

Yeni imidazol-hidrazon türevlerinin sentezi ve antikolinesteraz aktivitesi

Derya OSMANIYE^{1,2}, Ulviye ACAR ÇEVİK^{1,2*}

¹Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya ABD, Yunus Emre Kampüsü, Eskişehir

²Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Doping ve Narkotik Analiz Laboratuvarı, Eskişehir

Geliş Tarihi (Received Date): 28.10.2019

Kabul Tarihi (Accepted Date): 14.07.2020

Öz

Alzheimer hastalığı (AH) öncelikli olarak yaşlı popülasyonda görülen, klinik olarak bellek ve bilişsel bozukluklar ile karakterize, ilerleyici ve nörodejeneratif bir hastalıktır. Hastalığın etiyolojisinin henüz tam olarak belirlenememiş olması, hasta popülasyonunun yıllar geçtikçe artması, radikal bir tedavinin olmayışı, tedavi ve bakım maliyetinin oldukça yüksek olması, hastaların yaşam kalitesini oldukça düşürmesi gibi sebepler hastalığın önemini artırmakta ve araştırmacıları bu alana yönlendirmektedir. Bu çalışmada, bazı yeni imidazol-hidrazon türevleri, imidazol-hidrazon gruplarının potansiyel antikolinesteraz aktivitesi göz önüne alınarak sentezlendi. Sentez çalışmalarında, hidrazon bileşikleri çeşitli imidazol-karbaldehit türevleri ile reaksiyona sokuldu ve sonuç bileşikleri elde edildi. Elde edilen bileşiklerin yapıları IR, ¹H NMR, ¹³C NMR ve Kütle spektroskopik yöntemleri ile aydınlatıldı. Sentezlenen bileşiklerin kolinesteraz enzimi üzerindeki etkileri Ellman metodu kullanılarak değerlendirildi. Sentezlenen bileşiklerin aktivite çalışmaları sonucunda orta düzeyde antikolinesteraz aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Hidrazon, imidazol, antikolinesteraz, ellman metodu.

Synthesis of new imidazole-hydrazone derivatives and anticholinesterase activity

Abstract

Alzheimer's disease (AD) is a progressive and neurodegenerative disease primarily seen in the elderly population, clinically characterized by memory and cognitive impairment. The importance of disease increase because of some reasons; the etiology of the disease has not been determined yet, increase in patient population over the years, absence of

* Ulviye ACAR ÇEVİK, uacar@anadolu.edu.tr, <http://orcid.org/0000-0003-1879-1034>

Derya OSMANIYE, dosmaniye@anadolu.edu.tr, <http://orcid.org/0000-0002-0499-436X>

radical treatment, high cost of treatment and care, significant reduction in quality of life of patients, and these lead to direct researchers to this field. In this study, some new imidazole-hydrazone derivatives were synthesized considering potential anticholinesterase activity of imidazole-hydrazone groups. In synthesis studies, hydrazone compounds was reacted with various imidazole-carbaldehyde derivatives and final product were gained. Structures of obtained compounds were confirmed by IR, ¹H NMR, ¹³C NMR and Mass spectroscopic methods. Effects of the synthesized compounds on cholinesterase enzyme were observed by using Ellman's method. Moderate anticholinesterase activity of the synthesized compounds was determined as a result of activity studies.

Keywords: Hydrazone, imidazole, anticholinesterase, ellman's method.

1. Giriş

Alzheimer hastalığı (AD), yaşlı popülasyonunu etkileyen demansın önde gelen nedenlerinden biri olan progresif ve nörodejeneratif bir bozukluktur. Hafıza fonksiyonu ve günlük rutinlerini yerine getirme becerisine bağlı olan bilişsel işlevlerin, düşünme becerilerinin ve anlayışların azalması ile ilişkilidir [1,2]. Belirtilerinin komplikasyonları, hastalığın karmaşıklığına işaret etmektedir. 60 yaşından itibaren AD gelişiminde risk faktörünün % 1 civarında olduğu tahmin edilmektedir. Bununla birlikte, bu oran 5 yılda bir ikiye katlanmaktadır. Küresel olarak, AD yaklaşık 46 milyon kişide görülmektedir ve bu sayının 2050'ye kadar 131 milyona ulaşması bekleniyor [3].

