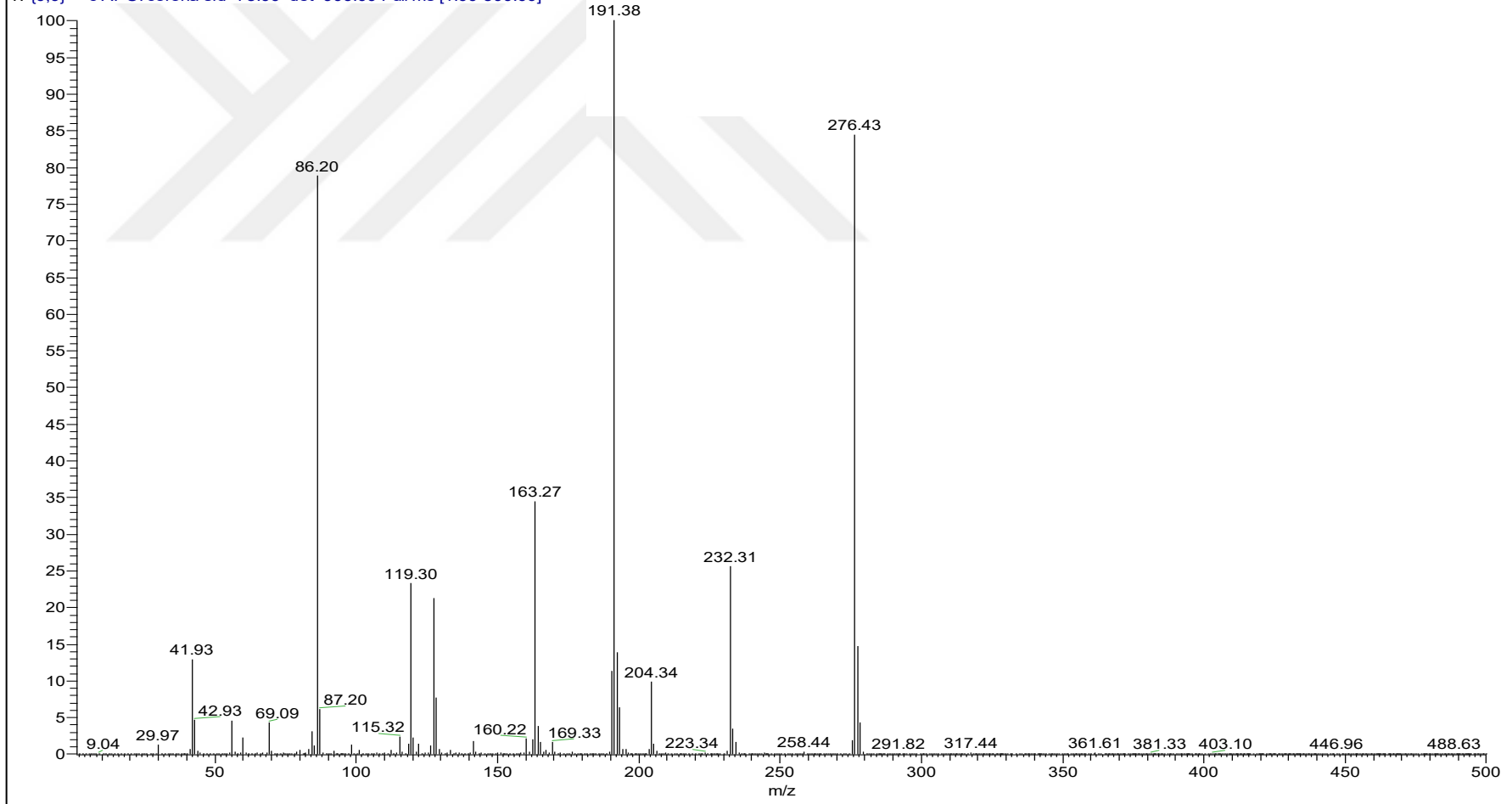


Spektrum 174. B17 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

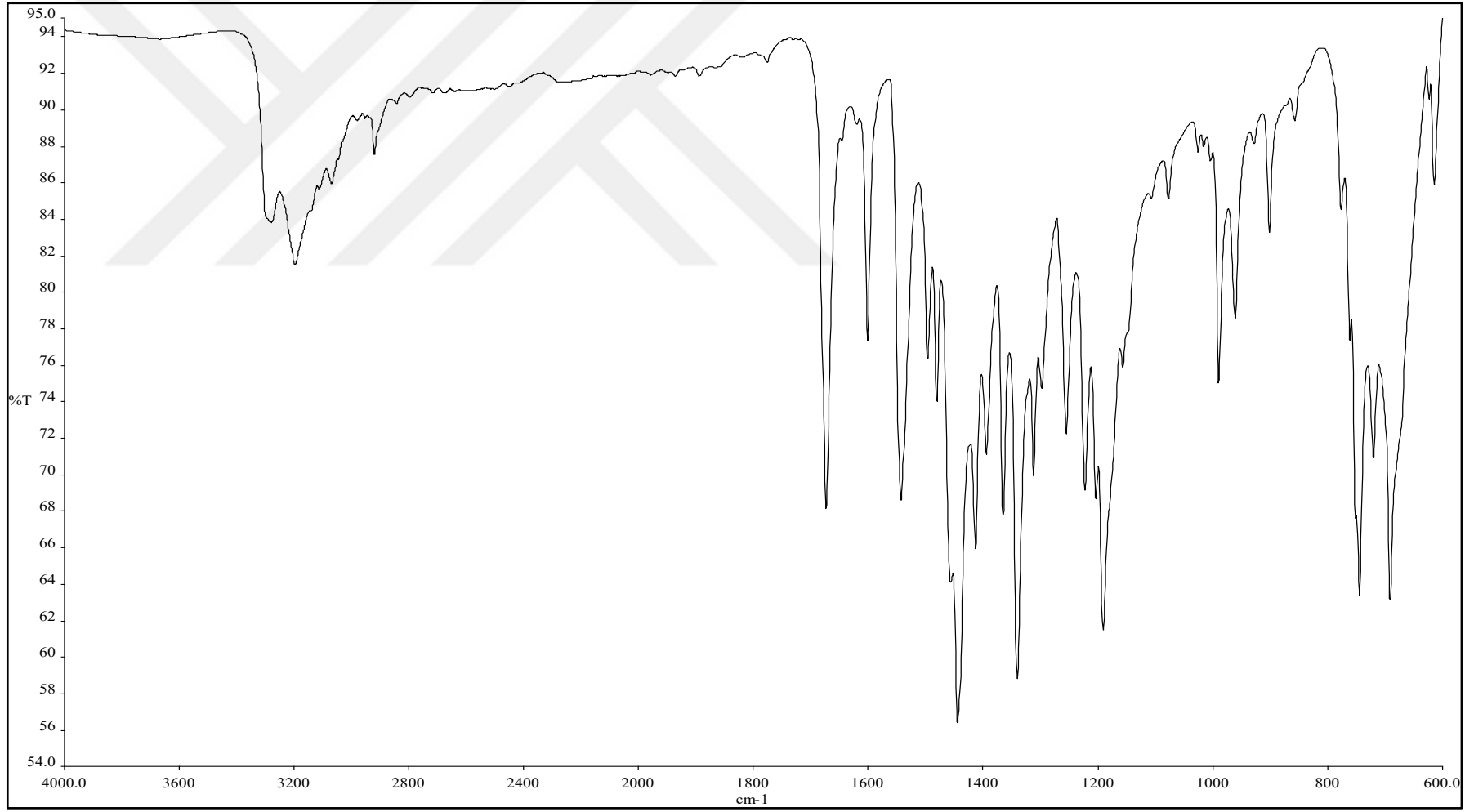


Spektrum 175. B17 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

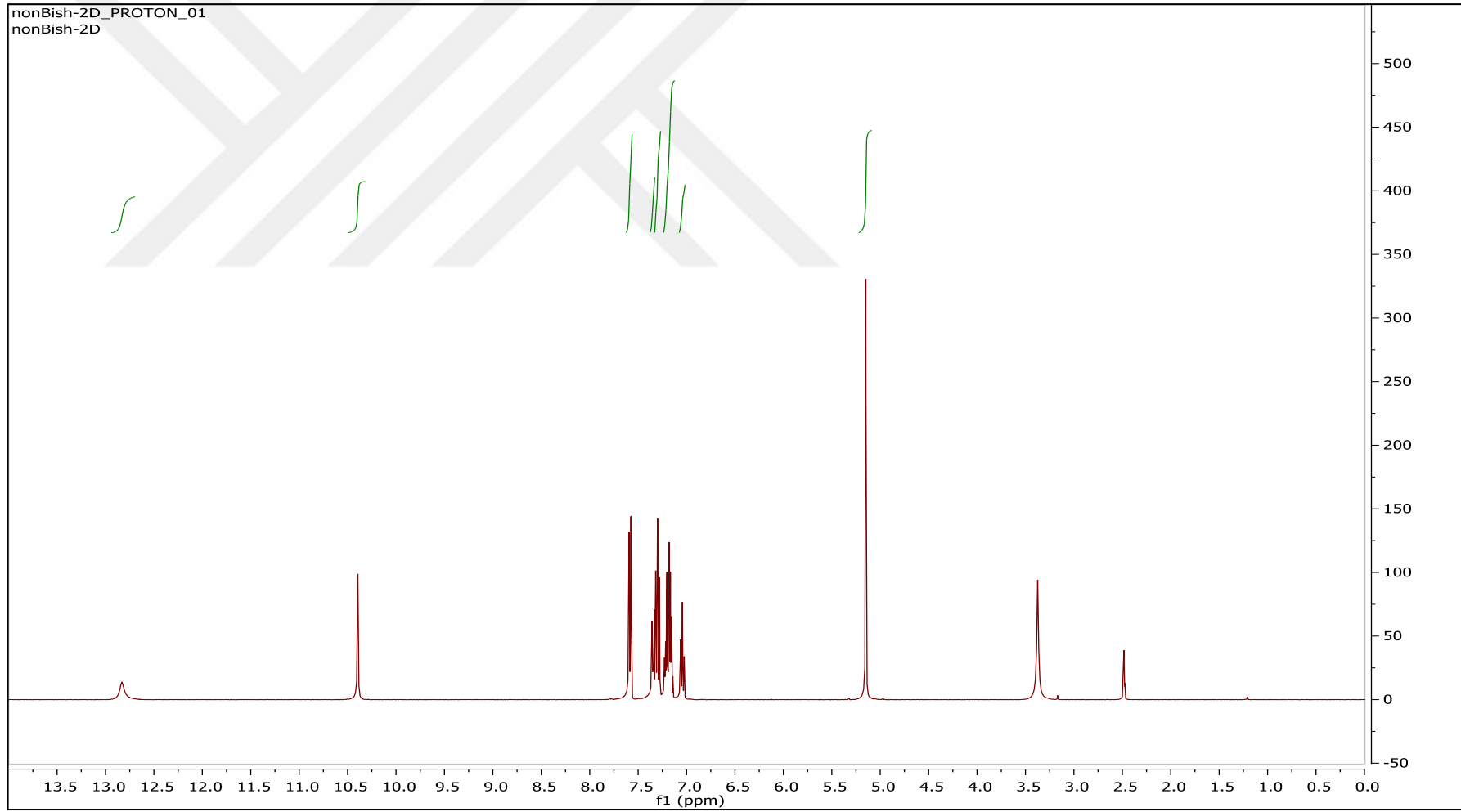
pip-Biaat-apci-poz #42 RT: 0.37 AV: 1 NL: 4.20E6
T: {0,0} + c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]



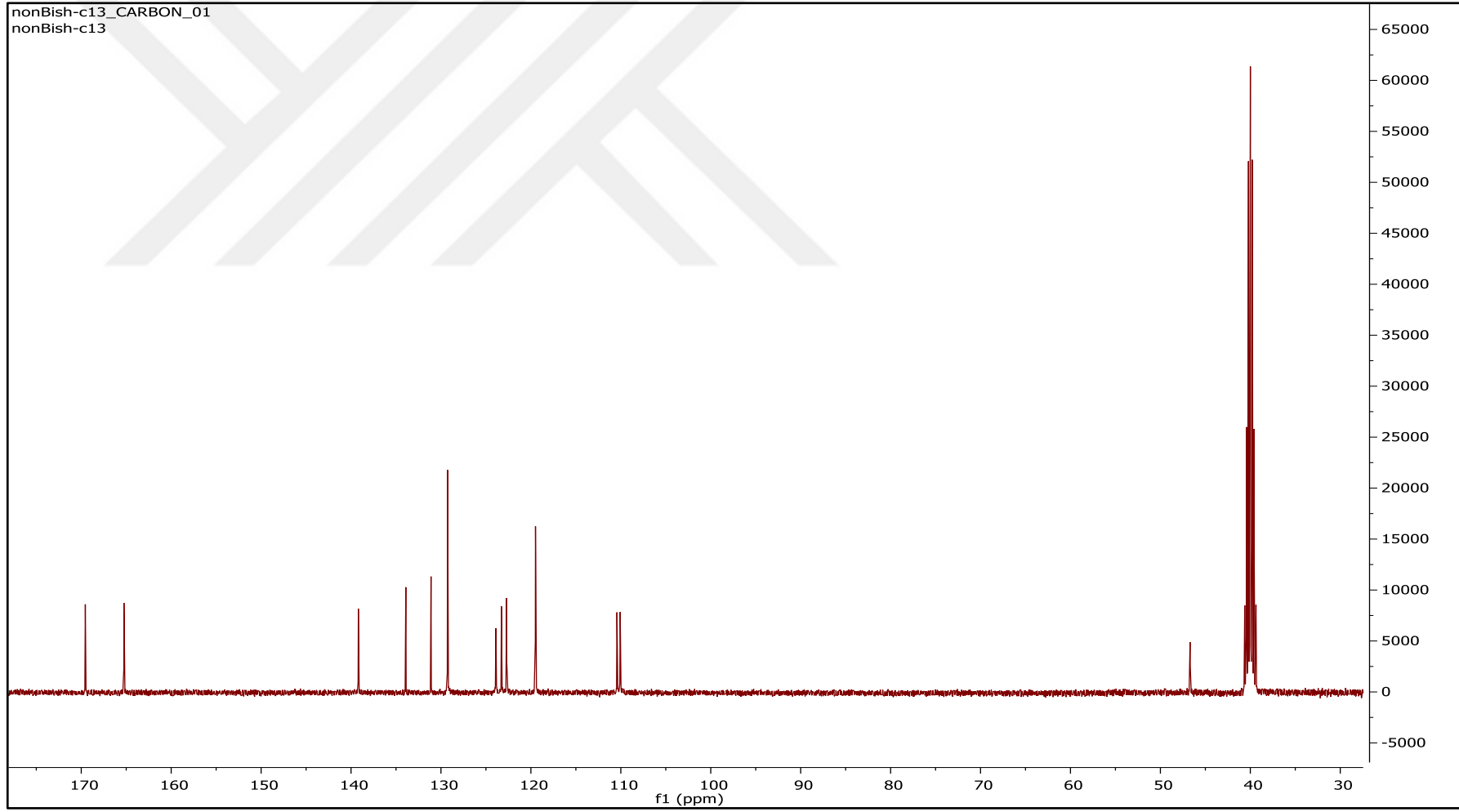
Spektrum 176. B17 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



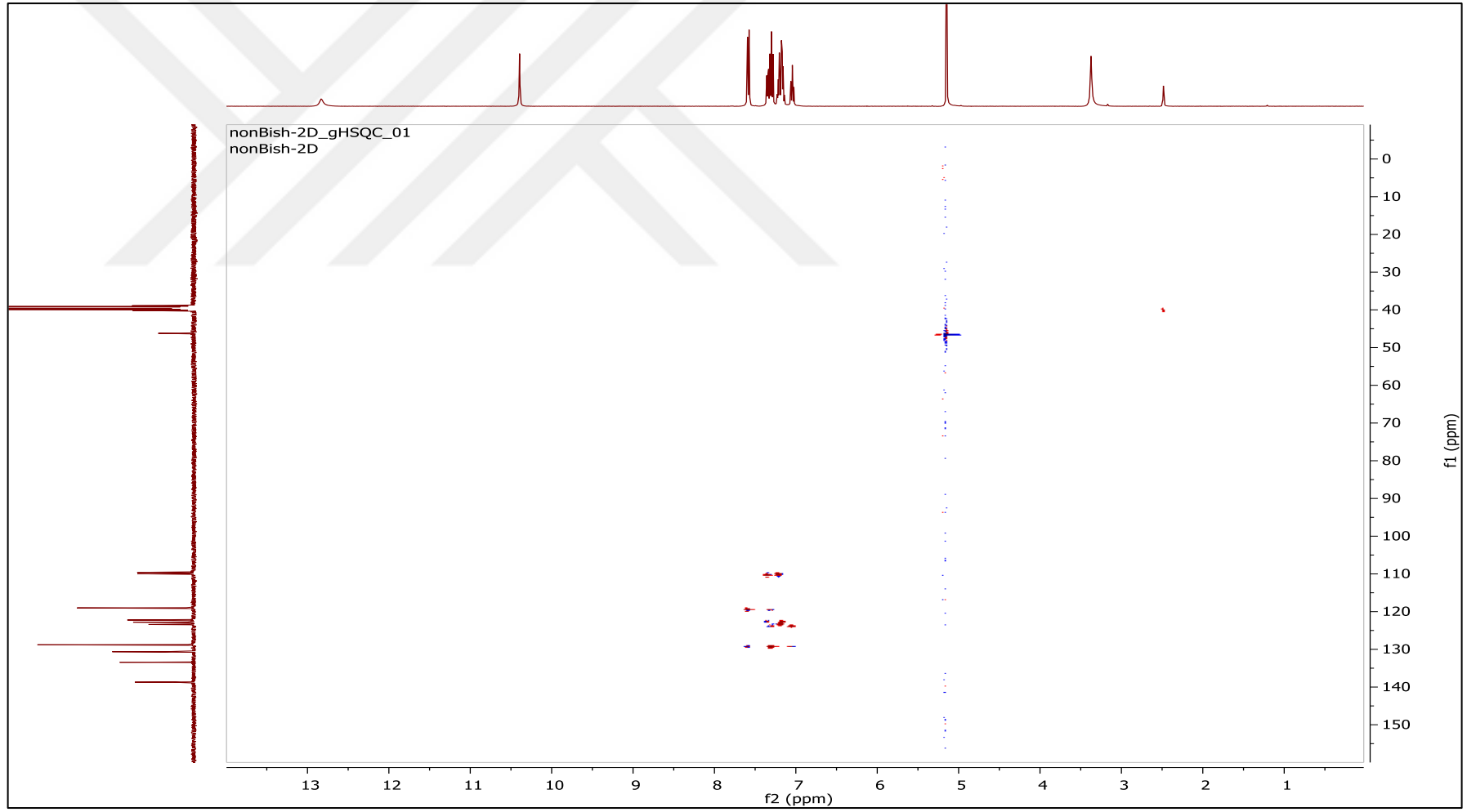
Spektrum 177. BS1 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



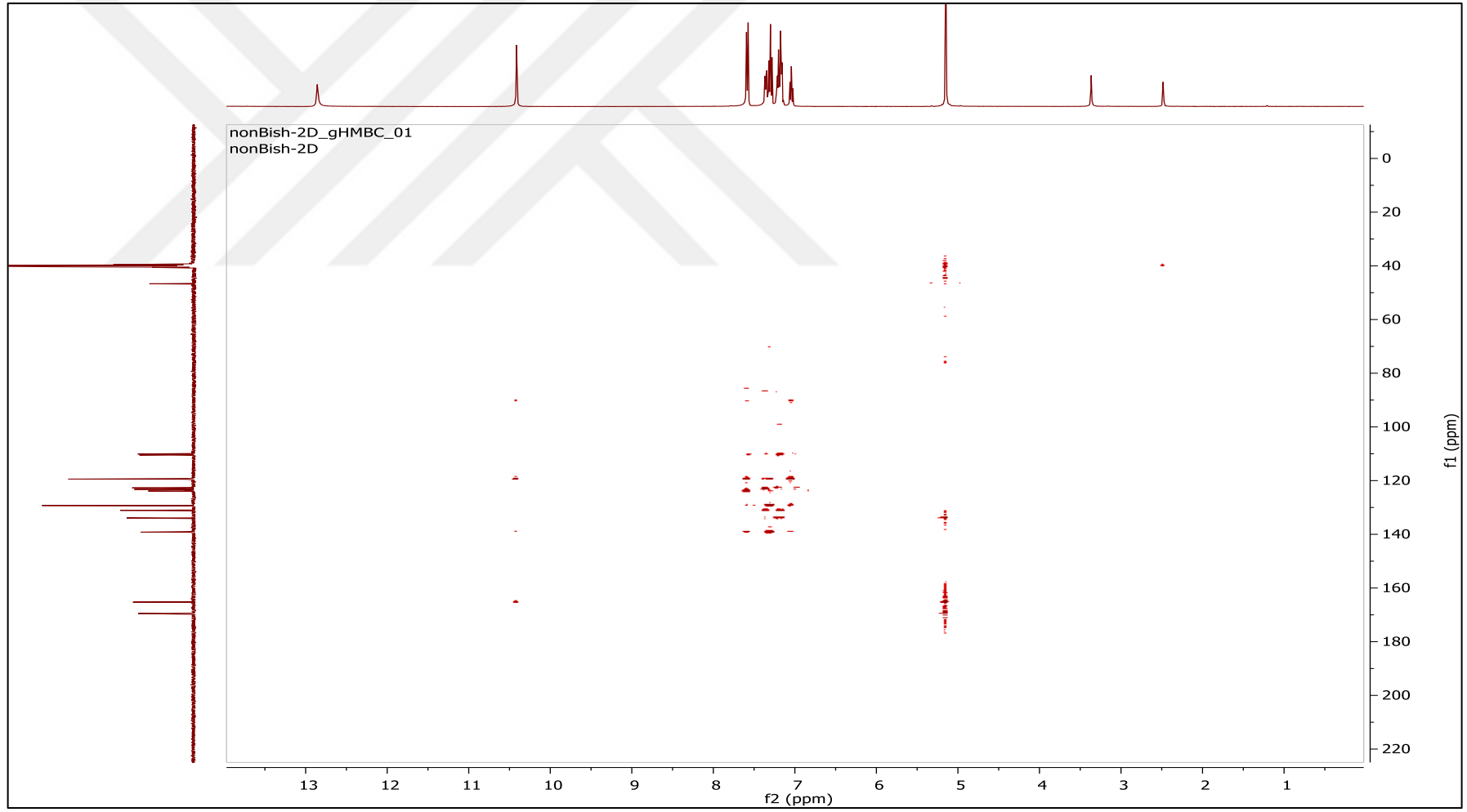
Spektrum 178. BS1 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



Spektrum 179. BS1 Kodlu Bileşğin ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) Spektrumu

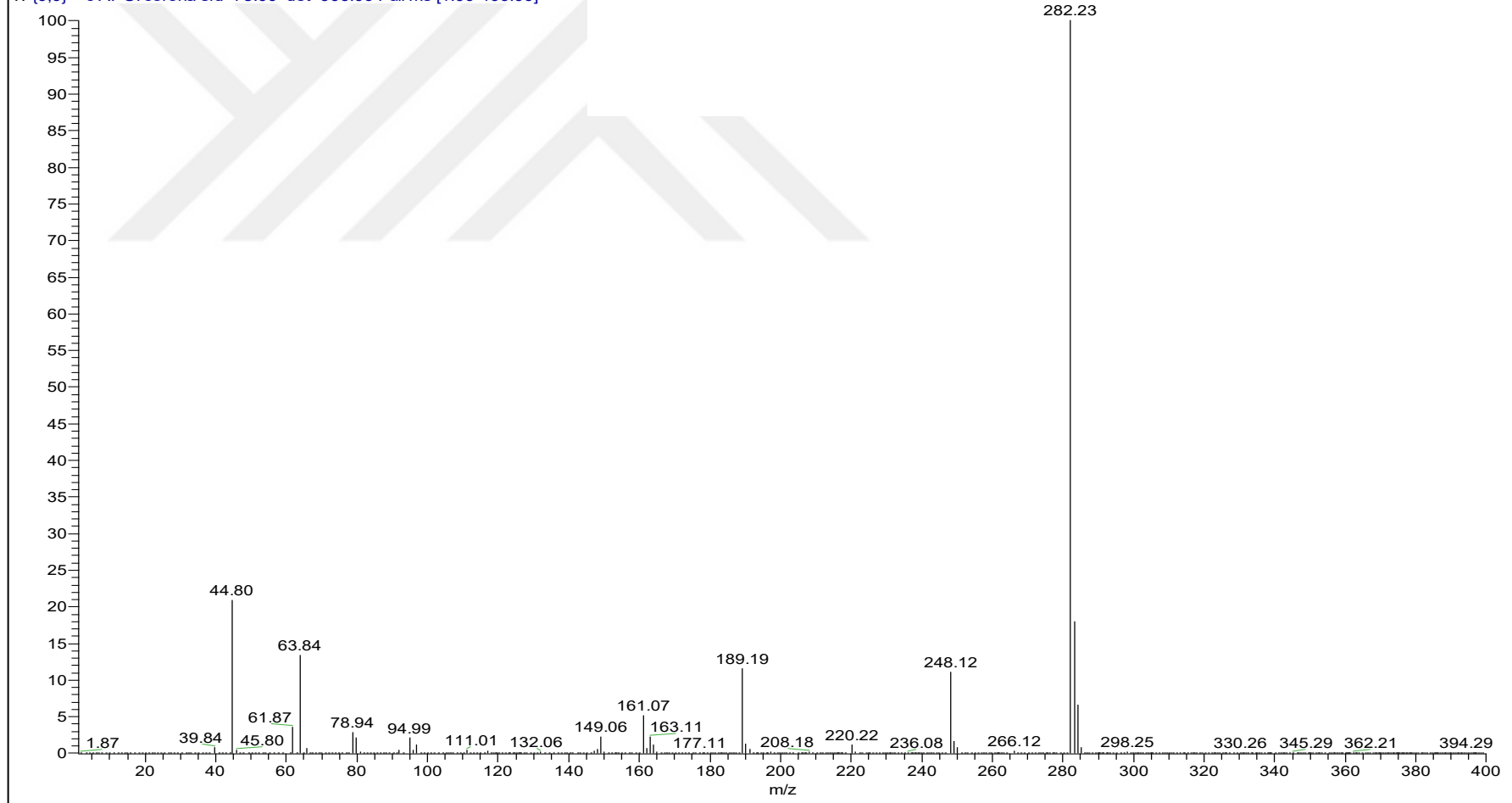


Spektrum 180. BS1 Kodlu Bileşğin HSQC Spektrumu

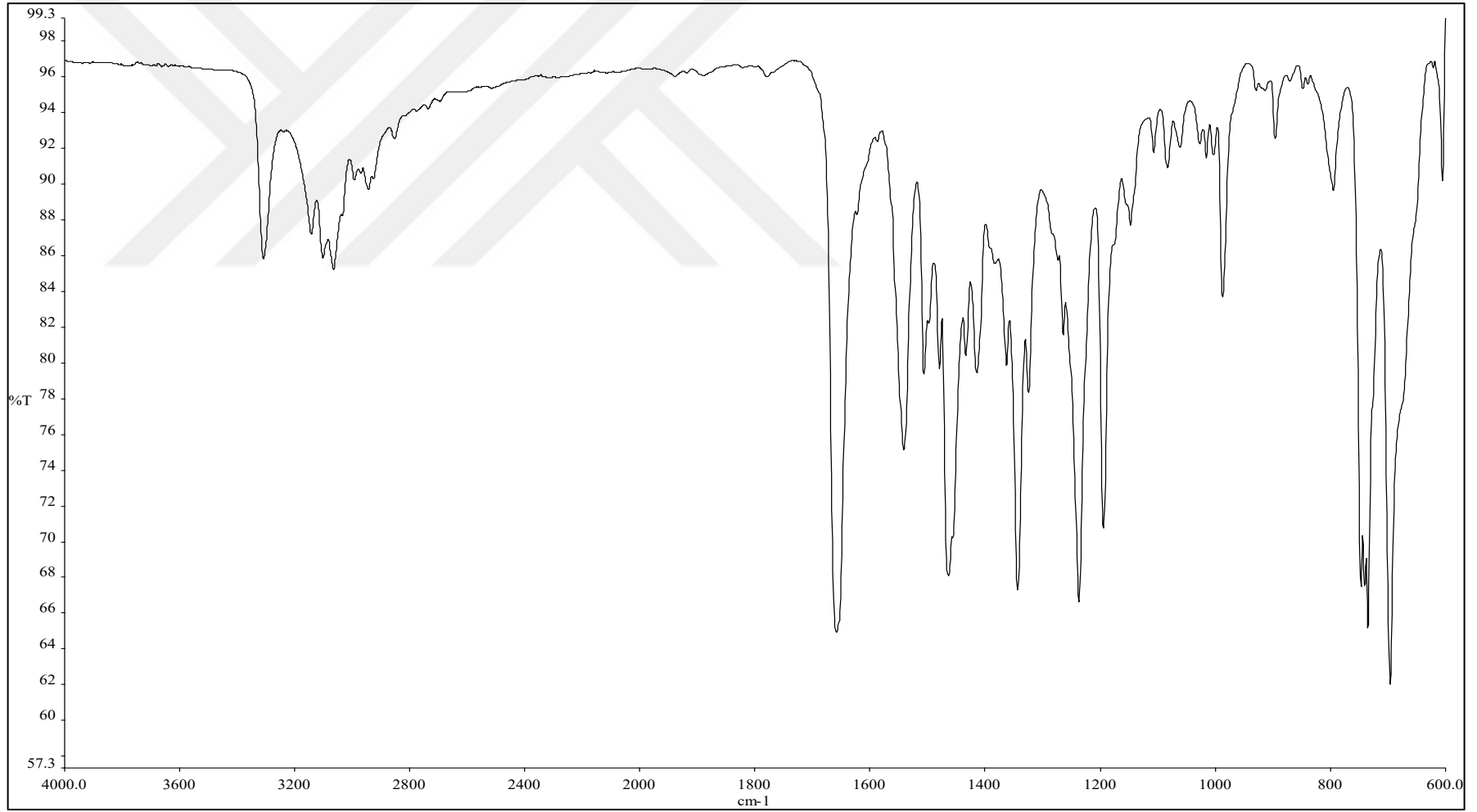


Spektrum 181. BS1 Kodlu Bileşiğın HMBC Spektrumu

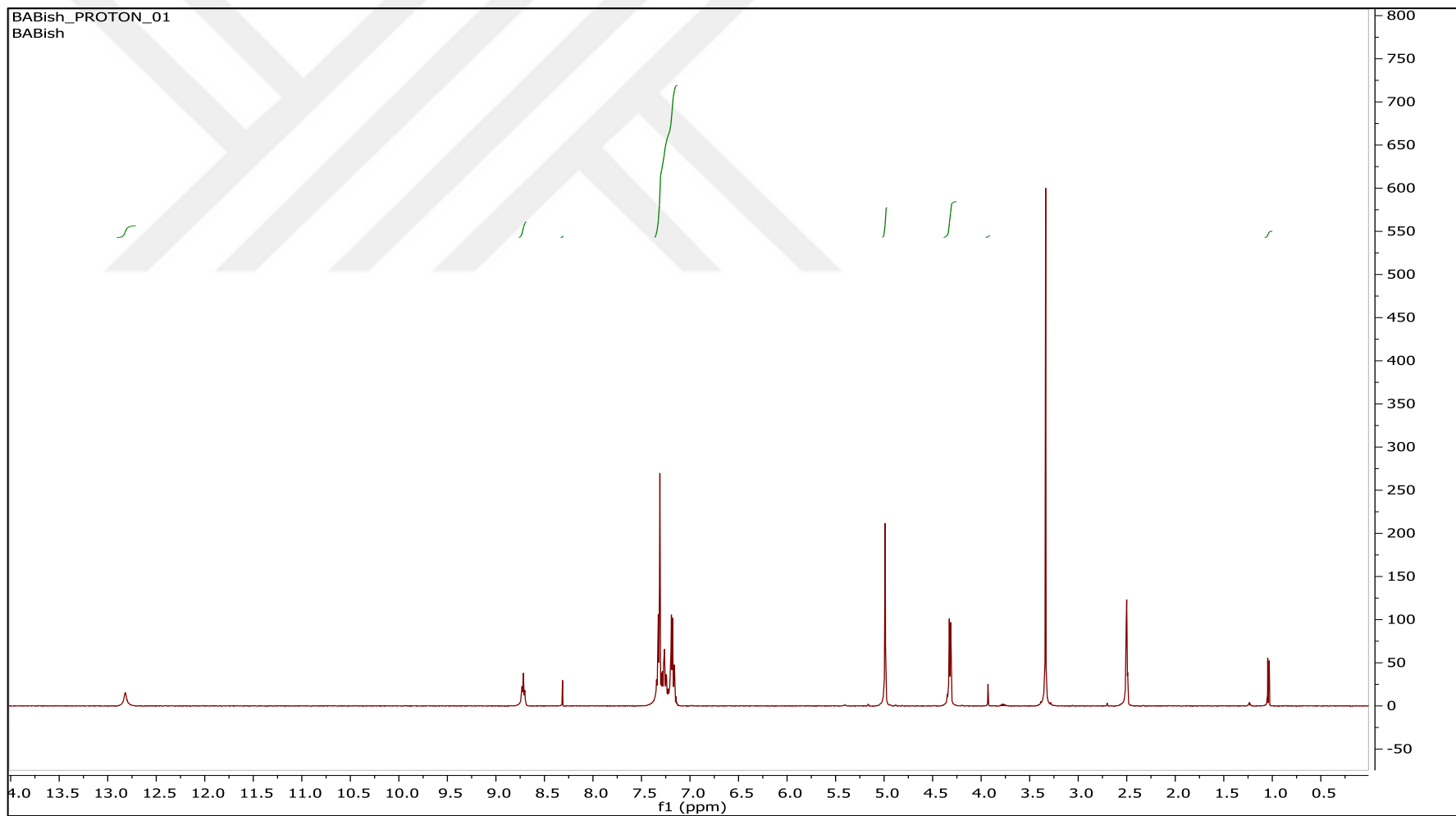
nonBishnegapci #52 RT: 0.46 AV: 1 NL: 6.99E6
T: {0,0} - c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-400.00]



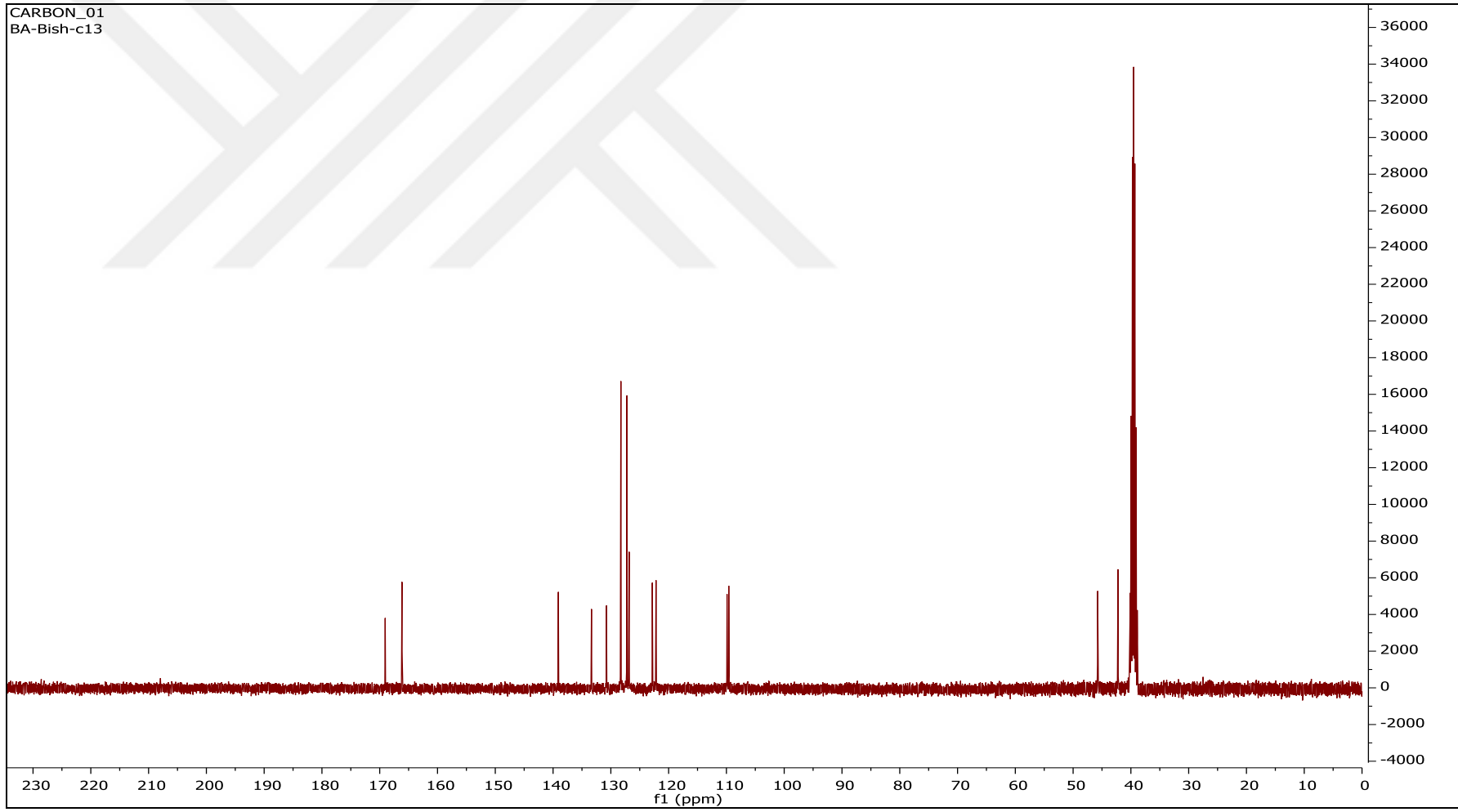
Spektrum 182. BS1 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



