
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Gazi
1926

PARKİNSON TEDAVİSİ SIRASINDA 3-O-METİLDOPANIN MEYDANA GELİŞİNDE ROL OYNAYAN ENZİMİ İNHİBE EDİCİ YENİ AZOMETİN BİLEŞİKLERİ VE İN SİLİKO ÇALIŞMASI

Erva HALCE

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANA BİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

OCAK 2026

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Erva HALCE

14/01/2026

PARKİNSON TEDAVİSİ SIRASINDA 3-O-METİLDOPANIN MEYDANA GELİŞİNDE ROL OYNAYAN ENZİMİ İNHİBE EDİCİ YENİ AZOMETİN BİLEŞİKLERİ VE İN SİLİKO ÇALIŞMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Erva HALCE

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2026

ÖZET

Parkinson hastalığı (PH) dünya çapında en yaygın ikinci nörodejeneratif hastalıktır. Hastalığın nedeni beynin substantia nigra bölgesindeki dopaminerjik hücrelerin ölümüdür. PH tedavisi için en etkili farmakolojik ilaç dopamin öncüsü olan (L-3,4-dihidroksifenilalanin, L-DOPA) Levodopa'dır. Ancak L-DOPA'nın %1-3 kadar kısmı beyne ulaşır. Bu nedenle L-DOPA'dan maksimum verim elde edebilmek ve derişimini sabit tutabilmek için uygulanan yöntemlerden biri katekol-O-metiltransferaz (KOMT) enzim inhibitörlerini kullanmaktır. Tez kapsamında, KOMT inhibitörlerine model olabilecek triazol ve tetrazol temelli Schiff bazlarının in siliko araştırması ve hücre hattı sitotoksisite tahminleri yapıldıktan sonra hedef moleküllerin KOMT inhibisyonu için uygun yapılar olduğu sonucuna varılmış ve sentezleri gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen altı Schiff bazı türevlerinin yapıları elementel analiz, UV-GB, FT-IR, NMR ve HRMS yöntemleri ile karakterize edilmiştir. Ardından Schiff bazlarının KOMT enzim inhibisyonu üzerine olan araştırmaları sonucunda 2H5NB-5AT kodlu Schiff bazının 56,48 µM IC_{50} değeri ile en iyi inhibisyon sonucunu gösterdiği belirlenmiştir. Moleküler kenetleme analizleri sonucunda tüm Schiff bazlarının KOMT enziminin aktif bölgesine Mg^{2+} iyonu ve Glu249 amino asiti ile etkileşerek yerleşebildiği, ayrıca en yüksek bağlanma skorlarının 2H5NB-TRİ kodlu Schiff bazı için –8,555 kcal/mol, 2H5NB-5AT kodlu Schiff bazı için ise –8,191 kcal/mol olarak belirlenmiştir.

Bilim Kodu : 20103

Anahtar Kelimeler : Schiff bazı, in siliko, inhibisyon, katekol-O-metiltransferaz

Sayfa Adedi : 73

Danışman : Prof. Dr. Nurşen SARI

NEW AZOMETHINE COMPOUNDS AS INHIBITORS OF THE ENZYME INVOLVED IN THE FORMATION OF 3-O-METHYLDOPA DURING PARKINSON'S THERAPY AND AN IN SILICO STUDY

(M. Sc. Thesis)

Erva HALCE

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

January 2026

ABSTRACT

Parkinson's Disease (PD) is the second most common neurodegenerative disease worldwide. The cause of the disease is the death of dopaminergic cells in the substantia nigra region of the brain. The most effective pharmacological drug for PD treatment is Levodopa, a dopamine precursor (L-3,4-dihydroxyphenylalanine, L-DOPA). However, only 1-3% of L-DOPA reaches the brain. Therefore, one method used to maximize the efficiency of L-DOPA and maintain its concentration is to use catechol-O-methyltransferase (COMT) enzyme inhibitors. Within the scope of the thesis, triazole and tetrazole-based Schiff bases that could serve as models for COMT inhibitors were investigated in silico, and cell line cytotoxicity predictions were made. It was concluded that the target molecules were suitable structures for COMT inhibition, and their synthesis was carried out. The structures of the six synthesized Schiff base derivatives were characterized using elemental analysis, UV-Vis, FT-IR, NMR, and HRMS methods. Subsequently, studies on the KOMT enzyme inhibition of the Schiff bases revealed that the 2H5NB-5AT Schiff base showed the best inhibition result with an IC50 value of 56.48 μM. Molecular docking analyses revealed that all Schiff bases could bind to the active site of the KOMT enzyme by interacting with the Mg^{2+} ion and the Glu249 amino acid. And the highest binding scores were determined to be –8.555 kcal/mol for the Schiff base coded 2H5NB-TRI and –8.191 kcal/mol for the Schiff base coded 2H5NB-5AT.

Science Code : 20103

Key Words : Schiff base, in silico, inhibition, catechol-O-methyltransferase

Page Number : 73

Supervisor : Prof. Dr. Nurşen SARI

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının her aşamasında bilgi, tecrübe ve rehberliğiyle bana yol gösteren, akademik gelişimime büyük katkı sağlayan değerli danışman hocam Prof. Dr. Nurşen SARI'ya en içten teşekkürlerimi sunarım. Çalışmam süresince bilimsel katkıları, yönlendirmeleri ve desteğiyle yanımda olan kıymetli hocam Prof. Dr. Fatma ARSLAN ve Arş. Gör. Dr. Onur Can BODUR'a teşekkür ederim. Tez çalışması, TÜBİTAK 1002A (124Z774) ve FYL-2025-10040 kodlu Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Araştırmamıza olan desteklerinden dolayı TÜBİTAK ve GÜ BAP Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim. Eğitim hayatım boyunca bana burs desteği sağlayarak akademik çalışmalarımı yapabilme imkanını sağlayan Yurtdışı Türkiye ve Akrabalar Topluluğu Başkanlığı'na şükranlarımı sunarım. Ayrıca, maddi manevi her zaman yanımda olan, sabır ver sevgileriyle bana güç veren canım annem Ardora ve canım babam Luan'a, kardeşlerim Erza ve Cemal'e manevi desteklerinden dolayı gönülden teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET iv

ABSTRACT v

TEŞEKKÜR vi

İÇİNDEKİLER vii

ÇİZELGELERİN LİSTESİ ix

ŞEKİLLERİN LİSTESİ x

SİMGELER VE KISALTMALAR xiv

1. GİRİŞ 1

2. GENEL BİLGİLER 3

2.1. Parkinson Hastalığı ve L-DOPA 3

2.2. Katekol-O-Metiltransferaz Enzimi ve İnhibisyon Mekanizması 5

2.3. Enzimi İnhibitörleri 7

2.4. KOMT Enzim İnhibitörü 10

2.5. İlaç Kimyasında Triazoller ve Tetrazoller 14

2.6. İn Siliko 17

3. MATERYAL VE YÖNTEM 19

3.1. Farmakokinetik ve Lipinski Kuralı Değerlendirmesi 19

3.2. Moleküler Kenetleme 19

3.3. Kullanılan Cihazlar 19

3.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler 20

3.5. Hazırlanan Çözeltiler 20

4. DENEYSEL YÖNTEM 23

4.1. Schiff Bazlarının Sentezi 23

4.1.1. 3,4DHB-5AT Schiff bazının sentezi 23

Sayfa

4.1.2. 3,5DHB-5AT Schiff bazının sentezi 23
4.1.3. 2H5NB-5AT Schiff bazının sentezi 24
4.1.4. 3H4NB-5AT Schiff bazının sentezi 24
4.1.5. 3,4DHB-TRİ Schiff bazının sentezi 25
4.1.6. 3,5DHB-TRİ Schiff bazının sentezi 25
4.1.7. 2H5NB-TRİ Schiff bazının sentezi 26
4.1.8. 3H4NB-TRİ Schiff bazının sentezi 27
4.2. Katekol-O-Metiltransferaz Enzim Aktivitesi Ölçümü 27
5. SONUÇLAR 31
5.1. ADME Sonuçları 32
5.2. Hücre Hattı Sitotoksisite Tahmini 35
5.3. Element Analizleri ve Fiziksel Özellikler 36
5.4. Kütle Spektrumları 36
5.5. FT-IR Analiz Sonuçları 38
5.6. UV-GB Analiz Sonuçları 41
5.7. ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR Analiz Sonuçları 43
5.8. Katekol-O-metiltransferaz Enzim İnhibisyon Sonuçları 54
5.9. Moleküler Kenetleme Sonuçları 57
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 63
KAYNAKLAR 65
EKLER 71
EK-1. 23.Uluslararası Bilimsel Araştırmalar Kongresinde Sunulan Bildiri Özeti 72
ÖZGEÇMİŞ 73

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 2.1. KOMT enzim inhibisyonu için hazırlanan 3-hidroksipiridin-4-on türevlerine ait IC_{50} değerleri 13

Çizelge 3.1. Kimyasal listesi 20

Çizelge 4.1. Entakapon inhibitörün inhibisyon protokolü 28

Çizelge 4.2. 2H5NB-TRİ, 2H5NB-5AT kodlu Schiff bazlarının inhibisyon protokolü. 28

Çizelge 4.3. 3,4DHB-TRİ kodlu Schiff bazının inhibisyon protokolü 28

Çizelge 4.4. 3H4NB-TRİ, 3H4NB-5AT kodlu Schiff bazlarının inhibisyon protokolü. 28

Çizelge 4.5. 3,4DHB-5AT kodlu Schiff bazının inhibisyon protokolü 28

Çizelge 5.1. Schiff bazlarının sembolleri, molekül yapıları ve adlandırmaları 31

Çizelge 5.2. Triazol ve tetrazol temelli azometin bileşikleri için SMILES kodları ve biyoyararlanım radarları 32

Çizelge 5.3. Sentezlenen Schiff bazlarının farmakokinetik ve ilaç benzerliği açısından ADME sonuçları 34

Çizelge 5.4. Seçilmiş organlarda hücre hattı sitotoksisite tahmini 35

Çizelge 5.5. Schiff bazlarının element analizi sonuçları ve fiziksel özellikleri 36

Çizelge 5.6. Schiff bazlarının belirgin FT-IR titreşimleri 39

Çizelge 5.7. Schiff bazlarının UV-GB sonuçları 41

Çizelge 5.8. Entakapon ve Schiff bazlarının enzim inhibisyon sonuçları 55

Çizelge 5.9. Moleküler kenetleme çalışması sonucu tetrazol temelli Schiff bazları için elde edilen kenetleme skorları 57

Çizelge 5.10. Moleküler kenetleme çalışması sonucu triazol temelli Schiff bazları için elde edilen kenetleme skorları 57

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil **Sayfa**

Şekil 2.1. Beyin içine giren N-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin'nin 1-metil-4-fenilpiridinyum'ye dönüşmesi ve dopaminerjik hücre ölümünü ifade eden şematik gösterim 3

Şekil 2.2. Sağlıklı ve Parkinsonlu bireyde substantia nigra pars compacta'nın şematik görüntüsü..... 4

Şekil 2.3. Dopamin ve L-DOPA molekülleri arasındakş farklılık..... 4

Şekil 2.4. L-DOPA'nın kullanım yolunu ifade eden şematik gösterim 5

Şekil 2.5. KOMT enziminin kataliz sonucu oluşan O-metillenmiş katekol ve S-adenozil-L-homosistein (A) ve 3 boyutlu yapısının (B) şematik gösterimi 6

Şekil 2.6. Pentasiklik triterpenlerin KOMT'un katekol-bağlanma bölgesindeki inhibisyon mekanizması..... 6

Şekil 2.7. Yarışmalı inhibisyon türünde enzimin aktif bölgesine S ve I'nın bağlanma mekanizması 7

Şekil 2.8. Yarışmasız inhibisyon türünde enzimin aktif bölgesine S ve I'nın bağlanma mekanizması..... 8

Şekil 2.9. Yarışmalı olmayan inhibisyon türünde enzimin aktif bölgesine S ve I'nın bağlanma mekanizması 8

Şekil 2.10. Karışık inhibisyon türünde enzimin aktif bölgesine S ve I'nın bağlanma mekanizması 9

Şekil 2.11. İnhibitör varlığında ve yokluğunda Lineweaver-Burk grafiği..... 9

Şekil 2.12. Piridinon (A) ve primidinon (B) yapısındaki moleküller 10

Şekil 2.13. Nitro ve hidrokso grubunu içeren heterosiklik moleküller..... 10

Şekil 2.14. Perez ve arkadaşlarının hazırladıkları nitrobenzaldehit türevleri 11

Şekil 2.15. Çalışılan katekollerin yapısı 11

Şekil 2.16. KOMT inhibisyon çalışmaları için sentezlenen nitrokatekol türevleri..... 12

Şekil 2.17. Nirto grubu bulundurmayan hidroksipiridinon türevleri 13

Şekil 2.18. Bindra ve diğerleri tarafından hazırlanan KOMT inhibitörleri 14

Şekil 2.19. Bindra ve diğerleri tarafından hazırlanan KOMT inhibitörleri 14

Şekil **Sayfa**

Şekil 2.20. Triazol veya tetrazol ajanlar 15

Şekil 2.21. (piridin-2-il) tetrazol iskeletini taşıyan yeni tetrazol türevi 17

Şekil 2.22. SwissADME yazılımının kullanılması ile ilgili işlemlerin ilk görüntüsü 18

Şekil 2.23. SwissADME analizleri sonucu molekülün özelliklerinin ortaya çıkışı ile ilgili görsel..... 18

Şekil 4.1. 3,4-dihidroksi benzaldehit ve 5-aminotetrazolün kondenzasyon tepkimesi... 23

Şekil 4.2. 3,5-dihidroksi benzaldehit ve 5-aminotetrazol arasındaki kondenzasyon tepkimesi..... 24

Şekil 4.3. 2-hidroksi-5-nitrobenzaldehit ve 5-aminotetrazol arasındaki kondenzasyon tepkimesi..... 24

Şekil 4.4. 3-hidroksi-4-nitrobenzaldehit ve 5-aminotetrazol arasındaki kondenzasyon tepkimesi..... 25

Şekil 4.5. 3,4-dihidroksi benzaldehit ve 3-amino-1H-1,2,4-triazol arasındaki kondenzasyon tepkimesi..... 25

Şekil 4.6. 3,5-dihidroksi benzaldehit ve 3-amino-1H-1,2,4-triazol arasındaki kondenzasyon tepkimesi..... 26

Şekil 4.7. 2-hidroksi-5-nitrobenzaldehit ve 3-amino-1H-1,2,4-triazol arasındaki kondenzasyon tepkimesi..... 26

Şekil 4.8. 3-hidroksi-4-nitrobenzaldehit ve 3-amino-1H-1,2,4-triazol arasındaki kondenzasyon tepkimesi 27

Şekil 5.1. 3,4DHB-5AT molekülünün HRMS spektrumu..... 37

Şekil 5.2. 2H5NB-5AT molekülünün HRMS spektrumu..... 37

Şekil 5.3. 3H4NB-5AT molekülünün HRMS spektrumu..... 37

Şekil 5.4. 3,4DHB-TRİ molekülünün HRMS spektrumu..... 38

Şekil 5.5. 2H5NB-TRİ molekülünün HRMS spektrumu..... 38

Şekil 5.6. 3H4NB-TRİ molekülünün HRMS spektrumu..... 38

Şekil 5.7. 3,4DHB-5AT kodlu tetrazol temelli Schiff bazının FT-IR spektrumu..... 39

Şekil 5.8. 2H5NB-5AT kodlu tetrazol temelli Schiff bazının FT-IR spektrumu..... 39

Şekil 5.9. 3H4NB-5AT kodlu tetrazol temelli Schiff bazının FT-IR spektrumu..... 40

Şekil 5.10. 3,4DHB-TRİ kodlu triazol temelli Schiff bazının FT-IR spektrumu 40

Şekil **Sayfa**

Şekil 5.11. 2H5NB-TRİ kodlu triazol temelli Schiff bazının FT-IR spektrumu 40

Şekil 5.12. 3H4NB-TRİ kodlu triazol temelli Schiff bazının FT-IR spektrumu 41

Şekil 5.13. (a) 3,4DHB-5AT, (b) 2H5NB-5AT ve (c) 3H4NB-5AT kodlu tetrazol temelli Schiff bazlarının UV spektrumu 42

Şekil 5.14. (a) 3,4DHB-TRİ, (b) 2H5NB-TRİ ve (c) 3H4NB-TRİ kodlu triazol temelli Schiff bazlarının UV spektrumu 42

Şekil 5.15. 3,4DHB-5AT kodlu Schiff bazının 1H-NMR spektrumu 43

Şekil 5.16. 2H5NB-5AT kodlu Schiff bazının 1H-NMR spektrumu 44

Şekil 5.17. 3H4NB-5AT kodlu Schiff bazının 1H-NMR spektrumu 45

Şekil 5.18. 3,4DHB-TRİ kodlu Schiff bazının 1H-NMR spektrumu 46

Şekil 5.19. 2H5NB-TRİ kodlu Schiff bazının 1H-NMR spektrumu 47

Şekil 5.20. 3H4NB-TRİ kodlu Schiff bazının 1H-NMR spektrumu 48

Şekil 5.21. 3,4DHB-5AT kodlu Schiff bazının 13C-APT spektrumu 49

Şekil 5.22. 2H5NB-5AT kodlu Schiff bazının 13C-APT spektrumu 50

Şekil 5.23. 3H4NB-5AT kodlu Schiff bazının 13C-APT spektrumu 51

Şekil 5.24. 3,4DHB-TRİ kodlu Schiff bazının 13C-APT spektrumu 52

Şekil 5.25. 2H5NB-TRİ kodlu Schiff bazının 13C-APT spektrumu 53

Şekil 5.26. 3H4NB-TRİ kodlu Schiff bazının 13C-APT spektrumu 54

Şekil 5.27. (a) 3,4DHB-5AT ve (b) 3,4DHB-TRİ kodlu Schiff bazlarının IC50 sonuçlarını veren grafikler 56

Şekil 5.28. (a) 2H5NB-5AT ve (b) 2H5NB-TRİ kodlu Schiff bazlarının IC50 sonuçlarını veren grafikler 56

Şekil 5.29. (a) 3H4NB-5AT ve (b) 3H4NB-TRİ kodlu Schiff bazlarının IC50 sonuçlarını veren grafikler 56

Şekil 5.30. 3,4DHB-5AT kodlu tetrazol temelli Schiff bazının KOMT enzimi ile etkileşiminin 2D gösterimi 58

Şekil 5.31. 3,5DHB-5AT kodlu tetrazol temelli Schiff bazının KOMT enzimi ile etkileşiminin 2D gösterimi 58

Şekil 5.32. 2H5NB-5AT kodlu tetrazol temelli Schiff bazının KOMT enzimi ile etkileşiminin 2D gösterimi 59

Şekil **Sayfa**

Şekil 5.33. 3H4NB-5AT kodlu tetrazol temelli Schiff bazının KOMT enzimi ile etkileşiminin 2D gösterimi 59

Şekil 5.34. 3,4DHB-TRİ kodlu triazol temelli Schiff bazının KOMT enzimi ile etkileşiminin 2D gösterimi 60

Şekil 5.35. 3,5DHB-TRİ kodlu triazol temelli Schiff bazının KOMT enzimi ile etkileşiminin 2D gösterimi 60

Şekil 5.36. 2H5NB-TRİ kodlu triazol temelli Schiff bazının KOMT enzimi ile etkileşiminin 2D gösterimi 61

Şekil 5.37. 3H4NB-TRİ kodlu triazol temelli Schiff bazının KOMT enzimi ile etkileşiminin 2D gösterimi 61

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
ε	Epsilon
°C	Derece Celsius
µM	Mikromolar
cm^{-1}	Dalga sayısı
g	Gram
kcal/mol	Kilokalori/Mol
Log Kp	Logaritmik Cilt Geçirgenlik Katsayısı
M	Molar Derişim
mL	Mililitre
nm	Nanometre
nM	Nanomolar
Pa	Aktif Olma Olasılığı
Pi	Pasif Olma Olasılığı
λ	Dalga Boyu
µL	Mikrolitre
ν	Frekans

Kısaltmalar	Açıklamalar
3-BTD	3-(Benzo[d]Tiazol-2-İl)-7,8-Dihidroksi-2H-Krom-2-On
3-BTM	3-(Benzo[d]Tiazol-2-İl)-7-Dihidroksi-8-Metoksi-2H- Krom-2-On
AADK	Aromatik L- Amino Asit Dekarboksilaz
AChE	Asetilkolin Esteraz
ADME	Emilim, Dağılım, Metabolizma, Atılım
Aβ	Amiloid Beta
BChE	Bütirilkolin Esteraz
DA	Dopamin

Kısaltmalar	Açıklamalar
GI	Gastrointestinal
I	İnhibitör
IC_{50}	Yarı Maksimal İnhibitör Konsantrasyonu
KBB	Kan Beyin Bariyeri
Km	Michaelis Menten Sabiti
KOMT	Katekol-O-Metiltransferaz
L-DOPA	Levodopa
MPP	1-Metil-4-Fenilpiridinyum
MPTP	N-Metil-4-Fenil-1,2,3,6-Tetrahidropiridin
MTDL	Çoklu Hedefe Yönelik Ligantlar
PDB	Protein Data Bank
PH	Parkinson Hastalığı
S	Substrat
SAH	S-Adenozil-L-Homosistein
SAM	S-Adenozil-L-Metiyonin
Vmax	Reaksiyon Hızı

1. GİRİŞ

Levodopa (L-DOPA) Parkinson hastalığında (PH) en etkili semptomatik tedavi olarak kullanılmaktadır [1, 2]. Ancak levodopa, periferde aromatik L-amino asit dekarboksilaz (AADK) ve katekol-O-metiltransferaz (KOMT) enzimleri tarafından hızla metabolize edilmekte ve uygulanan dozun yalnızca yaklaşık %1'i beyine ulaşabilmektedir [3]. Bu nedenle, levodopanın biyoyararlanımını artırmak amacıyla AADK inhibitörleri kullanılmaktadır. Bununla birlikte, levodopa dozunun yaklaşık %90'ı yine KOMT tarafından 3-O-metildopa'ya dönüştürülmekte ve bu metabolit, kan-beyin bariyerinde levodopa ile taşınma için rekabet etmektedir [3]. Bu durum, periferik levodopa metabolizmasını daha da baskılayacak ek bir stratejiye olan ihtiyacı ortaya koymaktadır. Bu amaçla, KOMT inhibitörlerinin kullanımı gündeme gelmektedir [4]. Günümüzde klinik kullanım için yalnızca üç KOMT inhibitörü (entakapon, tolkapon ve opikapon) mevcuttur ve bu inhibitörlerin her birinin çeşitli yan etkileri bulunmaktadır. Tolkaponun karaciğer fonksiyonları üzerinde olumsuz etkiler gösterebildiği bildirilirken [5] entakapon ve opikapon daha güvenli kabul edilmektedir [5]; ancak bu bileşiklerin etkinliklerinin sınırlı olması nedeniyle yüksek dozlarda uygulanmaları gerekmektedir. Bu nedenle, daha etkili ve daha güvenli yeni KOMT inhibitörlerinin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

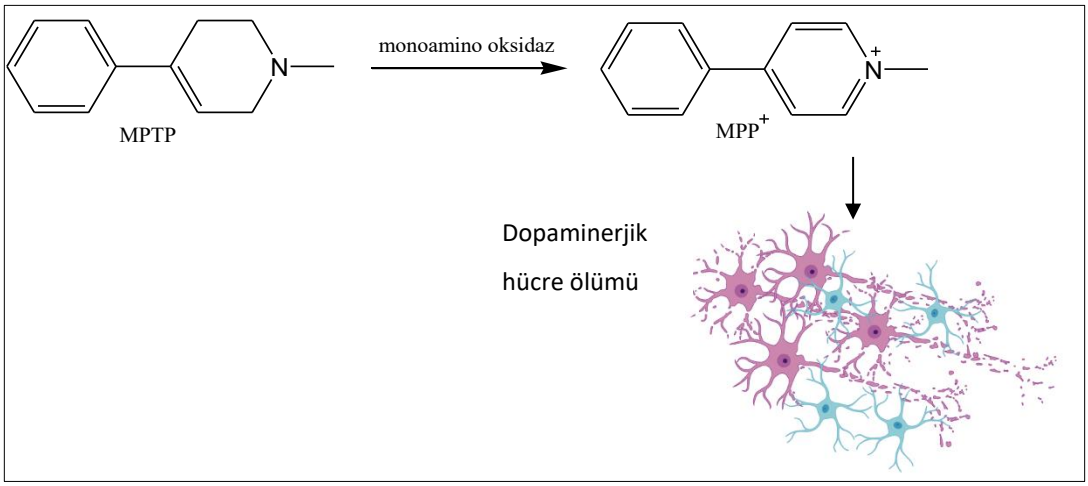
Sunulan tez çalışması, potansiyel KOMT inhibitörlerinin sentezi, karakterizasyonu, inhibisyon özellikleri ve enzim-molekül etkileşimlerinin incelenmesi üzerine hazırlanmıştır. Önden bu bileşiklerin in siliko araştırması yapılmıştır. İn siliko araştırmasına göre tetrazol ve triazol temelli Schiff bazlarının kan-beyin bariyerini geçemediği ve biyouyumlu olduğu belirlenmiştir. Altı yeni tetrazol ve triazol temelli Schiff bazlarının yapısal karakterizasyonu, elementel analiz ile birlikte FT-IR, NMR ve HRMS ve UV-GB spektroskopik yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

İnhibisyon çalışmalarında 2H5NB-5AT koldu Schiff bazının 56,48 μM IC_{50} değeri ile en belirgin inhibisyon etkisini gösterdiği gözlemlenmiştir. Moleküler kenetleme analizleri sonucunda, tüm Schiff bazlarının KOMT enziminin aktif bölgesine Mg^{2+} iyonu ve Glu249 amino asiti ile etkileşerek yerleşebildiği; ayrıca en yüksek bağlanma skorlarının 2H5NB-TRİ kodlu Schiff bazı için –8,555 kcal/mol, 2H5NB-5AT kodlu Schiff bazı için ise –8,191 kcal/mol olduğu belirlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Parkinson Hastalığı ve L-DOPA

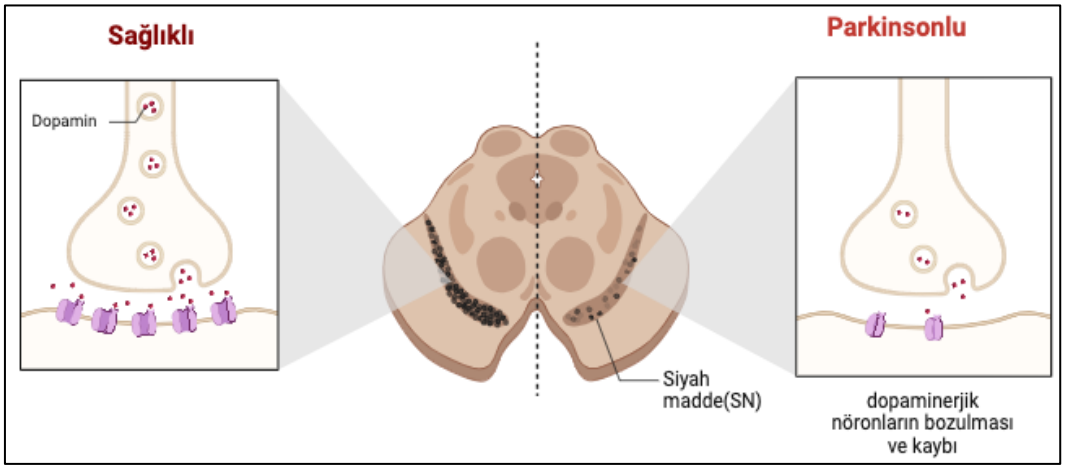
Antik Hindistan'da “Kampavata” adıyla bilinen Parkinson hastalığı (PH), ilk kez 1817 yılında James Parkinson tarafından “titrek felç” (shaking palsy) olarak tanımlandı. James Parkinson’un hastalar üzerindeki çalışmaları, Jean-Martin Charcot tarafından “maladie de Parkinson” (Parkinson hastalığı) olarak tanımlamasıyla önem kazanmaya başladı [6]. Parkinson hastalığı (PH) dünya çapında en yaygın ikinci nörodejeneratif hastalıktır ve yaşlanan nüfusla birlikte toplumlar üzerinde artan bir sosyal ve ekonomik yük oluşturmaktadır. Bu hastalık klinik olarak dört temel motor semptomdan oluşur. Klasik tetrad olarak ifade edilen bu semptomlar düşük frekanslı istirahat tremoru, yüz ve ellerde iskelet kaslarının sertliği (rijidite), azalmış motor aktivite (bradikinezi) ve duruş bozukluğu (postüral instabilite)'dur. 1980'li yıllarda Parkinson hastalığının çevredeki nörotoksik maddelerden kaynaklanabileceği düşüncesi N-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin (MPTP)'nin bilinmesiyle önem kazandı. [7, 8]. Beyin içine giren N-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin (MPTP) molekülü glial hücreler tarafından 1-metil-4-fenilpiridinyum (MPP)’a dönüşmesiyle MPP tarafından hücre yıkımı meydana geldiği ve serbest radikallerin birikmesine neden olduğu ifade edilmektedir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Beyin içine giren N-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin (MPTP)’nin 1-metil-4-fenilpiridinyum (MPP)’ye dönüşmesi ve dopaminerjik hücre ölümünü ifade eden şematik gösterim

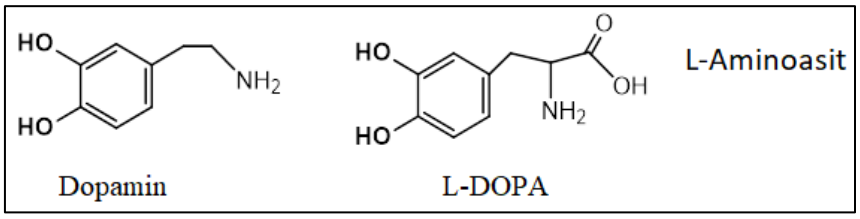
Dopaminerjik hücrelerin ölümü dopamin (DA) seviyelerinde önemli bir düşüşe neden olur ve bu da Parkinson hastalığında yukarıda bahsedilen kas sertliği, hareket yavaşlığı ve istirahat tremoru gibi semptomlara neden olur [9].

Patolojik açıdan bakıldığında, bu hastalığın nedeni substantia nigra pars compacta'daki dopaminerjik hücrelerin ölümüdür [10]. Substantia nigra Latince "siyah madde" anlamına gelir. Dopaminerjik nöronlardaki yüksek nöromelanin seviyeleri nedeniyle substantia nigra bölümleri komşu alanlardan daha koyu görünmektedir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Sağlıklı ve Parkinsonlu bireyde substantia nigra pars compacta'nın şematik görüntüsü [10]

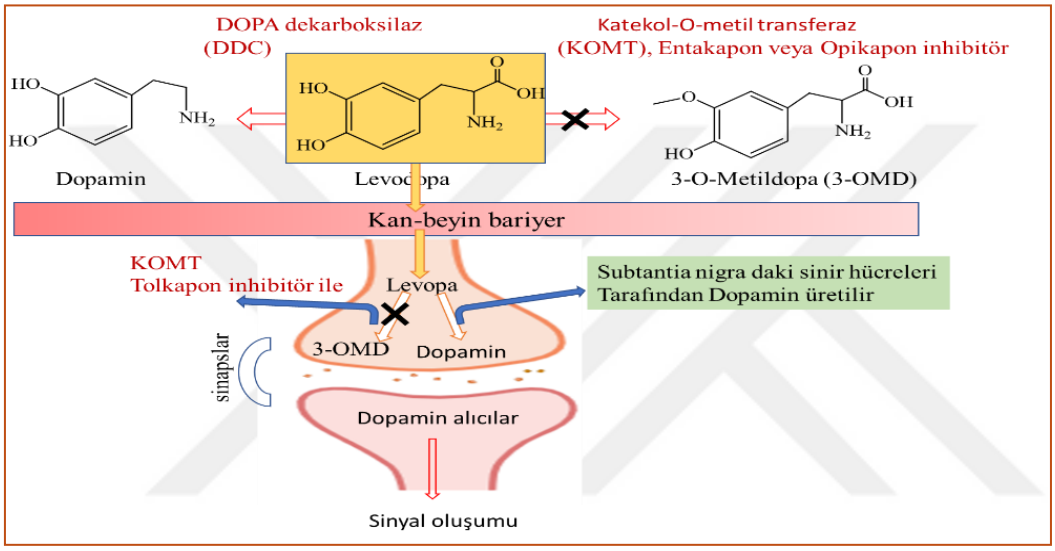
Parkinson hastalığı tedavisinin altın standardı L-DOPA kullanımı olmaktadır [11]. Şekil 2.3.'te formülleri verilen dopamin öncüsü olan L-DOPA kan-beyin bariyeri (KBB) boyunca taşınır [12]. Polarlığı yüksek olan dopamin molekülü KBB'yi geçemez, geçebilmesi için onu taşıyacak aktif taşıma proteinine ihtiyaç vardır.



