



T.C.
BATMAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

**BAZI YENİ HİDRAZON BİLEŞİKLERİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE
ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yusuf İslam ESMER

Danışman
Dr.Öğr.Üyesi Ercan ÇINAR

Ağustos-2022 BATMAN
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Yusuf İslam ESMER tarafından hazırlanan “ Bazı Yeni Hidrazon Bileşiklerinin Sentezi, Karakterizasyonu ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi” adlı tez çalışması 29/08/2022 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Prof.Dr. Ramazan BİLGİN

.....

Danışman

Dr.Öğr. Üyesi Ercan ÇINAR

.....

Üye

Doç.Dr. Mehmet BOĞA

.....

Üye

Dr.Öğr. Üyesi Reşit ÇAKMAK

.....

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum.

Prof. Dr. Osman PAKMA

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

*Bu tez çalışması Batman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından BTÜBAP-2021-YL-04 nolu proje ile desteklenmiştir.

**Dr.Öğr. Üyesi Eyüp BAŞARAN bu tez çalışmasının ikinci danışmanıdır.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all materials and results that are not original to this work.

İmza
Yusuf İslam ESMER
Tarih: 29/08/2022

ÖZET

YÜKSEK LİSANS

BAZI YENİ HİDRAZON BİLEŞİKLERİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Yusuf İslam ESMER

BATMAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

Advisor: Dr.Öğr.Üyesi Ercan ÇINAR

Ağustos 2022, 75 Sayfa

Jüri

Prof.Dr. Ramazan BİLGİN

Doç.Dr. Mehmet BOĞA

Advisor: Dr.Öğr.Üyesi Ercan ÇINAR

Dr.Öğr. Üyesi Reşit ÇAKMAK

Bu araştırmada, bir aril sülfonat parçası (**2a-i**) taşıyan bazı yeni heterosiklik hidrazon bileşikleri ilk kez başarılı bir şekilde sentezlendi ve bazı spektroskopik tekniklerle (FT-IR, ¹H ve ¹³C NMR) aydınlatıldı. Sentezlenen tüm moleküllerin asetilkolinesteraz (AChE), butirilkolinesteraz (BChE), tirozinaz enzimleri üzerindeki inhibitör potansiyelleri araştırıldı. Ayrıca tüm moleküllerin DPPH serbest radikal giderimi, ABTS katyon radikali giderimi ve CUPRAC antioksidan aktiviteleri incelendi. BChE inhibisyon aktivitesi yönteminde 2-formilfenil 4-klorobenzen-sülfonat (**1a**) (IC₅₀=10,45 µM), 5-(dietilamino)-2-formilfenil 4-Klorobenzen-sülfonat (**1h**) (IC₅₀=10,12 µM) ve 1-(2-nikotinoilhidrazono)metilnaftalen-2-il 4-klorobenzen-sülfonat (**2i**) (IC₅₀=9,89 uM), standart bileşik galantaminden daha etkili bulundu. DPPH serbest radikal giderimi testinde, 2-((2-nikotinoilhidrazono)metil)fenil 4-klorobenzen-sülfonat (**2a**) (IC₅₀=361,03 µM) ve 5-metoksi-2-((2-nikotinoilhidrazono)metil)fenil 4-klorobenzen-sülfonat (**2e**) (IC₅₀=348,9 µM) en yüksek antioksidan aktiviteyi gösterdi. Öte yandan, **1a**, **1h**, **2i** bileşikleri ve galantamin moleküllerinin moleküler elektrostatik potansiyel (MEP) haritaları incelenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan aktivite, enzim inhibisyon aktivitesi, heterosiklik, hidrazon, inhibitör enzimler

ABSTRACT

MS THESIS

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND DETERMINATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF SOME NEW HYDRAZON COMPOUNDS

Yusuf İslam ESMER

INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES OF BATMAN UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE OF CHEMISTRY

Asst. Prof. Dr. Ercan ÇINAR

August 2022, 75 Pages

Jury

Prof.Dr. Ramazan BİLGİN

Assoc. Prof. Dr. Mehmet BOĞA

Asst. Prof. Dr. Ercan ÇINAR

Asst. Prof. Dr. Reşit ÇAKMAK

In this research, some new heterocyclic hydrazone compounds bearing an aryl sulfonate moiety (**2a-i**) were facilely synthesized for the first time and elucidated by some spectroscopic techniques (FT-IR, ¹H- and ¹³C NMR). The inhibitory potentials of all synthesized molecules on acetylcholinesterase (AChE), butyrylcholinesterase (BChE), tyrosinase enzymes were investigated. Also, DPPH, ABTS and CUPRAC antioxidant activities of all molecules were examined. In BChE assay, it was determined that 2-formylphenyl 4-chlorobenzenesulfonate (**1a**) (IC₅₀=10.45 µM), 5-(diethylamino)-2-formylphenyl 4-chlorobenzenesulfonate (**1h**) (IC₅₀=10.12 µM), and 1-((2-nicotinoylhydrazono)methyl)naphthalen-2-yl 4-chlorobenzenesulfonate (**2i**) (IC₅₀=9.89 µM) were found to be more effective than the standard compound galanthamine and donepezil. In DPPH assay, 2-((2-nicotinoylhydrazono)methyl)phenyl 4-chlorobenzenesulfonate (**2a**) (IC₅₀=361.03 µM) and 5-methoxy-2-((2-nicotinoylhydrazono)methyl)phenyl 4-chlorobenzenesulfonate (**2e**) (IC₅₀=348.9 µM) indicated the highest antioxidant activities. On the other hand, the molecular electrostatic potential (MEP) maps of compounds **1a**, **1h**, **2i** and galanthamine molecules were investigated.

Keywords: Antioxidant activity, enzyme inhibition activity, hydrazones, heterocyclic, inhibitory enzymes,

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimimin her aşamasında her anlamda bana yol gösteren, bana yaşadığım zorlu anlarda son derece anlayışla yaklaşan ve problemlerin çözümü için desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, bu çalışmayı yaparken ve tezimin yazımı aşamalarında hem etik hem bilimsel anlamda bana değer kattığına inandığım çok değerli danışman hocam Dr.Öğr.Üyesi Ercan ÇINAR'a çok teşekkür ederim.

Lisansüstü eğitimim boyunca ikinci danışman hocam olarak çalışmalarımın tüm aşamalarında üst düzey bilgi ve birikimiyle yaptığı katkılardan dolayı Dr.Öğr. Üyesi Eyüp BAŞARAN'a çok teşekkür ederim.

Lisansüstü eğitimimde hem ders dönemimde hem de tez yazımı aşamalarında verdikleri katkılardan dolayı Doç.Dr. Selami ERCAN ve Dr.Öğr. Üyesi Reşit ÇAKMAK'a çok teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmaları kapsamında önemli katkılarından dolayı Doç.Dr. Mehmet BOĞA' ya çok teşekkür ederim.

Lisansüstü eğitimim konusunda beni teşvik eden, eğitim hayatım boyunca yanımda olan dayım İlyas EKİNCİ'ye, tez çalışmamda bana değerli katkıları olan değerli arkadaşım İslam EKİNCİ'ye; değerli meslektaşlarım Yunus ÇINAROĞLU ve Muhammed Raşit KAPAN'a çok teşekkür ederim.

Kardeşlerim Yunus İslam ESMER ve Emre İslam ESMER ile herkesten önce ve benim için en önemlisi olan, tüm hayatım boyunca beni destekleyen, bana verdiği emeklerin karşılığını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim canım ANNEM'e teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunarım.

Yusuf İslam ESMER

BATMAN-2022

İÇİNDEKİLER

TEZ BİLDİRİMİ	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
1.GİRİŞ	1
1.1 Serbest Radikaller	2
1.2. Oksidatif Stres	4
1.3. Antioksidanlar	4
1.3.1. Doğal Antioksidanlar	5
1.3.1. Sentetik Antioksidanlar	8
1.4. Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemleri	11
1.4.2. Elektron Transferine (ET) Dayalı Yöntemler	12
1.5. Nörodejeneratif Hastalıklar	13
1.5.1. Asetilkolinesteraz	13
1.5.2. Bütirikolinesteraz.....	13
1.5.3. Tirozinaz	14
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	15
3. MATERYAL VE YÖNTEM	19
3.1. Kimyasallar ve Kullanılan Cihazlar.....	19
3.2. Sentez.....	20
3.3. Biyolojik Çalışmalar İçin Genel Prosedürler	21
3.3.1. Antikolinesteraz Testi	21
3.3.2. Antitirozinaz aktivitesi	22
3.4. Antioksidan aktivite testleri	22

3.4.1. DPPH Serbest Radikal Giderim Aktivitesi Testi.....	22
3.4.2. ABTS katyon radikal renk giderme testi.....	23
4. BULGULAR	24
4.1. Karakterizasyon.....	24
4.2. İstatistiksel analiz	24
4.2.1. Ester türevlerinin sentezi için genel prosedür 1a-e	24
4.2.1.1. 2-Formilfenil 4-klorobenzen-sülfonat (1a)	25
4.2.1.2. 3-Formilfenil 4-klorobenzen-sülfonat (1b)	26
4.2.1.3. 4-Formilfenil 4-klorobenzen-sülfonat (1c)	28
4.2.1.4. 2-Formil-6-metoksifenil 4-klorobenzen-sülfonat (1d)	29
4.2.1.5. 2-Formil-5-metoksifenil 4-klorobenzen-sülfonat (1e).....	31
4.2.1.6. 5-Formil-2-metoksifenil 4-klorobenzen-sülfonat (1f)	32
4.2.1.7. 4-Formil-2-metoksifenil 4-klorobenzen-sülfonat (1g)	34
4.2.1.1. 5-(Dietilamino)-2-formilfenil 4-klorobenzen-sülfonat (1h).....	35
4.2.1.2. 1-Formilnaftalin-2-il 4-klorobenzen-sülfonat (1i).....	37
4.2.2. Hidrazon Türevlerinin Hazırlanması İçin Genel Prosedür	38
4.2.2.1. 2-((2-Nikotinoilhidrazono)metil)fenil 4-klorobenzen-sülfonat (2a)	39
4.2.2.2. 3-((2-Nikotinoilhidrazon)metil)fenil 4-klorobenzen-sülfonat (2b)	41
4.2.2.3. 4-((2-Nikotinoilhidrazono)metil)fenil 4-klorobenzen-sülfonat (2c)	43
4.2.2.4. 2-Metoksi-6-((2-nikotinoilhidrazon)metil)fenil 4-klorobenzen-sülfonat (2d).....	45
4.2.2.5. 5-Metoksi-2-((2-nikotinoilhidrazon)metil)fenil 4-klorobenzen-sülfonat (2e).....	47
4.2.2.6. 2-Metoksi-5-((2-nikotinoilhidrazono)metil)fenil 4-klorobenzen-sülfonat (2f)	49
4.2.2.7.2-Metoksi-4-((2-nikotinoilhidrazono)metil)fenil 4-klorobenzen-sülfonat (2g).....	51
4.2.2.8.5-(Dietilamino)-2-((2-nikotinoilhidrazono)metil)fenil 4-klorobenzen-sülfonat (2h) ...	53
4.2.2.9.1-((2-Nikotinoilhidrazono)metil)naftalen-2-il 4-klorobenzen-sülfonat (2i).....	56
5. SONUÇ VE TARTIŞMA.....	59
5.1. Biyolojik Değerlendirme	59
5.1.1.Enzim inhibitör sonuçları	59
5.1.2. Antioksidan Aktivite Bulguları.....	62

5.2. MEP haritaları	64
5.3. Öneriler	65
6. KAYNAKLAR.....	66
ÖZGEÇMİŞ.....	75



KISALTMALAR

AH	: Alzheimer Hastalığı
ACh	: Asetilkolin
BCh	: Bütirilkolin
AChE	: Asetilkolin esterase
BChE	: Bütirilkolin esterase
FDA	: Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
Gb	:Gerilim Bandı
ROS	:Reaktif Oksijen Türleri
RNS	:Reaktif Nitrojen Türleri
SOD	:Süperoksit Dismutaz
HAT	:Hidrojen Atomu Transferi
CAT	:Katalaz
GPx	:Glutasyon Peroksidaz
GR	:Glutasyon Redüktaz
BHA	:Bütil Hidroksianisol
BHT	:Bütil Hidroksitolüen
TBHQ	:Tersiyer Bütil Hidroksitolüen

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. 1. PG'nin kimyasal yapısı.....	8
Şekil 1. 2. BHA' nın kimyasal yapısı.....	9
Şekil 1. 3. BHT' nin kimyasal yapısı.....	9
Şekil 1. 4. TBHQ'nun kimyasal yapısı.....	10
Şekil 1. 5. TBHQ'nun kimyasal yapısı.....	10
Şekil 1. 6. ORAC yöntemiyle antioksidan etkinin, floresans eğrisinin altında kalan alanın hesaplanması	12
Şekil 2. 1. Elde edilen imidazol-hidrazonların sentez şeması.....	1
Şekil 2. 2. Elde edilen benzimidazol-hidrazonların sentez şeması	16
Şekil 2. 3. Elde edilen hidrazon türevlerinin genel yapısı.....	16
Şekil 2. 4. Elde edilen İndol-3-aldehit hidrazid/hidrazon türevlerinin kimyasal yapısı.....	17
Şekil 2. 5. 2-arilamino-4-(2,4-dikloro-5-florofenil) tiyazollerin kimyasal yapısı.....	17
Şekil 2. 6. 4-((3-(Triflorometil)piridin-2-il)oksi)benzohidrazit Birimi İçeren Yeni Hidrazon Türevlerinin Sentezi	18
Şekil 4. 1. Bileşik (1a)' nın IR spektrumu	25
Şekil 4. 2. Bileşik (1a)' nın ¹ H NMR spektrumu	26
Şekil 4. 3. Bileşik (1b)' nin IR spektrumu	27
Şekil 4. 4. Bileşik (1b)' nin ¹ H NMR spektrumu	27
Şekil 4. 5. Bileşik (1c)' nin IR spektrumu	28
Şekil 4. 6. Bileşik (1c)' nin ¹ H NMR spektrumu	29
Şekil 4. 7. Bileşik (1d)' nin IR spektrumu	30
Şekil 4. 8. Bileşik (1d)' nin ¹ H NMR spektrumu	30
Şekil 4. 9. Bileşik (1e)' nin IR spektrumu	31
Şekil 4. 10. Bileşik (1e)' nin ¹ H NMR spektrumu	32
Şekil 4. 11. Bileşik (1f)' nin IR spektrumu.....	33
Şekil 4. 12. Bileşik (1f)' nin ¹ H NMR spektrumu.....	33
Şekil 4. 13. Bileşik (1g)' nin IR spektrumu.....	34
Şekil 4. 14. Bileşik (1g)' nin ¹ H NMR spektrumu	35
Şekil 4. 15. Bileşik (1h)' nin IR spektrumu	36
Şekil 4. 16. Bileşik (1h)' nin ¹ H NMR spektrumu	36
Şekil 4. 17. Bileşik (1i)' nin IR spektrumu.....	37
Şekil 4. 18. Bileşik (1i)' nin ¹ H NMR spektrumu.....	38
Şekil 4. 19. Bileşik (2a)' nın IR spektrumu	39
Şekil 4. 20. Bileşik (2a)' nın ¹ NMR spektrumu.....	40
Şekil 4. 21. Bileşik (2a) ' nın ¹³ C NMR spektrumu	40
Şekil 4. 22. Bileşik (2b)' nin IR spektrumu	41
Şekil 4. 23. Bileşik (2b)' nin ¹ H NMR spektrumu	42
Şekil 4. 24. Bileşik (2b)' nin ¹³ C NMR spektrumu	43
Şekil 4. 25. Bileşik (2c)' nin IR spektrumu	44
Şekil 4. 26. Bileşik (2c)' nin ¹ H NMR spektrumu	44
Şekil 4. 27. Bileşik (2b)' nin ¹³ C NMR spektrumu	45
Şekil 4. 28. Bileşik (2d)' nin IR spektrumu	46
Şekil 4. 29. Bileşik (2d)' nin ¹ H NMR spektrumu	46
Şekil 4. 30. Bileşik (2d)' nin ¹³ C NMR spektrumu	47
Şekil 4. 31. Bileşik (2e)' nin IR spektrumu	48

Şekil 4. 32. Bileşik (2e)' nin ^1H NMR spektrumu	48
Şekil 4. 33. Bileşik (2e)' nin ^{13}C NMR spektrumu	49
Şekil 4. 34. Bileşik (2f)' nin IR spektrumu.....	50
Şekil 4. 35. Bileşik (2f)' nin ^1H NMR spektrumu.....	50
Şekil 4. 36. Bileşik (2f)' nin ^{13}C NMR spektrumu.....	51
Şekil 4. 37. Bileşik (2g)' nin IR spektrumu.....	52
Şekil 4. 38. Bileşik (2g)' nin ^1H NMR spektrumu	53
Şekil 4. 39. Bileşik (2g)' nin ^{13}C NMR spektrumu.....	53
Şekil 4. 40. Bileşik (2h)' nin IR spektrumu.....	54
Şekil 4. 41. Bileşik (2h)' nin ^1H NMR spektrumu	55
Şekil 4. 42. Bileşik (2h)' nin ^{13}C NMR spektrumu.....	55
Şekil 4. 43. Bileşik (2i)' nin IR spektrumu.....	57
Şekil 4. 44. Bileşik (2i)' nin ^1H NMR spektrumu.....	57
Şekil 4. 45. Bileşik (2i)' nin ^{13}C NMR spektrumu	58
Şekil 6. 1. Galanthamin (A), bileşikler 1a (B) 1h (C) ve 2i (D)'nin elektrostatik potansiyel haritalarının 3D gösterimleri.....	65

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. Asetilkolin Esteraz, Bütirilkolin Esteraz ve Tirozinaz enzim inhibisyon sonuçları.....	60
Tablo 2. Bütirilkolin esteraz için çeşitli moleküllerin inhibitör profillerinin karşılaştırılması.....	62
Tablo 3. Antioksidan Aktivite Sonuçları.....	63

1.GİRİŞ

Tüm dünyada sağlık alanındaki ilerlemeler, sağlık hizmetlerinin daha ulaşılabilir hale gelmesine, insanların ortalama yaşam sürelerinin artmasına neden olmuştur (Altomare ark., 2021; Ohara ark., 2017).

Bütün demans vakalarının %50-70'ini Alzheimer hastalığı (AH) oluşturmaktadır. Gelişmiş ülkelerde yaşlılar arasında ölüm sebepleri arasında AH dördüncü sırada yer almıştır (James, Doraiswam ve Borges-Neto, 2015) ve tüm dünyada yaklaşık 35 milyon insanı etkileyen bu hastalığın 2050 yılına kadar 115 milyona ulaşacağı öngörülmektedir (Mullane ve Williams, 2013; Wortmann, 2012). Parkinson hastalığı (PH) ise 65 yaş üstündeki kişilerde en fazla görülen nörodejeneratif hastalıklar arasında ikinci sıradadır (Phani, Loike ve Przedborski, 2012; Episcopo ve ark., 2013). PH'da başlangıç yaşı ortalama 60 yaş civarındır, görülme sıklığı yaş ilerledikçe artar ve en fazla 70-79 yaş aralığında görülür (Hirsch ve ark., 2016). AH'nin patogenezi tam olarak bilinmiyor olsa da bazı risk faktörlerinin hastalığın şiddetlenmesine neden olduğu bilinmektedir (Altomare ve ark., 2021). Bu risk faktörleri ileri yaş (Van Der Lee ve ark., 2018), genetik faktörler, obezite, diyabet travmatik beyin hasarı ve düşük eğitim seviyesidir (Altomare ve ark, 2021; Cummings, Tong ve Ballard, 2019). AH, protein birikimi, sinaps kaybı, nöronal kayıp, metal iyonu birikimi ve de buna bağlı oksidatif stres ile inflamasyonla ilişkilidir. Bu da hafıza ve bilişsel süreçlerdeki bozukluklarla karakterizedir ve yaşam kalitesinde önemli bir azalmaya neden olan ilerleyici nörodejeneratif bir hastalıktır (Su ve ark., 2022).

Hastalığın şiddeti arttıkça, hastalar bozulmuş dil, oryantasyon ve yürütücü fonksiyonlar da dahil olmak üzere çeşitli semptomlar yaşarlar ve bu da zamanla kendilerine bakma yeteneklerini kaybetmelerine neden olur (Galasko, 1998).

Günümüzde AH tedavisinde kullanılan altı FDA (Food and Drug Administration) onaylı ilaçtan dördü, hastalığın klinik semptomlarıyla da ilişkili olan asetilkolin (ACh) seviyesindeki düşüşü arttırmayı amaçlamaktadır (Zagórska ve Jaromin, 2020). Bu süreçte, ACh'yi bozan kolinesteraz enzimlerinin inhibisyonuna dayanan mekanizmalar kullanılır. İlk onaylanmış ilaç takrin güçlü bir asetilkolinesteraz (AChE) inhibitörüdür, ancak bütirilkolinesteraz'ı (BChE) da inhibe edebilir. Bununla birlikte, yüksek düzeyde hepatotoksik etkiye sahip olduğu için kullanımı kesilmiştir (Watkins ve ark., 1994). Kolinesteraz inhibitörleri orta-şiddetli AH'nin semptomatik tedavisinde kullanılır ancak bu inhibitörlerin klinik uygulamada ciddi yan etkileri olduğu bildirilmektedir. Bu nedenle, yeni kolinesteraz inhibitörlerinin geliştirilmesine büyük ihtiyaç vardır (Zagórska ve Jaromin, 2020; Miziak, Blaszczyk ve Czuczwar, 2021).

Bugün biyolojik olarak yapılarında piridin halkasına sahip yoğunlaştırılmış heterosiklik sistemler olarak ifade edilen ilaçlar, tedavi amaçlı sıklıkla kullanılmaktadır. Bunlara piridoksin (B6 vitamini), nikotinik asit ve nikotinamid, izoniazid ve ftivazid (antitüberküloz ilaçları) örnek olarak verilebilir. Bu tür ilaçların üretilmesinde önemli bir yere sahip olan hidrazonların kendilerine has

yapısal özellikleri ve farmakolojik etkileri vardır. Hidrazonlar, hidrazinlerin birtakım organik çözücülerin bulunduğu ortamda aldehit veya ketonlar ile reaksiyonu sonucunda elde edilirler (El-Etrawy ve Sherbiny, 2021). Antitümör, antimikrobiyal, antikonvülsan, antibakteriyal, antifungal ve antitüberküloz aktivite göstermelerinden dolayı yeni hidrazon bileşiklerinin sentezlenmesi ilgi çekici hale gelmiştir (Verma, ve ark., 2014).

Yukarıda sıralanan bu sebepler, yeni enzim inhibitörlerinin ve antioksidan ajanların keşfi konusunda çalışma yapmamızı teşvik etti. Bu araştırmada, bazı yeni heterosiklik hidrazon bileşikleri **2a-i** sentezlenmiştir; sırasıyla antioksidan ve AChE, BChE ve tirozinaz inhibitör özellikleri araştırıldı. Elde edilen moleküller spektroskopik yöntemlerle (FT-IR, ^1H ve ^{13}C NMR) karakterize edildi. Son olarak, **1a**, **1h**, **2i** ve galantamin bileşiklerinin MEP haritaları araştırıldı.

1.1 Serbest Radikaller

Canlı yaşamının devamı için bir zorunluluk olan oksijen, hücrelerin ihtiyaçlarının karşılanması için kullanılırken diğer taraftan reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin üretilmesine de sebep olan bir moleküldür ve hücrede oksijen kullanılırken mitokondri tarafından serbest radikal oluşumu olasılıklı olarak gerçekleşmektedir. Serbest radikaller insan vücudunda kanser, diyabet, karaciğer tahribatı gibi birçok rahatsızlıkların oluşmasına sebep olmaktadır (Shinde, Ganu ve Naik, 2012; Bakonyi ve Radak, 2004).

Serbest radikaller, son orbitallerinde en az bir tane ortaklanmamış elektron çifti bulunduran yüksek enerjiye sahip atom veya moleküllere denir (Çavdar, Sifil ve Çamsarı, 1997). Yapılarındaki elektronları ortaklanmış (eşlenmiş) şekilde bulunduran atom veya moleküller kararlı bir yapıya sahiptir ve kararsız yapıdaki serbest radikallere göre tepkimeye girme eğilimleri çok daha düşüktür (Valko ve ark., 2007). Serbest radikaller eğer düşük konsantrasyonda üretilirse insan vücuduna faydalı bir takım işlevleri vardır. Bunlara örnek olarak; fagositozlar vasıtasıyla enfeksiyonlar ile mücadele, makrofajlar yardımıyla kanser hücrelerini öldürme, mitokondride enerji üretimi ve hücre büyümesi gösterilebilir.

Serbest radikaller eğer yüksek konsantrasyonda üretilirse vücutta birçok zarara sebep olabilirler. Bunlara örnek olarak DNA üzerindeki bozulmalar ile lipid, protein, karbonhidrat metabolizmaları üzerindeki bozunmalar gösterilebilir. Serbest radikaller iki farklı sebepten dolayı oluşurlar bunlardan biri endojen kaynaklı diğeri ise ekzojen kaynaklı sebeplerdir.

Eksojen kaynaklar

Eksojen kaynaklar havadaki ve sudaki kirleticilerin yanı sıra çeşitli yanma reaksiyonları sonucu oluşan kimyasallar olarak ifade edilebilir.

- Havada bulunan kirleticiler; karbonmonoksit, formaldehit, ozon, benzen, asbest,
- Sudaki kirleticiler; kloroform ile diğer trihalometanlar,
- Sigara ve alkol tüketimi ve sigara dumanı ile egzoz dumanı,

- Gıdaların pişirilmesi sırasında organik maddelerin yanması,
- Orman yangınları ve volkanik olaylar,
- Mikrodalga, ultraviyole, gamma ve X-ray ışınları,
- Parfümeri ürünleri, boya, tarımsal pestisitler gibi kimyasallar, olarak sıralanabilir.

Endojen Kaynaklar

Endojen olarak metabolik reaksiyonlar sonucunda serbest radikaller oluşabilmektedir.

- Mitokondride aerobik solunum metabolizması sırasında,
- Psikolojik stres sırasında veya bedensel yorgunluk sırasında,
- İmmün sistem (bağışıklık) hücreleri tarafından patojenler ile mücadele sırasında,
- Lipid metabolizması sırasında ve ksantin oksidaz ile mitokondriyel sitokrom oksidaz

gibi çeşitli kaynaklar tarafından üretilebilmektedir .

Serbest radikallerin oksijen temelli olanlarına reaktif oksijen türleri (ROS) nitrojen temelli olanlarına reaktif nitrojen türleri (RNS) denir (Karabulut ve Gülay, 2016).

Reaktif Oksijen Tür leri (ROS)

Reaktif oksijen türleri oksijen metabolizması sonucu oluşurlar. Aerobik solunum yapılan hemen hemen tüm hücrelerde ROS oluşumu gözlenebilir. ROS olarak hidrojen peroksit, süperoksit, hipoklorik asit ve hidroksil radikalleri ifade edilebilir. ROS'lar aynı zamanda doku kaybı, erken yaşlanma, aterosklerozis, doğumsal komplikasyonlar gibi birçok probleme sebep olmaktadırlar (Büyüksulu ve Yiğitbaşı, 2015).

Süperoksit Radikali

Süperoksit radikali molekül halindeki oksijene bir elektron eklenmesi sonucu oluşan radikaldır. Serbest radikaller arasında bulunmasına rağmen reaktivlik derecesi çok yüksek değildir. Süperoksit radikalinin büyük çoğunluğu mitokondride meydana gelir. Mitokondride gerçekleşen elektron taşıma sistemindeki ATP'nin temel kaynağıdır. Bu sistemde üretilen enerjinin dönüşümü esnasında meydana gelen elektron sızması oksijenin O_2^- serbest radikaline dönüşmesine sebep olur ve bu durum birçok hastalığın oluşmasına neden olur (Karabulut ve Gülay, 2016).

Hidrojen Peroksit

Oksijene iki elektron eklenmesi ile oluşan hidrojen peroksit (H_2O_2); bir serbest radikal değildir ancak biyolojik olarak hücre zarlarına etki edebildiği için, ulaşılması kolay ve sağlık, gıda, tarım gibi pek çok sanayi kolunda kullanılabilmesi nedeniyle son derece önemlidir (Campbell, 1993; Karabulut ve Gülay, 2016).

Hidroksil Radikali

Hidroksil radikali (OH $\cdot$) son derece güçlü lipidlerin ve proteinlerin peroksidasyonuna neden olan en önemli reaktif oksijen türüdür. Fenton reaksiyonunda ortamda Fe⁺² ve Cu⁺ gibi ya da diğer geçiş elementlerinin olması durumunda hidrojen peroksit indirgenir ve OH $\cdot$ ye dönüşür. Haber-Weiss reaksiyonu sonucunda da ortamda süperoksit varlığında hidroksil radikali oluşur (Karabulut ve Gülay, 2016).

Reaktif Nitrojen Türleri (RNS)

Reaktif nitrojen türleri, tıpkı reaktif oksijen türleri gibi stres durumunda serbest radikallerin üretilmesine neden olabilmektedir. RNS, bazı stres altındaiken bir sinyal elemanı olan nitrik oksitten ($\cdot$ NO) üretilir (Adams, Franco ve Estevez, 2015).

Nitrik Oksit ($\cdot$ NO)

Bir azot (N) atomu ile O₂'nin boştaki elektronları ile eşlenmesi ile nitrik oksit radikali üretilmiş olur. Nitrik oksit pekçok hücrede *nitrik oksit senteaz* enziminin katalizörlüğünde L-arjininden sentezlenir ve yarılanma ömrü 20 ile 30 saniye arasındadır (Fidancı ve Gümüş, 2011; Bülbül, 2014)

1.2. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNT) ile antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki denge durumunun oksidan sistem tarafına doğru yönelmesiyle bozulmasına denir (Sies, 1991).

Sağlıklı bir insan vücudunda serbest oksijen radikalleri ile antioksidan sistem arasında karşılıklı bir denge bulunmaktadır. Bu denge durumunun serbest radikaller lehine değişmesi sonucunda lipid, protein, karbonhidrat metabolizmalarının ve nükleik asitler ile yararlı enzimlerin yapılarının bozulmaları sonucu zararlı etkilerin ortaya çıkması durumuna oksidatif stres denir (İnan, 2021; Valko ve ark., 2007).

1.3. Antioksidanlar

Temel metabolizma ürünleri olan protein, karbonhidrat, lipid ve nükleik asitler gibi oksidasyona uğramaya uygun maddelerin okside olmasını engelleyen ya da oksidasyon sürecinin yavaşlamasını sağlayan maddelere antioksidan, bu duruma ise antioksidan sistem denir. Antioksidanlar vücutta meydana gelen serbest radikaller ile tepkimeye girerek serbest radikallerin

kararlı hale gelmelerini sağlar, oksidatif reaksiyonların hızını baskılayarak azaltır ve yapısal bozunmalara uğramış hücrelerdeki hasarı onararak işlev görürler. Antioksidanlar endojen kaynaklı ve eksojen kaynaklı olmak üzere iki başlık altında incelenebilir (Karabulut, 2016; Özel ve Birdane, 2014).

1.3.1. Doğal Antioksidanlar

Doğal antioksidanlar organizmanın kendisinde bulunan dışarıdan alınması zorunlu olmayan antioksidanlardır, enzimatik ve nonenzimatik olmak üzere iki kısma ayrılırlar (Adams, Franco ve Estevez, 2015).

1.3.1.1. Enzimatik Antioksidanlar

Vücuttaki serbest radikallerin kararlı yapıya geçtikleri reaksiyonları katalizleyen antioksidanlara enzimatik antioksidanlar denir. Süperoksit Dismutaz (SOD), Glutasyon Peroksidaz (GPx), Katalaz (CAT) ve Glutasyon Redüktaz (GR) enzimatik antioksidanlardır (Karabulut ve Gülay, 2016).

Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz enzimi, süperoksit radikallerinin hidrojen peroksit (H_2O_2) ve molekül halindeki oksijene (O_2) dönüşüm reaksiyonunu katalizleyen enzimdir. İnsan vücudunda süperoksit dismutaz 3 farklı şekilde bulunabilmektedir. Bunlardan birincisi Sitozolda bulunan ve bakır veya çinko içeren dimerik yapıdaki süperoksit dismutaz, diğeri mitokondride bulunan ve manganez içeren ve tetramerik yapıda olan süperoksit dismutaz sonuncusu ise hücre dışı sıvıda bulunan ekstrasellüler süperoksit dismutazdır (Karabulut ve Gülay, 2016).

Glutasyon Peroksidaz (GPx)

Glutasyon peroksidaz sitoplazmada bulunan ve oksidatif etkileri olan hidrojen peroksidin (H_2O_2), suya dönüştürülmesi görevini yerine getirir. Böylece H_2O_2 'den OH'nin oluşmamasını sağlamış olur. GPx enzimi yapısında selenyum bulunduran bir antioksidandır, selenyuma bağımlı olan (Se-GPx) ve olmayan (GST) olmak üzere iki farklı türü bulunur. Se-GPx hidrojen peroksit ve organik hiperoksitlerin metabolize edilmesinde etkili iken GST ise çoğunlukla organik hidroperoksitlerin metabolizmasında etkilidir (Karabulut ve Gülay, 2016).

Katalaz

Katalaz; çoğunlukla peroksizomlarda daha az miktarda ise sitozolda ve mikrozomal fraksiyonda bulunan, hidrojen peroksiti oksijen ve suya parçalayarak inaktif eden enzimatik bir

antioksidandır (Valko ve ark., 2007).

1.3.1.1. Nonenzimatik Antioksidanlar

Enzimatik olmayan antioksidanlar vücutta oksidatif strese karşı koruma, hücre büyümesi ve hücre ölümü gibi birçok biyolojik olayda temel rol oynar. Endojen ve eksojen olmak üzere iki kısma ayrılırlar (De Pinto ve De Gara, 2004).

Endojen Antioksidanlar

Glutasyon

Glutasyon çekirdekli hücrelerin büyük çoğunluğunda sentezlenir ve yüksek miktarlarda bulunur. Genellikle sitoplazmada bulunan glutasyon bazen mitokondri, çekirdek ve endoplazmik retikuluma taşınabilir (Green ve ark., 2006; Kalinina, Chernov ve Novichkova, 2014; Townsend, Tew ve Tapiero, 2003).

Glutasyon, tekli oksijen (O) ve OH' yi ortamdan temizlemenin yanısıra glutasyon peroksidazın etkisi aracılığıyla lipit peroksitleri ve H₂O₂' yi ortamdan uzaklaştırır. Önemli antioksidan vitaminlerden olan E ve C vitaminlerinin düzenlenmesi de glutasyon tarafından gerçekleştirilir (Sen ve Chakraborty, 2011).

Melatonin

Vücutta sirkadiyen ritim ve immün sistem gibi pek çok yaşamsal olayın düzenlenmesinde etkili olan melatonin pineal (epifiz) bezden salgılanır ve antioksidan etkisi ile yaşlanmanın ve kanser gibi hastalıkların önlenmesinde aktif rol oynar.

Melatonin protein ve lipitlerin dışında DNA'yı da reaktif oksijen ve nitrojen radikallerini ortamdan temizleyerek antioksidan aktivite gösterir. Enzimatik antioksidanlardan SOD, CAT, GPx ve GR'yi uyarır ve elektron taşıma sisteminde serbest radikallerin oluşmasını ve oksijen kaçalarını önler (Reiter, 2003; Boutin ve ark., 2005).

Albumin

Albümin vücut içerisinde hücreler arası sıvı dağılımı ve osmoz basıncının düzenlenmesi gibi fizyolojik olaylarda rol oynayan ve bakır iyonunu kendisine bağlayarak bakır iyonu kaynaklı hidroksil radikali oluşumu ve lipid peroksidasyonunu engelleyen protein yapısında etkili bir antioksidandır (Dündar ve Aslan, 2000; Roche ve ark., 2008).

Selenyum

Selenyum aminoasit sentezinde kullanılması bağışıklık düzenleyici etkisinin yanısıra DNA'yı, kromozomları ve proteinleri oksidasyona karşı koruyarak ve GPx'in etkinliğini artırarak ROS oluşumunu engelleme yoluyla antioksidan etki gösterir (Valko ve ark., 2007). GPx ve tiyoredoksin redüktaz gibi enzimlerin yapısına katıldığından dolayı DNA ve diğer hücreleri oksidasyona karşı dolaylı yoldan savunur (Brenneisen, Steinbrenner ve Sies, 2005).

Bilirubin

Bilirubin protein metabolizması sonucunda eritrositlerin metabolize olmasıyla ortaya çıkar ve karaciğer tarafından biyolojik olarak yapı değişikliğine uğradıktan sonra vücuttan atılır. Bilirubin peroksil radikalleri üzerinde antioksidan etkiye sahip bir antioksidandır (Burtis ve Ashwood, 2005; Gutteridge, 1995).

α -Lipoik Asit

α -lipoik asit ile onun indirgenmiş hali olan dihidrolipoik asit yaşlanma, katarakt ve radyasyon bozunmalarına karşı etkili olduğu bildirilen güçlü antioksidan maddelerdir. A-lipoik asit hidroksil radikali, hipokloröz, peroksinitrit ve singlet oksijene karşı antioksidan etki gösterirken dihidrolipoik asit bunların dışında sürperoksit radikali ile peroksil radikale karşı da etkilidir (Gürkan ve Bozdağ, 2005; Packer, Kraemer ve Rimbach, 2001).

Eksojen Antioksidanlar

Vitamin C (Askorbik Asit)

C vitamini asidik yapıda, su içerisinde çözünebilen ve sinirim sistemi içerisinde kolay bir şekilde geri emilebilen antioksidan özellikli vitamindir. Kollajen, karnitin ve nörotransmitter sentezi gibi birçok biyolojik süreçte rol oynar. C vitamini süperoksit, singlet oksijen, hidroperoksid, hidroksil, peroksinitrit, nitrojen dioksit, hipokloröz asit ve ozon gibi radikallere karşı antioksidan etki gösterir (Li ve Schellhorn, 2007; Kra-Kud, Dusi ve Valach, 2006; Cadenas ve Packer, 1996).

