

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**6-SÜBSTİTÜE-3(2*H*)-PİRİDAZİNON-2-ASETİL-2-
(SÜBSTİTÜEBENZALHİDRAZON)
TÜREVLERİNİN SENTEZLERİ VE BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİ**

DOKTORA TEZİ

Zeynep ÖZDEMİR
Gazi Üniversitesi ve İnönü Üniversitesi
Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Ortak Doktora Programı

DANIŞMAN
Prof. Dr. Mehtap UYSAL

MALATYA-2014

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**6-SÜBSTİTÜE-3(2*H*)-PİRİDAZİNON-2-ASETİL-2-
(SÜBSTİTÜEBENZALHİDRAZON)
TÜREVLERİNİN SENTEZLERİ VE BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİ**

DOKTORA TEZİ

Zeynep ÖZDEMİR

DANIŞMAN: Prof. Dr. Mehtap UYSAL

Bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2013/94 proje numarası ile desteklenmiştir.

MALATYA-2014

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

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

İmza

Jüri Başkanı, Prof. Dr. Mehtap UYSAL
Danışman: Gazi Üniversitesi



Üye: Prof. Dr. Kadriye BENKLİ
Anadolu Üniversitesi



Üye: Prof. Dr. Tijen ÖNKOL
Gazi Üniversitesi



Üye: Doç. Dr. Arzu KARAKURT
İnönü Üniversitesi



Üye: Doç. Dr. Burhan ATEŞ
İnönü Üniversitesi



ONAY:

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu/...../2014 tarih ve 2014/..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Yaşar BAYINDIR
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

2013/94 numaralı projeyi maddi yönden destekleyen İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkürlerimi sunarım.

TEŞEKKÜR

Tezimin her aşamasındaki katkılarından dolayı danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mehtap Uysal'a ve tez yardımcı danışmanım Sayın Doç. Dr. Arzu Karakurt'a,

Değerlendirme aşamasındaki katkılarından dolayı Sayın Prof. Dr. Tijen Önkol'a, Sayın Prof. Dr. Kadriye Benkli' ye ve Sayın Doç. Dr. Burhan Ateş'e,

Bileşiklerin antikolinesteraz aktivite testlerini yapan Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. İlkey Erdoğan Orhan'a ve Arş. Gör. Fatma Sezer Şenol' a,

Antimikrobiyal aktivite tarama testlerini yapan Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Berrin Özçelik'e,

Desteklerinden dolayı Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı öğretim üyelerine,

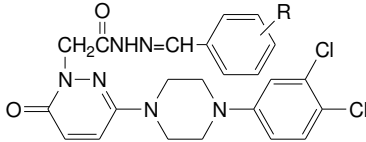
Her zaman ilgi ve desteklerini esirgemeyen İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğretim üyelerine ve araştırma görevlisi arkadaşlarıma,

Bana her zaman destek olan annem, babam ve kardeşlerime,

Hayatımın her anında olduğu gibi çalışmalarım boyunca da beni yalnız bırakmayan sevgili eşime teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Bu çalışmada, antikolinesteraz ve antimikrobiyal aktivite göstermesini beklediğimiz 3(2*H*)-piridazinon türevi yeni 18 bileşiğin sentezi yapılmıştır.

			
Bileşik	R	Bileşik	R
5a	-H	5k	4-OCH ₃
5b	4-Br	5l	2,3-diOCH ₃
5c	2-Cl	5m	3,5-diOCH ₃
5d	4-Cl	5n	2,4,6-triOCH ₃
5e	4-F	5o	3,4,5-triOCH ₃
5f	3-CH ₃	5p	4-N(CH ₃) ₂
5g	4-CH ₃	5r	4-NO ₂
5h	2-OCH ₃	5s	2-CN
5i	3-OCH ₃	5t	3-CN

Bileşikler 3,6-dikloropiridazinden hareketle sentezlenmiştir. 3,6-dikloropiridazin ve 3,4-diklorofenilpiperazinin reaksiyonuyla oluşan 3-kloro-6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]piridazinin glasiyel asetik asit ile hidrolizi sonucu 6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon elde edilmiştir. Elde edilen laktam yapısındaki bileşiğin etil bromoasetat ile bazik ortamdaki reaksiyonu sonucu ester türevi oluşturulmuştur. Ester yapısındaki piridazinon bileşiğinin hidrazinhidrat ile reaksiyonundan ise asetohidrazit türevi elde edilmiş, elde edilen bu bileşik ile çeşitli sübstitüe ve nonsübstitüe benzaldehytlerin reaksiyonu sonucunda da benzalhidrazon türevi sonuç bileşiklerine ulaşılmıştır. Sentezi yapılan ve saflaştırılan bileşiklerin yüzde verimleri, erime dereceleri, fiziksel özellikleri, ince tabaka kromatografisinde R_f değerleri belirlenmiş; yapıları IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve kütle spektroskopisi bulguları ile kanıtlanmıştır.

Bileşiklerin antikolinesteraz aktiviteleri Ellman yöntemine göre Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı araştırma

laboratuvarında yapılmış; 100 µg/ml konsantrasyon dozda 3-metilbenzalhidrazon türevi bileşik (**5f**) % 75.52, 3-metoksibenzalhidrazon türevi (**5i**) ise % 71.72 AChE enzim inhibisyonu ile en yüksek AChE inhibitörü aktivite gösterirken, 2-metoksibenzalhidrazon türevi bileşik (**5h**) % 67.16 ve yine bileşik **5f** de % 62.03 BChE enzim inhibisyonu yaparak en yüksek BChE inhibitörü aktivite göstermiştir.

Sentezlenen bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteleri de tayin edilmiştir. Bileşiklerde iyi antimikrobiyal aktivite sonuçlarına ulaşılmış ve bileşiklerin antifungal aktivitelerinin antibakteriyel aktivitelerine göre daha iyi olduğu belirlenmiştir. Bileşik **5e** en yüksek antibakteriyel (8-32 µg/ml) ve antifungal (8 µg/ml) aktivite gösteren bileşik olarak belirlenmiştir.

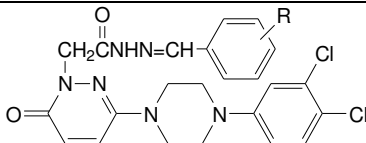
Anahtar kelimeler: AChE inhibitörü, BChE inhibitörü, antimikrobiyal, 3(2*H*)-piridazinon, benzalhidrazon.

Destekleyen kurumlar: İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi, Proje no: 2013/94.

ABSTRACT

SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF SOME NEW 6-SUBSTITUTED-3(2*H*)-PYRIDAZINONE-2-ACETYL-2-(*p*-SUBSTITUTED BENZALHIDRAZONE) DERIVATIVES

In this study 18 new 3(2*H*)-pyridazinone derivatives which are expected to show anticholinesterase and antimicrobial activities have been synthesized.

			
Bileşik	R	Bileşik	R
5a	-H	5k	4-OCH ₃
5b	4-Br	5l	2,3-diOCH ₃
5c	2-Cl	5m	3,5-diOCH ₃
5d	4-Cl	5n	2,4,6-triOCH ₃
5e	4-F	5o	3,4,5-triOCH ₃
5f	3-CH ₃	5p	4-N(CH ₃) ₂
5g	4-CH ₃	5r	4-NO ₂
5h	2-OCH ₃	5s	2-CN
5i	3-OCH ₃	5t	3-CN

Compounds have been synthesized starting from 3,6-dichloropyridazine. 6-[4-(3,4-Dichlorophenyl)piperazine-1-yl]-3(2*H*)-pyridazinone was obtained from hydrolysis of 3-chloro-6-[4-(3,4-dichlorophenyl)piperazine-1-yl]pyridazine which was synthesized by the reaction of 3,6-dichloropyridazine and 3,4-dichlorophenylpiperazine. Ester derivative was obtained from the reaction of the resulting lactam compound with ethyl bromoacetate. After that acetohydrazide derivative was constituted by reaction of this ester derivative compound with hydrazinehydrate and the acetohydrazide were changed to title compounds which have benzalhydrazone structure by using substituted/nonsubstituted benzaldehydes. Yields, melting points, physical properties, values in thin-layer chromatography were

determined. Their structures have been confirmed by IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR and Mass spectral data.

Anticholinesterase activity of the compounds was determined according to the Ellman's method in Gazi University Faculty of Pharmacy Department of Pharmacognosy. Compound **5f** which is 3-methylbenzalhydrazone derivative and compound **5i** which is 3-metoxibenzalhydrazone derivative were shown best AChE inhibitor affect in 100 $\mu\text{g/ml}$ dose, % 75.52 inhibition of AChE and % 71.72 inhibition of AChE, respectively. Compound **5h** which is 2-metoxibenzalhydrazone derivative and **5f** were also best BChE inhibitor affect in 100 $\mu\text{g/ml}$ dose, % 67.16 inhibition of BChE and % 62.03 inhibition of BChE, respectively.

Antimicrobial activities of the compounds were also determined All of the synthesized compounds showed moderate antimicrobial activity. Antifungal activity of compounds were found more active than antibacterial activity. **5e** (4-fluorobenzalhydrazone derivative) was choosen as best antibacterial (8-32 $\mu\text{g/ml}$) and antifungal (8 $\mu\text{g/ml}$) compound.

Key words: AChE inhibitor, BChE inhibitor, antimicrobial, 3(2*H*)-pyridazinone, benzalhydrazone.

This project was supported by İnönü University Scienstific Researches Unit, Project no: 2013/94 thesis.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	vi
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	x
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xv
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvi
TABLolar DİZİNİ	xvii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Piridazin	5
2.1.1. Piridazin Halkasının Genel Sentez Yöntemleri	9
2.1.2. Piridazin Halkasının Kimyasal Reaksiyonları	12
2.2. 3(2H)-Piridazinon	14
2.2. 1. 3(2H)-Piridazinon Genel Sentez Yöntemleri	15
2.2.1.1. 1,4-Keto Asitlerden 3(2H)-Piridazinon Eldesi	15
2.2.1.2. 1,4-Dikarboksilik Asitlerden 3(2H)-Piridazinon Eldesi	18
2.2.1.3. 1,2-Dikarbonil Bileşiklerinden 3(2H)-Piridazinon Eldesi	18
2.2.1.4. Piridazin Türevlerinden 3(2H)-Piridazinon Eldesi	20
2.2.1.5. Diğer Sentez Yöntemleri	21
2.2.2. 3(2H)-Piridazinon Halkasının Kimyasal Reaksiyonları	22
2.2.2.1. Alkillemeye Reaksiyonu	22
2.2.2.2. Nükleofilik Yer Değiştirme Reaksiyonları	26
2.2.2.3. Elektrofilik Yer Değiştirme Reaksiyonları	27
2.2.2.4. 3(2H)-Piridazinon Bileşiklerinin Halojenlenmesi ve Halojen Değişimi Reaksiyonları	28
2.2.2.5. Halka İndirgenme ve Katım Reaksiyonları	29
2.2.2.6. Diğer Reaksiyonlar	31
2.2.3. 3(2H)-Piridazinonun Spektral Özellikleri	35
2.2.3.1. UV Spektral Özellikleri	35

2.2.3.2. İnfrared(IR) Spektral Özellikleri	36
2.2.3.3. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Spektral Özellikleri	37
2.2.3.4. Kütle Spektral Özellikleri	39
2.2.4. 3(2 <i>H</i>)-Piridazinon Türevi Bileşiklerin Biyolojik Aktiviteleri	40
2.2.4.1. Antikolinesteraz Etkili 3(2 <i>H</i>)-Piridazinonlar	41
2.2.4.2. Antibakteriyel ve Antifungal Etkili 3(2 <i>H</i>)-Piridazinonlar	43
2.2.4.3. Analjezik ve Anti-inflamatuvar Etkili 3(2 <i>H</i>)-Piridazinonlar	44
2.2.4.4. Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkili 3(2 <i>H</i>)-Piridazinonlar	47
2.2.4.5. 3(2 <i>H</i>)-Piridazinonların Diğer Biyolojik Aktiviteleri	48
2.3. Alzheimer Hastalığı	50
2.3.1. Alzheimer Hastalığının Tedavisi	53
2.3.1.1. Vazodilatörlerle yapılan tedaviler	53
2.3.1.2. Serebral metabolik artırıcılarla yapılan tedaviler	55
2.3.1.3. Nootropikler ile yapılan tedavi	55
2.3.1.4. Nörotransmitterler ile yapılan tedavi	56
2.3.2. Kolinesteraz Enzimleri	57
2.3.3. Kolinesteraz Enzim İnhibitörleri	58
2.3.4. Antikolinesteraz Aktivite Tayin Yöntemleri	60
2.4. Antifungal ve Antibakteriyel Aktivite	61
2.4.1. Antifungal ve Antibakteriyel Aktivite Tayin Yöntemleri	61
2.4.1.1. Dilüsyon yöntemi	62
2.4.1.1.1. Tüp (Sıvı) dilüsyon yöntemi	62
2.4.1.1.2. Agar dilüsyon yöntemi	63
2.4.1.2. Difüzyon yöntemi	63
3. GEREÇ VE YÖNTEM	64
3.1. Kimyasal Çalışmalar	64
3.1.1. Materyal	64
3.1.2. Sentez Yöntemleri	64
3.1.2.1. Başlangıç Maddelerinin Sentezleri	64
3.1.2.1.1. 3-Kloro-6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]piridazin (1)	64
3.1.2.1.2. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2 <i>H</i>)-piridazinon (2)	65
3.1.2.1.3. Etil 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-il	65

asetat (3)	
3.1.2.1.4. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-il	65
asetohidrazit (4)	
3.1.2.2. Bileşiklerin Genel Sentezi (5a-t)	65
3.1.3. Analitik Yöntemler	66
3.1.3.1. Erime Derecesi Tayinleri	66
3.1.3.2. İnce Tabaka Kromatografisi ile Yapılan Kontroller	66
3.1.3.3. Spektrometrik Kontroller	66
3.2. Biyolojik Çalışmalar	67
3.2.1. Antikolinesteraz Aktivite Tayini (AChE-BChE Enzim İnhibisyonu)	67
3.2.1.1. Materyal	67
3.2.1.2. Yöntem	68
3.2.2. Antifungal ve Antibakteriyel Aktivite Tayin	68
3.2.2.1. Materyal	68
3.2.2.2. Yöntem	69
4. BULGULAR	71
4.1. Kimyasal Çalışmalar	71
4.1.1. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2 <i>H</i>)-piridazinon (2)	71
4.1.2. Etil 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-il	71
asetat (3)	
4.1.3. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-	72
ilasetohidrazit (4)	
4.1.4. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2-	73
benzaldehidrazon (5a)	
4.1.5. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2-	74
(4-bromobenzal)hidrazon (5b)	
4.1.6. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2-	75
(2-klorobenzal)hidrazon (5c)	
4.1.7. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2-	76
(4-klorobenzal)hidrazon (5d)	
4.1.8. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2-	78
(4-florobenzal)hidrazon (5e)	

4.1.9. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2-(3-metilbenzal)hidrazon (5f)	79
4.1.10. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2-(4-metilbenzal)hidrazon (5g)	80
4.1.11. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2-(2-metoksibenzenal)hidrazon (5h)	81
4.1.12. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2-(3-metoksibenzenal)hidrazon (5i)	82
4.1.13. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2-(4-metoksibenzenal)hidrazon (5k)	83
4.1.14. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2-(2,3-dimetoksibenzenal)hidrazon (5l)	84
4.1.15. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2-(3,5-dimetoksibenzenal)hidrazon (5m)	86
4.1.16. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2-(2,4,6-trimetoksibenzenal)hidrazon (5n)	87
4.1.17. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2-(3,4,5-trimetoksibenzenal)hidrazon (5o)	88
4.1.18. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2-(4-dimetilaminobenzenal)hidrazon (5p)	89
4.1.19. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2-(4-nitrobenzal)hidrazon (5r)	90
4.1.20. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2-(2-siyanobenzenal)hidrazon (5s)	91
4.1.21. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2-(3-siyanobenzenal)hidrazon (5t)	92
4.2. Antikolinesteraz Aktivite	94
4.3. Antifungal ve Antibakteriyal Aktivite	95
5. TARTIŞMA	96
5.1. Kimyasal Çalışmalar	99
5.1.1. Başlangıç Maddelerinin Sentezi	99
5.1.2. Bileşiklerin Sentezi	102

5.2. Sentezi Yapılan Bileşiklerin Yapılarının Aydınlatılması	102
5.2.1. IR spektrumları	103
5.2.2. ¹H-NMR Spektrumları	104
5.2.3. ¹³C-NMR Spektrumları	105
5.2.4. Kütle Spektrumları	106
5.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	107
5.3.1. AChE/BChE İnhibitör Aktivite	107
5.3.2. Antifungal-Antibakteriyel Aktivite	108
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	110
7. KAYNAKLAR	111
8. EKLER	127
ÖZGEÇMİŞ	129

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

FDA	Food and Drug Administration
AChE	Asetilkolin esteraz
BChE	Bütirilkolin esteraz
DMSO	Dimetilsülfoksit
AIDS	Acquired İmmunodeficiency Syndrome
NOE	Nuclear Overhauser Effect
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
COSY	Correlated Spectroscopy
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
CAS	Catalitic Active Side
PAS	Peripheric Active Side
PDE	Fosfodiesteraz
HL-60	Lösemi
SR	Lösemi
NCI-H522	Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri
BT-549	Göğüs kanseri
APP	Amiloid Prekürsör Proteini
ATP	Adenozin trifosfat
NMDA	N-metil-D-aspartat
ChEI	Kolinesteraz İnhibitörü
MIK	Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu
ATR	Average True Range
QSAR	Kantitatif Yapı Aktivite İlişkileri
TCh	Tiyokolin
DTNB	5,5'-Ditiyobis-2-nitrobenzoik asit
TOF-MS	Time of Flight Mass Spectroscopy

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa No.
2.1. AChE enziminin yapısı.	57
2.2. BChE enziminin yapısı.	57
5.1. Bileşik 5m 'nin ATR tekniği ile alınan IR spektrumu.	103
5.2. Bileşik 5c 'nin DMSO- <i>d</i> ₆ içinde alınan ¹ H-NMR spektrumu (300 MHz).	105
5.3. Bileşik 5e 'nin DMSO- <i>d</i> ₆ içinde alınan ¹³ C-NMR spektrumu (75 MHz).	106
5.4. Bileşik 5p 'nin TOF MS ES ⁺ 'da alınan kütle spektrumu.	107

TABLolar DİZİNİ

Tablo	Sayfa No.
1.1. Sentezi yapılan bileşiklerin yapıları	4
2.1. Piridazinlerin tautomerik formları ve piridazin 3(2 <i>H</i>)- tiyonların sulu çözeltideki formları.	7
2.2. Tedavide kullanılan piridazin halkası taşıyan bazı ilaçlar.	8
2.3. 3(2 <i>H</i>)-Piridazinon halkasının N-alkilasyon/arilasyon reaksiyonlarına örnekler	23
2.4. Bazı 3(2 <i>H</i>)-piridazinon türevi bileşiklerin UV spektrum verileri.	36
2.5. Bazı 3(2 <i>H</i>)-piridazinon türevi bileşiklerin IR spektrum verileri.	37
2.6. Bazı 3(2 <i>H</i>)-piridazinon türevi bileşiklerin ¹ H-NMR spektrum verileri.	38
2.7. 6-Süstitüe/2,6-disüstitüe-3(2 <i>H</i>)-piridazinon türevi bileşiklerin ¹³ C-NMR spektrum verileri.	39
2.8. Tedavide kullanılan piridazinon halkası taşıyan bazı ilaçlar.	41
4.1. Bileşiklerin AChE ve BChE inhibisyon yüzdeleri.	94
4.2. Bileşiklerin antimikrobiyal aktivite taraması.	95
5.1. Sentezi yapılan bileşiklerin yapıları, reaksiyon verimleri, erime dereceleri, molekül ağırlıkları ve moleküler formülleri.	98

1. GİRİŞ

Alzheimer hastalığı, kişinin günlük aktiviteleri gerçekleştirme yeteneğinin bozulmasına neden olan, hastalığın ilerleyen evrelerinde çeşitli nöropsikiyatrik semptomlara ve davranış bozukluklarına yol açan ilerleyici ve ölümcül nörodejeneratif bir hastalıktır. Genellikle yaşa bağımlı olarak ortaya çıkan Alzheimer hastalığı, yaşlılarda görülen demansın en yaygın şeklidir (1-3). Alzheimer hastalığına yakalanan kişilerin yüzdesi her beş yaşta iki katına çıkmaktadır. 60 yaşındaki hasta oranı %1 iken, 85 yaşta bu oran %30'a ulaşmaktadır (1,4,5). Giderek artmakta olan Alzheimer hastalığı ile ilgili 2005 yılında yapılan epidemiyolojik çalışmalar dünya çapındaki Alzheimer hastası sayısının tahmini 24 milyon olduğunu bildirmiştir. Tahminler bu sayının her 20 yılda iki katına çıkarak 2020'de 42 milyona, 2040'da ise 81 milyona ulaşacağı yönündedir (6).

Alzheimer hastalığının klinik belirtileri unutkanlık, dil işlevinde bozulma, görsel ve mekansal bozukluklardır (1). Hastalığın ilk klinik belirtisi yakın hafıza bozukluğudur. Alzheimer hastalığında uzak hafıza göreceli olarak korunmaktadır. Hastalık ilerledikçe, hesap yapabilme, görsel testler, eşyaları kullanabilme becerisi azalmaktadır. Motor ve duysal anormallikler, yürüme bozuklukları ve nöbetler hastalığın geç evrelerine kadar görülmemektedir (1,3). Kas kontraksiyonları hastalığın ileri dönemlerinin bir belirtisi olmasına rağmen, bu evrelerde bile motor kuvvette bozulma olmamaktadır (3). Alzheimer hastaları, genellikle hastalık başladıktan sonra birkaç yıl içinde sürekli bakım gerektirecek hale gelmektedirler. Hastalar, hastalığın başlangıcından 6 ila 12 sene sonra, genellikle pnömoni, pulmoner emboli gibi hareketsizlikten kaynaklanan komplikasyonlar nedeniyle ölmektedirler (1,3).

Alzheimer hastalığının fizyopatolojisi karmaşıktır. Hastalığın ana mekanizması henüz tam bilinmemekle beraber, beyin hücrelerinin nedeni belirlenemeyen bir şekilde kaybolmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Hastalığın ortaya çıkışındaki temel etkenler arasında genetik faktörler, anormal proteinlerin rolü, otoimmün reaksiyonlar, toksik reaksiyonlar, kafa travmaları,

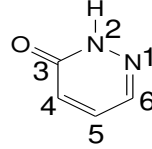
virüsler, esansiyel elementlerin etkisi ve serebral kan damarlarının rolü sayılabilmektedir (7,8). Hastalığın karakteristik patolojik bulguları, beyinde ekstraselüler senil plaklar, nöronların içinde nörofibriler yumaklar, sinaps ve nöron kaybıdır. Biyokimyasal çalışmalar kortekste bazı nöromediyatörlerin ve özellikle asetilkolinin azaldığını göstermektedir (7). Hastalığın başlaması ile birlikte gerçekleşen nöron ve akson kaybı daha düşük düzeylerde asetilkolin salınımına neden olmakta ve düşük konsantrasyondaki nörotransmitter düzeylerinde sinir iletilerinin devamlılığını sağlamak daha güç bir hal almaktadır. Bu durum hastalığın semptomlarının gelişmesinde asetilkolin eksikliğinin önemini vurgulayan “kolinerjik hipotez”in ortaya atılmasına neden olmuştur (9).

Asetilkolin düzeyini artırmak için uygulanacak yöntemlerden biri asetilkolini yıkan asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirilkolinnesteraz (BChE) enziminin baskılanmasıdır. AChE'nin kolinerjik iletimdeki rolü oldukça iyi bilinmekle birlikte BChE'nin rolü yeterince aydınlatılamamıştır. Sağlıklı beyin hücrelerinde sinaptik asetilkolin hidrolizi esas olarak AChE tarafından gerçekleştirilmekte, BChE'nin bu hidrolize katkısının çok az olduğu kabul edilmekte; fakat hem AChE'nin hem de BChE'nin nöron gelişimi ve kolinerjik iletimde birlikte aktif rol oynadığı bilinmektedir (3,7).

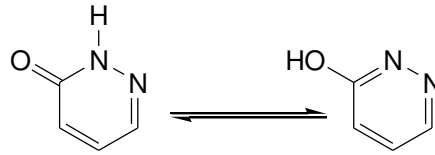
Çalışmalar, asetilkolin esteraz inhibisyonuna bağlı asetilkolin düzeyi artışlarının, Alzheimer hastalığının erken evrelerindeki kognitif yetmezliği iyileştirebileceğini göstermektedir (3,7,8). Günümüzde Alzheimer tedavisinde kullanılan asetilkolinesteraz inhibitörü ilaçlar bulunmakatadır. Bu ilaçlardan biri olan takrin hafif ve orta dereceli Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılmak üzere FDA'dan onay almıştır; fakat yüksek hepatotoksitesitesi ilacın kullanımını sınırlandırmıştır (3). Daha sonraları klinik kullanım için onay alan donezepilin 5-10 mg günlük oral dozlarda algılamayı ve klinik fonksiyonları 21-81 hafta arasında iyileştirdiği belirlenmiştir (10). Bu ilacın da yan etkileri sıklıkla aşırı kolinerjik etkilerden kaynaklanmaktadır. Bulantı, kusma ve diyare en sık rastlanılan yan etkiler olarak rapor edilmiştir. Rivastigmin, eptastigmin ve son yıllarda FDA'dan onay almış diğer bir AChE inhibitörü olan galantamin de tedavide kullanılmakta; fakat bunlar da benzer yan etkiler göstermektedir (3). Bu durum yan etkisi azaltılmış, santral ve periferik AChE inhibisyonu yapan ve seçici kolinerjik agonist ve

antagonistlerle birlikte kullanımında maksimum yanıt veren yeni AChE inhibitörü bileşiklerin tasarımı ve sentezini gerekli kılmaktadır.

3(2*H*)-Piridazinon ve türevleri isimlendirilirken aşağıdaki şekilde numaralandırılır (11).



İki numaralı konumda sübstitüent içermeyen 3(2*H*)-piridazinon türevlerinde azot atomundaki serbest hidrojen nedeniyle tautomer dengesinin söz konusu olduğu belirtilmektedir (12,13). 3(2*H*)-Piridazinonların IR ve UV spektral verilerinin değerlendirilmesi sonucunda baskın olarak okso formunda bulundukları belirtilmiştir (11,13,14).



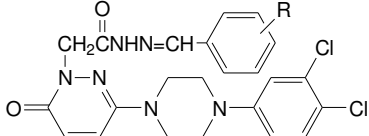
Son yıllarda 3(2*H*)-piridazinon yapısı taşıyan bileşiklerde çok sayıda farmakolojik aktivite çalışmaları yapılmış ve yapılan çalışmalarda bu iskeleti taşıyan bileşiklerin; analjezik, antienflamatuvar, antipiretik, antihipertansif, antiülser, antioksidan, antiallerjik, bronkospazmolitik, antibakteriyel, antifungal, antitümör, antihelmentik etki gösterdikleri bildirilmiştir (15-25). Literatürde 3(2*H*)-piridazinon yapısında antikolinesteraz aktivite gösterdiği bildirilen bileşikler bulunmaktadır (26-29).

Güçlü ve etkili antimikrobiyal bileşik geliştirmek üzere yapılan çalışmalar, sadece ciddi enfeksiyonların kontrolü için değil, aynı zamanda kanser, cerrahi işlemler gibi diğer tedavilere bağlı muhtemel enfeksiyonların önlenmesi ve tedavisi için de önemlidir. Fungal enfeksiyonlar ise tüberküloz, kanser, AIDS ve organ transplantasyonu gibi immün sistemin baskılandığı durumlarda artmakta ve ölüm nedeni olabilmektedir (30). Bu nedenlerden dolayı, etki spektrumu geniş, yan etkileri en aza indirilmiş antifungal bileşikler geliştirilmesi önemli bir konudur. Antimikrobiyal aktiviteden sorumlu farmakofor gruplar arasında 3(2*H*)-piridazinon iskeleti, daha etkili ve geniş spektrumlu antimikrobiyallerin sentezinde kullanılan

önemli yapılarıdır. Literatürde 3(2*H*)-piridazinon halkası taşıyan pek çok farklı bileşikte antibakteriyel-antifungal aktivite bulunmaktadır (23-25).

Yukarıdaki literatür verilerinden hareketle bu doktora tezi kapsamında, 3(2*H*)-piridazinon türevi yeni benzalhidrazon türevi bileşiklerin sentezlerinin yapılması; bu bileşiklerin antikolinesteraz ve antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılması amaçlanmıştır. Değişik benzaldehit türevleri kullanılarak hazırlanan bileşik serisinde fenil halkası üzerindeki farklı sübstitüentlerin aktiviteye katkısı araştırılmış ve aktivite için öncü molekülün bulunması amaçlanmıştır. Sentezi yapılan bileşiklerin yapıları Tablo 1.1.'de gösterilmektedir.

Tablo 1.1. Sentezi yapılan bileşiklerin yapıları

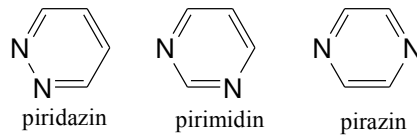
			
Bileşik	R	Bileşik	R
5a	-H	5k	4-OCH ₃
5b	4-Br	5l	2,3-diOCH ₃
5c	2-Cl	5m	3,5-diOCH ₃
5d	4-Cl	5n	2,4,6-triOCH ₃
5e	4-F	5o	3,4,5-triOCH ₃
5f	3-CH ₃	5p	4-N(CH ₃) ₂
5g	4-CH ₃	5r	4-NO ₂
5h	2-OCH ₃	5s	2-CN
5i	3-OCH ₃	5t	3-CN

2. GENEL BİLGİLER

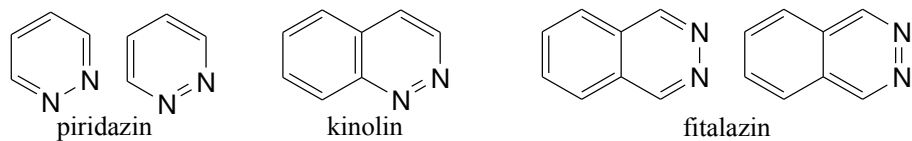
2.1. PİRİDAZİN

Piridazin yapısı ilk olarak Knorr tarafından bildirilmiştir. Daha sonra süstitüe piridazin 1886 yılında Fischer tarafından ve nonsüstitüe piridazinil de 1895 yılında Tauber tarafından ilk defa elde edilmiştir (31).

Diazinler; piridazin (1,2-diazin), pirimidin (1,3-diazin) ve pirazin (1,4-diazin) olmak üzere üç izomeri bulunan, $C_4H_4N_2$ kapalı formülüne sahip, iki halka içi azot atomu taşıyan 6'lı aromatik halkalardır (32). Piridazin siklik hidrazon olarak kabul edilmektedir (33).



Piridazin (1,2-diazin) ve piridazinin analogları olan kinolin (1,2-diazanaftalen) veya benzo[c]piridazin ve fitalazin (benzo[d]piridazin) 19. yüzyıldan beri bilinmektedir. Reaktiflikleri ve temel sentez esasları daha önceki yıllarda araştırılan bu yapılar, göstermiş oldukları biyolojik aktivitelerden dolayı son 30 yıldır kullanılmaya başlanmış ve bu bileşiklere olan ilgi artmıştır (34).



Piridazin, kinolin ve fitalazinin kimyası incelendiğinde, piridazinin üç izomerik diazinden biri olduğu ve iki rezonans hibrit yapısı bulunan altılı düzlemsel halka olduğu kabul edilmektedir. X-ışınları kristalografik analizi ve elektron diffraksiyon sonuçları ile mikrodalga spektroskopisi verileri N-N bağının tek bağ karakterine sahip olduğunu göstermektedir (35,36).

Piridazin suda çözünebilir, renksiz, dayanıklı bir maddedir. Erime derecesi -8°C, kaynama derecesi 207°C' dir. Piridazin halkasındaki azot atomlarının birbirine yakın olması diğer diazinlere göre farklı fizikokimyasal özellikler göstermesine neden olmaktadır. Piridazin halkasının kaynama noktası diğer diazinlerden daha yüksektir (pirazin 118°C, pirimidin 123-4°C). Bu durum molekül içi çekim kuvvetlerinden kaynaklanmaktadır. Bu molekül içi çekim kuvvetleri yüksek kararlı dipolden oluşan elektrostatik çekim kuvvetleridir. Piridazin monobazik bir bileşik olup (pKa: 2.3) diazinler arasında en yüksek pKa'ya sahiptir (pKa_(pirazin): 0.65, pKa_(pirimidin): 1.3) ve piridinden daha az baziktir (pKa: 5.2). Baziklikteki bu azalmanın, ikinci azot atomunun indüktif elektron salıverme özelliği ile oluşan tek protonlu kasyonların destabilizasyonundan ileri geldiği düşünülmektedir. Piridazinin bu göreceli pKa değeri, piridazinyum iyonunun stabilizasyonunu sağlamaktadır (37).

Piridazin, pirimidin ve pirazinonların tautomerizmi çeşitli fizikokimyasal yöntemler ve tekniklerle araştırılmıştır (32). 1900'lü yılların başında, Lapinski ve diğerleri düşük sıcaklıkta inert gaz içerisindeki izole diazinon ve diazintiyonların tautomerisini IR spektroskopisi ile incelemişler, 2-piridinon, 2-pirimidinon, 2-pirazinon, 4-pirimidinon ve 3-piridazinon yapılarında okso ve hidroksi tautomerinin halkadaki laktam grubunun ve ikinci azot atomunun göreceli pozisyonuna bağlı olduğunu bulmuşlardır. IR spektrumu sonuçları 2-pirimidinon yapısında hidroksil tautomerinin baskın olduğunu ve bu durumun 2-pirazinon, 2-piridinon, 4-pirimidinon ve 3-piridazinon için sırasıyla azaldığını göstermiştir (38). Tautomerik grup içeren piridazinlerin tautomerlikleri incelendiğinde; halka azot atomuna bağlı olarak α veya γ konumlarında hidroksi grubu içeren piridazinlerin prototik tautomerleşmesi Tablo 2.1'de gösterilmiştir. Maleik hidrazit ve sübstitue maleikhidrazitler monohidroksi monookso formda bulunurken, 3- ve 4-hidroksipiridazinler ile 3- ve 4-hidroksikinolinler ve türevleri büyük oranda okso formunda bulunmaktadırlar. 4- ve 6-hidroksipiridazin-1-oksitler genel olarak N-hidroksipiridazinon şeklinde bulunurken; 3- ve 5-hidroksipiridazin-1-oksitler hidroksi N-oksit formunda bulunmaktadırlar. Sulu çözeltisinde piridazin-3(2H)-tasyonlar tasyon formunda, 6-merkaptopiridazin-3(2H)-tasyon monotiyolmonotiyon formunda bulunurken, katı formunda 6-hidroksipiridazin-3(2H)-tasyonlar hidroksitasyon formunda, 6-aminopiridazin-3(2H)-tasyonlar ise aminotiyon formunda bulunmaktadırlar. Hem 3-

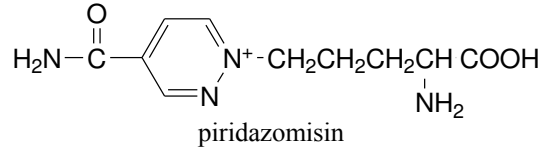
hem de 4-amino piridazinler aminoformunda, 4-alkilamino-3-fenilsinolinler ve 4-aminosinolinler ise imino halinde bulunurlar (39,40).

Tablo 2.1. Piridazinlerin tautomerik formları ve piridazin 3(2*H*)-tiyonların sulu çözeltideki formları

Maleik hidrazit / sübstıtuē maleikhidrazit		3-Hidroksipiridazin	
4-Hidroksipiridazin		3-Hidroksikinolin	
4-Hidroksikinolin		4-Hidroksipiridazin- 1-oksit	
6-Hidroksipiridazin- 1-oksit		3-Hidroksipiridazin- 1-oksit	
5-Hidroksipiridazin- 1-oksit		Piridazin-3(2 <i>H</i>)- tiyon	
6-Merkaptopiridazin- 3(2 <i>H</i>)-tiyon		6-Hidroksipiridazin- 3(2 <i>H</i>)-tiyon	
6-Aminopiridazin- 3(2 <i>H</i>)-tiyon		3-Amino piridazin	
4-Amino piridazin		4-Alkilamino-3- fenilsinolin / 4- Aminosinolin	

Piridazin yapısı ilaç tasarımı için en geliştirilebilir heteroaromatik halkalardan biridir (41). Piridazin analogları farklı pek çok hedefe uygun ligandlar oluşturarak yeni ilaç moleküllerinin geliştirilmesine olanak sağlamaktadır. Piridazin halkası bazı doğal bileşiklerin ve değişik biyolojik aktivitelere sahip ilaçların yapısında bulunmaktadır (42). Piridazin bileşiği doğada *Streptomyces* türlerinde

piridazomisin kuaterner tuzu halinde bulunmakta ve *Streptomyces violaceoniger* sp. *Griseofuscus* kültüründen elde edilmektedir. Doğal olarak bulunan bu piridazin bileşiği antibiyotik ve antifungal olarak kullanılmaktadır (37).



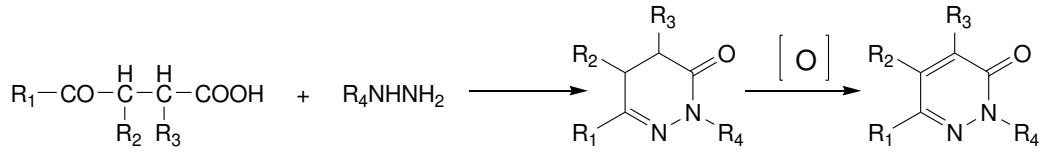
Ayrıca antibakteriyal, antifungal, antimikobakteriyal, antiviral, antiinflamatuvar, antikanser, antidepresan, antihipertansif, antikolinesteraz, herbisidal aktivite gösteren ve kardiyovasküler hastalıklar gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan çok sayıda piridazin bileşiği bulunmaktadır (Tablo 2.2.) (33,37,43-49).

Tablo 2.2. Tedavide kullanılan piridazin halkası taşıyan bazı ilaçlar.

Formül	Etken madde	Müstahzar örnekleri	Aktivite
	Sefozopran	Firstcin	Antibakteriyel
	Hidralazin	Apresolin	Antihipertansif
$H_3CH_2COOC-NH-NH-$ $-N-CH_2CH(OH)CH_3$	Kadralazin	Cadraten	Antihipertansif
$\cdot H_2O$	Silazapril	Ampliton	Antihipertansif
	Minapirin		Antidepresan

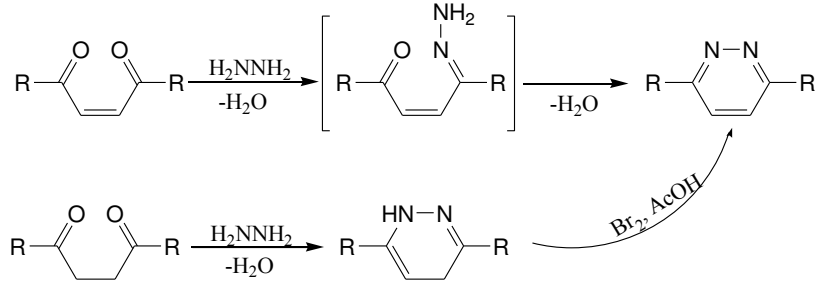
2.1.1. Piridazin Halkasının Genel Sentez Yöntemleri

Piridazin halkası, alifatik bir bileşik olan sübstitüe veya nonsübstitüe hidrazinden doğrudan sentezlenebildiği gibi değişik heterosiklik yapılardan başlanarak da elde edilebilmektedir (40,50,51). Piridazin eldesinde en çok uygulanan sentez yöntemi 1,4-keto asit türevleri veya bunların esterlerinin sübstitüe veya nonsübstitüe hidrazinlerle olan reaksiyonudur. Bu reaksiyonun sonucunda 4,5-dihidro-3(2*H*)-piridazinon yapısı oluşmakta ve buradan da dehidrojenasyonla 3(2*H*)-piridazinon yapısına geçilmektedir (50).

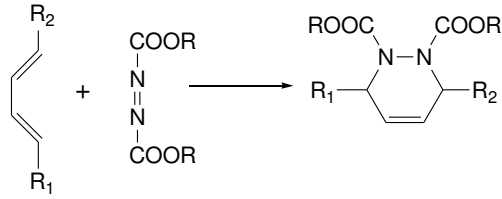


Piridazinon halkasındaki sübstitüentlere ve sübstitüent sayısına bağlı olarak dehidrojenasyonun verimi değişebilmektedir. 1,4-ketoasit türevlerindeki R_1 ve R_2 sübstitüentleri genelde hidrojen olmakla beraber, alkil veya aril grupları da olabilmektedir (50).

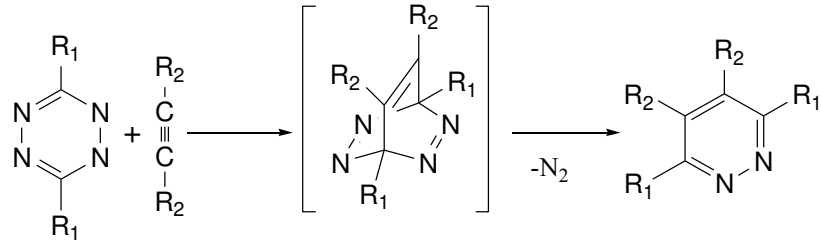
Doymuş ve α,β -doymamış 1,4-dikarbonil yapısındaki bileşiklerle hidrazinin siklokondenzasyonu sonucu 1,4-dihidropiridazinler ve piridazinlerin oluştuğu bildirilmektedir (52).



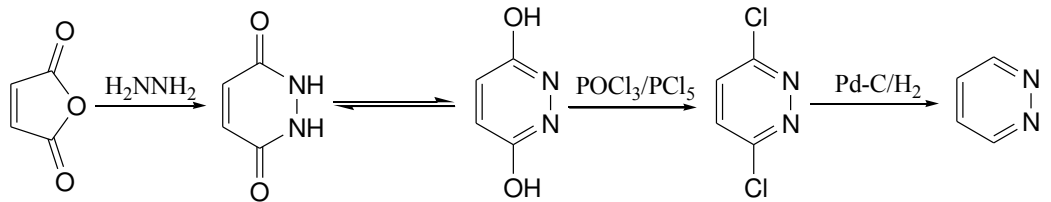
1,3-dienler ile azodikarboksilik asit esterinin Diels-Alder reaksiyonu sonucunda tetrahidropiridazinler elde edilmektedir (52).



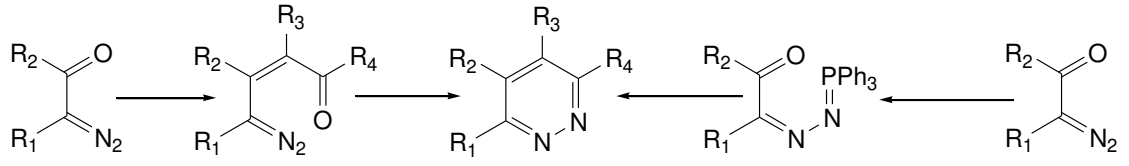
Ayrıca, retro-Diels-Alder tepkimesiyle 1,2,4,5-tetrazinlere alkin eklenerek ve sonrasında oluşan yapının N₂ eliminasyonu ile de piridazinler elde edilebilmektedir (52).



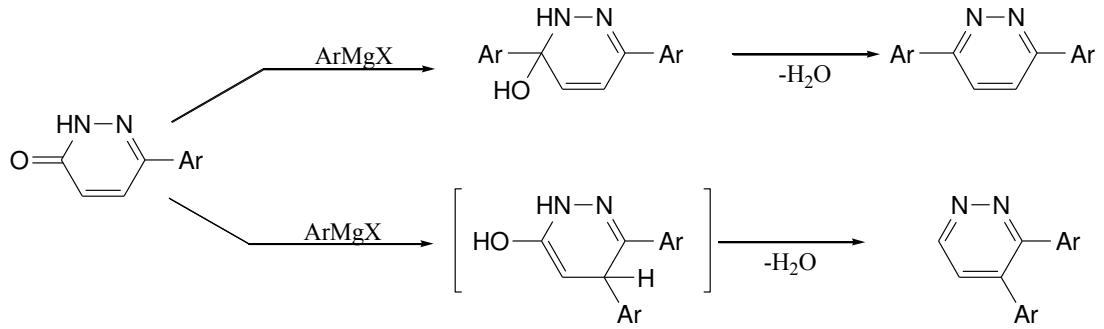
Piridazinin, maleik anhidritten sentezlendiği çalışmalar da literatürde yer almaktadır. Maleik anhidrit ile hidrazinin reaksiyonu sonucu maleik hidrazit oluşmaktadır; fakat azinon-hidroksiazin tautomerizminden dolayı bu bileşik, POCl₃/PCl₅ ile 3,6-dikloropiridazin bileşiğine dönüştürülmektedir. Daha sonra H₂/Pd-C ile redüktif dehalojenizasyonuyla piridazin elde edilmektedir (52).



