



ANADOLU ÜNİVERSİTESİ



**YENİ BENZOTİYAZOL TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE ALZHEIMER
HASTALIĞINA KARŞI ENZİM İNHİBİTÖR ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

Şevval KARACA

Eskişehir 2022

**YENİ BENZOTİYAZOL TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE ALZHEIMER
HASTALIĞINA KARŞI ENZİM İNHİBİTÖR ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Şevval KARACA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Ocak 2022

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Şevval KARACA'nın "Yeni Benzotiyazol Türevlerinin Sentezi ve Alzheimer Hastalığına Karşı Enzim İnhibitör Etkilerinin Araştırılması" başlıklı tezi 19.01.2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

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

Prof. Dr. Gülşen AKALIN ÇİFTÇİ
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yeni Benzotiyazol Türevlerinin Sentezi ve Alzheimer Hastalığına Karşı Enzim İnhibitör Etkilerinin Araştırılması

Şevval KARACA

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ocak 2022

Danışman: Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY

Alzheimer hastalığı genellikle davranışsal semptomlar ile bilişsel ve fiziksel işlev kaybı ile karakterize ilerleyici ve nedeni bilinmeyen ölümcül bir demans türüdür. Plakların oluşumuna yol açan β amiloid protein agregasyonu, nörofibriler yumaklara (NFY) yol açan tau proteinlerinin hiperfosforilasyonu, sinaptik yetmezlik ve nörotransmitterlerin tükenmesi, mitokondriyal disfonksiyon ve oksidatif stres mekanizmaları AH'nın nöropatolojik bulguları olarak tahmin edilmektedir. Çeşitli AChE inhibitörleri AH'nın semptomatik tedavisinde kullanılmaktadırlar.

Bu çalışmada; benzotiyazol türevi 14 bileşik sentezlenmiştir. Elde edilen bileşiklerin analizi; IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR ve Mass spektroskopik yöntemleri analiz bulguları ile aydınlatılmıştır. Elde edilen bileşiklerin kolinesteraz ve monoaminoksidaz (MAO) enzimleri üzerindeki inhibisyon etkisi araştırılmıştır. Sentezlenen bileşiklerin hiçbirisi butirilkolinesteraz (BChE) enzimi üzerinde önemli bir aktivite göstermemiştir. Fakat **4a**, **4d**, **4f**, **4h**, **4k** ve **4m** kodlu bileşikler; AChE ve MAO-B enzimleri üzerinde kayda değer etki göstermişlerdir. Ayrıca yüksek etkinlik gösteren bu bileşiklerin A β plak agregasyonu üzerindeki inhibe edici etkisi de araştırılmıştır.

Tez kapsamında AChE ve MAO-B enzim aktif yörelerinin yapısı moleküler modelleme çalışmaları ile aydınlatılmıştır. Seçilen bileşikler için *docking* çalışmaları yapılarak enzim aktif bölgesi ile bağlanma noktaları tespit edilmiştir. AChE ve MAO-B enzim aktif bölgeleri ile en güçlü etkileşimin **4f** kodlu bileşik ile gözlemlendiği ortaya konmuştur.

Anahtar Sözcükler: Benzotiyazol, Alzheimer, Monoaminoksidaz, Asetilkolinesteraz, Docking.

ABSTRACT

Synthesis of Novel Benzothiazole Derivatives and Investigation of Enzyme Inhibitory Effects Against Alzheimer's Disease

Şevval KARACA

Department of Pharmaceutical Chemistry

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, January 2022

Supervisor: Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY

Alzheimer's Disease (AD) is a progressive and fatal form of dementia of unknown cause, characterized by loss of cognitive and physical function, often with behavioral symptoms. β amyloid protein aggregation leading to plaque formation, hyperphosphorylation of tau proteins causing neurofibrillary tangles (NFY), synaptic insufficiency and depletion of neurotransmitters, mitochondrial dysfunction and oxidative stress mechanisms are predicted as neuropathological findings of AD. Various AChE inhibitors are the main stay drugs for the clinical management of AD.

In this study; 14 compounds derived from benzothiazole were synthesized. Analysis of the obtained compounds; IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, HRMS methods have been clarified by the analysis findings. The inhibition effect of the obtained compounds on cholinesterase and monoamineoxidase (MAO) enzymes was investigated. None of the synthesized compounds showed significant activity on butyrylcholinesterase (BChE) enzyme. But **4a**, **4d**, **4f**, **4h**, **4k** and **4m** coded compounds; showed a remarkable effect on AChE and MAO-B. In addition, the inhibitory effect of highly active compounds on A β plaque aggregation was also investigated.

Within the scope of the thesis, the active sites of AChE and MAO-B enzymes have been clarified as structures by molecular modeling studies. For the selected compounds, docking studies were performed and the enzyme active site and binding points were determined. It was revealed that the strongest interaction with AChE and MAO-B enzyme active sites was observed with the **4f** coded compound.

Keywords: Benzothiazole, Alzheimer, Monoamineoxidase, Acetylcholinesterase, Docking.

TEŞEKKÜR

19/01/2022

Tez çalışmamın her aşamasında yardım, yönlendirme, tavsiye ve bilgilendirmeleriyle desteğini, emeğini, ilgisini ve anlayışını hiç eksik etmeyen tez danışmanım Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY'a; yoğun çalışmalarına rağmen zaman ayırıp tezim konusunda yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Zafer Asım KAPLANCIKLI'ya, yaşamımda ve tezimde takıldığım sorunlarda çözümler sunarak yardımcı olup, tezimin her aşamasında bana yol gösteren sevgili hocalarım Doç. Dr. Begüm Nurpelin SAĞLIK'a ve Araş. Gör. Dr. Derya OSMANİYE'ye, laboratuvar çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan kıymetli hocam Öğr. Gör. Serkan LEVENT'e, öğrenim hayatım boyunca üzerimde emeği geçen, eczacılığa ve hayata dair birçok katkıda bulunan diğer tüm hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini her an yanımda hissettiğim, sevgi ve inançlarıyla güven veren, haklarını asla ödeyemeyeceğim annem Fatma KARACA'ya, bu yolculuğa başladığımda en büyük destekçim olsa da bedenen aramızdan ayrılmış olan ama fikirleri zihnimde yer etmiş ve beni hala izlediğine inandığım merhum babam Levent KARACA'ya, bana her koşulda moral veren yüzümü güldüren kardeşim Hilal KARACA'ya, yaşamımda ve tez aşamamda nazımı çeken, kuşkusuz güvenebileceğim ve problemler karşısında beni her türlü destekleyen, hayatımın sonuna kadar yanımda olmasını istediğim arkadaşım Alper ÇİMİK'e tüm kalbimle teşekkür ederim.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

19.01.2022

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

Şevval KARACA

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ BAŞLIĞI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
KISALTMALAR DİZİNİ	xvii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. KAYNAK BİLGİSİ	2
2.1. Alzheimer Hastalığı.....	2
2.1.1. Alzheimer hastalığının tanımı.....	2
2.1.2. Alzheimer hastalığının belirtileri.....	2
2.1.3. Alzheimer hastalığının nedenleri.....	3
2.1.4. Alzheimer hastalığının tedavisi.....	4
2.1.5. Kolinesteraz enzimi ve inhibitörleri	6
2.1.5.1. Donepezil	7
2.1.5.2. Rivastigmin	8
2.1.5.3. Galantamin.....	8
2.1.5.4. Takrin	9
2.1.5.5. Huperzin-A.....	9
2.1.6. Monoaminoksidaz enzimi ve inhibitörleri	10
2.1.6.1. Selejilin	11

2.1.7. Alzheimer tedavisinde araştırılan diğer ilaçlar	12
2.1.7.1. Memantin	13
2.2. Antikolinesteraz Aktivite Çalışmalarına Konu Olmuş Benzotiyazol Türevleri.....	13
2.3. Monoaminoksidaz Enzim Aktivite Çalışmalarına Konu Olmuş Benzotiyazol Türevleri	20
3. GEREÇLER	23
3.1. Kullanılan Maddeler	23
3.2. Kullanılan Cihazlar.....	25
4. YÖNTEMLER	26
4.1. Sentez Çalışmaları.....	26
4.1.1. 4-(Klorometil)benzoil klorür sentezi (Yöntem A)	26
4.1.2. 2-Aminobenzotiyazol türevlerinin sentezi (2a-2b) (Yöntem B).....	26
4.1.3. 4-(Klorometil)-N-(5,6-süstitübenzo[d]tiyazol-2-il)benzamid sentezi (3a-3b) (Yöntem C)	26
4.1.4. Hedef bileşiklerin sentezi (4a-4n) (YöntemD).....	27
4.2. İTK Çalışmaları ve R _f Değerlerinin Saptanması	27
4.3. Erime Noktalarının Tespiti	28
4.4. IR Spektrumlarının Alınması	28
4.5. ¹ H-NMR Spektrumlarının Alınması.....	28
4.6. ¹³ C-NMR Spektrumlarının Alınması.....	28
4.7. Kütle Spektrumlarının Alınması	29
4.8. Biyolojik Aktivite Çalışmaları.....	29
4.8.1. Antikolinesteraz aktivite çalışmaları.....	29
4.8.1.1. AChE ve BChE enzim solüsyonunun hazırlanması.....	29
4.8.1.2. Asetiltiyokolin iyodür (ATC) çözeltisinin hazırlanması (0.075 M).....	30

4.8.1.3. Bütiriltiyokolin iyodür (BTC) çözeltisinin hazırlanması (0.075 M).....	30
4.8.1.4. 5-5-Ditiyobis(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) solüsyonunun hazırlanması (0.01 M)	30
4.8.1.5. Fosfat tamponunun hazırlanması (pH=8.0)	30
4.8.1.6. İnhibitör bileşiklerin çözeltilerinin hazırlanması	30
4.8.1.7. AChE ve BChE inhibisyon çalışması	31
4.8.2. Monoamin oksidaz enzim aktivite çalışmaları	32
4.8.3. Beta amiloid 1-42 (A β 42) inhibitör tarama çalışmaları.....	33
4.9. Moleküler Modelleme Çalışmaları	33
5. BULGULAR ve TARTIŞMALAR	34
5.1. Sentez Çalışmaları.....	34
5.1.1. N-(benzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-metilpiperazin-1-il)metil)benzamid (4a) 34	
5.1.2. N-(benzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-etilpiperazin-1-il)metil)benzamid (4b)	38
5.1.3. 4-((4-allilpiperazin-1-il)metil)-N-(benzo[d]tiyazol-2-il)benzamid (4c).....	42
5.1.4. N-(benzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-(prop-2-in-1-il)piperazin-1- il)metil)benzamid (4d)	46
5.1.5. N-(benzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-izopropilpiperazin-1- il)metil)benzamid (4e).....	50
5.1.6. N-(benzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-(2-(dimetilamino)etil)piperazin-1- il)metil)benzamid (4f)	54
5.1.7. N-(benzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-(3-(dimetilamino)propil)piperazin- 1-il)metil)benzamid (4g)	58
5.1.8. N-(5-metoksibenzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-metilpiperazin-1- il)metil)benzamid (4h)	62

5.1.9. 4-((4-etilpiperazin-1-il)metil)-N-(5-metoksibenzo[d]tiyazol-2-il)benzamid (4i)	66
5.1.10. 4-((4-allilpiperazin-1-il)metil)-N-(5-metoksibenzo[d]tiyazol-2-il)benzamid (4j)	70
5.1.11. N-(5-metoksibenzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-(prop-2-in-1-il)piperazin-1-il)metil)benzamid (4k).....	74
5.1.12. 4-((4-izopropilpiperazin-1-il)metil)-N-(5-metoksibenzo[d]tiyazol-2-il)benzamid (4l)	78
5.1.13. 4-((4-(2-(dimetilamino)etil)piperazin-1-il)metil)-N-(5-metoksibenzo[d]tiyazol-2-il)benzamid (4m)	82
5.1.14. 4-((4-(3-(dimetilamino)propil)piperazin-1-il)metil)-N-(5-metoksibenzo[d]tiyazol-2-il)benzamid (4n).....	86
5.2. Sentez Çalışmalarının Değerlendirilmesi.....	90
5.3. Spektral Verilerin Değerlendirilmesi	91
5.3.1. IR spektrumlarının değerlendirilmesi.....	91
5.3.2. ¹ H-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi	91
5.3.3. ¹³ C-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi	93
5.3.4. Kütle spektrumlarının değerlendirilmesi	93
5.4. Biyolojik Aktivite Çalışmalarının Değerlendirilmesi.....	93
5.4.1. AChE ve BChE enzim aktivite çalışmalarının değerlendirilmesi.....	93
5.4.2. MAO-A ve MAO-B enzim aktivite çalışmalarının değerlendirilmesi	95
5.4.3. Beta Amiloid 1-42 (A β 42) Agregasyonunun İnhibisyonu.....	97
5.5. Moleküler Modelleme Çalışmalarının Değerlendirilmesi	98
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	104
KAYNAKÇA.....	106
ÖZGEÇMİŞ	0

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1. AH'nın evreleri	3
Tablo 5.1. Elde edilen bileşiklerin 10^{-3} ve 10^{-4} M konsantrasyonlarında AChE ve BChE % inhibisyon oranları ve IC_{50} (μ M) değerleri	95
Tablo 5.2. Elde edilen bileşiklerin 10^{-3} ve 10^{-4} M konsantrasyonlarında MAO-A ve MAO-B % inhibisyon oranları ve IC_{50} (μ M) değerleri.....	96

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Aβ plak oluşumu[13]	6
Şekil 2.2. Donepezil İlacının Kimyasal Yapısı	7
Şekil 2.3. Rivastigmin'in Kimyasal Yapısı	8
Şekil 2.4. Galantaminin kimyasal yapısı	8
Şekil 2.5. Takrinin kimyasal yapısı	9
Şekil 2.6. Huperzin-A'nın kimyasal yapısı	10
Şekil 2.7. MAO katalizinin yan ürünü olan H ₂ O ₂ 'nin ROS meydana getirmesiyle AH'na neden olması[13]	11
Şekil 2.8. MPTP toksisitesinde MAO-B inhibitörlerinin hedefi	12
Şekil 2.9. Selejilin'in kimyasal yapısı	12
Şekil 2.10. Memantin'in kimyasal yapısı	13
Şekil 2.11. 2-[2-[4-(4-Metilbenzil)piperazin-1-il]asetilamino]benzotiyazol bileşiğine ait kimyasal yapı	13
Şekil 2.12. N-(4-(Benzo[d]tiyazol-2-il)fenil)-6-(1,2,3,4-tetrahidroakridin-9- ilamino)hekzanamid bileşiğine ait kimyasal yapı	14
Şekil 2.13. 2-((6-nitrobenzo[d]tiyazol-2-il)amino)-2-oksoetil 4-(2- (dimetilamino)etil)piperazin-1-karbohidroat bileşiğine ait kimyasal yapı ...	14
Şekil 2.14. 1-(2-oksobütil)-3-(5-(3,5,6,7,8-pentahidroksi-4-okso-4H-kromen-2- il)benzo[d]tiyazol-2-il)üre bileşiğine ait kimyasal yapı	15
Şekil 2.15. Etil [(1R)-1-(6-floro-1,3-benzotiyazol-2-il)etil]karbamat bileşiğine ait kimyasal yapı	15
Şekil 2.16. N-(5,6-dimethoksibenzo[d]tiyazol-2-il)-2-(4-(2- (dimetilamino)etil)piperazin-1-il)asetamid bileşiğine ait kimyasal yapı ...	15
Şekil 2.17. N-(1-(Benzo[d]tiyazol-2-ilamino)-1-okso-3-(prop-2-iniltio)propan-2-il)-4- (6-kloro-1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-ilamino)bütanamid bileşiğine ait kimyasal yapı	16
Şekil 2.18. N-(6-etoksibenzo[d]tiyazol-2-il)-2-[4-(piridin-4-il)piperazinil]asetamid bileşiğine ait kimyasal yapı	16
Şekil 2.19. N-(3-(benzo[d]tiyazol-2-il)propil)-6-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9- il)amino)hekzanamid bileşiğine ait kimyasal yapı	17

Şekil 2.20. N'-(5-kloro-2-oksoindolin-3-iliden)-2-(6-nitrobenzotiazol-2-ilamino)asetohidrazid bileşiğine ait kimyasal yapı	17
Şekil 2.21. 2-[(((4-(Dietilamino)bütil)amino)metil)tio]-N-(5,6-dimetilbenzo[d]tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait kimyasal yapı	18
Şekil 2.22. 2-(4-(Benzo[d]tiyazol-2-il)-2-metoksifenoksi)-N-(2-((6-kloro-1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)etil)asetamid bileşiğine ait kimyasal yapı.....	18
Şekil 2.23. 4-(benzo[d]tiyazol-2-il)-1-benzilpiridinum bromid bileşiğine ait kimyasal yapı.....	18
Şekil 2.24. 2-[4-(1H-benzimidazol-1-il)fenil]benzo[d]tiyazol bileşiğine ait kimyasal yapı.....	19
Şekil 2.25. 3-Metil-6-[3-(4-benzilpiperazin-1-il)propanoil]benzotiyazol-2(3H)-on bileşiğine ait kimyasal yapı.....	19
Şekil 2.26. N ¹ -(benzo[d]tiyazol-2-il)-N ² -(6-kloro-1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)etan-1,2-diamin hidroklorid bileşiğine ait kimyasal yapı	20
Şekil 2.27. 1-((4-Klorofenil)(fenil)metilen)-4-(6-nitrobenzotiyazol-2-il)semikarbazit bileşiğine ait kimyasal yapı.....	20
Şekil 2.28. N'-(5-Kloro-2-oksoindolin-3-iliden)-2-(6-nitrobenzotiyazol-2-ilamino)asetohidrazid bileşiğine ait kimyasal yapı	21
Şekil 2.29. (E)-N'-(1-(4-Bromofenil)etiliden)-2-((6-nitrobenzo[d]tiyazol-2-il)amino)asetohidrazid bileşiğine ait kimyasal yapı.....	21
Şekil 2.30. 2-((5-Klorobenzo[d]tiyazol-2-il)tiyo)-N-(4-florofenil)-N-(3-nitrobenzil)asetamid bileşiğine ait kimyasal yapı	21
Şekil 2.31. 2-((5-Metoksibenzotiyazol-2-il)tiyo)-N'-(5-nitrotiyofen-2-il)metilen)asetohidrazit bileşiğine ait kimyasal yapı	22
Şekil 2.32. 6-Floro-2-(1-metil-1H-indol-5-il)benzo[d]-tiyazol bileşiğine ait kimyasal yapı.....	22
Şekil 2.33. 2-((2-(2-(4-(4-Nitrofenil)tiyazol-2-il)hidraziniliden)-2-feniletil)tiyo)benzotiyazol bileşiğine ait kimyasal yapı	22
Şekil 4.1. 4-(Klorometil)benzoil klorür sentezi	26
Şekil 4.2. 2-Aminobenzotiyazol türevlerinin sentezi.....	26
Şekil 4.3. 4-(Klorometil)-N-(5,6-süstitübenzo[d]tiyazol-2-il)benzamid sentezi	27
Şekil 4.4. Hedef bileşiklerin sentezi	27
Şekil 5.1. N-(benzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-metilpiperazin-1-il)metil)benzamid (4a).....	34

Şekil 5.2. Bileşik 4a'ya ait IR spektrumu	35
Şekil 5.3. Bileşik 4a'ya ait ¹ H-NMR spektrumu	36
Şekil 5.4. Bileşik 4a'ya ait ¹³ C-NMR spektrumu	36
Şekil 5.5. Bileşik 4a'ya ait kütle spektrumu	37
Şekil 5.6. N-(benzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-etilpiperazin-1-il)metil)benzamid (4b).....	38
Şekil 5.7. Bileşik 4b'ye ait IR spektrumu.....	39
Şekil 5.8. Bileşik 4b'ye ait ¹ H-NMR spektrumu	40
Şekil 5.9. Bileşik 4b'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu	40
Şekil 5.10. Bileşik 4b'ye ait kütle spektrumu.....	41
Şekil 5.11. 4-((4-allilpiperazin-1-il)metil)-N-(benzo[d]tiyazol-2-il)benzamid (4c).....	42
Şekil 5.12. Bileşik 4c'ye ait IR spektrumu	43
Şekil 5.13. Bileşik 4c'ye ait ¹ H-NMR spektrumu	44
Şekil 5.14. Bileşik 4c'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu	44
Şekil 5.15. Bileşik 4c'ye ait kütle spektrumu	45
Şekil 5.16. N-(benzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-(prop-2-in-1-il)piperazin-1-il)metil)benzamid (4d)	46
Şekil 5.17. Bileşik 4d'ye ait IR spektrumu	47
Şekil 5.18. Bileşik 4d'ye ait ¹ H-NMR spektrumu	48
Şekil 5.19. Bileşik 4d'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu	48
Şekil 5.20. Bileşik 4d'ye ait kütle spektrumu	49
Şekil 5.21. N-(benzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-izopropilpiperazin-1-il)metil)benzamid (4e)	50
Şekil 5.22. Bileşik 4e'ye ait IR spektrumu	51
Şekil 5.23. Bileşik 4e'ye ait ¹ H-NMR spektrumu	52
Şekil 5.24. Bileşik 4e'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu	52
Şekil 5.25. Bileşik 4e'ye ait kütle spektrumu	53
Şekil 5.26. N-(benzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-(2-(dimetilamino)etil)piperazin-1-il)metil)benzamid (4f)	54
Şekil 5.27. Bileşik 4f'ye ait IR spektrumu.....	55
Şekil 5.28. Bileşik 4f'ye ait ¹ H-NMR spektrumu.....	56
Şekil 5.29. Bileşik 4f'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu.....	56
Şekil 5.30. Bileşik 4f'ye ait kütle spektrumu	57

Şekil 5.31. N-(benzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-(3-(dimetilamino)propil)piperazin-1-il)metil)benzamid (4g)	58
Şekil 5.32. Bileşik 4g'ye ait IR spektrumu	59
Şekil 5.33. Bileşik 4g'ye ait ¹ H-NMR spektrumu	60
Şekil 5.34. Bileşik 4g'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu	60
Şekil 5.35. Bileşik 4g'ye ait kütle spektrumu	61
Şekil 5.36. N-(5-metoksibenzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-metilpiperazin-1-il)metil)benzamid (4h)	62
Şekil 5.37. Bileşik 4h'ye ait IR spektrumu	63
Şekil 5.38. Bileşik 4h'ye ait ¹ H-NMR spektrumu	64
Şekil 5.39. Bileşik 4h'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu	64
Şekil 5.40. Bileşik 4h'ye ait kütle spektrumu	65
Şekil 5.41. 4-((4-etilpiperazin-1-il)metil)-N-(5-metoksibenzo[d]tiyazol-2-il)benzamid (4i)	66
Şekil 5.42. Bileşik 4i'ye ait IR spektrumu	67
Şekil 5.43. Bileşik 4i'ye ait ¹ H-NMR spektrumu	68
Şekil 5.44. Bileşik 4i'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu	68
Şekil 5.45. Bileşik 4i'ye ait kütle spektrumu	69
Şekil 5.46. 4-((4-allylpiperazin-1-il)metil)-N-(5-metoksibenzo[d]tiyazol-2-il)benzamid (4j)	70
Şekil 5.47. Bileşik 4j'ye ait IR spektrumu	71
Şekil 5.48. Bileşik 4j'ye ait ¹ H-NMR spektrumu	72
Şekil 5.49. Bileşik 4j'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu	72
Şekil 5.50. Bileşik 4j'ye ait kütle spektrumu	73
Şekil 5.51. N-(5-metoksibenzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-(prop-2-in-1-il)piperazin-1-il)metil)benzamid (4k)	74
Şekil 5.52. Bileşik 4k'ye ait IR spektrumu	75
Şekil 5.53. Bileşik 4k'ye ait ¹ H-NMR spektrumu	76
Şekil 5.54. Bileşik 4k'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu	76
Şekil 5.55. Bileşik 4k'ye ait kütle spektrumu	77
Şekil 5.56. 4-((4-izopropilpiperazin-1-il)metil)-N-(5-metoksibenzo[d]tiyazol-2-il)benzamid (4l)	78
Şekil 5.57. Bileşik 4l'ye ait IR spektrumu	79

Şekil 5.58. Bileşik 4l'ye ait ¹ H-NMR spektrumu	80
Şekil 5.59. Bileşik 4l'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu	80
Şekil 5.60. Bileşik 4l'ye ait kütle spektrumu	81
Şekil 5.61. 4-((4-(2-(dimetilamino)etil)piperazin-1-il)metil)-N-(5- meoksibenzo[d]tiyazol-2-il)benzamid (4m)	82
Şekil 5.62. Bileşik 4m'ye ait IR spektrumu	83
Şekil 5.63. Bileşik 4m'ye ait ¹ H-NMR spektrumu	84
Şekil 5.64. Bileşik 4m'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu	84
Şekil 5.65. Bileşik 4m'ye ait kütle spektrumu	85
Şekil 5.66. 4-((4-(3-(dimetilamino)propil)piperazin-1-il)metil)-N-(5- metoksibenzo[d]tiyazol-2-il)benzamid (4n)	86
Şekil 5.67. Bileşik 4n'ye ait IR spektrumu	87
Şekil 5.68. Bileşik 4n'ye ait ¹ H-NMR spektrumu	88
Şekil 5.69. Bileşik 4n'ye ait ¹³ C-NMR spektrumu	88
Şekil 5.70. Bileşik 4n'ye ait kütle spektrumu	89
Şekil 5.71. Hedef bileşiklerin sentezi	90
Şekil 5.72. Ellman metodu reaksiyon mekanizması	94
Şekil 5.73. 4a, 4d, 4f, 4h, 4k ve 4m kodlu bileşiklerin Beta amiloid plak inhibisyonu (%)	98
Şekil 5.74. Bileşik 4f'nin AChE enzim aktif bölgesine yerleşimi	100
Şekil 5.75. Bileşik 4f'nin AChE enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin iki boyutlu görünümü.	100
Şekil 5.76. Bileşik 4f'nin AChE enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin üç boyutlu görünümü (Enzim aktif bölgesindeki amino asitler sarı renkli, bileşik 4f ise mor renkli gösterilmiştir)	101
Şekil 5.77. Bileşik 4f'nin MAO-B enzim aktif bölgesine yerleşimi	102
Şekil 5.78. Bileşik 4f'nin MAO-B enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin iki boyutlu görünümü.	102
Şekil 5.79. Bileşik 4f'nin MAO-B enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin üç boyutlu görünümü (Enzim aktif bölgesindeki amino asitler gri renkli, bileşik 4f ise mor renkli gösterilmiştir)	103
Şekil 5.80. Bileşik 4f'nin MAO-B enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin üç boyutlu görünümünde FAD etkileşimi	103

KISALTMALAR DİZİNİ

A β	: Beta amiloid
ACh	: Asetilkolin
AChE	: Asetilkolinesteraz
AH	: Alzheimer Hastalığı
APP	: Amiloid öncü protein
ATC	: Asetiltiyokolin iyodür
ATR	: Azaltılmış Toplam Refleksiyon
BChE	: Bütirilkolinesteraz
BTC	: Bütiriltiyokolin iyodür
CAS	: Katalitik aktif bölgesi
ChEI	: Kolinesteraz inhibitörü
¹³ C-NMR	: Karbon nükleer manyetik rezonans
DMF	: Dimetilformamit
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DMSO- <i>d</i> ₆	: Dötorodimetilsülfoksit
DTNB	: 5-5'-Ditiyobis(2-nitrobenzoik asit)
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
E.n.	: Erime noktası
ESI	: Elektron Sprey İyonizasyon
FDA	: Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi
¹ H-NMR	: Proton Nükleer Magnetik Rezonans
HRMS	: Yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi
IC ₅₀	: %50 İnhibisyon konsantrasyonu
IR	: Kırmızı ötesi
İTK	: İnce tabaka kromatografisi
J	: Eşleşme sabiti
m/z	: Kütle/yük
MAO	: Monoamin oksidaz
MAO-A	: Monoamin oksidaz A
MAO-B	: Monoamin oksidaz B

MMDD	: Mini-Mental Durum Değerlendirmesi
MPTP	: 1-Metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin
MSS	: Merkezi sinir sistemi
NFY	: Nörofibriler yumak
NMDA	: N-metil-D-aspartik asit
NMPA	: Çin Halk Cumhuriyeti Ulusal Tıbbi Ürünler İdaresi
PAS	: Periferik bağlanma bölgesi
PEA	: Feniletilamin
PH	: Parkinson Hastalığı
SP	: Single precision
TEA	: Trietilamin
THF	: Tetrahidrofuran
TMS	: Tetrametilsilan
Vmaks	: Maksimum frekans
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Alzheimer hastalığı (AH) ilerleyici bir nörodejeneratif hastalıktır ve demansın önde gelen nedenidir [1]. AH’da, nörodejeneratif lezyonlar ve eşlik eden anormal nörotransmisyon nedeniyle beynin normal işleyişi engellenmektedir [2]. Patofizyolojik açıdan AH, nörotransmitter sistemlerinin bozulması, amiloid beta ($A\beta$) ve tau proteinlerinin toplanması, oksidatif stres, derin nöroinflamasyon ve diğer birçok patolojik değişiklik ile karakterize nörodejeneratif bir hastalıktır. Hastalıktan etkilenen ana nörotransmitter sistemi, kolinerjik sistemdir ve donepezil, rivastigmin ve galantamin kolinesteraz inhibitörü olarak işlev gören ilaçlardır. N-metil-D-aspartik asit (NMDA) reseptörlerinin antagonisti ve dolayısıyla glutamaterjik sistemin modülatörü olan kolinesteraz inhibitörleri (ChEI) ve memantin, AH için mevcut tedavi seçeneklerini oluşturmaktadır. Bu ilaçların ortak kusuru, sınırlı etkinlikleridir ve birkaç semptomu iyileştirirken hastalığın ilerlemesini durduramamaktadırlar. Bunun nedenlerinden biri, bu ilaçların “tek ilaç-bir hedef” paradigmasına göre geliştirilmiş olmaları olabilir. AH gibi çok faktörlü hastalıkların etkili tedavisi çok işlevli ligandlar (çoklu hedefe yönelik ligandlar) aracılığıyla mümkün olabilir. Birkaç aktiviteyi tek bir molekülde birleştiren bu tür ligandlar, birkaç ilacın birlikte uygulanmasından kaynaklanan potansiyel olarak tehlikeli etkileşim riskini azaltır ve şu anda medisin al kimyacılar arasında büyük ilgi görmektedir [3]. Amiloid patolojisi, tau patolojisi, kolinerjik veya diğer nörotransmitter eksiklikleri, oksidatif stres veya biyometal dishomeostaz gibi belirli bir hastalık mekanizmasına yönelik yirmi yıllık sonuçsuz ilaç keşfi çabaları söz konusudur. Bu karmaşık çok faktörlü hastalık önümüzdeki süreçte de çoklu anahtar AH hedeflerinin veya patolojik olayların eşzamanlı modülasyonunu sağlayan çok hedefli ilaçların/ilac kombinasyonlarının geliştirilmesini içerecektir. Farklı farmakoforların hibridizasyonu ile çok hedefli bileşiklerin tasarımı, son on beş yılda üstel bir büyüme yaşamıştır ve çok yoğun araştırmaların odak noktasıdır [4]. Bu bağlamda, bu çalışmada, potansiyel ChE ve MAO enzim inhibisyon aktiviteleri ve enzimlerin aktif bölgelerine bağlanma özellikleri göz önünde bulundurularak; benzotiyazol ve piperazin halka sistemlerini aynı kimyasal yapıda içeren, on dört yeni bileşiğin tasarımı, sentezi ve bileşiklerin biyolojik aktivitelerinin araştırılması hedeflenmiştir.

2. KAYNAK BİLGİSİ

2.1. Alzheimer Hastalığı

2.1.1. Alzheimer hastalığının tanımı

Alzheimer hastalığı (AH) biliş, davranış ve fonksiyonel durumu etkileyerek kademeli olarak ilerleyen nörodejeneratif bir hastalık olarak ilk defa 1907 yılında Alois Alzheimer tarafından tanımlanmıştır [5]. AH, hastaları ve ailelerini etkileyen, yaşa bağlı kronik bir hastalıktır [6]. AH, yaşlılar arasında en sık görülen demans türüdür [4]. Demansın en yaygın nedeni olan AH, beyin hücrelerinin ölümü, ilerleyici hafıza kaybı ve bilişsel işlev bozukluğu ile karakterizedir [7]. Şu anda dünya çapında 30 milyondan fazla insan AH'dan muzdariptir [8]. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre, dünya genelinde >35,6 milyon insan AH ile yaşamaktadır. Bu sayının 2030'da 65,7 milyona; 2050'de 115,4 milyona çıkabileceği tahmin edilmektedir [9]. Giderek yaşlanan bir nüfusa yönelik demografik eğilimle birlikte, bu yaşa bağlı bozukluğun önümüzdeki yıllar için öngörülen prevalans rakamları gerçekten endişe vericidir ve etkili bir tedavi veya durdurma yeteneğine sahip bir ilaç olmadığı sürece ölüm ve ekonomik yük gibi diğer yakından ilişkili faktörler kaçınılmaz olacaktır [4].

2.1.2. Alzheimer hastalığının belirtileri

Hastalarda bilişsel gerileme kademelidir. Hastalığın tipik seyri hafızada azalma, dil ve konuşma sorunları, zaman - mekân oryantasyon bozukluğu ve kişilik değişiklikleri ile kendini gösterir. Bu semptomlara sıklıkla hiperaktivite, psikoz, depresyon, anksiyete, agresyon, apati gibi çok çeşitli davranışsal ve psikolojik demans semptomları, koopere olamama, dalgın şekilde gezinme ve sürekli mücadele hali eşlik etmektedir ve bu gibi durumlar Alzheimerli hastaların ve bakıcılarının yaşam kalitesini önemli ölçüde kötüleştirmektedir [3]. Hastalar giderek artan bir şekilde kendileri ile ilgilenemez hale gelirler. Tablo 2.1'de AH'nın evreleri gösterilmektedir.

Folstein ve diğerleri tarafından 1975'te geliştirilen Mini-Mental Durum Değerlendirmesi (MMDD) testinde değerlendirilen alanlar; yönelim, kayıt hafızası, dikkat-hesaplama, hatırlama ve lisandan oluşmaktadır. MMDD'de zaman içinde hastalığın şiddetinde meydana gelen değişimi değerlendirmek için başlangıçtaki iki veya daha fazla biliş alanında eksiklik öyküsü oluşturulmasına yardımcı olabilmektedir. Tedavi edilmeyen bir hastada, beklenen azalma yılda ortalama 2-4 puan arasındadır [10].

Tablo 2.1. AH'nin evreleri

Evre	Belirtiler
Hafif (MMDD skoru 26-21)	Hasta son olayları hatırlamakta güçlük çeker. Finans yönetimi, yiyecek hazırlama ve diğer ev işlerini yürütme becerisi azalır. Taşıt sürme sırasında kaybolabilir. Zorlu görevlerden kaçınmaya başlayabilir.
Orta (MMDD skoru 20-10)	Hasta günlük yaşam aktivitelerinde yardıma ihtiyaç duyar. Zaman (tarih, yıl, mevsim) ile ilgili sık sık şaşırır. Son olayları hatırlama ciddi şekilde zayıflamıştır. Geçmiş yaşamın bazı ayrıntıları ile ailesinin isimlerini unutabilir. İşlev görme becerisi günden güne dalgalanma gösterir.
Şiddetli (MMDD skoru 9-0)	Hasta konuşma yürüme ve kendi kendine beslenme becerilerini kaybeder. İdrar ve feçes kaçırır. Haftada 7 gün, günde 24 saat bakım gerektirir.
(MMDD, Mini-Mental Durum Değerlendirme)	

2.1.3. Alzheimer hastalığının nedenleri

AH'nin kesin nedeni belirsizliğini korumaktadır ve AH patomekanizmasıyla ilgili önemli miktarda veri hastalığın çok faktörlü yapısını göstermektedir [2]. Araştırmaların derinleşmesiyle, A β peptidi, α -sinüklein ve Tau gibi merkezi sinir sistemindeki (MSS) bazı spesifik proteinlerin anormal toplanması, ailesel genetik mutasyonlar ve çevresel değişimin neden olduğu beyindeki lezyonlar gibi birçok patojenik mekanizma tartışılmıştır.

AH her yıl çok sayıda birey, topluluk ve sağlık sistemi üzerinde büyük bir bedel ödetmektedir. Bu nedenle, yeni terapötik stratejiler geliştirmek esastır. A β oligomerleri, hiperfosforile Tau proteinleri, mitokondriyal disfonksiyon ve oksidatif stres gibi AH patogenezinin hipotezleri mevcut olsa da hastalığın patogenezi hala belirsizdir. Bununla birlikte, AH, çeşitli konformasyonlarda A β agregatlarının birikmesi, esas olarak hiperfosforile edilmiş Tau proteini tarafından oluşturulan filamentli intranöronal inklüzyonlar ve sinaptik disfonksiyon ve nöronal kayıp ile karakterize edilebilmektedir [1]. AH'da yer alan önerilen moleküler mekanizmalar arasında “amiloid hipotezi”, beyinde nörotoksik A β oligomerlerinin birikmesinin AH patogenezi anahtar moleküler olay olduğunu belirtir; bu birikim, yönlendirilmiş tedaviler için en umut verici hedef olarak kabul edilmiştir. Bu nedenle, son 20 yılda, A β üreten enzimleri inhibe ederek, agregasyonu önleyerek veya A β 'nın beyinden temizlenmesini artırarak hastalarda A β monomerleri, oligomerleri, agregatları ve plaklarının seviyelerini azaltmak için çaba

sarf edilmektedir. Ne yazık ki, bu yaklaşımlar klinik deneylerde kesin bir etkinlik göstermede başarısız olmuştur. Son zamanlarda, bir A β antikoru olan aducanumab, ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından bir A β -temizleme tedavisi olarak AH için hızlandırılmış onay almıştır. Amiloidi beyinden uzaklaştırmanın, erken evre AH olan kişilerde bilişsel ve fonksiyonel düşüşü azaltmak için makul olduğunu gösteren ilk terapidir. Bu nedenle, A β peptitlerinin birikiminin, hastalığın herhangi bir semptomu ortaya çıkmadan on yıllar önce başladığı düşünüldüğünde, erken evre alzheimer hastaları için antiamiloid tedaviler uygulanabilir bir yaklaşım olarak kabul edilmektedir. Ayrıca, çok sayıda A β fibrilleri ve oligomerleri nörotoksiktir; bu nedenle, toksik A β türlerinin spesifik formlarının hedeflenmesi, AH için hastalık modifiye edici bir tedavi sağlayabilmektedir [7].

AH'na karşı çok işlevli ligandların geliştirilmesinde kullanılan hedeflerin çoğunluğunda, kolinerjik sistem ve özellikle ChE'lar klinik olarak doğrulanmış bir yaklaşım olarak kabul edilir ve birçok araştırma projesinde yaygın olarak kullanılır. Bilinen iki kolinesteraz, asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE)'dir. AH'dan etkilenen beyinlerde, normal koşullar altında ACh hidrolizinden sorumlu ana enzim olan AChE miktarı azalırken, BChE konsantrasyonu korunur, hatta yükselebilmektedir. AH'daki kolinerjik işlev bozukluğunun kesin nedeni bilinmemekle birlikte giderek artan sayıda kanıt, kolinerjik işlev bozukluğu ile A β dahil olmak üzere AH'nın diğer patofizyolojik özellikleri arasında karmaşık ve karşılıklı etkileşimler olduğunu ima etmektedir [3]. Bu alanda daha fazla teorik araştırma ve deneysel destek hala eksiktir. Klinik aşamada başarıyla kullanılan birkaç terapötik ilaç vardır [6].

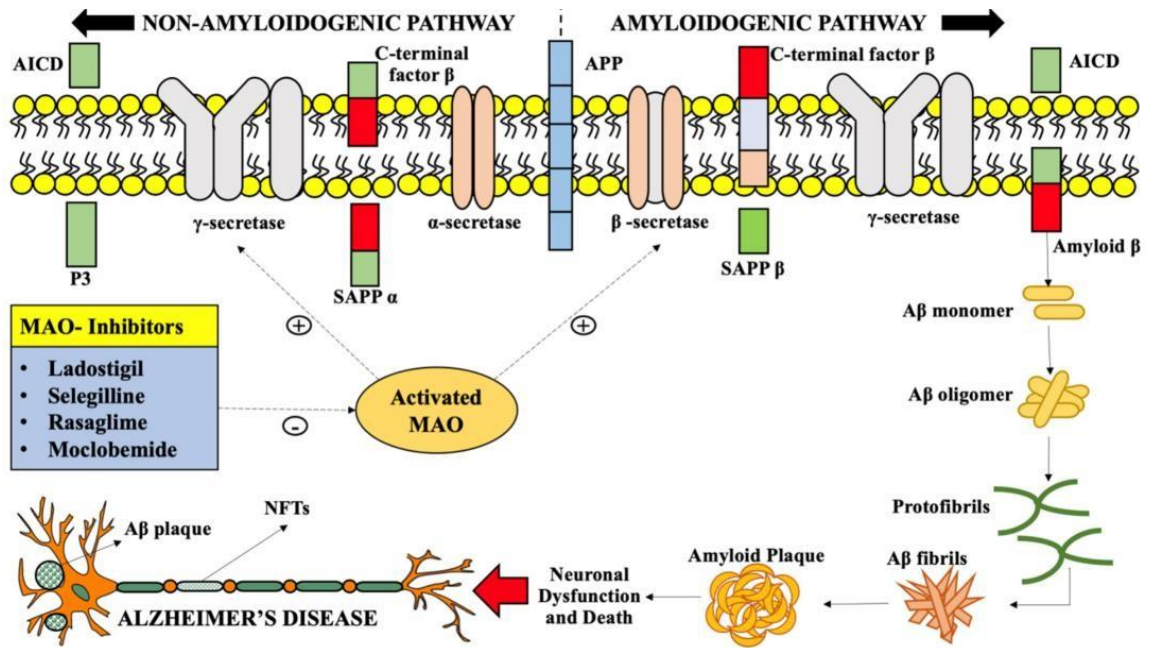
2.1.4. Alzheimer hastalığının tedavisi

AH'nın dramatik sosyoekonomik etkisinin dönüm noktası, şu anda mevcut birkaç ilacın semptomatik etkilerinin ötesine geçerek, nörodejenerasyonun altında yatan mekanizmalara vuran yeni ilaçların keşfi olacaktır [4]. Son teknoloji tedaviler yalnızca AH semptomlarını hafifletebilmekte, ancak AH'nı tamamen durduramamakta veya iyileştirememektedir [8]. AH'na karşı yeni terapötik yaklaşımların araştırılması acil bir konudur. Bunun nedeni, mevcut tedavilerin ortak kusuru, AH'nın ilerlemesini durduramaması hatta yavaşlatamaması ve AH'dan muzdarip hasta sayısının hala artmakta olmasıdır. AH hastalarının bakım maliyetlerinin getirdiği büyük ekonomik etkinin yanında, AH'dan etkilenen bireylerin çektiği acı ve yeterli bakımın sağlanmasındaki

zorluklarla ilişkili derin bir insani boyutu da vardır [3]. Uyku bozuklukları, dalgın şekilde yürüme, idrar ve feçes kaçırma, ajitasyon ve agresyon mümkünse davranışsal ve çevresel müdahalelerle yönetilmelidir. Örneğin, hastanın dikkatini yeniden başka bir yöne yönlendirilmelidir, stres etkeni ve tetikleyiciler ortadan kaldırılmalıdır. İlk tanıda hasta ve hasta bakıcıları, hastalığın seyri, mevcut tedaviler, yasal kararlar, gerekli olacak yaşam biçimi değişiklikleri ve diğer yaşam kalitesi sorunları konusunda eğitilmelidirler. Hastalığın farmakolojik tedavisinde ise geçtiğimiz on yıllar boyunca A β , AH'nın ilaç geliştirmesinde baskın bir rol oynamıştır. Bununla birlikte, umut verici A β ile ilişkili ilaç adaylarının neredeyse tamamı klinik deneylerde başarısızlık olarak bildirilmiştir [8]. FDA onaylı klinik olarak AH tedavisi için AChE inhibitörleri ve NMDA reseptör antagonisti dahil dört ilaç kullanılmaktadır. FDA tarafından onaylı, sinapslarda asetilkolin düzeylerini artıran ve sinir iletimini artıran AChE inhibitörlerinden; **donepezil**, **rivastigmin**, **galantamin**, takrin (piyasadan çekilmiştir) ve huperzin-A (Çin Ulusal Tıbbi Ürünler İdaresi (National Administration of Medicinal Products - NMPA) tarafından onaylanmıştır), NMDA reseptör antagonisti olan **memantin** hastalığın semptomlarını gidermek için günümüzde aktif olarak kullanılmaktadır [7]. AH için piyasada bulunan ilaçlar yalnızca semptomların iyileştirilmesinde rol oynar ve büyük ölçüde hastaya bağımlıdır. Bu ilaçların yanı sıra “Aduhelm[®]” (aducanumab), Biogen ve Eisai ilaç şirketleri tarafından, A β 'yı hedefleyen bir antikör olarak piyasaya çıkmıştır ve Haziran 2021'de FDA tarafından hızlandırılmış onay yolu altında onaylanmıştır. AH tedavisi için “varsayılan hastalık modifiye edici” mekanizmaya sahip ilk ilaç olan Aduhelm[®]'in FDA onayı, makul derecede şüphecilik ve tartışmalarla karşılanmıştır. 2003'ten bu yana, başka hiçbir “varsayılan hastalık modifiye edici” ilaç veya AH için yeni semptomatik tedavi düzenleyici ilaç onay almamıştır. Mevcut AH tedavi hattında 28'i faz III, 74'ü faz II ve 24'ü faz I klinik denemelerinde olmak üzere 126 ajan bulunmaktadır. Araştırmalardaki ilaçların çoğu (%82,5), hastalık modifikasyonu amacıyla AH'nın altında yatan biyolojiyi hedef almaktadır. AH'daki ilaç geliştirmede başarısızlığının birçok açıklamasından biri, klinik faz I seviyesine ulaşan ilaç keşif yaklaşımlarında yeni kimyasal moleküllerin eksikliğidir [1].

AH'nın beyindeki patolojik özellikleri, A β peptid kümelerinden ve hiperfosforile edilmiş Tau proteininden oluşan NFY'den oluşan senil plaklardır. A β birikimi semptomların başlamasından yaklaşık 20 yıl önce başladığından, AH'nın ilk tetikleyicisi olarak kabul edilebilmektedir. A β , amiloid öncü proteinin (APP) iki aspartik proteaz, β -

sekretaz (BACE1, APP parçalama enzimi 1) ve γ -sekretaz tarafından bölünmesiyle üretilir. BACE1 bölünmesi $A\beta$ üretiminin hız sınırlayıcı adımı olduğundan, BACE1 inhibisyonunun AH tedavisi olarak $A\beta$ ve senil plakları azaltması beklenir. 8 çeşitli BACE1 inhibitörü bildirilmiştir, bunlardan bazıları klinik çalışmalarda incelenmiştir, örneğin lanabecestat (AZD3293), verubecestat (MK-8931), elenbecestat (E-2609), atabecestat (JNJ-54861911). Ancak henüz terapötik bir ajan mevcut değildir [11]. Bununla birlikte, MAO enzimi, β -sekretaz ve γ -sekretaz aktivitesini artırmaktadır. Dolayısıyla MAO inhibitörleri kullanılarak amiloid plakların oluşumu, Şekil 2.1'de gösterildiği gibi kısıtlanabilmektedir[12].