C vitamini Fe^{+3} 'ün Fe^{+2} 'ye dönüştürülmesi reaksiyonunda rol alması yönüyle oksidan bir özellik de gösterebilmektedir ancak oksidan özellik göstermesi düşük yoğunluklarda meydana gelirken yüksek yoğunluklarda tam tersi söz konusudur (Azqueta ve ark., 2007; Dündar ve Aslan, 1999).

Vitamin E (α -tokoferol)

Tokoferollerin alfa, beta, gama, delta gibi çeşitleri bulunmaktadır. Bu türler arasında α -tokoferol (vitamin E) antioksidan etkisi en yüksek olan vitamin türüdür. E vitamini temel olarak

lipitlerin peroksidasyonuna karşı etki gösterirken; göğüs, prostat, kolon kanseri gibi hastalıklara karşı korunmasında rol oynar. α -tokoferol ile glutatyon peroksidaz birbirlerini tamamlayıcı bir şekilde çalışırlar. GPx peroksitleri ortadan kaldırırken α -tokoferol sentezlenmesinin önüne geçer. E vitamini ayrıca selenyum kaybını engeller ve böylece dolaylı yoldan yine antioksidan etki gösterir (El-Demardash, 2004; Larson, 1997; Pham-Huy, He ve Pham-Huy, 2008; Aydın, Sayal ve Işimer, 2001).

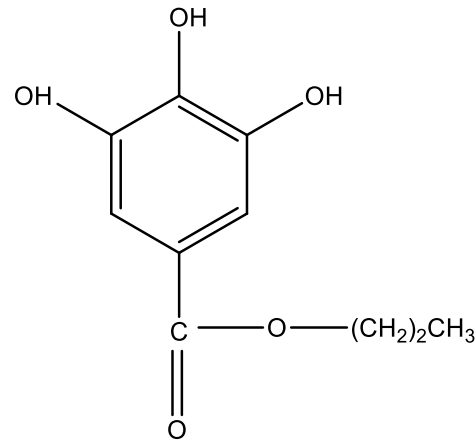
Vitamin A (β -karoten)

β -karoten, yağda çözünen karotenoidlerden olup A vitamininin sentezlenmesinde öncü madde olarak kullanılır ve gözün retina bölümünde retinole dönüşmesi karanlıkta görme açısından önemlidir. Antioksidan özelliğini ortamı O_2 'den temizleyerek yapar. Ayrıca süperoksit radikali ve peroksit radikallerini de ortamdan uzaklaştırarak antioksidan etki gösterir. Yapılan bir çalışmada β -karoten ile E vitamininin sigara kullananlarda azalttığı bildirilmiştir (Lee ve Park, 2003; Pham-Huy, He ve Pham-Huy, 2008; Canedas ve Packer, 1996).

1.3.1. Sentetik Antioksidanlar

Propil Gallat (PG)

Propil gallat (şekil 1.1.), gıdaların, hazır ilaçların, yağların, aroma ve renklerini korumak amacıyla sıklıkla kullanılan; renksiz, kokusuz ve toz halinde bir yapay antioksidandır (Garrido, Garrido ve Borges, 2012).

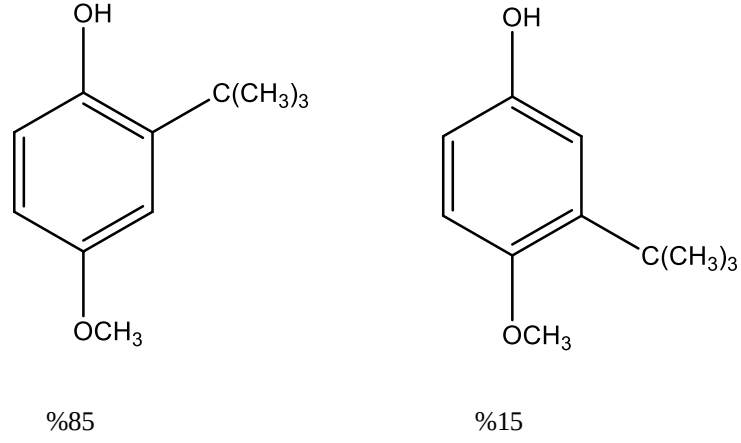


Şekil 1. 1. PG'nin kimyasal yapısı

Bütil Hidroksianisol (BHA)

Bütil Hidroksianisol (şekil 1.2.), 3-tertiyer bütil-4-hidroksianisol (%85) ile 2-tert-bütil-4-hidroksianisol (%15) izomerlerinin karışımı şeklinde bulunmaktadır. Beyaz renkli ve mumsu bir yapıya sahip olan BHA'nın erime noktası 48-63 °C suda çözünemeyip her çeşit yağda çözünebilme

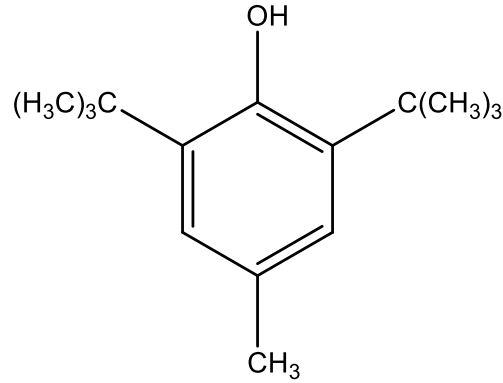
özelliğine sahiptir (Venkatesh ve Sood, 2011).



Şekil 1. 2. BHA' nın kimyasal yapısı

Bütiril Hidroksitoluen (BHT)

1954'te gliseridler üzerinde antioksidan etkisi keşfedilmesiyle BHT'nin (şekil 1.4.), gıdalarda ve yağlarda kullanımına başlanmıştır. BHT yağ metabolizmasında peroksit radikallerinin giderilmesi gibi bir etki ile antioksidan etki gösterir (Çöllü, 2007).

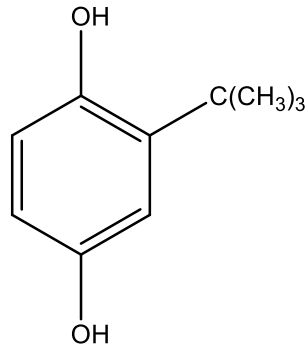


Şekil 1. 3. BHT' nin kimyasal yapısı

Tersiyer Bütıl Hidrokinon (TBHQ)

Bej rengine sahip toz halinde bulunan TBHQ (şekil 1.3.), yağlarda orta seviyede suda ise az miktarda çözünen erime noktası 127 °C olan bir sentetik antioksidandır. Kızartma yağlarının

oksidasyonunu en etkili olarak önleyen ve bitkisel yağlar açısından en etkili antioksidandır (Keskin ve Erkmen, 1987).

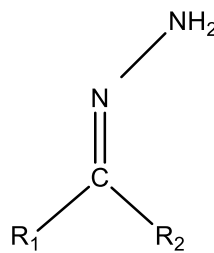


Şekil 1. 4. TBHQ'nun kimyasal yapısı

1.3.2.1. Hidrazonlar

Hidrazonlar İle İlgili Genel Bilgiler

Hidrazonlar, keton ve aldehitlerden türetilen organik bileşiklerdir. Genel olarak gösterimleri $R_2C=NNH_2$ formülü ile yapılan hidrazonlar, aldehit veya ketonların etanol, bütanol, glasiyel asetik asit gibi çözücülerle tepkimesi sonucu oluşur. Hidrazonların farklı adlandırmaları azometinler, iminler, schiff bazı veya $RN=C-$ şeklinde hidrazin analogları olarak yapılabilmektedir ve genel gösterimi şekil 1.5. te gösterilmiştir. (Scior, 2006; Uppal ve ark., 2011).



Şekil 1. 5. Hidrazonların kimyasal yapısı

İlk hidrazon bileşiğinin keşfi 1911 senesinde çalışmalarını ayrı yürüten Ludwig wolff ve Nikolai Kishner tarafından KOH bulunan ortamda hidrazin ($NH_2=NH_2$) ile aldehit ve ketonun tepkimesi sonucu gerçekleşmiştir. Hidrazonlar adlandırılırken hangi aldehit veya ketondan sentezlenmişse o aldehit veya ketonun isminin sonuna hidrazon ifadesi eklenir (Özkay, 2015).

Hidrazonların Önemi Ve Kullanım Alanları

Hidrazonların yapılarındaki N-N ve C=N bağları sayesinde yüksek aktiviteleri vardır ve bundan dolayı çok geniş kullanım alanına ve öneme sahiptirler (Kim ve ark., 2014).

Hidrazonlar tıbbi anlamda ilaç üretimi; kimyasal anlamda aldehit ve keton gibi karbonil bileşiklerinin tespitinin yapılması benzeri kullanımlarının yanı sıra birçok biyolojik aktiviteye sahip önemli bir organik bileşik sınıfıdır ve bu biyolojik aktiviteler antimikrobiyal, antinflamatuar, antitümoral, antikonvulsan, antimikrobiyal ve analjezik aktiviteler olarak sıralanabilir (Rollas ve Küçükgül, 2007; Solomons, 2002).

Hidrazonların Yaygın Sentez Yöntemi

Hidrazin ve hidrazitler $-NNH_2$ fonksiyonel grubuna sahip bileşiklerdir ve bu bileşiklerin aldehit veya ketondaki karbonil oksijeni ile yer değiştirmesi sonucunda hidrazonlar oluşur. Temel olarak hidrazonların sentezi, aldehit veya ketonların uygun bir çözücü içerisinde (etanol, metanol, bütanol, glasiyel asetik asit, etanol-glasiyel asetik asit) hidrazit veya hidrazin ilavesi ile geri çeviren soğutucu aracılığıyla yapılır (Uppal ve ark., 2011).

1.4. Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemleri

Günümüzde antioksidanların aktivitelerini tayin etmek için birçok yöntem bulunmaktadır. Bu yöntemler; hidrojen atomu transferi (HAT: hydrogen Electron Transfer) tepkimelerine dayalı yöntemler, tek elektron transfer (SET: Single Electron Transfer) tepkimelerine dayalı yöntemler ve diğer mekanizmalara dayalı yöntemler olmak üzere 3 başlık altında toplanmaktadır. HAT ve SET'e dayalı yöntemler antioksidan kapasiteyi değil radiakal (veya oksidan) süpürme kapasitesini ölçmeyi sağlayan yöntemlerdir. SET yöntemleri substratın indirgeyici kapasitesini ölçer. HAT yöntemleri ise substratın hidrojen verebilme kapasitesini ölçer (Albayrak ve ark., 2010; Prior, Wu ve Schaich, 2005; Oğuz, 2008; Burnaz, 2013).

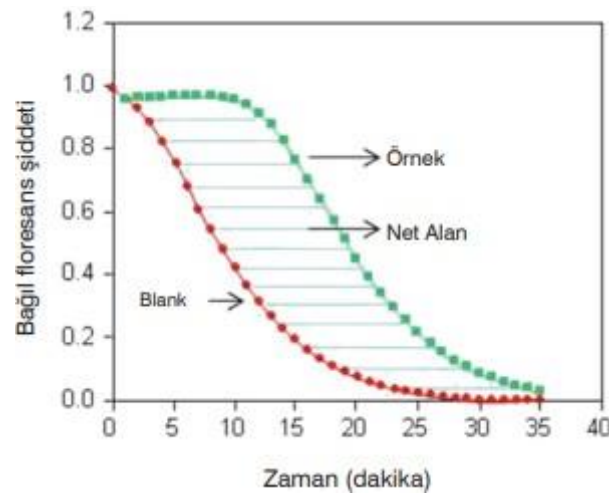
1.4.1. Hidrojen Atomu Transferine (HAT) Dayalı Yöntemler

Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi (ORAC)

Oksijen radikal absorbans kapasitesi (ORAC), pekçok bitki çalışmasında antioksidan kapasitenin tayininde kullanılmış bir yöntemdir. Bu yöntem ilk kez Cao, Alessio ve Cutler tarafından hedef bileşik fikoeritrin kullanılarak çalışılmıştır. Güncel çalışmalarda ise daha çok fluoresein maddesi kullanılmaktadır (Alarcon ve ark., 2008).

Antioksidanın etkinliği, floresans bozunma eğrisinin altında kalan alanın hesaplanması ile bulunur. (şekil1.6) Böylelikle peroksil radikallerinin etkisiyle bozunmaya uğrayan hedef bileşiğin bir

antioksidan tarafından ne kadar savunulduğu belirlenmiş olur (Prior, Wu ve Schaich, 2005).



Şekil 1. 6. ORAC yöntemiyle antioksidan etkinin, floresans eğrisinin altında kalan alanın hesaplanması (Prior, Wu ve Schaich, 2005)

Toplam Radikal Tuzaklayıcı Antioksidan Parametre(TRAP) Yöntemi

TRAP yöntemi ilk kez Wayner ve arkadaşları tarafından geliştirilen ve genellikle plazmanın antioksidan aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan bir antioksidan aktivite tayin yöntemidir. Bu yöntem lipidlerin peroksidasyona uğradığı sırada oksijen tüketiminin saptanması esasına dayanır. Çözünmüş haldeki oksijenin tüketimi, lipidlerin peroksidasyona uğrama hızının belirlenmesini sağlar. Trap yöntemi uzun süren bir yöntemdir (2 saat) ve belli bir sürede yapılabilecek çalışma sayısı sınırlıdır (Wayner ve ark., 1987).

1.4.2. Elektron Transferine (ET) Dayalı Yöntemler

2.2.-Difenil-1-pikrihidrazil (DPPH) Radikal Söndürücü Kapasite Yöntemi

DPPH yöntemi ilk kez 1995 senesinde Brand-Williams ve arkadaşları tarafından kullanılmış olan daha sonra 1998’de Sanchez ve arkadaşları tarafından değiştirip kullanılan bir antioksidan aktivite tayin yöntemidir. DPPH• radikali birkaç organik zaot radikalinden biridir ve kapalı menekşe rengindedir. UV-GB absorpsiyon maksimum seviyesi 525 nm’dir. Bu yöntem DPPH radikalinin redoks reaksiyonlarına bağlı antioksidanlar tarafından etkisiz hale getirilmesi esasına dayanır. Antioksidan aktivite ilk durumdaki DPPH konsantrasyonunun %50’lik bir kısmının azalması için gerekli olan antioksidan miktarını belirten IC₅₀ (etkin konsantrasyon) değeri ile ifade edilir. DPPH yöntemi güvenilir ve tekrar edilebilir sonuçlar verebilip basit ve hızlı bir yöntem olması sebebiyle sıklıkla kullanılan bir yöntemdir (Ali ve ark., 2008; Ndhlala, Moyo ve Van Staden, 2010; Brand-Williams, Cavalier ve Berset, 1995; Perez-Himenez ve ark., 2008).

Troloks Eşiti Antioksidan Kapasite Tayini (TEAC/ABTS) Yöntemi

İlk kez Miller ve arkadaşları tarafından 1993 yılında kullanılan yöntem. sonrasında Re ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir (Huang, 2002). TEAC analizi 2,2'-azinobis (3-etil-bezotiazolin 6 sulfonat) (ABTS) radikal katyonunun antioksidanlar tarafından soğurumunun engellenmesi esası ile ilişkilidir. TEAC'ın 660, 734 ve 820 nm'de en üst seviyede absorban etki gösterir. TEAC yönteminde deneyler renksiz ve sıvı haldeki potasyum persülfid ile ABTS'nin oksidasyonu ile ABTS'deki renk üretimini içerir ve hem lipofilik hem de hidrofilik bileşenlere uygulanabilir (Niki, 1990; Miller ve ark., 1993; Ali ve ark., 2008).

1.5. Nörodejeneratif Hastalıklar

Nörodejeneratif hastalıklar, sinir hücrelerinde çeşitli yollarla oluşan hasarlar ve ilerleyen süreçlerde bu sinir hücrelerinin kaybı ile ilişkilendirilen hastalıklar olarak tanımlanırlar. Bu hastalıklar arasında Alzheimer hastalığı ile Parkinson hastalığı bulunurken, günümüzde bu rahatsızlıkların tedavisi konusunda yetersizlikler yaşanmaktadır. Bu hastalıkların gelişmesinde etkin rol oynayan kolinesteraz enzim ailesinden asetilkolin esteraz (AChE) ile bütirilkolin esteraz (BChE) enzimleri örnek olarak verilebilir. Sinir sisteminde etkin bu enzimlerin etkinliklerinin düşmesi Alzheimer ve Parkinson rahatsızlıklarına sebep olmaktadır (Hu ve ark., 2019; Gao ve ark., 2018; Ha ve Yeong, 2020; Jasiecki ve Wasag, 2019; Xings ve ark., 2020; Nagatsu, ve ark., 2018).

1.5.1. Asetilkolinesteraz

Asetilkolinesteraz dokular içerisinde tek başına ya da fosfolipidlere bağlı bir halde bulunan ve asetilkolinin parçalanmasında rol oynayan bir nonspesifik bir enzimdir. Bu enzim ilk kez 1938'de elektrik balığının (*Torpedo Marmorata*) elektrik olan bölgesinden ekstraksiyon yolu ile saflaştırılarak elde edilmiştir. Sinir sistemi fonksiyonların büyük bir öneme sahip olan Asetilkolinesteraz vücutta sinir, kas ve plasental dokular ile eritrositlerde bulunmaktadır ve sinapsiste bulunan asetilkolini, asetat ve koline hidrolize ederek aktifliklerini ortadan kaldırır, kas hücrelerinin kasılmaya başlamasında ve kas liflerinde meydana gelen elektriksel akımın oluşturulmasında görev alır. Sinapsiste bulunan asetilkolinin inaktive edilme miktarı çok artarsa sinirsel iletimde kesintiler meydana gelir ve böylece Alzheimer hastalığı ortaya çıkar (Melanson ve ark., 1985; Güven, 2000).

1.5.2. Bütirilkolinesteraz

Asetilkolin, sinir sistemlerinde önemli bir yere sahip nörotransmitterdir ve sinir impulslarının kimyasal yollarla iletilmesinde aktif rol oynar. Bütirilkolinesteraz, asetilkolinesteraz ile merkezi sinir

sisteminde bulunan asetilkolini hidrolize eder. Yapılan çalışamalar ortamdaki asetilkolin konsantrasyonunun hızlı bir şekilde azalmasının Alzheimer hastalığı ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Darvesh, Hopkins ve Geula, 2003; Massoud, 2011).

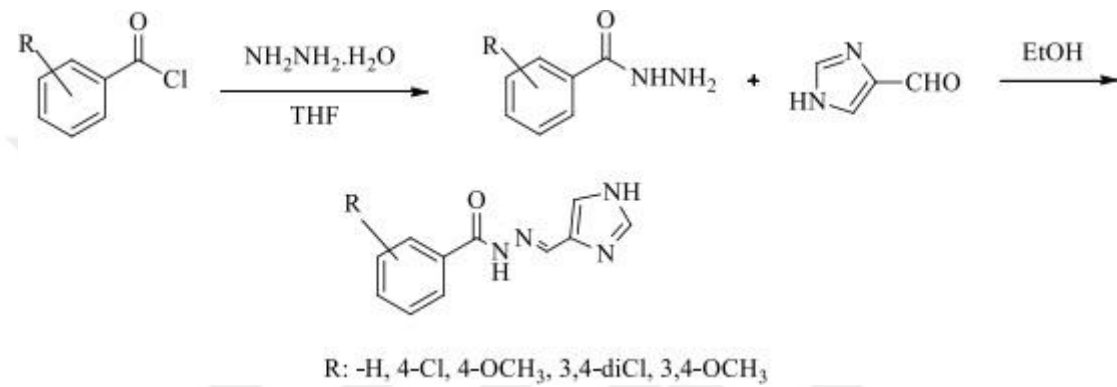
Bütirilkolinesteraz enzimi vücutta çoğunlukla karaciğer dokusu ve plazma olmak üzere birçok dokuda, merkezi ve çevresel sinir sisteminde bulunur (Quinn, 1987).

1.5.3. Tirozinaz

Tirozinaz enzimi, monofenol monooksijenaz, fenolaz, monofenol oksidaz, polifenol oksidaz gibi isimlerle de ifade edilen EC: 1.14.18.1 numarası ile tanımlı, bitkilerde ve mantarlarda sıkça bulunan bakır katyonlu bir metalloenzimdir. Tirozinazlar üzerine 1985 yılında ilk kez yapılan çalışmada *Russula nigricans* mantarı kesilmek suretiye yapılmıştır ve bu kesilen parça kırmızı renkli durumdayken hava teması sonucunda siyaha dönmüştür. Tirozinaz enzimi, monofenol ve difenollerin reaktif o-kinon bileşiklerine okside olma reaksiyonlarında rol oynar (Sharma, Vinay ve Niti, 2003; Chang, 2009).

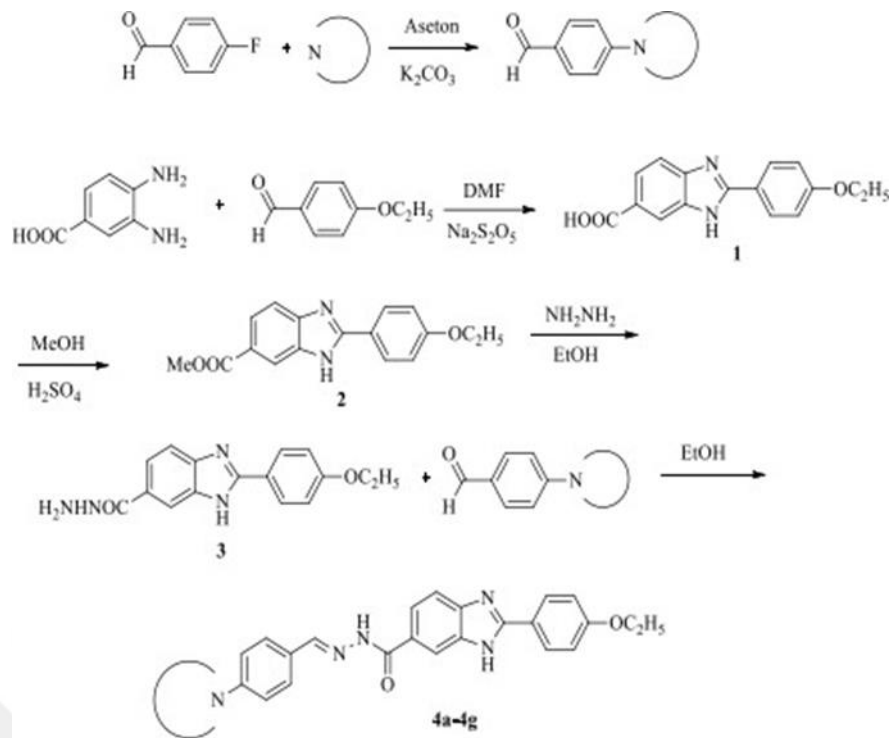
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Osmaniye ve ark., antikolinesteraz etkilerinin olacağı düşünülen hidrazon türü bileşikler iki basamakta sentezlediler. Öncelikli olarak benzoil klorür türevleri ile hidrazin hidrat reaksiyona sokularak benzoik asit hidrazit sentezlendi. İkinci basamakta ise benzoik asit hidrazitleri, imidazol-4-karbaldehit ile reaksiyona sokularak hedef hidrazon bileşikler sentezlendi (şekil 2.1.) (Osmaniye ve Çevik, 2021).



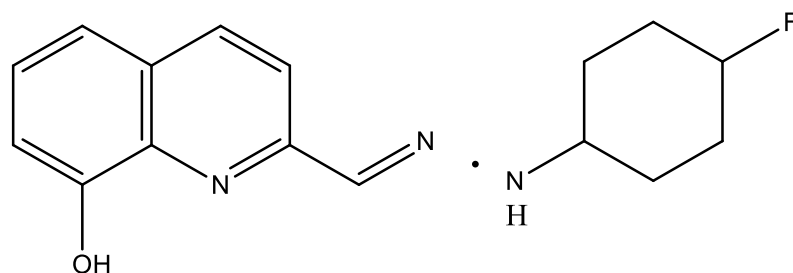
Şekil 2. 1. Elde edilen imidazol-hidrazonların sentez şeması

Sağlık ve ark. Kolinesteraz enzim inhibisyonunu incelemek için yeni benzimidazol hidrazon türevlerini 5 basamakta sentezlediler. Öncelikle sekonderamin türevlerinin asetonlu ortamda potasyum karbonat ve 4-florobenzaldehyt ile reaksiyona girmesi sağlanmış ve yeni benzaldehyt türevleri sentezlenmiştir. 4-Etoksi benzaldehyt dimetilformamid bulunan ortamda sodyum disülfid ile reaksiyona sokulmuş ve benzaldehyt sodyum bisülfid sentezlenmiştir. Daha sonra üretilen bu molekül 3,4-diamino benzoik asit ile reaksiyona sokularak benzimidazol halkası kapatılmıştır. Karboksilik asit fonksiyonel grubu metanollü ortamda esterleştirme reaksiyonuna sokulmuştur. Ester bileşiklerinin hidrazin hidrat ile tepkimesinden hidrazit bileşikler elde edilmiş, hidrazit türevleri de etanollü oertamda aldehit türevleri ile tepkimeye konularak hidrazon türevi bileşikler elde edilmiştir (şekil 2.2.) (Sağlık ve Çevik, 2020).



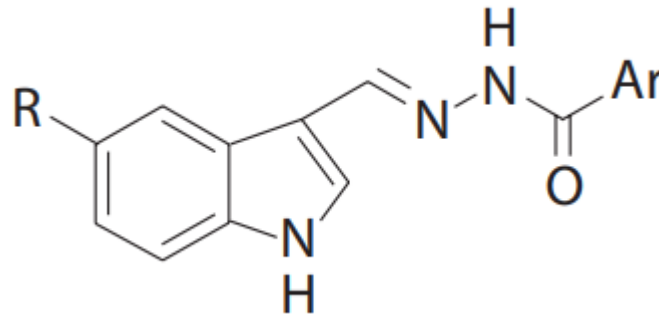
Şekil 2. 2. Elde edilen benzimidazol-hidrazonların sentez şeması

Shah ve ark., yirmi bir adet 8-hidroksikinolin hidrazon türü sentezlemiş (şekil 2.3.) ve bu sentezlenen hidrazonların in vitro antikanser etkinliklerini araştırmışlardır. Sentezlenen hidrazonlardan (E)-2-((2-(4-florofenil)hidrazino)metil)kinolin-8-ol HeLa serviks ($IC_{50}= 26,30 \mu M$), MCF-7 meme ($IC_{50}= 34,19 \mu M$), A549 akciğer ($IC_{50}= 38,77 \mu M$) ve MDA-MB-231 triple negatif meme ($IC_{50}= 34,23 \mu M$) kanseri hücrelerine karşı aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Shah ve ark., 2018).



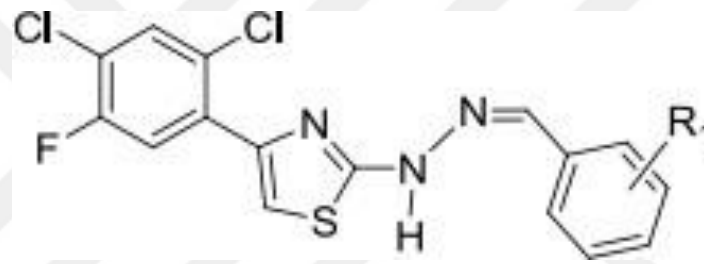
Şekil 2. 3. Elde edilen hidrazon türevlerinin genel yapısı

Gurkok ve ark., 2009 yılında 5-bromoindol türevlerinin *N,N*-dimetil formamid ile tepkimesi sonucunda üretilen indol/5-bromoindol-3-karboksaldehid türevlerinin hidrazidler ile kondensasyon reaksiyonu sonucunda hidrazid-hidrazonları elde etmişlerdir (şekil 2.4.). Bu şekilde sentezlenen bileşiklerin antibakteriyal ve antifungal aktiviteleri kontrol edilmiştir (Altanlar, Gurkok ve Suzen, 2009).



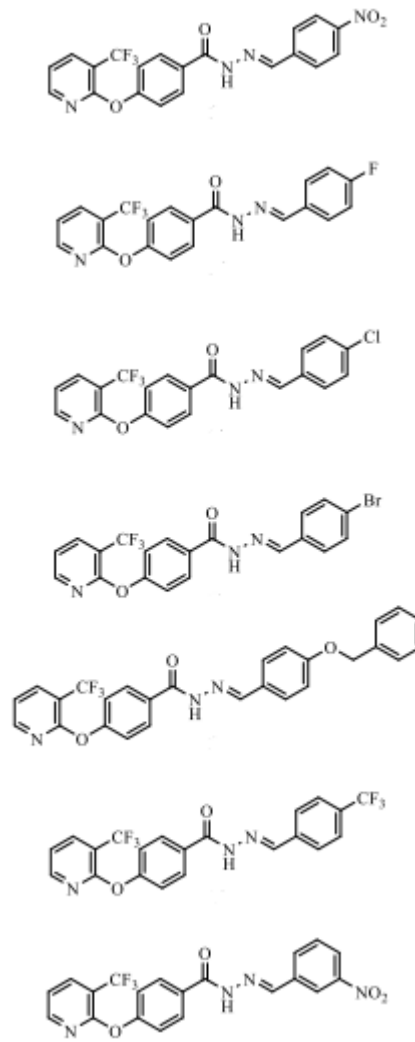
Şekil 2. 4. Elde edilen İndol-3-aldehit hidrazid/hidrazon türevlerinin kimyasal yapısı

Holla ve ark., 2003 yılında 2,4-disübstütüe tiyazol türevlerini sentezlemişlerdir (şekil 2.5.) ve bu bileşiklerin antibakteriyel ve anti inflamatuvar etkilerinin olabileceğini bildirmişlerdir (Holla ve ark., 2003).



Şekil 2. 5. 2-arilamino-4-(2,4-dikloro-5-florofenil) tiyazollerin kimyasal yapısı

Köse ve ark., tarafından 2021 yılında yapılan çalışmada 4-((3-(triflorometil)piridin-2-il)oksi)benzohidrazit parçası içeren yedi adet yeni hidrazon türü sentezlendi (şekil 2.6.). Bu sentez işlemi için başlangıç maddesi olarak 4-hidroksibenzoik asit kullanıldı. Metanollü ortamda 4-hidroksibenzoik asit, sülfirik asit ile tepkimeye sokularak metil esteri elde edildi. Elde edilen ester maddesi 2- bromo-3(triflorometil)piridin maddesi ile tepkimeye konularak 4-((3-(triflorometil)piridin-2-il)oksi)benzoikasit metil esteri sentezlendi. Sentezlenen metil esteri hidrazin hidrat aracılığıyla hidrazite çevrildi. Bu hidrazit bileşiği ise sübstütüe aldehitlerin katılma-eliminasyon reaksiyonuna sokulmasıyla yeni hidrazon türevleri sentezlendi. Sentezlenen bu hidrazon bileşiklerinin yapıları ^1H , ^{13}C NMR ve HRMS spektroskopileri ile aydınlatıldı (Köse ve ark., 2021).



Şekil 2. 6. 4-((3-(Triflorometil)piridin-2-il)oksi)benzohidrazit Birimi İçeren Yeni Hidrazon Türevlerinin Sentezi

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kimyasallar ve Kullanılan Cihazlar

Bu çalışmada, yeni hidrazon türevlerini sentezlemek ve biyolojik aktivitelerini yapmak için gerekli tüm kimyasallar Aldrich ve Merck Kimya şirketlerinden temin edilmiştir.

Erime noktaları bir Barnstead IA9100 Elektrotermal Dijital Erime Noktaları aparatı kullanılarak kontrol edildi. FT-IR spektrumları, bir Agilent Cary 630 FTIR spektrofotometresine kaydedildi. ^1H ve ^{13}C NMR spektrumları, sırasıyla 400 MHz ve 100 MHz'de dahili bir standart olarak aril sülfonatlar için CDCl_3 ve çözücü olarak hidrazon türevleri için DMSO ve tetrametilsilan kullanılarak Bruker Avance III 400 MHz spektrometresine kaydedildi.

Kullanılan Cihazlar

- GC-MS/FID (Agilent Technologies Inc. 7890A GC - Agilent 5975)
- GC-MSD, İngiltere)
- LC-MS/MS (LC-HRMS Thermo Q Exactive)
- Ultraviyole Spektrofometre Cihazı (UV-Vis), (PG Instruments T80+
- UV/VIS Spectrometer, İngiltere)
- Eliza (BioTek EON Microplate Reader, Amerika Birleşik Devletleri)
- Rotaevaporator (Heidolph, Almanya)
- Otomatik pipetler (20-200 μL , 100-1000 μL , 500-5000 μL) (Brand,
- Almanya)
- Hassas terazi (Shimadzu ATX224, Japonya)
- Manyetik karıştırıcı (Heidolph MR 3001, Almanya)
- pH-metre (Thermo, Amerika Birleşik Devletleri)
- Elma S15 ultrasonik banyo (Almanya)
- Ultra saf su cihazı (Merck Millipore Direct-Q 3 UV, Almanya)
- Vortex (LMS Co. LTD, Japonya)

Kullanılan Kimyasallar

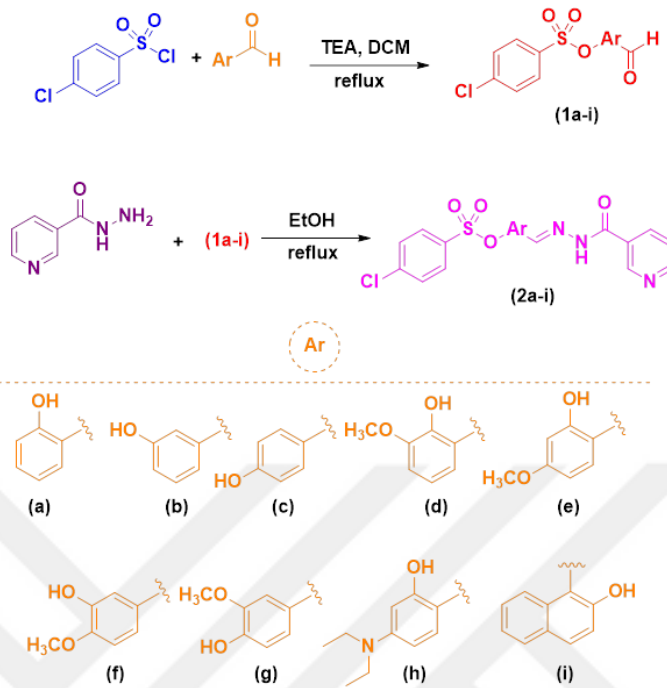
Madde Adı	Firma Adı	Katalog No
Nikotinik hidrazit % 97 25 gr	Sigma Aldrich	107425-25G
4-Piridinkarboksilik asit hidrazit 100 gr	Merck	M806753.0100
4-Klorobenzen-sülfonil klorit % 97 100 gr	Sigma Aldrich	133698-100G
4-Bromobenzen-sülfonil klorit % 98 25 gr	Sigma Aldrich	108669-25G
2-Hidroksi-4-4metoksibenzaldehit 5 gr	Merck	M841611.0005
2-Hidroksi-4-naftaldehit 25 gr	Sigma Aldrich	H45353-25G
3-Hidroksibenzaldehit % 97 25 gr	Alfa Easer	A13541.14
2-Hidroksi-3-metoksibenzaldehit % 99 100 gr	Alfa Easer	A15672.14
3-Hidroksi-4-metoksi benzaldehit% 98 25 gr	Alfa Easer	A12866.14
Benzen-sülfonil klorit % 99 100 gr	Sigma Aldrich	108138-100G
4-Metoksibenzendülfonil klorit % 99 25 gr	Sigma Aldrich	M10204-25G
2-PROPANOL 2.5 lt		
Diklorometan	Merck	M10650.2500
Trietilamin	Merck	M808352.1000
Petrol Eteri	Sigma Aldrich	24587-5L-R
Dietil eter	Merck	M100926.500

3.2. Sentez

Hedef bileşikler **2a-i** için sentetik strateji Şema 1'de gösterilmiştir. Bu çalışmada, hedef moleküller olarak bazı yeni hidrazon türevleri (**2a-i**), iyi verimlerle iki adımda sentezlenmiştir (Kamalı, Çakmak ve Boğa, 2022; Başaran, Haşimi, Çakmak ve Çınar, 2022; Çakmak, Başaran, Kaya ve Erkan, 2022; Başaran, 2021).

Çalışmanın ilk adımında, klor atomu içeren aril sülfonatlar (**1a-i**), 4 saat boyunca reflaks edilerek diklorometan (DCM) ortamında trietilamin (TEA) varlığında dokuz fenolik aldehitin 4-CBSC ile reaksiyonu ile% 75-86 verim ile elde edildi. Çalışmanın ikinci adımında, dokuz aril sülfonatın reflaks edilerek nikotinik hidrazit ile 4 saat boyunca bir etanol ortamında sürekli manyetik karıştırılmasıyla reaksiyon % 72 -83 verimle dokuz yeni hidrazon türevi (**2a-i**) elde edilmiştir. Elde

edilen aril sülfonatlar arasında bunlardan biri yeni (**1e**), altısı bilinmektedir (**1a**, **1b**, **1c**, **1f**, **1g** ve **1h**) ve ikisi ticaridir (**1d** ve **1i**). Öte yandan, sentezlenen tüm hidrazon türevleri (**2a-i**) ilk kez sentezlendi.



Şema 1. Heterosiklik hidrazon bileşiklerinin sentezi.

