



YENİ BENZİMİDAZOL-HİDRAZON TÜREVLERİNİN TASARIMI, SENTEZİ VE KOLİNESTERAZ  
İNİHİTÖR AKTİVİTESİ  
DESIGN, SYNTHESIS AND CHOLINESTERASE INHIBITOR ACTIVITY OF NEW  
BENZIMIDAZOLE-HYDRAZONE DERIVATIVES

Begüm Nurpelin SAĞLIK<sup>1</sup>, Ulviye ACAR ÇEVİK<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya ABD, Eskişehir

<sup>2</sup>Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Doping ve Narkotik Analiz Laboratuvarı, Eskişehir

ÖZ

Yetersiz kolinerjik transmisyon, Alzheimer hastalığında bilişsel, işlevsel ve davranışsal belirtilerin ortaya çıkmasında önemli bir rol oynamaktadır. Dolayısıyla, tedaviler genellikle ya reseptör agonisti ya da asetilkolinesteraz inhibitörleri (AChEI) ile kolinerjik sistemin işlevini arttırmaya yönelik planlanmaktadır. Bu çalışmada, yedi orijinal benzimidazol-hidrazon türevi bileşik sentezlenmiş ve bu bileşiklerin asetilkolinesteraz (AChE) ve bütilkolinesteraz (BuChE) inhibisyon aktiviteleri değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin kimyasal yapıları, <sup>1</sup>H-NMR ve LCMS-IT-TOF verileri ile aydınlatılmıştır. Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin AChE ve BuChE inhibitör aktivitelerinin değerlendirilmesinde spektrofotometrik Ellman yöntemi kullanılmıştır. Sentezlenen bileşiklerden en yüksek AChE inhibitör aktiviteyi 96±3,37 nMIC<sub>50</sub> değeri ile bileşik **4g** (2-(4-etoksifenil)-N-(4-(morfolin-1-il)-benziliden)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazit) gösterirken, bu bileşik BuChE üzerinde düşük aktivite göstermiştir. Bileşik **4c** (2-(4-etoksifenil)-N-(4-(4-metil-piperidin-1-il)-benziliden)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazit) ve bileşik **4e** (2-(4-etoksifenil)-N-(4-(4-metil-piperazin-1-il)-benziliden)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazit) türevlerinde de belirgin AChE inhibitör aktivite gözlenmiştir. Sonuç olarak, bu çalışma Alzheimer hastalıkları gibi nörodejeneratif hastalıklar için yeni ajanlar geliştirmek için önemli sonuçlar sunmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Asetilkolinesteraz, benzimidazol, bütilkolinesteraz, hidrazon

ABSTRACT

Inadequate cholinergic transmission plays an important role in the development of cognitive, functional, and behavioral symptoms in Alzheimer's disease. Therefore, treatments are generally planned to increase the function of the cholinergic system either with receptor agonist or acetylcholinesterase inhibitors (AChEI). In this study, seven original benzimidazole-hydrazone derivative compounds were synthesized, and acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholine esterase (BuChE) inhibition activities were evaluated. The chemical structures of the synthesized compounds were illuminated with <sup>1</sup>H-NMR and LCMS-IT-TOF data. The spectrophotometric Ellman method was used to evaluate AChE and BuChE inhibitory activities of the synthesized compounds. Compound **4g** (2-(4-ethoxyphenyl)-N-(4-(morpholin-1-yl)-benzylidene)-1H-benzo[d]imidazole-6-carbohydrazid) with the highest AChE inhibitory activity from the synthesized compounds while showing this compound showed low activity on BuChE. Significant AChE inhibitory activity was also observed in compound **4c** (2-(4-ethoxyphenyl)-N-(4-(4-methylpiperidin-1-yl)-benzylidene)-1H-benzo[d]imidazole-6-carbohydrazide and compound **4e** (2-(4-ethoxyphenyl)-N-(4-(4-methylpiperazin-1-yl)-benzylidene)-1H-benzo[d]imidazole-6-carbohydrazide) derivatives. Consequently, this study presents important results for developing new agents for neurodegenerative diseases such as Alzheimer's diseases.

