



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA
TEZİ**

**ARIL 1,3,4-OKSADIAZOL/TİYADIAZOL ASETAMİT YAPISINDA
SİRTUİN İNHİBİTÖRÜ OLABİLECEK BİLEŞİKLERİN TASARIMI,
SENTEZİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI**

AHMET BUĞRA AKSEL

FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

EKİM 2025



**ARİL 1,3,4-OKSADİAZOL/TİYADİAZOL ASETAMİT YAPISINDA
SİRTUİN İNHİBİTÖRÜ OLABİLECEK BİLEŞİKLERİN TASARIMI,
SENTEZİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI**

Ahmet Buğra AKSEL

**DOKTORA TEZİ
FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Ekim 2025

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- 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 çalışmada 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.

Ahmet Buğra AKSEL

01.10.2025

ARİL 1,3,4-OKSADİAZOL/TİYADİAZOL ASETAMİT YAPISINDA SİRTUİN
İNHİBİTÖRÜ OLABİLECEK BİLEŞİKLERİN TASARIMI, SENTEZİ VE BİYOLOJİK
AKTİVİTE ÇALIŞMALARI
(Doktora Tezi)

Ahmet Buğra AKSEL

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ekim 2025

ÖZET

NAD⁺ bağımlı sınıf III histon deasetilaz ailesine mensup olan sirtuin (SIRT) enzimleri, ilk olarak *Saccharomyces cerevisiae* türü maya hücrelerinde tanımlanmış olup, memelilerde SIRT1-SIRT7 olmak üzere yedi farklı homoloğu belirlenmiştir. Tüm sirtuinler ortak bir NAD⁺ bağlanma bölgesine sahip olsalar da, N- ve C-terminal bölgelerdeki yapı ve dizilim farklılıkları, izoformlara özgü substrat seçiciliği ve enzimatik işlevlerde çeşitliliğe yol açmaktadır. Sirtuin ailesinin sitoplazmada lokalize tek üyesi olan SIRT2, başta hücre döngüsünün düzenlenmesi, mikrotübül dinamiği, oksidatif stres yanıtı ve glukoz metabolizması olmak üzere çeşitli temel hücresel süreçlerde görev almaktadır. Bu işlevleri nedeniyle SIRT2, kanser, metabolik bozukluklar, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklarla ilişkilendirilmiş; dolayısıyla inhibisyonu bu hastalıkların tedavisinde potansiyel bir terapötik yaklaşım olarak değerlendirilmiştir. Bu bağlamda yürütülen doktora tez çalışmamızda, farmakofor temelli sanal tarama ile elde edilen öncü bileşik üzerinde gerçekleştirilen optimizasyon çalışmaları sonucunda, aril 1,3,4-oksadiazol/tiyadiazol asetamit yapı iskeletine sahip 27 yeni türev tasarlanmış; bu bileşiklerin sentez ve yapı aydınlatma çalışmaları tamamlanmıştır. Bu bileşiklerden, 1,3,4-oksadiazol türevi **BA5** kodlu bileşiğin, SIRT2 enzim aktivitesini 10,62 μ M IC₅₀ değeri ile inhibe ederken, SIRT1 ve SIRT3 izoformlarına karşı herhangi bir etkisinin bulunmadığı belirlenmiştir. Buna ek olarak, **BA5** kodlu bileşiğin insan MCF-7 meme kanseri (IC₅₀=85,61 μ M) ve LNCaP metastatik prostat kanseri (IC₅₀=15,82 μ M) hücre hatları üzerindeki antiproliferatif etkileri değerlendirilmiş ve bu etkiler ile bileşiğin SIRT2 inhibitör profili arasındaki ilişki analiz edilmiştir.

Bilim Kodu : 1019
Anahtar Kelimeler : Sirtuin, ilaç tasarımı, enzim inhibisyonu
Sayfa Adedi : 168
Danışman : Prof. Dr. Gökçen EREN

DESIGN, SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY STUDIES ON ARYL 1,3,4-
OXADIAZOLE/THIADIAZOLE ACETAMIDE DERIVATIVES WITH POTENTIAL
INHIBITORY EFFECT AGAINST SIRTUIN

(Ph. D. Thesis)

Ahmet Buğra AKSEL

GAZİ UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

October 2025

ABSTRACT

Sirtuin (SIRT) enzymes, members of the NAD⁺-dependent class III histone deacetylase family, were first identified in *Saccharomyces cerevisiae* yeast cells, and to date, seven homologs (SIRT1–SIRT7) have been characterized in mammals. Although all sirtuins share a conserved NAD⁺-binding catalytic core, structural and sequence variations in their N- and C-terminal regions contribute to isoform-specific substrate selectivity and functional diversity. Among the sirtuin family, SIRT2 is the only member predominantly localized in the cytoplasm, where it plays critical roles in various fundamental cellular processes, including regulation of the cell cycle, microtubule dynamics, oxidative stress response, and glucose metabolism. Due to these functions, SIRT2 has been associated with cancer, metabolic disorders, cardiovascular diseases, and neurodegenerative conditions. Consequently, its inhibition has been considered a promising therapeutic strategy for the treatment of these diseases. In this doctoral dissertation, 27 novel derivatives featuring an aryl 1,3,4-oxadiazole/thiadiazole acetamide scaffold were designed through optimization studies based on a lead compound obtained via pharmacophore-based virtual screening. The synthesis and structural characterization of these compounds were completed. Among them, the oxadiazole derivative **BA5** was found to inhibit SIRT2 enzyme activity with an IC₅₀ value of 10,62 µM, while exhibiting no inhibitory effect against SIRT1 or SIRT3 isoforms. Furthermore, the antiproliferative effects of compound **BA5** were evaluated in human MCF-7 breast cancer (IC₅₀=85,61 µM) and LNCaP metastatic prostate cancer (IC₅₀=15,82 µM) cell lines, and the relationship between its SIRT2 inhibitory profile and antiproliferative activity was analyzed.

Science Code : 1019

Key Words : Sirtuin, drug design, enzyme inhibition

Page Number : 168

Supervisor : Prof. Dr. Gökçen EREN

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında bilgi, birikim ve deneyimleri ile bana yol gösteren değerli danışmanım Prof. Dr. Gökçen EREN'e, biyolojik aktivite çalışmalarını gerçekleştiren Gazi Üniversitesi Biyokimya ABD Öğretim Üyesi Prof. Dr. Yeşim ÖZKAN'a, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya ABD Öğretim Üyesi Prof. Dr. Filiz BAKAR ATEŞ'e ve Ankara Medipol Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Dr. Öğr. Üyesi Erva ÖZKAN'a, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım SIRTeam çalışma grubumuzun değerli üyeleri Dr. Öğr. Üyesi Mahmut GÖZELLE'ye, Habibe Beyza GÜNİNDİ'ye, Selen Gözde KAYA'ya ve Fikriye ÖZGENCİL'e teşekkürlerimi sunarım. Her zaman yanımda olup bana destek olan sevgili arkadaşlarım Mehmet KARATAŞ'a, Özge KUYRUKÇU ÖZTÜRK'e ve Sultan PEKACAR'a, tüm eğitim hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen her zaman yanımda olan sevgili annem Hatice AKSEL'e, saygıdeğer babam Şenol AKSEL'e, çok sevdiğim kardeşim Talha Bora AKSEL'e ve canım eşim Yaren YEŞİLBAŞ AKSEL'e en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasının gerçekleştirilmesinde verdiği desteklerden ötürü Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK Proje No: 118S673) 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 BİLGİ.....	7
2.1. Sirtuinler	7
2.2. Sirtuin 2 (SIRT2).....	12
2.3. Selektif SIRT2 İnhibitörleri.....	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	37
3.1. Kimyasal Çalışmalar.....	37
3.1.1. Materyal.....	37
3.1.2. Genel sentez yöntemleri	37
3.2. Analitik Çalışmalar.....	39
3.2.1. Erime derecesi tayini	39
3.2.2. İnce tabaka kromatografisi	39
3.2.3. Kolon kromatografisi.....	40
3.2.4. ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR spektrumları.....	40
3.2.5. HRMS spektrumları.....	40
3.3. Moleküler Docking Çalışmaları	40

Sayfa

3.4. SIRT1-3 İnhibisyon Testleri.....	41
3.5. Antiproliferatif Etki Çalışmaları.....	42
4. BULGULAR	45
4.1. Kimyasal Bulgular	45
4.2. Biyolojik Bulgular	119
4.2.1. SIRT1-3 inhibitör etki	119
4.2.2. Antiproliferatif etki.....	121
4.3. Moleküler Docking.....	123
5. TARTIŞMA.....	129
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	143
KAYNAKLAR.....	145
ÖZGEÇMİŞ.....	165

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.1. Test edilen bileşiklerin SIRT2 enzimine karşı % inhibisyon değerleri....	120
Çizelge 4.2. BA5 bileşiğinin SIRT2 üzerindeki etkisi	121
Çizelge 4.3. BA5 bileşiğinin insan MCF-7 ve LNCaP kanser hücrelerindeki etkisi ...	122
Çizelge 4.4. Bileşiklerin SIRT2 aktif bölgesindeki moleküler etkileşimleri.....	127



ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Sirtuin ailesinin yapısal organizasyonu ve temel fonksiyonel bölgeleri [14]	2
Şekil 1.2. İnsan SIRT2 enziminin inhibitör ve NAD ⁺ ile kompleksinde (PDB: 5DY4) [36] aktif bölge amino asitlerinin gösterimi.....	4
Şekil 1.3. Öncü bileşik optimizasyonu için seçilen bileşik ve tez çalışması kapsamını oluşturan bileşiklerin tasarımı	4
Şekil 2.1. Histon asetilasyonu ve deasetilasyonunun kromatin yapısı ve gen ifadesi üzerindeki düzenleyici etkileri [49, 50]	8
Şekil 2.2. (A) SIRT katalizli deaçilasyon reaksiyonuna ait mekanizma, (B) SIRT izoformlarına özgü farklı açıl substratları, (C) SIRT4, 6 ve 7 tarafından katalizlenen mono-ADP-ribozilasyon reaksiyonu [27].....	11
Şekil 2.3. Bileşik 1-3 kimyasal yapısı	16
Şekil 2.4. Bileşik 4-7 kimyasal yapısı	17
Şekil 2.5. Bileşik 8-10 kimyasal yapısı	18
Şekil 2.6. Bileşik 11-15 kimyasal yapısı	19
Şekil 2.7. Bileşik 16-20 kimyasal yapısı	19
Şekil 2.8. Bileşik 21 ve 22 kimyasal yapısı.....	20
Şekil 2.9. Bileşik 23-25 kimyasal yapısı	21
Şekil 2.10. Bileşik 26-29 kimyasal yapısı	21
Şekil 2.11. Bileşik 30-33 kimyasal yapısı	22
Şekil 2.12. Bileşik 34-38 kimyasal yapısı	23
Şekil 2.13. Bileşik 39-41 kimyasal yapısı	23
Şekil 2.14. Bileşik 42-45 kimyasal yapısı	24
Şekil 2.15. Bileşik 46-48 kimyasal yapısı	25
Şekil 2.16. Bileşik 49-51 kimyasal yapısı	26
Şekil 2.17. Bileşik 52-54 kimyasal yapısı	27

Şekil	Sayfa
Şekil 2.18. Bileşik 55 ve 56 kimyasal yapısı.....	27
Şekil 2.19. Bileşik 57-59 kimyasal yapısı	28
Şekil 2.20. Bileşik 60-62 kimyasal yapısı	29
Şekil 2.21. Bileşik 63-65 kimyasal yapısı	30
Şekil 2.22. Bileşik 66-68 kimyasal yapısı	31
Şekil 2.23. Bileşik 69-71 kimyasal yapısı	31
Şekil 2.24. Bileşik 72-74 kimyasal yapısı	32
Şekil 2.25. Bileşik 75-78 kimyasal yapısı	33
Şekil 2.26. Bileşik 79-81 kimyasal yapısı	34
Şekil 2.27. Bileşik 82-84 kimyasal yapısı	35
Şekil 2.28. Bileşik 85-87 kimyasal yapısı	35
Şekil 2.29. Bileşik 88-91 kimyasal yapısı	36
Şekil 4.1. Bileşik 2e'nin ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR spektrumları	49
Şekil 4.2. Bileşik 3b'nin ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR spektrumları.....	51
Şekil 4.3. Bileşik 3e'nin ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR spektrumları	54
Şekil 4.4. Bileşik 3g'nin ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR spektrumları.....	56
Şekil 4.5. Bileşik 4g'nin ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR spektrumları.....	60
Şekil 4.6. Bileşik 4h'nin ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR spektrumları.....	62
Şekil 4.7. Bileşik 4i'nin ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR spektrumları.....	64
Şekil 4.8. Bileşik BA1'in ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR spektrumları	66
Şekil 4.9. Bileşik BA2'nin ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR spektrumları	68
Şekil 4.10. Bileşik BA3'ün ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR spektrumları	70
Şekil 4.11. Bileşik BA4'ün ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR spektrumları	72
Şekil 4.12. Bileşik BA5'in ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR spektrumları	74

Şekil	Sayfa
Şekil 4.13. Bileşik BA6'nın ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları.....	76
Şekil 4.14. Bileşik BA7'nin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları	78
Şekil 4.15. Bileşik BA8'in ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları	80
Şekil 4.16. Bileşik BA9'un ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları	82
Şekil 4.17. Bileşik BA10'un ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları	84
Şekil 4.18. Bileşik BA11'in ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları	86
Şekil 4.19. Bileşik BA12'nin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları	88
Şekil 4.20. Bileşik BA13'ün ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları	90
Şekil 4.21. Bileşik BA14'ün ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları	92
Şekil 4.22. Bileşik BA15'in ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları	94
Şekil 4.23. Bileşik BA16'nın ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları	96
Şekil 4.24. Bileşik BA17'nin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları	98
Şekil 4.25. Bileşik BA18'in ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları	100
Şekil 4.26. Bileşik BA19'un ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları	102
Şekil 4.27. Bileşik BA20'nin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları	104
Şekil 4.28. Bileşik BA21'in ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları	106
Şekil 4.29. Bileşik BA22'nin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları	108
Şekil 4.30. Bileşik BA23'ün ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları	110
Şekil 4.31. Bileşik BA24'ün ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları	112
Şekil 4.32. Bileşik BA25'in ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları	114
Şekil 4.33. Bileşik BA26'nın ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları	116
Şekil 4.34. Bileşik BA27'nin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları	118
Şekil 4.35. İnsan SIRT2 aktif bölgesinde SirReal tipi kokristalize ligandın (5GN) meydana getirdiği (A) π - π etkileşimleri (turkuaz) ve hidrojen bağları (sarı); (B) hidrofobik etkileşimler (turuncu) (PDB: 5DY4).....	123

Şekil	Sayfa
Şekil 4.36. İnsan SIRT2 aktif bölgesinde STH3 öncü bileşiğinin kurduğu (A) π - π etkileşimleri (turkuaz) ve hidrojen bağları (sarı); (B) hidrofobik etkileşimler (turuncu) (PDB: 5DY4).....	124
Şekil 4.37. SIRT2 aktif bölgesinde (A) BA5; (B) BA12; (C) BA15; (D) BA19; (E) BA23; (F) BA27 bileşiklerinin bağlanma konformasyonları. Hidrofobik etkileşimler, hidrojen bağları ve π - π etkileşimleri sırasıyla turuncu, sarı ve turkuaz kesikli çizgilerle gösterilmiştir (PDB: 5DY4).....	126
Şekil 4.38. İnsan SIRT2 aktif bölgesinde BA7'nin kurduğu (A) π - π etkileşimleri (turkuaz) ve hidrojen bağları (sarı); (B) hidrofobik etkileşimler (turuncu) (PDB: 5DY4)	128
Şekil 5.1. Öncü bileşikten hareketle ulaşılan aril 1,3,4-oksadiazol/tiyadiazol asetamit türevi bileşiklerin tasarımı	129
Şekil 5.2. Aril 1,3,4-oksadiazol asetamit türevleri için izlenen sentetik yol	131
Şekil 5.3. Aril 1,3,4-tiyadiazol asetamit türevleri için izlenen sentetik yol	132
Şekil 5.4. Hedef bileşiklerin ^1H -NMR spektrumlarında gözlenen kimyasal kayma değerleri	133
Şekil 5.5. Hedef bileşiklerin ^{13}C -NMR spektrumlarında gözlenen kimyasal kayma değerleri	135
Şekil 5.6. Çalışma kapsamında STH3'ten öncü bileşik optimizasyonu ile en aktif SIRT2 inhibitörü BA5'in elde edilmesi	137
Şekil 5.7. İnsan MCF-7 ve LNCaP hücrelerinde, 1-200 μM aralığındaki tarama konsantrasyonlarında 72 saat boyunca BA5 ile muamele sonrası belirlenen % hücre canlılığı (değerler ortalama $\pm$ SS şeklinde verilmiştir). Her deney üç tekrarla gerçekleştirilmiştir. Anlamlı farklılıklar **** $p < 0.0001$ ve ** $p = 0.0076$ olarak sunulmuştur.....	138
Şekil 5.8. Moleküler docking ile elde edilen SIRT2-bileşik komplekslerinde aromatik amino asitlerle etkileşimlerin analizi (PDB: 5DY4).....	139
Şekil 5.9. Moleküler docking ile elde edilen SIRT2-bileşik komplekslerinde hidrofobik amino asitlerle etkileşimlerin analizi (PDB: 5DY4).	140
Şekil 5.10. BA7, BA12 ve BA23 kodlu bileşiklerin SIRT2 aktif bölgesinde oluşturdukları etkileşimlere ait ligand etkileşim diyagramları (PDB: 5DY4).	141

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

α

Å

β

δ

ϵ

Hz

J

κ

π

MHz

μ l

μ M

mg

mmol

mM

ml

nM

nm

ppm

rpm

kcal

Açıklamalar

Alfa

Angstrom

Beta

Delta, Kimyasal kayma

Epsilon

Hertz

Etkileşim sabiti

Kappa

Pi

Megahertz

Mikrolitre

Mikromolar

Miligram

Milimol

Milimolar

Mililitre

Nanomolar

Nanometre

Milyonda bir

Bir dakikada gerçekleştirilen dönüş veya devir sayısı

Kilokalori

Kisaltmalar

ADP

ALDH1A1

ALP

ApoE4

AR

ATP

BubR1

Açıklamalar

Adenozin difosfat

Aldehit dehidrogenaz 1 ailesi üyesi A1

Alkalın fosfataz

Apolipoprotein E4

Androjen reseptörü

Adenozin trifosfat

Bub1 ilişkili protein kinaz

CDK4	Siklin bağımlı kinaz 4 ve 9
c-Myc	Hücrel miyelositomatoz onkogen
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
DNA-PKc	DNA bağımlı protein kinaz
eIF5A	Ökaryotik translasyon başlatma faktörü 5A
ERK	Hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz
FBS	Fetal sığır serumu
FOXO	Forkhead box transkripsiyon faktörü
G6PD	Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz
GCLC	Glutamat-sistein ligaz
HAT	Histon asetil transferaz
HDAC	Histon deasetilaz
HIF-1α	Hipoksi indüklenebilir faktör 1 α
IC₅₀	Enzim aktivitesini yarıya düşüren inhibitör konsantrasyonu
JMJD2A	Jumonji taşıyan 2A
JNK	Jun N-terminal kinaz
KRAS	Kirsten rat sarkomu viral onkogen homologu
LDH-A	Laktat dehidrojenaz A
MAPK	Mitojenle aktive olan protein kinaz
MMP-9	Matris metalloproteinaz 9
mRNA	Mesajcı RNA
NAD⁺	Nikotinamid adenin dinükleotit
NFκB	Nükleer faktör kappa B
NMR	Nükleer manyetik rezonans
NRF2	Nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2
N-Myc	Nöroblastoma miyelositomatoz onkogeni
p53	Tümör protein 53
p300	Tümör protein 300
PAR-3	Proteazla aktive olan reseptör 3
PARP1	Poli(ADP-Riboz) polimeraz 1
PDB	Protein veri bankası

PEPCK	Fosfoenolpiruvat karboksikinaz
PGAM	Fosfogliserik asit mutaz
PKB	Protein kinaz B
PKC	Protein kinaz C
PKM2	Pirüvat kinaz M2
Prdx-1	Peroksiredoksin-1
PRLR	Prolaktin reseptörü
RAS	Rat sarkomu
RMSD	Kare ortalamalarının karekökündeki sapma
RNA	Ribonükleik asit
Sir2	Sessiz enformasyon düzenleyici 2
SirReal	Sirtuini yeniden düzenleyici ligand
SIRT	Sirtuin
Skp2	S-fazı kinaz ilişkili protein 2
SREBP	Sterol düzenleyici element bağlayıcı protein
TIAM 1	T-hücreli lenfoma invazyonu ve metastaz indükleyici faktör 1
UV	Ultraviyole

1. GİRİŞ

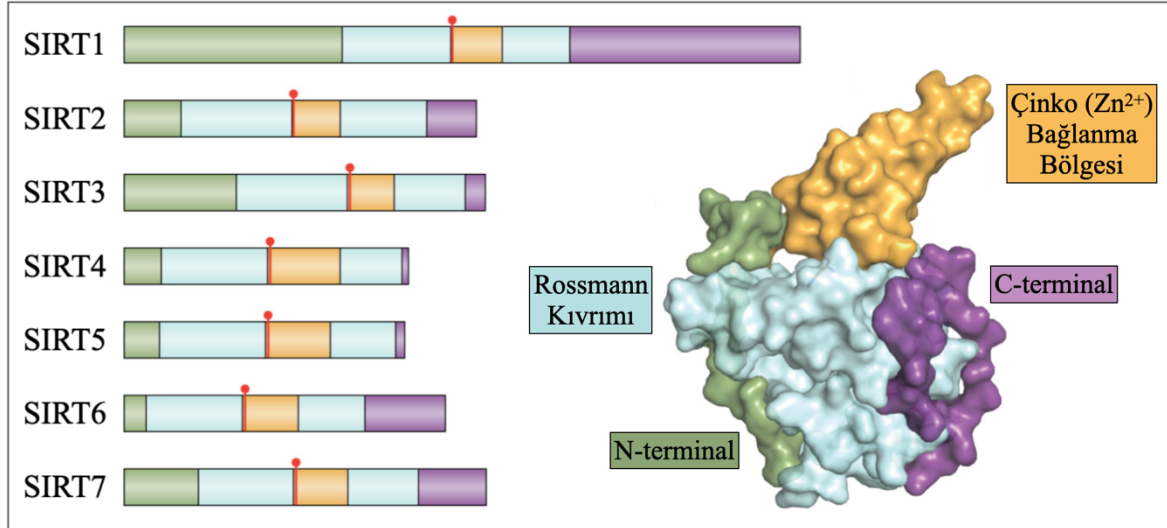
Epigenetik, DNA dizisindeki baz sırasını değiştirmeden, gen ifadesini kalıtsal olarak düzenleyen mekanizmaların bütünüdür. Bu düzenleme, kromatin yapısını şekillendiren ve genlerin aktif ya da baskılı olmasını belirleyen beş temel mekanizma aracılığıyla gerçekleşir: DNA modifikasyonu, histon modifikasyonu, RNA modifikasyonu, kromatin yeniden şekillendirme ve kodlamayan RNA regölasyonu. Bu mekanizmalar ve ilgili enzimler, genetik bilgiyi DNA baz dizisinden bağımsız olarak hücrelere aktarır ve organizmanın gelişimi ile homeostazının sağlanması da kritik roller üstlenir [1-3].

Histon asetilasyonu, kromatin yapısını gevşeterek transkripsiyonel aktivasyonu kolaylaştırırken, bu asetil gruplarının çıkarılması işlemi histon deasetilazlar (HDAC) tarafından gerçekleştirilmektedir. HDAC'lar, kromatinin sıkılaşmasına ve böylece gen ifadesinin baskılanmasına neden olmaktadır [4, 5]. Memelilerde toplam 18 HDAC enzimi tanımlanmış olup, bunlar yapısal özelliklerine ve kofaktör ilişkilerine göre Sınıf I, II, III ve IV olmak üzere dört ana sınıfa ayrılır. Sınıf I (HDAC1-3, 8), II (HDAC4-7, 9, 10) ve IV (HDAC11) HDAC'lar, çoğunlukla inko (Zn^{2+}) bağımlı enzimler olup klasik deasetilaz fonksiyonlarını yerine getirmektedirler [6, 7]. Buna karşılık, Sınıf III HDAC'lar yani sirtuinler, nikotinamid adenin dinökleotit (NAD^+) bağımlı deasetilazlar olarak farklı bir mekanizma sergilemektedir.

Sirtuinler, organizmada histon ve histon olmayan proteinlerin lizin kalıntılarındaki açıl gruplarını geri dönüşümlü olarak ortadan kaldırarak çeşitli biyolojik süreçlerde görev almaktadırlar [8]. Bu süreçler arasında; lipit ve glukoz metabolizması, hücresel yaşlanma, mitokondriyal biyogenez, DNA onarımı, apoptoz, transkripsiyon, hücresel enflamasyon, oksidatif stres, metabolizma ve hücre sinyalizasyonu gibi hücre canlılığını düzenleyen temel mekanizmalar yer almaktadır [9-11].

Memelilerde yedi farklı sirtuin homologu (SIRT1-SIRT7) bulunmakta olup, bu enzimler ortalama 258 amino asitlik ve evrimsel olarak korunmuş bir katalitik çekirdeğe sahiptir. Bu ekirdek, NAD^+ bağlanması sağlayan karakteristik Rossmann kıvrımı ve inko (Zn^{2+}) bağlanma bölgesi olmak üzere iki ana bölgeden oluşmaktadır. Yapıdaki Zn^{2+} iyonu doğrudan katalitik aktivite için zorunlu olmamakla birlikte, enzim stabilitesi ve genel aktivitesi için

önemli bir rol oynamaktadır. NAD⁺ bağlanma bölgesi, Rossmann kıvrımı içinde yer alırken, substrat bağlanma bölgesi bu kıvrımla Zn²⁺ bağlanma bölgesi arasında konumlanmıştır [12, 13]. Sirtuin izoformları, benzer katalitik merkez yapısına rağmen özellikle N- ve C-terminal bölgelerindeki uzunluk ve amino asit dizilim farklılıklarıyla birbirlerinden ayrılırlar (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Sirtuin ailesinin yapısal organizasyonu ve temel fonksiyonel bölgeleri [14]

Bu yapısal çeşitlilik, her bir izoformun spesifik substratlara, hücresel lokalizasyonlara ve biyolojik işlevlere yönelmesini sağlamaktadır [15, 16]. Örneğin; SIRT1, SIRT6 ve SIRT7 çekirdekte, SIRT3, SIRT4 ve SIRT5 mitokondride, SIRT2 ise ağırlıklı olarak sitoplazmada lokalizedir. Bu durum, her izoformun farklı fizyolojik ve patolojik süreçlerde işlev görmesine neden olur. Bu bağlamda, özellikle sitoplazmada lokalizasyonu ile öne çıkan ve mikrotübül dinamikleri, hücre döngüsü ve metabolizma gibi süreçlerde aktif rol oynayan SIRT2 izoformunun aşırı ekspresyonunun; nörodejenerasyon, enflamasyon, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, bakteriyel enfeksiyonlar ve kanser gibi çok sayıda önemli hastalıkla ilişkili olduğu gösterilmiştir [15, 17-21]. SIRT2 enziminin inhibe edilmesi, bu hastalıkların tedavisinde umut verici bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir [22-24]. Bu nedenle, yeni nesil selektif SIRT2 inhibitörlerinin geliştirilmesi, günümüzde odak noktası haline gelen terapötik bir strateji olmuştur.

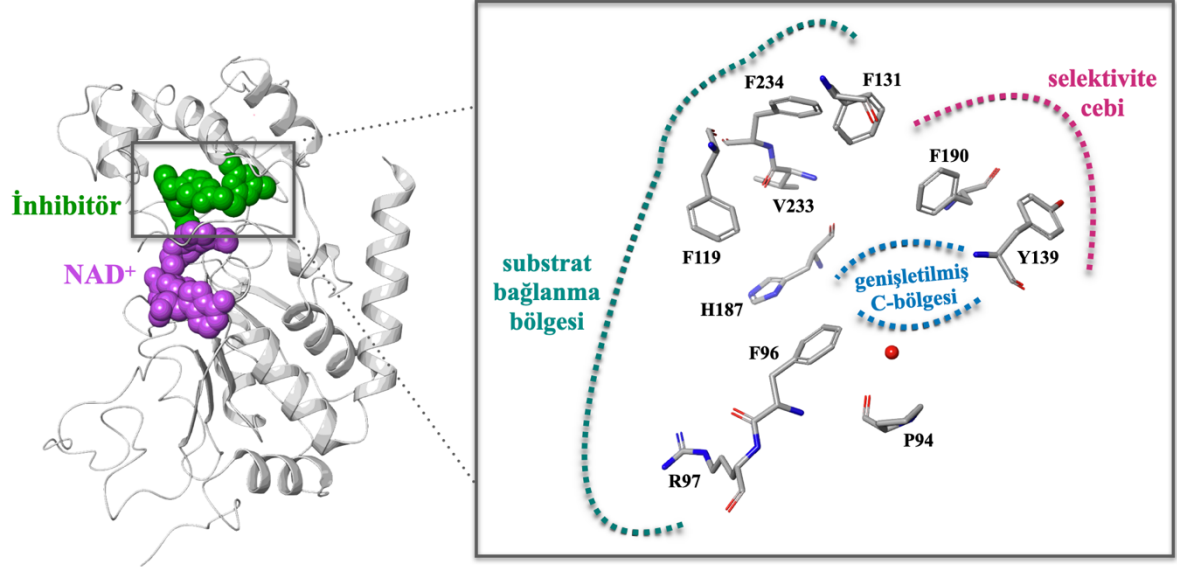
SIRT2 inhibitörleri üzerine yapılan çalışmalar son yıllarda hız kazanmış, çeşitli kimyasal sınıflardan çok sayıda bileşik tanımlanmıştır. Ancak, günümüzde klinik kullanım için onay

almış veya klinik denemelere ulaşabilmiş bir SIRT2 inhibitörü bulunmamaktadır. Bu durumun temel nedenleri arasında; SIRT2 izoformuna karşı yüksek selektiviteye sahip, aynı zamanda uygun farmakokinetik ve farmakodinamik özellikler sergileyen inhibitörlerin geliştirilmesindeki zorluklar yer almaktadır [25, 26]. Sonuç olarak, SIRT2'nin pek çok hastalıkla olan güçlü ilişkisine rağmen, mevcut inhibitörler, düşük biyoyararlanım ve metabolik stabilite, sınırlı selektivite ve *in vivo* etkinlik gibi nedenlerle terapötik hedef olarak klinik düzeye taşınamamıştır [27]. Bu nedenle, yeni nesil SIRT2 inhibitörlerine duyulan ihtiyaç güncelliğini korumaktadır. Tüm bunların yanı sıra, bu alandaki ilaç keşfi ve geliştirme çalışmalarının yalnızca terapötik ajan geliştirilmesiyle sınırlı kalmayıp, SIRT2 enziminin özellikle kanser, nörodejeneratif ve metabolik hastalıklardaki rolünün daha iyi anlaşılmasına da önemli katkılar sağlayacağı öngörülmektedir [28-33].

Bugüne kadar farklı araştırma grupları tarafından yürütülen çalışmalar sonucunda, insan SIRT2-inhibitör kompleksine ait yaklaşık 40 adet X-ışını kristal yapısı aydınlatılmıştır [34]. Bu yapılar, selektif ve güçlü SIRT2 inhibisyonunun sağlanabilmesi için hedeflenmesi gereken bağlanma bölgeleri ile bu bölgeleri oluşturan kritik amino asitlerle gerçekleşen etkileşimler önemli veriler sunmaktadır. Dolayısıyla, bu veriler, etkin bir inhibitör tasarımı için gerekli yapısal gereksinimlerin belirlenmesine temel oluşturmaktadır [35].

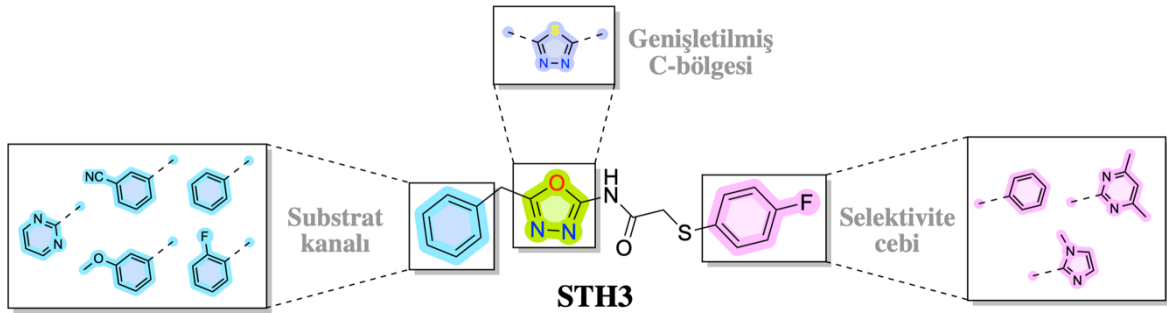
SIRT2 aktif bölgesinde, selektif inhibisyon için hedef alınması gereken en önemli bölge; NAD⁺ bağlanma bölgesinin bitişiğinde yer alan selektivite cebidir. Hidrofobik özellik taşıyan bu boşluk, yalnızca SIRT2 izoformuna özgü olarak açık formda bulunurken, SIRT1 ve SIRT3 gibi diğer sirtuinlerde kapalı durumda olduğundan selektif SIRT2 inhibitörünün bağlanmasına olanak tanımaktadır. Çoğunlukla aromatik veya alifatik yan zincirli bileşikler, bu bölgede özellikle Y139 ve F190 olmak üzere P140, I169 gibi aromatik/hidrofobik kalıntılarla π - π etkileşimleri, hidrofobik ve van der Waals temasları ile aktif bölgeye bağlanma stabilize olmaktadır. Bir diğer önemli bölge de asetile-lizin, başka bir deyişle substrat bağlanma bölgesidir. SIRT2 enziminin hedef proteinlerdeki asetillenmiş lizini tanıyarak katalitik mekanizmayı başlatmasında kilit rol oynayan bu bölge, NAD⁺ bağlanma bölgesi ile komşu konumda, dar ve hidrofobik bir yapı şeklinde bulunmaktadır. Bu bölgedeki başlıca etkileşim türleri; F96, R97, F119, F131, H187, V233 ve F234 gibi amino asitlerle meydana gelen π - π etkileşimlerin, hidrojen bağlarının, elektrostatik etkileşimlerin önemli olduğu bildirilmektedir. Bunlara ek olarak, NAD⁺ ve substrat bağlanma bölgelerinin çevresinde konumlanan ve genişletilmiş C-bölgesi olarak adlandırılan esnek döngüsel

yapılar içinde yer alan P94 kalıntısı ile su köprülü hidrojen bağının inhibitör etkiye katkı sağladığı bildirilmiştir (Şekil 1.2) [35-37].



Şekil 1.2. İnsan SIRT2 enziminin inhibitör ve NAD^+ ile kompleksinde (PDB: 5DY4) [36] aktif bölge amino asitlerinin gösterimi

Bu veriler ışığında, güçlü ve selektif SIRT2 inhibitörü bileşiklerin keşfi amacıyla çalışma grubumuz tarafından 2019 yılında tamamlanan çalışmada [38], aminotiyazol türevi SIRT2 inhibitörleri kullanarak geliştirilen farmakofor model ile sanal tarama gerçekleştirilmiş, tarama çıktısı bileşiklerden asetamit yapısındaki **STH3** (*N*-(5-benzil-1,3,4-oksadiazol-2-il)-2-((4-florofenil)sülfanil)asetamit), tez çalışmamız kapsamında “öncü bileşik” olarak seçilmiş, yapısal modifikasyonlar ile yeni 1,3,4-oksadiazol/tiyadiazol asetamit türevleri (**BA1-BA27**) tasarlanmıştır (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Öncü bileşik optimizasyonu için seçilen bileşik ve tez çalışması kapsamını oluşturan bileşiklerin tasarımı

Gerçekleştirilen optimizasyon çalışmalarında, öncü bileşik **STH3** yapısındaki, SIRT2 genişletilmiş C-bölgesinde konumlanan 1,3,4-oksadiazol halkası bazı türevlerde korunmuş, bazı türevlerde ise 1,3,4-tiyadiazol halkasıyla yer değiştirilmiştir. Selektivite cebine yönelen 4-florofenil halkası yerine fenil, 4,6-dimetilpirimidin ve 1-metil-1*H*-imidazol halkaları kullanılmıştır. Son olarak, SIRT2 substrat giriş bölgesine yönelen fenil halkası ise bazı türevlerde siyano, metoksi ve floro grupları ile süstitüe edilirken, bazı türevlerde ise pirimidin halkası ile değiştirilmiştir. Sonuç olarak, 26 adeti yeni olmak üzere toplamda 27 adet aril 1,3,4-oksadiazol/tiyadiazol asetamit türevine (**BA1-BA27**) ulaşılmıştır. SIRT2 aktif bölgede daha sıkı bağlanmayı hedefleyen yapısal modifikasyonların SIRT2 inhibitör potansiyeline olan etkileri, bu bileşikler üzerinden araştırılmış, devamında serinin en etkin SIRT2 inhibitörü **BA5** ile insan MCF-7 meme kanseri ve LNCaP metastatik prostat kanseri hücre hatlarına karşı gözlenen antiproliferatif etkilerin SIRT2 inhibitör etki arasındaki ilişki incelenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

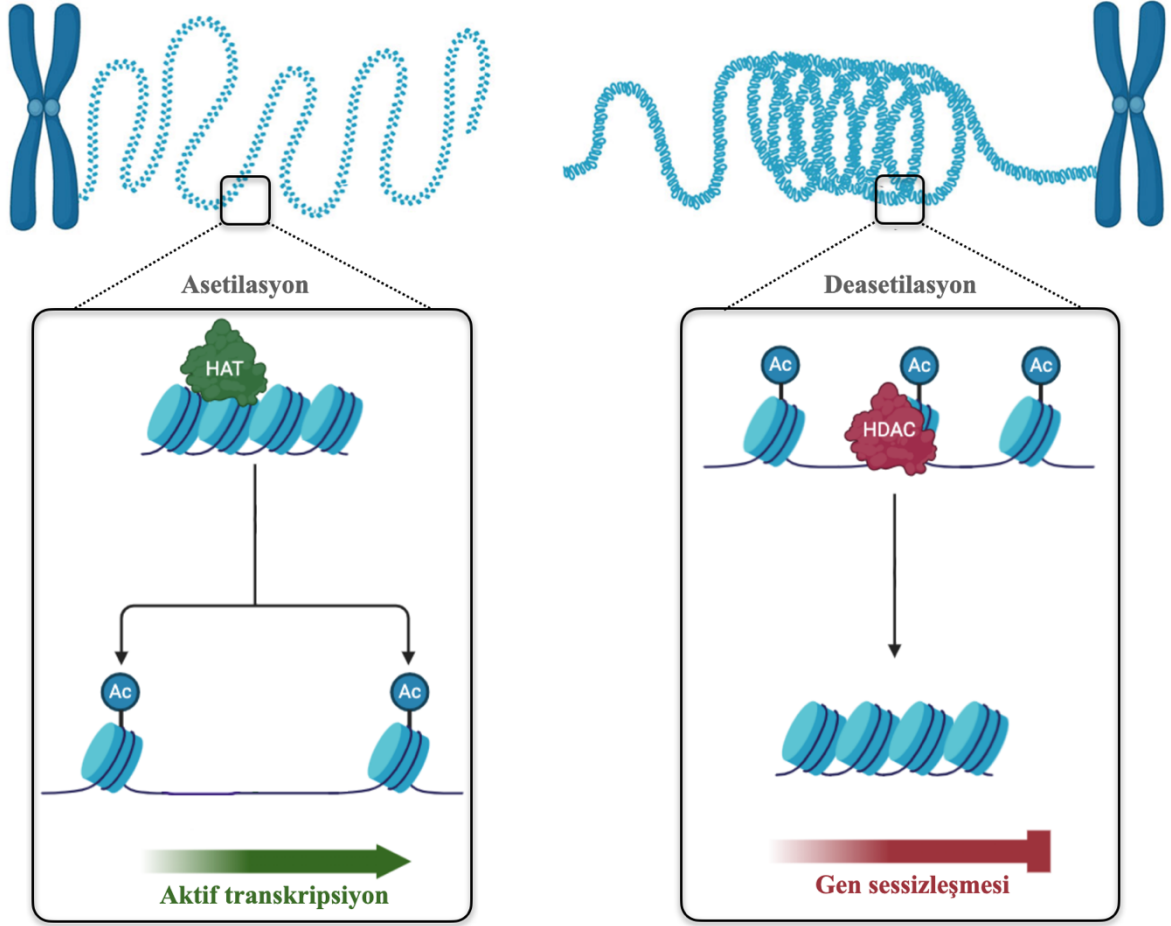
2.1. Sirtuinler

Transkripsiyon, translasyon ve protein modifikasyonu, genetik bilginin DNA'dan mRNA'ya aktarılması sürecini ifade etmektedir. Bir organizmadaki tüm hücreler temelde aynı DNA dizilimine sahip olsa da, gen ifadelerindeki nitel ve nicel farklılıklar hücre tiplerinin ve işlevlerinin çeşitlenmesine neden olmaktadır. Bu farklılaşmış hücrelerde, DNA'nın nükleotit dizisinde yer almayan değişiklikler “epigenetik bilgi” olarak tanımlanmaktadır [3, 39, 40]. Epigenetik mekanizmalar; DNA metilasyonu, kodlanamayan RNA aktivitesi, histon proteinlerinin asetilasyon, metilasyon, ubikitinasyon ve fosforilasyon gibi post-translasyonel modifikasyonlarını içermektedir. Bu epigenetik mekanizmalarda meydana gelen anormallikler, organizmada fizyolojik değişikliklere yol açarak çeşitli hastalıkların gelişimine katkıda bulunabilmektedir [10, 41, 42].

Histon asetilasyonu, epigenetik mekanizmalar arasında gen ifadesinin düzenlenmesinde öne çıkan yapısal bir modifikasyondur [43-45]. Ökaryotik hücre çekirdeğinde, histon proteinlerinin DNA ile etkileşerek oluşturduğu kromatin yapısındaki değişiklikler, gen ekspresyonunun kontrolünde temel bir rol oynamaktadır. Transkripsiyonun gerçekleşebilmesi için kromatin yapısının gevşeyerek açık bir konformasyona ulaşması gerekmektedir. Bu sayede, transkripsiyon faktörlerinin DNA üzerinde hedefledikleri promotör bölgelere erişimi sağlanmaktadır [46].

Histon proteinlerinin N-terminal kuyruklarında yer alan pozitif yüklü lizin kalıntılarının ϵ -amino gruplarına, negatif yüklü bir asetil grubunun bağlanması sonucu, lizin kalıntılarının pozitif yükü nötralize edilerek nötr bir amit grubu oluşmaktadır. Bu kimyasal modifikasyon, histon proteinlerinin negatif yüklü DNA molekülüyle olan elektrostatik etkileşimini zayıflatmaktadır. Böylece, kromatin yapısı gevşemekte ve DNA, transkripsiyon için daha erişilebilir bir hale gelmektedir. Buna karşılık, asetil gruplarının lizin kalıntılarından uzaklaştırılması, histon proteinlerinin yeniden pozitif yük kazanmasına, dolayısıyla DNA-histon etkileşimini güçlendirirken kromatin yapısının sıkılaşmasına yol açmaktadır. Bu durum, transkripsiyon faktörlerinin promotör bölgelerine erişimini kısıtlayarak gen transkripsiyonunun baskılanmasına, dolayısıyla gen sessizleşmesine neden olmaktadır

(Şekil 2.1). Histon asetilasyonu histon asetil transferaz (HAT) enzimleri; deasetilasyonu ise histon deasetilaz (HDAC) enzimleri tarafından katalizlenmektedir [47, 48]. Bu iki enzim arasındaki işlevsel denge, hücresel homeostazın sürdürülmesi ve çeşitli fizyolojik ile patofizyolojik süreçlerin düzenlenmesi açısından kritik öneme sahiptir.



Şekil 2.1. Histon asetilasyonu ve deasetilasyonunun kromatin yapısı ve gen ifadesi üzerindeki düzenleyici etkileri [49, 50]

HDAC enzimleri, transkripsiyon, metastaz, hücre farklılaşması, apoptoz, otofaji, hücre döngüsü düzenlemesi, DNA onarımı, anjiyogenez, stres yanıtı ve hücresel yaşlanması dahil olmak üzere, tüm organizmalarda gen ifadesinin düzenlenmesinde rol oynayan çok sayıda hücresel süreçte rol oynamaktadır [51-55]. Günümüze kadar on sekiz memeli homologu tanımlanmış olan HDAC'lar, kullandıkları kofaktörlere göre NAD^+ ve Zn^{2+} bağımlı olmak üzere iki grupta; yapısal benzerliklerine göre ise HDAC I, IIa, IIb, III ve IV olmak üzere beş grupta sınıflandırılmaktadır [4].

Sirtuinler, bakterilerden memelilere kadar evrimsel olarak korunmuş NAD⁺-bağımlı sınıf III HDAC ailesine mensup bir enzim grubudur [56]. Sirtuinler, histon (H1-K26Ac, H3-K9Ac, H4-K16Ac, H4-K20me, H3-K9me3, H3-K18Ac ve H3-K56Ac) veya hücrel enerji metabolizmasından, tümörigenezden ve transkripsiyondan sorumlu proteinler (TNF- α , FOXO, NF κ B, p53, c-Myc, SREBP-1, HIF-1 α , α -tubulin, KRAS, PARP1, ApoE4, Prdx-1, Skp2, JMJD2A, AKT, PEPCK, ALDH1A1) gibi histon olmayan substratlardaki lizin kalıntılarına bağlı açıl gruplarını geri dönüşümlü olarak uzaklaştırarak; DNA onarımı, glukoz ve lipid metabolizması, oksidatif stres, apoptoz, hücrel yaşlanma, mitokondriyal biyogenez, enflamasyon, hücre sinyal iletimi ve transkripsiyon gibi önemli hücrel mekanizmalarda aktif rol almaktadırlar. Bu nedenle kanser, diyabet, kardiyovasküler, nörodejenaratif ve otoimmün hastalıklarla ilişkilendirilmektedirler [57-63].

Sessiz enformasyon düzenleyici 2 (*Sir2*) olarak adlandırılan ilk sirtuin, 1970'lerde Amar Klar tarafından *Saccharomyces cerevisiae* mayasında keşfedilmiştir [64]. Mayalarda *Sir2*'nin, eşleşme tipi lokusların, ribozomal DNA'nın ve telomerlerin transkripsiyonunu baskılayarak replikatif yaşam süresini düzenlediği ve kritik öneme sahip olan histon proteinlerin (H3K9/14 ve H4K5/8/16) hiperasetilasyonundan sorumlu NAD⁺ bağımlı bir enzim olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir [65, 66]. Başka bir çalışmada *Sir2*'nin bilinen deasetilaz aktivitesinin yanı sıra ADP-riboziltransferaz aktivitesine sahip olduğu bu özelliği sebebiyle gen sessizleştirilmesi üzerine de aracılık ettiği öne sürülmüş ve ökaryot organizmalarda benzer aktivitelere sahip olabileceği belirtilmiştir [67, 68].

Sir2 homolog genleri sırasıyla bakteri, solucan, sinek, bitki ve memelilerde izole edilmiş ve tüm organizmalarda varlığı kanıtlanan bu proteinler sirtuinler olarak adlandırılmıştır [69]. Memelilerde hücrel lokalizasyon ve moleküler fonksiyonlarına göre yedi adet sirtuin analogu (SIRT1-7) tanımlanmış, bu izoformların evrimsel olarak korunmuş ortak bir NAD⁺ bağlanma bölgesine sahip olduğu, ancak katalitik alana komşu, uzunluk ve dizilim açısından değişiklik gösteren C- ve N-terminal bölgeleri ile birbirlerinden farklılaştıkları bilinmektedir [70].

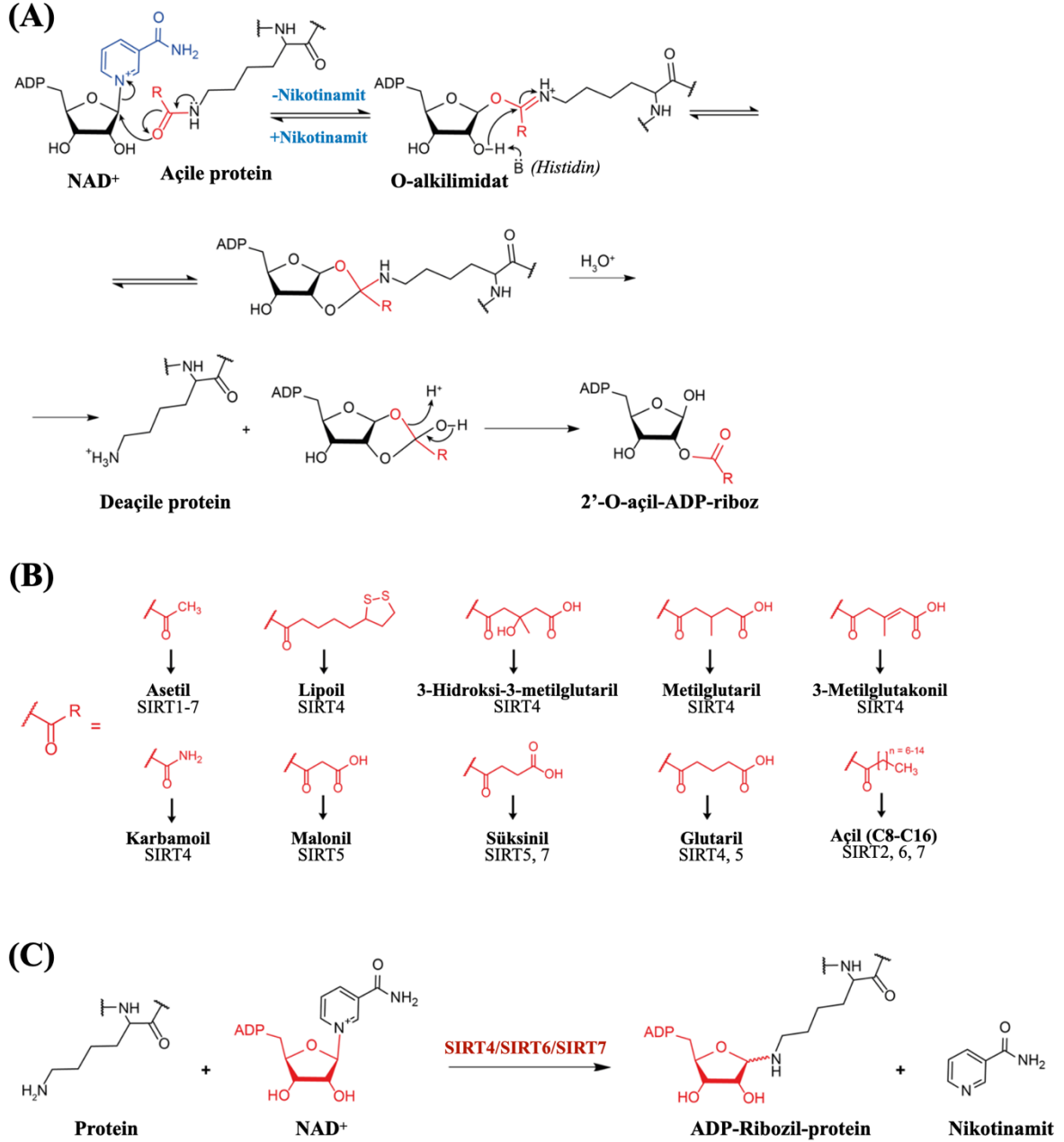
Memeli sirtuin homologlarının sahip oldukları substratları, etkileşimde oldukları epigenetik veya epigenetik olmayan proteinler, dolayısıyla enzimatik aktiviteri, izoformların hücrel lokalizasyonları ve yapısal farklılıkları ile paralellik göstermektedir. SIRT1 izoformunun, hücre çekirdeğinde lokalize olup, pankreatik beta hücrelerinde insülin sekresyonu, serebral

iskemi, oksidatif stres, yağ asidi üretimi, hücrenin transkripsiyonel etkinliği, histon ve histon olmayan proteinlerin deasetilasyon mekanizmalarından sorumlu olduğu, bunun yanında hücresel stres, enflamasyon ve p53 geni aktivitesi üzerindeki etkisi sebebiyle apoptoz süreçlerinde yer aldığı bilinmektedir. Mitokondriyal SIRT3-5 enzimleri, enerji metabolizması ve hücresel yaşlanma gibi önemli biyolojik süreçlerde rol oynamaktadırlar. Bu izoformlar, oksidatif stresin düzenlenmesi ve reaktif oksijen türlerinin ortadan kaldırılması gibi işlevleri yerine getirerek hücrede olumsuz etkileri azaltmaktadırlar. SIRT6, kromatin yapısında yer alarak, telomer sessizleşmesi, genom stabilitesinin korunması, DNA onarımı gibi süreçlerde görev almaktadır. SIRT7'nin ise çekirdekte hücre proliferasyonu, ribozomal RNA ekspresyonu, apoptoz, hücresel stres yanıtı ve ribozomal biyosentez gibi çeşitli fonksiyonların düzenlenmesinden sorumlu olduğu bilinmektedir [71-75].

Enzim mekanizması gereği, substratın lizin kalıntısının deaçilasyon reaksiyonu, tüm memeli sirtuinlerinde benzer şekilde gerçekleşmektedir (Şekil 2.2). Reaksiyon, açıl grubundaki karbonil oksijeninin NAD^+ kofaktörünün yapısındaki ribozun C1' pozisyonuna atağı ile başlamakta ve bunun sonucunda nikotinamid ile ADP-ribozil alkilamidat açığa çıkmaktadır. İkinci aşamada, sirtuin aktif bölgesindeki korunmuş histidin amino asidi, NAD^+ 'ın 3'-OH grubunun deprotonize duruma geçmesine ve bunun sonucunda NAD^+ 'ın yapısındaki 2'-OH grubunun deprotonize olmasına aracılık etmektedir. Oluşan deprotonize grup, ADP-ribozil alkilamidat bileşiğine atak ederek 1',2'-siklik yapıdaki ara ürünün oluşmasına yol açmaktadır. Son aşamada, açıl grubu 2'-OH grubuna transfer edilerek deaçile lizin ve 2'-O-açıl ADP-riboz ürünleri meydana gelmektedir [15, 57, 76, 77].

Özellikle SIRT1-3 izoformları, baskın olarak protein lizin deasetilaz aktivitesi göstermektedir. Bununla birlikte, SIRT2'nin aynı zamanda demiristoilaz aktivitesine de sahip olduğu gösterilmiştir [77]. SIRT4; deasetilaz, dekarbamilaz, lipoamidohidrolaz ve mono-ADP-riboziltransferaz aktivitelerine sahip olmasının yanı sıra, protein lizin kalıntılarından 3-hidroksi-3-metilglutaril (HMG) gruplarını da uzaklaştırabilmektedir [78]. SIRT5 zayıf bir deasetilaz aktivitesi gösterirken, negatif yüklü açıl zincirlere yüksek afinitesi nedeniyle belirgin şekilde deglutarilaz, desüksinilaz ve demalonilaz aktiviteleri sergilemektedir [79]. SIRT6 da zayıf bir deasetilaz olmakla birlikte, özellikle miristoil gibi uzun zincirli yağ asidi gruplarına karşı yüksek substrat afinitesine sahip olup, ayrıca mono-ADP-riboziltransferaz aktivitesi göstermektedir [14]. Son olarak, SIRT7 hem deasetilaz hem de desüksinilaz aktiviteleri göstermektedir [80]; yakın zamanda ise oto-ADP-ribozilasyon

aktivitesine sahip olduğu ve *in vitro* ortamda hekzanoyl, oktanoyl, dekanoyl ve lauril içeren substratlara karşı geniş spektrumlu bir deaçilaz aktivitesi sergilediği ortaya konmuştur (Şekil 2.2) [81, 82].



Şekil 2.2. (A) SIRT katalizli deaçilasyon reaksiyonuna ait mekanizma, (B) SIRT izoformlarına özgü farklı açil substratları, (C) SIRT4, 6 ve 7 tarafından katalizlenen mono-ADP-ribozilasyon reaksiyonu [27].

SIRT enzimlerinin, organizmada tümör oluşumu, genom stabilitesi, stres tepkisi, inflamasyon ve metabolizmayla ilgili çeşitli fizyolojik yollarda rol aldığı bilinmektedir. Bu hücrel işlevlerin bozulması kanser, inflamasyon, kardiyovasküler ve nörodejeneratif

hastalıklarla ilişkilendirilmekte ve sirtuinlerin enzimatik aktivitelerinin modülasyonuna yönelik geliştirilen tedavi yaklaşımlarının bu hastalıkların oluşumunu ya da ilerlemesini engelleme açısından umut verici bir strateji sunduğu öne sürülmektedir [83, 84].

2.2. Sirtuin 2 (SIRT2)

SIRT2, hücre döngüsü, farklılaşma, enerji metabolizması, yaşlanma ve hücre göçü gibi pek çok biyolojik süreçte rol oynayan, sirtuin ailesinin önemli bir izoformudur. Başkın olarak sitoplazmada işlev görmekle birlikte, mitoz sırasında hücre çekirdeğine taşınarak önemli mekanizmaları indükleyebilmektedir [85].

SIRT2, hücre döngüsüyle ilişkili transkripsiyon faktörleri (NF κ B, FOXO, p300, HIF-1 α , miR-212-5p), enzimler (PEPCK1, CDK9, G6PD, BubR1, PGAM, LDH-A, DNA-PKc, GCLC), hücre sinyalizasyonunda görevli bileşenler (KRAS4a, PRLR, PAR-3, TIAM 1) ile yapısal proteinler olan α -tubulin ve keratin 8'in yanı sıra histon (H3K18, H3K56, H4K16) substratlarının deasetilasyon reaksiyonlarını katalizleyip hücresel işlevlerin düzenlenmesinde ve organizmanın homeostazının sağlanmasında kritik bir rol oynamaktadır [86-90]. Hücre bölünmesi sırasında mitozun G₂/M fazında çekirdekteki SIRT2 seviyesinin artması, bu izoformun bir kontrol noktası görevi görmesini sağlamaktadır. Böylece mitotik faz uzatılarak, stres veya DNA hasarı durumlarında hücre bölünmesinin bir sonraki faza geçmesini önlemektedir [91]. Ayrıca SIRT2, hücre döngüsü ilerlemesi ve RNA transkripsiyonunun kritik düzenleyicisi olan CDK9'un deasetilasyonu aracılığıyla replikasyon kaynaklı stres yanıtlarını düzenleyip genom stabilitesine katkıda bulunmaktadır [92]. Bununla birlikte SIRT2, α -tubulin deasetilasyonu ile mikrotübül stabilitesini etkileyerek hücre iskeletinin organizasyonu ve dolayısıyla hücre canlılığı üzerinde belirleyici rol oynamaktadır [93].

SIRT2, vücutta en yüksek oranda beyinde eksprese edilmekte olup; karaciğer, yumurtalık, akciğer, tiroit, yemek borusu, kalp, dalak ve testislerde de yüksek miktarda bulunduğu bildirilmiştir [94]. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda, birçok hücresel süreçte görev aldığı bilinen SIRT2'nin hastalıklardaki rolü anlaşılmaya odaklanılmıştır.

Glukoz homeostazı ve insülin duyarlılığı üzerinde kritik etkileri olan SIRT2, bu yönüyle başta diyabet olmak üzere çeşitli metabolik hastalığın patogenezinde önemli bir yere sahiptir.

SIRT2'nin hücrel redoks dengesi ve oksidatif stresle mücadelede rol alan glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) enzimini aktive ederek hücreleri oksidatif hasara karşı koruduğu gösterilmiştir [95]. Ayrıca glukoneogenezde görevli fosfoenolpiruvat karboksikinazı (PEPCK) aktive ederek glukoz üretimini artırdığı ve bu sayede hem glukoz homeostazında hem de insülin duyarlılığında rol oynadığı bildirilmiştir [21, 96]. Öte yandan, SIRT2'nin, PKM2 proteininin K135 bölgesinde H187 aracılığıyla gerçekleştirdiği asetilasyon ve K48 konumundaki ubiquitinasyon seviyelerini azaltarak metabolik strese karşı hücrel yanıtları düzenlediği ve bu etkiyle glikolitik yolak üzerinde rol oynadığı bildirilmiştir [97]. Bu bulgular, SIRT2'nin diyabetin patolojik sürecindeki rolünü vurgulamakta ve aktivitesinin düzenlenmesinin, diyabet gibi metabolik hastalıkların tedavisinde yeni bir yaklaşım oluşturabileceğini göstermektedir.

Alzheimer hastalığının patogeneziyle ilgili yapılan araştırmalar, SIRT2 aktivitesinin amiloid-beta ($A\beta$) agregasyonuna ve tau fosforilasyonuna aracılık ederek hastalığın gelişimine katkı sağladığını göstermektedir. SIRT2 inhibisyonunun, mikrotübül stabilizasyonunu artırdığı ve otofajiyi uyarak toksik $A\beta$ oligomerlerinin uzaklaştırılmasını kolaylaştırdığı; böylece nöron sağkalımını destekleyerek Alzheimer hastalığının ilerleyişini yavaşlatabileceği açıklanmıştır [98]. Ayrıca SIRT2 inhibisyonu, tau fosforilasyonunu azaltarak kognitif fonksiyonların iyileştirilmesine katkıda bulunmakta ve Alzheimer tedavisinde potansiyel bir hedef olarak değerlendirilmektedir [99].

Parkinson hastalığı, α -sinüklein birikimi ve dopaminerjik nöron kaybıyla karakterize ilerleyici bir nörodejeneratif hastalıktır. SIRT2 inhibisyonunun, asetile α -sinüklein düzeylerini artırarak agregasyon ve buna bağlı toksisiteyi azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca SIRT2 inhibisyonunun, α -sinüklein agregatlarının ortadan kaldırılmasını sağlayan alkalın fosfataz aktivitesini artırdığı ve bu yolla hastalığın ilerlemesine neden olan α -sinüklein yükünü azalttığı belirtilmiştir [100].