Şekil 2.1. $A\beta$ plak oluşumu[13]

2.1.5. Kolinesteraz enzimi ve inhibitörleri

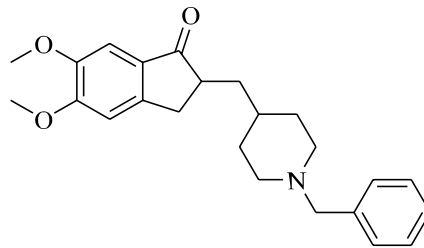
AH'nın kesin nedeni hala belirsizdir. İzoprenoid değişimi ve tau, amiloid, kalsiyum ve kolinerjik hipotezler öne sürülmüştür. Kolinerjik hipotez çok dikkat çekmiştir ve araştırmacılar, AChE'ın AH için en umut verici hedef olduğuna inanmaktadır. Beyinde, nörotransmitter ACh hafıza eksiklikleri ile ilişkilidir, bu nedenle normal bir ACh seviyesinin korunması, sinaptik boşlukta kolinerjik sinyallerin iletilmesi için çok önemlidir. AChE'nin ana fizyolojik işlevi ACh'i hidrolize etmektir. AChE inhibitörleri, ACh'in normal etkilerini sürdürmek için hidrolizini önlemekten sorumludur. Sonuç

olarak, yüksek AChE inhibe edici aktiviteye, düşük toksisiteye ve yan etkilere sahip yeni bir AChE inhibitörleri bulmak önemlidir [9].

Bir nörotransmitter olarak ACh'i kullanan kolinerjik nöronlar her yerde bulunur ve öğrenme ve hafıza dahil olmak üzere çeşitli yüksek beyin işlevlerinde yer almaktadır. Kortekse ve hipokampusu yansılar ve esas olarak bazal ön beyinden kaynaklanmaktadır. AH'nın sırasıyla erken ve geç evrelerindeki hastalar, önemli bazal ön beyin disfonksiyonu ve kolinerjik nöron kaybı göstermektedir. Bu tür kolinerjik eksiklikler, ACh'i artırarak veya postsinaptik bölgelerdeki ACh reseptörünün agonistik aktivasyonu ile farmakolojik potansiyel olarak giderilebilmektedir. AChE inhibitörleri yalnızca semptomatik rahatlama sağlasa da bilişsel bozukluk, AH ve Parkinson hastalığı (PH) için birinci basamak tedaviler olmaya devam etmektedir. Bu nedenle, ilaç geliştirme için AChE inhibitörlerinin araştırılması devam etmektedir. AChE'nin enzimatik cebi, yeni inhibitörlerin tasarımı için hedeflenen ayırt edici ve iyi çalışılmış bir yapıdır. AChE'nin periferik ve katalitik alanları 2 uzaysal bölgede bulunur. Buna göre, etkilerini daha verimli bir şekilde uygulamak için bu bölgeleri aynı anda bağlamak üzere birkaç hibrit ve dimerik molekül tasarlanmıştır. Takrin, donepezil ve huperzin-A gibi mevcut AH ilaçları ile antioksidanları ve flavonoidleri dahil etme stratejileri bu amaçla kullanılmıştır. Bu nedenle, bu dimerizasyon stratejisinin kullanılmasının AChE inhibitörlerinin potensini ve özgüllüğünü artırması beklenmektedir [14].

2.1.5.1. Donepezil

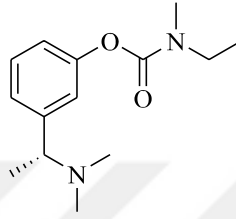
Donepezil, 1-indanon iskelesinden (C₉H₈O) türetilen beş üyeli bir siklik ketondur. AH'na bağlı demansı tedavi etmek için klinik olarak bir AChE inhibitörü olarak kullanılır. MSS'nin kolinerjik nöronlarının kaybı, bilişsel bozulmanın şiddeti ile ilişkilidir. Donepezil, ACh'in hidrolizini önleyen AChE enzimini bağlar ve geri dönüşümlü olarak etkisiz hale getirir ve kolinerjik sinapslarda artan ACh konsantrasyonlarına neden olur ve gelişmiş biliş ile bazı semptomları iyileştirir [15].



Şekil 2.2. Donepezil İlacının Kimyasal Yapısı

2.1.5.2. Rivastigmin

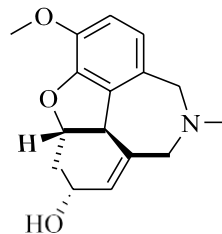
Rivastigmin hem AChE'ı hem de BChE'ı inhibe eden bir kolinesteraz inhibitörüdür. Oral rivastigminin etkinliği, 3000'den fazla Alzheimer hastasını ve 500 Parkinson hastasını içeren önemli klinik çalışmalarda gösterilmiştir. Rivastigmin küçük bir moleküldür (<400 Dalton). Hem lipofilik hem de hidrofiliktir. Bu özellikler, rivastigminin deriden kan dolaşımına ve kan-beyin bariyerinden de kolayca geçebileceği anlamına gelmektedir [16].



Şekil 2.3. Rivastigmin'in Kimyasal Yapısı

2.1.5.3. Galantamin

Donepezil ve rivastigmin şu anda AChE enzimini hedefleyen hafif- orta dereceli AH tedavisi için kullanılan FDA onaylı iki ilaçtır. Ancak her ikisinin de mide bulantısı, ishal, iştahsızlık, senkop, karın ağrısı ve kusma gibi çeşitli yan etkileri bulunmaktadır. Bu nedenle bilim adamları, bu ilaçlardan çok daha az yan etki ile daha fazla etkinlik sağlayabilecek daha etkili ajanlar aramaktadırlar. Doğal ajanlar genellikle sentetik kimyasallardan daha güvenli olduğundan, bilim adamları potansiyel anti-AChE ajanlar için doğal kaynaklara da odaklanmışlardır. Galantamin, *Galanthus woronowii*'den izole edilen ve onaylanmış kimyasal ilaçlarla birlikte AH tedavisi için kullanılan bir ilaçtır. Ancak bu ilaçların hiçbirisi AH'nın ilerlemesini veya gelişimini durduramamaktadır [17].

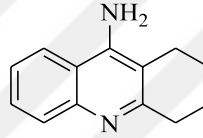


Şekil 2.4. Galantaminin kimyasal yapısı

2.1.5.4. Takrin

Takrin etkili bir AChE inhibitörüdür ve daha önce AH tedavisi için kullanılmıştır. Ancak takrin hepatotoksisite nedeniyle piyasadan çekilmiştir. Takrin, çoklu hedefe yönelik ligandların geliştirilmesi için bir öncü olarak kullanılabilir. Takrin bazlı çoklu hedefe yönelik ligandların geliştirilmesinde aşağıdaki yöntemlere odaklanılabilmektedir:

- 1) Öncelikle serbest primer amin grubunu değiştirerek hepatotoksisitenin azaltılması,
- 2) Katalitik aktif bölge (CAS) ve periferik bağlanma bölgesi (PAS) üzerinde aynı anda etki ederek AChE inhibisyonunun yükseltilmesi,
- 3) Spesifik inhibitörleri bağlayarak diğer antialzheimer hedeflerinin dahil edilmesi [18].

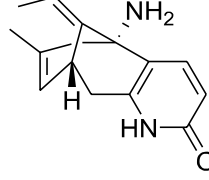


Şekil 2.5. Takrinin kimyasal yapısı

2.1.5.5. Huperzin-A

Huperzin-A, *Huperzia serrata* isimli tıbbi bitkinin kimyasal içeriğinde bulunan seskiterpen bir alkaloittir. Huperzin-A, AChE üstüne kuvvetli ve selektif inhibitör aktivitesinin keşfinden sonra sinir bilimcilerin dikkatini çekmiştir. Huperzin-A'nın farmakolojik etkilerine ilişkin prelinik çalışmalar bu alkaloidin β -amiloid protein, hidrojen peroksit, staurosporin ve glutamat gibi ajanlarla ya da iskemi ile indüklenmiş olan toksisiteye karşı güçlü nöroprotektif etkilere sahip olduğuna işaret etmiştir. Elde edilen bulgular, Huperzin-A'nın AChE inhibitörü, nöroprotektif ve nörogenezi destekleyici aktiviteleri sebebiyle çoklu etki mekanizmasına sahip bir molekül olduğu görüşünü doğurmuştur. In vivo çalışmalar Huperzin-A'nın çeşitli deneysel modeller ile indüklenen kognitif bozukluklara karşı nootropik etkinliğe sahip bulunduğunu ortaya koymuştur. Klinik incelemelerden elde edilmiş veriler de Huperzin-A'nın yaşlılık, AH, serebrovasküler vaka veya psikotik rahatsızlık şeklinde çeşitli nedenlerden meydana gelen bilişsel bozuklukların tedavisi için etkili bir ajan olabileceğine işaret etmiştir. Güçlü ve çok yönlü etki potansiyeline ve düşük yan etki profiline rağmen Huperzin-A, AH'nın semptomatik tedavisi için sadece Çin Halk Cumhuriyeti'nde NMPA tarafından ruhsatlandırılmıştır. Huperzin-A'nın AH tedavisi için zaten sınırlı sayıda olan ilaçların

arasına potent, güvenli ve düşük maliyetli yeni bir alternatif olarak eklenebilmesi için, bu ajanın etkililiğini ve uzun dönem tedavinin güvenilirliğini doğrulayacak iyi tasarlanmış klinik araştırmalara gereksinim duyulmaktadır [19].



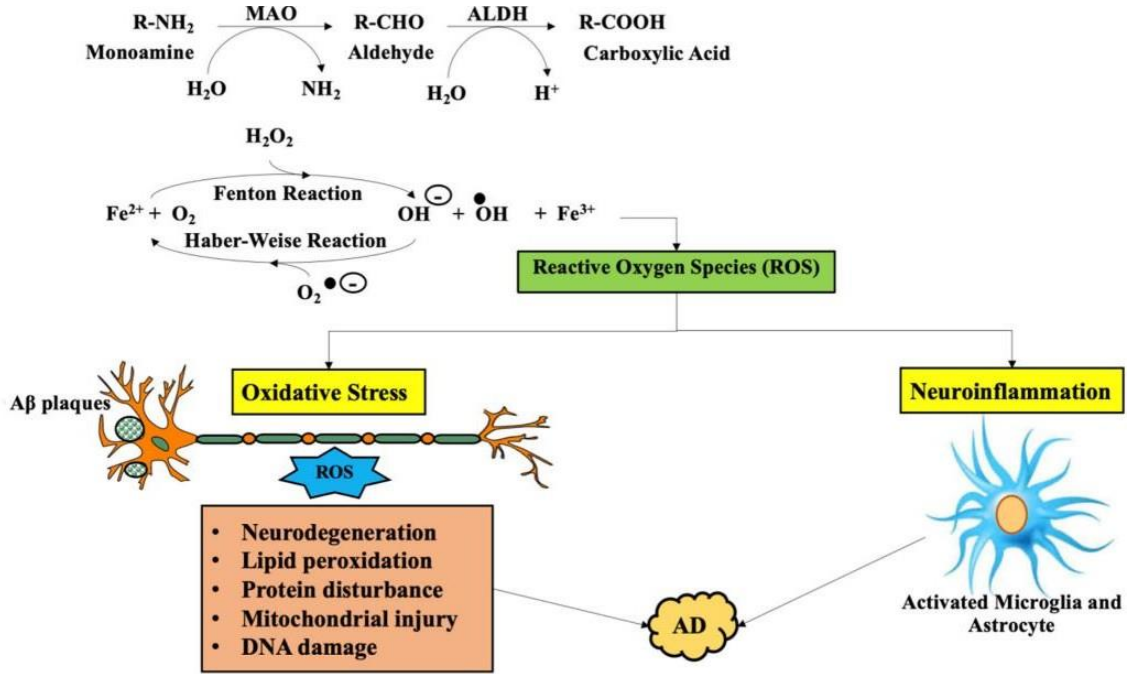
Şekil 2.6. Huperzin-A'nın kimyasal yapısı

2.1.6. Monoaminoksidaz enzimi ve inhibitörleri

Monoamin oksidazlar (MAO'lar), farklı MSS bozuklukları için bilinen bir ilaç hedefidirler. MAO'lar, dış mitokondriyal membrana bağlı memeli flavoenzimleridir ve katekolaminler ve serotonin katabolizmasından sorumlu iki izoform A ve B'den (MAO-A ve MAO-B) meydana gelmektedir. Her iki izoform da depresyon, alzheimer ve parkinson gibi çeşitli nörolojik bozuklukların etiyolojisinde rol oynar. Norepinefrin, epinefrin ve dopamin, MAO-A için tercih edilen substratlardır; bu izoform aynı zamanda serotoninin parçalanmasını da katalize eder. Bu nedenle, hidrazin türevleri veya moklobemid gibi MAO-A inhibitörleri, depresyonun farmakoterapisinde kullanılır [20]. MAO-A, serotonin ve norepinefrin için daha yüksek bir afinite sergilerken, MAO-B feniletilamin (PEA) tercih eder. Dopamin, triptamin ve tiramin metabolizmaları her iki izoform tarafından üretilse de dopamin esas olarak kemirgen beyinde MAO-A tarafından parçalanırken, MAO-B insanlarda dopamin metabolizmasından sorumludur. MAO-A, klorgilin tarafından seçici olarak inhibe edilirken MAO-B, selegilin (l-deprenil) tarafından inhibe edilir. Beyin nörotransmitter seviyeleri, PH ve AH dahil olmak üzere çeşitli nörolojik hastalıkların patolojisi ile ilişkili olduğundan ve MAO, beyindeki bu nörotransmitterlerin düzenlenmesinde kritik bir rol oynadığından, MAO izoformları umut verici ilaç hedefleri olarak görünmektedir [21].

Enzimin her iki formu da nöronal apoptoz indükleyicileri olarak bilinen metabolitler olan 3,4-dihidroksifenilglisikolaldehit ve 3,4-dihidroksifenilasetaldehit üretiminde yer alır. MAO katalizinin bir yan ürünü olan hidrojen peroksit (H₂O₂), mitokondride toksik reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuyla ilgilidir; Selegilin (L-deprenil) veya rasagilin gibi MAO-B inhibitörleri, katabolizmasını önlemek ve merkezi dopamin düzeylerini artırmak için L-dopa ile kombinasyon halinde kullanılır. Hem

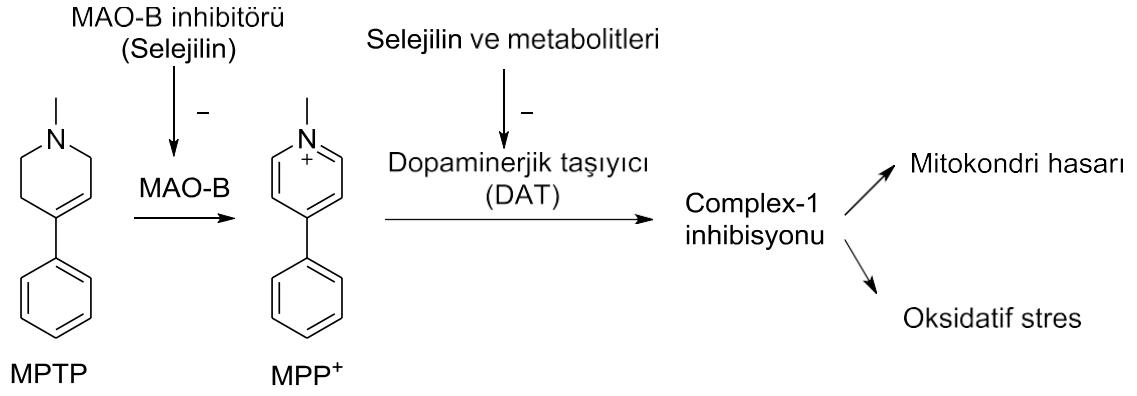
MAO-A hem de MAO-B inhibitörleri, bu enzimler tarafından üretilen oksidatif stresi azaltır ve genel nöroprotektif etkiler gösterir [20]. Oksidatif stresin artmasına sebep olan MAO-B enziminin inhibitörü olan selejilin AH tedavisinde kullanılabilmektedir [22].



Şekil 2.7. MAO katalizinin yan ürünü olan H₂O₂'nin ROS meydana getirmesiyle AH'na neden olması[13]

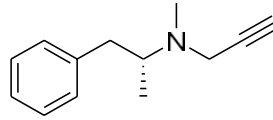
2.1.6.1. Selejilin

Selejilin, deprenilin molekülünün R-(-)-izomeridir. Deprenil ilk olarak psişik bir enerji verici olarak sentezlenmiştir, antidepresan etkileri için test edilmiş ve daha sonra 1960'larda geri dönüşü olmayan bir MAO inhibitörü olarak nitelendirilmiştir. Daha sonra selejilin olarak adlandırılarak daha güçlü MAO inhibitörü olarak tanımlanmıştır. 1968'de Johnston, enzimin heterojen olduğunu ve klorjilin tarafından daha güçlü bir şekilde inhibe edilen izoformun MAO-A olarak adlandırıldığını keşfetmiştir. Selejilin, antidepresan aktiviteden yoksundur. Tercihen MSS'deki dopamin yıkımını azalttığı için 1975 yılından itibaren PH'nın tedavisinde önem kazanmıştır. Selejilin'in oksidatif stresi azaltabildiği ve nörotoksin olan 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridinin (MPTP) dopamin tüketen etkisini önleyebildiği bulunmuştur. Şekil 2.8'de gösterildiği üzere MAO-B'nin MPP⁺ oluşturmasıyla mitokondrideki Complex-1'i inhibe edilir. Bu inhibisyon ROS üretimine ve oksidatif strese yol açar [23].



Şekil 2.8. MPTP toksisitesinde MAO-B inhibitörlerinin hedefi

AH'da MAO-B aktivitesinin arttığı bildirilmiştir. Önceki çalışmalar, özellikle Aβ plaklarının yakınındaki reaktif astrositlerde MAO-B aktivitesinin arttığını bildirmiştir. Ancak daha yakın tarihli bir çalışma, MAO-B seviyesinin sadece astrositlerde değil, aynı zamanda frontal korteks, hipokampus CA1 bölgesi ve entorinal kortekste piramidal nöronlarda da arttığını bildirmiştir. MAO-B inhibitörleri, oksidatif deaminasyonu inhibe ederek nöronal hasarı azaltabilmektedir. MAO-B inhibisyonunun oksidatif stresi ve nörodejenerasyonu azaltacağı ve böylece potansiyel olarak AH'nın ilerlemesini geciktireceği beklenmektedir [24].



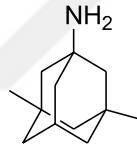
Şekil 2.9. Selejilin'in kimyasal yapısı

2.1.7. Alzheimer tedavisinde araştırılan diğer ilaçlar

Çalışmalar, östrojen kullanımının demansı önlemede veya tedavi etmede rolü olduğunu desteklememektedir. E vitamini AH'nın önlenmesi için araştırılmaktadır fakat tedavisi için önerilmemektedir. Yan etkilerinin sıklığı ve tedaviyi destekleyici kanıt bulunmaması nedeniyle AH'nın tedavisi veya önlenmesinde non-steroidal anti-inflamatuar ilaçlar ya da prednizon önerilmemektedir. Statin ilaçları ile ilgili çalışmalar AH'nın önlenmesinde veya tedavisinde önemli bir yarar göstermemiştir. NMDA reseptörü antagonisti memantin, orta ve şiddetli AH için endikedir [10].

2.1.7.1. Memantin

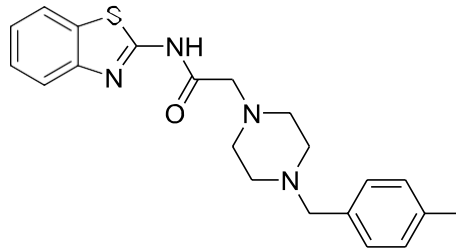
Memantin, normal sinaptik iletimi etkilemeden kanalı geçişli olarak bloke eden, düşük afiniteli, rekabetçi olmayan bir NMDA reseptör antagonistidir. Memantin, klinik öncesi modellerde uyuşturucu bağımlılığını azaltma yeteneği kanıtlanmış benzersiz bir glutamaterjik ilaçtır. FDA tarafından orta ila şiddetli AH'nın tedavisi için onaylanmıştır. Memantinin etkinliği ayrıca sağlıklı bireylerde bir nöro-geliştirici bileşik olarak ve migren baş ağrısı, nöropatik ağrı, fibromiyalji, tek kutuplu depresyon, şizofreni, bipolar bozukluk ve obsesif kompulsif bozukluk gibi çeşitli nöropsikiyatrik bozuklukların tedavisi için de test edilmiştir [25]. Karaciğer tarafından metabolize edilmez ve esas olarak idrarla değişmeden atılır. Böbrek yetmezliği olan hastalarda doz ayarlaması yapılmalıdır. Genellikle iyi tolere edilebilse de konstipasyon, konfüzyon, baş dönmesi ve baş ağrısı gibi yan etkileri gözlenebilmektedir [10]. Klinik ortamda memantin, Alzheimer hastalarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. NMDA aracılı nörotoksisiteyi, iltihabı ve AH semptomlarını azalttığı gösterilmiştir. Birçok çalışma, memantin, hayvan modellerinde primer enfarktüsü azalttığını ve fonksiyonel sonucu iyileştirdiğini göstermiştir [26].



Şekil 2.10. Memantin'in kimyasal yapısı

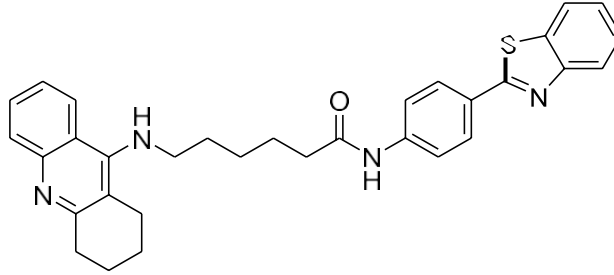
2.2. Antikolinesteraz Aktivite Çalışmalarına Konu Olmuş Benzotiyazol Türevleri

Demir Özkay ve diğerleri (2012) yaptıkları çalışmada bir seri benzotiyazol türevleri sentezleyip antikolinesteraz aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Yapılan enzim aktivite testi sonucunda sentezlenen bileşiklerden 2-[2-[4-(4-Metilbenzil)piperazin-1-il]asetilamino]benzotiyazol bileşiğinin $IC_{50}=0.061 \pm 0.0044 \mu M$ değeri ile önemli AChE inhibitör aktivitesine sahip olduğu görülmüştür [27].



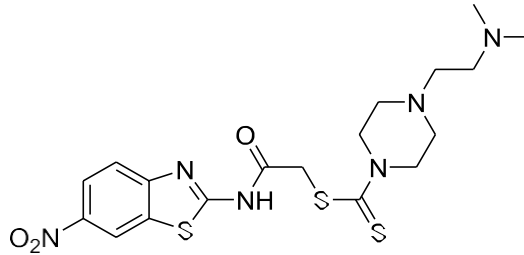
Şekil 2.11 2-[2-[4-(4-Metilbenzil)piperazin-1-il]asetilamino]benzotiyazol bileşiğine ait kimyasal yapı

Keri ve diğerleri (2013) yaptıkları çalışmada bir seri benzotiyazol türevleri sentezleyip antikolinesteraz aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Yapılan enzim aktivite testi sonucunda sentezlenen bileşiklerden N-(4-(Benzo[d]tiyazol-2-il)fenil)-6-(1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-ilamino)hekzanamid bileşiğinin $IC_{50} = 0.34 \pm 0.1 \mu M$ değeri ile önemli AChE inhibitör aktivitesine sahip olduğu görülmüştür [28].



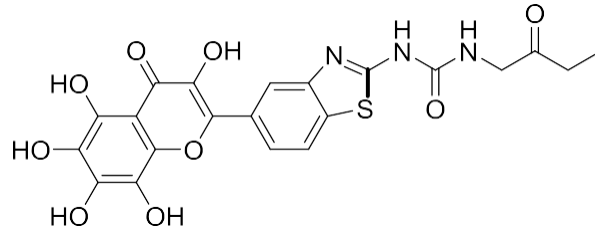
Şekil 2.12 N-(4-(Benzo[d]tiyazol-2-il)fenil)-6-(1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-ilamino)hekzanamid bileşiğine ait kimyasal yapı

Mohsen ve diğerleri (2014) yaptıkları çalışmada bir seri benzotiyazol türevleri sentezleyip antikolinesteraz aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Yapılan enzim aktivite testi sonucunda sentezlenen bileşiklerden 2-((6-nitrobenzo[d]tiyazol-2-il)amino)-2-oksoetil 4-(2-(dimetilamino)etil)piperazin-1-karboditioat bileşiğinin $IC_{50} = 4.27 \pm 0.76 \mu M$ değeri ile önemli AChE inhibitör aktivitesine sahip olduğu görülmüştür [29].



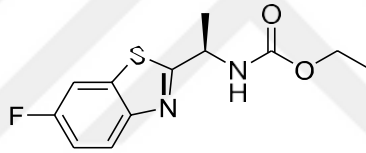
Şekil 2.13 2-((6-nitrobenzo[d]tiyazol-2-il)amino)-2-oksoetil 4-(2-(dimetilamino)etil)piperazin-1-karboditioat bileşiğine ait kimyasal yapı

Parasuraman ve diğerleri (2014) yaptıkları moleküler yerleştirme çalışmalarında benzotiyazol türevleri eklenmiş çok hedefli liganlar kullanmışlardır. Yapılan doking çalışması sonucunda bileşiklerden 1-(2-oksobütıl)-3-(5-(3,5,6,7,8-pentahidroksi-4-okso-4H-kromen-2-il)benzo[d]tiyazol-2-il)üre bileşiğinin -7.5 değeri ile AChE'ye karşı donepezile (-4.97), galantamine (-5.1), takrine (-4.3) ve rivastigmine (-2.64) yakın doking skoruna sahip olduğu görülmüştür [30].



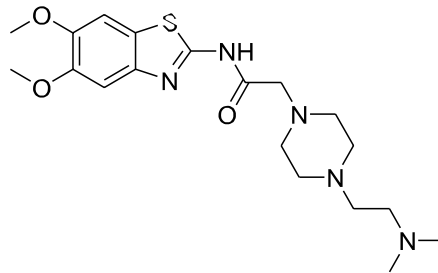
Şekil 2.14 1-(2-oksobütil)-3-(5-(3,5,6,7,8-pentahidroksi-4-okso-4H-kromen-2-il)benzo[d]tiyazol-2-il)üre bileşiğine ait kimyasal yapı

Pejchal ve diğerleri (2016) yaptıkları çalışmada bir seri benzotiyazol türevleri sentezleyip antikolinesteraz aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Yapılan enzim aktivite testi sonucunda sentezlenen bileşiklerden Etil [(1R)-1-(6-floro-1,3-benzotiyazol-2-il)etil]karbamat bileşiğinin $IC_{50} = 6.06 \pm 0.02 \mu M$ değeri ile önemli AChE inhibitör, $IC_{50} = 20.11 \pm 0.08 \mu M$ değeri ile BChE inhibitör aktivitesine sahip olduğu görülmüştür. Bu bileşik, ana bileşik olan rivastigminin ($IC_{50} = 56.10 \pm 1.41 \mu M$) AChE inhibe edici potansiyelinden yaklaşık dokuz kat fazla inhibisyon göstermiştir [31].



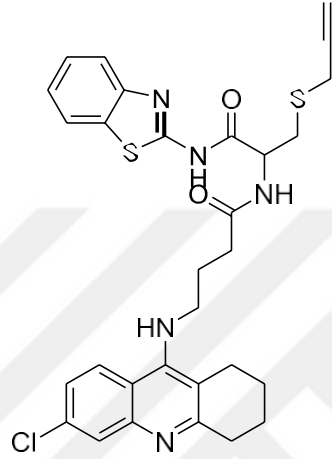
Şekil 2.15 Etil [(1R)-1-(6-floro-1,3-benzotiyazol-2-il)etil]karbamat bileşiğine ait kimyasal yapı

Demir Özkay ve diğerleri (2016) yaptıkları çalışmada bir seri benzotiyazol türevleri sentezleyip antikolinesteraz aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Yapılan enzim aktivite testi sonucunda sentezlenen bileşiklerden N-(5,6-dimethoksibenzo[d]tiyazol-2-il)-2-(4-(2-(dimetilamino)etil)piperazin-1-il)asetamid bileşiğinin $IC_{50} = 0.0462 \pm 0.004 \mu M$ değeri ile önemli AChE inhibitör aktivitesine sahip olduğu görülmüştür [32].



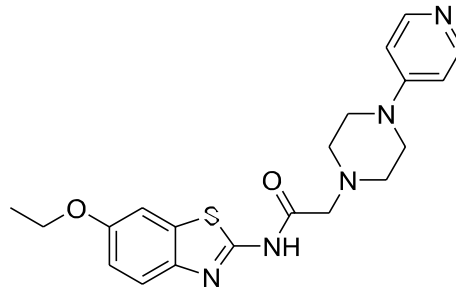
Şekil 2.16 N-(5,6-dimethoksibenzo[d]tiyazol-2-il)-2-(4-(2-(dimetilamino)etil)piperazin-1-il)asetamid bileşiğine ait kimyasal yapı

Hiremathad ve diğerleri (2016) yaptıkları çalışmada bir seri benzotiyazol türevleri sentezleyip antikolinesteraz, MAO-A ve MAO-B aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Yapılan enzim aktivite testi sonucunda sentezlenen bileşiklerden N-(1-(Benzo[d]tiyazol-2-ilamino)-1-okso-3-(prop-2-iniltio)propan-2-il)-4-(6-kloro-1,2,3,4-tetrahidroakridin 9-il-amino)bütanamid bileşiğinin $IC_{50} = 0.25 \pm 0.06 \mu M$ değeri ile önemli AChE inhibitör aktivitesine ve $IC_{50} = 27.7 \mu M$ değeri ile MAO-A, $IC_{50} = 85 \mu M$ değeri ile MAO-B inhibitör aktivitesine sahip olduğu görülmüştür [33].



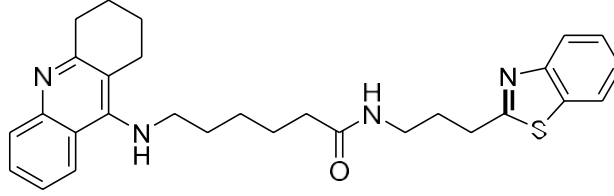
Şekil 2.17 N-(1-(Benzo[d]tiyazol-2-ilamino)-1-okso-3-(prop-2-iniltio)propan-2-il)-4-(6-kloro-1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il-amino)bütanamid bileşiğine ait kimyasal yapı

Gürdal ve diğerleri (2017) yaptıkları çalışmada bir seri benzotiyazol türevleri sentezleyip antikolinesteraz aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Yapılan enzim aktivite testi sonucunda sentezlenen bileşiklerden N-(6-etoksibenzotiazol-2-il)-2-[4-(piridin-4-il)piperazinil]asetamid bileşiğinin $IC_{50} = 2.4 \pm 0.2 \mu M$ değeri ile önemli AChE inhibitör aktivitesine sahip olduğu görülmüştür [34].



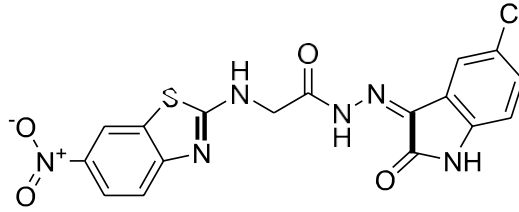
Şekil 2.18 N-(6-etoksibenzotiyazol-2-il)-2-[4-(piridin-4-il)piperazinil]asetamid bileşiğine ait kimyasal yapı

Spilovska ve diğerleri (2017) yaptıkları çok hedefli takrin hibritleri sentezleyip antikolinesteraz aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Yapılan enzim aktivite testi sonucunda takrin-benzotiyazol türevi olarak sentezlenen bileşiklerden N-(3-(benzo[d]tiyazol-2-il)propil)-6-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)hekzanamid bileşiğinin $IC_{50} = 0.96 \mu M$ değeri ile önemli AChE inhibitör aktivitesine sahip olduğu görülmüştür [35].



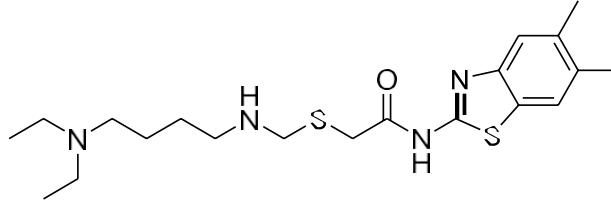
Şekil 2.19 N-(3-(benzo[d]tiyazol-2-il)propil)-6-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)hekzanamid bileşiğine ait kimyasal yapı

Tripathi ve diğerleri (2017) yaptıkları çalışmada bir seri 2-amino-6-nitrobenzotiyazol türevli hidrazonlar sentezleyip antikolinesteraz aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Yapılan enzim aktivite testi sonucunda sentezlenen bileşiklerden N'-(5-kloro-2-oksoindolin-3-iliden)-2-(6-nitrobenzotiazol-2-ilamino)asetohidrazid bileşiğinin $IC_{50} = 0.0035 \pm 0.005 \mu M$ değeri ile donepezile ($IC_{50} = 0.021 \pm 0.01 \mu M$) göre ~0.6 kat, takrine ($IC_{50} = 0.225 \pm 0.04 \mu M$) göre ~6.43 kat daha güçlü AChE inhibitör aktivitesine sahip olduğu görülmüştür [36].



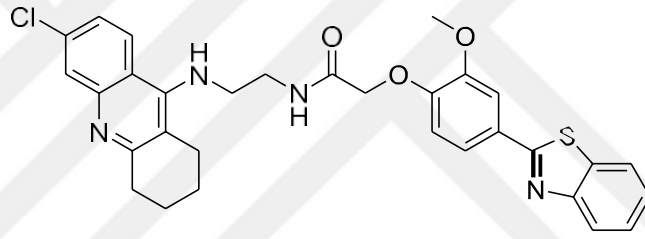
Şekil 2.20 N'-(5-kloro-2-oksoindolin-3-iliden)-2-(6-nitrobenzotiazol-2-ilamino)asetohidrazid bileşiğine ait kimyasal yapı

Turan ve diğerleri (2018) yaptıkları çalışmada bir seri benzotiyazol türevleri sentezleyip antikolinesteraz aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Yapılan enzim aktivite testi sonucunda sentezlenen bileşiklerden 2-[[[(4-(Dietilamino)bütül)amino)metil]tio]-N-(5,6-dimetilbenzo[d]tiyazol-2-il)asetamid bileşiğinin $IC_{50} = 15.26 \mu M$ değeri ile önemli AChE inhibitör aktivitesine sahip olduğu görülmüştür [37].



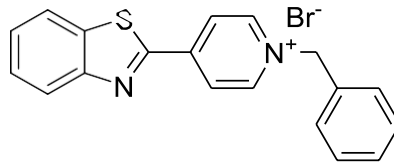
Şekil 2.21 2-[[[(4-(Dietilamino)bütıl)amino)metil]tio]-N-(5,6-dimetilbenzo[d]tiyazol-2-il)asetamid bileşiğine ait kimyasal yapı

Rajeshwari ve diğerleri (2019) yaptıkları çalışmada bir seri 2-fenilbenzotiyazol türevleri sentezleyip antikolinesteraz aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Yapılan enzim aktivite testi sonucunda sentezlenen bileşiklerden 2-(4-(Benzo[d]tiyazol-2-il)-2-metoksifenoksi)-N-(2-((6-kloro-1,2,3,4 tetrahidroakridin-9-il)amino)etil)asetamid bileşiğinin $IC_{50} = 0.06 \mu M$ değeri ile önemli AChE inhibitör aktivitesine sahip olduğu görülmüştür [38].



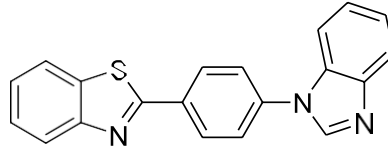
Şekil 2.22 2-(4-(Benzo[d]tiyazol-2-il)-2-metoksifenoksi)-N-(2-((6-kloro-1,2,3,4 tetrahidroakridin-9-il)amino)etil)asetamid bileşiğine ait kimyasal yapı

Salehi ve diğerleri (2019) yaptıkları çalışmada bir seri benzotiyazol türevleri sentezleyip antikolinesteraz aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Yapılan enzim aktivite testi sonucunda sentezlenen bileşiklerden 4-(benzo[d]tiyazol-2-il)-1-benzilpiridinum bromid bileşiğinin $IC_{50} = 14 \pm 0.7 \text{ nM}$ değeri ile önemli AChE inhibitör, $IC_{50} = 182 \pm 5.6 \text{ nM}$ değeri ile önemli BChE inhibitör aktivitesine sahip olduğu görülmüştür [39].



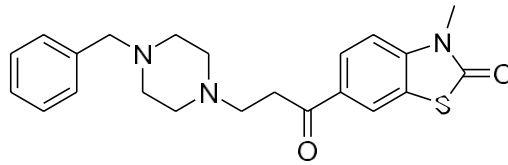
Şekil 2.23 4-(benzo[d]tiyazol-2-il)-1-benzilpiridinum bromid bileşiğine ait kimyasal yapı

Zengin ve diğerleri (2019) yaptıkları çalışmada bir seri benzotiyazol türevleri sentezleyip antikolinesteraz aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Yapılan enzim aktivite testi sonucunda sentezlenen bileşiklerden 2-[4-(1H-benzimidazol-1-il)fenil]benzo[d]tiyazol bileşiğinin $IC_{50} = 46.84 \pm 1.77 \mu M$ değeri ile önemli AChE inhibitör, $IC_{50} = 40.61 \pm 1.59 \mu M$ değeri ile önemli BChE inhibitör aktivitesine sahip olduğu görülmüştür [40].



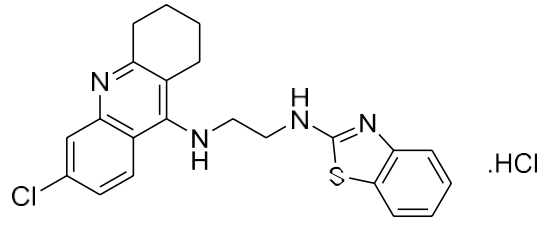
Şekil 2.24 2-[4-(1H-benzimidazol-1-il)fenil]benzo[d]tiyazol bileşiğine ait kimyasal yapı

Erdogan ve diğerleri (2021) yaptıkları çalışmada bir seri benzotiyazolon türevleri sentezleyip antikolinesteraz aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Yapılan enzim aktivite testi sonucunda sentezlenen bileşiklerden 3-Metil-6-[3-(4-benzilpiperazin-1-il)propanoil]benzotiyazol-2(3H)-on bileşiğinin $IC_{50} = 0.34 \pm 0.16 \mu M$ değeri ile önemli AChE inhibitör aktivitesine sahip olduğu görülmüştür [41].



Şekil 2.25 3-Metil-6-[3-(4-benzilpiperazin-1-il)propanoil]benzotiyazol-2(3H)-on bileşiğine ait kimyasal yapı

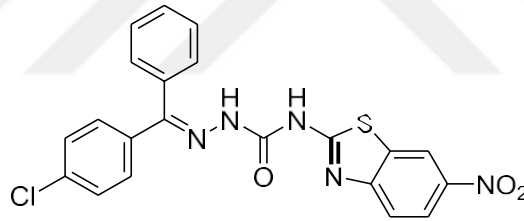
Nepovimova ve diğerleri (2021) yaptıkları çalışmada bir seri benzotiyazolon türevleri sentezleyip antikolinesteraz aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Yapılan enzim aktivite testi sonucunda sentezlenen bileşiklerden N^1 -(benzo[d]tiyazol-2-il)- N^2 -(6-kloro-1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)etan-1,2-diamin hidroklorid bileşiğinin $IC_{50} = 4 \pm 0.3 nM$ değeri ile önemli AChE inhibitör, $IC_{50} = 799 \pm 37 nM$ değeri ile BChE inhibitör aktivitesine sahip olduğu görülmüştür. Bu bileşik, ana bileşik olan 6-klorotakrinin ($IC_{50} = 18 \pm 1 nM$) inhibe edici potansiyelinin dört katından daha fazla inhibisyon göstermiştir [42].



Şekil 2.26 *N*¹-(benzo[d]tiyazol-2-il)-*N*²-(6-kloro-1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)etan-1,2-diamin hidroklorid bileşiğine ait kimyasal yapı

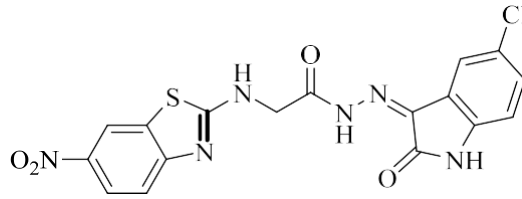
2.3. Monoaminoksidaz Enzim Aktivite Çalışmalarına Konu Olmuş Benzotiyazol Türevleri

Tripathi ve diğerleri (2013) yaptıkları bir çalışmada bazı 6-nitrobenzotiyazol içeren semikarbazon türevi bileşikler sentezlemiş ve MAO-B inhibitör etkinliklerini rapor etmişlerdir. Yapılan enzim aktivite test çalışmaları sonucunda serideki en aktif bileşiğin $IC_{50} = 0.004 \pm 0.001 \mu M$ değeri ile 1-((4-Klorofenil)(fenil)metilen)-4-(6-nitrobenzotiyazol-2-il)semikarbazit olduğu ve standart bileşik olarak kullanılan selejilinden ($IC_{50} = 0.020 \pm 0.008 \mu M$) daha iyi aktivite sergilediği gösterilmiştir [43].

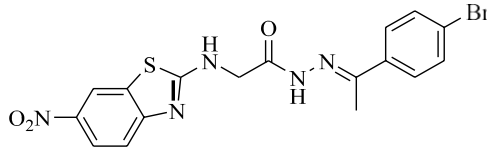


Şekil 2.27 1-((4-Klorofenil)(fenil)metilen)-4-(6-nitrobenzotiyazol-2-il)semikarbazit bileşiğine ait kimyasal yapı

Tripathi ve diğerleri (2016) yaptıkları çalışmada bir seri 2-amino-6-nitrobenzotiyazol içeren uzatılmış hidrazon türevi sentezlemişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin MAO-A ve MAO-B enzimlerini inhibe etme yetenekleri araştırılmıştır. Bileşik *N*'-(5-kloro-2-oksoindolin-3-iliden)-2-(6-nitrobenzotiyazol-2-ilamino)asetohidrazid, $IC_{50} = 0.0018 \pm 0.0003 \mu M$ değeri ile en yüksek MAO-B inhibitör aktivitesi göstermiştir. Sentezlenen bileşikler arasındaki (E)-*N*'-(1-(4-bromofenil)etiliden)-2-((6-nitrobenzo[d]tiyazol-2-il)amino)asetohidrazid bileşiğinin, $IC_{50} = 0.42 \pm 0.003 \mu M$ değeri ile en aktif MAO-A inhibitörü olduğu bulunmuştur [44].

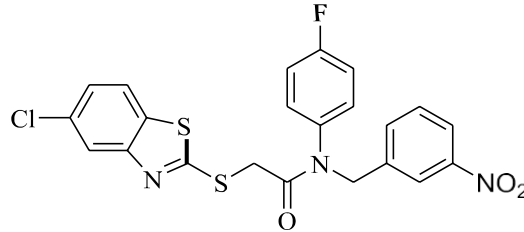


Şekil 2.28 *N'-(5-Kloro-2-oksoindolin-3-iliden)-2-(6-nitrobenzotriazol-2-ilamino)asetohidrazid bileşiğine ait kimyasal yapı*



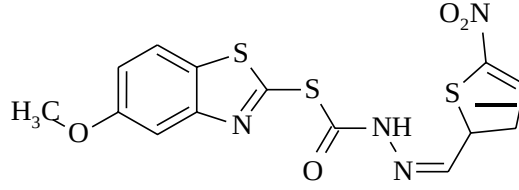
Şekil 2.29 *(E)-N'-(1-(4-Bromofenil)etiliden)-2-((6-nitrobenzo[d]tiyazol-2-il)amino)asetohidrazid bileşiğine ait kimyasal yapı*

Kaya ve diğerleri (2016) yaptıkları bir çalışmada 12 yeni benzotriazol halkası içeren asetamid türevi sentezlemişlerdir. Bileşiklerin MAO-A ve MAO-B enzimlerine karşı inhibe edici aktivitesi araştırılmıştır. Yapılan enzim aktivite test çalışmaları sonucunda serideki 2-((5-Klorobenzo[d]tiyazol-2-il)tiyo)-N-(4-florofenil)-N-(3-nitrobenzil)asetamid bileşiğinin $IC_{50} = 17.00 \pm 0.89 \mu M$ değeri ile MAO-A enzimine karşı, $IC_{50} = 2.95 \pm 0.09 \mu M$ değeri ile MAO-B enzimine karşı en aktif bileşik olduğu gösterilmiştir [45].



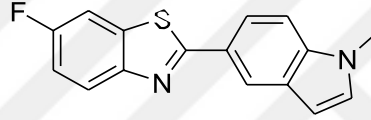
Şekil 2.30 *2-((5-Klorobenzo[d]tiyazol-2-il)tiyo)-N-(4-florofenil)-N-(3-nitrobenzil)asetamid bileşiğine ait kimyasal yapı*

İlgın ve diğerleri (2017) yaptıkları bir çalışmada bir seri benzotriazol türevi bileşikler sentezlemişler ve MAO enzimleri üzerindeki inhibitör aktivitelerini araştırmışlardır. Yapılan enzim aktivite test çalışmaları sonucunda 2-((5-Metoksibenzotriazol-2-il)tiyo)-N'-((5-nitrotiyofen-2-il) metilen)asetohidrazit bileşiği, $IC_{50} = 0.060 \pm 0.002 \mu M$ değeri ile önemli MAO-B inhibitör aktivitesi sergilemiştir [46].



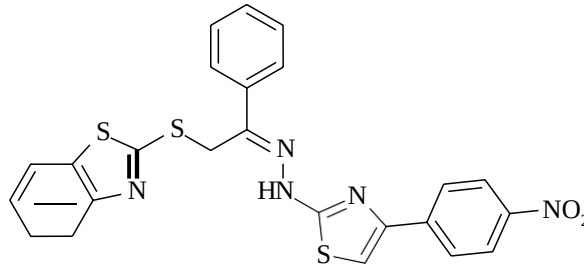
Şekil 2.31 2-((5-Metoksibenzotiyazol-2-il)tiyo)-N'-((5-nitrotiyofen-2-il) metilen)asetohidrazit bileşiğıne ait kimyasal yapı

Nam ve diğerleri (2017) yaptıkları bir çalışmada bir seri benzotiyazol türevi bileşikler sentezlemişler ve MAO enzimleri üzerindeki inhibitör aktivitelerini araştırmışlardır. Yapılan enzim aktivite test çalışmaları sonucunda 6-Floro-2-(1-metil-1H-indol-5-il)benzo[d]-tiyazol bileşiğı, $IC_{50} = 28 \pm 1$ nM değeri ile önemli MAO-B inhibitör aktivitesi sergilemiştir [47].



Şekil 2.32 6-Floro-2-(1-metil-1H-indol-5-il)benzo[d]-tiyazol bileşiğıne ait kimyasal yapı

Turan ve diğerleri (2020) yaptıkları bir çalışmada bir seri benzotiyazol-tiyazolilhidrazin türevi bileşikler sentezlemişler ve MAO enzimleri üzerindeki inhibitör aktivitelerini araştırmışlardır. Yapılan enzim aktivite test çalışmaları sonucunda 2-((2-(2-(4-(4-Nitrofenil)tiyazol-2-il)hidraziniliden)-2-feniletil)tiyo)benzotiyazol bileşiğı, $IC_{50} = 0.095 \pm 0.004$ μ M değeri ile önemli MAO-A inhibitör aktivitesi sergilemiştir [48].