Hastalarda gözlenen histopatolojik değişiklikler, beyindeki hücre dışı amiloid-β-plak birikintileri ve hücre içi nörofibrillerin seviyelerinin yükselmesinin yanı sıra nöron ve sinaps kaybını da içerir. Ayrıca hastaların kolinerjik sistemlerinde meydana gelen değişikliklerde patolojik bulgular arasında yer almaktadır [1,2].

Nöropatolojik kanıtlar, düşük seviyedeki asetilkolinin (ACh), AD'li hastalarda hafıza bozukluğu ve davranışsal anormallikten sorumlu olduğunu kanıtlamıştır. Bu nedenle, AChE inhibitörleri, kolinerjik nöronlar arasındaki ve sinapslardaki asetilkolin seviyesinin artmasını sağlayarak kolinerjik fonksiyonu arttırmaktadırlar [4]. Donepezil, rivastigmin, galantamin ve memantin FDA tarafından onaylanmış AChE inhibitörlerine örnek ilaç etken maddeleridir [5].

Kolinerjik sistem öğrenme, biliş ve hafıza süreçlerinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Asetilkolin iki tip kolineraz ile hidroliz edilmektedir: asetilkolinesteraz (AChE) ve butirikolinesteraz (BChE) [5,6]. AD'nin ilerlemesiyle beyindeki AChE seviyesi kademeli olarak azalır, ancak BuChE aktivitesi aynı kalır veya normal seviyenin % 165'ine kadar artar. Gelişmiş aşamada, BChE beyindeki ACh'nin hidrolizini devralır. Spesifik BChE inhibisyonu, ACh seviyelerinde 5 kat artışla sonuçlanır ve AChE inhibisyonunun ortak bir yan etkisi olan klasik kolinerjik toksisiteyi atlatılabilir. Bu nedenle, AChE ve BuChE'nin çift inhibisyonu, AD tedavisinde daha iyi bir terapötik strateji olabilir [7].

Yeni güçlü AChE inhibitörlerinin aranmasında, Alzheimer'ın takrin, donepezil ve galantamin gibi tedavi ilaçları dahil olmak üzere önemli inhibitör aktivite sergileyen bileşiklerde çok sayıda heterosiklik halka bulunması dikkat çekicidir. Bu yüzden çoğu

heterosiklik sistem, AChE inhibe edici aktiviteye sahip yeni bileşikleri keşfetmek için bir iskelet olarak kullanılmıştır [8-10]. Bunlar arasında imidazol halkası, AChE inhibitör moleküllerinin tasarımında rol oynamaktadır [11-13].

Hidrazon fonksiyonel grubu taşıyan inhibitör aktivitesine sahip bileşiklerin çoğu, çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir. Hidrojen donörüne sahip olan hidrazonlar ve alıcı azot atomları, enzimin aktif yoresindeki amino asitlerle hidrojen bağları oluşturabilirler [14,15].

Bu çalışmada imidazol ve hidrazon yapısı taşıyan yeni N^1 -((1*H*-imidazol-2-yl)methylen)substitute benzohidrazit türevi bileşikler sentezlenmiş ve AChE inhibisyon potansiyelleri değerlendirilmiştir.

2. Deneysel çalışmalar

2.1. Sentez çalışmaları

Benzoik asit hidrazid türevlerinin (1a-1g) sentezi

Benzoil klorür türevleri (0,05 mol) THF (100 mL) içerisinde çözülerek buz banyosu içerisine alınmıştır. Çözeltiliye hidrazin hidratın (0,1 mol) THF (25 mL) içerisindeki çözeltisi damla damla ilave edilmiştir. Damlatma işlemi sonrasında reaksiyona oda sıcaklığında bir saat daha devam edilmiştir. Reaksiyon süresi bitiminde çöken kısım süzülerek alınmış ve etanolden kristallendirilmiştir [16].

Hidrazon türevlerinin (2a-2g) genel sentez yöntemi

Uygun benzoik asit hidrazit türevi (0,01 mol) ile uygun 1*H*-imidazol-4-karbaldehit (0,1 mol) EtOH içerisinde geri soğutucu altında 1 saat ısıtılarak karıştırılmıştır. Çöken ürün süzülerek alınmış ve etanolden kristallendirilmiştir [17].