**Keywords:** Acetylcholinesterase, benzimidazole, butyrylcholinesterase, hydrazone.

Makale Geliş Tarihi : 12.02.2020  
Makale Kabul Tarihi: 09.11.2020

**Corresponding Author:** Arş. Gör. Dr. Begüm Nurpelin SAĞLIK, Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya ABD, 26000, Eskişehir, TÜRKİYE  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0151-6266>  
Tel: +90 (222) 335 0580 / 3774  
E-mail: [bn saglik@anadolu.edu.tr](mailto:bn saglik@anadolu.edu.tr)  
Arş. Gör. Dr. Ulviye ACAR ÇEVİK, [uacar@anadolu.edu.tr](mailto:uacar@anadolu.edu.tr), ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1879-1034>

**GİRİŞ**

Alzheimer hastalığı (AH), esas olarak yaşlıları etkileyen ve 65 yaşından sonra her beş yıllık aralık için iki katına çıkabilen, geri dönüşümsüz hafızaya bağlı nörodejeneratif bir bozukluktur (1,2). AH nedeni henüz tam anlaşılamamış olsa da bu hastalığın gelişimine neden olan birçok faktör literatürde yer almaktadır. Bunlar arasında; hipokampüste ve beyin korteks bölgesinde düşük asetilkolin seviyesi, amiloid plak birikimi, nörofibriler düğümler, oksidatif stres yer almaktadır (3). Bunlardan kolinerjik hipotez en eski ve en çok araştırılmıştır. Bu hipoteze göre, hafıza kaybı ve bilişsel eksiklikler esas olarak beyindeki asetilkolin seviyesindeki azalmadan kaynaklanmaktadır. Asetilkolin metabolizmasının azaltılması ile bilişsel işlevler geliştirilebilmektedir. Asetilkolin merkezi sinir sisteminde iki çeşit kolinesteraz enzimi tarafından hidroliz edilmektedir: asetilkolinesteraz (AChE) ve bütilkolinesteraz (BuChE). AH patofizyolojisinde BuChE'nin mekanizması henüz tam olarak bilinmemektedir (4).

AChE, nörotransmitterasetilkolinin hidrolizi ile merkezi ve periferik sinir sisteminin kolinerjik sinapslarındaki sinir uyarılarının iletimini kontrol ettiği için vücutta önemli bir fizyolojik role sahiptir. Ayrıca nuritogenez, hücre yapışması, proliferasyon ve hücre etkileşimleri, sinaptogenez, dopamin nöronal aktivasyonu, Alzheimer hastalığı için karakteristik amiloid liflerinin oluşumu, hematopoez ve trombopoezde rol oynar (5).

AH için memantin ve asetilkolinesteraz inhibitörü (AChEI) olan rivastigmin, donepezil ve galantamin olmak üzere FDA (Food and Drug Administration-Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından onaylanan dört çeşit ilaç vardır. Ancak ne yazık ki, bu ilaçlar sadece hafıza ve bilişsel işlevi olumlu bir seviyeye yükseltebilirken AH gelişimini engelleyemez, durduramaz veya tersine çeviremezler. Bu nedenle hala yeni AChEI'ya ihtiyaç duyulmaktadır (6).

Benzimidazol, ilaç geliştirme çalışmalarında sıklıkla tercih edilen önemli bir heterosiklik halkadır. Mebendazol, astemizol, emedastin, omeprazol, kandesartan, telmisartan, bilastin, bendamustin ve droperidol benzimidazol halkası taşıyan ilaç etken maddelerine örnektir (7). Benzimidazol, bakteriyel hücre duvarı, nükleik asit ve protein biyosentezi için çok önemli olan pürin ve vitamin B12 yapısının biyoizosteridir. Ayrıca, klinik kullanımda benzimidazol ilaçları belirlenmiş bir güvenlik ve etkinlik profillerine sahiptir (8,9).