3.3. Biyolojik Çalışmalar İçin Genel Prosedürler

3.3.1. Antikolinesteraz Testi

Bu çalışmada, sentezlenen tüm moleküllerin (**1a-i** ve **2a-i**), AChE ve BChE inhibisyonuna bakıldı. Sentezlenen moleküllerin AChE ve BChE inhibitör aktiviteleri, Ellman'ın modifiye spektrofotometrik yöntemi ile belirlendi. (Ellman ve ark., 1961) Kolinesteraz inhibitör çalışmaları için elektrikli yılan balığı AChE (Tip-VI-S, EC 3.1.1.7, Sigma) ve at serumu BChE (EC 3.1.1.8, Sigma) kullanılmıştır. Enzim substratları olarak asetiltiyokolin iyodür ve bütiriltiyokolin klorür (Sigma, St. Louis, MO, ABD) kullanıldı. Bu enzimlerin aktivitelerinin ölçülmesinde 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoik) asit (DTNB, Sigma, St. Louis, MO, ABD) kullanılmıştır. Tüm bileşikler, 4 mM konsantrasyonda stok çözeltileri hazırlamak için DMSO'da çözüldü. 150 µL 100 mM sodyum fosfat tamponu (pH 8.0), 10 µL numune çözeltisi ve 20 µL AChE (veya BChE) çözeltileri karıştırıldı ve 25 °C'de 15 dakika boyunca inkübe edildi ve DTNB (10 µL) eklendi. Reaksiyon daha sonra asetiltiyokolin iyodür (veya bütiriltiyokolin iyodür) (10 µL) ilavesiyle başlatıldı. Test edilen bileşiklerin çözeltisinin son konsantrasyonu 200 µM idi. Asetiltiyokolin iyodür / bütiriltiyokolin iyodürün hidrolizi, DTNB'nin tiyokolinlerle reaksiyonu sonucu sarı 5-tiyo-2-nitrobenzoat anyonun oluşumu ile izlendi, 96 kuyucuklu bir mikrolpaka okuyucu kullanılarak 27 °C'de 15 dakika boyunca

inkübe edildi ve 412 nm dalga boyunda ölçümleri alındı. Ölçümler ve hesaplamalar Microsoft excel kullanılarak değerlendirildi. Deneyler üç paralel çalışıldı (Çınar ve ark., 2021; Çakmak ve ark., 2021). Bu enzimlerin inhibisyon yüzdesi, aşağıdaki formül kullanılarak numunelerin boş numunelere (DMSO ve metanol) göre reaksiyon oranlarının karşılaştırılmasıyla belirlenmiştir. İnhibisyon eşitlik değeri (3.1) formülüne göre hesaplanmıştır.

$$\text{İnhibisyon (\%)} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100 \quad (3.1.)$$

Burada;

A, absorbanstır.

A_{kontrol} , kontrol reaksiyonunun absorbansıdır.

$A_{\text{örnek}}$, test bileşiklerinin absorbansıdır.

Deneyler üç paralel çalışıldı.

3.3.2. Antitirozinaz aktivitesi

Sentezlenen bileşiklerin antitirozinaz aktiviteleri, Hearing ve Jimenez tarafından tasarlanan yöntemle göre belirlendi (Hearing ve Jiménez, 1987). İlk olarak, bileşiklerin difenolaz fonksiyonunun inhibisyonu değerlendirildi ve substrat olarak L-DOPA kullanıldı. Mantardan elde edilen tirozinaz (E.C. 1.14.18.1) (30 U, 28 nM) sodyum fosfat tamponunda (pH = 6.8, 50 nM) çözöldü ve bileşikler on dakika boyunca oda sıcaklığında ön inkübasyon için çözeltiye eklendi. İnkübasyondan sonra, karışıma 0.5 mM L-DOPA eklendi ve absorbanstaki değişim 37 °C'de 475 nm'de ölçöldü (Çınar, ve ark., 2021; Çakmak, ve ark., 2021; Ersoy ve ark., 2019).

Tüm enzim inhibisyon aktivitelerinin yüzdesini hesaplamak için 3.1. formölü kullanıldı.

$$\text{İnhibisyon (\%)} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$$

Burada;

A, absorbanstır.

A_{kontrol} , kontrol reaksiyonunun absorbansıdır.

$A_{\text{örnek}}$, test bileşiklerinin absorbansıdır.

Deneyler üç paralel çalışıldı. Kojik asit pozitif kontrol olarak kullanıldı.

3.4. Antioksidan aktivite testleri

3.4.1. DPPH Serbest Radikal Giderim Aktivitesi Testi

Bileşiklerin DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) serbest radikal süpürme aktiviteleri, DPPH radikalının bir etanol çözeltisinin indirgenmesine dayanan spektrofotometrik bir yöntemle belirlendi (Blois, 1958). Her bileşiğin 2.5, 6.25, 12.5 ve 25 µL'lik 1 mM stok çözeltisi, DMSO ile 40 µL'ye

tamamlandı ve 160 µL 0.1 mM DPPH serbest radikal çözeltisi ile karıştırıldı. Karışım karanlıkta 30 dakika bekletildi ve absorbans daha sonra bir köre karşı 517 nm'de ölçüldü. Serbest radikalın inhibisyonu, DPPH, yüzde (%) cinsinden **3.1.** formülüne göre hesaplanmıştır.

$$\text{İnhibisyon}(\%) = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$$

Burada;

A, absorbanstır.

A_{kontrol} , kontrol reaksiyonunun absorbansdır (test edilen bileşikler dışındaki tüm reaktifleri içerir).

$A_{\text{örnek}}$, test bileşiklerinin absorbansdır.

Deneyler üç paralel çalışıldı.

3.4.2. ABTS katyon radikal renk giderme testi

ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)) katyon radikalının renk deksiyonunun yüzde inhibisyonu konsantrasyonun bir fonksiyonu olarak elde edildi ve standart olarak kullanılan BHT ve BHA bileşikleri ile karşılaştırılarak değerlendirildi (Re ve ark., 1999). Her bir kuyucuğa farklı konsantrasyonlarda test edilen bileşikler eklendi ve 160 µL 7 mM ABTS çözeltisi eklendi. Oda sıcaklığında 6 dakika sonra, absorbanslar 734 nm'de ölçüldü. ABTS katyonu radikal renk giderme aktiviteleri **3.1.** formülü kullanılarak belirlenmiştir:

$$\text{İnhibisyon}(\%) = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$$

Burada;

A, absorbanstır.

A_{kontrol} , kontrol reaksiyonunun absorbansdır.

$A_{\text{örnek}}$, test bileşiklerinin absorbansdır.

Deneyler üç paralel çalışıldı.

3.4.3. Cupric İndirgeme Antioksidan Kapasitesi (CUPRAC)

Bu yöntem, antioksidan moleküllerin varlığında Cu(II)-neocuproine'in renkli formu Cu(I)-neocuproine şelatına indirgenmesinden oluşur (Apak ve ark., 2004). Bunun için, her molekülün 2.5, 6.25, 12.5 ve 25 µL'lik 1 mM stok çözeltileri her bir kuyucuğa pipetlendi ve daha sonra 61 µL 10 mM CuCl₂, 61 µL 7.5 mM neocuproine ve 61 µL 1 M NH₄OAc çözeltileri sırasıyla farklı konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltilere eklendi. Deney sırasında karışımı elde ettikten sonra, absorbans 450 nm'de dikkatlice ölçüldü. Son olarak, konsantrasyon-absorbans grafiğinden elde edilen $A_{0.5}$ değerleri standart moleküller, BHA ve BHT ile karşılaştırıldı. Deneyler üç paralel çalışıldı.

4. BULGULAR

4.1. Karakterizasyon

Bu çalışmada, sentezlenen tüm moleküller FT-IR, ^1H NMR ve ^{13}C NMR ile karakterize edildi. Karakterizasyon verilerinin molekül yapılarıyla uyumlu olduğu belirlenmiştir. Hidrazon bileşiklerinin (**2a-i**) FT-IR spektrumlarında, hidrazon ve imino'nun ($-\text{C} = \text{N}$) karbonil grubunu ($\text{C} = \text{O}$) temsil eden bant sırasıyla $1680 - 1644 \text{ cm}^{-1}$ ve $1598 - 1555 \text{ cm}^{-1}$ 'de ortaya çıkmıştır. Ayrıca bu bileşiklerdeki SO_2 grubunun asimetrik ve simetrik bantları $1379 - 1350 \text{ cm}^{-1}$ ve $1190 - 1146 \text{ cm}^{-1}$ olarak tespit edilmiştir. **2a-i** bileşiklerinin ^1H NMR spektrumlarında, δ 12.15-11.80 ppm bölgesinde gözlenen singlet protonları $-\text{CONH}$ protonuna ait olduğu belirlenirken, azometine ($-\text{CH} = \text{N}$) protonları δ 8.70-8.34 ppm civarında singlet olarak belirlenmiştir. Aromatik ve piridin halka protonları δ 9.20 ile δ 5.97 ppm arasında tespit edilmiştir. **2d-e** bileşiklerinde de bulunan metoksi ($-\text{OCH}_3$) protonları, δ 3.75 - 3.44 ppm'de singlet olarak gözlemlendi. **2a-i**'nin ^{13}C NMR spektrumunda, $-\text{CH} = \text{N}$ karbondan kaynaklanan sinyal δ 152.97-152.61 ppm'de belirlendi. Karbonil gruplarının karbonları ($\text{C} = \text{O}$), 162 ppm'de civarında rezonansa giren sinyaller gösterdi. Ayrıca, **2d-e** bileşiklerindeki $-\text{OCH}_3$ karbonundan kaynaklanan sinyal, 56.25 - 56.09 ppm'de tespit edildi. Beklenen bölgelerde piridin, aromatik ve diğer halkaların diğer karbonları gözlemlendi.

4.2. İstatistiksel analiz

Antioksidan, antikolinesteraz ve antitirozinaz aktivite deneyleriyle saptanan veriler üç paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak uygulandı. İstatistiksel anlamlılık, $p < 0.05$ ' değerlerinin anlamlı kabul edildiği bir T-testi kullanılarak değerlendirildi.

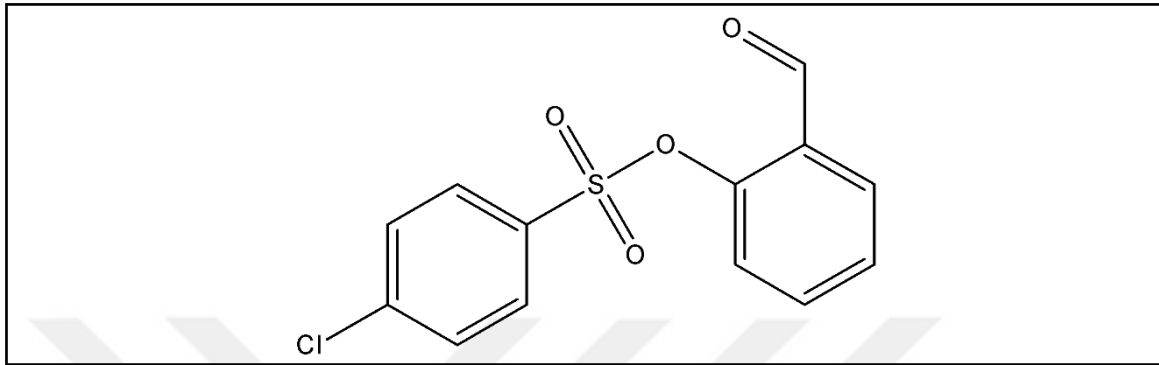
4.2.1. Ester türevlerinin sentezi için genel prosedür 1a-e

Aril sülfonatlar (**1a-i**) elde etmek için aşağıda açıklanan prosedür, fenolik aldehytler ve 4-CBSC arasındaki tüm reaksiyonlar için aynıydı. Burada, 4-hidroksibenzaldehyt (4-HBA) 4-CBSC ile reaksiyonu bileşik **1c**'yi oluşturmak için örnek olarak verilmiştir (Çakmak ve ark., 2022; Başaran, 2021). Kısaca, 10 mL DCM'de 4-HBA (0.281 g, 2.3 mmol) ve TEA (4.6 mmol, 625 μL) karışımı oda sıcaklığında 30 dakika boyunca kuvvetlice karıştırıldı. Daha sonra, 10 mL DCM'de 4-CBSC (0.448 g, 2.3 mmol) bu çözeltiye damla damla eklendi; ve daha sonra reaksiyon karışımı yaklaşık 4 saat geri akıtıldı. Bu işlemten sonra, reaksiyon karışımı soğutuldu ve daha sonra 2 M HCl ile iki kez ekstrakte edildi. Elde edilen organik fazlar susuz sodyum sülfat üzerinde kurutuldu, filtrelendi ve daha sonra çözücü düşük basınç altında yavaşça buharlaştırıldı. Son olarak, ham ürün

birkaç kez etanol ile kristalleşme ile saflaştırıldı.

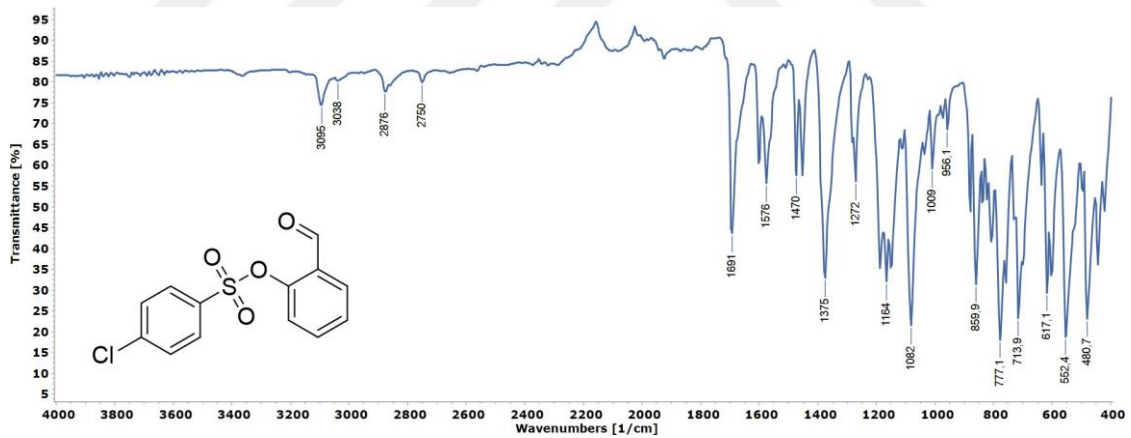
Bu çalışmada, sentezlenen tüm moleküller FT-IR, ^1H NMR ve ^{13}C NMR ile karakterize edildi.

4.2.1.1. 2-Formilfenil 4-klorobenzenesülfonat (1a) (Xu ve Zhang, 2011)



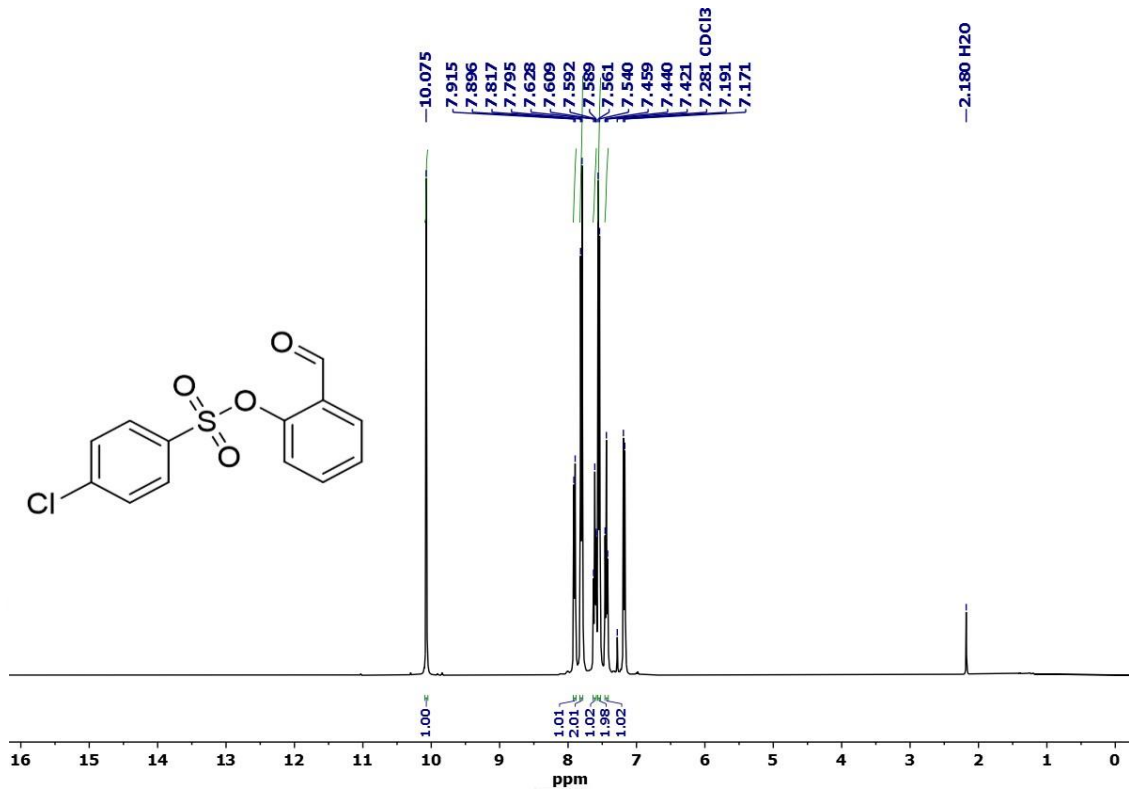
Beyaz katı, verim: %81, erime noktası: 60-61 °C.

FT-IR (cm^{-1} , ν_{max}): 3095, 3038 (C-H, aromatik gb.), 2876, 2750 (C-H, aldehit gb.), 1691 (C=O gb.), 1375 (SO_2 , asimetrik gb.), 1164 (SO_2 , simetrik gb.).



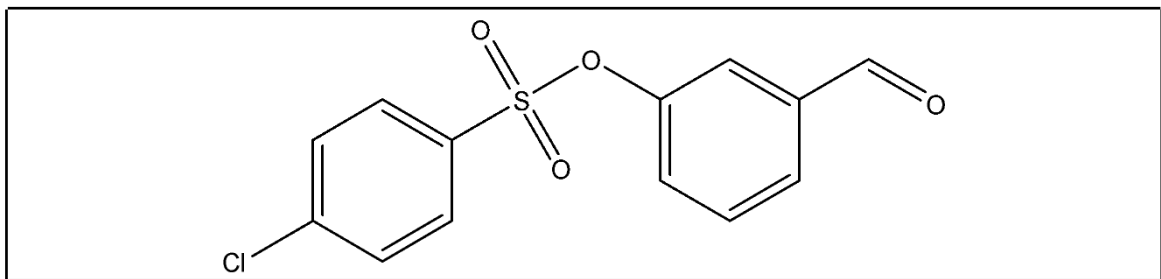
Şekil 4. 1. Bileşik (1a)'nın IR spektrumu

CDCl_3 'te ^1H NMR (400 MHz, ppm): δ 10.07 (s, 1H, aldehit-H), 7.91 (d, J = 7.7 Hz, 1H, aromatik-H), 7.81 (d, J = 8.6 Hz, 2H, aromatik-H), 7.63 – 7.59 (m, 1H, aromatik-H), 7.55 (d, J = 8.6 Hz, 2H, aromatik-H), 7.44 (t, J = 7.5 Hz, 1H, aromatik-H)



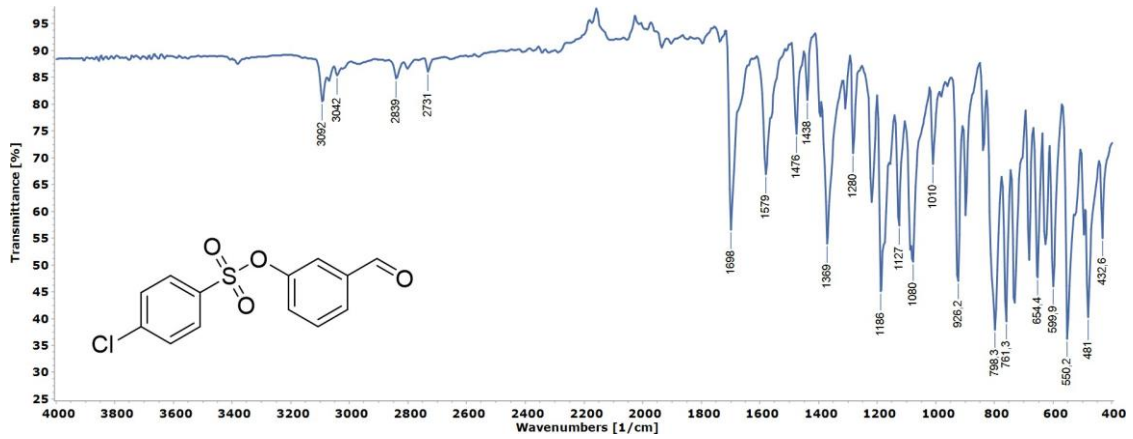
Şekil 4. 2. Bileşik (1a)'nın ¹H NMR spektrumu

4.2.1.2. 3-Formilfenil 4-klorobenzensülfonat (1b) (Roudbaraki, Mansoor, Ghashang, 2021)



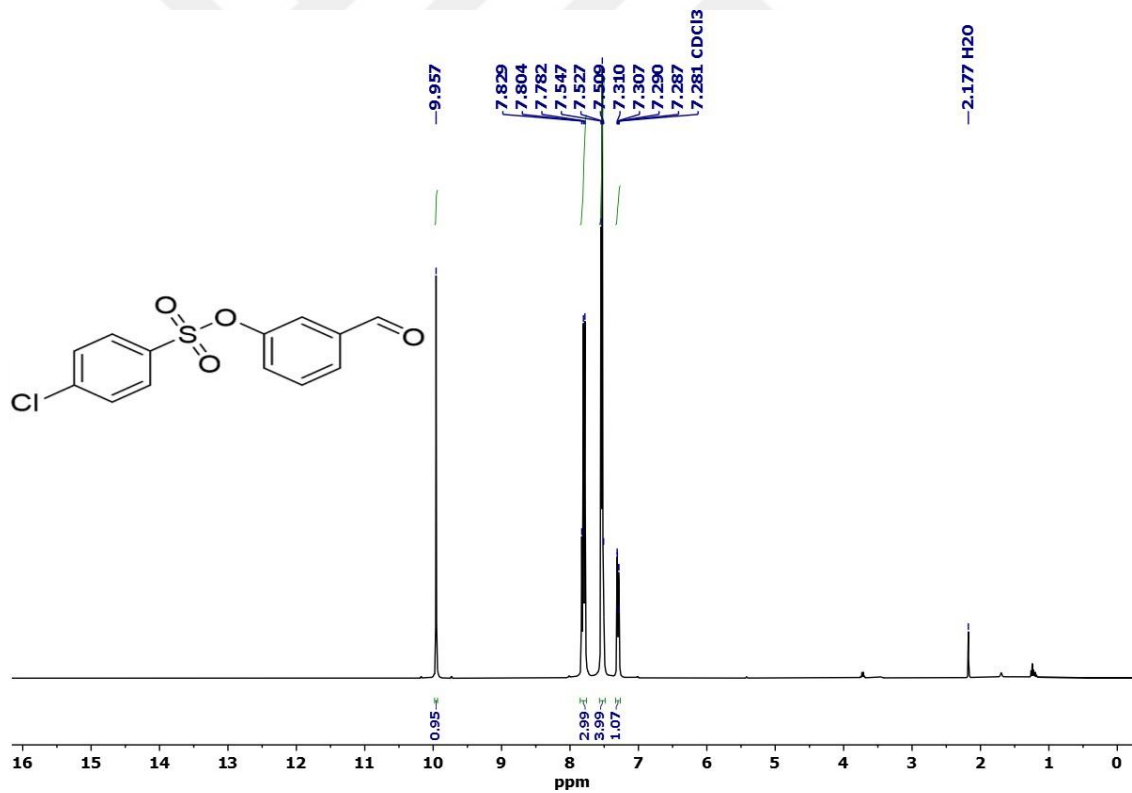
Bej katı, verim: %83, erime noktası: 98-99 °C.

FT-IR (cm⁻¹, ν_{max}): 3092, 3042(C-H, aromatik gb.), 2839, 2731 (C-H, aldehit gb.), 1698 (C=O gb.), 1369 (SO₂, asimetrik gb.), 1186 (SO₂, simetrik gb.).



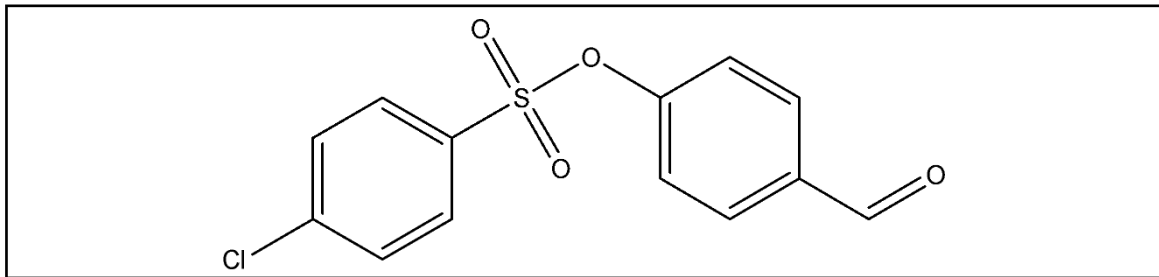
Şekil 4. 3. Bileşik (1b)' nin IR spektrumu

CDCl₃'te ¹H NMR (400 MHz, ppm): δ 9.96 (s, 1H, aldehit-H), 7.85 – 7.76 (m, 3H, aromatik-H), 7.53 (t, *J* = 7.7 Hz, 4H, aromatik-H), 7.33 – 7.26 (m, 1H, aromatik-H).



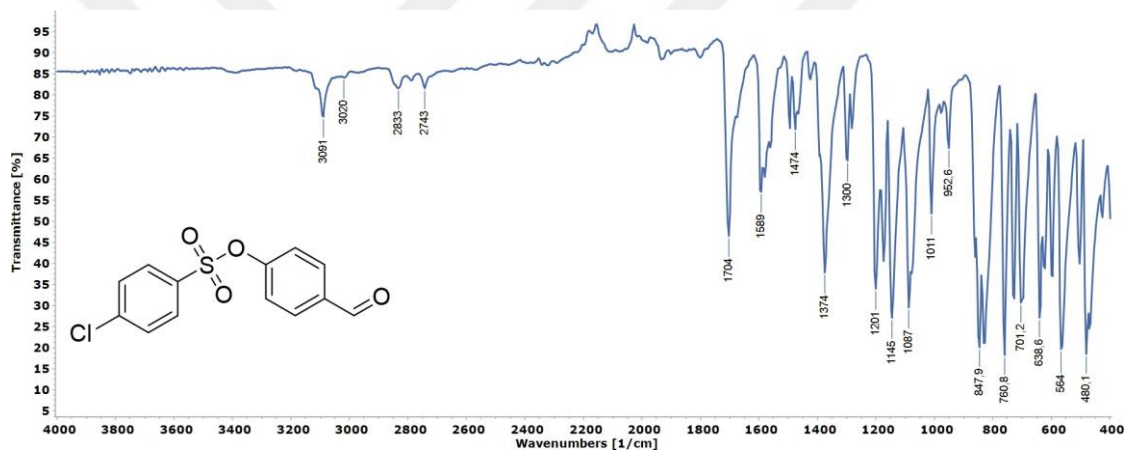
Şekil 4. 4. Bileşik (1b)' nin ¹H NMR spektrumu

4.2.1.3. 4-Formilfenil 4-klorobenzen Sülfonat (1c) (Andleeb vd., 2018)



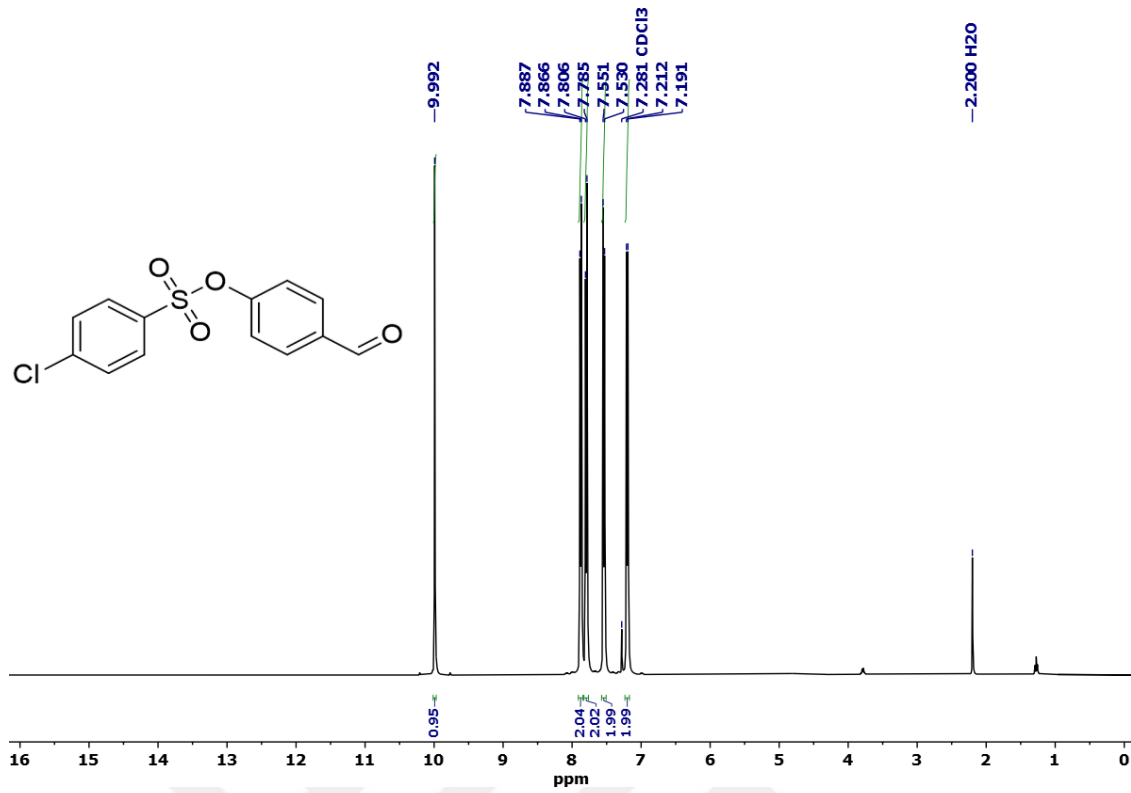
Beyaz katı, verim: %85, erime noktası: 94-95 °C.

FT-IR (cm^{-1} , ν_{max}): 3091, 3020 (C-H, aromatik gb.), 2833, 2743 (C-H, aldehit gb.), 1704 (C=O gb.), 1374 (SO₂, asimetrik gb.), 1145 (SO₂, simetrik gb.).



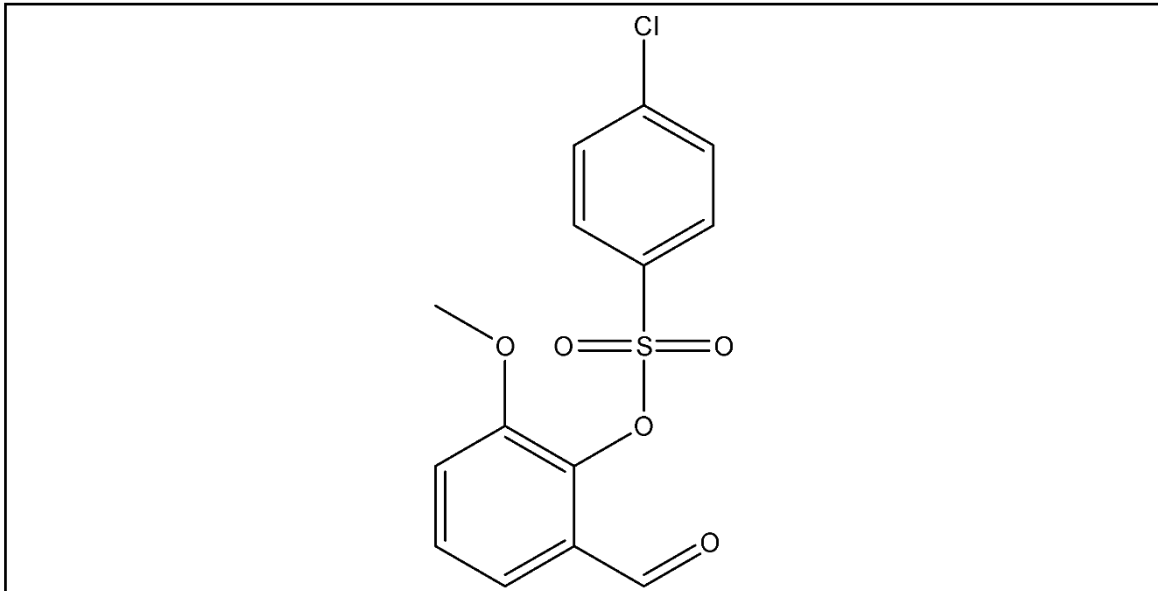
Şekil 4. 5. Bileşik (1c)' nin IR spektrumu

CDCl_3 'te ^1H NMR (400 MHz, ppm): δ 9.99 (s, 1H, aldehit-H), 7.88 (d, J = 8.6 Hz, 2H, aromatik-H), 7.80 (d, J = 8.7 Hz, 2H, aromatik-H), 7.54 (d, J = 8.7 Hz, 2H, aromatik-H), 7.20 (d, J = 8.5 Hz, 2H, aromatik-H).



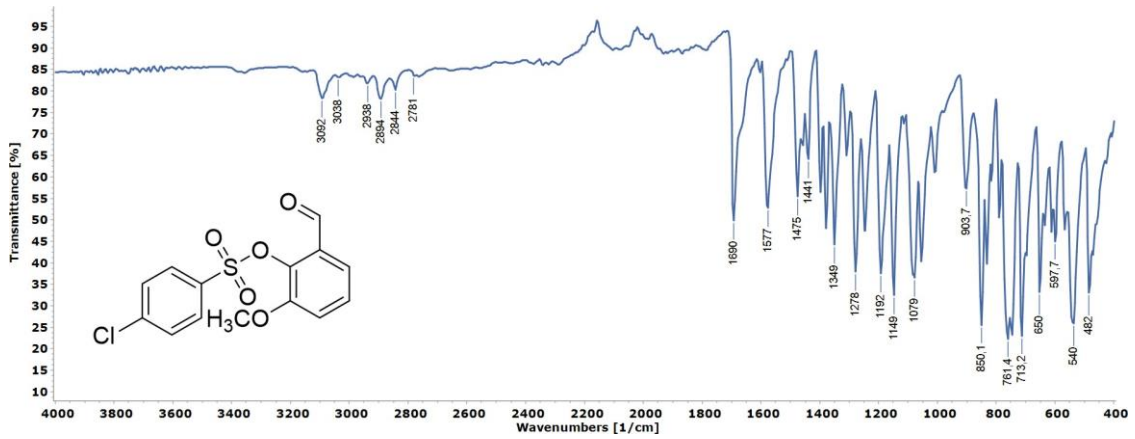
Şekil 4. 6. Bileşik (1c)' nin ¹H NMR spektrumu

4.2.1.4. 2-Formil-6-metoksifenil 4-klorobenzenesülfonat (1d)



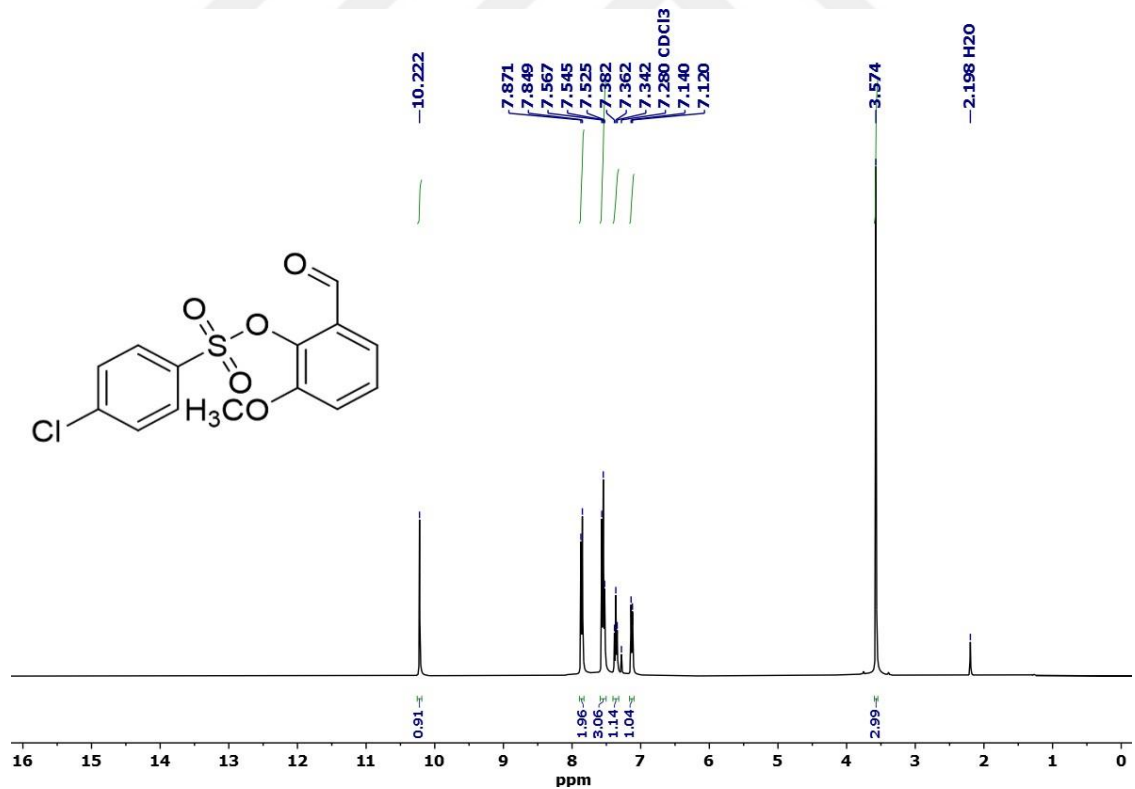
Parlak beyaz katı, verim: %79, erime notası: 112-113 °C.