N^1 -((1*H*-imidazol-2-il)metilen)benzohidrazit (**2a**): Verim: % 80. E.n: 275,4. FTIR (ATR) cm^{-1} : 3211 (N-H), 1641 (C=O), 694 (monosubstitüe benzen). $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 7,52-7,54$ (3H, ç, Ar-C-H), 7,57 (2H, i, $J=6,87$ Hz, Ar-C-H), 7,77 (1H, t, C-H), 7,89 (2H, i, $J=6,90$ Hz), 8,38 (1H, t, N-H), 11,61 (1H, t, N-H). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 122,36$ 127,34, 129,69, 131,80, 134,49, 136,06, 137,01, 137,11, 165,24. ESI-MS $[\text{M}+\text{H}]^+$: 215.

N^1 -((1*H*-imidazol-2-il)metilen)-4-klorobenzohidrazit (**2b**): Verim: %78. E.n.: 261,3. FTIR (ATR) cm^{-1} : 3143 (N-H), 1587 (C=O), 837 (1,4-disubstitüebenzen). $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 7,50-7,52$ (2H, ç, Ar-C-H), 7,62 (2H, i, $J=8,58$ Hz, 1,4-disubstitüebenzen), 7,94 (2H, i, $J=8,61$ Hz, 1,4-disubstitüebenzen), 7,78 (1H, t, C-H), 8,57 (1H, t, N-H), 10,64 (1H, t, N-H). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 128,21$, 129,86, 131,56, 132,04, 133,05, 135,38, 138,74, 152,74, 164,07. ESI-MS $[\text{M}+\text{H}]^+$: 249.

N^1 -((1*H*-imidazol-2-il)metilen)-4-metoksibenzohidrazit (**2c**): Verim: %72. E.n.: 298,2. FTIR (ATR) cm^{-1} : 3172 (N-H), 1587 (C=O), 837 (1,4-disubstitüebenzen). $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 3,84$ (3H, t, -OCH₃), 7,10 (2H, i, $J=8,73$ Hz, 1,4-disubstitüebenzen), 7,47 (2H, t, Ar-C-H), 7,74 (1H, t, C-H), 7,89 (2H, i, $J=8,85$ Hz, 1,4-disubstitüebenzen), 8,11 (1H, t, N-H), 12,88 (1H, t, N-H). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO-

d_6): $\delta = 55,92, 114,63, 121,75, 126,06, 129,32, 135,52, 136,28, 136,97, 153,45, 162,30$. ESI-MS $[M+H]^+$: 245.

N^1 -((1*H*-imidazol-2-il)metilen)-3,4-diklorobenzohidrazit (**2d**): Verim: % 77. E.n.: 297,7. FTIR (ATR) cm^{-1} : 3145 (N-H), 1615 (C=O). 1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 7,50-7,55$ (2H, ç, Ar-C-H), 7,58-7,61 (1H, ç, Ar-C-H), 7,77 (1H, t, C-H), 7,91-7,94 (2H, ç, Ar-C-H), 8,54 (1H, t, N-H), 10,50 (1H, t, N-H). ^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 122,1, 125,87, 129,16, 129,85, 131,66, 132,85, 134,19, 137,24, 138,20, 152,49, 165,28$. ESI-MS $[M+H]^+$: 283.

N^1 -((1*H*-imidazol-2-il)metilen)-3,4-dimetoksibenzohidrazit (**2e**): Verim: % 80. E.n.: 194,1. FTIR (ATR) cm^{-1} : 3174 (N-H), 1651 (C=O). 1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 3,82-3,85$ (6H, ç, -OCH₃), 7,06-7,10 (2H, ç, Ar-C-H), 7,51-7,63 (2H, ç, Ar-C-H), 7,74 (1H, t, C-H), 7,92-7,95 (1H, ç, Ar-C-H), 8,08 (1H, t, N-H), 9,17 (1H, t, N-H). ^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 56,07, 56,18, 111,09, 111,44, 120,93, 121,34, 121,86, 125,35, 129,22, 136,78, 148,76, 152,13, 165,88$. ESI-MS $[M+H]^+$: 275.

