SEÇİCİ MONOAMİNOKSİDAZ-B İNHİBİTÖRÜ YENİ BİLEŞİKLERİN TASARIMI, SENTEZİ VE PARKINSON HASTALIĞININ TEDAVİSİNDEKİ ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Yaren Nur ZENNİ

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Zeynep ÖZDEMİR

Yüksek Lisans Tezi-2024

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SEÇİCİ MONOAMİNOKSİDAZ-B İNHİBİTÖRÜ YENİ BİLEŞİKLERİN TASARIMI, SENTEZİ VE PARKINSON HASTALIĞININ TEDAVİSİNDEKİ ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Yaren Nur ZENNİ

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Zeynep ÖZDEMİR

Tez Jürileri
Doç. Dr. Zeynep ÖZDEMİR
Prof. Dr. Selma SARAÇ TARHAN
Doç. Dr. Mehmet Abdullah ALAGÖZ

Bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TYL-2023-3186 proje numarası ile desteklenmiştir.

MALATYA
2024

T.C.

İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

ETİK BEYANI

İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak "Doç. Dr. Zeynep ÖZDEMİR" danışmanlığında hazırlayıp sunduğum "Seçici Monoaminoksidaz-B İnhibitörü Yeni Bileşiklerin Tasarımı, Sentezi ve Parkinson Hastalığının Tedavisindeki Etkilerinin Değerlendirilmesi" başlıklı Yüksek Lisans tezim içinde elde ettiğim verileri, bilgileri, belgeleri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tezimde yararlandığım eserlere bilimsel kurallara uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, tezimin özgün olduğunu, tezimin çalışma ve yazımında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim. 10/07/2024

Yaren Nur ZENNİ

İmza

İÇİNDEKİLER

ÖZET vii
ABSTRACT viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ix
ŞEKİLLER DİZİNİ xi
TABLOLAR DİZİNİ xii
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 7
2.1. Parkinson Hastalığı 7
2.1.1. Parkinson Hastalığının Fizyolojisi 8
2.1.2. Parkinson Hastalığında Tedavi Yaklaşımları Hastalığının Tedavisinde Kullanılan Mevcut İlaçlar 8
2.2. Monoamin Oksidazlar 11
2.3. Piridazinon Halkası 14
2.3.1. 3(*2H*)-Piridazinon Halkasının Sentezi 14
2.3.2. 3(*2H*)-Piridazinon Türevi Bileşiklerin Biyolojik Aktiviteleri 17
2.4. Morfolin Halkası 20
2.4.1. Biyolojik Aktivite Gösteren Morfolin Türevleri 21
3. MATERYAL VE METOT 24
3.1. Kimyasal Çalışmalar 24
3.1.1. Materyal 24
3.1.2. Sentez Yöntemleri 25
3.1.3. Analitik Yöntemler 26
3.2. Biyolojik Çalışmalar 27
3.2.1. Monoamin Oksidaz Aktivite Tayini (MAO-A ve MAO-B Enzim İnhibisyonları) 27
4. BULGULAR 29
4.1. Kimyasal Çalışmalar 29
4.2. Antimonoaminoksidaz Aktivite 40
5. TARTIŞMA 41
5.1. Kimyasal Çalışmalar 42
5.1.1. Sentez ve Yapı Aydınlatma Çalışmaları 42

5.2. Aktivite Çalışmaları ve SAR Yorumlaması 49
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 56
KAYNAKLAR 57
EKLER 65
EK-1. Özgeçmiş 65

TEŞEKKÜR

Lisans hayatımın başında tanıdığım günden beri akademik hayatıma ışık tutan, yüksek lisans eğitimimin ve tezimin her aşamasında akademik bilgi ve deneyimleriyle çalışmalarımı destekleyen, bana karşı her zaman sevgi ve sabırla yaklaşıp eğitim hayatıma ve tezime büyük katkıları olan değerli tez danışman hocam Doç. Dr. Zeynep ÖZDEMİR'e

Akademik hayatımda bana her zaman yol gösteren, desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Mehmet Abdullah ALAGÖZ'e,

Tez çalışmam süresince akademik bilgi ve birikimini, sevgi dolu desteğini asla esirgemeyen Prof. Dr. Selma SARAÇ TARHAN'a,

Bileşiklerimin monoaminoksidaz aktivite tayinlerini ve in-siliko çalışmalarını yapan Bari Aldo Moro Üniversitesi Eczacılık ve İlaç Bilimlerinden Prof. Dr. Orazio Nicolatti, Prof. Dr. Marco Catto, Amrita Eczacılık Okulu Farmasötik Kimya Anabilim Dalından Prof. Dr. Bijo MATHEW ve çalışma arkadaşlarına,

Yüksek lisansım boyunca beni maddi olarak destekleyen TÜBİTAK'a

Tezimi TYL-2023-3186 kodlu projeyle destekleyen İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Akademik hayatımın başında tanıdığım, arkadaşlığımızdan büyük keyif aldığım, yüksek lisansım boyunca da desteğini hiçbir zaman eksik etmeyen Arş. Gör. M. Burak AÇIKGÜL'e,

Hayatımın başından beri beni büyük bir sevgiyle büyüten, asla yalnız bırakmayıp tüm sevincime, mutluluğuma, üzüntüme, endişeme ortak olan, her koşulda arkamda olduklarını hissettiren, her zaman beni destekleyen canım annem ve babama, daha küçücükken her şeyimi paylaşabildiğim, beni asla yalnız bırakmayıp tüm sevgisiyle her zaman yanımda olan biricik kardeşime

içten teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Seçici Monoaminoksidaz-B İnhibitörü Yeni Bileşiklerin Tasarımı, Sentezi ve Parkınson Hastalığının Tedavisindeki Etkilerinin Değerlendirilmesi

Amaç: Bu tez çalışmasında, çeşitli sübstitüe benzaldehit ve asetofenon türevlerinin piridazinon halkası taşıyan hidrazitle reaksiyonu sonucunda yeni 20 hidrazon türevi elde edilip bu bileşiklerin MAO-B inhibitör etkileri araştırılması amaçlanmıştır. Söz konusu bileşiklerin MAO-B enzim inhibisyonu aracılığıyla henüz radikal tedavisi bulunmayan parkinson hastalığının tedavisine katkı sunulması amaçlanmaktadır.

Materyal ve Metot: Tez bileşikleri için sırasıyla 3-kloro-6-[4-morfolinopiperazin-1-il]piridazin, 6-[4-morfolinopiperazin-1-il]-3(2H)-piridazinon, Etil 6-[4-morfolinopiperazin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-il, 6-[4-morfolinopiperazin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-il asetohidrazit başlangıç maddeleri sentezlenmiştir. Sonuç maddeleri ise 6-[4-morfolinopiperazin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-il asetohidrazit ile çeşitli benzaldehit ve asetofenon türevlerinin reaksiyonu sonucunda sentezlenmiştir. Sentezlenip saflaştırılan bileşiklerin Rf değerleri, erime dereceleri, yüzde verimleri ve fiziksel özellikleri belirlenmiştir. Söz konusu bileşiklerin yapıları 1H-NMR, 13C-NMR ve kütle spektrumlarıyla aydınlatılmıştır. Bileşiklerin MAO inhibisyon aktiviteleri ise ELISA yöntemiyle Bari Aldo Moro Üniversitesinde yapılmıştır. Parkinson tedavisinde kullanılan selejilin gibi MAO-B inhibitörü ilaçlarla etkileri kıyaslanarak, bileşiklerden aktif olanların kan beyin bariyerini geçişleri araştırılmıştır.

Bulgular: Bileşiklerin MAO-A inhibitörü etkileri oldukça düşük çıkmış; bileşik Y8, Y15 ve Y16 hiç MAO-A inhibitörü etki göstermemiştir. Yüksek MAO-B enzim inhibisyonu yüzdesine sahip Y5 ve Y11'in IC_{50} değerleri sırasıyla 0.704 ± 0.106 ve 0.453 ± 0.035'dir.

Sonuç: Tez kapsamında sentezlenen bileşiklerin, yapı-aktivite ilişkilerinin belirlenmesi ile yapılacak modifikasyonlar ve yeni ilaç tasarımları ileri çalışmalara ışık tutacak ve en aktif kolinesteraz inhibitörlerine ulaşmayı sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler: Parkinson, MAO-B, piridazinon türevleri, morfolin halkası.

ABSTRACT

Design, Synthesis of New Compounds of Selective Monoaminoxidase-B Inhibitor and Evaluation of Their Effects in the Treatment of Parkinson's Disease

Aim: In this thesis study, it was aimed to obtain 20 new hydrazone derivatives as a result of the reaction of various substituted benzaldehyde and acetophenone with hydrazide bearing a pyridazinone ring and to investigate the MAO-B inhibition effects of these compounds. The compounds are intended to contribute to the treatment of parkinson's disease, which has no radical treatment yet, through MAO-B enzyme inhibition.

Material and Method: For thesis compounds, respectively, 3-chloro-6-[4-morpholinopiperazin-1-yl]pyridazine, 6-[4-morpholinopiperazin-1-yl]-3 (*2H*)-pyridazinone, Ethyl 6-[4-morpholinopiperazin-1- yl]-3(*2H*)-pyridazinon-2-yl, 6-[4-morpholinopiperazin-1-yl]-3(*2H*)-pyridazinon-2-yl acetohydrazide starting materials were synthesized. The resulting substances were synthesized as a result of the reaction of 6-[4-morpholinopiperazin-1-yl]-3(*2H*)-pyridazinon-2-yl acetohydrazide with various benzaldehyde and acetophenone derivatives. Rf values, melting points, percentage yields and physical properties of the synthesized and purified compounds were determined. The structures of the compounds were elucidated by ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR and mass spectra. MAO inhibition activities of the compounds were determined by ELISA method at Bari Aldo Moro University. By comparing their effects with MAO-B inhibitor drugs such as selegiline used in the treatment of parkinson's, the passage of active compounds across the blood-brain barrier was investigated.

Results: The MAO-A inhibitory effects of the compounds were quite low; compounds Y8, Y15 and Y16 showed no MAO-A inhibitory effects. The IC50 values of Y5 and Y11, which have a high percentage of MAO-B enzyme inhibition, are 0.704 ± 0.106 and 0.453 ± 0.035, respectively.

Conclusion: Modifications and new drug designs to be made by determining the structure-activity relationships of the compounds synthesized within the scope of the thesis will shed light on further studies and provide access to the most active MAO inhibitors.

Keywords: parkinson's, MAO-B, pyridazinone derivatives, morpholine ring.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

^{13}C-NMR : Karbon Nükleer Manyetik Rezonans

^{1}H-NMR : Proton Nükleer Manyetik Rezonans

5-HT : 5-Hidroksitriptamin veya Serotonin

AADC : L-Amino Asit Dekarboksilaz

AChE : Asetilkolinesteraz

ADMET : Absorpsiyon, Dağılım, Metabolizma, Eliminasyon ve Toksisite

ADORA2A : Adenosin A2A Reseptör

AH : Alzheimer Hastalığı

AR-GE : Araştırma ve Geliştirme

BChE : Bütirilkolinesteraz

Bcl-2 : B-Hücreli Lenfoma 2

CR : Kontrollü Salımlı Kapsül

DA : Dopamin Antagonisti

DFT : Bir Dizinin Ayrık Fourier Dönüşümü

EGFR : Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü

ELISA : Enzim Bağlı İmmünosorbent Deneyi- Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay

ER : Uzatılmış Salımlı Kapsül

ESI : Elektrospeyiyonizasyon

FAD : Flavin Adenin Dinükleotid

FDA : Food and Drug Administration-Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi

GABA : Gama Aminobütirik Asit

GABA-AT : Gama Aminobütirik Asit Aminotransferaz

HRMS : Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometrisi

IC_{50} : Maksimum İnhibisyon Konsantrasyonun Yarısı

IR : Kızılötesi Spektroskopisi

Ki : Kinetik İnhibisyon

KOMT : Kateşol-O-Metil Transferaz

L-DOPA : Levodopa

MAO : Monoamin Oksidaz

MIC : Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu

MIC90 : Minimum %90 İnhibisyon Konsantrasyonu

NECA : 5'-N-Etilkarboksamido Adenozin

NICE : Ulusal Sağlık ve Bakım Mükemmelliği Enstitüsü-National Institue for Health and Care Excellence

PDB : Protein Data Bank

PH : Parkinson Hastalığı

ppm : Milyonda Bir

QSAR : Kantitatif Yapı Aktivite İlişkileri

Rf : İTK'da Elde Edilen Sürüklenme Mesafesi

SAR : Yapı Aktivite İlişkisi

SI : Seçicilik İndeksi

SN2 : Nükleofilik Sübstitüsyon

TMS : Tetrametilsilan

TOF-MS : Uçuş Süresi Kütle Spektrometrisi

UV : Ultraviyole-Görünür Spektroskopi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No **Sayfa No**

Şekil 1.1. Selejin, rasaljin, safinamit ve zonisamitin kimyasal yapısı 2
Şekil 1.2. MAO-B inhibisyonunun PH ile ilişkisi 3
Şekil 1.3. Piridazinon halkasının yapısı 3
Şekil 1.4. Piridazinon halkasında laktam laktim tautomerizasyonu 4
Şekil 1.5. Tez bileşiklerinin tasarımı 6
Şekil 2.1. Ropirinol, premipeksol, rotigotin moleküllerinin kimyasal yapısı 9
Şekil 2.2. Karbidopa ve beserazid moleküllerinin kimyasal yapısı 9
Şekil 2.3. MAO-A ve MAO-B'nin üç boyutlu yapısı 13
Şekil 2.4. 3-(2*H*)-piridazinonun halkasında numaralandırması 14
Şekil 2.5. Tedavide kullanılan piridazinon halkalı bazı ilaçlar 17
Şekil 2.6. SPS1F-SPS18F yapıları 20
Şekil 2.7. Morfolin Halkası 20
Şekil 2.8. Moklobemid ve reboksetin moleküllerinin yapısı 21
Şekil 2.9. Mikofenolat mofetilin yapısı 22
Şekil 2.10. Linezolidin yapısı 22
Şekil 2.11. Finafloksasinin yapısı 23
Şekil 2.12. Gefitinibin yapısı 23
Şekil 2.13. Rivaroksabanın yapısı 23
Şekil 5.1. Bileşik Y20'nin stereoizomerlerinin yapısı (A), ^{1}H-NMR spektrumu (B) ve ^{13}C-NMR spektrumu (C) 48
Şekil 5.2. Y18'in kütle spektrumu 49
Şekil 5.3. TR15 ve proje için öncü bileşik olarak belirlenen TR16'nın yapısı 50
Şekil 5.4. MAO-B bağlama bölgesinde sırasıyla TR15 ve TR 16 kodlu bileşiklerin görünümü. Kırmızı oklar ve yeşil çizgiler sırasıyla hidrojen bağlarını ve π-π etkileşmesini göstermektedir 50
Şekil 5.5. Fenil halkasına eklenecek olan sübstitüentler 51
Şekil 5.6. AChE inhibitörleri için yapısal hipotez. 52
Şekil 5.7. TR16 kodlu bileşiğimizin MAO-B inhibitörü etkileri ve enzime bağlanma profilleri 54
Şekil 5.8. Hidrazit grubu taşıyan molekül ile MAO-B etkileşimi 54

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo No **Sayfa No**

Tablo 1.1. Tedavide kullanılan piridazinon halkalı bazı ilaçlar 5

Tablo 3.1. Sentez çalışmalarında kullanılan kimyasallar. 24

Tablo 4.1. Tez sonuç bileşiklerinin (Y1-Y20) rekombinant insan MAO-A/B inhibisyonları 40

Tablo 5.1. Tez bileşiklerin yapı formülleri, elde reaksiyonlarının verimleri, erime dereceleri, molekül ağırlıkları ve moleküler formülleri..... 42

Tablo 5.2. TR14, TR15 ve TR16 moleküllerinin yapısı ve MAO inhibitörü aktivite sonuçları. 51

Tablo 5.3. TR serisi aktivite sonuçları..... 53

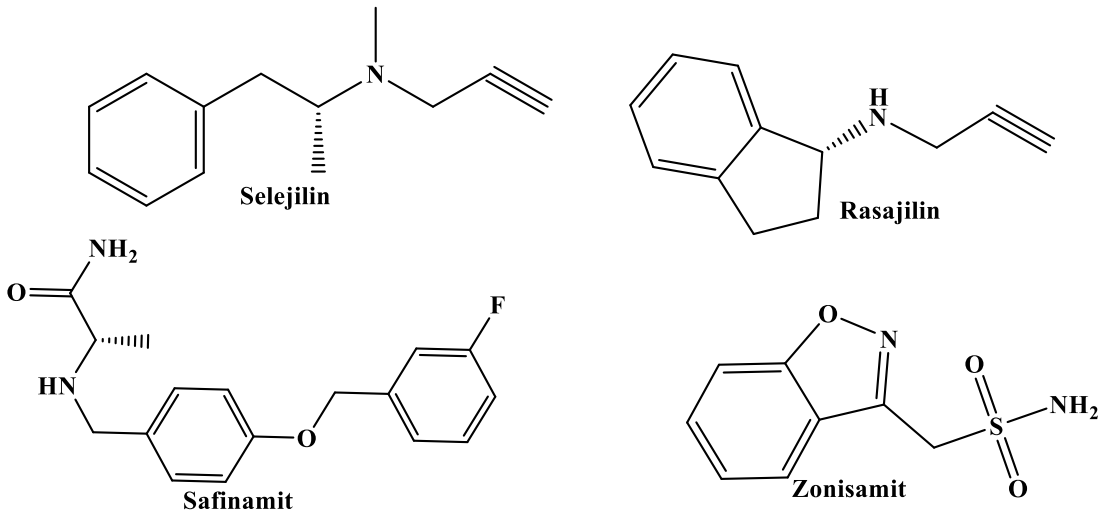
1. GİRİŞ

Beyinde ve periferik dokulardaki biyojenik aminlerin deaminasyonundan sorumlu olan monoamin oksidaz (MAO), nörotransmitter seviyelerinin düzenlenmesinden sorumludur. Biyojen aminlerin MAO ile etkileşmesiyle yükselen aldehit ve serbest amin seviyeleri migren, depresyon, anksiyete, alzheimer hastalığı (AH) ve parkinson hastalığı (PH) gibi nörodejeneratif bozukluklara neden olabilmektedir (1, 2).

MAO'nun MAO-A ve MAO-B olmak üzere iki izoformunun olmasının sebebi amino asit dizilimlerinin, üç boyutlu yapılarının, substrat afinitelerinin ve inhibitör seçiciliklerinin farklı olmasıdır. Her iki izoformun da aktif bölgeleri hidrofobik ve flavin parçasının aktif bölgeleri aynıdır (3). Bu enzimin her iki formu da adrenalin, noradrenalin, dopamin ve triptamini aynı şekilde oksitlediğinden bu izoenzimlerin substrat ve inhibitör seçicilikleri ilk defa klorjilin ve selejiline karşı farklı afinite göstermeleriyle anlaşılmıştır (4).

MAO-A inhibitörleri özellikle depresyonu tedavide kullanılırken, MAO-B inhibitörleri ise PH'de kullanılmaktadır. MAO-B inhibitörlerinin AH'nin tedavi etmek için etkisinin olup olmadığı ise tartışılmaktadır (1, 5-7).

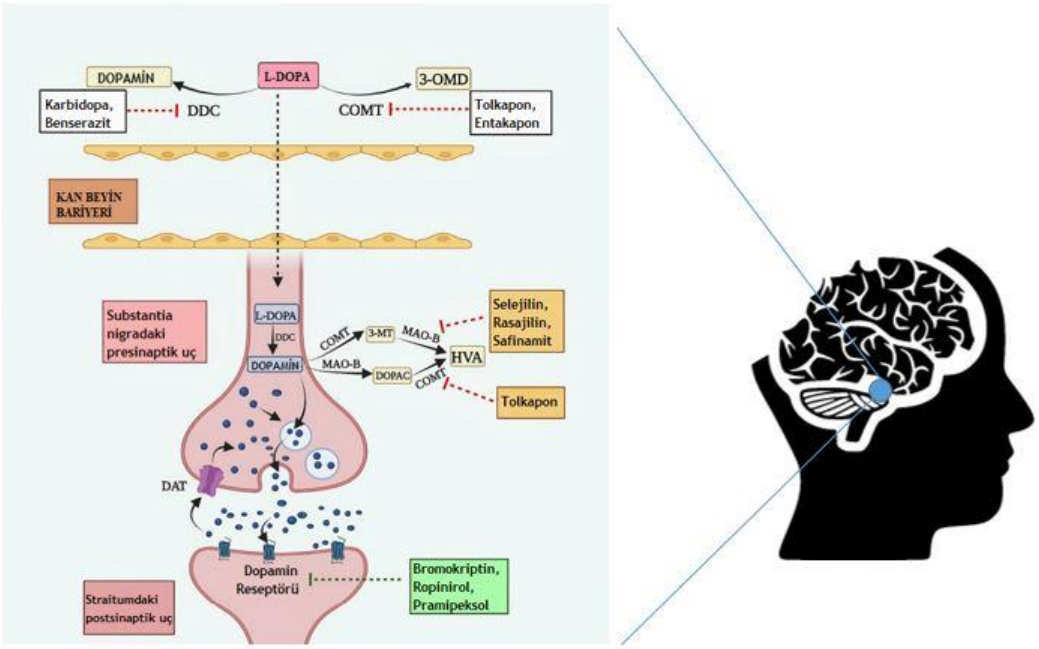
Antidepresan etkilerinin yanı sıra selejilin, rasajilin ve proparjilamin gibi geri dönüşsüz MAO-B inhibitörlerinin PH tedavisinde de etkinliği kanıtlanmıştır (Şekil 1.1). Yapılan hücre kültürü ve hayvan modelleme çalışmaları bu bileşiklerin, nöronlar üzerinde MAO inhibisyonu ile ilişkilendirilemeyen nöroprotektif etki göstermişlerdir. Bu etkinin, B-hücreli lenfoma 2 (Bcl-2) proteinleri ve protein kinaza bağımlı sinyal yollarıyla ilişkisi kanıtlanmıştır. Ayrıca geri dönüşlü MAO-A inhibitörü olan safinamitin, PH'ye karşı etkili olduğu bildirilmiştir (1, 8).



Şekil 1.1. Selejin, rasaljin, safinamit ve zonisamitin kimyasal yapısı

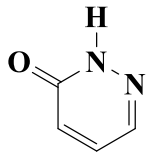
Parkinson, substantia nigradaki dopaminerjik nöronların işlevsel bozukluğu olarak bilinen nörodejeneratif bir hastalıktır. Dünyada nörodejeneratif hastalıklar arasında ikinci sırada Parkinson yer almakta ve vakaların %5-10'u genetik kökenli olup, yaşlanmayla ilişkilendirilmektedir. Parkinson hastalığının ileri safhalarında beyindeki nöron ölümleri arttığından semptomların yönetilmesi zorlaşmaktadır. Bu hastalık için radikal tedavinin olmaması, hastalığa yönelik yeni ilaç moleküllerinin tasarımını gerekli kılmaktadır (9, 10).

PH'nin tedavisinde dopaminerjik ilaçların dozajını artırmak, başka bir dopaminerjik ilaç eklemek ve levodopa (L-Dopa) dozunu daha küçük, daha sık dozlara bölmek gibi stratejiler uygulanabilmektedir. Bunun yanı sıra, kateşol-O-metil transferaz (KOMT) inhibitörleri veya MAO-B inhibitörleri de L-Dopa ve dopaminin parçalanmasını engelleyerek, bunların seviyelerini yükseltmek amacıyla kullanılabilir (Şekil 1.2) (11, 12).



Şekil 1.2. MAO-B inhibisyonunun PH ile ilişkisi

Piridazin halkası, farmakolojik olarak yeni ve aktif bileşiklerin geliştirilmesinde kullanılan bir yapıdır. Heterosiklik azot yapısı; biyolojik olarak aktif pek çok bileşiğin yapısında bulunmaktadır. Ayrıca farklı farmakofor gruplarını birleştirmek için de kullanılabilmektedir (Şekil 1.3) (13, 14).



Şekil 1.3. Piridazinon halkasının yapısı

Üzerinde sübstitüent bulunmayan 3(*2H*)-piridazinon türevlerinde 2-numaralı azot atomuna bağlı hidrojen atomundan dolayı tautomer dengesi vardır. 3(*2H*)-piridazinonların kızılötesi spektroskopisi (IR) ve ultraviyole-görünür spektroskopi (UV) spektral verileri değerlendirildiğinde, bileşiklerin genelde okso formunda oldukları görülmektedir (Şekil 1.4) (14, 15).

