

## Yeni Pirolo Türevlerinin Sentezi ve Karakterizasyonu, Monoamin Oksidaz İnhibisyon Özelliklerinin ve Moleküler Doking Çalışmalarının Araştırılması

### Synthesis and Characterization of New Pyrrole Derivatives, and Investigation of Their Monoamine Oxidase Inhibition Properties and Molecular Docking Studies

<sup>1,2</sup>Derya OSMANIYE, <sup>1,2</sup>Yusuf ÖZKAY

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

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

Derya Osmaniye: <http://orcid.org/0000-0002-0499-436X>

Yusuf Özkay: <http://orcid.org/0000-0001-8815-153X>

#### ÖZ

**Amaç:** Depresyon önemli bir psikiyatrik hastalıktır ve dünyada görülme sıklığı yüksektir. Dünya Sağlık Örgütü tarafından, 2012 yılında yaklaşık 350 milyon kişinin depresyon ile mücadele ettiğini belirtilmiştir. Özellikle monoamin oksidaz-A inhibitörleri depresyon tedavisinde kullanılmaktadır. Monoamin oksidaz inhibitörlerinin bu alanda kullanımı, yeni bileşiklerin geliştirilmesini de değerli kılmaktadır.

**Materyal ve Metot:** 5 yeni molekülden oluşan pirol türevi (2a-2e) bileşikler sentezlenmiştir. Elde edilen bileşiklerin yapıları spektroskopik yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır. Bileşiklerin *in vitro* monoamin oksidaz enzim inhibitör etkinlikleri incelenmiştir.

**Bulgular:** Sentezlenen bileşikler içerisinde 2b ve 2c kodlu bileşikler monoamin oksidaz-A enzimine karşı önemli düzeyde inhibitör etkinlik göstermiştir.

**Sonuç:** Sentezlenen bileşiklerin selektif monoamin oksidaz-A inhibitör potansiyelleri incelendiğinde umut verici sonuçlara ulaşıldığı görülmektedir. Elde edilen bileşikler üzerinde yapılan modifikasyonlar ile daha etkili yeni bileşiklere ulaşılması planlanmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Depresyon, doking, monoaminoksidaz, monoamin oksidaz inhibitörleri

#### ABSTRACT

**Objective:** Depression is an important psychiatric disease and its incidence is high in the world. According to the World Health Organization, 350 million people are diagnosed with depression. The use of monoamine oxidase inhibitors in this field also makes the development of new compounds valuable.

**Materials and Methods:** Pyrrole derivative (2a-2e) compounds consisting of 5 new molecules were synthesized. The structures of the obtained compounds were elucidated using spectroscopic methods. The *in vitro* monoamine oxidase enzyme inhibitory activities of the compounds were investigated.

**Results:** Among the synthesized compounds, compounds 2b and 2c showed significant inhibitory activity against monoamine oxidase-A enzyme.

**Conclusion:** When the selective monoamine oxidase-A inhibitor potentials of the synthesized compounds are examined; it is seen that promising results have been achieved. It is planned to reach more effective new compounds with the modifications made on the obtained compounds.

**Keywords:** Depression, docking, monoamine oxidase, monoamine oxidase inhibitors

#### Sorumlu Yazar / Corresponding Author:

Derya Osmaniye  
Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya ABD,  
Eskişehir-Türkiye  
Tel: +90 538 663 42 54  
E-mail: dosmaniye@anadolu.edu.tr

#### Yayın Bilgisi / Article Info:

Gönderi Tarihi/ Received: 24/08/2021  
Kabul Tarihi/ Accepted: 24/02/2022  
Online Yayın Tarihi/ Published: 01/06/2022

## GİRİŞ

Monoamin oksidazlar, hem merkezi sinir sisteminde hem de periferik organlarda monoaminerjik nörotansmitterleri ve ksenobiyotik aminleri deamine ederek inaktive eder. Substrat özgüllüğü, farklı inhibitörlere yanıt verme, biyokimyasal yapı ve nöroanatmik dağılıma göre ayırt edilebilen monoamin oksidaz-A (MAO-A) ve monoamin oksidaz-B (MAO-B) olmak üzere iki izoenzim şeklinde bulunurlar. İnsanlarda norepinefrin, epinefrin ve serotonin ağırlıklı olarak tip A, fenil-etilamin ve metilhistamin tip B tarafından, dopamin ve tiramin ise her iki alt form tarafından metabolize edilir.<sup>1</sup> MAO-A, bağırsakta en bol bulunan izoformdur; MAO-B beyindeki baskın izoformdur. Beyindeki monoamin nörotansmitter konsantrasyonlarındaki herhangi bir dengesizlik, nörolojik bozuklukların klinik semptomlarının birçoğundan sorumludur. MAO inhibisyonu, yaşa bağlı nörodejeneratif hastalıklardan muzdarip artan sayıda hasta için daha iyi ilaçlar geliştirmek için birçok laboratuvarında aktif olarak incelenmektedir. MAO-A inhibitörleri anksiyete ve depresyon tedavisinde kullanılırken, MAO-B inhibitörleri Parkinson ve Alzheimer hastalıklarında tedavi edici ajan olarak tercih edilebilir. Bu nedenle, MAO-A inhibitörleri atipik ve bipolar depresyon gibi birçok nörolojik hastalığın, panik bozukluğu ve sosyal fobi gibi anksiyete bozukluklarının ve travma sonrası stres bozukluğunun tedavisinde reçete edilmektedir.<sup>2-7</sup> Depresyon önemli bir psikiyatrik hastalıktır ve dünyada görülme sıklığı yüksektir. Depresyonu karakterize etmek için, zevk/ilgi kaybı, düşük benlik saygısı ve yorgunluk gibi klinik nitelikteki çeşitli semptomlar kullanılır. Depresyon, hasta ve ailelerinde yarattığı stre-