2.2. Analiz çalışmaları

2.2.1. İTK çalışmaları ve Rf değerlerinin saptanması

Bütün sentez çalışmalarında reaksiyonların kontrolü İTK uygulamaları ile gerçekleştirilmiştir. Belli zaman aralıkları ile deney balonlarından alınan numuneler ve sentezlerde kullanılan başlangıç maddelerinin etanoldeki çözeltileri adsorban olarak seçilen silikajel 60 F254 kaplı, önceden uygun çözücü karışımları ile doyurulmuş alüminyum plakalara kılcal boru yardımıyla tatbik edilmiş ve hareketli fazlar içerisinde sürüklenmesi sağlanmıştır. Lekelerin saptanmasında, ultraviyole ışığı (254 nm ve 366 nm) kullanılmıştır. İTK sonucuna göre reaksiyonlara son verilmiş ya da devam edilmiştir. Bu çalışma kapsamındaki her bir sentezin kontrolü için uygun İTK hareketli fazları, farklı çözücü karışımları denenerek bulunmuştur. Anlatılan sentezlerin kontrolü için uygun hareketli fazın petrol eteri : etil asetat (3 : 1) olduğuna karar verilmiştir.

2.2.2. Erime noktalarının tespiti

Sentezlenen bileşiklerin erime noktalarının (E.n) saptanması, toz edilen maddenin, bir ucu açık kapiller borulara ½ cm kadar doldurularak Elektrotermal erime noktası tayini cihazında yapılmış ve bulunan değerler düzeltilmemiştir.

2.2.3. 1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumlarının alınması

Sonuç bileşiklerin 1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları, 5 mg sentez ürününün 0,5 mL dötero dimetilsülfoksit içindeki çözeltilsinin, tetrametilsilan'a karşı 300 ve 75 MHz'lik NMR spektrometresine uygulanması sonucu alınmıştır.

2.2.4. IR spektrumlarının alınması

Proje kapsamındaki sonuç bileşiklerin IR spektrumları, az miktar sentez ürününün ATR IR spektrofotometresine uygulanması sonucu alınmıştır.

2.2.5. Kütle analizi

1 mg madde tartılarak 1 mL asetonitril-su karışımında çözülmüş, LC-MS8040 (Shimadzu Kyoto, Japonya) cihazı kullanılarak analiz edilmiştir.

2.3. Aktivite çalışmaları

Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin, AChE inhibitör aktivitesi Ellman Testi ile saptanmıştır [18-20].

AChE enzim solüsyonunun hazırlanması

Liyofilize haldeki AChE enzimini çözmek için %1'lik jelatin çözeltisi hazırlanmıştır. AChE enzimi jelatin çözeltisinde 500 U/mL konsantrasyonda hazırlanmıştır. Enzim çözeltisinden 1 mL alınarak balon joje içerisinde hacim suyla 100 mL'ye tamamlanmıştır. Böylelikle 5 U/mL'ye seyreltilmiş stok enzim solüsyonu hazırlanmıştır. Hazırlanan stok çözelti 0,7 mL'lik porsiyonlar halinde -20 °C'de saklanmıştır. Enzim çözeltileri, aktivite çalışmalarına başlamadan önce oda ısısına getirilmiş ve metod konsantrasyonu olan 2,5 U/mL'ye seyreltmek için suyla 1,4 mL'ye tamamlanarak kullanılmıştır.

Asetiltiyokolün iyodür (ATC) çözeltisinin hazırlanması (0,075 M)

ATC (0,217 g) bir miktar suda çözülmüş ardından suyla 10 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan çözelti, kullanılıncaya kadar 0,4 mL'lik kısımlar halinde -20 °C 'de saklanmıştır.

5-5-ditiyobis(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) solüsyonunun hazırlanması (0,01 M)

DTNB (0,396 g) tartılarak bir miktar suda çözülmüştür. Bu çözeltiliye sodyum bikarbonat (0,15 g) ilave edilmiş ve hacim suyla 100 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan çözelti, kullanılıncaya kadar 3 mL'lik kısımlar halinde -20 °C'de saklanmıştır.

Fosfat tamponunun hazırlanması (pH=8,0)

Potasyum dihidrojen fosfat (13,61 g), 1 L suda çözülmüştür. Hazırlanan çözeltinin pH'sı 0,1 N potasyum hidroksit çözeltisi ile pH metre kullanılarak kontrollü biçimde 8,0±0,1'e ayarlanmıştır. Ayarlı tampon çözelti 0,22 µm por çapı olan tek kullanımlık filtrelerden süzülerek kullanıma hazır hale getirilmiştir. Hazırlanan çözelti, kullanılıncaya kadar 4 °C'de saklanmıştır.

