

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(ARILALKİL)AZOL YAPISINDA YENİ OKSİM ESTER TÜREVLERİ ÜZERİNDE
ÇALIŞMALAR: SENTEZ, BİYOLOJİK AKTİVİTE VE MOLEKÜLER MODELLEME

Dr. Ecz. Suat SARI

FARMASÖTİK KİMYA PROGRAMI
DOKTORA TEZİ

ANKARA

2018

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**(ARİLALKİL)AZOL YAPISINDA YENİ OKSİM ESTER TÜREVLERİ
ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR: SENTEZ, BİYOLOJİK AKTİVİTE VE
MOLEKÜLER MODELLEME**

Dr. Ecz. Suat SARI

**FARMASÖTİK KİMYA PROGRAMI
DOKTORA TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Sevim DALKARA**

ANKARA

2018

(ARILALKİL)AZOL YAPISINDA YENİ OKSİM ESTER TÜREVLERİ ÜZERİNDE
ÇALIŞMALAR: SENTEZ, BİYOLOJİK AKTİVİTE VE MOLEKÜLER MODELLEME

Dr. Ecz. Suat Sarı

Bu çalışma 25.12.2017 tarihinde jürimiz tarafından "Farmasötik Kimya Programı"nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:

Prof. Dr. Ayla Balkan
Hacettepe Üniversitesi



Tez Danışmanı:

Prof. Dr. Sevim Dalkara
Hacettepe Üniversitesi



Üye:

Prof. Dr. Selma Saraç Tarhan
Hacettepe Üniversitesi



Üye:

Doç. Dr. Serdar Durdağı
Bahçeşehir Üniversitesi



Üye:

Doç. Dr. Arzu Karakurt
İnönü Üniversitesi



Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

Tarih 09 Ocak 2018



Prof. Dr. Diclehan Orhan

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında zgn olduğunu, Prof. Dr. Sevim Dalkara danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

19 / 01 / 2018


Dr. Ecz. Suat Sarı

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Tezimin tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.

19 /01/2018



Dr. Ecz. Suat Sarı

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim sırasında, hedeflerime ulaşmak için çıktığım bu zorlu yolda, ilk günden itibaren beni yalnız bırakmayan ve her zaman bir hocadan fazlası olan hocam Sayın Prof. Dr. Sevim Dalkara'ya,

Çalışmalarımın gerçekleşmesi için gerekli onay ve izinleri vererek Anabilim Dalı kaynaklarından yararlanmamı sağlayan Anabilim Dalı başkanı Sayın Prof. Dr. Ayla Balkan'a,

Çalışmalarımda yol gösterici katkı ve yardımlarda bulunan Sayın Prof. Dr. Selma Saraç Tarhan'a ve İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Arzu Karakurt'a,

Tez İzleme Komitesi'nde görev alarak çalışmamıza değerli katkılar sağlayan Bahçeşehir Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Serdar Durdağı'ya,

Bileşiklerimizin antimikrobiyal duyarlılık testlerini yapan Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Didem Kart'a ve antikonvülsan aktivite çalışmalarını yürüten Utah Üniversitesi ETSP ekibine,

Bileşiklerimizin kütle spektrumları için Sayın Prof. Dr. Erhan Palaska'ya, NMR spektrumları ve eleman analizleri için Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Hakan Göker'e ve X ışını kristalografisi çalışmaları için Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Fizik Mühendisliği Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. F. Betül Kaynak'a,

GOLD Suite ile yapılan moleküler modelleme çalışmaları için Auckland Üniversitesi Kimyasal Bilimler Fakültesi öğretim üyesi Sayın Dr. Jóhannes Reynisson'a,

Bileşiklerimizin IR spektal analizlerini yapan ve çalışmalarımın her aşamasında sonsuz sevgisi ve sabrıyla bana destek olan sevgili eşim Sayın Yrd. Doç. Dr. Keriman Özadalı Sarı'ya,

İlgi ve yardımlarını esirgemeyen Anabilim Dalı öğretim üyesi hocalarıma ve araştırma görevlisi arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET

Sarı, S., (Arilalkil)azol Yapısında Yeni Oksim Ester Türevleri Üzerinde Çalışmalar: Sentez, Biyolojik Aktivite ve Moleküler Modelleme, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Kimya Programı Doktora Tezi, Ankara, 2018. Bu çalışmada azol grubu antifungal ilaçların ve özellikle oksikonazolün yapısı esas alınarak tasarlanan (arilalkil)azol yapısında oksim esteri bir seri yeni bileşik, 1-(4-klorofenil)-2-(1H-imidazol-1-il)/2-(1,2,4-triazol-1-il)etanon oksimin, çeşitli karboksilik asitlerle reaksiyonu sonucunda elde edilmiş; yapıları ve saflıkları spektroskopik yöntemler, X ışını kristalografisi ve eleman analizi verileriyle kanıtlanmıştır. Bileşiklerin bazı *Candida* ve bakteri türlerine karşı antimikrobiyal aktiviteleri mikrodilüsyon ve biyofilm yöntemi ile taranmış, bazı bileşiklerde referans ilaçlara yakın veya onlardan daha güçlü antifungal aktivite gözlenmiştir. Azol antifungaller ile (arilalkil)azol antikonvülsan bileşikler arasındaki yapısal benzerliklerden dolayı bileşiklerin NIH Epilepsi Tedavi Tarama Programı (ETSP) kapsamında *in vivo* yöntemlerle antikonvülsan aktiviteleri taranmış, çoğu bileşiğin antikonvülsan tanımlama ve nicelme testlerinde bazı nöbet çeşitlerine karşı koruyuculuk gösterdiği görülmüştür. Moleküler modelleme çalışmalarında bileşikler, fizikokimyasal ve farmakokinetik parametreler açısından bilinen ilaçlara benzer bulunmuştur. Azol antifungallerin hedef enzimi olan *C. albicans'*a ait lanosterol 14- α demetilaz enziminin homoloji modeli oluşturularak, antifungal etkili bileşiklerin bu enzime afiniteleri ve enzimin aktif bölgesiyle etkileşmeleri öngörülmüştür. Bileşiklerin antikonvülsan etkilerinden sorumlu olası hedeflerden A tipi GABA reseptörüne olan afiniteleri ve bu reseptörle etkileşmeleri, literatürde bildirilen bir homoloji modeli üzerinde öngörülmüştür.

Anahtar Kelimeler: (arilalkil)azol, oksim ester, antifungal, antikonvülsan, moleküler modelleme.

Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) (Proje no: 113S060) ve Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (Proje No: TDK-2017-14965, 014 D09 301 001-703 ve TPT-2015-6794) tarafından desteklenmiştir.

ABSTRACT

Sari, S., Studies on New Oxime Ester Derivatives in (Arylalkyl)azole Structure: Synthesis, Biological Activity, and Molecular Modelling, Hacettepe University Faculty of Pharmacy Department of Pharmaceutical Chemistry Doctor of Philosophy Thesis, Ankara, 2018. In this study, a set of novel oxime esters in (arylalkyl)azole structure were designed based on azole antifungals, especially oxiconazole, and synthesized by the reaction of 1-(4-chlorophenyl)-2-(1*H*-imidazol/1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)ethanone oxime with various carboxylic acids. Their structures and purity were confirmed via spectroscopic methods, X ray crystallography, and elemental analyses. Their antimicrobial effects against some *Candida sp.* and bacteria were evaluated using microdilution and biofilm methods. Some of the compounds showed potent antifungal activity compared to the reference drugs. Due to the structural similarities between azole antifungals and (arylalkyl)azole anticonvulsants, the compounds were screened *in vivo* by NIH Epilepsy Therapy Screening Program (ETSP) for their anticonvulsant activities. Most of the compounds were found protective against certain seizure types in anticonvulsant identification and quantification tests. In molecular modeling studies, the compounds were found similar to known drugs regarding their physicochemical and pharmacokinetic properties. A homology model of lanosterol 14- α demethylase of *C. albicans*, the target enzyme of azole antifungals, was built and optimized, the affinity and binding interactions of the compounds of antifungal activity with the active site of this enzyme were predicted. Their affinities and binding interactions with one of the possible targets responsible with their anticonvulsant activities, type A GABA receptor, were predicted on a homology model obtained from the literature.

Keywords: (arylalkyl)azole, oxime ester, antifungal, anticonvulsant, molecular modelling.

This study was funded by The Scientific and Technological Research Council of Turkey (TÜBİTAK) (Grant no: 113S060) ve Hacettepe University Scientific Research Projects Coordination Unit (Grant no: TDK-2017-14965, 014 D09 301 001-703, and TPT-2015-6794).

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	IV
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	V
ETİK BEYAN	VI
TEŞEKKÜR	VII
ÖZET	VIII
ABSTRACT	IX
İÇİNDEKİLER	X
SİMGELER VE KISALTMALAR	XIII
ŞEKİLLER	XVIII
TABLolar	XXIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	7
2.1. Enfeksiyon Hastalıkları ve Antimikrobiyal Kemoterapi	7
2.1.1. Mantar Enfeksiyonları ve Antifungal İlaçlar	7
2.1.2. Bakteriyel Enfeksiyonlar ve Antibiyotikler	24
2.1.3. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri	30
2.2. Epilepsi	33
2.2.1. Epileptik Nöbetlerin Çeşitleri ve Sınıflandırılması	34
2.2.2. Epileptik Mekanizmalar	37
2.2.3. AEİ'lar	53
2.2.4. (Arialkil)azol Grubu Antikonvülsan Bileşikler	62
2.2.5. Epilepsinin Komorbiditeleri ve AEİ'ların Epilepsi Dışındaki Kullanımları	64
2.2.5. Epilepsi Tedavi Tarama Programı	69
2.3. Moleküler Modelleme ve Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı	75
2.3.1. Moleküler Modelleme	75
2.3.2. Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı	77
2.4. (Arialkil)azol Yapısındaki Oksim Esterlerin Kimyası	105
2.4.1. Ariletanon Türevlerinin Halojenlenmesi	106
2.4.2. Azol Halkalarının 2-Halojenoariletanon Türevleri ile <i>N</i> -Alkilasyonu	108

2.4.3. Oksimler ve Sentezi	114
2.4.4. Oksim Esterler ve Sentezi	117
2.4.5. Oksim ve Oksim Esterlerin Spektral Özellikleri	123
3. GEREÇ VE YÖNTEM	128
3.1. Kimyasal Çalışmalar	128
3.1.1. Materyal	128
3.1.2. Sentez Yöntemleri	128
3.1.4. Analitik Yöntemler	130
3.1.5. Spektrometrik Yöntemler	131
3.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	133
3.2.1. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları	133
3.2.2. Antikonvülsan Aktivite Çalışmaları	135
3.3.1. Fizikokimyasal ve Farmakokinetik Parametrelerin Modellenmesi	138
3.3.2. Homoloji Modelleme Çalışmaları	140
3.3.3. MD Simülasyonları Çalışmaları	144
3.3.4. Moleküler Kenetleme Çalışmaları	145
3.4.3. Kenetleme	146
4. BULGULAR	150
4.1. Kimyasal Çalışmalar	150
4.1.2. X Işını Kristalografi Çalışmaları	183
4.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	184
4.2.1. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları	184
4.2.2. Antikonvülsan Aktivite Çalışmaları	187
4.3. Moleküler Modelleme Çalışmaları	191
4.3.1. Fizikokimyasal ve Farmakokinetik Parametrelerin Modellenmesi	191
4.3.2. CACYP51 Homoloji Modeli	194
4.3.3. Moleküler Kenetleme Çalışmaları	202
5. TARTIŞMA	212
5.1. Kimyasal Çalışmalar	213
5.1.1. Sentez Çalışmaları	213

5.2. Biyolojik Aktivite	226
5.2.1. Antimikrobiyal Aktivite	226
5.2.2. Antikonvülsan Aktivite	228
5.3. Moleküler Modelleme	231
5.3.1. Fizikokimyasal ve Farmakokinetik Parametreler	231
5.3.2. Homoloji Modelleme Çalışmaları	232
5.3.3. Moleküler Kenetleme Çalışmaları	233
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	243
7. KAYNAKLAR	247
8. EKLER	
EK-1: Tez Çalışması ile İlgili Araştırma Makaleleri	
EK-2: Tez Çalışması ile İlgili Sözlü Bildiriler	
EK-3: Tez Çalışması ile İlgili Poster Bildirileri	
EK-4: Tez Çalışması ile İlgili Ulusal ve Uluslararası Patentler	
9. ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER ve KISALTMALAR

5-FU	5-Florourasil
5-HT	Serotonin
ABC	ATP-binding cassette
ADD	<i>Antiepileptic Drug Development</i>
ADME+T	Absorpsiyon, dağılım, metabolizma, eliminasyon, toksisite
AEİ	Antiepileptik ilaç
AIDS	<i>Acquired immune deficiency syndrome</i>
AİMD	<i>ab initio</i> moleküler dinamik
AML	Akut miyeloid lösemi
AMPA	α -Amino-2,3-dihidro-5-metil-3-okso-4-izoksazolpropanoik asit
AMPAR	AMPA reseptörü
ASP	<i>Anticonvulsant Screening Project, Astex Statistical Potential</i>
ATPA	(<i>RS</i>)-2-amino-3-(3-hidroksi-5- <i>ter</i> -butilizoksazol-4-il)propanoik asit
ATR	<i>Attenuated total reflectance</i>
BCRP	Meme kanseri direnç proteini
BGT-1	Betain-GABA transporter 1
BLAST	<i>Basic Local Alignment Search Tool</i>
BZD	Benzodiazepin
CACYP51	<i>Candida albicans</i> lanosterol 14- α demetilaz
Ca_v	Voltaj kapılı kalsiyum kanalı
CB₁R	Tip 1 kannabinoid reseptör
CIP	Chan-Ingold-Prelog
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CYP51	Lanosterol 14- α demetilaz
ÇEYA	Toplam çözücü erişir yüzey alanı
DCC	Disikloheksilkarbodiimit
DCU	Disikloheksilüre
DEAD	Dietil azodikarboksilat

DEKA	Asp-Glu-Lys-Ala
DES	Doruk etki süresi
DHF	Dihidrofolik asit
DIC	Diizopropilkarbodiimit
dk.	Dakika
DKM	Diklorometan
DLK	Çift lösün fermuar kinazı
DMAP	4-(<i>N,N</i> -dimetilamino)piridin
DMF	Dimetilformamit
DMSO	Dimetilsülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
DOPE	<i>Discrete optimized protein energy</i>
DZP	Diazepam
EBZ	Eslikarbazepin
EDC	<i>N</i> -(3-dimetilaminopropil)- <i>N'</i> -etilkarbodiimit hidroklorür
EEG	Elektroensefalografi
EF-2	Uzatma faktörü 2
EMBL-EBI	The European Bioinformatics Institute
EPSP	Eksitatör postsinaptik potansiyel
ER	Endoplazmik retikulum
ERG1	Skuvalen epoksidaz
ERG2	$\Delta^{8,7}$ -İzomeraz
ERG24	Δ^{14} -Redüktaz
ETSP	Epilepsy Therapy Screening Program
FBM	Felbamat
FDA	The Food and Drug Administration
FEPOPS	Feature Point Pharmacophores
FNB	Fenobarbital
FNT	Fenitoin
GABA	γ -Aminobütirik asit

GABA_AR	A tipi GABA reseptörü
GABA_BR	B tipi GABA reseptörü
GABA-T	GABA transaminaz
GAT	GABA transporter proteini
GBP	Gabapentin
Glide	Grid-based Ligand Docking with Energetics
GOF	<i>Goodness of fit</i>
GOLD	Genetic Optimisation for Ligand Docking
GPKR	G proteini ile kenetlenen reseptör
H bağı	Hidrojen bağı
HDAC	Histon deasetilaz
hERG	<i>Human ether-a-go-go</i>
HOBt	1-Hidroksibenzotriazol
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
ILAE	International League Against Epilepsy
İPA	İzopropanol
İR	İnfrared
iGluR	İyonotropik glutamat reseptörü
İKZ	İtrakonazol
ip	İntraperitonal
İPSP	İnhibitör postsinaptik potansiyel
İSA	İnsan serum albüminini
IUPAC	The International Union of Pure and Applied Chemistry
KAR	Kainik asit reseptörü
KBB	Kan-beyin bariyeri
KBZ	Karbamazepin
KM	Kuantum mekaniği
KM/MM	Hibrit kuantum mekaniği/moleküler mekanik
K_v	Voltaj kapılı potasyum kanalı
KZP	Klonazepam

LKT	Lakozamit
LMG	Lamotrigin
LRZ	Loreklezol
LVT	Levetirasetam
MD	Moleküler dinamik
MES	Maksimal elektroşok
MFS	Major facilitator superfamily
mGluR	Metabotropik glutamat reseptörü
LSEİ	Lineer serbest enerji ilişkileri
MBEK	Minimum biyofilm eradikasyon konsantrasyonu
MBİK	Minimum biyofilm inhibitör konsantrasyon
MHB	Mueller Hinton Broth
MİK	Minimum inhibitör konsantrasyon
MN	Metabolizma noktası
MOPS	3-(<i>N</i> -morfolino)propanosülfonik asit
MRSA	Metisiline rezistan <i>Staphylococcus aureus</i>
mTLE	Orta temporal lob epilepsisi
nAChR	Nöronal asetilkolin reseptör
Nav	Voltaj kapılı sodyum kanalı
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NIH	National Institutes of Health
NINDS	National Institute of Neurological Disorders and Stroke
NMDA	<i>N</i> -metil-D-aspartat
NMDAR	NMDA reseptörü
NMR	Nükleer manyetik rezonans
NXS	<i>N</i> -halosüksinimit
OBNFLE	Otozomal baskın noktürnal frontal lob epilepsisi
OBZ	Okskarbazepin
OD	Optik dansite
OS	Oda sıcaklığı

PABA	<i>p</i> -Aminobenzoik asit
PAM	Pozitif allosterik modölatör
PAINS	Pan-assay interference compounds
PDB	Protein Data Bank
PGB	Pregabalin
P-gp	P-glikoprotein
PMD	Primidon
PPAR-α	α Peroksisom proliferatör aktivatör reseptör
po	Peroral
QSAR	Kantitatif yapı-aktivite ilişkileri
RMSD	<i>Root mean square deviation</i>
RMSF	<i>Root mean square fluctuation</i>
RNA	Ribonükleik asit
ROC	<i>Receiver operating characteristic</i>
ROS	Reaktif oksijen türleri
SCCYP51	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> lanosterol 14- α demetilaz
scMET	Subkütan metrazol
SSS	Santral sinir sistemi
SV2A	Sinaptik vesikül glikoprotein 2A
TEA	Trietilamin
TGB	Tiagabin
THF	Tetrahidrofuran, tetrahidrofolik asit
TM1-4	Transmembran sarmal 1-4
TNP	Tek nükleotid polimorfizmi
TPR	Topiramamat
UNAM	Ulusal Nanoteknoloji Merkezi
vdW	Van der Waals
VLP	Valproat
YEİ	Yapı-etki ilişkileri
ZNS	Zonisamit

ŞEKİLLER

Şekil		Sayfa
1.1.	Bazı azol antifungaller.	1
1.2.	Azol antifungallerin genel yapısı.	2
1.3.	(Arilalkil)azol grubu antikonvülsan bileşiklerin öncüleri.	3
2.1.	<i>C. albicans</i> 'ın bazı virülans faktörleri ve uyum özellikleri.	9
2.2.	Antifungallerin etki mekanizmaları.	10
2.3.	Lanosterolün C14 α -demetillanoserole dönüştürülmesi ve hemin yapısı.	11
2.4.	Lanosterol bağlı <i>Saccharomyces cerevisiae</i> CYP51 kristal yapısı, enzim aktif bölgesi ve kofaktör etkileşmeleri, aynı enzimin itrakonazol bağlı kristal yapısı, aktif bölgede İKZ ile hem demiri etkileşmesi.	12
2.5.	Azol antifungallerin ortak farmakoforları.	13
2.6.	Azol antifungallerin ilk örnekleri.	13
2.7.	Triazol içeren ilk azol antifungaller.	14
2.8.	Yeni kuşak triazol içeren azol antifungaller.	16
2.9.	<i>ERG11</i> nokta mutasyonu ile CYP51 aktif bölgesinde oluşan önemli bir amino asit değişimi ve direnç mekanizmasına bir örnek.	18
2.10.	Allilamin ve morfolin grubu bazı antifungaller.	20
2.11.	Klinik olarak kullanılan bazı polienler.	21
2.12.	Klinik olarak kullanılan bazı ekinokandinler.	22
2.13.	Farklı etki mekanizmalarına sahip bazı antifungaller.	23
2.14.	İlk antibiyotiklere örnekler.	25
2.15.	Antibiyotikler ve etki mekanizmaları.	26
2.16.	Azol grubu taşıyan bazı antibakteriyel bileşikler.	29
2.17.	Epilepsi çeşitlerinin güncel sınıflandırması.	35
2.18.	Membran aksiyon potansiyeli sırasında voltaj değişimi grafiği.	38
2.19.	Bazı iGluR agonistleri.	39
2.20.	<i>Rattus norvegicus</i> GluN1B-GluN2B NMDAR kristal yapısı.	41
2.21.	NMDAR üzerinden etki gösteren bazı ilaçlar.	42
2.22.	AMPA üzerinden etki gösteren bazı bileşikler.	43

2.23.	$\alpha_1\beta_2\gamma_2$ GABA _A R homoloji modeli.	46
2.24.	Bazı GABA _A R agonist ve antagonistleri.	47
2.25.	Bazı GABA _A R PAM'leri ve pikrotoksin.	49
2.26.	GABA _B R yapısı ve işlevleri.	51
2.27.	Bazı GABA _B R ligandları.	51
2.28.	<i>Arcobacter butzleri</i> Nav kristal yapısı α alt birimi; S5 ve S6 segmentlerinin bir kısmı ile P ilmeği ve porda yer alan önemli kısımlar; insan Nav homoloji modeli S5 ve S6 segmentlerinin bir kısmı, P ilmeği ve DEKA rezidüleri ile merkezi kavitede kenetlenmiş halde FNT.	57
2.29.	(Arilalkil)azollerin genel yapısı.	64
2.30.	Epilepsi ile komorbiditeleri arasındaki ilişki mekanizmaları.	65
2.31.	ETSP protokolü çalışma akışı.	71
2.32.	İnsan triptofan 2,3-dioksijenaz (hTDO) inhibitörleri farmakofor modeli ve bu model üzerine çakıştırılmış bazı hTDO inhibitörleri.	87
2.33.	Şekil ve alan benzerliğinde uygulanan farklı benzerlik yaklaşımları.	88
2.34.	Patel ve ark. (307)'nin çalışmasında iskelet türetme ile farmakokinetik özelliklerin iyileştirilmesi.	91
2.35.	Reynisson ve ark.'nin sanal aktivite tarama akış şeması.	92
2.36.	Sık rastlanan PAINS örnekleri ve interferans mekanizmaları.	95
2.37.	Termodinamik döngü ile pK _a tahmini.	99
2.38.	hERG toksitesi yüksek olduğu için geri çekilen bazı ilaçlar, piyasaya sürüldüğü ve piyasadan çekildiği tarihler.	105
2.39.	(Arilalkil)azol yapısındaki oksim esterlerin sentez akışı.	105
2.40.	Naftačil bromürün İmediata ve ark. (356)'nin yöntemiyle eldesi.	106
2.41.	1-Feniletanon türevlerinin CuBr ₂ ile bromlanması.	106
2.42.	Çeşitli etanon türevlerinin Br ₂ ile doğrudan bromlanması.	107
2.43.	NXS ile halojenleme.	107
2.44.	Asetofenonun oksidatif klordanması.	108
2.45.	Ariletanon türevlerinin halotrimetilsilan nitrat tuzlarıyla halojenlenmesi.	108
2.46.	İmidazolün rezonans sınır şekilleri.	109
2.47.	İmidazolün N-alkilasyon reaksiyonu.	110
2.48.	Azot içeren farklı grupların naftačil bromürle N-alkilasyonu.	110

2.49.	İmidazolün asetonitril içerisinde <i>N</i> -alkilasyonu.	111
2.50.	İmidazol türevlerinin potasyum karbonat varlığında DMF içerisinde <i>N</i> -alkilasyonu.	111
2.51.	1,2,3-Triazol ve 1,2,4-triazolün totomerleri, 1,2,4-triazolün rezonans sınır şekilleri.	112
2.52.	1,2,4-Triazolün 1 numaralı konumdan seçici olarak <i>N</i> -alkilasyonu.	113
2.53.	1,2,4-Triazolün 1-süstitüe türevinin deaminasyonla sentezi.	113
2.54.	1,2,4-Triazolün sodyum tuzu üzerinden <i>N</i> -alkilasyonu.	113
2.55.	1,2,4-Triazolün NaHCO ₃ varlığında <i>N</i> -alkilasyonu.	114
2.56.	Oksimler ve yapısal izomerleri.	114
2.57.	Oksimlerin nomenklatürü.	115
2.58.	Keton türevlerinin hidroksilamin hidroklorür ile oksimleştirilmesi.	116
2.59.	Hidroksilamin ile yapılan oksimleştirmenin basamakları.	116
2.60.	Çeşitli oksimleştirme yöntemleri.	117
2.61.	Steglich esterleşmesi.	118
2.62.	Steglich esterleşmesinde oluşan ara ürün ve 1,3 çevrilmesi.	118
2.63.	DCC ve DMAP yerine kullanılan alternatif bileşikler.	119
2.64.	Steglich esterleşmesi ile oksim ester eldesi.	119
2.65.	EDC ve HOBt katalizörlüğünde oksim ester eldesi.	120
2.66.	Mitsunobu reaksiyonu ile oksim ester sentezi.	120
2.67.	Karboksilik asit anhidritlerle çözücüsüz ya da çözücülü oksim ester sentezi.	121
2.68.	Karboksilik asit anhidritlerle katalizör varlığında oksim ester sentezi.	121
2.69.	Menton oksimin farklı yöntemlerle esterleştirilmesi.	122
2.70.	Açıl halojenürle DMAP ve piridin varlığında oksim ester sentezi.	122
2.71.	Oksim esterlerin nitro bileşiklerinin izosiyanat ve anhidritlerle tepkimesinden elde edilmesi.	123
2.72.	Dihidrofurandion türevleri ile oksim ester sentezi.	123
2.73.	Oksim ve oksim esterlerinin geometrik izomerlerinde ¹ H-NMR spektrumu açısından önemli proton grupları.	124
2.74.	<i>N</i> -[1-(2,4-diklorofenil)-2-(imidazol-1-il)etiliden]hidroksilaminin geometrik izomerleri.	125

2.75.	Oksim izomerlerinde R veya R' gruplarındaki protonların kimyasal kayma değerlerindeki farklılıkları belirleyen Θ açısı.	125
2.76.	Oksimlerde E ve Z izomerlerinin ¹³ C-NMR spektrumlarında kimyasal kayma farklılıklarına örnek.	126
2.77.	Oksimlerin kütle spektrumlarında görülen Beckmann çevrilmesi sonucu oluşan katyon.	127
2.78.	Oksimlere ait kütle spektrumlarında görülen bazı parçalanma piklerine karşılık gelen katyonlar.	127
3.1.	Bileşiklerin genel sentezi.	129
4.1.	Sorgu ve şablon amino asit dizilimlerinin hizalaması.	195
4.2.	CACYP51 modeli ve şablonun ligand bağlanma bölgesi rezidüleri C α atomlarına göre üst üste çakıştırılması.	196
4.3.	CACYP51 modelinin Ramachandran diyagramı.	197
4.4.	CACYP51'in C α atomlarının zamana karşı RMSD grafiği.	200
4.5.	CACYP51'in zamana karşı toplam enerji grafiği.	200
4.6.	CACYP51 rezidülerinin 1 ns sonundaki dalgalanma değerleri grafiği.	201
4.7.	CACYP51 rezidülerinin RMSF değerlerine göre renklendirilmesi.	201
4.8.	CACYP51'in bileşik 13 bağlı ve apo sistemlerinin C α atomlarının zamana karşı RMSD grafiği.	206
4.9.	CACYP51'in bileşik 13 bağlı ve apo sistemlerinde rezidülerinin RMSF değerleri grafiği.	207
5.1.	Bileşik 2'nin sentezi.	213
5.2.	1-(4-Klorofenil)etanonun α konumundan bromlanma mekanizması.	213
5.3.	Bileşik 3a'nın sentezi.	214
5.4.	İmidazolün N-alkilasyon reaksiyonunun mekanizması.	214
5.5.	1,2,4-Triazolün N-alkilasyonu ve reaksiyon mekanizması.	215
5.6.	2-(1H-İmidazol/1H-1,2,4-triazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etanon oksim sentezi.	215
5.7.	2-(1H-İmidazol/1,2,4-triazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etanon oksim sentezinin mekanizması.	216
5.8.	Sonuç bileşiklerinin sentezi.	216
5.9.	Steglich esterleşmesinin mekanizması.	217
5.10.	Bileşik 5'in IR spektrumu.	218

5.11.	Bileşik 15'in ¹ H-NMR spektrumundan kesit.	221
5.12.	Bileşik 28'in ¹³ C-NMR spektrumundan kesit.	222
5.13.	Bileşik 7'nin kütle spektrumu.	223
5.14.	İmidazol türevi sonuç bileşiklerinin bazı kütle parçalanma pikleri.	223
5.15.	Triazol türevi sonuç bileşiklerinin bazı kütle parçalanma pikleri.	224
5.16.	Bileşik 7 ve 8'in Mc Lafferty çevrilmesiyle oluşan parçalanma pikleri.	224
5.17.	Bileşik 8'in ORTEP-3 (576) görüntüsü, bileşik 8'in ve kristal yapıdaki paralel moleküllerin oluşturduğu plakaların birim hücredeki paketlenmesi.	225
5.18.	İKZ'ün CACYP51 aktif bölgesindeki bağlanma pozu ve etkileşmeleri.	234
5.19.	Bileşik 13'ün CACYP51 aktif bölgesinde tüm yazılım ve skorlama fonksiyonlarından elde edilen bağlanma pozları ve GoldScore ile elde edilen pozun bağlanma bölgesindeki rezidülerle etkileşmeleri.	236
5.20.	Bileşik 11, 12, 32 ve 36'nın CACYP51 aktif bölgesinde GoldScore ile elde edilen pozları.	237
5.21.	GABA _A R LRZ bağlanma bölgesinde LRZ'ün Glide tarafından öngörülen bağlanma pozu, bağlanma bölgesindeki rezidülerle etkileşmeleri, GOLD ve Glide tarafından elde edilen bağlanma pozları.	239
5.22.	GABA _A R LRZ bağlanma bölgesinde bileşik 6'nın bağlanma bölgesindeki rezidülerle GoldScore tarafından tahmin edilen etkileşmeleri, bileşik 6'nın GOLD ve Glide tarafından tahmin edilen bağlanma pozları ve bileşik 6-9'un GoldScore tarafından tahmin edilen bağlanma pozları.	240
5.23.	GABA _A R LRZ bağlanma bölgesinde bileşik 6'nın bağlanma bölgesindeki rezidülerle Glide tarafından tahmin edilen etkileşmeleri ve bileşik 6-9'un Glide tarafından tahmin edilen bağlanma pozları.	240
5.24.	GABA _A R BZD bağlanma bölgesinde bileşik 6'nın Glide tarafından tahmin edilen bağlanma bölgesi rezidüleriyle etkileşmeleri, bileşik 6 ve DZP'nin bağlanma pozları, bileşik 6-9'un Glide tarafından tahmin edilen bağlanma pozları ve bileşik 6'nın GOLD ve Glide tarafından tahmin edilen bağlanma pozları.	242

TABLOLAR

Tablo	Sayfa
1.1. Tez kapsamındaki bileşiklerin yapısı	6
2.1. Bazı triazol antifungallerin etki spektrumu	15
2.2. FDA tarafından bugüne kadar antiepileptik kullanımı onaylanmış ilaçlar ve endikasyonları	54
2.3. AEİ'lerin moleküler hedefleri	55
2.4. Bazı AEİ'lerin (FNT, KBZ, OBZ, LMG, ZNS ve BZD'ler) epilepsi dışındaki kullanımları	66
2.5. Bazı AEİ'lerin epilepsi dışındaki kullanımları (TGB, VLP, GBP, LVT, TPR ve PMD)	67
2.6. Bazı popüler ligand-protein kenetleme yazılımları	81
2.7. MN ve metabolit tahmininde kullanılan yaklaşımlar ve yazılımlar	102
2.8. İmidazolün bazı fizikokimyasal özellikleri	109
2.9. 1,2,4-Triazolün bazı fizikokimyasal özellikleri	112
3.1. Sonuç bileşikler için hesaplanan parametrelerin açıklamaları, önerilen değer ya da değer aralıkları	138
3.2. PROCHECK tarafından rezidü başına hesaplanan genel parametreler ve ideal değerleri	141
3.3. Proteinlerde önemli bazı omurga ve yan zincir açıları.	142
3.4. Morris ve ark.'nın model sınıflandırması	143
3.5. Model makromoleküller için üç boyutlu yapı analizi yapan diğer yazılımlar	143
4.1. Bileşik 8'in kristal parametreleri, veri toplama ve arıtım bilgileri	183
4.2. Bileşik 8'in H bağı geometrisi	184
4.3. Bileşik 3-37'nin standart <i>Candida</i> suşları ve flukonazole dirençli <i>C. tropicalis</i> klinik izolatına karşı MİK değerleri ($\mu\text{g/mL}$)	184
4.4. Bileşik 12 ve 13'ün biyofilm pozitif bir <i>C. albicans</i> suşuna karşı MBİK ve MBEK değerleri ($\mu\text{g/mL}$)	186
4.5. Bileşik 3-37'nin standart bakteri suşlarına karşı MİK değerleri ($\mu\text{g/mL}$)	186
4.6. İmidazol türevi bileşiklerin (bileşik 5-18, 21) farelerde ip antikonvülsan tanımlama sonuçları	188

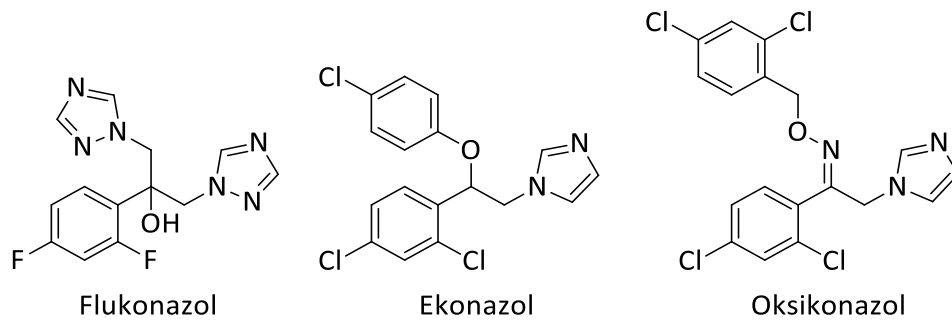
4.7.	Triazol türevlerinin (bileşik 22-36) farelerde ip antikonvülsan tanımlama sonuçları	189
4.8.	Bileşik 6 ve 7'nin sıçanlarda MES ile antikonvülsan tanımlama test sonuçları	190
4.9.	Bileşik 6 ve 7'nin sıçanlarda MES ile antikonvülsan tanımlama test sonuçları	190
4.10.	Bileşik 6'nın nicel korneal kindling oluşturulmuş fare deneyi sonuçları	191
4.11.	İmidazol türevi sonuç bileşikleri için yapılan #yıldız, #rtffG, MA, dipol, ÇEYA, hacim, donörHB, akseptörHB, QPpolrz, QPlogPo/s ve QPlogS hesaplamaları	191
4.12.	İmidazol türevi sonuç bileşikleri için yapılan QPlogHERG, QPPcaco, QPlogKB, QPPMDCK, #metab, QPlogKisa, %oralabsorpsiyon, 5K ve 3K hesaplamaları	192
4.13.	Triazol türevi sonuç bileşikleri için yapılan #yıldız, #rtffG, MA, dipol, ÇEYA, hacim, donörHB, akseptörHB, QPpolrz, QPlogPo/s ve QPlogS hesaplamaları	193
4.14.	Triazol türevi sonuç bileşikleri için yapılan QPlogHERG, QPPcaco, QPlogKB, QPPMDCK, #metab, QPlogKisa, %oralabsorpsiyon, 5K ve 3K hesaplamaları	193
4.15.	Seçilen CACYP51 modelinin kısıt ihlalleri, ihlal sayısı ve ilgili rezidüel/atomlar ile DOPE skoru	195
4.16.	CACYP51 rezidülerinin Ramachandran diyagramındaki dağılımı	197
4.17.	CACYP51 modeli omurgasının stereokimyasal parametreleri	198
4.18.	CACYP51 modeli yan zincirlerinin stereokimyasal parametreleri	198
4.19.	CACYP51 modelinin Morris ve ark. sınıflandırması	198
4.20.	CACYP51 modeli için hesaplanan diğer parametreler	199
4.21.	CACYP51 modelinin G-faktör hesaplamaları	199
4.22.	İKZ'ün CACYP51'e yeniden kenetlenmesi ile elde edilen RMSD değerleri ve skorlar	202
4.23.	Moleküler kenetleme yöntemleri için yapılan zenginleştirme çalışması sonuçları	203
4.24.	İKZ ile CACYP51 arasındaki etkileşimler	203
4.25.	Bileşik 9, 12, 13, 32 ve 36'nın GOLD ve AutoDock ile elde edilen kenetleme skorları	204
4.26.	Bileşik 9, 12, 13, 32 ve 36'nın GOLD'dan elde edilen reseptör etkileşimleri	204

4.27.	Bileşik 9, 12, 13, 32 ve 36'nın AutoDock 4 ve AutoDock Vina'dan elde edilen reseptör etkileşmeleri	205
4.28.	Bileşik 5-9, 11-14, 16 ve LRZ'ün LRZ bağlama bölgesinde GOLD ve Glide ile elde edilen kenetlenme skorları	208
4.29.	Bileşik 6-9 ve LRZ'ün LRZ bağlama bölgesindeki etkileşmeleri	208
4.30.	Bileşik 5-9, 11-14 ve 16'nın BZD bağlama bölgesinde GOLD ve Glide ile elde edilen kenetlenme skorları	210
4.31.	Bileşik 6-9'un DZP bağlama bölgesindeki etkileşmeleri	210

1. GİRİŞ

Mikozların etkeni mantarlar, fotosentetik olmayan tek hücreli ya da çok hücreli ökaryotlardır. *Candida* türü mantarlar insanlarda mikozların ana etkenlerindedir ve hastane enfeksiyonlarında en yaygın dördüncü patojendir (1). Normalde bölgesel seyreden *Candida* enfeksiyonları (kandidiyazis) fırsatçıdır ve bağışıklık sistemi zayıf olan hastalarda (nötropenik hastalar, AIDS hastaları, yoğun bakım hastaları, organ nakli olan veya implantlı hastalar vs.) tüm vücuda yayılır (sistemik ya da invaziv kandidiyazis). Yüksek mortalite oranıyla toplum sağlığını tehdit eden invaziv kandidiyaziste en sık izole edilen tür *Candida albicans*'tır; ancak son yıllarda albicans olmayan *Candida* türlerinin (ör.: *C. dubliniensis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* ve *C. parapsilosis*) neden olduğu enfeksiyonlarda artış gözlenmekte, bu enfeksiyonlara özellikle yüksek mortalite ve ilaç direnci eşlik etmektedir (2-4).

Kandidiyaziste yaygın olarak kullanılan azol antifungaller (Şekil 1.1.), mantar hücre zarının bütünlüğünü bozarak etki gösterir. Azol antifungaller mantar hücre zarının temel bileşenlerinden olan ergosterolün biyosentezini, bir sitokrom P450 enzimi olan lanosterol 14- α demetilazı (CYP51) inhibe ederek durdurur. Bu inhibisyonda, moleküler düzeyde CYP51'in katalitik bölgesinde yer alan hem kofaktörünün demir atomu ile azol antifungallerin yapısında yer alan azol halkası azotu arasında kurulan koordinasyon bağları büyük önem taşımaktadır (5, 6).

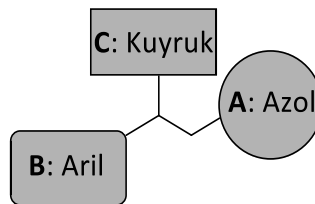


Şekil 1.1. Bazı azol antifungaller.

Geniş spektrumları, sistemik etkileri, oral kullanılabilirlikleri ve yavaş metabolize olmaları ile daha çok tercih edilse de mevcut azol antifungallerin bazı

sorunları vardır (7). Birer ökaryot organizma olarak insan ve mantar CYP51'i arasındaki evrimsel benzerlik azol antifungallerde seçiciliği zorlaştırmaktadır. Bunun yanı sıra azol antifungallerin diğer sitokrom P450 enzimleriyle etkileşme potansiyelleri yan etki ve ilaç etkileşmelerine yol açar. Ayrıca *human ether-a-go-go* geni tarafından kodlanan K⁺ kanallarına (hERG kanalları) yüksek ilgi gösteren azol grubu bileşiklerin C tipi inaktivasyonla ölümcül olan uzun QT sendromuna neden oldukları bilinmektedir (8, 9). Bu yüzden sistemik etkili, seçici ve düşük yan etki profiline sahip yeni azol antifungallere ihtiyaç vardır.

Azol antifungaller üç temel farmakofor grubu ortak olarak bulundurur: hem ile koordinasyon bağı kuran bir azol halkası (genellikle 1*H*-imidazol ya da 1*H*-1,2,4-triazol) (A); bu halkaya iki karbon uzunluğunda bir alkil zinciri ile bağlı, katalitik bölgenin sonundaki rezidülerle hidrofobik olarak etkileşen aromatik bir grup (B) ve bu alkil zincirine bağlı, katalitik bölgenin girişine kadar uzanan kanal boyunca çevredeki rezidülerle etkileşen "kuyruk" grubu (Şekil 1.2.) (10).

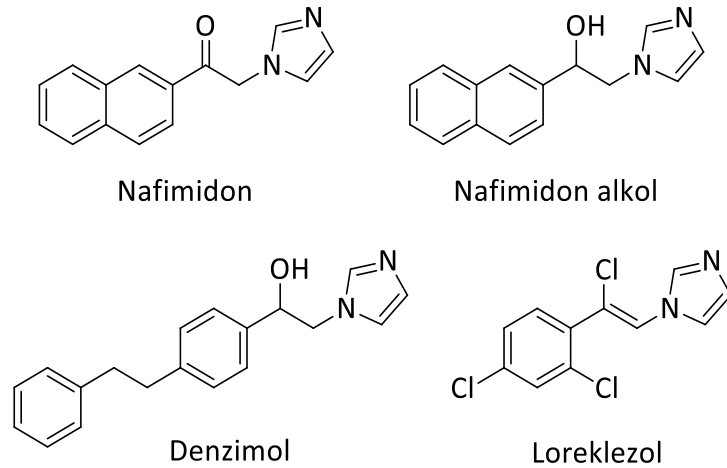


Şekil 1.2. Azol antifungallerin genel yapısı.

Walker ve ark. (11, 12) antifungal etkili yeni bileşikler elde etmek üzere sentezini yaptıkları bir seri yeni mikonazol türevi arasından, fenetilaminlere yapısal benzerliği nedeniyle seçtikleri nafimidon alkolü antikonvülsan aktivite taramalarına tabi tutmuştur. Elde edilen olumlu sonuçlar neticesinde bu öncü bileşikten yola çıkan araştırmacılar, çeşitli (arilalkil)azol türevleri tasarlayarak güçlü ve daha az toksik antikonvülsan bileşiklere ulaşmaya çalışmış; sonuçta geliştirdikleri nafimidon molekülü klinik çalışmalara girmiştir (13).

Azol antifungaller ile (arilalkil)azol grubu antikonvülsan bileşikler arasında büyük yapısal benzerlikler bulunmaktadır. (Arilalkil)azoller, nafimidon, nafimidonun aktif metaboliti olan nafimidon alkol, denzimol ve loreklezol (LRZ) moleküllerinde

ümit verici antikonvülsan aktivitenin bulunmasıyla yeni bir antiepileptik bileşik sınıfı olarak ortaya çıkmıştır (Şekil 1.3.). Nafimidon ve denzimol, fenitoin (FNT) ve karbamazepininkine (KBZ) benzer bir antiepileptik aktivite profiline sahiptir (13-15). Voltaj kapılı sodyum kanalı (Na_v) inhibitörü olan FNT ve KBZ'in ayrıca γ -aminobütirik asit (GABA) aracılı yanıtları güçlendirdiği de bildirilmiştir (16, 17). LRZ ise A tipi GABA reseptörünün ($GABA_{AR}$) pozitif allosterik modülatördür (PAM) (18). $GABA_{AR}$ $\beta 2/\beta 3$ alt biriminde yer alan Asn265 rezidüsünün LRZ'ün yanı sıra topiramet (TPR), trakazolat etomidat, valerenik asit gibi bazı antikonvülsan, anksiyolitik, sedatif ve anestezi etkili bileşiklerin aktivitesinde de rolü olduğu gösterilmiştir (19-21). Yapı-etki ilişkileri (YEİ) çalışmalarına göre antikonvülsan etkili (arilalkil)azol, azol antifungallerde olduğu gibi bir azol halkası, kan-beyin bariyerini (KBB) geçebilmek için bir aromatik halka ve bu iki halka arasında oksijenli fonksiyonel grup taşıyan iki karbon uzunluğunda bir alkil zinciri bulundurmalıdır (22-24).



Şekil 1.3. (Arilalkil)azol grubu antikonvülsan bileşiklerin öncüleri.

Epilepsi kendiliğinden oluşan ve tekrar eden nöbetlerle tanımlanan, kronik bir nörolojik bozukluktur (25). Dünyada 50 milyondan fazla kişiyi etkileyen epilepsi hastalığının günümüzde radikal bir tedavisi yoktur. Hastalar genellikle semptomları hafifletmek için ömür boyu antiepileptik ilaç (AEİ) kullanmak zorundadır ve bu da toksisite, ilaç yan etkileri ve ilaç etkileşimleri gibi ciddi sorunları beraberinde getirmektedir (26). Ayrıca mevcut AEİ'lar olguların 1/3'üne karşılık gelen dirençli epilepsilere yanıt vermemektedir (27). Dolayısıyla geniş spektrumlu ve güvenli yeni

AEİ'lerin tasarımı, medisinal kimyanın güncel konularındandır. Son yıllarda AEİ'lerin epilepsi dışı, özellikle santral sinir sistemi (SSS) ile ilgili bazı endikasyonlarının bulunması ve tedaviye girmesi (28), AEİ'leri ilaç yeniden konumlandırmanın en başarıyla uygulandığı ilaç gruplarından birisi haline getirmiştir (26). Bu nedenle yeni antiepileptik ilaçlar geliştirmek medisinal kimyacılar açısından daha heyecan verici ve cazip hale gelmiştir.

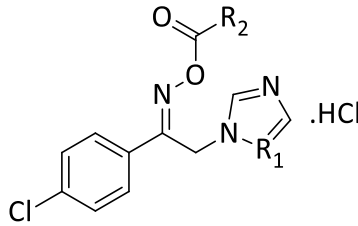



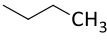
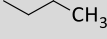
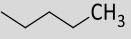
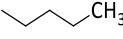
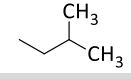
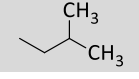
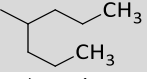
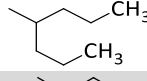


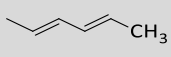
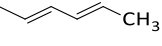


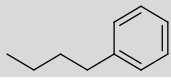
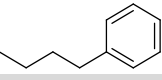
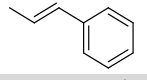
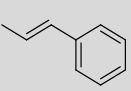
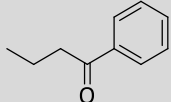
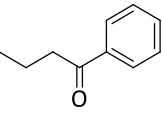
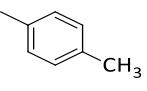
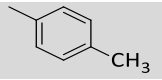
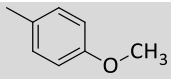
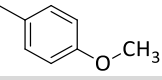
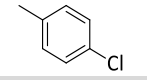
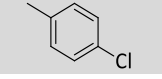
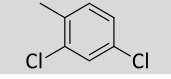
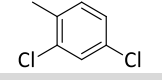
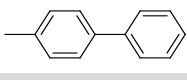
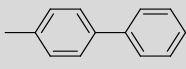
(Arilalkil)azoller üzerinde çalışan grubumuz tarafından bugüne kadar çok sayıda antimikrobiyal ve antikonvülsan etkili türev geliştirilmiştir. Örneğin, Karakurt ve ark. (29-31) çeşitli 1-(2-naftil)-2-(1*H*-imidazol-1-il)/1*H*-1,2,4-triazol-1-il)etanon oksim eter ile 1-(2-naftil)-2-(1*H*-imidazol-1-il)etanol ester türevleri üzerinde yaptıkları çalışmalarda hem antikonvülsan hem de antimikrobiyal etki gösteren yeni bileşikler elde etmiştir. Acar (32) nafimidon alkolün çeşitli karboksilik asitlerle hazırladığı ester türevlerinde güçlü antikonvülsan ve antifungal aktivite gözlemiştir. Doğan ve ark. (33)'nin potansiyel antikonvülsan etkili bileşikler olarak tasarladıkları bir seri 1-fenil/(4-klorofenil)-2-(1*H*-imidazol-1-il)etanol esterlerinde antikonvülsan etkinin yanı sıra güçlü antifungal etki de gözlenmiştir. Benzer bir çalışma yapan De Vita ve ark. (10)'nin da, naftalen halkası yerine fenil/4-klorofenilin geldiği iki ester türevinde yüksek antifungal etkiye ulaşmaları üzerine, naftalen halkasının antifungal etkiyi azaltan bir faktör olduğu sonucuna varılmıştır. Güçlü antifungal etki gösteren bu grup bileşiklerde alkol esteri yerine oksim ester türevlerinin de potansiyel antifungal bileşikler olabileceği düşünülmüş; yapılan literatür taramaları sonucunda oksim ester türevlerinin çalışılmadığı saptanmıştır.

Bu tez çalışması kapsamında, azol antifungallerin genel yapısal iskeleti (Şekil 1.2.) esas alınarak, antifungal etki göstermesi öngörüsüyle tasarlanan, lipofilik aril grubu (B) olarak 4-klorofenil, azol grubu (A) olarak imidazol/1,2,4-triazol halkası ve kuyruk kısmında (C) oksim ester grubu içeren bir seri orijinal 1-(4-klorofenil)-2-(1*H*-imidazol-1-il)/(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)etanon oksim esteri bileşiğin (Tablo 1.1.) literatür yöntemlerine göre sentez edilmesi, antifungal ve antikonvülsan aktivitelerinin taranması ve moleküler modelleme çalışmalarının yapılması amaçlanmıştır. Böylece A ve C farmakoforlarındaki yapısal modifikasyonların biyolojik aktivite üzerindeki

etkileri de anlaşılmaaya çalışılmıştır. Literatürde (arilalkil)azol yapısında bazı bileşiklerin antibakteriyel etki gösterdiğinin de bildirilmiş olması (29) nedeniyle bileşiklerimizin standart Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı antibakteriyel etkileri de taranmıştır.

İlaç tasarımının en büyük sorunlarından birisi güçlü biyolojik etkiye sahip bileşiklerin aynı zamanda iyi farmakokinetik etkiye sahip olabilmesidir. Bu nedenle tez kapsamındaki bileşiklerin absorpsiyon, dağılım, metabolizma, eliminasyon ve toksisite (ADME+T) gibi farmakokinetik özellikleri hakkında fikir veren bazı parametrelerin in silico yöntemlerle hesaplanmıştır. Ayrıca, bileşiklerin antifungal aktivitelerinden sorumlu olduğu düşünülen mantar CYP51 enzimine karşı afinitelerinin ve bu enzimlerle etkileşmelerinin öngörülmesi amacıyla *C. albicans* CYP51 enziminin (CACYP51) homoloji modeli oluşturularak moleküler kenetleme çalışmaları yapılmıştır. Ayrıca, bileşiklerin antikonvülsan etkilerinden sorumlu olası hedef makromoleküllerden olan GABA_AR ile afiniteleri ve etkileşmeleri, bu reseptöre ait daha önce oluşturulmuş bir homoloji modeli (34) üzerinde yapılacak moleküler kenetleme çalışmaları ile anlaşılmaaya çalışılmıştır.

Tablo1.1. Tez kapsamındaki bileşiklerin yapısı

					
Bileşik	R ₁	R ₂	Bileşik	R ₁	R ₂
5	CH		22	N	
6	CH		23	N	
7	CH		24	N	
8	CH		25	N	
9	CH		26	N	
10	CH		27	N	
11	CH		28	N	
12	CH		29	N	
13	CH		30	N	
14	CH		31	N	
15	CH		32	N	
16	CH		33	N	
17	CH		34	N	
18	CH		35	N	
19	CH		36	N	
20	CH		37	N	
21	CH				

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Enfeksiyon Hastalıkları ve Antimikrobiyal Kemoterapi

Enfeksiyon bir canlı dokusunun hastalık yapıcı ajanlar tarafından istila edilmesi, bu ajanların çoğalması, konakçı dokunun bu ajanlara tepki vermesi ve istilacı ajanların bu sırada toksin oluşturmasıdır. Enfeksiyon kaynaklı bulaşıcı hastalıklara enfeksiyon hastalıkları denir. Enfeksiyonlara neden olan çok çeşitli ajanlar mevcuttur. Virüsler, viroidler, prionlar, bakteriler, mantarlar, nematodlar (kancalı kurt, kıl kurdu), artrapodlar (bit, pire, kene) ve tenya gibi diğer makroparazitler bu ajanlara örnek olarak verilebilir. Enfeksiyon hastalıklarında kullanılan ilaçlar antiviral, antibiyotik, antifungal, antiprotozoal ve antihelminetik olarak adlandırılır.

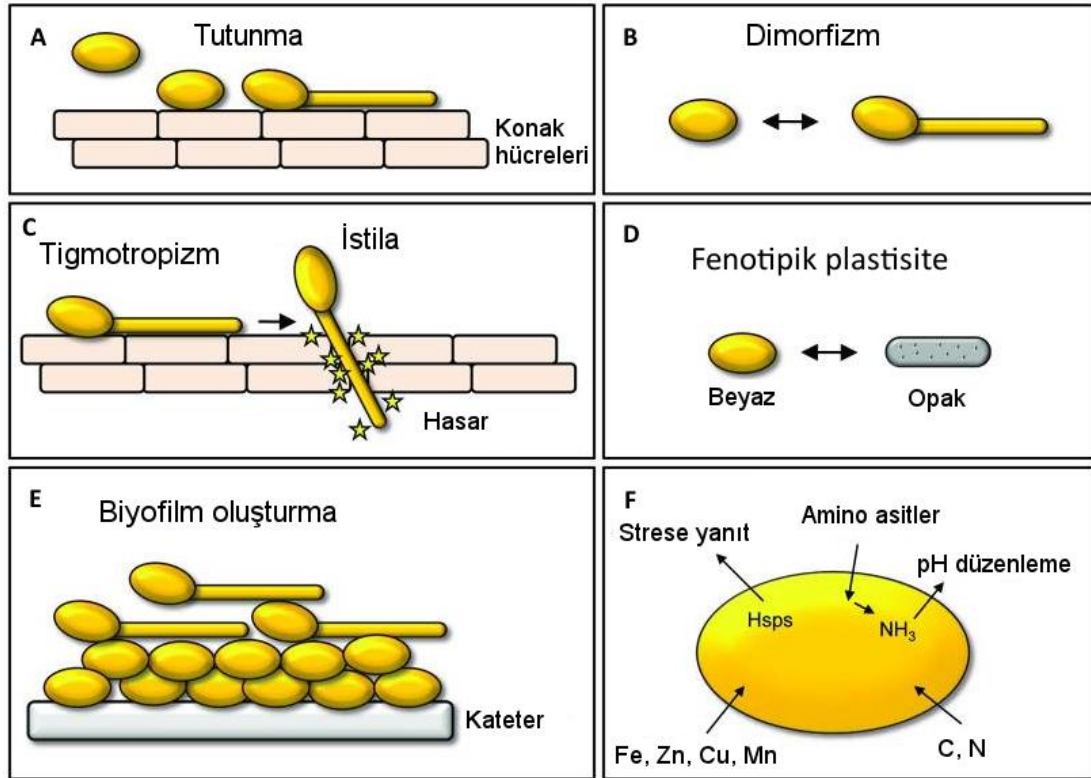
2.1.1. Mantar Enfeksiyonları ve Antifungal İlaçlar

Ökaryotik organizmalar olan mantarlar *Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*, *Histoplasma* gibi pek çok patojen cinsini barındırır. Hayvanlarda görülen mantar enfeksiyonları mikoz olarak adlandırılır ve en çok cildi tutar. 2010 yılında cildi tutan mantar enfeksiyonları dünya çapında en yaygın dördüncü hastalık olarak kaydedilmiştir (35). Mantar enfeksiyonları mantar kolonisinin tutunduğu doku seviyesine göre yüzeysel, kütanoz, subkütanoz ve sistemik ya da invaziv olarak dört ana gruba ayrılır.

Fungemi olarak da adlandırılan sistemik mantar enfeksiyonları primer ya da fırsatçı bir patojenden kaynaklanabilir. İlki genellikle patojen mantar sporunun solunması ve akciğeri tutması ve diğer organlara yayılması şeklinde görülürken ikincisi konakta doğal olarak bulunan *Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus* gibi cinslere ait mantarların, konağın bağışıklık sisteminin zayıfladığı durumlarda patojen hale gelmesiyle oluşur. İnvaziv mantar enfeksiyonları kanın yanı sıra kalp, beyin, gözler, kemikler gibi vücudun farklı kısımlarını tutar ve son derece ölümcüldür. *Candida* türü mantarların neden olduğu invaziv kandidiyaziste mortalite oranı %30-40 olarak tahmin edilmektedir (36). Daha çok hastane ortamında bulaşan *Candida* türleri ABD'de görülen nozokomiyal enfeksiyonlarda en sık rastlanan dördüncü patojendir

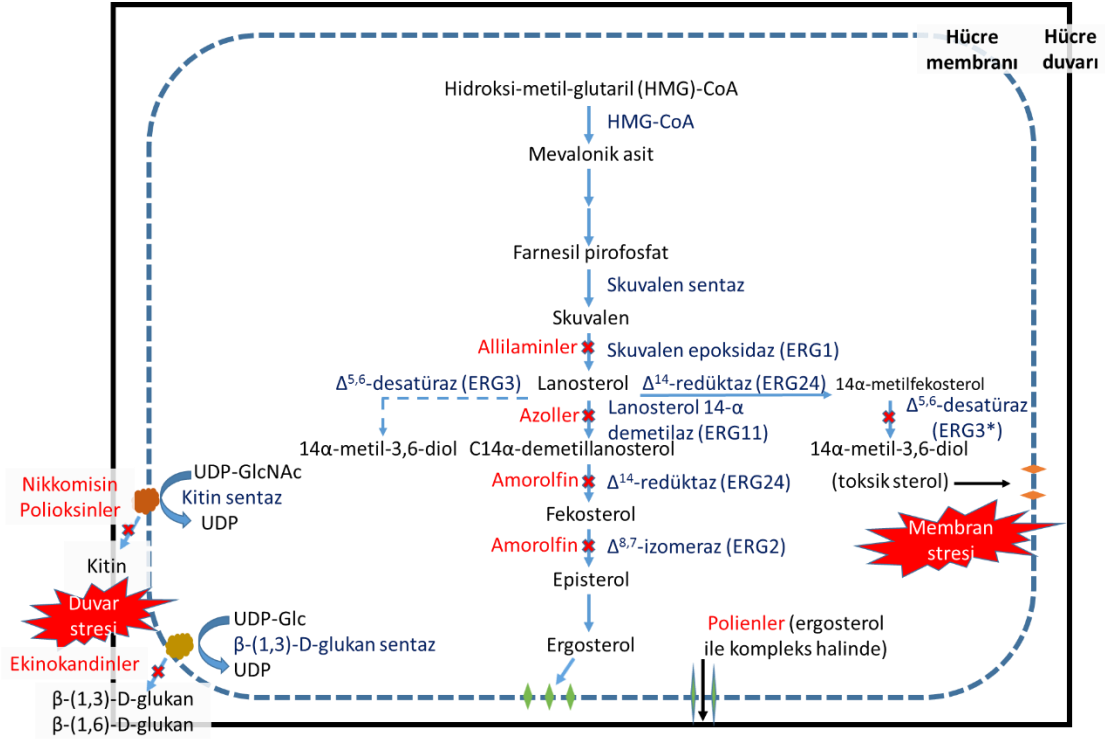
(1). Bağışıklık sistemi zayıf bireyler (ağır antikanser kemoterapisi veya geniş spektrumlu antibiyotik alanlar, uzun süreli steroid tedavisi görenler, organ nakli ve hemodiyaliz uygulananlar, protez ve kateter kullananlar vs.) veya AIDS hastaları gibi bağışıklık sistemi baskılanmış hastalar invaziv kandidiyazis için riskli gruplardır.

C. albicans, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* ve *C. krusei*, invaziv kandidiyaziste en sık izole edilen *Candida* türleridir; bunlardan *C. albicans*'ın enfeksiyonların %50-70'inden sorumlu olduğu sanılmaktadır (37). Maya ile hif formları arasında geçiş, hücre yüzeyinde adhezine ve invazine ekspresyonu, biyofilm oluşturma, tigmotropizm, hidrolitik enzimler salgılama, fenotipik geçiş, pH değişikliklerine ve metabolik strese uyum gibi virülans unsurları geliştiren *C. albicans*, bazı antifungal ilaçlara giderek daha az duyarlı hale gelmektedir (şekil 2.1.) (38). Örneğin, ABD'de yapılan retrospektif bir araştırmada *C. albicans* ile birlikte flukonazole hassas olduğu bilinen *C. tropicalis* ve *C. parapsilosis* türlerinin düşük hassasiyetli izolatların %36'sını, flukonazole dirençli izolatların %48'ini oluşturduğu bildirilmiştir (39). Ancak son yıllarda *Candida* enfeksiyonlarının değişen epidemiyolojisi ile birlikte *albicans* olmayan *Candida* türleri daha sık izole edilir olmuştur. Daha kötüsü bu türlerin neden olduğu enfeksiyonlarda ilaç direnci ve yüksek mortalite görölmektedir (2, 3). Örneğin, *C. glabrata* ve *C. krusei* intrinsik olarak flukonazole dirençlidir; ayrıca *C. krusei*'de amfoterisin-B ve 5-florositozine düşük hassasiyet gözlenmiştir (40, 41).



Şekil 2.1. *C. albicans*'ın bazı virülans faktörleri ve uyum özellikleri. Mantar hücreleri adhesin salgılayarak konakçı hücre yüzeyine tutunur (A). Konak hücreye temas, maya-hif geçişini ve tigmotropizm vasıtasıyla yönlendirilmiş büyümeyi tetikler (B, C). İnvazilerin salgılanması, mantar hücrelerinin konakçı hücreye indüklenmiş endositoz ile alınmasına aracılık eder (B). Fenotipik plastisite *C. albicans*'ın antijenitesini ve biyofilm oluşturmalarını etkilemektedir (D). Mantar hücrelerinin biyotik (konak hücre) ve abiyotik (ör.: kateter) yüzeylere tutunması maya tipi hücrelerin altta, hif tipi hücrelerin üstte istiflendiği biyofilmlerin oluşumuna yol açabilir (E). Isı şoku proteinleri (*heat shock proteins*, Hsps) ile strese güçlü yanıt verme; amino asit alımı ile hif formuna geçişin indüklenmesi; NH₃ atımı ile hücre dışı ortamın alkalilendirilmesi, metabolik esneklik ve karbon, azot gibi elementlerin kaynağı olan bileşiklerin alımı; demir, çinko, bakır, mangan gibi elementlerin alımı *C. albicans*'ın uyum özelliklerindedir (F) (Mayer ve ark. (38)'nden alınmıştır).

Antifungaller etkilerine göre fungistatik ve fungisid olarak iki gruba ayrılır. Fungistatik bileşikler fungusitlerin aksine mantarları öldürmeden çoğalmasını önler. Örneğin, azol antifungaller fungistatik etkiliyken, protein biyosentez inhibitörleri fungisidal etkilidir. Etki mekanizmalarına göre sınıflandırıldığında antifungaller aşağıda belirtilen grup ve alt gruplara ayrılır (Şekil 2.2.).



Şekil 2.2. Antifungallerin etki mekanizmaları (Campoy ve Adrfio (42)'dan alınmıştır).

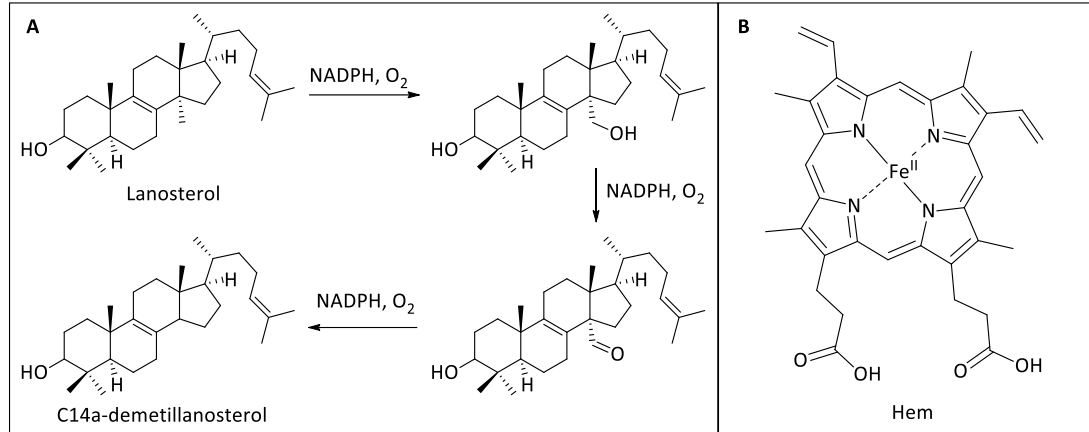
a. Ergosterol Biyosentezi İnhibitörleri

Ergosterol (ergosta-5,7,22-trien-3β-ol), mantar hücre zarına esneklik ve bütünlük gibi özellikler kazandıran, sterol yapısında temel bir yapı taşıdır. Hayvan hücresindeki kolesterolün sahip olduğu işlevlere sahiptir (43).

Azol Antifungaller

Klinik olarak en çok kullanılan antifungal ilaç grubunu oluşturan azol antifungaller ergosterol sentezini, lanosterolün 4,4-dimetilkolesta-8(9),14,24-trien-3β-ole dönüştürüldüğü basamakta inhibe eder (42). Bu da lanosterolün birikmesi sonucu mantar büyümesi ve çoğalmasının durmasına (fungistatik etki) neden olur. Bu basamakta 14α konumundaki metil grubu CYP51 katalizörlüğünde koparılmaktadır. Yarışmalı olarak gerçekleşen bu inhibisyonda azol antifungaller, enzim aktif bölgesinde yer alan hem kofaktörüyle etkileşir. Bu etkileşimin en önemli kısmı azol grubu bileşiklerin taşıdığı azol halkasındaki azot ile hem kofaktörünün merkezinde bulunan demir atomu arasında oluşan koordinasyon bağıdır. Çünkü lanosterolün

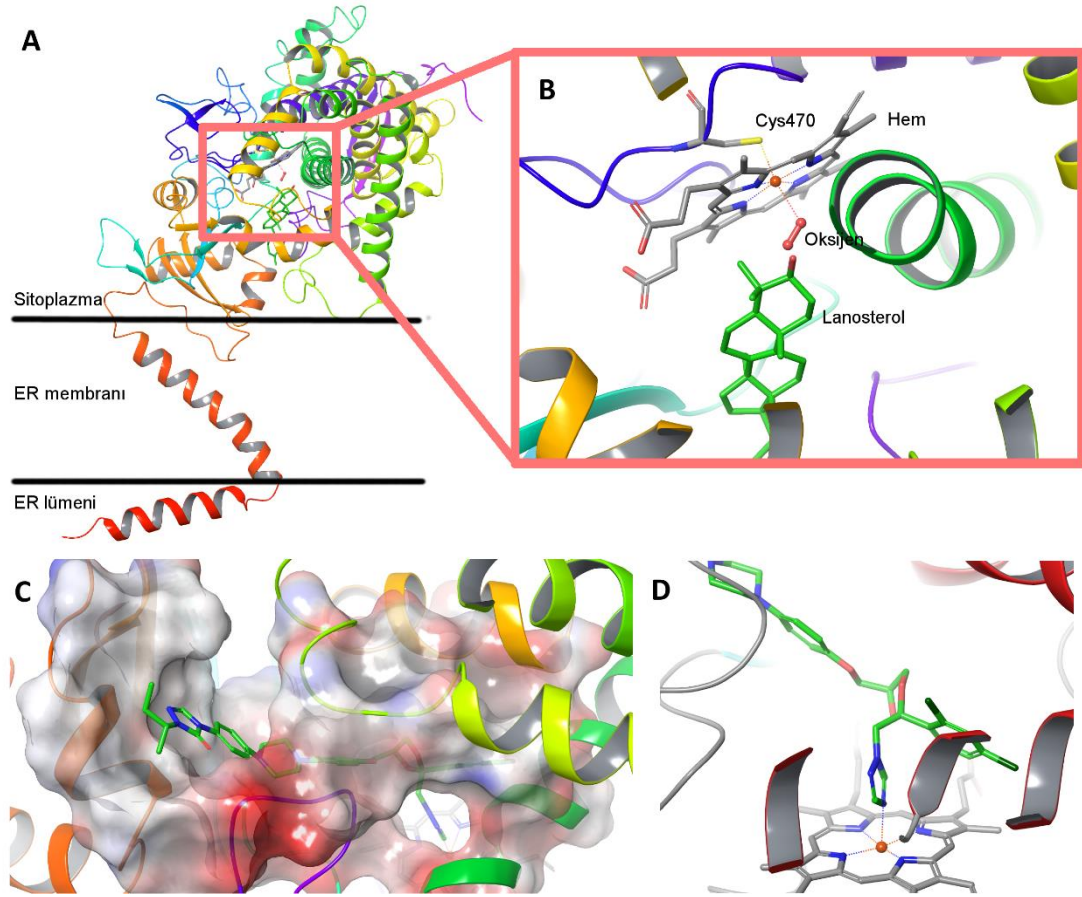
demetilasyonundaki monooksijenasyon basamağında kullanılan oksijeni 14 α konumundaki metile hem demiri aktarır (Şekil 2.3.) (44). Azol antifungallerin mantar hücresinde endojen reaktif oksijen türlerini (ROS) arttırarak da etki gösterebileceği düşünülmektedir (45)



Şekil 2.3. Lanosterolün C14 α -demetillanosterole dönüştürülmesi (A) ve heminin yapısı (B).

Sterol sentezinde önemli rol oynayan CYP51 tüm canlı âlemlerinde bulunur; canlılar arasında en yaygın ve muhtemelen en eski sitokrom P450 enzimlerinden. İşlevleri ortak olsa da canlıların evrimsel karmaşıklığına göre yapısal olarak önemli farklılıklar gösterir. Örneğin, prokaryot CYP51'leri sitoplazmada çözülmüş halde bulunur ve aktif bölgeleri yüzeye daha yakındır (46). Ökaryot CYP51'leri ise bitopik transmembran proteinlerdir ve endoplazmik retikulum (ER) membranına tutunmuş vaziyettedir. Bu CYP51'lerin sitoplazmik kısmının N ucunda yer alan ve "çıpa" olarak da tabir edilen kısmı birbirine kısa bir ilmekle bağlı iki α sarmaldan oluşur. Bu sarmallardan N ucuna yakın olanı ER lümeninde membrana bitişik (amfipatik), diğeri ise ER membranını kat etmektedir. Sitoplazmik kısım katalitik bölgeyi içerir. Bu bölge bir ucu çıpa kısmının sitoplazmik kısma birleştiği yerde, diğeri ucu sitoplazmik kısma gömülü uzun lipofilik bir tünel ve tünelin sonunda hem prostetik grubundan ibarettir (47, 48) (Şekil 2.4.). Hem demiri dört pirol halkası ve bir sistein rezidüsünün yan zincirindeki S⁻ ile koordinasyon bağları kurarak hem ile enzim arasında bir köprü işlevi görmektedir. Altıncı koordinasyon oksijenle ve azol antifungallerin azol halkasındaki azot bu oksijenin (O₂) yerini alır (Şekil 2.4.). Çıpa kısmının aktif bölge

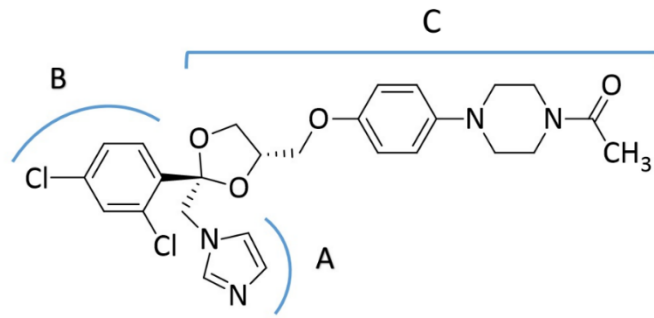
girişini ve sitoplazmik kısmın konumlanmasını kısıtladığı ve aktif bölgeye ligand giriş çıkışını etkilediği bildirilmiştir (49).



Şekil 2.4. Lanosterol (çubuk) bağlı *Saccharomyces cerevisiae* CYP51 (SCYP51) (kurdele) kristal yapısı (PDB kodu: 4LXJ (49)) (A), enzim aktif bölgesi ve kofaktör etkileşmeleri (B), aynı enzimin itrakonazol (İKZ) bağlı kristal yapısı (PDB kodu: 5EQB (49)) (aktif bölge girişinden bakış, aktif bölge rezidülerinin moleküler yüzeyi gösterilerek elektrostatik potansiyele göre renklendirilmiş) (C), aktif bölgede İKZ ile hem demiri (turuncu küre) etkileşmesi (D).

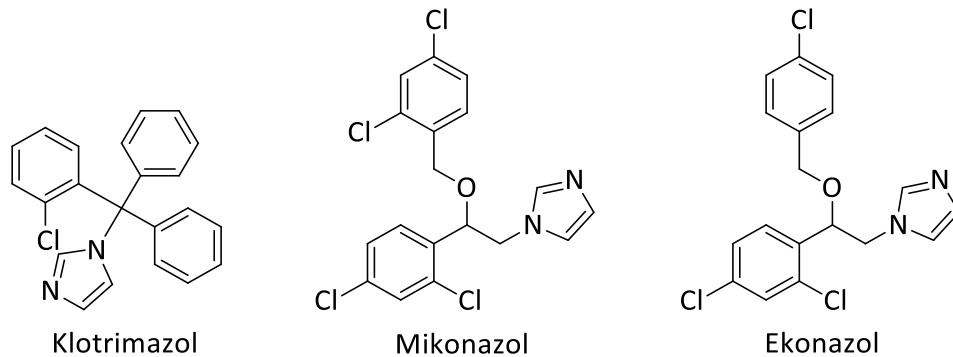
Azol antifungallerin yapısı genel olarak birkaç ortak farmakofor içerir (Şekil 2.5.). Bunlardan ilki CYP51 kofaktörüyle yukarıda bahsedilen etkileşmeden sorumlu azol halkasıdır (A). Azol antifungallerin çoğu, azol grubu olarak imidazol ya da triazol taşır. Bu grup iki karbon uzunluğunda bir alkil zinciri ile bir aromatik gruba bağlanır (B). Bu grup hem kofaktörü çevresindeki rezidülerle hidrofobik etkileşmeler kurar ve genellikle halojen sübstitüsyonları bu etkileşmeleri güçlendirir. Söz konusu alkil zinciri üzerinde kuyruk olarak da tabir edilen ve genellikle aromatik halkalar içeren bir

sübstitüent yer alır (C). Hem kofaktörünün bulunduğu katalitik bölgeden buranın girişine uzanan uzun lipofilik tüneli dolduran bu sübstitüent, bazı bileşiklerde oldukça uzundur ve tüneli çevreleyen rezidülerle güçlü etkileşmelerde bulunur (10, 33, 49). Bazı azol antifungallerde alkil zinciri üzerinde kuyruk ile aynı karbona bağlı bir hidroksil grubu yer alır (ör.: flukonazol). Bu hidroksil grubunun bir su molekülü aracılığıyla yakınında bulunan bir tirozin rezidüsü yan zinciri ile hidrojen bağı (H bağı) kurduğu bildirilmiştir. Bazı mantarların kısa kuyruklu antifungallere karşı direnç geliştirmesine neden olarak bu rezidünün mutasyona uğraması gösterilmiştir (50).



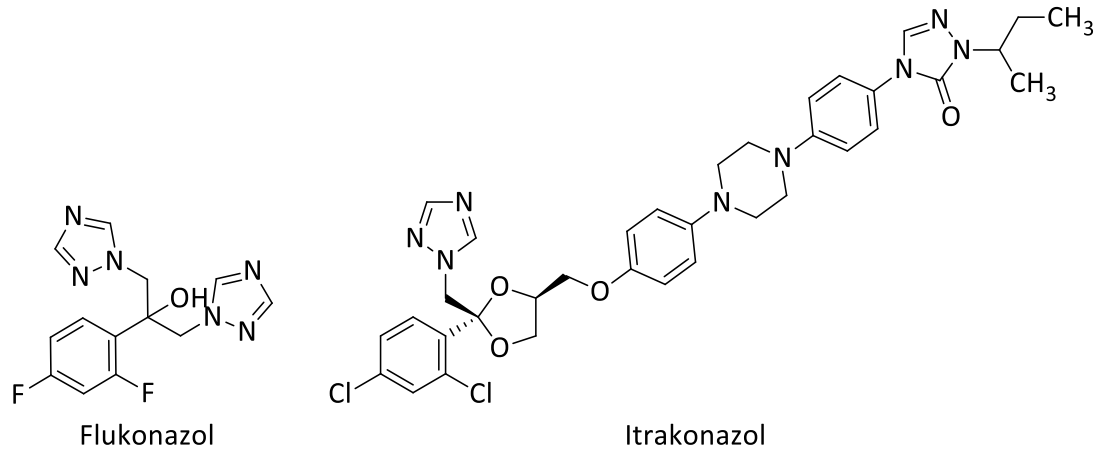
Şekil 2.5. Azol antifungallerin ortak farmakoforları (Ketokonazol üzerinde gösterilmiştir).

İlk azol antifungal olan benzimidazol 1944'te bildirilmiştir; azol antifungallerin klinik olarak kullanılmasına ilk defa 1958'de klormidazol ile başlanmıştır (51, 52). Azol grubu bileşiklerin bir antifungal bileşik sınıfı olarak kabul edilmesi ve popüler hale gelmesi 1960'ların sonunda klotrimazol, mikonazol ve ekonazolün art arda literatüre girmesiyle olmuştur (53) (Şekil 2.6.).



Şekil 2.6. Azol antifungallerin ilk örnekleri.

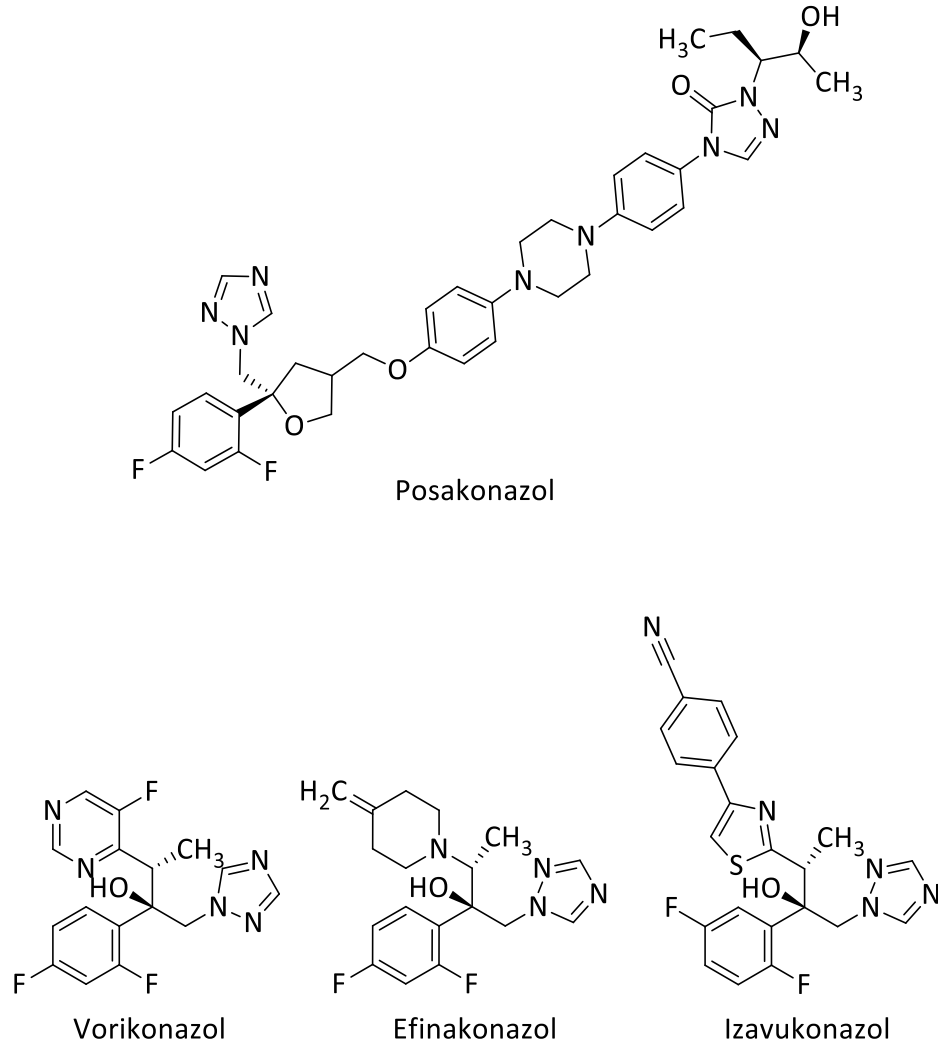
Devam eden yıllarda azol antifungallerin gelişimi yavaş olmuştur. Buna rağmen günümüze kadar çeşitli azol antifungaller klinik kullanıma girmiştir. Bunlardan 1977’de geliştirilen ketokonazol oral kullanımı ve güçlü aktivitesiyle o dönem azol antifungalleri için altın standart olarak kabul edilmiştir. Ancak; imidazol halkası taşıyan bu ilk azol antifungallerde ciddi toksisite, yan etkiler ve ilaç etkileşimleri gözlenmiştir. Daha sonra keşfedilen ve triazol halkası taşıyan birinci kuşak azol antifungaller, flukonazol ve itrakonazol, daha geniş spektrumlu ve daha az toksik etkiye sahiptir ancak sonradan ortaya çıkan bazı patojenik mantarlara karşı sınırlı etki göstermiştir (53) (Şekil 2.7.).



Şekil 2.7. Triazol içeren ilk azol antifungaller.

Daha sonra geliştirilen ikinci kuşak triazol antifungaller, vorikonazol ve posakonazol (Şekil 2.8.), dirençli ve endemik mantar enfeksiyonlarının tedavisinde sırasıyla 2002 ve 2006 yılında klinik olarak kullanılmaya başlanmıştır (Tablo 2.1.). Vorikonazol, flukonazole dirençli *Candida* türleri dahil, hemen hemen bütün *Candida* türleri, bazı *Aspergillus* türleri ve amfoterisine dirençli çoğu mantar türüne karşı etkilidir. Posakonazol de benzer etki aktivite spektrumu göstermekte, vorikonazole ek olarak zigomikozis etkenlerine karşı da etkilidir. Ayrıca posakonazol *Aspergillus* türlerine karşı en güçlü aktiviteye sahip azol antifungaldir (54). Klinik kullanımı onaylanan son azol antifungaller efinakonazol ve izavokonazoldür. Efinakonazol 2014’te Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi (FDA) tarafından tırnak mantar enfeksiyonlarına

karşı onaylanmıştır. İzavukonazol ise invaziv aspergillozis ve mukormikozise karşı ABD ve Avrupa Birliği'nde (2015) kullanılmaya başlanmıştır (55) (Şekil 2.8.).



Şekil 2.8. Yeni kuşak triazol içeren azol antifungaller.

Tablo 2.1. Bazı triazol antifungallerin etki spektrumu

İlaç	Etki spektrumu
Flukonazol	<ul style="list-style-type: none"> Fungistatik etki, dar spektrumlu aktivitesi maya tipi mantarlarla sınırlı <i>C. albicans</i>, <i>C. parapsilosis</i>, <i>C. tropicalis</i> ve <i>C. lusitaniae</i>'ye karşı çok aktif <i>C. krusei</i>'de intrinsik direnç, <i>C. glabrata</i> ve <i>C. guilliermondii</i>'de düşük hassasiyet <i>C. neoformans</i> ve <i>Coccidioides immitis</i>'e karşı aktif <i>Aspergillus</i> ve <i>Fusarium</i> türleri ile zigomikozis etkenlerine karşı inaktif

Tablo 2.1. Bazı triazol antifungallerin etki spektrumu (Devam)

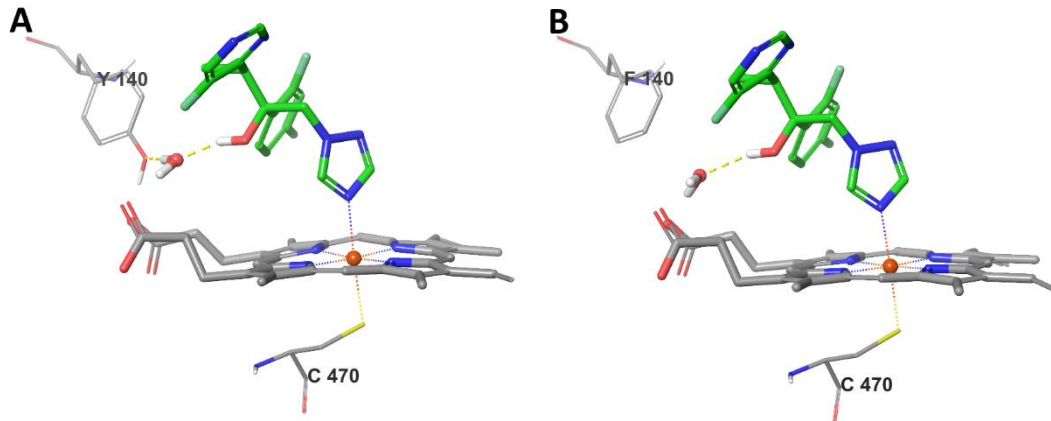
İKZ	<ul style="list-style-type: none"> • İpliksi mantarlara fungisidal, maya tipi mantarlara fungistatik etki • <i>C. glabrata</i> dışında flukonazole dirençli ya da hassas çoğu <i>Candida</i> türüne karşı aktif • <i>C. neoformans</i>'a karşı vasat etki • <i>C. immitis</i>, <i>H. capsulatum</i>, <i>B. dermatitidis</i> ve <i>S. schenckii</i>'nin dahil olduğu çoğu dimorfik ve endemik mantara karşı çok aktif • <i>Aspergillus</i> türlerine karşı aktif, <i>Fusarium</i> türlerine karşı değişken aktivite, zigomikozis etkenlerine karşı düşük aktivite
Vorikonazol	<ul style="list-style-type: none"> • Maya tipi mantarlara, <i>albicans</i> olmayan <i>Candida</i> türlerine ve <i>C. neoformans</i>'a fungisidal etki • Dermatofitlere, mayalara ve küflere karşı çok geniş etki spektrumu • Flukonazole dirençli <i>C. albicans</i>, <i>C. glabrata</i>, <i>C. krusei</i> izolatları da dahil tüm <i>Candida</i> türlerine karşı aktif • <i>C. neoformans</i>'a ve çoğu <i>Trichosporon</i> türüne karşı çok aktif • <i>Aspergillus</i> türlerine karşı çok aktif • <i>Scedosporium apiospermum</i>'un da dahil olduğu amfoterisin B'ye dirençli çoğu küf tipi mantara karşı aktif • Zigomikozis etkenlerine karşı inaktif
Posakonazol	<ul style="list-style-type: none"> • <i>C. krusei</i>, <i>C. inconspicua</i> ve <i>C. lusitanae</i>'ye fungisidal, <i>C. albicans</i>, <i>C. glabrata</i>, <i>C. tropicalis</i>, <i>C. guilliermondii</i> ve <i>C. parapsilosis</i>'e fungistatik etki • <i>Aspergillus</i> türlerine ve <i>C. neoformans</i>'a karşı çok aktif • <i>C. immitis</i>, <i>H. capsulatum</i>, <i>B. dermatitidis</i> ve <i>S. schenckii</i>'nin dahil olduğu dimorfik mantarlara karşı çok aktif • Amfoterisin B'ye dirençli mayalara karşı aktif, <i>Fusarium</i> türlerine karşı inaktif • Zigomikozis etkenlerine karşı değişken aktivite
İzavukonazol	<ul style="list-style-type: none"> • <i>C. glabrata</i> dışında flukonazole dirençli ya da hassas çoğu <i>Candida</i> türüne karşı aktif • <i>C. neoformans</i>, <i>C. gattii</i>, <i>Trichosporon</i>, <i>Rhodotorula</i> ve <i>Pichia</i> türleri, <i>Geotrichum capitatum</i> ve <i>S. cerevisiae</i> gibi nadir mantarlara karşı güçlü etki • <i>Aspergillus</i> türlerine karşı çok aktif • <i>Paecilomyces lilacinus</i> ve <i>Scedosporium apiospermum</i>'a karşı aktif, <i>Fusarium</i> türlerine karşı sınırlı etki • Çoğu dermatofite karşı aktif • <i>H. capsulatum</i>, <i>B. dermatitidis</i> ve <i>C. posadasii</i>'nin dahil olduğu dimorfik mantara karşı aktif • Mukormikozis etkenlerine karşı aktif, zigomikozis etkenlerine karşı inaktif

Üstün farmakodinamik özellikleri yanı sıra azol antifungallerin oral biyoyararlanımları da çok iyidir. Ancak azol antifungallerin bazı dezavantajları mevcuttur. Zayıf baz olan azol antifungaller mide pH değerinin artmasıyla daha zor çözünür. Azol antifungaller bazı toksik ve yan etkilere sahiptir. Bunlardan en sık rastlanana karaciğer toksisitesidir. Örneğin flukonazol, ketokonazol, İKZ ve vorikonazol kullanan hastalarda transaminaz düzensizlikleri, hepatik nekroz, sarılık ve kolestaz görülebilmektedir. Bunun yanında bazı kardiyovasküler, nörolojik, gastrointestinal ve dermatolojik yan etkiler sık bildirilmiştir. Ayrıca ilaçlar farmakodinamik etkileşmeler, pH, kompleks oluşturma, sitokrom p450 enzimleri ve P-glikoproteinler (P-gp) gibi farklı mekanizmalar üzerinden azol antifungallerle etkileşir. Örneğin İKZ ve ketokonazol P-gp fonksiyonunu önemli ölçüde inhibe eder, dolayısıyla bu ilaçların, biyoyararlanımı büyük ölçüde P-gp taşıyıcı sistemlerine bağlı olan ilaçlarla bir arada kullanımı önerilmemektedir (56). Azol antifungaller aynı zamanda güçlü birer CYP3A4 inhibitörüdür ve metabolizması bu enzimle gerçekleşen ilaçların farmakokinetiğini değiştirir (57). Ayrıca azol antifungaller memelilerde çeşitli sitokrom P450 enzimlerinin ekspresyonunu indükler, bu da yukarıda bahsedilen hepatotoksositeye bağlı transaminaz düzensizliklerine neden olur. Azol antifungaller, aynı zamanda, CYP51'in de dahil olduğu memelilerde sterol biyosentezinde yer alan birçok enzimi inhibe ederek endokrin bozukluklara yol açar (58, 59). Bazı azol antifungallerin *C. albicans* ve insan CYP51'i ile disosiyasyon katsayılarının karşılaştırıldığı bir çalışmada klotrimazol, İKZ ve ketokonazolün her iki izoenzime güçlü afiniteyle bağlandığı görülmüştür (60). Kalpte gecikmiş depolarizasyon ile karakterize bir aritmi türü olan ve hERG kanallarının blokajıyla kazanılan uzun QT sendromu bazı azol antifungallerde gözlenmektedir. Mikonazol ve ketokonazol bunlardan ikisidir (61, 62).

Antifungal kemoterapide en büyük sorunlardan birisi *Candida* enfeksiyonlarında görülen dirençtir. *C. albicans* enfeksiyonlarında bildirilen azol direnci vakalarında son yıllarda artış gözlenmektedir. *Albicans* olmayan *Candida* türlerinde intrinsik azol direnci yaygındır. *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* ve *C. parapsilosis* klinik olarak dirençli izolatları en sık izole edilen *albicans* olmayan

Candida türleridir. Orofaringeal kandidiaziste izole edilen *C. albicans* izolatlarında flukonazole direnç yüksektir (63). *Candida* türleri arasında en yüksek direnç *C. glabrata*'da görülmektedir. *C. glabrata* azol grubu ilaçlara intrinsik olarak düşük hassasiyet gösterdiği gibi azol tedavisi ya da proflaksisi sonucu da direnç geliştirebilmektedir; ayrıca çoklu ilaç direnci gözlenen izolatlar da bildirilmiştir (64, 65). Asya-pasifik ülkelerinde *C. tropicalis* kaynaklı enfeksiyonlarda flukonazol direnci %83'e kadar çıkmaktadır. *C. krusei* ise flukonazole intrinsik olarak dirençlidir; bugüne kadar test edilen klinik izolatların %96,6'sı flukonazole karşı dirençli bulunmuştur.

C. albicans üzerinde yapılan çalışmalarda önerilen direnç mekanizmalarından biri CYP51'i kodlayan *ERG11* geni üzerindeki nokta mutasyonlardır. Bugüne kadar tanımlanmış 63 azole dirençli *C. albicans* izolatının 55'inde bu mutasyonlardan kaynaklanan amino asit farklılıkları gözlenir (66) ve *C. albicans* CYP51 (CACYP51) için 140 farklı amino asit değişimi tespit edilmiştir. Moleküler modelleme çalışmalarına göre bu amino asit değişikliklerinin çoğu katalitik bölge yakınındadır (Ör.: CACYP51 Y132F mutanı) (67) (Şekil 2.9.).



Şekil 2.9. *ERG11* nokta mutasyonu ile CYP51 aktif bölgesinde oluşan önemli bir amino asit değişimi ve direnç mekanizmasına bir örnek. SCCYP51 kristal yapısı ile yapılan çalışmalarda vorikonazol ile Tyr140 arasında bir su molekülü aracılığıyla kurulan H bağı (A) enzimin Y140F mutantında gözlenmemektedir (B) Bu rezidü CACYP51'de Tyr132'ye karşılık gelmektedir ve bugüne kadar dirençli *C. albicans* izolatlarında Y132F ve Y132H mutasyonları bildirilmiştir (H bağları sarı kesik çizgilerle gösterilmiştir) (68).

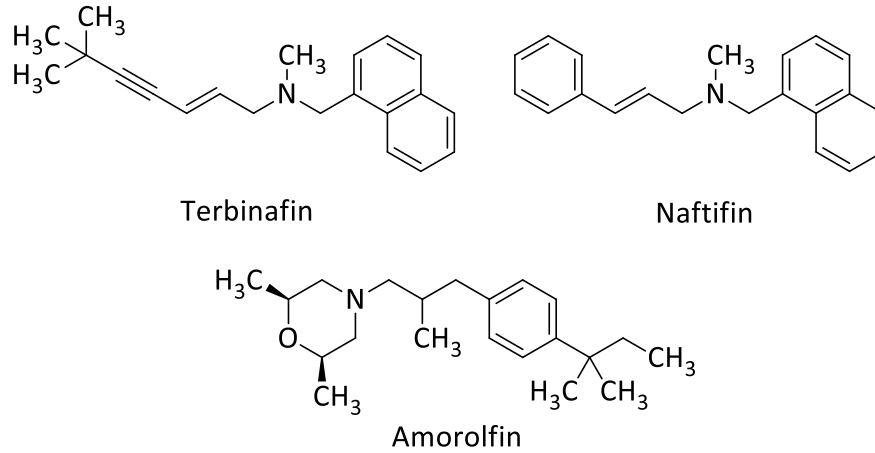
Önerilen diğer mekanizmalardan biri, çinko küme transkripsiyon düzenleyici Upc2p'yi kodlayan gendeki mutasyonlar sonucu *ERG11* ekspresyonunun artmasıdır. İlaç eflüks pompaları MFS (*major facilitator superfamily*) ve ABC'nin (*ATP-binding cassette*) aşırı ekspresyonu de *ERG11*'de olduğu gibi azol antifungallerin minimum inhibitör konsantrasyonlarını (MİK) yükseltmektedir. *ERG3* geni tarafından kodlanan ve ergosterol biyosentezinin son aşamalarından birini katalize eden $\Delta^{5,6}$ -desatüraz aynı zamanda toksik olmayan 14 α -metilsterol ara ürünlerini toksik olan sterol 14 α -metilergosta-8,24(28)-dien-3 β ,6 α -diol'e çevirir. Bazı *C. albicans* suşlarının *ERG3* geni inaktivasyonu nedeniyle azol antifungallere dirençli olduğu tespit edilmiştir. Bunların dışında daha nadir görülen mekanizmalar olarak anöploid (anormal kromozom sayısı) ve heterozigosite kaybı (bir genin tamamının ve çevresindeki kromozomal bölgenin kaybı) bazı azole dirençli izolatlarda gösterilmiştir (65).

Yukarıda bahsedilen mekanizmaların birçoğu *albicans* olmayan *Candida* türlerinin dirençli izolatlarında da görülmektedir. Örneğin bazı dirençli *C. parapsilosis* izolatlarında bir MFS pompası olan Mdr1p ve Cdr1p/Cdr2p'yi kodlayan genlerde tek nükleotid polimorfizmi görülmüştür (69, 70). Dirençli izolatlarda en sık tespit edilen ve CACYP51'deki Y132F amino asit değişimine neden olan *ERG11*'deki A395T tek nükleotid polimorfizmi (TNP) *C. parapsilosis*'te de görülür (71). *C. krusei*'de gözlenen intrinsik flukonazol direncinin nedeni net olarak ortaya konulamamıştır. Artan ABC pompası faaliyeti, CYP51'in flukonazole afinitesinin azalması, membrandaki değişiklikler ile membran akıcılığının değişmesi vb. unsurlardan biri veya aynı anda birkaçı muhtemel nedenler arasındadır (65). *C. glabrata*'nın dirençli izolatlarında çinko küme transkripsiyon düzenleyici Pdr1'deki etkinleştirici mutasyonlar ortak olarak görülür (72). *C. glabrata*'da CYP51 TNP'leri görülmez; ancak yapısı farklı membran sterolleri ve eksojen sterolleri hücre içine alan istisnai bir taşıyıcı sistem azol direncine neden olur (73).

Allilaminler

Skuvalen epoksidazı (*ERG1*) geri dönüşümlü ve yarışmasız olarak inhibe eden allilaminler fungisidal etki gösterir. Hücre içinde biriken skuvalen membran

geçirgenliğini arttırarak hayati hücre bileşenlerinin kaybına neden olur. Grubun en çok bilinen üyeleri, *Streptomyces* türlerinden izole edilen terbinafin ile bunun sentetik analogu olan naftifindir (Şekil 2.10.). Her iki ilaç da genellikle deri ve tırnağı tutan mantar enfeksiyonlarında kullanılır (74-76).



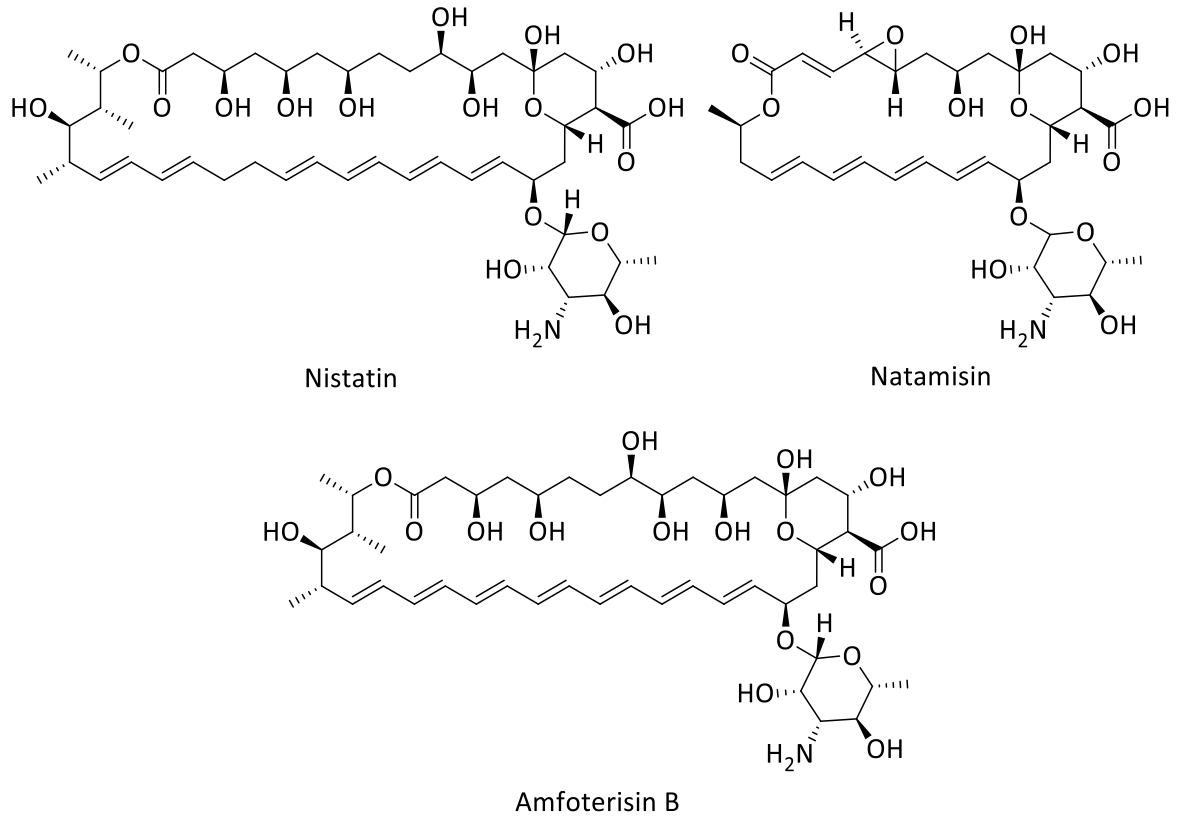
Şekil 2.10. Allilamin ve morfolin grubu bazı antifungaller.

Morfolinler

Sentetik bir morfolin türevi olan amorolfin ergosterol sentezinde rol oynayan $\Delta^{8,7}$ -izomeraz (ERG2) ve Δ^{14} -redüktaz (ERG24) enzimlerini inhibe ederek fungistatik ve fungisidal etki gösterir. Amorolfin tırnak mantarında topikal olarak kullanılır (77) (Şekil 2.10.).

b. Membran Bozucular

Makrolidlerin bir alt grubu olan polienler, 20-40 karbonluk bir makrolakton halkası ile buna konjuge bir d-mikozamin grubundan oluşan makrosiklik organik bileşiklerdir. Amfifilik yapısıyla polienler, membranın çift katlı lipit katmanına bağlanarak ergosterol ile kompleks oluşturur. Bu kompleksin membranda oluşturduğu porlar sitoplazma içeriğinin dışarı sızmasına, oksidatif hasara ve nihayetinde mantar hücresinin ölümüne neden olur. Oldukça geniş spektruma sahip olan polienlerin günümüzde klinik olarak kullanılan üyeleri nistatin, natamisin ve amfoterisin B'dir (Şekil 2.11.). Bu ilaç molekülleri *Streptomyces* türlerinden izole edilir (78-81).



Şekil 2.11. Klinik olarak kullanılan bazı polienler.

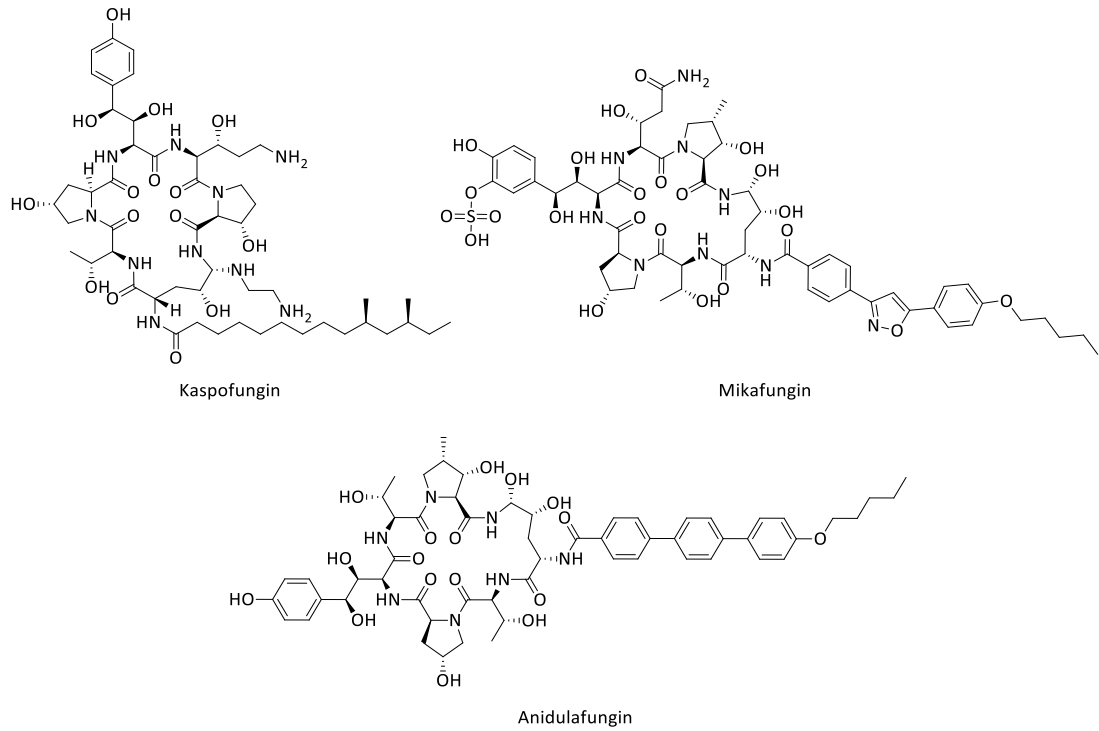
Polienlerin toksisiteleri ve yan etkileri kolesterol afinitesinden ileri gelmektedir. Amfoterisin B sistemik mantar enfeksiyonlarında en çok kullanılan ajandır (Şekil 2.11.). Nistatin ve natamisin oral biyoyararlanımı düşük ve toksisitesi yüksek olduğu için sadece topikal kullanılır. Amfoterisin B'nin toksisite sorununu çözmek için son yıllarda lipozom mikrokapsülü gibi değişik formülasyonlar denenmektedir (6, 82, 83).

c. Hücre Duvarı Sentezi İnhibitörleri

β -Glukan Sentezi İnhibitörleri

D-Glükoz moleküllerinin β -(1-3) veya β -(1-6) bağlarıyla oluşturdukları polisakkaritlere β -glukan adı verilir ve β -(1,3)-D-glukan hücre duvarının %50'sinden fazlasını oluşturur. Ekinokandinler en yeni antifungal sınıftır ve β -(1,3)-D-glukan sentaz enzim kompleksinin Fsk1 alt birimini yarışmasız olarak inhibe eder. Böylelikle mantar hücresinin ozmotik dengesini bozarak ölümüne neden olur. Yine

mantarlardan izole edilen doğal ürünlerden yarı sentezle elde edilen, siklik heksapeptit yapısındaki ekinokandinlerin klinikte kullanılan üç üyesi (kaspofungin, mikafungin ve anidulafungin) vardır (84-86) (Şekil 2.12.). İnvaziv kandidiyazis ve invaziv aspergilloziste oldukça etkili olan polienler mantarlara özgü hedef enzimi nedeniyle çok düşük toksisite gösterir ve ilaç etkileşimleri azdır. Ancak oral emilimleri çok zayıftır ve sadece parenteral kullanılır (87-89).

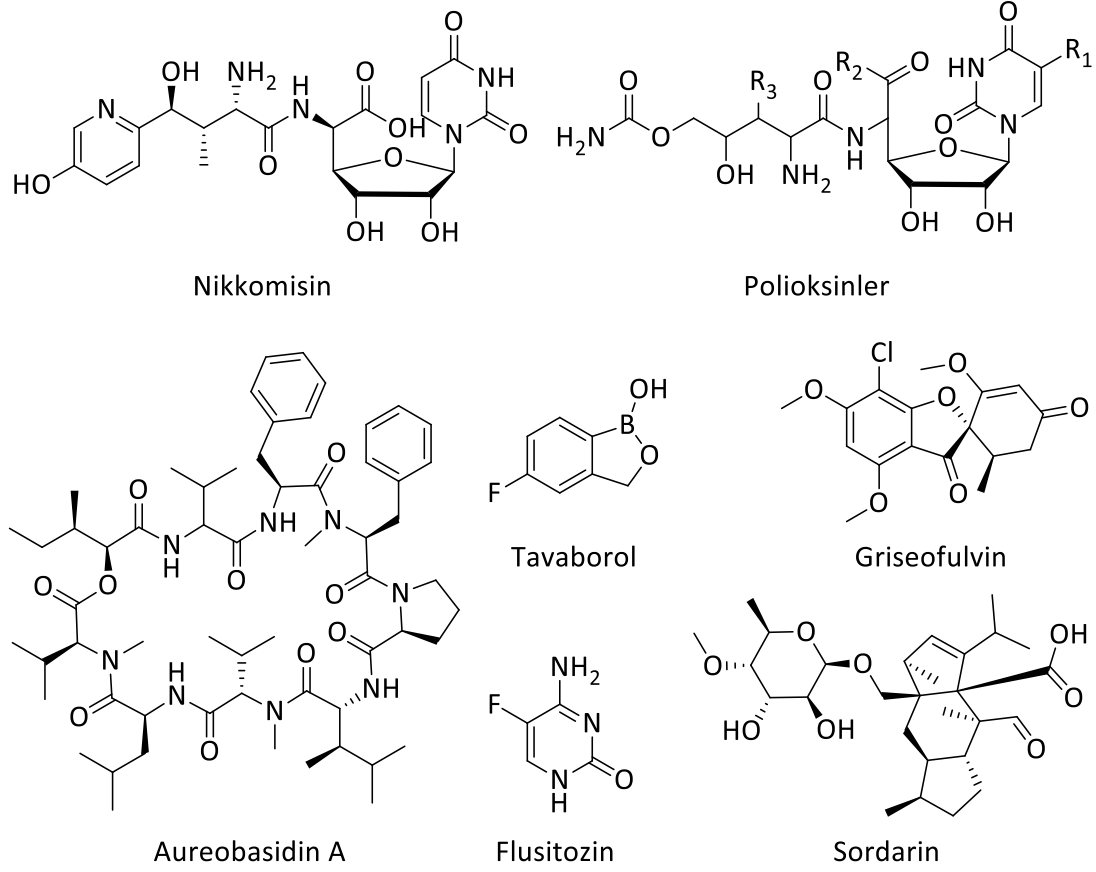


Şekil 2.12. Klinik olarak kullanılan bazı ekinokandinler.