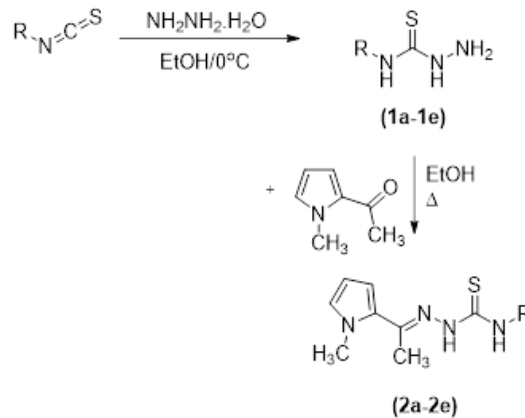
sin yanı sıra birçok ikinci derece hastalığın gelişmesine de yol açabilmektedir. Çocuk ve ergenlerin % 10–21'inde depresyon öncesi veya depresyon sırasında anksiyete bozukluklarının görüldüğü bildirilmiştir.<sup>8,9</sup> MAO-A inhibitörleri, sosyal fobi ve panik bozukluğu için etkili terapötik ajanların yanı sıra güçlü anti-depresanlar olarak iyi bilinir. Özellikle tedaviye dirençli depresyon ve atipik depresyonda etkilidirler. Ancak şu anda sadece moklobemid klinik kullanımdadır. Bu nedenle, yeni MAO-A inhibitörlerinin araştırılması kesinlikle çekici bir konu olmaya devam ediyor.<sup>10</sup>

Bu amaçla, bu çalışma kapsamında MAO-A enzim inhibisyon potansiyeline sahip yeni bileşiklerin sentezi, biyolojik aktivite çalışmaları ve moleküler docking çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bileşiklerin fizikokimyasal parametreleri de incelenerek ilaç adayı olmaya ne kadar yatkın oldukları konusunda fikir sahibi olunmuştur.

## MATERYAL VE METOT

Bu çalışma Etik Kurul İzni Gerektiren Araştırmalar dışındadır. Etik kurul onayı gerekmemektedir. Çalışmada pirol türevi bileşiklerin sentezlenmiş ve bileşiklerin *in vitro* MAO enzim inhibitor etkinlikleri incelenmiştir.

**Sentez Çalışmaları:** Çalışmadaki bileşiklerin sentezi Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Araştırma Laboratuvarında, bileşiklerin analizi ve aktivitesi ise Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Doping ve Narkotik Maddeler Analiz Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışma kapsamında sentezlenen pirol türevlerinin sentez şeması Şekil 1'de sunulmuştur. Bu çalışma kapsamında



Şekil 1. Elde edilen bileşiklere (2a-2e) ait sentez şeması. R:2a:Etil; 2b:2-Metoksietil; 2c:Alil; 2d:İzopropil; 2e:Bütil.

sentezi gerçekleştirilen 5 adet yeni pirol türevi bileşiğin kimyasal yapıları <sup>1</sup>H-NMR (Hidrojen Nükleer Magnetik Rezonans), <sup>13</sup>C-NMR (Karbon Nükleer Magnetik Rezonans) ve HRMS (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektroskopisi) spektroskopik verileri yardımıyla aydınlatılmıştır. NMR spektrumları Bruker 300 MHz and 75 MHz dijital FT-NMR spektrometer (Bruker Bioscience, Billerica, MA, USA) cihazı kullanılarak alınmıştır. HRMS sonuçları ise LCMS-IT-TOF (Shimadzu, Kyoto, Japonya) cihazı kullanılarak kaydedilmiştir.

**N-Süstitüehidrazinkarbotiyoamid Sentezi (1a-1e):** Süstitü izotiyasanatlar (4,1 mmol) etanol içerisinde çözündürülmüştür. Karışım buz banyosuna alınmış ve %98 NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O (12,3 mmol, 0,492 ml) etanol içerisindeki çözeltisi porsiyonlar halinde ilave edilmiştir. Reaksiyon bitimine ince tabaka kromatografisi (İTK) ile petrol eteri : etil asetat (3:1) çözücü sistemi kullanılarak karar verildikten sonra, çöken ürün süzülerek alınmış ve soğuk etanol ile yıkanarak hidrazinhidratın fazlası uzaklaştırılmıştır.

**Sonuç Bileşiklerinin Sentezi (2a-2e):** 1-(1-Metil-1H-pirol-2-il)etanon (2,4 mmol) etanol içerisinde çözündürülmüştür. Karışım içerisine N-süstitüehidrazinkarbotiyoamid (2,4 mmol) türevleri ilave edilerek reaksiyon içeriği 8 saat boyunca reflüks edilmiştir. Reaksiyon bitimine İTK ile petrol eteri : etil asetat (1:1) çözücü sistemi kullanılarak karar verildikten sonra, reaksiyon karışımı soğutulmuş, buzlu suya dökülmüş, çöken ürün süzülerek alınmıştır. Ham ürün kurutulduktan sonra hekzan ile kristallendirilmiştir.

**N-Etil-2-(1-(1-metil-1H-pirol-2-yl)etiliden) hidrazin-1-karbotiyoamid (2a):** Verim: 80 %, FTIR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3414 (N-H), 3307 (N-H), 3155 (C-H), 2987 (C-H). <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 1,13 (3H, s, -CH<sub>3</sub>), 2,23 (3H, s, -CH<sub>3</sub>), 3,57 (2H, s, -CH<sub>2</sub>-), 3,83 (3H, s, -CH<sub>3</sub>), 6,04 (1H, s, pirol), 6,56 (1H, s, pirol), 6,91 (1H, s, pirol), 7,89 (1H, s, -NH), 10,03 (1H, s, -NH). <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 14,97; 16,11; 38,36; 38,87; 107,55; 114,42; 128,68; 130,02; 144,96; 177,72. HRMS (m/z): [M+H]<sup>+</sup> hesaplanan C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>S: 225,1168; bulunan: 225,1165.

**N-(2-Metoksietil)-2-(1-(1-metil-1H-pirol-2-il)etiliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (2b):** Verim: 82 %, FTIR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3419 (N-H), 3305 (N-H), 3170 (C-H), 2985 (C-H). <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 2,24 (3H, s, -CH<sub>3</sub>), 3,27 (3H, s, -CH<sub>3</sub>), 3,51 (2H, t, *J*=5,6 Hz, -CH<sub>2</sub>-), 3,71 (2H, q, *J*=5,6 Hz, -CH<sub>2</sub>-), 3,82 (3H, s, -CH<sub>3</sub>), 6,04 (1H, dd, *J*<sub>1</sub>=2,6 Hz, *J*<sub>2</sub>=3,9 Hz, pirol), 6,58 (1H, dd, *J*<sub>1</sub>=1,8 Hz, *J*<sub>2</sub>=3,9 Hz, pirol), 6,91-6,93 (1H, m, pirol), 7,86 (1H, t, *J*=5,2 Hz, -NH), 10,25 (1H, s, -NH). <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 15,98; 38,48; 43,45; 58,41; 70,41; 107,58; 114,71; 128,94; 129,85; 144,95; 177,98. HRMS (m/z): [M+H]<sup>+</sup> hesaplanan

C<sub>11</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>OS: 255,1274; bulunan: 255,1272.