Hidrazonlar, birçok farmasötik bileşende, biyolojik aktiviteler ve organik sentezlerde kullanılan başka bir kimyasal gruptur. Hidrazonlar, enzimlerin substratının bir amino veya bir karbonil grubu ile etkileşimini içeren birçok enzimatik reaksiyonda önemli bir ara madde görevi görebilirler (10).

Yukarıdaki bilgiler ışığında yeni benzimidazol-hidrazon türevi bileşikler sentezlenerek AChE ve BuChE enzimleri üzerindeki inhibisyon potansiyelleri değerlendirilmiştir.

**GEREÇ VE YÖNTEM****Sentez Çalışmaları**

2-(4-Etoksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karboksilik asit (1), Metil 2-(4-etoksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karboksilat (2), 2-(4-etoksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazit (7) türevlerinin sentezi (55) literatürde bahsedildiği yöntemler ile sentezlenmiştir.

**Sonuç bileşiklerinin sentezi (4a-4g):**

Uygun 2-(4-etoksifenil)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazit türevi (0.001 mol) etonolde çözündürülerek üzerine birkaç damla asetik asit ile aldehit türevi (0.001 mol) ilave edilmiştir. Reaksiyon içeriği geri çeviren soğutucu altında 2 saat ısıtılmıştır. Çökelek süzülerek alınmış ve bütanolden kristallendirilmiştir.

2-(4-Etoksifenil)-N'-(4-(piperidin-1-il)-benziliden)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazit (**4a**): Verim: % 74. <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 1.12 (3H, t, CH<sub>3</sub>), 1.03-1.24 (6H, m, piperidin), 2.98-3.12 (4H, m, piperidin), 3.98 (2H, q, -CH<sub>2</sub>), 6.92 (2H, d, J=9.00 Hz, 1,4-disübstitüefenil), 7.24 (2H, d, J=8.85 Hz, 1,4-disübstitüefenil), 7.56 (2H, d, J=8.52 Hz, 1,4-disübstitüefenil), 7.74 (2H, d, J=8.56 Hz, 1,4-disübstitüefenil), 7.82 (1H, s, benzimidazol C-H), 8.01-8.11 (2H, m, benzimidazol C-H), 8.35 (1H, s, -CH). HRMS (m/z): [M+H]<sup>+</sup> hesaplanan C<sub>28</sub>H<sub>29</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub> 468.2387; bulunan: 468.2394.

2-(4-Etoksifenil)-N'-(4-(2-metil-piperidin-1-il)-benziliden)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazit (**4b**): Verim: % 72. <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 1.12 (3H, t, CH<sub>3</sub>), 1.22 (3H, m, CH<sub>3</sub>), 1.03-1.26 (6H, m, piperidin), 2.99-3.10 (3H, m, piperidin), 3.98 (2H, q, -CH<sub>2</sub>), 6.94 (2H, d, J=8.90 Hz, 1,4-disübstitüefenil), 7.22 (2H, d, J=8.85 Hz, 1,4-disübstitüefenil), 7.56 (2H, d, J=8.52 Hz, 1,4-disübstitüefenil), 7.72 (2H, d, J=8.56 Hz, 1,4-disübstitüefenil), 7.87 (1H, s, benzimidazol C-H), 8.01-8.14 (2H, m, benzimidazol C-H), 8.36 (1H, s, -CH). HRMS (m/z): [M+H]<sup>+</sup> hesaplanan C<sub>29</sub>H<sub>31</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub> 482.2559; bulunan: 482.2551.