Kitin Sentez İnhibitörleri

Birbirine β -(1-4) bağlarıyla bağlı *N*-asetilglukozamin bileşiklerinden oluşan doğrusal bir homopolimer olan kitin aynı zamanda β -(1,3)-D-glukana kovalent olarak bağlıdır ve hücre duvarı yapısının %3'ünü oluşturur. Kitin sentezinden sorumlu bir seri enzim olan kitin sentazlar inhibe edildiğinde hücre duvarının bütünlüğü ve dolayısıyla hücrenin ozmotik dengesi bozulur. Nikkomisinler ve polioksinler en çok çalışılan kitin sentez inhibitörleridir (Şekil 2.13.). Doğal olarak bulunan ve peptidil nükleozit yapısında olan bu antifungaller hedef enzimlerinin doğal ligandı olan UDP-*N*-asetilglukozaminin yarışmalı analogudur. Ancak klinik kullanımı hidrolize yatkın

olmaları nedeniyle kısıtlıdır. Nikkomisin yüksek miktarda kitin içeren dimorfik patojenik mantarlara, polioksinler ise fitopatogenik mantarlara karşı etkilidir (84, 90, 91).



Şekil 2.13. Farklı etki mekanizmalarına sahip bazı antifungaller.

d. Sfingolipit Biyosentezi İnhibitörleri

Ökaryot hücre membranının yapısına katılan ve hücre içinde çeşitli işlevleri olan sfingolipitlerin biyosentezinde rol alan enzimlerin inhibisyonu patojenik mantarların virülansını zayıflatmaktadır. Bu enzimlerden biri olan ve memelilerde bulunmayan inositol fosforilseramit sentazı inhibe eden ve *Aureobasidium pullulans*'tan izole edilen siklik depsipeptit (karboksilik asit esteri ve amit gruplarını bir arada bulunduran) yapısındaki Aureobasidin A (Şekil 2.13.) *S. cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*, *C. albicans*, *C. glabrata*, *A. nidulans*, *A. niger* ve *C. neoformans*'a karşı etkilidir.

e. Nükleik Asit Sentez İnhibitörleri

Bir florlanmış pirimidin analogu olan flusitozin (5-florositozin, 5-FC) (Şekil 2.13.) pirimidin metabolizmasını ve DNA/RNA sentezini bozarak fungistatik etki gösterir. Mantar hücresinde sitozin deaminaz tarafında 5-florourasile (5-FU) dönüştürüldükten sonra bir seri metabolik reaksiyona uğrayarak üridintrifosfatın yerine RNA'ya aktarılır ve protein sentezi inhibe edilmiş olur. Bu enzim memelilerde olmadığı için 5-FC mantarlara seçicidir. 5-FC'ye karşı mantarlarda direnç sık görülür, bu yüzden tamamlayıcı tedavi olarak uygulanır (92, 93).

f. Protein Biyosentezi İnhibitörleri

Tavaborol protein sentezinde önemli bir enzim olan lösil-tRNA sentetazi inhibe ederek fungisidal etki gösterir. Tavaborol bu enzimin mantarlardaki izoenzimine insanlardakine kıyasla 1000 kat daha fazla afinite gösterir. *Trichophyton rubrum* ve *T. mentagrophytes* kaynaklı onikomikoziste kullanılır. β -Amino asit yapısındaki sispentasin ve izofungipen izolösil-tRNA sentetazi hedef alır. *Sordaria araneosa*'dan izole edilen sordarin (Şekil 2.13.) seçici olarak mantar translasyonel uzatma faktörü 2'yi (EF2) bloke eder (94-98).

g. Mikrotübül Biyosentezi İnhibitörleri

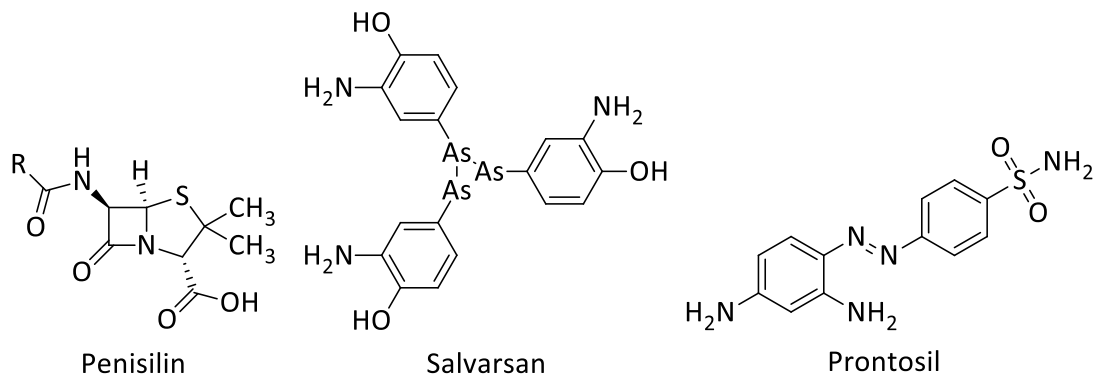
Mikrotübüller α - ve β -tübülün dimerlerinin oluşturduğu polimerlerdir ve hücrenin her tarafına dağılmış organize bir iskelet oluşturur. *Penicillium griseofulvin*'den 1939'da izole edilen griseofulvin (Şekil 2.13.) ilk antifungaldir ve tübülinlere bağlanarak mitoz bölünmeyi engeller. Karaciğere toksisitesi vardır ve etki spektrumu dardır. Kanser kemoterapisinde kullanılan vinblastin de bir mikrotübül biyosentezi inhibitörüdür (99, 100).

2.1.2. Bakteriyel Enfeksiyonlar ve Antibiyotikler

Enfeksiyon hastalıklarının bir diğer etkeni olan bakteriler prokaryotik mikroorganizmalardır ve muhtemelen dünyada evrilmiş ilk yaşam formudur. Küre, basil ya da spiral gibi farklı morfolojilerde olan bakteriler toprak, su, asidik kaplıcalar,

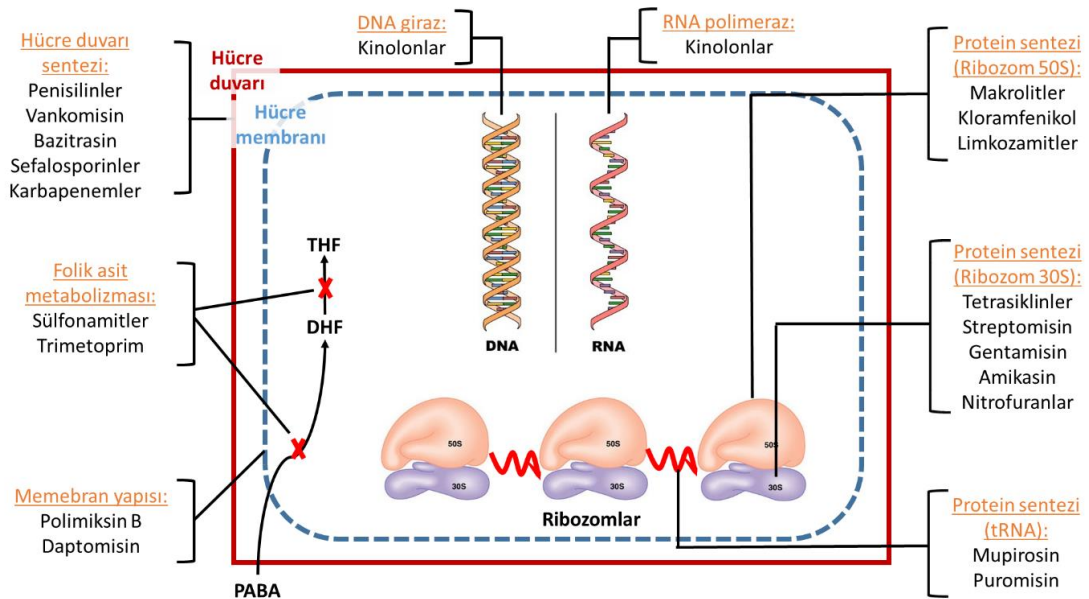
radioaktif atıklar ve hatta yer kabuğunun derinliklerinde yaşayabilir. Patojenik bakteriler insanlarda tetanos, difteri, tifo, kolera, sfiliz, zatürre, tüberküloz gibi pek çok enfeksiyonun yanı sıra bitkilerde ve hayvanlarda da çoğu ciddi hastalığın etkenidir. Mantarlarda olduğu gibi bazı bakteriler fırsatçı bazıları ise bulaşıcıdır. Öyle ki, fırsatçı bakteriler konakçı florasında normal olarak bulunur; ancak bulaşıcı bakteriler sadece konakçı hücrelerinde çoğalıp gelişebilir. Bakteriler salgıladıkları toksinler ve yıkıcı enzimlerle doku hasarına bağlı bir hastalık tablosu oluşturur. Örneğin, tetanos etkeni *Clostridium tetani* salgıladığı toksinlerle kasları felç ederken stafilokok toksinleri septik şoka neden olur. Bakteriyel enfeksiyonların seyri ve ciddiyeti aynı etken cinsinin farklı türleri için bile değişiklik gösterebilir. Örneğin bazı patojenik bakteriler konakçı organizmaya bulaştığı halde, çoğu zaman enfeksiyona neden olmazken bazı bakteriler çok virülan ve enfeksiyonları son derece ölümcüldür (ör.: *Mycobacterium tuberculosis*).

Bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılan antibiyotiklerin modern tarihi 1874'te Sör William Roberts'ın peynir yapımında kullanılan *Penicillium glaucum* kültürünün bakterilerle kontamine olmadığını fark etmesiyle başlar. *Penicillium chrysogenum*'dan izole edilen penisilin Alexander Fleming tarafından 1928'de teşhis edilmiştir (Şekil 2.14.). Sentetik antibiyotiklerin geliştirilmesine öncülük eden Paul Ehrlich yüzlerce boyar sentetik bileşik üzerinde yaptığı taramalar sonucu 1907'de salvarsanı keşfetmiştir. Gerhard Domagk öncülüğündeki bir araştırma grubu 1932'de ilk sistemik etkili antibiyotik, aynı zamanda ilk sülfonamid olan prontosili geliştirdi. Sülfanilamidin ön ilacı olan prontosil ile antibiyotik çağı başlamış oldu.



Şekil 2.14. İlk antibiyotiklere örnekler.

Antibiyotikler etki mekanizmaları, yapıları, etki spektrumlarına göre sınıflandırılabilir. En geniş sınıflandırmada etkilerinin bakterisidal veya bakteriyostatik olmasına göre ikiye ayrılır. Bakteri hücre duvarını (penisilinler ve sefalosporinler) veya hücre membranını (polimiksin) hedef alan veya temel bakteriyel enzimlerin işlevlerine müdahale eden (rifamisin, lipiarmisin, kinolonlar ve sülfonamidler) bakterisidal etkiye sahiptir (Şekil 2.15.). Aminoglikozitler dışında protein sentezini inhibe edenler (makrolitler, linkozamitler ve tetrasiklinler) genellikle bakteriyostatik etki gösterir. Etki spektrumuna göre yapılan sınıflandırmada dar spektrumlu antibiyotikler sadece gram-pozitif/negatif ya da aerob/anaerob gibi spesifik bakteri alt gruplarına karşı aktifken, geniş spektrumlu bakteriler daha geniş yelpazedeki bakterilere etki gösterir. Yapılarına göre sınıflandırıldığında en yaygın antibiyotik grupları aşağıda sıralandığı gibidir.



Şekil 2.15. Antibiyotikler ve etki mekanizmaları (PABA: p-aminobenzoik asit, DHF: dihidrofolik asit, THF: tetrahydrofolik asit, DNA: deoksiribonükleik asit, RNA: ribonükleik asit).

Aminoglikozitler

Amikasin, gentamisin, netilmisin bu gruba örnektir. *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* gibi gram-negatif bakterilerin enfeksiyonlarında kullanılır.

Ayrıca, streptomisin tüberkülozda, spektinomisin gonorede kullanılır. Midede parçalandıkları için oral alınmazlar. Bazı hayati bakteriyel proteinlerin sentezini inhibe eder.

Karbapenemler

Beta laktam sınıfı, geniş spektrumlu bu antibiyotikler arasında imipenem ve meropenem yer alır. Hücre duvarı sentezini inhibe ederek etki gösterir.

Sefalosporinler

Beta laktam sınıfı bu antibiyotik grubu 1945'te ortaya çıkmış ve bugüne kadar beş kuşak boyunca onlarca üyesi kullanıma sokulmuştur. Etki spektrumları değişiklik göstermekle birlikte, son kuşak sefalosporinler çoklu metisiline rezistan *Staphylococcus aureus* (MRSA) enfeksiyonlarına karşı etkilidir. Diğer beta laktam antibiyotiklerinde olduğu gibi hücre duvarı sentezini inhibe ederek etki gösterir. Bu gruba örnek olarak sefazolin (1. kuşak), sefuroksim (2. kuşak), seftriakson (3. kuşak), sefepim (4. kuşak) ve seftobiprol (5. kuşak) verilebilir.

Glikopeptitler

Hücre duvarının önemli bir bileşeni peptidoglikanın sentezini inhibe eden glikopeptitler MRSA da dahil geniş bir spektrumda etki gösterir. Teikoplanin ve vankomisin bu grubun en çok bilinen üyeleridir.

Linkozamitler

Klindamsin ve linkomisin penisiline alerjisi olanlarda stafilokok, pnömokok ve streptokok enfeksiyonları yanı sıra anaerobik enfeksiyonlara karşı kullanılır. Bakterilerde protein sentezini inhibe ederek etki gösterir.

Makrolitler

Gram-pozitif ve bazı gram-negatif bakterilere karşı etkili olan makrolitler streptokok, üst ve alt solunum yolları enfeksiyonları, sfiliz ve Lyme hastalığına karşı

kullanılır. Makrolitler protein sentezini inhibe eder. Azitromisin, klaritromisin ve eritromisin bilinen makrolitler arasındadır.

Penisilinler

Beta laktam halkası taşıyan diğer bir grup penisilinler geniş spektrumludur ve yaygın olarak kullanılır. Ancak penisilinler ciddi alerji ve anafilaktik şok riski taşımaktadır. Amoksisilin, ampisilin, penisilin G ve penisilin V gibi çok kullanılan antibiyotikleri içerir. Penisilinler başka antibiyotiklerle kombine edilerek de kullanılır. Bakterilerde bir direnç unsuru olarak gelişmiş beta laktamızı inhibe eden ajanlar (ör.: klavulanik asit, sulbaktam) bu kombinasyonlara dahil olur.

Kinolonlar ve Florokinolonlar

Üriner sistem enfeksiyonları yanı sıra bakteriyel prostat, ishal ve gonoreye karşı da kullanılan bu grup antibiyotiklere örnek olarak siprofloksasin, levofloksasin ve ofloksasin verilebilir. DNA replikasyonunu ve transkripsiyonunu inhibe eder.

Sülfonamidler

Sülfadiazin, sülfametoksazol ve ko-trimoksazol gibi bilinen üyeleri olan sülfonamidler istisnalar (ör.: göz enfeksiyonlarında kullanılan sülfasetamid) dışında üriner sistem antibiyotikleridir. Nükleik asit sentezinde kullanılan folatın sentezini inhibe eden sülfonamidler ilk keşfedilen antibiyotiklerdendir.

Tetrasiklinler

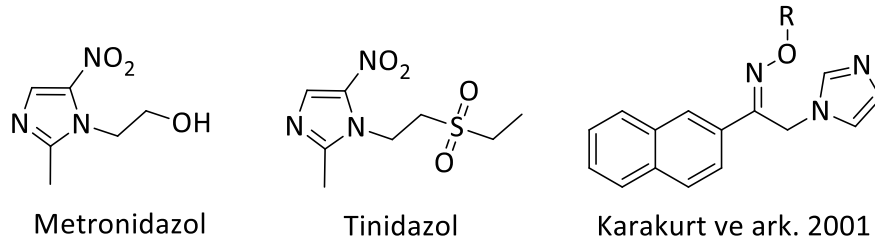
Sfiliz, malarya, riketsiya, Lyme hastalığı ve klamidya enfeksiyonlarında kullanılan tetrasiklinler protein sentezini inhibe eder. Kompleks oluşturdıkları için kalsiyum, alüminyum, demir ve çinko içeren gıdalarla alınmaz. Tetrasiklin ve doksisisilin bilinen tetrasiklin grubu antibiyotiklerdendir.

Polipeptitler

Bu gruba dahil olan antibiyotiklerden basitrasin bakteri duvarı sentezini inhibe ederken, polimiksin B bakteri hücre membranının kararlılığını ve geçirgenliğini bozarak etki gösterir. Nadiren enjeksiyon halinde uygulanan polipeptitler göz, kulak ve mesane enfeksiyonlarında kullanılır.

Azol Grubu Taşıyan Antibiyotikler

Sayıları az da olsa azol grubu taşıyan antibiyotikler mevcuttur. Örneğin metronidazol ve tinidazolün yer aldığı nitroimidazoller anaerobik bakteriyel ve paraziter enfeksiyonlara karşı kullanılır (Şekil 2.16.).



Şekil 2.16. Azol grubu taşıyan bazı antibakteriyel bileşikler.

Azol antifungallerin antibakteriyel etkileri literatürde bildirilmiştir. Örneğin mikonazolün *S. aureus*'a karşı antibakteriyel etki gösterdiği, bunu bakteri flavohemoglobinine bağlanıp intraselüler oksidatif stresi arttırarak gerçekleştirdiği gösterilmiştir (101, 102). Karakurt ve ark. (29) tarafından tasarlanarak sentez edilen ve mikonazole yapısal olarak benzerlik gösteren bir seri 1-(2-naftil)-2-(1H-imidazol-1-yl)etanon oksim eter türevi bileşik arasında *S. aureus*'a karşı çok güçlü aktivite gösteren türevler bildirilmiştir (Şekil 2.16.). Ayrıca literatürde triazol, benzimidazol ve pirazol içeren antibakteriyel etkili bileşiklere rastlanmaktadır (103).

Diğer Antibiyotikler

Yukarıda sıralanan gruplara dahil olmayan ancak yaygın olarak kullanılan bazı antibiyotikler şu şekildedir: linezolit (vankomisine dirençli *S. aureus* enfeksiyonları), nitrofurantoin (üriner sistem enfeksiyonları), aztreonam (Gram-negatif bakteriyel

enfeksiyonlar), rifampisin (tüberküloz), streptomisin (tüberküloz), izoniazid (tüberküloz), kloramfenikol (MRSA, menenjit), dapson (cüzzam).

2.1.3. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri

Antimikrobiyal aktivite tayininde ilk aşamada test materyalinin mikroorganizma üremesini engelleyen en düşük konsantrasyonu (MİK) ve mikroorganizma spektrumu tespiti için çeşitli *in vitro* yöntemler kullanılmaktadır. Bunun için Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) tarafından yayınlanan rehberlerde referans gösterilen çeşitli *in vitro* yöntemler kullanılmaktadır (104, 105). CLSI uluslararası, disiplinler arası kar amacı gütmeyen standart geliştirme ve eğitim organizasyonudur. Hasta tetkikleri ve ilgili diğer sağlık işlemleri için standartların ve rehberlerin geliştirilmesinde uyguladığı gönüllü konsensüs süreciyle tanınır. Çeşitli mantar ve bakterilere karşı MİK değerleri tespit edildikten sonra daha ileri çalışmalara devam edilir (106).

Yeni bileşiklerle çalışırken, etkinliği bilinen ve çalışılan suşlara karşı aktif referans madde kullanılmalı, bir seri bileşik ile çalışılırken bileşiklerin tümü aynı yöntemle test edilmeli ve mikroorganizmalar kültür koleksiyonlarından sağlanmalıdır. Antifungal ve antibakteriyel aktivite yöntemleri teknik olarak aynıdır. Yalnızca kullanılan besiyerleri, inkübasyon koşulları farklılık gösterir. Antimikrobiyal duyarlılık testlerinde kullanılan yöntemler dilüsyon ve difüzyon yöntemleri olarak iki gruba ayrılır.

a. Dilüsyon Yöntemleri

Dilüsyon testleri, bir mikroorganizmanın öldürülmesi ya da üremesinin durdurulması için gerekli olan minimum test maddesi konsantrasyonunu belirlemek amacıyla uygulanır. Sonuçlar kantitatif olarak ($\mu\text{g/mL}$), kategori olarak (duyarlı, orta derecede duyarlı, dirençli) veya her ikisini de içerecek şekilde verilebilir (106). Katı besiyerinde bir canlı hücrenin bir koloni oluşturması esası ile yapılan kültürel sayımlar, tüm sayım yöntemleri içinde en güvenilir olanlarıdır. Bununla birlikte bazı özel

durumlarda sıvı besiyerinde kültürel sayım yapmak gerekebilir (107). Dilüsyon testleri "tüp dilüsyon" ve "agar dilüsyon" olmak üzere iki şekilde uygulanmaktadır.

Tüp (Sıvı) Dilüsyon Yöntemleri

Mikroorganizmanın dilüsyonu uygun bir dilüsyon çözeltilisinde yapılır. Dilüsyonlardan sıvı besiyerine birer ml ilave edilir, inkübasyon sonunda mikroorganizma üremesi görülen tüpler pozitif değerlendirilerek materyaldeki canlı hücre sayısı tahmin edilir (107). Besiyeri olarak katyon (kalsiyum ve magnezyum) ilave edilmiş Mueller-Hinton sıvı besiyeri kullanılır.

Bu yöntemler dilüsyon yapmakta kullanılan besiyerinin miktarı ve yerine göre, makrodilüsyon ve mikrodilüsyon olarak ikiye ayrılır. Her iki yöntemin de prensibi aynıdır. Makrodilüsyonda test tüpleri, mikrodilüsyonda ise "U" ya da "V" tabanlı mikropaklar kullanılır (106). Makrodilüsyon yönteminde 1,0 mL'ye eşit veya 1,0 mL'den daha büyük hacimde 13-100 mm'lik deney tüpleri kullanılır. Bu yöntem iyi standardize edilebilir ve güvenilirdir. Ancak işlemlerin zor olması ve daha uygun başka yöntemlerin bulunmasından dolayı fazla tercih edilmez. Mikrodilüsyon yönteminde testler mikrotitrasyon plakları kullanılarak 0,05-0,1 mL hacimde yapılır. Birçok mikroorganizmanın kullanılmasına uygun olan bu yöntemin uygulama kolaylığı ve materyal kullanım seçeneğinin fazla olması gibi avantajları vardır (108).

Agar Dilüsyon Yöntemi

Agar dilüsyon yöntemi diğer yöntemlerin doğruluğunun değerlendirilmesinde referans olarak kullanılabilen, iyi standardize edilmiş bir yöntemdir. Aynı anda çeşitli mikroorganizmalarla çalışılabilir ve mikrobiyal kontaminasyon diğer dilüsyon yöntemlerine göre daha rahat belirlenebilir. Ancak hazırlıkları zor ve zaman alıcıdır (109).

Agar dilüsyon yönteminin prensipleri tüp dilüsyon yöntemiyle aynıdır. Tek fark, agar dilüsyon yönteminde bileşiğin dilüsyonlarının agar içine konması ve petri kutularına dökülmesidir. Böylece her petri kutusunda bileşiğin farklı konsantrasyonları bulunur. Bu yöntem için Mueller-Hinton agar besiyeri önerilir.

Katı (agarlı) besiyerinde sayım, canlı hücrelerin koloni oluşturması ve bu kolonilerin sayılarak "her canlı hücre 1 koloni oluşturur" prensibi ile materyaldeki canlı hücre sayısının hesaplanması esasına dayanır. Bu amaçla sayım yapılacak materyalden belirli bir miktar alınır ve besiyerine aktarılır. Koloni oluşması için gerekli inkübasyon süresinin sonunda petri kutusundaki koloniler sayılarak materyaldeki canlı hücre sayısı hesaplanır.

b. Difüzyon Yöntemi

Mikroorganizma ekimi yapılmış olan besiyerine, aktivitesi incelenecek olan bileşiğin difüzyonu esasına dayanan bir yöntemdir. Belirli konsantrasyonda bileşik içeren kağıt diskler mikroorganizma ekili besiyerine tatbik edilir ve inkübasyona bırakılır. İnkübasyon süresi sonucu, mikroorganizma üremesinin engellendiği alan çapı ölçülerek, ilacın etkinliği saptanır. Difüzyon testi, ancak hızlı üreyen bakterilerin test edilmesinde güvenilir olarak kullanılır (109).

c. Biyofilm Yöntemi

Bir virülans unsuru olan biyofilmlerin oluşumunda, önce serbest yüzen mikroorganizmalar materyal yüzeyine zayıf ve geri dönüşümlü etkileşmelerle tutunmaya çalışır. Daha sonra yüzeye geri dönüşümsüz bağlanarak kolonileşmeye başlayan mikroorganizmalar birbirleriyle biyokimyasal süreçler (*quorum sensing*) ile iletişim kurar ve oluşan biyofilm mikroorganizmaların hızla çoğalmasıyla genişler (110). Biyofilmler; dental plak oluşumları, endokardit, akciğer enfeksiyonları ve medikal cihazlar ile ilişkili enfeksiyonlar gibi çok sayıda kronik ve inatçı enfeksiyonların %80'ininden sorumlu tutulmaktadır (111). Mikroorganizmaların yüzeylere geri dönüşümlü olarak tutundukları ilk aşamada antimikrobiyal ajanların organizmalar üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir. Ancak sonrasında gerçekleşen geri dönüşümsüz bağlanma, mikrokoloni üremesi ve olgun biyofilmlerin oluşumuyla sonuçlanan süreçte, biyofilm hücrelerin antimikrobiyal ajanlara maksimum tolerans gösterdiği bildirilmektedir. Antimikrobiyal ajanların biyofilm hücrelerine karşı MİK ve minimum bakterisid/fungisid konsantrasyonu değerleri aynı hücrelerin planktonik formlarına

göre 100-1000 kat daha yüksek bulunmuştur (112, 113). Biyofilmlerin hastane kaynaklı enfeksiyonlardaki etkin rollerinin ve bu enfeksiyonların piyasada bulunan antimikrobiyal ajanlarla tedavilerinin zor olduğunun anlaşılmasından sonra yeni antibiyofilm ajanların geliştirilmesine ağırlık verilmiştir (112).

In vitro ortamda biyofilm modellerinin geliştirilmesi için kullanılan çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Mikroplak temelli yöntemler biyofilmlerin plak çukurlarının alt tabanı ve duvar kısımlarında veya çukur içine yerleştirilmiş olan bir kupon materyalin yüzeyinde oluşturulmasını sağlayan, ortamdaki dışarı ve içeri herhangi bir sıvı akışının olmadığı kapalı sistemlerdir. Hem uygulaması pratik hem de küçük hacimlerde sarf malzeme ile çalışılabilen ekonomik yöntemler olmasından dolayı araştırmacılar tarafından sıklıkla tercih edilmektedir. Biyofilmlerin antimikrobiyal ajanlara duyarlılık profilini belirlemede hızlı bir teknoloji olarak önerilen önceki adıyla "Calgary Biyofilm Cihazı" yeni adıyla "MBEC assay" Innovotech firması tarafından piyasaya sunulmuştur. Plağın kapağına tutturulmuş 96 adet kupon üzerinde biyofilmler oluşturulmakta ve bu kuponları tutan kapaklar içlerinde antimikrobiyal solüsyonlar bulunan yeni plaklar üzerine kapatılarak kuponların antimikrobiyal ajanlarla teması sağlanmaktadır. Çeşitli sayım yöntemleri veya mikroskopik tekniklerle antimikrobiyal ajanların biyofilmler üzerindeki etkisi bu sistem sayesinde hızlı ve standart bir şekilde test edilebilmektedir (114, 115).

2.2. Epilepsi

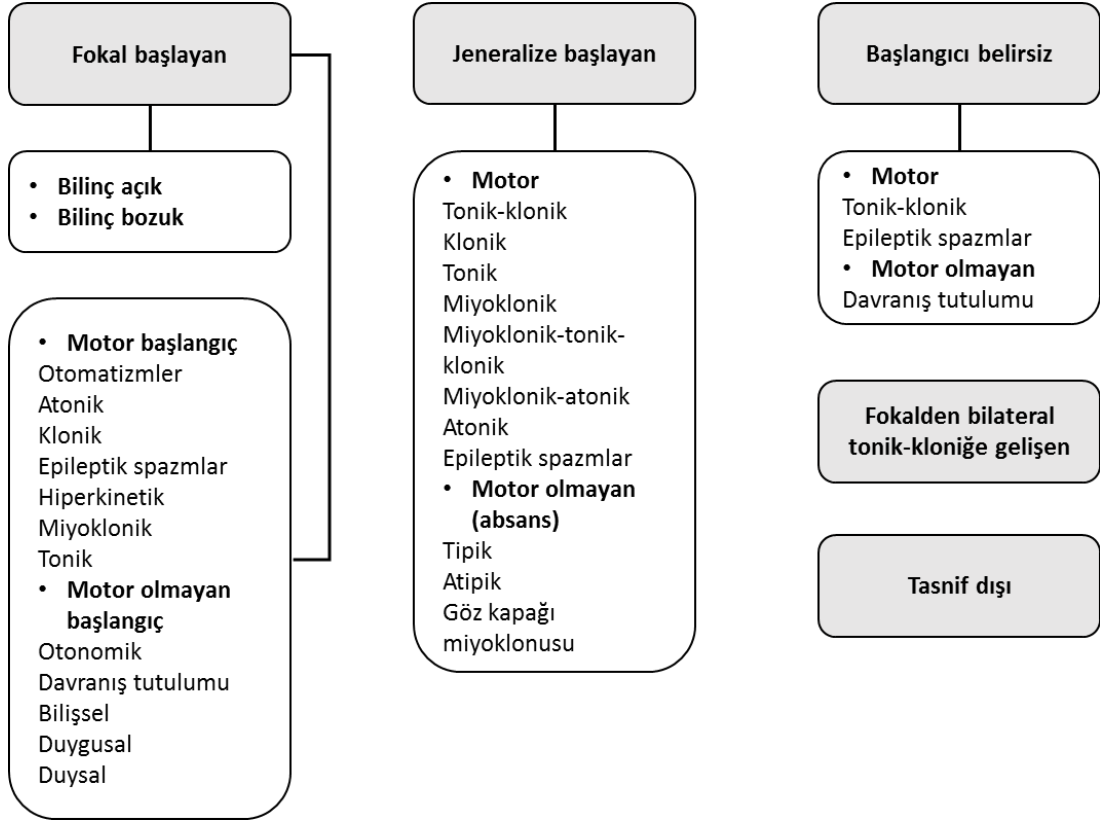
Epilepsi, sürekli nöbet geçirmeye meyilli olma ile karakterize bir beyin bozukluğu ve bu durumun neden olduğu nörobiyolojik, bilişsel, fizyolojik ve sosyal sonuçlar olarak tanımlanır. Kendiliğinden oluşan ve tekrar eden bu nöbetler, kısa ve güç fark edilir episodlardan uzun ve şiddetli ataklara kadar değişkenlik gösterir. Uluslararası Epilepsi ile Mücadele Derneği (International League Against Epilepsy, ILAE) epilepsinin tanısını 2014 yılında güncellemiştir. Buna göre 24 saatten fazla aralıkla görülen iki kendiliğinden oluşan nöbet veya kendiliğinden oluşan bir nöbet sonrası yeni bir nöbet gelişme olasılığının %60'ın üzerinde olması veya epilepsi sendromu tanısı konması durumunda kişi epilepsi hastası olarak kabul edilir. Yaşa

bağlı epilepsi sendromu geçiren ama kabul edilen yaş sınırını geçen kişiler ya da son on yıl boyunca nöbet geçirmeyen ve bunun son beş yılında ilaç kullanmayan kişiler epilepsi hastalığından iyileşmiş kabul edilmektedir. Dünyada, çoğu gelişmekte olan ülkelerde olmak üzere, 65 milyondan fazla kişinin bu kronik hastalıktan etkilendiği tahmin edilmektedir (26).

Epileptik nöbetlerin altında yatan nöronal ateşleme düzensizliklerinin nedeni olarak beyin travması, inme, beyin tümörü, beynin etkilendiği enfeksiyon hastalıkları, doğumsal kusurlar gibi kazanılmış durumlar ya da genetik mutasyonlar gösterilse de olguların yaklaşık %60'ının nedeni bilinmemektedir (116). Bugüne kadar çoğu iyon kanallarıyla ilgili olmak üzere, 400'den fazla gen epilepsiyle ilişkilendirilmiştir (117).

2.2.1. Epileptik Nöbetlerin Çeşitleri ve Sınıflandırılması

Epilepsi türlerini sınıflandırma çabaları Hipokrat'a kadar uzanmaktadır. İlk modern sınıflandırma Gastaut ve ark. (118) tarafından önerilmiştir. İlk sınıflandırmalar anatomik olarak yapılmış, daha sonra epilepsinin patofizyolojik mekanizmaları anlaşıldıkça yeni sınıflandırma çabaları ağırlık kazanmıştır (119). ILAE tarafından 1981 yılında yüzlerce EEG'nin incelenmesi sonucu günümüzde de kullanılan epilepsi çeşitlerinin tanımlandığı bir sınıflandırma önerilmiştir (120). Bu sınıflandırma klinik gözlemlerle güncellenerek 2017'de son halini almıştır (Şekil 2.17.).



Şekil 2.17. Epilepsi çeşitlerinin güncel sınıflandırması.

Sınıflandırmada ilk ayırım epileptik nöbetin başlangıç belirtilerinin fokal (parsiyel, kısmi) mi, yoksa jeneralize (idiyopatik) mi olduğudur. Beynin belirli odaklarında başlayan epileptik deşarjlar tek bir hemisferde sınırlı kalabileceği gibi (fokal başlayan nöbetler) beynin her iki hemisferine de yayılabilir (jeneralize başlayan nöbetler). Nöbetin başlangıcı bilinmiyor ya da karmaşıksa bu nöbetler başlangıcı belirsiz nöbetler olarak tasnif edilir. Yeni sınıflandırmada nöbet isimlerinde başlangıç olgusu vurgulanmaktadır. Tüm nöbetlerin %40'ını oluşturan fokal başlayan nöbetlerde vücudun belirli bir kısmı etkilenir. Hasta bilincinin açık olduğu fokal başlayan nöbetlere basit kısmi nöbetler, bilincin açık olmadığı fokal nöbetlere karmaşık kısmi nöbetler denmekteydi. Bu nöbetlere artık bilinç açık ve bilinç bozuk nöbetler denmektedir. Bilinç durumundan bağımsız olarak fokal başlayan nöbetler ilk görülen motor ya da motor olmayan semptomlara göre de sınıflandırılır. Bu semptomlar otomatistik hareketler (ör.: ağız şapırdatma, çiğneme, yutkunma), atoni (kas gevşemesi, ör.: boyun kaslarının tonusunun kaybolması sonucu baş düşmesi), klonus (çarpınma), spazm, hiperkinezi (ör.: ajite halde dövünme, ayak vurma),

miyoklonus (seğirme) ve tonus gibi motor semptomlar olabilir. Motor olmayan fokal nöbetlerde semptomlar otonomik (ör.: aritmi, palpasyon, terleme, yüz kızarması vs.), bilişsel (ör.: afazi, apraksi), duygusal (ör.: korku, öfke), duysal (ör.: koku ve tat duyusunun değişmesi) olabileceği gibi hastanın donup kaldığı davranış tutulumu şeklinde de olabilir. Dolayısıyla, Şekil 2.17.'de görülen ilk sınıflandırma başlıklarının altında yer alan her bir semptom aynı zamanda bir nöbet tipidir. Fokal başlayan nöbetlerin tekrar etmesi durumu temporal epilepsi olarak adlandırılır. Nöbet tiplerinin isimlendirilmesinde birden fazla tanımlayıcı kullanılması istenir. Ancak, bilinç durumunun bilinmediği fokal başlayan nöbetler sadece ilk belirtiyeye göre isimlendirilebilir (ör.: fokal başlayan tonik nöbet) (121).

Özel bir fokal başlayan nöbet tipi olan Jackson nöbetlerinde semptomlar uzuvlardan birinin ucunda başlayarak vücudun o tarafına doğru yayılır. Primer motor korteksin etkilendiği bu nöbette genellikle parmaklarda karıncalanmayla başlayan ve hissizlik, ani kasılma, ani baş ve göz hareketleri gözlenir (122).

Fokal olarak başlayıp beynin her iki hemisferine yayılarak tonik-klonik nöbete dönüşen ve daha önce ikincil jeneralize kısmi nöbet olarak adlandırılan nöbetler yeni sınıflandırmada fokalden bilateral tonik-kloniğe gelişen nöbetler olarak adlandırılır. Bu isimlendirme aslında bir nöbet tipinden daha çok nöbetin gelişme şekline ithaf edilmiştir (121).

Jeneralize başlayan nöbetler bilincin kaybedildiği, beynin her iki hemisferini tutan primer nöbetlerdir. Görülen semptomlara göre alt gruplara ayrılır. Motor semptomlar tonik-klonik (eski adıyla *grand mal*), klonik, tonik, miyoklonik, miyoklonik-tonik-klonik, miyoklonik-atonik, atonik ve spazm olarak gözlenir. Halk arasında en çok bilinen nöbet tipi olan tonik-klonik nöbetler hızlı bilinç kaybı ve kısa bir tonik fazla başlar. Yere yığılan hastanın güçlü tonus nedeniyle ekstremitelerini açtığı ve inlediği gözlenir (tonik faz). Takip eden klonik fazda hasta şiddetli ve hızlı kasılma ve gevşemelerle çırpırır, çenesini sıkır, gözlerini devirir ya da kapatır. Aşırı kasılma nedeniyle nöbet sonrası kısa uyku hali gözlenir (123). Motor olmayan jeneralize nöbetler absans nöbetleri (eski adıyla *petit mal*) olarak da adlandırılır. Hızlı bilinç kaybı, o anki faaliyetin aniden bırakılması, gözlerin dalması veya göz

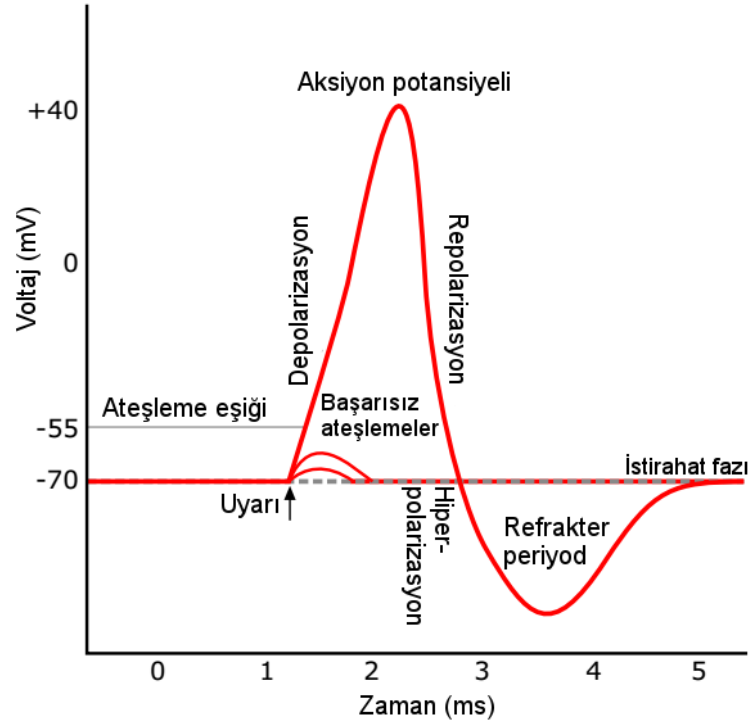
bebeklerinin yukarı kaldırılması gibi belirtilerle karakterizedir, ancak bu nöbetlere tonik, klonik, miyoklonik ya da bunların kombinasyonlarından oluşan belirtiler eşlik edebilir (124). Miyoklonik epilepsi, West sendromu ve Lennox-Gastaut sendromu jeneralize başlayan nöbetlerin görüldüğü bazı epilepsi sendromlarıdır.

2.2.2. Epileptik Mekanizmalar

Epileptik nöbetlerin hücrel ve moleküler mekanizmaları ile ilgili bilinenler sınırlıdır. Eksitator ve inhibitör voltaja bağlı/sinaptik iletim arasındaki dengenin bozulması ile oluşan aşırı senkronize nöronal ateşlemeler en çok bilinen ve çalışılmış mekanizmadır. Bu dengesizlik, epileptik bir beyinde eksitator ve inhibitör iletimde rol alan makromoleküllerde işlevsel bozukluklardan kaynaklanarak beyin belirli bir bölgesinde (odak) epilepsinin gelişmesine neden olabilir (125). Sağlıklı bir beyinde ise, yukarıda bahsedilen travmalardan birine bağlı olarak tanımlanan ve eksitator devrelerin up-regülasyonu ya da inhibitör devrelerin down-regülasyonu sonucu ikincil olarak gelişebilir (epileptojenez) (126).

Hücre membranı intraselüler (hücre içi) ve ekstraselüler (hücre dışı) iyon konsantrasyonuna bağlı olarak belirli bir eksi voltaja sahiptir (membran potansiyeli). İstirahat fazındaki bir sinir hücresi polarizedir ve membran potansiyeli yaklaşık -70 ile -80 mV arasındadır. Bu potansiyel, iyon pompaları ve iyon kanalları tarafından membran boyunca hücre içinde negatif yükün daha fazla bulunduğu bir konsantrasyon gradyanı oluşacak şekilde dengede tutulur. Membran voltajının pozitif yönde kayması ile depolarize olan membran aksiyon potansiyeli oluşturur, sinir ve kas hücreleri bu potansiyel ile eksite olur. Depolarizasyonun ardından membran istirahat potansiyelinin de altında bir voltaja ulaşarak hiperpolarize olur (Şekil 2.18.). Bu durum sağlıklı bir sinir dokusunda art arda gelen ateşlemeler sonucu aşırı eksitabiliteyi önlemeye yönelik bir tepkidir ve membran hızlıca tekrar istirahat fazına (polarizasyon) geçer. Nöronlarda akson boyunca iletilen aksiyon potansiyeli akson ucunda nörotransmitterler vasıtasıyla sonraki nörona aktarılmakta ve nöronal ateşleme sağlanmaktadır. Dolayısıyla aşırı eksitabilite durumu; artan eksitator sinaptik nörotransmisyon, azalan inhibitör nörotransmisyon, membranın her iki

tarafındaki iyon konsantrasyonunun depolarizasyona neden olacak şekilde değişmesi veya çoklu senkronize eşik altı eksitator uyarı halinde ortaya çıkar (127).

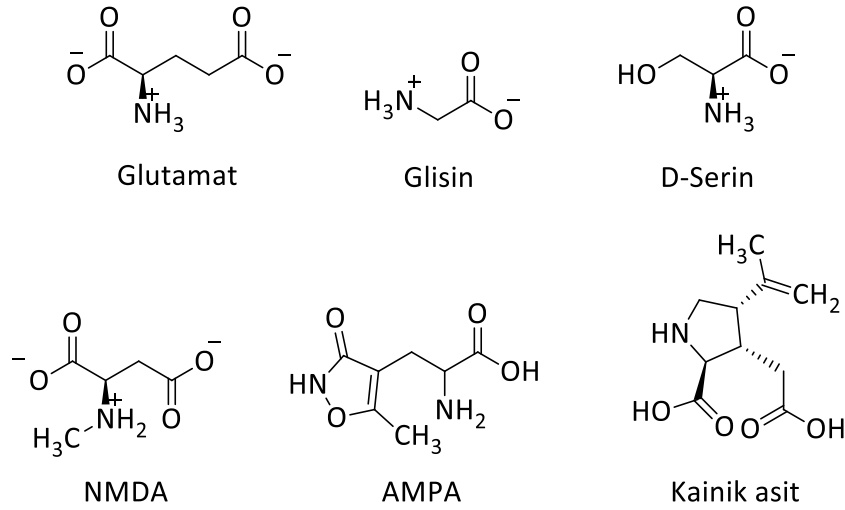


Şekil 2.18. Membran aksiyon potansiyeli sırasında voltaj değişimi grafiği.

a. Eksitator Postsinaptik Potansiyel ve Glutamat Reseptörleri

Glutamat, SSS'nin temel eksitator nörotransmitterdir ve glutamat reseptörlerinin doğal agonistidir (Şekil 2.19.). Aynı zamanda inhibitör nörotransmitter GABA'nın prekürsörü olan glutamat, memelilerde en yaygın bulunan nörotransmitterdir. Eksitator postsinaptik potansiyelden (EPSP) sorumlu olan glutamat reseptörleri, iyonotropik ve metabotropik glutamat reseptörleri (iGluR'ler ve mGluR'ler) olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Postsinaptik eksitator birincil nöronlarda, inhibitör internöronlarda, glia hücrelerinin bazı tiplerinde, astrositlerde ve oligodendrositlerde bulunur. iGluR'ler *N*-metil-D-aspartat (NMDA), α -amino-2,3-dihidro-5-metil-3-okso-4-izoksazolpropanoik asit (AMPA) ve (2S,3S,4S)-3-(karboksimetil)-4-prop-1-en-2-ilpirolidin-2-karboksilik asit (kainik asit ya da kainat) reseptörlerinden (sırasıyla NMDAR, AMPAR ve KAR) oluşur ve katyon giriş-çıkışını düzenleyerek depolarizasyon ile sinaptik transmise aracılık eder (128). Nöronal

iletişim, nöronal plastisite, hafıza, öğrenme ve bilişsel işlevlerde önemli bir yere sahip olan glutamat reseptörleri eksitotoksistide de rol oynar. Çok yoğun glutamat ya da agonist varlığıyla aşırı uyarılan reseptörler nöron hasarına ve ölümüne neden olur; buna eksitotoksiste denir ve genellikle iGluR'lerin fazla Ca^{2+} ilemesiyle gerçekleşir (129).

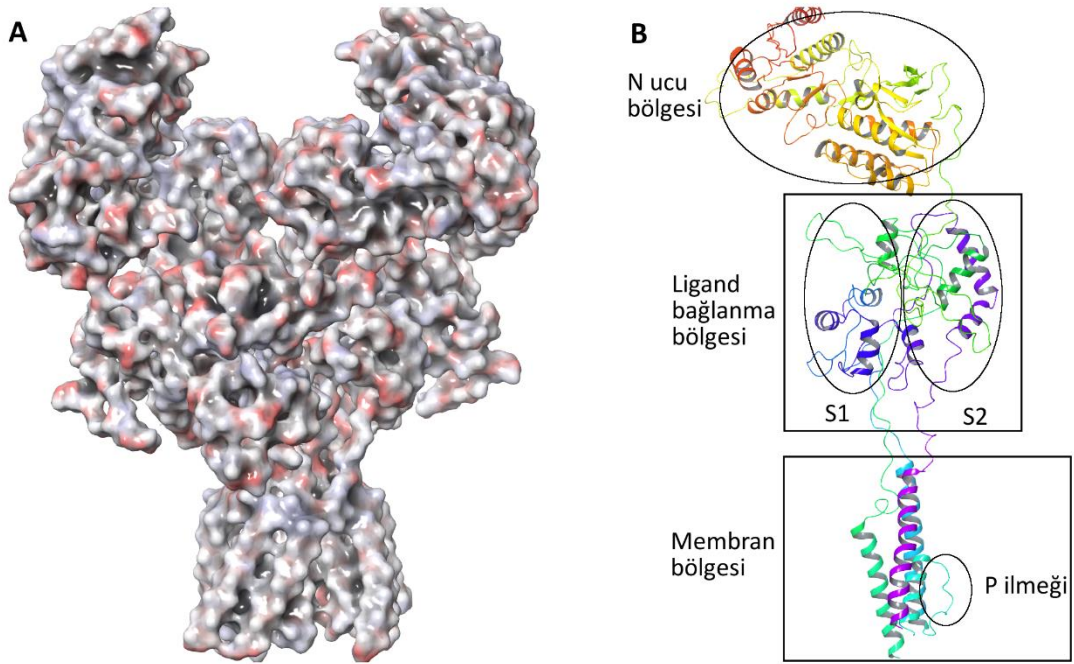


Şekil 2.19. Bazı iGluR agonistleri.

mGluR'leri G proteini ile kenetlenen reseptörlerdir (GPKR). Üç alt gruba ayrılan bu reseptörlerin glutamat ile aktivasyonu sonucu hücre içine Ca^{2+} girişi tetiklenir.

iGluR'ler dört alt birimin merkezi bir iyon kanalı etrafında dizilmesiyle oluşur. Dolayısıyla bu reseptörler homotetramer ya da heterotetramer yapıdadır. iGluR'ler merkezi por aracılığıyla hücre içine Na^+ ve bazı reseptörlerde Ca^{2+} , hücre dışına K^+ iletir. NMDAR, AMPAR ve KAR alt birimleri arasında belli bir amino asit dizi benzerliği söz konusudur. Özellikle AMPAR ve KAR alt birimleri arasındaki homoloji yaklaşık %40'tır; dolayısıyla alt birimler ortak bir mimariye sahiptir. Bu mimariyi dört ana bölge oluşturur: N ucu bölgesi, ligand bağlanma bölgesi, membran bölgesi ve C ucu bölgesi. N ucu bölgesi ve ligand bağlanma bölgesi ekstraselüler bölgededir. N ucu bölgesi alt birimler arası etkileşimleri ve dolayısıyla eşleşmeleri düzenler. NMDAR'lerde Zn^{+2} ve bir NMDAR inhibitörü olan ifenprodil bu bölgeye bağlanır (130, 131). Ligand bağlanma bölgesi iki uzun ilmekten oluşur. Bunlardan S1 olarak adlandırılan ilki, N ucu bölgesini takip eden ve membran bölgesinin ilk transmembran sarmalından (TM1) hemen önce

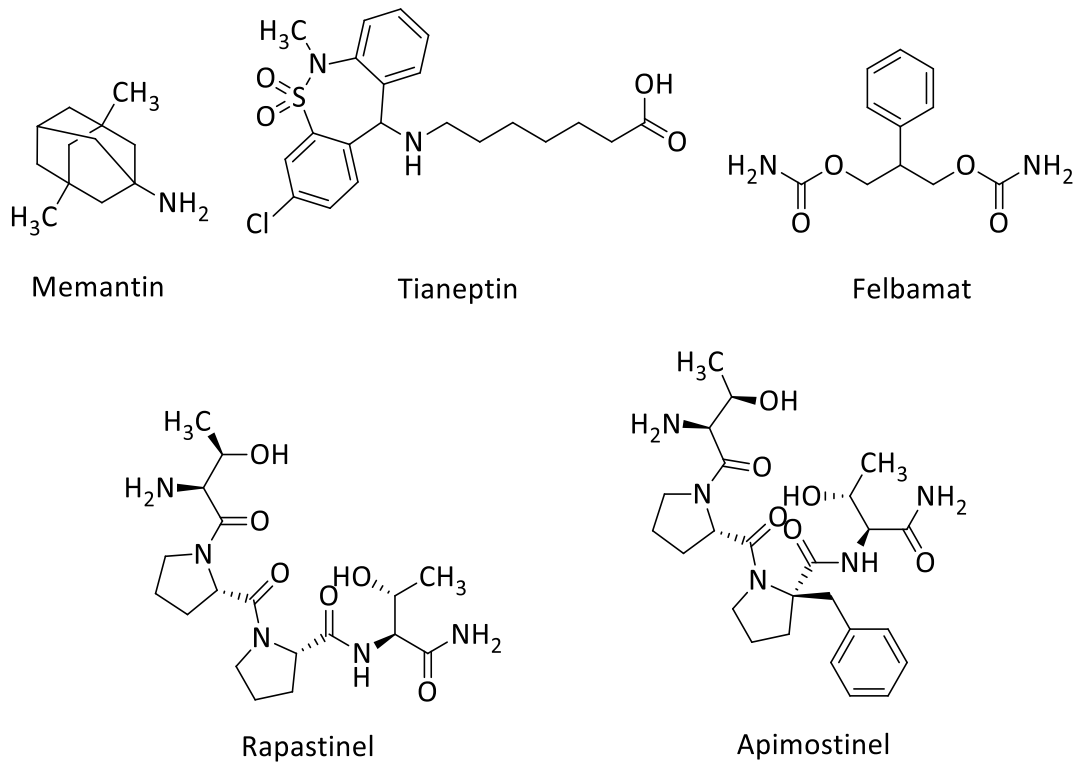
gelen kısımdır. Bu bölge genellikle nörotransmitter bağlanma bölgelerini içerir. Membran bölgesinin üçüncü (TM3) ve dördüncü sarmalı (TM4) arasında kalan uzun ekstraselüler ilmek ligand bağlanma bölgesini oluşturan ikinci ilmeğe (S2). Membran bölgesinde dört transmembran sarmal (TM1-4) mevcuttur (Şekil 2.20.). Membranı baştanbaşa kat eden diğer sarmalların aksine TM2 sarmalı membranı sitoplazmik uçtan membranın ortasına kadar, pora doğru belirli bir açıyla kat eder ve burada sitoplazmaya doğru geri kıvrılan bir vestibüle dönüşür (p ilmeği). Merkezi porun en dar bölgesini oluşturan bu vestibül bazı katyon kanallarında bulunan seçicilik filtresinin evrimsel kalıntısıdır. GluA2 alt birimi içeren AMPAR'ler ile GluK1 ve GluK2 içeren KAR'lerin Ca^{2+} iletimi çok düşüktür, çünkü bu alt birimlerin p ilmeğinde yer alan glutamin rezidüsü posttranskripsiyonel RNA düzenleme (*RNA editing*) ile arjinine dönüşür. Pozitif yüklü yan zinciri ile arjinin Ca^{2+} 'un geçişini engeller. Bunun eksitotoksositeye karşı bir savunma mekanizması olduğu düşünülmektedir (132-134). NMDAR'lerde Mg^{2+} 'a özgü bağlanma bölgesi, alt birimlerin membran bölgesinde bulunur (135). iGluR'lerin alt birimlerini birbirinden en çok ayıran sitoplazmik C ucu bölgeleridir. Bu bölge fosforilasyon, ubikuitinasyon ve palmitoilasyon gibi posttranslasyonel modifikasyonlara uğrayan bölgeler barındırır. Ayrıca bu reseptörlerin lokalizasyonlarını ve hücre içi sinyalizasyonlarını düzenleyen bir seri sitoplazmik protein etkileşmelerinde bulunan bölgeleri de burada yer alır (136, 137). Hayvan epilepsi modellerinde NMDA, AMPA ve kainat reseptör agonistlerinin epileptik nöbetleri indüklediği, bu reseptörlerin antagonistlerinin ise baskıladığı bilinmektedir. mGluR agonistlerinde ise bu sonuçlar değişkenlik göstermektedir. Bunun olası nedeni bu tip reseptörlerin dağılımı ve sinyal aktarım mekanizmalarının farklı oluşudur (138).



Şekil 2.20. *Rattus norvegicus* GluN1B-GluN2B NMDAR kristal yapısı (PDB kodu 5FXI (139)). Yandan bakışla reseptör (kısımlı yüke göre renklendirilmiş moleküler yüzey gösterimi) (A), GluN1B alt birimi ve önemli yapısal bölgeleri (B) (rezidü konumuna göre renklendirilmiş kurdele gösterimi).

Bir aspartik asit türevi olan NMDA'nın seçici olarak bağlandığı NMDAR, yavaş aktive olan ve selektif olmayan bir iGluR'dir. NMDAR'ler SSS gelişimi, hafıza, öğrenme ve nöroplastisite gibi pek çok işlevde önemli rol oynar. Epilepsinin yanı sıra, nöropatik ağrı, inme, iskemi, Parkinson, Alzheimer, şizofreni gibi SSS hastalıklarının altında yatan sebepler arasında NMDAR'ların işlevsel bozuklukları olabilmektedir. Dolayısıyla NMDAR'ler bu hastalıklara yönelik ilaç tasarımında da önemli bir hedeftir (140). NMDAR'lerde katyon kanalı, glutamat ve ko-agonist glisin farklı bağlanma bölgelerine (sırasıyla GluN2 ve GluN1) aynı anda bağlanmasıyla açılarak hücre içine Na^+ ve Ca^{+2} , hücre dışına K^+ iletir. Beynin bazı bölgelerinde glisin yerine ko-agonist olarak D-serin bulunur. NMDAR'lerin iletim durumları (açık ve kapalı durum) karmaşıktır ve normalde liganda bağlı iletim durumu voltaja bağlı olarak az da olsa modifiye olur. Öyle ki, membran istirahat fazında ekstraselüler Mg^{+2} ve Zn^{+2} iyonları kanala girerek spesifik bölgelere bağlanır ve diğer katyonların geçişini engeller. Membran voltajının yükselmesi ile Mg^{+2} ve Zn^{+2} kanaldan geri püskürtülerek katyon aktarımı tekrar sağlanır. Dolayısıyla, NMDA reseptörlerinin aktivasyonu için hem

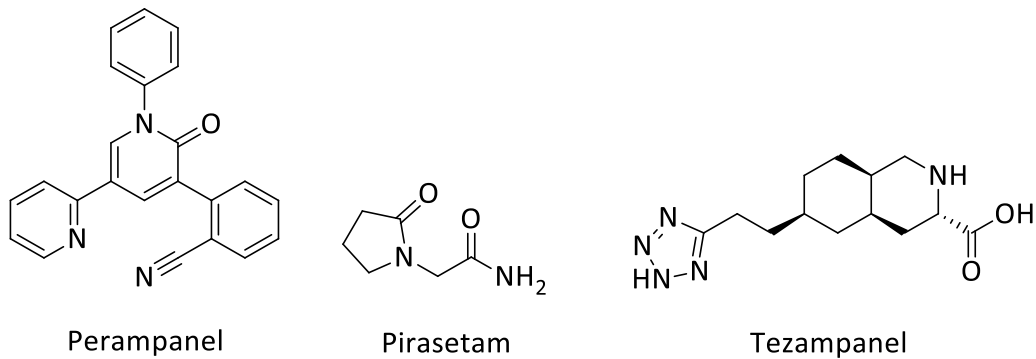
glutamat hem de depolarizasyon aynı anda olmalıdır (141-144). Her NMDAR iki GluN1 alt birimi bulundurur, diğer iki alt birim GluN2 ve/veya GluN3'tür. Klinik olarak kullanılan ya da araştırılmakta olan çeşitli NMDAR agonistleri, antagonistleri ve modülatörleri mevcuttur. Örneğin glisin bağlanma bölgesi parsiyel agonisti olan rapastinel ve apimostinelin antidepresan olarak kullanımı için faz çalışmaları sürmektedir (145, 146). Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılan memantin açık NMDAR membran bölgesindeki Mg^{+2} bağlanma bölgesinin yarışmasız inhibitörüdür (Şekil 2.21.). Majör depresif bozukluklarda kullanılan tianeptin bir NMDAR PAM'üdür. Epilepsi tedavisinde kullanılan bazı bileşiklerin NMDAR üzerinden etki gösterdikleri bilinmektedir. Bunlardan felbamat (FBM) hem NMDAR blokörü hem de A tipi $GABA_{A,R}$ PAM'üdür. Ancak, NMDAR'lerin tek başına hedeflenmesinin AEİ tasarımı için ne kadar uygun bir strateji olduğu tartışmalıdır (147-152).



Şekil 2.21. NMDAR üzerinden etki gösteren bazı ilaçlar.

Hızlı eksitatör nörotransmisyona aracılık eden AMPAR'lere ismini veren AMPA bir glutamat türevidir ve seçici bir AMPAR agonistidir. SSS'de hızlı sinaptik transmisyonu düzenleyen AMPAR, başta epilepsi olmak üzere sinaptik transmisyon

ve plastisite ile öğrenme, hafıza ve motor fonksiyonların kombine halde etkilendiği Alzheimer, Parkinson, Huntington gibi SSS hastalıklarında önemli rol oynamaktadır. Diğer glutamat reseptörleriyle birlikte sinaptik plasitisite ve özellikle uzun dönem potansiyasyonun bir parçasıdır. Presinaptik uçlardan salınan glutamat AMPAR'de ilgili bağlanma bölgelerine bağlanarak istirahat fazındaki (iletimin olmadığı) reseptörü aktive eder ve açılmasını sağlar. Açık durumdaki kanal hücre içine Na^+ ve Ca^{+2} iletirken hücre dışına K^+ iletir. Çoğu AMPAR bir çift GluA2 içerir; diğer alt birim çifti GluA1, GluR3 veya GluRA'dır. Beynin bazı bölgelerinde az da olsa homotetramer AMPAR'ler ya da farklı alt birimler görülür (153). Merkezi porun açılması için NMDAR'lerdekine benzer şekilde glutamatın iki alt birimdeki ilgili bağlanma bölgesine birden bağlanması gerekir. Diğer alt birimlere de glutamat bağlanması durumunda katyon iletimi artar. Bazı iyon kanallarında olduğu gibi AMPAR'ler açık durumun ardından hızlı desensitizasyona geçerek katyon akımını durdurabilir. Desensitizasyon durumunda, istirahat fazından farklı olarak, reseptöre ligand bağlıdır ve reseptörün konformasyonu farklıdır (153). AMPAR'ler AEİ tasarımında hedef makromolekül olma potansiyeli taşımaktadır. AMPAR negatif allosterik modülatörü olarak tasarlanan perampanel klinik olarak kullanıma girmiş bir AEİ'dir (Şekil 2.22.) (154). Nootropik olarak kullanılan rasetam grubu bazı ilaçlar (ör.: pirasetam) AMPAR PAM'üdür (155). Yarışmalı AMPAR ve KAR antagonisti olan tezampanel (156) ise nöroprotektif ve antikonvülsan etkilere sahip bir bileşiktir (157, 158).



Şekil 2.22. AMPAR üzerinden etki gösteren bazı bileşikler.

Bazı deniz yosunlarından izole edilen kainat, epilepsi ve Alzheimer hastalığı modelleri gibi çeşitli nörobilim uygulamalarında kullanılır ve seçici bir KAR agonistidir

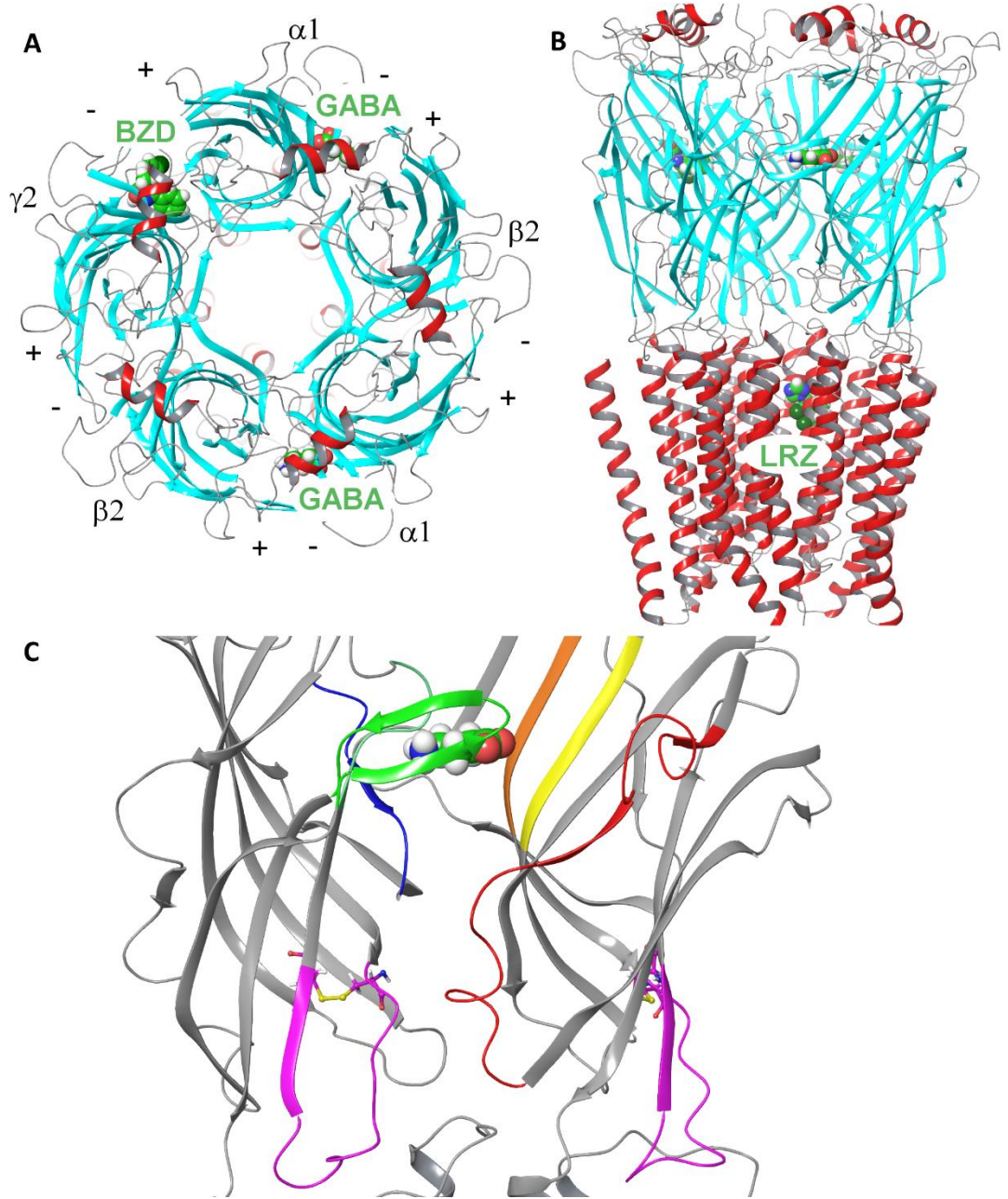
(159, 160). NMDAR ve AMPAR'e göre daha az aydınlatılmış olan KAR; epilepsi, ağrı ve eksitotoksistide önemli işleve sahiptir. Postsinaptik ve presinaptik nöronlarda ve ayrıca hücrede farklı lokalizasyonlarda bulunan KAR diğer iGluR'lere göre SSS'de sınırlı dağılım gösterir. Postsinaptik KAR presinaptik uçlardan salınan glutamat ile voltaja bağlı olmaksızın aktive olur ve Na⁺ ile K⁺ iletimi sağlar. Alt birim kompozisyonuna bağlı olarak çok az da olsa Ca²⁺ iletimi de gözlenir. Bu aktivasyon yavaş ve neden olduğu EPSP düşüktür. KAR'lerin sinaptik sinyal aktarımı zayıftır ve postsinaptik KAR aktivasyonunun bir nöronal ateşlemeye dönüşme ihtimali düşüktür. Dolayısıyla sinaptik plastisitede önemli rol oynamaz. (161). Presinaptik KAR'ler GABA internöronlarla temas halindeki presinaptik GABAerjik uçlarda GABA salımını etkilemektedir, ancak glutamatın bu fonksiyon üzerindeki etkileri net değildir (162-164). Çoğunluğu heterotetramer yapıda olan KAR'lerde GluK1-3 alt birimleri homomerik reseptörler de oluşturabilmektedir. Kainatın epilepsideki rolü KARların keşfinden çok daha önceye dayanır. Kemirgenlerde sistemik ya da intraserebral kainat enjeksiyonu hipokampusta epileptiform deşarjlara neden olur ve bu deşarjlar limbik sistemin diğer bölgelerine yayılır. Bu, temporal lob epilepsisinde en sık kullanılan modeldir. AMPAR'lerin de kainat afinitesi olduğu düşünüldüğünde, bu deşarjların hangi reseptörler aracılığıyla gerçekleştiği hipokampal CA3 bölgesinde yapılan deneylerle anlaşılmıştır. KAR'den oldukça zengin olan CA3 bölgesine ait kesit preparatlarında mikromolar altı düzeyde kainatla varlığında epileptik aktivite gözlenmiştir (159). Ayrıca GluK2 alt birimi taşımayan farelerin kainat ile indüklenen konvülsiyonlara dirençli olduğu görülmüştür (165). TPR'ın bir GluK1 agonisti olan ATPA ((RS)-2-amino-3-(3-hidroksi-5-ter-butilizoksazol-4-il)propanoik asit) ile indüklenen klonik nöbetleri seçici olarak engellediği bildirilmiştir (166).

b. İnhibitör Postsinaptik Potansiyel ve GABA Reseptörleri

Temel inhibitör nörotransmitter olan GABA, GABA reseptörlerinin endojen ligandıdır. İnhibitör postsinaptik potansiyelden (İPSP) sorumlu olan GABA reseptörleri A ve B tipi olmak üzere iki ana gruba ayrılır.

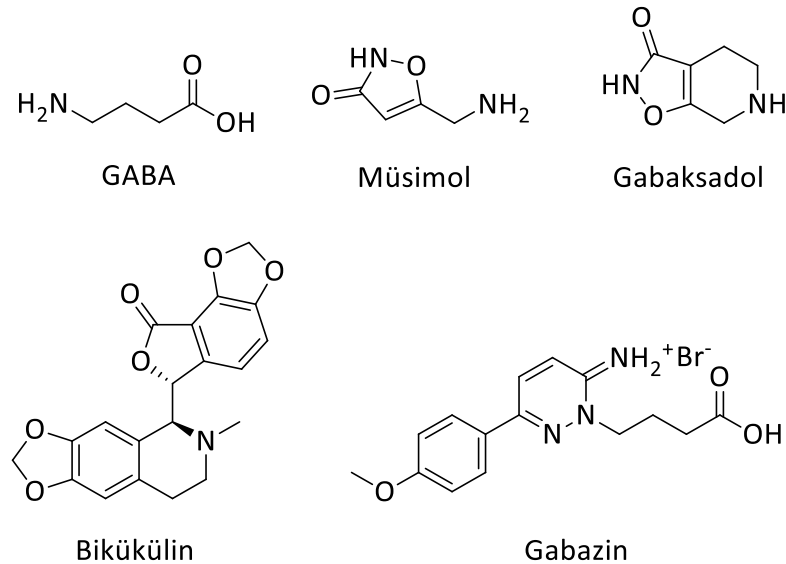
GABA_AR

Beyinde hızlı inhibitör transmisyonu düzenleyen GABA_AR'ler, ligand kapılı iyon kanallarıdır ve *Cys-loop* ligand kapılı iyon kanalları familyasına dahildir. Bu familya birbiriyle evrimsel olarak ilişkili ve yapısal olarak benzer asetilkolin, glisin, 5-HT₃ gibi çeşitli iyon kanallarını içerir. GABA_AR, birbirinden farklı beş alt birimin merkezinde Cl⁻ 'e seçici bir iyon kanalı oluşturacak şekilde organize olmasıyla oluşan bir membran proteindir. Bugüne kadar 20 farklı GABA_AR alt birimi tanımlanmıştır. Her bir alt birim N ucunda yer alan uzun bir ekstraselüler bölge, dört adet transmembran sarmaldan (M1-4) oluşan membran bölgesi ve C ucunda yer alan kısa bir ekstraselüler bölgeden oluşur (Şekil 2.23.). Transmembran sarmallar arasında ikisi hücre içinde biri hücre dışında olmak üzere üç adet ilmek ile birbirine bağlanır. SSS'de en çok görülen alt birim kompozisyonu iki $\alpha 1$ iki $\beta 2$ ve bir $\gamma 2$ 'den oluşan GABA_AR'lerdir. Ancak δ alt birimi içeren reseptörler tüm reseptörlerin sadece %5-10'unu oluşturduğu halde $\alpha 1\beta 2\gamma 2$ 'den oluşan reseptörlere göre GABA'ya çok daha duyarlıdır. Örneğin $\alpha 6\beta 3\delta$ reseptörü GABA'ya ≈ 100 kat daha duyarlıdır. Daha önce C tipi olarak sınıflandırılan ρ alt birimi taşıyan GABA_AR'ler genellikle homopentamer olarak bulunur. Bir GABA_AR'de her alt birim iki alt birimle komşudur ve alt birimlerin birbirine bakan ara yüzleri birincil (+) ve tamamlayıcı (-) ara yüzler olarak adlandırılır. Bu ara yüzlerin bazı yerleri ligand bağlanma bölgesidir ve bu reseptörlerin moleküler belirleyicilerini anlamak açısından önemlidir (167, 168).



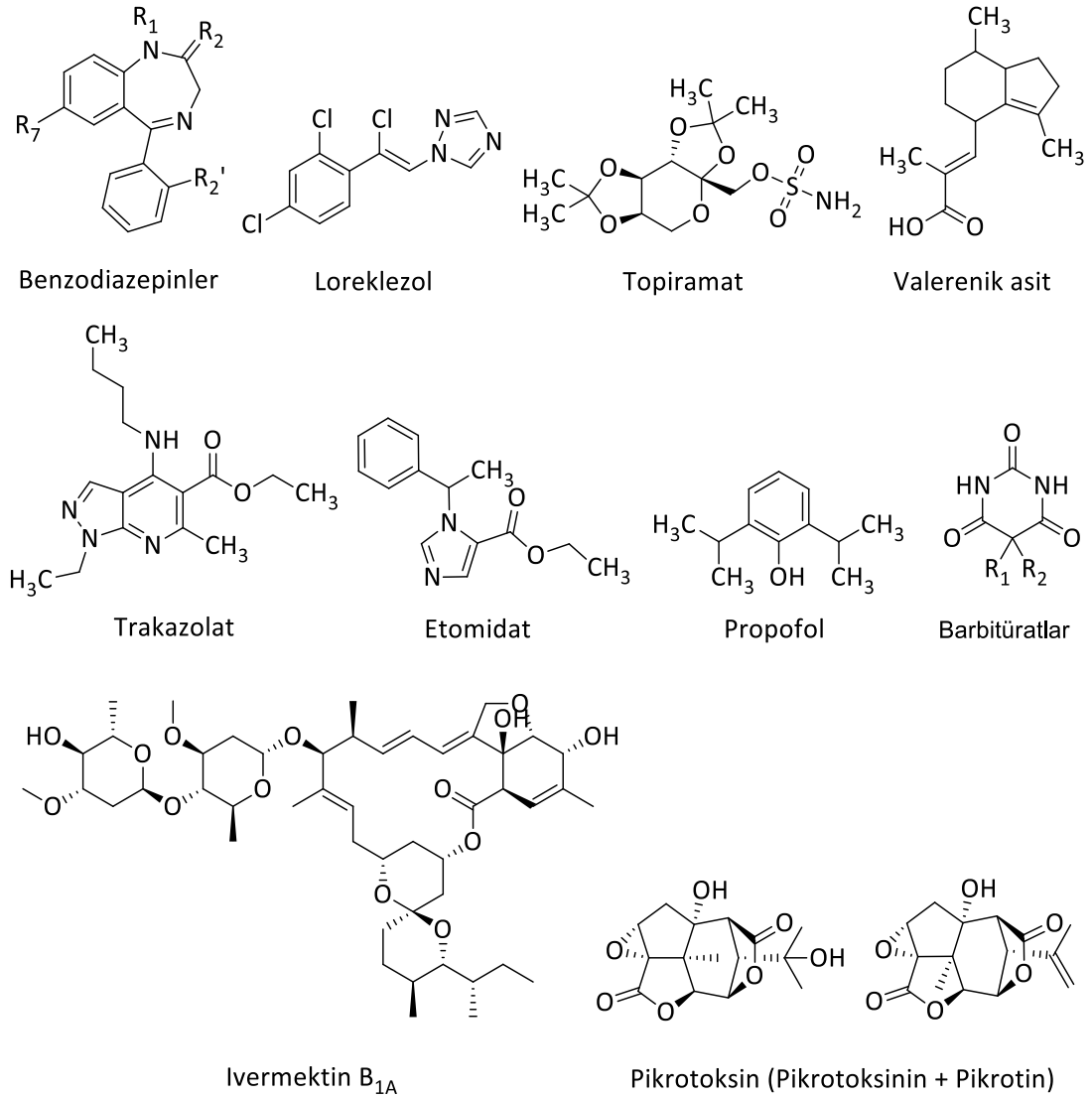
Şekil 2.23. $\alpha 1\beta 2\gamma 2$ GABA_AR homoloji modeli (34). Tepeden bakışla alt birimlerin (etiketlenmiş) ekstraselüler N ucu bölgesi (ikincil yapıya göre renklendiriliş kurdele gösterimi) arasındaki birincil ve tamamlayıcı ara yüzler (etiketlenmiş) ile ilgili bağlanma bölgelerinde (etiketlenmiş) GABA ve diazepam (DZP) (dolgu gösterimi) (A); yandan bakışla membran bölgede (ikincil yapıya göre renklendiriliş kurdele gösterimi) LRZ bağlanma bölgesi (etiketlenmiş) ve LRZ (gösterimi) (B); yandan bakışla GABA bağlanma bölgesindeki (kurdele gösterimi) A-F ve Cys ilmekleri (sırasıyla mavi, turkuvaz, yeşil, sarı, turuncu, kırmızı ve mor), C ilmeği altında GABA (dolgu gösterimi) ve Cys ilmeklerinin iki ucunda S-S köprüsünü oluşturan sistein rezidüleri (çubuk ve top gösterimi) (C) (BZD: benzodiazepin).

GABA bağlanma bölgesi (ortosterik bağlanma bölgesi) reseptörün $\alpha 1(-)/\beta 2(+)$ ara yüzünde ekstraselüler N ucunda yer alır (Şekil 2.23.). Üçü $\alpha 1$, üçü $\beta 2$ 'den olmak üzere altı adet ilmekten (A-F ilmekleri) oluşan bu bölge aynı zamanda agonist (ör.: müsümol, gabaksadol) ve antagonist (ör.: bikükülin, gabazin) bağlanma bölgesidir (Şekil 2.24). *Cys-loop* ismi, bu reseptör familyasında ortak olarak görülen E ve B ilmekleri arasındaki iki sistein rezidüsü yan zincirinin oluşturduğu S-S köprüsünden gelmektedir. GABA veya agonistlerin ortosterik bağlanma bölgesine bağlanmasıyla oluşan konformasyonel değişiklikler porun açılmasını sağlar ve Cl^- iyonlarının elektrokimyasal bir gradyan boyunca hücre içine geçişine olanak verir. Böylelikle polarize olan membran daha stabil hale gelerek, depolarizasyona ve aksiyon potansiyeline karşı dirençli hale gelir. Öncesinde (apo) kapalı durumda olan kanal açık duruma geçerken birkaç kapalı durum arasında geçiş yapar (169). Çoğu iyon kanalında görülen desensitize durum $GABA_{A}R$ 'larda da görülmektedir. Aşırı uyarılan reseptör ligand bağlı haldeyken kendini kapatarak Cl^- akımını durdurur. Desensitize haldeki reseptör, haliyle, kapalı reseptörden farklı bir konformasyona sahiptir ve $GABA_{A}R$ 'lerde TM2 ve TM3 segmentlerinin sitoplazmik ucunda yer alan rezidülerin desensitize konformasyonu düzenlediği gösterilmiştir (170).



Şekil 2.24. Bazı $GABA_{A}R$ agonist ve antagonistleri.

Agonistler haricinde GABA_AR'lerin çok sayıda PAM'ü vardır. PAM'ler GABA_AR üzerinde ortosterik bağlanma bölgesinden farklı bölgelerle (allosterik bağlanma bölgeleri) etkileşir. Bunlardan BZD bağlanma bölgesi, benzodiazepin grubu ilaçlar ve bazı nonbenzodiazepin bileşiklerin (Şekil 2.25.) bağlandığı bölgedir ve $\alpha 1(+)/\gamma 2(-)$ ara yüzünde A-F ilmeklerinin bulunduğu bölgede yer alır (Şekil 2.23.). BZD bağlanma bölgesiyle etkileşen bileşikler, tetikledikleri global konformasyonel değişikliklerle GABA'ya bağlı yanıtları güçlendirmektedir (171). GABA ve BZD bağlanma bölgelerinin moleküler belirleyicileri ve bu bölgelere ligand bağlanmasının reseptör dinamikleri üzerindeki etkileri iyi tanımlanmıştır. Bugüne kadar yapılan deneysel ve teorik çalışmalarda bu bölgelerdeki kilit rezidü ve etkileşmeler, konformasyonel değişiklikler ve bunların kanal iletimine etkileri ortaya konmuştur. Örneğin ortosterik bağlanma bölgesinde agonist varlığında C ilmeğinin kapalı konformasyona geçtiği bilinmektedir (172). GABA'ya çok daha hassas olan $\alpha 6\beta 3\delta$ reseptörlerde F ilmeğinin ligand-reseptör kompleksine daha fazla katkı sağladığı gösterilmiştir. Aynı ilmeğin GABA_AR'nin BZD'ler ile modülasyonunda önemli rolü olduğu tartışılmıştır (173).



Şekil 2.25. Bazı GABA_AR PAM'leri ve pikrotoksin.

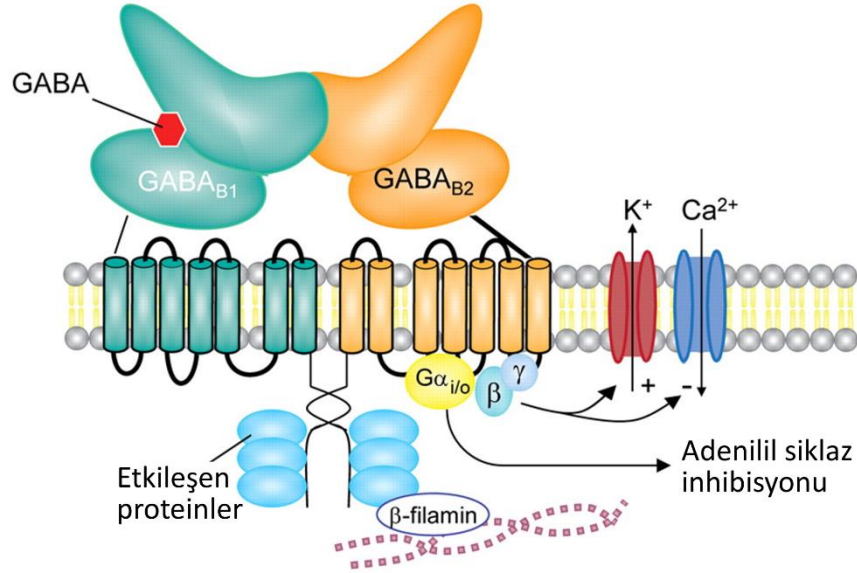
GABA_AR'da bir başka allosterik bağlanma bölgesi ise LRZ bağlanma bölgesidir (Şekil 2.23.). LRZ, (arilalkil)azol yapısında antikonvülsan ve sedatif etkilere sahip bir ilaç adaydır (Şekil 2.25). Bu bileşiğin GABA_AR üzerinde PAM etkiye sahip olduğu, bu etkinin $\beta 2$ alt biriminin Asn265 rezidüsü tarafından belirlendiği gösterilmiştir (18). Ayrıca BZD bağlanma bölgesi kompetitif inhibitörü olan flumenzil, LRZ'ün GABA_AR üzerindeki etkilerini değiştirmemektedir (174). Asn265, $\beta 2$ TM2 segmentinde yer almakta, yan zinciri $\beta 2(+)/\alpha 1(-)$ ara yüzüne bakmaktadır. Aynı rezidü GABA_AR üzerinden etki gösteren TPR (antiepileptik), valerenik asit (sedatif), trakazolat (anksiyolitik) ile bazı alkol (bütanol, oktanol) ve anesteziklerin (propofol, etomidat) aktivitelerini belirlemektedir (Şekil 2.25.) (19, 20, 175, 176). LRZ bağlanma bölgesine

afinite gösteren ligandların GABA'ya bağlı Cl⁻ iletimini nasıl güçlendirdiğine dair ipuçları bir antiparaziter ilaç ve GABA_AR da dahil bazı *Cys-loop* reseptörleri PAM'ü olan ivermektin ile *Caenorhabditis elegans* glutamat bağlı klorür kanalının (GluCl α) beraber kristallendirildiği bir çalışmada yer almaktadır. Buna göre ivermektin GluCl α 'nın iki α alt biriminin transmembran sarmalları arasına sokularak her iki alt birimle üç önemli H bağı kurmaktadır. Bu H bağlarından birisi TM2'de yer alan Ser260'ın yan zinciri ile kurulmuştur ve bu rezidü GABA_AR β 2 TM2'de Asn265'e karşılık gelmektedir. İvermektin iki alt birim arasına sokularak güçlü etkileşmeler göstermekte, alt birimler arasındaki mesafeyi adeta bir kama gibi açarak poru genişletmekte ve açık durumdaki kanalı stabilize etmektedir (172). Barbitüratların da benzer şekilde γ - β alt birimlerinin transmembran ara yüzlerindeki yukarıda bahsedilen allosterik bölgeye karşılık gelen yere bağlandığı bildirilmiştir (177). Bitkisel kaynaklı bir konvülsan olan pikrotoksin GABA_AR'nin yarışmasız kanal blokörüdür ve porun sitoplazmik ucuna yakın bir bölgesine bağlanmaktadır (Şekil 2.25.). Pikrotoksinin GluCl α kristal yapısında da benzer bir bölgeye bağlandığı görülmüştür (168, 172).

B Tipi GABA Reseptörleri

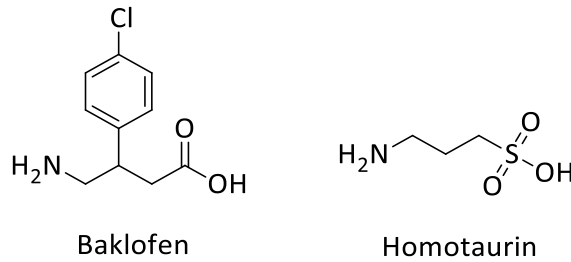
C sınıfı GPKR'ler familyasında yer alan B tipi GABA reseptörleri (GABA_BR'ler), metabotropik transmembran reseptörleridir ve yavaş inhibitör nörotransmisyonundan sorumludur. GABA_BR'lerin aracılık ettiği inhibitör potansiyel GABA_AR'lerinkine göre çok daha polarizedir (178). G-proteinleri aracılığıyla Ca²⁺ ve K⁺ kanalları ile adenilil siklaza bağlanır (Şekil 2.26). Adenilil siklaz ve Ca²⁺ inhibisyonu ile Ca²⁺ iletimini düşürür, K⁺ kanallarını aktive ederek hücre dışına K⁺ iletimini artırır (179). SSS yanı sıra GABA_BR'ler bazı periferik sinirlerde de bulunur. Nöronlarda presinaptik, postsinaptik ve ekstrasinaptik olarak konumlanabilir. Yapısal olarak mGluR'lere benzeyen GABA_BR'ler GABA_B1 ve GABA_B2 alt birimlerinin intraselüler C uçları aracılığıyla birleşerek oluşturduğu heterodimer yapıdadır. Agonist bağlanma bölgesi alt birimlerin oldukça büyük olan ekstraselüler N ucu bölgesinde bulunur. Membran bölge yedi transmembran sarmaldan oluşur. Efektör G-proteinlerle eşleşmeden

GABA_{B2} alt birimi sorumludur. GABA_BR'ler G-proteinler dışında hücre içi ve hücre dışı pek çok proteinle etkileşir. Bunlar reseptör trafiği, sinyalizasyonu ve kenetlenmesini düzenleyen proteinlerdir (180).



Şekil 2.26. GABA_BR yapısı ve işlevleri (Benarroch'un (180) çalışmasından değiştirilerek alınmıştır).

Doğal agonist olan GABA dışında pek çok GABA_BR agonisti mevcuttur. Bunlardan baklofen bir GABA analogudur ve GABA_BR'lere seçici olarak bağlanır (Şekil 2.27). Kas gevşetici etkisi nedeniyle spastisitede kullanılmaktadır (181). Alzheimer hastalığına karşı faz III denemelerinde elenen homotaurin bir GABA_BR antagonistidir (182). Bunlarla beraber bugüne kadar tanımlanmış çeşitli GABA_BR PAM'leri da mevcuttur (183-185). Fonksiyonel GABA_BR'lerden yoksun *knock out* farelerde erken ölümlerle sonuçlanan spontane nöbetler, azalmış nöbet eşiği, bilişsel bozukluklar ve farklı bir çevreyle etkileşme halinde artan lokomotor aktivite gözlenmiştir (180).



Şekil 2.27. Bazı GABA_BR ligandları.

c. Eksitabiliteyi Etkileyen Unsurlar

Sinir sisteminde eksitatör/ihibitör dengenin bozulması epilepsi patofizyolojisinin altında yatan temel nedenlerdir. Bu dengenin bozulmasına neden olan bazı intrinsik ve ekstrinsik unsurlar eksitabiliteyi arttırarak kontrolsüz deşarjların başlamasına neden olur.

Na_v ve $GABA_A R$ gibi iyon kanallarının sayısı, tipi ve dağılımı bu dengeyi etkilemektedir. Ayrıca bu kanal ve reseptörlerdeki biyokimyasal modifikasyonlar da eksitabiliteyi etkiler. Örneğin NMDAR fosforilasyonu Ca^{+2} iletimini arttırarak eksitabiliteyi arttırır. İkincil mesajcı sistemlerin aktivasyonu ise zıt yönde etki gösterir. Örneğin norepinefrinin kendi reseptörüne bağlanmasıyla aktifleştirilen siklik AMP devamında bazı G-proteinlerini aktifleştirir. Bu da K^+ kanallarının açılarak membranın hiperpolarize olmasına ve eksitabilitenin azalmasına yol açar. Ayrıca yukarıda da bahsedilen RNA düzenleme gibi, gen ekspresyonu değişiklikleri de bu unsurlar arasındadır (186-188).

Ekstraselüler iyon konsantrasyonlarında görülen değişmeler, sinaptik etkileşmelerin yeniden düzenlenmesi ve glia hücrelerinde nörotransmitter metabolizmasının değişmesi ekstrensek unsurlardandır. Örneğin ekstraselüler hacmin azalması buradaki K^+ yoğunluğunu arttırarak hücre dışına K^+ iletimi üzerinde baskı oluşturur ve eksitabiliteyi arttırır. Aferent akson terminalinin hedef hücreye yaklaşması hücre içine iyon iletimini arttırarak aksiyon potansiyelini tetikleyebilir (189).

Sinir hücreleri eksitabiliteyi kontrol altına alacak bağlantılarla birbirine bağlıdır. Örneğin Dentat girus'ta sinir ağına aferent bağlantılar projeksiyon hücrelerini doğrudan etkinleştirebilir. Bu uyarı aynı zamanda bölgesel internöronları da doğrudan etkinleştirir ve bu hücreler yakın çevredeki projeksiyon hücrelerini inhibe edebilir (ileri besleme inhibisyon). Ya da projeksiyon hücreleri internöronları aktive ederek bu nöronların kendilerini inhibe etmesine neden olabilir (geri besleme inhibisyon). Dolayısıyla bu aę içinde yer alan hücrelerin işlevindeki değişiklikler yakın ve uzak çevredeki nöronları etkiler. Örneğin eksitatör nöron aksonlarının daha geniş

bir alana yayılarak daha fazla bağlantı yapması bağlantı halindeki hücre ağında eksitabiliteyi arttıracaktır (190).

2.2.3. AEİ'lar

Modern epilepsi tedavisi, epilepsinin aşırı seks dürtüsünden kaynaklandığı düşüncesinden yola çıkılarak 1850'lerde bromürlerle başlamıştır (191). 1910'da uykusuzluk için kullanılan fenobarbital (FNB) epilepsi tedavisinde kullanılmaya başlanmış ve sonrasında primidon (PMD) gibi çeşitli barbitürat türevleri kullanıma sokulmuştur (192). Uykusuzluğun tedavisi için girişilen yeni molekül arayışları barbitüratlar üzerinde yapılan modifikasyonlarla hidantionlerin keşfine yol açmıştır. İlk kez 1908'de sentez edilen FNT'in düşük dozlarda sedatif etki göstermediği görülmüş, antikonvülsan etkileri 1938'de keşfedilmiştir. Bromürler ve FNB'in antikonvülsan etkileri şans eseri bulunmuşsa da FNT, potansiyel AEİ'ların hayvanlarda denenmesini kapsayan bir çalışmanın ürünüdür (193). FNT ile birlikte antiepileptik ilaçların uyku hali yaratmadan da etkili olabileceği anlaşılmış ve sedatif olmayan yeni antiepileptiklerin keşfi için çalışmalar başlamıştır. Yeni analjesiklerin keşfine yönelik bir program kapsamında 1944'te keşfedilen trimetadion, bir yıl sonra absans nöbetlerinde etkili bulunmuş ve bu tip nöbetlerde kullanılan ilk ajan olmuştur (194). Takip eden 15 yıl içerisinde aralarında etosüksimidin de bulunduğu üreit yapısında pek çok AEİ keşfedilmiş; ancak bu yapı dışında kayda değer bir keşif olmamıştır. 1930'larda geliştirilen benzodiazepinlerin antiepileptik özellikleri ilk kez 1965'te DZP'ın *status epilepticus*'ta etkili olduğunun gösterilmesiyle ortaya çıkmış ve üreit yapısında olmayan ilk AEİ olmuştur (195). DZP'ı 1970'lerde keşfedilen klonazepam (KZP), klobazam ve KBZ takip etmiştir. Sentezi 1882'ye uzanan valproat (VLP) suda çözünmeyen bileşiklerin test edilmesi için çözücü olarak kullanılırken tesadüfen antikonvülsan aktiviteye sahip olduğu anlaşılmıştır. Avrupa'da 1960'ta kullanılmaya başlanan VLP ABD'de 1978'de ruhsat almıştır ve günümüzde en çok kullanılan AEİ'lar arasındadır (196). 1990'lardan itibaren daha etkili, daha iyi tolere edilebilen ve daha az yan etkiye sahip yeni kuşak AEİ'lar geliştirilmiştir. Lamotrigin (LMG), TPR, gabapentin (GBP), okskarbazepin (OBZ) ve levetirasetam (LVT) bunlara örnektir.

Bunlardan çoğu ilave tedavi olarak ruhsatlandırılmış olsa da LMG monoterapi olarak kullanılır (Tablo 2.2.).

Tablo 2.2. FDA tarafından bugüne kadar antiepileptik kullanımı onaylanmış ilaçlar ve endikasyonları (197)

Jeneralize başlayan tonik-klonik nöbetler	Fokal başlayan nöbetler	Absans nöbetleri	Atipik absans, miyoklonik ve atonik nöbetler
<i>İlk tercih ilaçlar</i>			
VLP	KBZ	VLP	VLP
LMG	FNT	etosüksimit	LMG
TPR	OBZ		TPR
	VLP		
<i>Alternatif ilaçlar</i>			
ZNS	LVT	LMG	KZP
FNT	TPR	KZP	FBM
KBZ	TGB		
OBZ	ZNS		
FNB	GBP		
PMD	FNB		
FBM	PMD		
	FBM		
	EBZ		
	vigabatrin		
	LKT		
	PGB		
	rufinamit		

ZNS: zonisamit, TGB: tiagabin, EBZ: eslikarbazepin, LKT: lako zamit, PGB: pregabalin,

a. AEİ'lerin Etki Mekanizmaları

AEİ'lar etkilerini dört temel mekanizma üzerinden gösterir: (i) sodyum, potasyum, kalsiyum gibi voltaj kapılı iyon kanallarının modülasyonu; (ii) GABA reseptörlerinin aktivasyonu, GABA transporter proteini (GAT) ve GABA transaminazın (GABA-T) inhibisyonu gibi GABAerjik yollar üzerinden İPSP'yi arttırma; (iii) sinaptik vesikül glikoprotein 2A (SV2A) proteinine bağlanarak sinaptik nörotransmitter salımını etkileme; (iv) glutamat reseptörlerini inhibe ederek EPSP'yi azaltma (198). Ancak AEİ'ların etki mekanizmaları bunlarla sınırlı değildir. Bazı AEİ'lar talamokortikal

devrede senkronize ateşlemelerin altında yatan ritim oluşturma mekanizmalarına müdahale ederek etki gösterir (199). Bunun yanında karbonik anhidrazlar, nöronal adenosin, asetilkolin ve serotonin (5-HT) reseptörleri, tip 1 kannabinoid reseptörleri (CB₁R), oluklu kavşak (*gap junction*) ve α peroksisom proliferatör aktivatör reseptörleri (PPAR- α) AEİ'lar için literatürde bildirilen diğer mekanistik hedeflerdir (198, 200-202). AEİ'ların çoğu birden fazla mekanizma üzerinden etki gösterir ve bu nedenle bazı AEİ'ların etki mekanizmaları henüz tam olarak bilinmemektedir (Tablo 2.3.).

Tablo 2.3. AEİ'ların moleküler hedefleri

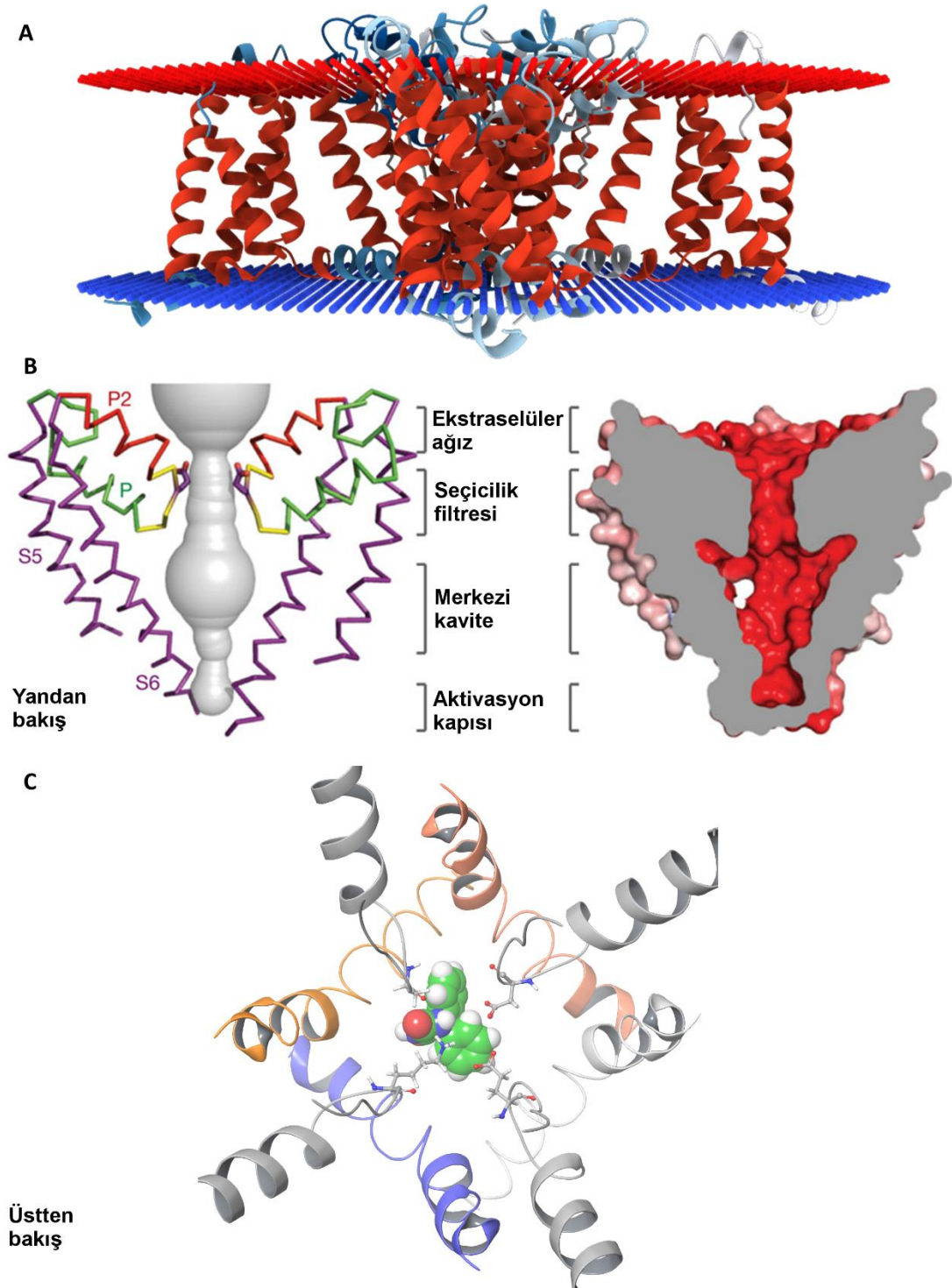
Moleküler hedef	Bu moleküler hedefle etkileşen AEİ
<i>Voltaj kapılı iyon kanalları</i>	
Na _v	FNT, KBZ, LMG, FBM, TPR, OBZ, ZNS, rufinamit, LKT, EBZ, VLP, GBP
Ca _v	etosüksimit, ZNS, VLP, FNB, LMG, FBM, TPR, GBP, PGB
K _v	retigabin
<i>GABAerjik yollar</i>	
GABA _A R	BZD'ler, barbitüratlar, TPR, stiripentol, LVT, bravirasetam
GABA-T	vigabatrin
GAT-1	TGB
<i>iGluR</i>	
AMPAR	perampanel, FNB
NMDAR	FBM
KAR	TPR
<i>Diğer</i>	
SV2A	LVT, bravirasetam
Karbonik anhidraz	asetazolamit

Na_v İnhibisyonu

Sinir sistemi ile kaslarda bulunan ve α alt biriminin bilinen dokuz alt tipi (Nav1-9) bulunan bu kanallar aksiyon potansiyelinin iletiminden sorumludur. Sinir sisteminde nöronal membranda, dendritlerde, somada, aksonlarda ve nöron

uçlarında ifade edilir. FNT ve KBZ tipik Na_v inhibitörü AEİ'lerdir. Yeni kuşak AEİ'lardan LMG, FBM, TPR, OBZ, ZNS, rufinamit, LKT ve EBZ'in etki mekanizmaları arasında Na_v inhibisyonu da bulunmaktadır. Ayrıca VLP ve GBP'in Na_v inhibitör etkilere de sahip olduğu gösterilmiştir. Na_v 'ler kapalı, açık ve inaktif olmak üzere üç durumda bulunur. Membran polarize haldeyken istirahat fazında ve porun ekstraselüler tarafında bulunan aktivasyon kapısı ile iletme kapalı olan kanal, artan membran potansiyeli sonucu bu kapının açılması ile hücre içine Na^+ iletimine başlar (açık durum). Hücre içinde Na^+ yoğunluğu belirli bir notaya ulaştığında bu sefer porun intraselüler tarafında bulunan inaktivasyon kapısı kapanır ve kanal Na^+ iletimini durdurur (inaktif durum). Normal şartlarda kanal inaktif durumdan istirahat fazına geçerek bir sonraki aksiyon potansiyeline hazır hale gelir; ancak Na_v inhibitörü AEİ'lerin inaktif durumdaki kanala bağlanması bu geçişi yavaşlatır. Dolayısıyla bu AEİ'lar hem voltaja hem de frekansa dayalı inhibisyon gösterir; birbiri ardı gelen ateşlemeleri engellerken düzenli ateşlemelere çok az müdahale eder (203, 204).

α ve β alt birimlerinden oluşan Na_v 'nin α alt birimi tek başına işlevseldir ve birbiri etrafında saat yönünde dizilerek merkezinde bir kanal oluşturan dört bölgeden oluşur (DI-IV) (Şekil 2.28.). Her bir bölge altı segmentten oluşur (S1-6). S4 voltaj sensörüdür, bu segmentte dört ila yedi adet birbirini takip eden ve aralarında iki hidrofobik rezidü bulunan üç pozitif yüklü rezidüden oluşan motifler bulunmaktadır. Normalde transmembran oryantasyona sahip bu rezidüer artan depolarizasyonla membrana doğru dönerek aktivasyon sürecini başlatır. S5 ve S6 merkezi poru çevreleyen rezidüleri bulundurur. İki segment arasında yer alan P ilmeği pora doğru kıvrılmış vaziyettedir ve bu ilmeğin en ucunda porun en dar noktasına karşılık gelen seçicilik filtresi yer alır (Şekil 2.28.). Bu filtre Asp-Glu-Lys-Ala rezidülerinde oluşur (DEKA motifi). Böylelikle iyon kanalını oluşturan S5 ve S6 segmentleri ile P ilmekleri geniş ağzın ekstraselüler tarafa geldiği bir huniye benzer. Na_v inhibitörü AEİ'ların lokal anesteziklerin de bağlandığı inaktif haldeki Na_v 'nin seçicilik filtresi ile aktivasyon kapısı arasındaki merkezi kaviteye, DI, DII ve DIV bölgelerinin S6 segmentine bağlandığı sanılmaktadır (204-207).



Şekil 2.28. *Arcobacter butzleri* Nav kristal yapısı (PDB kodu: 3RVY (204)) α alt birimi (kurdele gösterimi) (teorik membran içinde) (A); S5 ve S6 segmentlerinin bir kısmı ile P ilmeği (solda C_{α} izi boru, sağda moleküler yüzey gösterimi) ve porda yer alan önemli kısımlar (B); insan Nav homoloji modeli S5 ve S6 segmentlerinin bir kısmı, P ilmeği (kurdele gösterimi) ve DEKA rezidüleri (çubuk ve top gösterimi) ile merkezi kavitede kenetlenmiş halde FNT (dolgu gösterimi) (C) (206).

Voltaj Kapılı Kalsiyum Kanallarının İnhibisyonu

Voltaj kapılı kalsiyum kanalları (Cav) Ca^{2+} ve az miktarda Na^+ iletimi sağlayarak nöronların genel eksitabilitesine katkı sağlar ve nöronal ateşlemede önemli rol oynar. Ayrıca presinaptik sinir uçlarından nörotransmitter salımını da kontrol eder. Cav hızlı aktive olur ve aşırı aktivasyonu eksitotoksisteye yol açar. Nav 'de olduğu gibi çeşitli alt birimlerden oluşur ($\alpha 1$, $\alpha 2\delta 1$, β) ancak $\alpha 1$ alt birimi işlevseldir. $\alpha 1$ alt birimi evrimsel olarak akrabalık ilişkisi bulunan Nav $\alpha 1$ alt birimine yapısal olarak büyük benzerlik gösterir. Dört homolog bölge (DI-IV) ve her bölgeyi oluşturan altı transmembran segment (S1-6) ile seçicilik filtresi bu alt birimin önemli bileşenleridir. Cav $\alpha 1$ alt biriminin çeşitli tipleri vardır ve Cav içerdiği $\alpha 1$ alt birimine göre sınıflandırılır (L tipi, P/Q tipi, N tipi, R tipi, T tipi). Cav tiplerinin biyofiziksel özellikleri ve vücuttaki dağılımı farklıdır. Örneğin yüksek voltaja bağlı kanallar (N, P/Q ve R tipi) güçlü depolarizasyona yanıt verir ve presinaptik nörotransmitter salımını kontrol eder. Düşük voltaja bağlı kanallar (T tipi) normal depolarizasyona yanıt verir ve geçici akımlara yol açar. T tipi kanalların işlev bozukluğunun, absans başlayan nöbetlerde karakteristik olarak görülen ritmik 3 Hz diken dalgaların altında yatan unsur olduğu düşünülmektedir (208).

Etosüksimit ile ZNS'in jeneralize absans epilepsisindeki etkinliği T tipi kalsiyum kanallarını bloke etmesinden kaynaklanır. VLP'in da benzer bir etkiye sahip olduğuna dair bulgular vardır. LMG N ve P/Q tipi kanalları bloke ederek nörotransmitter salımını sınırlar. FNB, FBM ve TPR'in yüksek voltaja bağlı kalsiyum kanallarında iyon iletimini bir şekilde etkilediği düşünülmektedir. GBP ve PGB ise işlevsel $\alpha 1$ alt birimi yerine $\alpha 2\delta 1$ alt birimi ile etkileşerek etki gösterdiği öne sürülmektedir. Bu yardımcı alt birim, omuriliğin dorsal kök gangliyon hücrelerinde travmaya yanıt olarak up-regüle edilmektedir; bu da GBP ve PGB'in nöropatik ağrıdaki etkinliğini açıklamaktadır.

Voltaj Kapılı Potasyum Kanallarının Aktivasyonu

Aksiyon potansiyeli sonrası repolarizasyondan sorumlu olan voltaj kapılı potasyum kanalları (K_v 'ler) Nav 'de olduğu gibi işlevsel bir α alt birimine sahiptir. α alt birimine göre 12 sınıfa ($K_v 1-12$) ayrılan 40'tan fazla K_v tipi tanımlanmıştır. α alt birimi

dört homolog bölgenin merkezi bir por oluşturacak şekilde konumlanmasıyla oluşur. K_v1-4 nöron dendritlerinde, aksonlarında, sinir uçlarında ifade edilir ve aksiyon potansiyeli sonrası repolarizasyonu sağlayan gecikmiş düzeltici akımları (I_K) aktarır. Bu kanallardan bazılarını ifade eden genlerdeki mutasyonların bazı konvülsiyon tiplerinin altında yatan patolojiyi oluşturduğu bilinmektedir. Retigabin epilepside ilave tedavi olarak 2011'de kullanıma girmiştir ve etkisini K_v7 aktivasyonu üzerinden göstermektedir. Özellikle $K_v7.2/K_v7.3$ ve $K_v7.3/K_v7.5$ dimerlerini içeren kanallara afinite göstermektedir. Aktivasyon kapısında bulunan Trp236 rezidüsü bu afiniteden sorumludur. Bu vesile ile retigabin beynin nöbete duyarlı bölgelerindeki istirahat fazındaki membran potansiyelini hiperpolarize eden M akımlarını güçlendirir (209).

GABAerjik Yolaklar Üzerinden İPSP'nin Arttırılması

GABA reseptörleri İPSP'den sorumlu başlıca mekanizmadır. GABA'nın sinaptik boşluktan geri alımını sağlayan GAT-1, GAT-2, GAT-3 ve betain-GABA transporter 1 (BGT-1) ile GABA'nın presinaptik nöronlarda parçalanmasını katalize eden GABA-T İPSP'den dolayı olarak sorumludur (210, 211). BZD'ler ve barbitüratlar etkilerini $GABA_A$ R aktivasyonu üzerinden gösterir. Benzodiazepinler kanalın açılma sıklığını arttırırken, barbitüratlar kanalın açık kalma süresini uzatır. Barbitüratların PAM etkisi yanı sıra GABA yokluğunda $GABA_A$ R'ı doğrudan aktive edebildiği de ileri sürülmüş, sedatif etkileri buna dayandırılmıştır (212, 213). Ayrıca barbitüratların sodyum ve kalsiyum kanallarıyla etkileştiği, aktivitelerinde bu etkileşmelerin rolü olduğu iddia edilmektedir (214). $GABA_A$ R üzerinden GABAerjik yanıtları etkilediği bildirilen diğer AEİ'lar TPR, stiripentol, LVT ve bravirasetamdır (215, 216).