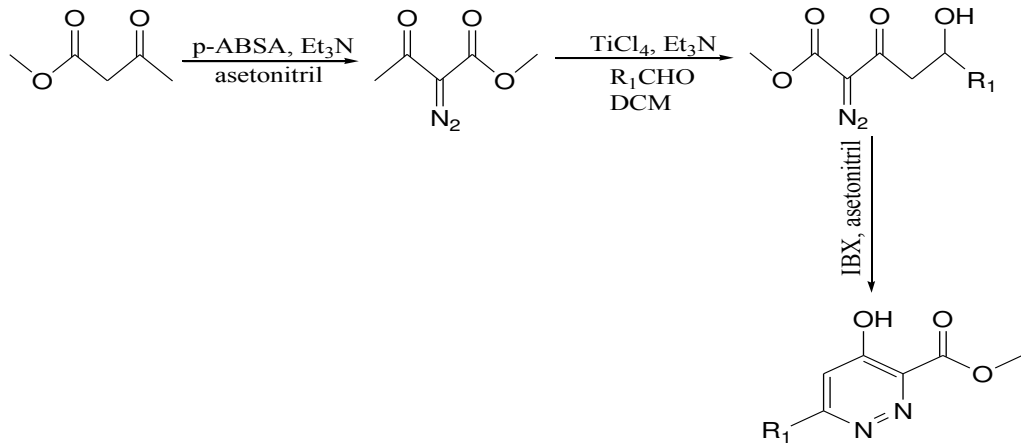
Piridazin sentezinde, diazokarbonil türevlerinden Wittig reaksiyonu ile vinildiazokarbonil türevi bir ara bileşik elde edilip daha sonra bu bileşiğin Staudinger ve diaza-Wittig reaksiyonlarıyla siklizasyonu sonucu sübstitüe piridazinler elde edilebilmektedir. Ayrıca piridazin bileşiğine ulaşmada alternatif bir yol olarak diazokarbonil türevlerinden fosfazen ara ürünü oluşturulup bunun siklizasyonu ile sübstitüe piridazinler elde edilebilmektedir (53).



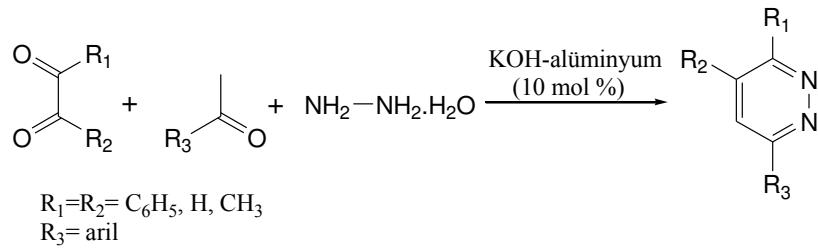
Piridazin halkası indirgenmiş aromatik piridazinon türevlerinin aromatik Grignard bileşikleri ile tepkimelerinden de elde edilmektedir. Grignard bileşiklerinin indirgenmiş piridazinonlara 1,2-katımı ve 3(2*H*)-piridazinonlara 1,2- ve 1,4-katımı ile piridazin türevlerine ulaşılmaktadır (54,55).



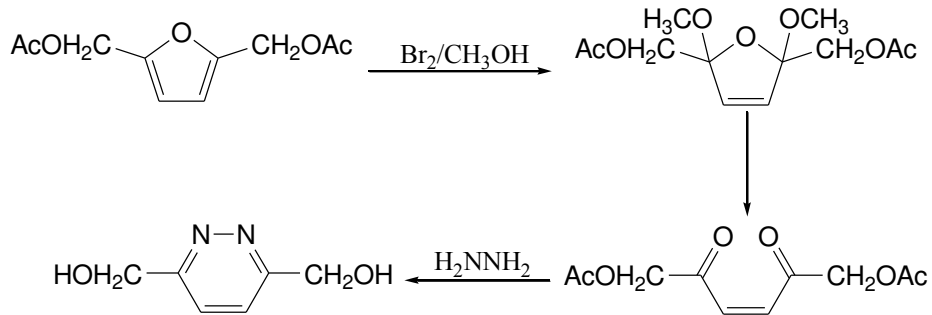
Piridazinlerin sentezinde α -diazo-1,3-diketon türevi bileşiklerin de kullanıldığı literatürde bildirilmektedir (41).



Mecadon ve Myrboh de benzil, diasetil ve glioksal gibi 1,2-diketon bileşiklerini kullanarak çeşitli asetofenon türevleri ve hidrazinhidrat ile potasyum hidroksit varlığında mikrodalga sentez yöntemi ile piridazin türevlerini elde etmişlerdir (56).



Piridazinlerin eldesinde kullanılan bir diğer yöntem ise furan türevlerinden hareketle piridazin yapısının elde edilmesidir. 2,5-Disüstitüe furan türevi bir bileşiğin metanol içerisinde bromla reaksiyonundan 2,5-dihidrofuran türevleri elde edilmiş ve sonrasında bu bileşiğin asit hidroliziyle oluşan ara ürün ile hidrazinin reaksiyonu sonucu piridazin bileşiklerine ulaşılmıştır (57,58).

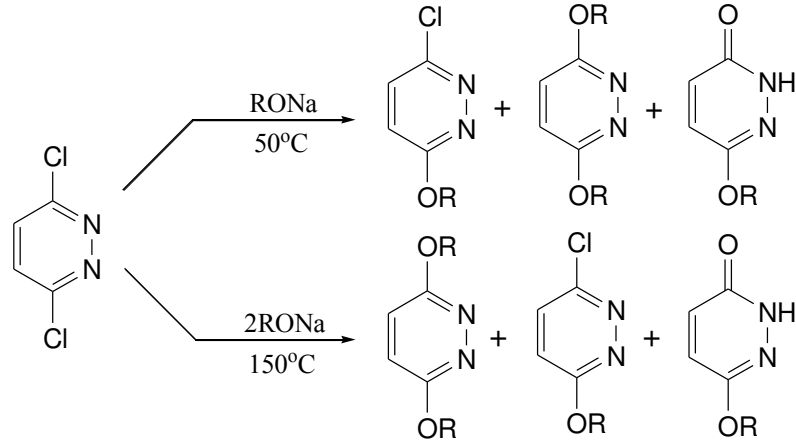


2.1.2. Piridazin Halkasının Kimyasal Reaksiyonları

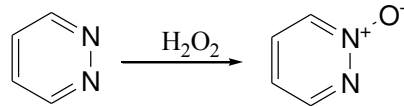
Süstitüe piridazinler üzerinde yapılan çalışmalar piridazin halkasının, pozitif karbon atomlarından dolayı nükleofilik süstitüsyona uğrayacağını, elektrofilik saldırıya karşı ise dirençli olacağını göstermiştir. Elektrofilik yapıların azot atomuna saldırmasıyla; protonlama, alkilasyon ve azot oksidasyonu reaksiyonları gerçekleşebilmektedir (37).

3,6-Dikloropiridazinin sodyum alkoksit gibi bir baz varlığında verdiği nükleofilik süstitüsyon tepkimesinde, düşük sıcaklıklarda 3-alkoksi-6-kloropiridazinin ana ürün, bisalkoksipiridazin, 6-alkoksi-3(2*H*)-piridazinon ve reaksiyona girmeyen başlangıç maddesinin de yan ürün olarak meydana geldiği bildirilmiştir. Aşırı miktar alkoksit kullanılarak yüksek sıcaklıklara çıkıldığında ise

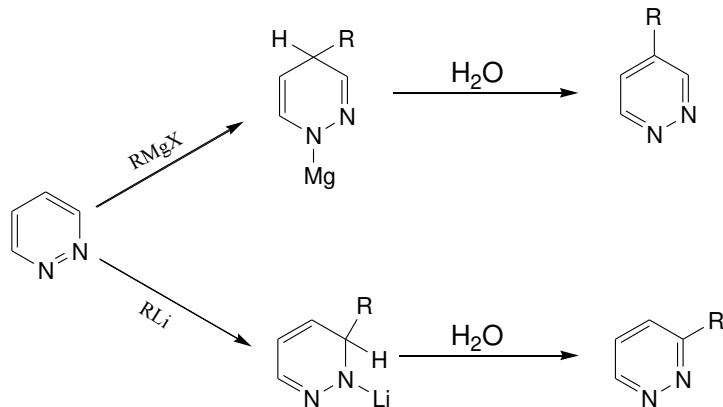
ana ürün olarak bisalkoksipiridazinin, yan ürünler olarak da monoalkoksipiridazin ve piridazinon türevlerinin oluştuğu bildirilmiştir (59).



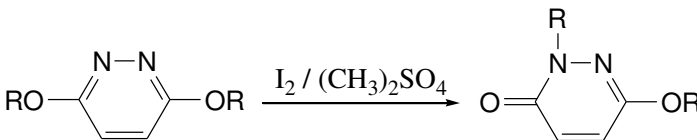
N-oksit türevi piridazinler, piridazinin hidrojen peroksitle glasiyel asetik asit içerisinde tepkimesi sonucu elde edilmektedir (60).



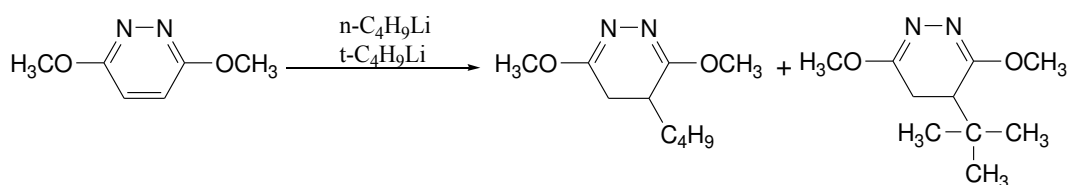
Karbon atomları üzerinden aromatik süstitüsyon reaksiyonlarının yürümesi zordur; fakat bazı durumlarda *N*-oksidasyon bu durumu kolaylaştırmaktadır. Nükleofilik tepkimenin, Grignard rejanları ile 4. karbondan veya organolithyum bileşikleri ile 3. karbondan yürüyeceği bildirilmektedir (52).



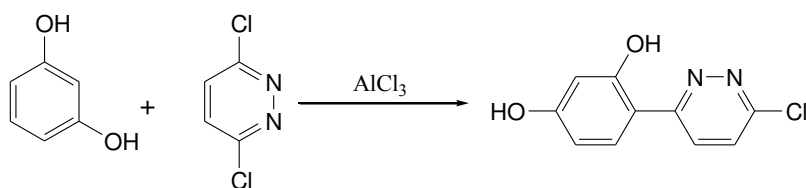
3,6-Dialkoksipiridazinlerin yüksek sıcaklık ya da Lewis asitlerinin katalitik etkisiyle 6-alkoksi-2-alkil-3(2*H*)-piridazinon bileşiklerine dönüştüğü bildirilmektedir. Benzer şekilde metil iyodür veya dimetil sülfat reaktifleriyle de 3,6-dialkiloksipiridazinlerden 6-alkoksi-2-alkil-3(2*H*)-piridazinon türevleri elde edilmektedir (61).



3,6-Dimetokspiridazinin n-bütül ve tersiyerbütül lityum ile reaksiyonundan 3,6-dimetoksi-4-bütül-4,5-dihidropiridazin ürünlerinin elde edildiği ve n-bütül katım ürününün tersiyer bütile göre daha fazla oluştuğu gözlenmiştir (62).

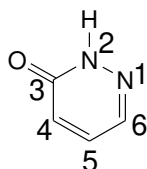


3,6-Dikloropiridazin türevleri Friedel-Crafts alkilasyonunda alkilleyici bileşikler olarak da kullanılmaktadır (63).

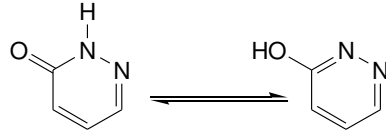


2.2. 3(2*H*)-PİRİDAZİNON

3(2*H*)-Piridazinon ve türevleri isimlendirilirken aşağıdaki şekilde numaralandırma yapılmaktadır (11).



İki numaralı konumda sübstitüent içermeyen 3(2*H*)- piridazinon türevlerinde azot atomundaki serbest hidrojenden dolayı tautomer dengesinin söz konusu olduğu belirtilmektedir (12,13). 3(2*H*)-Piridazinonların IR ve UV spektral verileri değerlendirildiğinde daha çok okso formunda bulundukları görülmüştür (11,13,14).

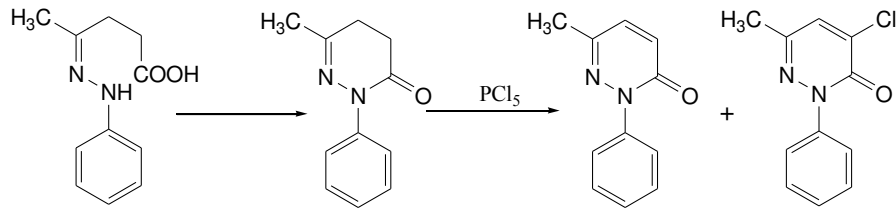


Piridazinon halkasının aromatik olduğu ileri sürülmüş ve bu özelliğinin spektroskopik ve kimyasal veriler ile kanıtlandığı bildirilmiştir (64).

Halka içi azot atomunda süstitüent taşımayan 3(2*H*)-piridazinon bileşikleri zayıf asit olup, bunlar güçlü bazlar veya amonyak ve aminler ile tuz oluşturmaktadırlar (64).

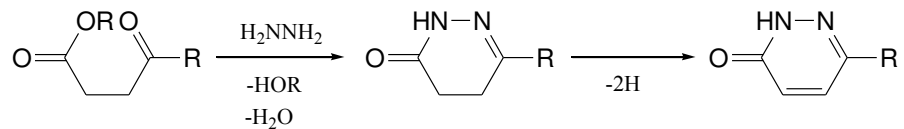
2.2.1. 3(2*H*)-Piridazinon Genel Sentez Yöntemleri

Piridazinon bileşiklerinin çoğu karbonil bileşiklerinden hareketle sentezlenmektedir. İlk piridazinon bileşiği süstitüe halde, 1886 yılında Fischer tarafından sentezlenmiş ve tepkime levulinik asit fenilhidrazondan hareketle yürütülmüştür (31).



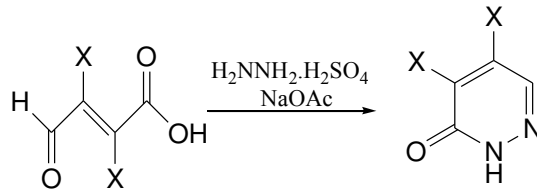
2.2.1.1. 1,4-Keto Asitlerden 3(2*H*)-Piridazinon Eldesi

1,4-keto asitlerin ya da bunların esterlerinin hidrazin ile siklokonensasyonu sonucu dihidro piridazinon bileşikleri oluşmakta ve sonrasında bu bileşiğin dehidrojenasyonu ile 6-süstitüe-3(2*H*)-piridazinon bileşikleri elde edilmektedir (64).

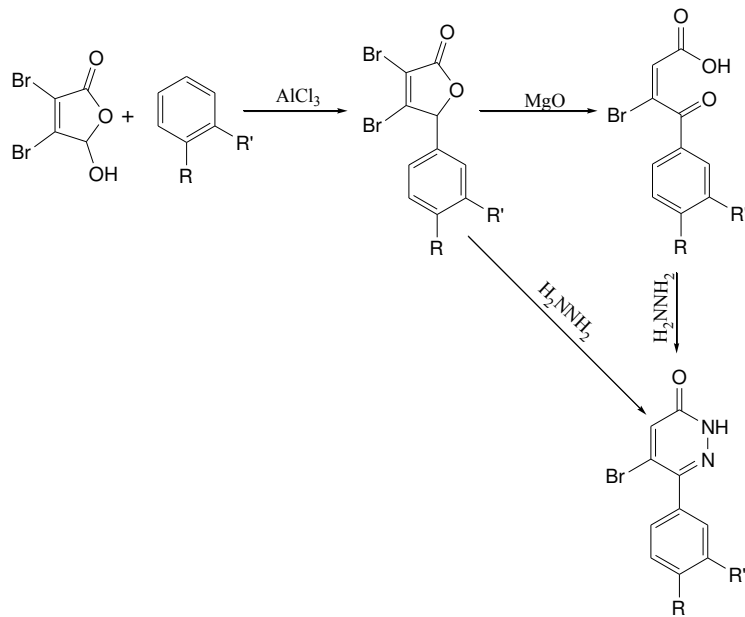


4,5-Dihidro-3(2*H*)-piridazinon halkasının 4. ve 5. karbon atomları arasında çifte bağ katılması ile 3(2*H*)-piridazinon elde edilmesinde çok çeşitli sentez yöntemleri kullanılmaktadır (65). Bu yöntemlerde MnO₂, SeO₂, Br₂/HOAc ve daha birçok oksidan kullanılmaktadır (66-70). Liang ve diğerleri ise bu reaksiyonu oksijen varlığında bakır katalizörlüğünde gerçekleştirmişlerdir (71).

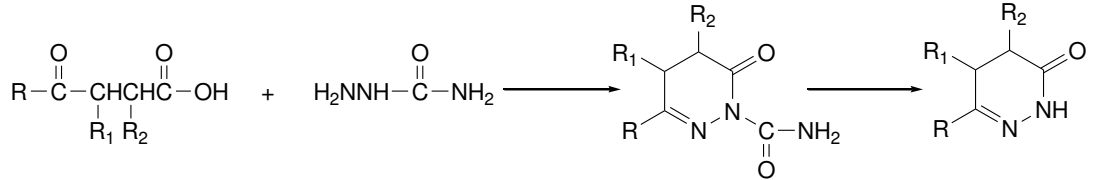
Mukohalo asitler olarak bilinen α,β -doymamış-1,4-aldehido asitlerin hidrazin ile reaksiyonu sonucu 4,5-dihalo-3(2*H*)-piridazinonlar elde edilmektedir. Literatürde bu yolla elde edilen 4,5-dikloro-3(2*H*)-piridazinon, 4,5-dibromo-3(2*H*)-piridazinon, 2-fenil-4,5-dikloro-3(2*H*)-piridazinon bileşikler bulunmaktadır (72,73).



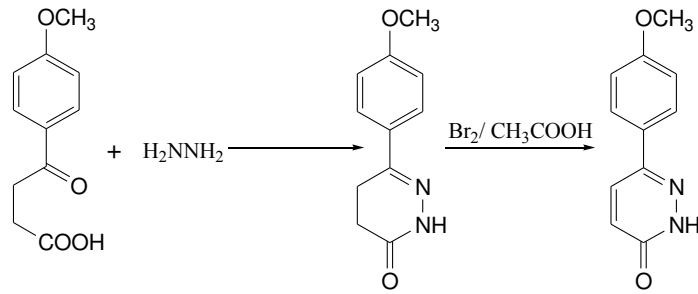
Estevez ve diğerlerinin yapmış olduğu bir çalışmada benzenin mukobromik asit ile alüminyum triklorür varlığında Friedel-Crafts reaksiyonu sonucu 4-fenil-3,3-dibromokrotonolakton bileşiği elde edilmiş, sonrasında etilenglikol içerisinde hidrazin hidrat ilavesiyle 6-aril-5-bromo-3(2*H*)-piridazinon bileşiğine ulaşılmıştır. Aynı çalışmada 4-fenil-3,3-dibromokrotonolakton bileşiğinin magnezyum oksit ile muamelesinden α -konumundaki halojenin kaybı ile *E*-akrilik asitler elde edilip daha sonrasında metanol içerisinde hidrazin hidrat ile reaksiyonundan 5-bromo-3(2*H*)-piridazinon türevlerine ulaşılmıştır (66).



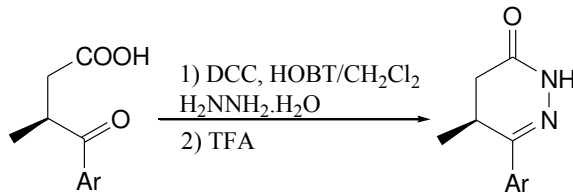
1,4-Keto asitler yapılarındaki aril süstituentlerine bağı olarak Wolff-Kishner redüksiyonu ile piridazinona dönüşmektedir. Asit yerine ester bileşiklerinin kullanıldığı durumlarda bu dönüşüm gerçekleşmemektedir. Ayrıca; semikarbazit ile 1,4-keto asitlerin reaksiyonuyla da süstitüe 3(2*H*)-piridazinonlar elde edilmekte, ortam koşullarına bağı olarak *N*-karboksamido grubu halkaya bağı kalmakta veya halkadan kopmaktadır (64).



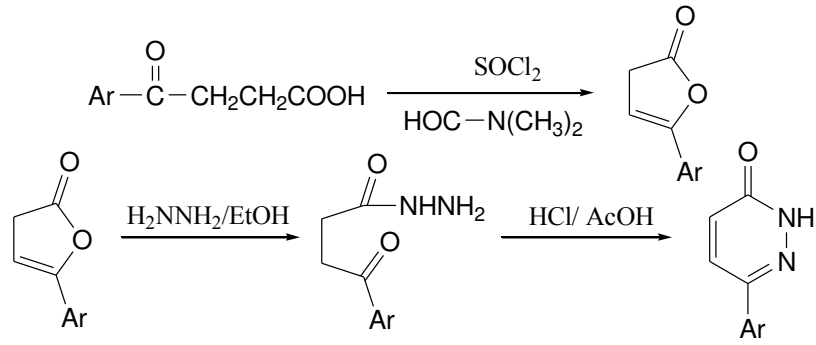
Doğruer ve diğelerinin 4-(4-metoksifenil)-4-oksobütanoik asit ve hidrazin hidrattan 4,5-dihidro-3(2*H*)-piridazinon bileşini elde etmeleri 1,4-ketoasit türevlerinden hareketle 3(2*H*)-piridazinon sentezine örnektir (74).



1,4-Keto asitlerden kiral piridazinonların eldesinde de yararlanılmıştır. Kojima ve Kohno kiral β-metil γ-ketokarboksilik asitten hidrazin hidrat aracılığıyla rasemizasyon gerçekleşmeden tek basamakta 5-metil-4,5-dihidropiridazin-3(2*H*)-on bileşini elde etmişlerdir (75).

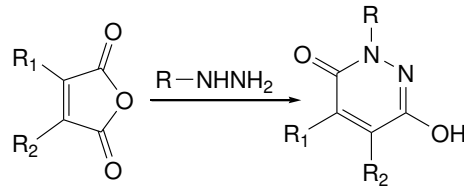


Ayrıca 1,4-keto asitlerden furanon türevleri, oradan da hidrazin hidrat aracılığıyla 3(2*H*)-piridazinon türevleri elde edilmektedir (76,77).

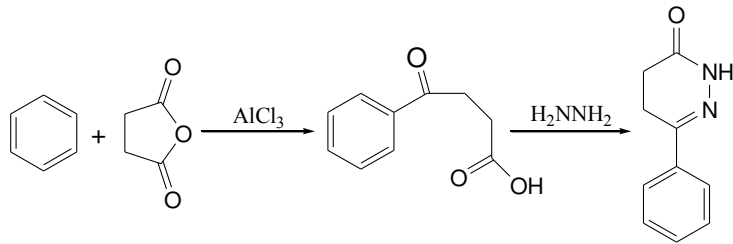


2.2.1.2. 1,4-Dikarboksilik Asitlerden 3(2H)-Piridazinon Eldesi

Piridazinon eldesinde kullanılan en yaygın yöntemlerden biri maleik asit türevleri veya bunların mono- ve di-sübstitüe türevlerinin hidrazinle reaksiyonudur. Bu tepkimelerde yaygın olarak maleik anhidrit kullanılmakla beraber maleik asit ile onun ester ve asit halojenür türevleri de kullanılmaktadır (33,34).



Süksinik asit veya anhidritten hareketle de 3(2H)-piridazinon türevlerinin elde edildiği literatürde kayıtlıdır. Süksinik anhidrit ve benzenden susuz alüminyum klorür katalizörlüğünde benzoil propanoik asit türevleri elde edilmekte ve bu bileşiklerin de hidrazin hidrat ile reaksiyonu sonucu 4,5-dihidro-3(2H)-piridazinon yapısı oluşmaktadır (23,78).

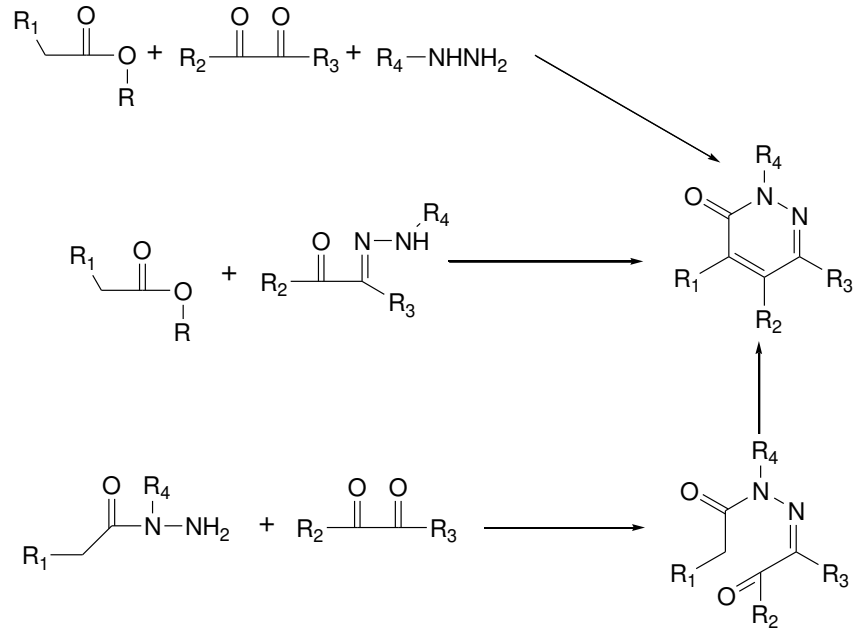


2.2.1.3. 1,2-Dikarbonil Bileşiklerinden 3(2H)-Piridazinon Eldesi

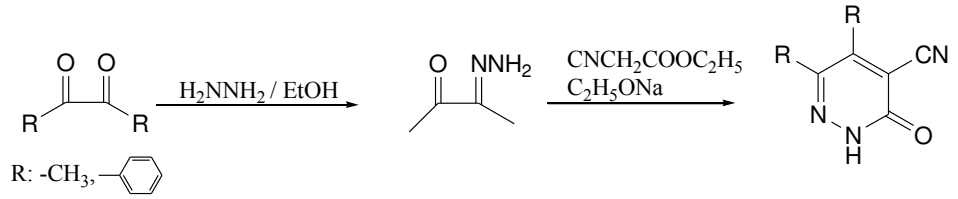
Schmidt ve Druey 1954 yılında piridazinon bileşiklerinin sentezi için çok kullanışlı ve kolay uygulanabilir bir yöntem geliştirmişlerdir (79). Reaksiyon 1,2-

dikarbonil bileşiği ile monosübstitüe veya sübstitüe olmayan hidrazinin yanı sıra aktif metilen grubu içeren karboksil türevi bileşiğin kondensasyonu sonucu 3(2*H*)-piridazinon türevlerinin oluşması esasına dayanmaktadır. Dikarbonil bileşikleri olarak 1,2-diketonlar, α -ketoasitler veya glioksal ve esterler; reaktif bir α -metilen grubu olarak ise malonik asit, asetoasetik asit, siyanoasetik asit, benzoilasetik asit veya hippurik asit esterleri kullanılmaktadır (64).

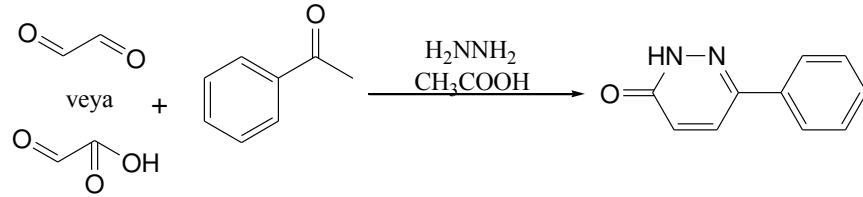
Tepkime dört ayrı yoldan yürümektedir. Üç bileşiğin kondensasyonundansa iki bileşik ile piridazinon halkası elde etmenin daha yaygın ve kolay olduğu bilinmektedir. Katalizör olarak genellikle sodyum etoksit kullanılmakla beraber glasiyel asetik asit-amonyum asetat da kullanılmaktadır. 1,2-diketon bileşikleri ile N-sübstitüe hidrazit türevlerinin reaksiyonunda katalizör kullanılmazsa reaksiyon hidrazon ara ürünü oluşturacak şekilde yürür (31).



1,2-diketon türevi diasetil ve benzil gibi bileşikler ile hidrazin hidratın etanol içerisindeki reaksiyonu sonucu monohidrazonların oluştuğu ve ardından monohidrazonun sodyum etoksit varlığında etil siyanoasetat ile siklokondenzasyonu sonucu 3(2*H*)-piridazinonların elde edildiği literatürler bulunmaktadır. Bu reaksiyonlar Schmidt ve Druey yönteminde olduğu gibi 1,2-diketonlardan siyanoasetik asit hidrazit ile bir hidrazon ara ürünü oluşturarak tek basamakta da gerçekleşebilmektedir (80,81).

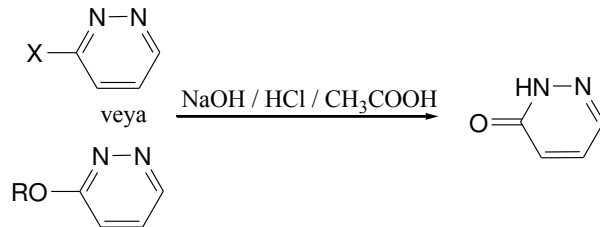


Glioksal veya glioksalik asit ile asetofenon türevlerinin asidik ortamda hidrazinhidrat ile ısıtılmasıyla 3(2*H*)-piridazinon bileşiklerinin elde edilmesi de 1,2-diketon türevlerinden piridazinon eldesine örnek olarak gösterilebilir (82,83).

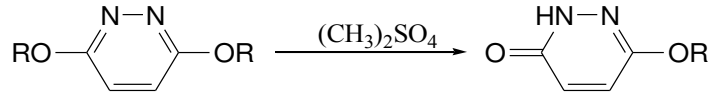


2.2.1.4. Piridazin Türevlerinden 3(2*H*)-Piridazinon Eldesi

3(2*H*)-Piridazinon yapısı piridazin türevlerinin modifikasyonu ile de elde edilebilmektedir. Piridazin halkasında yer alan halojen veya alkoksil gruplarının hidroliziyle karbonil yapısı taşıyan piridazinon bileşiklerine ulaşılır; fakat bu reaksiyonlarda tautomerik yapıların da oluşabileceği bildirilmektedir. Halojen hidrolizinde genellikle asetik asit tek başına veya sodyum ya da potasyum asetat ile birlikte kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra alkolik hidrojen klorür ve sülfürik asit gibi reaktiflerin de etkili olduğu bilinmektedir. Halojenlerin 4. ve 5. konumda olması diğer tepkimelerde olduğu gibi hidroliz için daha uygundur (16,27,28,31,84). Alkoksi sübstitüentlerin hidrolizinde seyreltik sulu halojenli asit ya da alkali çözeltilerin tercih edildiği bildirilmektedir (85).

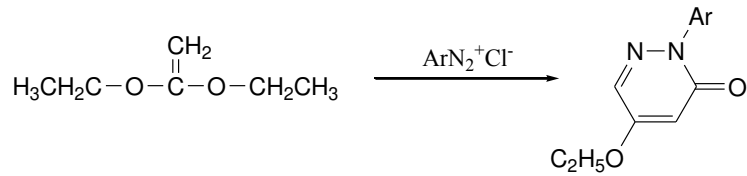


Literatürde 3,6-dialkoksipiridazin bileşiğinden *N*-alkilasyon reaksiyonu sonucu 3(2*H*)-piridazinon yapısının elde edildiği de literatürde bulunmaktadır (31).

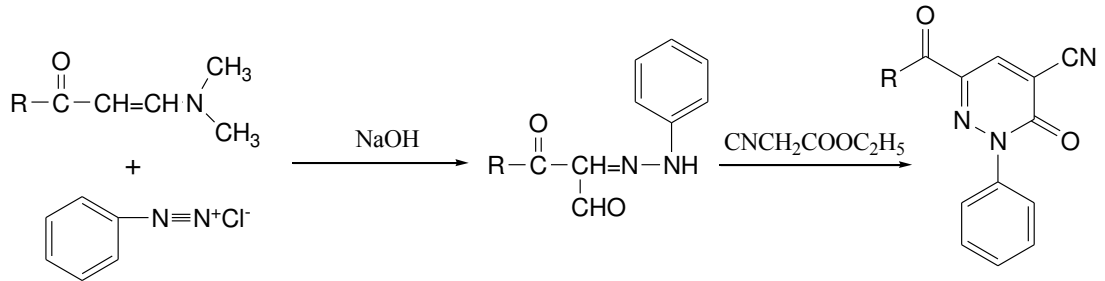


2.2.1.5. Diğer Sentez Yöntemleri

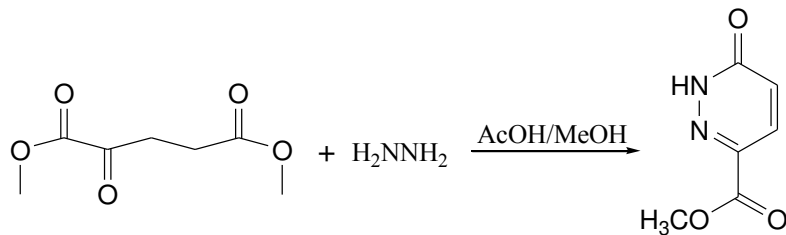
Piridazinon sentezi için yukarıda belirtilen yöntemlerin dışında asiklik bileşiklerden hareketle piridazinon eldesinden bahsedilebilir. Keten diasetil bileşiğinden diazonyum tuzu ile piridazinon sentezi yaygın olarak kullanılmaktadır (31).



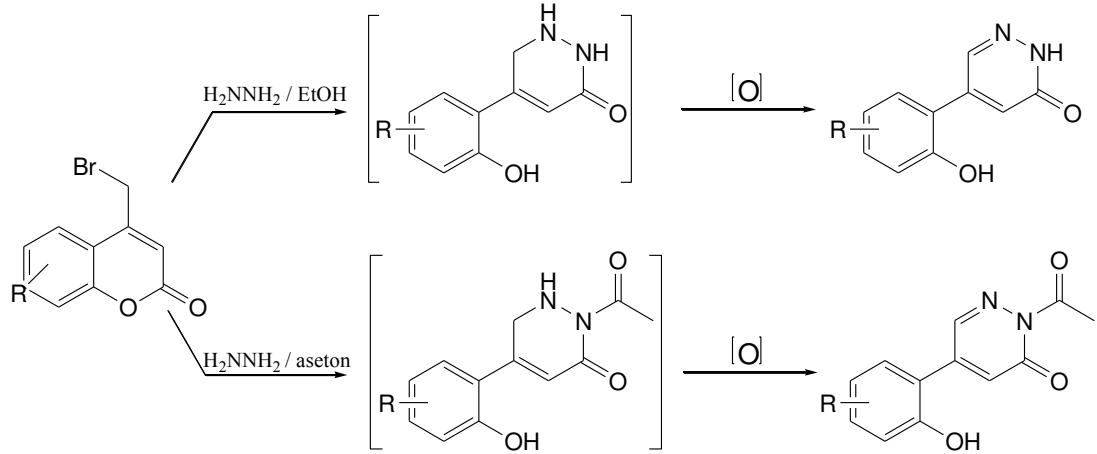
Sayed ve diğerlerinin 3-aminoenon türevi bileşiklerden sodyum hidroksit varlığında benzendiazonyum klorür tuzu ile 2-fenilhidrazonopropanal bileşiğini elde etmesi ve ardından bu bileşiğin etil siyanoasetat ile kondenzasyonu sonucunda piridazinon türevlerine ulaşması benzer reaksiyon olarak örnek gösterilebilir (86).



Gen hedeflemesi ile ilgili yapılan bir çalışmada piridazinon yapıları bir DNA bazı sentezlenmiştir. Başlangıç maddesi olarak kullanılan dimetil 2-oksoglutarat ve hidrazin, asetik asit ile metanol içinde katalizlenerek 6-metoksikarbonil-3(2H)-piridazinon bileşiği elde edilmiştir (87).



4-Bromometilkumarinden hidrazinhidrat ile etanol veya astik asit içerisinde ısı uygulanarak piridazinonların elde edildiği literatürde kayıtlıdır. Reaksiyonun hidrazinhidratın lakton karboniline nükleofilik saldırısı sonucu gerçekleştiği bildirilmektedir (88).



2.2.2. 3(2H)-Piridazinon Halkasının Kimyasal Reaksiyonları

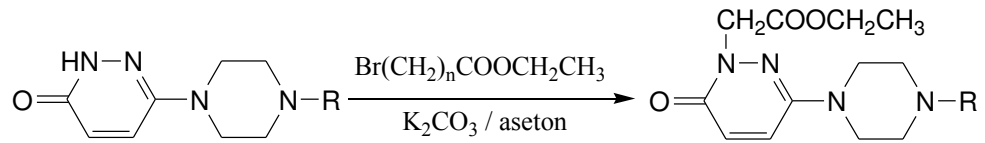
2.2.2.1. Alkilleme Reaksiyonu

Piridazinonların verdiği reaksiyonlar incelendiğinde alkilasyon tepkimelerinin azot veya oksijen atomu üzerinden yürüdüğü görülmektedir. Alkilleme reaksiyonları arasında literatürde en çok metil süstitüsüyonu yer almakta ve reaksiyon ortamı alkali olduğunda piridazinon halkasına alkil halojenür ya da dialkil sülfat eklenerek *N*-alkilasyon gerçekleşmektedir. Alkilleyici reaktifler olarak alkilamino, alkil halojenür, α -halo asit ya da esterleri ve 2-bromopiridin kullanıldığında *O*-alkil bileşikleri yerine her zaman *N*-süstitüe piridazinon türevlerinin oluştuğu bildirilmiştir (31, 89).

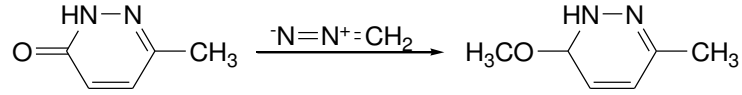
Tablo 2.3. 3(2*H*)-Piridazinon halkasının *N*-alkilasyon/arilasyon reaksiyonlarına örnekler

1 (84)	
2 (89)	
3 (90)	
4 (91)	

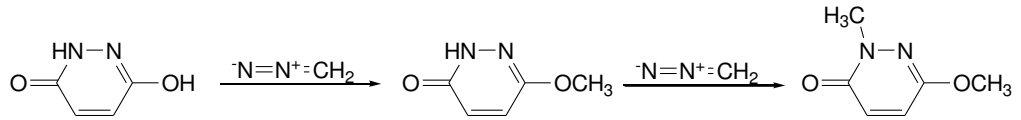
3(2*H*)-piridazinon bileşiklerinin alkilasyon tepkimelerinin önceleri, metalik sodyum ile etanol içerisinde veya sodyum hidroksit varlığında dimetilformamit içerisinde gerçekleştirildiği görülmektedir. Bu tepkimeler güçlü bazik koşullar, yüksek sıcaklık ve uzun süre gerektirdiğinden, hassas gruplar taşıyan piridazinon bileşiklerinin alkilenmesi için uygun olmamaktadır (92-95). Bu nedenle, son yapılan çalışmalarda, 3(2*H*)-piridazinon türevi bileşiklere K_2CO_3 varlığında aseton içerisinde R-Br gruplarının eklenmesiyle alkilasyon yapılmaktadır (27,84).



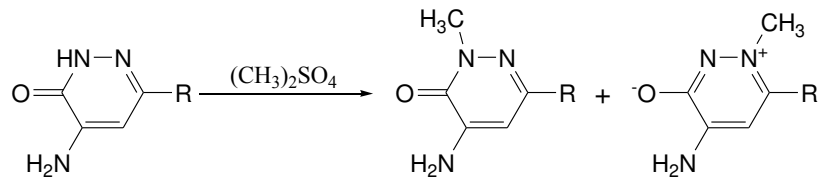
6-Metil-3(2*H*)-piridazinon ile diazometanın uygun koşullar altındaki alkilasyon reaksiyonuyla 6-metil-3-metokspiridazin bileşiğinin oluştuğu ve aynı reaksiyonda *N*-metil türevinin de oluştuğu bildirilmiştir (31).



Maleik hidrazitin diazometanla metillenmesi, bazik ortamda dimetil sülfatla olan tepkimesinin aksine yalnızca *O*-alkilasyon ile sonuçlanmaktadır. Tepkime sonucunda oluşan monometokspiridazinon daha sonra tekrar diazometanla veya metil iyodür, dimetil sülfat gibi başka metilleyici reaktiflerle metillenirse *N,O*-dimetil türevi bileşikler oluşmaktadır (31).

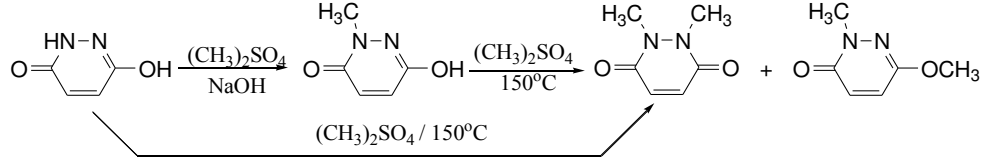


Süstitüent içeren piridazinonların alkilasyon tepkimeleri oldukça karmaşıktır. 6-süstitüe-4-amino-3(2*H*)-piridazinonlar ile dimetil sülfatın alkilasyon reaksiyonundan *N*-süstitüe piridazinonlar meydana gelmektedir. Bu reaksiyon sonucunda oluşan ürünler piridazinon halkasının 6. konumundaki süstitüente bağlı olarak değişmektedir. 6. konumda süstitüentin olmadığı durumlarda 1-metilpiridazinon ve 2-metilpiridazinon bileşiklerinin oluştuğu; 6. konumda metil, metoksi veya klor süstitüenti bulunduğu ise; 2-metilpiridazinondan ziyade 1-metilpiridazinon bileşiğinin oluştuğu literatürde kayıtlıdır (31).

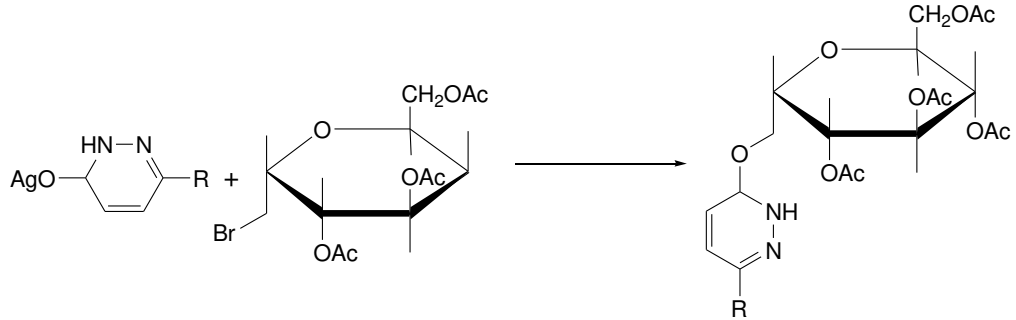


Maleik hidrazit ile dimetil sülfatın metilasyon reaksiyonundan tepkime koşullarına bağlı olarak üç farklı ürün elde edildiği ve sulu bazik ortamda gerçekleşen tepkimede sadece *N*-metil türevinin oluştuğu bildirilmiştir (96). Maleik hidrazit ile dimetil sülfatın 150°C'de ısıtılmasından 1,2-dimetil ve 1-metil-3-metoksi

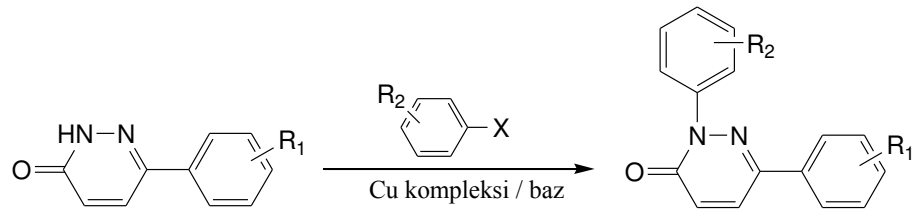
türevleri karışımının elde edilirken; ısıtma süresinin uzatılmasıyla sadece 1,2-dimetil bileşiğinin oluştuğu bildirilmiştir (31).