Huntington hastalığı, protein agregasyonu ve metabolik bozukluklarla ilişkili, karmaşık bir patogeneze sahip bir nörodejeneratif bir bozukluktur. Bu hastalıkta SIRT2 inhibisyonunun, sterol biyosentezini düzenleyerek mutant huntingtin proteininin toksisitesini azalttığı ve bu yolla nöroprotektif bir etki gösterdiği bazı çalışmalarla ortaya konmuştur. Yapılan araştırmalar, SIRT2 inhibisyonunun, Huntington hastalığına ait hücrel modellerde ve omurgasız hayvan modellerinde nöroprotektif etkiye yol açtığını göstermektedir [101, 102].

SIRT2'nin, bakteri aracılı konakçı hücre gen ekspresyonunun yeniden programlanmasında kritik bir rol oynayan H3K18 deasetilasyonunu gerçekleştirmesi, bu enzimi bakteriyel enfeksiyonlarda önemli bir düzenleyici haline getirmektedir [103]. Bunun yanı sıra, farklı kanser türlerinde anormal SIRT2 aktivitesinin tümör oluşumu ve ilerleyişini etkilediği; ayrıca tümör mikroçevresini düzenleyen biyolojik süreçlerde yer aldığı bildirilmektedir [29]. SIRT2'nin kanser gelişimindeki rolü halen tartışmalı olup; yapılan birçok çalışma tümör baskılayıcı işleve sahip olduğunu gösterirken, bazı bulgular ise tümör oluşumunu teşvik edebileceğini ileri sürmektedir. Bu karşılıklı, SIRT2'nin kanser hücrelerinde ve tümör mikroçevresinde üstlendiği moleküler mekanizmaların çok yönlü ve bağlama özgü olmasından kaynaklanmaktadır [86, 104, 105].

SIRT2'nin tümör oluşumunu tetiklediği kanser türlerinde, kanser hücrelerinin bağışıklık sistemi tarafından tanınmasını engellemek amacıyla enerji metabolizmasını yeniden programladığı ve bağışıklık sisteminden kaçışı indüklediği belirtilmiştir. Melanomada, SIRT2 inhibisyonunun, kanser hücrelerin tümör bölgesine göçünü artırarak tümör büyümesini baskıladığı bildirilmiştir [106]. Öte yandan, gastrik kanserde, SIRT2'nin PEPC1 ekspresyonunu ve mitokondriyal aktivitesini artırdığı; ayrıca RAS/ERK/JNK/MMP-9 sinyal yolağını aktive ederek kanser hücrelerinin göçünü ve invazyonunu indüklediği gösterilmiştir [107, 108]. SIRT2'nin, N-Myc ve c-Myc gibi önemli onkogenlerin stabilitesini koruyarak nöroblastoma ve pankreas kanseri hücrelerinde proliferasyonu artırdığı bildirilmiştir [109]. Öte yandan, selektif SIRT2 inhibisyonunun, C6 glioma ve insan MCF-7 meme kanseri hücre hatlarında apoptozu tetiklediği; ayrıca insan HeLa serviks kanseri, HepG2 karaciğer kanseri ve küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (A549 ve H1299) hücre hatlarında proliferasyonu azalttığı bildirilmiştir [110-112]. SIRT2 inhibisyonunun, H3K27 ve H4K16 modifikasyonları yoluyla ATRX mutasyonlu nöroepitelyal progenitör hücrelerde ve insan glioma kök hücrelerinde hücre göçünü bozduğu ve glioma modellerinde yaşlanma belirteçlerinin ekspresyonunu artırdığı açıklanmıştır [113]. Bununla birlikte, SIRT2 modülasyonunun bazı kanser türlerinde fibroblast aktivitesini ve anjiyogenezi inhibe ederek, hücre bütünlüğünü ve proliferasyonunu kontrol altına aldığı, aynı zamanda DNA hasarına yanıt veren substratları aktive ettiği bildirilmiştir [114, 115]. Buna karşılık, SIRT2 enziminin aşırı ekspresyonunun, kolorektal kanser hücrelerinin proliferasyonu, invazyonu ve hücre göçünü önemli düzeyde inhibe ettiği gösterilmiştir [89]. Ayrıca, SIRT2 enziminin ATP-sitrat liyaz yıkımına katkıda bulunarak lipid biyosentezini baskıladığı ve bu mekanizma aracılığıyla tümör büyümesini azalttığı öne sürülmüştür [116].

Seröz yumurtalık kanserinde ise SIRT2'nin aşırı ekspresyonu, karsinojenik özellik taşıyan CDK4 proteininin yıkımını teşvik ederek hücre kolonizasyonunu ve göçünü engellediği, bu sayede invazyonu azalttığı bildirilmiştir [117].

Sonuç olarak, SIRT2'nin etkisi, tümörün evresi, hücre tipi ve bulunduğu dokuya göre farklılık gösterebilmektedir. Bu nedenle, SIRT2 ekspresyon düzeylerinin kanserin seyri üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılabilmesi için ileri düzeyde çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır [34]. Ayrıca, bu çok yönlü etki, SIRT2'nin hücre döngüsü düzenlemesi ve enerji metabolizması, otofaji, genom stabilitesi, DNA onarımı ve oksidatif stres dahil olmak üzere birçok biyolojik süreçte yer aldığını göstermekte ve tedavi stratejileri geliştirilmesinin önemini vurgulamaktadır.

2.3. Selektif SIRT2 İnhibitörleri

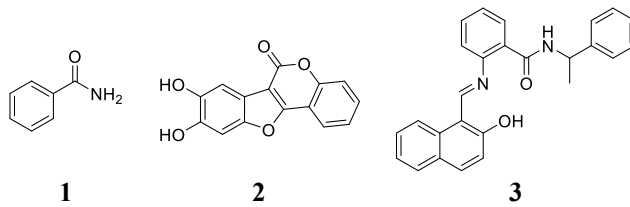
SIRT2, organizmadaki fizyolojik işlevlerin sürdürülmesi ve düzenlenmesinde oynadığı kritik roller nedeniyle, hastalıkların fizyolojisi ve patogeneğinde büyük ilgi görmektedir. Geniş bir substrat yelpazesıyla etkileşim içinde olması nedeniyle, SIRT2 ekspresyon seviyelerindeki artış veya azalışın özellikle kanser, nörodejeneratif hastalıklar ve enflamasyon üzerinde koruyucu ya da iyileştirici etkiler gösterebildiği bildirilmiştir [27, 118, 119].

SIRT enzim ailesinin hem yapısal hem de işlevsel olarak yüksek derecede korunmuş olması, kanser tedavisinde bu izoformların tümünün mü yoksa yalnızca spesifik bir izoformun mu hedeflenmesinin daha etkili olacağı sorusunu gündeme getirmiştir. Bu bağlamda, SIRT üyeleri arasında izoform selektivitesini sağlayacak inhibitörlerin geliştirilmesine yönelik çok sayıda araştırma yapılmıştır. Üç boyutlu SIRT yapıları çözülmüş, inhibitör ve aktivatör bağlanma modları detaylandırılmış ve bu veriler doğrultusunda akılcı ilaç tasarımı yaklaşımlarıyla yeni selektif enzim inhibitörleri geliştirilmiştir. Güçlü ve selektif SIRT2 enzimi inhibitörlerinin keşfinin, hem SIRT2 izoenziminin biyolojik süreçlerdeki rolünün tanımlanmasını hem de çeşitli moleküler yollarda yer alan önemli protein ve genler üzerine odaklanan tedavilerin geliştirilmesini sağlayıp bu mekanizmaların daha ayrıntılı bir şekilde incelenmesinin temelini oluşturabileceği düşünülmektedir. Bugüne kadar farklı araştırma grupları tarafından kırka yakın insan SIRT2 X-ışını kristal yapısı aydınlatılmış; bu süreçte,

çeşitli kimyasal yapılara sahip olan çok sayıda enzim inhibitörü bileşik tanımlanmıştır [27, 34, 120, 121].

Küçük molekül yapısında SIRT2 inhibitörü olarak ilk keşfedilen bileşiklerden biri olan nikotinamit (**1**) (SIRT2 IC_{50} =100 μ M; SIRT1 IC_{50} =120 μ M; SIRT3 IC_{50} =50 μ M; SIRT5 IC_{50} =150 μ M; SIRT6 IC_{50} =184 μ M), doğal kaynaklı sirtuin inhibitörü olarak tanımlanmıştır [122, 123] (Şekil 2.3). Nikotinamidin insan prostat kanseri hücrelerinin büyümesini azalttığı, bununla birlikte apoptozu indüklediği ve insan lösemi kanser hücre hatlarında proliferasyonu azalttığı gösterilmiştir [124, 125].

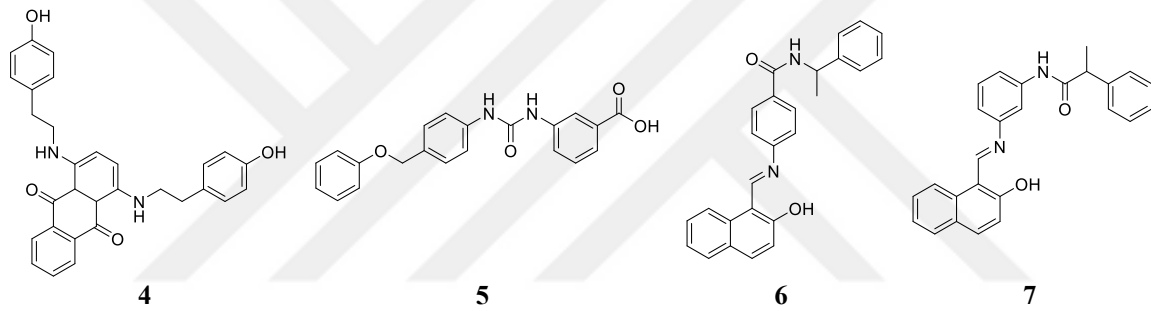
2001 yılında Grozinger ve arkadaşları tarafından yapılan yüksek çıktılı sanal tarama çalışması sonucunda, 1600 bileşik arasından **2** numaralı bileşik (SIRT2 IC_{50} =38 μ M ve Sir2p IC_{50} =66 μ M) ve sirtinolün (**3**) (SIRT2 IC_{50} =45 μ M ve Sir2p IC_{50} =68 μ M) *in vitro* olarak insan SIRT2 enzimini ve maya *Sir2* enzimini benzer oranlarda inhibe ettikleri bildirilmiştir [126] (Şekil 2.3). Sirtinolün, insan MCF-7 meme kanseri ve insan H1299 akciğer kanseri hücrelerinde RAS/MAPK aktivasyonunu azaltarak yaşlanma benzeri büyümenin durmasını neden olduğu, ayrıca insan MCF-7 meme kanseri hücrelerinde otofajik hücre ölümünü ve apoptozu indüklediği açıklanmıştır [127, 128].



Şekil 2.3. Bileşik 1-3 kimyasal yapısı

Tervo ve arkadaşlarının 2004 yılında potansiyel SIRT2 inhibitörü bileşiklerin keşfi amacıyla, sirtinol bileşiği üzerinden gerçekleştirdiği sanal tarama yaklaşımlı çalışmada, enzim aktif bölgesinde istenen hidrofilik ve hidrofobik etkileşimleri sağlayan bileşikler *in vitro* enzim inhibisyonu çalışmaları için seçilmiştir. Bunlar bileşiklerden **4** (SIRT2 IC_{50} =56,7 μ M) ve **5** (SIRT2 IC_{50} =74,3 μ M) numaralı bileşiklerin, sirtinole benzer seviyede enzim inhibisyonu yaptıkları belirtilmiştir [123] (Şekil 2.4).

2005 yılında Mai ve arkadaşları tarafından güçlü SIRT2 inhibitörlerine ulaşmak amacıyla sirtinol türevi bileşikler tasarlanmıştır. Bu bileşikler içerisinde **6** (hSIRT2 $IC_{50}=25,9 \mu M$ ve Sir2 $IC_{50}=33 \mu M$) numaralı bileşiğin, *in vitro* olarak maya Sir2 ve insan SIRT2 enzimini sirtinolden daha iyi seviyede inhibe ettiği açıklanmıştır [129] (Şekil 2.4). Rotili ve çalışma ekibi tarafından gerçekleştirilen yapısal optimizasyon çalışması kapsamında, 1-(fenilimino)metil-2-hidroksi-naftalen taşıyan sirtinolün yapısındaki amit grubunun ters çevrilmesi ile elde edilen salermit (**7**) (100 μM konsantrasyonda SIRT2 %80 inhibisyon, 25 μM konsantrasyonda SIRT1 %80 inhibisyon) bileşiğinin SIRT2 karşısında sirtinole benzer inhibitör aktivite gösterdiği açıklanırken; insan MOLT4 lösemi, RKO kolon kanseri ve MDA-MB-231 meme kanseri hücre hatlarında sirtinolden daha yüksek antiproliferatif aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. [130] (Şekil 2.4).

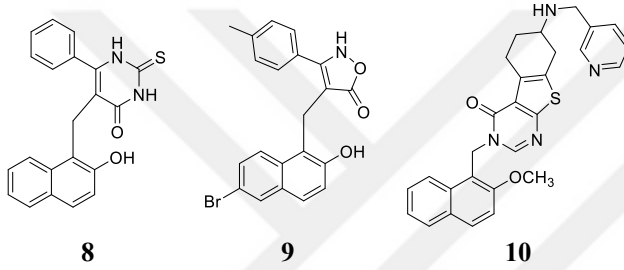


Şekil 2.4. Bileşik 4-7 kimyasal yapısı

Sirtinol üzerine Heltweg ve araştırma grubu tarafından gerçekleştirilen farmakofor temelli moleküler optimizasyon çalışmasında, β -naftol halkası yapıda korunmuş; 4-aminobenzamit grubu ise 6-fenil-2-tiourasil ile değiştirilerek kambinol (**8**) (SIRT2 $IC_{50}=56 \mu M$ ve SIRT1 $IC_{50}=59 \mu M$) bileşiği elde edilmiş, fare ksenograft modelinde antikanser aktivitesi gösterdiği bildirilen ilk β -naftol türevi bileşik olarak tanımlanmıştır. Kambinolün, BCL-6-eksprese eden Burkitt lenfoma hücre hattında histon hiperasetilasyonu yoluyla apoptozu indüklediği ve tümör büyüme hızını azalttığı bildirilmiştir [131] (Şekil 2.5).

Mahajan ve arkadaşları tarafından, selektif olmayan SIRT inhibitörü olan kambinolün yapısal modifikasyonu sonucunda elde edilen **9** numaralı bileşik (SIRT2 $IC_{50}=13 \mu M$; SIRT1 ve SIRT3 $IC_{50}>200 \mu M$), güçlü ve selektif bir SIRT2 inhibitörü olarak bildirilmiş, kambinole kıyasla yalnızca Burkitt lenfoma hücrelerinde değil, aynı zamanda insan HCT116 kolon

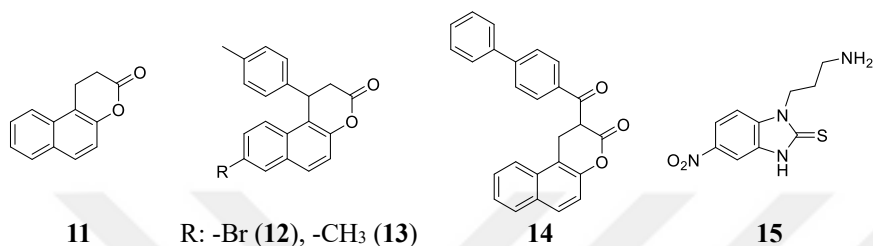
kanseri, MCF-7 meme kanseri ve NCI-H460 küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücre hatlarında da tümör büyümesini anlamlı düzeyde azalttığı rapor edilmiştir [132] (Şekil 2.5). Di Fruscia ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen ligand temelli sanal tarama çalışması kapsamında, nikotinamit, sirtinol ve kambinolün içerisinde bulunduğu çalışma setinden hareketle oluşturulan farmakofor model kullanılarak substrat kompetitif SIRT2 inhibitörü olan ICL-SIRT078 (**10**) (SIRT2 $IC_{50}=1,5 \mu M$; SIRT1 ve SIRT3 $IC_{50} >100 \mu M$) keşfedilmiştir. Bileşiğin, insan MCF-7 meme kanseri hücre hattında α -tubulin hiperasetilasyonuna neden olduğu ve rat N27 dopaminerjik nöronal hücre hattında belirgin bir nöroprotektif etki gösterdiği bildirilmiştir [133] (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Bileşik 8-10 kimyasal yapısı

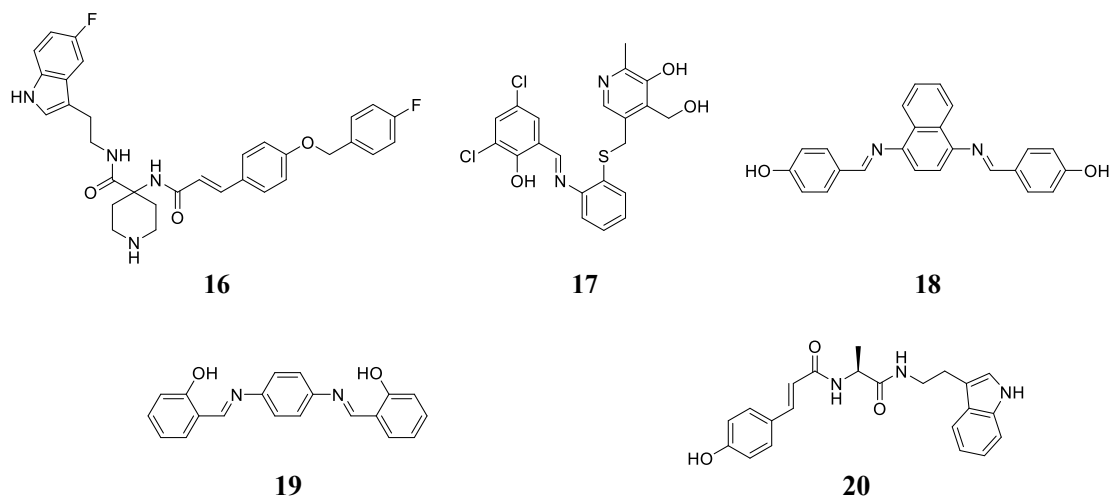
Bedalov ve arkadaşlarının 2001 yılında gerçekleştirdiği SIRT enzim inhibitör etkili bileşiklerin keşfi amacıyla gerçekleştirdikleri hücre temelli tarama çalışması sonucunda splitomisin (**11**) keşfedilerek, doğrudan maya sirtuinleri üzerine inhibitör etkili olduğu, ancak insan sirtuin enzimlerine karşı etki göstermediği bildirilmiştir [134] (Şekil 2.6). Bunu takiben, Neugebauer ve çalışma ekibinin 2008 yılında yaptığı çalışmada splitomisin temel alınarak β -aril yapısına sahip bir dizi bileşik sentezlemiş, bu türevler arasında Bileşik **12**'nin (SIRT2 $IC_{50}=1,5 \mu M$) ve **13** numaralı bileşiğin *R*-enantiyomerinin (SIRT2 $IC_{50}=1 \mu M$) SIRT2 enzimini güçlü bir şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir. Ancak, bu splitomisin türevlerinin yüksek lipofilik özellikleri nedeniyle MCF-7 hücrelerinde proliferasyonu düşük düzeyde baskıladıkları ifade edilmiştir [135] (Şekil 2.6). İlerleyen yıllarda, Rotili ve arkadaşları tarafından splitomisin benzeri kumarin ve pirimidin yapıları yeni bileşikler geliştirilmiş; bunlar arasında öne çıkan MC2141'in (**14**) selektif SIRT2 inhibitörü olduğu (SIRT2 $IC_{50}=10 \mu M$; $50 \mu M$ konsantrasyonda SIRT1 %8,9 inhibisyon) bildirilmiştir. Ayrıca, bileşiğin insan U937 lösemi hücre hattında apoptoz ve hücre farklılaşması üzerinde etkilere sahip olduğu belirtilmiştir [136] (Şekil 2.6).

Freitag ve arkadaşları, splitomisin (**11**) yapısındaki lakton halkasının hidroliz edilerek laktam formuna dönüştürüldüğü türevlerinde biyolojik aktivitenin kaybolduğunu gözlemlemişlerdir. Bu nedenle, lakton halkasını biyoizosterik heterosiklik halkalarla değiştirmeyi hedeflemişlerdir. Bu yaklaşımla, benzimidazoltiyon ana iskeletine sahip **15** numaralı SIRT2 inhibitörüne (SIRT2 $IC_{50}=5 \mu M$; SIRT1 $IC_{50}=7,7 \mu M$; $50 \mu M$ konsantrasyonda SIRT3 $<10\%$ inhibisyon) ulaşmışlardır [137] (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Bileşik 11-15 kimyasal yapısı

Tervo ve arkadaşları, 2006-2008 yılları arasında yürüttükleri, SIRT2 enzimi X-ışını kristal yapısına dayalı moleküler modelleme çalışmaları sonucunda, farklı kimyasal yapılar sahip ve SIRT2 üzerinde inhibitör etki gösteren çeşitli bileşikler bildirmişlerdir: TRIPOS-360702 (**16**) (SIRT2 $IC_{50}=51 \mu M$), **17** (SIRT2 $IC_{50}=74,3 \mu M$), **18** (SIRT2 $IC_{50}=137,4 \mu M$), **19** (SIRT2 $IC_{50}=58,4 \mu M$) ve **20** (SIRT2 $IC_{50}=47 \mu M$) [138-141] (Şekil 2.7).

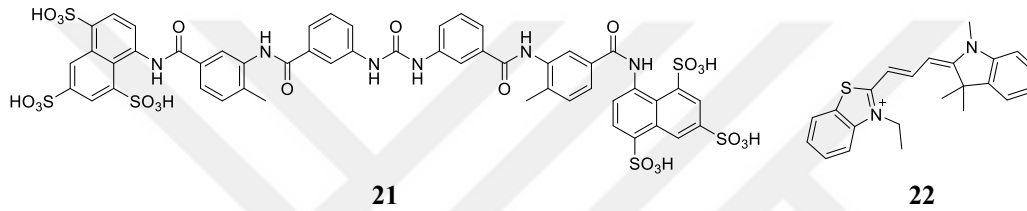


Şekil 2.7. Bileşik 16-20 kimyasal yapısı

Trapp ve arkadaşları, tripanozomiyazis ve onkoserkiyazis tedavisinde kullanılan simetrik polianiyonik naftilüre yapısındaki suraminin (**21**), SIRT enzimleri üzerindeki etkisini

araştırılmışlar ve dual SIRT1/SIRT2 inhibitör etkili (SIRT2 $IC_{50}=1,15 \mu M$; SIRT1 $IC_{50}=0,30 \mu M$) olduğunu tespit etmişlerdir [142] (Şekil 2.8).

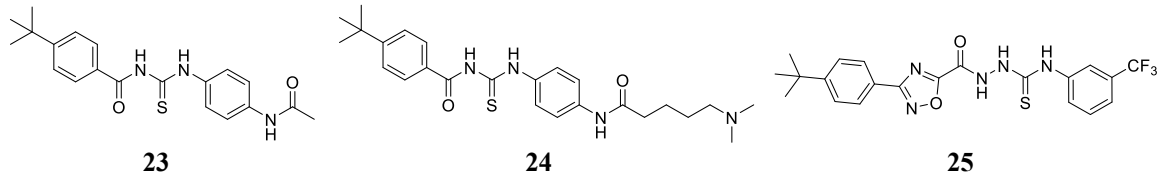
2009 yılında Zhang ve arkadaşları tarafından AC-93253 (**22**) kodlu bileşik (SIRT2 $IC_{50}=6 \mu M$; SIRT1 $IC_{50}=45,3 \mu M$; SIRT3 $IC_{50}=24,6 \mu M$) etkili ve selektif bir SIRT2 inhibitörü olarak tanımlanmıştır. Ayrıca bileşiğin, α -tubulin, p53 ve histon H4 asetilasyonunu indüklediği; insan A549 ve NCI-H460 akciğer kanseri, DU145 prostat kanseri ile Mia PaCa2 pankreas kanseri hücrelerinde apoptozu indükleyerek sitotoksik etkilere yol açtığı bildirilmiştir [143] (Şekil 2.8).



Şekil 2.8. Bileşik 21 ve 22 kimyasal yapısı

Lain ve arkadaşları, p53 geni indüksiyonu yapan küçük moleküllerin keşfi amacıyla gerçekleştirdikleri hücre temelli tarama çalışması sonucunda, tenovin-1'i (**23**) keşfetmişlerdir. Tenovin-1'in p53 hiperasetilasyonu aracılığıyla BL2 Burkitt lenfoma ve ARN8 melanoma hücrelerinde sitotoksikiteye yol açtığı ve tümör büyümesini azalttığını bildirmiştir. Ancak bu bileşiğin suda çözünürlüğünün yeterli düzeyde olmaması sebebiyle yapı üzerinde optimizasyon çalışmaları yürütülmüş ve insan ARN8 melanoma hücrelerinde tenovin-1'e göre daha etkili bulunan tenovin-6 (**24**) (SIRT2 $IC_{50}=10 \mu M$; SIRT1 $IC_{50}=21 \mu M$; SIRT3 $IC_{50}=67 \mu M$) bileşiğine ulaşılmıştır [144] (Şekil 2.9).

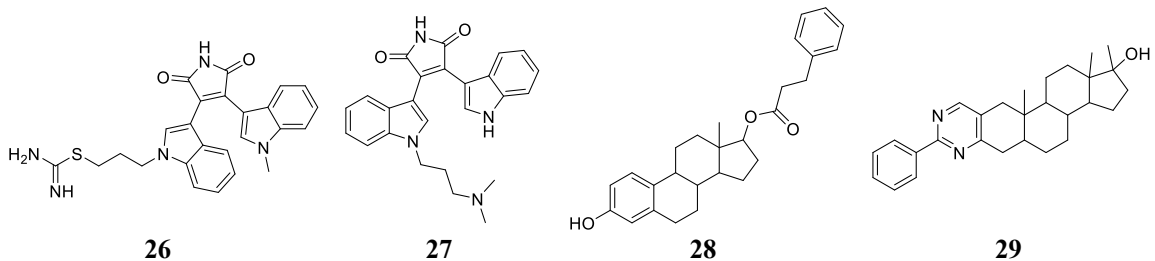
Huhtiniemi ve çalışma grubunun gerçekleştirdiği sanal tarama çalışması sonucunda ulaşılan oksadiazol-karbonilaminotiyöre iskeleti taşıyan Bileşik **25**'in, (SIRT2 $IC_{50}=57 \mu M$; SIRT1 $IC_{50} > 100 \mu M$) güçlü ve selektif bir SIRT2 inhibitörü olduğu tespit edilmiştir [145] (Şekil 2.9).



Şekil 2.9. Bileşik 23-25 kimyasal yapısı

Trapp ve arkadaşlarının 2006 yılında yaptığı çalışmada, sirtuinlerin kullandığı NAD^+ kofaktörü ile kinaz enzimlerinin kullandığı ATP yapısının ortak olarak adenosin taşıması sebebiyle kinaz inhibitörlerinin SIRT enzimleri üzerinde inhibitör etki gösterip göstermeyeceği araştırılmıştır. Çalışma kapsamında test edilen 84 adet kinaz inhibitörün arasında, bisindolmaleimit yapısında PKC inhibitörü olan Ro31-8220'nin (**26**) (SIRT2 $\text{IC}_{50}=0,8 \mu\text{M}$; SIRT1 $\text{IC}_{50}=3,5 \mu\text{M}$) ve GF109203X'in (**27**) (SIRT2 $\text{IC}_{50}=7,3 \mu\text{M}$; SIRT1 $\text{IC}_{50}>50 \mu\text{M}$) güçlü birer SIRT1/2 inhibitörü olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, bileşiklerin insan A549 akciğer kanseri hücrelerinde α -tubulin hiperasetilasyonunu indüklediği açıklanmıştır [146] (Şekil 2.10).

Schlicker ve arkadaşları, gerçekleştirdikleri sanal tarama çalışmasında **28** (SIRT2 $\text{IC}_{50}=4,8 \mu\text{M}$) ve **29** (SIRT2 $\text{IC}_{50}=9,7 \mu\text{M}$) numaralı bileşikler güçlü ve selektif birer SIRT2 inhibitör olarak bildirmişlerdir. Çalışma kapsamında, **28** numaralı bileşiğin insan HEK293T embriyonik böbrek hücresinde yüksek sitotoksite sergilediği açıklanmıştır. Ayrıca, Bileşik **29**'un, α -tubulin Lys40 deasetilasyonunu anlamlı düzeyde azalttığı görülmüş ve yapısal özellikleri nedeniyle yan etki profili düşük SIRT2 inhibitörlerinin tasarımı için umut verici bir bileşik olabileceği belirtilmiştir [147] (Şekil 2.10).

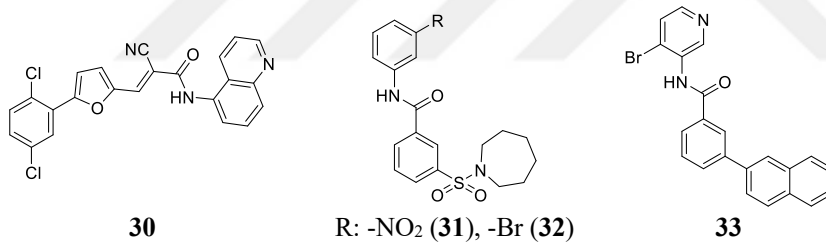


Şekil 2.10. Bileşik 26-29 kimyasal yapısı

Outeiro ve arkadaşları tarafından bildirilen AGK2 (**30**) (SIRT2 $\text{IC}_{50}=3,5 \mu\text{M}$; SIRT1 $\text{IC}_{50}=30 \mu\text{M}$; SIRT3 $\text{IC}_{50}=91 \mu\text{M}$) ve AK-1 (**31**) (SIRT2 $\text{IC}_{50}=12,5 \mu\text{M}$; SIRT1 ve SIRT3 $\text{IC}_{50}>50 \mu\text{M}$) kodlu bileşiklerin, güçlü ve selektif bir şekilde SIRT2 inhibisyonu gerçekleştirdikleri

rapor edilmiştir. Bileşiklerin, Parkinson hastalığına ait hücresel modelde dopaminerjik hücre ölümüne karşı koruma sağladıkları ve α -sinüklein toksisitesini ortadan kaldırdıkları da açıklanmıştır [148] (Şekil 2.11).

Taylor ve arkadaşlarının, SIRT2 inhibisyonunun *in vitro* Huntington hastalığı modelinde kolesterol biyosentezinin nöroprotektif olarak azaltılmasına aracılık ettiğini öne sürerek gerçekleştirdikleri çalışma sonucunda, AK-7 (**32**) bileşiğini selektif SIRT2 inhibitörü (SIRT2 IC_{50} =15,5 μ M; SIRT1 ve SIRT3 IC_{50} >50 μ M) olarak tanımlamışlardır. Bu bileşiğin, SREBP-2 çalışma mekanizmasını etkileyerek kolesterol biyosentezinin baskılamasına neden olduğu ve vahşi-tip fare modelinde kolesterol seviyesini azalttığı gözlemlenmiştir [101]. İlerleyen yıllarda, Sakai ve ekibi tarafından yürütülen bir çalışmada, AK-7 (**32**) bileşiğinin SIRT2 inhibitör potansiyelini iyileştirmek amacıyla gerçekleştirilen yapısal modifikasyonlar ile benzamit türevi Bileşik **33** (SIRT2 IC_{50} =0,6 μ M; SIRT1 ve SIRT3 IC_{50} >100 μ M) keşfedilmiş, bu bileşiğin nörodejeneratif hastalıklar ve kanser tedavisi için potansiyel bir ilaç adayı olabileceği belirtilmiştir [149] (Şekil 2.11).

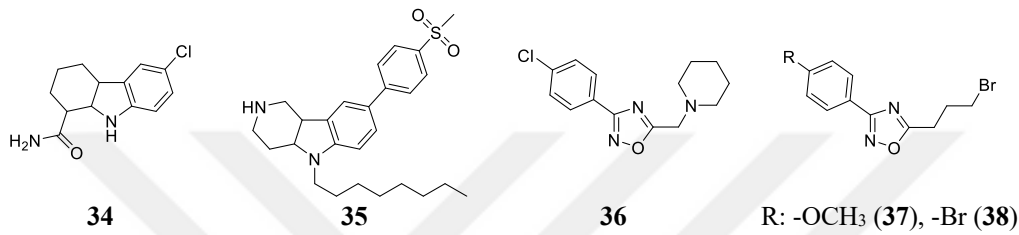


Şekil 2.11. Bileşik 30-33 kimyasal yapısı

Yang ve arkadaşlarının 2015 yılında SIRT2 inhibitörlerinin keşfi amacıyla gerçekleştirdiği çalışması sonucunda, selektif SIRT1 inhibitörü olan EX-527 bileşiğinin (**34**) yapısındaki 2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-karbazol iskeletinden hareketle ulaşılan **35** numaralı bileşiğin (SIRT2 IC_{50} =3,8 μ M ve SIRT1 IC_{50} =16,7 μ M), SIRT2 enzimine karşı inhibitör aktiviteye sahip olduğu açıklanmış, insan MDA-MB-231 meme kanseri ve HepG2 karaciğer hücre hatlarında, asetillenmiş p53 ve α -tubulin seviyelerini artırdığı western blot analizleri ile göstermiştir [150] (Şekil 2.12).

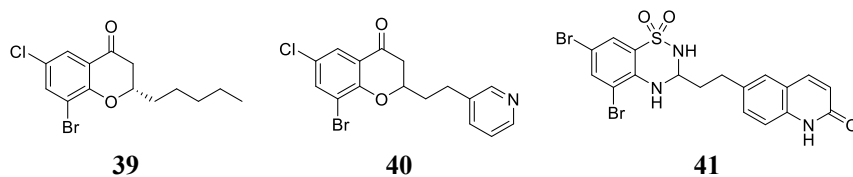
Moniot ve arkadaşları, daha önce sanal tarama yöntemiyle tanımlanmış olan CSC37 (**36**) kodlu bileşikten [147] yola çıkılarak geliştirdikleri, 1,2,4-oksadiazol iskeletine sahip yeni bir SIRT2 inhibitörleri serisini tanımlamışlardır. Bu seride yer alan bileşikler, insan lösemi

(U937, NB4, HL-60 ve K562) ve meme kanseri (MDA-MB-231) hücre hatlarında test edilmiş; **37** numaralı bileşik (SIRT2 IC_{50} =10,4 μ M), NB4, K562 ve MDA-MB-231 hücrelerinde 25 μ M konsantrasyonda %80'in üzerinde apoptoz indüklerken, **38** numaralı bileşik (SIRT2 IC_{50} =1,5 μ M) yalnızca 10 μ M konsantrasyonda NB4 hücrelerinde benzer düzeyde apoptoz oluşturabilmiştir. Bu bileşiklerin NB4 hücrelerinde asetillenmiş α -tubulin asetilasyonunun arttığı gözlemlenmiş ve bu bulgular, bileşiklerin etkisinde SIRT2 inhibisyonunun rol oynadığını doğrulamıştır [26] (Şekil 2.12).



Şekil 2.12. Bileşik 34-38 kimyasal yapısı

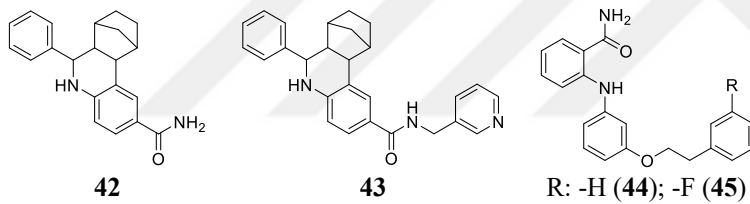
Seifert ve araştırma grubu, kromon ve kroman-4-on yapısında bir seri bileşik sentezlemiş, bunlardan **39** numaralı bileşiğin *S*-enantiyomerinin düşük mikromolar seviyede ve yüksek düzeyde selektif SIRT2 inhibitör etki gösterdiğini (SIRT2 IC_{50} =1,5 μ M; 200 μ M konsantrasyonda SIRT1 %3,5 inhibisyon; SIRT3 %3,9 inhibisyon) bildirmişlerdir [151] (Şekil 2.13). Devamında gerçekleştirilen yapı-etki çalışmaları ile ulaşılan Bileşik **40** (SIRT2 IC_{50} =3,7 μ M; 200 μ M konsantrasyonda SIRT1 %9,8 inhibisyon; 200 μ M konsantrasyonda SIRT3 %28 inhibisyon) selektif bir SIRT2 inhibitörü olarak tanımlanmıştır. Bununla birlikte, insan A549 akciğer kanseri ve MCF-7 meme kanseri hücre hatlarında güçlü antiproliferatif etki gösterdiği ve α -tubulin asetilasyonunu doz bağımlı şekilde artırdığı belirtilmiştir [152]. Devamında, kromon iskeletinin benzotiyadiazin-1,1-dioksit halka sistemi ile değiştirilmesiytle Bileşik **41** elde edilmiş, bileşiğin etkili bir SIRT2 inhibisyonu gerçekleştirdiği (200 μ M konsantrasyonda SIRT2 %74 inhibisyon; SIRT1 %25 inhibisyon; SIRT3 %28 inhibisyon) bildirilmiştir [153] (Şekil 2.13).



Şekil 2.13. Bileşik 39-41 kimyasal yapısı

Hoffmann ve araştırma ekibi tarafından SIRT2 inhibitörü olarak bildirilen AEM1 (**42**) (SIRT2 IC_{50} =18,5 μ M; SIRT1 IC_{50} >100 μ M) ve AEM2 (**43**) (SIRT2 IC_{50} =3,8 μ M; SIRT1 IC_{50} >100 μ M) kodlu bileşiklerin insan H1299 ve A549 akciğer kanseri hücre hatlarında SIRT2 bağımlı p53 deasetilasyonunu azalttıkları ve apoptozu indükledikleri tespit edilmiştir [154] (Şekil 2.14).

Suzuki ve arkadaşları, 2-anilinobenzamit yapısındaki bileşiklerle gerçekleştirdikleri çalışma sonucunda, güçlü ve selektif SIRT2 inhibisyonu gösteren NCO-90 (**44**) (SIRT2 IC_{50} =1 μ M; SIRT1 ve SIRT3 IC_{50} >300 μ M) ve NCO-141 (**45**) (SIRT2 IC_{50} =0,57 μ M; SIRT1 ve SIRT3 IC_{50} >300 μ M) kodlu bileşikleri elde etmişlerdir. Aynı araştırma grubunun gerçekleştirdiği başka bir çalışmada ise, her iki bileşiğin de lösemi hücre hatlarında kaspaz aktivasyonunu ve mitokondriyal süperoksit oluşumunu tetikleyerek apoptozu indüklediği, bunun yanında insan HCT116 kolon kanser hücre hattında α -tubulin asetilasyonunu doz bağımlı olarak artırdığı belirtilmiştir [155, 156] (Şekil 2.14).



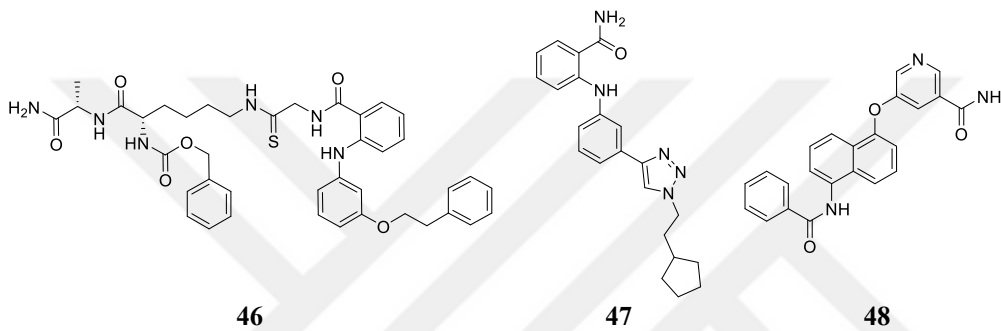
Şekil 2.14. Bileşik 42-45 kimyasal yapısı

Suzuki ve arkadaşları, SIRT2:NCO-90 kompleksine ait X-ışını kristal yapısını (PDB: 5Y5N) aydınlatmışlar; SIRT2 inhibisyonu için hem selektivite cebine hem de NAD^+ bağlanma bölgesine bağlanabilecek yeni bileşiklere ulaşmak için 2-anilinobenzamit türevlerinin amit grupları üzerinden değişikliğe giderek KPM-2 (**46**) kodlu bileşiği (SIRT2 IC_{50} =0,06 μ M; SIRT1 IC_{50} =1,6 μ M; SIRT3 IC_{50} =9,5 μ M) keşfetmişlerdir. Bileşik, insan MCF-7 ve MDA-MB-231 meme kanseri hücre hatlarında güçlü antiproliferatif etki göstermesinin yanı sıra fare Nöro-2a nöroblastoma hücrelerinde sinirlerde veya çevresel sinir sisteminin tamamında görülen bir enflamasyon olan nöritise yol açmıştır [157] (Şekil 2.15).

2014 yılında Tatum ve araştırma grubu, gerçekleştirdikleri tarama çalışmalarıyla 1,2,3-triazol çekirdeğine sahip 2-anilinobenzamit türevlerine ulaşmışlardır. Bu türevlerden,

A1B11 (**47**) (SIRT2 $IC_{50}=5,3 \mu M$; SIRT1 ve SIRT3 $IC_{50} >100 \mu M$) kodlu bileşik selektif SIRT2 inhibitörü olarak ön plana çıkmıştır [158] (Şekil 2.15).

Cui ve arkadaşları, fragman-temelli yaklaşımla suramin benzeri naftalen-benzamit veya naftalen-nikotinamit yapılarında bileşikler tasarlamışlardır. Bunlardan Bileşik **48**'in, nanomolar seviyede selektif SIRT2 inhibisyonu (SIRT2 $IC_{50}=0,05 \mu M$; SIRT1 $IC_{50}=10,2 \mu M$; SIRT3 $IC_{50}=44,2 \mu M$) sergilerken, α -tubulin asetilasyonunu doz ve zaman bağımlı olarak artırdığı gözlemlenmiştir [159] (Şekil 2.15).

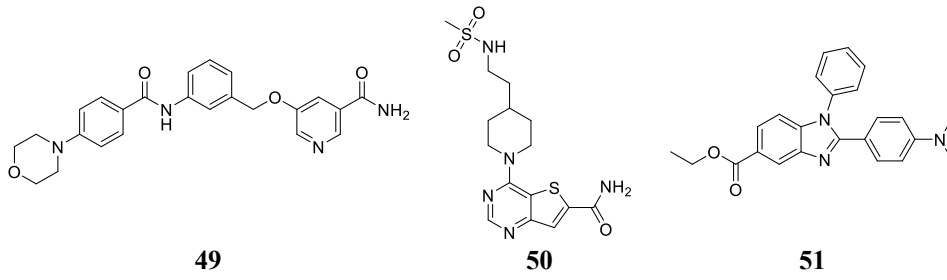


Şekil 2.15. Bileşik 46-48 kimyasal yapısı

Ai ve çalışma grubu, gerçekleştirdikleri tarama çalışmaları sonucunda, 5-((3-amidobenzil)oksi)nikotinamit türevi Bileşik **49**'u (SIRT2 $IC_{50}=0,02 \mu M$; SIRT1 $IC_{50}=6,6 \mu M$; SIRT3 $IC_{50}=1,87 \mu M$) güçlü ve selektif bir SIRT2 inhibitörü olarak elde etmişlerdir. Bu bileşiğin insan SH-SY5Y nöroblastoma hücrelerinde α -sinüklein agregasyonu ile indüklenen sitotoksiteyi önemli derecede azalttığı belirlenmiştir [160] (Şekil 2.16).

Disch ve arkadaşlarının, DNA'yı hedefleyen ve heterosiklik halkalarca zengin bileşikler üzerinden gerçekleştirdiği sanal tarama çalışması sonucunda, tiyeno[3,2-*d*]pirimidin-6-karboksamit türevi **50** (SIRT2 $IC_{50}=1 \text{ nM}$; SIRT1 $IC_{50}=4 \text{ nM}$; SIRT3 $IC_{50}=7 \text{ nM}$) numaralı SIRT2 inhibitörü bildirilmiştir [161] (Şekil 2.16).

Yoon ve çalışma ekibi tarafından benzimidazol çekirdeği taşıyan bir seri bileşik tasarlanmış, bunlardan Bileşik **51**'in, dual SIRT1/SIRT2 inhibitör (SIRT2 $IC_{50}=28,7 \mu M$; SIRT1 $IC_{50}=54,2 \mu M$) etkili olduğu ve insan HCT116 kolon kanseri, MDA-MB-468 meme kanseri ile CCRF-CEM lösemi hücre hatlarında güçlü antikanser etkinlik gösterdiği açıklanmıştır [162] (Şekil 2.16).

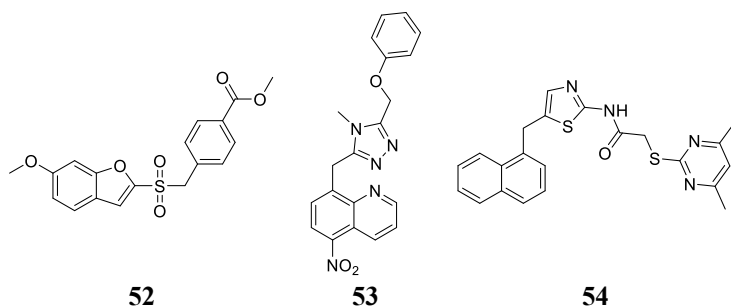


Şekil 2.16. Bileşik 49-51 kimyasal yapısı

Zhou ve araştırma grubu, bilinen selektif SIRT2 inhibitör yapılarında yer alan indol ve benzimidazol halkalarını benzofuran ile değiştirerek bir seri bileşik tasarlamış, Bileşik **52** selektif SIRT2 inhibitör etkisiyle (SIRT2 $IC_{50}=3,8 \mu M$; SIRT1 ve SIRT3 $IC_{50}>100 \mu M$) ön plana çıkmıştır [163] (Şekil 2.17).

Quinti ve arkadaşları tarafından keşfedilen kinolin türevi MIND4 (**53**) kodlu bileşiğinin doz bağımlı selektif SIRT2 inhibitörü olduğu (SIRT2 $IC_{50}=3,5 \mu M$) bildirilmiş, Huntington hastalığı modelinde sitoprotektif faktör NRF2 indüksiyonu ile nöroprotektif etki gösterdiği gösterilmiştir [164] (Şekil 2.17).

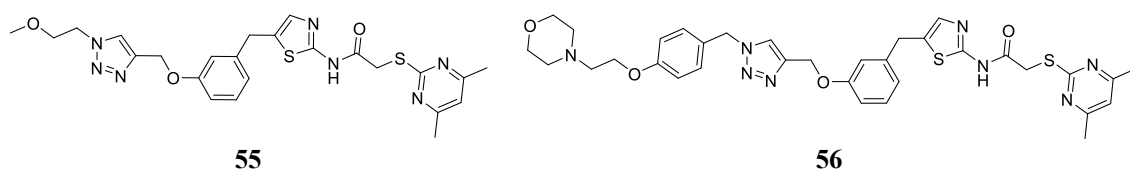
Rumpf ve çalışma grubu, kendi bileşik kütüphanelerini SIRT1-3 enzimlerine karşı taramış, çalışma sonucunda aminotiyazol türevi güçlü ve selektif SIRT2 inhibitörlerine ulaşmışlardır. Bunlar arasında SirReal2 (**54**) (Şekil 2.17), güçlü SIRT2 inhibitör etki profili (SIRT2 $IC_{50}=0,44 \mu M$; SIRT1 ve SIRT3 $IC_{50}>100 \mu M$) ile öne çıkan bileşik olmuştur. SirReal2'nin, insan HeLa servikal kanseri hücrelerinde α -tubulin hiperasetilasyonuna neden olduğu, hücre siklusunun kontrol noktası proteini BubR1'in destabilizasyonunu indüklediği ve çeşitli kanser hücre hatlarında (insan SW948, HCT116, HT29 kolon kanseri; A549 ve H520 akciğer kanseri; K562 lösemi; CFPAC1 ve ASPC1 pankreas kanseri hücre hattı) sitotoksik etki gösterdiği açıklanmıştır. Aynı araştırma grubu insan SIRT2 enziminin SirReal2 ile meydana getirdiği kompleksin yapısını X-ışını kristallografisi ile aydınlatmıştır (PDB: 4RMG) [37].



Şekil 2.17. Bileşik 52-54 kimyasal yapısı

Schiedel ve arkadaşları, SIRT2:SirReal2 kompleksinde SirReal2'nin aktif bölgedeki biyoaktif konformasyonundan hareketle, SirReal2 bileşiğinin substrat bağlanma bölgesine uzanan kısmı 1,2,3-triazol halkası ile uzatılarak triazol-SirReal türevi MZ-242 (**55**) kodlu bileşik, selektif SIRT2 inhibitörü (SIRT2 $IC_{50}=0,118 \mu M$; SIRT1 ve SIRT3 $IC_{50}>100 \mu M$) olarak tanımlanmıştır [165] (Şekil 2.18).

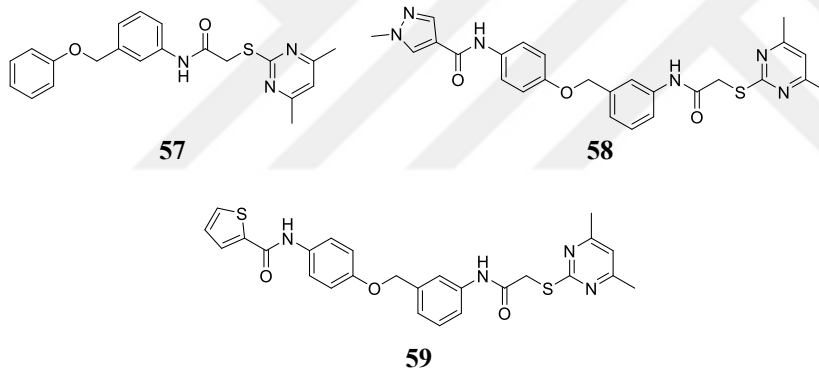
Vogelmann ve çalışma ekibi, 1,2,3-triazol halkası ile uzatılmış SirReal2 türevlerini temel olarak selektif SIRT2 inhibisyonunu daha güçlü hale getirmek için gerçekleştirdikleri çalışma kapsamındaki bileşiklerden morfolin-SirReal türevi MorSirReal (**56**) kodlu bileşiğin (SIRT2 $IC_{50}=0,12 \mu M$ (deasetilasyon); SIRT2 $IC_{50}=2,4 \mu M$ (demiristoilasyon)) güçlü bir SIRT2 inhibitörü etkisine sahip olduğu ve PC-3M-luc metastatik androjen bağımsız prostat kanseri hücrelerinde hem SIRT2 aracılı deasetilasyonu hem de demiristoilasyonu baskıladığı, dolayısıyla c-Myc miktarını azaltıp hücre göçünü inhibe ettiği ve KRAS4a onkoproteinini açılmasını indüklediği bildirilmiştir [86] (Şekil 2.18).



Şekil 2.18. Bileşik 55 ve 56 kimyasal yapısı

Yang ve araştırma grubu, SirReal2 (**54**) üzerinde gerçekleştirdikleri öncü bileşik optimizasyonu çalışması sonucunda, *N*-(3-(fenoksimetil)fenil)asetamit yapıları **57** numaralı bileşiği (SIRT2 $IC_{50}=25,9 \mu M$) ile SIRT2 enzimi kompleksine ait X-ışını kristal yapısını (PDB: 5YQL) aydınlatmışlardır [166]. Bileşik **57**'nin SIRT2 aktif bölgesinde selektivite cebinin oluşumunu indükleyip etkileşimler kurduğu, ancak, substrat bağlanma cebinde

SirReal türevlerinde gözlenen etkileşimleri sağlamadığı görülmüştür. Bunun üzerine yapı temelli optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiş; substrat bağlanma bölgesiyle etkileşim kurup bu bölgeye bağlanmayı sağlayabilmek için bileşiklerin yapılarına amit köprüsüyle çeşitli heterosiklik halkalar eklenerek *N*-(3/4-(fenoksimetil)fenil)asetamit türevleri olan **58** (SIRT2 IC₅₀=0,82 µM; SIRT1 ve SIRT3 IC₅₀ >100 µM) ve **59** numaralı (SIRT2 IC₅₀=3,41 µM; SIRT1 ve SIRT3 IC₅₀ >100 µM) selektif ve güçlü SIRT2 inhibitör bileşiklere ulaşılmıştır. Substrat bölgesinde hedeflenen etkileşimlerin sağlandığı, yapısı aydınlatılan SIRT2:Bileşik **58** kompleksi (PDB: 5YQO) [166] ile gösterilmiş; bu bölgede F96 ile R97 etkileşimlerinin inhibitör etki için önemli olduğu ifade edilmiştir. Çalışmalar, Bileşik **58**'in H441 insan küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücrelerinde; Bileşik **59**'un ise insan MCF-7 meme kanseri hücrelerinde doza bağlı olarak α-tubulinin asetilasyon seviyelerini anlamlı düzeyde artırdığı, bileşiklerin bu sayede bu hücrelerin büyümesini, göç etmesini ve invazyonunu baskıladıkları bildirilmiştir [167] (Şekil 2.19).

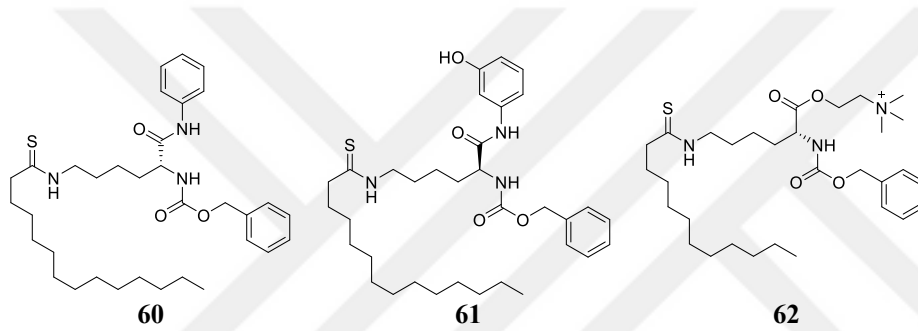


Şekil 2.19. Bileşik 57-59 kimyasal yapısı

2016 yılında Jing ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen çalışma ile, c-Myc ilişkili kanser türlerinin tedavisi için SIRT enzimlerini hedefleyen ve bu enzimlerin substratlarına benzer alifatik açıl grupları taşıyan tiyoaçıl lizin türevleri bildirilmiştir. Bu bileşiklerden mekanizma temelli selektif SIRT2 inhibitörü olarak tanımlanan TM (tiyomiristoil) kodlu bileşiğin (**60**) (SIRT2 IC₅₀=0,03 µM; SIRT1 IC₅₀=98 µM; SIRT3 IC₅₀ >200 µM) farklı kanser hücre hatlarında c-Myc seviyelerini azaltarak antikanser etkiye yol açtığı açıklanmıştır [168, 169]. TM bileşiğinin çözünürlük problemi nedeniyle; ilaç olabilirlik özellikleri iyileştirilmiş farklı türevlerinin tasarımına ihtiyaç duyulmuş; elde edilen TM analogu JH-T4 (**61**) kodlu bileşiğin (SIRT2 IC₅₀=0,03-0,05 µM), hem asetil grubunun hem de açıl gruplarının uzaklaştırılmasına olanak verdiği ve hatta TM'den farklı olarak KRAS4a onkoprotein seviyelerini azaltarak

antikanser etkinlik gösterdiği açıklanmıştır [170]. JH-T4'ün farklı kanser hücre hatlarında sitotoksik etki göstermesine karşın kanser olmayan hücrelerde de aynı etkiye sahip olduğu görüldüğü için daha ileri çalışmalara taşınamamıştır (Şekil 2.20).

Hong ve arkadaşları, 2019 yılında gerçekleştirdiği çalışmada SIRT2:TM kompleksine ait X-ışını kristal yapısını (PDB: 6NR0) çözümlemiş ve bu yapıyı temel alarak geliştirdikleri TM analoglarından NH4-13'ün (**62**) güçlü ve selektif bir SIRT2 inhibitörü (SIRT2 $IC_{50}=0,09 \mu M$; SIRT1 ve SIRT3-6 $IC_{50}>50 \mu M$) olduğunu, ancak TM ile kıyaslandığında farklı kanser hücre hatlarında daha zayıf etkinlik göstermesinin yanında kanser olmayan hücrelerde de sitotoksik etkiye sahip olduğunu açıklamışlardır [171] (Şekil 2.20).

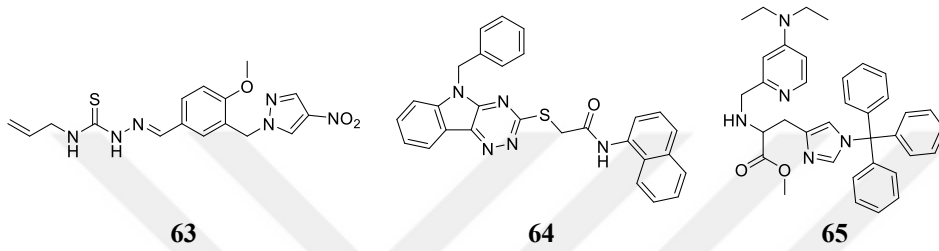


Şekil 2.20. Bileşik 60-62 kimyasal yapısı

Shah ve araştırma grubu tarafından gerçekleştirilen yüksek çıktılı tarama çalışmaları sonucu elde edilen RK-9123016 (**63**) kodlu bileşiğin, güçlü ve selektif bir SIRT2 inhibitör profili sergilediği (SIRT2 $IC_{50}=0,18 \mu M$; SIRT1 ve SIRT3 $IC_{50}>100 \mu M$) ve ökaryotik translasyon başlangıç faktörü eIF5A'nın asetilasyon seviyesini artırdığı, insan MCF-7 meme kanseri hücre hattında c-Myc miktarını azaltıp hücre büyümesini inhibe ettiği gösterilmiştir [172] (Şekil 2.21).

Huang ve arkadaşları, moleküler docking temelli gerçekleştirilen optimizasyon çalışmaları ile 2-((5-benzil-5H-[1,2,4]triazino[5,6-b]indol-3-il)tiyo)-N-(naftalen-1-il)asetamid yapısında SR86 (**64**) kodlu bileşik, güçlü ve selektif bir SIRT2 inhibitörü (SIRT2 $IC_{50}=1,3 \mu M$; SIRT1 ve SIRT3 $IC_{50}>100 \mu M$) olarak tanımlanmıştır. Bileşiğin, insan MCF-7 meme kanseri hücrelerinde α -tubulin deasetilasyonunu inhibe ederek hücre canlılığını azaltıcı etki gösterdiği belirtilmiştir [173] (Şekil 2.21).

Ali ve çalışma grubu, antikanser etkisi bilinen Bleomisin bileşiğinden yola çıkarak tasarladıkları tritilhistidin türevi bir seri bileşik arasından TH-3 (**65**) kodlu bileşiğin, güçlü SIRT2 inhibisyonu sağladığı (SIRT2 $IC_{50}=1,3 \mu M$) bildirmiştir. TH-3'ün, insan MCF-7 meme kanseri hücre hattında anlamlı düzeyde antiproliferatif etki gösterdiği belirtilmiştir. Ancak, gözlenen bu etkinliğin sadece SIRT2 inhibisyonuna bağlı olmadığı, DNA'da hasara neden olabilecek farklı bir mekanizmanın da etkili olabileceği ifade edilmiştir. [174] (Şekil 2.21).



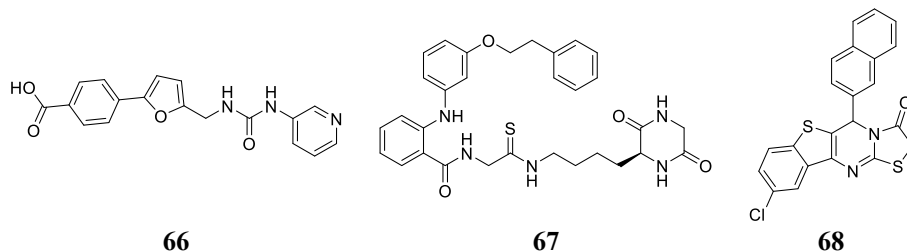
Şekil 2.21. Bileşik 63-65 kimyasal yapısı

Wang ve araştırma grubu, önceki çalışmalarında geliştirdikleri fluorometrik esasa dayanan aktivite tarama yöntemiyle kendi bileşik kütüphanelerini test ederek 4-(5-((3-(piridin-2-il)üreido)metil)furan-2-il)benzoik asit yapısında güçlü SIRT2 inhibitörü olan Bileşik **66**'yı (SIRT2 $IC_{50}=2,5 \mu M$) elde etmişlerdir [175] (Şekil 2.22).

Mellini ve arkadaşları, bilinen selektif SIRT2 inhibitörlerinin enzim aktif bölgesindeki bağlanma modlarından yararlanarak 2-anilinobenzamit türevi bir seri bileşik tasarlamış, bunların arasında Bileşik **67**'nin (SIRT2 $IC_{50}=0,3 \mu M$; SIRT1 $IC_{50}=77,4 \mu M$; SIRT3 $IC_{50}=69,2 \mu M$) yapısındaki 2-anilinobenzamit grubunun selektivite cebine bağlandığı, diketopiperazin halkasının ise substrat bağlanma bölgesinde hidrojen bağı etkileşimleri kurduğu görülmüştür. Bileşiğin, insan MCF-7 meme kanseri hücrelerinde güçlü antiproliferatif aktivite gösterdiği, bunun yanında fare Nöro 2a nöroblastoma hücrelerinde nöritlese yol açtığı bildirilmiştir [176] (Şekil 2.22).

2020 yılında tamamlanan bir çalışmada, benzotiyeno[3,2-*d*]pirimidin türevi bir seri bileşik tasarlamış ve bu bileşiklerin 60 farklı insan kanser hücre hattı üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Çalışma kapsamında, Bileşik **68** (SIRT2 $IC_{50}=2,10 \mu M$; SIRT1 $IC_{50}=1,81 \mu M$; SIRT3 $IC_{50}=20,5 \mu M$) sergilediği güçlü dual SIRT1/SIRT2 inhibitör etkisi ve insan UO-31

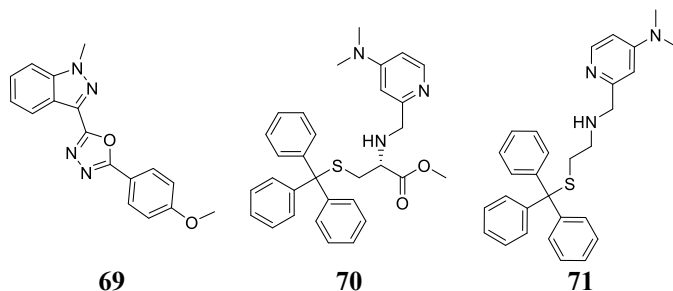
renal kanseri ile MCF-7 meme kanseri hücre hatlarında gösterdiği yüksek sitotoksik aktivite nedeniyle seri içerisinde öne çıkmıştır [177] (Şekil 2.22).