Modern AEİ'lardan vigabatrin rasyonel olarak tasarlanmış geri dönüşümsüz bir GABA-T inhibitörü, TGB ise seçici bir GAT-1 inhibitörüdür. TGB'in seçiciliği etkisini GAT-1'in ifade edildiği hipokampus ve nörokorteks ile sınırlar (217). VLP, GBP ve TPR'ın da GABA sentezini arttırarak ya da geri alımını engelleyerek sinaptik boşluktaki GABA yoğunluğunu arttırdığı bildirilmiştir (218, 219).

Glutamat Reseptörlerinin İnhibisyonu

Yukarıda da bahsedildiği gibi perampanel yarışmasız bir AMPAR negatif allosterik modülatörüdür (154). Glutamat bağlanma bölgesinden ayrı bir bölgeye bağlanarak neden olduğu konformasyonel değişiklikler glutamatın reseptörü aktifleştirerek kanalı açmasını engeller. Bunun sonucunda nöbet deşarjlarının yayılması sınırlanır. Bazı diğer AEİ'ların etkilerini, kısmen de olsa glutamerjik reseptörleri inhibe ederek gösterdiği düşünülmektedir. FBM'in NMDAR'ı, TPR'ın KAR'ı, FNB'in AMPAR'ı bloke ettiği bildirilmiştir (166, 220, 221).

SV2A Proteinine Bağlanma

LVT ve brivarasetam SV2A proteinine seçici olarak bağlanmaktadır; ancak bu bağlanmanın proteinin etkinliği üzerinde nasıl bir etki gösterdiği tam olarak bilinmemektedir. Diğer taraftan, LVT ve analoglarının SV2A'ya afiniteleri ile antikonvülsan aktiviteleri arasında güçlü bir korelasyon bulunmaktadır (222).

Karbonik Anhidraz İnhibisyonu

Pek çok karbonik anhidraz izoenzimi sinir hücrelerinin asit/baz dengesinde rol oynamaktadır. Karbonik anhidrazlar karbondioksit ve suyun bikarbonat ve hidroksonyuma dönüştüğü reaksiyonu iki yönlü olarak katalize eder. Bikarbonat ve hidroksonyum oluşumu yönünde hızlı yürüyen reaksiyonun geri dönüşü daha yavaş olmaktadır. Dolayısıyla karbonik anhidraz inhibisyonu, bölgesel olarak asidoza ve bikarbonat birikmesine yol açar. Bu durum sinir sisteminde NMDAR aktivitesinde azalmaya ve GABA_AR aktivitesinde artmaya yol açar. Bir karbonik anhidraz inhibitörü olan asetazolamit epilepsi tedavisinde kullanılmaktadır (223). TPR ve ZNS daha zayıf olarak karbonik anhidraz inhibisyonu da gösteren AEİ'lardandır (224).

Diğer Yolaklar

Adenosin antikonvülsan etkileri bilinen endojen bir pürin ribonükleozitidir. Epileptik nöbetlerde endojen adenosin seviyelerinin artarak nöbetin durdurulmasına ve postiktal toparlanmaya katkıda bulunduğu sanılmaktadır. Sinaptik boşluğa

saliverilen adenosin pre ve postsinaptik adenosin 1 reseptörlerine bağlanır. Bir GPKR olan adenosin 1 reseptörleri presinaptik nöronlarda Ca_v 'leri inhibe ederek presinaptik inhibisyona, postsinaptik nöronlarda K_v 'leri aktive ederek hiperpolarizasyona neden olur. Diğer adenosin reseptörlerinin de epileptik faaliyetlerle ilişkisi bulunmaktadır. Bu bağlamda ATP'nin adenosine ekstraselüler enzimatik paçalanması ile ekstraselüler adenosin seviyesinin artması epileptiform deşarjların kontrol altına alınmasında dolaylı bir etkidir (225). Örneğin FNT Na^+ ve K^+ 'a bağlı ATPazı ve sinaptik adenosinin geri alımını inhibe etmektedir (226, 227). Diğer taraftan KBZ'in çeşitli adenosin reseptörleri ile etkileştiği bilinmektedir (228).

Nöronal asetilkolin reseptörlerinin (nAChR) epilepsideki rolü, bir tür uyku epilepsisi olan ve %30'u ailesel ve baskın kalıtsal olan otozomal baskın noktürnal frontal lob epilepsisinde (OBNFLE) bu reseptörleri kodlayan bir gen alt grubunda görülen mutasyonların bulunması ile ortaya konmuştur. Ayrıca, OBNFLE'de görülen talamustaki yüksek AChR yoğunluğu, beyin sapından yukarıya doğru aşırı uyarılmış kolinerjik yolak ve artan GABAerjik etkinlik bu hipotezi desteklemektedir. KBZ, OBZ ve LMG $\alpha 4\beta 2$ nAChR'ları bloke eden AEİ'lerdir (229, 230).

Depresyon epilepsinin bir komorbiditesidir ve epilepsi hastalarında bu hastalığa bağlı olarak en sık görülen psikiyatrik hastalıktır. Ayrıca, epilepsi ile depresyon arasındaki bilateral ilişki, ortak patojenik mekanizmaların varlığıyla gösterilmiştir (231, 232). G proteini ile kenetlenen 5-HT reseptörleri ile ligand kapılı 5-HT₃ reseptörleri iyon iletimine ve intraselüler iyon konsantrasyonuna doğrudan ya da dolaylı olarak etki edebilmektedir. Bu da nöronal membranların depolarizasyonuna ya da hiperpolarizasyonuna neden olabilir. Bazı seçici seratonin geri alım inhibitörlerinin antikonvülsan etkileri bilinmektedir. Örneğin fluoksetin sıçanlarda bikükülin ile indüklenen nöbetlere karşı, sitalopram ise pilokarpın ile indüklenen fokal başlayan motor nöbetlere karşı koruyucudur. Benzer şekilde bazı AEİ'lar (VLP, LMG, KBZ, FNT, ZNS) antikonvülsan etkilerinin bir parçası olarak bazal 5-HT düzeylerini ya da salımını yükseltir (233-235).

Tip 1 kannabinoid reseptörlerinin (KB₁R) aktivasyonunun epileptik nöbetlerin şiddetini azalttığı hayvan modelleri ile gösterilmiştir. Epileptiform aktivite sırasında

nöroprotektif amaçlı, istemli olarak endokannabinoid salımı tetiklenmektedir. KB₁R ekspresyonu ortadan kaldırıldığında kainat ile indüklenmiş nöbetlerin ardından görülen gliosis ve apoptozisin arttığı, bazı koruyucu genlerin aktivasyonunun engellendiği görülmüştür (236). Ayrıca nöbet etkinliği homeostatik KCB₁R up-regülasyonunu indüklemekte, bu da eksitator nörotransmitter salımını azaltabilmektedir. Bu telafi edici mekanizma dirençli epilepsilerde ve hipokampal skleroziste hasar görmüş olabilir (237). Çeşitli sentetik cannabinoid ve fitokannabinoidlerin nöbet modelleri üzerinde denendiği çalışmalarda, KB₁R agonistlerinin genel olarak düşük dozlarda bu reseptör üzerinden antikonvülsan, yüksek dozlarda TRPV1 kanalları üzerinden prokonvülsan, AEİ'lerle birlikte uygulandığında ise aditif etki gösterdiği bildirilmiştir. Cannabis ile yapılan klinik çalışmaların çoğunda antikonvülsan etki gözlenmiştir (238).

Nöronlar arasında artan oluklu kavşak iletişimi, epileptik nöbet etkinliğini tetikleyen nöronal eş zamanlılığın altında yatan ana unsur olarak düşünülmüştür. Oluklu kavşak blokörlerinin deneysel epilepsi modellerinde nöbetleri önlediği bilinmektedir. Epileptik hayvan ve insan dokularında glial konneksin ve panneksinlerin up-regüle edildiği görülmüştür (239).

Serbest radikallerin neden olduğu oksidatif stres epileptik nöbetlerin gelişmesinde rol oynar. Nükleer reseptör proteini olan PPAR- α ketojeniz sürecinde yağ asitlerinin emilimini, kullanımını ve oksidasyonunu sağlar. PPAR- α ve PPAR- γ 'nın seçici agonistlerinin hayvanlarda nöbet eşliğini yükselttiği gösterilmiştir. Ayrıca nAChR ile PPAR- α arasında fosforilasyona dayalı bir ilişki bulunmaktadır ve PPAR- α 'ların nikotinle indüklenen nöbetleri kontrol altına alma özelliği bu ilişkiye dayandırılmaktadır. PPAR- α agonistlerinin absans epilepsisinin genetik modelinde ve metrazol ile kindling modelinde de etkili oldukları bildirilmiştir (240).

2.2.4. (Arilalkil)azol Grubu Antikonvülsan Bileşikler

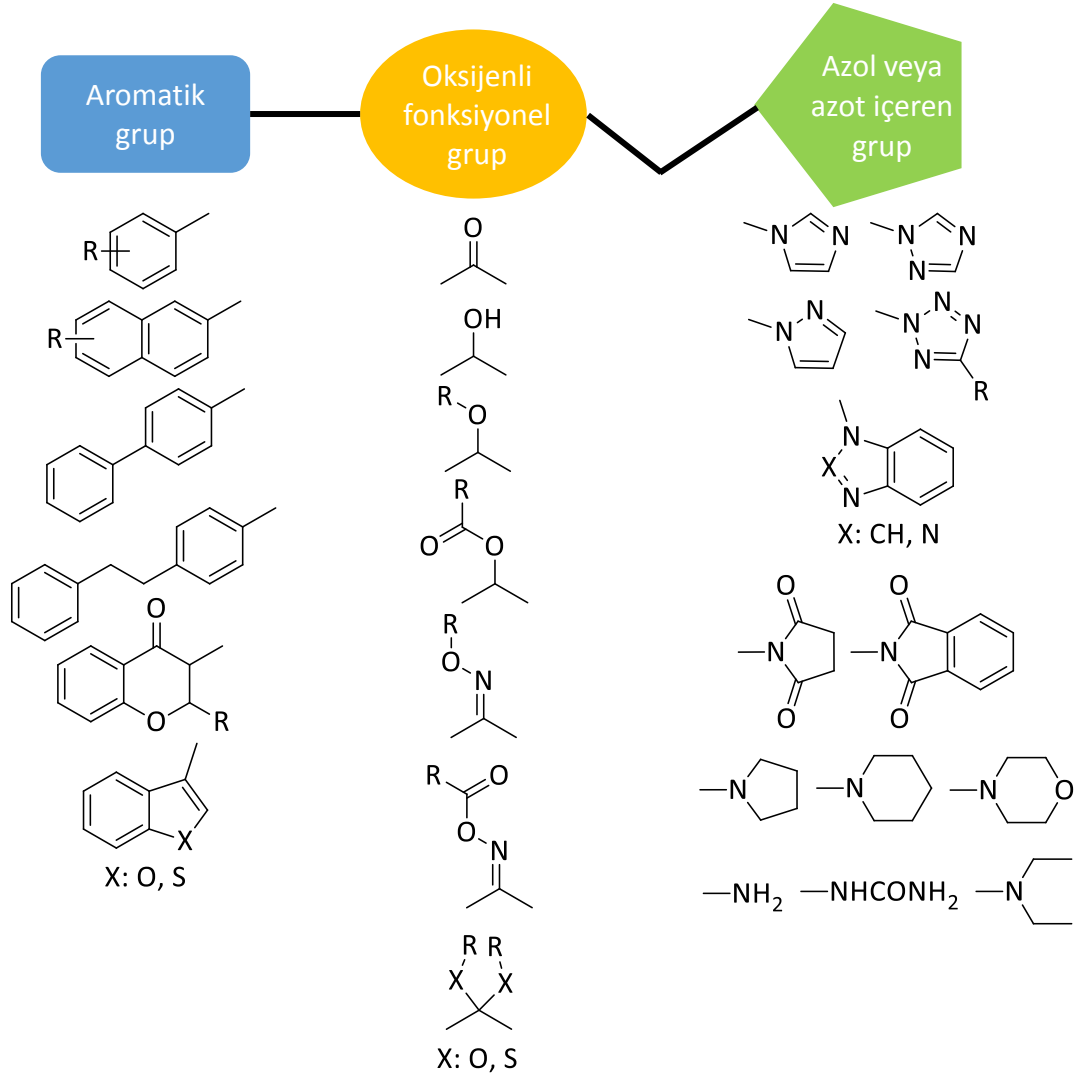
(Arilalkil)azol grubu bileşiklerin antikonvülsan özellikleri ilk defa nafimidon, onun aktif metaboliti olan nafimidon alkol ve denzimol ile ortaya konmuştur (Şekil 1.2.) (13, 14, 241). İlk başta antifungal aktivite beklentisi ile tasarlanan bu bileşiklerin

antikonvülsan aktiviteleri tesadüfen keşfedilmiştir. Daha sonra keşfedilen LRZ bu grubun bilinen diğer üyesidir (15).

Azol grubu antifungallere yapısal olarak büyük benzerlik gösteren bu bileşikler bir aromatik grup, bir azol halkası, bu iki grubu birleştiren bir alkil zincirinden oluşur (Şekil 2.29.). KBB'yi aşmak üzere dahil edilen aromatik gruplar arasında naftalen, benzen, feniletılbenzen, floren, benzofuran, fenantren, dihidrofenantren, benzotiyofen ve bifenil sayılabilir. YEİ çalışmalarında naftalen, feniletılbenzen ve floren içeren bileşiklerde aktivitenin yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca naftalenin 2 numaralı konumdan bağlandığı türevler 1 numaralı konumdan bağlandığı türevlere kıyasla daha aktif bulunmuştur (13, 14, 22). Aromatik grup olarak benzen taşıyan türevlerde benzen halkası üzerinde yapılan sübstitüsyonlar bileşiğin logP değerini arttırdığında aktivitenin de arttığı görülmüştür. Örneğin benzen halkasına çeşitli konumlardan yapılan $-NH_2$, $-NHCOCH_3$, $-NHSO_2CH_3$, $-NO_2$ gibi hidrofilik sübstitüsyonlar logP değerini düşürmüş ve bu türevlerde aktivite gözlenmemiştir. Diğer taraftan mono ve dikloro, fenil, sikloheksil ve fenetil gibi logP değerini yükselten sübstitüsyonların varlığında antikonvülsan aktivite artmıştır (14).

Azol halkası olarak daha çok imidazol ve 1,2,4-triazol içeren bileşiklerde yüksek aktivite bildirilmiştir. Azol dışında pirolidin gibi azot içeren siklik ve dietilamin gibi alifatik yapılar içeren bazı türevlerde de aktivite gözlenmiştir. Benzimidazol, benzotriazol, benzoksazol, benzoksazon gibi kondanse azol halkası içeren bileşiklerde aktivitenin azaldığı ya da kaybolduğu görülmüştür (24, 30, 242).

Aromatik grup ile azol halkası arasında köprü işlevi gören alkil zincirinin ideal uzunluğunun iki karbon olduğu belirtilmiştir. Bu zincir üzerinde yer alan karbonil, asiklik ketal, etilendioksi, metoksi, açiloksi, hidroksi, amit, sübstitüe amit, oksim eter ve oksim ester gibi küçük oksijenli fonksiyonel grupların aktiviteyi arttırdığı bildirilmiştir (13, 14, 22, 23, 26, 243, 244).



Şekil 2.29. (Arylalkil)azollerin genel yapısı.

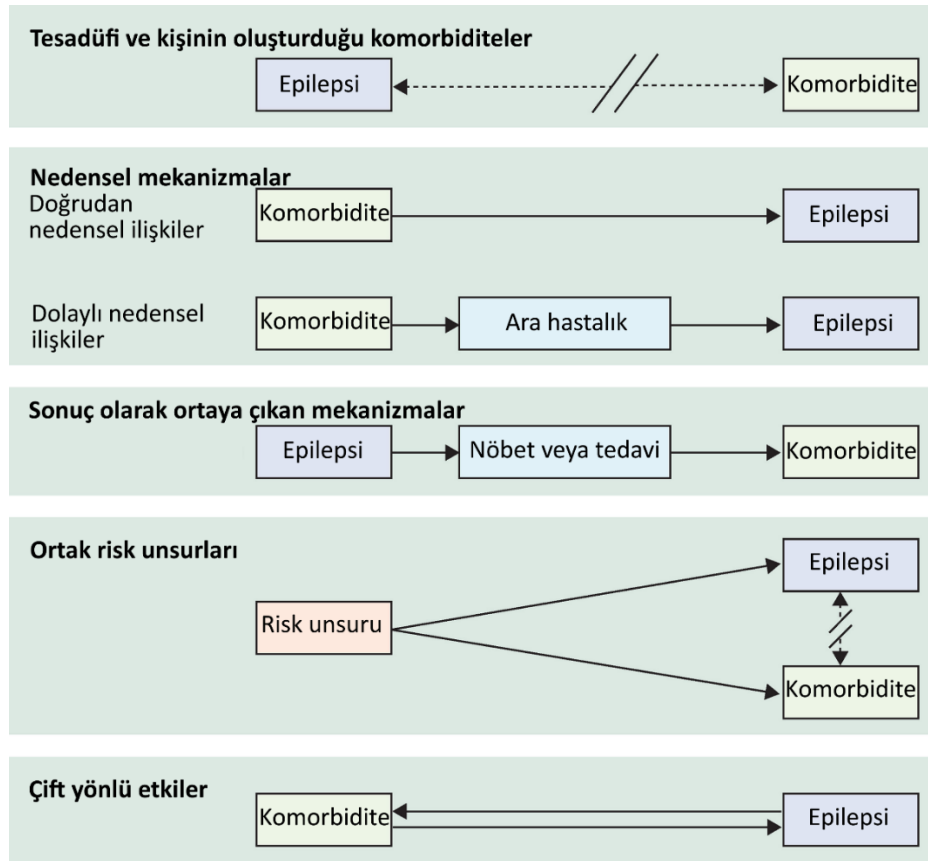
2.2.5. Epilepsinin Komorbiditeleri ve AEİ'lerin Epilepsi Dışındaki

Kullanımları

Komorbidite ya da komorbid bir hastalık primer bir hastalığın seyri esnasında görülen hastalıktır. Komorbiditeler genellikle geniş bir anlamda ele alınır. Belirgin klinik hastalıklar ya da sendromların yanı sıra primer hastalığın işaret ya da semptomları da komorbidite olarak kabul edilebilir (245). Yetişkin epilepsi hastalarının neredeyse yarısında en az bir komorbid hastalık görülmektedir (246). Depresyon, anksiyete, demans, migren, kalp hastalıkları, peptik ülser ve artrit normal popülasyonlara kıyasla epilepsi hastalarında sekiz kata kadar daha fazla

görülmektedir; dolayısıyla epilepsi hastaları açısından komorbidite ciddi bir sorundur (247).

Epilepsi ile komorbid hastalık arasındaki ilişkiyi ortaya koyan mekanizmalar beş ana sınıfa ayrılabilir: tesadüfi ve kişinin oluşturduğu komorbiditeler, nedensel mekanizmalar, sonuç olarak ortaya çıkan mekanizmalar, ortak risk unsurları ve çift yönlü etkiler (Şekil 2.30.).



Şekil 2.30. Epilepsi ile komorbiditeleri arasındaki ilişki mekanizmaları (Keezer ve ark. (245)'ndan alınmıştır).

Tesadüfi kavramı, komorbidite yaygınlığı ya da insidansının epilepsi hastalarında normal popülasyonda beklendiği kadar sık olması durumunu ifade eder. Kişinin oluşturduğu komorbidite, epilepsi ile komorbid hastalık arasında nedensel olmayan, daha çok önyargı sonucu yapılmış herhangi bir ilişkilendirilmedir. Nedensel komorbiditelerde ise komorbidite hastalık önce ortaya çıkar ve epilepsiye yol açar. Örneğin, serebrovasküler hastalıklar epilepsi vakalarının %10'una doğrudan neden olurken, sigara kullanımı neoplazm ya da inme sonucu dolaylı olarak epilepsiye neden

olabilir. Sonuç olarak ortaya çıkan mekanizmalarda epilepsi önce gelişerek ilgili komorbiditeye muhtemelen dolaylı olarak neden olur. Örnek olarak aspirasyon pnömonisi verilebilir. Ortak unsurlarda epilepsi ile komorbidite arasında neden-sonuç ilişkisi bulunmaz; bunun yerine her iki hastalığın da altında yatan ortak bir neden söz konusudur. Bunlar genetik, çevresel, yapısal ya da fizyolojik olabilir. Örneğin perinatal hipoksemik hasar hem epilepsiye hem de komorbidite olarak spastik parapareziye neden olabilir. İki yönlü ilişkilerde epilepsi ve komorbid hastalık birbirinin nedeni olabilir. Otizm spektrum bozukluğu ile epilepsi arasında çift yönlü ilişki olduğu savunulmaktadır (245).

Bipolar bozukluk, nöropatik ağrı ve fibromiyaljinin tedavisi ile migren profilaksisinde kullanılan konvansiyonel ilaçlar toksisite nedeniyle sınırlı etkinlik gösterir. Dolayısıyla bu hastalıkların tedavisinde karma ilaç tedavileri aranmış, AEİ'lar bu hastalıklarda etkinlik ve tolere edilebilirlik açısından denenmiştir. Bazı AEİ'ların bu ve benzeri endikasyonlarda kullanımıyla ilgili güçlü prelinik bulgular elde edilmiş, bazıları ise klinik çalışmalarda da başarılı bulunarak epilepsi dışındaki kullanımları için reçete edilmeye başlanmıştır (Tablo 2.4. ve 2.5.) (26, 248).

Tablo 2.4. Bazı AEİ'ların (FNT, KBZ, OBZ, LMG, ZNS ve BZD'ler) epilepsi dışındaki kullanımları

Endikasyon	FNT	KBZ	OBZ	LMG	ZNS	BZD'ler
Diabetik nöropati	X	X	X	X		
Postherpetik nevralji		X				
Trigeminal nevralji	XX	XX	XX	X		
HIV nöropatisi				X		
Migren profilaksisi					X	
Fibromiyaji						
Esansiyel tremor					X	XX
Huzursuz bacak sendromu		X	X			
Ekstrapiramidal sendrom						
Kronik uykusuzluk						XX
Anksiyete bozuklukları						XX
Bipolar afektif bozukluklar		XX	XX	XX		
Şizofreni		X	X	X		
Madde bağımlılığı		XX				XX
Agresyon		XX	X	X	X	

X: prelinik çalışmalarla kanıtlanmış endikasyon, XX: klinik çalışmalarla kanıtlanmış ve kullanımı önerilen endikasyon.

Tablo 2.5. Bazı AEİ'lerin epilepsi dışındaki kullanımları (TGB, VLP, GBP, LVT, TPR ve PMD)

Endikasyon	TGB	VLP	GBP	PGB	LVT	TPR	PMD
Diabetik nöropati		X	XX	XX			
Postherpetik nevralji		X	XX	XX			
Trigeminal nevralji		X					
HIV nöropatisi			XX	X			
Migren profilaksisi	X	XX	X		X	XX	
Fibromiyaji	X		X	XX			
Esansiyel tremor	X		X		X	XX	XX
Huzursuz bacak sendromu			X				
Ekstrapiramidal sendrom		X					
Kronik uykusuzluk	X		X	X			
Anksiyete bozuklukları	X	X	XX	XX		X	
Bipolar afektif bozukluklar		XX			X	X	
Şizofreni		X				X	
Madde bağımlılığı		X				X	
Agresyon		XX					

X: prelinik çalışmalarla kanıtlanmış endikasyon, XX: klinik çalışmalarla kanıtlanmış ve kullanımı önerilen endikasyon.

a. Kronik Ağrı

Nöropatik ağrı duysal nöronların harabiyeti sonucu oluşan ağrı uyarısına aşırı hassasiyet durumudur. Nöropatik ağrıda meydana gelen patolojik değişimler arasında aksonal dallanma ile Na⁺ ve K⁺ kanallarını kodlayan genlerin ifadesindeki değişiklikler yer almaktadır (249). GBP ve PGB diyabetik nöropati ve postherpetik nevraljiye karşı kullanılmaktadır (250). Trigeminal nevraljide ise KBZ ve OBZ ilk tercih edilen ilaçlardır. GBP aynı zamanda HIV'e bağlı nöropatide de önerilmektedir (251).

Migren patofizyolojisinde kortikal hipereksitabiliteye vazodilatasyon, enflamasyon ve artan ağrı duyarlılığı eşlik eder. Migrende glutamerjik hipereksitabilitenin GABAerjik inhibisyonun önüne geçtiği savunulmaktadır. VLP ve TPR migren profilaksisinde kullanılan ilk tercih AEİ'lerdir (252). LVT, GBP, TGB ve zonisamidin migren profilaksisindeki etkinliğine dair çalışmalar mevcuttur (253).

Fibromiyalji, somatik ve duygusal bileşenleri olan bir tür kronik ağrı sendromudur. Hastalarda düşen ağrı eşiği nedeniyle hiperaleji görülür ve tedavi için onaylanmış ilaçlardan birisi PGB'dir. TGB ve GBP fibromiyalji tedavisinde umut vaat etse de henüz kullanımı onaylanmamıştır (254).

b. Nöromusküler Bozukluklar

Sinerjistik kasların karşılıklı olarak ritmik ve istemsiz kasılmalarıyla karakterize olan esansiyel tremorun tedavisinde önerilen ilaçlardan birisi PMD'dur. TPR, BZD'ler, ZNS, TGB, GBP ve LVT'in esansiyel tremorda etkili olduğu bildirilmiştir (28). Orta ve şiddetli huzursuz bacak sendromunda dopaminerjik tedaviye alternatif olarak GBP ve PGB önerilmektedir (255). Uyku kalitesinin düştüğü bu hastalıkta BZD'ler uykuyu derinleştirmek amacıyla ek tedavi olarak önerilmektedir (256).

c. Nöroprotektif Etkiler

AEİ'ların akut faz serebral enfarktüs, HIV-1 ensefalit, Parkinson, Alzheimer ve ALS gibi nörodejeneratif hastalıklarda nöroprotektif etkileri prelinik ve klinik olarak araştırılmaktadır (248).

d. Psikiyatrik Bozukluklar

Kronik bir hastalık olan bipolar affektif bozuklukta hastalar aşırı ajite ve uyarılmış hal (mani) ile depresyon arasında gidip gelir. Hastalığın akut evreleri müdahale edilmediğinde ölümcül olabilmektedir. VLP gibi birden fazla hedefle etkileşen ajanların intraselüler sinyalizasyona değişen etkileri ve sinaptik plastisiteyi arttırmaları nedeniyle bu hastalıkta etkili olduğu düşünülmektedir. VLP, KBZ ve OBZ bipolar bozukluklara bağlı olarak akut maninin tedavisinde; LMG ise akut depresif episotlarda ve depresyonun tekrarına karşı kullanılmaktadır. Anksiyete bozukluklarında henüz kullanıma giren bir AEİ olmasa da GBP'in sosyal fobide, PGB ve TGB'in jeneralize anksiyete bozukluğunda etkili olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (257, 258). BZD'lerin yanı sıra GBP, PGB ve TGB kronik uykusuzlukta (insomnia) endikedir. Bunlara ek olarak şizofreni, madde bağımlılığı ve agresyonda bazı AEİ'ların etkinliği klinik olarak denenmektedir (248, 259).

e. Diğer Hastalıklar

VLP bir histon deasetilaz (HDAC) inhibitörüdür. Epigenetik modifikasyonlardan sorumlu enzim gruplarından biri olan HDAC, başta kanser olmak üzere bir takım

hastalıkların patofizyolojisinde önemli rol oynamaktadır. VLP'ın akut miyeloid lösemi (AML), meme kanseri, glioblastoma ve küçük hücre olmayan akciğer kanserine karşı kombine tedavilere dahil edilmek üzere çok sayıda faz III çalışması sürdürülmektedir (260, 261). SSS hiperaktivitesinin paroksizmal olarak indüklenen bronkokonstriksiyonu tetiklediği hipotezi, migren ve trigeminal nevralji gibi diğer nörojenik paroksizmal bozukluklarda kullanılan AEİ'lerin astım tedavisindeki etkinliğinin araştırılmasını gündeme getirmiştir. Bu kapsamda KBZ ve VLP ile yapılan bir çalışmada deneklerin %70'inde astım semptomlarının tamamen ortadan kalktığı gözlenmiştir (262).

2.2.5. Epilepsi Tedavi Tarama Programı

Epilepsi Tedavi Tarama Programının (Epilepsy Therapy Screening Program, ETSP) misyonu epileptik bozuklukların tedavisi için ABD ve ABD dışındaki akademik ve endüstriyel araştırmacıları yeni terapötik ajanların keşfine teşvik etmek ve süreci kolaylaştırmaktır. Bu program araştırmacıların numunelerini çok sayıda oturmuş kemirgen modellerine karşı körleme yöntemi ile ve gizlilik esaslarına dayanarak ücretsiz olarak taratma imkânı sunmaktadır. Bunun için ETSP, anlaşmalı olduğu Utah Üniversitesi'nin olanaklarını kullanmaktadır. Programın başlatıldığı 1975 yılından bu yana FBM, TPM, LKT ve retigabin gibi ilaçların klinik kullanıma sunulmasına öncülük etmiştir (263). Yakın bir zamana kadar epileptik nöbet bozukluklarının semptomatik tedavisine odaklanan program, NINDS Tavsiye Kurulu tarafından 2015'te sunulan son öneriler eşliğinde refraktör epilepsi, epileptojenez ve epilepsinin yayılımı, özel epilepsi popülasyonları ve epilepsi komorbiditelerine ağırlık vermeye başlamıştır. Bu bağlamda daha önce Antikonvülsan Tarama Projesi (Anticonvulsant Screening Project, ASP) olarak anılan program epilepsiyle ilgili karşılanamayan ihtiyaçlara yönelik farklı ajanlara odaklanmayı vurgulamak üzere ETSP olarak yeniden adlandırılmıştır (264).

a. ETSP Tarihçesi

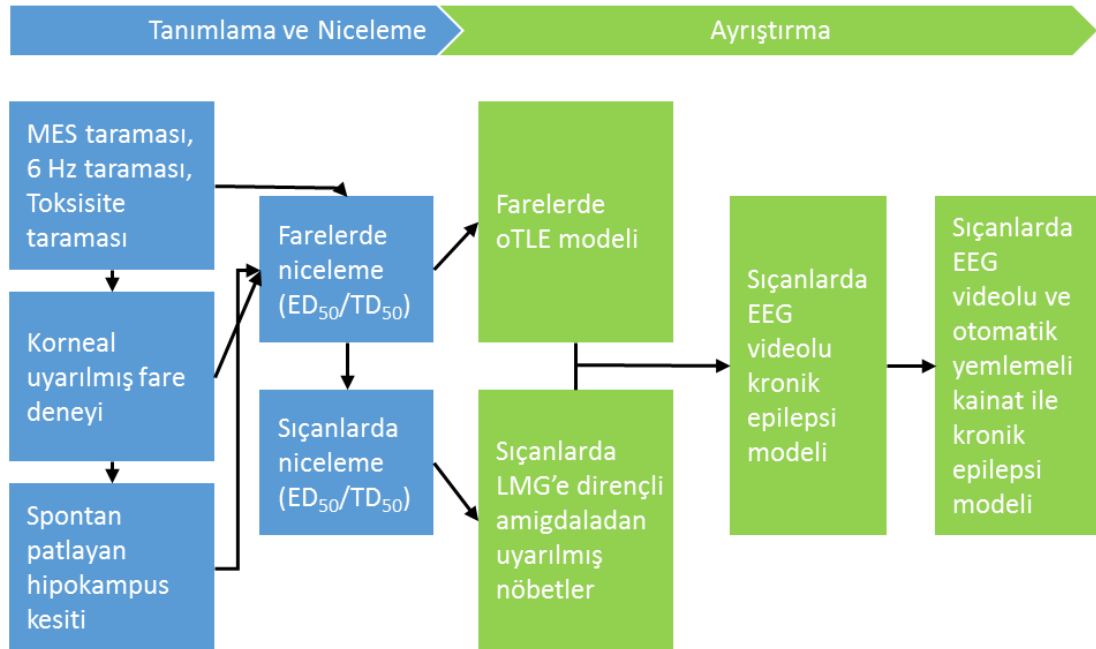
1959'da o zamanki ismiyle Ulusal Nörolojik Bozukluklar ve Körlük Enstitüsü'nün (National Institute of Neurological Diseases and Blindness) başına geçen nöroloji ve psikiyatri profesörü Richard Masland epilepsiye özel bir ilgi duymaktaydı. Atanmasının ardından enstitüde bir epilepsi kısmı kurarak başına daha önce beraber çalıştığı J. Kiffin Penry'yi (daha sonra ILEA'nın da başkanı olacaktı) getirdi (1966). 1970'lere gelinirken ABD'de son 10 yıldır hiç AEİ ruhsatlanmamıştı ve piyasada mevcut 13 ilaç, ciddi yan etkileri yanında hatırı sayılır bir hasta popülasyonunda etkisizdi. Bu duraksamada, Kefauver–Harris kanunu olarak da bilinen ve FDA tarafından ilaç üreticilerinden ruhsatlandırılacak ilaçlar için istenen bir seri etkinlik ve güvenlik sertifikasını kapsayan düzenlemelerin yanı sıra ilaç endüstrisinde hakim olan yeni AEİ'lere ihtiyaç olmadığı düşüncesinin de payı bulunmaktaydı. Penry, epilepsi kısmının başına atanmasının ardından 20 yıl boyunca, ABD'de epilepsi araştırmalarının tekrar canlandırılması için büyük çaba sarf etmiştir. O dönemde ilaç endüstrisinin AEİ geliştirmedeğini ve Utah Üniversitesi'nde Louis S. Goodman ve Ewart Swinyard dışında kimsenin Avrupa'daki ilaçları test edecek geniş olanaklara sahip olmadığını gören Penry, 1969'da Antiepileptik İlaç Geliştirme Programı'nı (Antiepileptic Drug Development Program, ADD) başlattı. Daha sonra Penry, yeni AEİ'lerin keşfi için Harvey Kupferberg ve Ewart Swinyard ile 1974'te Utah Üniversitesi'nde ASP'yi başlattı. Bu projeye 1979'da toksisite testleri eklendi. Program kapsamında yurt çapında araştırma ve eğitim odaklı altı kapsamlı merkez ile FDA'nın ihtiyaçlarına yönelik klinik araştırma protokolleri tasarlayacak bir komisyon kuruldu. Böylelikle Avrupa'da hâlihazırda kullanılmakta olan altı AEİ'den üçü ruhsatlandırılmış oldu (KBZ 1974, klonozepam 1975 ve VLP 1978) (265).

İlaç endüstrisinin yeni AEİ'lardan yeterince kar etmeyeceği düşüncesinin de etkisiyle başlatılan proje kapsamında, akademi ve endüstriden gelen bileşiklerin taranması sonucu, ilk iki yılın sonunda 13 bileşik klinik denemelere girdi. O dönem, eleştirilerin de odağında olan prelinik taramalarda sadece iki model kullanılıyordu: maksimal elektroşok (MES) ve subkütan metrazol (scMET). Dolayısıyla LVT gibi ilaçlar o dönemde taransaydı aktif olmadığı düşünülerek terk edilecekti. 6 Hz psikomotor

testinin günümüzde ETSP'nin ilk taraması olan antikonvülsan tanımlama testlerine dâhil edilmesi bu yüzdendir. Proje kapsamında başarılı bulunarak ruhsatlandırılan ilk AEİ'lar FBM, TPR ve LKT'tir. İlaç endüstrisi tarafında geliştirilen GBP, LMG, LVT ve retigabin gibi AEİ'ların farmakolojik ve model tarama çalışmalarının önemli bir kısmı da bu proje kapsamında yapılmıştır. Bir süre AEİ olarak kullanılmış olan remasemit ve faz III çalışmaları devam eden losigamon da ASP tarafından tanımlanmıştır (265).

b. ETSP Protokolü ve Deney Modelleri

ETSP'de öncelikli olarak mekanistik olmayan kemirgen modelleri kullanılarak bileşiklerin antikonvülsan profili tanımlanır. Bu modeller yardımıyla tanımlama ve niceleme testleri uygulanır ve her aşamada bileşiğin sonraki aşamaya geçip geçmemesine karar verilir (Şekil 2.31.). Mekanistik olmayan modeller insan epileptik nöbetlerinin doğasıyla daha uyumlu, bileşiklerin elenmesinde daha hızlı ve pratiktir; bu modellerin teknik bilgi ve alt yapı gereksinimi görece daha azdır. Test edilen bileşiklerin etki mekanizmaları hakkında kısıtlı bilgi sunması ise bu modellerin dezavantajıdır (263).



Şekil 2.31. ETSP protokolü çalışma akışı (oTLE: orta Temporal Lob Eplepsisi).

Antikonvülsan Tanımlama ve Niceleme

İlk tarama olan farelerde tanımlama testlerinde bileşiklerin MES ve 6 Hz yöntemleriyle ile oluşturulan nöbetlere karşı intraperitoneal (ip) yoldan, üç farklı dozda (30, 100 ve 300 mg/kg) ve iki ayrı zamanda (0,5 ve 2 saat) koruyuculuğu gözlenir. Her bir deney dört hayvanda tekrarlanır. Daha önce 6 Hz yöntemi yerine kullanılan scMET yöntemi yeni protokolda ileri tanımlama testlerinde uygulanmaktadır. İleri tanımlama testlerinde sıçan ve per oral yol (po) da denenmektedir. Test bileşiklerinin toksik etkileri davranışsal toksisite testleri aracılığıyla değerlendirilmektedir. Bu amaçla başvurulan rotorod testi diğer antikonvülsan aktivite testleri ile aynı şekilde uygulanır. Antikonvülsan niceleme testlerinde aynı modeller kullanılır. Buradaki amaç test bileşiklerinin aktivite ve toksisitelerinin nicel verilerle (ED₅₀ ve TD₅₀) ortaya konmasıdır. Tanımlama ve niceleme çalışmalarında etkili bulunan bileşikler tedaviye dirençli epilepsiler için tasarlanmış kindling modellerinde test edilir (263).

MES Testi

Jeneralize tonik-klonik nöbet modeli olan MES, deney hayvanının beyne kornea vasıtasıyla kısa süreli yüksek elektrik akımı verilerek beynin genelinde nöronal devrelerin en üst düzeyde aktive edilmesine dayanır. Bu modelde koruyuculuk gösteren test bileşiklerinin nöbet yayılımını engellediği düşünülür (266).

6 Hz Psikomotor Nöbet Testi

MES testinde verilen kısa ve güçlü elektrik akımları yerine 6 Hz testinde zayıf ve uzun korneal akımlarla deney hayvanlarında psikomotor nöbetler oluşturulur. Bu model insanlarda fokal başlayan nöbetlerle uyumludur. MES ve scMET testlerinde aktif bulunmayan bir test bileşiği 6 Hz modelinde koruyuculuk gösterebilir (267).

scMET Testi

Kemokonvülsan bir bileşik olan metrazol nöbet eşiğini düşürerek deney hayvanlarında konik nöbetleri tetikler. Bu modelde aktif bulunan test bileşiklerinin

nöbet eşiğini yükselterek ön beynin klonik nöbetlerine karşı koruyucu olduğu yorumu yapılır (263).

Korneal Kindling Oluşturulmuş Fare Testi

6 Hz gibi, fokal başlayan nöbetler için uygun bir model olan korneal kindling oluşturulmuş fare modeli, önceki modellerin aksine kronik bir modeldir ve LVT gibi tedaviye dirençli fokal epilepsilerde etkili bileşiklerin tespit edilmesinde oldukça faydalıdır. Akut nöbet modellerinden farkı, deney farelerinin düşük elektrik akımıyla günlerce uyarılarak beşinci kategori olarak adlandırılan, fokalden bilateral tonik-kloniğe gelişen nöbetleri kendiliğinden geçirmeye başlamasıdır. Bu fareler tamamen kindling oluşmuş fareler olarak adlandırılır. Test bileşiği ile muamele edilen farelerin hangi kategoride nöbet geçirdiğine bakılarak test bileşiği skorlanır ve bu skorlar daha sonra nicel verilere dönüştürülür (268).

Davranışsal Toksikite ve Motor Bozukluk Testleri

Test bileşiklerinin nörotoksik etkileri motor ve davranışsal bozukluklar olarak gözlenir. Bu amaçla, farelerin, kendi etrafında dönen bir çubuğa dizilmiş plaklar üzerinde dengelerini koruyabilme prensibine dayanan rotorod testi ilk tanımlama testlerinden itibaren uygulanır. Sıçanlarda pozisyonel algı testi ile yürüyüş ve genel duruş testi uygulanır. Bu testlerde sıçanların normal duruşunda yapılan değişikliklere (arka bacağın uzatılması, sırt üstü döndürme vb.) nasıl tepki verdiği, yürüyüş, postür ve bir takım davranışsal bozuklukların (uyuklama, ataksi, katelepsi, tremor vb.) varlığı gözlenir (263).

Antikonvülsan Ayrıştırma

Tanımlama ve niceleme testleri sonunda umut vadeden bileşikler daha karmaşık bir takım kronik nöbet ve toksisite modellerine karşı test edilir.

Farelerde Orta Temporal Lob Epilepsisi (oTLE) Modeli

Temporal lob epilepsi hastalarında görülen karakteristik belirtilerin çoğunu içeren bu modelde farelerde intrahipokampal kainat enjeksiyonu ile nörotoksisite oluşturulur. Bunun sonucunda fareler birkaç saat süren ve konvülsif olmayan *status epilepticus* geçirir ve sonrasında latent faza geçer. Kainat enjeksiyonundan 2-3 hafta sonra farelerde saatte 30-60 defa gözlenen hipokampal proksimal deşarjlar oluşur ve farenin hayatı boyunca sürer. Davranışsal tutulma ve hafif otomatizmle kendini gösteren bu deşarjlar bipolar elektrodlar yardımıyla kainat muamelesinden dört hafta sonra kaydedilmeye başlanır. Test bileşiğinin etkisi enjeksiyondan 10 dakika öncesi ve 90 dakika sonrasında alınan EEG kayıtlarının karşılaştırılmasıyla ölçülür (269).

Sıçanlarda LMG'e Dirençli Amigdaladan Kindling Oluşturulmuş Nöbet Modeli

Bu model insanlarda fokalden bilateral tonik-kloniğe gelişen nöbetler için ideal bir model olduğu gibi tedaviye dirençli hastalarda faydalı olabilecek bileşiklerin tanımlanmasında da kullanılır. Bu modelde yukarıda bahsedilen kindling süreci uygulanırken, diğer yandan deney hayvanlarına günlük LMG verilerek tamamen kindling oluşturulmuş hayvanların LMG'e dirençli olması sağlanır. LMG muamelesi deney hayvanlarını diğer Na⁺ kanal blokerlerine karşı da dirençli hale getirmektedir. Kindling için deney hayvanlarının sol amigdalasına yerleştirilen elektrodlar kullanılır. Tamamen kindling oluşturulmuş dirençli hayvanlar test bileşiği verildikten sonra uyarılarak nöbet kategorileri değerlendirilir (270).

EEG Videolu, Kainat ile İndüklenmiş Kronik Epilepsi Modelleri

Bu pilot modelde kullanılan sıçanlarda devamlı olarak düşük doz kainat enjeksiyonları ile kronik *status epilepticus* indüklenir. Bunun için Racine kategorisi olarak tabir edilen farklı bir nöbet kategorisi kullanılır (271). On haftanın sonunda hayvanların EEG kayıtlarını uzaktan takip etmek için peritona yerleştirilen, beyindeki elektrodla kablolarla bağlantılı telemetre adı verilen bir implant yerleştirilir. Bir hafta boyunca nöbet skorları kaydedilen farelerde belirli bir eşik altında nöbet geçirenler elenir. Gruplara ayrılan farelere plasebo ve test bileşiği günlük belirlenen

dozlarda verilerek körleme yöntemiyle EEG takibi yapılır. Toplanan veriler MATHLAB yazılımında nöbet şiddeti, sıklığı ve Racine skorları dağılımı açısından analiz edilir. Otomatik yemleme modelinde test bileşliği hayvanlara yemle birlikte otomatik olarak verilir (272).

2.3. Moleküler Modelleme ve Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı

2.3.1. Moleküler Modelleme

Moleküler modelleme, bir molekülün yapısının çeşitli yazılım ve algoritmalar yardımıyla üçboyutlu görüntülenmesi, özelliklerinin ve davranışlarının atomik düzeyde öngörülmesi, simülasyonu ve manipülasyonudur. Bu şekilde oluşturulan veri işleme ve in siliko ilaç tasarım platformları ile sayısız molekülün özelliği veri tabanlarına aktararak yeni ilaç moleküllerine ulaşmak üzere sanal aktivite tarama ve üç boyutlu veri tabanı tarama işlemleri gerçekleştirilir. Bunun için bir seri molekülden oluşan bir sistemin doğru bir modeline ihtiyaç duyulur. Bu modeller sistemlerin serbest enerjisinin doğru bir şekilde hesaplanmasıyla elde edilir. Biyolojik sistemlerin dinamik sistemler olduğu düşünüldüğünde, moleküllerin sürekli değişen konformasyonlarının da serbest enerjisi göz önüne alınmalıdır. Moleküler modelleme yazılımlarının bunun için başvurduğu yöntemler çeşitli gruplar altında toplanır (273, 274).

a. Kuantum Mekaniği

Kuantum mekaniği (KM), moleküler orbital hesaplamasına dayanır ve molekülün fizikokimyasal davranışlarını en detaylı biçimde öngörür. Dolayısıyla zahmetli ve zaman alıcıdır. Çekirdek ve elektronların potansiyel enerji yüzeyindeki hareketini Schrödinger eşitliğine göre tanımlar. Moleküler modellemede *ab initio*, yarı ampirik yöntemler ve yoğunluk fonksiyonel teorisi kullanılır (275).

***Ab initio* Kuantum Kimyası Yöntemleri**

"En başından" anlamına gelen *ab initio* ifadesi ile bu yöntemlerde girdi olarak sadece fiziksel sabiteler kullanıldığı anlaşılır. *Ab initio* hesaplamalarda, Schrödinger

denklemleri çekirdeğin konumu ve elektron sayısı ile çözümlenmeye çalışılarak sisteme ait elektron yoğunluğu ve enerjisi gibi önemli veriler toplanır. Moleküler mekanik yöntemlerine göre daha isabetli sonuçlar vermesine rağmen, *ab initio* hesaplamaları çok fazla zaman ve disk kapasitesi gerektiren büyük sistemlerde tercih edilmez (276).

Yarı-Ampirik Kuantum Kimyası Yöntemleri

Hartree-Fock biçimselliğine dayanan bu yöntemlerde bazı yaklaşım ve parametreler ampirik verilerden türetilir. Sadece Hartree-Fock yöntemiyle hesaplama külfeti fazla olan sistemlerle çalışmak açısından çok önemlidir. Hartree-Fock hesaplamalarında bazı bilgiler tahmin edilir ya da çıkarılır. Bu çıkarılan bilgiler yerine yarı-ampirik yöntemlerle elde edilen ve bir takım parametrelerle düzenlenmiş sonuçlar kullanılır. Öyle ki, bu sonuçlar bazen ampirik verilerle bazen de *ab initio* hesaplamalarla uyumlu olmaktadır (277).

Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi

Çok elektronlu sistemlerde belirli atom, molekül, ya da kondanse fazların özellikle elektron yapısını incelemek amacıyla kullanılır. Bu yöntemde elektron sisteminin özellikleri uzaysal elektron yoğunluğu işlevseli ile belirlenir. Hesap yükü Hartree-Fock gibi geleneksel yöntemlere kıyasla daha düşüktür. Buna rağmen yoğunluk fonksiyonel teorisinde van der Waals (vdW) kuvvetleri gibi bazı moleküller arası etkileşmelerin tanımlanmasında güçlükler yaşanmaktadır (278).

b. Moleküler Mekanik

Moleküler sistemlerin modellenmesi için temel mekanik prensiplerin kullanıldığı moleküler mekanikte sistemlerin potansiyel enerjisi için kuvvet alanları kullanılır. Küçük moleküllerden büyük biyolojik sistemlere ve materyallere kadar bir sistemin geometrisini değiştirerek en düşük enerjili (potansiyel enerji fonksiyonunun birinci türevlerinin sıfır olduğu) koordinatlarına, dolayısıyla en kararlı konformasyonuna ulaşılmasında tercih edilen bir yaklaşımdır. Moleküler mekanikte her bir atom genellikle vdW yarıçapı olan, deneysel ya da *ab initio* hesaplamalarına

dayanan belirli bir polarizabiliteye ve net yüke sahip parçacıklar olarak ele alınır. Bağlı etkileşmeler ise denge mesafesi deneysel ya da hesaplanmış bağ mesafesine karşılık gelen bir yay olarak ele alınır. Sistemin toplam enerjisi moleküller arası ve molekül içi etkileşmelerin toplamıdır. Moleküler mekanikte potansiyel enerjinin temel fonksiyonel biçimi kovalent bağlarla bağlı atomlar arasındaki etkileşmeleri kapsayan enerji ($E_{\text{kovalent bağ}}$) ve uzun mesafeli elektrostatik ve vdW kuvvetleri kapsayan enerjiden ($E_{\text{non-kovalent bağ}}$) oluşur (Formül 2.1. ve 2.2.).

$$E_{\text{toplam}} = E_{\text{kovalent bağ}} + E_{\text{non-kovalent bağ}} \quad (2.1.)$$

$$E_{\text{non-kovalent bağ}} = E_{\text{elektrostatik}} + E_{\text{vdW}} \quad (2.2.)$$

Kuvvet Alanı

Moleküler mekanikte ve moleküler dinamikte bir molekülün potansiyel enerjisini bütün atomlarının ya da iri taneli parçacıklarının konumunun bir fonksiyonu olarak tanımlayan enerji fonksiyonları ve parametreler bütünüdür. Bu da bağlı ve bağımsız etkileşmelerin toplamıdır. Bu parametreler fiziksel ve kimyasal deneylerden veya KM hesaplamalarından ya da her ikisinden türetilmiş olabilir (279).

2.3.2. Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı

Rasyonel ilaç tasarımı, her zaman bilgisayar desteği gerekmesede, günümüzde neredeyse tamamen bilgisayar destekli olarak yapılmaktadır. Bir molekülün belirli bir hedefe afinite duymasının yanı sıra hedef yöreye ulaşabilmesi için istenen fizikokimyasal özelliklere sahip olması ve istenmeyen hedeflere ilgi göstermemesi gibi durumların öngörülmesi de bilgisayar destekli ilaç tasarımının ana hedefleridir. İlaç benzeri bir molekülün reseptöre ilgisinin tahmin edilmesi için moleküler mekanik veya moleküler dinamikten faydalanılırken; yarı ampirik ve *ab initio* kuantum kimya yöntemleri ile yoğunluk fonksiyonel teorisi moleküler mekanik hesaplamalarının ve parametrelerinin optimizasyonunda ve molekülün elektronik özelliklerini öngörmede kullanılır. Söz konusu ilginin ifadesi olarak bilgi temelli skorlama fonksiyonlarından da faydalanılır. Bunun için lineer regresyon, otomatik

öğrenme (*machine learning*) ve yapay sinir ağları (*artificial neural networks*) gibi istatistiksel yöntemler kullanılır (280-282).

Bilgisayar destekli ilaç tasarımında yapılan öngörülerin amacı, ideal bileşiklere ulaşmak için zaman ve kaynak tasarrufu sağlamaktır. Bu amaçla; sanal aktivite tarama, hitten bileşikten öncü bileşiğe ilginin optimizasyonu ve öncü bileşiğin diğer farmasötik özelliklerinin optimizasyonu gerçekleştirilir. Bilgisayar destekli ilaç tasarımında iki temel yaklaşım söz konusudur: Ligand temelli ilaç tasarımı ve yapı temelli ilaç tasarımı.

a. Ligand Temelli İlaç Tasarımı

Belirli bir biyolojik hedefle etkileştiği bilinen ligandlardan elde edilen bilgilerden yola çıkılarak oluşturulan modeller ligand temelli modellerdir. Bu modellerde, ligandların iki boyutlu yapısı, üç boyutlu yapısı, fizikokimyasal ve farmakokinetik özellikleri, molekülü oluşturan parçalar (fragmanlar), hedef makromolekül ile etkileşmeleri gibi bilgiler kullanılır. Bu özelliklerin ya da unsurların ortak noktaları belirlenerek oluşturulan modele, taranan ligandların ne kadar uyum gösterdiği araştırılır (sanal tarama). Modele uyum gösteren ligandların hedef makromoleküle güçlü bir şekilde bağlanacağı öngörülür. Farmakofor modelleri, iki veya üç boyutlu yapısal benzerlik, deskriptör vektör benzerliği, fragman eşleştirme ve kantitatif yapı-aktivite ilişkileri (QSAR) en sık tercih edilen model yaklaşımlarıdır.

b. Yapı Temelli İlaç Tasarımı

Yapı temelli ilaç tasarımında kullanılan modeller hedef makromolekülün üç boyutlu yapısıyla ilgili verilere dayanır. Bu veriler X ışını kristalografisi, NMR spektroskopisi ve kriyo-elektron mikroskopisi ile doğrudan ya da homoloji modelleme ile dolaylı yoldan elde edilir. Ligand-reseptör etkileşmeleri doğrudan simüle edilerek, araştırılan ligandların hedef makromoleküle olan ilgisi öngörülür. Bu etkileşmelerin simülasyonunda başvurulan çeşitli yöntemler ve bu yöntemler için geliştirilmiş ücretli ve ücretsiz çok sayıda yazılım mevcuttur.

Moleküler Kenetleme

Moleküler kenetleme (*molecular docking*) yönteminde, bir molekülün (ligand) diğer bir moleküle (reseptör) kararlı bir kompleks oluşturmak üzere bağlanması için tercih edilen konformasyonları öngörülme çalışılır. Ligand ile reseptör aktif bölgesi arasındaki eşleşme genellikle moleküllerin çözücü tarafından erişilebilir yüzey alanlarının eşleşmesine dayanır. Ligandın veya reseptörün ya da her ikisinin de esnek olabildiği durumda ligand ile reseptör eşleşmesi için "arama alanı" adı verilen sayısız muhtemel konformasyon söz konusu olur. Yöntemin bir parçası olan skorlama fonksiyonu ile iki molekülün ne kadar güçlü bir etkileşimle kenetlendiği moleküler mekanik ile tahmin edilmeye çalışılır. Biyolojik makromoleküller sinyal iletiminde önemli rol oynar ve birbirine kenetlenen moleküllerin oryantasyonu, bu sinyal iletiminin tipini etkilemektedir. Dolayısıyla moleküler kenetleme bir biyolojik sistemde iletilen sinyalin gücü ve tipine dair öngörüler sağlar (283, 284).

Moleküler kenetleme ile çözülmeye çalışılan sorun anahtar-kilit sorunu gibi görülebilir. Bu sorun, bir kilidi açmak için en uygun anahtar ve o anahtar için kilide en iyi uyan pozisyon arayışıdır. Oysa biyolojik sistemlerde reseptör ve ligandın esnek olduğu düşünüldüğünde el-eldiven benzetmesi daha gerçekçidir. Günümüzde, zaman ve hesaplama yükü açısından reseptörün sabit, ligandın esnek olduğu anahtar-kilit yaklaşımı daha çok tercih edilmektedir. Daha kesin öngörüler için ise reseptörün liganda uyum göstermek üzere sınırlı bir esneklik gösterdiği el-eldiven modeline daha uygun olan indüklenmiş uyum yaklaşımı kullanılır (285, 286).

Moleküler Kenetleme Yaklaşımları

Moleküler kenetlemede iki temel yaklaşım söz konusudur. Şekil tamamlayıcılık yaklaşımında ligand ve reseptör birbiriyle eşleşen iki yüzey olarak ele alınır. Simülasyon yaklaşımında kenetleme süreci boyunca her bir konformasyon için ligand reseptör etkileşim enerjileri hesaplanır. İkinci yaklaşım daha iyi kestirimlerde bulursa da hesaplama yükü fazladır (287).

Arama Algoritması

Moleküler kenetlemede protein-ligand kompleksi için olası konformasyonların tümüne arama alanı adı verilir. Kenetleme yazılımları arama alanını tarayarak ligand için reseptöre göre olası tüm rotasyonel ve translasyonel oryantasyonları dener. Elde edilen eşleşmeler poz olarak adlandırılır. Bunun için kenetleme yazılımlarında kullanılan çeşitli stratejiler mevcuttur ve en yaygın kullanılanı genetik algoritmadır. Genetik algoritma, olası rotasyonları denerken bir sonraki seferde daha düşük enerjili konformasyonu bulmaya çalışır. Bunu yaparken elde edilen her pozun skoru bir sonrakinin seçmek için uyumluluk fonksiyonu görevi görür. Diğer stratejiler sistematik ya da stokastik torsiyon araması, moleküler dinamik simülasyonları ve bölgesel şekil özelliklerinin eşleştirilmesidir (288).

Skorlama Fonksiyonları

Reseptörlerde kenetlenme sonucu sinyal iletiminin tetiklendiği bağlanma bölgesi olarak adlandırılan solvan ile ulaşılabilir kavite bulunur. Reseptörün bir sinyal yanıtı oluşturabilmesi için ligand ve reseptör birbirinden ayrıyken sahip oldukları toplam enerji, ligandın söz konusu bağlanma bölgesindeki solvanı uzaklaştırarak reseptöre kenetlenmesi ile elde edilen kompleksin toplam enerjisinden daha yüksek olması gerekir. Diğer bir deyişle, ligand ve reseptör birbirine bağlandığında elde edilen kompleks daha düşük enerjili ve kararlı olmalıdır. Bağlanmayı etkileyen çok sayıda etmen söz konusudur ve skorlama fonksiyonları bu etmenleri göz önüne alarak elde edilen ligand pozlarını skorlar. Bu etmenler desolvasyon enerjisi (ΔG_{desolv}), konformasyonel değişikliklerden kaynaklanan enerjiler (ΔG_{konf}), bağımsız etkileşmelerden kaynaklanan enerjiler (ΔG_{etk}), internal rotasyonlar (ΔG_{rot}) ve ligand ile reseptörün birleşme enerjisini ($\Delta G_{\text{t/t}}$) kapsar (Formül 2.3.). Bu hesaplamalar moleküler mekanik esasına dayanır ve kuvvet alanı parametrelerinden faydalanılır. Alternatif olarak protein veri bankalarından elde edilen istatistiklerin kullanıldığı bilgi temelli ya da Poisson-Boltzmann gibi daha detaylı ampirik skorlama yöntemleri de kullanılmaktadır (289).

$$\Delta G = \Delta G_{\text{desolv}} + \Delta G_{\text{konf}} + \Delta G_{\text{etk}} + \Delta G_{\text{rot}} + \Delta G_{\text{t/t}} \quad (2.3)$$

Kenetlemenin Validasyonu

Moleküler kenetleme ile elde edilen pozun ve bağlanma ilgisinin doğruluğu deneysel sonuçlarla kıyaslanarak ortaya konmalıdır. Bu amaçla yapılan zenginleştirme çalışmasında, az sayıda aktif bileşik çok sayıda inaktif bileşikle harmanlanır ve kullanılan kenetleme yöntemiyle yapılan sanal tarama sonucunda oluşturulan sıralamada aktif bileşiklerin ne derece üst sıralarda bulunduğu değerlendirilir. Elde edilen sonuçlarla oluşturulan ROC (*receiver operating characteristic*) eğrisi altındaki alan kenetleme yönteminin performansını yansıtır. Kenetleme sonucunda elde edilen hit bileşiklerin biyolojik aktivitelerinin taranarak sanal tarama sonuçlarıyla karşılaştırılması da kullanılan yöntemin güvenilirliği hakkında fikir verir. Bir diğer yol ise deneysel olarak bilinen pozların moleküler kenetleme yoluyla elde edilen pozlara ne kadar yakınlık gösterdiğinin hesaplanmasıdır (290).

Son yıllarda özellikle protein-ligand moleküler kenetleme yazılımlarının sayısında büyük bir artış yaşanmıştır. Günümüzde farklı kenetleme ve skorumlama fonksiyonları kullanan, ticari ve akademik, 60'ın üzerinde yazılım moleküler kenetlemeye olanak sağlamaktadır (Tablo 2.6.).

Tablo 2.6. Bazı popüler ligand-protein kenetleme yazılımları

Yazılım	Kurum	Kenetleme yöntemi/algoritması	Lisans
DOCK	Kaliforniya Üniversitesi	Geometrik eşleştirme algoritması	Ücretsiz*
AutoDock	The Scripps Araştırma Enstitüsü	Lamarck genetik algoritması <i>Simulated annealing</i>	Ücretsiz
AutoDock Vina	The Scripps Araştırma Enstitüsü	Yinelenen yerel arama global optimizasyonu	Ücretsiz
FlexX	BioSolveIT	Kademeli büyütmeyle dayalı kenetleme	Ticari
Surflex-Dock	Tripos	İdealleştirilmiş aktif bölge ligandı	Ticari

Tablo 2.6. Bazı popüler ligand-protein kenetleme yazılımları (Devam)

GOLD	Sheffield Üniversitesi, GSK ve CCDC	Genetik algoritma	Ticari
ICM-Dock	MolSoft	Pseudo-Brown örnekleme ve yerel minimizasyon	Ticari
Glide	Schrödinger LLC	Monte Carlo <i>simulated annealing</i>	Ticari
CDocker	Accelrys	CHARMm tabanlı MD	Ticari
MCDOCK	Georgetown Üniversitesi Tıp Fakültesi	Konvansiyonel olmayan Monte Carlo simülasyonları	Ücretsiz*
MOE-Dock	Chemical Computing Group	Triangle Matcher yerleştirme yöntemi	Ticari
LeDock	LEPHAR	Genetik algoritma ve <i>simulated annealing</i> kombinasyonu	Ticari
rDock	York Üniversitesi	Genetik algoritma	Ücretsiz

* Akademik kullanıcılar için.

Homoloji Modelleme

Yapı temelli ilaç tasarımında hedef makromolekülün üç boyutlu yapısına ihtiyaç vardır. Bu yapılar deneysel yöntemlerle elde edilemiyorsa homoloji modelleme yöntemine başvurulur. Bu yöntemin esası, çeşitli yazılımlar kullanarak amino asit dizilimi bilinen ancak üç boyutlu yapısı bilinmeyen bir proteinin (hedef protein) yapısının, belirli oranda benzer amino asit dizilimine sahip ve üç boyutlu yapısı bilinen başka protein(ler)in (şablon) kalıp olarak kullanılarak modellenmesine dayanır (291). Bu durumda seçilecek şablon hedefe olabildiğince benzer olmalıdır. Uygun şablonun seçilmesinden sonra hedef proteinin dizilimi ile şablon diziliminin hizalanmasıyla bir hizalama dosyası elde edilir, bu dosya daha sonra hedef proteinin karbon omurgasının oluşturulmasında kullanılır. Homoloji modellemede kullanılan yazılımlar, hizalama dosyasını oluştururken şablonun yapısal özelliklerini de dikkate alır ve üç boyutlu modeli oluştururken, şablonun üç boyutlu yapısını taklit eder. Dizi benzerliğinin düşük olduğu durumlarda hedef diziyle şablon dizininin uyuşmadığı

bölgeler (eklemeler ve boşluklar) artar ve bu bölgelerin yapısının oluşturulacak modelde doğru tahmin edilmesi zorlaşır. Bu bölgeler için farklı şablon proteinlerden yararlanılarak birden çok şablon kullanılabilir (çoklu şablon hizalama). Homoloji modelleme sonucunda elde edilen modellerin iyileştirilmesi ve valide edilmesi gerekir. Özellikle ekleme ve boşluk bölgelerinin oluşturduğu ilmeklerin yapısı sarmal ve plaklar gibi düzenli olmadığı için şablonun baz alınması hatalı ilmek yapıları verebilir. Bu yüzden bilinen protein yapılarından türetilmiş, atomistik istatistiksel potansiyellerin kullanıldığı bir skorlama algoritması ile ilmeklerin yapısı düzeltilir. Amino asit yan zincirleri enerji minimizasyonu ile dengeye getirildikten sonra model, bağ açıları ve uzunlukları; asparajin, glutamin, histidin gibi amino asitlerin yan zincirlerinin oryantasyonu; birbiriyle çarpışan rezidüer vb. kriterler açısından değerlendirilerek gerekli yerlerde iyileştirilir ve farklı yöntemlerle valide edilir (292).

Moleküler Dinamik

Moleküler mekanik ya da ampirik fonksiyonlar sistemin belirli bir geometrisini ve buna bağlı enerjilerini bulmaya çalışırken zamansal evrimini göz ardı eder. Sistemin dinamiği, kısaca, her bir atomun hareketidir. Sistemin başlangıç şartları potansiyel enerjisi için her bir atomun koordinatları, enerjisi ve hızını içeren bir analitik ifadeyle belirtilir. Daha sonra her bir atoma Newton eşitliğine göre bir kuvvet uygulanır ve atomlar arası güçler ve enerjiler moleküler mekanik kuvvet alanları kullanılarak sürekli hesaplanır. Bu şekilde atomların koordinatları ve hızı sürekli güncellenerek sistemin kısa süreli bir trajektorisi (hareket eğrisi) elde edilir (293). Moleküler dinamik (MD) simülasyonları yüksek disk kapasitesi ve bilgisayar hızı gerektirir. Çalışılan sistemin büyüklüğü (partikül sayısı) ve nanosaniyeden mikrosaniyeye değişen simülasyon süresi göz önüne alındığında, çoğu zaman paralel işlemcilerden oluşan küme bilgisayarların kullanımı gerekir.

Solvatize sistemlerin simülasyonu için biyolojik sistemin içine yerleştirileceği açık ya da kapalı solvan partiküllerinden oluşan ve sınırları belli bir solvan kutusu (ya da küresi) oluşturulur. Sistemin simülasyon esnasında bu solvan kutusunun dışına çıkmaması için kutunun yüzeylerine sabitleme değerleri uygulanabildiği gibi,

periyodik sınır şartları da uygulanabilir. Daha güvenilir ve hesaplama yükü daha fazla olan ikinci durumda sistem sonsuz bir solvan denizindeymiş gibi hareket eder. Ancak MD simülasyonlarını sürdürülebilir kılmak için toplam (*ensemble*) adı verilen belirli sistematik sınırlamalar uygulamak gerekir. Örneğin, mikrokanonik (NVE) toplamda partikül sayısı (N), hacim (V) ve toplam enerji (E) sabit tutularak potansiyel ve kinetik enerji değişimlerinin trajektorisi izlenir. Sabit sıcaklık olarak da anılan kanonik toplamda (NVT) partikül sayısı (N), hacim (V) ve sıcaklık (T) sabit tutulur. Biyolojik sistemleri en iyi taklit eden bu yöntemde endotermik ve egzotermik süreçlerin enerjilerinin değişimi bir termostat algoritmasıyla sağlanır. Hız ölçekleme, Nosé-Hoover termostadı, Nosé-Hoover zincirleri, Berendsen termostadı, Andersen termostadı ve Langevin dinamiği en bilinen sıcaklık kontrol algoritmalarıdır. İzotermik-izobarik toplamda (NPT) ise partikül sayısı (N), basınç (P) ve sıcaklık (T) korunur. Bu toplamda termostadın yanında bir de barometre algoritması gereklidir. Normal sıcaklık ve basınç altında tutulan bir reaksiyon balonuna karşılık gelir.

MD simülasyonlarında zaman basamağını sistemdeki en hızlı sürecin hızı belirler. Bağ açılardaki bükülme ve bağ titreşimleri sistemdeki en hızlı hareketlerdir ve bağ gerilme titreşimleri 10-100 femtosaniyelik (fs) bir aralıkta gerçekleşir. Bunlar arasında en hızlı olanı, kütlesi en düşük atom olan hidrojenin dahil olduğu bağlardır. Zaman basamağının 2 fs olarak ayarlanması 1 fs'ye göre hesaplama avantajı sağlar; ancak bu süre hidrojenlerin dahil olduğu bağların gerilme titreşim frekansına yakındır. Böyle bir durumda özellikle daha yavaş titreşen ve bükülen bağlar tarafından yönlendirilen makromolekül simülasyonlarında, hidrojenin dahil olduğu bağlar kısıt algoritmaları (ör.: SHAKE algoritması) kullanılarak sabitlenir (294). MD simülasyonlarında trajektori analizi için belirli basamak aralığında veriler kaydedilir. Sistemin trajektorisi bu zaman aralığında çekilmiş resimlerinin art arda hızlı çekimle oynatılmasına benzetilebilir. Sistemin zamansal evriminin anlamlı bir bütünlük içerisinde analiz edilebilmesi için verilerin doğru zaman aralığında toplanması gerekir.

MD simülasyonlarında kuvvet alanlarının yanı sıra *ab initio* yöntemlerden elde edilen potansiyeller de kullanılır. Özellikle uyarılmış durumlarda ve kimyasal reaksiyonlarda ya da daha keskin yaklaşımlara ihtiyaç duyulduğunda KM'den

yararlanılır ve bu tür simülasyonlar *ab initio* moleküler dinamik (AİMD) olarak anılır. AİMD'nin zaman ve veri yükü simülasyon zamanını ya da sistemin partikül sayısını kısıtlar. Bunun yerine hibrit kuantum mekaniği/moleküler mekanik (KM/MM) yöntemi kullanılarak hem KM'nin öngörü keskinliği hem de moleküler mekaniğin hızından faydalanılır. Hibrit KM/MM uygulamalarında sistemin uyarılmış durumda olan ya da kimyasal bir reaksiyonun gerçekleştiği küçük bir kısmına (ör.: enzim aktif bölgesi) KM uygulanırken, geri kalan daha büyük kısmına moleküler mekanik uygulanır. Fazla büyük sistemlerle çalışırken başvurulan yöntemlerden biri de iri taneli partikül (*coarse grained particle*) modellemesidir. Bu yöntemde her atomu ayrı ayrı modellemek yerine belirli atom grupları iri partiküller olarak modellenir.

MD simülasyonlarında bağımsız etkileşmelerin enerjisi sistemdeki atomların ikili etkileşme potansiyellerinin toplamı olarak formüle edilir. İkili potansiyel olarak anılan bu yöntemin bilinen örneği vdW kuvvetlerinin hesaplanmasında kullanılan Lennard Jones potansiyelidir. Birbiriyle etkileşen ikiden fazla atom söz konusu olduğunda bahsi geçen potansiyel enerji için çoklu cisim potansiyeli kullanılır. Çoklu cisimler (*many-body*) potansiyelinde sistemin potansiyel enerjisi ikili etkileşme potansiyellerinin toplamıyla bulunamaz, çünkü bu etkileşmeler ikinci derecenin üstündeki fonksiyonların kombinasyonları halinde ayrı ayrı hesaplanır (295).

Monte Carlo Simülasyonları

Monte Carlo simülasyonları MD'den farklı olarak, bütün sisteme Boltzmann dağılımına göre görece büyük hareketler vererek yeni yapının enerji olarak mümkün olup olmadığını belirler. Konformasyonlar arası büyük sıçramaların yapıldığı Monte Carlo simülasyonlarında zamana karşı nicel veri mümkün değildir. Ancak birçok sistem konfigürasyonu arasından örnekleme önemli olduğu ortalama termodinamik özelliklerin tahmin edilmesinde moleküler dinamikten daha iyidir. Proteinleri saran çözücüler ve protein katlanması gibi çalışmalarda kullanılmamaktadır (296).

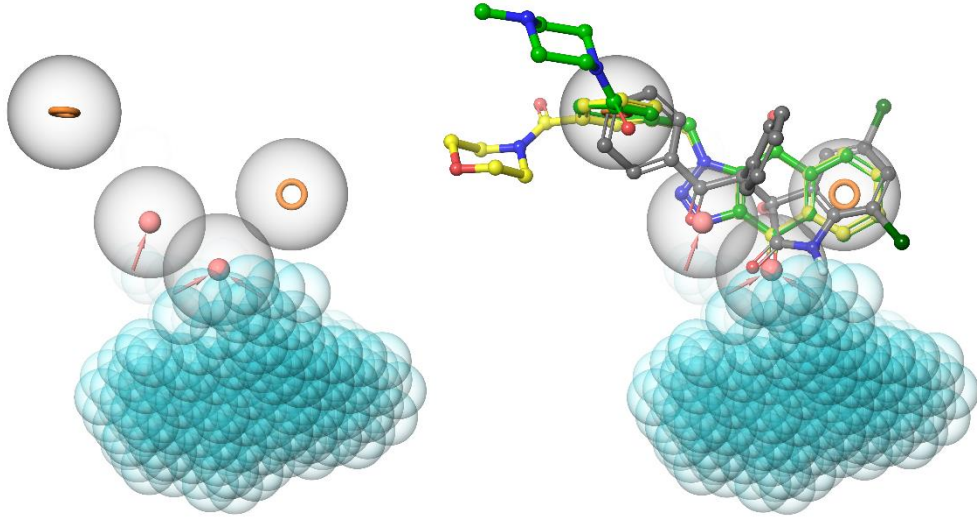
c. Sanal Kütüphane Oluşturma (İskelet Türetme)

Bilgisayar destekli ilaç tasarımında var olan ticari ya da akademik ligand kütüphanelerinin taranması kadar ilk defa sentez edilecek bileşiklerin belirlenmesi de önemlidir. Geleneksel rastgele moleküler modifikasyonların yerini günümüzde ligand ve yapı temelli iskelet ya da öncü türetme yöntemleri almaktadır. Bu yöntemlerle, hit arayışıyla yeni sentetik bileşiklerin sanal olarak belirlenmesinin yanı sıra, var olan öncü bileşiklerin farmakokinetik ve toksik özelliklerinin iyileştirilmesi de hedeflenir.

Belirli bir biyolojik hedefe ilgi gösteren bir bileşik sınıfının ortak yapısal özellikleri yapısal iskelet olarak adlandırılır (ör.: (arilalkil)azol). Bu iskeletler, yukarıda açıklanan nedenlerle, çeşitli yöntemler kullanılarak değiştirilir ve yeni iskeletler türetilir (*scaffold hopping, core hopping*). Ligand temelli yöntemlerin öncelikle kullanıldığı bu yaklaşımda yapı-temelli yaklaşımlar genellikle ligand-temelli yaklaşımlarla birlikte kullanılır (297).

Farmakofor Modelleme

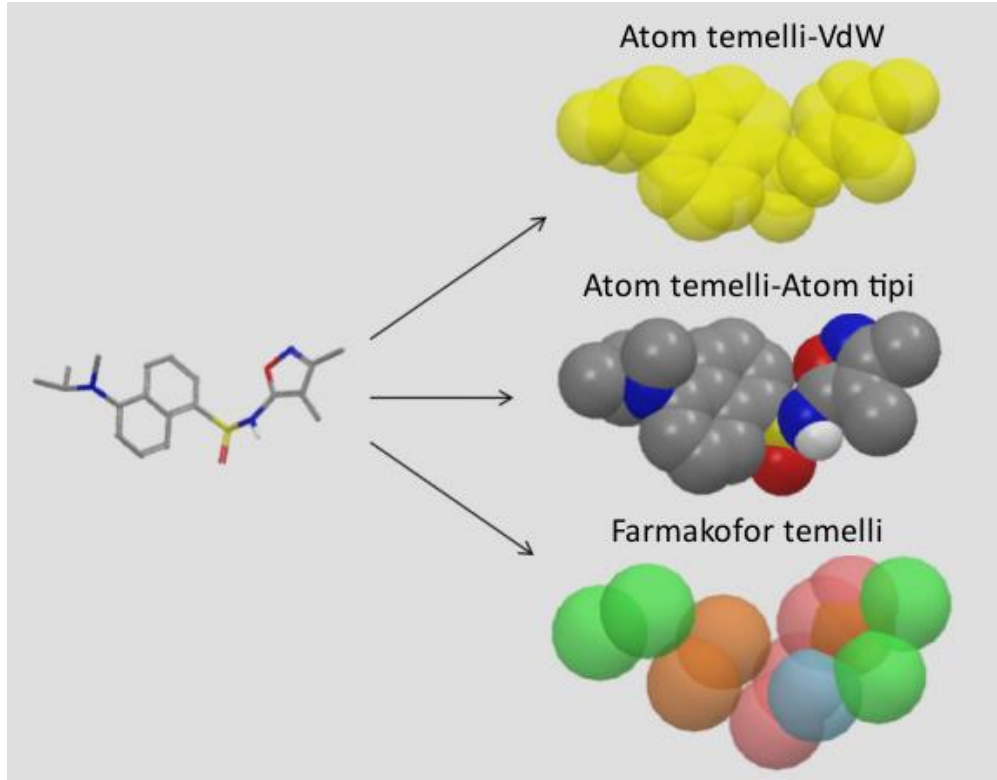
Farmakofor yaklaşımında belirli bir hedefle etkileştiği bilinen ligandların üç boyutlu yapılarının üst üste getirilmesiyle ortak etkileşme özelliklerinden (farmakoforlardan) oluşan bir model elde edilir. Bu etkileşme özellikleri hidrojen bağı donör ve akseptör grupları, aromatik ve lipofilik gruplar, yüklü gruplar vs. olarak tanımlanır ve her bir özellik belirli bir esnekliğe sahip (*cut-off*) uzaysal bir konum ve oryantasyona sahiptir (Şekil 2.32.). Bu modeller genellikle ortak bir iskelete sahip ligandlar ile oluşturulur ve daha sonra bu modele uyacak yeni iskeletler türetilir (298). Farmakofor modelleri hedef makromolekülle bilinen bir etkileşme hipotezine göre hazırlanırsa daha güvenilir olur, aksi takdirde modelde hangi farmakofor ya da farmakoforların önemli ya da gerekli olduğunu kestirmek güçleşir. Hedef makromolekülle etkileşme biliniyorsa, türetilen yeni bileşiklerin moleküler kenetleme ve MD simülasyonu gibi yapı temelli yöntemlerle validasyonu mümkün olur. Bazı yazılımlar, referans ligandın hedef makromolekülün aktif bölgesinde türetilmesiyle elde edilen türevleri, aktif bölge ile etkileşmelerine göre filtreleme imkanı sağlamaktadır (299).



Şekil 2.32. İnsan triptofan 2,3-dioksijenaz (hTDO) inhibitörleri farmakofor modeli (solda) ve bu model üzerine çakıştırılmış bazı hTDO inhibitörleri (sağda) (300, 301). Turuncu halkalar aromatik yapıyı, pembe küreleri akseptörü, oklar akseptör yönünü, farmakofor etrafındaki gri küreler esneklik payını ve turkuvaz küreler dışlanmış alanları temsil etmektedir.

Şekil ve Alana Bağlı Benzerlik

Üç boyutlu yapısal benzerlik, referans bir ligandın ilgili hedefin aktif bölgesindeki oryantasyonunun bilindiği ya da bilinmediği durumlarda kullanılabilir. Burada iskelet türetme için aranan kriter, üç boyutlu bir farmakofor haritasına uyum değil, genel üç boyutlu yapıya benzerliktir. Bu yapı atomların sadece vdW hacimleriyle tanımlanabileceği gibi atom tipleri (C, N, O, halojen vb.) ya da farmakoforik özellikleri (H akseptör/donör, aromatik halka, pozitif/negatif iyonize grup vb.) de şekil özelliklerine dahil edilebilir (Şekil 2.33.). Moleküler şekil, atomlar üzerinde uygulanan bir seri Gauss fonksiyonu ile tahmin edilir ve elde edilen hacimle çakışma analizi, üç boyutlu yapıdaki rotasyon ve translasyonlarla test edilen çakışmalara kıyasla çok süratli gerçekleştirilir. Benzer Gauss biçimselliği, ligandların kısmi yüklerle hesaplanan elektrostatik ve lipofilik alanlarla temsil edilmesinde de kullanılır (302).



Şekil 2.33. Şekil ve alan benzerliğinde uygulanan farklı benzerlik yaklaşımları (303).

Özellik Noktası Farmakoforları

Özellik noktası farmakoforlarında (Feature Point Pharmacophores, FEPOPS) bir ligandın atomlarının üç boyutlu koordinatları k-ortalama algoritmasına göre kümelenecek dört küme merkezi elde edilir. Kümelerdeki atomların farmakofor özellikleri, bu küme merkezlerinde toplanarak dört düğüm noktalı bir grafik elde edilir. Düğüm noktaları, farmakofor özelliklerinin özetlenerek etiketlendiği küme merkezleri olarak tanımlanır. İki FEPOPS grafiğinin benzerliği, düğüm noktalarının farmakofor özelliklerinin ve mesafelerinin uyumuna göre hesaplanır (304).

Deskriptör Vektör Temelli Yöntemler

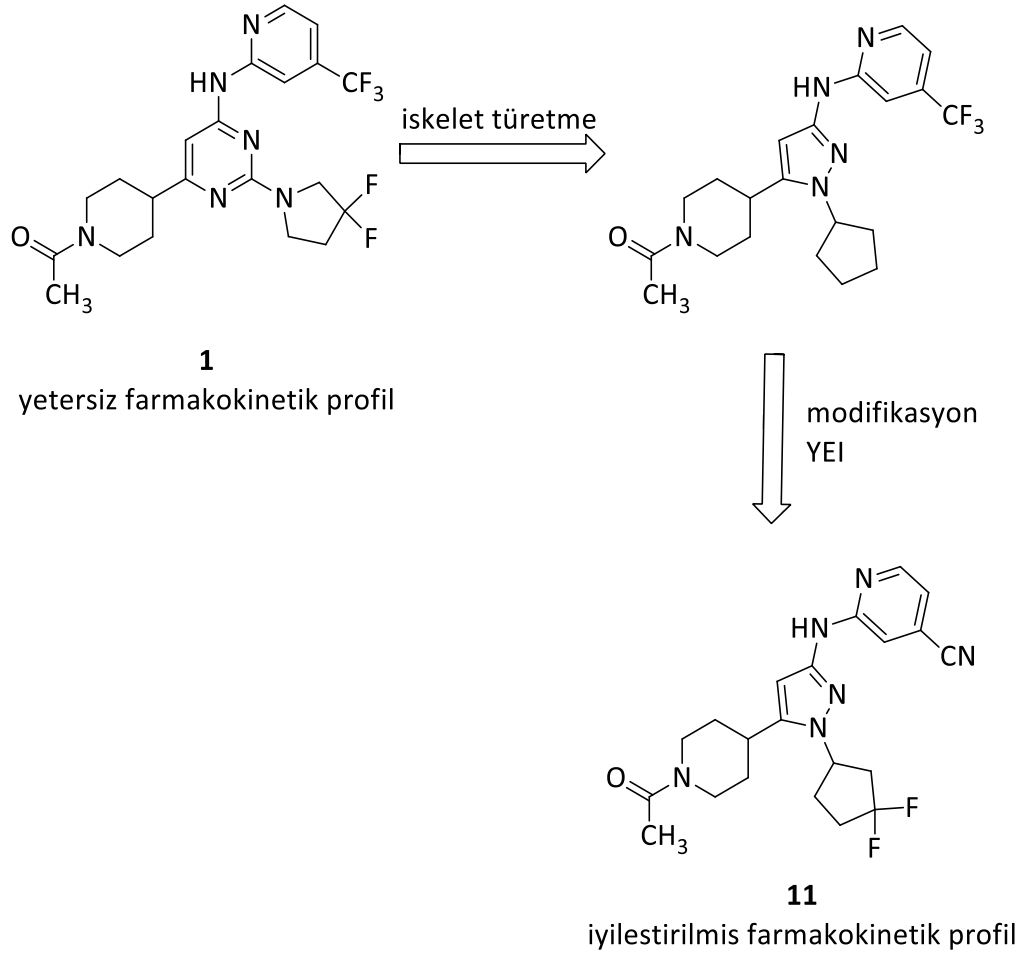
Üç boyutlu çakıştırmanın neden olduğu hesaplama yüküne kıyasla deskriptör vektörlerin yapısal benzerliğinin hesaplanması çok daha hızlıdır. Parmak izi olarak da bilinen ve bir ligandı oluşturan fragmanların özelliklerini kodlayan ikili sistem deskriptör vektörleri bu yaklaşımda sıkça kullanılır. Deskriptör vektörler ve parmak izlerinin Tanimoto katsayısı ya da Öklid mesafesi gibi çok sayıda ilgili katsayıyla

kolayca karşılaştırılabilmesi yanında otomatik öğrenme yöntemlerinde doğrudan kullanılabilme avantajı sunar. Bu yaklaşımda iskelet türetme amacıyla şekil deskriptörleri, otokorelasyon vektörleri, üç boyutlu farmakofor deskriptörleri gibi yöntemler kullanılır (305).

Fragman Eşleştirme ve İndirgenmiş Grafikler

Ligandlar fragmanlardan, yani belli yapısal parçalardan (halkalar, zincirler, fonksiyonel gruplar vb.) oluşur. Bir fragmanda yer alan tüm atomlar bir düğüm noktasına indirgenir ve o fragmanın özellikleriyle etiketlenirse o ligandın indirgenmiş grafiği elde edilmiş olur. Bu düğüm noktaları için biyoizosterizmi yansıtacak uygun bir benzerlik algoritması tanımlanırsa, bu grafiklerin genel benzerlikleri iskelet türetme için uygun hale gelmiş olur. Bu yaklaşımda kullanılan iki temel yöntem mevcuttur: özellik ağaçları ve topomer arama. Özellik ağaçlarında indirgenmiş grafikler, benzerlikleri optimize edecek bir evrimsel algoritmaya göre eşleştirilir. Topomer aramada her fragman için bir konformasyon oluşturulur ve her fragmanın şekli ve farmakofor özelliklerinin çakışması karşılaştırılır (306).

Örnek bir iskelet türetme çalışması olarak Patel ve ark. (307)'nin çift lösün fermuar kinazına (DLK) karşı seçici ve KBB'yi geçebilen güçlü inhibitörler geliştirdikleri çalışma incelenebilir. Bu çalışmada araştırmacılar daha önce tasarlanan pirimidin türevi bir DLK inhibitörünün bazı farmakokinetik özelliklerini geliştirmek üzere şekil benzerliğine dayanan iskelet türetme yöntemine başvurmuştur (Şekil 2.34.). Buna göre ilk etapta **1** numaralı bileşiğin merkezindeki pirimidin halkası yerine beşli halkalar getirilerek türetilen yeni iskeletlerin en düşük enerjili konformasyonlarının **1** ile global şekil benzerliği hesaplanmıştır (Şekil 2.34.). En iyi benzerlik skoru (Tanimoto) elde edilen iskeletler üzerinde enzim kristal yapısındaki moleküler belirleyiciler göz önüne alınarak yapılan modifikasyonlarla yeni bileşikler türetilmiştir. Bu bileşiklerin seçici DLK inhibitör aktiviteleri ve farmakokinetik özellikleri test edilerek bir YEİ çalışması yapılmış ve referans bileşiğe göre daha iyi farmakokinetik profile sahip olan **11** numaralı bileşik elde edilmiştir.



Şekil 2.34. Patel ve ark. (307)'nin çalışmasında iskelet türetme ile farmakokinetik özelliklerin iyileştirilmesi.

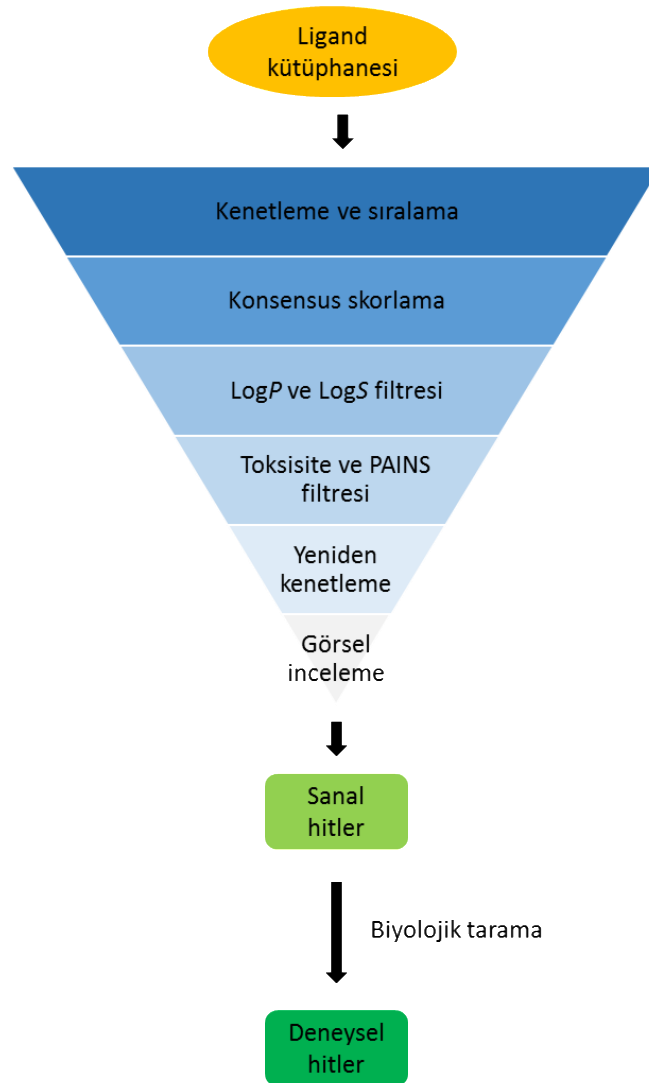
d. Sanal Aktivite Tarama

Bilgisayar destekli ilaç tasarımı önemli aşamalardan birisi, yukarıda bahsedilen yöntemler ve yaklaşımlar ışığında, büyük ligand kütüphanelerini tarayarak ilaç adayı olabilecek aktif bileşiklere ulaşmaktır. Bunun için yapılan sanal aktivite tarama işleminde binlerce hatta milyonlarca ligand hem küçük ilaç molekülü olmanın evrensel kriterleri hem de hedeflenen makromolekül ile güçlü bir şekilde etkileşme açısından, ligand ve yapı temelli yaklaşımlar uygulanarak sürekli elenir ve biyolojik aktivite ya da organik sentez için makul bir bileşik sayısına ulaşılır.

Örnek olarak Reynisson ve ark. (308)'nin antikanser etkili bileşik tasarımı amacıyla bir seri PLC- γ inhibitörünün rasyonel tasarımını yaptıkları çalışma incelenmiştir. Bu çalışmada yapı temelli sanal tarama yanı sıra bazı ilaç benzerlik

filtreleri kullanılmıştır (Şekil 2.35.). Yapı temelli sanal tarama için yapılan moleküler kenetleme çalışmasında kullanılan enzim kristal yapısının aktif bölgesi ve enzim inhibisyonunun moleküler belirleyicileri mutajenez çalışmaları temel alınarak belirlenmiş ve gerekli kriterler çalışma grubu tarafından tespit edilmiştir. Çalışma, kullanılan yöntemlerin test edilmesi açısından bir pilot çalışmayla başlar. Bu amaçla nispeten küçük bir ligand kütüphanesi ($\approx 9,2 \times 10^4$), GOLD programı (309) kullanılarak, moleküler kenetleme yöntemiyle taranmıştır. Ligandlar biyolojik sistemlerde birden fazla olası iyonizasyon ve totomeri durumuna sahip olabilir ve sanal tarama çalışmalarında her bir durum ayrı bir ligand gibi değerlendirilebilir. Araştırmacılar, pilot çalışmada her bir ligand için sadece 1 iyonizasyon ve totomeri durumunu taramaya dahil etmiştir. Dört farklı skorumlama fonksiyonu sunan GOLD programının, Chemscore (310) ve Goldscore (311) skorumlama fonksiyonları düşük verimlilikte kullanılmıştır. Kenetleme programlarının düşük verimle çalıştırılması, elde edilen ligand pozlarının elenmesinde daha geniş kriterler uygulanması anlamına gelir. Bu da enerji, konformasyon ve etkileşmeler açısından daha az olası pozlara da izin verilerek olası hit bileşiklerin iskanmasını önler ve daha az sayıda bileşiğin elenmesini sağlar. Araştırmacılar, bilinen PLC- γ inhibitörleri ile daha önce yaptıkları kenetleme çalışmaları sonucu her bir skorumlama fonksiyonu için yaklaşık bir kenetlenme skor aralığı belirlemiş, söz konusu kütüphanenin taranmasıyla bu aralıkların dışında skorlanan ligandları doğrudan elemiştir (afinite filtresi). Daha sonra her iki skorumlama fonksiyonunda da ilk %5'e giren ligandları seçmiş (konsensüs skoru), bunlar arasında enzimle hidrojen bağı gözlenmeyen bileşikleri elemiştir. Böylelikle ligand kütüphanesinin yaklaşık %99'u elenmiştir. Sonraki aşamada lipofilisite ve suda çözünürlük filtresi uygulanarak kalan ligandlardan $\text{Log}P$ değeri 4,5'ten büyük, $\text{Log}S$ değeri -5,5'ten küçük olanlar elenmiştir. Kalan ligandlardan PAINS (genel test bozucu bileşikler) ve toksik fragman içerenler de elenmiş, geriye tüm kütüphanenin binde üçü kalmıştır. Sonraki basamakta kalan ligandlar moleküler kenetleme ile bu kez yüksek verimlilikte tekrar taranmıştır. Bu aşamada ligandların olası iyonizasyon ve totomeri durumları da dahil edilmiştir. Kenetleme sonuçları görsel olarak incelenmiş ve bazı kriterler çerçevesinde (her iki skorumlama fonksiyonunda da aynı pozu verme, lipofilik

kısımların çözücü içinde kalmaması vb.) 50 ligand seçilmiştir. Seçilen ligandlardan ticari olarak elde edilebilen 37'si PLC- $\gamma 2$ 'ye karşı test edilmiş ve 11'i aktif ($IC_{50} < 50 \mu M$) bulunmuştur. Bu sonuç %30'luk bir isabet oranına karşılık gelmektedir ve çalışma grubu tarafından başarılı bulunarak ana taramaya geçilmiştir.



Şekil 2.35. Reynisson ve ark. (308)'nin sanal aktivite tarama akış şeması.

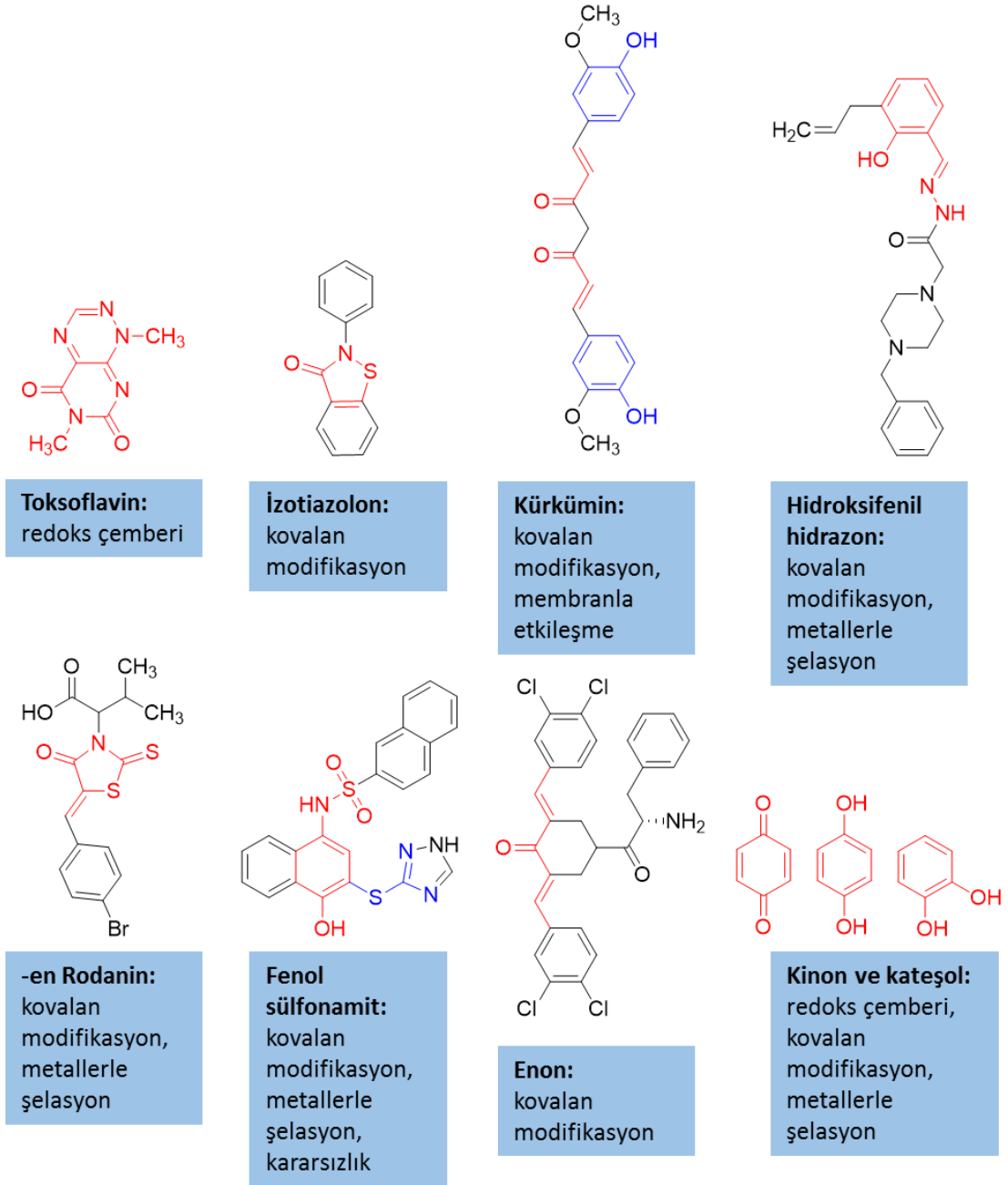
Ana taramada $4,4 \times 10^5$ ligand içeren bir kütüphane, iyonizasyon ve totomeri durumları doğrudan hesaba katılarak $6,3 \times 10^5$ liganda çıkarılmıştır. Daha sonra GoldScore ve ChemScore ile yapılan düşük verimli taramada afinite ve hidrojen bağı filtresi uygulanmış, kalan ligandlar konsensüs skoru ile sıralanarak en iyi %5'i alınmıştır. Bu aşama sonunda kütüphanenin yaklaşık %98'i elenmiştir. Daha sonra

uygulanan $\log P$, $\log S$, PAINS ve toksik fragman filtreleri ile kütüphane %0,7'sine kadar elenmiştir. Kalan ligandlar, pilot çalışmada elde edilen hitlerden yola çıkılarak bir takım deskriptörlerin (moleküler küresellik, molekül ağırlığı, $\log P$, dipol momenti, dönebilen bağlar, hidrojen bağı donörü ve akseptörü sayısı) sınır değerleri ile elenerek sayı 1046 bileşiğe indirgenmiştir. Bu bileşikler ChemScore ve GoldScore ile bu kez yüksek verimli bir taramaya tabi tutularak pilot çalışmadaki kriterlere göre elenmiş ve 210 bileşik seçilmiştir. Bu bileşikler iyonizasyon ve totomeri durumları açısından kütüphanedeki 171 bileşiği temsil etmektedir. Bunlardan 83'ü ticari olarak temin edilebilmiş ve biyolojik tarama testlerine tabi tutulmuştur. 83 bileşiğin 31'i 50 μM konsantrasyonda aktif bulunmuştur; buna göre yöntemin başarısı %37'dir.

PAINS

İngilizce "*pan-assay interference compounds*" kelimelerinin kısaltması olan PAINS, seçici olmayan ve ilaç-benzer olmayan çoklu mekanizmalar ile etki göstererek biyolojik aktivite testlerinde yanlış pozitif sonuç veren bileşikler için kullanılan bir terimdir. Son yıllarda biyolojik aktivite testlerinin maliyet ve uzmanlık gereksinimlerinin azalarak yaygınlaşması, bu testlerin pek çok akademik kurumda yaygın ve rutin bir şekilde yapılmasına olanak sağlamıştır. Biyolojik aktivite test materyaliyle bir şekilde etkileşerek pozitif sonuç veren ancak asla aktif olmayan bu tür bileşikler, kimya bilgisi zayıf kimyager ve biyologlar tarafından aktif bulunarak hit ya da öncü bileşikler olarak saygın dergilerde yayınlanmaktadır. Sıkça atılan yayınlara referans alan ticari ya da ticari olmayan ligand kütüphaneleri, bu tür bileşikleri kataloglarında bulundurmakta ve medisinal kimyacılar tarafından temin etmektedir. Böylelikle PAINS olduğu bilinen bileşikler ve hatta türevleri, bilimsel literatürdeki bilgi kirliliğinin kısır döngü içerisinde giderek artmasına, bilim camiasında zaman ve kaynak israfına neden olmaktadır. PAINS'ler biyolojik aktivite testlerinde çeşitli ilaç-benzer olmayan mekanizmalar ile aktif çıkmaktadır. Bazı PAINS'ler çok reaktiftir ve test ortamındaki kimyasallarla ve proteinlerle seçici olmayan bir şekilde reaksiyon verir. Bazıları güçlü floresan veya renk vererek, protein yokluğunda bile pozitif yanıt oluşturur. PAINS'ler metallerle kolayca şelat oluşturularak ilgili proteinin işlevinden

sorumlu metali alıkoyabilir. Redoks çemberine giren PAINS'ler hidrojen peroksit oluşturarak hedef proteini inaktive eder ve inhibitör olarak algılanır. Kolayca parçalanan bazı PAINS'ler ise çok reaktif ürünlere dönüşerek yanlış pozitif sonuç verebilmektedir. Hücre hattında membran ile etkileşerek sitotoksik olduğu sanılan PAINS'ler de mevcuttur. Çoğu PAINS birden fazla mekanizma üzerinden etki gösterir. Bir test bileşiğinin hedef makromolekül ya da hücre hattı üzerinde bir şekilde aktivite göstermesi ilk bakışta istenen bir sonuç gibi görülebilir. Oysa bir bileşik istenen hedefin istenen bölgesiyle arzu edilen şekilde etkileştiği taktirde spesifik bir biyolojik yanıt oluşturur. PAINS'lerin spesifik olmayan etkileri *in vivo* deneylerde ve ileri prelinik safhalarda kendini ele verir ve bu yüzden klinik çalışmalarda az rastlanır (312). Örneğin toksoflavin, kürkümin, resveratrol ve genistein için değişik aktivitelerinin gösterildiği yüzlerce makale yayımlanmıştır. Oysa bu bileşiklerin PAINS etkileri çok iyi derlenmiştir. Rodaninler de üzerinde sayısız makale ve yüzlerce patent yayınlanmış bir bileşik grubudur ve terapötik olarak umut vadettiği iddia edilmektedir. Oysa bu bileşiklerin ışık ile aktifleşerek proteinlerle geri dönüşümsüz tepkime verdiği bildirilmiştir. Bugüne kadar klinik ya da klinik öncesi geç prelinik çalışmalara alınmış bir rodanin türevi mevcut değildir (313-315). PAINS'lerin seçici olmayan etkilerinden sorumlu 400 civarında yapısal grup belirlenmiştir. Ancak PAINS'lerin yarısı bunlardan sadece 16'sını barındırır (Şekil 2.36.) (316, 317). PAINS'lerin ilaç tasarımında erken aşamalarda uzaklaştırılabilmesi için kullanılan yazılımlar mevcut olsa da bu yazılımların güvenilirliği tartışmalıdır. Oysa yukarıda belirtilen 16 yapı, görsel değerlendirmeye kolayca tespit edilebilir. Bu yüzden sanal aktivite taramalarında PAINS filtresi son basamaklarda uygulanır.



Şekil 2.36. Sık rastlanan PAINS örnekleri (interferans etkilerinden sorumlu yapısal grupları renkli olarak gösterilmiştir) ve interferans mekanizmaları (Baell ve Walter'dan alınmıştır (312)).

Son yıllarda PAINS konusu, ideal ilacın tek bir hedefle spesifik olarak etkileşmesinin sağladığı farmasötik etkinliğin sorgulanır hale gelmesiyle tartışmaların odağı haline gelmiştir. Zira günümüzde sistemler biyolojisi ve polifarmakoloji gibi ilaç aktivitesini biyolojik bir sistemde karmaşık biyomoleküler etkileşmelerin bir sonucu olarak gören anlayış ağırlık kazanmaktadır (318, 319). Ancak, istenmeyen hedefler

(*off-targets*) de dahil, çoklu hedeflerle rastgele etkileşimler nedeniyle aktivite profilinin düşmesi ile birbiriyle ilişkili birden fazla hedefle etkileşim sonucu etkinliğinin artması arasındaki fark, izole ve sınırlı biyolojik çalışmaların yürütüldüğü ilaç tasarımının erken aşamalarında oldukça belirsizdir. Dahası günümüzde bazı PAINS'ler ve bunların etkilerinden sorumlu bazı fonksiyonel grupları taşıyan bileşikler klinik araştırmalara girmiş hatta ilaç olarak ruhsatlandırılmıştır. Örneğin, kürkümün için kanser, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, bilişsel ve psikiyatrik bozukluklarda kullanımına yönelik olarak yürütülmekte olan 125 klinik çalışma mevcuttur. Kinon içeren bazı bileşikler de antikanser ve immünsüpresif olarak onaylanmış ve dünya çapında klinik olarak kullanılmaktadır. Dolayısıyla bazı araştırmacılara göre ilaç tasarımının erken aşamalarında PAINS filtresinin uygulanması potansiyel ilaç aday aday bileşiklerinin elenmesine neden olabilmektedir (320).

e. Farmakokinetik Özelliklerin (ADME+T) Modellenmesi

İlaç tasarımının geç aşamalarında kötü farmakokinetik özellikler ve toksisiteden dolayı yaşanan kayıplar önemli bir orana sahiptir (321). Bu durum ilaç endüstrisini ve akademiye bu sorunların ilaç tasarımının erken aşamalarında çözülmesi için girişimlerde bulunmaya itmiştir. Bu amaçla yapısal biyoloji, hesaplamalı kimya, bilgi teknolojileri gibi alanların rasyonel ilaç tasarımına dahil olduğu multidisipliner yaklaşımlar ele alınmıştır. Yüzlerce bileşiğin absorpsiyon, dağılım, metabolizma, eliminasyon (ADME) gibi farmakokinetik özelliklerinin ve toksisitesinin (T) test edilebilmesi son derece zahmetli ve masraflıdır. Bu nedenle son yıllarda çok sayıda in silico ADME+T öngörü modeli hit bulma ve öncü optimizasyonunda sıkça kullanılmaktadır (322).

Bir bileşiğin fizikokimyasal özellikleri (kütle, lipofilisite, çözünürlük, iyonizasyon ve topoloji) ADME+T profili ve dolayısıyla o bileşiğin etki gücü ve seçiciliği açısından önemli olabilir. Dolayısıyla bu özelliklerin sayısal olarak hesaplanması ADME profilinin oluşturulmasında temel teşkil etmektedir (323).

Partisyon Katsayısı

Lipofilite bir bileşimin çözünürlüğü, membranlardan difüzyonu, etki gücü ve seçiciliği üzerinde etkisi olan önemli bir fizikokimyasal özelliktir (324). Lipofilitenin göstergesi olarak kabul edilen oktanol/su partisyon katsayısı ($P_{o/s}$ ya da kısaca P) bir bileşimin oktanol/su sisteminde her iki fazda denge halindeki konsantrasyonlarının oranını ifade eder. Partisyon katsayısı, aşağıda bahsedilen diğer bazı katsayılar da olduğu gibi, daha pratik olması ve lineer korelasyon kurulabilmesi açısından, eksi logaritması alınarak kullanılır ($\log P$). $\log P$ 'nin deneysel tayini zahmetlidir, büyük kütüphanelere ve sanal bileşiklere uygulanamaz. Bu yüzden $\log P$ sıklıkla ampirik olarak hesaplanır. Bu amaçla üç temel yöntem kullanılır: moleküler simülasyona dayanan *ab initio* yöntemler, yapısal bileşenleri temel alan yöntemler ve özellik temelli yöntemler. *Ab initio* yöntemler, termodinamik entegrasyon yaklaşımının kullanıldığı moleküler dinamik ile tahmin edilen, farklı fazlarda, sabit sıcaklık ve basınçtaki mutlak solvasyon Gibbs serbest enerjilerini temel alarak geliştirilmiştir. Yapısal bileşenlere ya da fragmanlara bağlı yöntemlerde deneysel olarak hesaplanmış geniş $\log P$ kütüphanelerinden yola çıkılarak atom ya da atom gruplarının $\log P$ değerleri belirlenir. Bir bileşimin hesaplanan $\log P$ değeri, fragmanların $\log P$ değerlerinin toplamına belirli düzeltme faktörlerinin de dahil edilmesiyle bulunur. Özellik temelli yöntemler, nicel yapı özellik ilişkileri temel alınarak geliştirilmiştir ve iki yaklaşım söz konusudur. Bunlardan ampirik olanı, $\log P$ 'yi önceden belirlenmiş bir fonksiyon ve lipofiliteye dair bir seri deneysel parametre ile hesaplar. İstatistik temelli yaklaşımda başvurulan modeller ise deneysel $\log P$ ve çeşitli deskriptörler ile istatistiksel öğrenme yöntemleri kullanılarak eğitilmiştir (325).

Sudaki Çözünürlük

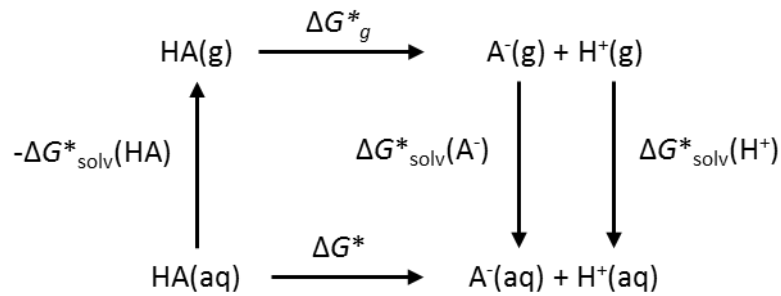
İlaç biyoyararlanımını en çok etkileyen unsurlardan biri etkin maddenin sudaki çözünürlüğüdür. Çözünürlük tahmini için önerilen ilk model olan termodinamik döngüde çözünme işlemi, moleküllerin kristal yapıdan buhara süblime olduğu ve sonra buhardan çözeltiye karıştığı iki aşamaya ayrılır (326). Çözünürlük katsayısı ($\log S$) tahmini için oluşturulan modellerde *ab initio*, hibrit yoğunluk fonksiyonel teorisi, yarı

ampirik moleküler orbital teorisi, kuvvet alanı, moleküler dinamik ve özellik temelli yöntemler kullanılmıştır. *Ab initio* yöntemlerin kullanımı hesaplama yükü açısından halen pratik değildir ve bu sebeple günümüzde başvurulan çoğu logS hesaplama aracı nicel yapı özellik ilişkileri temelli olarak çalışır (327).