Şekil 2.33 2-((2-(2-(4-(4-Nitrofenil)tiyazol-2-il)hidraziniliden)-2-feniletil)tiyo)benzotiyazol bileşiğıne ait kimyasal yapı

3. GEREÇLER

3.1. Kullanılan Maddeler

1-Metilpiperazin	: Merck, Almanya
1-Etilpiperazin	: TCI, Japonya
1-Allilpiperazin	: Acros Organics, Almanya
1-(2-Propinil)piperazin	: TCI, Japonya
1-İzopropilpiperazin	: Acros Organics, Almanya
1-[2-(Dimetilamino)etil]piperazin	: Sigma-Aldrich, Almanya
1-[3-(Dimetilamino)propil]piperazin	: Sigma-Aldrich, Almanya
3-Metoksianilin	: Sigma-Aldrich, Almanya
4-(Klorometil)benzoik asit	: Sigma-Aldrich, Almanya
Anilin	: Sigma-Aldrich, Almanya
Asetik asit	: Sigma-Aldrich, Almanya
Aseton	: VWR Chemicals, Fransa
Asetonitril	: Fluka Chemika, İsviçre
Bromür	: Sigma-Aldrich, Almanya
DMSO- d_6	: Merck, Almanya
AChE-E.C.3.1.1.7, electric eel	: Sigma, Almanya
BChE-E.C. 3.1.1.8, equine serum	: Sigma, Almanya
Jelatin	: Sigma-Aldrich, Almanya
Asetiltiyokolin iyodür (ATC)	: Fluka, Almanya
Bütiriltiyokolin iyodür (BTC)	: Fluka, Almanya
5,5'-Ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB)	: Sigma, Almanya
Sodyum bikarbonat	: Sigma, Almanya
Potasyum dihidrojen fosfat	: Sigma, Almanya
Dimetilsülfoksit	: Sigma, Almanya

Donepezil	: Sigma, Almanya
Takrin	: Sigma, Almanya
Monoamine Oxidase-A human	: Sigma, Almanya
Monoamine Oxidase-B human	: Sigma, Almanya
Horseradish Peroksidaz	: Sigma, Almanya
Ampliflu TM Red	: Sigma, Almanya
Triamin	: Sigma, Almanya
Moklobemid	: Sigma, Almanya
Selejilin	: Sigma, Almanya
Beta Amyloid 1-42 (A β 42) Ligand Screening Assay kit	: Biovision, USA
PBS	: Gibco, Birleşik Krallık
Etanol	: Merck, Almanya
Etil asetat	: Carlo Erba Reagents, Fransa
Petrol eteri	: VWR Chemicals, Fransa
Potasyum karbonat	: Sigma-Aldrich, Almanya
Potasyumtiyosiyanat	: Acros Organics, Almanya
Silikajel 60 F254 kaplı alüminyum İTK plağı	: Merck, Almanya
TEA	: Merck, Almanya
THF	: Sigma-Aldrich, Almanya
Tiyonil klorür	: Sigma-Aldrich, Almanya

3.2. Kullanılan Cihazlar

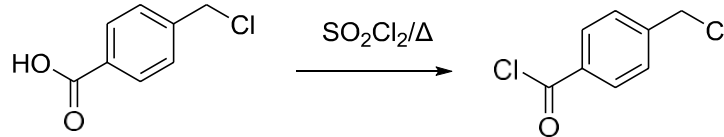
Elektronik terazi	: Shimadzu, Libror EB-330 HU, Japonya
Erime derecesi tayin cihazı	: Mettler Toledo-MP90 Melting Point System
İnkübatör	: Heraeus, Almanya
Infrared spektrofotometresi	: Shimadzu-IR Affinity-1S, Japonya
Kütle spektrometresi	: Shimadzu, LCMS-IT-TOF, Japonya
Manyetik tabanlı ısıtıcı karıştırıcı	: Heidolph, MR 3003, Almanya
Nükleer manyetik rezonans spektrometresi	: Bruker, UltraShield 300 MHz, ABD
Steril kabin	: Class II TypeA2 (CHC-222A2-60), Kore
Ultraviyole lambası	: Camag, Cabinet, İsviçre
Vorteks	: Wisemix, Kore
Mikroplate okuyucu	: BioTek-Synergy H1 ABD
Robotik pipetleme tablası	: BioTek-Preccision XS, ABD

4. YÖNTEMLER

4.1. Sentez Çalışmaları

4.1.1. 4-(Klorometil)benzoil klorür sentezi (Yöntem A)

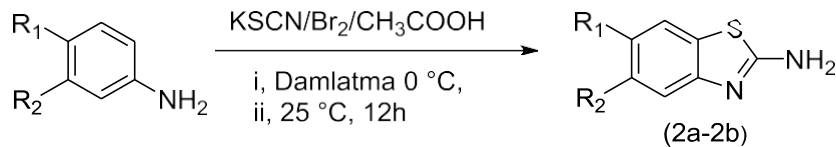
4-(Klorometil)benzoik asit (10 g) SO_2Cl_2 (10 mL) içerisinde çözülmüştür ve elde edilen reaksiyon karışımı geri çeviren soğutucu altında ısıtılmıştır. Reaksiyon bitimi İTK ile tayin edildikten sonra SO_2Cl_2 alçak basınç altında uzaklaştırılıp kalan bakiye kazınarak alınmıştır.



Şekil 4.1. 4-(Klorometil)benzoil klorür sentezi

4.1.2. 2-Aminobenzotiyazol türevlerinin sentezi (2a-2b) (Yöntem B)

Anilin türevleri (0.03 mol) asetik asit içerisinde çözülmüştür ve üzerine eşdeğer miktarda potasyumtiyosyanat (0.03 mol, 2.915 g) ilave edildikten sonra buz banyosuna alınmıştır. Asetik asit (10 mL) içerisindeki brom (0.04 mol, 2.015 mL) çözeltisi reaksiyon ortamına damla damla ilave edilmiştir. Damlatma işlemi bittikten sonra reaksiyon içeriği 25°C 'de 12 saat boyunca karıştırılmıştır. Reaksiyon kontrolü İTK uygulaması ile sağlanmıştır. Reaksiyon içeriği buzlu suya dökülüp kaynatılmıştır ve ham ürün süzülerek alınmıştır.

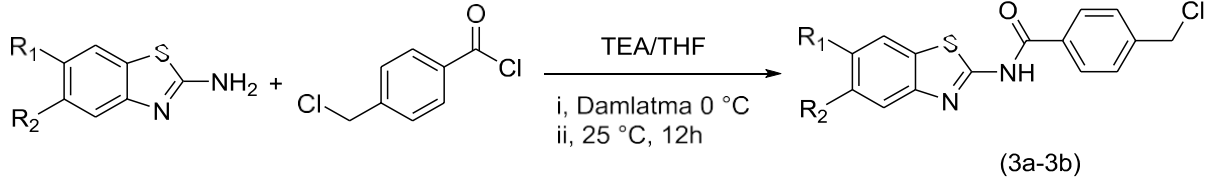


Şekil 4.2. 2-Aminobenzotiyazol türevlerinin sentezi

4.1.3. 4-(Klorometil)-N-(5,6-süstitübenzo[d]tiyazol-2-il)benzamid sentezi (3a-3b) (Yöntem C)

2-Aminobenzotiyazol türevleri (0.03 mol) üzerine 10 mL THF ilave edilmiştir ve bu çözeltiye TEA (0.04 mol, 5.408 mL) ilave edildikten sonra reaksiyon buz banyosuna alınmıştır. THF (10 mL) içerisindeki 4-(klorometil)benzoil klorür (0.03 mol, 5.67 g) çözeltisi reaksiyon ortamına damla damla ilave edilmiştir. Damlatma işlemi bittikten sonra reaksiyon içeriği 25°C 'de 5 saat boyunca karıştırılmıştır. Reaksiyon kontrolü İTK

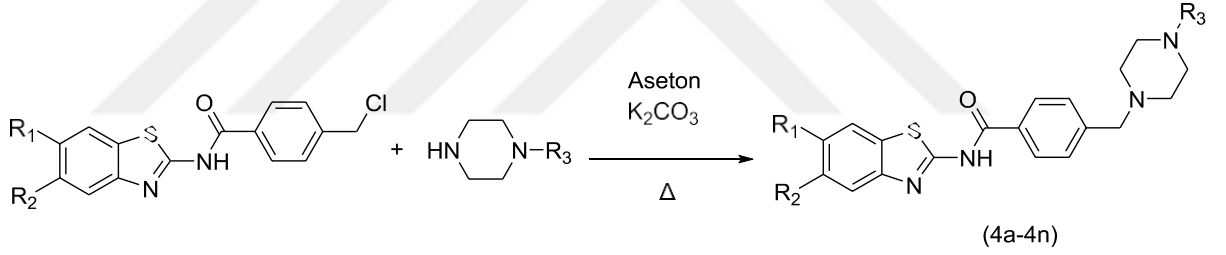
uygulaması ile sağlanmıştır. THF alçak basınç altında uçurulduktan sonra ham ürün su ile yıkanarak alınmıştır ve etanolden kristallendirilmiştir.



Şekil 4.3. 4-(Klorometil)-N-(5,6-süstitübenzo[d]tiyazol-2-il)benzamid sentezi

4.1.4. Hedef bileşiklerin sentezi (4a-4n) (YöntemD)

4-(Klorometil)-N-(5,6-süstitübenzo[d]tiyazol-2-il)benzamid (2 mmol) aseton içerisinde çözülmüştür. Çözeltiye uygun piperazin türevi (2 mmol) eklendikten sonra potasyum karbonat (0.276 g) katalizörlüğünde geri çeviren soğutucu altında ısıtılmıştır. Reaksiyon içeriği 12 saat kaynatıldıktan sonra İTK uygulaması ile reaksiyon kontrolü sağlanmıştır. Aseton alçak basınç altında uçurulmuştur. Ham ürün su ile yıkanarak alınmıştır ve etanolden kristallendirilmiştir.



Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃
4a	-H	-H	-CH ₃	4h	-H	-OCH ₃	-CH ₃
4b	-H	-H	-CH ₂ CH ₃	4i	-H	-OCH ₃	-CH ₂ CH ₃
4c	-H	-H	-CH ₂ CH=CH ₂	4j	-H	-OCH ₃	-CH ₂ CH=CH ₂
4d	-H	-H	-CH ₂ C≡CH	4k	-H	-OCH ₃	-CH ₂ C≡CH
4e	-H	-H	-CH(CH ₃) ₂	4l	-H	-OCH ₃	-CH(CH ₃) ₂
4f	-H	-H	-CH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₂	4m	-H	-OCH ₃	-CH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₂
4g	-H	-H	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₂	4n	-H	-OCH ₃	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₂

Şekil 4.4 Hedef bileşiklerin sentezi

4.2. İTK Çalışmaları ve R_f Değerlerinin Saptanması

Sentez basamaklarının hepsinde reaksiyonların kontrolünde İTK uygulamalarından yararlanılmıştır. İTK çalışmalarında adsorban olarak slika 60 F₂₅₄ kaplı, önceden uygun çözücü karışımları ile doyurulmuş alüminyum plaklar kullanılmıştır. Sentezlerde

kullanılan başlangıç maddelerinin ve reaksiyon ortamından belli sürelerde alınan numunelerin etanoldeki çözeltileri kılcal borular kullanılarak plaklara uygulanmış ve hareketli fazlar içerisinde sürüklenmesi sağlanmıştır. Plaklardaki lekelerin durumunun belirlenmesinde ultraviyole ışığı (254 nm ve 366 nm) kullanılmıştır. İTK uygulamalarına göre reaksiyonların bitişine ya da devamına karar verilmiştir. Tez kapsamındaki sentez basamaklarının her birinde, İTK uygulamalarında kullanılan uygun hareketli fazların, farklı çözücü karışımlarının seçimi denemeler yapılarak belirlenmiştir. Yöntem A, B, ve C’de sentezi gerçekleştirilen maddelerin kontrolü için uygun hareketli fazın petrol eteri : etil asetat (3 : 1), yöntem D’deki sentezin kontrolü için uygun hareketli fazın petrol eteri : etil asetat (1 : 1) olduğuna karar verilmiştir.

4.3. Erime Noktalarının Tespiti

Elde edilen bileşiklerin erime noktalarının (E.n) saptanmasında Mettler Toledo-MP90 Melting Point System erime derecesi tayin cihazı kullanılmıştır. Sentez maddeleri bir ucu açık kapiller borulara ½ cm kadar konularak cihazın haznelerine yerleştirilmiştir. İşlem bittiğinde bileşiklerin erime noktaları cihazdan alınan videolar izlenerek kaydedilmiştir.

4.4. IR Spektrumlarının Alınması

Sentezlenen bileşiklerin IR spektrumları Shimadzu-IR Affinity-1S cihazı kullanılarak alınmıştır. Toz maddelerin IR spektrofotometresi ATR ataçmanına uygulanması ile spektrumlar çekilmiştir.

4.5. ¹H-NMR Spektrumlarının Alınması

Elde edilen bileşiklerin ¹H-NMR spektrumları, sentez ürünlerinin dimetilsülfoksit-d₆ (DMSO-d₆) içindeki çözeltilerinin, tetrametilsilana (TMS) karşı Bruker 500 MHz NMR spektrometresine uygulanması sonucu alınmıştır.

4.6. ¹³C-NMR Spektrumlarının Alınması

Elde edilen bileşiklerin ¹³C-NMR spektrumları, sentez ürünlerinin dimetilsülfoksit-d₆ (DMSO-d₆) içindeki çözeltilerinin, tetrametilsilana (TMS) karşı Bruker 100 MHz NMR spektrometresine uygulanması sonucu alınmıştır.

4.7. Kütle Spektrumlarının Alınması

Bileşiklerin kütle spektrumları, numunelerin asetonitril içindeki çözeltilerinden LCMS-IT-TOF (Shimadzu, Kyoto, Japonya) cihazında elektron sprey iyonizasyon (ESI) iyonlaştırma tekniği kullanılarak negatif ve pozitif modda alınmıştır.

4.8. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Tez kapsamında sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin kolinesteraz, monoamin oksidaz ve beta amiloid 1-42 (A β 42) inhibisyon potansiyelleri araştırılmıştır. Biyolojik aktivite çalışmalarının her aşamasında Milipor, Milli-Q Synthesis A10 saflaştırma cihazından elde edilen distile su kullanılmıştır. Kullanılan bütün çözeltilerin taze hazırlanmasına ve hazırlandıktan sonra 1 hafta içerisinde tüketilmesine özen gösterilmiştir. Enzim inhibisyon çalışmasında hazırlanan çözeltilerin porsiyonlar halinde ayrılması, test bileşiklerinin 96 kuyucuklu plakalara uygulanması, enzim substrat çözeltilerinin ilave edilmesi işlemlerinde BioTek-Precision Power (Amerika Birleşik Devletleri) robotik pipetleme sisteminden yararlanılmıştır. Enzim protokolünün oluşturulması, izlenmesi ve spektrofotometrik ölçümlerin alınması işlemleri, BioTek-Synergy H1 Microplate Reader (Amerika Birleşik Devletleri) cihazında yapılmıştır.

Bileşiklerin biyolojik aktiviteleri, öncelikle ön tarama niteliğinde olan 10^{-3} ve 10^{-4} M'lık iki konsantrasyonda %2'lik dimetilsülfoksit (DMSO) içerisinde hazırlanarak gerçekleştirilmiştir. Aktivite değerleri %0-100 aralığında inhibisyon şeklinde değerlendirilmiştir.

4.8.1. Antikolinesteraz aktivite çalışmaları

Tez kapsamında sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin AChE ve BChE enzim inhibitör aktiviteleri modifiye Ellman metodu ile araştırılmıştır [49-60].

4.8.1.1. AChE ve BChE enzim solüsyonunun hazırlanması

Liyofilize haldeki AChE/BChE enzimini çözmek için %1'lik jelatin çözeltisi hazırlanmıştır. AChE/BChE enzimi jelatin çözeltisinde 500 U/mL konsantrasyonda hazırlanmıştır. Enzim çözeltisinden 1 mL alınarak balon joje içerisinde hacim suyla 100 mL'ye tamamlanmıştır. Böylelikle 5 U/mL'ye seyreltilmiş stok enzim solüsyonu

hazırlanmıştır. Hazırlanan stok çözelti 0.7 mL'lik porsiyonlar halinde -20°C'de saklanmıştır. Enzim çözeltileri, aktivite çalışmalarına başlamadan önce oda ısısına getirilmiş ve metod konsantrasyonu olan 2.5 U/mL'ye seyreltmek için suyla 1.4 mL'ye tamamlanarak kullanılmıştır.

4.8.1.2. Asetiltiyokolin iyodür (ATC) çözeltisinin hazırlanması (0.075 M)

ATC (0.217 g) bir miktar suda çözölmüş ardından suyla 10 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan çözelti, kullanılıncaya kadar 0.4 mL'lik kısımlar halinde -20°C'de saklanmıştır.

4.8.1.3. Bütiriltiyokolin iyodür (BTC) çözeltisinin hazırlanması (0.075 M)

BTC (0.237 g) bir miktar suda çözölmüş ardından suyla 10 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan çözelti, kullanılıncaya kadar 0.4 mL'lik kısımlar halinde -20°C'de saklanmıştır.

4.8.1.4. 5-5-Ditiyobis(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) solüsyonunun hazırlanması (0.01 M)

DTNB (0.396 g) tartılarak bir miktar suda çözölmüştür. Bu çözeltiye sodyum bikarbonat (0.15 g) ilave edilmiş ve hacim suyla 100 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan çözelti, kullanılıncaya kadar 3 mL'lik kısımlar halinde -20°C'de saklanmıştır.

4.8.1.5. Fosfat tamponunun hazırlanması (pH=8.0)

Potasyum dihidrojen fosfat (13.61 g), 1 L suda çözölmüştür. Hazırlanan çözeltinin pH'sı 0.1 N potasyum hidroksit çözeltisi ile pH metre kullanılarak kontrollü biçimde 8.0±0.1'e ayarlanmıştır. Ayarlı tampon çözelti 0.22 µm por çapı olan tek kullanımlık filtrelerden süzölerek kullanıma hazır hale getirilmiştir. Hazırlanan çözelti, kullanılıncaya kadar 4°C'de saklanmıştır.

4.8.1.6. İnhibitör bileşiklerin çözeltilerinin hazırlanması

Antikolinesteraz aktivite çalışmalarında sentezi gerçekleştirilen bileşikler %2'lik dimetilsülfoksit (DMSO) içerisinde 10⁻³ ve 10⁻⁴ M konsantrasyonlarda hazırlanmıştır.

Bileşikler öncelikle 10^{-3} M konsantrasyonda hazırlanmış daha sonra 1/10'luk seri seyreltme ile 10^{-4} M konsantrasyona geçilmiştir.

4.8.1.7. AChE ve BChE inhibisyon çalışması

Elde edilen bileşiklerin enzim inhibitör aktiviteleri 10^{-3} ve 10^{-4} M'lık iki konsantrasyonda gerçekleştirilmiştir. Aktivite değerleri %0-100 aralığında inhibisyon şeklinde değerlendirilmiştir.

Biyoaktivite çalışmalarında kolorimetrik Ellman metodu modifiye edilerek enzim inhibisyonu incelemesi yapılmıştır. Test işlemine başlamadan önce bütün çözeltiler 20-25°C'ye getirilmiştir. Çalışmalarda 96 kuyucuklu plaklar kullanılmıştır. Her bir hücrede 140 µL fosfat tamponu, 20 µL enzim solüsyonu, 20 µL inhibitör çözelti, 20 µL DTNB çözeltisi, 10 µL ATC/BTC çözeltisi olacak şekilde toplam 210 µL hacme ulaşılmıştır. Çözeltiler, 96 kuyucuğa da yetecek miktarlarda iki farklı test çözeltisi meydana getirecek şekilde karıştırılmıştır. Birinci test çözeltisi; 1 kuyucuk için 70 µL fosfat tamponu, 20 µL enzim çözeltisi ve 20 µL DTNB çözeltisi, ikinci çözelti ise; 1 kuyucuk için 70 µL fosfat tamponu ve 10 µL ATC/BTC çözeltisi içerecek şekilde hazırlanmıştır.

Öncelikle birinci test çözeltisi ve farklı konsantrasyonlardaki inhibitör bileşiği çözeltileri (20 µL), 96 kuyucuklu plakalara Biotek Precision XS robotik sistemi kullanılarak eklenmiştir. İnhibitör bileşiklerinin her konsantrasyonu plaklara 4 tekrarlı olarak uygulanmıştır. Plakalar, BioTek-Synergy H1 mikrolaka okuyucusuna konarak önce 5 dakika süreyle karıştırılmış daha sonra 25°C'de 15 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon süresi bitiminde mikrolaka okuyucusu dispenser haznesinde bulunan ikinci test çözeltisinin her bir kuyucuğa 80 µL olacak şekilde ilavesi sağlanmıştır. İkinci test çözeltisi eklendikten sonra 30 saniyelik hızlı bir karıştırma işlemi yapılmıştır. Bu aşamada 412 nm'de birinci absorbans okuması gerçekleştirilmiştir. Mikrolakalar, reaksiyonun sürmesi için 5 dakika daha karışmaya bırakılmış ve bu süre sonunda ikinci absorbans okuması yapılmıştır.

İki okuma arasındaki absorbans farkları alınarak aşağıdaki formüle (1) göre % inhibisyon oranları hesaplanmıştır:

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{[(A(K)-A(B))-(A(I)-A(B))]}{(A(K)-A(B))} \times 100 \quad (1)$$

B : Blank (İnhibitör bileşik ve substratın eklenmediği kuyucuk)

K : Kontrol (Sadece inhibitör bileşiğin eklenmediği kuyucuk)

- A(B) : Blank kuyucuğuna ait absorbans okuma farkı
A(K) : Kontrol kuyucuğuna ait absorbans okuma farkı
A(İ) : İnhibitör maddelere ait absorbans okuma farkı

Bileşiklerin IC₅₀ değerleri Graphad Prism (Graphad Software, San Diego, CA, USA) programında non-linear regresyon analizinin sigmoid doz-yanıt modeli kullanılarak çizilen inhibisyon eğrilerinden hesaplanmıştır.

4.8.2. Monoamin oksidaz enzim aktivite çalışmaları

Tez kapsamında sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin MAO-A ve MAO-B enzim inhibitör aktiviteleri fluorometrik metod ile araştırılmıştır [59-72].

Enzim inhibisyon deneyinde günlük hazırlanan üç farklı çözelti kullanılmıştır. İlk çözelti için, sentezlenmesi tamamlanan sonuç bileşikleri ve referans bileşikler hazırlanmıştır. Enzim çözeltileri için rekombinant hMAO-A (0.5 U/mL) ve rekombinant hMAO-B (0.64 U/mL) enzimleri fosfat tamponu içinde çözündürülerek hacimleri 10 mL'ye tamamlanmıştır. Son olarak da çalışma çözeltileri: Horseradish Peroksidaz (200 U/mL, 100 µL), Ampliflu™ Red (20 mM, 200 µL) ve tiramin (100 mM, 200 µL), fosfat tamponu içinde çözündürülerek hacmi 10 mL'ye tamamlanmıştır.

İnhibitör çözeltilerinden (20 µL) ve hMAO-A (100 µL) veya hMAO-B (100 µL) siyah renkli düz tabanlı 96 kuyucuklu mikro test plakasına konulmuş ve 37°C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyonun sonunda çalışma çözeltileri (100 µL) eklenerek reaksiyon başlatılmıştır. Bu karışım 37°C'de 30 dakika inkübe edilmiş ve her 5 dakikada flüoresan (Ex/Em=535/587 nm) ölçümü yapılmıştır. Kontrol deneyinde inhibitör solüsyonu yerine %2'lik DMSO kullanılmıştır. İnhibitörlerin horseradish peroksidaz üzerine inhibitör etkisini kontrol etmek için enzim solüsyonu yerine %3 H₂O₂ (20 mM) kullanılarak paralel okuma yapılmıştır. Blank, kontrol ve tüm inhibitör konsantrasyonları dörtlü tekrar şeklinde yapılmış ve aşağıdaki denkleme (2) göre yüzde inhibisyonları hesaplanmıştır:

$$\%İnhibisyon = \frac{(FC_{t_2} - FC_{t_1}) - (FI_{t_2} - FI_{t_1})}{FC_{t_2} - FC_{t_1}} \times 100 \quad (2)$$

- FC_{t₂} : Kontrolün t₂ zamanında ölçülen flüoresansı
FC_{t₁} : Kontrolün t₁ zamanında ölçülen flüoresansı
FI_{t₂} : İnhibitörün t₂ zamanında ölçülen flüoresansı
FI_{t₁} : İnhibitörün t₁ zamanında ölçülen flüoresansı

Bileşiklerin IC₅₀ değerleri Microsoft Office Excel-2013 programında non-lineer regresyon analizinin sigmoid doz-yanıt modeli kullanılarak çizilen inhibisyon eğrilerinden hesaplanmıştır.

4.8.3. Beta amiloid 1-42 (A β 42) inhibitör tarama çalışmaları

Deney prosedürü fluorometrik metoda dayanan “Beta Amyloid 1- 42 (A β 42) Ligand Screening Assay” kit (BioVision, Milpitas, CA, USA) protokolü esas alınarak oluşturulmuştur.

4.9. Moleküler Modelleme Çalışmaları

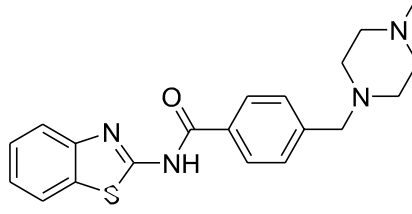
Tez kapsamında sentezi gerçekleştirilen bileşik serisi içerisinde AChE ve MAO-B enzimleri üzerinde etkili bulunan bileşik **4f**’nin ilgili enzim aktif bölgeleriyle olası bağlanma ve etkileşim noktalarını belirlemek amacıyla yapı temelli *in silico* docking metodu uygulanmıştır. Bu amaçla AChE enzimi için PDB: 4EY7 [73] ve MAO-B enzimi için PDB: 2V5Z [74] kristal yapıları üzerinde protein-ligand etkileşim analizi gerçekleştirilmiştir.

Kristal yapısı öncelikle *Schrödinger Suite 2015 Update 2*’de [75] yer alan *Protein Preparation Wizard* protokolü uygulanarak docking çalışmaları için hazır hale getirilmiş, OPLS 2005 kuvvet alanı kullanılarak bağ uzunlukları düzenlenmiş, yüklü amino asitlerin üzerindeki atomların belirtilen ortam koşullarındaki olası yükleri otomatik olarak belirlenmiştir. Dock edilecek bileşikler *LigPrep 3.8* [76] modülü ile docking için hazırlanmıştır. *Glide 7.1* [77] ile grid oluşturulmuş ve yine aynı modül kullanılarak single precision (SP) ile docking işlemi gerçekleştirilmiştir.

5. BULGULAR ve TARTIŞMALAR

5.1. Sentez Çalışmaları

5.1.1. N-(benzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-metilpiperazin-1-il)metil)benzamid (4a)



Şekil 5.1. N-(benzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-metilpiperazin-1-il)metil)benzamid (4a)

DeneySEL E.n: 145.3 - 148.9 °C. Verim: %87.

IR (ATR) $V_{maks}(cm^{-1})$: 3055 (Aromatik C-H bandı), 2958 (Alifatik C-H bandı), 1668 (C=O gerilim bandı), 1456 (C=C gerilim bandı), 871 (1,4-Disüstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

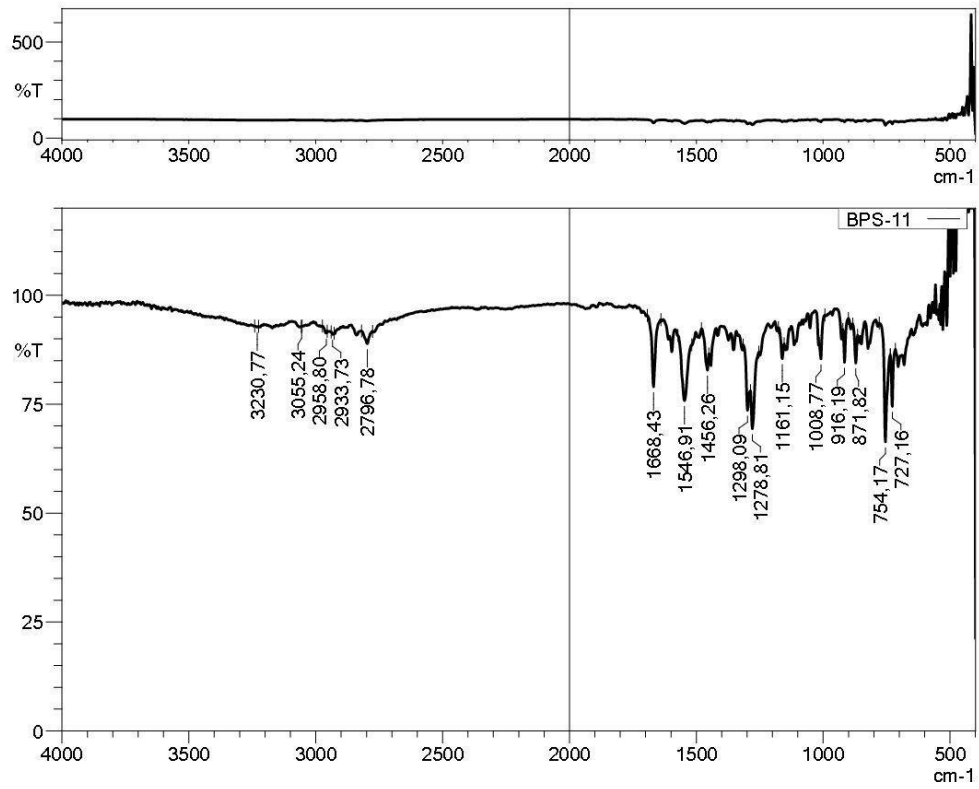
^1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 2.14 (3H, s, -CH₃), 2.36 (8H, y.s, piperazin), 3.52 (2H, s, -CH₂-), 7.32 (1H, t, J = 4.03 Hz, benzotiyazol), 7.43-7.44 (1H, m, benzotiyazol), 7.46 (2H, d, J = 6.82 Hz, 1,4-disüstitüebenzen), 7.77 (1H, d, J = 7.92 Hz, benzotiyazol), 8.00 (1H, d, J = 7.56 Hz, benzotiyazol), 8.11 (2H, d, J = 8.26 Hz, 1,4-disüstitüebenzen).

^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ = 46.14, 53.04, 55.14, 62.01, 120.68, 122.16, 124.00, 126.56, 128.78, 129.23, 131.25, 132.00, 144.16, 148.81, 159.76, 166.42.

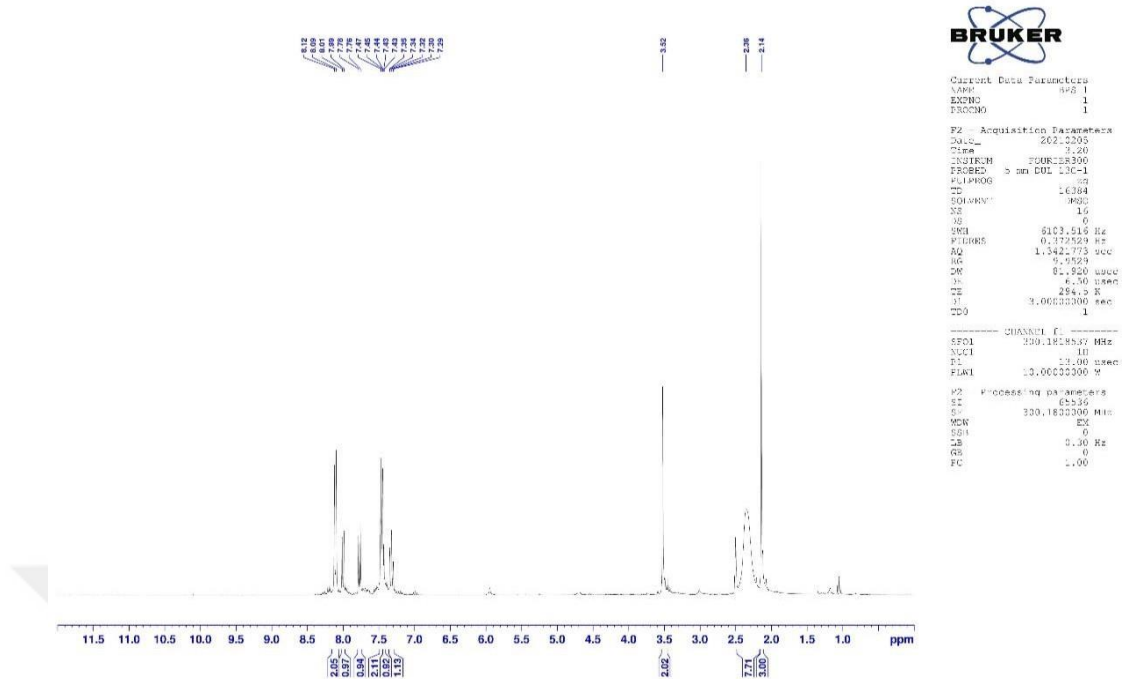
HRMS (m/z): [M+H]⁺ calcd for C₂₂H₂₂N₂O₂: 367.1587; found: 367.1595.

DOPNALAB

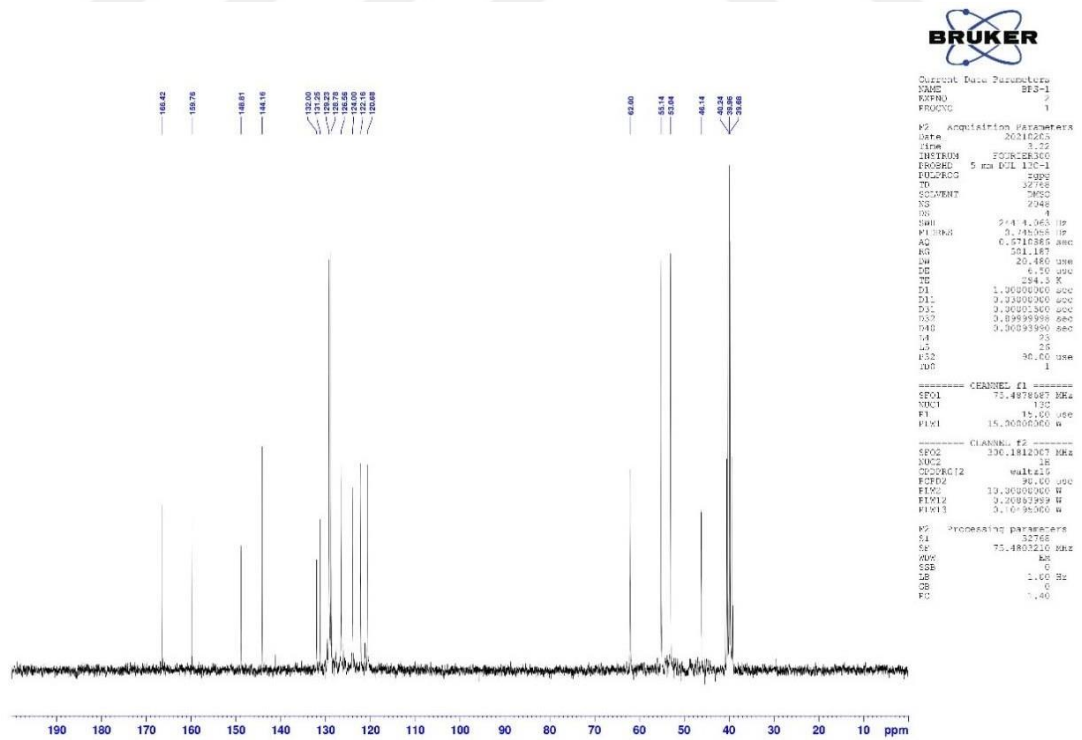
Item	Value
Acquired Date&Time	10.12.2021 11:54:29
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya\SEVVAL KARACA\BPS-11.ispd
Spectrum name	BPS-11
Sample name	BPS-1
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	15
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.2. Bileşik 4a'ya ait IR spektrumu



Şekil 5.3. Bileşik 4a'ya ait ^1H -NMR spektrumu



Şekil 5.4. Bileşik 4a'ya ait ^{13}C -NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\BPS-1_158.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	0	5	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	10	40	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 15.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

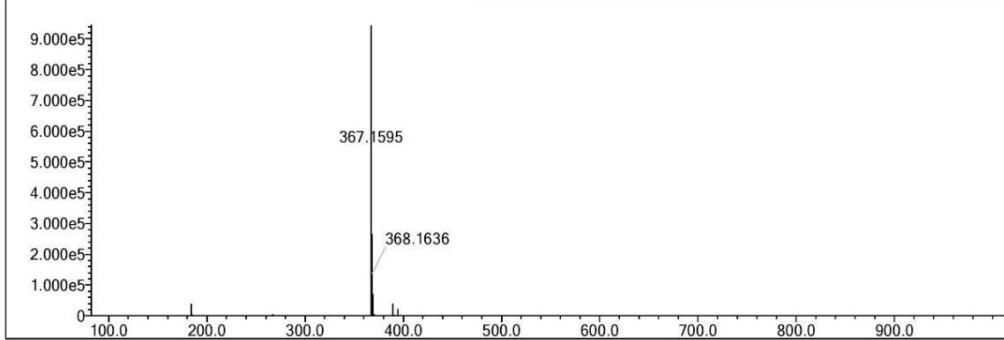
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

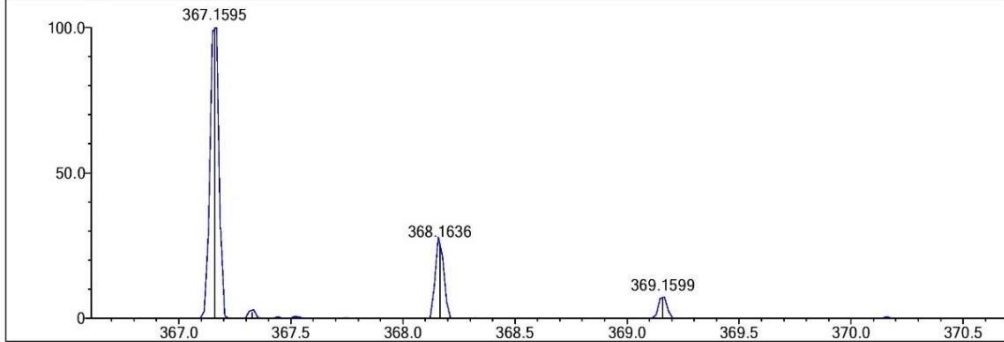
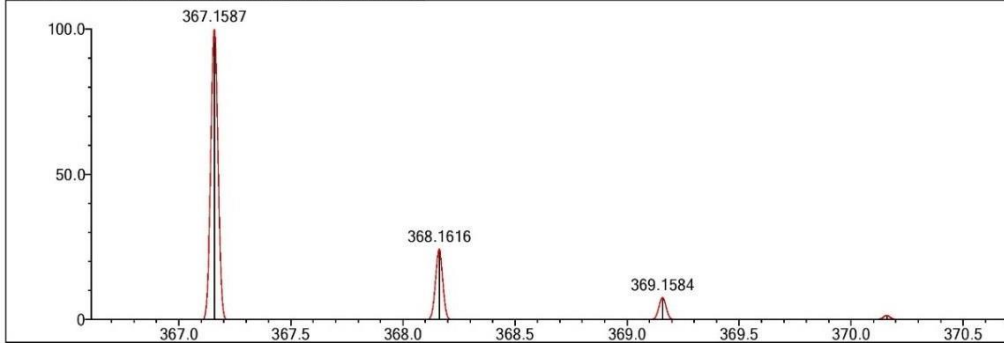
Isotope Res: 9000

Max Results: 150

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time: 1.827 -> 2.520 Scan#: 275 -> 379



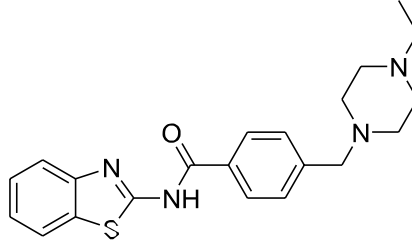
Measured region for 367.1595 m/z

C20 H22 N4 O S [M+H]⁺: Predicted region for 367.1587 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	97.05	C20 H22 N4 O S	[M+H] ⁺	367.1595	367.1587	0.8	2.18	100.00	12.0

Şekil 5.5. Bileşik 4a'ya ait kütle spektrumu

5.1.2. N-(benzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-etilpiperazin-1-il)metil)benzamid (4b)



Şekil 5.6. N-(benzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-etilpiperazin-1-il)metil)benzamid (4b)

Deneyisel E.n: 149.9 - 151.9 °C . Verim: %85.

IR (ATR) $V_{maks}(cm^{-1})$: 3064 (Aromatik C-H bandı), 2945 (Alifatik C-H bandı), 1668 (C=O gerilim bandı), 1456 (C=C gerilim bandı), 871 (1,4-Disüstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

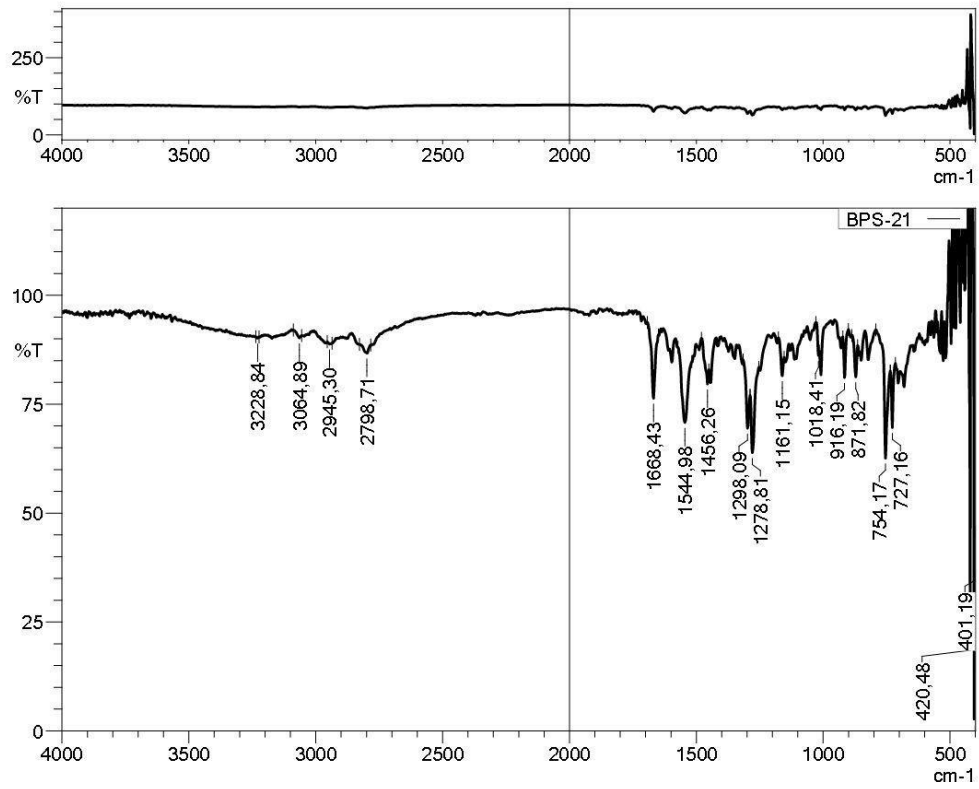
^1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 0.97 (3H, t, J = 7.14 Hz, $-CH_3$), 2.27-2.38 (10H, m, piperazin + $-CH_2-$), 3.54 (2H, s, $-CH_2-$), 7.33 (1H, t, J = 7.55 Hz, benzotiyazol), 7.43-7.46 (1H, m, benzotiyazol), 7.47 (2H, d, J = 7.95 Hz, 1,4-disüstitüebenzen), 7.78 (1H, d, J =7.99 Hz, benzotiyazol), 8.01 (1H, d, J = 7.95 Hz, benzotiyazol), 8.11 (2H, d, J = 8.18 Hz, 1,4-disüstitüebenzen).

^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ = 12.45, 52.06, 52.82, 53.18, 62.03, 120.71, 122.19, 124.06, 126.60, 128.78, 129.24, 131.14, 131.97, 144.23, 148.77, 159.62, 166.37.

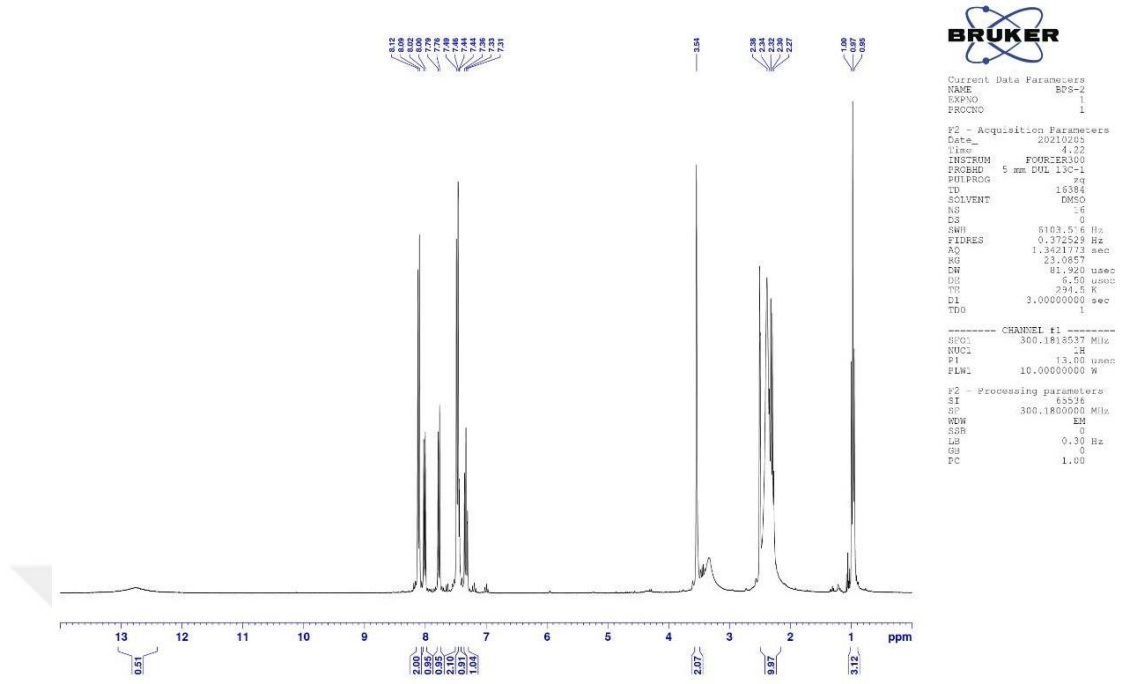
HRMS (m/z): $[M+H]^+$ calcd for $C_{21}H_{24}N_4OS$: 381.1744; found: 381.1754.