Spektrum 183. BS2 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

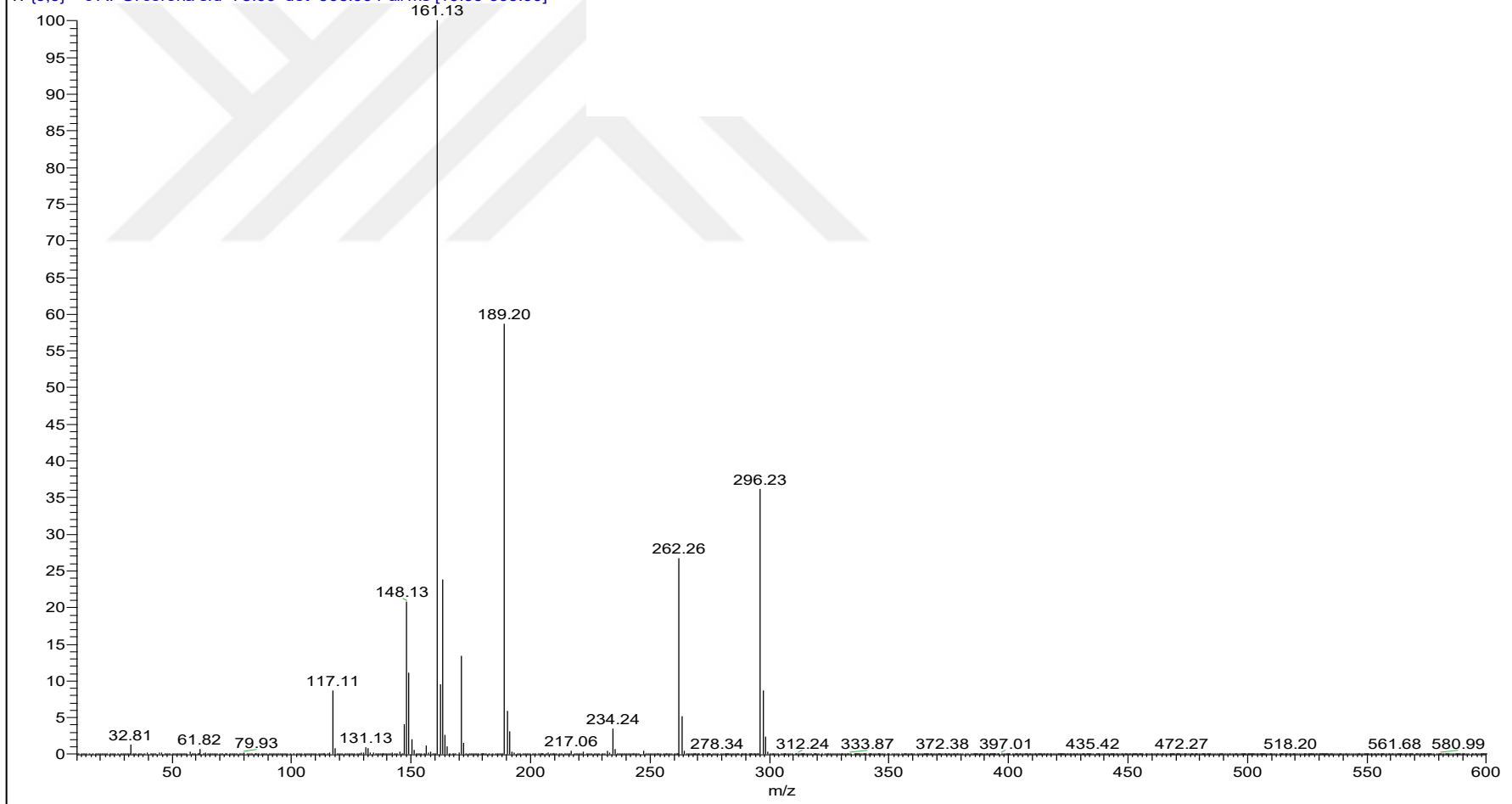


Spektrum 184. BS2 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

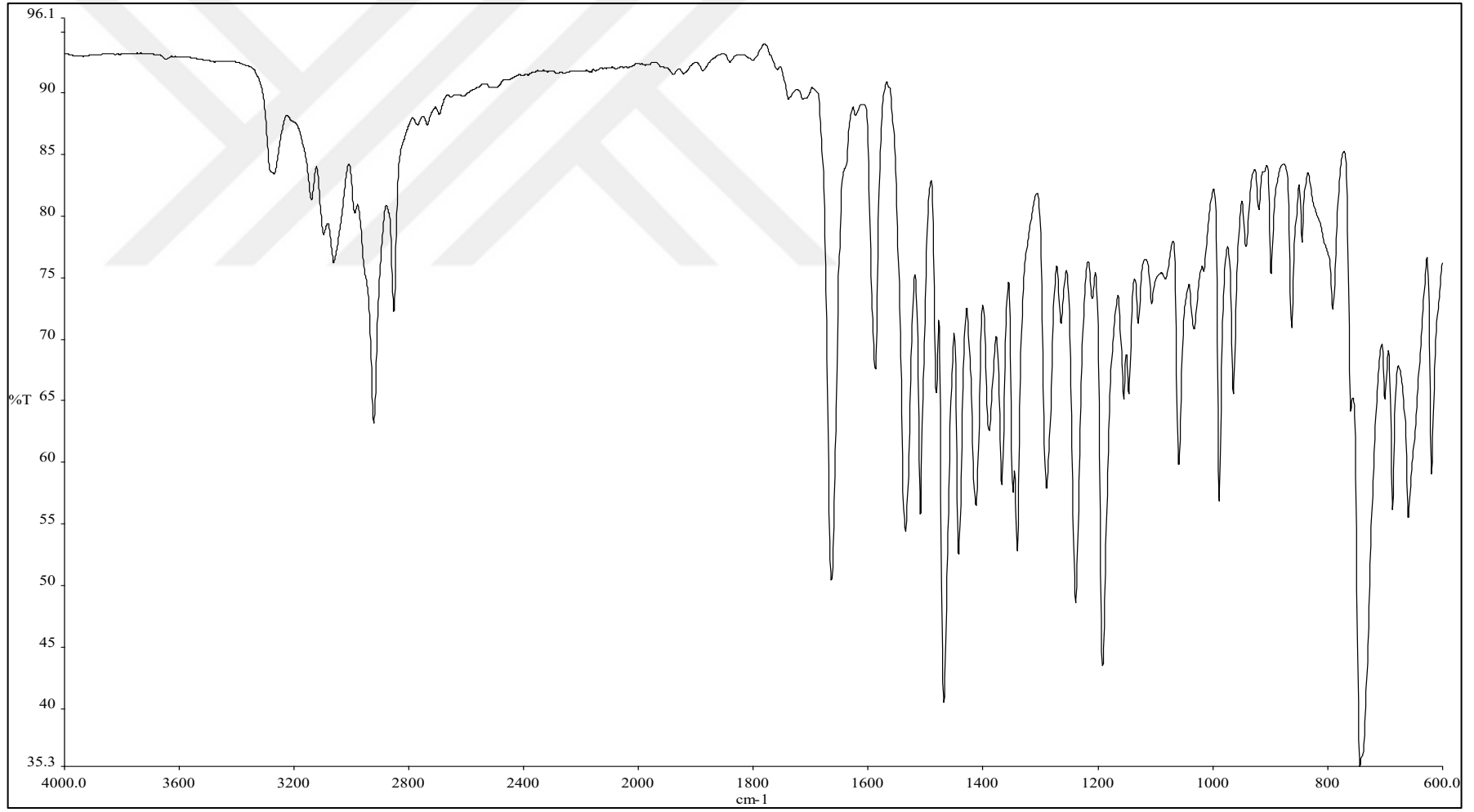


Spektrum 185. BS2 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

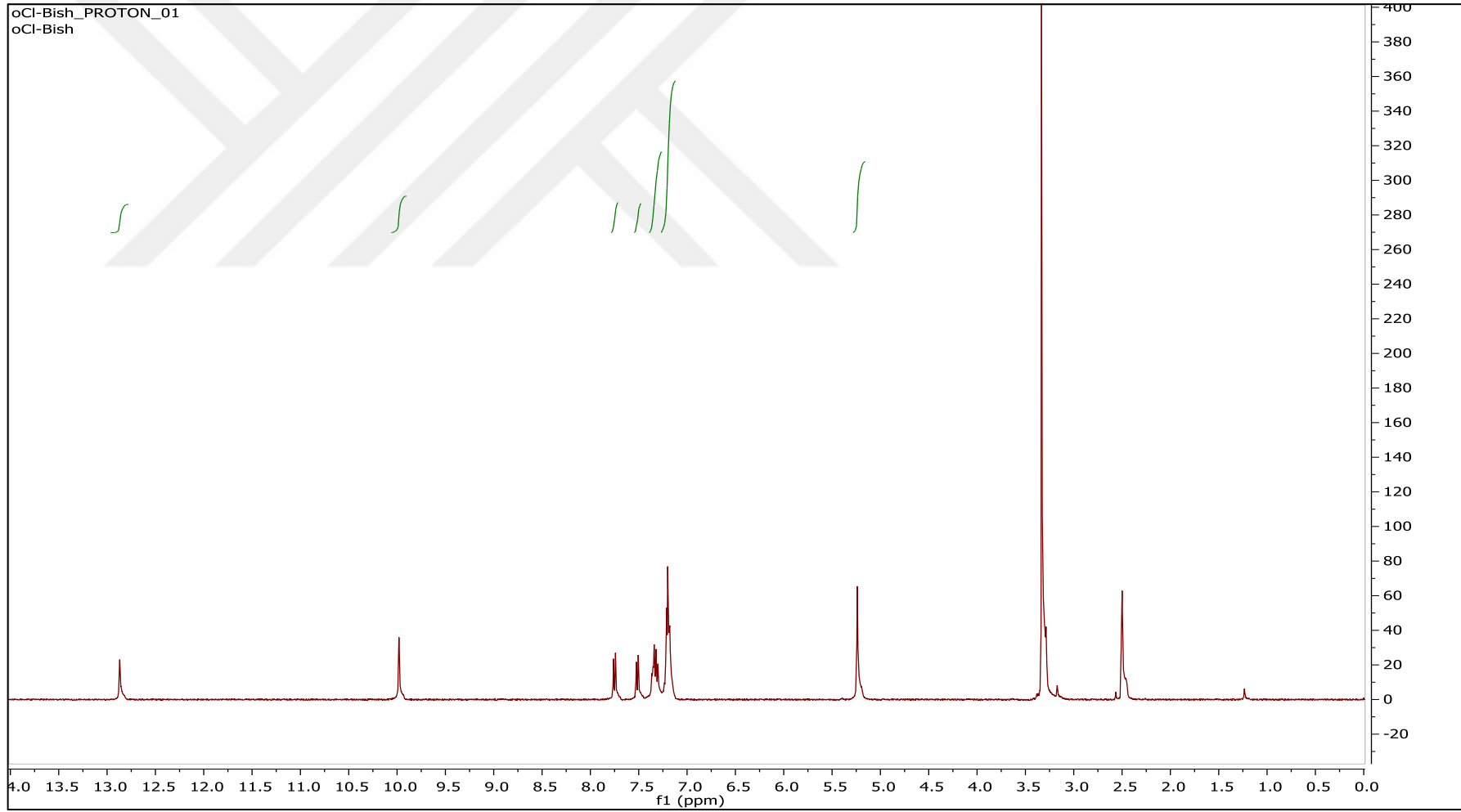
BA-Bish-neg #48 RT: 0.43 AV: 1 NL: 7.83E6
T: {0,0} - c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [10.00-600.00]



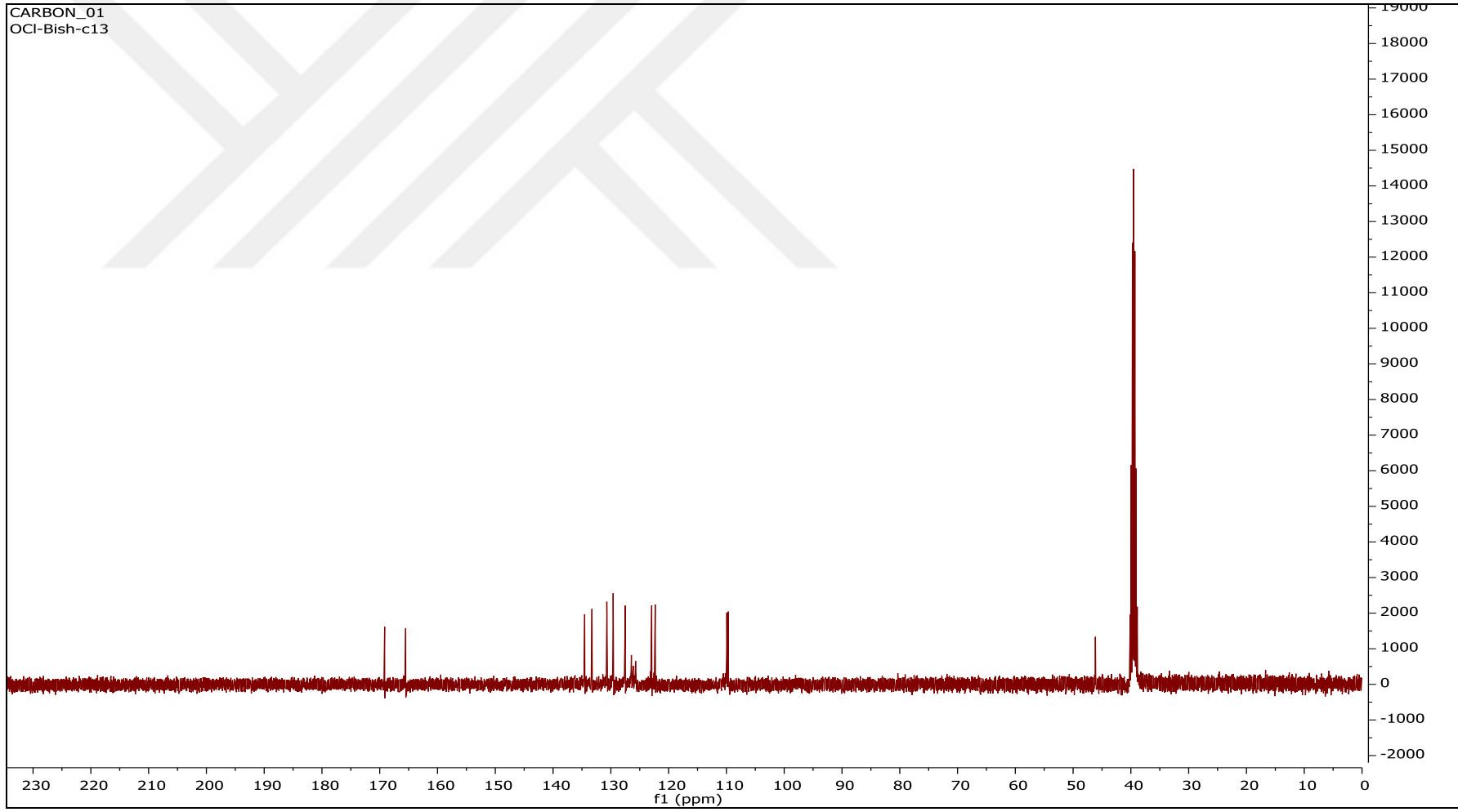
Spektrum 186. BS2 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



Spektrum 187. BS3 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

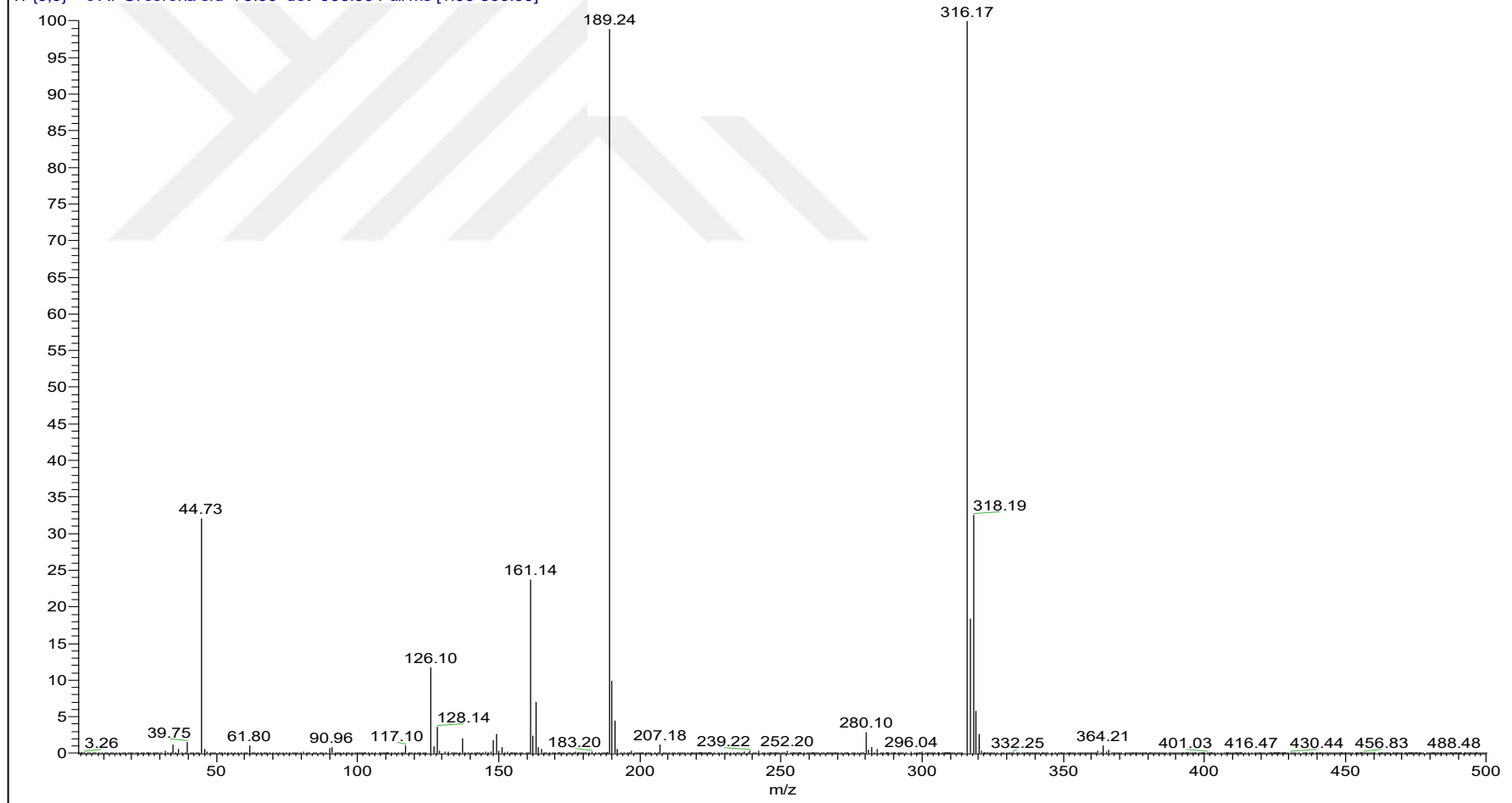


Spektrum 188. BS3 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

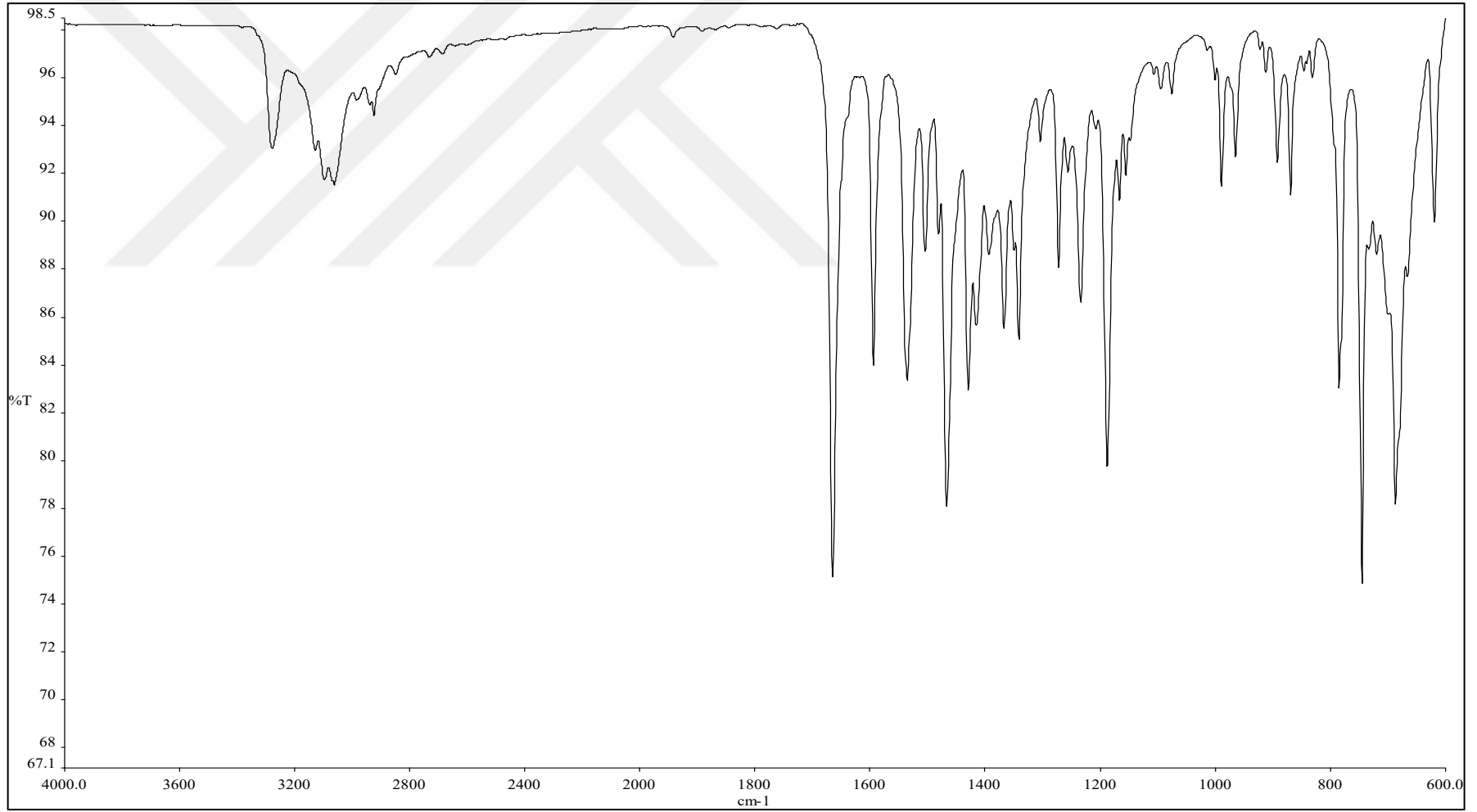


Spektrum 189. BS3 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu

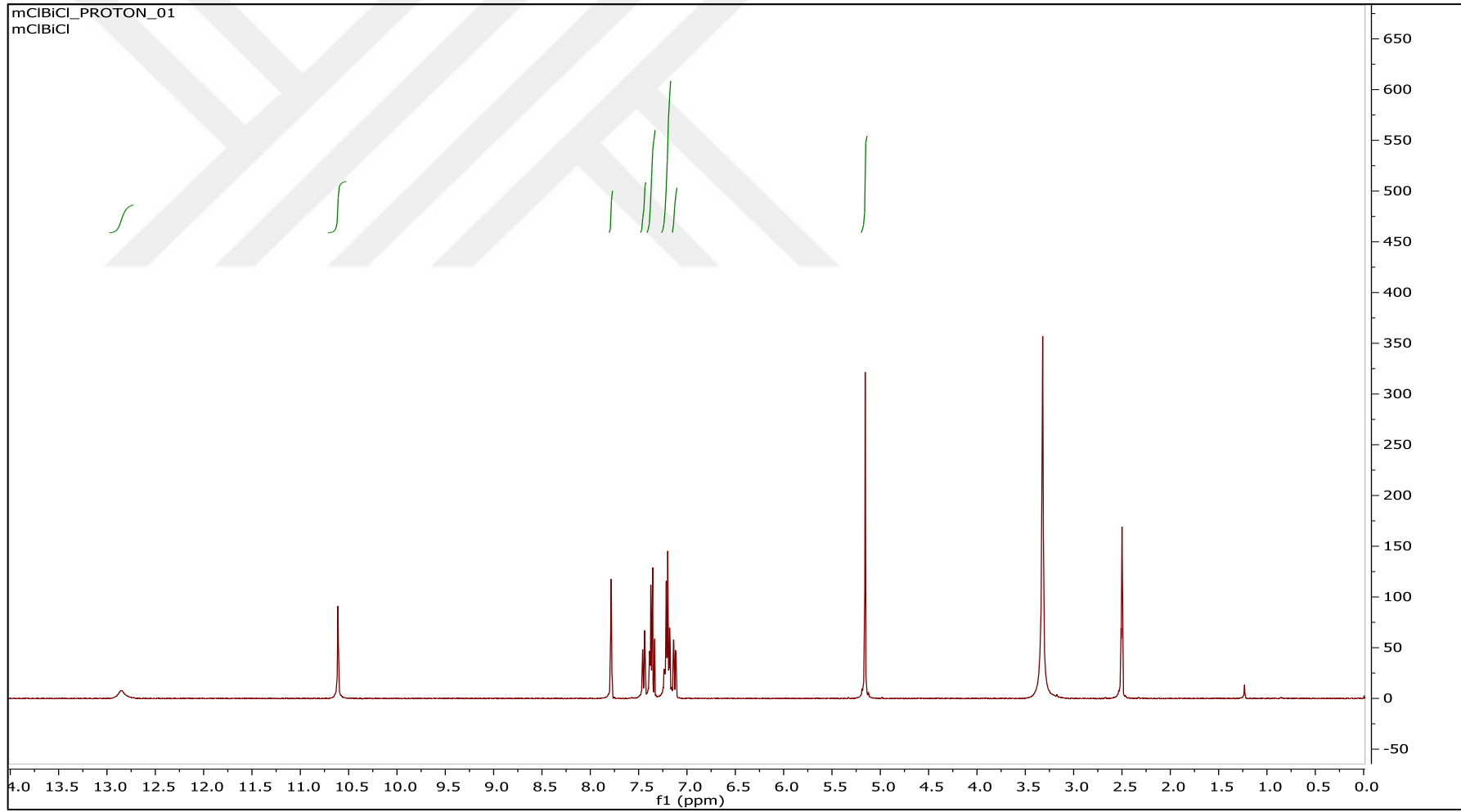
oCl-Bish-apci-neg #48 RT: 0.42 AV: 1 NL: 3.59E6
T: {0,0} - c APCi corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]



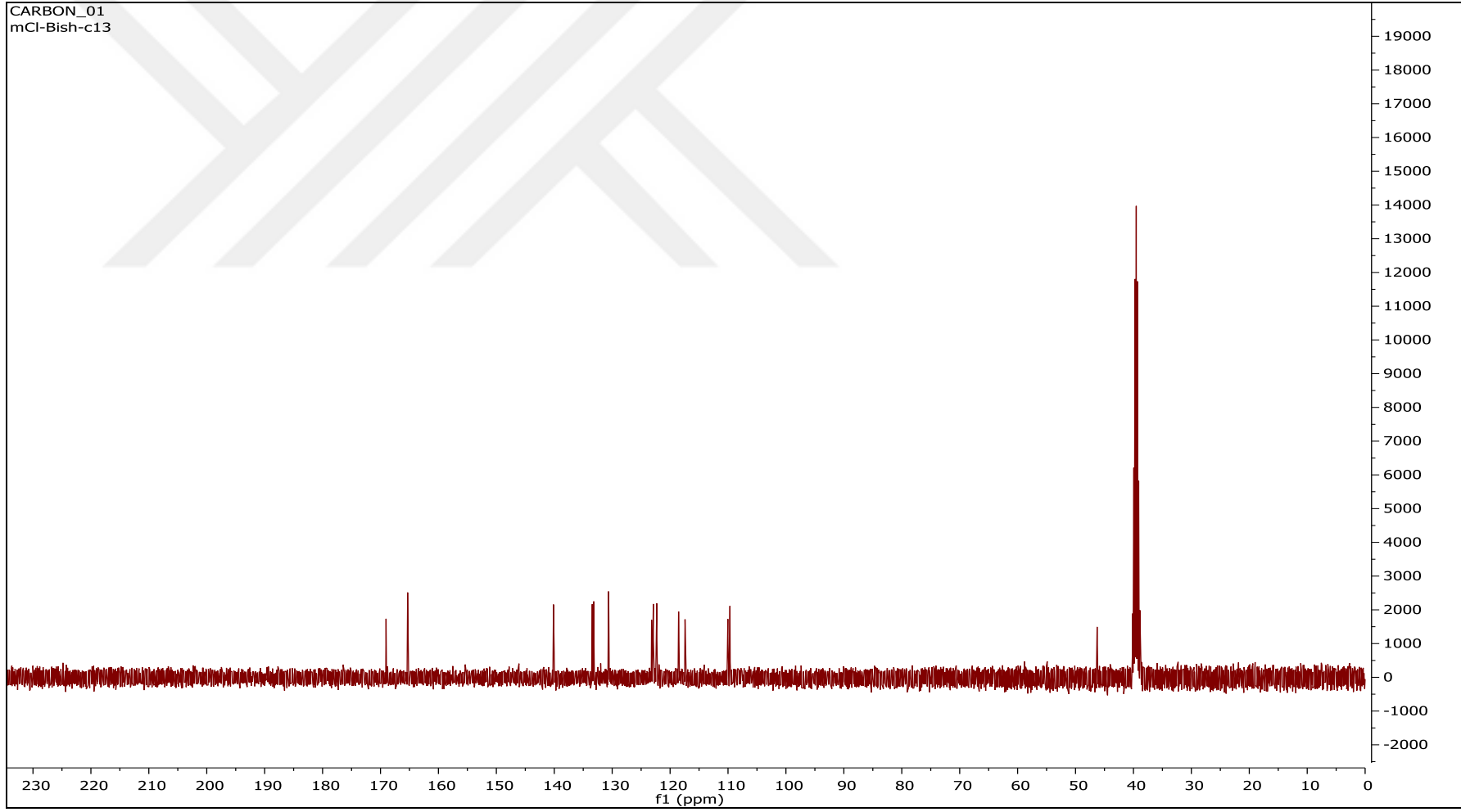
Spektrum 190. BS3 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