İyonizasyon Sabiti

İlaçların bazı kilit özellikleri, özellikle dağılımı ve difüzyonu, büyük ölçüde fizyolojik pH'deki iyonizasyon sabitine (pK_a) bağlıdır. Ayrıca bir bileşiğin tüm iyonizasyon durumları göz önünde bulundurularak hesaplanan dağılım katsayısı ($\log D$), pK_a 'nın dahil edildiği bir parametredir. pK_a hesabında genel olarak *ab initio* KM hesaplamaları, yarı ampirik yaklaşımlar, istatistik ve otomatik öğrenme yöntemleri kullanılır.

Ab initio KM hesaplamalarında, bir bileşiğin iyonizasyonu dört basamaklı termodinamik bir döngü olarak ele alınır (Şekil 2.37.).



Şekil 2.37. Termodinamik döngü ile pK_a tahmini. Gaz fazı (g), sulu çözelti (aq), çözünme (solv), $\Delta G^*_{\text{solv}}(\text{HA})$ HA'nın çözünme serbest enerjisi, ΔG^*_g H⁺ ve A⁻'un gaz fazı proton afinitesi, $\Delta G^*_{\text{solv}}(\text{A}^-)$ ve $\Delta G^*_{\text{solv}}(\text{H}^+)$ A⁻ ve H⁺'un çözünme serbest enerjisi.

Pratik olarak bir su molekülünün reaktifler ya da ürünler tarafında bulunmasına bağlı olarak, pK_a değerine $\log[\text{H}_2\text{O}]$ düzeltme faktörü eklenir ya da bu değerden çıkarılır (328). Bu ve benzeri doğrudan hesaplama modellerinden daha karmaşık modeller (proton değişimi, hibrit küme süreklilik, kapalı-açık vb. yaklaşımlar) de mevcuttur. *Ab initio* KM hesaplamaları pK_a öngörü modellerinde büyük ilgi görmüştür. Ancak hesaplama yükü büyük kütüphaneler için fazladır. Ayrıca tahminin

doğruluğu yapısal optimizasyona bağlıdır, dolayısıyla bileşiklerin konformasyonel esnekliği sorun yaratabilir; çünkü tahmin edilen konformasyon, her zaman en düşük enerjili konformasyon olmayabilir.

Yarı ampirik modeller arasında bilinen bir yaklaşım Hammett eşitliğini temel alan lineer serbest enerji ilişkileridir (LSEİ) (329). pK_a değeri, deprotonasyon enerjisiyle doğrudan ilişkili olduğu için bir bileşik üzerinde yapılan süstitüsyon, deprotonasyon enerjisini ve dolayısıyla pK_a değerini değiştirecektir. LSEİ günümüzde ticari ADME+T hesaplama paketlerinde yaygın olarak kullanılır.

Son yıllarda multilineer regresyon, yapay sinir ağları, çekirdek temelli (*kernel based*) otomatik öğrenme gibi istatistiksel yöntemlerle oluşturulmuş çok sayıda pK_a öngörü modeli sunulmuştur. KM ve yarı ampirik yöntemlerden çok daha hızlı çalışan istatistiksel modeller tahmin doğruluğu açısından bu yöntemlerle eş değerdir (327).

İlaç Benzerlik (*Drug-likeness*)

İlaç benzerlik ilaç tasarımında ilk başvuru farmakokinetik özelliklerdendir. Lipinski ve ark. (330) tarafından önerilen Lipinski kuralları oral olarak kullanılan ilaç moleküllerinde en sık görülen dört fizikokimyasal özelliği (hidrojen bağı donör sayısı ≤ 5 , hidrojen bağı akseptör sayısı ≤ 10 , molekül ağırlığı ≤ 500 dalton, $\log P \leq 5$) kapsar. Bu özelliklerde belirtilen değerler beş ve beşin katları olarak tanımlandığı için bu kurallar bütününe "beşler kuralı" da denir. Zaman içerisinde bu kurallara yenileri eklenmiş ya da farklı değerler önerilmiştir. İlaç benzerliğin yanı sıra öncü tasarımı için öncü benzerlik (*lead-likeness*) gibi kriterler de önerilmiştir (ör.: Üçler kuralı) (106). Bu kriterler genellikle büyük ligand kütüphanelerinin aktivite tarama öncesinde filtrelenmesi için kullanılır (331).

Bileşiklerin farmakokinetik profillerinin deneysel olarak ortaya çıkarılması için genellikle uzmanlık gerektiren ve zaman alıcı *in vitro* ve *in vivo* deneylere ihtiyaç duyulur. ADME+T özelliklerinin tahmini için günümüzde çok sayıda in siliko model kullanılmaktadır.

Bağırsaktan Emilim

Oral ilaçların biyoyarlanımında önemli rol oynayan süreçlerden biri de bağırsaktan emilimdir. İlaç tasarımı ve optimizasyonunda sıklıkla başvuru bağırsaktan emilim modelleri mevcuttur (332). Bu modellerin çoğu, son yıllarda yayınlanmış olan çok sayıda molekülün insan bağırsağından emilimi ile ilgili *in vitro* ve *in vivo* verileri temel alır. Genel olarak beşler kuralı gibi daha basit veya otomatik öğrenme gibi daha karmaşık modeller mevcuttur. KYEİ yaklaşımı da bağırsak emilimini tahmin etmek için kullanılmaktadır. Bu modeller iyi, orta ve kötü emilme olarak kaba bir sınıflandırma yapan nitel modellerden farklı olarak bileşikleri emilme derecelerine göre sıralar. Thomas ve ark. (333) tarafından geliştirilen Caco-2 modeli bu yaklaşımın popüler bir örneğidir.

Plazma Proteinlerine Bağlanma

Plazma proteinlerine bağlanma hızı biyoyarlanım ve ilaç etkileşmeleri açısından önemlidir (334). İlaç tasarımında yaygın uygulama, HPLC tekniği kullanarak insan serum albüminine (İSA) bağlanma afinitesinin ölçülmesidir. Buna göre İSA'nın tek bir ligand bağlanma bölgesi olduğu kabul edilerek, İSA'nın destek bir materyele immobilize edildiği bir kolonda bağlanma sabiti $\log K_{ISA} = \log((t - t_0)/t_0)$ (t ilaç retansiyon zamanı, t_0 kolondaki ölü zaman) olarak bulunur (335). Oysa kristalografi çalışmalarında İSA için birden fazla ligand bağlanma bölgesi olduğu gösterilmiştir (336). Ayrıca İSA'nın kolonda sabitlenmesi, plazmadaki dinamik halini yeterince gerçekçi olarak temsil edememektedir. Bunun üzerine moleküler kenetleme, MD ve HPLC veri madenciliğinin bir kombinasyon halinde kullanılmasıyla bu sorunların aşılması hedeflenmiştir. Örneğin bir bileşiğin hangi bağlanma bölgesine bağlanacağı moleküler kenetlemeyle tahmin edilebilir. Ayrıca bileşiğin yapısal özellikleri de bu konu hakkında bilgi verir ve ligand temelli yaklaşımlarda kullanılır. Ligandların yapıları ve İSA ile kenetleme sonucu elde edilen etkileşme deskriptörleri ile deneysel İSA afinitelerinin bir arada kullanılmasıyla oluşturulmuş İSA etkileşmeli QSAR modelleri de mevcuttur (327).

KBB'den Geçiş

SSS etkili ilaçların KBB'yi kolay geçmesi, diğer ilaçların ise olabildiğince az geçmesi istenir. Bileşikler KBB'yi pasif difüzyon ya da çeşitli taşıyıcı sistemler vasıtasıyla geçebilir (337). KBB geçişinin ölçülmesi için çeşitli deneysel modeller önerilmiştir. Bunlardan *in vivo* olanlar daha güvenilir sonuçlar vermektedir. Bu modellerde KBB'den geçiş hızı ve oranının ölçüsü olarak $\log PS$ (geçiş yüzey alanı ürünü logaritması) ve $\log BB$ (dengedeki kan-beyin partiyon hızı logaritması) değerleri hesaplanır (338).

KBB'den geçiş için geliştirilmiş çoğu *in silico* model, bileşiklerin pasif difüzyonla geçtiğini varsayar. Membran taşıyıcıları hesaba katmak üzere Garg ve ark. (2006) tarafından moleküler yapı parametrelerinden yola çıkılarak bir yapay sinir ağı modeli geliştirilmiş, bileşiklerin P-gp substratı olma olasılığı üzerinden $\log BB$ değerleri tahmin edilmiştir (339). Bunun yanında $\log P$, pK_a gibi parametrelerin kullanıldığı QSAR modelleri önerilmiştir. Literatürdeki deneysel verilerden yola çıkarak, bir bileşiğin KBB'den geçip geçemeyeceğini (KBB+ veya KBB-) tahmin eden sınıflandırma modelleri de mevcuttur (327).

Metabolizma

Metabolizma tahmini, ilaç tasarımıyla birlikte pek çok alanın öncelikli olarak ilgilendiği bir araçtır. İlaç metabolizmasıyla ilgili sorunlar düşük biyoyararlanımdan yüksek klerense, ilaç etkileşmelerinden toksisiteye bir seri probleme neden olabilmektedir (340). Ayrıca metabolizmanın öngörülmesi ön ilaç tasarımı gibi prospekif uygulamalara olanak sağlayabilir (341). Genellikle faz I reaksiyonları için *in silico* metabolizma öngörü modelleri dört ana grup atında sınıflandırılır. Bunlar; bir bileşiğin CYP51 sisteminin substratı ya da inhibitörü olup olmadığını ayırt etmek ve ilaç etkileşmelerini irdelemek için kullanılan enzim-ksenobiyotik etkileşme modelleri, ksenobiyotiklerin metabolik dayanıklılığını nicel olarak tahmin eden karaciğer klerensi modelleri, ksenobiyotiklerin yumuşak noktalarını tespit etmede kullanılan metabolizma noktası (MN) tahmini ve ksenobiyotiklerin olası metabolitlerini tahmin etmede kullanılan modellerdir.

Ksenobiyotiklerin metabolik reaksiyonları en kolay verdikleri noktaları, yumuşak nokta ya da MN olarak anılır. CYP51 enzimleri ksenobiyotik metabolizmasının yaklaşık %75'inden sorumlu olduğu için bu noktalara CYP MN'ler de denir ve bu noktaların öngörülebilmesi için çok sayıda model geliştirilmiştir. Faz I metabolizmada hız sınırlayıcı basamağın bir MN'den hidrojen koparılması olduğu bildirilmiştir. Dolayısıyla hidrojen koparma enerjisi MN tahmininde iyi bir belirleyicidir. Bunun için yarı ampirik KM hesaplamaları yanı sıra, doğrudan iki boyutlu bileşik yapısından yola çıkan daha hızlı modeller, moleküler kenetleme ve KM hesaplamalarının bir arada uygulandığı etkileşme temelli modeller ya da istatistiksel öğrenme modelleri kullanılmaktadır (327).

Uzman sistemler ve istatistiksel yöntemlere göre yapılan metabolit tahmini MN tahminindeki gibi tek bir basamağa bağlı kalmaz; ana metabolitleri tamin etmek için tekrar tekrar uygulanır. Bu da muazzam bir ikincil ve üçüncül metabolit sayısına ulaşılmasına ve yanlış pozitif sonuçlara neden olabilir. Uzman sistemlerde literatürdeki metabolik reaksiyon kurallarından yararlanır ve bir bileşiğin, MN'lerinin öncelik sırasına göre, hangi reaksiyonları verebileceği tahmin edilir. İstatistiksel öğrenme yöntemlerinde bileşikteki MN'ler için olası reaksiyonlar fonksiyonel grupların birbirleri üzerindeki tüm etkileri göz önüne alınarak belirlenir. Tablo 2.7.'de MN ve metabolit tahmininde kullanılan bazı yazılımlar listelenmiştir (327).

Tablo 2.7. MN ve metabolit tahmininde kullanılan yaklaşımlar ve yazılımlar

Reaktivite Temelli	Yapı Temelli	Otomatik Öğrenme	Kural Temelli
○ QMBO	○ IDSite	○ DR/RS Predictor	● MetabolExpert
○ CypScore	○ IMPACTs	○ SOMEViz	● META
○ Metasite	○ MLite	○ SOM-UGT	● METEOR
○ SMARTCyp	○ Topluluk-temelli	● PASS-BioTranfo	● TIMES
○ StarDrop	○ MD destekli kenetleme	● MetaPrint2D-React	● MetaDrug
			● UM-PPS
			● SyGMa

○ MN tahmini, ● metabolit tahmini

Membran Taşıyıcıları

Bileşiklerin biyolojik membranlardan seçici olarak geçişini sağlayan membran taşıyıcılar, ATP bağlanma kaset (ABK) taşıyıcılar ve solüt taşıyıcılar olarak iki süperfamilya altında toplanır. ABK taşıyıcılardan P-gp, çoklu ilaç direnciyle ilişkili proteinler ve meme kanseri direnci proteini; solüt taşıyıcılardan organik katyon/anyon taşıyıcılar, organik anyon taşıyıcı polipeptitler ve çoklu ilaç ve toksin püskürten taşıyıcılar ilaç Ar-Ge çalışmalarında önemlidir. Karaciğer, böbrek, bağırsak ve KBB'deki taşıyıcılar ilaçların biyoyararlanımlarını değiştirmekle birlikte taşıyıcıya bağlı ilaç etkileşimleri ve ciddi yan etkilere neden olabilir.

İlk tanımlanan ve dolayısıyla üzerine en fazla model çalışması bildirilen membran taşıyıcısı P-gp'lerdir. P-gp'lerin bilinen substratlarından yola çıkılarak farmakofor modeller oluşturulmuş ve bu modellere karşı taranan bileşik kütüphaneleri içinden olası substratlar tahmin edilebilmiştir (342, 343). P-gp'ler için ayrıca doğrusal veya kısmi en küçük kareler (*partial least squares*) regresyon analizleri kullanılarak geliştirilen QSAR modelleri de kullanılmıştır (344). Bu klasik yaklaşımların yanında; destek vektör makineleri, Bayesian sınıflandırıcıları, karar ağaçları gibi istatistiksel yöntemler de kullanılmaktadır (345). Klasik yöntemlerin P-gp için tahmin başarısı yaklaşık %80'dir; oysa destek vektör makineleri yöntemiyle %90 tahmin başarısına ulaşıldığı bildirilmiştir. P-gp'ler dışındaki taşıyıcılar için oluşturulan in siliko modeller çok sınırlı kalmıştır. Örnek olarak meme kanseri direnç proteini (BCRP) inhibitörleri için geliştirilen 3D-QSAR CoMFA, CoMSIA ve destek vektör makinaları modelleri ile organik katyon taşıyıcı 1'e seçici bağlanan substratlar için geliştirilen farmakofor modelleri verilebilir (346-348).

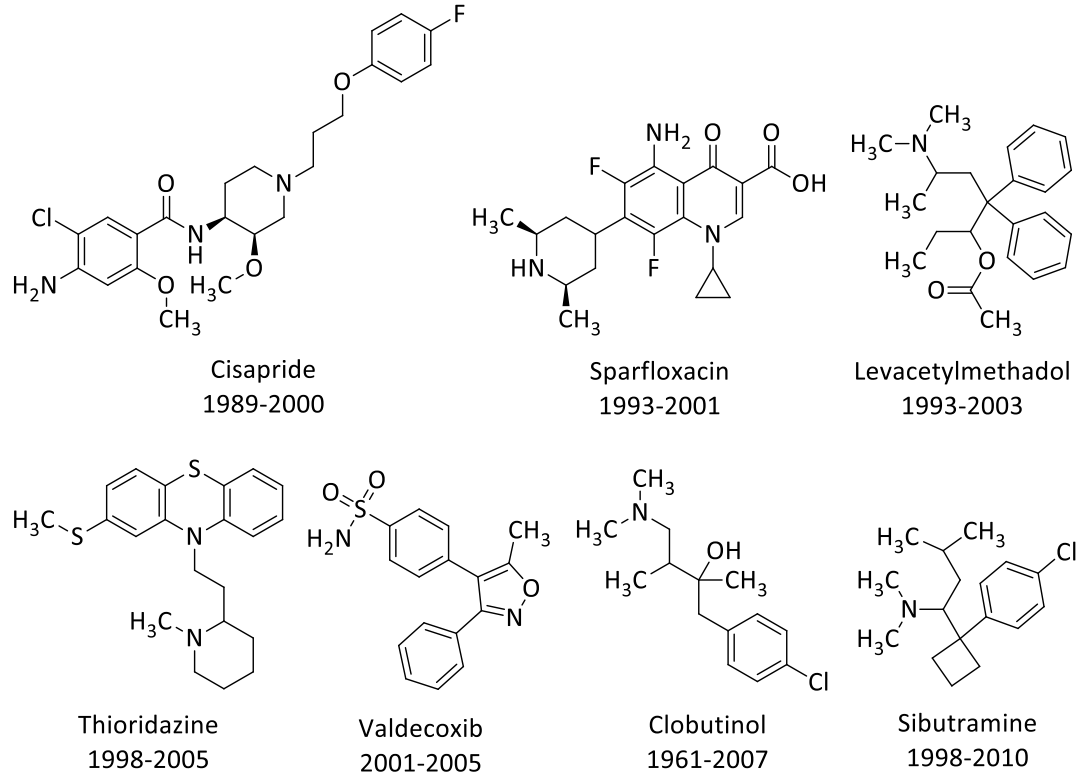
Toksisite Tahmini

İlaç tasarımında önceliklerden biri toksisiteyi erken aşamalarda tespit ederek ileri aşamalarda olası kaynak ve zaman israfını önlemektir. Günümüzde tüm yönleriyle toksisite tahmini yapan yüksek verimli ve hızlı entegre araçlar mevcuttur. Bu araçlar için literatür bilgisine dayanan kural temelli uzman sistemler, çapraz valide

edilmiş nicel yapı-toksisite ilişki modelleri, fragmanlar üzerinden tahmin yapan otomatik öğrenme modelleri gibi çok çeşitli yaklaşımlar kullanılır (349-351).

Çok yönlü bir olgu olan toksisitenin tahmininde spesifik uygulamalar araştırmacılar için daha kullanışlı olabilmektedir. Örneğin akut toksisitenin tahmini için in siliko LD₅₀ hesabı modelleri mevcuttur (352). Bu modeller QSAR, otomatik öğrenme, yapısal benzerlik ve parmak izi gibi yaklaşımlarla geliştirilmiştir. Aynı şekilde genotoksisite tahmini için kullanılan modellerde, genotoksik mekanizmaların çeşitliliği nedeniyle daha çok QSAR, yapısal benzerlik ve istatistiksel yöntemlere başvurulur.

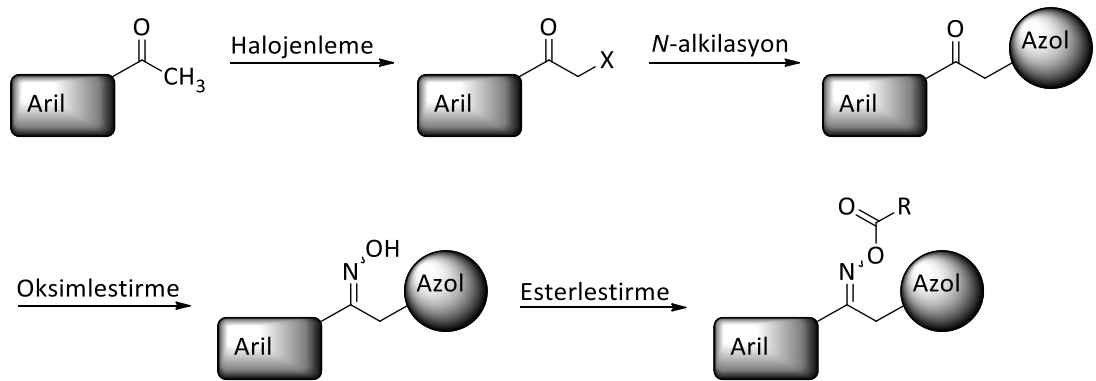
Spesifik toksisite tahmin uygulamalarından biri hERG toksisitesi tahminidir. Bazı ilaçların hERG afinitesinin yüksek oluşu uzun QT sendromuna bağlı aritmi ve ani ölümlere neden olmuş ve bu ilaçlar piyasadan çekilmiştir (Şekil 2.38.). Dolayısıyla son yıllarda ilaç endüstrisi bu riski en aza indirmek için ilaç tasarımının erken aşamalarında hERG afinitesi olan bileşikler elemektedir (353). Kalp dokularında voltaj klamp tekniğiyle yapılan elektrofizyolojik testler hERG toksisitesi ölçümünde kullanılan temel yöntemdir. İn siliko hERG toksisitesi tahmini mevcut deneysel veri tabanlarından yola çıkılarak yapılabilmektedir. hERG kanalı için oluşturulmuş homoloji modelleri ile mutajenez verileri ışığında yapılan kenetleme ve MD simülasyonları sonucu elde edilen etkileşme modelleri son yıllarda yaygınlaşmıştır. Ayrıca yakın zamanda Durdağı ve ark. (354) tarafından hERG kanalı aktivatörlerinin kapsamlı bir şekilde valide edilmiş farmakafor modeli yayınlanmıştır. 2017'de bazı kısımları eksik olarak yayınlanan hERG kanalı kristal yapısının kullanıldığı bir model henüz bildirilmemiştir (355). Günümüzde kullanılan diğer yöntemler kapsamlı QSAR, jenerik moleküler deskriptör, Bayesian sınıflandırma ve moleküler parmak izi modelleridir.



Şekil 2.38. hERG toksisitesi yüksek olduğu için geri çekilen bazı ilaçlar, piyasaya sürüldüğü ve piyasadan çekildiği tarihler.

2.4. (Arilalkil)azol Yapısındaki Oksim Esterlerin Kimyası

(Arilalkil)azol yapısındaki oksim esterlerin eldesi Şekil 2.39.'de özetlenen sıra ile gerçekleştirilir.

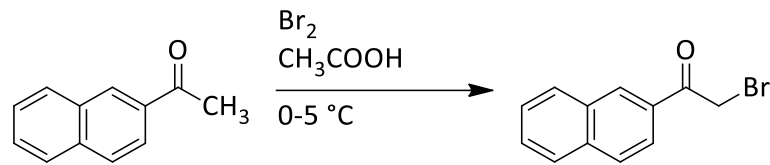


Şekil 2.39. (Arilalkil)azol yapısındaki oksim esterlerin sentez akışı.

2.4.1. Ariletanon Türevlerinin Halojenlenmesi

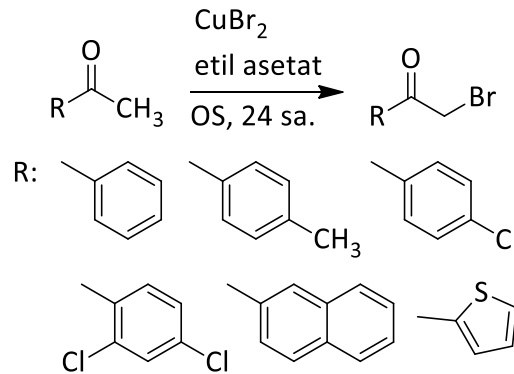
(Arilalkil)azollerin sentezinde *N*-alkilasyon basamağının gerçekleştirilmesi için ariletanon türevinin α konumundan halojenlenmesi gerekir. Literatürde bildirilmiş çeşitli iyotlama, bromlama ve klorlama yöntemleri mevcuttur.

İmediata ve ark. (356), 2-naftiletanonun glasiyel asetik asitteki çözeltisine bromun glasiyel asetik asitteki çözeltisini buz banyosunda ilave edip, elde ettikleri karışımı bir gece oda sıcaklığında karıştırarak %73 verimle 2-bromo-1-(2-naftil)etanonu elde etmiştir (Şekil 2.40.).



Şekil 2.40. Naftaçil bromürün İmediata ve ark. (356)'nın yöntemiyle sentez edilmesi.

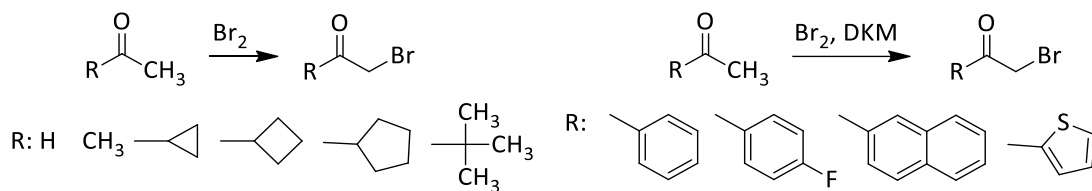
Aeluri ve ark. (357) çeşitli 1-feniletanon türevlerini CuBr₂ ile yüksek verimle (%95-99) bromlamıştır (Şekil 2.41.).



Şekil 2.41. 1-Feniletanon türevlerinin CuBr₂ ile bromlanması.

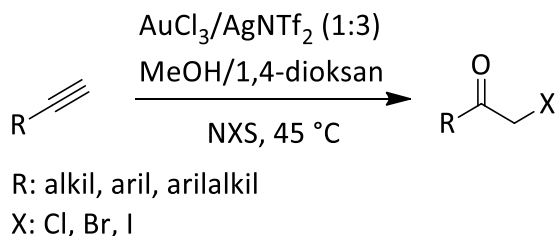
Günther ve ark. (358) çeşitli aril ve alkiletanon türevini doğrudan Br₂ ile muamele ederek bromlamıştır. Alifatik ketonların metanoldeki çözeltisine buz banyosunda brom ilave edildikten sonra reaksiyon oda sıcaklığına getirilmiş ve gece boyunca karıştırılmıştır. Aromatik ketonlar ise oda sıcaklığında diklorometan (DKM)

içerisinde muamele edilmiş ve yarım saat içerisinde reaksiyon sonlandırılmıştır (Şekil 2.42.).



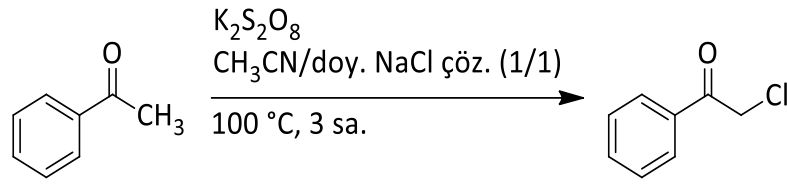
Şekil 2.42. Çeşitli etanon türevlerinin Br₂ ile doğrudan bromlanması.

Halojenleme reaksiyonlarında sık kullanılan reaktiflerden biri *N*-halosüksinimittir (NXS). Venkata Rao ve ark. (359) bazı sübtitüe fenaçil bromür türevlerinin sentezinde *N*-bromosüksinimit ve *p*-toluensülfonik asit kullanmıştır. Xing ve ark. (360) ise çeşitli aromatik ve alifatik halojenoetanon türevlerini aril ve alkiletin türevlerinin altın(III) katalizörlüğünde NXS ile reaksiyonundan elde etmiştir. Bu reaksiyonlarda kloro, bromo ve iyodo türevleri için çeşitli katalizör ve çözücü kombinasyonları denenmiş, ideal verim altın(III) klorür (AuCl₃) ve gümüş bis(triflil)imit (AgNTf₂) katalizörlüğünde metanol/1,4-dioksan karşımında elde edilmiştir (Şekil 2.43.).



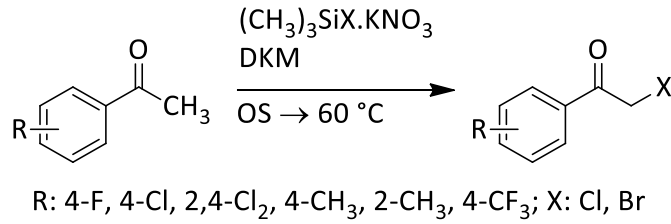
Şekil 2.43. NXS ile halojenleme.

Liuqun Gu ve ark. (361) oksidatif klorlama ile asetofenonu α konumundan klorlamıştır. Farklı yapılar da bileşiklerin klorlandığı bu yöntemde reaksiyon, asetonitril/doymuş sodyum klorür çözeltisi karışımı içinde ve oksidasyon ajanı olarak potasyum persülfat varlığında yürütülmüştür (Şekil 2.44.).



Şekil 2.44. Asetofenonun oksidatif klorlanması.

Surya Prakash ve ark. (362) çeşitli 2-kloro ve 2-bromoasetofenon türevlerinin eldesinde halotrimetilsilan-nitrat tuzlarını kullanmıştır (Şekil 2.45.).



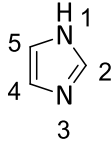
Şekil 2.45. Ariletanon türevlerinin halotrimetilsilan nitrat tuzlarıyla halojenlenmesi.

2.4.2. Azol Halkalarının 2-Halojenariletanon Türevleri ile *N*-Alkilasyonu

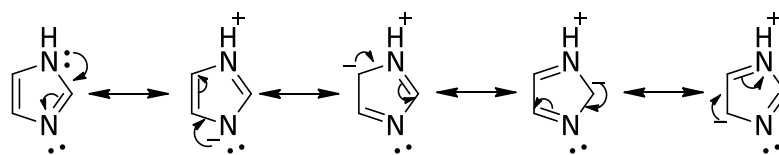
a. İmidazol

Sudaki çözeltisi hafif bazik olan imidazol aromatik heterosiklik bir bileşiktir (Tablo 2.8.). Histamin ve histidin gibi önemli biyolojik moleküllerin yanı sıra doğada bulunan pek çok alkaloidin yapısında bulunur. İlk defa 1858'de Debus (363) tarafından amonyak içerisinde glioksal ile formaldehidin reaksiyonundan sentez edilmiştir. Literatürde imidazolün farklı konumlardan süstitüe ve nonsüstitüe türevlerinin çeşitli sentez yöntemleri bildirilmiştir.

Tablo 2.8. İmidazolün bazı fizikokimyasal özellikleri

			
Fiziksel görünüş	beyaz katı	Dipol momenti	3,61 D
Kapalı formül	C ₃ H ₄ N ₂	Yoğunluk	1,23 g/ml
Kütle	68,077 g/mol	Erime derecesi	89-91 °C
Sudaki çözünürlük	633 g/L	Kaynama derecesi	256 °C
pKa	14,5	Parlama derecesi	146 °C
pKa (konjüge asit)	6,95	λ_{\max} (UV)	280 nm

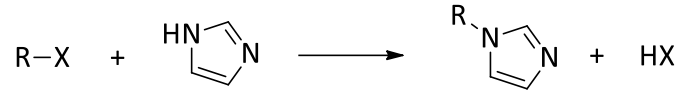
İmidazolün 3 numaralı konumunda bulunan azot atomu, üzerindeki serbest elektron çifti ile nükleofil gibi davranır ve halkaya bazik özellik kazandırır (Şekil 2.46.). Dolayısıyla alkil halojenürlerle *N*-alkilasyon reaksiyonları bu konumdan yürür. İmidazolün bu konumdan protonlanmasıyla elde edilen konjüge asidinin pK_a değeri 6,95'tir; bu da imidazolü piridinden daha bazik yapar. Diğer taraftan imidazol 1 numaralı konumdaki azotun taşıdığı hidrojen nedeni ile hafif asidik karakterlidir ve 14,5'lik pK_a değeriyle alkollerden biraz daha asidiktir. Dolayısıyla imidazol amfoterik özelliktedir. (Arilalkil)imidazoller 1 numaralı konuma bağlı hidrojenin kaybedilmesiyle bazik hale gelir (364).

**Şekil 2.46.** İmidazolün rezonans sınır şekilleri.

İmidazolün *N*-alkilasyonu

İmidazolün *N*-alkilasyonu için alkil halojenürlerle normal şartlarda reaksiyon en çok tercih edilen yöntemdir (Şekil 2.47.). Bu yöntemde oluşan HX'in tutulması ve

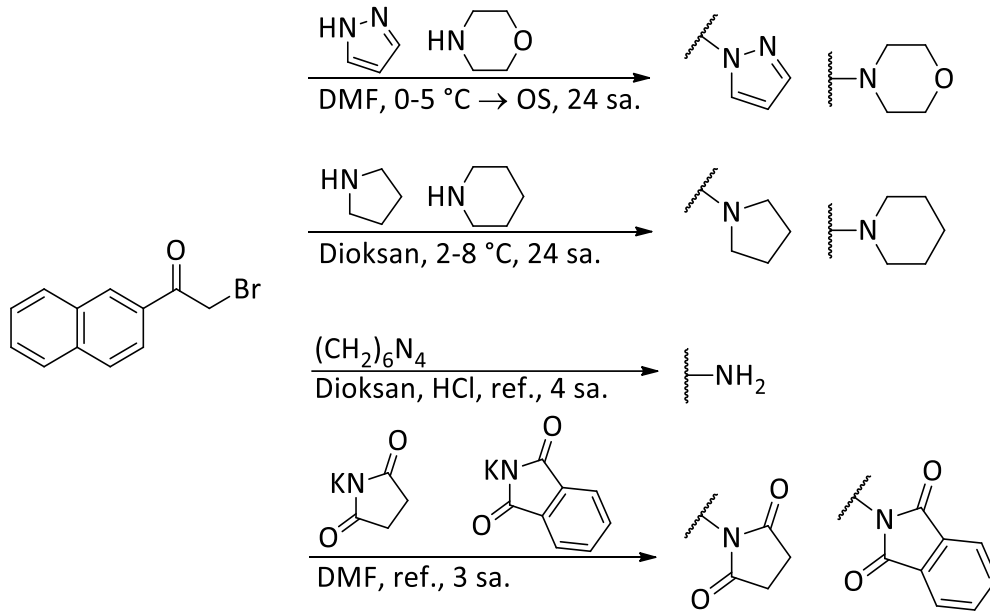
yan ürün olarak oluşan 1,3-disübstitüe imidazolium türevinin oluşmasını engellemek için imidazolün fazlası veya ilave bazik ajanlar kullanılır (365).



Şekil 2.47. İmidazolün *N*-alkilasyon reaksiyonu.

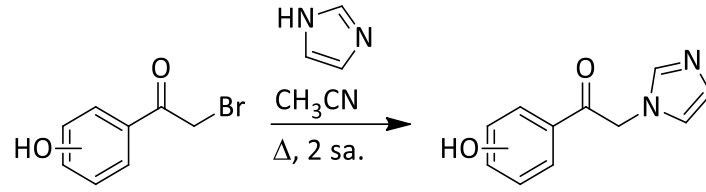
Örneğin, Nardi ve ark. (14) çeşitli fenaçil bromür türevlerini dimetilformamit (DMF) içerisinde imidazol ile reaksiyona soktukları çalışmada, 1-(1-feniletanon-2-il)imidazol ve 1,3-bis(1-feniletanon-2-il)imidazolium türevlerini birlikte elde etmiş, iki ürünü çözünürlük farkından yararlanarak ayırmıştır.

Çalış ve ark. (24) imidazolün yanı sıra çeşitli azol, azotlu heterosiklik halka ve amin türevlerini 2-bromo-1-(2-naftil)etanon ile alkilemiştir. Grup, Nardi ve ark. (14)'nın yönteminin yanı sıra alkilenen azotlu gruba göre farklı yöntemler kullanmıştır (Şekil 2.48.).



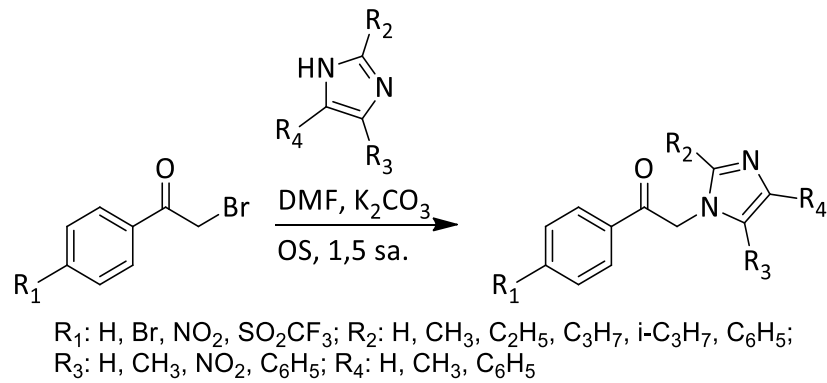
Şekil 2.48. Azot içeren farklı grupların naftaçil bromürle *N*-alkilasyonu.

Stefanachi ve ark. (366) imidazolün 2-bromo-1-(3-/4-hidroksifenil)etanon ile sübstitüsyonunu asetonitril içerisinde ısıtarak gerçekleştirmiştir (Şekil 2.49.).



Şekil 2.49. İmidazolün asetonitril içerisinde *N*-alkilasyonu.

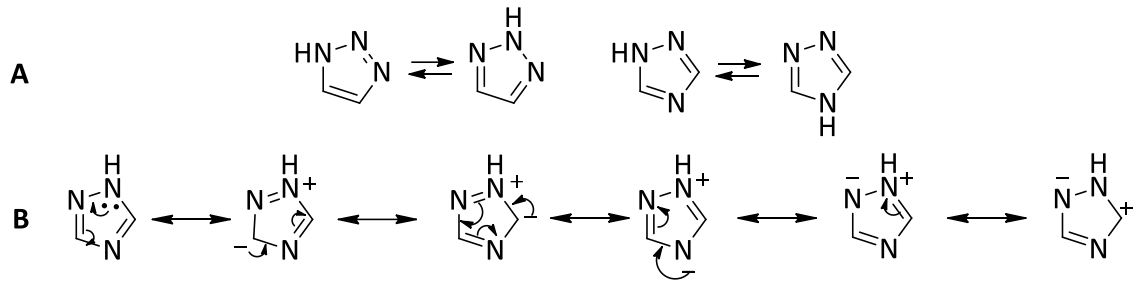
Salerno ve ark. (367) bazı sübstitüe ve nonsübstitüe imidazolleri çeşitli fenaçil bromür türevleriyle DMF içerisinde potasyum karbonat varlığında alkilemiştir (Şekil 2.50.).



Şekil 2.50. İmidazol türevlerinin potasyum karbonat varlığında DMF içerisinde *N*-alkilasyonu.

b. 1,2,4-Triazol

Triazoller 1,2,3-triazol ve 1,2,4-triazol olarak iki gruba ayrılır (Şekil 2.51.). 1,2,4-Triazol de imidazol gibi amfoterik özellikte, sulu çözeltisi zayıf bazik bir bileşiktir (Tablo 2.9.). İlk defa 1878'de sentez edilen halka 1885'te tanımlanmıştır (368). 1,2,4-Triazol genellikle sübstitüe halde sentez edilir ve nonsübstitüe 1,2,4-triazol bu türevlerden elde edilir.



Şekil 2.51. 1,2,3-Triazol ve 1,2,4-triazolün totomerleri(A), 1,2,4-triazolün rezonans sınır şekilleri (B).

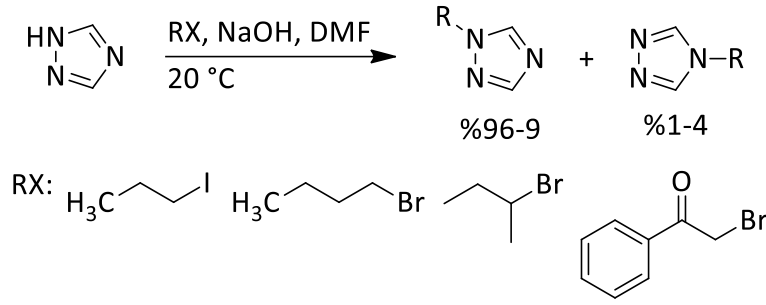
Tablo 2.9. 1,2,4-Triazolün bazı fizikokimyasal özellikleri

Fiziksel görünüş:	Beyaz katı	Dipol momenti:	3,54 D
Kapalı formül:	C ₂ H ₃ N ₃	Yoğunluk:	g/ml
Kütle:	69,007 g/mol	Erime derecesi:	120-1 °C
Sudaki çözünürlük:	424 g/L	Kaynama derecesi:	260 °C
pKa:	10,3	Parlama derecesi:	140 °C
pKa (konjüge asit):	11,8	λ_{\max} (UV):	205 nm

1,2,4-Triazolün N-alkilasyonu

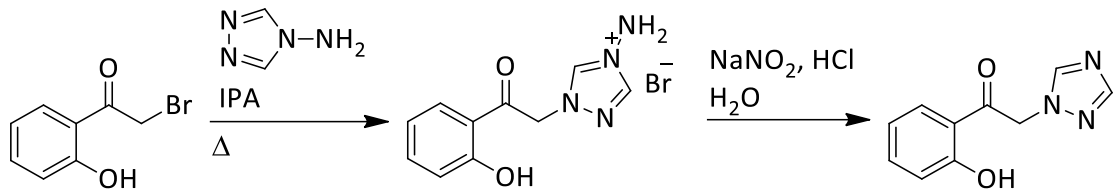
1,2,4-Triazol; 1*H*-1,2,4-triazol ve 4*H*-1,2,4-triazol olmak üzere iki totomer olarak bulunur (1940'a kadar Chemical Abstract bu totomerleri ayrı bileşikler olarak ele almaktaydı). Dolayısıyla 1,2,4-triazollerin N-alkilasyonu iki farklı ürün verir. 1,2,4-Triazolün seçici olarak N-alkilasyonu için literatürde çeşitli yöntemler bildirilmiştir.

Bulger ve ark. (369) 1,2,4-triazolün seçici olarak N-alkilasyonu için bir seri alkil halojenürü farklı yöntemlerle reaksiyona sokmuştur ve sodyum hidroksit ile bazikleştirilen ortamda, DMF içerisinde 1-sübstitüe-1*H*-1,2,4-triazol türevlerini yüksek seçicilikte elde etmiştir (Şekil 2.52.).



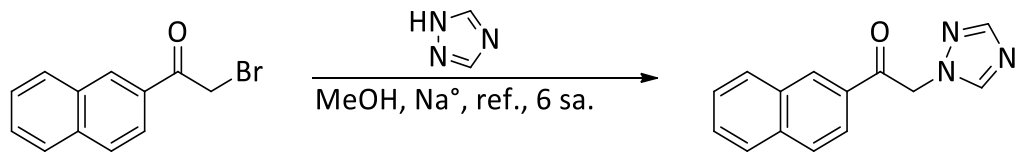
Şekil 2.52. 1,2,4-Triazolün 1 numaralı konumdan seçici olarak *N*-alkilasyonu.

Emami ve ark. (370) önce 4-amino-4*H*-1,2,4-triazolü 1 numaralı konumdan 2-bromo-1-(2-hidroksifenil)etanon ile izopropanol (İPA) içerisinde alkilemiş, daha sonra elde edilen tuz haldeki triazol türevini asidik ortamda sodyum nitrit ile mumele ederek aminden kurtarmıştır (Şekil 2.53.).



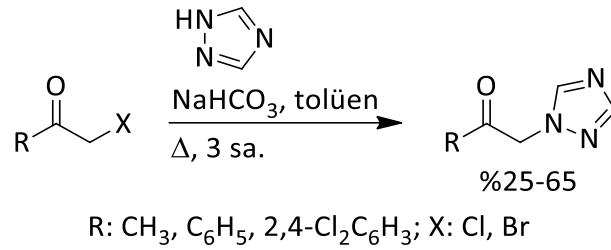
Şekil 2.53. 1,2,4-Triazolün 1-sübstitüe türevinin deaminasyonla sentezi.

1,2,4-Triazol, Çalış ve ark. (24) tarafından 1 numaralı konumdan sodyum tuzuna geçilerek metanol içerisinde yüksek sıcaklıkta %64 verimle alkilenmiştir (Şekil 2.54.).



Şekil 2.54. 1,2,4-Triazolün sodyum tuzu üzerinden *N*-alkilasyonu.

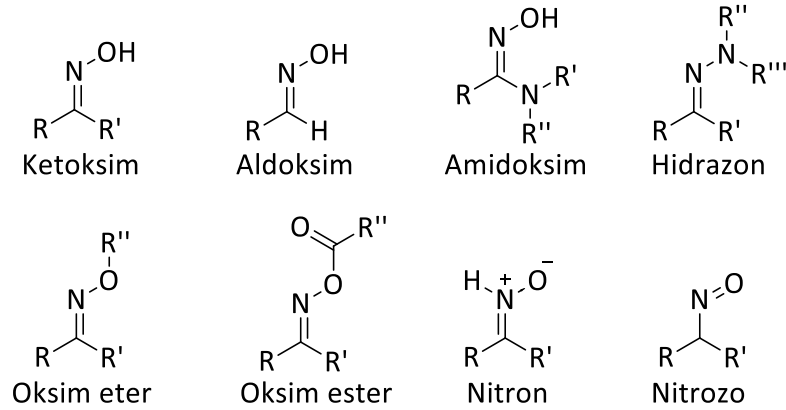
1,2,4-Triazolün 1 numaralı konumdan seçici olarak alkilenmesi trietilamin (TEA) varlığında aseton veya kloroform içerisinde %73-81 verimle gerçekleştirilmiştir (371, 372). Pace ve ark. (373) 1,2,4-triazolü çeşitli keton türevleri ile tolüen içerisinde sodyum bikarbonat varlığında %25-65 arasında değişen verimlerde alkilemiştir (Şekil 2.55.).



Şekil 2.55. 1,2,4-Triazolün NaHCO₃ varlığında N-alkilasyonu.

2.4.3. Oksimler ve Sentezi

İminlerin bir alt grubu olan oksimler Şekil 2.56.'daki genel yapıya sahiptir. R ve R' gruplarının aril ya da alkil olduğu bileşikler ketoksim, bunlardan birisinin hidrojen olduğu bileşikler aldoksim olarak sınıflandırılır.

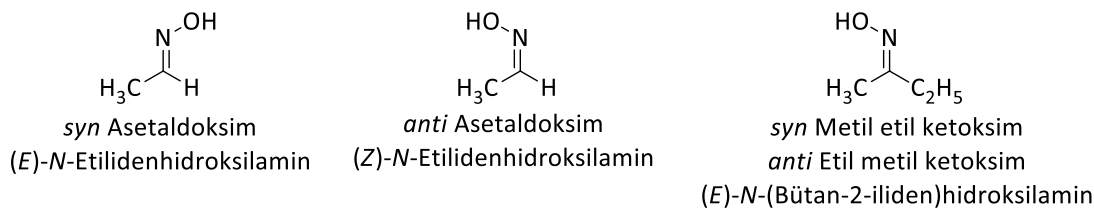


Şekil 2.56. Oksimler ve yapısal izomerleri.

Oksim ismi oksijen ve imin kelimelerinin kombinasyonundan türetilmiştir. Oksimler üzerindeki bazı grupların değiştirilmesiyle değişik fonksiyonel gruplar türetilebilir. Örneğin R' grubu yerine amin getirilirse amidoksim, hidroksil grubu yerine amin getirilirse hidrazon, oksijene alkil grupları bağlanırsa oksim eter, açıl grupları bağlanırsa oksim ester elde edilir. Nitron ve nitrozo da oksimlerin yapısal izomerlerindedir (Şekil 2.56.).

Oksimlerde R ve R' gruplarının birbirinden farklı olduğu durumlarda geometrik izomeri söz konusudur. İzomerlerin isimlendirilmesinde önceden kullanılan *syn* ve *anti* isimlendirmesi, sistemik nomenklatürde yerini *E* ve *Z'*ye bırakmıştır. Ancak bu iki isimlendirme sistemi tam olarak birbirinin karşılığı değildir. *Syn* ve *anti* sistemine göre aldoksimler hidrojen ve oksijen aynı tarafta olduğunda *syn*, farklı tarafta olduğunda

anti ön eki alır. Ketoksimlerde ise isimlendirmede R ve R' gruplarından, önce bildirilen ile oksijenin birbirlerine göre konumlarına bakılarak *syn* veya *anti* seçilir. Örneğin Şekil 2.57.'deki ketoksim eğer "metil etil ketoksim" olarak adlandırılırsa *syn* ön ekini alır. IUPAC tarafından önerilen sistemik isimlendirmede ise aldoksim/ketoksim ayrımı olmaksızın CIP (Chan-Ingold-Prelog) öncelik kurallarına göre öncelikli olan grup ile oksijenin aynı tarafta olduğu oksimler *Z*, diğerleri *E* ön eki alır. Bu kurallar oksim eter ve oksim esterler için de geçerlidir.



Şekil 2.57. Oksimlerin nomenklatürü.

E ve *Z* izomerleri genellikle stabildir ve klasik yöntemlerle birbirinden ayrılabilir. Örneğin, Karakurt ve ark. (29) 2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(naftalen-2-il)etanon oksimin etil esterini *E/Z* karışımı halinde sentez ettikten sonra bileşiği hidroklorür tuzuna dönüştürürken izomerleri birbirinden ayırmıştır. Ayrıca çözücü, pH ve sıcaklık gibi unsurlar izomerlerin birbirine dönüşmesini tetikleyebilir (374-376). Örneğin, Matlin (377) tarafından steroid oksimler üzerine yapılan bir sıvı kromatografi çalışmasında levonorgestrel asetat oksimin metanoldeki taze hazırlanmış çözeltisi ile birkaç saat bekletilen aynı çözeltinin *E/Z* oranında büyük değişimler tespit edilmiştir.

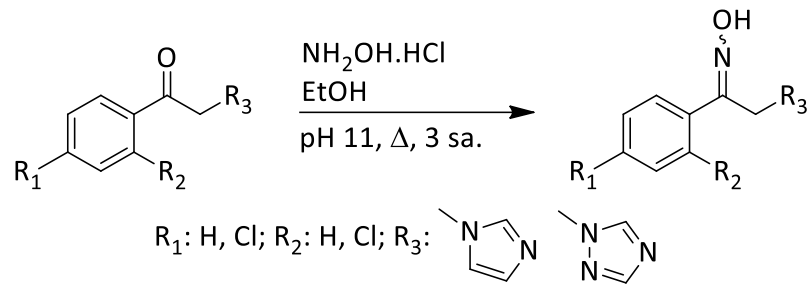
Oksimler inter ve intramoleküler hidrojen bağı kurabilir. Özellikle katı haldeki oksim türevleri intramoleküler hidrojen bağı yapar. Sarı ve ark. (378) tarafından sentez edilerek tek X ışını kristalografisi çalışması yapılan *N*-[1-(naftalen-2-il)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)etiliden]]hidroksilamin bileşiğinin *Z* konfigürasyonunda olduğu ve bileşiğin OH...N (triazol N⁴) hidrojen bağlarıyla istiflendiği gösterilmiştir.

Oksim ve türevlerinin geometrik izomerleri farklı biyolojik aktivite profiline sahip olabilmeleri nedeniyle, bu izomerlerin konfigürasyonlarının saptanması önemlidir ve bu amaçla X ışını kristalografisi en güvenilir yöntem olarak kullanılır.

Oksimler zayıf asidik ve bazik özellikler gösterir. Oksimler, metallerle şelat yapabilir ve bu özellikleri ile metal tutucu olarak kullanılır (379). Oksimler ayrıca

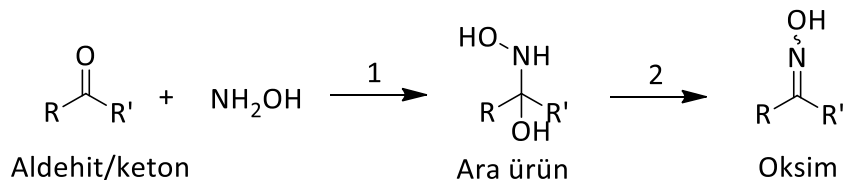
organofosfat ve sinir gazı zehirlenmelerinde de kullanılmaktadır (ör.: pralidoksim) (380).

Oksimlerin sentezi için kullanılan en yaygın yöntem uygun aldehit ya da ketonun hidroksilamin hidroklorür ile bazik ve sıcak ortamda kondenzasyonudur. Baji ve ark. (381) keton yapısındaki çeşitli (arilalkil)azol türevlerini hidroksilamin hidroklorür ile etanol içerisinde bazik ortamda (pH 11) kaynatarak %74-91 verimle oksim türevlerine çevirmiştir (Şekil 2.58.).



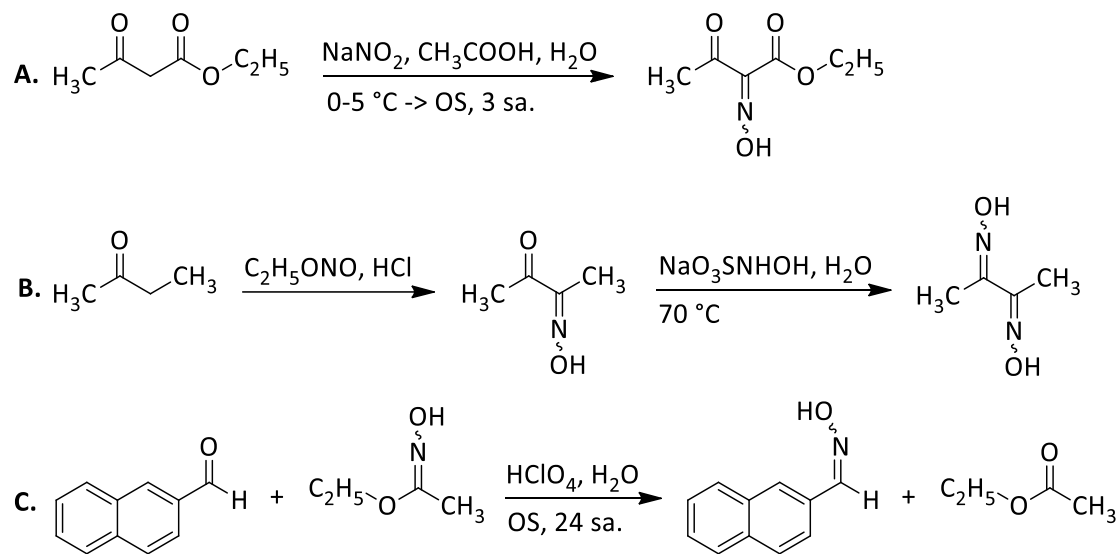
Şekil 2.58. Keton türevlerinin hidroksilamin hidroklorür ile oksimleştirilmesi.

Bu tür kondenzasyon reaksiyonları iki basamakta yürür ve ortamın pH değeri reaksiyon hızında önemli rol oynar. Asit katalizörlüğünde birinci basamak yavaş, ikinci basamak hızlı yürür. Bunun nedeni hidroksilaminin konjüge asidine dönüşerek substratın karbonil karbonuna saldıramamasıdır. Dolayısıyla pH arttırıldığında birinci basamak hızlanır; ancak bu sefer de asit katalizörlüğünün gerekli olduğu ikinci basamak yavaşlar (Şekil 2.61.). Pratikte tercih edilen yöntem ise bazik şartlarda birinci basamağın tamamlanarak ara ürünün elde edilmesi, daha sonra ortamın pH değerinin (substratın yapısına göre) 4'e düşürülerek ikinci basamağın tamamlanmasıdır. İkinci basamakta çözücü olarak suyun kullanılması ile oksim türevi katı olarak ortamdan izole edilebilir (382).



Şekil 2.59. Hidroksilamin ile yapılan oksimleştirmenin basamakları.

Oksim sentezinde bildirilen yöntemlerden biri etil asetoasetatın asidik ortamda sodyum nitrit ile muamele edilmesidir (383). Benzer bir yöntemde etil asetat asidik ortamda gaz haldeki etil nitrit ile muamele edilerek 3-hidroksiminobütan-2-on elde edilmiş, bu da sodyum hidroksilamin monosülfonat ile dimetilgliksime dönüştürülmüştür (384). Aldehit ve ketonlar başka oksimlerle transoksimasyon reaksiyonuna sokularak da oksim türevlerine dönüştürülebilir (Şekil 2.60.) (385).

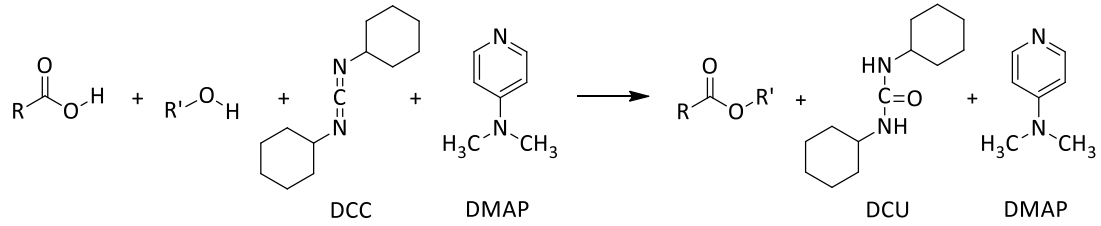


Şekil 2.60. Çeşitli oksimleştirme yöntemleri.

2.4.4. Oksim Esterler ve Sentezi

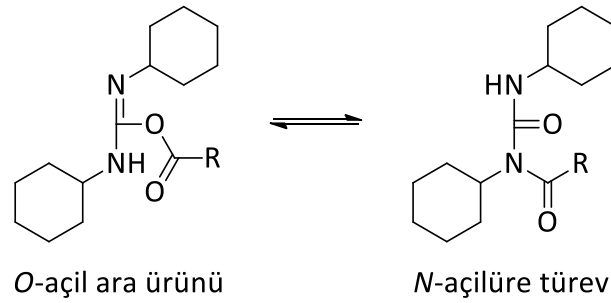
Oksim esterler az çalışılan, ancak bazı önemli işlevleri olan küçük bir bileşik sınıfıdır. Antikanser, antiviral, antifungal, insektisit, herbisit ve antioksidan aktiviteleri bildirilmiştir (386). Oksim esterleri oksimlerle karboksilik asit, açıl halojenür veya karboksilik asit anhidritlerin reaksiyonuyla elde edilir. Alkol esterlerinde olduğu gibi bu reaksiyonlar nükleofilik katım-eliminasyon reaksiyonlarıdır.

Karboksilik asitlerle gerçekleştirilen esterleşme reaksiyonlarında alkol esterlerinde olduğu gibi genellikle Steglich esterleşmesine başvurulur (Şekil 2.61.) (387). Bu yöntem Fischer esterleşmesinin aksine yumuşak şartlarda uygulanır (388). Bunun için karboksilik asidi aktive eden bir açıl transfer ajanı ve oluşan su molekülünü tutan bir dehidrasyon ajanı kullanılır. Sırasıyla 4-(*N,N*-dimetilamino)piridin (DMAP) ve disikloheksilkarbodiimide (DCC) en yaygın kullanılan ajanlardır.



Şekil 2.61. Steglich esterleşmesi.

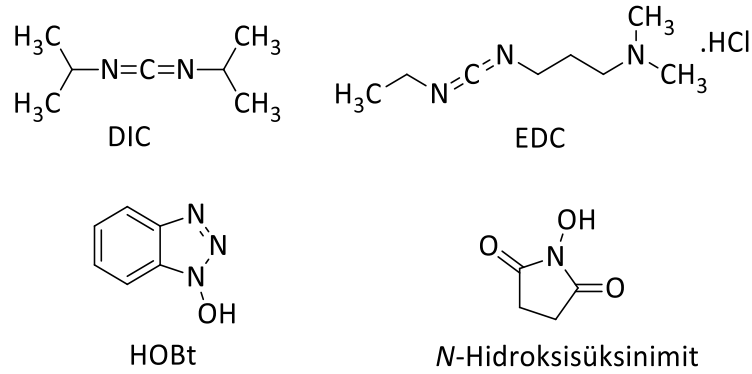
Bu tip reaksiyonlarda oluşan ester bağındaki oksijen alkolden, oksim esterlerde oksimden gelir. Açığa çıkan suyun oksijeni ise karboksilik asitten gelir ve bu suyu DCC tutarak disikloheksilüreeye (DCU) dönüşür. Çözünürlüğü çok zayıf olan DCU organik çözücülerde az miktarda çözünse de reaksiyon sonunda büyük oranda çöker; bu DCC için önemli bir avantajdır. DCC ile birlikte bir açıl transfer ajanı kullanılmadığı takdirde DCC ve karboksilik asidin oluşturduğu ara *O*-açıl türevi 1,3 çevrilmesiyle *N*-açilüre türevine dönüşür ve reaksiyon bu aşamada durur (Şekil 2.64.).



Şekil 2.62. Steglich esterleşmesinde oluşan ara ürün ve 1,3 çevrilmesi.

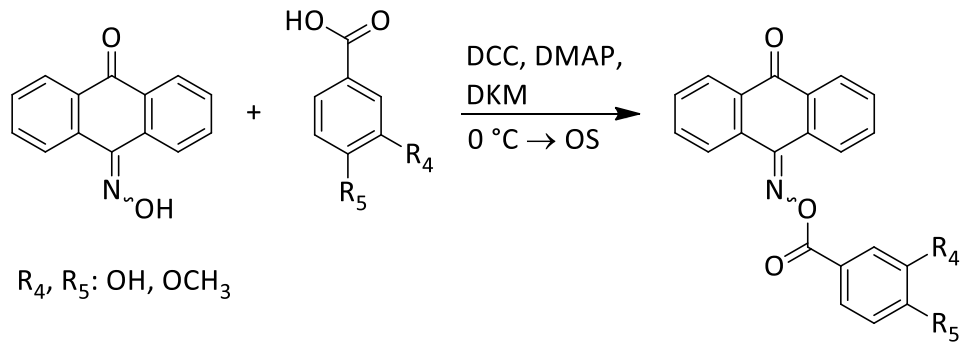
DCC'e alternatif olarak diizopropilkarbodiimit (DIC) ve *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilkarbodiimit hidroklorür (EDC) (Şekil 2.63.) gibi farklı imitlerin kullanıldığı çalışmalar da vardır (389). DIC özellikle yan ürün olarak oluşan üre türevinin katı faz peptit sentezinde izopropil gibi çözücülerle yıkanarak kolayca uzaklaştırılabilmesi açısından tercih edilir. EDC ise, polar çözücülerde çözünmesi nedeniyle bu tip çözücülerde gerçekleştirilen reaksiyonlar için uygundur. EDC'nin üre türevi DCU'nun aksine kolay çözünür (390). DMAP'ye alternatif olarak çok sayıda açıl transfer ajanı mevcuttur. Bunlar güvenlik, stabilite, yan ürün verme, fiyat gibi avantajları ve dezavantajlarına göre tercih edilir. Örneğin peptit sentezinde görülen rasemleşmeyi baskılamada çok etkili olan 1-hidroksibenzotriazol (HOBt) patlayıcıdır ve dikkatle kullanılmalıdır. Diğer taraftan HOBt'e göre çok daha güvenli olan *N*-

hidroksisüksinimitin Lossen çevrilmesi ile yan ürün oluşturması, kullanımını sınırlamaktadır (391).



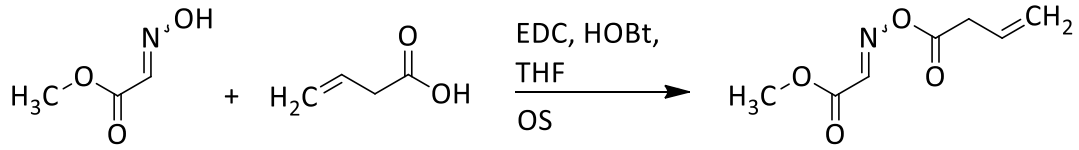
Şekil 2.63. DCC ve DMAP yerine kullanılan alternatif ajanlar.

Oksim esterlerin Steglich esterleşmesiyle elde edildiği çalışmalar literatürde mevcuttur. Örneğin, Surkau ve ark. (392) 10-hidroksiimino-10*H*-antrasen-9-on ve çeşitli karboksilik asitlerden hareketle DKM içinde, DCC ve DMAP varlığında 10-(3-hidroksi-4-metoksibenzoiloksimino)-10*H*-antrasen-9-on ve 10-(4-hidroksi-3-metoksibenzoiloksimino)-10*H*-antrasen-9-onu sentez etmiştir (Şekil 2.64.).



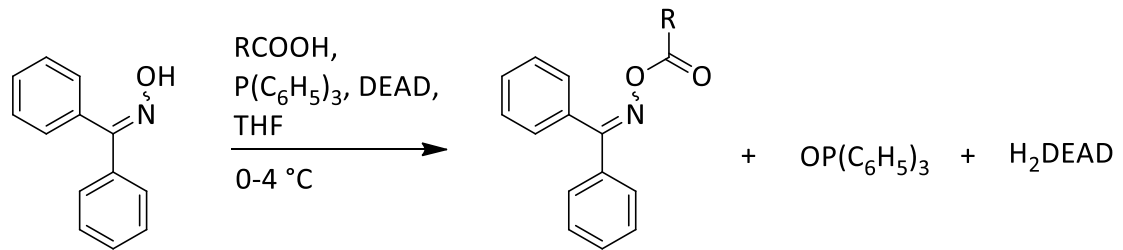
Şekil 2.64. Steglich esterleşmesi ile oksim ester eldesi.

Ritson ve ark. (393) (2-metoksi-2-oksoetiliden)aminobüt-3-enoatı EDC ve HOBt varlığında tetrahidrofuran (THF) içerisinde ilgili oksim ve karboksilik asitten hareketle %44 verimle sentez etmiştir (Şekil 2.65.).

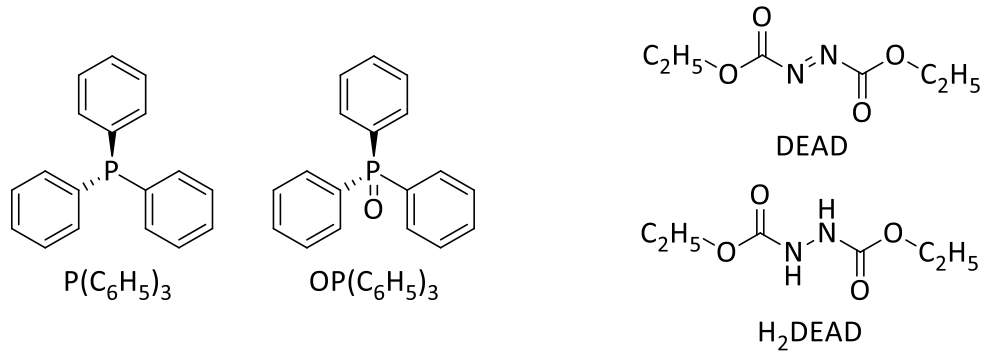


Şekil 2.65. EDC ve HOBT katalizörlüğünde oksim ester eldesi.

Oksim ester eldesinde Mitsunobu reaksiyonuna da başvurulur. Bu reaksiyonlarda aktifleştirici ve su tutucu olarak genellikle trifenilfosfin ve azodikarboksilat esterleri kullanılır. Örneğin, Bittner ve Grinberg (394) difenilhidroksamini THF içerisinde trifenilfosfin ve dietil azodikarboksilat (DEAD) varlığında benzoik asitle esterleştirmiştir (Şekil 2.66.).

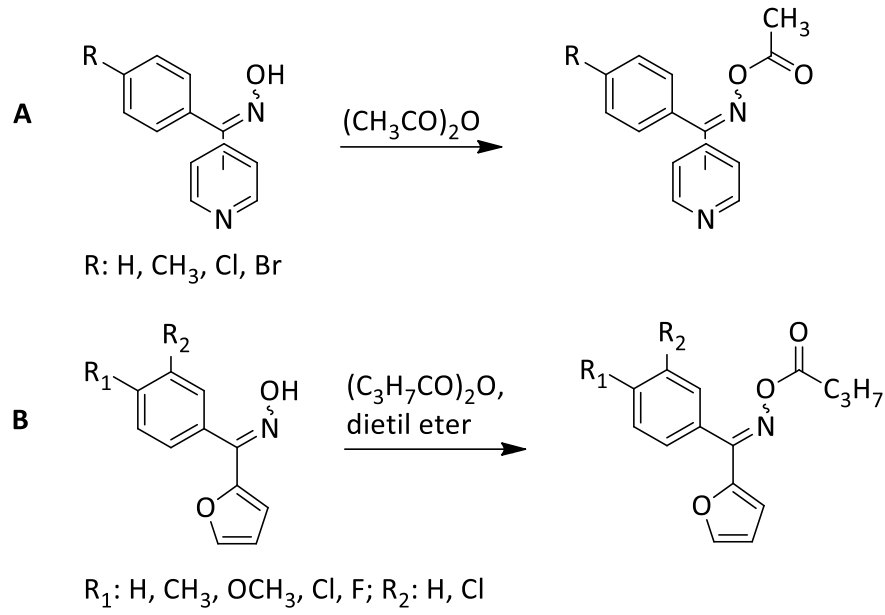


R: C₆H₅, 4-CH₃C₆H₄, 4-ClC₆H₄, 2-ClC₆H₄, 4-NO₂C₆H₄, 3-NO₂C₆H₄, 4-CH₃OC₆H₄



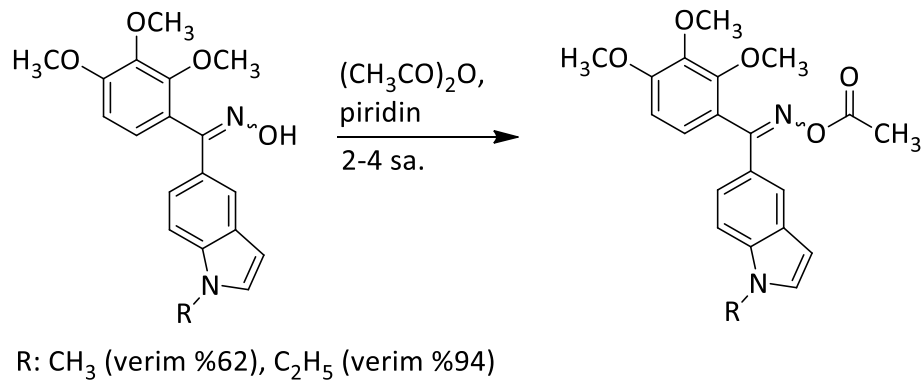
Şekil 2.66. Mitsunobu reaksiyonu ile oksim ester sentezi.

Karboksilik asitlerden daha reaktif olan anhidritler ile gerçekleştirilen reaksiyonlar daha hızlıdır. Anhidritlerin fazlası çözücü olarak kullanılabilirdiği gibi dietil eter, THF gibi çözücüler de kullanılır. Örneğin, Massolini ve ark. (395) fenilpiridilhidroksilamin türevlerini asetik anhidritin fazlasını çözücü olarak kullanarak esterleştirmiştir. Aynı grup, diğer bir çalışmada fenil(2-furil)hidroksilamin türevlerinin bütirik asit esterine geçerken bütiril anhidrit ve çözücü olarak dietil eter kullanmıştır (Şekil 2.67.) (396).



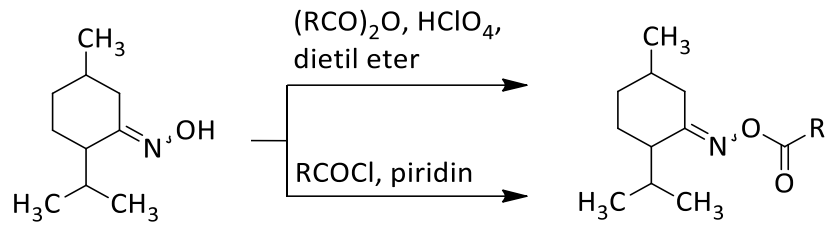
Şekil 2.67. Karboksilik asit anhidritlerle çözücüsüz (A) ya da çözücülü (B) oksim ester sentezi.

Asit anhidritler, oksimde sterik engel bulunduğu bazı durumlarda katalizör ile birlikte kullanılır. Örneğin Álvarez ve ark. (397) Şekil 2.68.'daki oksim ester türevlerini asetik anhidrit ve piridin kullanarak yüksek verimle sentez etmiştir.



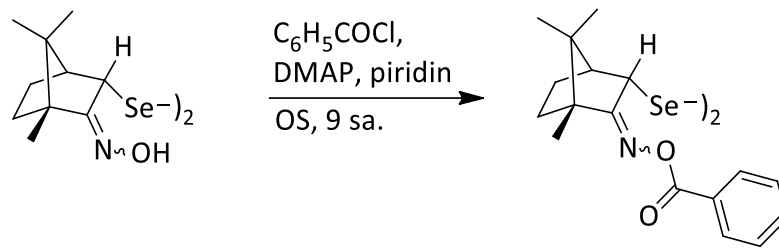
Şeki 2.68. Karboksilik asit anhidritlerle katalizör varlığında oksim ester sentezi.

Açıl halojenürler oksim ester sentezinde daha sık kullanılır. Genellikle bazik bir katalizör varlığında ve gerektiğinde inert çözücülerde gerçekleşir. Örneğin Zhukovskaya ve ark. (398) bir seri menton oksim esterlerini açıl klorürlerle piridin varlığında ve asit anhidritlerle asidik ortamda olmak üzere iki farklı yöntemle sentez etmiş, açıl klorürlerle yapılan sentezlerde daha yüksek verimlere ulaşmıştır (Şekil 2.69.).



Şekil 2.69. Menton oksimin farklı yöntemlerle esterleştirilmesi.

Back ve ark. (399) 2-oksimo-endo-3-bornil diselenürü benzoil klorür ile piridin içerisinde %88 verimle esterleştirmiştir (Şekil 2.70.).



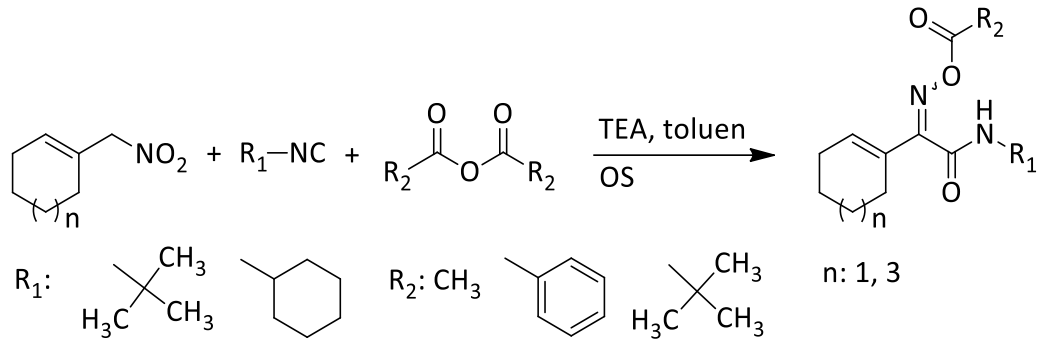
Şekil 2.70. Açıl halojenürle DMAP ve piridin varlığında oksim ester sentezi.

Esterlerin aktif hidrojen atomu içeren amin, alkol, poliester, poliüre ve poliüretan grupları ile açıl halojenürlerin alkali ortamda tepkimesi sonucu elde edildiği Schotten-Baumann yöntemi oksim ester eldesinde de kullanılmaktadır (400).

Literatürde katalizör kullanılmayan sentezlere de rastlanmaktadır. Örneğin Kostochka ve ark. (401) tropanon-3-oksimin ester türevlerini hazırlarken çözücü olarak tolueni tercih etmiş, bazı maddelerin sentezinde katalizör kullanmazken bazılarında TEA kullanmıştır.

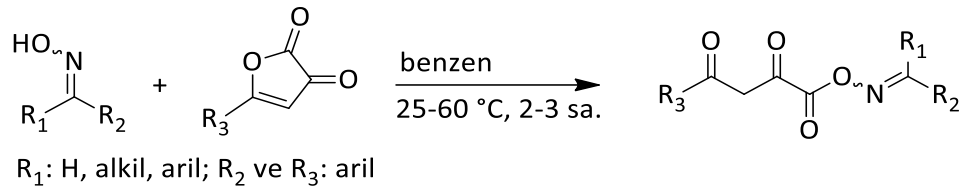
Açıl halojenürlerle yapılan oksim ester sentezini kolaylaştırmak için bazı durumlarda oksim yerine oksimat türevleri kullanılmaktadır. Bu amaçla oksim metalik sodyum, sodyum hidrür, lityum hidrür gibi metal bileşikleriyle muamele edilerek oksimat tuzu elde edilir (396).

Nadir kullanılan bir yöntem ise nitro bileşiklerinin izosiyanat ve anhidritlerle tepkimesidir. Örneğin, Dumestre ve El Kaim (402) bazı oksim esterlerinin sentezi için nitro bileşiklerini, izosiyanatlar ve açılasyon ajanları ile tepkimeye sokmuştur (Şekil 2.71.).



Şekil 2.71. Oksim esterlerin nitro bileşiklerinin izosiyanat ve anhidritlerle tepkimesinden elde edilmesi.

Yukarıda bahsedilen yöntemlerden ayrı olarak Nekrasov ve ark. (403) O-(arilpüruvoil)oksimlerin sentezinde karbonil bileşiği olarak dihidrofurandion türevlerini kullanmıştır (Şekil 2.72.).



Şekil 2.72. Dihidrofurandion türevleri ile oksim ester sentezi.

Oksim esterlerin sentezinde başlangıç maddesi olarak kullanılan oksim molekülünün konfigürasyonu, oluşan oksim ester molekülünün konfigürasyonunu etkilemektedir (404). Örneğin, Zhukovskaya ve ark. (405) ile Liu ve ark. (406) yaptıkları çalışmalarda ilgili oksimlerin ve bunlara karşılık gelen oksim esterlerin anti konfigürasyonda olduğunu tespit etmişlerdir.

2.4.5. Oksim ve Oksim Esterlerin Spektral Özellikleri

IR Spektrumları

Oksimlerin IR spektrumlarında O-H, C=N ve N-O gerilme titreşimleri önemli bantlardır (407). Oksimlerin O-H gerilme titreşimlerine ait kuvvetli ve yayvan bantlar 3600-2700 cm^{-1} bölgesinde gözlenirken; C=N gerilim titreşimleri 1690-1500 cm^{-1} 'de pik verirler. C=N piki alifatik türevlerde çoğunlukla 1685-1650 cm^{-1} 'de görülürken aromatik türevlerde 1650-1645 cm^{-1} de gözlenir (407). C=N gerilme titreşimlerine ait

bandın şiddetinin, C=C bandından genellikle daha fazla olduğu bildirilmektedir. N-O gerilme titreşimlerine ait bantlar ise 1005-920 cm^{-1} arasında gözlenir. O-H deformasyon titreşim bantlarının 1475-1315 cm^{-1} arasında görülmesi beklenir; ancak bu bantlar pratikte teşhis edilemeyebilir (407).

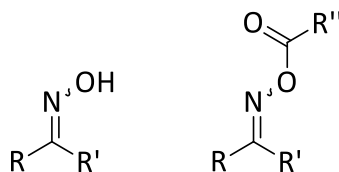
Oksim ester türevlerinde, oksimlerden farklı olarak O-H titreşimlerine ait bantlar gözlenmezken, C-O gerilim titreşimlerine ait bantlar 1100-1000 cm^{-1} 'de şiddetli bantlar olarak, C=O gerilim titreşimlerine ait bantlar da beklenen bölge olan 1720-1750 cm^{-1} 'de şiddetli bantlar olarak gözlenir. Oksim ve nitron türevlerinin C=N gerilim absorpsiyonlarında farklılık bulunmamaktadır (408).

E ve *Z* izomerlerinin hidrojen bağı yapıları ve bazı fiziksel özelliklerinde değişiklikler olması nedeniyle IR spektrumlarında farklılıkların gözlenebileceği bildirilmektedir (374, 409).

NMR Spektrumları

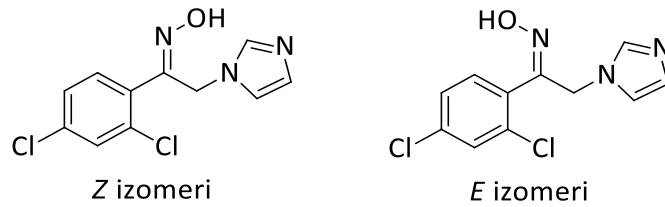
Literatürde oksimlerin NMR spektrumlarında hidroksil protonuna ait pikin çözücü, konsantrasyon ve temperatüre bağlı olarak genellikle 7-10 ppm arasında görüldüğü veya bazı durumlarda görülmediği bildirilmekle beraber, 11-13 ppm arasında görüldüğü örnekler de vardır (381, 407). Oksim ester türevlerinde hidroksil protonuna ait pikin kaybolması ester türevine geçildiğini gösteren en önemli spektral verilerden birisidir.

NMR spektroskopisi verileri izomerlerin konfigürasyonlarının belirlenmesinde, karbon-karbon çifte bağı taşıyan bileşiklerde olduğu gibi, en sık başvurulan yöntemdir. Oksim ve oksim esterlerinde, *E* ve *Z* izomerlerinin tanımlanması için ^1H -NMR spektrumlarında Şekil 2.73.'teki OH, R, R'' ve R'' gruplarına bağlı protonların kimyasal kaymalarındaki farklılıklardan yararlanır.



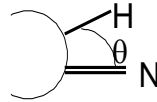
Şekil 2.73. Oksim ve oksim esterlerinin geometrik izomerlerinde ^1H -NMR spektrumu açısından önemli proton grupları.

Oksimlerin *E* ve *Z* izomerlerinde hidroksil protonları, molekülün taşıdığı diğer gruplara bağlı olarak farklı kimyasal kayma değerlerinde gözlenebileceği gibi, kimyasal kayma değerlerinin aynı olduğu bileşikler de vardır. Örneğin; asetaldoksimin *E* ve *Z* izomerlerinin hidroksil protonları aynı ppm de (9 ppm) çıkarken, Şekil 2.74.'teki *N*-[1-(2,4-diklorofenil)-2-(imidazol-1-il)etiliden]hidroksilaminin hidroksil protonu *Z* izomerde 12,53 ppm de, *E* izomerde 12,46 ppm de çıkmaktadır (381, 407). Ayrıca hidroksil protonlarının her zaman gözlenememesi; çözücü, sıcaklık ve konsantrasyona bağlı olarak kimyasal kayma değerinin değişmesi de izomerlerin tanımlanmasında bu protonun önemini azaltmaktadır (410).



Şekil 2.74. *N*-[1-(2,4-Diklorofenil)-2-(imidazol-1-il)etiliden]hidroksilaminin geometrik izomerleri.

Oksim izomerlerinde R veya R' protonlarına ait kimyasal kayma değerlerindeki farklılıkların, bu gruplarda yer alan C-H bağının C=N-OH düzlemiyle yaptığı dihedral açığa (θ) (Şekil 2.75.) bağlı olduğu bildirilmektedir (407, 411). İzomerlerin R/R' veya OH/R'' gruplarındaki protonların kimyasal kayma değerlerindeki farklılıklar bu bileşiklerin konfigürasyon tayininde sıklıkla kullanılır. Örneğin Şekil 2.76.'daki bileşiğin $^1\text{H-NMR}$ spektrumlarında *E* izomere ait CH_2 protonları 5,38 ppm'de, *Z* izomerde 5,50 ppm'de gözlenir (381).



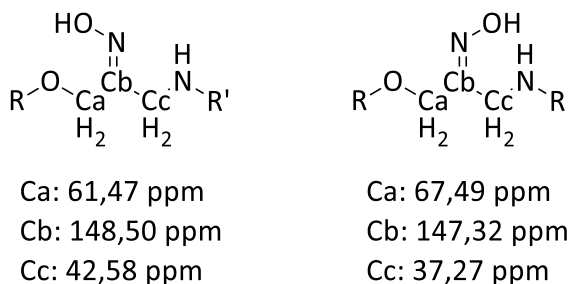
Şekil 2.75. Oksim izomerlerinde azometin bağına komşu metilen protonlarının kimyasal kayma değerlerindeki farklılıkları belirleyen θ açısı.

Yukarıdaki örneklerde de görüldüğü gibi *E* ya da *Z* izomere ait protonların daha fazla veya daha az kimyasal kayma göstermesi gibi bir genelleme yapılması mümkün

değildir; ancak molekülün konfigürasyonu esas alınarak izomerlerden birinin (*E* veya *Z*) kimyasal kayma değeri, diğerine göre fazladır ya da azdır denebilir (411, 412). Ancak literatürlerde, *Z* izomerlerin *J* değerleri *E* izomerlerinden daha büyük olduğu ancak bunun da çözücü ve konsantrasyona bağlı olduğu bildirilmektedir (411).

Piklerin farklı kimyasal kayma değerlerinde çıktığı durumlarda *E/Z* izomer oranı, pik şiddetlerinden yararlanılarak hesaplanabilir. Kompleks spektrumlarında tris(dipi-valametanato)europium ve tris-1,1,1,2,2,3,3-heptafloro-7,7-dimetil-3,5-oktandionato europium gibi kimyasal kaydırma reaktifleri kullanılarak izomerin tanımlanması ve de *E/Z* oranı tayininin daha kesin olarak yapıldığı örnekler literatürde mevcuttur (413, 414).

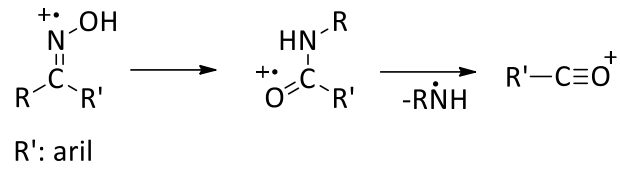
¹H-NMR spektrumlarının yanı sıra ¹³C-NMR spektrumlarının da konfigürasyon tayininde kullanıldığı çalışmalar vardır (376, 415). Şekil 2.76.'da ¹³C-NMR spektrumunda ilgili karbonların *E* ve *Z* izomerlerde farklı kimyasal kayma değerlerinde görüldüğü bir bileşik örnek olarak verilmiştir



Şekil 2.76. Oksimlerde *E* ve *Z* izomerlerinin ¹³C-NMR spektrumlarında kimyasal kayma farklılıklarına örnek.

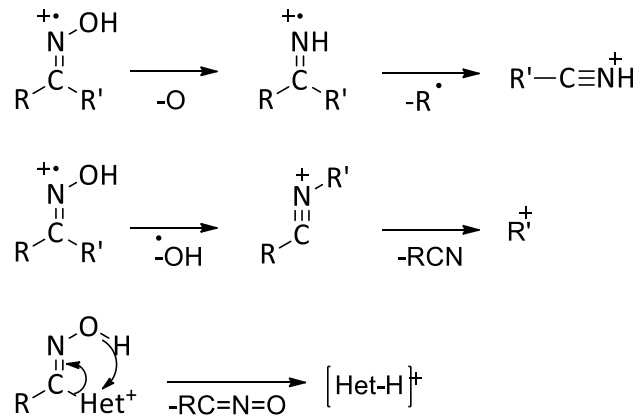
Kütle Spektrumları

Birçok oksim gaz fazda Beckmann çevrilmesine uğrayarak dayanıksız sübstitüe amid türevine ve amin kopmasıyla da aroil katyonuna ($R'-C\equiv O^+$) dönüşürler (Şekil 2.77.) (416). Bu pik gözlemlendiği takdirde, ketoksimlerin geometrik izomerlerinin tayinleri için kullanılabilir.



Şekil 2.77. Oksimlerin kütle spektrumlarında görülen Beckmann çevrilmesi sonucu oluşan katyon.

Bir grup araştırmacı, arilheteroaril ketoksimler üzerinde yaptıkları kütle spektroskopisi çalışmasında oksijen kaybı, hidroksil radikal kaybı ve oksim hidrojeninin heterosiklik halka üzerine göçüne ait piklerin önemini vurgulamışlardır (Şekil 2.78.) (416).



Şekil 2.78 Oksimlere ait kütle spektrumlarında görülen bazı parçalanma piklerine karşılık gelen katyonlar.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kimyasal Çalışmalar

3.1.1. Materyal

Çalışmalarımızda kullanılan tüm kimyasal maddeler Fluka, Sigma-Aldrich ve Merck firmalarının ürünüdür.

3.1.2. Sentez Yöntemleri

Tez çalışması kapsamındaki bileşiklerin yapıları ve bileşiklerin genel sentezi Şekil 3.1.'de gösterilmiştir.

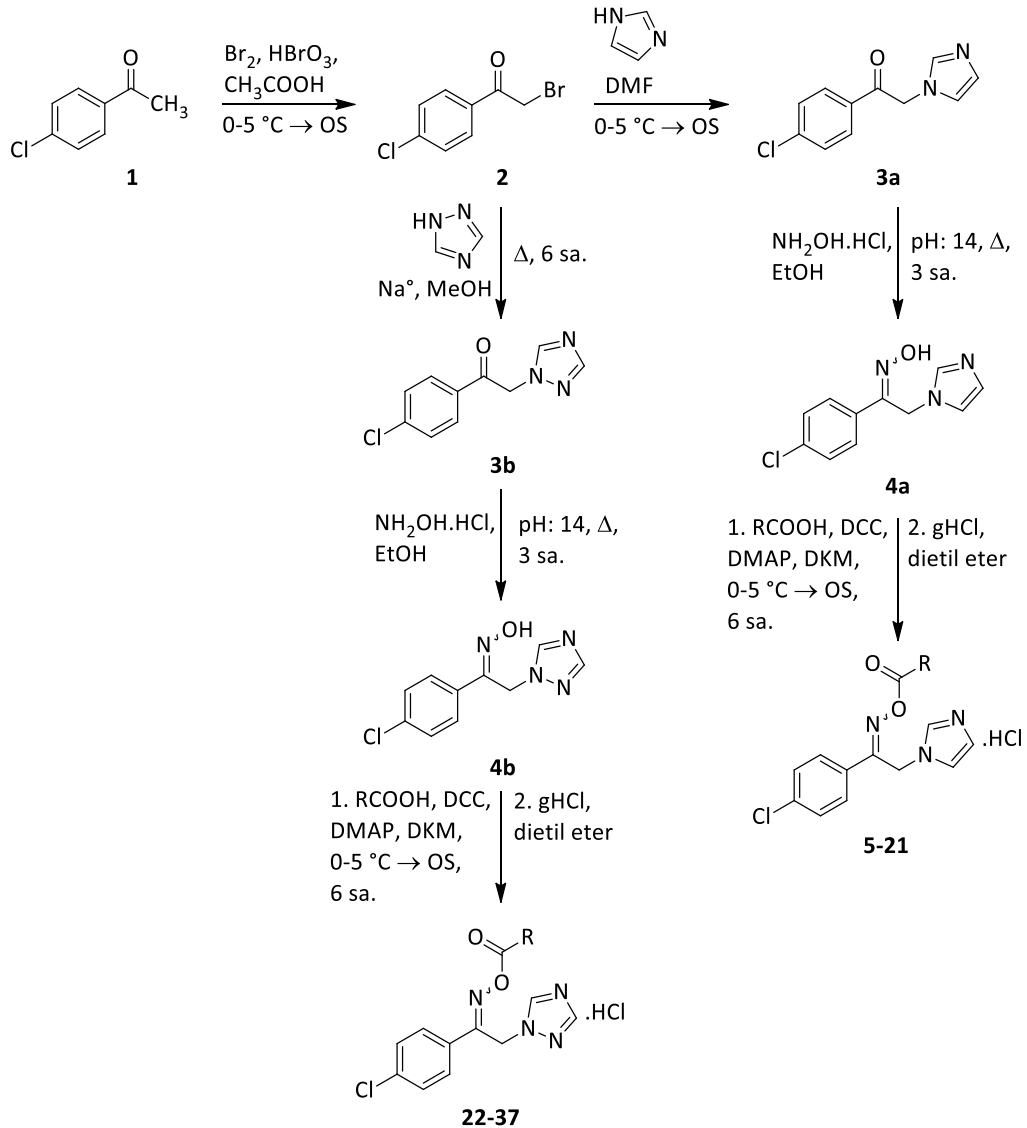
a. Başlangıç Bileşiklerinin Sentezi

2-Bromo-1-(4-klorofenil)etanon (Bileşik 2)

50 mmol 4-kloroasetofenonun (Bileşik 1) 50 mL asetik asitteki çözeltisi buz banyosunda karıştırılır ve üç damla hidrobromik asit eklenir. Reaksiyon karışımına 50 mmol bromun 2,5 mL asetik asitle seyreltilmiş çözeltisi sürekli karıştırılarak damla damla ilave edilir. 2 Saat oda sıcaklığında karıştırılan reaksiyon buzlu suya dökülür, süzülerek alınan çökelti sulu sodyum bikarbonat çözeltisi ile yıkanır ve karanlıkta kurutulur. Madde metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Erime derecesi: 92 °C (356).

2-(1*H*-İmidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etanon (Bileşik 3a)

Buz banyosunda soğutulan 30 mmol imidazolün 2,5 mL DMF'teki çözeltisi üzerine, 10 mmol bileşik 2'nin 2,5 mL DMF'teki çözeltisi yavaş yavaş eklenir. 2 saat buz banyosunda, 1 gün oda sıcaklığında karıştırılır. Buzlu suya döküldüğünde çöken madde süzülür, kurutulur, metanolden kristallendirilerek saflaştırılır. Erime derecesi: 156-8 °C (381, 417).



Şekil 3.1. Bileşiklerin genel sentezi.

1-(4-Klorofenil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il) etanon (Bileşik 3b)

10 mmol Metalik sodyumun 50 mL metanoldeki çözeltisine 10 mmol 1,2,4-triazol eklenerek karıştırılır. Karışıma 10 mmol bileşik 2 ilave edilerek 6 saat geri çeviren soğutucu altında ısıtılır. Çözücü vakum altında uçurulur, elde edilen artık asetondan kristallendirilerek saflaştırılır. Erime derecesi: 192-3 °C (24, 381).

***N*-[2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etiliden]hidroksilamin (Bileşik 4a) ve
N-[1-(4-klorofenil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)etiliden]hidroksilamin (Bileşik 4b)**

15 mmol Bileşik 3a veya 3b ile 30 mmol hidroksilamin hidroklorür 75 ml etanolde ısıtılarak çözülür ve çözeltinin pH'sı 15 N sodyum hidroksit çözeltisi ile 14'e ayarlanır. Karışım geri çeviren soğutucu altında 3 saat ısıtılır, etanol vakumda uçurulur. Kalan artık suda çözülerek derişik hidroklorik asit çözeltisi ile asitlendirilir, pH 5 olduğunda madde çöker, çökelti süzülerek alınır ve metanolden kristallendirilerek saflaştırılır. Erime derecesi: 210 °C (Bileşik 4a) ve 201 °C (Bileşik 4b) (381).

b. Sonuç Bileşiklerinin Genel Sentezi

***N*-[2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etiliden]amino ve *N*-[1-(4-klorofenil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)etiliden]amino esterleri (Bileşik 5-37)**

Buz banyosunda 5 mmol bileşik 4a veya 4b ile 5 mmol uygun karboksilik asidin kuru DKM içindeki süspansiyonu hazırlanır. Bu süspansiyona, 5 mmol DCC ve 0,34 mmol DMAP'nin kuru DKM içindeki çözeltisi damla damla karıştırılarak ilave edilir. Reaksiyon yarım saat sonra oda sıcaklığına ısıtılarak 6 saat karıştırılır. Çöken DCU süzülerek uzaklaştırılır, çözücü vakumda uçurulur. Kalan artık kuru dietil eter ya da asetonda çözülür, üzerine gaz hidroklorik asidin kuru dietil eterdeki doymuş çözeltisi eklenerek maddenin hidroklorik asit tuzu çökelti halinde elde edilir. Tuz, uygun çözücü ya da çözücülerden kristallendirilerek saflaştırılır (12).

3.1.4. Analitik Yöntemler

Erime Derecesi Tayinleri

Bileşiklerin erime dereceleri Thomas Hoover Capillary Melting Point Apparatus erime derecesi tayin cihazı ile saptanmıştır. Verilen erime dereceleri düzeltilmemiş değerlerdir.

İnce Tabaka Kromatografisi ile Yapılan Kontroller

Sonuç bileşiklerin sentezi esnasında reaksiyon takibi ve saflık kontrolü ince tabaka kromatografisi ile yapılmıştır. Çalışmalarımızda Kieselgel 60 F254 (Merck) hazır alüminyum plaklar kullanılmıştır. Çözücü sistemleri ve belirteçlerin hazırlanmasında kullanılan kimyasal maddeler Merck firmasından temin edilmiştir. İnce tabaka kromatografisinde hareketli faz olarak kloroform – metanol (90:10) çözücü sistemi kullanılmıştır. Çözücü sistemi, kromatografi tankı içinde 24 saat oda sıcaklığında bekletilerek küvetlerin çözücü buharı ile doygunluğu sağlanmıştır. Alüminyum plaklara sentez ürünleri ile bunların hazırlanmasında kullanılan başlangıç maddelerinin uygun çözücülerdeki çözeltileri tatbik edilmiş, R_f değerleri oda sıcaklığında 10 cm'lik sürüklenme sonunda tespit edilmiştir. Kromatogramlarda sentez ürünlerine ve başlangıç maddelerine ait lekelerin belirlenmesinde UV ışığı (254 nm) kullanılmıştır.

3.1.5. Spektrometrik Yöntemler

IR Spektrumları

Bileşik 5-10, 13-33 ve 35-37'nin IR spektrumları Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda, Perkin Elmer FT-IR System, Spectrum BX spektrofotometresinde "Azaltılmış Toplam Yansıma" (Attenuated Total Reflectance) aparatı (MIRacle™ PIKE Technologies) kullanılarak çinko selenit kristal yardımıyla alınmış ve dalga sayısı (cm^{-1}) cinsinden değerlendirilmiştir.

$^1\text{H-NMR}$ Spektrumları

Bileşik 5-37'nin $^1\text{H-NMR}$ spektrumları Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda, dimetilsülfoksit- d_6 (DMSO- d_6 , Merck) içerisindeki yaklaşık %10'luk çözeltileriyle Varian Mercury 400, 400 MHz Digital FT-NMR spektrofotometre cihazı ile alınmış, δ (ppm) skalasında değerlendirilmiştir.

¹³C-NMR Spektrumları

Bileşik 14 dışındaki sonuç bileşiklerin ¹³C-NMR spektrumları Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda, dimetilsülfoksit-d6 (Merck) içindeki yaklaşık %10'luk çözeltileriyle Varian Mercury 400, 400 MHz Digital FT-NMR spektrofotometre cihazı ile alınmış, δ (ppm) skalasında değerlendirilmiştir.

Kütle Spektrumları

Bileşik 5-37'nin kütle spektrumları, Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda, pozitif iyon elektrosprey iyonizasyon (ESI+) yöntemi ile Micromass ZQ LC-MS Spectrometer cihazı ve Mass Lynx 4.1 yazılımı kullanılarak alınmıştır.

Eleman Analizleri

Bileşik 5-37'nin C, H ve N elementlerinin analizleri, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda Leco CHNS-932 elementel analiz cihazı ile yapılmıştır.

X Işını Kristalografisi

Bileşik 8'in şeffaf iğne şeklindeki kristallerinin tek kristal X ışını difraksiyon verileri RIGAKU R-Axis Rapid II DW cihazı ile Dual Wavelength Micro Max 007DW XG ve VariMax DW Optics tek kristal X ışını difraktometre sisteminde, eğik görsel toplayıcı levha dedektörü kullanılarak Bilkent Üniversitesi Ulusal Nanoteknoloji Merkezi'nde (UNAM) toplanmıştır. Toplanan veriler Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Fizik Mühendisliği Bölümü'nde CrystalClear-SM Expert 2.0 r16 yazılımıyla iyileştirilerek analiz edilmiştir (418). Kristal yapının çözümü için SHELXS (419) programında doğrudan yöntemlerle yapılmış, ağır atomların konumsal parametreleri SHELXL (419) programında anizotropik termal parametreler ile en küçük kareler yöntemi kullanılarak iyileştirilmiştir. Dihedral açılar PARST (420), H bağları PLATON (421) programında hesaplanmıştır. Kristalografik veriler Cambridge Kristalografik Veri Merkezi'ne (Cambridge Crystallographic Data Centre, CCDC) CCDC 1514764 belge

numarasıyla yüklenmiştir (CCDC, 12 Union Road. Cambridge CB2 1EZ, UK, faks: +44-(0)1223-336033, e-posta: deposit@ccdc.cam.ac.uk).

3.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

3.2.1. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları

a. Mikrodilüsyon Yöntemi

Materyal

Mikrotitrasyon plağı, 0,5 Mc Farland çözeltisi, DMSO (Merck), siprofloksasin (M. Nevzat), flukonazol (Pfizer Inc.), Mueller Hinton Broth (MHB) (Difco Laboratories), RPMI-1640 besiyeri (ICN-Flow), 3-(*N*-morfolino)propanosülfonik asit (MOPS) tamponu (Sigma), Mueller Hinton agar (BBL Microbiology Systems) ve Saboraud dekstroz agar (Merck) kullanılmıştır.

Sentezi yapılan bileşiklerin maya tipi standart mantarlar *C. albicans* ATCC 90018, *C. krusei* ATCC 6258 ve *C. parapsilosis* ATCC 22019, flukonazole dirençli *C. tropicalis*, Gram-pozitif bakteriler *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ile Gram-negatif bakteriler *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 suşlarına karşı antifungal ve antibakteriyel aktiviteleri incelenmiştir.

Yöntem

Antimikrobiyal aktivite çalışmalarında CLSI tarafından önerilen sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak bileşiklerin MİK değerleri tespit edilmiştir. Gliserol içinde -80 °C'de stoklanmış olan mikrobiyal suşlar oda ısında çözündükten sonra *Candida* türleri Saboraud dekstroz agar bakteri türleri ise Mueller-Hinton agar besiyerinde 35 °C'de 24 saat boyunca inkübe edilmişlerdir. Ertesi gün, tüm üreyen kültürlerden 4-5 koloni alınarak steril serum fizyolojik içine aktarılmış ve çözelti bulanıklığı 0,5 Mc Farland olacak şekilde ayarlanmıştır. Son inokulum konsantrasyonu mantarlar için $0,5-2,5 \times 10^3$ cfu/mL, bakteriler için ise 5×10^5 cfu/mL olacak şekilde

sırasıyla MOPS ile pH 7,0 olarak tamponlanmış L-glutamin içeren sodyum bikarbonatsız RPMI-1640 ve MHB besiyerleri kullanılarak ayarlanmıştır.

Bileşikler 10'ar mg olacak şekilde tartılmış ve DMSO içinde çözünerek final konsantrasyonları 1024 µg/mL olacak şekilde ilk çukur içine aktarılmıştır. Çalışmada 96 kuyu içeren U tabanlı steril mikrotitrasyon plaklar kullanılmıştır. Antifungal aktivite çalışmalarında steril pastör pipeti ile her sıranın ilk 11 çukuruna 50'şer µL RPMI-1640, antibakteriyel aktivite çalışmalarında ise MHB besiyeri eklenmiştir. Her plağın iki çukuru sadece besiyeri ve üreme (besiyeri ve mikroorganizma) kontrolünü içerecek şekilde hazırlanmıştır.

Her sıranın ilk çukurlarına final konsantrasyonu 1024 µg/mL olan bileşik çözeltilerinden 50'şer µL aktarılmış sonrasında sekiz kanallı mikropipet yardımıyla dilüsyonlar yapılarak ikişer kat azalan oranda konsantrasyonlar elde edilmiştir. Bileşikler için çalışılan konsantrasyon aralığı 1024-0,00625 µg/mL olarak belirlenmiştir. Son olarak ise 50'şer mikrolitre önceden hazırlanmış olan mantar ve bakteri süspansiyonları bileşik dilüsyonlarını içeren tüm çukurlara ve üreme kontrolü çukuruna damlatılmıştır. Mikroplaklar hafifçe çalkalanarak karışımları sağlandıktan sonra, *Candida* suşları için ise 35 °C'de 48 saat, bakteriler için 35 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir.

Antifungal ve antibakteriyel kontrol olarak sırasıyla flukonazol ve siprofloksasin kullanılmış, final konsantrasyonları 64 µg/ml olacak şekilde hazırlanarak ilk çukura aktarılmıştır. Sonrasında yukarıda anlatıldığı şekilde ilk çukurdan ½ azalan oranda seri dilüsyonlar yapılarak konsantrasyon aralığı 64-0,00625 µg/mL olacak şekilde çalışılmıştır.

Sonuçların değerlendirilmesinde mantarlar için üreme kontrolünün bulanıklığı ile karşılaştırma yapılarak, bu bulanıklığın %80'inden az veya buna eşit bulanıklık gösteren ilk konsantrasyon MİK değeri olarak belirlenmiştir. Bakteriler için ise plaklar çalkalandıktan sonra gözle görülür bulanıklığın olmadığı minimum konsantrasyon, o bileşiğin MİK değeri olarak belirlenmiştir.

b. Biyofilm Yöntemi

Biyofilm pozitif *C. albicans* SC5314 standart laboratuvar suşu uygun sıvı besi yerine ekilip 18-24 saat boyunca 37 °C'de etüvde bekletilerek gün aşırı üremeleri sağlanmıştır. Ertesi gün üreyen kültürler 5 dk. boyunca 5000 rpm'de santrifüj edilmiş ve sonrasında 590 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümler yapılarak mikroorganizma için uygun olan OD değeri ayarlanmıştır. Böylece çukur içinde bulunan son inokulum miktarları biyofilm pozitif *C. albicans* SC5314 için 105 cfu/mL olarak hazırlanmıştır.

Mikroplak çukurlarına yukarıdaki gibi hazırlanan mantar süspansiyonlarından aktarılmış, plaklar 4 saat boyunca 37 °C'de inkübatör içinde bırakılarak mikroorganizmaların çukur yüzeylerine tutunmaları sağlanmıştır. Süre sonunda çukurlar serum fizyolojik ile yıkanarak çukurlara tekrar steril besi yeri eklenmiş ve 20 saat daha inkübasyona bırakılarak biyofilm oluşumu sağlanmıştır. Oluşturulan biyofilmler, yeni sentez edilen bileşikler ile muamele edilerek bileşiklerin minimum biyofilm eradikasyon konsantrasyonu (MBEK) ve minimum biyofilm inhibitör konsantrasyon (MBİK) değerleri µg/mL cinsinden belirlenmiştir.

3.2.2. Antikonvülsan Aktivite Çalışmaları

Antikonvülsan aktivite çalışmaları NINDS ETSP kapsamında ABD Utah Üniversitesi laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

a. Antikonvülsan Tanımlama Çalışmaları

Antikonvülsan aktivite tayini için 6 Hz psikomotor ve MES nöbet testleri, nörotoksisite tayini için ise rotorod testi uygulanır. Test bileşiklerinin 30, 100 ve 300 mg/kg dozda; 0,5 ve 2 saat süre ile deney hayvanlarında ilgili yöntemle (6 Hz ve MES) oluşturulan nöbetlere karşı koruyuculukları ve rotorod yönteminde nörotoksik etkileri ölçülür. Her deney dört deney hayvanında tekrar edilir.

6 Hz Psikomotor Nöbet Testi

Test bileşigi ile belirtilen dozda ip yoldan muamele edilen yetişkin erkek CF-1 farelere belirtilen süre sonunda oküler %5 tetrakain çözeltisi damlatılarak korneal elektrodlarla 3 sn. boyunca 6 Hz elektrik akımı verilir. Fareler daha sonra gözlem altında tutulur; minimal bir tonik fazla başlayarak bıyık titremesi ve Straub kuyruk gibi otomatistik hareketlere dönüşen konvülsiyon belirtileri göstermeyen fareler test bileşigi tarafından korunmuş kabul edilir. 6 Hz testi genellikle 32 mA akımla yapılır. Aktif bulunan bileşikler 44 mA akımla da denenir.

MES testi

Test bileşigi ile ip ya da po yoldan muamele edilen yetişkin erkek CF-1 farelere ya da Sprague-Dawley sıçanlara oküler %5 tetrakain çözeltisi damlatılarak korneal elektrodlarla 0,2 sn. boyunca 60 Hz elektrik akımı verilir. Farelerde 50 mA, sıçanlarda 150 mA akım uygulanır. Elektriksel uyarının ardından hayvanlar gözlem altına alınır ve jeneralize tonik-klonik nöbetin arka bacak tonik ekstansiyonu kısmının gözlenmediği hayvanlar test bileşigi tarafından korunmuş kabul edilir.

Rotorod Testi

Farelerde davranışsal toksisitenin değerlendirildiği bu testte nöbet oluşturmada hemen önce, fareler 6 rpm hızla dönen bir çubuğa yerleştirilir. En az 1 dk. boyunca çubuk üzerinde dengede kalan farelere, verilen test bileşiginin nörotoksik etki göstermediği kabul edilir.

Minimal Motor Bozukluk Testi

Sıçanlarda davranışsal toksisitenin değerlendirildiği bu testte nöbet oluşturmada hemen önce sıçanlar ataksi için gözlenir. Anormal duruş ve bozuk koordinasyon ile karakterize olan ataksin gözlenmediği durumda test bileşiginin toksik etki göstermediği kabul edilir.

b. Antikonvülsan Niceleme Çalışmaları

Korneal Kindling Oluşturulmuş Fare Testi

İnsanlarda parsiyel epilepsi için tutarlı bir model olan korneal kindling oluşturulmuş fare testinde, erkek yetişkin CF-1 farelere art arda beş adet beşinci dereceden nöbet geçirene kadar her gün, günde iki defa 3 sn. boyunca 3 mA 60 Hz'lik korneal elektrik akımı uygulanır. Bu nöbetler yüzde klonus ve kafa sallama ile başlayıp ön bacaklarda klonusa ve son olarak jeneralize tonik-klonik nöbete ilerleyerek son bulur. Beşinci derece nöbet geçirmeye başlayan fareler "tamamen kindling oluşturulmuş" farelerdir ve bu farelere, gruptaki diğer fareler de tamamen kindling oluşturulmuş hale gelene kadar gün aşırı elektrik akımı verilir. Test bileşiklerinin farelere verilmesi için son stimülasyonun üzerinden 5-7 gün geçmesi beklenir. Daha sonra, test bileşiği nicel 6 Hz veya MES testlerinde tespit edilen doruk etki süresinde (DES), her bir doz için sekiz adet tamamen kindling oluşturulmuş fareden oluşan gruplarda denenir. Bunun için test bileşiğiyle muamele edilen her farenin, DES sonunda elektriksel uyarı verilerek geçirdiği nöbet skorlanır. Elde edilen skorların ortalaması alınarak her bir doz için ortalama nöbet skoru hesaplanır. Bu veriler Probit analizine tabi tutularak test bileşiğinin ED₅₀ değeri hesaplanır.

ED₅₀ ve TD₅₀ Değerlerinin Tespit Edilmesi

Antikonvülsan niceleme çalışmalarına her bileşiğin DES'nin tespit edilmesiyle başlanır. Test bileşiğinin herhangi bir model için deney hayvanına verildiği andan itibaren en yüksek koruyuculuğu ya da toksisiteyi gösterdiği süreye DES denir. Bu amaçla test bileşiği ilgili modelde koruyucu ya da toksik olduğu bilinen dozda, 0,25; 0,5; 1; 2 ve 4 saatlik sürelerde ya da daha önceden belirlenmiş sürelerde test edilir. En fazla sekiz hayvanda tekrarlanan deneylerde en yüksek aktivite ya da toksisitenin gözleendiği süre DES olarak tanımlanır. DES belirli bir deney modeli, veriliş yolu ve deney hayvanına spesifiktir.

Bir test bileşiğinin ED₅₀ ya da TD₅₀ değerinin tespit edilmesi için, o bileşik ilgili modelde DES'nde aktivite ya da toksisite göstermediği doz ile maksimum aktivite ya

da toksiste gösterdiği dozlar belirlenene kadar değişen dozlarda test edilir. Her deney dört deney hayvanında tekrarlanır. Elde edilen veriler Probit analizine tabi tutularak ED₅₀ (ya da TD₅₀) %95 güven aralığı, regresyon eğrisi ve eğrinin standart hata değerleri hesaplanır.

