

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Usnik Asit Türevlerinin ve Cu(II) Kompleksinin Sentezi,
Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması ve Teorik
Hesaplamalar**

Ghadir JUMAH

Kimya Anabilim Dalı

Aralık, 2024

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZ ONAYI

Usnik Asit Türevlerinin ve Cu(II) Kompleksinin Sentezi,
Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması ve Teorik
Hesaplamalar

Ghadir JUMAH

Kimya Anabilim Dalı

Bu Yüksek Lisans Tezi 25/12/2024 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından
Değerlendirilmiş ve Oy Birliği / Oy Çekliği ile Kabul Edilmiştir.

Jüri : Prof. Dr. Emel YILDIZ (Danışman)
: Doç. Dr. Olcay KIROĞLU
: Doç. Dr. Zeynep Ş. TURHAN

Bu Tez Fen Bilimleri Enstitüsü, kimya Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.

Tez No:

Prof. Dr. Sadık DİNÇER
Enstitü Müdürü

Bu çalışma Ç.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: FYL-2022-15533

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZ	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
ÇİZELGELER DİZİNİ	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	V
SİMGELER VE KISALTMALAR	VIII
1. GİRİŞ	1
1.1. Demans	1
1.2. Alzheimer Hastalığı	1
1.3. Türkiye’de Alzheimer	1
1.4. Hastlığının Temel Nedenleri	2
1.4.1. Alzheimer Hastalığının Genetiği	2
1.4.2. Anormal Proteinlerin Birikimi	2
1.4.3. Ağır Metallerin Etkisi	4
1.5. Alzheimer Hastalığının Tedavi Yaklaşımları	5
1.5.1. Asetilkolin	6
1.5.2. Kolinesteraz Enzimleri	7
1.5.3. Kolinesteraz Enzim İnhibitörü İlaçlar	8
1.6. Usnik Asit	11
1.6.1. Usnik Asidin ve Türevleri Tıpta Kullanımı	11
1.7. Hesaplamalı Kimya	12
1.8. Moleküler Kenetlenme	12
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	15
3. MATERYAL VE METOD	25
3.1. Materyal	25
3.1.1. Kullanılan Kimyasallar	25
3.1.2. Kullanılan Cihaz ve Programlar	25
3.2. Metod	26
3.2.1. Ligantların Sentezi	26
3.2.2. Kompleksin Sentezi	28
3.2.3. Hesaplamalı Kimya Metodları	29

3.2.4. Antioksidan Aktivitelerin Tayini	29
3.2.5. Antikolinesteraz Aktivite Tayin Yöntemi	30
3.2.6. Farmakoloji Deneyleri	31
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	35
4.1. Sentezlenen Ligantların Deney Verileri.....	35
4.2. Elemental Analiz, ICP ve LC-MS Bulgularının Değerlendirilmesi.....	36
4.3. 4 ve 4-Cu'ın Açık Yapıları	37
4.4. Hesaplamalı Kimya Çalışmaları	37
4.5. Moleküler Kenetlenme Çalışmaları	39
4.5.1. 1.....	39
4.5.2. 1-Cu.....	41
4.5.3. 4.....	43
4.5.4. 4-Cu.....	45
4.6. Ligantların Antioksidan Aktivitelerin Değerlendirilmesi	47
4.7. Ligantların Antikolinesteraz Aktivitelerinin Değerlendirilmesi	48
4.8. Farmakoloji Çalışmaları.....	49
4.8.1. Davranış Testleri.....	49
4.9. Deney Hayvan Gruplarının Histopatolojik Bulguları	51
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	57
KAYNAKLAR	59
ÖZGEÇMİŞ	65

**Usnik Asit Türevlerinin ve Cu(II) Kompleksinin Sentezi,
Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması ve Teorik
Hesaplamalar**

Ghadir JUMAH

Danışman: Prof. Dr. Emel YILDIZ

Kimya Anabilim Dalı

ÖZ

Bu çalışmada, antioksidan özelliklere ve metal şelasyon bölgelerine sahip doğal bir bileşik olan 2,6-diasetil-7,9-dihidroksi-8,9b-dimetildibenzo[*b* , *d*]furan-1,3(2 *H* ,9b *H*)-dion, usnik asit (UA) öncü bir molekül olarak seçilmiştir. Kolinesteraz inhibitörleri ve metal şelatörleri olarak orijinal üç farklı UA türevleri ve 1-Cu kompleksi sentezlenmiştir. Bu türevler, kolinesterazı inhibe etmede kritik bir farmakofor olarak bilinen amin gruplarını içermektedir. Çalışma kapsamında, türevlerin antioksidan, antikolinesteraz ve metal şelasyon aktiviteleri değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, 1–3 türevlerinin üstün antioksidan aktiviteler sergilediğini göstermiştir. Süpürme kapasiteleri açısından Cu(II) için $A_{0.5}$ değeri 72.52 μ M, ABTS için IC_{50} değeri 118.67 μ M olarak ölçülmüştür. Bunun yanında, 1–3 türevleri kolinesteraz inhibisyonunda da etkili bulunmuş; asetilkolinesteraz (AChE) için en yüksek yüzdelik değer %32.63, bütirilkolinesteraz (BuChE) için ise %29.31 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlar, AChE ve BuChE ile yapılan kuantum kimyasal hesaplama ve moleküler kenetlenme çalışmalarıyla elde edilen sonuçlarla uyumluluk göstermiştir. Ayrıca, *In vivo* çalışmaları, Cu(II) uygulamasına bağlı Alzheimer oluşturulan deney hayvanlarında, yeni sentezlenen ve Cu(II) ile şelasyon yapabilen tert-bütıl(E)-(2-((1-(6-asetıl-7,9-dihidroksi-8,9b-dimetıl-1,3-diokso-3,9b-dihidrodibenzo[*b,d*]furan-2(1*H*)-ıliden)etil)amino)ethyl)karbamit, (1) molekülünün uygulanması sonucu, Alzheimer tablosunda gelişen öğrenme ve bellek fonksiyon bozukluklarının, depresyon davranışlarının düzeldiğini göstermiştir. Cu(II) kullanımıyla oluşturulan Alzheimer modelinin karaciğer ve böbrek üzerinde belirgin toksik etkiler gösterdiğini ancak, 1'in tedavi edici potansiyelinin bu etkileri hafiflettiğini ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: Alzheimer, Ağır Metal, AChE, Swiss Albino, Moleküler Kenetlenme.

**Synthesis of Usnic Acid Derivatives and Cu(II) Complex,
Investigation of Their Biological Activities, and Theoretical
Calculations**

Ghadir JUMAH

Advisor: Prof. Dr. Emel YILDIZ

Department of Chemistry

ABSTRACT

In this study, 2,6-diacetyl-7,9-dihydroxy-8,9b-dimethyldibenzo[b,d]furan-1,3(2H,9bH)-dione, known as usnic acid (UA), a natural compound with antioxidant properties and metal chelation regions, was selected as a precursor molecule. Three original UA derivatives and one Cu(II) complex were synthesized as cholinesterase inhibitors and metal chelators. These derivatives contain amino groups, which are known as critical pharmacophores for cholinesterase inhibition. Within the scope of the study, the antioxidant, anticholinesterase, and metal chelation activities of the derivatives were evaluated. The obtained results demonstrated that derivatives 1–3 exhibit superior antioxidant activities. In terms of scavenging capacity, the $A_{0.5}$ value for Cu(II) was measured as 72.52 μM , and the IC_{50} value for ABTS was 118.67 μM . Furthermore, derivatives 1–3 were found to be effective in cholinesterase inhibition, with the highest percentage values calculated as 32.63% for acetylcholinesterase (AChE) and 29.31% for butyrylcholinesterase (BuChE). These results were consistent with findings from quantum chemical calculations and molecular docking studies conducted with AChE and BuChE. Additionally, *in vivo* studies demonstrated that the newly synthesized tert-butyl(E)-(2-((1-(6-acetyl-7,9-dihydroxy-8,9b-dimethyl-1,3-dioxo-3,9b-dihydrodibenzo[b,d]furan-2(1H)-ylidene)ethyl)amino)ethyl)carbamate (1), which can chelate with Cu(II), alleviated learning and memory dysfunctions, as well as depressive behaviors, in experimental animals with Alzheimer's induced by Cu(II) administration. It was also shown that the Cu(II)-induced Alzheimer model exhibited significant toxic effects on the liver and kidneys, whereas the therapeutic potential of compound 1 mitigated these effects.

Keywords: Alzheimer, Heavy Metals, AChE, Swiss Albino, Molecular Docking.

TEŞEKKÜR

Bu Yüksek Lisans tez çalışması süresince çalışmamı tamamlamamda hiçbir zaman desteğini esirgemeyen, bilgi birikimini ve tecrübelerini benimle paylaşan danışman hocam Sayın Prof.Dr. Emel YILDIZ' a sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Çalışmalarım süresince benden yardımlarını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Burak AY, Uzm. Serkan KARACA, Seda KOZAY'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım süresince hesaplamalı kimya deneylerim konusunda destekleyen ve benden yardımlarını esirgemeyen Döç.Dr.Zeynep TURHAN ve Dr. Yasemin KEŞKEK KARABULUT'a teşekkür eder saygılarımı sunarım.

In vitro deneylerinde bana yardım eden ve yol gösteren Prof.Dr.Mehmet BOĞA'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım süresince farmakolojik deneylerim konusunda benden desteğini esirgemeyen Farmakoloji Bölümü'nden Sayın Doç.Dr.Olcay KIROĞLU 'a ve Arş.Gör.Dr.Havanur GÜLLÜ'e çok teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında patolojik deneyler ve yorumlamalar konusunda desteğini esirgemeyen Patoloji Bölümü'nden Sayın Doç.Dr.Emine BAĞIR KILIÇ'a teşekkür ederim.

Tüm Kimya Bölümü çalışanlarına başta Anorganik Kimya Anabilim dalı olmak üzere katkılarından ve desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Bugüne kadar eğitim hayatımda benden ilgi, sabır, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, hayatımın her anında yanımda olan annem, babam ve kardeşlerim ile yanımda olan biricik eşime sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. 26-50 bileşiklerinin AcPHF6 üzerindeki etkileri (Shi ve ark., 2020)	16
Çizelge 2.2. Aβ1–42 uygulamasına maruz kalan ve açık alan testine tabi tutulan farelerde UA enantiomerlerinin [(R)-(+)-UA ve (S)-(-)-UA] 25, 50 ve 100 mg/kg (p.o.) dozlarında veya donepezil (2 mg/kg, p.o.) ile 24 gün boyunca uygulanan tedavinin etkisi (Cazarin ve ark., 2021).....	17
Çizelge 4.1. Ligantların çözünürlük özellikleri.....	35
Çizelge 4.2. Ligantların fiziksel özellikleri.....	36
Çizelge 4.3. Sentezlenen bileşiklerin elementel ve ICP analizleri	36
Çizelge 4.4. Bileşiklerin LC-MS verileri	36
Çizelge 4.5. Bileşiklerin hesaplamalı kuantum kimya parametreleri.....	37
Çizelge 4.6. Ligant, kompleks, usnik asit ve takrinin enzimler ile bağlanma afiniteleri	46
Çizelge 4.7. Ligantların antioksidan aktiviteleri	48
Çizelge 4.8. Ligantların AChE ve BuChE inhibisyon aktiviteleri	49

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Tau proteini ve mikrotübül ilişkisi.....	3
Şekil 1.2. Amyloid plak yapılanması	3
Şekil 1.3. Beta-amiloid birikimi.....	4
Şekil 1.4. Asetilkolinin etki mekanizması.....	6
Şekil 1.5. ACh'nin AChE tarafından hidrolizlenmesi.....	7
Şekil 1.6. AChE ve BChE enzimlerinin 3D yapıları.....	7
Şekil 1.7. AChEI'ler için yapısal hipotez	8
Şekil 1.8. . (S)-donepezil'in yapısı.....	9
Şekil 1.9. Donepezil sentezi	9
Şekil 1.10. Rivastigmin'in 3D yapısı	9
Şekil 1.11. Rivastigmin'in sentezi	9
Şekil 1.12. Galantamin'in 3D yapısı	10
Şekil 1.13. Takrin'in 3D yapısı	10
Şekil 1.14. Memantin sentezi	10
Şekil 1.15. (R)-Usnik asidin yapısı	11
Şekil 2.1. Usnik asit türevlerinin sentezi (Yang ve ark., 2022).....	15
Şekil 2.2. Usnik asidin antioksidan aktivitesi. A. Fe(III)-Fe(II) indirgeme yeteneği testi, B. Cupric iyonlarının (Cu(II)) Cuprac testi ile indirgeme yeteneği, C. Fe(III)-TPTZ+ kompleks indirgeme yeteneği testi, D. Ferroz iyonlarının (Fe(II)) şelatleme yeteneği (Çakmak ve Gülçin, 2019)	17
Şekil 2.3. Usnik asidin asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BuChE) enzimleri üzerindeki etkisi. A ve C: AChE ve BChE için Usnik asidin IC ₅₀ değerleri. B ve D: AChE ve BChE için Lineweaver-Burk grafiğinden belirlenen Usnik asidin Ki değerleri (Çakmak ve Gülçin, 2019)	18
Şekil 2.4. Usnik asidin radikal temizleme aktivitesi. A. DPPH· temizleme testi, B. ABTS%+ temizleme testi, C. DMPD%+ temizleme testi. D. O ₂ %- temizleme testi (Çakmak ve Gülçin, 2019)	18
Şekil 2.5. Usnik asidindeki yapısal uyarılar (orto-metil fenoller – kırmızı; Michael akseptörü – yeşil) ve bir kinonmetilidler biyotransformasyonu önerisi (Piskaa v ark., 2018).....	19
Şekil 2.6. CACO-2 hücrelerine uygulanan U. longissima ekstraktları ve sekonder metaboliti ile elde edilen XTT analizindeki canlılık oranları (Ortalama ± Standart Sapma, n = 3) (Aslan E. ve ark., 2023).....	20
Şekil 2.7. Py DNA replikasyonunun hem enfeksiyondan sonra (şeritler 1-5) hem de transfeksiyondan sonra (şeritler 6-10) inhibisyonu. (Campanella ve ark., 2002).....	20
Şekil 2.8. 2,3,4,5,6,7,8 bileşiklerinin sentezi (Chollet-Krugler ve ark., 2008)	21