2-(4-Etoksifenil)-N'-(4-(4-metil-piperidin-1-il)-benziliden)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazit (**4c**): Verim: % 69. <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 1.01 (3H, m, CH<sub>3</sub>), 1.16 (3H, t, CH<sub>3</sub>), 1.05-1.29 (5H, m, piperidin), 2.98-3.12 (4H, m, piperidin), 3.97 (2H, q, -CH<sub>2</sub>), 6.95 (2H, d, J=8.89 Hz, 1,4-disübstitüefenil), 7.21 (2H, d, J=8.85 Hz, 1,4-disübstitüefenil), 7.58 (2H, d, J=8.54 Hz, 1,4-disübstitüefenil), 7.72 (2H, d, J=8.56 Hz, 1,4-disübstitüefenil), 7.89 (1H, s, benzimidazol C-H), 8.03-8.16 (2H, m, benzimidazol C-H), 8.38 (1H, s, -CH). HRMS (m/z): [M+H]<sup>+</sup> hesaplanan C<sub>29</sub>H<sub>31</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub> 482.2555; bulunan: 482.2551.

2-(4-Etoksifenil)-N'-(4-(3,5-dimetil-piperidin-1-il)-benziliden)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazit (**4d**): Verim: % 66. <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 1.01-1.04 (6H, m, CH<sub>3</sub>), 1.17 (3H, t, CH<sub>3</sub>), 1.07-1.32 (4H, m, piperidin), 2.96-3.10 (4H, m, piperidin), 3.97 (2H, q, -CH<sub>2</sub>), 6.98 (2H, d, J=8.87 Hz, 1,4-disübstitüefenil), 7.24 (2H, d, J=8.82 Hz, 1,4-disübstitüefenil), 7.54 (2H, d, J=8.54 Hz, 1,4-disübstitüefenil), 7.72 (2H, d, J=8.57 Hz, 1,4-disübstitüefenil), 7.90 (1H, s, benzimidazol C-H), 8.03-8.18 (2H, m, benzimidazol C-H), 8.37 (1H, s, -CH). HRMS (m/z): [M+H]<sup>+</sup> hesaplanan C<sub>30</sub>H<sub>33</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub> 496.2435; bulunan: 496.2437.

2-(4-Etoksifenil)-N'-(4-(4-metil-piperazin-1-il)-benziliden)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazit (**4e**): Verim: % 66. <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 1.14 (3H, t, CH<sub>3</sub>), 2.22 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 2.21-2.28 (4H, m, piperazin), 3.21-2.34 (4H, m, piperazin), 3.98 (2H, q, -CH<sub>2</sub>), 6.97 (2H, d, J=8.86 Hz, 1,4-disübstitüefenil), 7.24 (2H, d, J=8.81 Hz, 1,4-disübstitüefenil), 7.54 (2H, d, J=8.54 Hz, 1,4-disübstitüefenil), 7.72 (2H, d, J=8.57 Hz, 1,4-disübstitüefenil), 7.95 (1H, s, benzimidazol C-H), 8.04-

8.14 (2H, m, benzimidazol C-H), 8.37 (1H, s, -CH). HRMS (m/z): [M+2H]<sup>2+</sup> hesaplanan C<sub>28</sub>H<sub>30</sub>N<sub>6</sub>O<sub>2</sub> 242.1280; bulunan: 242.1288.

2-(4-Etoksifenil)-N'-(4-(4-isopropil-piperazin-1-il)-benziliden)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazit (**4f**): Verim:% 70. <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 1.07 (6H, m, CH<sub>3</sub>), 1.17 (3H, t, CH<sub>3</sub>), 2.68 (1H, m, CH), 2.24-2.29 (4H, m, piperazin), 3.27-2.38 (4H, m, piperazin), 3.98 (2H, q, -CH<sub>2</sub>), 6.95 (2H, d, J=8.84 Hz, 1,4-disübstitüefenil), 7.25 (2H, d, J=8.78 Hz, 1,4-disübstitüefenil), 7.58 (2H, d, J=8.52 Hz, 1,4-disübstitüefenil), 7.75 (2H, d, J=8.57 Hz, 1,4-disübstitüefenil), 7.98 (1H, s, benzimidazol C-H), 8.04-8.14 (2H, m, benzimidazol C-H), 8.37 (1H, s, -CH). HRMS (m/z): [M+2H]<sup>2+</sup> hesaplanan C<sub>30</sub>H<sub>34</sub>N<sub>6</sub>O<sub>2</sub> 256.1449; bulunan: 256.1444.