3.3. Moleküler Modelleme Çalışmaları

3.3.1. Fizikokimyasal ve Farmakokinetik Parametrelerin Modellenmesi

Sonuç bileşiklerin bazı fizikokimyasal ve farmakokinetik parametreleri QikProp yazılımı kullanılarak hesaplanmış ve yorumlanmıştır. William L. Jorgensen tarafından geliştirilen QikProp, moleküler modellemenin farklı yöntemlerini kullanarak 51 parametre hesaplamayarak bileşiklerin ADME+T özellikleri hakkında tahmini bilgiler verir. Örneğin bilgi temelli hesaplamalar için 500'ü bilinen ilaçlardan oluşan 700 bileşiğin bilgisinden yararlanır. Test bileşiğinin bu veri tabanında yer alan ilaçlardan en çok hangilerine benzerlik gösterdiği tahmin edilmektedir. Sonuç bileşikleri için hesaplanan 20 parametrenin seçilmesinde çözünürlük, ilaç benzerlik, membranlardan geçiş, toksisite, metabolizma ve serum albuminlerine bağlanma gibi olgular dikkate alınmıştır. Bu parametrelerin tanımı ve referans değerleri Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Sonuç bileşikler için hesaplanan parametrelerin açıklamaları, önerilen değer ya da değer aralıkları

Özellik/deskriptör	Açıklama	Önerilen değer ya da değer aralığı*
#yıldız	Bilinen ilaçlar için geçerli değerlerin %95'inin dışında kalan özellik değeri sayısı. İlaç benzerlik kriteri olan bu değer arttıkça ilaç benzerlik azalır.	0-5
MA	Molekül ağırlığı.	130-725
#rtfFG	PAINS özelliği gösteren fonksiyonel grup sayısı. Tespit edilen reaktif fonksiyonel gruplar programın çıktı dosyasında yer alır.	0-2
dipol	Hesaplanmış dipol momenti.	1,0-12,5
ÇEYA	Toplam çözücü erişir yüzey alanı (Å ²).	300-1000
hacim	Toplam çözücü erişir hacim (Å ³).	500-2000

Tablo 3.1. Sonuç bileşikler için hesaplanan parametrelerin açıklamaları, önerilen değer ya da değer aralıkları (Devam)

donörHB	Solüt tarafından su moleküllerine sunulan H bağı.	0-6
akseptörHB	Solüt tarafından su moleküllerinden alınan H bağı sayısı.	2-20
QPpolrz	Tahmin edilen polarizabilite (\AA^3).	13-70
QPlogPo/s	Tahmin edilen oktanol/su partiyon katsayısı.	-2,0 – 6,5
QPlogS	Tahmin edilen konformasyona bağlı sudaki çözünürlük katsayısı.	-6,5 – 0,5
QPlogHERG	hERG kanalı blokajı için tahmin edilen logIC ₅₀ değeri.	-5'ten küçükse güçlü hERG blokörü
QPPcaco	Caco-2 hücreleri için tahmin edilen permeabilite (nmol/sn). Caco-2 ince bağırsak-kan bariyeri modelidir ve QikProp aktif olmayan transportu tahmin eder.	25'in altı düşük, 500'ün üstü güçlü permeabilite
QPlogKB	Tahmin edilen KBB partiyon katsayısı (oral emilen bileşikler için).	-3,0 – 1,2
QPPMDCK	MDCK hücreleri için tahmin edilen permeabilite (nmol/sn). MDCK hücrelerinin iyi bir KBB modeli olduğu kabul edilir. QikProp aktif olmayan transportu tahmin eder.	25'in altı düşük, 500'ün üstü güçlü permeabilite
#metab	Olası metabolit sayısı	1-8
QPlogKisa	Tahmin edilen insan serum albüminine bağlanma.	-1,5 – 1,5
%oralabsorpsiyon	Tahmin edilen insan oral absorpsiyon yüzdesi. Bilgi temelli kurallar bütününe göre değerlendirir. Kantitatif çoklu lineer regresyon modeline dayanır.	%80'in üzeri yüksek, %25'in altı düşük
5K	Lipinski'nin beşer kuralını ihlal sayısı (MA < 500, QPlogo/s < 5, donörHB ≤ 5, akseptörHB ≤ 10).	0-4
3K	Jorgensen'in üçler kuralını ihlal sayısı (QPlogS > -5,7, QPPCaco > 22 nm/s, #metab < 7).	0-3

* Bilinen ilaçların %95'i için.

3.3.2. Homoloji Modelleme Çalışmaları

CACYP51 (sorgu) amino asit dizilimi UniProtKB veri tabanından (P10613), SCCYP51 (hedef) üç boyutlu yapısı (5EQB) protein veri bankasından (www.rcsb.org) (422) indirilmiş ve BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (423) ile ikili hizalama yapılmıştır. Uniprot biyoinformatik konsorsiyumunun bir projesi olan UniProt KnowledgeBase (UniprotKB) proteinlerin işlevsel verilerinin doğru, tutarlı ve zengin atıflarla toplandığı, açık erişimli merkezi bir portaldır. Benzer bir biyoinformatik portalı Amerikan Biyoteknoloji Merkezi'nin (NCBI) internet sitesidir. BLAST yazılımı NCBI'nin bağlı olduğu NIH'de 1990'da tasarlanmıştır. Proteinler, nükleotidler ve DNA'ların dizilimleri için farklı yöntemler kullanan BLAST, belirli bir sorgu dizilimini Smith-Waterman algoritmasına yakınsayan bir sezgisel algoritma kullanarak büyük makromolekül kütüphaneleriyle kısa sürede ikili hizalar ve elde edilen eşleşmeleri skorlayarak sıralar. Çoklu dizilim hizalamaları için kullanılan internet aracı Avrupa Biyoinformatik Enstitüsü (EMBL-EBI) tarafından sunulan Clustal Omega'dır (424). EMBL-EBI tarafından sunulan ikili dizilim hizalama sunucusu ise EMBOSS Needle'dir (425); ancak BLAST'ın aksine bu iki sunucunun kütüphane tarama özelliği yoktur. Günümüzde makromoleküllerin üç boyutlu yapılarının toplandığı üç merkez bulunmaktadır. Bunlardan biri olan RCSB Brookhaven Amerikan Ulusal Kütüphanesi'nde 1971'de kurulmuştur. Diğer PDB kaynakları EMBL-EBI bünyesinde yer alan Avrupa Protein Veri Bankası (www.pdbe.org) (426) ile Japonya merkezli Japonya Protein Veri Bankası (www.pdbj.org)'dır.

CACYP51 homoloji modeli, karşılaştırmalı modelleme teknikleri kullanılarak, MODELLER yazılımı ile oluşturulmuştur. Kaliforniya Üniversitesi'nde geliştirilen MODELLER yazılımı ile karşılaştırmalı modelleme yanında protein ile birlikte bulunan ligand, iyon ve su molekülleri modellenmesi, uzaysal kısıtların uygulanması, *de novo* ilmek modellemesi, belirli bir esneklikte protein yapılarının optimizasyonu, çoklu dizilim hizalama, protein veri tabanlarının taranması ve dizilimlerin kümelenmesi gibi işlemler yapılabilir (291, 427-429). MODELLER farklı modelleme senaryoları için çok sayıda hazır komut dosyası bulundurmaktadır. Çalışmamızda yüksek arama-şablon

dizi benzerliği nedeniyle temel modelleme protokolü izlenmiş, şablon ligandları hem ve İKZ'ün modele aktarılması için gerekli komut dosyaları kullanılmıştır.

MODELLER ile oluşturulan 100 aday CACYP51 modeli arasından bir adet model kısıt ihlalleri ve DOPE (Discrete optimized protein energy) skorlarına göre değerlendirilerek seçilmiştir. MODELLER, oluşturulan her modeli 39 yapısal kısıt parametresine karşı değerlendirir, modellerin enerji parametrelerini hesap ederek genel bir DOPE skoru tayin eder. Bu skorlar elde edilen modelleri genel kaliteleri açısından karşılaştırma olanağı sağlar.

Protein üç boyutlu yapı tahmininde kullanılan çok sayıda yazılım ya da bu yazılımlarla çalışan sunucu mevcuttur. MODELLER dışında başvurulan popüler araçlar arasında SWISS-MODEL yer almaktadır (430). İsviçre Biyoenformatik Enstitüsü tarafından tararlanmış olan SWISS-MODEL, ExpASy internet sunucusu (<https://swissmodel.expasy.org/>) ile ya da kişisel bilgisayarlara kurularak da çalıştırılabilen DeepView programı vasıtasıyla kullanılır. Bu alanda kullanılan diğer bir yazılım ise Washington Üniversitesi'nde geliştirilen Rosetta'dır. Robetta sunucusu (<http://rosetta.bakerlab.org>) ile de internet üzerinden kullanılabilen bu program, hem karşılaştırmalı hem de *ab initio* modelleme yapabilmektedir (431).

Seçilen model stereokimyasal parametreler açısından değerlendirilmek üzere PROCHECK (432) yazılımını çalıştıran Kaliforniya Üniversitesi Genomik ve Proteomik Enstitüsü sunucusuna yüklenmiştir. EMBL-EBI tarafından geliştirilen PROCHECK tek tek rezidülerin ve genel olarak modelin geometrisini analiz ederek bir seri grafik çıktısı ve özet çıktı sunmaktadır. PROCHECK, modeldeki her bir rezidü için Tablo 3.2'de verilen parametreleri ideal değerler ve standart sapmalara göre değerlendirmiştir.

Tablo 3.2. PROCHECK tarafından rezidü başına hesaplanan genel parametreler ve ideal değerleri

Parametre	İdeal değer	Standart sapma
χ -1 çarpık (-)	64,1	15,7
χ -1 trans	183,6	16,8
χ -1 çarpık (+)	-66,7	15,0
χ -2	177,4	18,5
Prolin ϕ	-65,4	11,2
ϕ sarmal	-65,3	11,9
sarmal ψ	-39,4	11,3

Tablo 3.2. PROCHECK tarafından rezidü başına hesaplanan genel parametreler ve ideal değerleri (Devam)

χ -3 (sağ el)	96,8	14,8
χ -3 (sol el)	-85,8	10,7
S-S bağı	2,0	0,1
ω dihedral	180,0	5,8
H bağı enerjisi	-2,0	0,8
C α kiralitesi	33,9	3,5
Kötü etkileşme	> 2,6 Å	

Bununla birlikte omurga atomları bağ uzunlukları (C-N, C-O, C α -C, C α -C β , N-C α) ve bağ açıları (C-N-C α , C α -C-N, C α -C-O, C β -C α -C, N-C α -C, N-C α -C β , O-C-N) hesaplanmıştır. Ayrıca ϕ - ψ açıları dağılımı analiz edilerek Ramachandran grafiği (433) çıkarılmıştır. Proteinler için önemli bazı açılar Tablo 3.3'te özetlenmiştir.

Tablo 3.3. Proteinlerde önemli bazı omurga ve yan zincir açıları.

	ζ dihedrali
ϕ dihedrali	C(i-1)-N(i)-C α (i)-C(i)
ψ dihedrali	N(i-1)-C α (i-1)-C(i-1)-N(i)
ω dihedrali	C α (i-1)-C(i-1)-N(i)-C α (i)
ζ dihedrali	C(i-1)-C(i)
χ -1 dihedrali	C γ (i)-C β (i)-C α (i)-N(i)
χ -1 dihedrali	C δ (i)-C γ (i)-C β (i)-C α (i)
χ -3 dihedrali	C ϵ (i)-C δ (i)-C γ (i)-C β (i)

Modelin genel kalitesini değerlendirmede kullanılan ölçümlerde yukarıdaki parametrelerden bazıları kullanılmıştır. Bunlardan biri olan Morris ve ark. (434) sınıflandırması ϕ - ψ açıları dağılımı (%), χ -1 standart sapması ve H bağı enerjileri standart sapmasını temel alarak Tablo 3.4.'te verilen değer aralıklarına göre modeli sınıflandırmıştır. Bu sınıflandırmada 1'e yakın değerler ideal değerlerdir.

Tablo 3.4. Morris ve ark. (434) tarafından önerilen model sınıflandırması

Parametreler	Sınıflandırma			
	1	2	3	4
ϕ - ψ açıları dağılımı (%)	> 75,0	> 65,0	> 55,0	< 55,0
χ -1 standart sapması	< 12,0	< 18,2	< 24,4	> 24,4
H bağı enerjileri standart sapması	< 0,63	< 0,87	< 1,11	> 1,11

Modelin geneli için analiz edilen omurga parametreleri Ramachandran grafiğinde izin verilen bölgelerdeki rezidü yüzdesi, ω açıları standart sapması, ζ açıları standart sapması ve H bağı enerjileri standart sapmasıdır. Modelin geneli için analiz edilen yan zincir parametreleri ise χ -1 çarpık (-) açıları standart sapması, χ -1 trans açıları standart sapması, χ -1 çarpık (+) açıları standart sapması, tüm χ -1 açıları standart sapması ve χ -2 trans açıları standart sapmasıdır.

Bununla birlikte bazı dihedral açıları ve kovalent parametre için evrensel bir ölçüm olan G-faktörü de hesaplanmıştır. Herhangi bir parametrenin G-faktörü için ideal değer -0,5'in üzeridir. -1,0'in altındaki değerlere sahip olan parametreler gözden geçirilmelidir.

PROCHECK dışında model kalitesini ve geometrisini değerlendirmek için kullanılan, internet sunucusu olarak ya da bilgisayara kurularak çalışan çeşitli araçlar mevcuttur. Bu yazılımlardan bazıları Tablo 3.5.'te verilmiştir.

Tablo 3.5. Model makromoleküller için üç boyutlu yapı analizi yapan diğer yazılımlar

Yazılım	Açıklama
WHAT_CHECK (435)	Her bir rezidü için çok sayıda stereokimyasal parametre hesaplar.
ERRAT (436)	Farklı atom tipleri arasındaki bağımsız etkileşmelerin istatistiğini analiz eder; bu istatistikleri bilinen iyileştirilmiş yapıların istatistikleriyle karşılaştırır.
VERIFY_3D (437)	Bir model ile onun amino asit dizilimi arasındaki uyumunu belirler. Bunun için her bir rezidü konumu ve çevresine göre skorlanır, bilinen iyi yapılarla karşılaştırılır.
PROVE (438)	Model atomlarını sert küre olarak tanımlayan bir algoritma ile hacimlerini hesaplar ve modelin protein veri bankalarındaki yüksek çözünürlüklü ve iyileştirilmiş yapılardan Z-skor sapmasını hesaplar.

3.3.3. MD Simülasyonları Çalışmaları

Homoloji modelleme ile elde edilen ham modelde özellikle aktif bölgedeki olası gerilimlerin rahatlatılması ve modelin enerji açısından daha kararlı bir konformasyonunun elde edilmesi için yapılan ilk MD simülasyonunda 1 ns, kenetleme sonrası yapılan simülasyonda 2 ns boyunca sistem dengeye getirilmiştir. Bu amaçla CHARMM36 kuvvet alanı parametreleri kullanılarak VMD (v1.9.2) yazılımında ligand bağlı enzimin su molekülleri içerisine yerleştirilmiş modeli hazırlanmıştır (439-442). Standart CHARMM parametre ve topoloji dosyaları hem kofaktörünü ve TIP3P su moleküllerini modellemek için yeterli olsa da İKZ parametre ve topolojisinin ayrıca oluşturulması gerekir. Bunun için CGenFF sunucusu (v1.0.0) kullanılmıştır (<https://cgenff.paramchem.org/>) (443). CHARMM topoloji dosyasında hem kofaktörünün simülasyon boyunca düzlemsel kılması, tuz köprüsü ve S-S bağı oluşturan bazı rezidüler için yama uygulanmıştır. Ayrıca ligand ile hem arasındaki metal koordinasyon bağı tanımlamak üzere ilgili atomlar arasına harmonik potansiyel uygulanmıştır. NAMD (v2.11) yazılımı (444) ile yürütülen simülasyon önce bir kuvvet alanı enerji minimizasyonu ile başlar. Konjuge gradyan yöntemiyle yapılan bu minimizasyonlarla kötü etkileşmeler bertaraf edilir. Simülasyon 2 fs zaman basamağında, 310 Kelvin derece ve 1 atm basınçta, izotermik-izobarik toplamda (NPT) gerçekleşir. Simülasyonda Particle Mesh Ewald yöntemi (445) ve periyodik sınır şartları ile hidrojen atomları için SHAKE algoritması kullanılır (446). Simülasyon sonunda elde edilen verilerden oluşturulan hareket eğrisinin analizleri yapılarak, sistemin simülasyon boyunca geçirdiği enerji ve konformasyon değişiklikleri değerlendirilir.

Alternatif popüler yazılımlardan Groningen Üniversitesi'nde geliştirilen GROMACS protein, lipid ve nükleik asit simülasyonlarında kullanılır (447). Farklı kuvvet alanı parametrelerini destekleyen GROMACS oldukça hızlı çalışır. Diğer bir yazılım paketi AMBER kendi adını taşıyan kuvvet alanı parametreleriyle de tanınır (448). Kaliforniya Üniversitesi'nde geliştirilmiş olan program, NAMD ve GROMACS'ten farklı olarak sadece Unix tabanlı işletim sistemlerinde çalışır ve lisansı ücretlidir.

3.3.4. Moleküler Kenetleme Çalışmaları

a. Ligand Modellerinin Hazırlanması

Sonuç bileşiklerin iki boyutlu çizimleri Maestro (v2017-1, Schrodinger, LLC, NY, 2017) yazılımının 2D-Sketcher modülünde yapılmış, MacroModel (v2017-1, Schrodinger, LLC, NY, 2017) modülü ile üç boyutlu modelleri elde edilmiştir. Bu modeller LigPrep (v2017-1, Schrodinger, LLC, NY, 2017) modülü ile pH 7±2'deki olası iyonizasyon durumları, totomerleri ve enansiyomerleri belirlenmiştir. Ligandların minimizasyonu için OPLS_2005 kuvvet (449) alanı parametreleri ve Polak-Ribiere konjüge gradyan yöntemi (450) kullanılmıştır.

Polak-Ribiere konjüge gradyan yöntemi Polak-Ribiere birinci türevini kullanır. Genel amaçlı enerji minimizasyonları için en iyi yöntemdir, ancak geçiş durumları için kullanılmaz. Kısaltılmış Newton Konjüge Gradyanı ikinci türevleri kullanır ve çok düşük gradyan yapıları bulmada başarı bir yöntemdir (451). Kısaltılmış Newton Konjüge Gradyanı Polak-Ribiere'e kıyasla onda bir tekrarda yakınsallığa ulaşır. En dik iniş (*steepest decent*) yöntemi genellikle minimum enerjiden çok uzak yapılar için uygundur. Minimizasyonun sonuna doğru yakınsallık kötüleşir ve semer noktalarının bulunmasında kullanılmaz.

b. Proteinlerin Hazırlanması

CACYP51 modeli 1 ns'lik MD simülasyonunun son çerçevesinden çıkarılmış ve Maestro yazılımının Protein Hazırlama Sihirbazı (v2017-1, Schrodinger, LLC, NY, 2017) ile moleküler kenetlemeye hazırlanmıştır (452). Bu kapsamda bağlanma bölgesindeki liganda 5 Å'dan uzak olan bütün su molekülleri çıkartılmıştır. Amino asitlerin iyonizasyon ve totomeri durumları Epik (v2017-1, Schrodinger, LLC, NY, 2017) modülü ile belirlenmiş, protonların oryantasyonları PropKa ile ayarlanmıştır.

GABA_AR homoloji modeli CACYP51 gibi hazırlanmış, ek olarak amino asitlerin iyonizasyon ve totomeri durumlarının belirlenmesinden önce protonlar eklenmiştir.

3.4.3. Kenetleme

Moleküler kenetleme çalışmaları GOLD (309) ve AutoDock (AutoDock 4 ve AutoDock Vina) (453, 454) yazılımlarıyla yapılmış, arama alanı merkezi olarak CACYP51 için modelin aktif bölgesinde bulunan İKZ'ün merkezi koordinatları (-0,08; 0,14; -0,12) kullanılmıştır. GABA_AR için GOLD ve Glide'ın (455-457) kullanıldığı çalışmalarda, Bergmann ve ark. (34)'nın homoloji modeli üzerinde üç farklı bağlanma bölgesinde arama alanı oluşturulmuştur. Bu alanların merkezi koordinatları GABA bağlanma bölgesi için reseptör $\alpha 1(-)/\beta 2(+)$ ara yüzünde 29,32; 69,95; 81,56; LRZ bağlanma bölgesi için $\beta 2(+)/\alpha 1(-)$ ara yüzünde 24,85; 104,4; 52,85 ve BZD bağlanma bölgesi için $\alpha 1(+)/\gamma 2(-)$ ara yüzünde -0,49; 0,15; 0,17 olarak alınmıştır.

a. GOLD

The Cambridge Crystallographic Data Centre tarafından tasarlanmış olan GOLD Süit (v5.2.2, CCDC Software Ltd., Cambridge, UK, 2013), moleküler kenetleme ve sanal aktivite tarama süreçlerinde kullanılan oldukça hızlı ve esnek bir yazılım paketidir. GOLD (Genetic Optimisation for Ligand Docking), skollama fonksiyonlarının uyum skorlarını genetik algoritma ile optimize eder. Dört farklı skollama fonksiyonuna sahip olan program kinazlar ve hem içeren proteinler gibi spesifik durumlar için parametrizasyon, kısmi reseptör esnekliği, bağısız etkileşme ve torsiyon gibi uzaysal kısıtların uygulanması, hız ve doğruluk dengesi ayarları gibi avantajlara sahiptir. Skollama fonksiyonları CHEMPLP, GoldScore, ChemScore ve ASP (Astex Statistical Potential) olarak adlandırılır. CHEMPLP (Piecewise Linear Potential) bağlanma pozunu tahmini için optimize edilmiş bir uyum fonksiyonudur (310); protein ve ligandın sterik tamamlayıcılığını modellerken, ek olarak ChemScore'un mesafe ve açığa bağlı hidrojen ve metal bağlanma katsayılarını dahil eder. GoldScore'un uyum fonksiyonu ise dört bileşenden oluşur: protein-ligand H bağı enerjisi, protein-ligand vdW enerjisi, ligand internal vdW enerjisi ve ligand torsiyon gerilimi enerjisi (311). Uyum fonksiyonundaki ampirik parametreler GOLD parametreler dosyasından alınır ve bu parametreler kullanılan skollama fonksiyonundan bağımsızdır. ChemScore bağlanma afinitesi bilinen 82 protein-ligand kompleksinden elde edilen ampirik

verilerden türetilmiş ve bu verilerden elde edilen regresyon ile iyileştirilmiştir (458, 459). Uyum skorunu H bağı, metal ve lipofilik etkileşmeler ile torsiyon enerjilerinden elde edilen bağlanma enerjisinden, kötü etkileşmeler ve internal ligand torsiyonlarının enerjisini çıkararak hesaplar. ASP bir protein-ligand veritabanından türetilmiş atom-atom potansiyelidir ve geleneksel skrolama fonksiyonlarından farklı olarak, protein veri bankalarındaki protein-ligand bilgilerini analiz eder, protein ile ligand atomlarının etkileşme frekansıyla ilgili bilgileri toplar ve bu bilgileri kullanarak istatistiksel potansiyeller oluşturur (460).

GOLD ile yapılan kenetleme çalışmalarında her bileşik, dört skrolama fonksiyonunda %100 verimlilikte kenetlenmiştir. Her bileşik için 50 koşturma yapılmış ancak erken sonlandırma opsiyonu etkinleştirilmiştir. Bu opsiyonda bir ligand için aynı bağlanma pozlarının sürekli elde edilmesi durumunda skrolama fonksiyonu, verilen koşturma sayısını beklemeden kenetlemeyi sonlandırır.

b. Glide

Schrödinger (Schrodinger, LLC, NY, 2017) firması tarafından geliştirilen yazılımlardan biri olan Glide (Grid-based Ligand Docking with Energetics) hızlı ve isabetli tahminler yapan bir moleküler kenetleme programıdır. Schrödinger bünyesindeki çok sayıda yazılımla bir arada çalıştırılabilen Glide'in avantajları arasında, Prime (v2017-1, Schrodinger, LLC, NY, 2017) ile birlikte kullanılarak indüklenmiş uyum moleküler kenetleme yapabilmesi, sanal aktivite tarama çalışma paneli, farklı reseptör tiplerinde yüksek tahmin gücü sağlaması, Maestro ile birlikte docking sonrası değerlendirme ve daha ileri modelleme çalışmaları yapabilme kolaylığı sayılabilir. Hız ve doğruluk dengesi için iki ayrı opsiyon sunar. Glide büyük kütüphanelerden standard yakınlıkta, düşük verimle elde edilen pozlar arasından yanlış pozitiflerin ekstra yakınlık modunda elenmesini sağlar. Glide ayrıca peptit kenetleme için ayrı bir protokole ve detaylı bir kenetleme hiyerarşisine sahiptir. Bu hiyerarşide konformasyonel aramayla türetilen konformerler sezgisel taramayla elenir. Skrolama sürecinde ChemScore'un kesikli bir versiyonu kullanılır.

Kenetleme öncesi Maestro programının Reseptör Grid Oluşturma modülü ile bağlanma bölgesinin arama grid haritası oluşturulmuştur. Kenetlemeler ekstra yakınlıkta her ligand için 10 defa koşturulmuş, elde edilen konformasyonlara kenetleme sonrası kuvvet alanı enerji minimizasyonu uygulanmıştır. Glide'da erken sonlandırma otomatik olarak uygulanır.

c. AutoDock

The Scripps Research Institute tarafından geliştirilen AutoDock ve AutoDock Vina mevcut ligand-protein kenetleme yazılımları arasında ücretsiz lisans sağlayan, tahmin gücü yüksek popüler programlardır. Bu programlar doğrudan komut satırıyla ya da AutoDockTools gibi grafik kullanıcı arayüzü yazılımlarıyla çalıştırılır. Kenetleme sonuçlarının incelenmesi için daha çok PyMol moleküler grafik sistemi (v2.0 Schrödinger, LLC) tercih edilir.

AutoDock 4

AutoDock 4 konformasyonel arama sonucu elde ettiği konformasyonları değerlendirirken yarı ampirik bir enerji kuvvet alanı kullanır. Bu kuvvet alanının parametrizasyonu için inhibitör katsayısı (K_i) bilinen ligandların reseptörleriyle kenetli üç boyutlu yapıları kullanılmıştır. Kuvvet alanı, ilk aşamada ligand ve proteinin bağlanmamış durumdaki konformasyonlarından, bağlanmış durumdaki konformasyonlarına geçişte intermoleküler enerjileri tahmin eder. Daha sonra ligand-reseptör kompleksinin intermoleküler enerjileri hesaplanır. Kuvvet alanı serbest bağlanma enerjisi (ΔG) hesabına, altı çift katsayıyı (protein ve ligandın bağlı ve ayrı enerjileri) ve bağlanma ile kaybedilen konformasyonel entropiyi dahil eder. AutoDock 4 kenetleme öncesi ligand atom tiplerine göre Glide'da olduğu gibi arama alanı için hazırlanmış bir grid haritasına ihtiyaç duyar. Bunun için ayrı bir yazılım olan AutoGrid kullanılır. Genetik algoritma, Lamarck genetik algoritması (453), lokal arama (461) ya da *simulated annealing* algoritması (462) seçilebilir; seçilen protein yan zincirleri esnek hale getirilebilir.

Sonuç bileşiklerinin AutoDock ile kenetleme işlemi için AutoDockTools arayüzü kullanılmıştır. Önce her bir ligandın atom tiplerine göre arama alanı grid haritaları oluşturulmuştur. Kenetleme işlemi için genetik algoritma ile lokal aramanın hibrit bir algoritması olan Lamarck genetik algoritması kullanılmış, her ligand orta verimlilikte 50 tekrarda koşturulmuştur. GOLD ve Glide'in aksine AutoDock'ta erken sonlandırma opsiyonu yoktur; bunun yerine elde edilen pozların birbirlerine göre hesaplanan RMSD değerlerine göre küme analizi yapılır. AutoDock, kenetleme skoru (ΔG) yanı sıra ligandlar için teorik bir inhibitör katsayısı (K_i) da hesaplar.

AutoDock Vina için aynı ayarlar kullanılmış, ek olarak bu ayarların kaydedildiği bir konfigürasyon dosyası oluşturulmuştur.

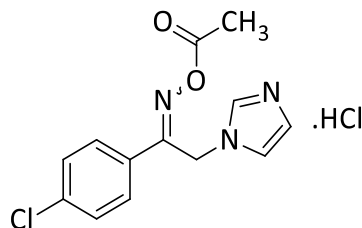
AutoDock Vina

AutoDock 4 ile aynı girdi ve çıktıları kullanan, aynı grafik kullanıcı arayüzüyle çalışan AutoDock Vina, birden fazla bilgisayar işlemcisi kullanır ve AutoDock'a göre çok daha hızlıdır. Kullanımı daha basit olan AutoDock Vina kullanıcıya süreç üzerinde daha az kontrol imkanı verir. AutoDock 4'te değiştirilebilen pek çok ayar ve K_i gibi bazı hesaplamalar AutoDock Vina'da mevcut değildir. AutoDock Vina grid haritalarını otomatik çıkarır ve GOLD ve Glide gibi elde edilen konformasyon sayısını sınırlar. Kenetleme optimizasyonu için genetik algoritmalar, partikül yığılma optimizasyonu (463), *simulated annealing* başta olmak üzere çeşitli yaklaşımlar kullanır.

4. BULGULAR

4.1. Kimyasal Çalışmalar

[2-(1*H*-İmidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etiliden]amino asetat hidroklorür (Bileşik 5)



0,286 mL (5 mmol) Asetik asit ve 1,178 g (5 mmol) 2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, metanol/dietil eter karışımından kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Beyaz renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 161-2 °C, verim 0,723 g (%46)'dır.

IR spektrumunda (KBr); 3081, 3004 (C-H gerilim, aromatik), 2919 (C-H gerilim, alifatik), 1784 (C=O gerilim, oksim ester), 1168 (C-O gerilim, oksim ester), 910 (N-O gerilim) cm^{-1} 'de pikler görülür.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 2,28 (s, 3H, CH_3); 5,86 (s, 2H, CH_2N); 7,54 (d, J : 8,8 Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{3,5}$); 7,62 (t, $J_1 = 1,6$ Hz, $J_2 = 1,6$ Hz, 1H, imidazol H^4); 7,72 (t, $J_1 = 2,0$ Hz, $J_2 = 1,6$ Hz, 1H, imidazol H^5); 7,79 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{2,6}$); 9,35 (t, $J_1 = 1,6$ Hz, $J_2 = 0,8$ Hz, 1H, imidazol H^2) ppm'de pikler görülür.

$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 19,33 (CH_3); 44,11 (CH_2N); 120,10 (imidazol C^5); 122,47 (imidazol C^4); 128,84-129,48 (4-klorobenzen $\text{C}^{2,3,5,6}$); 129,79 (4-klorobenzen C^1); 135,95 (4-klorobenzen C^4); 136,22 (imidazol C^2); 158,26 (CNO); 167,36 (CO) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 302 ($[\text{M}+2+\text{Na}]^+$), 300 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, %100), 280 ($[\text{M}+2+\text{H}]^+$), 278 ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ve 82'de pikler görülür.

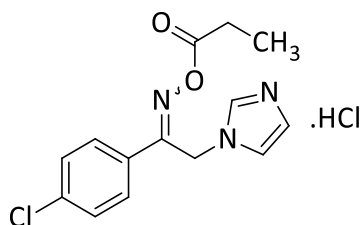
Analiz: $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_2$ için, M.A. 314,17

%C %H %N

Hesaplanan: 49,70 4,17 13,38

Bulunan : 49,54 4,20 13,38

**[2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etiliden]amino propanoat hidroklorür
(Bileşik 6)**



0,374 mL (5 mmol) Propanoik asit ve 1,178 g (5 mmol) 2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, metanol/dietil eter karışımından kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Beyaz renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 142-4 °C, verim 0,985 g (%60)'dır.

IR spektrumunda (KBr); 3005 (C-H gerilim, aromatik), 2919 (C-H gerilim, alifatik), 1768 (C=O gerilim, oksim ester), 1181 (C-O gerilim, oksim ester), 924 (N-O gerilim) cm^{-1} 'de pikler görülür.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 1,13 (t, $J_1 = 7,6$ Hz, $J_2 = 7,2$ Hz, 3H, CH_3); 2,59 (q, 2H, CH_2CH_3); 5,79 (s, 2H, CH_2N); 7,54 (d, $J = 9,2$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{3,5}$); 7,59 (t, $J_1 = 1,6$ Hz, $J_2 = 1,6$ Hz, 1H, imidazol H^4); 7,68 (t, $J_1 = 2,0$ Hz, $J_2 = 1,6$ Hz, 1H, imidazol H^5); 7,76 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{2,6}$); 9,22 (t, $J_1 = 2,0$ Hz, $J_2 = 1,2$ Hz, 1H, imidazol H^2) ppm'de pikler görülür.

$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 19,33 (CH_3); 25,89 (CH_2CH_3); 44,70 (CH_2N); 120,75 (imidazol C^5); 123,03 (imidazol C^4); 129,43-130,02 (4-klorobenzen $\text{C}^{2,3,5,6}$); 130,39 (4-klorobenzen C^1); 136,50 (4-klorobenzen C^4); 136,79 (imidazol C^2); 158,94 (CNO); 171,19 (CO) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 316 ($[\text{M}+2+\text{Na}]^+$), 314 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, %100), 294 ($[\text{M}+2+\text{H}]^+$), 292 ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ve 82'de pikler görülür.

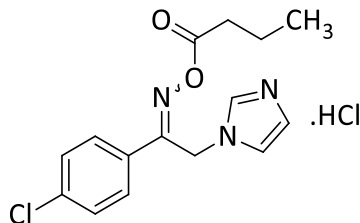
Analiz: $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_2$ için, M.A. 328,19

%C	%H	%N
----	----	----

Hesaplanan: 51,23 4,61 12,80

Bulunan : 51,07 4,61 12,70

**[2-(1*H*-İmidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etiliden]amino bütanoat hidroklorür
(Bileşik 7)**



0,462 mL (5 mmol) Bütanoik asit ve 1,178 g (5 mmol) 2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, metanol/dietil eter karışımından kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Beyaz renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 161-3 °C, verim 0,907 g (%53)'dir.

IR spektrumunda (KBr); 3025 (C-H gerilim, aromatik), 2959, 2922 (C-H gerilim, alifatik), 1760 (C=O gerilim, oksim ester), 1186 (C-O gerilim, oksim ester), 925 (N-O gerilim) cm^{-1} 'de pikler görülür.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 0,95 (t, $J_1 = 7,6$ Hz, $J_2 = 7,2$ Hz, 3H, CH_3); 1,61-1,67 (m, 2H, CH_2CH_3); 2,55 (t, $J_1 = 7,2$ Hz, $J_2: 7,2$ Hz, 2H, COCH_2); 5,80 (s, 2H, CH_2N); 7,55 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{3,5}$); 7,61 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H, imidazol H^4); 7,69 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H, imidazol H^5); 7,77 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{2,6}$); 9,26 (s, 1H, imidazol H^2) ppm'de pikler görülür.

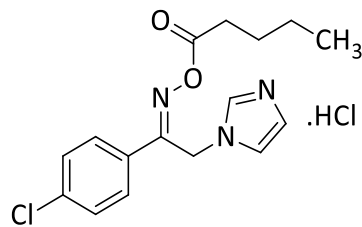
$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 13,88 (CH_3); 18,13 (CH_2CH_3); 34,17 (COCH_2); 44,79 (CH_2N); 120,75 (imidazol C^5); 123,02 (imidazol C^4); 129,42-130,04 (4-klorobenzen $\text{C}^{2,3,5,6}$); 130,41 (4-klorobenzen C^1); 136,49 (4-klorobenzen C^4); 136,79 (imidazol C^2); 159,00 (CNO); 170,14 (CO) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 330 ($[\text{M}+2+\text{Na}]^+$), 328 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, %100), 308 ($[\text{M}+2+\text{H}]^+$), 306 ($[\text{M}+\text{H}]^+$), ve 82'de pikler görülür.

Analiz: $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_2$ için, M.A. 342,22

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	52,64	5,01	12,28
Bulunan :	52,54	4,96	12,25

(Z)-[2-(1*H*-İmidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etiliden]amino pentanoat hidroklorür (Bileşik 8)



0,549 mL (5 mmol) Pentanoik asit ve 1,178 g (5 mmol) 2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, metanol/dietil eter karışımından kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Şeffaf kristalize bileşiktir. Erime derecesi 152-3 °C, verim 1,158 g (%65)'dir.

IR spektrumunda (KBr); 3068 (C-H gerilim, aromatik), 2920 (C-H gerilim, alifatik), 1760 (C=O gerilim, oksim ester), 1187 (C-O gerilim, oksim ester), 941 (N-O gerilim) cm^{-1} 'de pikler görülür.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 0,91 (t, $J_1 = 7,2$ Hz, $J_2 = 7,2$ Hz, 3H, CH_3); 1,33-1,38 (m, 2H, CH_2CH_3); 1,58-1,62 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 2,56 (t, $J_1 = 7,6$ Hz, $J_2 = 7,2$ Hz, 2H, COCH_2); 5,80 (s, 2H, CH_2N); 7,55 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{3,5}$); 7,61 (s, 1H, imidazol H^4); 7,69 (s, 1H, imidazol H^5); 7,76 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{2,6}$); 9,25 (s, 1H, imidazol H^2) ppm'de pikler görülür.

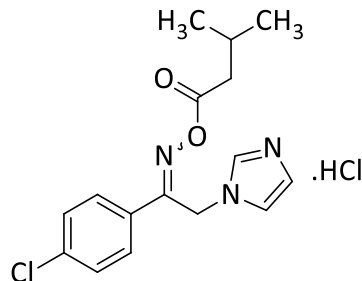
$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 14,08 (CH_3); 22,06 (CH_2CH_3); 26,67 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 32,05 (COCH_2); 44,78 (CH_2N); 120,75 (imidazol C^5); 123,02 (imidazol C^4); 129,42-130,03 (4-klorobenzen $\text{C}^{2,3,5,6}$); 130,41 (4-klorobenzen C^1); 136,50 (4-klorobenzen C^4); 136,78 (imidazol C^2); 158,99 (CNO); 170,27 (CO) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 344 ($[\text{M}+2+\text{Na}]^+$), 342 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, %100), 322 ($[\text{M}+2+\text{H}]^+$), 320 ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ve 82'de pikler görülür.

Analiz: $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_2$ için, M.A. 356,25

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	53,94	5,38	11,80
Bulunan :	53,87	5,25	11,71

[2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etiliden]amino 3-metilbütanoat hidroklorür (Bileşik 9)



0,552 mL (5 mmol) 3-Metilbütanoik asit ve 1,178 g (5 mmol) 2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, etanol/aseton karışımından kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Beyaz renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 153-5 °C, verim 1,532 g (%86)'dır.

IR spektrumunda (KBr); 3075 (C-H gerilim, aromatik), 2905 (C-H gerilim, alifatik), 1768 (C=O gerilim, oksim ester), 1194 (C-O gerilim, oksim ester), 964 (N-O gerilim) cm^{-1} 'de pikler görülür.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 0,97 (d, $J = 6,4$ Hz, 6H, CH_3); 2,04-2,10 (m, 1H, CH); 2,45 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H, COCH_2); 5,79 (s, 2H, CH_2N); 7,55 (dd, $J_1 = 8,8$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{3,5}$); 7,61 (t, $J_1 = 1,6$ Hz, $J_2 = 1,6$ Hz, 1H, imidazol H^4); 7,69 (t, $J_1 = 1,6$ Hz, $J_2 = 1,6$ Hz, 1H, imidazol H^5); 7,76 (dd, $J_1 = 8,4$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{2,6}$); 9,25 (s, 1H, imidazol H^2) ppm'de pikler görülür.

$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 22,57 (2C, CH_3); 25,51 (CHCH_3); 41,13 (COCH_2); 44,82 (CH_2N); 121,01 (imidazol C^5); 122,99 (imidazol C^4); 129,44-130,02 (4-klorobenzen $\text{C}^{2,3,5,6}$); 130,46 (4-klorobenzen C^1); 136,54 (4-klorobenzen C^4); 136,87 (imidazol C^2); 159,00 (CNO); 169,33 (CO) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 344 ($[\text{M}+2+\text{Na}]^+$), 342 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, %100), 322 ($[\text{M}+2+\text{H}]^+$), 320 ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ve 82'de pikler görülür.

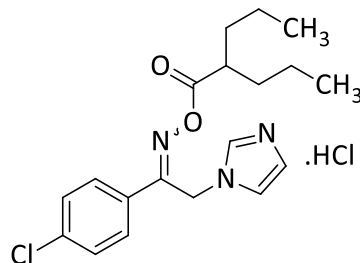
Analiz: $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_2$ için, M.A. 356,25

%C	%H	%N
----	----	----

Hesaplanan:	53,94	5,38	11,80
-------------	-------	------	-------

Bulunan : 53,78 5,25 11,68

**[2-(1*H*-İmidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etiliden]amino 2-propilpentanoat
hidroklorür (Bileşik 10)**



0,801 mL (5 mmol) 2-Propilpentanoik asit ve 1,178 g (5 mmol) 2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, metanol/dietil eter karışımından kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Beyaz renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 130-2 °C, verim 0,299 g (%15)'dir.

IR spektrumunda (KBr); 3112 (C-H gerilim, aromatik), 2932, 2869 (C-H gerilim, alifatik), 1756 (C=O gerilim, oksim ester), 1088 (C-O gerilim, oksim ester), 970 (N-O gerilim) cm^{-1} 'de pikler görülür.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 0,88 (t, $J_1 = 7,6$ Hz, $J_2: 6,8$ Hz, 6H, CH_3); 1,24-1,33 (m, 4H, CH_2CH_3); 1,45-1,61 (m, 4H, CH-CH_2); 2,56-2,59 (m, 1H, CH); 5,78 (s, 2H, CH_2N); 7,55 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{3,5}$); 7,63 (t, $J_1 = 2,0$ Hz, $J_2 = 1,2$ Hz, 1H, imidazol H^4); 7,67 (t, $J_1 = 1,6$ Hz, $J_2 = 1,6$ Hz, 1H, imidazol H^5); 7,75 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{2,6}$); 9,25 (s, 1H, imidazol H^2) ppm'de pikler görülür.

$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 14,31 (2C, CH_3); 20,47 (CH_2CH_3); 34,31 (2C, CH-CH_2); 43,51 (CO-CH); 44,97 (CH_2N); 121,42 (imidazol C^5); 122,74 (imidazol C^4); 129,38-130,05 (4-klorobenzen $\text{C}^{2,3,5,6}$); 130,56 (4-klorobenzen C^1); 136,49 (4-klorobenzen C^4); 136,84 (imidazol C^2); 159,49 (CNO); 172,28 (CO) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 386 ($[\text{M}+2+\text{Na}]^+$), 384 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, % 100), 364 ($[\text{M}+2+\text{H}]^+$), 362 ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ve 82'de pikler görülür.

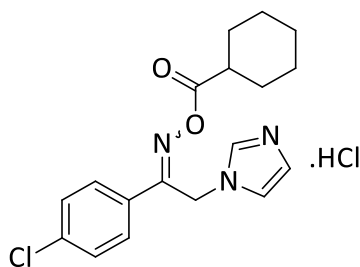
Analiz: $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_2 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$ için, M.A. 407,34

%C %H %N

Hesaplanan: 56,02 6,43 10,32

Bulunan : 55,87 6,24 10,34

[2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etiliden]amino sikloheksankarboksilat hidroklorür (Bileşik 11)



0,620 mL (5 mmol) Sikloheksankarboksilik asit ve 1,178 g (5 mmol) 2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, metanol/dietil eter karışımından kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Beyaz renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 151-3 °C, verim 1,395 g (%73)'dir.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆, 400 MHz); δ 1,21-1,93 (m, 10H, sikloheksan CH₂); 2,56-2,61 (m, 1H, sikloheksan CH); 5,81 (s, 2H, CH₂N); 7,54 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, 4-klorobenzen H^{3,5}); 7,61 (t, *J*₁ = 1,6 Hz, *J*₂ = 1,6 Hz, 1H, imidazol H⁴); 7,69 (t, *J*₁ = 1,6 Hz, *J*₂ = 1,6 Hz, 1H, imidazol H⁵); 7,74 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H, 4-klorobenzen H^{2,6}); 9,24 (s, 1H, imidazol H²) ppm'de pikler görülür.

¹³C-NMR spektrumunda (DMSO-d₆, 400 MHz); δ 25,22-28,87 (sikloheksan C²⁻⁶); 41,41 (sikloheksan C¹); 44,98 (CH₂N); 120,83 (imidazol C⁵); 123,00 (imidazol C⁴); 129,40-130,02 (4-klorobenzen C^{2,3,5,6}); 130,43 (4-klorobenzen C¹); 136,46 (4-klorobenzen C⁴); 136,78 (imidazol C²); 159,41 (CNO); 172,79 (CO) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 370 ([M+2+Na]⁺), 368 ([M+Na]⁺), 348 ([M+2+H]⁺), 346 ([M+H]⁺) ve 82 (%100)'de pikler görülür.

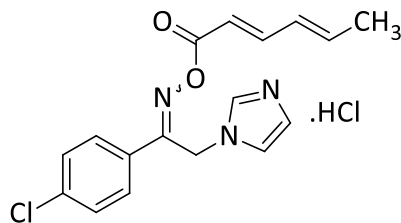
Analiz: C₁₈H₂₁Cl₂N₃O₂ için, M.A. 382,28

	%C	%H	%N
--	----	----	----

Hesaplanan:	56,55	5,54	10,99
-------------	-------	------	-------

Bulunan :	56,16	5,48	10,88
-----------	-------	------	-------

[2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etiliden]amino hekza-2,4-dienoat hidroklorür (Bileşik 12)



0,560 g (5 mmol) (2*E*,4*E*)-Hekza-2,4-dienoik asit ve 1,178 g (5 mmol) 2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, asetonla yıkanarak saflaştırılmıştır. Kirli beyaz renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 161 °C, verim 0,916 g (%50)'dir.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-*d*₆, 400 MHz); δ 1,88 (d, *J* = 5,6 Hz, 3H, CH₃); 5,85 (s, 2H, CH₂N); 6,11 (d, *J* = 15,6 Hz, 1H, COCH); 6,35-6,46 (m, 2H, CHCHCH₃); 7,43-7,50 (m, 1H, COCHCH); 7,55 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, 4-klorobenzen H^{3,5}); 7,61 (s, 1H, imidazol H⁴); 7,71 (s, 1H, imidazol H⁵); 7,77 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H, 4-klorobenzen H^{2,6}); 9,25 (s, 1H, imidazol H²) ppm'de pikler görülür.

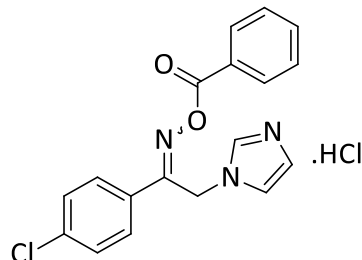
¹³C-NMR spektrumunda (DMSO-*d*₆, 400 MHz); δ 19,06 (CH₃); 44,83 (CH₂N); 115,97 (COCH); 120,97 (imidazol C⁵); 123,01 (imidazol C⁴); 129,41-130,05 (4-klorobenzen C^{2,3,5,6}); 130,19 (CHCHCH₃); 130,49 (4-klorobenzen C¹); 136,47 (4-klorobenzen C⁴); 136,63 (imidazol C²); 142,64 (CHCH₃); 148,03 (COCHCH); 159,12 (CNO); 163,57 (CO) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (*m/z*); 354 ([*M*+2+Na]⁺), 352 ([*M*+Na]⁺, %100), 332 ([*M*+2+H]⁺), 330 ([*M*+H]⁺) ve 82'de pikler görülür.

Analiz: C₁₇H₁₇Cl₂N₃O₂ için, M.A. 366,24

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	55,75	4,68	11,47
Bulunan :	55,32	4,75	11,29

**[2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etiliden]amino benzoat hidroklorür
(Bileşik 13)**



0,611 g (5 mmol) Benzoik asit ve 1,178 g (5 mmol) 2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, asetonla yıkanarak saflaştırılmıştır. Beyaz renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 172-4 °C, verim 0,997 g (%53)'dir.

IR spektrumunda (KBr); 3060 (C-H gerilim, aromatik), 2912 (C-H gerilim, alifatik), 1745 (C=O gerilim, oksim ester), 1181 (C-O gerilim, oksim ester), 914 (N-O gerilim) cm^{-1} 'de pikler görülür.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 5,85 (s, 2H, CH_2N); 7,55-7,92 (m, 9H, 4-klorobenzen $\text{H}^{2,3,5,6}$, benzen $^{3-5}$, imidazol $\text{H}^{4,5}$); 8,13-8,15 (m, 2H, benzen $\text{H}^{2,6}$); 9,28 (s, 1H, imidazol H^2) ppm'de pikler görülür.

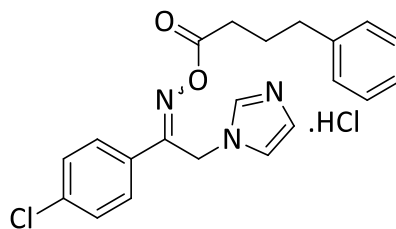
$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 45,25 (CH_2N); 121,08 (imidazol C^5); 123,07 (imidazol C^4); 128,14-136,55 (4-klorobenzen C^{1-6} , benzen C^{1-6}); 136,84 (imidazol C^2); 160,56 (CNO); 162,80 (CO) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 364 ($[\text{M}+2+\text{Na}]^+$), 362 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, %100), 342 ($[\text{M}+2+\text{H}]^+$), 340 ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ve 82'de pikler görülür.

Analiz: $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_2$ için, M.A. 376,24

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	57,46	4,02	11,17
Bulunan :	57,26	4,17	11,15

[2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etiliden]amino 4-fenilbütanoat hidroklorür (Bileşik 14)



0,821 g (5 mmol) 4-Fenilbütanoik asit ve 1,178 g (0.003 mol) 2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, İPA/dietil eter karışımından kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Kirli beyaz renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 126-7 °C, verim 1,109 g (%53)'dir.

IR spektrumunda (KBr); 3096 (C-H gerilim, aromatik), 2920 (C-H gerilim, alifatik), 1763 (C=O gerilim, oksim ester), 1082 (C-O gerilim, oksim ester), 936 (N-O gerilim) cm^{-1} 'de pikler görülür.

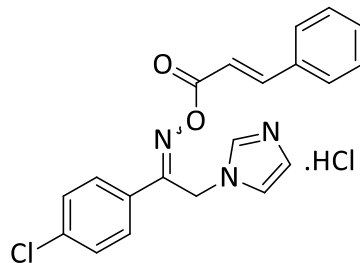
$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 1,89-1,97 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$); 2,58 (t, $J_1 = 7,6$ Hz, $J_2 = 7,2$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$); 2,66 (t, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 7,2$ Hz, 2H, COCH_2); 5,79 (s, 2H, CH_2N); 7,19-7,24 (m, 3H, benzen $\text{H}^{2,4,6}$); 7,29-7,33 (m, 2H, benzen $\text{H}^{3,5}$); 7,55 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{3,5}$); 7,60 (t, $J_1 = 1,6$ Hz, $J_2 = 1,6$ Hz, 1H, imidazol H^4); 7,68 (t, $J_1 = 2,0$ Hz, $J_2 = 1,6$ Hz, 1H, imidazole H^5); 7,75 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{2,6}$); 9,23 (s, 1H, imidazol H^2) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 406 ($[\text{M}+2+\text{Na}]^+$), 404 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$), 384 ($[\text{M}+2+\text{H}]^+$), 382 ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ve 82 (%100)'de pikler görülür.

Analiz: $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_2 \cdot 3/2\text{H}_2\text{O}$ için, M.A. 445,34

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	56,64	5,43	9,44
Bulunan :	56,31	5,34	9,48

[2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etiliden]amino 3-fenilprop-2-enoat hidroklorür (Bileşik 15)



0,741 g (5 mmol) (2*E*)-3-Fenilprop-2-enoik asit ve 1,178 g (5 mmol) 2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, metanol/dietil eter karışımından kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Kirli beyaz renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 145-6 °C, verim 1,086 g (%54)'dır.

IR spektrumunda (KBr); 3086 (C-H gerilim, aromatik), 2996 (C-H gerilim, alifatik), 1759 (C=O gerilim, oksim ester), 1098 (C-O gerilim, oksim ester), 982 (N-O gerilim) cm^{-1} 'de pikler görülür.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 5,79 (s, 2H, CH_2N); 6,92 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H, COCH); 7,48-7,51 (m, 3H, benzen H^{3-5}); 7,58 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{3,5}$); 7,63 (t, $J_1 = 1,6$ Hz, $J_2 = 1,6$ Hz, 1H, imidazol H^4); 7,76 (t, $J_1 = 2,0$ Hz, $J_2 = 1,6$ Hz, 1H, imidazole H^5); 7,81-7,83 (m, 4H, benzen $\text{H}^{2,6}$, 4-klorobenzen $\text{H}^{2,6}$); 7,91 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H, CHC_6H_5); 9,32 (s, 1H, imidazol H^2) ppm'de pikler görülür.

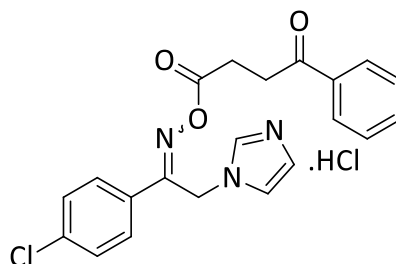
$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 42,25 (CH_2N); 115,70 (COCH); 121,06 (imidazol C^5); 123,20 (imidazol C^4); 129,07-136,60 (4-klorobenzen C^{1-6} , benzen C^{1-6}); 136,77 (imidazol C^2); 146,33 (CHC_6H_5); 159,36 (CNO); 163,38 (CO) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 390 ($[\text{M}+2+\text{Na}]^+$), 388 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, %100), 368 ($[\text{M}+2+\text{H}]^+$), 366 ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ve 82'de pikler görülür.

Analiz: $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_2$ için, M.A. 402,27

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	59,71	4,26	10,45
Bulunan :	59,42	4,40	10,32

[2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etiliden]amino 3-benzoilpropanoat hidroklorür (Bileşik 16)



0,891 g (5 mmol) 3-Benzoilpropanoik asit ve 1,178 g (5 mmol) 2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, İPA/dietil eter karışımından kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Kirli beyaz renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 141-2 °C, verim 1,146 g (%53)'dir.

IR spektrumunda (KBr); 3100, 3052 (C-H gerilim, aromatik), 2925 (C-H gerilim, alifatik), 1785 (C=O gerilim, oksim ester), 1106 (C-O gerilim, oksim ester), 972 (N-O gerilim) cm^{-1} 'de pikler görülür.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 2,94 (t, $J_1 = 6,4$ Hz, $J_2 = 6,4$ Hz, 2H, OCOCH₂); 3,47 (t, $J_1 = 6,4$ Hz, $J_2 = 6,0$ Hz, 2H, CH₂COC₆H₅); 5,83 (s, 2H, CH₂N); 7,54-7,58 (m, 4H, 4-klorobenzen H^{3,5}, benzen H^{3,5}); 7,62 (t, $J_1 = 1,6$ Hz, $J_2 = 1,6$ Hz, 1H, imidazol H⁴); 7,66-7,67 (m, 1H, benzen H⁴); 7,70 (t, $J_1 = 2,0$ Hz, $J_2 = 1,6$ Hz, 1H, imidazol H⁵); 7,77 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, 4-klorobenzen H^{2,6}); 8,01-8,03 (m, 2H, benzen H^{2,6}); 9,25 (s, 1H, imidazol H²) ppm'de pikler görülür.

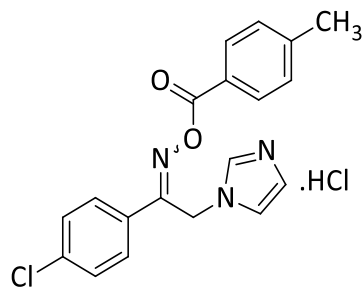
$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 27,03 (OCOCH₂); 33,45 (CH₂COC₆H₅); 44,69 (CH₂N); 121,07 (imidazol C⁵); 123,11 (imidazol C⁴); 128,34-136,99 (4-klorobenzen C¹⁻⁶, benzen C¹⁻⁶); 136,58 (imidazol C²); 159,11 (CNO); 170,14 (OCO); 198,65 (COC₆H₅) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 420 ([M+2+Na]⁺), 418 ([M+Na]⁺, %100), 396 ([M+H]⁺) ve 82'de pikler görülür.

Analiz: C₂₁H₁₉Cl₂N₃O₃ için, M.A. 432,30

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	56,01	4,70	9,33
Bulunan :	55,72	4,71	9,34

[2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etiliden]amino 4-metilbenzoat hidroklorür (Bileşik 17)



0,681 g (5 mmol) 4-Metilbenzoik asit ve 1,178 g (5 mmol) 2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, asetonla yıkanarak saflaştırılmıştır. Beyaz renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 176-8 °C, verim 1,012 g (%52)'dir.

IR spektrumunda (KBr); 3058 (C-H gerilim, aromatik), 2919 (C-H gerilim, alifatik), 1737 (C=O gerilim, oksim ester), 1170 (C-O gerilim, oksim ester), 921 (N-O gerilim) cm^{-1} 'de pikler görülür.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 2,41 (s, 3H, CH_3); 6,00 (s, 2H, CH_2N); 7,40 (d, $J = 7,6$ Hz, 2H, 4-metilbenzen $\text{H}^{3,5}$); 7,54 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{3,5}$); 7,57 (t, $J_1 = 1,6$ Hz, $J_2 = 1,6$ Hz, 1H, imidazol H^4); 7,72-7,76 (m, 3H, imidazole H^5 , 4-klorobenzen $\text{H}^{2,6}$); 8,01 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H, 4-metilbenzen $\text{H}^{2,6}$); 9,25 (s, 1H, imidazol H^2) ppm'de pikler görülür.

$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 21,25 (CH_3); 44,83 (CH_2N); 120,38 (imidazol C^5); 122,59 (imidazol C^4); 124,80 (4-metilbenzen C^1); 128,90-129,71 (4-klorobenzen $\text{C}^{2,3,5,6}$, 4-metilbenzen $\text{C}^{2,3,5,6}$); 129,79 (4-klorobenzen C^1); 135,98 (4-klorobenzen C^4); 136,27 (imidazol C^2); 144,80 (4-metilbenzen C^4); 159,85 (CNO); 162,28 (CO) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 378 ($[\text{M}+2+\text{Na}]^+$), 376 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, %100), 356 ($[\text{M}+2+\text{H}]^+$), 354 ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ve 82'de pikler görülür.

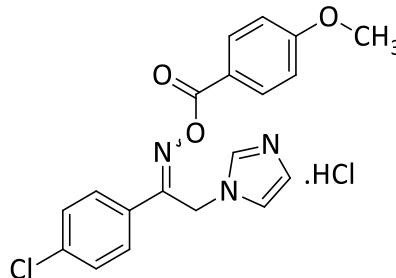
Analiz: $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_2 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$ için, M.A. 398,08

%C	%H	%N
----	----	----

Hesaplanan:	57,16	4,54	10,52
-------------	-------	------	-------

Bulunan : 57,53 4,27 10,64

[2-(1*H*-İmidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etiliden]amino 4-metoksibenzoat hidroklorür (Bileşik 18)



0,761 g (5 mmol) 4-Metoksibenzoik asit ve 1,178 g (5 mmol) 2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, asetonla yıkanarak saflaştırılmıştır. Beyaz renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 142-4 °C, verim 1,036 g (%51)'dir.

IR spektrumunda (KBr); 3081, 3004 (C-H gerilim, aromatik), 2913 (C-H gerilim, alifatik), 1755 (C=O gerilim, oksim ester), 1164 (C-O gerilim, oksim ester), 917 (N-O gerilim) cm^{-1} 'de pikler görülür.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 3,88 (s, 3H, CH_3); 5,98 (s, 2H, CH_2N); 7,12 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, 4-metoksibenzen $\text{H}^{3,5}$); 7,51 (t, $J_1 = 1,6$ Hz, $J_2 = 1,6$ Hz, 1H, imidazol H^4); 7,55 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{3,5}$); 7,67 (t, $J_1 = 2,0$ Hz, $J_2 = 1,6$ Hz, imidazol H^5); 7,76 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{2,6}$); 8,09 (d, $J = 9,2$ Hz, 2H, 4-metoksibenzen $\text{H}^{2,6}$); 9,10 (s, 1H, imidazol H^2) ppm'de pikler görülür.

$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 44,55 (CH_2N); 55,65 (CH_3); 114,35 (4-metoksibenzen $\text{C}^{3,5}$); 119,54 (4-metoksibenzen C^1); 121,07 (imidazol C^5); 122,32 (imidazol C^4); 128,87-131,97 (4-klorobenzen $\text{C}^{1-3,5,6}$, 4-metoksibenzen $\text{C}^{2,6}$); 135,91 (4-klorobenzen C^4); 136,37 (imidazol C^2); 159,68 (CNO); 161,99 (CO); 168,83 (4-metoksibenzen C^4) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 394 ($[\text{M}+2+\text{Na}]^+$), 392 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, % 100), 372 ($[\text{M}+2+\text{H}]^+$), (370 $[\text{M}+\text{H}]^+$) ve 82'de pikler görülür.

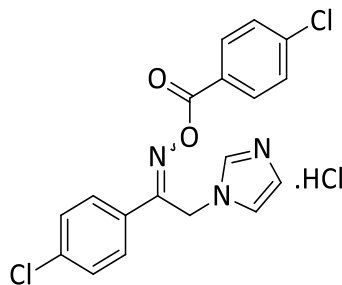
Analiz: $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_3 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$ için, M.A. 415,27

%C %H %N

Hesaplanan: 54,95 4,37 10,12

Bulunan : 54,95 4,55 10,49

**[2-(1*H*-İmidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etiliden]amino 4-klorobenzoat
hidroklorür (Bileşik 19)**



0,783 g (5 mmol) 4-Klorobenzoik asit ve 1,178 g (5 mmol) 2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, asetonla yıkanarak saflaştırılmıştır. Beyaz renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 161-2 °C, verim 1,540 g (%75)'dir.

IR spektrumunda (KBr); 3086, 3009 (C-H gerilim, aromatik), 2965 (C-H gerilim, alifatik), 1743 (C=O gerilim, oksim ester), 1177 (C-O gerilim, oksim ester), 916 (N-O gerilim) cm^{-1} 'de pikler görülür.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 6,04 (s, 2H, CH_2N); 7,55-7,60 (m, 3H, 4-klorobenzen $\text{H}^{3,5}$, imidazol H^4); 7,69 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{3',5'}$); 7,75-7,78 (m, 3H, 4-klorobenzen $\text{H}^{2,6}$, imidazol H^5); 8,16 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{2',6'}$); 9,27 (s, 1H, imidazol H^2) ppm'de pikler görülür.

$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 44,50 (CH_2N); 121,09 (imidazol C^5); 122,36 (imidazol C^4); 126,53 (4-klorobenzen C^1); 128,93-131,35 (4-klorobenzen $\text{C}^{1-3,5,6}$, 4-klorobenzen $\text{C}^{2',3',5',6'}$); 136,07 (4-klorobenzen C^4); 136,42 (imidazol C^2); 139,17 (4-klorobenzen C^4); 160,43 (CNO); 161,60 (CO) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 398 $[\text{M}+2+\text{Na}]^+$, 396 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, %100, 378 $[\text{M}+4+\text{H}]^+$, 376 $[\text{M}+2+\text{H}]^+$, 374 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ve 82'de pikler görülür.

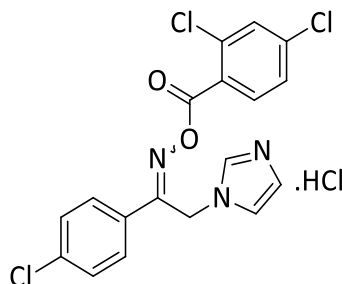
Analiz: $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{Cl}_3\text{N}_3\text{O}_2 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$ için, M.A. 419,69

%C %H %N

Hesaplanan: 51,51 3,60 10,01

Bulunan : 51,83 3,40 10,16

**[2-(1*H*-İmidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etiliden]amino 2,4-diklorobenzoat
hidroklorür (Bileşik 20)**



0,955 g (5 mmol) 2,4-Diklorobenzoik asit ve 1,178 g (5 mmol) 2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, asetonla yıkanarak saflaştırılmıştır. Beyaz renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 156-9 °C, verim 1,024 g (%46)'dır.

IR spektrumunda (KBr); 3055 (C-H gerilim, aromatik), 2940 (C-H gerilim, alifatik), 1754 (C=O gerilim, oksim ester), 1141 (C-O gerilim, oksim ester), 924 (N-O gerilim) cm^{-1} 'de pikler görülür.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 5,91 (s, 2H, CH_2N); 7,53-7,56 (m, 3H, 4-klorobenzen $\text{H}^{3,5}$, imidazol H^4); 7,64 (dd, $J_1 = 8,4$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz, 1H, 2,4-diklorobenzen H^5); 7,67 (t, $J_1 = 1,6$ Hz, $J_2 = 1,6$ Hz, imidazol H^5); 7,74 (d, $J = 8,8$ Hz, 4-klorobenzen $\text{H}^{2,6}$); 7,88 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, 2,4-diklorobenzen H^3); 8,04 (d, $J = 7,1$ Hz, 1H, 2,4-diklorobenzen H^6); 9,17 (s, 1H, imidazol H^2) ppm'de pikler görülür.

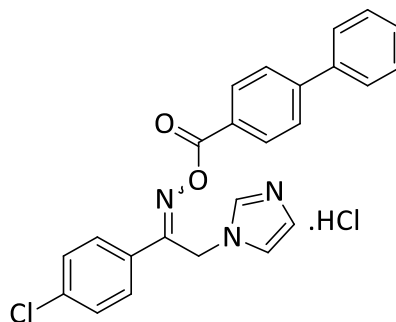
$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 44,67 (CH_2N); 121,23 (imidazol C^5); 122,25 (imidazol C^4); 126,64 (2,4-diklorobenzen C^1); 127,88 (2,4-diklorobenzen C^5); 128,95-129,66 (4-klorobenzen $\text{C}^{2,3,5,6}$, 4-klorobenzen C^1); 130,65 (2,4-diklorobenzen C^3); 133,10 (2,4-diklorobenzen C^6); 133,70 (2,4-diklorobenzen C^2); 136,17 (4-klorobenzen C^4); 136,49 (imidazol C^2); 138,14 (2,4-diklorobenzen C^4); 160,74 (CNO, CO) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 436 ([M+6+Na]⁺), 434 ([M+4+Na]⁺), 432 ([M+2+Na]⁺), 430 ([M+Na]⁺, %100), 410 ([M+2+H]⁺), 408 ([M+H]⁺) ve 82'de pikler görülür.

Analiz: C₁₈H₁₃Cl₄N₃O₂ için, M.A. 445,13

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	48,57	2,94	9,44
Bulunan :	48,89	3,29	9,80

[2-(1*H*-İmidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etiliden]amino 4-fenilbenzoat hidroklorür (Bileşik 21)



0,991 g (5 mmol) 4-Fenilbenzoik asit ve 1,178 g (5 mmol) 2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, asetonla yıkanarak saflaştırılmıştır. Kirli beyaz renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 157-60 °C, verim 0,859 g (%38)'dir.

IR spektrumunda (KBr); 3055, 3002 (C-H gerilim, aromatik), 2933 (C-H gerilim, alifatik), 1739 (C=O gerilim, oksim ester), 1200 (C-O gerilim, oksim ester), 912 (N-O gerilim) cm⁻¹'de pikler görülür.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆, 400 MHz); δ 6,06 (s, 2H, CH₂N); 7,45-7,49 (m, 1H, benzen H⁴); 7,53-7,59 (m, 4H, 4-klorobenzen H^{3,5}, benzen H^{3,5}); 7,61 (t, J₁ = 1,6 Hz, J₂ = 1,2 Hz, 1H, imidazol H⁴); 7,78-7,81 (m, 5H, benzen H^{2,6}, 4-fenilbenzen H^{3,5}, imidazol H⁵); 7,91 (d, J = 8,8 Hz, 2H, 4-klorobenzen H^{2,6}); 8,22 (d, J = 8,4 Hz, 2H, 4-fenilbenzen H^{2,6}); 9,29 (s, 1H, imidazol H²) ppm'de pikler görülür.

¹³C-NMR spektrumunda (DMSO-d₆, 400 MHz); δ 45,32 (CH₂N); 121,04 (imidazol C⁵); 123,11 (imidazol C⁴); 126,89-146,07 (4-klorobenzen C¹⁻⁶, 4-fenilbenzen

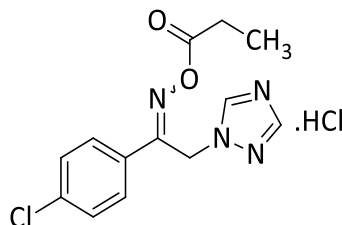
C¹⁻⁶, benzene C¹⁻⁶); 136,85 (imidazol C²); 160,54 (CNO); 162,68 (CO) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 440 ([M+2+Na]⁺), 438 ([M+Na]⁺), 418 ([M+2+H]⁺), 416 ([M+H]⁺), 82 ve 63 (%100)'te pikler görülür.

Analiz: C₂₄H₁₉Cl₂N₃O₂.3/2H₂O için, M.A. 479,36

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	60,14	4,63	8,77
Bulunan :	60,45	4,29	8,60

[1-(4-Klorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)etiliden]amino propanoat hidroklorür (Bileşik 22)



0,374 mL (5 mmol) Propanoik asit ve 1,183 g (5 mmol) 1-(4-klorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, etanol/dietil eter karışımından kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Beyaz renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 137-9 °C, verim 0,468 g (%32)'dir.

IR spektrumunda (KBr); 3156 (C-H gerilim, aromatik), 2980 (C-H gerilim, alifatik), 1768 (C=O gerilim, oksim ester), 1092 (C-O gerilim, oksim ester), 917 (N-O gerilim) cm⁻¹'de pikler görülür.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆, 400 MHz); δ 1,11 (t, J₁: = 7,2 Hz, J₂ = 7,2 Hz, 3H, CH₃); 2,57 (q, 2H, CH₂CH₃); 5,73 (s, 2H, CH₂N); 7,50 (d, J = 8,4 Hz, 2H, 4-klorobenzen H^{3,5}); 7,75 (d, J = 8,8 Hz, 2H, 4-klorobenzen H^{2,6}); 7,95 (s, 1H, triazol H³); 8,76 (s, 1H, triazol H⁵) ppm'de pikler görülür.

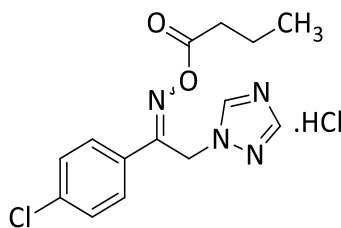
¹³C-NMR spektrumunda (DMSO-d₆, 400 MHz); δ 8,68 (CH₃); 25,33 (CH₂CH₃); 44,40 (CH₂N); 128,76-129,34 (4-klorobenzen C^{2,3,5,6}); 130,87 (4-klorobenzen C¹); 135,73 (4-klorobenzen C⁴); 145,15 (triazol C⁵); 151,18 (triazol C³); 159,01 (CNO); 175,16 (CO) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 317 ([M+2+Na]⁺), 315 ([M+Na]⁺, %100) ve 293 ([M+H]⁺)'te pikler görülür.

Analiz: C₁₃H₁₄Cl₂N₄O₂ için, M.A. 329,18

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	47,43	4,29	17,02
Bulunan :	47,56	4,42	17,03

[1-(4-Klorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)etiliden]amino bütanoat hidroklorür (Bileşik 23)



0,462 mL (5 mmol) Bütanoik asit ve 1,183 g (5 mmol) 1-(4-klorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, etanol/dietil eter karışımından kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Beyaz renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 137-40 °C, verim 0,618 g (%36)'dır.

IR spektrumunda (KBr); 3055 (C-H gerilim, aromatik), 2962, 2934 (C-H gerilim, alifatik), 1755 (C=O gerilim, oksim ester), 1089 (C-O gerilim, oksim ester), 920 (N-O gerilim) cm⁻¹'de pikler görülür.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆, 400 MHz); δ 0,93 (t, J₁ = 7,6 Hz, J₂ = 7,2 Hz, 3H, CH₃); 1,60-1,65 (m, 2H, CH₂CH₃); 2,52 (t, 2H, COCH₂, DMSO CH₃ ile birlikte); 5,71 (s, 2H, CH₂N); 7,52 (d, J = 8,4 Hz, 2H, 4-klorobenzen H^{3,5}); 7,77 (d, J = 8,4 Hz, 2H, 4-klorobenzen H^{2,6}); 7,95 (s, 1H, triazol H³); 8,74 (s, 1H, triazol H⁵) ppm'de pikler görülür.

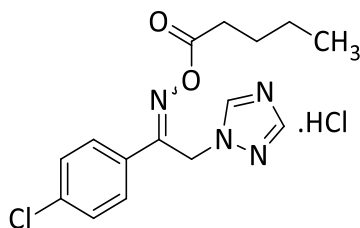
¹³C-NMR spektrumunda (DMSO-d₆, 400 MHz); δ 13,48 (CH₃); 17,66 (CH₂CH₃); 33,63 (COCH₂), 44,44 (CH₂N); 128,76-129,35 (4-klorobenzen C^{2,3,5,6}); 130,88 (4-klorobenzen C¹); 135,74 (4-klorobenzen C⁴); 145,11 (triazol C⁵); 151,10 (triazol C³); 158,99 (CNO); 169,72 (CO) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 331 ([M+2+Na]⁺), 329 ([M+Na]⁺, %100) ve 307 ([M+H]⁺)'de pikler görülür.

Analiz: C₁₄H₁₆Cl₂N₄O₂ için, M.A. 342,22

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	48,99	4,70	16,32
Bulunan :	48,85	4,82	16,15

[1-(4-Klorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)etiliden]amino pentanoat hidroklorür (Bileşik 24)



0,549 mL (5 mmol) Pentanoik asit ve 1,183 g (5 mmol) 1-(4-klorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, İPA/dietil eter karışımından kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Kirli beyaz renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 140-2 °C, verim 0,392 g (%22)'dir.

IR spektrumunda (KBr); 3127 (C-H gerilim, aromatik), 2960, 2873 (C-H gerilim, alifatik), 1767 (C=O gerilim, oksim ester), 1083 (C-O gerilim, oksim ester), 901 (N-O gerilim) cm⁻¹'de pikler görülür.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆, 400 MHz); δ 0,90 (t, J₁ = 7,6 Hz, J₂: 7,2 Hz, 3H, CH₃); 1,29-1,36 (m, 2H, CH₂CH₃); 1,54-1,62 (m, 2H, CH₂CH₂CH₃); 2,54 (t, J₁ = 7,6 Hz, J₂ = 7,2 Hz, 2H, COCH₂); 5,73 (s, 2H, CH₂N); 7,53 (d, J = 8,4 Hz, 2H, 4-klorobenzen H^{3,5}); 7,78 (d, J = 8,4 Hz, 2H, 4-klorobenzen H^{2,6}); 7,99 (s, 1H, triazol H³); 8,80 (s, 1H, triazol H⁵) ppm'de pikler görülür.

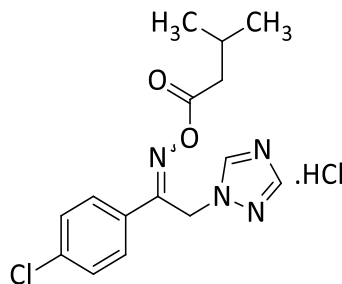
¹³C-NMR spektrumunda (DMSO-d₆, 400 MHz); δ 14,04 (CH₃); 22,02 (CH₂CH₃); 26,71 (CH₂CH₂CH₃); 32,01 (COCH₂), 44,95 (CH₂N); 129,26-129,84 (4-klorobenzen C^{2,3,5,6}); 131,38 (4-klorobenzen C¹); 136,24 (4-klorobenzen C⁴); 145,59 (triazol C⁵); 151,55 (triazol C³); 159,47 (CNO); 170,34 (CO) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 345 ([M+2+Na]⁺), 343 ([M+Na]⁺, %100) ve 321 ([M+H]⁺)'de pikler görülür.

Analiz: C₁₅H₁₈Cl₂N₄O₂ için, M.A. 357,24

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	50,43	5,08	15,68
Bulunan :	50,23	5,29	15,46

[1-(4-Klorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)etiliden]amino 3-metilbütanoat hidroklorür (Bileşik 25)



0,552 mL (5 mmol) 3-Metilbütanoik asit ve 1,183 g (5 mmol) 1-(4-klorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, metanol/dietil eter karışımından kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Kirli beyaz renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 132-4 °C, verim 0,508 g (%28)'dir.

IR spektrumunda (KBr); 2966 (C-H gerilim, alifatik), 1768 (C=O gerilim, oksim ester), 1081 (C-O gerilim, oksim ester), 920 (N-O gerilim) cm^{-1} 'de pikler görülür.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 0,95 (d, $J = 6,8$ Hz, 6H, CH_3); 2,02-2,09 (m, 1H, CH); 2,43 (d, $J = 6,8$ Hz, 2H, COCH_2); 5,72 (s, 2H, CH_2N); 7,53 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{3,5}$); 7,79 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{2,6}$); 7,97 (s, 1H, triazol H^3); 8,77 (s, 1H, triazol H^5) ppm'de pikler görülür.

$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 22,03 (2C, CH_3); 22,05 (CH); 40,63 (COCH_2); 44,40 (CH_2N); 128,75-129,36 (4-klorobenzen $\text{C}^{2,3,5,6}$); 130,93 (4-klorobenzen C^1); 135,72 (4-klorobenzen C^4); 145,19 (triazol C^5); 151,35 (triazol C^3); 159,06 (CNO); 168,93 (CO) ppm'de pikler görülür.

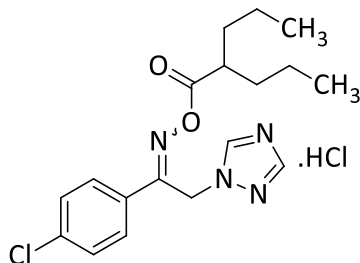
Kütle spektrumunda (m/z); 345 ($[\text{M}+2+\text{Na}]^+$), 343 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, %100) ve 321 ($[\text{M}+\text{H}]^+$)'de pikler görülür.

Analiz: $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_2 \cdot 1/3\text{H}_2\text{O}$ için, M.A. 363,24

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	49,60	5,18	15,42

Bulunan : 49,74 4,93 15,65

[1-(4-Klorofenil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)etiliden]amino 2-propilpentanoat hidroklorür (Bileşik 26)



0,801 mL (5 mmol) 2-Propilpentanoik asit ve 1,183 g (5 mmol) 1-(4-klorofenil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, asetonla yıkanarak saflaştırılmıştır. Kirli beyaz renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 125-7 °C, verim 0,579 g (%29)'dür.

IR spektrumunda (KBr); 3089 (C-H gerilim, aromatik), 2956, 2872 (C-H gerilim, alifatik), 1760 (C=O gerilim, oksim ester), 1092 (C-O gerilim, oksim ester), 914 (N-O gerilim) cm^{-1} 'de pikler görülür.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 0,87 (t, $J_1 = 7,2$ Hz, $J_2 = 7,2$ Hz, 6H, CH_3); 1,22-1,29 (m, 4H, CH_2CH_3); 1,44-1,59 (m, 4H, CH-CH_2); 2,56-2,61 (m, 1H, CH); 5,71 (s, 2H, CH_2N); 7,53 (d, $J = 6,8$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{3,5}$); 7,79 (d, $J = 6,8$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{2,6}$); 7,96 (s, 1H, triazol H^3); 8,76 (s, 1H, triazol H^5) ppm'de pikler görülür.

$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 13,29 (2C, CH_3); 19,99 (2C, CH_2CH_3); 33,91 (2C, CH-CH_2); 43,07 (CH); 44,57 (CH_2N); 128,79-129,41 (4-klorobenzen $\text{C}^{2,3,5,6}$); 131,02 (4-klorobenzen C^1); 135,77 (4-klorobenzen C^4); 145,04 (triazol C^5); 151,11 (triazol C^3); 159,10 (CNO); 171,93 (CO) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 387 ($[\text{M}+2+\text{Na}]^+$), 385 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, % 100) ve 363 ($[\text{M}+\text{H}]^+$)'te pikler görülür.

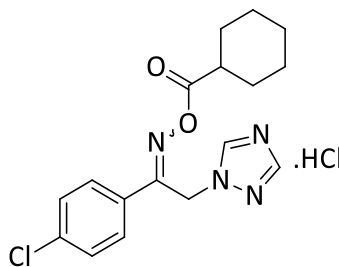
Analiz: $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_2$ için, M.A. 399,31

%C	%H	%N
----	----	----

Hesaplanan:	54,14	6,06	14,03
-------------	-------	------	-------

Bulunan : 54,07 6,32 14,03

**[1-(4-Klorofenil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)etiliden]amino
sikloheksankarboksilat hidroklorür (Bileşik 27)**



0,620 mL (5 mmol) Sikloheksankarboksilik asit ve 1,183 g (5 mmol) 1-(4-klorofenil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, asetonla yıkanarak saflaştırılmıştır. Kirli beyaz renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 133-5 °C, verim 0,517 g (%27)'dir.

IR spektrumunda (KBr); 3004 (C-H gerilim, aromatik), 2940, 2855 (C-H gerilim, alifatik), 1767 (C=O gerilim, oksim ester), 1100 (C-O gerilim, oksim ester), 929 (N-O gerilim) cm^{-1} 'de pikler görülür.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 1,17-1,88 (m, 10H, sikloheksan CH_2); 2,52-2,30 (m, 1H, sikloheksan CH); 5,71 (s, 2H, CH_2N); 7,50 (d, $J = 9,2$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{3,5}$); 7,74 (d, $J = 9,2$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{2,6}$); 7,95 (s, 1H, triazol H^3); 8,75 (s, 1H, triazol H^5) ppm'de pikler görülür.

$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 24,74-28,40 (sikloheksan C^{2-6}); 40,90 (sikloheksan C^1); 44,55 (CH_2N); 128,79-129,37 (4-klorobenzen $\text{C}^{2,3,5,6}$); 131,95 (4-klorobenzen C^1); 135,75 (4-klorobenzen C^4); 145,04 (triazol C^5); 151,06 (triazol C^3); 159,26 (CNO); 171,47 (CO) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 371 ($[\text{M}+2+\text{Na}]^+$), 369 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, % 100) ve 347 ($[\text{M}+\text{H}]^+$)'de pikler görülür.

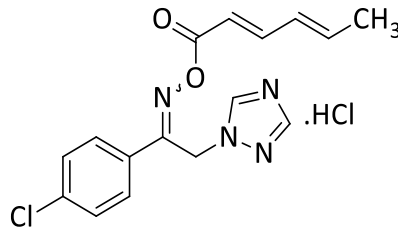
Analiz: $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_2$ için, M.A. 383,27

%C	%H	%N
----	----	----

Hesaplanan: 53,27 5,26 14,62

Bulunan : 53,12 5,19 14,60

[1-(4-Klorofenil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)etiliden]amino hekza-2,4-dienoat hidroklorür (Bileşik 28)



0,560 g (5 mmol) (2*E*,4*E*)-Hekza-2,4-dienoik asit ve 1,183 g (5 mmol) 1-(4-klorofenil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, asetonla yıkanarak saflaştırılmıştır. Kirli beyaz renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 154-6 °C, verim 0,698 g (%38)'dir.

IR spektrumunda (KBr); 3115 (C-H gerilim, aromatik), 3003 (C-H gerilim, olefinik), 2940, 2855 (C-H gerilim, alifatik), 1744 (C=O gerilim, oksim ester), 1182 (C-O gerilim, oksim ester), 1106 (C-O gerilim, oksim ester), 910 (N-O gerilim) cm^{-1} 'de pikler görülür.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 1,87 (d, $J = 5,2$ Hz, 3H, CH_3); 5,78 (s, 2H, CH_2N); 6,11 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, COCH); 6,38-6,41 (m, 2H, CHCHCH_3); 7,41-7,47 (m, 1H, COCHCH); 7,54 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{3,5}$); 7,80 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{2,6}$); 7,96 (s, 1H, triazol H^3); 8,76 (s, 1H, triazol H^5) ppm'de pikler görülür.

$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 18,56 (CH_3); 44,58 (CH_2N); 115,61 (COCH); 128,79-129,41 (4-klorobenzen $\text{C}^{2,3,5,6}$); 129,74 (CHCHCH_3); 131,01 (4-klorobenzen C^1); 135,77 (4-klorobenzen C^4); 141,91 (CHCH_3); 145,10 (triazol C^5); 147,36 (COCHCH); 151,00 (triazol C^3); 158,99 (CNO); 163,18 (CO) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 355 ($[\text{M}+2+\text{Na}]^+$), 353 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, %100) ve 330 ($[\text{M}+\text{H}]^+$)'da pikler görülür.

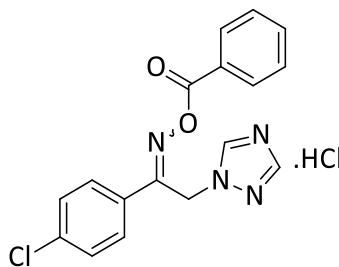
Analiz: $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_2$ için, M.A. 367,23

%C %H %N

Hesaplanan: 52,33 4,39 15,26

Bulunan : 52,43 4,63 15,06

**[1-(4-Klorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)etiliden]amino benzoat hidroklorür
(Bileşik 29)**



0,611 g (5 mmol) Benzoik asit ve 1,183 g (5 mmol) 1-(4-klorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, asetonla yıkanarak saflaştırılmıştır. Kirli beyaz renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 144-6 °C, verim 0,924 g (%49)'dir.

IR spektrumunda (KBr); 3124, 3054 (C-H gerilim, aromatik), 2980 (C-H gerilim, alifatik), 1739 (C=O gerilim, oksim ester), 1166 (C-O gerilim, oksim ester), 914 (N-O gerilim) cm^{-1} 'de pikler görülür.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 5,94 (s, 2H, CH_2N); 7,56 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{3,5}$); 7,59-7,63 (m, 2H, benzen $\text{H}^{3,5}$); 7,34-7,78 (m, 1H, benzen H^4); 7,82 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{2,6}$); 7,96 (s, 1H, triazol H^3); 8,12-8,15 (m, 2H, benzen $\text{H}^{2,6}$); 8,76 (s, 1H, triazol H^5) ppm'de pikler görülür.

$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 44,74 (CH_2N); 127,67 (benzen C^1); 128,80-129,58 (4-klorobenzen $\text{C}^{2,3,5,6}$, benzen $\text{C}^{2,3,5,6}$); 130,73 (benzen C^4); 134,12 (4-klorobenzen C^1); 135,86 (4-klorobenzen C^4); 144,98 (triazol C^5); 151,28 (triazol C^3); 160,25 (CNO); 162,44 (CO) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 365 ($[\text{M}+2+\text{Na}]^+$), 363 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, %100) ve 219'da pikler görülür.

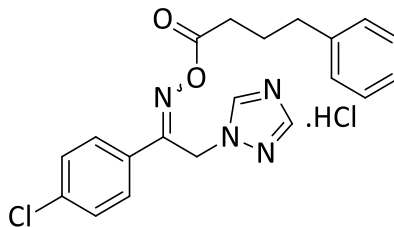
Analiz: $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_2$ için, M.A. 376,05

%C	%H	%N
----	----	----

Hesaplanan: 54,13 3,74 14,85

Bulunan : 53,77 3,80 15,13

[1-(4-Klorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)etiliden]amino 4-fenilbütanoat hidroklorür (Bileşik 30)



0,821 g (5 mmol) 4-Fenilbütanoik asit ve 1,183 g (5 mmol) 1-(4-klorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, asetonla yıkanarak saflaştırılmıştır. Kirli beyaz renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 122-4 °C, verim 0,440 g (%21)'dir.

IR spektrumunda (KBr); 3141 (C-H gerilim, aromatik), 2981 (C-H gerilim, alifatik), 1768 (C=O gerilim, oksim ester), 1091 (C-O gerilim, oksim ester), 912 (N-O gerilim) cm^{-1} 'de pikler görülür.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 1,86-1,94 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$); 2,54 (t, $J_1 = 7,2$ Hz, $J_2 = 7,2$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$); 2,63 (t, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 7,6$ Hz, 2H, COCH_2); 5,69 (s, 2H, CH_2N); 7,15-7,21 (m, 3H, benzen $\text{H}^{2,4,6}$); 7,26-7,29 (m, 2H, benzen $\text{H}^{3,5}$); 7,50 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{3,5}$); 7,74 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{2,6}$); 7,91 (s, 1H, triazol H^3); 8,67 (s, 1H, triazol H^5) ppm'de pikler görülür.

$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 25,95 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$); 31,39 ($\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$); 34,25 (COCH_2); 44,53 (CH_2N); 125,94 (benzen C^4); 128,33-128,79 (benzen $\text{C}^{2,3,5,6}$, 4-klorobenzen $\text{C}^{2,3,5,6}$); 130,87 (4-klorobenzen C^1); 135,78 (4-klorobenzen C^4); 141,23 (benzen C^1); 145,15 (triazol C^5); 151,20 (triazol C^3); 159,09 (CNO); 169,73 (CO) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 407 ($[\text{M}+2+\text{Na}]^+$), 405 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, %100) ve 383 ($[\text{M}+\text{H}]^+$)'te pikler görülür.

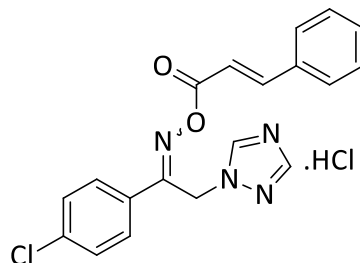
Analiz: $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_2$ için, M.A. 419,31

%C	%H	%N
----	----	----

Hesaplanan: 57,29 4,81 13,36

Bulunan : 56,96 5,04 13,73

[1-(4-Klorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)etiliden]amino 3-fenilprop-2-enoat hidroklorür (Bileşik 31)



0,741 g (5 mmol) (2E)-3-Fenilprop-2-enoik asit ve 1,183 g (5 mmol) 1-(4-klorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, asetonla yıkanarak saflaştırılmıştır. Kirli beyaz renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 163-5 °C, verim 0,484 g (%24)'dir.

IR spektrumunda (KBr); 3100 (C-H gerilim, aromatik), 2956 (C-H gerilim, alifatik), 1745 (C=O gerilim, oksim ester), 1113 (C-O gerilim, oksim ester), 913 (N-O gerilim) cm^{-1} 'de pikler görülür.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 5,84 (s, 2H, CH_2N); 6,92 (d, $J = 16$ Hz, 1H, COCH); 7,48-7,50 (m, 3H, benzen H^{3-5}); 7,56 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, benzen $\text{H}^{2,6}$); 7,82-7,89 (m, 5H, 4-klorobenzen 2,3,5,6 , CHC_6H_5); 7,99 (s, 1H, triazol H^3); 8,89 (s, 1H, triazol H^5) ppm'de pikler görülür.

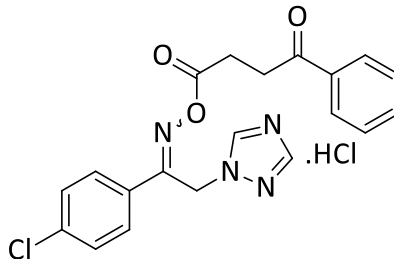
$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 44,44 (CH_2N); 115,28 (COCH); 128,64-129,43 (benzen $^{1-6}$); 130,95 (4-klorobenzen $\text{C}^{3,5}$); 131,00 (4-klorobenzen C^1); 133,86 (4-klorobenzen $\text{C}^{2,6}$); 135,80 (4-klorobenzen C^4); 145,34 (triazol C^5); 146,59 (CHC_6H_5); 151,48 (triazol C^3); 159,45 (CNO); 169,01 (CO) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 391 ($[\text{M}+2+\text{Na}]^+$), 389 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, %100) ve 367 ($[\text{M}+\text{H}]^+$)'de pikler görülür.

Analiz: $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_2$ için, M.A. 403,26

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	56,59	4,00	13,89
Bulunan :	56,25	4,14	13,59

[1-(4-Klorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)etiliden]amino 3-benzoilpropanoat hidroklorür (Bileşik 32)



0,891 g (5 mmol) 3-Benzoilpropanoik asit ve 1,183 g (5 mmol) 1-(4-klorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, asetonla yıkanarak saflaştırılmıştır. Açık sarı renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 158-9 °C, verim 0,417 g (%21)'dir.

IR spektrumunda (KBr); 3032 (C-H gerilim, aromatik), 2980 (C-H gerilim, alifatik), 1783 (C=O gerilim, oksim ester), 1104 (C-O gerilim, oksim ester), 908 (N-O gerilim) cm^{-1} 'de pikler görülür.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 2,90 (t, $J_1 = 6,4$ Hz, $J_2 = 6,4$ Hz, 2H, OCOCH_2); 3,42 (t, $J_1 = 6,4$ Hz, $J_2 = 6,0$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{COC}_6\text{H}_5$); 5,74 (s, 2H, CH_2N); 7,49-7,55 (m, 4H, 4-klorobenzen $\text{H}^{3,5}$, benzen $\text{H}^{3,5}$); 7,62-7,66 (m, 1H, benzen H^4); 7,76 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{2,6}$); 7,93 (s, 1H, triazol H^3); 7,98-8,00 (m, 2H, benzen $\text{H}^{2,6}$); 8,89 (s, 1H, triazol H^5) ppm'de pikler görülür.

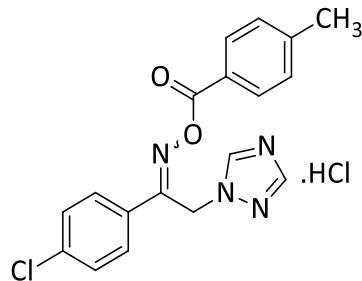
$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 26,53 (OCOCH_2); 32,95 ($\text{CH}_2\text{COC}_6\text{H}_5$); 44,48 (CH_2N); 127,92-129,39 (benzen $\text{C}^{2,3,5,6}$, 4-klorobenzen $\text{C}^{2,3,5,6}$); 130,84 (benzen C^4); 133,40 (4-klorobenzene C^1); 135,78 (4-klorobenzen C^4); 136,17 (benzen C^1); 145,14 (triazol C^5); 151,48 (triazol C^3); 159,09 (CNO); 169,68 (CO) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 421 ($[\text{M}+2+\text{Na}]^+$), 419 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, %100) ve 397 ($[\text{M}+\text{H}]^+$)'de pikler görülür.

Analiz: $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_2$ için, M.A. 433,29

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	55,44	4,19	12,93
Bulunan :	55,32	4,26	12,63

[1-(4-Klorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)etiliden]amino 4-metilbenzoat hidroklorür (Bileşik 33)



0,681 g (5 mmol) 4-Metilbenzoik asit ve 1,183 g (5 mmol) 1-(4-klorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, asetonla yıkanarak saflaştırılmıştır. Kirli beyaz renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 135-7 °C, verim 0,802 g (%41)'dir.

IR spektrumunda (KBr); 3107 (C-H gerilim, aromatik), 2977 (C-H gerilim, alifatik), 1727 (C=O gerilim, oksim ester), 1141 (C-O gerilim, oksim ester), 929 (N-O gerilim) cm^{-1} 'de pikler görülür.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 2,40 (s, 3H, CH_3); 5,90 (s, 2H, CH_2N); 7,38 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, 4-metilbenzen $\text{H}^{3,5}$); 7,53 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{3,5}$); 7,79 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{2,6}$); 7,94 (s, 1H, triazol H^3); 7,99 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, 4-metilbenzen $\text{H}^{2,6}$); 8,74 (s, 1H, triazol H^5) ppm'de pikler görülür.

$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 21,23 (CH_3); 44,74 (CH_2N); 124,85 (4-metilbenzen C^1); 128,79-129,63 (4-klorobenzen $\text{C}^{2,3,5,6}$, 4-metilbenzen $\text{C}^{2,3,5,6}$); 130,81 (4-klorobenzen C^1); 135,81 (4-klorobenzen C^4); 144,69 (4-metilbenzen C^4); 144,97 (triazol C^5); 151,26 (triazol C^3); 160,01 (CNO); 162,43 (CO) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 379 ($[\text{M}+2+\text{Na}]^+$), 377 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, %100) ve 355 ($[\text{M}+\text{H}]^+$)'te pikler görülür.

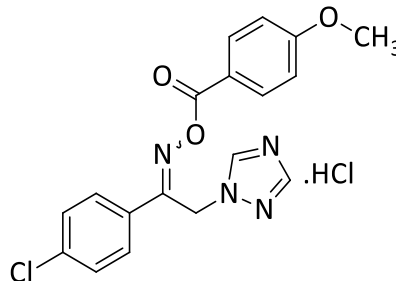
Analiz: $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_2 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$ için, M.A. 400,26

%C	%H	%N
----	----	----

Hesaplanan:	54,01	4,28	14,00
-------------	-------	------	-------

Bulunan : 54,39 4,12 14,32

[1-(4-Klorofenil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)etiliden]amino 4-metoksibenzoat hidroklorür (Bileşik 34)



0,761 g (5 mmol) 4-Metoksibenzoik asit ve 1,183 g (5 mmol) 1-(4-klorofenil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, asetonla yıkanarak saflaştırılmıştır. Kirli beyaz renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 141-2 °C, verim 0,285 g (%14)'dır.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆, 400 MHz); δ 3,87 (s, 3H, CH₃); 5,91 (s, 2H, CH₂N); 7,11 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, 4-metoksibenzen H^{3,5}); 7,54 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, 4-klorobenzen H^{3,5}); 7,81 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, 4-klorobenzen H^{2,6}); 7,96 (s, 1H, triazol H³); 8,08 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H, 4-metoksibenzen H^{2,6}); 8,76 (s, 1H, triazol H⁵) ppm'de pikler görülür.

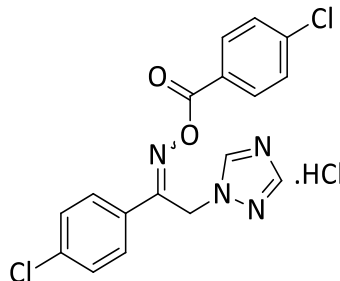
¹³C-NMR spektrumunda (DMSO-d₆, 400 MHz); δ 44,65 (CH₂N); 55,62 (CH₃); 114,35 (4-metoksibenzen C^{3,5}); 119,62 (4-metoksibenzen C¹); 128,77-129,41 (4-klorobenzen C^{2,3,5,6}); 130,90 (4-klorobenzen C¹); 131,84 (4-metoksibenzen C^{2,6}); 135,75 (4-klorobenzen C⁴); 144,99 (triazol C⁵); 151,42 (triazol C³); 159,73 (CNO); 162,10 (CO); 163,76 (4-metoksibenzen C⁴) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 395 ([M+2+Na]⁺), 393 ([M+Na]⁺, %100) ve 219'da pikler görülür.

Analiz: C₁₈H₁₆Cl₂N₄O₃ için, M.A. 407,25

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	53,09	3,96	13,76
Bulunan :	52,93	4,06	14,08

[1-(4-Klorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)etiliden]amino 4-klorobenzoat hidroklorür (Bileşik 35)



0,783 g (5 mmol) 4-Klorobenzoik asit ve 1,183 g (5 mmol) 1-(4-klorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, asetonla yıkanarak saflaştırılmıştır. Kirli beyaz renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 153-5 °C, verim 0,741 g (%36)'dır.

IR spektrumunda (KBr); 3001 (C-H gerilim, aromatik), 1745 (C=O gerilim, oksim ester), 1094 (C-O gerilim, oksim ester), 920 (N-O gerilim) cm^{-1} 'de pikler görülür.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 5,92 (s, 2H, CH_2N); 7,52 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{3,5}$); 7,65 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{3,5}$); 7,78 (d, $J = 9,2$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{2,6}$); 7,93 (s, 1H, triazol H^3); 8,12 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{2,6}$); 8,73 (s, 1H, triazol H^5) ppm'de pikler görülür.

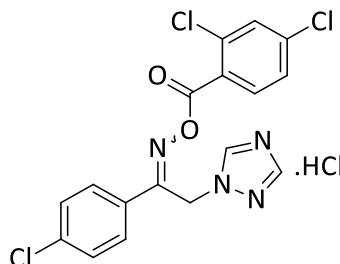
$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 44,72 (CH_2N); 126,54 (4-klorobenzen C^1); 128,60-129,47 (4-klorobenzen $\text{C}^{2,3,5,6}$, 4-klorobenzen $\text{C}^{3,5}$); 130,61 (4-klorobenzen C^1); 131,49 (4-klorobenzen $\text{C}^{2,6}$); 135,27 (4-klorobenzen C^4); 139,09 (4-klorobenzen C^4); 145,00 (triazol C^5); 151,33 (triazol C^3); 160,55 (CNO); 161,70 (CO) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 400 ($[\text{M}+4+\text{Na}]^+$), 399 ($[\text{M}+2+\text{Na}]^+$), 397 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, %100) ve 377 ($[\text{M}+2+\text{H}]^+$)'de pikler görülür.

Analiz: $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_2$ için, M.A. 411,67

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	49,60	3,18	13,61
Bulunan :	49,59	3,08	13,63

[1-(4-Klorofenil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)etiliden]amino 2,4-diklorobenzoat hidroklorür (Bileşik 36)



0,955 g (5 mmol) 2,4-Diklorobenzoik asit ve 1,183 g (5 mmol) 1-(4-klorofenil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, asetonla yıkanarak saflaştırılmıştır. Kirli beyaz renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 129-31 °C, verim 0,870 g (%39)'dir.

IR spektrumunda (KBr); 3062 (C-H gerilim, aromatik), 2980 (C-H gerilim, alifatik), 1761 (C=O gerilim, oksim ester), 1115 (C-O gerilim, oksim ester), 923 (N-O gerilim) cm^{-1} 'de pikler görülür.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 5,83 (s, 2H, CH_2N); 7,52 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{3,5}$); 7,62 (dd, $J_1 = 8,8$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz, 1H, 2,4-diklorobenzen H^5); 7,77 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{2,6}$); 7,86 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, 2,4-diklorobenzen H^3); 7,92 (s, 1H, triazol H^3); 8,00 (d, $J_1 = 8,8$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz, 1H, 2,4-diklorobenzen H^6); 8,65 (s, 1H, triazol H^5) ppm'de pikler görülür.

$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 44,86 (CH_2N); 126,78 (2,4-diklorobenzen C^1); 127,88 (2,4-diklorobenzen C^5); 128,84-129,48 (4-klorobenzen $\text{C}^{2,3,5,6}$); 130,34 (4-klorobenzen C^1); 130,61 (2,4-diklorobenzen C^3); 132,92 (2,4-diklorobenzen C^6); 133,61 (2,4-diklorobenzen C^2); 136,02 (4-klorobenzen C^4); 138,02 (2,4-diklorobenzen C^4); 145,07 (triazol C^5); 151,37 (triazol C^3); 160,86 (CNO); 160,88 (CO) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 435 ($[\text{M}+4+\text{Na}]^+$), 433 ($[\text{M}+2+\text{Na}]^+$), 431 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, % 100) ve 411 ($[\text{M}+\text{H}]^+$)'de pikler görülür.

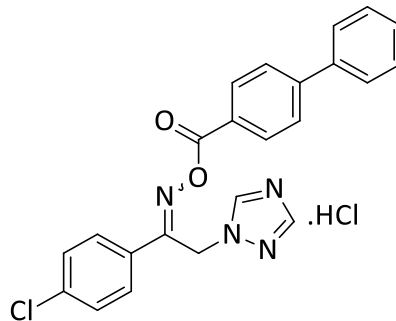
Analiz: $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{Cl}_4\text{N}_4\text{O}_2$ için, M.A. 446,11

%C	%H	%N
----	----	----

Hesaplanan: 45,77 2,71 12,56

Bulunan : 45,74 2,66 12,61

[1-(4-Klorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)etiliden]amino 4-fenilbenzoat hidroklorür (Bileşik 37)



0,991 g (5 mmol) 4-Fenilbenzoik asit ve 1,183 g (5 mmol) 1-(4-klorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)etanon oksimden hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edilip, asetonla yıkanarak saflaştırılmıştır. Açık sarı renkte toz bileşiktir. Erime derecesi 155-7 °C, verim 0,884 g (%39)'dır.

IR spektrumunda (KBr); 3059 (C-H gerilim, aromatik), 2984 (C-H gerilim, alifatik), 1746 (C=O gerilim, oksim ester), 1184 (C-O gerilim, oksim ester), 928 (N-O gerilim) cm^{-1} 'de pikler görülür.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 5,96 (s, 2H, CH_2N); 7,44-7,48 (m, 2H, benzen H^4); 7,52-7,57 (m, 4H, 4-klorobenzen $\text{H}^{3,5}$, benzen $\text{H}^{3,5}$); 7,79 (d, $J = 7,6$ Hz, 2H, benzen $\text{H}^{2,6}$); 7,83 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, 4-fenilbenzen $\text{H}^{2,6}$); 7,90 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H, 4-klorobenzen $\text{H}^{2,6}$); 7,96 (s, 1H, triazol H^3); 8,21 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, 4-fenilbenzen $\text{H}^{2,6}$); 8,77 (s, 1H, triazol H^5) ppm'de pikler görülür.

$^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda (DMSO- d_6 , 400 MHz); δ 44,78 (CH_2N); 126,49 (benzen C^4); 127,08 (4-fenilbenzen $\text{C}^{3,5}$); 127,22 (benzen $\text{C}^{2,6}$); 128,61 (4-fenilbenzen C^1); 128,84 (4-klorobenzen $\text{C}^{3,5}$); 129,16 (4-klorobenzen $\text{C}^{2,6}$); 129,50 (benzen $\text{C}^{3,5}$); 130,33 (4-fenilbenzen $\text{C}^{2,6}$); 130,78 (4-klorobenzen C^1); 135,90 (4-klorobenzen C^4); 138,68 (benzen C^1); 145,04 (triazol C^5); 145,49 (4-fenilbenzen C^4); 151,33 (triazol C^3); 160,26 (CNO); 162,34 (CO); 163,76 ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z); 441 ($[\text{M}+2+\text{Na}]^+$), 439 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, %100), 419 ($[\text{M}+2+\text{H}]^+$) ve 417 ($[\text{M}+\text{H}]^+$)'de pikler görülür.

Analiz: C₂₃H₁₈Cl₂N₄O₂ için, M.A. 453,32

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	60,94	4,00	12,36
Bulunan :	61,34	3,7	12,44

4.1.2. X Işını Kristalografi Çalışmaları

Bileşik 8'in kristal parametreleri, veri toplama ve arıtım bilgileri Tablo 4.1.'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Bileşik 8'in kristal parametreleri, veri toplama ve arıtım bilgileri

Kapalı formülü	C ₂₀ H ₂₅ N ₄ O ₂ Cl ₂
Formül ağırlığı (g/mol)	356,24
Kristal sistemi	Monoklinik
Uzay grubu	P2 ₁ /c
Birim hücre boyutları	
a, [Å]	13,7700(3)
b, [Å]	9,44380(10)
c, [Å]	14,8116(10)
β, [°]	115,776(8)
Molekül sayısı Z	4
Yoğunluk (hesaplanan) [g cm ⁻³]	1,364
μ (MoK _α) [mm ⁻¹]	0,386
Kristal boyutları [mm]	0,20 × 0,20 × 0,20
Dalga boyu	MoK _α (λ=0,71073 Å)
Sıcaklık [°K]	293(2)
θ aralığı [°]	2,055 – 27,456
Toplam yansımalar	40797
Bağımsız yansımalar	3470 [I>2σ(I)]
Kullanılan yansımalar	3970
Değişken sayısı	212
R _{int}	0,0878
R/R _w değerleri	0,0341 / 0,0380
GOF	1,088
(Δ/σ) _{maks}	0,001
(Δρ) _{min} ; (Δρ) _{max} (e Å ⁻³)	-0,274; 0,321

Bileşik 8'in H bağı geometrisi Tablo 4.2.'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Bileşik 8'in H bağı geometrisi

$D-H\cdots A$	$D-H$ (Å)	$H\cdots A$ (Å)	$D\cdots A$ (Å)	$D-H\cdots A$ (°)
$N2-H2'\cdots Cl1^i$	0.87	2.16	3.0211	170
$C5-H5\cdots Cl1^{ii}$	0.93	2.72	3.6325	168
$C6-H6\cdots Cl2^{iii}$	0.93	2.78	3.6658	160
$C8-H8B\cdots Cl1$	0.97	2.80	3.7267	161
$C11-H11\cdots O2^{iv}$	0.93	2.27	3.1842	169
$C13-H13A\cdots Cl1$	0.97	2.72	3.6177	153

4.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

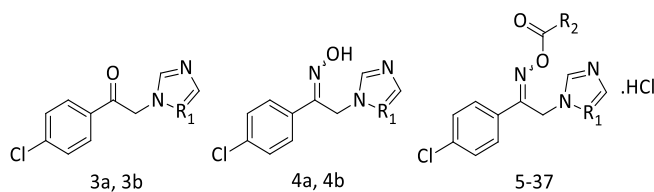
4.2.1. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları

a. Antifungal Aktivite Çalışmaları

Bileşik 3-37'nin antifungal aktiviteleri standart *Candida* suşlarına karşı MİK değerleri ölçülerek test edilmiş, sonuçlar Tablo 4.3.'te özetlenmiştir. Sentez başlangıç bileşikleri ile aktivite gösteren bazı sonuç bileşiklerinin Hacettepe Üniversitesi Hastraneleri'nden temin edilen flukonazole dirençli *C. tropicalis* suşuna karşı MİK değerleri de tespit edilmiştir. Referans ilaç olarak flukonazol kullanılmıştır.