Şekil 2.3. Dopamin ve L-DOPA molekülleri arasındakş farklılık

L-DOPA (l-3,4-dihidroksifenilalanin) 50 yıllık kullanımdan sonra bile PH'nın semptomatik tedavisi için en etkili farmakolojik ilaç olmaya devam etmektedir. L-DOPA, KBB'yi geçtiği

gibi hem merkezi sinir sisteminde hem de periferde DA'ya dönüşür [12]. Ancak, tedavi sırasında L-DOPA'nın yıpranması ve zamanla diğer motor komplikasyonların (er ya da geç) ortaya çıkması nedeniyle daha ileri tedavi adımlarına gerek duyulmaktadır [13]. KBB'yi geçen L-DOPA'nın ancak %1-3 kadar kısmı beyne ulaşır [14] (Şekil 2.4). Bu nedenle, L-DOPA'dan maksimum verim elde edebilmek için uygulanan yöntemlerden biri KOMT inhibitörlerinin kullanımıdır. Bu kullanım, L-DOPA derişimini stabil tutmaya yardımcı olabilmektedir [15].

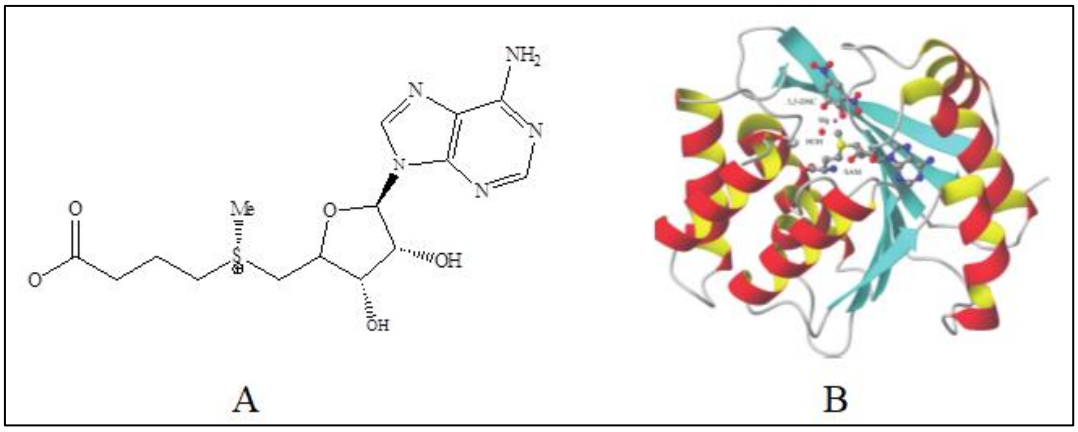


Şekil 2.4. L-DOPA'nın kullanım yolunu ifade eden şematik gösterim

2.2. Katekol-O-Metiltransferaz (KOMT) Enzimi ve İnhibisyon Mekanizması

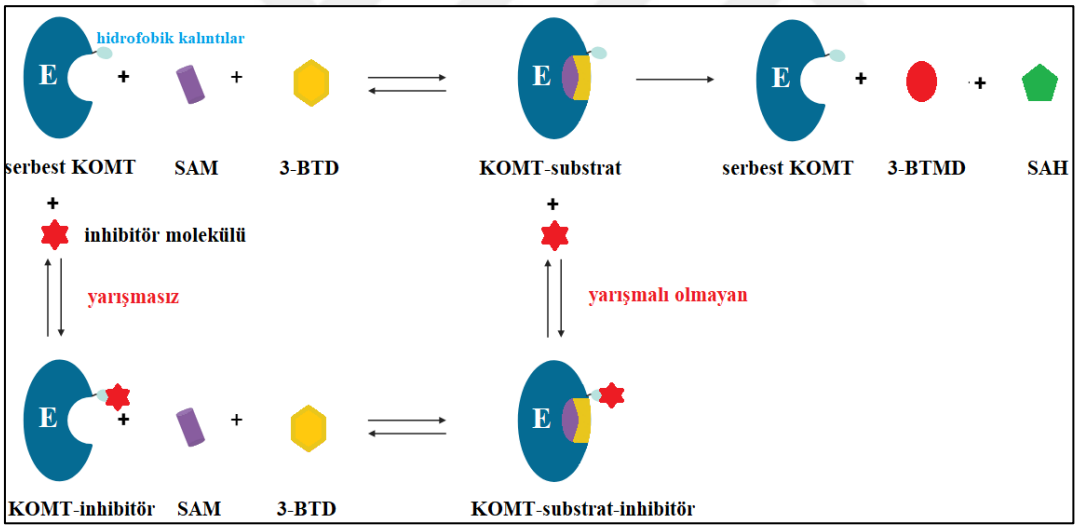
Katekol-O-metiltransferaz (KOMT; EC 2.1.1.6) ilk olarak Axelrod ve Tomchick (1958) tarafından tanımlandı [16]. Karaciğerde üretilen ve metil grubu transferini sağlayan S-adenozil-L-metiyonin (SAM)'i kullanarak katekol substratlarının metilasyonunu katalize ettiği ifade edilmektedir. Kofaktör olarak magnezyum içeren bu enzim, kataliz sonucunda ürün olarak O-metillenmiş katekol ve S-adenozil-L-homosistein'i (Şekil 2.5A) oluşturduğu Gulberg ve Marsden tarafından ifade edilmiştir [17]. KOMT'un üç boyutlu yapısının şematik gösterimi ilk kez Vidgren ve arkadaşları tarafından çözülmüştür [18].

Vidgren ve arkadaşları, KOMT'un üç boyutlu yapısını substrat S-adenozil-L-metiyonin (SAM), inhibitör 3,5-dinitrokatekol ve bir magnezyum iyonu ile kompleks halinde çözerek, enzimin aktif bölgesinin ayrıntılı yapısal düzenlemesini ortaya çıkarmışlardır (Şekil 2.5B).



Şekil 2.5. KOMT enziminin kataliz sonucu oluşan O-metillenmiş katekol ve S-adenozil-L-homosistein (A) ve 3 boyutlu yapısının (B) şematik gösterimi

Wang ve diğerleri, Şekil 2.6'da gösterilen pentasiklik triterpenlerin KOMT'un bağlanma bölgesindeki inhibisyon mekanizması üzerine bir çalışma yapmışlardır [19].



Şekil 2.6. Pentasiklik triterpenlerin KOMT'un katekol-bağlanma bölgesindeki inhibisyon mekanizması [19]

Bu çalışmada, (3-BTD) katekolün iç cebiyle etkileşimde bulunurken KOMT tarafından (3-BTMD)'ye O-metillendiğini ifade etmişlerdir. İnhibitör molekülünün, serbest KOMT yapısında bulunan hidrofobik kalıntılar ile etkileşmesi nedeniyle, yarışmalı olmayan bir inhibisyon mekanizmasının meydana geldiğini belirlemişlerdir. Ayrıca KOMT-substrat kompleksi inhibitör molekülü ile bağlandığında 3-BTD'den 3-DTMD'nin oluşumunu engellediği belirtilmiştir. Dolayısıyla, pentasiklik triterpenlerin KOMT'un aktif bölgesinini

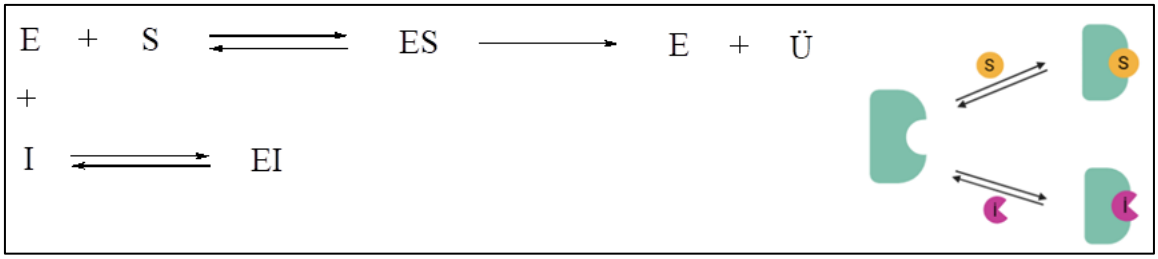
karışık (non-kompetitif + unkompetitif) bir inhibisyon mekanizması üzerinden inhibe ettiğini ifade etmişlerdir [19].

2.3. Enzimi İnhibitörleri

Enzim katalizli reaksiyonların hızını etkileyen bileşiklerin modülatör, moderator ya da modifikator olarak adlandırıldığı bilinmektedir [20]. Reaksiyon hızında azalma meydana geliyorsa bu olaya inhibisyon, artış oluyorsa aktivasyon denir. Enzim inhibisyonu, hem enzim mekanizmalarının incelenmesinde [21] hem de farmakolojik çalışmalarda [22] büyük ilgi görmektedir.

Enzim inhibitörleri genellikle iki gruba ayrılır [20]. Birinci grubu, tersinmez inhibitörler oluşturur. Tersinmez inhibitörler enzim yüzeyinde fonksiyonel gruplarla etkileşim sonucunda güçlü kovalent bağlar oluşturur. İkinci grubu ise enzim yüzeyinin farklı bölgeleriyle kovalent olmayan etkileşimlerle, süzme veya diyaliz ile kolayca geri kazanılabilen tersinir inhibitörler oluşturur. Enzime bağlanan tersinir bir inhibitör, enzim aktivitesini kısmen veya tamamen inhibe ederek azaltabilir. Dört tür tersinir inhibisyon bilinmektedir. Bunlar yarışmalı, yarışmasız, yarışmalı olmayan ve karışık inhibisyon türleridir.

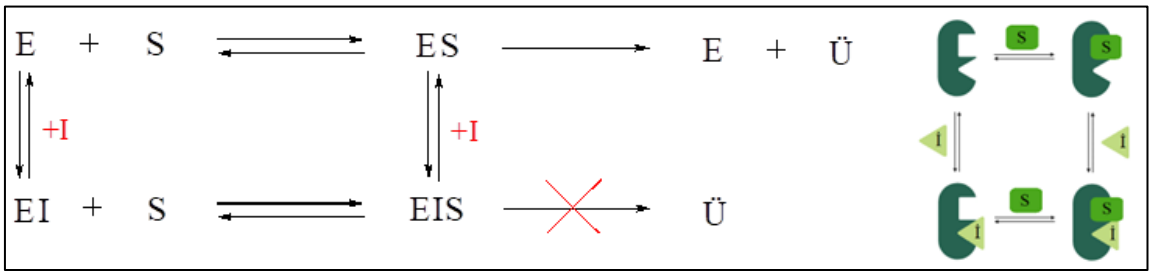
Yarışmalı inhibisyonda, substrat (S) ve inhibitör (I) birbirine benzerdir. Bu nedenle I ve S'nin aynı anda enzimin aktif bölgesine bağlanması zorlaşır (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. Yarışmalı inhibisyon türünde enzimin aktif bölgesine S ve I'nın bağlanma mekanizması

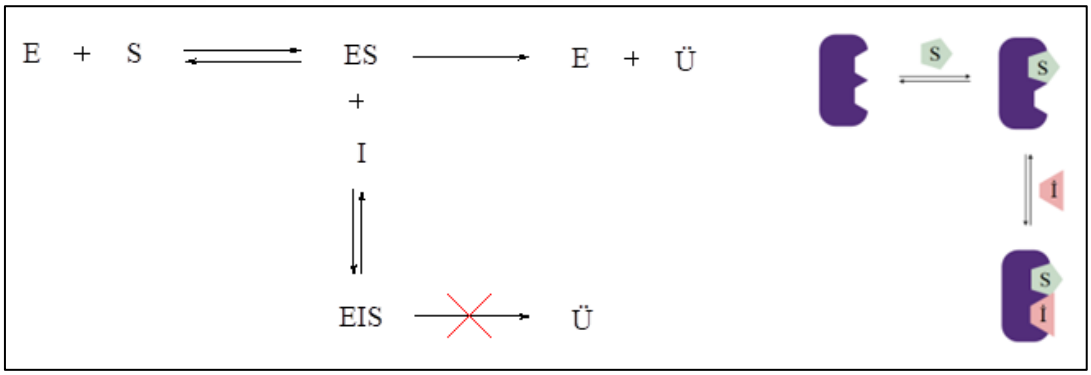
Yarışmalı inhibisyon türünde inhibitör, aktif bölge için substratla yarıştığından, inhibisyon derecesi, artan substrat konsantrasyonu ile azalır.

Yarışmasız inhibisyonda, S ve I yapıları birbirinden farklıdır. Bu nedenle aynı anda enzimin farklı bölgelerine bağlanabilir ve aktif bölge için yarışmazlar (Şekil 2.8). İnhibisyon derecesi, substrat konsantrasyonundaki değişimden etkilenmez.



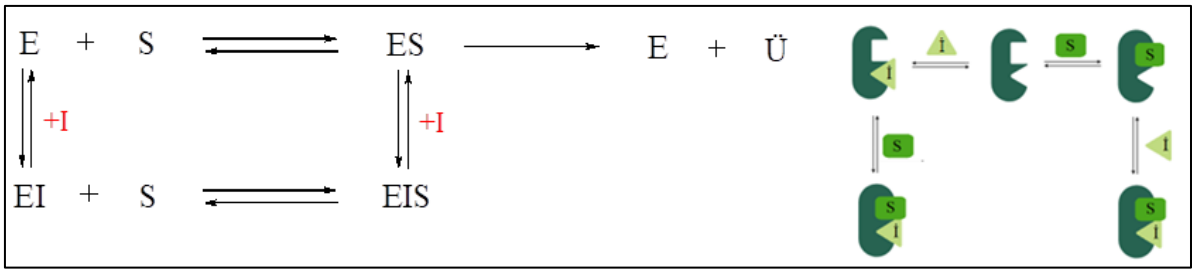
Şekil 2.8. Yarışmasız inhibisyon türünde enzimin aktif bölgesine S ve I'nın bağlanma mekanizması

Yarışmalı olmayan inhibisyonda, S enzime bağlandıktan sonra I enzime bağlanabilir. S'nin bağlanmasıyla enzim yapısında bir değişiklik meydana gelir. Böylece inhibitörün bağlanma yeri açığa çıkar ve I bağlanır (Şekil 2.9). İnhibisyon derecesi, substrat konsantrasyonundaki değişimle artar.



Şekil 2.9. Yarışmalı olmayan inhibisyon türünde enzimin aktif bölgesine S ve I'nın bağlanma mekanizması

Karışık inhibisyonda, S ve I enzime aynı anda iki farklı bölgeye birbirine bağımlı olarak bağlanabilirler. S veya I'nın bağlanma ilgisi diğerinin bağlanmasından etkilenir (Şekil 2.10). İnhibisyon derecesi, substrat konsantrasyonundaki değişimden etkilenir.



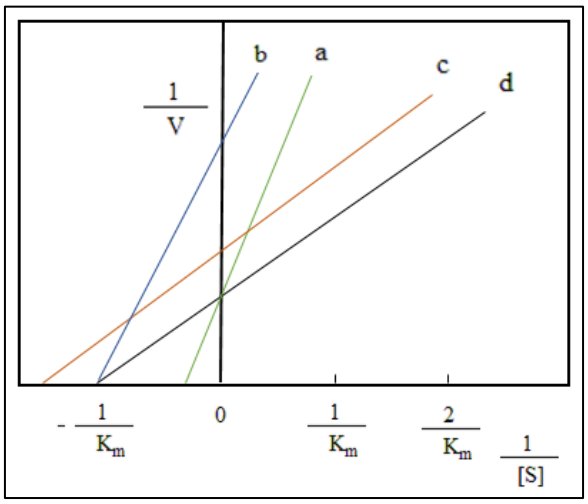
Şekil 2.10. Karışık inhibisyon türünde enzimin aktif bölgesine S ve I'nın bağlanma mekanizması

İnhibisyon türünü belirlemek için Lineweaver-Burk denklemi kullanılır [23,24]. Bu ilişki Denklem (2.1)'de verilmiştir.

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{max}} \times \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}} \qquad (2.1)$$

V ve $Vmax$ sırasıyla başlangıç ve maksimum hızlar olup, Km bir inhibitör varlığında Michaelis-Menten sabitidir. Lineweaver-Burk grafiği, $1/V$'ye karşı $1/[S]$ grafiğidir.

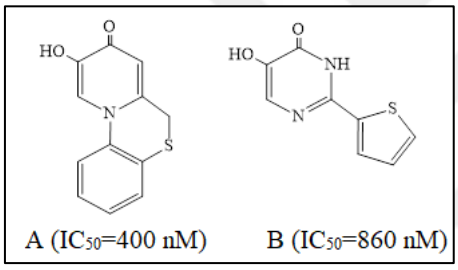
İnhibitör varlığında ve yokluğunda Lineweaver-Burk grafiğinin kesişim noktasının konumu inhibisyon türünü belirlemek için kullanılabilir (Şekil 2.11).



Şekil 2.11. İnhibitör varlığında ve yokluğunda (a: yarışmalı, b: yarışmasız, c: yarışmalı olmayan ve d: inhibitör yokluğunda) Lineweaver-Burk grafiği

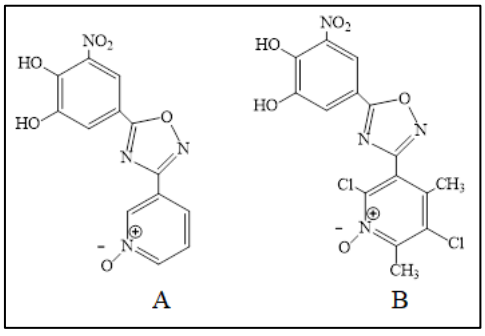
2.4. KOMT Enzim İnhibitörü

En önemli üç KOMT inhibitörleri entakapon, tolkapon ve opikapon'dur. Bu ilaçların etki mekanizması KOMT enziminin inhibisyonuna dayanır, böylece kanda daha yüksek bir L-DOPA derişimini sağlanmış olur [25]. Entakapon KBB'yi geçemediğinden KOMT'u periferik olarak inhibe ederken, tolkapon KBB'yi geçerek L-DOPA'nın biyoyararlanımını artırır [26]. Ancak tolkapon karaciğer yetmezliği oluşturur ve bu da klinik kullanımını sınırlamaktadır. Üçüncü nesil inhibitörler olarak ifade edilen "opikapon" düşük toksisite ve daha fazla etkinlik gösterse de KBB'yi geçememektedir [27]. Harrison ve diğerleri 2015 yılında 3-Hidroksi-4-piridinon ve 5-hidroksi-4-pirimidinonları sentezleyerek, bu bileşiklerin KOMT inhibitörleri olarak güçlü yanıt verdiğini ve toksisitelerinin düşük olduğunu ifade etmişlerdir [28] (Şekil 2.12).



Şekil 2.12. Piridinon (A) ve primidinon (B) yapısındaki moleküller

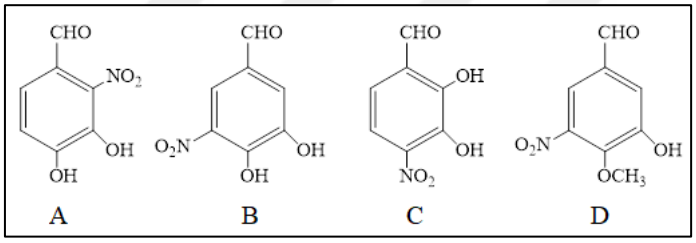
Kiss ve diğerleri [29], uzun etkili ve periferalden geçen KOMT inhibitörleri olarak 1,2,4-oksadiazol türevleri üzerinde çalışmışlardır (Şekil 2.13).



Şekil 2.13. Nitro ve hidrokso grubunu içeren heterosiklik moleküller

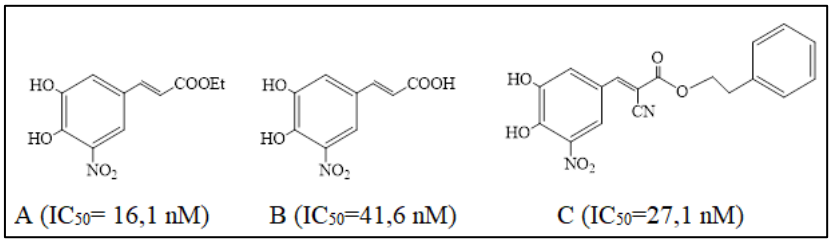
Türevlerden birinin entakapon ile karşılaştırılabilir aktiviteye ve düşük toksisiteye sahip olduğunu ifade etmişlerdir. Şekil 2.13B'de verilen molekül Parkinson hastalığı için L-DOPA ile yardımcı bir tedavi olarak hala klinik deney aşamasındadır.

Borchardt ve diğerleri [30], 5,6-dihidroksi indolün 4. ve 7. konumunda metillenmiş analoglarından oluşan bir seri molekül sentezlemişler ve sıçan karaciğerinden elde edilen KOMT'un inhibisyonunu değerlendirmişlerdir. Bu moleküllerin inhibisyon kapasitesinin oksijene bağlı olduğunu, oksijen olmadığında çalışmadığını ifade etmişlerdir. Bu durumu, molekülde oksijen atomunun bulunmaması nedeniyle amino kromene dönüşümün gerçekleşememesiyle açıklamışlardır. Perez ve diğerleri [31], KOMT inhibisyonu için dihidroksinitrobenzaldehit ve hidroksimetoksinitrobenzaldehitlerin nitro türevlerini sentezlemişlerdir. Tüm bileşiklerin inhibitör özellik gösterdiği, özellikle beşinci pozisyondaki elektron çekici sübstitüentin varlığının inhibisyon etkinliğini artırdığı rapor edilmiştir. Ayrıca, tüm dihidroksinitrobenzaldehitlerin güçlü inhibisyon gösterdiği; bunlar arasında hidroksil grubuna orto konumunda nitro grubu taşıyan ve Şekil 2.14.'te verilen A, B, C kodlu bileşiklerin daha güçlü inhibisyon sergilediği belirtilmiştir.



Şekil 2.14. Perez ve arkadaşlarının hazırladıkları nitrobenzaldehit türevleri

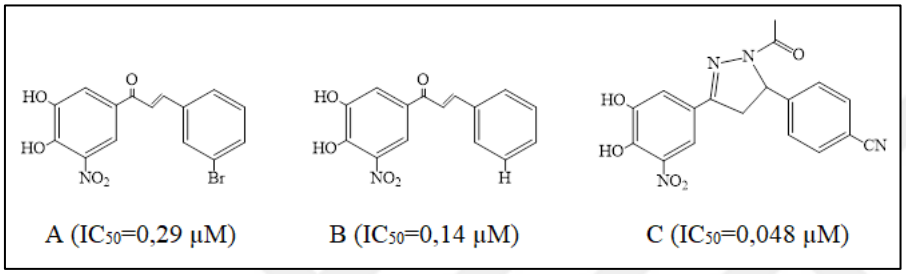
Pinheiro ve diğerleri [32], KOMT inhibitörleri olarak bazı yeni katekollerin farmakodinamik etkilerini incelemiş; sıçan karaciğer-beyin membranına bağlı KOMT (MB-KOMT) ve çözünür KOMT (S-KOMT) aktiviteleri açısından değerlendirme yapmışlardır.



Şekil 2.15. Çalışılan katekollerin yapısı

Şekil 2.15.'te verilen ilk iki molekülün S-KOMT'a karşı en iyi etkiyi gösterdiğini; MB-KOMT'a karşı ise en iyi etkinin Şekil 2.15C'deki bileşik tarafından sergilendiğini belirlemişlerdir.

Pinheiro ve diğerleri inhibisyon çalışmalarında elde ettikleri sonuçlara dayanarak nitrokatekol parçasının KOMT inhibisyonu için ayrıcalıklı bir yapı olduğunu ifade etmişlerdir. Nitekim, nitrokatekol parçası klinik olarak kullanılan tüm KOMT inhibitörlerinde (Şekil 2.16) bulunmaktadır.



A (IC_{50}=0,29 µM) B (IC_{50}=0,14 µM) C (IC_{50}=0,048 µM)

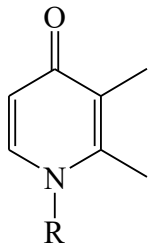
Şekil 2.16. KOMT inhibisyon çalışmaları için sentezlenen nitrokatekol türevleri

Başka bir çalışmada [33], yine nitrokatekol türevlerinin KOMT'u yüksek potansiyelde inhibe ettiği gözlemlenmiştir. Şekil 2.16A kodlu molekülün güçlü bir KOMT inhibitörü olduğu (IC_{50} = 0,29 µM), aynı molekülün ise orta derecede bir monoamin oksidaz-B (MAO-B) inhibitörü olarak etki gösterdiği (IC_{50} = 13,9 µM) belirtilmiştir. Nitrokatekol türevi olan Şekil 2.16B molekülünün ise daha güçlü bir KOMT inhibitörü (IC_{50} = 0.14 µM) olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca, Şekil 2.16.'da örnekleri verilen kalkonların, pirazolin türevlerini içermesi durumunda, kalkonlara kıyasla daha etkili bir KOMT inhibisyonu sergilediği ifade edilmiştir. Dolayısıyla, pirazolin türevi moleküllerin (örn., C molekülü için IC_{50} = 0,048 µM) güçlü KOMT inhibitörleri olabileceği ifade edilmiştir [34].

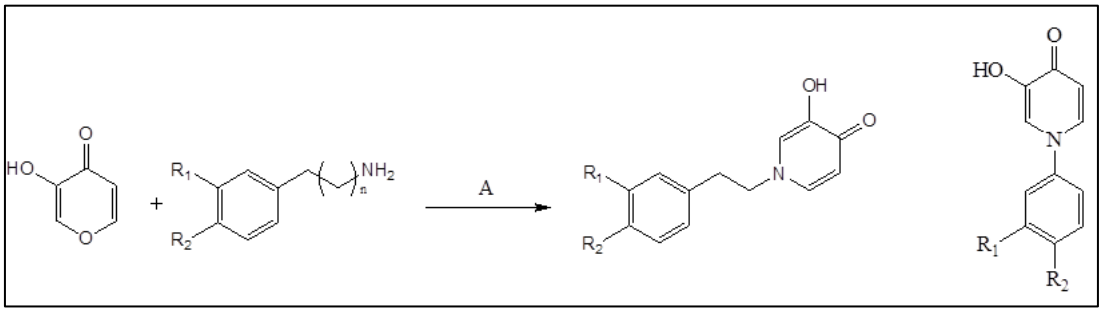
3-hidroksipiridin-4-on'dan türetilen on farklı bileşiği sentezleyen Johannie de Beer ve arkadaşları, KOMT enzim inhibisyonu üzerine yaptıkları çalışmalar sonucunda R grubunda -$CH_2C_6H_5$ sübstitüenti bulunan bileşiğin en iyi inhibisyon sonucunu (IC_{50} = 4,55 µM) verdiğini belirtmişlerdir [35] (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. KOMT enzim inhibisyonu için hazırlanan 3-hidroksipiridin-4-on türevlerine ait IC_{50} değerleri

Bileşik	*R*	KOMT IC_{50} (μM)
1	$-C_6H_5$	10.9±1.06
2	$-CH_2C_6H_5$	4.55±0.545
3	$-(CH_2)_2C_6H_5$	15.0±2.10
4	$-(CH_2)_3C_6H_5$	18.4±0.974
5	$-(CH_2)_4C_6H_5$	9.05±1.25
6	$-C_6H_{11}$	12.2±3.06
7	$-C_5H_9$	19.8±5.86
8	$-(C_6H_4)$-3′-Cl	11.2±1.01
9	$-(C_6H_4)$-4′-Cl	9.31±2.94
10	$-CH_2(C_6H_4)$-4′-	5.76±0.664
Tolkapon	CH_3	0.0068
Entakapon		0.00047

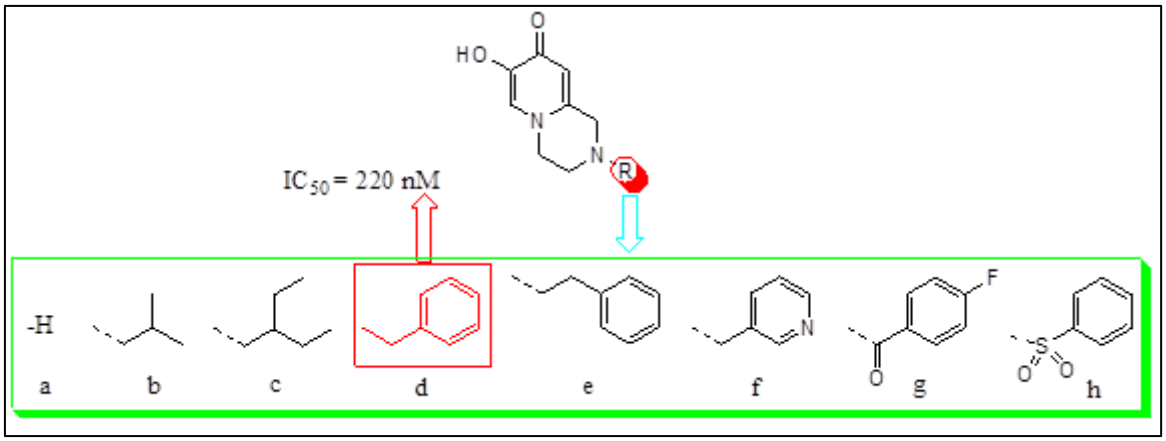


Hidroksipiridinonu içeren ancak nitrokatekol yapısına sahip olmayan türevleri sentezleyen Benfeito ve diğerleri, bu bileşikleri KOMT inhibitörü olan tolkapon ile karşılaştırmışlardır. Sentezlenen bileşikler arasında 1-(3,4-dimetilfenil)-3-hidroksipiridin-4(1H)-on bileşiğinin, tolkapon'a kıyasla daha güçlü bir inhibitör olduğunu belirtmişlerdir. Ancak, tolkaponun aksine bu bileşiğin KOMT enzimine kuvvetle bağlanan bir inhibitör olmadığını "moleküler kenetleme" çalışmalarıyla vurgulamışlardır [36] (Şekil 2.17).



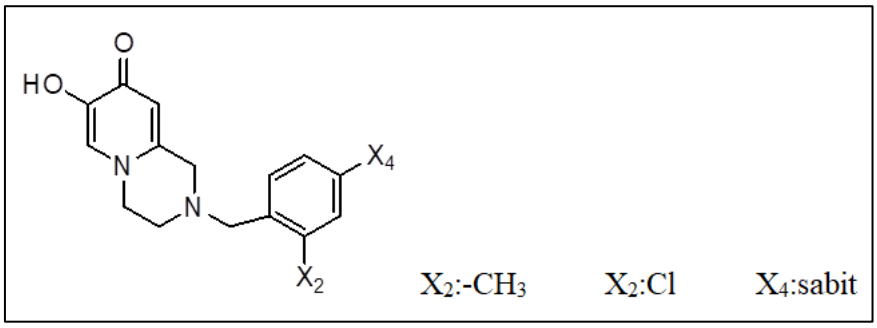
Şekil 2.17. Nirto grubu bulundurmayan hidroksipiridinon türevleri

Azot atomu üzerinde yedi farklı sübstitüente sahip piridinon türevleri üzerine çalışan Bindra ve diğerleri (Şekil 2.18), R grubunda aromatik halkanın bulunmasının en iyi KOMT inhibisyonunu sağladığını (IC_{50} = 220 nM) ifade etmişlerdir [37].



Şekil 2.18. Bindra ve diğerleri tarafından hazırlanan KOMT inhibitörleri

Aynı araştırmacılar, N-benzil bileşiğini orto ve para pozisyonlarındaki elektron çekici (-Cl) ve elektron verici (-CH_3) gruplarla modifiye ederek KOMT inhibisyonunu incelemişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre, orto konumdaki elektron çekici ve elektron verici grupların para pozisyonuna kıyasla daha yüksek inhibisyon gösterdiği belirlenmiştir. Araştırmaların sonucunda, orto pozisyondaki -CH_3 ve -Cl gruplarının sırasıyla 50 ve 40 nM IC_{50} değerleri ile mükemmel inhibisyon etkisi sergilediği rapor edilmiştir [38] (Şekil 2.19).