Spektrum 191. BS4 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

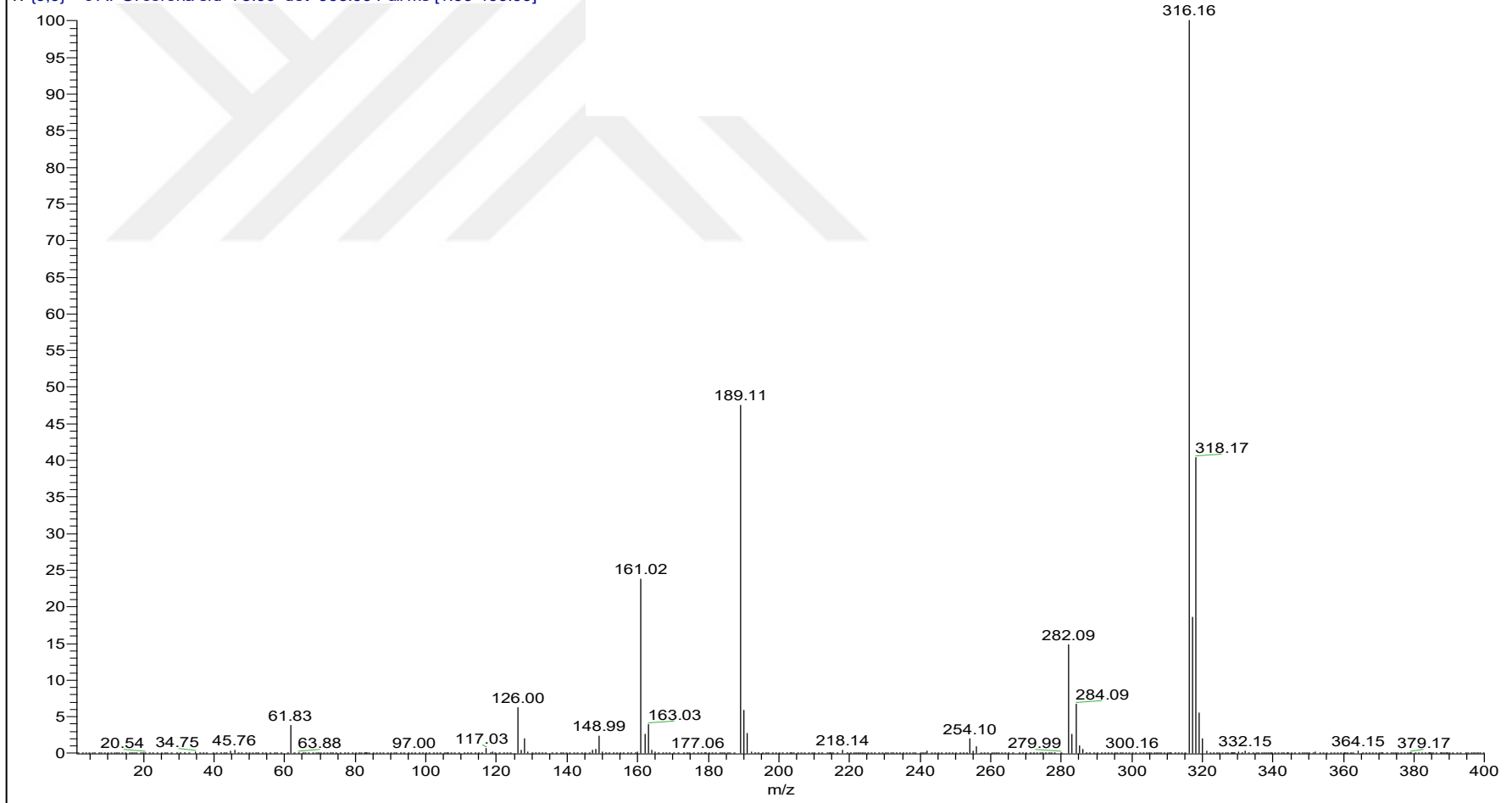


Spektrum 192. BS4 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

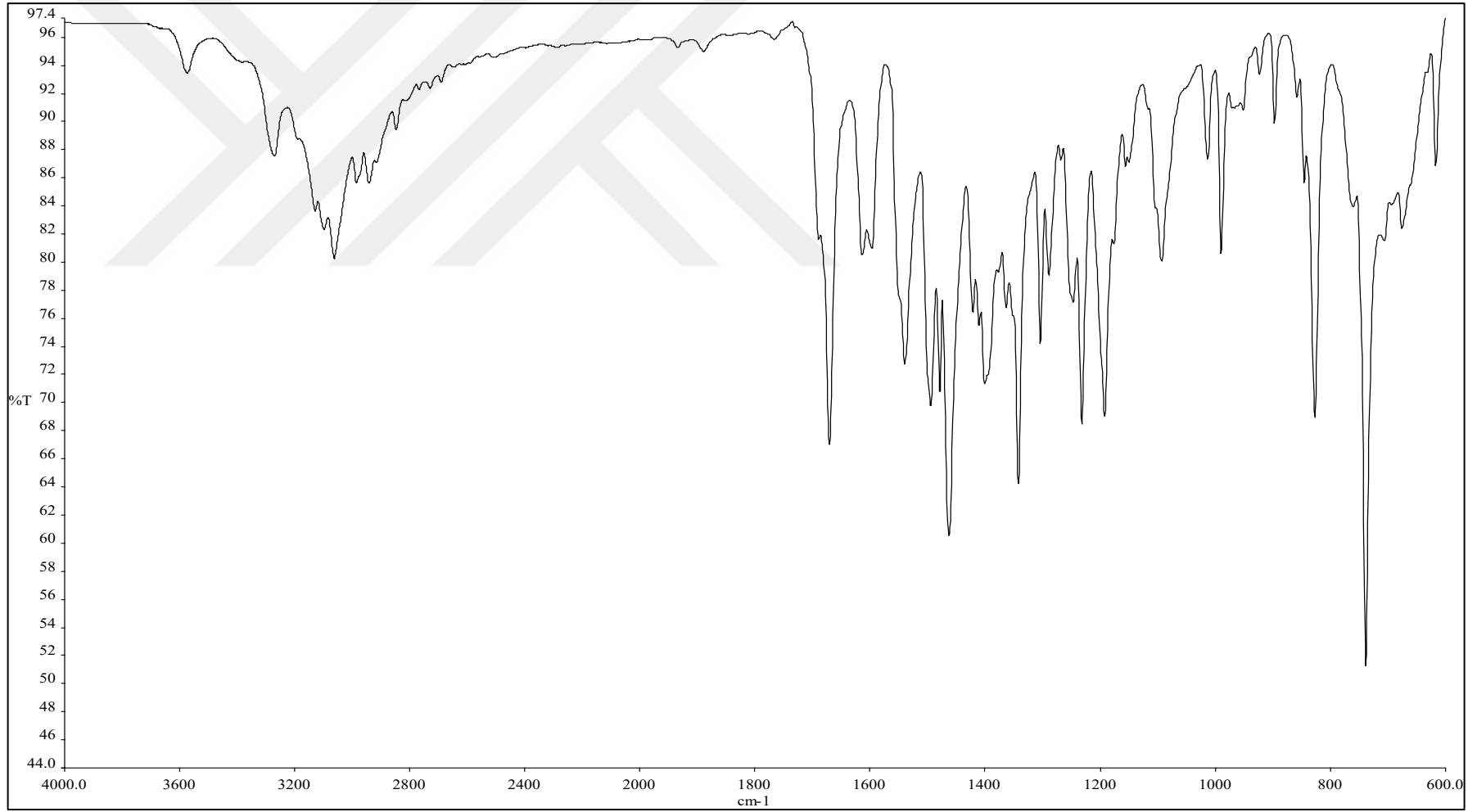


Spektrum 193. BS4 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu

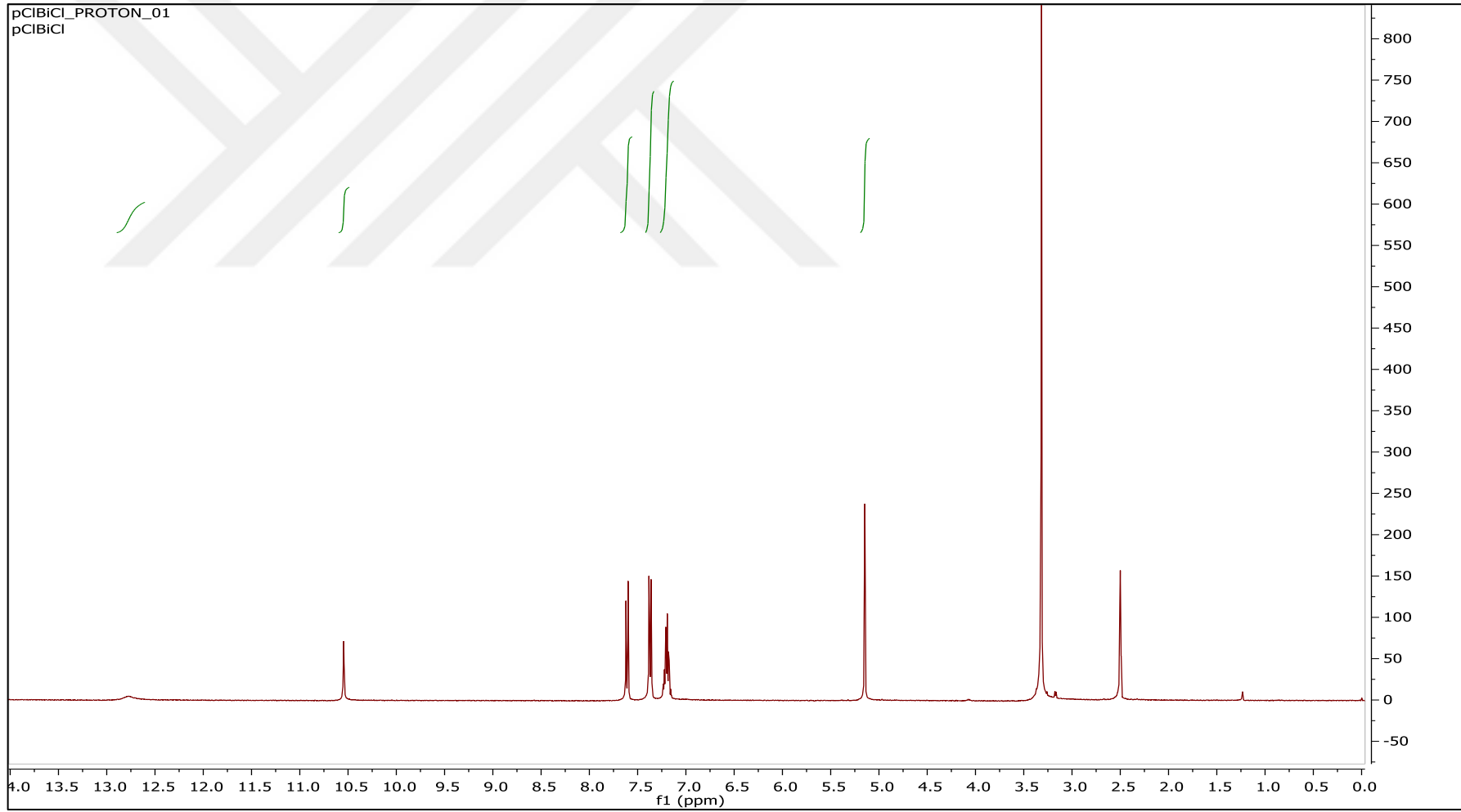
mCIBish-NEG #39 RT: 0.34 AV: 1 NL: 2.30E7
T: {0,0} - c APCl corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-400.00]



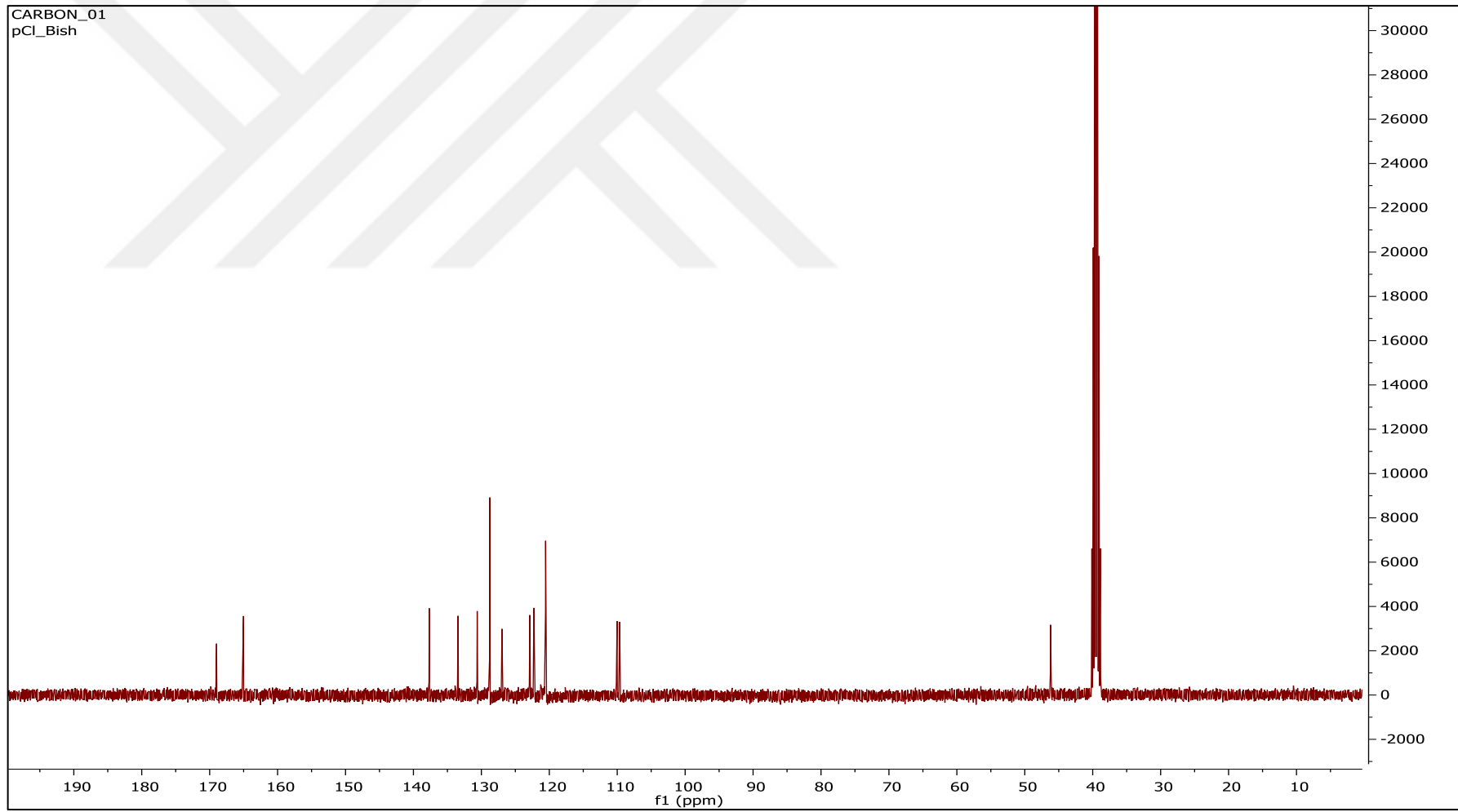
Spektrum 194. BS4 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



Spektrum 195. BS5 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

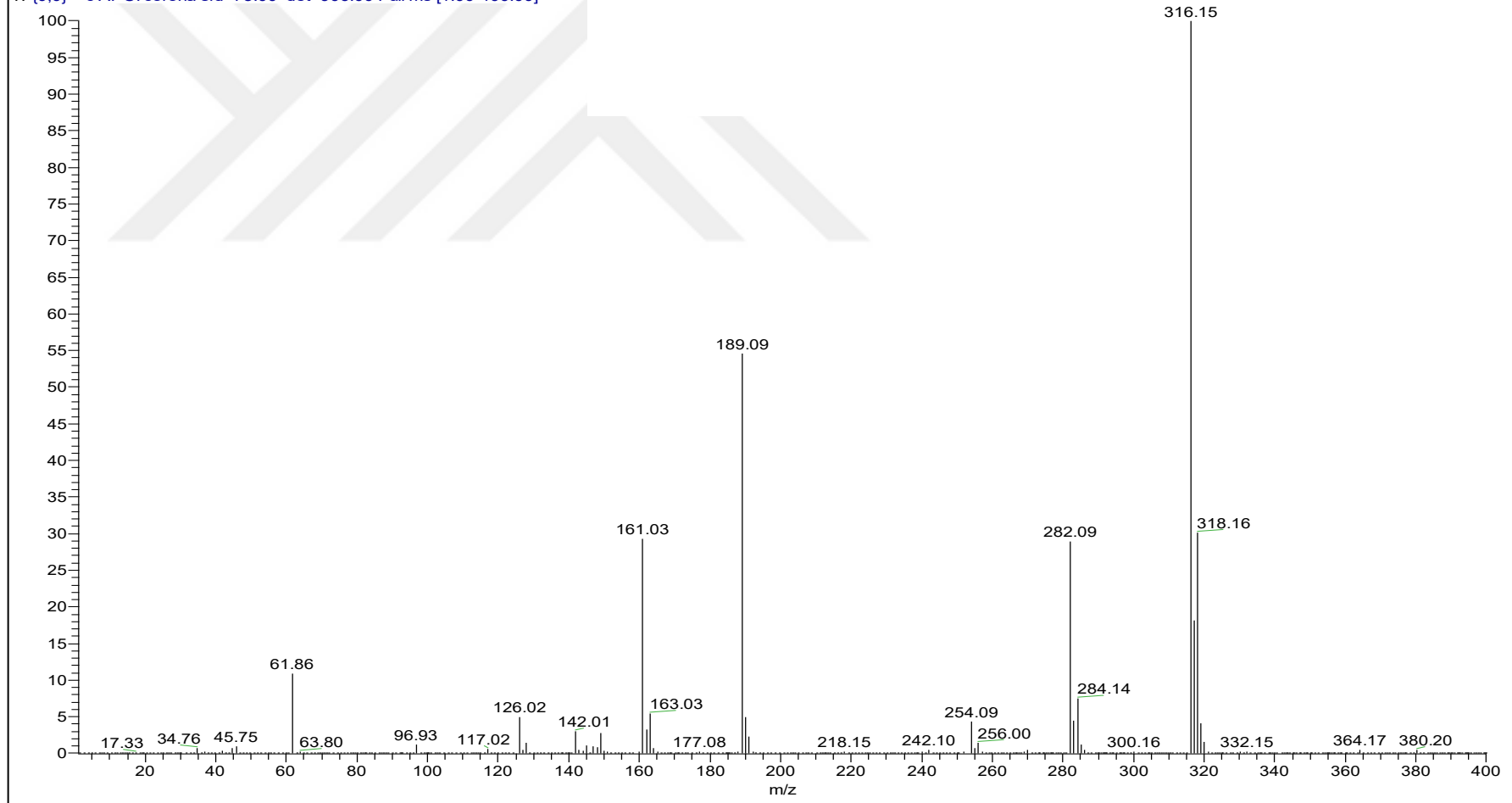


Spektrum 196. BS5 Kodlu Bileşğin ¹H NMR (DMSO-*d*₆) Spektrumu

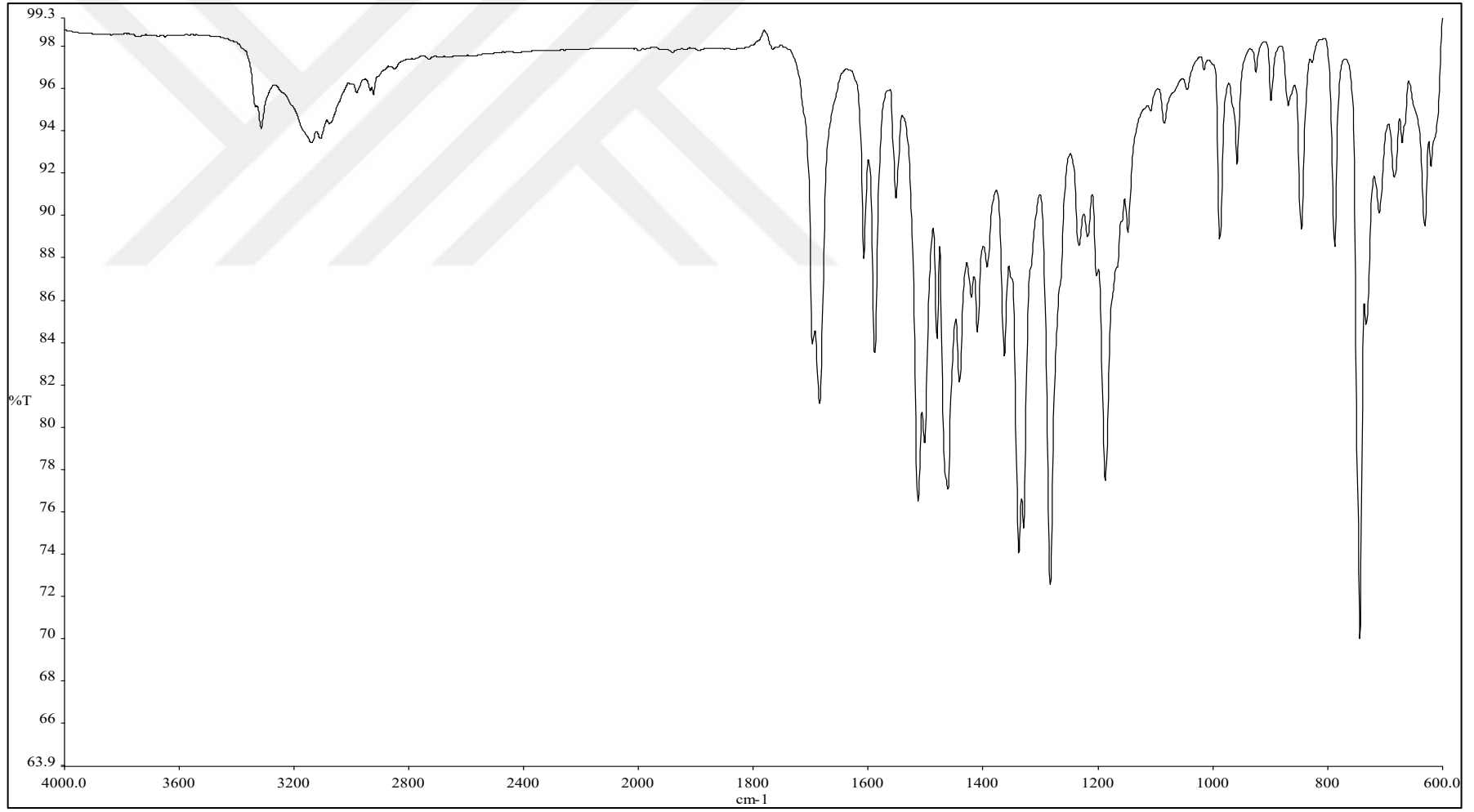


Spektrum 197. BS5 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

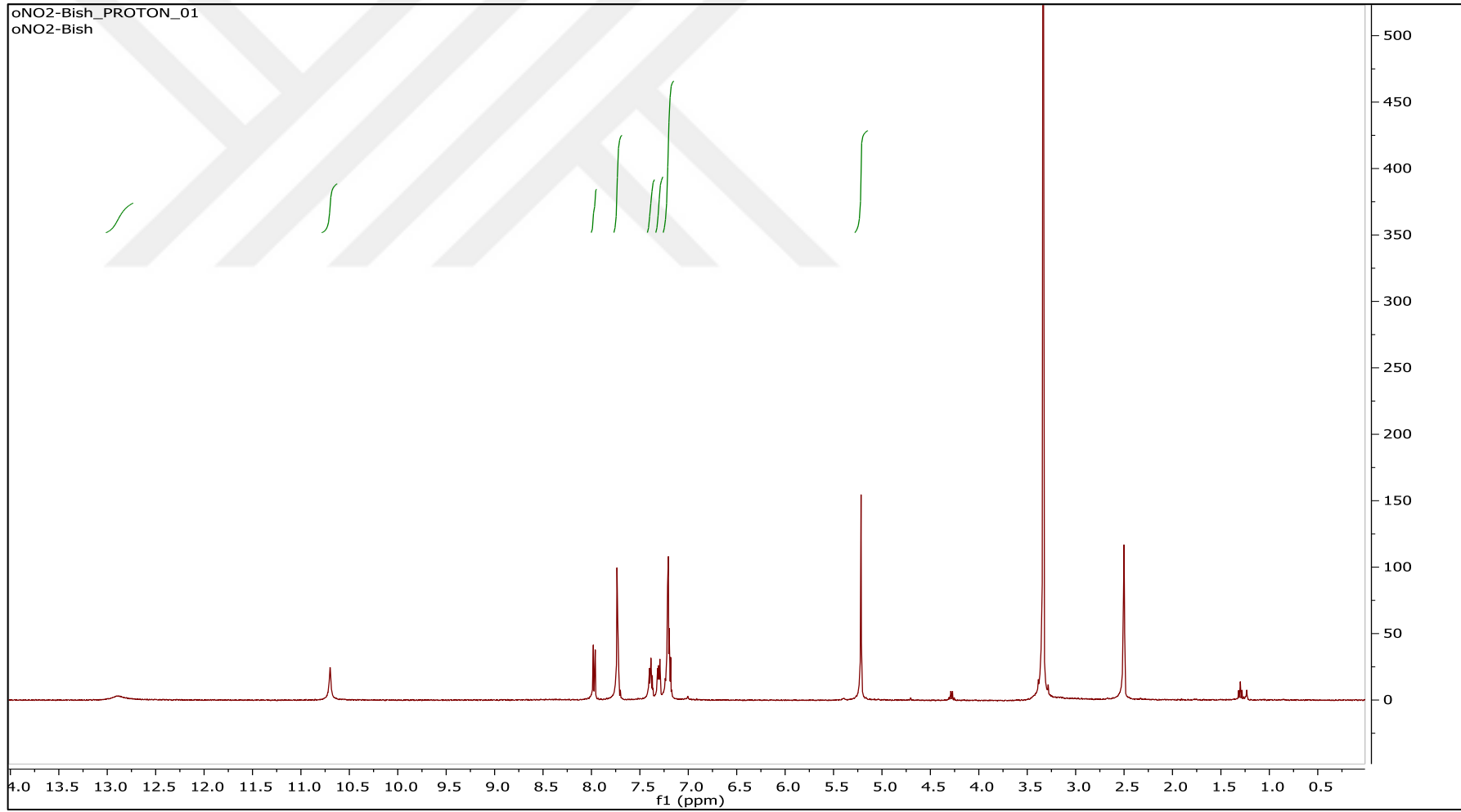
pCIBish-NEG #40 RT: 0.35 AV: 1 NL: 1.39E7
T: {0,0} - c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-400.00]



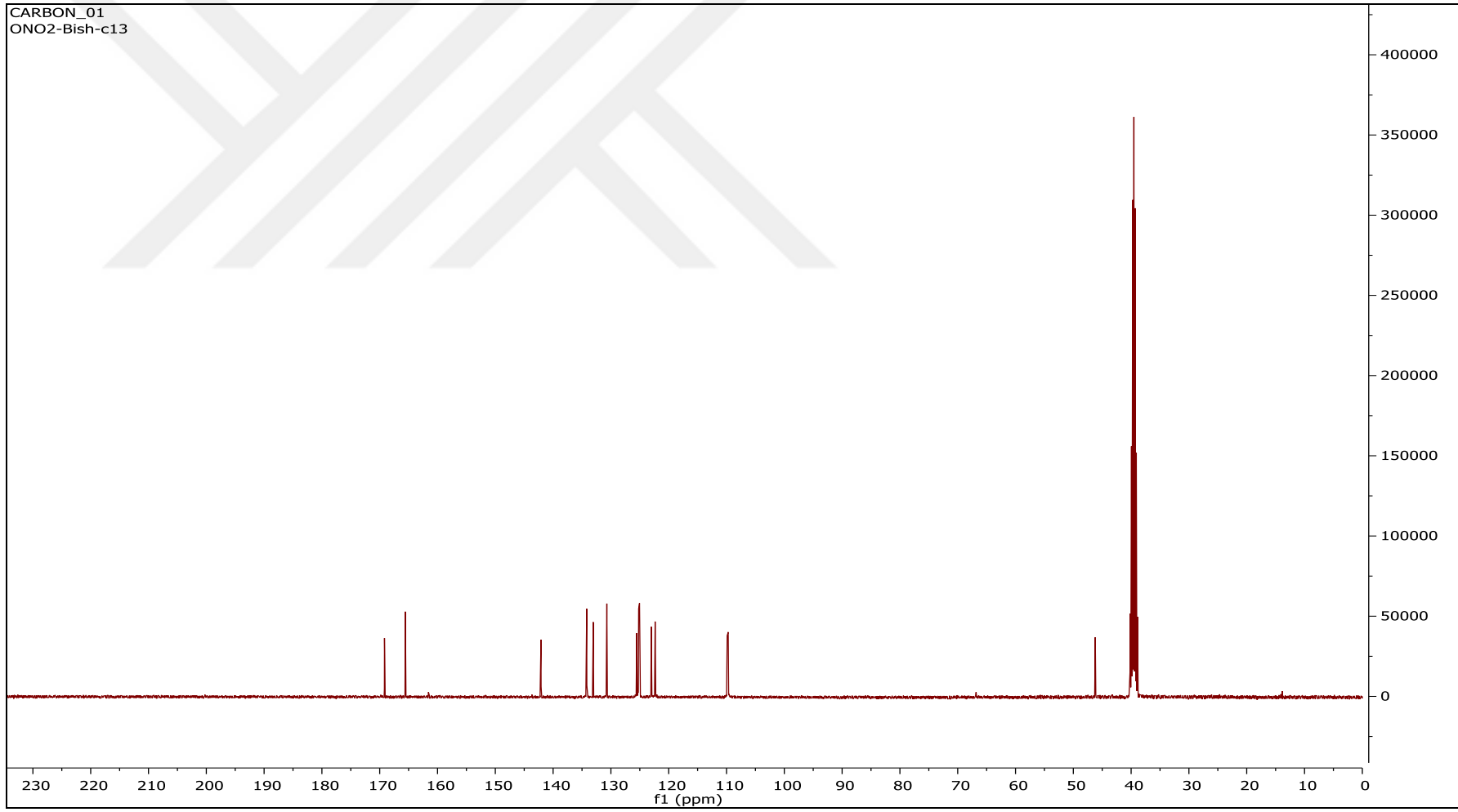
Spektrum 198. BS5 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



Spektrum 199. BS6 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

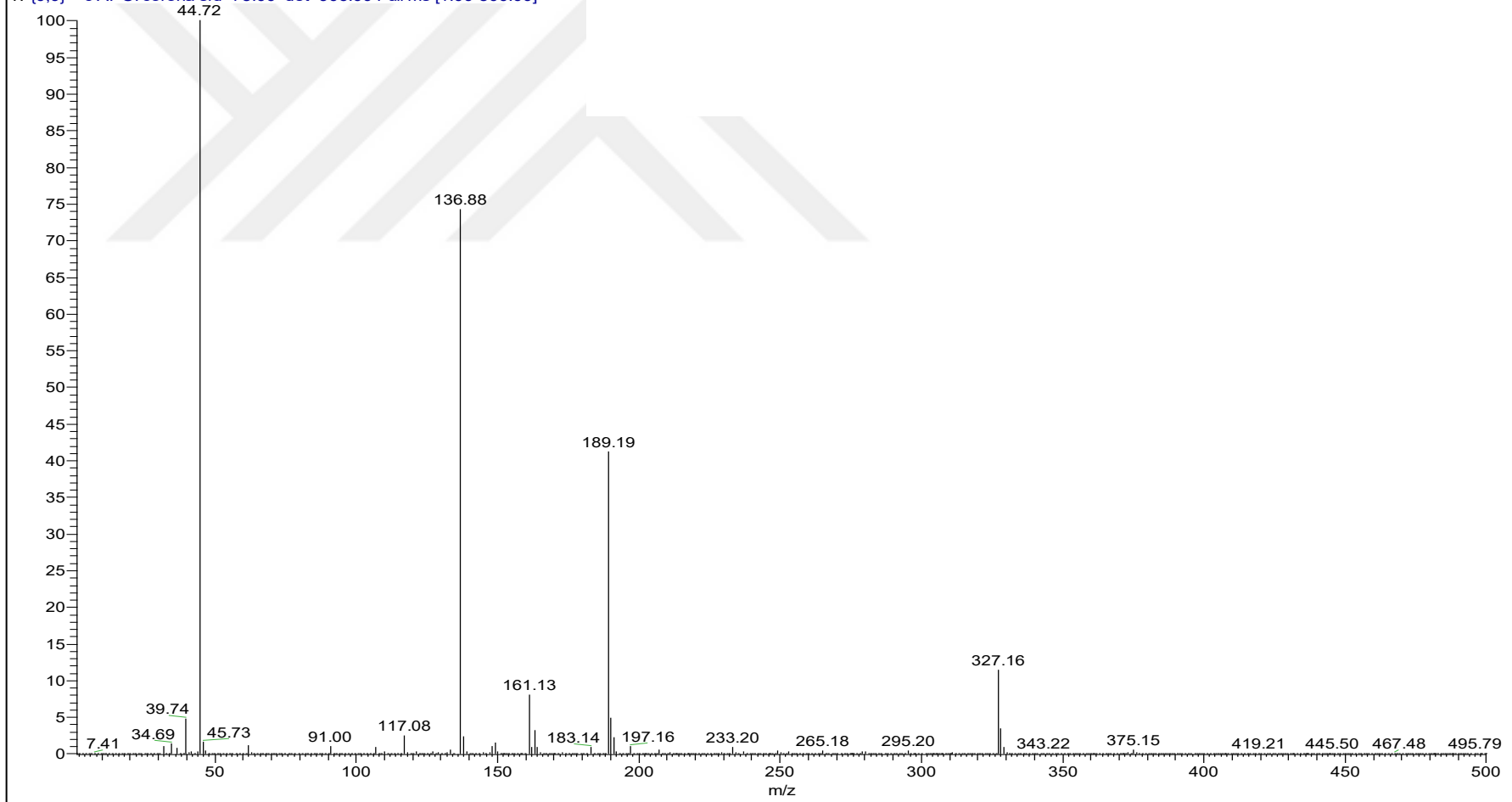


Spektrum 200. BS6 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu

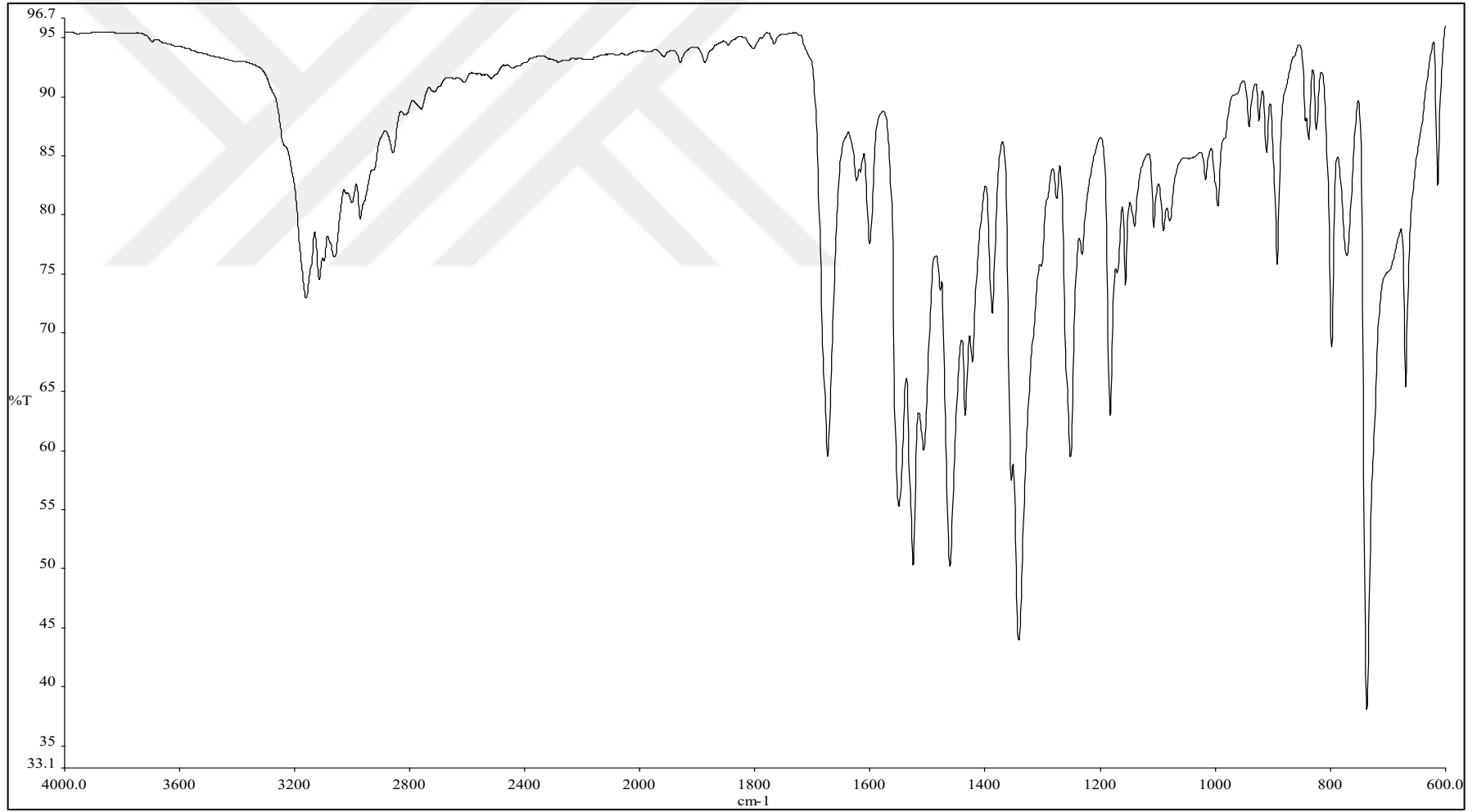


Spektrum 201. BS6 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu

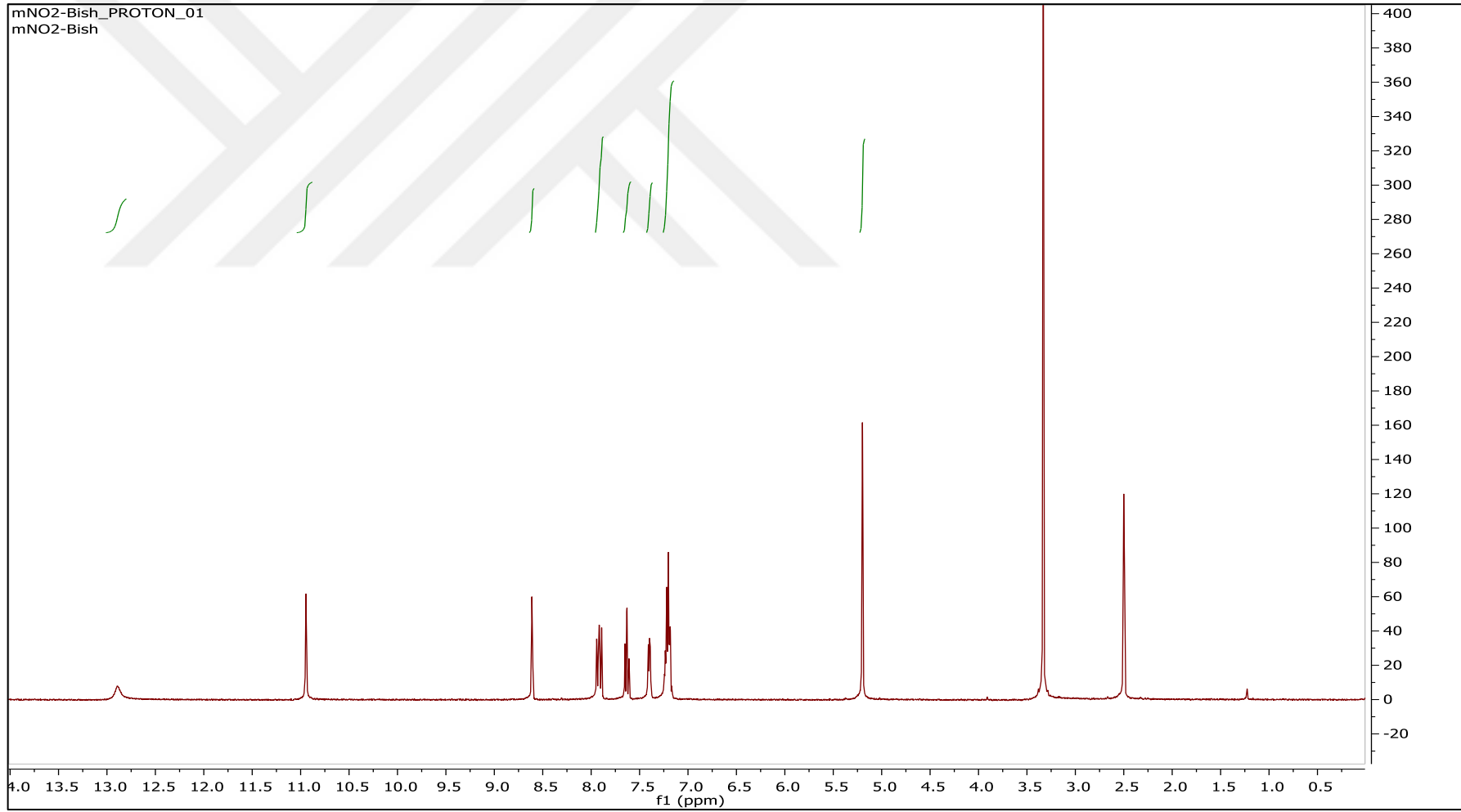
oNO2-bish-apci-neg #65 RT: 0.58 AV: 1 NL: 2.63E6
T: {0,0} - c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]