Enzim solüsyonu, inhibitör madde solüsyonu, fosfat tamponu ve 5,5-ditiyobis(2-nitrobenzoik asit) çok kanallı mikropipetler yardımıyla 96 kuyucuklu plakalara konmuştur. Karışım 25 °C'de 15 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda enzim substrat reaksiyonu, ATC ilavesi ile başlatılarak, mikropilaka okuyucu ile 412 nm'de beş dakika aralıkla iki absorpsiyon ölçümü gerçekleştirilmiştir. Referans olarak inhibitör madde olmaksızın aynı işlem gerçekleştirilerek okuma yapılmıştır. Kontrol ajanı olarak AChE inhibitörü donezepil kullanılmıştır. Enzim inhibisyonları aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% EI = [(A_{\text{konts}} - A_{\text{konti}}) - (A_{\text{inhs}} - A_{\text{inhi}})] / (A_{\text{konts}} - A_{\text{konti}}) \times 100$$

%EI = Yüzde enzim inhibisyonu

A_{inhs} = İnhibitör varlığındaki beşinci dakika absorbansı

A_{inhi} = İnhibitör varlığındaki sıfırıncı dakika absorbansı

A_{konts} = Referans solüsyonun (inhibitörsüz) beşinci dakika absorbansı

A_{konti} = Referans solüsyonun (inhibitörsüz) sıfırıncı dakika absorbansı

Bütün absorbans değerleri boş okunan (blank) değerleri ile doğrulanmıştır. Her bir deney dört bağımsız kuyucukta gerçekleştirilmiş ve ölçümlerinde ortalama absorbans değerleri kullanılarak % enzim inhibisyon değerleri hesaplanmıştır.

3. Sonuçlar ve tartışma

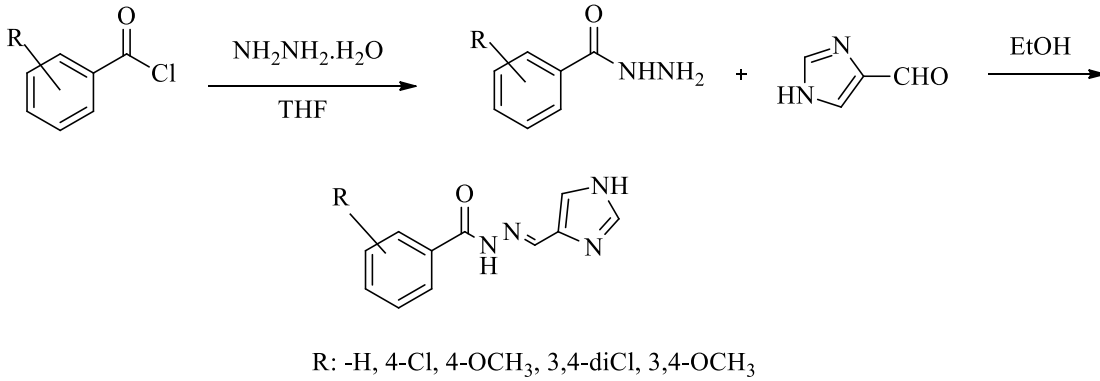
Potansiyel antikolinesteraz aktiviteleri için hazırlanan sonuç bileşiklerine ulaşmak için, öncelikle ilk basamakta benzoik asit hidrazit türevleri, benzoil klorür türevlerinin hidrazin hidrat ile reaksiyona sokulmasıyla sentezlendi. Benzoik asit hidrazitleri ile imidazol-4-karbaldehit bileşiği reaksiyona sokularak hidrazon türevi olan sonuç bileşikleri elde edildi (şekil).

Sentezlenen bileşiklerin (**2a-2e**) yapıları IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR ve kütle spektroskopisi ile doğrulanmıştır. IR spektrumlarında, sırasıyla 3211-3143 ve 1651-1587 cm^{-1} 'de N-H ve C=O bağları nedeniyle önemli gerilme bantları gözlemlendi.

Bileşiklerin ^1H -NMR spektrumlarında hidrazonun C-H protonu yaklaşık 7,78-7,74 ppm'de belirlendi. Bileşiklerin ^1H -NMR spektrumlarında, hidrazon ve imidazolün N-H protonları sırasıyla yaklaşık 8,57-8,08 ve 12,88-9,17 ppm'de belirlendi.

^{13}C NMR spektrumları, aromatik ve alifatik bölgede, pikler tahmin edilen alanlarda görülmüştür, ancak atamalar açıkça belirlenememiştir.