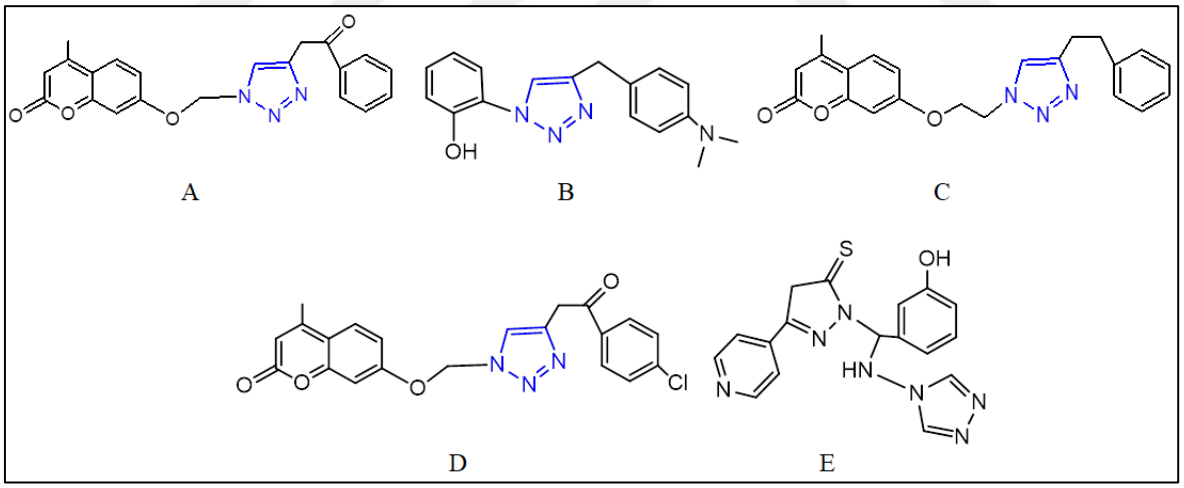


Şekil 2.19. Bindra ve diğerleri tarafından hazırlanan KOMT inhibitörleri

2.5. İlaç Kimyasında Triazoller ve Tetrazoller

Hetero halkalı bileşikler, sentetik ilaç üretiminde adeta bir ilham kaynağı olup kimyagerlerin ve biyologların yoğun ilgisini çekmektedir. İlaç geliştirme sürecindeki en önemli adımlardan biri uygun ve etkili moleküllerin tasarlanması olduğundan, bu süreçte heterosiklik yapıların sıklıkla tercih edildiği görülmektedir [39]. Heterosiklik yapıların sahip oldukları polarlık, hidrojen bağı yapabilme kapasitesi ve lipofiliklik özellikleri sayesinde klinik ilaç adayları arasında önemli bir yer tuttuğu bildirilmektedir [40, 41]. Heterosiklik yapılar arasında yer

alan triazol ve tetrazol halkalarının önemli farmakolojik etkilere sahip olduğu doğrulandığından, ilaç molekülü tasarımında yaygın olarak kullanılmaktadır. Triazol, iki karbon ve üç azot atomu; tetrazol ise bir karbon ve dört azot atomu içeren beş üyeli heterosiklik halkalardır. Antiviral [42], antikanser [43, 44], antibakteriyel [45] nöroprotektif [46] ve antioksidatif gibi çok çeşitli biyoaktivitelere sahip moleküllerin yapısında triazol veya tetrazol içeren yapıların olduğu görülmektedir. Beş üyeli aromatik heterosiklik yapıların, azot atomlarca zengin olmaları ve yoğun bir elektron bulutu içermeleri, yüksek biyolojik aktivite ve düşük toksisite gibi avantajlar sağlamaktadır [47]. Son yıllarda, triazol ve tetrazol iskeleti içeren birçok bileşiğin in vitro ve in vivo koşullarda nöroprotektif etkiler gösterdiği kanıtlanmıştır. Literatür incelendiğinde [48-50], nöron hasarını geri döndürmek ya da daha ileri hasarların oluşmasını engellemek amacıyla triazol veya tetrazol ajanlar üzerine yapılan çalışmalarının giderek arttığı görülmektedir. 2017 yılında Torres ve diğerleri [48], yeni bir 1,2,3-triazol bağlantılı kumarin hibrit ailesinin AChE inhibitör aktivitesini araştırmış ve hibrit molekülün (Şekil 2.20A) 200 µM derişimde %59,52 inhibisyon gösterdiğini bildirmişlerdir.



Şekil 2.20. Triazol veya tetrazol ajanlar

C.F. Zhang ve diğerleri, Şekil 2.20B'de gösterilen molekülü sentezlemiş [49], ve bu bileşiğin amiloid plakalarının agregasyonunu 48 saat süreyle sabitlediğini belirtmişlerdir.

Lipinski kurallarına ve kan-beyin bariyeri geçirgenliğine uygun olan bu bileşiğin, Alzheimer hastalığının tedavisi için çok işlevli bir aday molekül olarak ileri çalışmalar açısından umut vadettiği ifade edilmiştir.

2021 yılında Kavita Bhagat ve diğerleri [51], triazol içeren kumarin hibrit moleküllerini tasarlamış ve sentezlemiş; bu bileşiklerin AChE enzimine karşı inhibitör potansiyellerini biyolojik olarak değerlendirmişlerdir. Hibrit moleküller olan Şekil 2.20C ve 2.20D'de verilen bileşiklerin, AChE'ye karşı sırasıyla 110 nM ve 502 nM IC_{50} değerleri ile en iyi inhibitörler arasında yer aldığı ifade edilmiştir.

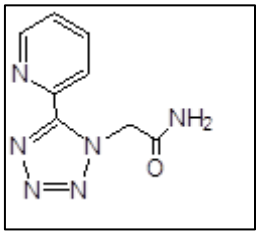
Kaur ve diğerleri [52], yeni bir triazol bazlı molekülü çoklu hedefe yönlendirilmiş ligandlar olarak tasarlamış ve bu ligandların reaktif oksijen türlerinin üretimini engellediğini, Alzheimer hastalığının tedavisi için umut vadeden öncü bileşikler olduğunu vurgulamışlardır. 2020 yılında Jain ve diğerleri [53] tarafından, bilişsel demansı tedavi etmek ve AChE'yi inhibe etmek amacıyla triazol-oksadiazol grubu içeren bir dizi yeni molekül sentezlenmiş ve test edilmiştir. Bu moleküller arasından Şekil 2.20E'de verilen bileşiğin güçlü bir AChE inhibitörü olduğu ve antioksidan özellik gösterdiği ifade edilmiştir.

Seçici serotonin geri alım inhibitörlerinden biri olan escitalopram molekülüne triazol ve tetrazol grupları ekleyerek bu bileşiklerin AChE ve BChE'ye karşı etkilerini araştırmak amacıyla sentez ve karakterizasyon çalışmalarını gerçekleştiren Mehr-un-Nisa ve diğerleri [54], escitalopram-triazol/tetrazol türevlerinin kolinesterazlara karşı inhibitör aktivite gösterdiğini; özellikle de BChE'ye karşı inhibitör aktivitesinin AChE'ye kıyasla daha yüksek seçicilik sergilediğini bildirmişlerdir.

Tetrazol molekülü zayıf asidiktir ve asitliği karboksilik asitlere yakındır (pKa=4,76). Ancak karboksilik asit gruplarına kıyasla daha kararlı olması nedeniyle yeni geliştirilen ilaçlarda tercih edilmektedir [55]. Tetrazollerin karboksilik asitlerin yerine kullanılmasının nedeni, lipofiliklik ve biyoyararlanımı artırıcı özelliklere sahip olmalarıdır. Ayrıca, ilaçların yan etkilerini azaltma potansiyeline sahip oldukları bildirilmektedir [56]. Yarım yüzyıldan fazla bir süredir tetrazol içeren moleküllerin biyoaktif özellikleri araştırılmakta olup, bu araştırmalar günümüzde de devam etmektedir. Nhung ve diğerleri (piridin-2-il)tetrazol iskeletini taşıyan yeni tetrazol türevlerini AChE üzerindeki inhibitör etkileri açısından değerlendirmişlerdir.

Amin içeren tetrazol grubunun (Şekil 2.21), 75 µM derişimde %23,7 inhibisyon oranına ulaşarak en yüksek inhibisyon yüzdesine sahip olduğunu; bunun nedeninin ise daha fazla sayıda hidrojen bağı yapabilme kabiliyetine sahip olmasından ve böylece enzimin aktif

bölgesiyle daha güçlü etkileşimler oluşturabilmesinden kaynaklanabileceği ifade edilmiştir. [57].



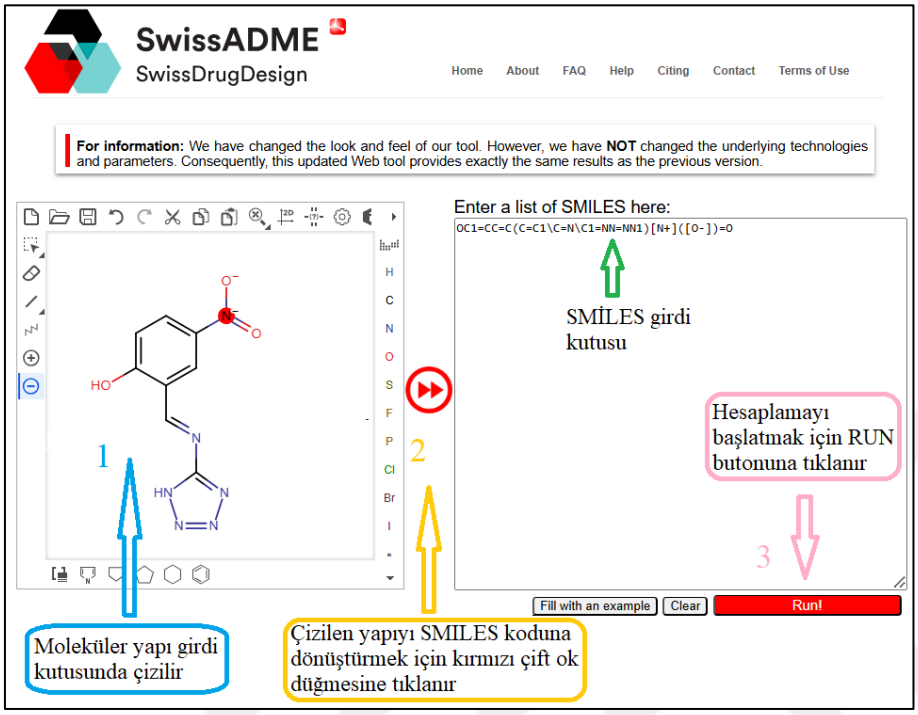
Şekil 2.21. (piridin-2-il) tetrazol iskeletini taşıyan yeni tetrazol türevi

Son yıllarda literatürde yayımlanan çalışmalar incelendiğinde, basit sentez yaklaşımları dikkate alınarak triazol veya tetrazol iskeletlerinin farmakodinamik özellikli moleküllere bağlanmasıyla çoklu hedefe yönelik ligandların (MTDL'ler) oluşturulduğu görülmektedir [58, 59]. Örneğin, çoklu hedefe yönelik triazol/tetrazol ligandları sentezleyen araştırmacıların, bu bileşiklerin hem hücre dışı amiloid-β (Aβ) plak birikimlerini durdurduğu hem de antioksidan özellik gösterdiği Jones ve diğerleri tarafından belirtilmiştir [60].

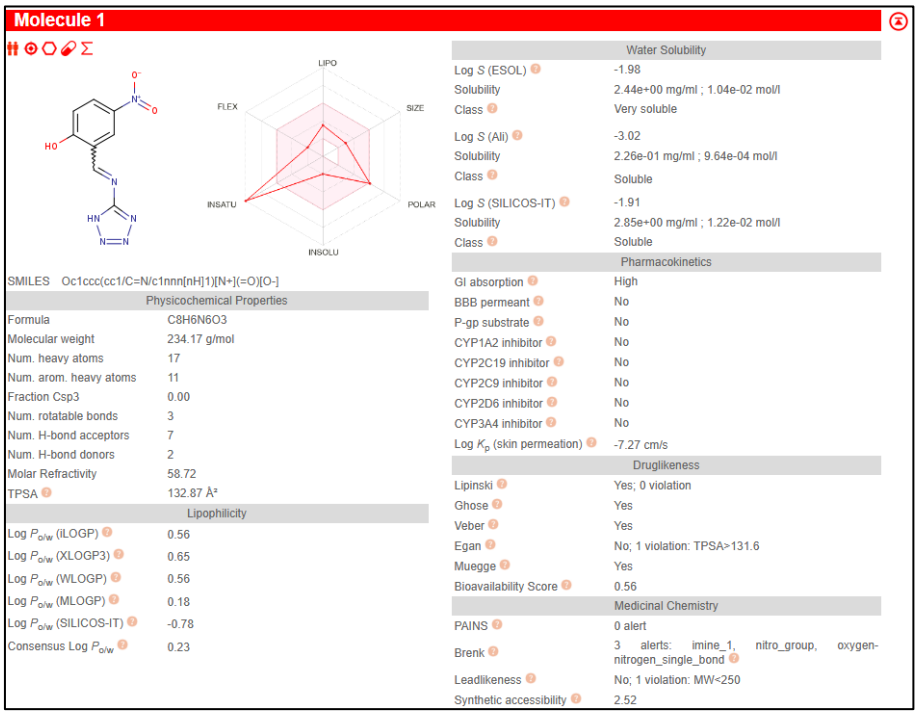
2.6. İn Siliko

İlaç keşfi üzerine yapılan yoğun çalışmalar sonucunda, potansiyel farmakolojik aktiviteye sahip çok sayıda molekül elde edilmiştir. Geleneksel yöntemlerle yeni aday bileşikleri geliştirmek, tasarlamak ve pazara sunmak zaman alıcı bir süreç olduğundan, son yıllarda molekülleri tarayan ve bunlar arasından en güvenilir olanı seçmeye olanak tanıyan in siliko teknikler kullanılmaya başlanmıştır. İn siliko yöntemlerle, uygun sentezlenebilirlik ve biyolojik aktivite potansiyeline sahip moleküller tasarlanarak ön elemeye tabi tutulmaktadır. Ayrıca, moleküllerin emilim, dağılım, metabolizma ve atılım (ADME) özellikleri ile ilaç benzerliği hakkında bilgi edinilmektedir. Bu sayede, ilaç keşfinin erken aşamalarında elde edilen ADME sonuçları, klinik faz deneyleri sırasında farmakokinetikteki başarısızlıkların azaltılmasına katkı sağlamaktadır [61]. Lipinski'nin beş kuralına göre biyoyararlanım özelliklerini tahmin etmek amacıyla çeşitli bilgisayar tabanlı modeller kullanılmaktadır [62]. Bunlar arasında en yaygın kullanılanlardan biri SwissADME olarak adlandırılan yazılımdır. SwissADME web sayfasına doğrudan erişim için http://www.swissadme.ch adresi kullanılmaktadır.

Aşağıda, SwissADME yazılımı kullanılarak bir molekül için farmakokinetik parametrelerin tahminine ilişkin örnek bir uygulama gösterimi sunulmuştur (Şekil 2.22 ve Şekil 2.23).



Şekil 2.22. SwissADME yazılımının kullanılması ile ilgili işlemlerin ilk görüntüsü



Şekil 2.23. SwissADME analizleri sonucu molekülün özelliklerinin ortaya çıkışı ile ilgili görsel

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Farmakokinetik ve Lipinski Kuralı Değerlendirmesi

Farmakokinetik tahmin ve Lipinski kuralı değerlendirmesi SwissADME yazılımı (http://www.swissadme.ch/index.php) kullanılarak, sitotoksik etkilerin tahmini ise "Cell Line Cytotoxicity Predictor" aracı (http://www.way2drug.com/cell-line) kullanılarak yapılmıştır.

3.2. Moleküler Kenetleme

Moleküler kenetlemede Schrödinger Maestro (Schrödinger Release, 2021-1) programı kullanılmıştır. LigPrep modülü ile Schiff bazlarının iki boyutlu kimyasal yapısı programa aktarılmıştır. Protein Data Bank'ta (PDB) 4XUE kodlu yapı kullanılmıştır [63].

3.3. Kullanılan Cihazlar

Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR): Sentezlenen Schiff bazlarının FT-IR spektrumlarının ölçümü, oda koşullarında Thermo Scientific Nicolet İS5 elmas mercekli ATR başlığı içeren cihaz kullanılarak 4000 cm^{-1}-450 cm^{-1} aralığında yapılmıştır.

^{1}H ve ^{13}C nükleer manyetik rezonans spektroskopi: ^{1}H ve ^{13}C NMR spektrumları, ODTÜ analiz laboratuvarında bulunan Bruker Avance 300 MHz'lik (~7 Tesla) spektrometresi kullanılarak alınmıştır.

UV-GB spektrofotometresi: Schiff bazlarının UV-GB spektrumları, UV-1800 ENG240V soft model spektrofotometresi kullanılarak 500 nm-200 nm aralığında oda koşullarında ölçülmüştür.

Yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (HRMS): Sentezlenen Schiff bazlarının kütle spektrumlarının ölçümü, ODTÜ analiz laboratuvarında bulunan Waters SYNAP GI MS cihazı kullanılarak (ES+/ES-) modunda, 50-1000 m/z aralığında yapılmıştır.

Erime noktası tayini: Erime noktası tayini için Stuart SMP30 model cihaz kullanılmıştır.

Floresans spektrometresi: Sentezlenen Schiff bazlarının KOMT enzimine inhibitör etkilerinin belirlenmesi için Hitachi F-7000 floresans spektrometre cihazı kullanılmıştır.

Çalkalamalı su banyosu: İnhibisyon deneylerinde reaksiyon karışımlarının inkübasyonu için Wisebath WSB-18 çalkalamalı su banyosu kullanılmıştır.

pH metre: Tris-HCl pH=7.4 çözeltisinin pH ayarlaması için WTW SERIES 720 inoLAB cihazı kullanılmıştır.

Etüv: Schiff bazlarının tam kurutulması için etüv ZRD-5110 cihazı kullanılmıştır.

3.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneysel çalışmalar sırasında kullanılan kimyasal maddelerin bilgileri Çizelge 3.1' de listelenmiştir.

Çizelge 3.1. Kimyasal listesi

Kimyasal Madde	Kodu	Firma
5-Aminotetrazol	102458317	Sigma Aldrich
3-Hidroksi-4-nitrobenzaldehit	1065821	Fluka
2-Hidroksi-5-nitrobenzaldehit	12352100	Sigma Aldrich
3,4-Dihidroksi benzaldehit	1001501325	Sigma Aldrich
3-Amino-1H-1,2,3-triazol	20240820	Thermos scientific
Metanol	24229	Sigma Aldrich
Etanol	1.00983.2511	Merck
Dimetil Sülfoksit	914.036.2501	ISO LAB
Katekol-o-metiltransferaz (2215 U/mg)	9012-25-3	MCE
Entakapon	130929-57-6	Cayman Chemical
Eskületin	305-01-1	Cayman Chemical
S-(5-Adenozil)-L-metiyonin iyodür	3493-13-8	Merck
Tris-HCl	102493095	Sigma-Aldrich
NaOH	30167	BDH Chemicals
$MgCl_2x6H_2O$	M9272	ACS

3.5. Hazırlanan Çözeltiler

1 M NaOH çözeltisi: 4 g NaOH katısı tartılıp 100 mL saf suda çözüldü.

50 mM 500 mL Tris-HCl (pH 7,4) tampon çözeltisi: 3,90 g Tris-HCl katısı tartılıp ~200 mL saf suda çözüldü. pH = 7.4'e ayarlamak için 1 M NaOH'den faydalanıldı ve hacim 500 mL'ye tamamlandı.

100 mM 250 mL $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ (Ana stok) çözeltisi: 4,08 g $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ katısı tartılıp 250 mL saf suda çözüldü. 4 mM $MgCl_2$ çözeltisi ana stoktan hazırlandı.

Eskületin stok çözeltisi (10 mM, DMSO): 8,91 g eskületin tartılıp 5 mL DMSO'da çözüldü. Hazırlanan çözeltiden 1mL alınarak eppendorf tüplere konulup -20 ºC'de karanlık koşullarda saklandı. Çalışma öncesi, Tris-HCl tamponu ile seyreltilerek ara stoklar hazırlandı (40 µM).

SAM-I stok çözeltisi (10 mM, Tris-HCl): 5 mg SAM-I katısı 1,15 mL Tris-HCl tamponunda çözüldü. Hazırlanan çözeltiden 50 µL alınarak eppendorf tüplere konulup derin dondurucuda -80 ºC'de saklandı. Çalışma öncesi Tris-HCl tamponu ile seyreltilerek ara stoklar hazırlandı (400 µM).

KOMT enzim çözeltisi: 1 mg KOMT enzimi (2215U/mg) 10 mL Tris-HCl tamponunda küçük hacimlerde çözülerek ana stok hazırlandı. Çözeltiden 1mL alınarak eppendorf tüplere konulup derin dondurucuda -80 ºC'de saklandı. Çalışma öncesi Tris-HCl tamponu ile seyreltilerek 0,0035U/mL enzim çözeltisi hazırlandı.

Entakapon stok çözeltisi (11 mM, DMSO): 5 mg entakapon katısı 1,5 mL DMSO'da çözüldü. Hazırlanan çözeltiden 0,5 mL alınarak eppendorf tüplere konulup derin dondurucuda -80 ºC'de saklandı. Kullanım öncesi Tris-HCl tamponu ile seyreltilerek 220 µM ara stok hazırlandı.

3,4DHB-5AT stok çözeltisi ($1,4x10^{-2}$ M, DMSO): 0,0072 g 3,4DHB-5AT katısı tartılıp 2,5mL DMSO'da çözüldü. Çalışma öncesi Tris-HCl tamponu ile seyreltilerek 7 mM ara stok hazırlandı.

2H5NB-5AT stok çözeltisi ($1,2x10^{-2}$ M, DMSO): 0,0072 g 2H5NB-5AT katısı tartılıp 2,5 mL DMSO'da çözüldü. Çalışma öncesi Tris-HCl tamponu ile seyreltilerek 1,2 mM ara stok hazırlandı.

3H4NB-5AT stok çözeltisi ($1,2x10^{-2}$ M, DMSO): 0,0072 g 3H4NB-5AT katısı tartılıp 2,5 mL DMSO'da çözüldü. Çalışma öncesi Tris-HCl tamponu ile seyreltilerek 2,5 mM ara stok hazırlandı.

3,4DHB-TRİ stok çözeltisi ($1,4x10^{-2}$ M, DMSO): 0,0072 g 3,4DHB-TRİ katısı tartılıp 2,5mL DMSO'da çözüldü. Çalışma öncesi Tris-HCl tamponu ile seyreltilerek 1,4 mM ara stok hazırlandı.

2H5NB-TRİ stok çözeltisi ($1,2x10^{-2}$ M, DMSO): 0,0072 g 2H5NB-TRİ katısı tartılıp 2,5 mL DMSO'da çözüldü. Çalışma öncesi Tris-HCl tamponu ile seyreltilerek 1,2 mM ara stok hazırlandı.

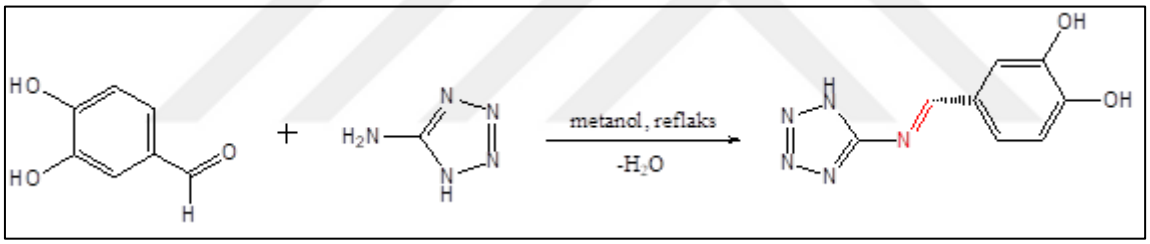
3H4NB-TRİ stok çözeltisi ($1,2x10^{-2}$ M, DMSO): 0,0072 g 3H4NB-TRİ katısı tartılıp 2,5 mL DMSO'da çözüldü. Çalışma öncesi Tris-HCl tamponu ile seyreltilerek 2,5 mM ara stok hazırlandı.

4. DENEYSEL YÖNTEM

4.1. Schiff Bazlarının Sentezi

4.1.1. 3,4DHB-5AT Schiff bazının sentezi

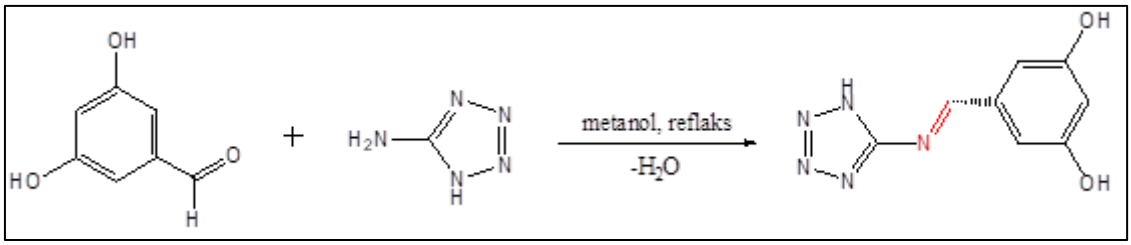
$2{,}5x10^{-3}$ mol (0,213 g) 5-aminotetrazol tartıldı ve 20 mL metanolde çözüldü. Bu çözelti, iki boyunlu cam balona konularak geri soğutucu altında manyetik karıştırıcıda karıştırılarak ısıtıldı. 15 dakika sonra, cam balonda bulunan çözelti üzerine 20 mL metanol içinde çözünen $2{,}5x10^{-3}$ mol (0,345 g) 3,4-dihidroksi benzaldehit ilave edildi. Hazırlanan bu çözelti, manyetik karıştırıcıda 60 ºC'de geri soğutucu altında yaklaşık 6 saat karıştırıldıktan sonra sıcak süzme ile behere alındı. Behere alınan karışım yaklaşık 15 gün boyunca bekletildi. Oluşan 3,4DHB-5AT kodlu Schiff bazı süzüldü, etüvde 50 ºC'de kurutuldu (Şekil 4.1). Verim %73.



Şekil 4.1. 3,4-dihidroksi benzaldehit ve 5-aminotetrazolün kondenzasyon tepkimesi

4.1.2. 3,5DHB-5AT Schiff bazının sentezi

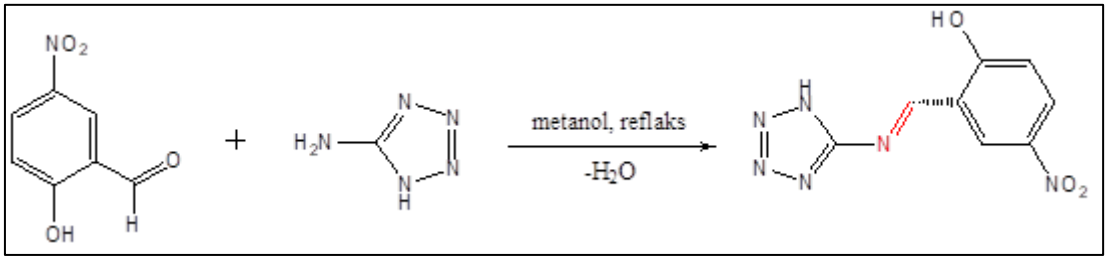
$2{,}5x10^{-3}$ mol (0,213 g) 5-aminotetrazol tartıldı ve 20 mL metanolde çözüldü. Bu çözelti, iki boyunlu cam balona konularak geri soğutucu altında manyetik karıştırıcıda karıştırılarak ısıtıldı. 15 dakika sonra, cam balonda bulunan çözelti üzerine 20 mL metanol içinde çözünen $2{,}5\ x10^{-3}$ mol (0,345 g) 3,5-dihidroksi benzaldehit ilave edildi. Hazırlanan bu çözelti, manyetik karıştırıcıda 60 ºC'de geri soğutucu altında yaklaşık 6 saat karıştırıldıktan sonra sıcak süzme ile behere alındı. Behere alınan karışım 20 gün boyunca bekletildi. Oluşan 3,5DHB-5AT kodlu Schiff bazı süzüldü, etüvde 50 ºC'de kurutuldu. (Şekil 4.2). (Saf halde elde edilemedi).



Şekil 4.2. 3,5-dihidroksi benzaldehit ve 5-aminotetrazol arasındaki kondenzasyon tepkimesi

4.1.3. 2H5NB-5AT Schiff bazının sentezi

$2{,}5x10^{-3}$ mol (0,418 g) 2-hidroksi-5-nitrobenzaldehit tartıldı ve 20 mL metanolde çözüldü. Bu çözelti, iki boyunlu cam balona konularak geri soğutucu altında manyetik karıştırıcıda karıştırılarak ısıtıldı. 15 dakika sonra, cam balonda bulunan çözelti üzerine 20 mL metanol içinde çözünen $2{,}5x10^{-3}$ mol (0,213 g) 5-aminotetrazol ilave edildi. Hazırlanan bu çözelti, manyetik karıştırıcıda 60 ºC'de geri soğutucu altında yaklaşık 6 saat karıştırıldıktan sonra sıcak süzme ile behere alındı. Behere alınan karışım yaklaşık 10 gün boyunca bekletildi. Oluşan 2H5NB-5AT kodlu Schiff bazı süzüldü, etüvde 50 ºC'de kurutuldu (Şekil 4.3). Verim %80.

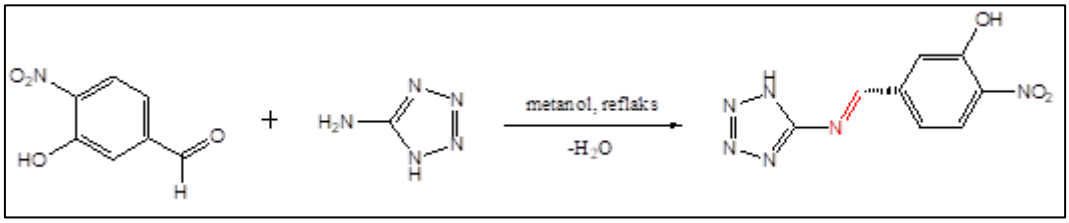


Şekil 4.3. 2-hidroksi-5-nitrobenzaldehit ve 5-aminotetrazol arasındaki kondenzasyon tepkimesi

4.1.4. 3H4NB-5AT Schiff bazının sentezi

$2{,}5x10^{-3}$ mol (0,418 g) 3-hidroksi-4-nitrobenzaldehit tartıldı ve 20 mL metanolde çözüldü. Bu çözelti, iki boyunlu cam balona konularak geri soğutucu altında manyetik karıştırıcıda karıştırılarak ısıtıldı. 15 dakika sonra, cam balonda bulunan çözelti üzerine 20 mL metanol içinde çözünen $2{,}5x10^{-3}$ mol (0,213 g) 5-aminotetrazol ilave edildi. Hazırlanan bu çözelti, manyetik karıştırıcıda 60 ºC'de geri soğutucu altında yaklaşık 6 saat karıştırıldıktan sonra

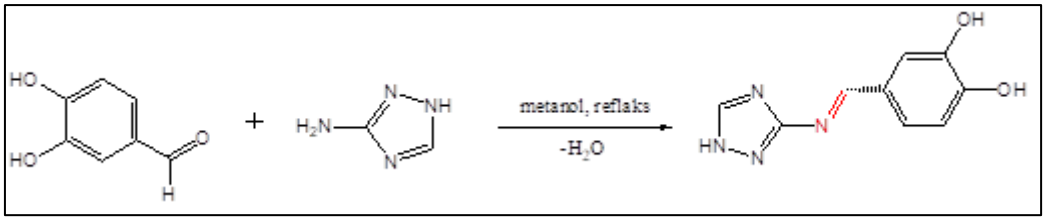
sıcak süzme ile behere alındı. Behere alınan karışım 15 gün boyunca bekletildi. Oluşan 3H4NB-5AT kodlu Schiff bazı süzüldü, etüvde 50 ºC'de kurutuldu (Şekil 4.4). Verim %42.