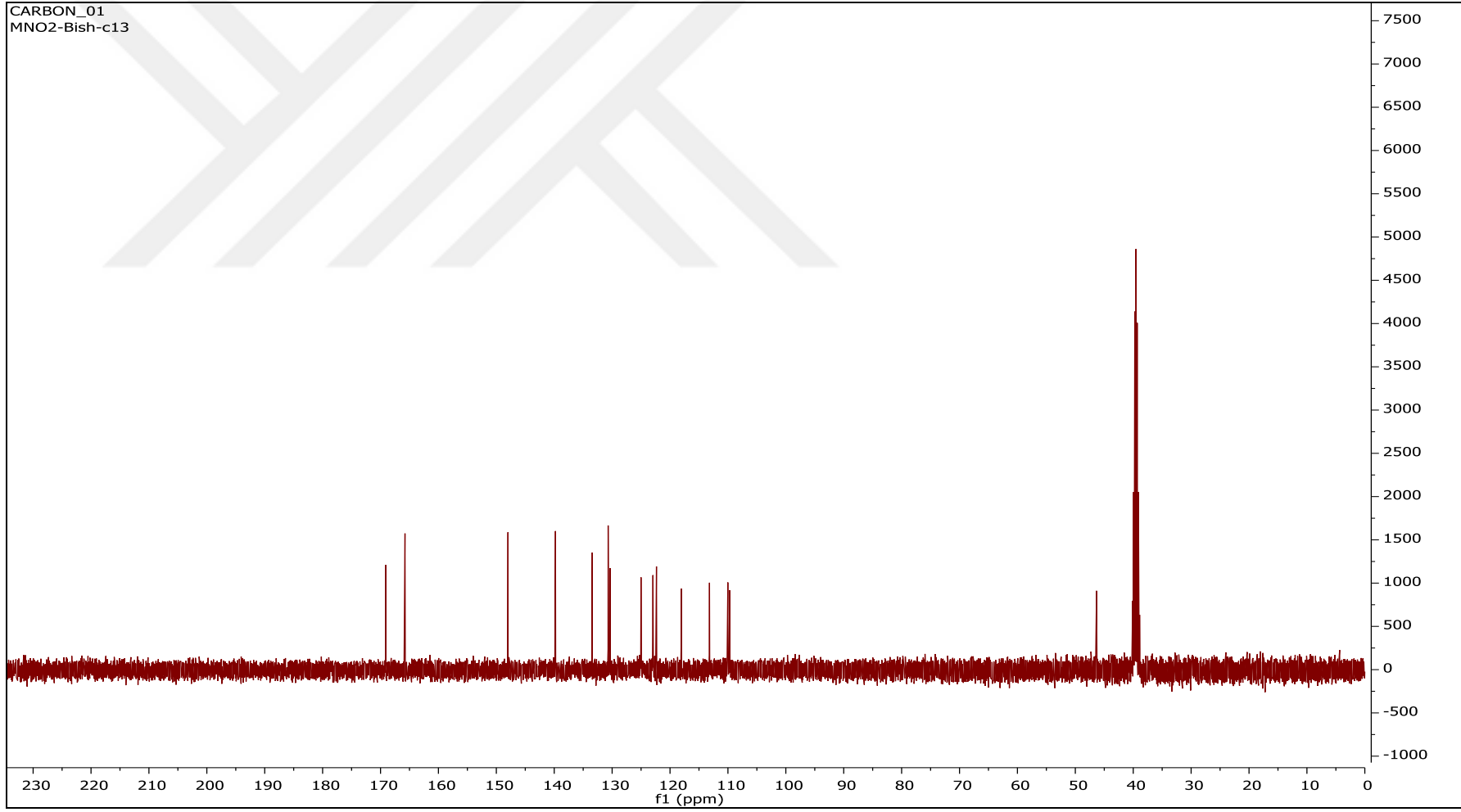
Spektrum 202. BS6 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



Spektrum 203. BS7 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

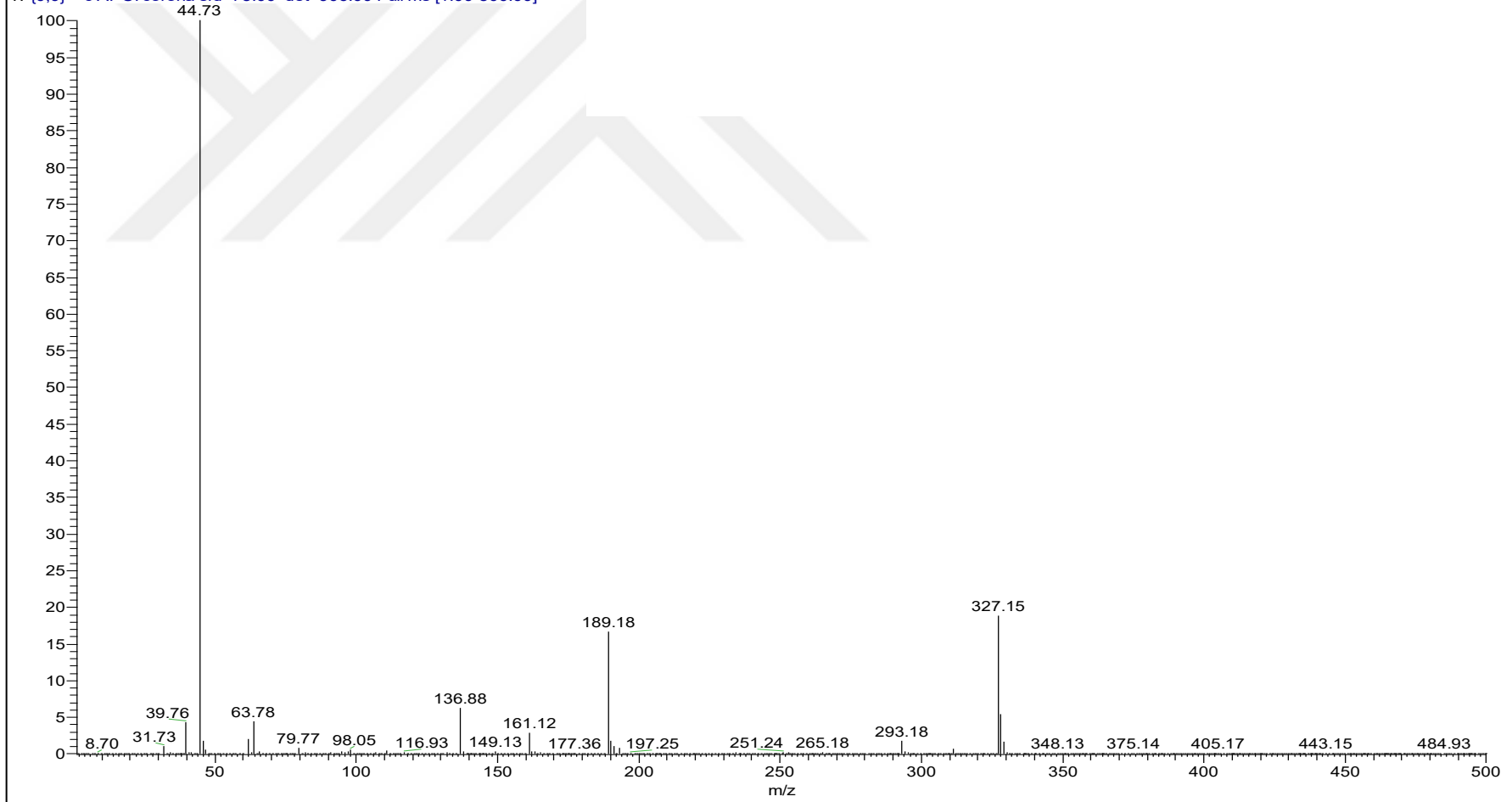


Spektrum 204. BS7 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

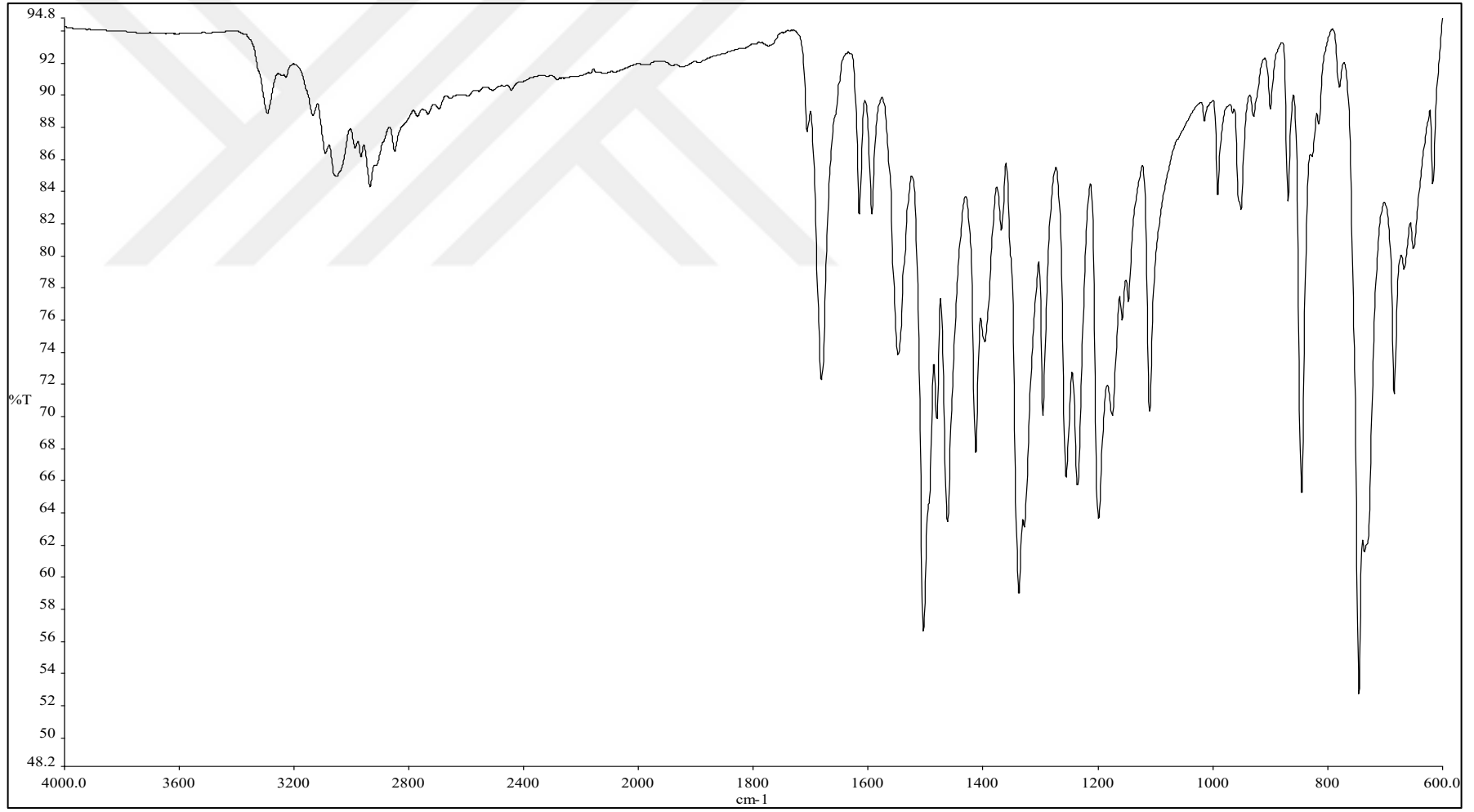


Spektrum 205. BS7 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu

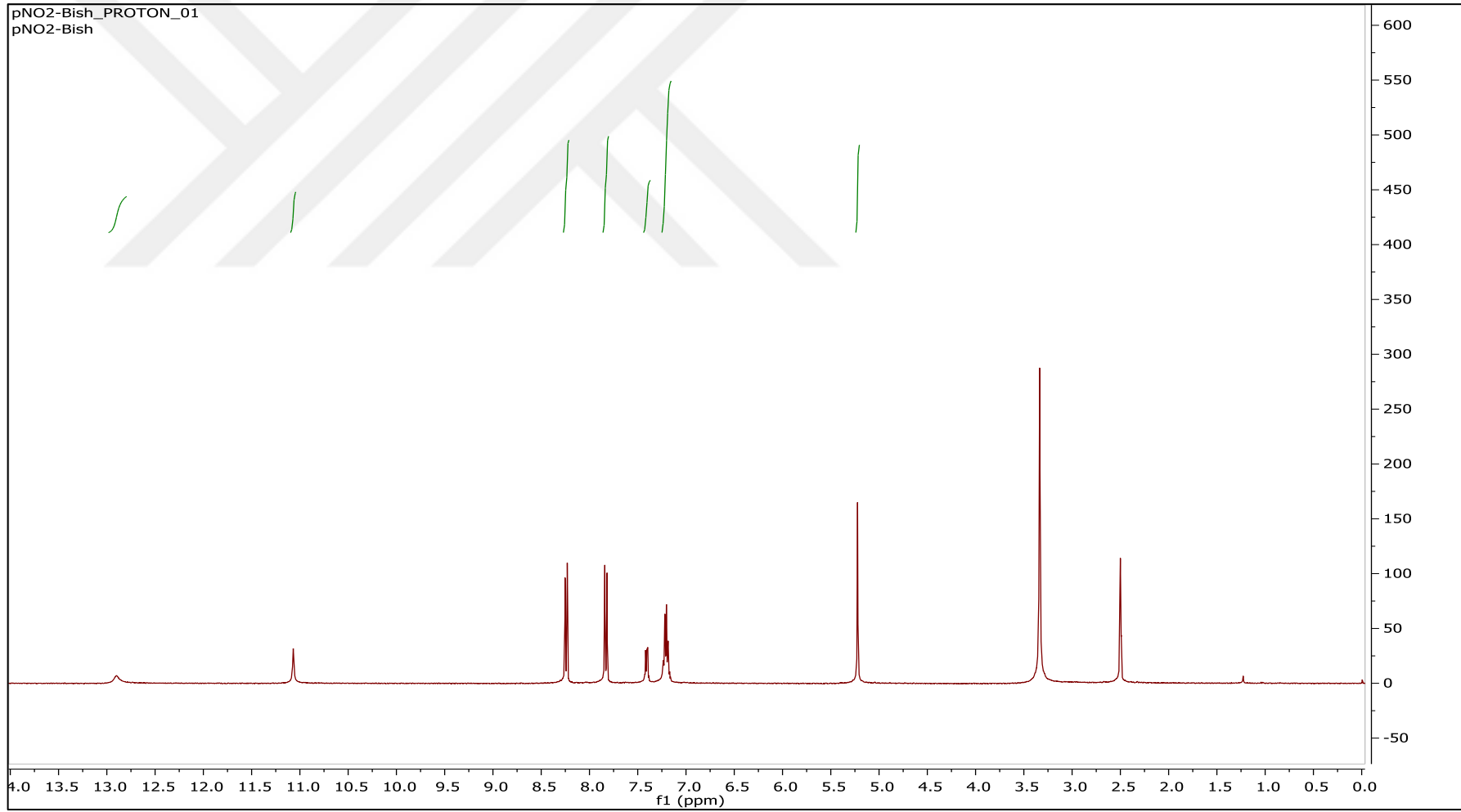
MNO2-apci-neg-der #58 RT: 0.51 AV: 1 NL: 1.95E6
T: {0,0} - c APCL corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]



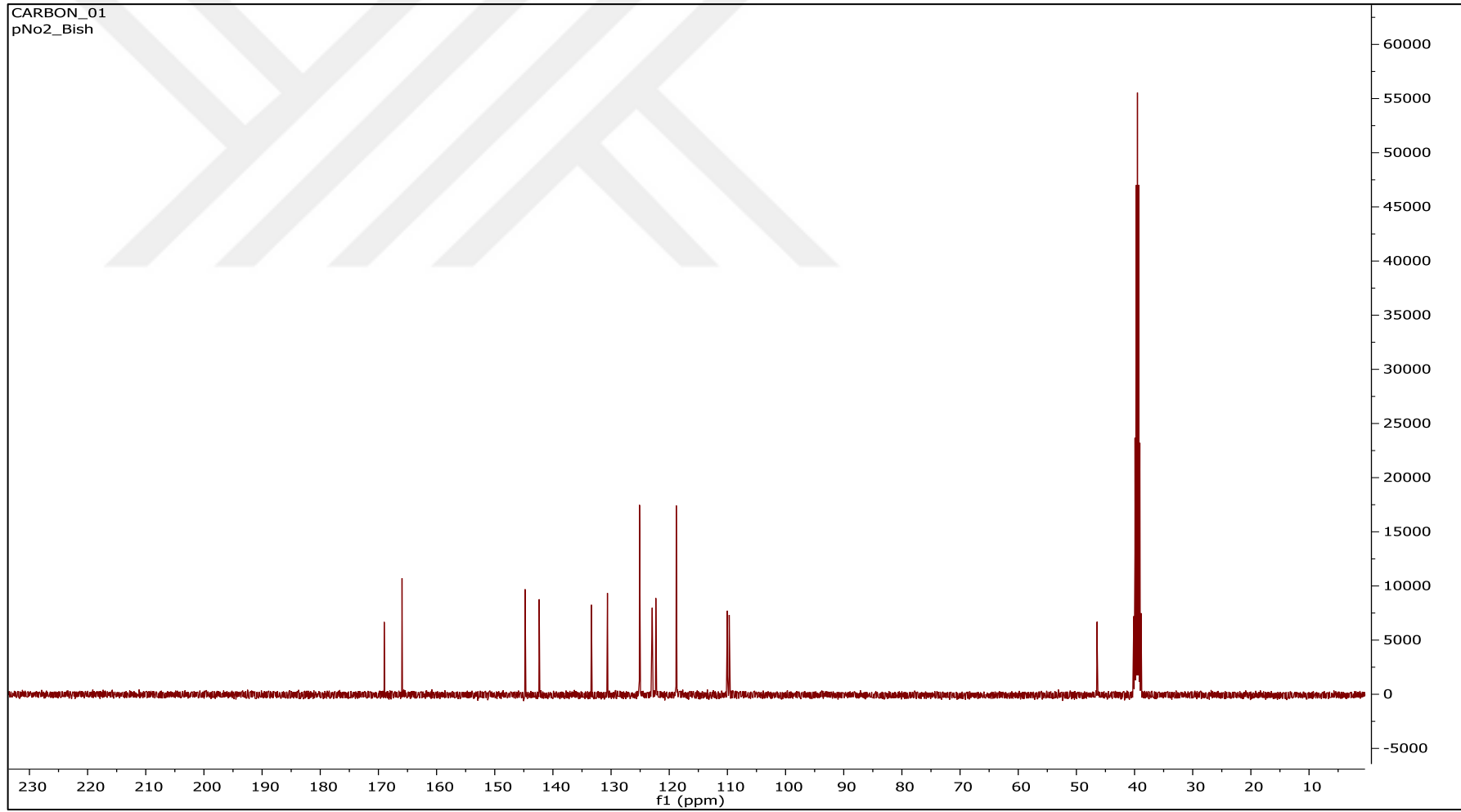
Spektrum 206. BS7 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



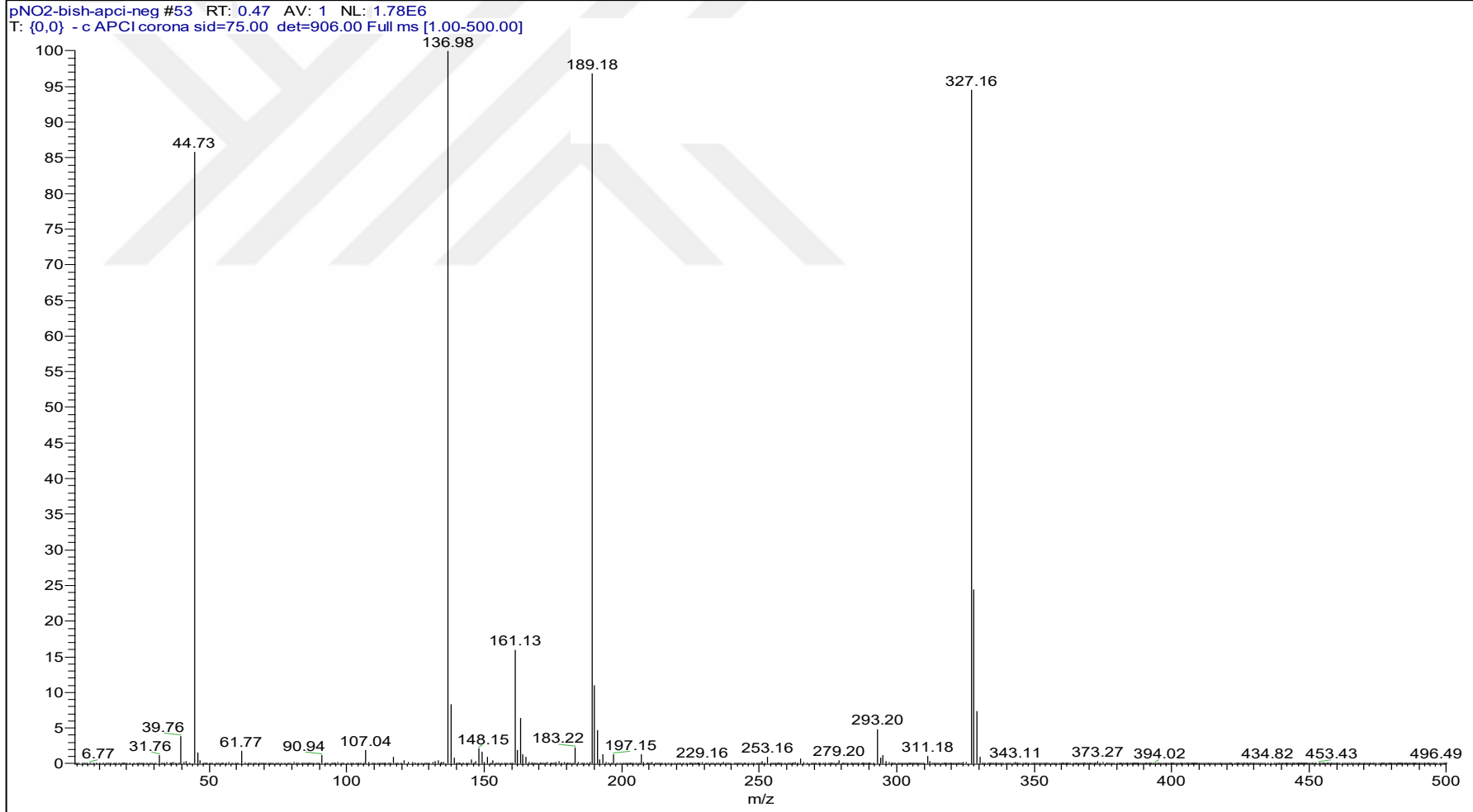
Spektrum 207. BS8 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



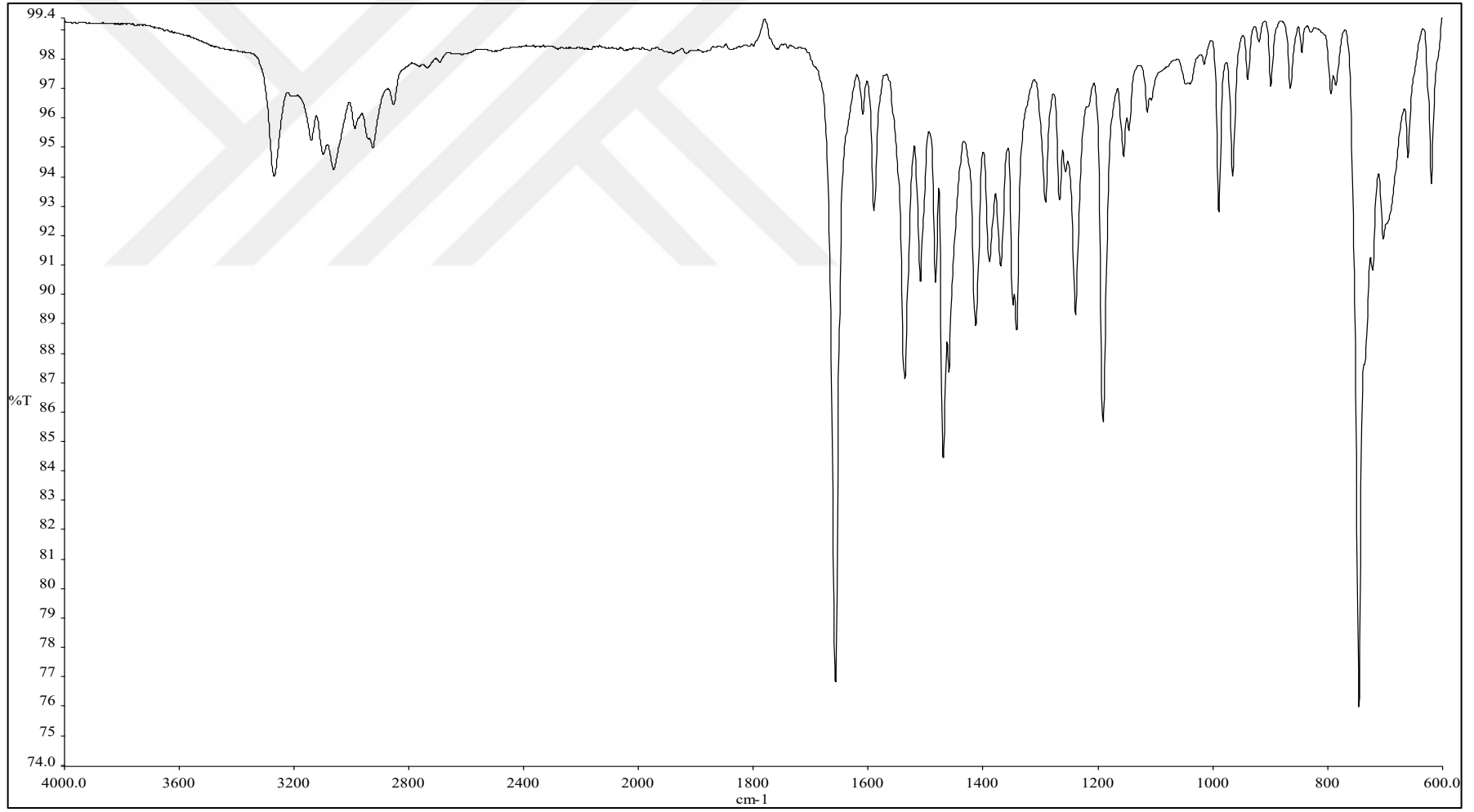
Spektrum 208. BS8 Kodlu Bileşğin ^1H NMR (DMSO- d_6) Spektrumu



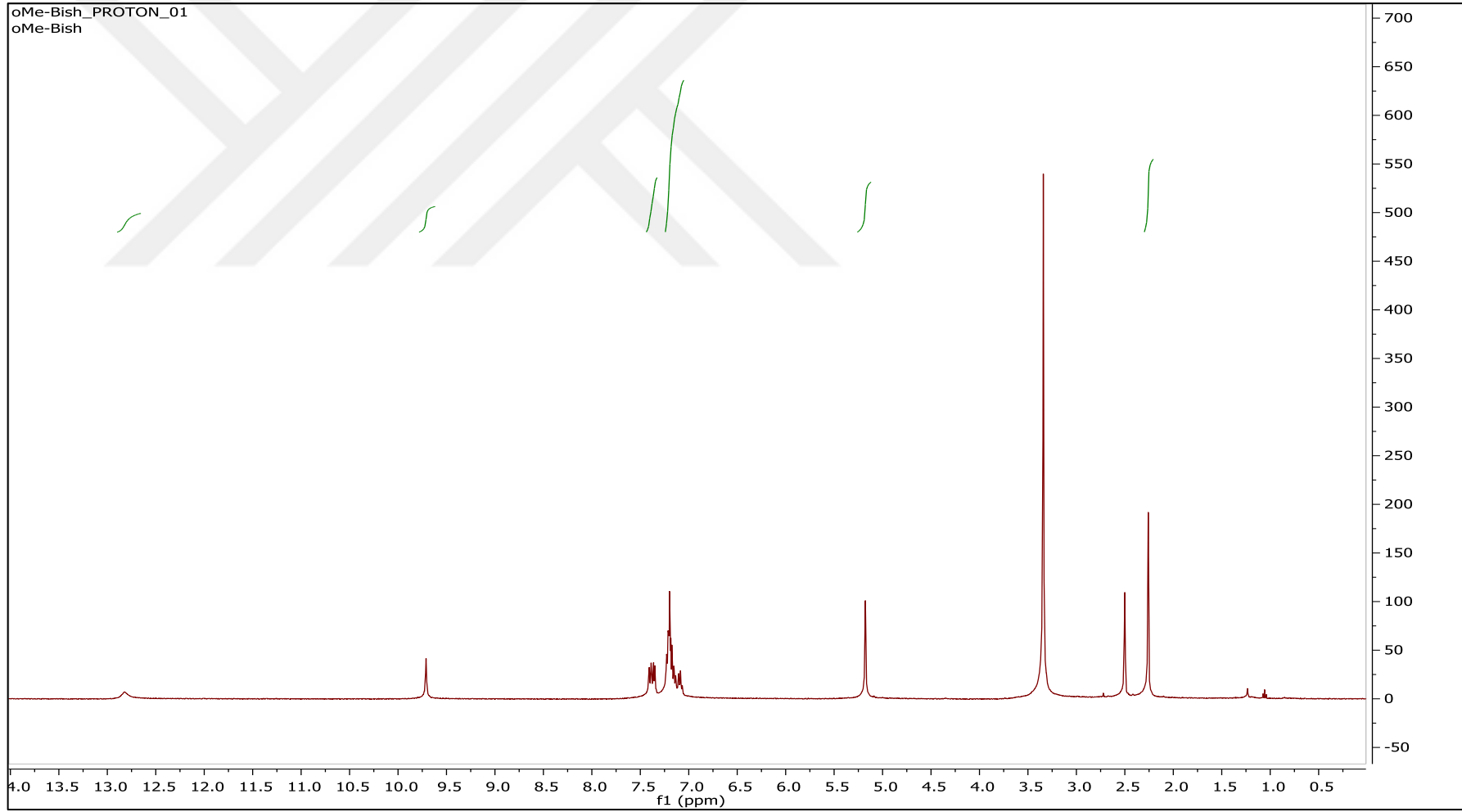
Spektrum 209. BS8 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



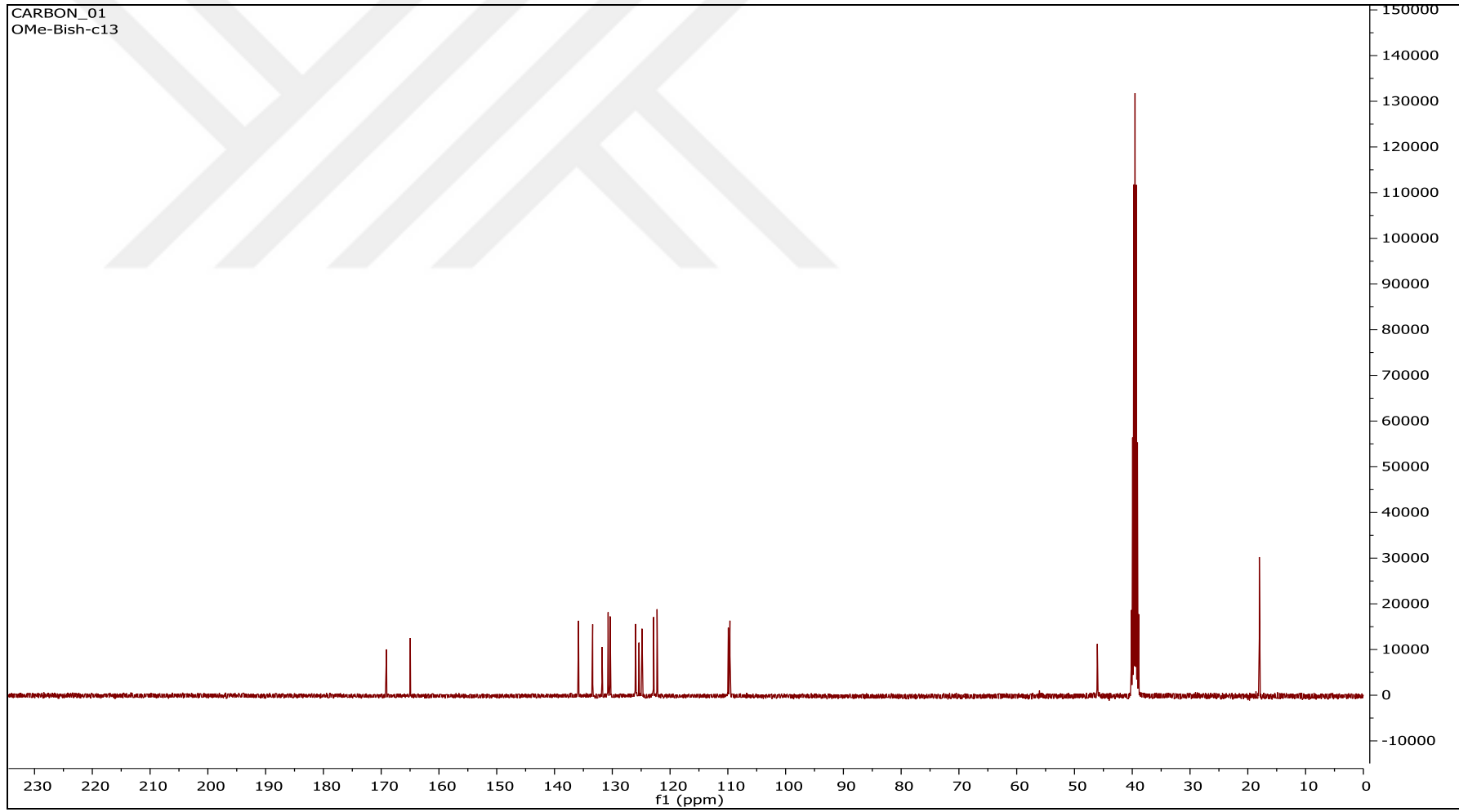
Spektrum 210. BS8 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