DOPNALAB

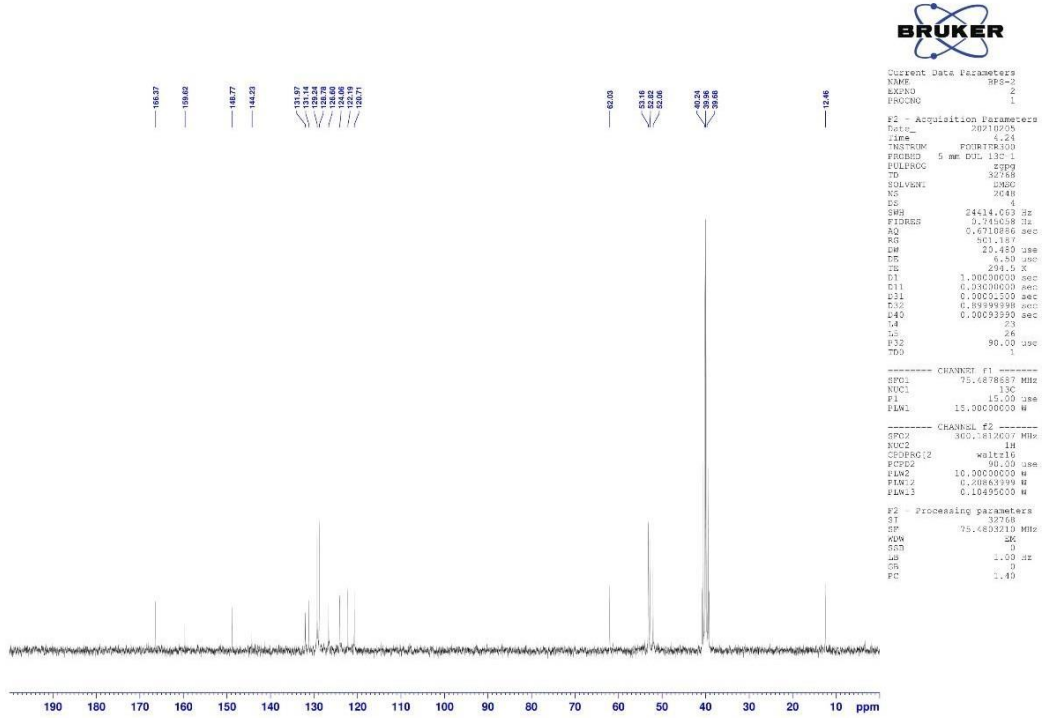
Item	Value
Acquired Date&Time	10.12.2021 11:57:56
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya\SEVVAL KARACA\BPS-21.ispd
Spectrum name	BPS-21
Sample name	BPS-2
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	15
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.7. Bileşik **4b**'ye ait IR spektrumu



Şekil 5.8. Bileşik 4b'ye ait ^1H -NMR spektrumu



Şekil 5.9. Bileşik 4b'ye ait ^{13}C -NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\BPS-2_159.lcd

Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	0	5	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	10	40	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 15.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

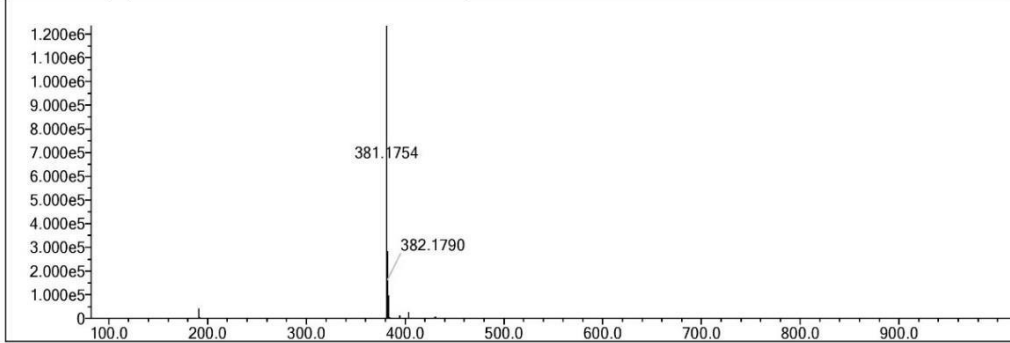
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

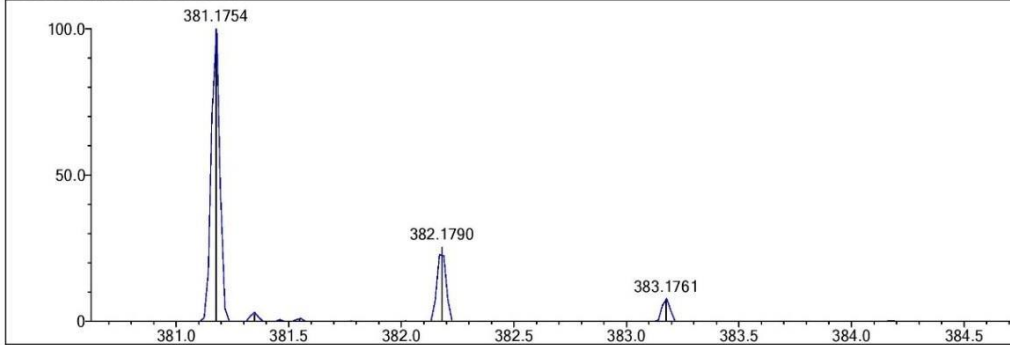
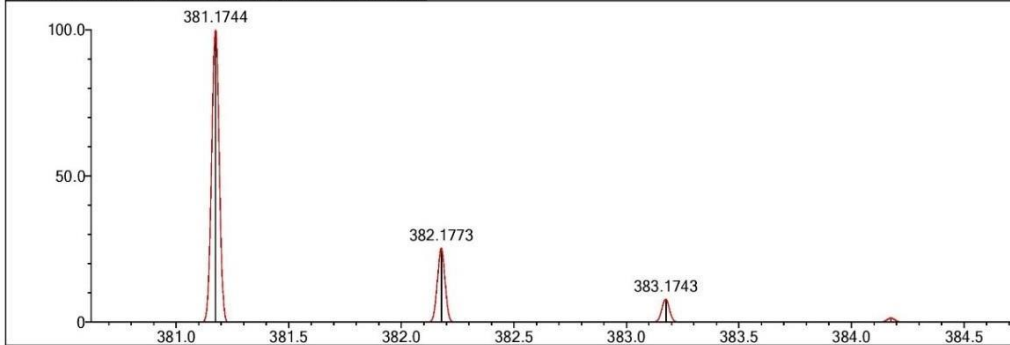
Isotope Res: 9000

Max Results: 150

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time: 1.920 -> 2.560 Scan#: 289 -> 385



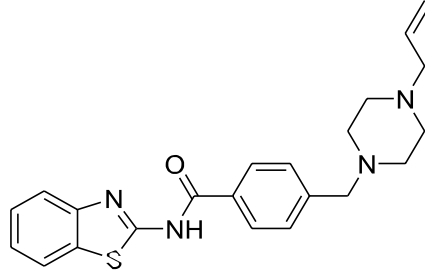
Measured region for 381.1754 m/z

C21 H24 N4 O S [M+H]⁺ : Predicted region for 381.1744 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	76.93	C21 H24 N4 O S	[M+H] ⁺	381.1754	381.1744	1.0	2.62	80.18	12.0

Şekil 5.10. Bileşik 4b'ye ait kütle spektrumu

5.1.3. 4-((4-allilpiperazin-1-il)metil)-N-(benzo[d]tiyazol-2-il)benzamid (4c)



Şekil 5.11. 4-((4-allilpiperazin-1-il)metil)-N-(benzo[d]tiyazol-2-il)benzamid (4c)

Deneysel E.n: 150.1 - 152.3 °C. Verim: %81.

IR (ATR) $V_{maks}(cm^{-1})$: 3072 (Aromatik C-H bandı), 2941 (Alifatik C-H bandı), 1668 (C=O gerilim bandı), 1456 (C=C gerilim bandı), 833 (1,4-Disüstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

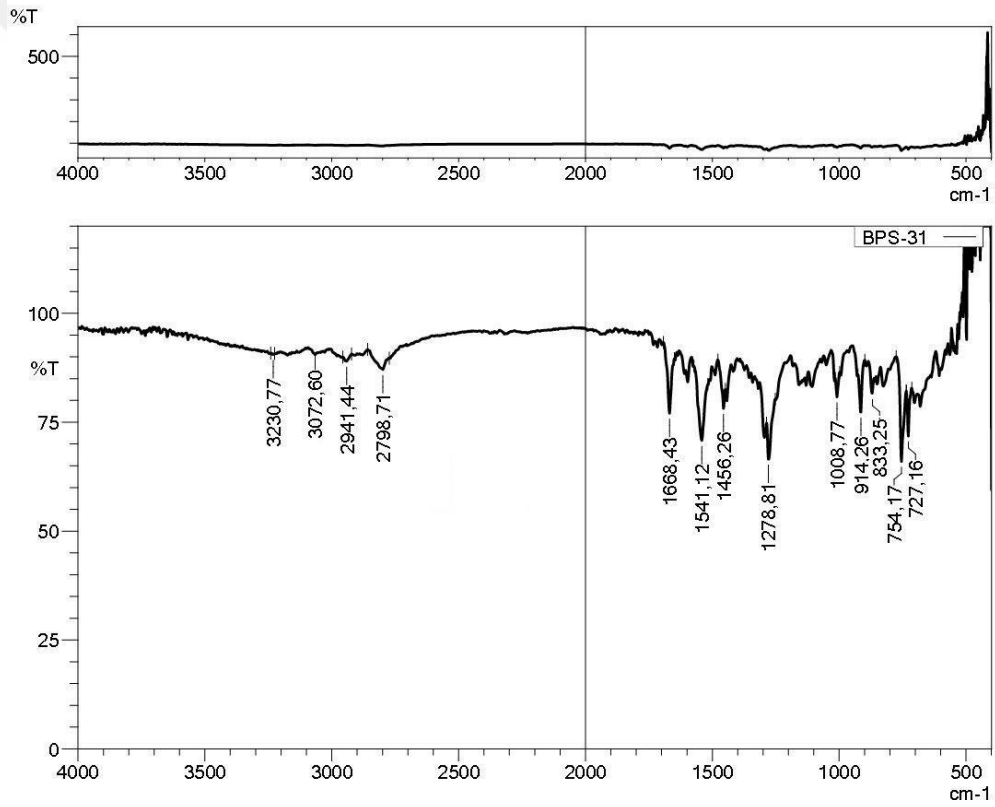
^1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 2.38 (8H, y.s, piperazin), 2.92 (2H, d, J = 6.36 Hz, -CH₂-), 3.54 (2H, s, -CH₂-), 5.08-5.18 (2H, m, -CH₂), 5.72-5.84 (1H, m, CH), 7.31 (1H, t, J = 4.03 Hz, benzotiyazol), 7.42-7.45 (1H, m, benzotiyazol), 7.46 (2H, d, J = 8.24 Hz, 1,4-disüstitüebenzen), 7.76 (1H, d, J = 7.86 Hz, benzotiyazol), 7.99 (1H, d, J = 7.95 Hz, benzotiyazol), 8.11 (2H, d, J = 8.25 Hz, 1,4-disüstitüebenzen).

^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ = 53.04, 53.15, 61.34, 62.04, 117.85, 120.61, 122.13, 123.88, 126.50, 128.78, 129.19, 131.52, 132.05, 136.08, 144.03, 148.89, 160.08, 166.59.

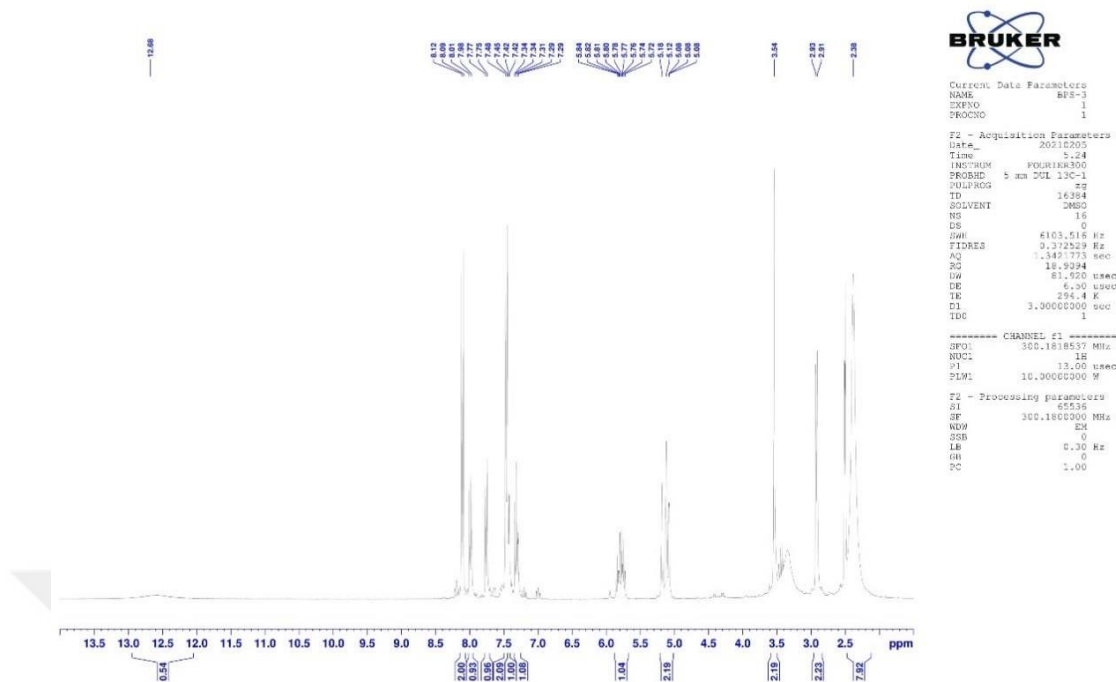
HRMS (m/z): $[M+H]^+$ calcd for C₂₂H₂₄N₄OS: 393.1744; found: 393.1754.

DOPNALAB

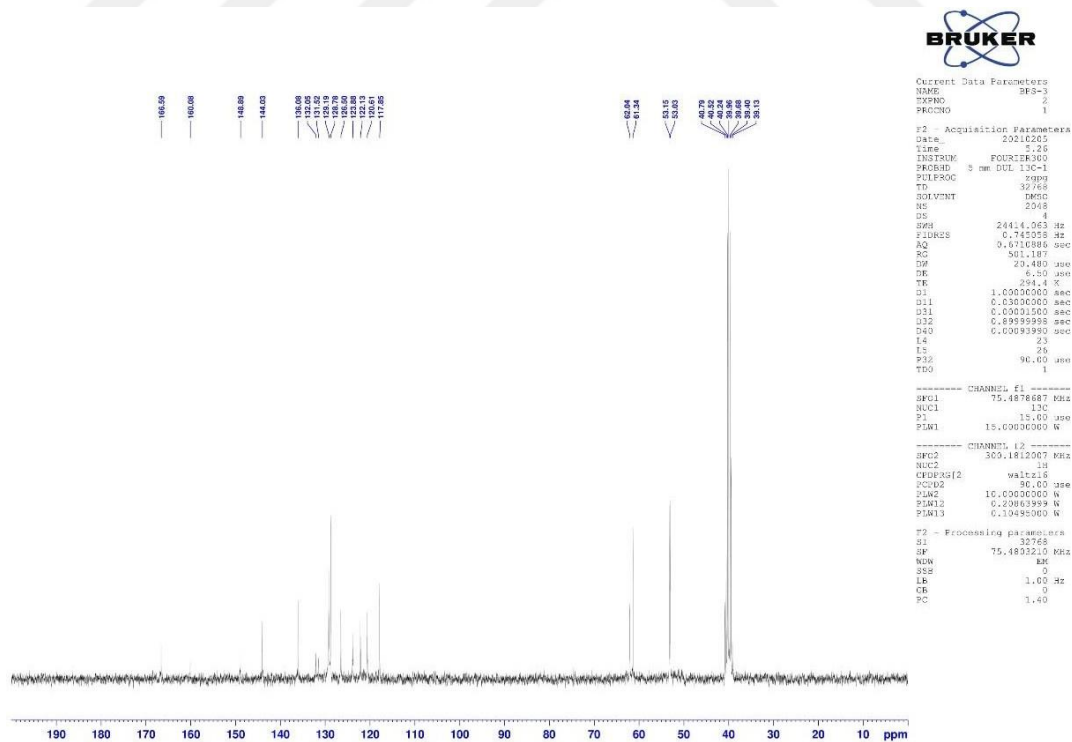
Item	Value
Acquired Date&Time	10.12.2021 12:00:12
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya\SEVVAL KARACA\BPS-31.ispd
Spectrum name	BPS-31
Sample name	BPS-3
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	15
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.12. Bileşik 4c'ye ait IR spektrumu



Şekil 5.13. Bileşik 4c'ye ait ^1H -NMR spektrumu



Şekil 5.14. Bileşik 4c'ye ait ^{13}C -NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\BPS-3_160.lcd

Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	0	5	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	10	40	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	0	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 15.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

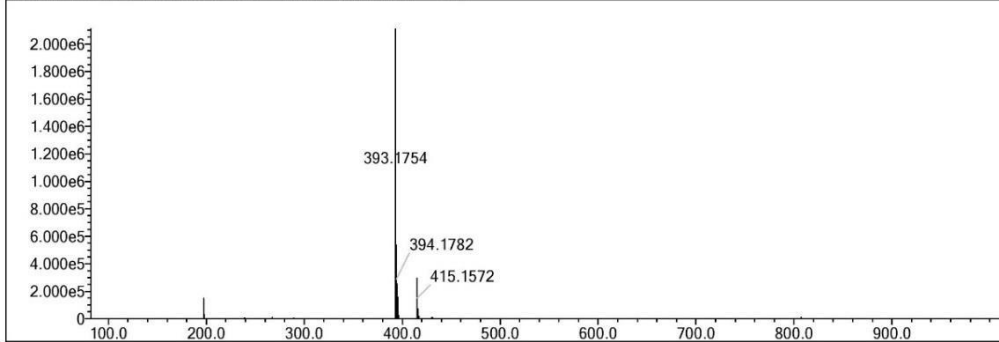
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

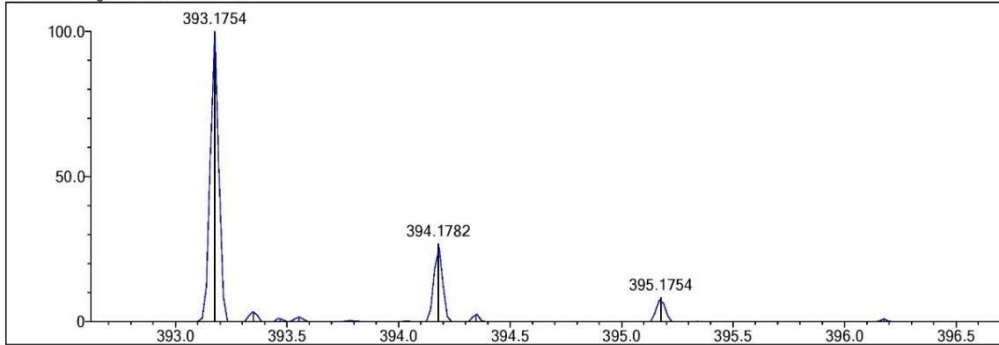
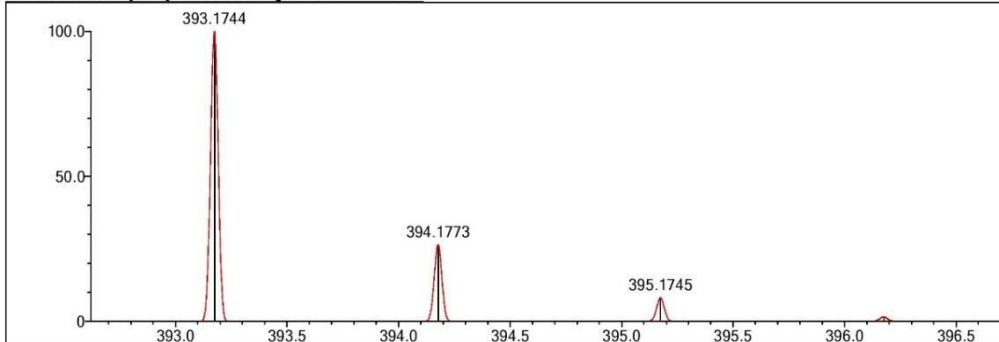
Isotope Res: 9000

Max Results: 150

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.000 -> 2.480 Scan# : 301 -> 373



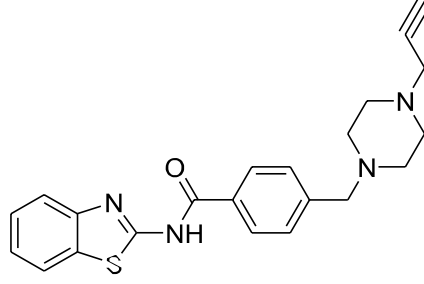
Measured region for 393.1754 m/z

C22 H24 N4 O S [M+H]⁺ : Predicted region for 393.1744 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	89.53	C22 H24 N4 O S	[M+H] ⁺	393.1754	393.1744	1.0	2.54	93.12	13.0

Şekil 5.15. Bileşik 4c'ye ait kütle spektrumu

5.1.4. N-(benzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-(prop-2-in-1-il)piperazin-1-il)metil)benzamid (4d)



Şekil 5.16. N-(benzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-(prop-2-in-1-il)piperazin-1-il)metil)benzamid (**4d**)

Deneysel E.n: 134.7 - 136.2 °C. Verim: %79.

IR (ATR) $V_{maks}(cm^{-1})$: 3066 (Aromatik C-H bandı), 2972 (Alifatik C-H bandı), 1670 (C=O gerilim bandı), 1442 (C=C gerilim bandı), 871 (1,4-Disüstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

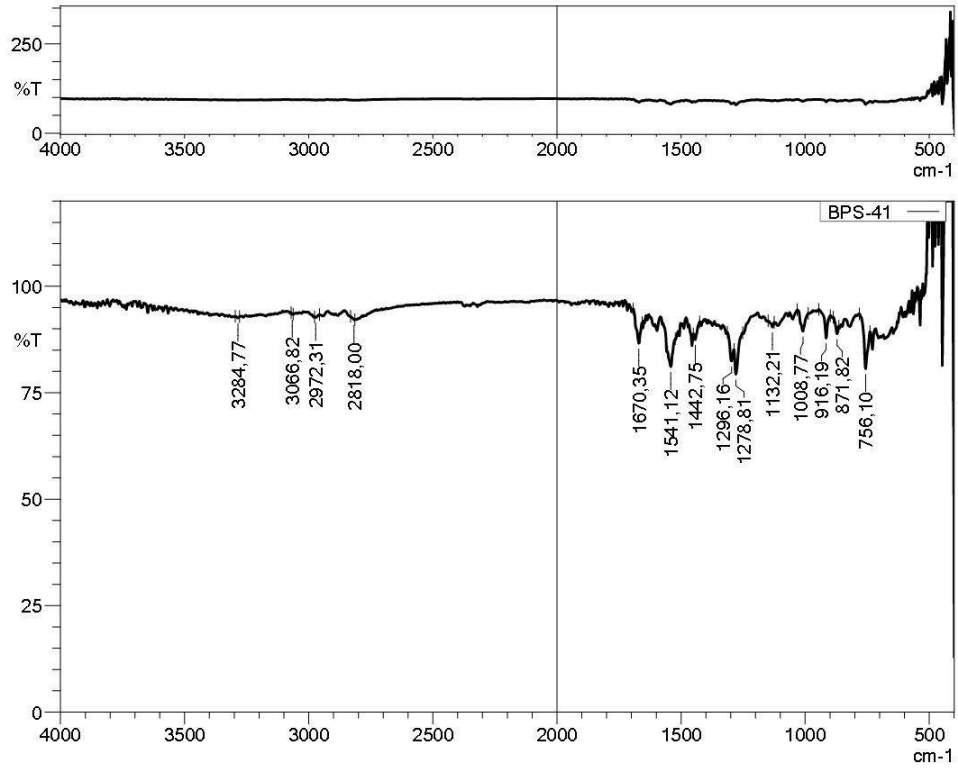
^1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 2.41 (4H, y.s, piperazin), 2.47 (4H, y.s., piperazin), 3.14 (1H, s, -CH), 3.25 (2H, s, -CH₂), 3.54 (2H, s, -CH₂), 7.31 (1H, t, J = 4.03 Hz, benzotiyazol), 7.43 (1H, y.s, benzotiyazol), 7.47 (2H, d, J = 7.63 Hz, 1,4-disüstitüebenzen), 7.76 (1H, d, J = 7.89 Hz, benzotiyazol), 7.99 (1H, d, J = 7.96 Hz, benzotiyazol), 8.11 (2H, d, J = 8.24 Hz, 1,4-disüstitüebenzen).

^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ = 46.43, 51.60, 53.00, 61.97, 76.12, 79.86, 120.67, 122.14, 123.99, 126.56, 128.80, 129.21, 131.31, 132.00, 144.12, 148.79, 159.78, 166.47.

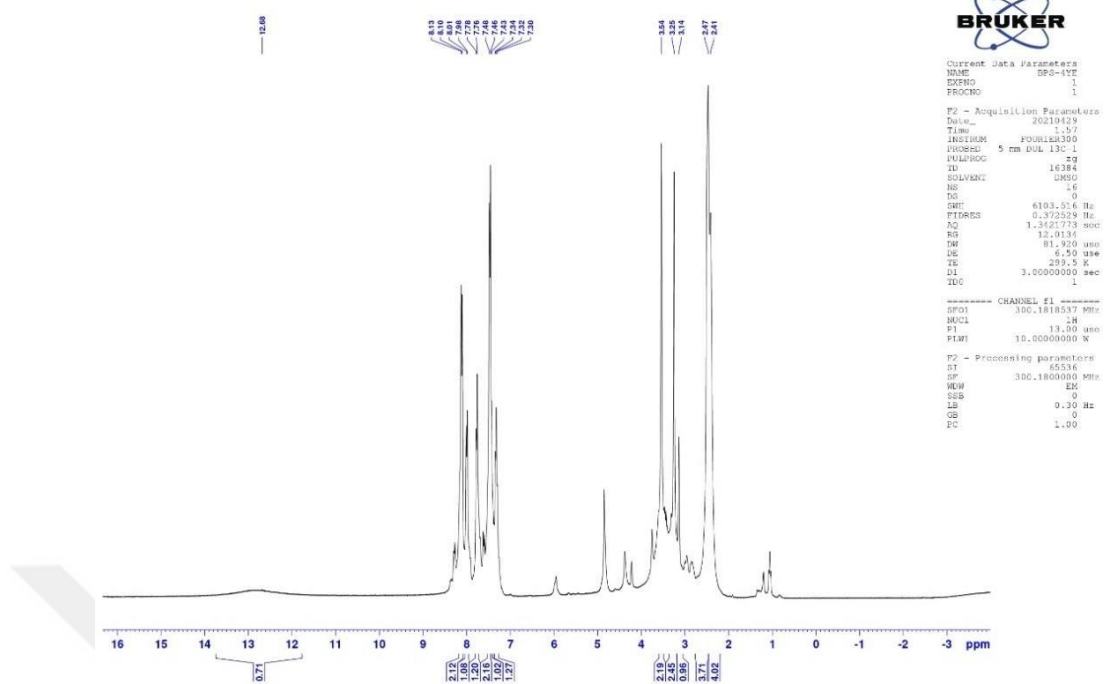
HRMS (m/z): [M+H]⁺ calcd for C₂₂H₂₂N₄OS: 391.1587; found: 391.1599.

DOPNALAB

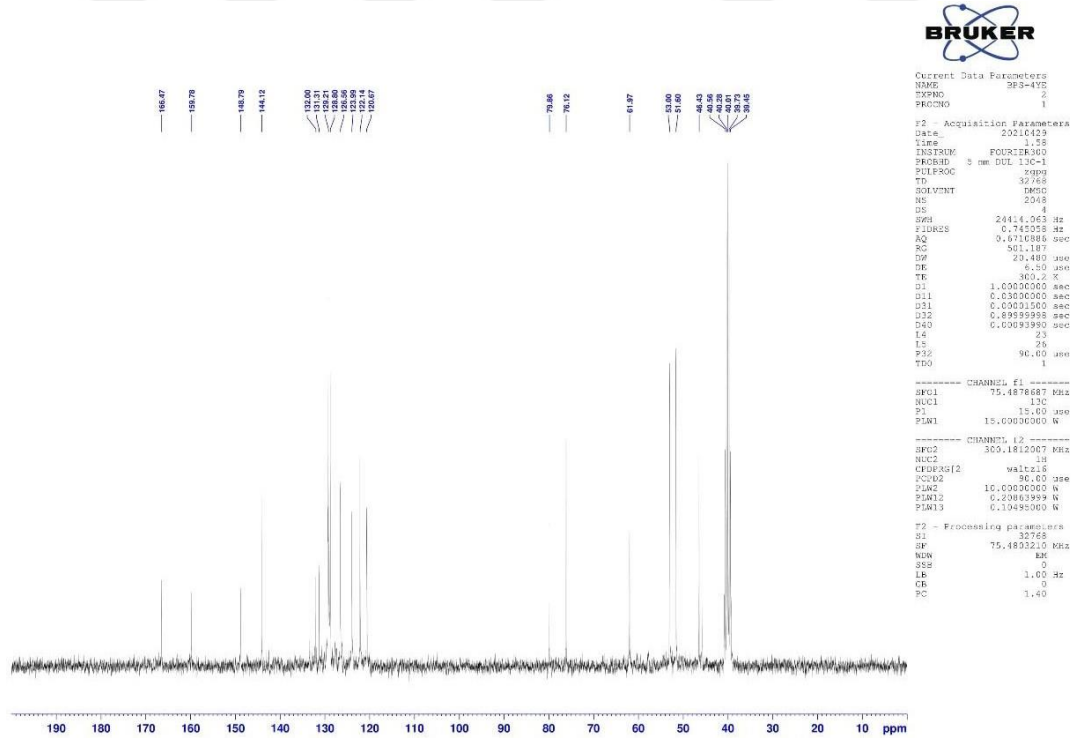
Item	Value
Acquired Date&Time	10.12.2021 12:02:06
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya\SEVVAL KARACA\BPS-41.ispd
Spectrum name	BPS-41
Sample name	BPS-4
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	15
Resolution	4 [cm ⁻¹]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.17. Bileşik 4d'ye ait IR spektrumu



Şekil 5.18. Bileşik 4d'ye ait ^1H -NMR spektrumu



Şekil 5.19. Bileşik 4d'ye ait ^{13}C -NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\BPS-4_161.lcd

Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	0	5	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	10	40	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	1	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 15.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

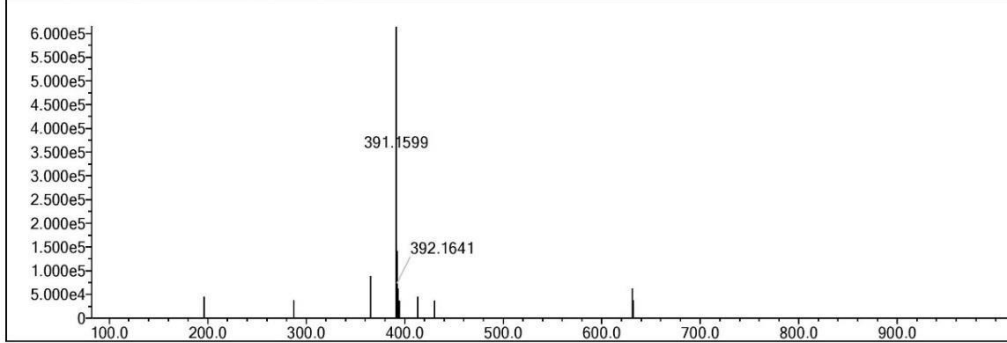
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

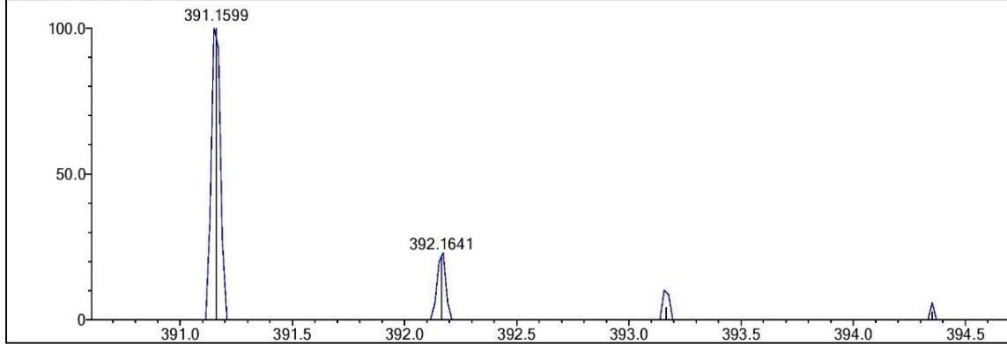
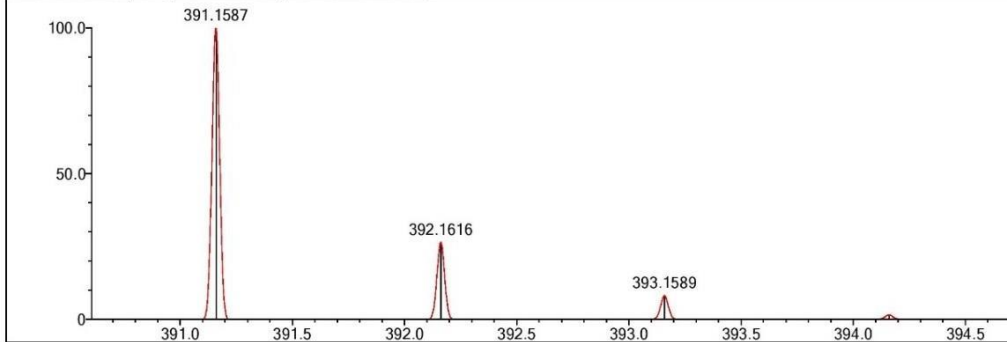
Isotope Res: 9000

Max Results: 150

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time: 1.893 Scan#: 285



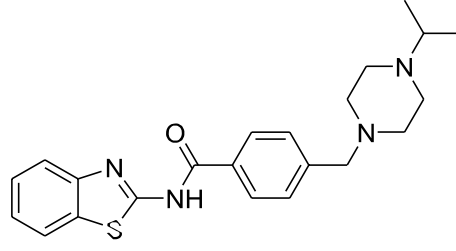
Measured region for 391.1599 m/z

C22 H22 N4 O S [M+H]⁺: Predicted region for 391.1587 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Mess. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	62.15	C22 H22 N4 O S	[M+H] ⁺	391.1599	391.1587	1.2	3.07	65.54	14.0

Şekil 5.20. Bileşik 4d'ye ait kütle spektrumu

5.1.5. N-(benzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-izopropilpiperazin-1-il)metil)benzamid (4e)



Şekil 5.21. *N*-(benzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-izopropilpiperazin-1-il)metil)benzamid (**4e**)

Deneysel E.n: 140.3 - 142.1 °C. Verim: %82.

IR (ATR) $V_{maks}(cm^{-1})$: 3066 (Aromatik C-H bandı), 2968 (Alifatik C-H bandı), 1670 (C=O gerilim bandı), 1456 (C=C gerilim bandı), 871 (1,4-Disüstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

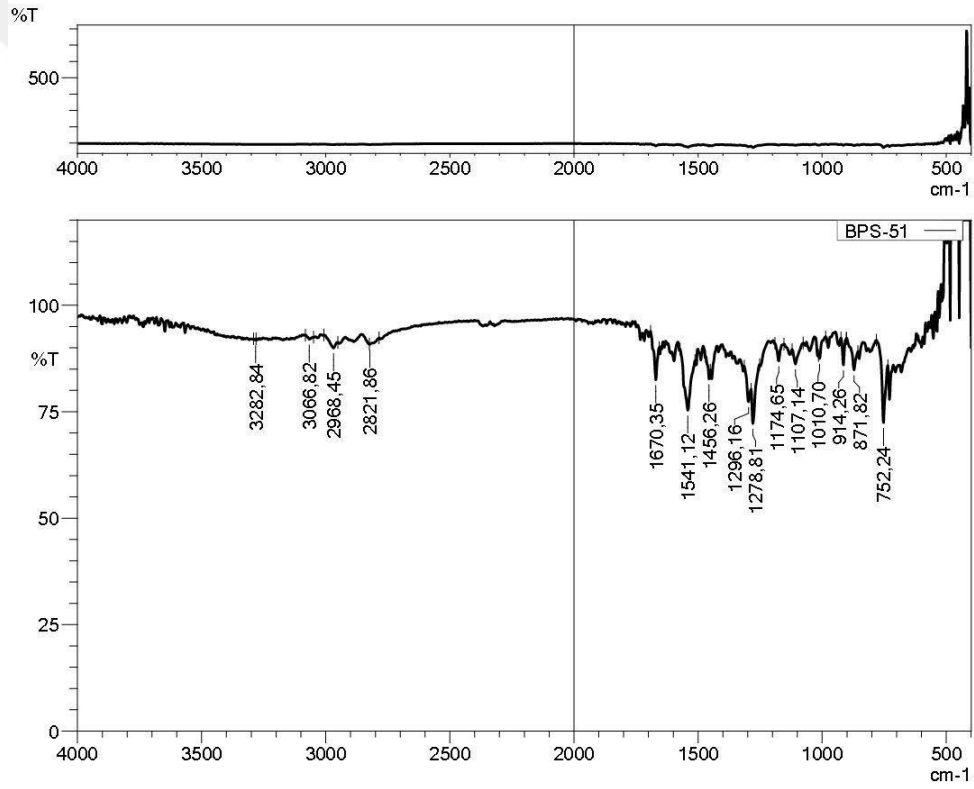
^1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 1.07 (6H, d, J = 6.51 Hz, -CH₃ + -CH₃), 2.48 (4H, y.s., piperazin), 2.55 (1H, y.s., piperazin), 2.61-2.74 (1H, m, -CH), 3.54 (2H, s, -CH₂), 7.26-7.32 (3H, m, benzotiyazol), 7.40 (2H, d, J = 8.16 Hz, 1,4-disüstitüebenzen), 7.84-7.87 (1H, m, benzotiyazol), 7.96 (2H, d, J = 8.29 Hz, 1,4-disüstitüebenzen).

^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ = 18.65, 48.60, 53.42, 54.45, 62.50, 120.64, 121.42, 123.92, 126.06, 127.93, 129.56, 130.68, 131.97, 144.26, 147.84, 159.68, 165.79.

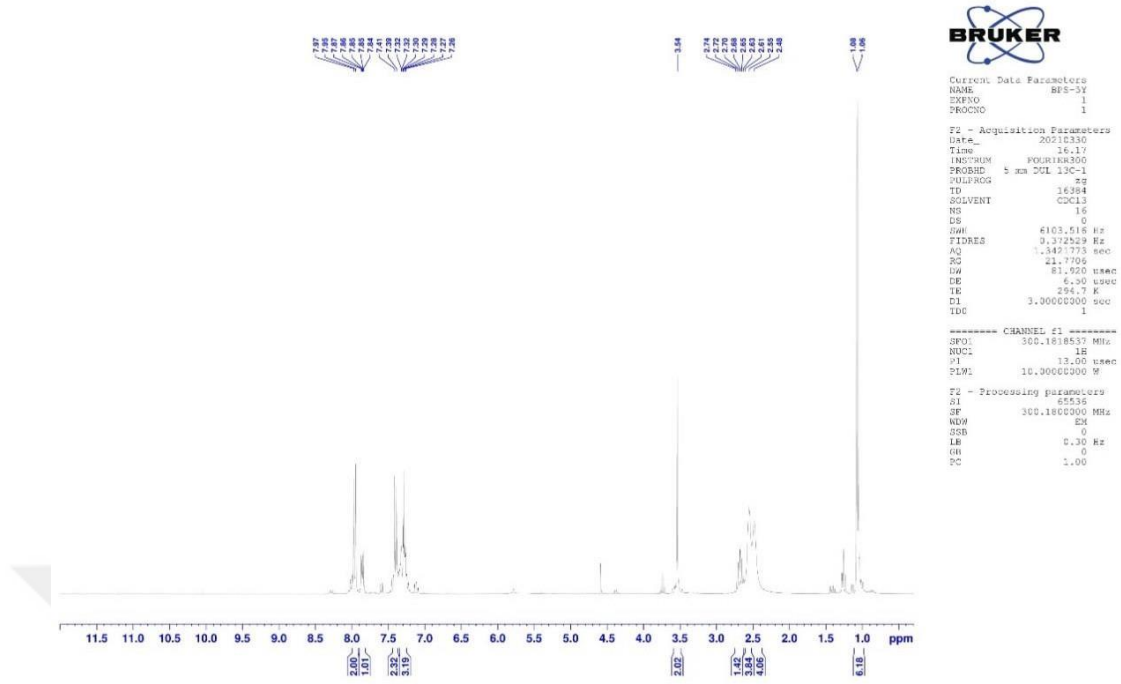
HRMS (m/z): [M+H]⁺ calcd for C₂₂H₂₆N₄OS:395.1900; found: 395.1912.

DOPNALAB

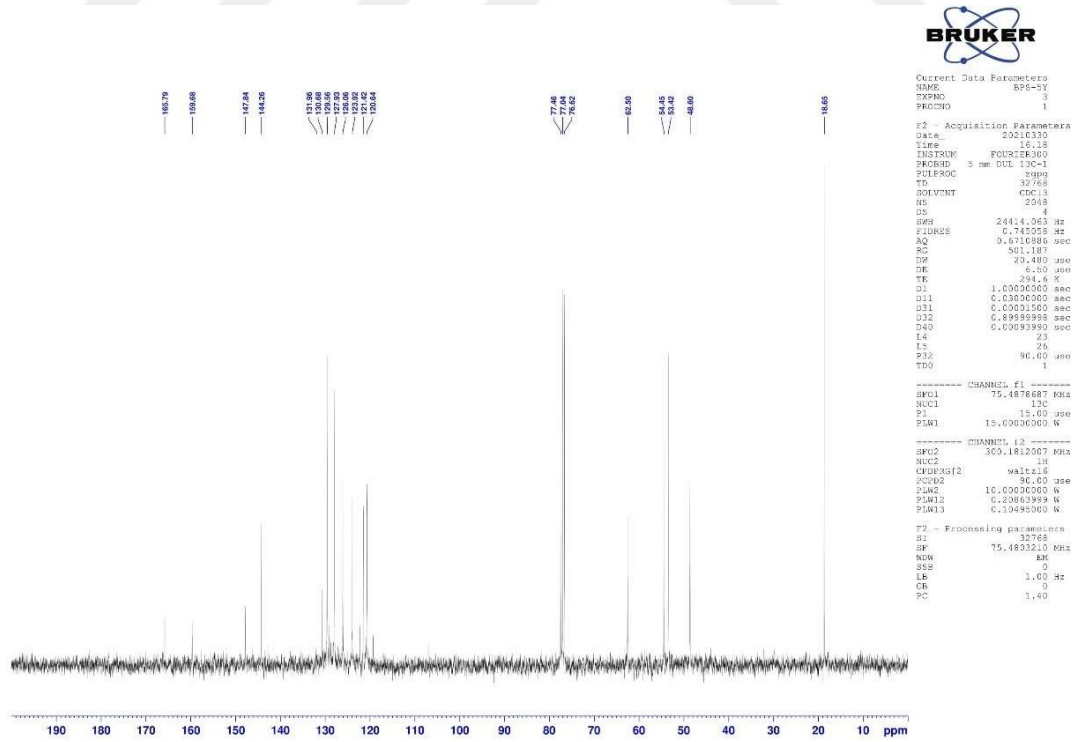
Item	Value
Acquired Date&Time	10.12.2021 12:03:59
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnlab\Desktop\derya\SEVVAL KARACA\BPS-51.ispd
Spectrum name	BPS-51
Sample name	BPS-5
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	15
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.22. Bileşik 4e'ye ait IR spektrumu



Şekil 5.23. Bileşik 4e'ye ait ^1H -NMR spektrumu



Şekil 5.24. Bileşik 4e'ye ait ^{13}C -NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\BPS-5_162.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	0	5	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	10	40	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	1	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 15.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

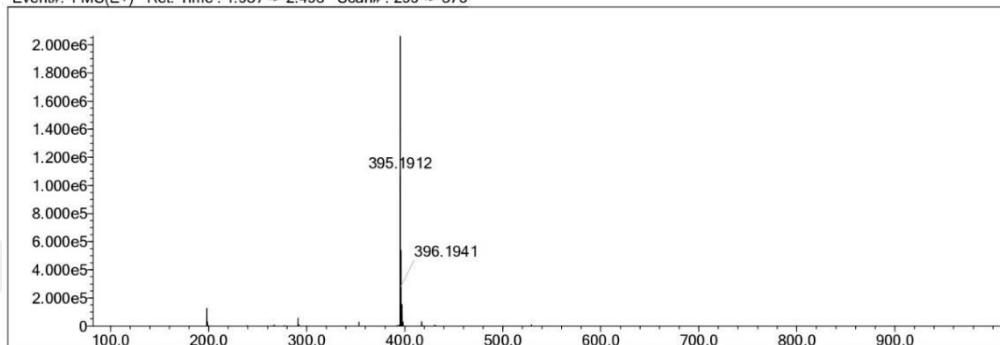
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

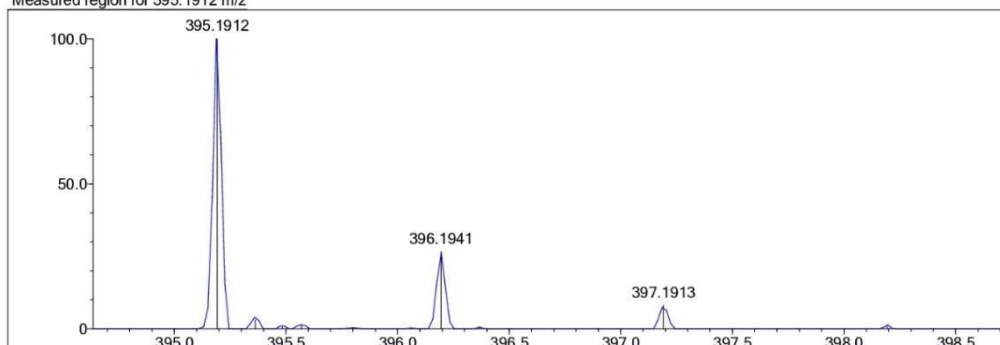
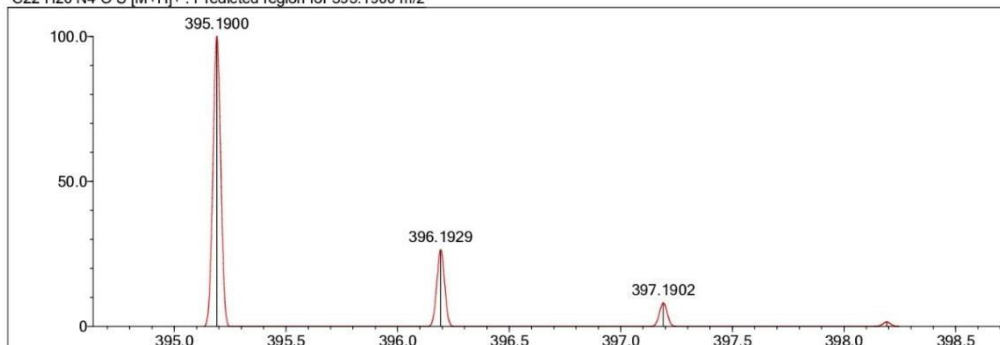
Isotope Res: 9000

Max Results: 150

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time: 1.987 -> 2.493 Scan#: 299 -> 375



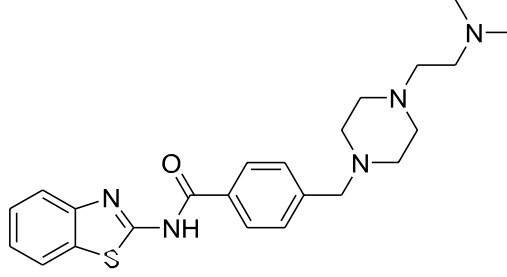
Measured region for 395.1912 m/z

C22 H26 N4 O S [M+H]⁺: Predicted region for 395.1900 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	94.90	C22 H26 N4 O S	[M+H] ⁺	395.1912	395.1900	1.2	3.04	100.00	12.0

Şekil 5.25. Bileşik 4e'ye ait kütle spektrumu

5.1.6. N-(benzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-(2-(dimetilamino)etil)piperazin-1-il)metil)benzamid (4f)



Şekil 5.26. N-(benzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-(2-(dimetilamino)etil)piperazin-1-il)metil)benzamid (4f)

Deneysel E.n: 175.7 - 177.8 °C. Verim: %78.