Piridazinonun gümüş tuzu kullanılarak piridazin-*O*-glikozitlerinin hazırlanmasında, bromotetraasetilglikozit ile tepkimesi sonucu yüksek bir verimle glikozilokspiridazin elde edildiği; gümüş tuzunun kullanılmadığı tepkimelerde ise *N*-süstitüe türevlerin elde edildiği bildirilmiştir (11).

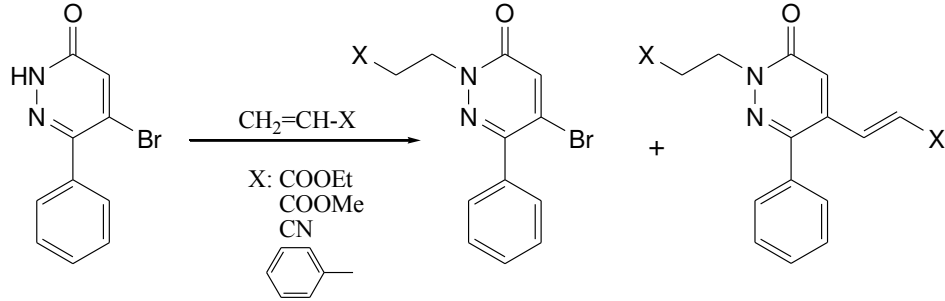


Pu ve diğerleri 3(2*H*)-piridazinondan arilhalojenürlerle K_2CO_3 varlığında Cu kompleksleri kullanarak *N*-arilpiridazinon türevlerini elde etmişlerdir (97). Liang ve diğerleri de benzer şekilde 4,5-dihidro-3(2*H*)-piridazinon türevi bileşiklerden bazik ortamda bakır katalizörlüğünde aril halojenürle *N*-aril-3(2*H*)-piridazinon türevlerini elde etmişlerdir (90).



5-Bromo-6-fenil-3(2*H*)-piridazinon ile etil akrilatın bir miktar fazlasından Heck alkenilasyonu ile *N*-alkil-5-alkenil-6-fenil-3(2*H*)-piridazinon ve *N*-alkil-5-bromo-6-fenil-3(2*H*)-piridazinon karışımının elde edildiği literatürde kayıtlıdır. Reaksiyonda katalizör olarak trifenilfosfin ve tri-2-tolilfosfin ile beraber $Pd(Ph_3)_4$,

$\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$, $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ kullanılırken, baz olarak trietilamin, sodyum karbonat veya sodyum asetat, çözücü olarak ise asetonitril, toluen veya DMF kullanılmaktadır (91).

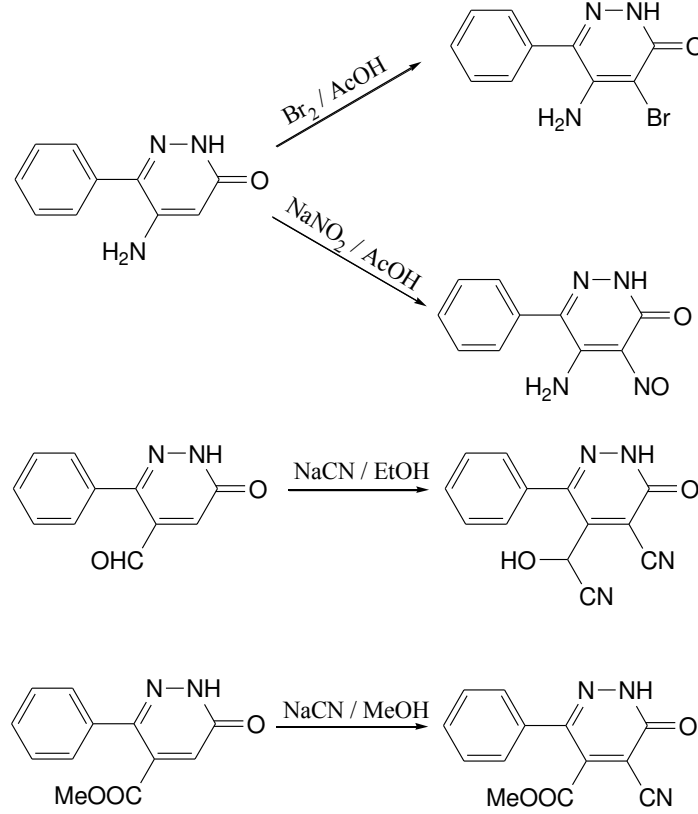


2.2.2.2. Nükleofilik Yer Değiştirme Reaksiyonları

Piridazin halkasının, özellikle de elektronegatif sübstitüent içerenlerin nükleofilik yer değiştirme tepkimelerine karşı aktif oldukları bildirmiştir. Bu ilgi, piridazinon halkasında karbonil grubunun elektron çekici etkisi ile daha da artmakta ve β konumunda en güçlü etkiye ulaşılmaktadır. Bu durum halopiridazinonların amonyak, amin ve hidrazin gibi nükleofillerle olan reaksiyonunu kolaylaştırmaktadır. Bu reaktiflerin dışında sulu inorganik bazlar, alkali metal oksitler, fenoksitler, hidrosülfidler ve aril/alkil tiyoller de nükleofilik tepkimelerde kullanılmaktadır. Reaksiyonda ayrılan grup genellikle klor olmakla beraber nadiren alkoksit ve nitro gruplarının da halkadan ayrıldığı bildirilmiştir. 3(2H)-piridazinon bileşiklerinde 2. konumundaki azot atomunun bir alkil veya aril sübstitüenti taşıdığı durumlarda, güçlü bazik nükleofillerle reaksiyon rahatlıkla yürüyebilmekte; azot atomunun sübstitüent taşımadığı halopiridazinonlarda ise tepkimenin çok yavaş yürüdüğü veya hiç gerçekleşmediği bildirilmektedir (98). Bu durum; asidik olan yapının kuvvetli baz etkisiyle iyonlaşarak diazin sisteminin negatif yük kazanması ve dolayısıyla nükleofilik sübstitüsyona karşı dirençli hale gelmesiyle açıklanmaktadır (31, 64).

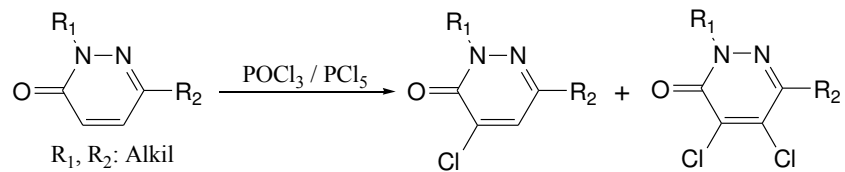
Sotelo ve diğerleri yapmış oldukları bir çalışmada 5-sübstitüe-3(2H)-piridazinon türevi bileşiklerin 4. konumundan nükleofilik sübstitüsyon reaksiyonlarını gerçekleştirmişler, reaksiyon sonucu elde ettikleri bileşiklerin yapılarını ^1H -NMR spektrumları ile kanıtlamışlardır. 5. Konumunda elektron çekici sübstitüentlerin bulunması durumunda 4 numaralı pozisyon elektrofilik karakter

kazanmakta, elektron salan grupların bulunması durumunda ise nükleofilik özellik kazanmaktadır. 5-amino, 5-formil ve 5-metoksikarbonil-3(2*H*)-piridazinon türevlerinin brom, nitril, nitrozo süstitüsyonunun gerçekleştirildiği bu çalışmada reaktif olarak brom, sodyum siyanid ve sodyum nitrit kullanılırken çözücü olarak da metanol, etanol ve asetik asit kullanılmıştır (99).

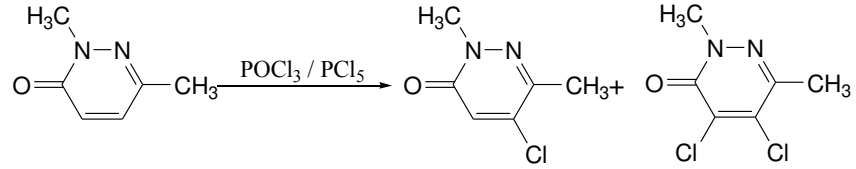


2.2.2.3. Elektrofilik Yer Değiştirme Reaksiyonları

Piridazinon halkasının elektrofilik süstitüsyon reaksiyonu zor olmakla beraber, halojenlenme tepkimelerinin kolayca gerçekleştiği bildirilmektedir. Pek çok 1,3-disüstitüe-3(2*H*)-piridazinon türevi bileşiğin klor, fosfor pentaklorür veya fosfor klorür/fosfor pentaklorür karışımı ile 4-kloro türevlerini ve 4,5-dikloro yan ürünlerini verdiği bulunmuştur (31).



Halojen atomu genellikle karbonil grubuna komşu pozisyonlardan halkaya girerken; 2,6-dimetil-3(2*H*)-piridazinonun halojenlenme reaksiyonunda bu durumdan farklı olarak 5-kloro ve 4,5-dikloro türevi ana ürünlerin de oluştuğu bildirilmektedir (31).

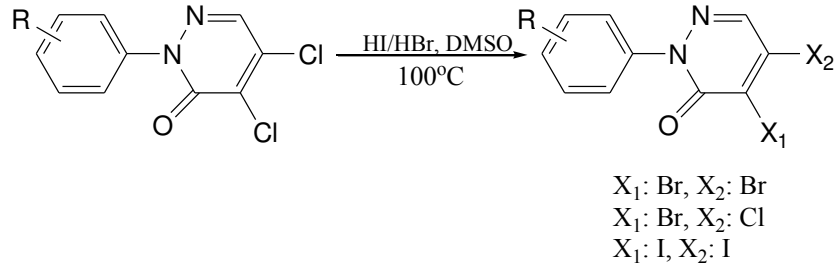


Dihidropiridazinon türevlerinin fosfor oksiklorür ve fosfor pentaklorür reaktifleri karışımıyla reaksiyonu neticesinde, halojen atomunun halkaya her zaman karbonil grubuna komşu 5. konumdan girdiği ve halkanın yükseltgendiği literatürde kayıtlıdır (100-102).

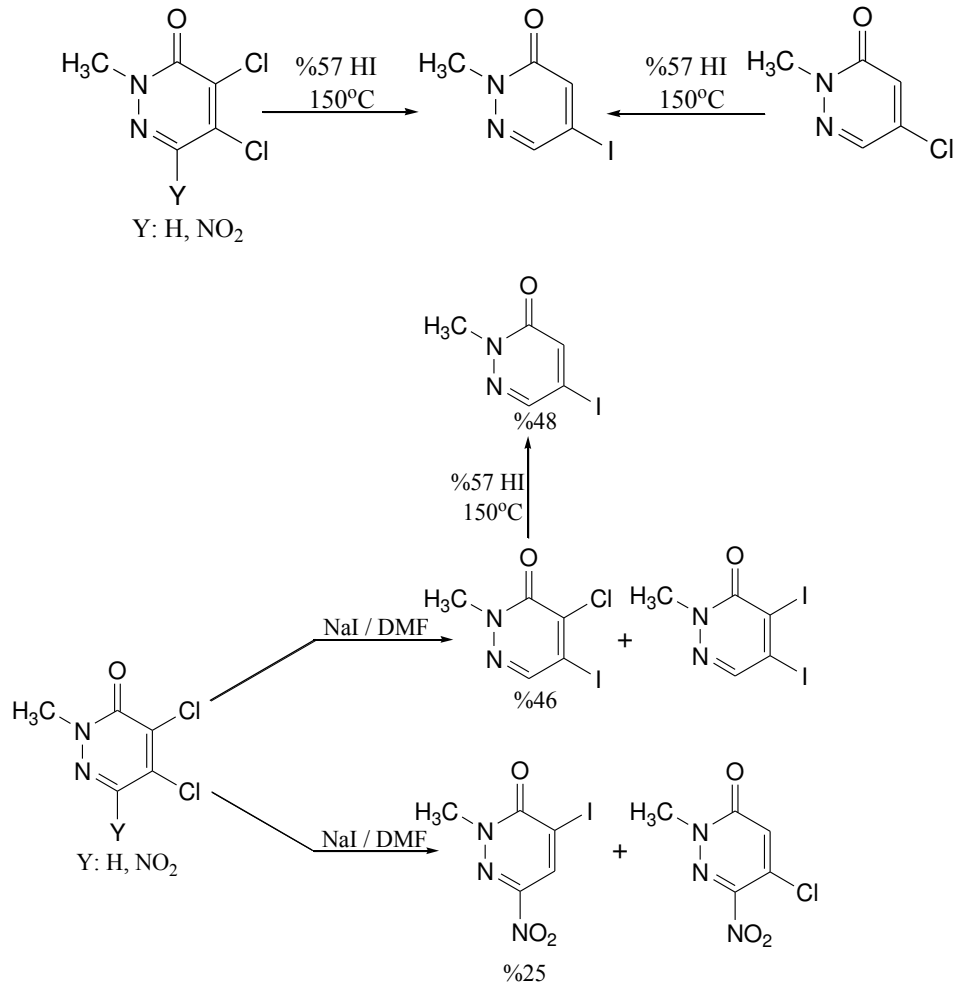
2.2.2.4. 3(2*H*)-Piridazinon Bileşiklerinin Halojenlenmesi ve Halojen Değişimi Reaksiyonları

Piridazinon türevlerinde en sık görülen tepkimelerden biri oksijen atomunun halojenlerle yer değiştirme reaksiyonudur. Bu reaksiyonlar sonucu elde edilen 3-halo ve 3,6-dihalo-piridazin türevleri, farklı piridazinlerin sentezinde en çok kullanılan ara ürünlerdir. Halojenleme reaksiyonlarında en sık kullanılan reaktif olan fosforil oksiklorür tek başına veya fosfor triklorür ya da fosfor pentaklorür gibi reaktiflerle birlikte kullanılmaktadır. Bunların dışında daha az reaktif olan fosfor bromürün, bromopiridazinonların eldesinde kullanıldığı; fakat genellikle fosfor klorür ve fosfor tribromürle beraber kullanılmasının daha etkili olduğu bildirilmektedir (31,64,103,104).

4,5-dikloro-3(2*H*)-piridazinonun % 47'lik hidrobromik asit ya da hidroiyodik asitle tepkimesinden 4,5-dibromo-, 4-bromo-5-kloro- ve 4,5-diiodo-3(2*H*)-piridazinon türevi bileşiklerin elde edildiği bildirilmiştir (105).

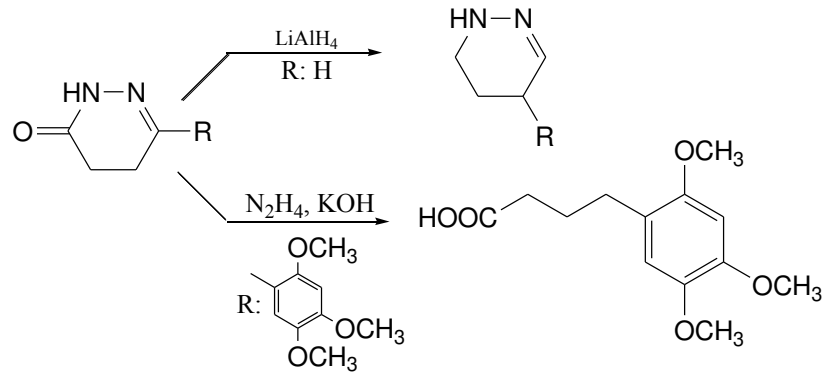


Kloropiridazin-3(2*H*)-onların iyotla olan reaksiyonlarının araştırıldığı bir çalışmada 4-kloro, 5-kloro ve 4,5-dikloropiridazin-3(2*H*)-on türevi bileşiklerin % 57'lik hirojen iyodürle veya sodyum iyodürle nükleofilik süstitüsyonu ve ardından redüktif deiyodinasyonu ile 3-(2*H*)-iyodopiridazinonların elde edildiği bildirilmiştir. Redüksiyon reaksiyonunun piridazinon halkasındaki süstitüentlere bağı olduğu, elektron çekici süstitüentlerin varlığında daha güçlü anyonik ara ürünlerin oluştuğu ve hidrodeiyojinasyonun kolaylaştığı görülmüştür (106).

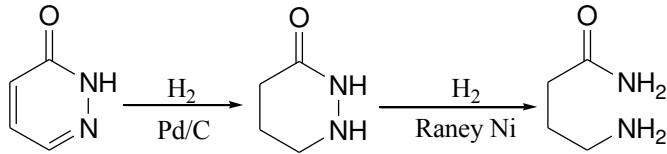


2.2.2.5. Halka İndirgenme ve Katım Reaksiyonları

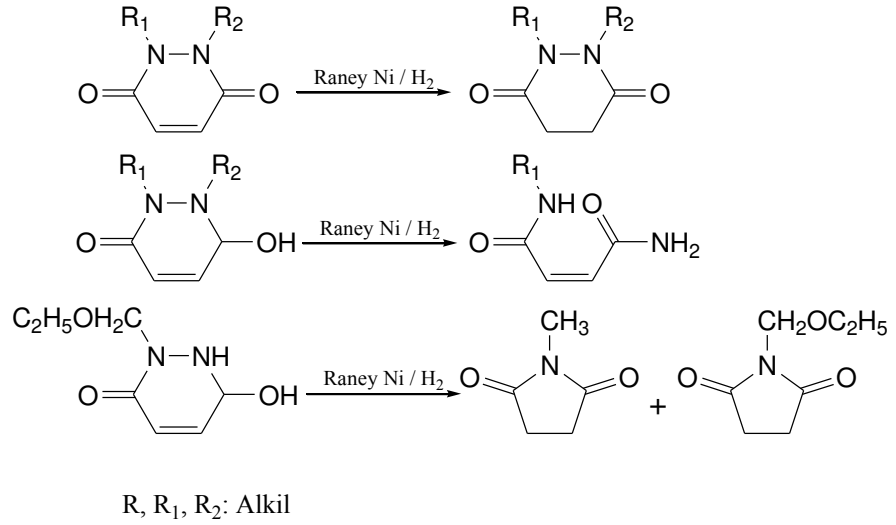
3(2*H*)-piridazinon bileşiklerinin halka indirgenme tepkimelerine çok sık rastlanmamakla birlikte, 4,5-dihidropiridazin bileşiklerinin tetrahidro türevlerine dönüştürülmesiyle ilgili çalışmalar bulunmaktadır. Ayrıca, Wolff-Kishner redüksiyonu ile 4,5-dihidropiridazinon bileşiklerinde halka açılmasının gerçekleştiği ve LiAlH_4 ile de halkadaki karbonil grubunun metilene indirgendiği bildirilmektedir (31).



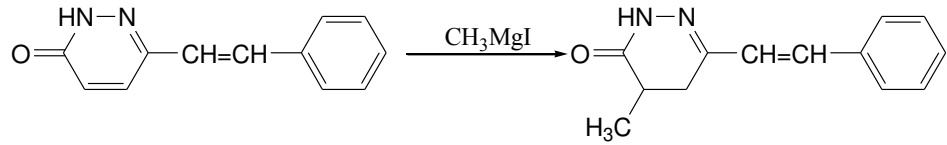
3(2*H*)-Piridazinon bileşiğinin, Pd/C katalizörü ile redüksiyonu sonucu 1,4,5,6-tetrahidro-3(2*H*)-piridazinonu ve ardından da Raney nikeli ile 4-aminobütiramit bileşiğini verdiği literatürde yer almaktadır (107).



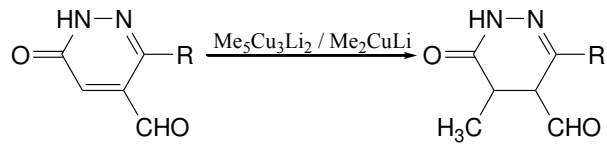
Maleik hidrazitlerin, Adams katalizörü (Raney nikeli ve platin oksit) ve paladyum/kalsiyum karbonat katalizörleriyle indirgendiği bilinmektedir. 1,2-disüstitüe maleik hidrazitin 4-5 çifte bağının indirgenmesiyle süksinik hidrazit türevleri elde edilmektedir. Monosüstitüe türevlerde ise halka açılması veya halka küçülmesi sonucu süksinimit türevi bileşikler oluşmaktadır (108,109).



Piridazinon halkasının Grignard bileşikleriyle reaksiyonu sonucu 4-5 çift bağının doyurulması sağlanabilmektedir. 6-(α -Stiril)piridazin-3(2*H*)-on bileşiğinin fenilmagnezyum bromür ya da metilmagnezyum iyodür gibi Grignard bileşikleriyle olan reaksiyonu sonucu 4-fenil veya 4-metil-6-(α -stiril)piridazin-3(2*H*)-on türevi bileşiklerinin elde edilmesi bu duruma örnek verilebilir (110).



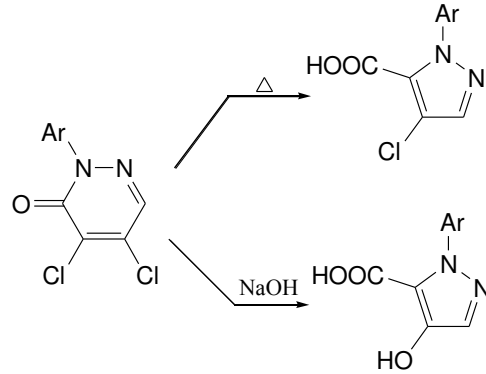
5-Aldehido-6-arilpiridazin-3(2*H*)-on bileşiğinin dimetil veya pentametiltakırlityum reaktifi ile metilasyonu sonucu da 4,5-doymuş piridazinon bileşikleri elde edilmektedir (111).



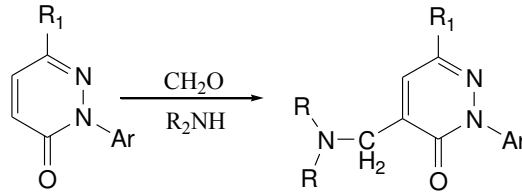
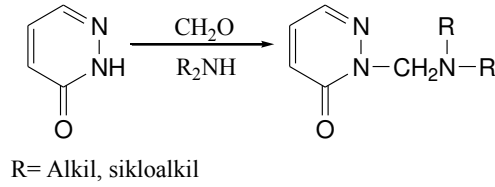
2.2.2.6. Diğer Reaksiyonlar

Bazı halka küçülmesi tepkimeleri sonucu 2-aril-3(2*H*)-piridazinon bileşiklerinden pirazol türevlerinin oluştuğu ve tepkime koşullarına göre süstituentlerin değişebildiği bildirilmektedir. 4,5-dikloro-2-fenil-3(2*H*)-piridazinon bileşiklerinin ısıtılmasıyla kloropirazolkarboksilik asitin elde edilmesi veya

dietokspiridazinonun hidrobromik asitli ortamda ısıtılmasıyla da benzer ürünlerin elde edilmesi bu duruma örnek verilebilir (31).



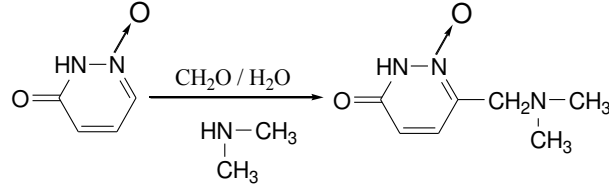
Asidik karakterde olan piridazinon ve maleik hidrazit türevi bileşikler azot atomu üzerinden süstitüsyonla hidroksimetilasyon ve Mannich reaksiyonlarını vermektedirler (108,112). 2-Aril-3(2*H*)-piridazinonlarda Mannich reaksiyonu ile yapılan aminoalkilasyonun karbonil grubuna komşu atom üzerinden yürüdüğü bildirilmektedir (31).



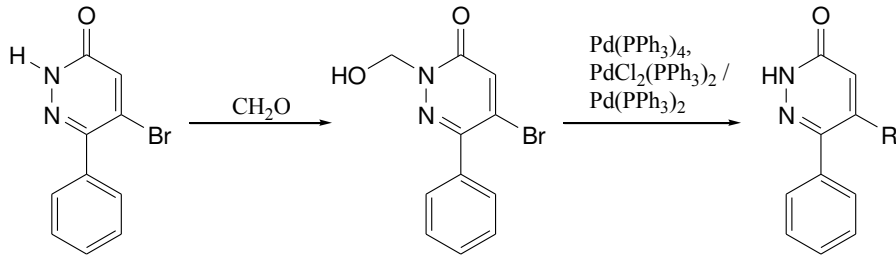
Sıddıqui ve diğerleri de benzer şekilde 6-süstitüefenil-4,5-dihidropiridazin-3(2*H*)-on bileşiklerinden formaldehit ve siklik sekonder aminle Mannich reaksiyonu sonucu 6-(süstitüefenil)-2-(süstitüemetil)-4,5-dihidropiridazin-3(2*H*)-on bileşiklerini elde etmişlerdir (113).



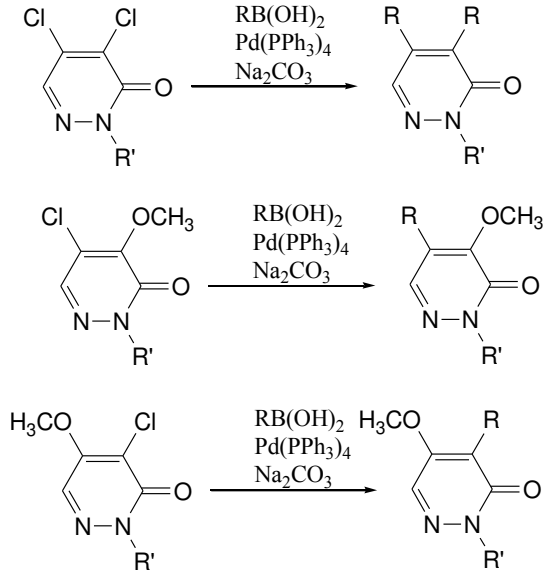
Mannich reaksiyonunun yapıldığı başka bir çalışmada, 3(2*H*)-piridazinon-1-oksit bileşiklerinde aktive edici grup N-oksit olduğundan, bu bileşiklerin yer değiştirme tepkimelerinin 6. konumdan yürüdüğü bildirilmektedir (31).



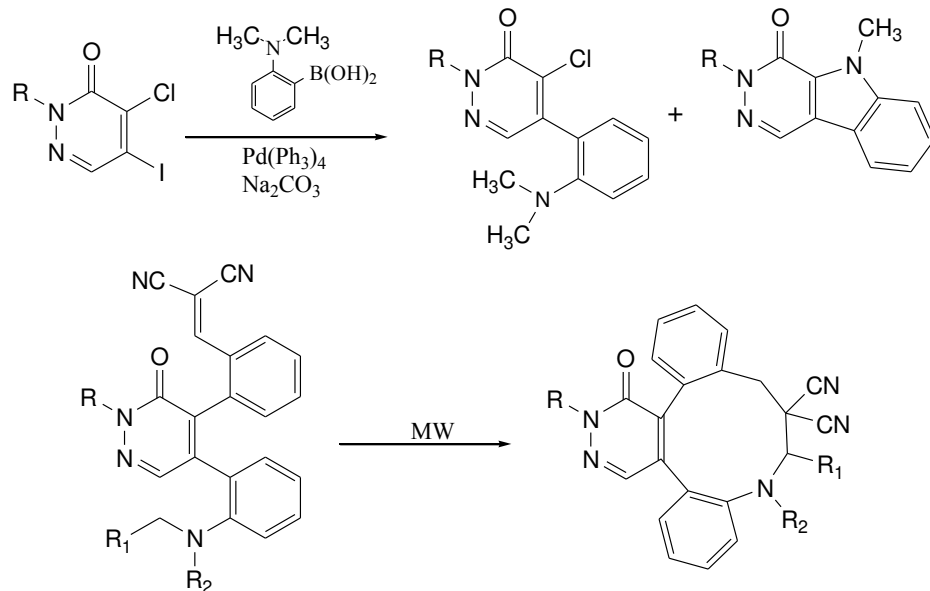
Piridazinon halkasının 2. konumunda yer alan NH grubu paladyum katalizörü ile gerçekleşen reaksiyonları engellemektedir (114-116). Bu sebeple 3(2*H*)-piridazinon türevlerinin nükleofilik halojen süstitüsü için 2. konumda alkil ya da hidroksimetil gibi bir koruyucu grup bulunması gerekmektedir (92, 117). 5-Bromo-6-fenil-3(2*H*)-piridazinon türevleri paladyum katalizörlüğünde gerçekleşen reaksiyonlara karşı dirençli olduğundan 5-süstitüe 6-fenil-3(2*H*)-piridazinon türevi bileşiklere tek basamakta ulaşıldığı bildirilmektedir (118).



Piridazinon türevlerinin eldesinde deneysel olarak ve maliyet açısından elverişli olan çapraz eşleşme (cross coupling) reaksiyonları yaygın olarak kullanılmaktadır. Maes ve diğerlerinin 2-metil ve 2-fenil-4,5-dikloro-3(2*H*)-piridazinon bileşikleriyle arilboronik asit türevlerinden bazik ortamda paladyum katalizörlüğünde Suzuki reaksiyonu sonucu 4-aril-5-metoksi-3(2*H*)-piridazinon, 4-metoksi-5-aril-3(2*H*)-piridazinon ve 4,5-aril-3(2*H*)-piridazinon türevi bileşikleri elde etmesi çapraz eşleşme reaksiyonlarına örnek verilebilir (119).



4,5-Dihalopiridazinon türevlerinin boronik asitlerle bazık ortamda Suzuki eşleşme reaksiyonu sonucu indol türevi bileşikleri verdiği bildirilmektedir. Ayrıca 4. ve 5. konumlarında vinilfenil ve tersiyer aminofenil grubu içeren piridazinon türevlerinin mikrodalga sentez yöntemiyle halka kapanmasına uğrayarak azesin halka sistemlerini oluşturduğu literatürde kayıtlıdır (120).



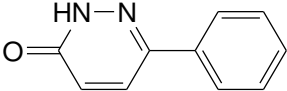
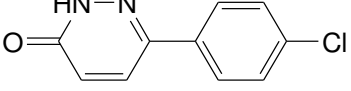
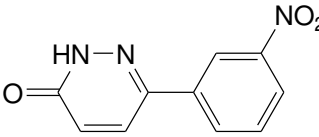
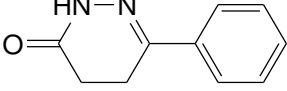
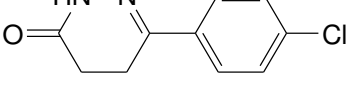
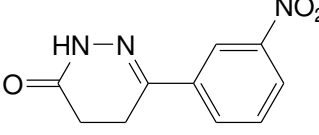
2.2.3. 3(2H)-Piridazinonun Spektral Özellikleri

2.2.3.1. UV Spektral Özellikleri

3(2H)-Piridazinon halkası yapısında var olan karbon-oksijen ve karbon-azot çifte bağı ile heteroatomlardan dolayı başta $\pi \rightarrow \pi^*$ ve $n \rightarrow \pi^*$ geçişleri nedeniyle 200 ila 400 nm arasında absorpsiyon bantları vermektedir. Halkanın süstitüe olması durumunda bantlarda batokromik ya da hipsokromik kayma görülür. Piridazinon halkasının absorpsiyon spektroskopisi üzerine yapılan çalışmalar 6-fenil-3(2H)-piridazinon bileşiğinin fenil halkasına nükleofilik bir nitro grubunun meta konumundan bağlanmasının hipsokromik kaymaya, para konumundan halojen süstitüsyonunun ise batokromik kaymaya neden olduğunu göstermektedir (121).

Ayrıca spektrumun alındığı çözücünün de absorpsiyonu etkilediği, çözücünün nötral, asidik veya bazik olması durumunda farklı dalga boylarında absorpsiyonun gerçekleştiği bildirilmektedir. Bu durum 3(2H)-piridazinon yapısının tautomerik özellik göstermesinden kaynaklanmaktadır. Nötral ve asidik çözücü içerisinde enol formunda, bazik ortamda ise keto ve 4,5-dihidro formunda bulunan piridazinon halkasının, C=O ve C-OH fonksiyonel gruplarının ve dihidro yapısında konjugasyondaki değişikliğin etkisiyle maksimum absorbans dalga boyu değişebilmektedir (121).

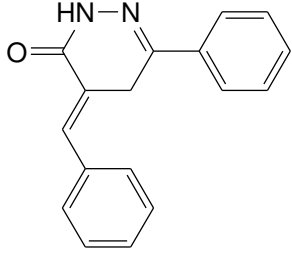
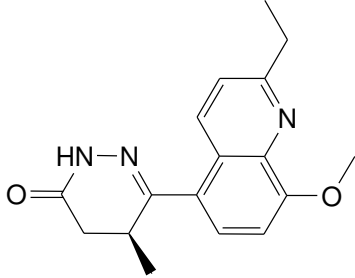
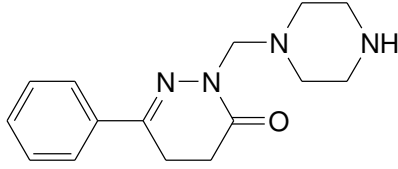
Tablo 2.4. Bazı 3(2*H*)-piridazinon türevi bileşiklerin UV spektrum verileri (121).

Bileşik	Çözücü	λ_{max}
	Etanol	253
	0.01 N NaOH	265
	0.01 N HCl	249
	Etanol	257
	0.01 N NaOH	265
	0.01 N HCl	255
	Etanol	250
	0.01 N NaOH	265
	0.01 N HCl	245
	Etanol	285
	0.01 N NaOH	280
	0.01 N HCl	280
	Etanol	290
	0.01 N NaOH	285
	0.01 N HCl	285
	Etanol	274
	0.01 N NaOH	274
	0.01 N HCl	274

2.2.3.2. İnfrared (IR) Spektral Özellikleri

3(2*H*)-Piridazinon yapısının IR spektral analizlerinde 3387 cm^{-1} 'de NH gerilim bandı, 1681 cm^{-1} 'de C=O gerilim bandı, 3400 cm^{-1} 'de kuvvetli bir bant, 3200-2600 cm^{-1} 'de zayıf ve geniş bir bant ve 1647/1653 cm^{-1} 'de dublet bir C=O gerilim bandı görüldüğü literatürde kayıtlıdır (31). 3400 civarında görülen kuvvetli bantın serbest N-H gerilimden, 3200-2600 cm^{-1} arasındaki bantın ise iki molekülün NH ve OH gruplarının oluşturduğu moleküller arası hidrojen bağından dolayı oluştuğu bildirilmektedir (122).

Tablo 2.5. Bazı 3(2*H*)-piridazinon türevi bileşiklerin IR spektrum verileri

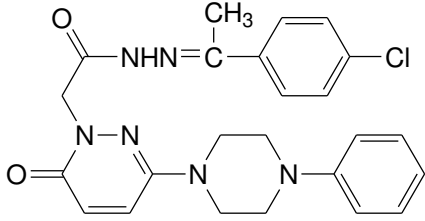
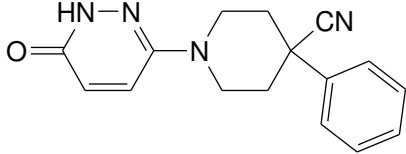
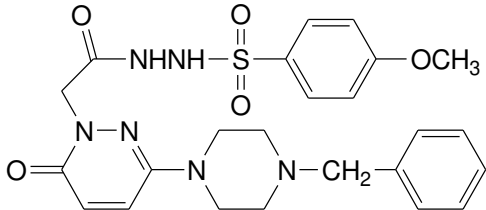
Bileşik	IR spektrum verileri
	3400 (N-H gerilim), 3050 (N-H gerilim), 2862 (alifatik C-H gerilim), 1642 (C=O gerilim), 1603 (aromatik C=C gerilim), 1258 (C-N gerilim) (23).
	3400 (N-H gerilim), 3050 (N-H gerilim), 2966 (alifatik C-H gerilim), 1671 (C=O gerilim), 1564/1508 (aromatik C=C gerilim), 1309 (C-N gerilim) (75).
	3325 (N-H gerilim), 2964 (alifatik C-H gerilim), 1661 (C=O gerilim), 1424 (aromatik C=C gerilim), 1309 (C-N gerilim) (113).

2.2.3.3. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Spektral Özellikleri

3(2*H*)-Piridazinon bileşiklerinin ¹H-NMR spektrumlarında NH protonuna ait pik çözücü, konsantrasyon ve sıcaklığa bağlı olarak 7-13 ppm arasında çıkmakta veya bazı durumlarda görülmemektedir. *N*-süstitüe piridazinon türevlerinde NH protonuna ait pikin kaybolması 2-süstitüepiridazinon türevlerine geçildiğini gösteren en önemli spektral verilerden birisidir.

5-Metil-3(2*H*)-piridazinon bileşiğine ait, DMSO-*d*₆'da alınan ¹H-NMR spektrumunda NH protonunun 12.6 ppm'de, halkanın 4. ve 5. konumlarındaki hidrojenlerin de sırasıyla 6.58 ve 7.66 ppm'de sinyal verdikleri bildirilmektedir (134). 6-Fenil-5-metil-3(2*H*)-piridazinon bileşiğinin ise CDCl₃ içerisinde alınan ¹H-NMR spektrumunda NH protonuna ait pikin 8,40 ppm'de, piridazinon halkasına ait protonun ise 6,86 ppm'de görüldüğü bildirilmektedir (124).

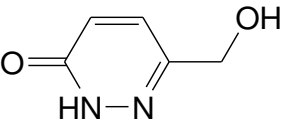
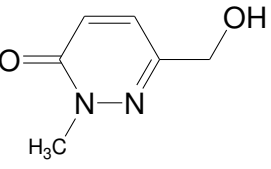
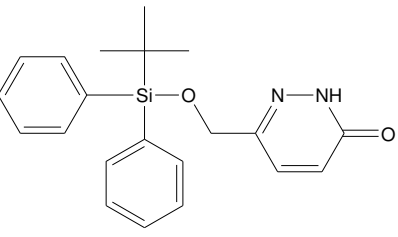
Tablo 2.6. Bazı 3(2*H*)-piridazinon türevi bileşiklerin ¹H-NMR spektrum verileri

Bileşik	¹ H-NMR spektrum verileri
	(DMSO-d ₆): δ (ppm) 11.69 (s, 1H, NH), 7.73-7.70 (d, 1H, piridazinon H ⁵), 7.68-6.91 (m, 9H, aromatik protonlar), 6.83-6.79 (d, 1H, piridazinon H ⁴), 5.06 ve 4.68 (s, 2H, CH ₂), 3.36-3.34 (t, 4H, piperazin a+a' protonları), 3.28-3.24 (t, 4H, piperazin b+b protonları), 2.23 (s, 3H, CH ₃) (84).
	(DMSO-d ₆): δ (ppm) 12.19 (s, 1H, piridazinon N-H), 7.63-7.52 (m, 3H, fenil H ³ +H ⁴ +H ⁵), 7.52-7.42 (m, 2H, fenil H ² +H ⁶), 7.42-7.34 (d, 1H, piridazinon H ⁵), 6.86-6.77 (d, 1H, piridazinon H ⁴), 4.07-3.90 (d, 2H, piperidin H ²), 3.09-2.89 (t, 2H, piperidin H ⁶), 2.28-2.15 (d, 2H, piperidin H ⁵), 2.15-1.99 (d, 2H, piperidin H ³) (15).
	(DMSO d ₆) (ppm): 3.32-3.38 (m, 8H, piperazin protonları), 3.81 (s, 3H, OCH ₃), 4.45 (2H, s, CH ₂), 4.73 (s, 2H, fenil-CH ₂ -piperazin), 6.85 (1H, d, piridazinon 290 H ₄ ; J=8.9 Hz), 7.30-7.75 (m, 10 H, fenil protonları+piridazinon H ₅), 9.85 ve 9.90 (1H, s, HN=CO), 10.24 (1H, s, NH SO ₂). (28).

6-Süstitüe ve 2,6-disüstitüe-3(2*H*)-piridazinon türevlerinde N-2 ve C-6 süstitüentlerinin piridazinon halkasındaki atomlar üzerine etkisi ve bu atomların kimyasal kayma değerleri tek boyutlu ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektral analizleri ve iki boyutlu NOE, DEPT, COSY, HSQC ve HMBC analizleri ile belirlenmiştir. 2,6-Alkil süstitüe piridazinonların HSQC analiziyle N-2 veya C-6 atomlarının bu konumlara direkt bağlı karbon atomları ile arasındaki etkileşme ve bu atomların kimyasal kayma değerleri incelenmiştir. Ayrıca COSY ve HSQC analizleri aromatik

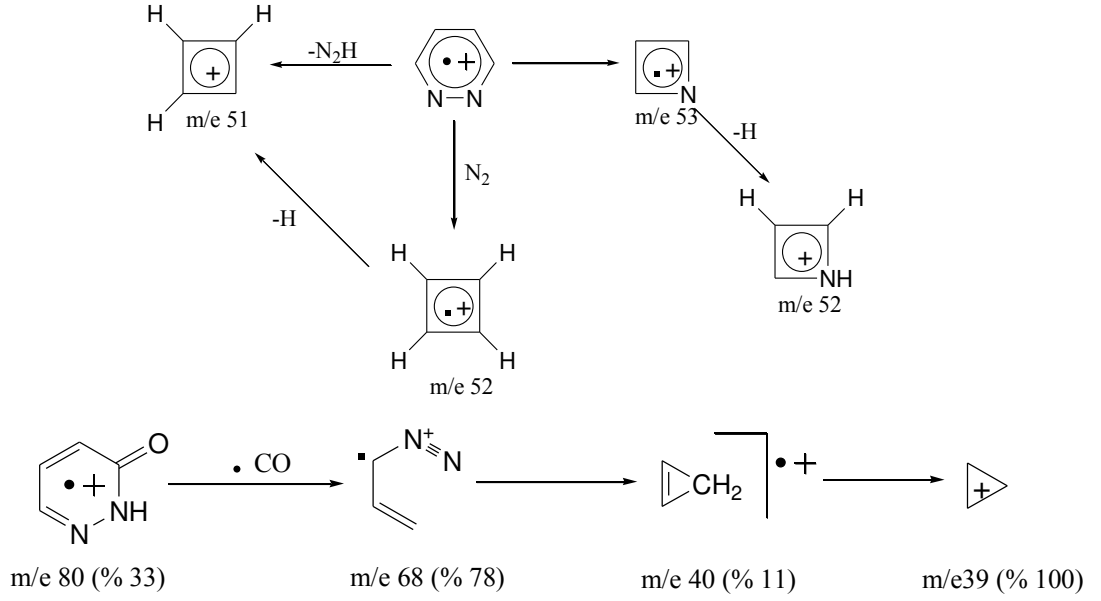
süstitüent taşıyan değişik türevlerde aromatik protonlar ile olan etkileşmeyi incelemek için de kullanılmıştır (125).

Tablo 2.7. 6-Süstitüe/2,6-disüstitüe-3(2*H*)-piridazinon türevi bileşiklerin ¹³C-NMR spektrum verileri (125).

Bileşik	¹ H-NMR spektrum verileri
	(CDCl ₃) (ppm): 163.7 (piridazinon C ₃), 130.8 (piridazinon C ₄), 132.4 (piridazinon C ₅), 150.2 (piridazinon C ₆), 63.5 (CH ₂).
	(CDCl ₃) (ppm): 162.6 (piridazinon C ₃), 130.3 (piridazinon C ₄), 133.5 (piridazinon C ₅), 149,8 (piridazinon C ₆), 63.5 (CH ₂).
	(CDCl ₃) (ppm): 161.5 (piridazinon C ₃), 130.4 (piridazinon C ₄), 132.4 (piridazinon C ₅), 147.7 (piridazinon C ₆), 64.2 (CH ₂), 135.5 (<i>o</i> -CH), 132.6 (C), 130.0 (<i>p</i> -CH), 127.9 (<i>m</i> -CH), 26.8 (CH ₃), 19.2 (CCH ₃).