Spektrum 211. BS9 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

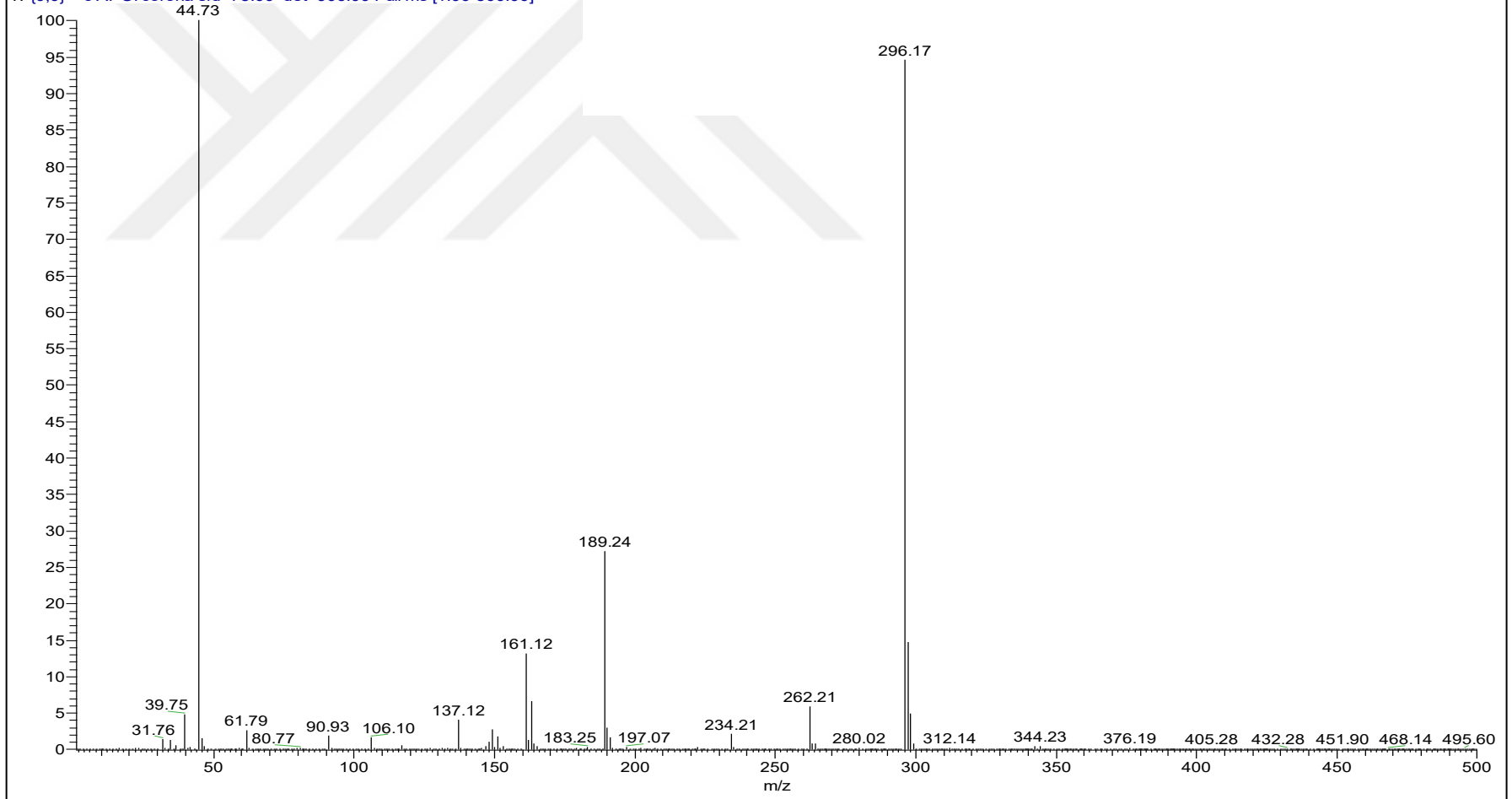


Spektrum 212. BS9 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

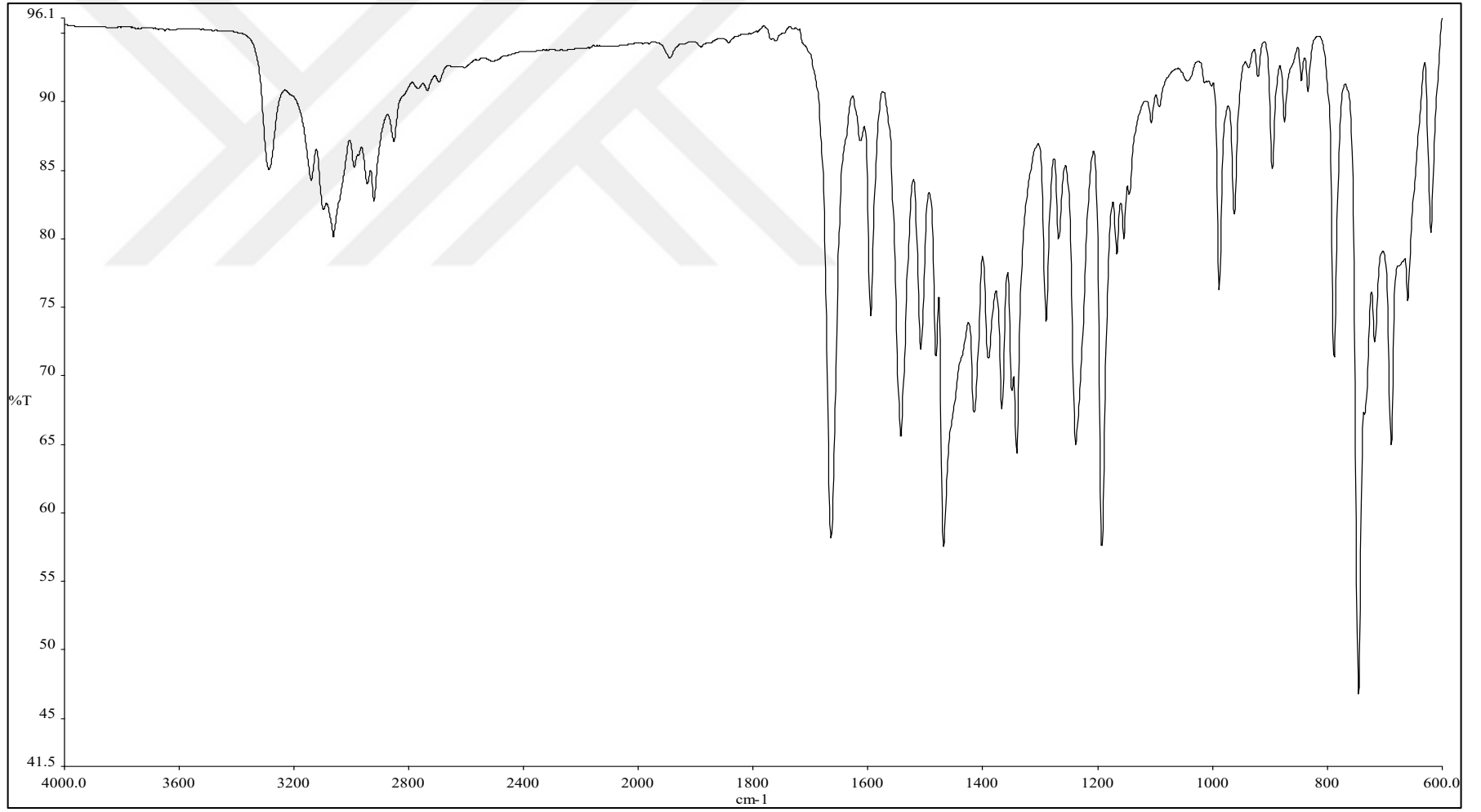


Spektrum 213. BS9 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

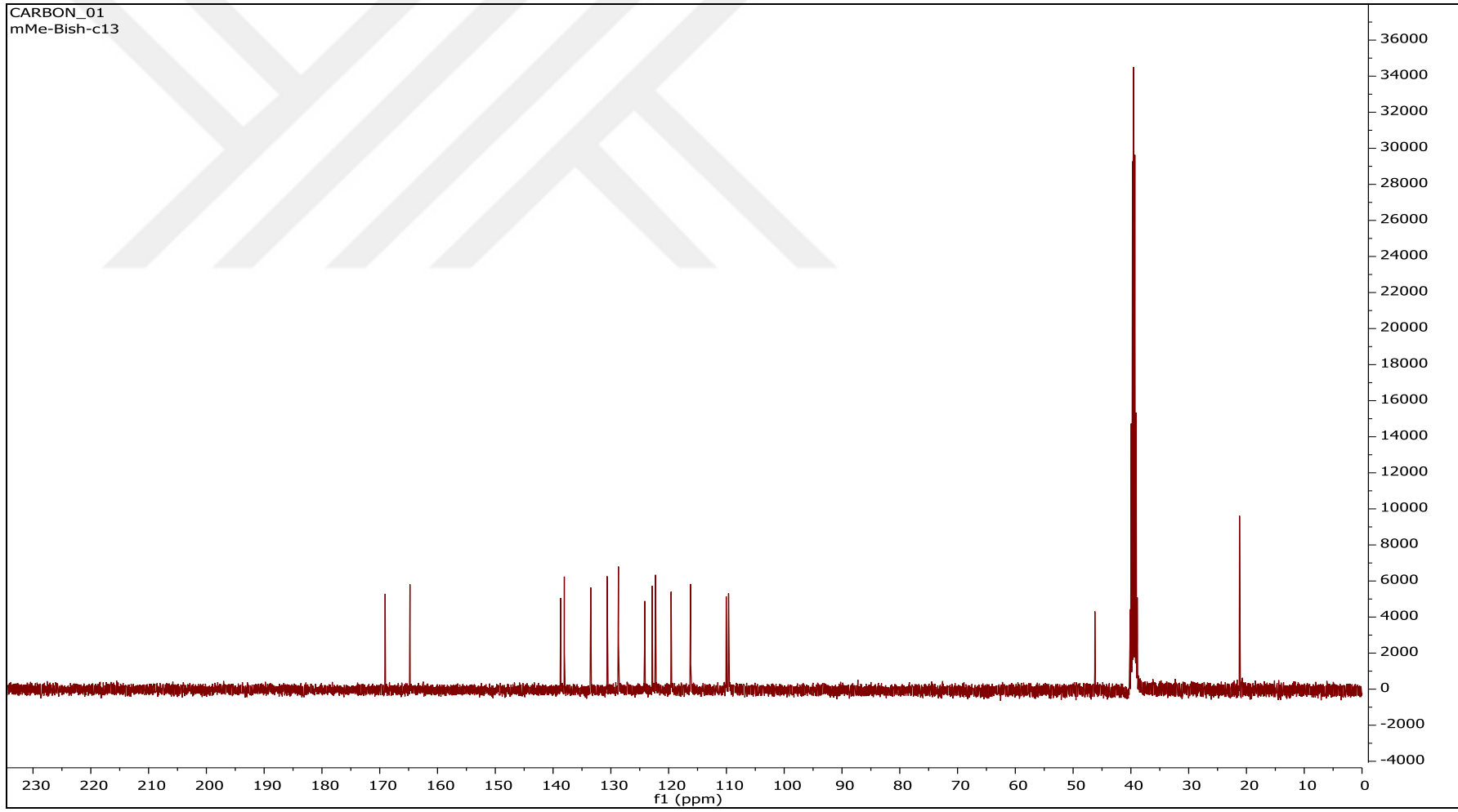
OME-bish-apci-neg #46 RT: 0.41 AV: 1 NL: 1.53E6
T: {0,0} - c APCL corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]



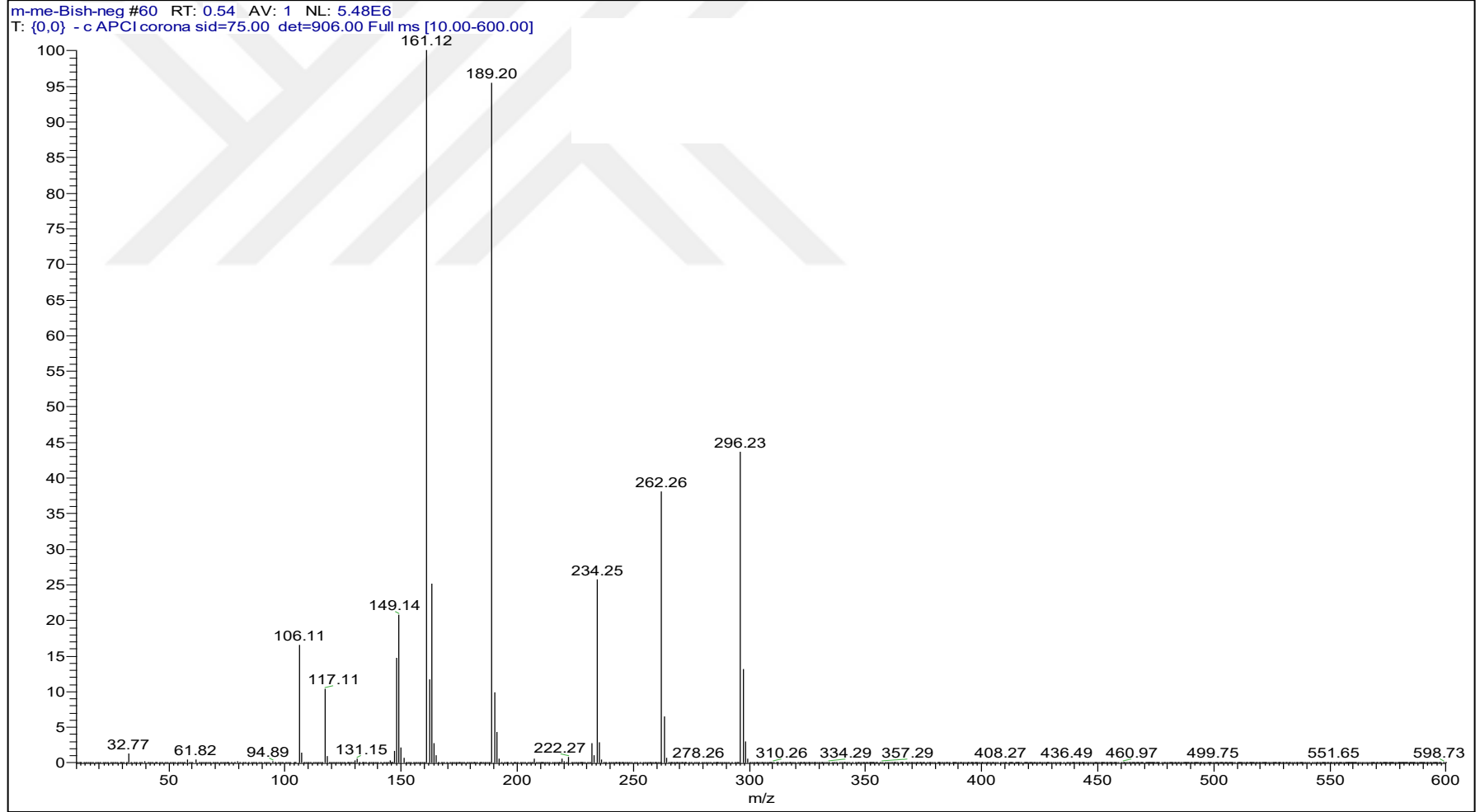
Spektrum 214. BS9 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



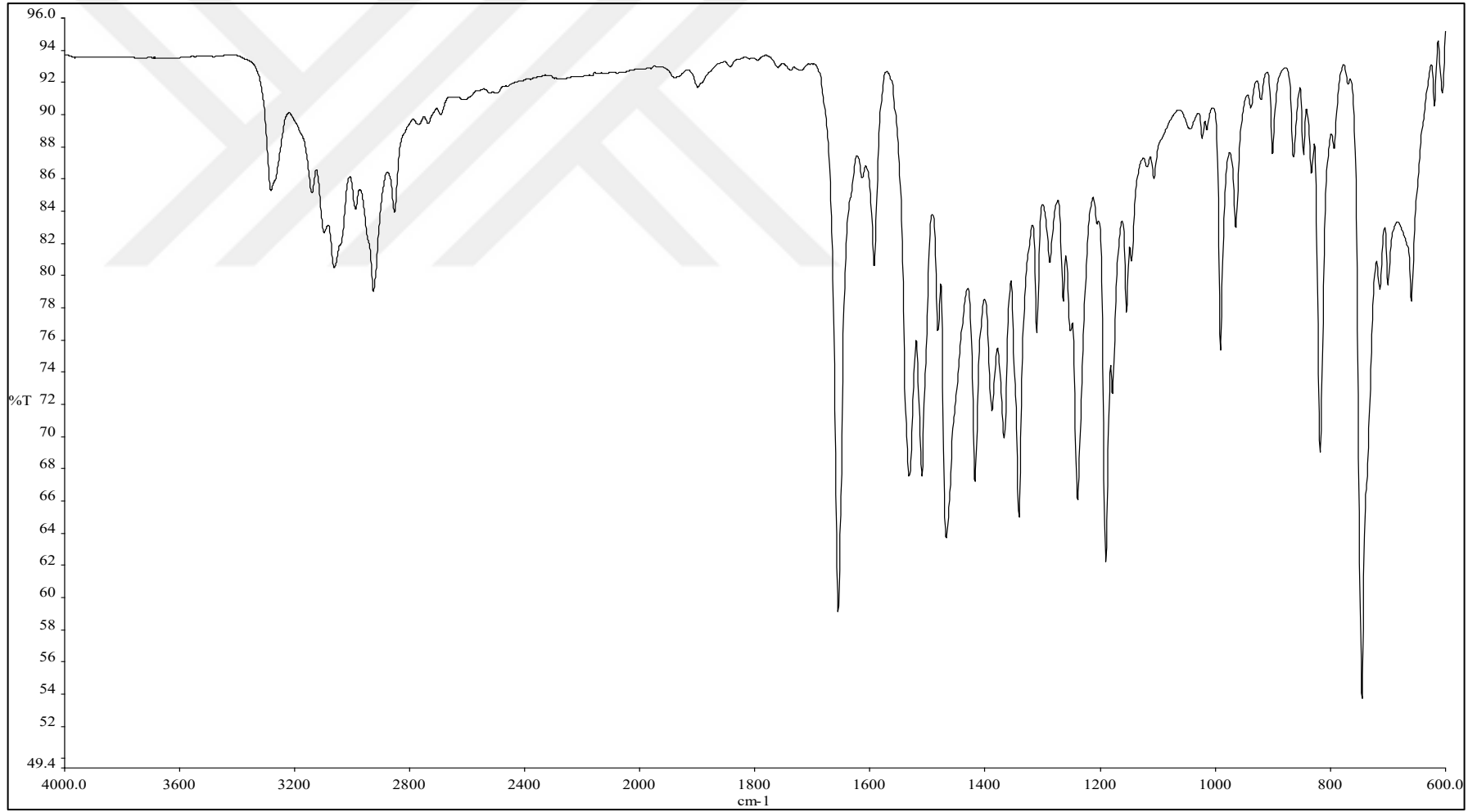
Spektrum 215. BS10 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



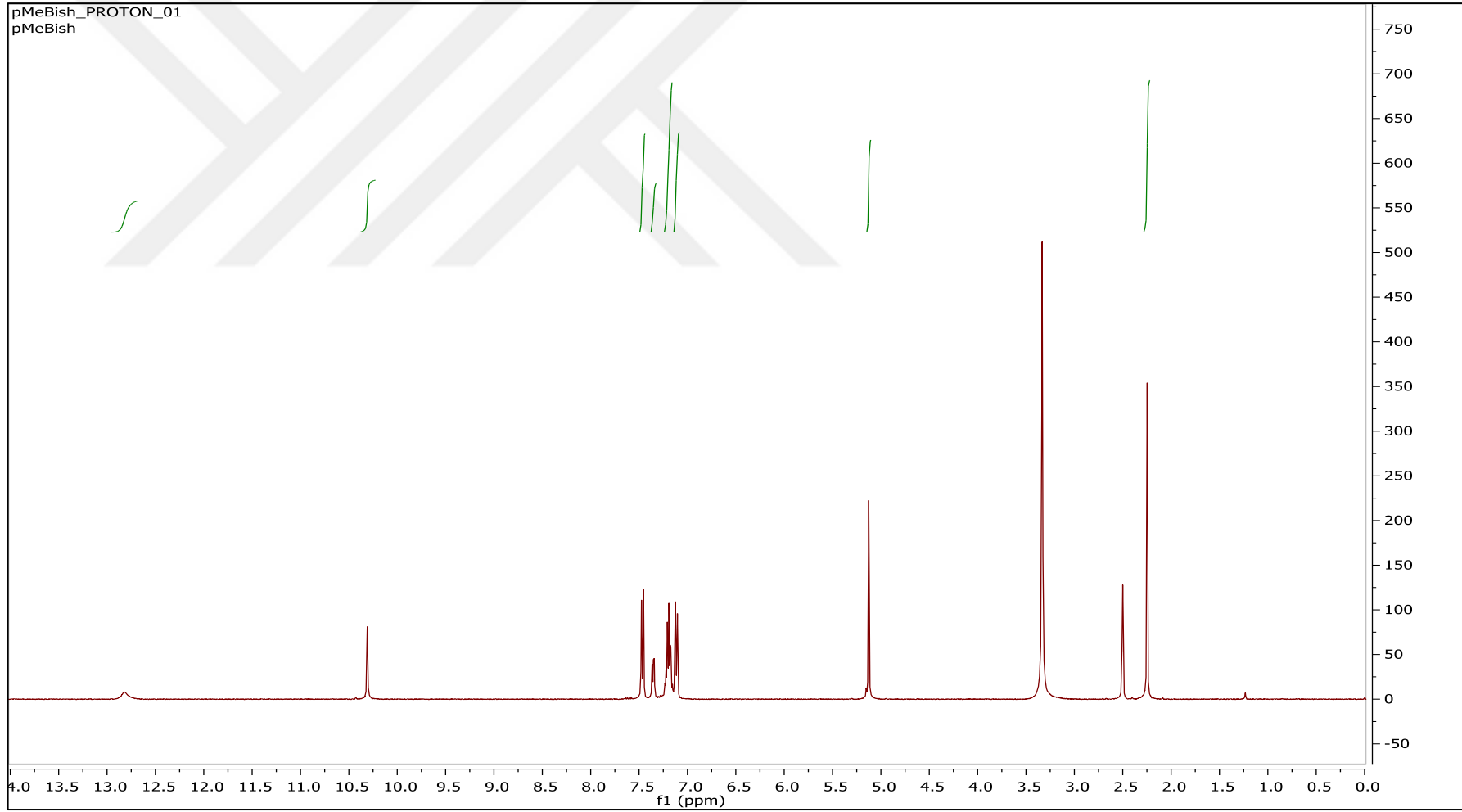
Spektrum 217. BS10 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



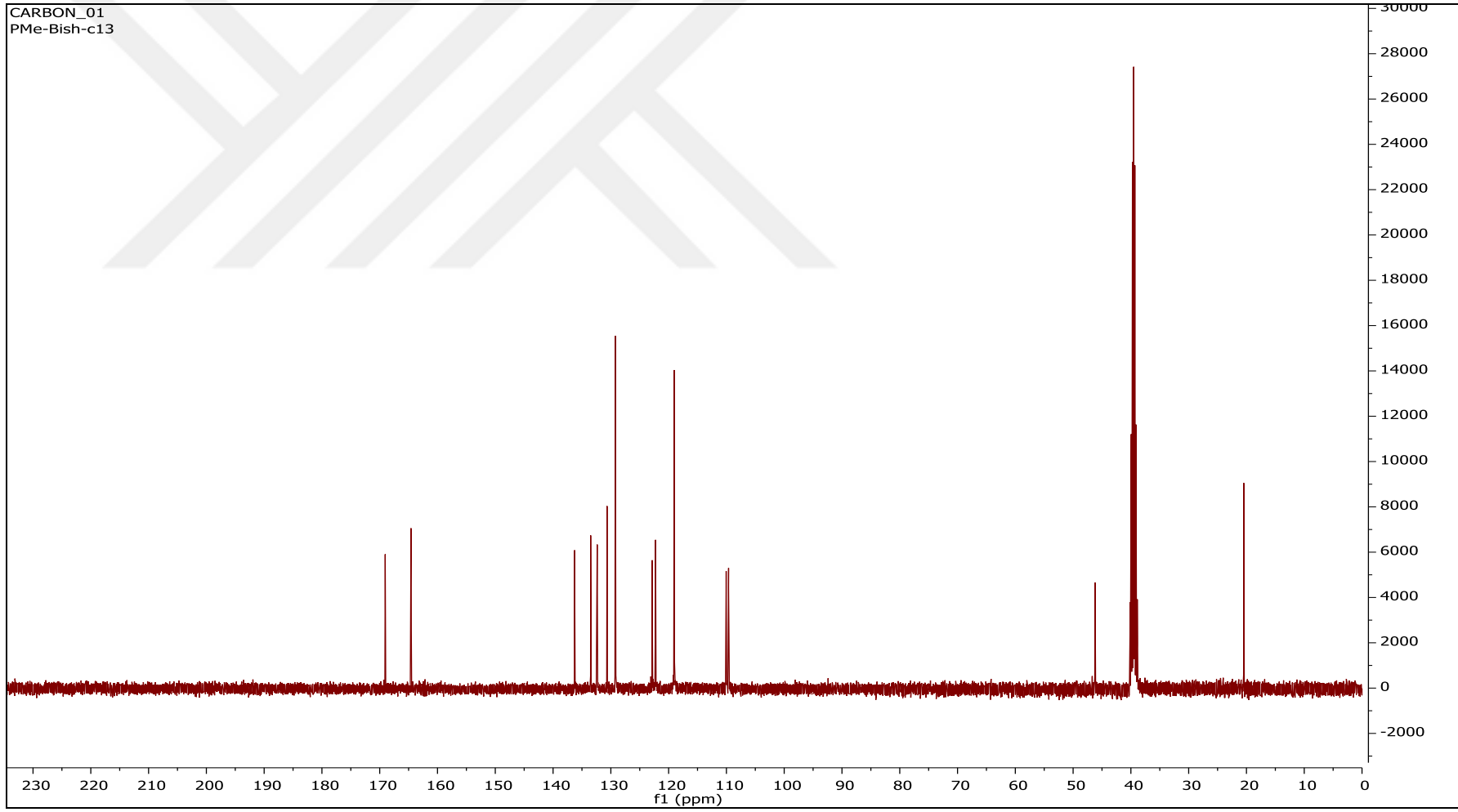
Spektrum 218. BS10 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



Spektrum 219. BS11 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

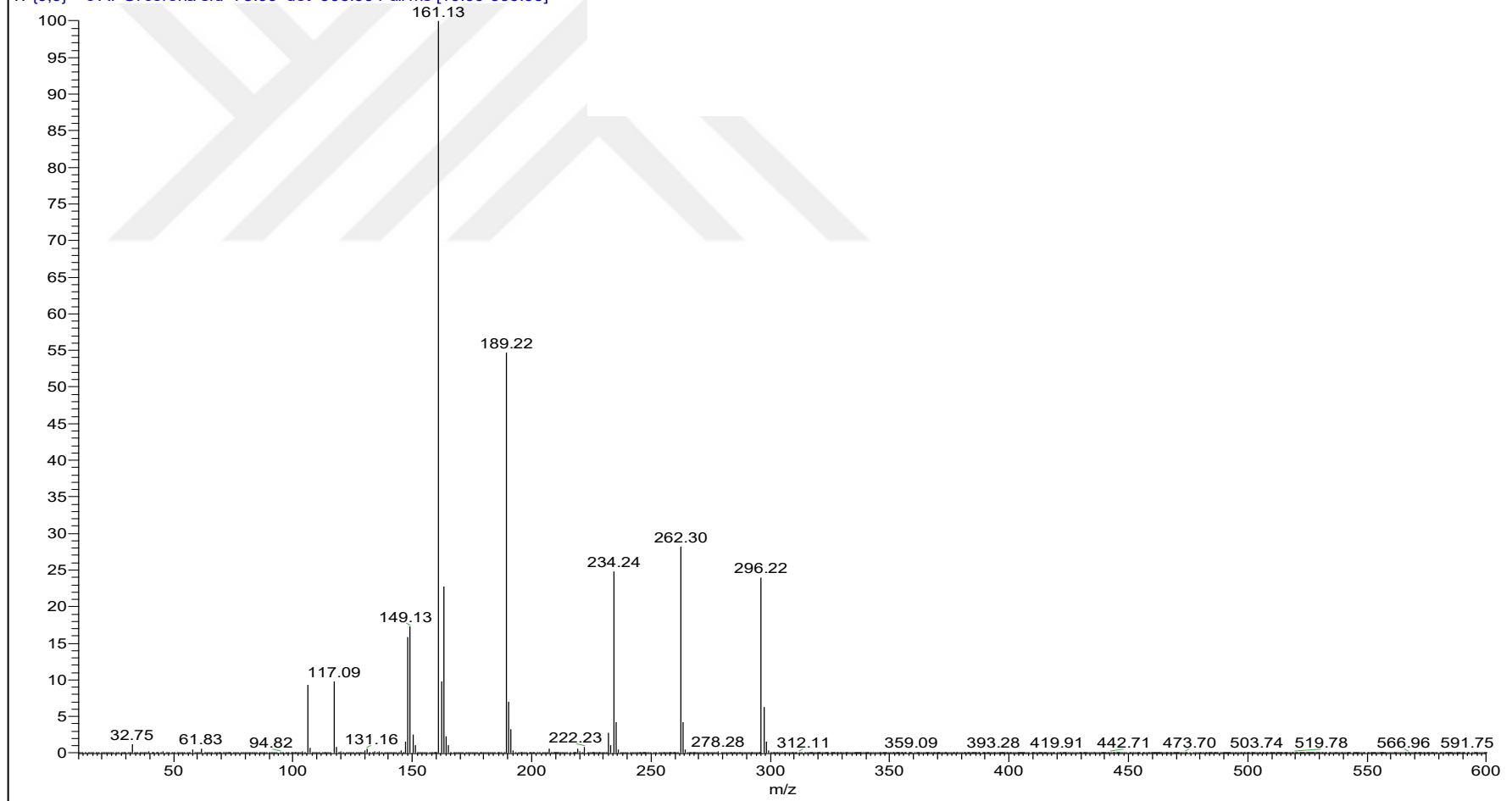


Spektrum 220. BS11 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

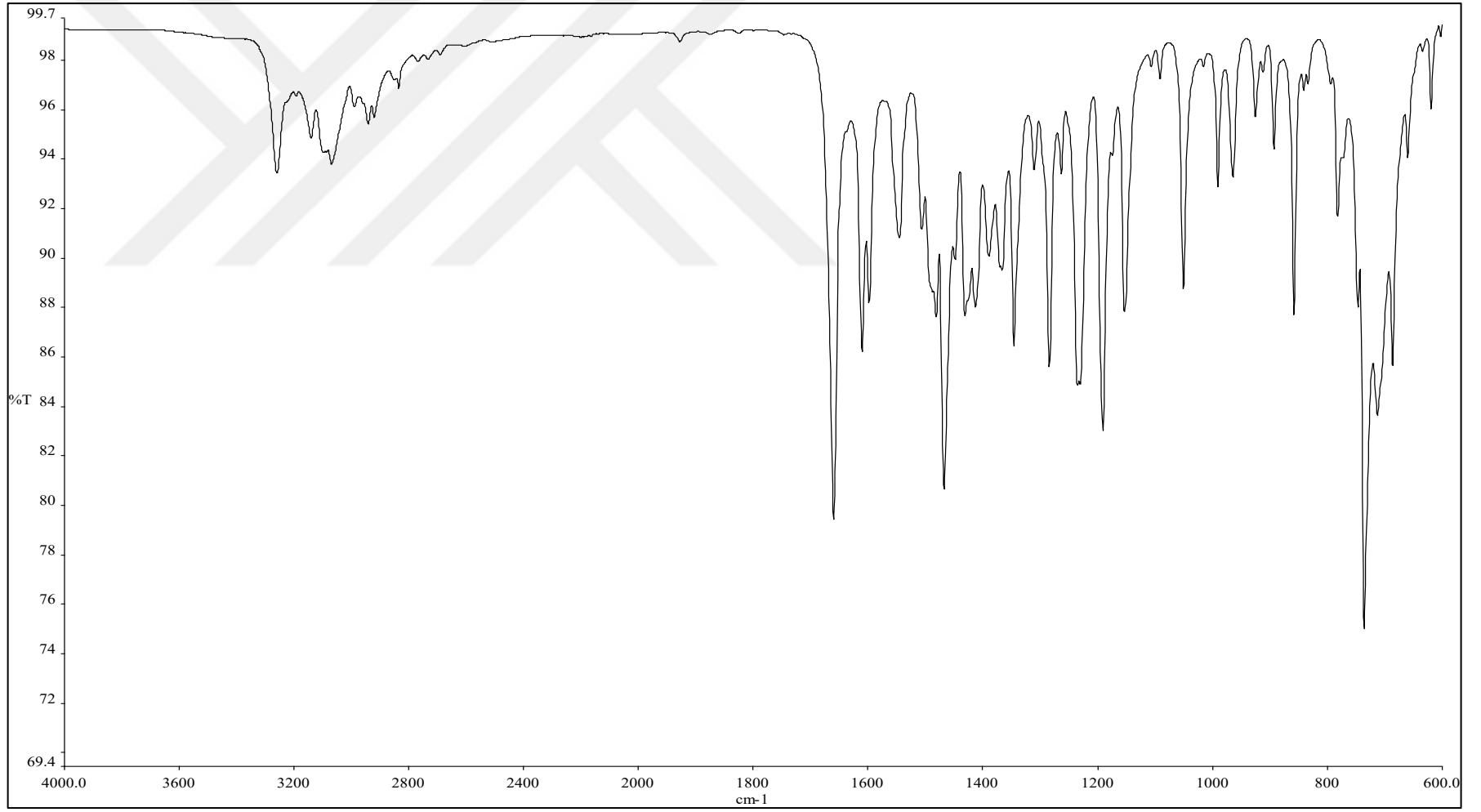


Spektrum 221. BS11 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

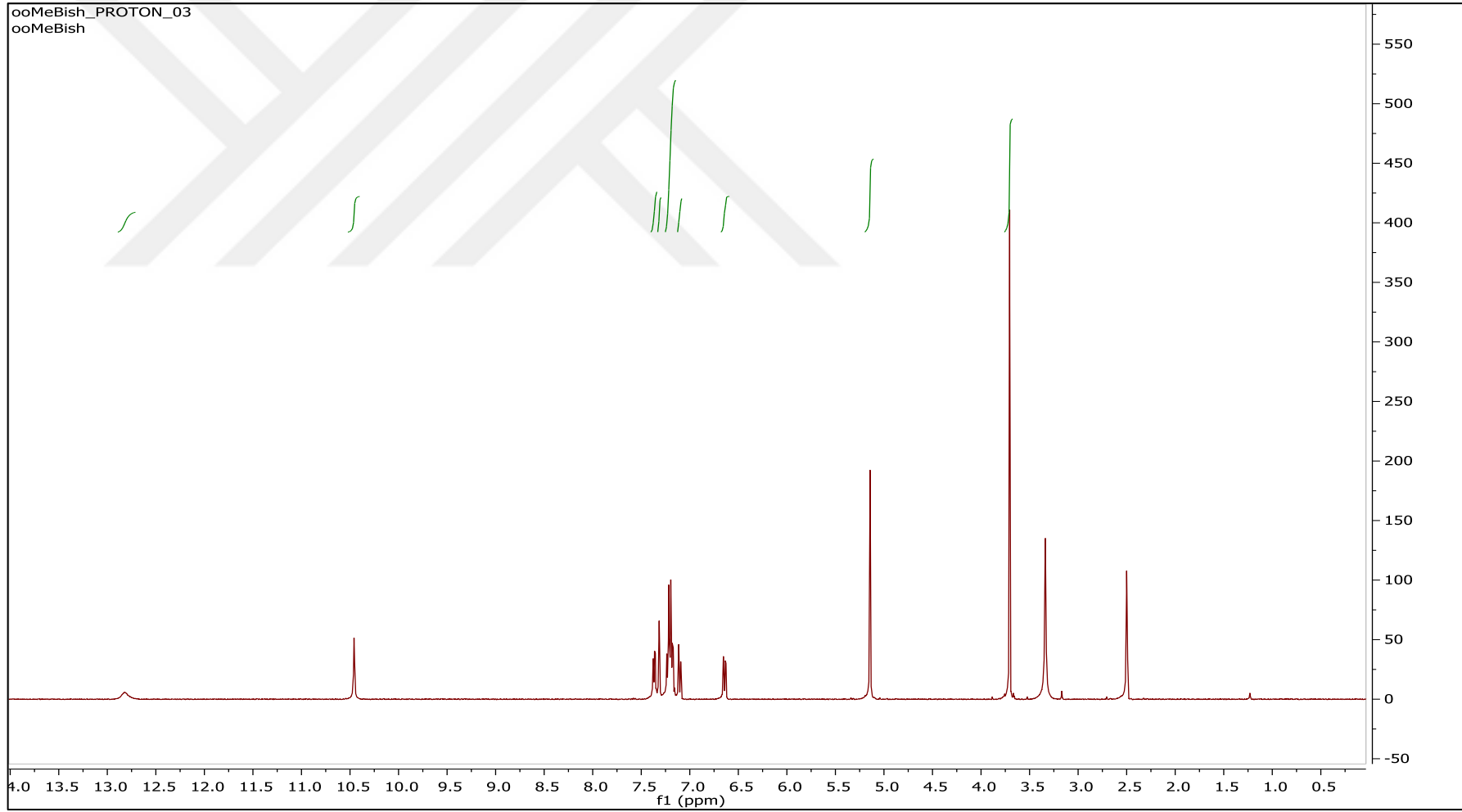
p-Me-Bish-neg #55 RT: 0.49 AV: 1 NL: 5.47E6
T: {0,0} - c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [10.00-600.00]



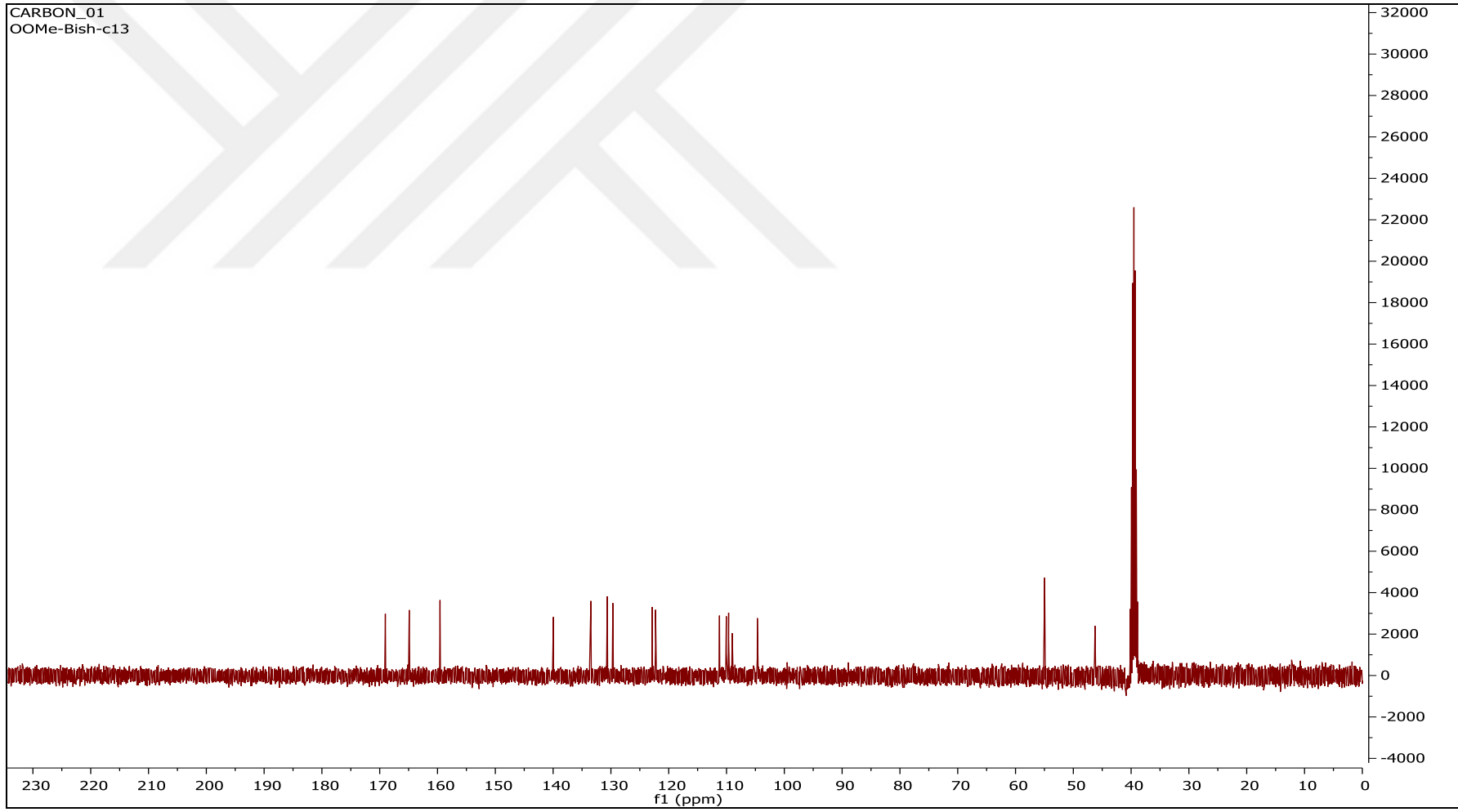
Spektrum 222. BS11 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