Şekil 2.9. Usnik asit türevinin hücrelerin üzerindeki etkisi (Pyrzszak-Felczykowska ve ark., 2019).....	22
Şekil 2.10. 2-7 bileşiklerinin sentezi (Borisov ve ark., 2022).....	22
Şekil 2.11. Alloksan ile indüklenmiş diyabetli farelerde bileşikler 2-7'nin kan glukoz seviyesi üzerindeki etkisi. * Alloksan grubuyla karşılaştırıldığında $p < 0.05$, # Metformin grubuyla karşılaştırıldığında $p < 0.05$	22
Şekil 2.12. Alloksan ile indüklenmiş diyabetli farelerde bileşikler 2-7'nin kan glukoz seviyesi üzerindeki etkisi. * Alloksan grubuyla karşılaştırıldığında $p < 0.05$, # Metformin grubuyla karşılaştırıldığında $p < 0.05$ (Borisov ve ark., 2022).....	22
Şekil 2.13. 3-11 bileşiklerinin sentezi (Luzina ve ark., 2015)	23
Şekil 2.14. Bileşik 2'nin AChE ile olan ligand-protein etkileşiminin 2D diyagramı (Hao ve ark., 2023).....	23
Şekil 3.1. 1'in sentezi ve olası yapısı	26
Şekil 3.2. 1'in 3 boyutlu yapısı	27
Şekil 3.3. 2'nin sentezi ve olası yapısı.....	27
Şekil 3.4. 3'ün sentezi ve olası yapısı.....	28
Şekil 3.5. 1-Cu'nin sentezi ve olası yapısı	28
Şekil 3.6. 1-Cu'nin 3 boyutlu yapısı	28
Şekil 4.1. 4 ve 4-Cu'nin 2D yapıları	37
Şekil 4.2. 1'in AChE ile etkileşimi.....	40
Şekil 4.4. 1'in BuChE ile etkileşimi	41
Şekil 4.5. 1'in beta ameloid ile etkileşimi	41
Şekil 4.6. 1-Cu'nin AChE ile etkileşimi	42
Şekil 4.7. 1-Cu'nin BuChE ile etkileşimi.....	42
Şekil 4.8. 1-Cu'nin beta Ameloid ile etkileşimi.....	43
Şekil 4.9. 4'ün AChE ile etkileşimi.....	43
Şekil 4.10. 4'ün BuChE ile etkileşimi	44
Şekil 4.11. 4'ün beta ameloid ile etkileşimi.....	44
Şekil 4.12. 4-Cu'nin AChE ile etkileşimi.....	45
Şekil 4.13. 4-Cu'nin BuChE ile etkileşimi.....	45
Şekil 4.14. 4-Cu'nin beta ameloid ile etkileşimi.....	46
Şekil 4.15. Kontrol, Sham, Bakır, Ligand 1, Bakır+ligand 1 ve çözücü gruplarının Modifiye Yükseltilmiş Artı Labirent Testinde G2 (sn) değerleri; + kontrole göre, * Bakır'a göre anlamlı ($p < 0.05$).	50
Şekil 4.16. Kontrol, Sham, Bakır, Ligand 1, Bakır+ligand 1 ve çözücü gruplarının Pasif Sakınma Test (sn) değerleri ($p < 0.05$).....	50

Şekil 4.17. Kontrol, Sham, Bakır, Ligand 1, Bakır+ Ligand 1 ve çözücü gruplarının Zorunlu Yüzme Testinde hareketsizlik zamanı (sn) değerleri; + kontrole göre, * Bakır'a göre anlamlı ($p<0.05$).	51
Şekil 4.18. Kontrol grubuna ait karaciğer (a,b) ve böbrek (c) örneklerinin histolojik görüntüleri	52
Şekil 4.19. Sham grubuna ait karaciğer (a) ve böbrek (b) örneklerinin histolojik görüntüleri	52
Şekil 4.20. Çözücü grubuna ait karaciğer (a) ve böbrek (b) örneklerinin histolojik görüntüleri	53
Şekil 4.21. Bakır grubunda karaciğerde portal inflamasyon ve tek hücre nekrozları izlenmekte	53
Şekil 4.22. Bakır grubunda böbreklerde glomerül yumaklarında hafif sellülerite artışı, kojesyon ve intertisyel inflamasyon izlenmektedir	54
Şekil 4.23. Ligand 1 grubunda karaciğer (a) ve böbreklerde (b) konjesyone görünüm	54
Şekil 4.24. Bakır-ligand 1 grubunda karaciğerde portal alanlarda minimal inflamasyon, parankimde tek hücre nekrozları, hepatositlerde nükleer irileşme, balonlaşma dejenerasyonu	54
Şekil 4.25. Bakır-ligand 1 grubunda böbreklerde glomerül yumaklarında irileşme, sellülerite artışı ve konjesyon, intertisyumda hafif derecede inflamasyon ve tübüllerde hyalen silendirler izlendi	55

SİMGELER VE KISALTMALAR

NICE	: National Institute for Health and Care Excellence
WHO	: World Health Organization
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
AH	: Alzheimer Hastalığı
AD	: Alzheimer's Disease
APP	: Amiloid Prekürsör Protein
PS2	: Presenilin 2
β -AP	: Beta-amyloid peptid
Ba	: Beta-amiloid
TASDR	: The Agency for Toxic Substances and Disease Registry
ACh	: Asetilkolin
AChE	: Asetilkolinesteraz
BChE	: Butirilkolinesteraz
AChEI	: Butirilkolinesteraz İnhibitörü
NMDA	: N-Methyl-D-Aspartate
TAC	: Total Antioksidan Kapasite
Rac1	: Ras-ilişkili C3 botulinum toksin substratı 1
RIP1	: Reseptör ile etkileşen serin/treonin proteini
RhoA	: Rhodopsin aile üyesi A
FDA	: ABD Gıda ve İlaç İdaresi
EMA	: Avrupa İlaç Ajansı
HOMO	: Highest Occupied Molecular Orbital
LUMO	: Lowest Unoccupied Molecular Molecular Orbital
S_0	: Temel durum
B3LYP	: Becke, 3-parameter, Lee-Yang-Parr
DFT	: Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi
TD-DFT	: Zaman Bağımlı Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi
MM2	: Moleküler Mekanik 2
PM3	: Parametrik Metod
CUPRAC	: Bakır II İndirgenme Antioksidan

1. GİRİŞ

Beynimiz, birbirine bağlı milyonlarca nörondan oluşan bir kontrol merkezidir. Bu nöronlar, vücudumuzda yaptığımız her şeyi düzenleyen ve kontrol eden mesajları alır, işler ve farklı bölgelere gönderir. Beyin üç ana bölüme ayrılır: beyin sapı, beyincik ve serebrum. Her bir bölüm, hareket, konuşma, duyu algısı, duygular, kalp atış hızı, biliş ve hafıza gibi farklı fonksiyonlardan sorumludur.

Bilgi, beyin ve vücut arasında nöronlar aracılığıyla elektrik sinyalleri olarak taşınır. Sinir sinyali bir nöronun sonuna ulaştığında, kimyasal bir sinir iletici (nörotransmitter) salgılanır. Bu sinir iletici, sinyalin bir nörondan diğerine geçmesini sağlar. Beynin farklı bölgelerindeki nöronlar, bilgi iletiminde çeşitli sinir ileticiler kullanır. Bazı sinir ileticiler beyin etkinliğini harekete geçirirken, bazıları beyni sakinleştirir ve bazıları her iki işlevi de gerçekleştirebilir. Beyin fonksiyonlarının sağlıklı çalışması, sinir ileticilerin dengede olduğunu gösterir (Rizzi ve ark., 2014).

1.1. Demans

Demans, zamanla sinir hücrelerini tahrip eden ve beyne zarar veren, tipik olarak biyolojik yaşlanmanın olağan sonuçlarından beklenenin ötesinde bilişsel işlevlerde (yani düşünceyi işleme yeteneğinde) bozulmaya yol açan bir dizi hastalığın neden olabileceği bir sendromdur. Biliş etkilenmezken, bilişsel işlevdeki bozulmaya genellikle ruh hali, duygusal kontrol, davranış veya motivasyondaki değişiklikler eşlik eder ve bazen de ondan önce gelir.

Demansın sadece demans ile yaşayan kişiler için değil, aynı zamanda aileleri, bakıcıları ve genel olarak toplum için de fiziksel, sosyal, psikolojik ve ekonomik etkileri vardır. Genellikle bunamada farkındalık ve anlayış eksikliği vardır, bu da tanı ve bakımın önündeki engellere neden olur (DSÖ, 2015).

1.2. Alzheimer Hastalığı

Alzheimer hastalığı, en çok görülen demans nedeni olup konuşma, hafıza, yön bulma, problem çözme, insanları tanıma gibi günlük yaşantıda bir çok kez gerçekleştirilen pratiklerin çeşitli zihinsel işlevlerin zamanla zayıfladığı, günlük aktiviteleri kısıtlayabilecek derecede kronik, ilerleyici ve geri dönüşsüz kötüleşme nedeni ile düşünme ve davranış bozukluklarının gerçekleştiği nörodejeneratif, kronik bir beyin hastalığıdır (Çalış ve Aytemir, 2019). 1907 yılında Dr. Alois Alzheimer tarafından özellikle yaşlı kişilerde görülen demansın türü olarak keşfedilmiştir (Şener ve Tekin, 2020).

1.3. Türkiye’de Alzheimer

Türkiye’de 1960’larda yaş ortalaması 48 iken, bu rakam 2011 yılında 72’ye yükselmiştir. DSÖ, 2050’li yıllarda 65 yaş üstü nüfusun %20 civarında olacağını tahmin etmektedir. Türkiye’nin bu yıllarda en çok Alzheimer hastası olacak ülkeler arasında 4.sırada olacağı belirtilmektedir.

Ülkemizde 65 ve üzerindeki nüfus 2012 yılında 5.682.003 kişi iken, 2016 yılında %17,1 artarak 6.651.503 kişi olmuştur. Yaşlı nüfusun toplam nüfus içindeki oranı ise 2012 yılında %7,5 iken, 2016 yılında %8,3'e yükselmiştir (**Aşiret ve Kapucu, 2015**). Türkiye Alzheimer Derneği ve İstanbul Üniversitesinin yaptığı ortak çalışmada, İstanbul'un Kadıköy bölgesi taranmış ve çalışmada 70 yaş üzerinde AH görülme sıklığı %10 oranında bulunmuştur (**Canbolat ve Yardımcı, 2016**).

İstatistiklere göre, alzheimer hastalığı yüzünden ölen kişilerin sayısı 2011-2015 yılları arasında yaklaşık %100y yükselmiştir. Dünya genelinde alzheimer hastalığından ölen kişilerin oranı 2011 yılında %2,9 iken bu oran 2015 yılında %4,3'e artmıştır. Alzheimer hastalığından ölen kişilerin oranı cinsiyete göre incelendiğinde, her iki cinsiyette de yükselmiş olduğu görülmüştür. Bu hastalıktan ölen kişilerin oranı, 2011 yılında kadınlarda %3,4, erkeklerde %2,4, iken bu oranlar 2015 yılında kadınlarda ise %5,2'ye, erkeklerde %3,5'e artmıştır (**Soner, 2017**).

1.4. Hastalığın Temel Nedenleri

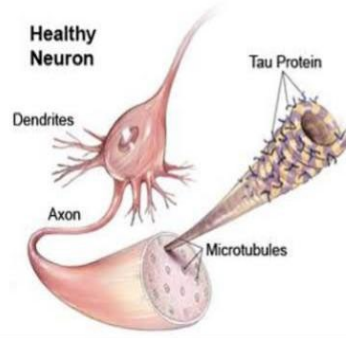
AH'nın esas prensibi, beyin hücrelerinde ortaya çıkan kaybolmanın nedeni hala bilinmemekle birlikte, hastalığın meydana gelmesinde temel etkenlerin genetik faktörler, toksik reaksiyonlar, anormal proteinlerin rolü, otoimmün reaksiyonlar, kafa travmaları ve virüsler olduğu düşünülmektedir. Aynı zamanda hastalığın diğer etkenleri arasında ağır metallerinin rolü de önemli bulunmuştur (**Çalış ve Aytemir, 2019**).

1.4.1. Alzheimer Hastalığının Genetiği

Günümüzde Alzheimer Hastalığının genetik etiyolojisinde yer aldığı düşünülen 4 lokus tanımlanmıştır. 21.kromozomda APP (amiloid prekürsör protein), 14.kromozomda presenilin1 (PS1), 1.kromozomda presenilin 2 (PS2) genleri ailesel otozomal dominant Alzheimer Hastalığı ile ilişkili iken, 19. kromozomdaki APOE ileri yaşlarda görülen Alzheimer hastalığından sorumludur (**Özpak ve ark., 2017**).

1.4.2. Anormal Proteinlerin Birikimi

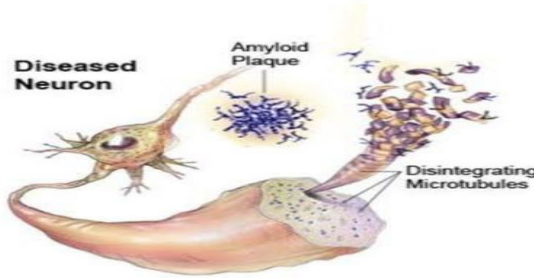
Alzheimer hastalığının ani belirtilerinden biri olan beyinde protein birikmesi. Bu protein birikintileri iki tiptir: Birinci tip birikim; nöronların perinükleerinde görülen protein birikintileridir. Hücrelerin içindeki kümelerle nörofibriler yumaklar denir ve bunlar bir sarmalda birbiri etrafında dönen bir çift filamana benzerler. 1975 yılında araştırmacılar ilk önce mikrotübül oluşumunu azaltabilen bir protein faktörünü izole ettiler ve buna tau adını verdiler. 1980'lerde, birkaç laboratuvar tarafından yapılan analizler, nörofibriler yumakların içeriğinin tau adı verilen bir protein olduğunu belirledi. Bu olay önemlidir çünkü tau, hücre iskeletinin temelini ortaya çıkaran mikrotübül yapısına giren tübüline bağlanır. Mikrotübüller hücre içindeki yapılara destek sağlarken hücrenin şeklini koruma görevini de üstlenirler.



Şekil 1.1. Tau proteini ve mikrotübül ilişkisi

Burada tau proteinin etkisindeki olumsuzluk mikrotübüllerin gereği gibi çalışmasını ve nakil mekanizmalarındaki görevlerin yerine getirilmesini engellemektedir. Bunun sonunda ise nöronlar nutrientleri, elektrik sinyalleri ve diğer önemli maddeleri hücreden hücreye iletememektedir.