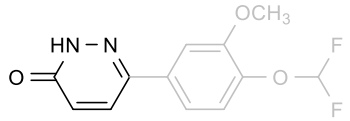
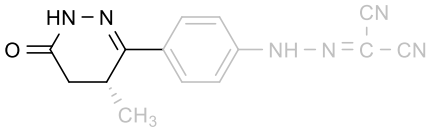
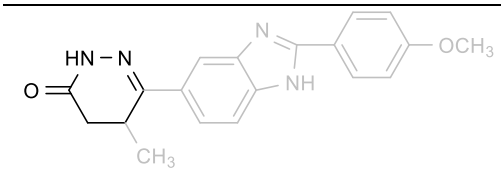
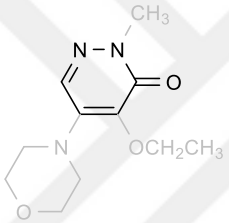
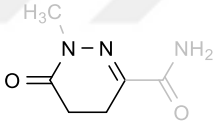


Şekil 1.4. Piridazinon halkasında laktam laktim tautomerizasyonu

3(*2H*)-piridazinon yapısına sahip bileşikler üzerinde yapılan çok sayıda farmakolojik aktivite çalışmalarında bu iskeleti taşıyan bileşiklerin; analjezik, antiinflamatuvar, antihipertansif, kardiyotonik, antiplatelet, antikolinesteraz, antibakteriyel, antifungal, antitümoral ve herbisit aktivite gibi birçok biyolojik aktiviteye sahip oldukları bildirilmiştir (16, 17) (Tablo 1).

3(*2H*)-piridazinon yapısına sahip bileşikler üzerinde yapılan çok sayıda farmakolojik aktivite çalışmalarında, bu iskeleti taşıyan bileşiklerin analjezik, antiinflamatuvar, antihipertansif, kardiyotonik, antiplatelet, antikolinesteraz, antibakteriyel, antifungal, antitümoral ve herbisit aktiviteye sahip oldukları gösterilmiştir.

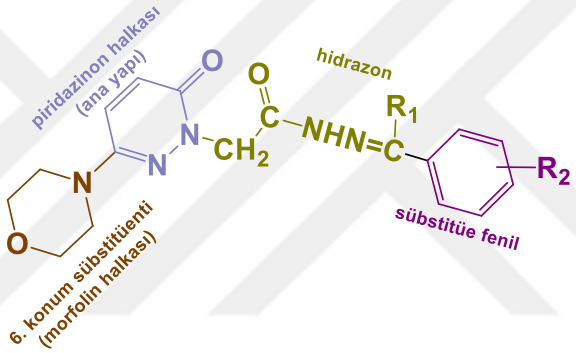
Tablo 1.1. Tedavide kullanılan piridazinon halkalı bazı ilaçlar

Formül	Aktif Bileşik	Aktivitesi
	Zerdaverin	Kardiyotonik
	Levosimendan	Vazodilatör
	Pimobendan	Vazodilatör
	İmozodan	Kardiyotonik
	Emorfazon	Analjezik
	Medazonamid	Antitüsif

Medisinal kimyada istenen bileşiklere ulaşmak için giderek büyüyen devasa boyutlardaki verilerle baş etmek üzere farklı yaklaşımlar geliştirilmiştir. Örneğin, sanal aktivite taramada ligand temelli yöntemlerde bileşiklerin fizikokimyasal ve farmakokinetik özelliklerinden (ADMET: absorpsiyon, dağılım, metabolizma, eliminasyon ve toksisite), iki boyutlu ya da üç boyutlu yapılarından ve çok daha fazlasından yararlanılmaktadır. Bu tekniklere QSAR, farmakofor modelleme, üç boyutlu şekil benzerliği/şekil eşleştirme, parmak izi ya da fragman eşleştirme örnek olarak verilebilir. Yapı temelli yaklaşımlarda ise istenen etkiden sorumlu hedef makromoleküllere ait veriler kullanılır. Moleküler kenetleme ve moleküler dinamik simülasyonları bu yaklaşımda en sık kullanılan yöntemlerdir. Sanal aktivite taramada kullanılan bu tekniklerde kuantum mekaniği ve moleküler mekanikten yararlanılır. İlaç tasarımının ileri aşamalarında ortaya çıkan farmakokinetik özelliklerle ilgili problemler ve toksisiteden dolayı çok sayıda bileşiğin klinik çalışmaları durdurulmaktadır. Bu da

ilaç AR-GE maliyetlerini ve süresini artırmaktadır. Yüzlerce bileşiğin ADMET özelliklerinin test edilmesi son derece zahmetli ve masraflıdır. Bu nedenle son yıllarda çok sayıda in silico ADMET öngörü modeli öncü bileşiğin bulunmasında ve optimizasyonunda kullanılmaktadır (18). Bilinen ilaç moleküllerinin deneysel olarak belirlenmiş fizikokimyasal ve farmakokinetik özelliklerinden yararlanılarak, ilaç benzerlik ve öncü bileşik (TR16) benzerlik kriterleri oluşturulmuştur. Bu kriterler ilaç tasarımının erken safhalarında geniş bileşik kütüphanelerinin filtrelenmesinde kullanılmaktadır.

Bu bilgiler ışığında yeni modelleme çalışmaları da yapılarak, piridazinon halkasının korunduğu, piridazinona bağlı olarak sadece morfolin halkası içeren türevlerin sentezleneceği bu tez kapsamında molekül üzerinde uygulanacak tasarım hedefleri Şekil 1.5'te yer alan gruplar üzerinden aşağıda belirtilmiştir.



Şekil 1.5. Tez bileşiklerinin tasarımı

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Parkinson Hastalığı

Milattan önce 1000 yılına ait geleneksel Hint ve eski Çin kaynaklarında PH'yi düşündüren açıklamalar olsa da ilk kez 1817'de James Parkinson'un "Essay on the Shaking Palsy" makalesinde tıbbi terimle nörolojik bir hastalık olarak tanımlanmıştır (19, 20). Bu makaleden yaklaşık 50 yıl sonra Jean-Martin Charcot 'Maladie de Parkinson' terimini postür bozukluğu, yürüyüşte anormallik, istirahatte tremor, sertlik ve yüz hareketsizliği ile karakterize bir bozukluk olarak tanımlamıştır (21, 22). 1912'lerde Frederick Henry Lew, parkinson hastalarının beyninde intranöronal inklüzyonların yani onun tabiriyle "Lewy cisimciklerinin" varlığını ortaya koymuştur (23). 1919'da Konstantin Tretiakoff, bu hastalıkta etkilenen ana yapının substantia nigra olduğunu söylemiştir. 1957'de birbirlerinden habersiz iki araştırmacı Arvid Carlsson ve Kathleen Monatgu dopaminin bir nörotransmitter olduğunu söylerken, 1960'ta Oleh Hornykiewicz, parkinson hastalarında dopaminin konsantrasyonunun azaldığını bildirmiştir (24). 60'ların sonuna doğru George Cotzias, L-Dopayı ilk kez oral olarak uyguladığında hastalarda motor iyileşme görüldüğünü rapor etmiştir (25). 1997'de artık parkinsonun ilk genetik nedeni belirlenmiş ve dopamin eksikliğine yol açan substantia nigra pars compacta'daki dopinerjik nöronların nörodejenerasyonu ile ilişkilendirilmiştir (22, 26, 27). Parkinson esasen alfa sinüklein kümelerinden oluşan Lewy cisimcikleri veya Lewy nöritleri şeklinde birikmesi sonucunda gelişen bir sendromdur. Motor ve motor olmayan semptomlar ile kendini göstermektedir (28, 29).

PH, dünya çapında 6,1 milyon insanı etkileyen ilerleyici bir nörodejeneratif hastalıktır (30). PH, rijidite, bradikinezi, istirahat tremoru ve postüral instabilite ile seyreden bir sendrom olan parkinsonizmin en sık nedenidir. Patolojik olarak PH, orta beyin içindeki sitoplazmik inklüzyonlar olan ve çözünmeyen alfa-sinüklein agregatları içeren Lewy cisimcikleriyle ilişkili substantia nigra pars kompaktadaki dopaminerjik nöronların kaybıyla tanımlanır. Ancak PH, diğer beyin bölgelerinde daha sık görülen patolojilerle karakterizedir ve aynı zamanda dopaminerjik olmayan nöronları da içerir. Alfa sinüklein, Lewy cisimciklerinin ana bileşenidir; substantia nigra olarak bilinen diğer kalıntıların periferik kısmından ve locus ceruleus'taki soluk cisimlerden ortaya çıktığı görülmektedir. Lewy cisimcikleri gibi inklüzyonlar toksik olarak kabul edilir ancak pratikte nöroprotektif olabilir. Hastalığın belirtileri dopamin düzeyini artıran

ilaçlarla etkili bir şekilde tedavi edilebilir. L-Dopa, 1960'ların sonlarındaki ilk kullanımından bu yana PH tedavisinin temel dayanağı olmuştur ve hala en etkili semptomatik tedavi edici ilaçtır. L-dopa, bağırsakta ve periferik dokularda aromatik L-amino asit dekarboksilaz (AADC) enzimi tarafından dopamine dönüştürülür, böylece sistemik dolaşıma ve beyne uygulanan L-dopa miktarı azalır. Bu nedenle, ekstraserebral bozulmayı önlemek ve periferik aktivasyondan kaynaklanan yan etkileri azaltmak için L-dopa, periferik AADC inhibitör bileşikleri ile kullanılmalıdır. L-dopa ayrıca merkezi sinir sisteminde dopamini metabolize eden MAO enzimine karşı koruma sağlayan seçici MAO-B inhibitörleriyle birlikte kullanılır. MAO-B inhibitörleri yalnızca dopamin metabolizmasını engellemekle kalmaz, aynı zamanda MAO katalitik döngüsünün hidrojen peroksit ve aldehit gibi nörotoksik yan ürünlerinin üretimini de azaltır. Bu nedenle MAO-B inhibitörlerinin Parkinson hastalığının erken evrelerinde uygulanması, ciddi semptomların ortaya çıkmasını ve L-dopa kullanma ihtiyacını geciktirebilir.

2.1.1. Parkinson Hastalığının Fizyolojisi

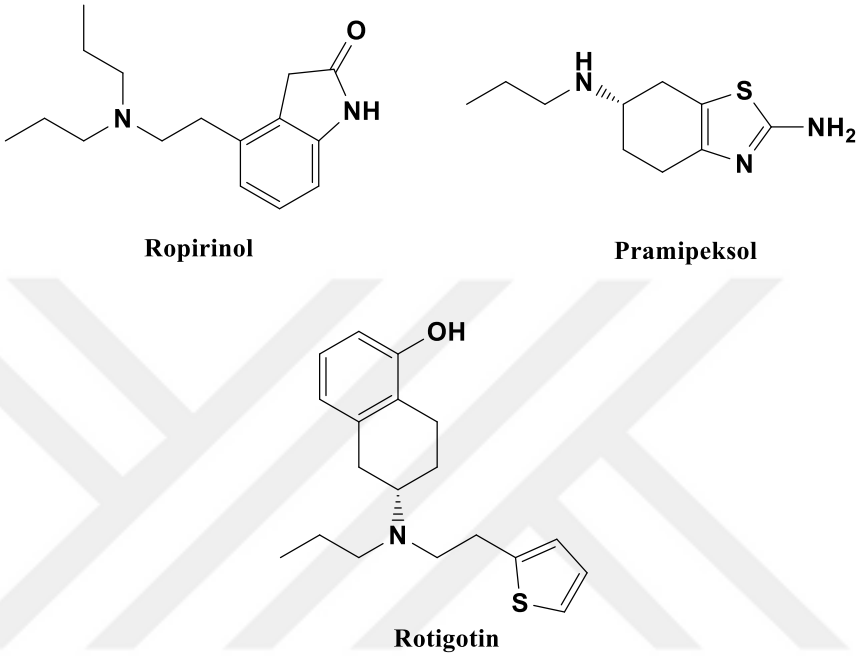
Parkinson hastalığının patofizyolojisi, anormal α-sinüklein toplanması, mitokondri, lizozom veya kesecik taşınmasındaki işlev bozukluğu, sinaptik aktarım sorunları ve nöroinflamasyonun karmaşık etkileşiminden kaynaklanıyor gibi görünmektedir. Bu hastalık mekanizmaları toplu olarak öncelikle dopaminerjik nöronların hızlandırılmış nöron ölümüyle sonuçlanır, ancak nöropatoloji birçok başka motor ve motor olmayan devreyi içerir. Nigrostriatal dopamin hücrelerinin kaybı, bazal ganglionlar boyunca doğrudan (kolaylaştırıcı) ve dolaylı (inhibitör) yollar arasında bir dengesizliğe neden olan ve bradikinezi ile sonuçlanan bir striatal dopamin tükenmesi derecesine neden olur.

2.1.2. Parkinson Hastalığında Tedavi Yaklaşımları Hastalığının Tedavisinde Kullanılan Mevcut İlaçlar

PH için nonfarmakolojik önlemler, farmakoterapi, cerrahi tedavi gibi seçenekler vardır. Hastalığın tek tip tedavi yöntemi yoktur ve tedavi her hastada semptomlara ve semptomların şiddetine göre özelleştirilmelidir (31).

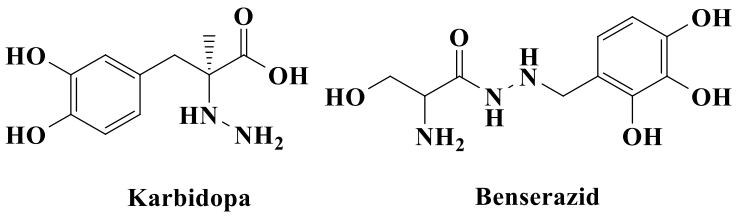
PH'nin patogenezinin dopaminerjik aktivitede azalma olduğu anlaşıldıktan sonra L-Dopa ve dopamin gibi dopamin reseptör agonistleriyle tedavi edilmeye başlanmıştır. Ayrıca antikolinerjik ilaçlar kullanılarak da bazal gangliyadaki kolinerjik ve dopaminerjik denge yeniden sağlanmaya çalışılmıştır.

PH tedavisinde dopamin reseptör agonisti olarak ropirinol, premipeksol, rotigotin sıklıkla kullanılmaktadır (Şekil 2.1) (32). Bu bileşikler, enzimatik aktivasyon gerektirmediğinden daha uzun aktivite gösterirler. Aynı zamanda L-Dopanın aksine reseptör selektivitesi göstererek daha az yan etkiye neden olmaktadır. Motor dalgalanmaları ve diskineziyi azalttıkları gibi L-Dopaya olan ihtiyacı da azalttıklarından başlangıç tedavisi olarak tercih edilirler (32).



Şekil 2.1. Ropirinol, premipeksol, rotigotin moleküllerinin kimyasal yapısı

L-Dopa, periferde dopamine dönüşümün engellemek ve dopamin kaynaklı yan etkileri (bulantı, kusma, hipotansiyon gibi) minimize etmek için genellikle karbidopa, benserazid gibi dopa-karboksilaz inhibitörleriyle kombine kulanılmaktadır (Şekil 2.2) (33).



Şekil 2.2. Karbidopa ve beserazid moleküllerinin kimyasal yapısı

L-Dopanın merkezi sinir sistemine biyoyararlanımını artırmak, periferdeki degredasyonunu engellemek ve yarı ömrünü artırmak için KOMT kullanılmaktadır. KOMT inhibitörlerinden tolkapon ve entakopondan, hepatotoksisiteyle

ilişkilendirilmediğinden entakopon tercih edilir (34). Henüz parkinson tedavisinde L-Dopa kullanılmıyorken triheksifenidil ve benztropin gibi antikolinerjik maddeler kullanılıyordu (35). Fakat bu tedavi parkinsonun sadece temel terapötik etkisi titreme üzerinedir ve erken dönem parkinson tedavisinde veya dopamin replasman tedavisine yardımcı olarak kullanılır.

Genel olarak antiparkinson aktiviteye sahip dört ana ilaç sınıfı MAO-B inhibitörleri, amantadin, dopamin antagonistleri (DA) ve L-Dopa olmasına rağmen PH'nin başlangıç tedavisinin seçimi tartışmalıdır. Hastalığın erken döneminde tedavi seçimi hem kısa hem de uzun vadede motor semptomlardan kurtulma ihtiyacına ve tolere edilebilirliğe ya da yan etkilere bağlıdır. PH'ye erken yaşlarda yakalanan ve bazı kişisel durumlarda motor komplikasyon riski daha yüksektir. Motor semptomlar hafif ancak tedavi gerektiriyorsa DA veya L-Dopa tedavisine başlamadan önce selejilin veya rasajilin gibi bir MAO-B inhibitörü denenebilir.

Amantadin monoterapisi, özellikle tremorun belirgin olduğu durumlarda MAO-B inhibitörüne alternatif olarak kullanılabilir. Anti-glutamaterjik etkili amantadin, erken monoterapide motor semptomların tedavisinde "muhtemelen etkili" ve "muhtemelen yararlı" olarak sınıflandırılmıştır (36-38).

65 yaş altı ve rahatsız edici titremesi olan parkinson hastalarında antikolinerjik ilaçlar monoterapi olarak kullanılabilir. L-Dopa veya dopamin agonistleriyle tedaviye rağmen inatçı tremoru olan daha ilerlemiş parkinson hastalarında da yararlı olabilirler (39). Bir çalışmada parkinson semptomlarında plasebo ile %6, benzheksol ile ise %40 iyileşme bulunmuştur (40). Ancak antikolinerjiklerin kullanımı bilişsel ve nöropsikiyatrik bozukluklar, idrar retansiyonu, bulantı ve mukoza zarlarının kuruluğu gibi yaygın yan etkilerle ilişkilidir (41). Ayrıca yeni teşhis edilen PH hastalarında, daha yüksek miktarlarda kolinerjik ajanların uygulanması nedeniyle yaşamın ilerleyen evrelerinde demans riski artış göstermektedir (42).

Günlük aktivitesi daha ciddi şekilde bozulan parkinson hastalarında genellikle L-Dopa veya DA tedavisi başlatılır (43). L-Dopa, motor semptomları azaltmada DA'lardan daha etkilidir ancak özellikle genç hastalarda DA'lardan daha yaygın olarak diskineziye neden olur. Ancak DA'ların L-Dopaya göre bu erken avantajı zamanla (yaklaşık 10 yıl) azaldı. Bu nedenle DA'lara sıklıkla 60 yaşın altındaki hastalarda başlangıç tedavisi ile başlanır. Geç başlangıçlı parkinson hastalığında DA'larla nöropsikiyatrik yan etki riski artar, bu nedenle tedaviye öncelikle L-Dopa ile başlanır (43). DA'lar 65-70 yaş arası

hastalarda kullanılıyorsa yan etki yönetimi açısından dikkatli olunmalıdır. 70 yaşın üzerindeki hastalarda tolere edilebilirlik azaldığından DA'lardan kaçınılmalıdır (44).

L-Dopa, PH'de motor semptom kontrolü ve yaşam kalitesini DA'lardan ve MAO-B inhibitörlerinden daha iyi sağlar. L-Dopa ile tedavi edilen hastalarda diskinezi gelişimi, MAO-B inhibitörleri ve DA'lar alan hastalara göre daha yüksek olmasına rağmen, motor dalgalanmalarda bir fark olmadığı görülmektedir (45).

Hastanın zaman içinde ek tedavilerle birlikte çeşitli ilaç ayarlamalarına ihtiyacı olacaktır. DA alan çoğu hastanın iki ila beş yıl sonra L-Dopaya ihtiyacı olacaktır. Ergot olmayan DA'lar, rasagilin, zonisamid ve antikolinerjiklerin L-Dopaya eklenmesi, erken parkinson tedavisinde klinik olarak anlamlıdır (46).

Dopaminerjik ilaçların 'kapalı kalma süresini' azaltmak için dopaminerjik ilacın dozajını artırmak, başka bir dopaminerjik ilaç eklemek, L-Dopa dozajını daha küçük ama daha sık dozlara bölmek gibi stratejiler uygulanabilir. Ayrıca L-Dopa ve dopaminin parçalanmasını önlemek için KOMT inhibitörleri veya MAO B inhibitörleri kullanılabilir (43). L-Dopa-karbidopa preparatlarının ER (uzatılmış salımlı) kapsül ve CR (kontrollü salımlı) tablet formları motor dalgalanmalarını önlemek için kullanılır. CR tablet formlarının motor dalgalanmalar üzerindeki etkisi sınırlı iken, CR kapsül formlarının bu etkisi daha belirgindir (35, 47-49).

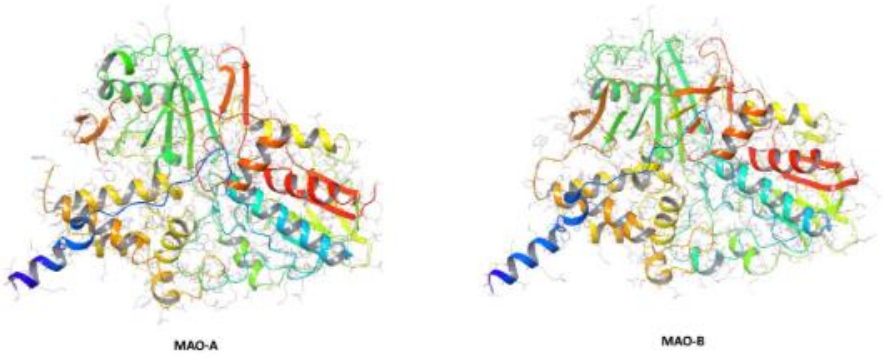
L-Dopaya oral DA eklenmesi "kapalı" dönemlerin azaltılmasına yardımcı olabilir (49). Ergot olmayan DA'lar (pramipeksol, ropinirol, rotigotin, apomorfin aralıklı infüzyon ve pergolid), L-Dopa ER, KOMT inhibitörleri (entakapon, opikapon), MAO-B inhibitörleri (rasajilin, safinamid, zonisamid) motor dalgalanmaların tedavisinde klinik olarak yararlı olmuştur. Selejilinin motor dalgalanmaları tedavi etmek için kullanılabileceği gösterilmiş olmasına rağmen (50), kanıt düzeyi yetersizdir (43). Oral adenosin A_{2A} reseptör (ADORA2A) antagonisti Istradefilin ve KOMT inhibitörü tolkaponun motor dalgalanmaların tedavisinde muhtemelen faydalı olduğu bulunmuştur.

2.2. Monoamin Oksidazlar

MAO, 5-hidroksitriptamin (5-HT veya serotonin), histamin ve katekolaminler dopamin, noradrenalin ve adrenalin dahil olmak üzere bir dizi monoaminlerin oksidatif deaminasyonunu katalize eder1-3. Reaksiyon hidrojen peroksit, karşılık gelen aldehit ve amonyak (birincil aminler durumunda) veya ikame edilmiş bir amin (ikincil aminlerden) üretir. Örneğin adrenalinden amonyak yerine metilamin üretilir. MAO'nun

aktivite için gerekli olan demir veya bakır iyonlarını içeren bir metalo-enzim olduğu öne sürülmesine rağmen, artık durumun böyle olmadığı bilinmektedir.

MAO'nun iki izoenzimi (MAO-A ve MAO-B) çoğu memeli dokusunda mevcuttur2,3. İki enzim, substrat-inhibitör tanıma bölgelerinde yapısal olarak farklılık gösterir, ancak kovalent olarak bağlı bir flavin kısmı içeren aktif bölgelerinde farklılık göstermez. MAO-A ve MAO-B'un üç boyutlu yapılarına ilişkin bilgi, MAO'nun substratlar ve inhibitörlerle etkileşime girme biçimine ilişkin yeni bilgiler sağladı ve MAO-A için ilgi çekici tür farklılıklarını ortaya çıkardı. Memeli monoamin oksidazlarının (MAO'lar) ilk kristal yapısı 2002'de çözüldü; Neredeyse 65 yıl sonra, bu flavin adenin dinükleotid (FAD)'e bağımlı enzimler keşfedildi ve aromatik nörotransmiterlerin oksidasyonundan sorumlu olarak sınıflandırıldı. Hem MAO-A hem de MAO-B, bir substrat bağlama alanıyla yakından ilişkili olan dinükleotid kofaktörleriyle etkileşime giren, Rossmann katıyla karakterize edilen iki alanlı bir topolojiye sahiptir. Bu küresel gövde, proteini dış mitokondriyal fosfolipid çift katmanına bağlayan bir C-terminal a-sarmalı ile donatılmıştır. Monotopik membran proteinleri olarak MAO'ların yapısal aydınlatılması, saflaştırılması ve kristalleştirilmesi için farklı deterjan koşullarının taranmasını gerektiren zorlu bir görevdi. MAO-A ve MAO-B yapıları hem oligomerizasyon mimarileri hem de aktif bölgelerinin ayrıntıları açısından farklılık gösterir. Saflaştırılmış insan MAO-B ve sıçan MAO-A dimerik iken insan MAO-A'nın monomerik olduğu bulundu; bunun, proteini membrandan çıkarmak için kullanılan deterjan işlemlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. MAO'ların aktif bölgesi, flavin kofaktörünün önünde yer alan ve protein yüzeyine uzanan hidrofobik bir boşluktan oluşur. Flavin halkasının önündeki Tyr-Tyr aromatik seçiçi ve kofaktör N5 atomuna hidrojen bağlı bir Lys kalıntısı gibi bazı yapısal özellikler iki izoenzimde yüksek düzeyde korunurken, bir çift geçit kalıntısı (MAO'da Phe208/Ile335) A; MAO'da Ile199/Tyr326 B) spesifik olarak iki enzimin farklı substrat ve inhibitör özelliklerini belirler.