Şekil 4.4. 3-hidroksi-4-nitrobenzaldehit ve 5-aminotetrazol arasındaki kondenzasyon tepkimesi

4.1.5. 3,4DHB-TRİ Schiff bazının sentezi

$2{,}5x10^{-3}$ mol (0,210 g) 3-amino-1H-1,2,4-triazol tartıldı ve 20 mL metanolde çözüldü. Bu çözelti, iki boyunlu cam balona konularak geri soğutucu altında manyetik karıştırıcıda karıştırılarak ısıtıldı. 15 dakika sonra, cam balonda bulunan çözelti üzerine 20 mL metanol içinde çözünen $2{,}5x10^{-3}$ mol (0,345 g) 3,4-dihidroksi benzaldehit ilave edildi. Hazırlanan bu çözelti, manyetik karıştırıcıda 60 ºC'de geri soğutucu altında yaklaşık 6 saat karıştırıldıktan sonra sıcak süzme ile behere alındı. Behere alınan karışım 10-15 gün boyunca bekletildi. Oluşan 3,4DHB-TRİ kodlu Schiff bazı süzüldü, etüvde 50 ºC'de kurutuldu (Şekil 4.5). Verim %37.

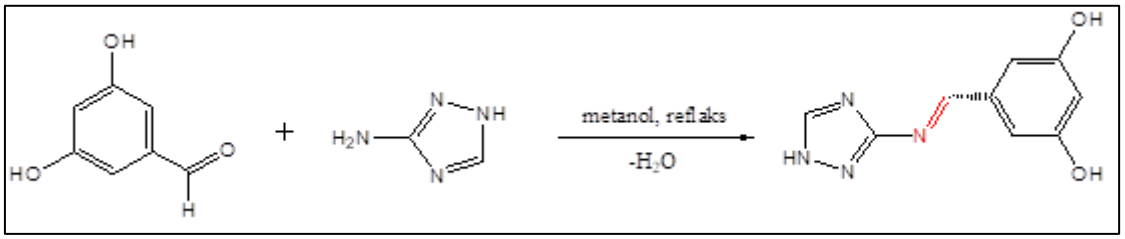


Şekil 4.5. 3,4-dihidroksi benzaldehit ve 3-amino-1H-1,2,4-triazol arasındaki kondenzasyon tepkimesi

4.1.6. 3,5DHB-TRİ Schiff bazının sentezi

$2{,}5x10^{-3}$ mol (0.210 g) 3-amino-1H-1,2,4-triazol tartıldı ve 20 mL metanolde çözüldü. Bu çözelti, iki boyunlu cam balona konularak geri soğutucu altında manyetik karıştırıcıda karıştırılarak ısıtıldı. 15 dakika sonra, cam balonda bulunan çözelti üzerine 20 mL metanol içinde çözünen $2{,}5x10^{-3}$ mol (0.345 g) 3,5-sihidroksi benzaldehit ilave edildi. Hazırlanan bu

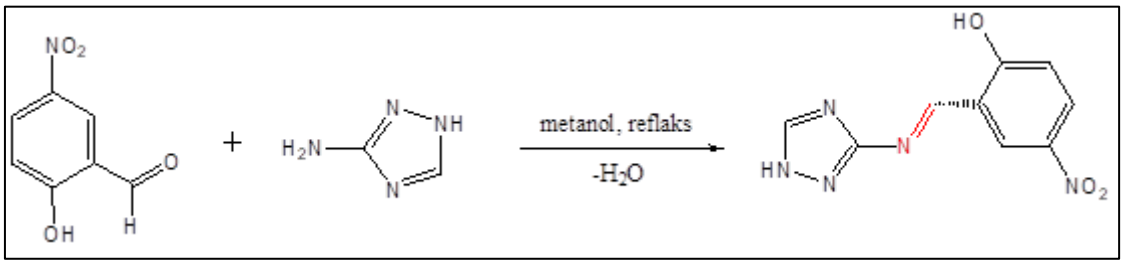
çözelti, manyetik karıştırıcıda 60 ºC'de geri soğutucu altında yaklaşık 6 saat karıştırıldıktan sonra sıcak süzme ile behere alındı. Behere alınan karışım 20 gün boyunca bekletildi. Oluşan 3,5DHB-TRİ kodlu Schiff bazı süzüldü, etüvde 50 ºC'de kurutuldu (Şekil 4.6). (Saf halde elde edilemedi).



Şekil 4.6. 3,5-dihidroksi benzaldehit ve 3-amino-1H-1,2,4-triazol arasındaki kondenzasyon tepkimesi

4.1.7. 2H5NB-TRİ Schiff bazının sentezi

$2{,}5x10^{-3}$ mol (0,418 g) 2-hidroksi-5-nitrobenzaldehit tartıldı ve 20 mL metanolde çözüldü. Bu çözelti, iki boyunlu cam balona konularak geri soğutucu altında manyetik karıştırıcıda karıştırılarak ısıtıldı. 15 dakika sonra, cam balonda bulunan çözelti üzerine 20 mL metanol içinde çözünen $2{,}5x10^{-3}$ mol (0,210 g) 3-amino-1H-1,2,4-triazol ilave edildi.

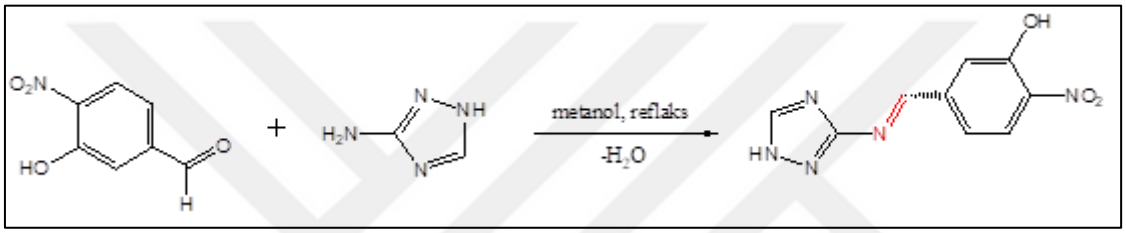


Şekil 4.7. 2-hidroksi-5-nitrobenzaldehit ve 3-amino-1H-1,2,4-triazol arasındaki kondenzasyon tepkimesi

Hazırlanan bu çözelti, manyetik karıştırıcıda 60 ºC'de geri soğutucu altında yaklaşık 6 saat karıştırıldıktan sonra sıcak süzme ile behere alındı. Behere alınan karışım 15 gün boyunca bekletildi. Oluşan 2H5NB-TRİ kodlu Schiff bazı süzüldü, etüvde 50 ºC'de kurutuldu (Şekil 4.7). Verim %76.

4.1.8. 3H4NB-TRİ Schiff bazının sentezi

$2,5x10^{-3}$ mol (0.418 g) 3-hidroksi-4-nitrobenzaldehit tartıldı ve 20 mL metanolde çözüldü. Bu çözelti, iki boyunlu cam balona konularak geri soğutucu altında manyetik karıştırıcıda karıştırılarak ısıtıldı. 15 dakika sonra, cam balonda bulunan çözelti üzerine 20 mL metanol içinde çözünen $2,5x10^{-3}$ mol (0.210 g) 3-amino-1H-1,2,4-triazol ilave edildi. Hazırlanan bu çözelti, manyetik karıştırıcıda 60 ºC'de geri soğutucu altında yaklaşık 6 saat karıştırıldıktan sonra sıcak süzme ile behere alındı. Behere alınan karışım 15 gün boyunca bekletildi. Oluşan 3H4NB-TRİ kodlu Schiff bazı süzüldü, etüvde 50 ºC'de kurutuldu (Şekil 4.8). Verim %67.



Şekil 4.8. 3-hidroksi-4-nitrobenzaldehit ve 3-amino-1H-1,2,4-triazol arasındaki kondenzasyon tepkimesi

4.2. Katekol-O-Metiltransferaz (KOMT) Enzim Aktivitesi Ölçümü

Sentezlenen Schiff bazlarının KOMT enzimine inhibitör etkileri floresans spektrometre cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Enzim aktivitesi ölçümünden önce $1,2x10^{-2}$ M (2H5NB-5AT, 3H4NB-5AT, 2H5NB-TRİ ve 3H4NB-TRİ) ve $1,4x10^{-2}$ M (3,4DHB-5AT ve 3,4DHB-TRİ) stok Schiff bazı çözeltileri DMSO'da hazırlandı. 2H5NB-TRİ, 2H5NB-5AT kodlu Schiff bazlarının ara stok çözeltileri $1,2x10^{-3}$ M, 3H4NB-TRİ, 3H4NB-5AT kodlu Schiff bazlarının ara stok çözeltileri $2,5x10^{-3}$ M, 3,4DHB-5AT kodlu Schiff bazının ara stok çözeltisi $7x10^{-3}$ M ve 3,4DHB-TRİ kodlu Schiff bazının ara stok çözeltisi $1,4x10^{-3}$ M olarak Tris-HCl (pH = 7,4) tamponu ile hazırlandı. Enzim aktivitesi ölçümü sonucunda her bir çözeltinin son derişimleri 24,8 µM -246 µM aralığında elde edildi. Enzim aktivite ölçümü sırasında eskületin ve S-(5-Adenozil)-L-metiyonin iyodür (SAM) substratları kullanıldı. Pozitif kontrol olarak entakapon kullanıldı. İnhibisyon deneylerinde entakapon ve inhibitörler için uygulanan protokol Çizelge 4.1-4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.1. Entakapon inhibitörün inhibisyon protokolü

İnhibitör (son derişim µM)	İnhibitör (220 µM)	Enzim (0,0035 U/mL)	Eskületin (40 µM)	SAM (400 µM)	$MgCl_2$ (4 mM)	Tris-HCl (50 mM)
8,8	100 µL	10	25	50	62,5	2252,5
13,2	150 µL	10	25	50	62,5	2202,5
17,6	200 µL	10	25	50	62,5	2152,5
22	250 µL	10	25	50	62,5	2102,5
26,4	300 µL	10	25	50	62,5	2052,5
30,8	350 µL	10	25	50	62,5	2002,5
35,2	400 µL	10	25	50	62,5	1952,5

Çizelge 4.2. 2H5NB-TRİ, 2H5NB-5AT kodlu Schiff bazlarının inhibisyon protokolü

İnhibitör (son derişim µM)	İnhibitör (1,2 mM)	Enzim (0,0035 U/mL)	Eskületin (40 µM)	SAM (400 µM)	$MgCl_2$ (4mM)	Tris-HCl (50 Mm)
25	50 µL	10	25	50	62,5	2302,5
50	100 µL	10	25	50	62,5	2252,5
75	150 µL	10	25	50	62,5	2202,5
100	200 µL	10	25	50	62,5	2152,5
125	250 µL	10	25	50	62,5	2102,5

Çizelge 4.3. 3,4DHB-TRİ kodlu Schiff bazının inhibisyon protokolü

İnhibitör (son derişim µM)	İnhibitör (1,4 mM)	Enzim (0,0035 U/mL)	Eskületin (40 µM)	SAM (400 µM)	$MgCl_2$ (4 mM)	Tris-HCl (50 Mm)
110	200 µL	10	25	50	62,5	2152,5
140	250 µL	10	25	50	62,5	2102,5
170	300 µL	10	25	50	62,5	2052,5
200	350 µL	10	25	50	62,5	2002,5
230	400 µL	10	25	50	62,5	1952,5

Çizelge 4.4. 3H4NB-TRİ, 3H4NB-5AT kodlu Schiff bazlarının inhibisyon protokolü

İnhibitör (son derişim µM)	İnhibitör (2,5 mM)	Enzim (0,0035 U/mL)	Eskületin (40 µM)	SAM (400 µM)	$MgCl_2$ (4 mM)	Tris-HCl (50 mM)
50	50 µL	10	25	50	62,5	2302,5
100	100 µL	10	25	50	62,5	2252,5
150	150 µL	10	25	50	62,5	2202,5
200	200 µL	10	25	50	62,5	2152,5
250	250 µL	10	25	50	62,5	2102,5

Çizelge 4.5. 3,4DHB-5AT kodlu Schiff bazının inhibisyon protokolü

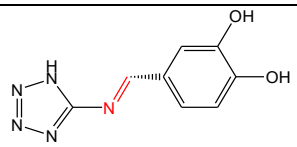
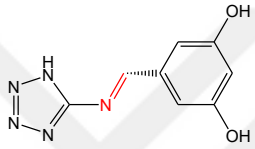
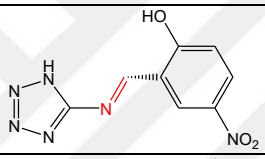
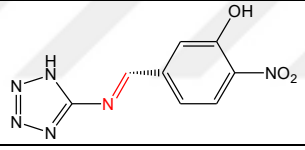
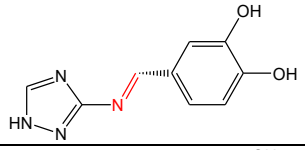
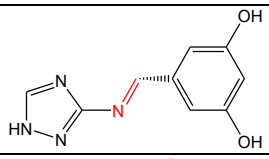
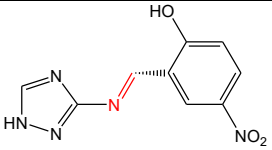
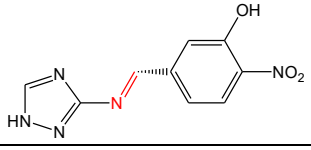
İnhibitör (son derişim µM)	İnhibitör (7 mM)	Enzim (0,0035 U/mL)	Eskületin (40 µM)	SAM (400 µM)	$MgCl_2$ (4 mM)	Tris-HCl (50 mM)
140	50 µL	10	25	50	62,5	2302,5
280	100 µL	10	25	50	62,5	2252,5
420	150 µL	10	25	50	62,5	2202,5
560	200 µL	10	25	50	62,5	2152,5
700	250 µL	10	25	50	62,5	2102,5

Enzim aktivite ölçümleri, 2,5 mL toplam hacimde cam reaksiyon tüplerinde gerçekleştirildi. Reaksiyon bileşenleri Çizelge 4.1-4.5'te verilen hacimlerle tüplere eklendi. KOMT enzim aktivitesini belirlemek için inhibitör ve SAM'in olmadığı koşullarda reaksiyon bileşenlerinin eklendiği tüpler hazırlanıp, 37 ºC'de çalkalamalı su banyosunda üç dakika ön inkübasyona bırakıldı. Ön inkübasyondan sonra SAM çözeltisi eklendi, üç dakika daha inkübasyona bırakıldı ve floresans şiddeti ölçüldü. Daha sonra aynı işlemler inhibitör eklenerek yapıldı ve floresans spektrometresinde ölçüm yapıldı. Her inhibitör derişimi için deneyler üç tekrar halinde yapılarak elde edilen değerlerin validasyona göre ortalaması alındı (Validasyon katsayısı = 5-10 %). % inhibisyon değerleri hesaplanıp inhibitör derişimlerine karşı % inhibisyon değerleri arasındaki ilişki grafiğe aktarıldı. Bu eğriler üzerinden her inhibitör için IC_{50} değerleri hesaplandı.

5. SONUÇLAR

Tez kapsamında sentezlenen triazol ve tetrazol temelli azometin bileşikleri için öngörülen geometrik şekil ve IUPAC adlandırılması Çizelge 5.1'de verilmiştir.

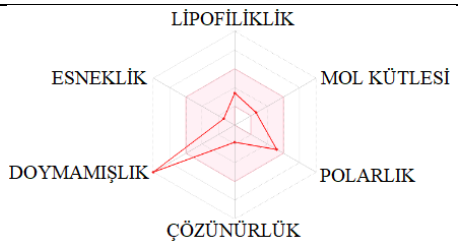
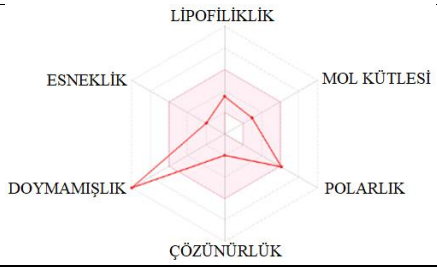
Çizelge 5.1. Schiff bazlarının sembolleri, molekül yapıları ve adlandırmaları

Sembol	Molekül Yapısı	Adlandırma
3,4 DHB-5AT		(E)-4-((1H-tetrazol-5-ylimino)methyl)benzene-1,2-diol
3,5DHB-5AT		(E)-5-((1H-tetrazol-5-ylimino)methyl)benzene-1,3-diol (Saf halde elde edilemedi)
2H5NB-5AT		(E)-2-((1H-tetrazol-5-ylimino)methyl)-4-nitrophenol
3H4NB-5AT		(E)-5-((1H-tetrazol-5-ylimino)methyl)-2-nitrophenol
3,4 DHB-TRİ		(E)-4-((1H-1,2,4-triazol-3-ylimino)methyl)benzene-1,2-diol
3,5DHB-TRİ		(E)-5-((1H-1,2,4-triazol-3-ylimino)methyl)benzene-1,3-diol (Saf halde elde edilemedi)
2H5NB-TRİ		(E)-2-((1H-1,2,4-triazol-3-ylimino)methyl)-4-nitrophenol
3H4NB-TRİ		(E)-5-((1H-1,2,4-triazol-3-ylimino)methyl)-2-nitrophenol

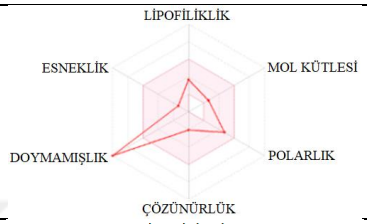
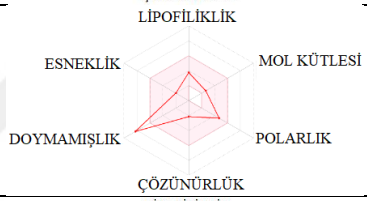
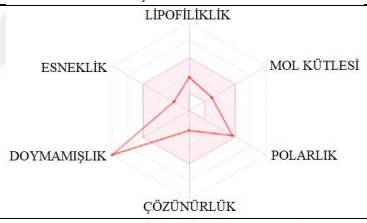
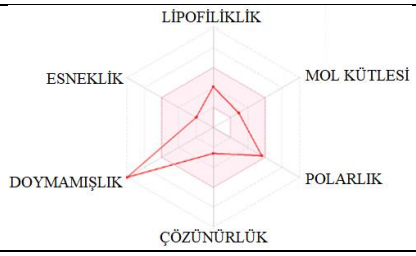
5.1. ADME Sonuçları

Çizelge 5.2'de sentezlenen azometin bileşiklerinin SMILES kodları ve biyoyararlanım radarları verilmektedir. Çizelge dikkatlice incelendiğinde, sentezlenen bileşiklerin lipofiliklik, esneklik, polarlık ve çözünürlüklerinin biyoyararlanım radarı sınırları içerisinde kaldığı görülmektedir. Bu sonuç, ilgili moleküllerin potansiyel bir ilaç molekülü olma ihtimalini desteklemektedir. Çünkü biyoyararlanım radarı, sentezlenmesi hedeflenen her molekülün lipofiliklik, esneklik, polarlık, çözünürlük, mol kütlesi ve doymamışlık olmak üzere altı temel fizikokimyasal parametre açısından değerlendirilmesini sağlar. Bu parametrelerin belirlenen sınırlar içinde olması, molekülün ideal bir ilaç adayı olabileceğini göstermektedir.

Çizelge 5.2. Triazol ve tetrazol temelli azometin bileşikleri için SMILES kodları ve biyoyararlanım radarları

Sembol SMILES kodu	Biyoyararlanım radarı
3,4 DHB-5AT Oc1ccc(cc1O)/C=N/c1nnn[nH]1	
3,5DHB-5AT Oc1cc(/C=N/c2nnn[nH]2(cc(c1)O (Saf halde elde edilemedi)	
2H5NB-5AT Oc1ccc(cc1/C=N/c1nnn[nH]1)[N+](=O)[O]	

Çizelge 5.2 (devam). Triazol ve terazol temelli azometin bileşikleri için SMILES kodları ve biyoyararlanım radarları

Sembol SMILES kodu	Biyoyararlanım radarı
3H4NB-5AT [O-][N+](=O)c1ccc(cc1O)/C=N/c1nnn[nH]1	
3,4 DHB-TRİ Oc1ccc(cc1O)/C=N/c1n[nH]cn1	
3,5DHB-TRİ Oc1cc(CNc2n[nH]cn2)cc(c1)O (Saf halde elde edilemedi)	
2H5NB-TRİ Oc1ccc(cc1/C=N/c1n[nH]cn1)[N+](=O)[O-]	
3H4NB-TRİ [O-][N+](=O)c1ccc(cc1O)/C=N/c1n[nH]cn1	

Çizelge 5.3'te sentezlenen triazol ve tetrazol temelli Schiff bazlarının seçilmiş ADME sonuçları verilmektedir. Bütün Schiff bazlarının Lipinski kuralına uyduğu, biyoyararlanım skorlarının 0,55'ten büyük olmasıyla orta düzeyde moleküllerin oral yol ile alındığında %10'dan fazla biyoyararlanım gösterebileceği görülmektedir [64]. Çizelge 5.3 farmakokinetik olarak incelendiğinde, ilgili bileşiklerin bağırsaktaki emilimlerinin yüksek olduğu ve CYP1A2 ile CYP2C19 karaciğer enzimlerini inhibe etmediği görülmektedir; böylece metabolik açıdan güvenli moleküller olabileceği söylenebilir. Buna ek olarak çizelgedeki sonuçlar, sentezlenen Schiff bazlarının KBB geçirgenliğinin olmadığı ihtimalini vermektedir. Tez kapsamında sentezlenen moleküllerin kan-beyin bariyerini geçmemesi ve böylece periferide bulunan KOMT enzimini inhibe etmesi hedeflenmiştir. Ayrıca

Schiff bazlarının suda çözünürlüklerinin iyi olarak ADME sonuçlarında yer alması, bileşiklerin ilaç tasarımı açısından yüksek biyoyararlanım potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.

Çizelge 5.3. Sentezlenen schiff bazlarının farmakokinetik ve ilaç benzerliği açısından ADME sonuçları

Sembol	Farmakokinetik (seçilen)	İlaç benzerliği
3,4DHB-5AT	GI emilimi: Yüksek KBB Geçirgenliği: Yok P-gp substratı: Yok CYP1A2 inhibitorü: Yok CYP2C19 inhibitorü: Yok Log Kp (cilt geçirgenliği): -7,22 cm/s Suda çözünürlük: İyi	Lipinski: Evet Biyoyararlanım Skoru: 0,56
3,5DHB-5AT (Saf halde elde edilemedi)	GI emilimi: Yüksek KBB Geçirgenliği: Yok P-gp substratı: Yok CYP1A2 inhibitorü: Yok CYP2C19 inhibitorü: Yok Log Kp (cilt geçirgenliği): -7,22 cm/s Suda çözünürlük: İyi	Lipinski: Evet Biyoyararlanım Skoru: 0,56
2H5NB-5AT	GI emilimi: Yüksek KBB Geçirgenliği: Yok P-gp substratı: Yok CYP1A2 inhibitorü: Yok CYP2C19 inhibitorü: Yok Log Kp (cilt geçirgenliği): -7,27 cm/s Suda çözünürlük: İyi	Lipinski: Evet Biyoyararlanım Skoru: 0,56
3H4NB-5AT	GI emilimi: Yüksek KBB Geçirgenliği: Yok P-gp substratı: Yok CYP1A2 inhibitörü: Yok CYP2C19 inhibitörü: Yok Log Kp (cilt geçirgenliği): -6,87 cm/s Suda çözünürlük: İyi	Lipinski: Evet Biyoyararlanım Skoru: 0,56
3,4DHB-TRİ	GI emilimi: Yüksek KBB Geçirgenliği: Yok P-gp substratı: Yok CYP1A2 inhibitörü: Yok CYP2C19 inhibitörü: Yok Log Kp (cilt geçirgenliği): -6,90 cm/s Suda çözünürlük: İyi	Lipinski: Evet Biyoyararlanım Skoru: 0,55
3,5DHB-TRİ (Saf halde elde edilemedi)	GI emilimi: Yüksek KBB Geçirgenliği: Yok P-gp substratı: Yok CYP1A2 inhibitörü: Yok CYP2C19 inhibitörü: Yok Log Kp (cilt geçirgenliği): -6,78 cm/s Suda çözünürlük: İyi	Lipinski: Evet Biyoyararlanım Skoru: 0,55
2H5NB-TRİ	GI emilimi: Yüksek KBB Geçirgenliği: Yok P-gp substratı: Yok CYP1A2 inhibitörü: Yok CYP2C19 inhibitörü: Yok Log Kp (cilt geçirgenliği): -6,95 cm/s Suda çözünürlük: İyi	Lipinski: Evet Biyoyararlanım Skoru: 0,55
3H4NB-TRİ	GI emilimi: Yüksek KBB Geçirgenliği: Yok P-gp substratı: Yok CYP1A2 inhibitörü: Yok CYP2C19 inhibitörü: Yok Log Kp (cilt geçirgenliği): -6,56 cm/s Suda çözünürlük: İyi	Lipinski: Evet Biyoyararlanım Skoru: 0,55

5.2. Hücre Hattı Sitotoksisite Tahmini

Sentezlenen triazol ve tetrazol temelli Schiff bazlarının seçilmiş organlarda hücre hattı sitotoksisite tahminleri Çizelge 5.4'te verilmiştir.

Schiff bazlarının Pa (aktif olma olasılığı) değerinin Pi (pasif olma olasılığı) değerinden yüksek olduğu Çizelge 5.4'te görülmektedir. Bu sonuçlar Schiff bazlarının farmakolojik olarak aktif olabileceği, özellikle T hücreli akut lenfoblastik lösemi hücre hattına karşı etkili olabileceğini göstermektedir.

Çizelge 5.4. Seçilmiş organlarda hücre hattı sitotoksisite tahmini

Sembol	Pa	Pi	Hücre hattı	Hücre hattı tam adı	Doku	Tümör tipi
3,4DHB-5AT	0,400 0,223 0,075	0,117 0,169 0,028	Hs 683 MKN-7 CCRF-SB	Oligodendrogliom Mide karsinomu Çocukluk çağı T hücreli akut lenfoblastik lösemi	Beyin Mide Kan	Gliom Karsinom Lösemi
3,5DHB-5AT (Saf halde elde edilemedi)	Hücre hattı sitotoksisite tahmini yapılamadı					
2H5NB-5AT	0,086	0,014	CCRF-SB	Çocukluk çağı T hücreli akut lenfoblastik lösemi	Kan	Lösemi
3H4NB-5AT	0,119 0,076	0,111 0,025	SK-N-SH CCRF-SB	Nöroblastom Çocukluk çağı T hücreli akut lenfoblastik lösemi	Sinir sistemi Kan	Nöroblastom Lösemi
3,4DHB-TRİ	0,368 0,230 0,061 0,067	0,144 0,150 0,037 0,046	HS 683 MKN-7 MT4 CCRF-SB	Oligodendrogliom Mide karsinomu Yetişkin T hücreli akut lenfoblastik lösemi Çocukluk çağı T hücreli akut lenfoblastik lösemi	Beyin Mide Kan Kan	Gliom Karsinom Lösemi Lösemi
3,5DHB-TRİ (Saf halde elde edilemedi)	0,301 0,227 0,100	0,216 0,158 0,081	HS 683 MKN-7 D54	Oligodendrogliom Mide karsinomu Glioblastom	Beyin Mide Beyin	Gliom Karsinom Glioblastom
2H5NB-TRİ	0,077 0,053	0,025 0,050	CCRF-SB MT4	Çocukluk çağı T hücreli akut lenfoblastik lösemi Yetişkin T hücreli akut lenfoblastik lösemi	Kan Kan	Lösemi Lösemi
3H4NB-TRİ	0,068	0,042	CCRF-SB	Çocukluk çağı T hücreli akut lenfoblastik lösemi	Kan	Lösemi

Sentezlenen Schiff bazlarının gliom, lösemi, nöroblastom, karsinom gibi tümör tiplerine etki gösterebileceği söylenebilir. Schiff bazlarından 3,4DHB-5AT'nin Pa>Pi değerinin daha

büyük olduğu, bu nedenle beyin dokusundaki gliom tümör tipi için etkili olabileceği görülmektedir.

5.3. Element Analizleri ve Fiziksel Özellikler

Schiff bazlarının C, H ve N yüzdeleri teorik olarak hesaplanmış ve sonuçlar Çizelge 5.5.'te verilmiştir. Sonuçların önerilen yapılarla uyumlu olduğu görülmektedir. Erime noktaları dikkate alındığında 2H5NB-TRİ Schiff bazının erime noktasının daha büyük olduğu görülmektedir.

Çizelge 5.5. Schiff bazlarının element analizi sonuçları ve fiziksel özellikleri

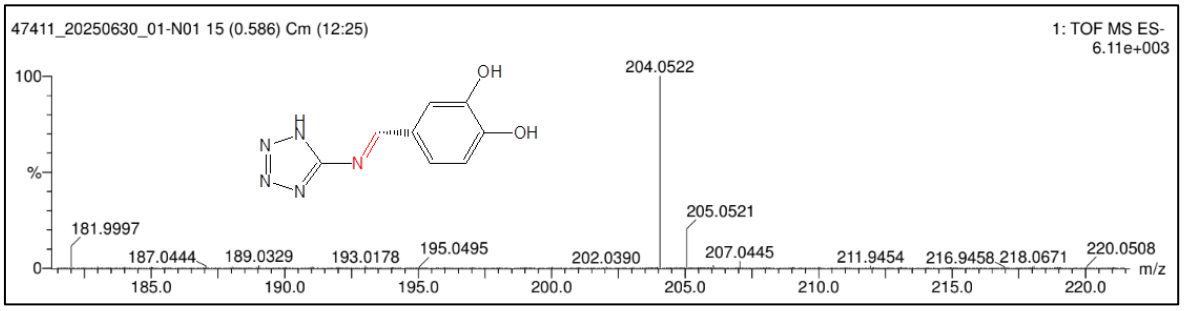
Schiff Bazı	Kapalı Formül Mol Kütlesi (g/mol)	Teorik Değer % Analiz Sonucu			Erime Noktası (°C) Renk
		C	H	N	
3,4DHB-5AT	$C_8H_7N_5O_2$ 205,17	46,83 46,79	3,44 3,92	34,13 33,73	122 - 126 sarı
3,5DHB-5AT	$C_8H_7N_5O_2$ 205,17	(Saf halde elde edilemedi)			
2H5NB-5AT	$C_8H_6N_6O_3$ 234,17	41,03 41,27	2,58 2,76	35,89 35,53	160 - 164 sarı
3H4NB-5AT	$C_8H_6N_6O_3$ 234,17	41,03 40,88	2,58 3,11	35,89 34,51	164 -167 sarı
3,4DHB-TRİ	$C_9H_8N_4O_2$ 204,19	52,94 52,90	3,95 4,43	27,44 27,04	118 - 122 kahverengi
3,5DHB-TRİ	$C_9H_8N_4O_2$ 204,19	(Saf halde elde edilemedi)			
2H5NB-TRİ	$C_9H_7N_5O_2$ 233,18	46,35 46,59	3,03 3,21	30,03 29,67	276 - 277 sarı
3H4NB-TRİ	$C_9H_7N_5O_2$ 233,18	46,35 46,20	3,03 3,56	30,03 28,65	> 280 sarı

5.4. Kütle Spektrumları

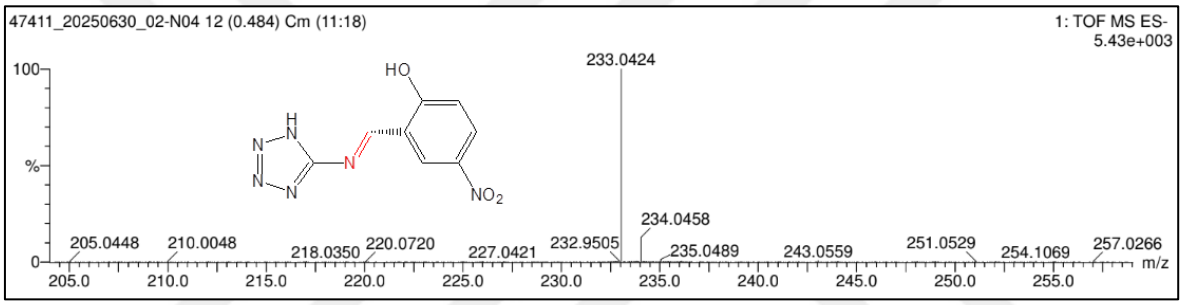
Bu çalışma kapsamında sentezlenen tüm Schiff bazı türevlerine ait yüksek çözünürlüklü kütle spektrumları (HRMS) kaydedilmiş olup, elde edilen spektrumlar Şekil 5.1-5.6'da ayrıntılı olarak sunulmuştur.