Tablo 4.3. Bileşik 3-37'nin standart *Candida* suşları ve flukonazole dirençli *C. tropicalis* klinik izolatına karşı MİK değerleri ($\mu\text{g/mL}$)

Bil.	R_1	R_2	Standart <i>Candida</i> sp.			Flukonazole dirençli <i>C. tropicalis</i>
			<i>C. albicans</i> ATCC 90028	<i>C. krusei</i> ATCC 6258	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 90018	
3a	CH	-	128	256	64	256
3b	N	-	128	256	128	512
4a	CH	-	128	64	32	256



Tablo 4.3. Bileşik 3-37'nin standart *Candida* suşları ve flukonazole dirençli *C. tropicalis* klinik izolatına karşı MİK değerleri (µg/mL) (Devam)

4b	N	-	512	512	256	512
5	CH	CH ₃	128	256	128	
6	CH	C ₂ H ₅	128	256	128	
7	CH	C ₃ H ₇	128	256	64	
8	CH	C ₄ H ₉	32	64	16	256
9	CH	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	16	64	16	256
10	CH	CH(C ₃ H ₇) ₂	64	128	64	
11	CH	C ₆ H ₁₁	32	32	32	512
12	CH	CH=CHCH=CHCH ₃	2	64	2	256
13	CH	C ₆ H ₅	0,25	16	0,25	256
14	CH	(CH ₂) ₃ C ₆ H ₅	128	256	128	
15	CH	CH=CHC ₆ H ₅	32	128	16	256
16	CH	(CH ₂) ₂ COC ₆ H ₅	128	256	256	
17	CH	4-CH ₃ C ₆ H ₄	128	256	128	
18	CH	4-CH ₃ OC ₆ H ₄	64	128	8	
19	CH	4-ClC ₆ H ₄	128	256	128	
20	CH	2,4-Cl ₂ C ₆ H ₃	256	128	256	
21	CH	4-C ₆ H ₅ C ₆ H ₄	128	256	256	
22	N	C ₂ H ₅	256	256	128	
23	N	C ₃ H ₇	256	256	128	
24	N	C ₄ H ₉	64	128	32	
25	N	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	256	512	512	
26	N	CH(C ₃ H ₇) ₂	128	256	128	
27	N	C ₆ H ₁₁	128	256	128	
28	N	CH=CHCH=CHCH ₃	256	256	128	
29	N	C ₆ H ₅	256	128	128	
30	N	(CH ₂) ₃ C ₆ H ₅	128	128	128	
31	N	CH=CHC ₆ H ₅	512	128	512	
32	N	(CH ₂) ₂ COC ₆ H ₅	16	128	16	512
33	N	4-CH ₃ C ₆ H ₄	256	256	128	
34	N	4-CH ₃ OC ₆ H ₄	256	256	16	
35	N	4-ClC ₆ H ₄	256	128	64	
36	N	2,4-Cl ₂ C ₆ H ₃	16	256	16	256
37	N	4-C ₆ H ₅ C ₆ H ₄	128	128	256	
		Flukonazol	0,5	32	0,5	512

Bileşik 12 ve 13'ün biyofilm pozitif bir *C. albicans* suşuna karşı antibiyofilm aktiviteleri test edilmiştir (Tablo 4.4.). Referans ilaç olarak amfoterisin B kullanılmıştır.

Tablo 4.4. Bileşik 12 ve 13'ün biyofilm pozitif bir *C. albicans* suşuna karşı MBİK ve MBEK değerleri ($\mu\text{g/mL}$)

Bileşik	MBİK	MBEK
12	2	256
13	0,5	512
Amfoterisin B	4	256

b. Antibakteriyel Aktivite Çalışmaları

Bileşik 3-37'nin antibakteriyel aktiviteleri standart bakteri suşlarına karşı MİK değerleri ölçülerek test edilmiş, sonuçlar Tablo 4.5.'te özetlenmiştir.

Tablo 4.5. Bileşik 3-37'nin standart bakteri suşlarına karşı MİK değerleri ($\mu\text{g/mL}$)

Bil.	R ₁	R ₂	MİK Değerleri ($\mu\text{g/mL}$)			
			<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>E. coli</i> ATCC 25922
3a, 3b						
4a, 4b						
5-37						
3a	CH	-	1024	512	512	512
3b	N	-	1024	1024	512	512
4a	CH	-	1024	1024	512	512
4b	N	-	1024	1024	512	512
5	CH	CH ₃	512	512	512	512
6	CH	C ₂ H ₅	64	512	512	512
7	CH	C ₃ H ₇	256	1024	512	1024
8	CH	C ₄ H ₉	64	512	512	512
9	CH	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	256	512	256	512
10	CH	CH(C ₃ H ₇) ₂	1024	1024	128	1024
11	CH	C ₆ H ₁₁	256	256	256	512
12	CH	CH=CHCH=CHCH ₃	512	512	256	512
13	CH	C ₆ H ₅	128	512	512	512

Tablo 4.5. Bileşik 3-37'nin standart bakteri suşlarına karşı MİK değerleri (µg/mL)
(Devam)

14	CH	(CH ₂) ₃ C ₆ H ₅	128	256	64	512
15	CH	CH=CHC ₆ H ₅	256	1024	>1024	1024
16	CH	(CH ₂) ₂ COC ₆ H ₅	64	512	512	512
17	CH	4-CH ₃ C ₆ H ₄	128	512	1024	1024
18	CH	4-CH ₃ OC ₆ H ₄	1024	256	1024	1024
19	CH	4-ClC ₆ H ₄	128	256	1024	512
20	CH	2,4-Cl ₂ C ₆ H ₃	1024	512	1024	512
21	CH	4-C ₆ H ₅ C ₆ H ₄	1024	512	1024	1024
22	N	C ₂ H ₅	512	1024	1024	1024
23	N	C ₃ H ₇	512	512	512	512
24	N	C ₄ H ₉	512	512	512	512
25	N	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	512	512	1024	1024
26	N	CH(C ₃ H ₇) ₂	1024	512	1024	512
27	N	C ₆ H ₁₁	1024	256	512	512
28	N	CH=CHCH=CHCH ₃	256	512	512	512
29	N	C ₆ H ₅	256	512	1024	512
30	N	(CH ₂) ₃ C ₆ H ₅	512	512	512	512
31	N	CH=CHC ₆ H ₅	1024	1024	1024	1024
32	N	(CH ₂) ₂ COC ₆ H ₅	1024	512	1024	1024
33	N	4-CH ₃ C ₆ H ₄	512	512	>1024	1024
34	N	4-CH ₃ OC ₆ H ₄	512	512	1024	512
35	N	4-ClC ₆ H ₄	1024	256	1024	1024
36	N	2,4-Cl ₂ C ₆ H ₃	512	256	1024	512
37	N	4-C ₆ H ₅ C ₆ H ₄	1024	512	1024	1024
		Siprofloksasin	0,125	0,125	0,5	0,0625

4.2.2. Antikonvülsan Aktivite Çalışmaları

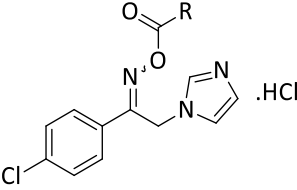
a. Antikonvülsan Tanımlama Çalışmaları

Sonuç bileşiklerinden bileşik 5-18 ve 21-36, antikonvülsan tanımlama kapsamında yapılan farelerde ip tanımlama çalışmalarında 6 Hz ve MES modellerine

karşı test edilmiş; bileşiklerin nörotoksik etkileri rotorod testi ile değerlendirilmiştir.

İmidazol türevi sonuç bileşiklerinin (bileşik 5-18, 21) farelerde ip antikonvülsan tanımlama sonuçları Tablo 4.6.'da verilmiştir.

Tablo 4.6. İmidazol türevi bileşiklerin (bileşik 5-18, 21) farelerde ip antikonvülsan tanımlama sonuçları

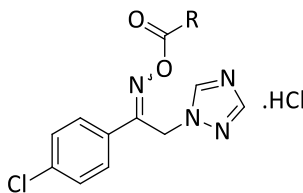


Bil.	R	6 Hz						MES						Nörotoksisite					
		0,5 saat			2 saat			0,5 saat			2 saat			0,5 saat			2 saat		
		30	100	300	30	100	300	30	100	300	30	100	300	30	100	300	30	100	300
5	CH ₃	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4	1/4	0/4	3/4	4/4	0/4	0/4	2/2	0/8	0/8	6/8	0/8	0/8	6/6
6	C ₂ H ₅	0/4	3/4	2/2	0/4	0/4	3/3	0/4	3/4	2/2	0/4	0/4	2/3	0/8	1/8	4/4	0/8	0/8	3/6
7	C ₃ H ₇	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4	3/4	0/4	2/4	3/3	0/4	0/4	1/4	0/8	0/8	7/7	0/8	0/8	0/8
8	C ₄ H ₉	0/4	2/4	4/4	0/4	0/4	1/4	0/4	4/4	4/4	0/4	1/4	3/4	0/8	2/8	8/8	0/8	0/8	2/8
9	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4	2/4	0/4	1/4	4/4	0/4	0/4	3/4	0/8	0/8	8/8	0/8	0/8	3/8
10	CH(C ₃ H ₇) ₂	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4	3/4	0/8	0/8	8/8	0/8	0/8	0/8
11	C ₆ H ₁₁	0/4	3/4	4/4	0/4	0/4	0/4	0/4	2/4	4/4	0/4	0/4	1/4	0/8	1/8	8/8	0/8	0/8	0/8
12	CH=CHCH=CHCH ₃	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4	4/4	0/4	1/4	0/4	0/8	1/8	8/8	0/8	0/8	0/8
13	C ₆ H ₅	0/4	1/4	4/4	0/4	0/4	0/4	0/4	3/4	4/4	0/4	1/4	2/4	0/8	0/8	8/8	0/8	0/8	0/8
14	(CH ₂) ₃ C ₆ H ₅	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4	0/4	0/4	2/4	4/4	0/4	1/4	0/4	0/8	0/8	8/8	0/8	0/8	0/8
15	CH=CHC ₆ H ₅	0/4	1/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
16	(CH ₂) ₂ COC ₆ H ₅	0/4	3/4	4/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	2/4	0/4	0/4	3/4	0/8	1/8	4/8	0/8	0/8	0/8
17	4-CH ₃ C ₆ H ₄	0/4	0/4	2/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	2/4	1/4	0/4	2/4	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
18	4-CH ₃ OC ₆ H ₄	0/4	1/4	2/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4	0/4	0/4	0/4	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
21	4-C ₆ H ₅ C ₆ H ₄	0/4	0/4	1/4	0/4	1/4	0/4	0/4	1/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8

Dozlar mg/kg cinsinden verilmiştir. Test sonuçları "aktivite ya da nörotoksisite gözlenen hayvan sayısı/test edilen hayvan sayısı" olarak belirtilmiştir. Test edilen hayvanların en az yarısında aktivite/toksisite gözlemlendiği veriler **koyu** puntolarla belirtilmiştir.

Triazol türevi sonuç bileşiklerinin (bileşik 22-36) farelerde ip antikonvülsan tanımlama sonuçları Tablo 4.7.'de verilmiştir.

Tablo 4.7. Triazol türevlerinin (bileşik 22-36) farelerde ip antikonvülsan tanımlama sonuçları



Bil.	R	6 Hz						MES						Nörotoksisite								
		0,5 saat			2 saat			0,5 saat			2 saat			0,5 saat			2 saat					
		30	100	300	30	100	300	30	100	300	30	100	300	30	100	300	30	100	300			
22	C ₂ H ₅	0/4	2/4	4/4	0/4	0/4	2/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4	1/4	0/8	0/8	8/8	0/8	0/8	0/8
23	C ₃ H ₇	0/4	2/4	4/4	0/4	0/4	0/4	0/4	3/4	4/4	0/4	0/4	3/4	0/4	0/4	3/4	0/8	1/8	8/8	0/8	0/8	0/8
24	C ₄ H ₉	0/4	0/4	4/4	0/4	1/4	1/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4	1/4	0/8	0/8	7/8	0/8	0/8	7/8	0/8	0/8	0/8
25	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4	1/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4	3/4	0/8	0/8	4/8	0/8	0/8	4/8	0/8	0/8	0/8
26	CH(C ₃ H ₇) ₂	0/4	0/4	1/4	0/4	0/4	0/4	1/4	1/4	0/4	0/4	0/4	2/4	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
27	C ₆ H ₁₁	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4	3/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4	2/4	0/8	0/8	6/8	0/8	0/8	6/8	0/8	0/8	0/8
28	CH=CHCH=CHCH ₃	0/4	0/4	2/4	0/4	0/4	1/4	0/4	2/4	4/4	0/4	0/4	3/4	0/8	0/8	1/8	0/8	0/8	1/8	0/8	0/8	0/8
29	C ₆ H ₅	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	2/4	0/4	0/4	0/4	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
30	(CH ₂) ₃ C ₆ H ₅	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
31	CH=CHC ₆ H ₅	0/4	1/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4	2/4	0/4	0/4	1/4	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
32	(CH ₂) ₂ COC ₆ H ₅	0/4	0/4	3/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4	3/4	0/8	0/8	1/8	0/8	0/8	1/8	0/8	0/8	0/8
33	4-CH ₃ C ₆ H ₄	0/4	0/4	1/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
34	4-CH ₃ OC ₆ H ₄	0/4	1/4	4/4	0/4	0/4	2/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
35	4-ClC ₆ H ₄	0/4	0/4	1/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4	0/4	0/4	0/4	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
36	2,4-Cl ₂ C ₆ H ₃	0/4	1/4	3/4	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4	1/4	0/4	1/4	1/4	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8

Dozlar mg/kg cinsinden verilmiştir. Test sonuçları “aktivite ya da nörotoksisite gözlenen hayvan sayısı/test edilen hayvan sayısı” olarak belirtilmiştir. Test edilen hayvanların en az yarısında aktivite/toksisite gözlemlendiği veriler **koyu** puntolarla belirtilmiştir.

Bileşik 6 ve 7 sıçanlarda antikonvülsan tanımlama çalışmaları kapsamında MES ve nörotoksisite testlerine tabi tutulmuş, sonuçlar Tablo 4.8.’de özetlenmiştir.

Tablo 4.8. Bileşik 6 ve 7'nin sıçanlarda MES ile antikonvülsan tanımlama test sonuçları

Bileşik	Test	Veriliş yolu	mg/kg	Süre (saat)				
				0,25	0,5	1	2	4
6	MES	ip	30	1/4	0/4	0/4	0/4	0/4
		ip	100	4/4	4/4	1/4	0/4	0/4
	Toks.	ip	30	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
		ip	100	4/4	1/4	0/4	0/4	0/4
7	MES	ip	100	4/4	4/4	0/4	0/4	0/4
		po	100	1/4	2/4	0/4	0/4	0/4
	Toks.	ip	100	4/4	4/4	0/4	0/4	0/4
		po	100	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4

Test sonuçları “aktivite ya da nörotoksisite gözlenen hayvan sayısı/test edilen hayvan sayısı” olarak belirtilmiştir. Test edilen hayvanların en az yarısında aktivite/toksisite gözleendiği veriler **koyu** puntolarla belirtilmiştir.

b. Antikonvülsan Niceleme Çalışmaları

Bazı sonuç bileşiklerinin antikonvülsan aktivite ve nörotoksisitelerinin nicel olarak ortaya konması için 6 Hz ve MES ile çeşitli davranışsal toksisite testleri kullanılarak farelerde antikonvülsan niceleme çalışmaları yapılmış, bu testlere ait ED₅₀ ve TD₅₀ değerleri Tablo 4.9.'da verilmiştir.

Tablo 4.9. Bazı sonuç bileşiklerinin farelerde antikonvülsan niceleme sonuçları

Bileşik	Süre (saat)	Test	Veriliş yolu	ED ₅₀ veya TD ₅₀ (mg/kg)
6	0,25	6 Hz (44 mA)	ip	92,9
		MES	ip	71,7
		MES	oral	247,0
		Toksisite	ip	101,1
		Toksisite	oral	423,0
7	0,25	6 Hz (32 mA)	ip	48,9
		6 Hz (44 mA)	ip	68,9
		6 Hz (44 mA)	oral	422,1
		MES	ip	77,5
		MES	oral	197,1
		Toksisite	ip	101,3
		Toksisite	oral	>700
8	0,25	MES	ip	87,9
		Toksisite	ip	97,6
9	0,25	6 Hz (32 mA)	ip	53,5
12	0,50	MES	ip	138,5
		Toksisite	ip	160,5
13	0,25	MES	ip	134,7
		Toksisite	ip	166,3
16	0,25	6 Hz (44 mA)	ip	138,4
		Toksisite	ip	230,0

Bileşik 6'nın korneal kindling oluşturulmuş fare deneyinde 0,25 saatte ip antikonvülsan niceleme çalışması yapılmış, sonuçlar Tablo 4.10.'da özetlenmiştir. Bileşiğin bu deneyde ED₅₀ değeri 55,5 mg/kg olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.10. Bileşik 6'nın nicel korneal kindling oluşturulmuş fare deneyi sonuçları

mg/kg	A/T	Herbir farenin nöbet skoru	Ortalama nöbet skoru
25	1/8	5,5,5,5,5,0,5,5	4,4
45	2/8	5,5,0,5,5,5,5,0	3,8
90	6/8	3,3,5,3,3,5,3,3	3,5
110	8/8	0,0,3,3,0,0,1,1	1,0

A/T: aktivite gözlenen hayvan sayısı/test edilen hayvan sayısı.

4.3. Moleküler Modelleme Çalışmaları

4.3.1. Fizikokimyasal ve Farmakokinetik Parametrelerin Modellenmesi

İmidazol türevi sonuç bileşikleri için Qikprop ile yapılan #yıldız, #rtfFG, MA, dipol, ÇEYA, hacim, donörHB, akseptörHB, QPpolrz, QPlogPo/s ve QPlogS hesaplamaları Tablo 4.11.'de belirtilmiştir.

Tablo 4.11. İmidazol türevi sonuç bileşikleri için yapılan #yıldız, #rtfFG, MA, dipol, ÇEYA, hacim, donörHB, akseptörHB, QPpolrz, QPlogPo/s ve QPlogS hesaplamaları

Bil.	#yıldız	#rtfFG	MA	dipol	ÇEYA	hacim	donörHB	akseptörHB	QPpolrz	QPlogPo/s	QPlogS
5	0	1	277,7	5,7	529,2	893,4	0	5,5	28,7	2,3	-2,9
6	0	1	291,7	4,9	547,9	943,5	0	5,5	30,0	2,7	-3,1
7	0	1	305,8	5,8	594,7	1016,5	0	5,5	32,3	3,2	-3,8
8	0	1	319,8	4,6	604,0	1054,1	0	5,5	33,0	3,4	-3,8
9	0	1	319,8	4,3	609,3	1081,6	0	5,5	34,9	3,6	-4,1
10	0	1	361,9	5,3	680,6	1214,4	0	5,5	38,2	4,7	-5,0
11	0	1	345,8	4,5	626,1	1107,4	0	5,5	36,5	3,8	-4,5
12	0	1	329,8	6,0	647,2	1102,3	0	5,5	35,6	3,8	-4,6
13	0	1	339,8	5,3	601,9	1053,2	0	5,5	36,0	3,6	-4,1
14	0	1	381,9	5,7	720,5	1257,9	0	5,5	42,6	5,0	-5,8
15	1	1	365,8	6,0	678,6	1174,2	0	5,5	40,1	4,5	-5,2
16	0	1	395,8	8,8	703,5	1247,9	0	7,5	42,1	3,7	-4,5
17	0	1	353,8	6,0	641,7	1120,3	0	5,5	38,3	4,0	-4,8

Tablo 4.11. İmidazol türevi sonuç bileşikleri için yapılan #yıldız, #rtfFG, MA, dipol, ÇEYA, hacim, donörHB, akseptörHB, QPpolrz, QPlogPo/s ve QPlogS hesaplamaları (Devam)

18	0	1	369,8	5,6	638,9	1128,1	0	6,3	37,9	3,7	-4,2
19	0	1	374,2	4,2	625,9	1097,3	0	5,5	37,4	4,1	-4,8
20	1	1	408,7	4,2	640,6	1132,7	0	5,5	38,5	4,7	-5,4
21	1	1	415,9	5,7	722,9	1288,2	0	5,5	46,0	5,3	-6,2

İmidazol türevi sonuç bileşikleri için Qikprop ile yapılan QPlogHERG, QPPcaco, QPlogKB, QPPMDCK, #metab, QPlogKisa, %oralabsorpsiyon, 5K ve 3K hesaplamaları Tablo 4.12.'de belirtilmiştir.

Tablo 4.12. İmidazol türevi sonuç bileşikleri için yapılan QPlogHERG, QPPcaco, QPlogKB, QPPMDCK, #metab, QPlogKisa, %oralabsorpsiyon, 5K ve 3K hesaplamaları

Bil.	QPlogHERG	QPPcaco	QPlogKB	QPPMDCK	#metab	QPlogKisa	%oralabsorpsiyon	5K	3K
5	-5,1	1152,0	-0,48	1423,8	1	-0,47	95,289	0	0
6	-5,1	1419,8	-0,45	1784,6	2	-0,37	100	0	0
7	-5,6	1444,9	-0,55	1818,8	2	-0,20	100	0	0
8	-5,3	1264,2	-0,66	1574,1	2	-0,13	100	0	0
9	-5,3	1542,4	-0,49	1951,7	2	-0,01	100	0	0
10	-5,7	2601,8	-0,49	3434,6	2	0,25	100	0	0
11	-5,4	1780,7	-0,39	2280,0	2	0,11	100	0	0
12	-6,2	1334,3	-0,71	1668,8	2	0,01	100	0	0
13	-6,2	1413,3	-0,48	1775,7	1	-0,05	100	0	0
14	-7,2	1445,2	-0,76	1819,2	3	0,42	100	1	1
15	-7,1	1338,4	-0,71	1674,4	1	0,22	100	0	0
16	-6,9	676,6	-1,09	800,8	3	-0,15	100	0	0
17	-6,3	1445,1	-0,51	1819,1	2	0,14	100	0	0
18	-6,1	1411,3	-0,57	1773,1	2	-0,08	100	0	0
19	-6,1	1412,5	-0,33	4381,7	1	0,08	100	0	0
20	-6,0	1986,0	-0,03	10000,0	1	0,18	100	0	0
21	-7,4	1411,5	-0,63	1773,3	1	0,59	100	1	1

Triazol türevi sonuç bileşikleri için Qikprop ile yapılan #yıldız, #rtfFG, MA, dipol, ÇEYA, hacim, donörHB, akseptörHB, QPpolrz, QPlogPo/s ve QPlogS hesaplamaları Tablo 4.13.'te belirtilmiştir.

Tablo 4.13. Triazol türevi sonuç bileşikleri için yapılan #yıldız, #rtfFG, MA, dipol, ÇEYA, hacim, donörHB, akseptörHB, QPpolrz, QPlogPo/s ve QPlogS hesaplamaları

Bil.	#yıldız	#rtfFG	MA	dipol	ÇEYA	hacim	donörHB	akseptörHB	QPpolrz	QPlogPo/s	QPlogS
22	0	1	292,7	4,1	546,8	932,6	0	6,5	29,3	2,0	-2,5
23	0	1	306,8	3,9	577,5	988,6	0	6,5	30,8	2,3	-2,9
24	0	1	320,8	3,5	617,5	1067,3	0	6,5	33,5	2,9	-3,5
25	0	1	320,8	3,5	578,7	1018,9	0	6,5	32,1	2,5	-3,0
26	0	1	362,9	3,1	674,8	1210,1	0	6,5	37,9	4,0	-4,3
27	0	1	346,8	4,0	626,1	1099,3	0	6,5	35,9	3,1	-4,0
28	0	1	330,8	5,4	642,0	1089,9	0	6,5	34,8	3,0	-4,0
29	0	1	340,8	4,6	603,7	1047,1	0	6,5	35,6	2,9	-3,6
30	0	1	382,8	3,9	711,3	1239,0	0	6,5	41,5	4,2	-5,1
31	0	1	366,8	5,2	673,3	1161,7	0	6,5	39,4	3,7	-4,6
32	0	1	396,8	4,5	710,1	1239,6	0	8,5	41,5	3,0	-4,1
33	0	1	354,8	3,6	636,3	1107,5	0	6,5	37,5	3,3	-4,2
34	0	1	370,8	3,4	641,8	1123,2	0	7,3	37,5	3,0	-3,8
35	0	1	375,2	3,3	628,1	1091,6	0	6,5	37,0	3,4	-4,4
36	1	1	409,7	3,0	639,6	1127,7	0	6,5	38,0	3,9	-4,8
37	1	1	416,9	3,5	725,9	1283,2	0	6,5	45,6	4,6	-5,7

Triazol türevi sonuç bileşikleri için Qikprop ile yapılan QPlogHERG, QPPcaco, QPlogKB, QPPMDCK, #metab, QPlogKisa, %oralabsorpsiyon, 5K ve 3K hesaplamaları Tablo 4.14.'te belirtilmiştir.

Tablo 4.14. Triazol türevi sonuç bileşikleri için yapılan QPlogHERG, QPPcaco, QPlogKB, QPPMDCK, #metab, QPlogKisa, %oralabsorpsiyon, 5K ve 3K hesaplamaları

Bil.	QPlogHERG	QPPcaco	QPlogKB	QPPMDCK	#metab	QPlogKisa	%oralabsorpsiyon	5K	3K
22	-5,0	877,5	-0,66	1060,9	2	-0,67	91,1	0	0
23	-5,2	785,1	-0,80	940,7	2	-0,55	92,1	0	0
24	-5,5	926,1	-0,82	1124,3	2	-0,36	96,8	0	0
25	-5,0	931,3	-0,69	1131,1	2	-0,46	94,9	0	0

Tablo 4.14. Triazol türevi sonuç bileşikleri için yapılan QPlogHERG, QPPcaco, QPlogKB, QPPMDCK, #metab, QPlogKisa, %oralabsorpsiyon, 5K ve 3K hesaplamaları (Devam)

26	-5,5	1552,4	-0,72	1965,3	2	-0,03	100	0	0
27	-5,4	985,0	-0,66	1202,0	2	-0,18	100	0	0
28	-6,0	816,3	-0,94	981,2	2	-0,30	96,8	0	0
29	-6,2	896,7	-0,70	1086,0	1	-0,34	96,9	0	0
30	-7,0	978,3	-0,95	1193,2	3	0,09	100	0	0
31	-6,9	819,5	-0,95	985,4	1	-0,09	100	0	0
32	-6,9	403,9	-1,39	458,6	3	-0,44	91,0	0	0
33	-6,1	890,1	-0,73	1077,0	2	-0,16	100	0	0
34	-6,1	895,5	-0,79	1084,1	2	-0,36	100	0	0
35	-6,1	895,8	-0,55	2678,6	1	-0,21	100	0	0
36	-5,9	949,7	-0,38	5768,6	1	-0,10	100	0	0
37	-7,4	894,0	-0,87	1082,1	1	0,31	100	0	1

4.3.2. CACYP51 Homoloji Modeli

CACYP51 (sorgu) ile SCCYP51 (şablon, 5EQB) amino asit dizilerinin hizalanmasıyla bir hizalama dosyası elde edilmiştir (Şekil 4.1.). BLAST hizalamasında iki dizi arasındaki eşleşme oranı %65 benzerlik oranı %78 olarak bulunmuştur.

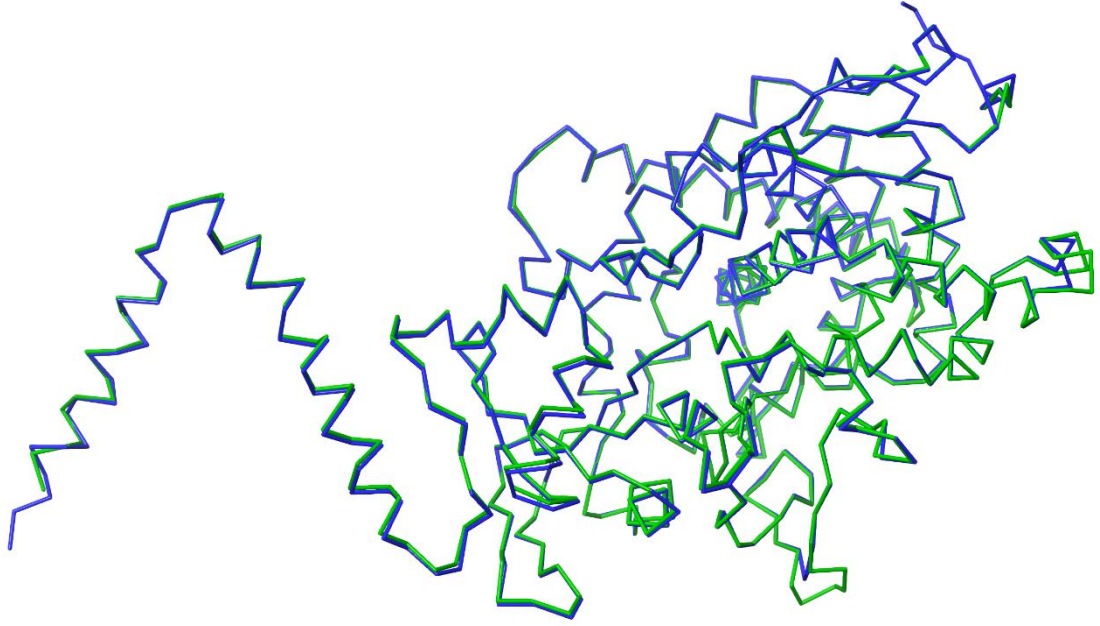
Bu hizalama ve şablonun üç boyutlu yapısı kullanılarak oluşturulan 100 adet ligand (İKZ) CACYP51 modeli arasından kısıt ihlalleri ve DOPE skorlarına göre karşılaştırılarak en iyi model ileri optimizasyon çalışmaları için seçilmiştir (Tablo 4.15.). Seçilen model ile şablonun bağlanma bölgesi rezidülerinin (İKZ'e 5 Å mesafedeki rezidüler) Cα atomlarına göre üst üste çakıştırıldığında elde edilen RMSD değeri 0,08 Å'dur (Şekil 4.2.).

CACYP51	4	VETVIDGINYFLSLSVTTQQISILLGVPFVYNLVWQYLYSLRKDRAPLVFYWIPWFGSAAS	63
		+E V G+++FL+L + Q+IS+++ +PF+YN+VWQ LYSLRKDR PLVWIPW GSA	
5EQB	7	LEYVNIIGLSHFLALPLAQRISLIIPFIYNIWQLLYSLRKDRPLVWIPWVGSAAV	66
CACYP51	64	YGQQPYEFFESCQRKYGDVFSFMLLGKIMTVYLGPKGHEFVFNAKLSDVSAEDAYKHLTT	123
		YG +PYEFFE C++KYGD+FSF+LLG++MTVYLGPKGHEFVFNAKL+DVSAAE AY HLTT	
5EQB	67	YGMKPYEFFECCQKKYGDIFSFLGRVMTVYLGPKGHEFVFNAKLADVSAEAAAYHLTT	126
CACYP51	124	PVFGKGVYDCPNSRLMEQKFKAFALTTDSFKRYVPKIREEILNYFVTDESFKLKEKTH	183
		PVFGKGVYDCPNSRLMEQKFK K ALT ++FK YVP I EE+ YF ++F+L E+T	
5EQB	127	PVFGKGVYDCPNSRLMEQKFKVKGALTKFAFKSYVPLIAEEVYKYFRDSKNFRLNERTT	186
CACYP51	184	GVANVMKTQPEITIFTASRSLFGDEMRRIFDRSFAQLYSDLDKGFPTINFVFPNLPLPHY	243
		G +VM TQPE+TIFTASRSL G EMR D FA LYSDDLKGFPTINFVFPNLPL HY	
5EQB	187	GTIDVMVTQPEMTIFTASRSLGKEMRAKLDTFAYLYSDLDKGFPTINFVFPNLPLEHY	246
CACYP51	244	WRRDAAQKKISATYMKIERSRRERGDIDPNRDLIDSLLIHSTYKDGVKMTDQEIANLLIG	303
		+RD AQK IS TYM IK RR+ DI +RDLIDSL+ +STYKDGVKMTDQEIANLLIG	
5EQB	247	RKRDRHAQKAISGTYSMLIKERRKNNDIQ-DRDLIDSLMKNSTYKDGVKMTDQEIANLLIG	305
CACYP51	304	ILMGGQHTSASTSAWFLHLGKPHLQDVIYQEVWELLKEKGGDLNDLTYEDLQKLPSVN	363
		+LMGGQHTSA+TSAW LLHL E+P +Q +Y+E + +L G +LTY+ LQ++P +N	
5EQB	306	VLGGQHTSAATSAWILLHLAERPVDVQELYEEQMRVLD---GGKELTYDLLQEMPLLN	362
CACYP51	364	NTIKETLRMHMPLHSLFRKVTNPLRIPETNYIVPKGHYVLVSPGYAHTSERYFDNPEDFD	423
		TIKETLRMH PLHS+FRKV + +P T+Y++P G++VLVSPGY H + YF N F+	
5EQB	363	QTIKETLRMHMPLHSLFRKVMKDMHPNTSYVIPAGYHVLVSPGYTHLRDEYFPNAHQFN	422
CACYP51	424	PTRWDTAAAKANSVSFNSSDEVYDYGFKVSKGVSSPYLPFGGGRHRCIGEQFAYVQLGTI	483
		RW+ +A + SV +EVDYDYG +SKGVSSPYLPFGGGRHRCIGE FAY QLG +	
5EQB	423	IHRWNDSASSYSV---GEEVDYDYGFAISKGVSSPYLPFGGGRHRCIGEHFAYCQLGVL	478
CACYP51	484	LTFVYNLRWTI-DGYKVPDPDYSSMVLPTPEAEIWEKR 523	
		++ F+ L+W +G VP PD++SMV LPT PA+IWEKR	
5EQB	479	MSIFIRTLKWHYPEGKTVPPDFTSMTLPTGPAKIIWEKR 519	

Şekil 4.1. Sorgu ve şablon amino asit dizilimlerinin hizalaması. Birbiriyle eşleşen amino asitler kırmızı harf, benzer amino asitler kırmızı artı (+) ile gösterilmiştir. Membrana bağlı rezidüleri sarıyla vurgulanmış, bağlanma bölgesi rezidüleri yeşil puntolarla gösterilmiştir.

Tablo 4.15. Seçilen CACYP51 modelinin kısıt ihlalleri, ihlal sayısı ve ilgili rezidüleri/atomlar ile DOPE skoru

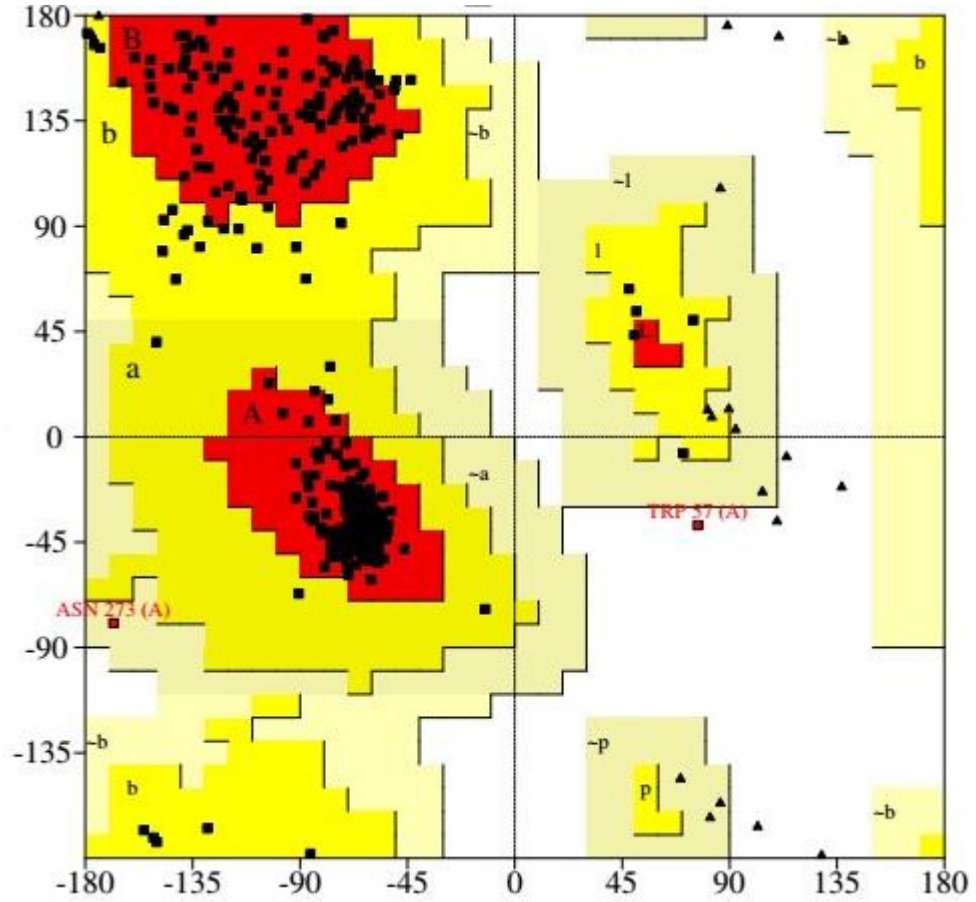
Omurga Ω dihedral kısıtları:	1 (130 C α /C)
ϕ/ψ dihedral çifti kısıtları:	14 (130/131, 149/150, 272/273, 283/284, 341/342, 390/391, 392/393, 429/430, 438/439, 439/440, 442/443, 455/456, 495/496, 509/510)
Mesafe kısıtları:	2
DOPE skoru:	-63046,16



Şekil 4.2. CACYP51 modeli ve şablonun ligand bağlanma bölgesi rezidüleri $\text{C}\alpha$ atomlarına göre üst üste çakıştırılması (CACYP51 yeşil, SCCYP51 mavi $\text{C}\alpha$ izi boru gösterimi).

a. CACYP51 Modelinin Analizi

CACYP51 modelinin PROCHECK analizinde elde edilen Ramachandran diyagramı Şekil 4.3.'teki gibidir.



Şəkil 4.3. CACYP51 modelinin Ramachandran diyaqramı. Apsis ϕ , ordinat ψ açılarını göstərir. Beyaz alanlar ən uyğun dəyərləri, sarı bölgələr izin verilən dəyərləri, krem bölgələr sınır dəyərləri, qırmızı bölgələr izin verilməyən dəyərləri təmsil etməkdədir. Rezidüer siyahı kare, üçgen ya da daire olaraq göstərilmişdir.

CACYP51 rezidüerinin bu diyaqramdakı bölgələrə görə dağılımı Tablo 4.16.'da belirtildiği gibidir. İlk və son rezidüer ilə glisin və prolin rezidüeri bu kriterlərə uymadığı için, diagrama dahil edilən toplam rezidü sayısı 465'tir.

Tablo 4.16. CACYP51 rezidüerinin Ramachandran diyaqramındaki dağılımı

Bölge	Rezidü sayısı	Rezidü %
beyaz	428	92,0
sarı	34	7,3
krem	1*	0,2
qırmızı	2**	0,4

* Thr429, ** Trp57, Ile131

PROCHECK ile modelin bazı omurga stereokimyasal parametreleri hesap edilerek referans değerlerle karşılaştırılmıştır (Tablo 4.17.).

Tablo 4.17. CACYP51 modeli omurgasının stereokimyasal parametreleri

Parametre	Ölçülen değer	Tipik değer	Bant genişliği	Durum*
Beyaz bölgedeki rezidü (%)	92	88,2	10,0	İçinde
ω açısı standart sapması	3,8	6,0	3,0	İçinde
Kötü etkileşme (100 rezidü başına)	2,7	1,0	10,0	İçinde
ζ açısı standart sapması	1,8	3,1	1,6	İçinde
H bağı enerjisi standart sapması	0,7	0,7	0,2	İçinde
G-faktörü	-0,1	-0,2	0,3	İçinde

* İzin verilen değerler tipik değer \pm bant genişliği içinde yer alan değerler olarak kabul edilir. Model her bir parametre için izin verilen değerlerin "içinde", "daha kötü" ya da "daha iyi" olarak sınıflandırılır.

Modelin yan zincirleri için bir takım parametreler hesap edilerek, referans değerlerle karşılaştırılmıştır (Tablo 4.18.).

Tablo 4.18. CACYP51 modeli yan zincirlerinin stereokimyasal parametreleri

Parametre	Ölçülen değer	Tipik değer	Bant genişliği	Durum*
χ -1 çarpık (-) standart sapması	9,0	13,6	6,5	İçinde
χ -1 trans standart sapması	10,9	15,3	5,3	İçinde
χ -1 çarpık (+) standart sapması	9,1	13,8	4,9	İçinde
Tüm χ -1 açılarının standart sapması	9,8	14,3	4,8	İçinde
χ -2 trans standart sapması	10,3	17,7	5,0	Daha iyi

* İzin verilen değerler tipik değer \pm bant genişliği içinde yer alan değerler olarak kabul edilir. Model her bir parametre için izin verilen değerlerin "içinde", "daha kötü" ya da "daha iyi" olarak sınıflandırılır.

Modelin Morris ve ark. sınıflandırması Tablo 4.19'da verilmiştir.

Tablo 4.19. CACYP51 modelinin Morris ve ark. sınıflandırması

Parametre	Ortalama	Standart sapma	Değer	Sınıf
ψ/ϕ dağılımı (%)	-	-	92,0	1
χ -1 standart sapması	18,2	6,2	9,1	1
H bağı enerjisi standart sapması	0,87	0,24	0,73	2

Modelle ilgili hesaplanan diğer genel parametreler Tablo 4.20.'de verilmiştir.

Tablo 4.20. CACYP51 modeli için hesaplanan diğer parametreler

Omurgada uzunluğu sapsmış bağ sayısı:	14 (%98,5 sınırlar içinde)
Omurgada sapsmış açı sayısı:	12 (%92,2 sınırlar içinde)
Bozuk düzlemsel grup sayısı:	0 (%100 sınırlar içinde)
Çarpışma sayısı:	13
G faktörleri:	Dihedral 0,04 Kovalent bağlar -0,27 Genel -0,07

Modelin G-faktör hesaplamaları Tablo 4.21.'de belirtilmiştir.

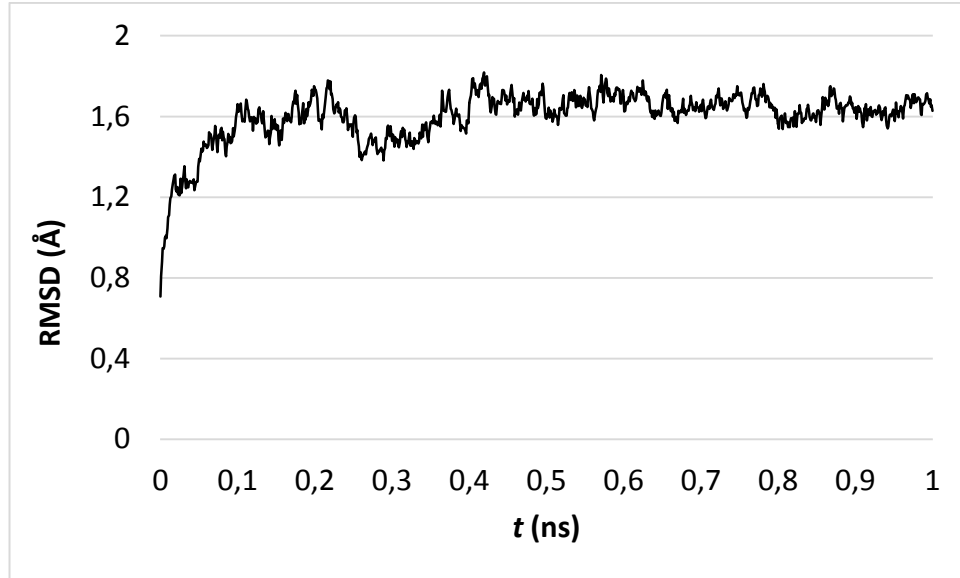
Tablo 4.21. CACYP51 modelinin G-faktör hesaplamaları

Parametre	Skor*
ϕ - ψ dağılımı	0,25
χ 1- χ 2 dağılımı	-0,19
χ 1	0,09
χ 3 ve χ 4	0,50
ω	-0,19
Omurga bağ uzunlukları	-0,09
Omurga bağ açıları	-0,40

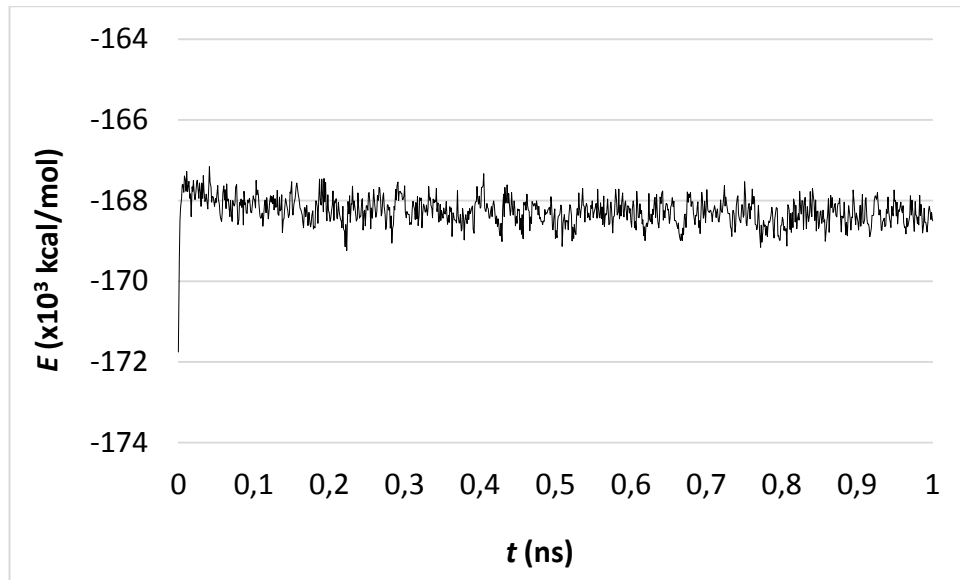
* ideal skorlar > -0,5. -1,0'in altındaki skorlar gözden geçirilmelidir.

b. CACYP51 Modelinin MD Simülasyonları ile Optimizasyonu

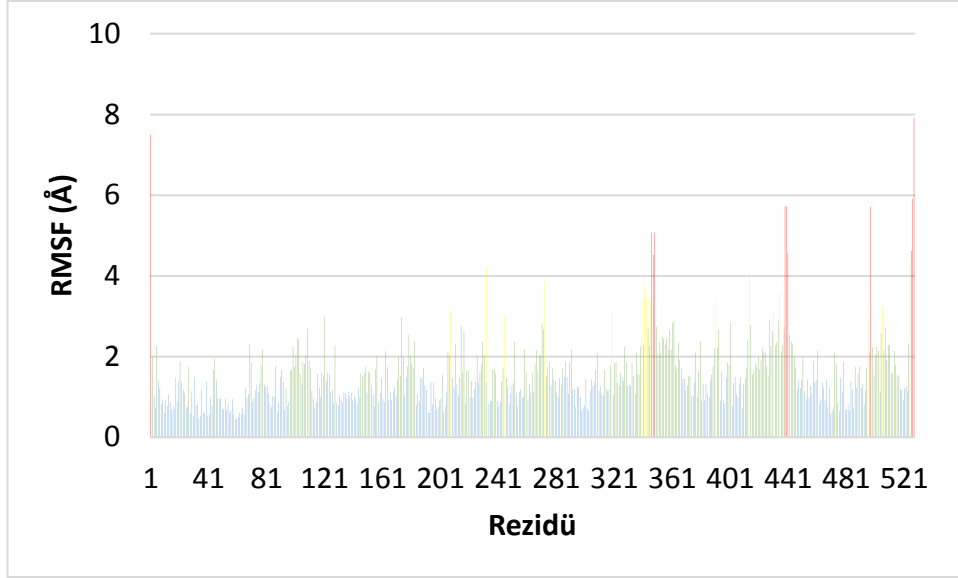
Moleküler kenetleme öncesi MD simülasyonları ile 1 ns boyunca dengeye getirilen ligand (İKZ) bağlı sistemin zamana karşı $C\alpha$ (Şekil 4.4.) ve enerji grafikleri (Şekil 4.5.) ile rezidülerin dalgalanma grafiği (Şekil 4.6.) aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.4. CACYP51'in C α atomlarının zamana karşı RMSD grafiği.

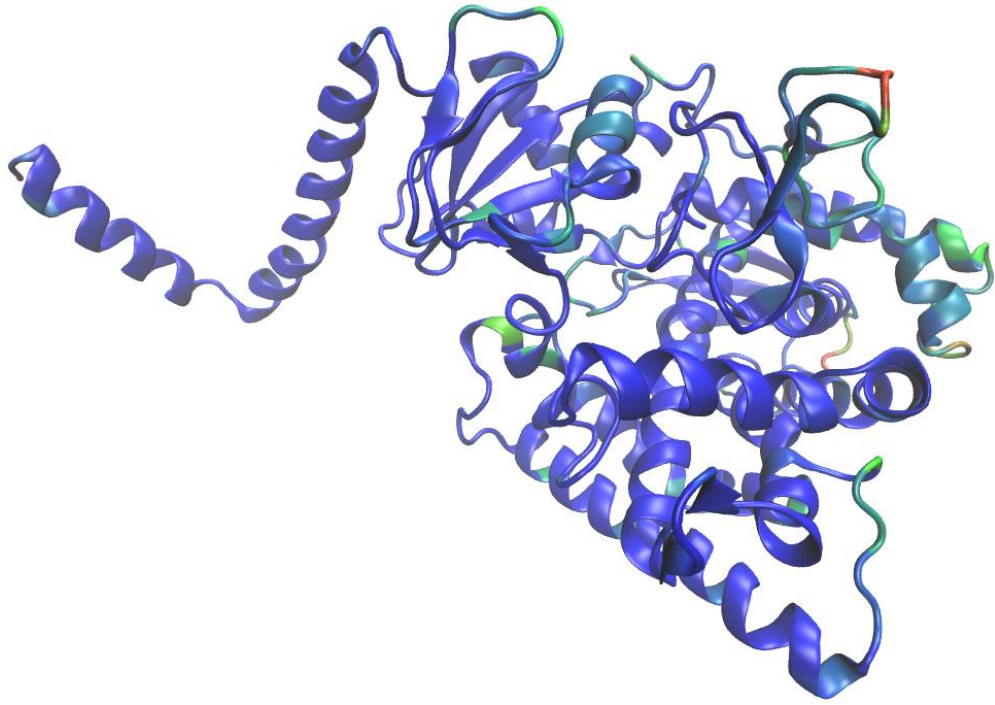


Şekil 4.5. CACYP51'in zamana karşı toplam enerji grafiği.



Şekil 4.6. CACYP51 rezidülerinin 1 ns sonundaki dalgalanma değerleri grafiği. Az dalgalanan rezidüler mavi çok dalgalanan rezidüler kırmızıyla gösterilmiştir.

Şekil 4.6.'daki rezidü renklerinin model üzerindeki dağılımını görebilmek için rezidülerin RMSF değerlerine göre oluşturulan renk özelliği, modelin kurdele gösterimine uygulanmıştır (Şekil 4.7.).



Şekil 4.7. CACYP51 (kurdele gösterimi) rezidülerinin RMSF değerlerine göre renklendirilmesi (mavi düşük, kırmızı yüksek dalgalanmayı temsil eder).

4.3.3. Moleküler Kenetleme Çalışmaları

a. CACYP51 Üzerinde Moleküler Kenetleme Çalışmaları

Kenetlemenin Validasyonu

CACYP51'in 1ns'lik MD simülasyonu sonunda elde edilen çerçeveden çıkartılan modelin aktif bölgesinde, şablon proteinden aktarılan ligand (İKZ) çıkartılarak çeşitli moleküler kenetleme yazılımları ile yeniden kenetlenmiştir. Elde edilen bağlanma konformasyonları ilk konformasyonla karşılaştırılarak RMSD değerleri hesaplanmıştır (Tablo 4.22.).

Tablo 4.22. İKZ'ün CACYP51'e yeniden kenetlenmesi ile elde edilen RMSD değerleri ve skorlar

Yazılım	RMSD (Å)	Kenetleme skoru*
<i>AutoDock</i>		
AutoDock 4	1,43	-14,0
AutoDock Vina	1,67	-10,0
<i>GOLD</i>		
ChemPLP	1,43	111,4
GoldScore	1,48	99,2
ChemScore	1,62	59,2
ASP	3,36	66,1

* AutoDock yazılımları kenetleme skorlarını ΔG olarak kcal/mol cinsinden eksi (-) değerlerde vermektedir. GOLD skorumlama fonksiyonları özel algoritmalar ile birimsiz artı (+) değerler vermektedir.

Modelin ve kenetleme yöntemlerinin validasyonu için bir zenginleştirme çalışması yapılmıştır. Bu çalışmada literatürde kayıtlı 25'i aktif 53 bileşik modelin aktif bölgesine kenetlenmiştir (464). Her bir yazılımın/skorlama fonksiyonunun bu 25 bileşikten kaçını aktif olarak bulduğu tespit edilerek tahmin gücü hesaplanmıştır (Tablo 4.23.).

Tablo 4.23. Moleküler kenetleme yöntemleri için yapılan zenginleştirme çalışması sonuçları

Yazılım	N*	Tahmin gücü (%)**
<i>GOLD</i>		
ChemPLP	15	60
GoldScore	12	48
ChemScore	15	60
ASP	16	64
<i>AutoDock</i>		
AutoDock 4	11	44
AutoDock Vina	13	52

* İlgili yazılım tarafından en iyi skorlanan 25 bileşik içerisindeki aktif bileşik sayısı, ** $N/25*100$.

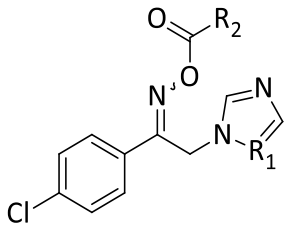
Sonuç Bileşiklerin Kenetlenmesi

CACYP51 modelinin aktif bölgesinde yer alan İKZ'ün enzimle etkileşimleri Tablo 4.24.'te verilmektedir.

Tablo 4.24. İKZ ile CACYP51 arasındaki etkileşimler

Etkileşme	Rezidü
Hidrofobik	F58, A61, A62, Y64, L87, L88, Y118, L121, F126, I131, Y132, F228, P230, I231, I304, L376, I379, F380, Y505, M508, V509
Polar	Q66, T122, T311, H377, S378, S506, S507
π - π ve metal	Hem

C. albicans'a karşı güçlü etki gösteren bileşik 9, 12, 13, 32 ve 36'nın GOLD ve AutoDock yazılımlarında CACYP51 modeliyle kenetlenmesi sonucu elde edilen skorlar Tablo 4.25.'te belirtilmiştir.

Tablo 4.25. Bileşik 9, 12, 13, 32 ve 36'nın GOLD ve AutoDock ile elde edilen kenetleme skorları


Bil.	R ₁	R ₂	Chem PLP	Gold Score	Chem Score	ASP	AutoDock 4*	AutoDock Vina*
9	CH	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	76,0	63,5	28,5	41,2	-7,6	-8,1
12	CH	CH=CHCH=CHCH ₃	78,8	66,1	34,8	42,3	-7,9	-8,2
13	CH	C ₆ H ₅	81,7	65,1	34,0	44,9	-8,1	-8,5
32	N	(CH ₂) ₂ COC ₆ H ₅	83,4	78,9	29,2	52,9	-7,4	-8,7
36	N	2,4-Cl ₂ C ₆ H ₃	67,7	61,2	31,3	40,3	-7,4	-8,7

* Kcal/mol

Bileşik 9, 12, 13, 32 ve 36'nın GOLD'dan elde edilen reseptör etkileşimleri Tablo 4.26.'da özetlenmiştir.

Tablo 4.26. Bileşik 9, 12, 13, 32 ve 36'nın GOLD'dan elde edilen reseptör etkileşimleri

Bil.	CHEMPLP	GoldScore	Chemscore	ASP
9	<i>Hidrofobik:</i> Y118, L121, F126, I131, Y132, I304, L376, I379, F380, M508; <i>polar:</i> T122, T311, S378; <i>π-π ve metal:</i> Hem	<i>Hidrofobik:</i> Y118, L121, F126, I131, F228, I304, M306, L376, I379, F380, M508, V509; <i>polar:</i> H310, T311, H377, S378; <i>π-π ve metal:</i> Hem	<i>Hidrofobik:</i> Y118, L121, F126, I131, Y132, P230, L376, I379, F380, M508, V509; <i>polar:</i> T122, T311, S378; <i>π-π:</i> Y132, Hem; <i>metal:</i> Hem	<i>Hidrofobik:</i> Y118, L121, F126, I131, Y132, I304, L376, I379, F380, M508, V509; <i>polar:</i> T122, H310, T311, H377, S378; <i>π-π ve metal:</i> Hem
12	<i>Hidrofobik:</i> Y118, L121, F126, I131, Y132, P230, L376, I379, M508; <i>polar:</i> T122, T311, S378; <i>π-π ve metal:</i> Hem	<i>Hidrofobik:</i> Y118, L121, F126, I131, F228, I304, M306, L376, F380, M508, V509; <i>polar:</i> T311, H377, S378; <i>π-π ve metal:</i> Hem	<i>Hidrofobik:</i> Y118, L121, F126, I131, Y132, P230, F233, I304, L376, I379, F380, M508, V509; <i>polar:</i> T122, T311, S378; <i>π-π:</i> Y132, Hem; <i>metal:</i> Hem	<i>Hidrofobik:</i> Y118, L121, F126, I131, Y132, I304, L376, I379, F380, M508, V509; <i>polar:</i> T122, H310, T311, H377, S378; <i>π-π ve metal:</i> Hem

Tablo 4.26. Bileşik 9, 12, 13, 32 ve 36'nın GOLD'dan elde edilen reseptör etkileşimleri (Devam)

13	<i>Hidrofobik:</i> Y118, L121, F126, I131, Y132, I304, L376, F380, M508, V509; <i>polar:</i> T122, T311, S378; π - π ve <i>metal:</i> Hem	<i>Hidrofobik:</i> Y118, L121, I131, Y132, I304, L376, I379, F380, M508, V509; <i>polar:</i> T122, H310, T311, S378; π - π ve <i>metal:</i> Hem	<i>Hidrofobik:</i> Y118, L121, F126, I131, Y132, I304, L376, F380, M508, V509; <i>polar:</i> T122, T311, H377, S378; π - π : Y132, F380, Hem; <i>metal:</i> Hem	<i>Hidrofobik:</i> Y118, L121, F126, I131, Y132, F228, P230, L376, I379, F380, M508, V509; <i>polar:</i> T122, T311, H377, S378; π - π : F380; <i>metal:</i> Hem
32	<i>Hidrofobik:</i> Y118, L121, F126, I131, Y132, P230, I304, L376, I379, F380, M508, V509; <i>H bağı:</i> S378; <i>polar:</i> T122, T311, H377, S378; π - π ve <i>metal:</i> Hem	<i>Hidrofobik:</i> Y118, F126, I131, Y132, I304, L376, I379, F380, M508, V509, V510; <i>H bağı:</i> S378; <i>polar:</i> T122, T311, H377, S378, S507; π - π : 233; <i>metal:</i> Hem	<i>Hidrofobik:</i> Y64, L87, Y118, L121, F126, I131, Y132, F228, P230, F233, L376, I379, F380, M508, V509; <i>H bağı:</i> S378; <i>polar:</i> T122, H310, T311, H377, S378; π - π : 233; <i>metal:</i> Hem	<i>Hidrofobik:</i> Y118, L121, F126, I131, Y132, P230, F233, I304, L376, I379, F380, M508, V509; <i>polar:</i> T311, S378; π - π ve <i>metal:</i> Hem
36	<i>Hidrofobik:</i> Y118, L121, I131, Y132, I304, L376, I379, M508, V509; <i>polar:</i> T122, T311, S378; π - π ve <i>metal:</i> Hem	<i>Hidrofobik:</i> Y118, F126, I131, Y132, I304, L376, I379, F380, M508, V509; <i>polar:</i> T122, T311, S378; π - π ve <i>metal:</i> Hem	<i>Hidrofobik:</i> Y118, L121, F126, I131, Y132, F228, I304, L376, I379, F380, M508, V509; <i>polar:</i> T122, T311, S378; π - π : Y118, Y132; <i>metal:</i> Hem	<i>Hidrofobik:</i> Y118, L121, F126, I131, Y132, , F228, P230, L376, I379, F380, M508, V509; <i>polar:</i> T122, T311, S378; π - π : F380, Hem; <i>metal:</i> Hem

Bileşik 9, 12, 13, 32 ve 36'nın AutoDock 4 ve AutoDock Vina'dan elde edilen reseptör etkileşimleri Tablo 4.27.'de özetlenmiştir.

Tablo 4.27. Bileşik 9, 12, 13, 32 ve 36'nın AutoDock 4 ve AutoDock Vina'dan elde edilen reseptör etkileşimleri

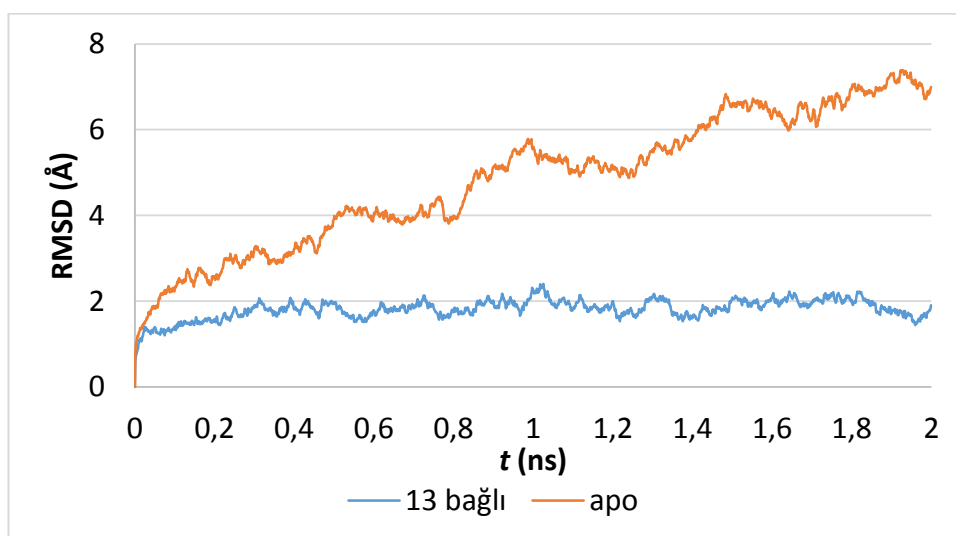
Bil.	AutoDock 4	AutoDock Vina
9	<i>Hidrofobik:</i> Y118, F126, I131, Y132, L300, I304, L376, I379, F380, M508, V509; <i>polar:</i> T122, H310, T311, S378; π - π ve <i>metal:</i> Hem	<i>Hidrofobik:</i> Y118, L121, F126, I131, Y132, I304, L376, I379, M508, V509; <i>polar:</i> T122, H310, T311; π - π : Y132; <i>metal:</i> Hem
12	<i>Hidrofobik:</i> Y118, L121, F126, I131, Y132, L300, I304, L376, I379, F380, M508, V509; <i>polar:</i> T122, H310, T311, H377, S378; π - π ve <i>metal:</i> Hem	<i>Hidrofobik:</i> Y118, L121, F126, I131, Y132, M306, L376, I379, F380, M508, V509; <i>polar:</i> T122, H310, T311, H377, S378; π - π ve <i>metal:</i> Hem

Tablo 4.27. Bileşik 9, 12, 13, 32 ve 36'nın AutoDock 4 ve AutoDock Vina'dan elde edilen reseptör etkileşimleri (Devam)

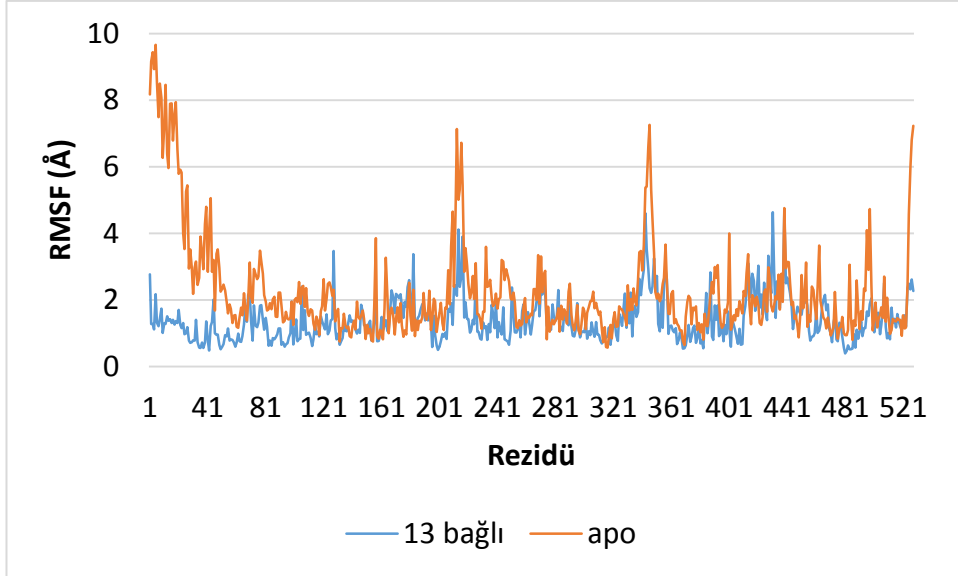
13	<i>Hidrofobik:</i> Y118, F126, I131, Y132, L300, I304, L376, I379, F380, M508, V509; <i>polar:</i> T122, T311, S378; π - π ve <i>metal:</i> Hem	<i>Hidrofobik:</i> Y118, L121, F126, I131, Y132, L300, I304, L376, I379, M508, V509; <i>polar:</i> T122, T311, S378; π - π : Y118, F126, Hem; <i>metal:</i> Hem
32	<i>Hidrofobik:</i> Y118, L121, F126, I131, Y132, P230, I304, L376, I379, F380, M508, V509; <i>polar:</i> T122, T311, S378; π - π : F380, Hem; <i>metal:</i> Hem	<i>Hidrofobik:</i> Y64, Y118, L121, F126, I131, Y132, P230, F233, L376, I379, F380, M508, V509; <i>polar:</i> T122, H310, T311, H377, S378; π - π : Y132, Hem; <i>metal:</i> Hem
36	<i>Hidrofobik:</i> Y118, F126, I131, Y132, F228, M306, L376, I379, F380, M508, V509; <i>polar:</i> T122, H310, T311, S378; π - π ve <i>metal:</i> Hem	<i>Hidrofobik:</i> Y118, L121, F126, I131, Y132, F228, P230, L376, F380, M508, V509; <i>polar:</i> T122, T311, S378; π - π ve <i>metal:</i> Hem

CACYP51-Bileşik 13 Kompleksinin MD Simülasyonları

GOLD programının GoldScore skorumundan elde edilen CACYP51-bileşik 13 kompleksinin 2 ns boyunca MD simülasyonları sonucu elde edilen trajektorinin zamana karşı C α RMSD değerleri (Şekil 4.8.) ile rezidülerin dalgalanma değerleri grafikleri (Şekil 4.9.) ligand bağlı olmayan (apo) CACYP51'in MD simülasyonlarından elde edilen grafiklerle karşılaştırılmıştır.



Şekil 4.8. CACYP51'in bileşik 13 bağlı ve apo sistemlerinin C α atomlarının zamana karşı RMSD grafiği.



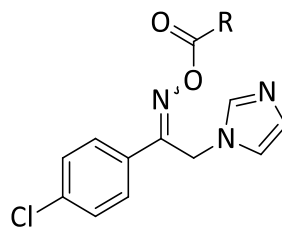
Şekil 4.9. CACYP51'in bileşik 13 bağı ve apo sistemlerinde rezidülerinin RMSF değerleri grafiği.

b. GABA_AR Üzerinde Moleküler Kenetleme Çalışmaları

Sonuç bileşikleri GABA_AR homoloji modeli üzerindeki üç ayrı bağlanma bölgesine kenetlenmiştir. GABA bağlanma bölgesi dar olduğu için poz elde edilememiştir.

LRZ Bağlanma Bölgesi

Bazı aktif bileşiklerin ve LRZ'ün LRZ bağlanma bölgesinde elde edilen kenetleme skorları Tablo 4.28.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.28. Bileşik 5-9, 11-14, 16 ve LRZ'ün LRZ bağlama bölgesinde GOLD ve Glide ile elde edilen kenetlenme skorları*

Bileşik	R	CHEMPLP	GoldScore	ChemScore	ASP	Glide**
5	CH ₃	66,5	50,8	24,2	29,9	-5,8
6	CH ₂ CH ₃	67,3	53,8	24,2	32,0	-5,3
7	(CH ₂) ₂ CH ₃	73,6	49,1	25,3	32,3	-5,6
8	(CH ₂) ₃ CH ₃	74,7	51,3	26,7	34,3	-4,9
9	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	73,8	56,1	26,2	25,3	-5,4
11	C ₆ H ₁₁	-	48,6	29,2	34,6	-4,5
12	CH=CHCH=CHCH ₃	77,7	45,3	28,9	33,7	-3,0
13	C ₆ H ₅	74,3	46,7	29,1	36,0	-4,0
14	(CH ₂) ₃ C ₆ H ₅	84,0	-	31,9	34,6	-4,0
16	(CH ₂) ₂ COC ₆ H ₅	84,6	-	29,9	38,6	-4,0
	LRZ	66,7	48,1	30,5	33,1	-6,4

* Bazı bileşikler için "-" ile belirtilen skorlama fonksiyonunda bağlanma uygun pozü elde edilememiştir.

** Kcal/mol

Bu bileşikler arasında nispeten düşük ED₅₀ değerlerine sahip olan bileşik 6-9 ve LRZ'ün LRZ bağlanma bölgesindeki etkileşimleri Tablo 4.29.'da özetlenmiştir.

Tablo 4.29. Bileşik 6-9 ve LRZ'ün LRZ bağlanma bölgesindeki etkileşimleri

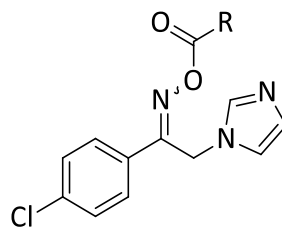
Bil.	CHEMPLP	GoldScore	Chemscore	ASP	Glide
6	<i>Hidrofobik:</i> (β2) L285, M286, F289, V290, F293, (α1) L231, P232, M235, I238; <i>polar:</i> (β2) T262, N265; <i>π-π:</i> (β2) F289, F293	<i>Hidrofobik:</i> (β2) L285, M286, F289, V290, F293, (α1) L231, P232, I234, M235, I238; <i>polar:</i> (β2) T262, N265; <i>π-π:</i> (β2) F289, F293	<i>Hidrofobik:</i> (β2) M283, L285, M286, F289, V290, F293, (α1) L231, P232, M235, I238; <i>polar:</i> (β2) T262; <i>π-π:</i> (β2) F293	<i>Hidrofobik:</i> (β2) L285, M286, F289, V290, F293, (α1) I227, P232, L268, A272; <i>polar:</i> (β2) T262, M235, I238; <i>polar:</i> (β2) T262, (α1) Q228, T229, N265; <i>π-π:</i> (β2) T236, T264, T267; <i>H bağı:</i> (α1) Q228	<i>Hidrofobik:</i> (β2) L285, M286, M261, L285, F289, V290, (α1) Y224, I227, P232, L268, A272; <i>polar:</i> (β2) T262, M235, I238; <i>polar:</i> (β2) T262, (α1) Q228, T229, N265; <i>π-π:</i> (β2) T236, T264, T267; <i>H bağı:</i> (α1) Q228

Tablo 4.29. Bileşik 6-9 ve LRZ'ün LRZ bağlanma bölgesindeki etkileşimleri (Devam)

7	<i>Hidrofofik:</i> (β 2) L285, M286, F289, V290, F293, (α 1) L231, P232, M235, I238; <i>polar:</i> (β 2) T262, N265; π - π : (β 2) F289	<i>Hidrofofik:</i> (β 2) M283, L285, M286, F289, V290, F293, (α 1) L227, L231, P232, M235, I238; <i>polar:</i> (β 2) T262, N265; π - π : (β 2) F289	<i>Hidrofofik:</i> (β 2) M283, L285, M286, F289, V290, F293, (α 1) L231, P232, M235, I238; <i>polar:</i> (β 2) T262, N265; π - π : (β 2) F293	<i>Hidrofofik:</i> (β 2) L285, M286, F289, V290, F293, (α 1) L227, L231, P232, M235, I238; <i>polar:</i> (β 2) T262, N265; π - π : (β 2) F289, F293	<i>Hidrofofik:</i> (β 2) M286, M261, L285, F289, V290, (α 1) Y224, I227, P232, L268, A272; <i>polar:</i> (β 2) T262, T263, N265, T266, (α 1) Q228, T229, T264, T267, S271; <i>H bağı:</i> (α 1) Q228
8	<i>Hidrofofik:</i> (β 2) M283, L285, M286, F289, V290, F293, (α 1) L227, L231, P232, M235, I238; <i>polar:</i> (β 2) T262, N265; π - π : (β 2) F289	<i>Hidrofofik:</i> (β 2) M283, L285, M286, F289, V290, F293, (α 1) L227, L231, P232, M235, I238; <i>polar:</i> (β 2) T262, N265; π - π : (β 2) F289, F293	<i>Hidrofofik:</i> (β 2) M283, L285, M286, F289, V290, F293, F335, V290, F293, (α 1) L227, L231, F335, (α 1) L231, A272; <i>polar:</i> (β 2) T262, N265, T266, I238; <i>polar:</i> (β 2) T262, N265; π - π : (β 2) F289, T262, N265; π - π : (β 2) F289, F293	<i>Hidrofofik:</i> (β 2) L285, M286, F289, V290, F293, P232, M235, L268, A272; <i>polar:</i> (β 2) T262, N265, T266, R269, (α 1) Q228, T229, T264, T267, S271	<i>Hidrofofik:</i> (β 2) L285, F289, Y224, I227, L231, P232, M235, L268, A272; <i>polar:</i> (β 2) T262, N265, T266, R269, (α 1) Q228, T229, T264, T267, S271
9	<i>Hidrofofik:</i> (β 2) M283, L285, I227, M286, F289, V290, F293, (α 1) L231, P232, M235, I238; <i>polar:</i> (β 2) T262, N265; π - π : (β 2) F289, F293	<i>Hidrofofik:</i> (β 2) L285, I227, L285, M286, F289, V290, F293, (α 1) L231, P232, I234, M235, I238; <i>polar:</i> (β 2) T262, N265; π - π : (β 2) F289	<i>Hidrofofik:</i> (β 2) L285, M286, F289, V290, F293, (α 1) L231, P232, I234, M235, I238; <i>polar:</i> (β 2) T262, N265; π - π : (β 2) F289	<i>Hidrofofik:</i> (β 2) L285, M286, F289, V290, F293, (α 1) L227, L231, P232, M235, I238; <i>polar:</i> (β 2) T262, N265, (α 1) Q228	<i>Hidrofofik:</i> (β 2) P232, M261, L285, F289, (α 1) Y224, I227, L268, A272; <i>polar:</i> (β 2) T262, T263, T264, N265, T266, T267, (α 1) T229, T267, S271; <i>H bağı:</i> (α 1) Q228
LRZ	<i>Hidrofofik:</i> (β 2) L285, M286, F289, V290, (α 1) L227, L231, P232, M235; <i>polar:</i> (β 2) T262, N265; π - π : (β 2) F289; <i>H bağı:</i> (α 1) Q228	<i>Hidrofofik:</i> (β 2) M261, L285, M286, F289, V290, (α 1) L227, L231, P232, M235, L268; <i>polar:</i> (β 2) T262, N265, T266, (α 1) Q228; π - π : (β 2) F289	<i>Hidrofofik:</i> (β 2) M286, F289, V290, (α 1) L227, L231, P232, M235, L268; <i>polar:</i> (β 2) T262, N265, (α 1) Q228; π - π : (β 2) F289; <i>H bağı:</i> (β 2) N265	<i>Hidrofofik:</i> (β 2) L285, M286, F289, V290, (α 1) L227, L231, P232, M235, L268; <i>polar:</i> (β 2) T262, N265, T266; π - π : (β 2) F289; <i>H bağı:</i> (β 2) F289	<i>Hidrofofik:</i> (β 2) L285, M286, F289, V290, (α 1) L227, L231, P232, M235, L268; <i>polar:</i> (β 2) T262, T266; π - π : (β 2) F289; <i>H bağı:</i> (β 2) N265, (α 1) Q228

BZD Bağlanma Bölgesi

Bazı aktif bileşiklerin BZD bağlanma bölgesinde elde edilen kenetleme skorları Tablo 4.30.'da gösterilmiştir.

Tablo 4.30. Bileşik 5-9, 11-14 ve 16'nın BZD bağlanma bölgesinde GOLD ve Glide ile elde edilen kenetlenme skorları*

Bileşik	R	CHEMPLP	GoldScore	ChemScore	ASP	Glide**
5	CH ₃	56,5	55,5	27,0	37,2	-5,3
6	CH ₂ CH ₃	62,3	62,5	28,8	39,9	-6,4
7	(CH ₂) ₂ CH ₃	67,5	63,8	28,0	41,7	-6,1
8	(CH ₂) ₃ CH ₃	68,4	57,2	28,9	42,0	-6,5
9	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	-	60,2	31,0	42,1	-6,2
11	C ₆ H ₁₁	71,3	64,3	33,2	43,8	-6,7
12	CH=CHCH=CHCH ₃	-	66,7	29,1	41,4	-5,4
13	C ₆ H ₅	-	64,8	31,2	44,2	-6,7
14	(CH ₂) ₃ C ₆ H ₅	75,7	75,9	36,4	48,7	-6,4
16	(CH ₂) ₂ COC ₆ H ₅	68,6	69,2	35,3	-	-6,3

* Bazı bileşikler için "-" ile belirtilen skortlama fonksiyonunda bağlanma uygun pozunu elde edilememiştir.

** Kcal/mol

Bileşik 6-9'un BZD bağlanma bölgesindeki etkileşimleri Tablo 4.31.'de özetlenmiştir.

Tablo 4.31. Bileşik 6-9'un BZD bağlanma bölgesindeki etkileşimleri

Bil.	CHEMPLP	GoldScore	Chemscore	ASP	Glide
6	<i>Hidrofofik:</i> (α1) Y159, V202, Y209, V211, (γ2) Y58, A79, L142; <i>polar:</i> (α1) H101, S158, S204, S205, T206 (γ2) D56, N128, T142, R144; <i>π-π:</i> (α1) F99, (γ2) F77	<i>Hidrofofik:</i> (α1) F99, A160, (γ2) Y58, F77, A79, M130; <i>polar:</i> (α1) S204, S205, T206 (γ2) D56, N128, T142, R144; <i>π-π:</i> (α1) Y159, Y209	<i>Hidrofofik:</i> (α1) F99, V202, (γ2) Y58, F77, A79; <i>polar:</i> (α1) H101, S204, S205, T206 (γ2) N128, T142, R144; <i>π-π:</i> (α1) Y159, Y209	<i>Hidrofofik:</i> (α1) F99, V202, Y209, (γ2) Y58, A79, L140; <i>polar:</i> (α1) H101, S204, S205, T206 (γ2) D56, T142; <i>π-π:</i> (α1) Y159, (γ2) F77	<i>Hidrofofik:</i> (α1) Y159, V202, V211, (γ2) M57, Y58, F78, A79; <i>polar:</i> (α1) H101, S158, S204, (γ2) N128, T142, R144, S158; <i>π-π:</i> (α1) F99, Y209, (γ2) F77

Tablo 4.31. Bileşik 6-9'un BZD bağlanma bölgesindeki etkileşimleri (Devam)

7	<p><i>Hidrofobik:</i> (α1) V202, Y209, V211, (y2) M57, Y58, F77, F78, A79, L143; <i>polar:</i> (α1) H101, S158, S205, (y2) D56, T206, (y2) D56, T142, R144, N128, T142, R144; π-π: (α1) F99, Y159; <i>H</i> π-π: (α1) F99, Y159; <i>H bağı:</i> S204</p>	<p><i>Hidrofobik:</i> (α1) V202, Y209, V211, (y2) Y58, F77, A79, L143; <i>polar:</i> (α1) H101, S158, S205, (y2) D56, T142, R144, E189; π-π: (α1) F99, Y159; <i>H bağı:</i> S204, T206</p>	<p><i>Hidrofobik:</i> (α1) V202, Y209, F99, V202, Y209, V211, (y2) Y58, V211, (y2) Y58, F77, A79, L143; <i>polar:</i> (α1) H101, S158, S205, S158, S204, S158, S204, S205, (y2) D56, T206, (y2) T206, (y2) D56, T142, R144, E189; π-π: D56, N128, N128, T142, R144, R144; π-π: (α1) Y159, (y2) F77</p>	<p><i>Hidrofobik:</i> (α1) V202, Y209, F99, V202, Y209, V211, (y2) Y58, V211, (y2) Y58, F77, A79, M130, L140, L143; <i>polar:</i> (α1) H101, S158, S205, (y2) D56, N128, T142, R144, E189; π-π: (α1) F99, Y209; <i>H bağı:</i> T206</p>
8	<p><i>Hidrofobik:</i> (α1) Y159, V202, Y209, F99, V202, Y209, V211, (y2) Y58, A79, L143; <i>polar:</i> (α1) H101, S158, S205, T206, (y2) D56, N128, T142, R144, E189; π-π: (α1) F99, (y2) F77; <i>H bağı:</i> S204</p>	<p><i>Hidrofobik:</i> (α1) F99, V202, Y209, F99, V202, Y209, V211, (y2) Y58, F77, A79, L140; <i>polar:</i> (α1) S158, S205, T206, (y2) D56, N128, T142, R144, K184; π-π: (α1) Y159; <i>H bağı:</i> S204</p>	<p><i>Hidrofobik:</i> (α1) F99, V202, Y209, F99, V202, Y209, V211, (y2) Y58, V211, (y2) Y58, F77, A79; <i>polar:</i> (α1) H101, S158, S205, (y2) D56, N128, T142, R144, E189; π-π: (α1) Y159; <i>H bağı:</i> S204, T206</p>	<p><i>Hidrofobik:</i> (α1) Y159, V202, V211, (y2) Y58, F77, A79, M130, L140, L143; <i>polar:</i> (α1) H101, S158, S205, S204, S205, T206 (y2) D56, N128, T142, R144; π-π: (α1) F99, Y209; <i>H bağı:</i> T206</p>
9	-	<p><i>Hidrofobik:</i> (α1) F99, V202, Y209, V202, v209, V211, V211, (y2) M57, Y58, Y58, F77, F78, F78, A79, L143; <i>polar:</i> (α1) H101, S158, S204, S158, S205, T206 S205, (y2) D56, (y2) D56, N128, N128, T142, T142, R144, E189; π-π: (α1) F99, (y2) Y159, (y2) Y159, (y2) F77; <i>H bağı:</i> T206</p>	<p><i>Hidrofobik:</i> (α1) V202, V211, (y2) M57, Y58, A79, L140; <i>polar:</i> (α1) H101, S204, S205, T206 (y2) D56, T142, R144, E189; π-π: (α1) F99, Y159, (y2) F77</p>	<p><i>Hidrofobik:</i> (α1) Y159, V202, V211, (y2) Y58, A79; <i>polar:</i> (α1) H101, S158, S204, S205, T206 (y2) D56, N128, T142, R144, E189; π-π: (α1) F99, Y209, (y2) F77</p>

5. TARTIŞMA

Bu çalışma kapsamında 17 adet *N*-[2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etiliden]amino esteri (bileşik 5-21) ve 16 adet *N*-[1-(4-klorofenil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)etiliden]amino esteri (bileşik 22-37) olmak üzere 33 yeni bileşik sentez edilerek antimikrobiyal aktiviteleri taranmıştır. Bu tür bileşiklerin (arilalkil)azol grubu antikonvülsanlara büyük yapısal benzerlik göstermesi nedeniyle bileşiklerimizin antikonvülsan aktivitelerinin araştırılması da tez kapsamına alınmıştır. Bileşiklerin fizikokimyasal ve farmakokinetik özellikleri ile olası biyolojik hedeflerle etkileşimleri moleküler modelleme çalışmalarıyla öngörülmeye çalışılmıştır.

Bileşikler flukonazol, ekonazol ve mikonazol gibi prototip antifungal azollerde yapılan moleküler modifikasyonlar ile tasarlanmıştır. Bileşiklerimiz azol grubu olarak 1*H*-imidazol veya 1*H*-1,2,4-triazol, aril grubu olarak 4-klorobenzen ve alkil grubu olarak azol ve aril grubunu birbirine bağlayan bir etilen zinciri içermektedir. Etilen zincirinin 1 numaralı konumuna getirilen çeşitli alkil, aril, arilalkil sübstitüsyonları (kuyruk), oksim ester fonksiyonel grubuyla yapıya bağlanmıştır. Oksim ester yapısını oluşturan karboksilik asitlerin seçiminde, araştırma grubumuz tarafından daha önce yapılan çalışmalardan elde edilen ve bu çalışmaya temel teşkil eden bulgulardan yararlanılmıştır. Sonuç olarak bu çalışmada, Doğan ve ark. (33) tarafından bildirilen 1-fenil/(4-klorofenil)-2-(1*H*-imidazol-1-il)etanol esterlerinde yüksek antifungal ve antikonvülsan aktivite gözlenen türevlerin oksim ester analogları yapılmıştır. Sentezi yapılan bileşiklerde azol grubu ve kuyruk kısmındaki modifikasyonların biyolojik aktivite üzerindeki etkileri incelenerek YEİ oluşturulmaya çalışılmıştır.

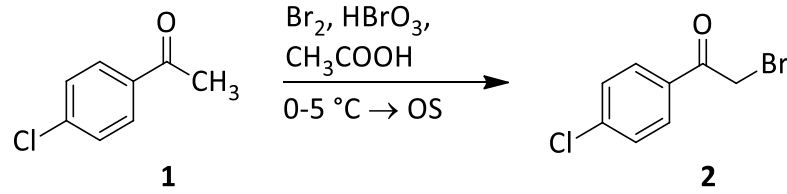
5.1. Kimyasal Çalışmalar

5.1.1. Sentez Çalışmaları

a. Başlangıç Maddelerinin Sentezi

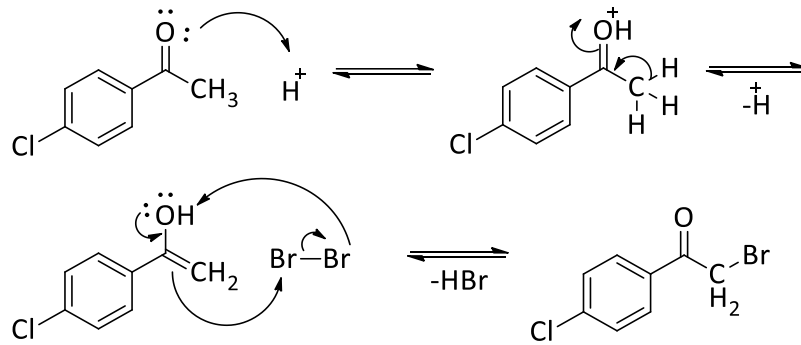
2-Bromo-1-(4-klorofenil)etanon (Bileşik 2) Sentezi

2-Bromo-1-(4-klorofenil)etanon (bileşik 2) 4-kloroasetofenonun (bileşik 1) asetik asitli ortamda, eser miktarda bromik asit varlığında bromlanmasıyla %50,1 verimlerle elde edilmiştir (Şekil 5.1.). Erime derecesi 92,5-94 °C olarak ölçülmüş olup literatür verilerine uygundur (356).



Şekil 5.1. Bileşik 2'nin sentezi.

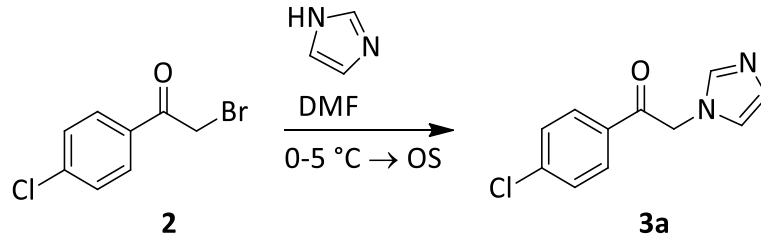
Ketonların asit katalizli bromlama reaksiyonu karbonil grubunun oksijen atomunun protonlanması ile başlar (Şekil 5.2.). Devamında oluşan ara formun deprotonizasyonu ile oluşan enol formu bromla reaksiyona girer. Ortamdaki asit miktarının artması durumunda bromlama devam ederek di ve tribromo türevleri oluşur (465, 466). Reaksiyonun elektrofilik katım-eliminasyon mekanizmasına göre yürüdüğü düşünülmektedir.



Şekil 5.2. 1-(4-Klorofenil)etanonun α konumundan bromlanma mekanizması.

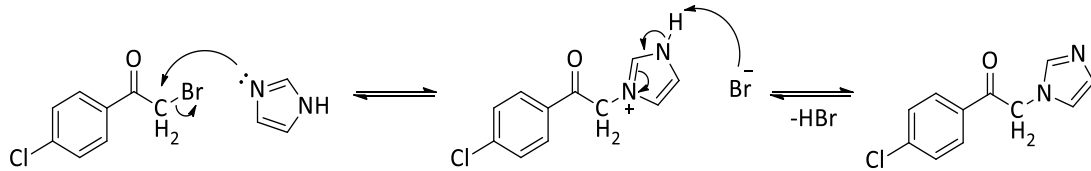
2-(1*H*-İmidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etanon (Bileşik 3a) Sentezi

Bileşik 3a, Godefroi ve ark. (417)'nin uyguladığı yönteme göre, imidazolün bileşik 2 ile DMF içindeki *N*-alkilasyon reaksiyonu sonucu %69 verimle elde edilmiştir (şekil 5.3.). Bileşiğin erime derecesi (158-9  C) literatür verilerine uygundur.



şekil 5.3. Bileşiik 3a'nın sentezi.

İmidazolün fazlasının baz olarak kullanıldığı reaksiyonun mekanizmasının S_N2 olduğu düşünülmektedir (şekil 5.4.). Buna göre nükleofilik atak 3 numaralı konumdaki azot tarafından başlatılmakta ve alkilasyon bu konumda gerçekleşmekte, daha sonra çiftte bağın diğer azot atomuna kayması ile ürün oluşmaktadır (467, 468).

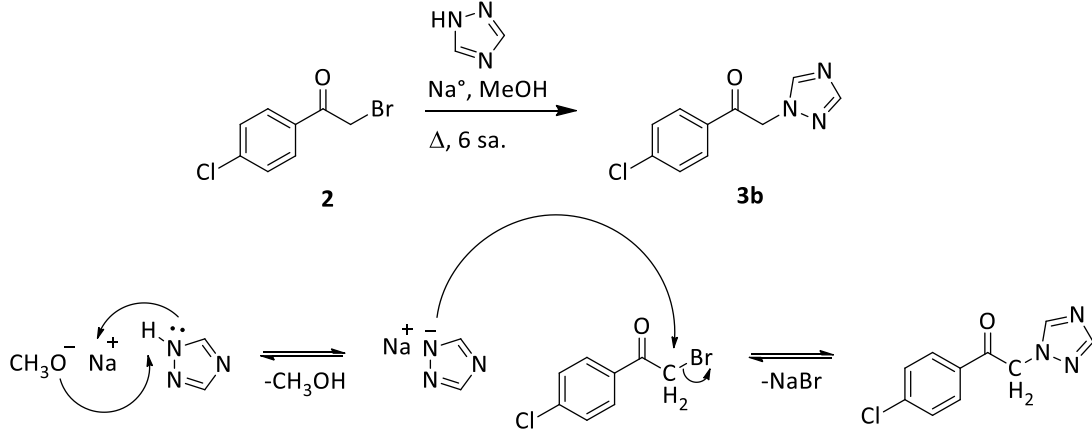


şekil 5.4. İmidazolün *N*-alkilasyon reaksiyonunun mekanizması.

1-(4-Klorofenil)2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)etanon (Bileşiik 3b) Sentezi

1,2,4-Triazolün ekivalan miktarda sodyum metoksitle tepkimeye sokularak 1 numaralı konumdaki protonun sodyum ile yer değiştirmesi ile elde edilen 1,2,4-triazol sodyum tuzu, bu konumdaki iyonik bağ ile reaksiyonun daha kolay yürümesini sağlamıştır (şekil 5.5.). %71 verimle sentez edilen bileşiik 3b'nin erime derecesi 160-3  C olup bu değer literatür verilerine uygundur. 1,2,4-Triazolün sodyum veya gümüş tuzu üzerinden *N*-alkilasyon reaksiyonu sonucu, anyon halindeki 1,2,4-triazol halkasının 1 ve 2 numaralı konumlardaki azot atomlarının n kleofilisitelerinin 4 numaralı konumdaki azottan daha yüksek olması nedeniyle ürünün büyük oranda 1-

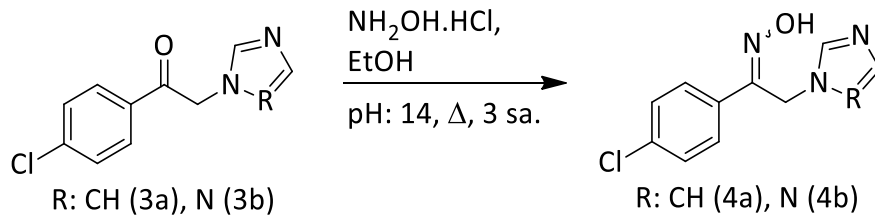
alkil-1*H*-1,2,4-triazol olduğu literatürde bildirilmiştir. Sodyum tuzunun kullanılmadığı reaksiyonlarda ise alkilasyon 4 numaralı konum üzerinden yürümektedir (469-473).



Şekil 5.5. 1,2,4-Triazolün *N*-alkilasyonu ve reaksiyon mekanizması.

5.1.4. *N*-[2-(1*H*-imidazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etiliden]hidroksilamin (Bileşik 4a) ve *N*-[1-(4-klorofenil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)etiliden]hidroksilamin (Bileşik 4b) sentezi

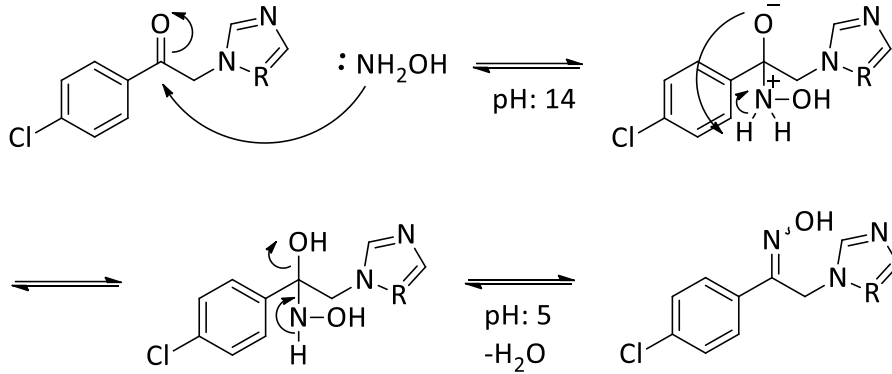
Bileşik 4a ve 4b Şekil 5.6'da belirtilen reaksiyon ile sırasıyla %74 ve % 66 verimle sentez edilmiştir. Bileşiklerin erime dereceleri (sırasıyla 229 ve 202,5-5 °C) literatüre uygundur.



Şekil 5.6. 2-(1*H*-İmidazol/1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etanon oksim sentezi.

Nükleofilik katım-eliminasyon mekanizmasıyla yürüyen bu kondenzasyon reaksiyonunda, 15 *N* sodyum hidroksit çözeltisi ile pH'nın 14'e ayarlandığı bazik ortamda nükleofil gücü artan hidroksilamin, keton türevinin karbonil karbonuna hücum ederek katım tepkimesi oluşturur (Şekil 5.7.). Hidroksilin protonlanması için tepkime ortamının pH'sı 5 olana kadar asitlendirilir. Eliminasyon aşamasında su çıkışı

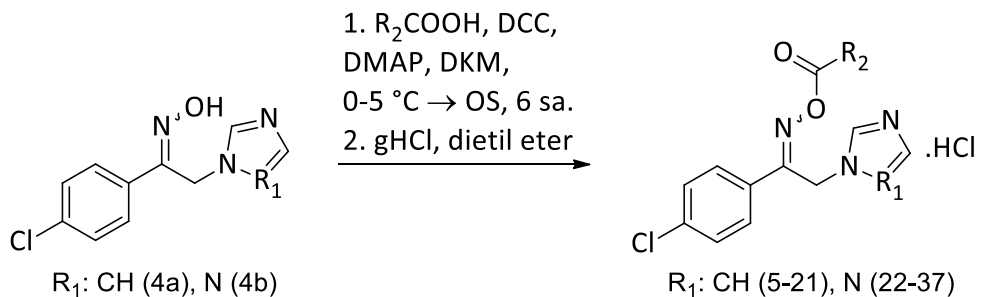
sonucu karbon ile azot arasında çiftte bağ oluşur ve oksim çöker. Asitlendirme sırasında pH'nın 4-5'in altına düşmesi halinde tepkime geri dönerek çöken ürün çözünür. Oksimlerin oluşum hızının, substratın yapısına bağlı olmakla birlikte genellikle pH 5 olduğunda en yüksek değere ulaştığı gösterilmiştir (382).



Şekil 5.7. 2-(1*H*-İmidazol/1,2,4-triazol-1-il)-1-(4-klorofenil)etanon oksim sentezinin mekanizması.

b. Sonuç Bileşiklerin (Bileşik 5-37) Sentezi

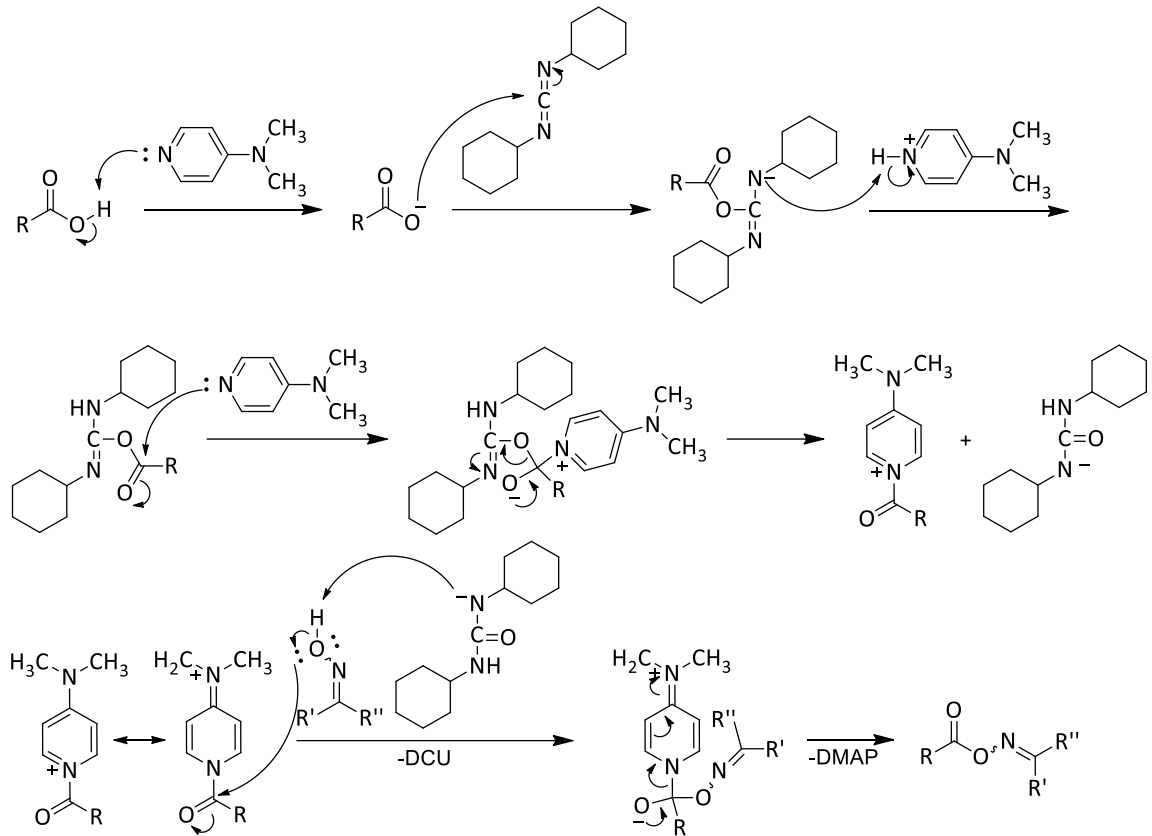
Sonuç bileşikler genel sentez yönteminde belirtildiği gibi Steglich esterleşmesiyle elde edilmiştir (Şekil 5.8.). Bu amaçla uygun oksim ve karboksilik asit türevleri su tutucu bir ajan olan DCC ve açıl transfer ajanı olan DMAP varlığında kuru DKM içerisinde reaksiyona sokulmuştur. Reaksiyon sonunda çöken DCU süzülerek uzaklaştırılmış, süzültüde kalan oksim ester türevleri gaz hidroklorik asidin dietil eterdeki doymuş çözeltisi ile tuz formuna dönüştürülmüştür.



Şekil 5.8. Sonuç bileşiklerinin sentezi.

Reaksiyon, DMAP'nin karboksilik asit türevinden asidik proton koparması ile başlar ve oluşan karboksilatın DCC'ye nükleofilik katımı ile *O*-açıl ara ürününün

oluşmasıyla devam eder (Şekil 5.9.). DMAP'nin *O*-açıl türevine yaptığı nükleofilik atak sonucu katım-eliminasyon ile *O*-açıl türevinin hidrolizi gerçekleşir ve DCU ile 1-*o*-açıl-DMAP tuzu oluşur. Bu tuzun açıl karboniline, oksim türevi hidroksil oksijeni ile nükleofilik atak yaparak katım-eliminasyon sonucu oksim ester türevinin oluşmasını sağlar (Şekil 5.9.).



Şekil 5.9. Steglich esterleşmesinin mekanizması.

Reaksiyon başlangıcında oksim türevleri DKM içerisinde kısmen süspande haldedir. Reaksiyon ilerledikçe oluşan oksim ester türevleri DKM içerisinde çözünür ve süspande haldeki oksim türevi azalır, oluşan DCU ise çökmeye başlar. Yaklaşık 6 saat süren reaksiyonlarda verim imidazol türevlerinde %15-75, triazol türevlerinde %14-41 arasında değişmektedir. İmidazol türevlerinden bileşik 10 izolasyonunda yaşanan sorunlar nedeniyle %15 verimle, diğerleri yaklaşık %50 verimle elde edilmiştir. Triazol türevlerinin düşük verimle elde edilmesinin nedeni muhtemelen reaksiyon sırasında oluşan ve izole edilemeyen bir yan üründür. Bu ürün reaksiyon sırasında ve saflaştırılmamış sonuç bileşik içerisinde İTK ile tespit edilmekte,

kromatogramda genellikle sonuç bileşikten biraz daha düşük R_f değerlerinde gözlenmektedir.

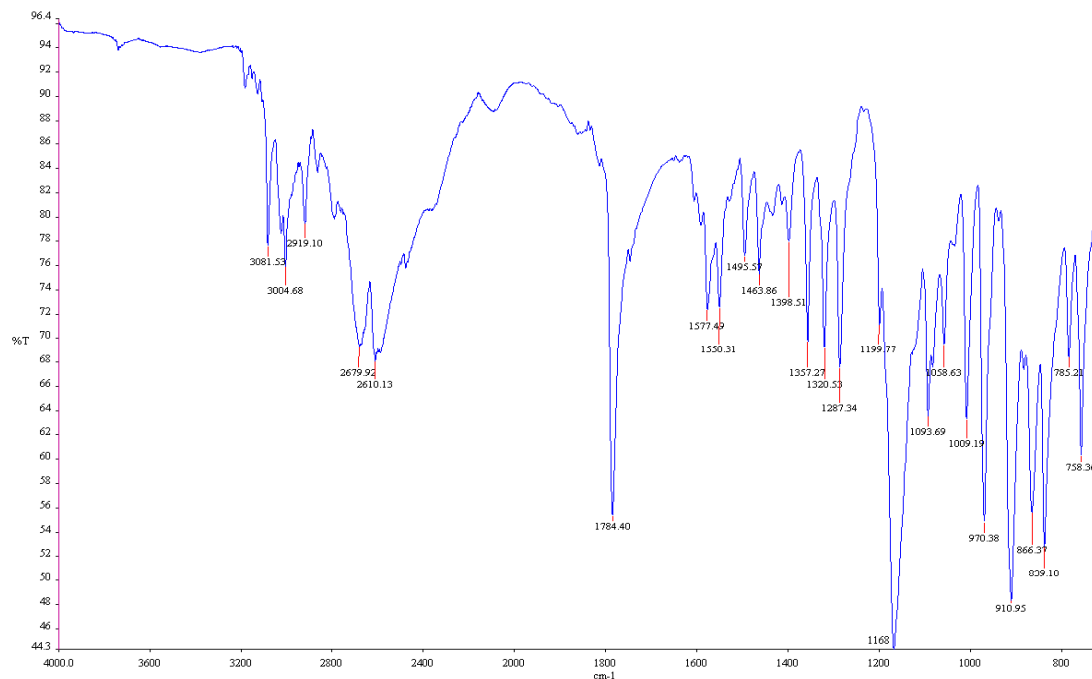
Literatürde, açıl halojenürlerle yapılan oksim ester sentezlerinin daha yüksek verimle gerçekleştiği bildirilmiştir; ancak açıl halojenürler kötü koku ve tahriş edici özellikleri nedeniyle çalışmamızda tercih edilmemiştir.

5.1.2. Sentez Edilen Bileşiklerin Yapılarının Aydınlatılması

Bileşik 5-37'nin yapısı IR, NMR ve kütle spektroskopisi ile aydınlatılmış, saflıkları eleman analizi ile kanıtlanmıştır.

IR Spektrumları

Oksim ester yapısındaki bileşiklerin IR spektrumlarında, oksim yapısında görülmeyen C-O gerilim titreşimi $1081-1200\text{ cm}^{-1}$, C=O gerilim titreşimi $1727-1785\text{ cm}^{-1}$ 'de literatür verilerine uygun olarak gözlenmiştir (Şekil 5.10.) (408). Bileşiklerin IR spektrumlarında alifatik gruplardan dolayı $2855-2996\text{ cm}^{-1}$ arasında, aromatik gruplar nedeniyle de $3001-3151\text{ cm}^{-1}$ arasında C-H gerilme titreşimlerine ait pikler görülmüştür (407, 410).



Şekil 5.10. Bileşik 5'in IR spektrumu.

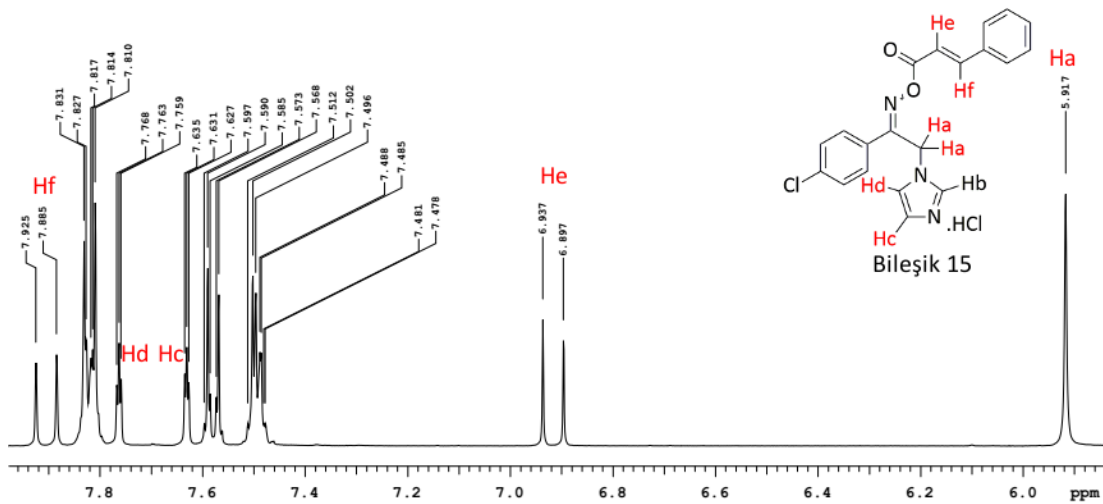
¹H-NMR Spektrumları

Sonuç bileşiklerin (bileşik 5-37) sentezinde kullanılan oksim türevlerinde (bileşik 4a ve 4b) ¹H-NMR spektrumunda 10.91 ppm'de gözlenen oksim protonuna (N-OH) ait pik, oksim esterlerinde görülmemektedir. Ayrıca kuyruk kısmında alkil sübstitüenti taşıyan sonuç bileşiklerin spektrumlarında alifatik bölgede pikler görülmesi, aromatik sübstitüent taşıyan türevlerin spektrumlarında ise aromatik bölgedeki pik integralinin artmış olması oksim türevlerinin oksim ester türevlerine dönüştüğünü göstermektedir.

Bileşiklerin oksim kökünde yer alan CH₂ protonları azol ve oksim komşuluğunda anti perdeleme ve manyetik anizotropi etkisiyle imidazol türevlerinde 5,78-5,80; triazol türevlerinde ise 5,70-5,73 ppm'de singlet olarak gözlenmiştir. Oksim kökünde yer alan 4-klorobenzen grubuna ait protonlar *p*-disübstitüe benzenlere karakteristik iki dublet pik halinde gözlenmiştir. Bu protonlardan H^{3,5} ile H^{2,6} kendi aralarında kimyasal kayma ekivalanıdır. Bir AA'BB' sistemi olan bu protonlardan H^{3,5'}in yukarı alanda (≈7,5 ppm), H^{2,6'}nin ise aşağı alanda (≈7,8) rezonansa geldiği düşünülmektedir. 1-Sübstitüe-1*H*-imidazol protonlarının ppm değerlerine göre H² > H⁴ > H⁵ sırasıyla gözlendiği bilinmektedir (410). İmidazol türevi sonuç bileşiklerinde imidazole ait proton piklerinin de aynı sırada gözlendiği düşünülmektedir. Bileşiklerin HCl tuzu formunda olması nedeniyle bu piklerin bir miktar aşağı alana kaydığı (≈7,6-7,7 ppm), özellikle H² protonuna ait pikin 9 ppm'in üzerinde kaydedildiği düşünülmektedir. Yine literatür bilgilerine uyumlu olarak imidazol protonları birbirleriyle eşleşerek triplet pikler halinde gözlenmiştir. 1-Sübstitüe-1,2,4-triazol türevlerine ait triazol protonlarının ise ppm değerlerine göre H⁵ > H³ sırasıyla pik verdiği bilinmektedir (474). Bu protonlar bizim bileşiklerimizde sırasıyla 8,9 ve 7,9 ppm'de gözlenmiştir. H⁵ protonu HCl tuzunun etkisiyle literatürde bildirilen ppm değerinin biraz üzerinde gözlenmiştir. Triazol protonlarının imidazol türevlerindeki aksine singlet olarak gözlenmesi, 5 halkalı heterosiklik aromatik bileşiklerde görülen heteroatom sayısının artması ile eşleşme sabitinin düşmesi kuralına bir örnektir (410).