Şekil 2.3. MAO-A ve MAO-B'nin üç boyutlu yapısı

Bunlar başlangıçta asetilenik inhibitörler olan klorjilin ve selejilin karşı duyarlılıkları ve substrat spesifiklikleri ile ayırt ediliyordu. Tipik olarak MAO-A, düşük konsantrasyonlarda klorjilin tarafından inhibe edilir ve 5-HT'nin oksidasyonunu katalize ederken, MAO-B, düşük konsantrasyonlarda selejilin tarafından inhibe edilir ve benzilamin ve 2-feniletilamin'e karşı aktiftir. Dopamin, noradrenalin, adrenalin, triptamin ve tiramin çoğu türde enzimin her iki formu tarafından da oksitlenir.

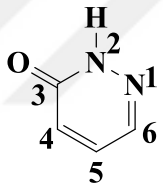
Aynı tür içindeki MAO izoenzimlerinin davranışında heterojenliğe dair bazı kanıtlar vardır. Örneğin, MAO'nun beyinde ve periferik dokularda imidazolin bağlayıcı bir enzim olduğu bilinmesine rağmen, insan karaciğer MAO-B'sinin yalnızca ~%10'u imidazolinleri bağlayabilmektedir ve insan trombosit MAO-B'sinin imidazolinleri yalnızca zayıf bir şekilde bağladığı gösterilmiştir4. Bunun enzim işlemedeki dokuya özgü farklılıkları mı yansıttığı yoksa endojen bir ligveın etkilerinden mi kaynaklandığı bilinmemektedir. Açıklanamayan bir karmaşıklık da MAO-A'nın veya ona sıkı sıkıya bağlı bir bileşenin MAO-B'nin özgüllüğünü değiştirebileceği iddiasıdır. MAO-A ve MAO-B olarak bilinen iki MAO formunun ve bunların ilgili seçici inhibitörlerinin tanımlanması, fizyolojik rollerinin daha iyi anlaşılmasına, nörotransmiter metabolizmasının düzenlenmesine katkıda bulunmuş ve bu yan etkiyi önleyen seçici inhibitörlerin geliştirilmesine yol açmıştır.

Ulusal Sağlık ve Bakım Mükemmelliği Enstitüsü (National Institue for Health and Care Excellence-NICE) tarafından 2017'de yayınlanan Erişkin Parkinson Hastalığı Yönergelerine göre (51), MAO-B inhibitörleri, yaşam kalitelerini etkilemeyen motor semptomları olan erken PH'li hastalar için birinci basamak tedaviler olarak önerilmektedir. MAO-B inhibitörleri diskinezi veya motor dalgalanmaları olan PH hastaları için, MAO-B inhibitörleri L-Dopaya yardımcı olarak seçilebilir. MAO-B

inhibitörü selejilin ve rasajilinin erken PH için etkili monoterapi olarak kullanılmasını önermektedir (46). Yine de, rasajilinin erken/stabil PH için DA tedavisine ek olarak klinik olarak etkili olduğu, ancak safinamitin DA'ya ek olarak etkisiz olduğu görülmektedir. Hem rasajilin hem de safinamit motor dalgalanmaların tedavisinde etkilidir ve selejilin için yeterli kanıt yoktur. PH'nin tedavisi için 2020 Çin kılavuzu (dördüncü baskı), MAO-B inhibitörlerinin erken dönem ve ilerlemiş parkinson hastalarında ek tedavide kullanılabileceğini ve rasajilinin motor komplikasyonları iyileştirmede selejiline kıyasla daha iyi bir seçim olduğunu belirtir (40).

2.3. Piridazinon Halkası

Altı üyeli heterosiklik bir yapı olan piridazin halkası, farmakolojik olarak aktif yeni ilaç adayı moleküllerin geliştirilmesinde çok yönlü bir farmakofordur. Azotlu halka yapılarının bulunduğu bileşikler, geniş biyolojik aktiviteye gösterirler. Bu sayede diğer farmakoforik gruplara bağlanma ve ayrıca hedef reseptörlerle de etkileşmeye olanak sağlanmaktadır. 3-(*2H*)-piridazinon türevlendirme yapılırken halkasında numaralandırması aşağıdaki formülde belirtildiği gibi yapılmaktadır (Şekil 2.4).

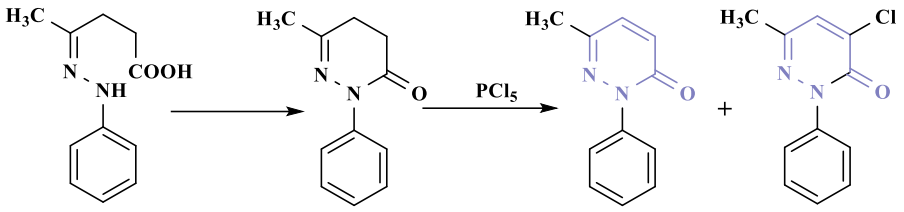


Şekil 2.4. 3-(*2H*)-piridazinonun halkasında numaralandırması

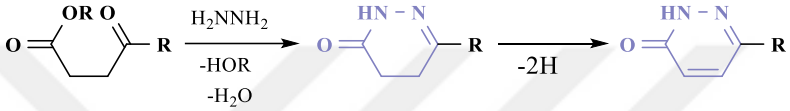
Piridazinon halkası herhangi bir sübstitüent taşımadığı durumda halka içi azot atomundaki serbest hidrojen ve komşu karbonil yapısından dolayı tautomer dengesi oluşur. Bu durum yapılan IR ve UV spektral analizleriyle de kanıtlanmış ve analiz verilerine göre daha çok okso formunda olduğu bildirilmiştir (Şekil 1.4) (52).

2.3.1. 3(*2H*)-Piridazinon Halkasının Sentezi

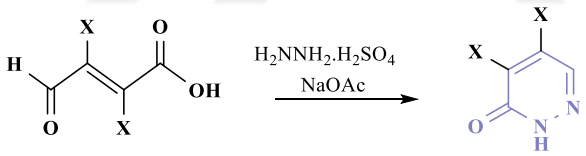
Halka azot atomunda sübstitüent taşımayan 3(*2H*)-piridazinon bileşikleri zayıf asidiktirler. Amin türevleri veya amonyakla güçlü bazlar veya tuzlar oluştururlar. Genellikle karbonil taşıyan bileşiklerden hareketle sentezlenen piridazinon türevlerinin ilki levulinik asit fenilhidrazondannhareketle 1886 yılında Fischer tarafından sentezlenmiştir (53).



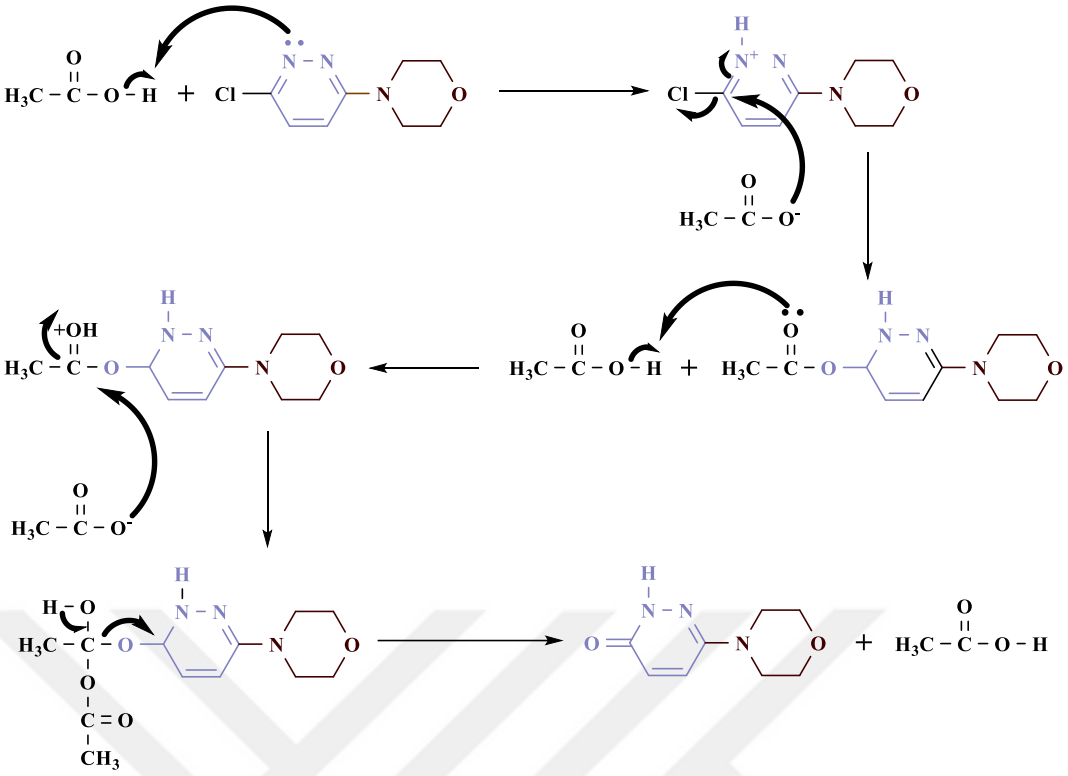
Piridazinon türevi bu ilk bileşiğin eldesinden sonra çok sayıda piridazinon bileşiği sentezlenmiştir. 1,4-keto asitlerle veya aynı asitlerin ester türevleriyle yapılan başka piridazinon halkası sentez reaksiyonunda hidrazin ile siklokondensasyon sonucu dihidro piridazinon bileşikleri elde edilmiş, bu bileşiğin dehidrojenasyonu ile de 6-sübstitüe-3(*2H*)-piridazinon bileşikleri elde edilmiştir (54).



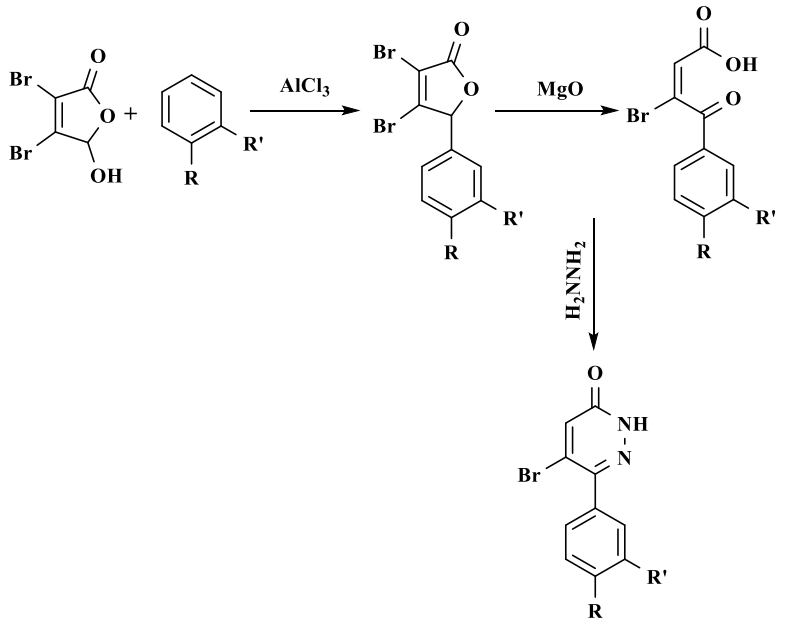
Yaygın olarak kullanılan bir diğer yöntemde de maleik asit türevleri ile bunların mono-, di-bağlı türevlerinin hidrazin ile reaksiyonu sonucu piridazinon eldesidir. Bu reaksiyonlarda yaygın olarak maleik anhidrit kullanılmakla beraber, maleik asit, maleik asit esteri ve asit halojenür türevleri de kullanılır.



Piridazin halkasının modifiye edilmesiyle de sık sık ulaşılan 3(*2H*)-piridazinon yapısı, piridazin halkasındaki halojen ya da alkoksil gruplarının hidroliziyle karbonil yapısı taşıyan sahip piridazinon bileşiklerine dönüşür.

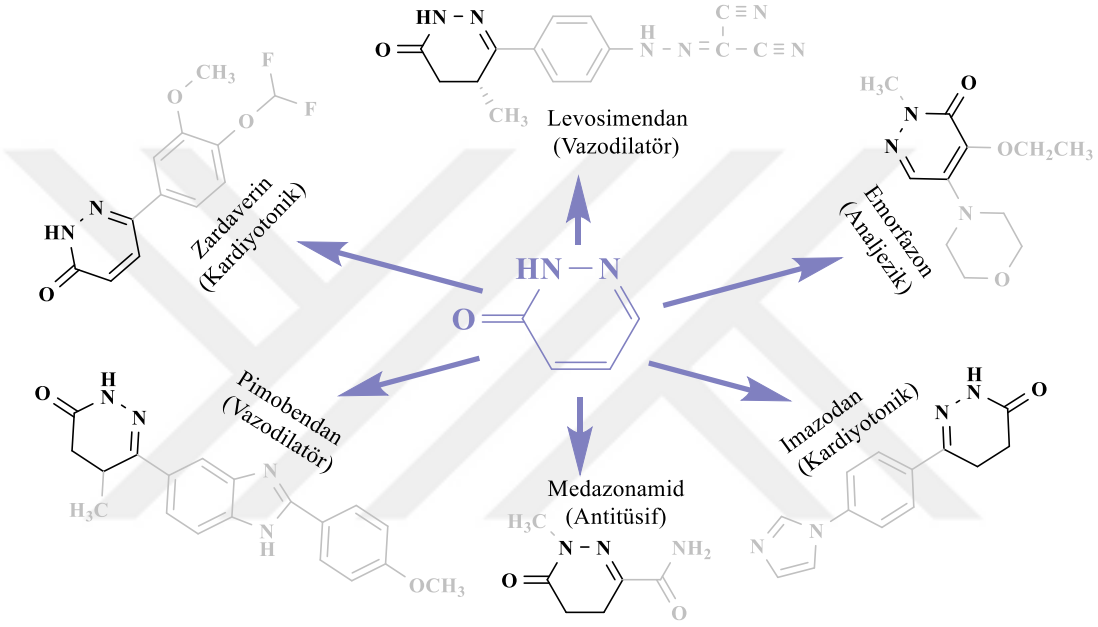


6-aril-5-bromo-3(*2H*)-piridazinon türevlerinin katalizör olarak alüminyum triklorür kullanarak Friedel Crafts reaksiyonuyla benzen ve mukobromik asitten hareketle sentezlendiği bir başka reakiyonda ise ilk aşamada 4-fenil-3,3-dibromokrotonolakton bileşiği elde edilmiş, sonrasında magnezyum oksitle reaksiyonu sonucu α-konumundaki halojenin ortadan kalkmasıyla *E*-akrilik asit türevlerine ulaşılmıştır. Elde edilen bileşiğin hidrazin hidrat ile reaksiyonu sonucunda da piridazinon türevine ulaşılmıştır.



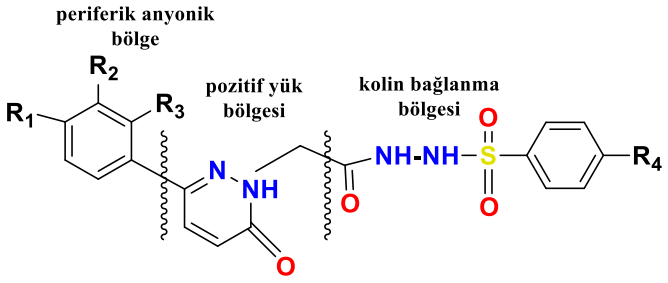
2.3.2. 3(*2H*)-Piridazinon Türevi Bileşiklerin Biyolojik Aktiviteleri

3(*2H*)-Piridazinon yapısına sahip bileşikler üzerinde çeşitli farmakolojik aktivite çalışması yapılmıştır. Bu çalışmalarda, bu iskeleti taşıyan bileşiklerin; analjezik, antiinflamatuvar, antihipertansif, kardiyotonik, antiplatelet, antikolinesteraz, antibakteriyel, antifungal, antitümoral ve herbisit aktivite gibi birçok biyolojik etkisi olduğu bildirilmiştir (55, 56). Ayrıca zardaverin, levosimendan, emorfazon, pimobendan, imazodan, medazonamit gibi yapısında piridazinon halkası taşıyan ilaç molekülleri tedavide kullanılmaktadır (Şekil 2.5) (57-63).

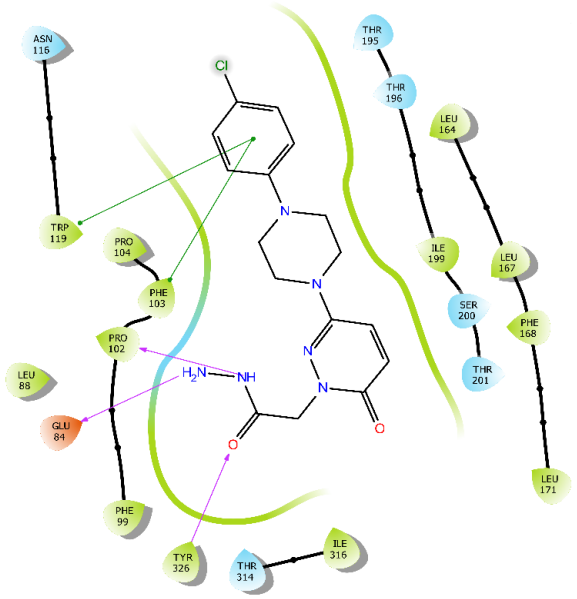


Şekil 2.5. Tedavide kullanılan piridazinon halkalı bazı ilaçlar

Piridazinon türevi çok sayıda bileşik sinir sistemi üzerine etkili olabilecek şekilde tasarlanmış, antiamnezik, antikonvülsan, antipsikotik etkili pek çok türev sentezlenmiştir. Bu amaçla kolinesteraz enziminin inhibisyonu için tasarlanmış, AH'nin tedavisinde kolinerjik hipoteze dayalı yaklaşımı hedefleyen piridazinon türevleri mevcuttur. Bir seri 6-sübstüe-3(*2H*)-piridazinon-2-asetil-2-(non-sübstüe/4-sübstüe benzensülfonohidrazid) türevlerinin hazırlığı ve asetilkolinesteraz (AChE)-bütirilkolinesteraz (BChE) enzim inhibitörü etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada 100 µg/ml'de orta derecede inhibisyona sahip bileşikler elde edildiği bildirilmiştir. Bileşik **VI2a**, AChE ve BChE'ye karşı sırasıyla % 25.02 ve% 51.70 inhibisyonla ikili bir inhibitör olarak bulunmuştur (64).

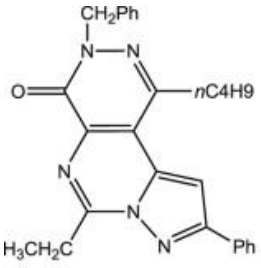


Hidrazit yapısı içeren piridazinon türevlerinin sentezlendiği başka bir çalışmada da bileşiklerin MAO inhibitör aktiviteleri değerlendirilmiş, in siliko moleküler yerleştirme çalışmaları ile de aktivite sonuçları yorumlanmıştır. Araştırma sonuçlarına göre sentezlenen bileşiklerin çoğunun seçici olarak hMAO-B'yi inhibe ettiği bildirilmiştir. Piridazinon halkasının altıncı konumuna bağlı piperazin yapısı üzerinde sübstitüent olarak 4-klorofenil halkasına sahip olan bileşik 4b, en güçlü (ki = 0.022 ± 0.001 µM) ve seçici (SI (Ki hMAO-A / hMAO-B) = 206.82) hMAO-B inhibitörü olarak bulunmuştur. Çalışmada yer alan modelleme sonuçları da piperazin halkası üzerindeki fenil grubunun hMAO-B inhibe edici potensi etkilediğini, fenil halkası üzerindeki 4-kloro sübstitüsyonunun hem inhibe edici etkiyi artırdığını hem de bileşiğin bu serideki hMAO-B'ye karşı seçiciliğini arttırdığını ortaya çıkarmıştır (55).



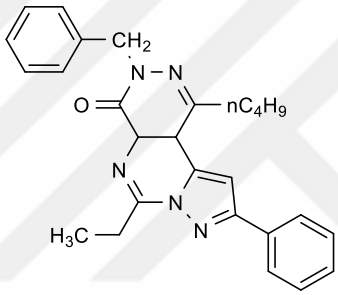
Pirazolo[1',5':1,6]pirimido[4,5-d]piridazin-4(3*H*)-on serisinin sentezi ve A1, A2A ve A3 adenosin reseptörleri üzerindeki radyoligand bağlanma analizlerinde test edildiği bir başka çalışmada bileşiklerin çoğunun, A1 reseptörüne karşı yüksek seçicilik ve düşük nanomolar aralıktaki Ki değerleriyle yüksek afinite gösterdiği belirlenmiştir. A1

adenosin reseptörlerine yönelik en aktif moleküllerin farmakolojik profili cAMP fonksiyonel analizinde değerlendirilmiş, bileşiklerin agonist NECA (5'-N-etilkarboksamido adenozin)'nın etkisini tamamen ortadan kaldırma yetenekleri gösterdikleri ve böylece antagonist profillerini ortaya koyduklarını bildirmişlerdir. Ayrıca en aktif bulunan bileşik için yapılan in vivo aktivite testlerinde bileşiğin 10 ve 30 mg/kg dozlarında antiamnezik etki gösterdiği rapor edilmiştir (65).

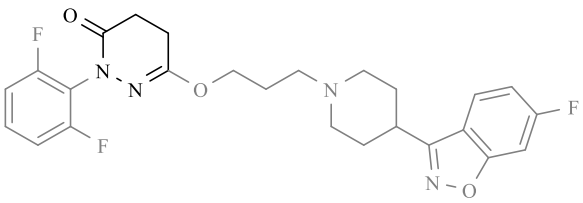


hA_1AR binding affinity	$K_i = 1.39$ nM
cAMP functional assay	$IC_{50} = 2.92$
Precognitive effect	10-30 mg/kg, i.p.

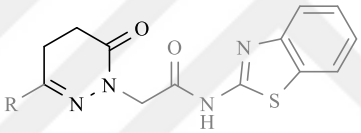
16i



Çoklu hedefe yönlendirilmiş ligandlar, olası atipik antipsikotikler olarak büyük ilgi görmüş, tek molekül içinde dopamin ve serotonin reseptör ligandlarının kombinasyonları yeni terapötik fırsatlar olarak değerlendirilmektedir. Bu amaçla 6-hidroksipiridazinon benzisoksazol serisinin sentezinin yapıldığı ve bunların atipik antipsikotik davranışlar açısından farklı reseptörlere bağlanma davranışlarının incelendiği bir çalışmada en aktif bileşiğin, belirli reseptörler için mükemmel afiniteler sergilediği (D2, Ki = 0,5 ± 0,07 nM; 5-HT1A, Ki = 5,9 ± 0,8 nM; 5-HT2A, Ki = 0,3 ± 0,01 nM; 5-HT6, Ki) = 0,5 ± 0,04 nM) ve H1, 5-HT2C ve adrenerjik α1 reseptörlerine yönelik düşük afinitelerle etkileştiği bildirilmiştir. Araştırmacılar risperidonla kıyaslamalı olarak yaptıkları çalışmada en aktif bulunan bileşiğin referans molekülün aksine en aktif bileşiğin yüksek bir kataleptik eşik sergilediğini; bu durumun, şizofreniyi tedavi eden yeni bir ilaç sınıfının geliştirilmesinde faydalı olabileceğini bildirmişlerdir (66).



Piridazinon türevlerinin antikonvülsan etkilerinin araştırıldığı çalışmalar da mevcuttur. Bu çalışmalardan birinde antikonvülsan aktivite için gerekli olan tüm farmakoforik gereksinimleri karşılayan bir dizi hibrit benzotiyazol içeren piridazinon türevleri tasarlanmış ve sentezlenmiştir. İn siliko ve in vitro çalışmalar, bu hibrit türevlerin bazılarının yüksek gama aminobütirik asit aminotransferaz (GABA-AT) önleyici aktivite sergilediğini ortaya çıkarmıştır. En güçlü bileşik SPS-5F'nin (IC50 9.10 μM) in vitro GABA-AT inhibisyonunun sonuçlarını in vivo antikonvülsan tarama yoluyla doğrulamak için de deneysel çalışmalar yapılmış, bileşik SPS-5F'nin GABA-AT enziminin inhibisyonu yoluyla tüm beyindeki GABA seviyesini önemli ölçüde artırdığı rapor edilmiştir (67).

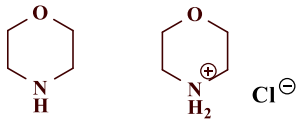


SPS1F-SPS18F

Şekil 2.6. SPS1F-SPS18F yapıları

2.4. Morfolin Halkası

Morfolin fiziksel olarak rengi olmayan bir sıvıdır. Balık benzeri veya amonyak kokusu vardır. Çoğunlukla solvent, deterjanlarda parlatıcı, korozyon önleyici, kauçuk hızlandırıcı ve kazan suyu katkı maddesi olarak kullanılır. HCl ile reaksiyonundan morfolinyum klorür tuzunu veren morfolin bazik özelliktedir. Morfolinyum ise onun konjuge asididir (Şekil 2.4).