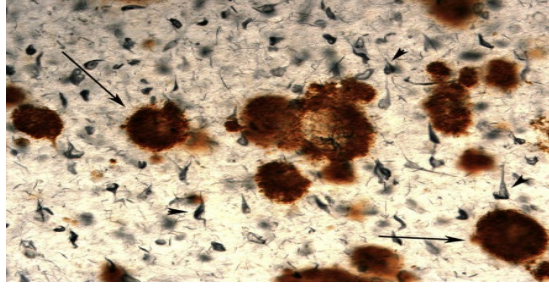
Tau proteininin serin ve treoninde anormal fosforilasyonu plak oluşumunun en önemli nedenlerinden biridir ve bazı araştırmacılar bu fosforilasyonun gerçekleştiği amino asitlere bağlı olarak dolaşıklığın beyin farklı bölgelerinde bulunduğunu göstermiştir. Tau yumakları Alzheimer hastalığına özgü değildir ve diğer demans türleri ile yakından ilişkili olabilir. Bununla birlikte, Alzheimer hastalığında yüksek yumak yoğunluğu demansın şiddetiyle ilişkilidir. Birçok araştırmacıya göre tau düzensizliği, amiloid plaklarının varlığı kadar önemlidir.



Şekil 1.2. Amyloid plak yaplanması

İkinci tip birikim olan protein birikimleri nörofibriler yumaklara benzemez ancak sinir hücreleri arasında birikir. Genellikle bu plaklara reaktif inflamatuvar hücreler (örn. mikroglia) eşlik eder. Mikroglia beyin bağışıklık sisteminin bir parçasıdır ve hasarlı nöronları ve muhtemelen plakları yok etmekten sorumludur. Plak yoğunluğu demansın ciddiyeti ile de ilişkilidir ve plakların çok yaşlı insanlarda da mevcut olduğu bildirilmiştir. Plak yoğunluğu üzerine yapılan bir morfolojik çalışmada, 68-82 yaşlarında demansı olmayan sekiz kişinin ve 73-93 yaşlarında ileri derecede AH olan 17 kişinin neokorteksi analiz edilmiştir. Demanslı olmayan hastalarda 4/mm² fi briller plak (%64'ü klasik fi briller plak) bulunurken, ağır AH'li hastalarda 41/mm² fi briller plak (%3'ü klasik fi briller plak) bulunmuştur. Hipokampus ve kortekste yaygın plakların Alzheimer hastalığına özgü olduğu

düşünülmektedir; AH'deki plakların yüksek yoğunluğu ve erken ortaya çıkmaları araştırmacılara Alzheimer hastalığının nedeninin biyokimyasal olarak aydınlatılabileceğini düşündürmüştür..



Şekil 1.3. Beta-amiloid birikimi

Temel unsurun 1984 yılında bir peptit olarak tanımlanmasından sonra, bu plakların izole edilmesi için yoğun çaba sarf edilmiştir. Prensip olarak, bu temel unsur artık β -amiloid peptit (β -AP) adı verilen ve genellikle 40 amino asitten oluşan bir peptit bileşiği olarak tanınmaktadır. Bunların %10'unda fazladan iki amino asit bulunur ve bu hafifçe uzamış yapı plak oluşumunu uyarır ve nöronal hücreler için doğrudan toksiktir. Bir araştırma grubu tarafından yürütülen bu ön çalışma, daha sonra sinir hücrelerinin nasıl yaralandığını belirlemeye çalışan başkaları tarafından devam ettirildi. Araştırma sırasında, peptitlerin ya Ca^{+2} regülasyonunu bozarak ya da mitokondriye zarar vererek, serbest radikalleri serbest bırakarak ve proteinler, lipidler ve nükleik asitler gibi organik bileşiklere zarar vererek hücre ölümüne yol açtığı vurgulandı. Her 42 amino asit için fazladan iki amino asit içeren bu peptit, bu hasarın bağışıklık hücrelerini harekete geçirerek iltihabi bir yanıt oluşturmaya, görülecek diğer hasarların şiddetinin artmasına ve bu olayların bir kısır döngü içinde devam etmesine olanak sağlıyor (Öber, 2008).

1.4.3. Ağır Metallerin Etkisi

'Ağır metal' terimi yaygın olarak kullanılmaktadır. Genellikle kirlilik veya potansiyel toksisite veya ekotoksisite ile ilişkili bir metal veya yarı metal (metaloit) olarak tanımlanır. Günümüzde ağır metaller yoğunluklarına, atom ağırlıklarına, kimyasal özelliklerine veya toksisitelerine göre çeşitli şekillerde tanımlanmaktadır. Pratikte ağır metaller, yoğunluğu 5 g/cm^3 'ten fazla olan metaller olarak tanımlanmaktadır. Tıpta ağır metal tanımı, elementin atom ağırlığına bakılmaksızın toksik olan herhangi bir metal olarak ifade edilir. Ağır metallere örnek olarak 60'tan fazla element sıralanabilir, ancak en yaygın ve en çok bilinenleri cıva (Hg), manganez (Mn), kobalt (Co), bakır (Cu), nikel (Ni), çinko (Zn), kadmiyum (Cd), demir (Fe), arsenik (As), krom (Sn), kurşun (Pb), gümüş (Ag) ve selenyum (Se) ağır metallerdir. (Özbolat ve Tuli, 2016).

Bakır

Beyin, karaciğer ve böbreklerde bulunan temel bir eser element olan bakır, vücudun kırmızı kan hücreleri oluşturmaya, kemik sağlığını korumasını sağlar ve kardiyovasküler hastalık ve

osteoporozu önlemeye yardımcı olabilir. Bakır, hücre solunum gibi metabolik süreçlerde hayati bir rol oynadığı için akciğer fonksiyonunun korunmasında da önemli bir elementtir. İnsan vücudunda depolanan bakır, protein ve enerji üretimi için kullanılabilir. Yetişkinler için sağlıklı bakır seviyeleri 50 ila 80 mg arasında değişir; Bu aralığı aşan seviyeler toksik olarak kabul edilir ve böbreklerde, beyinde ve gözlerde bakır birikmesine yol açabilir. Bu, olası karaciğer hücresi ölümü, kalıcı sinir hasarı, oksidatif stres ve azalmış hücre proliferasyonu ile sonuçlanabileceğinden vücut üzerinde bir yüke neden olur. Ölümcül bir bakır dozu 10 ila 20 g arasında değişir. Bakır toksisitesinin yaygın belirtileri baş ağrısı, kanlı kusma, ishal ve siyah dışkıyı içerir, ancak bunlarla sınırlı değildir (**Patel ve Aschner, 2021**).

Denge duodenal emilim ve biliyer atılım ile sağlanır. Bağırsak lümeninden geçtikten sonra portal dolaşım ile karaciğere taşınırlar. Bir kısmı karaciğerde depolanır ve bir kısmı da diğer organlara dağıtılır. Hepatositlerde seruloplazmine bağlanır ve periferik dolaşıma yönlendirilir. Atılımı safra sistemine salgılanır. Emilim ve atılım dengelidir. Bakır birçok biyolojik oksidasyon-redüksiyon reaksiyonunda yer alır. Aynı zamanda birçok redoks enzimi için bir kofaktördür. Antioksidan savunma sistemi zayıfsa, Cu kolayca Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonlarına girer ve hidroksil radikalleri üretir. Yüksek konsantrasyonlarda oksidatif reaksiyonlara, hücre hasarına ve ölüme yol açarlar. Cu(II) ve Fe(III) ile ilişkili Aβ toksisitesi hücre kültüründe gösterilmiştir. Aβ, Cu(II) ve Fe(III)'ü indirger ve H₂O₂ oluşumunu katalize eder. Burada Aβ, O₂ moleküllerini ve diğer biyolojik indirgeyici ajanları (kolesterol, C vitamini, katekolaminler) substrat olarak kullanır (**Kendirci, 2013**).

Alüminyum

Alüminyum, Dünya'da en çok bulunan metallere biridir, bu nedenle çevrede ve insan maruziyetinde yaygın olarak bulunan bir elementtir. Alüminyum günümüzde ilaçtan mobilyaya, mutfak malzemesinden elektrik sanayine, arabadan kozmetiğe kadar hayatımızın hemen hemen her alanında kullanılmaktadır. Ayrıca antasitler, ter önleyiciler, deodorantlar ve gıda katkı maddelerinde alüminyum bileşikleri kullanılmaktadır (**ATSDR, 1992**).

Sağlıklı insanlarda alüminyuma maruz kalmanın ana yolunun gıda olduğu bildirilmektedir; Dünya Sağlık Örgütüne (DSÖ) göre, oral alüminyum maruziyetinin %4'ü içme suyundan kaynaklanmaktadır ve yetişkinler gıdalardan günde ortalama 5 mg/L ve içme suyundan 0,1 mg/L alüminyum tüketmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerinde hayvan çalışmaları ve alüminyum ile yapılan in vitro çalışmalar da vurgulanmaktadır (**DSÖ, 2003**).

1.5. Alzheimer Hastalığının Tedavi Yaklaşımları

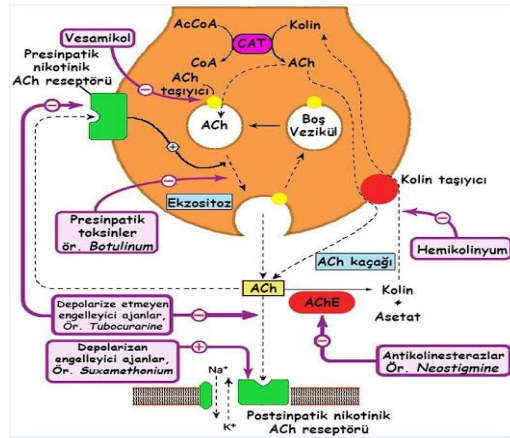
Alzheimer hastalarında yapılan biyokimyasal çalışmalar kortekste bazı nöromediyatörlerin ve özellikle de asetilkolinin azaldığını göstermektedir (**Mendiola-Precoma ve ark., 2016**). Kolinergik hipotez olarak açıklanan bu ilişkiye göre, asetilkolin ve kolin asetil transferaz düzeyindeki

azalma AH ile ilişkilidir (Perry, 1986). Atropin benzeri santral etkili kolinerjik antagonistlerin uygulanmasıyla da demansa benzer bozukluklar olduğu bulunmaktadır. AH'ında görülen asetilkolinin seçici eksikliği, hastalığın semptomlarının gelişmesinde asetilkolin eksikliğinin önemini vurgulayan “kolinerjik hipotez”in ortaya çıkmasına neden olmuştur (Swerdlow, 2012). Beyindeki asetilkolin içeren nöronların işlev bozukluğunun ileri yaşta ve Alzheimer hastalarında gözlenen kognitif düşüşün açıklanmasına önemli ölçüde katkıda bulunmuştur. Bu düşünce, bugüne kadar, AH'nin tedavi stratejilerinin ve ilaç geliştirme yaklaşımlarının çoğunun temelini oluşturmıştır (Farlow, 1998).

1.5.1. Asetilkolin

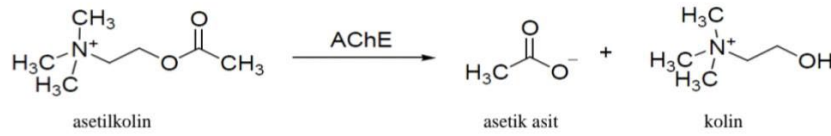
ACh önemli biyolojik rolleri olan bir esterdir. Başlangıçta, sinir uyarılarının sinir uçlarından etkilenen organlara veya sinir uçlarından ikinci sinir hücrelerine taşınmasında rol oynadığı düşünülmüştür, ancak daha sonraki çalışmalar sinir ve kas lifleri boyunca biyoakımların oluşumunda da rol oynadığını göstermiştir. Omurgalılarda ve diğer hayvanlarda, kas hücresi kasılmasını başlatan yakın aralıklı sinir hücreleri arasındaki dar boşluklardan sinir uyarılarının taşınmasında rol oynarlar. Sinir uyarılarının iletimi ve kas hücresi kasılması elektrokimyasal olaylardır. Yüklü iyonlar sinir ve kas hücrelerini kaplayan zarlar boyunca akar ve bir sinir uyarıldığında, iyon akışı sinapsa ulaşana kadar uzun sinir lifleri boyunca devam eder. Burada, sinir hücresinde küçük kabarcıklar halinde depolanan taşıyıcı ACh salınır.

ACh sinaps boyunca yayılır ve yakındaki sinir lifi membranına bağlanır. Bu bağlanma gerçekleşir gerçekleşmez, hücre zarı boyunca sodyum (Na^+) ve potasyum (K^+) iyonları değiş tokuş edilir. Bu, ikinci sinir hücresinde sinir uyarımını başlatır.



Şekil 1.4. Asetilkolinin etki mekanizması

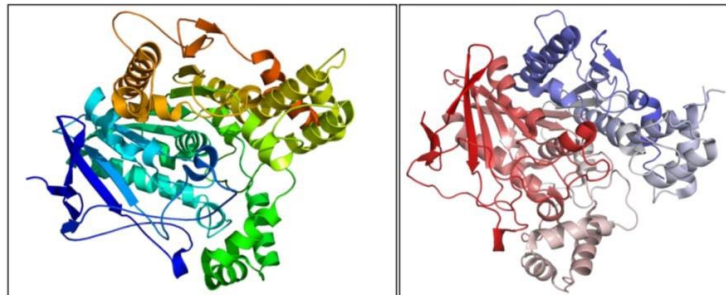
Sinir uçları tarafından salgılanan asetilkolin, görevini yaptıktan sonra AChE enzimi tarafından hidrolizlenerek kolin ve asetata ayrılır (**Güven, 2000**).



Şekil 1.5. ACh'nin AChE tarafından hidrolizlenmesi

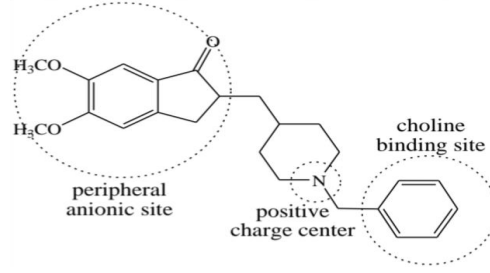
1.5.2. Kolinesteraz Enzimleri

Omurgahlarda kolinesterlerini hidrolize eden iki enzim bilinmektedir: asetilkolin hidrolaz (AChE) ve açilkolin açilhidrolaz (BuChE). Her iki enzim de asetilkolinin hidrolizini katalize eder; AChE enziminin asetilkolini BChE enziminden daha hızlı hidrolize ettiği gösterilmiştir AChE ve BChE'nin yapıları çok benzerdir. Substrat özgüllüğü, doku dağılımı ve inhibitörlere duyarlılık açısından farklılık gösterirler: AChE enzimi, kolin esterleri arasında asetilkolini en hızlı bozan enzimdir. BChE enzimi ise kolin esteri olan bütirilkolini en hızlı şekilde parçalar. Bu nedenle bu enzime bütirilkolinesteraz (BChE) adı verilir. Bütirilkolinesteraz MSS'deki sinapslarda bulunmaz ve sinapsta asetilkolinin parçalanmasını etkilemez. **(Demir ve Türkan, 2022).**



Şekil 1.6. AChE ve BChE enzimlerinin 3D yapıları

AChE inhibitörü aktivitede inhibitör moleküllerin enzime bağlanma bölgeleri için üç hipotez ileri sürülmektedir. Birincisi hipotez, AChEI bileşiklerin yapısında bulunan heterosiklik halkanın enzimin periferik bağlanma bölgesiyle etkileşebilen periferik anyonik bölge olarak etki gösterdiği'dir. İkinci hipotez, pek çok güçlü AChE inhibitörünün yapısında yer alan azot atomunun pozitif yük merkezi olarak etki ettiğidir. Bu grubun AChE'nin katalitik merkezi ile etkileşebildiği AChE/donepezil ve AChE/galantamin komplekslerine ait X-ray kristalografisi çalışmalarıyla belirlenmiştir. Üçüncü hipotez ise azot atomuna bağlı fenil halkası gibi hidrofobik grupların kolin bağlanma bölgesi olarak bulunduğudur (Çöl, 2019).