FT-IR (cm⁻¹, ν_{max}): 3092, 3038 (C-H, aromatik gb.), 2844, 2781 (C-H, aldehit gb.), 1690 (C=O gb.), 1349 (SO₂, asimetrik gb.), 1149 (SO₂, simetrik gb.).



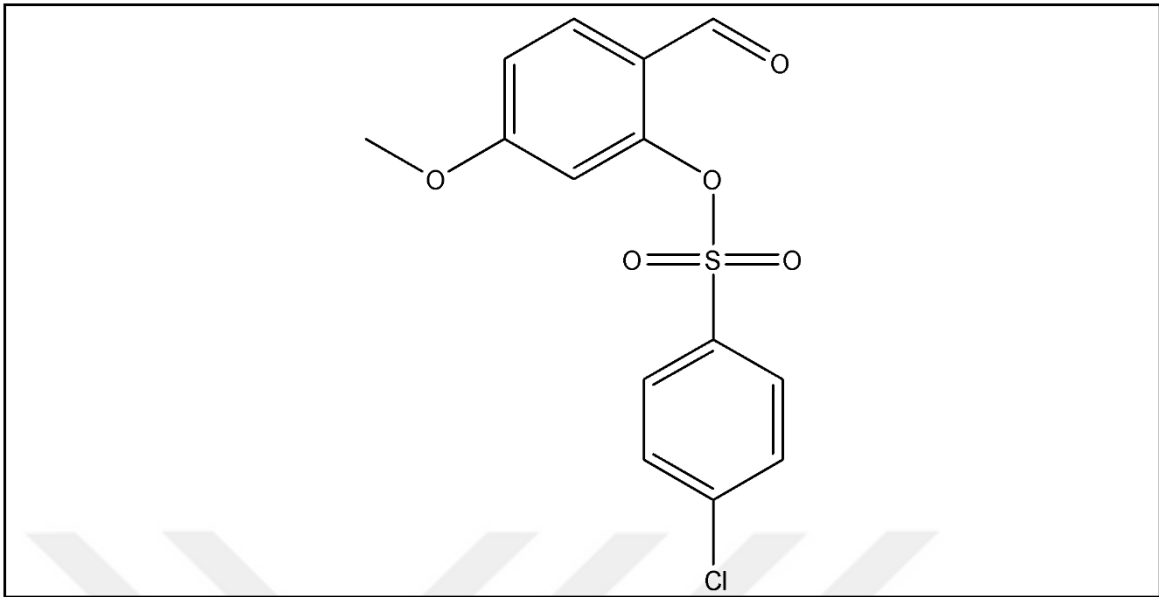
Şekil 4. 7. Bileşik (1d)' nin IR spektrumu

CDCl₃'te ¹H NMR (400 MHz, ppm): δ 10.22 (s, 1H, aldehyt-H), 7.86 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, aromatik-H), 7.55 (t, *J* = 8.3 Hz, 3H, aromatik-H), 7.36 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, aromatik-H), 7.13 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, aromatik-H), 3.57 (s, 3H, -OCH₃).



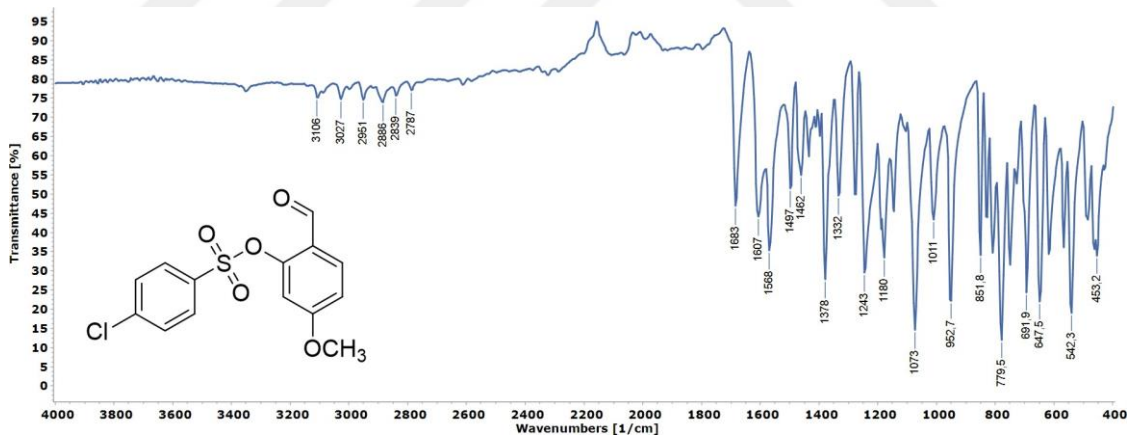
Şekil 4. 8. Bileşik (1d)' nin ¹H NMR spektrumu

4.2.1.5. 2-Formil-5-metoksifenil 4-klorobenzen Sülfonat (1e)



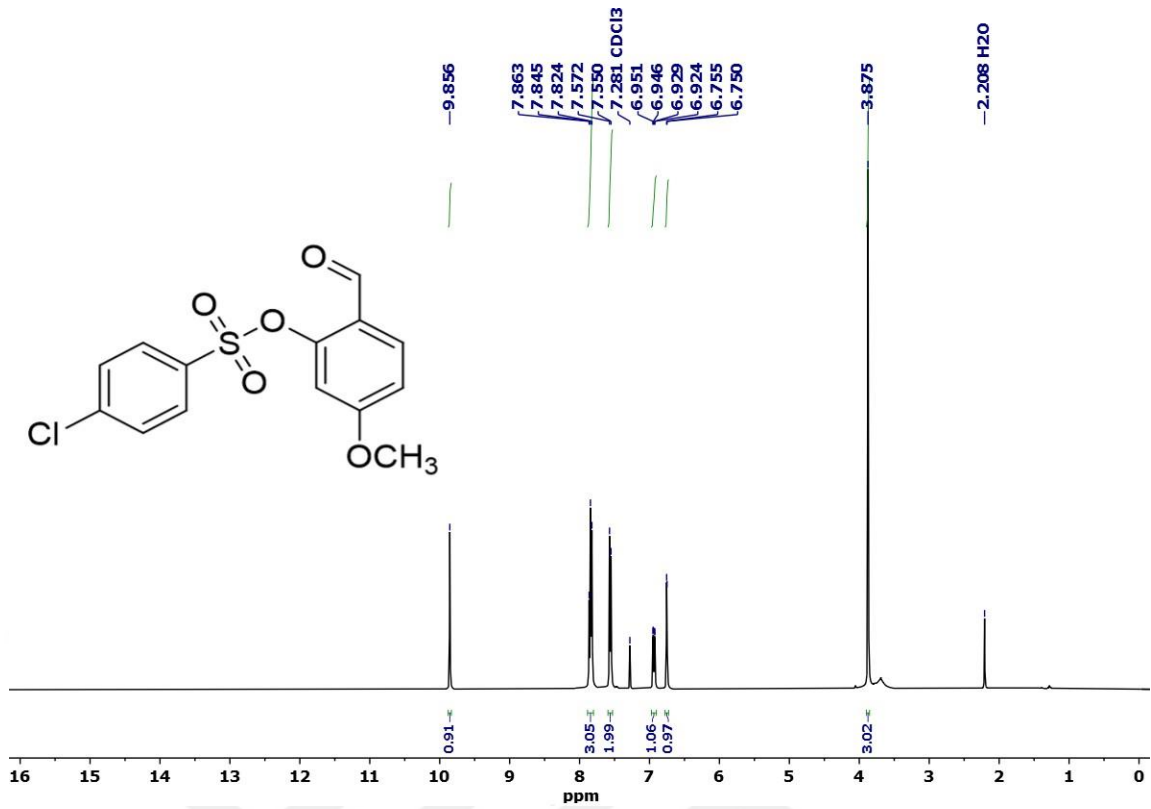
Beyaz katı, verim: %82, erime noktası: 97-98 °C.

FT-IR (cm⁻¹, $\nu_{\max}$): 3106, 3027 (C-H, aromatik gb.), 2839, 2787 (C-H, aldehit gb.), 1683 (C=O gb.), 1378 (SO₂, asimetrik gb.), 1180 (SO₂, simetrik gb.).



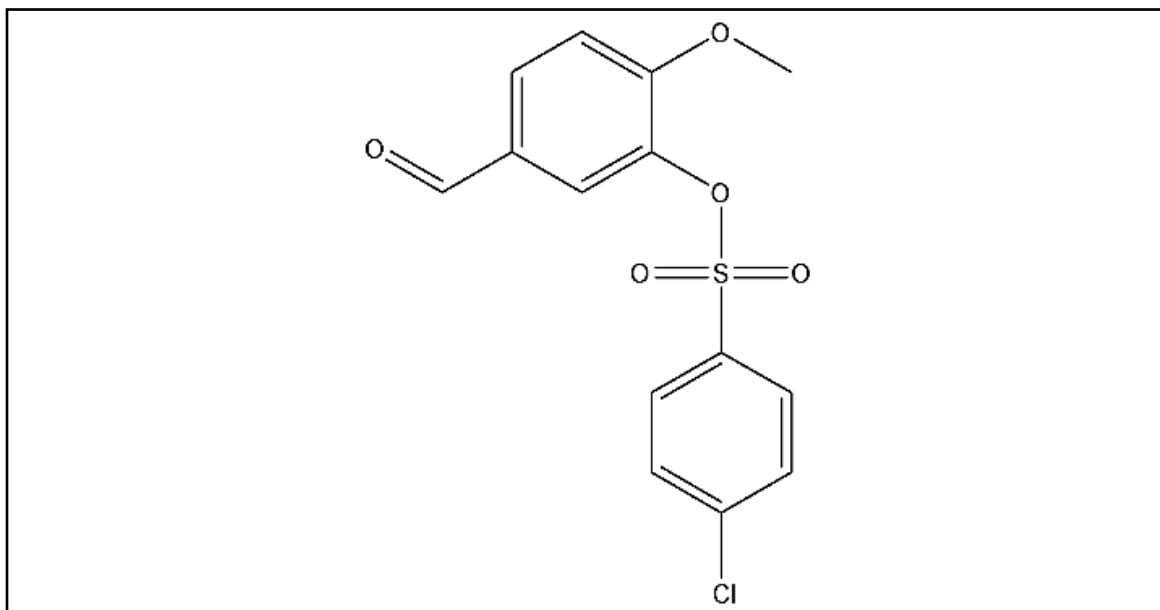
Şekil 4. 9. Bileşik (1e)' nin IR spektrumu

CDCl₃'te ¹H NMR (400 MHz, ppm): δ 9.86 (s, 1H, aldehit-H), 7.89 – 7.80 (m, 3H, aromatik-H), 7.56 (d, J = 8.5 Hz, 2H, aromatik-H), 6.94 (dd, J = 8.7, 2.1 Hz, 1H, aromatik-H), 6.75 (d, J = 2.0 Hz, 1H, aromatik-H), 3.88 (s, 3H, -OCH₃).



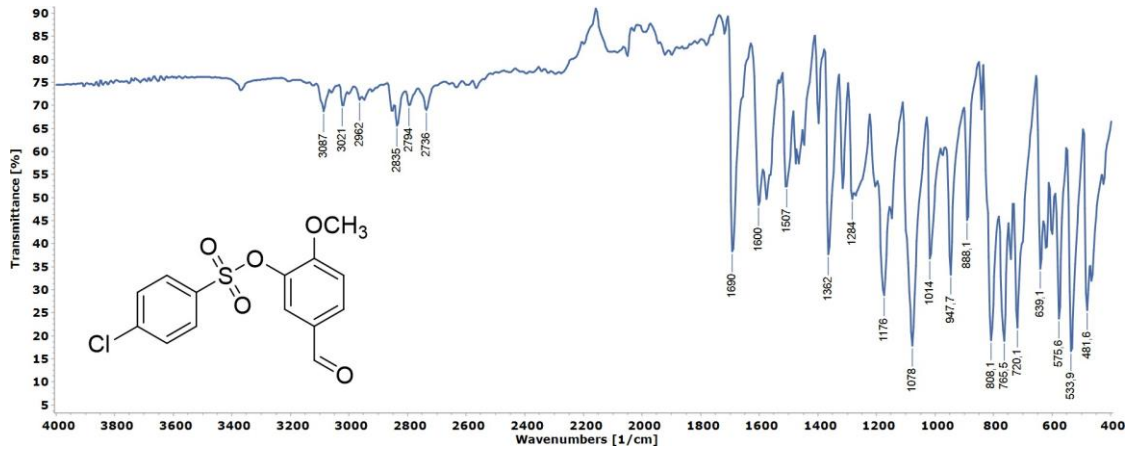
Şekil 4. 10. Bileşik (1e)' nin ¹H NMR spektrumu

4.2.1.6. 5-Formil-2-metoksifenil 4-klorobenzenesülfonat (1f)



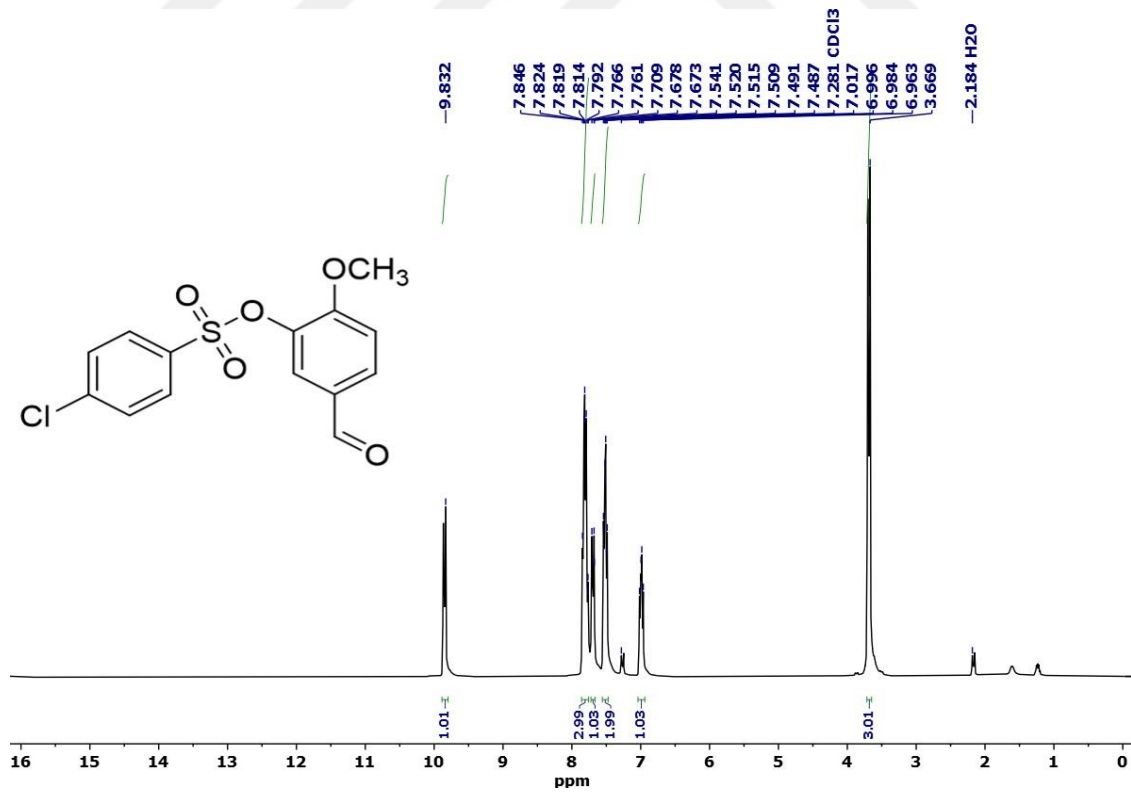
Beyaz katı, verim: %80, erime noktası: 135-137 °C.

FT-IR (cm^{-1} , ν_{max}): 3087, 3021 (C-H, aromatik str.), 2794, 2736 (C-H, aldehit gb.), 1690 (C=O gb.), 1362 (SO₂, asimetrik gb.), 1176 (SO₂, simetrik gb.).



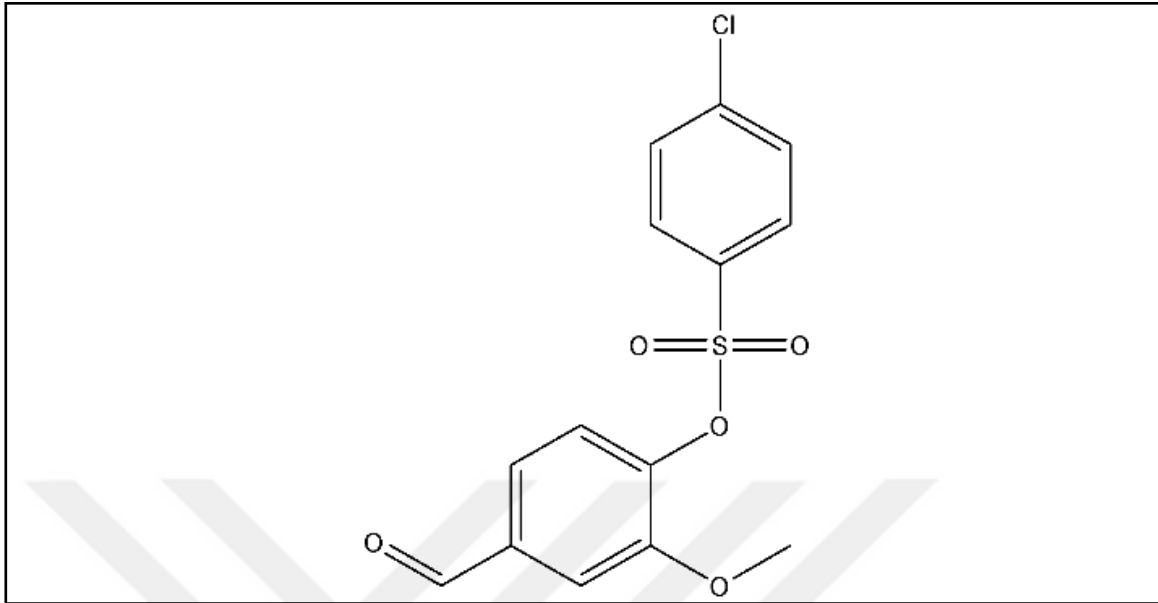
Şekil 4. 11. Bileşik (1f)' nin IR spektrumu

CDCl₃'te ¹H NMR (400 MHz, ppm): δ 9.83 (s, 1H, aldehit-H), 7.86 – 7.76 (m, 3H, aromatik-H), 7.72 – 7.66 (m, 1H, aromatik-H), 7.54 – 7.49 (m, 2H, aromatik-H), 6.99 (dd, J = 13.3, 8.5 Hz, 1H, aromatik-H), 3.67 (s, 3H, -OCH₃).



Şekil 4. 12. Bileşik (1f)' nin ¹H NMR spektrumu

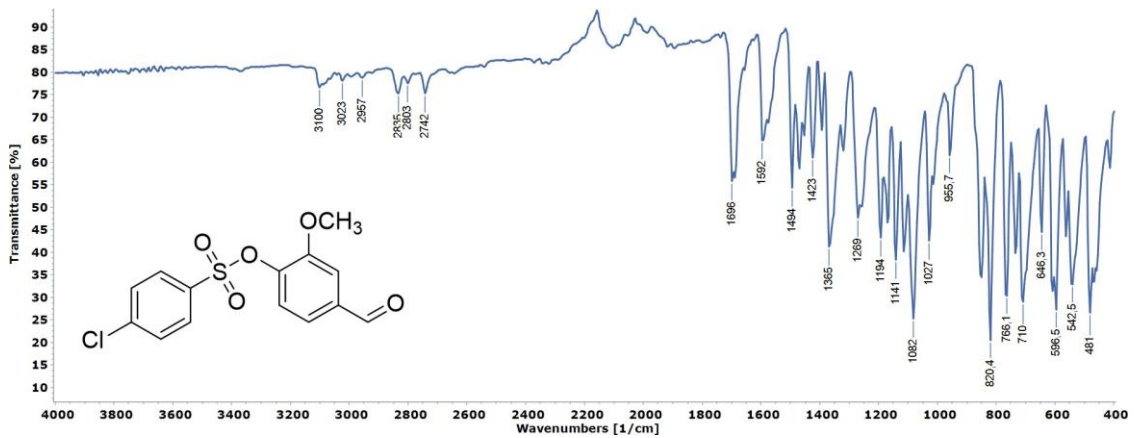
4.2.1.7. 4-Formil-2-metoksifenil 4-klorobenzenesülfonat (1g)



(Mahapatra, Kumar, Kumar, 2017)

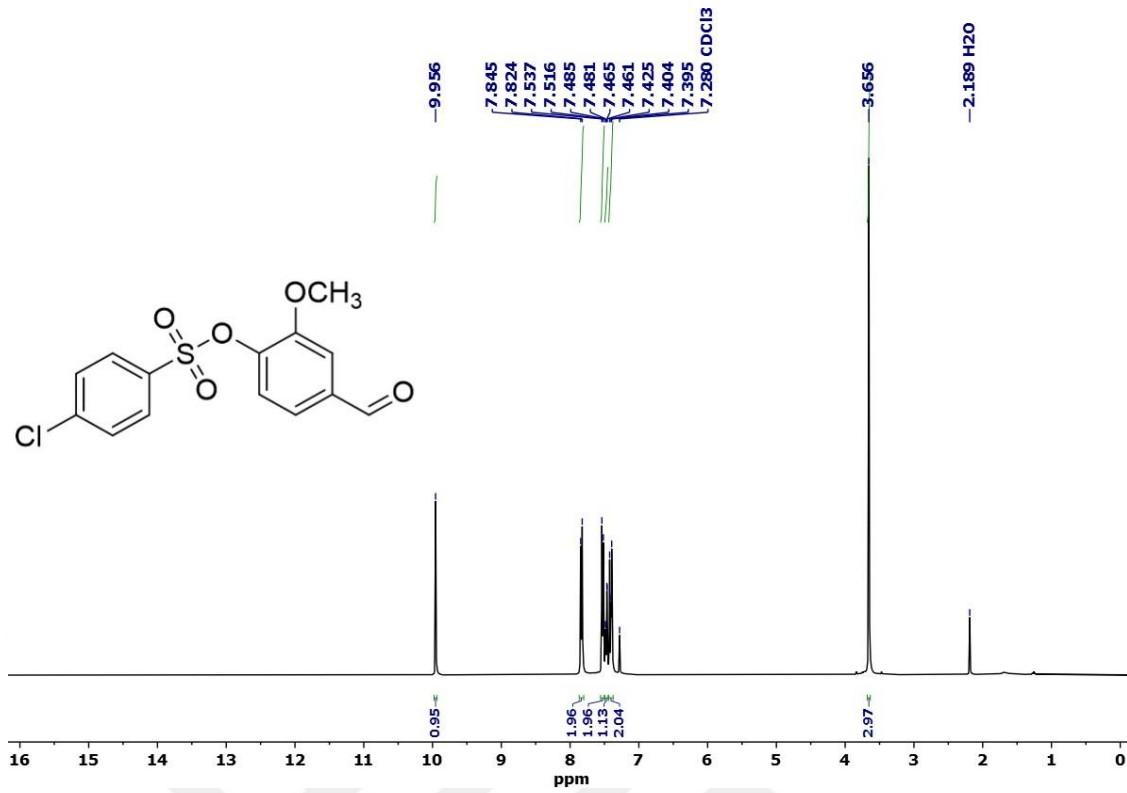
Beyaz katı, verim: %82, erime noktası: 100-101 °C.

FT-IR (cm^{-1} , ν_{max}): 3100, 3023 (C-H, aromatik gb.), 2803, 2742 (C-H, aldehit gb.), 1696 (C=O gb.), 1365 (SO_2 , asimetric str.), 1141 (SO_2 , simetric gb.).



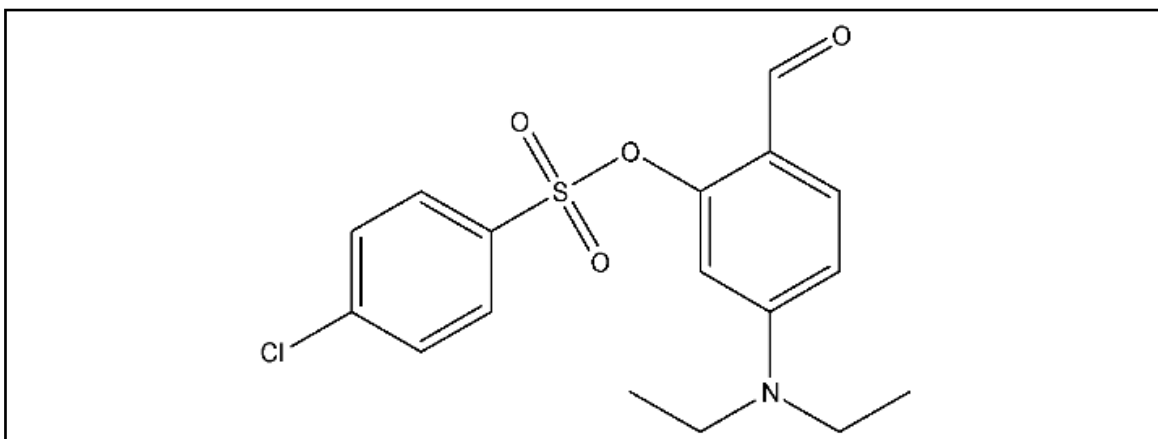
Şekil 4. 13. Bileşik (1g)' nin IR spektrumu

CDCl_3 'te ^1H NMR (400 MHz, ppm): δ 9.96 (s, 1H, aldehit-H), 7.83 (d, J = 8.7 Hz, 2H, aromatik-H), 7.53 (d, J = 8.7 Hz, 2H, aromatik-H), 7.47 (dd, J = 8.1, 1.6 Hz, 1H, aromatik-H), 7.44 – 7.37 (m, 2H, aromatik-H), 3.66 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$).



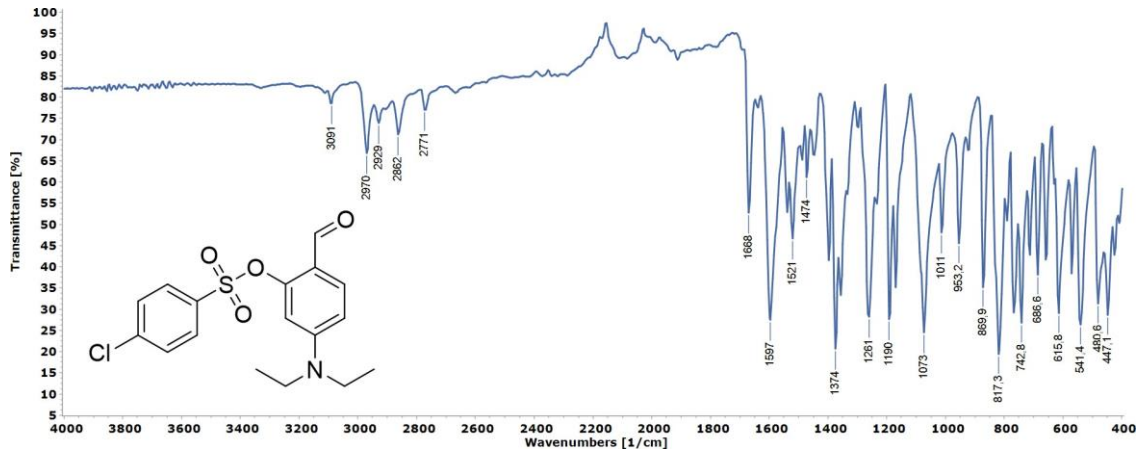
Şekil 4. 14. Bileşik (1g)' nin ¹H NMR spektrumu

4.2.1.1. 5-(Dietilamino)-2-formilfenil 4-klorobenzenesülfonat (1h) (Je, Lee, Huh, 2002)



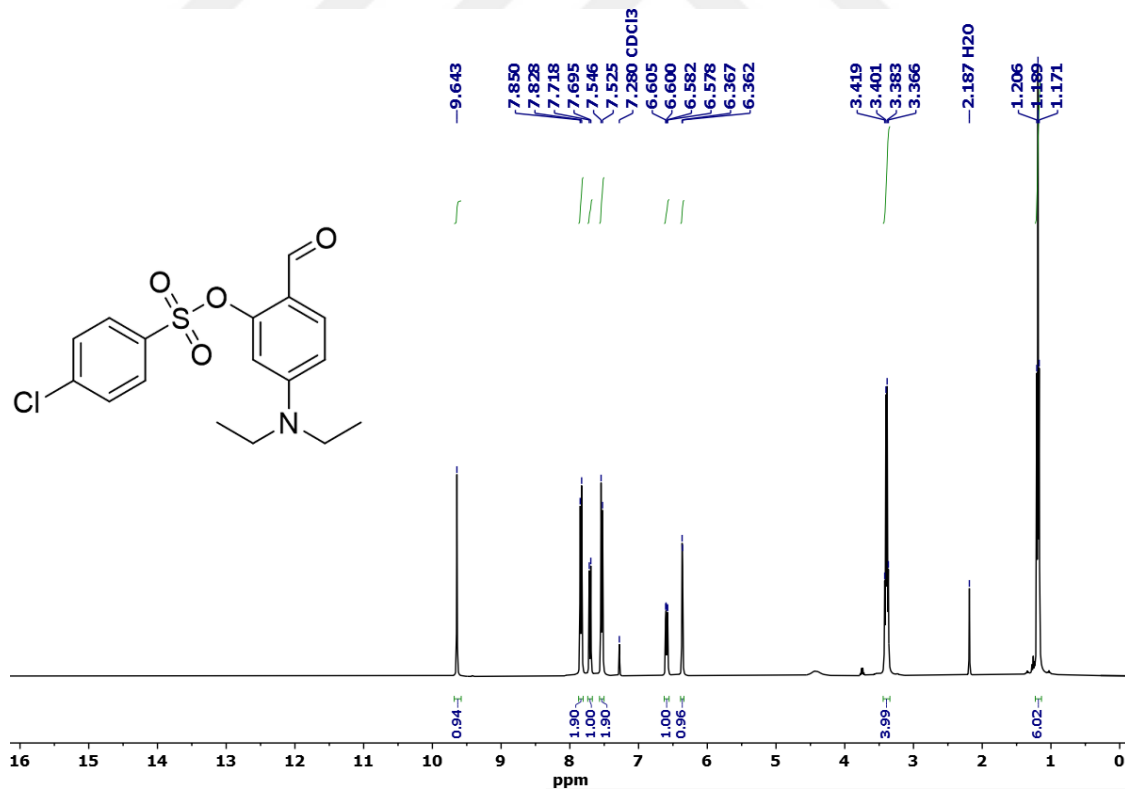
Parlak kahverengi katı, verim: %77, erime noktası: 109-110 °C.

FT-IR (cm⁻¹, ν_{max}): 3091, 2970 (C-H, aromatik gb.), 2862, 2771 (C-H, aldehit gb.), 1668 (C=O gb.), 1374 (SO₂, asimetric gb.), 1190 (SO₂, simetric gb.).



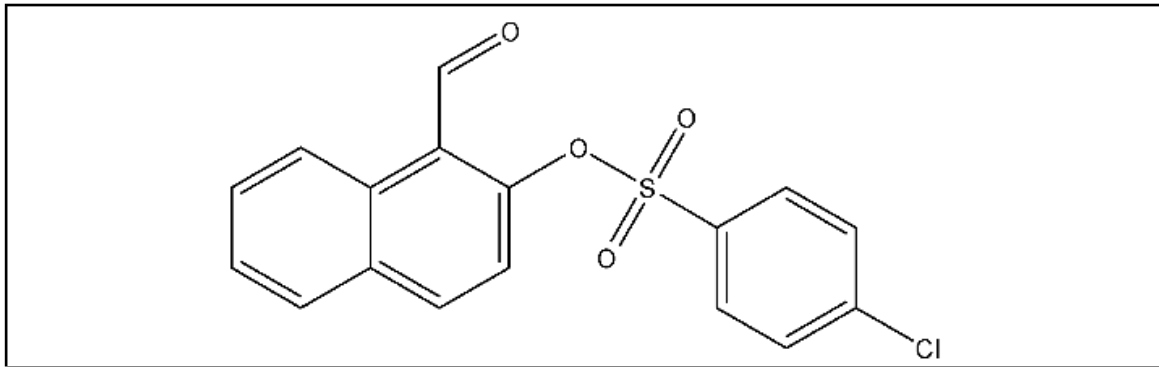
Şekil 4. 15. Bileşik (1h)' nin IR spektrumu

CDCl₃'te ¹H NMR (400 MHz, ppm): δ 9.64 (s, 1H, aldehyt-H), 7.84 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, aromatik-H), 7.71 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, aromatik-H), 7.54 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, aromatik-H), 6.63 – 6.56 (m, 1H, aromatik-H), 6.36 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, aromatik-H), 3.39 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H, –N(CH₂CH₃)₂), 1.19 (t, *J* = 7,1 Hz, 6H, –N(CH₂CH₃)₂).



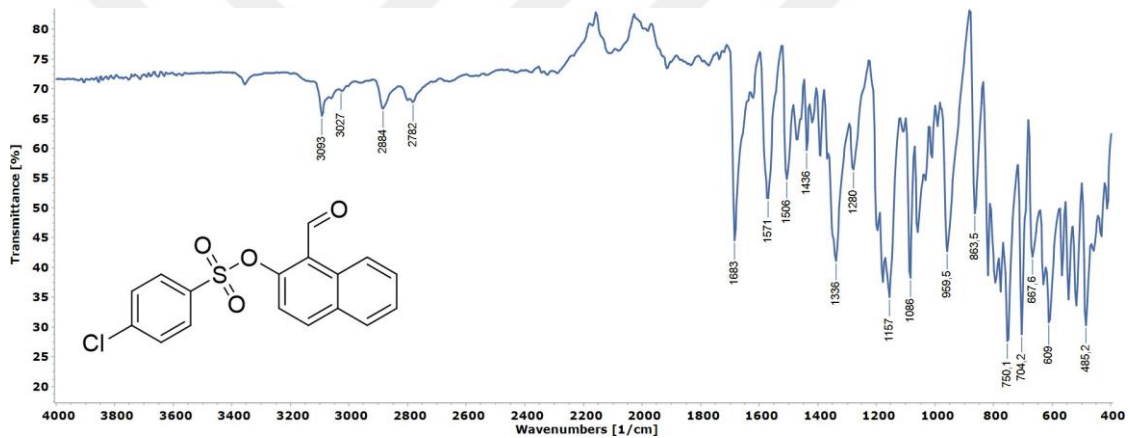
Şekil 4. 16. Bileşik (1h)' nin ¹H NMR spektrumu

4.2.1.2. 1-Formilnaftalin-2-il 4-klorobenzen Sülfonat (1i)



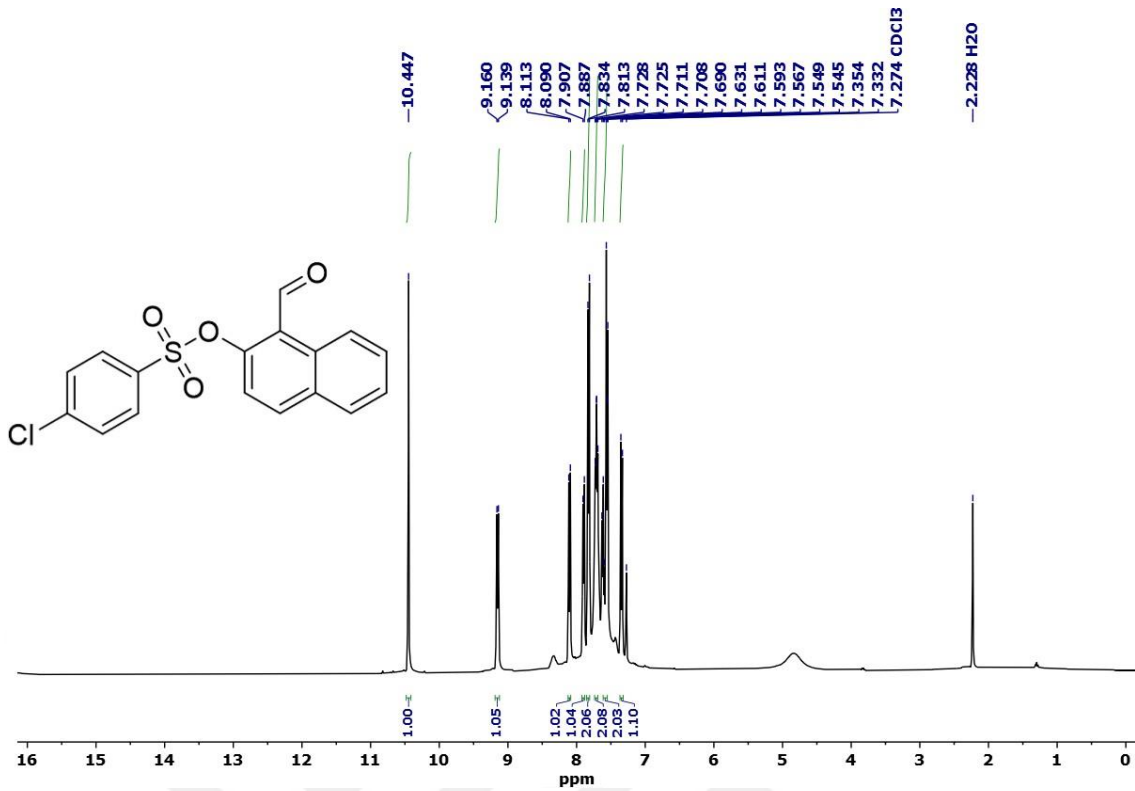
Soluk sarı katı, verim: %81, erime noktası: 132-133 °C.