2-(4-Etoksifenil)-N'-(4-(morfolin-1-il)-benziliden)-1H-benzo[d]imidazol-6-karbohidrazit (**4g**): Verim: % 64. <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 1.18 (3H, t, CH<sub>3</sub>), 3.12-3.18 (4H, m, morfolin), 3.42-3.49 (4H, m, morfolin), 3.97 (2H, q, -CH<sub>2</sub>), 6.94 (2H, d, J=8.82 Hz, 1,4-disübstitüefenil), 7.28 (2H, d, J=8.74 Hz, 1,4-disübstitüefenil), 7.56 (2H, d, J=8.52 Hz, 1,4-disübstitüefenil), 7.76 (2H, d, J=8.57 Hz, 1,4-disübstitüefenil), 7.95 (1H, s, benzimidazol C-H), 8.04-8.16 (2H, m, benzimidazol C-H), 8.37 (1H, s, -CH). HRMS (m/z): [M+H]<sup>+</sup> hesaplanan C<sub>27</sub>H<sub>27</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub> 470.2175; bulunan: 470.2187.

#### AChE inhibisyon çalışması

Elde edilen bileşiklerin enzim inhibitör aktiviteleri, iki konsantrasyonda (10<sup>-3</sup> ve 10<sup>-4</sup> M) gerçekleştirilmiştir. Aktivite değerleri % inhibisyon şeklinde değerlendirilmiştir. Biyoaktivite çalışmalarında kolorimetrik Ellman metodu modifiye edilerek enzim inhibisyonu incelemesi yapılmıştır. Test işlemine başlamadan önce bütün çözeltiler 20-25 °C'ye getirilmiştir. Çalışmalarda 96 kuyucuklu plaklar kullanılmıştır. Her bir hücrede 140 µL fosfat tamponu (0.05 M pH=8±0.1), 20 µL enzim solüsyonu, 20 µL inhibitör çözelti, 20 µL 5,5'-ditiyo-bis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) çözeltisi, 10 µL ATC/BTC çözeltisi olacak şekilde toplam 210 µL hacme ulaşılmıştır. Çözeltiler, 96 kuyucuğa yetecek miktarlarda iki farklı test çözeltisi meydana getirecek şekilde karıştırılmıştır. Birinci test çözeltisi; 1 kuyucuk için 70 µL fosfat tamponu, 20 µL enzim çözeltisi ve 20 µL DTNB çözeltisi, ikinci çözelti ise; 1 kuyucuk için 70 µL fosfat tamponu ve 10 µL asetiltiyokolin iyodür (ATC) /bütiritiyokolin iyodür (BTC) çözeltisi içerecek şekilde hazırlanmıştır. Öncelikle birinci test çözeltisi ve farklı konsantrasyonlardaki inhibitör bileşiği çözeltileri (20 µL), 96 kuyucuklu plakalara Biotek Precision XS robotik sistemi kullanılarak eklenmiştir. Deney dört tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Plakalar, BioTek-Synergy H1 mikropilaka okuyucusunda 5 dakika karıştırılmış daha sonra 25 °C'de 15 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra mikropilaka okuyucusu dispenser haznesinde bulunan ikinci test çözeltisinin her bir kuyucuğa 80 µL olacak şekilde ilavesi sağlanmıştır. İkinci test çözeltisi eklendikten sonra 30 sn'lik hızlı bir karıştırma işlemi yapılmıştır. Bu aşamada 412 nm'de birinci absorbans okuması gerçekleştirilmiştir. Mikropilakalar, reaksiyonun sürmesi için 5 dakika daha karışmaya bırakılmış ve bu süre sonunda ikinci absorbans okuması yapılmıştır.