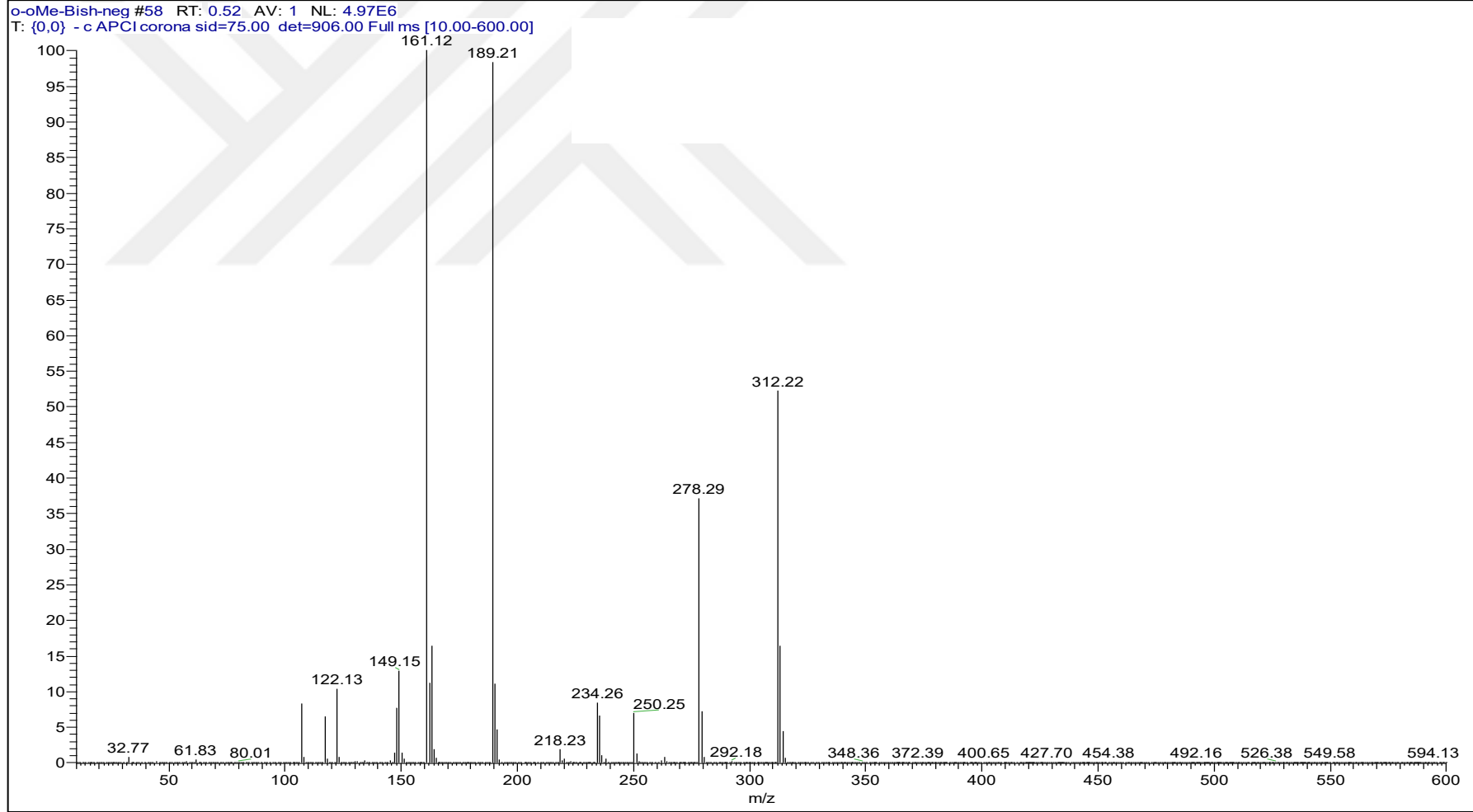
Spektrum 223. BS12 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu



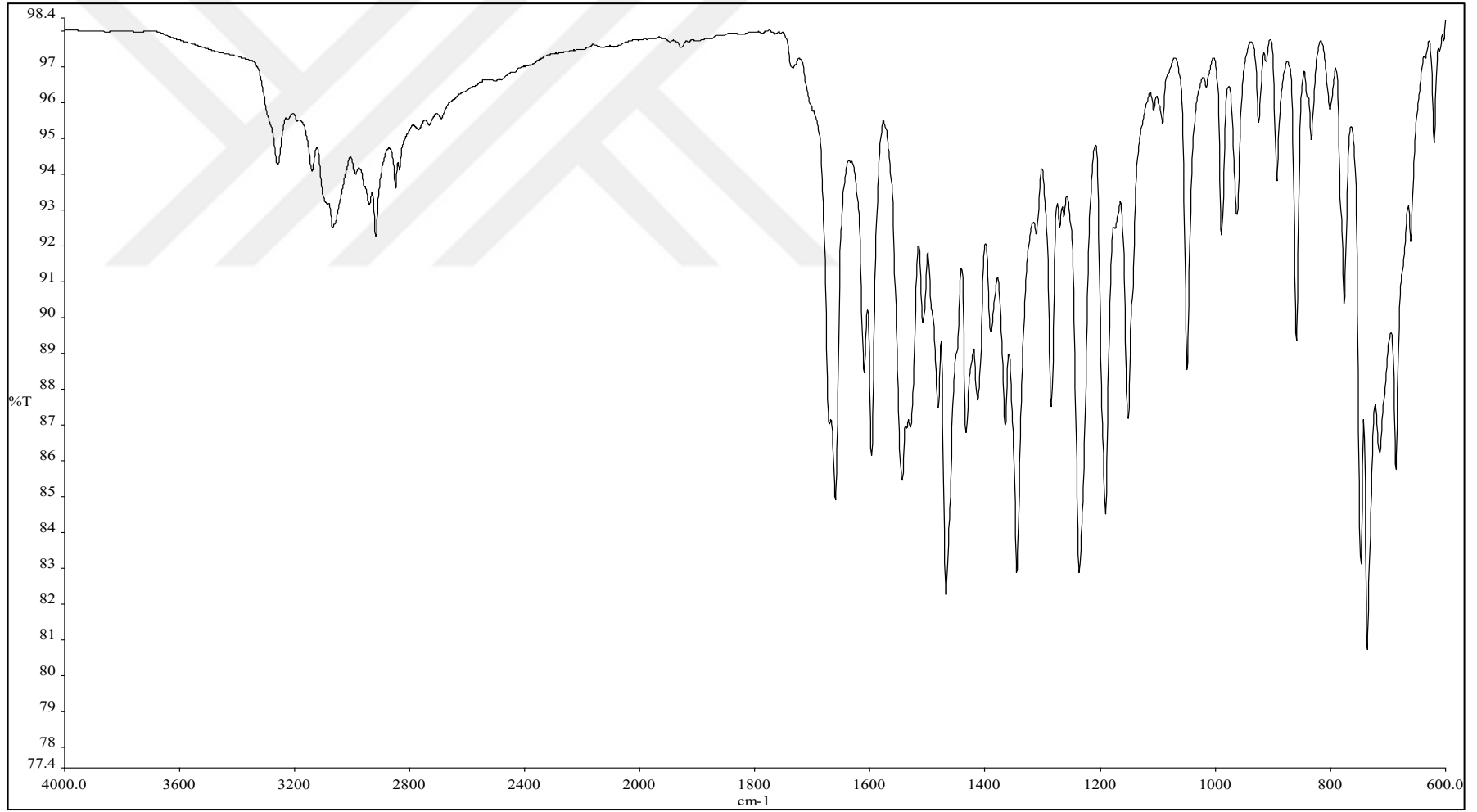
Spektrum 224. BS12 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



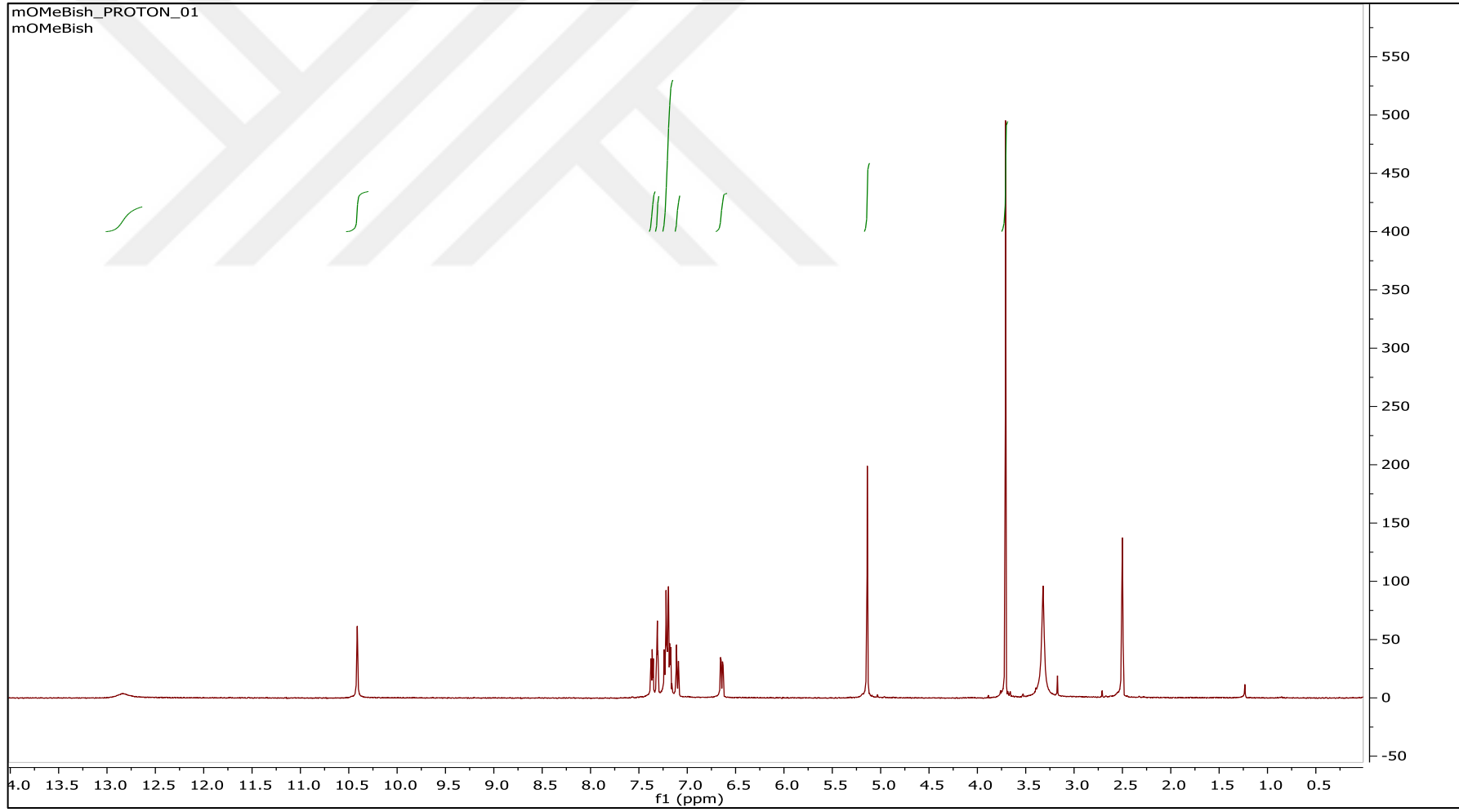
Spektrum 225. BS12 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu



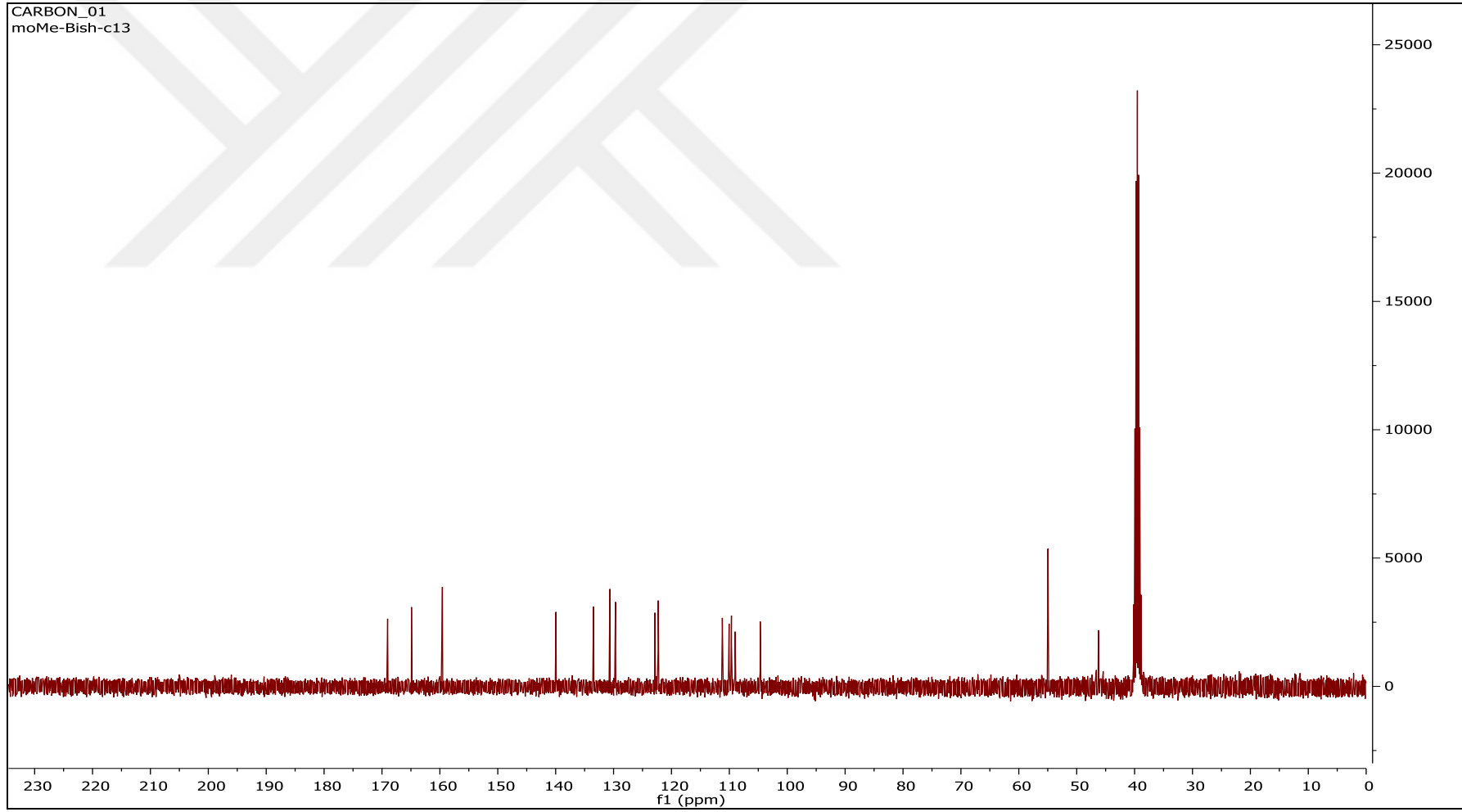
Spektrum 226. BS12 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



Spektrum 227. BS13 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

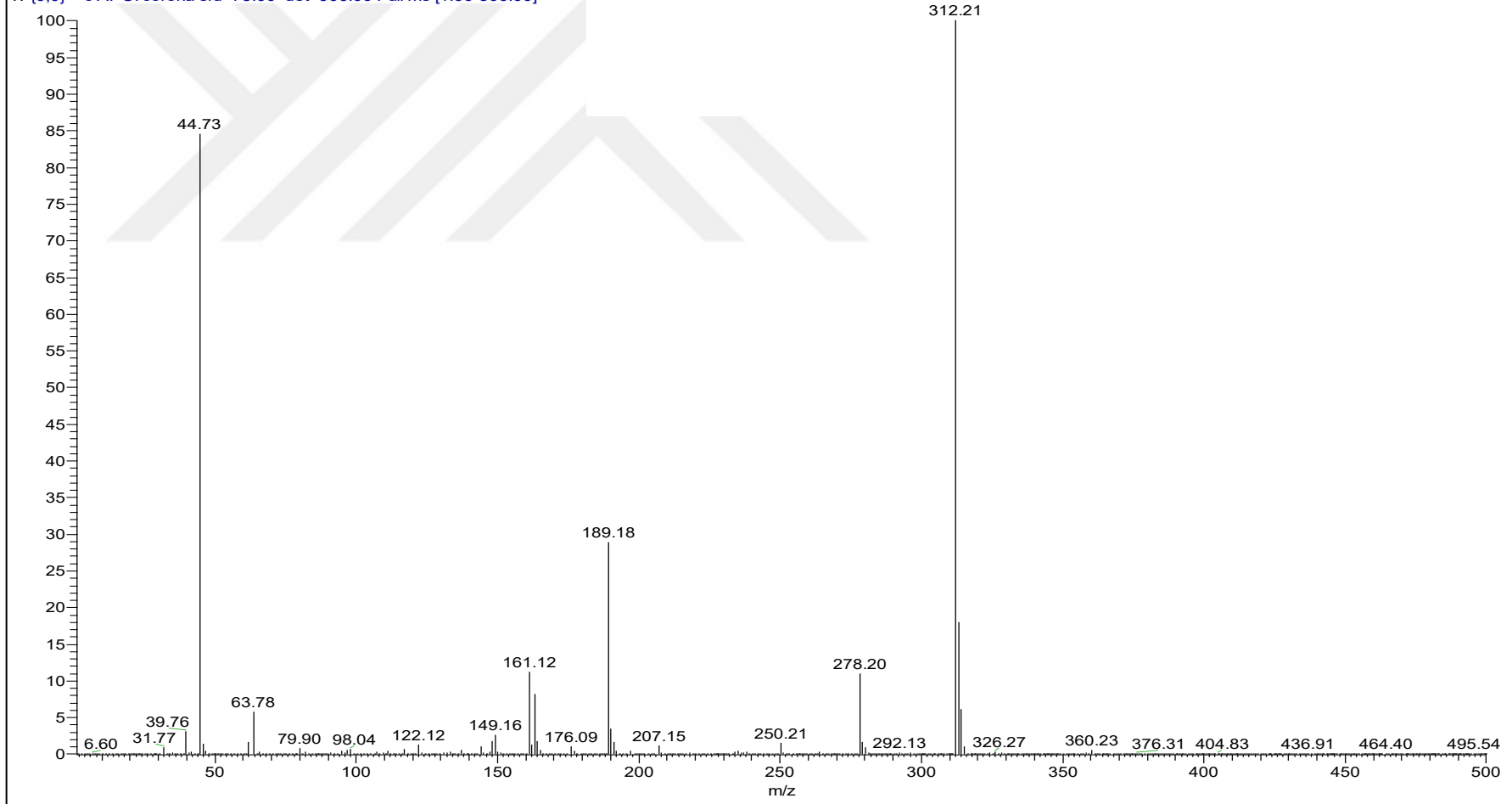


Spektrum 228. BS13 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

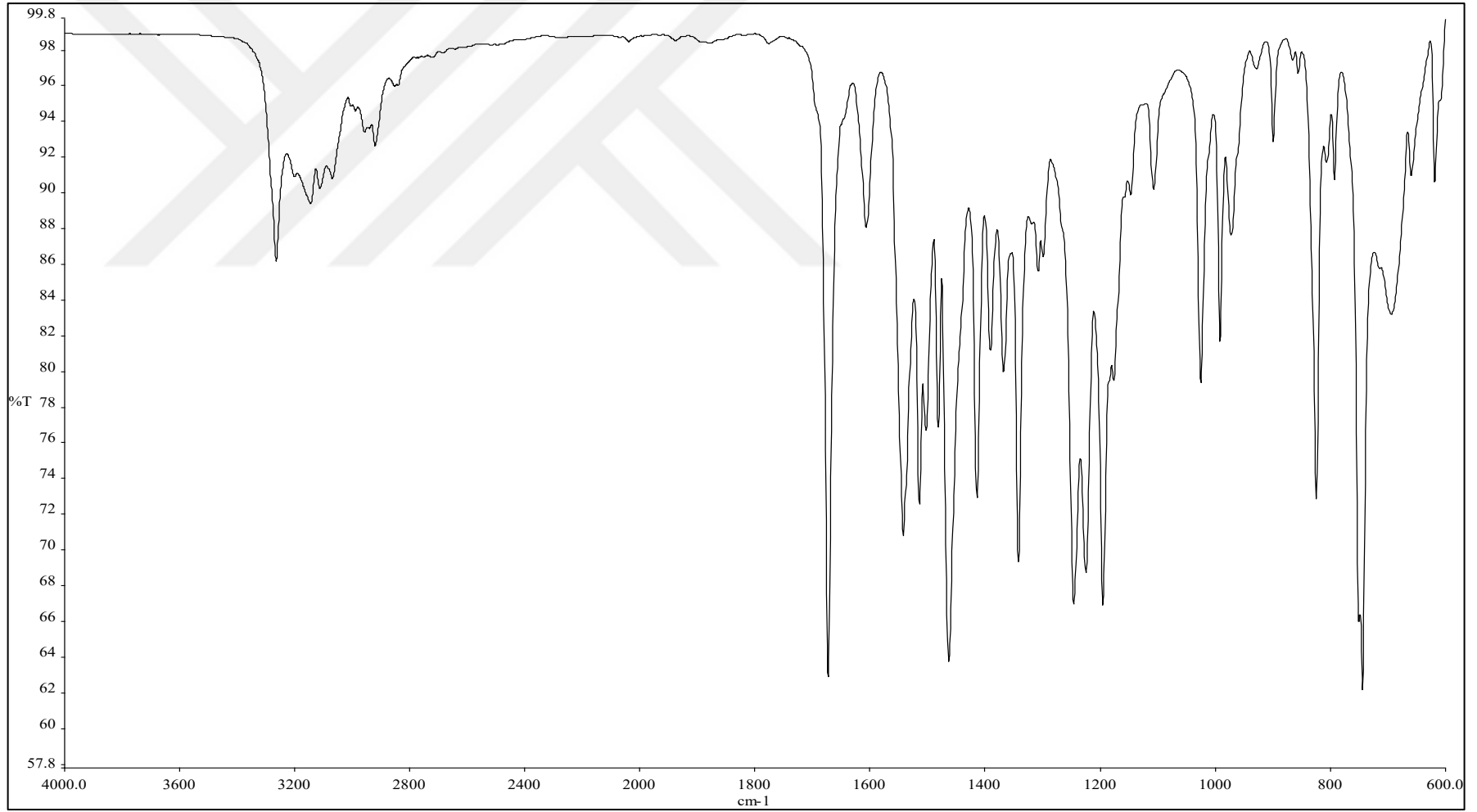


Spektrum 229. BS13 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

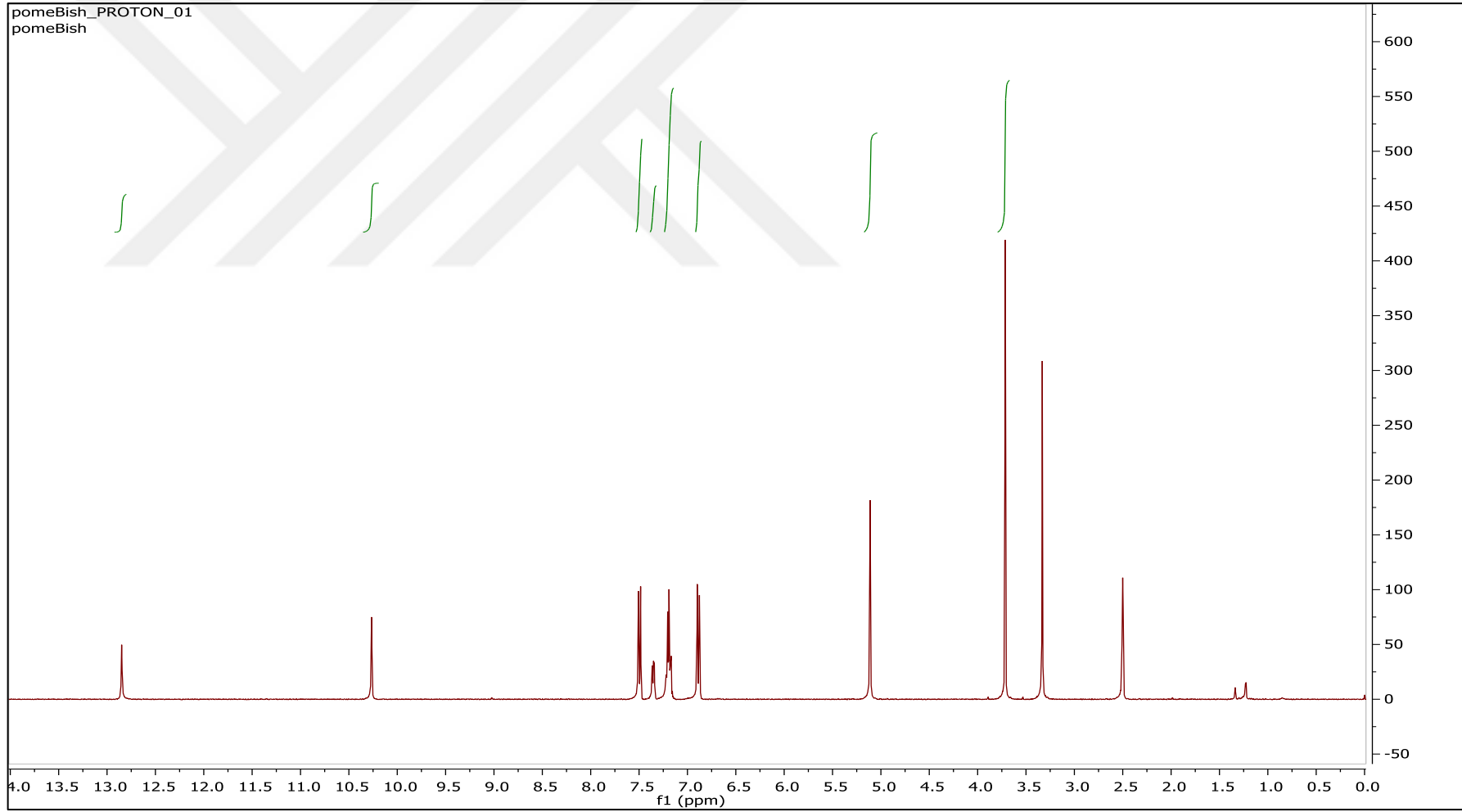
MOME-apci-neg-der #58 RT: 0.51 AV: 1 NL: 2.27E6
T: {0,0} - c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]



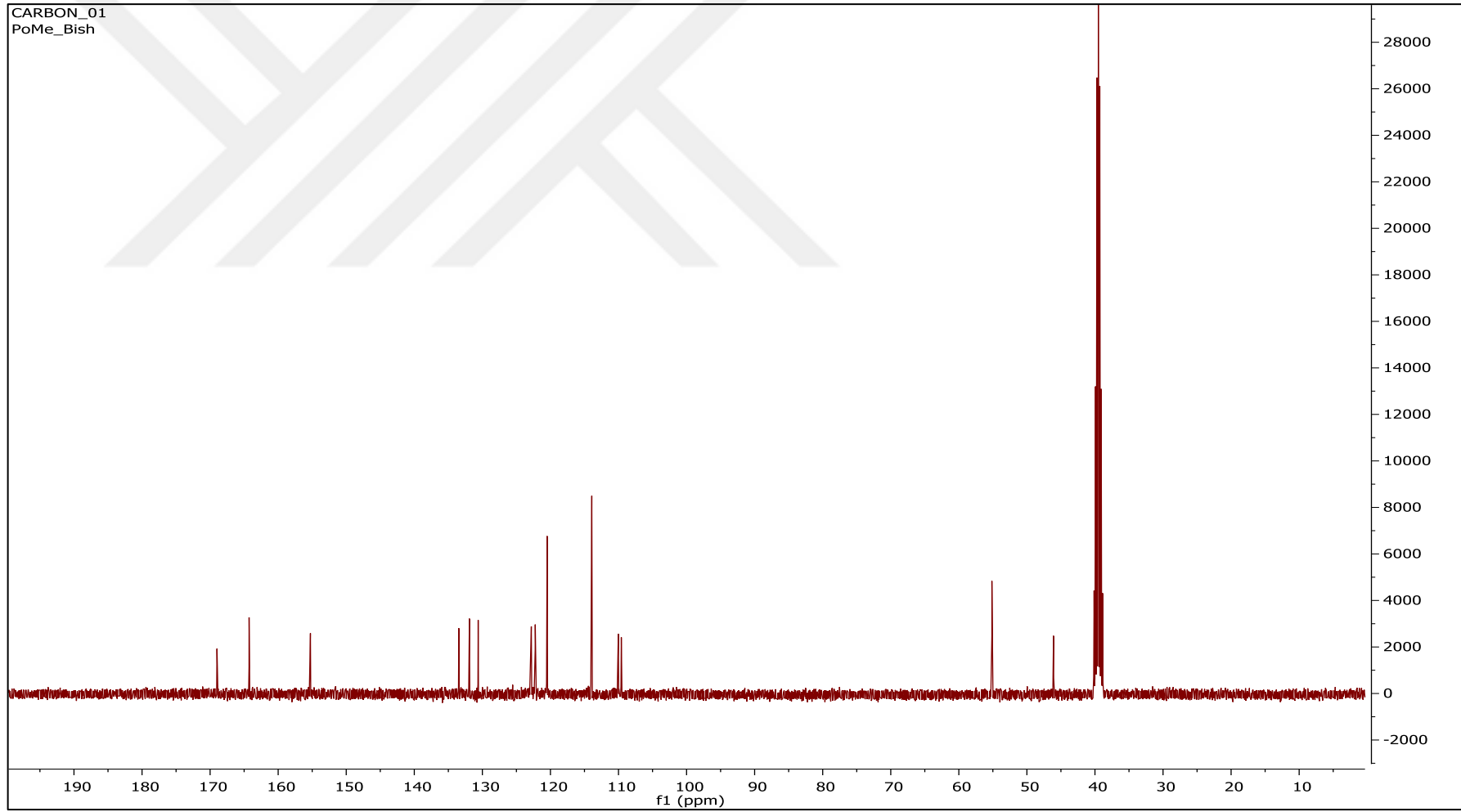
Spektrum 230. BS13 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



Spektrum 231. BS14 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

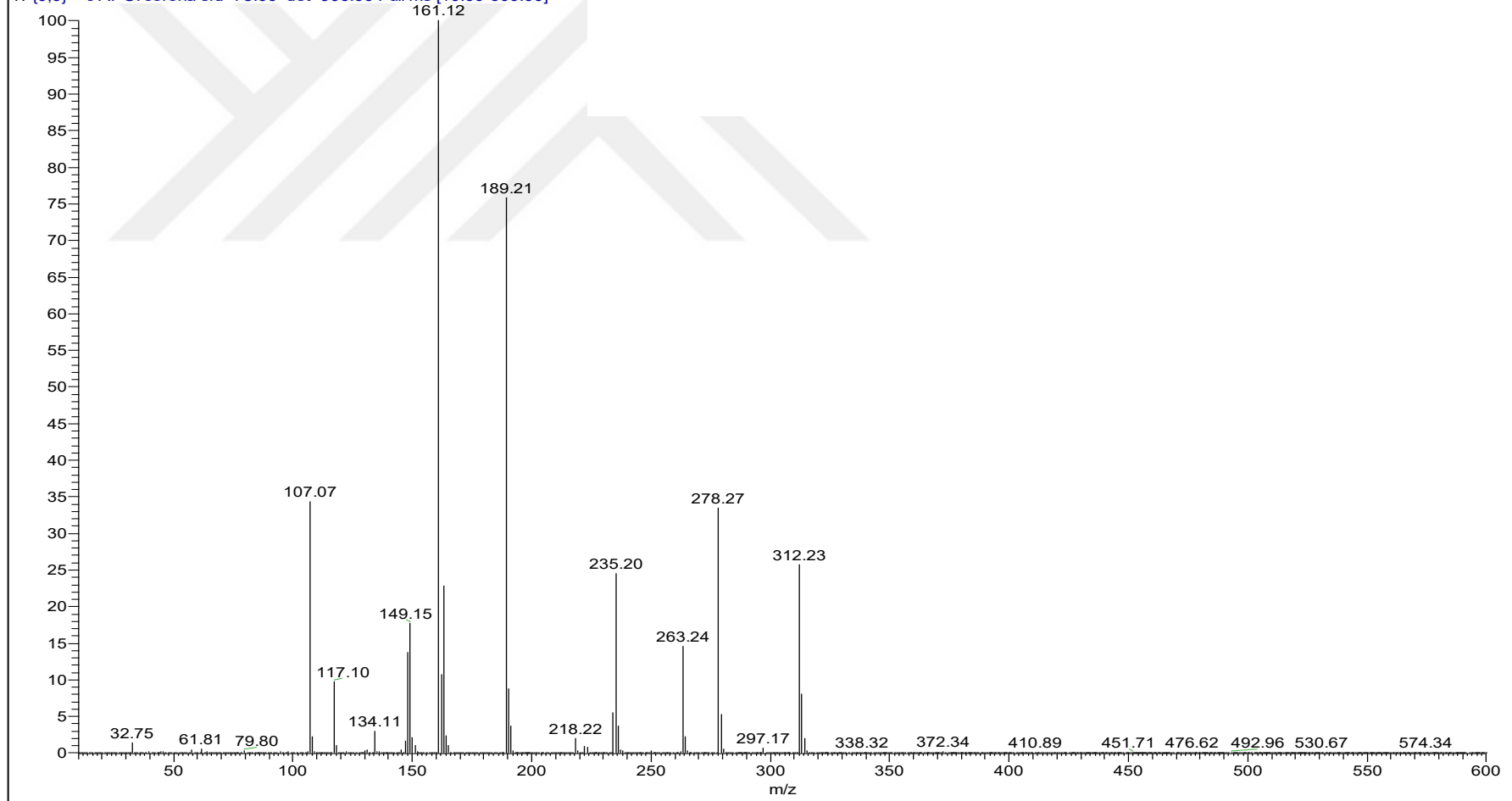


Spektrum 232. BS14 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

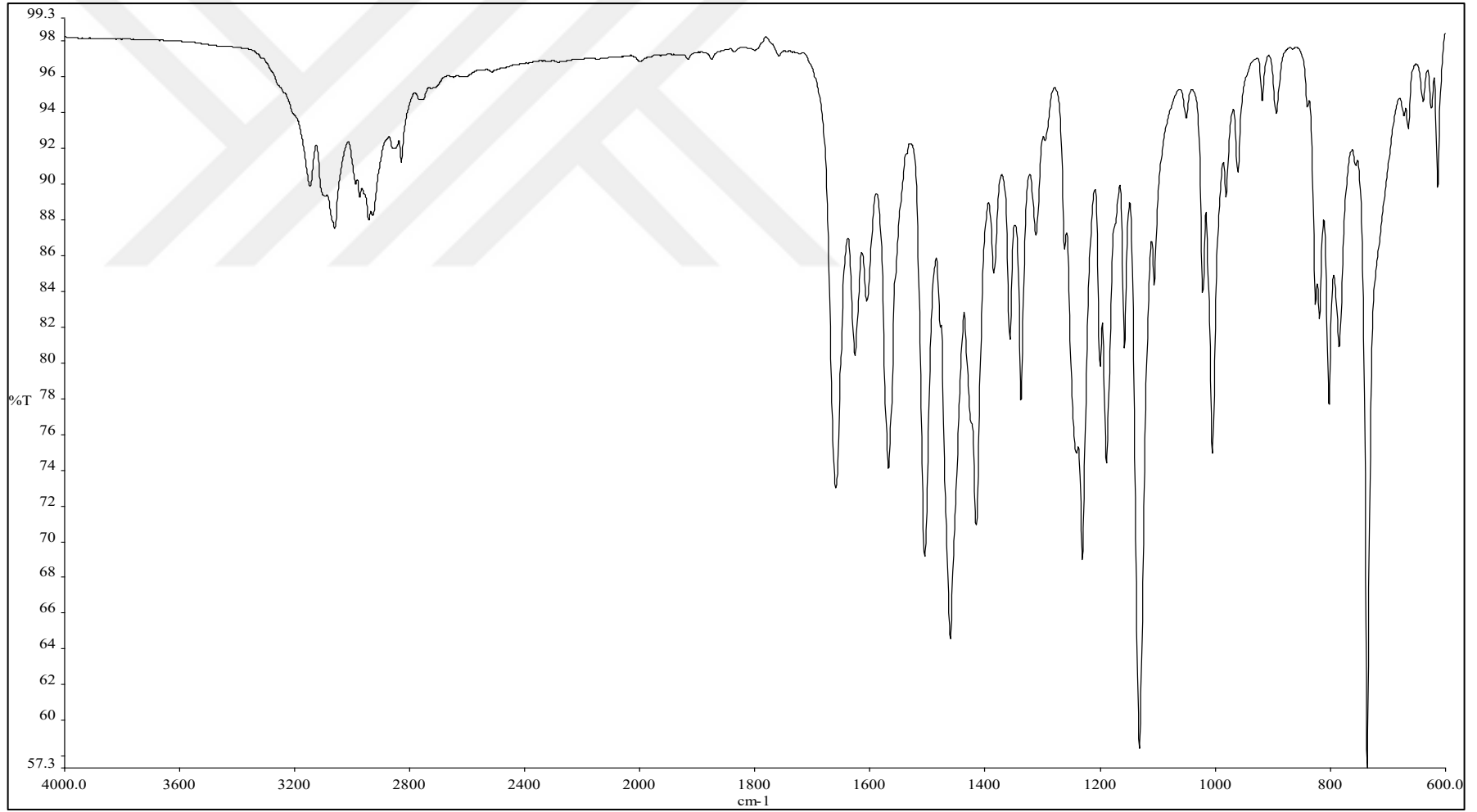


Spektrum 233. BS14 Kodlu Bileşiğın ^{13}C NMR (DMSO- d_6) Spektrumu

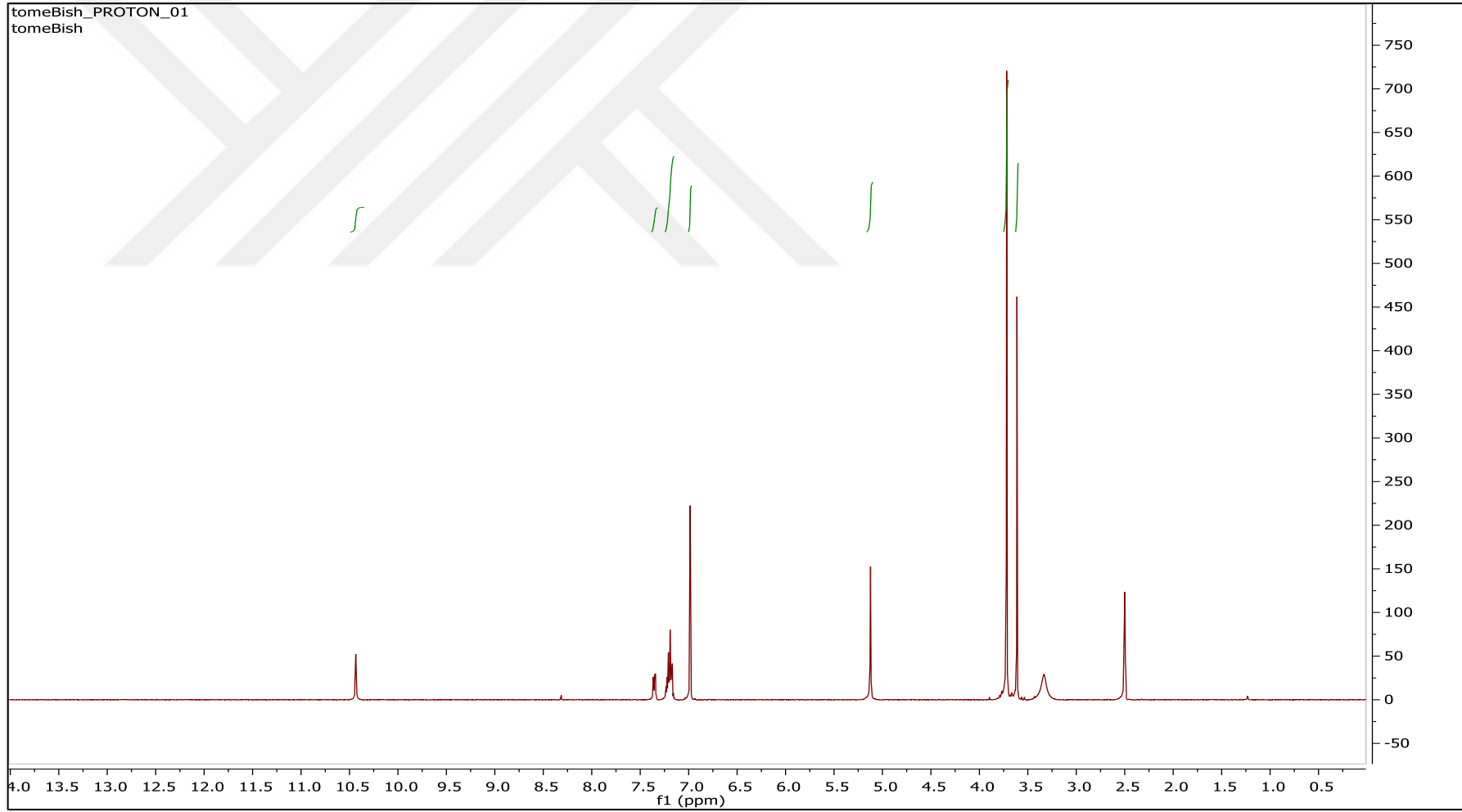
p-oMe-Bish-neg #51 RT: 0.46 AV: 1 NL: 4.40E6
T: {0,0} - c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [10.00-600.00]