Şekil 1.7. AChE'ler için yapısal hipotez

1.5.3. Kolinesteraz Enzim İnhibitörü İlaçlar

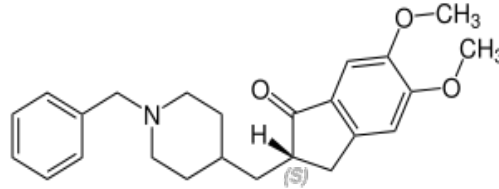
AChE inhibitörleri veya antikolinesterazlar, kolinesteraz enziminin ACh'yi parçalamasını engelleyerek, nörotransmitter etkisinin hem seviyesini hem de süresini artırır. Etki şekline göre, AChE inhibitörleri iki gruba ayrılabilir: geri dönüşümsüz ve geri dönüşümlü . Rekabetçi olan veya olmayan geri dönüşümlü inhibitörler çoğunlukla terapötik uygulamalara sahipken, toksik etkiler geri dönüşümsüz AChE aktivite modülatörleri ile ilişkilidir. Aslında, AH ile ilgili farklı fizyolojik süreçler, ACh üreten ve kullanan hücrelere zarar verir veya yok eder, böylece diğer hücrelere mesaj iletmek için mevcut olan miktarı azaltır. AChE aktivitesini inhibe eden kolinesteraz inhibitör ilaçları, ACh'nin parçalanma hızını azaltarak seviyesini korur. Bu nedenle, ön beyin bölgelerinde kolinerjik nörotransmisyonu artırır ve işleyen beyin hücrelerinin kaybını telafi ederler. Hiçbir ilacın hastalığın ilerlemesini geciktirme veya durdurma endikasyonu yoktur. Şu anda ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) ve Avrupa İlaç Ajansı (EMA) gibi kurumlar tarafından AH'nin bilişsel belirtilerini tedavi etmek ve hastaların yaşam kalitesini iyileştirmek için onaylanan ilaçlar şunlardır: geri dönüşümlü AChE inhibitörleri olarak donepezil, rivastigmin ve galantamin ve bir NMDA reseptör antagonisti olarak memantin. Takrin, 1993 yılında AH tedavisi için onaylanan AChE inhibitörlerinin ilkiydi, ancak hepatotoksisite dahil olmak üzere yüksek yan etki insidansı nedeniyle kullanımı terk edildi (Colović ve ark., 2013).

Donepezil

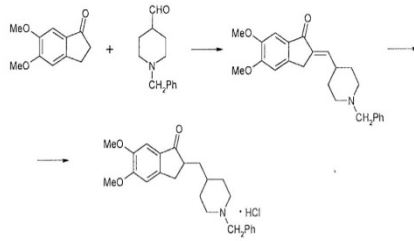
Donepezil, hafif, orta ve şiddetli Alzheimer hastalığında demansın tedavisi için FDA onaylıdır. Donepezilin hastalığın ilerlemesini değiştirdiğine dair bir kanıt yoktur. Bununla birlikte, biliş ve/veya davranış iyileştirerek bazı semptomları azaltabilir.

Donepezil hidroklorür, bir piperidin türevi ve merkezi etkili, hızlı, geri dönüşümlü bir asetilkolinesteraz inhibitörüdür. Asetilkolinesteraz, presinapstan salındıktan sonra asetilkolini parçalayan bir enzimdir. Donepezil, asetilkolinesteraza geri dönüşümlü olarak bağlanır ve asetilkolinin hidrolizini inhibe eder, böylece asetilkolinin sinapslarda mevcudiyetini artırır, kolinerjik iletimi artırır. Bazı in vitro veriler, donepezilin antikolinesteraz aktivitesinin beyindeki asetilkolinesteraz için nispeten spesifik olduğunu öne sürmüştür. Takrin ve fizostigmin gibi diğer antikolinesteraz ajanlarıyla yapısal olarak ilgisizdir.

Bazı kolinerjik olmayan mekanizmalar da önerilmiştir. Donepezil, kortikal nöronlardaki nikotinik reseptörleri yukarı doğru düzenleyerek nöroprotektif özelliği artırır. Voltajla aktive olan sodyum akımlarını geri dönüşümlü olarak inhibe eder ve doğrultucu potasyum akımlarını ve hızlı geçici potasyum akımlarını geciktirir, ancak bu eylemin klinik etkilere katkıda bulunması muhtemel değildir (Kumar ve ark., 2021).



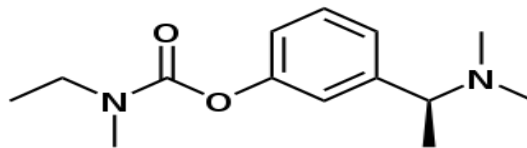
Şekil 1.8. . (S)-donepezil'in yapısı



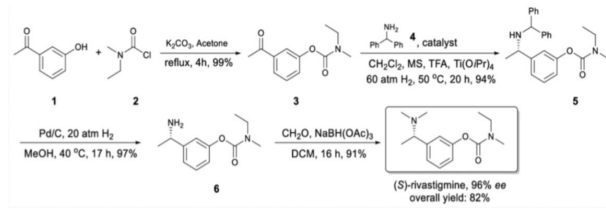
Şekil 1.9. Donepezil sentezi

Rivastigmin

Hafif ila orta dereceli Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılan bir kolinesteraz inhibitörüdür. Bir kolinesteraz inhibitörü olan rivastigmin hem butirilkolinesterazı hem de asetilkolinesterazı iinhibitörüdür (asetilkolinesterazı seçici olarak inhibe eden donepezilden farklı olarak) (Khoury ve ark., 2018).



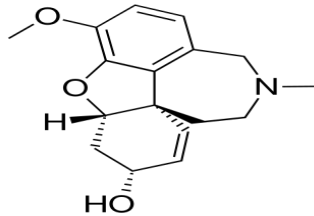
Şekil 1.10. Rivastigmin'in 3D yapısı



Şekil 1.11. Rivastigmin'in sentezi

Galantamin

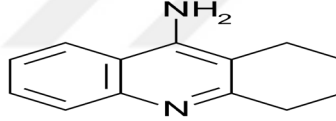
Galantamin, hafif ila orta şiddette vasküler demans ve Alzheimer tedavisi için endikedir . Galantamin, asetilkolini hidrolize eden bir enzim olan asetilkolinesterazı inhibe eder . Ek olarak galantamin, nikotinik maddenin allosterik bölgelerine bağlanır.Konformasyonel değişikliğe neden olan reseptörler. Bu allosterik modülasyon, nikotinik reseptörün asetilkolin yanıtını artırır (Cerner, 2023).



Şekil 1.12. Galantamin'in 3D yapısı

Takrin

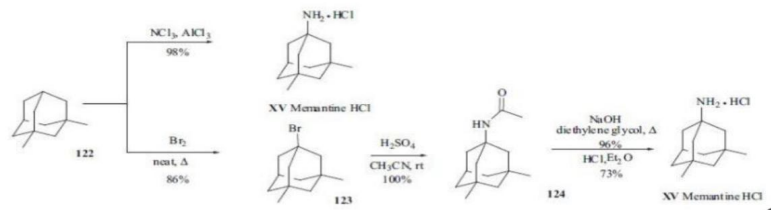
Takrin, Alzheimer hastalığının semptomatik tedavisi için ABD'de onaylanan ilk asetilkolinesteraz inhibitörüdür. Asetilkolinesteraz inhibitörlerine karşı geri dönüşümlü olarak etki eder. Ancak takrin, alanin aminotransferaz konsantrasyonlarını önemli ölçüde artırır ve klinik uygulamasını sınırlayan ksenotoksisiteye neden olur. (Ekiz, 2016).



Şekil 1.13. Takrin'in 3D yapısı

Memantin

Memantin, bir NMDA reseptör antagonistidir. NMDA reseptörleri, beyinde glutamat nörotransmitterinin etkisini ileten proteinlerdir. Memantin, NMDA reseptörlerini bloke ederek glutamat nörotransmitterinin etkisini azaltır. Bu, Alzheimer hastalığı olan hastalarda nöronal disfonksiyonun azalmasına yardımcı olabilir. Memantin, İngiltere'de orta ila şiddetli Alzheimer hastalığı olan hastaların tedavisi için onaylanmıştır (NICE, 2011).

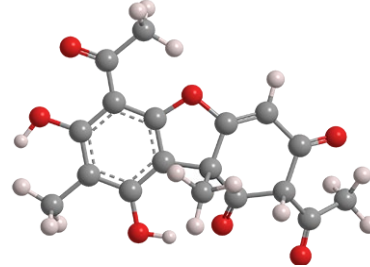
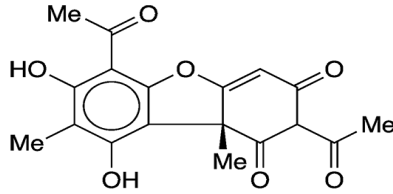


Şekil 1.14. Memantin sentezi

1.6. Usnik Asit

Usnik asit, likenlerde bulunan doğal bir antibakteriyel bileşiktir. Molar kütlesi 344,32 g/mol sarı kristaller ve toz halinde bulunur. Erime notası 204 °C iken 594.8±500 °C’de kaynamaktadır.

Usnik asit, likenlerde bulunan doğal bir antibakteriyel bileşiktir. Bir karboksilik asit değildir; bunun yerine asitliği fenolik hidroksil gruplarından alır. pKa’sı 4.4’tür.



Şekil 1.15. (R)-Usnik asidin yapısı

Usnik asit, ilk olarak 1840 yılında Usnea gibi likenlerden izole edilmiş bir dihidroksibenzoik asittir. Usnik asit, doğal olarak rasemik bir karışım (enzim ve ayna görüntüsü formlarının eşit karışımı) olarak bulunur ve (R) ve (S) enantiyomerleri olarak bulunur. (R) formunun üç boyutlu bir görüntüsü verilmiştir.

Usnik asidin yapısı, izole edilmesinden 90 yıldan fazla bir süre sonra 1933 yılında Frank H. Curd ve Alexander Robertson tarafından İngiltere’deki Liverpool Üniversitesi’nde çözüldü. Bu yazarlar, usnik asit ve türevlerinin yapısını ve laboratuvar sentezini bildirdiler.

Usnik asit, biyolojik olarak aktif bir bileşiktir ve anti-enflamatuar, antioksidan ve anti-kanser özelliklerine sahiptir. Usnik asit, geleneksel olarak Çin tıbbında, artrit, bronşit ve kanser gibi çeşitli tıbbi durumları tedavi etmek için kullanılmıştır.

Son yıllarda, usnik asit yeni bir tıbbi tedavi olarak artan ilgi görmektedir. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar, usnik asidin artrit, bronşit ve kanser gibi çeşitli tıbbi durumları tedavi etmek için etkili olabileceğini göstermiştir. Bununla birlikte, bu sonuçları doğrulamak için daha fazla insan çalışmasına ihtiyaç vardır (ACS, 2021).

1.6.1. Usnik Asidin ve Türevleri Tıpta Kullanımı

UA açısından zengin liken özleri, geleneksel tıpta uzun süredir kullanılmaktadır. UA’nın ilk belgelenmiş kullanımı, kurutulmuş liken özlerinin resmi olarak geleneksel Çin tıbbi metinlerine dahil edildiği M.Ö. Ürün, günde 60-120 mg UA’ya karşılık gelen, çay veya kaynatma şeklinde alınan 6-9 g kurutulmuş liken dozunda sıtma, yaralar, yılan ısırması ve öksürük tedavisinde kullanıldı (Croce ve ark., 2022).

Usnik asit ile yapılan çalışmalar, usnik asidin antiproliferatif ve anti-inflamatuar etkilere sahip olduğunu, hücre döngüsü ve apoptotik hücre ölümü üzerinde etkileri olduğunu göstermiştir. Son çalışmalar usnik asidin D. melanogaster somatik hücreleri üzerinde rekombinasyon indükleyici,

mutajenik ve karsinojenik etkilere sahip olduğunu ve insan kan hücrelerinde total antioksidan kapasite (TAC) seviyelerini artırarak doza bağlı antioksidan etkiye neden olduğunu bildirmiştir. Usnik asit ayrıca CD44, siklin D2 ve c-myc mRNA seviyelerini azaltır ve Rac1 ve RhoA aktivitesini azaltır, bu da kanser hücresi metastazını inhibe etme yeteneğini gösterir ve antikanser tedavisi için kullanılabilir MCF7 ve H1299 hücrelerine uygulanmasında usnik asit ikincil metabolitlerin mikrotübüllerde morfolojik değişikliklere neden olmaması ve mitotik indeksi artırmaması, usnik asidin anti-tümör aktivitesinin mikrotübül oluşumu ve stabilize edici değişikliklerden bağımsız olduğunu göstermektedir (Dinçsoy, 2017).

1.7. Hesaplamalı Kimya

Hesaplamalı kimya, son yıllarda kimya bilimi için güçlü bir araştırma aracı haline gelmiştir. Bilgisayar biliminde kaydedilen hızlı ilerlemeler, sayısal hesaplama yöntemlerinin doğruluğunu ve simülasyon tekniklerinin verimliliğini önemli ölçüde artırmış, böylece kuantum teorisinin kimyasal problemlerin çözümünde daha yaygın bir şekilde uygulanmasını mümkün kılmıştır. Bu bağlamda, hesaplamalı kimya yöntemleri günümüzde kimyasal süreçlerin anlaşılması ve öngörülmesi amacıyla yaygın bir şekilde kullanılmakta olup, senteze yönelik çalışmalar da dahil olmak üzere birçok kimyagerin araştırma araç setinin ayrılmaz bir parçası haline gelmiştir.