Bileşik $[M + 1]$ tepelerinin kütle spektrumları (ESI-MS), hesaplanan moleküler formülü (**2a-2e**) ile uyumlu olduğu belirlenmiştir.



Şekil 1. **2a-2e** kodlu bileşiklerin sentez şeması

Sentezlenen bileşikler, AChE önleyici aktiviteleri değerlendirilmiştir. Donepezil referans bileşik olarak kullanılmıştır. % İnhibisyon değerleri olarak ifade edilen sonuçlar Tablo 1'de özetlenmiştir.

Sentezlenen bileşiklerin AChE enzimi üzerindeki inhibisyon potansiyelleri, modifiye Ellman metodu ile araştırıldı. İnhibisyon çalışmalarında, test bileşikleri ve referans ilaç Donepezil hidroklorür, 10^{-3} M ve 10^{-4} M konsantrasyonlarında test edildi. Tablo 1

incelendiğinde, bileşik **2b**'nin % 77 inhibisyon seviyesine sahip umut verici bir aktivite profiline sahip olduğu görülmektedir. Ancak, 10^{-4} M konsantrasyondaki inhibisyon değerine bakıldığında **2b** kodlu bileşiğin etkinliğinin düştüğü görülmektedir.

Bu çalışmada sentezlenen türevler benzen halkası üzerinden türevlendirilmiştir. 4. konumda klor ve metoksi sübstitüenti taşıyan türevler ve 3. ve 4. konumlarda yine aynı sübstitüenti taşıyan türevler sentezlenerek bileşiklerin asetilkolinesteraz enzimine karşı inhibe edici potansiyelleri karşılaştırılmıştır. Benzen halkası üzerinde 4. konumda klor sübstitüentinin bulunması aktiviteyi arttırdığı görülmektedir. Aktivite sonuçları incelendiğinde 3. ve 4. konumda aynı anda klor substitüentinin bulunmasının aktiviteyi düşürdüğü görülmektedir.

Tablo 1. **2a-2e** bileşiklerinin ve donepezilin AChE'ye karşı % inhibisyon değerleri

Bileşik	% Enzim inhibisyonu	
	10^{-3}	10^{-4}
2a	27,47	18,43
2b	77,07	32,35
2c	20,50	8,35
2d	17,19	13,72
2e	16,59	6,39
Donepezil	97,45	92,89

Kaynaklar

- [1] Arshad, A.S.M., Chear, N.J.Y., Ezzat, M.O., Hanapi, N.A., Meesala, R., Arshad, S., Mordi, M.N., Synthesis, characterization and crystal structure of new tetrahydro- β -carboline as acetylcholinesterase inhibitor, **Journal of Molecular Structure**, 1200, 127070, (2020).
- [2] Bajda, M., Łażewska, D., Godyń, J., Zaręba, P., Kuder, K., Hagenow, S., Malawska, B., Search for new multi-target compounds against Alzheimer's disease among histamine H3 receptor ligands, **European Journal of Medicinal Chemistry**, 185, 111785, (2019).
- [3] El-Malah, A., Abouelatta, A.I., Mahmoud, Z., Salem, H.H., New cyclooctathienopyridine derivatives in the aim of discovering better Anti-Alzheimer's agents, **Journal of Molecular Structure**, 1196, 162-168, (2019).
- [4] Kazmi, M., Ibrar, A., Ali, H. S., Ghufraan, M., Wadood, A., Flörke, U., Khan, I., A combined experimental and theoretical analysis of the solid-state supramolecular self-assembly of N-(2,4-dichlorophenyl)-1-naphthamide: Synthesis, anticholinesterase potential and molecular docking analysis, **Journal of Molecular Structure**, 1197, 458-470, (2019).
- [5] Mo, J., Yang, H., Chen, T., Li, Q., Lin, H., Feng, F., Chen, Y., Design, synthesis, biological evaluation, and molecular modeling studies of quinoline-ferulic acid hybrids as cholinesterase inhibitors, **Bioorganic Chemistry**, 25, 1, 360-371, (2019).
- [6] Kwong, H. C., Kumar, C. C., Mah, S. H., Mah, Y. L., Chia, T. S., Quah, C. K., Chandrajou, S., Crystal Correlation of Heterocyclic Imidazo [1, 2-a] pyridine Analogues and their Anticholinesterase potential evaluation, **Scientific Reports**, 9, 1, 926, (2019).