**N-Allil-2-(1-(1-metil-1H-pirol-2-il)etiliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (2c):** Verim: 77 %, FTIR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3419 (N-H), 3305 (N-H), 3145 (C-H), 2985 (C-H). <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 2,25 (3H, s, -CH<sub>3</sub>), 3,83 (3H, s, -CH<sub>3</sub>), 4,20-4,24 (2H, m, Allil), 5,06-5,16 (2H, m, Allil), 5,87-5,96 (1H, m, Allil), 6,04 (1H, dd, *J*<sub>1</sub>=2,6 Hz, *J*<sub>2</sub>=3,9 Hz, pirol), 6,58 (1H, dd, *J*<sub>1</sub>=1,8 Hz, *J*<sub>2</sub>=3,9 Hz, pirol), 6,90-6,91 (1H, m, pirol), 7,99 (1H, t, *J*=5,8 Hz, -NH), 10,16 (1H, s, -NH). <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 16,16; 38,32; 46,18; 107,57; 114,55; 115,70; 128,75; 129,97; 135,55; 145,35; 178,18. HRMS (m/z): [M+H]<sup>+</sup> hesaplanan C<sub>11</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>S: 237,1168; bulunan: 237,1162.

**N-İzopropil-2-(1-(1-metil-1H-pirol-2-il)etiliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (2d):** Verim: 79 %, FTIR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3421 (N-H), 3302 (N-H), 3149 (C-H), 2974 (C-H). <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 1,19 (6H, d, *J*=6,5 Hz, -CH<sub>3</sub>), 2,23 (3H, s, -CH<sub>3</sub>), 3,83 (3H, s, -CH<sub>3</sub>), 4,37-4,44 (1H, m, -CH-), 6,04 (1H, dd, *J*<sub>1</sub>=2,6 Hz, *J*<sub>2</sub>=3,9 Hz, pirol), 6,57 (1H, dd, *J*<sub>1</sub>=1,8 Hz, *J*<sub>2</sub>=3,9 Hz, pirol), 6,91-6,92 (1H, m, pirol), 7,59 (1H, d, *J*=8,3 Hz, -NH), 10,06 (1H, s, -NH). <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 15,98; 22,43; 22,44; 38,34; 45,71; 107,56; 114,47; 128,81; 129,98; 144,66; 176,82. HRMS (m/z): [M+H]<sup>+</sup> hesaplanan C<sub>11</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>S: 239,1325; bulunan: 239,1316.

**N-Bütül-2-(1-(1-metil-1H-pirol-2-il)etiliden)hidrazin-1-karbotiyoamid (2e):** Verim: 84 %, FTIR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3421 (N-H), 3307 (N-H), 3155 (C-H), 2985 (C-H). <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 0,89 (3H, t, *J*=7.3 Hz, -CH<sub>3</sub>), 1,24-1,36 (2H, m, -CH<sub>2</sub>-), 1,49-1,59 (2H, m, -CH<sub>2</sub>-), 2,23 (3H, s, -CH<sub>3</sub>), 3,54 (2H, q, *J*=6,7 Hz, -CH<sub>2</sub>-), 3,83 (3H, s, -CH<sub>3</sub>), 6,04 (1H, dd, *J*<sub>1</sub>=2,6 Hz, *J*<sub>2</sub>=3,9 Hz, pirol), 6,56 (1H, dd, *J*<sub>1</sub>=1,8 Hz, *J*<sub>2</sub>=3,9 Hz, pirol), 6,90-6,91 (1H, m, pirol), 7,86 (1H, t, *J*=5,7 Hz, -NH), 10,03 (1H, s, -NH). <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ = 14,19; 16,05; 19,94; 31,28; 38,33; 43,63; 107,54; 114,43; 128,69; 130,01; 144,87; 177,91. HRMS (m/z): [M+H]<sup>+</sup> hesaplanan C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>S: 253,1481 bulunan: 253,1482.

**İTK Çalışmaları ve R<sub>f</sub> Değerlerinin Saptanması:** Bütün sentez çalışmalarında reaksiyonların kontrolü İTK uygulamaları ile gerçekleştirilmiştir. Belli zaman aralıkları ile deney balonlarından alınan numuneler ve sentezler de kullanılan başlangıç maddelerinin etanoldeki çözeltileri adsorban olarak seçilen silikajel 60 F<sub>254</sub> kaplı, önceden uygun çözücü karışımları ile doyurulmuş alüminyum plaklara kılcal boru yardımıyla tatbik edilmiş ve hareketli fazlar içerisinde sürüklenmesi sağlanmıştır. Lekelerin saptanmasında, ultraviyole ışığı (254 nm ve 366 nm) (CAMAG, 50/60 Hz, 14VA) kullanılmıştır. İTK sonucuna göre reaksiyonlara son verilmiş ya da de-

vam edilmiştir. Bu çalışma kapsamındaki her bir sentezin kontrolü için uygun İTK hareketli fazları, farklı çözücü karışımları deneyerek bulunmuştur.

**<sup>1</sup>H NMR Spektrumlarının Alınması:** Çalışma kapsamındaki sonuç bileşiklerin <sup>1</sup>H NMR spektrumları, 5 mg sentez ürününün 0,5 ml dötöryö dimetilsülfoksid içindeki çözeltisi hazırlanarak NMR Spektroskopisi (300 MHz) kullanılarak sonuçlar alınmıştır.

**<sup>13</sup>C NMR Spektrumlarının Alınması:** Çalışma kapsamındaki sonuç ürünlerinin <sup>13</sup>C NMR spektrumları, 5 mg sentez ürününün 0,5 ml dötöryö dimetilsülfoksid içindeki çözeltisinin spektrumu, NMR Spektroskopisi (75 MHz) kullanılarak sonuçlar alınmıştır.