Şekil 2.22. Bileşik 66-68 kimyasal yapısı

Dukanya ve arkadaşlarının, oksadiazol halkası taşıyan SIRT2 inhibitörlerden hareketle tasarladığı, 2-(1-metil-1*H*-indazol-3-il)-5-aril-1,3,4-oksadiazol yapısında bir dizi bileşik içerisinde Bileşik 69, güçlü SIRT2 inhibitör etkisinin (SIRT2 IC₅₀=19,5 µM) yanında, insan HepG2 karaciğer kanseri hücreleri üzerinde yüksek sitotoksik aktivite de göstermiştir [178] (Şekil 2.23).

S-tritol-1-sistein çekirdeğine sahip bileşiklerin SIRT2 inhibitör etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada; STC4 (70) (SIRT2 IC₅₀=9,5 µM) kodlu bileşik, en etkili SIRT2 inhibitörü olarak ön plana çıkmıştır. Moleküler docking çalışmaları ile bileşiğe ait ester grubunun aktif bölgede N168 ile etkileşim kurduğu ve bu nedenle bileşiğin selektivite cebine yerleşmediği tespit edilmiştir. Bu bağlamda, ester grubu taşımayan yeni analoglar tasarlanmıştır. Bu analoglar arasında STCY1 (71) kodlu bileşik, en iyi SIRT2 inhibitör aktiviteyi (SIRT2 IC₅₀=7,5 µM) göstermiş, insan HeLa servikal kanseri, MCF-7 meme kanseri ve HL60 lösemi hücre hatlarında güçlü sitotoksik aktivite sergilemiştir [179, 180] (Şekil 2.23).

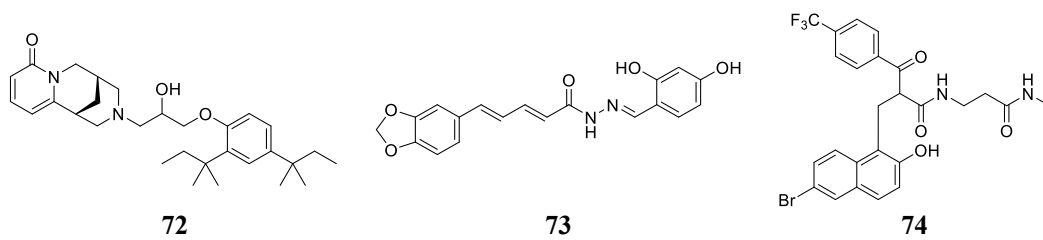


Şekil 2.23. Bileşik 69-71 kimyasal yapısı

Kudo ve arkadaşları tarafından keşfedilen NPD11033 (**72**) kodlu selektif SIRT2 inhibitörünün (SIRT2 $IC_{50}=0,46 \mu M$) eIF5A hiperasetilasyonuna neden olduğu ve bununla birlikte insan PANC-1 pankreas kanseri hücrelerinde hücre büyümesini inhibe ettiği açıklanmıştır [22] (Şekil 2.24).

2021 yılında fragman temelli ilaç tasarımı yaklaşımı kullanılarak gerçekleştirilen çalışmada, piperin iskeleti, resveratrol veya piceatannolün 1,3-dihidroksifenil grubuna bir azometin grubu ile bağlayarak piperin-resveratrol hibritleri tasarlanmış, Ulusal Kanser Enstitüsü (NCI) protokolüne uygun olarak, dokuz farklı dokuya ait altmış kanser hücre hattından oluşan bir panelde bileşiklerin etkileri değerlendirilmiştir. Bu hibritlerden Bileşik **73** (SIRT2 $IC_{50}=21 \mu M$; $50 \mu M$ konsantrasyonda SIRT1 %45 inhibisyon) en etkili SIRT2 inhibitörü olarak tanımlanmış, hücre döngüsü analizleri ile insan MCF-7 meme kanseri hücrelerinde %3,64 oranında pre- G_1 apoptozu indüklediği ve hücrelerin büyük bir kısmının G_2/M fazında biriktiği gösterilmiştir [181] (Şekil 2.24).

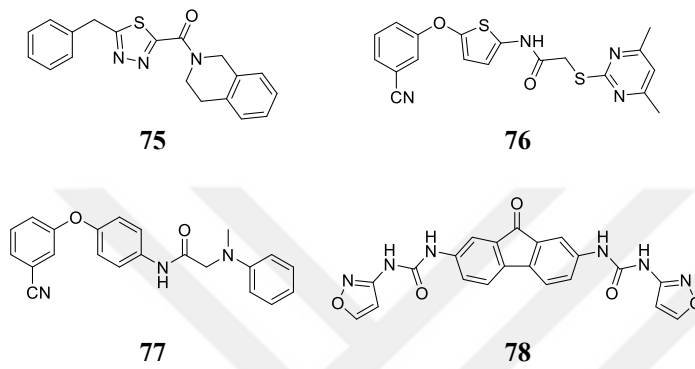
Chowdhury ve arkadaşları 2020 yılında, kambinolün (**8**) açık zincir analogu olan **74** numaralı bileşiği, etkin ve selektif bir SIRT2 inhibitörü (SIRT2 $IC_{50}=0,25 \mu M$; $50 \mu M$ konsantrasyonda SIRT1 <%25 inhibisyon; SIRT3 <%25 inhibisyon) olarak bildirmişler, bu bileşiğin B-hücre lenfoma hücre hatlarında apoptozu indüklediğini ve antiproliferatif aktivite gösterdiğini açıklamışlardır [182] (Şekil 2.24).



Şekil 2.24. Bileşik 72-74 kimyasal yapısı

Eren ve arkadaşları, gerçekleştirdikleri farmakofor temelli sanal tarama çalışması [38] ile ulaştıkları öncü bileşikler üzerinde optimizasyon çalışmaları yaparak yeni türevler tasarlamışlardır. Bu bileşiklerden, ST29 (**75**) (SIRT2 $IC_{50}=38,7 \mu M$) selektif SIRT2 inhibitörü olarak tanımlanmıştır. Bileşiğin insan MCF-7 meme kanseri hücre hattında gösterdiği sitotoksik etkinin SIRT2 ilişkili olabileceği ifade edilmiştir [183]. Devamında aynı araştırmacılar, *N*-(5-fenoksitiyofen-2-il)-2-(ariltilyo)asetamit yapısında ST44 (**76**)

(SIRT2 IC_{50} =6,5 μ M) [184], ST85 (**77**) (SIRT2 IC_{50} =5,74 μ M) [185] ve simetrik 2,7-disübstitüe-9*H*-floren-9-on yapısında SG3 (**78**) (SIRT2 IC_{50} =1,95 μ M) [186] kodlu selektif ve güçlü SIRT2 inhibitörleri elde edilerek; çıkış noktası bileşiklere göre çok daha etkili ve selektif türevlere ulaşılmıştır. Ayrıca ilgili bileşiklerin, asetile α -tubulin seviyelerini artırarak insan MCF-7 meme kanseri hücrelerinde antiproliferatif etki gösterdikleri rapor edilmiştir (Şekil 2.25).

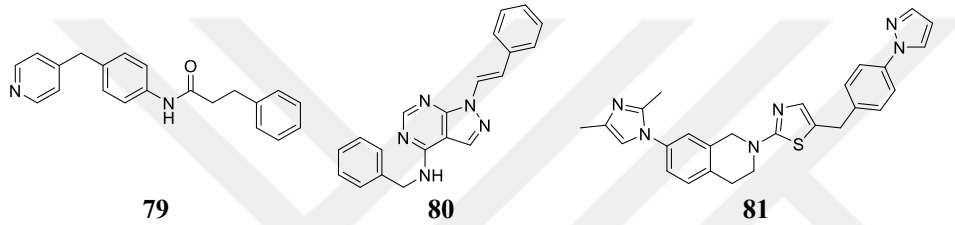


Şekil 2.25. Bileşik 75-78 kimyasal yapısı

Djokovic ve çalışma arkadaşları, yapı-temelli sanal tarama yaklaşımı ile SIRT2 bağlanma bölgesinin dinamiklerini belirleyen bir bilgisayar simülasyon protokolü geliştirmiş ve bu sayede güçlü ve selektif SIRT2 inhibitörü olan NDJ18 (**79**) kodlu bileşiği (SIRT2 IC_{50} =58,7 μ M) keşfetmişlerdir. Bileşiğin, insan MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattında hücre proliferasyonunu inhibe ederken apoptoz ve nekrozu indüklemeden G₂/M fazında uzamaya yol açtığı ifade edilmiş; epitelyal mezenşimal geçiş yollarında önemli bir belirteç olan E-kadherin ekspresyonunu artırarak invazyon ve metastaz riskini azaltıcı etkinlik gösterdiği bildirilmiştir [187] (Şekil 2.26).

2023 yılında Scarano ve arkadaşları tarafından farklı kimyasal yapılarda yeni SIRT2 inhibitörlerin tasarlanması amacıyla gerçekleştirilen yapı temelli sanal tarama çalışmasında, seçilen bileşikler üzerinde yapılan modifikasyonlar ile elde edilen pirazolo-pirimidin türevi Bileşik **80**'in yüksek SIRT2 inhibitör etkiye (150 μ M konsantrasyonda SIRT2 %81 inhibisyon; SIRT1 %76 inhibisyon; SIRT3 %33 inhibisyon) sahip olduğu belirtilmiştir [120] (Şekil 2.26).

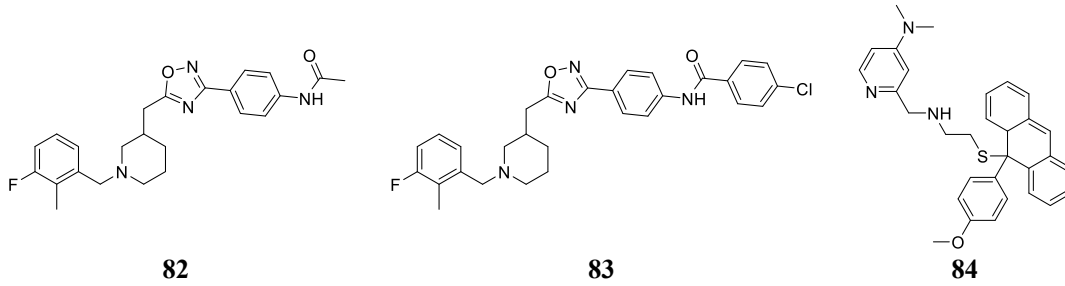
Roche ve çalışma ekibi, önemli epigenetik bir yollardan biri olan lizin asetilasyonunun, virüslerin konakçı hücredeki replikasyonu üzerinde etkili olduğunu belirtmiş ve bu doğrultuda, çeşitli RNA ve DNA virüsüne karşı etkili, SIRT2 izoformunu hedefleyen bir seri antiviral bileşik bildirmişlerdir. Bu bileşikler arasında yer alan FLS-359'un (**81**) (SIRT2 $IC_{50}=3-7 \mu M$; SIRT1 ve SIRT3 $IC_{50} > 100 \mu M$), SIRT2 enzimine bağlanarak (PDB: 7T1D) aktif bölgenin allosterik olarak yeniden düzenlenmesine neden olduğu ve konak hücresinde deasetilasyon seviyelerini düşürdüğü açıklanmıştır. Ayrıca bileşiğin, insan MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerinde c-Myc onkoprotein düzeyini ve insan HepG2 hepatoselüler karsinoma hücrelerinde α -tubulin deasetilasyonunu azalttığı belirtilmiştir [28] (Şekil 2.26).



Şekil 2.26. Bileşik 79-81 kimyasal yapısı

2024 yılında Colcerasa ve arkadaşları tarafından yürütülen çalışmada, TCMDC-143362 (**82**) (SIRT2 $IC_{50}=3,6 \mu M$ (deasetilasyon); SIRT2 $IC_{50}=11 \mu M$ (demiristoilasyon)) ve bu bileşikten hareketle tasarlanan Bileşik **83** (SIRT2 $IC_{50}=0,35 \mu M$ (deasetilasyon); $25 \mu M$ konsantrasyonda SIRT2 %18 inhibisyon (demiristoilasyon)) güçlü SIRT2 inhibitör profilleri ile ön plana çıkmıştır. Bileşik **83**'ün insan HeLa serviks kanseri hücrelerinin canlılığını azalttığı, insan PC-3M-Luc metastatik prostat kanser hücrelerinde ise hücre göçünü inhibe ettiği gösterilmiştir [188] (Şekil 2.27).

Badran ve çalışma ekibi tarafından yürütülen ligand temelli sanal tarama çalışması sonucunda, tritil histamin ve tritil sisteamin iskeletine sahip bir dizi bileşik tanımlanmıştır. Bu bileşikler arasında, Bileşik **84** (SIRT2 $IC_{50}=5,63 \mu M$) etkili bir SIRT2 inhibitörü olarak ön plana çıkmıştır. Yapılan biyolojik değerlendirmelerde, bu bileşiğin insan MCF-7 meme kanseri hücre hattında eIF5A asetilasyon düzeyini artırdığı ve hücre büyümesini inhibe ettiği belirlenmiştir. Ayrıca, gerçekleştirilen kanser hücre hattı paneli tarama çalışması sonucunda, Bileşik **84**'ün lösemi ve kolon kanseri hücrelerine karşı yüksek afinite gösterdiği bildirilmiştir [189] (Şekil 2.27).

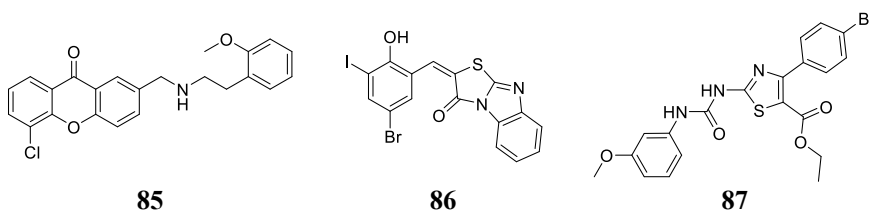


Şekil 2.27. Bileşik 82-84 kimyasal yapısı

Mazur ve arkadaşları, bilinen SIRT2 inhibitörleri üzerinde gerçekleştirdikleri yapı temelli tasarım çalışması sonucunda ksanton çekirdeğine sahip bir seri bileşik bildirmiş, Bileşik **85** (50 μ M konsantrasyonda SIRT2 %93,2 inhibisyon) çalışma kapsamında serinin en güçlü SIRT2 inhibitörü olarak tanımlanmıştır [190] (Şekil 2.28).

2024 yılında Yang ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen sanal tarama çalışması sonucunda ulaşılan 8008-3660 (**86**) kodlu bileşiğin (SIRT2 $IC_{50}=7$ μ M (deasetilasyon); SIRT2 $IC_{50}=37$ μ M (demiristoilasyon)) güçlü SIRT2 inhibisyonu gerçekleştirdiği ve insan A549 akciğer kanseri hücre hattında asetile α -tubulin seviyelerini artırdığı gösterilmiştir [191] (Şekil 2.28).

Piacente ve çalışma arkadaşları, tiyazol iskeletine sahip yeni SIRT2 inhibitörleri geliştirmek amacıyla bilinen inhibitörlerden yola çıkarak yapı temelli bir tasarım stratejisi benimsemişlerdir. Bu çalışma kapsamında sentezlenen bileşikler arasında, Bileşik **87** en güçlü SIRT2 inhibitörü olarak öne çıkmıştır (SIRT2 $IC_{50}=9$ μ M). Bileşiğin insan SCC-13 cilt skuamöz hücreli karsinom hücre hattında hücre canlılığını anlamlı şekilde azalttığı ve asetillenmiş α -tubulin düzeylerini artırdığı gösterilmiştir. Ayrıca, normal insan keratinosit hücre hattı (HaCaT) üzerinde belirgin sitotoksikite göstermemesi, bu bileşiğin terapötik seçiciliği açısından umut verici olduğunu ortaya koymaktadır [192] (Şekil 2.28).

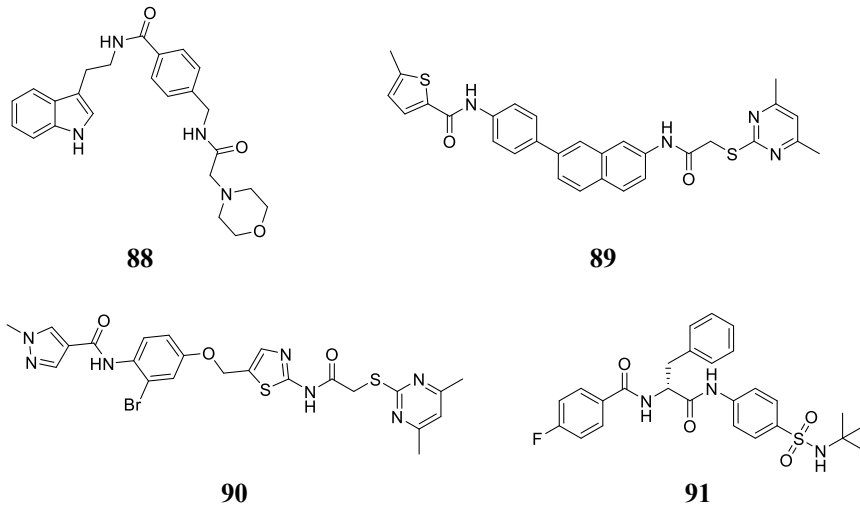


Şekil 2.28. Bileşik 85-87 kimyasal yapısı

Ali ve çalışma ekibi tarafından SIRT2 inhibitörü olabilecek indol türevi bileşikler tasarlanmış, bu bileşikler arasında AFJ1 (**88**) kodlu bileşiğin insan MCF-7 meme kanseri hücre hattı üzerinde yüksek sitotoksik etki gösterdiği açıklanmıştır [193] (Şekil 2.29).

Frei ve arkadaşları tarafından 2025 yılında yapı temelli hibritleşme stratejisinin uygulanmasıyla, oldukça güçlü ve selektif SIRT2 inhibitörleri geliştirilmiş ve bu sayede SirReal tipi inhibitörlerin yapı-etki ilişkilerine dair veriler önemli ölçüde genişletilmiştir. Elde edilen bileşiklerden naftalen merkez halkasına sahip FM69 (**89**) (SIRT2 $IC_{50}=0,15 \mu M$) [194] ve 5-(ariloksimetil)tiyazol türevi RW-93 (**90**) (SIRT2 $IC_{50}=0,016 \mu M$) [195] kodlu bileşikler sayesinde çalışmanın hedefini yakaladığı, gerçekleştirilen modifikasyonlarla çok daha etkili SIRT2 inhibitörlerine ulaşıldığı ifade edilmiştir (Şekil 2.29).

2025 yılında tamamlanan bir farmakofor ve moleküler docking temelli sanal tarama çalışması [196] sonunda aday olarak belirlenen bileşikler içersinden en güçlü SIRT2 inhibitör etkiyi Bileşik **91** ($IC_{50}=4,734 \mu M$) göstermiş, bileşiğin SIRT2 ile etkileşimi, insan H441 küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücrelerinde doz bağımlı α -tubulin asetilasyonu yoluyla doğrulanmıştır. Bileşiğin, çok yönlü mekanizmalar aracılığıyla H441 hücre proliferasyonunu güçlü bir şekilde baskıladığı ($IC_{50}=7,085 \mu M$), apoptozu anlamlı derecede indüklediği ve hem hücre göçünü hem de invazyonunu engelleyerek metastatik yetenekleri etkili biçimde durdurduğu bildirilmiştir. Ayrıca, H441 ksenograft modellerinde yapılan *in vivo* doğrulama ile, 30 mg/kg dozda $>63\%$ tümör büyümesi inhibisyonu teyit edilmiştir.



Şekil 2.29. Bileşik 88-91 kimyasal yapısı

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kimyasal Çalışmalar

3.1.1. Materyal

Çalışmalarımızda kullanılan çözücü ve rejanlar analitik saflıktadır. Kullanılan kimyasallar, Sigma-Aldrich (Almanya), Merck (Almanya), Abcr (Almanya), Isolab (Almanya) ve Carlo Erba (Almanya) firmalarının ürünleridir.

3.1.2. Genel sentez yöntemleri

Etil/metil arilasetat türevleri (1b-1d) [197]

Sentezlenecek bileşiğe uygun karboksilik asit türevi (1 ekivalan) ve katalitik miktar H_2SO_4 , etanol veya metanol içerisinde 6 saat boyunca geri çeviren soğutucu altında ısıtılır. Süre sonunda soğutulan reaksiyon ortamı alçak basınç altında yoğunlaştırılıp etil asetat ile çözülerek sırasıyla %5'lik $NaHCO_3$ çözeltisi (3x10 ml) ve %3'lük $NaCl$ çözeltisi (3x10 ml) ile ekstre edilir. Organik faz, susuz Na_2SO_4 ile kurutulup alçak basınç altında yoğunlaştırılarak elde edilen ham ürün, herhangi bir ek saflaştırma yapılmadan bir sonraki adımda kullanılır.

2-Arilasetohidrazit türevleri (2a-2e) [198]

Sentezlenecek bileşiğe uygun ester türevi (1a-1e, 1 ekivalan) ve hidrazin monohidrat (4 ekivalan), etanol veya metanol içerisinde 6 saat boyunca geri çeviren soğutucu altında ısıtılır. Süre sonunda soğutulan reaksiyon ortamı alçak basınç altında yoğunlaştırılır. Elde edilen ürün petrol eteriyle yıkanarak saflaştırılır. Elde edilen ürün, herhangi bir ek saflaştırma yapılmadan bir sonraki adımda kullanılır.

5-Arilmetil-1,3,4-oksadiazol-2-amin türevleri (3a-3e) [199]

Sentezlenecek bileşiğe uygun hidrazit türevi (2a-2e, 1 ekivalan) ve siyanojen bromür (1,2 ekivalan) etanol veya metanol içerisinde 6-8 saat arasında değişen sürelerde geri çeviren

soğutucu altında ısıtılır. Süre sonunda soğutulan reaksiyon ortamı alçak basınç altında yoğunlaştırılıp etil asetat ile çözülerek sırasıyla %5'lik NaHCO_3 çözeltisi (3x10 ml) ve %3'lük NaCl çözeltisi (3x10 ml) ile ekstre edilir. Organik faz, susuz Na_2SO_4 ile kurutulur ve alçak basınç altında yoğunlaştırılır. Elde edilen ürün uygun çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi veya kristalizasyon ile saflaştırılır.

5-(Arilmetil)-1,3,4-tiyadiazol-2-amin türevleri (3f-3i) [200]

Uygun fenilasetik asit türevi (1 ekivalan) ve tiyosemikarbazit (1,1 ekivalan) POCl_3 içerisinde 1 saat boyunca 80 °C'de ısıtılır. Süre bitiminde soğutulan reaksiyon ortamına su ilave edilerek 4 saat boyunca geri çeviren soğutucu altında ısıtılır. Süre sonunda reaksiyon ortamı doymuş NaHCO_3 çözeltisi ile pH=8-9 olarak ayarlanır ve çöken katı süzülür. Elde edilen ürün uygun çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılır.

2-Bromo-N-(arilmetil-1,3,4-tiyadiazol-2-il)asetamid türevleri (4f-4i) [185]

Uygun amin türevi (3f-3i, 1 ekivalan) ve trietilaminin (1,1 ekivalan) diklorometan içerisindeki çözeltisine, 2-bromoasetil bromür (1,2 ekivalan) 0 °C'de damla damla ilave edilir ve 2-4 saat arasında değişen sürelerde oda sıcaklığında karıştırılır. Süre sonunda reaksiyon ortamı alçak basınç altında yoğunlaştırılıp diklorometan ile çözülerek 0,1 M HCl (3x10 ml) ile ekstre edilir. Organik faz, susuz Na_2SO_4 ile kurutulur ve alçak basınç altında yoğunlaştırılır. Elde edilen ürün uygun çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılır.

N-(Arilmetil-1,3,4-oksadiazol-2-il)-2-(ariltiy)asetamid (BA1-BA15) [184]

Uygun 5-arilmetil-1,3,4-oksadiazol-2-amin türevi (3a-3e, 1 ekivalan) ile trietilamin (1,1 ekivalan) diklorometan içerisindeki çözeltisine, 2-bromoasetil bromür (1,2 ekivalan) 0 °C'de damla damla ilave edilir ve 4-6 saat arasında değişen sürelerde oda sıcaklığında karıştırılır. Süre sonunda reaksiyon ortamı alçak basınç altında yoğunlaştırılıp diklorometan ile çözülerek sırasıyla 0,1 M HCl (3x10 ml), %1'lik NaHCO_3 (3x10 ml) ve %3'lük NaCl çözeltisi (3x10 ml) ile ekstre edilir. Organik faz, susuz Na_2SO_4 ile kurutulur ve alçak basınç altında yoğunlaştırılır. Elde edilen ham ürün (2-bromo-N-(arilmetil-1,3,4-oksadiazol-2-il)asetamid), herhangi bir ek saflaştırma yapılmadan, uygun ariltiyol türevi (1 ekivalan) ile

NaOH (1,2 ekivalan) karışımının etanol:su (10:1) içerisindeki çözeltisine eklenerek oda sıcaklığında 4-8 saat karıştırılır. Süre sonunda reaksiyon ortamı alçak basınç altında yoğunlaştırılıp diklorometan ile çözülerek sırasıyla 0,1 M HCl (3x10 ml), %5'lik NaOH (3x10 ml) ve %3'lük NaCl çözeltisi (3x10 ml) ile ekstre edilir. Organik faz, susuz Na₂SO₄ ile kurutulur ve alçak basınç altında yoğunlaştırılır. Elde edilen ürün uygun çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılır.

N-(Arilmetil-1,3,4-tiyadiazol-2-il)-2-(ariltiyo)asetamit türevleri (BA16-BA27) [184]

Uygun ariltiyol türevi (1 ekivalan) ve NaOH (1,2 ekivalan) etanol:su (10:1) karışımı içerisinde 15 dakika boyunca oda sıcaklığında karıştırılır. Üzerine, sentezlenecek bileşiğe 2-bromo-*N*-(arilmetil-1,3,4-tiyadiazol-2-il)asetamit (**4f-4i**, 1 ekivalan) ilave edilerek 4-8 saat arasında değişen sürelerde oda sıcaklığında karıştırılır. Süre sonunda reaksiyon ortamı alçak basınç altında yoğunlaştırılıp diklorometan ile çözülerek sırasıyla 0,1 M HCl (3x10 ml), %5'lik NaOH (3x10 ml) ve %3'lük NaCl çözeltisi (3x10 ml) ile ekstre edilir. Organik faz, susuz Na₂SO₄ ile kurutulur ve alçak basınç altında yoğunlaştırılır. Elde edilen ürün uygun çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılır.

3.2. Analitik Çalışmalar

3.2.1. Erime derecesi tayini

Sentezlenen bileşiklerin erime dereceleri, Schmelzpunktbestimmer SMP-II dijital erime derecesi tayin cihazı ile belirlenmiş, değerler düzeltilmeden verilmiştir.

3.2.2. İnce tabaka kromatografisi

Sentez çalışmalarında ve bileşiklerin saflık kontrolünde, Merck TLC Silica gel 60 F₂₅₄ hazır alüminyum plaklar ile çözücü sistemi olarak *n*-hekzan:etil asetat (70:30; 80:20), diklorometan:etil asetat (60:40), diklorometan:metanol (96:4; 90:10), etil asetat:2-propanol (90:10) ve toluen:metanol (80:20) kullanılmıştır. Lekelerin belirlenmesinde UV ışığı (254 ve 366 nm); fonksiyonel grup değişikliklerinin takibinde Bromkrezol, Dragendorff ve Ninhidrin belirteçleri kullanılmıştır.

3.2.3. Kolon kromatografisi

Sentezlenen bileşiklerin saflaştırması için gerçekleştirilen kolon kromatografisi yönteminde, sabit faz olarak silika (Merck Silica gel 60 (0,063-0,200)) ile hareketli faz olarak bileşiklerin monograflarında verilen oranlarda *n*-hekzan:etil asetat, etil asetat:2-propanol ve diklorometan:metanol çözücü sistemleri kullanılmıştır.

3.2.4. ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumları

Sentezlenen final bileşiklerin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumları, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarında ve Gazi Üniversitesi Temel ve Mühendislik Bilimleri Merkez Laboratuvarı Uygulama veya Araştırma Merkezinde (GÜTMAM) Bruker Avance Neo 500 MHz FT-NMR Spektrometre cihazı ile DMSO-*d*₆ içerisinde tetrametilsilan (TMS) iç standartı kullanılarak kaydedilmiştir. Kimyasal kayma değerleri δ (ppm) skalasında değerlendirilmiş, eşleşme sabitleri (*J*), Hertz (Hz) cinsinden verilmiştir.

3.2.5. HRMS spektrumları

Sentezlenen bileşiklerin HRMS spektrumları, Waters LCT Premier XE UPLC/MS-TOF sistemi kullanılarak pozitif iyon (ESI+) elektrosprey iyonizasyon yöntemi ile metanol içerisinde alınmıştır. Kromatografik ayırım için, 0,3 ml/dk akış hızıyla sabit faz olarak Aquity UPLC Beh C18 kolonu (130 Å; 1,7 μ m; 2.1x100 mm), hareketli faz olarak ise asetonitril:su (%1-%90) gradient çözücü sistemi kullanılmıştır.

3.3. Moleküler Docking Çalışmaları

Tez kapsamında yer alan bileşiklerin, SIRT2 enzimi aktif bölgesiyle meydana getirdikleri etkileşimleri belirlemek amacıyla; Schrödinger Small-Molecule Drug Discovery Suite 2024-4 (Schrödinger, LLC, New York, NY, 2024) programı kullanılarak moleküler docking çalışmaları gerçekleştirilmiştir. İnsan SIRT2 enzimi X-ışını kristal yapısı (PDB: 5DY4) [36], RCSB Protein Data Bank veri tabanından indirilip, Schrödinger programının “protein preparation wizard” modülü ile hazırlanmış; bu aşamada, yapıdaki HOH549 dışındaki kristal su molekülleri (hariç) silinmiş, eksik olabilecek hidrojen atomları eklenmiş, bağ düzenleri atanmış ve son olarak enerji minimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada, OPLS4 kuvvet

alanı RMSD değeri en fazla 0,30 Å olacak şekilde uygulanmıştır. Moleküler docking işlemi için hedef bölgenin belirlenmesi amacıyla, “Receptor Grid Generation” paneli kullanılarak enzim X-ışını kristal yapısında yer alan inhibitör bileşik referans olarak seçilmiş ve bu bileşiğin çevresindeki aktif bölgeyi kapsayan 20 Å çapında bir grid kutusu oluşturulmuştur. Bu aşamada OPLS4 kuvvet alanı tercih edilmiş, van der Waals ölçeklendirme faktörü 1,00 ve yük parçalı kesme değeri 0,25 olarak ayarlanmıştır. Elde edilen grid dosyası, moleküler docking çalışmalarında kullanılmak üzere kaydedilmiştir. Schrödinger programının Maestro ara yüzünde çizilen bileşiklerin üç boyutlu yapıları, LigPrep modülü kullanılarak varsayılan parametreler ile oluşturulmuştur. Uygulanacak moleküler docking protokolünün doğruluğunu test etmek amacıyla, SIRT2 enziminin X-ışını kristal yapısında yer alan SirReal türevi koligand, enzim aktif bölgesine yeniden yerleştirilmiş ve elde edilen konformasyon, bu bileşiğe ait biyoaktif konformasyonla karşılaştırılmıştır. Bu işlem sonucunda, docking protokolünün güvenilirliğini gösterir seviyede bir RMSD değeri (0,2627 Å) elde edilmiştir. Kaydedilen grid dosyası kullanılarak, Glide modülü ile bileşikler SIRT2 enziminin aktif bölgesine yerleştirilmiştir [201]. Elde edilen sonuçlar, XP GScore değerleri ve gözlenen etkileşim türleri dikkate alınarak analiz edilmiş; bu sayede, uygun bağlanma modları belirlenmiştir.

3.4. SIRT1-3 İnhibisyon Testleri

Test edilen bileşiklerin SIRT2 inhibitör etkilerinin belirlenmesi için Fluor De Lys[®] SIRT2 Fluorometric Drug Discovery Assay Kit (BML-AK556-0001, Enzo Life Sciences, Lausen, İsviçre) kullanılmıştır [149, 202]. Enzim kitin çalışma protokolüne göre; ilk basamakta test bileşikleri (10 µl/kuyucuk) ve rekombinant insan SIRT2 enzimi (15 µl/kuyucuk), 96 kuyucuklu plakada 37 °C’de 30 dakika süreyle inkübe edilmiştir. Süre sonunda ikinci basamakta NAD⁺ ve Fluor de Lys[®] SIRT2 deasetilaz substrat karışımı (25 µl/kuyucuk) kuyucuklara eklenerek yine 37 °C’de 1 saat süreyle inkübasyona devam edilmiştir. Süre bitiminde kuyucuklarda gerçekleşen reaksiyon Fluor de Lys[®] developer ve nikotinamit karışımı (50 µl/kuyucuk) eklenerek durdurulmuş ve 45 dakika sonra meydana gelen floresans ışımaya, eksitasyon 360 nm, emisyon 460 nm dalga boylarında Molecular Device Spectramax i3x marka cihazda okunarak, bileşiklere ait % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır. Her bir deney, üç tekrar halinde gerçekleştirilmiştir.

Test bileşiklerinin 100 μ M konsantrasyonda SIRT2 enzimine karşı etkilerinin taranması sonucu %50 oranının üzerinde inhibisyon gösterdiği tespit edilen **BA5** kodlu bileşiğin izoform selektivitesini araştırmak amacıyla 100 μ M konsantrasyonda SIRT1 ve SIRT3 enzimlerine karşı etkisi, SIRT1/3 Direct Fluorescent Screening Assay Kit (10010401 SIRT1; 10011566 SIRT3, Cayman chemical, Ann Arbor, MI) kullanılarak incelenmiştir [203, 204]. Çalışma protokolünü takip ederek; ilk basamakta **BA5** bileşiği (5 μ l/kuyucuk), rekombinant insan SIRT1 veya SIRT3 enzimi (5 μ l/kuyucuk), NAD⁺ ve substrat karışımı (15 μ l/kuyucuk) ve tampon çözelti (25 μ l/kuyucuk) 96 kuyucuklu plakalarda karıştırılarak 37 °C’de 45 dakika süreyle inkübe edilmiştir. Süre bitiminde developer çözeltisi (50 μ l/kuyucuk) eklenmiş, 30 dakika sonra meydana gelen floresans ışıma, eksitasyon 360 nm, emisyon 460 nm dalga boylarında Molecular Device Spectramax i3x marka cihazda okunarak, **BA5**’e ait % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır. Her bir deney, üç tekrar halinde gerçekleştirilmiştir.

Test bileşiklerinin 100 μ M konsantrasyonda SIRT2 enzimine karşı etkilerinin taranması sonucu %50 oranının üzerinde inhibisyon gösterdiği tespit edilen **BA5** kodlu bileşiğin SIRT2 IC₅₀ değerini belirlemek için SIRT2 Activity Assay Kit (ab156066, Abcam, Cambridge, MA, USA) [205] kullanılmış; **BA5** bileşiği 300, 100, 50, 30, 10, 5, 1 ve 0,1 μ M konsantrasyonlarda test edilerek GraphPad Prism 9.0 programı ile doz-yanıt eğrisi elde edilmiştir. Enzim kitinin çalışma protokolünün takip edildiği deneyde, ilk basamakta **BA5** bileşiği (5 μ l/kuyucuk), substrat (5 μ l/kuyucuk), NAD⁺ (5 μ l/kuyucuk), tampon çözeltisi (5 μ l/kuyucuk), developer çözeltisi (5 μ l/kuyucuk), rekombinant insan SIRT2 enzimi (5 μ l/kuyucuk) 96 kuyucuklu plakalarda karıştırılarak oda sıcaklığında 45 dakika inkübe edilmiştir. Süre bitiminde reaksiyonu durdurmak için stop çözeltisi (20 μ l/kuyucuk) eklenmiş, 30 dakika sonra meydana gelen floresans ışıma, eksitasyon 490 nm, emisyon 530 nm dalga boylarında Molecular Device Spectramax i3x marka cihazda okunmuştur. Her bir deney, üç tekrar halinde gerçekleştirilmiştir.

3.5. Antiproliferatif Etki Çalışmaları

BA5 kodlu bileşiğin insan MCF-7 meme kanseri ve insan LNCaP metastatik prostat kanseri hücrelerindeki *in vitro* antiproliferatif etkisi MTT yöntemi ile araştırılmıştır [206, 207]. Kullanılan kanser hücreleri, ATCC’den (Almanya) satın alınmış, %10 FBS ve %1 penisilin-streptomisin içeren DMEM besiyerinde kültürlenmiştir. Devamında, 180 μ l hücre süspansiyonu (5x10⁴ hücre/ml) 96 kuyucuklu plakalara ekilmiş ve %5 CO₂’li etüvde 37

°C’de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Ardından, hücreler 1, 10, 25, 50, 100 ve 200 µM konsantrasyonlarındaki **BA5** bileşiği ile 72 saat boyunca inkübe edilmiştir. Süre sonunda hücreler 4 saat süreyle 5 mg/ml MTT reajanı (3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) ile muamele edilmiş, süre sonunda oluşan formazan kristallerinin absorbens değerleri, 540 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazda (Thermo, Almanya) okunarak, % hücre canlılığı değerleri hesaplanmış, verilerin kıyaslanması için one-way ANOVA testi uygulanmıştır. Ayrıca, GraphPad Prism 9.0 programı ile doz-yanıt eğrisi elde edilmiş, **BA5** bileşiğinin kullanılan hücre hatları için IC₅₀ değerleri elde edilmiştir. Her bir deney, üç tekrar halinde gerçekleştirilmiştir.

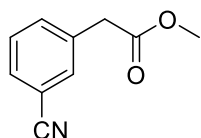




4. BULGULAR

4.1. Kimyasal Bulgular

Metil 2-(3-siyanofenil)asetat (1b)



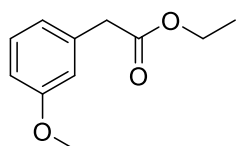
2-(3-Siyanofenil)asetik asitten (711 mg; 4,42 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiştir. Sarı renkte sıvı bir bileşiktir.

Verim: 719 mg, %93

CAS: 52798-00-2

C₁₂H₁₃N₂O₂ için HRMS (*m/z*) [M+ACN+H]⁺ Hesaplanan: 217,0977; Bulunan: 217,0977

Etil 2-(3-metoksifenil)asetat (1c)

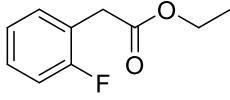


2-(3-Metoksifenil)asetik asitten (797 mg; 4,8 mmol) hareketle genel yöntemine göre sentezlenmiştir. Sarı renkte sıvı bir bileşiktir.

Verim: 866 mg, %93

CAS: 35553-92-5

C₁₁H₁₅O₃ için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 195,1021; Bulunan: 195,1026

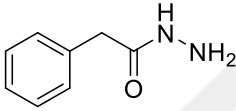
Etil 2-(2-florofenil)asetat (**1d**)

2-(2-Florofenil)asetik asitten (92 mg; 0,6 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiştir. Sarı renkte sıvı bir bileşiktir.

Verim: 103 mg, %95

CAS: 584-74-7

C₁₀H₁₂FO₂ için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 183,0821; Bulunan: 183,0815

2-Fenilasetohidrazit (**2a**)

Bileşik **1a** (492 mg; 3 mmol) ve hidrazin monohidrattan (943 µl; 12 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiştir. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

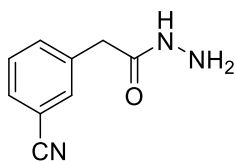
Verim: 420 mg, %93

CAS: 937-39-3

Erime derecesi: 115-116 °C

C₈H₁₁N₂O için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 151,0871; Bulunan: 151,0871

2-(3-Siyanofenil)asetohidrazit (2b)



Bileşik **1b** (834 mg; 3,86 mmol) ve hidrazin monohidrattan (1213 μ l; 15,44 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiştir. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

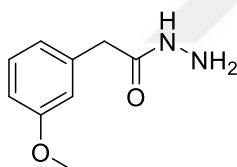
Verim: 520 mg, %77

CAS: 2124264-75-9

Erime derecesi: 117,4-118,5 °C

C₉H₁₀N₃O için HRMS (m/z) [M+H]⁺ Hesaplanan: 176,0824; Bulunan: 176,0827

2-(3-Metoksifenil)asetohidrazit (2c)



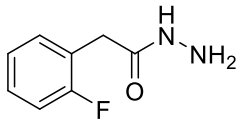
Bileşik **1c** (527 mg; 2,7 mmol) ve hidrazin monohidrattan (849 μ l; 10,8 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiştir. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

Verim: 465 mg, %95

CAS: 34624-38-9

Erime derecesi: 89-89,6 °C

C₉H₁₃N₂O₂ için HRMS (m/z) [M+H]⁺ Hesaplanan: 181,0977; Bulunan: 181,0977

2-(2-Florofenil)asetohidrazit (2d)

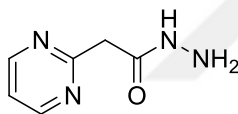
Bileşik **1d** (183 mg; 1 mmol) ve hidrazin monohidrattan (314 µl; 4 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiştir. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

Verim: 151 mg, %90

CAS: 116622-94-7

Erime derecesi: 142,3-143 °C (150-152 °C [208])

C₈H₁₀FN₂O için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 169,0665; Bulunan: 169,0670

2-(Pirimidin-2-il)asetohidrazit (2e)

Bileşik **1e** (524 mg; 3 mmol) ve hidrazin monohidrattan (943 µl; 12 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiştir. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

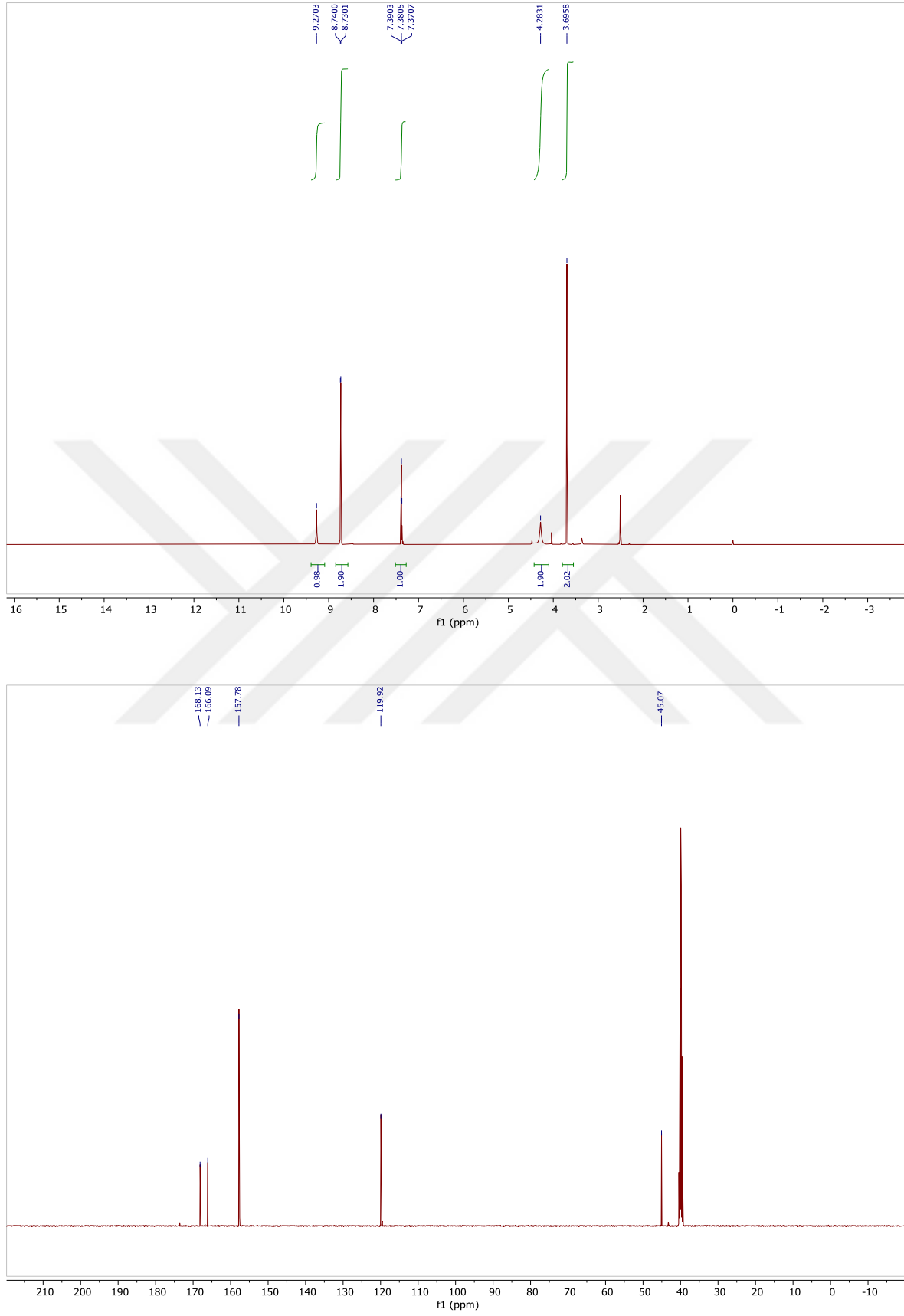
Verim: 422 mg, %92

Erime derecesi: 123,7-124,7 °C

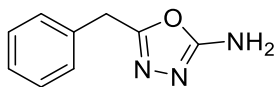
C₆H₉N₄O için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 153,0776; Bulunan: 153,0770

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ ppm: 3,70 (2H, s, CH₂); 4,28 (2H, br s, CONHNH₂); 7,38 (1H, t, *J*=4,9 Hz, Ar-H); 8,74 (2H, d, *J*=4,9 Hz, Ar-H); 9,27 (1H, s, CONHNH₂).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ ppm: 45,1; 119,9; 157,8; 166,1; 168,1.



Şekil 4.1. Bileşik 2e'nin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları

5-Benzil-1,3,4-oksadiazol-2-amin (3a)

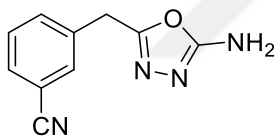
Bileşik **2a** (446 mg; 2,97 mmol) ve siyanojen bromürden (374 mg; 3,56 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, sudan kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

Verim: 416 mg, %80

CAS: 31803-00-6

Erime derecesi: 155,1-155,9 °C (158 °C [209])

C₉H₁₀N₃O için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 176,0824; Bulunan: 176,0824

3-[(5-Amino-1,3,4-oksadiazol-2-il)metil]benzonitril (3b)

Bileşik **2b** (1070 mg; 6,14 mmol) ve siyanojen bromürden (773 mg; 7,36 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, sudan kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

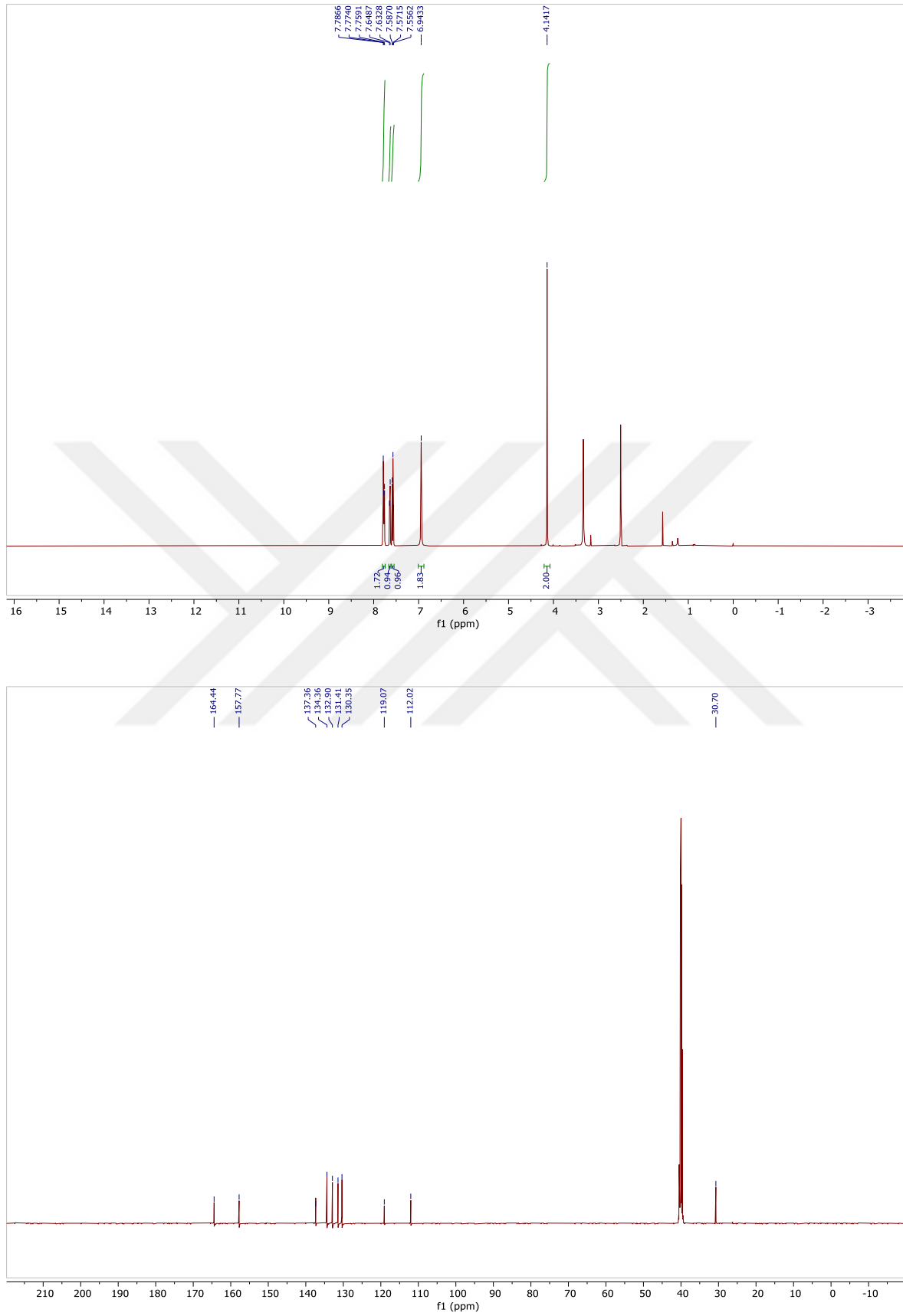
Verim: 620 mg, %50

Erime derecesi: 125,2-125,7 °C

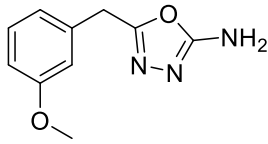
C₁₀H₉N₄O için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 201,0776; Bulunan: 201,0776

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ ppm: 4,14 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 6,94 (2H, s, -NH₂); 7,56-7,65 (2H, m, Ar-H); 7,76-7,79 (2H, m, Ar-H).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ ppm: 30,7; 112; 119,1; 130,4; 131,4; 132,9; 134,4; 137,4; 157,8; 164,4.



Şekil 4.2. Bileşik 3b'nin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları

5-(3-Metoksibenzil)-1,3,4-oksadiazol-2-amin (3c)

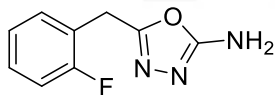
Bileşik **2c** (878 mg; 4,88 mmol) ve siyanojen bromürden (614 mg; 5,85 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, sudan kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

Verim: 450 mg, %45

CAS: 1016691-89-6

Erime derecesi: 157,7-158 °C

C₁₀H₁₂N₃O₂ için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 206,0930; Bulunan: 206,0922

5-(2-Florobenzil)-1,3,4-oksadiazol-2-amin (3d)

Bileşik **2d** (531 mg; 3,16 mmol) ve siyanojen bromürden (398 mg; 3,79 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, sudan kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

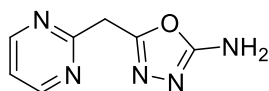
Verim: 335 mg, %55

CAS: 1016684-14-2

Erime derecesi: 159,8-160,2 °C

C₉H₉FN₃O için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 194,0730; Bulunan: 194,0725

5-(Pirimidin-2-ilmetil)-1,3,4-oksadiazol-2-amin (3e)



Bileşik **2e** (350 mg; 2,3 mmol) ve siyanojen bromürden (290 mg; 2,76 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol:trietylamin (96:4:5) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

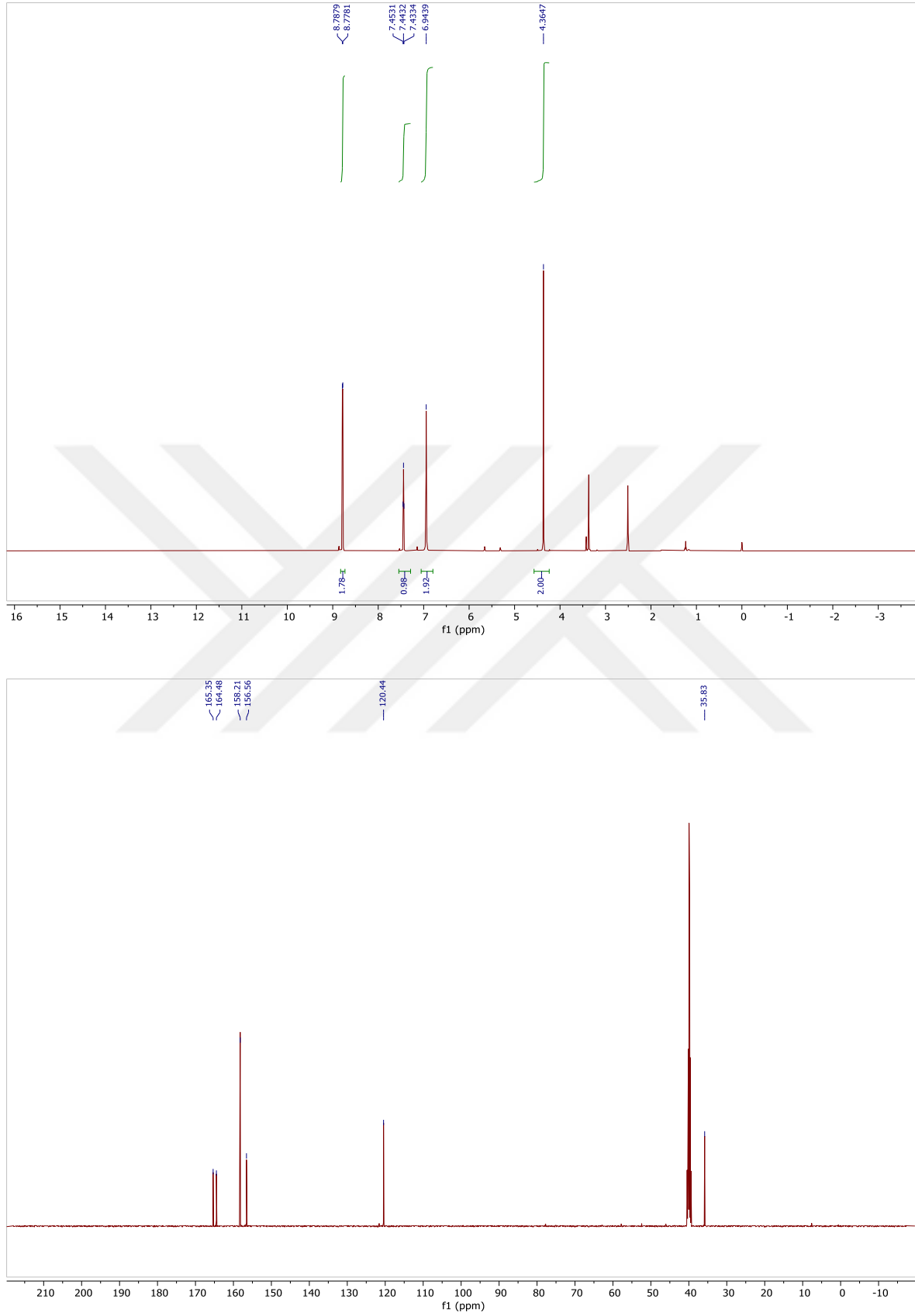
Verim: 200 mg, %49

Erime derecesi: 153,6-154,4 °C

C₇H₈N₅O için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 178,0729; Bulunan: 178,0734

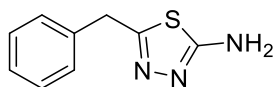
¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ ppm: 4,37 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 6,94 (2H, s, -NH₂); 7,44 (1H, t, *J*=4,9 Hz, Ar-H); 8,78 (2H, d, *J*=4,9 Hz, Ar-H).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ ppm: 35,8; 120,4; 156,6; 158,2; 164,5; 165,4.



Şekil 4.3. Bileşik 3e'nin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları

5-Benzil-1,3,4-tiyadiazol-2-amin (3f)



Fenilasetik asit (544 mg; 4 mmol) ve tiyosemikarbazitten (400 mg; 4,4 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (96:4) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

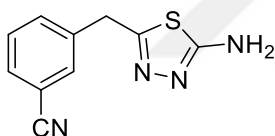
Verim: 481 mg, %63

CAS: 16502-08-2

Erime derecesi: 199,7-200,5 °C (208-210 °C [210])

C₉H₁₀N₃S için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 192,0595; Bulunan: 192,0593

3-[(5-Amino-1,3,4-tiyadiazol-2-il)metil]benzonitril (3g)



2-(3-Siyanofenil)asetik asit (805 mg; 5 mmol) ve tiyosemikarbazitten (501 mg; 5,5 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (96:4) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

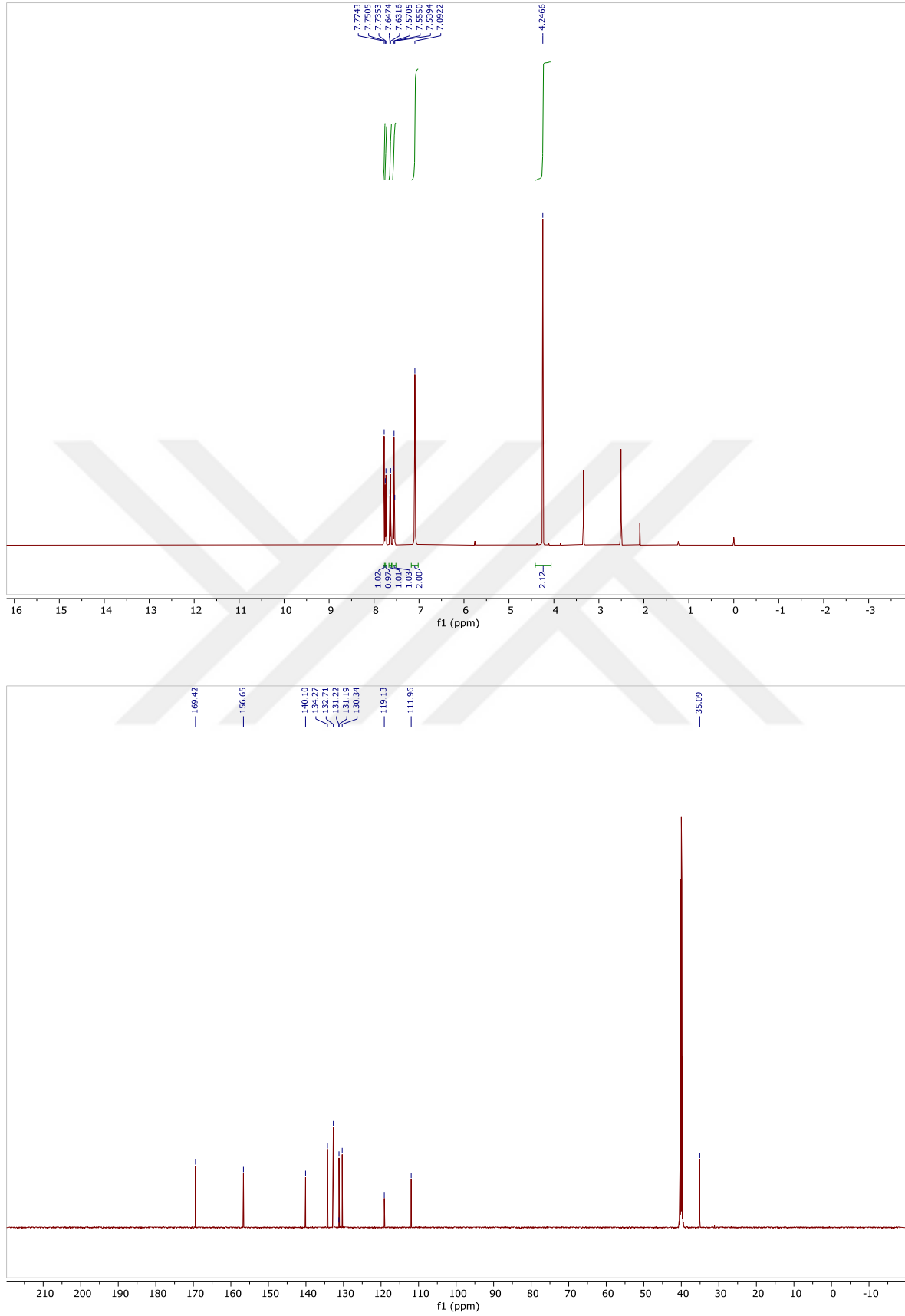
Verim: 432 mg, %40

Erime derecesi: 181-181,3 °C

C₁₀H₉N₄S için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 217,0548; Bulunan: 217,0538

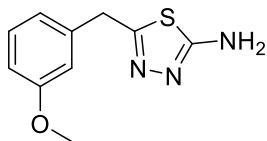
¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ ppm: 4,25 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 7,09 (2H, s, -NH₂); 7,56 (1H, t, *J*=7,8 Hz, Ar-H); 7,64 (1H, d, *J*=7,8 Hz, Ar-H); 7,74 (1H, d, *J*=7,8 Hz, Ar-H); 7,77 (1H, s, Ar-H).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ ppm: 35,1; 112; 119,1; 130,3; 131,2; 132,7; 134,3; 140,1; 156,7; 169,4.