- [7] Bai, P., Wang, K., Zhang, P., Shi, J., Cheng, X., Zhang, Q., Sang, Z. Development of chalcone-O-alkylamine derivatives as multifunctional agents against Alzheimer's disease, **European Journal of Medicinal Chemistry**, 183, 111737, (2019).
- [8] Soyer, Z., Uysal, S., Parlar, S., Tarikogullari Dogan, A.H., Alptuzun, V., Synthesis and molecular docking studies of some 4-phthalimidobenzenesulfonamide derivatives as acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors, **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, 32, 1, 13-19, (2017).
- [9] Özkay, Ü.D., Can, Ö.D., Özkay, Y., Öztürk, Y., Effect of benzothiazole/piperazine derivatives on intracerebroventricular streptozotocin-induced cognitive deficits, **Pharmacological Reports**, 64, 4, 834-847, (2012).
- [10] Yoon, Y. K., Ali, M. A., Wei, A. C., Choon, T. S., Khaw, K. Y., Murugaiyah, V., Masand, V. H., Synthesis, characterization, and molecular docking analysis of novel benzimidazole derivatives as cholinesterase inhibitors, **Bioorganic Chemistry**, 49: 33-39, (2013).
- [11] Gurjar, A.S., Darekar, M.N., Yeong, K.Y., Ooi, L., In silico studies, synthesis and pharmacological evaluation to explore multi-targeted approach for imidazole analogues as potential cholinesterase inhibitors with neuroprotective role for Alzheimer's disease, **Bioorganic medicinal chemistry**, 26, 8, 1511-1522, (2018).
- [12] Ahmad, F., Alam, M.J., Alam, M., Azaz, S., Parveen, M., Park, S., Ahmad, S., Synthesis, spectroscopic, computational (DFT/B3LYP), AChE inhibition and antioxidant studies of imidazole derivative, **Journal of Molecular Structure**, 1151, 327-342, (2018).
- [13] Martorana, A., Giacalone, V., Bonsignore, R., Pace, A., Gentile, C., Pibiri, I., Palumbo Piccionello, A., Heterocyclic scaffolds for the treatment of Alzheimer's disease, **Current pharmaceutical design**, 22, 26, 3971-3995, (2016).
- [14] Chiou S.Y., Huang C.F., Hwang M.T., Lin G., Comparison of active sites of butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase based on inhibition by geometric isomers of benzene-di-N-substituted carbamates, **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, 5, 303– 308, (2009).
- [15] Parlar, S., Bayraktar, G., Tarikogullari, A.H., Alptüzün, V., Erciyas, E., Synthesis, biological evaluation and molecular docking study of hydrazone-containing pyridinium salts as cholinesterase inhibitors, **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, 64, 9, 1281-1287, (2016).
- [16] Sağlık, B. N., Çevik, U. A., Osmaniye, D., Levent, S., Çavuşoğlu, B. K., Demir, Y., Kaplancıklı, Z. A., Synthesis, molecular docking analysis and carbonic anhydrase I-II inhibitory evaluation of new sulfonamide derivatives, **Bioorganic Chemistry**, 91, 103153, (2019).
- [17] Can, N.Ö., Osmaniye, D., Levent, S., Sağlık, B.N., İnci, B., İlgin, S., Kaplancıklı, Z. A., Synthesis of new hydrazone derivatives for MAO enzymes inhibitory activity, **Molecules**, 22, 8, 1381, (2017).
- [18] Sağlık, B.N., İlgin, S., Özkay, Y., Synthesis of new donepezil analogues and investigation of their effects on cholinesterase enzymes. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 124, 1026-1040, (2016).
- [19] Tok, F., Kocuyigit-Kaymakcioglu, B., Sağlık, B.N., Levent, S., Özkay, Y., Kaplancıklı, Z.A., Synthesis and biological evaluation of new pyrazolone Schiff

- bases as monoamine oxidase and cholinesterase inhibitors. **Bioorganic Chemistry**, 84, 41-50, (2019).
- [20] Acar Çevik, U., Levent, S., Sağlık, B.N., Özkay, Y., Kaplancıklı, Z.A., Synthesis of novel 4-(dimethylaminoalkyl)piperazine-1-carbodithioate derivatives as cholinesterase inhibitors. **Letters Drug Design Discovery**, 14, 5, 528-539, (2017).