2.2.3.4. Kütle Spektral Özellikleri

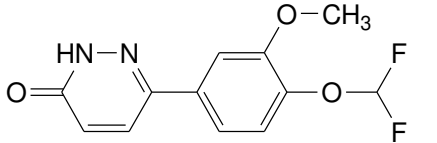
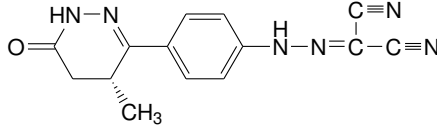
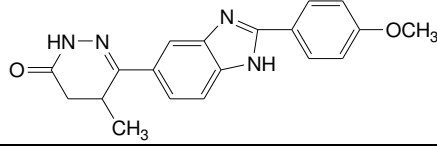
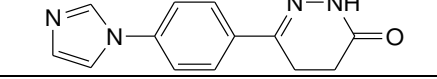
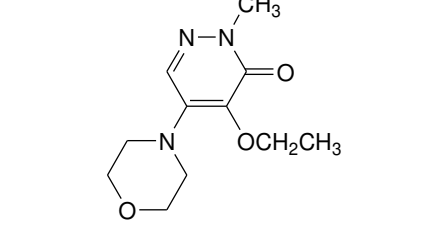
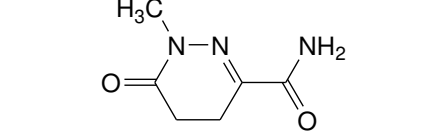
Piridazin ve 3(2*H*)-piridazinon bileşiklerinin kütle spektrumları, çoğu bileşiğin moleküler iyon piki ile temel pikinin aynı olduğunu göstermektedir. Piridazin halkasına ait kütle spektrumunda, temel pikin M⁺ m/e= 80 (%100) olduğu ve sonrasında da piridazin yapısından azot gazı veya N₂H grubunun ayrılması sonucunda sırasıyla m/e= 52 (% 23), m/e= 51 (%33) piklerinin meydana geldiği literatürde kayıtlıdır (126). Piridazinon halkasına ait kütle spektroskopisinde ise M⁺ m/e:80 (%100) moleküler iyon piki ve ardından da yapıdan karbon monoksit ve sonrasında ise azot gazının ayrılması ile sırasıyla m/e= 68 (% 78), m/e= 40 (%11) ve m/e= 39 (%100) iyon pikleri görülmektedir (34).



2.2.4. 3(2H)-Piridazinon Türevi Bileşiklerin Biyolojik Aktiviteleri

Son yıllarda 3(2H)-piridazinon yapısı taşıyan bileşiklerde çok sayıda farmakolojik aktivite çalışmaları yapılmış ve yapılan çalışmalarda bu iskeleti taşıyan bileşiklerin; analjezik, antienflamatuvar, antipiretik, antihipertansif, antiülser, antioksidan, antiallerjik, bronkospazmolitik, kardiyotonik, aldoz redüktaz inhibitörü, antiplatelet, antikolinesteraz, antibakteriyel, antifungal, antitümoral ve antihelmintik etki gibi çok sayıda biyolojik aktivite gösterdikleri bildirilmiştir (15-22, 25-27, 127-129).

Tablo 2.8. Tedavide kullanılan piridazinon halkası taşıyan bazı ilaçlar

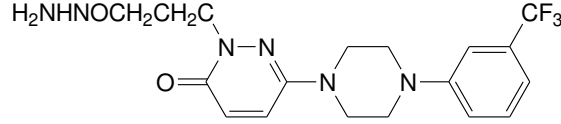
Formül	Etken madde	Müstahzar örnekleri	Aktivite
	Zardaverin		Kardiyotonik
	Levosimendan	Simdax	Vazodilatör
	Pimobendan	Acardi	Pozitif inotropik, Vazodilatör
	İmazodan		Kardiyotonik
	Emorfazon	Pentoil	Analjezik
	Medazonamid		Antitussif

2.2.4.1. Antikolinesteraz Etkili 3(2H)-Piridazinonlar

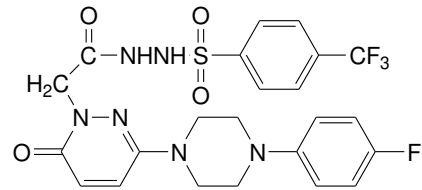
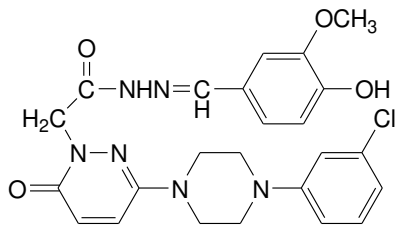
Serin hidrolaz enzim grubuna ait iki önemli enzim olan asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirilkolinesteraz (BChE) enzimleri genellikle kolinesterazlar olarak bilinmektedirler. Asetilkolinesteraz enziminin temel rolü kolinerjik sinapslarda asetilkolinin hidrolizini katalizlemektir. Bütirilkolinesterazın rolü asetilkolinle beraber diğer esterleri de hidroliz etmek olduğundan asetilkolinesteraz kadar aydınlatılmamıştır. Asetilkolinin hidrolizini engelleyerek sinapslardaki asetilkolin miktarını artıran kolinesteraz inhibitörleri Alzheimer, Myastenia Gravis ve glokom gibi nöromusküler hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadırlar (130).

Etil 6-[(süstitüe-fenilpiperazin]-3(2H)-piridazinon-2-il propiyonat ve 6-[(süstitüe-fenilpiperazin]-3(2H)-piridazinon-2-il propiyonohidrazit türevlerinin

AChE/BChE inhibitörü olarak sentez edildiği bir çalışmada elde edilen bileşiklerin aktiviteleri günümüzde Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılmakta olan galantamin ile karşılaştırılarak değerlendirilmiş ve 6-[4-(3-triflorometilfenil)-piperazin]-3(2*H*)-piridazinon-2-il propiyonat bileşiğinin hem asetilkolinesteraz hem de bütirikolinesteraz enziminin inhibisyonunda en aktif bileşik olduğu bulunmuştur (27).

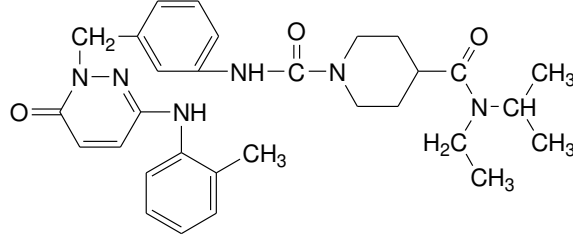


6-süstitüe-3(2*H*)-piridazinon-2-asetil-2-(süstitüe/nonsüstitüebenzal)hidrazon ve N'-[(4-süstitüefenil)sülfonil]-2-[4-(süstitüefenil)-piperazin]-3(2*H*)-piridazinon-2-il asetohidrazit türevleriyle yapılan benzer çalışmalarda da Ellman metoduyla bileşiklerin 0.05 mM, 0.1 mM, 0.2 mM, 0.25 mM ve 0.5 mM konsantrasyonlarda antikolinesteraz aktiviteleri değerlendirilmiş ve 6-(3-klorofenil)-3(2*H*)-piridazinon-2-asetil-2-(3-metoksi-4-hidroksi benzal)hidrazon ve N'-[(4-triflorometilfenil)sülfonil]-2-[4-(2-florofenil)-piperazin]-3(2*H*)-piridazinon-2-il asetohidrazit bileşiklerinin en aktif olduğu, N'-[(4-triflorometilfenil)sülfonil]-2-[4-(2-florofenil)-piperazin]-3(2*H*)-piridazinon-2-il asetohidrazitin galantaminden daha yüksek aktivite gösterdiği bildirilmiştir (26,28).



Xing ve diğerlerinin yapmış olduğu bir çalışmada 2,6-disüstitüe piridazinon türevleri sentez edilmiş ve elde edilen bileşiklerin *in vitro* AChE/BChE inhibitörü etkileri moleküler modelleme çalışmaları da yapılarak araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda 6-orto-tolilamino ve *N*-etil-*N*-izopropilasetamit süstitüe piperidin gruplarını içeren piridazinon bileşiğinin yüksek asetilkolinesteraz inhibitörü aktivite gösterdiği ve *in vitro* AChE/BChE selektif oldukları bulunmuş, yapılan moleküler

modelleme çalışmaları ile de bileşiğin enzimlerin hem katalitik aktif bölgesine (CAS), hem de periferik anyonik bölgesine (PAS) bağlanarak enzim inhibisyonu yaptığı belirlenmiştir (29).



2.2.4.2. Antibakteriyel ve Antifungal Etkili 3(2*H*)-Piridazinonlar

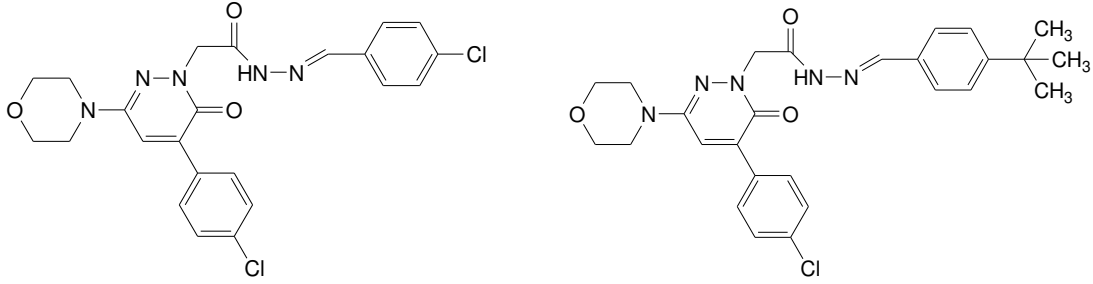
3(2*H*)-Piridazinon halkası taşıyan çok sayıda bileşiğin antibakteriyel ve antifungal aktivite gösterdiği literatürlerde kayıtlıdır.

Budhlakoti ve diğerleri yeni bir seri piridazin-3-on türevi bileşiğin sentezini gerçekleştirip, *in vitro* disk difüzyon yöntemiyle antibakteriyel aktivitelerini değerlendirmiş, elde ettikleri bileşiklerden 4-benziliden-6-fenil-4,5-dihidropiridazin-3(2*H*)-on ve 4-benziliden-6-(4-klorofenil)-4,5-dihidropiridazin-3(2*H*)-onun *S. aureus* ve *S. epidermidis*'e karşı; 4-(4-klorobenziliden)-6-fenil-4,5-dihidropiridazin-3(2*H*)-on ve 4-(4-metoksibenziliden)-6-(4-klorofenil)-4,5-dihidropiridazin-3(2*H*)-onun ise *P. euroginosa* ve *E. coli*'ye karşı iyi antibakteriyel aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir (23).

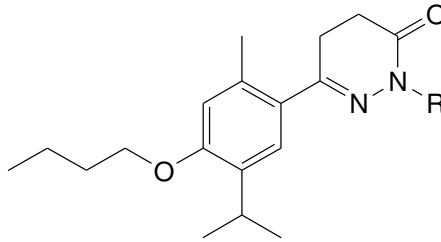
R	R'
-H	-H
-Cl	-H
-H	-Cl
-Cl	-OCH ₃

3(2*H*)-Piridazinon halkasının 2. konumunda N'-benziliden-asetohidrazit grubu içeren bir seri yeni bileşiğin sentezinin yapıldığı bir çalışmada elde edilen

bileşiklerin antibakteriyal, antifungal, antimikobakteriyal aktiviteleri incelenmiş, 2-[4-(4-klorofenil)-6-(morfolin-4-il)-3-okso-(2H)-piridazin-2-il]-N'-(4-tert-bütilbenziliden)asetohidrazit ve 2-[4-(4-klorofenil)-6-(morfolin-4-il)-3-okso-(2H)-piridazin-2-il]-N'-(4-klorobenstiliden)asetohidrazidin hem Gram (+) hem de Gram (-) bakterilere karşı etkili olduğu ve sentezlenen bileşiklerin çoğunun *E. coli* ATCC 35218'ye karşı aktif olduğu bildirilmiştir (24).

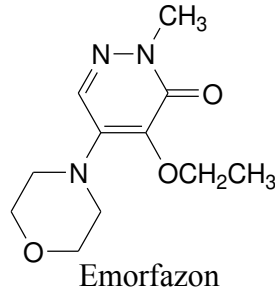


Nagle ve diğerleri sentezledikleri timol yapısı içeren yeni piridazinon türevi bileşiklerin ve timol bileşiğinin agar kuyu difüzyon yöntemiyle *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı antibakteriyel; *A. niger* ve *P. marneffeii*'ye karşı ise antifungal aktivitelerini siprofloksasin ve flukonazol ile karşılaştırılarak değerlendirmiş ve tüm bileşiklerin iyi bakterisidal ve fungusidal etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada glukozamin-6-fosfat sentaz ve *A. niger* fitaz enzimlerine karşı sentezlenen bileşiklerin moleküler modelleme çalışmaları da yapılmış ve bileşiklerin reseptörlere yüksek bağlanma affinitesi gösterdiği bildirilmiştir (25).



2.2.4.3. Analjezik ve Antiinflamatuvar Etkili 3(2H)-Piridazinonlar

Laktam halkası içeren heterosiklik bileşikler olan 3(2H)-piridazinon türevleri üzerinde yapılan analjezik ve antiinflamatuvar aktivite araştırmaları 19. ve 20. yüzyılda önem kazanmıştır. 1980'li yılların sonlarında analjezik ve antiinflamatuvar ilaç olarak, Pentoil ve Nandron müstahzar isimleriyle piyasaya giren emorfazon 3(2H)-piridazinon halkası taşıyan bir bileşiktir (33).

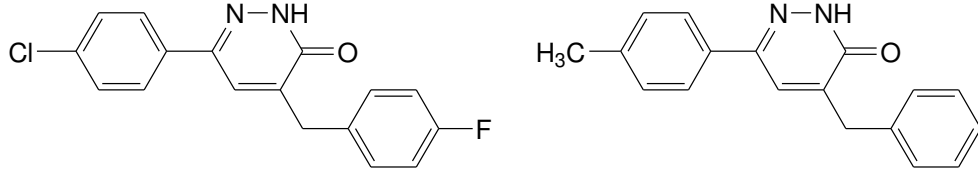


6-Süstitüe-3(2*H*)-piridazinon türevi bileşiklerin analjezik ve antiinflamatuvar aktivitelerinin araştırıldığı literatürlerde kayıtlıdır. On bileşikten oluşan bir seri yeni 6-süstitüe-3(2*H*)-piridazinon bileşiğinin analjezik ve antiinflamatuvar aktiviteleri fenilbenzokinon ile indüklenmiş kıvrınma testi (PBQ) ve karragen ile indüklenmiş pençe ödemi testi uygulanarak değerlendirilmiştir. Bileşiklerden dördünün 200 mg/kg dozda, ülserojenik etki ve akut toksisite göstermeksizin belirgin şekilde analjezik etki gösterdiği ve (6-[4-(2-florofenil) piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon) bileşiğinin de standart ilaç olan indometazin ile benzer şekilde antiinflamatuvar aktivite gösterdiği bildirilmiştir (15).

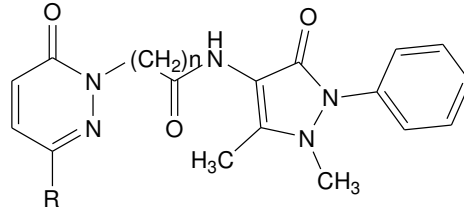
1	
2	
3	
4	

Husain ve diğerleri mevcut ilaçlardan daha güvenli antiinflamatuvar bileşikler olarak yeni piridazinon türevlerini sentezlemiş, ayrıca bileşiklerin analjezik,

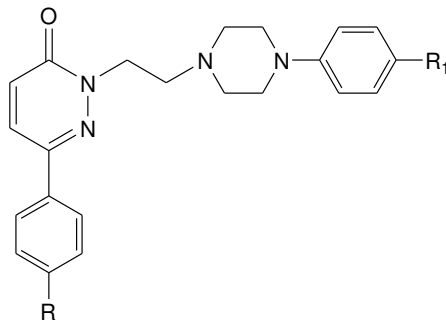
ülserojenik ve lipid peroksidasyon etkilerini de araştırmışlardır. Ibuprofen ile karşılaştırmalı olarak yapılan antiinflamatuvar aktivite çalışmalarında 5-(4-florobenzil)-3-(4-klorofenil)-1,6-dihidro-6-piridazinon ve 5-(4-klorobenzil)-3-(4-klorofenil)-1,6-dihidro-6-piridazinon bileşiklerinin en aktif olduğu bulunmuştur (77).



Antipirin ve piridazinon türevlerinin sentezlendiği başka bir çalışmada, elde edilen bileşiklerin analjezik ve antiinflamatuvar aktiviteleri aspirin ve indometazin referans ilaçlarına karşı, sırasıyla p-benzokinon ile indüklenmiş kıvrınma testi ve karragen ile indüklenmiş pençe ödemi testi yöntemleri kullanılarak değerlendirilmiş ve bileşiklerden bazılarının referans ilaçlardan daha güçlü analjezik ve antiinflamatuvar etkiye sahip olduğu görülmüştür. Bileşiklerin ayrıca yan etki potansiyelleri de incelenmiş ve ülserojenik yan etkisinin olmadığı bulunmuştur (82).



Laktam azotu üzerinde 4-süstitüe-fenilhidrazin türevi süstitüentler taşıyan piridazinon bileşiklerinin sentez edildiği benzer bir çalışmada da yine bileşiklerin analjezik ve antiinflamatuvar aktiviteleri aspirin referans ilacına karşı, sırasıyla p-benzokinon ile indüklenmiş kıvrınma testi ve karragen ile indüklenmiş pençe ödemi testi yöntemleri kullanılarak değerlendirilmiş ve bileşiklerin ülserojenik yan etkiler göstermeksizin analjezik ve antiinflamatuvar etki gösterdiği bildirilmiştir (83).



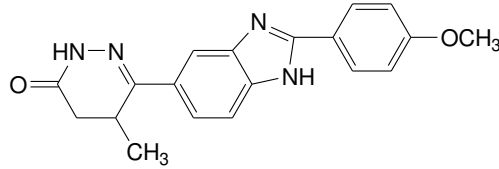
2.2.4.4.Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkili 3(2*H*)-Piridazinonlar

Günümüzde kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılan levosimendan, pimobendan, zardaverin, imazodan gibi piridazinon türevi ilaç molekülleri bulunmaktadır.

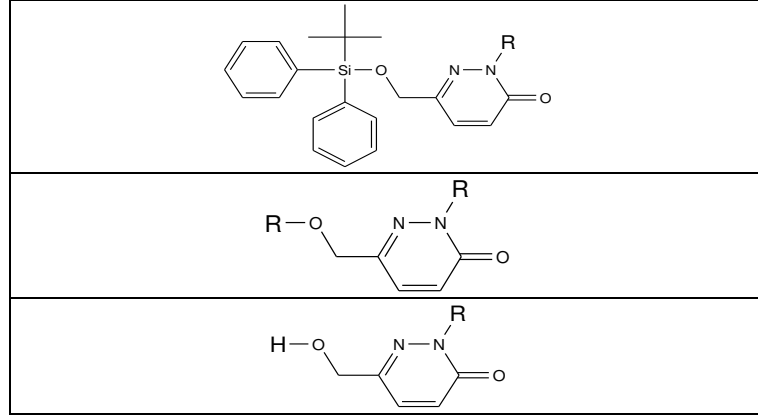
Bronkodilatör etkiye de sahip olan zardaverin, fosfodiesteraz (PDE) enzimini inhibe ederek kalp kasları üzerine pozitif inotropik etki yapmaktadır (Tablo 2.8.) (65).

Simadex müstahzar adıyla piyasaya sunulan levosimendan ise konjestif kalp yetmezliğinin tedavisinde kullanılan etkili bir ilaçtır. Levosimendan yüksek dozlarda hem kalsiyum duyarlılığını artırıcı hem de PDE enzim inhibitörü etki göstermektedir. Ayrıca levosimendanın mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber düz kas kontraksiyonunu ve regülatör proteinleri etkileyerek vazodilatör etki gösterdiği de bilinmektedir (Tablo 2.8.) (131).

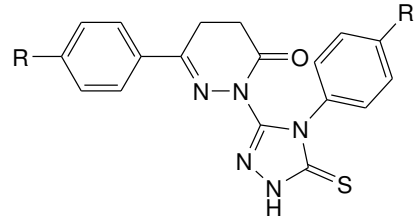
Piridazinon yapısında olan bir diğer vazodilatör ve inotropik ilaç molekülü olan pimobendan da yine kalp kası hücrelerinde PDE enzim inhibisyonu yaparak ve kalsiyum duyarlılığını artırarak etkisini göstermektedir (127).



Piridazinon bileşikleri damar düz kaslarındaki gevşetici etkisinden dolayı antihipertansif aktivite göstermektedirler. Yeni 6-süstitüe ve 2,6-disüstitüe piridazinon türevlerinin sentezinin yapıldığı bir çalışmada elde edilen bileşiklerin damar gevşetici etkileri incelenmiş ve bileşiklerin çoğunun mikromolar konsantrasyonlarda (32.5–78.25 μ M) referans ilaç olan milrinondan daha düşük etki gösterdiği bildirilmiştir. *N,O*-Dibenzil türevleri en aktif bileşikler olarak bulunurken, hidroksil grubu içeren türevler 100 μ M'dan yüksek konsantrasyonlarda bile inaktif bulunmuştur (129).



Siddiqui ve diğerleri 6-(süstitüefenil)-2-(4-süstitüefenil-5-tiyokso-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-3-il)-4,5-dihidropiridazin-3(2*H*)-on türevi yeni bileşikler sentezlemiş ve Tail Cuff yöntemiyle non-invasiv teknik uygulayarak elde ettikleri bileşiklerin antihipertansif aktivitelerini araştırmışlar, hidralazin ve propranolol standart ilaçlarıyla karşılaştırıldığında belirgin derecede antihipertansif etki gösterdiklerini bildirmişlerdir (18).

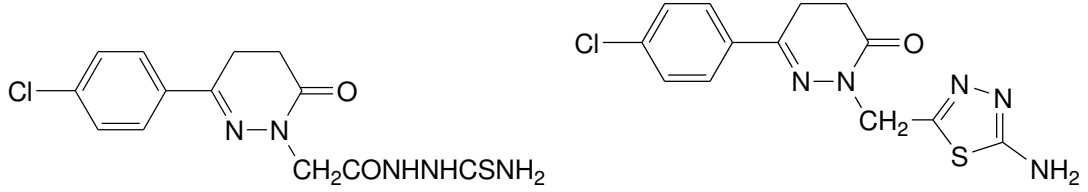


2.2.4.5. 3(2*H*)-Piridazinonların Diğer Biyolojik Aktiviteleri

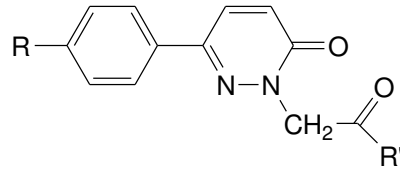
Yukarıda belirtilen aktivitelerin dışında piridazinon halkası taşıyan bileşiklerde antikonvülsan, antiplatelet, antidiyabetik, antimikobakteriyal, insektisit etkiler de görülmektedir.

Sharma ve diğerleri sentezlemiş oldukları 2-(2-(3-(4-klorofenil)-6-okso-5,6-dihidropiridazin-1(4*H*)-il)asetil)hidrazin karbotiyoamit ve 2-((5-amino-1,3,4-tiyadiazol-2-il)metil)-6-(4-klorofenil)-4,5-dihidropiridazin-3(2*H*)-on türevi bileşiklerin antikonvülsan ve kas gevşetici etkilerini değerlendirmişlerdir. Elde edilen bileşiklerden 2-(2-(3-(4-klorofenil)-6-okso-5,6-dihidropiridazin-1(4*H*)-il)asetil)hidrazinkarbotiyoamit ve 2-((5-amino-1,3,4-tiyadiazol-2-il)metil)-6-(4-klorofenil)-4,5-dihidropiridazin-3(2*H*)-on'un 50 mg/kg dozda maksimal elektroşok

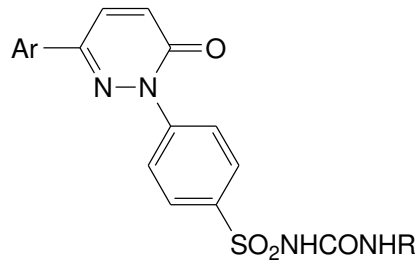
nöbet testinde, 100 mg/kg dozda ise pentilentetrazol nöbet testinde antikonvülsan etki gösterdiği bildirilmiştir (132).



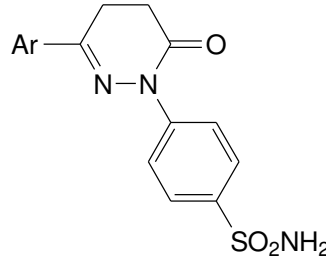
Piridazinon bileşikleriyle ilgili yapılan bir tez çalışmasında, 2-[6-fenil-3(2*H*)-piridazinon-2-il]etanamit, 2-[6-(4-metilfenil)-3(2*H*)-piridazinon-2-il]etanamit, 2-[6-(4-klorofenil)-3(2*H*)-piridazinon-2-il]etanamit ve 2-[6-(4-nitrofenil)-3(2*H*)-piridazinon-2-il]etanamit türevleri ile etil 2-(6-(4-nitrofenil)-piridazin-3(2*H*)-on-2-il)asetat ve 2-(6-(4-nitrofenil)-piridazin-3(2*H*)-on-2-il)asetik asit bileşikler olmak üzere yirmi altı yeni bileşiğin sentezi yapılarak antiplatelet etkileri araştırılmıştır (133).



Rathish ve diğerleri 15 yeni piridazinon süstitüe benzensülfonilüre türevinin sentezini yapıp glukoz tolerans testi ile ratlarda antidiyabetik etkilerini incelemişlerdir. Bileşiklerin tamamına yakını 20 mg/kg dozda kontrol grubuna göre belirgin derecede kan şekerinin yükselmesini durdurucu etki göstermiştir (134).



Ahmad ve diğerleri ise β -aroilpropanoik asit ve 4-hidrazinobenzenesülfonamit hidroklorürün kondenzasyonundan elde ettikleri bir seri 6-aril-2-(*p*-sülfamilfenil)-4,5-dihidropiridazin-3(2*H*)-on bileşiğinin HL-60 (TB) (lösemi), SR (lösemi), NCI-H522 (küçük hücreli olmayan akciğer kanseri) ve BT-549 (göğüs kanseri) hücre hatlarındaki etkisini araştırmışlar ve bileşiklerin 2 μ M'dan daha az konsantrasyonda yüksek antitümöral etki gösterdiğini bildirmişlerdir (22).



2.3. ALZHEİMER HASTALIĞI

Alzheimer hastalığı, kişinin günlük aktivitelerini gerçekleştirme yeteneğinde bozulma ve hastalığın ilerleyen dönemlerinde kognitif fonksiyon bozuklukları ve değişik nöropsikiyatrik semptomlarla karakterize, devamlı ilerleyen ölümcül bir nörodejeneratif hastalıktır (1,3). Yakın hafızada bozukluk hastalığın ilk klinik belirtisi iken, uzak hafıza hastalık sırasında göreceli olarak korunmaktadır. Hastalık ilerledikçe görsel testler, obje ve eşyaları kullanabilme becerisi ve hesap yapabilme yeteneği azalmaktadır. Uyanıklık seviyesi ve motor kuvveti hastalığın geç dönemlerine kadar korunmaktadır. Hastalığın ilerlemiş dönemlerinde kas kontraksiyonları sık görülmekle beraber bu evrelerde bile motor kuvvetin bozulması gerçekleşmemektedir (3). Alzheimer hastalarının çoğu hastalığın başlangıcından birkaç yıl sonra sürekli bakıma ihtiyaç duymaktadırlar (1). Hastalığın başlangıcından itibaren genellikle 6 ila 12 sene sonra ölüm gerçekleşmekte ve ölüm nedeni pnömoni, pulmoner emboli gibi immobilitate probleminden kaynaklanan komplikasyonlar olmaktadır (3).

Yaşlılarda görülen demansın en yaygın şekli olan Alzheimer hastalığının görülme yüzdesi her beş yaşta iki katına çıkarak, 60 yaşında %1 iken 85 yaşında %30'a ulaşmaktadır (3).

Alzheimer hastalığı ile ilgili yapılan epidemiyolojik çalışmaların sonucuna göre hasta sayısının Amerika Birleşik Devletleri'nde yaklaşık 5 milyon, dünya çapında ise 24 milyon kişi olduğu tahmin edilmektedir. Tahminler bu sayının her 20 yılda iki katına çıkarak 2020'de 42 milyona, 2040'da ise 81 milyona ulaşacağı yönündedir (1,3,6).

Alzheimer hastalığının kesin tanısı ancak ölüm sonrası beyin incelemeleriyle yapılmakla beraber, hastanın dikkatli klinik değerlendirilmesi ve benzer başka hastalıkların ayırıcı tanısı yapılarak uygun laboratuvar testleri ile teşhis

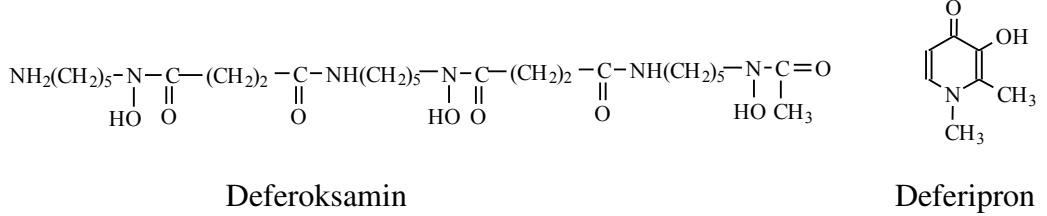
konulabilmektedir (3,135). Alzheimer hastalığının tanısındaki önemli bulgulardan biri, limbik yolağın bellek süreçlerini yöneten bölümündeki nöron kaybıdır (1). Beyinde ekstraselüler senil plakların oluşumu, nöronların içinde nörfibriler yumakların oluşumu ile sinaps ve nöronların kaybı bu hastalığın karakteristik patolojik bulgularındandır. Alzheimerli hastalarda yapılan biyokimyasal çalışmalar ise kortekste bazı nöromediyatörlerin ve özellikle de asetilkolinin azaldığını ortaya koymaktadır (7).

Beyin hücrelerinde meydana gelen kaybolma ile karakterize Alzheimer hastalığının nedeni henüz bilinmemekle beraber, ortaya çıkışındaki temel etkenlerin genetik faktörler, anormal proteinlerin rolü, otoimmün reaksiyonlar, toksik reaksiyonlar, kafa travmaları ve virüsler olduğu düşünülmektedir. Ayrıca bunların dışında hastalığın esansiyel elementler ve serebral kan damarları ile ilişkili olduğu da bulunmuştur (8).

Ailesel vakaların varlığı Alzheimer hastalığının genetik olabileceğini ortaya koymaktadır. Ailesel vakaların incelenmesi hastalığın patogeneze önemli görüşler sağlamakta ve en az dört gen lokusundaki mutasyonun Alzheimer hastalığı ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Bunlardan en çok bilineni amiloit prekürsör proteinini (APP) şifrelediği bilinen 21. kromozomun etkilendiği Down Sendromu'dur. APP ise beyin farklı alanlarında oluşan ve Alzheimer hastalığının en önemli etkenlerinden biri olan amiloid plakların kaynağıdır (2,8). Bunun dışında 19 ve 14. kromozom dizisindeki mutasyonlar da Alzheimer hastalığıyla ilişkili bulunmuştur. Genetik bozuklukların düzeltilmesi henüz gerçekleştirilememektedir. Bu genlerin şifrelediği proteinlerin dengesindeki değişikliğin, beyin reaktif antikorlarının oluşumuna sebebiyet vererek Alzheimer'ın ortaya çıkışında rol oynadığı düşünülmektedir. Geri dönüşü olmayan beyin sendromları sonucu oluşan otoimmün bileşenler de Alzheimer'a neden olabilmektedir. Bu konuyla ilgili deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalar, bunun yaşlı farelerden genç farelere immüniteyle aktarılabildiğini ve beyin reaktif antikor oluşumuyla ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır. Kavrama ile ilgili fonksiyonların bozulmasıyla ortaya çıkan hafıza kaybı da kolayca oluşan bu beyin reaktif antikoruyla bağlantılı olarak açıklanmaktadır (8).

Alzheimer hastalığını tetikleyen etkenler arasında alüminyum, çinko ve kalsiyum gibi esansiyel elementlerin rolünün olduğu da düşünülmektedir.

Alüminyumun nörofibriler dejenerasyona yol açtığı bilinmektedir. Alüminyum ile şelat oluşturan deferoksamin ve deferipron gibi bileşiklerin Alzheimer tedavisinde hastalık belirtilerini yavaşlattığı düşünülmektedir (8).



Alzheimer hastalığının klinik tablosu, kötüleşen serebral kan damarlarının iskemi oluşturmaları ve buna bağlı olarak da hücre deformasyonu ve hücre ölümünün gerçekleşmesidir. Hastalıkta serebral kan damarları fonksiyonunda azalma ve felç gibi bazı bozuk beyin fonksiyonları görülebilmektedir. Yaş ilerledikçe bu azalma daha çok görülmektedir. Beyin, bu fonksiyon düşüşünü, oksijen artışı ile kandan glikoz alarak gidermektedir. Bu da glikoz tüketiminde % 30-50 oranında azalmaya neden olmaktadır. Alzheimer hastaları glikozu metabolize eden bazı enzimlerin fonksiyon göstermesinden zarar görürler, çünkü hücre kaybı ve dejenerasyonundaki artış sonucu hipoglisemi ve iskelemlle karakterize geri dönüşsüz beyin hasarı olmaktadır (8).

Alzheimer hastalığının değişmez bulgularından biri β-amiloid birikiminin varlığıdır. Amiloid birikiminin hastalık sürecinin sonucu olarak mı, yoksa sadece hücre ölümü ile mi ortaya çıktığı yakın zamanlara kadar tam olarak bilinmezken, moleküler genetik uygulamalarındaki gelişmeler bu konuya ışık tutmuştur. β-amiloid beyni kötü yönde etkileyen 42-43 amino asitli bir proteindir. Bu bilgiye APP'nin klonlanması yol göstermiştir. APP, 700'den fazla amino asitten oluşan, fonksiyonu henüz tam olarak bilinmemekle beraber Alzheimer hastalarında olduğu kadar sağlıklı bireylerin beyinlerinde de yaygın olarak bulunan bir proteindir (136).

Alzheimer hastalığındaki nörokimyasal karmaşa yoğun olarak araştırılmıştır. Serebral korteksin nörotransmitter içeriği doğrudan ölçüldüğünde, nöron kaybına paralel olarak birçok nörotransmitterin, en çok da asetilkolinin azaldığı görülmüştür. Kolinerjik eksiklik, tüm serebral kortekse kolinerjik innervasyonu sağlayan bazal önbeyn başta olmak üzere subkortikal kolinerjik nöronlarda atrofi ve dejenerasyonla olmaktadır. Atropin benzeri santral etkili kolinerjik antagonistlerin uygulanmasıyla

da demansa benzer bozukluklar olduğu görülmektedir. Alzheimer hastalığında görülen asetilkolinin seçici eksikliği, hastalığın semptomlarının gelişmesinde asetilkolin eksikliğinin önemini vurgulayan “kolinerjik hipotez”in ortaya atılmasına neden olmuştur (9,137).

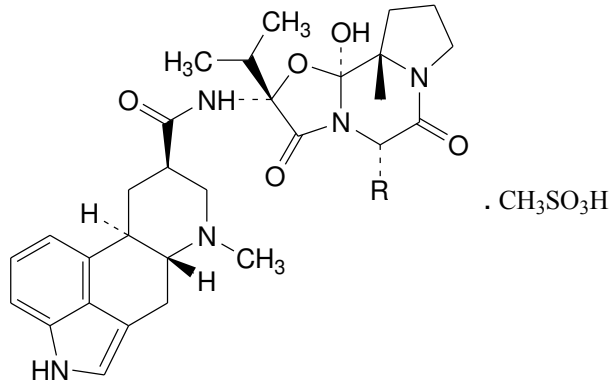
2.3.1. Alzheimer Hastalığının Tedavisi

Deneyimli bir uzman tarafından hastalığın kesin tanısı konduktan sonra hastalığın tedavisine başlanmalıdır. Alzheimer hastalığının patogenezi ve patofizyolojisi tam olarak aydınlatılamadığı için henüz yeterli ve tam önleyici bir tedavisi bulunmamaktadır. Tedavi, kognitif kapasiteye, hastalık seyri sırasında gelişen psikiyatrik rahatsızlıklara, hasta ve bakıcı eğitimine, yaşam kalitesinin korunmasına ve artırılmasına yönelik olmalıdır (138).

Alzheimer hastalığı üzerinde yapılan çalışmalardan elde edilen biyokimyasal ve patolojik veriler, bu hastalığın tedavisi için önerilen kesin bir şekil bulunmamakla beraber bazı yaklaşımlar geliştirilmesine olanak sağlamaktadır. Daha çok beyin fonksiyonlarındaki gerilemeyi azaltacak veya hastalığın gelişimini yavaşlatacak yönde tedaviler uygulanmaktadır. Bu tedaviler hasta ve ailesi için yaşamı bir ölçüde de olsa kolaylaştırabilmektedir. Hastalığın tedavisinde serebral vazodilatörler, stimulanlar, L-dopa, vitamin B, C, E ve klorpromazin ile benzeri ilaçların kullanılması önerilmektedir (8, 139).

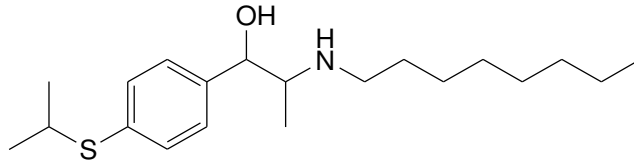
2.3.1.1. Vazodilatörlerle yapılan tedaviler

Serebral kan damarlarının iskemi oluşturmaları ve buna bağlı olarak hücre deformasyonu ve ölümünün gerçekleşmesi nedeniyle vazodilatörler Alzheimer tedavisinde sıklıkla kullanılmakta; fakat sonuçlar değerlendirildiğinde yapılan tedavinin semptomatik tedavi olduğu görülmektedir. ABD’de, yaşlılıkta ortaya çıkan beyin sendromlarının tedavisinde dihidroergokristin, dihidroergokriptin ve dihidroergokornin gibi üç farklı ergot alkaloidinin karışımından oluşan kodergokrin mezilat kullanılmaktadır (8).



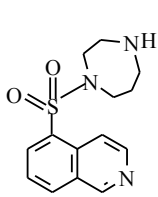
Kodergokrin

Periferik vazodilatör ve platelet agregasyonu inhibitörü olarak kullanılan suloktidil ve buflomedil de kavramayla ilgili değişikliklerin tedavisinde kullanılan diğer bileşiklerdir. Suloktidilin Alzheimer tedavisinde kullanımı serebral bölgede bazı reaksiyonların düzenlemesi sağlamaktadır (8).

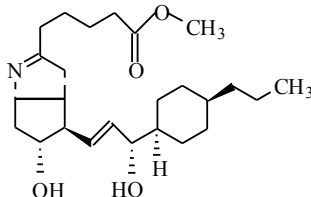


Suloktidil

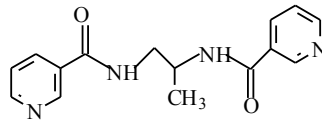
Ca^{2+} girişini engelleyerek vazodilatör etki gösteren nimodipin de Alzheimer tedavisinde klinik olarak kullanılmaktadır. Bunun dışında serebral vazodilatör olarak kullanılan ve beyin kan dolaşımına etki eden Fasudil, OP-2507, nikaraven ve pikamilon ise yeni sentezlenen bileşiklerdendir (8).



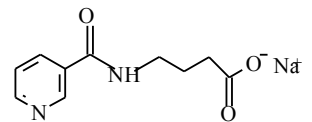
Fasudil



OP-2507



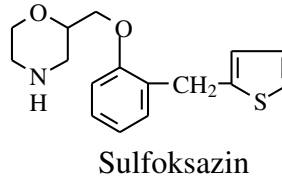
Pikamilon



Nikaraven

2.3.1.2. Serebral metabolik artırıcılarla yapılan tedaviler

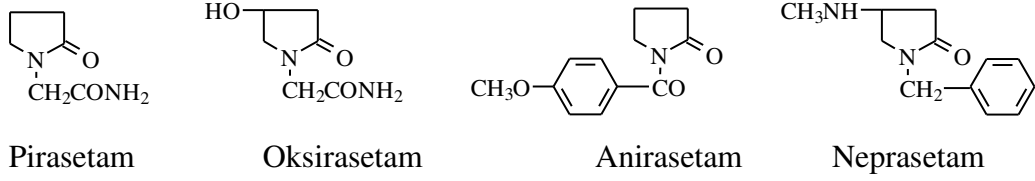
Beynin oksijenlenmesini düzenleyen vinkonat ve vindeburnol analogları da Alzheimer tedavisinde kullanılmaktadırlar. Beyinde oksijenin düzenlenmesiyle birlikte anormal kalsiyum depolanmasına karşı pozitif etki oluşmakta ve glukoz tüketimi düzenlenmektedir. Ekzifon, idebinon ve indeloksin bu grupta yer alan ve kavramaya yönelik tedavide kullanılan bileşiklerdir. Benzer nedenler için kullanılan diğer bir bileşik sulfoksazin (8).



Benzofenon türevi olan nizoferon, serebral kan damarları fonksiyonu oluşumunu ve ATP degradasyonundaki inhibisyonu artırarak beyin iskemisinde nöroprotektif etki göstermektedir. Ayrıca yağ asitlerinin açığa çıkmasını ve lipoksijenaz dizisinin durdurulmasını da inhibe etmektedir. Pritinol ve tamitol, kan-beyin engelinin fosfat geçirgenliğini redükleyici etkisinden dolayı nöroprotektan etkilidir. Sabeluzol ise beyin iskemisi ve hipokside kullanılmaktadır (8).

2.3.1.3. Nootropikler ile yapılan tedavi

Beynin farklı bölgelerinde oksijen ve glukoz konsantrasyonlarının artışı, laktat/pirüvat oranının düzenlenmesi ve kandan oksijen alınımının artırılması gibi önemli metabolik beyin fonksiyonlarında kullanılan nootropikler, fosfolipit dönüşümünü artırırken pirolin salınımını azaltmakta ve adenilat siklazin aktivitesini artırmaktadırlar. Bu metabolik etkilerinin dışında hafıza artırıcı etkileri de bulunan nootropikler mekanik, kimyasal ve farmakolojik travmalar sonucu oluşan davranış bozukluklarına karşı da koruyucu etki göstermektedirler. Pirolidin-2-on yapısındaki bu bileşiklerin en eskisi pirasetam olup bunu, oksirasetam, anirasetam ve neprasetam gibi bileşikler izlemektedir (8).



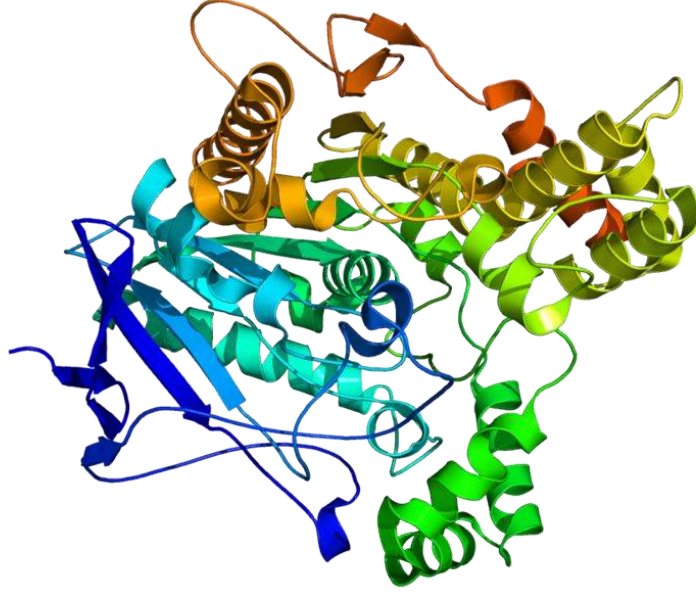
2.3.1.4. Nörotransmitterler ile yapılan tedavi

Kolinerjik, nonkolinerjik, serotonerjik, dopaminerjik, aminoasiderjik ve nöropeptiderjik olmak üzere birçok nörotransmitterde oluşan değişim ile Alzheimer hastalığı arasında bir ilişki bulunmaktadır. Kolinerjik sistemde gözlenen değişim ile Alzheimer arasındaki ilişki bunlardan en çok bilinenidir. Kolinerjik hipotez olarak açıklanan bu ilişkiye göre, asetilkolin ve kolin asetil transferaz düzeyindeki azalma Alzheimer hastalığı ile ilişkilidir.