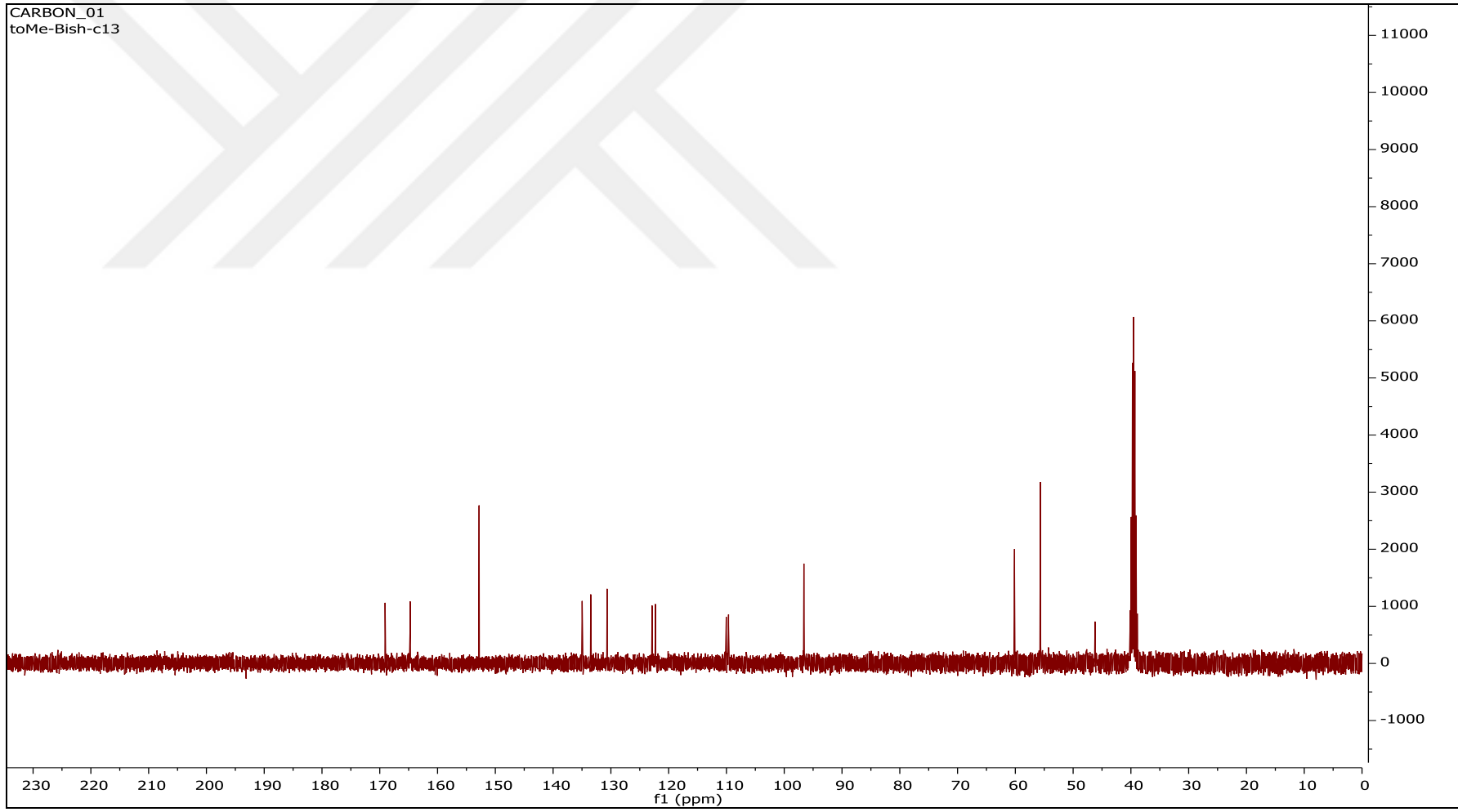
Spektrum 234. BS14 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



Spektrum 235. BS15 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

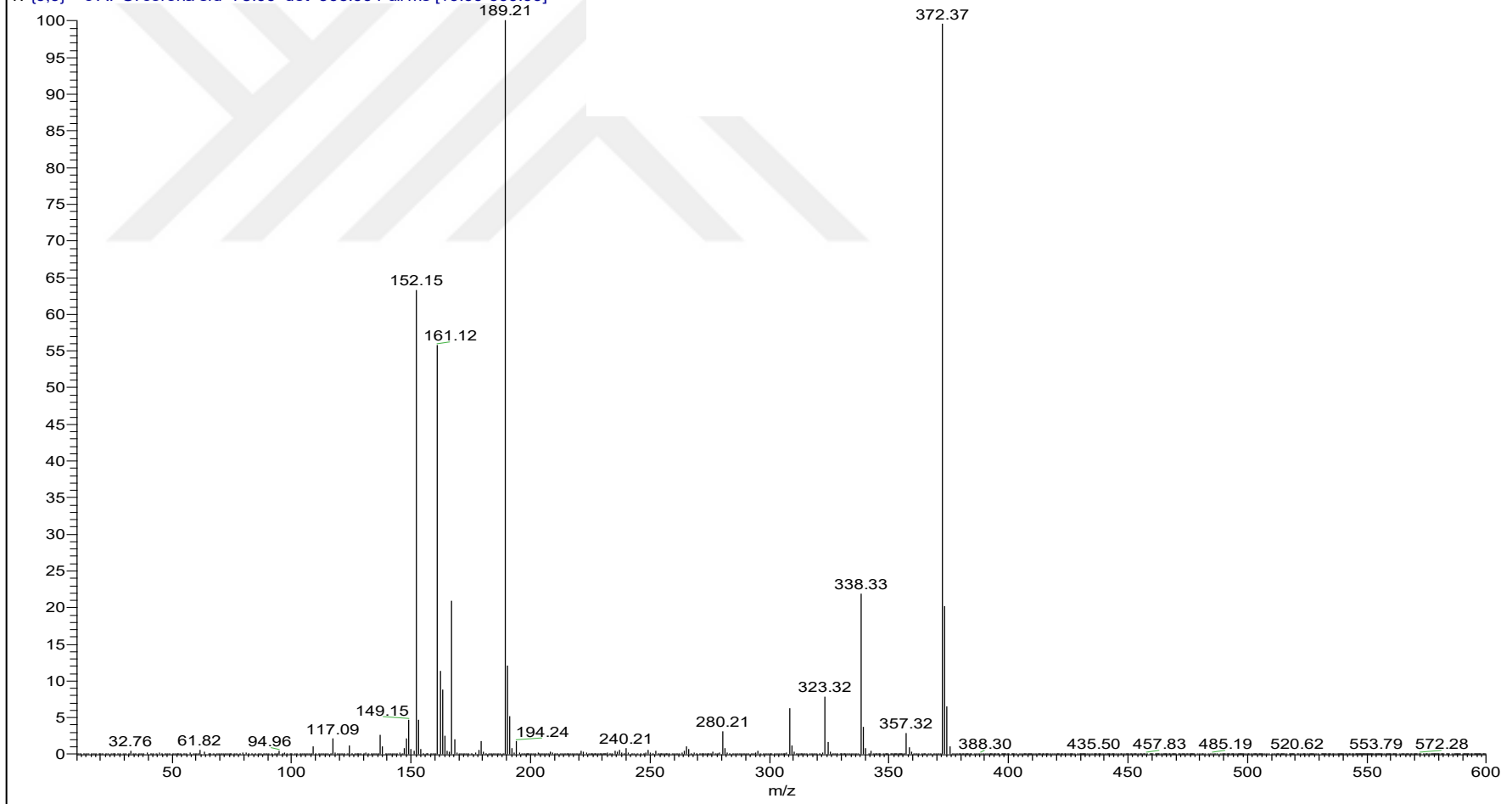


Spektrum 236. BS15 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

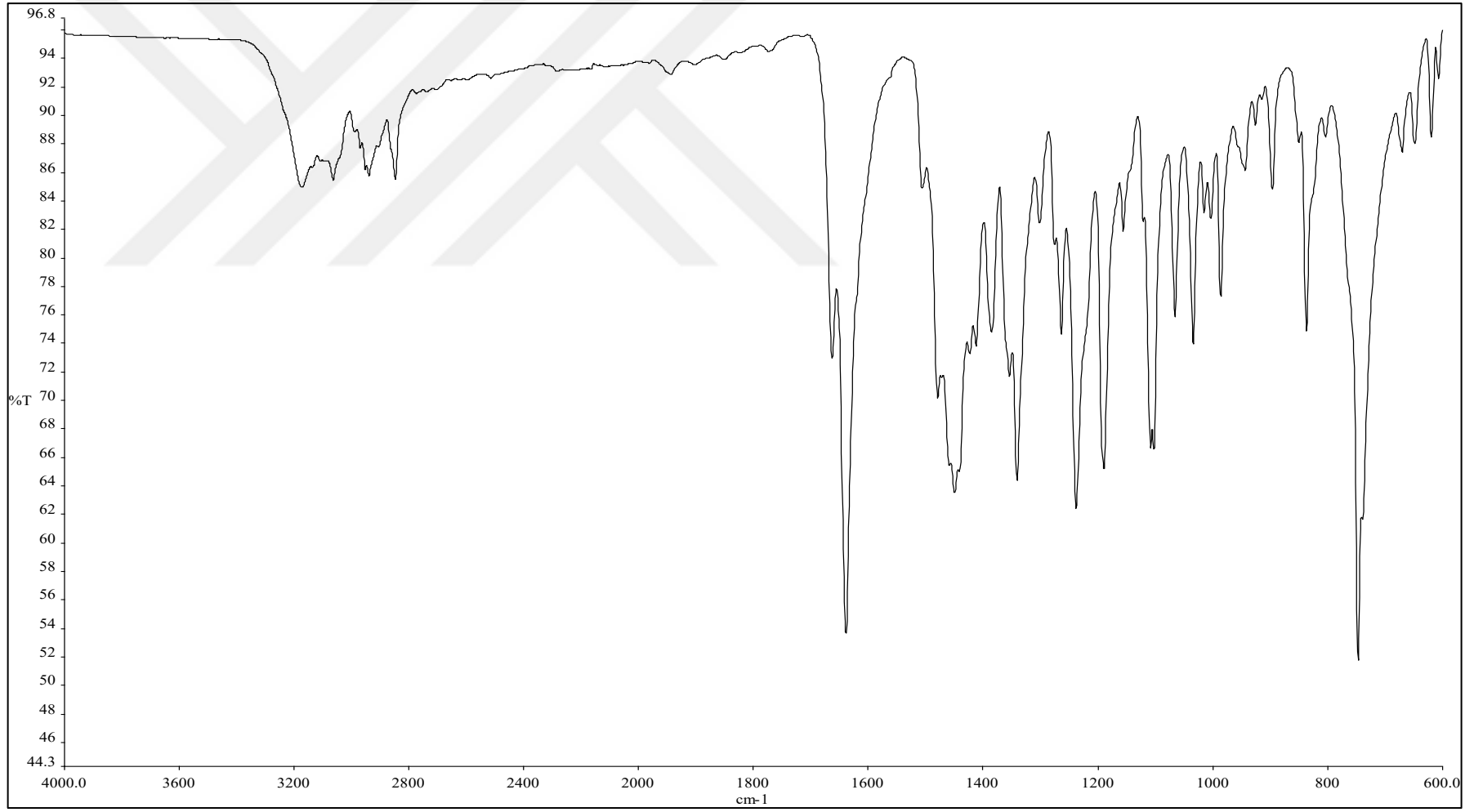


Spektrum 237. BS15 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

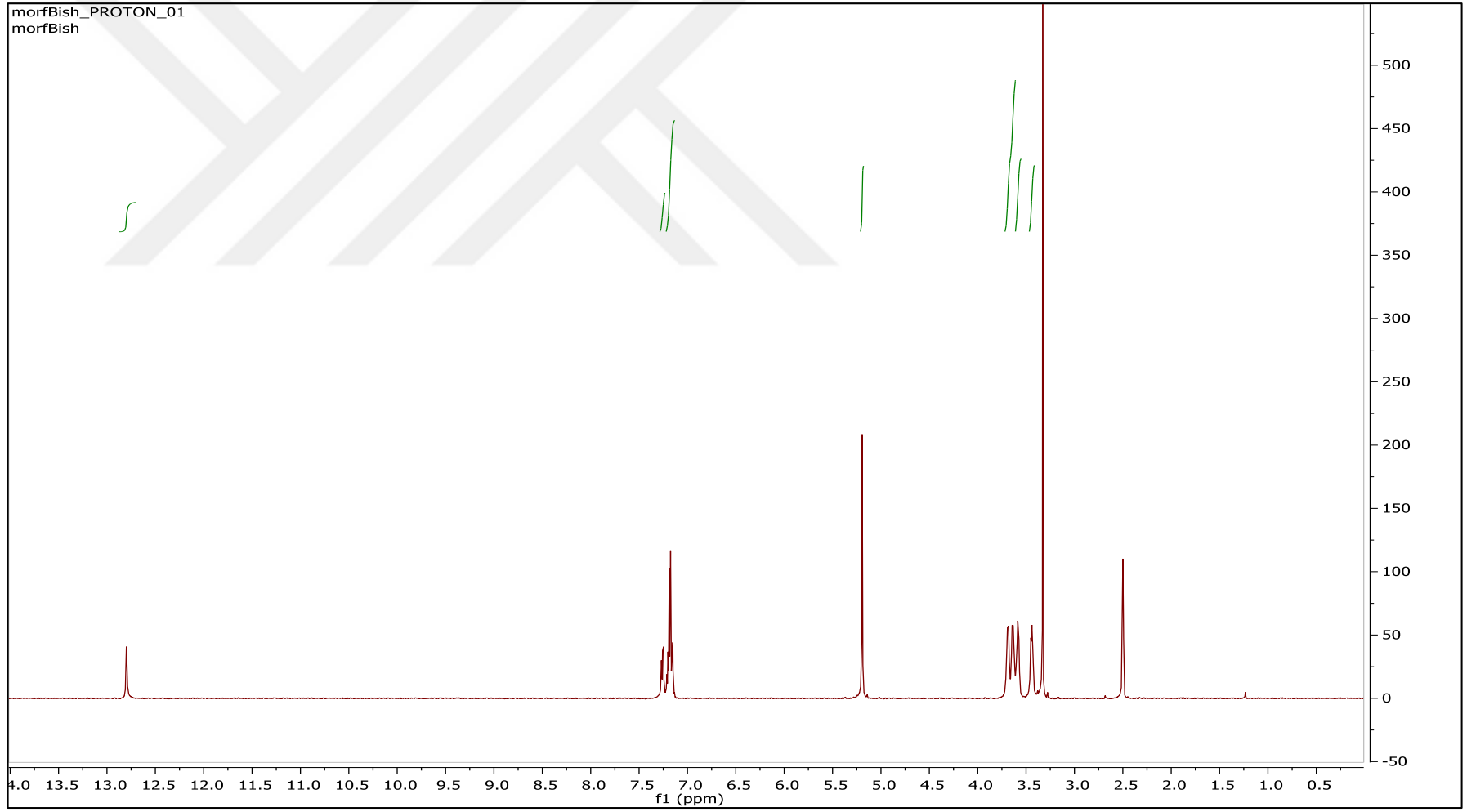
o-me-Bish-neg #50 RT: 0.45 AV: 1 NL: 6.10E6
T: {0,0} - c APCi corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [10.00-600.00]



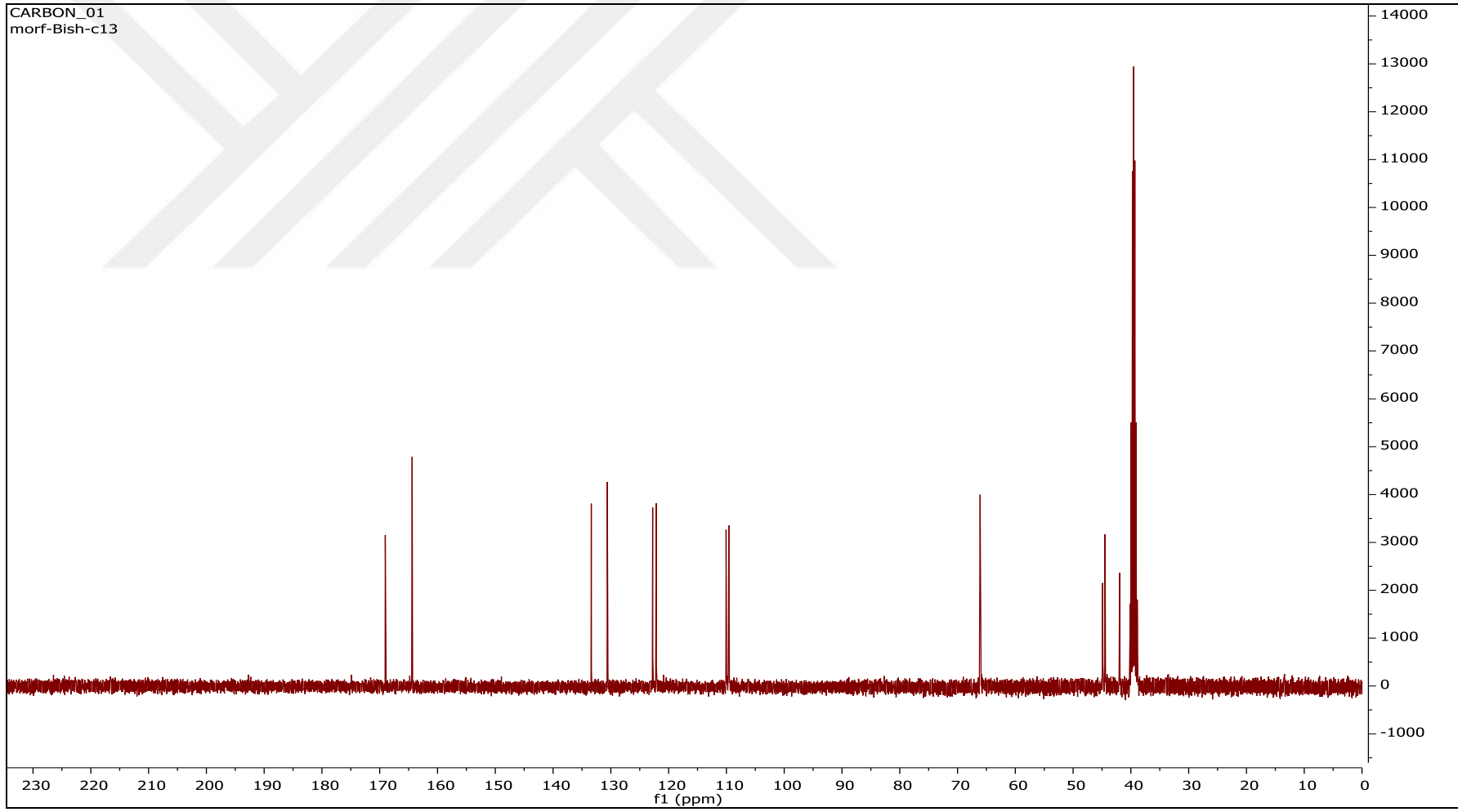
Spektrum 238. BS15 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



Spektrum 239. BS16 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

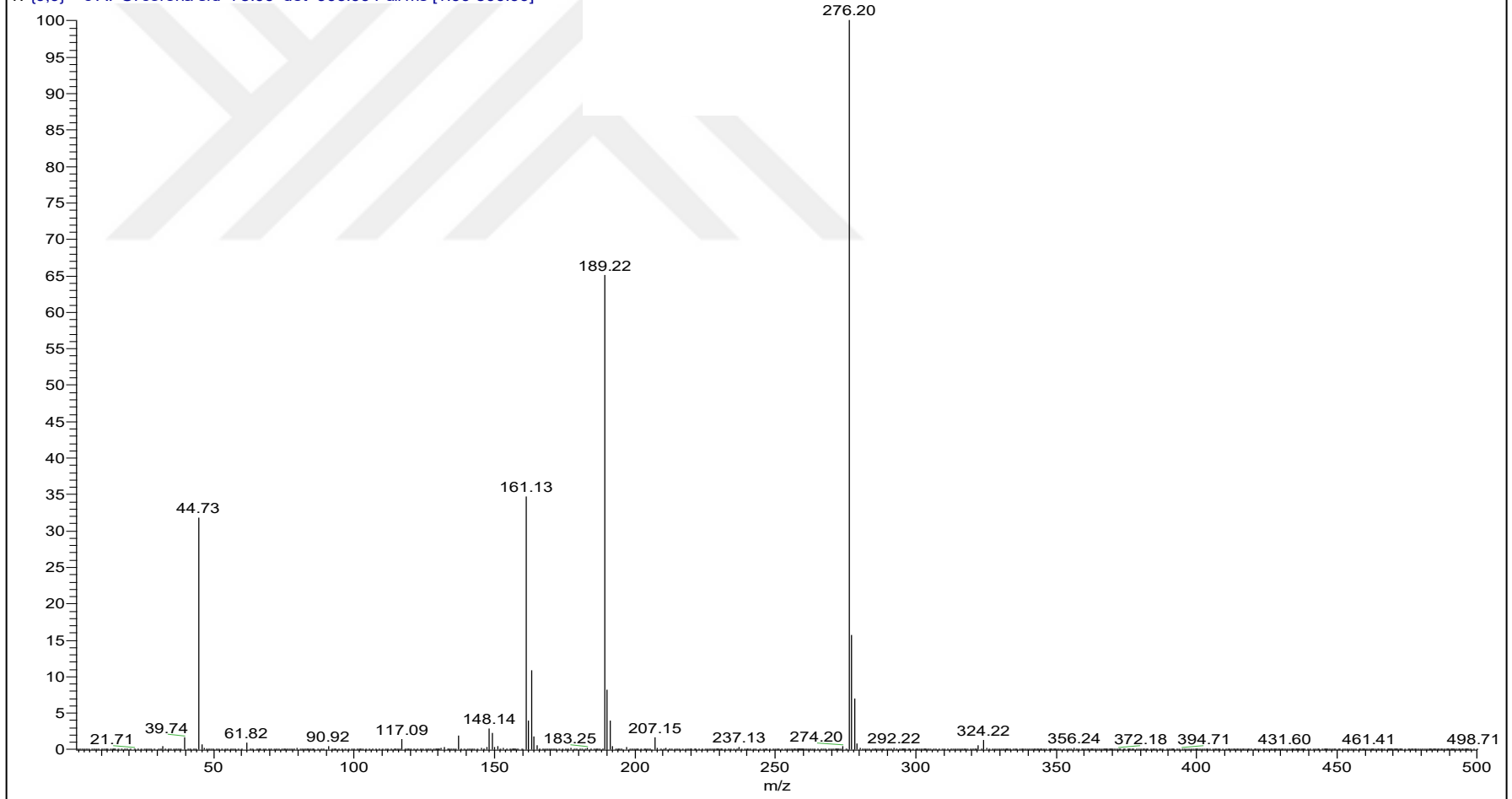


Spektrum 240. BS16 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) Spektrumu

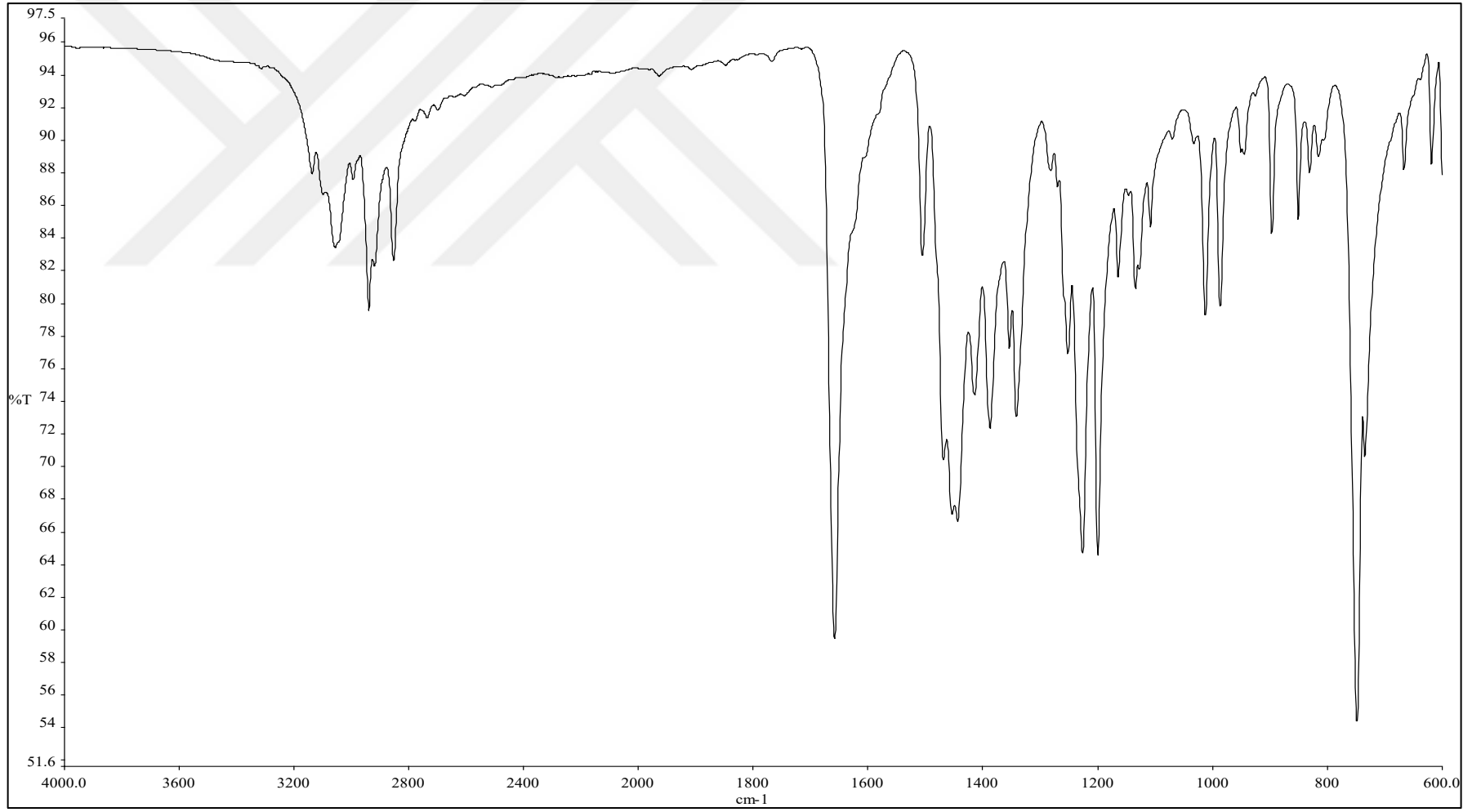


Spektrum 241. BS16 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

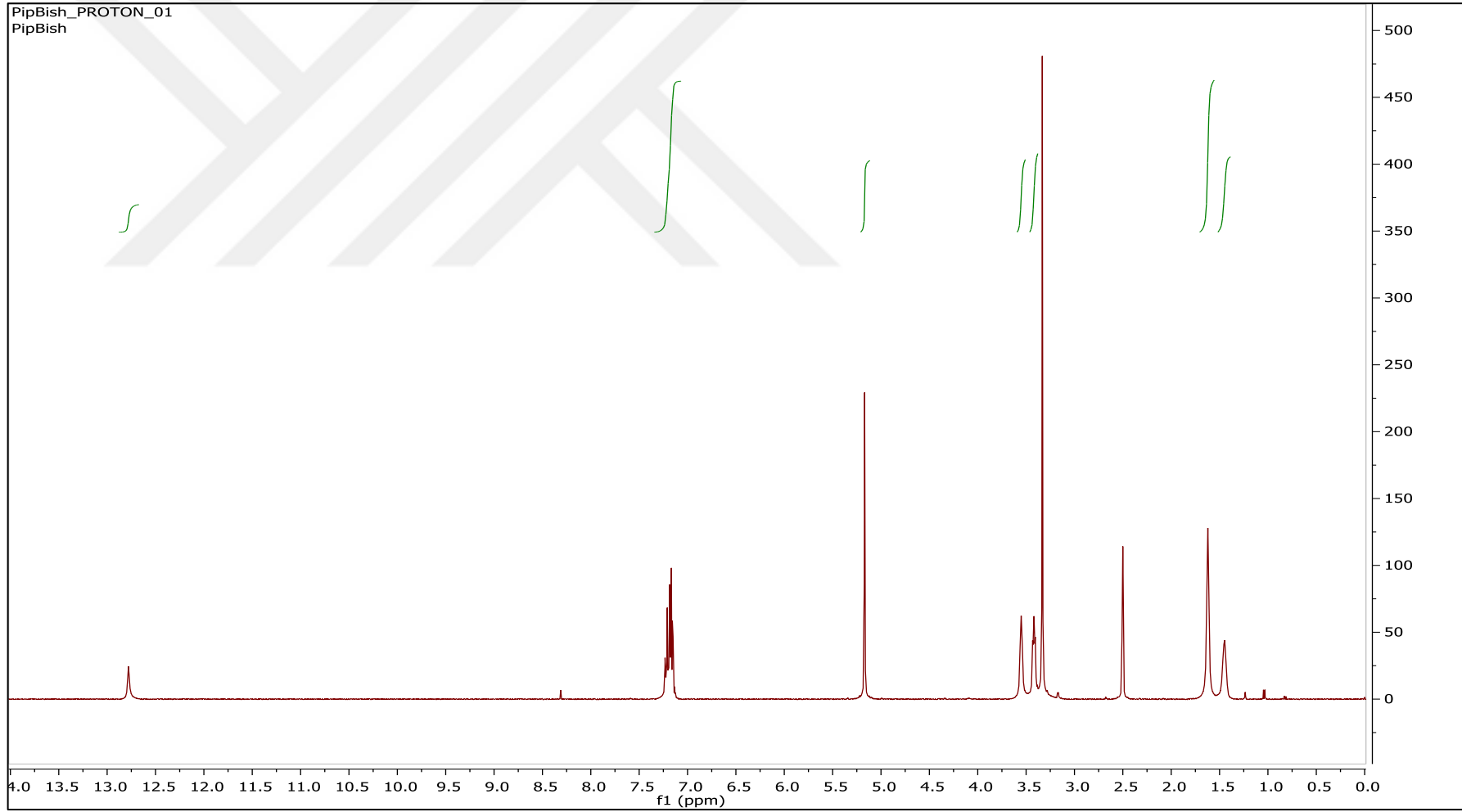
morf-Bish-apci-neg #36 RT: 0.32 AV: 1 NL: 4.52E6
T: {0,0} - c APCI corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]