**Monoaminoksidaz İnhibitör Aktivite Çalışmaları:** *In vitro* MAO inhibisyon testi, mevcut florometrik yöntem kullanılarak yapılmış ve elde edilen bileşiklerin yüzdeleri ve IC<sub>50</sub> değerleri, araştırma grubumuz tarafından daha önce tarif edildiği gibi hesaplanmıştır. Sentezlenen bileşiklerin MAO izoenzimleri üzerindeki inhibisyon gücü, araştırma grubumuz tarafından daha önce açıklanan *in vitro* florometrik yöntem kullanılarak değerlendirilmiştir.<sup>11-17</sup>

**Moleküler Modelleme Çalışmaları:** Bileşik **2b** ve **2c**'nin insan MAO-A enzim aktif bölgesine bağlanma modlarını keşfetmek için *in silico* prosedürüne dayalı bir yapı uygulanmıştır. Harmin ile kristalize edilen hMAO-A'nın (PDB ID: 2Z5X)<sup>18</sup> kristal yapıları Protein Veri Bankası sunucusundan (www.pdb.org) alınmıştır. Yerleştirme prosedürü, araştırma topluluğumuz tarafından daha önce yayınlanan makaleler de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir.<sup>11-17</sup> Sentezlenen bileşiklerden aktivite potansiyeli en yüksek olan bileşik **2b** ve **2c**'nin MAO-A enzim aktif bölgesi ile olası etkileşimlerini belirlemek için MAO-A enzimine ait (PDB ID: 2Z5X)<sup>18</sup> kristal yapısı ile doking çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Çalışmada Glide 7,1<sup>19</sup> programı ile gerçekleştirilen doking tekniği uygulanmış ve GlideScore SP

ile en olası pozlar üretilmiştir.

**Absorbsiyon, Dağılım, Metabolizma ve Emilim (ADME) Parametrelerinin Tahmini ve Kan Beyin Bariyeri (KBB) Geçirgenliği:** Sentezlenen **2a-2e** bileşiklerinin farmakokinetik profillerini tahmin etmek için QikProp 4,8 yazılımı<sup>20</sup> kullanılmış ve bu bileşiklere ait fizikokimyasal parametreler *in silico* olarak hesaplanmıştır.

**İstatiksel Analiz:** Araştırma verileri Microsoft Office Excel 2013 paket programı sigmoid doz-cevab modeli kullanılarak nonlinear regresyon ile analiz edilmiştir. Ölçümsel değişkenler ortalama ± standart sapma ile kategorik değişkenler ise sayı ve yüzde ile ifade edilmiştir.

## BULGULAR

Sentezlenen bileşiklerin kimyasal yapısında ortak olarak bulunan pirol halkasının birinci konumunda bulunan metil grubuna ait protonlar 2,23-2,24 ppm arasında singlet olarak gözlenmiştir. Pirol halkasına ait protonlar ise 6,04 ppm, 6,56-6,58 ppm ve 6,90-6,93 ppm değerlerinde 1 protona karşılık gelecek integral değerine sahip şekilde gözlenmiştir. Ayrıca **2b** bileşiği için D<sub>2</sub>O çözücüsü ilave edilerek ikinci bir çekim yapılmıştır (Spektrum 21). 7,86 ve 10,25 pikleri kaybolmuştur. Bu durum bu piklerin hetero atom pikleri olduğunu kanıtlamaktadır.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumları incelendiğinde tiyosemikarbazon grubunda bulunan C=S grubuna ait karbonun 176,82-178,18 ppm arasında geldiği gözlenmiştir.

*In vitro* aktivite çalışmaları kapsamında sentezlenen bileşikler 10<sup>-3</sup> ve 10<sup>-4</sup> M konsantrasyonlarda hazırlanmış ve MAO-A ve MAO-B inhibisyon değerleri hesaplanmıştır. Selegilin, Klorjilin ve Moklobemid, referans bileşikler olarak kullanılmıştır<sup>11-17</sup>. Enzim inhibisyon sonuçları sonuçları Tablo 1'de sunulmuştur.

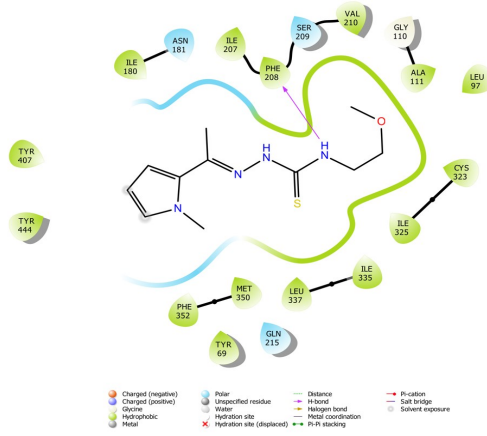
**Tablo 1.** 2a-2e kodlu bileşiklere ait % MAO-A ve %MAO-B inhibisyon değerleri.

Bileşik	MAO-A % İnhibisyonu		MAO-B % İnhibisyonu	
	10 <sup>-3</sup> M	10 <sup>-4</sup> M	10 <sup>-3</sup> M	10 <sup>-4</sup> M
<b>2a</b>	50,50 ± 1,89	23,63 ± 1,02	52,70 ± 2,49	14,86 ± 0,91
<b>2b</b>	77,60 ± 1,58	59,86 ± 1,01	50,98 ± 2,09	43,09 ± 1,68
<b>2c</b>	86,44 ± 1,28	70,88 ± 1,33	42,53 ± 0,98	34,08 ± 1,22
<b>2d</b>	55,27 ± 1,38	26,74 ± 0,99	47,60 ± 1,88	25,07 ± 0,66
<b>2e</b>	62,86 ± 1,31	30,06 ± 1,44	40,84 ± 1,19	30,70 ± 2,09
<b>Moklobemid</b>	94,12 ± 2,76	82,14 ± 2,69	-	-
<b>Klorjilin</b>	96,94 ± 1,25	91,31 ± 1,30	-	-
<b>Selegilin</b>	-	-	98,26 ± 1,05	96,11 ± 1,17

Yapılan doking çalışmaları sonucunda bileşik 2b ve 2c'nin, aktif bölgeyi kapsayan amino asit kalıntılarını ile yeterince etkileştiği ve flavin adenin dinükleotid kofaktörünün (FAD) çok yakınında bulunduğu görülmüştür.