Şekil 4.4. Bileşik 3g'nin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları

5-(3-Metoksibenzil)-1,3,4-tiyadiazol-2-amin (3h)



2-(3-Metoksifenil)asetik asit (830 mg; 5 mmol) ve tiyosemikarbazitten (501 mg; 5,5 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (96:4) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

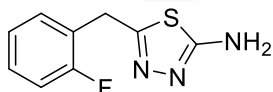
Verim: 608 mg, %55

CAS: 299933-82-7

Erime derecesi: 168,1-168,5 °C

C₁₀H₁₂N₃OS için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 222,0701; Bulunan: 222,0711

5-(2-Florobenzil)-1,3,4-tiyadiazol-2-amin (3i)



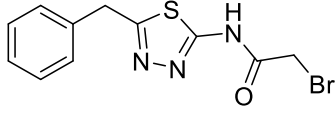
2-(2-Florofenil)asetik asit (308 mg; 2 mmol) ve tiyosemikarbazitten (200 mg; 2,2 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (96:4) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

Verim: 209 mg, %50

CAS: 39181-53-8

Erime derecesi: 187,7-188,2 °C

C₉H₉FN₃S için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 210,0501; Bulunan: 210,0508

N-(5-Benzil-1,3,4-tiyadiazol-2-il)-2-bromoasetamit (**4f**)

Bileşik **3f** (382 mg; 2 mmol), 2-bromoasetil bromür (210 µl; 2,4 mmol) ve trietilaminden (301 µl; 2,2 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (98:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir

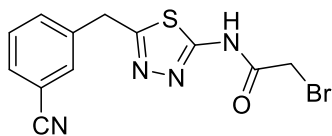
Verim: 373 mg, %60

CAS: 21125-17-7

Erime derecesi: 166,3-166,7 °C

C₁₁H₁₁BrN₃OS için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 311,9806; Bulunan: 311,9820

2-Bromo-N-[5-(3-siyanobenzil)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]asetamit (**4g**)



Bileşik **3g** (216 mg; 1 mmol), 2-bromoasetil bromür (105 µl; 1,2 mmol) ve trietilaminden (150 µl; 1,1 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (98:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

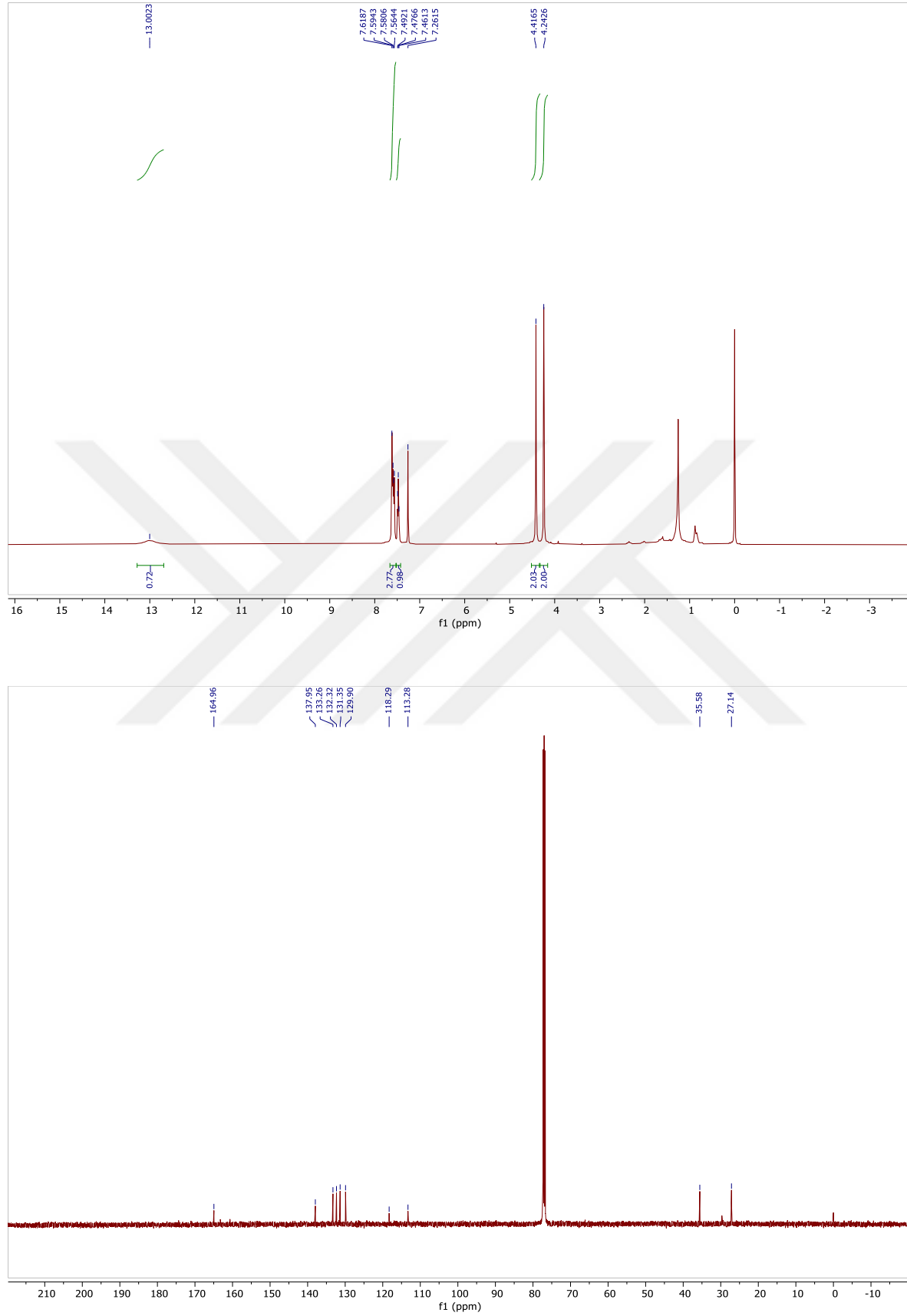
Verim: 135 mg, %40

Erime derecesi: 168,5-168,8 °C

C₁₂H₁₀BrN₄OS için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 336,9759; Bulunan: 336,9752

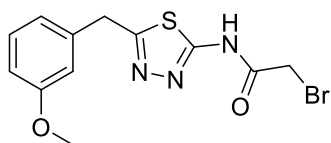
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ ppm: 4,24 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 4,42 (2H, s, -COCH₂Br); 7,48 (1H, t, *J*=7,6 Hz, Ar-H); 7,57-7,62 (3H, m, Ar-H); 12,99 (1H, br s, -CONH-).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ ppm: 27,1; 35,6; 113,3; 118,3; 129,9; 131,4; 132,3; 133,3; 138; 160,7; 163,3; 165.



Şekil 4.5. Bileşik 4g'nin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları

2-Bromo-*N*-[5-(3-metoksibenzil)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]asetamit (**4h**)



Bileşik **3h** (774 mg; 3,5 mmol), 2-bromoasetil bromür (366 µl; 4,2 mmol) ve trietilaminden (525 µl; 3,85 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (98:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

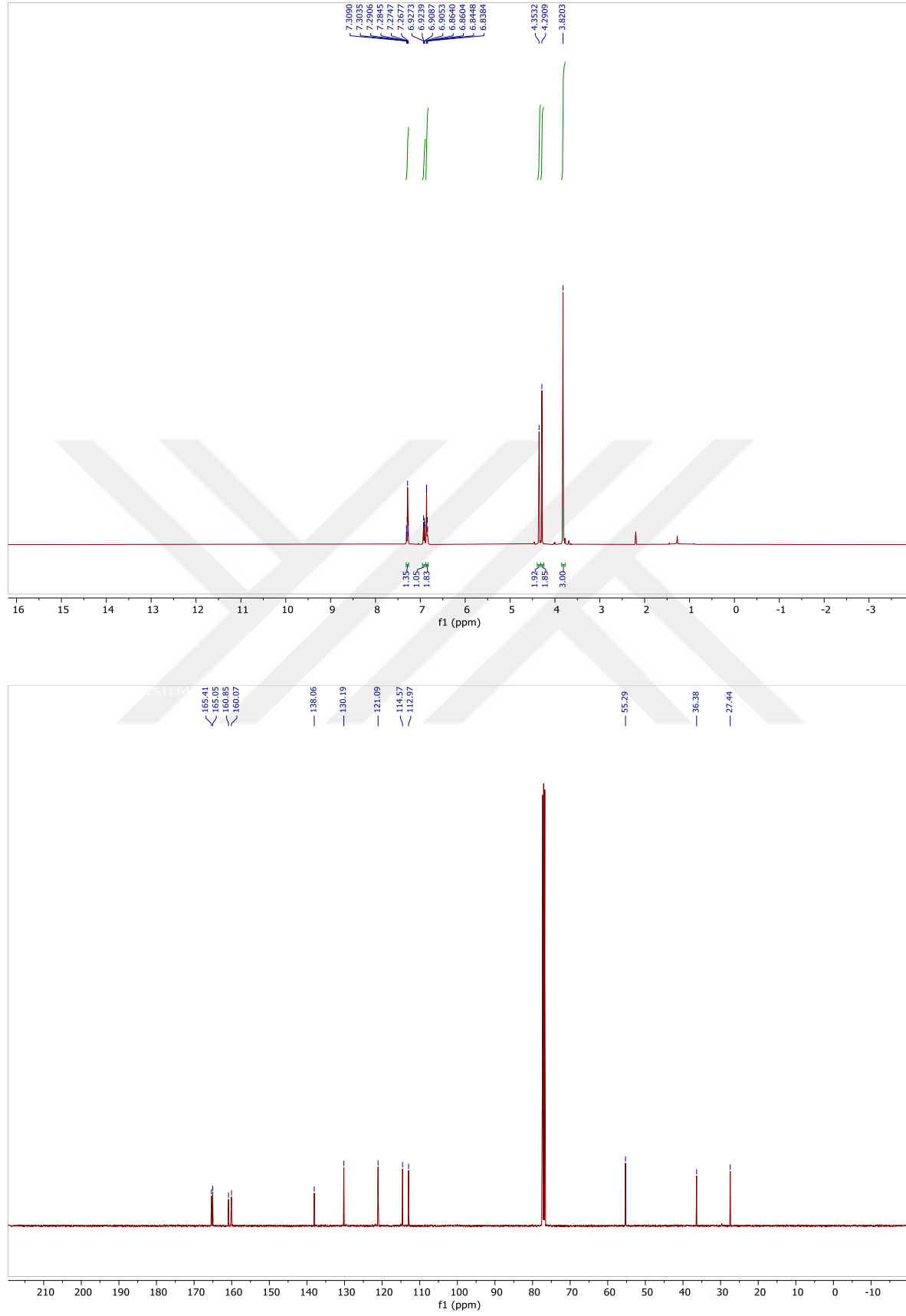
Verim: 752 mg, %63

Erime derecesi: 144,5-144,9 °C

C₁₂H₁₃BrN₃O₂S için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 341,9912; Bulunan: 341,9915

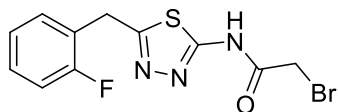
¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ ppm: 3,82 (3H, s, -OCH₃); 4,29 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 4,35 (2H, s, -COCH₂Br); 6,84-6,86 (2H, m, Ar-H); 6,92 (1H, d, *J*=7,4 Hz, Ar-H); 7,27-7,31 (1H, m, Ar-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ ppm: 27,4; 36,4; 55,3; 113; 114,6; 121,1; 130,2; 138,1; 160,1; 160,9; 165,1; 165,4.



Şekil 4.6. Bileşik 4h'nin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumları

2-Bromo-*N*-[5-(2-florobenzil)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]asetamit (**4i**)



Bileşik **3i** (209 mg; 1 mmol), 2-bromoasetil bromür (105 µl; 1,2 mmol) ve trietilaminden (152 µl; 1,1 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (98:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

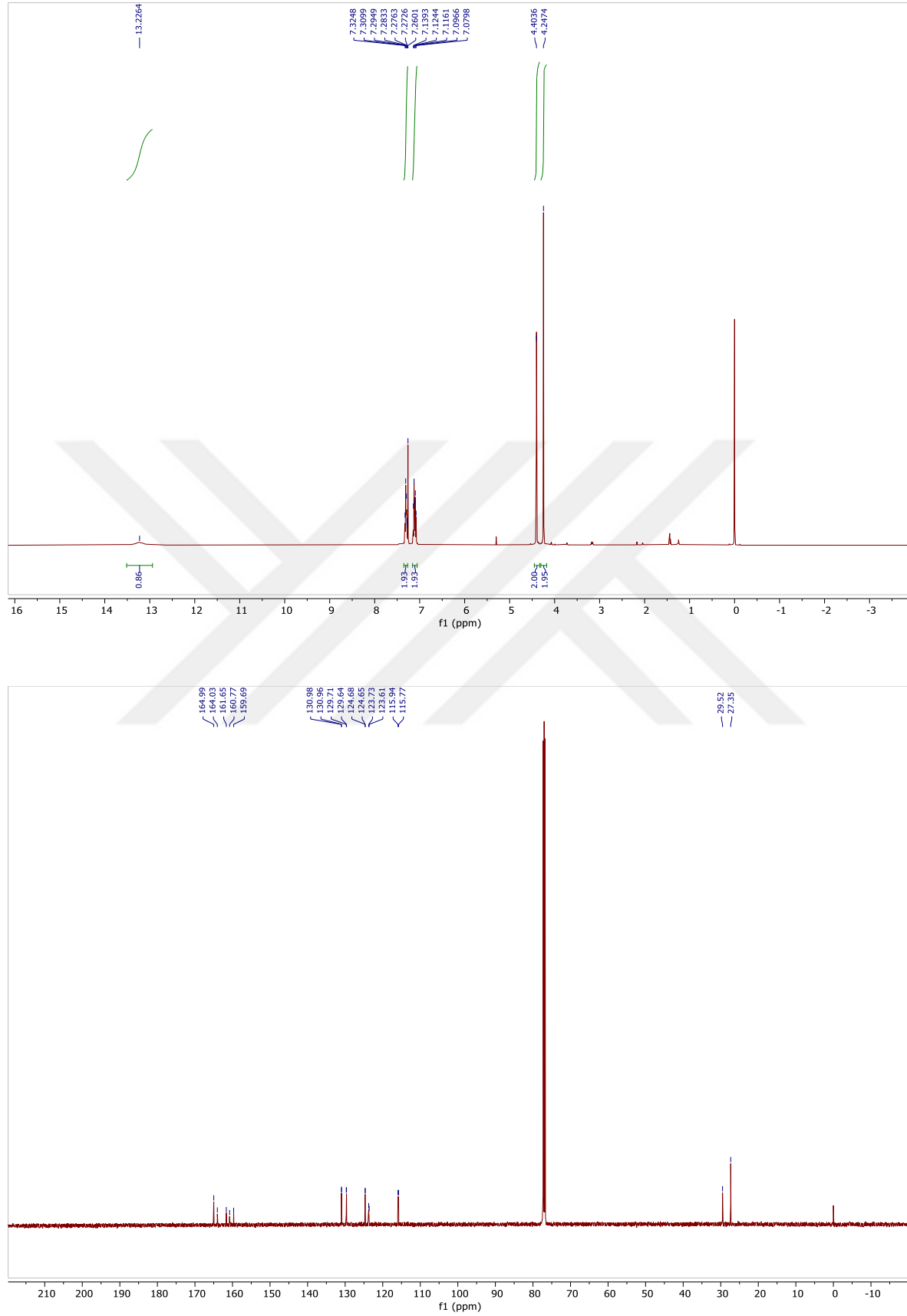
Verim: 221 mg, %67

Erime derecesi: 175,7-176,2 °C

C₁₁H₁₀BrFN₃OS için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 329,9712; Bulunan: 329,9726

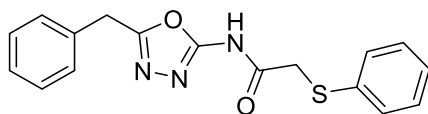
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ ppm: 4,25 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 4,40 (2H, s, -COCH₂Br); 7,08-7,14 (2H, m, Ar-H); 7,27-7,33 (2H, m, Ar-H); 13,24 (1H, br s, -CONH-).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ ppm: 27,3; 29,5 (d, ³J_{CF}=3,6 Hz); 115,9 (d, ²J_{CF}=21,1 Hz); 123,7 (d, ²J_{CF}=15,5 Hz); 124,7 (d, ⁴J_{CF}=3,6 Hz); 129,7 (d, ³J_{CF}=8,1 Hz); 131 (d, ³J_{CF}=3,6 Hz); 160,7 (d, ¹J_{CF}=245,6 Hz); 160,8; 164; 165.



Şekil 4.7. Bileşik 4i'nin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumları

N-(5-Benzil-1,3,4-oksadiazol-2-il)-2-(feniltiyo)asetamit (BA1)



Bileşik **3a** (67 mg; 0,21 mmol) ve tiyofenolden (23 µl; 0,21 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (98:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

Verim: 22 mg, %32

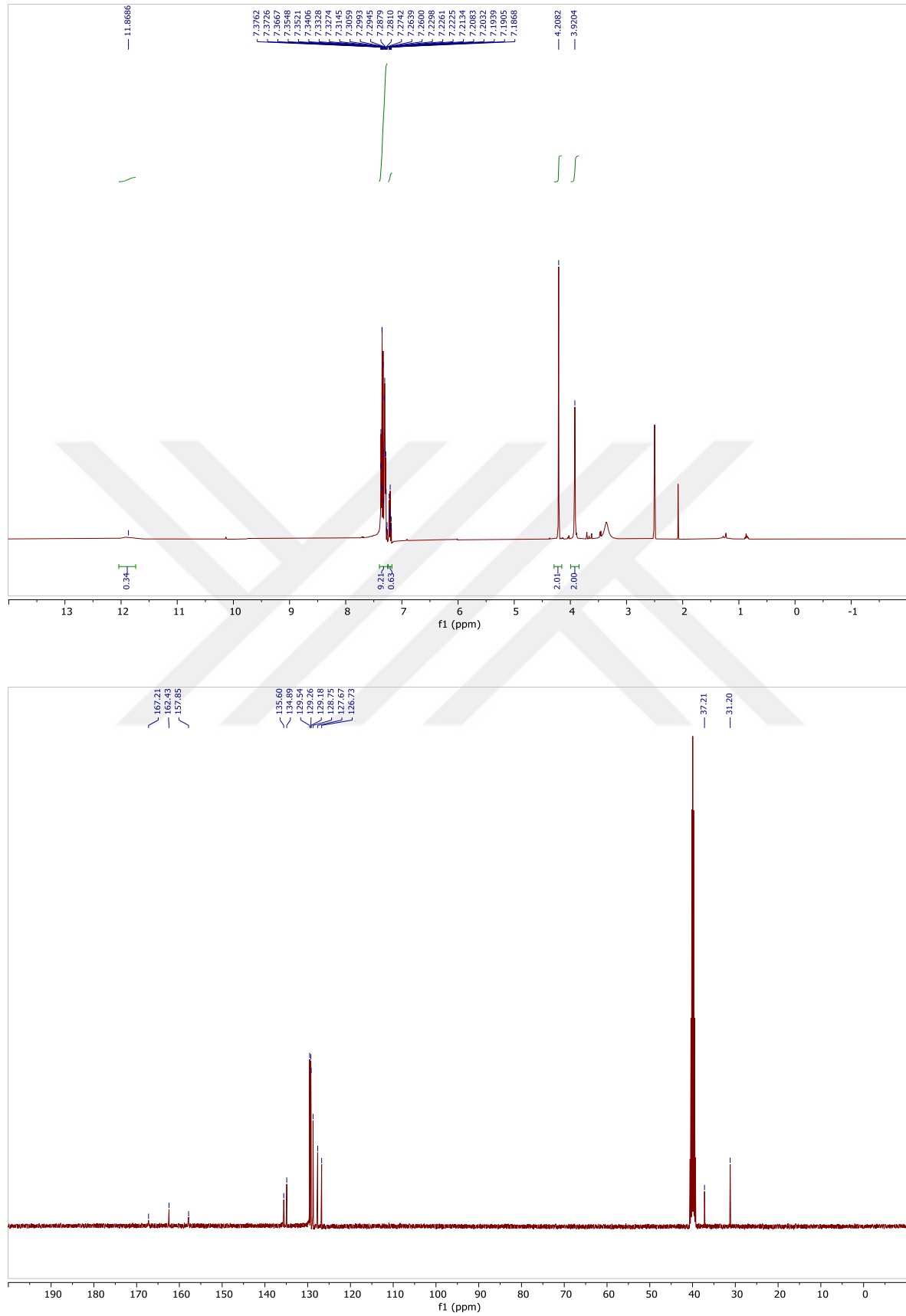
CAS: 955234-57-8

Erime derecesi: 107,9-108,2 °C

C₁₇H₁₆N₃O₂S için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 326,0963; Bulunan: 326,0959

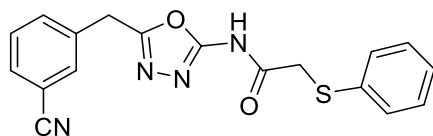
¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ ppm: 3,92 (2H, s, -COCH₂S-); 4,21 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 7,19-7,23 (1H, m, Ar-H); 7,26-7,38 (9H, m, Ar-H); 11,87 (1H, br s, -CONH-).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ ppm: 30,7; 36,7; 126,3; 127,2; 128,3; 128,7; 128,8; 129,1; 134,4; 135,1; 157,4; 161,9; 166,7.



Şekil 4.8. Bileşik BA1'in ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları

2-(Feniltiyo)*N*-[5-(3-siyanobenzil)-1,3,4-oksadiazol-2-il]asetamit (BA2)



Bileşik **3b** (271 mg; 0,85 mmol) ve tiyofenolden (90 µl; 0,85 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:etil asetat (80:20) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

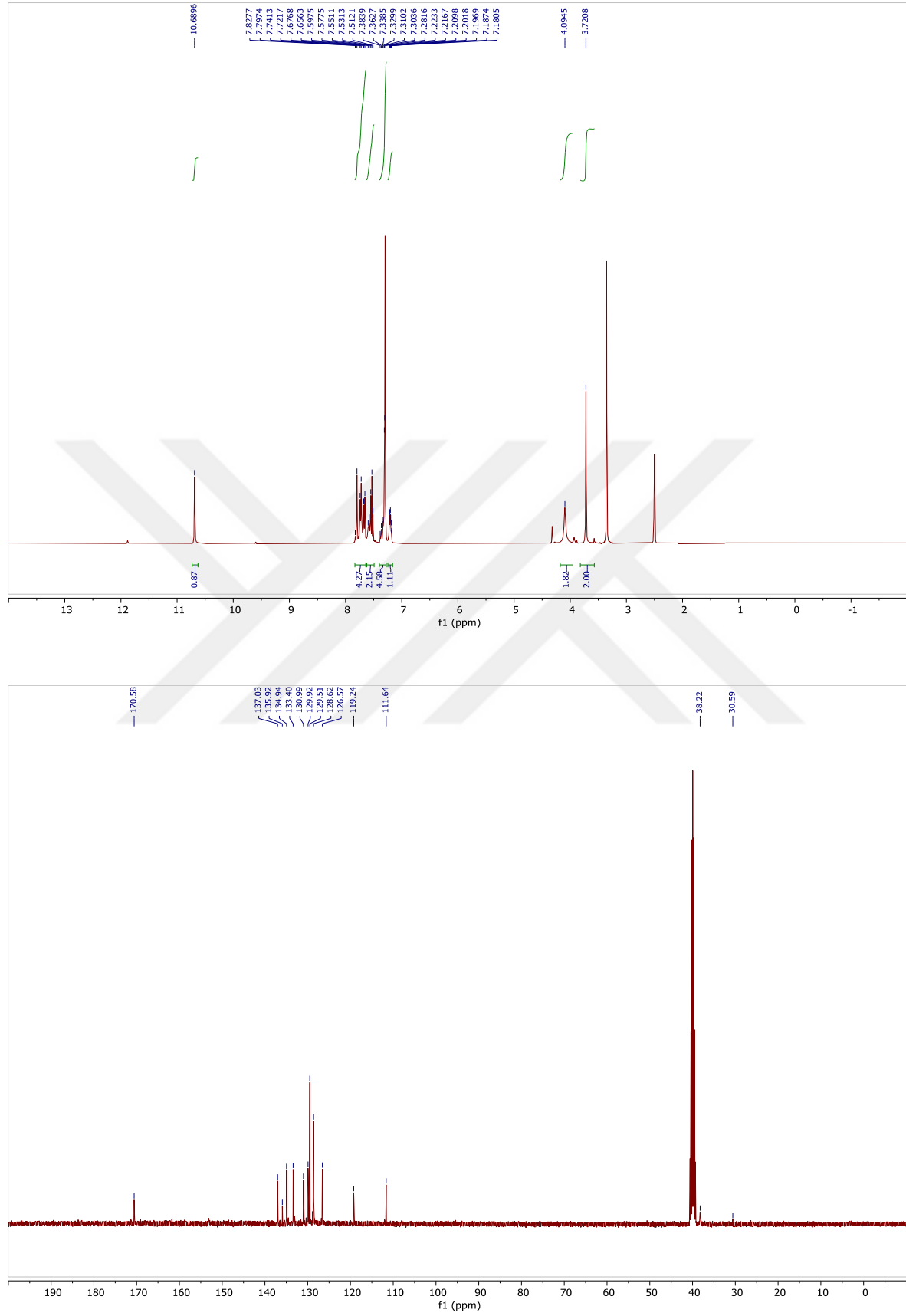
Verim: 70 mg, %24

Erime derecesi: 129,4-130 °C

C₁₈H₁₅N₄O₂S için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 351,0916; Bulunan: 351,0909

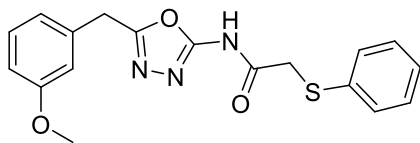
¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ ppm: 3,72 (2H, s, -COCH₂S-); 4,10 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 7,18-7,23 (1H, m, Ar-H); 7,28-7,38 (3H, m, Ar-H); 7,51-7,60 (2H, m, Ar-H); 7,66-7,83 (3H, m, Ar-H); 10,69 (1H, s, -CONH-).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ ppm: 30,1; 37,7; 111,2; 118,8; 126,1; 128,1; 128,3; 129; 129,4; 130,5; 132,9; 134,5; 135,4; 136,5; 152,6; 170,1.



Şekil 4.9. Bileşik BA2'nin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları

2-(Feniltiyo)-N-[5-(3-metoksibenzil)-1,3,4-oksadiazol-2-il]asetamit (BA3)



Bileşik **3c** (212 mg; 0,65 mmol) ve tiyofenolden (63 µl; 0,65 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol:triethylamin (99:1:5) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

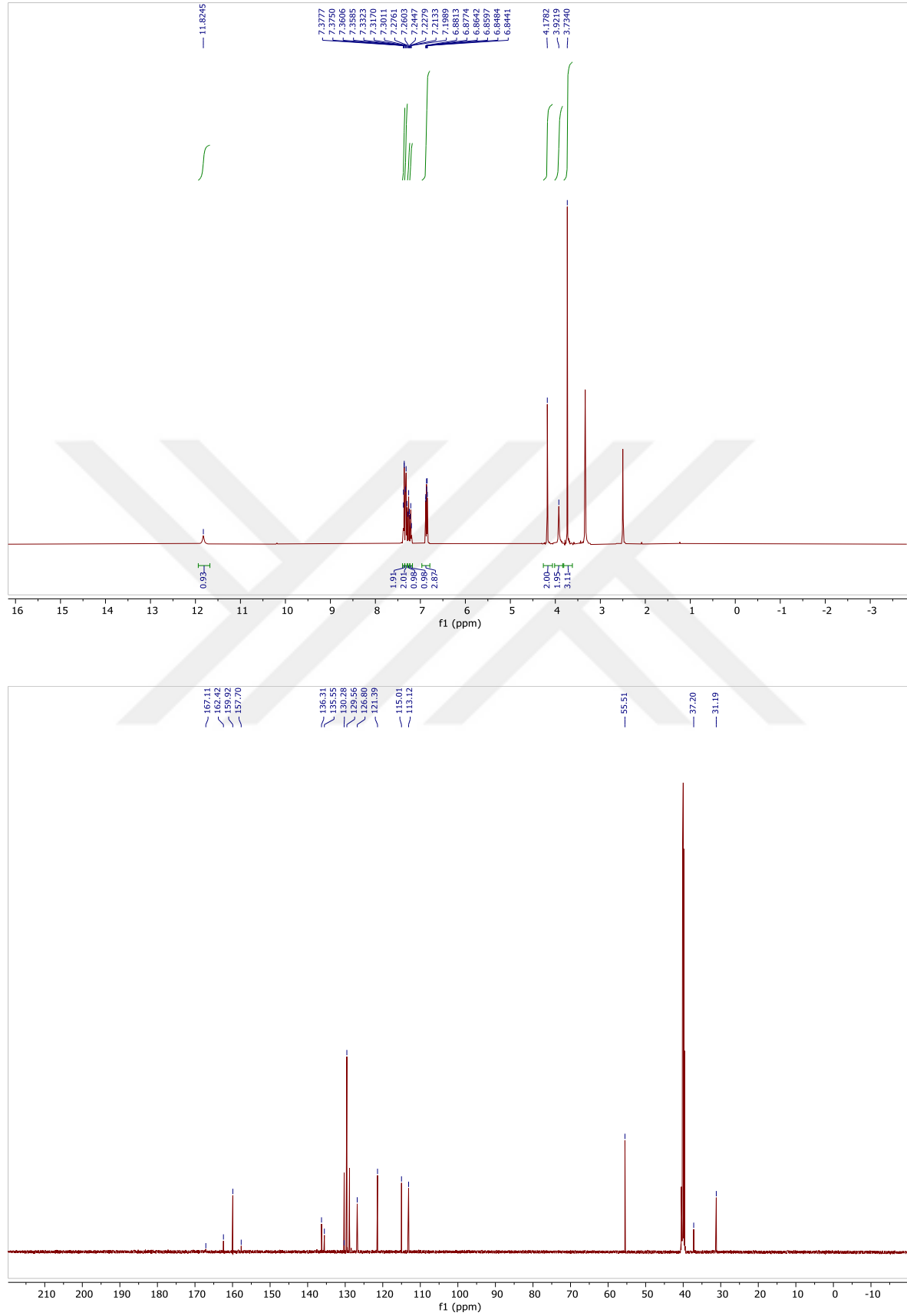
Verim: 49 mg, %21

Erime derecesi: 90,5-91 °C

C₁₈H₁₈N₃O₃S için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 356,1069; Bulunan: 356,1066

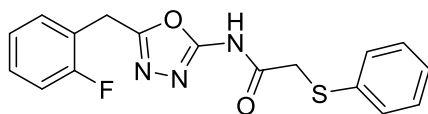
¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ ppm: 3,74 (3H, s, -OCH₃); 3,93 (2H, s, -COCH₂S-); 4,19 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 6,81-6,91 (3H, m, Ar-H); 7,21 (1H, t, *J*=7,3 Hz, Ar-H); 7,26 (1H, t, *J*=7,9 Hz, Ar-H); 7,32 (2H, t, *J*=7,9 Hz, Ar-H); 7,37 (2H, d, *J*=7,9 Hz, Ar-H); 11,83 (1H, s, -CONH-).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ ppm: 31,2; 37,2; 55,5; 113,1; 115; 121,4; 126,8; 128,8; 129,5; 130,2; 135,5; 136,3; 157,7; 159,9; 162,4; 167,1.



Şekil 4.10. Bileşik BA3'ün ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları

2-(Feniltiyo)-N-[5-(2-florobenzil)-1,3,4-oksadiazol-2-il]asetamit (BA4)



Bileşik **3d** (215 mg; 0,69 mmol) ve tiyofenolden (73 μ l; 0,69 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (99:1) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

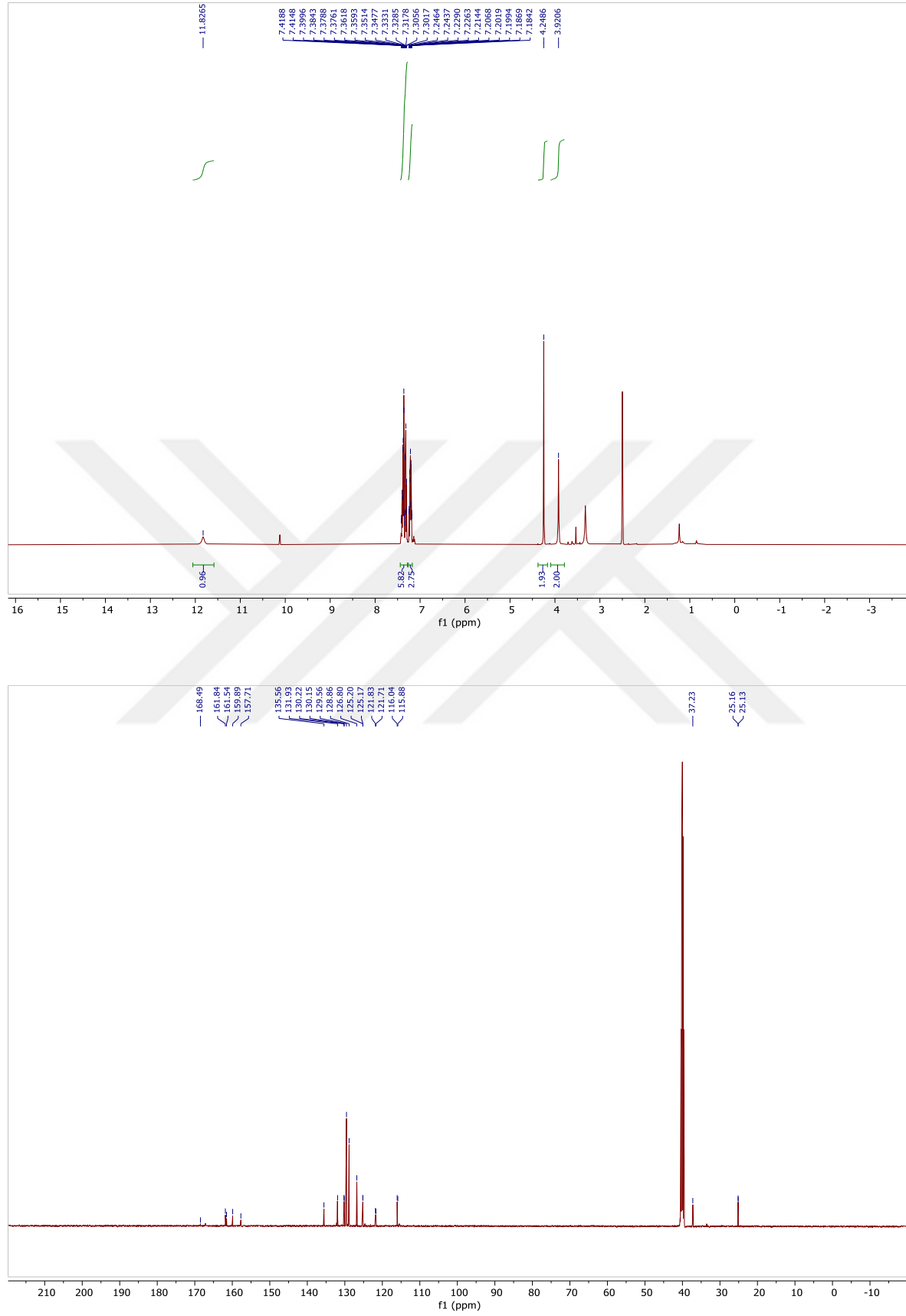
Verim: 59 mg, %25

Erime derecesi: 118,5-119 °C

C₁₇H₁₅FN₃O₂S için HRMS (m/z) [M+H]⁺ Hesaplanan: 344,0869; Bulunan: 344,0872

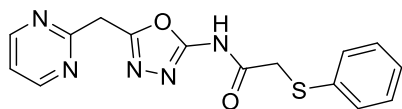
¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ ppm: 3,92 (2H, s, -COCH₂S-); 4,26 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 7,19-7,25 (3H, m, Ar-H); 7,31-7,43 (6H, m, Ar-H); 11,83 (1H, br s, -CONH-).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ ppm: 25,1 (d, ³*J*_{CF}=3,5 Hz); 37,2; 115,9 (d, ²*J*_{CF}=21 Hz); 121,8 (d, ²*J*_{CF}=15,4 Hz); 125,2 (d, ⁴*J*_{CF}=3,4 Hz); 126,8; 128,9; 129,5; 130,2 (d, ³*J*_{CF}=8 Hz); 131,9 (d, ³*J*_{CF}=3,7 Hz); 135,5; 157,7; 160,9 (d, ¹*J*_{CF}=243,9 Hz); 161,5; 168,5.



Şekil 4.11. Bileşik BA4'ün ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumları

2-(Feniltiyo)-N-[5-(pirimidin-2-ilmetil)-1,3,4-oksadiazol-2-il]asetamid (**BA5**)



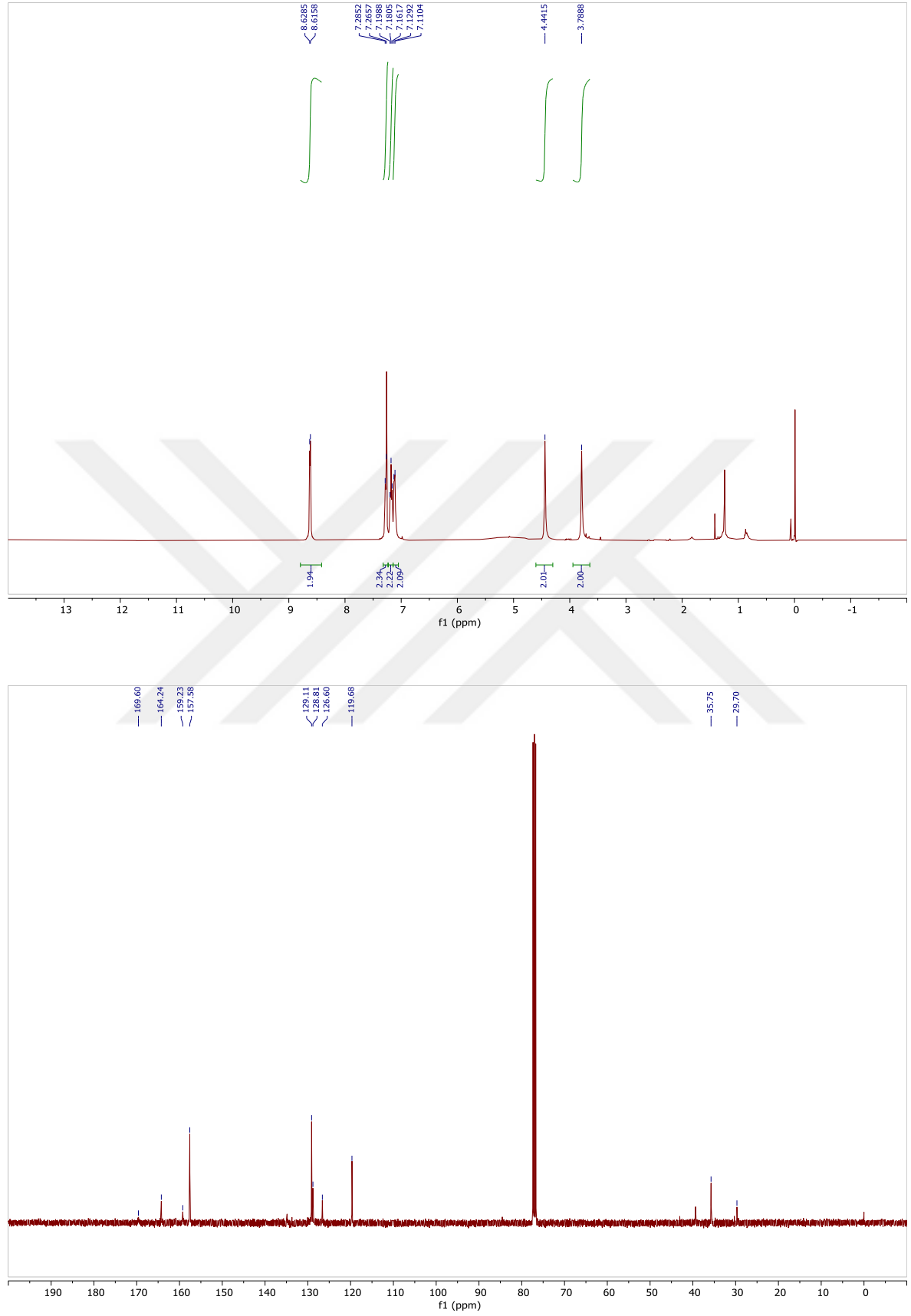
Bileşik **3e** (133 mg; 0,45 mmol) ve tiyofenolden (46 µl; 0,45 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (98:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Sarı renkte yağlı bir bileşiktir.

Verim: 22 mg, %15

C₁₅H₁₄N₅O₂S için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 328,0868; Bulunan: 328,0870

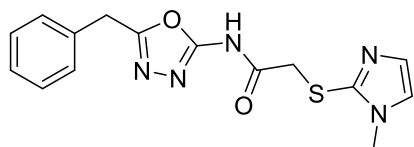
¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ ppm: 3,79 (2H, s, -COCH₂S-); 4,44 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 7,12-7,13 (2H, m, Ar-H); 7,18 (2H, t, *J*=7,2 Hz, Ar-H); 7,26-7,29 (2H, m, Ar-H); 8,63 (2H, d, *J*=4,8 Hz, pirimidin Ar-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ ppm: 29,7; 35,8; 119,7; 126,6; 128,8; 129,1; 134,9; 157,6; 159,2; 160,9; 164,2; 169,6.



Şekil 4.12. Bileşik BA5'in ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları

N-(5-Benzil-1,3,4-oksadiazol-2-il)-2-[(1-metil-1*H*-imidazol-2-il)tiyo]asetamit (**BA6**)



Bileşik **3a** (263 mg; 0,9 mmol) ve 1-metil-1*H*-imidazol-2-tiyolden (102 mg; 0,9 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (98:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

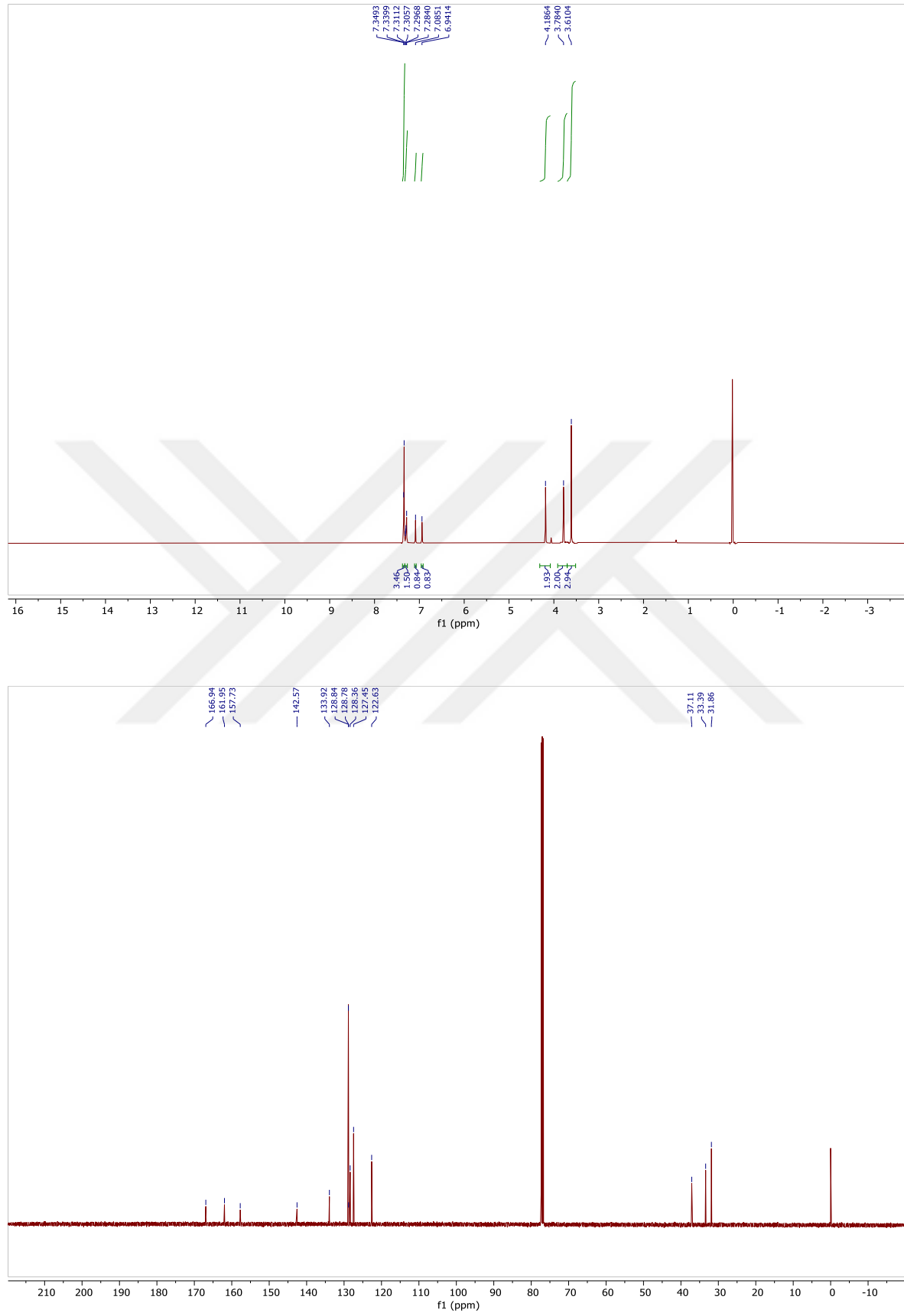
Verim: 103 mg, %35

Erime derecesi: 210 °C (dekompoze)

C₁₅H₁₆N₅O₂S için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 330,1025; Bulunan: 330,1022

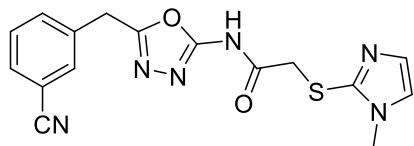
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ ppm: 3,61 (3H, s, imidazol -CH₃); 3,78 (2H, s, -COCH₂S-); 4,19 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 6,94 (1H, s, imidazol Ar-H); 7,09 (1H, s, imidazol Ar-H); 7,25-7,31 (2H, m, fenil Ar-H); 7,32-7,37 (3H, m, fenil Ar-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ ppm: 31,8; 33,4; 37,1; 122,6; 127,4; 128,4; 128,7; 128,8; 133,9; 142,5; 157,7; 161,9; 166,9.



Şekil 4.13. Bileşik BA6'nın ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları

2-[(1-Metil-1*H*-imidazol-2-il)tiyo]-*N*-[5-(3-siyanobenzil)-1,3,4-oksadiazol-2-il]asetamit
(BA7)



Bileşik **3b** (130 mg; 0,41 mmol) ve 1-metil-1*H*-imidazol-2-tiyolden (48 µl; 0,41 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (98:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

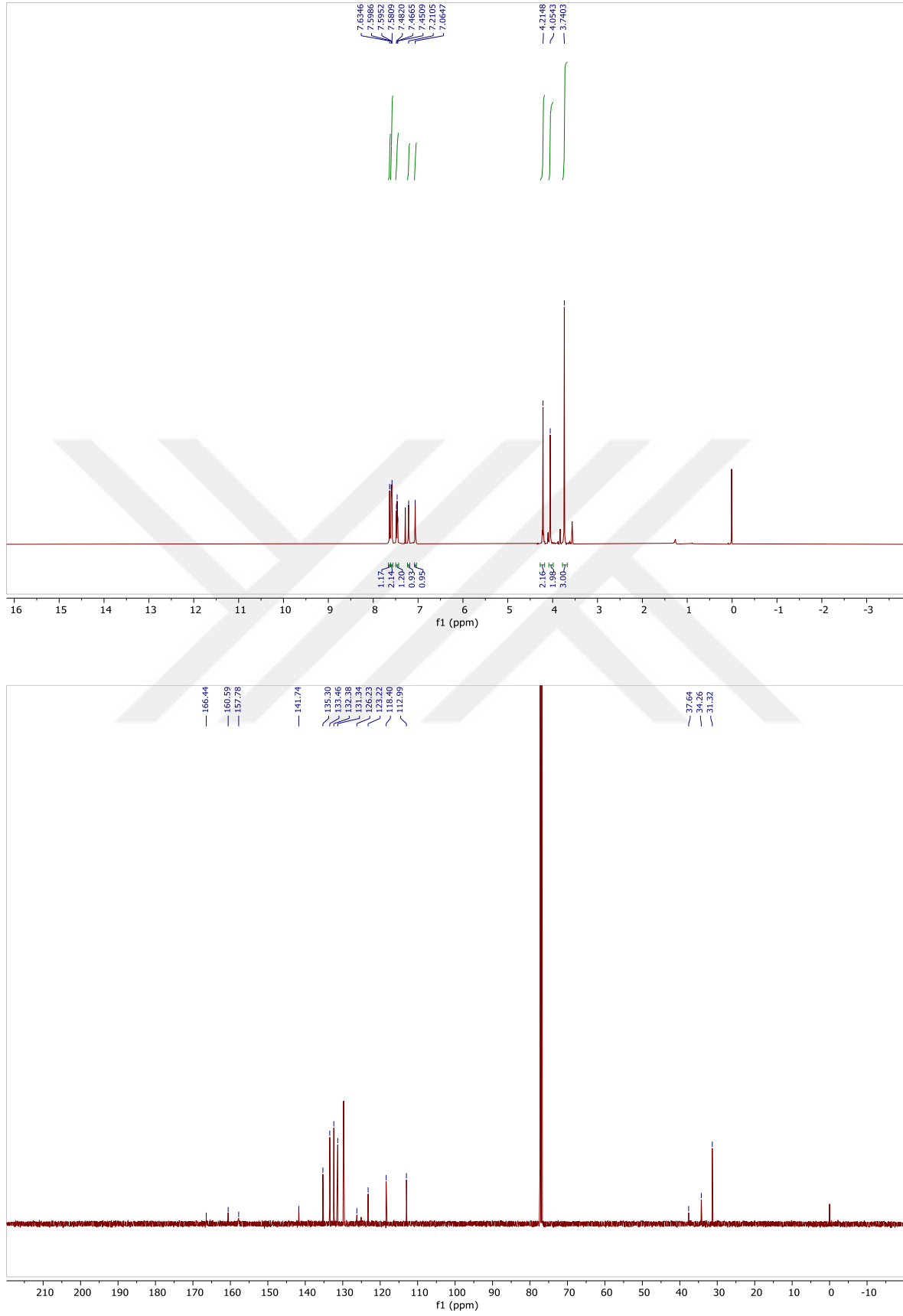
Verim: 22 mg, %15

Erime derecesi: 113,5-114 °C

C₁₆H₁₅N₆O₂S için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 355,0977; Bulunan: 355,0976

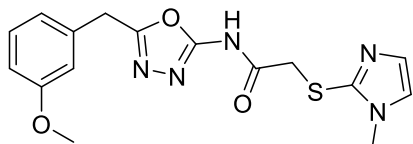
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ ppm: 3,74 (3H, s, CH₃); 4,05 (2H, s, -COCH₂S-); 4,21 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 7,06 (1H, s, Ar-H); 7,21 (1H, s, Ar-H); 7,47 (1H, t, *J*=8 Hz, Ar-H); 7,59 (2H, d, *J*=8 Hz, Ar-H); 7,63 (1H, s, Ar-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ ppm: 31,3; 34,3; 37,6; 113; 118,4; 123,2; 126,2; 129,8; 131,3; 132,4; 133,5; 135,3; 141,7; 157,8; 160,6.



Şekil 4.14. Bileşik BA7'nin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumları

2-[(1-Metil-1*H*-imidazol-2-il)tiyo]-*N*-[5-(3-metoksibenzil)-1,3,4-oksadiazol-2-il]asetamit
(BA8)



Bileşik **3c** (115 mg; 0,35 mmol) ve 1-metil-1*H*-imidazol-2-tiyolden (40 mg; 0,35 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (99:1) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

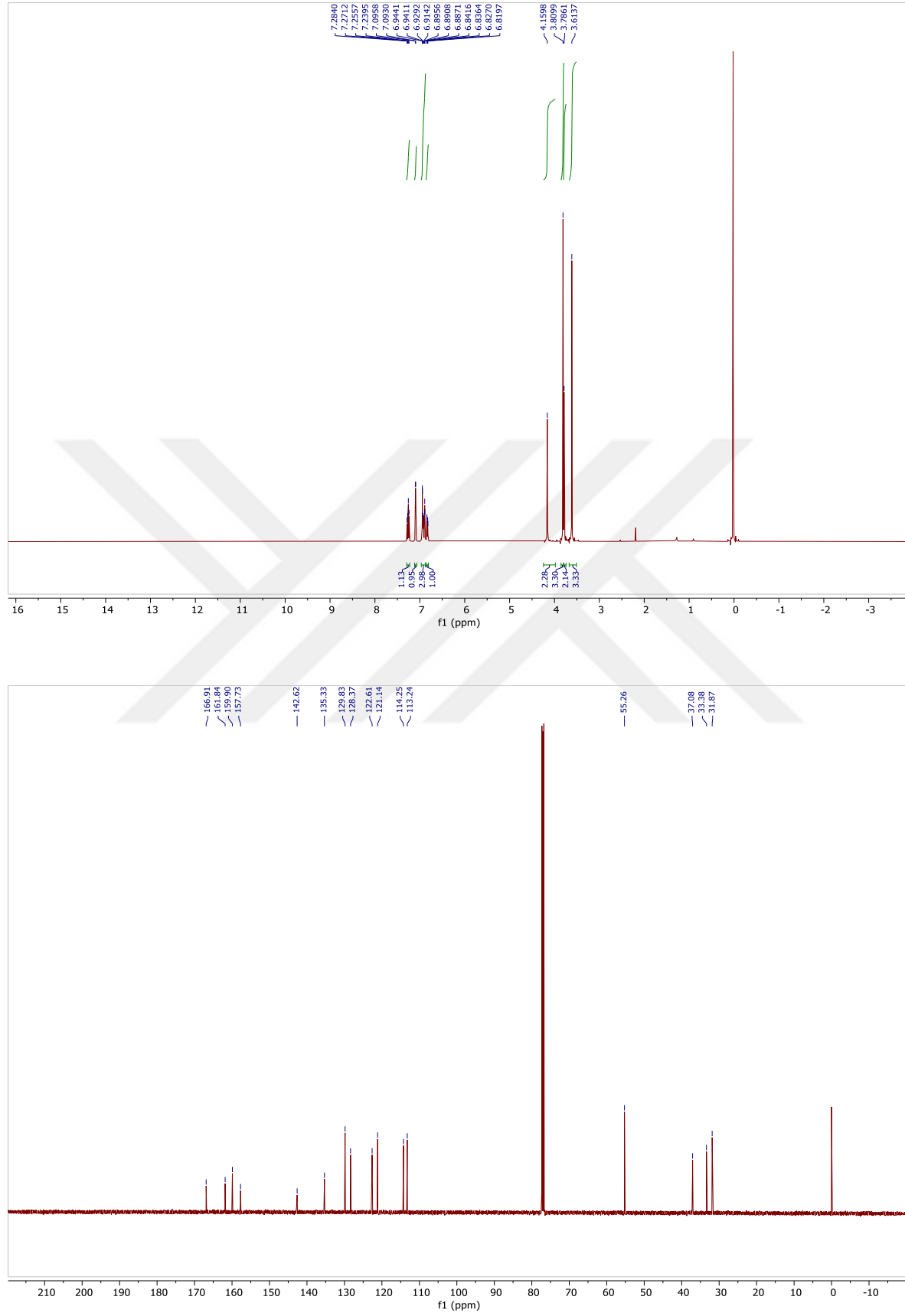
Verim: 20 mg, %16

Erime derecesi: 124-124,3 °C

C₁₆H₁₈N₅O₃S için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 360,1130; Bulunan: 360,1135

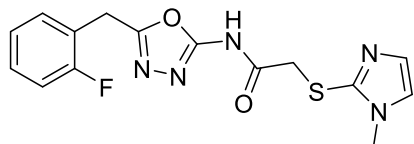
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ ppm: 3,61 (3H, s, imidazol -CH₃); 3,79 (2H, s, -COCH₂S-); 3,81 (3H, s, -OCH₃); 4,16 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 6,83 (1H, dd, *J*=8 ve 2,3 Hz, Ar-H); 6,89-6,94 (3H, m, Ar-H); 7,09 (1H, d, *J*=1,3 Hz, Ar-H); 7,24-7,28 (1H, m, Ar-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ ppm: 31,9; 33,4; 37,1; 55,3; 113,2; 114,2; 121,1; 122,6; 128,4; 129,8; 135,3; 142,6; 157,7; 159,9; 161,8; 166,9.



Şekil 4.15. Bileşik BA8'in ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları

N-[5-(2-Florobenzil)-1,3,4-oksadiazol-2-il]-2-[(1-metil-1*H*-imidazol-2-il)tiyo]asetamit
(BA9)



Bileşik **3d** (115 mg; 0,37 mmol) ve 1-metil-1*H*-imidazol-2-tiyolden (42 mg; 0,37 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (99:1) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

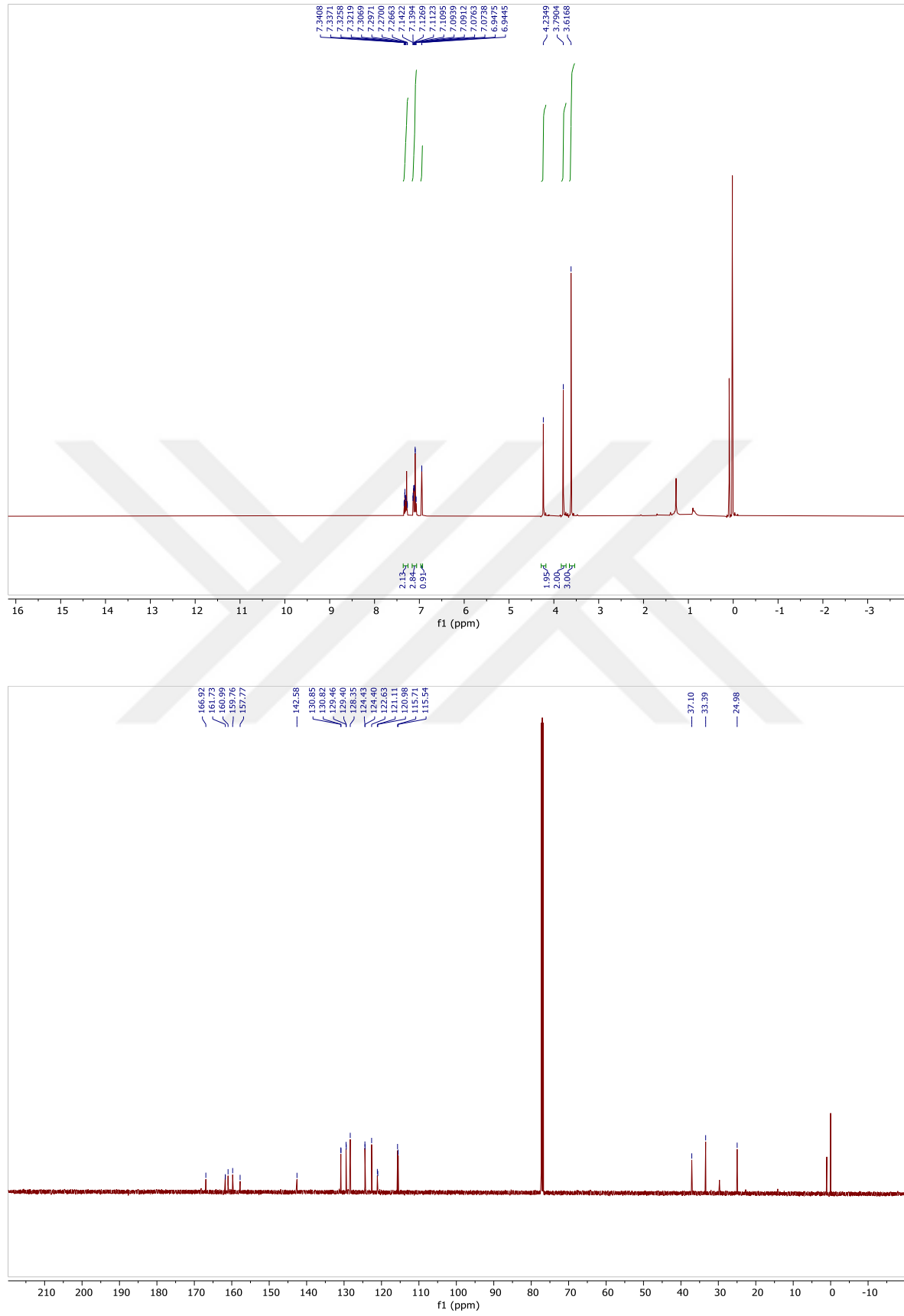
Verim: 32 mg, %25

Erime derecesi: 200 °C (dekompoze)

C₁₅H₁₅FN₅O₂S için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 348,0930; Bulunan: 348,0917

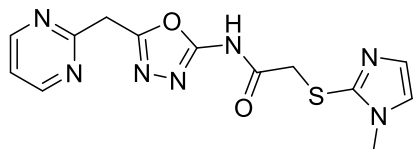
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ ppm: 3,62 (3H, s, imidazol -CH₃); 3,79 (2H, s, -COCH₂S-); 4,24 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 6,95 (1H, d, *J*=1,3 Hz, imidazol Ar-H); 7,07-7,14 (3H, m, fenil Ar-H); 7,27-7,34 (2H, m, fenil Ar-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ ppm: 25 (d, ³*J*_{CF}=4,5 Hz); 33,9; 37,1; 115,6 (d, ²*J*_{CF}=21,1 Hz); 121 (d, ²*J*_{CF}=15,1 Hz); 122,6; 124,4 (d, ⁴*J*_{CF}=3,7 Hz); 128,3; 129,4 (d, ³*J*_{CF}=8,1 Hz); 130,8 (d, ³*J*_{CF}=3,6 Hz); 142,6; 157,8; 160,7 (d, ¹*J*_{CF}=246 Hz); 161; 166,9.