İki okuma arasındaki absorbans farkları alınarak aşağıdaki formüle göre % inhibisyon oranları hesaplanmıştır. B : Blank (İnhibitör bileşik ve substratın eklenme-

$$\% \text{ Inhibisyon} = \frac{[(A(K) - A(B)) - (A(I) - A(B))]}{(A(K) - A(B))} \times 100$$

diği kuyucuk)

K : Kontrol (Sadece inhibitör bileşiğin eklenmediği kuyucuk)

A(B) : Blankkuyucuğuna ait absorbans okuma farkı

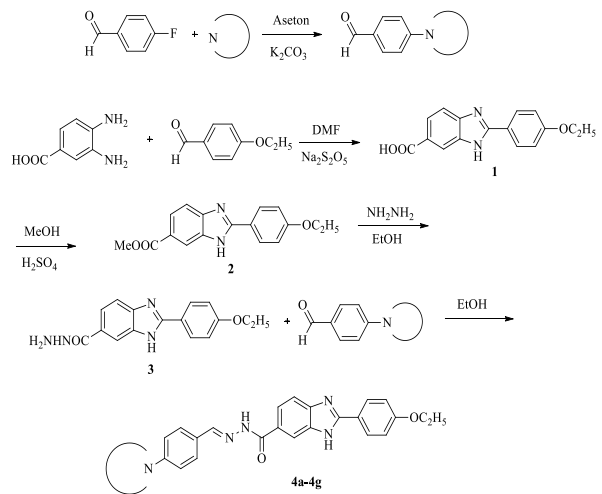
A(K) : Kontrol kuyucuğuna ait absorbans okuma farkı

A(I) : İnhibitör maddelere ait absorbans okuma farkı

#### BULGULAR

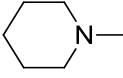
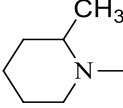
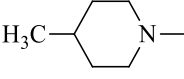
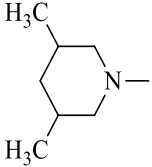
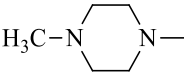
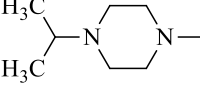
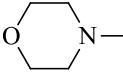
Sentez çalışmaları beş basamakta gerçekleştirilmiştir. Bileşiklerin sentez basamakları Şekil'de gösterilmiştir. Bileşiklerin fonksiyonel grupları Tablo I'de verilmiştir. İlk basamakta sekonderamin türevleri aseton içerisinde potasyum karbonat ile 4-florobenzaldehit ile reaksiyona sokulmuş ve yeni benzaldehit türevleri elde edilmiştir. 4-Etoksi benzaldehitdimetilformamid içerisinde sodyum bisülfid ile reaksiyona sokularak benzaldehit sodyum bisülfid katım ürünü elde edilmiştir. Elde edilen bu ürün ile 3,4-diamino benzoik asit kondenzasyon reaksiyonu sonucunda benzimidazol halkası kapatılmıştır. Karboksilik asit fonksiyonel grubu metanol içerisinde esterleşme reaksiyonuna tabi tutulmuştur. Bir sonraki basamakta ester bileşiği hidrazin hidrat ile muamele edilerek hidrazit türevi bileşik elde edilmiştir. Sentezlenen hidrazit türevi etanol içerisinde aldehit türevleri ile reaksiyona sokulmuş ve hidrazon türevi bileşikler elde edilmiştir.

Çalışma kapsamında sentezi yapılan bileşiklerin kolineraz inhibitör aktiviteleri, 1961 yılında Ellman ve diğerleri tarafından geliştirilen kolorimetrik metot ile incelenmiştir (12). Bu metot gerçekleşen kimyasal reaksiyonla meydana gelen absorbans değişiminin ölçülmesi temeline dayanmaktadır. Ellman yönteminde AChE enzimi, asetiltiyokolin iyodür substratını asetat ve tiyokolin oluşturarak hidroliz etmektedir.