Yapılan moleküler doking çalışmaları ile bileşik 2b ve 2c'nin enzim aktif bölgesindeki bağlanma etkileşimleri incelenmiştir. Her iki bileşiğin de enzim aktif bölgesindeki FAD molekülüne yakın bir pozisyona yerleştiği görülmüştür. Her iki bileşiğin de yaptığı bağlar gösterilmiştir. Bileşiklerin enzim aktif bölgesine tam yerleştiği ve güçlü bağlar sergiledikleri görülmektedir.

2b bileşiğinin MAO-A enzimi ile olan doking çalışması sonucunda elde edilen iki boyutlu görüntüleri (Şekil 2) incelendiğinde bu bileşiğin enzim aktif bölgesine uygun bir şekilde yerleştiği görülmektedir. Yapıdaki 2-metoksietil grubunun bağlı olduğu amin

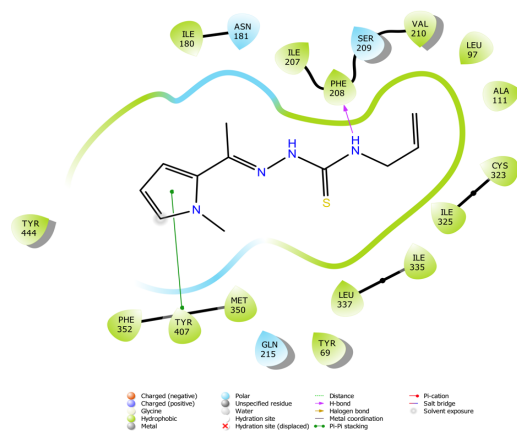


**Şekil 2.** Bileşik 2b'nin hMAO-A enzim aktif bölgesi (PDB ID: 2Z5X) ile etkileşiminin iki boyutlu görünümü.

grubu ile Phe208 aminoasidinin karbonil grubu arasında bir hidrojen bağı olduğu görülmüştür.

2c bileşiğinin MAO-A enzimi ile olan doking çalışması sonucunda elde edilen iki boyutlu görüntüleri (Şekil 3) incelendiğinde bu bileşiğin enzim aktif bölgesine uygun bir şekilde yerleştiği görülmektedir. Yapıdaki allil grubunun bağlı olduğu amin grubu ile Phe208 aminoasidinin karbonil grubu arasında bir hidrojen bağı oluştururken, pirol halkası ise Try 407'nin fenil grubu ile  $\pi$ - $\pi$  etkileşimi kurmaktadır.

Kimyasal bileşiklerin biyolojik etkileri ile fizikokimyasal özellikleri yakından ilişkilidir. Bu çalışmada sentezi gerçekleştirilen ve monoamin oksidaz inhibitör etkileri incelenen bileşiklerin çeşitli fizikokimyasal parametre değerleri Schöndinger Moleküler Simülasyon Veritabanı kullanılarak hesaplanmıştır. Bileşiğe ait tahmini ADME parametreleri Tablo 2'de sunulmuştur.



**Şekil 3.** Bileşik 2c'nin hMAO-A enzim aktif bölgesi (PDB ID: 2Z5X) ile etkileşiminin iki boyutlu görünümü.

**Tablo 2.** Elde edilen bileşiklerin (2a-2e) fizikokimyasal parametreleri.

Fizikokimyasal Parametreler	2a	2b	2c	2d	2e	Standart Aralık
MW	224,323	254,349	236,334	238,350	252,377	130-725
Dipol	7,575	7,721	7,688	7,609	7,406	1,0-12,5
MV	825,454	893,090	866,645	869,412	927,086	500,0-2000,0
PSA	43,570	52,450	43,279	42,453	43,601	7,0-200,0
QPlogPo/w	3,038	2,344	3,309	3,383	3,463	8,0-35,0
QPlogS	-3,672	-3,355	-3,878	-4,029	-4,074	-6,5-0,5
QPlogBB	0,034	-0,096	-0,055	0,165	-0,035	-3,0-1,2
CNS	1	0	0	1	0	-2(inaktif)-+2(aktif)
%HOA	100	100	100	100	100	<25% zayıf, >80% yüksek
LKI	0	0	0	0	0	Max.4
JKI	0	0	0	0	0	Max.3

**MA:** Molekül ağırlığı; **DBS:** Dönebilir bağ sayısı (önerilen değer:0-15); **Dipol:** Molekülün hesaplanan dipol momenti (önerilen değer:1-12.5); **MV:** Moleküler hacim (önerilen değer:500-2000 Å); **QPlogPo/w:** Öngörülen oktanol/su partiyon kat sayısı (önerilen değer:-2-6.5); **QPlogBB:** Öngörülen beyin/kan partiyon kat sayısı (önerilen değer:-3-1.2); **LKI:** Lipinski'nin beş kural ihlali sayısı Bu kuralları sağlayan bileşikler ilaç adayları olabilir. (Buradaki "beş", 5'in katları olan sınırları belirtir) (maksimum 4); **JKI:** Jorgensen'in üç kural ihlali sayısı. Bu kuralları sağlayan bileşikler ilaç adaylarıdır: QPlogS > -5.7, QP PCaco > 22 nm/s, # Primary Metabolites < 7.; **CNS:** -2 (aktif olmayan) ile +2 (aktif) ölçeklerde tahmin edilen merkezi sinir sistemi aktivitesi (önerilen değer:-2 inaktif, 2 aktif).

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışma kapsamında yeni pirol türevi bileşikler sentezlenmiş, bileşiklerin yapı tayinler  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  ve HRMS spektroskopik analizleri yapılarak aydınlatılmış ve bu bileşiklerin *in vitro* MAO inhibitör aktiviteleri incelenmiştir. Ayrıca, moleküler doking çalışmaları ve ADME hesaplamaları da yapılmıştır.

Sentez çalışmaları sonlandırılırken farklı bir yöntem uygulanmıştır. *N*-Sikloheksil-2-[4-[(4-klorofenil)tiyo]benziliden]hidrazin-1-karbotiyoamid bileşiği elde edilirken sentez aşamasında deney ortamı soğutulmuş ve çöken ürün süzülmüştür. Bu şekilde elde edilen maddelerin verimleri %68-70 arası olduğu bildirilmiştir. Bu çalışma kapsamında kullanılan sentez yönteminde ise soğutulan reaksiyon içeriği buzlu suya dökülmüş ve çöken ürün süzülmüştür. Bu şekilde elde edilen türevlerde verim oranı %75-85 arası olmuştur.<sup>21</sup> Mathew ve ark.<sup>22</sup> tarafından yapılan bir çalışmada yeni tiyosemikarbazon türevleri sentezlenmiş ve MAO inhibitör aktiviteleri incelenmiştir. Sentez çalışmaları etanol içinde gerçekleştirilmiş fakat sonlandırma basamağında buzlu suya dökülmüştür ve bu yöntem ile verim artmıştır. Bizim elde ettiğimiz ürünlerin verimleri ile benzer bir verim elde edilmiştir.