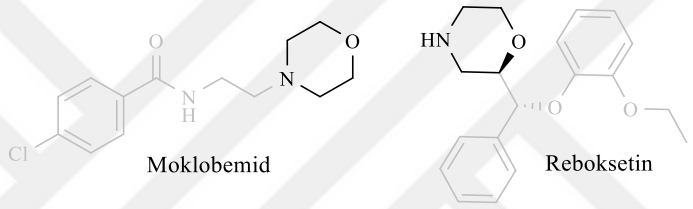
Şekil 2.7. Morfolin Halkası

Morfolin, doymuş bir hetero-siklik halkaya sahip bir tetrahidro-1,4-oksazindir ve metabolik stabiliteye sahip biyolojik profili nedeniyle umut verici bir ilaç adayı

başlangıç noktası sağlar. Oksijen veya azot gibi bir heteroatomun varlığı hidrojen bağlanmasını kolaylaştırır ve dolayısıyla enzimlerle etkileşimler ve elektron eksikliği olan atomların varlığı da morfolin ile hidrofobik etkileşimler sağlayabilir. Bu durum ilaç adayı moleküllerin tasarımında morfolin halkasının tercih edilmesine sebep olmaktadır (68-71).

2.4.1. Biyolojik Aktivite Gösteren Morfolin Türevleri

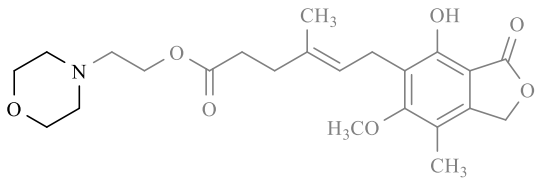
Morfolin çekirdeğinin önemi göz önüne alındığında, medisinal kimya açısından morfolin türevi bileşiklerin tasarlanmasının oldukça önemli olduğu görülmüştür. Sentetik açıdan bakıldığında, sekonder azotun değiştirilmesiyle morfoline çeşitli moleküler yapı iskeleleri eklenmiştir. Moklobemid ve reboksetin gibi antidepresan ilaçlar morfolin halkasını içeren FDA onaylı ilaç örneklerindendir (Şekil 2.7) (72, 73).



Şekil 2.8. Moklobemid ve reboksetin moleküllerinin yapısı

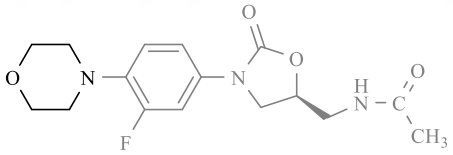
Bu ilaçlar geri dönüşümlü olarak MAO-A'yı inhibe eder ve merkezi sinir sisteminde norepinefrin geri alımını seçici olarak inhibe eder ve böylece insan a4b2 nikotinik asetilkolin reseptörünü bloke eder. Bu moleküller dışında morfolin halkasını içeren 20'den fazla ilaç FDA'dan onay almıştır.

Sistemik lupus eritematozus ve lupus nefritini tedavi etmek için yaygın olarak kullanılan bir immün baskılayıcı olan mikofenolat mofetil yapısında morfolin halkasını da içeren bir ilaç molekülüdür (Şekil 2.8.). Mikofenolik asidin bir esteri ve ön ilacı olan mikofenolat mofetilin gastrointestinal sistemde mikofenolik asitten daha iyi bir biyoyararlanım ve toleransa sahip olduğu bulunmuştur. 1995 yılında transplantasyon greft yetmezliğinin önlenmesi için FDA tarafından onay alan ilaç 1995'ten beri çeşitli klinik uzmanlık alanlarında, özellikle romatizmal hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (74).



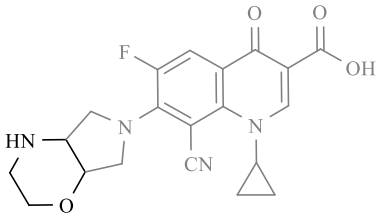
Şekil 2.9. Mikofenolat mofetilin yapısı

Yapısında aynı zamanda morfolin halkası da taşıyan linezolid, benzersiz bir mekanizma yoluyla bakteriyel protein sentezini inhibe eden sentetik antibakteriyel ajanlardan oksazolidinon sınıfının bir üyesidir (Şekil 2.9). Diğer protein sentezi inhibitörlerinin aksine oksazolidinonlar, fonksiyonel bir başlangıç kompleksinin oluşumunu önleyerek translasyonda erken etki gösterir. Linezolidin mevcut antibakteriyel ajanlarla çapraz direnç göstermesi beklenmemektedir. Özellikle linezolid, penisiline duyarlı, orta ve dirençli *Streptococcus pneumoniae*'ye karşı oldukça etkili bulunmuş, suşların %90'ını inhibe etmek için gereken konsantrasyonun (MIC90) 1 mg/L olduğu bildirilmiştir (MIC aralığı ≤0,016 ila 4 mg/L). Vankomisinle (MIC90 değerleri 0,25 ila 0,5 mg/L) kıyaslandığında da daha aktif olduğu bulunan linezolid ek olarak seftriakson, eritromisin, klindamisin ve tetrasikline dirençli pnömokok türlerine karşı da aktif bulunmuştur (75).



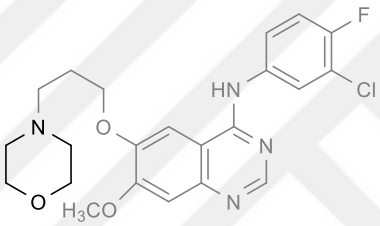
Şekil 2.10. Linezolidin yapısı

Finafloksasin, hafif asidik ortamlarda optimum etkinlik sergileyen bir florokinolon antimikrobiyal ajandır (Şekil 2.10.). Yapısında morfolin halkası da yer alan bu ilaç MerLion Pharmaceuticals tarafından idrar yolu enfeksiyonları ve *Helicobacter pylori* enfeksiyonları dahil olmak üzere asidik ortamla ilişkili ciddi bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek için geliştirilmektedir. Alcon (Novartis'in bir bölümü) tarafından geliştirilen bir finafloksasin (Xtoro™) otik süspansiyonu yakın zamanda ABD'de akut otitis eksterna tedavisi için onaylanmış ve bu endikasyon için bir Ortak Teknik Belge de Kanada'da dosyalanmıştır. Karmaşık olmayan idrar yolu enfeksiyonlarında (Almanya ve Singapur), karmaşık idrar yolu enfeksiyonlarında ve piyelonefritte (Almanya ve Polonya) ve *H. pylori* enfeksiyonunda (Almanya) oral ve/veya intravenöz formülasyonlar faz I ve II değerlendirmesindedir (76).



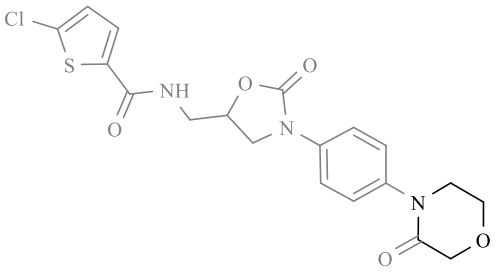
Şekil 2.11. Finafloksasinin yapısı

Morfolin halkası taşıyan bir anti-neoplastik gefitinib, oral olarak aktif, seçici bir inhibitör epidermal büyüme faktörü reseptörüdür (EGFR). Büyük randomize faz III IPASS çalışması günlük 250 mg gefitinib, karboplatin ve paklitaksel ile karşılaştırıldığında, gefitinib tedavisi altındaki seçilmiş hasta popülasyonlarında ilerlemesiz sağkalım (PFS) ve yaşam kalitesi üzerinde yararlı bir etki göstermiştir (Şekil 2.11.) (77).



Şekil 2.12. Gefitinibin yapısı

Bir morfolinon türevi olan rivaroksaban, aktive edilmiş faktör Xa'nın doğrudan bir inhibitörüdür ve öngörülebilir farmakodinamik ve farmakokinetik avantajlara sahiptir (Şekil 2.12.). Koagülasyon takibinin olmaması ve az sayıda ilaç etkileşimi vardır. Venöz tromboembolizm için birinci basamak tedavi olarak bu ilaç, geleneksel tedaviden daha avantajlıdır ve sıradan hastalar için iyi bir etkinlik ve güvenlik sergiler. Ancak yaşlı hastalarda rivaroksabanın etkinliği ve güvenliği tam olarak aydınlatılamamıştır (78).



Şekil 2.13. Rivaroksabanın yapısı

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Kimyasal Çalışmalar

3.1.1. Materyal

Bileşiklerin sentezinde kullanılan 4-(6-kloro-1,6-dihidropiridazin-3-il)morfolin, literatür yöntemine göre tarafımızdan hazırlanmıştır (13, 53, 79). İlk basamaktan sonra elde edilen başlangıç maddeleri olan 6-morfolinopiridazin-3(*2H*)-on, etil 2-(3-morfolino-6-oksopiridazin-1(*6H*)-il)asetat ve 2-(3-morfolino-6-oksopiridazin-1(*6H*)-il)asetohidrazite literatür yöntemlerinden uyarlanarak tarafımızdan sentezlenmiştir (13, 79-81).

Sentez çalışmalarında kullanılan kimyasallar Tablo 3.1.'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Sentez çalışmalarında kullanılan kimyasallar.

Satın Alınan Benzaldehit/Asetofenon Türevi	**Markası**
3,6-dikloropiridazin	Aldrich
morfolin	Merck
hidrazin hidrat (%99)	Aldrich
etil bromoasetat	Fluka
2-siyanobenzaldehit	Fluka
3-siyanobenzaldehit	Fluka
2,3-dimetoksibenzaldehit	Fluka
2-metoksibenzaldehit	Fluka
3-metoksibenzaldehit	Fluka
4-metoksibenzaldehit	Fluka
4-metilbenzaldehit	Fluka
4-etilbenzaldehit	Fluka
4-isopropilbenzaldehit	Fluka
2-florobenzaldehit	Aldrich
3-florobenzaldehit	Aldrich
3,4,5-trimetoksibenzaldehit	Fluka

1-(4-triflorometilfenil)etan-1-on	Aldrich
1-(3-triflorometilfenil)etan-1-on	Aldrich
1-(2-metoksifenil)etan-1-on	Aldrich
1-(4-metoksifenil)etan-1-on	Aldrich
1-(4-bromofenil)etan-1-on	Aldrich
1-(4-klorofenil)etan-1-on	Aldrich
1-(3-klorofenil)etan-1-on	Aldrich
1-(2-florofenil)etan-1-on	Aldrich

3.1.2. Sentez Yöntemleri

Başlangıç Maddelerinin Sentezleri

3-kloro-6-[4-morfolinopiperazin-1-il]piridazin (PM) Sentezi

PM, 15 ml etanol içerisinde 0.01 mol 3,6-dikloropiridazin ve 0.01 mol morfolin geri çeviren soğutucuyla beraber 6 saat ısıtılıp karıştırılarak elde edilir. Bu sürenin sonunda ilk olarak reaksiyon ortamını buzlu suya dökerek çökmesi sağlanır. Ardından saflaştırmak için etanolden kristallendirilir.

6-[4-morfolinopiperazin-1-il]-3(*2H*)-piridazinon (PMO) Sentezi

PMO, 30 ml glasiyel asetik asit içerisinde 0.05 mol PM geri çeviren soğutucuyla beraber 5 saat ısıtılıp karıştırılarak elde edilir. Bu sürenin sonunda ilk olarak ortamdaki asetik asit uzaklaştırılır. Ardından kalan madde suda çözülüp kloroform ile ekstrakte edilir. Organik faz susuz Na_2SO_4 kullanılarak kurutulduktan sonra kloroform uzaklaştırılır. Kalan madde saflaştırma için metanol/su karışımıyla kristallendirilir.

Etil 6-[4-morfolinopiperazin-1-il]-3(*2H*)-piridazinon-2-il (PMOEs) Sentezi

PMOEs, 40 ml aseton içerisinde 0.01 mol PMO, 0.02 mol etil bromoasetat ve 0.02 mol potasyum karbonat geri çeviren soğutucuyla beraber 24 saat ısıtılıp karıştırılarak elde edilir. 24 saatin sonunda soğuyan karışımdan çöken tuz süzülür. Ardından aseton uzaklaştırılıp kalan madde, n-hekzan ile kristallendirilir.

6-[4-morfolinopiperazin-1-il]-3(*2H*)-piridazinon-2-il asetohidrazit (PMN) Sentezi

PMN sentezi için, 25 ml metanol içerisinde 0.01 mol PMOEs, 3 ml hidrazin hidratla birlikte 3 saat oda sıcaklığında karıştırılarak elde edilir. Bu sürenin sonunda oluşan çökelek süzülür, suyla yıkanır. Kuruyan maddeyi saflaştırmak için metanolden kristallendirilir.

Bileşiklerin Genel Sentezi (Y_1-Y_{20})

PMN sentezi için, 25 ml metanol içerisinde 0.01 mol PMOEs, 3 ml hidrazin hidratla birlikte 3 saat oda sıcaklığında karıştırılarak elde edilir. Bu sürenin sonunda oluşan çökelek süzülür, suyla yıkanır. Kuruyan maddeyi saflaştırmak için metanolden kristallendirilir.

3.1.3. Analitik Yöntemler

Erime Derecesi Tayinleri

Erime derecesi tayinleri Barnstead/Electrothermal (9100) marka/modelli cihazla yapılmıştır. Bileşiklerin erime dereceleri düzeltilmemiş değerlerdir.

İnce Tabaka Kromatografi ile Yapılan Kontroller

Materyal

İnce tabaka kromatografisiyle (İTK) yapılan kontrollerde Kieselgel 60 F_{254} (Merck) markalı plaklar kullanılmıştır. Çözücü sistemleri oluştururken ve belirteç gerektiren durumlarda kullanılan kimyasal maddeler yine Merck ürünleridir.

Sentezlenen başlangıç ve sonuç ürünlerinin İTK kontrollerinde 90:10 oranında kloroform-metanol çözücü sistemi kullanılmıştır.

Yöntem

Hazırlanan çözücü sistemi, kromatografi tankının uygun doygunluğa ulaşması için, tanka konulup 24 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Hazır plaklara, sentez ürünleri ve bu ürünlerin sentezlenmesinde kullanılan başlangıç maddeleri uygun çözücülerdeki çözeltileri tatbik edilmiştir. Ardından plaklar doygunluğa ulaşmış kromatografi tanklarında 10 cm' sürüklenmiştir.

Plak kuruduktan sonra sürüklenen sentez ürünleri ve başlangıç maddelerine ait lekeler UV ışık (254 nm ve 365 nm), iyot buharı ve Dragendorff belirteci kullanılarak gözlenmiştir. Lekeler belirlendikten sonra R_f değerleri hesaplanmıştır.

Spektrometrik Kontroller

^{1}H-NMR Spektrumları

Sentezlenen bileşiklerin ^{1}H-NMR spektrumları, İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknik Araştırma Merkezinin (İBTAM) kimya laboratuvarlarında Bruker Avonce 300 MHz Ultrashield^{TM} marka/modelli NMR spektrometresinde elde edilmiştir. Bileşiklerin spektrumları için, kloroform veya dimetilsülfoksit-d_6 (Merck)'deki yaklaşık %10'luk çözeltileri kullanılmıştır ayrıca δ skalasında değerlendirilmiştir.

^{13}C-NMR Spektrumları

Sentezlenen bileşiklerin ^{13}C-NMR spektrumları, dimetilsülfoksit-d_6 (Merck)'deki yaklaşık %10'luk çözeltisinden İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkez Laboratuvarı'nda, Bruker Avonce 300 MHz Ultrashield^{TM} NMR Spektrometre'sinde alınmış; δ skalasında değerlendirilmiştir.

Kütle Spektrumları

Sentezlenen bileşiklerin HRMS spektrumları, pozitif ve negatif iyon elektrospeyiyonizasyon (ESI) tekniğiyle metanol içerisinde Agilent 6460 Triple Quadropol model LC MS/MS sistemi kullanılarak Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (DAYTAM)'nden alınmıştır.

3.2. Biyolojik Çalışmalar

3.2.1. Monoamin Oksidaz Aktivite Tayini (MAO-A ve MAO-B Enzim İnhibisyonları)

Materyal

Sentezlenen bileşiklerin aktivite çalışmaları Bari Aldo Moro Üniversitesi Eczacılık ve İlaç Bilimleri Bölümü Araştırma Laboratuvarında yapılmıştır. Bileşiklerin MAO-B inhibitörü aktivite gösterip göstermedikleri kit prosedürüne uygun şekilde Monoamine-oksidaz Elabscience marka ELISA assay kiti kullanılarak ölçülmüştür. Aktivite tayini için kullanılan enzim ve kimyasallar Sigma-Aldrich'ten temin edilmiştir.

Yöntem

Kinuramin (0.06 mM) ve benzilamin (0.3 mM) sırasıyla kullanılarak rekombinant insan MAO-B inhibitör aktiviteleri sürekli olarak test edilmiştir.

İkinci Yöntem

İlk olarak 1 mM Vanillik asit, 500 µM 4-aminoantipirin ve 4 U.ml-1 peroksidaz (Tip II) (0.2 M KP tamponu, pH 7.6 içinde hazırlanmış)u içeren kromojenik (renkli) çözelti hazırlanır. Bu karışım 167 µl kromojenik çözelti, 133 µl KP tamponu (pH 7.0) ve 667 µl substrat çözeltisi (500 µM p-tiramin) den oluşmaktadır. Enzim eklenmeden önce karışım 37°C'de 10 dakika preinkübe edilir. Sonrasında reaksiyon 100 µl enzim eklenerek başlatılıp 60 dakika boyunca 498 nm'de absorbans artışı takip edilir. Molar soğurma katsayısı olan 4654 $M^{-1}.cm^{-1}$ kullanılarak reaksiyonun ilk hızı $nmol.saat^{-1}.mg^{-1}$ olarak hesaplanır (82). MAO-B aktivite ölçümünde homojenat ikiye ayrılır. Tayine başlamadan önce ebzim, özgül MAO-B inbitörü olarak parjilin (50 µM) ile 1:100

oranında 37 ºC'de 60 dk muamele edilir. P-tiramin (MAO-A için 500 mM; MAO-B için 2.5 mM) substrat olarak kullanılmakta ve izoformlardan birini ölçerken diğerinin inhibesi sağlanır böylece izoformların aktiviteleri ayrıca tayin edilir.

MAO İçeren Homojenatların Yeni İnhibitörlerle Etkileşimi ve Kinetiğinin Tayini

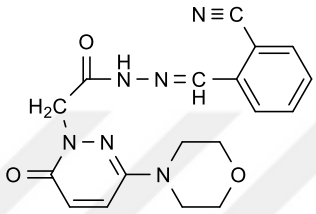
Sentezlenen bileşiklerin MAO-B ile etkileşiminin incelenmesinde, aktivite tayininden hemen önce homojenatlar bileşiklerle birlikte 0, 10, 20 ,30, 45 ve 60 dakika 37 ºC'de ön inkübasyon yapılır. MAO-B ile bileşiklerin etkileşim kinetikleri Lineweaver-Burk ikincil resiprokal grafiği, substratın farklı derişimlerinde 1/v nin 1/s'ye karşı grafiklendirilerek hesaplanır. Non-regresyon analizi ve excel paket programı kullanılarak inhibisyon sabitleri ve diğer kinetik veriler hesaplanır. Doz-cevap eğrilerinin nonlineer regresyonu kullanılarak, ön inkübasyon yapılarak veya yapılmaksızın bileşiklerin IC_{50} değerleri (enzim aktivitesini %50 azaltan inhibitör bileşiğin derişimi) hesaplanır. Dilüsyon tekniğiyle bu inhibisyonların geri dönebilirliği (tersinirliği) incelenir. Farklı derişimlerde hazırlanan inhibitörlerle son derişimin 10 katı derişimde hazırlanan enzim örnekleri 37ºC'de 60 dakika inkübe edilir. Aynı şekilde yapılan deneyde inhibitör yerine distile su kullanılarak örneklerin hepsi 10 kez dilüe edilerek ölçüm karışımına ilave edilir. Böylece tüm setlerde MAO aktivitesi tayin edilir (83).

4. BULGULAR

4.1. Kimyasal Çalışmalar

Bu tez kapsamında MAO-B inhibitörü aktiviteleri belirlenen 20 yeni bileşik ilk defa bu tez kapsamında sentezlenmiştir. Elde edilen bileşiklerin erime noktası tayinleri yapılarak yüzde verimleri belirlenmiş, yapıları ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR ve HRMS gibi çeşitli spektroskopik yöntemler ile kanıtlanmış olup bulgular aşağıda verilmiştir.

N'-(2-cyanobenzeliden)-2-(3-morfolin-6-oksopiridazin-1(6H)-il)asetohidrazit (Y1)

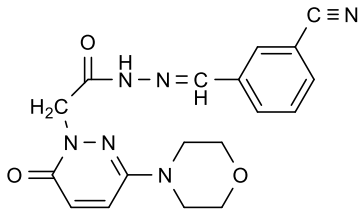


Beyaz kristalize olarak %21.93 verimle elde edilen Y1'in erime derecesi 132-133°C olarak tayin edilmiştir. Metanol/su çözücü sistemiyle kristallendirilen Y1, su veya eterde çözünmezken; aseton, etil asetat, kloroform ve metanolde soğukta çözünebilmektedir. Y1'e ait NMR ve HRMS sonuçları aşağıdaki gibidir.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 3.25-3.32 (q, 4H, morfolin-CH_2N) 3.72-3.82 (q, 4H, morfolin-CH_2O), 5.31 (2H, s, CH_2-CO-), 7.44-7.66 (m, 6H, fenil protonları+piridazinon $H^{4,5}$), 8.46 (1H, s, N=CH), 10.90 (1H, s, CO-NH-N).

$C_{18}H_{18}N_6O_3$ MS (ESI+) (Calc.: 366.38; Found:) (M^+; 100.0%).

N'-(3-cyanobenzeliden)-2-(3-morfolin-6-oksopiridazin-1(6H)-il)asetohidrazit (Y2)

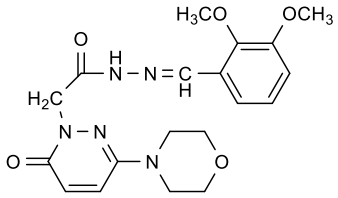


Beyaz kristalize olarak %25.93 verimle elde edilen Y2'nin erime derecesi 132-133°C olarak tayin edilmiştir. Metanol/su çözücü sistemiyle kristallendirilen Y2, su veya eterde çözünmezken; aseton, etil asetat, kloroform ve metanolde soğukta çözünebilmektedir. Y2'ye ait NMR ve HRMS sonuçları aşağıdaki gibidir.

^{1}H-NMR (CDCl$_3$, 300 MHz) δ 3.24-3.32 (q, 4H, morfolin-CH_2N) 3.80-3.83 (q, 4H, morfolin-CH_2O), 5.29 (2H, s, CH_2-CO-), 7.47-7.82 (m, 6H, fenil protonları+piridazinon H^{4,5}), 8.66 (1H, s, N=CH), 10.07 (1H, s, CO-NH-N).

$C_{18}H_{18}N_6O_3$ MS (ESI+) (Calc.: 366.38; Found: (M^+; 100.0%).

N'-(2,3-dimetoksibenzeliden)-2-(3-morfolin-6-oksopiridazin-1(6H)-il) asetohidrazit (Y3)

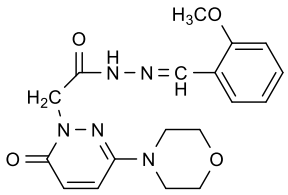


Beyaz kristalize olarak %27.38 verimle elde edilen Y3'ün erime derecesi, 132-133°C olarak tayin edilmiştir. Metanol/su çözücü sistemiyle kristallendirilen Y3, su veya eterde çözünmezken; aseton, etil asetat, kloroform ve metanolde soğukta çözünebilmektedir. Y3'e ait NMR ve HRMS sonuçları aşağıdaki gibidir.

^{1}H-NMR (CDCl$_3$, 300 MHz) δ 3.23-3.26 (q, 4H, morfolin-CH_2N) 3.75-4.00 (q, 4H, morfolin-CH_2O), 4.25 (3H, s, OCH_3), 4.84 (3H, s, OCH_3), 5.27 (2H, s, CH_2-CO-), 7.05-7.28 (m, 6H, fenil protonları+piridazinon H^{4,5}), 8.15 (1H, s, N=CH), 10.44 (1H, s, CO-NH-N).

$C_{19}H_{25}N_5O_5$ MS (ESI+) (Calc.: 401.42; Found: (M^+; 100.0%).

N'-(2-metoksibenzeliden)-2-(3-morfolin-6-oksopiridazin-1(6H)-il)asetohidrazit (Y4)

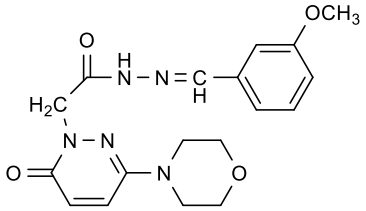


Beyaz kristalize olarak %85.21 verimle elde edilen Y4'ün erime derecesi, 168-169°C olarak tayin edilmiştir. Metanol/su çözücü sistemiyle kristallendirilen Y4, su veya eterde çözünmezken; aseton, etil asetat, kloroform ve metanolde soğukta çözünebilmektedir. Y4'e ait NMR ve HRMS sonuçları aşağıdaki gibidir.

^{1}H-NMR (CDCl$_3$, 300 MHz) δ 3.25-3.33 (q, 4H, morfolin-CH_2N) 3.73-3.91 (q, 4H, morfolin-CH_2O), 4.85 (3H, s, OCH_3), 5.29 (2H, s, CH_2-CO-), 7.34-7.45 (m, 6H, fenil protonları+piridazinon H^{4,5}), 8.46 (1H, s, N=CH), 10.41 (1H, s, CO-NH-N).