IR (ATR) $V_{maks}(cm^{-1})$: 3061 (Aromatik C-H bandı), 2941 (Alifatik C-H bandı), 1668 (C=O gerilim bandı), 1456 (C=C gerilim bandı), 848 (1,4-Disüstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

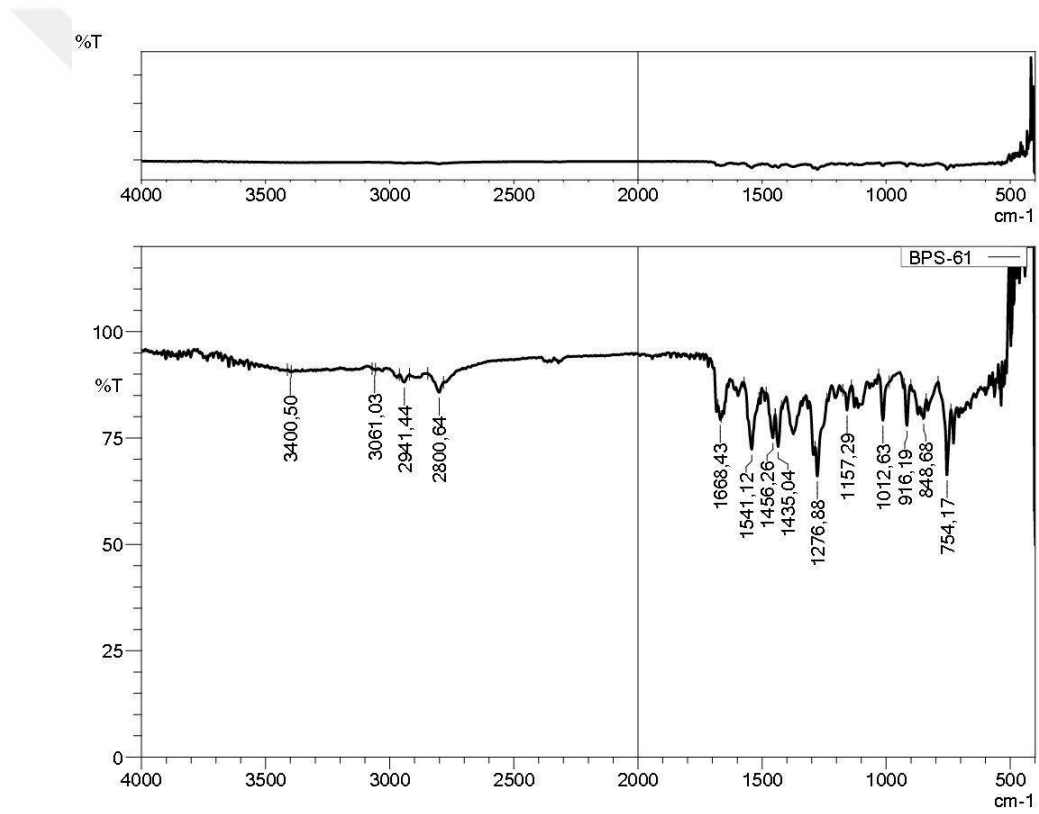
^1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 2.25 (6H, s, -CH₃ + -CH₃), 2.46 (4H, y.s., piperazin), 2.48 (4H, y.s., piperazin), 2.89 (2H, s, -CH₂), 2.96 (2H, s, -CH₂), 3.54 (2H, s, -CH₂), 7.27-7.30 (2H, m, benzotiyazol), 7.37-7.40 (1H, m, benzotiyazol), 7.41 (2H, d, $J=8.30$ Hz, 1,4-disüstitüebenzen), 7.84-7.87 (1H, m, benzotiyazol), 7.96 (2H, d, $J=8.23$ Hz, 1,4-disüstitüebenzen).

^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ = 45.90, 45.94, 53.03, 53.59, 56.65, 56.89, 62.45, 120.69, 121.42, 123.91, 126.04, 127.91, 129.50, 130.71, 132.02, 144.94, 147.94, 159.49, 165.68.

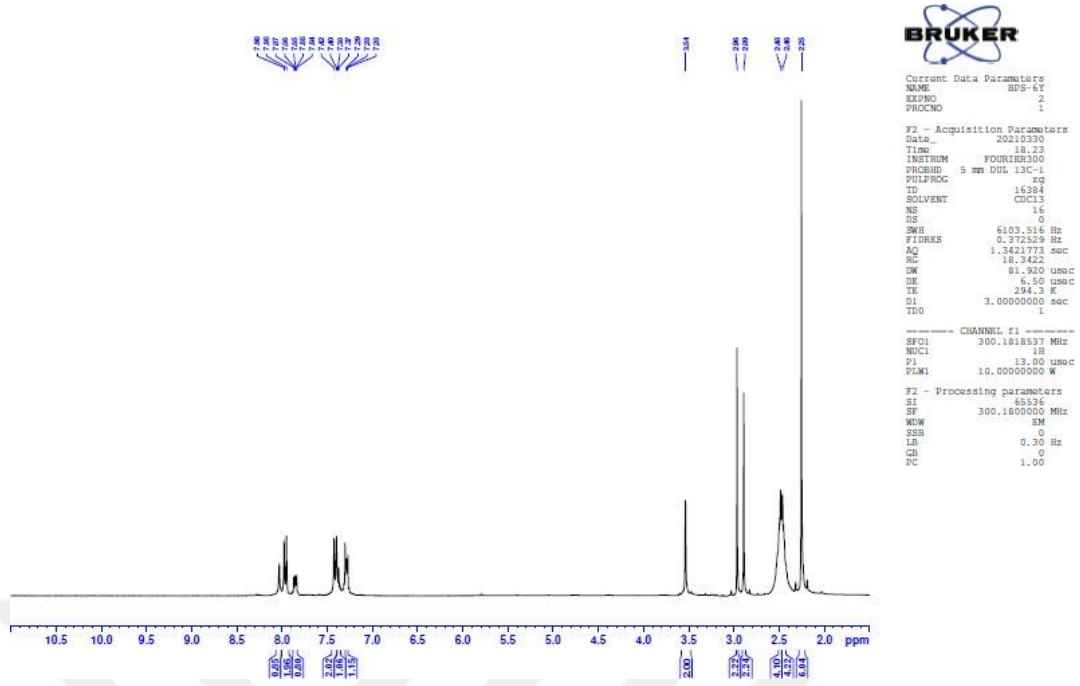
HRMS (m/z): [M+H]⁺ calcd for C₂₃H₂₉N₅OS: 424.2166; found: 424.2167.

DOPNALAB

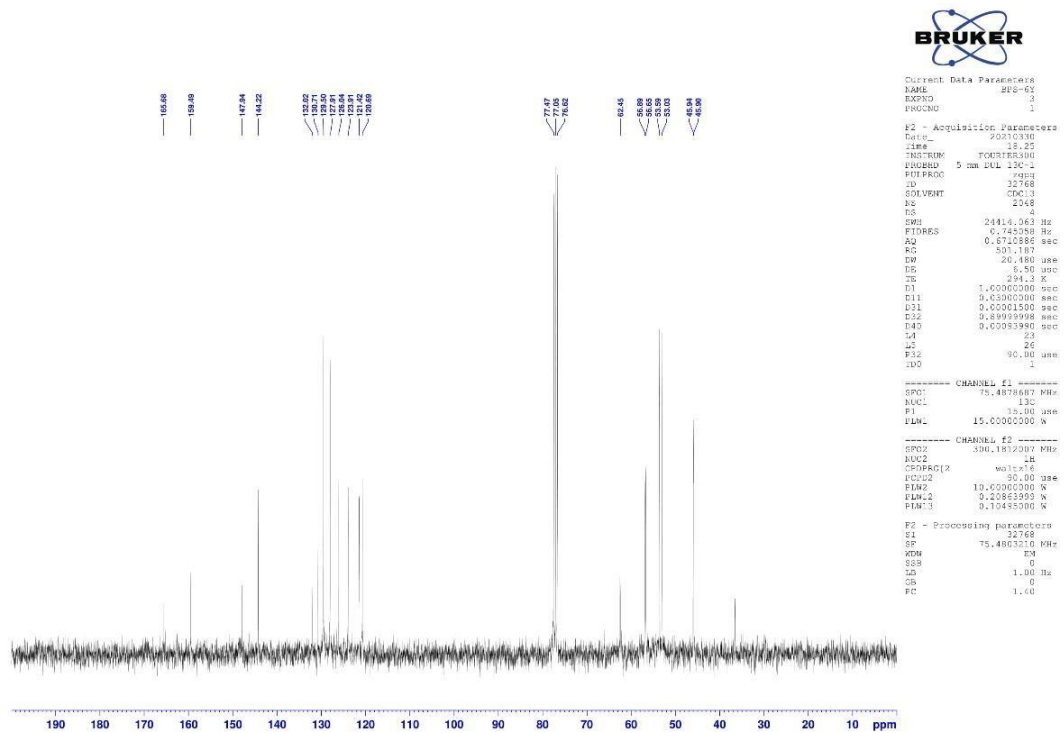
Item	Value
Acquired Date&Time	10.12.2021 12:05:43
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya\SEVVAL KARACA\BPS-61.ispd
Spectrum name	BPS-61
Sample name	BPS-6
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	15
Resolution	4 [cm ⁻¹]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.27. Bileşik 4f'ye ait IR spektrumu



Şekil 5.28. Bileşik 4f'ye ait ^1H -NMR spektrumu



Şekil 5.29. Bileşik 4f'ye ait ^{13}C -NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\BPS-6_163.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	0	5	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	10	40	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	2	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 15.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

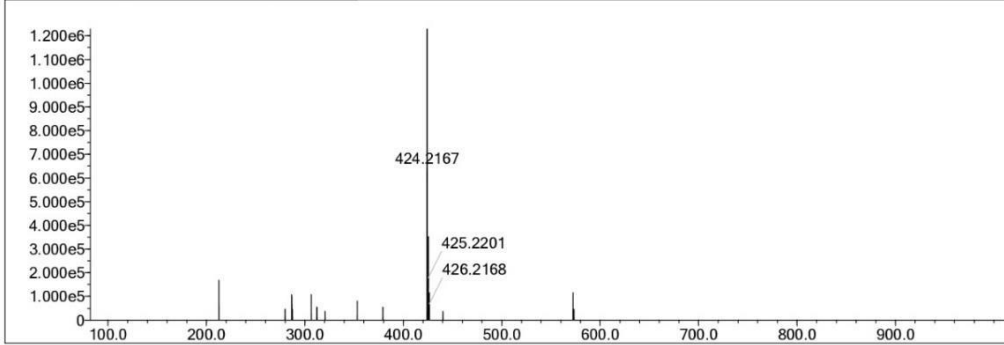
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

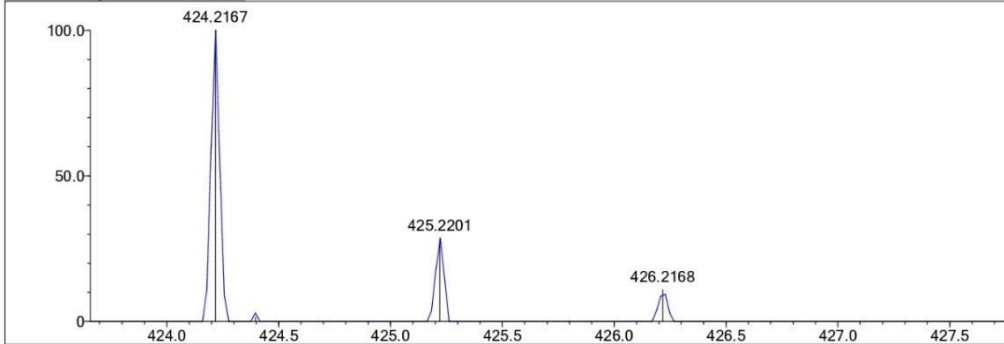
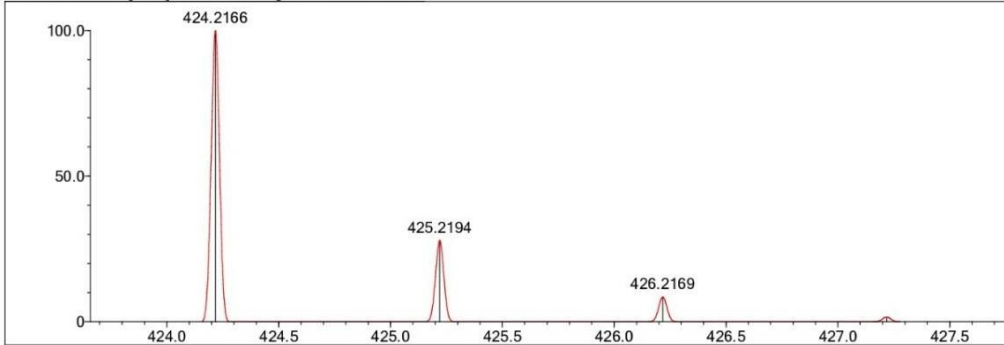
Isotope Res: 9000

Max Results: 150

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 1.947 Scan#: 293



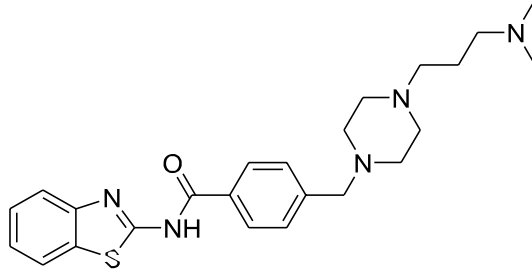
Measured region for 424.2167 m/z

C23 H29 N5 O S [M+H]⁺ : Predicted region for 424.2166 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	98.87	C23 H29 N5 O S	[M+H] ⁺	424.2167	424.2166	0.1	0.24	98.87	12.0

Şekil 5.30. Bileşik 4f'ye ait kütle spektrumu

5.1.7. N-(benzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-(3-(dimetilamino)propil)piperazin-1-il)metil)benzamid (4g)



Şekil 5.31. N-(benzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-(3-(dimetilamino)propil)piperazin-1-il)metil)benzamid (4g)

Deneysel E.n: 72.3-74.7 °C. Verim: %85.

IR (ATR) $V_{maks}(cm^{-1})$: 3061 (Aromatik C-H bandı), 2939 (Alifatik C-H bandı), 1681 (C=O gerilim bandı), 1456 (C=C gerilim bandı), 871 (1,4-Disüstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

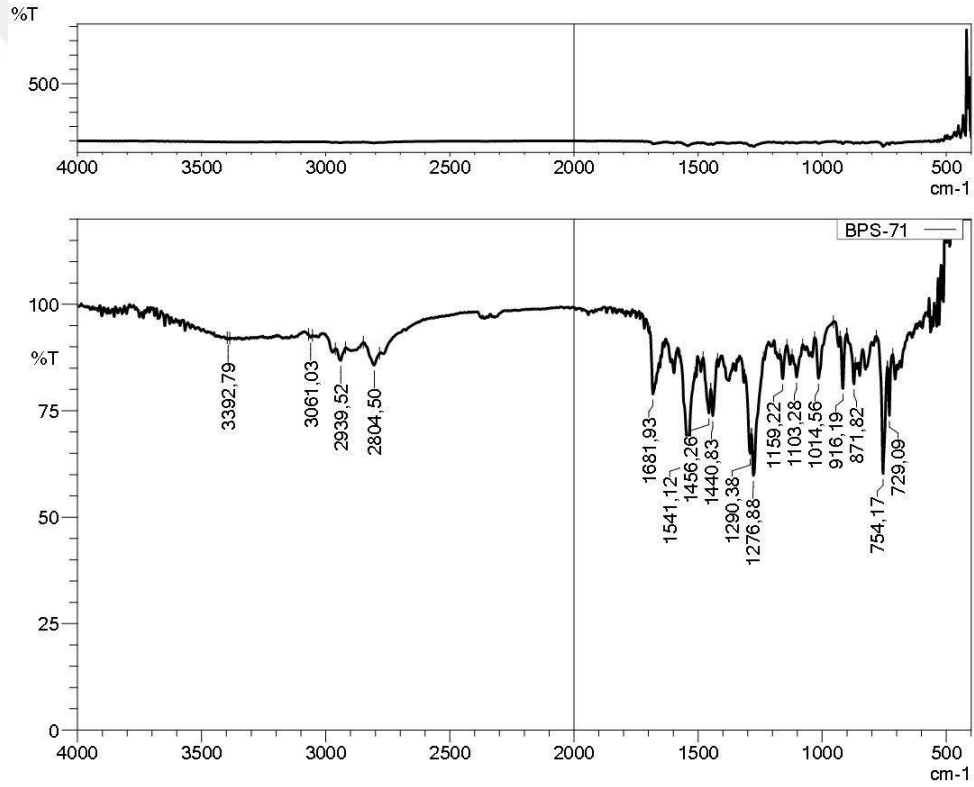
^1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 1.48-1.56 (2H, m, $-CH_2-$), 2.13 (6H, s, $-CH_3$ + $-CH_3$), 2.20-2.27 (4H, m, piperazin), 2.35 (8H, y.s, $-CH_2-$ + $-CH_2-$ + piperazin), 3.52 (2H, s, $-CH_2-$), 7.31 (1H, t, J = 7.57 Hz, benzotiyazol), 7.42-7.44 (1H, m, benzotiyazol), 7.45 (2H, d, J = 8.11 Hz, 1,4-disüstitüebenzen), 7.76 (1H, d, J = 7.95 Hz, benzotiyazol), 7.99 (1H, d, J = 7.64 Hz, benzotiyazol), 8.11 (2H, d, J = 8.20 Hz, 1,4-disüstitüebenzen).

^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ = 24.67, 45.40, 53.17, 53.26, 56.35, 57.60, 62.04, 120.64, 122.15, 123.94, 126.54, 128.77, 129.23, 131.37, 132.01, 144.06, 148.84, 159.94, 166.51.

HRMS (m/z): $[M+H]^+$ calcd for $C_{24}H_{31}N_5OS$: 438.2322; found: 438.2333.

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	10.12.2021 12:07:39
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnlab\Desktop\derya\SEVVAL KARACA\BPS-71.ispd
Spectrum name	BPS-71
Sample name	BPS-7
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	15
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.32. Bileşik 4g'ye ait IR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\BPS-7_164.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	0	5	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	10	40	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	2	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 15.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

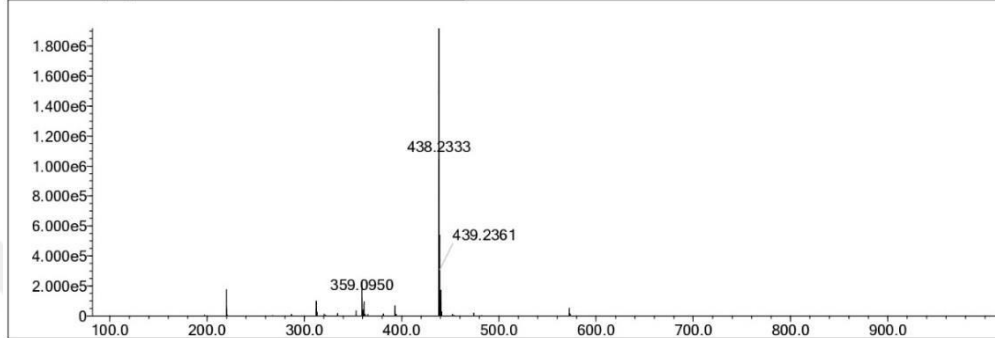
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

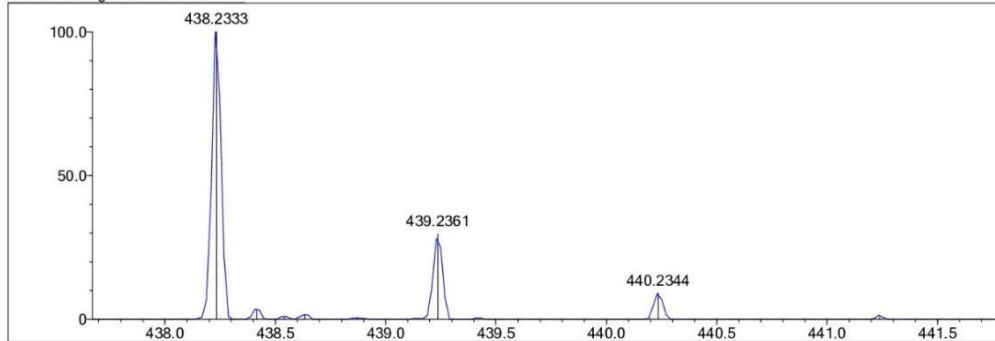
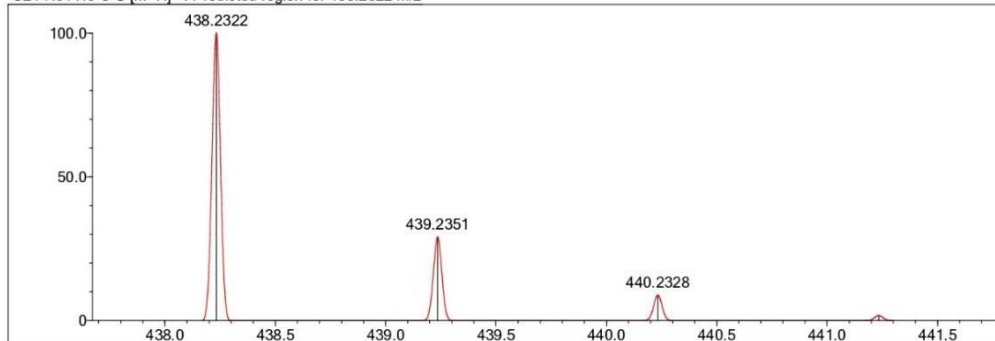
Isotope Res: 9000

Max Results: 150

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 1.640 -> 2.307 Scan#: 247 -> 347



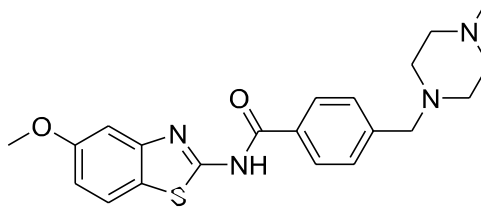
Measured region for 438.2333 m/z

C24 H31 N5 O S [M+H]⁺ : Predicted region for 438.2322 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	91.64	C24 H31 N5 O S	[M+H] ⁺	438.2333	438.2322	1.1	2.51	95.23	12.0

Şekil 5.35. Bileşik 4g'ye ait kütle spektrumu

5.1.8. N-(5-metoksibenzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-metilpiperazin-1-il)metil)benzamid (4h)



Şekil 5.36. *N*-(5-metoksibenzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-metilpiperazin-1-il)metil)benzamid (**4h**)

Deneysel E.n: 136.7 - 138.9 °C. Verim: %85.

IR (ATR) $V_{maks}(cm^{-1})$: 3062 (Aromatik C-H bandı), 2933 (Alifatik C-H bandı), 1662 (C=O gerilim bandı), 1458 (C=C gerilim bandı), 867 (1,4-Disüstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

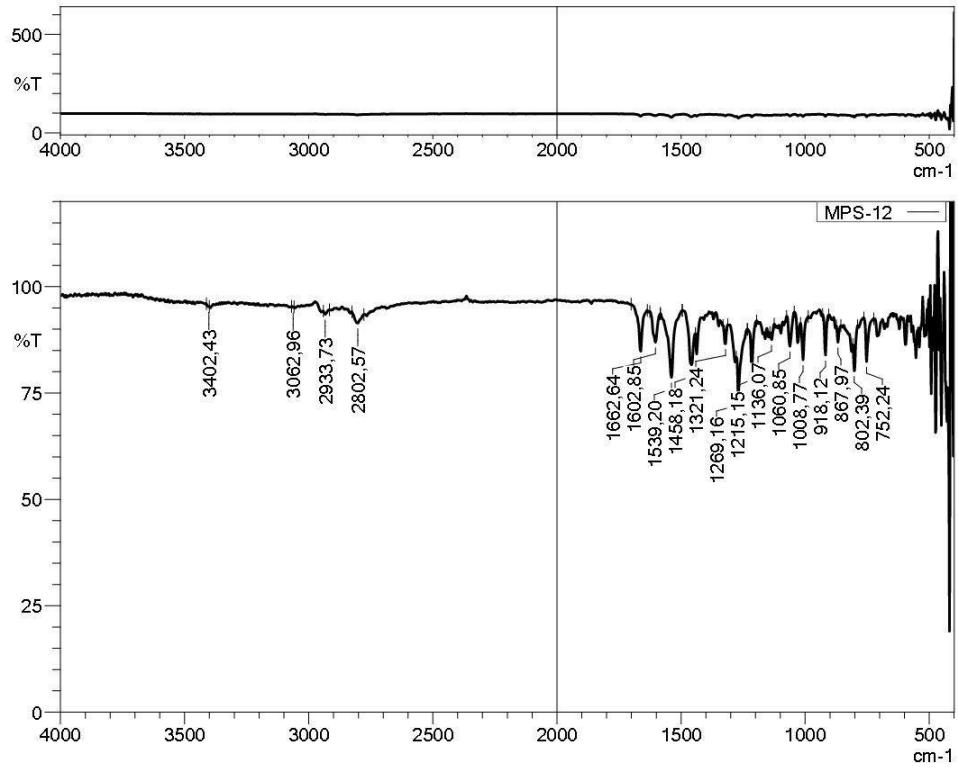
^1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 2.31 (3H, s, -CH₃), 2.47 (8H, y.s, piperazin), 3.54 (2H, s, -CH₂-), 3.87 (3H, s, -CH₃-), 6.86 (1H, d.d., J = 3.82 Hz, benzotiyazol), 7.20 (1H, d, J = 8.89 Hz, benzotiyazol), 7.32 (1H, d, J = 2.51 Hz, benzotiyazol), 7.41 (2H, d, J = 8.27 Hz, 1,4-disüstitüebenzen), 7.95 (2H, d, J = 8.29 Hz, 1,4-disüstitüebenzen).

^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ = 46.02, 52.91, 55.06, 55.99, 61.93, 105.09, 105.95, 113.32, 115.51, 118.52, 121.45, 128.71, 129.28, 144.13, 154.70, 156.69, 165.16.

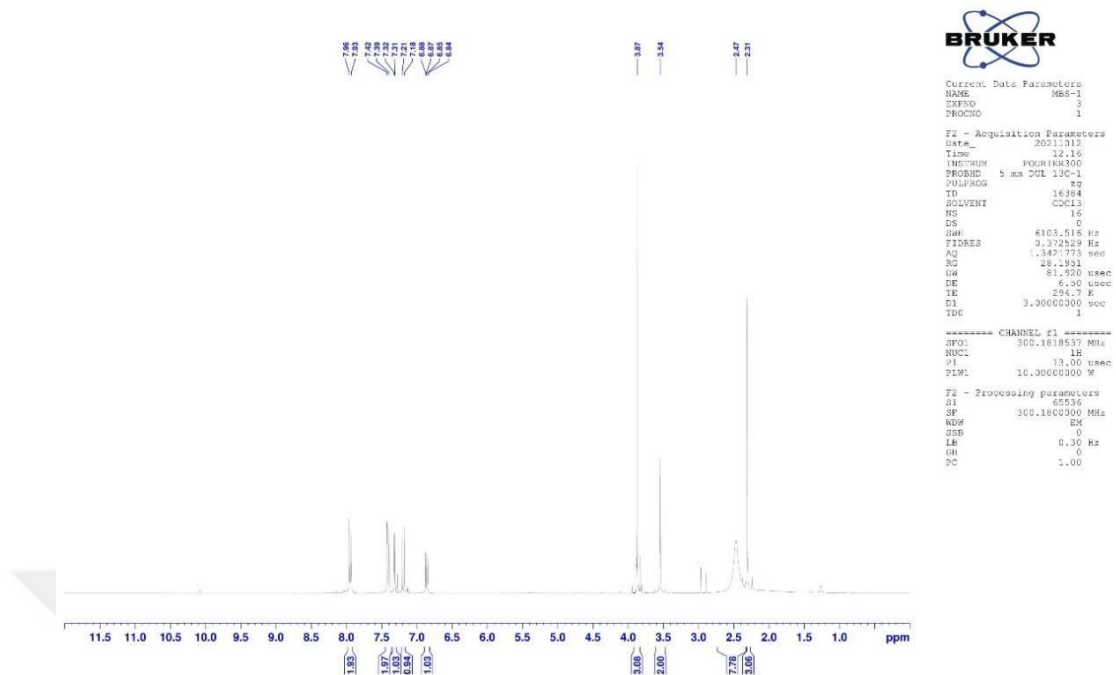
HRMS (m/z): [M+H]⁺ calcd for C₂₁H₂₄N₄O₂S: 397.1693; found: 397.1707.

DOPNALAB

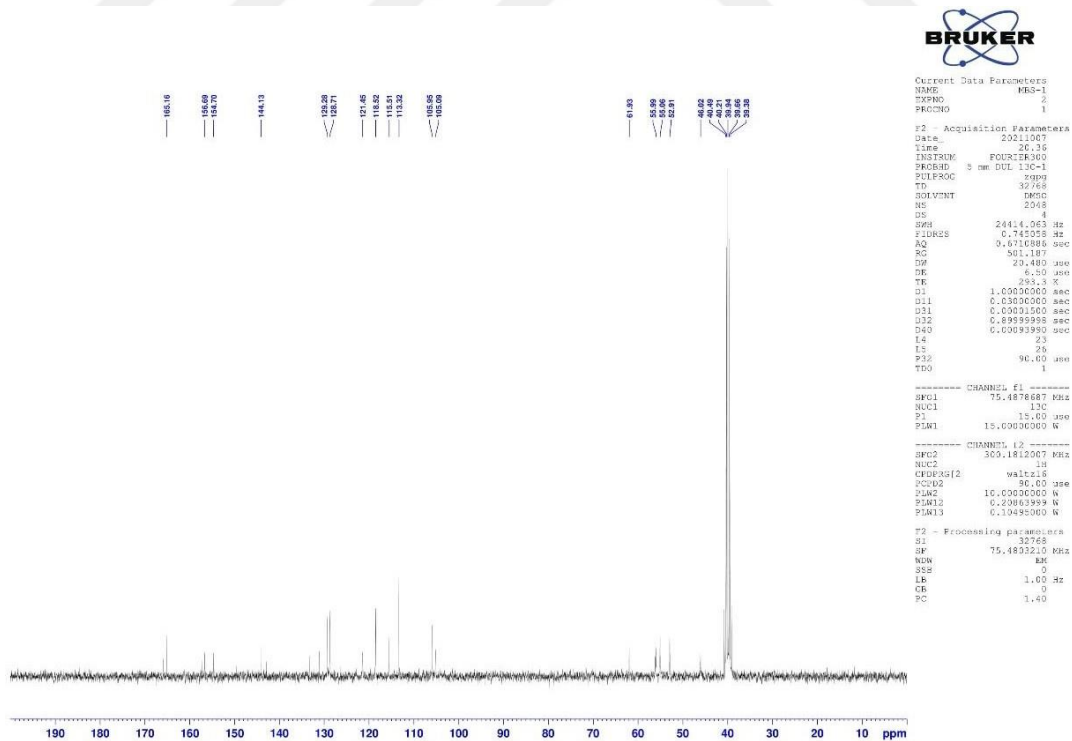
Item	Value
Acquired Date&Time	10.12.2021 12:13:56
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya\SEVVAL KARACA\MPS-12.ispd
Spectrum name	MPS-12
Sample name	MPS-1
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	15
Resolution	4 [cm ⁻¹]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.37. Bileşik 4h'ye ait IR spektrumu



Şekil 5.38. Bileşik 4h'ye ait ^1H -NMR spektrumu



Şekil 5.39. Bileşik 4h'ye ait ^{13}C -NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\MBS-1_166.lcd

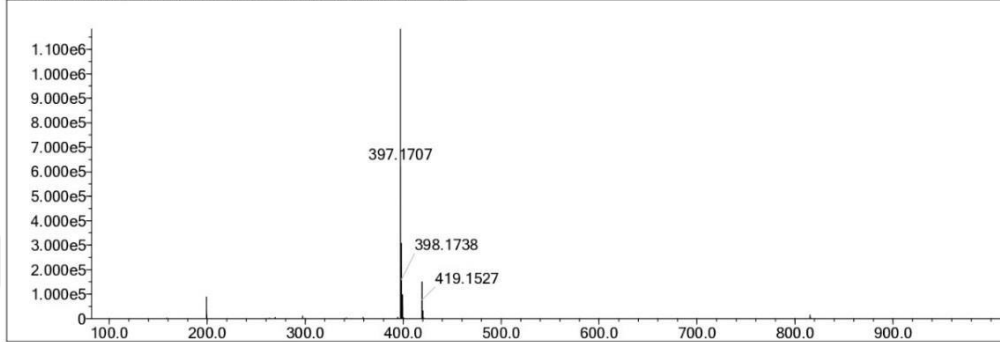
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	0	5	S	2	0	1	Ru	2	0	0	H
C	4	10	40	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	2	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

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

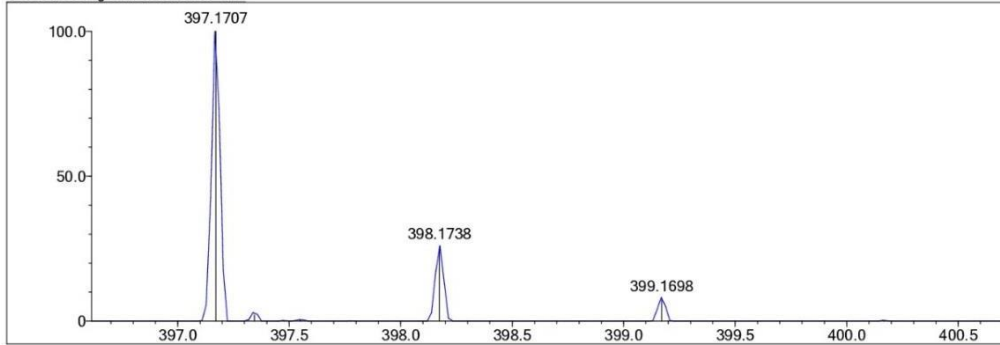
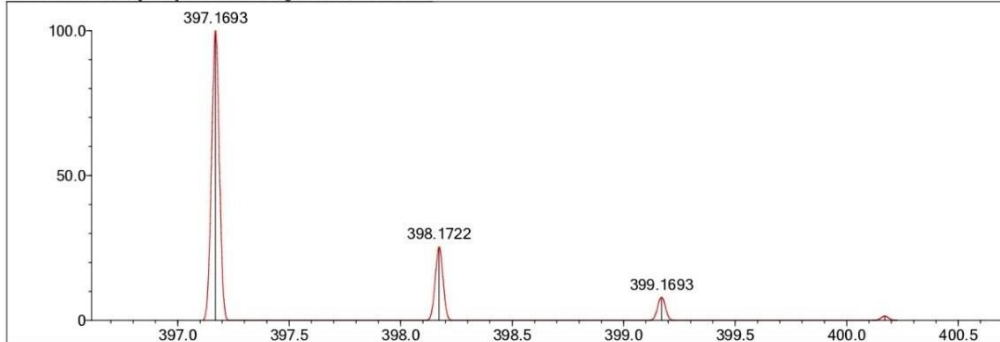
DBE Range: 5.0 - 15.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 150

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time: 1.853 -> 2.413 Scan#: 279 -> 363



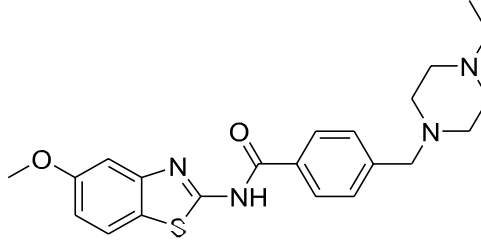
Measured region for 397.1707 m/z

C21 H24 N4 O2 S [M+H]⁺: Predicted region for 397.1693 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	79.91	C21 H24 N4 O2 S	[M+H] ⁺	397.1707	397.1693	1.4	3.52	85.29	12.0

Şekil 5.40. Bileşik 4h'ye ait kütle spektrumu

5.1.9. 4-((4-etilpiperazin-1-il)metil)-N-(5-metoksibenzo[d]tiyazol-2-il)benzamid (4i)



Şekil 5.41. 4-((4-etilpiperazin-1-il)metil)-N-(5-metoksibenzo[d]tiyazol-2-il)benzamid (**4i**)

Deneysel E.n: 129.8 - 130.9 °C. Verim: %87.

IR (ATR) $V_{maks}(cm^{-1})$: 3064 (Aromatik C-H bandı), 2945 (Alifatik C-H bandı), 1660 (C=O gerilim bandı), 1471 (C=C gerilim bandı), 812 (1,4-Disübstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

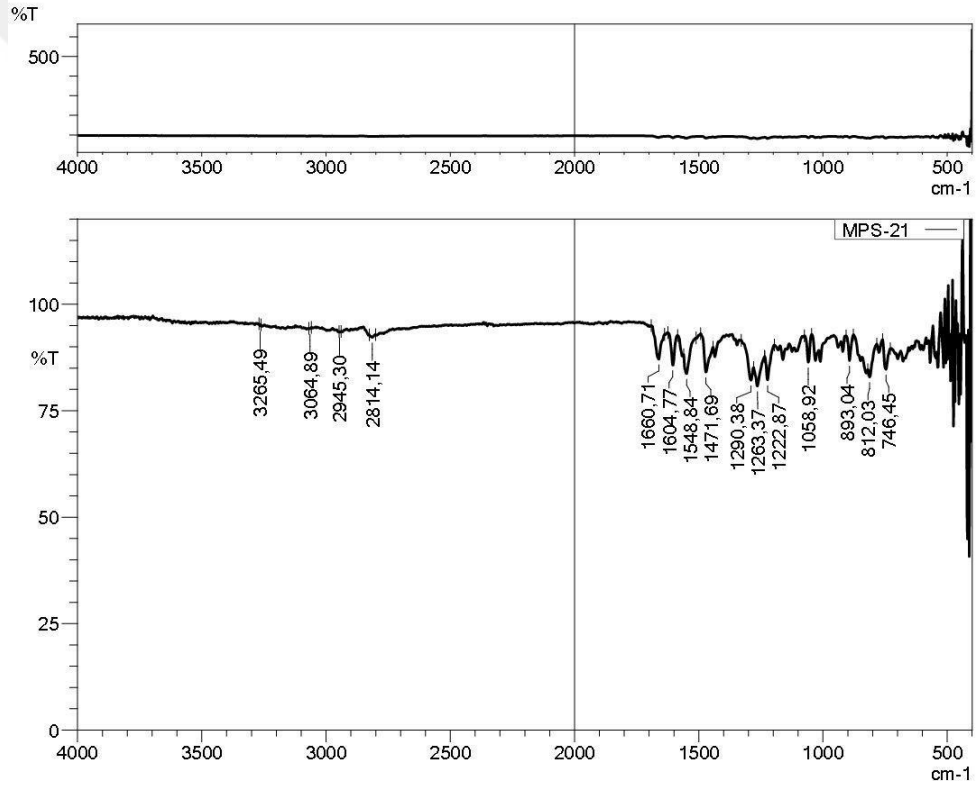
^1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 1.11 (3H, t, J = 7.17 Hz, -CH₃), 2.41-2.48 (10H, m, -CH₂- + piperazin), 3.55 (2H, s, -CH₂-), 3.87 (3H, s, -CH₃-), 6.83 (1H, d.d., J = 3.63 Hz, benzotiyazol), 7.13 (1H, d, J = 8.83 Hz, benzotiyazol), 7.31 (1H, d, J = 2.13 Hz, benzotiyazol), 7.40 (2H, d, J = 7.96 Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 7.95 (2H, d, J = 8.00 Hz, 1,4-disübstitüebenzen).

^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ = 11.93, 52.31, 52.71, 53.05, 55.79, 62.46, 103.88, 115.24, 121.29, 127.94, 129.51, 130.78, 133.20, 142.00, 144.15, 156.75, 157.67, 165.63.

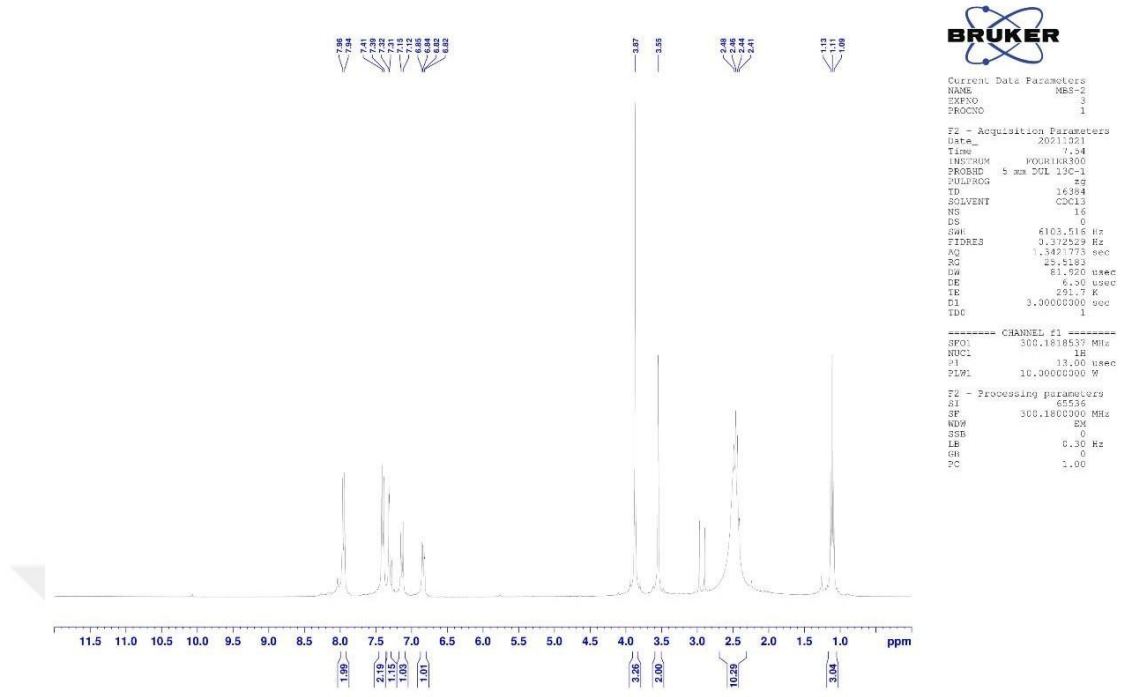
HRMS (m/z): [M+H]⁺ calcd for C₂₂H₂₆N₄O₂S: 411.1849; found: 411.1854.

DOPNALAB

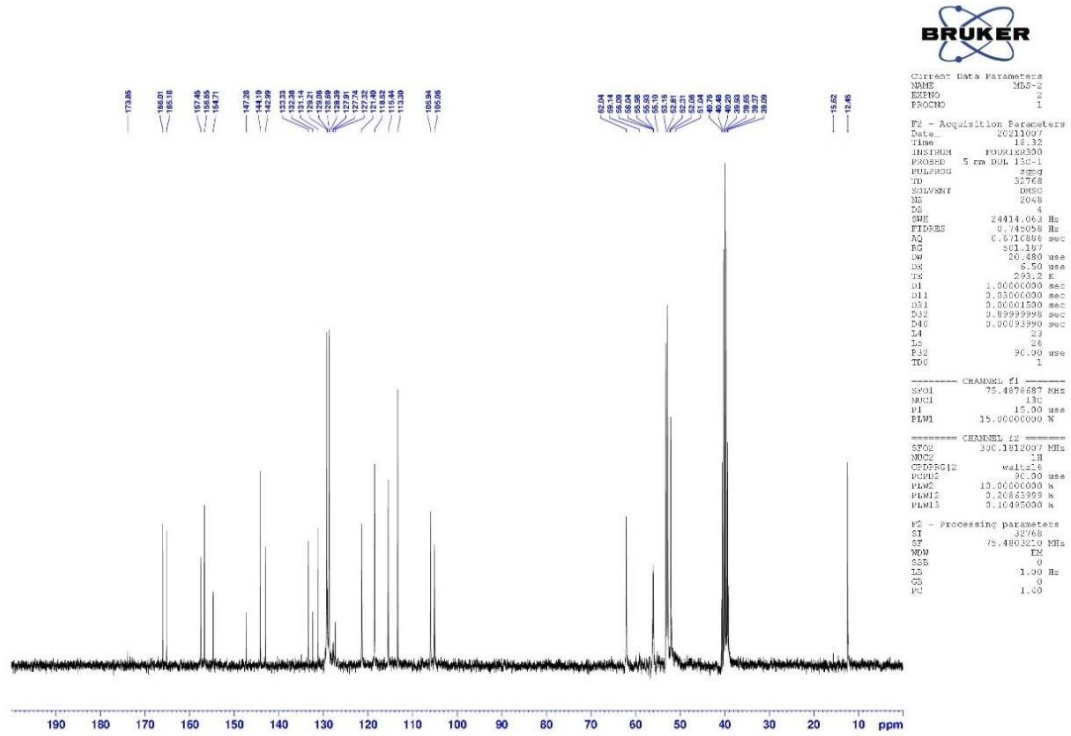
Item	Value
Acquired Date&Time	10.12.2021 12:15:52
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnlab\Desktop\derya\SEVVAL KARACA\MPS-21.ispd
Spectrum name	MPS-21
Sample name	MPS-2
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	15
Resolution	4 [cm ⁻¹]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.42. Bileşik 4i'ye ait IR spektrumu



Şekil 5.43. Bileşik 4i'ye ait ^1H -NMR spektrumu



Şekil 5.44. Bileşik 4i'ye ait ^{13}C -NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\MBS-2_167.lcd

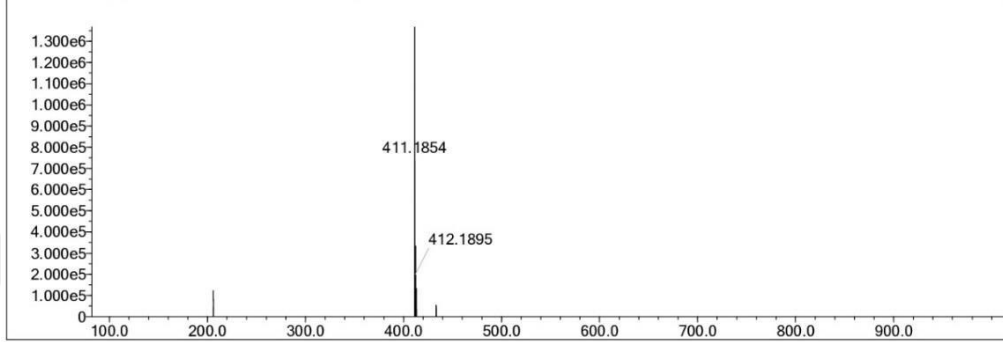
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	0	5	S	2	0	1	Ru	2	0	0	H
C	4	10	40	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	2	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

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

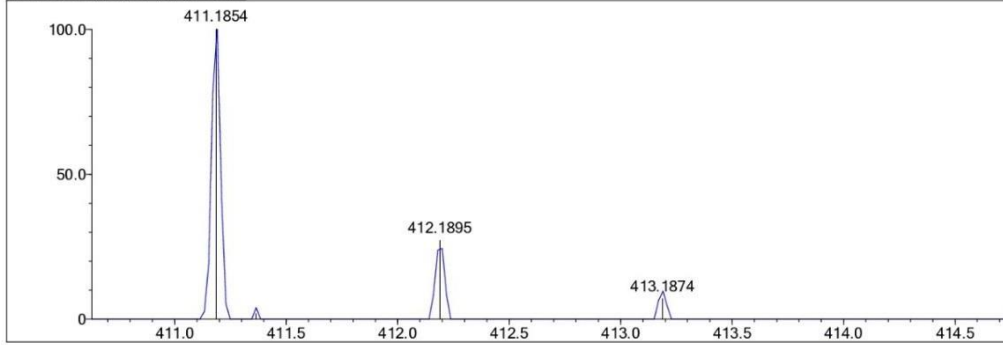
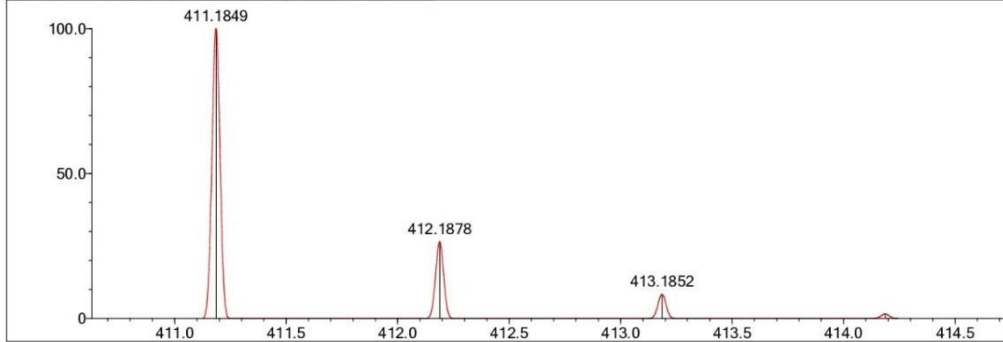
DBE Range: 5.0 - 15.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 150

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.147 Scan#: 323



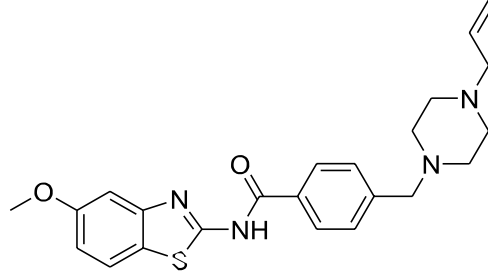
Measured region for 411.1854 m/z

C22 H26 N4 O2 S [M+H]⁺ : Predicted region for 411.1849 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	79.48	C22 H26 N4 O2 S	[M+H] ⁺	411.1854	411.1849	0.5	1.22	79.91	12.0

Şekil 5.45. Bileşik 4i'ye ait kütle spektrumu

5.1.10. 4-((4-allilpiperazin-1-il)metil)-N-(5-metoksibenzo[d]tiyazol-2-il)benzamid (4j)



Şekil 5.46. 4-((4-allilpiperazin-1-il)metil)-N-(5-metoksibenzo[d]tiyazol-2-il)benzamid (4j)

Deneysel E.n: 173.1-175.6 °C. Verim: %80.