Şekil 4.16. Bileşik BA9'un ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumları

2-[(1-Metil-1*H*-imidazol-2-il)tiyo]-*N*-[5-(pirimidin-2-ilmetil)-1,3,4-oksadiazol-2-il]asetamit (BA10)



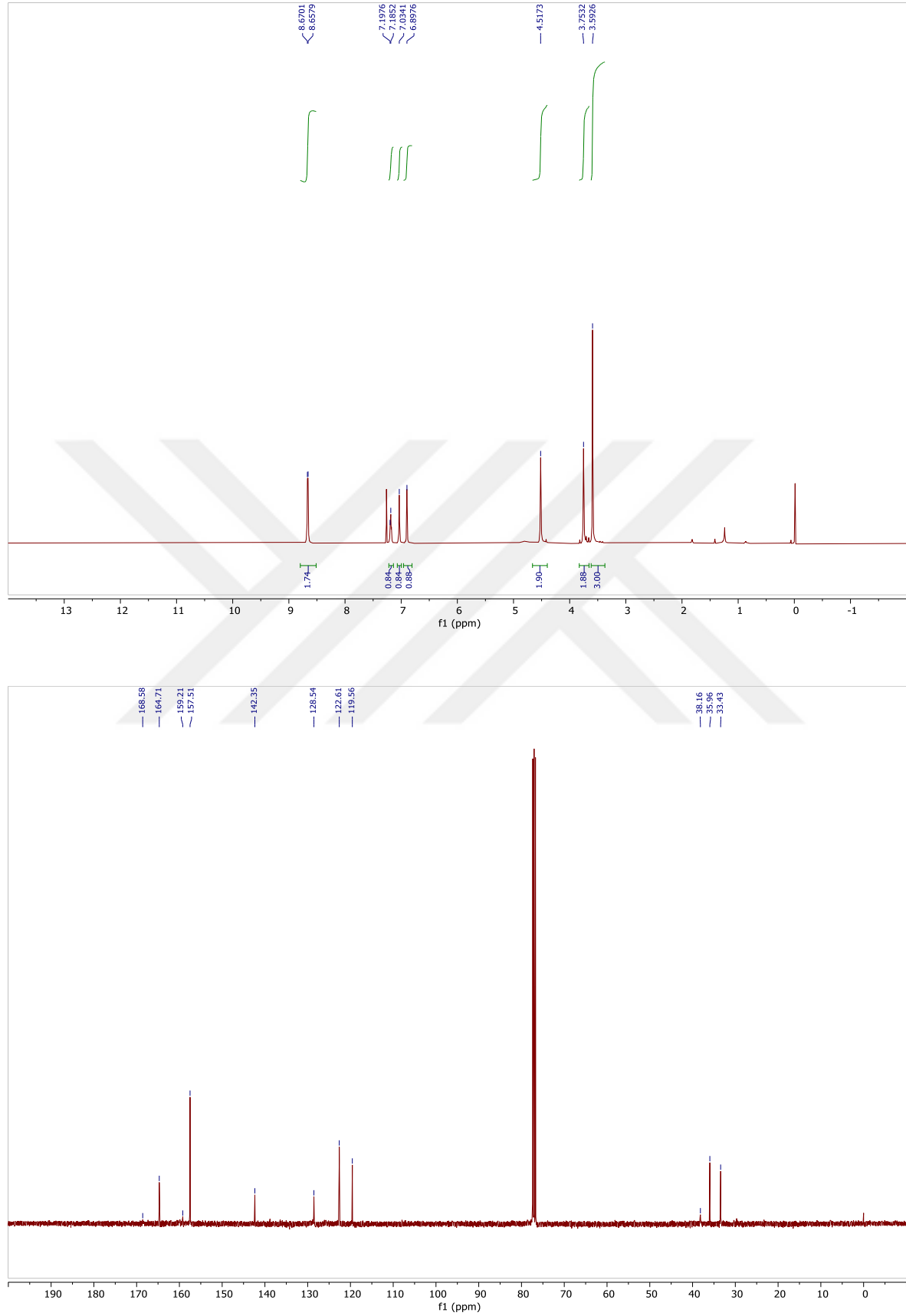
Bileşik **3e** (140 mg; 0,47 mmol) ve 1-metil-1*H*-imidazol-2-tiyolden (54 mg; 0,47 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (97:3) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Sarı renkte yağlı bir bileşiktir.

Verim: 14 mg, %10

C₁₃H₁₄N₇O₂S için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 332,0930; Bulunan: 332,0931

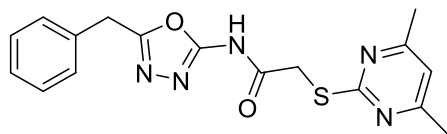
¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ ppm: 3,59 (3H, s, imidazol -CH₃); 3,75 (2H, s, -COCH₂S-); 4,52 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 6,90 (1H, s, imidazol Ar-H); 7,04 (1H, s, imidazol Ar-H); 7,19 (1H, t, *J*=4,8 Hz, pirimidin Ar-H); 8,66 (2H, d, *J*=4,8 Hz, pirimidin Ar-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ ppm: 33,4; 36; 38,2; 119,6; 122,6; 128,6; 142,4; 157,5; 159,2; 160; 164,7; 168,6.



Şekil 4.17. Bileşik BA10'un ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları

N-(5-Benzil-1,3,4-oksadiazol-2-il)-2-[(4,6-dimetilpirimidin-2-il)tiyo]asetamit (**BA11**)



Bileşik **3a** (103 mg; 0,35 mmol) ve 4,6-dimetilpirimidin-2-tiyolden (50 mg; 0,35 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (98:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

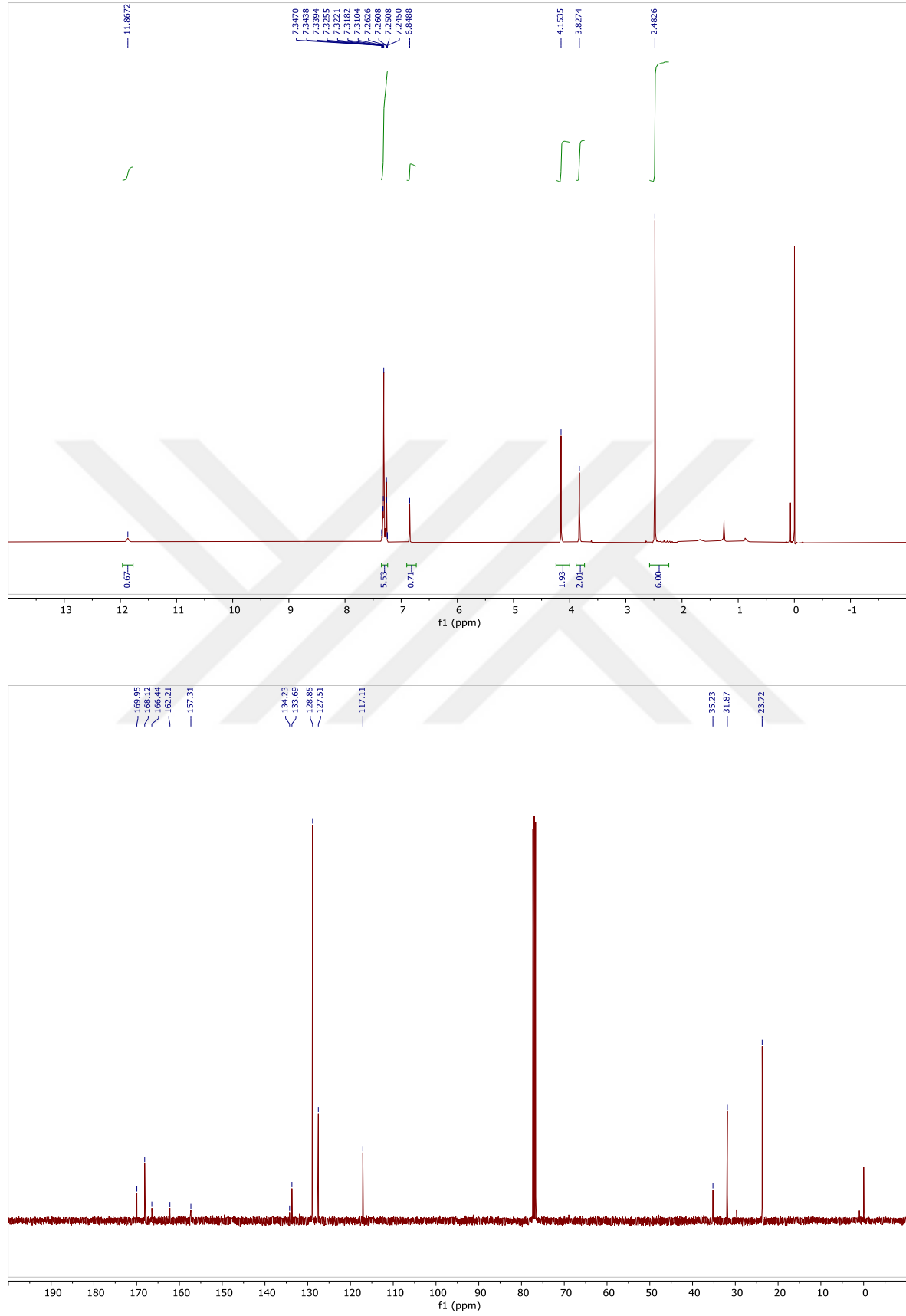
Verim: 52 mg, %42

Erime derecesi: 124,5-124,8 °C

C₁₇H₁₈N₅O₂S için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 356,1181; Bulunan: 356,1172

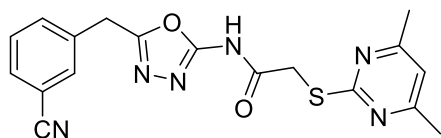
¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ ppm: 2,48 (6H, s, 4,6-dimetilpirimidin -CH₃); 3,83 (2H, s, -COCH₂S-); 4,15 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 6,85 (1H, s, 4,6-dimetilpirimidin Ar-H); 7,25-7,34 (5H, m, fenil Ar-H); 11,87 (1H, br s, -CONH-).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ ppm: 23,7; 31,9; 35,2; 117,1; 127,5; 128,8; 133,7; 134,2; 157,3; 162,2; 166,4; 168,1; 170.



Şekil 4.18. Bileşik BA11'in ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları

2-[(4,6-Dimetilpirimidin-2-il)tiyo]-N-[5-(3-siyanobenzil)-1,3,4-oksadiazol-2-il]asetamit
(BA12)



Bileşik **3b** (171 mg; 0,53 mmol) ve 4,6-dimetilpirimidin-2-tiyolden (75 mg; 0,53 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (99:1) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

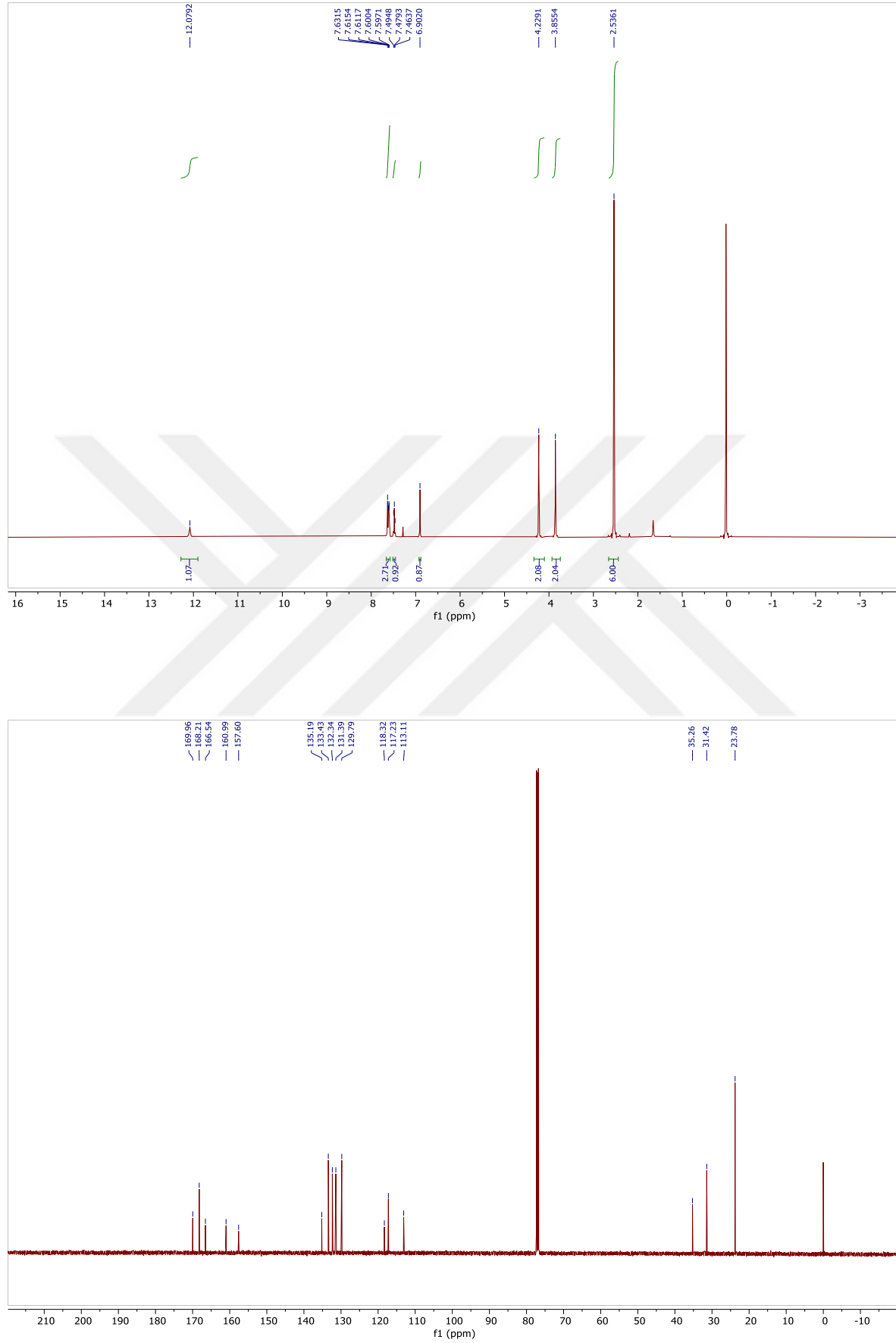
Verim: 36 mg, %18

Erimme derecesi: 146-146,5 °C

C₁₈H₁₇N₆O₂S için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 381,1134; Bulunan: 381,1137

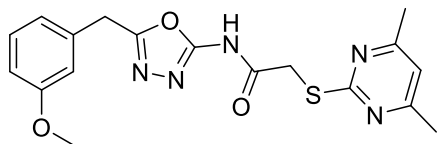
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ ppm: 2,54 (6H, s, 4,6-dimetilpirimidin -CH₃); 3,86 (2H, s, -OCH₂S-); 4,23 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 6,90 (1H, s, 4,6-dimetilpirimidin Ar-H); 7,48 (1H, t, *J*=7,8 Hz, fenil Ar-H); 7,60-7,63 (3H, m, fenil Ar-H); 12,08 (1H, s, -CONH-).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ ppm: 23,8; 31,4; 35,3; 113,1; 117,2; 118,3; 129,8; 131,4; 132,3; 133,4; 135,2; 157,6; 161; 166,5; 168,2; 170.



Şekil 4.19. Bileşik BA12'nin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları

2-[(4,6-Dimetilpirimidin-2-il)tiyo]-N-[5-(3-metoksibenzil)-1,3,4-oksadiazol-2-il]asetamit
(BA13)



Bileşik **3c** (161 mg; 0,5 mmol) ve 4,6-dimetilpirimidin-2-tiyolden (70 mg; 0,5 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (99,5:0,5) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

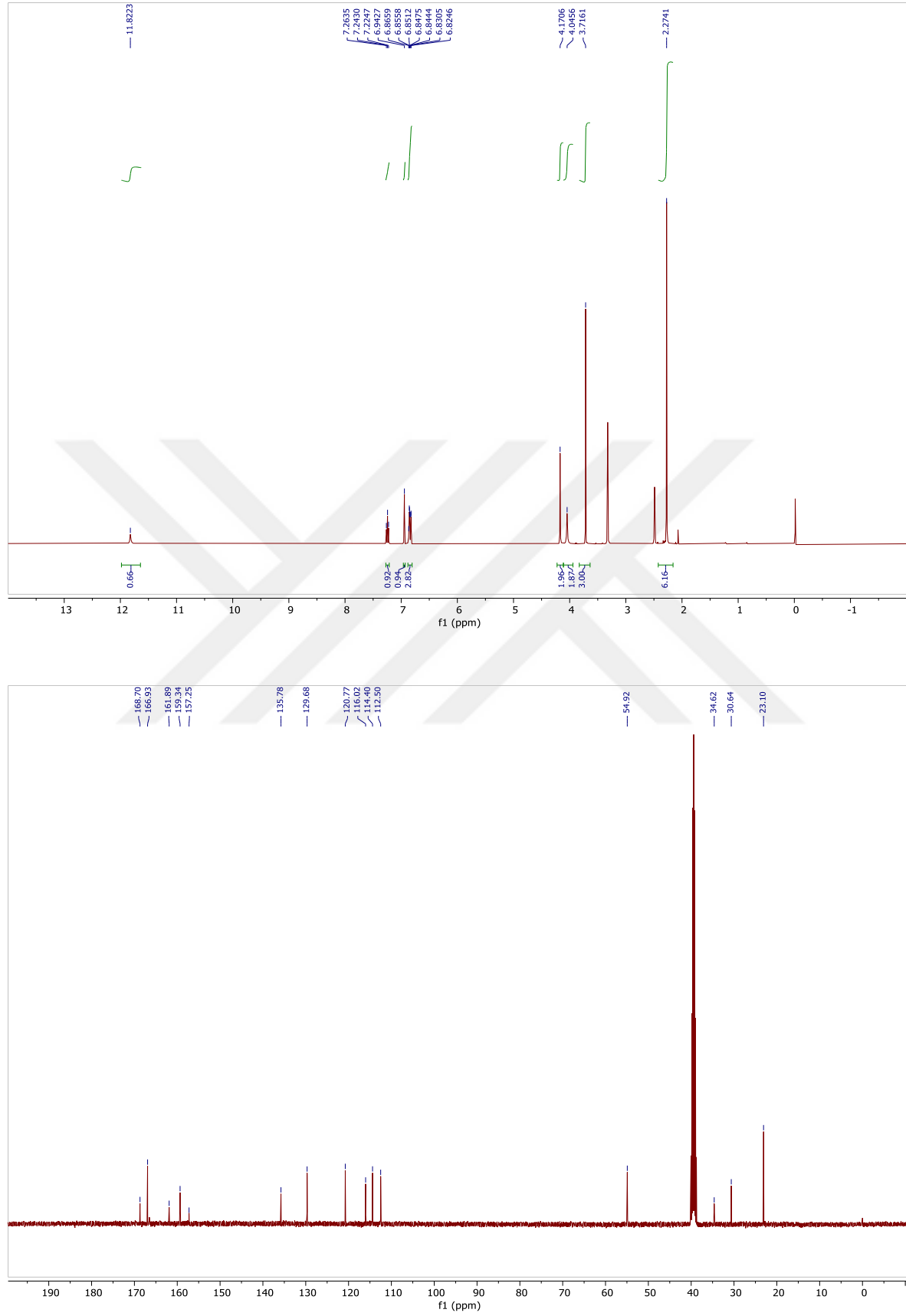
Verim: 42 mg, %22

Erime derecesi: 120,5-120,7 °C

C₁₈H₂₀N₅O₃S için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 386,1287; Bulunan: 386,1289

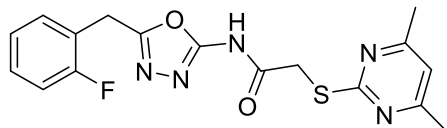
¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ ppm: 2,27 (6H, s, 4,6-dimetilpirimidin -CH₃); 3,72 (3H, s, -OCH₃); 4,05 (2H, s, -COCH₂S-); 4,17 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 6,83-6,86 (3H, m, fenil Ar-H); 6,94 (1H, s, 4,6-dimetilpirimidin Ar-H); 7,24 (1H, t, *J*=8,4 Hz, fenil Ar-H); 11,82 (1H, br s, -CONH-).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ ppm: 23,1; 30,6; 34,6; 54,9; 112,5; 114,4; 116; 120,8; 129,7; 135,8; 157,3; 159,3; 161,9; 166,5; 166,9; 168,7.



Şekil 4.20. Bileşik BA13'ün ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları

2-[(4,6-Dimetilpirimidin-2-il)tiyo]-N-[5-(2-florobenzil)-1,3,4-oksadiazol-2-il]asetamit
(BA14)



Bileşik **3d** (125 mg; 0,40 mmol) ve 4,6-dimetilpirimidin-2-tiyolden (56 mg; 0,4 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (98:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

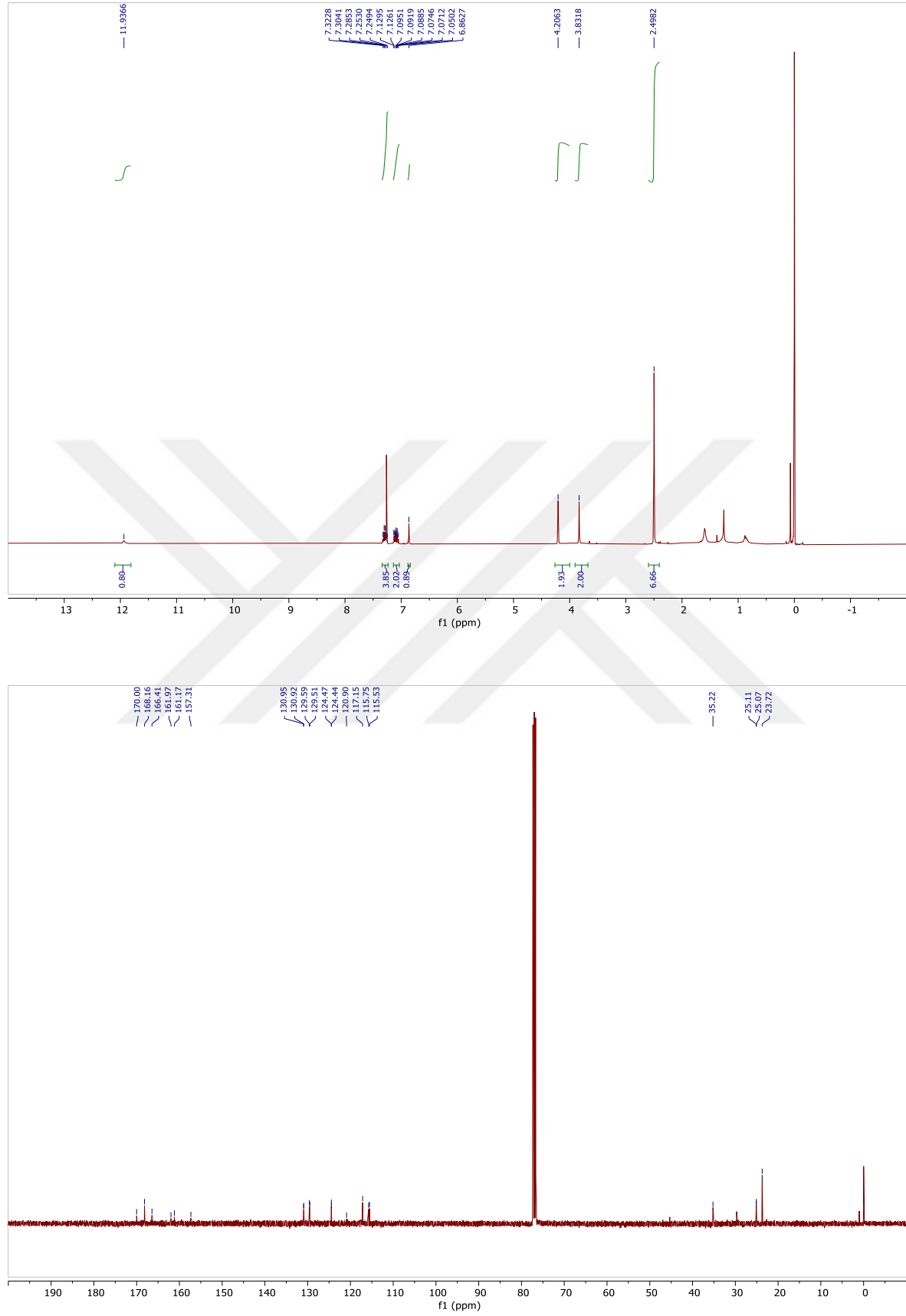
Verim: 61 mg, %41

Erime derecesi: 157,1-157,4 °C

C₁₇H₁₇FN₅O₂S için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 374,1087; Bulunan: 374,1087

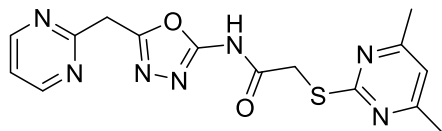
¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ ppm: 2,50 (6H, s, 4,6-dimetilpirimidin -CH₃); 3,83 (2H, s, -COCH₂S-); 4,21 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 6,86 (1H, s, 4,6-dimetilpirimidin Ar-H); 7,05-7,13 (2H, m, fenil Ar-H); 7,25-7,32 (2H, m, fenil Ar-H); 11,94 (1H, br s, -CONH-).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ ppm: 23,7; 25,1 (d, ³J_{CF}=4,5 Hz); 35,2; 115,6 (d, ²J_{CF}=21,2 Hz); 117,1; 120,8 (d, ²J_{CF}=15,3 Hz); 124,4 (d, ⁴J_{CF}=3,9 Hz); 129,5 (d, ³J_{CF}=8,3 Hz); 130,9 (d, ³J_{CF}=3,9 Hz); 157,3; 160,7 (d, ¹J_{CF}=246,2 Hz); 161,2; 166,4; 168,1; 170.



Şekil 4.21. Bileşik BA14'ün ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumları

2-[(4,6-Dimetilpirimidin-2-il)tiyo]-N-[5-(pirimidin-2-ilmetil)-1,3,4-oksadiazol-2-il]asetamit (BA15)



Bileşik **3e** (130 mg; 0,44 mmol) ve 4,6-dimetilpirimidin-2-tiyolden (56 mg; 0,44 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (98:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

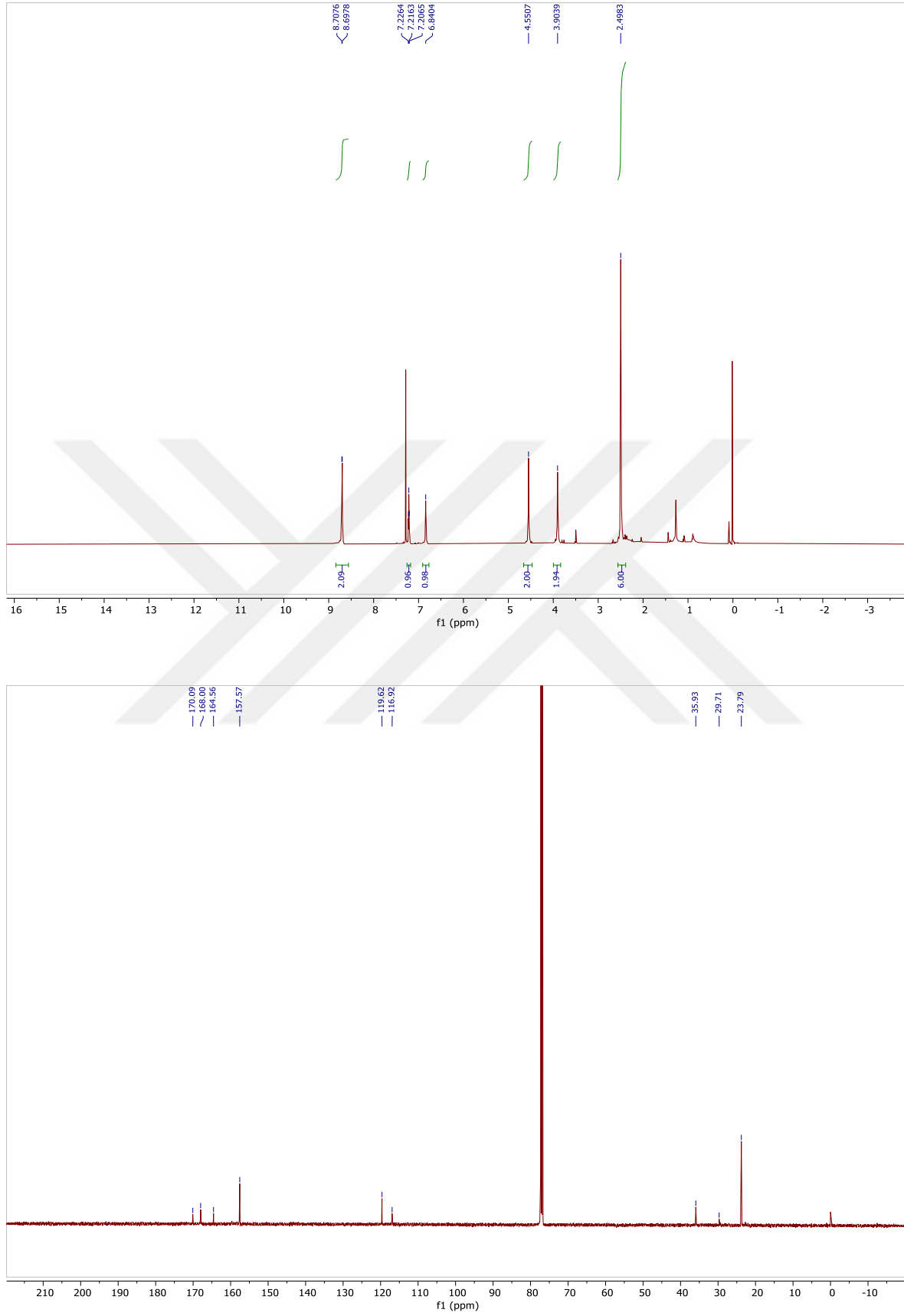
Verim: 28 mg, %18

Erimе derecesi: 90,5-91 °C

C₁₅H₁₆N₇O₂S için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 358,1086; Bulunan: 358,1071

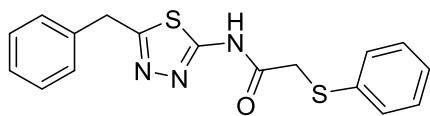
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ ppm: 2,50 (6H, s, 4,6-dimetilpirimidin -CH₃); 3,90 (2H, s, -COCH₂S-); 4,55 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 6,84 (1H, s, 4,6-dimetilpirimidin Ar-H); 7,22 (1H, t, *J*=4,9 Hz, pirimidin Ar-H); 8,70 (2H, d, *J*=4,9 Hz, pirimidin Ar-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ ppm: 23,8; 29,7; 35,9; 116,9; 119,6; 157,6; 159,7; 164,6; 168,0; 170,1.



Şekil 4.22. Bileşik BA15'in ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları

N-(5-Benzil-1,3,4-tiyadiazol-2-il)-2-(feniltiyo)asetamit (BA16)



Bileşik **4f** (187 mg; 0,6 mmol) ve tiyofenolden (57 μ l; 0,6 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (98:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

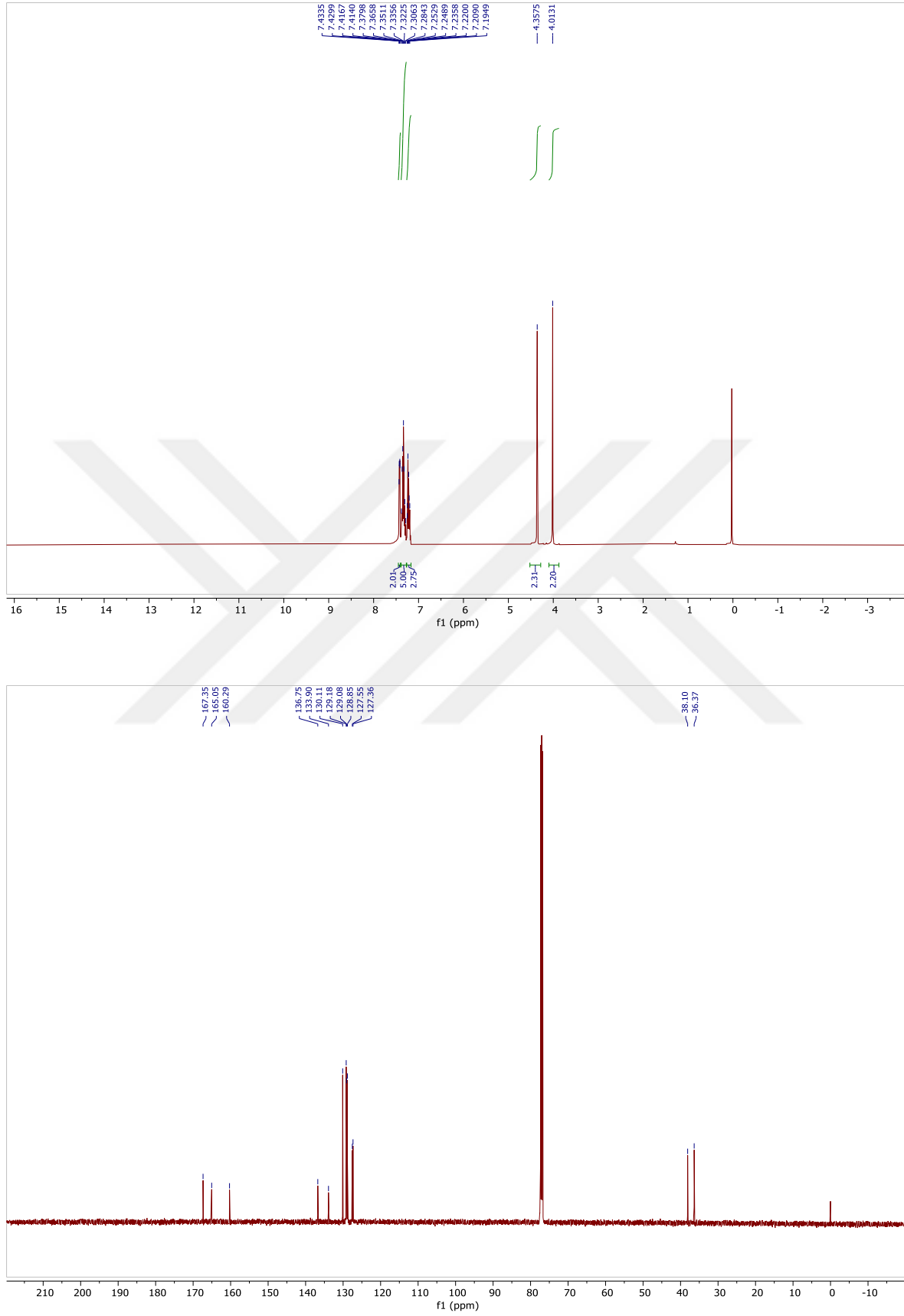
Verim: 117 mg, %57

Erime derecesi: 196,1-196,8 °C

C₁₇H₁₆N₃OS₂ için HRMS (m/z) [M+H]⁺ Hesaplanan: 342,0735; Bulunan: 342,0743

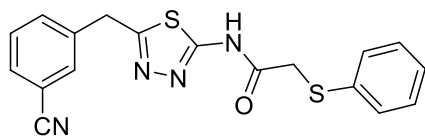
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ ppm: 4,01 (2H, s, -COCH₂S-); 4,36 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 7,20-7,25 (3H, m, Ar-H); 7,31-7,38 (5H, m, Ar-H); 7,42 (2H, d, J =8 Hz, Ar-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ ppm: 36,4; 38,1; 127,4; 127,6; 128,8; 129,1; 129,2; 130,1; 133,9; 136,8; 160,3; 165,1; 167,4.



Şekil 4.23. Bileşik BA16'nın ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları

2-(Feniltiyo)-N-[5-(3-siyanobenzil)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]asetamit (BA17)



Bileşik **4g** (270 mg; 0,8 mmol) ve tiyofenolden (76 µl; 0,8 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (98:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

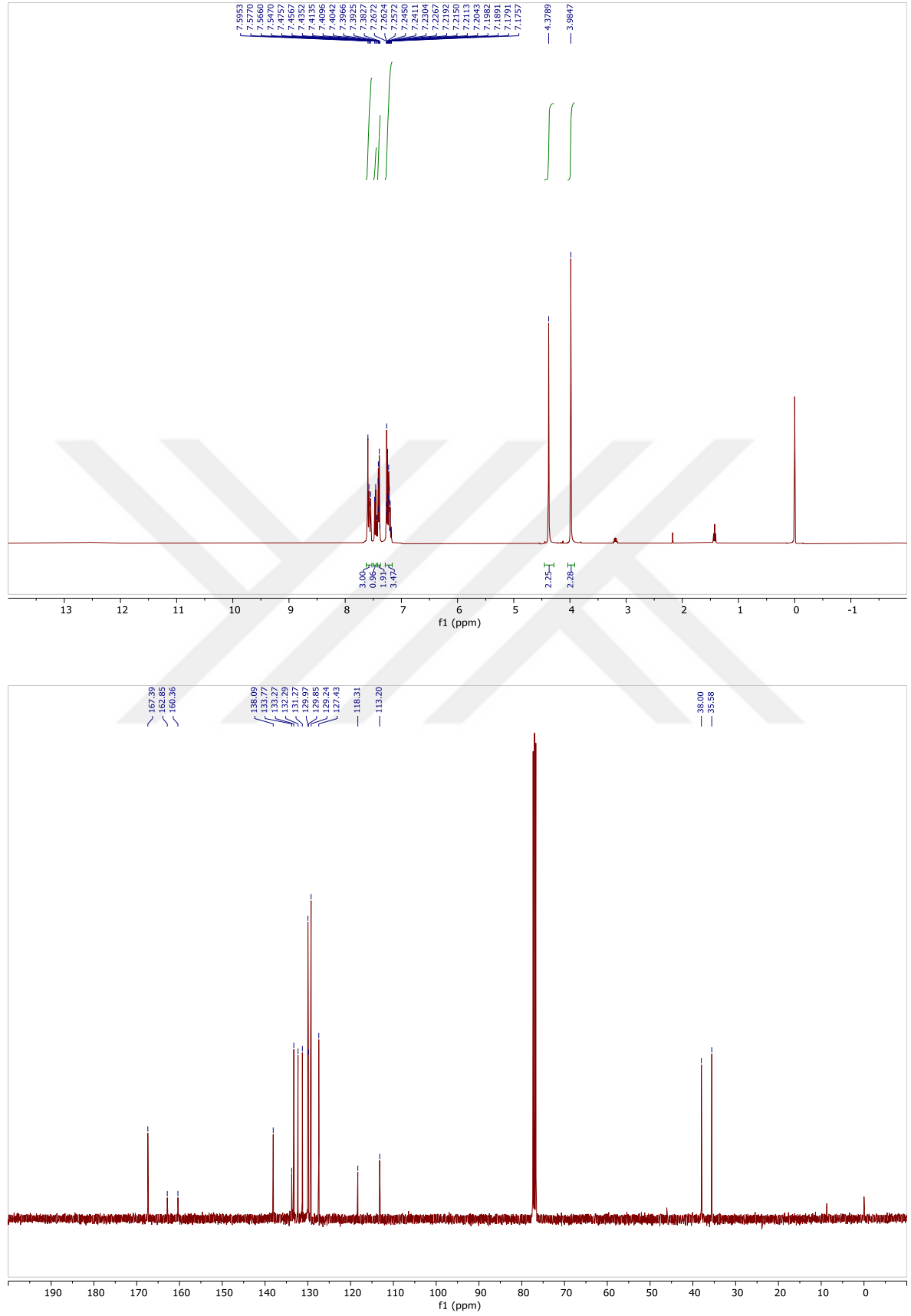
Verim: 21 mg, %7

Erime derecesi: 185,7-186 °C

C₁₈H₁₅N₄OS₂ için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 367,0687; Bulunan: 367,0677

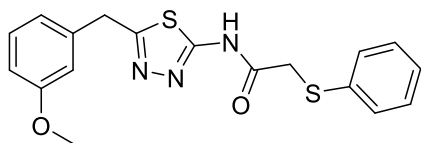
¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ ppm: 3,99 (2H, s, -COCH₂S-); 4,38 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 7,20-7,25 (3H, m, Ar-H); 7,40 (2H, dd, *J*=8 ve 1,2 Hz, Ar-H); 7,46 (1H, t, *J*=8 Hz, Ar-H); 7,55-7,60 (3H, m, Ar-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ ppm: 35,6; 38; 113,2; 118,3; 127,4; 129,2; 129,9; 130; 131,2; 132,3; 133,3; 133,8; 138,1; 160,4; 162,9; 167,4.



Şekil 4.24. Bileşik BA17'nin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumları

2-(Feniltiyo)-N-[5-(3-metoksibenzil)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]asetamit (BA18)



Bileşik **4h** (137 mg; 0,4 mmol) ve tiyofenolden (38 µl; 0,4 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (98,5:1,5) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

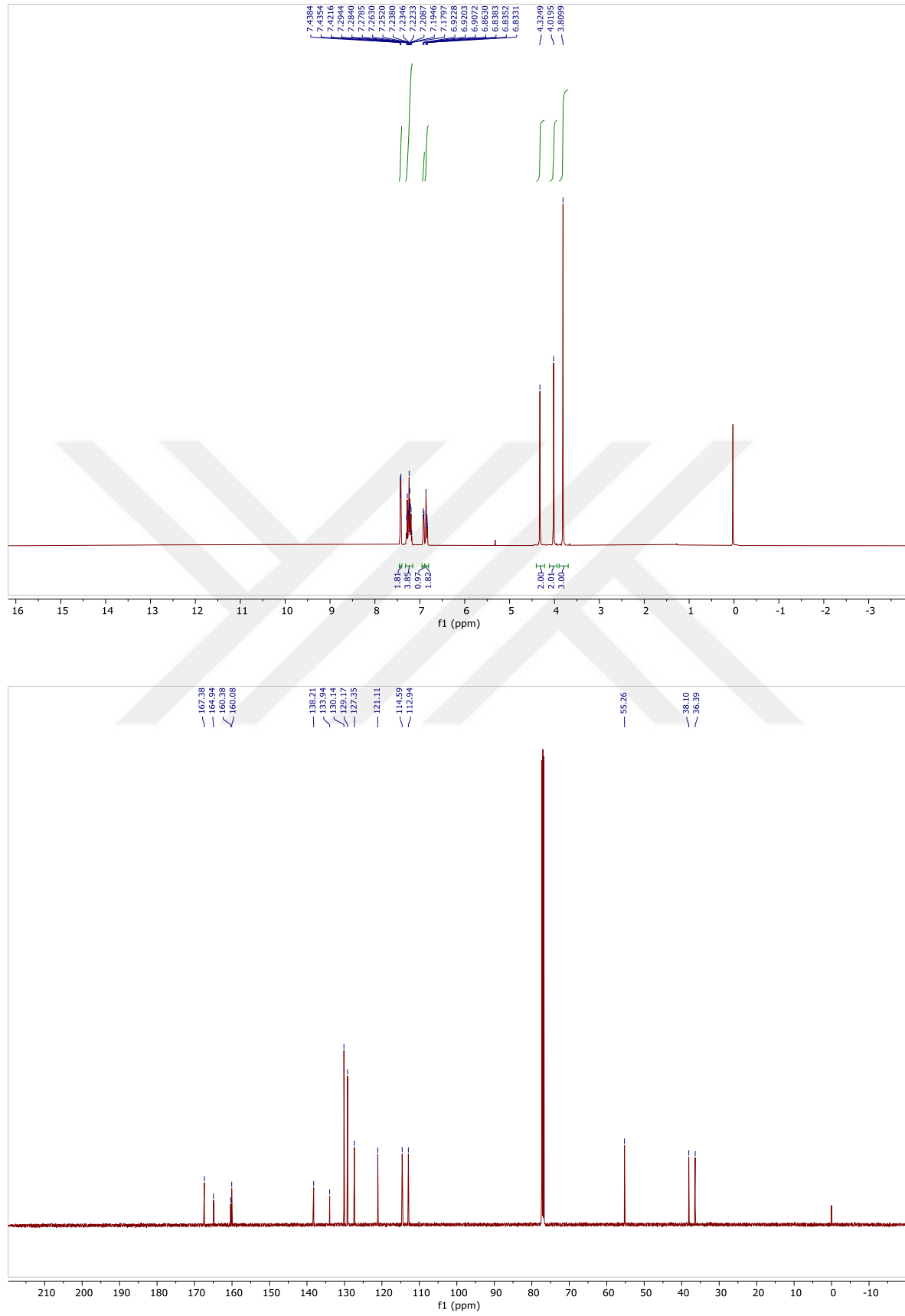
Verim: 79 mg, %53

Erime derecesi: 158,2-158,5 °C

C₁₈H₁₈N₃O₂S₂ için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 372,0840; Bulunan: 372,0833

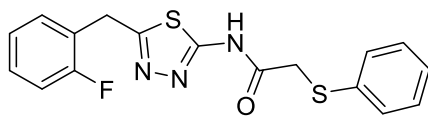
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ ppm: 3,81 (3H, s, -OCH₃); 4,02 (2H, s, -COCH₂S-); 4,33 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 6,83-6,86 (2H, m, Ar-H); 6,92 (1H, d, *J*=7,6 Hz, Ar-H); 7,19-7,29 (4H, m, Ar-H); 7,42-7,44 (2H, m, Ar-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ ppm: 36,4; 38,1; 55,3; 112,9; 114,6; 121,1; 127,3; 129,2; 130,1; 133,9; 138,2; 160,1; 160,4; 164,9; 167,2; 167,4.



Şekil 4.25. Bileşik BA18'in ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumları

2-(Feniltiyo)-N-[5-(2-florobenzil)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]asetamit (BA19)



Bileşik **4i** (198 mg; 0,6 mmol) ve tiyofenolden (57 µl; 0,6 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (98:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

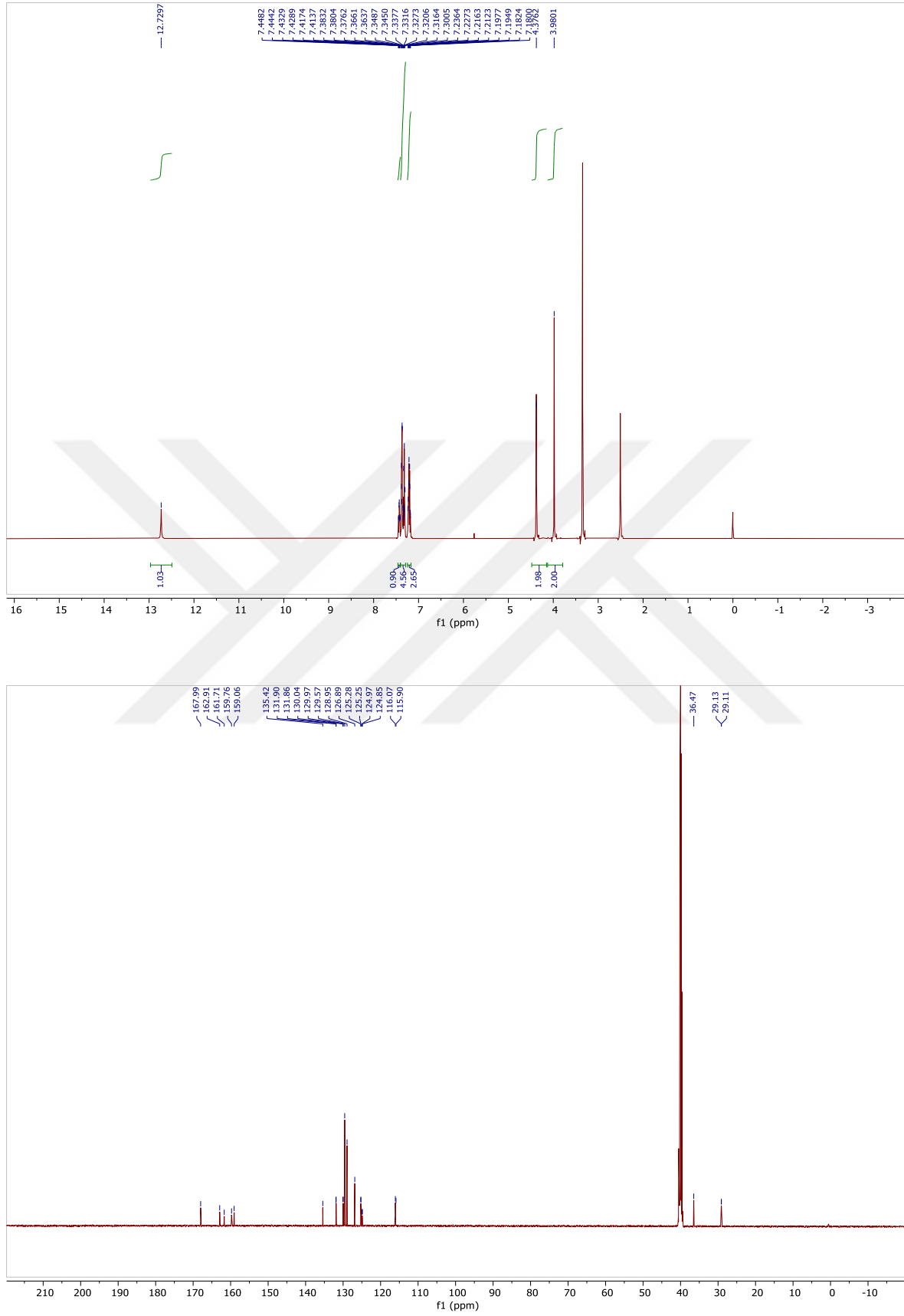
Verim: 136 mg, %63

Erime derecesi: 170,8-171,1 °C

C₁₇H₁₅FN₃OS₂ için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 360,0641; Bulunan: 360,0640

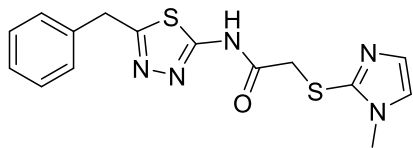
¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ ppm: 3,98 (2H, s, -COCH₂S-); 4,38 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 7,18-7,24 (3H, m, Ar-H); 7,32 (2H, t, *J*=7,8 Hz, Ar-H); 7,35-7,38 (3H, m, Ar-H); 7,43 (1H, td, *J*=7,8 ve 1,6 Hz, Ar-H); 12,73 (1H, s, -CONH-).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ ppm: 29,1 (d, ³*J*_{CF}=2,8 Hz); 36,5; 116 (d, ²*J*_{CF}=21,1 Hz); 124,9 (d, ²*J*_{CF}=15,6 Hz); 125,3 (d, ⁴*J*_{CF}=3,5 Hz); 126,9; 128,9; 129,6; 130 (d, ³*J*_{CF}=7,9 Hz); 131,9 (d, ³*J*_{CF}=4,2 Hz); 135,4; 159,1; 160,7 (d, ¹*J*_{CF}=243,3 Hz); 162,9; 168.



Şekil 4.26. Bileşik BA19'un ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumları

N-(5-Benzil-1,3,4-tiyadiazol-2-il)-2-[(1-metil-1*H*-imidazol-2-il)tiyo]asetamit (BA20)



Bileşik **4f** (187 mg; 0,6 mmol) ve 1-metil-1*H*-imidazol-2-tiyolden (69 mg; 0,6 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (98:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

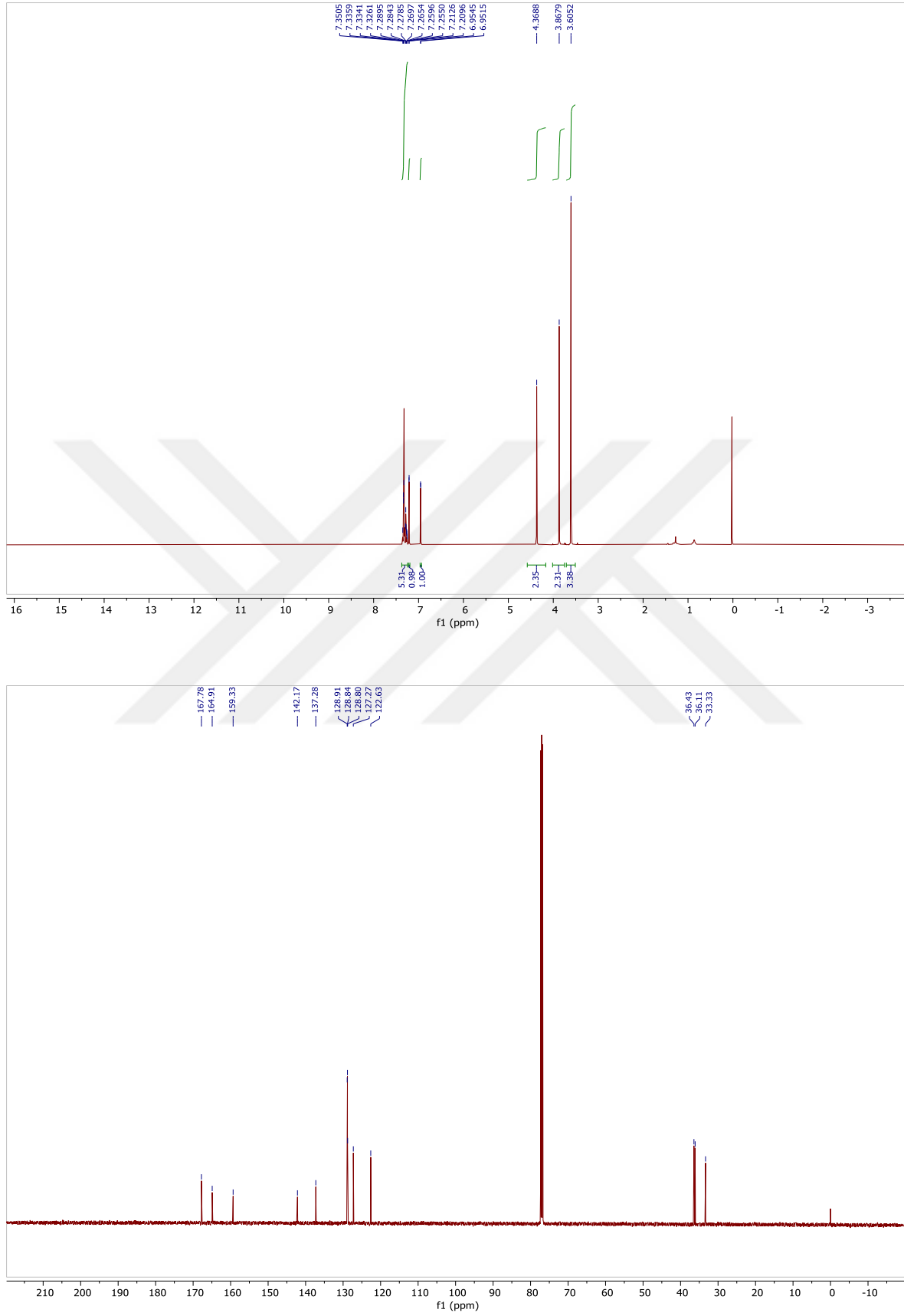
Verim: 114 mg, %55

Erime derecesi: 180,7-180,9 °C

C₁₅H₁₆N₅OS₂ için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 346,0796; Bulunan: 346,0788

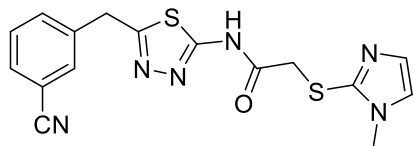
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ ppm: 3,61 (3H, s, imidazol -CH₃); 3,87 (2H, s, -COCH₂S-); 4,37 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 6,95 (1H, d, *J*=1,4 Hz, imidazol Ar-H); 7,21 (1H, d, *J*=1,4 Hz, imidazol Ar-H); 7,27-7,34 (5H, m, fenil Ar-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ ppm: 33,3; 36,1; 36,4; 122,6; 127,3; 128,7; 128,8; 128,9; 137,3; 142,2; 159,3; 164,9; 167,8.



Şekil 4.27. Bileşik BA20'nin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları

2-[(1-Metil-1*H*-imidazol-2-il)tiyo]-*N*-[5-(3-siyanobenzil)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]asetamit
(BA21)



Bileşik **4g** (270 mg; 0,8 mmol) ve 1-metil-1*H*-imidazol-2-tiyolden (91 mg; 0,8 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (98:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

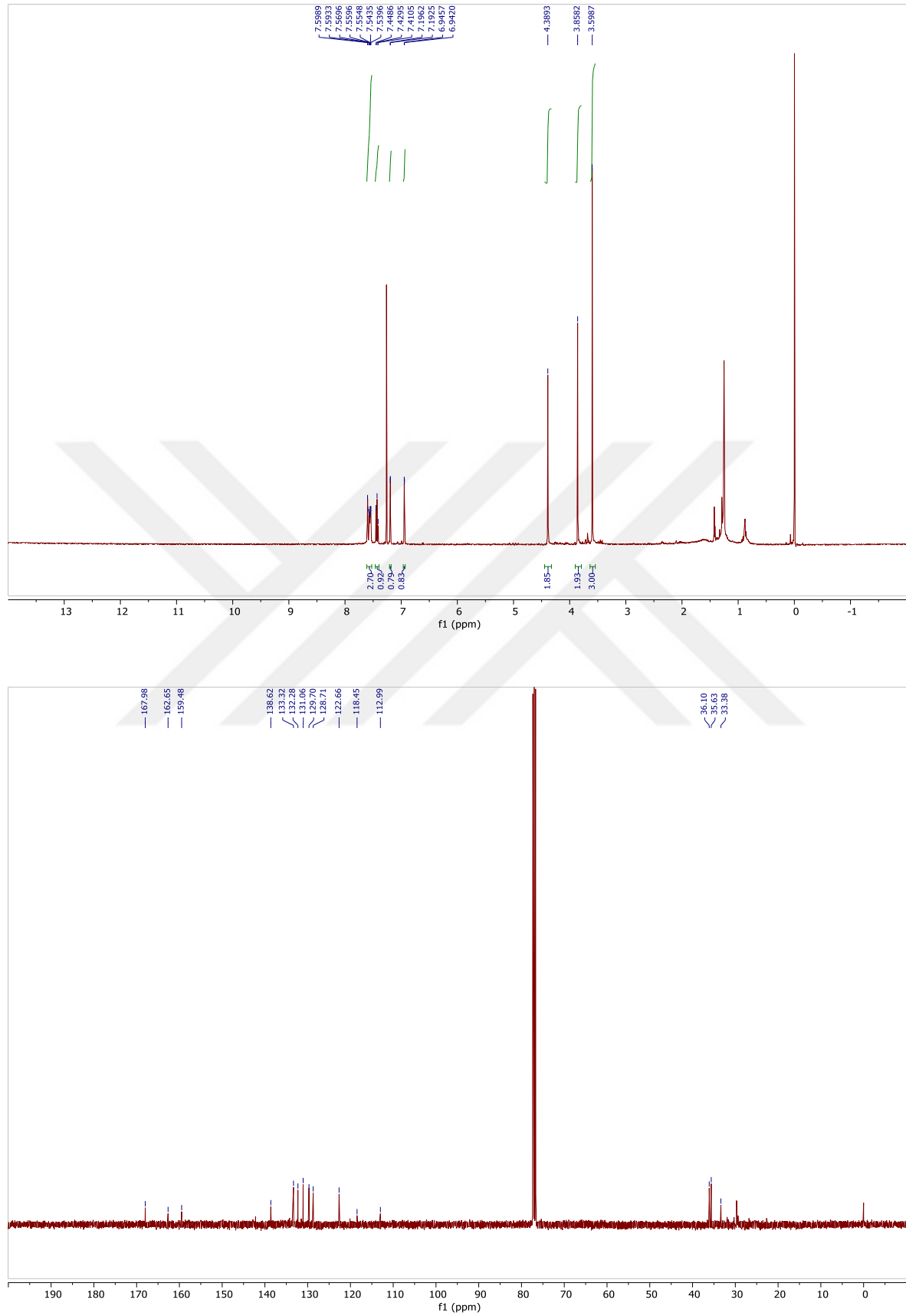
Verim: 47 mg, %16

Erime derecesi: 163,7-164,1 °C

C₁₆H₁₅N₆OS₂ için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 371,0749; Bulunan: 371,0760

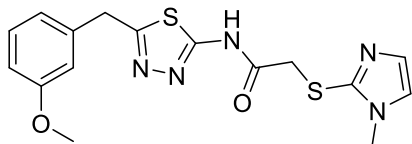
¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ ppm: 3,60 (3H, s, imidazol -CH₃); 3,86 (2H, s, -COCH₂S-); 4,39 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 6,94 (1H, d, *J*=1,4 Hz, imidazol Ar-H); 7,19 (1H, d, *J*=1,4 Hz, imidazol Ar-H); 7,43 (1H, t, *J*=7,6 Hz, fenil Ar-H); 7,54-7,60 (3H, m, fenil Ar-H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ ppm: 33,4; 35,6; 36,1; 113; 118,5; 122,7; 128,7; 129,7; 131,1; 132,3; 133,3; 138,6; 142,2; 159,5; 162,7; 168.