Kuyruk kısmında alkil ya da sikloalkil gruplarının yer aldığı türevlerin (bileşik 5-11, 14, 16, 22-27, 30 ve 32) spektrumlarında alifatik bölgede gözlenen ilgili pikler,

literatür bilgileriyle uyumludur. Özellikle bu kısımda karbonil grubuna komşu protonların, 2,28-2,59 ppm'de komşu protonlarla eşleşerek pik verdiği bu alkil zincirlerinin merkezinde yer alan CH/CH₂ protonlarının, komşu alifatik grupların sp³ elektronlarının antiperdeleme etkisiyle aşağı alana kaydığı görülmüştür. Bileşik 17 ve 33'ün benzen halkasına bağlı metil protonlarına ait pikler yaklaşık 2,40 ppm'de, bileşik 18 ve 34'te bulunan metoksi protonları yaklaşık 3,85 ppm'de gözlenmiştir. Kuyruk kısmında heksa-2,4-dienoil grubu taşıyan bileşik 12 ve 28'in spektrumunda 1 numaralı karbon atomuna bağlı proton (H²) 6,11 ppm'de, komşuluğundaki olefinik protonla (H³) eşleşerek ($J = 15,6$ Hz) dublet olarak pik vermiştir ve bu değer birbirine göre trans konumda bulunan protonların eşleşme sabitine denk gelmektedir. Ancak diğer olefinik protonlar multipllet olarak gözlendiği ve daha fazla destekleyici veri bulunmadığı için bu bileşiklerin sentezinde kullanılan (2*E*,4*E*)-heksa-2,4-dienoik asidin (sorbik asit) konfigürasyonunun sonuç bileşiklerde korunup korunmadığı kesin değildir. Aynı konumda 3-fenilprop-2-enoil grubu taşıyan bileşik 15'in yapısında yer alan iki adet olefinik protondan karbonile komşu olanı H² ile komşuluğundaki olefinik proton H³ birbiriyle eşleşerek, sırasıyla 6,92 ve 7,91 ppm'de dublet ($J = 16$ Hz) olarak pik vermiştir (Şekil 5.11.). Bu da trans eşleşen iki olefinik protonu işaret etmekte, sonuç bileşiklerin, sentezlerinde kullanılan (2*E*)-3-fenilprop-2-enoik asidin trans konfigürasyonunun korunduğunu göstermektedir. Bu bileşiğin triazol türevi olan bileşik 31'in spektrumunda H² aynı ppm ve J değeriyle tespit edilmiş; ancak H³ aromatik protonlarla çakışmıştır. Kuyruk kısmında aromatik grup ya da gruplar taşıyan bileşiklerin (bileşik 12-21 ve 29-37) bazılarının spektrumlarında bu gruplara ait protonlar ayrı ayrı tespit edilebilirken, bazılarında diğer aromatik protonlarla çakışmalar nedeniyle integral hesabı ile varlıkları gösterilmiştir.



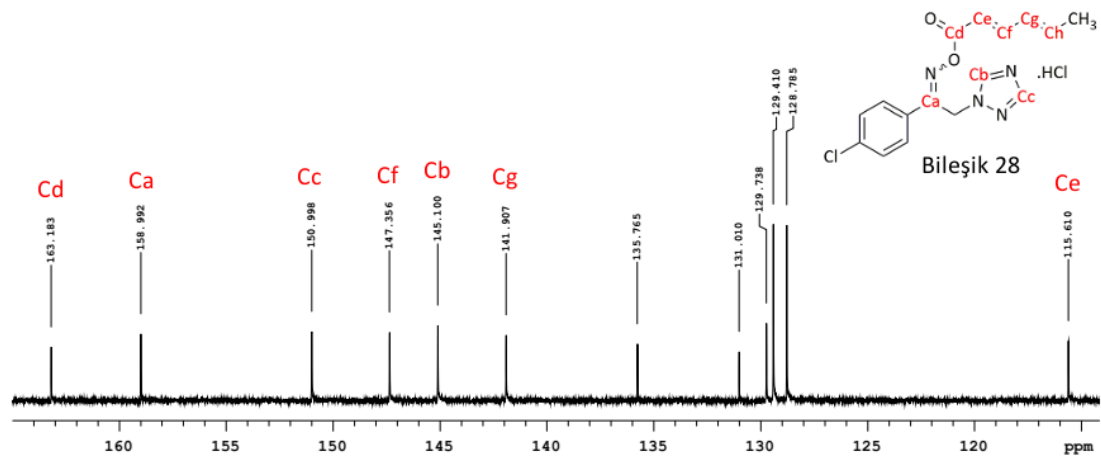
Şekil 5.11. Bileşik 15'in ¹H-NMR spektrumundan kesit.

¹³C-NMR Spektrumları

Bileşiklerin ¹³C-NMR spektrumlarında gözlenen önemli piklerden biri oksim türevlerinde bulunmayan ve 162-172 ppm aralığında gözlenen C=O karbonuna ait piktir. C=N karbonuna ait pik ise bu piklerin hemen yanında, ≈160 ppm'de gözlenir.

Oksim fonksiyonel grubu ile azol halkası arasında kalan CH₂ karbonu 42-46 ppm arasında gözlenmiştir. 1-Süstitüe-1H-imidazol yapısındaki bileşiklerin imidazol karbonlarına ait piklerin ppm değerlerinin C² > C⁴ > C⁵ sırasıyla gözlendiği bildirilmiştir (475). Sonuç bileşiklerin spektrumlarında bu karbonlara ait pikler literatür verileriyle uyumlu olarak sırasıyla 136; 122-123 ve 120-121 ppm civarında gözlenmiştir. 1-Süstitüe-1H-1,2,4-triazol bileşiklerinde triazol karbonlarına ait piklerin ppm değerlerinin C³ > C⁵ sırasıyla gözlendiği bildirilmiştir. Sonuç bileşiklerinde bu karbonlar sırasıyla 151 ve 145-146 civarında pik vermiştir ve literatüre uygundur. 4-Klorobenzene ait C² ve C⁶ karbonları ile C³ ve C⁵ karbonları kimyasal kayma ekivalanı olarak 2 C integralinde birer pik olarak gözlenmiştir. Bu yapıdaki C¹ ve C⁴ karbonlarına ait pikler ise 130-140 ppm aralığında çıkmıştır. Sonuç bileşiklerin kuyruk kısımlarındaki karbonlara ait pikler ¹H-NMR spektrumlarında olduğu gibi alifatik, olefinik ve aromatik bölgelerde gözlenmiştir. Örneğin bileşik 5-11, 14, 16-18, 22-27, 30 ve 32-34'e ait spektrumlarında alifatik pikler gözlenmiştir. Bu piklerin kimyasal kaymaları ilgili karbonların üzerinde taşıdığı protonların ¹H-NMR kimyasal kaymalarıyla uyumludur.

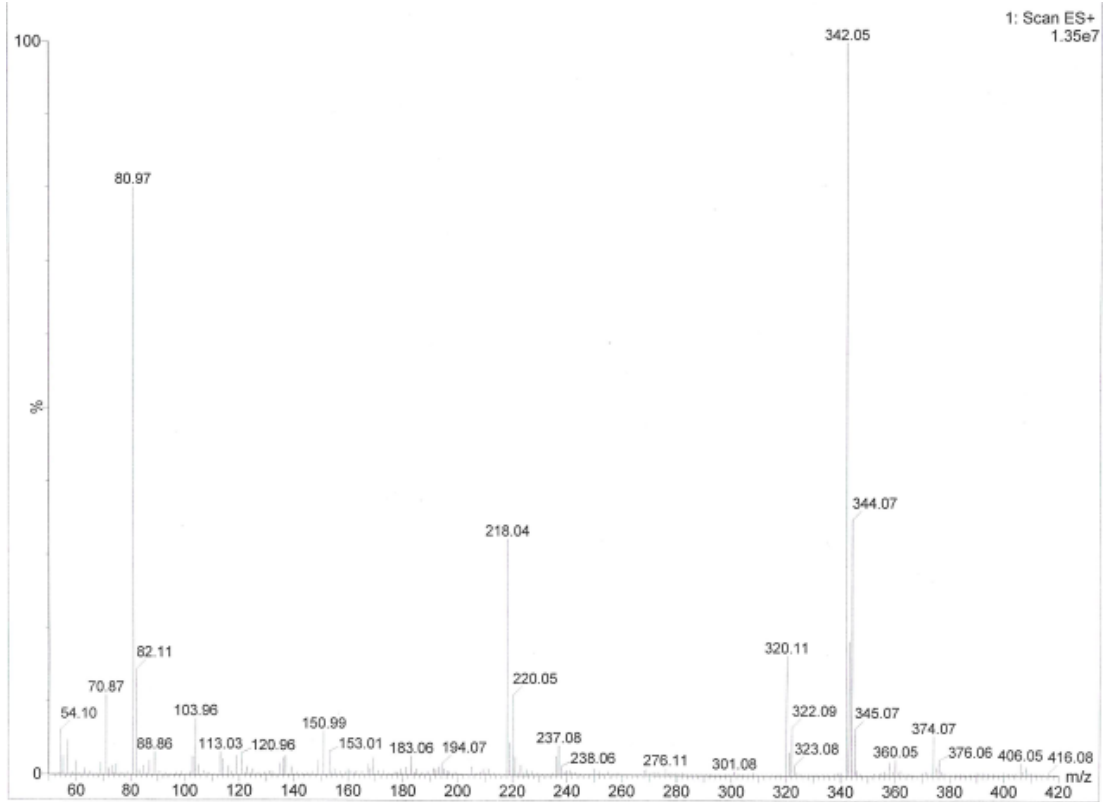
Olefinik karbon taşıyan bileşik 12, 15, 28 ve 31'in spektrumlarında bu karbonlara ait pikler literatür verileriyle uyumludur. Örneğin, bileşik 12'nin kuyruk kısmında yer alan hekza-2,4-dienoil grubuna ait C² 115,97; C³ 148,03; C⁴ 130,19 ve C⁵ 142,64 ppm'de pik vermiştir. Aynı bileşiğin triazol türevi olan bileşik 28'in ilgili karbonları için de aynı sıralama ve benzer ppm değerleri söz konusudur (Şekil 5.12.). Kuyruk kısmında aromatik halka ya da halkalar taşıyan bileşik 12-21 ve 29-37'nin spektrumlarında aromatik bölgede gözlenen pikler sayı olarak ilgili karbon sayılarını tutsa da hangi karbona karşılık geldiği ayırt edilememiştir.



Şekil 5.12. Bileşik 28'in ¹³C-NMR spektrumundan kesit.

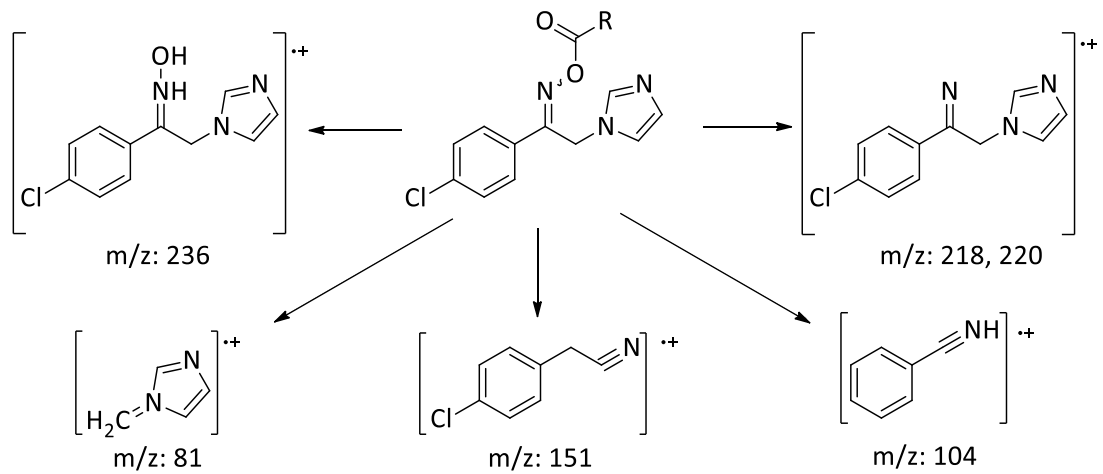
Kütle Spektrumları

Bileşiklerin kütle spektrumları incelendiğinde genellikle [M+Na]⁺ piklerinin temel pik (%100) olduğu görülür. Ayrıca bileşiklerde klor sübstitüentinden kaynaklanan [M+2+Na]⁺ ve [M+2+H]⁺ izotop pikleri gözlenmiştir (Şekil 5.13.). Bileşik 19, 20, 35 ve 36 yapılarında bulunan ikinci ve üçüncü klor sübstitüenti nedeniyle ek olarak [M+6+Na]⁺, [M+4+Na]⁺, [M+6+H]⁺ ve [M+4+H]⁺ izotop pikleri vermiştir.



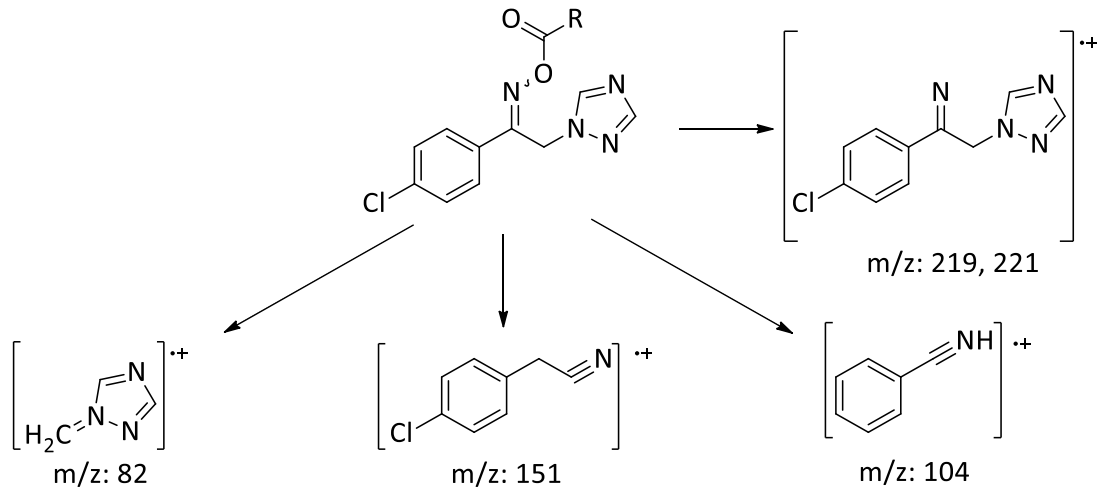
Şekil 5.13. Bileşik 7'nin kütle spektrumu.

Moleküler iyon pikleri yanı sıra imidazol türevlerinde Şekil 5.14.'teki parçalanma pikleri gözlenmiştir.



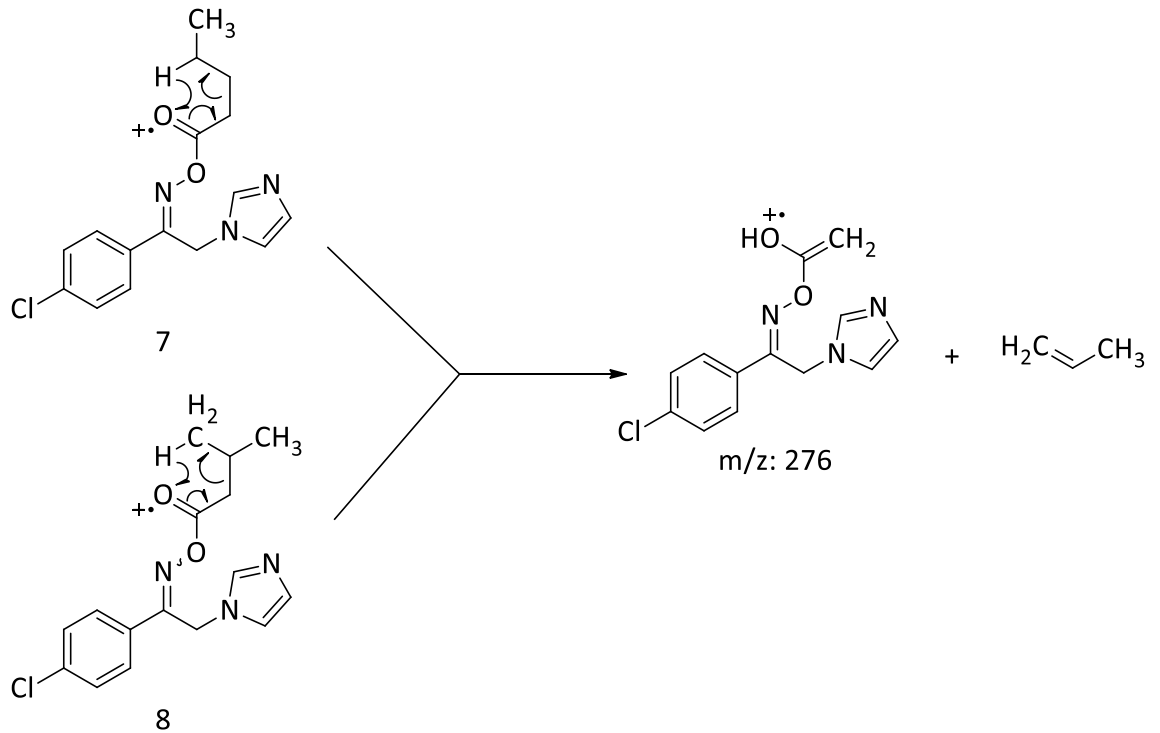
Şekil 5.14. İmidazol türevi sonuç bileşiklerinin bazı kütle parçalanma pikleri.

Triazol türevlerinin kütle spektrumlarında gözlenen parçalanma piklerinin bazıları Şekil 5.15.'te gösterilmiştir.



Şekil 5.15. Triazol türevi sonuç bileşiklerinin bazı kütle parçalanma pikleri.

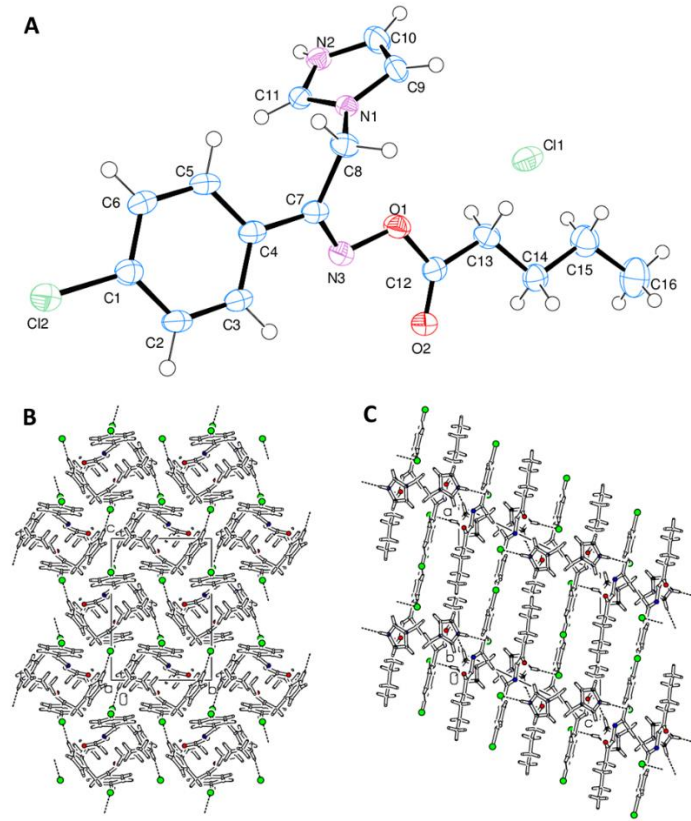
Ayrıca bileşik 7 ve 8'in spektrumlarında Mc Lafferty çevrilmesine ait parçalanma pikleri gözlenmiştir (Şekil 5.16.).



Şekil 5.16. Bileşik 7 ve 8'in Mc Lafferty çevrilmesiyle oluşan parçalanma pikleri.

X Işını Kristalografisi

Bileşik 8'in yapısal analizi X ışını kristalografi verileri ışığında tam olarak arıtılmış ve bileşiğin Z konfigürasyonunda olduğu anlaşılmıştır (Şekil 5.17.). Bileşik 8 $P2_1/c$ monoklinik uzay grubunda kristallenmiştir. 4-Klorobenzen ve imidazol halkaları düzlemseldir ve bu iki halka arasındaki dihedral açı $66,07(5)^\circ$ 'dir. Moleküller plakalar halinde dizilmiş ve H bağlarıyla birbirine bağlanmıştır. Her plaka içerisinde tüm moleküller birbirine paraleldir. Birim hücre içerisinde plakalar $z \sim 1/8, 3/8, 5/8$ ve $7/8$ 'dir. İnter ve intramoleküler H bağları güçlüdür. Simetri merkezli olarak etkileşen moleküller arasında ayrıca C-H $\cdots\pi$ etkileşmesi mevcuttur. H13B ile simetri $(-x, 2-y, 1-z)$ ilişkili molekülün benzen halkası tarafından belirlenen ortalama düzlem arasındaki mesafe $2,90 \text{ \AA}$ 'dur. H13B ile bu halkanın merkezi arasındaki mesafe ise $3,654 \text{ \AA}$ 'dur.



Şekil 5.17. Bileşik 8'in ORTEP-3 (476) görüntüsü (Atom numaraları etiketlenmiş, yer değiştirme elipsoidleri %50 olasılık düzeyine göre çizilmiştir.) (A), bileşik 8'in ([100] doğrultusu boyunca) (B) ve kristal yapıdaki paralel moleküllerin oluşturduğu plakaların ([010] doğrultusu boyunca) (C) birim hücredeki paketlenmesi.

Oksim eter ve esterlerinin geometrik konfigürasyonunu belirleyen en önemli unsurlardan biri başlangıç bileşiği olan oksimin konfigürasyonudur (404). Literatürde Z konfigürasyona sahip oksimlerden elde edilen oksim eter ve esterlerin de Z konfigürasyona sahip olduğu bildirilmiştir (29, 30, 378, 477). Oksim eter ve esterlerin E ve Z izomerlerinin ¹H-NMR verileriyle birbirlerinden ayırt edilmesi mümkündür. Zira aynı türeve ait E ve Z izomerlerin protonlarının kimyasal kaymalarının farklı olduğu bildirilmiştir (29, 378). Bileşiklerimizin ¹H-NMR verileri incelendiğinde oksim ester fonksiyonel grubunun uzaysal olarak yakınında konumlanan protonların bileşik 8'in ilgili protonlarıyla çok yakın ppm değerlerinde pik verdiği görülmekte bu sebeple diğer sonuç bileşiklerinin de Z konfigürasyonunda olduğu düşünülmektedir.

5.2. Biyolojik Aktivite

5.2.1. Antimikrobiyal Aktivite

Başlangıç bileşiklerinden 3a, 3b, 4a, 4b ve sonuç bileşiklerinin tümü standart mantar karşı test edilerek MİK değerleri tespit edilmiştir. Bileşik 3a, 3b, 4a, 4b, 8, 9, 11-13, 15, 32 ve 36 flukonazole dirençli kinik *C. tropicalis* suşuna karşı test edilmiştir. Bileşik 12 ve 13'ün biyofilm pozitif bir *C. albicans* suşuna karşı antibiyofilm aktiviteleri test edilmiştir. Literatürde bazı azol türevlerinde antifungal etkinin yanı sıra antibakteriyel etkinin de gözlemlendiği bildirilmektedir (29). Bu nedenle bu çalışma kapsamında antifungal amaçla tasarlanan bileşiklerde antibakteriyel aktivite taraması da yapılmıştır.

Antimikrobiyal aktivite çalışmalarımızda kesin ve çabuk sonuç vermesi, çalışma kolaylığı ve ekonomik olması nedeniyle mikrodilüsyon yöntemi kullanılmış ve CLSI ilkelerine uyulmuştur. Bu kapsamda bileşikler referans ilaç bileşikleriyle birlikte test edilmiş ve kullanılan besiyeri ve çözücünün kontrolleri yapılmıştır.

a. Antifungal Aktivite

Standart mantarlara karşı elde edilen MİK değerlerine göre, test edilen bileşikler *C. albicans* ve *C. parapsilosis*'e karşı *C. krusei*'ye kıyasla daha düşük konsantrasyonlarda aktivite göstermiştir. Bunun nedeni *C. krusei*'nin azollere intrinsik

olarak daha az duyarlı olmasıdır. *C. albicans*'a karşı sekiz (bileşik 8, 9, 11-13, 15, 32 ve 36), *C. krusei*'ye karşı iki (bileşik 11 ve 13) ve *C. parapsilosis*'e karşı on iki (bileşik 4a, 8, 9, 11-13, 15, 18, 24, 32, 34 ve 36) bileşiğin MİK değeri 32 µg/mL ve altında bulunmuştur. Flukonazole dirençli *C. tropicalis* klinik izolatına karşı test edilen 13 bileşikten çoğu 256 µg/mL konsantrasyonda etkili bulunmuştur ve bu değer flukonazol için elde edilen değerden (512 µg/mL) daha düşüktür. İmidazol halkası taşıyan bileşiklerin triazol halkası taşıyanlardan daha aktif olduğu görülmekle birlikte kuyruk kısmında aromatik grup taşımayan türevler arasında dört ve daha fazla karbon içeren alifatik, sikloheksil ve olefinik sübstitüentler taşıyan türevler öne çıkmıştır. Bu kısımda aromatik yapı içeren türevlerde anlamlı bir YEİ kurulamamakla birlikte, sonuç bileşikler içinde en iyi aktivite imidazol türevlerinden kuyruk kısmında benzen sübstitüenti taşıyan bileşik 13'te görülmüştür.

Tüm suşlara karşı flukanozolden daha etkili bulunan bileşik 13'ü bileşik 12 takip etmiştir. Bu iki bileşiğin biyofilm pozitif bir *C. albicans* suşuna karşı antibiyofilm aktiviteleri test edilmiş ve güçlü biyofilm inhibitör aktivite gözlenmiştir. Bileşik 12'nin MBİK değeri 2 µg/mL, bileşik 13'ün 0,5 µg/mL olarak bulunmuştur. Bu değerler referans ilaç olan amfoterisin B'nin MBİK değerinden (4 µg/mL) daha düşüktür. Bileşik 12 ve 13'ün MBEK değerleri sırasıyla 256 ve 512 µg/mL'dir; dolayısıyla bu iki bileşik antibiyofilm etkilerini biyofilm tabakasını parçalayarak değil oluşumunu engelleyerek göstermektedir.

b. Antibakteriyel Aktivite

Standart bakterilere karşı elde edilen MİK değerlerine göre başlangıç maddeleri olan bileşik 3a, 3b, 4a ve 4b'de aktivite gözlenmemiştir. En yüksek aktivite 64 µg/mL ile *S. aureus*'a karşı bileşik 6, 8, 16'da ve *P. aeruginosa*'ya karşı bileşik 14'te gözlenmiştir. Bu bileşiklerin tamamı imidazol halkası taşımaktadır.

Bileşiklerin kuyruk kısmı ile aktivite arasında bir ilişki kurulamamıştır. Ancak imidazol halkası taşıyan bileşiklerin triazol halkası taşıyanlardan genel olarak daha düşük MİK değerlerine sahip olduğu söylenebilir.

Bununla birlikte bütün bileşiklerin aktiviteleri, siprofloksasine göre çok daha düşüktür ve dolayısıyla bileşiklerin kayda değer bir antibakteriyel etkiye sahip olmadığı görülmüştür.

5.2.2. Antikonvülsan Aktivite

a. Antikonvülsan Tanımlama

Bileşik 19, 20 ve 37 haricindeki tüm sonuç bileşiklerin farelerde ip yoldan antikonvülsan tanımlama testlerinde 6 Hz ve MES yöntemiyle oluşturulan nöbetlere karşı koruyuculuğu ve rotorod testi ile nörotoksik etkileri değerlendirilmiştir.

İmidazol türevi sonuç bileşiklerinden bileşik 15 ve 21 dışında test edilen bileşikler en az bir testte, test süresinde veya dozda koruyuculuk göstermiştir. Bileşiklerde 30 mg/kg dozda aktivite ya da nörotoksisite gözlenmemiştir. Bileşikler genel olarak 6 Hz ya da MES modeline belirgin bir seçicilik göstermemiş olup, her iki testte benzer aktivite profili sergilemiştir.

6 Hz testinde 0,5 saat ve 100 mg/kg'da koruyucu bulunan bileşik 6, 11 ve 16, 2 saat sonunda aktivitesini kaybetmiştir. Aynı sürede 300 mg/kg'da aktivite gösteren bileşik 5-11, 13, 14 ve 16-18'den ise sadece bileşik 6, 7 ve 9 2 saat sonunda aktivitesini korumuştur. MES testinde ise 0,5 saat ve 100 mg/kg'da koruyucu bulunan bileşik 5-8, 11, 13 ve 14, 2 saat sonunda aktivitelerini kaybetmiştir. Ancak aynı sürede 300 mg/kg'da aktivite gösteren bileşik 5-14, 16 ve 17 arasından 2 saat sonunda sadece bileşik 11, 12 ve 14'te aktivite kaybı görülmüştür. Bu sonuçlar bileşiklerin hızlı metabolize olarak aktivitelerini kaybettiğini düşündürmektedir.

Genel olarak imidazol türevlerinde aktivite ile nörotoksisite arasında bir paralellik göze çarpmaktadır. Özellikle 0,5 saat 300 mg/kg'da koruyuculuk gösteren bileşiklerden bileşik 17 ve 18 hariç, tamamında aynı süre ve dozda nörotoksisite görülmüştür. Ancak nörotoksisite sürenin uzaması ve dozun azalmasıyla aktiviteyle paralel olarak azalmıştır. Diğer taraftan nörotoksisite ve her iki aktivite birlikte değerlendirildiğinde bileşik 16 ve 17 öne çıkan bileşiklerdir.

Triazol türevi bileşiklerin aktivite sonuçları imidazol türevlerine benzerlik göstermekle birlikte, aktiviteleri ve toksisiteleri daha düşük bulunmuştur. Bu

türevlerde imidazol türevlerinde olduğu gibi 30 mg/kg'da aktivite ya da nörotoksisite gözlenmemiştir.

6 Hz testinde 0,5 saat ve 100 mg/kg'da sadece bileşik 22 ve 23 aktif bulunmuş; bu bileşikler 2 saat sonunda aktivitelerini kaybetmiştir. Aynı modelde 0,5 saat ve 300 mg/kg'da dokuz bileşik (bileşik 22-25, 27, 28, 32, 34 ve 36) koruyucu bulunmuş, 2 saat sonunda sadece üç bileşik (22, 27 ve 34) koruyuculuğunu sürdürmüştür.

MES testinde de 0,5 saat ve 100 mg/kg'da sadece iki bileşik (bileşik 23 ve 28) koruyucu bulunmuş ve 2 saat sonunda aktivitelerini kaybetmiştir. Aynı modelde 0,5 saat ve 300 mg/kg'da dokuz bileşik (bileşik 22-25, 27-29, 31 ve 32) aktivite gösterirken, 2 saat sonunda bu bileşiklerden beşinde (bileşik 23, 25, 27, 28 ve 32) aktivite korunmuş, bileşik 26 sadece 2 saat ve 300 mg/kg'da aktivite göstermiştir.

Triazol türevlerinde 0,5 saat ve 100 mg/kg'da nörotoksisite gözlenmiştir (bileşik 22-25 ve 27). Ayrıca triazol türevinde nörotoksisite göstermeden nöbet koruyuculuğu gösteren bileşik sayısı daha fazladır (bileşik 26, 28, 29, 31, 32, 34 ve 36). Bileşik 28 tüm sonuç bileşikleri arasında 100 mg/kg'da aktivitesi olup, nörotoksik etkisi olmayan tek bileşiktir. Sonuç olarak triazol türevleri nörotoksisite profili açısından imidazol türevlerinden daha üstün bulunmuştur.

Bununla birlikte sonuç bileşiklerin kuyruk kısmı (R₂) üzerinde yapılan modifikasyonların antikonvülsan tanımlama aktivite sonuçlarına etkisi net olarak ortaya konamamıştır. Genel eğilim kuyruk kısmında alifatik süstitüent taşıyan türevlerin aromatik süstitüent taşıyanlara kıyasla daha aktif olduğudur.

Sıçanlarda MES modelinde antikonvülsan tanımlama testleri için seçilen bileşik 6 ve 7'nin ip yolla verildiğinde 0,5 saate kadar 100 mg/kg'da koruyucu oldukları, ancak bu etkiye nörotoksik etkilerin de eşlik ettiği görülmüştür. Bileşik 7'nin po aktivite ve toksisitesini incelemek üzere yapılan MES testi sonucunda, 100 mg/kg dozda 0,5 saatte aktivite gözlenirken nörotoksisite gözlenmemiştir.

b. Antikonvülsan Niceleme Sonuçları

Sonuç bileşiklerden bileşik 6-9, 12, 13 ve 16 farelerde antikonvülsan niceleme çalışmalarına alınmış; 6 Hz, MES ve korneal kindling oluşturulmuş fare modellerinde

ip ve po ED₅₀ ve TD₅₀ deęerleri saptanmıřtır. Niceleme alıřmaları bileřik 12 hariç 0,25 saat, bileřik 12 için 0,5 saatte yapılmıřtır. Bazı bileřikler için nispeten dūřuk ED₅₀ deęerleri bulunmasına raęmen TD₅₀ deęerleri arasında önemli bir fark yoktur; dolayısıyla bu bileřiklerin terapötik indeksleri dūřuktur. Bileřik 7'nin oral toksik dozunun yūysek olması (>700) nedeniyle, po 6Hz (44 mA) ve po MES terapötik indeksleri (sirasıyla >1,66 ve >3,55) yūysek bulunmuřtur. Bunun dıřında bileřik 6'nın MES po terapötik indeksi 1,71'ken; dięer bütün maddelerin terapötik indeksleri bu deęerin altındadır.

Bileřik 6'nın ip korneal kindling oluřturulmuř fare deneyleri yapılmıř ve ED₅₀ deęeri 55,5 mg/kg olarak hesaplanmıřtır. Bileřik 6'nın ED₅₀ deęeri dūřuk olmasına raęmen toksisitesi yūysek olduęu için terapötik indeksi 2'nin altında (1,82) bulunmuřtur.

Genel olarak oksim bileşiklerinin aktivitesinin olmaması (29) ve oksim ester grubunun kimyasal/enzimatik hidrolize yatkın olmasının, bileşiklerin sınırlı ip ve po aktivitelerinde ve kısa etki süreleri üzerinde önemli rol oynadığı dūřnlmektedir.

Test edilen bileşiklerin çoğunda hem 6 Hz hem de MES testinde aktivite gözlenmesi, tedaviye dirençli parsiyel epilepsiler ile jeneralize tonik-klonik epilepsiler açısından önemli olarak değerlendirilebilir. Ayrıca korneal uyarılmış fare testinden elde edilen sonuçlar bileşik 6'nın fokalden bilateral tonik-kloniğe gelişen nöbetlere karşı potansiyel taşıdığını göstermektedir. Ancak bileşiklerin nörotoksisite ve stabilite sorununun olması terapötik etkinliklerini sınırlamaktadır.

Test edilen bileşiklerin çoğunda hem 6 Hz hem de MES testinde aktivite gözlenmesi, tedaviye dirençli parsiyel epilepsiler ile jeneralize tonik-klonik epilepsiler açısından önemli olarak değerlendirilebilir. Ayrıca korneal kindling oluşturulmuş fare testinden elde edilen sonuçlar bileşik 6'nın fokalden bilateral tonik-kloniğe gelişen nöbetlere karşı potansiyel taşıdığını göstermektedir. Ancak bileşiklerin nörotoksisite ve stabilite sorununun olması terapötik etkinliklerini sınırlamaktadır.

5.3. Moleküler Modelleme

5.3.1. Fizikokimyasal ve Farmakokinetik Parametreler

QikProp tarafından hesap/tahmin edilen özellik ve deskriptörlerden 20'si sonuç bileşikleri için değerlendirilmiştir. Buna göre bilinen ilaçlar için geçerli değerlerin %95'inin dışında kalan özellik değeri sayısını ifade eden ve dolayısıyla ilaç benzerlik için bir kriter olan #yıldız değeri bileşik 20, 21, 36 ve 37 hariç tüm bileşikler için 0 olarak bulunmuştur. Kuyruk kısmında 2,4-diklorobenzen taşıyan bileşik 20 ve 36 zayıf polar ÇEYA değerleri açısından bilinen ilaçların %95'ine ait değerlerin dışına çıkmıştır. Bu durum, bu bileşiklerdeki klor atomu sayısının fazlalığından kaynaklanmaktadır. Bileşik 21 ve 37'nin π karbon ÇEYA değerleri nedeniyle #yıldız değeri 1'dir. Bu bileşiklerin kuyruk kısmında yer alan 4-fenilbenzen sübstitüenti sp^2 hibritleşmiş karbon sayısını arttırmaktadır. Genel olarak sonuç bileşikleri bu kritere göre ilaç benzerdir.

PAINS bileşiklerde görülen nonspesifik reaktif fonksiyonel grupların sayısını gösteren #rtfFG test edilen tüm bileşikler için 1'dir ve bu fonksiyonel grup oksim ester olarak öngörülmüştür. Bileşiklerin antikonvülsan aktivitelerinin kısa sürmesi, hatta oral yoldan alındığında çok düşük olması ve toksisitenin aktiviteyle paralel görülmesi oksim ester kısmından kolayca hidroliz olmalarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sudaki çözünürlüğün bir göstergesi olan QPlogS değeri bileşik 21 için ideal değerlerin altında (-6,7) hesaplanmıştır. Bileşiğin kuyruk kısmında yer alan 4-fenilbenzen sübstitüsyonu bileşiği fazla nonpolar yaparak sudaki çözünürlüğünü azaltmıştır.

hERG kanalları inhibisyonu için tahmini olarak hesaplanan IC_{50} değerini gösteren QPlogHERG değeri tüm bileşikler için güçlü hERG inhibisyonu için sınır değer olarak kabul edilen -5,0'e eşit veya bu değerden daha düşük bulunmuştur. Bu da sonuç bileşiklerinin güçlü hERG inhibitör aktiviteye sahip olabileceğini göstermektedir. Bu değer kuyruk kısmında aromatik halka bulunduran bileşiklerde daha düşük, bu bölgede iki aromatik halka bulunduran bileşik 21 ve 37'de en düşük olduğu görülmüştür.

Tüm sonuç bileşikler için aromatik hidroksilasyon metaboliti olası metabolit olarak ön görülmüştür. Ayrıca, kuyruk kısmındaki karbonile α ve β konumdaki karbonunda hidrojen taşıyan türevlerde (bileşik 6-12, 14, 16, 22-28, 30 ve 33) alifatik hidroksilasyon ve aromatik halka taşıyan türevlerde (bileşik 14, 17, 18, 30, 33, 34) aromatik halkaya komşu karbonlarda alifatik hidroksilasyon öngörülmüştür.

Sonuç bileşiklerin hesaplanan molekül ağırlıkları, dipol momentleri, toplam ÇEYA'ları, toplam çözücü erişir hacimleri, H donör ve akseptör sayıları, oktanol/su partiyon katsayıları ve insan serum albüminine bağlanma katsayıları bilinen ilaçların %95'i için geçerli olan aralıklarında yer almıştır. Bileşiklerin membranlardan pasif geçişinin göstergesi olarak hesaplanan QPPcaco, QPlogKB ve QPPMDCK değerleri güçlü transmembran geçiş özelliğine sahip olduklarını göstermektedir. Ayrıca bileşiklerin oral absorpsiyon yüzdeleri %90'ın üzerinde, çoğu bileşik için %100 hesaplanmıştır.

İlaç benzerlik kriteri olarak kabul edilen Lipinski ve Jorgensen kurallarına bileşik 14, 21 ve 37 dışındaki tüm bileşikler tam olarak uymaktadır. Bu bileşikler Jorgensen kurallarından sudaki çözünürlüğü (QPlogS < -5,7), bileşik 14 ve 21 ise Lipinski kurallarından oktanol/su partiyon katsayısını (QPlogPo/s < 5) ihlal etmiştir.

5.3.2. Homoloji Modelleme Çalışmaları

Sonuç bileşiklerin antifungal aktivitelerinin azol antifungallerde olduğu gibi mantar CYP51 inhibisyonu ile gerçekleştiği düşünülmüş ve bileşiklerin bu enzime olan ilgisi ve bu enzimle etkileşmeleri ön görülmeye çalışılmıştır. Bu kapsamda kristal yapısı mevcut olmayan CACYP51'in karşılaştırmalı modelleme yöntemiyle bir homoloji modeli elde edilmiştir.

Bu amaçla CACYP51 (arama) amino asit dizilimi ile en fazla benzerlik (%65 eşleşme, %78 benzerlik) gösteren SCCYP51'in kristal yapısı şablon protein olarak belirlenmiştir. İki amino asit diziliminin hizalanması sonucunda proteinlerin bağlanma bölgesi rezidülerinde benzerliğin çok daha yüksek olduğu görülmüştür.

Homoloji modelleme sonrası elde edilen ilk ham modeller arasından kısıt ihlalleri düşük (1 omurga Ω dihedral kısıtı, 14 ϕ/ψ dihedral çifti kısıtı ve 2 mesafe kısıtı)

ve DOPE skoru (-63046,16) yüksek olan model seçilerek yapısal olarak analiz edilmiştir. Bu model ile şablonun üst üste çakıştırılmasıyla C α atomları arası RMSD değeri 7 Å olarak bulunmuştur. Dolayısıyla model ve şablon proteinin omurgaları uyuşmaktadır.

Modelin PROCHECK ile yapılan analizlerinde elde edilen Ramachandran grafiğine göre rezidülerin %92'si ideal ϕ/ψ dihedral dağılımı göstermektedir. Bu değer iyi bir geometriye sahip olan üç boyutlu yapılar için belirlenmiş sınır değerlerin üzerindedir. Modelin diğer stereokimyasal omurga (ω açısı standart sapması, kötü etkileşme, ζ açısı standart sapması, H bağı enerjisi standart sapması) ve yan zincir (χ -1 çarpık (-) standart sapması, χ -1 trans standart sapması, χ -1 çarpık (+) standart sapması, tüm χ -1 açılarının standart sapması) parametreleri ideal değer aralıklarında veya bu değerlerden daha iyi olarak ölçülmüştür. Omurgada bağ uzunlukları ve açıların büyük bölümü (sırasıyla %98,5 ve %92,2) ile düzlemsel grupların tamamı izin verilen değerler içindedir. Modelde yer alan kötü etkileşme sayısı 13'tür ve bunlar aktif bölgede bulunan İKZ'den ileri gelmektedir. G-faktörü hesap edilen parametrelerin (ϕ - ψ dağılımı, χ 1- χ 2 dağılımı ile χ 1, χ 3, χ 4 ve ω açıları) tamamı ideal skorlarda bulunmuştur. Modelin Morris ve ark. Sınıflandırması, ψ/ϕ dağılımına göre 1, χ -1 standart sapmasına göre 1 ve H bağı enerjisi standart sapmasına göre 2'dir. Bütün bu değerlendirmeler modelin iyi bir geometriye sahip olduğunu göstermektedir.

Modelin özellikle bağlanma bölgesindeki gerilimin düşürülerek kenetleme öncesi ideal düşük enerjili konformasyona getirilmesi için, İKZ bağı olarak 1 ns'lik MD simülasyonları koşturulmuştur. Trajektör analizi ile elde edilen C α RMSD ve toplam enerji değerleri grafikleri, modelin simülasyon sonunda dengeye geldiğini göstermektedir.

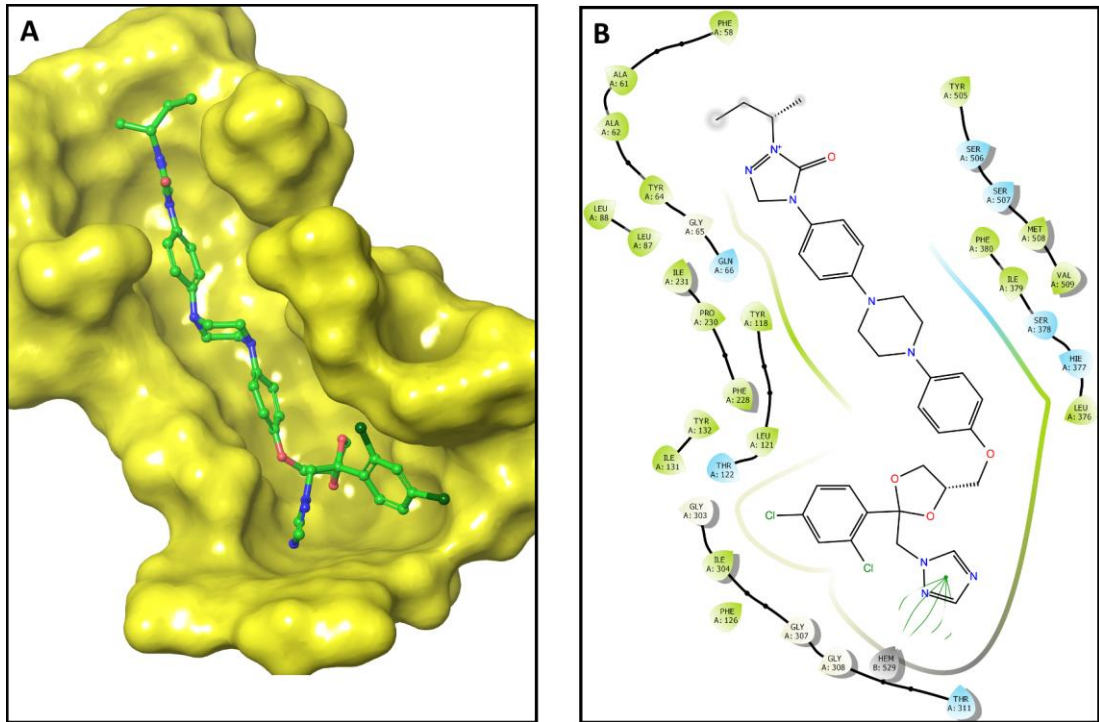
5.3.3. Moleküler Kenetleme Çalışmaları

Sonuç bileşiklerin antifungal ve antikonvülsan etkilerinden sorumlu olabileceği düşünülen biyolojik hedeflerle etkileşmeleri moleküler kenetleme çalışmaları ile öngörölmeye çalışılmıştır. Söz konusu hedeflere ait kristal yapıların

mevcut olmaması nedeniyle homoloji modeller kullanılmış, kenetleme çalışmalarında sonuçların tutarlılığının teyit edilebilmesi amacıyla birden fazla yazılım kullanılmıştır.

a. CACYP51 ile Yapılan Kenetleme Sonuçları

CACYP51 aktif bölgesi, proteinin sitoplazmada kalan katalitik kısmında oldukça derine gömülüdür. Aktif bölge daha çok lipofilik rezidülerle çevrili uzun bir tünel ve bu tünelin sonunda yer alan hem grubundan oluşur. CACYP51 homoloji modelinin aktif bölgesinde yer alan İKZ oldukça uzun bir kuyruk kısmına sahiptir ve bu kısım aktif bölge tünelinin ağzına kadar uzanarak enzimle çok sayıda hidrofobik ve elektrostatik etkileşimler yapar (Şekil 5.18.).



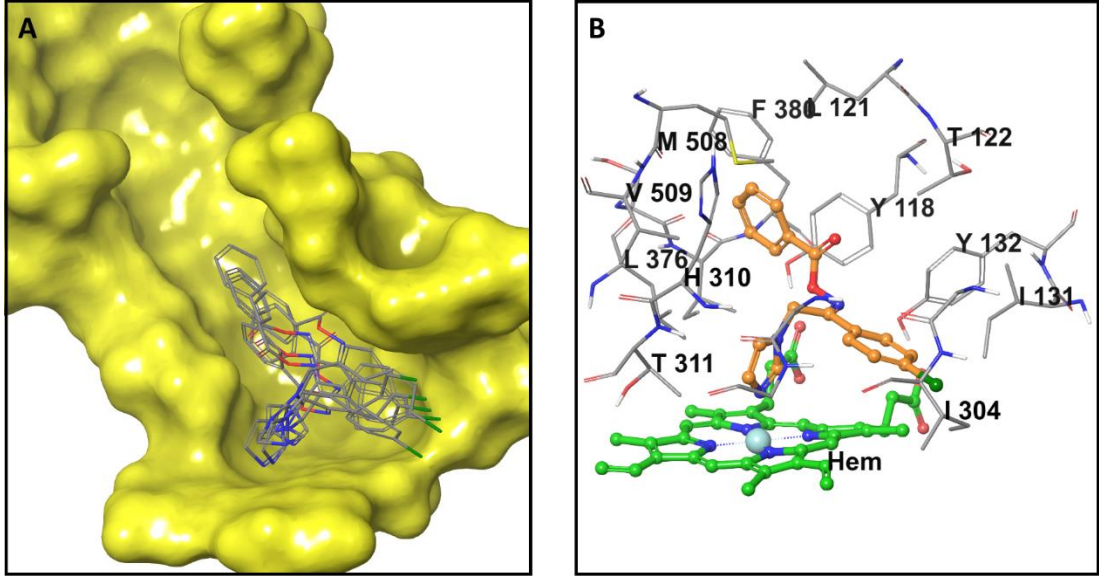
Şekil 5.18. İKZ'nin (yeşil çubuk top gösterimi) CACYP51 aktif bölgesindeki (tek renk opak moleküler yüzey gösterimi) bağlanma pozunu (solda) ve etkileşimleri (π - π etkileşimleri yeşil çizgilerle gösterilmiştir) (sağda).

Moleküler kenetleme çalışmalarında kullanılan yöntemlerin validasyonu için yapılan İKZ'nin yeniden kenetleme işlemlerinde tüm yazılım ve skorumla fonksiyonlarında İKZ'nin orijinal pozuna yakın pozlar elde edilmiştir. Literatürden seçilen aktif ve inaktif azol bileşiklerle yapılan zenginleştirme çalışmalarında

kullanılan yazılım ve skora fonksiyonları ile aktif bileşikler genel olarak inaktif bileşiklerden daha iyi skorlanmışlardır. Böylelikle kenetleme çalışmalarında kullanılan yöntemlerin güvenilir olduğu görülmüştür.

Standart mantar suşlarına karşı diğer türevlere göre daha düşük MİK değeri elde edilen beş bileşik (bileşik 9, 12, 13, 32, 36) ile yapılan moleküler kenetleme çalışmalarında genellikle iyi skorlar ve benzer etkileşimler elde edilmiştir. Elde edilen skorlara göre sıralama yapıldığında seri içerisinde en düşük MİK değerine sahip olan bileşik 13 genellikle üst sıralardadır. Bileşiklerin skora fonksiyonlarından elde edilen sıralamalarının ortalaması alındığında bileşik 13 en düşük sıralama değerine sahip olmaktadır.

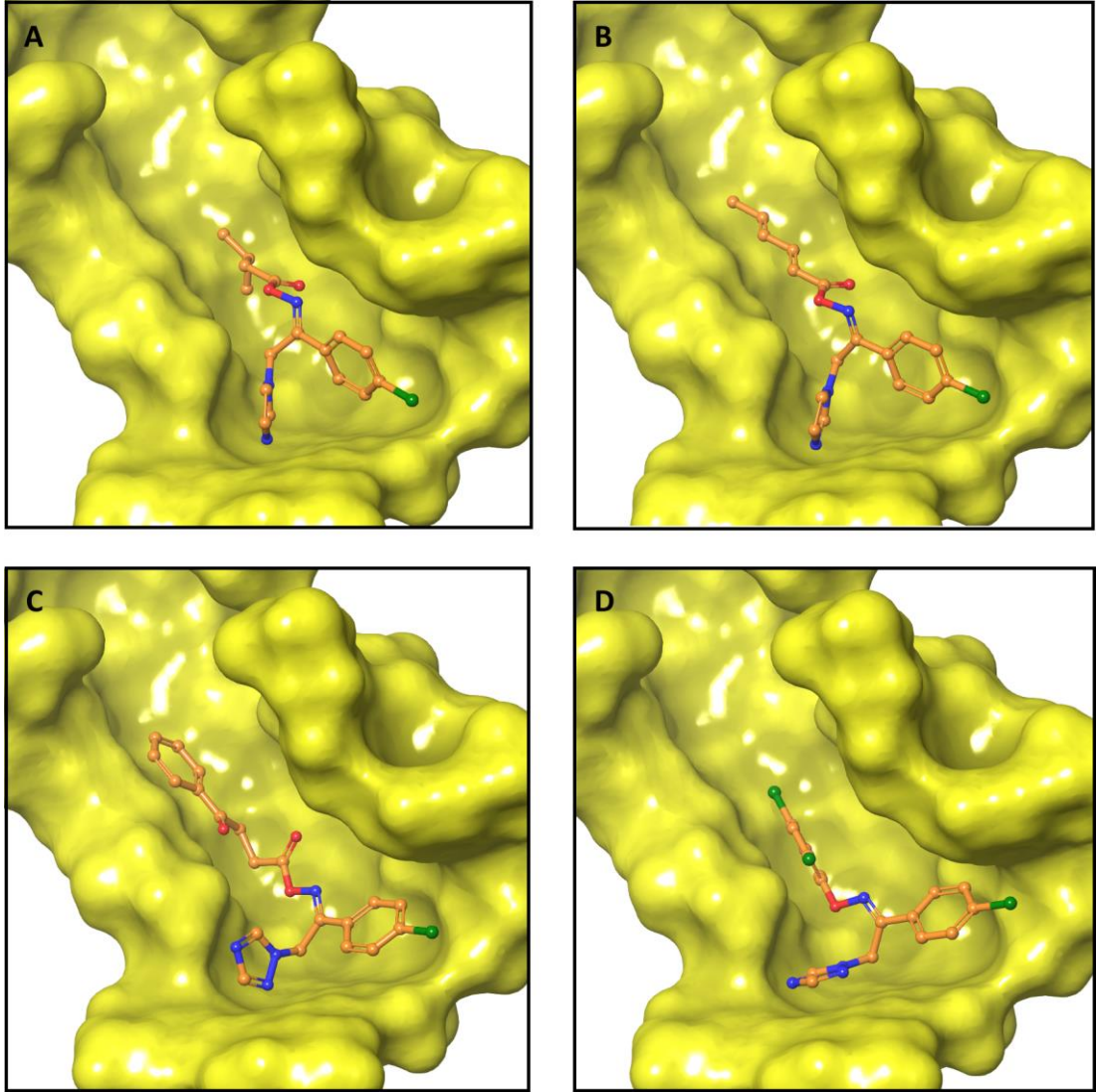
Bileşik 13 için, literatürdeki ligand bağlı CYP51 kristal yapılarıyla en uyumlu poz GOLD'da GoldScore ile elde edilmiştir (Şekil 5.19.). Bu bağlanma pozunda bileşiğin azol halkası hem kofaktörü ile dik π - π etkileşimleri ve hem demiriyle koordinasyon bağı oluşturmaktadır. 4-Klorobenzen halkası Tyr118, Ile131, Tyr132 ve Ile304 tarafından çevrelenen kaviteye sokulmuş halde hidrofobik etkileşimler yapmaktadır. Kuyruk kısmı ise aktif bölge tünelinin yarısına kadar uzanarak çevredeki rezidülerle hidrofobik etkileşimlerde bulunmaktadır. Bu etkileşimlerden birçoğu literatürde *C. albicans* için bildirilmiş mutajenez çalışmalarıyla paralellik göstermektedir. Örneğin Phe126'nın Leu mutanlığı azole dirençli izolatlarda tespit edilmiştir. Tyr132'nin Phe ve His mutanlığı ilaç direnciyle ilişkilendirilmiştir. Ile304'ün Asn ve Thr mutanlığına, Leu376'nın Val mutanlığına, Phe380'nin Leu mutanlığına dirençli kandidiyaziste rastlanmıştır. Phe380'nin Ser mutanlığı flukonazole dirençli izolatlarda tek nokta mutasyonu olarak tanımlanmıştır. Val509'un Met mutanlığı ise sadece azole dirençli izolatlara özgüdür (68). MD simülasyonları sonucunda CACYP51-bileşik 13 kompleksinin apo sisteme göre daha stabil olduğu CACYP51'in C α atomlarının zamana karşı RMSD grafiğinde görülmektedir (Şekil 4.8.). Ayrıca bu simülasyonlarda rezidü dalgalanmaları bileşik 13'ün bağlı olduğu sistemde daha düşüktür. Özellikle enzimin çıpa bölgesinin bileşik 13'ün bağlı olduğu sistemde stabilize olması literatür bilgileriyle uyumludur (49).



Şekil 5.19. Bileşik 13'ün (çubuk gösterimi) CACYP51 aktif bölgesinde (tek renk opak moleküler yüzey gösterimi) tüm yazılım ve skorlama fonksiyonlarından elde edilen bağlanma pozları (A) ve GoldScore ile elde edilen pozun bağlanma bölgesindeki rezidülerle etkileşimleri (rezidüler çubuk, hem demiri CPK gösterimi) (B).

Tez kapsamındaki bileşiklerin CACYP51 bağlanma bölgesindeki pozları İKZ ile karşılaştırıldığında, İKZ'e göre daha kısa kalan kuyruk kısımlarının aktif bölgedeki tünelin ağza yakın kısmıyla etkileşemediği görülmektedir (Şekil 5.20.). İKZ ile elde edilen yeniden kenetleme skorları da bununla paralel olarak daha yüksektir. Zira İKZ'ün literatürde *C. albicans*'a karşı bildirilen MİK değerleri bileşik 13'te daha düşüktür (464).

Bileşik 13 ile kenetleme çalışmaları yapılan diğer bileşikler arasında CACYP51 aktif bölgesindeki etkileşimler ve elde edilen skorlar açısından MİK değerlerindeki gibi keskin bir fark görülmektedir. Dolayısıyla, bileşiklerin antifungal aktiviteleri arasındaki farkın, enzim aktif yöresindeki etkileşimlerden ziyade bu bölgeye ulaşma veya farklı hedeflerle etkileşme yetenekleriyle ilgili olabileceği düşünülmektedir.



Şekil 5.20. Bileşik 11 (A), 12 (B), 32 (C) ve 36 (D)'nin CACYP51 aktif bölgesinde GoldScore ile elde edilen pozları (ligandlar çubuk top, protein tek renk opak moleküler yüzey gösterimi).

b. GABA_AR ile Yapılan Kenetleme Sonuçları

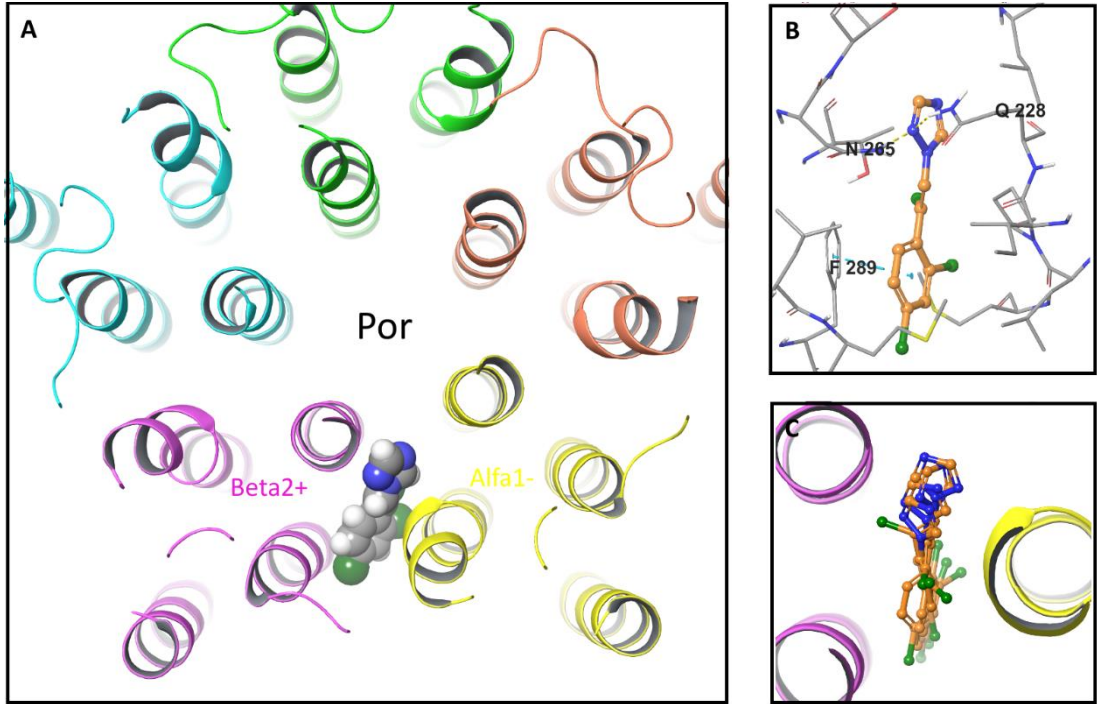
LRZ (arilalkil)azol antikonvülsanların öncülerinden bir GABA_AR PAM'dür. Diğer öncü arilalkilazol antikonvülsan bileşiklerden nafimidon ise GABA_AR'jirik yanıtları arttırdığı bilinen FNT ve KBZ ile benzer etki profiline sahiptir. Sonuç bileşikler arasında diğerlerine göre daha güçlü antikonvülsan etkiye sahip türevlerin (bileşik 5-9, 11-14 ve 16) GABA_AR ile yapılan kenetlemelerinde literatürde bildirilen $\alpha 1\beta 2\gamma 2$ GABA_AR homoloji modeli ile GOLD ve Glide programları kullanılmıştır.

LRZ Bağlanma Bölgesi

LRZ bağlanma bölgesi yukarıda da belirtildiği üzere GABA ve BZD bağlanma bölgesinden farklıdır ve bu bölgelere bağlanan ajanlardan farklı bir etki mekanizmasına sahiptir. Bu bilgiler ışığında bileşiklerin LRZ bağlanma bölgesine olan afiniteleri ve bu bölgedeki rezidülerle (özellikle Asn265 ile) etkileşmeleri LRZ ile karşılaştırılmıştır.

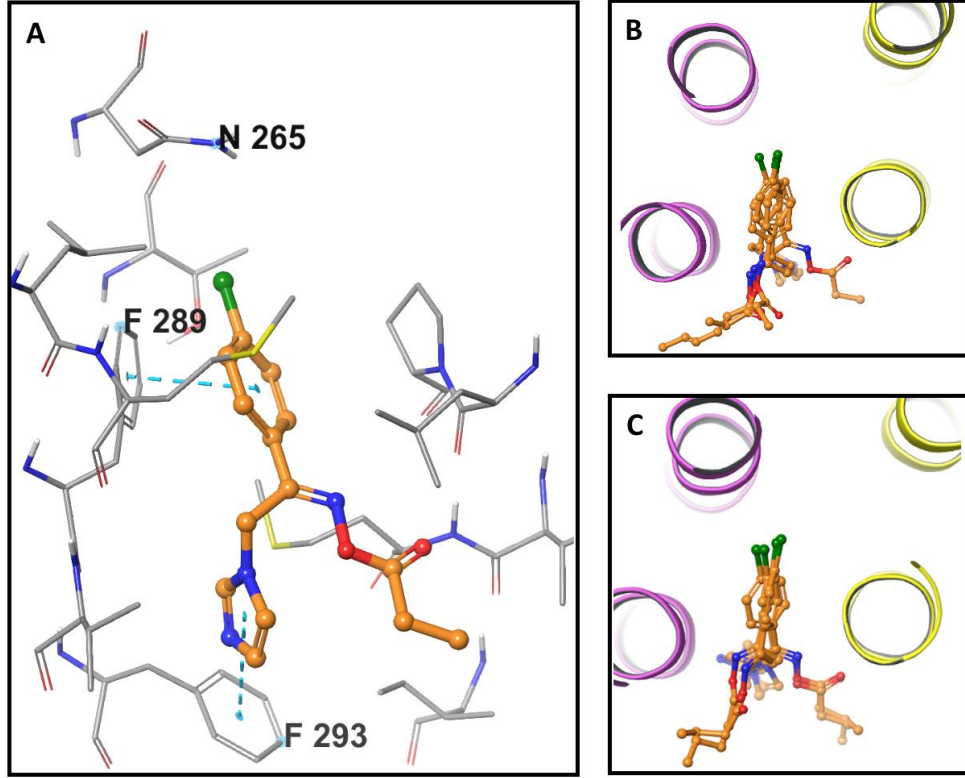
LRZ ve sonuç bileşiklerin LRZ bağlanma bölgesinde elde edilen kenetleme skorları birbirine yakındır. Ancak LRZ ve sonuç bileşikler için bu bölgede tahmin edilen bağlanma biçimleri ve etkileşmeler farklıdır. LRZ için GOLD ve Glide tarafından benzer bağlanma konformasyonları öngörülmüştür. Glide ile elde edilen konformasyonda LRZ merkezi pora dik ve triazol halkası pora yönelmiş bir şekilde $\beta 2+$ ve $\alpha 1-$ arayüzüne sokulmuştur. Triazol halkası bu pozisyonda $\beta 2$ Asn265 ve $\alpha 1$ Gln228 ile N2 atomu üzerinden H bağı kurmuştur. Sitoplazmaya bakan 2,4-diklorobenzen grubu ise aynı arayüzde $\beta 2$ TM3 ve $\alpha 1$ TM1 rezidüleriyle hidrofobik etkileşme halindedir (Şekil 5.21.). Bu şekilde LRZ'ün ivermektin için tanımlanan mekanizmaya benzer bir şekilde iki alt birim arasındaki mesafeyi aralayarak porun açık kalmasını sağladığı düşünülmektedir.

Sonuç bileşiklerin GOLD ve Glide ile aynı bağlanma bölgesindeki kenetleme çalışmaları sonucu farklı bağlanma konformasyonları elde edilmiştir. GOLD skora fonksiyonlarından alınan sonuçlara göre iki alt birim TM bölgeleri arasında pora doğru sokulan kısım, bileşiklerin 4-klorobenzen grubudur ve bu grubun klor sübstitüenti pora yönelerek Asn265 ile zayıf bir şekilde etkileşmekte, Gln228 ile etkileşmemektedir (Şekil 5.22.). Oysa her iki rezidü de ivermektinin *C. elegans* GluCl α kristal yapısında H bağı yaptığı iki rezidüye karşılık gelmektedir. LRZ'e kıyasla bu bağlanma pozunda bileşikler pordan daha uzak ve sitoplazmaya daha yakındır. Reseptörle etkileşmelerin büyük kısmı $\beta 2$ TM3 ve $\alpha 1$ TM1 rezidüleriyle gerçekleşmiştir. Şekil 5.22.'de, bileşiklerin kuyruk kısımlarının oluşturduğu sterik engel nedeniyle iki alt birim arasında yeterince sokulamadığı açıkça görülmektedir.

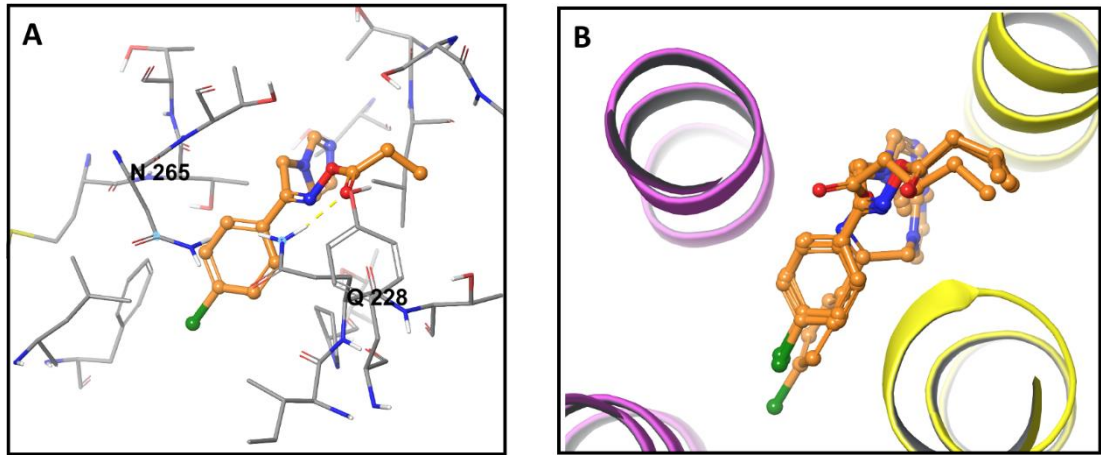


Şekil 5.21. GABA_AR (kurdele gösterimi) LRZ bağlanma bölgesinde LRZ'ün (CPK gösterimi) Glide tarafından öngörülen bağlanma pozunu (A), bağlanma bölgesindeki rezidüleriyle (LRZ çubuk ve top, rezidüler çubuk gösterimi) etkileşimleri (H bağları sarı, π - π etkileşimleri yeşil kesik çizgilerle gösterilmiştir.) (B), GOLD ve Glide tarafından elde edilen bağlanma pozları (C).

Glide ile yapılan kenetlemeler, bileşiklerin iki alt birim arasına daha fazla sokulduğu, Gln228 ile oksim ester karbonilinin oksijeni aracılığıyla H bağı kurduğu ancak Asn265 ile zayıf etkileşme gösterdiği ve bu bağlama pozlarının LRZ için tahmin edilen bağlanma pozlarından farklı olduğu görülmektedir (Şekil 5.23.).



Şekil 5.22. GABA_AR (kurdele gösterimi) LRZ bağlanma bölgesinde (rezidüler çubuk gösteriminde) bileşik 6'nın (çubuk ve top gösterimi) bağlanma bölgesindeki rezidülerle GoldScore tarafından tahmin edilen etkileşimleri (π - π etkileşimleri yeşil kesik çizgilerle gösterilmiştir.) (A), bileşik 6'nın GOLD ve Glide tarafından tahmin edilen bağlanma pozları (B) ve bileşik 6-9'un GoldScore tarafından tahmin edilen bağlanma pozları (C).



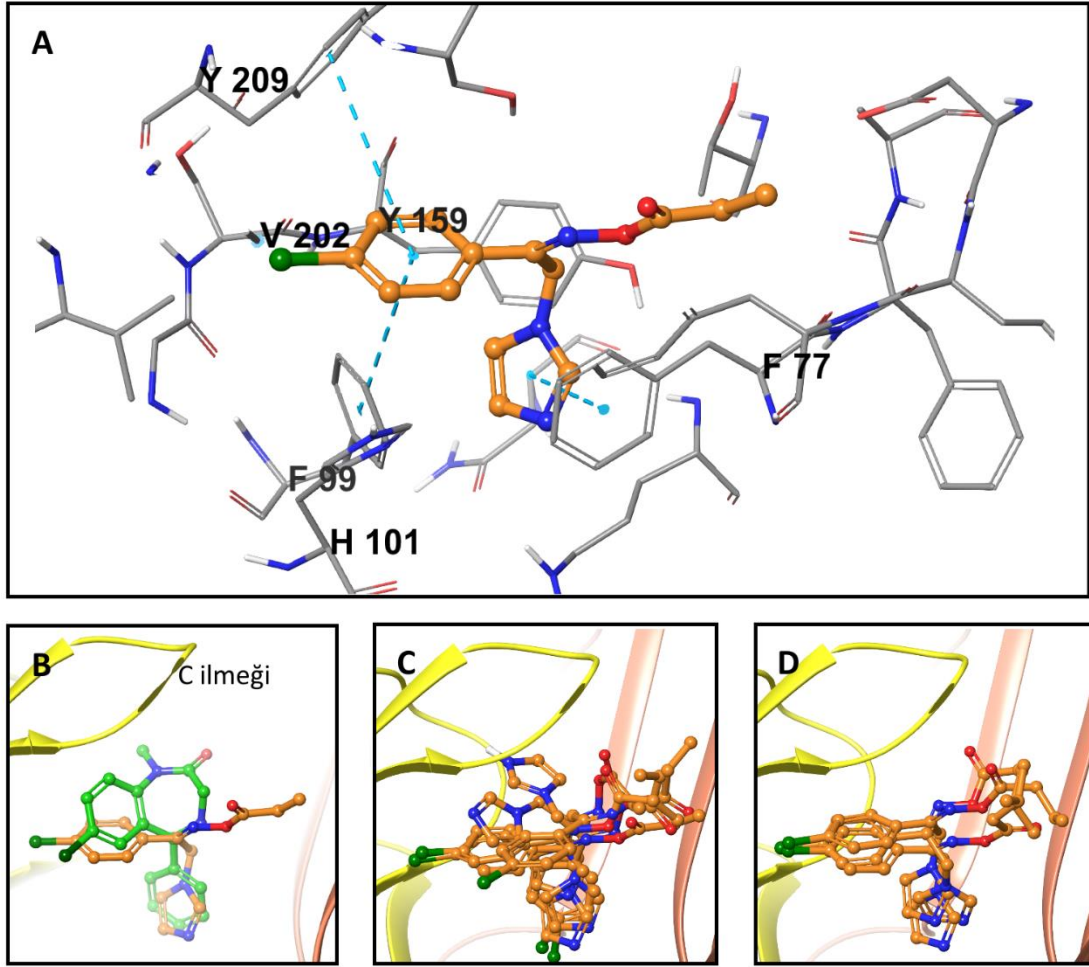
Şekil 5.23. GABA_AR (kurdele gösterimi) LRZ bağlanma bölgesinde (rezidüler çubuk gösteriminde) bileşik 6'nın bağlanma bölgesindeki rezidülerle Glide tarafından tahmin edilen etkileşimleri (H bağları sarı kesik çizgilerle gösterilmiştir) (A) ve bileşik 6-9'un Glide tarafından tahmin edilen bağlanma pozları (B) (ligandlar çubuk ve top gösteriminde).

BZD Bağlanma Bölgesi

Aynı homoloji modeli ve yazılımlar kullanılarak sonuç bileşiklerin moleküler kenetleme çalışmaları gerçekleştirilmiş, elde edilen bağlanma pozları modelin ekstraselüler $\alpha 1 + / \gamma 2$ - arayüzünde yer alan BZD bağlanma bölgesinde kenetlenmiş olarak bulunan DZP ile karşılaştırılmıştır.

Sonuç bileşiklerin GOLD ve Glide yazılımları tarafından BZD bağlanma bölgesinde elde edilen kenetleme skorları büyük farklılıklar göstermemekle birlikte bağlanma pozları hem DZP ile hem de birbirleriyle uyumludur (Şekil 5.24.). Bu eğilim tüm skora fonksiyonlarında benzer şekilde gözlenmiştir. Örneğin bileşik 6'nın Glide ile elde edilen bağlanma pozunda 4-klorobenzen ile imidazol halkası DZP'nin aromatik halkalarıyla çakışmaktadır. Bileşik 6 bu pozda 4-klorobenzen grubu ile $\alpha 1$ C ilmeğinin atında yer alan kaviteyi doldurarak bu alt birimden Phe99, His101, Tyr159, Val202 ve Tyr209 rezidüleriyle hidrofobik etkileşmelerde bulunmaktadır. Bu rezidülerin BZD'lerin aktivitelerinde önemli rol oynadığı yapılan mutajenez çalışmalarıyla gösterilmiştir (34). Bileşik 6'nın imidazol halkası ve kuyruk kısmı $\gamma 2$ rezidüleriyle etkileşme halindedir. Bunlardan biri olan Phe77 imidazol halkasıyla paralel π - π istifleşmesi göstermektedir. $\gamma 2$ Phe77 rezidüsünün BZD türevlerinin bağlanma gücü üzerinde etkili olduğu mutajenez çalışmalarıyla gösterilmiştir (34).

GABA_AR üzerinde yapılan kenetleme çalışmalarına göre BZD bağlanma bölgesinden farklı kenetleme yazılımları ile elde edilen bağlanma pozları, LRZ bağlanma bölgesinden elde edilen sonuçlara kıyasla, literatürdeki biyolojik çalışmalarla daha uyumlu ve birbiriyle daha tutarlıdır. Dolayısıyla, sonuç bileşiklerin BZD türevleriyle benzer antikonvülsan etki mekanizmasına sahip olabileceği düşünülmektedir. Antikonvülsan aktivite çalışmalarında SSS depresan etkiler şeklinde görülen nörotoksisite de bileşiklerin BZD'ler gibi etki göstermesiyle ilişkili olabilir.



Şekil 5.24. GABA_AR (kurdele gösterimi) BZD bağlanma bölgesinde bileşik 6'nın Glide tarafından tahmin edilen bağlanma bölgesi rezidüleriyle (çubuk gösterimi) etkileşimleri (π - π etkileşimleri yeşil kesik çizgilerle gösterilmiştir) (A), bileşik 6 ve DZP'nin bağlanma pozları (B), bileşik 6-9'un Glide tarafından tahmin edilen bağlanma pozları (C) ve bileşik 6'nın GOLD ve Glide tarafından tahmin edilen bağlanma pozları (D) (ligandlar çubuk ve top gösteriminde).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez kapsamında antimikrobiyal ve antikonvülsan aktivite göstermesi beklenen, azol antifungallerin yapısal modifikasyonu ile tasarladığımız 1-(4-klorofenil)-2-(1*H*-imidazol/1*H*-1,2,4-triazol-1-il)etanon oksimin çeşitli karboksilik asitlerle ester türevlerinin sentezi yapılmıştır. Spektral ve kristalografik çalışmalarla yapıları aydınlatılan bileşiklerin Z konfigürasyonda olduğu gösterilmiştir.

Azol antifungallerin yapısı dikkate alınarak bileşiklerin azol kısmına imidazol ve 1,2,4-triazol; kuyruk kısmına çeşitli alkil, aril ve arilalkil sübstitüentleri getirilerek antifungal ve antikonvülsan etkili türevler elde edilmeye çalışılmıştır. Aynı zamanda bileşiklerin azol ve kuyruk kısımlarında yapılan bu modifikasyonların aktivitelerine etkileri anlaşılmaya çalışılmıştır.

Standart mantar suşlarında yapılan testlerde bileşik 13'ün referans ilaç olan flukonazole göre daha güçlü antifungal etki gösterdiği görülmüştür. Bu suşlar arasında bazı azol antifungallere intrinsik olarak dirençli olan *C. krusei* de mevcuttur. Standart mantarlardan kandidiyaziste en sık izole edilen *C. albicans*'a karşı bileşik 8, 9, 11, 12, 15, 32 ve 36 nispeten iyi aktivite göstermiştir. Flukonazole dirençli klinik *C. tropicalis* izolatına karşı test edilen bileşikler güçlü aktivite göstermese de bu bileşiklerden çoğu (bileşik 3a, 4a, 8, 9, 12, 13, 15 ve 36) flukonazole kıyasla daha düşük MİK değerlerine sahip olmuştur. En güçlü antifungal aktiviteye sahip olan iki bileşiğin (bileşik 12 ve 13), biyofilm pozitif bir *C. albicans* suşunun oluşturduğu biyofilmleri amfoterisin B'ye kıyasla daha düşük konsantrasyonlarda inhibe ettiği görülmüştür. Bileşiklerde standart Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı kayda değer antibakteriyel aktivite bulunmamıştır.

Antikonvülsan aktivite çalışmalarının ilk aşaması olan antikonvülsan niteleme taramalarında bileşiklerin büyük çoğunluğu 6 Hz ya da MES yöntemlerinin en az birinde, en az bir doz ve zamanda aktivite göstermiştir. Antikonvülsan niteleme çalışmalarında, bazı bileşiklerin ED₅₀ değerlerinin umut verici olduğu, ancak bu değerlerin TD₅₀ değerlerine yakın olduğu görülmüştür. Bu testlerde imidazol türevlerinin 1,2,4-triazol türevlerinden, kuyruk kısmında aromatik grup taşımayanların ise taşıyanlardan daha aktif olduğu görülmüştür. Elde edilen

sonuçlardan, bileşiklerin düşük dozlarda ve ilerleyen sürelerde aktivitelerinin azaldığı, aktivitedeki artışın toksisiteyi de beraberinde getirdiği anlaşılmaktadır. Bu nedenle antikonvülsan niceleme çalışmalarında bileşiklerin terapötik indeksleri düşük bulunmuştur. Oral yoldan verildiğinde, aktivitelerinde gözlenen keskin düşüşler bileşiklerin *in vivo* şartlarda muhtemelen oksim ester grubunun hidrolizi ile hızlı bir şekilde inaktif metabolitlerine dönüştüğünü düşündürmektedir. Diğer taraftan, bileşiklerin 6 Hz, MES ve korneal kindling oluşturulmuş fare modellerinde koruyuculuk göstermesi, farklı epilepsi tiplerine karşı etki gösterme potansiyeline sahip olabileceklerini göstermektedir.

Sonuç olarak, elde edilen antifungal ve antikonvülsan aktivite bulguları YEİ açısından değerlendirildiğinde, kuyruk kısmında yapılan değişikliklerle aktivite arasında anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır.

Moleküler modelleme çalışmaları kapsamında, bileşiklerin fizikokimyasal ve farmakokinetik parametreleri modellenerek, ADME+T özellikleri öngörülme çalışılmıştır. Buna göre bileşikler bilinen ilaçların %95'inin sahip olduğu fizikokimyasal ve farmakokinetik özelliklerin çoğuna sahiptir. Öngörülen değerlere göre bileşikler genel olarak ilaç benzerdir, lipofiliktir, oral biyoyararlanımları yüksektir ve membranlardan çok iyi geçebilmektedir. Diğer taraftan, özellikle oksim ester bağının reaktif fragman olarak belirlenmesi, bileşiklerin PAINS benzeri etkiler gösterebileceğini işaret etmektedir. Arica QikProp yazılımı tarafından bileşiklerin hERG kanalları inhibitör aktivitesinin güçlü olduğu öngörülmüştür. Azol antifungallerin hedef enzimi olan CYP51'in, *C. albicans*'a ait homoloji modeli oluşturularak optimize edilmiş ve moleküler kenetleme çalışmalarında kullanılmıştır. Bileşiklerin CACYP51 aktif bölgesindeki etkileşimleri çeşitli moleküler modelleme yazılımları tarafından güçlü ve mevcut kristal yapılarla uyumlu olduğu öngörülmüştür. Bu etkileşimlerin zamansal evrimi MD simülasyonlarıyla incelendiğinde, bileşik 13'ün CACYP51 ile kararlı bir kompleks oluşturduğu anlaşılmıştır.

Literatürden elde edilen bir GABA_AR homoloji modelinin, farklı bağlanma bölgelerinde yapılan moleküler kenetleme çalışmalarında, BZD bağlanma bölgesinde daha tutarlı ve deneysel bulgularla daha çok desteklenebilen sonuçlar verdiği

gözlenmiştir. BZD'lerin sedatif etkileri ile bileşiklerin aktivite-nörotoksisite profilleri arasındaki benzerlik göz önüne alındığında, bileşiklerin GABA_Aerjik akımları GABA_AR BZD bağlanma bölgesine bağlanarak arttırıyor olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızın bundan sonraki aşamalarında izlenecek yol haritası aşağıdaki gibi özetlenmiştir:

- İleride yapılması planlanan çalışmalarımızda öncelikli olarak oksim ester grubunun değiştirilmesi düşünülmektedir. Hidrolize yatkın olan bu grup kolay metabolize olmakta, hem antifungal hem de antikonvülsan olarak inaktif olan oksim türevlerine dönüşmektedir. Oksim ester grubunun ayrıca nonspesifik reaktif fragman olarak öngörülmesi de bu sonucu desteklemektedir. Bu nedenle oksim eter gibi daha stabil olan türevlerin tercih edilmesinin daha uygun olacağı düşünülmektedir.
- Bilinen azol antifungal ilaçlarda aromatik halkada (B farmakoforu) 2,4-dikloro ve 2,4-difloro sübstitüsyonlarına sık rastlanması nedeniyle, ileriki çalışmalarda ikinci bir modifikasyon olarak, bileşiklerin aromatik halkasında ilave halojen sübstitüsyonları planlanmaktadır.
- Sentezini yaptığımız bileşiklerden, flukonazolden daha yüksek aktivite gösteren ve benzoik asit esteri olan bileşik 13 antifungal aktivite açısından daha ileri çalışmalar yapılmak üzere seçilmiştir. Bu çalışmalar arasında, bileşiğin farklı mantar türlerine, farklı ve çok sayıda klinik izolata karşı aktivitelerinin incelenmesinin yanı sıra sitotoksisite gibi toksisite modellerinde araştırılması da öncelikli olarak düşünülmektedir. Elde edilecek sonuçlara göre bileşik 13 prelinik çalışmalara alınacaktır. Önemli antifungal aktivite gözlenen sorbik asit esteri olan bileşik 12 için de benzer çalışmaların yapılması planlanmaktadır.
- Hit olarak değerlendirilebilecek bileşik 13 üzerinde, moleküler modelleme çalışmaları ile desteklenecek yeni modifikasyonların yapılması da ilerideki çalışmalar arasındadır. Yapılacak modifikasyonlarda, yeni kuşak azol antifungallerde öne çıkan gruplar olan kuyruk kısmında heteroaromatik gruplara ve alkil zincirinde hidroksil sübstitüsyonunununa öncelik verilecektir.

- Gelecekteki çalışmalarımızda antifungal aktivite için yapı temelli sanal aktivite tarama yerine mikrodilüsyon gibi fenotipik tarama yöntemlerine daha uygun olan ligand temelli sanal aktivite tarama yöntemlerinin öne çıkarılması planlanmaktadır. Özellikle hedef makromolekülün belli olmadığı ve aynı anda birden fazla hedefle etkileşmenin söz konusu olduğu antikonvülsan aktivite çalışmalarında ligand temelli yaklaşımların daha isabetli olacağı düşünülmektedir.
- MD simülasyonlarının daha sağlıklı tartışılabilmesi için küme işlemcili bilgisayar sistemlerinden faydalanılarak simülasyon sürelerinin uzatılması da gelecek hedefleri arasında yer almaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis*. 2004;39(3):309-17.
2. Pfaller MA, Messer SA, Moet GJ, Jones RN, Castanheira M. Candida bloodstream infections: comparison of species distribution and resistance to echinocandin and azole antifungal agents in Intensive Care Unit (ICU) and non-ICU settings in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2008-2009). *Int J Antimicrob Ag*. 2011;38(1):65-9.
3. Silva S, Negri M, Henriques M, Oliveira R, Williams DW, Azeredo J. Candida glabrata, Candida parapsilosis and Candida tropicalis: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. *Fems Microbiol Rev*. 2012;36(2):288-305.
4. Wong SSW, Samaranayake LP, Seneviratne CJ. In pursuit of the ideal antifungal agent for candida infections: high-throughput screening of small molecules. *Drug Discov Today*. 2014;19(11):1721-30.
5. Adams JL, Metcalf BW. Therapeutic Consequences of the inhibition of sterol metabolism. In: Taylor JB, Sammes PG, Hansch C, editors. *Comprehensive medicinal chemistry: the rational design, mechanistic study & therapeutic applications of chemical compounds*. 2. cilt. Oxford ; New York: Pergamon Press; 1990. p. 340.
6. Odds FC, Brown AJ, Gow NA. Antifungal agents: mechanisms of action. *Trends Microbiol*. 2003;11(6):272-9.
7. Trösken ER, Adamska M, Arand M, Zarn JA, Patten C, Völkel W, et al. Comparison of lanosterol-14 α -demethylase (CYP51) of human and Candida albicans for inhibition by different antifungal azoles. *Toxicology*. 2006;228(1):24-32.
8. Gupta AK, Katz HI, Shear NH. Drug interactions with itraconazole, fluconazole, and terbinafine and their management. *J Am Acad Dermatol*. 1999;41(2):237-49.
9. Sanguinetti MC, Tristani-Firouzi M. hERG potassium channels and cardiac arrhythmia. *Nature*. 2006;440(7083):463-9.
10. De Vita D, Scipione L, Tortorella S, Mellini P, Di Rienzo B, Simonetti G, et al. Synthesis and antifungal activity of a new series of 2-(1H-imidazol-1-yl)-1-phenylethanol derivatives. *Eur J Med Chem*. 2012;49:334-42.
11. Walker KA, Braemer AC, Hitt S, Jones RE, Matthews TR. 1-[4-(4-Chlorophenyl)-2-(2, 6-dichlorophenylthio)-n-butyl]-1H-imidazole nitrate, a new potent antifungal agent. *J Med Chem*. 1978;21(8):840-3.

12. Walker KA, Hirschfeld DR, Marx M. Antimycotic Imidazoles. 2. Synthesis and antifungal properties of esters of 1-[2-hydroxy (mercapto)-2-phenylethyl]-1H-imidazoles. *J Med Chem.* 1978;21(12):1335-8.
13. Walker KA, Wallach MB, Hirschfeld DR. 1-(Naphthylalkyl)-1H-imidazole derivatives, a new class of anticonvulsant agents. *J Med Chem.* 1981;24(1):67-74.
14. Nardi D, Tajana A, Leonardi A, Pennini R, Portioli F, Magistretti MJ, et al. Synthesis and anticonvulsant activity of N-(benzoylalkyl) imidazoles and N-(ω -phenyl- ω -hydroxyalkyl) imidazoles. *J Med Chem.* 1981;24(6):727-31.
15. Wauquier A, Fransen J, Melis W, Ashton D, Gillardin JM, Lewi PJ, et al. Loreclezole (R 72 063): an anticonvulsant chemically unrelated to prototype antiepileptic drugs. *Drug Dev Res.* 1990;19(4):375-92.
16. Granger P, Biton B, Faure C, Vige X, Depoortere H, Graham D, et al. Modulation of the gamma-aminobutyric acid type A receptor by the antiepileptic drugs carbamazepine and phenytoin. *Mol Pharmacol.* 1995;47(6):1189-96.
17. Macdonald RL, Kelly KM. Antiepileptic drug mechanisms of action. *Epilepsia.* 1995;36(s2).
18. Wingrove PB, Wafford KA, Bain C, Whiting PJ. The modulatory action of loreclezole at the gamma-aminobutyric acid type A receptor is determined by a single amino acid in the beta 2 and beta 3 subunit. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994;91(10):4569-73.
19. Thompson S-A, Wingrove PB, Connelly L, Whiting PJ, Wafford KA. Tracazolate reveals a novel type of allosteric interaction with recombinant γ -aminobutyric acid A receptors. *Mol Pharmacol.* 2002;61(4):861-9.
20. Simeone TA, Wilcox KS, White HS. Topiramate modulation of β 1-and β 3-homomeric GABA A receptors. *Pharmacol Res.* 2011;64(1):44-52.
21. Luger D, Poli G, Wieder M, Stadler M, Ke S, Ernst M, et al. Identification of the putative binding pocket of valerianic acid on GABAA receptors using docking studies and site-directed mutagenesis. *Br J Pharmacol.* 2015;172(22):5403-13.
22. Robertson DW, Krushinski JH, Beedle E, Leander JD, Wong DT, Rathbun R. Structure-activity relationships of (arylalkyl) imidazole anticonvulsants: comparison of the (fluorenylalkyl) imidazoles with nafimidone and denzimol. *J Med Chem.* 1986;29(9):1577-86.
23. Robertson DW, Beedle E, Lawson R, Leander JD. Imidazole anticonvulsants: structure-activity relationships of [(biphenyloxy) alkyl] imidazoles. *J Med Chem.* 1987;30(5):939-43.

24. Çalış Ü, Dalkara S, Ertan M, Sunal R. The significance of the imidazole ring in anticonvulsant activity of (arylalkyl) imidazoles. *Arch Pharm.* 1988;321(12):841-6.
25. England MJ, Liverman CT, Schultz AM, Strawbridge LM. Epilepsy across the spectrum: Promoting health and understanding.: A summary of the Institute of Medicine report. *Epilepsy Behav.* 2012;25(2):266-76.
26. Dalkara S, Karakurt A. Recent progress in anticonvulsant drug research: strategies for anticonvulsant drug development and applications of antiepileptic drugs for non-epileptic central nervous system disorders. *Curr Top Med Chem.* 2012;12(9):1033-71.
27. Schmidt D. Drug treatment of epilepsy: options and limitations. *Epilepsy Behav.* 2009;15(1):56-65.
28. Spina E, Perugi G. Antiepileptic drugs: indications other than epilepsy. *Epileptic Disord.* 2004;6(2):57-75.
29. Karakurt A, Dalkara S, Özalp M, Özbey S, Kendi E, Stables JP. Synthesis of some 1-(2-naphthyl)-2-(imidazole-1-yl) ethanone oxime and oxime ether derivatives and their anticonvulsant and antimicrobial activities. *Eur J Med Chem.* 2001;36(5):421-33.
30. Karakurt A, Aytemir MD, Stables JP, Özalp M, Betül Kaynak F, Özbey S, et al. Synthesis of Some Oxime Ether Derivatives of 1-(2-Naphthyl)-2-(1, 2, 4-triazol-1-yl) ethanone and Their Anticonvulsant and Antimicrobial Activities. *Arch Pharm.* 2006;339(9):513-20.
31. Karakurt A, Özalp M, Işık Ş, Stables JP, Dalkara S. Synthesis, anticonvulsant and antimicrobial activities of some new 2-acetylnaphthalene derivatives. *Bioorg Med Chem.* 2010;18(8):2902-11.
32. Acar F. 2-(1*H*-İmidazol-1-il)-1-(naftalen-2-il)etanol Esterleri Üzerinde Çalışmalar [Yüksek Lisans Tezi]. Ankara: Hacettepe Üniversitesi; 2011.
33. Doğan İS, Saraç S, Sari S, Kart D, Gökhan ŞE, Vural İ, et al. New azole derivatives showing antimicrobial effects and their mechanism of antifungal activity by molecular modeling studies. *Eur J Med Chem.* 2017;130:124-38.
34. Bergmann R, Kongsbak K, Sørensen PL, Sander T, Balle T. A Unified Model of the GABAA Receptor Comprising Agonist and Benzodiazepine Binding Sites. *Plos One.* 2013;8(1):e52323.
35. Hay RJ, Johns NE, Williams HC, Bolliger IW, Dellavalle RP, Margolis DJ, et al. The global burden of skin disease in 2010: an analysis of the prevalence and impact of skin conditions. *J Invest Dermatol.* 2014;134(6):1527-34.
36. Diekema D, Arbefeville S, Boyken L, Kroeger J, Pfaller M. The changing epidemiology of healthcare-associated candidemia over three decades. *Diagn Micr Infec Dis.* 2012;73(1):45-8.

37. Arendrup MC. Epidemiology of invasive candidiasis. *Curr Opin Crit Care*. 2010;16(5):445-52.
38. Mayer FL, Wilson D, Hube B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence*. 2013;4(2):119-28.
39. Oxman DA, Chow JK, Frendl G, Hadley S, Hershkovitz S, Ireland P, et al. Candidaemia associated with decreased in vitro fluconazole susceptibility: is *Candida* speciation predictive of the susceptibility pattern? *J Antimicrob Chemoth*. 2010;65(7):1460-5.
40. Krcmery V, Barnes A. Non-*albicans* *Candida* spp. causing fungaemia: pathogenicity and antifungal resistance. *J Hosp Infect*. 2002;50(4):243-60.
41. Pfaller M, Diekema D, Gibbs D, Newell V, Nagy E, Dobiasova S, et al. *Candida krusei*, a multidrug-resistant opportunistic fungal pathogen: geographic and temporal trends from the ARTEMIS DISK Antifungal Surveillance Program, 2001 to 2005. *J Clin Microbiol*. 2008;46(2):515-21.
42. Campoy S, Adrio JL. Antifungals. *Biochem Pharmacol*. 2017;133(Supplement C):86-96.
43. Weete JD, Abril M, Blackwell M. Phylogenetic distribution of fungal sterols. *Plos One*. 2010;5(5):e10899.
44. Lepesheva GI, Waterman MR. Sterol 14 α -demethylase cytochrome P450 (CYP51), a P450 in all biological kingdoms. *Biochim Biophys Acta (BBA)-General Subjects*. 2007;1770(3):467-77.
45. McElhaney-Feser GE, Rauli RE, Cihlar RL. Synergy of Nitric Oxide and Azoles against *Candida* Species In Vitro. *Antimicrob Agents Ch*. 1998;42(9):2342-6.
46. Lepesheva GI, Waterman MR. Structural basis for conservation in the CYP51 family. *Biochim Biophys Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*. 2011;1814(1):88-93.
47. Wade RC, Motiejunas D, Schleinkofer K, Winn PJ, Banerjee A, Kariakin A, et al. Multiple molecular recognition mechanisms. Cytochrome P450—a case study. *Biochim Biophys Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*. 2005;1754(1):239-44.
48. Zhao Y, White MA, Muralidhara B, Sun L, Halpert JR, Stout CD. Structure of microsomal cytochrome P450 2B4 complexed with the antifungal drug bifonazole insight into P450 conformational plasticity and membrane interaction *J Biol Chem*. 2006;281(9):5973-81.
49. Monk BC, Tomasiak TM, Keniya MV, Huschmann FU, Tyndall JD, O'Connell JD, 3rd, et al. Architecture of a single membrane spanning cytochrome P450 suggests constraints that orient the catalytic domain relative to a bilayer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(10):3865-70.

50. Sagatova AA, Keniya MV, Wilson RK, Sabherwal M, Tyndall JD, Monk BC. Triazole resistance mediated by mutations of a conserved active site tyrosine in fungal lanosterol 14 α -demethylase. *Sci Rep*. 2016;6.
51. Woolley D. Some biological effects produced by benzimidazole and their reversal by purines. *J Biol Chem*. 1944;152:225-32.
52. Seeliger H. Pilzhemmende Wirkung eines neuen Benzimidazol-Derivates. *Mycoses*. 1958;1(5):162-71.
53. Fromtling RA. Overview of medically important antifungal azole derivatives. *Clin Microbiol Rev*. 1988;1(2):187-217.
54. Gavarkar PS, Adnaik RS, Mohite SK. An overview of azole antifungals. *Int J Pharm Sci Res*. 2013;4(11):4083.
55. Peyton L, Gallagher S, Hashemzadeh M. Triazole antifungals: a review. *Drugs Today (Barc)*. 2015;51(12):705-18.
56. Wang E-j, Lew K, Casciano CN, Clement RP, Johnson WW. Interaction of common azole antifungals with P glycoprotein. *Antimicrob Agents Ch*. 2002;46(1):160-5.
57. Dvorak Z. Drug–drug interactions by azole antifungals: Beyond a dogma of CYP3A4 enzyme activity inhibition. *Toxicol Lett*. 2011;202(2):129-32.
58. Sanderson JT. The steroid hormone biosynthesis pathway as a target for endocrine-disrupting chemicals. *Toxicological sciences*. 2006;94(1):3-21.
59. Korashy HM, Shayeganpour A, Brocks DR, El-Kadi AO. Induction of cytochrome P450 1A1 by ketoconazole and itraconazole but not fluconazole in murine and human hepatoma cell lines. *Toxicol Sci*. 2007;97(1):32-43.
60. Warrilow AG, Parker JE, Kelly DE, Kelly SL. Azole affinity of sterol 14 α -demethylase (CYP51) enzymes from *Candida albicans* and *Homo sapiens*. *Antimicrob Agents Ch*. 2013;57(3):1352-60.
61. Kikuchi K, Nagatomo T, Abe H, Kawakami K, Duff HJ, Makielski JC, et al. Blockade of HERG cardiac K⁺ current by antifungal drug miconazole. *Br J Pharmacol*. 2005;144(6):840-8.
62. Takemasa H, Nagatomo T, Abe H, Kawakami K, Igarashi T, Tsurugi T, et al. Coexistence of hERG current block and disruption of protein trafficking in ketoconazole-induced long QT syndrome. *Br J Pharmacol*. 2008;153(3):439-47.
63. Berberi A, Noujeim Z, Aoun G. Epidemiology of oropharyngeal candidiasis in human immunodeficiency virus/acquired immune deficiency syndrome patients and CD4⁺ counts. *J Int Oral Health*. 2015;7(3):20.
64. Pfaller MA, Jones RN, Castanheira M. Regional data analysis of *Candida non-albicans* strains collected in United States medical sites over a 6-year period, 2006–2011. *Mycoses*. 2014;57(10):602-11.

65. Whaley SG, Berkow EL, Rybak JM, Nishimoto AT, Barker KS, Rogers PD. Azole antifungal resistance in *Candida albicans* and emerging non-*albicans* *Candida* species. *Front Microbiol.* 2017;7:2173.
66. Flowers SA, Colón B, Whaley SG, Schuler MA, Rogers PD. Contribution of clinically derived mutations in ERG11 to azole resistance in *Candida albicans*. *Antimicrob Agents Ch.* 2015;59(1):450-60.
67. Xiang M-J, Liu J-Y, Ni P-H, Wang S, Shi C, Wei B, et al. Erg11 mutations associated with azole resistance in clinical isolates of *Candida albicans*. *FEMS Yeast Res.* 2013;13(4):386-93.
68. Morio F, Loge C, Besse B, Hennequin C, Le Pape P. Screening for amino acid substitutions in the *Candida albicans* Erg11 protein of azole-susceptible and azole-resistant clinical isolates: new substitutions and a review of the literature. *Diagn Micr Infec Dis.* 2010;66(4):373-84.
69. Zhang L, Xiao M, Watts MR, Wang H, Fan X, Kong F, et al. Development of fluconazole resistance in a series of *Candida parapsilosis* isolates from a persistent candidemia patient with prolonged antifungal therapy. *BMC Infect Dis.* 2015;15(1):340.
70. Souza ACR, Fuchs BB, Pinhati HM, Siqueira RA, Hagen F, Meis JF, et al. *Candida parapsilosis* resistance to fluconazole: molecular mechanisms and in vivo impact in infected *Galleria mellonella* larvae. *Antimicrob Agents Ch.* 2015;59(10):6581-7.
71. Grossman NT, Pham CD, Cleveland AA, Lockhart SR. Molecular mechanisms of fluconazole resistance in *Candida parapsilosis* isolates from a US surveillance system. *Antimicrob Agents Ch.* 2015;59(2):1030-7.
72. Vermitsky J-P, Edlind TD. Azole resistance in *Candida glabrata*: coordinate upregulation of multidrug transporters and evidence for a Pdr1-like transcription factor. *Antimicrob Agents Ch.* 2004;48(10):3773-81.
73. Nakayama H, Izuta M, Nakayama N, Arisawa M, Aoki Y. Depletion of the squalene synthase (ERG9) gene does not impair growth of *Candida glabrata* in mice. *Antimicrob Agents Ch.* 2000;44(9):2411-8.
74. Andriole VT. Current and future antifungal therapy: new targets for antifungal therapy. *Int J Antimicrob Ag.* 2000;16(3):317-21.
75. Denning DW, Hope WW. Therapy for fungal diseases: opportunities and priorities. *Trends Microbiol.* 2010;18(5):195-204.
76. Abdel-Kader MS, Muharram MM. New microbial source of the antifungal allylamine "Terbinafine". *Saudi Pharm J.* 2017;25(3):440-2.
77. Sant DG, Tupe SG, Ramana CV, Deshpande MV. Fungal cell membrane—promising drug target for antifungal therapy. *J Appl Microbiol.* 2016.
78. Andes D. In vivo pharmacodynamics of antifungal drugs in treatment of candidiasis. *Antimicrob Agents Ch.* 2003;47(4):1179-86.

79. Hossain MA, Ghannoum MA. New investigational antifungal agents for treating invasive fungal infections. *Expert Opin Inv Drug*. 2000;9(8):1797-813.
80. Hossain MA, Ghannoum MA. New developments in chemotherapy for non-invasive fungal infections. *Expert Opin Inv Drug*. 2001;10(8):1501-11.
81. Depardieu F. Glycopeptide-Resistance in Enterococci. Mayers DL. Antimicrobial drug resistance: Mechanism of drug resistance. New York: Humana Press-Springer; 2009. p. 299.
82. Dupont B. Overview of the lipid formulations of amphotericin B. *J Antimicrob Chemoth*. 2002;49(suppl 1):31-6.
83. Lemke A, Kiderlen A, Kayser O. Amphotericin B. *Appl Microbiol Biot*. 2005;68(2):151-62.
84. Lorand T, Kocsis B. Recent advances in antifungal agents. *Mini-Rev Med Chem*. 2007;7(9):900-11.
85. Sucher AJ, Chahine EB, Balcer HE. Echinocandins: the newest class of antifungals. *Ann Pharmacother*. 2009;43(10):1647-57.
86. Mukherjee P, Sheehan D, Puzniak L, Schlamm H, Ghannoum M. Echinocandins: are they all the same? *J Chemotherapy*. 2011;23(6):319-25.
87. Petrikos G, Skiada A. Recent advances in antifungal chemotherapy. *Int J Antimicrob Ag*. 2007;30(2):108-17.
88. Gershkovich P, Wasan EK, Lin M, Sivak O, Leon CG, Clement JG, et al. Pharmacokinetics and biodistribution of amphotericin B in rats following oral administration in a novel lipid-based formulation. *J Antimicrob Chemoth*. 2009;64(1):101-8.
89. Pfaller MA, Messer SA, Rhomberg PR, Jones RN, Castanheira M. Activity of a long-acting echinocandin, CD101, determined using CLSI and EUCAST reference methods, against *Candida* and *Aspergillus* spp., including echinocandin- and azole-resistant isolates. *J Antimicrob Chemoth*. 2016;71(10):2868-73.
90. Akins RA. An update on antifungal targets and mechanisms of resistance in *Candida albicans*. *Med Mycol*. 2005;43(4):285-318.
91. Castelli MV, Butassi E, Monteiro MC, Svetaz LA, Vicente F, Zacchino SA. Novel antifungal agents: a patent review (2011–present). *Expert Opin Ther Pat*. 2014;24(3):323-38.
92. Onishi J, Meinz M, Thompson J, Curotto J, Dreikorn S, Rosenbach M, et al. Discovery of novel antifungal (1, 3)- β -D-glucan synthase inhibitors. *Antimicrob Agents Ch*. 2000;44(2):368-77.
93. Zhao C, Huang T, Chen W, Deng Z. Enhancement of the diversity of polyoxins by a thymine-7-hydroxylase homolog outside the polyoxin biosynthesis gene cluster. *Appl Environ Microb*. 2010;76(21):7343-7.

94. Konishi M, Nishio M, Saitoh K, Miyaki T, Oki T, Kawaguchi H. Cispentacin, a new antifungal antibiotic. *J Antibiot.* 1989;42(12):1749-55.
95. Petraitis V, Petraitiene R, Kelaher AM, Sarafandi AA, Sein T, Mickiene D, et al. Efficacy of PLD-118, a novel inhibitor of *Candida* isoleucyl-tRNA synthetase, against experimental oropharyngeal and esophageal candidiasis caused by fluconazole-resistant *C. albicans*. *Antimicrob Agents Ch.* 2004;48(10):3959-67.
96. Rock FL, Mao W, Yaremchuk A, Tukalo M, Crépin T, Zhou H, et al. An antifungal agent inhibits an aminoacyl-tRNA synthetase by trapping tRNA in the editing site. *Science.* 2007;316(5832):1759-61.
97. Liang H. Sordarin, an antifungal agent with a unique mode of action. *Beilstein J Org Chem.* 2008;4.
98. Gupta AK, Versteeg SG. Tavaborole—a treatment for onychomycosis of the toenails. *Expert Rev Clin Phar.* 2016;9(9):1145-52.
99. Oxford AE, Raistrick H, Simonart P. Studies in the biochemistry of microorganisms: Griseofulvin, C₁₇H₁₇O₆Cl, a metabolic product of *Penicillium griseo-fulvum* Dierckx. *Biochem J.* 1939;33(2):240-8.
100. Cleveland DW, Sullivan KF. Molecular biology and genetics of tubulin. *Annu Rev Biochem.* 1985;54(1):331-66.
101. Van Cutsem J, Thienpont D. Miconazole, a broad-spectrum antimycotic agent with antibacterial activity. *Chemotherapy.* 1972;17(6):392-404.
102. Nobre LS, Todorovic S, Tavares AFN, Oldfield E, Hildebrandt P, Teixeira M, et al. Binding of azole antibiotics to *Staphylococcus aureus* flavohemoglobin increases intracellular oxidative stress. *J Bacteriol.* 2010;192(6):1527-33.
103. Sadeghpour H, Ghasemi Y, Rezaei Z, Khabnadideh S, Falahzadeh Z. Antibacterial Activity of Some New Azole Compounds. *Iran J Pharm Sci.* 2012;8(4):267-70.
104. Clinical and Laboratory Standards Institute, Reference method for Broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; Approved standart, 3rd ed. M27-A3, Vol28, No: 14. 2008.
105. Clinical and Laboratory Standards Institute, Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved standart, 8th Ed. M07-A8, Vol29, No: 2. 2009.
106. Jorgensen WL. Efficient drug lead discovery and optimization. *Acc Chem Res.* 2009;42(6):724-33.
107. Gürgün V, Halkman AK. Mikrobiyolojide sayım yöntemleri. 2. baskı. Ankara: Gıda Teknolojisi Derneği, Yayın no:7; 1990.
108. Washington J, Wood G. Antimicrobial susceptibility tests: Dilution and disc diffusion methods. 6th ed. Washington D.C.: ASM; 1995. 113 p.

109. Lalitha M, Vellore TN. Manual on antimicrobial susceptibility testing [Internet] 2005 [Erişim Tarihi 10 Nisan 2017]. Erişim adresi: <http://www.ijmm.org/documents/Antimicrobial.doc>.
110. Watnick P, Kolter R. Biofilm, city of microbes. *J Bacteriol*. 2000;182(10):2675-9.
111. Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol*. 2004;2(2):95-108.
112. Fux C, Costerton J, Stewart P, Stoodley P. Survival strategies of infectious biofilms. *Trend Microbiol*. 2005;13(1):34-40.
113. Høiby N, Bjarnsholt T, Givskov M, Molin S, Ciofu O. Antibiotic resistance of bacterial biofilms. *Int J Antimicrob Ag*. 2010;35(4):322-32.
114. Ceri H, Olson M, Stremick C, Read R, Morck D, Buret A. The Calgary Biofilm Device: new technology for rapid determination of antibiotic susceptibilities of bacterial biofilms. *J Clin Microbiol*. 1999;37(6):1771-6.
115. Coenye T, Nelis HJ. In vitro and in vivo model systems to study microbial biofilm formation. *J Microbiol Meth*. 2010;83(2):89-105.
116. Bhalla D, Godet B, Druet-Cabanac M, Preux P-M. Etiologies of epilepsy: a comprehensive review. *Expert Rev Neurother*. 2011;11(6):861-76.
117. Ran X, Li J, Shao Q, Chen H, Lin Z, Sun ZS, et al. EpilepsyGene: a genetic resource for genes and mutations related to epilepsy. *Nucleic Acids Res*. 2014;43(D1):D893-D9.
118. Gastaut H, Caveness W, Landolt H, Loretntz de Haas A, McNaughton F, Magnus O, et al. A proposed international classification of epileptic seizures. *Epilepsia*. 1964;5(4):297-306.
119. Blumenfeld H. What is a seizure network? Long-range network consequences of focal seizures. Scharfman HE, Buckmaster PS, editors. *Issues in Clinical Epileptology: A View from the Bench*. New York: Springer; 2014. p. 63-70.
120. Angeles DK. Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. *Epilepsia*. 1981;22(4):489-501.
121. Fisher RS, Cross JH, French JA, Higurashi N, Hirsch E, Jansen FE, et al. Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2017;58(4):522-30.
122. Murphy JT, Kwan HC, MacKay W, Wong YC. Physiologic basis for focal motor seizures and the Jacksonian "March" phenomena. *Can J Neurol Sci*. 1980;7(2):79-85.
123. Zifkin BG, Andermann F. Generalized tonic-clonic seizures. *Atlas of Epilepsies*: Springer; 2010. p. 389-94.