Teorik kimya, kimyasal süreçlerin matematiksel açıklaması olarak tanımlanırken, hesaplamalı kimya genellikle bu matematiksel yöntemlerin bilgisayar ortamında uygulanabilir hale getirildiği ve otomatikleştirildiği durumları ifade etmektedir. Bu disiplin, kimyasal sistemlerin atomik ve moleküler düzeyde modellenmesi için fiziksel prensiplerden (örneğin kuantum mekaniği, moleküler mekanik ve moleküler dinamik) türetilen matematiksel denklemlerden yararlanır. Hesaplamalı kimya, bu özellikleri sayesinde deneysel yöntemlerle elde edilmesi güç veya maliyetli olan bilgilerin öngörülmesinde etkili bir yaklaşım sunmaktadır (Buluz, 2023).

1.8. Moleküler Kenetlenme

Moleküler kenetlenme (docking), yapıya dayalı ilaç tasarımı (Structure-Based Drug Design, SBDD) yaygın olarak kullanılan önemli bir yöntemdir ve ilk olarak 1980'lerin başında uygulanmaya başlanmıştır. Bu yöntem, hedef protein yapısının üç boyutlu (3B) yapısının mevcut olduğu durumlarda tercih edilen bir analiz aracı olarak öne çıkar. Moleküler kenetlenmenin yaygınlaşmasında, bilgisayar teknolojisinin hız ve kapasitesindeki gelişmelerin yanı sıra küçük molekül ve protein yapılarına erişim imkanlarının artması büyük bir rol oynamıştır.

Moleküler kenetlenmenin temel amacı, moleküler tanımayı hem yapısal (olası bağlanma modlarının belirlenmesi) hem de enerjik (bağlanma afinitesinin tahmin edilmesi) açıdan anlamak ve tahmin etmektir. İlk olarak küçük moleküller (ligandlar) ile makromoleküller (proteinler) arasındaki etkileşimlerin analizine yönelik olarak geliştirilmiş olan bu yöntem, günümüzde protein-protein etkileşimleri ile nükleik asit (DNA ve RNA)-ligand etkileşimlerinin analizini de kapsayacak şekilde

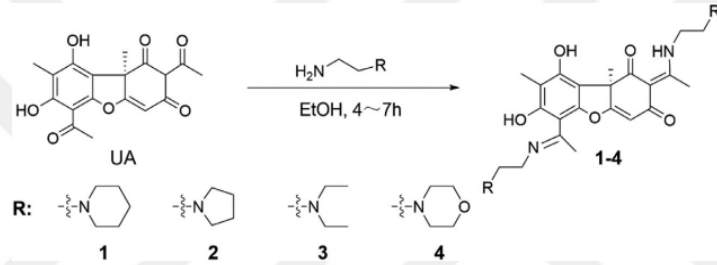
genişletilmiştir. Moleküler kenetleme, biyolojik sistemlerdeki bağlanma mekanizmalarını anlamak ve yeni terapötik moleküllerin tasarımında yol gösterici bir araç olarak kullanılmaktadır.

Moleküler kenetlenme, üç ana hedef üzerine odaklanmaktadır: poz tahmini, sanal tarama ve bağlanma afinitesi tahmini. Başarılı bir moleküler kenetleme metodolojisi, reseptörün bağlanma bölgesindeki doğal ligand pozisyonunu doğru bir şekilde tahmin edebilmelidir. Bu, belirli bir tolerans aralığı içinde deneysel olarak belirlenmiş ligand geometrisine uygun bir tahminde bulunmayı ve bu sırada moleküller arasındaki fizikokimyasal etkileşimleri doğru modellemeyi gerektirir. Ayrıca, büyük bileşik kütüphanelerinin taranmasında, kenetleme yönteminin bağlanmayı doğru bir şekilde değerlendirmesi, iyi bağlanmayan molekülleri etkin bağlanma gösteren moleküllerden ayırt edebilmesi önemlidir. Bunun yanında, veri tabanındaki en iyi bileşikleri sıralamada isabetli sonuçlar üretebilmesi, metodolojinin güvenilirliği açısından kritik bir gerekliliktir. Bu  zellikler, hem bağlanma mekanizmalarının anlaşılmasını hem de terapötik amaçlarla kullanılabilecek potansiyel bileşiklerin seçilmesini kolaylaştırmaktadır (**Buluz, 2022**).



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

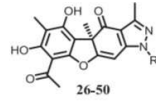
Yang ve ark (2022) antioksidan aktiviteye sahip ve metal şelasyon bölgeleri içeren doğal bir ürün olan UA (usnik asit), bir öncü bileşik olarak seçmişlerdir. Çalışmada 4 farklı tersiyer amin bileşiği kullanılarak 4 usnik asit türevi sentezlenmiştir. Antioksidan, anti-kolinesteraz ve metal şelasyonu gibi ilgili aktiviteler değerlendirilmiştir. Sonuçlar, 1–4'ün üstün antioksidan aktivite gösterdiği, $\cdot\text{OH}$ giderme yeteneği için en düşük IC_{50} 'nin $0.433 \mu\text{M}$ ve $\cdot\text{O}_2^-$ giderme yeteneği için $8.808 \mu\text{M}$ olduğu bulunmuştur. Ayrıca, 1–4'ün en düşük IC_{50} 'siyle iyi anti-kolinesteraz aktiviteleri sergilediği görülmüştü: asetilkolinesteraz (AChE) için $0.269 \mu\text{M}$ ve butirilkolinesteraz (BuChE) için $0.361 \mu\text{M}$. AChE ve BuChE ile moleküler bağlanma çalışmalarının sonuçları deneysel sonuçlarla uyumluydu. 1–4, UV-vis spektrum analizi ile Cu(II) ve Fe(III) ile belirgin şelasyon yetenekleri sergiledi ve metal kompleksleri aynı zamanda iyi anti-AH aktivitelerini göstermiştir.



Şekil 2.1. Usnik asit türevlerinin sentezi (Yang ve ark., 2022)

Shi ve ark (2020) tau protein birikimi, Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklarda kritik bir rol oynar. Shi ve arkadaşları 2020 yılında yaptıkları çalışmada, usnik asit türevlerinin sentezi ve tau birikimi ile nöroinflamasyon karşıtı inhibe edici aktivitelerinin değerlendirmesini rapor edilmiştir. 30 numaralı bileşik AcPHF6'nın kendi fibrilizasyonuna karşı en etkili inhibe edici aktiviteyi gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca, bu bileşiğin anti-inflamatuar aktivitesini incelenip ve sodyum usnat ile karşılaştırıldığında, fare mikrogli BV2 hücrelerinde LPS tarafından uyarılan NO salınımını azalttığını, ve daha da önemlisi, farelerde okadaik asit tarafından indüklenen hafıza bozukluğuna karşı önemli koruyucu etkiler göstermiştir. Bu nedenle, 30.bileşik, Alzheimer için potansiyel bir terapötik adayı temsil eden yeni bir tau-agregasyon ve nöroinflamasyon inhibitörüdür.

Çizelge 2.1. 26-50 bileşiklerinin AcPHF6 üzerindeki etkileri (Shi ve ark., 2020)



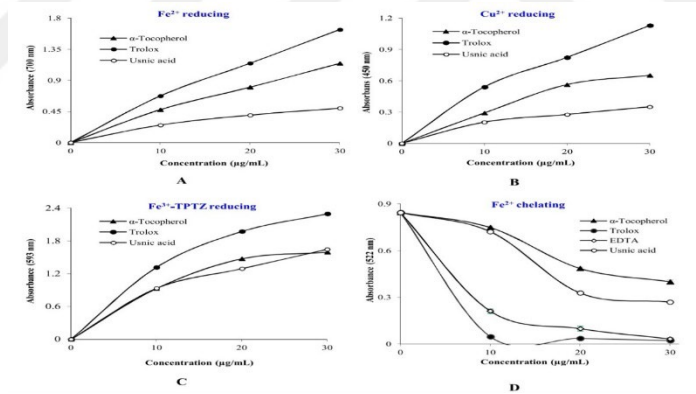
Compd.	R	Inhibition% (10 μ M)	Compd.	R	Inhibition% (10 μ M)
26		22.5 $\pm$ 9.4	39		29.8 $\pm$ 5.2
27		30.3 $\pm$ 5.1	40		17.1 $\pm$ 8.5
28		26.9 $\pm$ 9.0	41		7.7 $\pm$ 2.8
29		22.3 $\pm$ 10.4	42		40.9 $\pm$ 5.0
30		51.7 $\pm$ 3.6	43		38.0 $\pm$ 3.9
31		40.4 $\pm$ 6.1	44		20.1 $\pm$ 9.4
32		32.8 $\pm$ 4.2	45		12.2 $\pm$ 9.2
33		14.5 $\pm$ 4.8	46		n.a.
34		27.2 $\pm$ 3.2	47		9.3 $\pm$ 1.3
35		24.0 $\pm$ 1.5	48		n.a.
36		28.7 $\pm$ 9.8	49		n.a.
37		46.8 $\pm$ 1.1	50		n.a.
38		8.5 $\pm$ 7.7			
Myricetin		85.9 $\pm$ 1.3	Sodium Usnate		n.a.

Cazarin ve ark (2021) Usnik asidin (UA) asetilkolinesteraz (AChE) üzerindeki etkileşimleri moleküler bağlanma yöntemi ile ve AChE üzerindeki inhibisyon yeteneği in vitro olarak değerlendirmişler. İn vivo deneyler, farelere A β 1–42 peptidi (400 pmol/fare) intraserebroventriküler olarak maruz bırakıldıktan sonra (R)-(+)-UA veya (S)-(-)-UA'nın günde 24 gün boyunca 25, 50 veya 100 mg/kg dozlarında oral olarak tedavi edilmiştir. Hayvanlar bilişsel eksiklikleri değerlendirmek için yeni nesne tanıma, Morris su labirenti ve inhibisyon-kaçınma görevine tabi tutulmuştur. Ayrıca, farelerin korteks ve hipokampusundaki UA antioksidan kapasitesi ve nöroinflamatuvar biyobelirteçleri ölçülmüştür. Sonuçlar, UA'nın enantiyomerlerinin, in silico olarak galantamin gibi AChE ile karmaşık reseptör etkileşimlerini tetiklediğini göstermiştir. Ayrıca, UA'nın enantiyomerlerinin hayvanların öğrenme ve hafızasını iyileştirdiği ve paralel olarak korteks ve hipokampusta miyeloperoksidaz aktivitesini, lipid hidroperoksitleri (LOOH) azalttığı ve hipokampusta IL-1 β seviyelerini düşürdüğü belirlenmiştir. Özetle, UA, farelere A β 1–42 uygulaması tarafından indüklenen bilişsel eksiklikleri, LOOH belirtilerini ve nöroinflamasyonu geri kazandırmıştır.

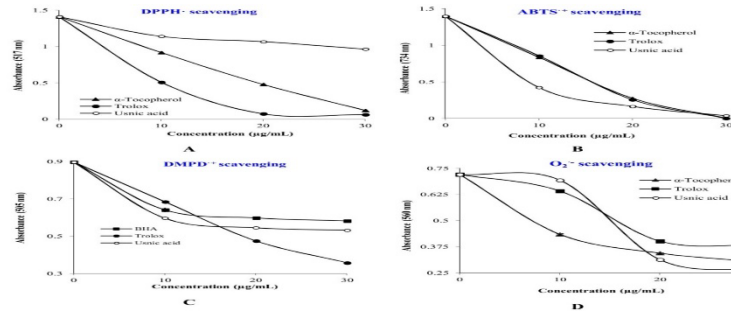
Çizelge 2.2. Aβ₁–42 uygulamasına maruz kalan ve açık alan testine tabi tutulan farelerde UA enantiomerlerinin [(R)-(+)-UA ve (S)-(-)-UA] 25, 50 ve 100 mg/kg (p.o.) dozlarında veya donepezil (2 mg/kg, p.o.) ile 24 gün boyunca uygulanan tedavinin etkisi (Cazarin

	Crossings	Rearings
Naive	123.7 ± 4.5	57.6 ± 5.1
Sham	127.8 ± 5.4	63.3 ± 4.9
Aβ ₁ –42+Vehicle	130.2 ± 8.6	68.7 ± 5.6
Aβ ₁ –42+(R)-(+)-UA 25	144.2 ± 10.8	56.1 ± 7.4
Aβ ₁ –42+(R)-(+)-UA 50	132.5 ± 8.7	67.8 ± 11.5
Aβ ₁ –42+(R)-(+)-UA 100	150.7 ± 11.6	57.8 ± 8.6
Aβ ₁ –42+(S)-(-)-UA 25	131.8 ± 5.2	53.6 ± 5.2
Aβ ₁ –42+(S)-(-)-UA 50	145.6 ± 8.9	52.0 ± 5.1
Aβ ₁ –42+(S)-(-)-UA 100	130.2 ± 4.8	61.2 ± 6.0
Aβ ₁ –42+Donepezil	134.8 ± 8.5	64.3 ± 7.8

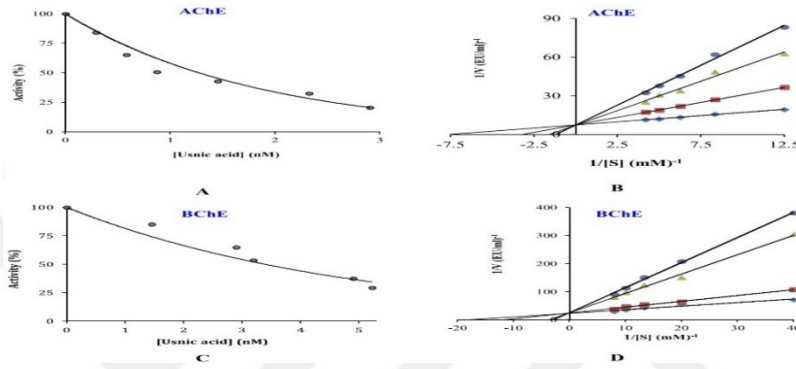
Çakmak ve Gülçin (2019) yılında usnik asidin önemli bir doğal ürün olarak antioksidan, antikolinergik ve antidiyabetik potansiyellerini değerlendirmişler. Usnik asidin antioksidan profili, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH·), 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS%+), süperoksit anyon radikali (O₂%-) ve N,N-dimetil-p-fenilendiamin (DMPD%+) gibi sekiz ayrı biyoanalitik antioksidan yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Usnik asidi, etkili DPPH· (IC₅₀: 49.50 µg/mL), DMPD%+ (IC₅₀: 33.00 µg/mL), O₂ %– (IC₅₀: 18.68 µg/mL) ve ABTS%+ (IC₅₀: 10.41 µg/mL) giderme etkileri sergilemiştir.