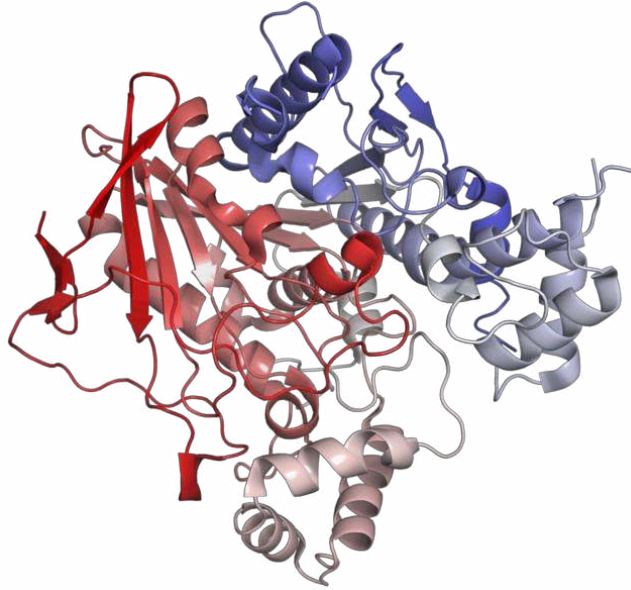
Yine bu hipoteze göre Alzheimer hastalarında mediyal ön loptaki kolinerjik nöronların dejenerasyonunu takiben kavrama bozuklukları da görülebilmektedir. Bu nedenle de kolinerjik anormallikler ve Alzheimer arasında direkt bir ilişki olduğu düşünülmektedir. Ölüm sonrası yapılan beyin incelemeleri birçok Alzheimer hastasında tespit edilen neokortikal bölgeleri kontrol eden nöronların dejenerasyonu, serebral kortekste bulunan kolinerjik terminallerin kaybı, azalan kolin asetil transferaz aktivitesi ve asetil kolin sentezi, azalan kolin alınımlı ve artan asetilkolinesteraz aktivitesi gibi değişmiş kolinerjik belirtiler bu durumu kanıtlamaktadır (8, 140). Bu nedenle Alzheimer hastalığının tedavisinde, asetilkolin düzeyinin artırılması ve bunun için de asetilkolini yıkan asetilkolinesteraz enziminin baskılanması sık başvurulmuş tedavi yöntemlerinden biridir. Alzheimer hastalığında verilen kolinesteraz inhibitörleri mortaliteyi etkilememekle beraber hastanın yaşam kalitesinde ve hastalık evresinin stabilizasyonunda etkili olduğundan tedavide kullanılmaktadır (141). Asetilkolinesteraz inhibisyonuna bağlı asetilkolin düzeyi artışları, Alzheimer hastalığının erken evrelerindeki kognitif yetmezliği iyileştirebilmektedir (3,7,130). Ayrıca bir N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör antagonisti olan memantin ile kombine kolinesteraz inhibitörü (ChEI) tedavisinin de etkiyi güçlendirdiği bulunmuştur (142).

2.3.2. Kolinesteraz Enzimleri

Serin hidrolaz enzim grubunda yer alan asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz enzimleri genellikle kolinesterazlar olarak bilinirler (130). İnsan beyinde yer alan bu iki tip kolinesteraz enziminden AChE 7. kromozom tarafından kodlanırken (AChE, EC 3.1.1.7), BChE ise 3. kromozom tarafından kodlanmaktadır (BChE, EC 3.1.1.8) (143,144).



Şekil 2.1. AChE enziminin yapısı.



Şekil 2.2. BChE enziminin yapısı.

AChE'nin kolinerjik iletimdeki rolü oldukça iyi bilinmekle birlikte BChE'nin rolü yeterince aydınlatılamamıştır (130). Sağlıklı beyin hücrelerinde sinaptik asetilkolin hidrolizi esas olarak AChE tarafından gerçekleştirilmekte, BChE'nin bu hidrolize katkısının çok az olduğu kabul edilmektedir (145).

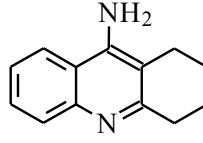
Kolinesteraz enzimleri farklı kromozomlarda kodlanmış olmalarına rağmen her iki enzimin aminoasit dizilimleri % 65 oranında birbirlerine benzemektedir (146). Normal erişkin beyinde AChE yaygın olarak bulunurken, BChE sınırlı miktarlarda bulunmakta ve beyindeki kolinesteraz aktivitesinin % 80'inden AChE, geriye kalan %20'sinden ise BChE'nin sorumlu olduğu düşünülmektedir (146,147). BChE enzim düzeyleri sinir sistemi gelişiminin erken dönemlerinde yüksekken, ilerleyen evrelerde bu düzey düşmektedir (143). AChE kolinerjik nöronların hücre gövdesinde, aksonlarda ve dentritik uzantıların proksimalinde yer almakta, BChE ise hücre gövdesinde ve dendritlerde bulunmaktadır (148).

BChE'nin düz kaslarda kolinerjik iletiyi düzenlediği gösterilmiş olmasına rağmen sinir sistemindeki işlevi yeterince bilinmemektedir (149,150). BChE işlevlerinin daha iyi anlaşılmasına yönelik yapılan son çalışmalar, AChE geni olmayan farelerde tremor, ileus ve güçsüzlük gibi periferik veya merkezi kolinerjik işlev bozukluğu ile ilgili durumların ortaya çıkmasına karşın bu farelerin erişkin yaşa dek gelişebildiğini; ayrıca farelerin bütirilkolinesteraz inhibisyonu ve organofosfat etkilerine karşı aşırı derecede duyarlı oldukları göstermektedir (151). Bu da hem AChE'nin hem de BChE'nin nöron gelişimi ve kolinerjik iletimde birlikte aktif rol oynadıklarını ortaya koymaktadır.

2.3.3. Kolinesteraz Enzim İnhibitörleri

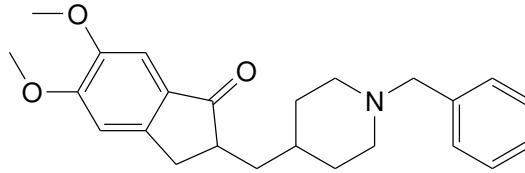
Kolinesteraz inhibitörleri, asetilkolinin sinapstaki konsantrasyonunun yüksek düzeylerde kalmasını sağlamak için asetilkolini yıkan enzimi inhibe ederler. Hem AChE, hem de BChE inhibitörü olan takrin, klinik çalışmalar sonucunda Alzheimer hastalarının bazılarında kavramayla ilgili fonksiyonlarda gelişmeler sağlamış ve Alzheimer tedavisi için FDA'dan onay almıştır. Ancak, karaciğer harabiyetine neden olduğundan takrinin kullanımı sınırlıdır. Takrinin Alzheimerli hastalarda etkili

olması, yeni asetilkolinesteraz inhibitörü bileşiklerin geliştirilmesine neden olmuştur (3,8, 152).



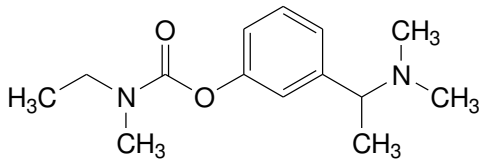
Takrin

Daha sonraları klinik kullanım için onay alan ve sadece AChE inhibisyonu yapan donezepilin algılamayı ve klinik fonksiyonları 21-81 hafta arasında iyileştirdiği belirlenmiştir (10,152).

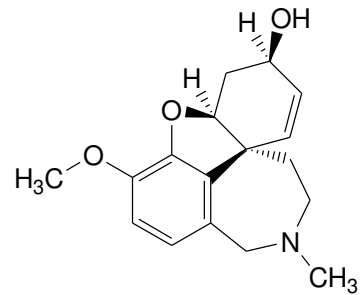


Donepezil

Bu ilacın da yan etkileri sıklıkla aşırı kolinerjik etkilerden kaynaklanmaktadır. Bulantı, kusma ve diyare en sık rastlanılan yan etkiler olarak rapor edilmiştir. Rivastigmin, eptastigmin gibi kolinesteraz inhibitörleri ve son yıllarda FDA'dan onay almış diğer bir AChE inhibitörü olan galantamin de tedavide kullanılmakta; fakat bunlar da yine benzer yan etkiler göstermektedir (3,152).



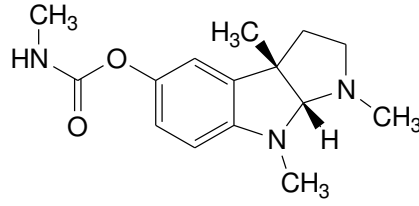
Rivastigmin



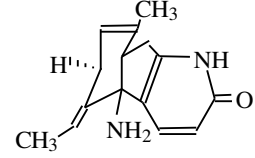
Galantamin

Bunların dışında fizostigmin, etil fizostigmin ve bitkilerden elde edilen doğal bir asetilkolinesteraz inhibitörü olan huperzin A da klinik vakalarda kullanılanlar

arasında sayılabilir. Ancak, fizostigminin kısa ömürlü ve dar terapötik aralığa sahip olduğu bilinmektedir (8, 140).



Fizostigmin



Huperazin A

2.3.4. Antikolinesteraz Aktivite Tayin Yöntemleri

Kolinesteraz aktivitenin ve kolinesteraz inhibitörlerinin etkinliğinin belirlenmesinde Ellman metodu yaygın olarak kullanılmaktadır (153,154). Enzim inhibisyonu, belirli bir molar konsantrasyonda uygulanan maddenin oluşturduğu enzim inhibisyon yüzdesi veya belirli miktardaki enzimin % 50'sini inhibe eden madde konsantrasyonu (IC_{50}) olarak ifade edilmektedir (153).

Asetilkolin veya asetiltiyokolinin hidrolizini gerçekleştiren kolinesteraz enzimlerinin inhibisyonunun belirlenmesi, tiyokolin (TCh) ile Ellman reaktifi olarak bilinen 5,5'-ditiyobis-2-nitrobenzoik asitin (DTNB) reaksiyonu sonucu oluşan sarı renkli kompleksin 412 nm'deki absorbansının ölçümüne dayanmaktadır (153,155).

Ellman metodunun iki dezavantajı vardır. Bunlardan birincisi, reaksiyon sonucu oluşan sarı kompleksin bileşimi ve bu bileşiğin 412 nm'deki absorbsiyon katsayısı reaksiyon karışımının bileşimine ve özellikle de pH değerine yüksek oranda bağlıdır. İkincisi ise bu yöntemde substrat olarak astilkolin yerine asetiltiyokolin kullanılmasının gerekliliğidir. Bununla birlikte, AChE/BChE tarafından hidroliz edilen asetilkolin ve asetiltiyokolinin ne reaksiyon oranları, ne de IC_{50} değerleri aynı değildir. Substrat olarak asetilkolin kullanıldığında, enzimatik reaksiyonun oranı ve ayrıca buna bağlı olarak IC_{50} değerinin belirlenmesi için, asetilkolin, kolin, asetik asit veya asetik asitten gelen protonlar gibi reaksiyon bileşenlerinden herhangi birinin konsantrasyonunun kantitatif olarak belirlenmesini gerekmektedir (153).

Spektrofotometrik ölçüme dayanan Ellman yönteminin yanı sıra, zamanın bir fonksiyonu olarak pH değişiminin ölçülmesi esasına dayanan pH(t) yöntemiyle de antikolinesteraz aktivite tayini yapılmaktadır. Kolinesteraz enzimlerinin asetilkolin veya asetiltiyokolini hidrolizi sonucu reaksiyon ortamında oluşan asetik asite bağlı olarak pH değeri azalmaktadır. Bu azalma bir inhibitör varlığında yavaşlamaktadır. pH' daki bu değişimin zamana bağlı olarak ölçülmesi ve buradan IC₅₀ değerinin hesaplanması ile antikolinesteraz aktivite tayin edilebilmektedir (153).

2.4. Antifungal ve Antibakteriyel Aktivite

Antibakteriyel ve antifungal ilaçlar, çeşitli kimyasal yapılara sahiptirler ve bu ilaçlar arasında 3(2*H*)-piridazinon iskeleti taşıyan bileşikler de bulunmaktadır. Son yıllarda bu grup üzerinde yapılan çalışmaların sayısı hızla artmaktadır (23-25).

2.4.1. Antifungal ve Antibakteriyel Aktivite Tayin Yöntemleri

Bileşiklerin antimikrobiyal etkinliklerini belirlemek için çeşitli *in vitro* yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerle bileşiğin antimikrobiyal aktiviteye sahip olup olmadığı, aktif olanlarda üremeyi engelleyen en düşük madde konsantrasyonu (Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu=MİK) ve mikroorganizma spektrumu belirlenir.

Yeni bileşiklerin tarandığı testlerde aktifliği bilinen referans bir bileşiğin denenmesi uygulamadan gelen hataları belirleyebilmek için, ayrıca bakteri ve mikroorganizma suşlarının ve besiyerinin kontrolü açısından gereklidir. Referans olarak kullanılan bileşiklerin etkinliği bilinmeli ve çalışılan suşlara karşı inaktif olmamalıdır. Bir seri bileşik ile çalışılırken, bileşiklerin tümü aynı yöntemle test edilmeli ve mikroorganizmaların kültür koleksiyonlarından sağlanmasına dikkat edilmelidir. (156)

Antifungal ve antibakteriyel aktivite tayin yöntemlerinde aynı teknik kullanılır. Ancak besiyerleri, inkübasyon koşulları farklılık göstermektedir. Aktivite tayin yöntemleri genel olarak iki başlık altında incelenir: (156,157):

1- Dilüsyon Yöntemi; a- Tüp (Sıvı) Dilüsyon

-Makrodilüsyon

-Mikrodilüsyon

b- Agar dilüsyon

2- Difüzyon Yöntemi

2.4.1.1.Dilüsyon yöntemi

Bu yöntemde bileşiğin iki kat artan konsantrasyonlarda bir seri dilüsyonları hazırlanarak mikroorganizmanın üremesinin engellendiği veya mikroorganizmaları öldüren en düşük konsantrasyon (MİK) tespit edilir. Sonuçlar kantitatif olarak ($\mu\text{g/ml}$), kategori olarak (duyarlı, orta derecede duyarlı veya dirençli) veya her ikisini de içerecek şekilde verilebilir. Katı veya sıvı besiyeri kullanılabilen bu yöntem, buna göre tüp dilüsyon ve agar dilüsyon olmak üzere iki çeşittir.

2.4.1.1.1. Tüp (Sıvı) dilüsyon yöntemi

Dilüsyon yapmakta kullanılan besiyeri miktarı ve yerine göre ikiye ayrılır:

Makrodilüsyon yöntemi

13-100 mm'lik deney tüplerinde ≥ 1.0 ml hacimde yapılan testlerdir. İyi standardize edilebilir ve güvenilirdir. Ancak işlemlerin zahmetli olması ve daha uygun başka yöntemler bulunmasından dolayı genellikle tercih edilmez.

Mikrodilüsyon yöntemi

Mikrotitrasyon plakları kullanılarak 0.05-0.1 ml hacimde yapılan testlerdir. Bu yöntemin, birçok mikroorganizmanın kullanılmasına uygun olması nedeniyle uygulama kolaylığı vardır ve materyal kullanım seçeneği fazladır.

2.4.1.1.2. Agar dilüsyon yöntemi

Diğer yöntemlerin doğruluğunun değerlendirilmesinde referans olarak kullanılabilen, iyi standartize edilmiş bir yöntemdir. Aynı anda çeşitli mikroorganizmalarla çalışılabilmesi ve mikrobiyal kontaminasyonun diğer dilüsyon yöntemlerine göre daha rahat belirlenebilmesi yöntemin avantajlarından. Hazırlıklarının zor olması ve uzun sürmesi dezavantajlarından.

2.4.1.2. Difüzyon yöntemi

Aktivitesi incelenecek olan bileşiğin, mikroorganizma ekimi yapılmış olan besiyerine difüzyonu esasına dayanan bir yöntemdir. Belirli konsantrasyonda bileşik içeren kağıt diskler mikroorganizma ekili besiyerine tatbik edilerek inkübasyona bırakılır. İnkübasyon süresi sonunda, mikroorganizma üremesinin engellendiği alan çapı ölçülerek, ilacın etkinliği saptanır. Difüzyon testi, hızlı üreyen bakterilerin test edilmesinde güvenilir olarak kullanılabilir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. KİMYASAL ÇALIŞMALAR

3.1.1. Materyal

Bileşiklerin sentezinde kullanılan 3-kloro-6-(4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il)piridazin, literatür yöntemine göre tarafımızdan hazırlanmıştır (158). İlk basamaktan sonra elde edilen başlangıç maddeleri olan 6-(4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il)piridazin-3(2*H*)-on, etil 6-(4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il)piridazin-3(2*H*)-on-2-il asetat ve 6-(4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il)piridazin-3(2*H*)-on-2-il asetohidrazit de literatür yöntemlerinden uyarlanarak ilk defa tarafımızdan sentezlenmiştir (26,28).

Sentez çalışmalarında; 3,6-dikloropiridazin (Aldrich), 3,4-diklorofenilpiperazin (Merck), hidrazin hidrat (%99) (Aldrich), etil bromoasetat (Fluka), benzaldehit (Merck), 2-klorobenzaldehit (Fluka), 4-klorobenzaldehit (Fluka), 4-bromobenzaldehit (Fluka), 4-florobenzaldehit (Aldrich), 3-metilbenzaldehyt (Acros Organics), 4-metilbenzaldehyt (Aldrich), 2-metoksibenzaldehit (Merck), 3-metoksibenzaldehit (Aldrich), 4-metoksibenzaldehit (Merck), 2,3-dimetoksibenzaldehit (Tokyo Chemical Industry-TCI), 3,5-dimetoksibenzaldehit (Acros Organics), 2,4,6-trimetoksibenzaldehit (Fluka), 3,4,5-trimetoksibenzaldehit (Fluka), 4-(dimetilamino)benzaldehyt (Aldrich), 4-nitrobenzaldehyt (Aldrich), 2-siyanobenzaldehit (Tokyo Chemical Industry-TCI) ve 3-siyanobenzaldehit (Tokyo Chemical Industry-TCI) kullanılmıştır.

3.1.2. Sentez Yöntemleri

3.1.2.1. Başlangıç Maddelerinin Sentezleri

3.1.2.1.1. 3-Kloro-6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]piridazin (1) (158)

0.01 mol 3,6-dikloropiridazin ve 0.01 mol 3,4-diklorofenilpiperazin 15 ml etanol içerisinde, geri çeviren soğutucu altında, 6 saat ısıtılarak karıştırılır. Reaksiyon

ortamı buzlu suya dökülür; süzülerek alınan çökelek etanolden kristallendirilerek saflaştırılır.

3.1.2.1.2. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon (2)

0.05 mol 3-Kloro-6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]piridazin 30 ml glasiyel asetik asit içerisinde, geri çeviren soğutucu altında, 6 saat ısıtılarak karıştırılır. Asetik asit uçurulur; kalan artık suda çözülür ve kloroform ile ekstre edilir. Organik faz susuz Na₂SO₄ ile kurutulur ve sonrasında kloroform uçurulur. Kalan artık metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır.

3.1.2.1.3. Etil 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-il asetat (3)

0.01 mol 6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon, 0.02 mol etil bromoasetat ve 0.02 mol potasyum karbonat 40 ml aseton içerisinde, geri çeviren soğutucu altında, 24 saat ısıtılarak karıştırılır. Karışım soğutulur, çöken tuz süzülür ve aseton uçurulur. Kalan artık n-hekzandan kristallendirilerek saflaştırılır.

3.1.2.1.4. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-il asetohidrazit (4)

0.01 mol etil 6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-il asetat 25 ml metanolde çözülür ve üzerine 3 ml hidrazin hidrat eklenir. Reaksiyon ortamı 3 saat oda sıcaklığında karıştırılır. Oluşan çökelek süzülür, suyla yıkanır, kurutulur ve metanolden kristallendirilerek saflaştırılır.

3.1.2.2. Bileşiklerin Genel Sentezi (5a-t)

0.01 mol 6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-il asetohidrazit ve 0.01 mol sübstitüe ve nonsübstitüe benzaldehit 15 ml etanol içerisinde, geri çeviren soğutucu altında, 6 saat ısıtılarak karıştırılır. Reaksiyon ortamı buzlu suya dökülür; çöken madde süzülür, kurutulur. Bileşikler monograflarda belirtilen uygun yöntemlerle saflaştırılır.

3.1.3. Analitik Yöntemler

3.1.3.1. Erime Derecesi Tayinleri

Bileşiklerin erime derecesi tayinleri Barnstead/Electrothermal (9100) erime derecesi tayin cihazı ile yapılmıştır. Verilen erime dereceleri düzeltilmemiş değerlerdir.

3.1.3.2. İnce Tabaka Kromatografisi ile Yapılan Kontroller

Materyal

Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck) hazır plaklar kullanılmıştır. Çözücü sistemleri ve belirteçlerin hazırlanmasında kullanılan kimyasal maddeler Merck firmasının ürünleridir.

Bileşiklerin kromatografik kontrollerinde Kloroform-Metanol (90:10) çözücü sistemi kullanılmıştır.

Yöntem

Sürüklenme şartları: Kromatografi tanklarına çözücü sistemleri konulduktan sonra 24 saat oda sıcaklığında bekletilerek tankların doygunlukları sağlanmıştır. Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck) hazır alüminyum plaklara sentez ürünleri ile bunların hazırlanmasında kullanılan başlangıç maddelerinin uygun çözücülerdeki çözeltileri tatbik edilmiş, R_f değerleri oda sıcaklığında 10 cm'lik sürüklenme sağlandıktan sonra tayin edilmiştir.

Lekelerin belirlenmesi: Kromatogramlarda sentez ürünlerine ve başlangıç maddelerine ait lekelerin belirlenmesinde UV ışığı (254 ve 365 nm), iyot buharı ve Dragendorff belirtecinden yararlanılmıştır:

3.1.3.3. Spektrometrik Kontroller

IR spektrumları

Bileşiklerin IR spektrumları, ATR tekniği kullanılarak, İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkez Laboratuvarı'nda, Perkin Elmer Spectrum One FTIR Spektrometre'sinde alınmış ve dalga sayısı (cm⁻¹) cinsinden değerlendirilmiştir.

¹H-NMR spektrumları

Bileşiklerin ¹H-NMR spektrumları, kloroform veya dimetilsülfoksit-d₆ (Merck)'deki yaklaşık % 10'luk çözeltilerinden, İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkez Laboratuvarı'nda, Bruker Avonce 300 MHz Ultrashield™ NMR Spektrometre'sinde alınmış; δ skalasında değerlendirilmiştir.

¹³C-NMR Spektrumları

Bileşiklerin ¹³C-NMR spektrumları, dimetilsülfoksit-d₆ (Merck)'deki yaklaşık % 10'luk çözeltisinden İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkez Laboratuvarı'nda, Bruker Avonce 300 MHz Ultrashield™ NMR Spektrometre'sinde alınmış; δ skalasında değerlendirilmiştir.

Kütle spektrumları

Sentezlenen bileşiklerin HRMS spektrumları metanol içerisindeki çözeltilerinden pozitif iyon (ESI+) ve negatif iyon (ESI-) elektrosprey iyonizasyon teknikleri ile Waters LCT Premier XE UPLC/MS TOFF sistemi ile MassLynx 4.1 yazılımı kullanılarak Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'nda alınmıştır.

3.2.BİYOLOJİK ÇALIŞMALAR

3.2.1. Antikolinesteraz Aktivite Tayini (AChE-BChE Enzim İnhibisyonu)

Bileşiklerin antikolinesteraz aktivite tayinleri Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

3.2.1.1.Materyal

Enzim inhibisyonu çalışmalarında asetilkolin esteraz enzimi (Electric eel Type-VI-S, EC 3.1.1.7, Sigma, St. Louis, MO, USA), bütirilkolin esteraz enzimi (EC 3.1.1.8, Sigma), asetiltiyokolin iyodür (sigma-aldrich), bütiriltiyokolin klorür (sigma-aldrich), 5,5'-ditiyo-bis(2-nitrobenzoik) asit (Sigma, St. Louis, MO, USA), galantamin hidrobromür (Sigma, St. Louis, MO, USA) kullanılmıştır.

3.2.1.2.Yöntem

Bileşiklerin *in vitro* AChE ve BChE enzim inhibisyonları Ellman metoduna göre yapılmıştır (154). Enzim kaynağı olarak *Electric eel* AChE Type-VI-S ve equine serum BChE, substrat olarak asetiltiyokolin iyodür ve bütiriltiyokolin klorür, standart bileşik olarak ise galantamin kullanılmıştır. Anti-kolinesteraz aktivitenin belirlenmesi için de 5,5'-ditiyo-bis(2-nitrobenzoik) asit (DTNB) kullanılmıştır.

140 µl 0.1 mM sodyum fosfat tamponu (pH 8.0), 20 µl DTNB, 20 µl test bileşiğinin çözeltisi ve 20 µl AChE/BChE çözeltisi çok kanallı mikropipetle 96 kuyucuklu kültür kabına eklenip 25°C'de 15 dakika inkübe edilmiş, sonrasında 10 µl asetiltiyokolin iyodür/bütiriltiyokolin klorür eklenerek reaksiyon başlatılmıştır. Asetiltiyokolin iyodür ve bütiriltiyokolin klorürün hidrolizi, enzimlerin kataliziyle oluşan tiyokolinlerin DTNB ile reaksiyonu sonucu oluşan sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoat anyonu oluşumunun Eliza cihazı kullanılarak 412 nm dalga boyunda görüntülenmesiyle belirlenmiştir.

Ölçüm ve değerlendirmeler SoftmaxPro 4.3.2.LS bilgisayar programı kullanılarak değerlendirilmiştir. AChE/BChE enzimlerinin inhibisyon yüzdeleri, kör numune ile kıyaslamalı olarak örneklerin reaksiyon oranlarının karşılaştırılmasıyla, aşağıdaki formül kullanılarak belirlenmiştir (26).

$$(E-S)/Ex100$$

E: Test örneği içermeyen enzimin aktivitesi.

S: Test örneği içeren enzimin aktivitesi.

Deneyler üç paralel halinde çalışılmış ve sonuçlar ortalama standart sapma değerleri ile verilmiştir.

3.2.2. Antifungal ve Antibakteriyel Aktivite Tayini

Bileşiklerin antimikrobiyal aktivite çalışmaları Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

3.2.2.1.Materyal

Mikrotitrasyon Plağı, Mc Farland 0.5 çözeltisi, dimetilsülfoksit (Merck), ampisilin, gentamisin, ofloxasin, rifampisin, tetrasiklin, seftriakson, meropenem,

eritromisin, vankomisin, ampisilin-sulbaktam, amoksisilin-klavulonik asit, flukonazol, amfoterisin B, Mueller-Hinton broth (MHB), RPMI-1640 besiyeri, MOPS (3-(N-morfolino)propano sülfonik asit buffer (ICN-Flow), Mueller-Hinton agarda (MHA), Sabouraud dekstroz agar (Merck) kullanılmıştır.

Antimikrobiyal aktivite testlerinde standart (ATCC; American type culture collection ve klinik izole (Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi; Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı) suşlar kullanılmıştır. Antibakteriyal aktivite testlerinde *E.coli* ATCC 25922, *E.coli* ATCC 35218, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecalis* ATCC 29212 ve bunların klinik izole formları kullanılırken; antifungal aktivite testlerinde ise *C. albicans* ATCC 10231 ve *C. krusei* ATCC 6258 kullanılmıştır.

3.2.2.2.Yöntem

Test örnekleri etanol:hekzan (1:1)+1% Tween 80 çözücünde 128 µg/ml konsantrasyonda hazırlanıp 0.22 µm milipor (MA 01730, USA) filtreden süzildükten sonra stok çözelti olarak kullanılmıştır. Referans antibakteriyel bileşik olarak rifampisin, oflaksolin, tetrasiklin, seftriakson, meropenem, eritromisin, vankomisin, ampisilin-sulbaktam ve amoksisilin-klavulonik asit; antifungal bileşik olarak ise flukonazol ve amfoterisin B kullanılmıştır. Test bileşiklerinin stok çözeltileri DMSO'da, referans bileşikler de uygun bir çözücünde (fosfat tamponu pH: 8.0, su, DMSO gibi) çözülerek hazırlanıp test edilmiştir. Stok çözeltiler Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) kriterlerine göre hazırlanmıştır (159).

Antimikrobiyal aktivite testinde; mikroorganizmaların üretilmeleri ve dilüsyonların hazırlığında, Mueller-Hinton Broth (MHB; Difco) ve Mueller-Hinton Agar (MHA; Oxoid) kullanılmıştır. Kültür süspansiyonları; her bakteri için CLSI kriterlerine göre McFarland 0.5 (10^7 cfu/ml) yoğunluğundaki bakteri kültür süspansiyonundan, 10^5 cfu/ml bakteri yoğunluğunda hazırlanıp denenmiştir. Antifungal kültür süspansiyonlarının hazırlığında sabouraud liquid medium (SLM; Oxoid) ve sabouraud dekstroze agar (SDA; Oxoid) kullanılmıştır. Fungus kültürlerinin test süspansiyonu ise RPMI-1640 (L-glutamine, pH: 7, 3-[N-morpholino]-propansulfonic) ile spektrofotometrik olarak 2.5×10^3 cfu/mL yoğunlukta hazırlanmıştır.

Stok çözeltileri hazırlanan antibiyotikler mikrodilüsyon plaklarının ilk kuyucuklarına 100 µL hacimde eklenmiştir. Böylece stok çözeltideki antibiyotik konsantrasyonu çift katlı olarak sulandırılmıştır. Çok kanallı mikropipet kullanılarak çift katlı dilüsyona devam edilip mikrodilüsyon plaklarının takip eden kuyucuklarında da antibiyotik konsantrasyonu her defasında yarı yarıya azaltılmıştır. Dilüsyon işlemi tamamlandıktan sonra, mikrodilüsyon plağındaki her kuyucuğa, hazırlanan inokulum süspansiyonlarından 10 µL inokülasyon yapılmıştır. Her mikrodilüsyon plağında sadece besiyeri ve mikroorganizma içeren ve sadece besiyeri içeren kontrol kuyucuları eklenmiştir. Ayrıca kullanılan tüm çözücülerin antimikrobiyal etkilerine bakılmıştır. Bakteri inoküle edilmiş mikrodilüsyon plakları 37°C’de 24-48 saat etüvde inkübe edilmiştir. Minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri mikroorganizmanın mikrodilüsyon kuyucuklarındaki üremesini tamamen inhibe eden en düşük ilaç konsantrasyonu olarak saptanmıştır. Tüm deneyler üç paralel halinde çalışılmıştır.

3.25 g (0.01 mol) 6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon, 2.24 ml (0.01 mol) etil bromoasetat ve 2.7639 g K₂CO₃'den sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim 2.34 g (% 57).

Beyaz renkte, kristalize bir maddedir. E.d. 212-4 °C. Eter, petrol eteri ve n-hekzanda çözünmez; aseton, etil asetat ve suda sıcakta, kloroform ve metanolde soğukta çözünür.

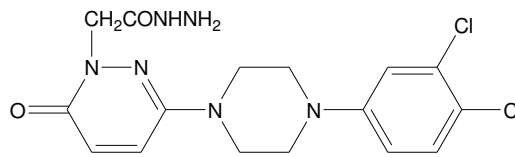
İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değerleri 0.83'dür. UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3064 (aromatik C-H gerilim), 2981,2840 (alifatik C-H gerilim), 1753 (C=O gerilim-ester), 1679 (C=O gerilim), 1588 (N=N gerilim), 1236 (C-N gerilim) ve 843 cm⁻¹ 'de (C-Cl gerilim) pikler görülür.

¹H-NMR spektrumunda (CDCl₃-d, 300 MHz), δ 1.31 (3H; t; -CH₃), 3.30 (4H; t; CH₂-N; Hb), 3.41 (4H; t; CH₂-N; Ha), 4.26 (2H; q; -O-CH₂-), 4.78 (2H; s; -N-CH₂-C=O), 6.78 (1H; d; piridazinon H⁵), 6.80 (1H; d; piridazinon H⁴), 6.92-7.34 ppm'de (3H; m; aromatik protonlar) pikler görülür.

C₁₈H₂₀Cl₂N₄O₃ için M.A 411.28

4.1.3. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-il asetohidrazit (4)



4.11 g (0.01 mol) etil 6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-il asetat ve 3 ml hidrazinhidrattan sentez edilir. Metanolden kristallendirilerek saflaştırılır. Verim 3.10 g (% 78).

Beyaz renkte, kristalize bir maddedir. E.d. 207-9 °C. Eter, petrol eteri, etil asetat, su ve n-hekzanda çözünmez; kloroform, aseton ve metanolde sıcakta çözünür.

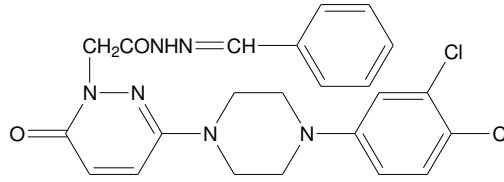
İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0.167'dir. UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3308 (N-H gerilim), 3056 (aromatik C-H gerilim), 2837 (alifatik C-H gerilim), 1682 (C=O gerilim), 1235 (C-N gerilim) ve 846 cm^{-1} 'de (C-Cl gerilim) pikler görülür.

^1H -NMR spektrumunda (CDCl_3 - d , 300 MHz), δ 3.27 (4H; t; CH_2 -N; H_b), 3.46 (4H; t; CH_2 -N; H_a), 4.74 (2H; s; -N- CH_2 -C=O), 5.15 (2H; s; -NH₂), 6.79 (1H; d; piridazinon H⁵), 6.81 (1H; d; piridazinon H⁴), 6.94-7.35 (3H; m; aromatik protonlar), 7.75 (1H; s; -NH-) ppm'de pikler görülür.

$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{Cl}_2\text{N}_6\text{O}_2$ için M.A 397.26

4.1.4. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-asetil-2-benzalhidrazon (5a)



3.97 g (0.01 mol) 6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-ilasetohidrazit ve 1.01 ml (0.01 mol) benzaldehitten sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim 3.40 g (% 70).

Beyaz renkte, kristalize bir maddedir. E.D. 278-80 °C. Eter, petrol eteri ve suda çözünmez; aseton, etil asetat, kloroform ve metanolde soğukta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0.45'dir. UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3676 (N-H gerilim), 3065 (aromatik C-H gerilim), 2970, 2901 (alifatik C-H gerilim), 1693 (C=O gerilim), 1569 (C=N gerilim), 1237 (C-N gerilim) ve 844 cm^{-1} 'de (C-Cl gerilim) pikler görülür.

^1H -NMR spektrumunda ($\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz), δ 2.50 (4H; t; CH_2 -N; H_b), 3.30 (4H; t; CH_2 -N; H_a), 5.06 (2H; s; -N- CH_2 -C=O), 6.92 (1H; d; piridazinon H⁵),

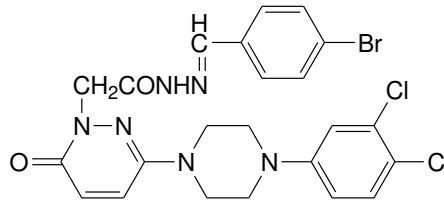
6.97 (1H; d; piridazinon H⁴), 7.00-7.71 (8H; m; aromatik protonlar), 8.02 (1H; s; -N=CH-), 11.66 ppm'de (1H; s; -NH-N) pikler görülür.

¹³C-NMR spektrumunda (DMSO-*d*₆, 300 MHz), δ 46.20 (2C; CH₂-N), 47.63 (2C; CH₂-N), 78.91 (1C; -N-CH₂-C=O), 116.08 (1C; =CH), 117.05 (2C; piridazinon C⁵, 3,4-diklorobenzen C⁶), 120.57 (1C; 3,4-diklorobenzen C⁵), 127.05 (1C; piridazinon C⁴), 129.22 (5C; benzen C²⁻⁶), 130.90 (1C; 3,4-diklorobenzen C²) 132.03 (1C; benzen C¹), 144.36 (1C; 3,4-diklorobenzen C¹), 148.96 (1C; piridazinon C⁶), 150.98 (2C; 3,4-diklorobenzen C^{3,4}), 158.31 (1C; CH₂-N-C=O), 168.40 (1C; piridazinon C³) ppm'de pikler görülür.

C₂₃H₂₂Cl₂N₆O₂ için M.A 485.37

Kütle spektrumunda (TOF MS ES⁺): *m/e* 485.1262 (M⁺; % 100.0), 487.1226 (M⁺²; % 67.9) ve 489.1237 (M⁺⁴; % 10.2)' de pikler görülür.

4.1.5. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-asetil-2-(4-bromobenzal)hidrazon (5b)



3.97 g (0.01 mol) 6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-ilasetohidrazit ve 3.70 g (0.02 mol) 4-bromobenzaldehitten sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim 4.91 g (% 87).

Beyaz renkte, kristalize bir maddedir. E.d. 271-3°C. Eter, petrol eteri, n-hekzan ve suda çözünmez; etil asetatda sıcakta, kloroform, aseton ve metanolde soğukta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0.45'dir. UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3091 (aromatik C-H gerilim), 2953, 2849 (alifatik C-H gerilim), 1695 (C=O gerilim), 1571 (C=N gerilim), 1237 (C-N gerilim) ve 841 cm^{-1} 'de (C-Cl gerilim) pikler görülür.

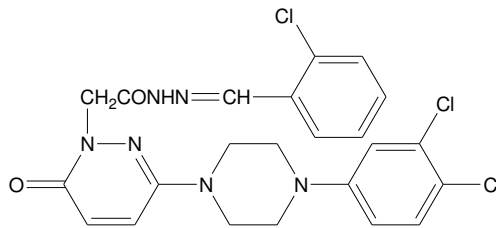
^1H -NMR spektrumunda ($\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz), δ 2.51 (4H; t; $\text{CH}_2\text{-N}$; Hb), 3.30 (4H; t; $\text{CH}_2\text{-N}$; Ha), 5.06 (2H; s; $\text{-N-CH}_2\text{-C=O}$), 6.93 (1H; d; piridazinon H^5), 6.98 (1H; d; piridazinon H^4), 7.01-7.70 (7H; m; aromatik protonlar), 7.99 (1H; s; -N=CH-), 11.74 ppm'de (1H; s; -NH-N) pikler görülür.

^{13}C -NMR spektrumunda ($\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz), δ 46.23 (2C; $\text{CH}_2\text{-N}$), 47.56 (2C; $\text{CH}_2\text{-N}$), 79.01 (1C; $\text{-N-CH}_2\text{-C=O}$), 114.27 (1C; $=\text{CH}$), 116.21 (2C; piridazinon C^5 , 3,4-diklorobenzen C^6), 120.34 (1C; 3,4-diklorobenzen C^5), 127.07 (1C; piridazinon C^4), 130.56 (2C; benzen $\text{C}^{2,6}$), 130.72 (2C; benzen $\text{C}^{3,5}$), 130.90 (1C; 3,4-diklorobenzen C^2) 132.03 (1C; benzen C^1), 144.36 (1C; 3,4-diklorobenzen C^1), 146.96 (1C; piridazinon C^6), 148.56 (1C; benzen C^4), 150.93 (2C; 3,4-diklorobenzen $\text{C}^{3,4}$), 158.07 (1C; $\text{CH}_2\text{-N-C=O}$), 165.70 (1C; piridazinon C^3) ppm'de pikler görülür.

$\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{BrCl}_2\text{N}_6\text{O}_2$ için M.A 564.26

Kütle spektrumunda (TOF MS ES+): m/e 564.0342 (M^+ ; % 100.0), 566.0299 (M^{+2} ; % 61.7) ve 568.0392 (M^{+4} ; % 10.6)' de pikler görülür.

4.1.6. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-asetil-2-(2-klorobenzal)hidrazon (5c)



3.97 g (0.01 mol) 6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-ilasetohidrazit ve 1.41 g (0.01 mol) 2-klorobenzaldehitten sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim 4.21 g (% 81).

Beyaz renkte, kristalize bir maddedir. E.d. 267-9°C. Eter, petrol eteri, n-hekzan ve suda çözünmez; aseton ve etil asetatta sıcakta, kloroform ve metanolde soğukta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0.45' tir. UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3063 (aromatik C-H gerilim), 2952, 2840 (alifatik C-H gerilim), 1695 (C=O gerilim), 1569 (C=N gerilim), 1237 (C-N gerilim) ve 839 cm^{-1} 'de (C-Cl gerilim) pikler görülür.

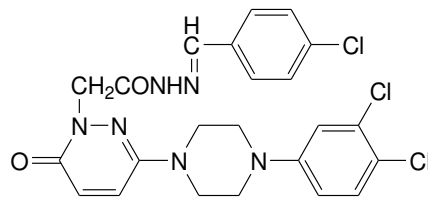
^1H -NMR spektrumunda (DMSO- d_6 , 300 MHz), δ 3.12 (4H; t; $\text{CH}_2\text{-N}$; Hb), 3.30 (4H; t; $\text{CH}_2\text{-N}$; Ha), 5.12 (2H; s; $\text{-N-CH}_2\text{-C=O}$), 6.67 (1H; d; piridazinon H^5), 6.88 (1H; d; piridazinon H^4), 6.94-7.47 (7H; m; aromatik protonlar), 7.80 (1H; s; -N=CH-), 11.12 ppm'de (1H; s; -NH-N) pikler görülür.

^{13}C -NMR spektrumunda (DMSO- d_6 , 300 MHz), δ 46.61 (2C; $\text{CH}_2\text{-N}$), 48.32 (2C; $\text{CH}_2\text{-N}$), 77.12 (1C; $\text{-N-CH}_2\text{-C=O}$), 115.87 (1C; $=\text{CH}$), 117.21 (2C; piridazinon C^5 , 3,4-diklorobenzen C^6), 120.55 (1C; 3,4-diklorobenzen C^5), 126.47 (1C; piridazinon C^4), 130.23 (2C; benzen $\text{C}^{4,5}$), 130.62 (1C; benzen C^3), 130.74 (1C; benzen C^6), 131.90 (1C; 3,4-diklorobenzen C^2) 135.12 (1C; benzen C^1), 144.36 (1C; 3,4-diklorobenzen C^1), 146.96 (1C; piridazinon C^6), 148.56 (1C; benzen C^2), 150.93 (2C; 3,4-diklorobenzen $\text{C}^{3,4}$), 158.07 (1C; $\text{CH}_2\text{-N-C=O}$), 165.70 (1C; piridazinon C^3) ppm'de pikler görülür.

$\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{Cl}_3\text{N}_6\text{O}_2$ için M.A 519.81

Kütle spektrumunda (TOF MS ES+): m/e 519.0864 (M^+ ; % 100.0), 521.0864 (M^{+2} ; % 96.9), 523.0827 (M^{+4} ; % 30.7) ve 525.0864 (M^{+6} ; % 3.4)'de pikler görülür.

4.1.7. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-asetil-2-(4-klorobenzal)hidrazon (5d)



3.97 g (0.01 mol) 6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-ilasetohidrazit ve 2.81 g (0.02 mol) 4-klorobenzaldehitten sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim 2.91 g (% 56).

Beyaz renkte, kristalize bir maddedir. E.d. 275-7 °C. Eter, petrol eteri, n-hekzan ve suda çözünmez; aseton ve etil asetatta sıcakta, kloroform ve metanolde soğukta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0.45'tir. UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3213 (N-H gerilim), 3066 (aromatik C-H gerilim), 2919, 2844 (alifatik C-H gerilim), 1667 (C=O gerilim), 1596 (C=N gerilim), 1238 (C-N gerilim) ve 837 cm^{-1} 'de (C-Cl gerilim) pikler görülür.

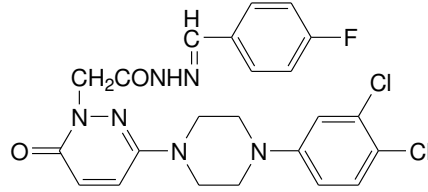
^1H -NMR spektrumunda (CDCl_3 -*d*, 300 MHz), δ 3.31 (4H; t; $\text{CH}_2\text{-N}$; H_b), 3.50 (4H; t; $\text{CH}_2\text{-N}$; H_a), 5.28 (2H; s; $\text{-N-CH}_2\text{-C=O}$), 6.90-7.44 (9H; m; aromatik protonlar ve piridazinon H^{4,5}), 8.18 (1H; s; -N=CH-), 10.51 ppm'de (1H; s; -NH-N) pikler görülür.