Biyolojik aktivite sonuçları için Tablo 1 incelendiğinde, sentezlenen bileşiklerin bileşik 2b ve 2c'nin  $10^{-3}$  M konsantrasyonda dikkate değer bir inhibisyon gücü gösterdiği anlaşılmıştır; bununla birlikte bu bileşiklerden hiçbiri MAO-B enzimine karşı  $10^{-4}$  M konsantrasyonda önemli bir inhibitör aktivite sergilememiştir. Elde edilen tüm türevlerin MAO-A enzimi üzerinde MAO-B enzime göre daha yüksek inhibisyon oranlarına sahip olduğu görülmüştür. Tüm bileşikler,  $10^{-3}$  M konsantrasyonda %50'den fazla inhibitör aktivite sergilerken; sadece 2b ve 2c kodlu bileşiklerin, MAO-A enzimi için  $10^{-4}$  M konsantrasyonda %50'den fazla inhibitör aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Bu bileşikler  $10^{-4}$  M konsantrasyonda MAO-A enzime karşı sırasıyla % 59,86 ve %70,88 inhibisyon yüzdeleri ile aktivite göstermişlerdir. Bileşiklerin süstitüentlerine bakıldığında sırasıyla 2-metoksietil ve allil grubu içerdikleri görülmektedir. Bu bileşiklerin enzim aktif bölgesi ile etkileşimlerini incelemek amacıyla *in silico* moleküler doking çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bileşikler sırası ile etil, 2-metoksietil, allil, izopropil ve bütil süstitüentleri içermektedir. Aktivite sonuçlarına bakıldığında tiyosemikarbazon kalıntısına 3 veya 4 zincir uzunlukta süstitüentlerin girmesi aktiviteyi arttırmaktadır. 2 zincir uzunlukta etil kalıntısı içeren bileşik (2a) en düşük aktivite sergileyen bileşik olmuştur. 3 zincir uzunlukta kalıntı içeren türevler karşılaştırıldığında (2c ve 2d) dallanma aktiviteyi negatif yönde etkilemiştir. Bu durumda 3 zincir uzunlukta süstitüentler de düz zincir halinde bulu-

nan yapıların MAO inhibisyonunu arttırdığı düşünülebilir. 4 zincir uzunlukta kalıntılar taşıyan türevler arasında yapısında hetero atom taşıyan türevin (2b) aktiviteyi arttırdığı görülmüştür. Fakat yine bu artış 3 zincir uzunlukta kalıntı (2c) taşıyan türev kadar değildir. Bu sonuçlardan yola çıkarak tiyosemikarbazon kısmının 3 karbon üyeli düz zincirli süstitüent içerikli olması aktiviteyi artırıcı yönde etki ettiğini söylemek mümkündür.

Literatür verileri incelendiğinde pirol türevlerinin sıklıkla MAO inhibitörü olarak kullanıldığı görülmektedir. 2018 yılında Altıntop ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada yeni pirol türevleri sentezlenmiş *in vitro* MAO inhibitör aktiviteleri incelenmiştir. Sentezlenen bileşikler arasında 3-(5-(4-Klorofenil) furan-2-il)-1-(1-metil-1*H*-pirol-2-il) propan-1-on bileşiği MAO-A enzimi  $10^{-4}$  M konsantrasyonda % 90,99 oranında inhibe etmiştir. Bileşik 2c'ye kıyasla (%70,88) daha yüksek bir aktivite profili sergilemiştir. Bu fark yapıda bulunan furan halkasının aktiviteye katkısı olarak yorumlanmış. Yapılan moleküler modelleme çalışmaları ile de furan halkasının enzim aktif bölgesi ile etkileştiği görülmüştür.<sup>23</sup> Pirol türevlerinin yanı sıra bileşiklerin yapısında bulunan tiyosemikarbazon yapısı da sıklıkla MAO inhibitörü olarak kullanılmaktadır. Çavuşoğlu ve ark.<sup>21</sup> tarafından yapılan bir çalışmada yeni tiyosemikarbazon türevleri sentezlenmiş ve MAO inhibitör aktiviteleri incelenmiştir. Elde edilen türevlerden *N*-Sikloheksil-2-{4-[(4-klorofenil)tiyo]benziliden}hidrazin-1-karbotiyoamid bileşiği  $10^{-4}$  M konsantrasyonda MAO-A enzimi %70,07 oranında inhibe etmiştir. Çavuşoğlu ve ark. ile kıyaslandığında bileşik 2c benzer oranda inhibisyon potansiyeline sahiptir.

Bir bileşiğin ilaç adayı olarak değerlendirilebilmesi için yüksek farmakolojik aktivite ve düşük toksisite profilinin yanı sıra ideal bir farmakokinetik sergilemesi önemlidir. Son yıllarda bilgisayar destekli ilaç geliştirme çalışmaları ilaç adaylarının ADME profillerinin tahminini son derece kolaylaştırmıştır. Lipinskinin 5 ve Jorgensenin 3 kuralları ilaç adayı bileşikler için ideal farmakokinetik profilinin tahmininde kullanılan önemli veriler sunmaktadır. Bu kurallara ait parametreler ve bu parametrelerden kaynaklı ihlaller bilgisayar programları tarafından hesaplanmakta ve bileşiklerin ideal bir farmakokinetik profile sahip olup olmadığı belirlenmektedir. Bu çalışma kapsamında elde edilen bütün bileşiklerin belirlenen sınırlar içerisinde olduğu görülmektedir. Bileşiklerin fizikokimyasal özellikleri daha önce yapılan çalışmalar ile karşılaştırıldığında, Çavuşoğlu ve ark.<sup>21</sup> tarafından elde edilen türeve göre bileşik 2c'nin KBB'yi geçebilme potansiyelinin daha fazla olduğu görülmektedir. Bu da elde edilen bileşiğin önemini göstermektedir. KBB'yi geçebilme potansiyeli -2 ile 2 arası bir değerde olmalıdır. Bu değer bileşik 2c için 0 iken; diğer bileşik için 1'dir. Log P

değerleri incelenirken öngörülen değer 2-6,5 arası olması gerektiği bilinmektedir. Bileşik 2c için bu değer 3,309 iken Çavuşoğlu ve ark.<sup>22</sup> elde ettiği türevde 6'dır. 6 değeri sınıra çok yakın bir değerdir bileşik 2c'de bu değer çok daha iyi bir değer konumuna getirilmiştir.