Şekil 2.2. Usnik asidin antioksidan aktivitesi. A. Fe(III)-Fe(II) indirgeme yeteneği testi, B. Cupric iyonlarının (Cu(II)) Cuprac testi ile indirgeme yeteneği, C. Fe(III)-TPTZ+ kompleks indirgeme yeteneği testi, D. Ferroz iyonlarının (Fe(II)) şelatleme yeteneği (Çakmak ve Gülçin, 2019)



Şekil 2.4. Usnik asidin radikal temizleme aktivitesi. A. DPPH• temizleme testi, B. ABTS%+ temizleme testi, C. DMPD%+ temizleme testi. D. O₂ %– temizleme testi (Çakmak ve Gülçin, 2019)

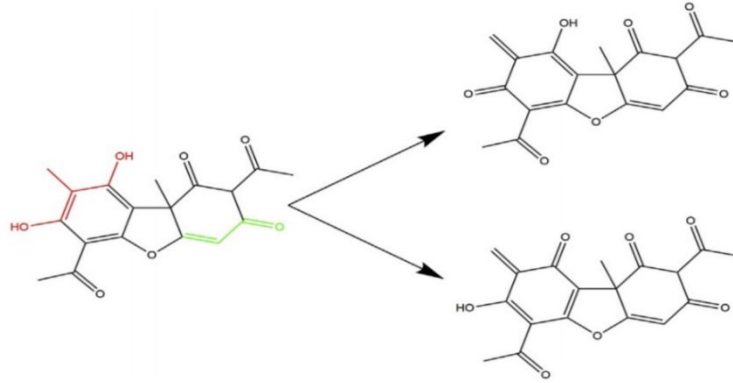


Şekil 2.3. Usnik asidin asetilkolinesteraz (AChE) ve butirikolinesteraz (BuChE) enzimleri üzerindeki etkisi. A ve C: AChE ve BChE için Usnik asidin IC₅₀ değerleri. B ve D: AChE ve BChE için Lineweaver-Burk grafiğinden belirlenen Usnik asidin Ki değerleri (Çakmak ve Gülçin, 2019)

Ayrıca, usnik asidin inhibisyon etkileri, nörodejeneratif hastalıklarla ilişkilendirilen asetilkolinesteraz (AChE) ve butirikolinesteraz (BChE) gibi metabolik enzimlere karşı test edilmiştir. Her iki enzim de asetilkolinin kolinerjik sinapslarda, merkezi sinir sistemi, nöromusküler bağlantılar ve otonom gangliyonlarda hidrolizini sağlayarak kolinerjik iletimde önemli roller oynar. Usnik asidin AChE (IC₅₀: 1.273 nM) ve BChE (IC₅₀: 0.239 nM) enzimlerine karşı etkili inhibisyon profillerini sergilediği gözlenmiştir. Sonuçlar açıkça göstermektedir ki usnik asid, antioksidan ve antikolinerjik potansiyellere sahip önemli bir doğal üründür.

Piskaa ve ark (2018) usnik asidin geniş biyolojik etkilerine rağmen, hepatotoksik bir ajan olduğu ve bu nedenle ilaç olarak potansiyel kullanımının sınırlı olduğu bilinmektedir. Bazı hepatotoksik ilaçlar, karaciğeri hasar verebilecek reaktif metabolitler oluşturarak etki gösterebilir. Piskaa ve arkadaşları 2018 yaptıkları çalışmanın amacı, usnik asidin enantiyomerlerinin insan, sıçan ve fare karaciğer mikrozomlarında reaktif ürünlere biyotransformasyonunu glutatyon ile bir tuzaklama testi kullanarak tahmin etmektir. Sonuç olarak, her enantiyomerin iki reaktif metabolit oluşturduğunu göstermektedir; bu metabolitler sırasıyla glutatyon ile addükt oluşturarak, usnik asidin toksisitesinin bir kısmını açıklayabilir. İn silico analiz, usnik asidin formülünde reaktif metabolitlerin oluşumu için yapısal uyarıları göstermektedir, ayrıca usnik asidin ve türevlerinin tıpta potansiyel

uygulamalarına dair gelecekteki araştırmalara yönlendirmeler sağlamaktadır. Usnik asidin farmakoforunun daha fazla kimyasal modifikasyonunda orto-metil fenol kısmından kaçınılması



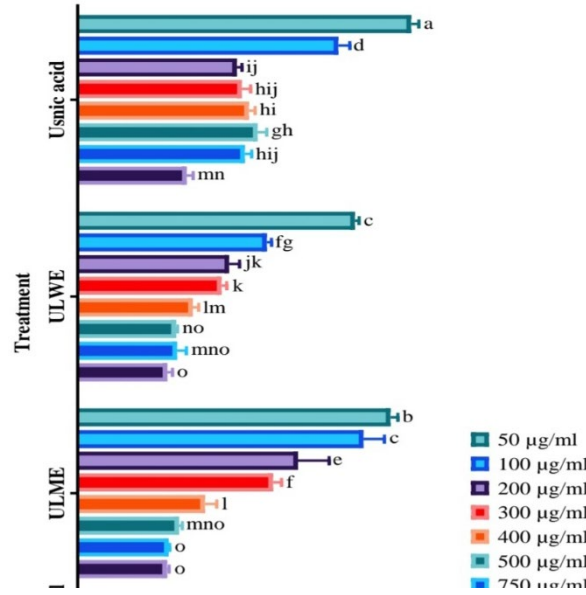
önerilmiştir.

Şekil 2.5. Usnik asidindeki yapısal uyarılar (orto-metil fenoller – kırmızı; Michael akseptörü – yeşil) ve bir kinonmetilidler biyotransformasyonu önerisi (Piskaa v ark., 2018)

Fernández-Moriano ve ark (2017) Parmeliaceae likenleri *Evernia prunastri* ve *Usnea ghattensis*'in in vitro sitoprotektif özelliklerini (antioksidan aktivitelerine dayalı olarak) ve bunların ana fenolik bileşenleri olan evernik ve usnik asitlerin etki mekanizmasını değerlendirmişler. Merkezi sinir sistemi benzeri hücre modellerinde (U373-MG ve SH-SY5Y hücre hatları), H_2O_2 'nin neden olduğu oksidatif stres aracılı sitotoksosite değerlendirilmiştir. İlk olarak, radikal temizleme kapasitelerini (ORAC ve DPPH testleri) ve özütlerin fenolik içeriği değerlendirilmiştir. Optimal konsantrasyonlarda, evernik asit ön işlemleri her iki modelde de H_2O_2 tarafından neden olunan sitotoksik hasara karşı önemli koruma sağladı. Bu, oksidatif stres belirteçlerindeki değişiklikleri tersine çevirdi (ROS üretimi, glutatyon sistemi ve lipid peroksidasyon seviyeleri dahil) ve hücresel apoptozu (kaspaz-3 aktivitesi). Bu etkiler, hücresel faz-II antioksidan enzimlerin ifadesinde dikkate değer bir artış tarafından kısmen iletilmiştir; NRF2 sitoprotektif yolunun muhtemel bir dahli önerilmektedir. Usnik asit benzer etkileri, bir ölçüde daha ılımlı bir şekilde gösterdi. Sonuçlar, liken poliketitleri evernik ve usnik asitlerin, nörodejeneratif bozukluklar da dahil olmak üzere oksidatif stresle ilişkili hastalıkların tedavisinde umut vadeden antioksidan adayları olarak daha fazla araştırmayı hak ettiğini öne sürmektedir.

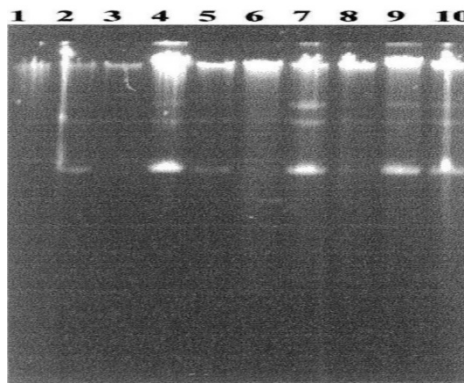
Aslan Engin ve ark (2023) *Usnea longissima* Ach. ve ikincil metaboliti usnik asidin insan gastrik adenokarsinom hücreleri (AGS), insan kolon adenokarsinom hücreleri (CACO-2) ve fare fibroblastları (NIH/3T3) üzerindeki sitotoksitesi etkiler incelenmiştir: *U. longissima*'nın metanol ve su özütleri Soxhlet özütleyici kullanılarak elde edilmiştir. Usnik asit Fourier transform infrared spektroskopisi (FTIR) ile karakterize edilmiştir. Ekstraktların ve metabolitlerin sitotoksik aktivitesi 2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksanilid (XTT) testi ile belirlenmiştir. Sonuçlar metanol ekstraktının AGS ve NIH/3T3 hücrelerine karşı daha etkili

olduğunu (sırasıyla 373.17 $\mu\text{g/ml}$ ve 318.81 $\mu\text{g/ml}$) ve Caco-2 hücrelerine karşı daha düşük IC50 değerine sahip olduğunu (230.05 $\mu\text{g/ml}$) göstermiştir. Usnik asidin kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesinin normal hücelere göre daha yüksek olduğu kaydedilmiştir. Bu sonuçlar, usuninin metanolik ve sulu ekstraktlarının, özellikle de usnik asidin, tamamlayıcı tedaviler olarak kullanım potansiyeline sahip ürünler olduğunu göstermektedir.



Şekil 2.6. CACO-2 hücrelerine uygulanan *U. longissima* ekstreleri ve sekonder metaboliti ile elde edilen XTT analizindeki canlılık oranları (Ortalama $\pm$ Standart Sapma, $n = 3$) (Aslan E. ve ark., 2023)

Campanella ve ark (2002) usnik asidin fare poliomavirusünün proliferasyonunu güçlü bir şekilde inhibe ettiğini göstermektedir. Etkisi, viryonun konak hücreye giriş seviyesinde gerçekleşmemektedir.

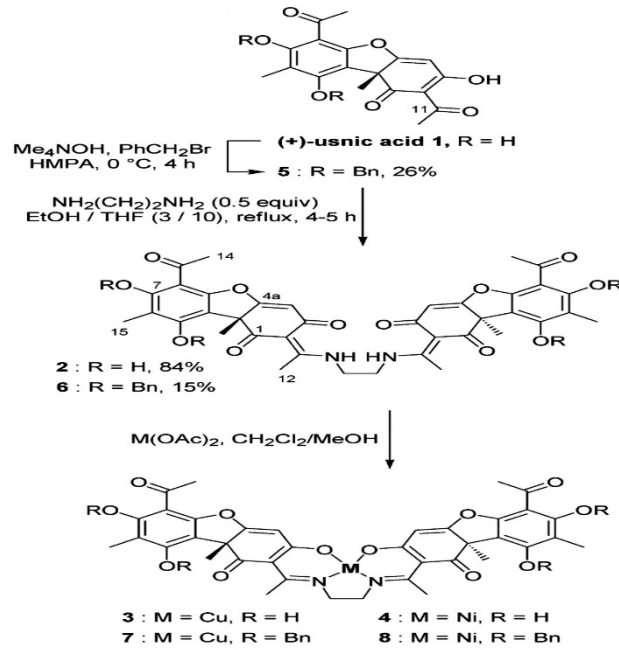


Şekil 2.7. Py DNA replikasyonunun hem enfeksiyondan sonra (şeritler 1-5) hem de transfeksiyondan sonra (şeritler 6-10) inhibisyonu. (Campanella ve ark., 2002)

Takani ve ark (2002) yılında usnik asidinin (UA) fenolik bir liken maddesinin metal bağlama özellikleri ve asetil ve enamind türevleri 9-O-asetilusnik asit (MAUA), 7,9-di-O-asetilusnik asit (DAUA), $\Delta 2,11$ -enaminusnik asit (EUA) ve N-substitüe $\Delta 2,11$ -enaminusnik asitleri, sentetik ve

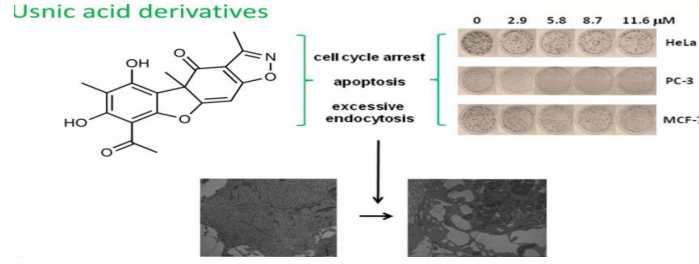
spektroskopik yöntemlerle incelemişlerdir ve bakır(II) ve paladyum(II) komplekslerinin yapıları X-ışını difraksiyon yöntemiyle belirlemişlerdir. Cu(II), UA ve DAUA ile sırasıyla Cu(UA)₂·H₂O ve Cu(DAUA)₂ biner kompleksleri vermek üzere reaksiyona girdi ve Cu(bpy) (bpy=2,2'-bipiridin) UA ve DAUA ile ternary kompleksler oluşturdu. Pd(II) ayrıca UA, DAUA, EUA ve N-substitüe Δ²,11-enaminusnik asitleri ile karşılık gelen biner kompleksleri vermek üzere reaksiyona girmiştir.

Chollet-Krugler ve ark (2008) (+)-usnik asitten sentezledikleri yeni ligandın, aşağıdaki şemaya göre diasetat tuzları ile reaksiyon sonucunda kiral bakır(II) ve nikel(II) kompleksleri elde etmişlerdir.



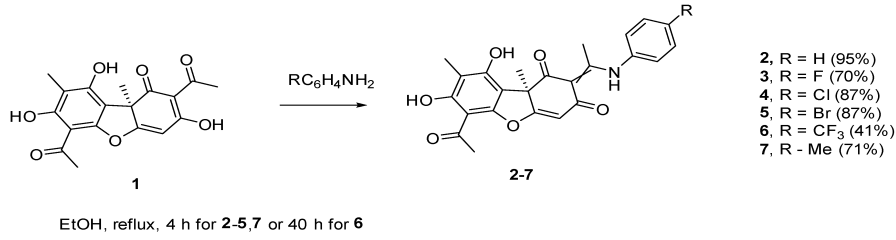
Şekil 2.8. 2,3,4,5,6,7,8 bileşiklerinin sentezi (Chollet-Krugler ve ark., 2008)

Pyrczak-Felczykowska ve ark (2019) yaptıkları çalışmada, usnik asidinden türetilen bir dizi bileşik sentezlenmiş ve farklı kökenli kanser hücreleri üzerindeki antiproliferatif etkinlikleri değerlendirilmiştir. Sentezlenen bazı bileşikler, usnik asidinden daha etkili olmuştur. 2a ve 2b bileşikleri, tüm test edilen kanser hücre hatlarının hayatta kalmasını doza ve zaman bağımlı bir şekilde inhibe etmiştir. 48 saatlik tedavinin ardından MCF-7 ve PC-3 hücreleri için IC₅₀ değerleri yaklaşık 3 µM, HeLa hücreleri için ise 1 µM civarındaydı, 3a ve 3b ise sadece HeLa hücrelerine karşı antiproliferatif aktivite göstermiştir. Aktif usnik asidi türevleri, HeLa hücrelerinin S ve G₂/M fazlarındaki fraksiyonunda düşüşe ve G₀/G₁ durmasına neden olmuştur. 2a ve 2b bileşikleri, değerlendirilen kanser hücrelerinin klonojenik potansiyelini azaltmış ve MCF-7 hücrelerinde G₀/G₁ fazında hücre döngüsü durmasına ve apoptoza neden olmuştur.