124. Panayiotopoulos CP. Typical absence seizures and related epileptic syndromes: assessment of current state and directions for future research. *Epilepsia*. 2008;49(12):2131-9.
125. Scharfman HE. The neurobiology of epilepsy. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2007;7(4):348-54.
126. Goldberg EM, Coulter DA. Mechanisms of epileptogenesis: a convergence on neural circuit dysfunction. *Nat Rev Neurosci*. 2013;14(5):337-49.
127. Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM. Principles of neural science. 4th ed. New York: McGraw-hill 2000.
128. Petroff OA. Book review: GABA and glutamate in the human brain. *The Neuroscientist*. 2002;8(6):562-73.
129. Manev H, Favaron M, Guidotti A, Costa E. Delayed increase of Ca²⁺ influx elicited by glutamate: role in neuronal death. *Mol Pharmacol*. 1989;36(1):106-12.
130. Perin-Dureau F, Rachline J, Neyton J, Paoletti P. Mapping the binding site of the neuroprotectant ifenprodil on NMDA receptors. *J Neurosci*. 2002;22(14):5955-65.
131. Traynelis SF, Wollmuth LP, McBain CJ, Menniti FS, Vance KM, Ogden KK, et al. Glutamate Receptor Ion Channels: Structure, Regulation, and Function. *Pharmacol Rev*. 2010;62(3):405-96.
132. Lomeli H, Mosbacher J, Melcher T, Hoyer T, Geiger JR, Kuner T, et al. Control of kinetic properties of AMPA receptor channels by nuclear RNA editing. *Science*. 1994;266(5191):1709-13.
133. Kim DY, Kim SH, Choi HB, Min C-k, Gwag BJ. High abundance of GluR1 mRNA and reduced Q/R editing of GluR2 mRNA in individual NADPH-diaphorase neurons. *Mol Cell Neurosci*. 2001;17(6):1025-33.
134. Wilding TJ, Zhou Y, Huettner JE. Q/R site editing controls kainate receptor inhibition by membrane fatty acids. *J Neurosci*. 2005;25(41):9470-8.
135. Kupper J, Ascher P, Neyton J. Probing the pore region of recombinant N-methyl-D-aspartate channels using external and internal magnesium block. *Proc Nat Acad Sci U S A*. 1996;93(16):8648-53.
136. Shepherd JD, Huganir RL. The cell biology of synaptic plasticity: AMPA receptor trafficking. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2007;23:613-43.
137. Anggono V, Huganir RL. Regulation of AMPA receptor trafficking and synaptic plasticity. *Curr Opin Neurobiol*. 2012;22(3):461-9.
138. Chapman AG. Glutamate receptors in epilepsy. *Prog Brain Res*. 1998;116:371-83.

139. Tajima N, Karakas E, Grant T, Simorowski N, Diaz-Avalos R, Grigorieff N, et al. Activation of NMDA receptors and the mechanism of inhibition by ifenprodil. *Nature*. 2016;534(7605):63-8.
140. Kemp JA, McKernan RM. NMDA receptor pathways as drug targets. *Nat Neurosci*. 2002;5:1039-42.
141. Seeburg PH, Burnashev N, Kohr G, Kuner T, Sprengel R, Monyer H. The NMDA receptor channel: molecular design of a coincidence detector. *Recent Prog Horm Res*. 2013;50:19-34.
142. Dingledine R, Borges K, Bowie D, Traynelis SF. The glutamate receptor ion channels. *Pharmacol Rev*. 1999;51(1):7-62.
143. Panatier A, Theodosis DT, Mothet J-P, Touquet B, Pollegioni L, Poulain DA, et al. Glia-derived D-serine controls NMDA receptor activity and synaptic memory. *Cell*. 2006;125(4):775-84.
144. Vyklicky V, Korinek M, Smejkalova T, Balik A, Krausova B, Kaniakova M, et al. Structure, function, and pharmacology of NMDA receptor channels. *Physiol Res*. 2014;63:S191-203.
145. Dang Y-H, Ma X-C, Zhang J-C, Ren Q, Wu J, Gao C-G, et al. Targeting of NMDA receptors in the treatment of major depression. *Curr Pharm Des*. 2014;20(32):5151-9.
146. Moskal JR, Burgdorf JS, Stanton PK, Kroes RA, Disterhoft JF, Burch RM, et al. The Development of Rapastinel (Formerly GLYX-13); A Rapid Acting and Long Lasting Antidepressant. *Curr Neuropharmacol*. 2017;15(1):47-56.
147. Traub RD, Miles R, Jefferys J. Synaptic and intrinsic conductances shape picrotoxin-induced synchronized after-discharges in the guinea-pig hippocampal slice. *J Physiol*. 1993;461(1):525-47.
148. McEwen BS, Chattarji S. Molecular mechanisms of neuroplasticity and pharmacological implications: the example of tianeptine. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2004;14:S497-S502.
149. Ghasemi M, Schachter SC. The NMDA receptor complex as a therapeutic target in epilepsy: a review. *Epilepsy Behav*. 2011;22(4):617-40.
150. Hayley S, Litteljohn D. Neuroplasticity and the next wave of antidepressant strategies. *Front Cell Neurosci*. 2013;7.
151. Hashimoto K, Malchow B, Falkai P, Schmitt A. Glutamate modulators as potential therapeutic drugs in schizophrenia and affective disorders. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2013;263(5):367-77.
152. Limapichat W, Yu WY, Branigan E, Lester HA, Dougherty DA. Key binding interactions for memantine in the NMDA receptor. *ACS Chem Neurosci*. 2012;4(2):255-60.

153. Lee K, Goodman L, Fourie C, Schenk S, Leitch B, Montgomery JM. AMPA Receptors as Therapeutic Targets for Neurological Disorders. *Adv Protein Chem Struct Biol.* 2016;103:203-61.
154. Hanada T. The discovery and development of perampanel for the treatment of epilepsy. *Expert Opin Drug Dis.* 2014;9(4):449-58.
155. Ahmed AH, Oswald RE. Piracetam defines a new binding site for allosteric modulators of α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid (AMPA) receptors. *J Med Chem.* 2010;53(5):2197-203.
156. Ornstein PL, Arnold MB, Augenstein NK, Lodge D, Leander JD, Schoepp DD. (3SR, 4aRS, 6RS, 8aRS)-6-[2-(1H-Tetrazol-5-yl) ethyl] decahydroisoquinoline-3-carboxylic acid: a structurally novel, systemically active, competitive AMPA receptor antagonist. *J Med Chem.* 1993;36(14):2046-8.
157. Bullock R, Graham D, Swanson S, McCulloch J. Neuroprotective effect of the AMPA receptor antagonist LY-293558 in focal cerebral ischemia in the cat. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1994;14(3):466-71.
158. Rogawski MA, Kurzman PS, Yamaguchi S-i, Li H. Role of AMPA and GluR5 kainate receptors in the development and expression of amygdala kindling in the mouse. *Neuropharmacology.* 2001;40(1):28-35.
159. Ben-Ari Y, Cossart R. Kainate, a double agent that generates seizures: two decades of progress. *Trends Neurosci.* 2000;23(11):580-7.
160. Roberson ED, Scarce-Levie K, Palop JJ, Yan F, Cheng IH, Wu T, et al. Reducing endogenous tau ameliorates amyloid β -induced deficits in an Alzheimer's disease mouse model. *Science.* 2007;316(5825):750-4.
161. Pinheiro P, Mulle C. Kainate receptors. *Cell Tissue Res.* 2006;326(2):457-82.
162. Huettner JE. Kainate receptors and synaptic transmission. *Prog Neurobiol.* 2003;70(5):387-407.
163. Lerma J. Roles and rules of kainate receptors in synaptic transmission. *Nat Rev Neurosci.* 2003;4(6):481-95.
164. Daw MI, Pelkey KA, Chittajallu R, McBain CJ. Presynaptic kainate receptor activation preserves asynchronous GABA release despite the reduction in synchronous release from hippocampal cholecystokinin interneurons. *J Neurosci.* 2010;30(33):11202-9.
165. Mulle C, Sailer A, Pérez-Otaño I, Dickinson-Anson H, Castillo PE, Bureau I, et al. Altered synaptic physiology and reduced susceptibility to kainate-induced seizures in GluR6-deficient mice. *Nature.* 1998;392(6676):601-5.
166. Gryder DS, Rogawski MA. Selective antagonism of GluR5 kainate-receptor-mediated synaptic currents by topiramate in rat basolateral amygdala neurons. *J Neurosci.* 2003;23(18):7069-74.
167. Smith GB, Olsen RW. Functional domains of GABA A receptors. *Trends Pharmacol Sci.* 1995;16(5):162-8.

168. Olsen RW. Chapter Seven-Allosteric Ligands and Their Binding Sites Define γ -Aminobutyric Acid (GABA) Type A Receptor Subtypes. *Adv Pharmacol.* 2015;73:167-202.
169. Lape R, Colquhoun D, Sivilotti LG. On the nature of partial agonism in the nicotinic receptor superfamily. *Nature.* 2008;454(7205):722-7.
170. Gielen M, Thomas P, Smart TG. The desensitization gate of inhibitory Cys-loop receptors. *Nat Commun.* 2015;6:6829.
171. Greenfield LJ. Molecular mechanisms of antiseizure drug activity at GABA A receptors. *Seizure.* 2013;22(8):589-600.
172. Hibbs RE, Gouaux E. Principles of activation and permeation in an anion-selective Cys-loop receptor. *Nature.* 2011;474(7349):54-60.
173. Padgett CL, Lummis SC. The F-loop of the GABAA receptor γ 2 subunit contributes to benzodiazepine modulation. *J Biol Chem.* 2008;283(5):2702-8.
174. Dawson GR, Curnow R, Bayley P, Rambridge A, Tricklebank MD. Lack of effect of flumazenil and CGS 8216 on the anxiolytic-like properties of loreclezole. *Eur J Pharmacol.* 1994;252(3):325-8.
175. Khom S, Baburin I, Timin E, Hohaus A, Trauner G, Kopp B, et al. Valerenic acid potentiates and inhibits GABA A receptors: molecular mechanism and subunit specificity. *Neuropharmacology.* 2007;53(1):178-87.
176. McCracken ML, Borghese CM, Trudell JR, Harris RA. A transmembrane amino acid in the GABAA receptor β 2 subunit critical for the actions of alcohols and anesthetics. *J Pharmacol Exp Ther.* 2010;335(3):600-6.
177. Chiara DC, Jounaidi Y, Zhou X, Savechenkov PY, Bruzik KS, Miller KW, et al. General Anesthetic Binding Sites in Human α 4 β 3 δ γ -Aminobutyric Acid Type A Receptors (GABAARs). *J Biol Chem.* 2016;291(51):26529-39.
178. Chen K, Li H-Z, Ye N, Zhang J, Wang J-J. Role of GABA B receptors in GABA and baclofen-induced inhibition of adult rat cerebellar interpositus nucleus neurons in vitro. *Brain Res Bull.* 2005;67(4):310-8.
179. Olinas MC, Onali P. GABAB receptor-mediated stimulation of adenylyl cyclase activity in membranes of rat olfactory bulb. *Br J Pharmacol.* 1999;126(3):657-64.
180. Benarroch EE. GABAB receptors: structure, functions, and clinical implications. *Neurology.* 2012;78(8):578-84.
181. Reis G, Duarte I. Baclofen, an agonist at peripheral GABAB receptors, induces antinociception via activation of TEA-sensitive potassium channels. *Br J Pharmacol.* 2006;149(6):733-9.
182. Caltagirone C, Ferrannini L, Marchionni N, Nappi G, Scapagnini G, Trabucchi M. The potential protective effect of tramiprosate (homotaurine) against Alzheimer's disease: a review. *Aging Clin Exp Res.* 2012;24(6):580-7.

183. Shimidzu T, Itoh Y, Oka M, Ishima T, Ukai Y, Yoshikuni Y, et al. Effect of a novel cognition enhancer NS-105 on learned helplessness in rats: Possible involvement of GABA B receptor up-regulation after repeated treatment. *Eur J Pharmacol.* 1997;338(3):225-32.
184. Urwyler S, Mosbacher J, Lingenhoehl K, Heid J, Hofstetter K, Froestl W, et al. Positive allosteric modulation of native and recombinant γ -aminobutyric acidB receptors by 2,6-di-tert-butyl-4-(3-hydroxy-2,2-dimethyl-propyl)-phenol (CGP7930) and its aldehyde analog CGP13501. *Mol Pharmacol.* 2001;60(5):963-71.
185. Malherbe P, Masciadri R, Norcross R, Knoflach F, Kratzeisen C, Zenner MT, et al. Characterization of (R,S)-5,7-di-tert-butyl-3-hydroxy-3-trifluoromethyl-3H-benzofuran-2-one as a positive allosteric modulator of GABAB receptors. *Br J Pharmacol.* 2008;154(4):797-811.
186. Gross RA, Ferrendelli JA. Effects of reserpine, propranolol, and aminophylline on seizure activity and CNS cyclic nucleotides. *Ann Neurol.* 1979;6(4):296-301.
187. Viviani B, Bartesaghi S, Gardoni F, Vezzani A, Behrens M, Bartfai T, et al. Interleukin-1 β enhances NMDA receptor-mediated intracellular calcium increase through activation of the Src family of kinases. *J Neurosci.* 2003;23(25):8692-700.
188. Stafstrom CE. Persistent sodium current and its role in epilepsy. *Epilepsy Curr.* 2007;7(1):15-22.
189. Cressman JR, Jr., Ullah G, Ziburkus J, Schiff SJ, Barreto E. The influence of sodium and potassium dynamics on excitability, seizures, and the stability of persistent states: I. Single neuron dynamics. *J Comput Neurosci.* 2009;26(2):159-70.
190. Sloviter RS. The functional organization of the hippocampal dentate gyrus and its relevance to the pathogenesis of temporal lobe epilepsy. *Ann Neurol.* 1994;35(6):640-54.
191. Eadie M. Sir Charles Locock and potassium bromide. *JR Coll Physicians Edinb.* 2012;42(3):274-9.
192. Yasiry Z, Shorvon SD. How phenobarbital revolutionized epilepsy therapy: the story of phenobarbital therapy in epilepsy in the last 100 years. *Epilepsia.* 2012;53(s8):26-39.
193. Friedlander WJ. Putnam, Merritt, and the Discovery of Dilantin[®]. *Epilepsia.* 1986;27(Suppl 3):S1-S20.
194. Lennox WG. The petit mal epilepsies: their treatment with tridione. *JAMA.* 1945;129(16):1069-74.
195. Gastaut H, Naquet R, Poire R, Tassinari C. Treatment of status epilepticus with diazepam (Valium). *Epilepsia.* 1965;6(2):167-82.

196. Löscher W. The discovery of valproate. Michael J Parnham JB, editor. *Milestones in Drug Therapy*. Basel: Birkhäuser; 1999. p. 1-3.
197. Goldenberg MM. Overview of drugs used for epilepsy and seizures: etiology, diagnosis, and treatment. *Pharm Ther*. 2010;35(7):392-415.
198. Rogawski MA, Bazil CW. New molecular targets for antiepileptic drugs: $\alpha 2 \delta$, SV2A, and K V 7/KCNQ/M potassium channels. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2008;8(4):345-52.
199. Huguenard JR. Neuronal circuitry of thalamocortical epilepsy and mechanisms of antiabsence drug action. *Adv Neurol*. 1999;79:991-9.
200. Thiry A, Dogne J-M, Supuran CT, Masereel B. Carbonic anhydrase inhibitors as anticonvulsant agents. *Curr Top Med Chem*. 2007;7(9):855-64.
201. Citraro R, Russo E, Scicchitano F, van Rijn CM, Cosco D, Avagliano C, et al. Antiepileptic action of N-palmitoylethanolamine through CB1 and PPAR- α receptor activation in a genetic model of absence epilepsy. *Neuropharmacology*. 2013;69:115-26.
202. Leduc B. Chapter 20: Antiseizure Agents. Lemke TL, Williams DA, Roche VF, Zito SW, editors. *Foye's principles of medicinal chemistry*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2008. p. 521-46.
203. Mantegazza M, Curia G, Biagini G, Ragsdale DS, Avoli M. Voltage-gated sodium channels as therapeutic targets in epilepsy and other neurological disorders. *Lancet Neurol*. 2010;9(4):413-24.
204. Payandeh J, Scheuer T, Zheng N, Catterall WA. The crystal structure of a voltage-gated sodium channel. *Nature*. 2011;475(7356):353-8.
205. Lipkind GM, Fozzard HA. Molecular modeling of local anesthetic drug binding by voltage-gated sodium channels. *Mol Pharmacol*. 2005;68(6):1611-22.
206. Lipkind GM, Fozzard HA. Molecular model of anticonvulsant drug binding to the voltage-gated sodium channel inner pore. *Mol Pharmacol*. 2010;78(4):631-8.
207. Catterall WA. Ion channel voltage sensors: structure, function, and pathophysiology. *Neuron*. 2010;67(6):915-28.
208. Chen Y, Parker WD, Wang K. The role of T-type calcium channel genes in absence seizures. *Front Neurol*. 2014;5:45.
209. Rundfeldt C. The new anticonvulsant retigabine (D-23129) acts as an opener of K⁺ channels in neuronal cells. *Eur J Pharmacol*. 1997;336(2):243-9.
210. Jeon SG, Bahn JH, Jang JS, Park J, Kwon OS, Cho SW, et al. Human brain GABA transaminase. *FEBS J*. 2000;267(17):5601-7.
211. Scimemi A. Structure, function, and plasticity of GABA transporters. *Front Cell Neurosci*. 2014;8:161.

212. Rho JM, Donevan SD, Rogawski MA. Direct activation of GABAA receptors by barbiturates in cultured rat hippocampal neurons. *J Physiol.* 1996;497(2):509-22.
213. Nelson LE, Guo TZ, Lu J, Saper CB, Franks NP, Maze M. The sedative component of anesthesia is mediated by GABAA receptors in an endogenous sleep pathway. *Nat Neurosci.* 2002;5:979-84.
214. French-Mullen JM, Barker JL, Rogawski MA. Calcium current block by (-)-pentobarbital, phenobarbital, and CHEB but not (+)-pentobarbital in acutely isolated hippocampal CA1 neurons: comparison with effects on GABA-activated Cl⁻ current. *J Neurosci.* 1993;13(8):3211-21.
215. Rigo JM, Hans G, Nguyen L, Rocher V, Belachew S, Malgrange B, et al. The anti-epileptic drug levetiracetam reverses the inhibition by negative allosteric modulators of neuronal GABA- and glycine-gated currents. *Br J Pharmacol.* 2002;136(5):659-72.
216. Fisher JL. The effects of stiripentol on GABAA receptors. *Epilepsia.* 2011;52(s2):76-8.
217. Ängelshagen M, Ben-Menachem E, Rönnbäck L, Hansson E. Novel mechanisms of action of three antiepileptic drugs, vigabatrin, tiagabine, and topiramate. *Neurochem Res.* 2003;28(2):333-40.
218. Löscher W. Valproate enhances GABA turnover in the substantia nigra. *Brain Res.* 1989;501(1):198-203.
219. Löscher W, Hönack D, Taylor CP. Gabapentin increases aminooxyacetic acid-induced GABA accumulation in several regions of rat brain. *Neurosci Lett.* 1991;128(2):150-4.
220. Harty TP, Rogawski MA. Felbamate block of recombinant N-methyl-D-aspartate receptors: selectivity for the NR2B subunit. *Epilepsy Res.* 2000;39(1):47-55.
221. Nardou R, Yamamoto S, Bhar A, Burnashev N, Ben-Ari Y, Khalilov I. Phenobarbital but not diazepam reduces AMPA/kainate receptor mediated currents and exerts opposite actions on initial seizures in the neonatal rat hippocampus. *Front Cell Neurosci.* 2011;5:16.
222. Lynch BA, Lambeng N, Nocka K, Kensel-Hammes P, Bajjalieh SM, Matagne A, et al. The synaptic vesicle protein SV2A is the binding site for the antiepileptic drug levetiracetam. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(26):9861-6.
223. Reiss WG, Oles KS. Acetazolamide in the treatment of seizures. *Ann Pharmacother.* 1996;30(5):514-9.
224. Shank RP, Smith-Swintosky VL, Maryanoff BE. Carbonic anhydrase inhibition. Insight into the characteristics of zonisamide, topiramate, and the sulfamide cognate of topiramate. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2008;23(2):271-6.

225. Boison D. Adenosine and seizure termination: endogenous mechanisms. *Epilepsy Curr.* 2013;13(1):35-7.
226. Gilbert J, Wyllie M. Proceedings: The effects of phenytoin on adenosine triphosphatase activities of synaptosomes and their components. *Br J Pharmacol.* 1974;52(3):445P.
227. Phillis JW. Interactions of the anticonvulsants diphenylhydantoin and carbamazepine with adenosine on cerebral cortical neurons. *Epilepsia.* 1984;25(6):765-72.
228. Faingold CL, Browning RA. Mechanisms of anticonvulsant drug action. *Eur J Pediatr.* 1987;146(1):2-7.
229. Marini C, Guerrini R. The role of the nicotinic acetylcholine receptors in sleep-related epilepsy. *Biochem Pharmacol.* 2007;74(8):1308-14.
230. Becchetti A. Neuronal nicotinic receptors in sleep-related epilepsy: studies in integrative biology. *ISRN Biochem.* 2012;2012.
231. Kanner AM. Depression in epilepsy: a neurobiologic perspective. *Epilepsy Curr.* 2005;5(1):21-7.
232. Kanner AM. Depression and epilepsy: a new perspective on two closely related disorders. *Epilepsy Curr.* 2006;6(5):141-6.
233. Prendiville S, Gale K. Anticonvulsant effect of fluoxetine on focally evoked limbic motor seizures in rats. *Epilepsia.* 1993;34(2):381-4.
234. Jakus R, Graf M, Juhasz G, Gerber K, Levay G, Halasz P, et al. 5-HT 2C receptors inhibit and 5-HT 1A receptors activate the generation of spike-wave discharges in a genetic rat model of absence epilepsy. *Exp Neurol.* 2003;184(2):964-72.
235. Bagdy G, Kecskemeti V, Riba P, Jakus R. Serotonin and epilepsy. *J Neurochem.* 2007;100(4):857-73.
236. Marsicano G, Goodenough S, Monory K, Hermann H, Eder M, Cannich A, et al. CB1 cannabinoid receptors and on-demand defense against excitotoxicity. *Science.* 2003;302(5642):84-8.
237. Alger BE. Seizing an opportunity for the endocannabinoid system. *Epilepsy Curr.* 2014;14(5):272-6.
238. Rosenberg EC, Tsien RW, Whalley BJ, Devinsky O. Cannabinoids and epilepsy. *Neurotherapeutics.* 2015;12(4):747-68.
239. Mylvaganam S, Ramani M, Krawczyk M, Carlen PL. Roles of gap junctions, connexins, and pannexins in epilepsy. *Front Physiol.* 2014;5:172.
240. Saha L, Bhandari S, Bhatia A, Banerjee D, Chakrabarti A. Anti-kindling effect of bezafibrate, a peroxisome proliferator-activated receptors alpha agonist, in pentylenetetrazole induced kindling seizure model. *J Epilepsy Res.* 2014;4(2):45-54.

241. Tajana A, Portioli F, Subissi A, Nardi D. N-Naphthacylimidazoles and N-((beta-naphthyl-beta-hydroxy) ethyl) imidazoles with anticonvulsant activity. *Boll Chim Farm.* 1981;120(3):185-90.
242. Dalkara S. Studies on 2-acetylnaphthalene and p-chloroacetylbenzene derivatives. *Hacettepe Univ J Fac Pharm.* 1988;8(1):9-16.
243. Graziani G, Tirone F, Barbadoro E, Testa R. Denzimol, a new anticonvulsant drug. I. General anticonvulsant profile. *Arzneimittel-Forschung.* 1983;33(8):1155-60.
244. Ozkanli F, Dalkara S, Caliş U, Willke A. Synthesis of some N-arylazole acetamide derivatives and their anticonvulsant and antimicrobial activities. *Arzneimittel-Forschung.* 1994;44(8):920-4.
245. Keezer MR, Sisodiya SM, Sander JW. Comorbidities of epilepsy: current concepts and future perspectives. *Lancet Neurol.* 2016;15(1):106-15.
246. Feinstein AR. The pre-therapeutic classification of co-morbidity in chronic disease. *J Chronic Dis.* 1970;23(7):455-68.
247. Gaitatzis A, Sisodiya SM, Sander JW. The somatic comorbidity of epilepsy: a weighty but often unrecognized burden. *Epilepsia.* 2012;53(8):1282-93.
248. Moch S. Therapeutic uses of antiepileptic drugs in non-epileptic disorders. *S Afr Pharm J.* 2010;77(5):18-27.
249. Eisenberg E, River Y, Shifrin A, Krivoy N. Antiepileptic drugs in the treatment of neuropathic pain. *Drugs.* 2007;67(9):1265-89.
250. Dworkin RH, O'connor AB, Audette J, Baron R, Gourlay GK, Haanpää ML, et al., editors. Recommendations for the pharmacological management of neuropathic pain: an overview and literature update. *Mayo Clinic Proceedings*; 2010: Elsevier.
251. Namaka M, Leong C, Grossberndt A, Klowak M, Turcotte D, Esfahani F, et al. A treatment algorithm for neuropathic pain: an update. *Consult Phar.* 2009;24(12):885-902.
252. Martella G, Costa C, Pisani A, Cupini L, Bernardi G, Calabresi P. Antiepileptic drugs on calcium currents recorded from cortical and PAG neurons: therapeutic implications for migraine. *Cephalalgia.* 2008;28(12):1315-26.
253. Calabresi P, Galletti F, Rossi C, Sarchielli P, Cupini LM. Antiepileptic drugs in migraine: from clinical aspects to cellular mechanisms. *Trends Pharmacol Sci.* 2007;28(4):188-95.
254. Marcus DA. Fibromyalgia: diagnosis and treatment options. *Gender Med.* 2009;6:139-51.
255. Nagandla K, De S. Restless legs syndrome: pathophysiology and modern management. *Postgrad Med J.* 2013;89(1053):402-10.

256. Carlos K, Prado GF, Teixeira CD, Conti C, de Oliveira MM, Prado LB, et al. Benzodiazepines for restless legs syndrome. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;3:Cd006939.
257. Gajwani P, Forsthoff A, Muzina D, Amann B, Gao K, Elhaj O, et al. Antiepileptic drugs in mood-disordered patients. *Epilepsia*. 2005;46(s4):38-44.
258. Bowden CL. Anticonvulsants in bipolar disorders: current research and practice and future directions. *Bipolar Disord*. 2009;11(s2):20-33.
259. Rocamora R, Sanchez-Alvarez JC, Salas-Puig J. The relationship between sleep and epilepsy. *Neurologist*. 2008;14(6 Suppl 1):S35-43.
260. McIntyre J, Moral MA, Bozzo J. Combination therapy with valproic acid in cancer: initial clinical approach. *Drugs Future*. 2007;32(1):45.
261. Venkataramani V, Rossner C, Iffland L, Schweyer S, Tamboli IY, Walter J, et al. Histone deacetylase inhibitor valproic acid inhibits cancer cell proliferation via down-regulation of the alzheimer amyloid precursor protein. *J Biol Chem*. 2010;285(14):10678-89.
262. Lomia M, Chapichadze Z, Pruidze M, Platonov P. Efficacy of monotherapy with carbamazepine and valproic acid in patients with bronchial asthma: is asthma a neurological disease. *Internet J Neurol*. 2005;4(1).
263. Stables JP, Kupferberg HJ. The NIH anticonvulsant drug development (ADD) program: preclinical anticonvulsant. Avanzini G, Regesta G, Tanganelli P, Avoli M, editors. *Molecular and cellular targets for anti-epileptic drugs*. Londra: John Libbey and Co.; 1997. p. 191-8.
264. National Institute of Neurological Disorder and Stroke [Internet]. 2017 [Erişim Tarihi 10.06.2017]. Erişim adresi: <https://www.ninds.nih.gov/Current-Research/Focus-Research/Focus-Epilepsy/ETSP>.
265. Shorvon SD. Drug treatment of epilepsy in the century of the ILAE: the second 50 years, 1959–2009. *Epilepsia*. 2009;50(s3):93-130.
266. Castel-Branco MM, Alves GL, Figueiredo IV, Falcao AC, Caramona MM. The maximal electroshock seizure (MES) model in the preclinical assessment of potential new antiepileptic drugs. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 2009;31(2):101-6.
267. Barton ME, Klein BD, Wolf HH, White HS. Pharmacological characterization of the 6 Hz psychomotor seizure model of partial epilepsy. *Epilepsy Res*. 2001;47(3):217-27.
268. Matagne A, Klitgaard H. Validation of corneally kindled mice: a sensitive screening model for partial epilepsy in man. *Epilepsy Res*. 1998;31(1):59-71.
269. Sato M, Racine R, McIntyre D. Kindling: basic mechanisms and clinical validity. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1990;76(5):459-72.

270. Postma T, Krupp E, Li X-L, Post RM, Weiss SR. Lamotrigine treatment during amygdala-kindled seizure development fails to inhibit seizures and diminishes subsequent anticonvulsant efficacy. *Epilepsia*. 2000;41(12):1514-21.
271. Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1972;32(3):281-94.
272. Williams PA, White AM, Clark S, Ferraro DJ, Swiercz W, Staley KJ, et al. Development of spontaneous recurrent seizures after kainate-induced status epilepticus. *J Neurosci*. 2009;29(7):2103-12.
273. Xie X. Molecular Modeling and In Silico Drug Design. Lemke TL, Williams DA, Roche VF, Rito SW, editors. *Foye's Principles of Medicinal Chemistry*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams Wilkins; 2008. p. 54-84.
274. Spyrakis F, Cozzini P, Kellogg GE. Docking and Scoring in Drug Discovery. Abraham JD, Rotella DP, editors. *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*. 7th ed. New Jersey: John Wiley and Sons; 2010.
275. Lewars EG. Introduction to Quantum Mechanics in Computational Chemistry. Lewars EG, editor. *Computational Chemistry*. 2nd ed. Massachusetts: Kluwer Academic Publishers; 2011.
276. Levine IN. *Quantum Chemistry*. 4th ed. New Jersey: Prentice Hall; 1991.
277. Thiel W. Semiempirical quantum-chemical methods. *Wiley Interdiscip Rev: Comput Mol Sci*. 2014;4(2):145-57.
278. Kohn W. Overview of Density Functional Theory. Gross EKV, Dreizler RM, editors. *Density Functional Theory*. New York: Springer; 1995. p. 3-10.
279. Burkert U, Allinger NL. *Molecular Mechanics (ACS Monograph Series)*. Washington: American Chemical Society; 1982.
280. Rajamani R, Good AC. Ranking poses in structure-based lead discovery and optimization: current trends in scoring function development. *Curr Opin Drug Discov Devel*. 2007;10(3):308-15.
281. de Azevedo J, Walter F, Dias R. Computational methods for calculation of ligand-binding affinity. *Curr Drug Targets*. 2008;9(12):1031-9.
282. Lewis RA. The Development of Molecular Modelling Programs: The Use and Limitations of Physical Models. Gramatica P, Livingstone DJ, Davis AM, editors. *Drug Design Strategies: Quantitative Approaches*. New York: RCS Publishing; 2011.
283. Lengauer T, Rarey M. Computational methods for biomolecular docking. *Curr Opin Struc Biol*. 1996;6(3):402-6.
284. Koehl P, Levitt M. A brighter future for protein structure prediction. *Nat Struc Biol*. 1999;6(2):108-11.
285. Jorgensen WL. Rusting of the lock and key model for protein-ligand binding. *Science*. 1991;254(5034):954-6.

286. Wei BQ, Weaver LH, Ferrari AM, Matthews BW, Shoichet BK. Testing a flexible-receptor docking algorithm in a model binding site. *J Mol Biol.* 2004;337(5):1161-82.
287. Shoichet BK, Kuntz ID, Bodian DL. Molecular docking using shape descriptors. *J Comput Chem.* 1992;13(3):380-97.
288. Halperin I, Ma B, Wolfson H, Nussinov R. Principles of docking: An overview of search algorithms and a guide to scoring functions. *Proteins.* 2002;47(4):409-43.
289. Jain AN. Scoring functions for protein-ligand docking. *Curr Protein Pept Sci.* 2006;7(5):407-20.
290. Kitchen DB, Decornez H, Furr JR, Bajorath J. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nat Rev Drug Discov.* 2004;3(11):935-49.
291. Martí-Renom MA, Stuart AC, Fiser A, Sánchez R, Melo F, Šali A. Comparative protein structure modeling of genes and genomes. *Annu Rev Biophys Biomol Struct.* 2000;29(1):291-325.
292. Krieger E, Nabuurs SB, Vriend G. Homology Modeling. Gu J, Bourne PE, editors. *Structural Bioinformatics.* New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.; 2005. p. 509-23.
293. Haile J, Johnston I, Mallinckrodt AJ, McKay S. Molecular dynamics simulation: elementary methods. *Comput Phys.* 1993;7(6):625.
294. Streett W, Tildesley D, Saville G. Multiple time-step methods in molecular dynamics. *Mol Phys.* 1978;35(3):639-48.
295. Justo JF, Bazant MZ, Kaxiras E, Bulatov VV, Yip S. Interatomic potential for silicon defects and disordered phases. *Phys Rev B.* 1998;58(5):2539.
296. Rubinstein RY, Kroese DP. *Simulation and the Monte Carlo method.* 3rd ed. New Jersey: John Wiley & Sons; 2016.
297. Schuffenhauer A. Computational methods for scaffold hopping. *Wiley Interdiscip Rev: Comput Mol Sci.* 2012;2(6):842-67.
298. Wolber G, Seidel T, Bendix F, Langer T. Molecule-pharmacophore superpositioning and pattern matching in computational drug design. *Drug Discov Today.* 2008;13(1):23-9.
299. Olla S, Manetti F, Crespan E, Maga G, Angelucci A, Schenone S, et al. Indolyl-pyrrolone as a new scaffold for Pim1 inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett.* 2009;19(5):1512-6.
300. Pantouris G, Loudon-Griffiths J, Mowat CG. Insights into the mechanism of inhibition of tryptophan 2, 3-dioxygenase by isatin derivatives. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2016;31(sup1):70-8.

301. Wu J-S, Lin S-Y, Liao F-Y, Hsiao W-C, Lee L-C, Peng Y-H, et al. Identification of substituted naphthotriazoles as novel tryptophan 2, 3-dioxygenase (TDO) inhibitors through structure-based virtual screening. *J Med Chem.* 2015;58(19):7807-19.
302. Willett P. Similarity searching using 2D structural fingerprints. *Cheminformatics and computational chemical biology.* New York: Springer; 2010. p. 133-58.
303. Shape-based Screening, Schrödinger, LLC [internet]. 2017 [Erişim Tarihi 23.10.2017]. Erişim adresi: <https://www.schrodinger.com/science-articles/shape-based-screening>.
304. Jenkins JL, Glick M, Davies JW. A 3D similarity method for scaffold hopping from known drugs or natural ligands to new chemotypes. *J Med Chem.* 2004;47(25):6144-59.
305. Ballester PJ, Richards WG. Ultrafast shape recognition to search compound databases for similar molecular shapes. *J Comput Chem.* 2007;28(10):1711-23.
306. Birchall K, Gillet VJ. Reduced graphs and their applications in cheminformatics. Jürgen B, editor. *Cheminformatics and Computational Chemical Biology.* New York: Springer; 2010. p. 197-212.
307. Patel S, Harris SF, Gibbons P, Deshmukh G, Gustafson A, Kellar T, et al. Scaffold-Hopping and Structure-Based Discovery of Potent, Selective, And Brain Penetrant N-(1 H-Pyrazol-3-yl) pyridin-2-amine Inhibitors of Dual Leucine Zipper Kinase (DLK, MAP3K12). *J Med Chem.* 2015;58(20):8182-99.
308. Reynisson J, Court W, O'Neill C, Day J, Patterson L, McDonald E, et al. The identification of novel PLC- γ inhibitors using virtual high throughput screening. *Bioorg Med Chem.* 2009;17(8):3169-76.
309. Li G, Haney KM, Kellogg GE, Zhang Y. Comparative docking study of anibamine as the first natural product CCR5 antagonist in CCR5 homology models. *J Chem Inf Model.* 2009;49(1):120-32.
310. Korb O, Stutzle T, Exner TE. Empirical scoring functions for advanced protein-ligand docking with PLANTS. *J Chem Inf Model.* 2009;49(1):84-96.
311. Jones G, Willett P, Glen RC, Leach AR, Taylor R. Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking. *J Mol Biol.* 1997;267(3):727-48.
312. Baell J, Walters MA. Chemical con artists foil drug discovery. *Nature.* 2014;513(7519):481-3.
313. Voss ME, Carter PH, Tebben AJ, Scherle PA, Brown GD, Thompson LA, et al. Both 5-arylidene-2-thioxodihydropyrimidine-4, 6 (1H, 5H)-diones and 3-thioxo-2, 3-dihydro-1H-imidazo [1, 5-a] indol-1-ones are light-dependent tumor necrosis factor- α antagonists. *Bioorg Med Chem Lett.* 2003;13(3):533-8.

314. Priyadarsini KI. Chemical and structural features influencing the biological activity of curcumin. *Curr Pharm Des.* 2013;19(11):2093-100.
315. Ingólfsson HI, Thakur P, Herold KF, Hobart EA, Ramsey NB, Periole X, et al. Phytochemicals perturb membranes and promiscuously alter protein function. *ACS Chem Biol.* 2014;9(8):1788-98.
316. Baell JB. Observations on screening-based research and some concerning trends in the literature. *Future.* 2010;2(10):1529-46.
317. Baell JB, Holloway GA. New substructure filters for removal of pan assay interference compounds (PAINS) from screening libraries and for their exclusion in bioassays. *J Med Chem.* 2010;53(7):2719-40.
318. Csermely P, Korcsmáros T, Kiss HJ, London G, Nussinov R. Structure and dynamics of molecular networks: a novel paradigm of drug discovery: a comprehensive review. *Pharmacol Ther.* 2013;138(3):333-408.
319. Medina-Franco JL, Giulianotti MA, Welmaker GS, Houghten RA. Shifting from the single to the multitarget paradigm in drug discovery. *Drug Discov Today.* 2013;18(9):495-501.
320. Senger MR, Fraga CA, Dantas RF, Silva FP. Filtering promiscuous compounds in early drug discovery: is it a good idea? *Drug Discov Today.* 2016;21(6):868-72.
321. Khanna I. Drug discovery in pharmaceutical industry: productivity challenges and trends. *Drug Discov Today.* 2012;17(19):1088-102.
322. Cheng F, Li W, Liu G, Tang Y. In silico ADMET prediction: recent advances, current challenges and future trends. *Curr Top Med Chem.* 2013;13(11):1273-89.
323. Leeson PD, Springthorpe B. The influence of drug-like concepts on decision-making in medicinal chemistry. *Nat Rev Drug Discov.* 2007;6(11):881-90.
324. Arnott JA, Planey SL. The influence of lipophilicity in drug discovery and design. *Expert Opin. Drug Dis.* 2012;7(10):863-75.
325. Kujawski J, Popielarska H, Myka A, Drabińska B, Bernard MK. The log P parameter as a molecular descriptor in the computer-aided drug design—an overview. *Comp Meth Sci Tech.* 2012;18(2):81-8.
326. Grant DJW, Higuchi T. *Solubility Behavior of Organic Compounds (Techniques of Chemistry).* New Jersey: Wiley-Interscience; 1990.
327. Wang Y, Xing J, Xu Y, Zhou N, Peng J, Xiong Z, et al. In silico ADME/T modelling for rational drug design. *Q Rev Biophys.* 2015;48(4):488-515.
328. Ho J, Coote ML. A universal approach for continuum solvent pKa calculations: are we there yet? *Theor Chem Acc.* 2010;125(1-2):3.
329. Clark J, Perrin D. Prediction of the strengths of organic bases. *Q Rev, Chem Soc.* 1964;18(3):295-320.

330. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev.* 1997;23(1-3):3-25.
331. Teague SJ, Davis AM, Leeson PD, Oprea T. The design of leadlike combinatorial libraries. *Angew Chem Int Ed.* 1999;38(24):3743-8.
332. Hou T, Wang J, Zhang W, Wang W, Xu X. Recent advances in computational prediction of drug absorption and permeability in drug discovery. *Curr Med Chem.* 2006;13(22):2653-67.
333. Thomas S, Brightman F, Gill H, Lee S, Pufong B. Simulation modelling of human intestinal absorption using Caco-2 permeability and kinetic solubility data for early drug discovery. *J Pharm Sci.* 2008;97(10):4557-74.
334. Trainor GL. The importance of plasma protein binding in drug discovery. *Expert Opin Drug Dis.* 2007;2(1):51-64.
335. Colmenarejo G, Alvarez-Pedraglio A, Lavandera J-L. Cheminformatic models to predict binding affinities to human serum albumin. *J Med Chem.* 2001;44(25):4370-8.
336. Fasano M, Curry S, Terreno E, Galliano M, Fanali G, Narciso P, et al. The extraordinary ligand binding properties of human serum albumin. *IUBMB Life.* 2005;57(12):787-96.
337. Clark DE. In silico prediction of blood–brain barrier permeation. *Drug Discov Today.* 2003;8(20):927-33.
338. Bicker J, Alves G, Fortuna A, Falcão A. Blood–brain barrier models and their relevance for a successful development of CNS drug delivery systems: a review. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2014;87(3):409-32.
339. Garg P, Verma J. In silico prediction of blood brain barrier permeability: an artificial neural network model. *J. Chem. Inf. Model.* 2006;46(1):289-97.
340. Kell DB, Goodacre R. Metabolomics and systems pharmacology: why and how to model the human metabolic network for drug discovery. *Drug Discov Today.* 2014;19(2):171-82.
341. Stella V, Borchardt R, Hageman M, Oliyai R, Maag H, Tilley J. *Prodrugs: challenges and rewards.* New York: Springer Science & Business Media; 2007.
342. Ekins S, Kim RB, Leake BF, Dantzig AH, Schuetz EG, Lan L-B, et al. Application of three-dimensional quantitative structure-activity relationships of P-glycoprotein inhibitors and substrates. *Mol Pharmacol.* 2002;61(5):974-81.
343. Ekins S, Kim RB, Leake BF, Dantzig AH, Schuetz EG, Lan L-B, et al. Three-dimensional quantitative structure-activity relationships of inhibitors of P-glycoprotein. *Mol Pharmacol.* 2002;61(5):964-73.
344. Cabrera MA, González I, Fernández C, Navarro C, Bermejo M. A topological substructural approach for the prediction of P-glycoprotein substrates. *J Pharm Sci.* 2006;95(3):589-606.

345. Huang J, Ma G, Muhammad I, Cheng Y. Identifying P-glycoprotein substrates using a support vector machine optimized by a particle swarm. *J Chem Inf Model.* 2007;47(4):1638-47.
346. Moaddel R, Ravichandran S, Bighi F, Yamaguchi R, Wainer I. Pharmacophore modelling of stereoselective binding to the human organic cation transporter (hOCT1). *Br J Pharmacol.* 2007;151(8):1305-14.
347. Pick A, Müller H, Mayer R, Haenisch B, Pajeva IK, Weigt M, et al. Structure–activity relationships of flavonoids as inhibitors of breast cancer resistance protein (BCRP). *Bioorg Med Chem.* 2011;19(6):2090-102.
348. Zhong L, Ma C-Y, Zhang H, Yang L-J, Wan H-L, Xie Q-Q, et al. A prediction model of substrates and non-substrates of breast cancer resistance protein (BCRP) developed by GA–CG–SVM method *Comput Biol Med.* 2011;41(11):1006-13.
349. Sanderson DM, Earnshaw CG. Computer prediction of possible toxic action from chemical structure; the DEREK system. *Hum Exp Toxicol.* 1991;10(4):261-73.
350. Klopman G. A Hierarchical Computer Automated Structure Evaluation Program .1. *Quant Struct-Act Rel.* 1992;11(2):176-84.
351. Sushko I, Salmina E, Potemkin VA, Poda G, Tetko IV. ToxAlerts: A Web Server of Structural Alerts for Toxic Chemicals and Compounds with Potential Adverse Reactions. *J Chem Inf Model.* 2012;52(8):2310-6.
352. Prieto P, Kinsner-Ovaskainen A, Stanzel S, Albella B, Artursson P, Campillo N, et al. The value of selected in vitro and in silico methods to predict acute oral toxicity in a regulatory context: results from the European Project ACuteTox. *Toxicol In Vitro.* 2013;27(4):1357-76.
353. Aronov AM. Predictive in silico modeling for hERG channel blockers. *Drug Discov Today.* 2005;10(2):149-55.
354. Durdagi S, Erol I, Salmas RE, Patterson M, Noskov SY. First universal pharmacophore model for hERG1 K⁺ channel activators: actHER. *J Mol Graph Model.* 2017;74:153-70.
355. Wang W, MacKinnon R. Cryo-EM Structure of the Open Human Ether-à-go-go-Related K⁺ Channel hERG. *Cell.* 2017;169(3):422-30. e10.
356. Immediata T, Day AR. β -Naphthyl derivatives of ethanolamine and n-substituted ethanolamines. *J Org Chem.* 1940;5(5):512-27.
357. Aeluri R, Alla M, Polepalli S, Jain N. Synthesis and antiproliferative activity of imidazo [1,2-a] pyrimidine Mannich bases. *Eur J Med Chem.* 2015;100:18-23.
358. Günther M, Lategahn J, Juchum M, Doring E, Keul M, Engel J, et al. Trisubstituted pyridinylimidazoles as potent inhibitors of the clinically resistant L858R/T790M/C797S EGFR mutant: targeting of both hydrophobic regions and the phosphate binding site. *J Med Chem.* 2017;60(13):5613-37.

359. Venkata Rao K, Raghu Prasad M, Raghuram Rao A. Facile Methods for the Synthesis of 5-Aryl and 5-Iodo Pyrrolo[2,3-d]pyrimidines. *J Heterocyclic Chem.* 2014;51(S1):E380-E3.
360. Xing Y, Zhang M, Ciccarelli S, Lee J, Catano B. AuIII-Catalyzed Formation of α -Halomethyl Ketones from Terminal Alkynes. *Eur J Org Chem.* 2017;2017(4):781-5.
361. Gu L, Lu T, Zhang M, Tou L, Zhang Y. Efficient oxidative chlorination of aromatics on saturated sodium chloride solution. *Adv Synth Catal.* 2013;355(6):1077-82.
362. Prakash GS, Ismail R, Garcia J, Panja C, Rasul G, Mathew T, et al. α -Halogenation of carbonyl compounds: halotrimethylsilane–nitrate salt couple as an efficient halogenating reagent system. *Tetrahedron Lett.* 2011;52(11):1217-21.
363. Debus H. Ueber die Einwirkung des Ammoniaks auf Glyoxal. *Justus Liebigs Ann Chem.* 1858;107(2):199-208.
364. Katritzky A, Rees C. *Comprehensive Heterocyclic Chemistry: The Structure, Reactions, Synthesis, and Uses of Heterocyclic Compounds.* Elguero J, Scriven E, editors. Oxford: Pergamon Press; 1984. p. 469-98.
365. Eicher T, Hauptmann S. *The Chemistry of Heterocycles: Structure, Reactions, Syntheses, and Applications.* 2nd ed. Weinheim: WILEY-VCH; 2003. p. 165, 6, 8.
366. Stefanachi A, Hanke N, Pisani L, Leonetti F, Nicolotti O, Catto M, et al. Discovery of new 7-substituted-4-imidazolymethyl coumarins and 4'-substituted-2-imidazolyl acetophenones open analogues as potent and selective inhibitors of steroid-11 β -hydroxylase. *Eur J Med Chem.* 2015;89:106-14.
367. Salerno L, Modica MN, Romeo G, Pittalà V, Siracusa MA, Amato ME, et al. Novel inhibitors of nitric oxide synthase with antioxidant properties. *Eur J Med Chem.* 2012;49:118-26.
368. Holm SC, Straub BF. Synthesis of N-substituted 1,2,4-triazoles. A review. *Org Prep Proced Int.* 2011;43(4):319-47.
369. Bulger PG, Cottrell IF, Cowden CJ, Davies AJ, Dolling U-H. An investigation into the alkylation of 1, 2, 4-triazole. *Tetrahedron Lett.* 2000;41(8):1297-301.
370. Emami S, Shojapour S, Faramarzi MA, Samadi N, Irannejad H. Synthesis, in vitro antifungal activity and in silico study of 3-(1, 2, 4-triazol-1-yl) flavanones. *Eur J Med Chem.* 2013;66:480-8.
371. Xu L-Z, Jiao K, Zhang S-S, Kuang S. Studies on Synthesis and Biological Activities of Novel Triazole Compounds Containing N, N-Diaryldithiocarbamate. *Bull Korean Chem Soc.* 2002;23(12):1699-701.

372. Nelson R, Kesternich V, Perez-Fehrmann M, Salazar F, Marcourt L, Christen P, et al. Synthesis and antifungal activity of phenacyl azoles. *J Chem Res.* 2014;38(9):549-52.
373. Pace JR, DeBerardinis AM, Sail V, Tacheva-Grigorova SK, Chan KA, Tran R, et al. Repurposing the clinically efficacious antifungal agent itraconazole as an anticancer chemotherapeutic. *J Med Chem.* 2016;59(8):3635-49.
374. Tegye Z, Matkovics B. Separation of Isomeric Aminoaryl Alkyl Ketoximes. *Magy Kem Foly.* 1968;7462(3):116-9.
375. Haney WG, Brown RG, Isaacson EI, Delgado JN. Synthesis and structure–activity relationships of selected isomeric oxime O-ethers as anticholinergic agents. *J Pharm Sci.* 1977;66(11):1602-6.
376. Simay A, Prokal L, Bodor N. Oxidation of aryloxyaminoalcohols with activated dimethylsulfoxide; a novel CN oxidation facilitated by neighboring group effect. *Tetrahedron.* 1989;45(13):4091-102.
377. Matlin SA, Jiang L-X, Roshdy S, Zhou R-H. Resolution and Identification of Steroid Oxime Syn and Antiisomers by HPLC. *J Liq Chromatogr.* 1990;13(17):3455-63.
378. Sari S, Karakurt A, Uslu H, Kaynak FB, Çalış Ü, Dalkara S. New (arylalkyl) azole derivatives showing anticonvulsant effects could have VGSC and/or GABA A R affinity according to molecular modeling studies. *Eur J Med Chem.* 2016;124:407-16.
379. Smith AG, Tasker PA, White DJ. The structures of phenolic oximes and their complexes. *Coordin Chem Rev.* 2003;241(1-2):61-85.
380. Kassa J. Review of oximes in the antidotal treatment of poisoning by organophosphorus nerve agents. *J Toxicol-Clin Toxic.* 2002;40(6):803-16.
381. Baji H, Flammang M, Kimny T, Gasquez F, Compagnon P, Delcourt A. Synthesis and antifungal activity of novel (1-aryl-2-heterocyclyl) ethylideneaminoxymethyl-substituted dioxolanes. *Eur J Med Chem.* 1995;30(7-8):617-26.
382. Jencks WP. Studies on the mechanism of oxime and semicarbazone formation¹. *J Am Chem Soc.* 1959;81(2):475-81.
383. Fischer H. 2, 4-Dimethyl-3, 5-dicarbethoxyppyrrrole. *Org Synth.* 1935;15:17.
384. Semon W, Damerell V. Dimethylglyoxime. *Org Synth.* 1930;10:22.
385. Hyodo K, Togashi K, Oishi N, Hasegawa G, Uchida K. Brønsted acid catalyzed transoximation reaction: synthesis of aldoximes and ketoximes without use of hydroxylamine salts. *Green Chem.* 2016;18(21):5788-93.
386. Hu Q, Lin GS, Duan WG, Huang M, Lei FH. Synthesis and Biological Activity of Novel (Z)- and (E)-Verbenone Oxime Esters. *Molecules.* 2017;22(10).

387. Neises B, Steglich W. Esterification of carboxylic acids with dicyclohexylcarbodiimide/4-dimethylaminopyridine: tert-butyl ethyl fumarate. *Org Synth.* 1985;63:183.
388. Fischer E, Speier A. Darstellung der ester. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 1895;28(3):3252-8.
389. Montalbetti CAGN, Falque V. Amide bond formation and peptide coupling. *Tetrahedron.* 2005;61(46):10827-52.
390. Sheehan J, Cruickshank P, Boshart G. Notes- A Convenient Synthesis of Water-Soluble Carbodiimides. *J Org Chem.* 1961;26(7):2525-8.
391. Davies JS, Mohammed AK. Assessment of racemization in n-alkylated amino-acid derivatives during peptide coupling in a model dipeptide system. *J Chem Soc Perk T 1.* 1981(11):2982-90.
392. Surkau G, Böhm KJ, Müller K, Prinz H. Synthesis, antiproliferative activity and inhibition of tubulin polymerization by anthracenone-based oxime derivatives. *Eur J Med Chem.* 2010;45(8):3354-64.
393. Ritson DJ, Cox RJ, Berge J. Indium mediated allylation of glyoxylate oxime ethers, esters and cyanofomates. *Org Biomol Chem.* 2004;2(13):1921-33.
394. Bittner S, Grinberg S. Alkylation, acylation, and Beckmann rearrangement of oximes in the presence of an oxidation–reduction system. *J Chem Soc, Perkin Trans 1.* 1976(16):1708-11.
395. Massolini G, Kitsos M, Gandini C, Caccialanza G. Fungicidal activity of a series of phenyl pyridyl ketoximes and their O-acetyl derivatives. *Pest Manag Sci.* 1989;26(2):209-14.
396. Massolini G, Carmellino M, Baruffini A. Fungicidal activity of arylfurylketoximes. *Farmaco.* 1996;51(4):287-92.
397. Álvarez C, Álvarez R, Corchete P, Pérez-Melero C, Peláez R, Medarde M. Exploring the effect of 2, 3, 4-trimethoxy-phenyl moiety as a component of indolephenstatins. *Eur J Med Chem.* 2010;45(2):588-97.
398. Zhukovskaya N, Dikumar E, Moiseichuk K, Vyglov O. Preparative synthesis of menthone oxime esters. *Russ. J. Appl. Chem.* 2006;79(4):634-6.
399. Back TG, Moussa Z, Parvez M. Asymmetric methoxyselenenylations and cyclizations with 3-camphorseleno electrophiles containing oxime substituents at C-2. Formation of an unusual oxaselenazole from an oxime-substituted selenenyl bromide. *J Org Chem.* 2002;67(2):499-509.
400. Tagawa Y, Honjo N, Goto Y, Chiba T, Kato T. Neighboring group participation of the N-oxide group in the reaction of methyl 1-oxido-2-pyridyl ketone oxime with tosyl chloride. *Chem. Pharm. Bull.* 1983;31(7):2269-74.
401. Kostochka L, Gan'shina T, Mirzoyan R, Seredenin S. Synthesis and antiserotonergic activity of new tropane derivatives. *Pharm Chem J.* 2010;44(9):472-5.

402. Dumestre P, El Kaim L. Dramatic solvent effect in the multicomponent reaction of nitro compounds with isocyanides. *Tetrahedron Lett.* 1999;40(45):7985-6.
403. Nekrasov D, Chizh V, Andreichikov YS, Makhmudov R. O-aroypyruvoyl-and O-aroylacetyloximes: Synthesis and study of biological activity. *Pharm Chem J.* 1994;28(4):249-54.
404. Balsamo A, Macchia B, Martinelli A, Orlandini E, Rossello A, Macchia F, et al. Synthesis and antimicrobial properties of substituted 3-aminoxy-(E)-2-methoxyiminopropionyl penicillins and cephalosporins. *Eur J Med Chem.* 1990;25(3):227-33.
405. Zhukovskaya N, Dikuser E, Potkin V, Vyglazov O. Synthesis and structure—aroma correlation of anisaldehyde oxime esters. *Chem Nat Compd.* 2009;45(2):148-51.
406. Liu X-H, Cui P, Song B-A, Bhadury PS, Zhu H-L, Wang S-F. Synthesis, structure and antibacterial activity of novel 1-(5-substituted-3-substituted-4,5-dihydropyrazol-1-yl) ethanone oxime ester derivatives. *Bioorg Med Chem.* 2008;16(7):4075-82.
407. Pretsch E, Clerc T, Seibl J, Simon W. Tables of spectral data for structure determination of organic compounds. Berlin: Springer- Verlag; 1983.
408. Smith PA, Robertson JE. Some factors affecting the site of alkylation of oxime salts. *J Am Chem Soc.* 1962;84(7):1197-204.
409. Christensen SB, Krogsgaard-Larsen P. Organic Hydroxylamine Derivatives. XIII. The Configurations of a Series of Stereoisomeric 3-Methoxy-5-acylisoxazole Ketoximes. *Acta Chem Scand.* 1975;32b:65-9.
410. Silverstein RM, Bassler CG, Morrill TC. Spectrometric Identification of Organic Compounds. New York: John Wiley and Sons Inc.; 1974.
411. Karabatsos GJ, Vane FM, Taller RA. tructural studies by nuclear magnetic resonance. 4. Conformations of syn-anti isomers from chemical shifts and spin-spin coupling constants. *J Am Chem Soc.* 1963;85(15):2328-&.
412. Karabatsos GJ, Taller RA, Vane FM. Structural studies by nuclear magnetic resonance. 3. Syn-anti assignments from solvent effects. *J Am Chem Soc.* 1963;85(15):2327-&.
413. Laforest J, Thuillier G. Etude de la configuration d'oximes a activit e cardiotrope. *J. Heterocyclic Chem.* 1977;14(5):793-6.
414. Berlin KD, Rengaraju S. Synlanti oxime ratios from the paramagnetic-induced shifts in the proton magnetic resonance spectra using tris (dipivalomethanato) europium (III). *J Org Chem.* 1971;36(19):2912-5.
415. Ranise A, Bondavalli F, Bruno O, Schenone P, Faillace G, Coluccino A, et al. Omega-dialkylaminoalkyl ethers of 3-exo-dialkylamino-(Z)-camphoroximes

- with antiarrhythmic and local-anesthetic activities. *Farmacology*. 1990;45(2):187-202.
416. Kallury RKMR, Rao PLKM. Electron-impact studies on some aryl heteroaryl ketoximes. *Org Mass Spectrom*. 1977;12(6):411-5.
417. Godefroi EF, Heeres J, Van Cutsem J, Janssen PA. Preparation and antimycotic properties of derivatives of 1-phenethylimidazole. *J Med Chem*. 1969;12(5):784-91.
418. Rigaku. *CrystalClear*. Tokyo, Japan: Rigaku Corporation; 2014.
419. Sheldrick G. A short history of SHELX. *Acta Crystallogr A*. 2008;64(1):112-22.
420. Nardelli M. PARST95—an update to PARST: a system of Fortran routines for calculating molecular structure parameters from the results of crystal structure analyses. *J Appl Crystallogr*. 1995;28(5):659-.
421. Spek A. Structure validation in chemical crystallography. *Acta Crystallogr D*. 2009;65(2):148-55.
422. 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.
423. Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol*. 1990;215(3):403-10.
424. Sievers F, Wilm A, Dineen D, Gibson TJ, Karplus K, Li W, et al. Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega. *Mol Syst Biol*. 2011;7(1):539.
425. Rice P, Longden I, Bleasby A. EMBOSS: the European Molecular Biology Open Software Suite. *Trends Genet*. 2000;16(6):276-7.
426. Velankar S, Alhroub Y, Alili A, Best C, Boutselakis HC, Caboche S, et al. PDBe: Protein Data Bank in Europe. *Nucleic Acids Res*. 2011;39(Database issue):D402-D10.
427. Šali A, Blundell TL. Comparative protein modelling by satisfaction of spatial restraints. *J Mol Biol*. 1993;234(3):779-815.
428. Fiser A, Do RKG. Modeling of loops in protein structures. *Protein Sci*. 2000;9(9):1753-73.
429. Webb B, Sali A. Comparative Protein Structure Modeling Using MODELLER. *Curr Protoc Bioinformatics*. 2014;47:5.6.1-32.
430. Biasini M, Bienert S, Waterhouse A, Arnold K, Studer G, Schmidt T, et al. SWISS-MODEL: modelling protein tertiary and quaternary structure using evolutionary information. *Nucleic Acids Res*. 2014;42(W1):W252-W8.
431. Kim DE, Chivian D, Baker D. Protein structure prediction and analysis using the Robetta server. *Nucleic Acids Res*. 2004;32(suppl_2):W526-W31.

432. Laskowski RA, MacArthur MW, Moss DS, Thornton JM. PROCHECK: a program to check the stereochemical quality of protein structures. *J Appl Crystallogr.* 1993;26(2):283-91.
433. Ramachandran GN, Ramakrishnan C, Sasisekharan V. Stereochemistry of polypeptide chain configurations. *J Mol Biol.* 1963;7(1):95-9.
434. Morris AL, MacArthur MW, Hutchinson EG, Thornton JM. Stereochemical quality of protein structure coordinates. *Proteins.* 1992;12(4):345-64.
435. Hooft RWW, Vriend G, Sander C, Abola EE. Errors in protein structures. *Nature.* 1996;381:272.
436. Colovos C, Yeates TO. Verification of protein structures: patterns of nonbonded atomic interactions. *Protein Sci.* 1993;2(9):1511-9.
437. Bowie JU, Lüthy R, Eisenberg D. A method to identify protein sequences that fold into a known three-dimensional structure. *Science.* 1991:164-70.
438. Pontius J, Richelle J, Wodak SJ. Deviations from standard atomic volumes as a quality measure for protein crystal structures. *J Mol Biol.* 1996;264(1):121-36.
439. Humphrey W, Dalke A, Schulten K. VMD: visual molecular dynamics. *J Mol Graphics.* 1996;14(1):33-8.
440. MacKerell Jr AD, Bashford D, Bellott M, Dunbrack Jr RL, Evanseck JD, Field MJ, et al. All-atom empirical potential for molecular modeling and dynamics studies of proteins. All-atom empirical potential for molecular modeling and dynamics studies of proteins. 1998;102(18):3586-616.
441. MacKerell Jr AD, Feig M, Brooks CL. Improved treatment of the protein backbone in empirical force fields. *J Am Chem Soc.* 2003;126(3):698-9.
442. Best RB, Zhu X, Shim J, Lopes PE, Mittal J, Feig M, et al. Optimization of the additive CHARMM all-atom protein force field targeting improved sampling of the backbone ϕ , ψ and side-chain χ_1 and χ_2 dihedral angles. *J Chem Theory Comput.* 2012;8(9):3257-73.
443. Vanommeslaeghe K, Hatcher E, Acharya C, Kundu S, Zhong S, Shim J, et al. CHARMM general force field: A force field for drug-like molecules compatible with the CHARMM all-atom additive biological force fields. *J Comput Chem.* 2010;31(4):671-90.
444. Phillips JC, Braun R, Wang W, Gumbart J, Tajkhorshid E, Villa E, et al. Scalable molecular dynamics with NAMD. *J Comput Chem.* 2005;26(16):1781-802.
445. Darden T, York D, Pedersen L. Particle mesh Ewald: An $N \cdot \log(N)$ method for Ewald sums in large systems. *J Chem Phys.* 1993;98(12):10089-92.
446. Ryckaert J-P, Ciccotti G, Berendsen HJ. Numerical integration of the cartesian equations of motion of a system with constraints: molecular dynamics of n-alkanes. *J Comput Phys.* 1977;23(3):327-41.

447. Van Der Spoel D, Lindahl E, Hess B, Groenhof G, Mark AE, Berendsen HJ. GROMACS: fast, flexible, and free. *J Comput Chem*. 2005;26(16):1701-18.
448. Case DA, Cheatham TE, Darden T, Gohlke H, Luo R, Merz KM, et al. The Amber biomolecular simulation programs. *J Comput Chem*. 2005;26(16):1668-88.
449. Banks JL, Beard HS, Cao Y, Cho AE, Damm W, Farid R, et al. Integrated modeling program, applied chemical theory (IMPACT). *J Comput Chem*. 2005;26(16):1752-80.
450. Polak E, Ribiere G. Note sur la convergence de méthodes de directions conjuguées. *RIRO*. 1969;3(16):35-43.
451. Ponder JW, Richards FM. An efficient newton-like method for molecular mechanics energy minimization of large molecules. *J Comput Chem*. 1987;8(7):1016-24.
452. Sastry GM, Adzhigirey M, Day T, Annabhimoju R, Sherman W. Protein and ligand preparation: parameters, protocols, and influence on virtual screening enrichments. *J Comput Aided Mol Des*. 2013;27(3):221-34.
453. Morris GM, Goodsell DS, Halliday RS, Huey R, Hart WE, Belew RK, et al. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *J Comput Chem*. 1998;19(14):1639-62.
454. Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J Comput Chem*. 2010;31(2):455-61.
455. Friesner RA, Banks JL, Murphy RB, Halgren TA, Klicic JJ, Mainz DT, et al. Glide: a new approach for rapid, accurate docking and scoring. 1. Method and assessment of docking accuracy. *J Med Chem*. 2004;47(7):1739-49.
456. Friesner RA, Murphy RB, Repasky MP, Frye LL, Greenwood JR, Halgren TA, et al. Extra precision glide: Docking and scoring incorporating a model of hydrophobic enclosure for protein– ligand complexes. *J Med Chem*. 2006;49(21):6177-96.
457. Halgren TA, Murphy RB, Friesner RA, Beard HS, Frye LL, Pollard WT, et al. Glide: a new approach for rapid, accurate docking and scoring. 2. Enrichment factors in database screening. *J Med Chem*. 2004;47(7):1750-9.
458. Eldridge MD, Murray CW, Auton TR, Paolini GV, Mee RP. Empirical scoring functions: I. The development of a fast empirical scoring function to estimate the binding affinity of ligands in receptor complexes. *J Comput Aided Mol Des*. 1997;11(5):425-45.
459. Verdonk ML, Cole JC, Hartshorn MJ, Murray CW, Taylor RD. Improved protein–ligand docking using GOLD. *Proteins*. 2003;52(4):609-23.
460. Mooij W, Verdonk ML. General and targeted statistical potentials for protein–ligand interactions. *Proteins*. 2005;61(2):272-87.

461. Noman N, Iba H. Accelerating differential evolution using an adaptive local search. *IEEE Trans Evol Comput.* 2008;12(1):107-25.
462. Kirkpatrick S, Gelatt CD, Vecchi MP. Optimization by simulated annealing. *Science.* 1983;220(4598):671-80.
463. Eberhart R, Kennedy J. A new optimizer using particle swarm theory. *Proceedings of the Sixth International Symposium on Micro Machine and Human Science*; 4-6 October 1995; Nagoya. Nagoya: IEEE; 1995. p. 39-43.
464. La Regina G, D'Auria FD, Tafi A, Piscitelli F, Olla S, Caporuscio F, et al. 1-[(3-Aryloxy-3-aryl)propyl]-1H-imidazoles, new imidazoles with potent activity against *Candida albicans* and dermatophytes. Synthesis, structure-activity relationship, and molecular modeling studies. *J Med Chem.* 2008;51(13):3841-55.
465. Terent'ev AO, Khodykin SV, Krylov IB, Ogibin YN, Nikishin GI. A convenient synthesis of 2, 2-dibromo-1-arylethanones by bromination of 1-arylethanones with the H₂O₂-HBr system. *Synthesis.* 2006;2006(07):1087-92.
466. Emami S, Foroumadi A, Falahati M, Lotfali E, Rajabalian S, Ebrahimi S-A, et al. 2-Hydroxyphenacyl azoles and related azolium derivatives as antifungal agents. *Bioorg Med Chem Lett.* 2008;18(1):141-6.
467. Pinner A. Ueber glyoxaline. *Ber Dtsch Chem Ges.* 1902;35(4):4131-42.
468. Stocker FB, Kurtz JL, Gilman BL, Forsyth DA. Mannich reaction of imidazoles. *J Org Chem.* 1970;35(4):883-7.
469. Atkinson MR, Polya JB. Triazoles. Part II. N-substitution of some 1 : 2 : 4-triazoles. *J Chem Soc.* 1954(0):141-5.
470. Atkinson MR, Polya JB. Triazoles. Part III. Mono- and di-methyl(phenyl)-1 : 2 : 4-triazoles. *J Chem Soc.* 1954(0):3319-24.
471. Potts KT. The Chemistry of 1,2,4-Triazoles. *Chem Rev.* 1961;61(2):87-127.
472. Ainsworth C, Jones R. Isomeric and Nuclear-substituted β -Aminoethyl-1, 2, 4-triazoles. *J Am Chem Soc.* 1955;77(3):621-4.
473. Jacquier R, Roumestant M, Viallefont P. Spectres de RMN de Triazoles-1, 2, 4 N-Substitués. *Bull Soc Chim Fr.* 1967;7300:2630.
474. Thomas J, Beau P. ¹³C- and ¹H-NMR studies of N-substituted 1, 2, 4-triazoles. Relative basicities of triazolic rings. *Anal Chem.* 1988;331(8):825-6.
475. Elguero J, Jimeno ML, Yranzo GI. ¹H and ¹³C NMR study of the structure of pyrazoles, imidazoles and their benzo derivatives in sulphuric acid (azolium cations). *Magn Reson Chem.* 1990;28(9):807-11.
476. Farrugia LJ. ORTEP-3 for Windows-a version of ORTEP-III with a Graphical User Interface (GUI). *J Appl Crystallogr.* 1997;30(5):565-.
477. Kendi E, Ozbey S, Karakurt A, Dalkara S. 2-(Imidazol-1-yl)-1-(2-naphthyl)ethanone oxime. *Acta Crystallogr C.* 1998;54(10):1513-5.

8. EKLER

EK-1: Tez Çalışması ile İlgili Araştırma Makaleleri

European Journal of Medicinal Chemistry 130 (2017) 124–138



Contents lists available at ScienceDirect

European Journal of Medicinal Chemistry

journal homepage: <http://www.elsevier.com/locate/ejmech>

Research paper

New azole derivatives showing antimicrobial effects and their mechanism of antifungal activity by molecular modeling studies

İnci Selin Doğan^{a,1}, Selma Saraç^{a,*}, Suat Sari^a, Didem Kart^b, Şebnem Eşsiz Gökhan^c, İmran Vural^d, Sevim Dalkara^a^a Department of Pharmaceutical Chemistry, Hacettepe University, Faculty of Pharmacy, 06100, Ankara, Turkey^b Department of Pharmaceutical Microbiology, Hacettepe University, Faculty of Pharmacy, 06100, Ankara, Turkey^c Department of Bioinformatics and Genetics, Kadir Has University, Faculty of Engineering and Natural Sciences, 34083, Istanbul, Turkey^d Department of Pharmaceutical Technology, Hacettepe University, Faculty of Pharmacy, 06100, Ankara, Turkey

ARTICLE INFO

Article history:

Received 8 December 2016

Received in revised form

20 January 2017

Accepted 13 February 2017

Available online 17 February 2017

Keywords:

Azoles

Antifungal

Candida species

CYP51

Molecular docking

Molecular dynamics simulation

ABSTRACT

Azole antifungals are potent inhibitors of fungal lanosterol 14 α demethylase (CYP51) and have been used for eradication of systemic candidiasis clinically. Herein we report the design, synthesis, and biological evaluation of a series of 1-phenyl/1-(4-chlorophenyl)-2-(1H-imidazol-1-yl)ethanol esters. Many of these derivatives showed fungal growth inhibition at very low concentrations. Minimal inhibition concentration (MIC) value of 15 was 0.125 μ g/mL against *Candida albicans*. Additionally, some of our compounds, such as 19 (MIC: 0.25 μ g/mL), were potent against resistant *C. glabrata*, a fungal strain less susceptible to some first-line antifungal drugs. We confirmed their antifungal efficacy by antibiofilm test and their safety against human monocytes by cytotoxicity assay. To rationalize their mechanism of action, we performed computational analysis utilizing molecular docking and dynamics simulations on the *C. albicans* and *C. glabrata* CYP51 (CACYP51 and CGCYP51) homology models we built. Leu130 and T131 emerged as possible key residues for inhibition of CGCYP51 by 19.

© 2017 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

1. Introduction

Systemic candidiasis is the 4th most prevalent hospital-acquired systemic infection, especially common among immunocompromised patients since it is opportunistic, and associated with severe mortality [1–4]. *Candida albicans* is the major pathogen identified in most of the cases, however infections caused by non-*albicans Candida* (nAC), have been reported to emerge with increasing mortality and resistance to first-line antifungals [5–7]. Especially, some *C. glabrata* strains are known to be intrinsically less susceptible to echinocandins and azole antifungals although they lack certain virulence factors that *C. albicans* has [8].

Azole antifungals are widely used for the treatment of fungal infections. They inhibit lanosterol 14 α demethylase (CYP51), a monooxygenase in fungal cells, which results in depletion of ergosterol, a major component of fungal cell membrane [9]. Azole

antifungals compete with the natural ligand lanosterol and form a strong coordination with the iron of heme present in the catalytic site of CYP51 via the N in their azole moieties replacing O₂ [10]. One of the mechanisms proposed for the resistance of *C. glabrata* against azoles is low affinity of their CYP51 to these agents as observed in some *C. albicans* strains [11,12]. Therefore new agents effective against resistant strains are needed for antifungal chemotherapy.

Biofilms are known as microbial communities irreversibly attached to a surface and encapsulated in a self-produced polymeric matrix. Resistance to antimicrobial treatment is one of their major characteristics [13]. Many azole antifungals were found inactive against biofilm forming pathogens. It is anticipated that compounds with antibiofilm activities may decrease the production of virulence factors by microorganisms and their tolerance to drugs at lower doses. This leads to the reduction of pathogenicity of microorganism without killing it so that eradication of resistance development could be achieved [14].

We previously reported some 1-(2-naphthyl)-2-(1H-imidazol-1-yl)ethanone oxime ether and 1-(2-naphthyl)-2-(imidazole-1-yl)ethanol ester derivatives with moderate to potent antifungal activities [15,16]. The common naphthalene pharmacophore of these

* Corresponding author.

E-mail address: sesarac@hacettepe.edu.tr (S. Saraç).¹ Permanent address: Department of Pharmaceutical Chemistry, Karadeniz Technical University, Faculty of Pharmacy, 61080, Trabzon, Turkey.

Full Paper

New Anti-Seizure (Arylalkyl)azole Derivatives: Synthesis, *In Vivo* and *In Silico* Studies

Suat Sari¹, Sevim Dalkara¹, Filiz Betül Kaynak², Jóhannes Reynisson³, Selma Saraç¹, and Arzu Karakurt⁴

¹ Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, Hacettepe University, Ankara, Turkey

² Faculty of Engineering, Department of Physics Engineering, Hacettepe University, Ankara, Turkey

³ School of Chemical Sciences, University of Auckland, Auckland, New Zealand

⁴ Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, Inonu University, Malatya, Turkey

(Arylalkyl)azoles are a class of antiepileptic compounds including nafimidone, denzimol, and loreclezole (LRZ). Nafimidone and denzimol are thought to inhibit voltage-gated sodium channels (VGSCs) and enhance γ -aminobutyric acid (GABA)-mediated response. LRZ, a positive allosteric modulator of A-type GABA receptors (GABA_ARs), was reported to be sensitive to Asn265 of the β 2/ β 3 subunit. Here, we report new *N*-[1-(4-chlorophenyl)-2-(1*H*-imidazol-1-yl)ethylidene]hydroxylamine esters showing anticonvulsant activity in animal models, including the 6-Hz psychomotor seizure test, a model for therapy-resistant partial seizure. We performed molecular docking studies for our active compounds using GABA_AR and VGSC homology models. They predicted high affinity to the benzodiazepine binding site of GABA_AR in line with the experimental results. Also, the binding mode and interactions of LRZ in its putative allosteric binding site of GABA_AR is elucidated.

Keywords: Allosteric modulation / Structure elucidation / Synthesis

Received: February 2, 2017; Revised: March 20, 2017; Accepted: March 27, 2017

DOI 10.1002/ardp.201700043



Additional supporting information may be found in the online version of this article at the publisher's web-site.

Correspondence: Suat Sari, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, Hacettepe University, 06100 Ankara, Turkey.

E-mail: suat.sari@hacettepe.edu.tr, suat1039@gmail.com

Fax: +90-312-3053272

Abbreviations: AAA, (arylalkyl)azole; AED, antiepileptic drug; BZD, benzodiazepine; CKM, corneal-kindled mouse; DCC, *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide; DMAP, 4-dimethylaminopyridine; DMF, dimethylformamide; DMSO, dimethyl sulfoxide; ESI, electrospray ionization; ETSP, Epilepsy Therapy Screening Program; GABA, γ -aminobutyric acid; GABA_AR, A-type GABA receptor; ip, intraperitoneal; LRZ, loreclezole; MES, maximal electroshock; m.p., melting point; NINDS, National Institute of Neurological Disorders and Stroke; NTO, 1-(2-naphthyl)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)ethanone oxime; scMET, subcutaneous metrazol; TM, transmembrane; TMS, trimethylsilane; TPE, time to peak effect; VGSC, voltage-gated sodium channel.

Introduction

Epilepsy is a chronic neurological disorder characterized by spontaneous and concurrent seizures. An estimated 50 million people have epilepsy worldwide, 80% of which live in the developing countries and a third of which do not respond to current antiepileptic drugs (AEDs) [1, 2]. The Epilepsy Therapy Screening Program (ETSP) of the National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS) has existed under different names since 1969 utilizing state-of-the-art methods and well-established animal models electrophysiologically consistent with human seizures. The ETSP screens investigational compounds from both industry and academia, which aided ten anti-seizure drugs reaching the market. Since 2014, more emphasis has been put on therapy-resistant epilepsies thus the subcutaneous metrazol (scMET) test was replaced with the 6-Hz experiment in the initial anticonvulsant identification [3].

EK-2: Tez Çalışması ile İlgili Sözlü Bildiriler

5th International BAU Drug Design Congress, 19-21 Ekim 2017, İstanbul

OP-24

Discovery of New Azole Antifungals with Potent Activity against Clinically Resistant *Candida tropicalis* Isolate and Biofilm Formation

Suat Sari^a, Didem Kart^b, Selma Saraç^c, Arzu Karakurt^c, Şebnem Eşsiz Gökhan^d, Sevim Dalkara^a

^aDept. of Pharmaceutical Chemistry, Hacettepe University, Faculty of Pharmacy, Ankara, Turkey ^b Dept. of Pharmaceutical Microbiology, Hacettepe University, Faculty of Pharmacy, Ankara, Turkey ^c Dept. of Pharmaceutical Chemistry, İnönü University, Faculty of Pharmacy, Malatya, Turkey ^d Dept. of Bioinformatics and Genetics, Kadir Has University, Faculty of Engineering and Natural Sciences, Istanbul, Turkey E-mail: suat.sari@hacettepe.edu.tr

Background: *Candida albicans* is the major pathogen isolated in invasive candidiasis, however non-*albicans* *Candida* species, such as *C. tropicalis*, have recently gained focus due to their alarming mortality rates and antifungal resistance. Azoles are first line antifungals in systemic candidiasis chemotherapy and they target fungal lanosterol 14 α -demethylase (CYP51) [1,2].

Methods: 20 1-(2,4-dichlorophenyl)-2-(1H-imidazol-1-yl)ethyl/ethanone oxime esters were selected via virtual screening using AutoDock 4 and synthesized according to the literature methods. Their minimum inhibitor concentrations (MICs) were determined against the standard *Candida* sp. and clinical *C. tropicalis* isolate by Broth microdilution in compliance with the CLSI standards. Promising compounds were further tested against immature biofilm formation by *C. albicans* according to the MBEC AssayTM protocol [3]. To get insights into their antifungal mechanism molecular dynamics (MD) simulations were performed using NAMD.

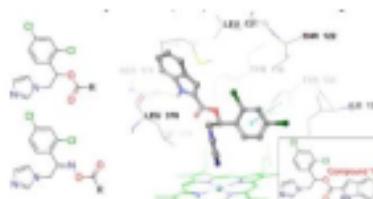


Figure: General structure of the compounds and binding interactions of 15 in CYP51 active site

Results: Several derivatives had low MICs, especially 15 was found to be much more potent than the positive control, fluconazole, against the standard fungi (MIC_{C.albicans}: 0.125 μ g/mL). MD simulations showed that a key H-bond with Ser378 of CYP51 could reason for its potency. Some of them were highly active against the clinical *C. tropicalis* isolate resistant to flucytosine. They were potent inhibitors of biofilms formed by *C. albicans*, as well.

Conclusion: A structure-based small-library virtual screening was effectively utilized to discover azole antifungal hits potent against biofilm formation and clinical *C. tropicalis* isolate. MD simulations provided insights into molecular determinants of CYP51 inhibition. **Keywords:** azole antifungal, *Candida tropicalis*, MIC, biofilm, virtual screening

References:

1. Wong SSW et al. In pursuit of the ideal antifungal agent for *Candida* infections: high-throughput screening of small molecules. (2014) *Drug Discov Today*; 11:1721-1730.
2. Forastiero A et al. *Candida tropicalis* Antifungal Cross-Resistance Is Related to Different Azole Target (Erg11p) Modifications. (2013) *Antimicrob Agents Chemother*; 57(10):4769-4781.
4. Innovotech Incorporated, Manufacturer's Instructions: the MBECTM Physiology&Genetics (P&G), Assay for High-

3rd International Multidisciplinary Symposium on Drug Research and Development - DRD 2017**O 14 - New Azoles in Oxime Ester Structure: Antifungal Susceptibility, Anti-Biofilm Activity, and Molecular Modeling Studies**Suat Sari^{a*}, Didem Kart^b, Selma Saraç^a, Arzu Karakurt^c, Sevim Dalkara^a^a Dept. of Pharmaceutical Chemistry, Hacettepe University, Faculty of Pharmacy, Ankara, Turkey^b Dept. of Pharmaceutical Microbiology, Hacettepe University, Faculty of Pharmacy, Ankara, Turkey^c Dept. of Pharmaceutical Chemistry, İnönü University, Faculty of Pharmacy, Malatya, Turkey

*E-mail: suat.sari@hacettepe.edu.tr

Candida albicans is a dangerous pathogen with various virulence factors such as biofilm formation and predominantly isolated in invasive candidiasis. Non-*albicans* *Candida* infections associate with high mortality and drug resistance. Azoles, which target fungal lanosterol 14 α -demethylase (CYP51), are first-choice antifungals in *Candida* infections [1]. The minimum inhibitor concentration (MIC) values of a set of previously reported 1-(4-chlorophenyl)-2-(1*H*-imidazol-1-yl)(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)ethanone oxime esters [2] against standard *Candida* sp. (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*) were determined by Broth microdilution in agreement with the CLSI standards. Promising compounds were further tested against immature *C. albicans* biofilm formation according to the MBEC Assay™ protocol and their MIC values against a flucytosine resistant clinical *C. tropicalis* isolate were determined. To get insights into their antifungal mechanism molecular docking molecular dynamics (MD) simulations were performed using AutoDock 4 and NAMD, respectively.

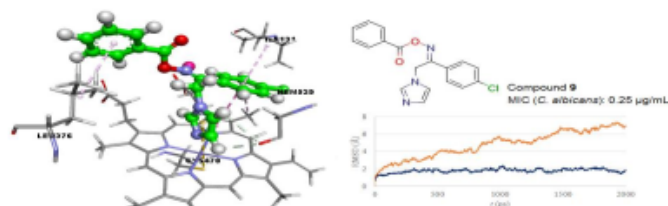


Figure 9. 9-CACYP51 interactions and RMSD/time plots of 9-CACYP51 complex and the apo system

Low MIC values were obtained compared to fluconazole, the positive control. Especially, **9** showed highly potent inhibition against all the tested fungi. The compounds showed promising activity against the clinical *C. tropicalis* isolate and immature biofilm formation of *C. albicans*. Molecular docking studies revealed that binding interactions of **9** fulfilled the molecular determinants of CACYP51 inhibition. The **25**-CACYP51 complex maintained time-dependent stability regarding conformation and energy compared to the apo system in the MD studies.

Keywords: azole antifungal, *Candida tropicalis*, MIC, biofilm, molecular modeling

References:

1. Wong SSW et al. In pursuit of the ideal antifungal agent for *Candida* infections: high-throughput screening of small molecules. *Drug Discovery Today*. 2014;11:1721-1730.
2. Sari S et al. New Anti-Seizure (Arylalkyl)azole Derivatives: Synthesis, In Vivo and In Silico Studies. *Archiv Pharmazie*. 2017;350(6):e1700043.

Acknowledgements: This study was supported by The Scientific and Technological Research Council of Turkey (TÜBİTAK) (Grant number: 113S060) and Hacettepe University Scientific Research Projects Coordination Unit (Grant number: 014 D09301 001-703, TPT-2015-6794).

EK-3: Tez Çalışması ile İlgili Poster Bildirileri

2nd International Multidisciplinary Symposium on Drug Research and Development, 15-17 Ekim, Eskişehir



P110 SYNTHESIS and BIOLOGICAL SCREENING STUDIES on POTENTIAL (ARYLALKYL)AZOLE ANTICONVULSANTS

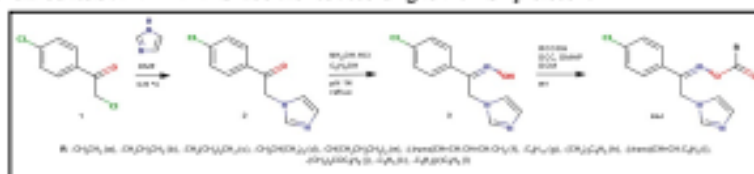
Suat Sarı¹, Arzu Karakurt², Selma Saraç¹, Sevim Dalkara¹

¹Hacettepe University, Faculty of Pharmacy, Dept. of Pharmaceutical Chemistry, Ankara, Turkey

²İnönü University, Faculty of Pharmacy, Dept. of Pharmaceutical Chemistry, 44280 Malatya, Turkey

(suat.sari@hacettepe.edu.tr)

Epilepsy is a chronic neurological disorder affecting more than 50 million people worldwide¹. In the light of previous SARs², a set of novel (arylalkyl)azole derivatives were prepared^{3,4} (Figure), their anticonvulsant and neurotoxic effects were evaluated employing 6Hz, maximal electroshock (MES), and rotarod tests at NIH NINDS laboratories according to the ASP protocol⁵.



Most of the compounds were protective in one or both of the seizure models at varying doses and time scales albeit with mild toxicity, which can be fine-tuned by further structural modifications (Table).

Test	Time (hours)	Dose (mg/kg)	Compounds													
			1a	1b	1c	1d	1e	1f	1g	1h	1i	1j	1k	1l		
MES	0.5	30	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
		300	30%	0%	20%	0%	0%	0%	30%	0%	10%	30%	10%	0%		
		3000	20%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%		
	2	30	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%		
		300	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%		
		3000	30%	0%	0%	20%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%		
MTX	0.5	30	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%		
		300	20%	30%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	20%	0%	0%		
		3000	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%		
	2	30	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%		
		300	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%		
		3000	20%	10%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%		
Tox.	0.5	30	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%		
		300	0%	0%	20%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%		
		3000	30%	30%	30%	30%	30%	30%	30%	30%	30%	30%	30%	30%		
	2	30	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%		
		300	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%		
		3000	30%	30%	0%	20%	30%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%		

References:

- [1] Dalkara S, Karakurt A. Recent Progress in Anticonvulsant Drug Research: Strategies for Anticonvulsant Drug Development and Applications of Antiepileptic Drugs for Non-Epileptic Central Nervous System Disorders. *Curr Top Med Chem* 12: 1033-71, 2012.
- [2] Walker KAM., Wallach MB, Hirschfeld DR. 1-(Naphthylalkyl)-1H-imidazole derivatives, a new class of anticonvulsant agents. *J Med Chem* 24(1): 67-74, 1981.
- [3] Baji H et al. Synthesis and antifungal activity of novel (1-aryl-2-heterocycl)ethylideneaminoxyethyl-substituted dioxolanes. *Eur J Med Chem* 30: 617-26, 1995.
- [4] Stables JP, Kupferberg HJ. The NIH Anticonvulsant Drug Development (ADD) Program: preclinical anticonvulsant screening project. In: Avanzini G, Tanganelli P, Avoli M (editors), *Molecular and cellular targets for antiepileptic drugs*. Great Britain: John Libbey & Company Ltd., 1997, p. 191-205.

3rd International BAU Drug Design Congress, 1-3 Ekim 2015, İstanbul

PP – 52 New CACYP51 Homology Model Validated For Virtual Screening

Suat Saria, Jóhannes Reynisson^b, Sevim Dalkara^a

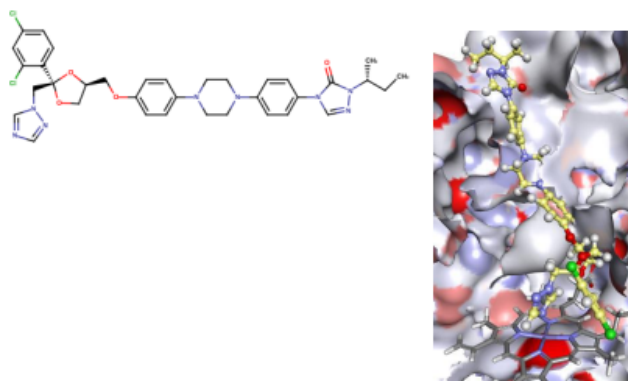
^aHacettepe University, Faculty of Pharmacy, Dept. of Pharmaceutical Chemistry, Ankara, Turkey

^bUniversity of Auckland, School of Chemical Sciences, Auckland, New Zealand

Here we report the homology model of *Candida albicans* lanosterol 14 α -demethylase (CACYP51) and its validation through a two-step docking study for future use for a virtual screen of azole antifungals. Using MODELLER1 we created a structure model for CACYP51 in holo form employing the crystal structure data of the same enzyme from *Saccharomyces cerevisiae* (PDB id: 4K0F) as a template and a pairwise alignment (identity: 65%, similarity: 78%).

First we screened the library of La Regina et al.² including 55 ligands with known minimum inhibitor concentration (MIC) values against *C. albicans*, using GOLD3 (with all scoring functions), AutoDock4, and AutoDock Vina⁵, applying heme binding parameters derived from CDS data for GoldScore⁶ and ChemScore⁷. 25 of these ligands had MIC values < 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ² and GoldScore was able to rank 18 of these most potent 25 compounds among the 25 top-scoring docked compounds (72% match).

Later we screened seven azole antifungal drugs with known [Azole]_{0.5} values⁸ (Fig.). Regression analyses of the results with the experimental data revealed that GoldScore produced the best correlation (R^2 : 0.56) of the scoring functions used. Together these results lead us to the conclusion that GoldScore is the best tool to discern active compounds from inactive ones and the homology.



NZIC-16 (New Zealand Institute of Chemistry 2016) Conference, 21-24 Ağustos, Queenstown, Yeni Zelanda

NEW (ARYLALKYL)AZOLES: *IN VIVO* ANTICONVULSANT ACTIVITY AND MOLECULAR MODELING STUDIES

Suat Sari^{1*}, Sevim Dalkara¹, Selma Saraç¹ and Arzu Karakurt²
¹Hacettepe University Dept. of Pharmaceutical Chemistry, 06100, Ankara, Turkey
²Inonu University Dept. of Pharmaceutical Chemistry, Malatya, Turkey
 Email: suat.sari@hacettepe.edu.tr

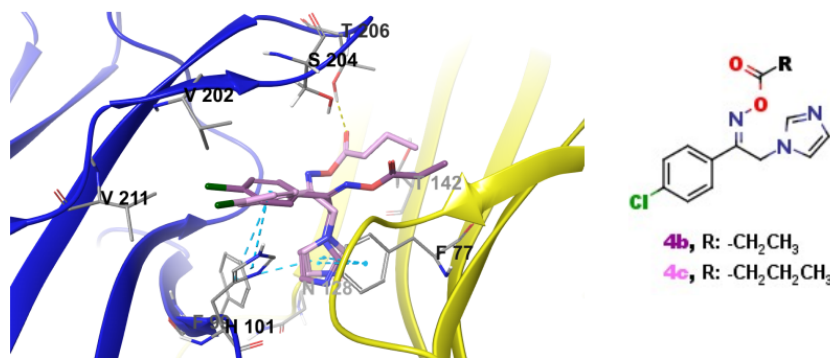


Figure. Binding modes of **4b** (purple sticks) and **4c** (plum sticks) in the diazepam-binding site of GABA_AR

(Arylalkyl)azoles emerged as a novel class of antiepileptic agents with the invention of nafimidone and denzimol. Their activity profile is similar to phenytoin and carbamazepine, known enhancers of γ -aminobutyric acid (GABA)-mediated response and inhibit voltage-gated sodium channels¹⁻⁴.

We prepared a set of 1-(4-chlorophenyl)-2-(1*H*-imidazol-1-yl)ethanone oxime esters (compound **4a-o**, **Figure**) using various carboxylic acids and evaluated their anticonvulsant activities using mouse models. According to identification results our compounds were protective against seizures induced by maximal electroshock (MES) and/or 6 Hz methods via ip route at varying doses (100 and 300 mg/kg) and time points (0.5 and 2 h). However, neurotoxicity was observed at high doses.

Further anticonvulsant quantification studies proved **4b** and **4c** as promising although a relatively narrow therapeutic window and a loss of efficacy via oral route was observed (**Table**).

Table: Anticonvulsant quantification of **4b** and **4c** in mice

Comp.	Route	Method	Time (h)	ED ₅₀ (mg/kg)	TD ₅₀ (mg/kg)
4b	ip	MES	0.25	71.7	101.1
	ip	6 Hz	0.25	92.9	
	po	MES	0.5	247.0	423
4c	ip	MES	0.25	77.5	101.3
	ip	6 Hz	0.25	48.9	
	po	MES	0.25	197.1	none

Molecular docking studies predict good fit for **4b** and **4c** in the diazepam-binding site of A-type GABA receptor (GABA_AR) model⁵ (**Figure**), the putative target pathway for the anticonvulsant activity. Interactions with the key residues were in accordance with mutagenesis data⁵.

- Nardi, D. et al. *J. Med. Chem.* 1981, 21, 727-731.
- Walker, K.A.; Wallach, M.B.; Hirschfeld, D.R. *J. Med. Chem.* 1981, 24, 67-74.
- Granger, P. et al. *Mol. Pharmacol.* 1995, 47, 1189-1196.

EK-4: Tez Çalışması ile İlgili Ulusal ve Uluslararası Patentler

Application Information		
Application No : 2013/11057	Registration No : 2013-G-322305	Registration No : 2013 11057
Application Date : 2013/09/19	Registration Date : 2013/09/19	Granted Date : 2016/06/21
Type of Application : Ulusal Başvuru	Type of Protection : Patent	Publication Date :
Applicant(s)		Classification Code
SEVİM DALKARA Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Sıhhiye Çankaya Ankara		A61K 31/00 C07D 233/58 C07D 249/08
SELMA SARAÇ TARHAN Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Sıhhiye 06100 Ankara		
ARZU KARAKURT Inonu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Malatya		
SUAT SARI Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasobk Kimya Anabilim Dalı, Sıhhiye 06100 Ankara		
Inventor(s)		
SEVİM DALKARA Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Sıhhiye Çankaya Ankara		
ARZU KARAKURT Inonu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Malatya		
SELMA SARAÇ TARHAN Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Sıhhiye 06100 Ankara		
Attorney		
ZELİHA ÖZSOY (3 TEK PATENT MARKA DANIŞMANLIK A.Ş.) ÇANKAYA MAH. MAHMUT YESARİ SOK. NO:8/5 ÇANKAYA/ANKARA		
Title of Invention		
Oksim ester yapısında (arilalkil)azol türevi antifungal bileşikler.		
Abstract of Invention		
Mevcut buluş, azol yapısındaki antifungal etkili Formül 1'deki bileşikler, bunların hidratları, solvatları, farmasötik olarak kabul edilebilir tuzları veya geometrik izomerien ile ilgilidir.		



US009758490B2

(12) **United States Patent**
Dalkara et al.

(10) **Patent No.:** **US 9,758,490 B2**
(45) **Date of Patent:** **Sep. 12, 2017**

(54) **ANTIFUNGAL COMPOUNDS OF
(ARYLALKYL) AZOLE DERIVATIVES IN
THE STRUCTURE OF OXIME ESTER**

(71) Applicants: **Suat Sari**, Ankara (TR); **Sevim
Dalkara**, Ankara (TR); **Selma Sarac
Tarhan**, Ankara (TR); **Arzu Karakurt**,
Malatya (TR)

(72) Inventors: **Sevim Dalkara**, Ankara (TR); **Selma
Sarac Tarhan**, Ankara (TR); **Arzu
Karakurt**, Malatya (TR)

(73) Assignee: **Suat Sari**, Ankara (TR)

(*) Notice: Subject to any disclaimer, the term of this
patent is extended or adjusted under 35
U.S.C. 154(h) by 0 days.

(21) Appl. No.: **15/022,723**

(22) PCT Filed: **Sep. 16, 2014**

(86) PCT No.: **PCT/TR2014/000343**

§ 371 (c)(1),
(2) Date: **Mar. 17, 2016**

(87) PCT Pub. No.: **WO2015/041620**

PCT Pub. Date: **Mar. 26, 2015**

(65) **Prior Publication Data**

US 2016/0229817 A1 Aug. 11, 2016

(30) **Foreign Application Priority Data**

Sep. 19, 2013 (TR) a 2013/11057

(51) **Int. Cl.**
C07D 233/61 (2006.01)
C07D 249/08 (2006.01)

(52) **U.S. Cl.**
CPC *C07D 249/08* (2013.01); *C07D 233/61*
(2013.01)

(58) **Field of Classification Search**
None
See application file for complete search history.

(56) **References Cited**

PUBLICATIONS

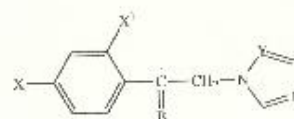
Yang et al. (Jingxi Huagong, vol. 20, Issue 2, pp. 123-125, 128,
2003).*

* cited by examiner

Primary Examiner — Bong-Sook Back
(74) *Attorney, Agent, or Firm* — Ladas & Pary LLP

(57) **ABSTRACT**

This invention is related to the antifungal compounds having
azole structure in Formula (1), and hydrates, solvates, phar-
maceutically acceptable salts or geometric isomers thereof.
Formula (1).



4 Claims, No Drawings

9. ÖZGEÇMİŞ

SUAT SARI

BİREYSEL BİLGİLER

Doğu Tarihi: 07.11.1981
Doğum Yeri: Karaburun
Uyruğu: TC
Medeni Hali: Evli
Adres: Cengiz Han Mah. 825 Sk. No: 8/7 Mamak Ankara
Telefon: 312 680 16 39
Faks: 312 305 3272
E-posta: suat.sari@hacettepe.edu.tr
suat1039@gmail.com

Yabancı Dil: İngilizce

EĞİTİMİ

2007-2012: Bilim Uzmanlığı
İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Kimya
Yüksek Lisans Programı
2000-2004: Lisans
İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
1996-2000: Lise
Maltepe Askeri Lisesi

MESLEKİ DENEYİMİ

Temmuz 2013-: Araştırma Görevlisi
Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik
Kimya Anabilim Dalı
Aralık 2010-Kasım 2012: Serbest Eczacı

Çağdaş Eczanesi, Bursa

Ağustos 2009-Ağustos 2010: Eczacı

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi

Ekim 2005-Haziran 2009: Eczacı

Malatya Asker Hastanesi

BİLİMSEL ÇALIŞMALAR

Uluslararası Dergilerde Basılan Makaleler

1. Karataş, M.O., Uslu, H., **Sarı, S.**, Alagöz, M. A., Karakurt, A., Alıcı, B., Bilen, C., Yavuz, E., Gencer, N., Arslan, O., Coumarin or benzoxazinone based novel carbonic anhydrase inhibitors: synthesis, molecular docking and anticonvulsant studies, **J. Enzyme Inhib. Med. Chem.**, 31(5), 760-772 (2016).
2. **Sarı, S.**, Karakurt, A., Uslu, H., Kaynak, F.B., Çalış, Ü., Dalkara, S., New (arylalkyl) azole derivatives showing anticonvulsant effects could have VGSC and/or GABA_AR affinity according to molecular modeling studies, **Eur. J. Med. Chem.** 124, 407-416 (2016).
3. Özdemir, Z., Yılmaz, H., **Sarı, S.**, Karakurt, A., Şenol, F.S., Uysal, M., Design, synthesis, and molecular modeling of new 3(2*H*)-pyridazinone derivatives as acetylcholinesterase/butyrylcholinesterase inhibitors, **Med. Chem. Res.** 26(10), 2293–2308 (2017).
4. Doğan, İ.S., Saraç, S., **Sarı, S.**, Kart, D., Gökhan, S.E., Vural, İ., Dalkara, S., New azole derivatives showing antimicrobial effects and their mechanism of antifungal activity by molecular modeling studies, **Eur. J. Med. Chem.** 130, 124–138 (2017).
5. **Sarı, S.**, Dalkara, S., FB Kaynak, F.B., Reynisson, J., Saraç, S., Karakurt, A., New Anti-Seizure (Arylalkyl) azole Derivatives: Synthesis, In Vivo and In Silico Studies, **Arch. Pharm.** 350(6), e1700043 (2017).
6. Şöhretoğlu, D., **Sarı, S.**, Özel, A., Barut, B., α -Glucosidase inhibitory effect of *Potentilla astraconica* and some isoflavones: Inhibition kinetics and

mechanistic insights through in vitro and in silico studies, **Int. J. Biol. Macromol.** 105, 1062-1070 (2017).

7. Zafar, A., **Sari, S.**, Leung E., Pilkington, L.I., van Rensburg, M., Barker, D., Reynisson, J., GPCR Modulation of Thieno[2,3-b]pyridine Anti-Proliferative Agents, **Molecules.** 22(12), 2254 (2017).
8. Şöhretoğlu, D., **Sari, S.**, Şoral, M., Barut, B., Özel, A., Liptaj, T., Potential of *Potentilla inclinata* and its polyphenolic compounds in α -glucosidase inhibition: Kinetics and interaction mechanism merged with docking simulations, **Int. J. Biol. Macromol.** 108, 81-87 (2018).

Uluslararası Katılımlı Kongrelerde Sözlü Sunumlar

1. Sari, S., Doğan, İ.S., Kart, D., Saraç, S., Dalkara, S., Novel (arylalkyl)azoles with potent inhibition against clinically resistant *Candida glabrata* and insights into their CGCYP51 inhibition via molecular modelling, 4th BAU Drug Design Congress, 13–15 Ekim 2016, İstanbul.
2. Sari, S., Kart, D., Saraç, S., Karakurt, A., Dalkara, S., New Azoles in Oxime Ester Structure: Antifungal Susceptibility, Anti-Biofilm Activity, and Molecular Modeling Studies, 3rd International Multidisciplinary Symposium on Drug Research and Development, 5–7 Ekim 2017, Erzurum.
3. Sari, S., Kart, D., Saraç, S., Karakurt, A., Gökhan, Ş.E., Dalkara, S., Discovery of New Azole Antifungals with Potent Activity against Clinically Resistant *Candida tropicalis* Isolate and Biofilm Formation, 5th BAU Drug Design Congress, 19–21 Ekim 2017, İstanbul.

Ulusal ve Uluslararası Katılımlı Kongrelerde Poster Sunumları

1. **Sari, S.**, Karakurt, A., Dalkara, S., Synthesis and Anticonvulsant Activities of New (Arylakyl)triazole Oxime Esters, 7th Eurasian Meeting on Heterocyclic Chemistry, 17-21 Haziran 2012, İstanbul.

2. **Sari, S.**, Karakurt, A., Özalp, M., Dalkara, S., Antimicrobial Activities of Some New Oxime Ester Derivatives with Triazole Ring, 10th International Symposium on Pharmaceutical Sciences, 26-29 Temmuz 2012, Ankara.
3. **Sari, S.**, Karakurt, A., Özalp, M., Dalkara, S., Yeni (Arylalkil)triazol Türevi Oksim Esterlerin Sentezleri, Antikonvülsan ve Antimikrobiyal Aktiviteleri, 3. Ulusal Farmasötik Kimya Sempozyumu, 14-17 Kasım 2012, Malatya.
4. **Sari, S.**, Karakurt, A., Çalış, Ü., Dalkara, S., New Acyl Derivatives of 1-(Naphthalen-2-yl)-2-(1H-1,2,4-Triazol-1-yl)ethanone Oxime: Synthesis and Anticonvulsant Screening, International Multidisciplinary Symposium on Drug Research and Development, 28-30 Kasım 2013, Antalya.
5. **Sari, S.**, Yağcıoğlu, S., Karakurt, A., Dalkara, S., Target Determination for Docking Studies on Activity/Toxicity Prediction of Some Novel Azole Antifungal Agents, 2nd BAU Drug Design Congress, 17-19 Nisan 2014, İstanbul.
6. **Sari, S.**, Karakurt, A., Saraç, S., Dalkara, S., Synthesis and Biological Screening Studies on Potential (Arylalkyl)Azole Anticonvulsants, International Multidisciplinary Symposium on Drug Research and Development, 15-17 Ekim 2015, Eskişehir.
7. **Sari, S.**, Reynisson, J., Dalkara, S., New CACYP51 Homology Model Validated for Virtual Screening, 3rd BAU Drug Design Congress, 1-3 Ekim 2015, İstanbul.
8. **Sari, S.**, Dalkara, S., Saraç, S., Karakurt, A., New (Arylalkyl)azoles: In Vivo Anticonvulsant Activity And Molecular Modeling Studies, NZIC-16 (New Zealand Institute of Chemistry 2016) Conference, 21-24 Ağustos 2016, Queenstown, Yeni Zelanda.
9. **Sari, S.**, Karakurt, A., Özdemir, Z., Uysal, M., Fungal CYP51 inhibition by 3(2H)-pyridazinone derivatives and the importance of coordination with heme iron: a molecular modeling study, 4th BAU Drug Design Congress, 13-15 Ekim 2016, İstanbul.
10. **Sari, S.**, Kart, D., Eşsiz, Ş.G., Karakurt, A., Saraç, S., Dalkara, S., Discovery of Novel Azole Antifungals: An *In Silico* and *In Vitro* Study, 7th EFMC International

Symposium on Advances in Synthetic and Medicinal Chemistry, 27-31 Ağustos 2017, Viyana, Avusturya.

11. **Sari, S.**, Acar, F., Dalkara, S., New (Arylalkyl)Azole Derivatives with Potent Anti-Seizure And Neuroprotective Effects, 4th EFMC Young Medicinal Chemist Symposium, 31 Ağustos-1 Eylül, Viyana, Avusturya.
12. Alagöz, M.A., **Sari, S.**, Önkol, T., New 1-(4-Methylphenyl)-2-(3,5-Dimethylpyrazol-1-il)Ethanone Derivatives: Synthesis, Anti-Glioblastoma Activity, And Molecular Modeling, 4th EFMC Young Medicinal Chemist Symposium, 31 Ağustos-1 Eylül, Viyana, Avusturya.
13. **Sari, S.**, Şöhretoğlu, D., Özel, A., Barut, B., Isoflavones from *Potentilla astracanica* as Potent α -Glucosidase Inhibitors: Enzyme Kinetics and In Silico Mechanistic Studies, EUROPIN The Vienna Summer School on Drug Design, 17-22 Eylül 2017, Viyana, Avusturya.
14. Bozbey, İ., Özemir, Z., **Sari, S.**, Kart, D., Karakurt, A., Saraç, S., Dalkara, S., Synthesis, Biological Activity, and Molecular Modelling Studies on New Oxime Ether Compounds Bearing Imidazole Ring, 3rd International Multidisciplinary Symposium on Drug Research and Development, 5–7 Ekim 2017, Erzurum.
15. Akansel, S., **Sari, S.**, Saraç, S., Kart, D., Karakurt, A., Dalkara, S., Studies on New 1-Phenyl-2-(1*H*-imidazol-1-yl)ethanone Oxime Esters as Potential Antifungal Compounds, 3rd International Multidisciplinary Symposium on Drug Research and Development, 5–7 Ekim 2017, Erzurum.
16. **Sari, S.**, Karakurt, A., Özdemir, Z., Uysal, M., Non-selective COX-1/COX-2 Inhibition of 3(2*H*)-Pyridazinone Derivatives: A Molecular Modelling Study, 5th BAU Drug Design Congress, 19–21 Ekim 2017, İstanbul.

Bilimsel Araştırma Projeleri

1. "Potansiyel Antifungal Ve Antikonvülsan Etkili Yeni Azol Bileşikleri: Moleküler Modelleme, Sentez Ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları" başlıklı TÜBİTAK 1001 - Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı projesinde bursiyer.

Proje no: 115S387 (15.09.2015-)

Proje Yöneticisi: Prof. Dr. Sevim Dalkara

2. "Oksim ester yapısında arilalkilazol türevi antifungal bileşikler (PCT başvurusu)" başlıklı Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi mülkiyet hakları ve patent desteği projesinde araştırmacı.

Proje no: TPT-2015-6794 (19.08.2015-)

Proje Yöneticisi: Prof. Dr. Selma Saraç Tarhan

3. "Aril bütenoik asit türevlerinin HDAC-spesifik inhibisyon aktivitelerinin ve nöroprotektif etkilerinin araştırılması" başlıklı Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi kapsamlı araştırma projesinde araştırmacı.

Proje no: TSA-2017-14416 (21.08.2017-)

Proje Yöneticisi: Prof. Dr. Hayat Yurter

4. "Arilalkilazol Yapısında Yeni Oksim Ester Türevleri Üzerinde Çalışmalar Sentez Biyolojik Aktivite ve Moleküler Modelleme" başlıklı Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tez projesinde araştırmacı.

Proje no: TDK-2017-14965 (30.06.2017-)

Proje Yöneticisi: Prof. Dr. Sevim Dalkara

Patentler

1. Dalkara, S., Saraç Tarhan, S., Karakurt, A., Sarı, S., Oksim ester yapısında (arilalkil)azol türevi antifungal bileşikler, İncelemeli Patent, TR 2013 11057 B (2016)
2. Dalkara, S., Saraç Tarhan, S., Karakurt, A., Sarı, S., Antifungal compounds of (arylalkyl)azole derivatives in the structure of oxime ester, US Patent, US 9758490 B2 (EP3046910A1, US20160229817, WO2015041620A1, WO2015041620A4) (2017).

Ödüller

Dalkara, S., Saraç Tarhan, S., Karakurt, A., Sarı, S., Oksim ester yapısında (arilalkil)azol türevi antifungal bileşikler, Uluslararası Buluş Fuarı ISIF 2017, 2-4 Mart 2017, İstanbul, Bronz madalya.