Mathew ve ark.<sup>22</sup> tarafından yapılan bir çalışmada yeni tiyosemikarbazon türevleri sentezlenmiş ve MAO inhibitör aktiviteleri incelenmiştir. Bileşiklerin kan beyin bariyerini geçme olasılıkları da bu çalışma kapsamında elde edilen bileşiklere benzerdir. Mathew ve ark. tarafından elde edilen (2E)-2-{{4-(Dimetilamino) fenil}metiliden}hidrazin-1-karbotiyooamit bileşiği MAO-A enzimi üzerinde IC<sub>50</sub>=1.82±0.14 µM değeri ile aktivite göstererek elde edilen türevlerden daha yüksek aktivite potansiyeli sergilemiştir. Yapılar incelendiğinde (2E)-2-{{4-(Dimetilamino) fenil}metiliden}hidrazin-1-karbotiyooamit bileşiğinin tiyosemikarbazon ucunun serbest olduğu görülmektedir. Bu durumda mevcut çalışmada hazırlanan bileşiklerin pirol halkası ile kenetlenme gerçekleştirdiğimiz kısmın serbest bırakılmasının aktiviteye pozitif yönde katkı sağladığı görülmüştür.

Qazi ve ark.<sup>24</sup> tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada semikarbazon, tiyosemikarbazon, tiyazol ve oksazol analogları sentezlenerek MAO inhibitör etkinlikleri incelenmiştir. Elde edilen türevlerden semikarbazon ve tiyosemikarbazon türevleri karşılaştırıldığında semikarbazon türevlerinin daha aktif olduğu görülmüştür. Bu çalışmadan elde edilen bilgiler ışığında elde ettiğimiz türevlerin semikarbazonları hazırladığında daha etkili türevlere ulaşılabileceği düşünülmektedir.

Osmaniye ve ark.<sup>25</sup> tarafından yılında gerçekleştirilen bir çalışmada yeni tiyosemikarbazon türevleri sentezlenmiş ve MAO inhibitör aktiviteleri incelenmiştir. En aktif türevler 2-metoksietil sübstitüenti taşıyan türlerdir. Bizim çalışmamızda ise 2-metoksietil sübstitüenti taşıyan türev (2b) aktif olmasına rağmen bu sübstitüent yerine allil (2c) kullanıldığında aktivitenin arttığı görülmüştür. Osmaniye ve ark. tarafından yapılan çalışmada heterosiklik halka olarak benzo-furan-benzotiyofen kullanılmış ve selektif MAO-B inhibisyonu tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda ise bu çalışmadan farklı olarak 5 üyeli pirol halkası kullanılmıştır. MAO-A enzime karşı daha yüksek bir inhibisyon değeri elde edilmiştir. İki çalışma karşılaştırıldığında daha küçük heterosiklik yapıların kullanılmasının MAO-A inhibisyonunu arttırdığı söylenebilir.

Bu çalışma kapsamında yukarıdaki çalışmalardan farklı olarak her iki yapı da (pirol ve tiyosemikarbazon) aynı türevde kullanılarak hibrit yeni türevler elde edilmiştir. Bu şekilde aktivitesi bilinen her iki yapıyı da aynı molekülde buluşturmanın aktiviteye pozitif yönde bir katkı sağlayacağı düşünülmüştür.

Aktivite sonuçları Çavuşoğlu ve ark.<sup>21</sup> tarafından elde edilen maddeler ile benzerdir. Fakat bu çalışma kapsamında elde edilen bileşiklerin fizikokimyasal parametrelerinin daha iyi olduğu görülmektedir. Bu farkın Çavuşoğlu ve ark.<sup>21</sup> tarafından kullanılan sekonder amine bağlı bir benzen halkası yerine aktivitesi bilinen bir pirol halkasının kullanılmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Böylece daha küçük yapı bir molekül elde edilmiş ve enzim aktif bölgesine net bir şekilde yerleşmesi sağlanmıştır.

Sonuç olarak elde edilen bulgular sonucunda, ileride bu türevler üzerinde gerçekleştirilecek modifikasyon çalışmaları ile sentezlenecek yeni türevler ile MAO-A inhibisyon potansiyeli yüksek yeni bileşiklerin elde edilmesi planlanmaktadır. Böylece daha etkili seçici MAO-A inhibitörünün sentezi gerçekleştirilecek ve depresyon olguları için aday bileşikler oluşturulacaktır.

**Etik Komite Onayı:** Bu çalışma Etik Kurul İzni Gerektiren Araştırmalar dışındadır. Etik kurul onayı gerekmemektedir. Çalışmada pirol türevi bileşiklerin sentezlenmiş ve bileşiklerin in vitro MAO enzim inhibitör etkinlikleri incelenmiştir.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

**Yazar Katkıları:** Fikir – DO; Denetleme-YO; Malzemeler – YO; Veri toplanması ve/veya işlemesi- DO, YO; Analiz ve/veya yorum –DO, YO; Yazıyı yazan – DO.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız.