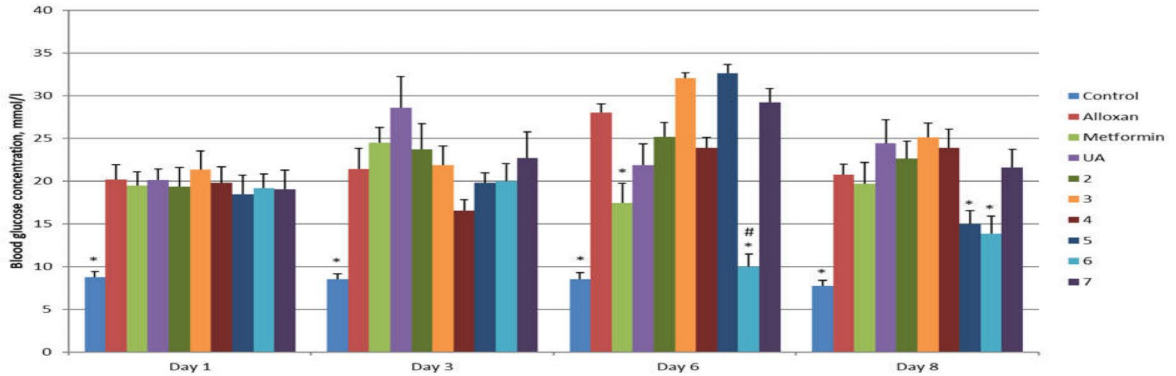


Şekil 2.9. Usnik asit türevinin hücrelerin üzerindeki etkisi (Pyrzczak-Felczykowska ve ark., 2019)

Borisov ve ark (2022) (+)-usnik asidinin altı enamin türevini sentezlemişler ve bunlardan ikisi yeni geliştirmişlerdir. Tüm bileşikler, alloxan ile indüklenmiş diyabetli farelere ağızdan 50 mg/kg dozunda uygulandıktan sonra hipoglisemik etki açısından değerlendirmişlerdir. 4-trifluorometilfenil fragmanını içeren türev, deneyin altıncı gününden itibaren tespit edilen en belirgin hipoglisemik etkiyi göstermişti. Ayrıca, glukoz metabolizması değişikliği olmadan farelerde (C57BL/6) OGTT yapıldı, bu da incelenen tüm bileşiklerin ağızdan uygulamasından sonra hipoglisemik etki göstermediğini belirtmişler.



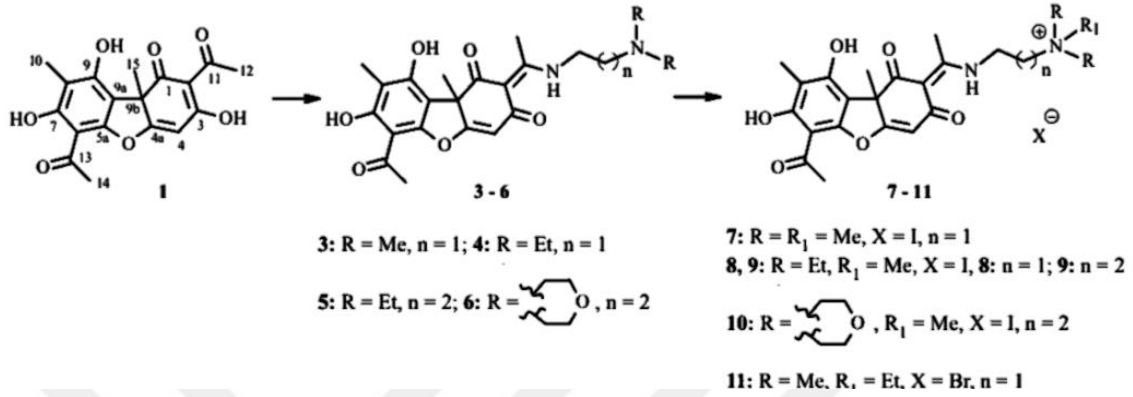
Şekil 2.10. 2-7 bileşiklerinin sentezi (Borisov ve ark., 2022)



Şekil 2.12. Alloxan ile indüklenmiş diyabetli farelerde bileşikler 2-7'nin kan glukoz seviyesi üzerindeki etkisi. * Alloxan grubuyla karşılaştırıldığında $p < 0.05$, # Metformin grubuyla karşılaştırıldığında $p < 0.05$ (Borisov ve ark., 2022)

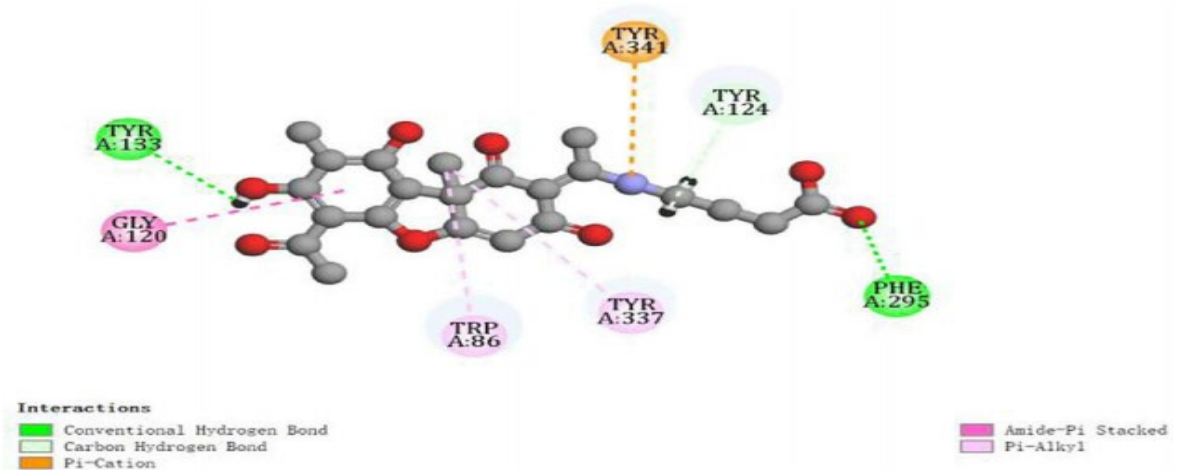
Luzina ve ark (2015) yaptıkları bir çalışmada usnik asidinin her iki enantiyomerinin enamin türevleri ile birlikte kuaternize N atom bileşiklerinin sentezlemişlerdir, bileşikler 3 ve 4'te orta

düzeyde sitotoksik aktiviteye neden olmuştur. İlginç bir şekilde, kuaternize bileşikler 7 ve 8, Mycobacterium smegmatis'e karşı belirgin antimikobakteriyel aktivite göstermişti, ancak N atomları arasındaki bağcık uzunluğu arttıkça etkinlik azalmıştır. (+)-8 bileşiği, Staphylococcus aureus, S. Epidermidis, Streptococcus pneumoniae ve Enterococcus faecalis dahil olmak üzere patojen Gram-pozitif mikroorganizmaların etkili bir şekilde büyümesini engellemiştir.



Şekil 2.13. 3-11 bileşiklerinin sentezi (Luzina ve ark., 2015)

Hao ve ark (2023) İki yeni dibenzofuran (1–2), çoklu substitüe edilmiş tek bir benzen halkası (3) ve iki organik asit bileşiği (4–5) dahil olmak üzere 25 bileşik sentezlemişler ve (6–30) bileşiklerini izole etmişlerdir. Bileşikler 1, 2 ve 6–8'in asetilkolinesteraz inhibitör aktiviteleri anti-AChE testi ve moleküler bağlanma çalışması ile değerlendirmişlerdir. Bileşik 2, 0.3 µmol/ml konsantrasyonunda AChE'yi etkili bir şekilde inhibe etmiştir (%61.07 ± 0.85). Moleküler bağlanma çalışması, bileşik 2'nin en güçlü bağlanma affinitesine sahip olduğunu ve "-CDOCKER Energy" değerinin 14.4513 kcal/mol olduğunu ortaya koymuştur.



Şekil 2.14. Bileşik 2'nin AChE ile olan ligand-protein etkileşiminin 2D diyagramı (Hao ve ark., 2023)



3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan Kimyasallar

Diklorometan (Merck),
Dietileter (Merck),
DMF (Merck),
DMSO (Merck),
THF (Merck),
Benzen (Merck),
Etanol (Merck),
Metanol (Merck),
Etil asetat (Merck),
Aseton (Merck),
Hekzan (Merck),
Saf H₂O,

Ligandların sentezlerinde;
(+)-Usnik asit (Aldrich),
Etilendiamin
1,2-diaminbenzen
1,4-diaminbenzen
N-Boc-etilendiamin
8-aminokinolin

Metal komplekslerinin sentezinde;
CuCl₂.2H₂O (Fluka).

3.1.2. Kullanılan Cihaz ve Programlar

Elementel Analiz (Çukurova Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü),
FT- IR Spektroskopisi (Perkin-Elmer RX-1, KBr disk; 4000-400cm⁻¹),
UV-Vis Spektrometre; Perkin Elmer Lambda 25,
Erime Noktası Tayin cihazı; Gallenkamp,
pH metre; pH 211 Hanna Instruments,
UV lambası, Uvgl 58, Handheld UV Lamp (254-365 nm),
Karıştırıcı; Velp,

Etüv; Elektromag M 420 P,

LA-ICP, Perkin Elmer, Nexion 2000 P,

Termogravimetrik/Diferansiyel Termal Analiz: Perkin Elmer Pyris DiamondTG/DTA, N2 atmosferinde, 25-800 °C'de, 10°C.dk-1,

ICP-OES: Perkin-Elmer Optima 2100DV ICP,

Gaussien09

Gaussview5

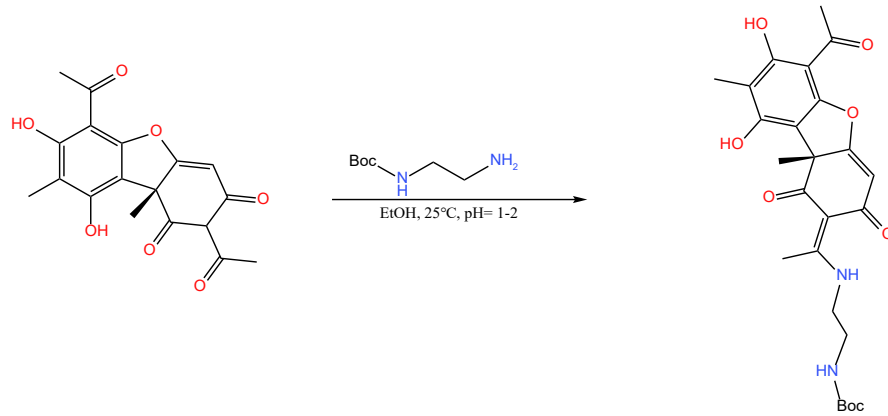
Autodock Vina

3.2. Metod

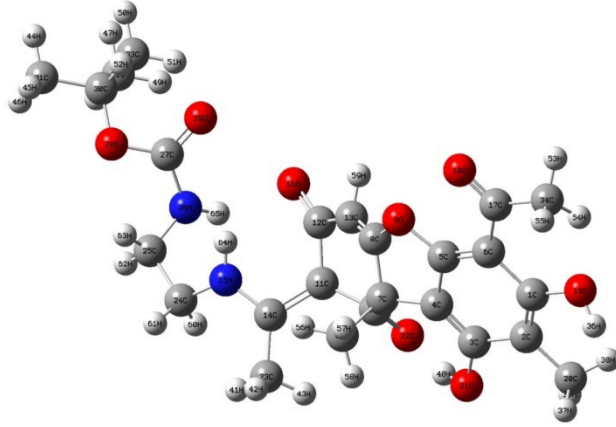
3.2.1. Ligantların Sentezi

Tert-bütüil(E)-(2-((1-(6-asetil-7,9-dihidroksi-8,9b-dimetil-1,3-diokso-3,9b-dihidrodibenzo[b,d]furan-2(1H)-iliden)etil)amino)ethyl)karbamit (1) sentezi

7 mL saf etanol içinde 172,4 mg (0,5 mmol) usnik asit çözüldükten sonra 82 µL (0,5 mmol) N-Boc-etilendiamin yavaşça eklendi. Karışım 2 saat oda sıcaklığında geri soğutucu altında karıştırıldı. TLC'ye bakılarak reaksiyonun tamamlandığını doğruladıktan sonra, 50 mL %1 HCl eklendi ve 1 saat daha karıştırıldı. 1 gece bekletildikten sonra oluşan sarı çökelti süzülerek %1 HCl (3×20 mL), ardından saf su (3×20 mL) ile yıkandı. Ham ürün, ligant bileşikler verecek şekilde 1:1 saf etanol ve saf su karışımı içinde yeniden kristallendirildi.



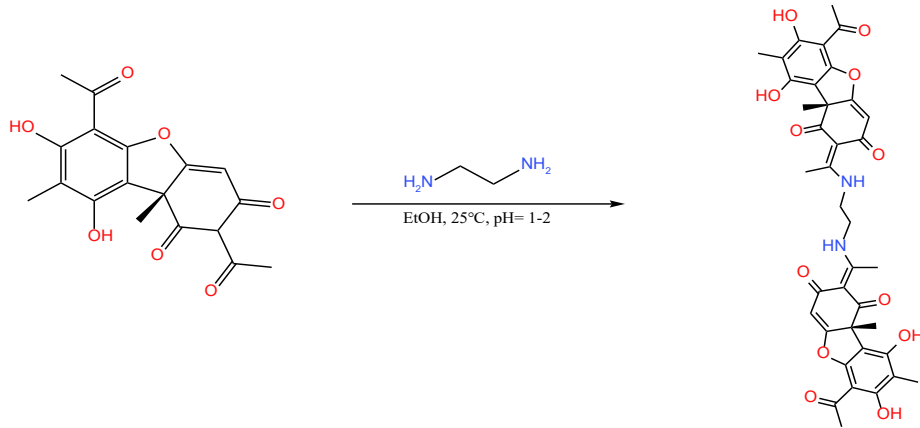
Şekil 3.1. 1'in sentezi ve olası yapısı



Şekil 3.2. 1'in 3 boyutlu yapısı

(2E,2E')-2,2'-((etan-1,2-diilbis(azandiil))bis(etan-1-il-1-iliden))bis(6-asetil-7,9-dihidroksi-8,9b-dimetildibenzo[b,d]furan-1,3(2H,9bH)dion (2) sentezi

7 saf etanol içinde 172,4 mg (0,5 mmol) usnik asit çözüldükten sonra 17 µL (0,25 mmol) etilendiamin yavaşça eklendi. Karışım 2 saat oda sıcaklığında geri soğutucu altında karıştırıldı. TLC'ye bakılarak reaksiyonun tamamlandığını doğruladıktan sonra, 50 mL %1 HCl eklendi ve 1 saat daha karıştırıldı. 1 gece bekletildikten sonra oluşan açık sarı çökelti süzülerek %1 HCl (3×20 mL), ardından saf su (3×20 mL) ile yıkandı. Ham ürün, ligant bileşikleri verecek şekilde 1:1 saf etanol ve saf su karışımı içinde yeniden kristallendirildi.