Şekil 4.28. Bileşik BA21'in ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları

2-[(1-Metil-1*H*-imidazol-2-il)tiyo]-*N*-[5-(3-metoksibenzil)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]asetamit
(BA22)



Bileşik **4h** (205 mg; 0,6 mmol) ve 1-metil-1*H*-imidazol-2-tiyolden (69 mg; 0,6 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (98:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

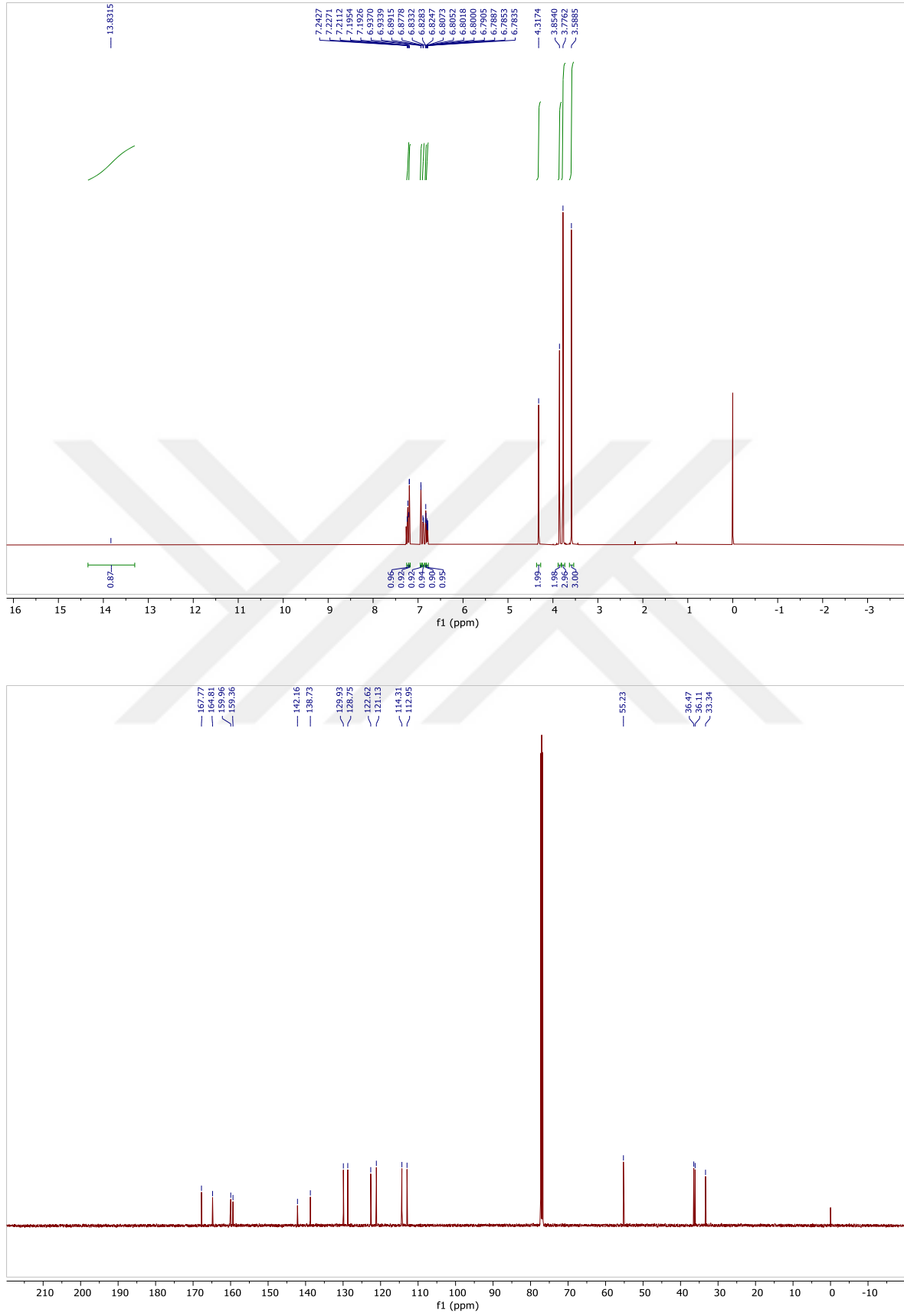
Verim: 119 mg, %53

Erime derecesi: 132,8-133 °C

C₁₆H₁₈N₅O₂S₂ için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 376,0902; Bulunan: 376,0902

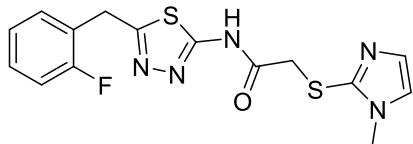
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ ppm: 3,61 (3H, s, imidazol -CH₃); 3,80 (3H, s, -OCH₃); 3,87 (2H, s, -COCH₂S-); 4,34 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 6,82 (1H, dd, *J*=7,9 ve 2 Hz, fenil Ar-H); 6,85 (1H, t, *J*=2 Hz, fenil Ar-H); 6,90 (1H, d, *J*=7,9 Hz, fenil Ar-H); 6,96 (1H, d, *J*=1,4 Hz, imidazol Ar-H); 7,21 (1H, d, *J*=1,4 Hz, imidazol Ar-H); 7,23-7,28 (1H, t, *J*=7,9 Hz, fenil Ar-H); 13,83 (1H, br s, -CONH-).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ ppm: 33,3; 36,1; 36,5; 55,2; 113; 114,3; 121,1; 122,6; 128,8; 129,9; 138,7; 142,2; 159,4; 160; 164,8; 167,8.



Şekil 4.29. Bileşik BA22'nin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumları

N-[5-(2-Florobenzil)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]-2-[(1-metil-1*H*-imidazol-2-il)tiyo]asetamit
(BA23)



Bileşik **4i** (165 mg; 0,5 mmol) ve 1-metil-1*H*-imidazol-2-tiyolden (57 mg; 0,5 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (98:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

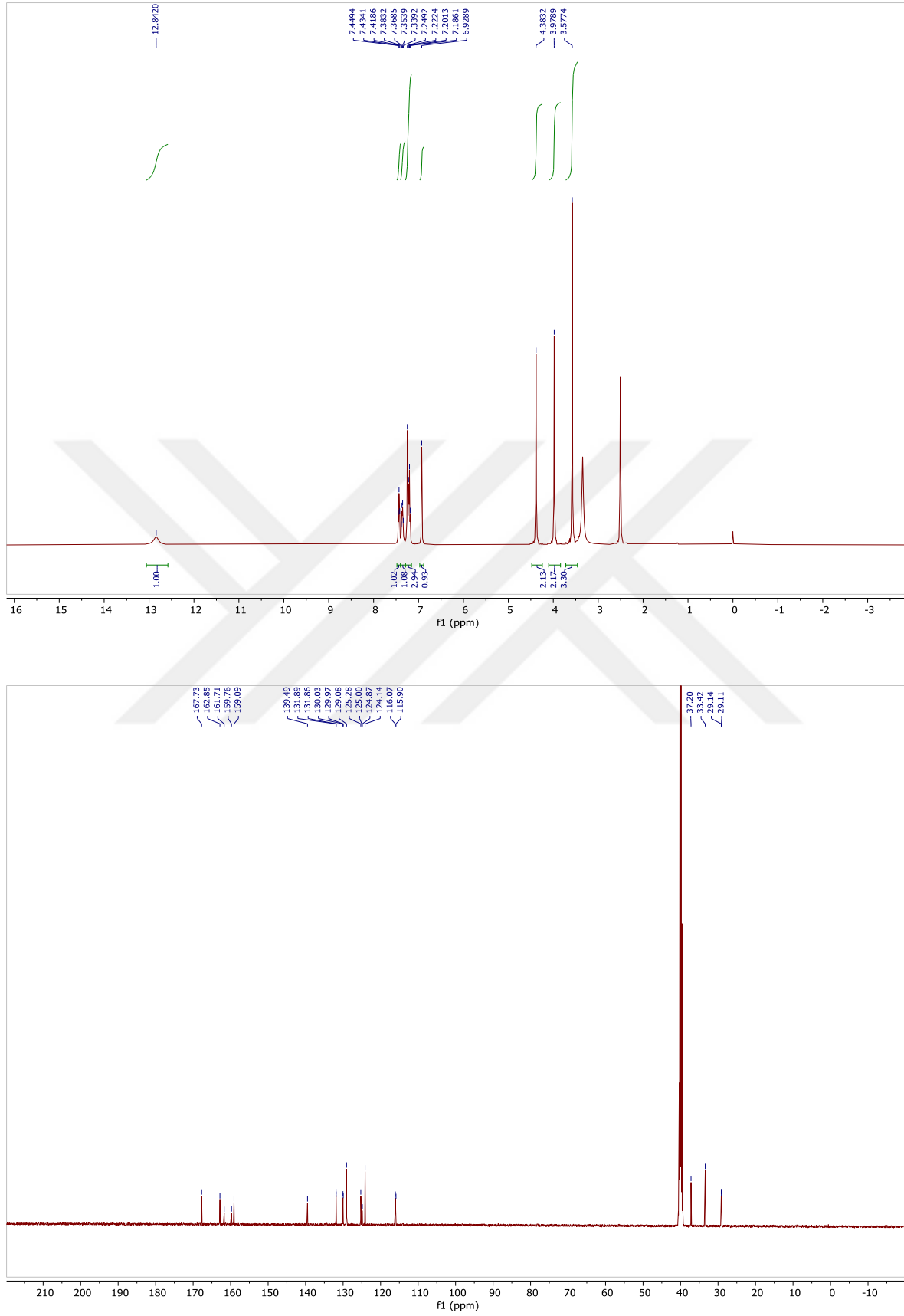
Verim: 105 mg, %58

Erime derecesi: 170,3-170,6 °C

C₁₅H₁₅FN₅OS₂ için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 364,0702; Bulunan: 364,0710

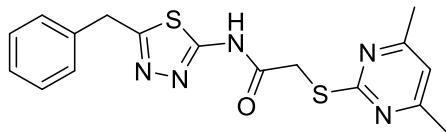
¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ ppm: 3,58 (3H, s, imidazol -CH₃); 3,98 (2H, s, -COCH₂S-); 4,38 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 6,93 (1H, s, Ar-H); 7,19-7,25 (3H, m, Ar-H); 7,34-7,38 (1H, m, Ar-H); 7,43 (1H, t, *J*=7,4 Hz, fenil Ar-H); 12,84 (1H, br s, -CONH-).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ ppm: 29,1 (d, ³*J*_{CF}=2,7 Hz); 33,4; 37,2; 116 (d, ²*J*_{CF}=21,1 Hz); 124,1; 124,9 (d, ²*J*_{CF}=15,5 Hz); 125,3 (d, ⁴*J*_{CF}=3,4 Hz); 129,1; 130 (d, ³*J*_{CF}=8,1 Hz); 131,9 (d, ³*J*_{CF}=3,8 Hz); 139,5; 159,1; 160,7 (d, ¹*J*_{CF}=243,3); 162,8; 167,7.



Şekil 4.30. Bileşik BA23'ün ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumları

N-(5-Benzil-1,3,4-tiyadiazol-2-il)-2-[(4,6-dimetilpirimidin-2-il)tiyo]asetamit (BA24)



Bileşik **4f** (156 mg; 0,5 mmol) ve 4,6-dimetilpirimidin-2-tiyolden (70 mg; 0,5 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (98:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

Verim: 106 mg, %57

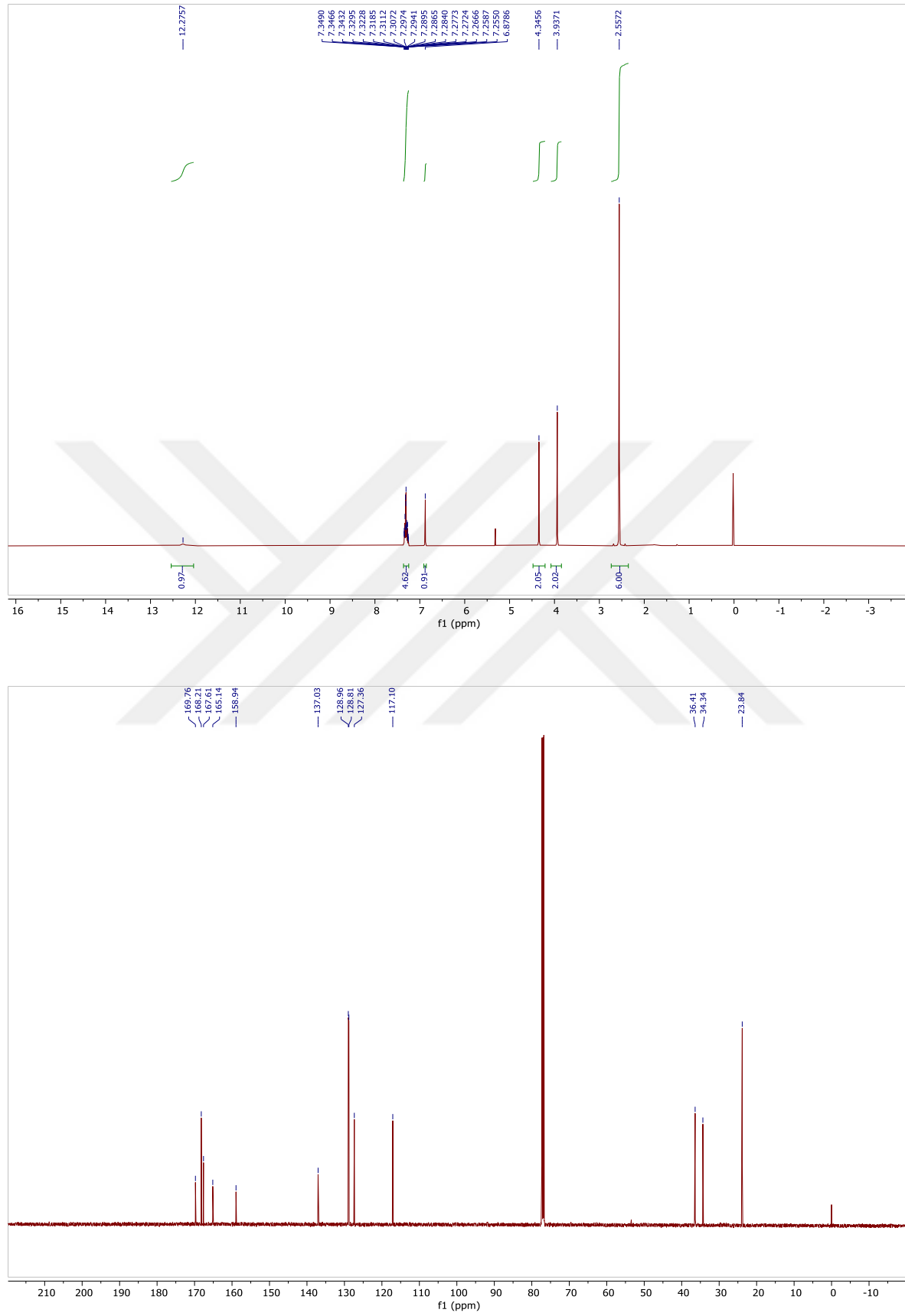
CAS: 1848251-00-2

Erime derecesi: 181-181,2 °C

C₁₇H₁₈N₅OS₂ için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 372,0953; Bulunan: 372,0955

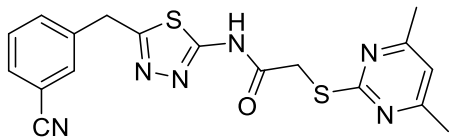
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ ppm: 2,56 (6H, s, 4,6-dimetilpirimidin -CH₃); 3,94 (2H, s, -COCH₂S-); 4,35 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 6,88 (1H, s, 4,6-dimetilpirimidin Ar-H); 7,26-7,35 (5H, m, fenil Ar-H); 12,28 (1H, br s, -CONH-).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ ppm: 23,8; 34,3; 36,4; 117,1; 127,4; 128,8; 129; 137; 158,9; 165,1; 167,6; 168,2; 169,8.



Şekil 4.31. Bileşik BA24'ün ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları

2-[(4,6-Dimetilpirimidin-2-il)tiyo]-N-[5-(3-siyanobenzil)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]asetamit
(BA25)



Bileşik **4g** (270 mg; 0,8 mmol) ve 4,6-dimetilpirimidin-2-tiyolden (112 mg; 0,8 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (98:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

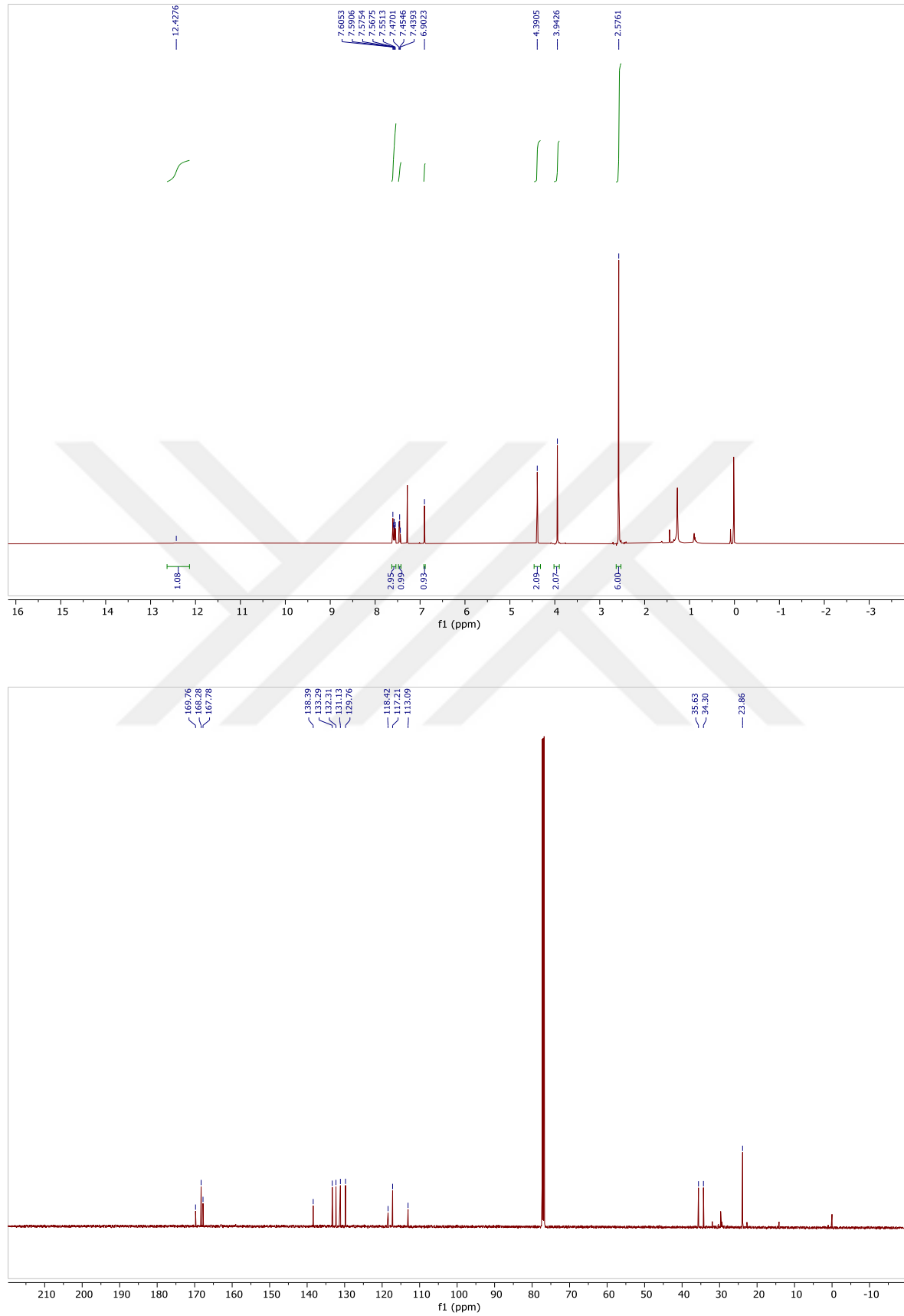
Verim: 57 mg, %18

Erimme derecesi: 180,1-180,6 °C

C₁₈H₁₇N₆OS₂ için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 397,0905; Bulunan: 397,0905

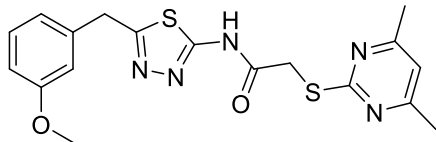
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ ppm: 2,58 (6H, s, 4,6-dimetilpirimidin -CH₃); 3,94 (2H, s, -COCH₂S-); 4,39 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 6,90 (1H, s, 4,6-dimetilpirimidin Ar-H); 7,46 (1H, t, *J*=7,8 Hz, fenil Ar-H); 7,55-7,61 (3H, m, fenil Ar-H); 12,42 (1H, br s, -CONH-).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ ppm: 23,9; 34,3; 35,6; 113,1; 117,2; 118,4; 129,8; 131,1; 132,3; 133,3; 138,4; 167,8; 168,3; 169,8.



Şekil 4.32. Bileşik BA25'in ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları

2-[(4,6-Dimetilpirimidin-2-il)tiyo]-N-[5-(3-metoksibenzil)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]asetamit
(BA26)



Bileşik **4h** (137 mg; 0,4 mmol) ve 4,6-dimetilpirimidin-2-tiyolden (56 mg; 0,4 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (98,5:1,5) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

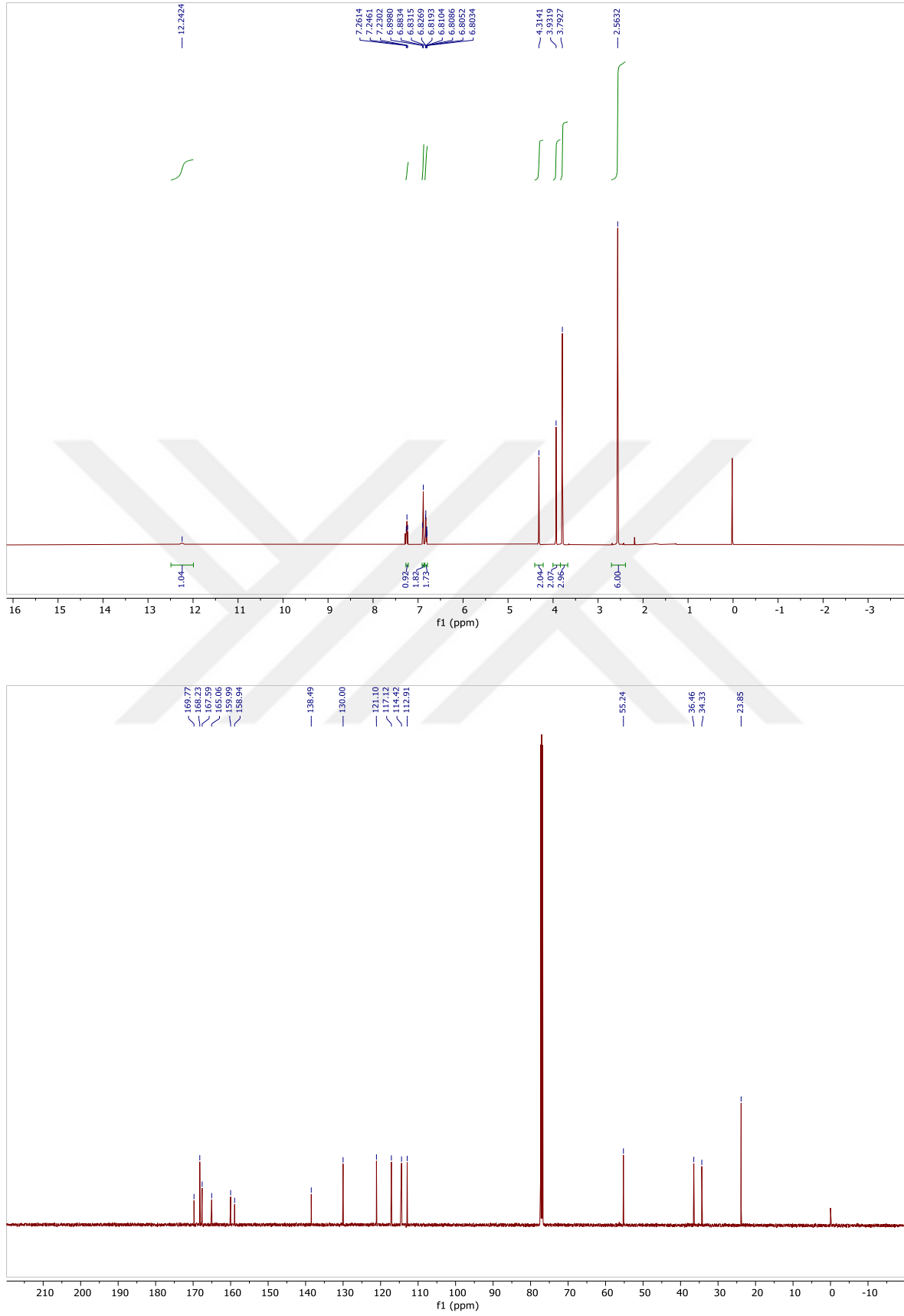
Verim: 87 mg, %54

Erime derecesi: 152,6-152,9 °C

C₁₈H₂₀N₅O₂S₂ için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 402,1058; Bulunan: 402,1064

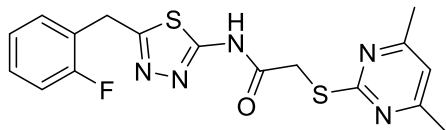
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ ppm: 2,56 (6H, s, 4,6-dimetilpirimidin -CH₃); 3,79 (3H, s, -OCH₃); 3,93 (2H, s, -COCH₂S-); 4,32 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 6,81-6,84 (2H, m, Ar-H); 6,88-6,90 (2H, m, Ar-H); 7,25 (1H, t, *J*=7,8 Hz, fenil Ar-H); 12,24 (1H, br s, -CONH-).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ ppm: 23,9; 34,3; 36,5; 55,2; 112,9; 114,4; 117,1; 121,1; 130; 138,5; 158,9; 160; 165,1; 167,6; 168,2; 169,8.



Şekil 4.33. Bileşik BA26'nın ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumları

2-[(4,6-Dimetilpirimidin-2-il)tiyo]-N-[5-(2-florobenzil)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]asetamit
(BA27)



Bileşik **4i** (198 mg; 0,6 mmol) ve 4,6-dimetilpirimidin-2-tiyolden (84 mg; 0,6 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre sentezlenmiş, diklorometan:metanol (98:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Beyaz renkte katı bir bileşiktir.

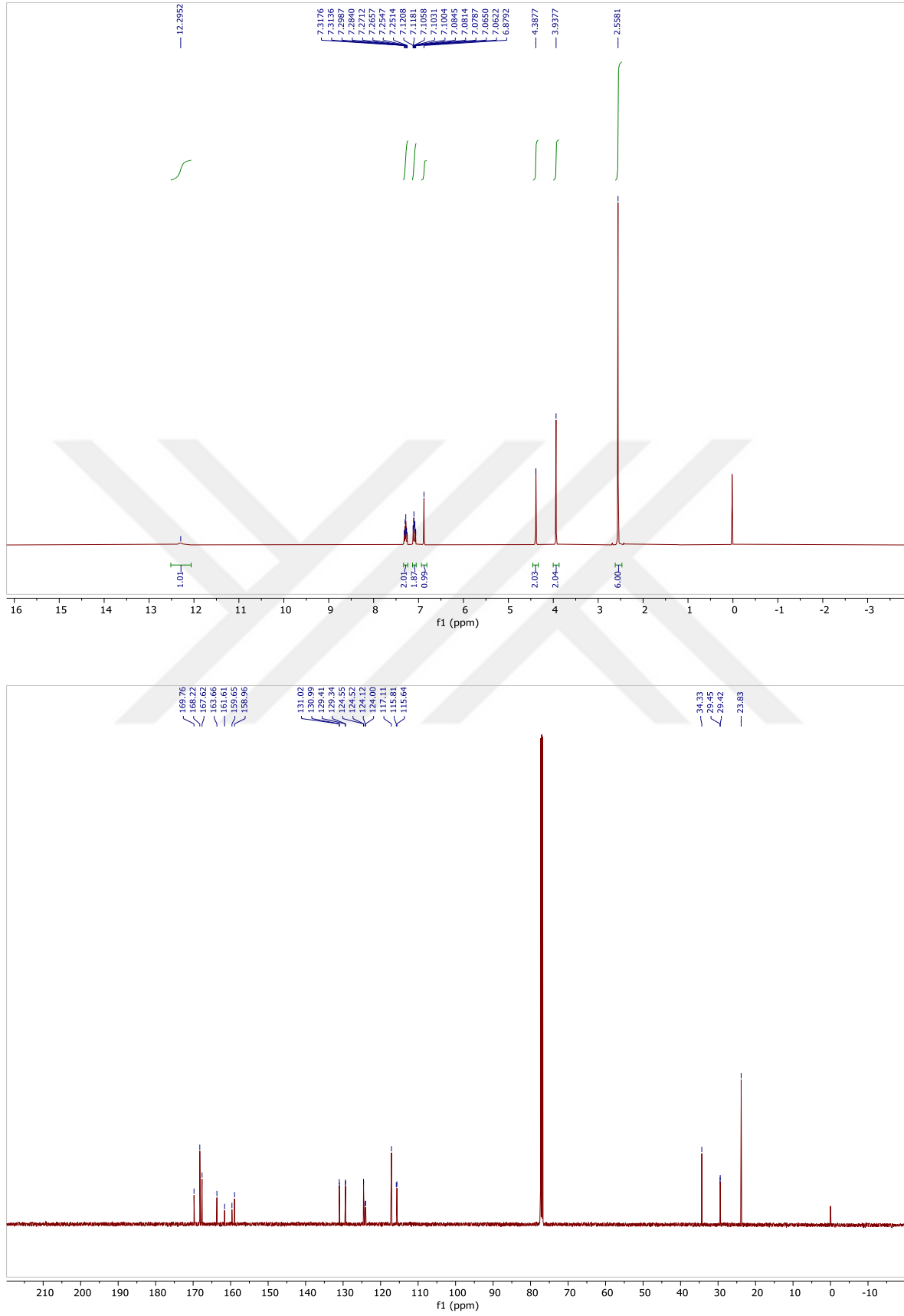
Verim: 142 mg, %61

Erime derecesi: 167,7-167,9 °C

C₁₇H₁₇FN₅OS₂için HRMS (*m/z*) [M+H]⁺ Hesaplanan: 390,0859; Bulunan: 390,0852

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ ppm: 2,56 (6H, s, 4,6-dimetilpirimidin -CH₃); 3,94 (2H, s, -COCH₂S-); 4,39 (2H, s, Ar-CH₂-Ar); 6,88 (1H, s, 4,6-dimetilpirimidin Ar-H); 7,06-7,12 (2H, m, fenil Ar-H); 7,25-7,32 (2H, m, fenil Ar-H); 12,30 (1H, br s, -CONH-).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ ppm: 23,8; 29,4 (d, ³J_{CF}=3,6 Hz); 34,3; 115,7 (d, ²J_{CF}=21,3 Hz); 117,1; 124,1 (d, ²J_{CF}=15,5 Hz); 124,5 (d, ⁴J_{CF}=3,6 Hz); 129,4 (d, ³J_{CF}=7,8 Hz); 131 (d, ³J_{CF}=3,7 Hz); 159; 160,6 (d, ¹J_{CF}=245,1 Hz); 163,7; 167,6; 168,2; 169,8.



Şekil 4.34. Bileşik BA27'nin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumları

4.2. Biyolojik Bulgular

4.2.1. SIRT1-3 inhibitör etki

Sentez ve yapı-aydınlatma çalışmaları tamamlanan bileşiklerin (**BA1-BA27**) SIRT2 enzimi üzerindeki etkileri, fluorimetrik esasa bağlı çalışan enzim kiti ile 100 μ M tarama konsantrasyonunda *in vitro* olarak belirlenmiştir. Çalışmada pozitif kontrol olarak; SIRT1/2 inhibitörü suramin (SIRT1 IC_{50} =297 nM; SIRT2 IC_{50} =1,15 μ M) ve selektif SIRT1 inhibitörü EX-527 (SIRT1 IC_{50} =38 nM; SIRT2 IC_{50} =19,6 μ M; SIRT3 IC_{50} =48,7 μ M) kullanılmıştır (Çizelge 4.1).

Test edilen bileşikler arasında **BA5** (%60,40), **BA12** (%47,12), **BA15** (%49,41), **BA19** (%45,77), **BA23** (%48,66) ve **BA27** (%46,12) kodlu bileşiklerin 100 μ M konsantrasyonda, SIRT2 enzim aktivitesini %45 oranının üzerinde inhibe ettiği tespit edilmiştir. Bu bileşiklerden en güçlü SIRT2 inhibitör etkiyi gösteren **BA5**'in SIRT1 ve SIRT3 enzimlerine karşı etkisi belirlenerek bileşiğin izoform selektivitesi araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre; 100 μ M konsantrasyonunda SIRT1 enzimini %8,30 $\pm$ 3,31 oranında, SIRT3 izoformunu ise %5,78 $\pm$ 1,79 oranında inhibe ettiği görülmüştür. Böylece, çalışma kapsamındaki bileşikler arasında **BA5**, selektif bir SIRT2 inhibitörü olarak tanımlanmış ve bu etkisinin IC_{50} değeri hesaplanmıştır.

Bu bağlamda, **BA5** bileşiği; 300, 100, 50, 30, 10, 5, 1 ve 0,1 μ M konsantrasyonlarda SIRT2 enzim aktivitesi üzerine nasıl etki ettiği tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlarla çizilen doz-yanıt eğrisi ile **BA5** kodlu bileşiğin SIRT2 enzim aktivitesine karşı IC_{50} değeri 10,62 μ M olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.1. Test edilen bileşiklerin SIRT2 enzimine karşı % inhibisyon değerleri

Kod	R	X	Y	Ar	SIRT2 % İnhibisyon ^a
BA1	H	CH	O		i.y.
BA2	<i>m</i> -CN				22,91±2,14
BA3	<i>m</i> -OCH ₃				i.y.
BA4	<i>o</i> -F				i.y.
BA5	H	N			60,40±0,47
BA6	H	CH	O		i.y.
BA7	<i>m</i> -CN				38,45±2,50
BA8	<i>m</i> -OCH ₃				21,24±4,71
BA9	<i>o</i> -F				i.y.
BA10	H	N			35,30±0,14
BA11	H	CH	O		15,05±6,91
BA12	<i>m</i> -CN				47,12±4,49
BA13	<i>m</i> -OCH ₃				11,49±3,14
BA14	<i>o</i> -F				13,80±2,69
BA15	H	N			49,41±8,38
BA16	H	CH	S		33,64±15,82
BA17	<i>m</i> -CN				40,71±6,61
BA18	<i>m</i> -OCH ₃				40,87±1,33
BA19	<i>o</i> -F				45,77±13,92
BA20	H	CH	S		20,05±2,71
BA21	<i>m</i> -CN				28,64±1,29
BA22	<i>m</i> -OCH ₃				18,10±9,04
BA23	<i>o</i> -F				48,66±1,98
BA24	H	CH	S		39,68±3,27
BA25	<i>m</i> -CN				i.y.
BA26	<i>m</i> -OCH ₃				31,98±7,63
BA27	<i>o</i> -F				46,12±2,62
STH3					39,15±1,23 ^b 20,99±4,76
Suramin	Referans bileşikler				98,37±0,25
EX-527					76,39±2,49

^a 100 µM konsantrasyonda % inhibisyon değerleri “ortalama değer±standart sapma” (n=3);^b 300 µM konsantrasyonda % inhibisyon değeri;

i.y.: inhibisyon yok (<%10 inhibisyon).

Çizelge 4.2. BA5 bileşiğinin SIRT2 üzerindeki etkisi

[C] (μM)	% İnhibisyon	IC ₅₀	Doz-yanıt eğrisi (normalize)
300	67,80±1,30	10,62 μM	
100	60,87±2,85		
50	57,55±6,07		
30	54,23±3,43		
10	46,93±1,15		
5	30,73±4,94		
1	21,02±1,50		
0,1	17,64±0,42		

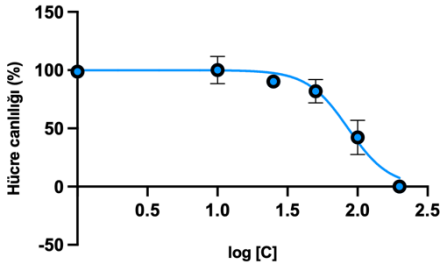
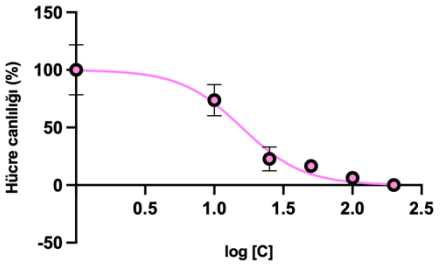
% İnhibisyon değerleri “ortalama değer±standart sapma” (n=3) şeklinde verilmiştir.

4.2.2. Antiproliferatif etki

SIRT2 enzimini en yüksek oranda inhibe eden **BA5** kodlu bileşiğin (IC₅₀=10,62 μM), insan MCF-7 meme kanseri ve LNCaP metastatik prostat kanseri hücre hatlarına karşı antiproliferatif etkileri araştırılmış, elde edilen sonuçlar ile bileşiğin sergilediği SIRT2 inhibitör profili ile seçilen kanser hücrelerindeki etkisi arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Bu kapsamda, **BA5** bileşiği 200, 100, 50, 25, 10 ve 1 μM konsantrasyonlarda uygulanarak, 72 saat süre sonunda insan MCF-7 meme kanseri ve LNCaP metastatik prostat kanseri hücre hatlarında meydana getirdiği etkiler % hücre canlılığına göre değerlendirilmiştir. Elde edilen verilerle oluşturulan doz-yanıt eğrileri ile; **BA5** bileşiğin IC₅₀ değeri, insan MCF-7 meme kanseri hücresi için 85,61 μM ve insan LNCaP metastatik prostat kanseri hücresi için ise 15,82 μM olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. BA5 bileşiğinin insan MCF-7 ve LNCaP kanser hücrelerindeki etkisi

[C] (μM)	% Hücre canlılığı	
	MCF-7	LNCaP
Kontrol	100,00±4,02	99,99±3,35
200	57,75±2,22	22,18±2,77
100	75,92±6,30	26,45±3,65
50	92,96±4,31	33,51±0,78
25	96,53±0,83	37,63±7,13
10	100,71±5,08	72,43±9,20
1	100,20±1,15	90,32±14,79
Doz-yanıt eğrisi (normalize)		
IC ₅₀	85,61 μM	15,82 μM

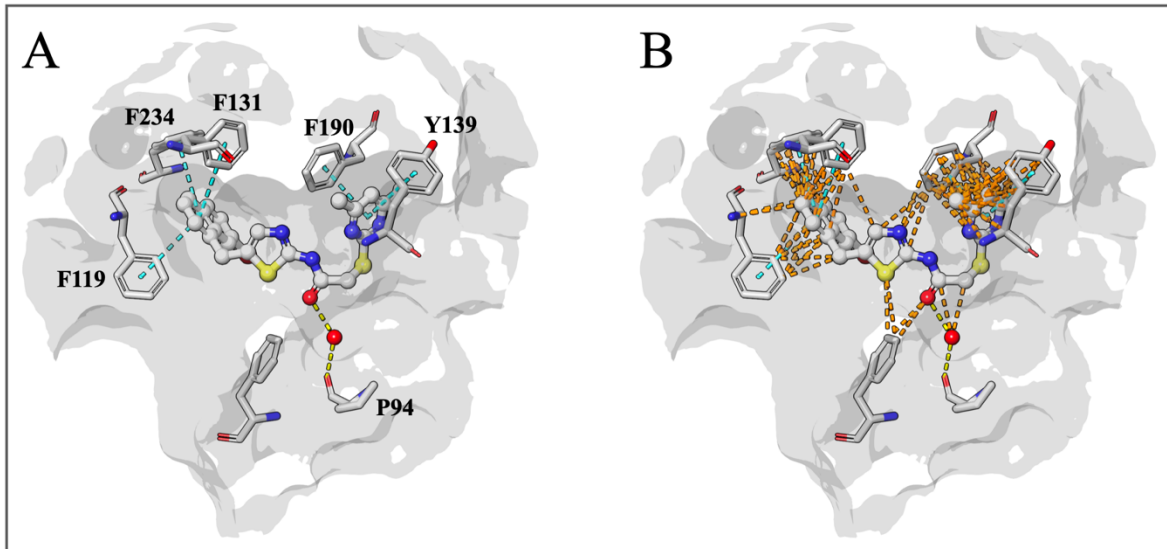
% Hücre canlılığı değerleri “ortalama değer±standart sapma” olarak verilmiştir (n=3).

Elde edilen sonuç, **BA5**’in kullanılan hücre hatları üzerinde belirgin şekilde farklı etkiler gösterdiğini ortaya koymuştur. MCF-7 hücre hattı için, 1-50 μM konsantrasyon aralığında kontrol grubuna benzer hücre canlılık orabları elde edilmiş olup, bu değerler %92,96 ile %100,71 hücre canlılığı arasında değişmiştir. Öte yandan, **BA5**’in 100 μM konsantrasyonda %75,92 ve 200 μM konsantrasyonda %57,75 hücre canlılığı ile istatistiksel olarak anlamlı, konsantrasyona bağlı bir azalma gösterdiği gözlemlenmiştir. LNCaP hücreleri söz konusu olduğunda, **BA5**’in antiproliferatif etkisi, MCF-7 hücrelerine kıyasla belirgin şekilde daha güçlü bulunmuştur. **BA5**, LNCaP hücrelerinde 10 μM konsantrasyondan itibaren konsantrasyona bağlı sitotoksik bir etki göstermiş ve 200 μM konsantrasyonda hücre canlılığını %22,18 seviyesine kadar düşürmüştür. Bileşiğin bu hücre hattı için IC₅₀ değeri 15,82 μM olarak hesaplanırken, MCF-7 hücreleri için bu değer 85,61 μM olarak belirlenmiştir.

4.3. Moleküler Docking

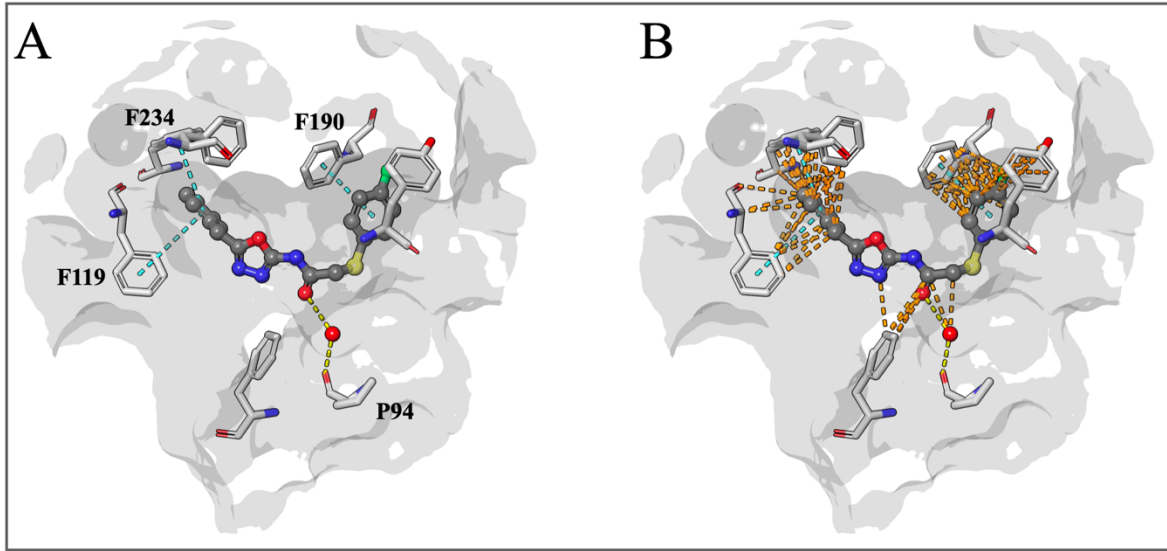
Tez çalışması kapsamında hedef olarak belirlenen SIRT2 enzimini inhibe eden bileşiklerin, enzim aktif bölgesindeki etkileşimlerini incelemek ve bu bulguları bileşiklerin inhibitör profilleri ile ilişkilendirmek amacıyla moleküler docking çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar için, insan SIRT2 enzimi, SirReal tipi selektif SIRT2 inhibitörü (5GN) ve NAD^+ kofaktörünü içeren X-ışını kristal yapısı (PDB: 5DY4) kullanılmıştır.

İnsan SIRT2-5GN- NAD^+ kompleksinde aktif bölgede meydana gelen etkileşimlerin büyük ölçüde hidrofobik karakterde olduğu görülmektedir. Kokristalize ligand, naftalen halkasıyla aktif bölgenin giriş kısmında F119, F131 ve F234 amino asitleri ile π - π etkileşimleri kurarak substrat bağlanma bölgesine yerleşmektedir. Selektivite cebinde Y139 ve F190 amino asitleri ile inhibitörün 4,6-dimetilpirimidin halkası arasında da benzer şekilde π - π etkileşimleri meydana gelirken, genişletilmiş C-bölgesinde yer alan P94 amino asidi ile yapısal su (HOH549) köprülü bir hidrojen bağı etkileşimi kurulduğu görülmektedir (Şekil 4.35). Tüm bu etkileşimlerin, güçlü bir SIRT2 inhibisyonu için önemli olduğu bildirilmektedir [166].



Şekil 4.35. İnsan SIRT2 aktif bölgesinde SirReal tipi kokristalize ligandın (5GN) meydana getirdiği (A) π - π etkileşimleri (turkuaz) ve hidrojen bağları (sarı); (B) hidrofobik etkileşimler (turuncu) (PDB: 5DY4).

Elde edilen sonuçlara göre, SIRT2 enzim aktivitesini %45 değerinden fazla oranla inhibe eden oksadiazol (**BA5**, **BA12**, **BA15**) ve tiyadiazol (**BA19**, **BA23**, **BA27**) türevi bileşiklerin, SIRT2 aktif bölgesinde yaptığı etkileşimler çalışmalarımızın başlangıç noktasını oluşturan öncü bileşiğin (**STH3**) bağlanma konformasyonu ile karşılaştırılmıştır (Şekil 4.36). **STH3** bileşiği yapısal benzerliğinden kaynaklı olarak kokristalize liganda benzer bir modda aktif bölgeye yerleşmiş; fenil halkasıyla substrat bağlanma bölgesinde F119 ve F234 ile, selektivite cebinde ise sadece F190 ile π - π etkileşimleri kurmuştur. Genişletilmiş C- bölgesinde aktivite için önemi vurgulanan hidrojen bağına ise P94 amino asidi ile yapısal su molekülü sayesinde gerçekleştirmiştir.



Şekil 4.36. İnsan SIRT2 aktif bölgesinde STH3 öncü bileşiğinin kurduğu (A) π - π etkileşimleri (turkuaz) ve hidrojen bağları (sarı); (B) hidrofobik etkileşimler (turuncu) (PDB: 5DY4).

SIRT2 inhibitör etki gösterdiği tespit edilen bileşiklerin, moleküler docking çalışmaları ile gözlemlenen aktif bölge etkileşimleri incelendiğinde (Şekil 4.37); en yüksek SIRT2 inhibisyonu gösteren **BA5** kodlu bileşik, selektivite cebinde F190 amino asidiyle π - π etkileşimini gerçekleştirmiş, ancak substrat kanalında **STH3**'e kıyasla yalnızca F131 ile sınırlı bir etkileşim göstermiştir. Öte yandan, **BA5** bileşiğinin F96 ile π - π etkileşimi ve P94 ile su köprüsü aracılığıyla hidrojen bağı kurduğu gözlemlenmiştir.

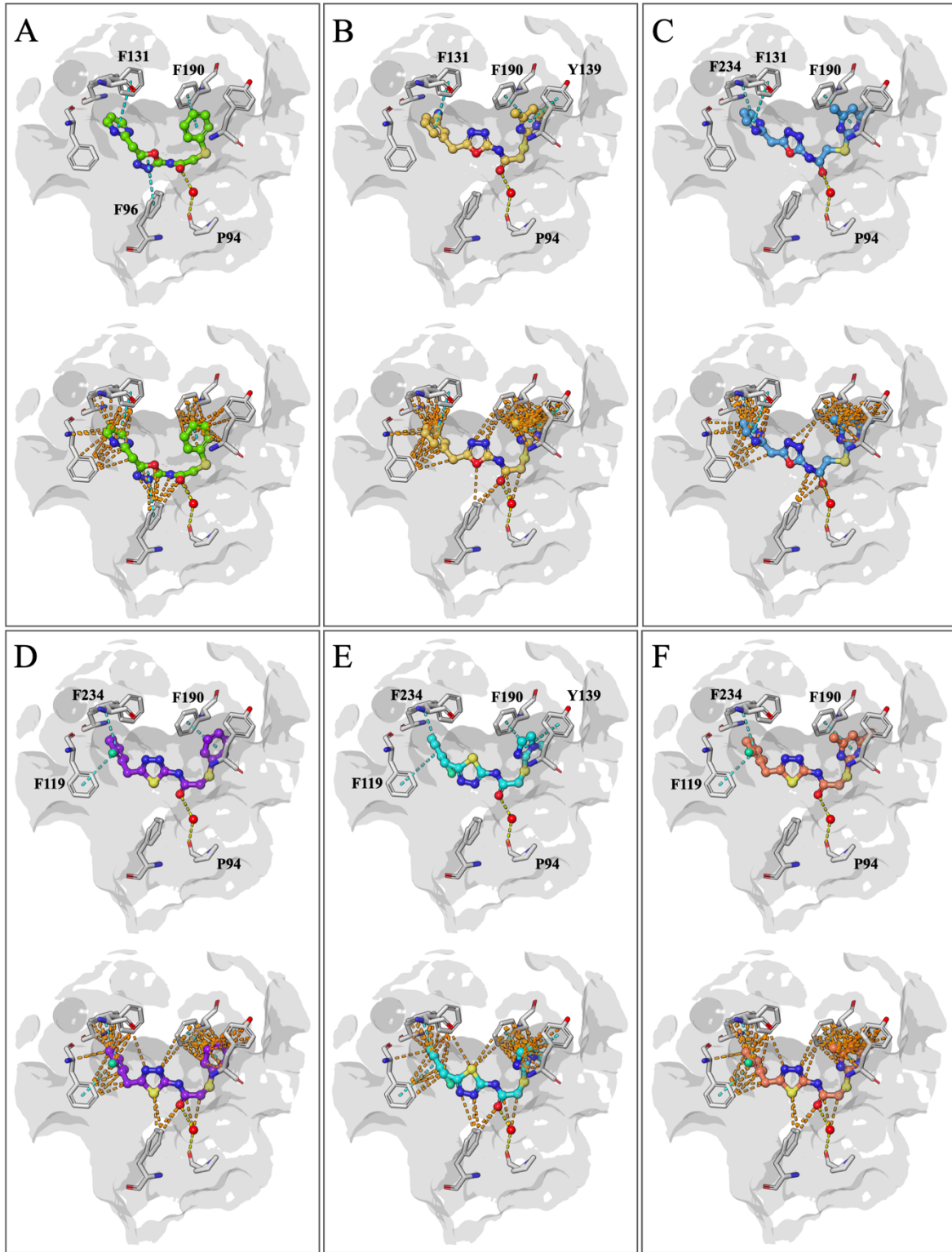
Diğer yandan, **BA12** selektivite cebinde F190 ile olan etkileşimi sürdürürken, Y139 ile de π - π etkileşimi kurmuştur. Ayrıca, substrat kanalında **STH3**'te olduğu gibi F119 ve F234 ile π - π etkileşimlerini de korumuş olması, **BA12**'nin hedefe olan afinitesini potansiyel olarak

destekler nitelikte bulunmuştur. Ayrıca, P94 ile su aracılı hidrojen bağı gözlemlenmiş, bu da bileşiğin aktif bölgedeki kararlılığını artırmıştır.

Aktif bölgede katıldıkları etkileşim sayısı ile gösterdikleri inhibitör etki arasında doğru orantılı bir ilişki beklense de, **BA5** (%60,40) bileşiği **BA12**'ye (%48,66) göre daha yüksek SIRT2 inhibitör aktivite sergilemiştir. Bu aktivite farkı, Şekil 4.37'de gösterildiği üzere, oksadiazol ve tiyadiazol halkalarının meydana getirdiği hidrofobik etkileşim yoğunluğuna bağlanabileceği düşünülmüştür. **BA5**, oksadiazol halkası aracılığıyla F96 ile daha yüksek yoğunlukta hidrofobik etkileşim kurmuş ve bu durum aktif bölgedeki stabilizasyonunu artırarak SIRT2 üzerindeki üstün inhibitör profilini açıklayabilmiştir. Buna karşılık, **BA12** ve **STH3**, merkez halka üzerinden daha az yoğunlukta hidrofobik etkileşim oluşturmuş ve bu da daha düşük inhibitör potansiyelleriyle ilişkilendirilmiştir.

Bu bileşiklere ek olarak, SIRT2 inhibitör aktivitesi gösteren diğer bileşiklere (**BA15**, **BA19**, **BA23**, **BA27**) ait moleküler docking analizleri de Çizelge 4.4'te özetlenmiş olup, SIRT2 aktif bölgesindeki bağlanma etkileşimlerinin daha iyi anlaşılmasına katkı sağlamaktadır.

Buna ek olarak, genişletilmiş C-bölgesinde gözlenen hidrojen bağ uzunlukları değerlendirildiğinde; genel olarak daha kısa hidrojen bağı oluşturan bileşiklerin (örneğin, **BA12**: 1,82 Å; **BA15**: 1,95 Å) daha yüksek inhibisyon değerleri gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu durum, hidrojen bağlarının gücü ile biyolojik aktivite arasında olası bir korelasyona işaret etmektedir.



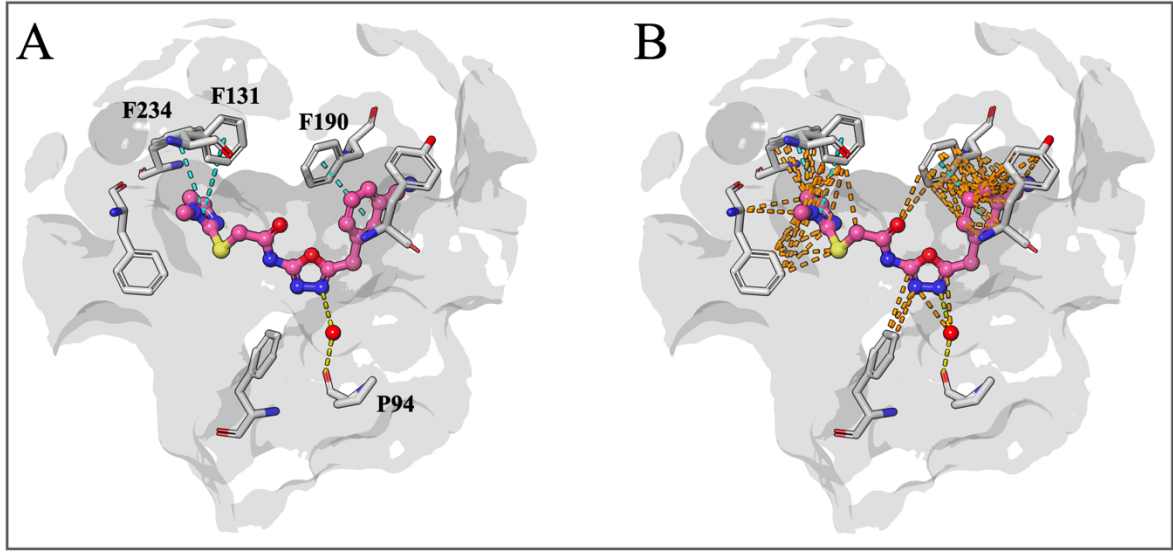
Şekil 4.37. SIRT2 aktif bölgesinde (A) BA5; (B) BA12; (C) BA15; (D) BA19; (E) BA23; (F) BA27 bileşiklerinin bağlanma konformasyonları. Hidrofobik etkileşimler, hidrojen bağları ve π - π etkileşimleri sırasıyla turuncu, sarı ve turkuaz kesikli çizgilerle gösterilmiştir (PDB: 5DY4).

Çizelge 4.4. Bileşiklerin SIRT2 aktif bölgesindeki moleküler etkileşimleri

Kod	XP Glide Skoru (kcal/mol)	Gözlenen etkileşim türleri		
		Selektivite cebi	Substrat kanalı	Genişletilmiş C-bölgesi
BA5	-10,27	F190 (π - π etkileşimi)	F131 (π - π etkileşimi)	F96 (π - π etkileşimi) P94 (H bağı; 1,90 Å) ^a
BA7	-9,78	F190 (π - π etkileşimi)	F131, F234 (π - π etkileşimi)	P94 (H bağı; 2,48 Å) ^b
BA12	-8,29	Y139, F190 (π - π etkileşimi)	F131, F234 (π - π etkileşimi)	P94 (H bağı; 1,82 Å) ^a
BA15	-9,71	F190 (π - π etkileşimi)	F131, F234 (π - π etkileşimi)	P94 (H bağı; 1,95 Å) ^a
BA19	-10,64	F190 (π - π etkileşimi)	F131, F234 (π - π etkileşimi)	P94 (H bağı; 1,99 Å) ^a
BA23	-9,90	Y139, F190 (π - π etkileşimi)	F131, F234 (π - π etkileşimi)	P94 (H bağı; 2,05 Å) ^a
BA27	-11,30	F190 (π - π etkileşimi)	F131, F234 (π - π etkileşimi)	P94 (H bağı; 1,91 Å) ^a

^a(amit CO...HOH549); ^b(oksadiazol N3...HOH549)

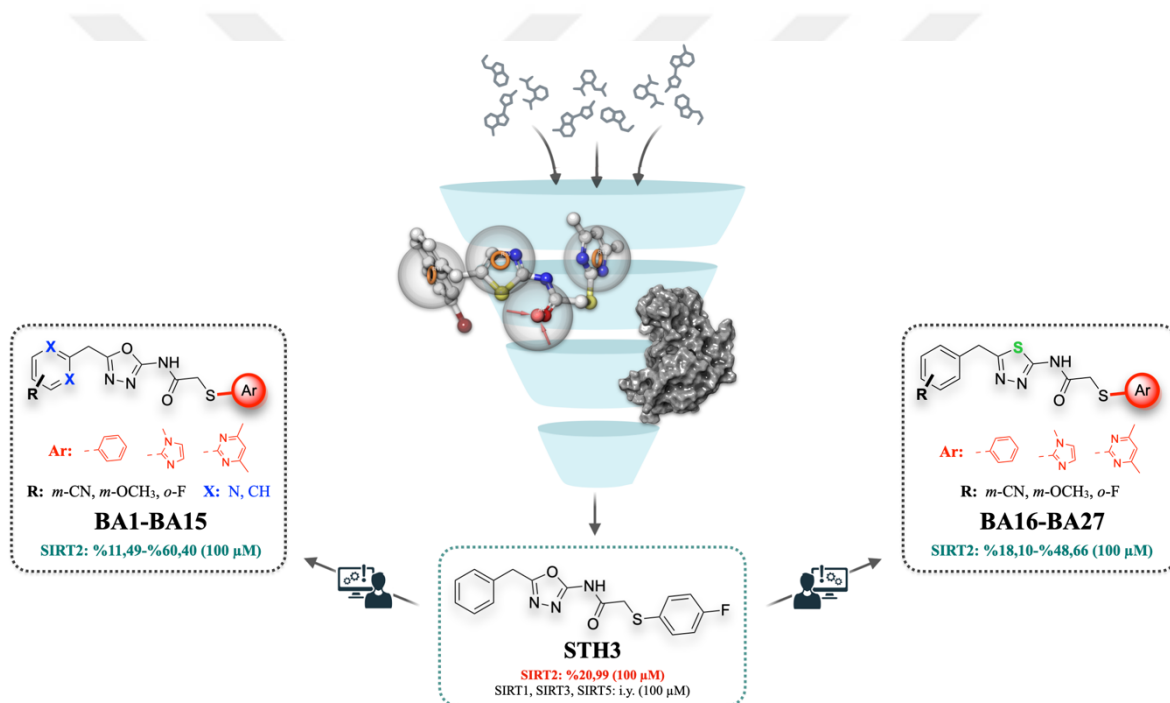
İstisnai bir durum olarak, **BA7**, aktif bölgede önemli amino asitlerle etkileşim kurmasına (Şekil 4.38) ve anlamlı bir bağlanma enerjisine sahip olmasına rağmen (-9,78 kcal/mol), SIRT2 enzimi üzerinde belirgin şekilde diğer bileşiklere göre düşük bir inhibitör aktivite (%38,45) göstermiştir. Elde edilen bağlantı modu incelendiğinde, **BA7**'nin diğer bileşiklere kıyasla ters bir bağlanma konformasyonu benimsediği gözlenmiş ve diğer bileşiklerin de elde ettiği benzer etkileşimlerin molekülün farklı bölgeleri üzerinden gerçekleştirildiği görülmüştür.



Şekil 4.38. İnsan SIRT2 aktif bölgesinde BA7'nin kurduğu (A) π - π etkileşimleri (turkuaz) ve hidrojen bağları (sarı); (B) hidrofobik etkileşimler (turuncu) (PDB: 5DY4).

5. TARTIŞMA

Araştırma ekibimiz tarafından aminotiyazol ve aminotiyadiazol iskeletlerine sahip SirReal analogları kullanılarak oluşturulan bir farmakofor modelin sanal tarama uygulaması sonrasında ulaşılan bileşikler arasından **STH3** [38], bu çalışma için öncü bileşik olarak seçilmiştir. **STH3** ile gözlenen selektif SIRT2 inhibitör etkinin güçlendirilmesi amacıyla, bileşik üzerinde yapısal değişikliklere gidilmiştir. Bu modifikasyonlarla (Şekil 5.1), yeni türevlerin SIRT2 aktif bölgesinde hedeflenen etkileşimleri sağlayarak daha stabil enzim-ligand kompleksleri oluşturması; böylece daha güçlü bir inhibisyon sergilemesi hedeflenmiştir.



Şekil 5.1. Öncü bileşikten hareketle ulaşılan aril 1,3,4-oksadiazol/tiyadiazol asetamit türevi bileşiklerin tasarımı

Yeni bileşiklerin SIRT2 aktif bölgesinde özellikle selektivite cebi ve substrat kanalındaki etkileşim yeteneklerini artırmak amacıyla, **STH3**'ün bu bölgelerle etkileşime giren yapısal kısımları değiştirilerek modifikasyonlar uygulanmıştır. Literatürde belirtildiği üzere, diğer SIRT izoformlarına kıyasla SIRT2 için selektif etki, substrat bağlanma kanalındaki hidrofobik etkileşim açısından kaynaklanmakta; bu etkileşimler, SIRT1, SIRT3 ve SIRT5 izoformlarında yer alan döngüler tarafından engellenmektedir [83, 133]. Dolayısıyla, substrat bağlanma bölgesinin hedeflenmesi, SIRT deaçilaz aktivitesinin inhibisyonu için

akılcı bir yaklaşım sunmaktadır. Bununla birlikte, apo yapıları kıyasla belirgin bir konformasyonel değişim gösteren selektivite cebi de SIRT2'nin seçici inhibitörleri için kritik bir bağlanma bölgesidir.