$C_{19}H_{25}N_5O_5$ MS (ESI+) (Calc.: 371.40; Found: (M^+; 100.0%).

N'-(3-metoksibenzeliden)-2-(3-morfolin-6-oksopiridazin-1(6H)-il)asetohidrazit (Y5)

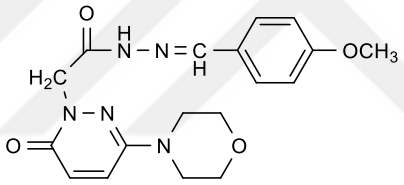


Beyaz kristalize olarak %35.04 verimle elde edilen Y5'in erime derecesi, 101-102ºC olarak tayin edilmiştir. Metanol/su çözücü sistemiyle kristallendirilen Y5, su veya eterde çözünmezken; aseton, etil asetat, kloroform ve metanolde soğukta çözünebilmektedir. Y5'e ait NMR ve HRMS sonuçları aşağıdaki gibidir.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 3.24-3.31 (q, 4H, morfolin-CH_2N) 3.77-3.79 (q, 4H, morfolin-CH_2O), 3.90 (3H, s, OCH_3), 5.29 (2H, s, CH_2-CO-), 7.18-7.48 (m, 6H, fenil protonları+piridazinon $H^{4,5}$), 7.78 (1H, s, N=CH), 9.73 (1H, s, CO-NH-N).

$C_{19}H_{25}N_5O_5$ MS (ESI+) (Calc.: 371.40; Found: (M^+; 100.0%).

N'-(4-metoksibenzeliden)-2-(3-morfolin-6-oksopiridazin-1(6H)-il)asetohidrazit (Y6)

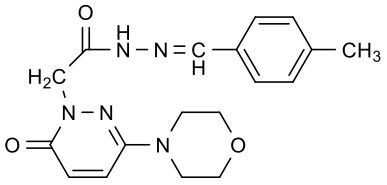


Beyaz kristalize olarak %21.22 verimle elde edilen Y6'nın erime derecesi, 101-102ºC olarak tayin edilmiştir. Metanol/su çözücü sistemiyle kristallendirilen Y6, su veya eterde çözünmezken; aseton, etil asetat, kloroform ve metanolde soğukta çözünebilmektedir. Y6'ya ait NMR ve HRMS sonuçları aşağıdaki gibidir.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 3.24-3.32 (q, 4H, morfolin-CH_2N) 3.78-3.81 (q, 4H, morfolin-CH_2O), 3.87 (3H, s, OCH_3), 5.28 (2H, s, CH_2-CO-), 7.58-7.83 (m, 6H, fenil protonları+piridazinon $H^{4,5}$), 9.32 (1H, s, N=CH), 10.47 (1H, s, CO-NH-N).

$C_{19}H_{25}N_5O_5$ MS (ESI+) (Calc.: 371.40; Found: (M^+; 100.0%).

N'-(4-metilbenzeliden)-2-(3-morfolin-6-oksopiridazin-1(6H)-il)asetohidrazit (Y7)

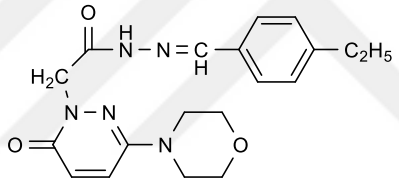


Beyaz kristalize olarak %38.21 verimle elde edilen Y7'nin erime derecesi, 134-135ºC olarak tayin edilmiştir. Metanol/su çözücü sistemiyle kristallendirilen Y7, su veya eterde çözünmezken; aseton, etil asetat, kloroform ve metanolde soğukta çözünebilmektedir. Y7'ye ait NMR ve HRMS sonuçları aşağıdaki gibidir.

^{1}H-NMR (CDCl$_3$, 300 MHz) δ 2.41 (3H, s, CH_3), 3.24-3.31 (q, 4H, morfolin-CH_2N) 3.73-3.81 (q, 4H, morfolin-CH_2O), 5.30 (2H, s, CH_2-CO-), 7.14-7.63 (m, 6H, fenil protonları+piridazinon $H^{4,5}$), 8.67 (1H, s, N=CH), 9.55 (1H, s, CO-NH-N). **^{13}C-NMR (CDCl$_3$, 300 MHz), δ** 21.63 (1C; CH_3), 46.87 (2C; CH_2-N), 53.31 (2C; CH_2-O), 66.36 (1C; N-$\underline{C}H_2$-C=O), 125.41 (1C; N=CH), 129.54 (1C; piridazinon C^5), 130.78 (1C; piridazinon C^4), 131.15 (1C; 4-metilfenil C^6), 131.47 (1C; 4-metilfenil C^1) 140.63 (1C; 4-metilfenil C^4), 141.61 (1C; 4-metilfenil C^5), 144.86 (1C; 4-metilfenil C^2), 149.07 (1C; 4-metilfenil C^3), 161.86 (1C; piridazinon C^6), 163.90 (1C; -C=O) ve 168.67 (1C; piridazinon C^3).

$C_{18}H_{21}N_5O_3$ MS (ESI+) (Calc.: 355.40; Found: (M^+; 100.0%).

N'-(4-etilbenzeliden)-2-(3-morfolin-6-oksopiridazin-1(6H)-il)asetohidrazit (Y8)

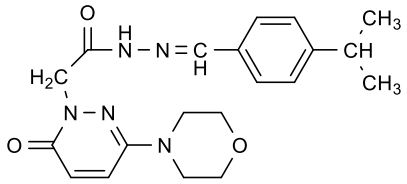


Beyaz kristalize olarak %24.55 verimle elde edilen Y8'in erime derecesi, 101-102ºC olarak tayin edilmiştir. Metanol/su çözücü sistemiyle kristallendirilen Y8, su veya eterde çözünmezken; aseton, etil asetat, kloroform ve metanolde soğukta çözünebilmektedir. Y8'e ait NMR ve HRMS sonuçları aşağıdaki gibidir.

^{1}H-NMR (CDCl$_3$, 300 MHz) δ 2.41 (3H, s, CH_3), 3.24-3.31 (q, 4H, morfolin-CH_2N) 3.73-3.81 (q, 4H, morfolin-CH_2O), 5.30 (2H, s, CH_2-CO-), 7.14-7.63 (m, 6H, fenil protonları+piridazinon $H^{4,5}$), 8.67 (1H, s, N=CH), 9.55 (1H, s, CO-NH-N). **^{13}C-NMR (CDCl$_3$, 300 MHz), δ** 14.10 (1C; CH_3), 46.92 (1C; CH_2), 52.93 (2C; CH_2-N), 61.54 (2C; CH_2-O), 66.36 (1C; N-$\underline{C}H_2$-C=O), 125.41 (1C; N=CH), 129.54 (1C; piridazinon C^5), 130.78 (1C; piridazinon C^4), 131.15 (1C; 4-metilfenil C^6), 131.47 (1C; 4-metilfenil C^1) 140.63 (1C; 4-metilfenil C^4), 141.61 (1C; 4-metilfenil C^5), 144.86 (1C; 4-metilfenil C^2), 149.07 (1C; 4-metilfenil C^3), 148.97 (1C; piridazinon C^6), 158.47 (1C; -C=O) ve 167.76 (1C; piridazinon C^3).

$C_{19}H_{23}N_5O_3$ MS (ESI+) (Calc.: 369.43; Found: (M^+; 100.0%).

N'-(4-isopropilbenzeliden)-2-(3-morfolin-6-oksopiridazin-1(6H)-il)asetohidrazit (Y9)

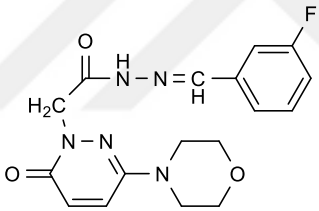


Beyaz kristalize olarak %19.81 verimle elde edilen Y9'un erime derecesi, 101-102ºC olarak tayin edilmiştir. Metanol/su çözücü sistemiyle kristallendirilen Y9, su veya eterde çözünmezken; aseton, etil asetat, kloroform ve metanolde soğukta çözünebilmektedir. Y9'a ait NMR ve HRMS sonuçları aşağıdaki gibidir.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 1.17-1.31 (6H, s, CH_3), 3.21-3.27 (q, 4H, morfolin-CH_2N) 3.84-3.74 (q, 4H, morfolin-CH_2O), 4.78 (1H, s, CH), 5.25 (2H, s, CH_2-CO-), 7.10-7.41 (m, 6H, fenil protonları+piridazinon $H^{4,5}$), 8.63 (1H, s, N=CH), 10.55 (1H, s, CO-NH-N).

$C_{20}H_{25}N_5O_3$ MS (ESI+) (Calc.: 355.40; Found: (M^+; 100.0%).

N'-(3-florobenzeliden)-2-(3-morfolin-6-oksopiridazin-1(6H)-il)asetohidrazit (Y10)

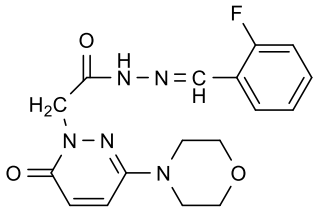


Beyaz kristalize olarak %50.50 verimle elde edilen Y10'un erime derecesi, 88-89ºC olarak tayin edilmiştir. Metanol/su çözücü sistemiyle kristallendirilen Y10, su veya eterde çözünmezken; aseton, etil asetat, kloroform ve metanolde soğukta çözünebilmektedir. Y10'a ait NMR ve HRMS sonuçları aşağıdaki gibidir.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 3.23-3.31 (q, 4H, morfolin-CH_2N) 3.77-3.86 (q, 4H, morfolin-CH_2O), 5.27 (2H, s, CH_2-CO-), 7.13-7.48 (m, 6H, fenil protonları+piridazinon $H^{4,5}$), 7.83 (1H, s, N=CH), 10.12 (1H, s, CO-NH-N).

$C_{17}H_{18}FN_5O_3$ MS (ESI+) (Calc.: 359.36; Found: (M^+; 100.0%).

N'-(2-florobenzeliden)-2-(3-morfolin-6-oksopiridazin-1(6H)-il)asetohidrazit (Y11)

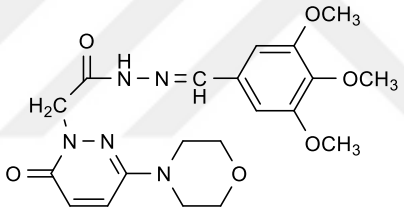


Beyaz kristalize olarak %58.86 verimle elde edilen Y11'in erime derecesi, 137-138°C olarak tayin edilmiştir. Metanol/su çözücü sistemiyle kristallendirilen Y11, su veya eterde çözünmezken; aseton, etil asetat, kloroform ve metanolde soğukta çözünebilmektedir. Y11'e ait NMR ve HRMS sonuçları aşağıdaki gibidir.

^{1}H-NMR (CDCl$_3$, 300 MHz) δ 3.25-3.33 (q, 4H, morfolin-CH_2N) 3.79-3.83 (q, 4H, morfolin-CH_2O), 5.29 (2H, s, CH_2-CO-), 7.12-7.52 (m, 6H, fenil protonları+piridazinon H^{4,5}), 9.09 (1H, s, N=CH), 10.64 (1H, s, CO-NH-N).

$C_{17}H_{18}FN_5O_3$ MS (ESI+) (Calc.: 359.36; Found: (M^+; 100.0%).

N'-(3,4,5-trimetoksibenzeliden)-2-(3-morfolin-6-oksopiridazin-1(6H)-il)asetohidrazit (Y12)



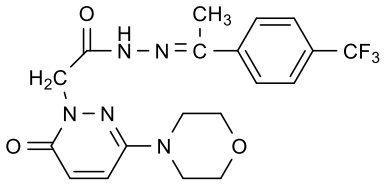
Beyaz kristalize olarak %32.88 verimle elde edilen Y12'nin erime derecesi, 120-121°C olarak tayin edilmiştir. Metanol/su çözücü sistemiyle kristallendirilen Y12, su veya eterde çözünmezken; aseton, etil asetat, kloroform ve metanolde soğukta çözünebilmektedir. Y12'ye ait NMR ve HRMS sonuçları aşağıdaki gibidir.

^{1}H-NMR (CDCl$_3$, 300 MHz) δ 3.22-3.30 (q, 4H, morfolin-CH_2N) 3.78-3.84 (q, 4H, morfolin-CH_2O), 3.89-3.97 (9H, OCH_3), 4.76 (2H, s, CH_2-CO-), 7.13-7.16 (m, 4H, fenil protonları+piridazinon H^{4,5}), 7.27 (1H, s, N=CH), 9.88 (1H, s, CO-NH-N). **^{13}C-NMR (CDCl$_3$, 300 MHz), δ** 14.12 (1C; CH_3), 46.89 (2C; CH_2-N), 56.25 (2C; CH_2-O), 60.99, 61.53, 61.98 (3C; CH_3O), 66.36 (1C; N-CH_2-C=O), 106.74 (1C; N=CH), 125.57 (1C; piridazinon C^5), 131.19 (1C; piridazinon C^2), 131.72 (1C; 3,4,5-trimetoksifenil C^6), 143.64 (1C; 3,4,5-trimetoksifenil C^1) 144.23 (1C; 3,4,5-trimetoksifenil C^3), 148.99 (1C; 3,4,5-trimetoksifenil C^4), 153.53 (1C; 3,4,5-trimetoksifenil C^5), 158.48 (1C; piridazinon

C^6), 167.76 (1C; 3,4,5-trimetoksifenil C^2), 168.32 (1C; -C=O) ve 191.08 (1C; piridazinon C^3).

$C_{19}H_{25}N_5O_5$ MS (ESI+) (Calc.: 401.42; Found: (M^+; 100.0%).

N'-(1-(4-(triflorometil)fenil)etilidene)-2-(3-morfolin-6-oksopiridazin-1(6H)-il) asetohidrazit (Y13)

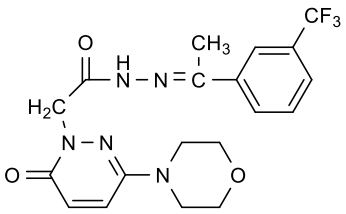


Beyaz kristalize olarak %81.55 verimle elde edilen Y13'ün erime derecesi, 153-154°C olarak tayin edilmiştir. Metanol/su çözücü sistemiyle kristallendirilen Y13, su veya eterde çözünmezken; aseton, etil asetat, kloroform ve metanolde soğukta çözünebilmektedir. Y13'e ait NMR ve HRMS sonuçları aşağıdaki gibidir.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 1.78 (3H, s, N=C-CH_3), 3.25-3.33 (q, 4H, morfolin-CH_2N) 3.71-3.82 (q, 4H, morfolin-CH_2O), 5.31 (2H, s, CH_2-CO-), 7.61-7.72 (m, 6H, fenil protonları+piridazinon $H^{4,5}$), 9.28 (1H, s, CO-NH-N). **^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz), δ** 15.15 (1C; CH_3), 46.69 (2C; CH_2-N), 46.93 (2C; CH_2-O), 53.51 (1C; CH_3O), 66.31 (1C; N-CH_2-C=O), 125.28 (1C; N=CH), 125.38 (1C; piridazinon C^5), 125.47 (1C; piridazinon C^2), 125.87 (1C; CF_3), 126.46 (1C; 4-(triflorometil)fenil C^6), 126.97 (1C; 4-(triflorometil)fenil C^1) 130.82 (1C; 4-(triflorometil)fenil l C^3), 131.17 (1C; 4-(triflorometil)fenil C^4), 146.62 (1C; 4-(triflorometil)fenil C^5), 149.07 (1C; piridazinon C^6), 156.89 (1C; 4-(triflorometil)fenil C^2), 158.81 (1C; -C=O) ve 168.98 (1C; piridazinon C^3).

$C_{19}H_{20}F_3N_5O_3$ MS (ESI+) (Calc.: 423.40; Found: (M^+; 100.0%).

N'-(1-(3-(triflorometil)fenil)etilidene)-2-(3-morfolin-6-oksopiridazin-1(6H)-il) asetohidrazit (Y14)

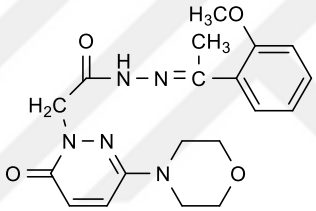


Beyaz kristalize olarak %11.43 verimle elde edilen Y14'ün erime derecesi, 181-182°C olarak tayin edilmiştir. Metanol/su çözücü sistemiyle kristallendirilen Y14, su

veya eterde çözünmezken; aseton, etil asetat, kloroform ve metanolde soğukta çözünebilmektedir. Y14'e ait NMR ve HRMS sonuçları aşağıdaki gibidir.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 1.66 (3H, s, N=C-CH_3), 3.26-3.33 (q, 4H, morfolin-CH_2N) 3.73-3.83 (q, 4H, morfolin-CH_2O), 5.32 (2H, s, CH_2-CO-), 7.48-7.72 (m, 6H, fenil protonları+piridazinon $H^{4,5}$), 8.96 (1H, s, CO-NH-N). **^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz), δ** 15.09 (1C; CH_3), 46.69 (2C; CH_2-N), 46.94 (2C; CH_2-O), 53.50 (1C; CH_3O), 66.39 (1C; N-CH_2-C=O), 123.47 (1C; N=CH), 125.48 (1C; piridazinon C^5), 126.34 (1C; piridazinon C^2), 128.93 (1C; CF_3), 129.32 (1C; 3-(triflorometil)fenil C^6), 129.82 (1C; 3-(triflorometil)fenil C^1) 131.19 (1C; 3-(triflorometil)fenil l C^3), 138.89 (1C; 3-(triflorometil)fenil C^4), 146.43 (1C; 3-(triflorometil)fenil C^5), 149.07 (1C; piridazinon C^6), 156.91 (1C; 3-(triflorometil)fenil C^2), 158.81 (1C; -C=O) ve 168.83 (1C; piridazinon C^3). $C_{19}H_{20}F_3N_5O_3$ MS (ESI+) (Calc.: 423.40; Found: (M^+; 100.0%).

N'-(1-(2-metoksifenil)etilidene)-2-(3-morfolin-6-oksopiridazin-1(6H)-il)asetohidrazit (Y15)

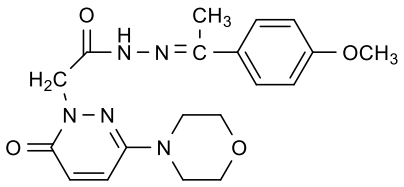


Beyaz kristalize olarak %62.1 verimle elde edilen Y15'in erime derecesi, 249-250°C olarak tayin edilmiştir. Metanol/su çözücü sistemiyle kristallendirilen Y15, su veya eterde çözünmezken; aseton, etil asetat, kloroform ve metanolde soğukta çözünebilmektedir. Y15'e ait NMR ve HRMS sonuçları aşağıdaki gibidir.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 2.23 (3H, s, N=C-CH_3), 3.23-3.32 (q, 4H, morfolin-CH_2N) 3.73-3.83 (q, 4H, morfolin-CH_2O), 5.24 (2H, s, CH_2-CO-), 6.87-7.25 (m, 6H, fenil protonları+piridazinon $H^{4,5}$), 8.67 (1H, s, CO-NH-N). **^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz), δ** 16.27 (1C; CH_3), 46.94 (2C; CH_2-N), 53.52 (2C; CH_2-O), 55.43 (1C; CH_3O), 66.42 (1C; N-CH_2-C=O), 111.06 (1C; N=CH), 111.64 (1C; piridazinon C^5), 120.69 (1C; piridazinon C^2), 125.31 (1C; 2-metoksifenil C^6), 129.60 (1C; 2-metoksifenil C^1) 130.54 (1C; 2-metoksifenil C^3), 131.22 (1C; 2-metoksifenil C^4), 148.93 (1C; 2-metoksifenil C^5), 150.27 (1C; piridazinon C^6), 157.49 (1C; 2-metoksifenil C^2), 158.80 (1C; -C=O) ve 168.59 (1C; piridazinon C^3).

$C_{19}H_{23}N_5O_4$ MS (ESI+) (Calc.: 385.42; Found: (M^+; 100.0%).

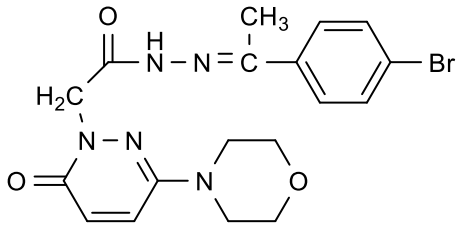
N'-(1-(4-metoksifenil)etilidene)-2-(3-morfolin-6-oksopiridazin-1(6H)-il)asetohidrazit (Y16)



Beyaz kristalize olarak %38.03 verimle elde edilen Y16'nın erime derecesi, 179-180ºC olarak tayin edilmiştir. Metanol/su çözücü sistemiyle kristallendirilen Y16, su veya eterde çözünmezken; aseton, etil asetat, kloroform ve metanolde soğukta çözünebilmektedir. Y16'ya ait NMR ve HRMS sonuçları aşağıdaki gibidir.

^{1}H-NMR (CDCl$_3$, 300 MHz) δ 2.20 (3H, s, N=C-CH$_3$), 3.23-3.34 (q, 4H, morfolin-CH$_2$N) 3.78-3.81 (q, 4H, morfolin-CH$_2$O), 3.87 (3H, s, OCH$_3$), 5.30 (2H, s, CH$_2$-CO-), 6.83-7.01 (m, 6H, fenil protonları+piridazinon H^{4,5}), 9.13 (1H, s, CO-NH-N). **^{13}C-NMR (CDCl$_3$, 300 MHz), δ** 12.52 (1C; N=C-CH$_3$), 46.94 (1C; CH$_3$), 53.52 (2C; CH$_2$-N), 55.37 (2C; CH$_2$-O), 57.44 (1C; CH$_3$O), 66.40 (1C; N-CH$_2$-C=O), 113.65 (1C; N=CH), 125.37 (1C; piridazinon C^5), 127.63 (1C; piridazinon C^2), 128.08 (1C; 4-metoksifenil C^6), 130.20 (1C; 4-metoksifenil C^1) 130.85 (1C; 4-metoksifenil C^2), 131.19 (1C; 4-metoksifenil C^6), 147.85 (1C; 4-metoksifenil C^3), 148.99 (1C; piridazinon C^5), 160.82 (1C; 4-metoksifenil C^4), 163.93 (1C; -C=O) ve 168.72 (1C; piridazinon C^3). $C_{19}H_{23}N_5O_4$ MS (ESI+) (Calc.: 385.42; Found: (M^+; 100.0%).

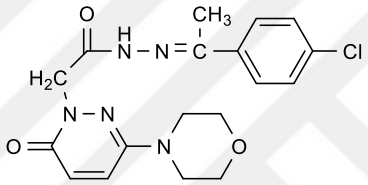
N'-(1-(4-bromofenil)etilidene)-2-(3-morfolin-6-oksopiridazin-1(6H)-il)asetohidrazit (Y17)



Beyaz kristalize olarak %62.21 verimle elde edilen Y17'nin erime derecesi, 198-199ºC olarak tayin edilmiştir. Metanol/su çözücü sistemiyle kristallendirilen Y17, su veya eterde çözünmezken; aseton, etil asetat, kloroform ve metanolde soğukta çözünebilmektedir. Y17'ye ait NMR ve HRMS sonuçları aşağıdaki gibidir.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 2.26 (3H, s, N=C-CH_3), 3.24-3.32 (q, 4H, morfolin-CH_2N) 3.71-3.82 (q, 4H, morfolin-CH_2O), 5.29 (2H, s, CH_2-CO-), 7.42-7.72 (m, 6H, fenil protonları+piridazinon $H^{4,5}$), 9.20 (1H, s, CO-NH-N). **^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz), δ** 12.63 (1C; N=C-$\underline{C}H_3$), 46.94 (2C; CH_2-N), 53.53 (2C; CH_2-O), 66.25 (1C; CH_3O), 66.38 (1C; N-$\underline{C}H_2$-C=O), 123.90 (1C; N=CH), 125.43 (1C; piridazinon C^5), 127.71 (1C; piridazinon C^2), 128.22 (1C; 4-bromofenil C^6), 131.14 (1C; 4-bromofenil C^1) 131.62 (1C; 4-bromofenil C^2), 136.55 (1C; 4-bromofenil C^6), 147.26 (1C; 4-bromofenil C^3), 149.02 (1C; piridazinon C^5), 157.32 (1C; 4-bromofenil C^4), 158.82 (1C; -C=O) ve 169.11 (1C; piridazinon C^3). $C_{18}H_{20}BrN_5O_3$ MS (ESI+) (Calc.: 434.29; Found: (M^+; 100.0%).