HRMS spektrumlarında görüldüğü üzere, tetrazol temelli Schiff bazlarından 3,4DHB-5AT kodlu Schiff bazının moleküler iyon piki 205,0521 m/z ve temel iyon piki 205,0522 m/z olarak gözlendi. 2H5NB-5AT kodlu Schiff bazının moleküler iyon piki 234,0458 m/z ve

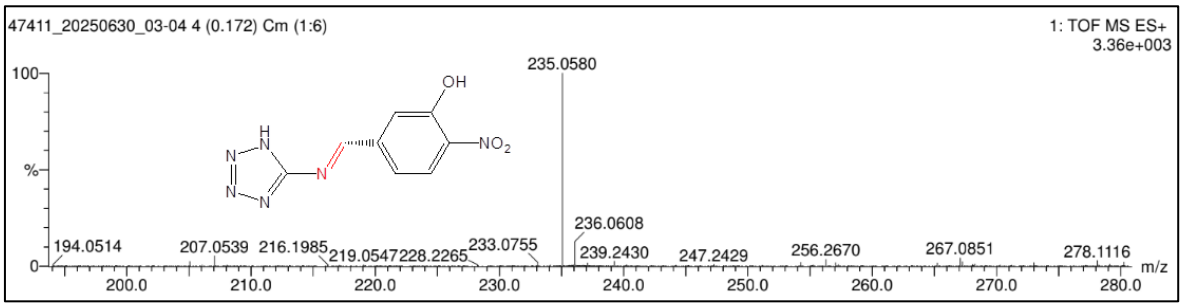
temel iyon piki 233,0424 m/z olarak gözlendi. 3H4NB-5AT kodlu Schiff bazının moleküler iyon piki 236,0608 m/z ve temel iyon piki 235,0580 m/z olarak gözlemlendi.



Şekil 5.1. 3,4DHB-5AT molekülünün HRMS spektrumu

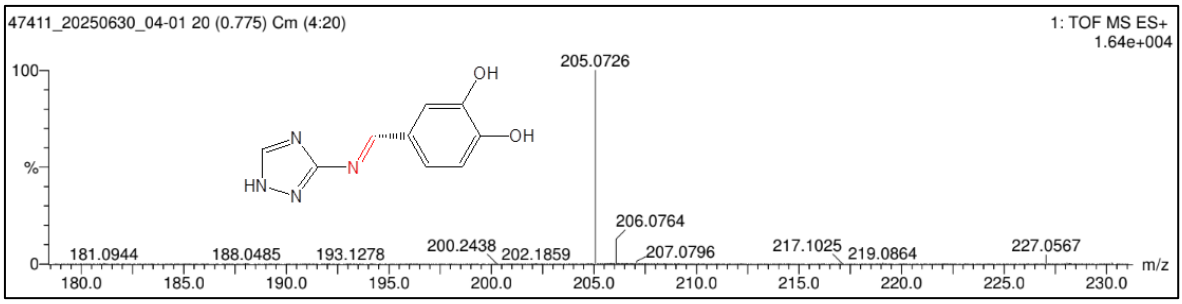


Şekil 5.2. 2H5NB-5AT molekülünün HRMS spektrumu

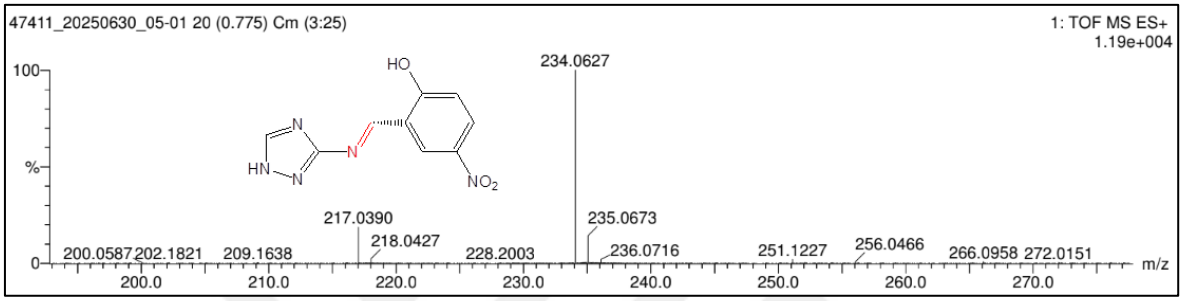


Şekil 5.3. 3H4NB-5AT molekülünün HRMS spektrumu

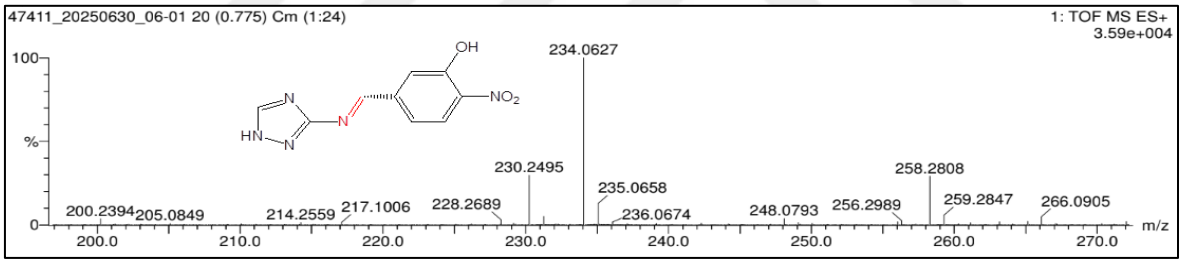
Triazol temelli Schiff bazlarından ise 3,4DHB-TRİ kodlu Schiff bazının moleküler iyon piki 205,0764 m/z ve temel iyon piki 205,0726 m/z olarak gözlendi. 2H5NB-TRİ kodlu Schiff bazının moleküler iyon piki 235,0763 m/z ve temel iyon piki 234,0627 m/z olarak gözlendi. 3H4NB-TRİ kodlu Schiff bazının ise moleküler iyon piki 235,0658 m/z ve temel iyon piki 234,0627 m/z olarak gözlemlendi.



Şekil 5.4. 3,4DHB-TRİ molekülünün HRMS spektrumu



Şekil 5.5. 2H5NB-TRİ molekülünün HRMS spektrumu



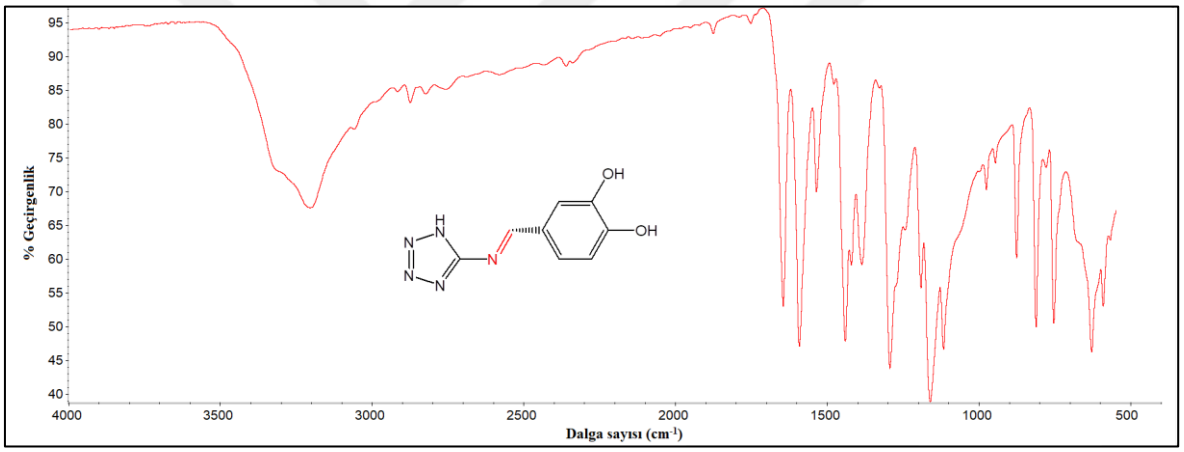
Şekil 5.6. 3H4NB-TRİ molekülünün HRMS spektrumu

5.5. FT-IR Analiz Sonuçları

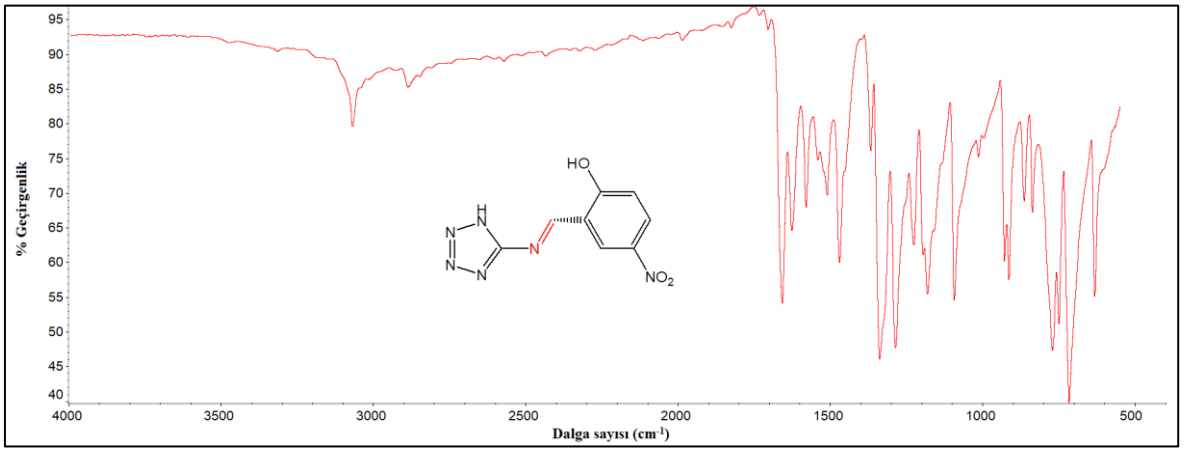
Schiff Bazlarının Bölüm 3.2'de belirtildiği şekilde alınan FT-IR spektrumlarına ait karakteristik pikler Çizelge 5.6'da spektrumlar da Şekil 5.7-5.12'de verilmiştir. Triazol ve tetrazol temelli Schiff bazlarının O-H gerilme titreşimleri 3133-3379 cm^{-1} arasında geniş bantlar şeklinde gözlendi. Triazol ve tetrazolün yapısında bulunan N-H gerilme titreşimleri ise 3031-3402 cm^{-1} aralığında belirlendi. Aromatik halkaya ait C-H ve C=C gerilme titreşimleri sırasıyla 3055-3087 ve 630-638 cm^{-1} arasında gözlendi. Yine tüm Schiff bazlarında CH=N gerilme titreşimi 1618-1646 cm^{-1} arasında gözlemlendi. Aromatik halkada yer alan NO_2 grubuna ait simetrik ve asimetrik gerilme titreşimleri sırasıyla 1321-1362 ve 837-865 cm^{-1}arasında şiddetli pikler olarak gözlemlendi.

Çizelge 5.6. Schiff bazlarının belirgin FT-IR titreşimleri (cm^{-1})

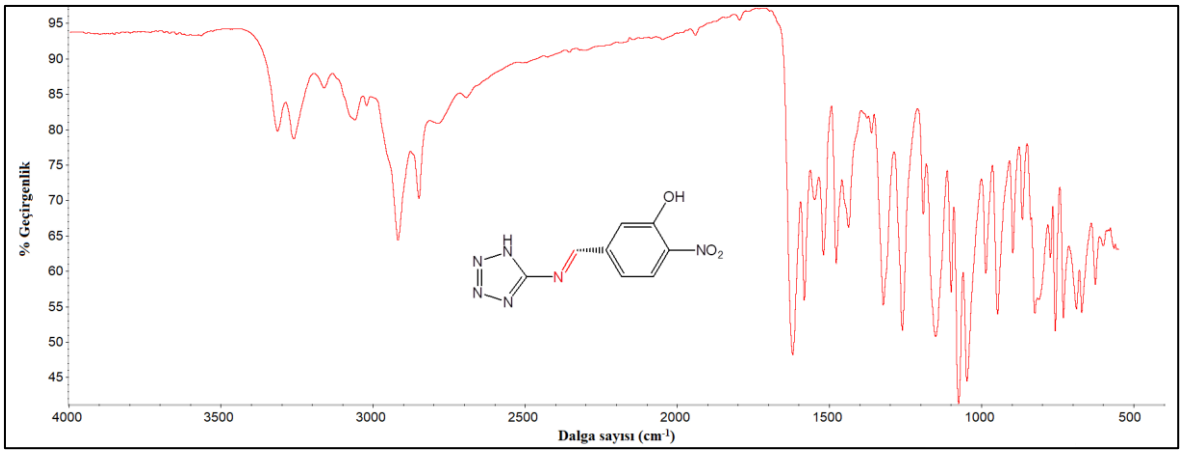
Schiff Bazın Sembolü	ν O-H	ν N-H	ν C-H ν C=C	ν CH=N	ν C=N/C-N	ν NO_2
3,4DHB-5AT	3208	3327	3055 (Z) 633	1646	1590, 1480, 1538	-
3,5DHB-5AT	(Saf halde		elde	edilemedi)		
2H5NB-5AT	3133 (over	3031 lop)	G 638	1628	1540 1570 1451 (z)	1338 837
3H4NB-5AT	3264	3318	3064 630	1624	1438 1478 1520	1362 865
3,4DHB-TRİ	3180 (over	3402 lop)	3105 631	1622	1450, 1475, 1528	-
3,5DHB-TRİ	(Saf halde		elde	edilemedi)		
2H5NB-TRİ	3133	3263	3087 (z) 623	1618	1460, 1478,1528	1342 865
3H4NB-TRİ	3379 (over	3177 lop)	3055 635	1626	1528, 1476, 1437	1321 850



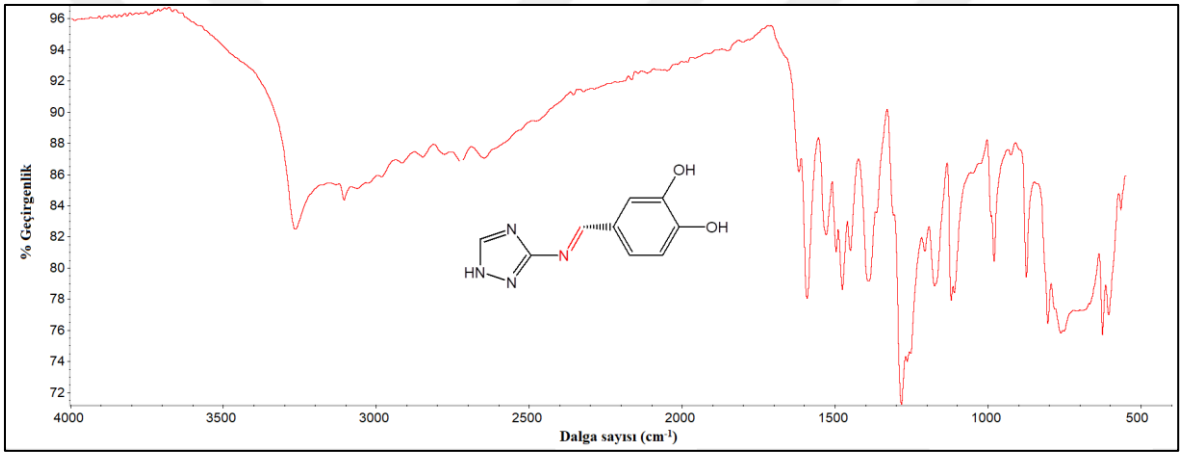
Şekil 5.7. 3,4DHB-5AT kodlu tetrazol temelli Schiff bazının FT-IR spektrumu



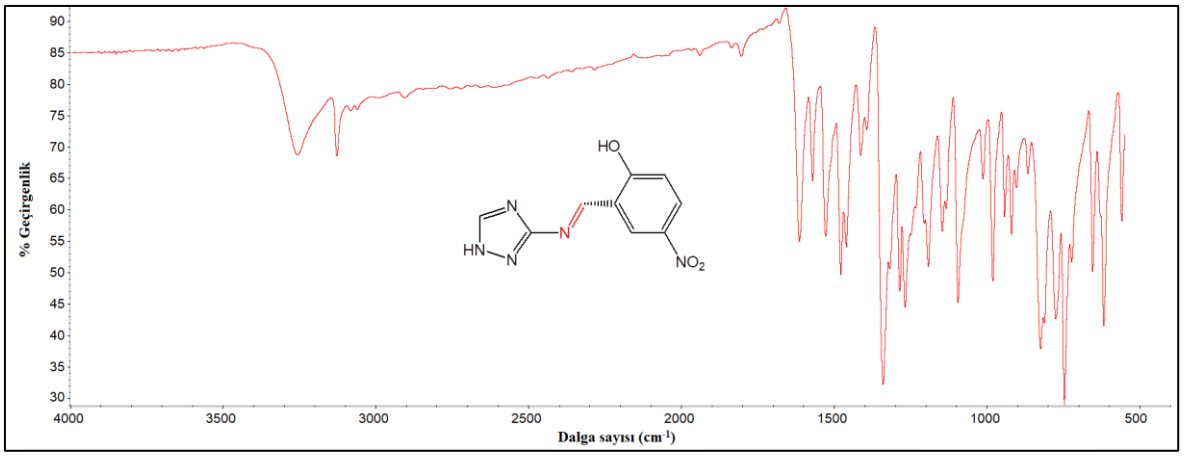
Şekil 5.8. 2H5NB-5AT kodlu tetrazol temelli Schiff bazının FT-IR spektrumu



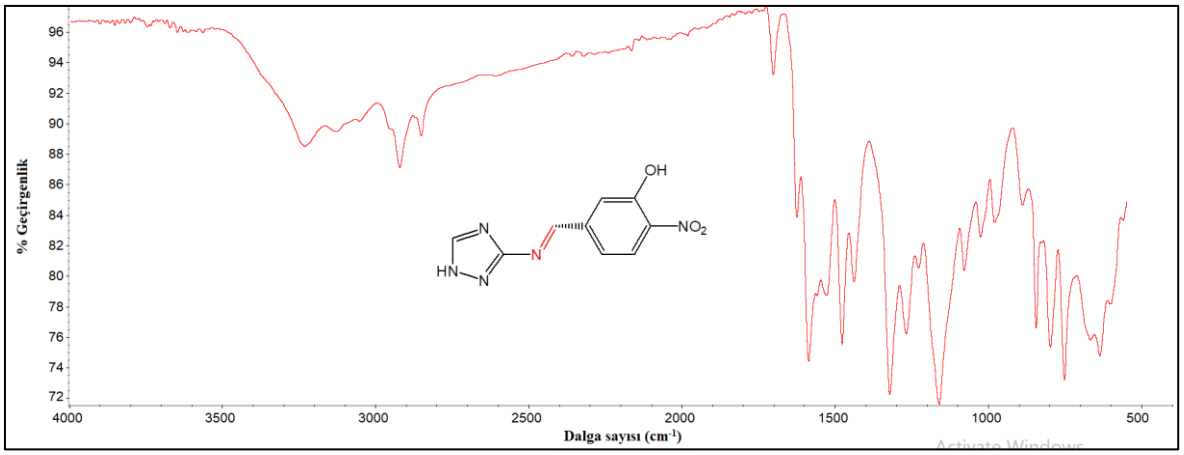
Şekil 5.9. 3H4NB-5AT kodlu tetrazol temelli Schiff bazının FT-IR spektrumu



Şekil 5.10. 3,4DHB-TRİ kodlu triazol temelli Schiff bazının FT-IR spektrumu



Şekil 5.11. 2H5NB-TRİ kodlu triazol temelli Schiff bazının FT-IR spektrumu



Şekil 5.12. 3H4NB-TRİ kodlu triazol temelli Schiff bazının FT-IR spektrumu

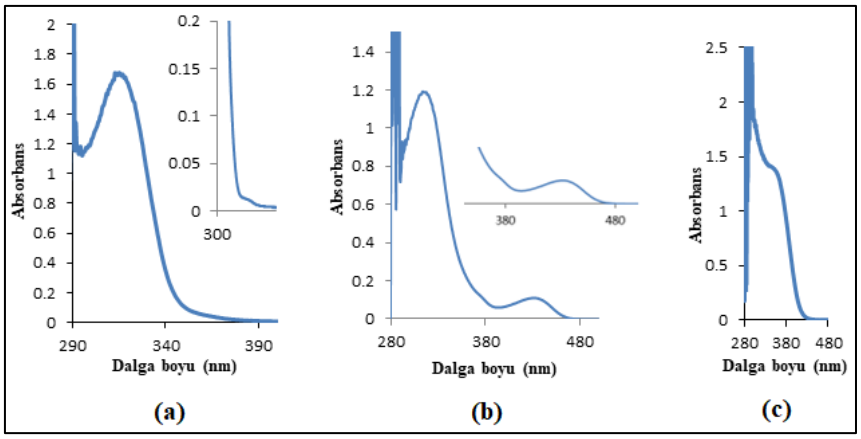
5.6. UV-GB Analiz Sonuçları

Triazol ve tetrazol temelli Schiff bazlarının UV spektrumları DMSO çözücüsünde alınmış olup spektrumlar Şekil 5.13 ve 5.14'te sonuçlar ise Çizelge 5.7'de verilmiştir.

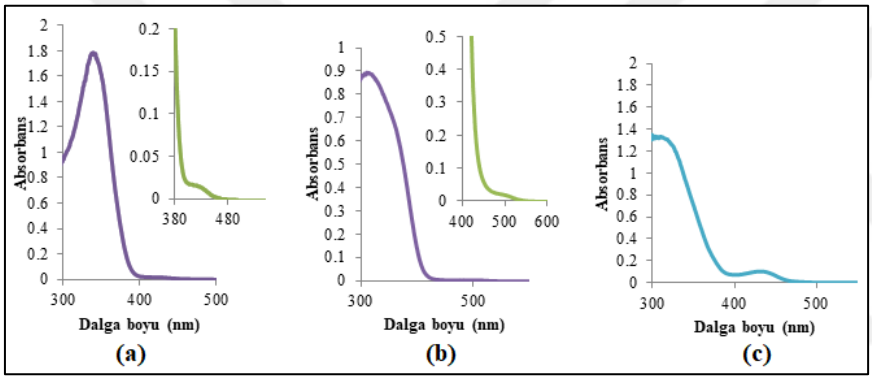
Tüm Schiff bazlarının UV bölgesinde 306-341 nm aralığında, beklenen $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişleri gözlemlenmiştir. İmin grubuna ait $n \rightarrow \pi^*$ geçişleri ise 433-442 nm aralığında, daha zayıf bantlar olarak gözlemlenmiştir. $-NO_2$ grubuna ait $n \rightarrow \pi^*$ geçişi, 2H5NB-5AT kodlu tetrazol-Schiff bazında 378 nm dalga boyunda zayıf bant olarak gözlemlenmiş, ancak 3H4NB-5AT kodlu tetrazol-Schiff bazında geçişlerin üst üste binmesi (overlop) nedeniyle gözlemlenememiştir.

Çizelge 5.7. Schiff bazlarının UV-GB sonuçları

Schiff Bazının Sembolü	$\lambda_{(max)\ (nm)}$ $n \rightarrow \pi^*$(imin) $\pi \rightarrow \pi^*$ (arom.) $n \rightarrow \pi^*(-NO_2)$	Absorbans (A)	ε (L mol^{-1} cm^{-1})
3,4DHB-5AT	442 316	0,01 1,66	10,4 720,4
3,5DHB-5AT	(Saf halde elde edilemedi)		
2H5NB-5AT	436 318 378	0,11 1,18 0,10	1,72 x 10^3 1,86 x 10^3 1,68 x 10^3
3H4NB-5AT	412-309 (overlop)	0,152-1,706	Hesaplanamadı
3,4DHB-TRİ	433 341	0,012 1,78	1,25 x 10^2 1,85 x 10^4
3,5DHB-TRİ	(Saf halde elde edilemedi)		
3H4NB-TRİ	506 318	0,016 0,88	7,50 x 10^2 4,13 x 10^4
2H5NB-TRİ	435 322	1,71 1,27	1,78 x 10^4 1,32 x 10^4



Şekil 5.13. (a) 3,4DHB-5AT, (b) 2H5NB-5AT ve (c) 3H4NB-5AT kodlu tetrazol temelli Schiff bazlarının UV spektrumu



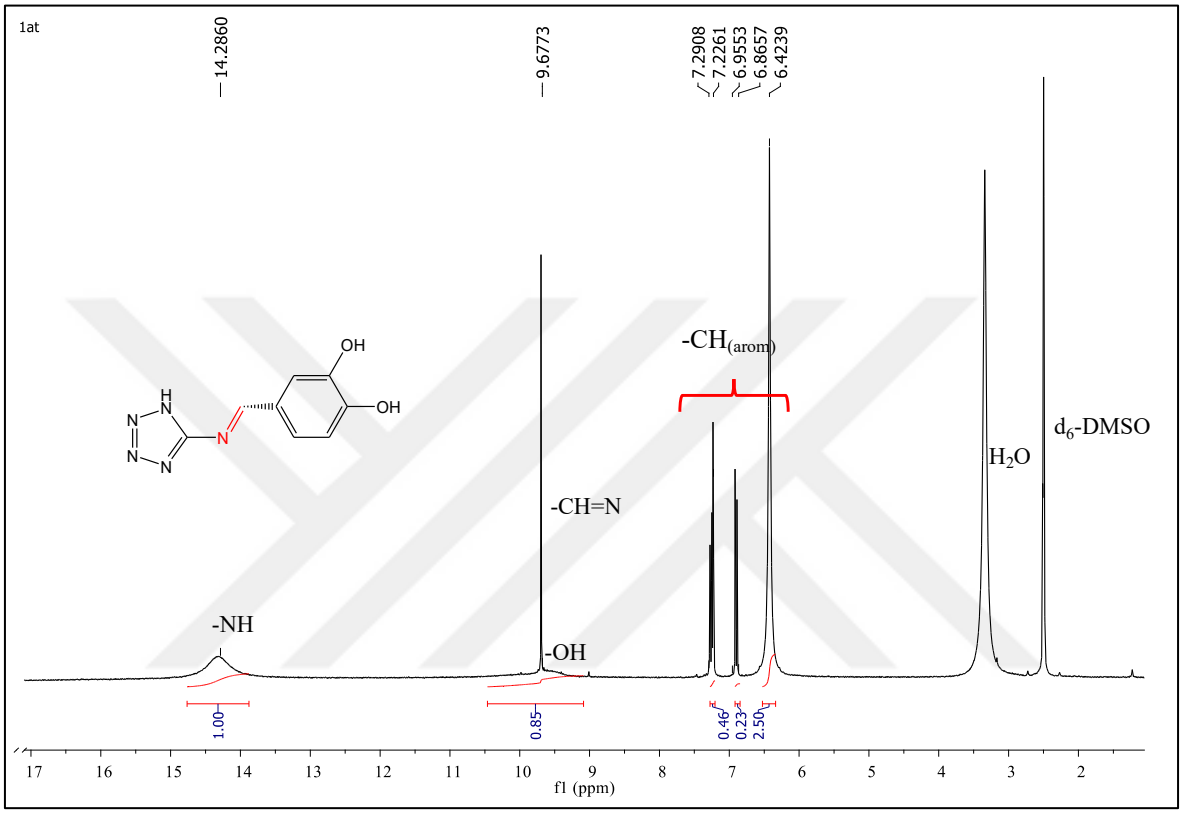
Şekil 5.14. (a) 3,4DHB-TRİ, (b) 2H5NB-TRİ ve (c) 3H4NB-TRİ kodlu triazol temelli Schiff bazlarının UV spektrumu

3H4NB-5AT kodlu tetrazol temelli Schiff bazında imin ve -NO_2 gruplarına ait n → π* geçişleri ile aromatik halkadaki π → π* geçişlerinin overlop yapmasından dolayı bu üç geçişe ait titreşimler ayrı ayrı belirlenememiştir. Dolayısıyla, 3H4NB-5AT kodlu tetrazol temelli Schiff bazında bu geçişler birbirinden ayırt edilememiştir.

Triazol ve tetrazol temelli Schiff bazlarından 3H4NB-TRİ kodlu Schiff bazında belirgin bir donör-akseptör (yük transferi) geçişi gözlenmiştir. Bu geçişin, güçlü elektron çekici özellik gösteren akseptör -NO_2 grubu ile elektron verici (donör) özellikteki -OH grubunun birbirine komşu konumda bulunmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu konumlanma, molekülde etkili bir yük transferi geçişinin oluşmasına neden olabilir [65].

5.7. ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR Analiz Sonuçları

Tetrazol temelli Schiff bazlarından 3,4DHB-5AT kodlu Schiff bazının, ^{1}H-NMR spektrumu 300 MHz frekansta, DMSO-d_6 çözücüsünde kaydedilmiştir (Şekil 5.15).

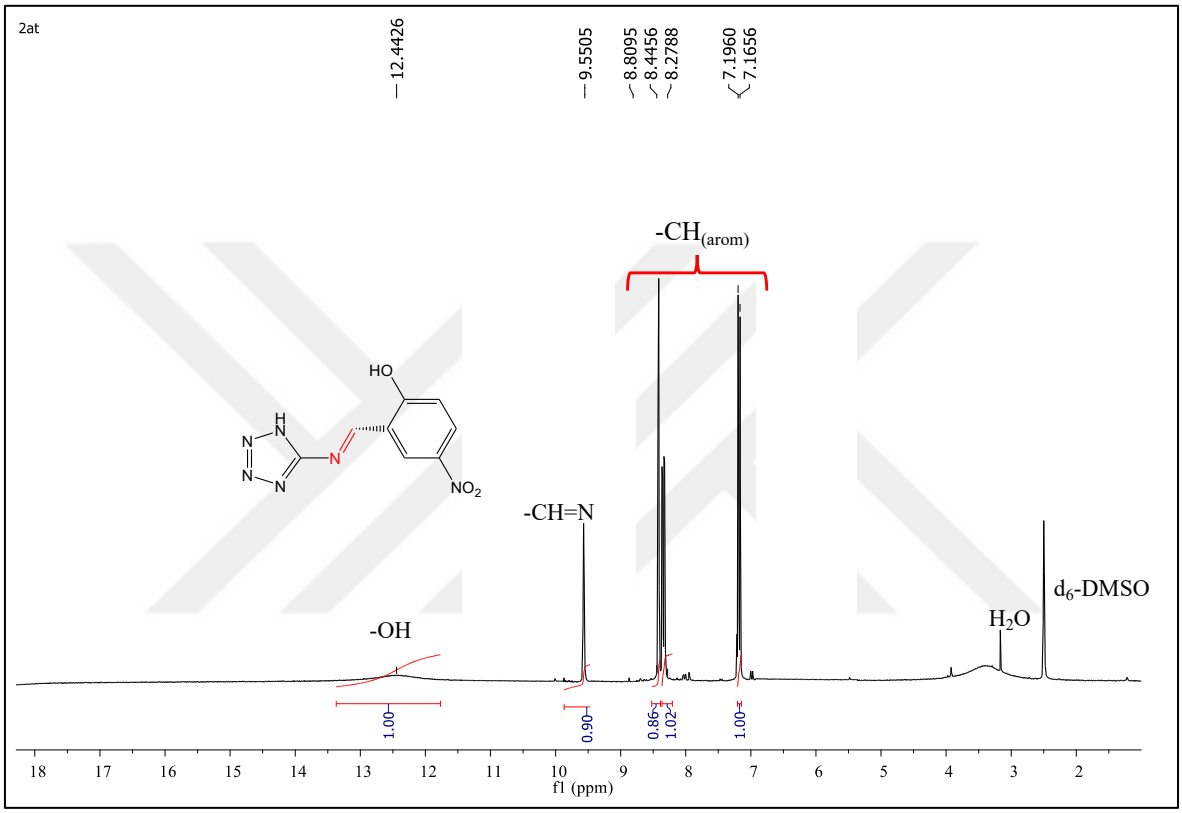


Şekil 5.15. 3,4DHB-5AT kodlu Schiff bazının ^{1}H-NMR spektrumu

9,67 ppm'de gözlenen azometin (-CH=N-) sinyali keskin singlet karakterindedir; ancak sinyal tabanında belirgin bir genişleme mevcuttur. Bu durum, fenolik -OH protonunun azometin azotu ile kurduğu hidrojen bağları ve hızlı proton değişimine bağlanmıştır. Bu nedenle fenolik -OH protonu spektrumda ayrı bir pik olarak ayırt edilememiştir. İkinci fenolik -OH sinyalinin ayrı bir pik olarak gözlenmemesi, güçlü hidrojen bağı/ hızlı değişim ve sinyal örtüşmesiyle açıklanabilir. 14,28 ppm'de gözlenen geniş sinyal tetrazol N-H protonuna atanmıştır. Aromatik bölgede 6,42 ppm'de gözlenen geniş sinyalin integralinin yüksek olması (≈2–2,5H), iki aromatik proton sinyalinin kimyasal kaymalarının birbirine çok yakın olması nedeniyle üst üste binmesiyle görünürde singlet karakteri vermesine bağlanmıştır. Nitekim 7,29–7,22 ppm (m, 0,46H) ve 6,95–6,86 ppm (m, 0,23H) bölgelerinin toplam integrali ~1H olup, aromatik halkada beklenen toplam 3 protonun kalan ~2H'lik

kısmının 6,42 ppm'deki örtüşmüş sinyal altında yer aldığı sonucunu desteklemektedir. 7,29 ve 6,95 ppm'de gözlenen sinyaller de aromatik halkadaki protonlara karşılık gelmektedir.