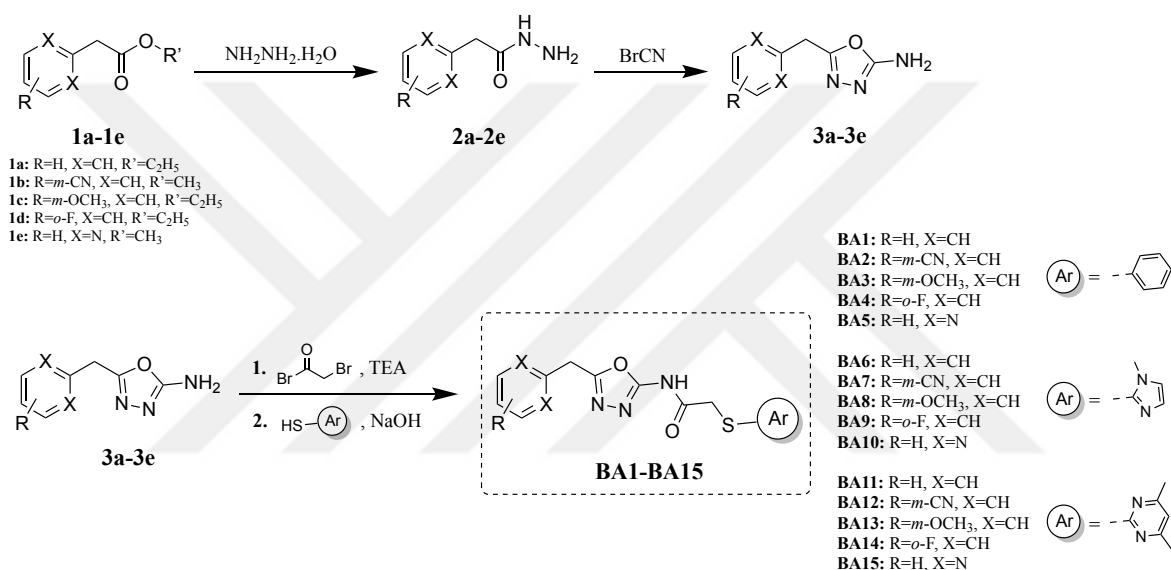
Bu kapsamda, öncelikle **STH3** öncü bileşiğinde yer alan 1,3,4-oksadiazol çekirdeği korunmuştur; zira bu yapı, bileşiğin polarite ve esnekliğinin ayarlanmasında değerli bir çekirdek olarak bulunmaktadır. Aromatik özelliği ve düzlemsel geometrisi sayesinde oksadiazol iskeleti; biyolojik etkileşimler için uygun yönlenmeyi sağlayan bir bağlayıcı olarak işlev görür. Ayrıca, oksadiazol çekirdeği taşıyan bileşiklerin antienflamatuvar, antioksidan ve antikanser etkiler de dahil olmak üzere geniş bir biyolojik aktivite spektrumuna sahip olduğu bilinmektedir [211, 212].

Buna ek olarak, **STH3**'ün fenil halkasının 2-/3-sübstitüe fenil ve pirimidin halkaları ile değiştirilmesinin, substrat kanalında önemli amino asitlerle hidrofobik ve π - π etkileşimler kurarak daha güçlü bağlanmayı sağlaması öngörülmüştür. Diğer yandan, moleküler docking ile elde edilen **STH3**-SIRT2 kompleksinde bileşiğin selektivite cebine yönelen florofenil halkası; bu bölgede etkileşimleri güçlendirmek amacıyla 1-metil-1*H*-imidazol-2-il, fenil ve 4,6-dimetilpirimidin-2-il grupları ile değiştirilmiştir. Bu strateji sonucunda, *N*-[5-(arilmetil)-1,3,4-oksadiazol]-2-asetamit iskeletine sahip on beş bileşik (**BA1-BA15**) tasarlanmıştır.

Ayrıca, oksadiazol çekirdeği yerine tiyadiazol çekirdeği taşıyan ikinci bir bileşik serisi (**BA16-BA27**) tasarlanarak, kükürt atomunun aktivite ve selektivite üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Substrat kanalındaki bağlanma afinitesini ve elektronik özellikleri düzenlemek amacıyla, **STH3** öncü bileşiğinin fenil halkasına ek olarak 2-/3-sübstitüe fenil halkaları da eklenmiştir. Öte yandan, oksadiazol türevlerinde selektivite cebini hedeflemek için kullanılan aril grupları, tiyadiazol türevlerinde de kullanılmıştır. Bu yapısal modifikasyonlar, SIRT2 aktif bölgesindeki etkileşim profilini optimize etmeyi ve aynı zamanda SIRT1 ile SIRT3 üzerindeki hedef dışı etkileri en aza indirmeyi amaçlamıştır.

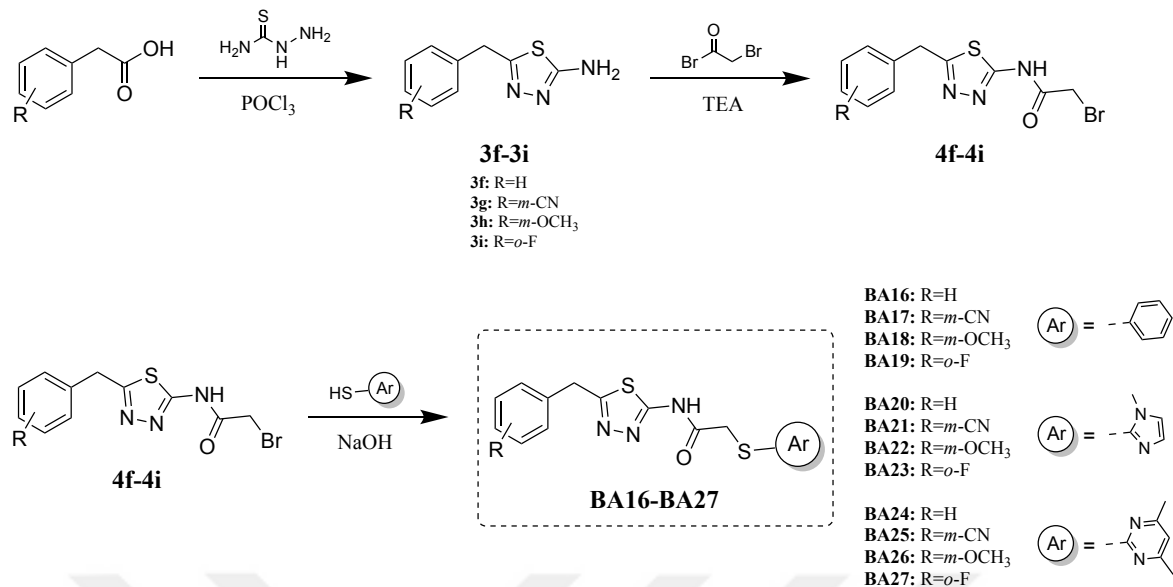
Tez çalışmamız kapsamında hedeflenen **BA1-BA27** kodlu bileşikler Şekil 5.2 ve 5.3'te özetlenen sentez yolları izlenerek çok basamaklı yöntemlerle elde edilmiştir. İlk olarak, etil/metil 2-aril asetatların (**1a-1e**) hidrazin hidrat ile tepkimesi sonucu 2-arilasetohidrazit türevleri (**2a-2e**) sentezlenmiştir [198]. Arilasetatlar (**1b-1d**), karşılık gelen arilasetik asitlerin H₂SO₄ varlığında etanol veya metanol ile geri çeviren soğutucu altında ısıtılmasıyla

hazırlanırken, **1a** ve **1e** kodlu bileşikler hazır olarak temin edilmiştir. Devamında 2-arilasetohidrazit türevlerinin (**2a-2e**) siyanojen bromür ile siklizasyon reaksiyonu sonucu 5-(arilmetil)-1,3,4-oksadiazol-2-aminler (**3a-3e**) elde edilmiştir [199]. Ardından, **3a-3e**'nin ilk basamakta 2-bromoasetil bromür ile trietilamin varlığında açılasyonu sonucu 2-bromo-*N*-[(5-arilmetil)-1,3,4-oksadiazol-2-il]asetamit ara ürünleri oluşturulmuş, bu bileşikler için ileri saflaştırma işlemi uygulanmadan NaOH varlığında ariltiyoller ile muamele edilmiş ve gerçekleşen nükleofilik yer değiştirme reaksiyonu sonucu 1,3,4-oksadiazol türevi hedef bileşikler (**BA1-BA15**) elde edilmiştir (Şekil 5.2).



Şekil 5.2. Aril 1,3,4-oksadiazol asetamit türevleri için izlenen sentetik yol

Hedeflenen 1,3,4-tiyadiazol türevlerinin sentezi için, 5-arilmetil-1,3,4-tiyadiazol-2-aminler (**3f-3i**), fenilasetik asit türevleri ile tiyosemikarbazidin POCl₃ varlığında gerçekleşen siklizasyon reaksiyonu ile hazırlanmıştır [213]. Devamında, **3f-3i**'nin 2-bromoasetil bromür ile trietilamin varlığında açılasyonu sonucu *N*-[(5-arilmetil)-1,3,4-tiyadiazol-2-il]-2-bromoasetamit türevleri (**4f-4i**) sentezlenmiştir. Son basamakta ise, **4f-4i** kodlu bileşiklerin NaOH varlığında uygun ariltiyol türevleri ile gerçekleştirdiği nükleofilik yer değiştirme reaksiyonu sonucunda 1,3,4-tiyadiazol türevi hedef bileşikler (**BA16-BA27**) elde edilmiştir (Şekil 5.3).



Şekil 5.3. Aril 1,3,4-tiyadiazol asetamit türevleri için izlenen sentetik yol

Tüm bileşiklerin yapıları, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve HRMS spektrumları ile karakterize edilmiştir.

Hedef bileşiklere ait ¹H-NMR spektrumları incelendiğinde (Şekil 5.4); nonsüstitüe veya süstitüe fenil türevlerinde fenil halkasının hidrojenlerine ait sinyaller 6,81-7,83 ppm aralığında multipler olarak gözlenmiştir. Fenil halkası yerine pirimidin taşıyan türevlerde (BA5, BA10 ve BA15) ise, pirimidin halkasının dördüncü ve altıncı konumda yer alan eşdeğer hidrojenlere ait sinyaller 8,63-8,70 ppm aralığında 2H değerinde dublet (*J*=4,8-4,9 Hz) olarak, beşinci konumdaki hidrojene ait sinyaller ise iki türevde (BA10 ve BA15) 7,19-7,22 ppm aralığında 1H değerinde triplet (*J*=4,8-4,9 Hz) olarak; BA5 kodlu bileşikte ise, aromatik sahada yer alan diğer hidrojenlerle birlikte 7,26-7,29 ppm aralığında multipler olarak görülmüştür.

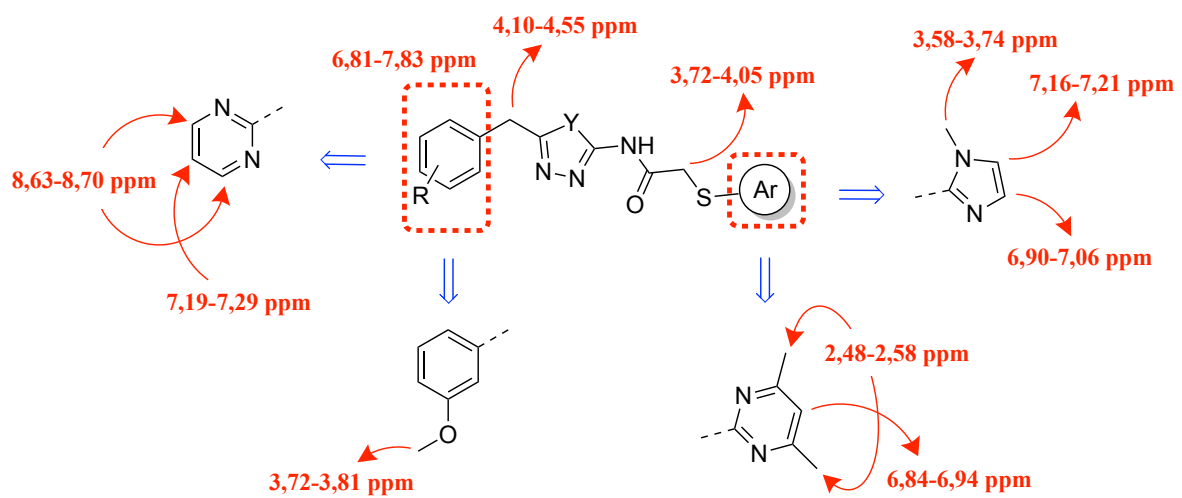
SIRT2 aktif bölgesinin girişinde konumlanan fenil halkasında metoksi süstitüenti taşıyan türevlerde (BA3, BA8, BA13, BA18, BA22 ve BA26) metoksi grubuna ait hidrojen sinyalleri 3,72-3,81 ppm aralığında 3H değerinde singlet olarak gözlenmiştir.

Bileşiklerin oksadiazol veya tiyadiazol halkasına doğrudan bağlı metilen köprüsüne ait hidrojenler tüm türevlerde 4,10-4,55 ppm aralığında 2H değerinde singlet şeklinde

görülmüştür. Ayrıca, asetamit yapısındaki metilen hidrojenleri tüm türevlerde 3,72-4,05 ppm aralığında 2H değerinde singlet olarak gözlenmiştir.

Kükürt köprüsü komşuluğunda 1-metil-1*H*-imidazol halkası taşıyan türevlerde (**BA6-BA10**, **BA20-BA23**) imidazol halkasına bağlı metil hidrojenleri 3,58-3,74 ppm aralığında 3H değerinde singlet şeklinde; halkaya ait dördüncü konumdaki hidrojenin sinyalleri dört türevde (**BA9**, **BA20**, **BA21** ve **BA22**) 6,95-6,96 ppm aralığında 1H değerinde dublet ($J=1,3-1,4$ Hz) olarak, dört türevde (**BA6**, **BA7**, **BA10** ve **BA23**) 6,90-7,06 ppm aralığında yarılamayıp singlet olarak, **BA9** kodlu bileşik için ise aromatik sahada yer alan diğer hidrojenlerle birlikte multiplet olarak; beşinci konumdaki hidrojene ait sinyaller üç türevde (**BA20**, **BA21** ve **BA22**) 7,16-7,21 ppm aralığında 1H değerinde dublet ($J=1,4$ Hz) olarak, diğer türevlerde (**BA6-BA10** ve **BA23**) ise yarılamayıp singlet veya aromatik sahada yer alan diğer hidrojenlerle birlikte multiplet olarak belirlenmiştir.

Kükürt köprüsü komşuluğunda 4,6-dimetilpirimidin yapısı bulunan türevlerde (**BA11-BA15**, **BA24-BA27**) halkaya bağlı metil gruplarının eşdeğer hidrojenlerine ait sinyaller 2,48-2,58 ppm aralığında 6H değerinde singlet olarak gözlenmiş, halkanın beşinci konumdaki hidrojene ait sinyaller ise bazı türevlerde (**BA11-BA15**, **BA24**, **BA25** ve **BA27**) 6,84-6,94 ppm aralığında 1H değerinde singlet şeklinde; **BA26** kodlu bileşikte ise aromatik sahada yer alan diğer hidrojenlerle birlikte multiplet olarak gözlenmiştir.



Şekil 5.4. Hedef bileşiklerin ^1H -NMR spektrumlarında gözlenen kimyasal kayma değerleri

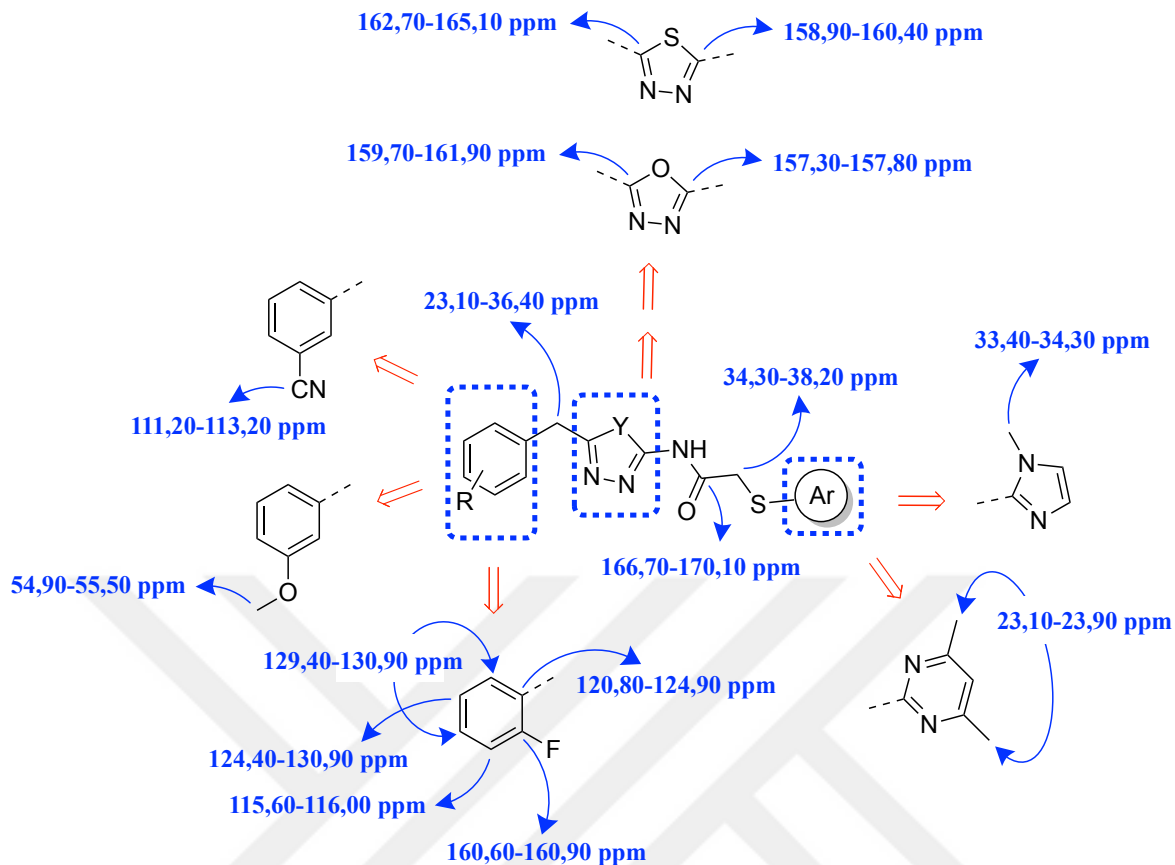
Hedef bileşiklere ait ^{13}C -NMR spektrumları incelendiğinde (Şekil 5.5); SIRT2 aktif bölgesinin substrat kanalında konumlanan fenil halkasında siyano süstitüenti taşıyan türevlerde (**BA2**, **BA7**, **BA12**, **BA17**, **BA21** ve **BA25**), siyano karbonuna ait sinyal 111,20-113,20 ppm aralığında gözlenmiştir. Aynı konumda metoksi grubu taşıyan türevlerde (**BA3**, **BA8**, **BA13**, **BA18**, **BA22** ve **BA26**) metoksi grubuna ait sinyal 54,90-55,50 ppm aralığında görülmüştür. Floro süstitüenti taşıyan türevlerde ise (**BA4**, **BA9**, **BA14**, **BA19**, **BA23** ve **BA27**), florun bağlı olduğu ipso karbona ait sinyalin 160,60-160,90 ppm aralığında dublete ($^1J_{\text{CF}}=243,3\text{-}246,2\text{ Hz}$) yarıldığı, orto konumdaki karbonlara ait sinyallerden birinin 115,60-116,00 ppm aralığında dublete ($^2J_{\text{CF}}=21,0\text{-}21,3\text{ Hz}$) yarıldığı, diğerinin ise oksadiazol yapılı türevler için (**BA4**, **BA9** ve **BA14**) 120,80-121,80 ppm aralığında dublete ($^2J_{\text{CF}}=15,1\text{-}15,4\text{ Hz}$) ve tiyadiazol yapılı türevler için (**BA19**, **BA23** ve **BA27**) 124,10-124,90 ppm aralığında dublete ($^2J_{\text{CF}}=15,5\text{-}15,6\text{ Hz}$) yarıldığı saptanmıştır. Bunun yanında, flor atomuna göre meta konumda yer alan karbon sinyali 129,40-130,90 ppm aralığında dublet şeklinde ($^3J_{\text{CF}}=3,6\text{-}8,3\text{ Hz}$) ve para karbon sinyali 124,40-125,3 ppm aralığında dublet şeklinde ($^4J_{\text{CF}}=3,4\text{-}3,9\text{ Hz}$) tespit edilmiştir.

Merkez halkaların yapısındaki karbon atomlarının kimyasal kayma değerleri oksadiazol yapılı türevlerin (**BA1-BA15**) ikinci konumu için 157,30-157,80 ppm aralığında, beşinci konumu için 159,70-161,90 ppm aralığında tespit edilirken; tiyadiazol türevlerinde (**BA16-BA27**) halkanın ikinci konumuna ait karbon sinyali 158,90-160,40 ppm aralığında, beşinci konumun sinyalleri 162,70-165,10 ppm aralığında gözlenmiştir.

Karbonil grubuna ait sinyaller, tüm türevlerde (**BA1-BA27**) 166,70-170,10 ppm aralığında; asetamit yapısındaki metilen grubuna ait karbon sinyalleri 34,30-38,20 ppm aralığında gözlenmiştir. Ayrıca, bileşiklerin oksadiazol veya tiyadiazol halkasına doğrudan bağlı metilen köprüsüne ait karbon sinyali 23,10-36,40 ppm aralığında görülmüştür.

Yan zincirinde 1-metil-1*H*-imidazol halkası taşıyan türevlerde (**BA6-BA10**, **BA20-BA23**) imidazolün taşıdığı metile ait karbonun 33,40-34,30 ppm aralığında; yan zincirinde 4,6-dimetilpirimidin halkası taşıyan türevlerde (**BA11-BA15**, **BA24-BA27**) halkaya bağlı metil karbonlarının 23,10-23,90 ppm aralığında sinyal verdikleri belirlenmiştir.

Tüm bu sinyallerin dışında kalan aromatik halkalara ait karbon sinyalleri 112,50-170,10 ppm aralığında gözlenmiştir.



Şekil 5.5. Hedef bileşiklerin ^{13}C -NMR spektrumlarında gözlenen kimyasal kayma değerleri

Tez çalışmamızda sentezlenip yapısı kanıtlanan hedef bileşiklerin (**BA1-BA27**), SIRT2 enzimi üzerindeki inhibitör aktivitelerini belirlemek amacıyla *in vitro* olarak test edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, inhibitör etkinliğin bileşiklerin yapısal özelliklerine, özellikle de aromatik halka (Ar) türüne ve fenil halkasına bağlı süstitüentlerin (R grupları) niteliğine göre önemli farklılıklar ortaya koyduğunu göstermiştir. Bu nedenle, bileşiklerin yapısal optimizasyonu için bileşiklerin yapı-aktivite ilişkisi detaylı bir şekilde değerlendirilmiştir.

Öncü bileşik **STH3** yapısına ait 4-florofenil halkasının, Ar grubu olarak gösterilen halkalarla (fenil, 1-metil-1*H*-imidazol ve 4,6-dimetilpirimidin) ile değiştirilmesi, selektivite cebine yönelimi ve daha sıkı bağlanmayı sağlamak amacıyla gerçekleştirilmiştir. Ancak, bu yaklaşımın tek başına SIRT2 inhibisyonuna anlamlı bir katkı sunmadığı (**BA1** ve **BA6**: inhibisyon yok, **BA11**: %15,05 inhibisyon) belirlenmiştir. Buna karşın, bu bileşiklerin tiyadiazol analoglarında öncü bileşiğe ait inhibitör etkinin korunduğu veya az da olsa arttığı (**STH3**: %20,99; **BA16**: %33,64; **BA20**: %20,05; **BA24**: %39,68) tespit edilmiştir.

Bileşiklerden Ar grubu olarak fenil taşıyan oksadiazol türevleri (**BA1-BA4**) için tespit edilen SIRT2 inhibitör etki genel olarak zayıf veya anlamlı bir korelasyon göstermeyen bir profildeyken; bu bileşiklerin tiyadiazol analoglarında (**BA16-BA19**) inhibitör aktivite %34-46 bandına çıkmıştır. Ar grubu yerine 1-metil-1*H*-imidazol (**BA6-BA9** ve **BA20-BA23**) ve 4,6-dimetilpirimidin (**BA11-BA14** ve **BA24-BA27**) heteroarillerini taşıyan türevler için de benzer durum gözlenmiştir; oksadiazol-tiyadiazol değişiminde (O→S) genelde inhibitör etkinin arttığı belirlenmiştir. Bu bulgular, oksadiazol ile tiyadiazol çekirdekleri arasında aktif bölge etkileşimi veya fizikokimyasal özellikleri açısından anlamlı farklılıklar bulunduğunu ve kükürt atomunun varlığının bileşiğe hidrofobik özellik katarak temelde bu tip etkileşimlerin baskın olduğu SIRT2 aktif bölgesinde van der Waals uyumunu artırıp bağlanmayı iyileştirmiş olabileceğini düşündürmüştür.

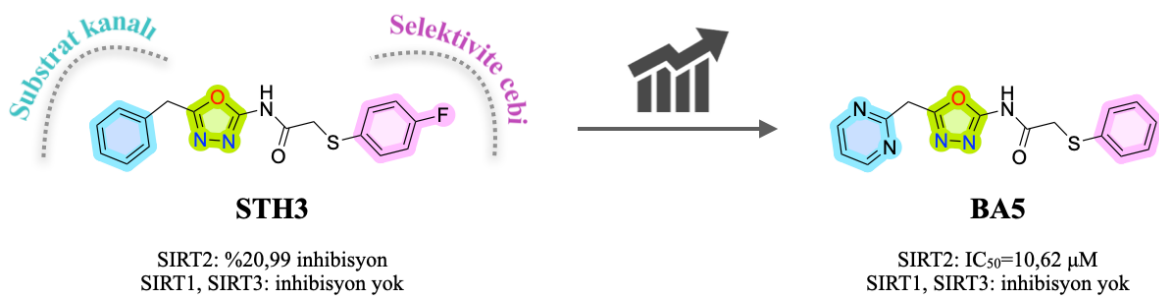
Moleküler docking analizleri, **STH3** yapısındaki nonsüstitüe fenil halkasının SIRT2 aktif bölge girişindeki substrat kanalına yöneldiğini göstermiştir. Bu halkanın elektron çekici (3-siyano) veya elektron salıcı (3-metoksi, 2-floro) gruplarla süstitüe edilmesi, SIRT2 inhibitör aktivite üzerinde farklı etkiler yaratmıştır. Bulgularımıza göre, fenil halkasında 3-siyano süstitüenti taşıyan türevler (**BA2**: %22,91; **BA7**: %38,45; **BA12**: %47,12; **BA17**: %40,71; **BA21**: %28,64), nonsüstitüe fenil analoglarına kıyasla (**BA1**: inhibisyon yok; **BA6**: inhibisyon yok; **BA11**: %15,05; **BA17**: %33,64; **BA20**: %20,05) daha yüksek inhibisyon sergilemiştir. Bu bulgular, ekibimiz tarafından gerçekleştirilen önceki çalışmalarımızın sonuçları ile uyumlu bulunmuştur [184, 185]. Bununla birlikte, 3-metoksi ve 2-floro süstitüentlerinin etkisi 3-siyano grubuna ait bulgulara kıyasla daha değişken bulunmuştur. Fenil halkasının üçüncü konumunda metoksi grubu taşıyan bileşikler genellikle sınırlı inhibitör aktivite (**BA3**: inhibisyon yok; **BA8**: %21,24; **BA13**: %11,49; **BA22**: %18,10; **BA26**: %31,98) göstermiş, 2-floro süstitüenti ise oksadiazol serisinde düşük aktivite gösterirken (**BA4**: inhibisyon yok; **BA9**: inhibisyon yok; **BA14**: %13,80), tiyadiazol serisinde belirgin bir artış (**BA19**: %45,77; **BA23**: %48,66; **BA27**: %46,12) sağlamıştır.

Bir diğer dikkat çekici bulgu; substrat kanalında konumlandığı düşünülen fenil halkasının oksadiazol serisinde pirimidin ile değiştirilmesi, SIRT2 inhibisyonunu belirgin şekilde artırmıştır. Özellikle **BA5** (%60,40), **BA10** (%35,30) ve **BA15** (%49,41) kodlu bileşikler bu eğilimi açıkça yansıtmaktadır. Bu durum, heteroaril halkaların substrat kanalında ek etkileşimlere katkı sağlayarak SIRT2 bağlanma afinitesini güçlendirdiğini ve bileşiğin

elektronik yapısını değiştirerek bileşiğin aktif bölgede daha uygun bir konformasyon kazanmasına katkı sağladığını düşündürmüştür.

Sonuç olarak, öncü bileşiğin substrat kanalına yönelen fenil halkasında ikinci veya üçüncü konumlara getirilen süstituentler, aktif bölge amino asitleriyle doğrudan etkileşime girmeseler de moleküler konformasyonu etkileyerek bağlanma afinitesini değiştirmiş gibi görünmektedir. Terminal fenil halkası ile merkezi heterosiklik çekirdek arasında, diğer bir değişle benzil kalıntısı ile merkez halka arasında koplanar olmayan bir düzenin aktif bölgeye bağlanma için uygun olduğu ve terminal fenil halkadaki orto- veya meta-süstituentlerin bu koplanarlığı destekleyebileceği öne sürülebilir. Ayrıca, pirimidin-2-ilmetil grubunun düzlemsel ve elektron açısından fakir olma durumu, bileşiğin konformasyonel kararlılığını artırarak **BA5** ve **BA15** gibi bileşiklerde gözlenen artmış aktiviteye katkıda bulunabilir.

Bileşikler arasında en yüksek SIRT2 inhibitör aktivite gösteren **BA5**, SIRT1 ve SIRT3 enzimlerine karşı da test edilerek bileşiğin izoform seçiciliği incelenmiş; elde edilen sonuçlara göre, SIRT1 ve SIRT3 enzim aktivitesi üzerinde hiçbir etki göstermemiştir. Buna göre, **BA5**; 10,62 μM IC_{50} değeri ile selektif bir SIRT2 inhibitörü olarak tanımlanmıştır. Bu sonuç, bileşiğin sadece serinin en güçlü bileşiği değil, aynı zamanda öncü bileşik **STH3**'e kıyasla çok daha üstün bir aday olduğunu ve yüksek seçicilik profili sergilediğini göstermektedir (Şekil 5.6).



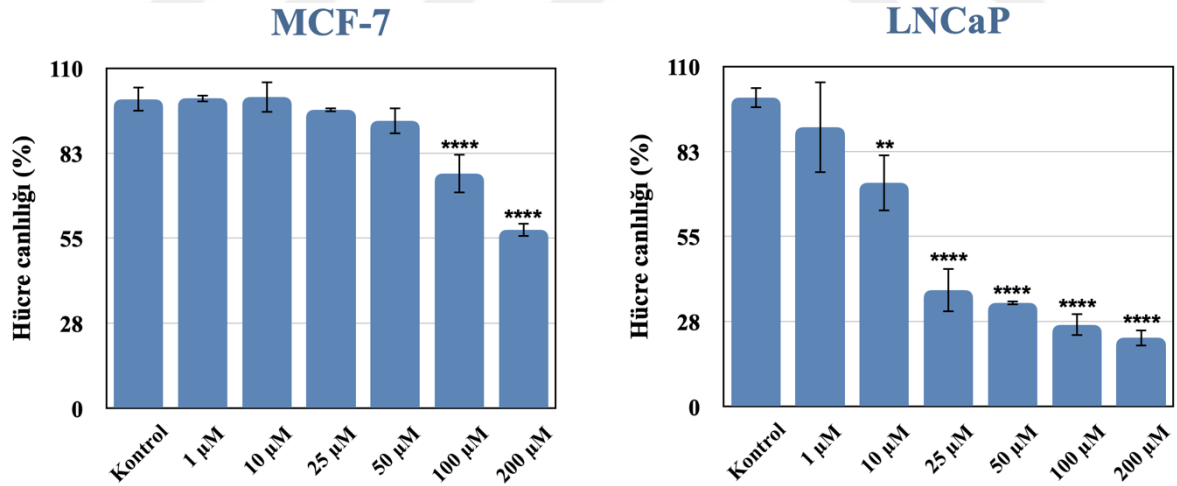
Şekil 5.6. Çalışma kapsamında STH3'ten öncü bileşik optimizasyonu ile en aktif SIRT2 inhibitörü BA5'in elde edilmesi

SIRT2 inhibisyonunun, özellikle meme [17, 18, 87, 108, 189, 214] ve prostat [18, 215, 216] kanserleri olmak üzere birçok kanser türü için terapötik önem taşıdığına dair kanıtlar göz önünde bulundurularak, **BA5** için tespit edilen güçlü ve selektif SIRT2 inhibitör aktivite nedeniyle insan MCF-7 meme kanseri ve insan LNCaP prostat kanseri hücrelerine karşı

bileşiğin antiproliferatif etkisi MTT testi ile incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar (Şekil 5.7), **BA5**'in seçilen hücre hatlarında belirgin şekilde farklı etkiler gösterdiğini ortaya koymuştur.

MCF-7 hücreleri için, 1-50 μM konsantrasyonlarında kontrol ile benzer değerler elde edilmiş olup, % hücre canlılığı %92,95-100,71 arasında değişmiştir. Öte yandan, bileşik, 100 μM (%75,92) ve 200 μM (%57,76) konsantrasyonlarında hücre canlılığında istatistiksel olarak anlamlı, konsantrasyon bağımlı bir düşüş göstermiş; IC_{50} değeri 85,61 μM olarak hesaplanmıştır. Bu bulgular, ilgili konsantrasyonlarda bileşiğin sergilediği antiproliferatif etkinin SIRT2 inhibitör potansiyeli ile ilişkili olduğunu göstermiştir (100 μM konsantrasyonda %60,40 SIRT2 inhibisyonu).

LNCaP hücreleri söz konusu olduğunda, **BA5**'in hücreler üzerindeki antiproliferatif etkisinin MCF-7 hücrelerine kıyasla belirgin şekilde üstün olduğu görülmüştür. Bileşik, 10 μM konsantrasyondan itibaren LNCaP hücrelerinde hücre canlılığında konsantrasyon bağımlı belirgin bir düşüşe sebep olarak 200 μM 'da hücre canlılığını %22,18'e düşürmüştür; IC_{50} değeri 15,82 μM olarak hesaplanmıştır.

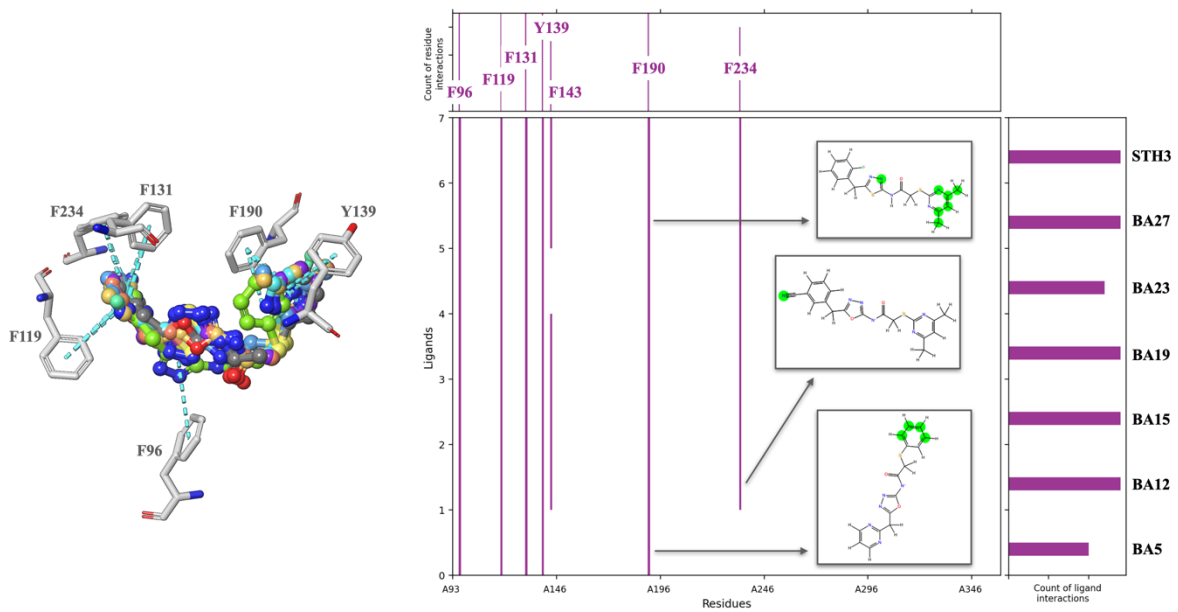


Şekil 5.7. İnsan MCF-7 ve LNCaP hücrelerinde, 1-200 μM aralığındaki tarama konsantrasyonlarında 72 saat boyunca BA5 ile muamele sonrası belirlenen % hücre canlılığı (değerler ortalama $\pm$ SS şeklinde verilmiştir). Her deney üç tekrarlar gerçekleştirilmiştir. Anlamlı farklılıklar ****p < 0.0001 ve **p = 0.0076 olarak sunulmuştur.

Tespit edilen bu durum, prostat kanseri hücrelerinin SIRT2 inhibisyonuna meme kanseri hücrelerine kıyasla daha duyarlı olduğunu göstermektedir. MCF-7 ve LNCaP hücreleri arasındaki **BA5** duyarlılık farkının birkaç faktöre bağlı olabileceği düşünülmüştür.

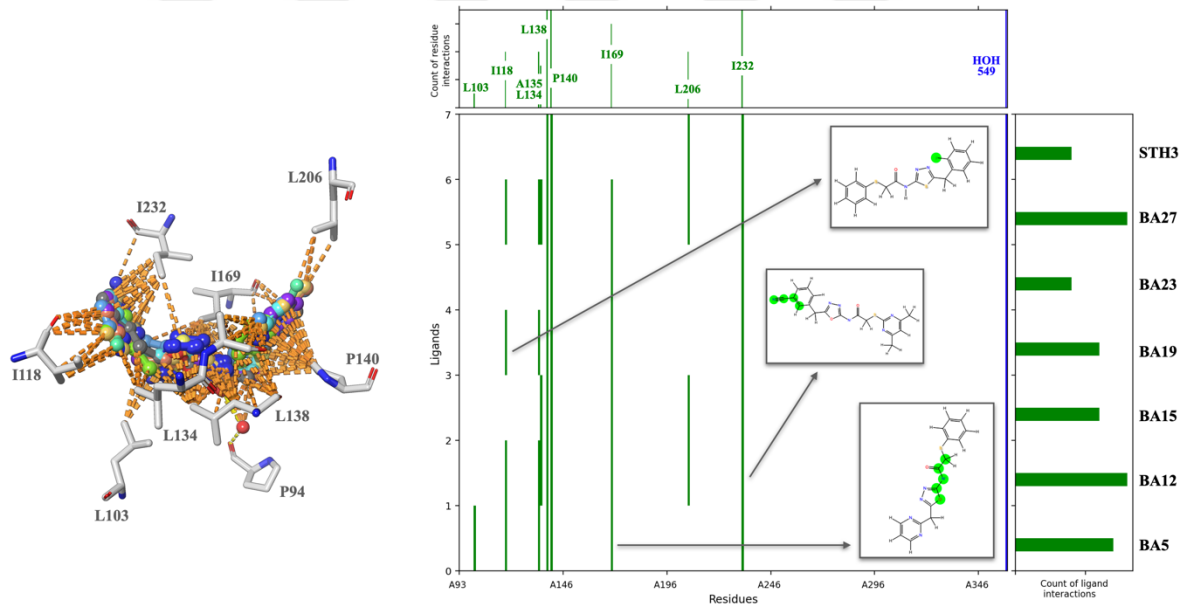
Çalışmalarda, SIRT2'nin mitotik kontrol noktası düzenleyerek tümör progresyonunda rol oynadığı, ifade seviyelerinin ise kanser türleri arasında değişiklik gösterdiğini öne sürülmüştür [34]. Öte yandan, prostat kanseri progresyonunda kritik rol oynayan androjen reseptörlerinin sinyal mekanizması, SIRT2 aktivitesi ile ilişkilendirilmiştir [215-217]. Eğer **BA5**, kanser hücrelerinin androjen reseptör bağımlı hayatta kalım yollarını bozuyorsa, bu durum MCF-7 hücrelerine kıyasla LNCaP hücrelerinde gözlenen daha güçlü antiproliferatif etkiye katkıda bulunabileceği öne sürülebilir. Ancak, bunu tam olarak açıklayabilmek için ileri mekanistik çalışmaların yapılması gerekmektedir. Elde edilen bulgular, SIRT2 inhibisyonunun prostat kanseri için umut verici bir terapötik strateji olabileceğini düşündürürken; meme kanserinde SIRT2 enzimini tek başına hedeflemenin MCF-7 hücrelerinin hücre döngüsü üzerinde tespit edilebilir bir etkisi olmayabileceğini ancak fark edilebilir bir yanıt için diğer yolların birlikte hedeflenmesi gerektiği önermiştir [218].

Biyolojik aktivite çalışmalarında güçlü SIRT2 inhibitörü etki gösterdiği tespit edilen **BA5**, **BA12**, **BA15**, **BA19**, **BA23** ve **BA27** kodlu bileşikler ile SIRT2 enzimiyle gerçekleştirilen moleküler docking çalışmalarının sonucu, bileşiklerin selektivite cebinde Y139 ve F190 ile; genişletilmiş C-bölgesinde F96 ile; substrat kanalında ise F119, F131 ve F234 ile π - π etkileşimleri veya hidrofobik girişimler meydana getirdikleri görülmüştür (Şekil 5.8).



Şekil 5.8. Moleküler docking ile elde edilen SIRT2-bileşik komplekslerinde aromatik amino asitlerle etkileşimlerin analizi (PDB: 5DY4).

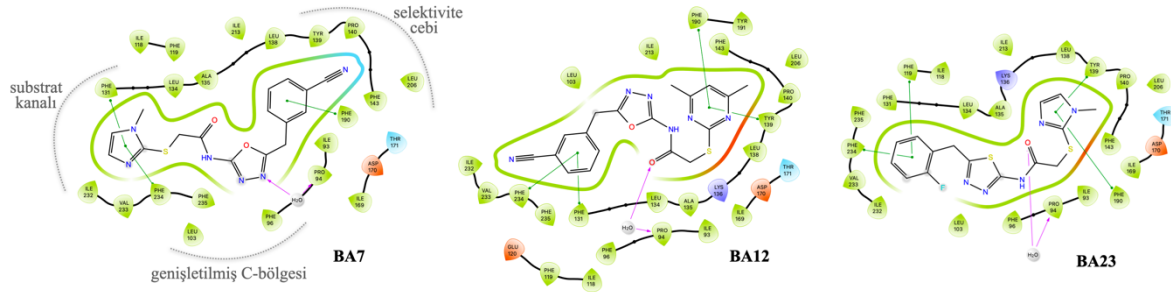
Yapılan çalışmalarla SIRT2 aktif bölgesine bağlanmada hidrofobik etkileşimlerin önemi ortaya konmuştur. İlgili bileşiklerin aktif bölgede meydana getirdikleri hidrofobik etkileşimler analiz edildiğinde (Şekil 5.9); tüm bileşiklerin L138, P140, I169 ve I232 ile etkileşime girdiği gözlenmiştir. Substrat kanalına yönelen fenil halkası üzerindeki siyano ve fluoro sübstitüentlerinin de bu etkileşimlere katkı sağladığı belirlenmiştir. Bunun dışında I118, L134, A135 ve L206, bileşiklerin SIRT2 ile meydana getirdikleri kompleksin kararlılığına katkı sağlayan etkileşimler kurduğu amino asitler olarak bulunmuştur. Ayrıca tüm bileşikler, insan SIRT2 yapılarında korunan HOH549 su molekülü ile hidrojen bağı üzerinden etkileşmiş, bu da genişletilmiş C-bölgesinde aktivite için önemi vurgulanan P94 ile hidrojen bağı oluşturmak için köprü görevini üstlenmiştir. Bu hidrojen bağlarının bağ uzunlukları, dolayısıyla bağ güçleri; bileşiklerin inhibitör etkileri ile uyumlu bulunmuştur.



Şekil 5.9. Moleküler docking ile elde edilen SIRT2-bileşik komplekslerinde hidrofobik amino asitlerle etkileşimlerin analizi (PDB: 5DY4).

Bunula birlikte, kendi grubunda en etkili olmasına rağmen (%38,45 inhibisyon), diğer bileşiklere göre daha sınırlı SIRT2 inhibisyonu sergileyen BA7'nin aktif bölge etkileşimleri incelendiğinde; diğer bileşiklere aynı amino asitlerle etkileşim kurduğu ancak, bu etkileşimleri aktif bölgede öngörülen konumlanmadan farklı bir konformasyonda gerçekleştirdiği görülmüştür (Şekil 5.10). Bu durum, 3-siyanofenil analogu **BA12** ve 1-metil-1*H*-imidazol analogu **BA23** ile karşılaştırıldığında **BA7** için gözlenen etkileşimlerin

etkinliğini azaltabileceğinden, bileşiğin sergilediği göreceli zayıf SIRT2 inhibisyonunu açıklar nitelikte bulunmuştur.



Şekil 5.10. BA7, BA12 ve BA23 kodlu bileşiklerin SIRT2 aktif bölgesinde oluşturdukları etkileşimlere ait ligand etkileşim diyagramları (PDB: 5DY4).

Sonuç olarak, çalışma kapsamındaki bileşiklerin yapısal benzerliği nedeniyle, moleküler docking sonuçları tek başına sınırlı düzeyde ayırt edici olsa da, elde edilen veriler biyolojik bulguları destekleyen ve tamamlayan önemli ipuçları sağlamaktadır. Bu özellikler, bileşiklerin aktif bölgede doğru bir şekilde konumlanarak kararlı ve sergiledikleri inhibitör aktiviteyle uyumlu bir bağlanma konformasyonuna sahip olduğunu göstermektedir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez çalışmamız kapsamında öncü bileşik olarak seçilen **STH3** yapısı üzerinde değişikliklere gidilerek tasarlanan 1,3,4-oksadiazol/tiyadiazol asetamit türevlerinin (**BA1-BA27**) SIRT2 inhibisyon potansiyeli araştırılmış ve umut verici bileşikler belirlenmiştir. Özellikle **BA5**, SIRT1 veya SIRT3 enzim aktivitesini etkilemeden 10,62 μM 'lik IC_{50} değeri ile güçlü ve selektif bir SIRT2 inhibitörü olarak öne çıkmıştır. Ayrıca, **BA5**'in insan MCF-7 meme ve LNCaP prostat kanseri hücrelerine karşı sırasıyla 85,61 μM ve 15,82 μM 'lik IC_{50} değerleriyle antiproliferatif etkiler gösterdiği belirlenmiştir.

Elde edilen bulgularla oluşturulan yapı-aktivite ilişkileri ile, selektivite cebi ve substrat bağlanma kanalındaki etkileşimleri optimize eden azotlu heterosiklik gruplarla ve mevcut halkaya siyano veya floro gibi süstitüentlerin eklenmesiyle, SIRT2'ye bağlanma afinitesinin arttığı ortaya koyulmuştur. Moleküler docking çalışmaları ile, daha kararlı bir enzim-ligand kompleksi için hidrojen bağlarının ve π - π etkileşimlerinin yanında hidrofobik girişimlerin de baskın olarak önem taşıdığı anlaşılmış, bileşiklerin sergilediği etki profili ile bu bulgular uyumlu bulunmuştur.

Genel olarak değerlendirildiğinde, tez çalışmamız; öncü bileşik **STH3**'ün sınırlı aktivitesine karşın, uygun yapısal düzenlemelerle SIRT2 inhibitör etkinliğinin belirgin şekilde artırıldığını göstermekte ve başarılı bir optimizasyon sürecini tanımlamaktadır. Ayrıca, özellikle **BA5** olmak üzere 1,3,4-oksadiazol/tiyadiazol asetamit türevleri, SIRT2 için selektif ve güçlü inhibitörlerin geliştirilmesinde umut vadeden bir yapısal iskelet sunmaktadır.



KAYNAKLAR

1. Dai, W., Qiao, X., Fang, Y., Guo, R., Bai, P., Liu, S., Li, T., Jiang, Y., Wei, S., Na, Z., Xiao, X., and Li, D. (2024). Epigenetics-targeted drugs: current paradigms and future challenges. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 9(1), 332.
2. Deans, C., and Maggert, K. A. (2015). What Do You Mean, “Epigenetic”? *Genetics*, 199(4), 887-896.
3. Skvortsova, K., Iovino, N., and Bogdanović, O. (2018). Functions and mechanisms of epigenetic inheritance in animals. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 19(12), 774-790.
4. Park, S.-Y., and Kim, J.-S. (2020). A short guide to histone deacetylases including recent progress on class II enzymes. *Experimental & Molecular Medicine*, 52(2), 204-212.
5. Seto, E., and Yoshida, M. (2014). Erasers of histone acetylation: the histone deacetylase enzymes. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 6(4), a018713.
6. Curcio, A., Rocca, R., Alcaro, S., and Artese, A. (2024). The Histone Deacetylase Family: Structural Features and Application of Combined Computational Methods. *Pharmaceuticals (Basel)*, 17(5), 620.
7. Milazzo, G., Mercatelli, D., Di Muzio, G., Triboli, L., De Rosa, P., Perini, G., and Giorgi, F. M. (2020). Histone Deacetylases (HDACs): Evolution, Specificity, Role in Transcriptional Complexes, and Pharmacological Actionability. *Genes*, 11(5), 556.
8. Samoilova, E. M., Romanov, S. E., Chudakova, D. A., and Laktionov, P. P. (2024). Role of sirtuins in epigenetic regulation and aging control. *Vavilovskii Zhurnal Genet Selektii*, 28(2), 215-227.
9. Bhatt, V., and Tiwari, A. K. (2023). Sirtuins, a key regulator of ageing and age-related neurodegenerative diseases. *International Journal of Neuroscience*, 133(10), 1167-1192.
10. Fiorino, E., Giudici, M., Ferrari, A., Mitro, N., Caruso, D., De Fabiani, E., and Crestani, M. (2014). The sirtuin class of histone deacetylases: Regulation and roles in lipid metabolism. *IUBMB Life*, 66(2), 89-99.
11. Cencioni, C., Spallotta, F., Mai, A., Martelli, F., Farsetti, A., Zeiher, A. M., and Gaetano, C. (2015). Sirtuin function in aging heart and vessels. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 83, 55-61.
12. Sanders, B. D., Jackson, B., and Marmorstein, R. (2010). Structural basis for sirtuin function: What we know and what we don't. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 1804(8), 1604-1616.
13. Bordo, D. (2013). Structure and Evolution of Human Sirtuins. *Current Drug Targets*, 14(6), 662-665.

14. Klein, M. A., and Denu, J. M. (2020). Biological and catalytic functions of sirtuin 6 as targets for small-molecule modulators. *Journal of Biological Chemistry*, 295(32), 11021-11041.
15. Bheda, P., Jing, H., Wolberger, C., and Lin, H. (2016). The Substrate Specificity of Sirtuins. *Annual Review of Biochemistry*, 85(1), 405-429.
16. Rajabi, N., Galleano, I., Madsen, A. S., and Olsen, C. A. (2018). Targeting Sirtuins: Substrate Specificity and Inhibitor Design. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 154, 25-69.
17. Wu, M., Zhang, J.-B., Xiong, Y.-W., Zhao, Y.-X., Zheng, M.-G., Huang, X.-L., Huang, F., Wu, X.-X., Li, X., Fan, W.-J., Hu, L., Zeng, Y.-Y., Cheng, X.-J., Yue, J.-C., Du, J.-J., Chen, N.-N., Wei, W.-X., Yao, Q.-H., Lu, X.-m., Huang, C., Deng, J., Chang, Z.-J., Liu, H.-B., Zhao, T. C., and Chinn, Y. E. (2023). Promotion of Lung Cancer Metastasis by SIRT2-Mediated Extracellular Protein Deacetylation. *Advanced Science*, 10(3), 2205462.
18. Lin, R., Yang, Y., Wu, E., Zhou, M., Wang, S., and Zhang, Q. (2023). SIRT2 promotes cell proliferation and migration through mediating ERK1/2 activation and lactosylceramide accumulation in prostate cancer. *The Prostate*, 83(1), 71-81.
19. Guo, L., Jiang, Z.-M., Zhan, Y.-J., Pan, W., Wu, Q.-W., Song, F.-X., Zhou, X., Zhou, X.-Y., Liu, L.-J., and Wang, J.-T. (2023). Neuro death through autophagy via the acetylation of FoxO1 by SIRT2 in the hippocampus of mice in a autism spectrum disorder mice model. *Journal of Cellular Physiology*, 238(6), 1275-1287.
20. Taneja, A., Ravi, V., Hong, J. Y., Lin, H., and Sundaresan, N. R. (2021). Emerging roles of Sirtuin 2 in cardiovascular diseases. *The FASEB Journal*, 35(10), e21841.
21. Ren, Y.-r., Ye, Y.-l., Feng, Y., Xu, T.-F., Shen, Y., Liu, J., Huang, S.-L., Shen, J.-H., and Leng, Y. (2021). SL010110, a lead compound, inhibits gluconeogenesis via SIRT2-p300-mediated PEPCCK1 degradation and improves glucose homeostasis in diabetic mice. *Acta Pharmacologica Sinica*, 42(11), 1834-1846.
22. Kudo, N., Ito, A., Arata, M., Nakata, A., and Yoshida, M. (2018). Identification of a novel small molecule that inhibits deacetylase but not defatty-acylase reaction catalysed by SIRT2. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 373(1748), 20170070.
23. Lee, Y. G., Reader, B. F., Herman, D., Streicher, A., Englert, J. A., Ziegler, M., Chung, S., Karpurapu, M., Park, G. Y., Christman, J. W., and Ballinger, M. N. (2019). Sirtuin 2 enhances allergic asthmatic inflammation. *JCI Insight*, 4(4), e124710.
24. Wang, T., Xu, Z., Lu, Y., Shi, J., Liu, W., Zhang, C., Jiang, Z., Qi, B., and Bai, L. (2019). Recent Progress on the Discovery of Sirt2 Inhibitors for the Treatment of Various Cancers. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 19(12), 1051-1058.

25. Nielsen, A. L., Rajabi, N., Kudo, N., Lundø, K., Moreno-Yruela, C., Bæk, M., Fontenas, M., Lucidi, A., Madsen, A. S., Yoshida, M., and Olsen, C. A. (2021). Mechanism-based inhibitors of SIRT2: structure–activity relationship, X-ray structures, target engagement, regulation of α -tubulin acetylation and inhibition of breast cancer cell migration. *RSC Chemical Biology*, 2(2), 612-626.
26. Moniot, S., Forgione, M., Lucidi, A., Hailu, G. S., Nebbioso, A., Carafa, V., Baratta, F., Altucci, L., Giacché, N., Passeri, D., Pellicciari, R., Mai, A., Steegborn, C., and Rotili, D. (2017). Development of 1,2,4-Oxadiazoles as Potent and Selective Inhibitors of the Human Deacetylase Sirtuin 2: Structure–Activity Relationship, X-ray Crystal Structure, and Anticancer Activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 60(6), 2344-2360.
27. Fiorentino, F., Fabbrizi, E., Mai, A., and Rotili, D. (2024). Activation and inhibition of sirtuins: From bench to bedside. *Medicinal Research Reviews*, 45(2), 484-560.
28. Roche, K. L., Remiszewski, S., Todd, M. J., Kulp, J. L., III, Tang, L., Welsh, A. V., Barry, A. P., De, C., Reiley, W. W., Wahl, A., Garcia, J. V., Luftig, M. A., Shenk, T., Tonra, J. R., Murphy, E. A., and Chiang, L. W. (2023). An allosteric inhibitor of sirtuin 2 deacetylase activity exhibits broad-spectrum antiviral activity. *The Journal of Clinical Investigation*, 133(12), e158978.
29. Chen, G., Huang, P., and Hu, C. (2020). The role of SIRT2 in cancer: A novel therapeutic target. *International Journal of Cancer*, 147(12), 3297-3304.
30. Mautone, N., Zwergel, C., Mai, A., and Rotili, D. (2020). Sirtuin modulators: where are we now? A review of patents from 2015 to 2019. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 30(6), 389-407.
31. Penteado, A. B., Hassanie, H., Gomes, R. A., Silva Emery, F. D., and Goulart Trossini, G. H. (2023). Human Sirtuin 2 inhibitors, Their Mechanisms and Binding Modes. *Future Medicinal Chemistry*, 15(3), 291-311.
32. Hu, F. Q., Sun, X. L., Li, G., Wu, Q., Chen, Y. Q., Yang, X., Luo, X. L., Hu, J. B., and Wang, G. H. (2018). Inhibition of SIRT2 limits tumour angiogenesis via inactivation of the STAT3/VEGFA signalling pathway. *Cell Death & Disease*, 10(1), 9.
33. Ghanem, M. S., Caffa, I., Monacelli, F., and Nencioni, A. (2024). Inhibitors of NAD⁺ Production in Cancer Treatment: State of the Art and Perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(4), 2092.
34. Kaya, S. G., and Eren, G. (2023). Selective inhibition of SIRT2: A disputable therapeutic approach in cancer therapy. *Bioorganic Chemistry*, 143, 107038.
35. Bernhard, S. P., Ruiz, F. X., Remiszewski, S., Todd, M. J., Shenk, T., Kulp, J. L., and Chiang, L. W. (2025). Structural basis for sirtuin 2 activity and modulation: Current state and opportunities. *Journal of Biological Chemistry*, 301(7), 110274.

36. Schiedel, M., Rumpf, T., Karaman, B., Lehotzky, A., Oláh, J., Gerhardt, S., Ovádi, J., Sippl, W., Einsle, O., and Jung, M. (2016). Aminothiazoles as Potent and Selective Sirt2 Inhibitors: A Structure-Activity Relationship Study. *Journal of Medicinal Chemistry*, 59(4), 1599-1612.
37. Rumpf, T., Schiedel, M., Karaman, B., Roessler, C., North, B. J., Lehotzky, A., Oláh, J., Ladwein, K. I., Schmidtkunz, K., Gajer, M., Pannek, M., Steegborn, C., Sinclair, D. A., Gerhardt, S., Ovádi, J., Schutkowski, M., Sippl, W., Einsle, O., and Jung, M. (2015). Selective Sirt2 inhibition by ligand-induced rearrangement of the active site. *Nature Communications*, 6(1), 6323.
38. Eren, G., Bruno, A., Guntekin-Ergun, S., Cetin-Atalay, R., Ozgencil, F., Ozkan, Y., Gozelle, M., Kaya, S. G., and Costantino, G. (2019). Pharmacophore modeling and virtual screening studies to identify novel selective SIRT2 inhibitors. *Journal of Molecular Graphics & Modelling*, 89, 60-73.
39. Handy, D. E., Castro, R., and Loscalzo, J. (2011). Epigenetic modifications: basic mechanisms and role in cardiovascular disease. *Circulation*, 123(19), 2145-2156.
40. Waterland, R. A. (2006). Epigenetic mechanisms and gastrointestinal development. *The Journal of pediatrics*, 149(5), 137-142.
41. Hogg, S. J., Beavis, P. A., Dawson, M. A., and Johnstone, R. W. (2020). Targeting the epigenetic regulation of antitumour immunity. *Nature Reviews Drug Discovery*, 19(11), 776-800.
42. Cavalli, G., and Heard, E. (2019). Advances in epigenetics link genetics to the environment and disease. *Nature*, 571(7766), 489-499.
43. Peleg, S., Feller, C., Ladurner, A. G., and Imhof, A. (2016). The Metabolic Impact on Histone Acetylation and Transcription in Ageing. *Trends in Biochemical Sciences*, 41(8), 700-711.
44. Grant, P. A. (2001). A tale of histone modifications. *Genome Biology*, 2(4), reviews0003.1–0003.6.
45. Gallinari, P., Marco, S. D., Jones, P., Pallaoro, M., and Steinkühler, C. (2007). HDACs, histone deacetylation and gene transcription: from molecular biology to cancer therapeutics. *Cell Research*, 17(3), 195-211.
46. Geiman, T. M., and Robertson, K. D. (2002). Chromatin remodeling, histone modifications, and DNA methylation-how does it all fit together?. *Journal of Cellular Biochemistry*, 87(2), 117-125.
47. Peserico, A., and Simone, C. (2011). Physical and functional HAT/HDAC interplay regulates protein acetylation balance. *Journal of Biomedicine Biotechnology*, 2011(1), 371832.

48. Hadley, M., Noonepalle, S., Banik, D., and Villagra, A. (2019). Functional Analysis of HDACs in Tumorigenesis. In J. R. M. Brosh (Editor), *Protein Acetylation: Methods and Protocols*. New York, NY: Springer New York, pp. 279-307.
49. Hai, R., He, L., Shu, G., and Yin, G. (2021). Characterization of Histone Deacetylase Mechanisms in Cancer Development. *Frontiers in Oncology*, 11, 700947.
50. Corneo, E., Michels, M., Abatti, M., Vieira, A., Goncalves, R. C., Gabriel, F. F., Borges, H., Goulart, A., da Silva Matos, N., Dominghini, D., Varela, R., Valvassori, S. S., and Dal-Pizzol, F. (2022). Enriched environment causes epigenetic changes in hippocampus and improves long-term cognitive function in sepsis. *Scientific Reports*, 12(1), 11529.
51. Li, G., Tian, Y., and Zhu, W.-G. (2020). The Roles of Histone Deacetylases and Their Inhibitors in Cancer Therapy. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8, 576946.
52. Marks, P., Rifkind, R. A., Richon, V. M., Breslow, R., Miller, T., and Kelly, W. K. (2001). Histone deacetylases and cancer: causes and therapies. *Nature Reviews Cancer*, 1(3), 194-202.
53. Li, Z., and Zhu, W. G. (2014). Targeting histone deacetylases for cancer therapy: from molecular mechanisms to clinical implications. *International Journal of Biological Sciences*, 10(7), 757-770.
54. Bolden, J. E., Shi, W., Jankowski, K., Kan, C. Y., Cluse, L., Martin, B. P., MacKenzie, K. L., Smyth, G. K., and Johnstone, R. W. (2013). HDAC inhibitors induce tumor-cell-selective pro-apoptotic transcriptional responses. *Cell Death & Disease*, 4(2), e519.
55. Turtoi, A., Peixoto, P., Castronovo, V., and Bellahcene, A. (2015). Histone Deacetylases and Cancer-Associated Angiogenesis: Current Understanding of the Biology and Clinical Perspectives. *Critical Reviews in Oncogenesis*, 20(1-2), 119-137.
56. Sauve, A. A., Wolberger, C., Schramm, V. L., and Boeke, J. D. (2006). The Biochemistry of Sirtuins. *Annual Review of Biochemistry*, 75(1), 435-465.
57. Yao, Y., Yang, Y., and Zhu, W.-G. (2014). Sirtuins: Nodes Connecting Aging, Metabolism and Tumorigenesis. *Current Pharmaceutical Design*, 20(11), 1614-1624.
58. Mei, Z., Zhang, X., Yi, J., Huang, J., He, J., and Tao, Y. (2016). Sirtuins in metabolism, DNA repair and cancer. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 35, 182.
59. Denu, J. M., and Gottesfeld, J. M. (2012). Minireview series on sirtuins: from biochemistry to health and disease. *Journal of Biological Chemistry*, 287(51), 42417-42418.
60. Shen, H., Qi, X., Hu, Y., Wang, Y., Zhang, J., Liu, Z., and Qin, Z. (2024). Targeting sirtuins for cancer therapy: epigenetics modifications and beyond. *Theranostics*, 14(17), 6726-6767.
61. Silva, R. d. F. e., Bassi, G., Câmara, N. O. S., and Moretti, N. S. (2023). Sirtuins: Key pieces in the host response to pathogens' puzzle. *Molecular Immunology*, 160, 150-160.