N'-(1-(4-klorofenil)etilidene)-2-(3-morfolin-6-oksopiridazin-1(6H)-il)asetohidrazit (Y18)

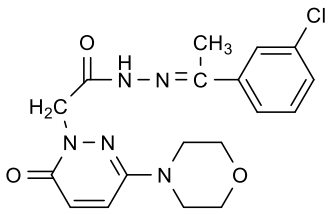


Beyaz kristalize olarak %59.88 verimle elde edilen Y18'in erime derecesi, 190-191°C olarak tayin edilmiştir. Metanol/su çözücü sistemiyle kristallendirilen Y18, su veya eterde çözünmezken; aseton, etil asetat, kloroform ve metanolde soğukta çözünebilmektedir. Y18'e ait NMR ve HRMS sonuçları aşağıdaki gibidir.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 2.27 (3H, s, N=C-CH_3), 3.24-3.32 (q, 4H, morfolin-CH_2N) 3.71-3.82 (q, 4H, morfolin-CH_2O), 5.29 (2H, s, CH_2-CO-), 7.28-7.47 (m, 6H, fenil protonları+piridazinon $H^{4,5}$), 9.22 (1H, s, CO-NH-N). **^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 300 MHz), δ** 12.61 (1C; N=C-$\underline{C}H_3$), 46.94 (2C; CH_2-N), 53.50 (2C; CH_2-O), 66.24 (1C; CH_3O), 66.38 (1C; N-$\underline{C}H_2$-C=O), 125.41 (1C; N=CH), 127.44 (1C; piridazinon C^5), 127.97 (1C; piridazinon C^2), 128.55 (1C; 4-klorofenil C^6), 131.16 (1C; 4-klorofenil C^1) 135.58 (1C; 4-klorofenil C^2), 136.06 (1C; 4-klorofenil C^6), 147.06 (1C; 4-klorofenil C^3), 149.00 (1C; piridazinon C^5), 151.57 (1C; 4-klorofenil C^4), 158.80 (1C; -C=O) ve 168.99 (1C; piridazinon C^3). $C_{18}H_{20}BrN_5O_3$ MS (ESI+) (Calc.: 434.29; Found: (M^+; 100.0%).

$C_{18}H_{20}ClN_5O_3$ MS (ESI+) (Calc.: 389.84; Found: (M^+; 100.0%).

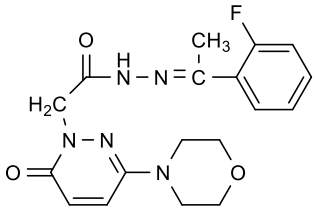
N'-(1-(3-Klorofenil)etilidene)-2-(3-morfolin-6-oksopiridazin-1(6H)-il)asetohidrazit (Y19)



Beyaz kristalize olarak %42.41 verimle elde edilen Y19'un erime derecesi, 194-195º olarak tayin edilmiştir. Metanol/su çözücü sistemiyle kristallendirilen Y19, su veya eterde çözünmezken; aseton, etil asetat, kloroform ve metanolde soğukta çözünebilmektedir. Y19'a ait NMR ve HRMS sonuçları aşağıdaki gibidir.

^{1}H-NMR (CDCl$_3$, 300 MHz) δ 2.27 (3H, s, N=C-CH$_3$), 3.24-3.32 (q, 4H, morfolin-CH$_2$N) 3.70-3.87 (q, 4H, morfolin-CH$_2$O), 5.31 (2H, s, CH$_2$-CO-), 7.31-7.43 (m, 6H, fenil protonları+piridazinon H^{4,5}), 9.36 (1H, s, CO-NH-N). **^{13}C-NMR (CDCl$_3$, 300 MHz), δ** 12.72 (1C; N=C-CH$_3$), 46.70 (2C; CH$_2$-N), 46.95 (2C; CH$_2$-O), 53.56 (1C; CH$_3$O), 66.38 (1C; N-CH$_2$-C=O), 124.32 (1C; N=CH), 126.26 (1C; piridazinon C^5), 126.78 (1C; piridazinon C^2), 129.51 (1C; 3-klorofenil C^6), 129.71 (1C; 3-klorofenil C^1) 131.16 (1C; 3-klorofenil C^2), 134.62 (1C; 3-klorofenil C^6), 139.42 (1C; 3-klorofenil C^3), 146.88 (1C; piridazinon C^5), 149.03 (1C; 3-klorofenil C^4), 158.82 (1C; -C=O) ve 169.12 (1C; piridazinon C^3). C$_{18}$H$_{20}$ClN$_5$O$_3$ MS (ESI+) (Calc.: 389.84; Found: (M$^+$; 100.0%).

N'-(1-(2-florofenil)etilidene)-2-(3-morfolin-6-oksopiridazin-1(6H)-il)asetohidrazit (Y20)



Beyaz kristalize olarak %43.76 verimle elde edilen Y20'nin erime derecesi, 91-92ºC olarak tayin edilmiştir. Metanol/su çözücü sistemiyle kristallendirilen Y20, su veya eterde çözünmezken; aseton, etil asetat, kloroform ve metanolde soğukta çözünebilmektedir. Y20'ye ait NMR ve HRMS sonuçları aşağıdaki gibidir.

^{1}H-NMR (CDCl$_3$, 300 MHz) δ 2.29 (3H, s, N=C-CH$_3$), 3.22-3.33 (q, 4H, morfolin-CH$_2$N) 3.72-3.87 (q, 4H, morfolin-CH$_2$O), 5.25 (2H, s, CH$_2$-CO-), 6.92-7.42 (m, 6H, fenil protonları+piridazinon H^{4,5}), 9.03 (1H, s, CO-NH-N). **^{13}C-NMR (CDCl$_3$,**

300 MHz), δ 15.78 (1C; N=C-$\underline{C}H_3$), 46.70 (2C; CH_2-N), 46.93 (2C; CH_2-O), 53.47 (1C; CH_3O), 66.27 (1C; N-$\underline{C}H_2$-C=O), 116.18 (1C; N=CH), 124.21 (1C; piridazinon C^5), 125.38 (1C; piridazinon C^2), 125.83 (1C; 2-florofenil C^6), 129.60 (1C; 2-florofenil C^1) 130.94 (1C; 2-florofenil C^2), 131.17 (1C; 2-florofenil C^6), 146.56 (1C; 2-florofenil C^3), 148.99 (1C; piridazinon C^5), 158.81 (1C; 2-florofenil C^4), 161.63 (1C; -C=O) ve 168.92 (1C; piridazinon C^3). $C_{18}H_{20}FN_5O_3$ MS (ESI+) (Calc.: 373.39; Found: (M^+; 100.0%).

4.2. Antimonoaminoksidaz Aktivite

Sonuç bileşiklerinin MAO-A/B inhibitör aktivite sonuçları Tablo 4.1'deki gibidir.

Tablo 4.1. Tez sonuç bileşiklerinin (Y1-Y20) rekombinant insan MAO-A/B inhibisyonları

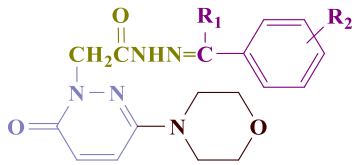
	MAO A	**MAO B**	
	% inhibisyon[a]	**% inhibisyon[a]**	**IC_{50} (μM)**
Y1	19 ± 1	80 ± 1	0.885 ± 0.101
Y2	42 ± 3	42 ± 6	
Y3	31 ± 5	33 ± 3	
Y4	21 ± 5	80 ± 2	0.750 ± 0.065
Y5	39 ± 5	95 ± 1	0.704 ± 0.106
Y6	29 ± 4	31 ± 4	
Y7	24 ± 4	91 ± 1	0.930 ± 0.098
Y8	ni	28 ± 4	
Y9	20 ± 2	25 ± 3	
Y10	30 ± 3	93 ± 1	2.23 ± 0.13
Y11	32 ± 2	98 ± 1	0.453 ± 0.035
Y12	34 ± 1	31 ± 2	
Y13	25 ± 2	72 ± 3	6.01 ± 0.25
Y14	22 ± 4	36 ± 6	
Y15	ni	9 ± 1	
Y16	ni	25 ± 5	
Y17	21 ± 4	48 ± 2	
Y18	24 ± 1	53 ± 3	
Y19	27 ± 5	77 ± 2	11.2 ± 1.1
Y20	24 ± 3	73 ± 3	7.83 ± 0.10

a: 10 μM'de; ni: inhibisyon yok

5. TARTIŞMA

Birçok çalışma, MAO-B inhibitörlerinin erken ve ileri parkinson hastalarında etkili ve güvenli olduğunu göstermiştir. Bu grup ilaçlar, aynı zamanda nöroprotektif potansiyeli ile hastaların motor ve motor olmayan semptomlarını etkili bir şekilde iyileştirebilmekte, ayrıca hastaların uzun vadeli ve standart tedavi ihtiyacını karşılayabilmektedir. Bu nedenle daha yüksek seçicilik, güvenlik ve nöroprotektif etkiye sahip çeşitli yeni MAO-B inhibitörleri geliştirilmesinin, PH gibi nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde hastalara daha derin faydalar sağlayacağına inanılmaktadır. Bu tez kapsamında da MAO-B enzim inhibitörü olarak etki göstereceğini yapılan ön çalışmalarla belirlediğimiz 20 yeni 6-sübstitüe-3(*2H*)-piridazinon-2-asetil-2-(sübstitüebenzalhidrazon) türevi bileşiğin sentezi yapılmış ve enzim inhibitör etkileri in vitro olarak incelenmiştir. Sonuç bileşiklerinin sentezinde sübstitüebenzaldehit/ asetofenonun yanı sıra farklı konumlarında siyano, metoksi, metil, etil, izopropil, triflorometil, bromo, kloro ve floro sübstitüentleri taşıyan benzaldehit ve asetefenon türevleri kullanılarak bu grupların aktiviteye katkıları incelenmiştir. Elde edilen bileşiklerin yapı formülleri, elde reaksiyonlarının verimleri, erime dereceleri, molekül ağırlıkları ve moleküler formülleri Tablo 5.1.'de verilmektedir.

Tablo 5.1. Tez bileşiklerin yapı formülleri, elde reaksiyonlarının verimleri, erime dereceleri, molekül ağırlıkları ve moleküler formülleri

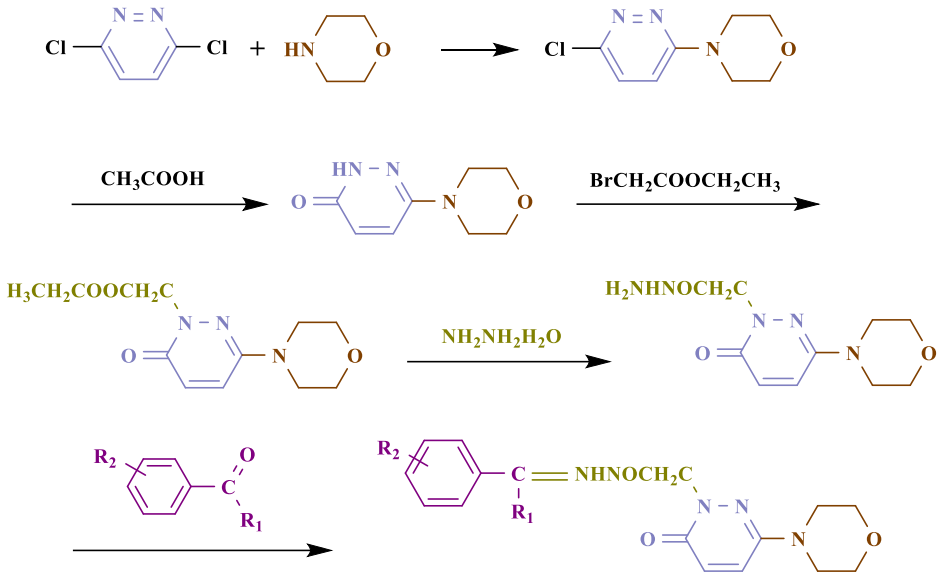


Bileşik	R_1	R_2	Verim (%)	Erime derecesi (°C)	MA	Moleküler formül
Y_1	H	2-CN	21.93	226-228	366.38	$C_{18}H_{18}N_6O_3$
Y_2	H	3-CN	25.93	198-200	366.38	$C_{18}H_{18}N_6O_3$
Y_3	H	2,3-diOCH_3	27.38	203-205	401.42	$C_{19}H_{25}N_5O_5$
Y_4	H	2-OCH_3	85.21	192-194	371.40	$C_{18}H_{21}N_5O_4$
Y_5	H	3-OCH_3	35.04	209-211	371.40	$C_{18}H_{21}N_5O_4$
Y_6	H	4-OCH_3	21.22	239-241	371.40	$C_{18}H_{21}N_5O_4$
Y_7	H	4-CH_3	38.21	237-239	355.40	$C_{18}H_{21}N_5O_3$
Y_8	H	4-C_2H_5	24.55	207-208	369.43	$C_{19}H_{23}N_5O_3$
Y_9	H	4-$CH(CH_3)_2$	19.81	225-226	355.40	$C_{20}H_{25}N_5O_3$
Y_{10}	H	3-F	50.50	178-180	359.36	$C_{17}H_{18}FN_5O_3$
Y_{11}	H	2-F	58.86	148-150	359.36	$C_{17}H_{18}FN_5O_3$
Y_{12}	H	3,4,5-triOCH_3	32.88	224-245	401.42	$C_{19}H_{25}N_5O_5$
Y_{13}	CH_3	4-CF_3	81.55	239-241	423.40	$C_{19}H_{20}F_3N_5O_3$
Y_{14}	CH_3	3-CF_3	11.43	237-239	423.40	$C_{19}H_{20}F_3N_5O_3$
Y_{15}	CH_3	2-OCH_3	62.10	207-208	385.42	$C_{19}H_{23}N_5O_4$
Y_{16}	CH_3	4-OCH_3	38.03	225-226	385.42	$C_{19}H_{23}N_5O_4$
Y_{17}	CH_3	4-Br	69.21	178-180	434.29	$C_{18}H_{20}BrN_5O_3$
Y_{18}	CH_3	4-Cl	59.88	148-150	389.84	$C_{18}H_{20}ClN_5O_3$
Y_{19}	CH_3	3-Cl	42.41	224-245	389.84	$C_{18}H_{20}ClN_5O_3$
Y_{20}	CH_3	2-F	43.76	224-245	373.39	$C_{18}H_{20}FN_5O_3$

5.1. Kimyasal Çalışmalar

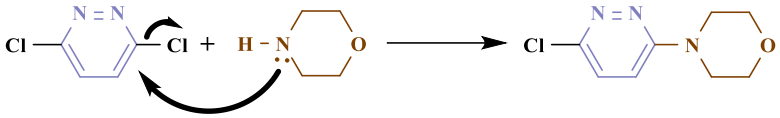
5.1.1. Sentez ve Yapı Aydınlatma Çalışmaları

Tüm sonuç maddeleri ilk defa bu tez kapsamında sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin sentez basamakları aşağıda şematize edilmiştir.

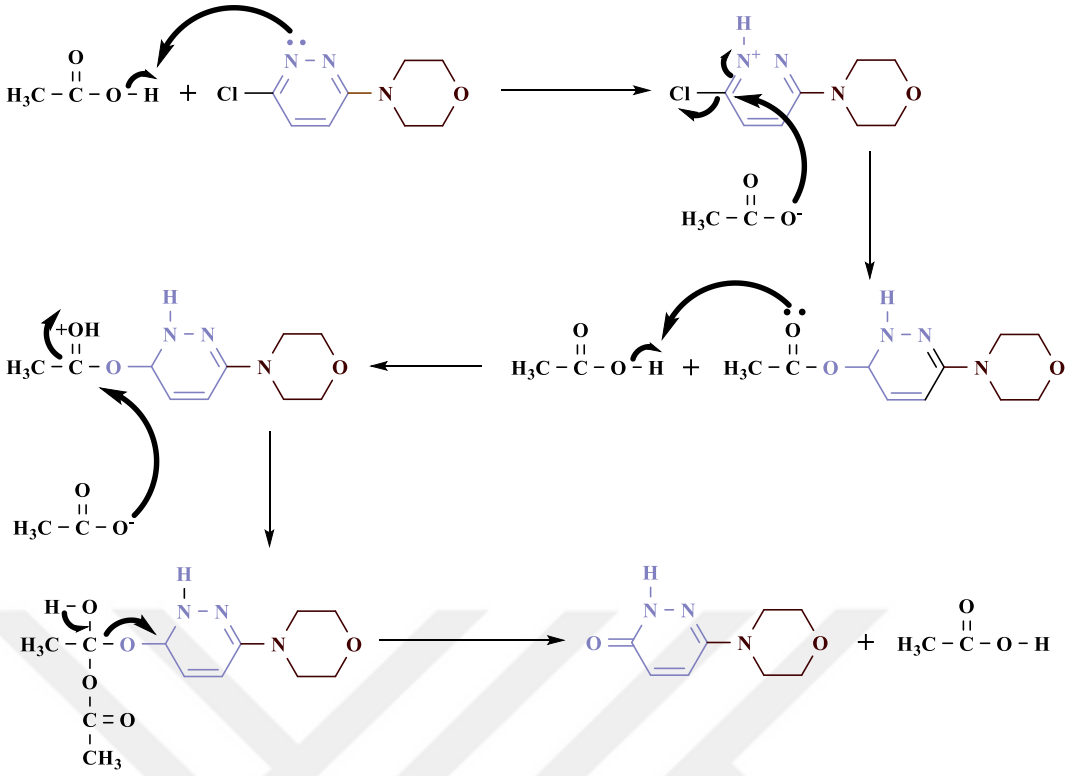


Başlangıç Maddelerinin Sentezi

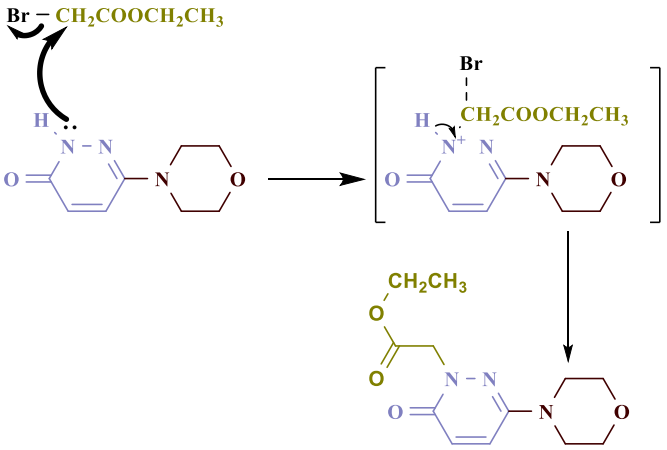
Seçici MAO-B inhibitörü olarak etki göstereceği düşünülen sonuç moleküllerine ulaşmak için senteze ilk olarak satın alınan 3,6-dikloropiridazin ve morfolinin reaksiyonundan PM senteziyle başlanmıştır. Literatürdeki yönteme göre, 1:1 oranında alınan iki başlangıç maddesi etanol içinde 6 saat süren refluksın ardından sentezlenmiştir. Bu reaksiyona ait reaksiyon mekanizması aşağıda açıklanmıştır (13, 53, 80).



Yukarıdaki reaksiyon sonucu oluşan PM bileşiği glasiyel asetik asit içinde 6 saat refluksın ardından %84 verimle PMO bileşiği sentezlenmiştir (13, 53, 80). Bu reaksiyona ait reaksiyon mekanizması aşağıda açıklanmıştır.

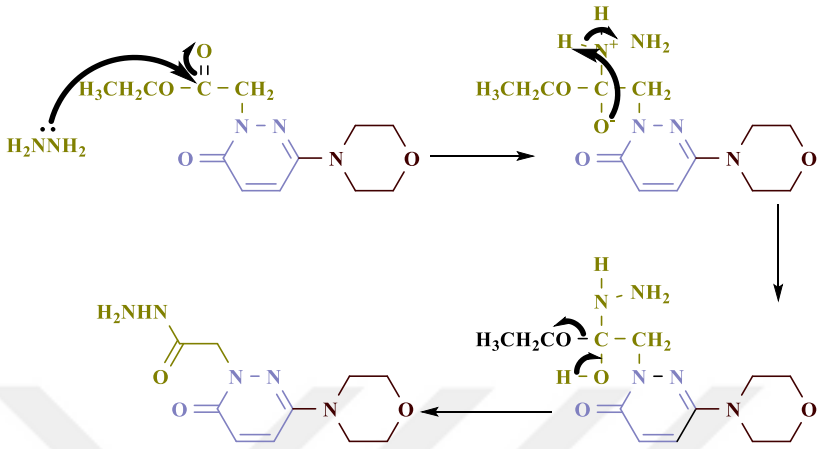


Sonraki aşamada sentezlemek istediğimiz asetat türevi PMOEs, SN^2 reaksiyon mekanizmasıyla piridazinon halkasında bulunan 2. konumdaki N atomunun ortaklanmamış elektronlarının, etil bromoasetattaki broma bağlı karbona atağıyla oluşur. Ortamda bulunan potasyum karbonatın sağladığı bazik ortam sayesinde bahsedilen N atomu nükleofil hale geçer ve brom yüzünden elektron yoğunluğu azalan karbon atomuna atak yapar. Bu reaksiyona ait reaksiyon mekanizması aşağıda açıklanmıştır.



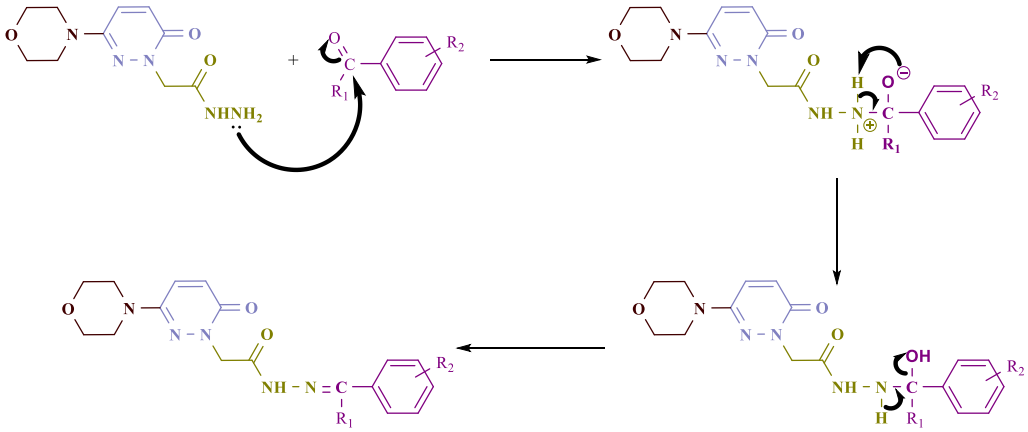
Tezdeki sonuç bileşiklerinin sentezine başlamak için son basamakta sentezlenecek PMN, ester türevi PMOEs ile hidrazin hidrat 3 saat oda sıcaklığında

karıştırılmasıyla oluşur. Nükleofil olan hidrazin hidratın karbonilin karbona atağa geçmesiyle ilk olarak katım reaksiyonu, hemen ardından molekülden ayrılan alkolle karbon ile oksijen arasındaki çifte bağın oluşmasıyla eliminasyon reaksiyonu gerçekleşir. Bu reaksiyona ait reaksiyon mekanizması aşağıda açıklanmıştır.



Sonuç Bileşiklerinin Sentezi

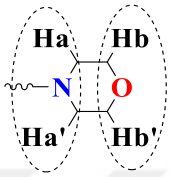
Son olarak sonuç maddeleri, başlangıç maddesi olan PMN sübstitüe benzaldehit ve asetofenon türevleriyle reaksiyonundan sentezlenir. Ester türevinden hidrazit türevi sentezinde de olduğu gibi ilk olarak, hidrazindeki azot atomunun ortaklanmamış elektronları, benzaldehit/asetofenonun karbonilindeki karbona nükleofilik bir atakla katım reaksiyonu gerçekleşir. Sonrasında ise yapıdan çıkan su molekülüyle karbon azot çifte bağı oluşur (eliminasyon) (80). Bu reaksiyona ait reaksiyon mekanizması aşağıda açıklanmıştır.



Spektral Analizlerle Yapıların Aydınlatılması

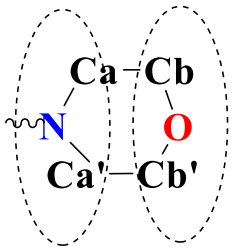
Bu tez sürecinde sentezlenen bileşiklerin yapıları, çeşitli saflaştırma yöntemleriyle saflaştırıldıktan sonra ^{1}H ve ^{13}C-NMR ve kütle spektroskopisi yöntemleriyle aydınlatılmıştır.

Tüm sonuç bileşiklerinin ^{1}H-NMR sprektrumlarında bulunan 6.83-7.83 ppm aralığında pik, piridazinon halkasının 4. ve 5. konumundaki hidrojenler vermiştir. Ayrıca spektrumlarda yapıdaki morfolin halkasının protonları, iki grup şeklinde pik vermiştir (84).



Yukarıda verilen morfolin halkasına ait hidrojenler Ha ve Ha' eşdeğer protonlardır. Aynı durum Hb ve Hb' protonlarında da gözlenmektedir. Sentezlenen 20 sonuç bileşiğinde de olan morfolin halkasındaki azota bağlı olan Ha ve Ha' protonları 3.21-3.34 ppm de çıkarken Hb ve Hb' protonları biraz daha ileride 3.70-4.00 ppm arasında kuartet pikler vermiştir. Başlangıç maddesi olarak sentezlenen PMO'nun ^{1}H-NMR sprektrumlarında bulunan 10.40-10.50 ppm arasında singlet pik, ana iskeletde yer alan piridazinonun 2. konumdaki azotu üzerindeki N-H protonudur. Aynı pikin sonraki basamakta sentezlenen PMOEs'te gözlenmemesi reaksiyonun başarıyla gerçekleştiğini kanıtlamaktadır. Aynı şekilde son başalngıç maddesi PMN'nin spektrumlarında, PMOEs'te gözlenen triplet CH_3 pikinin gözlenmemesi PMN sentezinin de başarıyla gerçekleştiğini kanıtlar niteliktedir (13, 79, 84).