Tetrazol temelli Schiff bazlarından 2H5NB-5AT kodlu Schiff bazının ^{1}H-NMR spektrumu 300 MHz frekansta, DMSO-d_6 çözücüsünde kaydedilmiştir (Şekil 5.16).

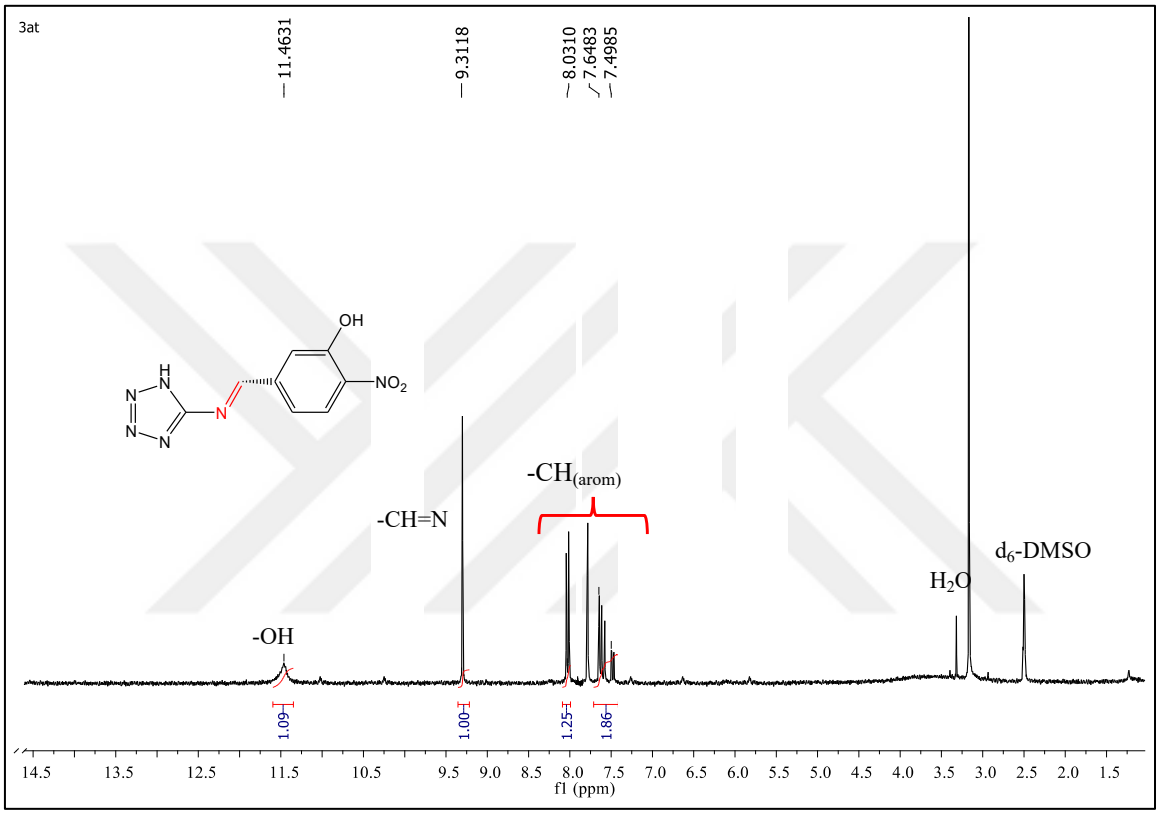


Şekil 5.16. 2H5NB-5AT kodlu Schiff bazının ^{1}H-NMR spektrumu

Spektrumda 12,44 ppm'de gözlenen geniş singlet sinyal, azometin azotu ile güçlü intramoleküler O-H···N hidrojen bağı yapan fenolik -OH protonuna atanmıştır. Bu etkileşim, -OH protonunun belirgin şekilde aşağı alana kaymasına ve sinyalin geniş olarak gözlenmesine neden olmuştur. 9,55 ppm'de gözlenen singlet sinyal, Schiff bazı oluşumunun karakteristik göstergesi olan azometin (-CH=N-) protonuna karşılık gelmektedir. Aromatik protonlara ait sinyaller 7,19-8,81 ppm aralığında gözlenmiştir. 7,19 ppm'de gözlenen dublet sinyal, fenolik -OH grubuna orto konumda bulunan aromatik -CH protonu olarak düşünülmüştür. 7,19 ppm civarında gözlenmesinin, -OH grubunun elektron verici etkisi ile azometin ve nitro gruplarının elektron çekici etkilerinin dengelenmesi sonucu olabileceği düşünülmüştür. Daha aşağı alanda gözlenen 8.81 ppm ve 8.44–8.27 ppm aralığındaki

sinyaller ise, -NO_2 grubunun etkisi altında bulunan diğer aromatik protonlara karşılık gelmektedir.

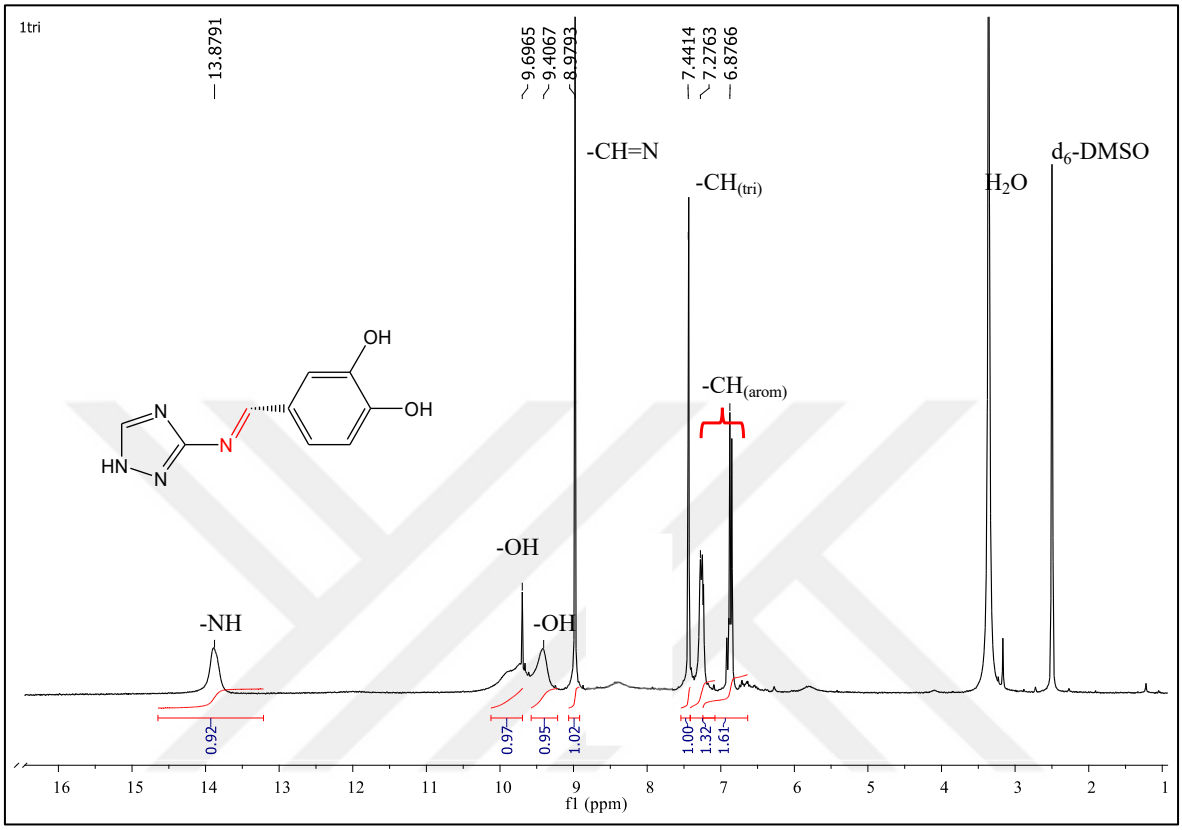
Tetrazol temelli Schiff bazlarından 3H4NB-5AT kodlu Schiff bazının, ^{1}H-NMR spektrumu 300 MHz frekansta, DMSO-d_6 çözücüsünde kaydedilmiştir (Şekil 5.17).



Şekil 5.17. 3H4NB-5AT kodlu Schiff bazının ^{1}H-NMR spektrumu

9,31 ppm (s, 1H) olarak gözlenen sinyal, Schiff bazı oluşumunun karakteristik göstergesi olan azometin (-CH=N–) protonu olarak düşünülmüştür. 11,46 ppm (br s, 1H) sinyali, bileşikte bulunan fenolik -OH protonuna karşılık gelmektedir. -OH protonunun bu bölgede görülmesi, yapıda hidrojen bağı etkileşimlerinin bulunduğunu; ayrıca -OH grubunun orto konumda olmaması nedeniyle 2-hidroksi-5-nitro türevindeki kadar (≈12 ppm) aşağı alana kaymadığını göstermektedir. Aromatik bölgede 8,03 ppm ve 7,64–7,49 ppm aralığında gözlenen sinyaller, aromatik halkadaki üç tane -CH protonu ile uyumludur. Nitro grubunun güçlü elektron çekici etkisi nedeniyle, özellikle nitroya komşu protonun sinyalinin daha aşağı alanda gözlenmesi beklenen bir durumdur. 7,64–7,49 ppm bölgesindeki integralin ~2H olması, iki aromatik protonun örtüşerek multiplet görünüm oluşturmasıyla açıklanmıştır.

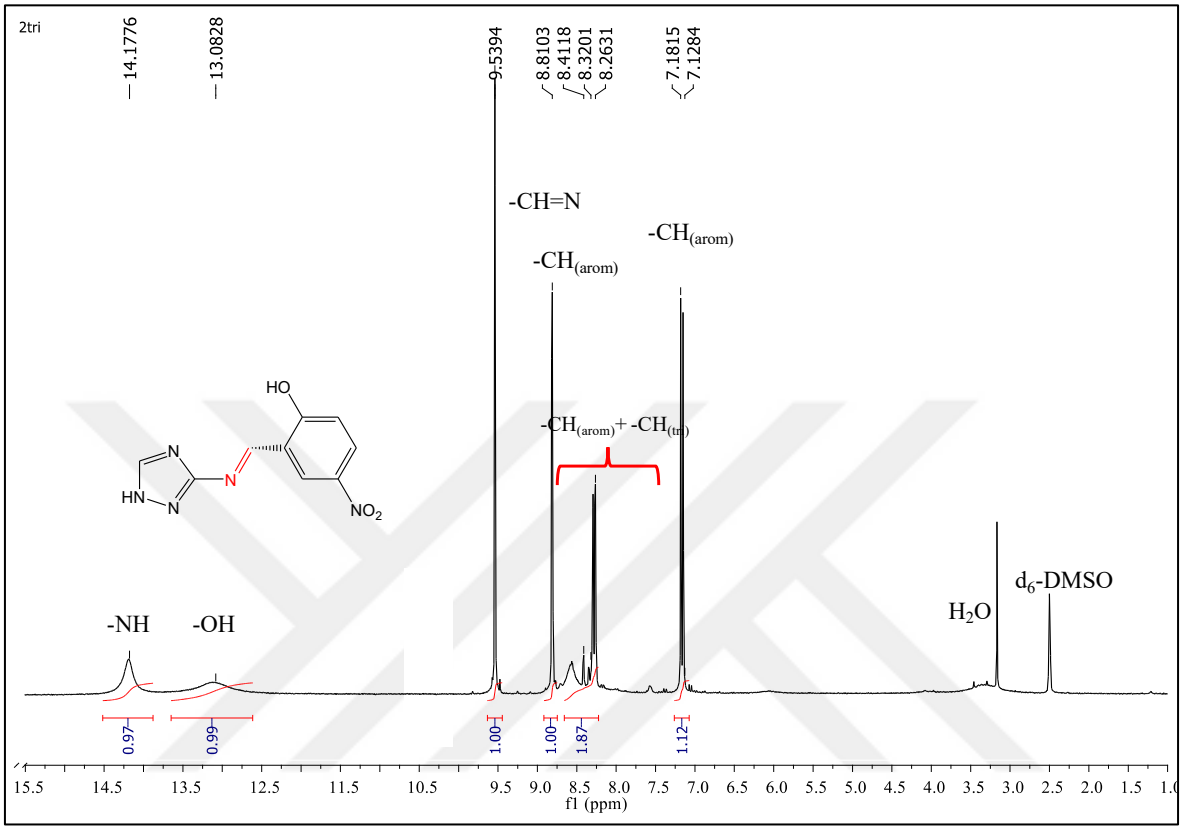
Triazol temelli Schiff bazlarından 3,4DHB-TRİ kodlu Schiff bazının ^{1}H-NMR spektrumu 300 MHz frekansta, DMSO-d_6 çözücüsünde kaydedilmiştir (Şekil 5.18).



Şekil 5.18. 3,4DHB-TRİ kodlu Schiff bazının ^{1}H-NMR spektrumu

Spektrumda 13,87 ppm'de gözlenen geniş singlet sinyal, 1,2,4-triazol halkasına ait N-H protonuna atanmıştır. Bu protonun oldukça aşağı alanda gözlenmesi, triazol halkasının tautomerik yapısı ve azometin azotu ile oluşan intramoleküler hidrojen bağları ile açıklanabilir. 9,69 ve 9,40 ppm'de gözlenen geniş sinyaller, 3,4-dihidroksi benzaldehit biriminden kaynaklanan iki fenolik -OH protonuna karşılık gelmektedir. Bu protonların geniş sinyal vermesi, DMSO-d_6 ortamında hidrojen bağı ve proton değişimi (exchange) etkileri ile ilişkilidir. 8,97 ppm'de tekli olarak gözlenen sinyal, Schiff bazı oluşumunun karakteristik göstergesi olan azometin (-CH=N-) protonu olarak değerlendirilmiştir. 7,44 ppm'deki singlet sinyal, 1,2,4-triazol halkasında bulunan C-H protonuna aittir. Aromatik bölgede 7,27–6,87 ppm aralığında gözlenen sinyaller ise benzen halkasındaki aromatik protonlara karşılık gelmektedir.

Triazol temelli Schiff bazlarından 2H5NB-TRİ kodlu Schiff bazının ^{1}H-NMR spektrumu 300 MHz frekansta, DMSO-d_6 çözücüsünde kaydedilmiştir (Şekil 5.19).

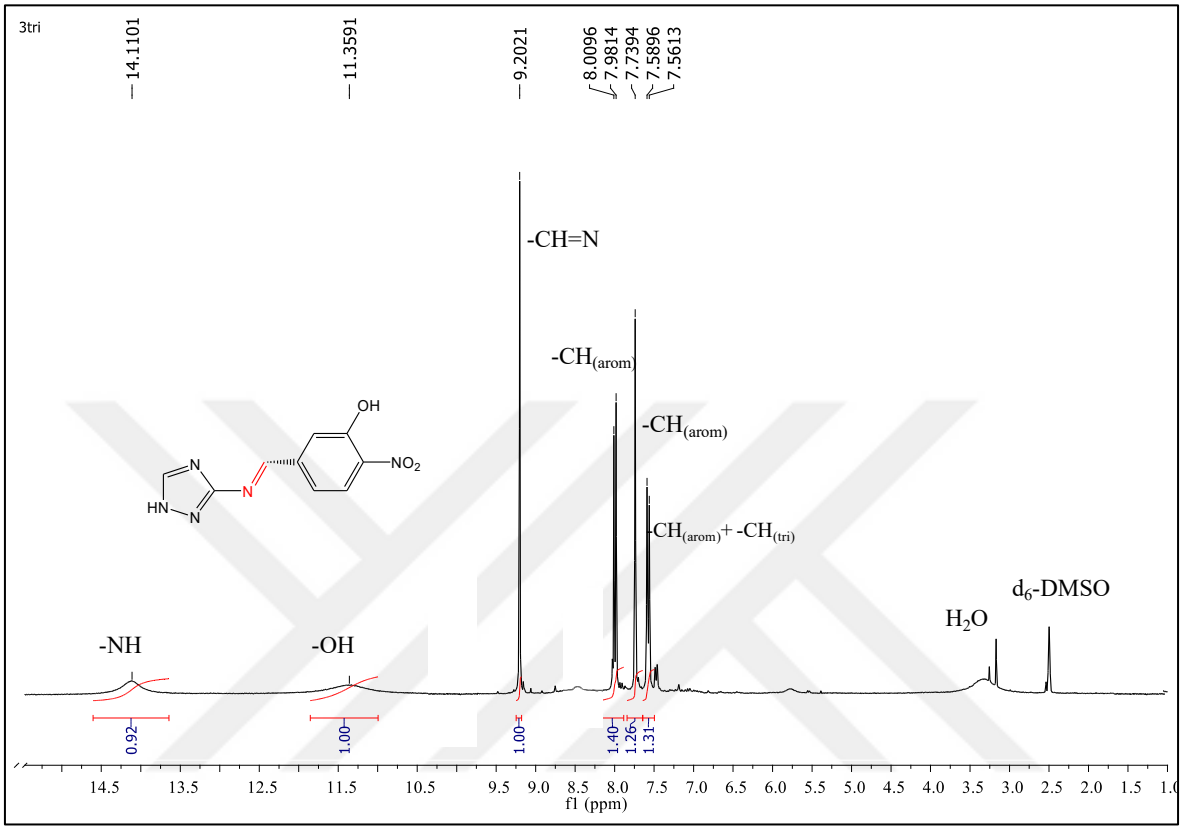


Şekil 5.19. 2H5NB-TRİ kodlu Schiff bazının ^{1}H-NMR spektrumu

Spektrumda 9,53 ppm'de gözlenen singlet sinyal, Schiff bazı oluşumunu doğrulayan karakteristik azometin (-CH=N-) protonu olarak değerlendirilmiştir. 14,17 ve 13,08 ppm'deki geniş singlet sinyaller sırasıyla 1,2,4-triazol N-H ve fenolik -OH protonlarına karşılık gelmektedir. Bu protonların belirgin şekilde aşağı alanda gözlenmesi, molekül içinde intramoleküler hidrojen bağlarının (N-H···N/O ve O-H···N) varlığından kaynaklanabilir.

Aromatik bölgede gözlenen sinyaller toplamda yaklaşık 4H'ye karşılık gelmekte olup, bu değer benzen halkasındaki üç aromatik proton ile 1,2,4-triazol halkasına ait bir adet C-H protonunun toplamı ile uyumludur. 8,40–8,26 ppm aralığında gözlenen çoklu piklere ait integral alanın ~2H olması, bu bölgede bir aromatik proton ile triazol halkasına ait C-H protonunun sinyallerinin birbirine çok yakın kimyasal kaymalarda bulunması nedeniyle örtüşebileceği şeklinde düşünülmüştür.

Triazol temelli Schiff bazlarından 3H4NB-TRİ kodlu Schiff bazının, ^{1}H-NMR spektrumu 300 MHz frekansta, DMSO-d_6 çözücüsünde kaydedilmiştir (Şekil 5.20).

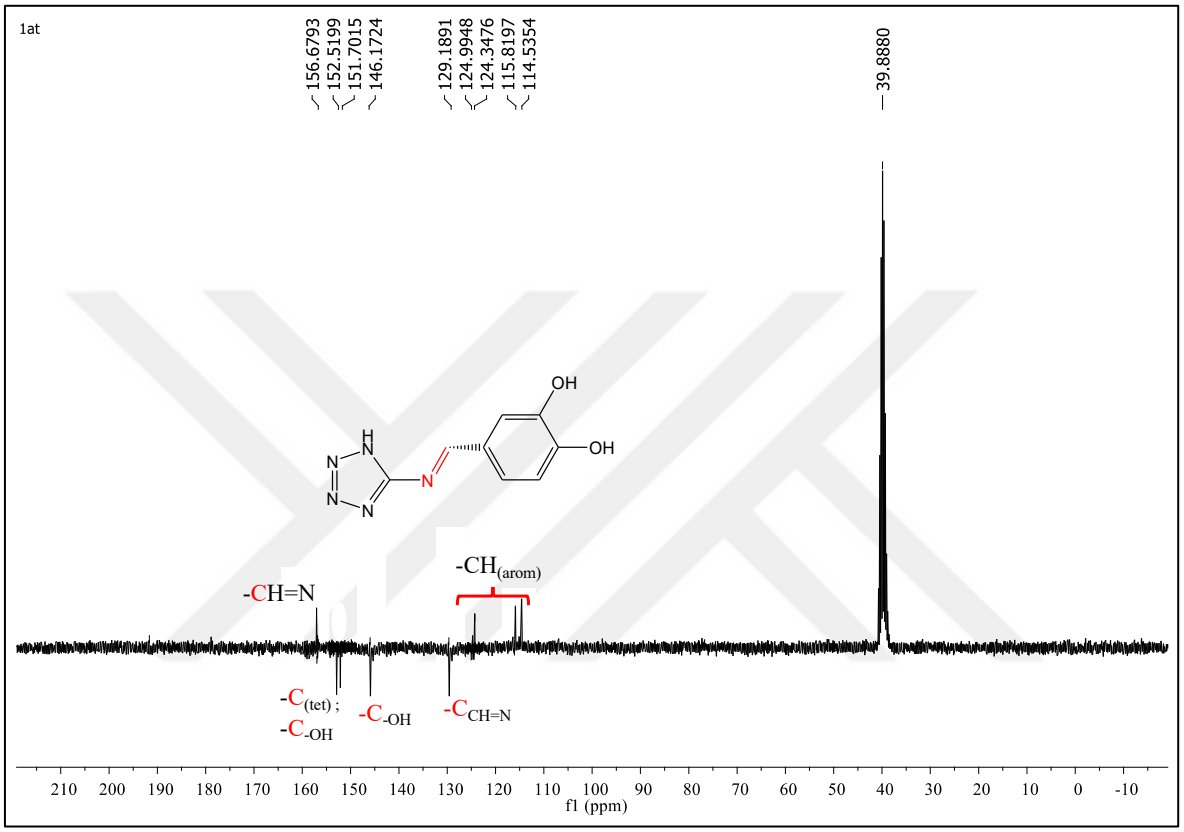


Şekil 5.20. 3H4NB-TRİ kodlu Schiff bazının ^{1}H-NMR spektrumu

Spektrumda 9,20 ppm'de gözlenen singlet sinyal, Schiff bazı oluşumunun karakteristik göstergesi olan azometin (-CH=N-) protonuna atanmıştır. 14,11 ppm'deki geniş singlet sinyal 1,2,4-triazol N-H protonuna, 11,36 ppm'de gözlenen geniş sinyal ise fenolik -OH protonuna karşılık gelmektedir. Fenolik -OH protonunun 11,36 ppm'de gözlenmesi, -OH grubunun azometin azotu ile güçlü şelat tipi intramoleküler hidrojen bağı yapamadığı (orto-OH bulunmaması) durumuyla uyumludur. 7,56–8,01 ppm aralığındaki sinyaller nitro grubunun elektron çekici etkisiyle elektron çekici sübstitüentlerin etkisiyle aşağı alana kayma gösteren aromatik protonlara ve olası sinyal örtüşmeleri nedeniyle kısmen triazol halkasındaki C-H protonuna atanmıştır.

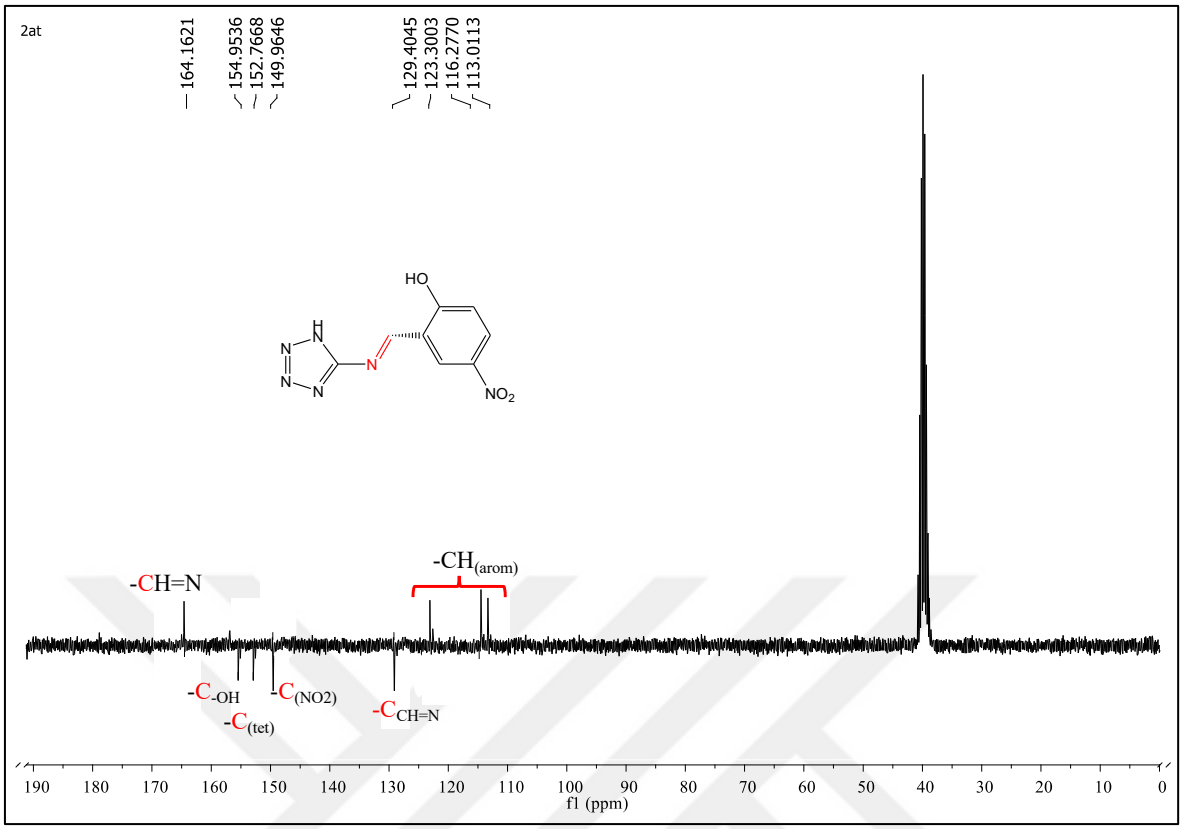
Tetrazol temelli Schiff bazlarından 3,4DHB-5AT kodlu Schiff bazının ^{13}C-APT spektrumunda sekiz karbon sinyali gözlenmiştir. APT spektrumunda imin karbonu (-CH=N-) ve aromatik C-H karbonları aynı fazda (+), kuaterner karbonlar ise karşı fazda (−) sinyal

vermiştir. 152–146 ppm aralığında gözlenen sinyaller fenolik C-O karbonları ve tetrazol halkasının kuaterner karbonuna atfedilmiştir. 129 ppm'deki sinyal, imine grubuna bağlı aromatik ipso karbona karşılık gelmektedir. 125, 115 ve 114 ppm'deki sinyaller ise aromatik C-H karbonları olarak değerlendirilmiştir (Şekil 5.21).



Şekil 5.21. 3,4DHB-5AT kodlu Schiff bazının ^{13}C-APT spektrumu

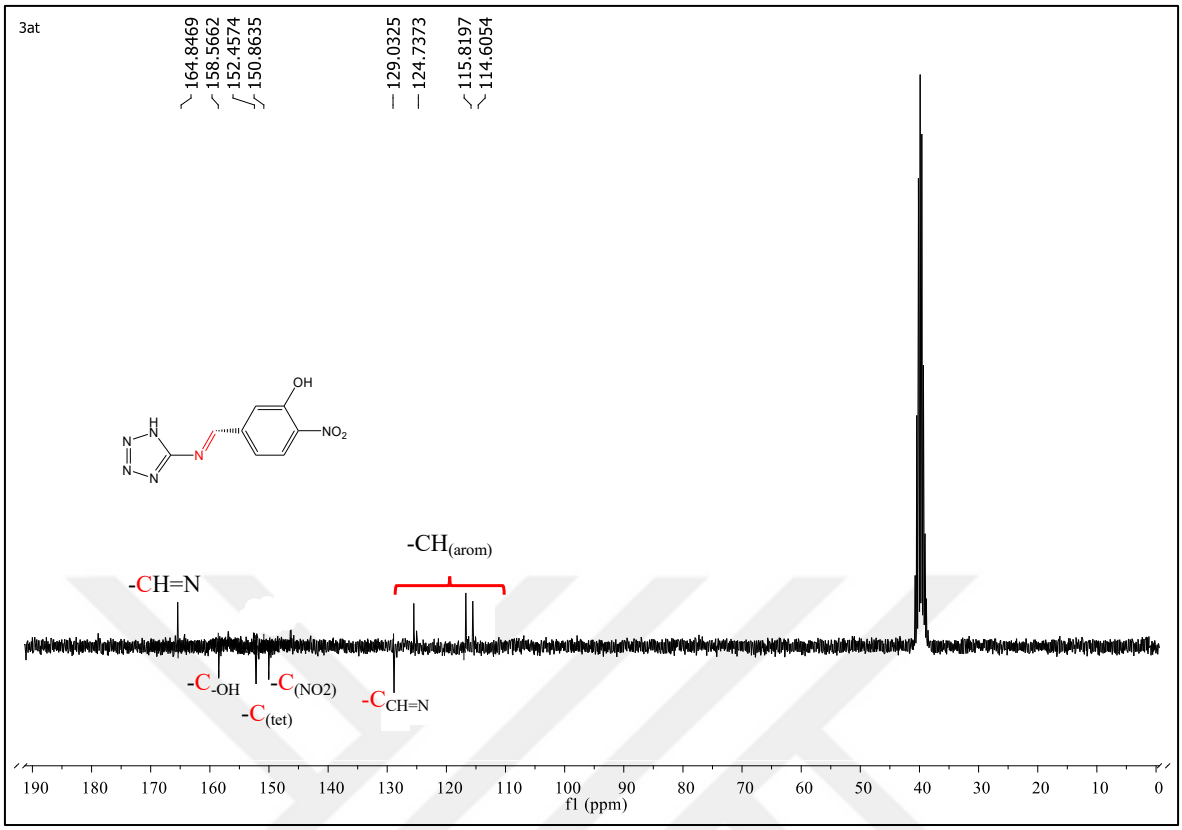
Tetrazol temelli Schiff bazlarından 2H5NB-5AT kodlu Schiff bazının ^{13}C-APT spektrumunda toplam sekiz karbon sinyali gözlenmiştir. APT'de C-H karbonları (imin -CH=N- ve aromatik CH'ler) aynı fazda (+), kuaterner karbonlar (fenolik C–O, nitro substitüentin olduğu karbon), CH=N'e bağlı karbon ve tetrazoldeki C karşı fazda (−) gözlenmiştir. İmin karbonu 164 ppm, C-O ve tetrazol kuaterner karbonu 152 ppm; nitro grubunun bağlı olduğu karbonu 149 ppm de gözlenen piklere atanmıştır. 154 ppm'de gözlenen sinyal fenolik C-O karbonu olarak değerlendirilmiştir (Şekil 5.22).