IR (ATR) $V_{maks}(cm^{-1})$: 3072 (Aromatik C-H bandı), 2943 (Alifatik C-H bandı), 1668 (C=O gerilim bandı), 1473 (C=C gerilim bandı), 833 (1,4-Disüstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

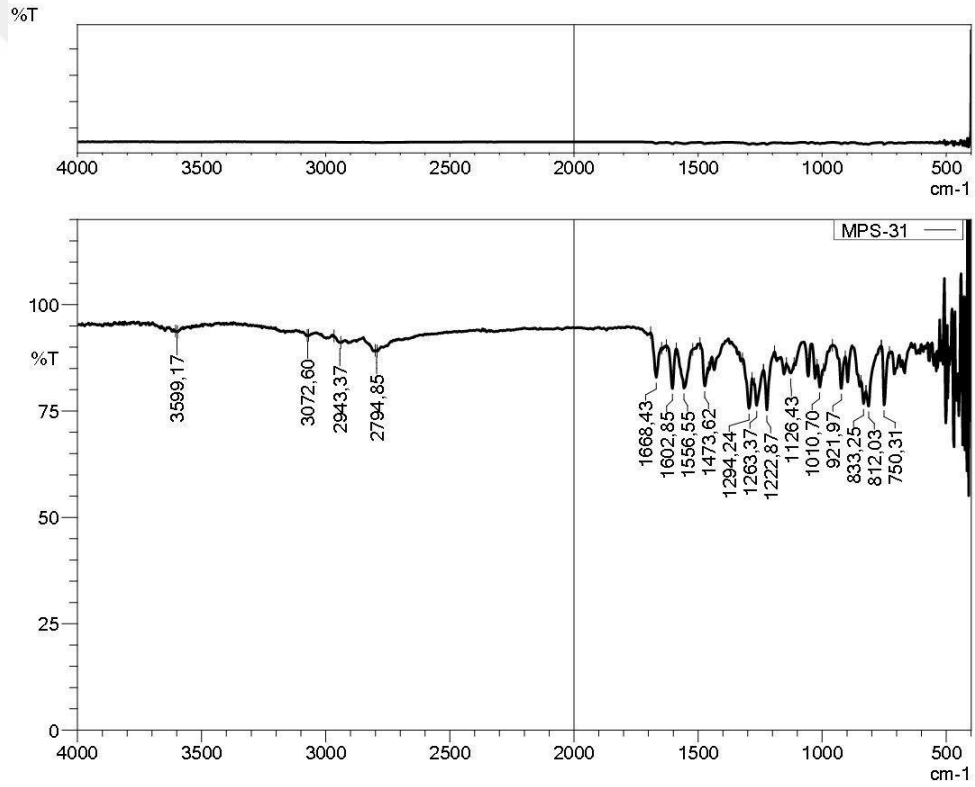
^1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 2.38 (8H, y.s, piperazin), 2.92 (2H, d, J = 6.34 Hz, -CH₂-), 3.54 (2H, s, -CH₂-), 3.83 (3H, s, -CH₃-), 5.09-5.19 (2H, m, -CH₂), 5.75- 5.84 (1H, m, -CH-), 7.07 (1H, d.d., J = 3.82 Hz, benzotiyazol), 7.47 (2H, d, J = 8.41 Hz, 1,4-disüstitüebenzen), 7.62 (1H, d, J = 2.57 Hz, benzotiyoazol), 7.68 (1H, d, J = 8.82 Hz, benzotiyazol), 8.10 (2H, d, J = 8.26 Hz, 1,4-disüstitüebenzen).

^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ = 53.07, 54.85, 55.57, 57.03, 61.99, 104.02, 106.13, 116.50, 120.35, 122.50, 127.63, 130.32, 131.06, 135.03, 137.04, 142.93, 144.13, 157.33, 165.94.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ calcd for C₂₃H₂₆N₄O₂S: 423.1849; found: 423.1860.

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	10.12.2021 12:17:40
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya\SEVVAL KARACA\MPS-31.ispd
Spectrum name	MPS-31
Sample name	MPS-3
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	15
Resolution	4 [cm ⁻¹]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.47. Bileşik 4j'ye ait IR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\MBS-3_168.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	0	5	S	2	0	1	Ru	2	0	0	H
C	4	10	40	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	2	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 15.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

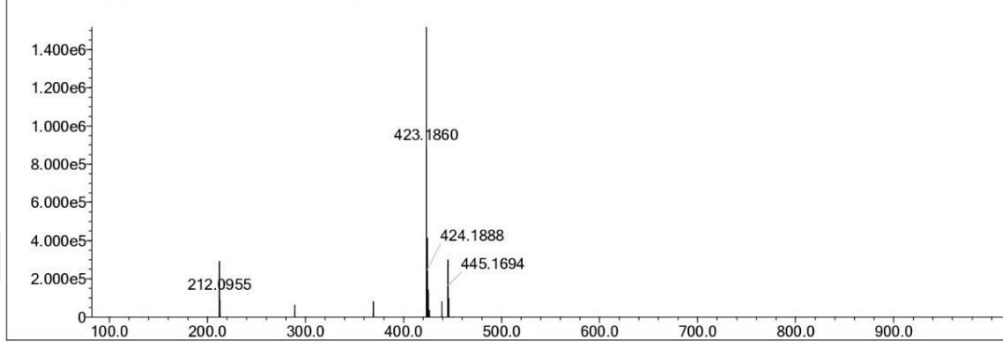
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

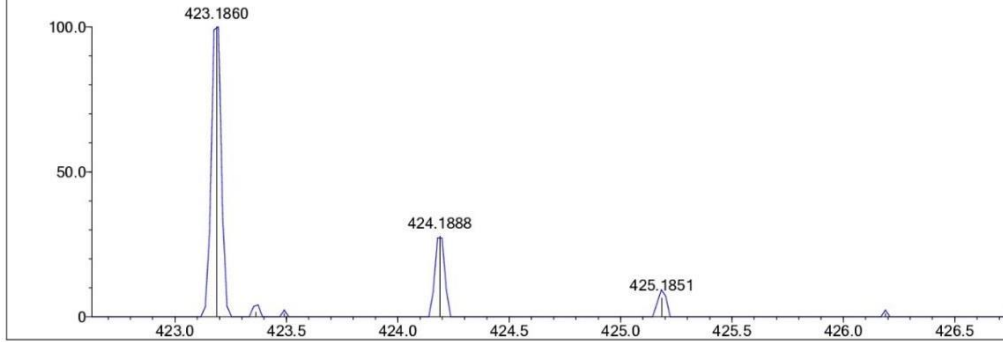
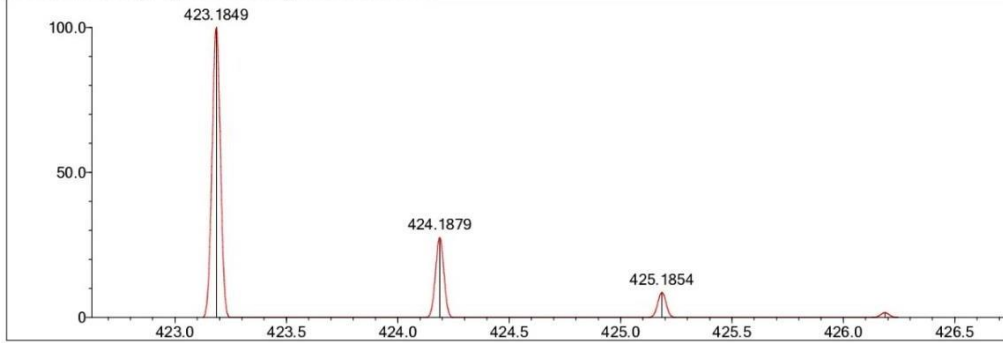
Isotope Res: 9000

Max Results: 150

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.107 Scan# : 317



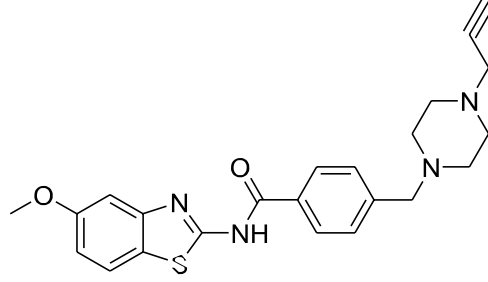
Measured region for 423.1860 m/z

C23 H26 N4 O2 S [M+H]⁺ : Predicted region for 423.1849 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	96.00	C23 H26 N4 O2 S	[M+H] ⁺	423.1860	423.1849	1.1	2.60	100.00	13.0

Şekil 5.50. Bileşik 4j'ye ait kütle spektrumu

5.1.11. N-(5-metoksibenzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-(prop-2-in-1-il)piperazin-1-il)metil)benzamid (4k)



Şekil 5.51. *N*-(5-metoksibenzo[d]tiyazol-2-il)-4-((4-(prop-2-in-1-il)piperazin-1-il)metil)benzamid (**4k**)

Deneysel E.n: 99.2 - 101.8 °C. Verim: %86.

IR (ATR) $V_{maks}(cm^{-1})$: 3078 (Aromatik C-H bandı), 2933 (Alifatik C-H bandı), 1668 (C=O gerilim bandı), 1471 (C=C gerilim bandı), 819 (1,4-Disüstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

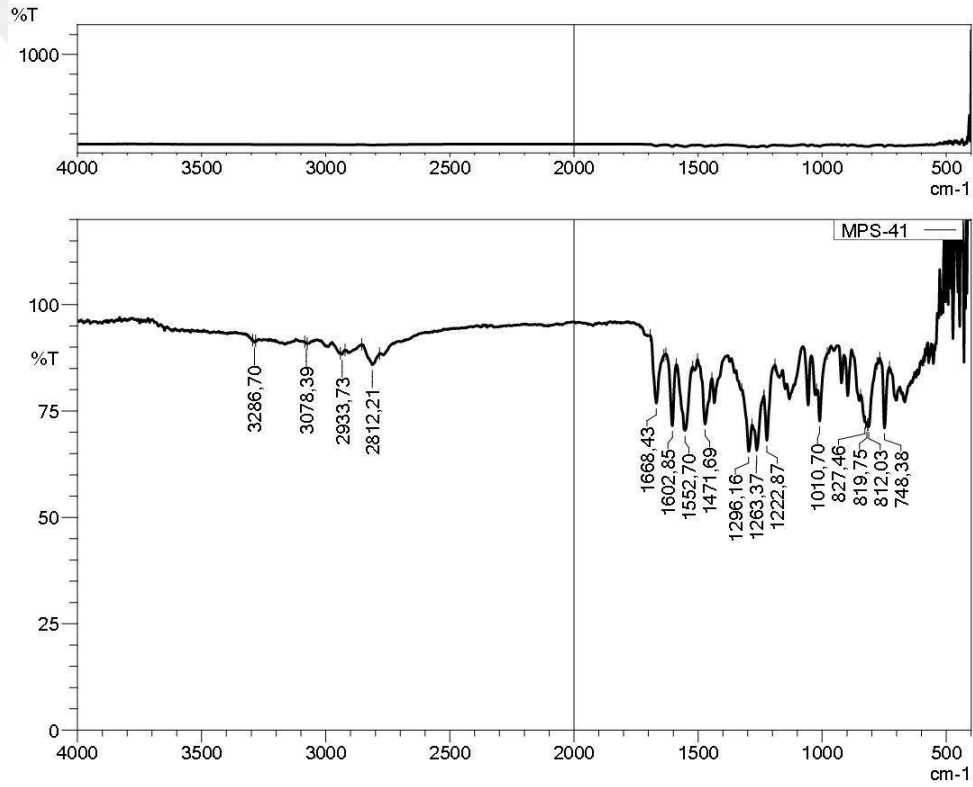
^1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 2.49 (4H, y.s, piperazin), 2.59 (4H, y.s., piperazin), 2.93 (1H, d, J = 21.96 Hz, -CH), 3.32 (2H, s, -CH₂-), 3.65 (2H, s, -CH₂-), 3.86 (3H, s, -CH₃-), 6.79 (1H, d.d., J = 3.79 Hz, benzotiyazol), 7.06 (1H, d, J = 8.89 Hz, benzotiyazol), 7.30 (1H, d, J = 2.49 Hz, benzotiyazol), 7.38 (2H, d, J = 8.22 Hz, 1,4-disüstitüebenzen), 7.95 (2H, d, J = 8.24 Hz, 1,4-disüstitüebenzen).

^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ = 46.80, 51.83, 52.91, 52.96, 54.81, 62.35, 71.62, 102.78, 103.83, 115.21, 121.22, 122.30, 128.05, 129.42, 141.90, 144.04, 156.73, 157.96, 165.87.

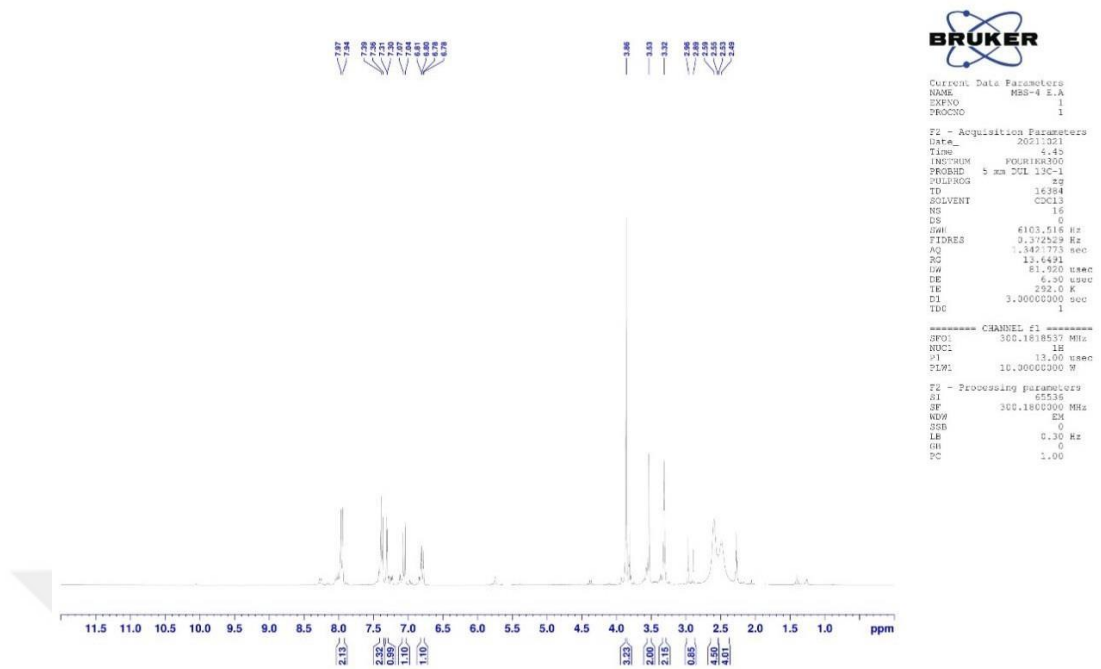
HRMS (m/z): $[M+H]^+$ calcd for C₂₃H₂₄N₄O₂S: 421.1693; found: 421.1693.

DOPNALAB

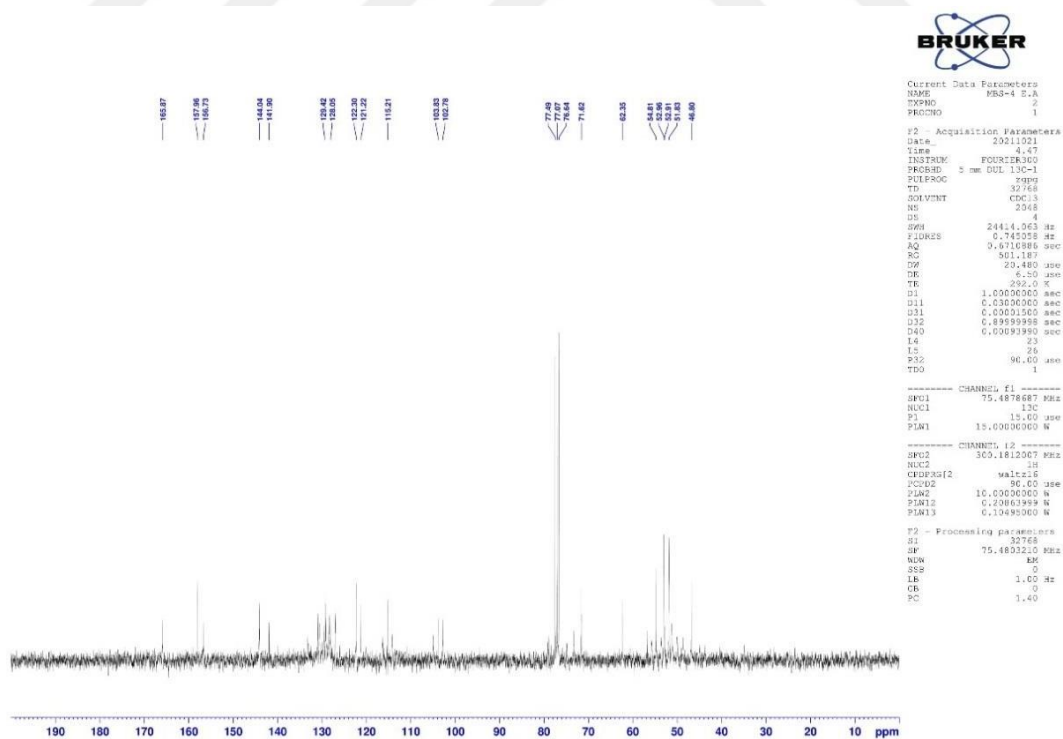
Item	Value
Acquired Date&Time	10.12.2021 12:19:28
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya\SEVVAL KARACA\MPS-41.ispd
Spectrum name	MPS-41
Sample name	MPS-4
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	15
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.52. Bileşik 4k'ye ait IR spektrumu



Şekil 5.53. Bileşik 4k'ye ait ^1H -NMR spektrumu



Şekil 5.54. Bileşik 4k'ye ait ^{13}C -NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\MBS-4_169.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	0	5	S	2	0	1	Ru	2	0	0	H
C	4	10	40	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	2	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 15.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

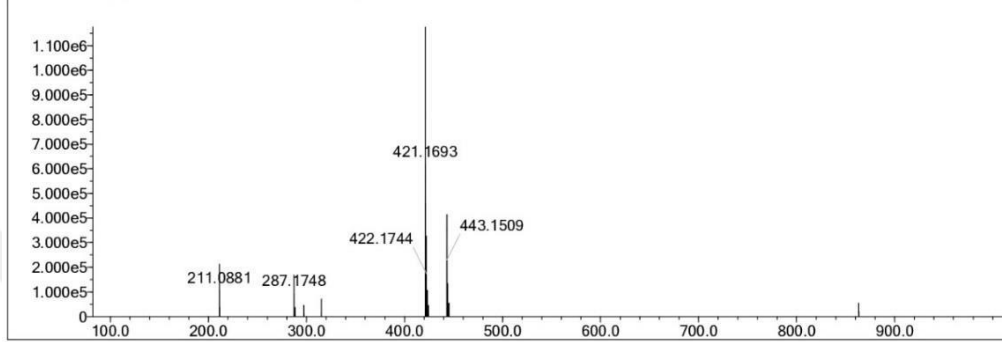
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

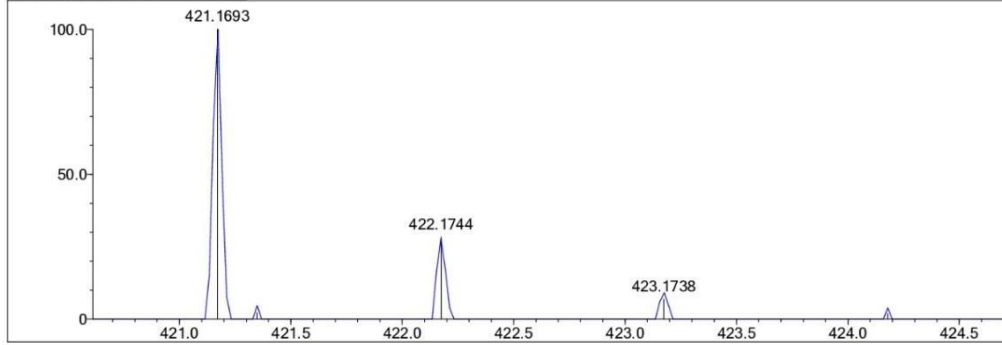
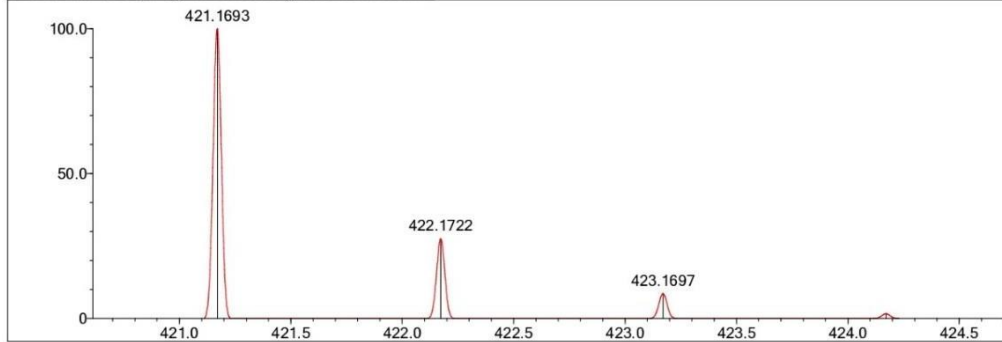
Isotope Res: 9000

Max Results: 150

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.000 Scan# : 301



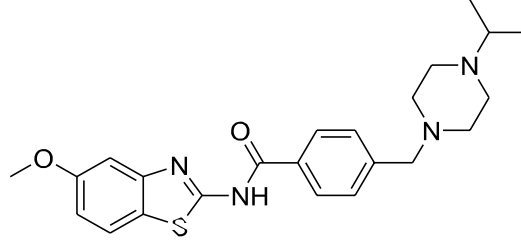
Measured region for 421.1693 m/z

C23 H24 N4 O2 S [M+H]⁺ : Predicted region for 421.1693 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	77.64	C23 H24 N4 O2 S	[M+H] ⁺	421.1693	421.1693	0.0	0.00	77.64	14.0

Şekil 5.55. Bileşik 4k'ye ait kütle spektrumu

5.1.12. 4-((4-izopropilpiperazin-1-il)metil)-N-(5-metoksibenzo[d]tiyazol-2-il)benzamid (4l)



Şekil 5.56. 4-((4-izopropilpiperazin-1-il)metil)-N-(5-metoksibenzo[d]tiyazol-2-il)benzamid (4l)

Deneyisel E.n: 126.3 - 128.9 °C. Verim: %89.

IR (ATR) $V_{maks}(cm^{-1})$: 3078 (Aromatik C-H bandı), 2937 (Alifatik C-H bandı), 1662 (C=O gerilim bandı), 1469 (C=C gerilim bandı), 813 (1,4-Disüstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

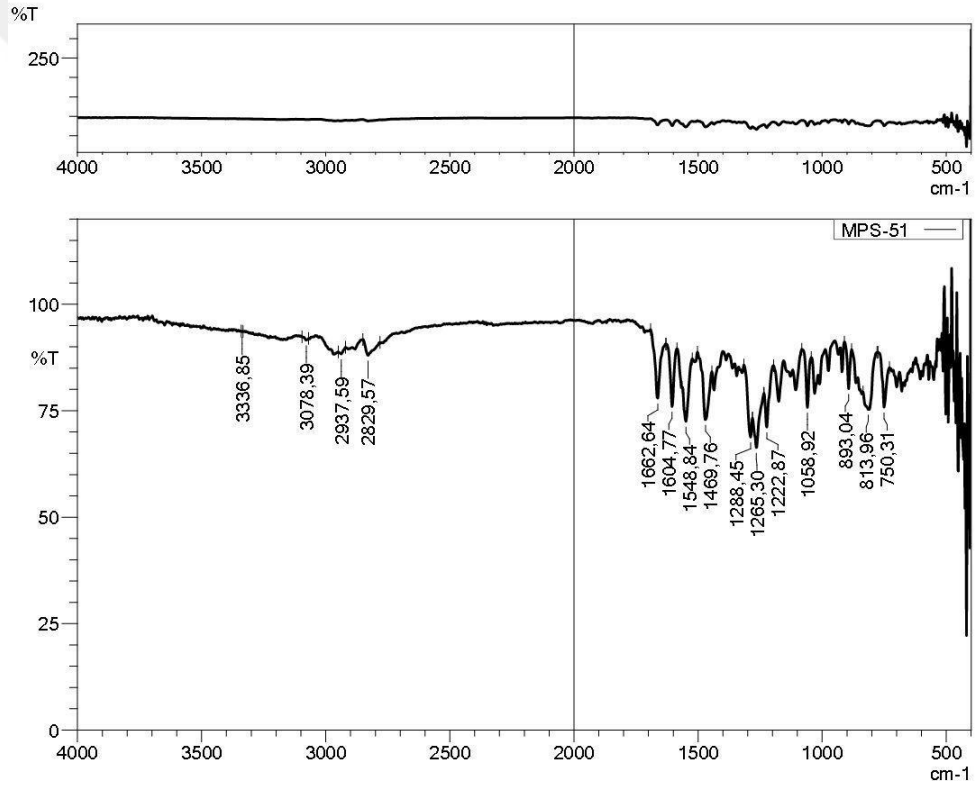
^1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 1.05 (5H, d, J = 6.52 Hz, -CH₃ + -CH₃), 2.46 (4H, y.s, piperazin), 2.53 (4H, y.s., piperazin), 2.61-2.69 (1H m, -CH), 3.51 (2H, s, -CH₂-), 3.85 (3H, s, -CH₃), 6.76 (1H, d.d., J = 3.82 Hz, benzotiyazol), 6.99 (1H, d, J = 8.90 Hz, benzotiyazol), 7.29 (1H, d, J = 2.47 Hz, benzotiyazol), 7.36 (2H, d, J = 8.26 Hz, 1,4-disüstitübenzen), 7.95 (2H, d, J = 8.29 Hz, 1,4-disüstitübenzen).

^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ = 18.66, 48.59, 53.46, 54.43, 55.71, 55.76, 62.53, 103.76, 115.22, 121.20, 128.20, 129.53, 130.85, 133.10, 141.84, 144.07, 156.69, 158.10, 165.98.

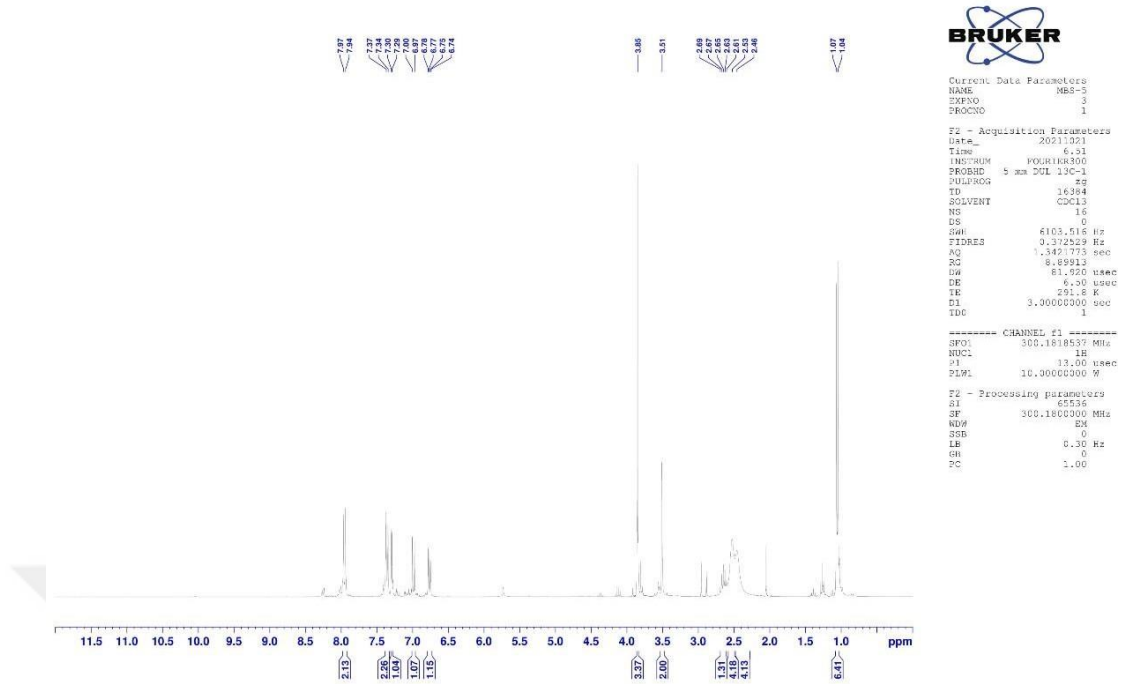
HRMS (m/z): [M+H]⁺ calcd for C₂₃H₂₈N₄O₂S: 425.2006; found: 425.2013.

DOPNALAB

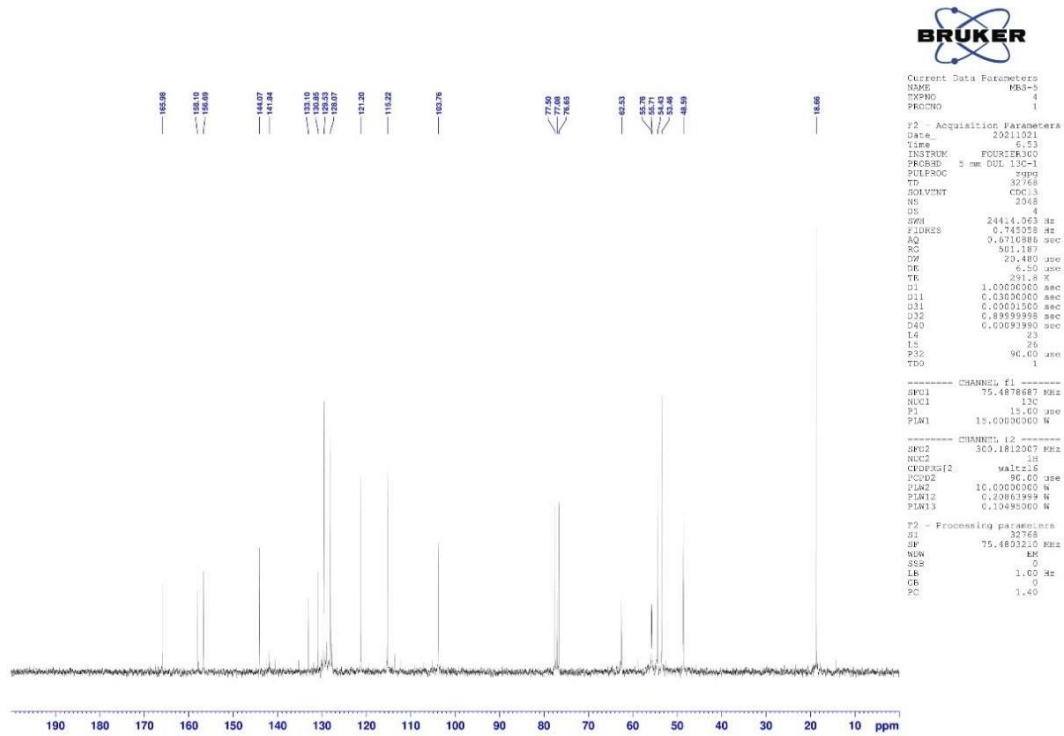
Item	Value
Acquired Date&Time	10.12.2021 12:20:57
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya\SEVVAL KARACA\MPS-51.ispd
Spectrum name	MPS-51
Sample name	MPS-5
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	15
Resolution	4 [cm ⁻¹]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.57. Bileşik 4I'ye ait IR spektrumu



Şekil 5.58. Bileşik 4I'ye ait ^1H -NMR spektrumu



Şekil 5.59. Bileşik 4I'ye ait ^{13}C -NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\denya\MBS-5_170.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	0	5	S	2	0	1	Ru	2	0	0	H
C	4	10	40	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	2	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 15.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

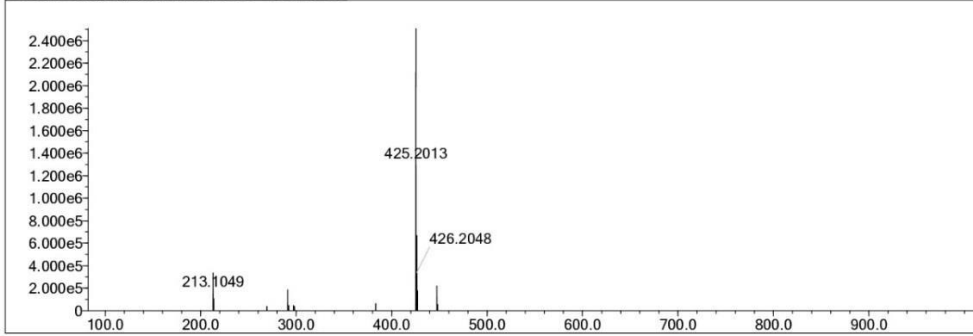
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

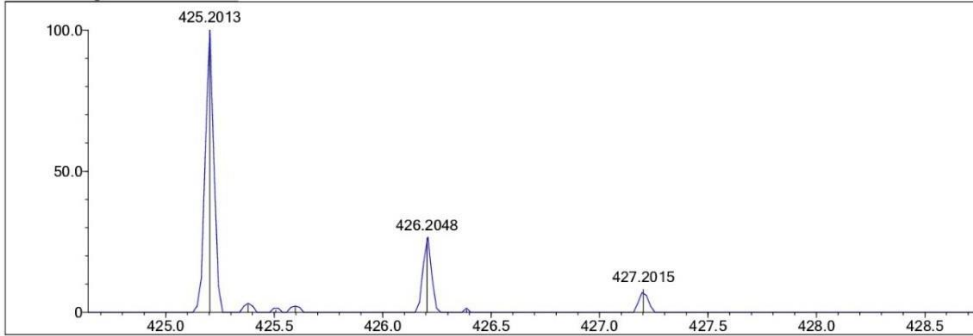
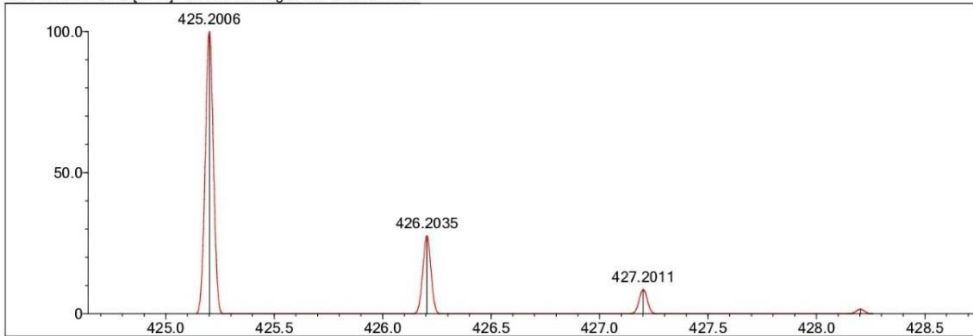
Isotope Res: 9000

Max Results: 150

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.053 Scan#: 309



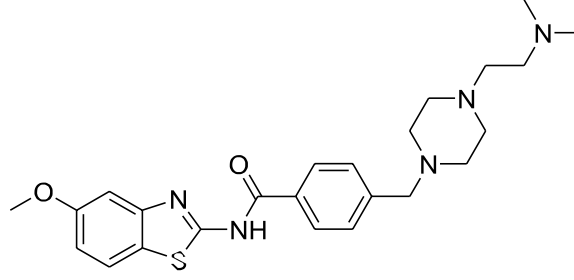
Measured region for 425.2013 m/z

C23 H28 N4 O2 S [M+H]⁺ : Predicted region for 425.2006 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	83.75	C23 H28 N4 O2 S	[M+H] ⁺	425.2013	425.2006	0.7	1.65	85.13	12.0

Şekil 5.60. Bileşik 4I'ye ait kütle spektrumu

5.1.13. 4-((4-(2-(dimetilamino)etil)piperazin-1-il)metil)-N-(5-meoksibenzo[d]tiyazol-2-il)benzamid (4m)



Şekil 5.61. 4-((4-(2-(dimetilamino)etil)piperazin-1-il)metil)-N-(5-meoksibenzo[d]tiyazol-2-il)benzamid (4m)

Deneysel E.n: 60.1 - 62.7 °C. Verim: %81.

IR (ATR) $V_{maks}(cm^{-1})$: 3066 (Aromatik C-H bandı), 2939 (Alifatik C-H bandı), 1668 (C=O gerilim bandı), 1467 (C=C gerilim bandı), 827 (1,4-Disüstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

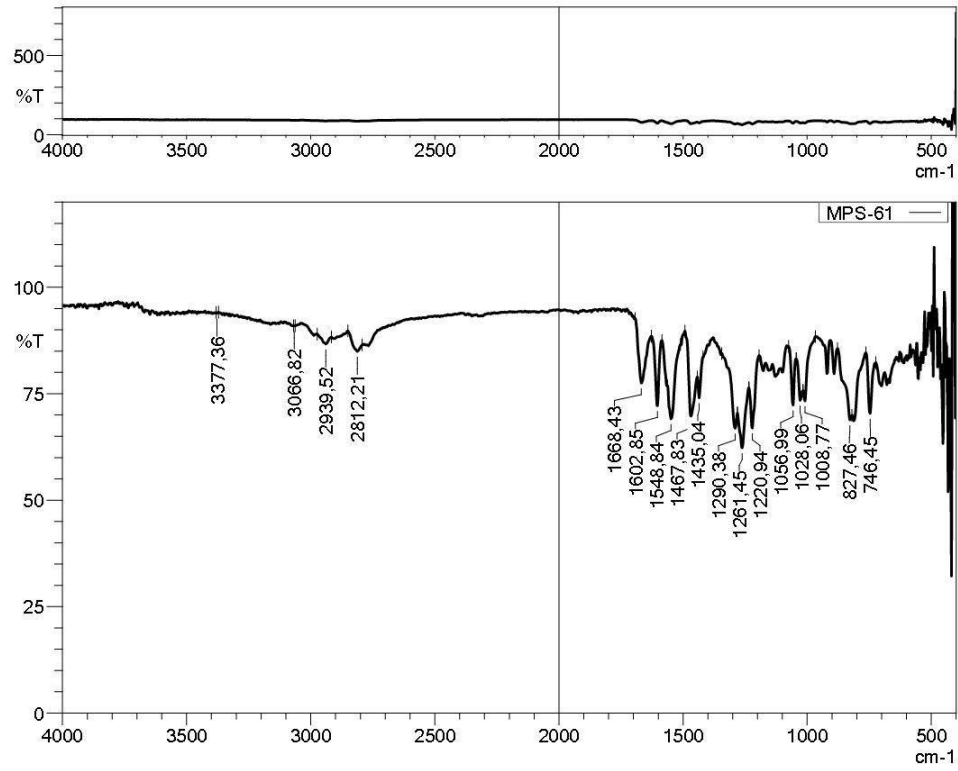
^1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 2.15 (6H, s, -CH₃ + -CH₃), 2.36-2.52 (10H, m, piperazin+-CH₂-), 3.45 (2H, t, J = 3.45 Hz, -CH₂-), 3.53 (2H, s, -CH₂-), 3.83 (3H, s, -CH₃), 7.06 (1H, d.d., J = 3.81 Hz, benzotiyazol), 7.47 (2H, d, J = 8.28 Hz, 1,4-disüstitüebenzen), 7.61 (1H, d, J = 2.56 Hz, benzotiyazol), 7.68 (2H, d, J = 8.83 Hz, benzotiyazol), 8.10 (2H, d, J = 8.29 Hz, 1,4-disüstitüebenzen).

^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ = 45.83, 45.87, 53.15, 53.53, 56.15, 56.84, 62.02, 120.32, 121.39, 127.61, 128.69, 129.24, 131.22, 133.33, 142.99, 144.03, 156.62, 157.54, 166.06.

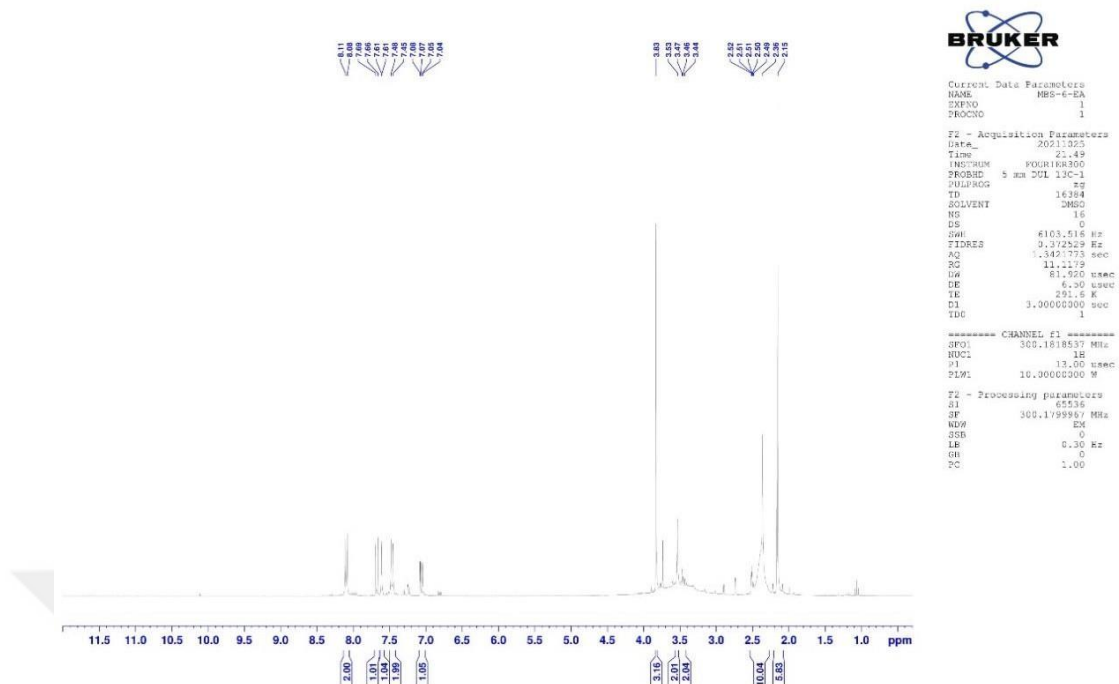
HRMS (m/z): [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₃₁N₅O₂S: 454.2271; found: 454.2280.