Tez kapsamında ilk defa sentezlenen **Y1-Y20** bileşiklerinin yapılarındaki aromatik protonlar 6.83-7.83 ppm aralığında, NH'a ait pikler ise 8.67-10.90 aralığında singlet olarak gözlenmektedir (79). Sonuç maddelerinde benzaldehit türevi olan bileşiklerdeki **(Y1-Y12)** N=C<u>H</u> yapısındaki protonlar 7.27-9.32 ppm aralığında singlet olarak gözlenmektedir. Asetefenon türevlerindeki N=C(C<u>H</u>$_3$) yapısındaki protonlar ise … ppm de singlet olarak gözlenmektedir.

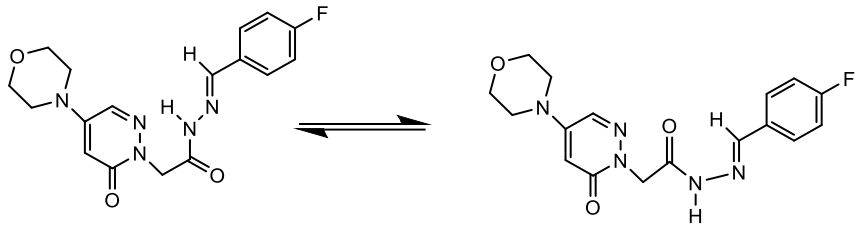


Yukarıda verilen morfolin halkasına ait karbonlar Ca ve Ca' eşdeğer karbonlardır. Aynı durum Cb ve Cb' karbonlarında da gözlenmektedir. Bileşiklere ait ^{13}C-NMR spektrumlarında 46.69-53.52 ppm ve 46.93-56.25 ppm aralığındaki pikler, morfolinin eşdeğer karbonlarına aittir. 55.43-61.98 ppm aralığında gözlenen pikler, fenilhidrazonun metil ve metoksi sübstitüenlerine ait piklerdir. 111.64-161.86 ppm aralığındakiler ise hem aromatik karbonların hem de piridazinon halkasındaki 4., 5. ve 6. karbonlara ait piklerdir. Piridazinon halkasının 3. karbonu ise yapısının N-C=O şeklinde olmasından dolayı 167.76-191.08 ppm aralığında gözlenmiştir (85).

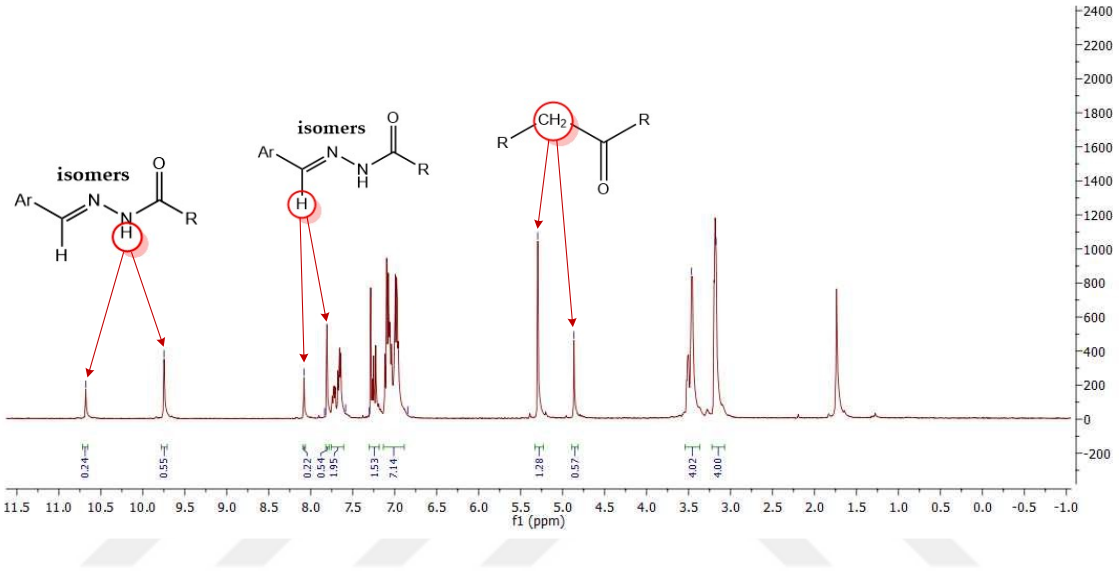
Bileşiklere ait NMR spektrumları dikkatlice incelendiğinde bileşiklerin stereoizomerik iki formu gözlenmektedir. Örnek olarak Y20 bileşiğini, ^{1}H-NMR spektrumunda iki izomerik form olarak gözlenmektedir (Şekil 5.1. A). Karbonile bağlı metilenin rezonansa girdiği 4.87 ve 5.30 ppmdeki iki singlet pik ve hidrazondaki N-H protonunun biri 8.0-8.4 ppmde, diğeri ise 9.5-10.6 ppmde iki farklı singlet pikinin gözlenmesi stereoizomerik iki formun varlığını kanıtlamaktadır (Şekil 5.1. B). Bunun yanısıra piridazinonun 6. karbonu, 4. karbonu ve 4-klorofenilin 5. karbonu C-NMR'da çift olarak gözlenmektedir (Şekil 5.1. C). Spektrumlarda gözlenen bu pikler diğer izomerler gibi iki farklı stereoizomer varlığını kanıtlar niteliktedir.

Bu sinyal çiftleri, bu bileşiklerin, daha önce tarif edilen diğer izomerler gibi iki stereoizomerik formda var olduğunu açıkça göstermektedir (53).

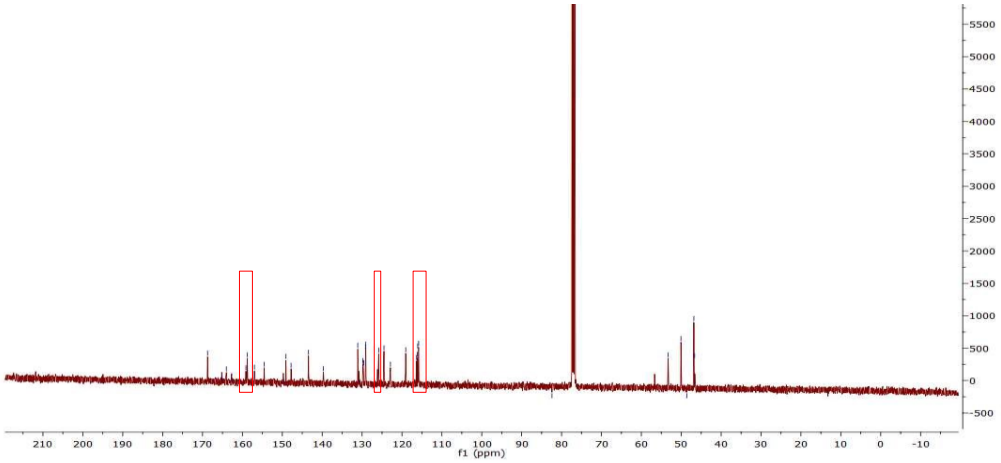
(A)



(B)



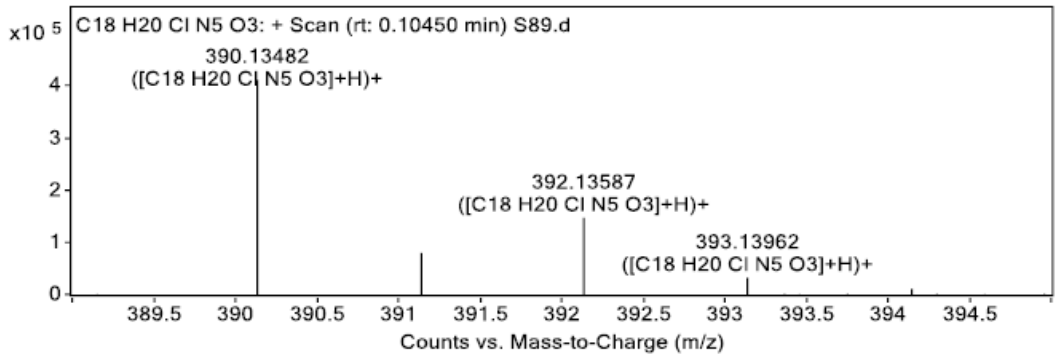
(C)



Şekil 5.1. Bileşik Y20'nin stereoizomerlerinin yapısı (A), ^{1}H-NMR spektrumu (B) ve ^{13}C-NMR spektrumu (C)

Sentezlenen bileşiklerin yapıları ayrıca kütle spektroskopisiyle de aydınlatılmıştır ve bu analiz için TOF MS tekniğiyle elektron spray yöntemi

kullanılmıştır. Bu yöntemler sadece moleküler iyon piki ve izotop piklerinin gözlenebilmiştir. Aşağıda verilen **Y18**'e ait kütle spektrumuna bakıldığında moleküler iyon piki ile M^{+2} pikinin 1:3 şiddetinde olması, Y18'in yapısında klor atomunun varlığını kanıtlamaktadır (Şekil 5.2.).



Şekil 5.2. Y18'in kütle spektrumu

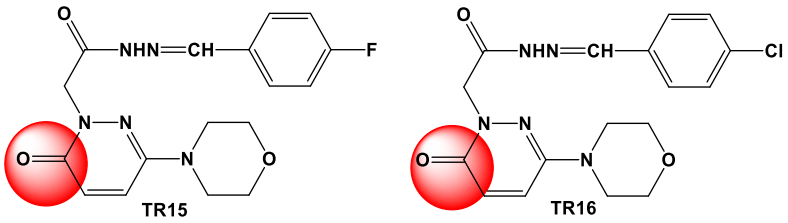
5.2. Aktivite Çalışmaları ve SAR Yorumlaması

Molekül tasarımının gerekçeleri

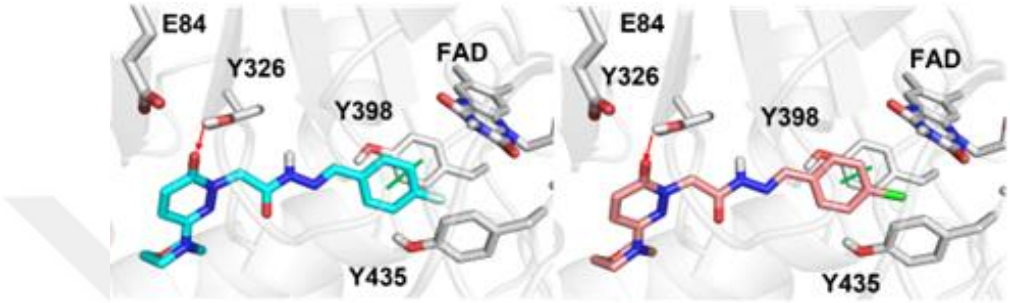
Tez kapsamında seçilen gruplar ve değişimler uygun bir SAR yorumu oluşturabilmek ve bazı önemli ilaç etken moleküllerinde yer alan ve daha önceki çalışmalarımızın sonuçlarıyla da uyumlu olacağı düşünülen fonksiyonel gruplar olarak seçilmiştir.

Piridazinon halkası (Ana yapı)

Piridazinon iskeleti bileşiklerimizde ana iskelet olarak bulunmaktadır. Yukarıda da bahsedildiği üzere çok sayıda biyolojik aktiviteden sorumlu olan heterosiklik piridazinon halkası, yapısında yer alan ortaklaşmamış elektronlar bulunduran azot atomları, karbonil grubu ve pi elektronlarından dolayı ilaç reseptör etkileşmesinde en sık gerçekleşen dipol-dipol etkileşimler ve hidrojen bağı yapma olanağı sağlayacağı düşünülmüştür. Bu durum ekibimiz tarafından daha önce sentezi gerçekleştirilmiş olan piridazinon türevlerinde (Şekil 5.1) de *in silico* çalışmalarla belirlenmiş, çalışmada en aktif bileşikler olarak belirlenen TR15 ve TR16'nın piridazinon halkasının karbonil grubuyla MAO-B enziminin Y326 amino asidinin bir hidrojen bağı oluşturarak seçici MAO-B etkileşmesi yaptığı bulunmuştur (Şekil 5.2).



Şekil 5.3. TR15 ve proje için öncü bileşik olarak belirlenen TR16'nın yapısı

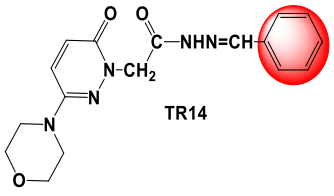
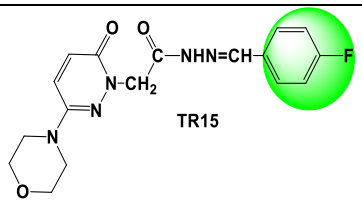
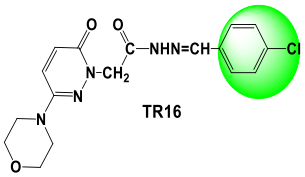


Şekil 5.4. MAO-B bağlama bölgesinde sırasıyla TR15 ve TR 16 kodlu bileşiklerin görünümü. Kırmızı oklar ve yeşil çizgiler sırasıyla hidrojen bağlarını ve π-π etkileşmesini göstermektedir

Sübstitüe fenil

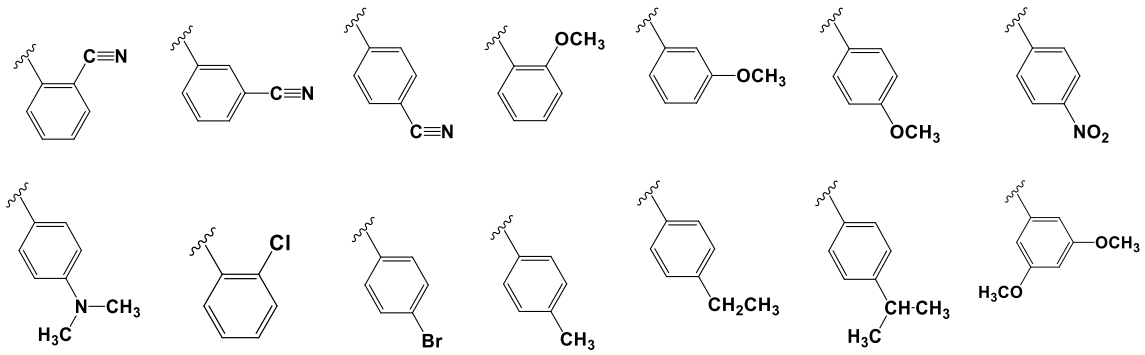
Ekibimiz tarafından daha önce yapılan çalışmalarda ve proje kapsamındaki moleküllerin MAO-B (4A79) ile yapılan moleküler modelleme sonuçları incelendiğinde bileşiklerin amino asitlerle daha çok yapılarındaki fenil halkaları üzerinden etkileştiği görülmüştür. Öncü bileşiğin belirlendiği son çalışmamızda, fenil halkasında sübstitüent taşımayan piridazinon türevinde (TR14) hem MAO-A hem de MAO-B inhibisyonu gözlenmezken, fenil halkasına halojen sübstitüenti eklendiğinde (TR15, TR16) MAO-B inhibitörü etkilerinde artış olduğu görülmüştür (Tablo 5.1).

Tablo 5.2. TR14, TR15 ve TR16 moleküllerinin yapısı ve MAO inhibitörü aktivite sonuçları.

 TR14	 TR15	 TR16	

Compounds	IC_{50} (µM)		SI^b
	MAO-A	MAO-B	
TR14	> 40	> 40	1.00
TR15	> 40	0.43 ± 0.05	> 93.02
TR16	> 40	0.17 ± 0.04	> 235.29
Toloxatone	1.08 ± 0.03	-	
Lazabemide	-	0.11 ± 0.02	
Clorgyline	0.007 ± 0.001	-	
Pargyline	-	0.14 ± 0.01	

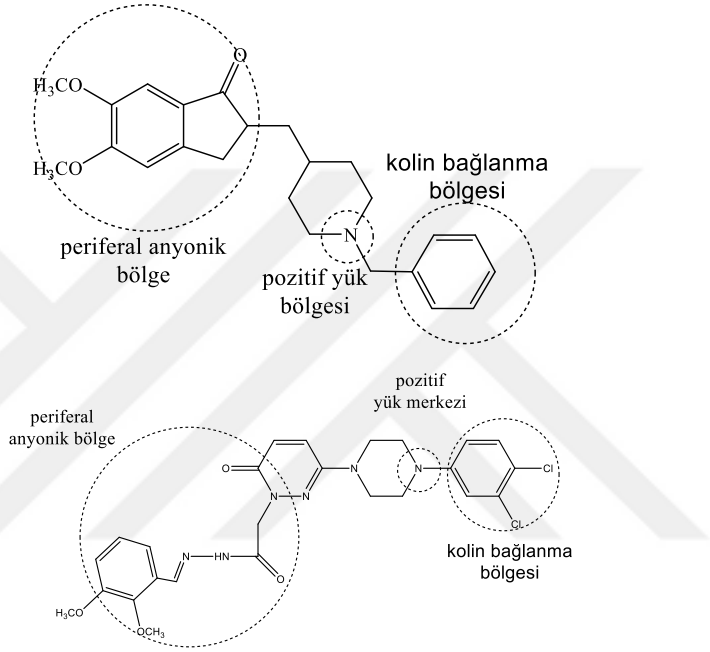
TR16 molekülünün fenil halkası üzerinde farklı konumlara eklenen sübstitüentlerin MAO-B enzimiyle moleküllerin etkileşimindeki değişimlere katkısı incelenmiştir. Eklenen gruplardaki heteroatomlara ait ortaklanmamış elektronlar aracılığıyla enzimle ligand arasında daha yoğun hidrojen bağı etkileşimlerinin gerçekleşebileceği ön görülmüştür. Bu grupta eklenen sübstitüentler aşağıda verilmiştir (Şekil 5.3).



Şekil 5.5. Fenil halkasına eklenecek olan sübstitüentler

6. Konum sübstitüenti (morfolin halkası)

Piridazinon halkasının altıncı konumuna piperazin, piperidin, morfolin gibi çeşitli heterosiklik halkaların ilave edilmesiyle elde edilen türevlerin aktivitelerinin incelendiği çalışmalarda morfolin halkası içeren türevlerin MAO-B seçiciliğinin sağlanmasında etkili olduğunu düşündürmüştür. Donepezile yapısal benzerliğinden yola çıkılarak AChE enzim inhibitörleri olarak tasarlanan ve aktiviteleri belirlenen moleküllerimiz, özellikle bu konumdaki değişiklikle AChE inhibitörü etkiden MAO-B inhibitörü etkiye doğru değişmiştir (Özdemir vd., 2017, Çeçen vd., 2020) (Şekil 5.4).

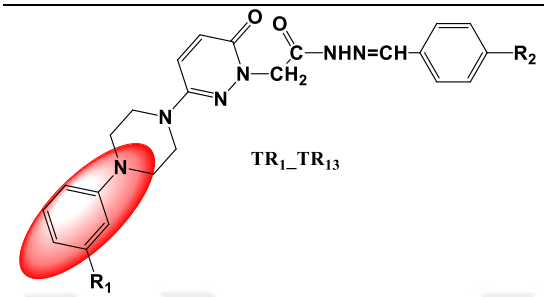


Şekil 5.6. AChE inhibitörleri için yapısal hipotez.

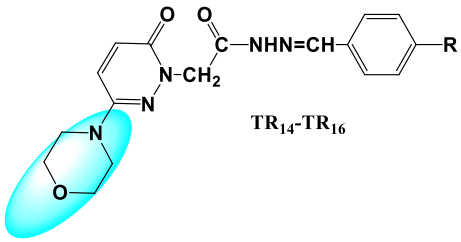
Bu gruba getirilen heterosiklik halkaya ilave olarak eklenen fenil halkası ve üzerindeki sübstitüentler AChE enziminin kolin bağlanma bölgesiyle etkileşime girebilmekte ve böylelikle AChE inhibitörü etki oluşabilmekteydi. Morfolin halkasının eklendiği proje bileşiklerimizin öncüsü olan TR14, TR15 ve TR16 moleküllerinde MAO inhibitörü aktiviteyle beraber AChE inhibitörü etkiler gösterip göstermediği de değerlendirilmiş ve bileşiklerin bu enzim üzerine inhibitör etki göstermediği bulunmuştur. Bu durum bizi asetilkolin dopamin dengesinin asetilkolin lehine bozulduğu Parkinson Hastalığına yönlendirmiş, bileşiklerin asetilkolin seviyesini artırmadan sadece MAO-B'yi inhibe ederek dopamin seviyesini artırması hedeflenmiştir. Eklenen morfolin halkası sadece MAO enzimine bağlanmayı değil aynı zamanda MAO-B seçiciliğinin de oluşmasını sağlamıştır. Bu durum yine öncü bileşiğimizin belirlendiği çalışmada TR2, TR15 ve TR16 bileşiklerinin, hidrofobik

temaslar yoluyla MAO-A bağlanma bölgesi içinde etkileşime girdiğini, bununla birlikte TR15 ve TR16'nın morfolin halkasının, TR2'nin meta-metoksifenil halkası tarafından bağlanmayan bir bağlanma bölgesi olan FAD, Y407 ve Y444'ün aromatik halkalarıyla etkileşerek seçiciliğin sağlandığını ortaya koymuştur (Tablo 5.2, Şekil 5.5).

Tablo 5.3. TR serisi aktivite sonuçları

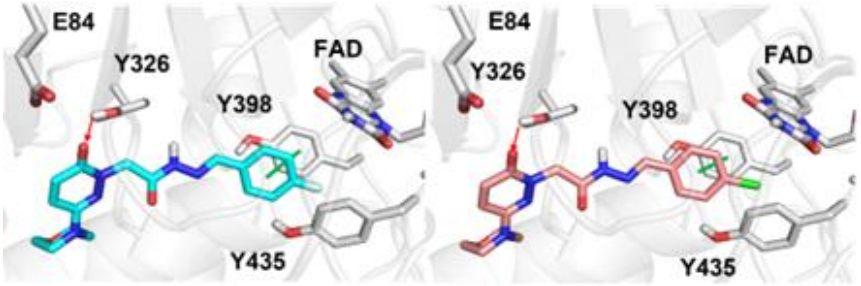


TR_1_TR_{13}



TR_{14}-TR_{16}

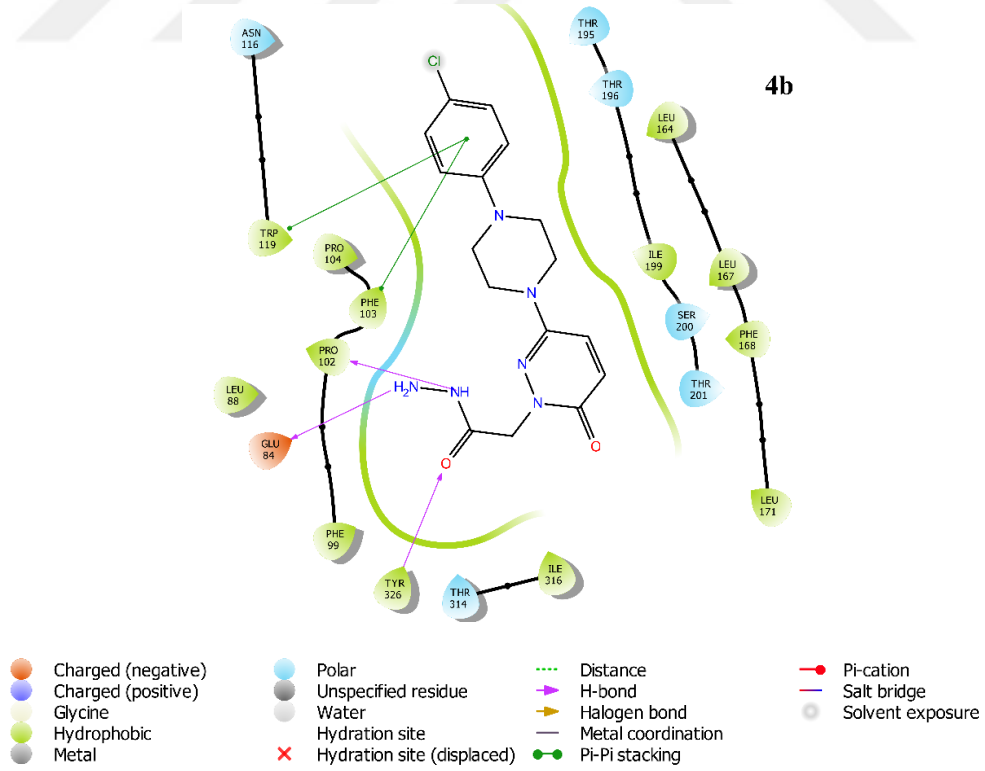
Compounds	IC_{50} (µM)		SI^b
	MAO-A	MAO-B	
TR1	17.32 ± 1.20	> 40	< 0.43
TR2	22.94 ± 0.24	0.27 ± 0.02	84.96
TR3	19.65 ± 0.30	2.11 ± 0.51	9.31
TR4	16.53 ± 1.66	> 40	< 0.41
TR5	18.19 ± 0.09	4.42 ± 0.23	4.12
TR6	12.33 ± 0.11	15.12 ± 0.18	0.81
TR7	14.43 ± 3.55	> 40	< 0.36
TR8	12.02 ± 1.75	20.00 ± 0.00	0.60
TR9	17.08 ± 0.21	1.00 ± 0.15	17.08
TR10	13.28 ± 1.81	> 40	< 0.33
TR11	18.54 ± 5.83	13.58 ± 0.11	0.46
TR12	14.72 ± 2.96	> 40	< 0.37
TR13	31.0 ± 4.33	> 40	< 0.78
TR14	> 40	> 40	1.00
TR15	> 40	0.43 ± 0.05	> 93.02
TR16	> 40	0.17 ± 0.04	> 235.29
Toloxatone	1.08 ± 0.03	-	
Lazabemide	-	0.11 ± 0.02	
Clorgyline	0.007 ± 0.001	-	
Pargyline	-	0.14 ± 0.01	



Şekil 5.7. TR16 kodlu bileşiğimizin MAO-B inhibitörü etkileri ve enzime bağlanma profilleri

Hidrazon

Ekibimiz tarafından daha önce sentezi gerçekleştirilmiş hidrazit türevlerinde bu kısmında yer alan NH grubu ve karbonil grubu ile MAO-B'nin TRY326, GLU84 ve PRO102 amino asitleri arasında hidrojen bağları yaptığı gözlenmiş ve bu kısmın tüm bileşiklerde korunmuştur (Özdemir vd., 2020). Yukarıda açıklandığı gibi daha sonradan yapılan çalışma sonuçları, eklenen fenil halkasıyla grubun uzatılmasının sağlanması ve fenil halkası üzerindeki sübstitüentlerle ekstra hidrojen bağlarının ilavesi bu grubun çeşitli benzaldehit ve asetofenon türevleriyle hidrazon yapısına dönüştürülmesini gerekli kılmıştır (Şekil 5.6).