FT-IR (cm⁻¹, $\nu_{\max}$): 3093, 3027 (C-H, aromatik gb.), 2884, 2782 (C-H, aldehit dizisi), 1683 (C=O dizisi), 1336 (SO₂, asimetric dizi.) , 1157 (SO₂, simetrik str.).



Şekil 4. 17. Bileşik (1i)' nin IR spektrumu

CDCl₃ ¹H NMR (400 MHz, ppm): δ 10.45 (s, 1H, aldehit-H), 9.15 (d, J = 8.5 Hz, 1H, naftil-H), 8.10 (d, J = 8.9 Hz, 1H, naftil-H), 7.90 (d, J = 8.0 Hz, 1H, naftil-H), 7.82 (d, J = 8.7 Hz, 2H, aromatik-H), 7.74 – 7.69 (m, 2H, naftil-H), 7.63 – 7.55 (m, 2H, aromatik-H), 7.34 (d, J = 9.0 Hz, 1H, naftil-H).

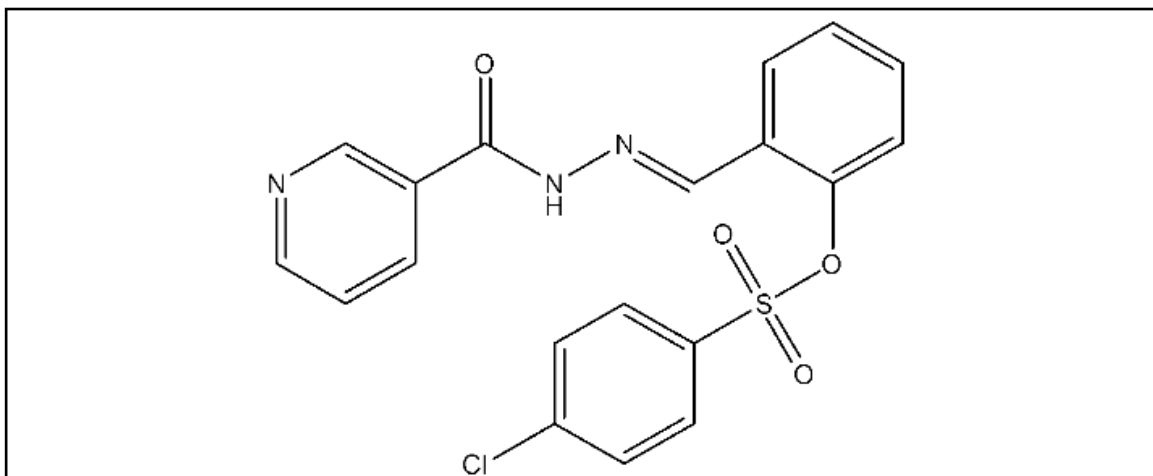


Şekil 4. 18. Bileşik (1i)' nin ¹H NMR spektrumu

4.2.2. Hidrazon Türevlerinin Hazırlanması İçin Genel Prosedür

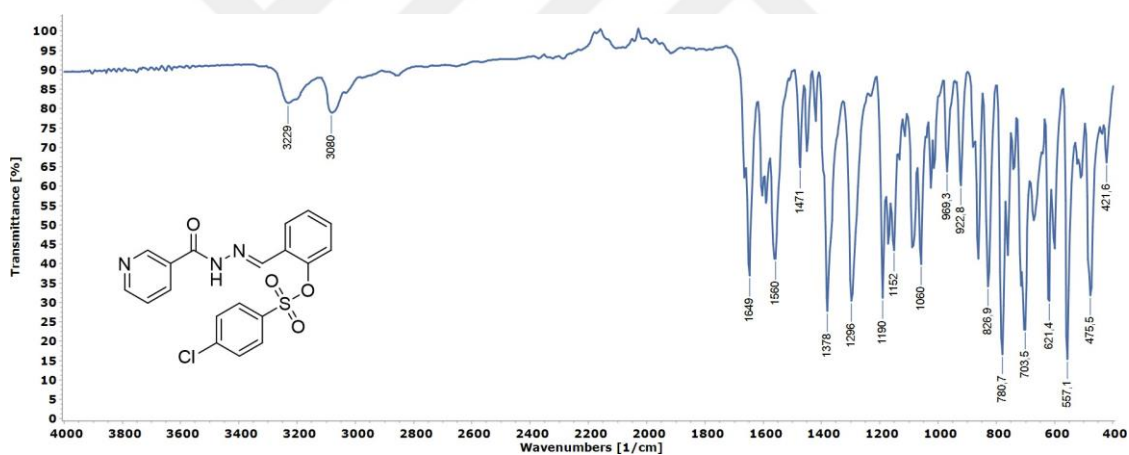
Nikotinik hidrazit (10 mmol) ve karşılık gelen aril sülfonat (10 mmol) 30 mL etanol içinde çözüldü. Reaksiyon karışımı sürekli karıştırılarak yaklaşık 4 saat geri akıtıldı ve daha sonra oda sıcaklığına soğumasına izin verildi. Bu işlemten sonra, ham ürün filtrasyon ile uzaklaştırıldı, birkaç kez dietil eter ile iyice yıkandı ve daha sonra hidrazon türevi elde etmek için etanol ile kristalleştirildi (Başaran, ve ark., 2022; Çakmak, ve ark., 2022).

4.2.2.1. 2-((2-Nikotinoilhidrazono)metil)fenil 4-klorobenzenesülfonat (2a)



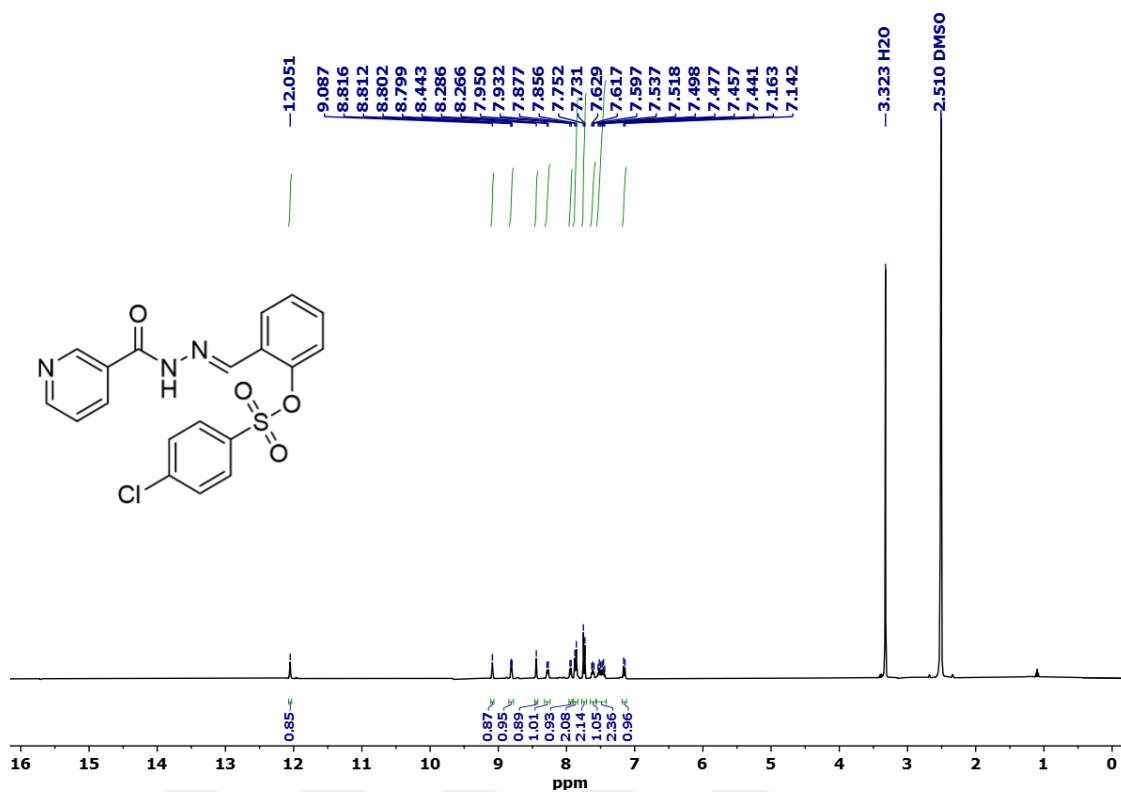
Beyaz katı, verim: %74, erime noktası: 159-160 °C.

FT-IR (cm⁻¹, ν_{msx}): 3229 (N-H gb.), 3080 (C-H, aromatik gb.), 1649 (C=O gb.), 1560 (C=N gb.), 1378 (SO₂, asimetrik gb.), 1190 (SO₂, simetrik gb.).



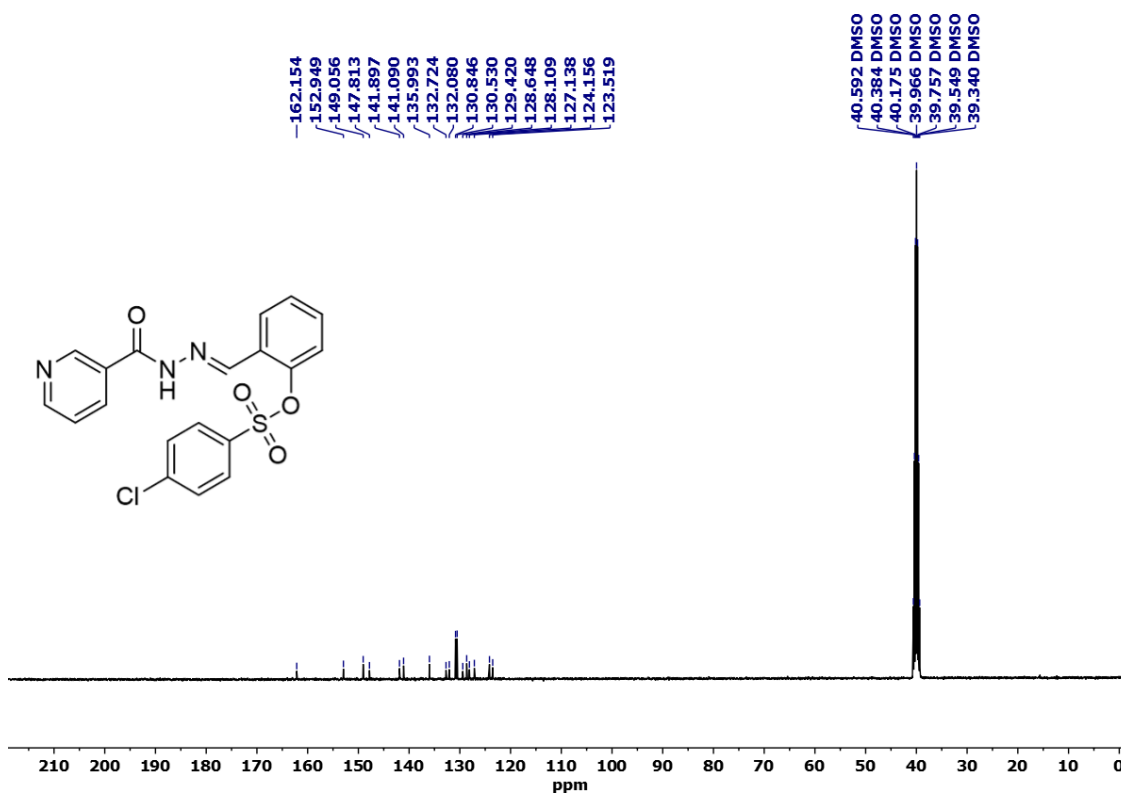
Şekil 4. 19. Bileşik (2a)'nın IR spektrumu

¹H NMR (400 MHz, ppm)(DMSO-d₆): δ 12.05 (s, 1H, -CONH), 9.09 (s, 1H, piridin-H), 8.85 – 8.78 (m, 1H, piridin-H), 8.44 (s, 1H, -CH=N), 8.28 (d, J = 7.7 Hz, 1H, piridin-H), 7.94 (d, J = 7.0 Hz, 1H, aromatik-H), 7.87 (d, J = 8.6 Hz, 2H, aromatik-H), 7.74 (d, J = 8.6 Hz, 2H, aromatik-H), 7.63 – 7.59 (m, 1H, piridin-H), 7.56 – 7.42 (m, 2H, aromatik-H), 7.15 (d, J = 8.1 Hz, 1H, aromatik-H).



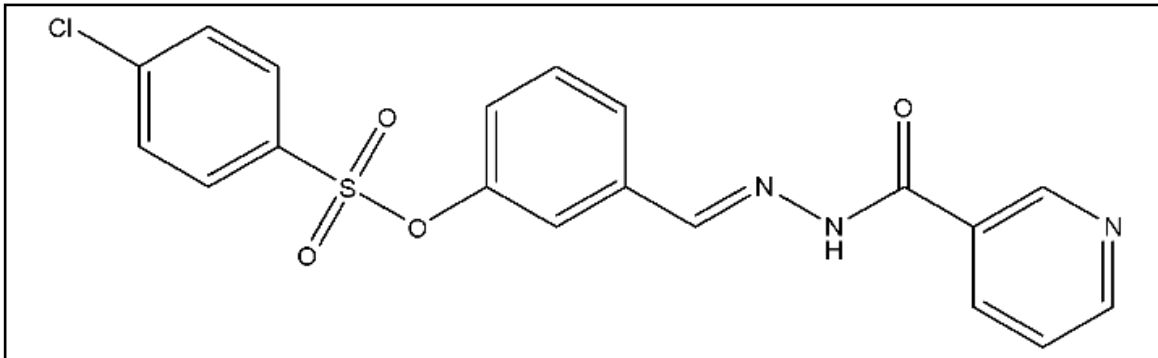
Şekil 4. 20. Bileşik (2a)'nın ¹H NMR spektrumu

¹³C NMR (100 MHz, ppm)(DMSO-d₆): 162.15, 152.95, 149.06, 147.81, 141.90, 141.09, 135.99, 132.72, 132.08, 130.85, 130.53, 129.42, 128.65, 128.11, 127.14, 124.16, 123.52.



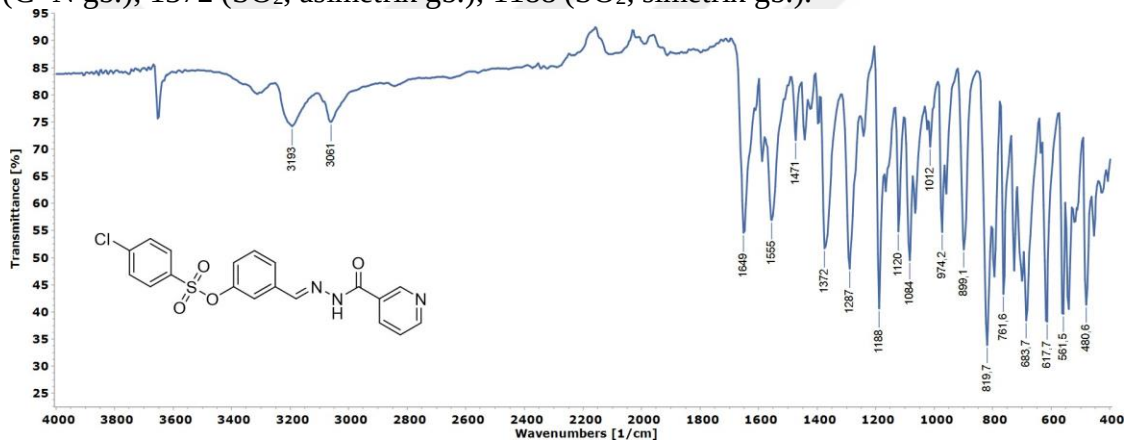
Şekil 4. 21. Bileşik (2a)'nın ¹³C NMR spektrumu

4.2.2.2. 3-((2-Nikotinoilhidrazon)metil)fenil 4-klorobenzen Sülfonat (2b)



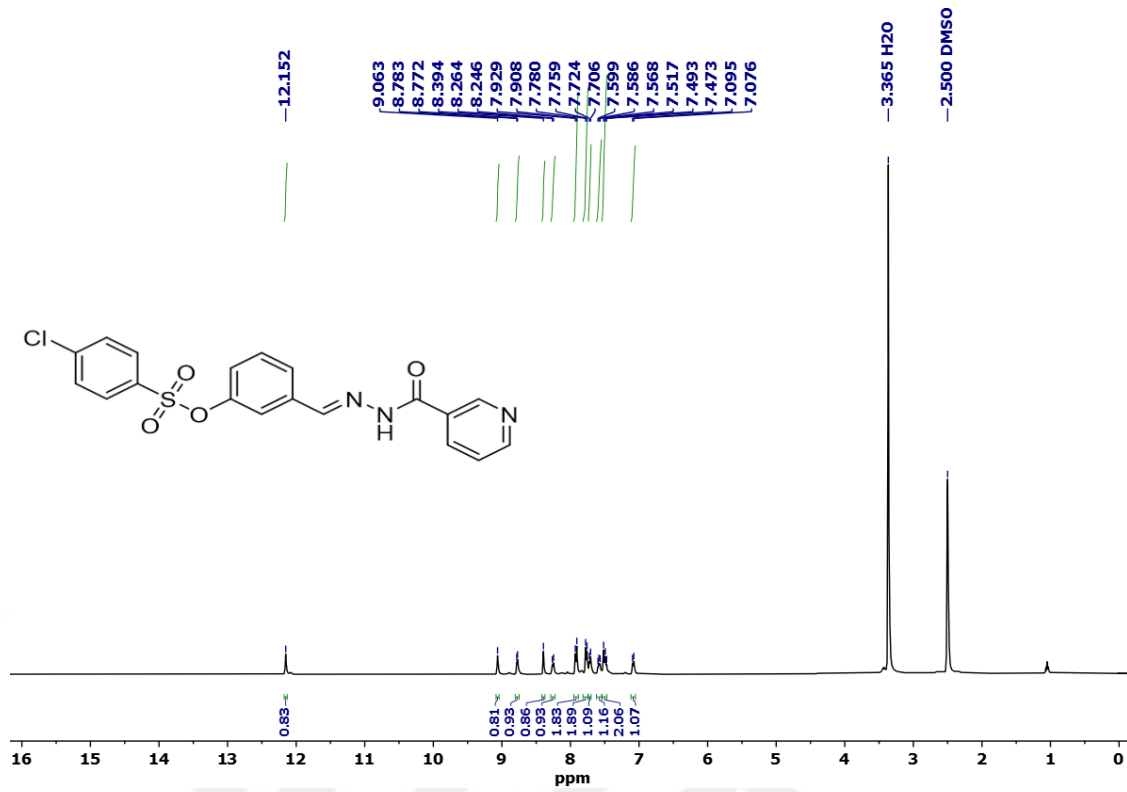
Beyaz katı, verim: %78, erime noktası: 163-164 °C.

FT-IR (cm⁻¹, $\nu_{\max}$): 3193 (N-H gb.), 3061 (C-H, aromatik gb.), 1649 (C=O gb.), 1555 (C=N gb.), 1372 (SO₂, asimetrik gb.), 1188 (SO₂, simetrik gb.).



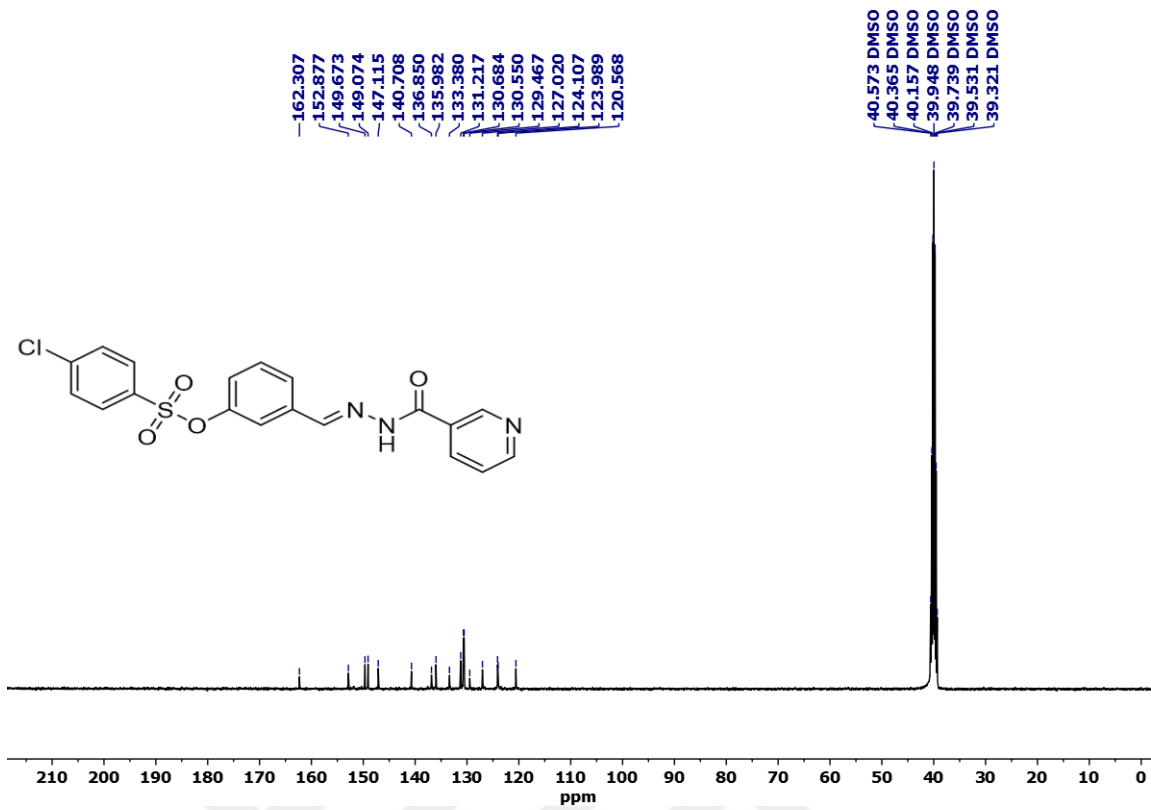
Şekil 4. 22. Bileşik (2b)' nin IR spektrumu

¹H NMR (400 MHz, ppm)(DMSO-d₆): δ 12.15 (s, 1H, -CONH), 9.06 (s, 1H, piridin-H), 8.78 (d, J = 4.5 Hz, 1H, piridin-H), 8.39 (s, 1H, -CH=N), 8.26 (d, J = 7.5 Hz, 1H, piridin-H), 7.92 (d, J = 8.4 Hz, 2H, aromatik-H), 7.77 (d, J = 8.3 Hz, 2H, aromatik-H), 7.72 (d, J = 7.2 Hz, 1H, aromatik-H), 7.62 – 7.55 (m, 1H, piridin-H), 7.54 – 7.47 (m, 2H, aromatik-H), 7.09 (d, J = 7.9 Hz, 1H, aromatik-H).



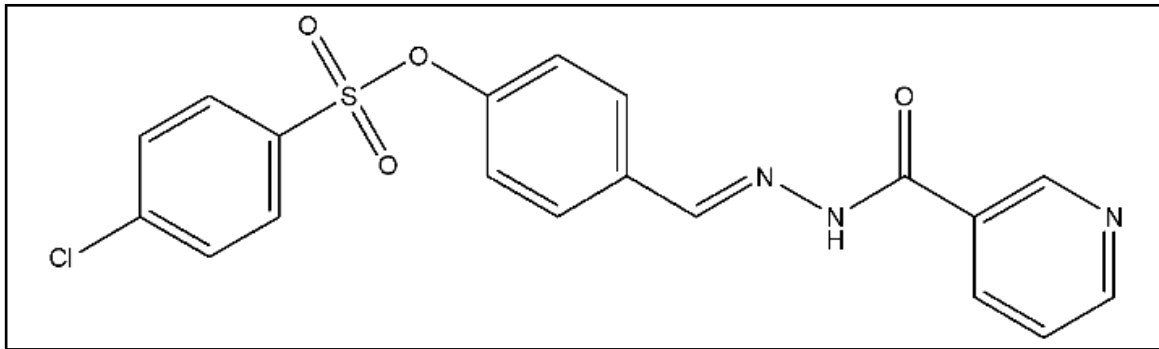
Şekil 4. 23. Bileşik (2b)' nin ¹H NMR spektrumu

¹³C NMR (100 MHz, ppm)(DMSO-d₆): 162.31, 152.88, 149.67, 149.07, 147.12, 140.71, 136.85, 135.98, 133.38, 131.22, 130.68, 130.55, 129.47, 127.02, 124.11, 123.99, 120.57.



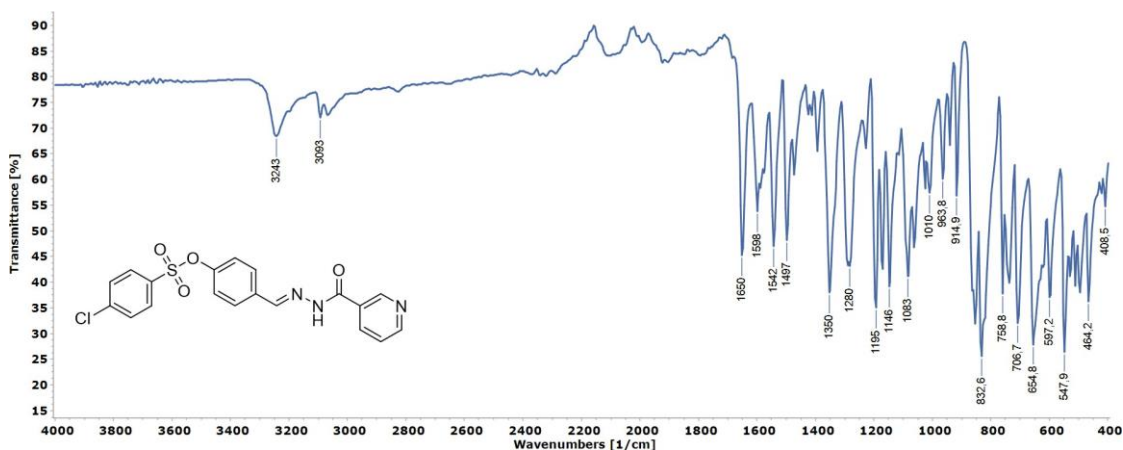
Şekil 4. 24. Bileşik (2b)' nin ¹³C NMR spektrumu

4.2.2.3. 4-((2-Nikotinoilhidrazono)metil)fenil 4-klorobenzenesülfonat (2c)



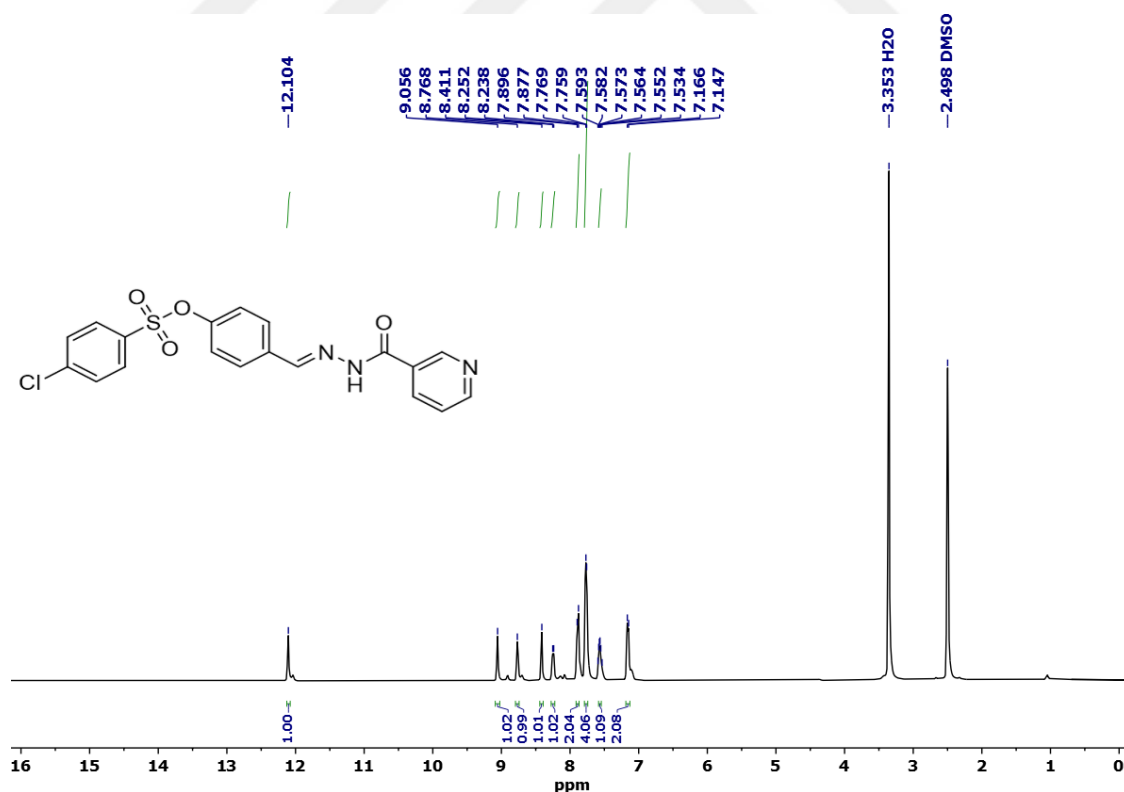
Beyaz katı, verim: %81, erime noktası: 203 °C.

FT-IR (cm⁻¹, ν_{max}): 3243 (N-H gb.), 3093 (C-H, aromatik gb.), 1650 (C=O gb.), 1598 (C=N gb.), 1350 (SO₂, asimetrik gb.), 1146 (SO₂, simetrik gb.).



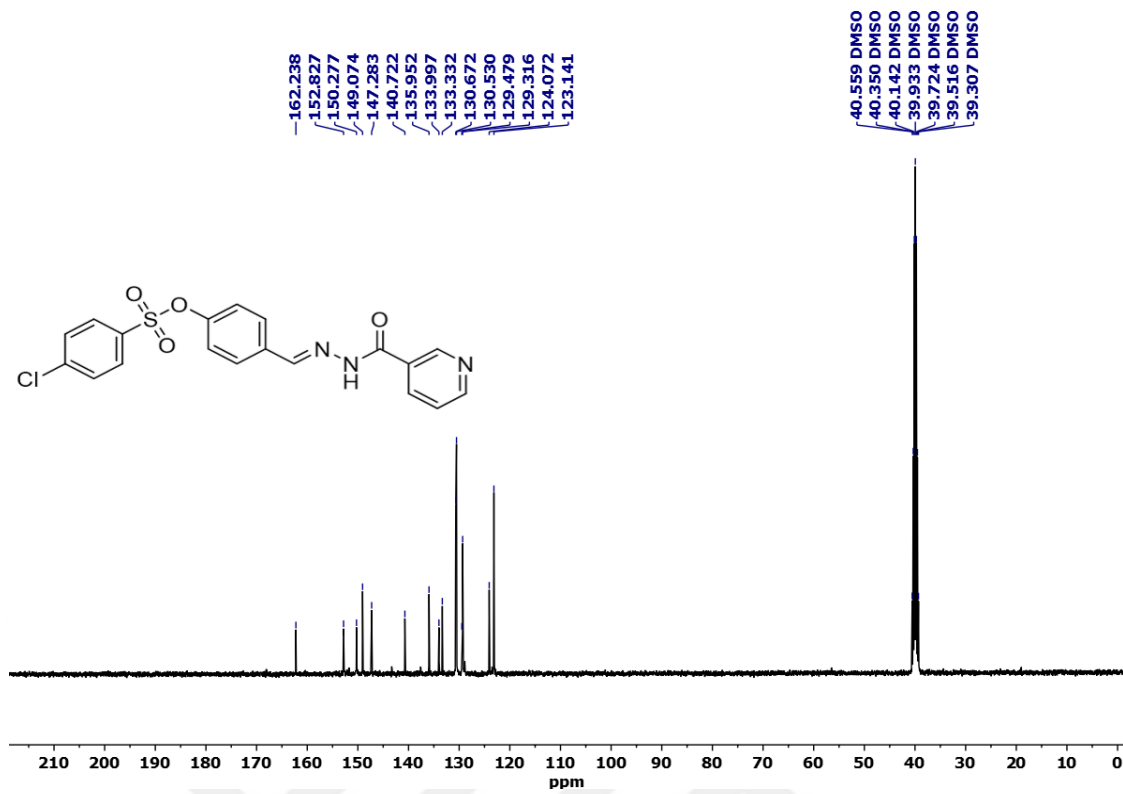
Şekil 4. 25. Bileşik (2c)' nin IR spektrumu

^1H NMR (400 MHz, ppm)DMSO- d_6 : δ 12.10 (s, 1H, -CONH), 9.06 (s, 1H, piridin-H), 8.77 (s, 1H, piridin-H), 8.41 (s, 1H, -CH=N), 8.28 – 8.22 (m, 1H, piridin-H), 7.89 (d, J = 7.7 Hz, 2H, aromatik-H), 7.79 – 7.74 (m, 4H, aromatik-H), 7.59 – 7.53 (m, 1H, piridin-H), 7.16 (d, J = 7.6 Hz, 2H, aromatik-H). ,



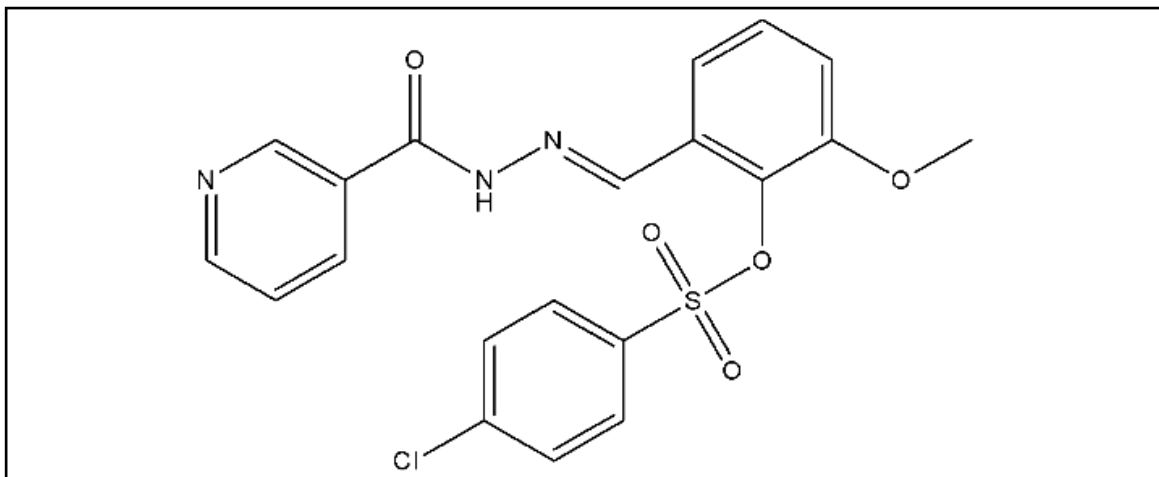
Şekil 4. 26. Bileşik (2c)' nin ^1H NMR spektrumu

^{13}C NMR (100 MHz, ppm)(DMSO- d_6): 162.24, 152.83, 150.28, 149.07, 147.28, 140.72, 135.95, 134.00, 133.33, 130.67, 130.53, 129.48, 129.32, 124.07, 123.14.



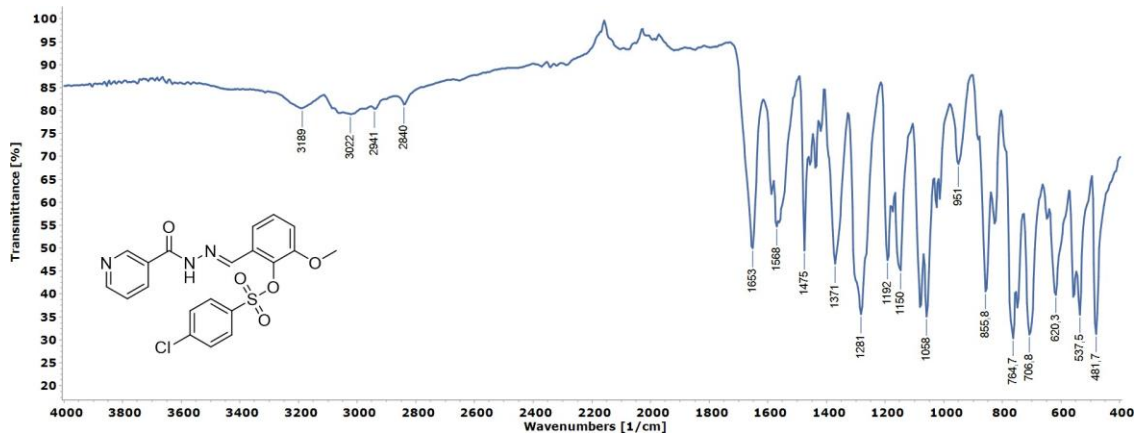
Şekil 4. 27. Bileşik (2b)' nin ¹³C NMR spektrumu

4.2.2.4. 2-Metoksi-6-((2-nikotinofilhidrazon)metil)fenil 4-klorobenzenesülfonat (2d)



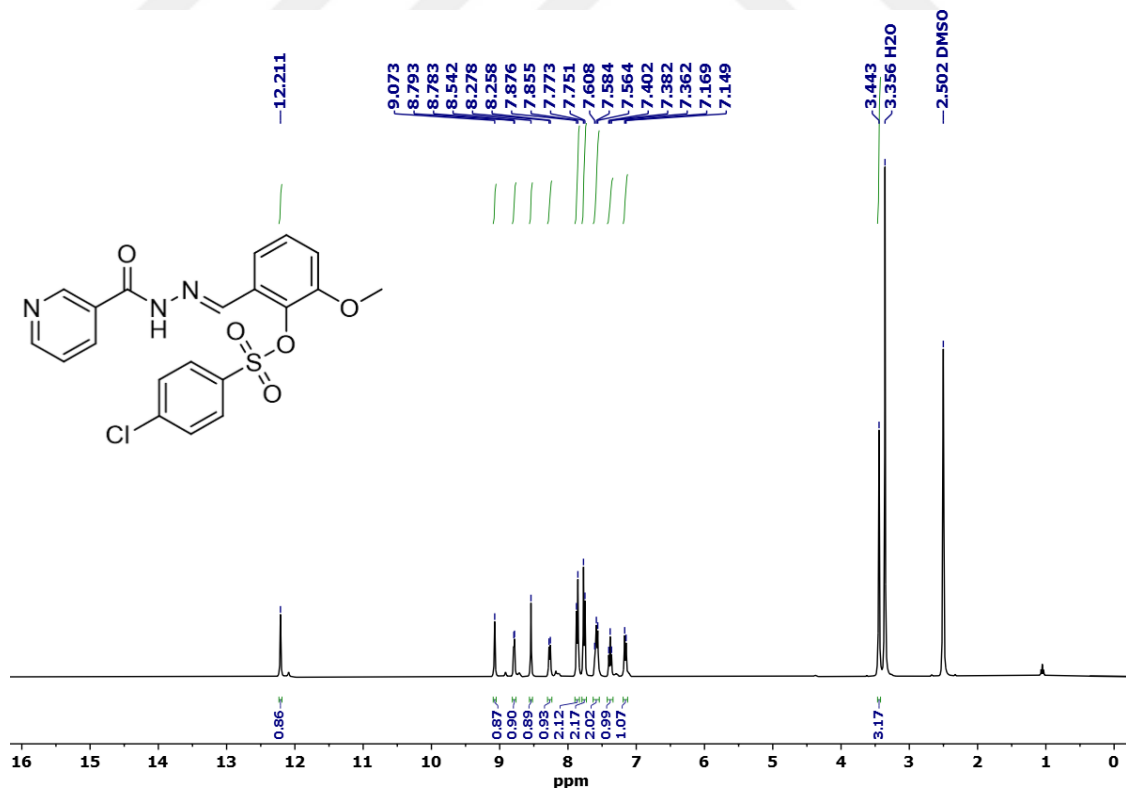
Beyaz katı, verim: %78, erime noktası: 173-174 °C.