^{13}C -NMR spektrumunda ($\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz), δ 46.17 (2C; $\text{CH}_2\text{-N}$), 47.59 (2C; $\text{CH}_2\text{-N}$), 79.14 (1C; $\text{-N-CH}_2\text{-C=O}$), 112.20 (1C; $=\text{CH}$), 117.03 (2C; piridazinon C⁵, 3,4-diklorobenzen C⁶), 120.52 (1C; 3,4-diklorobenzen C⁵), 128.97-129.31 (1C; piridazinon C⁴), 130.92-130.98 (2C; benzen C^{2,6}), 131.90-132.00 (2C; benzen C^{3,5}), 134.88 (1C; 3,4-diklorobenzen C²) 139.99 (1C; benzen C¹), 143.10 (1C; 3,4-diklorobenzen C¹), 146.21 (1C; piridazinon C⁶), 148.98 (1C; benzen C⁴), 150.99 (2C; 3,4-diklorobenzen C^{3,4}), 158.31 (1C; $\text{CH}_2\text{-N-C=O}$), 168.49 (1C; piridazinon C³) ppm'de pikler görülür.

$\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{Cl}_3\text{N}_6\text{O}_2$ için M.A 519.81

Kütle spektrumunda (TOF MS ES+): m/e 519.0859 (M^+ ; % 100.0), 521.0859 (M^{+2} ; % 96.9), 523.0807 (M^{+4} ; % 30.7) ve 525.0828 (M^{+6} ; % 3.4)'de pikler görülür.

4.1.8. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-asetil-2-(4-florobenzal)hidrazon (5e)



3.97 g (0.01 mol) 6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-ilasetohidrazit ve 1.06 ml (0.01 mol) 4-florobenzaldehitten sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim 4.23 g (% 84).

Beyaz renkte, kristalize bir maddedir. E.d. 228-30 °C. Eter, petrol eteri, n-hekzan ve suda çözünmez; aseton ve etil asetatta sıcakta, kloroform ve metanolde soğukta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0.45'tir. UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3676 (N-H gerilim), 3001 (aromatik C-H gerilim), 2972, 2902 (alifatik C-H gerilim), 1687 (C=O gerilim), 1585 (C=N gerilim), 1236 (C-N gerilim) ve 836 cm^{-1} 'de (C-Cl gerilim) pikler görülür.

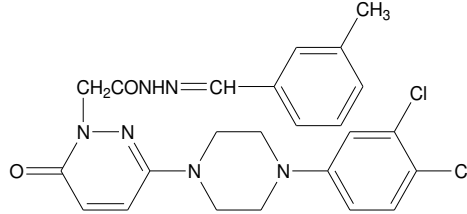
^1H -NMR spektrumunda (CDCl_3 -d, 300 MHz), δ 3.10 (4H; t; $\text{CH}_2\text{-N}$; Hb), 3.27 (4H; t; $\text{CH}_2\text{-N}$; Ha), 5.09 (2H; s; $\text{-N-CH}_2\text{-C=O}$), 6.65 (1H; d; piridazinon H^5), 6.78 (1H; d; piridazinon H^4), 6.84-7.53 (7H; m; aromatik protonlar), 7.78 (1H; s; -N=CH-), 11.10 ppm'de (1H; s; -NH-N) pikler görülür.

^{13}C -NMR spektrumunda ($\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz), δ 46.17 (2C; $\text{CH}_2\text{-N}$), 47.59 (2C; $\text{CH}_2\text{-N}$), 78.92 (1C; $\text{-N-CH}_2\text{-C=O}$), 116.10-116.17 (1C; $=\text{CH}$), 117.03 (2C; piridazinon C^5 , 3,4-diklorobenzen C^6), 120.50 (1C; 3,4-diklorobenzen C^5), 127.09 (1C; piridazinon C^4), 129.49-129.60 (2C; benzen $\text{C}^{2,6}$), 131.00 (2C; benzen $\text{C}^{3,5}$), 134.88 (1C; 3,4-diklorobenzen C^2) 139.99 (1C; benzen C^1), 143.29 (1C; 3,4-diklorobenzen C^1), 146.42 (1C; piridazinon C^6), 149.01 (1C; benzen C^4), 151.01 (2C; 3,4-diklorobenzen $\text{C}^{3,4}$), 158.35 (1C; $\text{CH}_2\text{-N-C=O}$), 168.43 (1C; piridazinon) ppm'de pikler görülür.

$\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{Cl}_2\text{FN}_6\text{O}_2$ için M.A 503.36

Kütle spektrumunda (TOF MS ES⁺): *m/e* 503.1142 (M⁺; % 100.0), 505.1117 (M⁺; % 64.9) ve 507.1105 (M⁺; % 10.2)' de pikler görülür.

4.1.9. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-asetil-2-(3-metilbenzal)hidrazon (5f)



3.97 g (0.01 mol) 6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-ilasetohidrazit ve 1.18 ml (0.01 mol) 3-metilbenzaldehitten sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim 3.93 g (% 79).

Beyaz renkte, kristalize bir maddedir. E.d. 297-9°C. Eter, petrol eteri, n-hekzan, etil asetat ve suda çözünmez; asetonda sıcakta, kloroform ve metanolde soğukta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0.78'dir. UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3059 (aromatik C-H gerilim), 2888, 2831 (alifatik C-H gerilim), 1693 (C=O gerilim), 1570 (C=N gerilim), 1237 (C-N gerilim) ve 845 cm⁻¹ 'de (C-Cl gerilim) pikler görülür.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-*d*₆, 300 MHz), δ 2.51 (4H; t; CH₂-N; H_b), 3.37 (4H; t; CH₂-N; H_a), 5.06 (2H; s; -N-CH₂-C=O), 7.32 (1H; d; piridazinon H⁵), 7.33 (1H; d; piridazinon H⁴), 7.34-7.66 (7H; m; aromatik protonlar), 7.98 (1H; s; -N=CH-), 11.62 ppm'de (1H; s; -NH-N) pikler görülür.

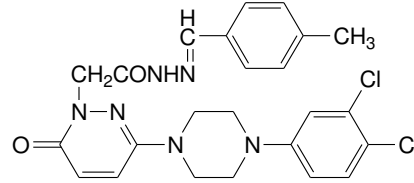
¹³C-NMR spektrumunda (DMSO-*d*₆, 300 MHz), δ 27.34 (1C; -CH₃), 46.17 (2C; CH₂-N), 47.51 (2C; CH₂-N), 78.57 (1C; -N-CH₂-C=O), 113.66 (1C; =CH), 116.03 (2C; piridazinon C⁵, 3,4-diklorobenzen C⁶), 120.52 (1C; 3,4-diklorobenzen C⁵), 129.27 (1C; piridazinon C⁴), 130.93 (1C; benzen C²), 130.98 (1C; benzen C⁴), 131.90 (1C; benzen C⁵), 132.00 (1C; benzen C⁶), 134.88 (1C; 3,4-diklorobenzen C²),

137.45 (1C; benzen C³), 139.99 (1C; benzen C¹), 143,10 (1C; 3,4-diklorobenzen C¹), 146.21 (1C; piridazinon C⁶), 150.99 (2C; 3,4-diklorobenzen C^{3,4}), 158.31 (1C; CH₂-N-C=O), 168.49 (1C; piridazinon C³) ppm'de pikler görülür.

C₂₄H₂₄Cl₂N₆O₂ için M.A 499.39

Kütle spektrumunda (TOF MS ES⁺): *m/e* 499.1408 (M⁺; % 100.0), 501.1368 (M⁺²; % 64.5) ve 503.1409 (M⁺⁴; % 10.6)' da pikler görülür.

4.1.10. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-asetil-2-(4-metilbenzal)hidrazon (5g)



3.97 g (0.01 mol) 6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-ilasetohidrazit ve 1.18 ml (0.01 mol) 4-metilbenzaldehitten sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim 4,04 g (% 81).

Beyaz renkte, kristalize bir maddedir. E.d. 255-7 °C. Eter, petrol eteri, n-hekzan, etil asetat ve suda çözünmez; asetonda sıcakta, kloroform ve metanolde soğukta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0.78'dir. UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3086 (aromatik C-H gerilim), 2953, 2842 (alifatik C-H gerilim), 1684 (C=O gerilim), 1568 (C=N gerilim), 1237 (C-N gerilim) ve 840 cm⁻¹ 'de (C-Cl gerilim) pikler görülür.

¹H-NMR spektrumunda (CDCl₃-d, 300 MHz), δ 3.12 (4H; t; CH₂-N; H_b), 3.29 (4H; t; CH₂-N; H_a), 5.11 (2H; s; -N-CH₂-C=O), 6.65 (1H; d; piridazinon H⁵), 6.68 (1H; d; piridazinon H⁴), 6.78-7.43 (7H; m; aromatik protonlar), 7.78 (1H; s; -N=CH-), 10.89 ppm'de (1H; s; -NH-N) pikler görülür.

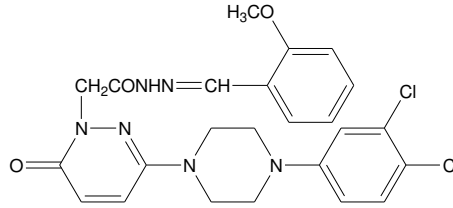
¹³C-NMR spektrumunda (DMSO-*d*₆, 300 MHz), δ 28.56 (1C; -CH₃), 47.21 (2C; CH₂-N), 48.32 (2C; CH₂-N), 78.57 (1C; -N-CH₂-C=O), 114.53 (1C; =CH),

116.03 (1C; piridazinon C⁵), 118.56 (1C; 3,4-diklorobenzen C⁶), 121.42 (1C; 3,4-diklorobenzen C⁵), 130.14 (1C; piridazinon C⁴), 130.86 (1C; benzen C²), 130.98 (1C; benzen C⁴), 131.90 (1C; benzen C⁵), 132.00 (1C; benzen C⁶), 134.88 (1C; 3,4-diklorobenzen C²), 137.45 (1C; benzen C³), 138.99 (1C; benzen C¹), 143,10 (1C; 3,4-diklorobenzen C¹), 146.21 (1C; piridazinon C⁶), 151.87 (2C; 3,4-diklorobenzen C^{3,4}), 158.31 (1C; CH₂-N-C=O), 168.52 (1C; piridazinon C³) ppm’de pikler görülür.

C₂₄H₂₄Cl₂N₆O₂ için M.A 499.39

Kütle spektrumunda (TOF MS ES⁺): *m/e* 499.1443 (M⁺; % 100.0), 501.1412 (M⁺; % 64,5) ve 503.1402 (M⁺; % 10.6)’ da pikler görülür.

4.1.11. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-asetil-2-(2-metoksibenzal)hidrazon (5h)



3.97 g (0.01 mol) 6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-ilasetohidrazit ve 2,42 ml (0.02 mol) 2-metoksibenzaldehitten sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim 4.43 g (% 86).

Beyaz renkte, kristalize bir maddedir. E.d. 263-5°C. Eter, petrol eteri ve suda çözünmez; aseton, etil asetat, kloroform ve metanolde soğukta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0.45’ tir. UV ışığında 254 nm’de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3091 (aromatik C-H gerilim), 2953, 2840 (alifatik C-H gerilim), 1695 (C=O gerilim), 1568 (C=N gerilim), 1236 (C-N gerilim), 1091 (C-O gerilim) ve 839 cm⁻¹’ de (C-Cl gerilim) pikler görülür.

¹H-NMR spektrumunda (CDCl₃-*d*, 300 MHz), δ 3.05 (4H; t; CH₂-N; H_b), 3.46 (4H; t; CH₂-N; H_a), 4.87 (3H; s; -O-CH₃), 5.29 (2H; s; -N-CH₂-C=O), 6.82-6.86

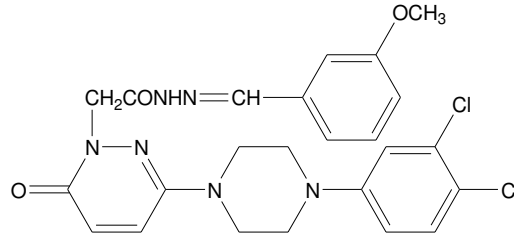
(2H; m; piridazinon H^{4,5}), 6.94-7.84 (7H; m; aromatik protonlar), 8.06 (1H; s; -N=CH-), 10.29 ppm'de (1H; s; -NH-N) pikler görülür.

¹³C-NMR spektrumunda (DMSO-*d*₆, 300 MHz), δ 46.61 (2C; CH₂-N), 48.32 (2C; CH₂-N), 56.01 (1C; O-CH₃), 77.12 (1C; -N-CH₂-C=O), 115.87 (1C; =CH), 117.21 (2C; piridazinon C⁵, 3,4-diklorobenzen C⁶), 120.55 (1C; 3,4-diklorobenzen C⁵), 126.47 (1C; piridazinon C⁴), 130.23 (2C; benzen C^{4,5}), 130.62 (1C; benzen C³), 130.74 (1C; benzen C⁶), 131.90 (1C; 3,4-diklorobenzen C²) 135.12 (1C; benzen C¹), 144.36 (1C; 3,4-diklorobenzen C¹), 146.96 (1C; piridazinon C⁶), 148.56 (1C; benzen C²), 150.93 (2C; 3,4-diklorobenzen C^{3,4}), 158.07 (1C; CH₂-N-C=O), 165.70 (1C; piridazinon C³) ppm'de pikler görülür.

C₂₄H₂₄Cl₂N₆O₃ için M.A 515.39

Kütle spektrumunda (TOF MS ES⁺): *m/e* 515.1364 (M⁺; % 100.0), 517.1365 (M⁺²; % 65.1) ve 519.1400 (M⁺⁴; % 10.2)' de pikler görülür.

4.1.12. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-asetil-2-(3-metoksibenzal)hidrazon (5i)



3.97 g (0.01 mol) 6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-ilasetohidrazit ve 1.21 ml (0.01 mol) 3-metoksibenzaldehitten sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim 4.12 g (% 80).

Beyaz renkte, kristalize bir maddedir. E.d. 258-60 °C. Eter, petrol eteri ve suda çözünmez; aseton, etil asetat, kloroform ve metanolde soğukta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0.34'tür. UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3080 (aromatik C-H gerilim), 2954, 2887 (alifatik C-H gerilim), 1695 (C=O gerilim), 1569 (C=N gerilim), 1236 (C-N gerilim), 1042 (C-O gerilim) ve 844 cm⁻¹ 'de (C-Cl gerilim) pikler görülür.

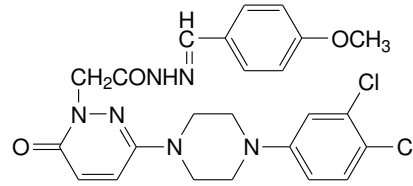
¹H-NMR spektrumunda (DMSO-*d*₆, 300 MHz), δ 2.52 (4H; t; CH₂-N; H_b), 3.81 (4H; t; CH₂-N; H_a), 4.68 (3H; s; -O-CH₃), 5.08 (2H; s; -N-CH₂-C=O), 6.92-7.02 (2H; m; piridazinon H^{4,5}), 7.21-7.68 (7H; m; aromatik protonlar), 7.99 (1H; s; -N=CH-), 11.68 ppm'de (1H; s; -NH-N) pikler görülür.

¹³C-NMR spektrumunda (DMSO-*d*₆, 300 MHz), δ 46.17 (2C; CH₂-N), 47.51 (2C; CH₂-N), 55.99 (1C; -O-CH₃), 78.57 (1C; -N-CH₂-C=O), 113.66 (1C; =CH), 116.03 (2C; piridazinon C⁵, 3,4-diklorobenzen C⁶), 120.52 (1C; 3,4-diklorobenzen C⁵), 129.27 (1C; piridazinon C⁴), 130.93 (1C; benzen C²), 130.98 (1C; benzen C⁴), 131.90 (1C; benzen C⁵), 132.00 (1C; benzen C⁶), 134.88 (1C; 3,4-diklorobenzen C²), 139.99 (1C; benzen C¹), 143.10 (1C; 3,4-diklorobenzen C¹), 146.21 (1C; piridazinon C⁶), 148.45 (1C; benzen C³), 150.99 (2C; 3,4-diklorobenzen C^{3,4}), 158.31 (1C; CH₂-N-C=O), 168.49 (1C; piridazinon C³) ppm'de pikler görülür.

C₂₄H₂₄Cl₂N₆O₃ için M.A 515.39

Kütle spektrumunda (TOF MS ES⁺): *m/e* 515.1358 (M⁺; % 100.0), 517.1332 (M²⁺; % 65.1) ve 519.1354 (M⁴⁺; % 10.2)' de pikler görülür.

4.1.13. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-asetil-2-(4-metoksibenzal)hidrazon (5k)



3.97 g (0.01 mol) 6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-ilasetohidrazit ve 1.21 ml (0.01 mol) 4-metoksibenzaldehitten sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim 3.81 g (% 93).

Beyaz renkte, kristalize bir maddedir. E.d. 228-30 °C. Eter, petrol eteri ve suda çözünmez; aseton, etil asetat, kloroform ve metanolde soğukta çözünür.

3.97 g (0.01 mol) 6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-ilasetohidrazit ve 1.66 g (0.01 mol) 2,3-dimetoksibenzaldehitten sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim 4.08 g (% 75).

Beyaz renkte, kristalize bir maddedir. E.d. 265-7°C. Eter, petrol eteri ve suda çözünmez; aseton, etil asetat, kloroform ve metanolde soğukta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0.34'tür. UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3040 (aromatik C-H gerilim), 2969, 2841 (alifatik C-H gerilim), 1690 (C=O gerilim), 1592 (C=N gerilim), 1231 (C-N gerilim), 1065 (C-O gerilim) ve 836 cm^{-1} 'de (C-Cl gerilim) pikler görülür.

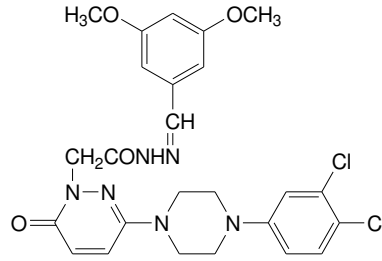
^1H -NMR spektrumunda (DMSO- d_6 , 300 MHz), δ 3.27 (4H; t; $\text{CH}_2\text{-N}$; H_b), 3.54 (4H; t; $\text{CH}_2\text{-N}$; H_a), 3.76 (3H; s; -O-CH₃), 3.82 (3H; s; -O-CH₃), 5.04 (2H; s; -N-CH₂-C=O), 6.98 (1H; d; piridazinon H⁵), 7.10 (1H; d; piridazinon H⁴), 7.11-7.62 (6H; m; aromatik protonlar), 8.28 (1H; s; -N=CH-), 11.59 ppm'de (1H; s; -NH-N) pikler görülür.

^{13}C -NMR spektrumunda (DMSO- d_6 , 300 MHz), δ 46.12 (2C; $\text{CH}_2\text{-N}$), 47.56 (2C; $\text{CH}_2\text{-N}$), 56.21 (1C; -O-CH₃), 56.56 (1C; -O-CH₃), 61.70 (1C; -N-CH₂-C=O), 114.65 (1C; =CH), 116.14 (1C; piridazinon C⁵), 117.41 (1C; 3,4-diklorobenzen C⁶), 120.48 (1C; 3,4-diklorobenzen C⁵), 124.94 (1C; piridazinon C⁴), 127.78 (2C; benzen C^{5,6}), 130.99 (1C; benzen C⁴), 131.98 (1C; 3,4-diklorobenzen C²), 134.88 (1C; benzen C¹), 140.30 (1C; 3,4-diklorobenzen C¹), 148.33 (1C; piridazinon C⁶), 149.09 (1C; benzen C³), 151.01 (1C; benzen C²), 153.10 (2C; 3,4-diklorobenzen C^{3,4}), 158.44 (1C; $\text{CH}_2\text{-N-C=O}$), 165.49 (1C; piridazinon C³) ppm'de pikler görülür.

$\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{Cl}_2\text{N}_6\text{O}_4$ için M.A 545.42

Kütle spektrumunda (TOF MS ES+): m/e 545.1468 (M^+ ; % 100.0), 547.1440 (M^{+2} ; % 65.4) ve 549.1469 (M^{+4} ; % 10.2)'de pikler görülür.

4.1.15. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-asetil-2-(3,5-dimetoksibenzal)hidrazon (5m)



3.97 g (0.01 mol) 6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-ilasetohidrazit ve 1.66 g (0.01 mol) 3,5-dimetoksibenzaldehitten sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim 3.54 g (% 65).

Beyaz renkte, kristalize bir maddedir. E.d. 271-3°C. Eter, petrol eteri ve suda çözünmez; aseton, etil asetat, kloroform ve metanolde soğukta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0.5'tir. UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3040 (aromatik C-H gerilim), 2960, 2835 (alifatik C-H gerilim), 1681 (C=O gerilim), 1578 (C=N gerilim), 1235 (C-N gerilim), 1064 (C-O gerilim) ve 827 cm^{-1} 'de (C-Cl gerilim) pikler görülür.

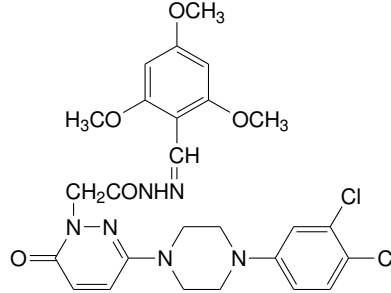
^1H -NMR spektrumunda (DMSO- d_6 , 300 MHz), δ 2.51 (4H; t; $\text{CH}_2\text{-N}$; Hb), 3.38 (4H; t; $\text{CH}_2\text{-N}$; Ha), 3.78 (6H; s; -O- CH_3), 5.06 (2H; s; -N- $\text{CH}_2\text{-C=O}$), 6.86-6.91 (2H; m; piridazinon $\text{H}^{4,5}$), 6.93-7.90 (6H; m; aromatik protonlar), 8.19 (1H; s; -N=CH-), 11.62 ppm'de (1H; s; -NH-N) pikler görülür.

^{13}C -NMR spektrumunda (DMSO- d_6 , 300 MHz), δ 46.27 (2C; $\text{CH}_2\text{-N}$), 47.75 (2C; $\text{CH}_2\text{-N}$), 55.63 (2C; -O- CH_3), 79.14 (1C; -N- $\text{CH}_2\text{-C=O}$), 102.53 (1C; =CH), 104.97-105.27 (2C; piridazinon C^5 , 3,4-diklorobenzen C^6), 120.52 (1C; 3,4-diklorobenzen C^5), 126.89 (1C; piridazinon C^4), 130.76 (2C; benzen $\text{C}^{2,6}$), 130.93 (1C; 3,4-diklorobenzen C^2), 132.12 (1C; benzen C^4), 136.37 (1C; benzen C^1), 144.06 (1C; 3,4-diklorobenzen C^1), 148.84 (1C; piridazinon C^6), 150.89 (1C; benzen C^3), 152.25 (1C; benzen C^5), 158.25 (2C; s; 3,4-diklorobenzen $\text{C}^{3,4}$), 161.06 (1C; $\text{CH}_2\text{-N-C=O}$), 168.38 (1C; piridazinon C^3) ppm'de pikler görülür.

$\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{Cl}_2\text{N}_6\text{O}_4$ için M.A 545.42

Kütle spektrumunda (TOF MS ES⁺): *m/e* 545.1475 (M⁺; % 100.0), 547.1434 (M²⁺; % 65.4) ve 549.1468 (M⁴⁺; % 10.2)'de pikler görülür.

4.1.16. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-asetil-2-(2,4,6-trimetoksibenzal)hidrazon (5n)



3.97 g (0.01 mol) 6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-ilasetohidrazit ve 1.96 g (0.01 mol) 2,4,6-trimetoksibenzaldehitten sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim 3.50 g (% 61).

Beyaz renkte, kristalize bir maddedir. E.d. 273-5°C. Eter, petrol eteri ve suda çözünmez; aseton, etil asetat, kloroform ve metanolde soğukta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0.45'tir. UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3083 (aromatik C-H gerilim), 2969, 2841 (alifatik C-H gerilim), 1667 (C=O gerilim), 1592 (C=N gerilim), 1238 (C-N gerilim), 1061 (C-O gerilim) ve 836 cm⁻¹ 'de (C-Cl gerilim) pikler görülür.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-*d*₆, 300 MHz), 2.51 (4H; t; CH₂-N; H_b), 3.30 (4H; t; CH₂-N; H_a), 3.79 (3H; s; -O-CH₃), 3.82 (6H; s; -O-CH₃), 4.94 (2H; s; -N-CH₂-C=O), 6.27-6.28 (2H; d; piridazinon H^{4,5}), 6.89-7.65 (5H; m; aromatik protonlar), 8.19 (1H; s; -N=CH-), 11.27 ppm'de (1H; s; -NH-N) pikler görülür.

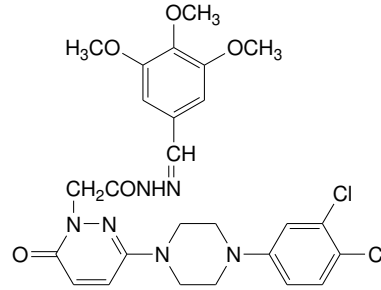
¹³C-NMR spektrumunda (DMSO-*d*₆, 300 MHz), δ 46.17 (2C; CH₂-N), 47.59 (2C; CH₂-N), 55.04 (3C; -O-CH₃), 79.14 (1C; -N-CH₂-C=O), 112.20 (1C; =CH), 117.03 (2C; piridazinon C⁵, 3,4-diklorobenzen C⁶), 120.52 (1C; 3,4-diklorobenzen C⁵), 128.97-129.31 (1C; piridazinon C⁴), 131.90 (1C; 3,4-diklorobenzen C²), 134.88 (2C; benzen C^{3,5}) 139.99 (1C; benzen C¹), 143.10 (1C; 3,4-diklorobenzen C¹),

146.21 (1C; piridazinon C⁶), 148.98 (1C; benzen C⁴), 149.07 (2C; benzen C^{2,6}), 150.99 (2C; 3,4-diklorobenzen C^{3,4}), 158.31 (1C; CH₂-N-C=O), 168.49 (1C; piridazinon C³) ppm’de pikler görülür.

C₂₆H₂₈Cl₂N₆O₅ için M.A 575.44

Kütle spektrumunda (TOF MS ES⁺): *m/e* 575.1569 (M⁺; % 100.0), 577.1545 (M⁺²; % 65.6) ve 579.1544 (M⁺⁴; % 10.2)’ de pikler görülür.

4.1.17. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-asetil-2-(3,4,5-trimetoksibenzal)hidrazon (5o)



3.97 g (0.01 mol) 6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-ilasetohidrazit ve 1.96 g (0.01 mol) 3,4,5-trimetoksibenzaldehitten sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim 3.85 g (% 67).

Beyaz renkte, kristalize bir maddedir. E.d. 286-8°C. Eter, petrol eteri ve suda çözünmez; aseton, etil asetat, kloroform ve metanolde soğukta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0.45’tir. UV ışığında 254 nm’de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3080 (aromatik C-H gerilim), 2938, 2832 (alifatik C-H gerilim), 1662 (C=O gerilim), 1591 (C=N gerilim), 1234 (C-N gerilim), 1078 (C-O gerilim) ve 826 cm⁻¹’de (C-Cl gerilim) pikler görülür.

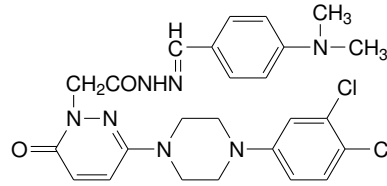
¹H-NMR spektrumunda (DMSO-*d*₆, 300 MHz), δ 3.28 (4H; t; CH₂-N; H_b), 3.36 (4H; t; CH₂-N; H_a), 3.70 (3H; s; -O-CH₃), 3.83 (6H; s; -O-CH₃), 5.07 (2H; s; -N-CH₂-C=O), 6.99 (1H; d; piridazinon H⁵), 7.01 (1H; d; piridazinon H⁴), 7.02-7.66 (5H; m; aromatik protonlar), 7.92 (1H; s; -N=CH-), 11.66 ppm’de (1H; s; -NH-N) pikler görülür.

¹³C-NMR spektrumunda (DMSO-*d*₆, 300 MHz), δ 46.20 (2C; CH₂-N), 47.55 (2C; CH₂-N), 56.40 (3C; O-CH₃), 60,57 (1C; -N-CH₂-C=O), 104.79 (1C; =CH), 116.09-117.04 (2C; piridazinon C⁵, 3,4-diklorobenzen C⁶), 120.43 (1C; 3,4-diklorobenzen C⁵), 127.18 (1C; piridazinon C⁴), 130.10 (1C; 3,4-diklorobenzen C²), 139.51 (2C; benzen C^{2,6}) 139.99 (1C; benzen C¹), 144.07 (1C; 3,4-diklorobenzen C¹), 147.39 (1C; piridazinon C⁶), 153,63 (3C; s; benzen C^{3,4,5}), 158.17-158.21 (2C; 3,4-diklorobenzen C^{3,4}), 163.69 (1C; CH₂-N-C=O), 168.46 (1C; piridazinon C³) ppm’de pikler görülür.

C₂₆H₂₈Cl₂N₆O₅ için M.A 575.44

Kütle spektrumunda (TOF MS ES+): *m/e* 575.1580 (M⁺; % 100.0), 577.1530 (M⁺²; % 65.6) ve 579.1566 (M⁺⁴; % 10.2) pikler görülür.

4.1.18. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-asetil-2-(4-dimetilaminobenzal)hidrazon (5p)



3.97 g (0.01 mol) 6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-ilasetohidrazit ve 1.49 g (0.01 mol) 4-dimetilaminobenzaldehitten sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim 4.11 g (% 78).

Beyaz renkte, kristalize bir maddedir. E.d. 284-6 °C. Eter, petrol eteri ve suda çözünmez; aseton ve etil asetatı sıcakta, kloroform ve metanolde soğukta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0.6’dır. UV ışığında 254 nm’de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3091 (aromatik C-H gerilim), 2972, 2901 (alifatik C-H gerilim), 1660 (C=O gerilim), 1590 (C=N gerilim), 1235 (C-N gerilim) ve 843 cm⁻¹’de (C-Cl gerilim) pikler görülür.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-*d*₆, 300 MHz), δ 2.51 (4H; t; CH₂-N; H_b), 2.97 (6H; s; -N-(CH₃)₂), 3.29 (4H; t; CH₂-N; H_a), 5.01 (2H; s; -N-CH₂-C=O), 6.72

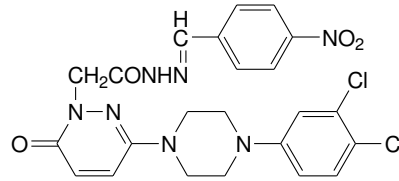
(1H; d; piridazinon H⁵), 6.92 (1H; d; piridazinon H⁴), 6.98-7.66 (7H; m; aromatik protonlar), 7.88 (1H; s; -N=CH-), 11.36 ppm'de (1H; s; -NH-N) pikler görülür.

¹³C-NMR spektrumunda (DMSO-*d*₆, 300 MHz), δ 42.35 (2C; N-CH₃), 46.17 (2C; CH₂-N), 47.59 (2C; CH₂-N), 79.14 (1C; -N-CH₂-C=O), 112.20 (1C; =CH), 117.03 (2C; piridazinon C⁵, 3,4-diklorobenzen C⁶), 120.52 (1C; 3,4-diklorobenzen C⁵), 128.97 (1C; piridazinon C⁴), 130.92-130.98 (2C; benzen C^{2,6}), 131.90-132.00 (2C; benzen C^{3,5}), 134.88 (1C; 3,4-diklorobenzen C²) 139.99 (1C; benzen C¹), 143,10 (1C; benzen C⁴), 146.21 (1C; piridazinon C⁶), 148.98 (1C; 3,4-diklorobenzen C¹), 150.99 (2C; 3,4-diklorobenzen C^{3,4}), 158.31 (1C; CH₂-N-C=O), 168.49 (1C; piridazinon C³) ppm'de pikler görülür.

C₂₅H₂₇Cl₂N₇O₂ için M.A 528.43

Kütle spektrumunda (TOF MS ES⁺): 528.1679 (M⁺; % 100.0), 530.1692 (M⁺; % 65.0) ve 532.1642 (M⁺; % 10.2)' de pikler görülür.

4.1.19. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-asetil-2-(4-nitrobenzal)hidrazon (5r)



3.97 g (0.01 mol) 6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-ilasetohidrazit ve 1.51 g (0.01 mol) 4-nitrobenzaldehitten sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim 4.50 g (% 85).

Beyaz renkte, kristalize bir maddedir. E.d. 207-9°C. Eter, petrol eteri ve suda çözünmez; aseton ve etil asetatta sıcakta, kloroform ve metanolde soğukta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0.3'tür. UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3074 (aromatik C-H gerilim), 2953, 2842 (alifatik C-H gerilim), 1691 (C=O gerilim), 1579 (C=N gerilim), 1234 (C-N gerilim), 926 (N-O gerilim) ve 833 cm⁻¹ 'de (C-Cl gerilim) pikler görülür.

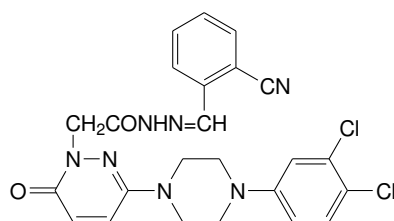
¹H-NMR spektrumunda (DMSO-*d*₆, 300 MHz), δ 2.51 (4H; t; CH₂-N; H_b), 3.29 (4H; t; CH₂-N; H_a), 5.11 (2H; s; -N-CH₂-C=O), 6.94 (1H; d; piridazinon H⁵), 6.98 (1H; d; piridazinon H⁴), 7.00-7.97 (7H; m; aromatik protonlar), 8.12 (1H; s; -N=CH-), 11.98 ppm'de (1H; s; -NH-N) pikler görülür.

¹³C-NMR spektrumunda (DMSO-*d*₆, 300 MHz), δ 46.13 (2C; CH₂-N), 48.59 (2C; CH₂-N), 78.14 (1C; -N-CH₂-C=O), 114.03 (1C; =CH), 118.13 (2C; piridazinon C⁵, 3,4-diklorobenzen C⁶), 121.52 (1C; 3,4-diklorobenzen C⁵), 128.63 (1C; piridazinon C⁴), 131.92-132.01 (2C; benzen C^{2,6}), 132.90-133.00 (2C; benzen C^{3,5}), 134.88 (1C; 3,4-diklorobenzen C²) 140.07 (1C; benzen C¹), 143,10 (1C; benzen C⁴), 147.21 (1C; piridazinon C⁶), 148.98 (1C; 3,4-diklorobenzen C¹), 150.99 (2C; 3,4-diklorobenzen C^{3,4}), 158.31 (1C; CH₂-N-C=O), 168.49 (1C; piridazinon C³) ppm'de pikler görülür.

C₂₃H₂₁Cl₂N₇O₄ için M.A 530.36

Kütle spektrumunda (TOF MS ES⁺): 530.1080 (M⁺; % 100.0), 532.1066 (M⁺²; % 64.6) ve 534.1066 (M⁺⁴; % 11.2)' de pikler görülür.

4.1.20. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-asetil-2-(2-siyanobenzal)hidrazon (5s)



3.97 g (0.01 mol) 6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-ilasetohidrazit ve 1.31 g (0.01 mol) 2-siyanobenzaldehitten sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim 4.48 g (% 88).

Beyaz renkte, kristalize bir maddedir. E.d. 236-8°C. Eter, petrol eteri, etil asetat ve suda çözünmez; aseton, kloroform ve metanolde sıcakta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0.36' dır. UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirtci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3068 (aromatik C-H gerilim), 2968, 2846 (alifatik C-H gerilim), 2227 ($\text{—C}\equiv\text{N}$ gerilim), 1687 (C=O gerilim), 1567 (C=N gerilim), 1238 (C-N gerilim) ve 844 cm^{-1} 'de (C-Cl gerilim) pikler görülür.

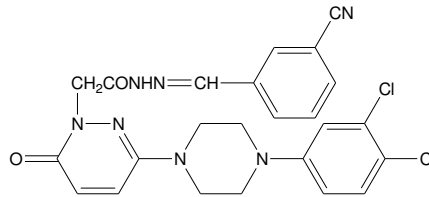
^1H -NMR spektrumunda (DMSO- d_6 , 300 MHz), δ 3.29 (4H; t; $\text{CH}_2\text{-N}$; Hb), 3.37 (4H; t; $\text{CH}_2\text{-N}$; Ha), 5.09 (2H; s; $\text{-N-CH}_2\text{-C=O}$), 7.41 (1H; d; piridazinon H^5), 7.42 (1H; d; piridazinon H^4), 7.59-7.99 (7H; m; aromatik protonlar), 8.26 (1H; s; -N=CH-), 11.95 ppm'de (1H; s; -NH-N) pikler görülür.

^{13}C -NMR spektrumunda (DMSO- d_6 , 300 MHz), δ 46.17 (2C; $\text{CH}_2\text{-N}$), 47.56 (2C; $\text{CH}_2\text{-N}$), 53.57 (1C; $\text{—C}\equiv\text{N}$), 77.12 (1C; $\text{-N-CH}_2\text{-C=O}$), 126.17 (1C; $=\text{CH}$), 127.15-127.25 (2C; piridazinon C^5 , 3,4-diklorobenzen C^6), 128.37 (1C; 3,4-diklorobenzen C^5), 130.61 (1C; piridazinon C^4), 133.81-133.95 (2C; benzen $\text{C}^{4,5}$), 134.03 (1C; benzen C^3), 136.58 (1C; benzen C^6), 137.18 (1C; 3,4-diklorobenzen C^2), 140.40 (1C; benzen C^1), 142.83 (1C; benzen C^2), 149.01 (1C; 3,4-diklorobenzen C^1), 151.03 (1C; piridazinon C^6), 158.14-158.25 (2C; 3,4-diklorobenzen $\text{C}^{3,4}$), 164.16 (1C; $\text{CH}_2\text{-N-C=O}$), 168.92 (1C; piridazinon C^3) ppm'de pikler görülür.

$\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{Cl}_2\text{N}_7\text{O}_2$ için M.A 510.38

Kütle spektrumunda (TOF MS ES+): m/e 510.1203 (M^+ ; % 100.0), 512.1187 (M^{+2} ; % 64.6) ve 514.1224 (M^{+4} ; % 10.9)' da pikler görülür.

4.1.21. 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-asetil-2-(3-siyanobenzal)hidrazon (5t)



3.97 g (0.01 mol) 6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-ilasetohidrazit ve 1.31 g (0.01 mol) 3-siyanobenzaldehitten sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim 3.31 g (% 65).

Beyaz renkte, kristalize bir maddedir. E.d. $273\text{-}5^\circ\text{C}$. Eter, petrol eteri, etil asetat ve suda çözünmez; aseton, kloroform ve metanolde sıcakta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0.3'tür. UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3093 (aromatik C-H gerilim), 2954, 2886 (alifatik C-H gerilim), 2230 ($\text{—C}\equiv\text{N}$ gerilim), 1698 (C=O gerilim), 1568 (C=N gerilim), 1237 (C-N gerilim) ve 841 cm^{-1} 'de (C-Cl gerilim) pikler görülür.

^1H -NMR spektrumunda (DMSO- d_6 , 300 MHz), δ 3.28 (4H; t; $\text{CH}_2\text{-N}$; Hb), 3.39 (4H; t; $\text{CH}_2\text{-N}$; Ha), 5.12 (2H; s; $\text{-N-CH}_2\text{-C=O}$), 6.88 (1H; d; piridazinon H^5), 6.92 (1H; d; piridazinon H^4), 7.11-8.05 (7H; m; aromatik protonlar), 8.18 (1H; s; -N=CH-), 11.80 ppm'de (1H; s; -NH-N) pikler görülür.

^{13}C -NMR spektrumunda (DMSO- d_6 , 300 MHz), δ 46.27 (2C; $\text{CH}_2\text{-N}$), 47.78 (2C; $\text{CH}_2\text{-N}$), 53.08 (1C; $\text{—C}\equiv\text{N}$), 78.57 (1C; $\text{-N-CH}_2\text{-C=O}$), 112.66 (1C; $=\text{CH}$), 115.96 (1C; piridazinon C^5), 117.11 (1C; 3,4-diklorobenzen C^6), 120.94 (1C; 3,4-diklorobenzen C^5), 126.88 (1C; piridazinon C^4), 130.18 (1C; benzen C^2), 130.91 (1C; benzen C^4), 131.48 (1C; benzen $\text{C}^{5,6}$), 132.14 (1C; 3,4-diklorobenzen C^2), 133.17 (1C; benzen C^1), 135.81 (1C; benzen C^3), 141.91 (1C; 3,4-diklorobenzen C^1), 148.85 (1C; piridazinon C^6), 150.85 (2C; 3,4-diklorobenzen $\text{C}^{3,4}$), 158.27 (1C; $\text{CH}_2\text{-N-C=O}$), 168.61 (1C; piridazinon C^3) ppm'de pikler görülür.

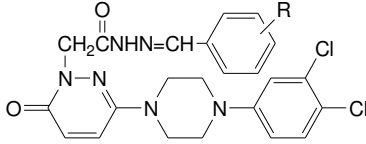
$\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{Cl}_2\text{N}_7\text{O}_2$ için M.A 510.38

Kütle spektrumunda (TOF MS ES+): m/e 510.1224 (M^+ ; % 100.0), 512.1208 (M^{+2} ; % 64.6) ve 514.1225 (M^{+4} ; % 10.9) pikler görülür.

4.2. Antikolinesteraz Aktivite

Sentezi yapılan bileşiklerin AChE ve BChE inhibitör aktivite sonuçları Tablo 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4.1. Bileşiklerin AChE ve BChE inhibisyon yüzdeleri

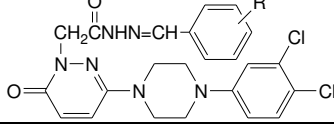
			
Bileşik	R	Asetilkolinesteraz Enzim İnhibisyonu (%İnhibisyon±S.S*) 100 µg/ml	Butirilkolinesteraz Enzim İnhibisyonu (%İnhibisyon±S.S) 100 µg/ml
Va	-H	43.82±2.36	19.27±1.56
Vb	4-Br	58.17±0.74	42.44±3.33
Vc	2-Cl	53.13±2.30	31.03±1.05
Vd	4-Cl	65.55±3.26	47.58±3.09
Ve	4-F	64.95±4.36	46.71±1.61
Vf	3-CH ₃	75.52±1.76	62.03±1.82
Vg	4-CH ₃	**	**
Vh	2-OCH ₃	61.70±1.66	67.16±1.29
Vi	3-OCH ₃	71.72±0.01	54.98±1.69
Vk	4-OCH ₃	41.69±1.38	21.91±3.62
VI	2,3-diOCH ₃	64.19±2.72	52.60±2.76
Vm	3,5-diOCH ₃	60.18±3.94	43.81±0.90
Vn	2,4,6-triOCH ₃	68.01±2.84	44.05±5.70
Vo	3,4,5-triOCH ₃	65.85±1.32	55.14±1.28
Vp	-N(CH ₃) ₂	66.77±1.54	58.20±2.45
Vr	-NO ₂	**	**
Vs	2-CN	63.72±5.70	8.87±3.01
Vt	3-CN	49.19±1.07	28.54±3.57
Referans	Galantamin	95.68±1.30	83.89±1.06

*Standart sapma, **Absorbans çökme nedeniyle okunamadı.

4.3. Antifungal ve Antibakteriyal Aktivite

Antifungal ve antibakteriyal aktivite çalışmalarının sonuçları Tablo 4.2’de gösterilmektedir.

Tablo 4.2. Bileşiklerin antimikrobiyal aktivite taraması.

												
Bileşik	R	Bakteri (MİK-µg/ml)									Fungus (MİK-µg/ml)	
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
Va	-H	64	64	64	32	32	16	64	64	64	32	32
Vb	4-Br	16	16	16	32	32	16	16	16	16	8	8
Vc	2-Cl	16	16	16	32	32	16	16	16	16	8	8
Vd	4-Cl	16	16	16	32	32	16	16	16	16	8	8
Ve	4-F	16	16	16	32	16	16	8	32	16	8	8
Vf	3-CH ₃	64	64	64	32	64	16	64	64	64	32	32
Vg	4-CH ₃	64	64	64	32	16	16	64	64	64	32	32
Vh	2-OCH ₃	64	64	64	32	32	64	64	64	64	32	32
Vi	3-OCH ₃	64	64	64	32	32	64	64	64	64	32	32
Vk	4-OCH ₃	64	64	64	32	32	16	64	64	64	32	32
VI	2,3-diOCH ₃	64	64	64	32	32	16	64	64	64	32	32
Vm	3,5-diOCH ₃	64	64	64	32	32	16	64	64	32	32	32
Vn	2,4,6-triOCH ₃	64	64	64	32	32	16	64	32	32	32	32
Vo	3,4,5-triOCH ₃	64	64	64	32	32	16	64	32	32	16	32
Vp	-N(CH ₃) ₂	64	64	64	32	32	16	32	64	32	32	64
Vr	-NO ₂	64	64	64	32	32	16	64	64	64	32	64
Vs	2-CN	64	64	64	32	32	16	64	64	64	32	64
Vt	3-CN	64	64	64	32	32	16	64	64	64	16	32
Ampisilin		2	-	>512	-	-	0.5	-	0.5	0.5	-	-
Gentamisin		0.25	-	128	1	64	0.5	64	8	8	-	-
Ofloksasin		0.015	-	128	1	2	0.25	0.5	1	4	-	-
Rifampisin		16	-	128	32	32	0.004	2	0.5	4	-	-
Tetrasiklin		0.5	-	128	8	32	0.25	8	8	16	-	-
Seftriakson		0.125	-	128	64	16	2	-	-	-	-	-
Meropenem		0.008	-	<0.25	1	0.015	0.03	-	4	8	-	-
Eritromisin		-	-	-	-	-	0.25	16	1	0.25	-	-
Vancomisin		-	-	-	-	-	0.5	1	1	8	-	-
Ampisilin-Sulbaktam		-	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Amoksisilin-Klavulonik asit		-	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Flukonazol		-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.0625	32
Amfoterisin B		-	-	-	-	-	-	-	-	-	<0.03	0.5

A: *E.coli* ATCC 25922, B: *E.coli* ATCC 35218, C: *E.coli* isolat, D: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, E: *P. aeruginosa* isolat, F: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, G: *S.aureus* isolat, H: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, I: *E.faecalis* isolat, J: *Candida albicans* ATCC 10231, K: *C.krusei* ATCC 6258.