Şekil 5.8. Hidrazit grubu taşıyan molekül ile MAO-B etkileşimi (Özdemir vd., 2020).

Bu tez kapsamında, çeşitli asetofenon ve benzaldehit türevleriyle piridazinon yapısı taşıyan hidrazitlerin reaksiyonu sonucu literatürde kayıtlı olmayan 20 hidrazon türevinin sentezi yapılmış ve MAO-B inhibitörü etkileri değerlendirilmiştir. Böylece bu çalışma ile yeni sentezlenen piridazinon türevlerinin MAO-B inhibitörü etkileri incelenmiş, bu bileşiklerin Parkinson tedavisinde kullanılan selejilin gibi enzim inhibitörü ilaçlarla aktivite potansiyelleri kıyaslanmıştır.

Kurgulanan hipoteze göre tez kapsamında sentezlenen bileşiklerin in vitro MAO-A/MAO-B inhibitör aktiviteleri Bari Aldo Moro Üniversitesi Eczacılık ve İlaç Bilimleri Bölümü Araştırma Laboratuvarında incelenmiştir. Testler bileşiklerin (**Y1-Y20**), 5 farklı konsantrasyonundaki dozları (5, 10, 20, 50, 100 µg/ml) kullanılarak enzim inhibisyon yüzdeleri belirlenmiştir. Elde edilen test sonuçlarına göre (Bkz. Tablo x.):

- Test edilen bileşikler yüksek ve seçici MAO-B enzim inhibisyonu etki göstermişlerdir.
- Bileşiklerin MAO-A inhibitörü etkileri oldukça düşük çıkmış; bileşik **Y8**, **Y15** ve **Y16** hiç MAO-A inhibitörü etki göstermemiştir.
- %98 ve %95 MAO-B enzim inhibisyonu yüzdesine sahip **Y11** ve **Y5** en yüksek inhibitör aktivite göstermiştir.
- Fenil halkası üzerindeki sübstitüentleri aktiviteye katkısının incelendiği bu çalışmada orto ve meta sübstitüe türevlerin daha aktif olduğu gözlenmiştir. Özellikle orto ve meta floro türevleri ile meta metoksi türevi bileşik oldukça yüksek enzim inhibitörü aktivite göstermiştir. Para metoksi türevinin düşük aktiviteli olması aktif bileşiklerin meta ve orto konumlarındaki sübstitüentlerden kaynaklı bir hidrojen bağı yaptığını düşündürmüş ve sonuçlar *in siliko* modelleme çalışmalarıyla da desteklenmiştir.
- Para konumda halojen veya metoksi içeren türevlerde aktivite düşükken para metil türevi yüksek aktivite göstermiştir. Bu durum alkil zincirinin uzatıldığı etil ve izopropil türevlerinde ortadan kalkmıştır. Para konumuna ilave edilen metil grubu muhtemel bir hidrofobik etkileşmeyi sağlarken grubun uzaması etkileşme için büyük ve hacimli hidrofobik grupların olumsuz etki oluşturduğunu göstermiştir.
- Bu tez kapsamında, yapı-aktivite ilişkilerinin belirlenmesi amacıyla yapılan modifikasyonlar ileri çalışmalara ışık tutacak ve en aktif kolinesteraz inhibitörlerine ulaşmayı sağlayacaktır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez kapsamında MAO enzim inhibitörü olarak, 3(*2H*)-piridazinon ana halkası taşıyan 20 yeni bileşik hazırlanmış ve bileşiklerin seçici MAO-B inhibitör etkileri ortaya konmuştur.

Parkinson Hastalığında gözlenen düşük dopamin seviyelerinden dolayı hastalığın tedavisinde hedef olarak seçilen MAO enzimleri üzerinde yapılan in vitro inhibisyon çalışmalarını içeren tez kapsamında oldukça yüksek inhibitör aktivite gösteren bileşiklere ulaşılmıştır. Bileşiklerin seçici MAO-B inhibitörü etki göstermeleri PH'de aday olabilmesi açısından umut verici bulunmuştur. MAO-A inhibitörleri antidepresan etkiliyken, MAO-B inhibitörleri daha çok PH tedavisinde kullanılmaktadır. Bu durum ileri çalışmalar planlanmasına olanak sağlamış, en aktif inhibitör etki gösteren bileşiklerin öncelikle kan-beyin bariyeri geçişlerinin *in vivo* olarak belirlenmesi planlanmıştır. Sonrasında ise yüksek aktiviteye sahip bileşiklerin PH modeli geliştirilmiş deney hayvanlarında *in vivo* aktivite çalışmalarının yapılması da planlanmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Özdemir Z, Alagöz MA, Bahçecioğlu ÖF, Gök S. Monoamine oxidase-B (MAO-B) inhibitors in the treatment of Alzheimer's and Parkinson's disease. Current medicinal chemistry. 2021;28(29):6045-65.
2. Carradori S, Silvestri R. New Frontiers in Selective Human MAO-B Inhibitors. J Med Chem. 2015;58(17):6717-32.
3. Edmondson DE, Binda C, Wang J, Upadhyay AK, Mattevi A. Molecular and mechanistic properties of the membrane-bound mitochondrial monoamine oxidases. Biochemistry. 2009;48(20):4220-30.
4. Lamensdorf I, Youdim MB, Finberg JP. Effect of long-term treatment with selective monoamine oxidase A and B inhibitors on dopamine release from rat striatum in vivo. Journal of neurochemistry. 1996;67(4):1532-9.
5. Baweja GS, Gupta S, Kumar B, Patel P, Asati V. Recent updates on structural insights of MAO-B inhibitors: a review on target-based approach. Molecular Diversity. 2023.
6. Kumar S, Oh JM, Abdelgawad MA, Abourehab MAS, Tengli AK, Singh AK, et al. Development of Isopropyl-Tailed Chalcones as a New Class of Selective MAO-B Inhibitors for the Treatment of Parkinson's Disorder. ACS Omega. 2023;8(7):6908-17.
7. Behl T, Kaur D, Sehgal A, Singh S, Sharma N, Zengin G, et al. Role of Monoamine Oxidase Activity in Alzheimer's Disease: An Insight into the Therapeutic Potential of Inhibitors. Molecules. 2021;26(12).
8. Bette S, Shpiner DS, Singer C, Moore H. Safinamide in the management of patients with Parkinson's disease not stabilized on levodopa: a review of the current clinical evidence. Ther Clin Risk Manag. 2018;14:1737-45.
9. Regensburger M, Ip CW, Kohl Z, Schrader C, Urban PP, Kassubek J, Jost WH. Clinical benefit of MAO-B and COMT inhibition in Parkinson's disease: practical considerations. J Neural Transm (Vienna). 2023;130(6):847-61.
10. Mhyre TR, Boyd JT, Hamill RW, Maguire-Zeiss KA. Parkinson's disease. Subcell Biochem. 2012;65:389-455.

11. DeMaagd G, Philip A. Part 2: Introduction to the Pharmacotherapy of Parkinson's Disease, With a Focus on the Use of Dopaminergic Agents. P t. 2015;40(9):590-600.
12. Müller T. Levodopa/carbidopa and entacapone in the treatment of Parkinson's disease: efficacy, safety and patient preference. Patient Prefer Adherence. 2009;3:51-9.
13. Çeçen M, Oh JM, Özdemir Z, Büyüktuncel SE, Uysal M, Abdelgawad MA, et al. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Pyridazinones Containing the (2-Fluorophenyl) Piperazine Moiety as Selective MAO-B Inhibitors. Molecules. 2020;25(22).
14. Lapinski L, Fulara J, Czerminski R, Nowak MJ. Infrared matrix isolation and ab initio studies of 3 (2H)-pyridazinone and photoproduced 3-hyroxypyridazine. Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy. 1990;46(7):1087-96.
15. Matrai PA, Vernet M. Dynamics of the vernal bloom in the marginal ice zone of the Barents Sea: Dimethyl sulfide and dimethylsulfoniopropionate budgets. Journal of Geophysical Research: Oceans. 1997;102(C10):22965-79.
16. Bozbey İ, Özdemir Z, Uslu H, Özçelik AB, Şenol FS, Orhan İ E, Uysal M. A Series of New Hydrazone Derivatives: Synthesis, Molecular Docking and Anticholinesterase Activity Studies. Mini Rev Med Chem. 2020;20(11):1042-60.
17. Özdemir Z, Utku S, Mathew B, Carradori S, Orlando G, Di Simone S, et al. Synthesis and biological evaluation of new 3 (2 H)-pyridazinone derivatives as non-toxic anti-proliferative compounds against human colon carcinoma HCT116 cells. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry. 2020;35(1):1100-9.
18. Gallo JM. Pharmacokinetic/ pharmacodynamic-driven drug development. Mt Sinai J Med. 2010;77(4):381-8.
19. Parkinson J. An essay on the shaking palsy. 1817. J Neuropsychiatry Clin Neurosci. 2002;14(2):223-36; discussion 2.
20. Goetz CG. The history of Parkinson's disease: early clinical descriptions and neurological therapies. Cold Spring Harb Perspect Med. 2011;1(1):a008862.
21. Kumar DR, Aslinia F, Yale SH, Mazza JJ. Jean-Martin Charcot: the father of neurology. Clin Med Res. 2011;9(1):46-9.
22. McDonald C, Gordon G, Hand A, Walker RW, Fisher JM. 200 Years of Parkinson's disease: what have we learnt from James Parkinson? Age Ageing. 2018;47(2):209-14.

23. Engelhardt E, Gomes MDM. Lewy and his inclusion bodies: Discovery and rejection. Dement Neuropsychol. 2017;11(2):198-201.
24. Holdorff B. Centenary of Tretiakoff's thesis on the morphology of Parkinson's disease, evolved on the grounds of encephalitis lethargica pathology. J Hist Neurosci. 2019;28(4):387-98.
25. Lees AJ, Selikhova M, Andrade LA, Duyckaerts C. The black stuff and Konstantin Nikolaevich Tretiakoff. Mov Disord. 2008;23(6):777-83.
26. Fahn S. Parkinson's disease: 10 years of progress, 1997-2007. Mov Disord. 2010;25 Suppl 1:S2-14.
27. Rodríguez-Violante M, Cervantes-Arriaga A, Fahn S, Tolosa E. Two-hundred Years Later: Is Parkinson's Disease a Single Defined Entity? Rev Invest Clin. 2017;69(6):308-13.
28. Foffani G, Obeso JA. A Cortical Pathogenic Theory of Parkinson's Disease. Neuron. 2018;99(6):1116-28.
29. Pajares M, A IR, Manda G, Boscá L, Cuadrado A. Inflammation in Parkinson's Disease: Mechanisms and Therapeutic Implications. Cells. 2020;9(7).
30. Feigin VL, Nichols E, Alam T, Bannick MS, Beghi E, Blake N, et al. Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. The Lancet Neurology. 2019;18(5):459-80.
31. Li J, Aulakh N, Culum I, Roberts AC. Adherence to Non-Pharmacological Interventions in Parkinson's Disease: A Rapid Evidence Assessment of the Literature. J Parkinsons Dis. 2024.
32. Etminan M, Gill S, Samii A. Comparison of the risk of adverse events with pramipexole and ropinirole in patients with Parkinson's disease: a meta-analysis. Drug Saf. 2003;26(6):439-44.
33. Hauser RA, Hsu A, Kell S, Espay AJ, Sethi K, Stacy M, et al. Extended-release carbidopa-levodopa (IPX066) compared with immediate-release carbidopa-levodopa in patients with Parkinson's disease and motor fluctuations: a phase 3 randomised, double-blind trial. Lancet Neurol. 2013;12(4):346-56.
34. Schrag A. Entacapone in the treatment of Parkinson's disease. Lancet Neurol. 2005;4(6):366-70.

35. Ahlskog JE, Muenter MD. Frequency of levodopa-related dyskinesias and motor fluctuations as estimated from the cumulative literature. Mov Disord. 2001;16(3):448-58.
36. Luginger E, Wenning GK, Bösch S, Poewe W. Beneficial effects of amantadine on L-dopa-induced dyskinesias in Parkinson's disease. Mov Disord. 2000;15(5):873-8.
37. Verhagen Metman L, Del Dotto P, van den Munckhof P, Fang J, Mouradian MM, Chase TN. Amantadine as treatment for dyskinesias and motor fluctuations in Parkinson's disease. Neurology. 1998;50(5):1323-6.
38. Thomas A, Iacono D, Luciano AL, Armellino K, Di Iorio A, Onofrj M. Duration of amantadine benefit on dyskinesia of severe Parkinson's disease. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2004;75(1):141-3.
39. Tarsy D. Initial treatment of Parkinson's disease. Curr Treat Options Neurol. 2006;8(3):224-35.
40. Kaplan HA, Machover S, Rabiner A. A study of the effectiveness of drug therapy in parkinsonism. J Nerv Ment Dis. 1954;119(5):398-411.
41. Laurencin C, Danaila T, Broussolle E, Thobois S. Initial treatment of Parkinson's disease in 2016: The 2000 consensus conference revisited. Rev Neurol (Paris). 2016;172(8-9):512-23.
42. Hong CT, Chan L, Wu D, Chen WT, Chien LN. Antiparkinsonism anticholinergics increase dementia risk in patients with Parkinson's disease. Parkinsonism Relat Disord. 2019;65:224-9.
43. Connolly BS, Lang AE. Pharmacological treatment of Parkinson disease: a review. Jama. 2014;311(16):1670-83.
44. Albin RL, Frey KA. Initial agonist treatment of Parkinson disease: a critique. Neurology. 2003;60(3):390-4.
45. Gray R, Ives N, Rick C, Patel S, Gray A, Jenkinson C, et al. Long-term effectiveness of dopamine agonists and monoamine oxidase B inhibitors compared with levodopa as initial treatment for Parkinson's disease (PD MED): a large, open-label, pragmatic randomised trial. Lancet. 2014;384(9949):1196-205.
46. Fox SH, Katzenschlager R, Lim SY, Barton B, de Bie RMA, Seppi K, et al. International Parkinson and movement disorder society evidence-based medicine review: Update on treatments for the motor symptoms of Parkinson's disease. Mov Disord. 2018;33(8):1248-66.

47. Van Gerpen JA, Kumar N, Bower JH, Weigand S, Ahlskog JE. Levodopa-associated dyskinesia risk among Parkinson disease patients in Olmsted County, Minnesota, 1976-1990. Arch Neurol. 2006;63(2):205-9.
48. Turcano P, Mielke MM, Bower JH, Parisi JE, Cutsforth-Gregory JK, Ahlskog JE, Savica R. Levodopa-induced dyskinesia in Parkinson disease: A population-based cohort study. Neurology. 2018;91(24):e2238-e43.
49. Prange S, Danaila T, Laurencin C, Caire C, Metereau E, Merle H, et al. Age and time course of long-term motor and nonmotor complications in Parkinson disease. Neurology. 2019;92(2):e148-e60.
50. Waters CH, Sethi KD, Hauser RA, Molho E, Bertoni JM. Zydis selegiline reduces off time in Parkinson's disease patients with motor fluctuations: a 3-month, randomized, placebo-controlled study. Mov Disord. 2004;19(4):426-32.
51. Ahlskog JE. Challenging conventional wisdom: the etiologic role of dopamine oxidative stress in Parkinson's disease. Mov Disord. 2005;20(3):271-82.
52. Lapinski L, Fulara J, Czerminski R, Nowak MJ. Infrared matrix isolation and ab initio studies of 3(2H)-pyridazinone and photoproduced 3-hyroxypyridazine. Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy. 1990;46(7):1087-96.
53. Özdemir Z, Başak-Türkmen N, Ayhan İ, Çiftçi O, Uysal M. Synthesis of New 6-[4-(2-Fluorophenylpiperazine-1-YL)]-3(2H)-Pyridazinone-2-Acethyl-2-(Substitutedbenzal)Hydrazone Derivatives and Evulation of Their Cytotoxic Effects in Liver and Colon Cancer Cell Lines. Pharmaceutical Chemistry Journal. 2019;52(11):923-9.
54. Katritzky AR. Advances in heterocyclic chemistry: Academic press; 1997.
55. Özdemir Z, Alagöz MA, Uslu H, Karakurt A, Erikci A, Ucar G, Uysal M. Synthesis, molecular modelling and biological activity of some pyridazinone derivatives as selective human monoamine oxidase-B inhibitors. Pharmacological Reports. 2020;72(3):692-704.
56. Daoui S, Direkel Ş, Ibrahim MM, Tüzün B, Chelfi T, Al-Ghorbani M, et al. Synthesis, Spectroscopic Characterization, Antibacterial Activity, and Computational Studies of Novel Pyridazinone Derivatives. Molecules. 2023;28(2):678.
57. Rathi A, Kumar V, Sundar D. Insights into the potential of withanolides as Phosphodiesterase-4 (PDE4D) inhibitors. J Biomol Struct Dyn. 2023;41(6):2108-17.

58. Yeo CD, Kim JW, Ha JH, Kim SJ, Lee SH, Kim IK, Kim YK. Chemopreventive effect of phosphodieasterase-4 inhibition in benzo(a)pyrene-induced murine lung cancer model. Exp Lung Res. 2014;40(10):500-6.
59. Faggiano A, Carugo S, Sinagra G, Merlo M. Levosimendan in cardiac amyloidosis: Unveiling promising paths. Int J Cardiol. 2024;406:131994.
60. Takaya M, Sato M. [Studies on pyridazinone derivatives. XVI. Analgesic-antiinflammatory activities of 3(2H)-pyridazinone derivatives]. Yakugaku Zasshi. 1994;114(2):94-110.
61. Piaz VD, Vergelli C, Giovannoni MP, Scheideler MA, Petrone G, Zaratin P. 4-Amino-3(2H)-pyridazinones bearing arylpiperazinylalkyl groups and related compounds: synthesis and antinociceptive activity. Farmaco. 2003;58(11):1063-71.
62. RabieeRad M, GhasempourDabaghi G, Zare MM, Amani-Beni R. Novel Treatments of Hypertrophic Cardiomyopathy in GDMT for Heart Failure: A State-of-art Review. Curr Probl Cardiol. 2023;48(9):101740.
63. Weishaar RE, Kobylarz-Singer D, Klinkefus BA. New mechanisms for positive inotropic agents: focus on the discovery and development of imazodan. Cardiovasc Drugs Ther. 1989;3(1):29-42.
64. Özçelik AB, Özdemir Z, Sari S, Utku S, Uysal M. A new series of pyridazinone derivatives as cholinesterases inhibitors: Synthesis, in vitro activity and molecular modeling studies. Pharmacological Reports. 2019;71(6):1253-63.
65. Giovannoni MP, Ciciani G, Cilibrizzi A, Crocetti L, Daniele S, Di Cesare Mannelli L, et al. Further studies on pyrazolo[1′,5′:1,6]pyrimido[4,5-d]pyridazin-4(3H)-ones as potent and selective human A1 adenosine receptor antagonists. European Journal of Medicinal Chemistry. 2015;89:32-41.
66. Cao X, Chen Y, Zhang Y, Qiu Y, Yu M, Xu X, et al. Synthesis and biological evaluation of new 6-hydroxypyridazinone benzisoxazoles: Potential multi-receptor-targeting atypical antipsychotics. European Journal of Medicinal Chemistry. 2016;124:713-28.
67. Partap S, Akhtar MJ, Yar MS, Hassan MZ, Siddiqui AA. Pyridazinone hybrids: Design, synthesis and evaluation as potential anticonvulsant agents. Bioorganic Chemistry. 2018;77:74-83.
68. Kourounakis AP, Xanthopoulos D, Tzara A. Morpholine as a privileged structure: A review on the medicinal chemistry and pharmacological activity of morpholine containing bioactive molecules. Medicinal Research Reviews. 2020;40(2):709-52.

69. Al-Ghorbani M, Bushra BA, Mamatha S, Khanum SA. Piperazine and morpholine: Synthetic preview and pharmaceutical applications. Research Journal of Pharmacy and Technology. 2015;8(5):611-28.
70. Naim M, Alam O, Alam M, alam p, shrivastava n. A review on pharmacological profile of Morpholine derivatives. International Journal of Pharmacology and Pharmaceutical Sciences. 2015.
71. Kumar R, Vulichi S, Kapur S. Kumar Rupak, Srinivasa R Vulichi and Kapur Suman (2016) Emphasizing morpholine and its derivatives (MAID): A typical candidates of pharmaceutical importance, Int. J. Chem. Sci., 14(3):1777-88, ISSN: 0972-768X. Int J Chem Sci. 2016;14:1777-88.
72. Aşut G. Hypotension and Peripheral Edema With Moclobemide: A Rare Case Report. J Clin Psychopharmacol. 2024.
73. Masuccio FG, Grange E, Di Giovanni R, Rolla M, Solaro CM. Post-Stroke Depression in Older Adults: An Overview. Drugs Aging. 2024;41(4):303-18.
74. Broen JCA, van Laar JM. Mycophenolate mofetil, azathioprine and tacrolimus: mechanisms in rheumatology. Nature Reviews Rheumatology. 2020;16(3):167-78.
75. Clemett D, Markham A. Linezolid. Drugs. 2000;59(4):815-27.
76. McKeage K. Finafloxacin: First Global Approval. Drugs. 2015;75(6):687-93.
77. Rawluk J, Waller CF. Gefitinib. In: Martens UM, editor. Small Molecules in Oncology. Cham: Springer International Publishing; 2018. p. 235-46.
78. Zhang X, Cai Q, Wang X, Liao K, Hu C, Chen H. Current use of rivaroxaban in elderly patients with venous thromboembolism (VTE). Journal of Thrombosis and Thrombolysis. 2021;52(3):863-71.
79. Önkol T, Gökçe M, Orhan I, Kaynak Onurdağ F. Design, synthesis and evaluation of some novel 3(2H)-pyridazinone-2-yl acetohydrazides as acetylcholinesterase and butyrylcholnesterase inhibitors. Organic Communications. 2013;6:55-67.
80. Özdemir Z, Yılmaz H, Sarı S, Karakurt A, Şenol FS, Uysal M. Design, synthesis, and molecular modeling of new 3 (2 H)-pyridazinone derivatives as acetylcholinesterase/butyrylcholinesterase inhibitors. Medicinal Chemistry Research. 2017;26:2293-308.
81. Utku S, Gökçe M, Orhan I, Sahin MF. Synthesis of novel 6-substituted-3(2H)-pyridazinone-2-acetyl-2-(substituted/-nonsubstituted benzal)hydrazone derivatives and acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activities in vitro. Arzneimittelforschung. 2011;61(1):1-7.

82. Berman HM, Westbrook J, Feng Z, Gilliland G, Bhat TN, Weissig H, et al. The Protein Data Bank. Nucleic Acids Res. 2000;28(1):235-42.
83. Jayan J, Trisciuzzi D, Benny F, Kumar S, Gambacorta N, Catto M, et al. Chalcones with N-Methylpiperazine Moiety: Synthesis, Monoamine Oxidase Inhibition, Neuroprotective Effect and Computer Simulation Study. ChemistrySelect. 2024;9(14):e202400465.
84. Liang L, Yang G, Wang W, Xu F, Niu Y, Sun Q, Xu P. A Copper-Catalyzed Aerobic Cascade Dehydrogenative– Dehalogenative Reaction. Advanced Synthesis & Catalysis. 2013;355.
85. Besada P, Costas T, Vila N, Chessa C, Terán C. Synthesis and complete assignment of the 1H and 13C NMR spectra of 6-substituted and 2,6-disubstituted pyridazin-3(2H)-ones. Magn Reson Chem. 2011;49(7):437-42.

EKLER

EK-1. Özgeçmiş