FT-IR (cm⁻¹, $\nu_{\max}$): 3189 (N-H gb.), 3022 (C-H, aromatik gb.), 1653 (C=O gb.), 1568 (C=N gb.), 1371 (SO₂, asimetric gb.), 1150 (SO₂, simetric gb.).



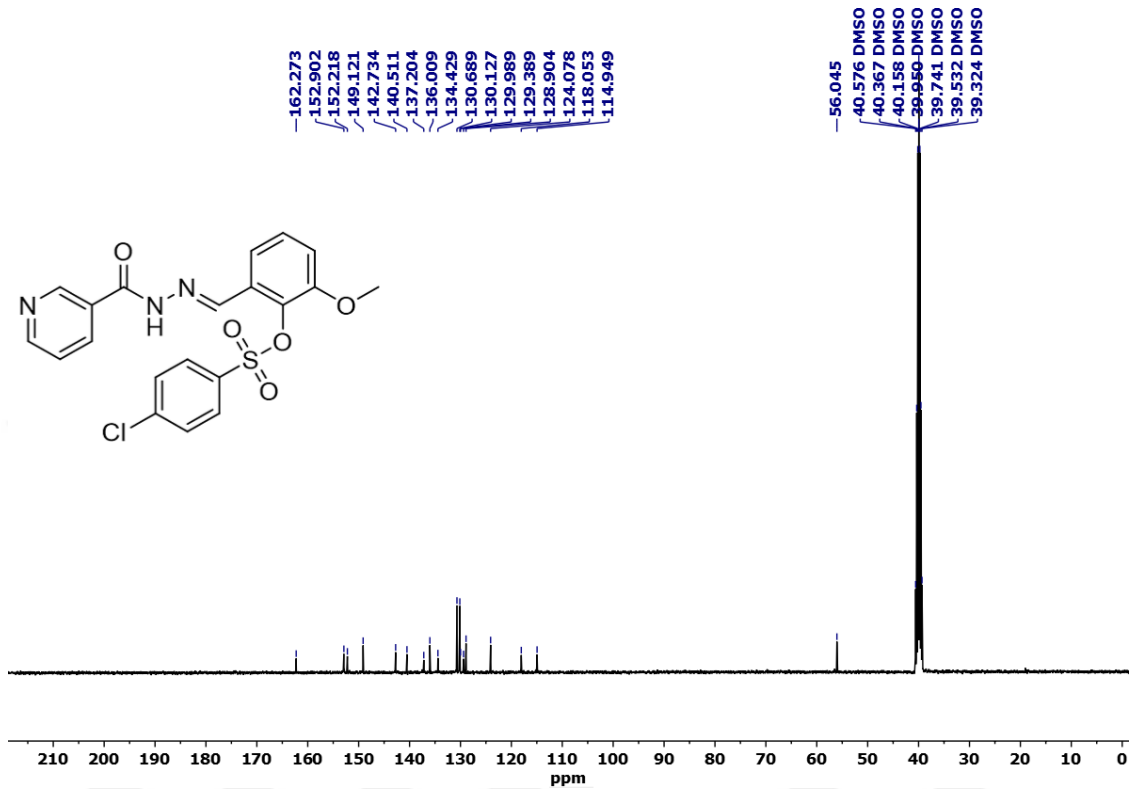
Şekil 4. 28. Bileşik (2d)' nin IR spektrumu

^1H NMR (400 MHz, ppm)(DMSO- d_6): δ 12.21 (s, 1H, -CONH), 9.07 (s, 1H, piridin-H), 8.79 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H, piridin-H), 8.54 (s, 1H, -CH=N), 8.27 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, piridin-H), 7.87 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, aromatik-H), 7.76 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, aromatik-H), 7.63 – 7.54 (m, 2H, aromatik-H ve piridin-H), 7.38 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H, aromatik-H), 7.16 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, aromatik-H), 3.44 (s, 3H, -OCH₃).



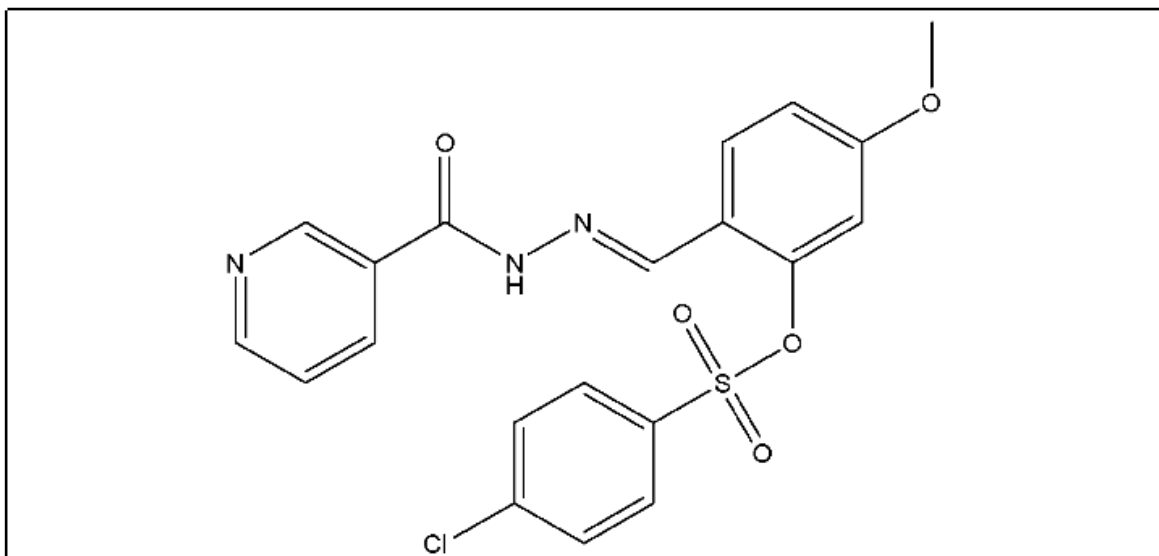
Şekil 4. 29. Bileşik (2d)' nin ^1H NMR spektrumu

¹³C NMR (100 MHz, ppm)(DMSO-d₆): 162.27, 152.90, 152.22, 149.12, 142.73, 140.51, 137.20, 136.01, 134.43, 130.69, 130.13, 129.99, 129.39, 128.90, 124.08, 118.05, 114.95, 56.05 (-OCH₃).



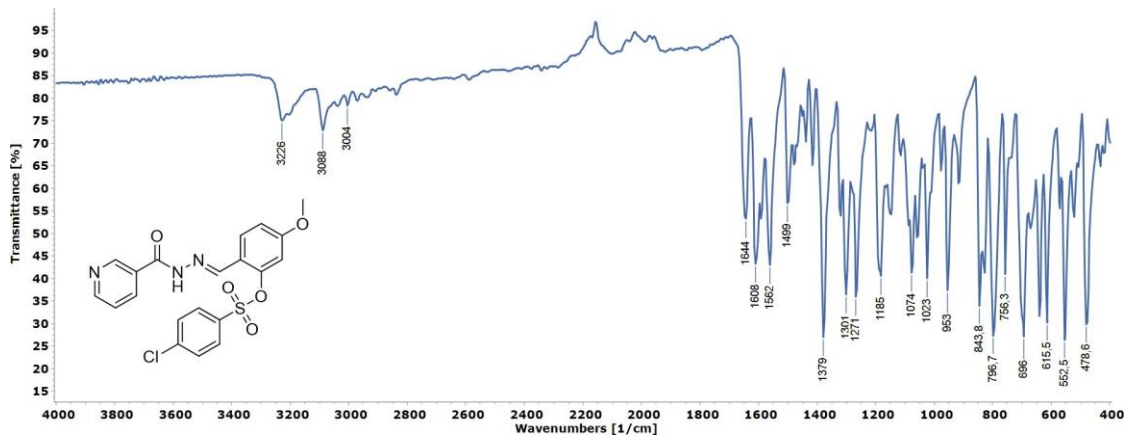
Şekil 4. 30. Bileşik (2d)' nin ¹³C NMR spektrumu

4.2.2.5. 5-Metoksi-2-((2-nikotinofilhidrazon)metil)fenil 4-klorobenzenesülfonat (2e)



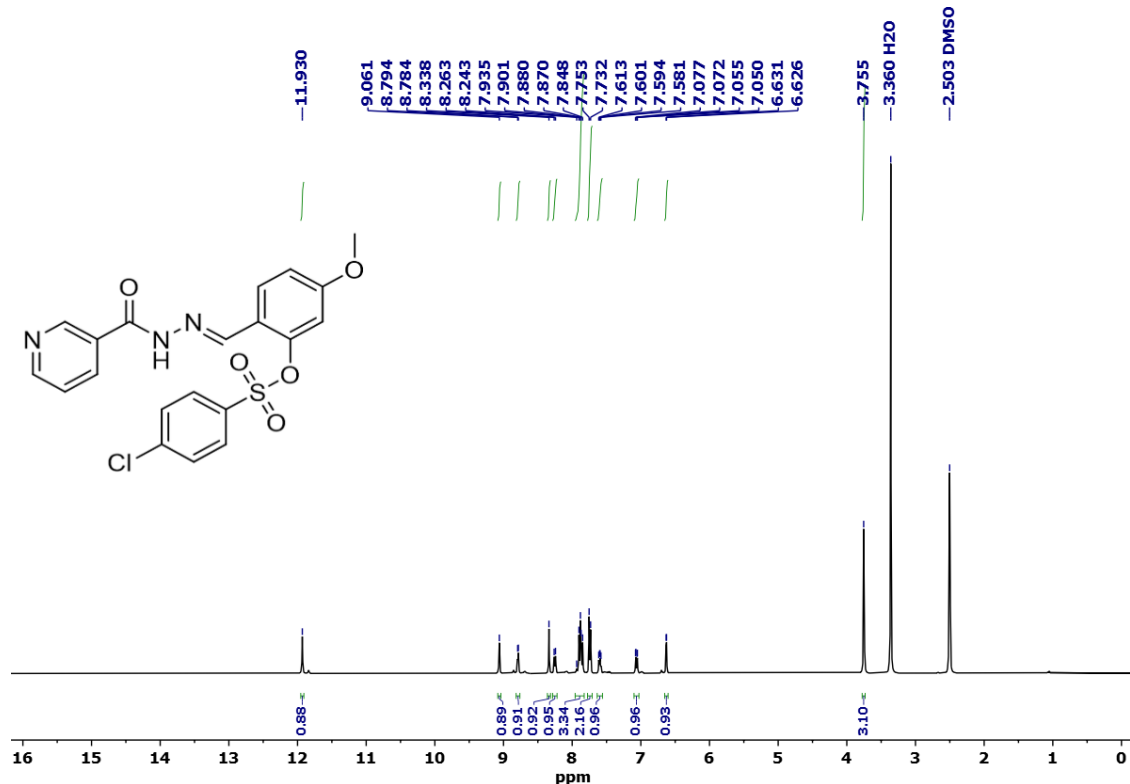
Beyaz katı, verim: %75, erime noktası: 199-200 °C.

FT-IR (cm^{-1} , ν_{max}): 3226 (N-H gb.), 3088 (C-H, aromatik gb.), 1644 (C=O gb.), 1562 (C=N gb.), 1379 (SO_2 , asimetrik gb.), 1185 (SO_2 , simetrik gb.).



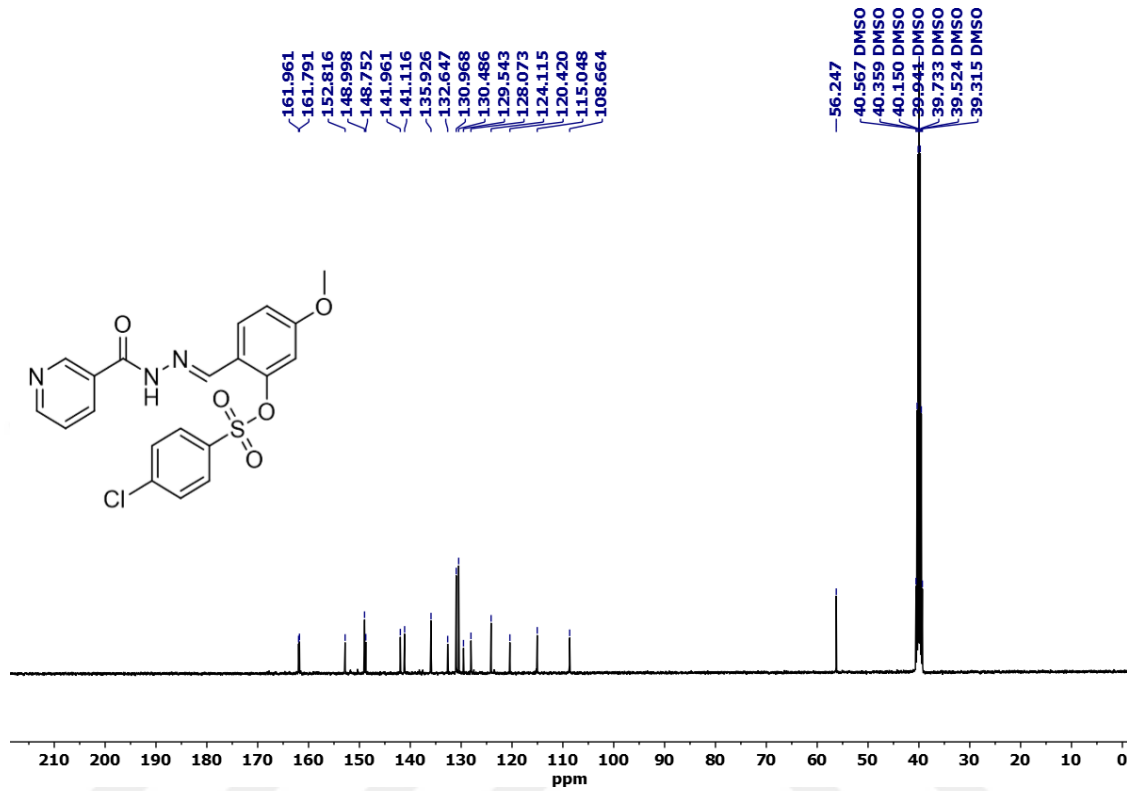
Şekil 4. 31. Bileşik (2e)' nin IR spektrumu

^1H NMR (400 MHz, ppm)(DMSO- d_6): δ 11.93 (s, 1H, -CONH), 9.06 (s, 1H, piridin-H), 8.79 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H, piridin-H), 8.34 (s, 1H, -CH=N), 8.25 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, piridin-H), 7.87 (dd, $J = 12.7, 8.8$ Hz, 3H, aromatik-H), 7.74 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, aromatik-H), 7.61 – 7.58 (m, 1H, piridin-H), 7.10 – 7.03 (m, 1H, aromatik-H), 6.63 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H, aromatik-H), 3.75 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$).



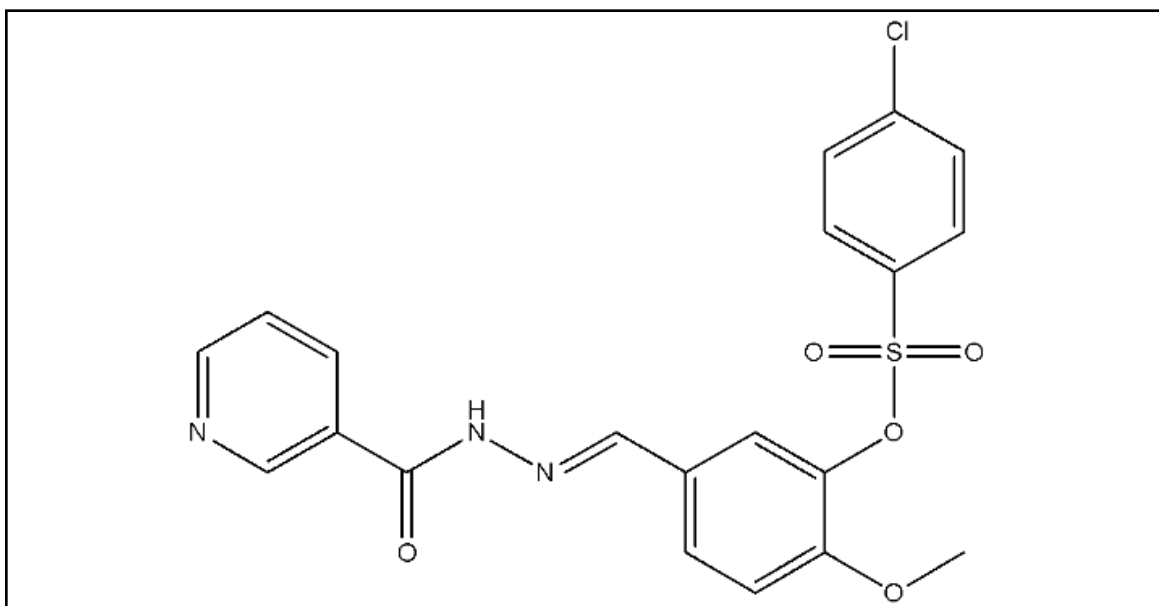
Şekil 4. 32. Bileşik (2e)' nin ^1H NMR spektrumu

¹³C NMR (100 MHz, ppm)(DMSO-d6): 161.96, 161.79, 152.82, 149.00, 148.75, 141.96, 141.12, 135.93, 132.65, 130.97, 130.49, 129.54, 128.07, 124.12, 120.42, 115.05, 108.66, 56.25 (-OCH₃).



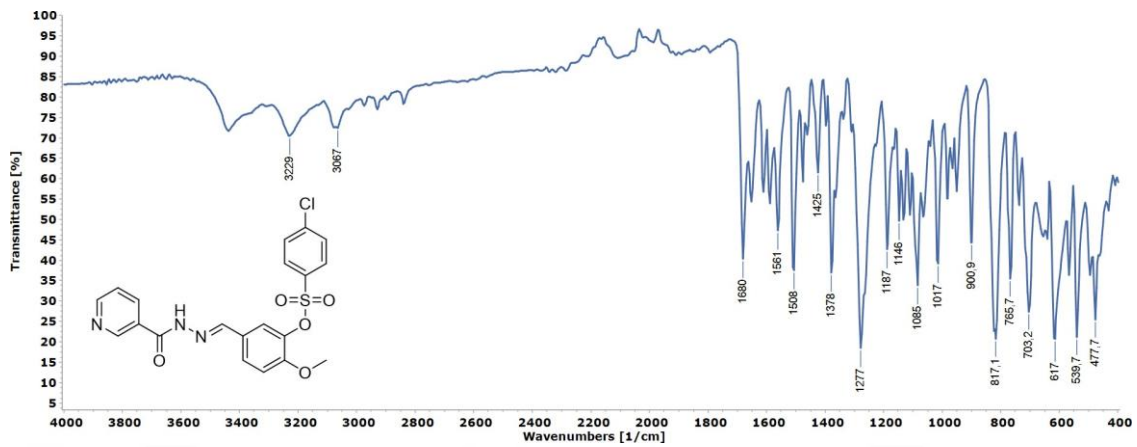
Şekil 4. 33. Bileşik (2e)' nin ¹³C NMR spektrumu

4.2.2.6. 2-Metoksi-5-((2-nikotinoilhidrazono)metil)fenil 4-klorobenzenesülfonat (2f)



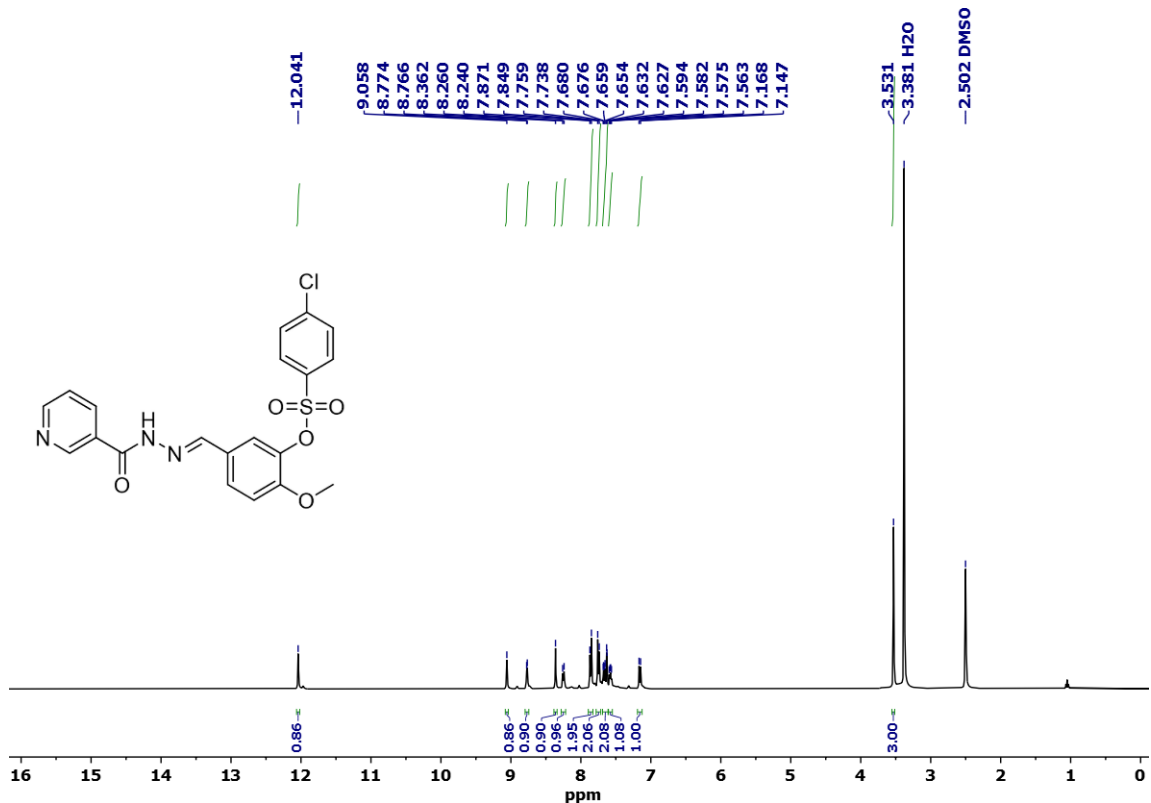
Beyaz katı, verim: %73, erime noktası: 169-170 °C.

FT-IR (cm^{-1} , ν_{max}): 3229 (N-H gb.), 3067 (C-H, aromatik diz.), 1680 (C=O gb.), 1561 (C=N gb.), 1378 (SO_2 , asimetrik gb.), 1187 (SO_2 , simetrik gb.).



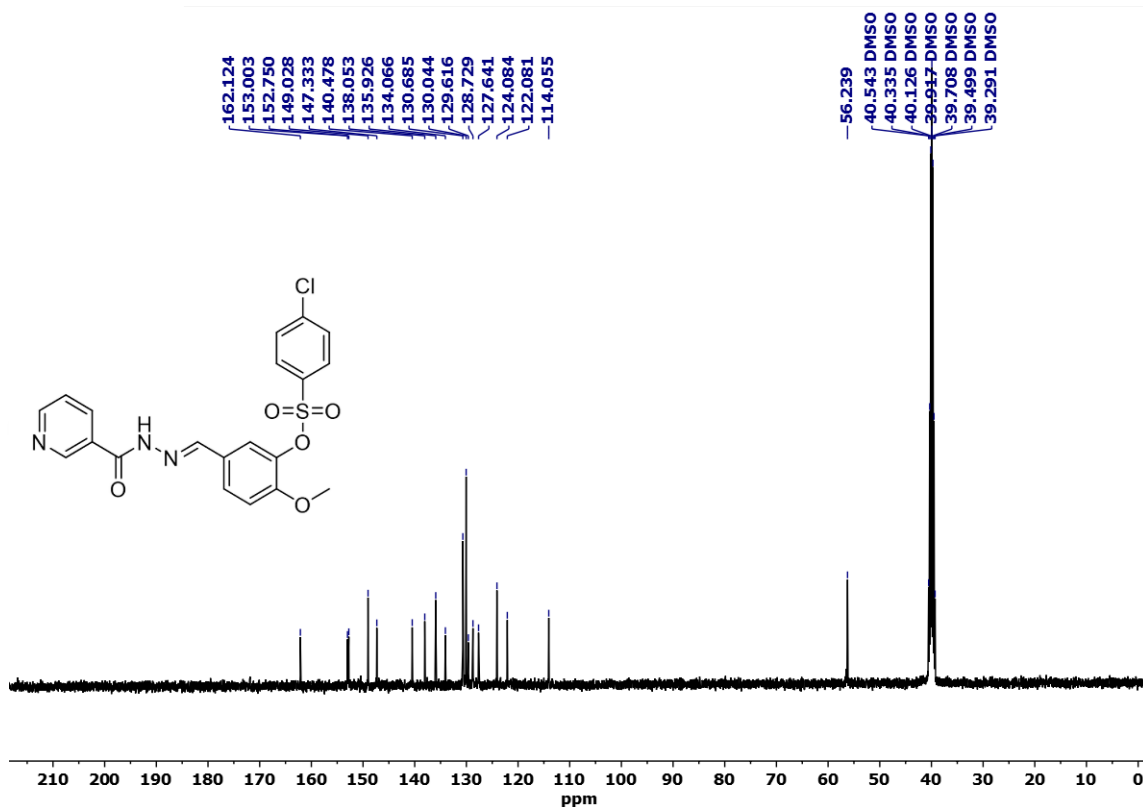
Şekil 4. 34. Bileşik (2f)' nin IR spektrumu

^1H NMR (400 MHz, ppm)(DMSO- d_6): δ 12.04 (s, 1H, -CONH), 9.06 (s, 1H, piridin-H), 8.77 (d, J = 3.4 Hz, 1H, piridin-H), 8.36 (s, 1H, -CH=N), 8.25 (d, J = 7.9 Hz, 1H, piridin-H), 7.86 (d, J = 8.6 Hz, 2H, aromatik-H), 7.75 (d, J = 8,6 Hz, 2H, aromatik-H), 7,69 – 7,61 (m, 2H, aromatik-H), 7,59 – 7,56 (m, 1H, piridin-H), 7,16 (d, J = 8,6 Hz, 1H, aromatik- H), 3.53 (s, 3H, -OCH₃).



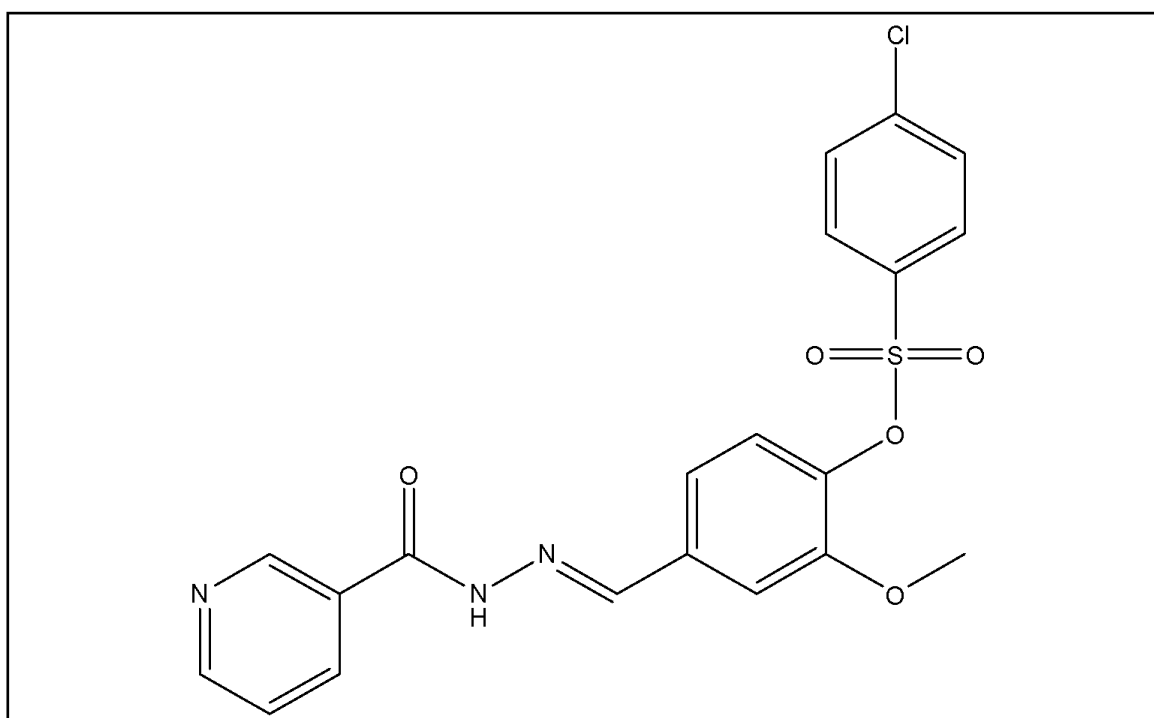
Şekil 4. 35. Bileşik (2f)' nin ^1H NMR spektrumu

^{13}C NMR (100 MHz, ppm)(DMSO- d_6): 162.12, 153.00, 152.75, 149.03, 147.33, 140.48, 138.05, 135.93, 134.07, 130.69, 130.04, 129.62, 128.73, 127.64, 124.08, 122.08, 114.05 OCH₃).



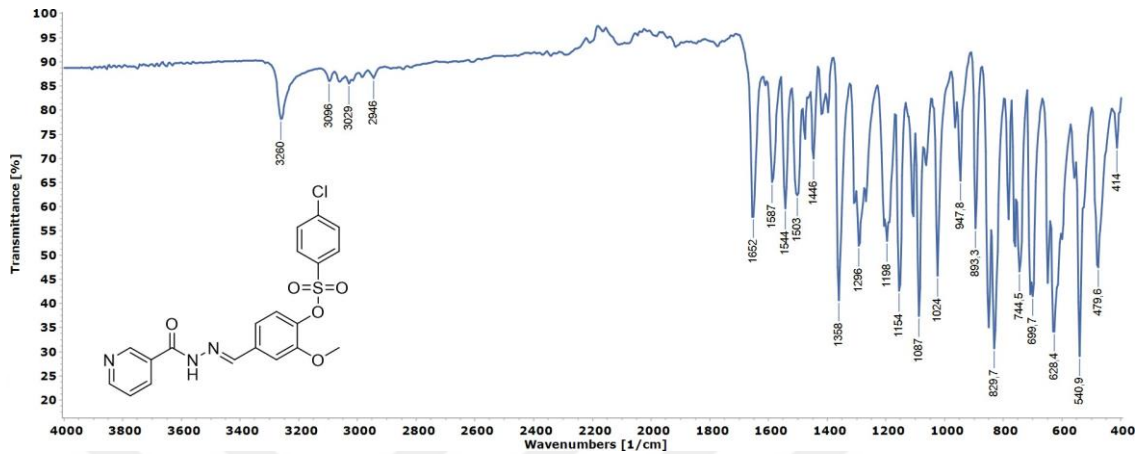
Şekil 4. 36. Bileşik (2f)' nin ^{13}C NMR spektrumu

4.2.2.7.2-Metoksi-4-((2-nikotinoilhidrazono)metil)fenil 4-klorobenzen Sülfonat (2g)



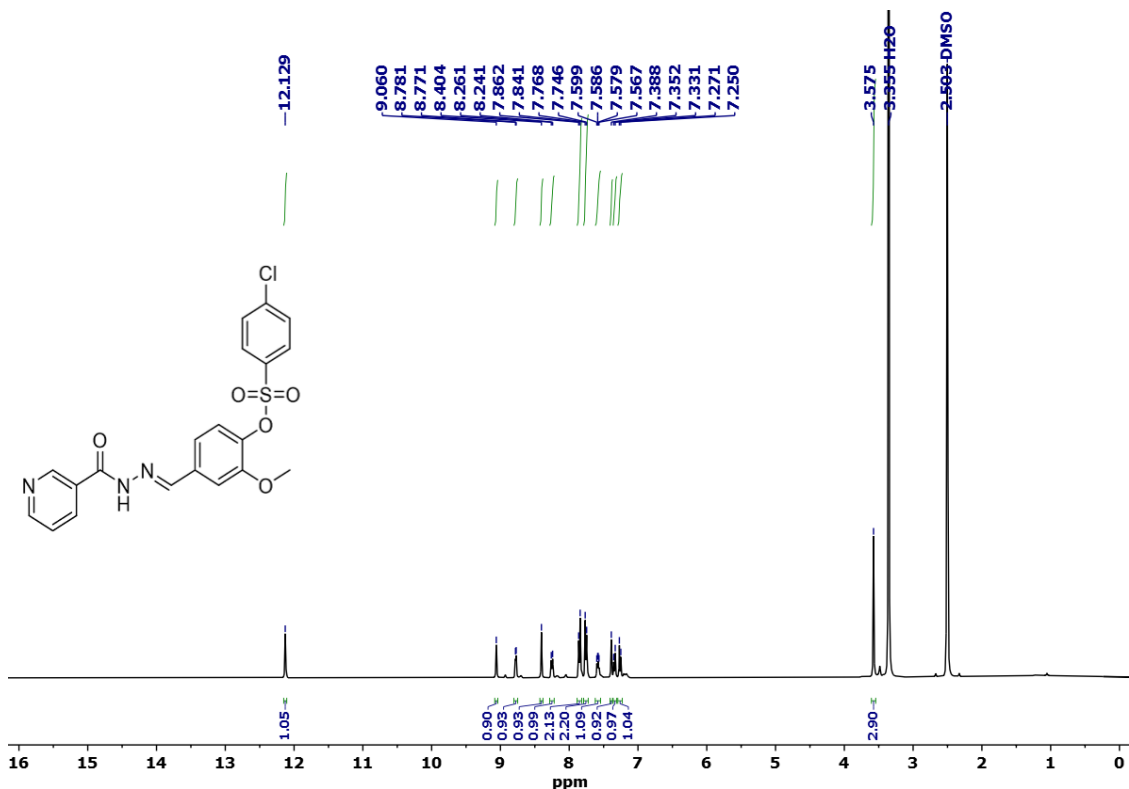
Beyaz katı, verim: %76, erime noktası: 185-186 °C.

FT-IR (cm⁻¹, $\nu_{\max}$): 3260 (N-H diz.), 3096 (C-H, aromatik gb.), 1652 (C=O gb.), 1587 (C=N gb.), 1358 (SO₂, asimetrik gb.), 1154 (SO₂, simetrik gb.).