DOPNALAB

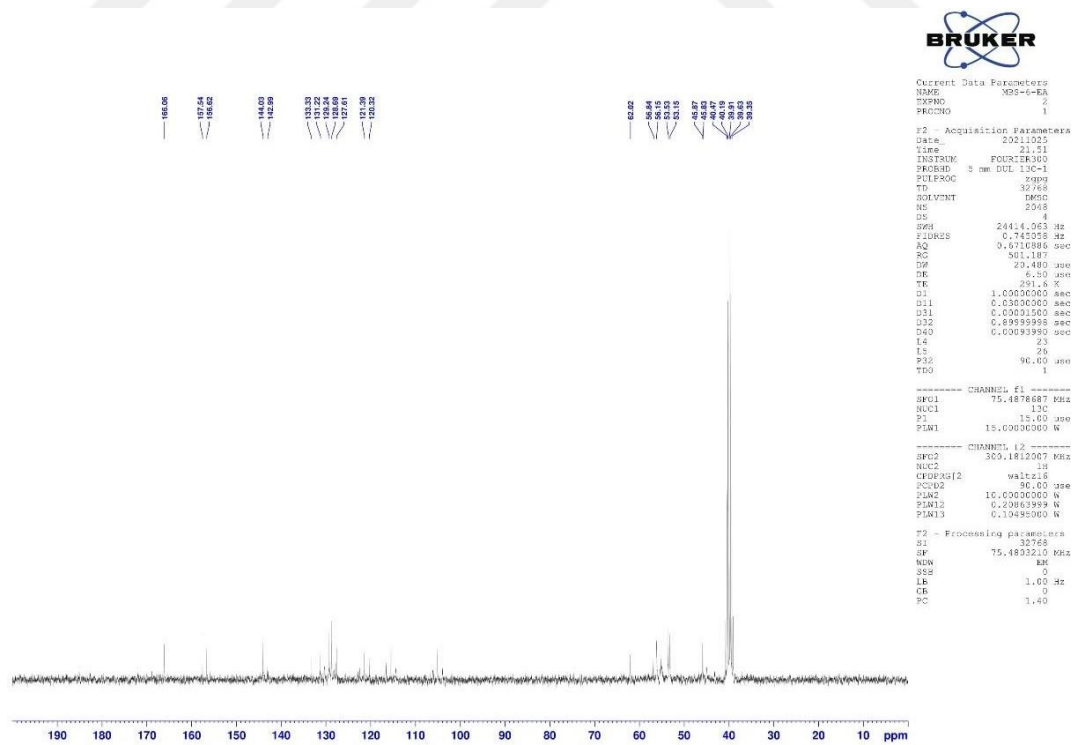
Item	Value
Acquired Date&Time	10.12.2021 12:22:37
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnlab\Desktop\derya\SEVVAL KARACA\MPS-61.ispd
Spectrum name	MPS-61
Sample name	MPS-6
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	15
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.62. Bileşik 4m'ye ait IR spektrumu



Şekil 5.63. Bileşik 4m'ye ait ^1H -NMR spektrumu



Şekil 5.64. Bileşik 4m'ye ait ^{13}C -NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\MBS-6_171.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	0	5	S	2	0	1	Ru	2	0	0	H
C	4	10	40	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	2	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5

HC Ratio: unlimited

Max Isotopes: 3

MSn Iso RI (%): 10.00

DBE Range: 5.0 - 15.0

Apply N Rule: yes

Isotope RI (%): 1.00

MSn Logic Mode: AND

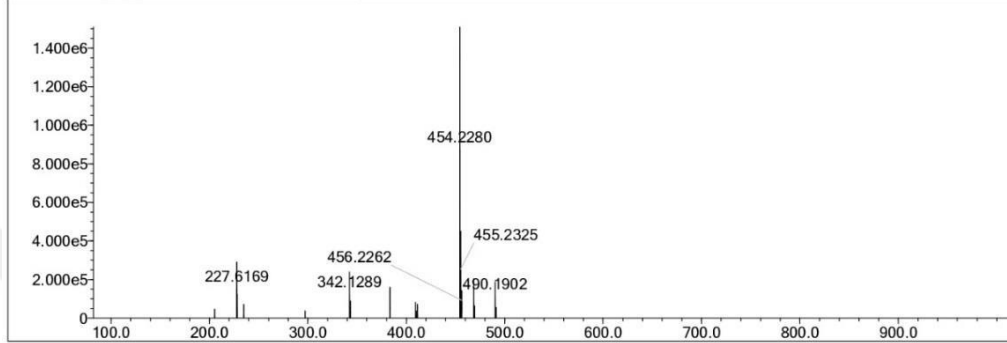
Electron Ions: both

Use MSn Info: yes

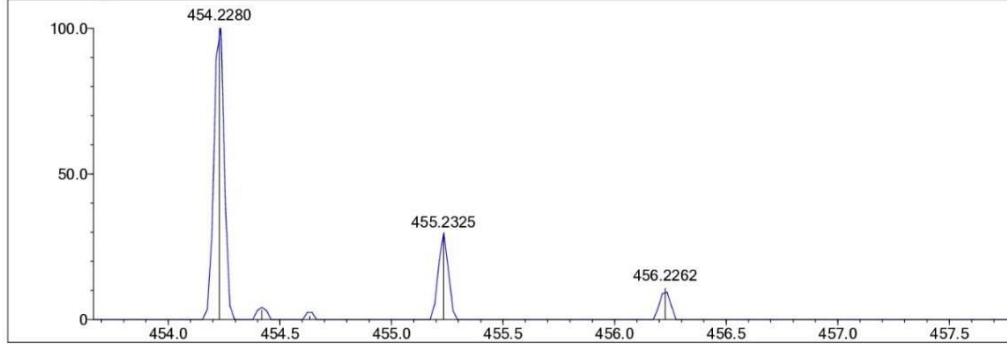
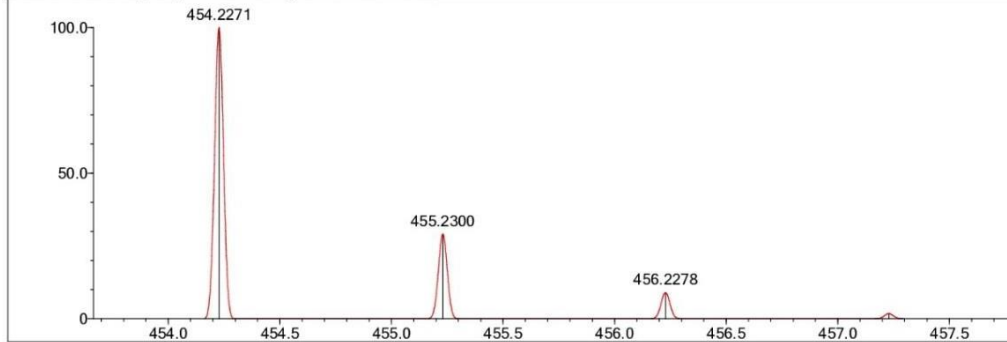
Isotope Res: 9000

Max Results: 150

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time: 1.880 Scan#: 283



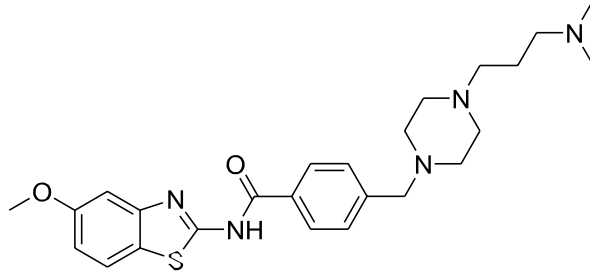
Measured region for 454.2280 m/z

C24 H31 N5 O2 S [M+H]⁺: Predicted region for 454.2271 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	87.16	C24 H31 N5 O2 S	[M+H] ⁺	454.2280	454.2271	0.9	1.98	89.35	12.0

Şekil 5.65. Bileşik 4m'ye ait kütle spektrumu

5.1.14. 4-((4-(3-(dimetilamino)propil)piperazin-1-il)metil)-N-(5-metoksibenzo[d]tiyazol-2-il)benzamid (4n)



Şekil 5.66. 4-((4-(3-(dimetilamino)propil)piperazin-1-il)metil)-N-(5-metoksibenzo[d]tiyazol-2-il)benzamid (4n)

Deneysel E.n: 137.6 - 139.8 °C. Verim: %83.

IR (ATR) $V_{maks}(cm^{-1})$: 3078 (Aromatik C-H bandı), 2943 (Alifatik C-H bandı), 1662 (C=O gerilim bandı), 1471 (C=C gerilim bandı), 813 (1,4-Disüstitüe benzen düzlem dışı deformasyon bandı).

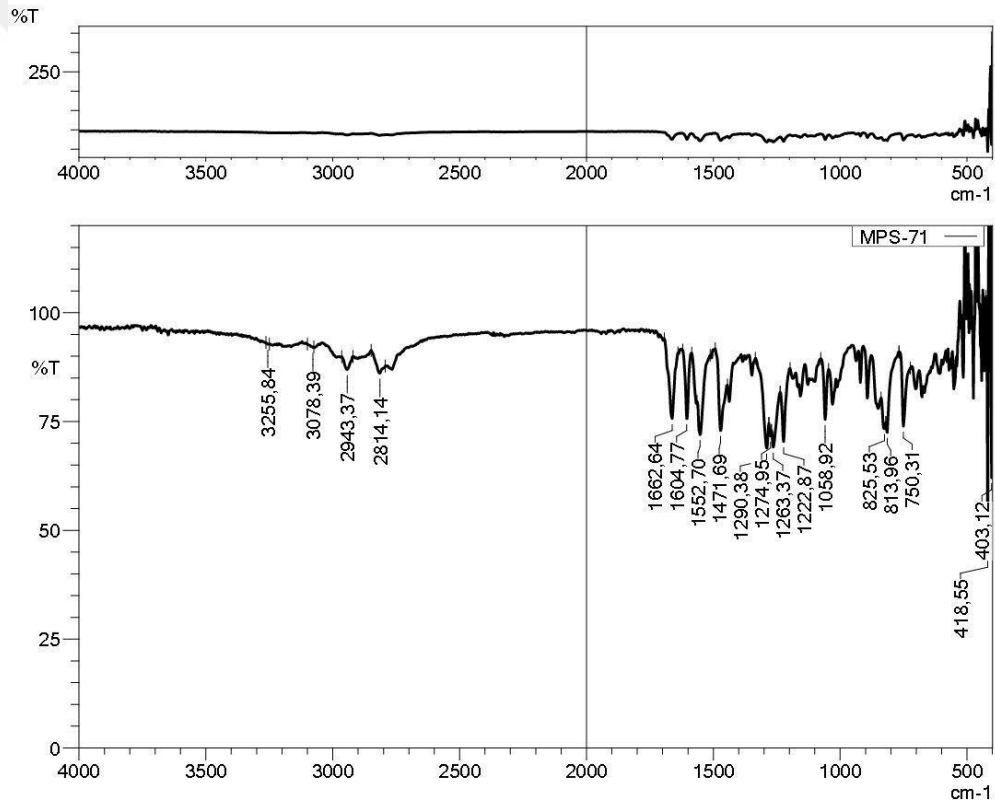
^1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 1.47-1.57(2H, m, -CH₂-), 2.12 (6H, s, -CH₃ + -CH₃), 2.19 (2H, t, J = 6.60 Hz, -CH₂-), 2.24 (2H, t, J = 3.66 Hz, -CH₂-), 2.37 (8H, y.s, piperazin), 3.53 (2H, s, -CH₂-), 3.83 (3H, s, -CH₃), 7.06 (1H, d.d., J = 3.81 Hz, benzotiyazol), 7.46 (2H, d, J = 8.27 Hz, 1,4-disüstitüebenzen), 7.61 (1H, d, J = 2.55 Hz, benzotiyazol), 7.67 (1H, d, J = 8.83 Hz, benzotiyazol), 8.10 (2H, d, J = 8.26 Hz, 1,4-disüstitüebenzen).

^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ = 24.80, 45.49, 53.18, 53.27, 56.04, 56.41, 57.67, 62.04, 105.05, 115.40, 121.36, 128.69, 129.22, 131.30, 133.35, 143.02, 143.99, 156.60, 157.66, 166.09.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ calcd for C₂₅H₃₃N₅O₂S: 468.2428; found: 468.2436.

DOPNALAB

Item	Value
Acquired Date&Time	10.12.2021 12:24:17
Acquired by	System Administrator
Filename	C:\Users\dopnalab\Desktop\derya\SEVVAL KARACA\MPS-71.jspd
Spectrum name	MPS-71
Sample name	MPS-7
Sample ID	
Option	
Comment	
No. of Scans	15
Resolution	4 [cm-1]
Apodization	Happ-Genzel



Şekil 5.67. Bileşik 4n'ye ait IR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\derya\MBS-7_172.lcd

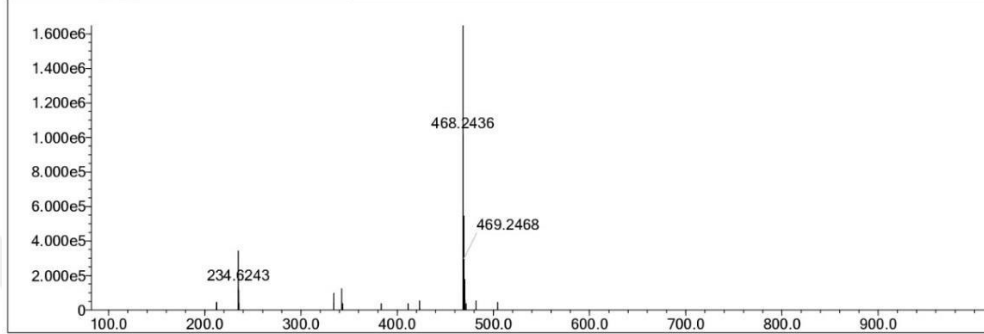
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	40	O	2	0	5	S	2	0	1	Ru	2	0	0	H
C	4	10	40	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	
N	3	2	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

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

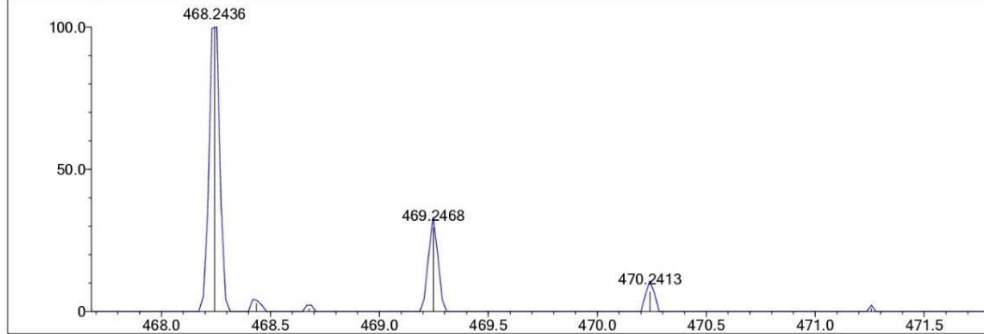
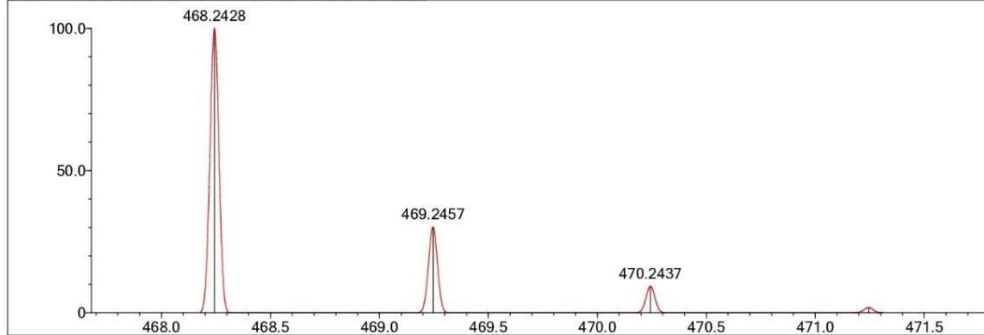
DBE Range: 5.0 - 15.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 150

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 1.947 Scan#: 293



Measured region for 468.2436 m/z

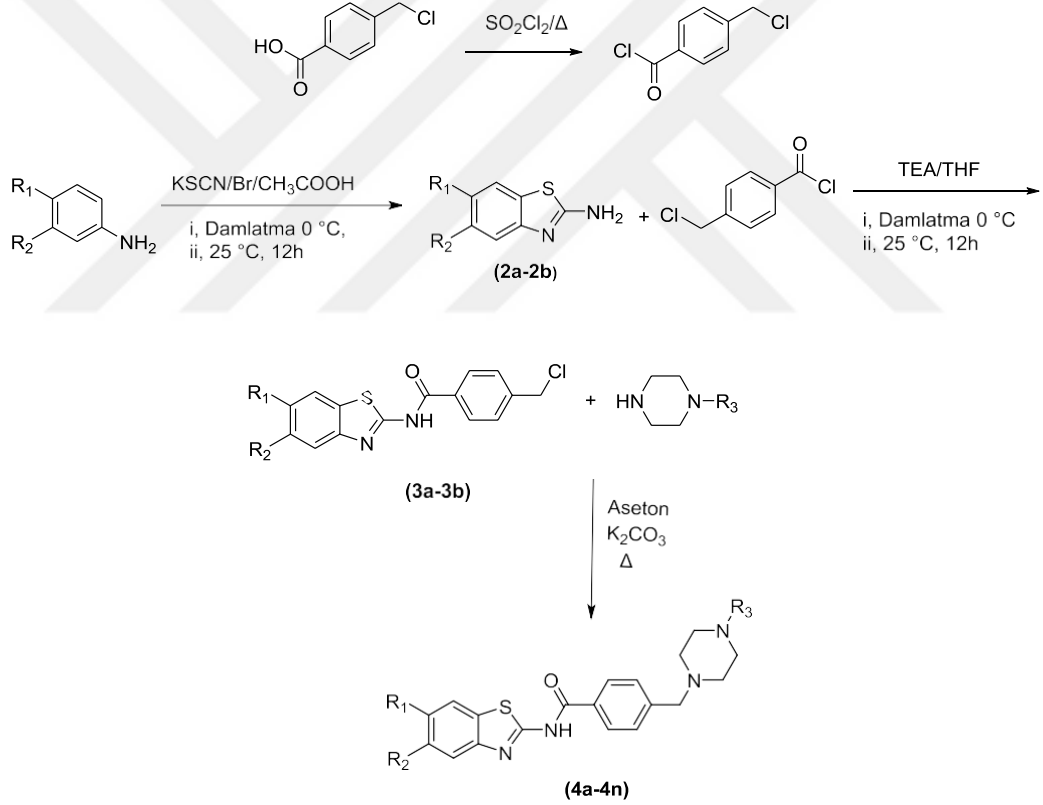
C25 H33 N5 O2 S [M+H]⁺ : Predicted region for 468.2428 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	77.52	C25 H33 N5 O2 S	[M+H] ⁺	468.2436	468.2428	0.8	1.71	78.92	12.0

Şekil 5.70. Bileşik 4n'ye ait kütle spektrumu

5.2. Sentez Çalışmalarının Değerlendirilmesi

Yürütülen tez kapsamında yapısında benzotiyazol ve piperazin gruplarını taşıyan yeni bileşiklerin sentezlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda 14 yeni bileşik sentezlenmiştir. Bileşikler dört basamaklı reaksiyon yöntemi kullanılarak elde edilmiştir. Bileşiklerin sentez şeması Şekil 5.71’de sunulmuştur. Başlangıçta 4-(klorometil)benzoil klorür sentezlenmiştir. İkinci olarak 4-(klorometil)benzoil klorür ile reaksiyona sokmak üzere 2-aminobenzotiyazol türevleri sentezlenmiştir. Üçüncü olarak 4-(klorometil)-N-(5,6-süstitübenzo[d]tiyazol-2-il)benzamid oluşturmak üzere sentezlenen başlangıç maddeleri reaksiyona sokulmuştur. Son basamakta hedef bileşikler sentezlenmek üzere 4-(klorometil)-N-(5,6-süstitübenzo[d]tiyazol-2-il)benzamid türevleri ile uygun piperazin türevleri reaksiyona sokulmuştur. Elde edilen bileşiklerin yapıları, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve HRMS spektroskopik yöntemleri ile kanıtlanmıştır.



Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃
4a	-H	-H	-CH ₃	4h	-H	-OCH ₃	-CH ₃
4b	-H	-H	-CH ₂ CH ₃	4i	-H	-OCH ₃	-CH ₂ CH ₃
4c	-H	-H	-CH ₂ CH=CH ₂	4j	-H	-OCH ₃	-CH ₂ CH=CH ₂
4d	-H	-H	-CH ₂ C≡CH	4k	-H	-OCH ₃	-CH ₂ C≡CH
4e	-H	-H	-CH(CH ₃) ₂	4l	-H	-OCH ₃	-CH(CH ₃) ₂
4f	-H	-H	-CH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₂	4m	-H	-OCH ₃	-CH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₂
4g	-H	-H	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₂	4n	-H	-OCH ₃	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₂

Şekil 5.71. Hedef bileşiklerin sentezi

5.3. Spektral Verilerin Değerlendirilmesi

Sentezleri gerçekleştirilen **4a-4n** kodlu, 14 adet orijinal bileşiğin yapıları IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve HRMS spektroskopik yöntemleri verileri ile aydınlatılmıştır. Spektrum yapı değerlendirmeleri, ilgili spektroskopik yöntem başlığı altında verilmiştir.

5.3.1. IR spektrumlarının değerlendirilmesi

Sentezlenen bileşiklerin kimyasal yapıları incelendiğinde, IR spektrumlarında yer alan aromatik C-H bandı 3055-3078 cm⁻¹ aralığında, alifatik C-H bandı 2933-2972 cm⁻¹, karbonile (C=O) ait spesifik gerilim bandı 1660-1681 cm⁻¹ aralığında elde edilmiştir. Bu grup üzerinde yer alan C=C gerilim bandı 1442-1473 cm⁻¹ aralığında elde edilmiştir. Sentez ürünlerinin hepsi (**4a-4n**) yapısında 1,4-disüstitüe benzen halkası taşımaktadır. Bu halkaya ait spesifik düzlem dışı deformasyon bandının 812-871 cm⁻¹ aralığında geldiği gözlenmiştir ve literatür değerleri [78] ile uyumludur.

5.3.2. ¹H-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi

Tez kapsamında sentezi gerçekleştirilen bileşiklerde yer alan alifatik ve aromatik protonlar ¹H-NMR spektrumlarında genel olarak beklendiği gibi pikler vermiştir. Elde edilen bileşiklerin spektrumlarında, toplam hidrojen sayısı belirlenmiş ve beklenen sayıda pik gözlenmiştir.

Sentezi yapılan bileşiklerde ortak kimyasal yapıda non-süstitüe benzotiyazol yapısı ve 5-metoksi benzotiyazol yapısı olmak üzere iki ana türev vardır. Non-süstitüe benzotiyazol yapısının yer aldığı türevlerin (**4a-4g**) ¹H-NMR sonuçları incelendiğinde göze çarpan detaylar şu şekildedir; bileşiklerin kimyasal yapılarında ortak olarak piperazin halkası, benzotiyazol yapısı ve 1,4-disüstitüebenzen halkası bulunmaktadır. Piperazin halkasına ait protonlar, **4a** ve **4c** kodlu bileşiklerde 2.36, 2.38 ppm değerlerinde 8 hidrojenlik yaygın singlet; **4b** kodlu bileşikte 2.27-2.38 ppm değerleri arasında 8 hidrojenlik multipler; **4d**, **4e**, **4f** kodlu bileşiklerde 2.41-2.48 ppm değerleri arasında 4 hidrojenlik yaygın singlet, 2.47-2.55 ppm değerleri arasında 4 hidrojenlik yaygın singlet; **4g** kodlu bileşikte 2.20-2.27 ppm değerleri arasında 4 hidrojenlik multipler, 2.35 ppm değerinde 4 hidrojenlik yaygın singlet şeklinde gözlenmiştir. Benzotiyazol yapısına ait protonlar ise **4a-4g** kodlu bileşiklerde 7.31-7.33 ppm değerlerinde 1 hidrojenlik triplet; 7.42-7.46 ppm değerlerinde 1 hidrojenlik multipler, 7.76-7.78 ppm değerlerinde 1

hidrojenlik dublet, 7.99-8.01 ppm değerlerinde 1 hidrojenlik dublet ya da multiplet pik şeklinde gözlenmiştir.

Benzen halkası 1,4-disüstitüe halde iken AA'BB', mono süstitüe halde iken A2B2C spin sistemlerine uyar. Her iki durumda da halkaya bağı olan süstitüent veya 159 süstitüentlerin elektron verici veya çekici özelliklerine göre, benzen halkasına ait aromatik protonların 7.27 ppm de singlet olarak verdikleri pikin değeri ve şeklinde değışiklikler olur. Proton etrafındaki yüksek elektron yoğunluğu protonu perdeleyerek daha yüksek alan şiddetinde rezonansa yol açar ve ppm değeri azalır. Proton etrafındaki

düşük elektron yoğunluğu ise protonu perdelemeyerek daha düşük alan şiddetinde rezonansa yol açar ve ppm değeri artar. Aromatik halkaya elektron çekici bir grup

bağılandığı zaman halkada elektron yoğunluğu azalacağından, halka protonlarının perdelenmesi de azalır ve buna bağı olarak aromatik halka protonlarının kimyasal kayma

değerleri aşağı alana doğru kayar. Benzen halkası 1,4-disüstitüe halde iken, halka üzerindeki süstitüentlerin, elektronik özelliklerine bağı olarak spektrumda singlet, iki dublet veya kuartet şeklinde pikler gözlenebilir. Genellikle 2 dublet şeklinde gözlenen 1,4-disüstitüe benzen halkası pikleri, süstitüentlerin elektronik özelliklerinin birbirine çok yakın olması durumunda, kuartet ve hatta singlet şeklinde bile elde edilebilir [79,80].

4a-4g kodlu bileşiklerde bulunan 1,4-disüstitüe benzen halkasına ait protonlar ise 7.40-7.48 ppm değerlerinde 2 hidrojenlik dublet ya da multiplet, 7.96-8.11 ppm değerlerinde 2 hidrojenlik dublet pik şeklinde gözlenmiştir.

İkinci ana türev olan 5-metoksi benzotiyazol yapısındaki (**4h-4n**) bileşiklerin ¹H NMR sonuçları incelendiğinde göze çarpan detaylar ise şu şekildedir; bileşiklerin kimyasal yapılarında ortak olarak piperazin halkası, 5-metoksi benzotiyazol yapısı ve 1,4-disüstitüebenzen halkası bulunmaktadır. Piperazin halkasına ait protonlar, ikinci ana türevin tüm bileşiklerinde (**4h-4n**) 2.36-2.59 ppm değerlerinde 8 hidrojenlik yaygın singlet şeklinde gözlenmiştir. 5-Metoksi benzotiyazol yapısındaki (**4h-4n**) protonların, 6.76-7.07 ppm değerlerinde 1 hidrojenlik dubletin dubleti şeklinde, 6.99-7.62 değerlerinde ve 7.29-7.8.82 değerlerinde 1 hidrojenlik dublet şeklinde pikler verdiği gözlenmiştir. 5-Metoksi benzotiyazol yapısındaki (**4h-4n**) 1,4-disüstitüebenzen halkası protonlarında ise 7.36-7.47 ppm değerlerinde ve 7.95-8.10 ppm değerlerinde 2 hidrojenlik dublet şeklinde pikler verdiği gözlenmiştir.

5.3.3. ¹³C-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi

Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerde ortak yapısal parçacıklar ¹³C-NMR spektrumlarında genel olarak beklendiği gibi pikler vermiştir. Bileşiklere ait spektrumlarda spesifik fonksiyonel gruplardan kalbonil (C=O) sistemine ait karbonlar 165.98-166.59 ppm aralığında gözlenmiş olup literatür verileri ile uyum içerisinde [81]. Bunun dışında kalan alifatik karbonlar 11.93-79.86 ppm aralığında, aromatik karbonlar ise 102.78-166.59 ppm aralığında pik vermiştir.

5.3.4. Kütle spektrumlarının değerlendirilmesi

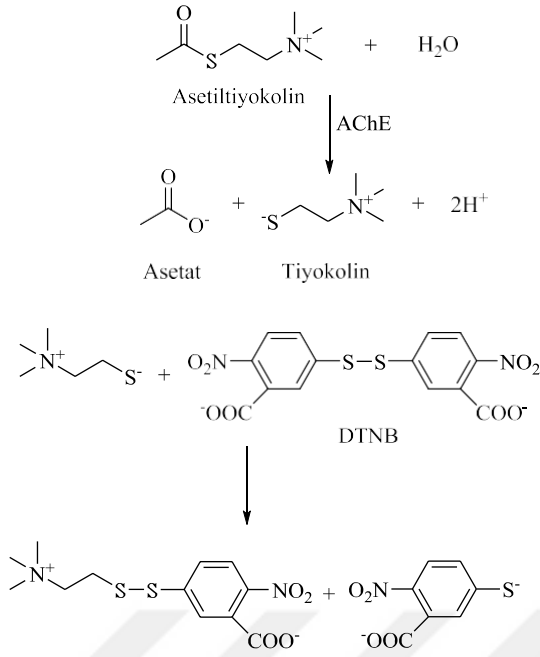
Sentez edilen bileşiklerin kütle spektrumları, elektron spray yöntemi kullanılarak pozitif iyonlaştırma tekniği ile çekilmiştir. Bu nedenle hesaplanan molekül ağırlıklarından bir fazla sayısal değere sahip piklerin (moleküler iyon pikleri; M+1 pikleri) spektrumlarda gözlenmesi beklenir. Spektrumlar incelendiğinde beklenen şekilde, bileşiklerin molekül ağırlıkları ile elde edilen M+1 piklerinin uyumlu olduğu görülmektedir.

5.4. Biyolojik Aktivite Çalışmalarının Değerlendirilmesi

Biyolojik aktivite çalışmaları kapsamında enzim inhibisyon deneylerinde referans bileşikler olarak AChE için donepezil, BChE için takrin, MAO-A için moklobemid ve MAO-B enzim aktivite deneyi için selejilin kullanılmıştır. Tez kapsamında elde edilen türevler ve referans bileşikleri enzim inhibisyon deneyleri 10⁻³ ve 10⁻⁴ M konsantrasyonlarında hazırlanmıştır. 10⁻³-10⁻⁴ M konsantrasyonlarındaki yüzde inhibisyon değerlerinin hesaplanmasının ardından nonlineer regresyon analizi ile elde edilen grafik yardımıyla seçilen bileşiklerin IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

5.4.1. AChE ve BChE enzim aktivite çalışmalarının değerlendirilmesi

Tez kapsamında sentezlenen bileşiklerin kolinesteraz aktiviteleri, 1961 yılında Ellman ve diğerleri tarafından geliştirilen kolorimetrik metot modifiye edilerek incelenmiştir [82]. Bu metot gerçekleşen kimyasal reaksiyonla meydana gelen absorbans değişiminin ölçülmesi temeline dayanmaktadır. Ellman yönteminde AChE enzimi, asetiltiyokolin iyodür substratını asetat ve tiyokolin oluşturarak hidroliz etmektedir. Meydana gelen tiyokolin, spesifik kromojnik belirteci olan DTNB'yi, 412 nm'de absorbans veren nitrobenzoata dönüştürmektedir.



Şekil 5.72. Ellman metodu reaksiyon mekanizması

Elde edilen tüm benzotiyazol-piperazin türevlerinin (**4a-4n**) kolinesteraz enzimlerine karşı önleyici aktiviteleri, daha önce tarif edilen *in vitro* modifiye Ellman'ın spektrofotometrik yöntemi [83] kullanılarak değerlendirilmiştir. Aktivite testleri iki adımda gerçekleştirilmiştir. Tüm bileşikler (**4a-4n**) ve referans ajanlar (donepezil ve takrin) 10^{-3} ve 10^{-4} M konsantrasyonlarda hazırlanarak enzim inhibisyon testleri gerçekleştirilmiştir. Enzim aktivite sonuçları, test bileşiklerinin ve referans maddelerinin IC_{50} değerleri Tablo 5.1'de sunulmuştur. Enzim inhibisyon testi sonucunda tüm bileşiklerin 10^{-3} M konsantrasyonda AChE'ye karşı daha etkili olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte, özellikle dimetilaminoetil ve dimetilaminopropil süstitüentine sahip bileşikler, AChE'ye karşı donepezil ile karşılaştırılabilir düzeyde inhibitör aktivite göstermiştir. Bileşikler içerisinde **4a**, **4d**, **4f**, **4g**, **4h**, **4k**, **4m** ve **4n** kodlu bileşikler %50'den fazla oranda inhibisyon göstermiştir ve IC_{50} değerleri hesaplanmıştır. **4a**, **4d**, **4f**, **4g**, **4h**, **4k**, **4m** ve **4n** kodlu bileşiklerinin IC_{50} değerleri sırasıyla 0.0563 ± 0.0025 μM , 0.0896 ± 0.0032 μM , 0.0234 ± 0.0011 μM , 0.0367 ± 0.0014 μM , 0.0649 ± 0.0029 μM , 0.1025 ± 0.0048 μM , 0.0278 ± 0.0010 μM , 0.0421 ± 0.0018 μM olarak hesaplanmıştır. Bu bileşikler donepezile çok yakın IC_{50} değerlerine sahip oldukları için ön plana çıkmışlardır. Donepezilin IC_{50} değeri 0.0201 ± 0.0014 μM olarak bulunmuştur. Bu türevler arasından **4f** kodlu bileşiğin, 0.0234 ± 0.0011 μM IC_{50} değeri ile serideki en aktif türev olduğu tespit edilmiştir.

BChE enzim sonuçlarına bakıldığında ise referans bileşik takrinin 10^{-3} ve 10^{-4} M konsantrasyonlarında sırasıyla 99.827 ± 1.378 ve 98.651 ± 1.402 oranında aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Ancak bileşiklerin hiçbiri, BChE'ye karşı anlamlı inhibitör aktivite sergilememiştir.

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

Bileşik	AChE % İnhibisyon		AChE IC_{50} (μ M)	BChE % İnhibisyon		BChE IC_{50} (μ M)
	10^{-3} M	10^{-4} M		10^{-3} M	10^{-4} M	
4a	93.275 ± 1.402	89.061 ± 1.137	0.0563 ± 0.0025	38.552 ± 0.723	26.521 ± 0.765	> 1000
4b	85.641 ± 1.265	47.627 ± 0.835	> 100	35.748 ± 0.865	24.445 ± 0.622	> 1000
4c	82.762 ± 1.474	48.182 ± 0.946	> 100	30.991 ± 0.675	20.162 ± 0.738	> 1000
4d	91.638 ± 1.275	86.528 ± 1.144	0.0896 ± 0.0032	37.135 ± 0.795	28.378 ± 0.851	> 1000
4e	83.887 ± 1.695	46.950 ± 0.774	> 100	39.062 ± 0.816	26.794 ± 0.711	> 1000
4f	96.427 ± 1.448	93.038 ± 1.266	0.0234 ± 0.0011	45.340 ± 0.920	32.835 ± 0.629	> 1000
4g	94.337 ± 1.037	90.552 ± 1.345	0.0367 ± 0.0014	41.511 ± 0.839	30.961 ± 0.767	> 1000
4h	92.346 ± 1.055	87.377 ± 1.263	0.0649 ± 0.0029	33.471 ± 0.751	27.002 ± 0.691	> 1000
4i	86.959 ± 1.154	48.034 ± 0.955	> 100	39.762 ± 0.874	25.188 ± 0.857	> 1000
4j	82.464 ± 1.528	47.579 ± 0.803	> 100	32.931 ± 0.791	22.574 ± 0.790	> 1000
4k	90.339 ± 1.451	84.654 ± 1.328	0.1025 ± 0.0048	30.389 ± 0.688	26.391 ± 0.687	> 1000
4l	81.650 ± 1.346	48.065 ± 0.989	> 100	38.051 ± 0.856	24.262 ± 0.667	> 1000
4m	95.308 ± 1.248	91.829 ± 1.335	0.0278 ± 0.0010	42.423 ± 0.834	31.939 ± 0.793	> 1000
4n	95.324 ± 1.167	90.036 ± 1.428	0.0421 ± 0.0018	40.897 ± 0.975	30.428 ± 0.885	> 1000
Donepezil	99.156 ± 1.302	97.395 ± 1.255	0.0201 ± 0.0014	-	-	-
Takrin	-	-	-	99.827 ± 1.378	98.651 ± 1.402	0.0064 ± 0.0002

5.4.2. MAO-A ve MAO-B enzim aktivite çalışmalarının değerlendirilmesi

MAO-A enzimi üzerinde yapılan aktivite çalışma sonuçları Tablo 5.2’de sunulmuştur. MAO-A enzim aktivitesindeki referans bileşik olan moklobemid 10^{-3} M konsantrasyonda 94.121 ± 2.760 oranında aktivite göstermiştir. Bu konsantrasyonda elde edilen bileşiklerden (4a-4n) hiçbiri %50’nin üzerinde inhibisyon göstermemiştir.

MAO-B enzimi üzerinde yapılan aktivite çalışma sonuçları analiz edildiğinde ise 10^{-3} ve 10^{-4} M konsantrasyonda **4a**, **4d**, **4f**, **4h**, **4k** ve **4m** kodlu bileşikler %50'den fazla oranda aktivite göstermiştir. Bileşiklerin MAO-A enzimine kıyasla MAO-B'ye seçici etki gösterdiği görülmektedir. Bileşiklerden **4a**, **4d**, **4f**, **4h**, **4k** ve **4m** kodlu türevlerin IC_{50} değerleri sırasıyla 0.0674 ± 0.0031 μ M, 0.1097 ± 0.0043 μ M, 0.0403 ± 0.0017 μ M, 0.0851 ± 0.0038 μ M, 0.1243 ± 0.0058 μ M ve 0.0567 ± 0.0022 μ M olarak bulunmuştur. MAO-B enzim aktivitesinde referans bileşik selejilinin IC_{50} değeri 0.0374 ± 0.0016 μ M olarak hesaplanmıştır. Buna göre sentezlenen bileşiklerden **4f** kodlu bileşik selejiline en yakın IC_{50} değeri ile en aktif türev olarak göze çarpmaktadır. Dolayısıyla **4f** kodlu bileşik hem AChE hem de MAO-B enzimi üzerinde inhibitör etkinlik göstererek, AH karşı dual inhibitör olarak kullanılabilecek bir profil sergilemiştir.

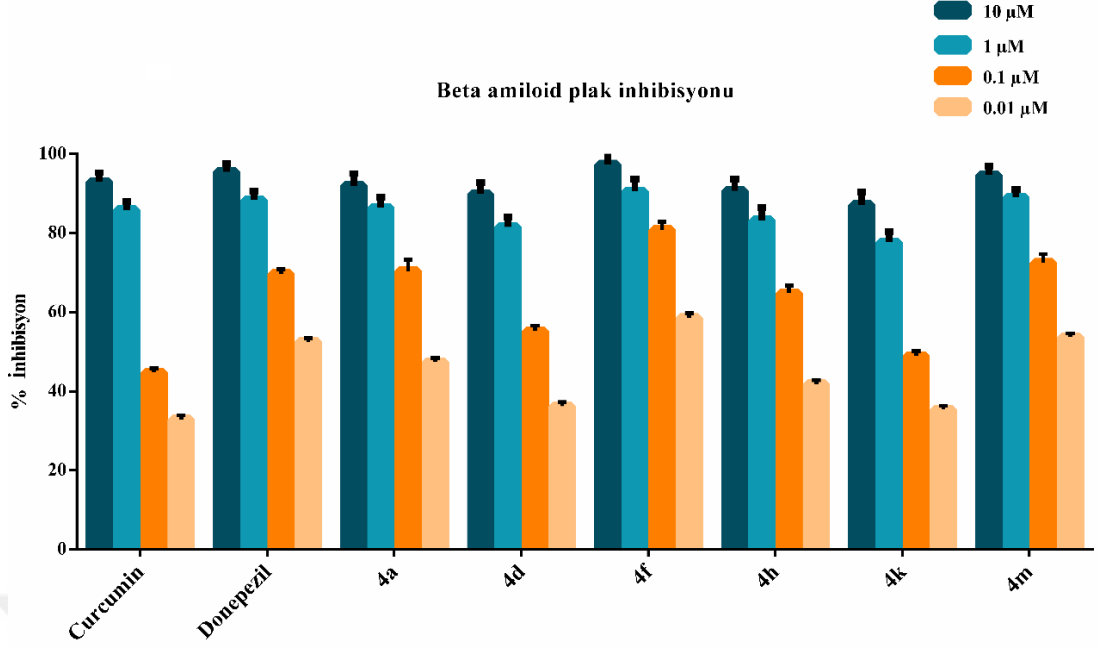
Tablo 5.2. Elde edilen bileşiklerin 10^{-3} ve 10^{-4} M konsantrasyonlarında MAO-A ve MAO-B % inhibisyon oranları ve IC_{50} (μ M) değerleri

Bileşik	MAO-A % İnhibisyon		MAO-A IC_{50} (μ M)	MAO-B % İnhibisyon		MAO-B IC_{50} (μ M)
	10^{-3} M	10^{-4} M		10^{-3} M	10^{-4} M	
4a	55.321 ± 0.945	38.567 ± 0.734	> 100	91.049 ± 1.095	88.674 ± 1.294	0.0674 ± 0.0031
4b	46.546 ± 0.836	36.421 ± 0.765	> 1000	73.265 ± 1.165	42.332 ± 0.839	> 100
4c	48.317 ± 0.957	34.630 ± 0.830	> 1000	69.622 ± 1.223	40.260 ± 0.961	> 100
4d	57.642 ± 0.899	39.651 ± 0.855	> 100	89.464 ± 1.208	84.023 ± 1.057	0.1097 ± 0.0043
4e	44.723 ± 0.899	33.752 ± 0.655	> 1000	72.737 ± 1.058	44.615 ± 0.759	> 100
4f	67.924 ± 1.052	41.322 ± 0.891	> 100	95.311 ± 1.257	91.268 ± 1.104	0.0403 ± 0.0017
4g	64.975 ± 1.103	40.068 ± 0.902	> 100	74.167 ± 1.035	42.495 ± 0.920	> 100
4h	60.485 ± 0.997	38.491 ± 0.648	> 100	90.565 ± 1.365	85.736 ± 1.412	0.0851 ± 0.0038
4i	43.837 ± 0.948	30.595 ± 0.748	> 1000	75.584 ± 1.161	41.727 ± 0.951	> 100
4j	45.151 ± 0.852	32.912 ± 0.696	> 1000	74.495 ± 1.074	43.528 ± 0.849	> 100
4k	58.642 ± 0.948	39.875 ± 0.764	> 100	88.380 ± 1.495	85.964 ± 1.123	0.1243 ± 0.0058
4l	40.597 ± 0.933	34.046 ± 0.874	> 1000	77.910 ± 1.352	40.665 ± 0.961	> 100
4m	61.324 ± 0.982	37.985 ± 0.847	> 100	93.275 ± 1.347	90.902 ± 1.495	0.0567 ± 0.0022
4n	60.103 ± 0.837	38.764 ± 0.691	> 100	70.278 ± 1.304	41.037 ± 0.897	> 100
Moklobemid	94.121 ± 2.760	82.143 ± 2.691	6.0613 ± 0.2625	-	-	-
Selejilin	-	-	-	98.589 ± 2.055	94.850 ± 1.114	0.0374 ± 0.0016

5.4.3. Beta Amiloid 1-42 (A β 42) Agregasyonunun İnhibisyonu

Tez kapsamında sentezi tamamlanan bileşikler arasında AChE ve MAO-B enzimlerine karşı yüksek inhibitör aktivite gösteren **4a**, **4d**, **4f**, **4h**, **4k** ve **4m** kodlu bileşiklerin beta amiloid agregasyonunu önleme etkinlikleri fluorometrik yönteme dayanan “Beta Amyloid 1- 42 (A β 42) Ligand Screening Assay” kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir (BioVision, Milpitas, CA, ABD). Prosedür gereği bir A β 42 ligandı mevcutsa, bu reaksiyon inhibe edilir/yok edilir, böylece floresansı azaltır veya tamamen ortadan kaldırır. Beta amiloid 1-42 (A β 42) peptit agregasyonunun yüzde inhibisyonu **4a**, **4d**, **4f**, **4h**, **4k** ve **4m** kodlu bileşikleri için Şekil 5.73'te verilmiştir. Bu bileşikler 10 μ M, 1 μ M, 0.1 μ M ve 0.01 μ M konsantrasyonlarda test edilmiştir ve kitede bulunan A β 42 inhibitörü standart olarak kullanılmıştır. Tüm test bileşiği konsantrasyonları, plakalar üzerinde dört kopya halinde uygulanmıştır.

Şekil 5.73'e karşılık gelen **4a**, **4d**, **4f**, **4h**, **4k** ve **4m** kodlu bileşikler, 10 μ M konsantrasyonda %50'den fazla inhibisyon sergilemiştir. **4a**, **4d**, **4f**, **4h**, **4k** ve **4m** kodlu bileşikler bu konsantrasyonda sırasıyla; %91.94, %89.80, %97.31, %90.66, %87.10 ve %94.70 şeklinde inhibisyon göstermişlerdir. 1 μ M'lik bir konsantrasyonda da %50'den fazla inhibisyon sergilemişlerdir ve sırasıyla; %86.35, %81.50, %90.55, %83.22, %77.65 ve %88.96 şeklinde inhibisyon göstermişlerdir. 0.1 μ M'lik bir konsantrasyonda ise sırasıyla; %70.36, %55.16, %80.76, %64.84, %48.90 ve %72.46 şeklinde inhibisyon göstermişlerdir. 0.01 μ M'lik bir konsantrasyonda ise sırasıyla; %47.36, %36.21, %58.55, %41.76, %35.35 ve %53.62 şeklinde inhibisyon göstermiştir. **4f** ve **4m** kodlu bileşikler, diğer bileşikler (**4a**, **4d**, **4h**, **4k**) ile karşılaştırıldığında daha yüksek bir inhibisyon potansiyeline sahip oldukları gözlenmiştir. Elde edilen bu bulgular neticesinde özellikle **4f** ve **4m** kodlu bileşiklerin AChE ve MAO-B enzimlerini inhibe etme potansiyellerinin yanı sıra AH'dan muzdarip hastaların beyinlerinde biriken beta amiloid plak oluşumunu da engelleyebilme kabiliyetleri olabileceğini gözler önüne sermiştir.



Şekil 5.73. 4a, 4d, 4f, 4h, 4k ve 4m kodlu bileşiklerin Beta amiloid plak inhibisyonu (%)

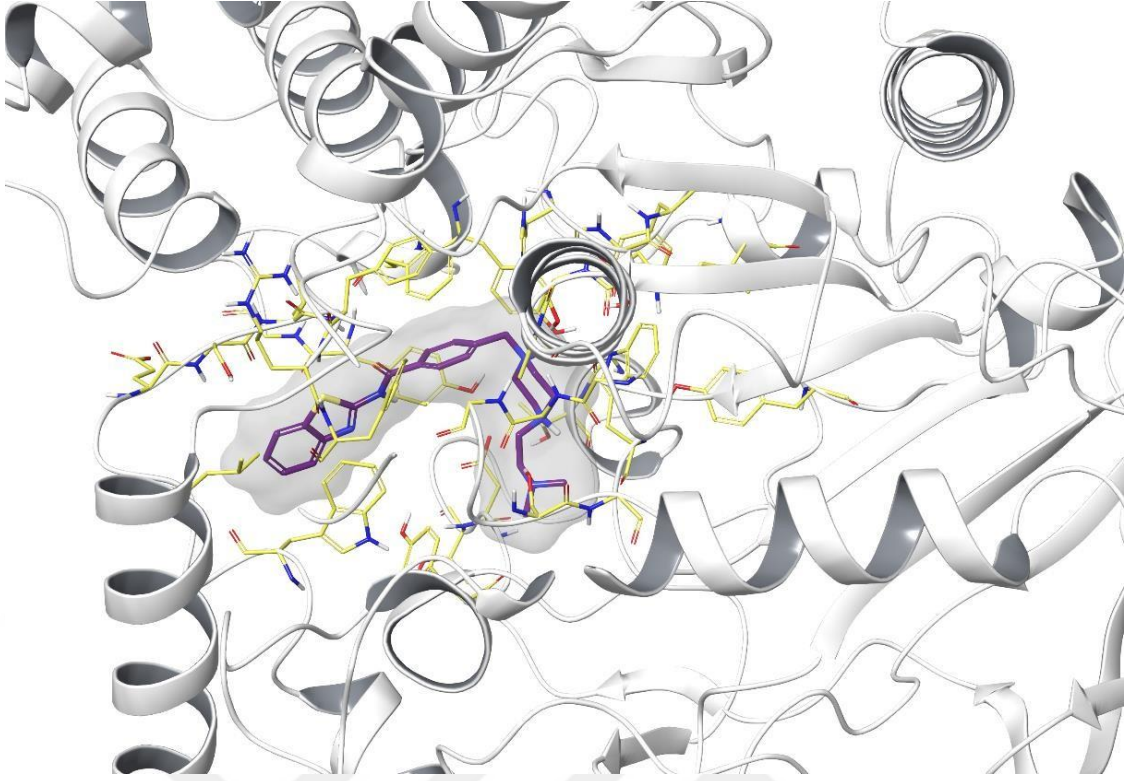
5.5. Moleküler Modelleme Çalışmalarının Değerlendirilmesi

Tez kapsamında sentezi tamamlanan, AChE ve MAO-B enzimleri üzerine inhibisyon aktivitesi en yüksek bulunan bileşik 4f'nin ilgili enzim aktif bölgeleriyle olası etkileşimlerini belirlemek için AChE enzimine ait (PDB Kodu: 4EY7) [73] ve MAO-B enzimi için PDB: 2V5Z [74] kristal yapıları üzerinde docking çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Çalışmalarda *Glide 7.1* [77] programı ile gerçekleştirilen docking tekniği uygulanmış ve GlideScore SP ile en olası pozlar üretilmiştir. Şekil 5.74-76'da AChE enzimi ile yapılan çalışma neticesinde elde edilen docking pozları verilmişken; Şekil 5.77-79'da MAO-B enzimi ile ilgili docking pozları yer almaktadır.