Şekil 5.22. 2H5NB-5AT kodlu Schiff bazının ^{13}C-APT spektrumu

Tetrazol temelli Schiff bazlarından 3H4NB-5AT kodlu Schiff bazının ^{13}C-APT spektrumunda, Schiff bazı oluşumunu destekleyen 164 ppm'de gözlenen karakteristik sinyal imin karbonuna (-CH=N-) aittir. 158 ppm'de gözlenen sinyal fenol grubun bağlı olduğu karbon (Ar-C-OH) atomu olarak değerlendirilmiştir. 152 ppm'deki sinyal tetrazol halkasının karbonu olan C_{tet}'e, 148 ppm sinyali ise elektron çekici nitro grubuna bağlı karbon (Ar-C-NO_2) atomu olabileceği şeklinde yorumlanmıştır.

158 ppm'de gözlenen sinyal fenolik C-O karbonu olarak değerlendirilmiştir. Aromatik halkadaki karbonlara ait sinyallerin 120, 118 ve 114 ppm'de gözlenmesi beklenenle uyumlu olduğu görülmüştür (Şekil 5.23).

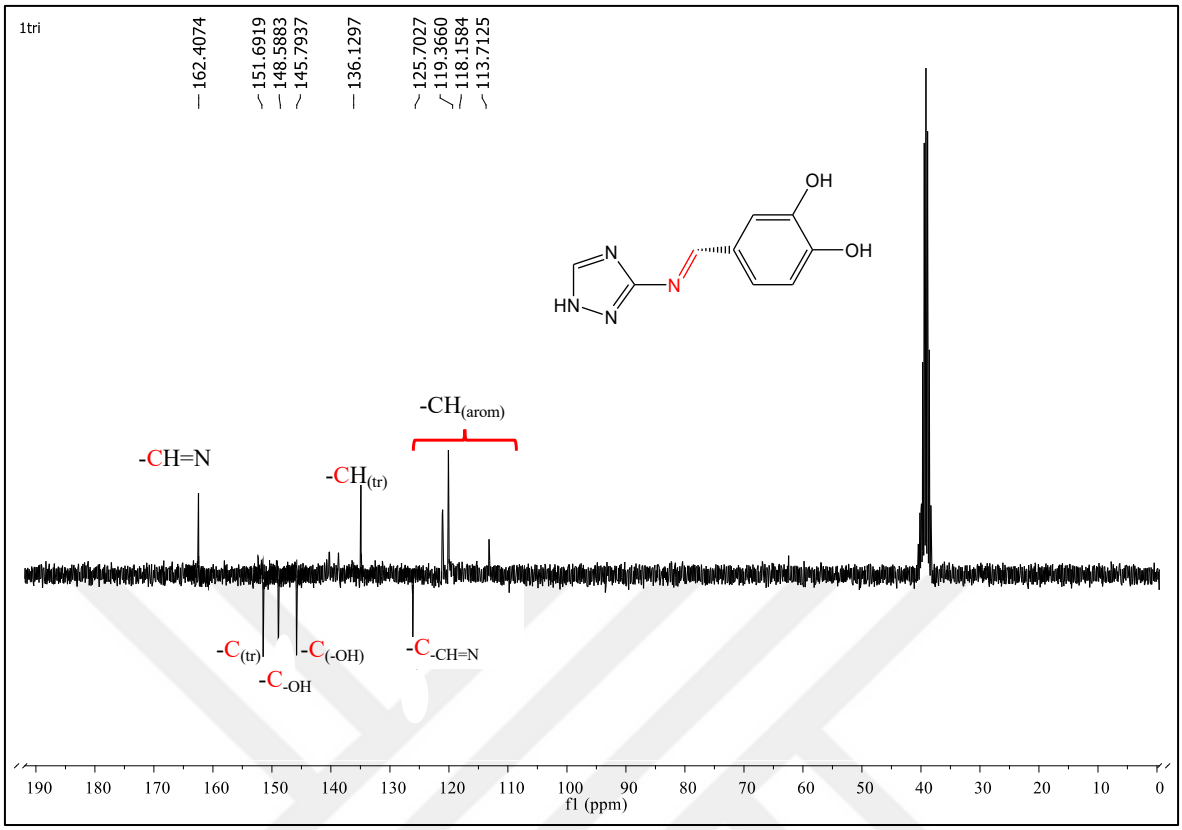


Şekil 5.23. 3H4NB-5AT kodlu Schiff bazının ^{13}C-APT spektrumu

Triazol temelli Schiff bazlarından 3,4DHB-TRİ kodlu Schiff bazının ^{13}C-APT spektrumunda toplam dokuz karbon sinyali gözlenmiştir. Bu durum, bileşiğin aromatik halkaya ait altı karbon, imin grubuna ait bir karbon (-CH=N-) ve 1,2,4-triazol halkasına ait iki karbon içermesi ile uyumludur. Schiff bazına özgü karakteristik sinyal olan imin karbonu (-CH=N-) pozitif fazlı olarak 162 ppm'de gözlenmiştir.

Triazol halkasındaki (-C=N) kuaterner karbon, yine kuaterner karakterde olan aromatik halka üzerindeki fenolik gruplara bağlı karbonlar (Ar-C-OH) sırasıyla 151, 148 ve 145 ppm sinyallerine atanmıştır. İmin grubunun aromatik halkaya bağlandığı karbon (Ar-C-CH=N) kuaterner yapıda olduğundan, 125 ppm'de gözlenen sinyal bu karbona karşılık gelecek şekilde değerlendirilmiştir (Şekil 5.24).

136 ppm'deki pozitif sinyal triazol halkasındaki C-H karbonuna, 119, 118 ve 113 ppm'deki pozitif sinyaller ise 3,4-disübstitüe aromatik halkadaki C-H karbonlarına atanmıştır. Elde edilen ^{13}C-APT verileri, imin grubunun oluşumu ve aromatik/hetero halka karbonlarının beklenen bölgelerde gözlenmesi ile önerilen Schiff bazı yapısını desteklemektedir.

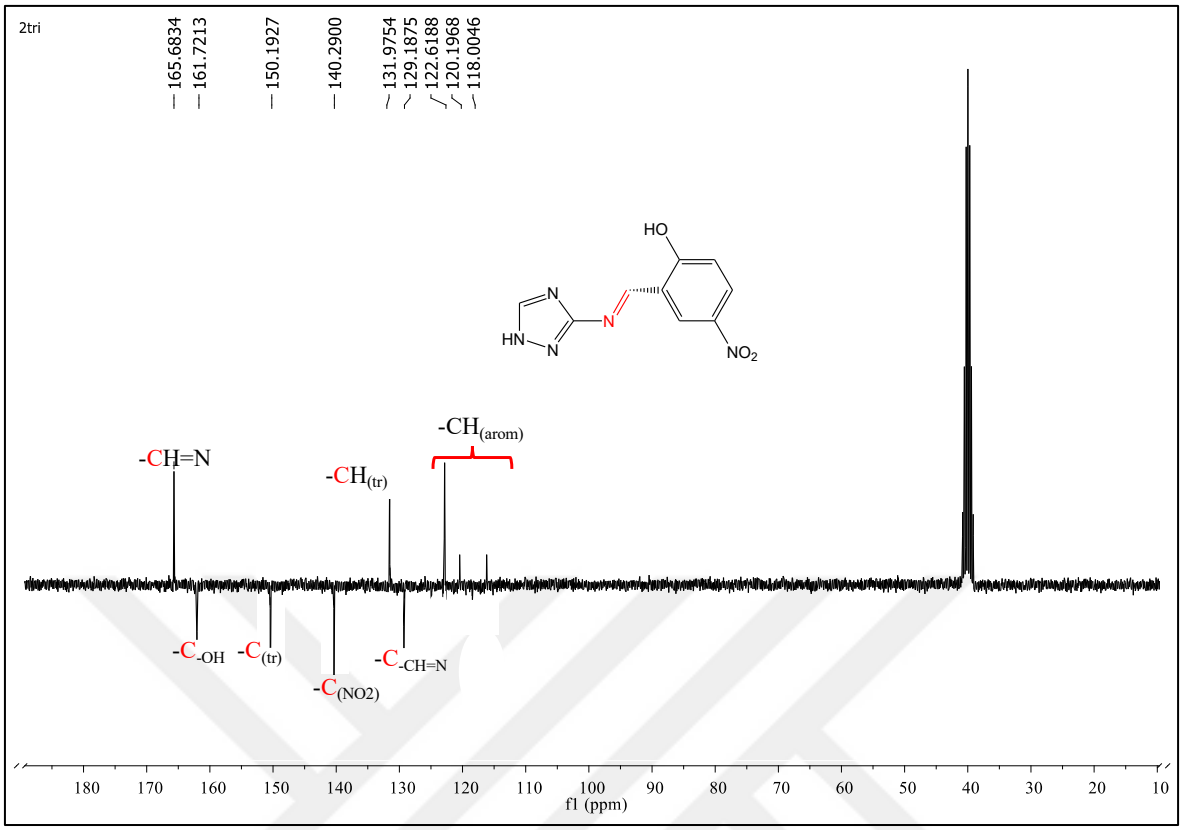


Şekil 5.24. 3,4DHB-TRİ kodlu Schiff bazının ^{13}C-APT spektrumu

Triazol temelli Schiff bazlarından 2H5NB-TRİ kodlu Schiff bazının ^{13}C-APT spektrumunda 165 ppm'de pozitif fazda gözlenen sinyal, Schiff bazına özgü imin karbonuna (-CH=N-), 161 ppm'de negatif fazda gözlenen sinyal ise fenolik grubun bağlı olduğu karbon (Ar-C-OH) atomu olarak değerlendirildiğinde kondenzasyon tepkimesinin gerçekleştiğini göstermektedir.

150 ve 140 ppm'de negatif fazda gözlenen sinyaller aromatik halka üzerindeki kuaterner karbonlara (iminin bağlı olduğu karbon, nitro grubunun bağlı olduğu karbon) karşılık gelmektedir. Ayrıca 129 ppm'de negatif fazda gözlenen sinyal, 1,2,4-triazol halkasına ait kuaterner karbonun varlığını desteklemektedir.

Pozitif fazda gözlenen 131, 122, 120 ve 118 ppm sinyalleri ise triazol halkasında bulunan C-H karbonu ile aromatik halkadaki protonlu karbonlar olarak değerlendirilmiştir (Şekil 5.25).

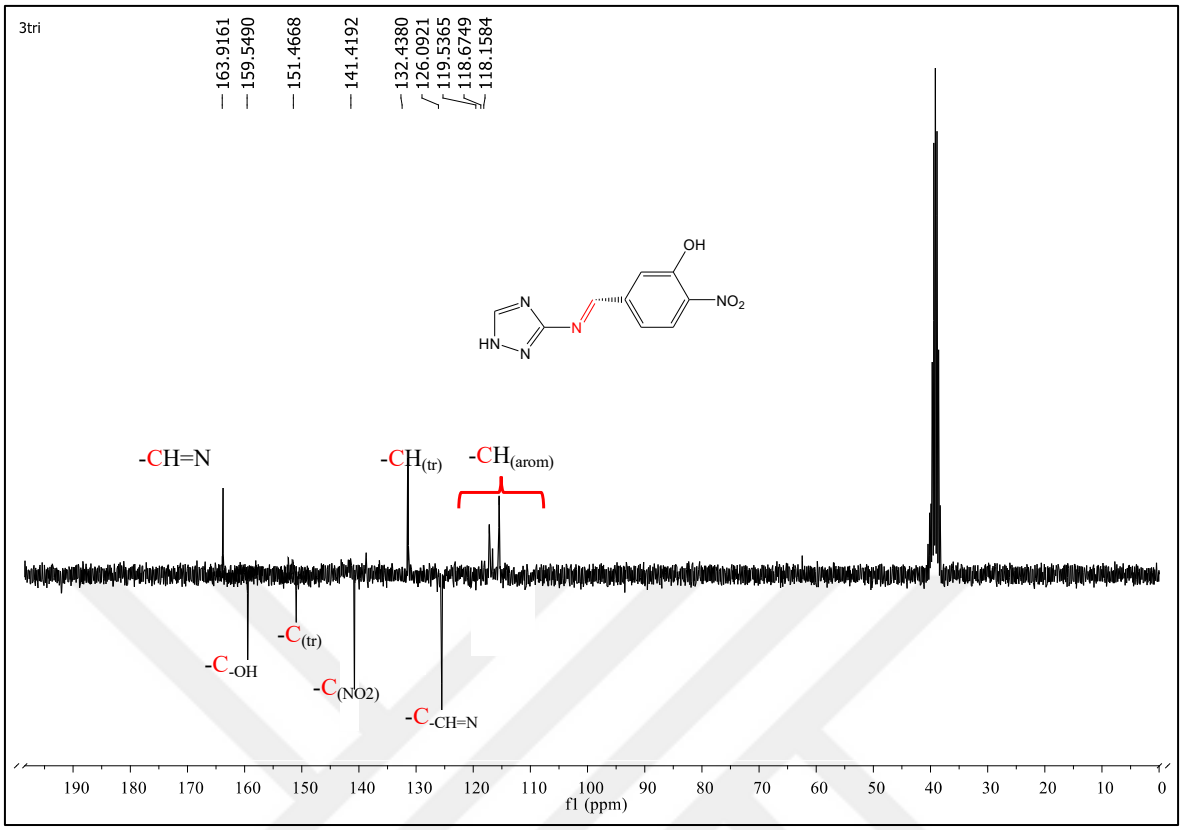


Şekil 5.25. 2H5NB-TRİ kodlu Schiff bazının ^{13}C-APT spektrumu

Triazol temelli Schiff bazlarından 3H4NB-TRİ kodlu Schiff bazının ^{13}C-APT spektrumunda 163(+), 1589(−), 151(−), 141(−), 132(+), 126(+), 119(+), 117(+) ve 118(−) ppm olmak üzere toplam dokuz sinyal gözlenmiştir.

Pozitif fazda yer alan 163 ppm sinyali Schiff bazına özgü imin karbonu (-CH=N-) olarak değerlendirilmiştir. Negatif fazda 159 ppm ve 151 ppm'de gözlenen sinyaller sırasıyla fenolik (Ar-C-OH) ve nitro (Ar-C-NO_2) grubunun bağlı olduğu karbonlar olarak düşünülmüştür. 139 ppm (−) deki sinyal imin grubunun bağlı olduğu karbona (Ar-C-CH=N) karşılık gelebileceği düşünülmüştür.

Triazol halkasına ait C-H karbonu pozitif fazda 126 ppm'de, kuaterner karbonu ise negatif fazda 151 ppm'de gözlenmiştir. Pozitif fazda 119, 118,8 ve 118,1 ppm'de yer alan sinyaller aromatik halkadaki protonlu karbonlar (aromatik C-H) olarak değerlendirilmiş olup, bu sinyaller bileşiğin spektral verilerle uyumlu olduğunu desteklemektedir (Şekil 5.26).



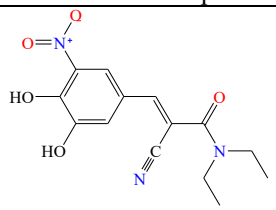
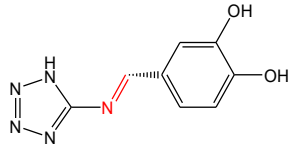
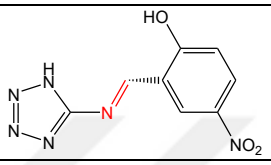
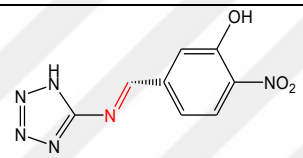
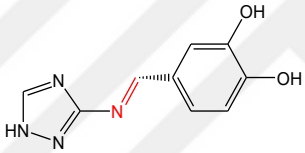
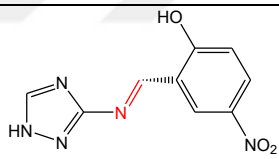
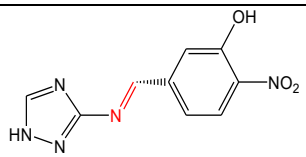
Şekil 5.26. 3H4NB-TRİ kodlu Schiff bazının ^{13}C-APT spektrumu

5.8. Katekol-O-metiltransferaz (KOMT) Enzim İnhibisyon Sonuçları

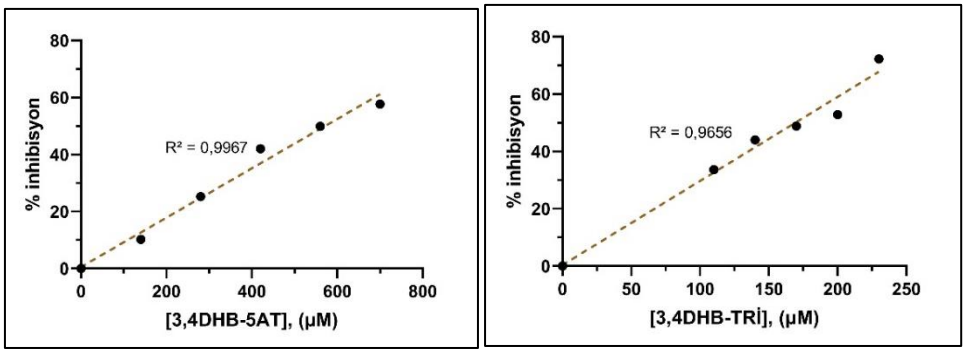
Sentezlenen triazol ve tetrazol temelli Schiff bazlarının katekol-O-metiltransferaz (KOMT) enzim inhibisyon sonuçlarına göre, IC_{50} değerleri 56,48 – 555,5 µM aralığında olduğu belirlenmiştir.

Elde edilen IC_{50} değerleri Çizelge 5.8'de, bu değerleri veren % inhibisyon sonuçlarına karşı inhibitör derişim grafikleri ise Şekil 5.27-5.29'da verilmiştir.

Çizelge 5.8. Entakapon ve Schiff bazlarının enzim inhibisyon sonuçları

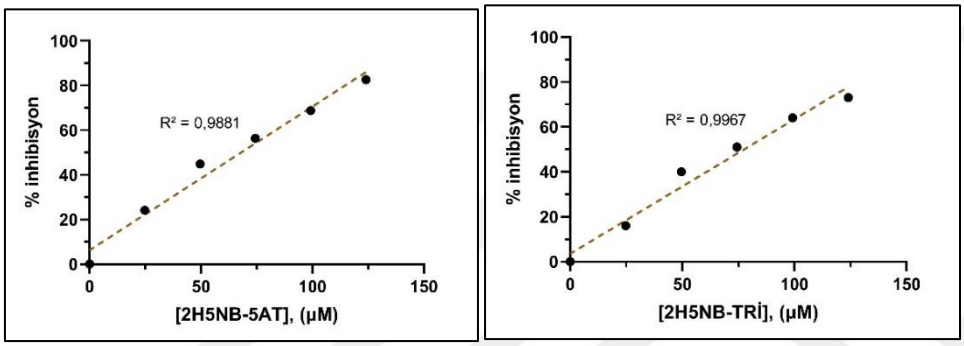
Sembol	Molekülün Yapısı	IC_{50} (µM)
Entakapon		30,06
3,4DHB-5AT		555,5
2H5NB-5AT		56,48
3H4NB-5AT		197,1
3,4DHB-TRİ		164,2
2H5NB-TRİ		68,31
3H4NB-TRİ		134,6

Çizelge 5.8 incelendiğinde, 2H5NB-5AT kodlu Schiff bazının IC_{50} değerinin entakaponun yaklaşık iki katı olduğu görülmektedir. Ayrıca, 2H5NB-5AT kodlu Schiff bazı inhibisyon etkinliği bakımından entakapon'a en yakın değeri göstermektedir.



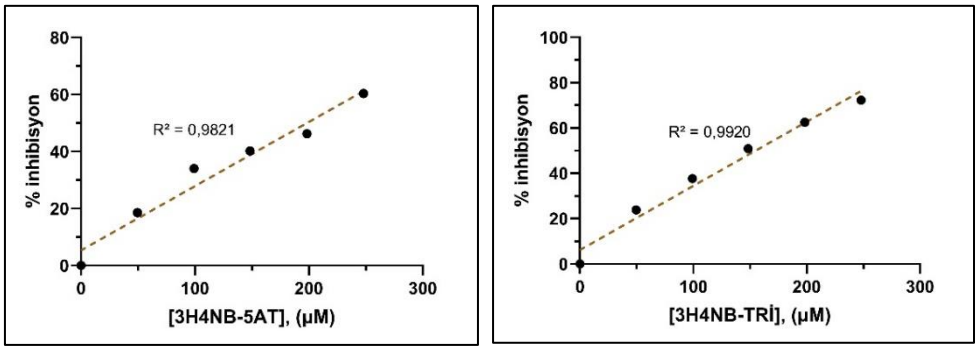
(a) (b)

Şekil 5.27. (a) 3,4DHB-5AT ve (b) 3,4DHB-TRİ kodlu Schiff bazlarının IC_{50} sonuçlarını veren grafikler



(a) (b)

Şekil 5.28. (a) 2H5NB-5AT ve (b) 2H5NB-TRİ kodlu Schiff bazlarının IC_{50} sonuçlarını veren grafikler



(a) (b)

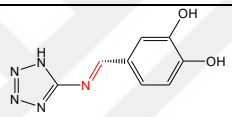
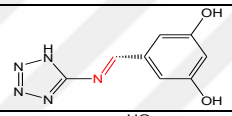
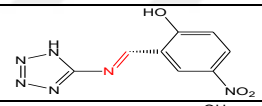
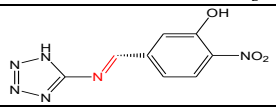
Şekil 5.29. (a) 3H4NB-5AT ve (b) 3H4NB-TRİ kodlu Schiff bazlarının IC_{50} sonuçlarını veren grafikler

Şekil 5.27-5.29'da verilen inhibitör derişimine karşılık % inhibisyon verilerini gösteren grafiklerdeki R^2 (doğrusal regresyon) katsayısının 0,9967-0,9656 aralığında olması, deney sonuçlarının yüksek doğrulukla elde edilerek güvenilir olduğunu göstermektedir.

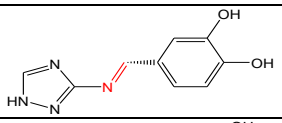
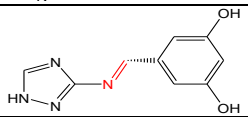
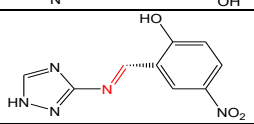
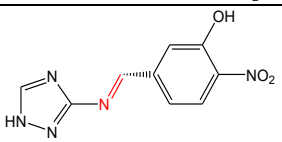
5.9. Moleküler Kenetleme Sonuçları

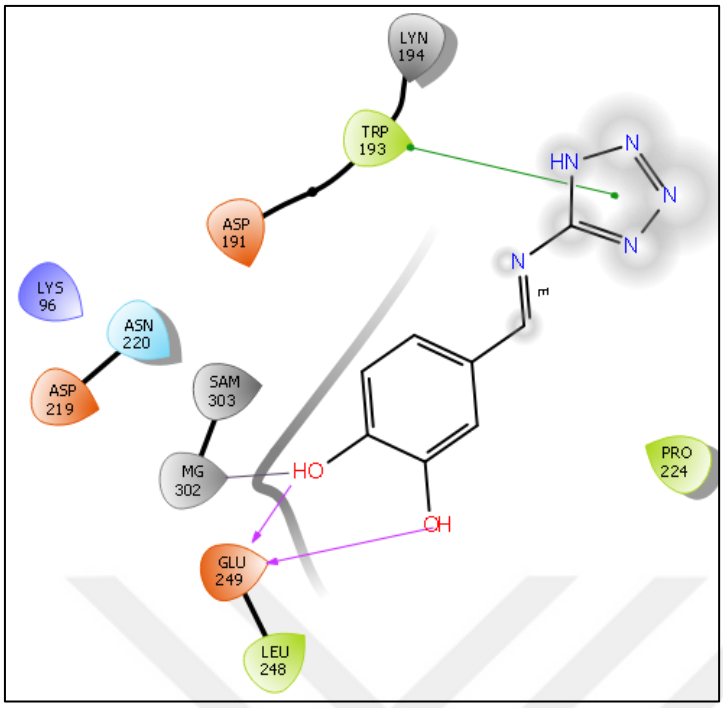
Sentezi ve karakterizasyonu yapılan 3,4DHB-5AT, 2H5NB-5AT, 3H4NB-5AT, 3,4DHB-TRİ, 2H5NB-TRİ, 3H4NB-TRİ kodlu altı Schiff bazı ile safsızlık içeren 3,5DHB-5AT ve 3,5DHB-TRİ kodlu yapıların hedef KOMT enzimine (PDB:4XUE) nasıl ve ne kadar güçlü bağlandığı, bilgisayar ortamında gerçekleştirilen hesaplamalı modelleme yöntemiyle tahmin edildi. Böylece en düşük bağlanma enerjisine sahip Schiff bazlar belirlenerek, kenetleme skorları Çizelge 5.9 ve Çizelge 5.10'da etkileşimlerinin 2D gösterimi ise Şekil 5.30-5.37'de verildi.

Çizelge 5.9. Moleküler kenetleme çalışması sonucu tetrazol temelli Schiff bazları için elde edilen kenetleme skorları

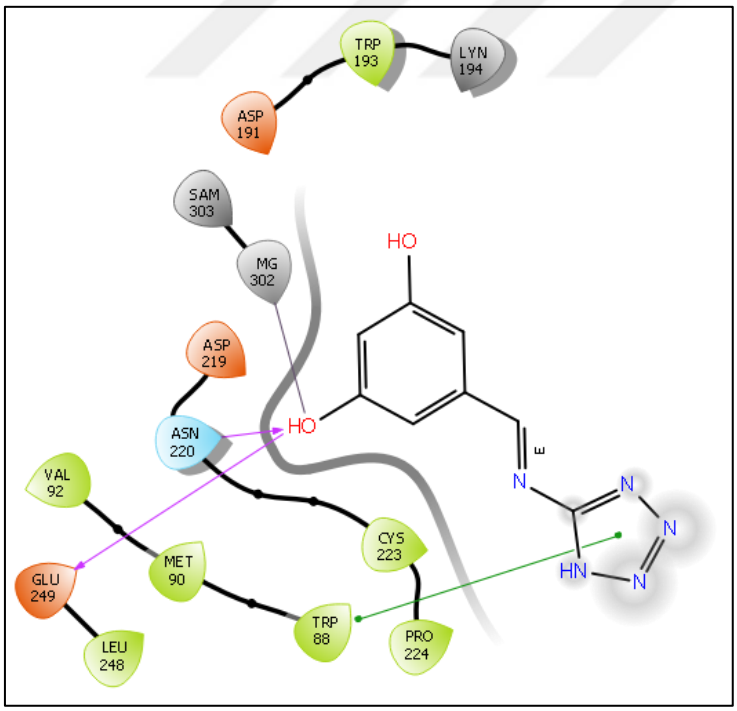
Sembol	Molekülün yapısı	Kenetleme skoru (kcal/mol)	IC_{50} (µM)
3,4DHB-5AT		-6,323	555,5
3,5DHB-5AT		-5,763	Safsızlık içerdiği için inhibisyon çalışması yapılmadı
2H5NB-5AT		-8,191	56,48
3H4NB-5AT		-6,887	197,1

Çizelge 5.10. Moleküler kenetleme çalışması sonucu triazol temelli Schiff bazları için elde edilen kenetleme skorları

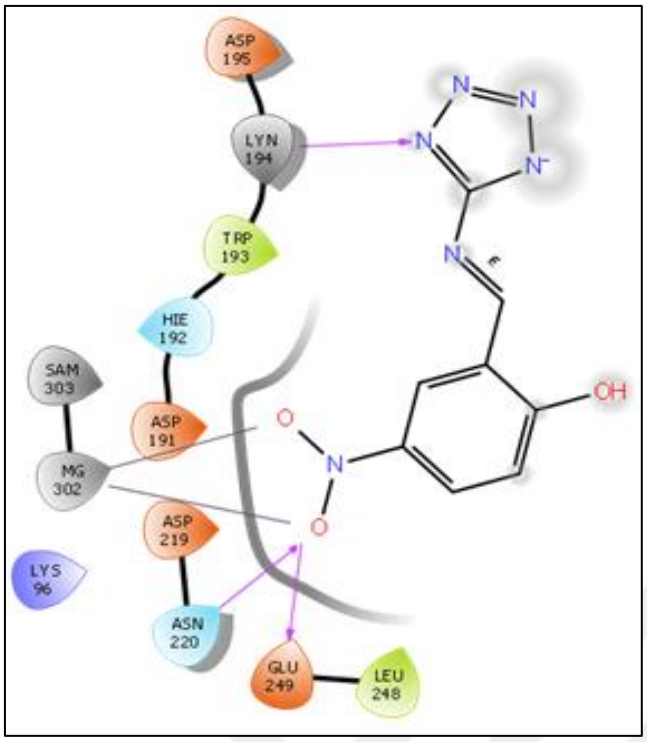
Sembol	Molekülün yapısı	Kenetleme skoru (kcal/mol)	IC_{50} (µM)
3,4DHB-TRİ		-6,610	164,2
3,5DHB-TRİ		-6,355	Safsızlık içerdiği için inhibisyon çalışması yapılmadı
2H5NB-TRİ		-8,555	68,31
3H4NB-TRİ		-6,954	134,46



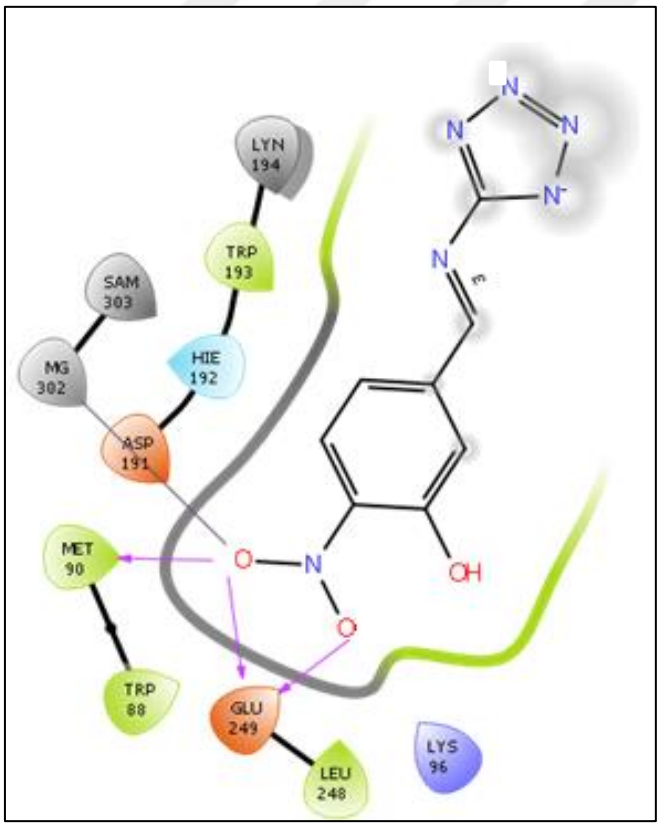
Şekil 5.30. 3,4DHB-5AT kodlu tetrazol temelli Schiff bazının KOMT enzimi ile etkileşiminin 2D gösterimi



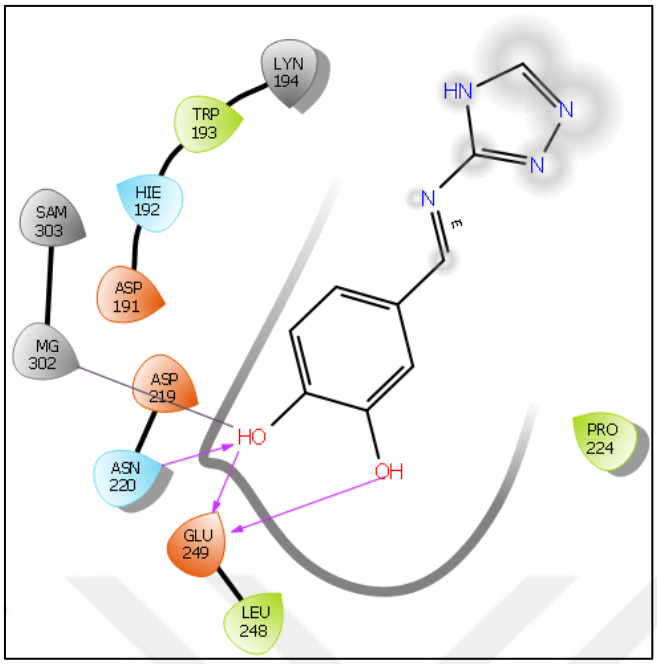
Şekil 5.31. 3,5DHB-5AT kodlu tetrazol temelli Schiff bazının KOMT enzimi ile etkileşiminin 2D gösterimi