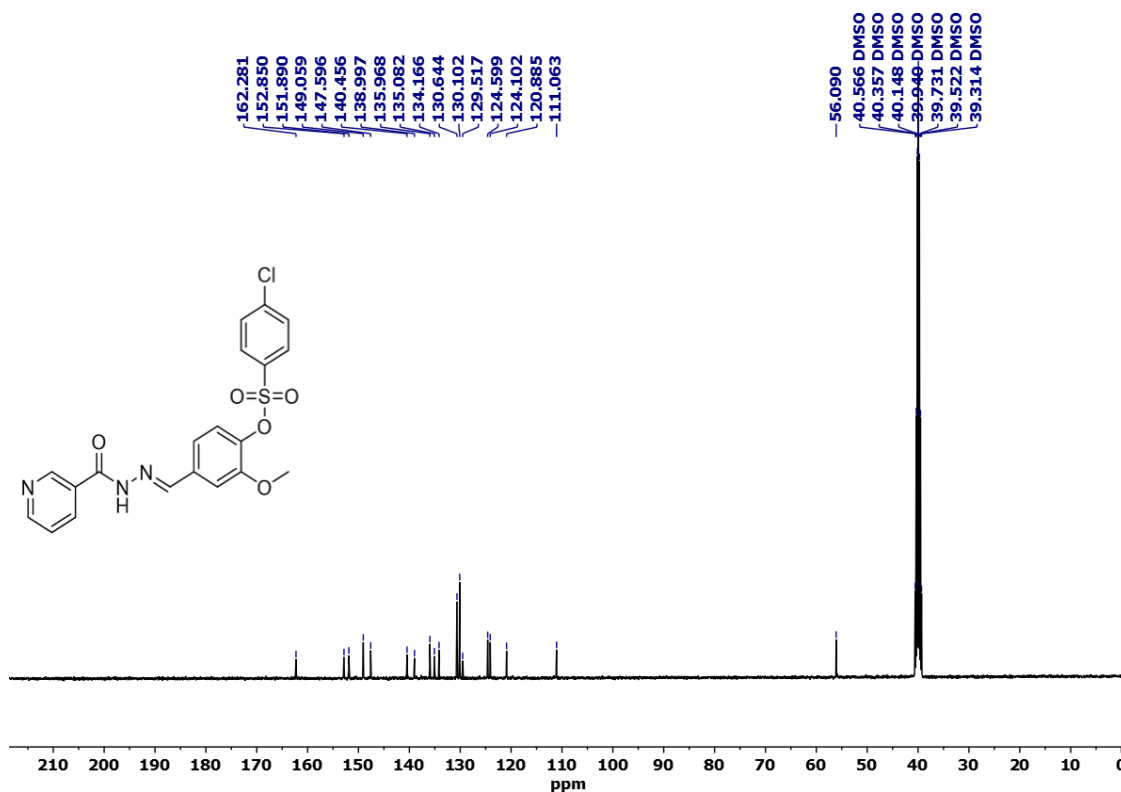
Şekil 4. 37. Bileşik (2g)'nin IR spektrumu

¹H NMR (400 MHz, ppm)(DMSO-d₆): δ 12.13 (s, 1H, -CONH), 9.06 (s, 1H, piridin-H), 8.78 (d, J = 4.0 Hz, 1H, piridin-H), 8.40 (s, 1H, -CH=N), 8.25 (d, J = 7.9 Hz, 1H, piridin-H), 7.85 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.76 (d, J = 8.5 Hz, 2H, aromatik-H), 7.60 – 7.58 (m, 1H, piridin-H), 7.39 (s, 1H, aromatik-H), 7.34 (d, J = 8.6 Hz, 1H, aromatik-H), 7.26 (d, J = 8.3 Hz, 1H, aromatik-H), 3.58 (s, 3H, -OCH₃).

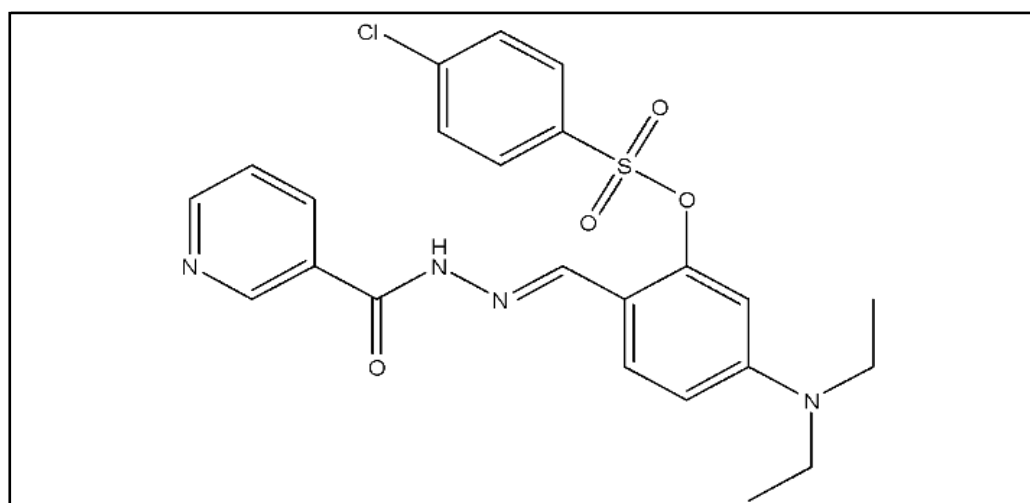


Şekil 4. 38. Bileşik (2g)' nin ^1H NMR spektrumu

^{13}C NMR (100 MHz, ppm)(DMSO- d_6): 162.28, 152.85, 151.89, 149.06, 147.60, 140.46, 139.00, 135.97, 135.08, 134.17, 130.64, 130.10, 129.52, 124.60, 124.10, 120.88, 111.06, OCH_3).

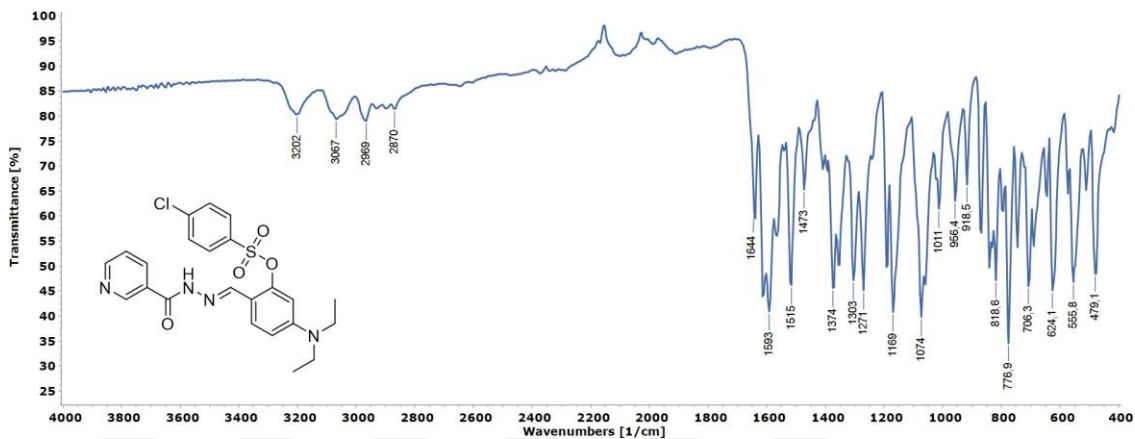
Şekil 4. 39. Bileşik (2g)' nin ^{13}C NMR spektrumu

4.2.2.8.5-(Dietilamino)-2-((2-nikotinoilhidrazono)metil)fenil 4-klorobenzenesülfonat (2h)



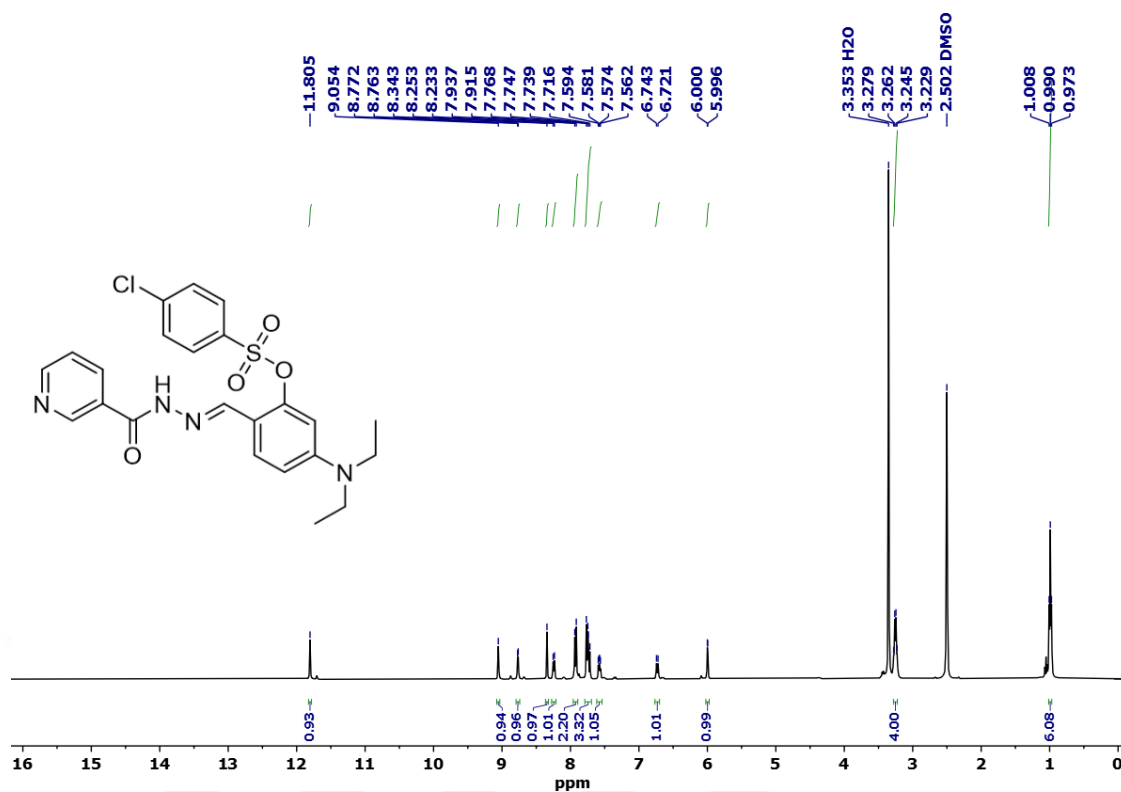
Sarı katı, verim: %71, erime noktası: 191-192 °C

FT-IR (cm⁻¹, $\nu_{\max}$): 3202 (N-H gb.), 3067 (C-H, aromatik gb.), 1644 (C=O gb.), 1593 (C=N gb.), 1374 (SO₂, asimetrik gb.), 1169 (SO₂, simetrik gb.).



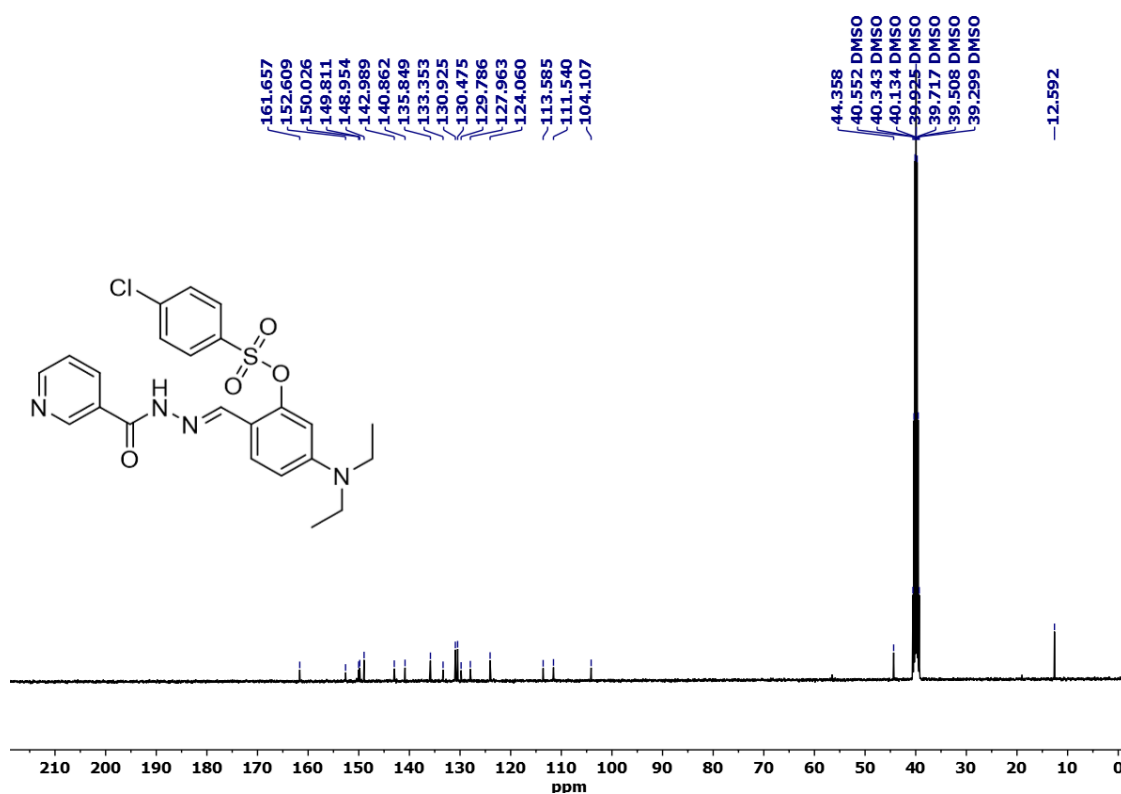
Şekil 4. 40. Bileşik (2h)' nin IR spektrumu

¹H NMR (400 MHz, ppm)(DMSO-d₆): δ 11.80 (s, 1H, -CONH), 9.05 (s, 1H, piridin-H), 8.77 (d, J = 3.5 Hz, 1H, piridin-H) , 8.34 (s, 1H, -CH=N), 8.24 (d, J = 7.9 Hz, 1H, piridin-H), 7.93 (d, J = 8.6 Hz, 2H, aromatik-H), 7.77 – 7.72 (m , 3H, aromatik-H), 7.59 – 7.56 (m, 1H, piridin-H), 6.73 (d, J = 9,0 Hz, 1H, aromatik-H), 6.02 – 5.97 (m, 1H, aromatik-H), 3.25 (q, J = 6,5 Hz, 4H, -N(CH₂CH₃)₂), 0.99 (t, J = 6,9 Hz, 6H, -N(CH₂CH₃)₂).



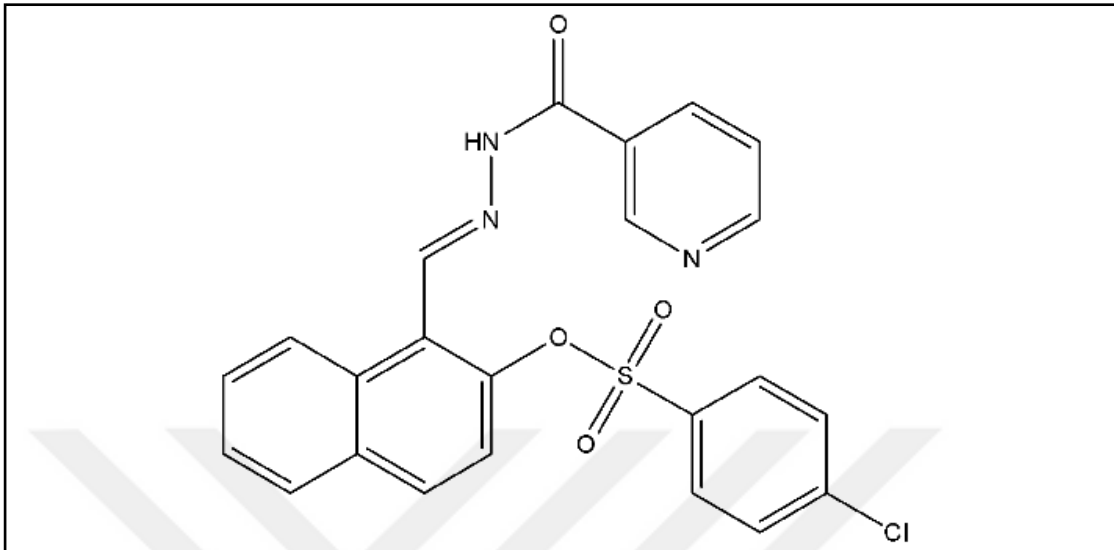
Şekil 4. 41. Bileşik (2h)' nin ¹H NMR spektrumu

¹³C NMR (100 MHz, ppm)(DMSO-d₆): 161.66, 152.61, 150.03, 149.81, 148.95, 142.99, 140.86, 135.85, 133.35, 130.92, 130.47, 129.79, 127.96, 124.06, 113.58, 111.54, 104.11, 44. N(CH₂CH₃)₂, 12.59 (–N(CH₂CH₃)₂).



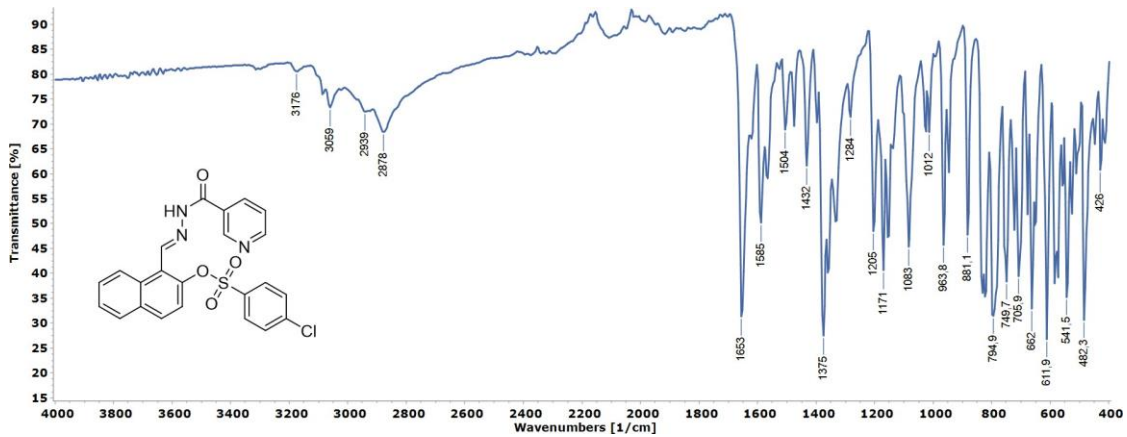
Şekil 4. 42. Bileşik (2h)' nin ¹³C NMR spektrumu

4.2.2.9.1-((2-Nikotinoilhidrazono)metil)naftalen-2-il 4-klorobenzenesülfonat (2i)



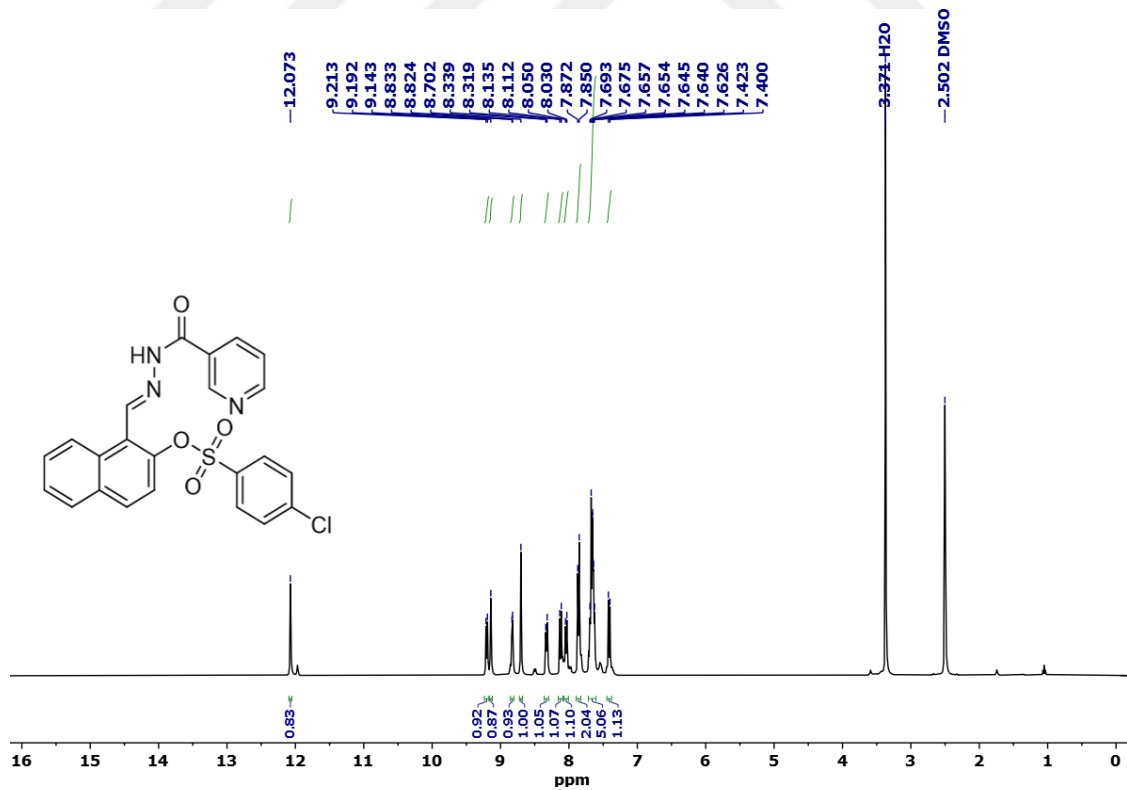
Beyaz katı, verim: %74, erime noktası: 209-210 °C

FT-IR (cm⁻¹, ν_{max}): 3176 (N-H diz.), 3059 (C-H, aromatik gb.), 1653 (C=O gb.), 1585 (C=N gb.), 1375 (SO₂, asimetrik gb.), 1171 (SO₂, simetrik gb.).



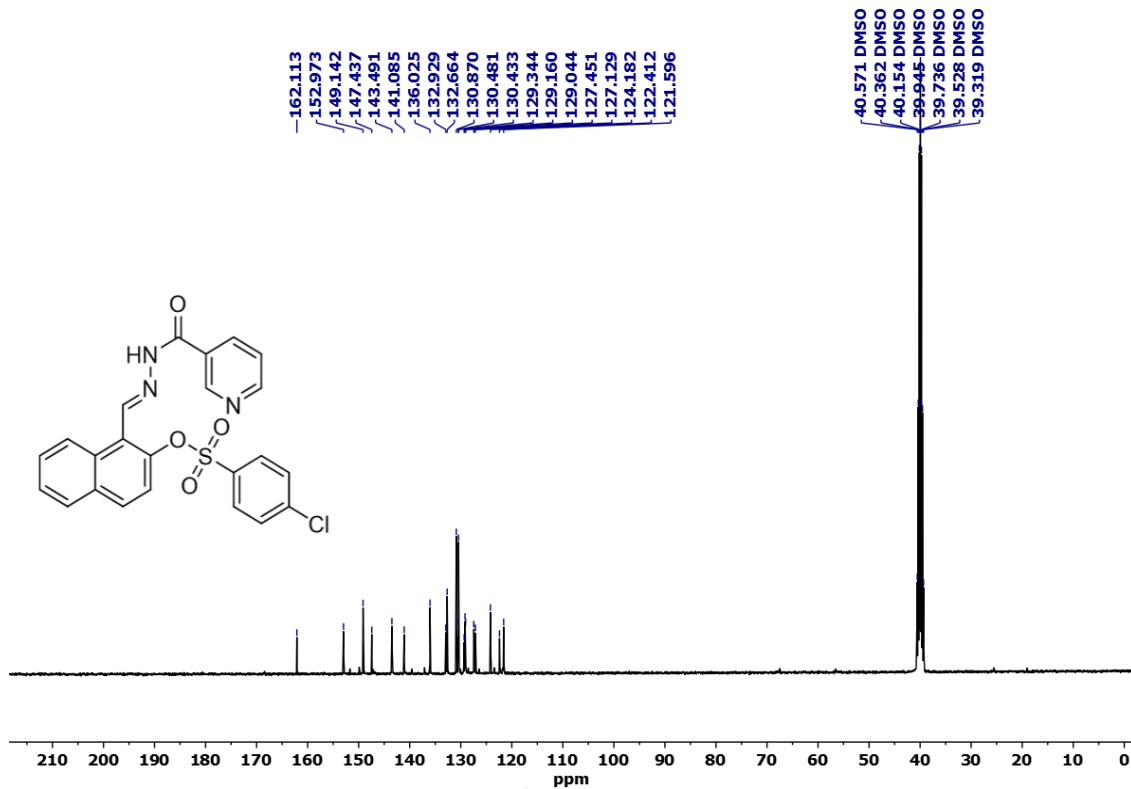
Şekil 4. 43. Bileşik (2i)' nin IR spektrumu

¹H NMR (400 MHz, ppm) (DMSO-d₆): δ 12.07 (s, 1H, -CONH), 9.20 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, naftil-H), 9.14 (s, 1H, piridin-H), 8.83 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H, , piridin-H), 8.70 (s, 1H, -CH=N), 8.33 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, piridin-H), 8.12 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, naftil-H), 8.04 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, naftil-H), 7.86 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, aromatik-H), 7.72 – 7.60 (m, 5H, aromatik-H, naftil-H ve piridin-H), 7.41 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, naftil-H).



Şekil 4. 44. Bileşik (2i)' nin ¹H NMR spektrumu

¹³C NMR (100 MHz, ppm)(DMSO-d6): 162.11, 152.97, 149.14, 147.44, 143.49, 141.08, 136.03, 132.93, 132.66, 130.87, 130.48, 130.43, 129.34, 129.16, 129.04, 127.45, 124.12, 121.60.



Şekil 4. 45. bileşik (2i)' nin ¹³C NMR spektrumu

Karakterizasyon verilerinin molekül yapılarıyla uyumlu olduğu belirlenmiştir. Hidrazon bileşiklerinin (**2a-i**) FT-IR spektrumlarında, hidrazon ve imino'nun (-C = N) karbonil grubunu (C = O) temsil eden bant sırasıyla 1680 – 1644 cm⁻¹ ve 1598 – 1555 cm⁻¹'de ortaya çıkmıştır. Ayrıca bu bileşiklerdeki SO₂ grubunun asimetrik ve simetrik bantları 1379–1350 cm⁻¹ ve 1190 – 1146 cm⁻¹ olarak tespit edilmiştir. **2a-i** bileşiklerinin ¹H NMR spektrumlarında, δ 12.15-11.80 ppm bölgesinde gözlenen singlet protonları -CONH protonuna atfedilirken, azomethine (-CH = N) protonları δ 8.70-8.34 ppm civarında singlet olarak belirlenmiştir. Aromatik ve piridin halka protonları δ 9.20 ile δ 5.97 ppm arasında tespit edildi. **2d-e** bileşiklerinde de bulunan metoksi (-OCH₃) protonları, δ 3.75 - 3.44 ppm'de gözlemlendi. **2a-i**'nin ¹³C NMR spektrumunda, -CH = N karbondan kaynaklanan sinyal δ 152.97-152.61 ppm'de belirlendi. Karbonil gruplarının karbonları (C = O), 162 ppm'd civarında rezonansa giren sinyaller gösterdi. Ayrıca, **2d-e** bileşiklerindeki -OCH₃ karbonundan kaynaklanan sinyal, 56.25 - 56.09 ppm'de tespit edildi. Beklenen bölgelerde piridin, aromatik ve diğer halkaların diğer karbonları gözlemlendi.

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu araştırmada, dokuz yeni heterosiklik hidrazon türevi, ilk kez, AChE, BChE ve tirozinaz inhibitör potansiyelleri ve antioksidan aktiviteleri için sentezlenmiş, karakterize edilmiş ve değerlendirilmiştir. Sentezlenen moleküllerin çoğu, bu enzimlere karşı değişen inhibitör aktivitelere sahipti. İnhibisyon aktivitesinde, **1a**, **1d** ve **2h** bileşiklerinin, standart bileşik galantamine kıyasla BChE üzerinde önemli inhibitör etkilere sahip olduğu belirlenmiştir. Öte yandan, AChE aktivitesinde, sadece bileşik **2a**, galantamine en yakın inhibitör aktiviteyi göstermiştir. Tirozinaz testinde, test edilen moleküllerin tümünün standart bileşik kojik asitten daha düşük aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Antioksidan aktivitesinde, başlangıç molekülleri hidrazon türevlerinden daha düşük antioksidan aktiviteler göstermiştir. DPPH testinde, **2a** ve **2e** bileşikleri, standart bileşik BHT'ye kıyasla en yüksek antioksidan aktiviteyi göstermiştir. Diğer iki antioksidan aktivite yönteminde (ABTS ve CUPRAC testleri) bileşiklerin, standart bileşikler BHA ve BHT'den daha düşük antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Sonuçlar, test edilen moleküllerin bazılarının yeni BChE inhibitörlerinin keşfi için umut verici iskeletler olabileceğini göstermiştir.

5.1. Biyolojik Değerlendirme

5.1.1. Enzim inhibitör sonuçları

AH hastalarında dikkat ve hafıza bozukluğu, önemli ölçüde daha düşük asetilkolin seviyeleri ile ilişkilidir. Asetilkolin esteraz ve bütirilkolin esteraz gibi enzimleri kolinesteraz inhibitörleri ile bloke ederek asetilkolinin parçalanmasının engellenmesinin bu kolinerjik tükenmeyi iyileştirdiği bildirilmektedir (Çakmak, Başaran ve Şentürk, 2022; Ansari ve ark., 2022; Srivastava ve ark., 2017; Srivastava ve ark., 2019). Bugüne kadar ABD Gıda ve İlaç Dairesi tarafından sadece birkaç inhibitör onaylanmıştır. ancak bu inhibitörlerin mide-bağırsak bozuklukları, hepatotoksisite ve periferik yan etkiler gibi çeşitli yan etkiler gösterdiği belirlenmiştir (Bazan ve ark., 2012) Bu nedenle, yeni ve etkili AChE ve BChE inhibitörlerinin keşfine yönelik araştırmalar hala büyük ilgi görmektedir. Bu çalışmada, standart bileşik olarak galantamin kullanılmıştır. Öte yandan, yeni ve etkili tirozinaz inhibitörlerini bulma girişimleri, cilt ve saçın pigmentasyon problemlerini çözmek için güvenilir bir yöntem olarak kullanılmıştır (Cheignon ve ark., 2018). Şimdiye kadar tirozinaz inhibitör potansiyeline sahip çok sayıda bileşik rapor edilmiş olup, konuyla ilgili araştırmalar devam etmektedir (Bao ve ark., 2010). Test edilen tüm moleküllerin, galantamin ve kojik asidin inhibisyon sonuçları Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1. Asetilkolin Esteraz, Bütirilkolin Esteraz ve Tirozinaz enzim inhibisyon sonuçları

Bileşikler	AChE	BChE	Tirozinaz
1a	>1000	10,45±0,21	>1000
1b	>1000	106,72±0,82	270,47±0,94
1c	>1000	92,57±0,98	232,8±1,22
1d	>1000	91,01±0,81	>1000
1e	>1000	201,08±1,16	641,25±2,76
1f	>1000	504,03±2,79	>1000
1g	>1000	117,60±1,34	471,48±1,98
1h	>1000	10,12±0,06	>1000
1i	>1000	169,92±1,23	>1000
2a	168,16±1,52	90,57±1,14	320,11±1,17
2b	201,18±0,74	115,82±1,35	241,20±1,35
2c	253,42±1,36	385,18±2,57	300,25±2,09
2d	345,11±2,58	383,66±1,99	541,05±3,61
2e	872,51±4,14	399,44±2,68	387,86±2,42
2f	328,88±2,62	314,53±1,70	392,57±1,93
2g	410,64±1,43	537,14±3,31	411,01±2,88
2h	652,12±2,39	>1000	642,09±3,79
2i	238,68±1,71	9,89±0,16	284,15±0,72
Donepezil**	0,04 ± 0,01	15,24 ± 0,88	
Galantamin ^a	5,01±0,08	11,67±0,55	-
Kojic asit ^b	-	-	8,48±0,14

* Tüm enzim inhibisyon aktivite değerleri inhibisyon olarak verildi % 200 µM

^a AChE ve BChE için standart bileşik

^b Tirozinaz için standart bileşik

Asetilkolin esteraz inhibisyon testi için yapılan bu araştırmada toplam on sekiz molekül sentezlendi. Bunlardan dokuzu aril sülfonatlar (**1a-i**) ve dokuzu bu aril sülfonatların hidrazon türevleri (**2a-i**) idi. Tablo 1'deki inhibitör sonuçlar incelendiğinde, sentezlenen tüm hidrazon türevleri, asetilkolin esteraz'a karşı 168.16 ila 872.51 µM arasında değişen IC₅₀ değerleri ile inhibisyon etkileri gösterdi. Galantamin, bu enzimi IC₅₀ değeri 5.01 µM inhibisyonu ile inhibe etti. Öte yandan aril sülfonatların bu enzimi inhibe etmediği belirlendi. Hidrazon türevlerinin inhibisyon sonuçları incelendiğinde, salisilaldehit bazlı bir hidrazon türevi olan bileşik **2a**'nın en aktif molekül olduğu belirlendi.

BChE testinde, sentezlenen tüm moleküller (bileşik **2h** hariç), bu enzime karşı 9.89 ile 537.24 μM arasındaki konsantrasyonlarda inhibe edici aktiviteler gösterdi. Galantamin, bu enzimi IC_{50} değeri 11.67 μM inhibisyonu ile inhibe etti. Bu araştırmada, test edilen birçok molekülün (bileşik **1a**, **1h** ve **2i**) bu enzimi galantamin ve donepezilden daha fazla inhibe ettiği belirlendi. Tablo 1'de gösterildiği gibi, bunlardan ikisi aril sülfonatlardır (bileşikler **1a** ve **1h**) ve bunlardan biri bir hidrazon türevidir (bileşik **2i**). Bu iki aril sülfonat, galantamin ve donepezil ile karşılaştırıldığında BChE'ye karşı en aktif moleküller arasındaydı. Öte yandan, test edilen hidrazon türevleri arasında bileşik **1a**'nın hidrazon türevi **2a**'nın BChE'ye karşı en aktif moleküllerden biri olduğu belirlendi. Kalan hidrazon türevleri arasında, 2-hidroksi-1-naftaldehit bazlı bir hidrazon türevi olan bileşik **2i**'nin (9.89 μM) bu enzimi galantamin (11.67 μM) ve donepezilden (15.24 μM) daha fazla inhibe ettiği belirlendi. Test edilen tüm moleküller arasında, bileşik **2g** (537.14 μM) bu enzime karşı en düşük aktiviteye sahipti. Test edilen moleküllerin bu enzimlere karşı inhibisyon aktiviteleri karşılaştırıldığında, test edilen moleküllerin çoğunun BChE'ye karşı daha aktif olduğu belirlendi.

Bu araştırmada kolinesteraz enzimleri için elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında, test edilen tüm **2a-i** moleküllerinin farklı mikromolar konsantrasyonlarda AChE ve BChE'yi inhibe edebildiği belirlendi (Tablo 1). Literatürde bu enzimlerin inhibisyonu için ideal özelliklere sahip inhibitörlerin bulunmasına yönelik çalışmalarda farklı bileşik sınıflarından moleküller veya yeni hibrit moleküller kullanıldığı görülmektedir. Bu çalışmalarda BChE'nin mikromolar veya nanomolar konsantrasyonlarda inhibe olduğu belirlendi. Elde edilen inhibisyon aralığı sonuçları bu çalışma ile karşılaştırıldığında (Tablo 2), bu çalışmada sentezlenen moleküllerin bu enzime karşı inhibisyon etkisinin umut verici olduğunu söyleyebiliriz.

Tablo 2. Bütirilkolin esteraz için çeşitli moleküllerin inhibitör profillerinin karşılaştırılması

Moleküller		İnhibisyon Aralığı (IC ₅₀)	Referanslar
Nikotinik hidrazit		9.89 - 537.24 µM	This study
bazlı hidrazon türevleri			
Aril sülfonatlara		89.30 - 357.19 µM	Kamalı ve ark., 2022
dayalı Schiff bazı türevleri			
Tris kalkonları		7.40 – 12.01 nM	Burmaoglu ve ark., 2019
karbamat türevleri		2.0 – 39.98 µM	Bajda ve ark., 2018
Hidrazid bazı Schiff		6.51 – 451.16 µM	Rahim ve ark., 2016
bazları			
Azot, fosfor, selenyum		0.54 – 31.22 nM	Gülçin ve ark., 2020
ve kükürt içeren heterosiklik bileşikler			
3-Coumaranone ve		0.68 – 68.44 µM	Kara ve ark., 2019
Kumarin Türevleri			
3-Coumaranone ve		8.0 -51.0 µM	Alipour ve ark., 2013
Kumarin Türevleri			
Takrin bazı		17.670 - >50 µM	Hariri ve ark., 2016
pirano[3',4':5,6]pirano[2,3-b]kinolinonlar			
Sülfamidlerden		3.9827 – 5.5932 nM	Akıncıoğlu ve ark., 2017
türetilen			
b-benzilfenetilaminler			
Aminometil ve		23 .0–88.0 nM	Gülçin ve ark., 2017
alkoksimetil türevleri			

5.1.2. Antioksidan Aktivite Bulguları

Son yıllarda, merkezi sinir sistemindeki oksidatif stresin etkilerini azaltmak için antioksidanların kullanımına büyük önem verilmiştir. Günümüzde, antioksidan tedavisi kavramı, oksidatif stresi AD'nin patogenezeine ve / veya ilerlemesine katkıda bulunan bir faktör olarak sunan nörodejeneratif durumların önlenmesi ve tedavisi için yeni bir yaklaşım olarak araştırılmıştır (Siti, Kamisah ve Kamisah, 2015; Dryden ve ark., 2005).

Bu çalışmada, sentezlenen tüm moleküller (**1i hariç**) DPPH'deki mikromolar konsantrasyonda antioksidan aktiviteler göstermiştir. ABTS ve CUPRAC yöntemlerinde standart antioksidanlar olarak bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve bütillenmiş hidroksiyanisol (BHA) kullanılmıştır. DPPH serbest radikal ve ABTS katyon radikal süpürme için değerler IC_{50} (μM) olarak verilmiştir. Öte yandan, CUPRAC aktivitesi için değerler $A_{0.5}$ (μM) olarak verilmiştir. Test edilen tüm moleküllerin antioksidan aktiviteleri birbirleriyle ve standart bileşiklerin sonuçlarıyla karşılaştırıldı. Antioksidan aktivite sonuçları Tablo 3' te gösterilmiştir.