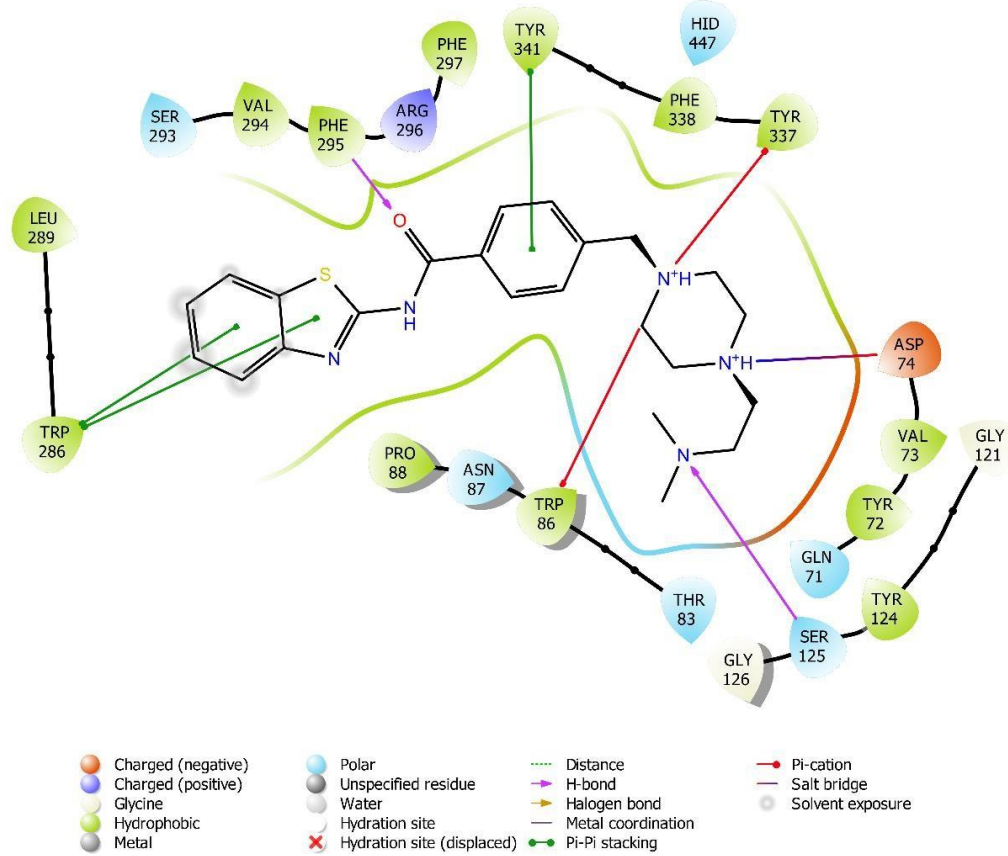
Donepezilin çift bağlanma bölgesi (dual binding site-DBS) özelliği ile AChE enziminin her iki bölgesi ile de etkileşerek geçide çok iyi yerleştiği yapılmış birçok modelleme çalışmasında tespit edilmiştir [84-86]. Cheung ve diğerleri (2012) yaptıkları bir çalışmada donepezilin enzim aktif bölgelerine bağlanma noktalarını inceleyerek donepezilin aktif bölgelerle olan etkileşimlerini açıklamışlardır. CAS bölgesinde benzil halkası aktif bölgede Trp86 amino asidindeki indol halkası ile π - π etkileşimi yapmaktadır. Yapıda yer alan karbonil oksijeni önemli bir etkileşime sahiptir. İndanondaki karbonil oksijeni ile Phe338'nin amino grubu arasında hidrojen bağı kurularak yapıya bağlanma söz konusudur. PAS bölgesinde ise indanon yapısı Trp286'daki indol ile π - π etkileşimi

yaparak bağlanmaktadır. Ayrıca piperidin halkası hem CAS hem de PAS bölgesiyle van der Waals etkileşimi içerisindedir [73]. Sentezi yapılan bileşikler arasında en yüksek aktivite gösteren bileşik **4f**'nin AChE enzimi ile yapılmış docking çalışması incelendiğinde söz konusu bileşiğin çok sayıda ve çeşitte etkileşimler oluşturarak enzim aktif bölgesine oldukça güçlü derecede bağlandığı görülmektedir. Donepezilde olduğu gibi tez kapsamında elde edilen bileşik **4f**'nin de enzimin hem CAS hem PAS bölgelerine bağlanarak geçide yerleştiği ve böylelikle çift bölgeye bağlanma (dual binding site-DBS) özellikleri sayesinde enzimle tam bir etkileşim kurabildikleri görülmektedir.

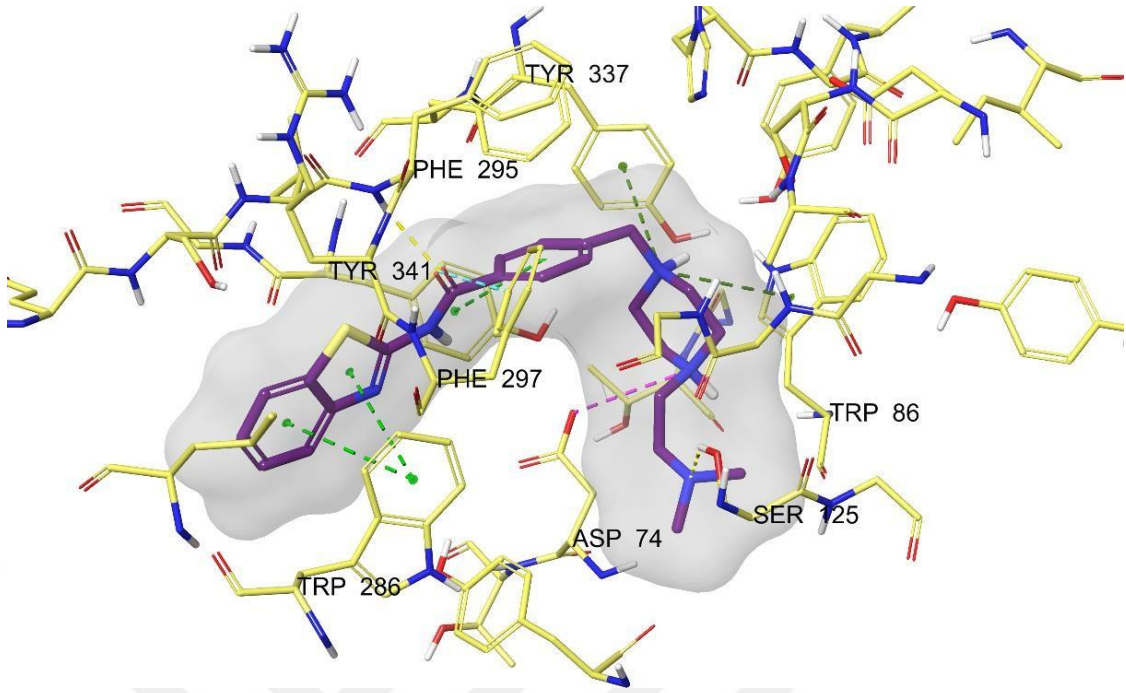
Şekil 5.75 ve 76'da görülebildiği gibi, bileşik **4f**'de bulunan benzotiyazol halkasının hem fenil hem de tiyazol halkaları Trp286 amino asidinin indol halkası ile iki π - π etkileşimi oluşturmaktadır. Benzotiyazol halkasına komşu karbonilin de polar etkileşimler açısından oldukça önemli olduğu görülmektedir. Söz konusu karbonil grubu Phe295'in amino grubuyla bir hidrojen bağı kurarken; Phe297'nin fenili ile de bir aromatik-hidrojen bağı oluşturmaktadır. Benzotiyazol ve komşuluğunda bulunan karbonile ait bahsedilen bu etkileşimler, bileşik **4f**'nin donepezilde olduğu gibi PAS bölgesine oldukça güçlü bir şekilde yerleştiğini göstermektedir. Yapının orta kısmında bulunan benzen halkasının Tyr341 amino asidinin fenili ile yine π - π etkileşimi oluşturduğu tespit edilmiştir. Benzen halkasına komşu piperazin halkasında bulunan azot atomunun Trp86'nın indolü ve Tyr337'nin fenili ile iki katyon- π etkileşimi kurduğu görülmektedir. Piperazin halkasının diğer azot atomunun da Asp74'ün karbonili ile bir tuz köprüsü oluşturduğu belirlenmiştir. Son olarak, piperazin halkasına bağlı dimetilaminoetil süstitüentinde bulunan terminal azot atomunun Ser125'in hidroksili ile bir hidrojen bağı oluşturduğu tespit edilmiştir. Asp74, Trp86, Ser125, Tyr337 ve Tyr341 amino asitleriyle gözlenen etkileşimler ile bileşik **4f**'nin AChE enzim aktif yöresinin CAS bölgesine oldukça kuvvetli ve uyumlu bir şekilde bağlandığı gözlenmiştir. Elde edilen tüm veriler bileşik **4f**'nin AChE enzimi üzerinde *in vitro* olarak da gösterdiği güçlü inhibitör aktiviteyi açıklar niteliktedir.



Şekil 5.74. Bileşik 4f'nin AChE enzim aktif bölgesine yerleşimi.



Şekil 5.75. Bileşik 4f'nin AChE enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin iki boyutlu görünümü.

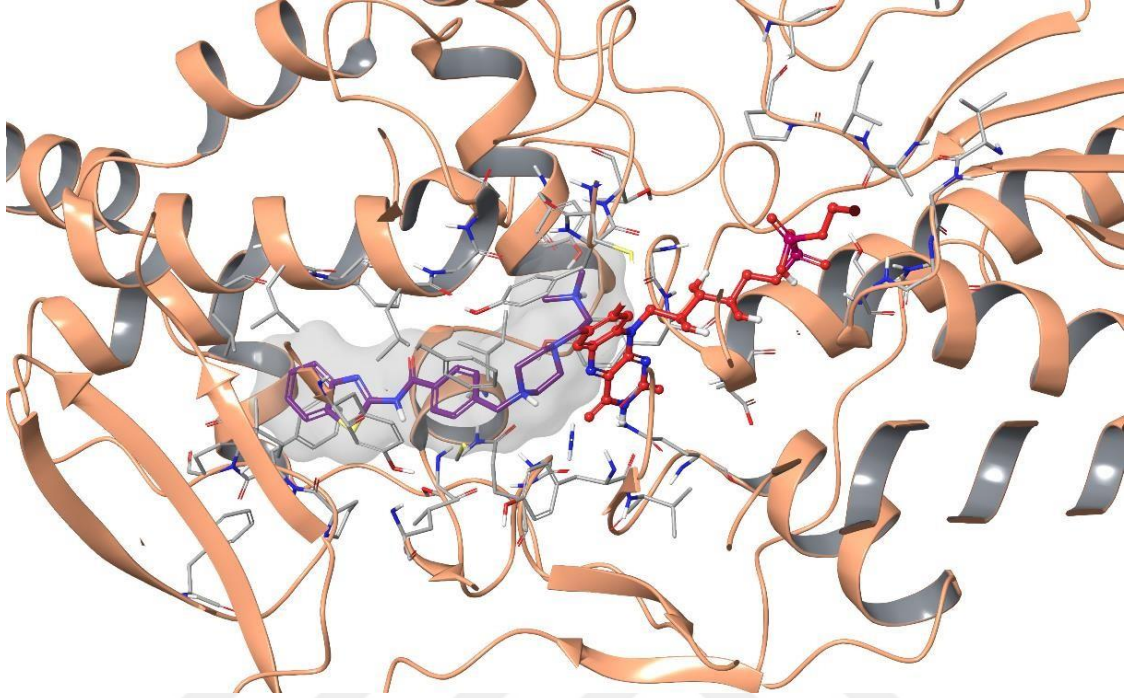


Şekil 5.76. Bileşik **4f**'nin AChE enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin üç boyutlu görünümü (Enzim aktif bölgesindeki amino asitler sarı renkli, bileşik **4f** ise mor renkli gösterilmiştir).

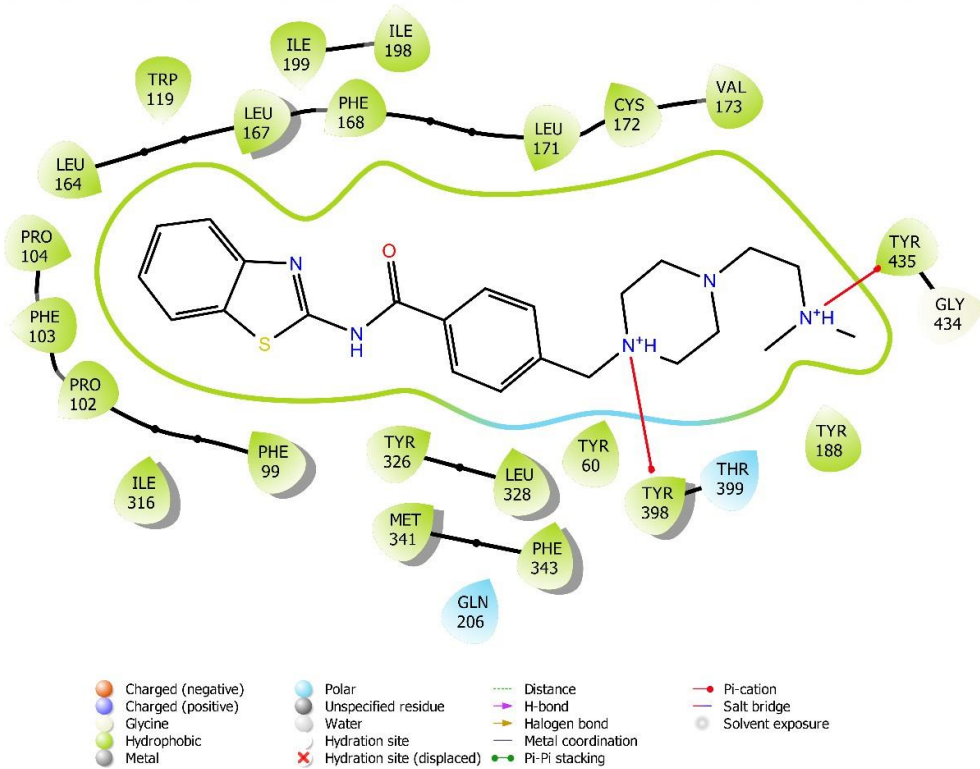
Şekil 5.77-5.79'da bileşik **4f**'nin MAO-B enzimi ile yapılmış docking pozları görülmektedir. Bu pozlar incelendiğinde bileşik **4f**'nin AChE enziminde olduğu gibi MAO-B enzimi aktif bölgesine de güçlü ve uygun bir pozisyonda yerleştiği görülmektedir. Yapıda bulunan benzotiyazol halkası Pro102 amino asidinin karbonili ile bir aromatik-hidrojen bağı oluşturmaktadır. Kimyasal yapının diğer uç kısmında bulunan terminal azot atomunun Tyr435'in fenili ile bir katyon- π etkileşimi kurduğu görülmektedir. Piperazin halkasının azotu ise aynı etkileşimi Tyr398'in fenili ile oluşturmaktadır. Ayrıca piperazin halkasının söz konusu bu azot atomunun enzim aktif bölgesinde bulunan FAD molekülünün N5'ine komşu karbonili ile de bir hidrojen bağı kurduğu tespit edilmiştir (Bkz. Şekil 5.79-5.80). Bulunan bu etkileşim bileşik **4f**'nin MAO-B enzim aktif yöresinde substrat bağlanma bölgesine FAD ile etkileşimde bulunarak güçlü ve uygun bir şekilde bağlandığını gözler önüne sermektedir. Elde edilen tüm veriler bileşik **4f**'nin güçlü derecede olan MAO-B enzim inhibisyon profilini açıkça ifade etmektedir.

Moleküler docking çalışmaları yardımıyla bileşik **4f**'nin hem AChE hem de MAO-B enzimleri üzerinde tespit edilmiş *in vitro* dual inhibitör özelliği, *in silico* sonuçlar

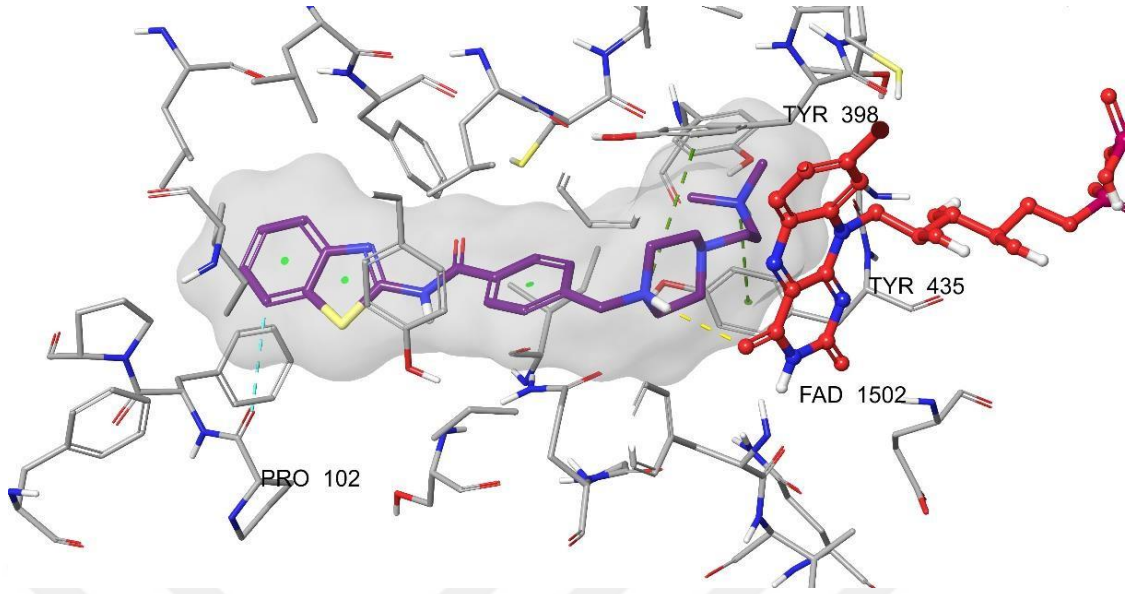
ile de desteklenmiş ve ifade edilmeye çalışılmıştır. Bileşik **4f**'nin dual inhibisyon profili ile AH ve PH tedavisinde umut verici bir potansiyele sahip olduğu elde edilen bulgular ile görülmektedir.



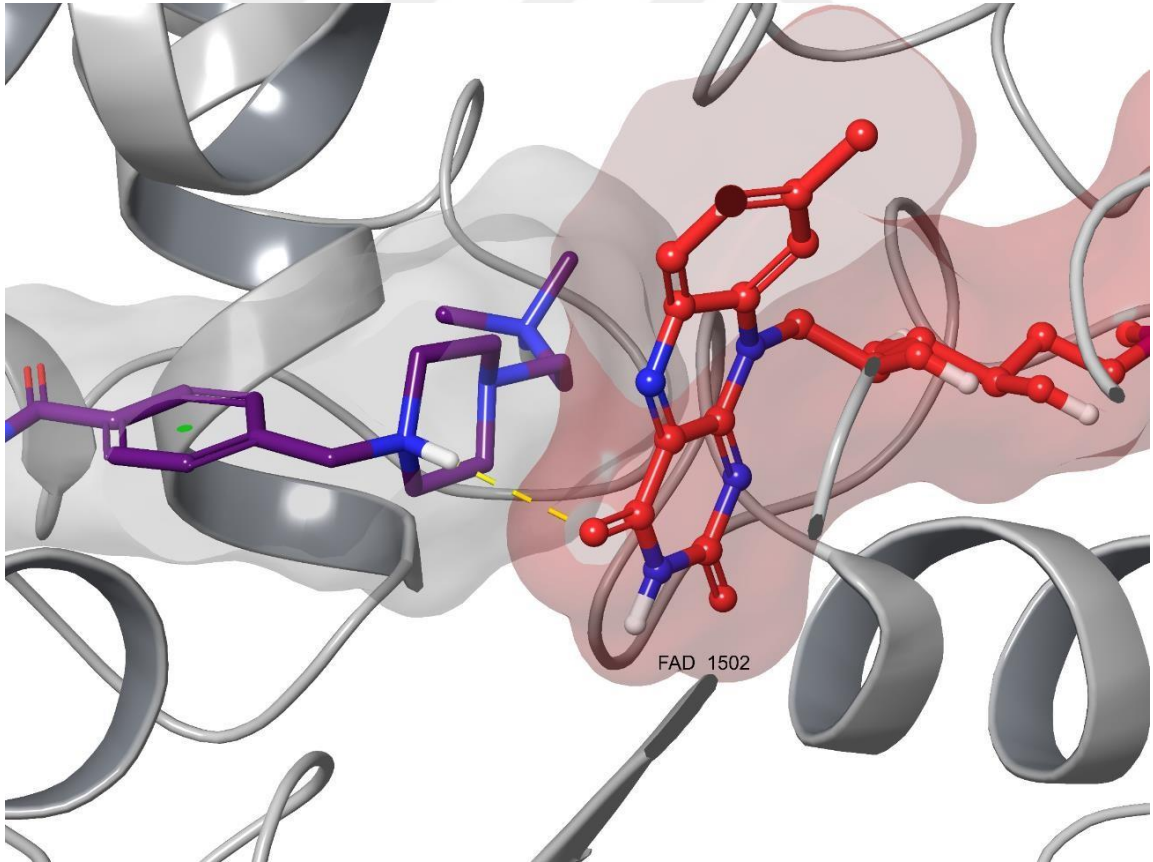
Şekil 5.77. Bileşik **4f**'nin MAO-B enzim aktif bölgesine yerleşimi.



Şekil 5.78. Bileşik **4f**'nin MAO-B enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin iki boyutlu görünümü.



Şekil 5.79. Bileşik 4f'nin MAO-B enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin üç boyutlu görünümü (Enzim aktif bölgesindeki amino asitler gri renkli, bileşik 4f ise mor renkli gösterilmiştir).



Şekil 5.80. Bileşik 4f'nin MAO-B enzim aktif bölgesiyle etkileşiminin üç boyutlu görünümünde FAD etkileşimi.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

AH, demansın büyük bir kısmını oluşturur ve genellikle davranışsal semptomlar ile bilişsel ve fiziksel işlev kaybıyla karakterize, ilerleyici ve nedeni tam bilinmeyen ölümcül bir demans türüdür. AH'da hafıza kaybının ve entellektüel faaliyetlerin kötüye gitmesinin ve kişilik değişikliklerinin beyindeki kolinerjik sinirlerin kaybindan kaynaklandığı ileri sürülmektedir. Bu hasar ekstraselüler protein plaklarının ve intraselüler protein saçaklarının ortaya çıkmasıyla bağlantılıdır. Bu anormal protein yapıları nörotoksiktir ve nöron yıkımından sorumludur. Kolinerjik sinirlerin yıkımı hem kolinerjik reseptörlerde hem de asetilkolin seviyelerinde bir düşüşe neden olur. Bu nedenle asetilkolinesterazların AH'nın tedavisinde kullanılması için çalışmalar yapılmaktadır. Ancak henüz hiçbir çalışma AH'nı tedavi etmemektedir fakat asetilkolinin etki süresini uzatarak beynin canlı kalan kolinerjik reseptörlerini kullanmasını sağlayarak semptomları iyileştirir. Bu sonuçlara rağmen antikolinesteraz ilaçlar AH'nın ilk safhalarında faydalıdır. Fakat hastalığın ilerleyen safhalarında faydalarının azaldığı gösterilmiştir.

Asetilkolinesterazın Alzheimer hastalarının beyinde bulunan anormal protein birikimlerini desteklemede aktif bir rol oynayabileceği de keşfedilmiştir. Çalışmalar, enzimin periferik bağlanma bölgesinin, normalde çözülebilen ve bir antioksidan rolü olan β -amiloid proteinini bağlayabildiğini göstermiştir. Bununla birlikte protein, asetilkolinesteraza bağlandığında çözünmeyen ve AH ile ilgili protein plaklarının ve düğümlerinin ortaya çıkmasına neden olan bir değişikliğe uğrar. Enzim bu süreçte patolojik bir şaperon olarak tanımlanabilmektedir ve protein birikimleri ile ilgilidir. Ayrıca, hücre içinde proteinin çözünür oligomerleri oluşur. Bu oligomerler hücre toksisitesi ve hücre ölümüne neden olacak şekilde mitokondri işlevini bozar ve oksidatif stresi artırır. β -amiloid proteininin asetilkolinesterazın periferik bağlanma bölgesine bağlanmasını önleyerek hastalığın ilerlemesini durdurabilecek ilaçların geliştirilebileceği heyecan vericidir. Bu bağlamda tez kapsamında sentezlenen bileşikler (**4a-4n**), AChE, BChE, MAO-A, MAO-B enzimleri aktivite çalışmalarında kullanılmıştır. Çalışmalar sonucunda AChE ve MAO-B enzimleri üzerinde önemli inhibisyon gösteren bileşikler (**4a**, **4d**, **4f**, **4h**, **4k**, **4m**), β -amiloid 1-42 (A β 42) inhibitör tarama çalışmalarında kullanılmıştır. Çalışmalar sonucunda özellikle **4f** ve **4m** kodlu bileşiklerin AChE ve MAO-B enzim inhibisyonlarına ek olarak β -amiloid plak oluşumunu büyük oranda inhibe ederek dual etkili ilaç tasarımına yönelik önemli bileşikler oldukları gözlenmiştir. Tez kapsamında

sentezi gerçekleştirilen bileşik serisi içerisinde AChE ve MAO-B enzimleri üzerinde etkili bulunan bileşik **4f**'nin ilgili enzim aktif bölgeleriyle olası bağlanma ve etkileşim noktalarını belirlemek amacıyla yapı temelli *in silico* docking metodu uygulanmıştır. Moleküler docking çalışmaları yardımıyla bileşik **4f**'nin hem AChE hem de MAO-B enzimleri üzerinde tespit edilmiş *in vitro* dual inhibitör özelliği, *in silico* sonuçlar ile de desteklenmiş ve ifade edilmeye çalışılmıştır.

Tez kapsamında yapılan tüm çalışmalar neticesinde gelecek çalışmalarda daha yüksek aktivite gösteren bileşiklerin elde edilebilmesi adına benzer kimyasal yapılı yeni bileşiklerin tasarlanması, sentezlenmesi ve aktivitelerinin araştırılması hedeflenmektedir.



KAYNAKÇA

- [1] Cotrina, E.Y., et al., *Targeting transthyretin in Alzheimer's disease: Drug discovery of small-molecule chaperones as disease-modifying drug candidates for Alzheimer's disease*. European Journal of Medicinal Chemistry, 2021. 226.
- [2] Wichur, T., et al., *Discovery of 1-(phenylsulfonyl)-1H-indole-based multifunctional ligands targeting cholinesterases and 5-HT6 receptor with anti-aggregation properties against amyloid-beta and tau*. European Journal of Medicinal Chemistry, 2021. 225.
- [3] Wichur, T., et al., *Development and crystallography-aided SAR studies of multifunctional BuChE inhibitors and 5-HT6R antagonists with β -amyloid anti-aggregation properties*. European Journal of Medicinal Chemistry, 2021. 225.
- [4] Pont, C., et al., *From virtual screening hits targeting a cryptic pocket in BACE-1 to a nontoxic brain permeable multitarget anti-Alzheimer lead with disease-modifying and cognition-enhancing effects*. European Journal of Medicinal Chemistry, 2021. 225: p. 113779.
- [5] Berman, H.A., P. Taylor, and J. Yguerabide, *Fluorescence Energy Transfer on Acetylcholinesterase: Spatial Relationship Between Peripheral Site and Active Center*. Biochemistry, 1980. 19(10): p. 2226-2235.
- [6] Li, Y., et al., *Inhibition of Histone Deacetylase 6 (HDAC6) as a therapeutic strategy for Alzheimer's disease: A review (2010–2020)*. European Journal of Medicinal Chemistry, 2021: p. 113874.
- [7] Van Manh, N., et al., *Discovery of highly potent human glutaminy cyclase (QC) inhibitors as anti-Alzheimer's agents by the combination of pharmacophore-based and structure-based design*. European Journal of Medicinal Chemistry, 2021: p. 113819.
- [8] Qu, L., et al., *Discovery of PT-65 as a highly potent and selective Proteolysis-targeting chimera degrader of GSK3 for treating Alzheimer's disease*. European Journal of Medicinal Chemistry, 2021: p. 113889.
- [9] Guan, L., et al., *Design, synthesis, and cholinesterase inhibition assay of liquiritigenin derivatives as anti-Alzheimer's activity*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2021. 52: p. 128306.
- [10] Barbara Wells, T.S., Joe DiPiro, Cecily DiPiro, *Farmakoterapi El Kitabı*, ed. T. Çelik. 2019.
- [11] Kobayashi, K., et al., *Structure–activity relationship study of hydroxyethylamine isostere and P1' site structure of peptide mimetic BACE1 inhibitors*. Bioorganic and Medicinal Chemistry, 2021. 50.
- [12] Cai, Z., *Monoamine oxidase inhibitors: Promising therapeutic agents for Alzheimer's disease (Review)*. Molecular Medicine Reports, 2014. 9(5): p. 1533-1541.
- [13] Behl, T., et al., *Role of Monoamine Oxidase Activity in Alzheimer's Disease: An Insight into the Therapeutic Potential of Inhibitors*. Molecules, 2021. 26(12): p. 3724.
- [14] Ip, F.C.F., et al., *A tacrine-tetrahydroquinoline heterodimer potently inhibits acetylcholinesterase activity and enhances neurotransmission in mice*. European Journal of Medicinal Chemistry, 2021. 226: p. 113827.
- [15] Upadhyay, S.P., et al., *Influence of ligand geometry on cholinesterase enzyme - A comparison of 1-isoindolinone based structural analog with Donepezil*. Journal of Molecular Structure, 2022. 1247: p. 131385.

- [16] Emre, M., et al., *Drug Profile: Transdermal Rivastigmine Patch in the Treatment of Alzheimer Disease*. CNS Neuroscience & Therapeutics, 2010. 16(4): p. 246-253.
- [17] Sarkar, B., et al., *Identification of the most potent acetylcholinesterase inhibitors from plants for possible treatment of Alzheimer's disease: a computational approach*. Egyptian Journal of Medical Human Genetics, 2021. 22(1).
- [18] Zhang, P., et al., *Design and synthesis of novel tacrine-dipicolylamine dimers that are multiple-target-directed ligands with potential to treat Alzheimer's disease*. Bioorganic Chemistry, 2021. 116: p. 105387.
- [19] Yücel, N.T. and Ö.D. Can, *Huperzin A: Gölgede Kalmış Bir Nootropik Ajan*. FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences, 2019. 44(2): p. 133-146.
- [20] Koziol, E., et al., *Rutamarin: Efficient liquid–liquid chromatographic isolation from ruta graveolens L. And evaluation of its in vitro and in silico MAO-B inhibitory activity*. Molecules, 2020. 25(11).
- [21] Özdemir, Z., et al., *Synthesis, molecular modelling and biological activity of some pyridazinone derivatives as selective human monoamine oxidase-B inhibitors*. Pharmacological Reports, 2020. 72(3): p. 692-704.
- [22] Çalış, Ü. and M. AYTEMİR, *Alzheimer Tedavisinde Kullanılan İlaçlar*. 2019.
- [23] Szökő, É., et al., *Pharmacological aspects of the neuroprotective effects of irreversible MAO-B inhibitors, selegiline and rasagiline, in Parkinson's disease*. Journal of Neural Transmission, 2018. 125(11): p. 1735-1749.
- [24] Özdemir, Z., et al., *Monoamine oxidase-B (MAO-B) inhibitors in the treatment of alzheimer's and parkinson's disease*. Current Medicinal Chemistry, 2021. 28(29): p. 6045-6065.
- [25] Montemiro, C., et al., *Mechanistic insights into the efficacy of memantine in treating certain drug addictions*. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry, 2021. 111: p. 110409.
- [26] Kim, G.S., et al., *Determining the effect of aging, recovery time, and post-stroke memantine treatment on delayed thalamic gliosis after cortical infarct*. Scientific Reports, 2021. 11(1).
- [27] Özkay, Ü.D., et al., *Effect of benzothiazole/piperazine derivatives on intracerebroventricular streptozotocin-induced cognitive deficits*. Pharmacological Reports, 2012. 64(4): p. 834-847.
- [28] Keri, R.S., et al., *Design, synthesis and neuroprotective evaluation of novel tacrine–benzothiazole hybrids as multi-targeted compounds against Alzheimer's disease*. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2013. 21(15): p. 4559-4569.
- [29] Mohsen, U.A., et al., *Synthesis and evaluation of anti-acetylcholinesterase activity of some benzothiazole based new piperazine-dithiocarbamate derivatives*. Drug Research, 2015. 65(4): p. 176-183.
- [30] Parasuraman, P., R. Suresh, and D. Premnath, *Balancing anti-amyloid and anti-cholinesterase capacity in a single chemical entity: InSilico drug design*. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 2014. 6(SUPPL. 2): p. 571-574.
- [31] Pejchal, V., et al., *Synthesis, structural characterization, docking, lipophilicity and cytotoxicity of 1-[(1R)-1-(6-fluoro-1,3-benzothiazol-2-yl)ethyl]-3-alkyl carbamates, novel acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase pseudo-irreversible inhibitors*. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2016. 24(7): p. 1560-1572.

- [32] Demir Özkay, Ü., et al., *Design, synthesis, and AChE inhibitory activity of new benzothiazole–piperazines*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2016. 26(22): p. 5387-5394.
- [33] Hiremathad, A., et al., *Tacrine-allyl/propargylcysteine–benzothiazole trihybrids as potential anti-Alzheimer's drug candidates*. RSC Advances, 2016. 6(58): p. 53519-53532.
- [34] Gurdal, E.E., et al., *Synthesis of novel benzothiazole-piperazine derivatives and their biological evaluation as acetylcholinesterase inhibitors and cytotoxic agents*. Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry, 2017. 17(13): p. 1837-1845.
- [35] Spilovska, K., et al., *Multitarget tacrine hybrids with neuroprotective properties to confront Alzheimer's disease*. Current Topics in Medicinal Chemistry, 2017. 17(9): p. 1006-1026.
- [36] Tripathi, R.K.P. and S.R. Ayyannan, *Evaluation of 2-amino-6-nitrobenzothiazole derived hydrazones as acetylcholinesterase inhibitors: in vitro assays, molecular docking and theoretical ADMET prediction*. Medicinal Chemistry Research, 2018. 27(3): p. 709-725.
- [37] Turan-Zitouni, G., et al., *Fighting against alzheimer's disease: Synthesis of new pyrazoline and benzothiazole derivatives as new acetylcholinesterase and MAO inhibitors*. Letters in Drug Design and Discovery, 2018. 15(4): p. 414-427.
- [38] Rajeshwari, R., et al., *New Multitarget Hybrids Bearing Tacrine and Phenylbenzothiazole Motifs as Potential Drug Candidates for Alzheimer's Disease*. Molecules, 2019. 24(3): p. 587.
- [39] Salehi, N., et al., *Synthesis and biological evaluation of new N-benzylpyridinium-based benzoheterocycles as potential anti-Alzheimer's agents*. Bioorganic Chemistry, 2019. 83: p. 559-568.
- [40] Zengin, M., et al., *Design and Synthesis of 2-Substitutedphenyl Benzo[D]Thiazole Derivatives and Their β -Amyloid Aggregation and Cholinesterase Inhibitory Activities*. Pharmaceutical Chemistry Journal, 2019. 53(4): p. 322-328.
- [41] Erdogan, M., et al., *Design, synthesis and biological evaluation of new benzoxazolone/benzothiazolone derivatives as multi-target agents against Alzheimer's disease*. European Journal of Medicinal Chemistry, 2021. 212: p. 113124.
- [42] Nepovimova, E., et al., *Tacrine – Benzothiazoles: Novel class of potential multitarget anti-Alzheimer's drugs dealing with cholinergic, amyloid and mitochondrial systems*. Bioorganic Chemistry, 2021. 107: p. 104596.
- [43] Tripathi, R.K.P., O. Goshain, and S.R. Ayyannan, *Design, Synthesis, invitro MAO-B Inhibitory Evaluation, and Computational Studies of Some 6-Nitrobenzothiazole-Derived Semicarbazones*. ChemMedChem, 2013. 8(3): p. 462-474.
- [44] Tripathi, R.K.P. and S.R. Ayyannan, *Design, Synthesis, and Evaluation of 2-Amino-6-nitrobenzothiazole-Derived Hydrazones as MAO Inhibitors: Role of the Methylene Spacer Group*. ChemMedChem, 2016: p. 1551-1567.
- [45] Kaya, B., et al., *Synthesis of some novel 2-substituted benzothiazole derivatives containing benzylamine moiety as monoamine oxidase inhibitory agents*. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 2016. 31(6): p. 1654-1661.
- [46] Ilgin, S., et al., *Design and synthesis of new benzothiazole compounds as selective hMAO-B inhibitors*. Molecules, 2017. 22(12).
- [47] Nam, M.H., et al., *Indole-Substituted Benzothiazoles and Benzoxazoles as Selective and Reversible MAO-B Inhibitors for Treatment of Parkinson's Disease*. ACS Chemical Neuroscience, 2017. 8(7): p. 1519-1529.

- [48] Turan, G., et al., *Synthesis and monoamine oxidase A/B inhibitory evaluation of new benzothiazole-thiazolylhydrazine derivatives*. Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements, 2020. 195(6): p. 491-497.
- [49] Sağlık, B.N., S. Ilgın, and Y. Özkay, *Synthesis of new donepezil analogues and investigation of their effects on cholinesterase enzymes*. European journal of medicinal chemistry, 2016. 124: p. 1026-1040.
- [50] Acar Cevik, U., et al., *Synthesis of Novel 4-(Dimethylaminoalkyl) piperazine-1-carbodithioate Derivatives as Cholinesterase Inhibitors*. Letters in Drug Design & Discovery, 2017. 14(5): p. 528-539.
- [51] Acar Cevik, U., et al., *Synthesis and AChE-Inhibitory Activity of New Benzimidazole Derivatives*. Molecules, 2019. 24(5).
- [52] Demir Ozkay, U., et al., *Design, synthesis, and AChE inhibitory activity of new benzothiazole-piperazines*. Bioorg Med Chem Lett, 2016. 26(22): p. 5387-5394.
- [53] Demir Ozkay, U., et al., *A benzothiazole/piperazine derivative with acetylcholinesterase inhibitory activity: Improvement in streptozotocin-induced cognitive deficits in rats*. Pharmacol Rep, 2017. 69(6): p. 1349-1356.
- [54] Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Feather-Stone, R.M., *A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity*. Biochem. Pharmacol., 1961. 7(2): p. 88-95.
- [55] Hussein, W., et al., *Synthesis and Biological Evaluation of New Cholinesterase Inhibitors for Alzheimer's Disease*. Molecules, 2018. 23(8).
- [56] Levent, S., et al., *Anticholinesterase activity screening of some novel dithiocarbamate derivatives including piperidine and piperazine moieties*. Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements, 2017. 192(4): p. 469-474.
- [57] Osmaniye, D., et al., *Synthesis and AChE Inhibitory Activity of Novel Thiazolylhydrazone Derivatives*. Molecules, 2019. 24(13).
- [58] Sağlık, B.N., et al., *Synthesis and Biological Evaluation of Some Novel Dithiocarbamate Derivatives*. Journal of Chemistry, 2014. 2014: p. 1-9.
- [59] Tok, F., et al., *Synthesis and biological evaluation of new pyrazolone Schiff bases as monoamine oxidase and cholinesterase inhibitors*. Bioorg Chem, 2019. 84: p. 41-50.
- [60] Turan-Zitouni, G., et al., *Fighting Against Alzheimer's Disease: Synthesis of New Pyrazoline and Benzothiazole Derivatives as New Acetylcholinesterase and MAO Inhibitors*. Letters in Drug Design & Discovery, 2018. 15(4): p. 414-427.
- [61] Altıntop, M.D., et al., *Design, synthesis, in vitro and in silico evaluation of new pyrrole derivatives as monoamine oxidase inhibitors*. Arch Pharm (Weinheim), 2018. 351(7): p. e1800082.
- [62] Can, N.O., et al., *Synthesis of New Hydrazone Derivatives for MAO Enzymes Inhibitory Activity*. Molecules, 2017. 22(8).
- [63] Can, N.O., et al., *Design, synthesis and biological assessment of new thiazolylhydrazine derivatives as selective and reversible hMAO-A inhibitors*. Eur J Med Chem, 2018. 144: p. 68-81.
- [64] Can, O.D., et al., *MAO enzymes inhibitory activity of new benzimidazole derivatives including hydrazone and propargyl side chains*. Eur J Med Chem, 2017. 131: p. 92-106.
- [65] Cavusoglu, B.K., et al., *Synthesis and Biological Evaluation of New Thiosemicarbazone Derivative Schiff Bases as Monoamine Oxidase Inhibitory Agents*. Molecules, 2017. 23(1).

- [66] Ilgin, S., et al., *Design and Synthesis of New Benzothiazole Compounds as Selective hMAO-B Inhibitors*. *Molecules*, 2017. 22(12).
- [67] Kaya, B., et al., *Synthesis of some novel 2-substituted benzothiazole derivatives containing benzylamine moiety as monoamine oxidase inhibitory agents*. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2016. 31(6): p. 1654-61.
- [68] Kaya, B., et al., *Novel 1-(2-pyrimidin-2-yl)piperazine derivatives as selective monoamine oxidase (MAO)-A inhibitors*. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2017. 32(1): p. 193-202.
- [69] Kaya Cavusoglu, B., et al., *Design, synthesis, monoamine oxidase inhibition and docking studies of new dithiocarbamate derivatives bearing benzylamine moiety*. *Bioorg Chem*, 2018. 76: p. 177-187.
- [70] Saglik, B.N., et al., *In vitro and in silico evaluation of new thiazole compounds as monoamine oxidase inhibitors*. *Bioorg Chem*, 2019. 85: p. 97-108.
- [71] Turan-Zitouni, G., et al., *Design, Synthesis and Biological Evaluation of Novel N-Pyridyl-Hydrazone Derivatives as Potential Monoamine Oxidase (MAO) Inhibitors*. *Molecules*, 2018. 23(1).
- [72] Turan-Zitouni, G., et al., *Synthesis and Evaluation of N-[1-(((3,4-Diphenylthiazol-2(3H)-ylidene)amino)methyl)cyclopentyl]acetamide Derivatives for the Treatment of Diseases Belonging to MAOs*. *Journal of Chemistry*, 2018. 2018: p. 1-10.
- [73] Cheung, J., et al., *Structures of human acetylcholinesterase in complex with pharmacologically important ligands*. *Journal of medicinal chemistry*, 2012. 55(22): p. 10282-10286.
- [74] Binda, C., et al., *Structures of human monoamine oxidase B complexes with selective noncovalent inhibitors: safinamide and coumarin analogs*. *Journal of medicinal chemistry*, 2007. 50(23): p. 5848-5852.
- [75] Schrödinger, L., (2016). New York, NY, USA, 2012. *LigPrep*. version, 3.
- [76] Release, S., (2016). 2: *LigPrep*, version 3.8 (2016) Schrödinger. LLC, New York, NY.
- [77] Schrödinger, L., (2016). *Glide*, version 7.1. Schrödinger, LLC: New York, NY, USA.
- [78] Küçükgülzel, Ş.G. and S. Rollas, *Synthesis, characterization of novel coupling products and 4-arylhydrazono-2-pyrazoline-5-ones as potential antimycobacterial agents*. *Il Farmaco*, 2002. 57(7): p. 583-587.
- [79] Erdik, E., *Organik kimyada spektroskopik yöntemler*. 1993: Gazi Büro Kitabevi.
- [80] Ören, İ., et al., *Synthesis and antimicrobial activity of some novel 2, 5-and/or 6-substituted benzoxazole and benzimidazole derivatives*. *Eur J Pharm Sci*, 1999. 7(2): p. 153-160.
- [81] Uzgoren Baran, A., *Comparative study of microwave-assisted and conventional synthesis of ibuprofen-based acyl hydrazone derivatives*. *Turk J Chem*, 2013. 37: p. 927-935.
- [82] Ellman, G.L., et al., *A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity*. *Biochemical pharmacology*, 1961. 7(2): p. 88-95.
- [83] Tok, F., et al., *Synthesis and biological evaluation of new pyrazolone Schiff bases as monoamine oxidase and cholinesterase inhibitors*. *Bioorganic Chemistry*, 2019. 84: p. 41-50.
- [77] Kaplancikli, Z.A., et al., *Synthesis and Anticandidal Activity Evaluation of New Benzimidazole-Thiazole Derivatives*. *Molecules*, 2017. 22(12).
- [78] Karaburun, A.C., et al., *Synthesis and Antifungal Potential of Some Novel Benzimidazole-1,3,4-Oxadiazole Compounds*. *Molecules*, 2019. 24(1).

- [79] Karaca Gencer, H., et al., *Design, synthesis, and evaluation of novel 2-phenylpropionic acid derivatives as dual COX inhibitory-antibacterial agents*. J Enzyme Inhib Med Chem, 2017. 32(1): p. 732-745.
- [80] Karaca Gencer, H., et al., *New Benzimidazole-1,2,4-Triazole Hybrid Compounds: Synthesis, Anticandidal Activity and Cytotoxicity Evaluation*. Molecules, 2017. 22(4).
- [81] Uzgoren Baran, A., *Comparative study of microwave-assisted and conventional synthesis of ibuprofen-based acyl hydrazone derivatives*. Turk J Chem, 2013. 37: p. 927-935.
- [82] Ellman, G.L., et al., *A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity*. Biochemical pharmacology, 1961. 7(2): p. 88-95.
- [83] Tok, F., et al., *Synthesis and biological evaluation of new pyrazolone Schiff bases as monoamine oxidase and cholinesterase inhibitors*. Bioorganic Chemistry, 2019. 84: p. 41-50.
- [84] Alipour, M., Khoobi, M., Foroumadi, A., Nadri, H., Moradi, A., Sakhteman, A., Ghandi, M., Shafiee, A. (2012). *Novel coumarin derivatives bearing N-benzyl pyridinium moiety: potent and dual binding site acetylcholinesterase inhibitors*. Bioorg. Med. Chem., 20 (24), 7214-7222.
- [85] Al-Rashid, Z.F., Hsung, R.P. (2015). *A computational view on the significance of E-ring in binding of (+)-arisugacin A to acetylcholinesterase*. Bioorg. Med. Chem. Lett., 25 (21), 4848-4853.
- [86] Genest, D., Rochais, C., Lecoutey, C., Oliveira Santos, J.S.-d., Ballandonne, C., Butt-Gueulle, S., Legay, R., Since, M., Dallemagne, P. (2013). *Design, synthesis and biological evaluation of novel indano- and thiaindano-pyrazoles with potential interest for Alzheimer's disease*. MedChemComm, 4 (6).

ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı : Şevval KARACA
Yabancı Diller : İngilizce
e-Posta :
ORCID ID :

Eğitim Durumu:

Lisans : Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Lise : Bilecik Anadolu Öğretmen Lisesi
İlk ve Orta Öğretim : Bilecik Osmaneli Atatürk İlkokulu

Yayınlar

Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler

Ceyhun, İ., Karaca, Ş., Osmaniye, D., Sağlık, B. N., Levent, S., Özkay, Y., & Kaplancıklı, Z. A. (2021). Design and synthesis of novel chalcone derivatives and evaluation of their inhibitory activities against acetylcholinesterase. *Archiv der Pharmazie*, e2100372.