Şekil I. Benzimidazol-hidrazon türevlerinin (**4a-4g**) sentez şeması

**Tablo I.** Sentezlenen benzimidazol-hidrazon türevlerinin (**4a-4g**) fonksiyonel grupları

Bileşik	Sekonder amin
<b>4a</b>	
<b>4b</b>	
<b>4c</b>	
<b>4d</b>	
<b>4e</b>	
<b>4f</b>	
<b>4g</b>	

ta dönüştürmektedir. Bileşiklere ait yüzde inhibisyon değerleri Tablo II' de verilmiştir.

AChE enzim inhibisyon sonuçları incelendiğinde,  $10^{-4}$  M konsantrasyonunda seri içerisindeki bazı bileşiklerin yüksek oranda aktivite gösterdiği görülmektedir. Bu konsantrasyonda **4c**, **4e** ve **4g** kodlu bileşikler % 50'den fazla oranda inhibisyon göstermiştir. Donepezilin  $IC_{50}$  değeri  $20 \pm 0.98$  nM olarak bulunmuştur. Seri içerisinde en etkili bileşik olan **4g** bileşiği  $96 \pm 3.37$  nM  $IC_{50}$  değerine sahiptir. Bileşiklerin BuChE inhibisyon değerlerine bakıldığında oldukça düşük olduğu görülmektedir.

#### TARTIŞMA VE SONUÇ

Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin hem AChE ve BuChE enzimleri üzerinde inhibisyon potansiyelleri değerlendirilmiştir. Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin tamamı BuChE enzimine karşı düşük inhibisyon etki gösterdikleri bulunmuştur (Tablo II). Bileşiklerin AChE enzimi üzerinde BuChE enzime kıyasla daha yüksek inhibisyon profiline sahip oldukları tespit edilmiştir. Aktivite sonuçları incelendiğinde **4c**, **4e** ve **4g** bileşiklerinin AChE enzim inhibisyon yüzdelerinin yüksek olduğu görülmektedir. Ancak sentezlenen bileşikler referans ilaçlar ile karşılaştırıldıklarında daha düşük etki profiline sahip oldukları görülmektedir.

Etkili olan türevlerin fonksiyonel grupları incelendiğinde 4. konumunda metil fonksiyonel grubu taşıyan piperidin (**4c**) ve piperazin (**4e**) türevlerinin yüksek aktivite gösterdikleri görülmektedir. Seri içerisinde en etkili bileşik morfolin fonksiyonel grubu taşıyan **4g** kodlu bileşiktir.

**Tablo II.** Benzimidazol-hidrazon türevlerinin (**4a-4g**) AChE ve BuChE enzimlerine karşı inhibitör aktivite sonuçları

Bileşik	% İnhibisyon (AChE)		AChE $IC_{50}$ (nM)	% İnhibisyon (BuChE)	
	$10^{-3}$ M	$10^{-4}$ M		$10^{-3}$ M	$10^{-4}$ M
<b>4a</b>	88.95 ± 0.95	46.75 ± 0.51	-	39.20 ± 0.58	31.25 ± 0.61
<b>4b</b>	58.35 ± 1.07	36.28 ± 0.98	-	26.75 ± 0.86	18.47 ± 0.74
<b>4c</b>	90.39 ± 1.08	84.27 ± 1.15	263 ± 4.25	31.28 ± 0.97	24.66 ± 0.62
<b>4d</b>	88.71 ± 1.06	42.69 ± 0.53	-	28.33 ± 0.47	17.25 ± 0.62
<b>4e</b>	88.24 ± 0.94	80.69 ± 1.25	126 ± 4.18	35.29 ± 0.55	28.17 ± 0.47
<b>4f</b>	85.62 ± 1.23	48.76 ± 0.88	-	35.97 ± 0.48	21.44 ± 0.58
<b>4g</b>	94.68 ± 1.56	88.25 ± 1.32	96 ± 3.37	29.35 ± 0.50	26.11 ± 0.47
<b>Donepezil</b>	99.37 ± 1.16	98.64 ± 1.09	20 ± 0.98	-	-
<b>Takrin</b>	-	-	-	98.25 ± 1.05	96.10 ± 1.16