62. Kuta, R., Larochelle, N., Fernandez, M., Pal, A., Minotti, S., Tibshirani, M., St. Louis, K., Gentil, B. J., Nalbantoglu, J. N., Hermann, A., and Durham, H. D. (2020). Depending on the stress, histone deacetylase inhibitors act as heat shock protein co-inducers in motor neurons and potentiate arimoclomol, exerting neuroprotection through multiple mechanisms in ALS models. *Cell Stress and Chaperones*, 25(1), 173-191.
63. Glozak, M. A., Sengupta, N., Zhang, X., and Seto, E. (2005). Acetylation and deacetylation of non-histone proteins. *Gene*, 363, 15-23.
64. Klar, A. J., Fogel, S., and Macleod, K. (1979). MAR1-a Regulator of the HMa and HMalpha Loci in *Saccharomyces Cerevisiae*. *Genetics*, 93(1), 37-50.
65. Gottlieb, S., and Esposito, R. E. (1989). A new role for a yeast transcriptional silencer gene, SIR2, in regulation of recombination in ribosomal DNA. *Cell*, 56(5), 771-776.
66. Imai, S.-I., Armstrong, C. M., Kaeberlein, M., and Guarente, L. (2000). Transcriptional silencing and longevity protein Sir2 is an NAD-dependent histone deacetylase. *Nature*, 403(6771), 795-800.
67. Naiman, S., and Cohen, H. Y. (2012). The contentious history of sirtuin debates. *Rambam Maimonides Medical Journal*, 3(4), e0022.
68. Du, J., Jiang, H., and Lin, H. (2009). Investigating the ADP-ribosyltransferase Activity of Sirtuins with NAD Analogues and 32P-NAD. *Biochemistry*, 48(13), 2878-2890.
69. Michan, S., and Sinclair, D. (2007). Sirtuins in mammals: insights into their biological function. *The Biochemical Journal*, 404(1), 1-13.
70. Yuan, H., and Marmorstein, R. (2012). Structural Basis for Sirtuin Activity and Inhibition. *Journal of Biological Chemistry*, 287(51), 42428-42435.
71. Abbotto, E., Scarano, N., Piacente, F., Millo, E., Cichero, E., and Bruzzone, S. (2022). Virtual Screening in the Identification of Sirtuins' Activity Modulators. *Molecules*, 27(17), 5641-5690.
72. Moreno-Yruela, C., Ekundayo, B. E., Foteva, P. N., Ni, D., Calvino-Sanles, E., Stahlberg, H., and Fierz, B. (2025). Structural basis of SIRT7 nucleosome engagement and substrate specificity. *Nature Communications*, 16(1), 1328.
73. Tang, H., Wen, J., Qin, T., Chen, Y., Huang, J., Yang, Q., Jiang, P., Wang, L., Zhao, and Y., and Yang, Q. (2023). New insights into Sirt1: potential therapeutic targets for the treatment of cerebral ischemic stroke. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 17, 1228761.
74. Song, N., Guan, X., Zhang, S., Wang, Y., Wang, X., Lu, Z., Chong, D., Wang, J. Y., Yu, R., Yu, W., Jiang, T., and Gu, Y. (2023). Discovery of a pyrrole-pyridinimidazole derivative as novel SIRT6 inhibitor for sensitizing pancreatic cancer to gemcitabine. *Cell Death & Disease*, 14(8), 499.

75. Roshdy, E., Mustafa, M., Shaltout, A. E.-R., Radwan, M. O., Ibrahim, M. A. A., Soliman, M. E., Fujita, M., Otsuka, M., and Ali, T. F. S. (2021). Selective SIRT2 inhibitors as promising anticancer therapeutics: An update from 2016 to 2020. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 224, 113709.
76. Wang, M., and Lin, H. (2021). Understanding the Function of Mammalian Sirtuins and Protein Lysine Acylation. *Annual Review of Biochemistry*, 90, 245-285.
77. Feldman, J. L., Dittenhafer-Reed, K. E., Kudo, N., Thelen, J. N., Ito, A., Yoshida, M., and Denu, J. M. (2015). Kinetic and Structural Basis for Acyl-Group Selectivity and NAD⁺ Dependence in Sirtuin-Catalyzed Deacetylation. *Biochemistry*, 54(19), 3037-3050.
78. Wang, C., Liu, Y., Zhu, Y., and Kong, C. (2020). Functions of mammalian SIRT4 in cellular metabolism and research progress in human cancer. *Oncology Letters*, 20(4), 11.
79. Maurer, B., Rumpf, T., Scharfe, M., Stolfa, D. A., Schmitt, M. L., He, W., Verdin, E., Sippl, W., and Jung, M. (2012). Inhibitors of the NAD⁺-Dependent Protein Desuccinylase and Demalonylase Sirt5. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 3(12), 1050-1053.
80. Kim, W., and Kim, J. E. (2013). SIRT7 An Emerging Sirtuin: Deciphering Newer Roles. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 64(5), 531-534.
81. Bolding, J. E., Nielsen, A. L., Jensen, I., Hansen, T. N., Ryberg, L. A., Jameson, S. T., Harris, P., Peters, G. H. J., Denu, J. M., Rogers, J. M., and Olsen, C. A. (2023). Substrates and Cyclic Peptide Inhibitors of the Oligonucleotide-Activated Sirtuin 7. *Angewandte Chemie International Edition*, 62(49), e202314597.
82. Kuznetsov, V. I., Liu, W. H., Klein, M. A., and Denu, J. M. (2022). Potent Activation of NAD⁺-Dependent Deacetylase Sirt7 by Nucleosome Binding. *ACS Chemical Biology Journal*, 17(8), 2248-2261.
83. Bursch, K. L., Goetz, C. J., and Smith, B. C. (2024). Current Trends in Sirtuin Activator and Inhibitor Development. *Molecules*, 29(5), 1185.
84. Scarano, N., Brullo, C., Musumeci, F., Millo, E., Bruzzzone, S., Schenone, S., and Cichero, E. (2024). Recent Advances in the Discovery of SIRT1/2 Inhibitors via Computational Methods: A Perspective. *Pharmaceuticals*, 17(5), 601.
85. North, B. J., and Verdin, E. (2007). Interphase Nucleo-Cytoplasmic Shuttling and Localization of SIRT2 during Mitosis. *Plos One*, 2(8), e784.
86. Vogelmann, A., Schiedel, M., Wössner, N., Merz, A., Herp, D., Hammelmann, S., Colcerasa, A., Komaniecki, G., Hong, J., Sum, M., Metzger, E., Neuwirt, E., Zhang, L., Einsle, O., Groß, O., Schüle, R., Lin, H., Sippl, W., and Jung, M. (2022). Development of a NanoBRET assay to validate inhibitors of Sirt2-mediated lysine deacetylation and defatty-acylation that block prostate cancer cell migration. *RSC Chemical Biology*, 3(4), 468-485.

87. Wang, H.-L., Ma, X., Guan, X.-Y., Song, C., Li, G.-B., Yu, Y.-M., and Yang, L.-L. (2022). Potential synthetic lethality for breast cancer: A selective sirtuin 2 inhibitor combined with a multiple kinase inhibitor sorafenib. *Pharmacological Research*, 177, 106050.
88. Head, P. E., Kapoor-Vazirani, P., Nagaraju, G. P., Zhang, H., Rath, Sandip K., Luong, Nho C., Haji-Seyed-Javadi, R., Sesay, F., Wang, S.-Y., Duong, Duc M., Daddacha, W., Minten, Elizabeth V., Song, B., Danelia, D., Liu, X., Li, S., Ortlund, Eric A., Seyfried, Nicholas T., Smalley, David M., Wang, Y., Deng, X., Dynan, William S., El-Rayes, B., Davis, Anthony J., and Yu, D. S. (2023). DNA-PK is activated by SIRT2 deacetylation to promote DNA double-strand break repair by non-homologous end joining. *Nucleic Acids Research*, 51(15), 7972-7987.
89. Du, F., Li, Z. J., Zhang, G. H., Shaoyan, S., Geng, D. J., Tao, Z. G., Qiu, K. H., Liu, S. L., Zhou, Y., Zhang, Y. C., Gu, J. W., Wang, G., Li, L. Y., and Wu, W. (2020). SIRT2, a direct target of miR-212-5p, suppresses the proliferation and metastasis of colorectal cancer cells. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 24(17), 9985-9998.
90. Chen, Z., Niu, K., Li, M., Deng, Y., Zhang, J., Wei, D., Wang, J., and Zhao, Y. (2025). GCLC desuccinylation regulated by oxidative stress protects human cancer cells from ferroptosis. *Cell Death & Differentiation*, 1-12.
91. Dryden, S. C., Nahhas, F. A., Nowak, J. E., Goustin, A.-S., and Tainsky, M. A. (2003). Role for human SIRT2 NAD-dependent deacetylase activity in control of mitotic exit in the cell cycle. *Molecular and Cellular Biology*, 23(9), 3173-3185.
92. Zhang, H., Park, S.-H., Pantazides, B. G., Karpiuk, O., Warren, M. D., Hardy, C. W., Duong, D. M., Park, S.-J., Kim, H.-S., Vassilopoulos, A., Seyfried, N. T., Johnsen, S. A., Gius, D., and Yu, D. S. (2013). SIRT2 directs the replication stress response through CDK9 deacetylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(33), 201301463.
93. North, B. J., Marshall, B. L., Borra, M. T., Denu, J. M., and Verdin, E. (2003). The Human Sir2 Ortholog, SIRT2, Is an NAD⁺-Dependent Tubulin Deacetylase. *Molecular Cell*, 11(2), 437-444.
94. Ibrahim, M. A. A., Abdeljawaad, K. A. A., Roshdy, E., Mohamed, D. E. M., Ali, T. F. S., Gabr, G. A., Jaragh-Alhadad, L. A., Mekhemer, G. A. H., Shawky, A. M., Sidhom, P. A., and Abdelrahman, A. H. M. (2023). *In silico* drug discovery of SIRT2 inhibitors from natural source as anticancer agents. *Scientific Reports*, 13(1), 2146-2163.
95. Wang, Y.-P., Zhou, L.-S., Zhao, Y.-Z., Wang, S.-W., Chen, L.-L., Liu, L.-X., Ling, Z.-Q., Hu, F.-J., Sun, Y.-P., Zhang, J.-Y., Yang, C., Yang, Y., Xiong, Y., Guan, K.-L., and Ye, D. (2014). Regulation of G6PD acetylation by SIRT2 and KAT9 modulates NADPH homeostasis and cell survival during oxidative stress. *The EMBO Journal*, 33(12), 1304-1320.

96. Jiang, W. Q., Wang, S. W., Xiao, M. T., Lin, Y., Zhou, L. S., Lei, Q. Y., Xiong, Y., Guan, K.-L., and Zhao, S. M. (2011). Acetylation Regulates Gluconeogenesis by Promoting PEPCK1 Degradation via Recruiting the UBR5 Ubiquitin Ligase. *Molecular Cell*, 43(1), 33-44.
97. Guo, J., Nie, J., Li, D., Zhang, H., Zhao, T., Zhang, S., Ma, L., Lu, J., Ji, H., Li, S., Tao, S., and Xu, B. (2024). The role of NAD-dependent deacetylase sirtuin-2 in liver metabolic stress through regulating pyruvate kinase M2 ubiquitination. *Journal of Translational Medicine*, 22(1), 656.
98. Sola-Sevilla, N., and Puerta, E. (2024). SIRT2 as a potential new therapeutic target for Alzheimer's disease. *Neural Regeneration Research*, 19(1), 124-131.
99. Green, K. N., Steffan, J. S., Martinez-Coria, H., Sun, X., Schreiber, S. S., Thompson, L. M., and LaFerla, F. M. (2008). Nicotinamide Restores Cognition in Alzheimer's Disease Transgenic Mice via a Mechanism Involving Sirtuin Inhibition and Selective Reduction of Thr231-Phosphotau. *Journal of Neuroscience*, 28(45), 11500-11510.
100. Outeiro, T. F., Marques, O., and Kazantsev, A. (2008). Therapeutic role of sirtuins in neurodegenerative disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1782(6), 363-369.
101. Taylor, D. M., Balabadra, U., Xiang, Z., Woodman, B., Meade, S., Amore, A., Maxwell, M. M., Reeves, S., Bates, G. P., Luthi-Carter, R., Lowden, P. A. S., and Kazantsev, A. G. (2011). A Brain-Permeable Small Molecule Reduces Neuronal Cholesterol by Inhibiting Activity of Sirtuin 2 Deacetylase. *ACS Chemical Biology*, 6(6), 540-546.
102. Luthi-Carter, R., Taylor, D. M., Pallos, J., Lambert, E., Amore, A., Parker, A., Moffitt, H., Smith, D. L., Runne, H., Gokce, O., Kuhn, A., Xiang, Z., Maxwell, M. M., Reeves, S. A., Bates, G. P., Neri, C., Thompson, L. M., Marsh, J. L., and Kazantsev, A. G. (2010). SIRT2 inhibition achieves neuroprotection by decreasing sterol biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(17), 7927-7932.
103. Eskandarian, H. A., Impens, F., Nahori, M.-A., Soubigou, G., Coppée, J.-Y., Cossart, P., and Hamon, M. A. (2013). A Role for SIRT2-Dependent Histone H3K18 Deacetylation in Bacterial Infection. *Science*, 341(6145), 1238858.
104. Zhang, L., Kim, S., and Ren, X. (2020). The Clinical Significance of SIRT2 in Malignancies: A Tumor Suppressor or an Oncogene?. *Frontiers in Oncology*, 10, 1721.
105. Zhu, C., Dong, X., Wang, X., Zheng, Y., Qiu, J., Peng, Y., Xu, J., Chai, Z., and Liu, C. (2022). Multiple Roles of SIRT2 in Regulating Physiological and Pathological Signal Transduction. *Genetics Research*, 2022, 9282484.
106. Zhang, M., Acklin, S., Gillenwater, J., Du, W., Patra, M., Yu, H., Xu, B., Yu, J., and Xia, F. (2021). SIRT2 promotes murine melanoma progression through natural killer cell inhibition. *Scientific Reports*, 11(1), 12988.

107. Cha, Y., Kim, T., Jeon, J., Jang, Y., Kim, P. B., Lopes, C., Leblanc, P., Cohen, B. M., and Kim, K.-S. (2021). SIRT2 regulates mitochondrial dynamics and reprogramming via MEK1-ERK-DRP1 and AKT1-DRP1 axes. *Cell Reports*, 37(13), 110155.
108. Zhao, N., Guo, Y., Liu, P., Chen, Y., and Wang, Y. (2022). Sirtuin 2 promotes cell stemness and MEK/ERK signaling pathway while reduces chemosensitivity in endometrial cancer. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 305(3), 693-701.
109. Liu, P. Y., Xu, N., Malyukova, A., Scarlett, C. J., Sun, Y., Zhang, X. D., Ling, D., Su, J. S. P., Nelson, C., Chang, D. K., Koach, J., Tee, A. E., Haber, M., Norris, M. D., Toon, C., Rooman, I., Xue, C., Cheung, B. B., Kumar, S., Marshall, G. M., Biankin, A. V., and Liu, T. (2013). The histone deacetylase SIRT2 stabilizes Myc oncoproteins. *Cell Death Differentiation*, 20(3), 503-514.
110. He, X., Nie, H., Hong, Y., Sheng, C., Xia, W., and Ying, W. (2012). SIRT2 activity is required for the survival of C6 glioma cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 417(1), 468-472.
111. Li, Y., Matsumori, H., Nakayama, Y., Osaki, M., Kojima, H., Kurimasa, A., Ito, H., Mori, S., Katoh, M., Oshimura, M., and Inoue, T. (2011). SIRT2 down-regulation in HeLa can induce p53 accumulation via p38 MAPK activation-dependent p300 decrease, eventually leading to apoptosis. *Genes Cells*, 16(1), 34-45.
112. Xie, H. J., Jung, K. H., and Nam, S. W. (2011). Overexpression of SIRT2 contributes tumor cell growth in hepatocellular carcinomas. *Molecular & Cellular Toxicology*, 7(4), 367-374.
113. Malgulwar, P. B., Danussi, C., Dharmaiah, S., Johnson, W., Singh, A., Rai, K., Rao, A., and Huse, J. T. (2024). Sirtuin 2 inhibition modulates chromatin landscapes genome-wide to induce senescence in ATRX-deficient malignant glioma. *Journal of Neuro-Oncology*, 26(1), 55-67.
114. Ponnusamy, M., Zhou, X., Yan, Y., Tang, J., Tolbert, E., Zhao, T. C., Gong, R., and Zhuang, S. (2014). Blocking sirtuin 1 and 2 inhibits renal interstitial fibroblast activation and attenuates renal interstitial fibrosis in obstructive nephropathy. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 350(2), 243-256.
115. Akbulut, M., Keskin Aktan, A., Sonugur, G., Ozen Akarca, S., Bahar, A. N., Kavak, H., and Akbulut, G. (2025). Protective Effects of SIRT2 Inhibition on Cardiac Fibrosis. *The Anatolian Journal of Cardiology*, 29(4), 173-180.
116. Lin, R. T., Tao, R., Gao, X., Li, T., Zhou, X., Guan, K.-L., Xiong, Y., and Lei, Q.-Y. (2013). Acetylation Stabilizes ATP-Citrate Lyase to Promote Lipid Biosynthesis and Tumor Growth. *Molecular Cell*, 51(4), 506-518.
117. Du, Y., Wu, J., Zhang, H., Li, S., and Sun, H. (2017). Reduced expression of SIRT2 in serous ovarian carcinoma promotes cell proliferation through disinhibition of CDK4 expression. *Molecular Medicine Reports*, 15(4), 1638-1646.

118. Wang, Y., Yang, J., Hong, T., Chen, X., and Cui, L. (2019). SIRT2: Controversy and multiple roles in disease and physiology. *Ageing Research Reviews*, 55, 100961.
119. Matsuda, S., Miwa, M., Tanabe, M., Kobayashi, M., Shu, S., Yoshino, Y., Tada, N., Itoh, A., and Ikari, A. (2025). Sirtuin-2 Is Involved in the Regulation of Claudin-4 Expression and Paracellular Barrier Function in Keratinocytes. *Journal of Cellular Biochemistry*, 126(3), e70027.
120. Scarano, N., Abbotto, E., Musumeci, F., Salis, A., Brullo, C., Fossa, P., Schenone, S., Bruzzone, S., and Cichero, E. (2023). Virtual Screening Combined with Enzymatic Assays to Guide the Discovery of Novel SIRT2 Inhibitors. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(11), 9363.
121. Xue, J., Hou, X., and Fang, H. (2023). Structure, functions, and recent advances in the development of SIRT2 inhibitors. *Pharmaceutical Science Advances*, 1(2), 100010.
122. Hu, J., Jing, H., and Lin, H. (2014). Sirtuin inhibitors as anticancer agents. *Future Medicinal Chemistry*, 6(8), 945-966.
123. Tervo, A. J., Kyrylenko, S., Niskanen, P., Salminen, A., Leppänen, J., Nyrönen, T. H., Järvinen, T., and Poso, A. (2004). An *In Silico* Approach to Discovering Novel Inhibitors of Human Sirtuin Type 2. *Journal of Medicinal Chemistry*, 47(25), 6292-6298.
124. Jung-Hynes, B., Nihal, M., Zhong, W., and Ahmad, N. (2009). Role of sirtuin histone deacetylase SIRT1 in prostate cancer. A target for prostate cancer management via its inhibition?. *Journal of Biological Chemistry*, 284(6), 3823-3832.
125. Audrito, V., Vaisitti, T., Rossi, D., Gottardi, D., D'Arena, G., Laurenti, L., Gaidano, G., Malavasi, F., and Deaglio, S. (2011). Nicotinamide Blocks Proliferation and Induces Apoptosis of Chronic Lymphocytic Leukemia Cells through Activation of the p53/miR-34a/SIRT1 Tumor Suppressor Network. *Cancer Research*, 71(13), 4473-4483.
126. Grozinger, C. M., Chao, E. D., Blackwell, H. E., Moazed, D., and Schreiber, S. L. (2001). Identification of a class of small molecule inhibitors of the sirtuin family of NAD-dependent deacetylases by phenotypic screening. *Journal of Biological Chemistry*, 276(42), 38837-38843.
127. Ota, H., Tokunaga, E., Chang, K., Hikasa, M., Iijima, K., Eto, M., Kozaki, K., Akishita, M., Ouchi, Y., and Kaneki, M. (2006). Sirt1 inhibitor, Sirtinol, induces senescence-like growth arrest with attenuated Ras-MAPK signaling in human cancer cells. *Oncogene*, 25(2), 176-185.
128. Wang, J., Kim, T. H., Ahn, M. Y., Lee, J., Jung, J. H., Choi, W. S., Lee, B. M., Yoon, K. S., Yoon, S., and Kim, H. S. (2012). Sirtinol, a class III HDAC inhibitor, induces apoptotic and autophagic cell death in MCF-7 human breast cancer cells. *International Journal of Oncology*, 41(3), 1101-1109.

129. Mai, A., Massa, S., Lavu, S., Pezzi, R., Simeoni, S., Ragno, R., Mariotti, F. R., Chiani, F., Camilloni, G., and Sinclair, D. A. (2005). Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Sirtinol Analogues as Class III Histone/Protein Deacetylase (Sirtuin) Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 48(24), 7789-7795.
130. Rotili, D., Tarantino, D., Nebbioso, A., Paolini, C., Huidobro, C., Lara, E., Mellini, P., Lenoci, A., Pezzi, R., Botta, G., Lahtela-Kakkonen, M., Poso, A., Steinkühler, C., Gallinari, P., De Maria, R., Fraga, M., Esteller, M., Altucci, L., and Mai, A. (2012). Discovery of Salermide-Related Sirtuin Inhibitors: Binding Mode Studies and Antiproliferative Effects in Cancer Cells Including Cancer Stem Cells. *Journal of Medicinal Chemistry*, 55(24), 10937-10947.
131. Heltweg, B., Gatbonton, T., Schuler, A. D., Posakony, J., Li, H., Goehle, S., Kollipara, R., DePinho, R. A., Gu, Y., Simon, J. A., and Bedalov, A. (2006). Antitumor Activity of a Small-Molecule Inhibitor of Human Silent Information Regulator 2 Enzymes. *Cancer Research*, 66(8), 4368-4377.
132. Mahajan, S. S., Scian, M., Sripathy, S., Posakony, J., Lao, U., Loe, T. K., Leko, V., Thalhoffer, A., Schuler, A. D., Bedalov, A., and Simon, J. A. (2014). Development of Pyrazolone and Isoxazol-5-one Cambinol Analogues as Sirtuin Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 57(8), 3283-3294.
133. Di Fruscia, P., Zacharioudakis, E., Liu, C., Moniot, S., Laohasinnarong, S., Khongkow, M., Harrison, I. F., Koltsida, K., Reynolds, C. R., Schmidtkunz, K., Jung, M., Chapman, K. L., Steegborn, C., Dexter, D. T., Sternberg, M. J. E., Lam, E. W.-F., and Fuchter, M. J. (2015). The Discovery of a Highly Selective 5,6,7,8-Tetrahydrobenzo[4,5]thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4(3*H*)-one SIRT2 Inhibitor that is Neuroprotective in an *in vitro* Parkinson's Disease Model. *ChemMedChem*, 10(1), 69-82.
134. Bedalov, A., Gatbonton, T., Irvine, W. P., Gottschling, D. E., and Simon, J. A. (2001). Identification of a small molecule inhibitor of Sir2p. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(26), 15113-15118.
135. Neugebauer, R. C., Uchiechowska, U., Meier, R., Hruby, H., Valkov, V., Verdin, E., Sippl, W., and Jung, M. (2008). Structure–Activity Studies on Splitomicin Derivatives as Sirtuin Inhibitors and Computational Prediction of Binding Mode. *Journal of Medicinal Chemistry*, 51(5), 1203-1213.
136. Rotili, D., Carafa, V., Tarantino, D., Botta, G., Nebbioso, A., Altucci, L., and Mai, A. (2011). Simplification of the tetracyclic SIRT1-selective inhibitor MC2141: Coumarin- and pyrimidine-based SIRT1/2 inhibitors with different selectivity profile. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 19(12), 3659-3668.
137. Freitag, M., Schemies, J., Larsen, T., El Gaghlab, K., Schulz, F., Rumpf, T., Jung, M., and Link, A. (2011). Synthesis and biological activity of splitomicin analogs targeted at human NAD⁺-dependent histone deacetylases (sirtuins). *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 19(12), 3669-3677.

138. Tervo, A. J., Suuronen, T., Kyrylenko, S., Kuusisto, E., Kiviranta, P. H., Salminen, A., Leppänen, J., and Poso, A. (2006). Discovering Inhibitors of Human Sirtuin Type 2: Novel Structural Scaffolds. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(24), 7239-7241.
139. Kiviranta, P. H., Leppänen, J., Kyrylenko, S., Salo, H. S., Lahtela-Kakkonen, M., Tervo, A. J., Wittekindt, C., Suuronen, T., Kuusisto, E., Järvinen, T., Salminen, A., Poso, A., and Wallén, E. A. A. (2006). *N,N'*-Bisbenzylidenebenzene-1,4-diamines and *N,N'*-Bisbenzylidenenaphthalene-1,4-diamines as Sirtuin Type 2 (SIRT2) Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(26), 7907-7911.
140. Kiviranta, P. H., Leppänen, J., Rinne, V. M., Suuronen, T., Kyrylenko, O., Kyrylenko, S., Kuusisto, E., Tervo, A. J., Järvinen, T., Salminen, A., Poso, A., and Wallén, E. A. A. (2007). *N*-(3-(4-Hydroxyphenyl)-propenoyl)-amino acid tryptamides as SIRT2 inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 17(9), 2448-2451.
141. Kiviranta, P. H., Salo, H. S., Leppänen, J., Rinne, V. M., Kyrylenko, S., Kuusisto, E., Suuronen, T., Salminen, A., Poso, A., Lahtela-Kakkonen, M., and Wallén, E. A. A. (2008). Characterization of the binding properties of SIRT2 inhibitors with a *N*-(3-phenylpropenoyl)-glycine tryptamide backbone. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16(17), 8054-8062.
142. Trapp, J., Meier, R., Hongwiset, D., Kassack, M. U., Sippl, W., and Jung, M. (2007). Structure–Activity Studies on Suramin Analogues as Inhibitors of NAD⁺-Dependent Histone Deacetylases (Sirtuins). *ChemMedChem*, 2(10), 1419-1431.
143. Zhang, Y., Au, Q., Zhang, M., Barber, J. R., Ng, S. C., and Zhang, B. (2009). Identification of a small molecule SIRT2 inhibitor with selective tumor cytotoxicity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 386(4), 729-733.
144. Lain, S., Hollick, J. J., Campbell, J., Staples, O. D., Higgins, M., Aoubala, M., McCarthy, A., Appleyard, V., Murray, K. E., Baker, L., Thompson, A., Mathers, J., Holland, S. J., Stark, M. J. R., Pass, G., Woods, J., Lane, D. P., and Westwood, N. J. (2008). Discovery, *In Vivo* Activity, and Mechanism of Action of a Small-Molecule p53 Activator. *Cancer Cell*, 13(5), 454-463.
145. Huhtiniemi, T., Suuronen, T., Rinne, V. M., Wittekindt, C., Lahtela-Kakkonen, M., Jarho, E., Wallén, E. A. A., Salminen, A., Poso, A., and Leppänen, J. (2008). Oxadiazole-carbonylaminothioureas as SIRT1 and SIRT2 Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 51(15), 4377-4380.
146. Trapp, J., Jochum, A., Meier, R., Saunders, L., Marshall, B., Kunick, C., Verdin, E., Goekjian, P., Sippl, W., and Jung, M. (2006). Adenosine Mimetics as Inhibitors of NAD-Dependent Histone Deacetylases, from Kinase to Sirtuin Inhibition. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(25), 7307-7316.
147. Schlicker, C., Boanca, G., Lakshminarasimhan, M., and Steegborn, C. (2011). Structure-based development of novel sirtuin inhibitors. *Aging*, 3(9), 852-872.

148. Outeiro, T. F., Kontopoulos, E., Altmann, S. M., Kufareva, I., Strathearn, K. E., Amore, A. M., Volk, C. B., Maxwell, M. M., Rochet, J.-C., McLean, P. J., Young, A. B., Abagyan, R., Feany, M. B., Hyman, B. T., and Kazantsev, A. G. (2007). Sirtuin 2 Inhibitors Rescue-Synuclein-Mediated Toxicity in Models of Parkinson's Disease. *Science*, 317(5837), 516-519.
149. Sakai, T., Matsumoto, Y., Ishikawa, M., Sugita, K., Hashimoto, Y., Wakai, N., Kitao, A., Morishita, E., Toyoshima, C., Hayashi, T., and Akiyama, T. (2015). Design, synthesis and structure-activity relationship studies of novel sirtuin 2 (SIRT2) inhibitors with a benzamide skeleton. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 23(2), 328-339.
150. Yang, T., Chen, X., Jin, H.-X., Sethi, G., and Go, M.-L. (2015). Functionalized tetrahydro-1H-pyrido[4,3-*b*]indoles: A novel chemotype with Sirtuin 2 inhibitory activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 92, 145-155.
151. Fridén-Saxin, M., Seifert, T., Landergren, M. R., Suuronen, T., Lahtela-Kakkonen, M., Jarho, E. M., and Luthman, K. (2012). Synthesis and Evaluation of Substituted Chroman-4-one and Chromone Derivatives as Sirtuin 2-Selective Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 55(16), 7104-7113.
152. Seifert, T., Malo, M., Kokkola, T., Engen, K., Fridén-Saxin, M., Wallén, E. A. A., Lahtela-Kakkonen, M., Jarho, E. M., and Luthman, K. (2014). Chroman-4-one- and Chromone-Based Sirtuin 2 Inhibitors with Antiproliferative Properties in Cancer Cells. *Journal of Medicinal Chemistry*, 57(23), 9870-9888.
153. Seifert, T., Malo, M., Kokkola, T., Stéen, E. J. L., Meinander, K., Wallén, E. A. A., Jarho, E. M., and Luthman, K. (2020). A scaffold replacement approach towards new sirtuin 2 inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 28(2), 115231.
154. Hoffmann, G., Breitenbücher, F., Schuler, M., and Ehrenhofer-Murray, A. E. (2014). A Novel Sirtuin 2 (SIRT2) Inhibitor with p53-dependent Pro-apoptotic Activity in Non-small Cell Lung Cancer. *Journal of Biological Chemistry*, 289(8), 5208-5216.
155. Suzuki, T., Khan, M. N. A., Sawada, H., Imai, E., Itoh, Y., Yamatsuta, K., Tokuda, N., Takeuchi, J., Seko, T., Nakagawa, H., and Miyata, N. (2012). Design, Synthesis, and Biological Activity of a Novel Series of Human Sirtuin-2-Selective Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 55(12), 5760-5773.
156. Kozako, T., Mellini, P., Ohsugi, T., Aikawa, A., Uchida, Y.-I., Honda, S.-I., and Suzuki, T. (2018). Novel small molecule SIRT2 inhibitors induce cell death in leukemic cell lines. *BMC Cancer*, 18, 791.
157. Mellini, P., Itoh, Y., Tsumoto, H., Li, Y., Suzuki, M., Tokuda, N., Kakizawa, T., Miura, Y., Takeuchi, J., Lahtela-Kakkonen, M., and Suzuki, T. (2017). Potent mechanism-based sirtuin-2-selective inhibition by an *in situ*-generated occupant of the substrate-binding site, "selectivity pocket" and NAD⁺-binding site. *Chemical Science*, 8(9), 6400-6408.
158. Tatum, P. R., Sawada, H., Ota, Y., Itoh, Y., Zhan, P., Ieda, N., Nakagawa, H., Miyata, N., and Suzuki, T. (2014). Identification of novel SIRT2-selective inhibitors using a click chemistry approach. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 24(8), 1871-1874.

159. Cui, H., Kamal, Z., Ai, T., Xu, Y., More, S. S., Wilson, D. J., and Chen, L. (2014). Discovery of Potent and Selective Sirtuin 2 (SIRT2) Inhibitors Using a Fragment-Based Approach. *Journal of Medicinal Chemistry*, 57(20), 8340-8357.
160. Ai, T., Wilson, D. J., More, S. S., Xie, J., and Chen, L. (2016). 5-((3-Amidobenzyl)oxy)nicotinamides as Sirtuin 2 Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 59(7), 2928-2941.
161. Disch, J. S., Evindar, G., Chiu, C. H., Blum, C. A., Dai, H., Jin, L., Schuman, E., Lind, K. E., Belyanskaya, S. L., Deng, J., Coppo, F., Aquilani, L., Graybill, T. L., Cuozzo, J. W., Lavu, S., Mao, C., Vlasuk, G. P., and Perni, R. B. (2013). Discovery of Thieno[3,2-*d*]pyrimidine-6-carboxamides as Potent Inhibitors of SIRT1, SIRT2, and SIRT3. *Journal of Medicinal Chemistry*, 56(9), 3666-3679.
162. Yoon, Y. K., Ali, M. A., Wei, A. C., Shirazi, A. N., Parang, K., and Choon, T. S. (2014). Benzimidazoles as new scaffold of sirtuin inhibitors: Green synthesis, *in vitro* studies, molecular docking analysis and evaluation of their anti-cancer properties. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 83, 448-454.
163. Zhou, Y., Cui, H., Yu, X., Peng, T., Wang, G., Wen, X., Sun, Y., Liu, S., Zhang, S., Hu, L., and Wang, L. (2017). Synthesis and Evaluation of Novel Benzofuran Derivatives as Selective SIRT2 Inhibitors. *Molecules*, 22(8), 1348.
164. Quinti, L., Casale, M., Moniot, S., Pais, Teresa F., Van Kanegan, Michael J., Kaltenbach, Linda S., Pallos, J., Lim, Ryan G., Naidu, Sharadha D., Runne, H., Meisel, L., Rauf, Nazifa A., Leyfer, D., Maxwell, Michele M., Saiah, E., Landers, John E., Luthi-Carter, R., Abagyan, R., Dinkova-Kostova, Albena T., Steegborn, C., Marsh, J. L., Lo, Donald C., Thompson, Leslie M., and Kazantsev, A. G. (2016). SIRT2- and NRF2-Targeting Thiazole-Containing Compound with Therapeutic Activity in Huntington's Disease Models. *Cell Chemical Biology*, 23(7), 849-861.
165. Schiedel, M., Rumpf, T., Karaman, B., Lehotzky, A., Gerhardt, S., Ovádi, J., Sippl, W., Einsle, O., and Jung, M. (2016). Structure-Based Development of an Affinity Probe for Sirtuin 2. *Angewandte Chemie International Edition*, 55(6), 2252-2256.
166. Yang, L.-L., Wang, H.-L., Zhong, L., Yuan, C., Liu, S.-Y., Yu, Z.-J., Liu, S., Yan, Y.-H., Wu, C., Wang, Y., Wang, Z., Yu, Y., Chen, Q., and Li, G.-B. (2018). X-ray crystal structure guided discovery of new selective, substrate-mimicking sirtuin 2 inhibitors that exhibit activities against non-small cell lung cancer cells. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 155, 806-823.
167. Yang, L., Ma, X., Yuan, C., He, Y., Li, L., Fang, S., Xia, W., He, T., Qian, S., Xu, Z., Li, G., and Wang, Z. (2017). Discovery of 2-((4,6-dimethylpyrimidin-2-yl)thio)-*N*-phenylacetamide derivatives as new potent and selective human sirtuin 2 inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 134, 230-241.
168. Spiegelman, N. A., Price, I. R., Jing, H., Wang, M., Yang, M., Cao, J., Hong, J. Y., Zhang, X., Aramsangtienchai, P., Sadhukhan, S., and Lin, H. (2018). Direct Comparison of SIRT2 Inhibitors: Potency, Specificity, Activity-Dependent Inhibition, and On-Target Anticancer Activities. *ChemMedChem*, 13(18), 1890-1894.

169. Jing, H., Hu, J., He, B., Negrón Abril, Y. L., Stupinski, J., Weiser, K., Carbonaro, M., Chiang, Y.-L., Southard, T., Giannakakou, P., Weiss, R. S., and Lin, H. (2016). A SIRT2-Selective Inhibitor Promotes c-Myc Oncoprotein Degradation and Exhibits Broad Anticancer Activity. *Cancer Cell*, 29(3), 297-310.
170. Spiegelman, N. A., Hong, J. Y., Hu, J., Jing, H., Wang, M., Price, I. R., Cao, J., Yang, M., Zhang, X., and Lin, H. (2019). A Small-Molecule SIRT2 Inhibitor That Promotes K-Ras4a Lysine Fatty-Acylation. *ChemMedChem*, 14(7), 744-748.
171. Hong, J. Y., Price, I. R., Bai, J. J., and Lin, H. (2019). A Glycoconjugated SIRT2 Inhibitor with Aqueous Solubility Allows Structure-Based Design of SIRT2 Inhibitors. *ACS Chemical Biology*, 14(8), 1802-1810.
172. Shah, A. A., Ito, A., Nakata, A., and Yoshida, M. (2016). Identification of a Selective SIRT2 Inhibitor and Its Anti-breast Cancer Activity. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 39(10), 1739-1742.
173. Huang, S., Song, C., Wang, X., Zhang, G., Wang, Y., Jiang, X., Sun, Q., Huang, L., Xiang, R., Hu, Y., Li, L., and Yang, S. (2017). Discovery of New SIRT2 Inhibitors by Utilizing a Consensus Docking/Scoring Strategy and Structure–Activity Relationship Analysis. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 57(4), 669-679.
174. Ali, T. F. S., Ciftci, H. I., Radwan, M. O., Koga, R., Ohsugi, T., Okiyama, Y., Honma, T., Nakata, A., Ito, A., Yoshida, M., Fujita, M., and Otsuka, M. (2019). New SIRT2 inhibitors: Histidine-based bleomycin spin-off. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 27(9), 1767-1775.
175. Wang, L., Li, C., Chen, W., Song, C., Zhang, X., Yang, F., Wang, C., Zhang, Y., Qian, S., Wang, Z., and Yang, L. (2019). Discovery of (5-Phenylfuran-2-yl)methanamine Derivatives as New Human Sirtuin 2 Inhibitors. *Molecules*, 24(15), 2724.
176. Mellini, P., Itoh, Y., Elboray, E. E., Tsumoto, H., Li, Y., Suzuki, M., Takahashi, Y., Tojo, T., Kurohara, T., Miyake, Y., Miura, Y., Kitao, Y., Kotoku, M., Iida, T., and Suzuki, T. (2019). Identification of Diketopiperazine-Containing 2-Anilinobenzamides as Potent Sirtuin 2 (SIRT2)-Selective Inhibitors Targeting the “Selectivity Pocket”, Substrate-Binding Site, and NAD⁺-Binding Site. *Journal of Medicinal Chemistry*, 62(12), 5844-5862.
177. Khalil, N. A., Ahmed, E. M., Zaher, A. F., El-Zoghbi, M. S., and Sobh, E. A. (2020). Synthesis of certain benzothieno[3,2-*d*]pyrimidine derivatives as a selective SIRT2 inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 187, 111926.
178. Dukanya, Shanmugam, M. K., Rangappa, S., Metri, P. K., Mohan, S., Basappa, and Rangappa, K. S. (2020). Exploring the newer oxadiazoles as real inhibitors of human SIRT2 in hepatocellular cancer cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 30(16), 127330.

179. Radwan, M. O., Ciftci, H. I., Ali, T. F. S., Ellakwa, D. E., Koga, R., Tateishi, H., Nakata, A., Ito, A., Yoshida, M., Okamoto, Y., Fujita, M., and Otsuka, M. (2019). Antiproliferative S-Trityl-L-Cysteine-Derived Compounds as SIRT2 Inhibitors: Repurposing and Solubility Enhancement. *Molecules*, 24(18), 3295.
180. Radwan, M. O., Ciftci, H. I., Ali, T. F. S., Koga, R., Tateishi, H., Nakata, A., Ito, A., Yoshida, M., Fujita, M., and Otsuka, M. (2020). Structure activity study of S-trityl-cysteamine dimethylaminopyridine derivatives as SIRT2 inhibitors: Improvement of SIRT2 binding and inhibition. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 30(19), 127458.
181. Tantawy, A. H., Meng, X.-G., Marzouk, A. A., Fouad, A., Abdelazeem, A. H., Youssif, B. G. M., Jiang, H., and Wang, M.-Q. (2021). Structure-based design, synthesis, and biological evaluation of novel piperine–resveratrol hybrids as antiproliferative agents targeting SIRT-2. *RSC Advances*, 11(41), 25738-25751.
182. Chowdhury, S., Sripathy, S., Webster, A. A., Park, A., Lao, U., Hsu, J. H., Loe, T., Bedalov, A., and Simon, J. A. (2020). Discovery of Selective SIRT2 Inhibitors as Therapeutic Agents in B-Cell Lymphoma and Other Malignancies. *Molecules*, 25(3), 455.
183. Gozelle, M., Kaya, S. G., Aksel, A. B., Ozkan, E., Bakar-Ates, F., Ozkan, Y., and Eren, G. (2022). Hit evaluation results in 5-benzyl-1,3,4-thiadiazole-2-carboxamide based SIRT2-selective inhibitor with improved affinity and selectivity. *Bioorganic Chemistry*, 123, 105746.
184. Gozelle, M., Bakar-Ates, F., Massarotti, A., Ozkan, E., Gunindi, H. B., Ozkan, Y., and Eren, G. (2025). *In silico* approach reveals N-(5-phenoxythiophen-2-yl)-2-(arylthio)acetamides as promising selective SIRT2 inhibitors: the case of structural optimization of virtual screening-derived hits. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 43(4), 1756-1767.
185. Kaya, S. G., Eren, G., Massarotti, A., Bakar-Ates, F., Ozkan, E., Gozelle, M., and Ozkan, Y. (2024). 2-(Methyl(phenyl)amino)-N-(phenyloxyphenyl)acetamide structural motif representing a framework for selective SIRT2 inhibition. *Drug Development Research*, 85(4), e22224.
186. Kaya, S. G., Eren, G., Massarotti, A., Gunindi, H. B., Bakar-Ates, F., and Ozkan, E. (2024). Symmetrical 2,7-disubstituted 9-fluoren-9-one as a novel and promising scaffold for selective targeting of SIRT2. *Archiv Der Pharmazie*, 357(12), e2400661.
187. Djokovic, N., Ruzic, D., Rahnasto-Rilla, M., Srdic-Rajic, T., Lahtela-Kakkonen, M., and Nikolic, K. (2022). Expanding the Accessible Chemical Space of SIRT2 Inhibitors through Exploration of Binding Pocket Dynamics. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 62(10), 2571-2585.
188. Colcerasa, A., Friedrich, F., Melesina, J., Moser, P., Vogelmann, A., Tzortzoglou, P., Neuwirt, E., Sum, M., Robaa, D., Zhang, L., Ramos-Morales, E., Romier, C., Einsle, O., Metzger, E., Schüle, R., Groß, O., Sippl, W., and Jung, M. (2024). Structure–Activity Studies of 1,2,4-Oxadiazoles for the Inhibition of the NAD⁺-Dependent Lysine Deacylase Sirtuin 2. *Journal of Medicinal Chemistry*, 67(12), 10076-10095.

189. Badran, M. M., Abbas, S. H., Tateishi, H., Maemoto, Y., Toma, T., Ito, A., Fujita, M., Otsuka, M., Abdel-Aziz, M., and Radwan, M. O. (2024). Ligand-based design and synthesis of new trityl histamine and trityl cysteamine derivatives as SIRT2 inhibitors for cancer therapy. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 269, 116302.
190. Mazur, G., Pańczyk-Straszak, K., Krysińska, K., Niemiec, K., and Waszkielewicz, A. (2024). Novel xanthone derivatives as potent sirtuin 2 inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 100, 129620.
191. Yang, J., Cassel, J., Boyle, B. C., Oppong, D., Ahn, Y. H., and Weiser, B. P. (2024). A homogeneous time-resolved fluorescence screen to identify SIRT2 deacetylase and defatty-acylase inhibitors. *Plos One*, 19(6), e0305000.
192. Piacente, F., Guccione, G., Scarano, N., Lunaccio, D., Miro, C., Abbotto, E., Salis, A., Tasso, B., Dentice, M., Bruzzzone, S., Cichero, E., and Millo, E. (2024). Discovery of Novel Thiazole-Based SIRT2 Inhibitors as Anticancer Agents: Molecular Modeling, Chemical Synthesis and Biological Assays. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(20), 11084.
193. Ali, A.-D., and Al-Hamashi, A. (2025). Molecular Modeling, Synthesis, and Preliminary Cytotoxicity Evaluation of New Indole-Based Molecules as Possible Sirtuin Inhibitors. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 73(4), 307-313.
194. Frei, M., Wein, T., and Bracher, F. (2025). Lead-Structure-Based Rigidization Approach to Optimize SirReal-Type Sirt2 Inhibitors. *Molecules*, 30(8), 1728.
195. Frei, M., Wirawan, R., Wein, T., and Bracher, F. (2025). Lead Structure-Based Hybridization Strategy Reveals Major Potency Enhancement of SirReal-Type Sirt2 Inhibitors. *Molecules*, 30(8), 1728.
196. Zhu, L. Y., Wang, K. W., Li, C. Q., and Sun, G. P. (2025). Discovery of novel SIRT2 inhibitors with anti-NSCLC activity through multi-virtual screening and biological evaluation. *Future Medicinal Chemistry*, 17(15), 1839-1847.
197. Murty, M. S. R., Kesur, R. R., Rayudu Venkateswara, R., Yadav, J. S., Janapala Venkateswara, R., and Velatooru, L. R. (2012). Synthesis of New S-alkylated-3-mercapto-1,2,4-triazole Derivatives Bearing Cyclic Amine Moiety as Potent Anticancer Agents. *Letters in Drug Design & Discovery*, 9(3), 276-281.
198. Pitucha, M., Karczmarzyk, Z., Swatko-Ossor, M., Drozd, M., Wysocki, W., Ginalska, G., Urbanczyk-Lipkowska, Z., Kowalczyk, D., and Morawiak, M. (2020). Synthesis and structural study of some *N*-acyl-4-allylsemicarbazides and the product of their cyclization with a potential antimicrobial activity. *Journal of Molecular Structure*, 1219, 128552.
199. Yan, L., Deng, M., Chen, A., Li, Y., Zhang, W., Du, Z.-Y., Dong, C.-Z., Meunier, B., and Chen, H. (2019). Synthesis of *N*-pyrimidin[1,3,4]oxadiazoles and *N*-pyrimidin[1,3,4]-thiadiazoles from 1,3,4-oxadiazol-2-amines and 1,3,4-thiadiazol-2-amines via Pd-catalyzed heteroarylation. *Tetrahedron Letters*, 60(20), 1359-1362.

200. Azam, M. A., Suresh, B., Kalsi, S. S., and Antony, A. S. (2010). Synthesis and biological evaluation of some novel 2-mercaptobenzothiazoles carrying 1,3,4-oxadiazole, 1,3,4-thiadiazole and 1,2,4-triazole moieties: research article. *South African Journal of Chemistry*, 63(1), 114-122.
201. Friesner, R. A., Murphy, R. B., Repasky, M. P., Frye, L. L., Greenwood, J. R., Halgren, T. A., Sanschagrin, P. C., and Mainz, D. T. (2006). Extra Precision Glide: Docking and Scoring Incorporating a Model of Hydrophobic Enclosure for Protein–Ligand Complexes. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(21), 6177-6196.
202. Yagci, S., Gozelle, M., Kaya, S. G., Ozkan, Y., Aksel, A. B., Bakar-Ates, F., Dundar, Y., and Eren, G. (2021). Hit-to-lead optimization on aryloxybenzamide derivative virtual screening hit against SIRT. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 30, 115961.
203. Aragonès, G., Suárez, M., Ardid-Ruiz, A., Vinaixa, M., Rodríguez, M. A., Correig, X., Arola, L., and Bladé, C. (2016). Dietary proanthocyanidins boost hepatic NAD⁺ metabolism and SIRT1 expression and activity in a dose-dependent manner in healthy rats. *Scientific Reports*, 6(1), 24977.
204. Yoon, S. P., and Kim, J. (2016). Poly(ADP-ribose) polymerase 1 contributes to oxidative stress through downregulation of sirtuin 3 during cisplatin nephrotoxicity. *Anatomy & Cell Biology*, 49(3), 165-176.
205. Li, J. Y., Flick, F., Verheugd, P., Carloni, P., Lüscher, B., and Rossetti, G. (2015). Insight into the Mechanism of Intramolecular Inhibition of the Catalytic Activity of Sirtuin 2 (SIRT2). *Plos One*, 10(9), e0139095.
206. Kuźma, Ł., Wysokińska, H., Różalski, M., Krajewska, U., and Kisiel, W. (2012). An unusual taxodione derivative from hairy roots of *Salvia austriaca*. *Fitoterapia*, 83(4), 770-773.
207. Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65(1-2), 55-63.
208. Saleem, M., Yu, S. M., Rafiq, M., Kim, S. J., Seo, S. Y., and Lee, K. H. (2014). Synthesis, crystal structure, anti-inflammatory and anti-hyperglycemic activities of novel 3,4-disubstituted 1,2,4-triazol-5(4*H*)-one derivatives. *Medicinal Chemistry*, 10(8), 810-823.
209. Shinde, V. N., Ugarkar, B. G., and Ghorpade, S. R. (2013). A Convenient Synthesis of 5-substituted 2-amino-1,3,4-oxadiazoles from Corresponding Acylthiosemicarbazides Using iodine and Oxone®. *Journal of Chemical Research*, 37(1), 53-54.
210. Bala, M., Ankalgı, A., and Piplani, P. (2023). Design, synthesis and pharmacological evaluation of disubstituted 1,3,4 thiadiazoles derivatives for the treatment of cognitive dysfunction. *Journal of Molecular Structure*, 1291, 135951.
211. Boström, J., Hogner, A., Llinàs, A., Wellner, E., and Plowright, A. T. (2012). Oxadiazoles in medicinal chemistry. *Journal of Medicinal Chemistry*, 55(5), 1817-1830.

212. Wang, J. J., Sun, W., Jia, W. D., Bian, M., and Yu, L. J. (2022). Research progress on the synthesis and pharmacology of 1,3,4-oxadiazole and 1,2,4-oxadiazole derivatives: a mini review. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 37(1), 2304-2319.
213. Peng, K. W., Li, Y., Bai, Y., Jiang, T., Sun, H. Y., Zhu, Q. H., and Xu, Y. G. (2020). Discovery of novel nonpeptide small-molecule NRP1 antagonists: Virtual screening, molecular simulation and structural modification. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 28(1), 115183.
214. Wawruszak, A., Luszczki, J., Czerwonka, A., Okon, E., and Stepulak, A. (2022). Assessment of Pharmacological Interactions between SIRT2 Inhibitor AGK2 and Paclitaxel in Different Molecular Subtypes of Breast Cancer Cells. *Cells*, 11(7), 1211.
215. Ozden, O. (2017). Deacetylation of Androgen Receptor by SIRT2 and its Dysregulation Promotes Pathogenesis and Progression of Prostate Cancer. *Kafkas Journal of Medical Sciences*, 7(2), 97-101.
216. Chouhan, S., Muhammad, N., Usmani, D., Khan, T. H., and Kumar, A. (2025). Molecular Sentinels: Unveiling the Role of Sirtuins in Prostate Cancer Progression. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(1), 183.
217. Choi, J. H., Choi, S. M., Lee, S. W., Jeh, S. U., Hyun, J. S., Lee, M. H., Lee, C., Kam, S. C., Kim, D. C., Lee, J. S., and Hwa, J. S. (2021). Expression Patterns of ERalpha, ERbeta, AR, SIRT1, SIRT2, and SIRT3 in Prostate Cancer Tissue and Normal Prostate Tissue. *Anticancer Research*, 41(3), 1377-1386.
218. Peck, B., Chen, C.-Y., Ho, K.-K., Di Fruscia, P., Myatt, S. S., Coombes, R. C., Fuchter, M. J., Hsiao, C.-D., and Lam, E. W.-F. (2010). SIRT Inhibitors Induce Cell Death and p53 Acetylation through Targeting Both SIRT1 and SIRT2. *Molecular Cancer Therapeutics*, 9(4), 844-855.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı: Ahmet Buğra AKSEL
Uyruğu T.C.

Eğitim derecesi	Okul / Program	Yıl
Doktora	Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Kimya Anabilim Dalı	2019- Devam ediyor
Lisans	Karadeniz Teknik Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2014-2019
Lise	Trabzon Fen Lisesi	2010-2014

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2020-devam ediyor	Karadeniz Teknik Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Eczacılık Meslek Bilimleri Bölümü Farmasötik Kimya Anabilim Dalı	Araştırma Görevlisi

ESERLER

SCIE kapsamında taranan uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1. YAGCI S.; GOZELLE M.; KAYA S.G.; OZKAN Y.; **AKSEL A.B.**; BAKAR-ATES F.; DUNDAR Y.; EREN G.: “Hit-to-lead Optimization on Aryloxybenzamide Derivative Virtual Screening Hit against SIRT”, Bioorganic and Medicinal Chemistry, 30, 115961 (2021).
2. SELLITEPE, H.E.; OH, J.M.; DOGAN, I.S.; YILDIRIM, S.; **AKSEL, A.B.**; JEONG, G.S.; KHAMES, A.; ABDELGAWAD, M.A.; GAMBACORTA, N.; NICLOTTI, O., MATHEW, B., KIM, H.: “Synthesis of *N'*-(4-/3-/2-/Non-substituted benzylidene)-4-[(4-methylphenyl)sulfonyloxy]Benzohydrazides and Evaluation of Their Inhibitory Activities against Monoamine Oxidases and β -Secretase”, Applied Science, 11, 5830 (2021).
3. GOZELLE M.; KAYA S.G.; **AKSEL A.B.**; OZKAN E.; BAKAR-ATES F.; OZKAN Y.; EREN G.: “Hit Evaluation Results in 5-Benzyl-1,3,4-thiadiazole-2-carboxamide Based SIRT2-Selective Inhibitor with Improved Affinity and Selectivity”, Bioorganic Chemistry, 123, 105746 (2022).
4. **AKSEL A.B.**; GOZELLE M.; BAKAR-ATES F.; OZKAN Y.; OZKAN E.; EREN G.: “Targeting SIRT2 with Oxadiazole/Thiadiazole-Based Acetamides: In Silico Screening and In Vitro Cytotoxicity Evaluation”, Polycyclic Aromatic Compounds (2025-early access).

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

1. SELLİTEPE H.E., **AKSEL A.B.**: “Synthesis of Novel Hydrazone Derivatives and Evaluation of Their Inhibitory Activities Against Monoamine Oxidases and B-Secretase”, 13th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS13), June 22-25, Ankara, Türkiye (2021) (Sözlü Sunum).
2. **AKSEL A.B.**, EREN G., ÖZKAN Y.: “*N*-(5-Arylmethyl-1,3,4-oxadiazole-2-yl)-2-(arylthio)acetamide as a New Scaffold for Developing Small-Molecule SIRT Inhibitors”, 3rd International Gazi Pharma Symposium Series (GPSS-2021), September 8-10, Ankara, Türkiye (2021) (Poster).

3. **AKSEL A.B.**, EREN G., ÖZKAN Y.: “N-(5-(3-Methoxybenzyl/pyrimidin-2-yl-methyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-2-(arylthio)acetamide Derivatives as SIRT2 Inhibitors”, 9th EFMC Young Medicinal Chemists' Symposium (EFMC-YMCS 2022), September 8-9, Nice, France (2022) (Poster).
4. SELLİTEPE H.E., ZIVALI H., **AKSEL A.B.**, SAĞLIK ÖZKAN B.N., DOĞAN İ.S.; “(4-Hydroxyphenyl)-4-methyl-1-((4-substituephenylamino)methyl)-3H-1,2,4-triazole-3-thione Derivatives as Inhibitors of Monoamine Oxidase”, International Multidisciplinary Symposium on Drug Research and Development (DRD2023), May 4-6, İzmir, Türkiye (2023) (Sözlü Sunum).
5. **AKSEL A.B.**, ALEMDAR A., YAZICI Y., DOĞAN İ.S.; “Novel 2-Morpholinomethyl-benzimidazole-1-sülfonamide/carboxamide as Carbonic Anhydrase Inhibitors: Synthesis, Structure Characterization and Molecular Docking Studies Against Isoforms I, II, IX and XII”, 14th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS14), June 25-28, Ankara, Türkiye (2024) (Sözlü Sunum).
6. ZIVALI H., **AKSEL A.B.**, IMPRAM Z., POLAT A., DOĞAN İ.S.; “The Potential of 3-(4-((4-Fluorophenyl(carbonyl/sulfonyl)piperazin-1-yl)-1-(3,4,5-Trimethoxyphenyl)propan-1-one as a New Scaffold for Tubulin İnhibition: *In Silico* Approach Guided by Molecular Docking and Synthesis Studies (EurasianBioChem2024), October 2-4, Ankara, Türkiye (2024) (Sözlü Sunum).

Kitaplar

1. **AKSEL A.B.**, ZIVALI H., DOĞAN İ.S.; “Epidermal Büyüme Faktör Reseptör İnhibitörlerinin Kanser Tedavisindeki Rollerini Sağlık Bilimleri Alanında Gelişmeler”, Prof. Dr. Salim Güngör, Editör, Platanus Yayın Grubu, Ankara, ss. 195-235, 2023 (Kitap bölümü).

Desteklenen Projeler

1. Yeni Selektif SIRT2 İnhibitörlerinin Tasarımı, Sentezi, Biyolojik Aktivitelerinin Tayini ve Yapı-Etki İlişkilerinin İncelenmesi, TÜBİTAK 1001 118S673, Yürütücü: Gökçen EREN, Araştırmacılar: Yeşim ÖZKAN, Mahmut GÖZELLE, Danışman: Filiz BAKAR ATEŞ, Bursiyerler: Selen Gözde KAYA, **Ahmet Buğra AKSEL**, Habibe Beyza GÜNİNDİ, Selin KORKMAZ (Tamamlandı, 15.11.2018-15.05.2022).

2. Öncü Bileşik Optimizasyonu ile Yeni Selektif SIRT2 İnhibitörlerinin Geliştirilmesi, Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi TOA-2021-7165, Yürütücü: Gökçen EREN, Araştırmacılar: Yeşim ÖZKAN, Filiz BAKAR ATEŞ, Mahmut GÖZELLE, Selen Gözde KAYA, Fikriye ÖZGENCİL, **Ahmet Buğra AKSEL**, Erva ÖZKAN (Tamamlandı, 26.08.2021-30.01.2024).
3. Yeni Benzimidazol Halkası Taşıyan Karboksamit/Sülfonamit Türevi Bileşiklerin Sentezi, Yapılarının Karakterizasyonu ve Moleküler Yerleştirme Çalışmaları, TÜBİTAK 2209-A 1919B012305552, Yürütücü: Alperen ALEMDAR, Araştırmacı: Yağmur YAZICI, Danışman: **Ahmet Buğra AKSEL** (Tamamlandı, 29.09.2023-29.12.2024).
4. Yeni 3,4,5-Trimetoksifenil Halkası taşıyan Karboksamit/Sülfonamit Türevi Bileşiklerinin Sentezi, Yapılarının Karakterizasyonu ve Moleküler Yerleştirme Çalışmaları, TÜBİTAK 2209-A 1919B012305574, Yürütücü: Zehra IMPRAM, Araştırmacı: Ahsen POLAT, Danışman: **Ahmet Buğra AKSEL** (Tamamlandı, 29.09.2023-29.12.2024).
5. SIRT2 İnhibisyon Potansiyelini Geliştirmek Amacıyla Lider Molekül Üzerinde Gerçekleştirilen Yapısal Modifikasyonlar, TÜBİTAK 1002-A 223S449, Yürütücü: Gökçen EREN, Araştırmacılar: **Ahmet Buğra AKSEL**, Yeşim ÖZKAN (Tamamlandı, 01.11.2023-18.08.2025).
6. Potansiyel MAO İnhibitörü Yeni Hidrazon Bileşiklerinin Sentezi ve Biyolojik Aktivitelerinin Değerlendirilmesi, TÜBİTAK 1002-A 223Z157, Yürütücü: Hasan Erdinç SELLİTEPE, Araştırmacılar: **Ahmet Buğra AKSEL**, Hilal ZIVALI, Ezgi PEHLİVANLAR, Begüm Nurpelin SAĞLIK, Danışman: İnci Selin DOĞAN (01.03.2024-Devam ediyor).
7. Olası Asetil/bütirilkolinesteraz İnhibitörü Hidrazon Türevlerinin Sentezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Performansa Dayalı Araştırma Projesi TSA-2025-16037, Yürütücü: Hasan Erdinç SELLİTEPE, Araştırmacılar: Arzu ÖZEL, İnci Selin DOĞAN, **Ahmet Buğra AKSEL**, Didem AKKAYA, Ezgi PEHLİVANLAR, Hilal ZIVALI (10.02.2025-Devam ediyor).
8. Yeni N'-(Benzo[d]oksazol-2-il)-4-süstitübenzensülfonilhidrazit Türevi Bileşiklerin Sentezi, Yapılarının Karakterizasyonu ve Moleküler Yerleştirme Çalışmaları, TÜBİTAK 2209-A 1919B012424643, Yürütücü: Şule YURDAKUL, Araştırmacı: Merve GEDİAĞAÇ, Danışman: **Ahmet Buğra AKSEL** (08.04.2025-Devam ediyor).



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..