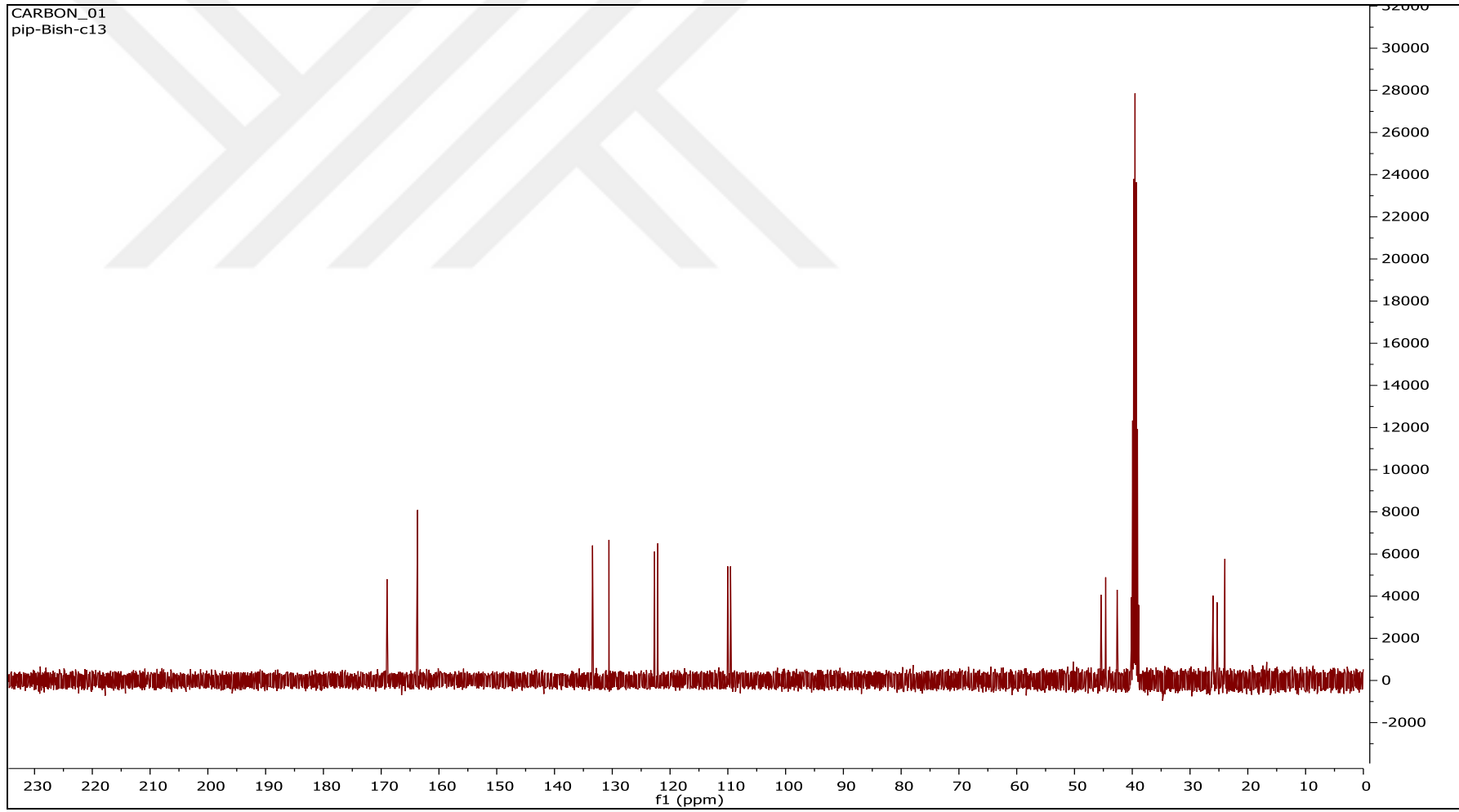
Spektrum 242. BS16 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



Spektrum 243. BS17 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

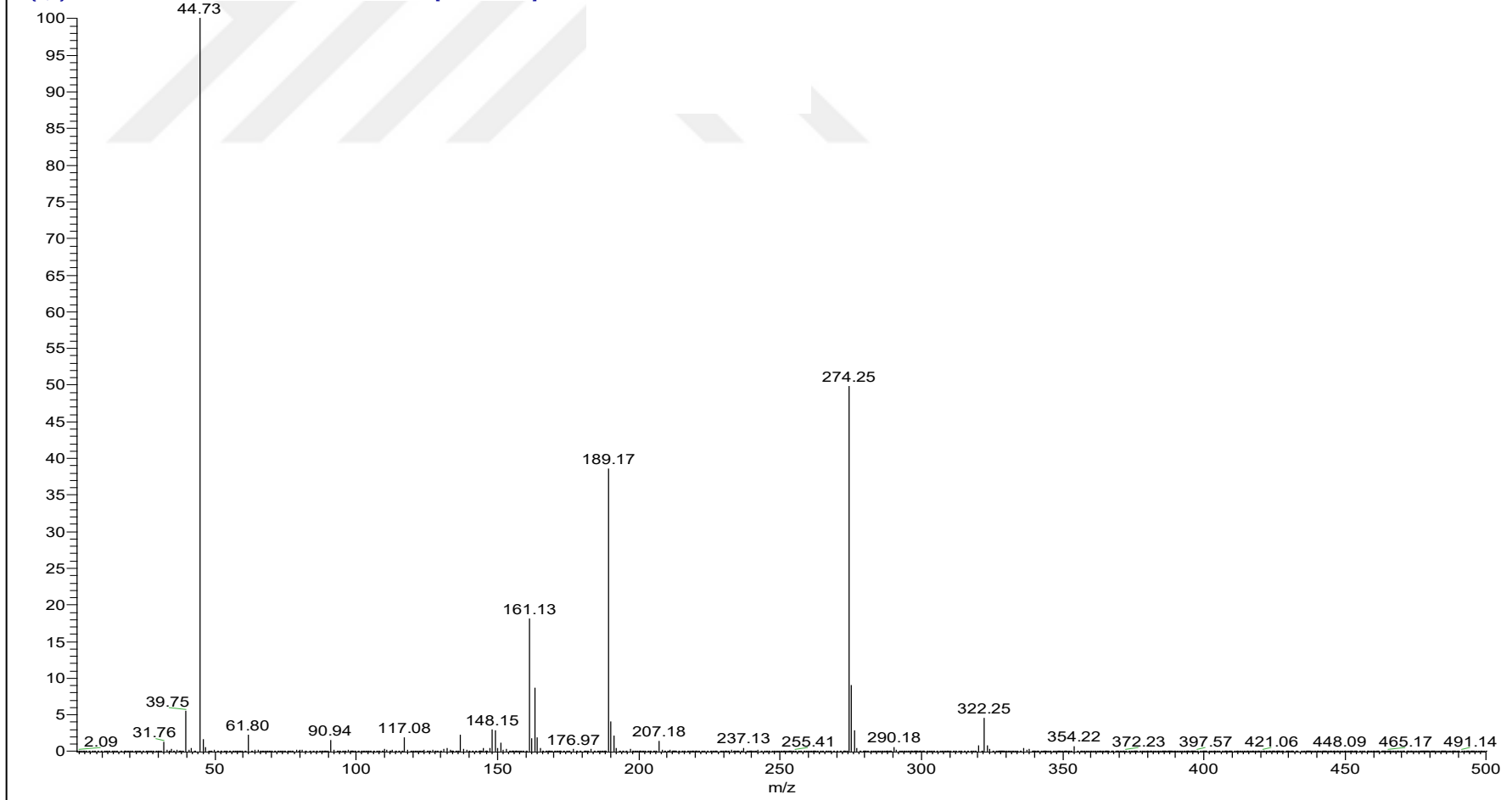


Spektrum 244. BS17 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

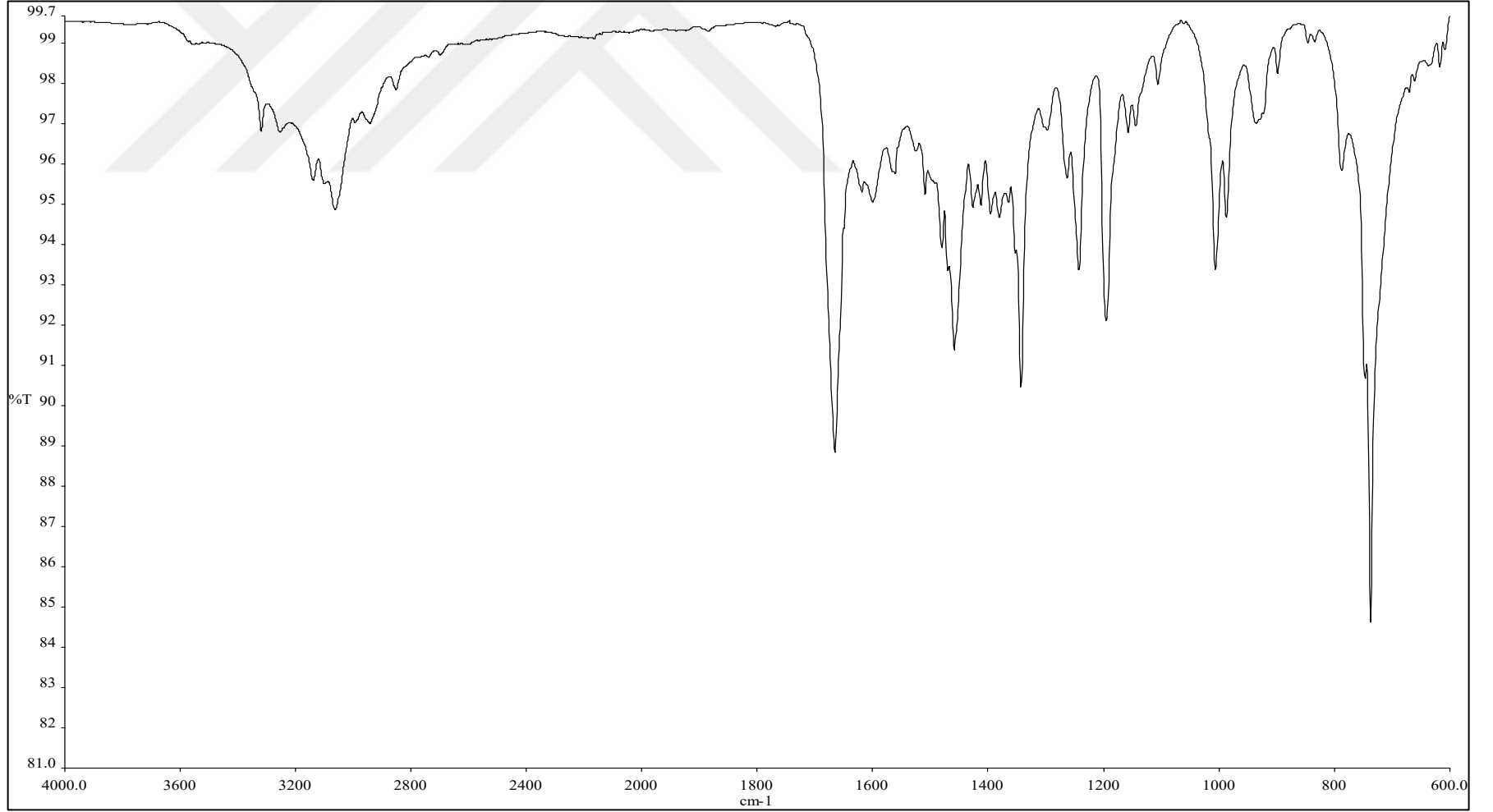


Spektrum 245. BS17 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

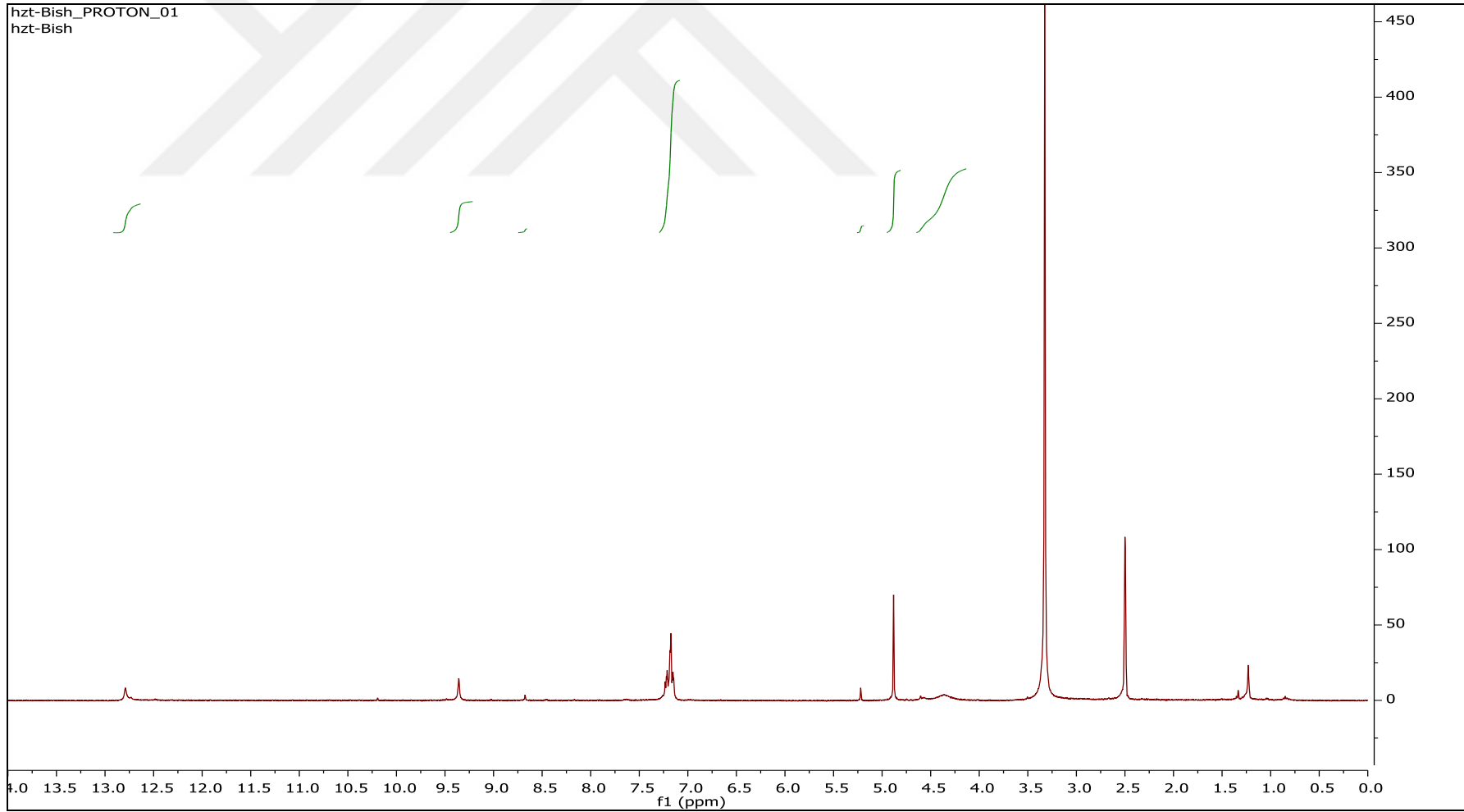
pip-Bish-apci-neg #48 RT: 0.42 AV: 1 NL: 1.54E6
T: {0,0} - c APCL corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]



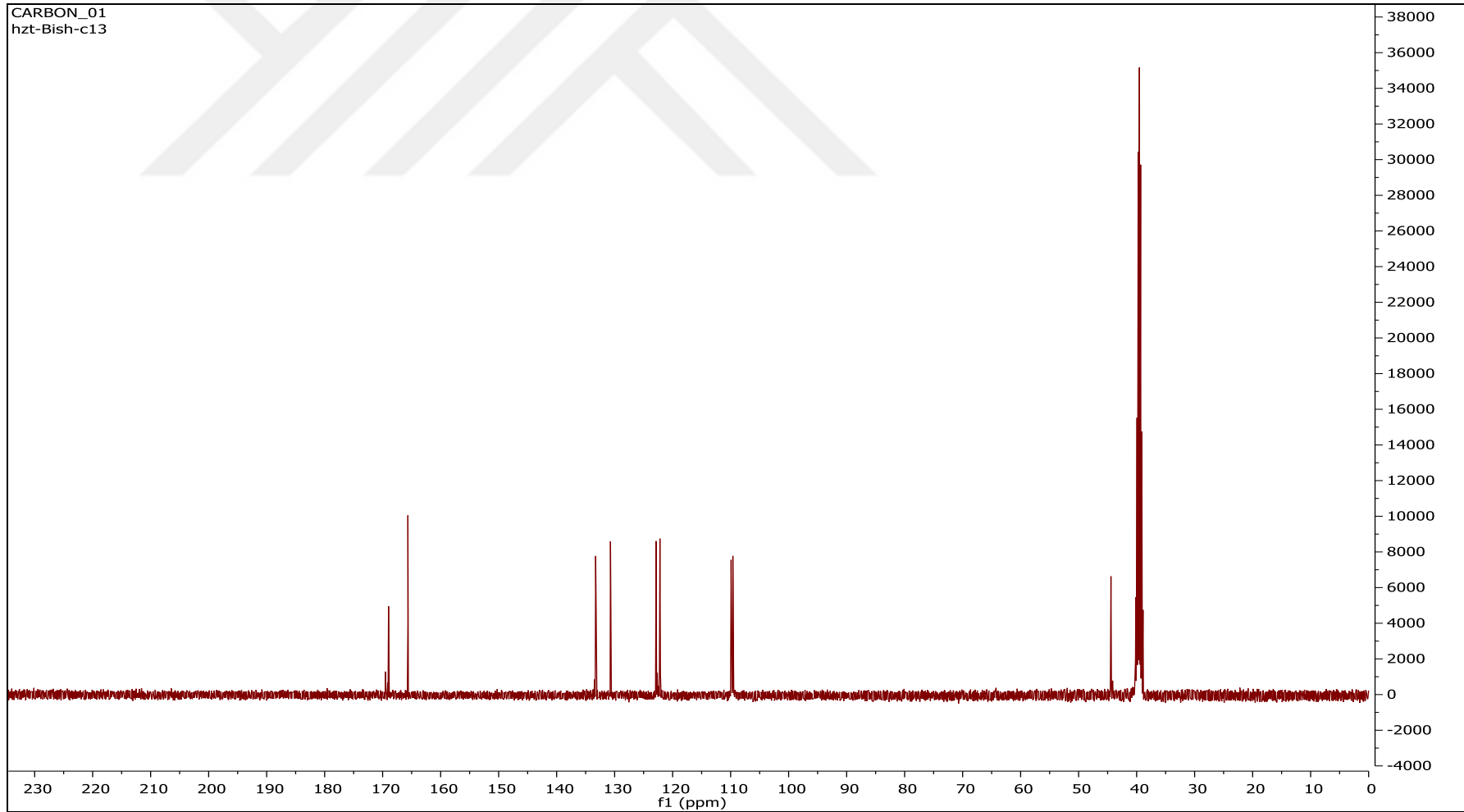
Spektrum 246. BS17 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



Spektrum 247. BS18 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

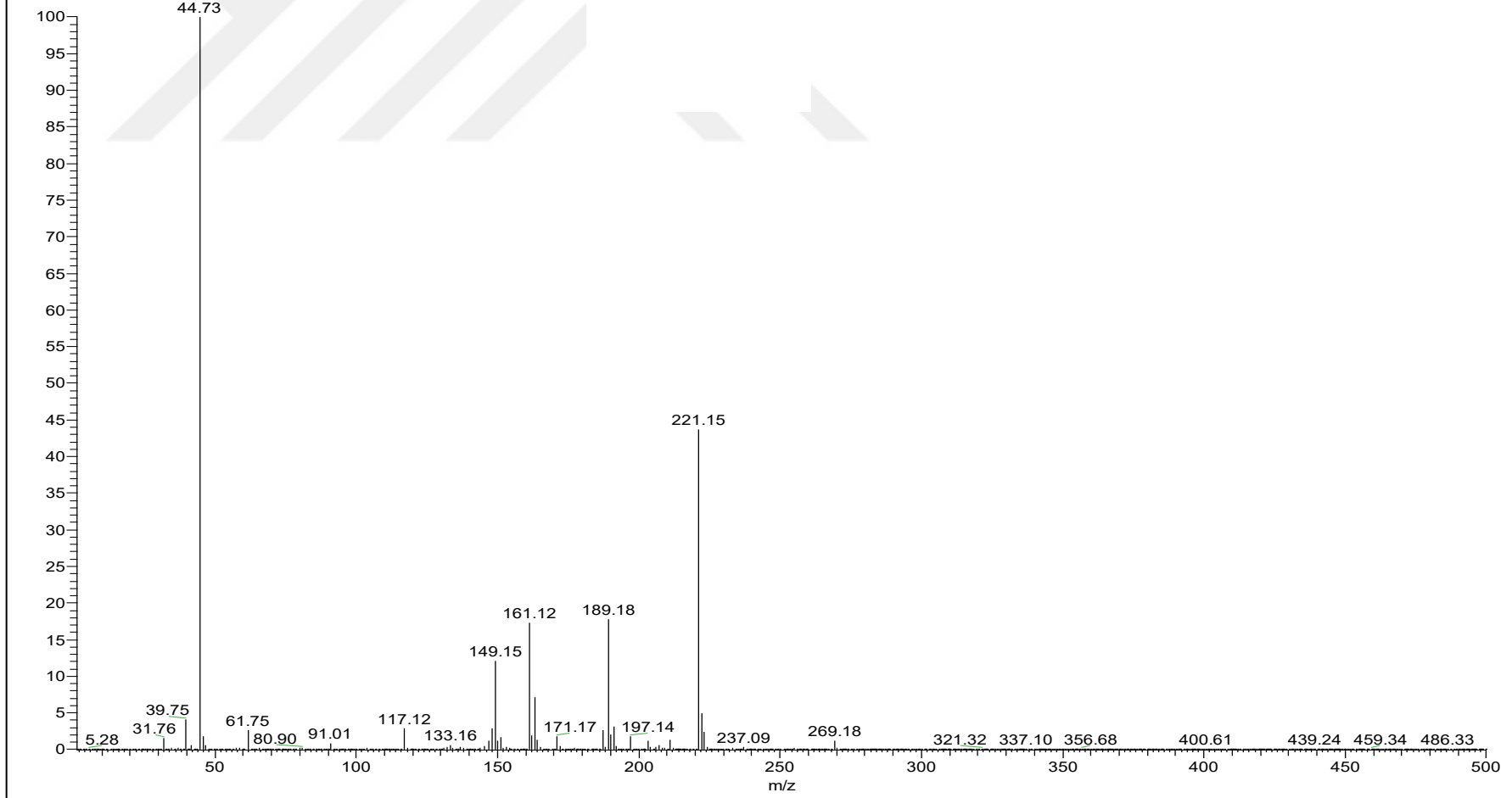


Spektrum 248. BS18 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

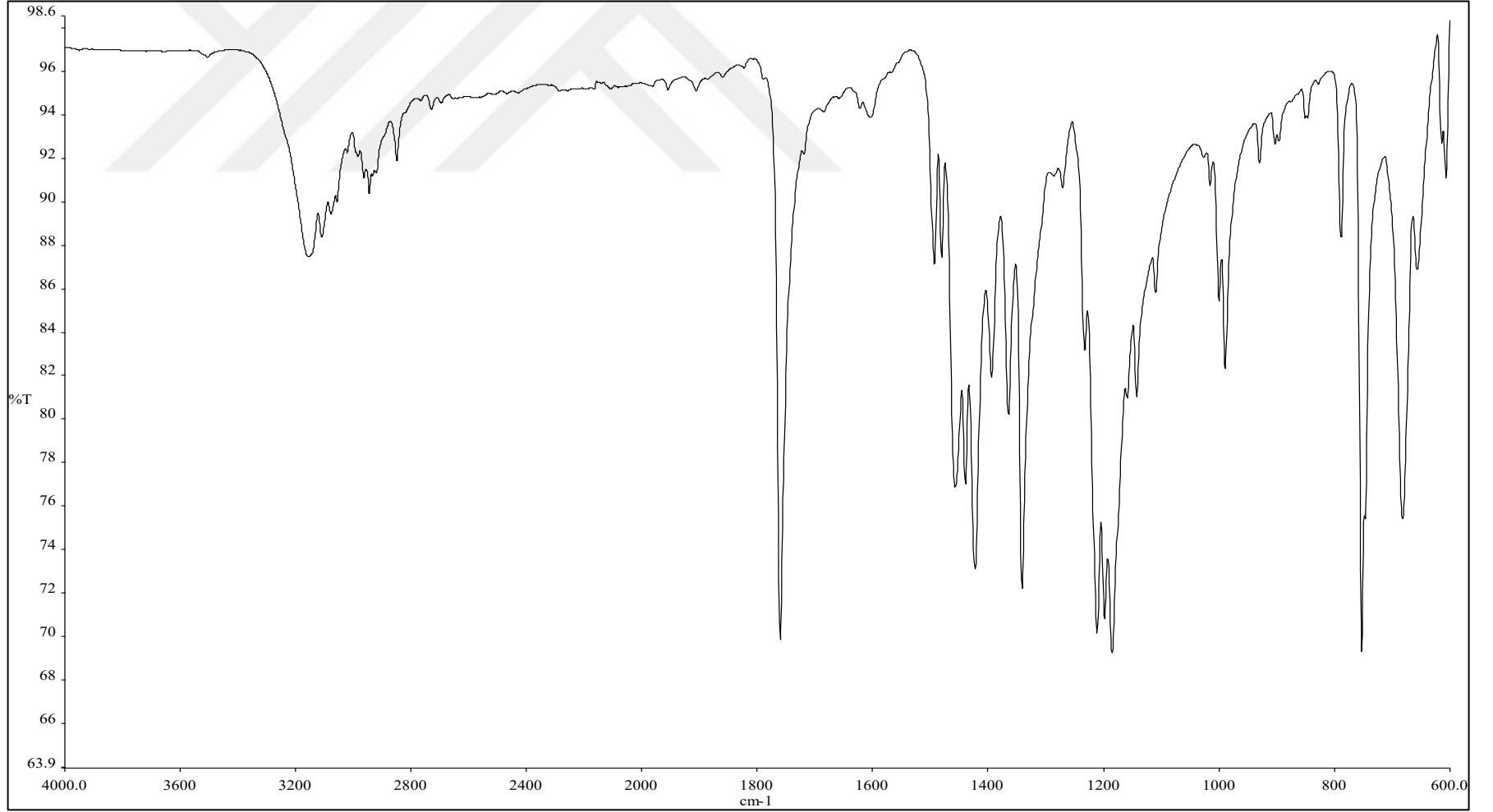


Spektrum 249. BS18 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

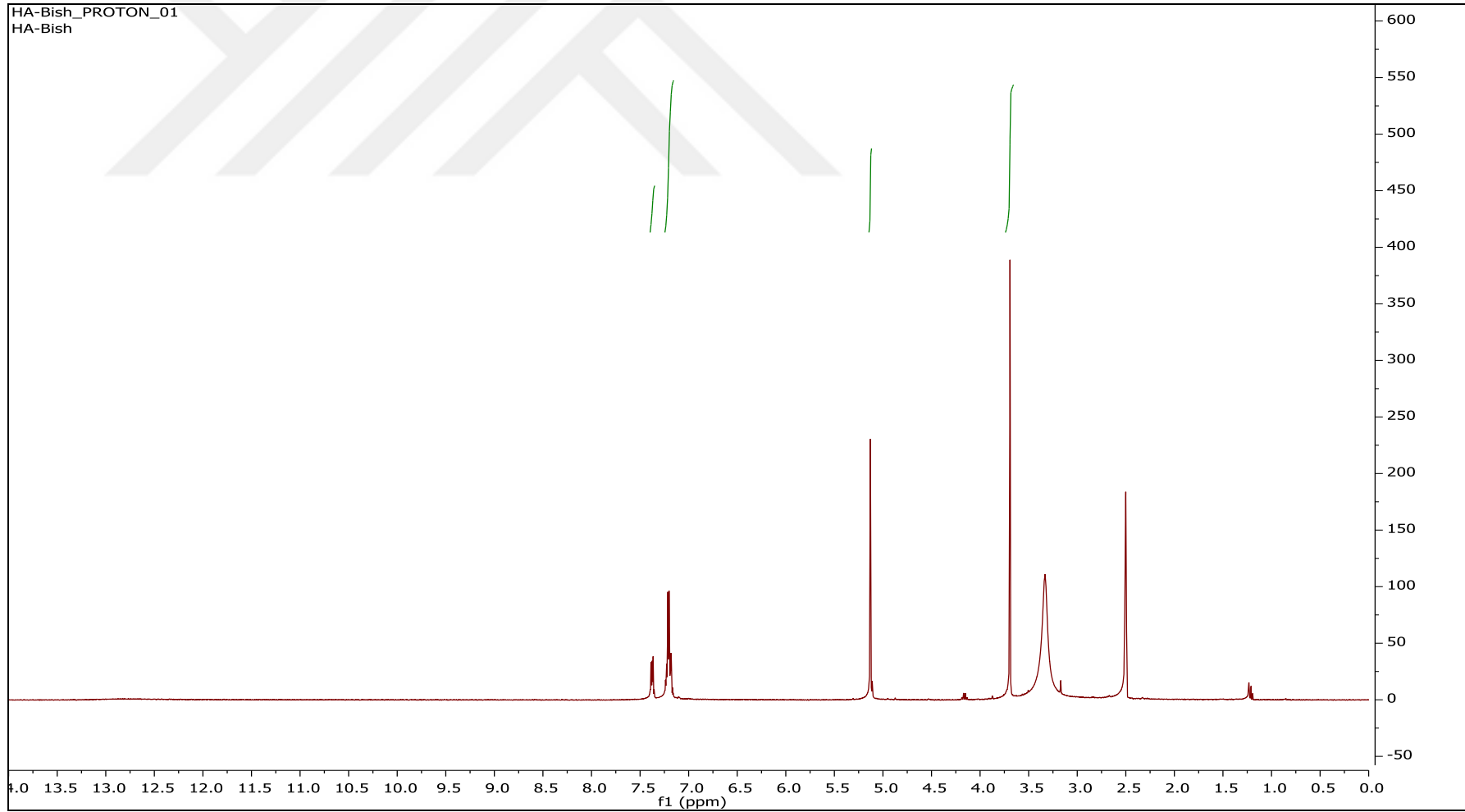
hzt-Bish-apci-neg #40 RT: 0.35 AV: 1 NL: 1.47E6
T: {0,0} - c APCL corona sid=75.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]



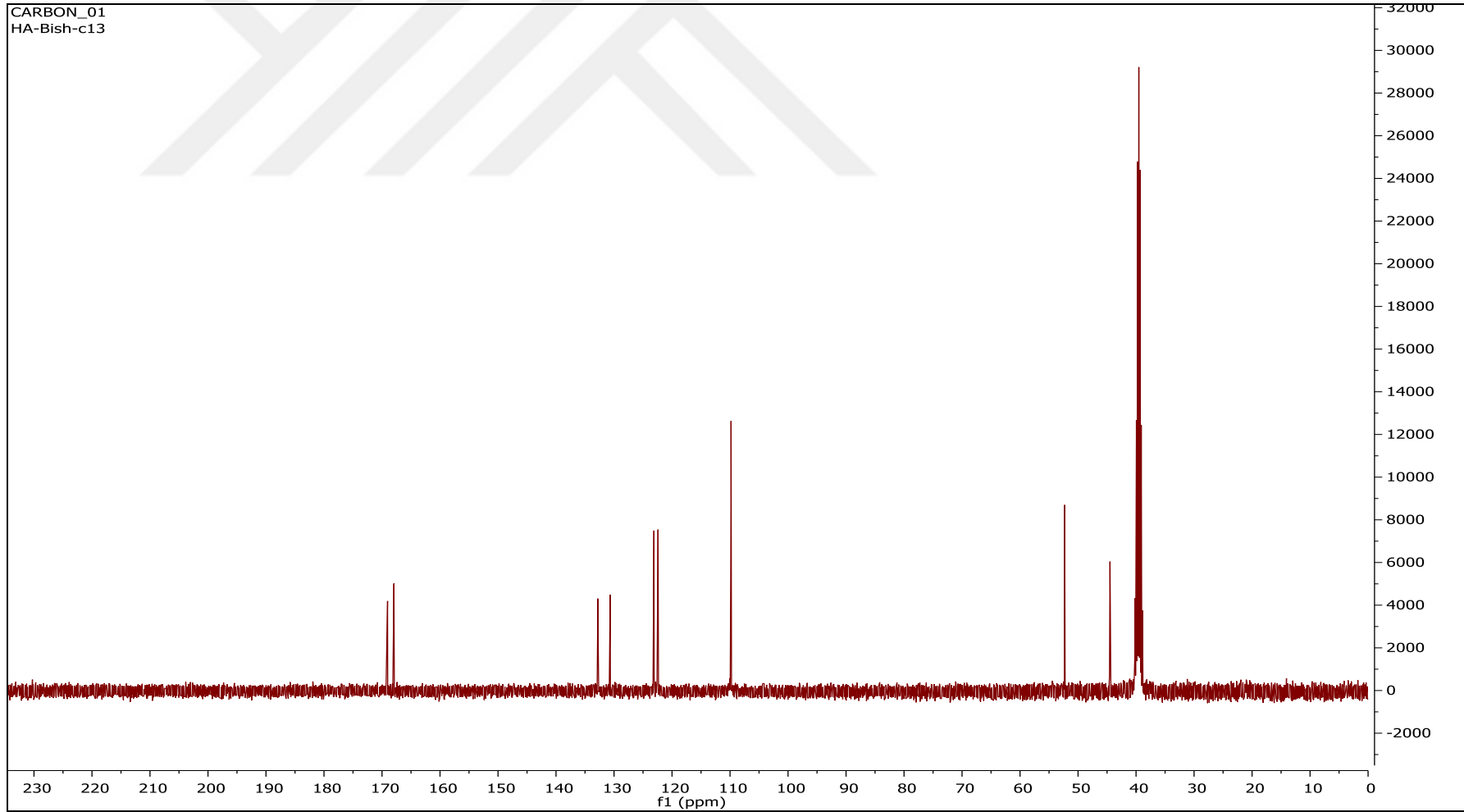
Spektrum 250. BS18 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu



Spektrum 251. BS19 Kodlu Bileşğin IR Spektrumu

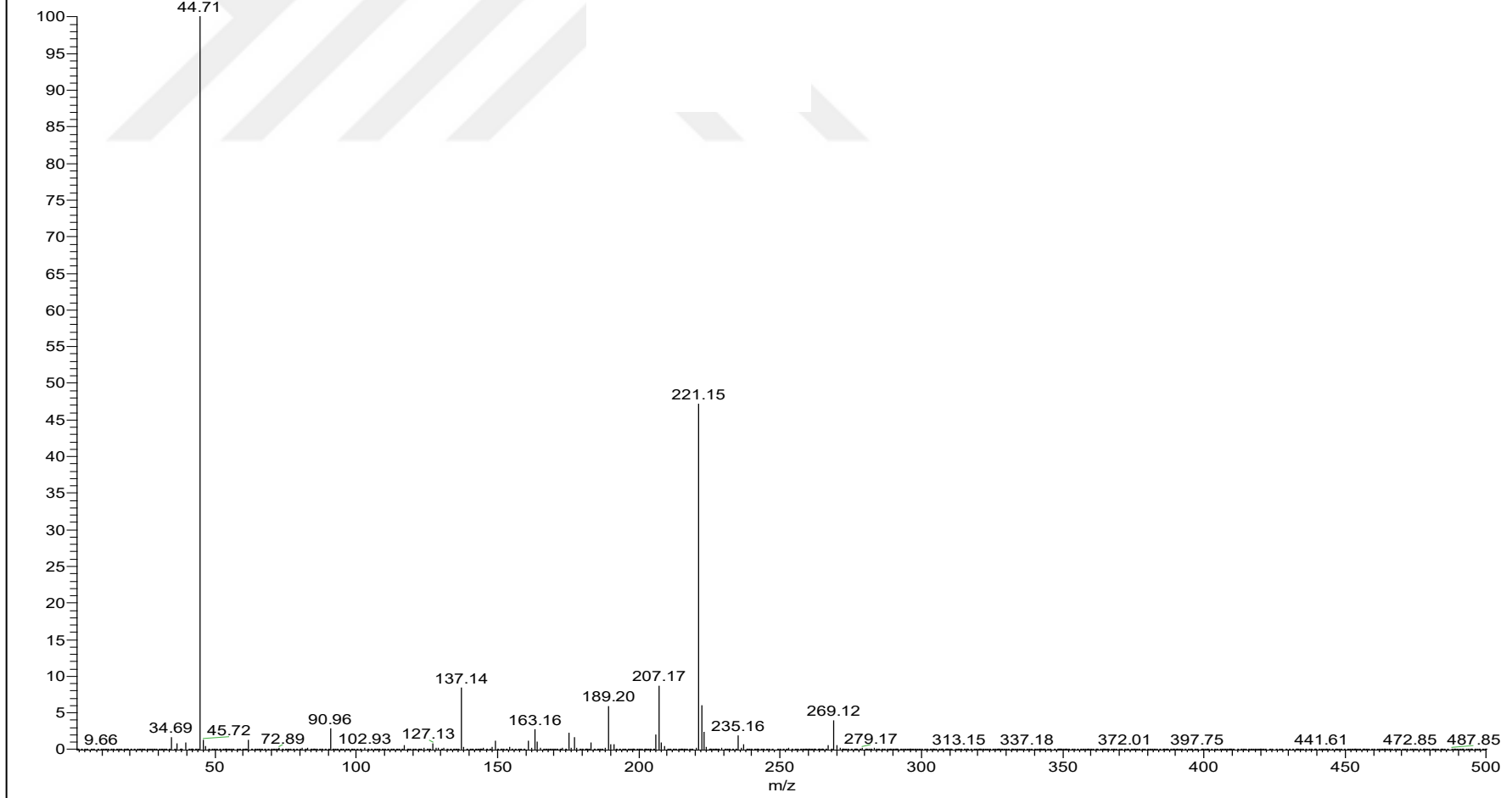


Spektrum 252. BS19 Kodlu Bileşğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu



Spektrum 253. BS19 Kodlu Bileşğin ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) Spektrumu

MABish-apci-neg50v #49 RT: 0.43 AV: 1 NL: 4.64E6
T: {0,0} - c APCL corona sid=50.00 det=906.00 Full ms [1.00-500.00]



Spektrum 254. BS19 Kodlu Bileşğin Kütle Spektrumu