Tablo 3. Antioksidan Aktivite Sonuçları

Bileşikler	IC_{50} değerleri (μM) ^a		$A_{0.5}$ değeri (μM) ^b
	DPPH	ABTS	CUPRAC
1a	450,38±1,90	518,16±2,11	>1000
1b	729,55±3,02	524,74±2,95	>1000
1c	409,29±3,71	631,47±4,72	>1000
1d	531,37±4,65	333,37±2,81	>1000
1e	714,95±4,86	480,42±2,65	>1000
1f	836,69±7,03	553,94±5,80	>1000
1g	619,40±5,40	364,70±2,90	>1000
1h	634,89±3,98	576,75±2,65	535,96±0,51
1i	>1000	>1000	379,65±1,25
2a	361,03±2,45	468,55±2,74	618,96±5,44
2b	446,04±3,90	226,82±3,24	478,83±1,02
2c	385,08±4,02	253,52±3,36	523,69±0,62
2d	447,14±4,43	400,18±1,69	378,42±2,31
2e	348,97±1,29	348,71±2,54	226,44±1,56
2f	829,68±2,93	432,21±3,16	533,50±3,19
2g	471,83±4,36	232,68±1,34	557,46±2,95
2h	448,42±3,48	169,63±1,54	129,25±1,29
2i	557,27±3,20	247,63±2,06	704,83±0,24
BHA	43,37±0,47	10,22±0,12	33,66±0,41
BHT	203,50±0,66	21,56±0,24	36,81±0,47

Değerler, üç paralel ölçümün ortalamasıdır $\pm$ standart sapma, n = 3

^aDeğerler DPPH ve ABTS testleri için IC_{50} olarak verildi

^bDeğerler CUPRAC testi için $A_{0.5}$ olarak verildi

Bu çalışmada, test edilen tüm bileşikler (**1i hariç**), DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi testinde standart bileşikler BHT ($IC_{50} = 203.50 \mu M$) ve BHA ($IC_{50} = 43.37 \mu M$) ile karşılaştırıldığında zayıf antioksidan aktiviteler göstermiştir. Tablo 3'te görülebileceği gibi, yeni sentezlenen hidrazon türevleri aril sülfonatlardan daha iyi antioksidan aktiviteye sahiptir. Test edilen hidrazon türevleri arasında, bileşikler **2a** ($IC_{50} = 361.03 \mu M$), **2e** ($IC_{50} = 348.97 \mu M$) ve **2c** ($IC_{50} = 385.08 \mu M$) bileşiklerinin BHT'ye daha yakın antioksidan aktiviteler gösterdiği belirlenmiştir. Test edilen tüm

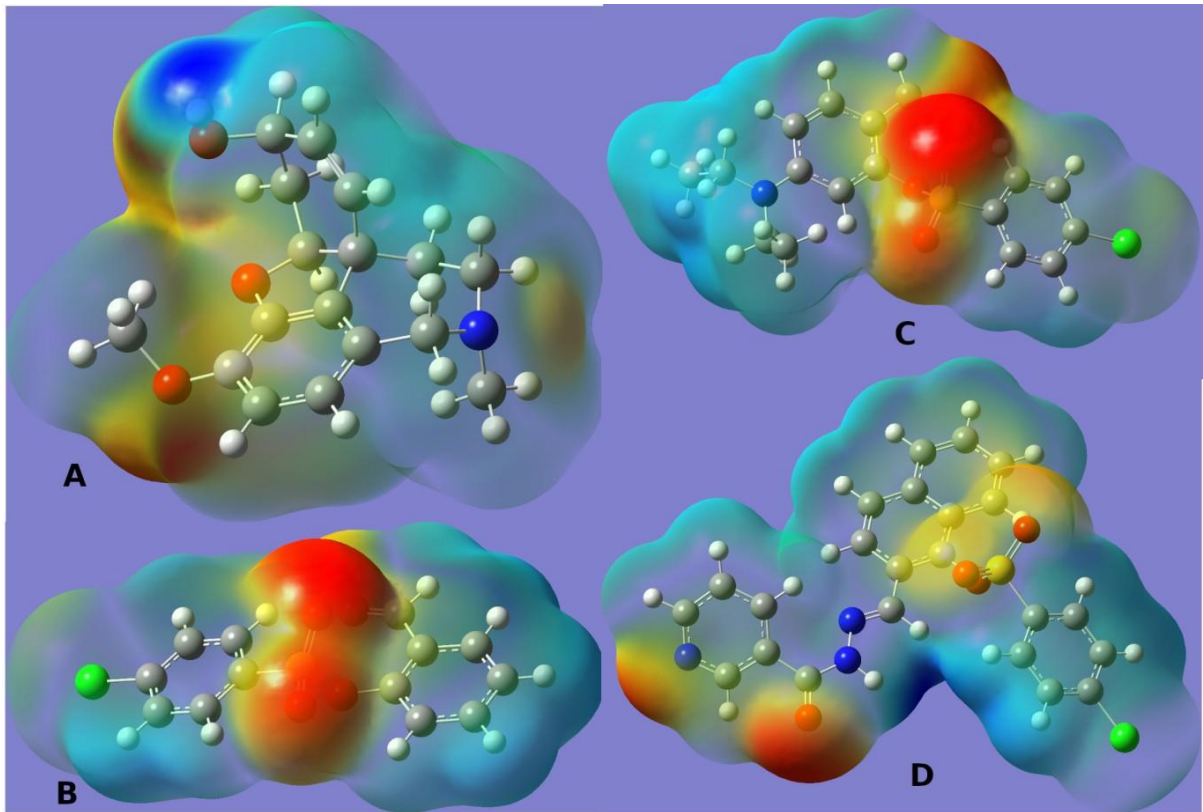
moleküller (**1i** hariç), BHA>BHT> **2e** >**2e** >**2c** > **1c** > **2b** > **2d** > **2h** > **1a** > **2g** > **1d** > **2i** > **1g** > **1h** > **1e** > **1b** > **2f** > **1f** > **1f** olarak antioksidan potansiyel eğiliminin azalan sırasını takip etmiştir.

ABTS yönteminde, sentezlenen tüm moleküllerin 169.63 ile 631.47 μM arasında değişen IC_{50} değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada, test edilen hidrazon türevleri, aril sülfonatlardan daha yüksek antioksidan aktiviteler göstermiştir. Öte yandan, test edilen moleküllerin hiçbirinin standart bileşiklerden daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olmadığı belirlenmiştir. Sentezlenen hidrazon türevleri arasında, bileşikler **2g** ($\text{IC}_{50} = 232.68 \mu\text{M}$), **2h** ($\text{IC}_{50} = 169.63 \mu\text{M}$) ve **2i** ($\text{IC}_{50} = 247.63 \mu\text{M}$), BHA ($\text{IC}_{50} = 10.22 \mu\text{M}$) ve BHT'ye ($\text{IC}_{50} = 21.56 \mu\text{M}$) en yakın antioksidan aktiviteleri göstermiştir. Bileşik **2h**, ABTS testinde sentezlenen tüm bileşikler arasında en yüksek IC_{50} değerine sahiptir. Ayrıca, bileşik **2i**'nin hem DPPH hem de ABTS aktivitelerinde en düşük antioksidan aktiviteyi sergilediği belirlenmiştir. Test edilen tüm moleküller (**1i** hariç), BHA> BHT >**2h**>**2b**>**2g**>**2i**>**2c**>**2e**>**1d**>**1g**>**2d**>**2a**>**1e**>**1a**>**1b**>**1f**>**1h**>**1c** olarak antioksidan potansiyel eğiliminin azalan sırasını takip etmiştir.

CUPRAC testinde, tüm hidrazon bileşiklerinin (**2a-i**) ve iki aril sülfonat bileşiğinin (**1h** ve **1i**) antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu aktif moleküller arasında, **2h** ($\text{IC}_{50} = 129.25 \mu\text{M}$) ve **2e** ($\text{IC}_{50} = 226.44 \mu\text{M}$) bileşikler en yüksek antioksidan aktiviteleri göstermiştir. Bununla birlikte, sentezlenen bileşiklerin tümü, standart antioksidan bileşiklerden daha düşük antioksidan aktiviteler sergilemiştir. Antioksidan aktivite sonuçları incelendiğinde, hem ABTS hem de CUPRAC yöntemlerinde en aktif molekülün **2h** bileşiği olduğu belirlenmiştir. Test edilen tüm moleküller (**1i** hariç), BHT > BHA'nın **2h** >**2e** >**2d** >**1i** >**2b** >**2c** >**2f** >**1h** >**2g** >**2a** >**2i** antioksidan potansiyeli eğiliminin azalan sırasını takip etti.

5.2. MEP haritaları

MEP haritaları, bir enzim inhibitörü olarak moleküllerin reaktivitesini tahmin etmek için önemli bir parametredir (Wassel ve ark., 2021). Bir bileşiğin MEP haritası, atomlara dağıtılan yüklerin bileşikteki pozitif ve negatif yüklerle etkileşimi olarak tanımlanabilir. Pozitif yük mavi renk olarak ortaya çıktı ve negatif yük kırmızı renk olarak görüldü ve her ikisi de hidrojen bağı donörü, H-alıcısı, arene-arene ve arene-katyon etkileşimi gibi farklı etkileşim türleri aracılığıyla aktif bölgeye bağlanma yeteneğine sahiptir (Hassan, 2022). **1a**, **1h**, **2i** ve galanthamin bileşiklerinin MEP haritaları, DFT / B3LYP / 6-31 + G (d, p) teori seviyesi kullanılarak Gauss 09 programı tarafından araştırılmıştır (Barim ve Akman, 2019). Şekil 1'de gösterildiği gibi, bu bileşiklerin elektrostatik haritalarına göre, negatif yükler çoğunlukla yapıların oksijen atomları üzerinde bulunur. Aradaki fark, galanthaminin, alkol ikame maddesinin hidrojen atomu üzerinde açıkça bulunan pozitif bir yüke sahip bir alkol köstebeği taşımasıdır.



Şekil 6. 1. Galanthamin (A), bileşikler 1a (B) 1h (C) ve 2i (D)'nin elektrostatik potansiyel haritalarının 3D gösterimleri

5.3. Öneriler

Yaptığımız bu çalışmada ilk defa sentezlenen dokuz yeni heterosiklik hidrazon türevi sentezlenmiş, karakterizasyonu yapılmış ve değerlendirilmiştir. Bu yeni moleküllerin asetilkolin esterase, bütirikolin esterase ve tirozinaz enzimlerini inhibe etme kapasiteleri ve antioksidan aktiviteleri ölçülmüştür. Bu çalışmada sentezlenen moleküllerin ana iskelet yapıları korunarak farklı sübstientler taşıyan yeni moleküller sentezlenerek, bu moleküllerin

- Antimikrobiyal,
- Antikonvülsan,
- Antianaljezik,
- Antiinflamatuvar,
- Antikanser

etkilerinin incelenmesi ile önemli bilgilerin literatüre kazandırılabilceği önerilebilir.

6. KAYNAKLAR

- Adams, L., Franco, M., C.&Estevez, A. G. (2015). Reactive nitrogen species in cellular signaling, *Experimental Biology and Medicine*, 240(6), 711-717.
- Akincioğlu, A., Kocaman, E., Akincioğlu, H., Salmas, R. E., Durdagi, S., Gülçin, İ. ve Göksu, S., 2017, The synthesis of novel sulfamides derived from β -benzylphenethylamines as acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase and carbonic anhydrase enzymes inhibitors, *Bioorganic Chemistry*, 74, 238-250.
- Alarcón, E., Campos, A.M., Edwards, E.L., Alarcón, C., 2008. Antioxidant capacity of herbal infusions and tea extracts: A comparison of ORAC-fluorescein and ORAC-pyrogallol red methodologies, *Food Chemistry*, 107, s.1114-1119.
- Albayrak, S., Sağdıç, O. ve Aksoy, A., 2010, Bitkisel Ürünlerin ve Gıdaların Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26(4), 401-409.
- Ali, S.S., Kasoju, N., Luthra A., Singh, A., Sharanabasava, H., Sahu, A., Bora, U., 2008, Indian Medicinal herbs as sources of antioxidants, *Science Direct, Food Research*, 41, 1-15.
- Alipour, M., Khoobi, M., Nadri, H., Sakhteman, A., Moradi, A., Ghandi, M., ... & Shafiee, A., 2013, Synthesis of Some New 3-C oumaranone and Coumarin Derivatives as Dual Inhibitors of Acetyl-and Butyrylcholinesterase, *Archiv der Pharmazie*, 346(8), 577-587.
- Altanlar,, N., Gurkok, G., Suzen, S., 2009, Investigation antimicrobial activities of indol-3-aldehyde hydrazide/hyr-drazone derivatives, *Chemotherapy*, 55, 15-19.
- Altomare, D., Molinuevo, J. L., Ritchie, C., Ribaldi, F., Carrera, E., Dubois, B., ve Frisoni, G. B., 2021, Brain Health Services: organization, structure, and challenges for implementation. A user manual for Brain Health Services—part 1 of 6. Alzheimer's research & therapy, 13(1), 1-11.
- Andleeb, H., Khan, I., Bauzá, A., Tahir, M. N., Simpson, J., Hameed, S. ve Frontera, A., 2018, A comparative experimental and theoretical investigation of hydrogen-bond, halogen-bond and π - π interactions in the solid-state supramolecular assembly of 2-and 4-formylphenyl arylsulfonates, *Acta Crystallographica Section C: Structural Chemistry*, 74(7), 816-829.
- Ansari, S., Noori, M., Pedrood, K., Mohammadi-Khanaposhtani, M., Moazzam, A., Hosseini, S., ... & Taslimi, P., 2022, Novel aryl (4-phenylpiperazin-1-yl) methanethione derivatives as new anti-Alzheimer agents: Design, synthesis, in vitro and in silico assays, *Journal of Molecular Structure*, 1262, 132945.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E., 2004, Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method, *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 7970-7981.
- Aydın, A., Sayal, A., Işimer, A., Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemi, Gülhane Askeri Tıp Akademisi, *GATA Basımevi*, Ankara, 2001.
- Azqueta, A., Arbillaga, L., Pach, G., Cascante, M., Creppy, E., E., Lopez de Cerain A., A., 2007, quinoxaline 14-di-N-oxide derivative induces DNA oxidative damage not attenuated by vitamin C and E treatment. *ChemicoBiological Interactions*, 168, 95-105.

- Bajda, M., Łatka, K., Hebda, M., Jończyk, J., & Malawska, B., 2018, Novel carbamate derivatives as selective butyrylcholinesterase inhibitors, *Bioorganic Chemistry*, 78, 29-38.
- Bakonyi, T., Radak, Z., 2004, High altitude and free radicals, *Journal of Sports Science and Medicine*, 3, 64-69.
- Bao, K., Dai, Y., Zhu, Z. B., Tu, F. J., Zhang, W. G. ve Yao, X. S., 2010, Design and synthesis of biphenyl derivatives as mushroom tyrosinase inhibitors, *Bioorganic & medicinal chemistry*, 18(18), 6708-6714.
- Başaran E, 2021, Some aryl sulfonyl ester-based heterocyclic Schiff bases: synthesis, structure elucidation and antioxidant activity *Inst. Sci. Tech*, 11, 967.
- Bazan, N. G., Halabi, A., Ertel, M. ve Petasis, N. A., 2012, Neuroinflammation, *In Basic Neurochemistry*, 610-620.
- Blois, M., S., *Nature*, 1958, Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical, *Science and Education*, 181, 1199.
- Boutin, J., Audinot, V., Ferry, G., Delagrang, P., 2005, Molecular tools to study melatonin pathways and actions, *Trends in Pharmacological Sciences*, 26, 412-419.
- Brand-Williams, W., Cavalier, M., E., Berset, C., 1995, Use of free radical method to evaluate antioxidant activity, *Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Brenneisen, P., Steinbrenner, H., Sies H, 2005, Selenium oxidative stress and health aspects, *Molecular Aspects of Medicine*, 26, 256–267.
- Burmaoglu, S., Yilmaz, A. O., Polat, M. F., Kaya, R., Gulcin, İ., & Algul, O., 2019, Synthesis and biological evaluation of novel tris-chalcones as potent carbonic anhydrase, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase and α -glycosidase inhibitors, *Bioorganic chemistry*, 85, 191-197.
- Burnaz, A., N., 2013, On-Line HPLC-FRAP Antioksidan Aktivite Tayin Yönteminin Geliştirilmesi ve Bazı Doğal Ürünlere Uygulanması, Doktora Tezi, *K.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü*, Trabzon, 9.
- Burtis, C., A., Ashwood, E., R., 2005, Vitaminler. Aslan D. Eds. Klinik Kimyada Temel İlkeler, *Palme Yayınları*, Ankara.
- Bülbül., T., 2014, Nitrik Oksitin Hayvanlarda Beslenme Davranışı ve Bağırsak Motilitesi Üzerine Etkisi, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 69-70.
- Büyüksulu, N. ve Yiğitbaşı, T., 2015, Reaktif Oksijen Türleri ve Obezitede Oksidatif Stres, İstanbul Medipol Üniversitesi, Tıp Fakültesi, *Biyokimya Anabilim Dalı*, İstanbul, 197-203.
- Cadenas, E., Packer, L., 1996, Handbook of antioxidants, *Marcel dekker New York*.
- Campbell, W., 1993, D. Hydrogen Peroxide, Medical Miracle, *Rhino Publishing*.
- Chang, T. S., 2009, An updated review of tyrosinase inhibitors, *International journal of molecular sciences*, 10(6), 2440-2475..

- Cheignon, C., Tomas, M., Bonnefont-Rousselot, D., Faller, P., Hureau, C. ve Collin, F., 2018, Oxidative stress and the amyloid beta peptide in Alzheimer's disease, *Redox Biol* 14: 450–464.
- Cummings, J., L., Tong., G., Ballard Clive, 2019, Treatment Combinations for Alzheimer's Disease: Current and Future Pharmacotherapy Options, *national library of medicine*, 67(3), 779-794.
- Çakmak, R., Başaran, E., Kaya, S. ve Erkan, S., 2022, Synthesis, spectral characterization, chemical reactivity and anticancer behaviors of some novel hydrazone derivatives: Experimental and theoretical insights, *Journal of Molecular Structure*, 1253, 132224.
- Çakmak, R., Başaran, E., Şentürk, M., 2022, Synthesis, characterization, and biological evaluation of some novel Schiff bases as potential metabolic enzyme inhibitors, *Arch. Pharm*, 355.
- Çakmak, R., Çınar, E., Başaran, E. ve Mehmet, Boğa., 2021, Synthesis, characterization and biological evaluation of ester derivatives of 4-(diethylamino) salicylaldehyde as cholinesterase, and tyrosinase inhibitors, *Middle East Journal of Science*, 7(2), 137-144.
- Çavdar, C., Sifil, A., Çamsarı, 1997, T. Reaktif oksijen partikülleri ve Antioksidan savunma, *Türk Nefroloji ve Transplantasyon Dergisi* 3-4, 92-95.
- Çınar, E., Başaran, E., Erdoğan, Ö., Çakmak, R., Boğa, M. ve Çevik, Ö., 2021, Heterocyclic Schiff base derivatives containing pyrazolone moiety: Synthesis, characterization, and in vitro biological studies, *Journal of the Chinese Chemical Society*, 68(12), 2355-2367.
- Çöllü, Z., 2007, *Urtica Pilulifera L. Bitkisinin Antioksidant Aktivitesinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Samsun, 61.
- Darvesh, S., Hopkins, D., A. ve Geula, C., 2003, Neurobiology of Butyrylcholinesterase, *Nature Reviews Neuroscience*, 4(2), 131-138.
- De Pinto, M., C. ve De Gara, L., 2004, Changes in the ascorbate metabolism of apoplasmic and symplasmic spaces are associated with cell differentiation, *Journal of Experimental Botany*, 55(408), 2559–2569.
- Dryden, G., W., Deaciuc, I., Arteel, G., McClain, C., J., 2005, Clinical implications of oxidative stress and antioxidant therapy, *Current gastroenterology reports*, 7, 308.
- Dündar, Y. ve Aslan, R., 1999, Oksidan-Antioksidan Denge ve Korunmasında Vitaminlerin Rolü, *Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 9(1- 2), 32-39.
- Dündar, Y. ve Aslan, R., 2000, Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar, *Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayınları*, Afyonkarahisar.
- Başaran, E., Haşimi, N., Çakmak, R. ve Çınar, E., 2022, Synthesis, Structural Characterization, and Biological Evaluation of Some Hydrazone Compounds as Potential Antioxidant Agents, *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 48(1), 143-152.
- El-Demardash, F., M., 2004, Antioxidant effect of vitamin e and selenium on lipid peroxidation enzyme activities and biochemical parameters in rats exposed to aluminium, *Journal of Trace Element in Medicine and Biology*, 18, 113-121.
- El-Etrawy, A.-A.S., ve Sherbiny, F., F., 2021, Design, synthesis, biological assessment and molecular docking studies of some new 2-Thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1H)-ones as potential anticancer and antibacterial agents, *Journal of Molecular Structure*, 1225, 129014.

- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V. ve Featherstone, R. M., 1961, A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, *Biochemical pharmacology*, 7(2), 88-95.
- Episcopo, F., L., Tirollo, C., Testa, N., Caniglia, S., Morale, M., C., Marchetti, B., 2013, Reactive astrocytes are key players in nigrostriatal dopaminergic neurorepair in the MPTP mouse model of Parkinson's disease: focus on endogenous neurorestoration, *Current aging science*, 6(1), 45-55.
- Ersoy, E., Özkan E., E., Boğa, M., Yılmaz, M., A. ve Mat, A., 2019, *Ind. Crops Prod*, 141, 111375.
- Fidancı., Ş., B., ve Gümüş., L., T., 2011, Nitrik Oksit Ölçüm Yöntemleri, *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 4(3), 2.
- Galasko, D., 1998, An integrated approach to the management of Alzheimer's disease: assessing cognition, function and behaviour, *European Journal OfNeurology*, 5(4), 9-17.
- Gao, J., Wang, L., Huntley, M. L., Perry, G., and Wang, X., 2018, Pathomechanisms of TDP-43 in neurodegeneration, *Journal of Neurochemistry*, 146(1), 7-20.
- Garrido, J., Garridoü E., M. ve Borges, F., 2012, Studies on The Food Additive Propyl Gallate: Synthesis, Structural Characterization and Evaluation of The Antioxidant Activity, *J. Chem. Educ.*, 89, 130-133.
- Green, R., M., Graham, M., O'Donovan, M., R., Chipman, J., K., Hodges, N., J., 2006, Subcellular compartmentalization of glutathione: correlations with parameters of oxidative stress related to genotoxicity, *Mutagenesis*, 21(6), 383-390.
- Gurkok, G., Altanlar, N., ve Suzen, S., 2009, Investigation of antimicrobial activities of indole-3-aldehyde hydrazide/hydrazone derivatives. *Chemotherapy*, 55(1), 15-19.
- Gutteridge, J., M., C., 1995, Lipid Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue Damage, *Clin Chem*, 41(12), 1819- 1828.
- Gülçin, İ., Trofimov, B., Kaya, R., Taslimi, P., Sobenina, L., Schmidt, E., Supuran, C. T., 2020, Synthesis of nitrogen, phosphorus, selenium and sulfur-containing heterocyclic compounds–determination of their carbonic anhydrase, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase and α -glycosidase inhibition properties, *Bioorganic Chemistry*, 103, 104171.
- Gürkan, A., S. ve Bozdağ-Dündar, O., 2005, Coenzyme Q10, *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara*, 34(2): 129-154.
- Güven, A., 2000, Asetilkolinesterazın önemi ve inhibitörleri, *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 145-151.
- Ha, Z., Y., Mathew, S., Yeong, K., Y., 2020, Butyrylcholinesterase: a multifaceted pharmacological target and tool, *Curr Protein Peptide Sci*, 21(1), 99-109.
- Hariri, R., Afshar, Z., Mahdavi, M., Safavi, M., Saeedi, M., Najafi, Z. ve Akbarzadeh, T., 2016, Novel Tacrine-Based Pyrano [3', 4': 5, 6] pyrano [2, 3-b] quinolinones: Synthesis and Cholinesterase Inhibitory Activity, *Archiv der Pharmazie*, 349(12), 915-924.
- Hearing, V., J. ve Jiménez, M., 1987, Mammalian Tyrosinase-The Critical Regulatory Control Point in Melanocyte Pigmentation, *Int. J. Biochem*, 19, 1141.

- Hirsch, L., Jette, N., Frolkis, A., Steeves, T., Pringsheim, T., 2016, The incidence of parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis, *Neuroepidemiology*, 46(4), 292-300.
- Holla, B., S., Malini, K., V., Rao, B., S., Sarojini, B., K. ve Kumari., N., S., 2003, Synthesis of some new 2,4-disubstituted thiazoles as possible antibacterial and anti-inflammatory agents, *Eur. J. Med. Chem.*, 38, 313-318.
- Hu, W., Yang, Z., Yang, W., Han, M., Xu, B., Yu, Z., Shen, M. and Yang, Y., 2019, Roles of forkhead box o (foxo) transcription factors in neurodegenerative diseases: A panoramic view, *Progress in Neurobiology*, 181, 101645.
- Huang, D., J., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J., A., Deemer, E., K., 2002, Development and validation of oxygen radical absorbance capacity assay for lipophilic antioxidants using randomly methylated beta-cyclodextrin as the solubility enhancer, *J Agr Food Chem*, 50, 1815-1821.
- İnan, E., B., 2021, Migren Tanılı Hastalarda Ataklar Arası Dönemde Oksidatif Stresin Etkileri, Tıpta Uzmanlık Tezi, *Sağlık Bilimleri Üniversitesi*, 21-22.
- James, O. G., Doraiswamy, P. M. ve Borges-Neto, S., 2015, PET imaging of tau pathology in Alzheimer's disease and tauopathies, *Frontiers in neurology*, 6, 38.
- Jasiecki, J. ve Wasąg, B., 2019, Butyrylcholinesterase protein ends in the pathogenesis of Alzheimer's disease could BCHE genotyping be helpful in Alzheimer's therapy, *Biomolecules*, 9(10), 592.
- Je, J., T., Lee, K., Y., Huh, Y., J., U.S. Patent No.2002, 6,482,494. Washington, DC: U.S. Patent and Trademarkoffice.
- Kalinina, E.,V., Chernov N., N., Novichkova M., D., 2014, Role of Glutathione, Glutathione Transferase and Glutaredoxin in Regulation of Redox-Dependent Processes, *Published in Uspekhi Biologicheskoi Khimii* 54: 299-348.
- Kamali, A., Çakmak, R. ve Boğa, M., 2022, Anticholinesterase and antioxidant activities of novel heterocyclic Schiff base derivatives containing an aryl sulfonate moiety, *Journal of the Chinese Chemical Society*, 69, 731-743.
- Karabulut, H. ve Gülay, M., Ş., 2016, Antioksidanlar, *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1(1), 65-76.
- Keskin, H. ve Erkmen, G., 1987, Besin Kimyası, 5. basım, *Güryay Matbaacılık*, İstanbul, 25-35.
- Korkmaz, A. ve Bursal, E., 2022, Benzothiazole sulfonate derivatives bearing azomethine: synthesis, characterization, enzyme inhibition, and molecular docking study, *Journal of Molecular Structure*, 1257, 132641.
- Köse, A., 2021, 4-((3-(Triflorometil)piridin-2-il)oksi)benzohidrazit Birimi İçeren Yeni Hidrazon Türevlerinin Sentezi, *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 11(4), 2870-2879.
- Kra-Kud, M., Dusin, M., Valach, M., 2006, Products of DNA protein and lipid oxidative damage in relation to vitamin C plasma concentration, *Physiol Res*, 552: 227-231.

- L. N. Su, R. Q. Li, Z. Q. Zhang, J. J. Liu, J. K. Du, H. P. Wei, 2022, Identification of altered exosomal microRNAs and mRNAs in Alzheimer's disease, *Ageing Res Rev.*, 7.
- Larson, R., A., 1997, Naturally occurring antioxidants, *Lewis publishers*, New York.
- Lee, B., M., Park, K., K., 2003, Beneficial and adverse effects of chemopreventive agents, *Mutation Research*, 523: 265-273.
- Kara, J., Suwanhom, P., Wattanapiromsakul, C., Nualnoi, T., Puripattanavong, J., Khongkow, P. Ve Lomlim, L., 2019, Synthesis of 2-(2-oxo-2H-chromen-4-yl) acetamides as potent acetylcholinesterase inhibitors and molecular insights into binding interactions, *Archiv der Pharmazie*, 352(7), 1800310.
- Li, Y., Schellhorn, H., E., 2007, New developments and novel therapeutic perspectives for vitamin C, *The Journal of nutrition*, 137(10): 2171-2184.
- Mahapatra, M. K., Kumar, R. ve Kumar, M. 2017, Synthesis, biological evaluation and in silico studies of 5-(3-methoxybenzylidene) thiazolidine-2, 4-dione analogues as PTP1B inhibitors, *Bioorganic Chemistry*, 71, 1-9.
- Massoud, F., Leger, G., 2011, Pharmacological Treatment of Alzheimer Disease, *The Canadian Journal of Psychiatry*, 56(10), 579-588.
- Melanson, S., W., Chang-Hyon, Y., Pezzementi, M., L. ve Pezzementi, L., 1985, Comparative Biochemistry and Physiology, *Comp. Phar.*, 81:87-96.
- Miller, N., J., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan, V., Milner, A., 1993, A novel method for measuring antioksidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates, *Clinical Science*, 84, 407-412.
- Miziak, B., Błaszczyk, B. ve Czuczwar, S., J., 2021, Some Candidate Drugs for Pharmacotherapy of Alzheimer's Disease, *Pharmaceuticals*, 14(5), 458.
- Mullane, K. ve Williams, M., 2013, Alzheimer's therapeutics: Continued clinical failures question the validity of the amyloid hypothesis—but what lies beyond?, *Biochemical Pharmacology*, 85(3), 289.
- Nagatsu, T., Nakashima, A., Ichinose, H., Kobayashi, K., 2018, Human tyrosine hydroxylase in Parkinson's disease and in related disorders, *J Neural Transm.*
- Ndhlala, A., R., Moyo, M., Van Staden, J., 2010, Natural Antioxidants: Fascinating or Mythical Biomolecules? *Molecules*, 15:6905-30.
- Niki, E., 1990, Free Radical Initiators as Source of Water-Soluble or Lipid-Soluble Peroxyl Radicals, *Method Enzymol*, 186:100-8.
- Oğuz, A., 2008, Bazı Çerez Gıdaların Antioksidan Kapasiteleri, Yüksek Lisans Tezi, *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Tokat, 24.
- Ohara, T., Hata, J., Yoshida, D., Mukai, N., Nagata, M., Iwaki, T. ve Ninomiya, T. 2017, Trends in dementia prevalence, incidence, and survival rate in a Japanese community, *Neurology*, 88(20), 1925-1932.

- Osmaniye, D. ve Çevik, U., A., 2021, Yeni imidazol-hidrazon türevlerinin sentezi ve antikolinesteraz aktivitesi, *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 23(1).
- Özel, G., S., K. ve Birdane, Y., O., 2014, Antioksidanlar, *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 2(7), 41-52.
- Özkaya, B., 2015, bazı yeni tiyazolil hidrazon türevlerinin sentezi, Yüksek Lisans Tezi, *Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Zonguldak, 6.
- P., B., Watkins, Zimmerman, H., J., Knapp, M., J., Gracon, S., I. ve Lewis, K., W., 1994, Hepatotoxic effects of tacrine administration in patients with Alzheimer's disease, *Jama Network*, 271, 992-998.
- Packer, L., Kraemer, K., Rimbach, G., 2001, Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications. *Nutrition*, 17: 888-895.
- Perez-Jimenez, J., Arranz, S., Tabernero, M., Diaz-Rubio, M., E., Serrano, J., Goni, I., Saura-Calixto, F., 2008, Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results, *Food Res Int*, 41, 274-85.
- Pham-Huy, L., A., He, H., Pham-Huy, C., 2008, Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health, *Int J Biomed Sci*, 4(2), 89-96.
- Phani, S., Loike, J., D., Przedborski, S., 2012, Neurodegeneration and inflammation in Parkinson's disease, *Parkinsonism & related disorders* 18(1), 207-209.
- Prior, R., L., Wu, X. ve Schaich, K., 2005, Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements, *Journal Of Agricultural Food Chemistry*, 53, 4290-4302.
- Quinn, D., M., 1987, Acetylcholinesterase: Enzyme Structure, Reaction Dynamics and Virtual Transition States, *Chemical Reviews*, 87(5), 955-979.
- Rahim, F., Ullah, H., Taha, M., Wadood, A., Javed, M. T., Rehman, W. ve Khan, K. M., 2016, Synthesis and in vitro acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory potential of hydrazide based Schiff bases, *Bioorganic chemistry*, 68, 30-40.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. ve Rice-Evans, C., 1999, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- Reiter, R., J., 2003, Melatonin: clinical relevance, *Best Practise & Research Clinical Endocrinology and Metabolism*, 17, 273-285.
- Roche, M., Rondeau, P., Singh, N., R., Tarnus, E., Bourdon, E., 2008, The antioxidant properties of serum albumin, *FEBS Lett*, 582(13), 1783-1787.
- Rollas, K. ve Küçükgülzel, Ş., G., 2007, Biological Activities of Hydrazone Derivatives, *Molekules*, 12, 1910-1939.
- Roudbaraki, S. J., Mansoor, S. S. ve Ghashang, M. 2021, Aqueous media synthesis of pyrano [3, 2-c] chromen derivatives using magnesium oxide nanoparticles as a recyclable catalyst, *Polycyclic Aromatic Compounds*, 41(1), 211-222.

- Sağlık, B., N. ve Çevik, U., A., 2020, Yeni Benzimidazol-Hidrazon Türevlerinin Tasarımı, Sentezi Ve Kolinesteraz İnhibitör Aktivitesi, 29, 205-209.
- Scior., T., 2006, Isoniazid is not a lead compound for its pyridyl ring derivatives, isonicotinoyl amides, hydrazides, and hydrazones: A critical review, *Current Medicinal Chemistry*, 13, 2205-2219.
- Sen, S., Chakraborty, R., 2011, The Role of Antioxidants in Human Health. American Chemical Society, Oxidative Stress: *Diagnostics, Prevention and Therapy*, Chapter 1, 1-37.
- Shah, P., Leila, F., A., Shraddha, G., Dasharath, C., Varun, K., Sanyog, J., Kamlesh, K., B., Smit, K. ve Inder, P., S., 2018, *Chemistry Select*, 3(38), 10727-10731.
- Sharma, S.-Y. S., Vinay K. Sharma, and Niti, 2003, Mushroom Tyrosinase : Recent Prospects, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(10), 2837-2853.
- Shinde, A., Ganu, J. ve Naik, P., 2012, Effect of free radicals & Antioxidants on oxidative stress: A review, *J Dental Allied Sciences*, 1(2), 63-66.
- Sies, H. 1991, Oxidative stress: from basic research to clinical application. *The American journal of medicine*, 91(3), 31-38.
- Siti, H., N., Kamisah, Y. ve Kamisah, 2015, The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease, *Vascular Pharmacology*, ,71, 40.
- Solomons, G., F., 2002, Organik Kimya, *Literatür Yayıncılık*, İstanbul.
- Srivastava, P., Tripathi, P. N., Sharma, P., Rai, S. N., Singh, S. P., Srivastava, R. K. ve Shrivastava, S., K., 2019, Design and development of some phenyl benzoxazole derivatives as a potent acetylcholinesterase inhibitor with antioxidant property to enhance learning and memory, *European journal of medicinal chemistry*, 163, 116-135.
- Srivastava, S., K., Srivastava, P., Upendra, T., V., R., Tripathi, P., N., Sinha, S., K., 2017, Design, synthesis and evaluation of some N-methylenebenzenamine derivatives as selective acetylcholinesterase (AChE) inhibitor and antioxidant to enhance learning and memory, *Bioorg Med Chem*, 2017, 25(4), 1471-1480.
- Townsend D.,M., Tew K.,D., Tapiero H., 2003, The importance of glutathione in human disease, *Biomed Pharmacother*, 57(3-4), 145- 155.
- Uppal, G., Bala, S., Kamboj, S., Saini, M., 2011, Therapeutic Review Exploring Antimicrobial Potential of Hydrazones as Promising Lead, *Der Pharma Chemica*, 3(1), 250-268.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M., T., Mazur, M., Telser, J., 2007, Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39, 44 - 84.
- Van Der Lee, S., J., Wolters, F., J., Ikram, M., K., Hofman, A., Ikram, M., A., Amin, N. ve Van Duijn, C., 2018, The effect of APOE and other common genetic variants on the onset of Alzheimer's disease and dementia: a community-based cohort study, *Lancet Neurol*, 17, 434-444.
- Venkatesh, R. ve Sood, D., 2011, A Review of The Physiological Implications of Antioxidants in Food, *Interactive Qualifying Project Report, Worcester Polytechnic Institute*, 72.

- Verma, G., Marella, A., Shaquiquzzaman, M., Akhtar, M., Ali, M. R., & Alam, M. M., 2014, A review exploring biological activities of hydrazones, *Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences*, 6(2), 69.
- Wayner, D., D., M., Burton, G., W., Ingold, K., U., Barclay, L., R., Locke, S., J., 1987, The Relative Contributions of Vitamin-E, Urate, Ascorbate and Proteins to the Total Peroxyl Radical-Trapping Antioxidant Activity of Human-Blood Plasma, *Biochim Biophys Acta*, 924:408-19.
- Wortmann, M., 2012, Dementia: a global health priority – highlights from an ADI and World Health Organization report, *Alzheimer's Reseserch&Therapy*, 4, 40.
- Xing, S., Li, Q., Xiong, B., Chen, Y., Feng, F., Liu, W., Sun, H., 2020, Structure and therapeutic uses of butyrylcholinesterase: Application in detoxification, Alzheimer's disease, and fat metabolism, *Med Res Rev*, 41(2), 858-901.
- Xu, H., ve Zhang, J. L., 2011, Natural products-based insecticidal agents 11, Synthesis and insecticidal activity of novel 4 α -arylsulfonyloxybenzyloxy-2 β -chloropodophyllotoxin derivatives against *Mythimna separata* Walker in vivo, *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 21(18), 5177-5180.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Yusuf İslam ESMER
Uyruğu : Türkiye Cumhuriyeti

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Üniversite	: Gümüşhane Üniversitesi	2016

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2016	M.E.B.	Teknoloji ve Tasarım Öğretmeni
2022	Sağlık Bakanlığı	Diyetisyen