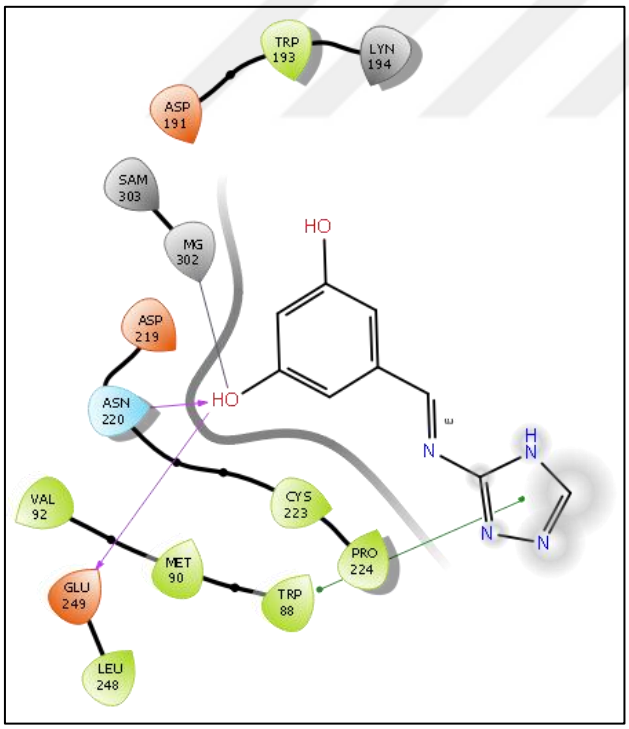
Şekil 5.32. 2H5NB-5AT kodlu tetrazol temelli Schiff bazının KOMT enzimi ile etkileşiminin 2D gösterimi



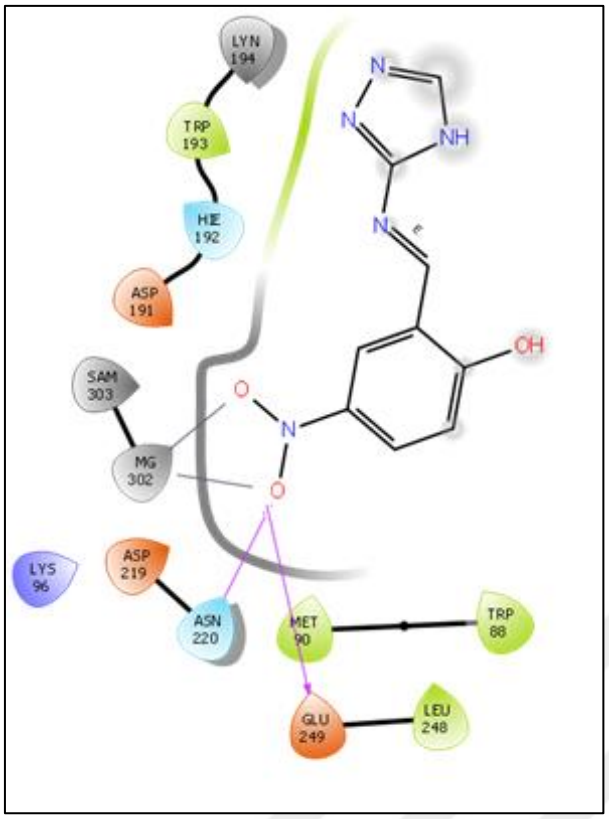
Şekil 5.33. 3H4NB-5AT kodlu tetrazol temelli Schiff bazının KOMT enzimi ile etkileşiminin 2D gösterimi



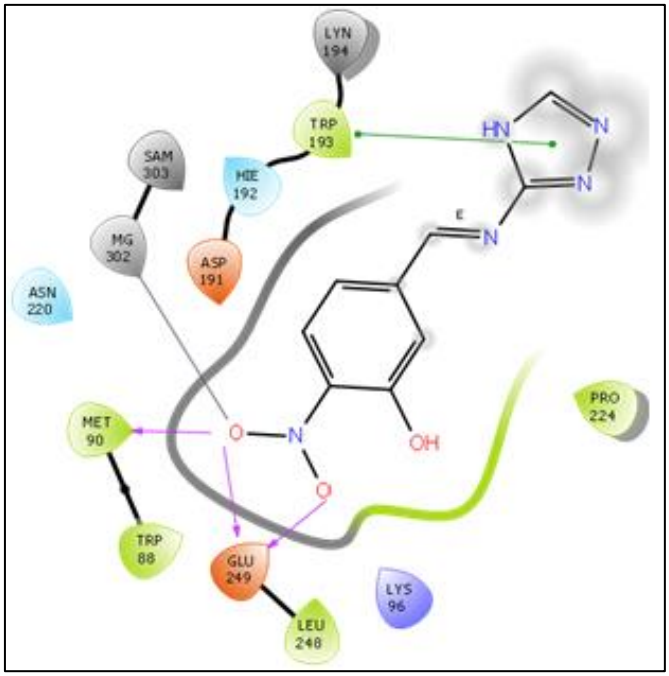
Şekil 5.34. 3,4DHB-TRİ kodlu triazol temelli Schiff bazının KOMT enzimi ile etkileşiminin 2D gösterimi



Şekil 5.35. 3,5DHB-TRİ kodlu triazol temelli Schiff bazının KOMT enzimi ile etkileşiminin 2D gösterimi



Şekil 5.36. 2H5NB-TRİ kodlu triazol temelli Schiff bazının KOMT enzimi ile etkileşiminin 2D gösterimi



Şekil 5.37. 3H4NB-TRİ kodlu triazol temelli Schiff bazının KOMT enzimi ile etkileşiminin 2D gösterimi

Moleküler kenetleme analizleri, tüm bileşiklerin KOMT enziminin (PDB: 4XUE) aktif bölgesine yerleşebildiğini ve kritik Mg^{2+} iyonu ile Glu249 amino asiti başta olmak üzere önemli amino asitlerle potansiyel etkileşimler oluşturabildiğini göstermektedir. Tüm bileşikler için etkileşimler hem kovalent olmayan hem de hidrofobik etkileşimler ile gerçekleşmiştir. Etkileşimler çoğunlukla aromatik halka ile olmuştur. Tetrazol ve triazol halkası ise π-π etkileşimi ile aktif bölge ile etkileşmiştir. Sekiz ayrı yapının değerlendirildiği çalışmada en yüksek bağlanma skorlarının 2H5NB-5AT ve 2H5NB-TRİ kodlu bileşikler ile elde edildiği (–8,191 ve –8,555 kcal/mol) belirlenmiştir (Çizelge 5.9 ve Çizelge 5.10). Bu bileşikler aromatik halkalarına bağlı nitro grubu yoluyla aktif bölgenin önemli bir bileşeni olan Mg^{2+} iyonu, Asn220 ve Glu249 amino asitleri ile koordinasyon yapmıştır. Bu etkileşimler hidrofobik etkileşimler ile de desteklendiği görülmektedir (Şekil 5.32 ve Şekil 5.36). Diğer bileşiklerde bağlanma skorları orta seviyede kalsa da etkileşim şemaları incelendiğinde hepsinin aktif bölgedeki önemli yapılarla etkileşim içinde olduğu görülmektedir. Bu durum ileri çalışmalar için ligandların uygunluğuna işaret etmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Schiff bazlarının Lipinski kuralına uyduğu görülmüştür. Biyoyararlanım skorlarının 0,55'ten büyük olmasıyla, bu moleküllerin oral yol ile alındığında %10'dan fazla biyoyararlanım gösterebileceği ADME sonuçlarına göre belirlenmiştir. Schiff bazlarının bağırsakta emiliminin yüksek olduğu, bazı karaciğer enzimlerini inhibe etmediği farmakokinetik olarak ele alındığında metabolik açıdan güvenli olabileceği belirlenmiştir. Schiff bazlarının Pa>Pi olması nedeniyle farmakolojik olarak beyin dokusundaki gliom tümör tipi için etkili olabileceği hücre hattı sitotoksisite tahminine göre belirlenmiştir.

Schiff bazlarına ait erime noktalarının 3,4DHB-TRİ>3,4DHB-5AT>2H5NB-5AT>3H4NB-5AT>2H5NB-TRİ>3H4NB-TRİ sırasında arttığı görülmüştür. Nitro sübstitüentli Schiff bazlarının erime noktalarının daha yüksek olması, nitro grubunun güçlü elektron çekici olması ve yüksek polariteye sahip yapısıyla moleküller arası etkileşimlerin artmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Erime noktalarındaki bu farklılık London dağılım kuvvetlerinin yanı sıra nitro grubunun oluşturduğu molekül içi veya moleküller arası hidrojen bağlarının oluşmasıyla açıklanmıştır.

3,4DHB-5AT kodlu Schiff bazında -CH=N gerilme titreşiminin daha yüksek frekansta gözlenmesi, -C=N bağının daha kuvvetli olmasından kaynaklanmaktadır. 2H5NB-TRİ kodlu Schiff bazında ise -C=N bağının daha zayıf olması nedeniyle gerilme titreşimi daha düşük frekanslarda ortaya çıktığı görülmüştür.

Schiff bazlarından 3H4NB-TRİ kodlu Schiff bazının -NO_2 ve -OH gruplarının birbirine komşu karbon atomlarında bulunmasından dolayı bir yük transfer geçişinin meydana geldiği düşünülmüştür.

Tüm bileşiklerde triazol ve tetrazol N-H protonları 14,28–14,2 ppm'de gözlenmiş olup bu durum tautomerizm ve hidrojen bağı eğilimine bağlanmıştır. Fenolik -OH protonlarının kimyasal kaymaları sübstitüsyon konumuna bağlı olarak değişmiş; orto-hidroksi içeren türevlerde intramoleküler hidrojen bağı nedeniyle daha aşağı alana kayma görülmüştür.

Triazol ve tetrazol içeren Schiff bazları benzer aromatik sinyaller göstermiş, her iki halkaya ait -C=N karbonları ^{13}C-NMR'de ~150–155 ppm'de gözlenmiştir. Triazol türevleri ise hetero halka -CH karbonunun pozitif fazda görülmesiyle tetrazollerden ayırt edilmiştir.

KOMT enzim aktivitesini yarıya düşüren en küçük derişim 2H5NB-5AT ve 2H5NB-TRİ kodlu Schiff bazlarında görülmüştür. Bu Schiff bazlarının KOMT enziminin aktif bölgesine Mg^{2+} iyonu ve Glu249 amino asiti ile etkileşerek en yüksek bağlanma skorlarına sahip olduğu görülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Abbott, A. (2010). Levodopa: The story so far. *Nature*, 466(7310), 6–7.

2. Salat, D., and Tolosa, E. (2013). Levodopa in the treatment of Parkinson's disease: Current status and new developments. *Journal of Parkinsons Disease,* 3(3), 255–269.

3. Müller, T. (2013). Pharmacokinetic considerations for the use of levodopa in the treatment of Parkinson disease: focus on levodopa/carbidopa/entacapone for treatment of levodopa-associated motor complications. *Clinical Neuropharmacology*, 36(3), 84–91.

4. Stocchi, F., Rascol, O., Kieburtz, K., Poewe, W., Jankovic, J., Tolosa, E., Barone, P., Lang, A. E., and Olanow, C. W. (2010). Initiating levodopa/carbidopa therapy with and without entacapone in early Parkinson disease: The STRIDE-PD study. *Annals of Neurology,* 68(1), 18–27.

5. Brooks, D. J., Agid, Y., Eggert, K., Widner, H., Østergaard, K., and Holopainen, A. (2005). Treatment of end-of-dose wearing-off in Parkinson's disease: Stalevo® (levodopa/carbidopa/entacapone) and levodopa/DDCI given in combination with entacapone provide equivalent improvements in symptom control superior to that of traditional levodopa/DDCI treatment. *European Neurology,* 53(4), 197–202.

6. Kempster, P. A., Hurwitz, B., and Lees, A. J. (2007). A new look at James Parkinson's Essay on the Shaking Palsy. *Neurology* 69(1), 482– 485.

7. Langston, J. W., Ballard, P., Tetrud, J. W., and Irwin, I. (1983). Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science* 219, 979 –980.

8. Singer, T. P., and Ramsay, R. R (1990). Mechanism of the neurotoxicity of MPTP. *An update. Febs Lett,* 274(1), 1– 8.

9. Katsaiti, I., and Nixon, J. (2018). Are there benefits in adding catechol-O methyltransferase inhibitors in the pharmacotherapy of Parkinson's disease patients? A systematic review. *Journal of Parkinson's Disease,* 8(2), 217-231.

10. Gnanaraj, C., Sekar, M., Fuloria, S., Swain, S. S., Gan, S. H., Chidambaram, K., Rani N. N. I.M., Blan T., Stephenie S., Lum P. T., Jeyabalan S., Begum M. Y., Chandramohan V., Thangavelu L., Subramaniyan V., and Fuloria, N. K. (2022). In silico molecular docking analysis of karanjin against alzheimer's and parkinson's diseases as a potential natural lead molecule for new drug design, development and therapy. *Molecules,* 27(9), 2834.

11. Salamon, A., Zádori, D., Szpisjak, L., Klivényi, P., and Vécsei, L. (2022). What is the impact of catechol-O-methyltransferase (COMT) on Parkinson's disease treatment?. *Expert Opinion on Pharmacotherapy,* 23(10), 1123-1128.

12. Lopalco, A., Cutrignelli, A., Denora, N., Lopedota, A., Franco, M., and Laquintana, V. (2018). Transferrin functionalized liposomes loading dopamine HCl: development and permeability studies across an in vitro model of human blood–brain barrier. *Nanomaterials,* 8(3), 178.

13. Lerner, R. P., Francardo, V., Fujita, K., Bimpisidis, Z., Jourdain, V. A., Tang, C. C., Dewey S. L., Chaly T., Cenci, A. M., and Eidelberg, D. (2017). Levodopa-induced abnormal involuntary movements correlate with altered permeability of the blood-brain-barrier in the basal ganglia. *Scientific Reports,* 7(1), 16005.

14. Männistö, P. T., Keränen, T., Reinikainen, K. J., Hanttu, A., and Pollesello, P. (2024). The catechol o-methyltransferase inhibitor entacapone in the treatment of Parkinson's disease: personal reflections on a first-in-class drug development programme 40 years on. *Neurology and Therapy,* 13(1), 1039–1054.

15. Aminoff, M.J. (2012). Pharmacologic management of parkinsonism & other movement disorders. *McGraw-Hill Companies,* 12, 483–488.

16. Axelrod, J., and Tomchick, R. (1958). Enzymatic O-methylation of epinephrine and other catechols. *The Journal of Biological Chemistry,* 233(3), 702–705.

17. Guldberg, H. C., and Marsden, C. A. (1975). Catechol-O-methyl transferase: Pharmacological aspects and physiological role. *Pharmacological Reviews,* 27(2), 135–206.

18. Vidgren, J., Svensson, L. A., and Liljas, A. (1994). Crystal structure of catechol O-methyltransferase. *Nature,* 368(6474), 354–358.

19. Wang, F.Y., Wei, G.L., Fan, Y.F., Zhao, D.F., Wang, P., Zou, L.W., and Yang, L. (2021). Inhibition of catechol-O-methyltransferase by natural pentacyclic triterpenes: structure–activity relationships and kinetic mechanism. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry,* 36(1), 1079–1087.

20. Stojan, J. Enzyme inhibition. In H. J. Smith, and C. Simons (Eds.), (2005). *Enzymes and their inhibition: Drug development*. Boca Raton: CRC Press, 4, 149-169.

21. Cleland, W.W. Steady state kinetics. In P.D. Boyer (Ed.), (1970). *The enzymes* (1st ed.). Cambridge, MA: Academic Press, vol. 2, 1-65.

22. Sandler, M., and Smith, H. J. Introduction to the use of enzyme inhibitors as drugs. In M. Sandler, and H. J. Smith (Eds.), (1989). *Design of enzyme inhibitors as drugs.* Oxford: Oxford University Press, 1-18.

23. Segel, I. H. (1993). *Enzyme kinetics: Behavior and analysis of rapid equilibrium and steady-state enzyme systems* (1st ed.). New York: John Wiley & Sons, 44-48.

24. Dixon, M., and Weeb, E. C. (1979). *Enzymes* (3rd ed.). London: Longman, 63-67.

25. Waters, C. H., Kurth, M., Bailey, P., Shulman, L. M., LeWitt, P., Dorflinger, E., Deptula, D., and Pedder, S. (1997). Tolcapone in stable Parkinson's disease: efficacy and safety of long-term treatment. *Neurology,* 49(3), 665-671.

26. Finberg, J. P. (2019). Inhibitors of MAO-B and COMT: their effects on brain dopamine levels and uses in Parkinson's disease. *Journal of Neural Transmission,* 126(4), 433-448.

27. Salamon, A., Zádori, D., Szpisjak, L., Klivényi, P., and Vécsei, L. (2019). Opicapone for the treatment of Parkinson's disease: an update. *Expert Opinion on Pharmacotherapy,* 20(18), 2201–2207.

28. Harrison, S. T., Poslusney, M. S., Mulhearn, J. J., Zhao, Z., Kett, N. R., Schubert, J. W., Melamed T., Patel S. B., Smith R. F., Wolkenberg S. E., and Barrow, J. C. (2015). Synthesis and evaluation of heterocyclic catechol mimics as inhibitors of catechol-O-methyltransferase (COMT). *ACS Medicinal Chemistry Letters,* 6(3), 318-323.

29. Kiss, L. E., Ferreira, H. S., Torrão, L., Bonifácio, M. J., Palma, P. N., Soares-da-Silva, P., and Learmonth, D. A. (2010). Discovery of a long-acting, peripherally selective inhibitor of catechol-O-methyltransferase. *Journal of Medicinal Chemistry,* 53(8), 3396-3411.

30. Borchardt, R. T., and Bhatia, P. (1982). Catechol O-methyltransferase. 12. Affinity labeling the active site with the oxidation products of 5, 6-dihydroxyindole. *Journal of Medicinal Chemistry,* 25(3), 263-271.

31. Perez, R. A., Fernandez-Alvarez, E., Nieto, O., and Piedrafita, F. J. (1992). Dihydroxynitrobenzaldehydes and hydroxymethoxynitrobenzaldehydes: synthesis and biological activity as catechol-O-methyltransferase inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry,* 35(24), 4584-4588.

32. Pinheiro, S. D., Serrão, M. P., Silva, T., Borges, F., and Soares-da-Silva, P. (2019). Pharmacodynamic evaluation of novel Catechol-O-methyltransferase inhibitors. *European Journal of Pharmacology,* 847(1), 53-60.

33. Engelbrecht, I., Petzer, J. P., and Petzer, A. (2018). Nitrocatechol derivatives of chalcone as inhibitors of monoamine oxidase and catechol-O-methyltransferase. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Central Nervous System Agents),* 18(2), 115-127.

34. Hitge, R., Smit, S., Petzer, A., and Petzer, J. P. (2020). Evaluation of nitrocatechol chalcone and pyrazoline derivatives as inhibitors of catechol-O-methyltransferase and monoamine oxidase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 30(12), 127188.

35. de Beer, J., Petzer, J. P., Lourens, A. C. U., and Petzer, A. (2021). Design, synthesis and evaluation of 3-hydroxypyridin-4-ones as inhibitors of catechol-*O*-methyltransferase. *Molecular Diversity,* 25(1), 753–762.

36. Benfeito, S., Albuquerque, B., Sequeira, L., Lima, C., Chavarria, D., Serrao, P., Cagide, F., Soares-da-Silva, P., and Borges, F. (2024). Discovery of a Potent, Selective, and Blood-Brain Barrier Permeable Non-nitrocatechol Inhibitor of Catechol-O-methyltransferase. *Journal Medicinal Chemistry,* 67(1), 18384−18399.

37. de Beer, J., Petzer, J. P., Lourens, A. C. U., and Petzer, A. (2021). Design, Synthesis and Evaluation of 3-Hydroxypyridin-4-Ones as Inhibitors of Catechol-O-Methyltransferase. *Molecules Divers,* 25(2), 753−762.

38. Bindra, S., Datta, A., Yasin, H. K. A., Thomas, R. R., Verma, Sh., Patel, A., Parambi, D. G. T., Mali, S, N., Rangarajan, T. M., and Mathew, B. (2024). Recent Progress in Synthetic and Natural Catechol-O-methyltransferase Inhibitors for Neurological Disorders. *ACS Omega,* 9(1), 44005−44018.

39. Fang, W. Y., Ravindar, L., Rakesh, K. P., Manukumar, H. M., Shantharam, C. S., Alharbi, N. S., and Qin, H. L. (2019). Synthetic approaches and pharmaceutical applications of chloro-containing molecules for drug discovery: A critical review. *European Journal of Medicinal Chemistry,* 173(1), 117-153.

40. Küçükgüzel, Ş. G., ve Çıkla-Süzgün, P. (2015). Recent advances bioactive 1, 2, 4-triazole-3-thiones. *European Journal of Medicinal Chemistry,* 97(1), 830-870.

41. Kushwaha, P., Fatima, S., Upadhyay, A., Gupta, S., Bhagwati, S., Baghel, T., and Sashidhara, K. V. (2019). Synthesis, biological evaluation and molecular dynamic simulations of novel Benzofuran-tetrazole derivatives as potential agents against Alzheimer's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 29(1), 66-72.

42. Pandey, V. K., Tusi, Z., Tusi, S., and Joshi, M. (2012). Synthesis and biological evaluation of some novel 5-[(3-aralkyl amido/imidoalkyl) phenyl]-1,2,4-triazolo [3,4-*b*] - 1,3,4-thiadiazines as antiviral agents. *International Scholarly Research Notices,* 1, 760517.

43. Hou, W., Luo, Z., Zhang, G., Cao, D., Li, D., Ruan, H., Ruan, B. H., Su, L., and Xu, H. (2017). Click chemistry-based synthesis and anticancer activity evaluation of novel C-14 1, 2, 3-triazole dehydroabietic acid hybrids. *European Journal of Medicinal Chemistry,* 138(1), 1042-1052.

44. Dhiman, N., Kaur, K., and Jaitak, V. (2020). Tetrazoles as anticancer agents: A review on synthetic strategies, mechanism of action and SAR studies. *Bioorganic & Medicinal Chemistry,* 28(15), 115599.

45. Cui, P., Li, X., Zhu, M., Wang, B., Liu, J., and Chen, H. (2017). Design, synthesis and antimicrobial activities of thiouracil derivatives containing triazolo-thiadiazole as SecA inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry,* 127(1), 159-165.

46. Liao, L., Jiang, C., Chen, J., Shi, J., Li, X., Wang, Y., Wen J., Zhou S.J., Lao Y.Q., and Zhang, J. (2020). Synthesis and biological evaluation of 1, 2, 4-triazole derivatives as potential neuroprotectant against ischemic brain injury. *European Journal of Medicinal Chemistry,* 190(1), 112114.

47. Zhang, J., Wang, S., Ba, Y., and Xu, Z. (2019). Tetrazole hybrids with potential anticancer activity. *European Journal of Medicinal Chemistry,* 178(1), 341-351.

48. Torres, F. C., Gonçalves, G. A., Vanzolini, K. L., Merlo, A. A., Gauer, B., Holzschuh, M., and Cass, Q. B. (2016). Combining the pharmacophore features of coumarins and 1, 4-substituted 1, 2, 3-triazoles to design new acetylcholinesterase inhibitors: fast and easy generation of 4-methylcoumarins/1, 2, 3-triazoles conjugates via click chemistry. *Journal of the Brazilian Chemical Society,* 27(9), 1541-1550.

49. Zhang, C., Gomes, L. M., Zhang, T., and Storr, T. (2018). A small bifunctional chelator that modulates Aβ42 aggregation. *Canadian Journal of Chemistry,* 96(1), 78-82.

50. Reddy, G. S., Kumar, A. S., and Ramachary, D. B. (2020). Organocatalytic enone-azide [3+ 2]-cycloaddition: synthesis of functionally rich C/N-double vinyl 1, 2, 3-triazoles. *Organic & Biomolecular Chemistry,* 18(23), 4470-4478.

51. Kavita, B., Jatinder, V. S., Aakriti, S., Arshmeet, K., Nitish, K., Harmandeep, K. G., Atamjit, S., Harbinder, S., and Preet, M. S. B. (2021). Novel series of triazole containing coumarin and isatin based hybrid molecules as acetylcholinesterase inhibitors. *Journal Molecules Struct,* 5(1), 131085.

52. Kaur, A., Narang, S. S., Kaur, A., Mann, S., Priyadarshi, N., Goyal, B., Singhal, N. K., and Goyal, D. (2019). Multifunctional mono-triazole derivatives inhibit Aβ42 aggregation and Cu^{2+}-mediated Aβ42 aggregation and protect against Aβ42-induced cytotoxicity. *Chemical Research in Toxicology,* 32(9), 1824-1839.

53. Jain, A., and Piplani, P. (2020). Design, synthesis and biological evaluation of triazole-oxadiazole conjugates for the management of cognitive dysfunction. *Bioorganic Chemistry,* 103(1), 104151.

54. Munawar, M. A., Chattha, F. A., Kousar, S., Munir, J., Ismail, T., Ashraf, M., and Khan, M. A. (2015). Synthesis of novel triazoles and a tetrazole of escitalopram as cholinesterase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry,* 23(17), 6014-6024.

55. Pamir, Ö. (2010). *Azot atomunda tetrazol halkası içeren bazı tebain türevi yarısentetik opioitlerin sentezi ve yapılarının spektroskopik yöntemlerle aydınlatılması.* Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 18-20.

56. Gao, C., Chang, L., Xu, Z., Yan, X. F., Ding, C., Zhao, F., Wu X., and Feng, L. S. (2019). Recent advances of tetrazole derivatives as potential anti-tubercular and anti-malarial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry,* 163(1), 404-412.

57. Nhung, B. T. H., Vu, T. T., and Le, H. H. (2024). Structures and acetylcholinesterase inhibition abilities of some derivatives bearing (pyridin-2-yl)tetrazole scaffold. *VNU Journal of Science: Natural Sciences and Technology,* 40(2), 45–58.

58. Kaur, A., Mann, S., Kaur, A., Priyadarshi, N., Goyal, B., Singhal, N. K., and Goyal, D. (2019). Multi-target-directed triazole derivatives as promising agents for the treatment of Alzheimer's disease. *Bioorganic Chemistry,* 87(1), 572–584.

59. Yuan, Y., Li, M., Apostolopoulos, V., Matsoukas, J., Wolf, W., Blaskovich, M. A. T., Bojarska, J., and Ziora, Z. M. (2024). Tetrazoles: A multi-potent motif in drug design. *European Journal of Medicinal Chemistry,* 279(1), 116870.

60. Jones, M.R., Mathieu, E., Dyrager, C., Faissner S., Vaillancourt, Z., Korshavn, K.J., Lim, M.H., Ramamoorthy, A., Wee, Y. V., Tsutsui, S., Stys, P. K., and Storr, T. (2017). Multi-target-directed phenol–triazole ligands as therapeutic agents for Alzheimer's disease. *Chemistry Sciences,* 8(1), 5636.

61. Daina, A., Michielin, O., and Zoete, V. (2017). SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sciences Reports,* 7(1), 42717.

62. Dahlin, J. L., Inglese, J., and Walters, M. A. (2015). Mitigating risk in academic preclinical drug discovery. *Natural Reviews Drug Discov,* 7(1), 279–294.

63. Okuş, F. (2024), *Tetrazolato ligandı ve platin kompleksinin ın sılıko yaklaşım ve ın-vıtro genotoksisite yöntemleri ile preklinik güvenliliğinin değerlendirilmesi.* Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 27-45.

64. Daina, A., Michielin, O., and Zoete, V. (2017). SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports,* 7, 42717.

65. Erdik, E. (1993). *Organik kimyada spektroskopik yöntemler*. (5. Baskı). Ankara: Gazi Büro Kitabevi, 43-50.

EKLER

EK-1. 23.Uluslararası Bilimsel Araştırmalar Kongresinde Sunulan Bildiri Özeti

23rd UBAK, 05-06 July 2025, Ankara

Poster Sunum

ORCID ID: 0009-0006-1064-6229

Triazol Temelli Heterosiklik Bileşiklerin Farmakokinetik Özelliklerin İn-Siliko Araştırması, Sentezi ve Karakteriazsyonu

Araştırmacı Erva Halce[1] , Prof.Dr. Nurşen Sarı[1]
[1]Gazi Üniversitesi

*Corresponding author: Erva Halce

Özet: Parkinson hastalığı (PH) dünya çapında en yaygın ikinci nörodejeneratif hastalıktır. Patolojik açıdan bakıldığında, hastalığın nedeni "substantia nigra pars compacta"daki dopaminerjik hücrelerin ölümüdür. Dopaminerjik hücrelerin ölümü dopamin (DA) seviyelerinde önemli bir düşüşe neden olur ve bu da PH'ında kas sertliği, hareket yavaşlığı ve istirahat tremoru gibi semptomlara neden olur. Levodopa (L-3,4-dihidroksifenilalanin, L-DOPA) 50 yıllık kullanımdan sonra bile PH'nın semptomatik tedavisi için en etkili farmakolojik ilaç olmaya devam etmektedir. Levodopa kan-beyin bariyerini (KBB) geçtiği gibi hem Merkezi Sinir Sisteminde hem de periferde DA'ne dönüşür. KBB geçen levodopanın ancak %1-3 kadar kısmı beyne ulaşır. Bu nedenle, Levodopa'nın yıpranma kontrolünü sağlamada uygulan yönetimlerden biri, katekol-O-metil transferaz (KOMT) inhibitörlerini kontrol altına almaktır. Bu kontrol, levodopa konsantrasyonunu stabil tutmaya yardımcı olabilmektedir. Bu çalışmada öncelikle KOMT inhibitörlerine model triazol temelli bileşiklerin in-siliko araştırması ve sitotoksik hücre tahminleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlarda, model bileşiklerin suda iyi çözünebildiği, bağırsakta yüksek oranda emilebildiği, kan-beyin bariyerini geçemedikleri ve P-gp substratı olmadıkları görülmüştür. Ayrıca, Lipinski kurallarına uydukları ve biyoyararlanım skorlarının 0,55–0,56 arasında olduğu belirlenmiştir. Bu değerlendirmeler sonucunda triazol temelli moleküllerin KOMT enzimi inhibisyonu için uygun yapılar olduğu kanaatine varılmış ve sentezleri gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen triazol temelli Schiff bazı türevlerinin yapıları; Elementel analiz, UV-Vis, FT-IR, ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR spektroskopisi gibi karakterizasyon yöntemleri ile aydınlatılmıştır. Teşekkür: Sunulan çalışmaya verdikleri maddi destekten ötürü TÜBİTAK-1002A (124Z774) ve Gazi Üniversitesi BAP birimi'ne teşekkür ederim (FYL-2025-10040).

Anahtar Kelimeler: Parkinson, Komt, İn-Siliko, Triazol, Schiff Bazı

In-Silico Investigation of the Pharmacokinetic Properties, Synthesis and Characterization of Triazole Based Heterocyclic Compounds

Abstract: Abstract: Parkinson's disease (PD) is the second most common neurodegenerative disorder worldwide. Pathologically, the disease is caused by the death of dopaminergic cells in the substantia nigra pars compacta. The death of dopaminergic cells causes a significant decrease in dopamine (DA) levels, which in turn causes the symptoms of PD, such as muscle rigidity, bradykinesia, and resting tremor. Levodopa (L-3,4-dihydroxyphenylalanine, L-DOPA) remains the most effective pharmacologic drug for the symptomatic treatment of PD, even after 50 years of use. Levodopa crosses the blood-brain barrier (BBB) and is converted to dopamine both in the central nervous system and in the periphery. Only about 1–3% of the levodopa that crosses the BBB reaches the brain. Therefore, one of the common strategies to control the attrition of Levodopa is to control catechol-O-methyl transferase (COMT) inhibitors. This control may help to keep the levodopa concentration stable. In this study, in-silico investigation and cytotoxic cell predictions of model triazole-based compounds for KOMT inhibitors were performed. In addition, it was determined that they complied with Lipinski rules and their



Gazili olmak ayrıcalıktır