**Teşekkür:** Bu çalışmanın yazarları olarak Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Doping ve Narkotik Maddeler Laboratuvarına destek ve katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

- Hampel H, Berger C, Buch K, Möller HJ. A review of the reversible MAO A inhibitor moclobemide in geriatric patients. *Human Psychopharmacology Clin Exp.* 1998;13(1):43-51. doi:10.1002/(SICI)1099-1077(199801)13:1<43::AID-HUP953>3.0.CO;2-Z
- El-Halaby LO, El-Husseiny WM, El-Messery SM, Goda FE. Biphenylpiperazine based MAO inhibitors: synthesis, biological evaluation, reversibility and molecular modeling studies. *Bioorg Chem.* 2021;105216. doi:10.1016/j.bioorg.2021.105216
- Shulman KI, Herrmann N, Walker SE. Current place of monoamine oxidase inhibitors in the treatment of depression. *CNS Drugs.* 2013;27(10):789-797. doi:10.1007/s40263-013-0097-3
- Bonnet U. Moclobemide: therapeutic use and clinical studies. *CNS Drug Rev.* 2003;9(1):97-140. doi:10.1111/j.1527-3458.2003.tb00245.x
- Li W, Guo B, Tao K, ve ark. Inhibition of SIRT1

- in hippocampal CA1 ameliorates PTSD-like behaviors in mice by protections of neuronal plasticity and serotonin homeostasis via NHLH2/MAO-A pathway. *Biochem Biophys Res Commun.* 2019;518(2):344-350. doi:10.1016/j.bbrc.2019.08.060
6. Yamali C, Engin FS, Bilginer S, ve ark. Phenothiazine-based chalcones as potential dual-target inhibitors toward cholinesterases (AChE, BuChE) and monoamine oxidases (MAO-A, MAO-B). *J Heterocycl Chem.* 2021;58(1):161-171. doi:10.1002/jhet.4156
  7. Takao K, Sakatsume T, Kamauchi H, Sugita Y. Syntheses and evaluation of 2-or 3-(N-cyclicamino) chromone derivatives as monoamine oxidase inhibitors. *Chem Pharm Bull.* 2020;68(11):1082-1089. doi:10.1248/cpb.c20-00579
  8. Salgin-Goksen U, Telli G, Erikci A, ve ark. New 2-pyrazoline and hydrazone derivatives as potent and selective monoamine oxidase A inhibitors. *J Med Chem.* 2021;64(4):1989-2009. doi:10.1021/acs.jmedchem.0c01504
  9. Aggarwal NN, Dkhar Gathpoh BF, Kumar MV, Ghetia S, Revanasiddappa B. Synthesis, in silico analysis and antidepressant activity of pyrazoline analogs. *Thai J Pharm Sci.* 2021;45(1). doi:10.3329/dujps.v19i2.50634
  10. Delogu GL, Kumar A, Gatto G, ve ark. Synthesis and in vitro study of nitro-and methoxy-2-phenylbenzofurans as human monoamine oxidase inhibitors. *Bioorg Chem.* 2021;107:104616. doi:10.1016/j.bioorg.2020.104616
  11. Sağlık BN, Çavuşoğlu BK, Osmaniye D, ve ark. In vitro and in silico evaluation of new thiazole compounds as monoamine oxidase inhibitors. *Bioorg Chem.* 2019;85:97-108. doi:10.3390/molecules25184342
  12. Can ÖD, Osmaniye D, Özkay ÜD, ve ark. MAO enzymes inhibitory activity of new benzimidazole derivatives including hydrazone and propargyl side chains. *Eur J Med Chem.* 2017;131:92-106. doi:10.1016/j.ejmech.2017.03.009
  13. Can NÖ, Osmaniye D, Levent S, ve ark. Design, synthesis and biological assessment of new thiazolylhydrazine derivatives as selective and reversible hMAO-A inhibitors. *Eur J Med Chem.* 2018;144:68-81. doi:10.1016/j.ejmech.2017.12.013
  14. Ilgın S, Osmaniye D, Levent S, ve ark. Design and synthesis of new benzothiazole compounds as selective hMAO-B inhibitors. *Molecules.* 2017;22(12):2187. doi:10.3390/molecules22122187
  15. Can NÖ, Osmaniye D, Levent S, ve ark. Synthesis of new hydrazone derivatives for MAO enzymes inhibitory activity. *Molecules.* 2017;22(8):1381. doi:10.3390/molecules22081381
  16. Tok F, Uğraş Z, Sağlık BN, Özkay Y, Kaplancıklı ZA, Koçyiğit-Kaymakçioğlu B. Novel 2, 5-disubstituted-1, 3, 4-oxadiazole derivatives as MAO-B inhibitors: synthesis, biological evaluation and molecular modeling studies. *Bioorg Chem.* 2021;112:104917. doi:10.1016/j.bioorg.2021.104917
  17. Tok F, Sağlık BN, Özkay Y, Ilgın S, Kaplancıklı ZA, Koçyiğit-Kaymakçioğlu B. Synthesis of new hydrazone derivatives and evaluation of their monoamine oxidase inhibitory activity. *Bioorg Chem.* 2021;105038. doi:10.1016/j.bioorg.2021.105038
  18. Son S-Y, Ma J, Kondou Y, Yoshimura M, Yamashita E, Tsukihara T. Structure of human monoamine oxidase A at 2.2-Å resolution: the control of opening the entry for substrates/inhibitors. *PNAS.* 2008;105(15):5739-44. doi:10.1073/pnas.0710626105
  19. Schrödinger Release 2020-1: Glide; Schrödinger, LLC: New York, NY, USA; 2020.
  20. Schrödinger Release 2020-1: QikProp; Schrödinger, LLC: New York, NY, USA; 2020.
  21. Çavuşoğlu BK, Sağlık BN, Osmaniye D, ve ark. Synthesis and biological evaluation of new thiosemicarbazone derivative schiff bases as monoamine oxidase inhibitory agents. *Molecules.* 2018;23(1):60. doi:10.3390/molecules23010060
  22. Mathew B, Baek SC, Lee JP, ve ark. Selected aryl thiosemicarbazones as a new class of multi-targeted monoamine oxidase inhibitors. *Med Chem Comm.* 2018;9(11):1871-81. doi:10.1039/c8md00399h
  23. Altıntop MD, Sever B, Osmaniye D, Sağlık BN, Özdemir A. Design, synthesis, in vitro and in silico evaluation of new pyrrole derivatives as monoamine oxidase inhibitors. *Arch Pharm.* 2018;351(7):1800082. doi:10.1002/ardp.201800082
  24. Qazi SU, Naz A, Hameed A, ve ark. Semicarbazones, thiosemicarbazone, thiazole and oxazole analogues as monoamine oxidase inhibitors: Synthesis, characterization, biological evaluation, molecular docking, and kinetic studies. *Bioorg Chem.* 2021;115:105209. doi:10.1016/j.bioorg.2021.105209
  25. Osmaniye D, Kurban B, Sağlık BN, ve ark. Novel thiosemicarbazone derivatives: In vitro and in silico evaluation as potential MAO-B inhibitors. *Molecules.* 2021;26(21):6640. doi:10.3390/molecules26216640