Meydana gelen tiyokolin, spesifik kromojenik belirteci olan DTNB'yi, 412 nm'de absorbanı veren nitrobenzo-

Yapılan aktivite çalışmaları neticesinde, ileriki çalışmalarda daha yüksek aktivite gösteren bileşiklerin elde edilebilmesi adına benzer kimyasal yapıya yeni bileşiklerin tasarlanması, sentezlenmesi ve aktivitelerinin araştırılması hedeflenmektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Almansour AI, Arumugam N, Kumar RS, et al. Design, synthesis and cholinesterase inhibitory activity of novel spiropyrrolidine tethered imidazole heterocyclic hybrids. *Bioorg Med Chem Lett* 2020; 30:126789.
2. Fu J, Bao F, Gu M, et al. Design, synthesis, and evaluation of quinolinone derivatives containing dithiocarbamate moiety as multifunctional AChE inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. *J Enzyme Inhib Med Chem* 2020; 35:118-128.
3. Mo J, Chen T, Yang H, et al. Design, synthesis, *in vitro* and *in vivo* evaluation of benzylpiperidine-linked 1,3-dimethylbenzimidazolinones as cholinesterase inhibitors against Alzheimer's disease. *J Enzyme Inhib Med Chem* 2020; 35:330-343.
4. El-Sayed NF, El-Hussieny M, Ewies EF, et al. New phosphazine and phosphazide derivatives as multifunctional ligands targeting acetylcholinesterase and  $\beta$ -amyloid aggregation for treatment of Alzheimer's disease. *Bioorg Chem* 2020; 95:103499.
5. Šagud I, Maček Hrvat N, Grgičević A, et al. Design, synthesis, and cholinesterase inhibitory properties of new oxazole benzylamine derivatives. *J Enzyme Inhib Med Chem* 2020; 35:460-467.
6. Sang Z, Wang K, Han X, et al. Design, synthesis, and evaluation of novel ferulic acid derivatives as multi-target-directed ligands for the treatment of Alzheimer's disease. *ACS Chem Neurosci* 2018; 10:1008-1024.
7. Sirim MM, Krishna VS, Sriram D, Tan OU. Novel benzimidazole-acrylonitrile hybrids and their derivatives: Design, synthesis and antimycobacterial activity. *Eur J Med Chem* 2019; 112010.
8. Dokla EM, Abutaleb NS, Milik SN, et al. Development of benzimidazole-based derivatives as antimicrobial agents and their synergistic effect with colistin against gram-negative bacteria. *Eur J Med Chem* 2020; 186:111850.
9. Singu PS, Kanugala S, Dhawale SA, Kumar CG, Kumbhare RM. Synthesis and pharmacological evaluation of some amide functionalized 1H-Benzo [d] imidazole-2-thiol derivatives as antimicrobial agents. *Chemistry Select* 2020; 5:117-123.
10. Noma SAA, Erzenin M, Tunç T, Balçioğlu S. Synthesis, characterization and biological assessment of a novel hydrazone as potential anticancer agent and enzyme inhibitor. *J Mol Struct* 2020; 1205:127550.
11. Acar Çevik U. Potansiyel Anti-Alzheimer ajanları olarak yeni benzimidazol-hidrazon türevlerinin sentezi, 3. Uluslararası Sağlık Bilimleri Kongresi, Çanakkale 24-26 Ekim 2019; ss 276-282.
12. Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Feather-Stone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol* 1961; 7:88-95