5. TARTIŞMA

Genellikle yaşa bağımlı olarak ortaya çıkan Alzheimer hastalığı yaşlılarda görülen demansın en yaygın şeklidir (1-3). Hastalığın karakteristik patolojik bulguları, beyinde ekstraselüler senil plaklar, nöronların içinde nörofibriler yumaklar, sinaps ve nöron kaybıdır. Biyokimyasal çalışmalar kortekste bazı nöromediyatörlerin ve özellikle asetilkolinin azaldığını göstermektedir (7). Hastalığın başlaması ile birlikte gerçekleşen nöron ve akson kaybı daha düşük düzeylerde asetilkolin salınımına neden olmakta ve düşük konsantrasyondaki nörotransmitter düzeylerinde sinir iletilerinin devamlılığını sağlamak daha güç bir hal almaktadır. Bu durum hastalığın semptomlarının gelişmesinde asetilkolin eksikliğinin önemini vurgulayan “kolinerjik hipotez”in ortaya atılmasına neden olmuştur (9).

Asetilkolin düzeyini artırmak için uygulanacak yöntemlerden biri asetilkolinin parçalanmasından sorumlu olan AChE enziminin inhibe edilmesidir. AChE inhibisyonuna bağlı olarak asetilkolin düzeyinin artması, Alzheimer hastalığının erken dönemlerinde oluşan kognitif yetmezliğini iyileştirebilmektedir (3,7,8). Günümüzde Alzheimer hastalığının tedavisinde takrin, donezepil, rivastigmin, eptastigmin ve galantamin gibi AChE inhibitörü ilaçlar kullanılmaktadır; fakat yüksek hepatotoksisite ve aşırı kolinerjik yan etkiler bu ilaçların kullanımını sınırlandırmaktadır (3). Bu durum yan etkisi azaltılmış, santral ve periferik AChE inhibisyonu yapan ve seçici kolinerjik agonist ve antagonistlerle birlikte kullanımında maksimum yanıt veren yeni AChE inhibitörü bileşiklerin tasarımını ve sentezini gerekli kılmaktadır.

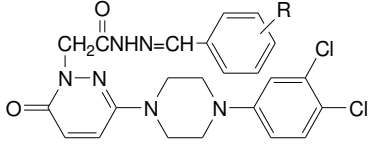
Diğer taraftan, AIDS ve kanser gibi yüksek dozda uzun süreli ilaç tedavisine gereksinim gösteren hastalıklar ve organ nakli gibi immün sistemi zayıflatan durumlar fungal enfeksiyonlarda artışa neden olmaktadır. Antifungal ilaçlar konusunda yoğun çalışmalar vardır ve yeni ilaçlar piyasaya sürülmektedir. Buna rağmen mikroorganizmaların kullanılan bileşiklere direnç geliştirmesi ve tedavide kullanılan bileşiklerin dar spektrumlu, yan etkilerinin fazla olması gibi problemlerin çözülmesi açısından yeni antimikrobiyal ilaç geliştirmek önemlidir (30).

3(2*H*)-piridazinon halkası taşıyan bileşikler yapılarında taşıdıkları farmakofor gruplara bağlı olarak çok geniş farmakolojik aktivite spektrumuna sahiptirler. Bu bileşiklerin çoğunda 3(2*H*)-piridazinon halkası aktiviteyi modifiye edici veya direkt aktiviteden sorumlu kısım olarak bulunmaktadır. 3(2*H*)-piridazinon yapısı ayrıca, yeni ilaç tasarımı molekül modifikasyon amacıyla sık başvuru alan önemli bir gruptur ve bu nedenle analjezik, antienflamatuar, antipiretik, antihipertansif, antiülser, antioksidan, antiallerjik, bronkospazmolitik, antitümör, antihelmentik etki gösteren pekçok bileşiğin yapısında bulunmaktadır (15-25). Aynı zamanda literatürde 3(2*H*)-piridazinon halkası taşıyan bileşiklerde çok geniş farmakolojik etki profili içinde antikolinesteraz ve antimikrobiyal aktivite gözlemlendiği de bildirilmektedir (23-29).

Bu tez kapsamında, yukarıdaki bilgiler ışığında, AChE ve BChE enzim inhibitörü ve antimikrobiyal etki göstermesini beklediğimiz, 6-sübstitüe-3(2*H*)-piridazinon-2-asetil-2-(sübstitüe benzalhidrazon)türevi yeni 18 bileşiğin sentezi yapılarak antikolinesteraz ve antimikrobiyal etkileri incelenmiştir. Benzalhidrazon türevlerinin sentezinde nonsübstitüe benzaldehitin yanı sıra farklı konumlarında kloro, bromo, fluoro, metil, metoksi, disübstitüeamino, nitro ve siyano sübstitüentlerini taşıyan benzaldehit türevleri kullanılarak bu grupların aktiviteye katkıları incelenmiştir.

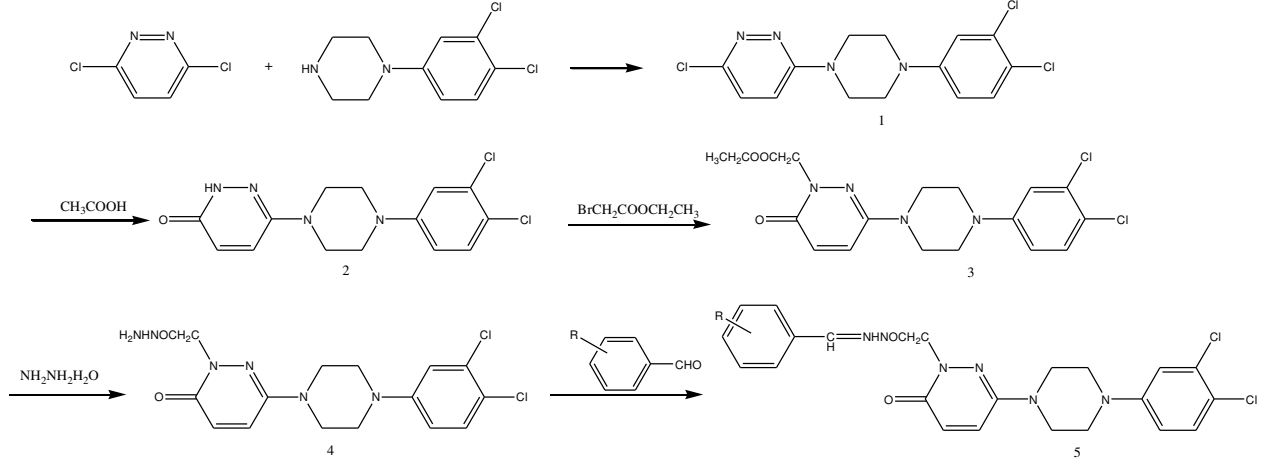
Elde edilen bileşiklerin yapıları, reaksiyon verimleri, erime dereceleri, molekül ağırlıkları ve kapalı formülleri Tablo 5.1.'de verilmektedir.

Tablo 5.1. Sentezi yapılan bileşiklerin yapıları, reaksiyon verimleri, erime dereceleri, molekül ağırlıkları ve moleküler formülleri

					
Bileşik	R	Verim (%)	Erime derecesi (°C)	MA	Moleküler formül
Va	-H	70	278-80	485.37	C ₂₃ H ₂₂ Cl ₂ N ₆ O ₂
Vb	4-Br	87	271-3	564.26	C ₂₃ H ₂₁ BrCl ₂ N ₆ O ₂
Vc	2-Cl	81	267-9	519.81	C ₂₃ H ₂₁ Cl ₃ N ₆ O ₂
Vd	4-Cl	56	275-7	519.81	C ₂₃ H ₂₁ Cl ₃ N ₆ O ₂
Ve	4-F	84	228-30	503.36	C ₂₃ H ₂₁ Cl ₂ FN ₆ O ₂
Vf	3-CH ₃	79	297-9	499.39	C ₂₄ H ₂₄ Cl ₂ N ₆ O ₂
Vg	4-CH ₃	81	255-7	499.39	C ₂₄ H ₂₄ Cl ₂ N ₆ O ₂
Vh	2-OCH ₃	86	263-5	515.39	C ₂₄ H ₂₄ Cl ₂ N ₆ O ₃
Vi	3-OCH ₃	80	258-60	515.39	C ₂₄ H ₂₄ Cl ₂ N ₆ O ₃
Vk	4-OCH ₃	93	228-30	515.39	C ₂₄ H ₂₄ Cl ₂ N ₆ O ₃
VI	2,3-diOCH ₃	75	265-7	545.42	C ₂₅ H ₂₆ Cl ₂ N ₆ O ₄
Vm	3,5-diOCH ₃	65	271-3	545.42	C ₂₅ H ₂₆ Cl ₂ N ₆ O ₄
Vn	2,4,6-triOCH ₃	61	273-25	575.44	C ₂₆ H ₂₈ Cl ₂ N ₆ O ₅
Vo	3,4,5-triOCH ₃	67	286-8	575.44	C ₂₆ H ₂₈ Cl ₂ N ₆ O ₅
Vp	-N(CH ₃) ₂	78	284-6	528.43	C ₂₅ H ₂₇ Cl ₂ N ₇ O ₂
Vr	-NO ₂	85	207-9	530.36	C ₂₃ H ₂₁ Cl ₂ N ₇ O ₄
Vs	2-CN	88	236-8	510.38	C ₂₄ H ₂₁ Cl ₂ N ₇ O ₂
Vt	3-CN	65	273-5	510.38	C ₂₄ H ₂₁ Cl ₂ N ₇ O ₂

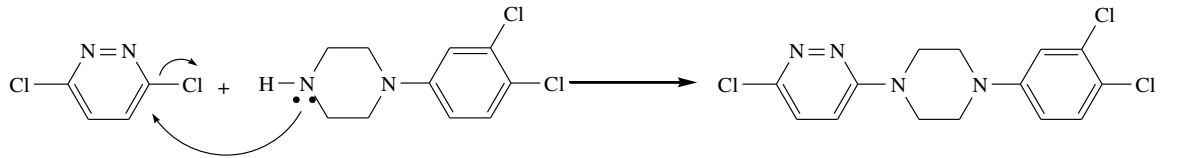
5.1. KİMYASAL ÇALIŞMALAR

Sentezlenen bileşiklerin toplu reaksiyon şeması aşağıda verilmektedir:

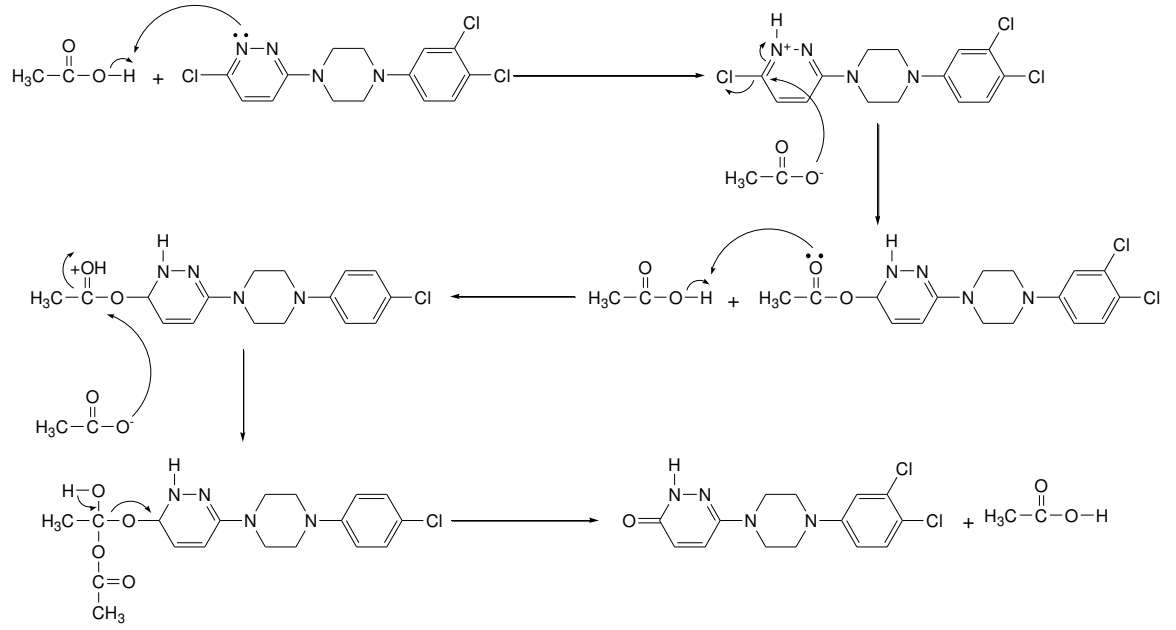


5.1.1. Başlangıç Maddelerinin Sentezi

Başlangıç maddesi olarak kullanılan 3-kloro-6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]piridazin (1) etanol içerisinde 3,6-dikloropiridazin ve 3,4-diklorofenilpiperazinin reaksiyonu sonucu literatür yöntemine göre hazırlanmıştır (26). % 50 Verimle elde edilen bileşiğin erime derecesi $163\text{-}5^\circ\text{C}$ ' dir.

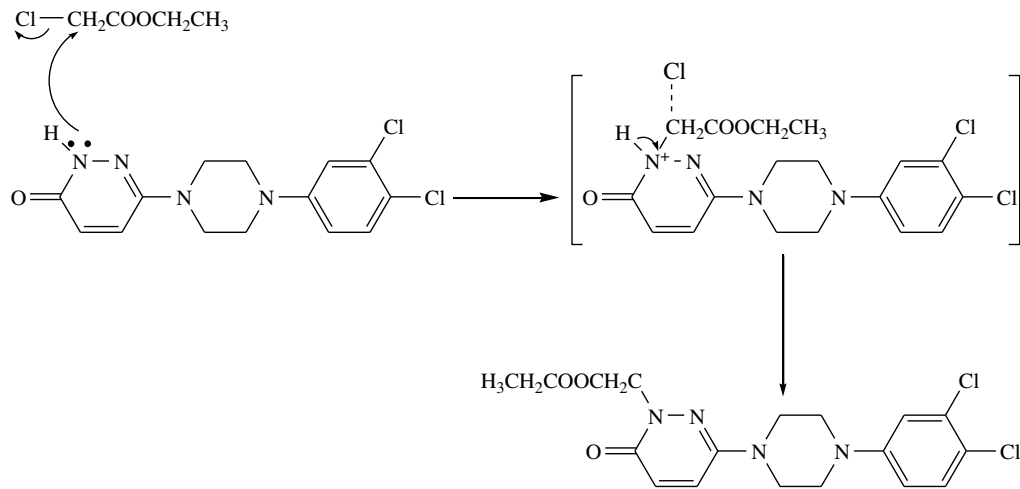


6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2H)-piridazinon (2) literatür yöntemi kullanılarak 3-kloro-6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]piridazinin glasiyel asetik asitle hidrolizi sonucu % 91 verimle elde edilmiştir (26). Bileşiğin sentez mekanizması aşağıdaki gibi öngörülmektedir:



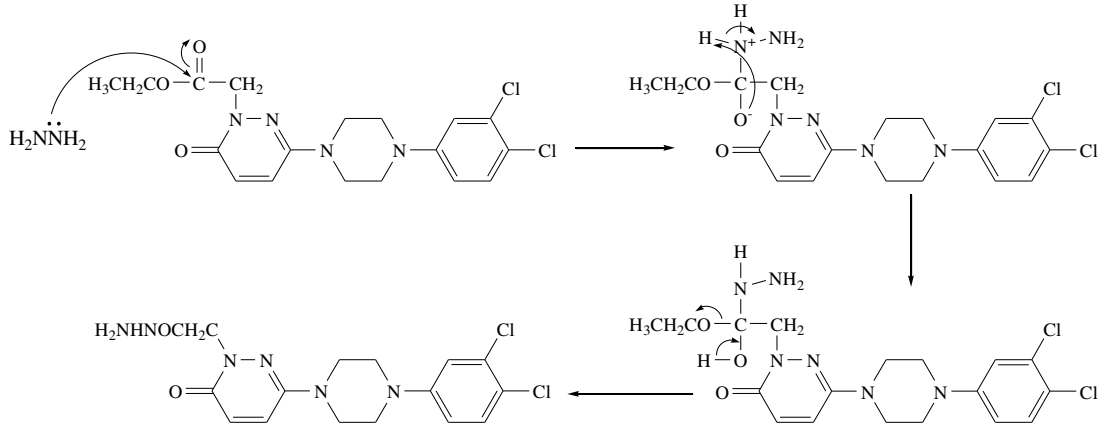
Elde edilen bileşik metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılmıştır (E.d.: $253-5^\circ\text{C}$).

Oluşan 3(2H)-piridazinon bileşiğinin etil bromoasetat ile reaksiyonu sonucu etil 6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-il asetat (**3**) elde edilmiştir (144). Bu reaksiyon için S_N^2 mekanizması önerilmektedir (160). Bazık ortamda nükleofil hale geçen piridazinon halkasının halojen ve karbonil elektronegatif gruplarının etkisiyle elektron yönünden fakirleşen karbon atomuna hücum etmesiyle reaksiyon gerçekleşir.



Reaksiyon ince tabaka kromatografisinde 3(2*H*)-piridazinon bileşiğine ait leke tamamen kaybolana kadar devam ettirilmiştir. % 57 verimle elde edilen bileşik n-hekzandan kristallendirilmiştir. (E.d.: 212-4 °C)

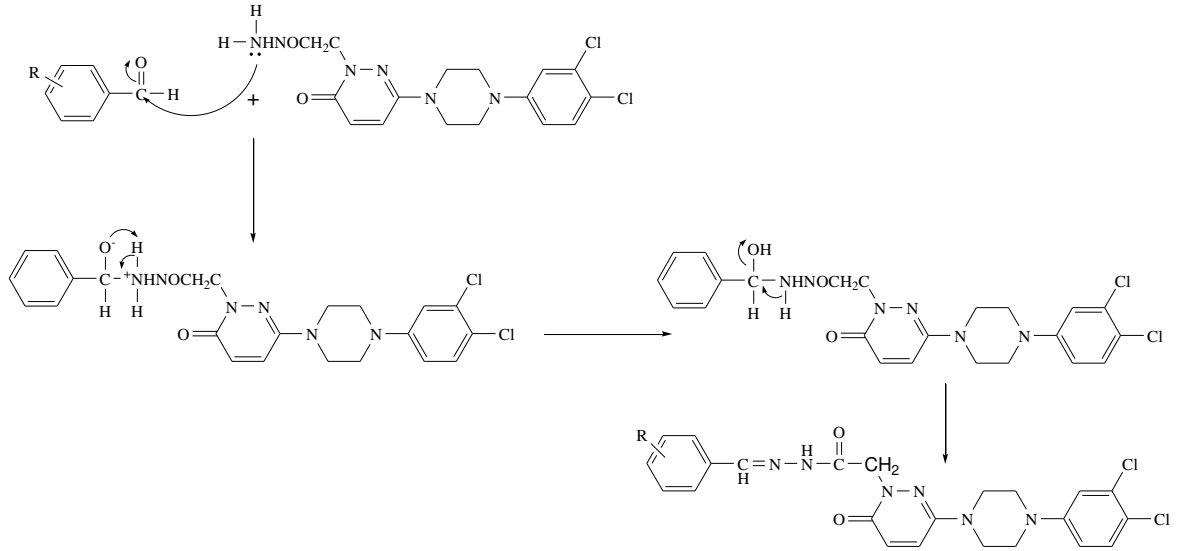
Elde edilen ester türevinin hidrazin hidrat ile reaksiyonu sonucu 6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-il asetohidrazit (**4**) bileşiğine ulaşılmıştır (26).



Hidrazinhidrat nükleofilinin karbonil karbonuna hücum etmesiyle katım reaksiyonu gerçekleşir. Sonrasında molekülden alkol çıkışıyla karbon ile oksijen arasında çifte bağ oluşarak eliminasyon reaksiyonu oluşur.

Reaksiyonun süresi ince tabaka kromatografisinde estere ait lekenin tamamen kaybolması ile belirlenmiştir. % 78 verimle elde edilen bileşik metanolden kristallendirilerek saflaştırılmıştır. (E.d.: 207-9 °C)

5.1.2. Bileşiklerin Sentezi



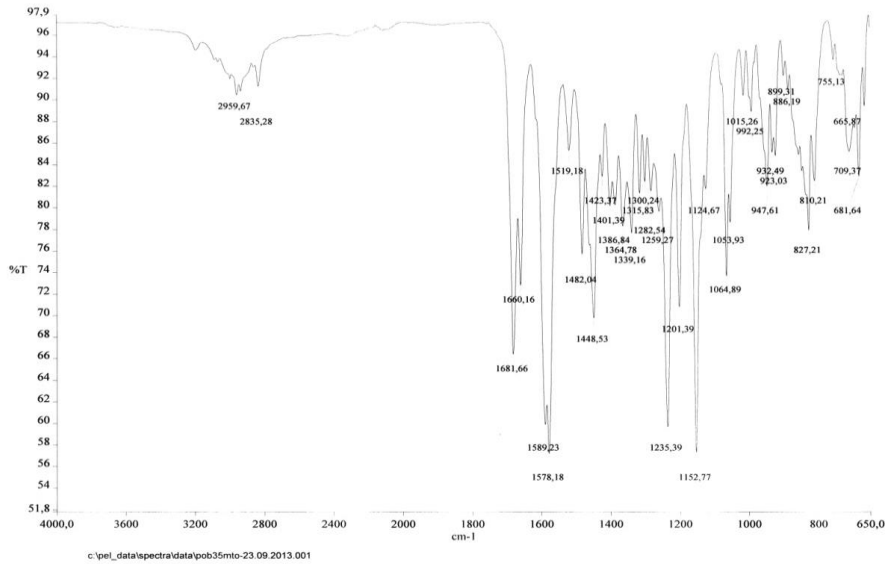
Sonuç bileşikleri **(5a-t)** 6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-ilasetohidrazitin süstitüe ve nonsüstitüe benzaldehit türevleriyle reaksiyonu sonucu elde edilmiştir. Hidrazin grubundaki azot atomunun benzaldehit karbonilindeki karbon atomuna nükleofilik saldırısıyla katım reaksiyonu gerçekleşmekte ve ardından molekülden suyun ayrılmasıyla, karbon ile azot atomu arasında çift bağ oluşumuyla eliminasyon reaksiyonu oluşmaktadır. Reaksiyonun ince tabaka kromatografisi ile bittiği tespit edildikten sonra reaksiyon ortamı buzlu suya dökülerek madde katı halde elde edilmiştir. Maddeler bulgular kısmında verilen uygun kristalizasyon çözücüleri ile kristallendirilerek saflaştırılmışlardır. Bileşikler suya döküldükleri için yapılarında su tutmuş, infrared spektrumunda sudan kaynaklanan O-H pikleri görülmüştür.

5.2. SENTEZİ YAPILAN BİLEŞİKLERİN YAPILARININ AYDINLATILMASI

Sentezi yapılan bileşikler saflaştırıldıktan sonra IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve kütle spektroskopisi gibi spektral yöntemler kullanılarak yapıları kanıtlanmıştır.

5.2.1. IR spektrumları

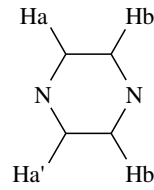
3(2*H*)-piridazinon yapısındaki bileşiklerin IR spektrumları için literatürde 3400-3200 cm^{-1} de NH gerilim, 1600-1700 cm^{-1} 'de C=O gerilim ve 1500-1600 cm^{-1} de C=N gerilim titreşimlerine ait piklerin görüldüğü bildirilmektedir (31). Sentezi yapılan bileşiklerin spektrumlarında, bu bilgilere uygun olarak 1600-1510 cm^{-1} 'de C=N gerilim, 1665–1695 cm^{-1} 'de laktam halkasına ait C=O gerilim ve 3200–3450 cm^{-1} 'de ise piridazinon halkasının 2. konumundaki N-H gerilim titreşimlerine ait pikler gözlenmiştir. 6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-il asetat (**3**) ve sonrasında sentezlenen bileşiklere ait IR spektrumlarında 3200–3450 cm^{-1} 'de görülen N-H gerilim titreşimlerine ait bandın gözlenmemesi, piridazinon halkasının 2. konumundaki azot atomu üzerinde bulunan protonun etil bromoasetat ile yer değiştirdiğini kanıtlamaktadır. Yine 6-[4-(3,4-diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-il asetat (**3**) bileşiğine ait IR spektrumunda 1753 cm^{-1} 'de görülen gerilim bandı ester karbonilinin varlığını göstermektedir. 1600-1510 cm^{-1} 'de görülen C=N gerilim bantları ester türevi ve hidrazinhidratın reaksiyonu neticesinde sonuç bileşiklerine ulaşıldığını kanıtlarken, bazı sonuç bileşiklerinin IR spektrumlarında 1100-1008 cm^{-1} de görülen C-O gerilim bantları metoksi sübstitüentlerinin varlığını doğrulamaktadır.



Şekil 5.1.: Bileşik 5m'nin ATR tekniği ile alınan IR spektrumu.

5.2.2. ¹H-NMR Spektrumları

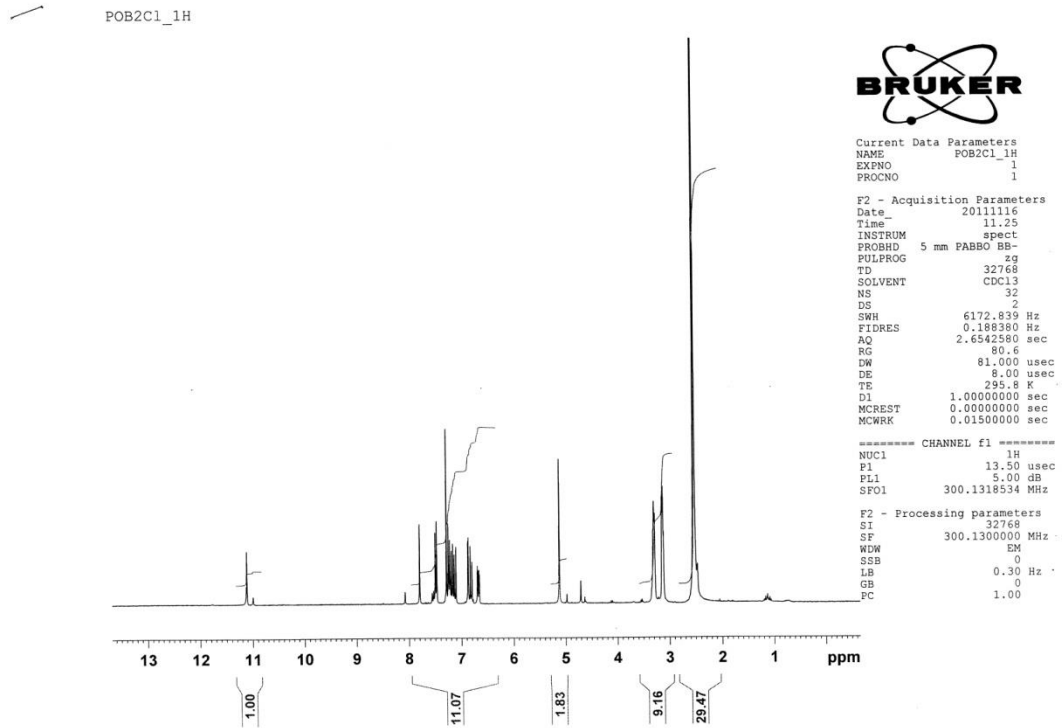
Sentezi yapılan bileşiklerin tamamı 3(2*H*)-piridazinon türevidir. 3(2*H*)-Piridazinon halkasının H⁴ protonuna ait pik 7.34-7.58 ppm civarında dublet olarak gözlenirken, H⁵ protonuna ait pik de 6.78-6.90 ppm değerleri arasında literatür verilerine uygun olarak dublet olarak gözlenmiştir (26). 6. Konumdaki piperazin halkasına ait pikler iki grup proton halinde gözlenmiştir.



Ha ve Ha' protonları birbirlerine eşit elektron yoğunluğuna sahip olduklarından tek bir proton grubu gibi davranmaktadırlar. Ha + Ha' protonları 3.20–3.40 ppm'de ve genellikle triplet şeklinde gözlenmişlerdir. Hb + Hb' protonları da birbirlerine eşdeğerdir ve genellikle 2.90–3.10 ppm arasında triplet olarak gözlenmişlerdir.

6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon (**2**) bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu incelendiğinde; piridazinon halkasının 2. konumundaki N-H grubuna ait protonun 10.40–10.50 ppm aralığında singlet bir pik verdiği gözlenmiştir. Etil 6-[4-(3,4-Diklorofenil)piperazin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-il asetat (**3**) bileşiğine ait spektrumda bu pikin kaybolması 2. konumdan süstitüsyonun gerçekleştiğini kanıtlamaktadır. Ayrıca bileşik (**3**)'e ait spektrumda 1.31 ppm'de görülen triplet CH₃ piki ve 4.26 ppm'de görülen quartet O-CH₂ piki hidrazit türevine geçildiğinde kaybolmaktadır.

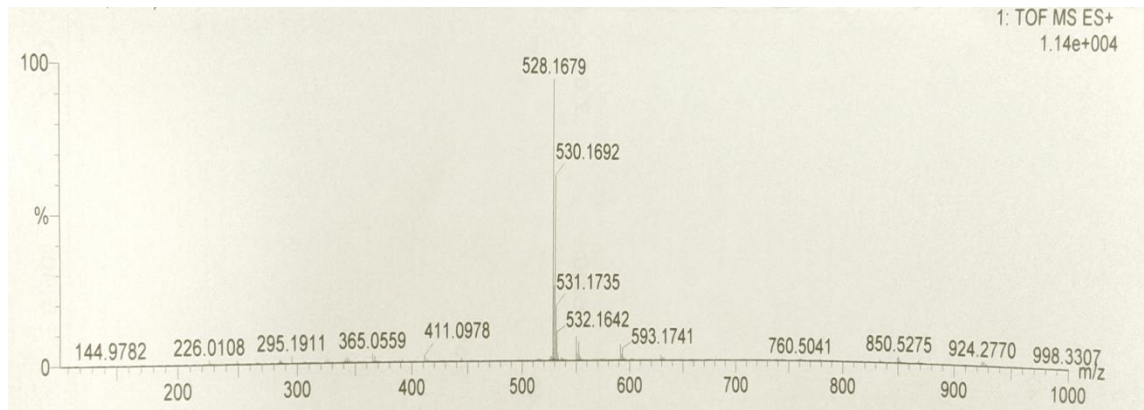
Sonuç bileşiklerinin (**5a-t**) ¹H-NMR spektrumlarında 8.00-8.20 ppm civarında literatüre uygun olarak, N=CH'a ait singlet pik ve 11.00-11.30 civarında da NH'a ait siglet pik görülmüştür. Ayrıca 6.90-7.80 ppm aralığında görülen aromatik protonlara ait pikler de literatürle uyum içerisindedir (26).



Şekil 5.2.: Bileşik 5c'nin DMSO- d_6 içinde alınan ^1H -NMR spektrumu (300 MHz).

5.2.3. ^{13}C -NMR Spektrumları

Bileşiklerin DMSO- d_6 içinde alınan ^{13}C -NMR spektrumlarında literatür verilerine uygun olarak, 45.00-46.30 ppm ve 47.10-48.00 ppm civarında piperazin halkasının eşdeğer karbonlarına ait pikler görülmüştür. Benzalhidrazonlarda fenil halkası üzerinde bulunan metoksi ve nitril sübstitüentlerine ait pikler 52.00-55.00 ppm civarında görülmüştür. Ayrıca aromatik karbonlara ve piridazinon halkasının 4, 5 ve 6 numaralı karbonlarına ait pikler 117.00-151.00 ppm aralığında görülmüştür. Bileşikte yer alan piridazinon halkasının 3. konumundaki ve $\text{N}-\text{C}=\text{O}$ yapısındaki karbona ait pikler ise, karbonil gruplarının rastlandığı 157.00-169.00 ppm aralığında gözlenmiştir (125).



Şekil 5.4.: Bileşik **5p**'nin TOF MS ES+'da alınan kütle spektrumu

5.3. BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI

5.3.1. AChE/BChE İnhibitör Aktivite

Sentezi yapılan bileşiklerin in vitro AChE/BChE inhibitör aktiviteleri Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında Ellman yöntemi uygulanarak incelenmiştir. Testler bileşiklerin (**5a-t**), 100 µg/ml konsantrasyonundaki dozları kullanılarak enzim inhibisyon yüzdeleri belirlenmiştir. Elde edilen test sonuçlarına göre (Bkz. Tablo 4.1.):

- Test edilen bileşikler yüksek AChE ve BChE enzim inhibisyonu göstermişlerdir.
- Bileşik **5g** ve **5r** için çökme nedeniyle absorbands okunamamıştır.
- 95.68 AChE enzim inhibisyonu ve 83.89 BChE enzim inhibisyonu yüzdesine sahip galantaminle kıyaslandığında; bileşik **5f** % 75.52, bileşik **5i** ise % 71.72 AChE enzim inhibisyonuyla en yüksek AChE inhibitörü aktivite gösterirken, bileşik **5h** % 67.16 ve yine bileşik **5f** de % 62.03 BChE enzim inhibisyonuyla en yüksek BChE inhibitörü bileşikler olarak belirlenmiştir.

Daha önce yapılmış çalışmalar incelendiğinde, benzer şekilde, azot atomu üzerinde yer alan grubun fenil halkasında metoksi, dimetilamin ve hidroksi grubu taşıyan bileşiklerde en yüksek AChE/BChE inhibitör aktivite gözlenirken; süstitüent içermeyen veya halojenli süstitüentler barındıran bileşiklerde ise aktivitenin çok düştüğü görülmektedir. 6. Konumdaki piperazin süstitüentinin fenil halkası üzerinde yer alan süstitüentlerin de aktivitede önemli olduğu görülmüş, tek halojen atomu içeren 3-klorofenilpiperazin türevi bileşiklerde 3,4-

diklorofenilpiperazin türevlerine göre daha yüksek aktivite gözlenmiştir (26). Ayrıca sübstüüfenil sülfonil grubunun asetohidrazit yapısına kondanse edildiği 4-(triflorometil)fenil sülfonil türevlerinde aktivitenin galantaminden daha yüksek olduğu görülmektedir (28). Bu tez kapsamında, yapı-aktivite ilişkilerinin belirlenmesi amacıyla yapılan modifikasyonlar ileri çalışmalara ışık tutacak ve en aktif kolinesteraz inhibitörlerine ulaşmayı sağlayacaktır.

5.3.2. Antifungal-Antibakteriyel Aktivite

Sentezi yapılan bileşiklerin in vitro antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında yapılmıştır. Antimikrobiyal etki çalışmalarında kesin ve çabuk sonuç vermesi, çalışma kolaylığı ve ekonomik olması nedeniyle mikrodilüsyon yöntemi kullanılmış ve NCCSI ilkelerine uyulmuştur. Tarama testleri sırasında standart bileşik olarak antibakteriyel bileşikler olan ampisilin, gentamisin, ofloksasin, rifampisin, tetrasiklin, seftriakson, meropenem, eritromisin, vankomisin, ampisilin sulbaktam ve amoksisilin klavulonik asit ile antifungal bir bileşik olan flukonazol ve amfoterisin B kullanılmıştır. Kullanılan besiyeri ve çözücünün kontrolleri yapılmıştır.

Sentezi yapılan bileşiklerin antimikrobiyal aktivite sonuçlarına göre (Bkz. Tablo 4.2.):

- Bileşiklerin tamamı Gr (+) ve Gr (-) bakterilere karşı 8-64 µg/ml konsantrasyonlarda etkili bulunmuştur.
- Bileşiklerin antifungal etkileri antibakteriyel etkilerine göre daha yüksek bulunmuştur (8 µg/ml).
- Bileşiklerin *C. albicans* 'a karşı etkileri *C. krusei* 'ye göre daha fazladır.
- Bileşiklerin tümü izole *E.coli* 'ye karşı gentamisin, ofloksasin, rifampisin, tetrasiklin ve seftriaksondan; *P. aeruginosa* ' ya karşı ise seftriaksondan daha güçlü aktivite göstermiştir.
- İzole *P. aeruginosa* ' ya karşı **5f** gentamisin ile aynı etkiyi gösterirken diğer tüm bileşikler gentamisinden daha etkili bulunmuştur.

- Bileşiklerden fenil hidrazon yapısında, aromatik halka üzerinde süstitüent olarak klor, brom ve flor atomu içerenler beklenildiği gibi en aktif bileşiklerdir.
- Hem antibakteriyal hem de antifungal etkileri açısından en etkili bileşikler **5b** (4-bromobenzal hidrazon), **5c** (2-klorobenzal hidrazon), **5d** (4-klorobenzal hidrazon) ve **5e** (4-florobenzal hidrazon) kodlu olanlardır.
- *E.coli*, *P. aeruginosa*, izole *P. aeruginosa*, izole *S.aureus* ve izole *E.faecalis*'e karşı rifampisin, ampisilin-sulbaktam, amoksisilin-klavulonik asit, seftriakson ve tetrasiklin ile aynı etkiyi gösteren bileşik **5e**, *C.krusei*'ye karşı da flukonazolden belirgin derecede daha yüksek aktivite göstererek en aktif antimikrobiyal bileşik olarak seçilmiştir.

Benzer çalışmalarla beraber incelendiğinde, bu tez kapsamında elde edilen bileşikler, piridazinon halkasının 6. konumunda diklorofenil halkasının varlığının aktiviteyi artırdığını; 3,4-diklorofenil türevi bileşiklerin morfolin, nonsüstitüefenil, 4-kloro veya 4-florofenil türevlerinden daha aktif olduğunu göstermektedir (24,84).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez kapsamında AChE ve BChE enzim inhibitörü olarak, 3(2*H*)-piridazinon ana halkası taşıyan 18 yeni bileşik hazırlanmıştır. Elde edilen bileşiklerin ayrıca antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri de değerlendirilmiştir.

Günümüzde Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılan, AChE inhibitörlerinden biri olan galantaminin referans olarak kullanıldığı in vitro enzim inhibisyonu testlerinde ümit verici sonuçlar elde edilmiştir. Bileşiklerden **5f** ve **5i** en yüksek AChE enzim inhibisyonu gösterirken, **5h** ve yine **5f** de en yüksek BChE enzim inhibisyonu göstermiştir. İleri çalışmalarla elde edilen bileşiklerin QSAR ve moleküler modelleme çalışmaları yapılacak, en yüksek aktiviteye sahip bileşikler üzerinden aktiviteyi daha da güçlendirecek değişiklikler yapılarak yeni bileşikler sentezlenecektir. Ayrıca modelleme çalışmaları ve in vitro inhibisyon testleri sonucunda elde edilen en yüksek aktiviteye sahip bileşiklerin daha sonra Alzheimer hastalığı modeli geliştirilmiş deney hayvanlarında in vivo aktivite çalışmalarının yapılması da planlanmaktadır.

Bileşiklerin antibakteriyel ve antifungal aktivitelerinin bazı mikroorganizmalara karşı bazı referans ilaçlara göre daha yüksek aktivite gösterdiği belirlenmiş, bileşiklerden **5e**'nin en aktif antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Bu alanda da ileri çalışmalar yapılarak aktivitenin geliştirilebileceği düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Guyton, A.C., Hall, J.E. (2007). Alzheimer Hastalığı-Amiloid Plaklar ve Bellek Baskılanması. H. Çavuşoğlu, B. Çağlayan Yeğen (T. Demiralp). *Tıbbi Fizyoloji* (11. bs.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
2. Kumar, V., Cotran, R.S., Robbins, S.L. (2003). Dejeneratif Hastalıklar. U. Çevikbaş (Burns, D.K., Kumar, V./M. Keleş). *Temel Patoloji* (7. bs.) (841-845). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
3. Brunton, L.L., Lazo, J.S., Parker, K.L. (2006). Antikolinesterazlar. Ö. Süzer (P. Taylor/O. Yollar). Santral Sinir Sistemi Dejeneratif Bozuklukların Tedavisi. (D.G., Standaert, A.B., Young/H.R., Yananlı). *Goodman&Gillman Tedavinin Farmakolojik Temeli*. (201-214/527-544). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
4. Marko, K., Silva, H. (2013). Phospholipids and Alzheimer's Disease: Alterations, Mechanisms and Potential Biomarkers. *Int. J. Mol. Sci.* 14, 1310-1322.
5. Hirtz, D., Thurman, D.J., Gwinn-Hardy, K., Mohamed, M., Chaudhuri, A.R., Zalutsky, R. (2007). How Common Are the "Common" Neurologic Disorders? *Neurology*. 68, 326–337.
6. Ferri, C.P., Prince, M., Brayne, C., Brodaty, H., Fratiglioni, L., Ganguli, M., Hall, K., Hasegawa, K., Hendrie, H., Huang, Y., Jarm, A., Mathers, C., Menezes, P.R., Rimmer, E., Scazufca, M. (2005). Global Prevalence of Dementia: A Delphi Consensus Study. *Lancet*. 366, 2112–2117.
7. Kayaalp, O. (2005). *Tıbbi Farmakoloji*. Ankara: Hacettepe Taş.
8. Akgün, H., Balkan, A., Bilgin, A. A., Çalış, Ü., Gökhan, N., Dalkara, S., Erdoğan, H., Erol, D. D., Ertan, M., Özkanlı, F., Palaska, E., Saraç, S., Şafak, C., Tozkoparan, B. (2004). *Farmasötik Kimya*. Ankara: Hacettepe Yayınları.
9. Perry, E.K. (1986). The cholinergic hypothesis-ten years on. *Br. Med. Bull.* 42, 63-69.
10. Dooley, M., Lamb, H.M. (2000). Donezepil: a review of its use in Alzheimer's disease. *Drug Aging*, 16, 199-226.
11. Castle, R.N., Weissberger, A., Taylor, E.C. (1973). *The Chem. Het. Comp.* (vol. 28). New York: John Wiley and Sons.

12. Rubat, C., Coudert, P., Refouvelet, B., Tronche, P., Bastide, P., Bastide, J. (1990). Anticonvulsant activity of 3-oxo-5-substituted benzylidene-6-methyl-(4H)-2-pyridazinylacetamides and 2-pyridazinylacetylhydrazides. *Chem. Pharm. Bull.* 38(11), 3009-3013.
13. Matrai, E. (1997). Infrared Spectroscopic Studies on Polarity and Tautomerism of 3(2H)-pyridazinone Derivatives. *J. Mol. Struct.* 408/409, 467-472.
14. Lapinski, L., Fulara, J., Czerminski, R., Nowak, M.J. (1990). Infrared matrix isolation and ab initio studies of 3(2H)-pyridazinone and photoproduct 3-hydroxypyridazine. *Spectrochim. Acta A.* 46, 1087–1096.
15. Gökçe, M., Şahin, M.F., Küpeli, E., Yeşilada, E. (2004). Synthesis and evaluation of the analgesic and anti-inflammatory activity of new 3(2H)-pyridazinone derivatives. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* 54, No. 7, 396–401.
16. Gökçe, M., Utku, S., Küpeli, E. (2009). Synthesis and analgesic and anti-inflammatory activities 6-substituted-3(2H)-pyridazinone-2-acetyl-2-(p-substituted/nonsubstituted benzal)hydrazone derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* 44, 3760-3764.
17. Rubat, C., Coudert, P., Refouvelet, B., Tronche, P., Bastide, J., Bastide, P., Privat, A.M. (1989). Synthesis and pharmacological evaluation of N-substituted 4,6-diaryl-3-pyridazinones as analgesic, antiinflammatory and antipyretic agents. *Chem. & Pharm. Bull.* 37(10), 2832-5.
18. Siddiqui, A.A., Mishra, R., Shaharyar, M., Husain, A., Rashid, M., Pal, P. (2011). Triazole incorporated pyridazinones as a new class of antihypertensive agents: Design, synthesis and in vivo screening. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 21, 1023–1026.
19. Cignarella, G., Barlocco, D., Villa, S., Curzu, M.M., Pinna, G.A., Lavezzo, A., Bestetti, A. (1992). Tricyclic 3-(2H)-pyridazinone derivatives. Synthesis and evaluation of their antisecretory and antiulcer activity. *Eur. J. Med. Chem.* 27(8), 819-23.
20. Çalışkan-Ergün, B., Şüküroğlu, M., Çoban, T., Banoğlu, E., Süzen, S. (2008). Screening and evaluation of antioxidant activity of some pyridazine derivatives. *J. Enzym. Inhib. Med. Chem.* 23(2), 225-9.

21. Ochiai, K., Takita, S., Kojima, A., Eiraku, T., Iwase, K., Kishi, T., Ohinata, A., Yageta, Y., Yasue, T., Adams, D.R., Kohno, Y. (2013). Phosphodiesterase inhibitors. Part 5: Hybrid PDE3/4 inhibitors as dual bronchorelaxant/anti-inflammatory agents for inhaled administration. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 23, 375–381.
22. Ahmad, S., Rathish, I.G., Bano, S., Alam, M.S., Javed, K. (2010). Synthesis and biological evaluation of some novel 6-aryl-2-(p-sulfamylphenyl)-4,5-dihydropyridazin-3(2*H*)-ones as anti-cancer, antimicrobial, and anti-inflammatory agents. *J. Enzym. Inhib. Med. Chem.* 25(2): 266–271.
23. Budhlakoti, P., Kumar, Y., Verma, A., Alok, S. (2013). Synthesis, antibacterial activity and molecular properties prediction of some pyridazin-3-one derivatives. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 4(4), 1524-1528.
24. Şüküroğlu, M., Önkol, T., Kaynak-Onurdağ, F., Akalınç, G., Şahin, M.F. (2012). Synthesis and *in vitro* biological activity of new 4,6-disubstituted 3(2*H*)-pyridazinone-acetohydrazide derivatives. *Z. Naturforsch.* 67c, 257–265.
25. Nagle, P., Pawar, Y., Sonawane, A., Bhosale, S., More, D. (2013). Docking simulation, synthesis and biological evaluation of novel pyridazinone containing thymol as potential antimicrobial agents. *Med. Chem. Res.* DOI 10.1007/s00044-013-0685-2.
26. Utku, S., Gökçe, M., Orhan, İ., Şahin, M.F. (2011). Synthesis of novel 6-substituted-3(2*H*)-pyridazinone-2-acetyl-2-(substituted/-nonsubstituted benzal)hydrazone derivatives and acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activities in vitro. *Arzneim.-Forsch.* 61(1), 1-7.
27. Özçelik, A. B., Gökçe, M., Orhan, İ., Kaynak, F., Şahin, M. F. (2010). Synthesis and antimicrobial, acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activities of novel ester and hydrazide derivatives of 3(2*H*)-pyridazinone. *Arzneim.-Forsch.* 60(7), 452-458.
28. Önkol, T., Gökçe, M., Orhan, İ., Kaynak, F. (2013). Design, synthesis and evaluation of some novel 3(2*H*)-pyridazinone-2-yl acetohydrazides as acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors. *Org. Commun.* 6:1, 55-67.

29. Xing, W., Fu, Y., Shi, Z., Lu, D., Zhang, H., Hu, Y. (2013). Discovery of novel 2,6-disubstituted pyridazinone derivatives as acetylcholinesterase inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* 63, 95-103.
30. Küçüköğlu, K. (2008). Antifungal Tedavide Son Gelişmeler. *Ankara Ecz. Fak. Derg.* 37(1), 63-90.
31. Lenhert, A.G., Castle, R.N. (1973). *Chemistry of Heterocyclic Compounds: Pyridazines*, (vol. 28). Physical Properties of Pyridazines. John Wiley & Sons.
32. Graff, M., Dobrowolski, J.C. (2013). On tautomerism of diazinones. *Comput. Theor. Chem.* 1026, 55–64.
33. Işık, M.M. (2008). 6-(Süstitüe fenil-piperazin/piperidin)-5-metil-3(2H)-piridazinon türevlerinin sentezi, analjezik ve anti-inflamatuvar aktivitelerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara.
34. Yelken, G. (2008). 6-Süstitüe-3(2H)-piridazinon-2-il asetohidrazit türevi bileşiklerin sentezi, antibakteriyel ve antifungal aktivitelerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara.
35. Jacobs, L. (1957). *Heterocyclic Compounds* (vol. 6). R. C. Elderfield (101). New York, Wiley.
36. Ramage, G.R., Landquist, J.K. (1959) Rodd's Chemistry of Carbon Compounds (vol. IV). S. Coffey (1217). B.Amsterdam, Elsevier.
37. Mills, K., Joule, J.A. (2000). *Heterocyclic Chemistry* (4. bs.). Oxford (UK), Blackwell Publishing.
38. Lapinski, L., Nowak, M.J., Fulara, J., Les', A., Adamowicz, L. (1992). Relation between structure and tautomerism in diazinones and diazinethlones. An experimental matrix isolation and theoretical ab initio study. *J. Phys. Chem.* 96, 6250–6254.
39. Katritzky, A.R., Lagowski, J.M. (1963). *Adv.Heterocycl.Chem.* (vol.1) (339).
40. Tisler, M., Stanovnik, B. (1973). *Chem. Heterocycl. Compd.* (vol. 28) (755).
41. Abed, H.B., Mammoliti, O., Bande, O., Lommen, G.V., Herdewijn, P. (2013). Strategy for the synthesis of pyridazine heterocycles and their derivatives. *J. Org. Chem.* 78, 7845–7858.
42. Wermuth, C.G. (2011). *Med. Chem. Commun.* 2, 935-941.

43. Wermuth, C.G., Schlewer, G., Bourguignon, J.J., Maghioros, G., Bouchet, M.J., Moire, C., Kan, J.P., Worms, P., Biziere, K.J. (1989). 3-Aminopyridazine derivatives with atypical antidepressant, serotonergic and dopaminergic activities. *Med. Chem.* 32(8), 528–537.
44. Kobayashi, H., Moritono, S., Hara, K. (1997). Significant role of new cephem antibiotics: focused on cefozopran. *Jpn. J. Antibiot.* 50, 807–820.
45. Burton, P., Kozakiewicz, A., Morris, J.A., Mathews, C.J., Shanahan, S. (2013). Preparation of pyridazinone derivatives as herbicides. Syngenta Limited, UK PCT Int. Appl., WO 2013160126 A1 20131031.
46. Garkani-Nejad, Z., Poshteh-Shirani, M. (2013). Prediction of antihypertensive activity of pyridazinone derivatives through multivariate image analysis applied to QSAR. *Med. Chem. Res.* 22, 3389–3397.
47. Asano, T., Yamazaki, H., Kasahara, C., Kubota, H., Kontani, T., Harayama, Y., Ohno, K., Mizuhara, H., Yokomoto, M., Misumi, K., Kinoshita, T., Ohta, M., Takeuchi, M. (2012). Identification, Synthesis, and biological evaluation of 6-[(6R)-2-(4-fluorophenyl)-6-(hydroxymethyl)-4,5,6,7-tetrahydropyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl]-2-(2-methylphenyl) pyridazin-3(2H)-one (AS1940477), a potent p38 MAP kinase inhibitor. *J. Med. Chem.* 55(17), 7772–7785.
48. Contreras, J.M., Rival, Y.M., Chayer, S., Bourguignon, J.J., Wermuth, C.G. (1999). Aminopyridazines as acetylcholinesterase inhibitors. *J. Med. Chem.* 42, 730-741.
49. Mangalagiu, I.I. (2011). Recent achievements in the chemistry of 1,2-diazines. *Curr. Org. Chem.* 15(5), 730-752.
50. Katritzky, A., Rees, C.W. (1997). *Comprehensive Heterocyclic Chemistry* (vol. 3). The Structure, Reactions, Synthesis and Uses of Heterocyclic Compounds. UK: Elsevier.
51. Epiotis, N.D. (1978). *Theory of Organic Reactions*. Berlin, Springer.
52. Eicher, T., Hauptmann, S. (2003). *The Chemistry of Heterocycles*. Germany: Wiley-VCH.
53. Galiullina, S.V., Zakharova, V.M., Kantin, G.P., Nikolaev, V.A. (2007). Chemistry of diazocarbonyl compounds: XXX. Development of a synthetic

- approach to pyridazine structure via Wittig reaction of fluoroalkyl-containing diazo keto esters. *Russ. J. Org. Chem.* 43(4), 607–614.
54. Mustafa, A., Asker, W., Harhash, A.H., Foda, K.M., Jahine, H.H., Kassab, N.A. (1964). Reaction with 1(2*H*)-phtalazinones, 4,5-dihydro-3(2*H*)-pyridazinones and 3-pyrazolin-5-ones. *Tetrahedron*. 20(3), 531-44.
 55. Baddar, F.G., El-Habashi, A., Fateen, A.K. (1965). Pyridazines. Part II. The Action of Grignard Reagents on 6-Aryl-2,3,4,5-terahydro and -2,3-dihydropyridazin-3-ones. *J. Chem. Soc.* 3342-3348.
 56. Mecadon, H., Myrboh, B. (2011). Potassium hydroxide impregnated alumina (KOH-Alumina) as a recyclable catalyst for the solvent-free multicomponent synthesis of highly functionalized substituted pyridazines and/or substituted pyridazin-3(2*H*)-ones under microwave irradiation. *Int. Scholar. Res. Net. ISRN Org. Chem.* Doi:10.5402/2011/406427.
 57. Sukanya, N., Rolf, B. (2005). Electroorganic synthesis of 2,5-dialkoxydihydrofurans and pyridazines on solid phase using polymer beads as supports. *Synthesis*. (20), 3654-3665.
 58. Daniel, B.A., John, De G.M., Edward, M.B., James, R.D., Thomas, R., Robertian, S., Ian, S.R., Anthony, S.P., Alan, S.N., William, W.C. (2012). Preparation of benzenesulfonamide derivatives for use as sodium channel inhibitors. *PCT Int. Appl.* 2012004743.
 59. Coad, P., Coad, R.A., Dubinsky, B., Buckley, J.P., Kinnard, W. (1965). Synthesis and pharmacological study of pyridazines. I. Alkoxy-pyridazines. *J. Med. Chem.* 8(1), 129-31.
 60. Aitken, R.A., Fodi, B., Palmer, M.H., Slawin, A.M.Z., Yang, J. (2012). Experimental and theoretical molecular and electronic structures of the N-oxides of pyridazine, pyrimidine and pyrazine. *Tetrahedron*. 68, 5845-5851.
 61. Einchenberger, K., Staehelin, A., Druey, J. (1954). Heilmittelchemische studien in er heterocyclischen reihe, pyridazine V. Alkylierungen und umlagerungen in der reihe des cyclischen maleinsaurehydrazids. *Helv. Chim. Acta*. 37, 837-848.
 62. Crossland, A. (1964). The addition of grignard reagents to pyridazines, III. A comparison with butyl- and t-butyllithium. *Acta Chem. Scand.* 18, 1653-55.

63. Pollak, A., Stanovnik, B., Tissler, M. (1998). Synthesis of pyridazine derivatives. XII. Friedel-Crafts reaction with 3,6-dichloropyridazine. *J. Org. Chem.* 31(12), 4297-98.
64. Katritzky, A.R., Boulton, A.J. (1968). *Advances in Heterocyclic Chemistry* (vol. 9). New York, London: Academic Press.
65. Bansal, R., Thota, S. (2013). Pyridazin-3(2H)-ones: the versatile pharmacophore of medicinal significance. *Med. Chem. Res.* 22:2539–2552.
66. Estevez, I., Ravina, E., Sotelo, E. (1998). Pyridazines. XV. Synthesis of 6-aryl-5-amino-3(2H)-pyridazinones as potential platelet aggregation inhibitors. *J. Heterocycl. Chem.* 35, 1421-1428.
67. Sircar, I., Duell, B.L., Bobowski, G., Bristol, J.A., Evans, D.A. (1985). Cardiotonic agents. 2. Synthesis and structure-activity relationships of 4,5-dihydro-6-[4-(H-imidazol-1-yl)phenyl]-3(2H)-pyridazinones: a new class of positive inotropic agents. *J. Med. Chem.* 28(10), 1405–1413.
68. Hudkins, R.L., Aimone, L.D., Bailey, T.R., Bendesky, R.J., Dandu, R., Dunn, D., Gruner, J.A., Josef, K.A., Lin, Y., Lyons, J., Marcy, V.R., Mathiasen, J.R., Sundar, B.G., Tao, M., Zulli, A.L., Raddatz, R., Bacon, E.R. (2011). Identification of pyridazin-3-one derivatives as potent, selective histamine H₃ receptor inverse agonists with robust wake activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 21(18), 5493–5497.
69. Xu, P., Wang, S., Chen, Y., Liu, W., Tao, C. (1991). Studies on synthesis, anticonvulsant activity and the structure--activity relationships of 6-(substituted phenyl)-3 (2H) pyridazinones. *Acta Pharm. Sin.* 26(9), 656–660.
70. Sotelo, E., Raviña, E. (2000). Efficient aromatization of 4,5-dihydro-3(2H)-pyridazinones substituted at 5 position by using anhydrous copper(II) chloride. *Synth. Commun.* 30(1), 1–7.
71. Liang, L., Yang, G., Xu, F., Niu, Y., Sun, Q., Xu, P. (2013). Copper-catalyzed aerobic dehydrogenation of C–C to C=C bonds in the synthesis of pyridazinones. *Eur. J. Org. Chem.* 6130–6136.
72. Knoevenagel, K., Rolli, K., Himmelreich, R. (1970). Effect of pyridazinyl derivatives on plant growth. *Naturwissenschaften.* 57(8), 395-6.

73. Humphries, P.S., Oliver, R.M. (2009). Facile synthesis of 4,5-disubstituted-3(2*H*)-pyridazinones, *Tetrahedron Lett.* 50, 2682–2684.
74. Doğruer, D.S., Şahin, M.F., Ünlü, S., Ito, S. (2000). Studies on some 3(2*H*)-pyridazinone derivatives with antinociceptive activity. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. 333(4), 79-86.
75. Kojima, A., Kohno, Y. (2013). A mild and efficient synthesis of a chiral pyridazinone derivative. *Tetrahedron*. 69, 1658-1662.
76. Hashem, A.I., Youssef, A.S.A., Kandeel, K.A., Abou-Elmagd, W.S.I. (2007). Conversion of some 2(3*H*)-furanones bearing a pyrazolyl group into other heterocyclic systems with a study of their antiviral activity. *Eur. J. Med. Chem.* 42, 934-939.
77. Husain, A., Drabu, S., Kumar, N., Alam, M.M., Ahmad, A. (2011). Synthesis and biological evaluation of some new pyridazinone derivatives. *J. Enzym. Inhib. Med. Chem.* 26(5), 742–748.
78. Zare, L., Mahmoodi, N.O., Yahyazadeh, A., Nikpassand, M. (2012). Ultrasound-promoted regio and chemoselective synthesis of pyridazinones and phthalazinones catalyzed by ionic liquid [bmim]Br/AlCl₃. *Ultrason. Sonochem.* 19, 740–744.
79. Schmidt, P., Druey, J. (1954). Heilmittelchemische Studien in der heterocyclischen Reihe. 10. Mitteilung. Pyridazine VII. Zur neuen Pyridazin-Synthese. Methylpyridazine. *Helv. Chim. Acta.* 37(5), 1467-1471.
80. Alonazy, H.S., AL-Hazimi, H.M.A., Korraa, M.M.S. (2009). Novel 5,6-bis-(4-substitutedphenyl)-2*H*(3)-pyridazinones: Synthesis and reactions. *Arab. J. Chem.* 2, 101–108.
81. El-Dean, A.M.K., El-Gaby, M.S.A., Gaber, A.M., Eyada, H.A., Al-Kamali, A.S.N. (2005). Novel Synthesis of Thieno[2,3-*c*]Pyridazine and Pyrimido[4',5':4,5]thieno[2,3-*c*]pyridazine Derivatives. *Phosphorus Sulfur Silicon.* 180, 413–424.
82. Baytaş, S., İnceler, N., Mavaneh, K.F., Uludağ, M.O., Abacıoğlu, N., Gökçe, M. (2012). Synthesis of antipyrine/pyridazinone hybrids and investigation of their in vivo analgesic and anti-inflammatory activities. *Turk. J. Chem.* 36, 734–748.

83. Tiryaki, D., Şüküroğlu, M., Doğruer, D.S., Akkol, E., Özgen, S., Şahin, M.F. (2013). Synthesis of some new 2,6-disubstituted-3(2*H*)-pyridazinone derivatives and investigation of their analgesic, anti-inflammatory and antimicrobial activities. *Med. Chem. Res.* 22, 2553–2560.
84. Utku, S., Gökçe, M., Aslan, G., Bayram, G., Ülger, M., Emekdaş, G., Şahin, M.F. (2011). Synthesis and in vitro antimycobacterial activities of novel 6-substituted-3(2*H*)-pyridazinone-2-acetyl-2-(substituted/nonsubstituted acetophenone)Hydrazone. *Turk. J. Chem.* 35, 331 – 339.
85. Lintholter, S., Kristensen, A.A., Rosenorn, R., Nielsen, S.E., Kaaber, H. (1961). The Preparation of some 3,6-Disubstituted 4-methylpyridazine. *Acta. Chem. Scand.* 15, 1660-66.
86. Sayed, S.M., Khalil, M.A., Ahmed, M.A., Raslan, M.A. (2002). Synthesis of new pyridazin-6-ones, pyridazin-6-imines, 4-pyridazinals, and pyridines. *Synth. commun.* 32(3), 481–495.
87. Olsen, A.G., Dahl, O., Nielsen, P.E. (2004). Synthesis and evaluation of a conformationally constrained pyridazinone PNA-monomer for recognition of thymine in triple-helix structures. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 14(6), 1551-4.
88. Ghate, M.D., Jadhav, V.B., Shastri, L.A., Kulkarni, M.V., Kulkarni, G.M., Chen, C.H., Sun, C.M. (2008). 5-Phenylpyridazinones-A serendipitous route from coumarins. *Tetrahedron Lett.* 49, 4394–4396.
89. Brown, D.J. (2000). *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. The Pyridazines. Supp. I (vol. 57). Interscience Publ.
90. Liang, L., Wang, W., Xu, F., Niu, Y., Sun, Q., Xu, P. (2013). Relay Catalysis by a Multifunctional Cu Catalyst in a Tandem Dehydro-/Dehalogenation Sequence along with N-Arylation. *Org. Lett.* 15, 11 2770–2773.
91. Coelho, A., Sotelo, E., Novoa, H., Peeters, O.M., Blatonb, N., Ravina, E. (2004). Pyridazine derivatives. Part 38: Efficient Heck alkenylation at position 5 of the 6-phenyl-3(2*H*)-pyridazinone system. *Tetrahedron Lett.* 45, 3459–3463.
92. Coelho, A., Sotelo, E., Fraiz, N., Ya'nez, M., Laguna, R., Canob, E., Ravina, E. (2004). Pyridazines. Part 36: Synthesis and antiplatelet activity of 5-

- substituted-6-phenyl-3(2*H*)-pyridazinones. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 14, 321–324.
- 93.** King, J.A., Mcmillan, F.H. (1952). The Preparation of Some Pyridazonyl Acids. *J. Am. Chem. Soc.* 74, 3222 – 3224.
- 94.** Mcmillan, F.H., Kun, K.A., Mcmillan, C.B., Schwartz, B.S., King, J.A. (1956). Hydrazides of Some Pyridazonyl Substituted Acids. *J. Am. Chem. Soc.* 78, 407-410.
- 95.** Nitta, Y., Yoneda, F., Ohtaka, T., Kato, T. (1964). Pyridazine derivatives. V. Synthesis of derivatives of 6-phenyl-3(2*H*)-pyridazinone. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 12, 69-73.
- 96.** Castle, R.N. (1973). *Pyridazines*.(vol 28). An Interscience Publication New York, John Wiley & Sons.
- 97.** Pu, Y.M., Ku, Y.Y., Grieme, T., Henry, R., Bhatia, A.V. (2006). An efficient copper-catalyzed N-arylation of pyridazinones with a structurally well-defined copper complex. *Tetrahedron Lett.* 47, 149–153.
- 98.** Brown, G.R., Foubister, A.J., Wright, B. (1984). Selective reduction of pyridazin-3-ones and ring contraction to pyrrolidin-2-ones and 3-pyrrolin-2-ones. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 20, 1373-4.
- 99.** Sotelo, E., Centeno, N.B., Rodrigo, J., Ravina, E. (2002). Pyridazine derivatives. Part 27: A joint theoretical and experimental approach to the synthesis of 6-phenyl-4,5-disubstituted-3(2*H*)-pyridazinones. *Tetrahedron.* 58, 2389-2395.
- 100.** Pedrali, C., Mantegani, A. (1958). A new Synthesis of 3,6-dibromopyridazine. *J. Org. Chem.* 23, 778.
- 101.** Overend, W.G., Turton, L.M., Wiggins, L.F. (1950). The conversion of sucrose into pyridazine derivatives. Part X. The properties and structure of 3-methyl-6-pyridazone. 1: 3-dimethyl-6-pyridazone, and some derivatives of pyridazine. *J. Chem. Soc.* 3500 – 3505.
- 102.** Overend, W.G., Wiggins, L.F. (1947). The conversion of sucrose into pyridazine derivatives. Part II. 4-Amino-2-phenyl-6-methyl-3-pyridazone, 4-amino-2-(p-nitrophenyl)-6-methyl-3-pyridazone and their sulphanilamidoderivatives. *J. Chem. Soc.* 549 – 554.

103. Nannini, G., Biasoli, G., Perrone, E., Forgione, A., Buttinoni, A., Ferrari, M. (1979). Synthesis and pharmacological activity of some 5,6-diphenylpyridazines. *Eur. J. Med. Chem.–Chim. Ther.* 14(1), 53-60.
104. Steiner, G., Gries, J., Lenke, D. (1981). Synthesis and antihypertensive activity of new 6-heteroaryl-3-hydrazinopyridazine derivatives. *J. Med. Chem.* 24, 59-63.
105. Anwair, A.S. (2005). Synthesis, lipophilicity, and antifungal properties of 3(2*H*)-pyridazinone derivatives. Budapest.
106. Krajsovskya, G., Ka'rolyha'zsa, L., Riedlb, Z., Csa'mpaic, A., Dunkela, P., Lernyeia, A., Dajka-Hala'sza, B., Hajosb, G., Matyus, P. (2005). Reaction of chloropyridazin-3(2*H*)-ones with iodide. Part I. A mechanistic study. *J. Mol. Struct. Theochem.* 713, 235–243.
107. Stogniew, M., Geelhaar, L.A., Callery, P.S. (1981). Synthesis of deuterium enriched L-glutamine and 4-aminobutanamide from pyridazinones. *J. Labelled Copmd. Radiopharm.* 18, 897.
108. Feuer, H., Harmetz, R. (1959). The Reaction of Maleic Hydrazide with Formaldehyde and Alcohols in Acidic Medium. *J. Org. Chem.* 24(10), 1501 – 1504.
109. Feuer, H., Harmertz, R. (1958). The Chemistry of Maleic Hydrazide. II The Course of Michael-Type Addition. *J. Am. Chem. Soc.* 80, 5877-5880.
110. Ismail, M.F., Shams, N.A., El-Khamry, A.M.A., Mostafa, O.E.A. (1984). Action of grignard reagents on 6-(α -styryl)pyridazin-3(2*H*)-ones; synthesis of some 4-substituted 6-(α -styryl)-pyridazin-3(2*H*)-ones. *J. Prakt. Chem.* 326 (5), 799–803.
111. Shams, N.A. (1985). Methylation of 5-aldehydo-6-arylpyridazin-3(2*H*)-ones via reaction with dimethyl and pentamethyl cuprates. *J. Prakt. Chem.* 327 (4), 536–542, 1985.
112. Rubat, C., Coudert, P., Tronche, P., Bastide, J., Bastide, P., Privat, A.M. (1989). Synthesis and pharmacological evaluation of N-substituted 4,6-diaryl-3-pyridazinones as analgesic, anti-inflammatory and antipiretic agent. *Chem. Pharm. Bull.* 37(10), 2832-2835.

113. Siddiqui, A.A., Mishra, R., Shaharyar, M. (2010). Synthesis, characterization and antihypertensive activity of pyridazinone derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* 45, 2283–2290.
114. Coelho, A., Sotelo, E., Estévez, I., Raviña, E. (2001). Pyridazines part XXIII: Efficient arylation at position 5 of the 6-phenyl-(2*H*)-pyridazin-3-one system using a Suzuki cross-coupling reaction. *Synthesis*. 06, 871-876.
115. Estevez, I. (1999). Pyridazines XVII: An efficient palladium-catalyzed cross-coupling reaction for the synthesis of 5-substituted 6-phenyl-(2*H*)-pyridazin-3-ones. *Synthesis*. 09, 1666-1670.
116. Estevez, I., Coelho, A., Ravina, E. (2003). Pyridazine derivatives 32: Stille-based approaches in the synthesis of 5-substituted-6-phenyl-3(2*H*)-pyridazinones. *Chem. Pharm. Bull.* 51(4), 427-430.
117. Kang, Y.J., Chung, H.A., Kweon, D.H., Cho, S.D., Kim, S.K., Yoon, Y.J. (1998). Functionalization of 4,5-dihalopyridazin-6-ones using 1-(1,1-dibromo-2-oxopropyl) derivatives. *J. Heterocycl. Chem.* 35, 595-600.
118. Coelho, A., Raviña, E., Sotelo, E. (2002). Pyridazines. Part 30: Palladium-catalysed synthesis of 5-substituted 6-phenyl-3(2*H*)-pyridazinones assisted by a retro-ene transformation. *Synlett*. 12, 2062–2064.
119. Maes, B.U.W., Rkyek, O., Kos̃mrlj, J., LemieÁre, G.L.F., Esmans, E., Rozenski, J., Dommissea, R.A., Haemers, A. (2001). Suzuki reactions on chloropyridazinones: an easy approach towards arylated 3(2*H*)-pyridazinones. *Tetrahedron*. 57, 1323-1330.
120. Dunkel, P., Turo', G., Be'nyei, A., Luda'nyic, K., Ma' tyus, P. (2010). Synthesis of novel fused azecine ring systems through application of the tert-amino effect. *Tetrahedron*. 66, 2331–2339.
121. Steck, E.A., Nachod, F.C. (1957). Absorption spectra of heterocyclic compounds. VII. Some 3(2*H*) –pyridazones. *J. Am. Chem. Soc.* 79, 4408-4411.
122. Mhtrai, E. (1997). Infrared spectroscopic studies on polarity and tautomerism of 3(2*H*)-pyridazinone derivatives. *J. Mol. Struct.* 408/409, 467-472.

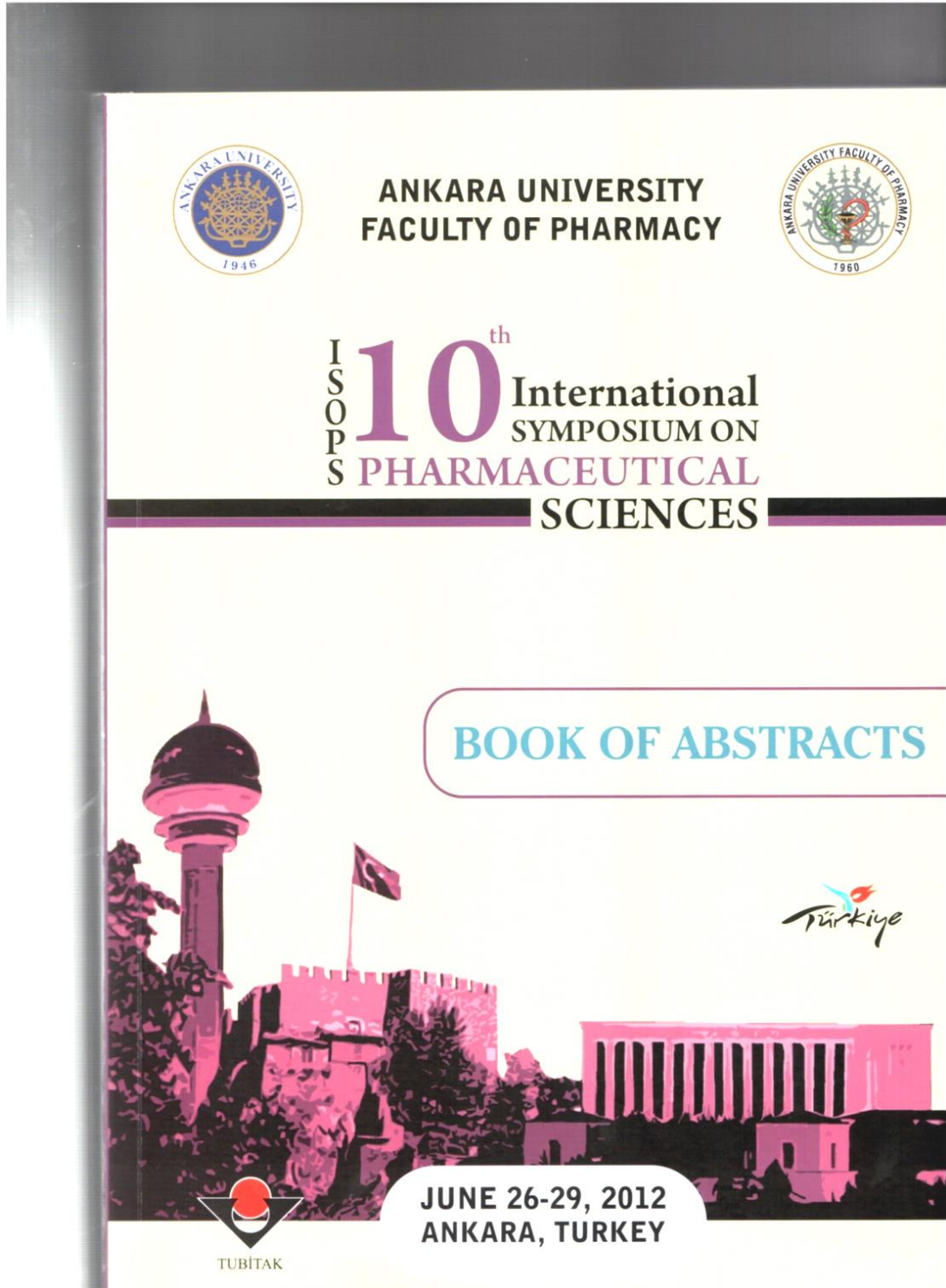
123. Yanai, M., Takeda, S., Nishikawa, M. (1977). A new alkylation of pyridazines with nitromethane and nitroethane. *Chem. Pharm. Bull.* 25(8), 1856-1861.
124. Ravina, E., Teran, C., Santana, L., Garcia, N., Estevez, I. (1990). Pyridazine derivatives, IX. Synthesis of 2H-pyridazin-3-ones with aroylpiperazinyl groups. *Heterocycl.* 31(11), 1967-1974.
125. Besada, P., Costas, T., Vila, N., Chessa, C., Teran, C. (2011). Synthesis and complete assignment of the ^1H and ^{13}C -NMR spectra of 6-substituted and 2,6-disubstituted pyridazin-3(2H)-ones. *Magn. Reson. Chem.* 49, 437–442.
126. Ogura, H., Sugimoto, S., Igeta, H., Tsuchiya, T. (1971). Mass spectra of pyridazines and their N-oxides. *J. Het. Chem.* 8(3), 391-95.
127. Fitton, A., Brogden, R.N. (1994) Pimobendan. A review of its pharmacology and therapeutic potential in congestive heart failure. *Drugs Aging.* 4, 417–441.
128. Couderta, P., Albuissone, E., Boirec, Jy., Durouxb, E., Bastideb, P., Couquelet, J. (1994). Synthesis of pyridazine acetic acid derivatives possessing aldose reductase inhibitory activity and antioxidant properties *Eur. J. Med. Chem.* 29(6), 471-477.
129. Costas, T., Besada, P., Piras, A., Acevedo, L., Yañez, M., Orallo, F., Laguna, R., Terán, C. (2010). New pyridazinone derivatives with vasorelaxant and platelet antiaggregatory activities. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 20, 6624–6627.
130. Imramovsky, A., Pejchal, V., Štepankova, S., Vorcakova, K, Jampilek, J., Vanco, J., Šimunek, P., Kralovec, K., Bruckova, L., Mandikova, J., Trejtnar, F. (2013). Synthesis and in vitro evaluation of new derivatives of 2-substituted-6-fluorobenzo[d]thiazoles as cholinesterase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* 21, 1735–1748.
131. Kaşıkçıoğlu, H.A., Cam, N. (2006) A review of levosimendan in the treatment of heart failure. *Vasc. Health. Risk. Manag.* 2, 389–400.
132. Sharma, B., Verma, A., Sharma, U.K., Prajapati, S. (2013). Efficient synthesis, anticonvulsant and muscle relaxant activities of new 2-((5-amino-

- 1,3,4-thiadiazol-2-yl)methyl)-6-phenyl-4,5-dihydropyridazin-3(2H)-one derivatives. *Med. Chem. Res.* DOI 10.1007/s00044-013-0618-0.
- 133.** Ökçelik-Erdoğan, B. (2008). Piridazinon türevi antiplatelet etkili olabilecek bileşiklerin sentezi ve aktivitelerinin incelenmesi. Doktora tezi. Gazi Üniversitesi, Ankara.
- 134.** Rathish, I.G., Javed, K., Bano, S., Ahmad, S., Alam, M.S., Pillai, K.K. (2009). Synthesis and blood glucose lowering effect of novel pyridazinone substituted benzenesulfonylurea derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* 44, 2673–2678.
- 135.** Yaka, E. (2004). Alzheimer Hastalığında beyin omurilik sıvısında (BOS) biyolojik belirteçler ve BOS'un PC 12 hücre hattı canlılığı üzerine in vitro etkisinin değerlendirilmesi. Nöroloji Uzmanlık Tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir.
- 136.** Vassar, R., Bennett, B.D., Babu-Kahn, S., Mendiaz, E.A., Denis, P., Teplow, B.W., Ross, S., Amarante, P., Loeloff, R. (1999). β -Secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. *Science (Washington, D. C.)*. 286(5440), 735-741.
- 137.** Johnston, M.V., MacDonald, R.L., Young, A.B. (1992). Cognitive disorders. *Princip. Drug Therap. Neurol.* 226-267.
- 138.** Cankurtaran, M., Arioğul, S. (2002). Alzheimer hastalığı ve demans tedavisinde yenilikler. *Türk. Tıp Derg.* 9(3), 128-136.
- 139.** Dysken, M.W., Guarino, P.T., Vertrees, J.E., Asthana, S., Sano, M., Llorent, M., Pallaki, M., Love, S., Schellenberg, G.D., McCarten, J.R., Malphurs, J., Prieto, S., Chen, P., Loreck, D.J., Carney, S., Trapp, G., Bakshi, R.S., Mintzer, J.E., Heidebrink, J.L., Vidal-Cardona, A., Arroyo, L.M., Cruz, A.R., Kowall, N.W., Chopra, N.P., Craft, S., Thielke, S., Turvey, C.L., Woodman, C., Monnell, K.A., Gordon, K., Tomaska, J., Vatassery, G. (2014). Vitamin E and memantine in Alzheimer's disease: Clinical trial methods and baseline data. *Alzheim. Dement.* 10, 36–44.
- 140.** Huang, X.T., Qian, Z.M., He, X., Gong, Q., Wu, K.C., Jiang, L.R., Lu, L.N., Zhu, Z., Zhang, H.Y., Yung, W.H., Ke, Y. (2013). Reducing iron in the brain:

- a novel pharmacologic mechanism of huperzine A in the treatment of Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging*. 1-10.
- 141.** Farlow, M.R. (1998). Pharmacological treatment of cognition in Alzheimer's disease. *Neurol.* 51, 36-44.
 - 142.** Gauthier, S., Molinuevo, J.L. (2013). Benefits of combined cholinesterase inhibitor and memantine treatment in moderate–severe Alzheimer's disease. *Alzheim. Dement.* 9, 326–331.
 - 143.** Darvesh, S., Grantham, D.L., Hopkins, D.A. (1998). Distribution of butyrylcholinesterase in the human amygdala. *J. Comp. Neurol.* 393, 374-390.
 - 144.** Mesulam, M.M., Guillozet, A., Shaw, P., Levey, A., Duysen, E.G., Lockridge, O. (2002) Acetylcholinesterase knockouts establish central cholinergic pathways and can use butyrylcholinesterase to hydrolyze acetylcholine. *Neurosci.* 110(4), 627-639.
 - 145.** Mesulam, M.M., Geula, C. (1994). Butyrylcholinesterase reactivity differentiates the amyloid plaques of aging from those of dementia. *Ann. Neurol.* 36, 722-727.
 - 146.** Greig, N.H., Utsuki, T., Yu, Q., Zhu, X., Holloway, H.W., Perry, T.A., Lee, B., Ingram, D.K., Lahiri, D.K. (2001). A new therapeutic target in Alzheimer's disease treatment: Attention to butyrylcholinesterase. *Curr. Med. Res. Opin.* 17(3), 159-165.
 - 147.** Perry, E.K., Perry, R.H., Blessed, G., Tomlinson, B.E. (1978). Changes in brain cholinesterases in senile dementia of Alzheimer type. *Neuropathol Appl. Neurobiol.* 4, 273-277.
 - 148.** Geula, C., Mesulam, M.M. (1989). Special properties of cholinesterases in the cerebral cortex of Alzheimer's disease. *Brain Res.* 498, 185-189.
 - 149.** Norel, X., Angrisani, M., Labat, C., Gorenne, I., Dulmet, E., Rossi, F., Brink, C. (1993). Degradation of acetylcholine in human airways: Role of butyrylcholinesterase. *Br. J. Pharmacol.* 108(4), 914-919.
 - 150.** Mesulam, M.M., Guillozet, A., Shaw, P. (2002). Widely spread butyrylcholinesterase can hydrolyze acetylcholine in the normal and Alzheimer brain. *Neurobiol. Dis.* 9, 88-93.

- 151.** Xie, W., Wilder, P.J., Stribley, J., Chatonnet, A., Rizzino, A., Taylor, P., Hinrichs, S.H., Lockridge, O. (1999). Knockout of one AChE allele in the mouse. *Chem. Biol. Interact.* 119-120, 120;289-299.
- 152.** Şahin, H.A. (2002). Asetilkolin, Kolinesterazlar ve Alzheimer Hastalığı. *Demans Derg.* 2, 69-73.
- 153.** Kovarova, M., Komersa, K., Stepankova, S., Parik, P., Cegan, A. (2013). New Method for the Determination of the Half Inhibition Concentration (IC50) of Cholinesterase Inhibitors. *Z. Naturforsch.* 68c, 133 – 138.
- 154.** Elman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Featherstone, R.M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharm.* 7, 88-95.
- 155.** Zdrazilova, P., Stepankova, S., Komers, K., Ventura, K., Cegan, A. (2004), Half inhibition concentration of new cholinesterase inhibitors. *Z. Naturforsch.* 59c, 293 – 296.
- 156.** Abbasoğlu, U. (1996). Antimikrobiyal aktivite Araştırma Yöntemleri. *FABAD J. Pharm. Sci.*, 22, 111-8.
- 157.** Woods, G.L., Washington, J.A. (1995). Antibacterial Susceptibility Tests: Dilution and Disk Diffusion Methods. *Manual of Clinical Microbiology*. Murray, P.R., Baron, E.J., Tenover, F.C., Tenover, R.H. 6. Baskı, ASM Press, Washington D.C., Chapter 113.
- 158.** Stokbroekx, R.A., Van der Aa, M.J.M., Willems, J.J.M., Luyckx, M.G.M. (1985). Anti-virally active pyridazinamines. *Eur. Pat. Appl.* (1985), EP 156433 A2 19851002.
- 159.** Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (formerly NCCLS), 940 West Valley Road, Wayne, Pennsylvania, USA, 2008.
- 160.** Sykes, P. (1975). *A Guidebook to Mechanism in Organic Chemistry*. Bungay, Fourth Edition, The Chaucer Press Ltd.

8. EKLER



P-110: SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL EVALUATION OF 6-SUBSTITUTED-3(2H)-PYRIDAZINONE-2-ACETYL-2-SUBSTITUTED BENZAL)HYDRAZONE DERIVATIVES

Zeynep Özdemir¹, Arzu Karakurt¹, Mehtap Gökçe², Berrin Özçelik³

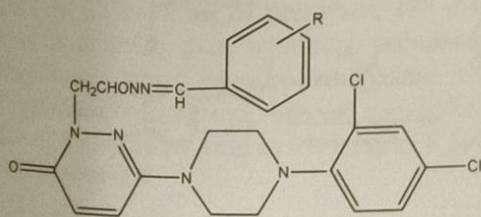
¹Inönü University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, 44280 Malatya, Turkey

²Gazi University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, 06330 Ankara, Turkey

³Gazi University, Faculty of Pharmacy, Department of Microbiology, 06330 Ankara, Turkey

The pyridazinone nucleus has been incorporated into a wide variety of therapeutically interesting molecules to transform them into better drugs. Some of the present day drugs such as emorfazone (analgesic), pimobendan (positive inotropic, vasodilator), levosimendan (calcium sensitizer), imazodan (cardiotonic), zardaverin (cardiotonic) medazonamide (antitussif) are the best examples for potent molecules possessing pyridazinone nucleus. Due to favorable presence a pyridazinone moiety in known active structures, pyridazinone derivatives provoked a special interest in the search for new antibacterial agents. Also, it is well known that the hydrazone group plays an important role for the antimicrobial activity a number of hydrazone derivatives have been claimed to possess interesting antibacterial and antifungal activities. Considering above, we report synthesis of twelve 6-(4-(2,4-dichlorophenyl)piperazine)-3(2H)-pyridazinone-2-acetyl-2-(substituted benzaldehyde) hydrazone derivatives by the condensation reaction of 6-(4-(2,4-dichlorophenyl)piperazine)-3(2H)-pyridazinone-2-acetohydrazides with substituted benzaldehyde derivatives. The structures of these new pyridazinone derivatives were confirmed by their IR, ¹H-NMR spectra and elemental analysis.

Antimicrobial activities of the synthesized compounds were investigated against *Escherichia coli* (ATCC 25922/isolated strain), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145/ isolated strain), *Proteus mirabilis* (ATCC 7002/ isolated strain), *Klebsiella pneumoniae* (RSKK 574/ isolated strain), *Acinetobacter baumannii* (RSKK 02026/ isolated strain), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923/ isolated strain), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212/ isolated strain) ve *Bacillus subtilis* (ATCC 6633/ isolated strain), *Candida albicans* (ATCC 10231) and *Candida krusei* (ATCC 6258).



Com.	R ₁	Com.	R ₁
Va	H	Vg	2-OCH ₃
Vb	4-Br	Vh	3-OCH ₃
Vc	2-Cl	Vi	4-OCH ₃
Vd	4-Cl	Vj	4-N(CH ₃) ₃
Ve	4-F	Vk	4-NO ₂
Vf	4-CH ₃	Vm	2,4,6-OCH ₃

ÖZGEÇMİŞ

Doğum Yılı-Yeri:	1985 - Erzurum			
Yazışma Adresi :	İnönü Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Malatya 44280 Malatya/Türkiye			
Telefon :	0422-3410660/1808			
Faks :	0422-3411217			
e-posta :	zpozdmr@gmail.com / zeynep.bulut@inonu.edu.tr			
EĞİTİM BİLGİLERİ				
Üniversite	Fakülte/Enstitü	Öğrenim Alanı	Derece	Yılı
Gazi Üniversitesi-İnönü Üniversitesi	Eczacılık Fakültesi	Farmasötik Kimya	Doktora	2010-2014
İnönü Üniversitesi	Eczacılık Fakültesi	Farmasötik Kimya	Yüksek Lisans	2007-2010
İnönü Üniversitesi	Eczacılık Fakültesi	Eczacılık	Lisans	2003-2007
AKADEMİK/MESLEKTE DENEYİM				
Kurum/Kuruluş	Şehir	Bölüm/Birim	Görev Türü	Görev Dönemi
İnönü Üniversitesi	Malatya	Eczacılık Meslek Bilimleri	Araştırma Görevlisi	2008-