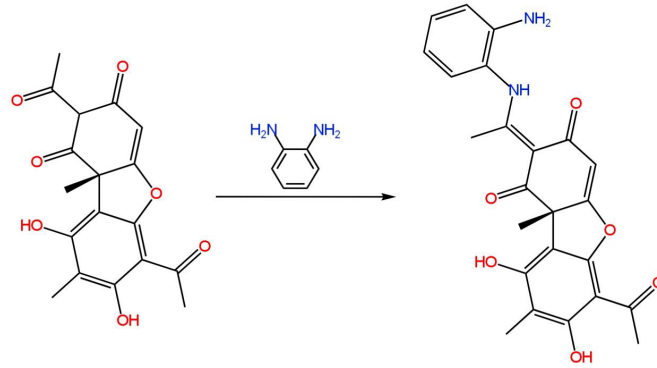


Şekil 3.3. 2'nin sentezi ve olası yapısı

(E)-6-asetil-2-(1-((2-aminofenil)amino)etiliden)-7,9-dihidroksi-8,9b-dimetildibenzo[b,d]furan-1,3(2H9bH)-dion (3) Sentezi

7 saf etanol içinde 172,4 mg (0,5 mmol) usnik asit çözüldükten sonra 84 mg (0,5 mmol) 1,2-diaminobenzen yavaşça eklendi. Karışım 8 saat oda sıcaklığında geri soğutucu altında karıştırıldı. TLC'ye bakılarak reaksiyonun tamamlandığını doğruladıktan sonra, 50 mL %1 HCl eklendi ve 1 saat daha karıştırıldı. 1 gece bekletildikten sonra oluşan kahverengi çökelti 5 süzülerek %1 HCl

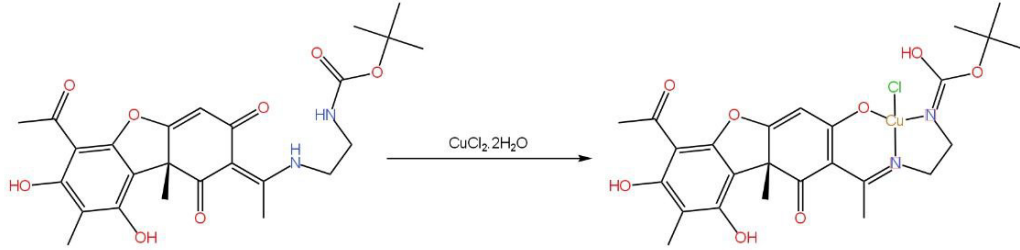
(3×20 mL), ardından saf su (3×20 mL) ile yıkandı. Ham ürün, ligant bileşikleri verecek şekilde 1:1 saf etanol ve saf su karışımı içinde yeniden kristallendirildi.



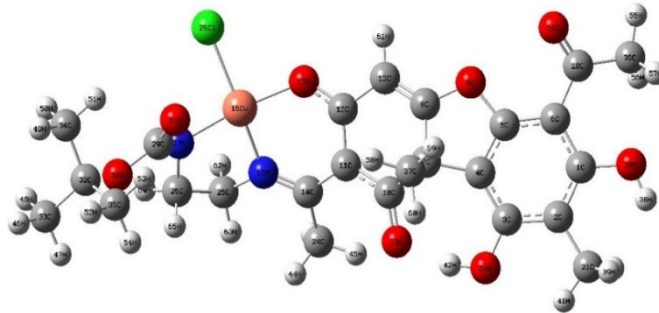
Şekil 3.4. 3'ün sentezi ve olası yapısı

3.2.2. Kompleksin Sentezi

$\text{Cu}(\text{Cl})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.5 mmol), 1 (1 mmol) ve potasyum tert-bütoksit (1mmol) karışımı etanolde oda sıcaklığında 3 saat karıştırıldı ve kuruyana kadar buharlaştırıldı, kalıntı sulu etanolden geri kristallendirildi. Elde edilen ürün koyu mavi bir tozdu.



Şekil 3.5. 1-Cu'nın sentezi ve olası yapısı



Şekil 3.6. 1-Cu'nın 3 boyutlu yapısı

3.2.3. Hesaplamalı Kimya Metodları

Kuantum Hesaplamalar

Tüm bileşiklerin temel durum (S_0) geometrileri, Gaussian 09 (Frish ve ark., 2009) paket programı ve hibrit fonksiyonel B3LYP (Becke, 1988; Lee ve ark., 1988) ile DFT (Kohn ve Sham, 1965) kullanılarak optimize edildi. Tüm atomlar için kullanılan temel set, geometri optimizasyonları için 6-31G olarak seçildi. Bileşiklerin üçlü (T) ve tekli uyarılmış durumları (S), TD-DFT kullanılarak minimum enerji geometrilerini elde etmek için gevşetildi. Tüm yapıların gaz fazı geometri optimizasyonları ilk olarak MM2 yöntemi ve ardından tutarlı moleküler orbital (SCFMO) yöntemi kullanılarak yarı deneysel PM3 kullanılarak gerçekleştirildi. Her bileşik için, ilgili geometri optimizasyonlarında kullanılan aynı temel set kullanılarak titreşim analizleri gerçekleştirildi (Turhan Irak ve Gümüş, 2017).

Moleküler Kenetlenme

Optimizasyonu yapılan bileşiklerin enzimler ile Autodock Vina kullanarak moleküler kenetlenme çalışması yapıldı (Huey ve ark., 2012). Protein databank dan elde edilen ve bir önceki çalışmalarda da kullanılan seçilen enzim molekülleri tarandı.

Yapılan literatür taramasından sonra kenetlenme çalışması yapılacak her bir enzimin insan kaynaklı olmasına özellikle dikkat edilerek seçimler yapıldı:

- a. AChE → 4M0E
- b. BChE → 4BDS
- c. Beta Amyloid → 1IYT

3.2.4. Antioksidan Aktivitelerin Tayini

Antioksidan aktivite tayini için saf maddelerin DPPH serbest radikal giderim, ABTS katyon radikal giderim, CUPRAC (Bakır II indirgeme antioksidan) yöntemleri ile aktivite tayinleri yapılmıştır.

DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) Serbest Radikal Giderim Yöntemi

Saf maddelerin serbest radikal giderim aktiviteleri 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikali kullanılarak belirlenmiştir (Blois, 1958). Saf maddelerin 1 mM'lık stok çözeltileri hazırlanmıştır. Bu stok çözeltilerden 2, 5, 10 ve 20 μ L alınarak etanol ile hacimleri 40 μ L'ye tamamlanmıştır ve üzerlerine 0,1 mM DPPH çözeltisinden 160 μ L ilave edilmiştir. Hazırlanan çözeltilerin oda sıcaklığında karanlıkta 30 dakika inkübasyondan sonra 517 nm'de absorpsanları ölçülmüştür. Elde edilen bu absorpsan değerlerinden % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır. Örneklerin absorpsan değerleri kontrole karşı değerlendirilmiştir. Serbest radikal giderim aktivitesi (% inhibisyon) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100 \quad (3.1)$$

A: Absorbans

Her bir örnekten üç paralel çalışma yapılmıştır. Standart olarak BHT, BHA ve α -Toc kullanılmıştır.

ABTS Katyon Radikali Süpürme Aktivitesi

Saf maddelerin ABTS kation radikal süpürme aktiviteleri 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) kullanılarak belirlenmiştir (**Re ve ark., 1999**). Saf maddelerin 1 mM'lık stok çözeltileri hazırlanmıştır. Bu stok çözeltilerden 2, 5, 10 ve 20 μ L alınarak etanol ile hacimleri 40 μ L'ye tamamlanmış ve üzerlerine 7 mM ABTS kation radikali çözeltisinden 160 μ L ilave edilmiştir. Reaksiyon karanlıkta 6 dakika bekletildikten sonra 734 nm'de absorbansları ölçülmüştür. Örneklerin absorbans değerleri kontrole karşı değerlendirilmiştir. ABTS kation radikal süpürme aktivitesi (% inhibisyon) 3.1. eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

CUPRAC Yöntemi

CUPRAC yönteminde, örneklerdeki antioksidan bileşikler varlığında Cu(II)-Neokuproin (Nc) kompleksi, renkli Cu(I)-Nc kelatına indirgenir ve bu kelatın 450 nm'de absorbansı ölçülmüştür. Saf maddelerin 1 mM stok çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan örnekler ve standartların üzerine, son konsantrasyonları 10, 25, 50, 100 μ M olacak şekilde Cu (II), neokuproin ve NH₄OAc tamponu ilave edilmiş ve 1 saat sonra 450 nm'de absorbans ölçülmüştür (**Apak ve ark., 2004**). Örneklerin absorbans değerleri standartlara karşı değerlendirilmiştir. Her bir örnekten üç paralel çalışma yapılacaktır. Standart olarak BHT, BHA ve α -Toc kullanılmıştır.

3.2.5. Antikolinesteraz Aktivite Tayin Yöntemi

AChE Aktivite Testi

Asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi için enzim olarak asetilkolinesteraz enzimi, substrat olarak ise asetiltiyokolin iyodür kullanılmıştır. Sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoat anyonunun konsantrasyonu 412 nm'de mikropilaka reader ile ölçülmüştür. Mikropilakadaki kuyucuklara 130 μ L fosfat tamponu (pH =8), saf maddelerin etanol içinde 4 mM konsantrasyonda hazırlanan çözeltilerinden 10 μ L ve enzim çözeltisinden 20 μ L koyulmuştur. Bu çözelti 10 dakika süre ile 25°C'de inkübe edilmiştir. 10 dakika sonra 20 μ L DTNB reaktifi ve substrat (asetiltiyokolin iyodür) ilave edilmiştir. Standart olarak galantamin kullanılmıştır. Mikropilaka ELISA okuyucuya yerleştirilerek 412 nm dalga boyunda absorbans okunacaktır. AChE aktivitesi (% inhibisyon) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanacaktır (**Ellman ve ark., 1961**).

BuChE Aktivite Testi

Butirilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi için enzim olarak butirilkolinesteraz enzimi, substrat olarak ise butiriltiyokolin iyodür kullanılmıştır. Sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoat anyonunun konsantrasyonu 412 nm’de mikrolaka reader ile ölçülmüştür. Mikrolakadaki kuyucuklara 130 µL fosfat tamponu (pH =8), saf maddelerin etanol içinde 4 Mm konsantrasyonda hazırlanan çözeltilerinden 10 µL ve enzim çözeltisinden 20 µL koyulmuştur. Bu çözelti 10 dakika süre ile 25°C de inkübe edilecek. 10 dakika sonra 20 µL DTNB reaktifi ve substrat (butiriltiyokolin iyodür) ilave edilmiştir. Standart olarak galantamin kullanılmıştır. Mikrolaka ELISA okuyucuya yerleştirilerek 412 nm dalga boyunda absorbans okundu. BChE aktivitesi (% inhibisyon) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır (Ellman ve ark., 1961).

3.2.6. Farmakoloji Deneyleri

Deney Hayvanı ve Barındırma Koşulları

Çalışmada Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinden (ÇÜTF-SABİDAM) temin edilen, (25-35 g; 8-10 haftalık) Swiss Albino türü erkek fareler kullanıldı. Deneylerde kullanılan fareler her kafeste 10 tane olacak şekilde yerleştirildi, Standart laboratuvar koşulları sağlandı ve SABİDAM yönergesinde belirtilen etik kurallara uygun olarak barındırıldı. Deneylere başlamadan önce Çukurova Üniversitesi Deney Hayvanları Etik kurulundan onay alınmıştır (Karar sayısı: 17, Ek M).

Farelerde motor fonksiyonların değerlendirilmesi için rota rod testi, Alzheimer hastalığının en önemli bulgularından biri olan bellek kaybını ölçmek için Modifiye Yükseltilmiş Artı Labirent Testi (Plus-maze Testi) ve Pasif Sakınma Testi yapılmıştır. Alzheimer hastalığının bir diğer önemli bulgularından biri olan depresyon davranışları olup olmadığını ölçmek için Zorunlu Yüzdürme testi (Force Swimming Test) yapılmıştır. Tüm testler Ç.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Davranış Farmakolojisi Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Fareler 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngüsünde, ses yalıtımlı, sıcaklık ve nemi sabit tutulan laboratuvarında, yem ve su kısıtlanmasız yapılmadan barındırılmıştır. Deney hayvanlarıyla araştırmaya başlamadan önce yedi gün boyunca ortama alıştırdı.

Deney Grupları ve Uygulama Sıraları

Swiss Albino erkek fareler deney protokolüne göre altı (6) gruba ayrılmıştır. Her bir grupta 8 adet erkek fare bulunmaktadır. Grup I (kontrol), sağlam farelerden oluşan, hiç bir işlem yapılmamış gruptur. Grup II (sham) distile su 10 mL/kg uygulanmıştır. Grup III (bakır kontrol) grubudur. Bu gruba 25 mg/kg CuSO₄ oral (gastrik gavaj) verilmiştir. Grup IV, ligand 1 uygulanan gruptur. Bu gruba usnik asit 25 mg/kg oral (gastrik gavaj) verilmiştir. Grup V. CuSO₄+ ligand 1 oral (gastrik gavaj) uygulanmıştır. Grup VI’ya usnik asit çözücüsü %2 DMSO+ mısır yağı uygulanmıştır. Grup III ve Grup IV deki farelere sırasıyla CuSO₄ ve ligand 1 90 gün boyunca günde bir kez

uygulanmıştır. Grup V deki fareler CuSO₄ gastrik gavajla uygulandıktan 20 dakika sonra ligand 1 uygulanmıştır.

Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Uygulama Şekilleri

Bu çalışmada bakır (II) sülfat, ligand 1, dimetilsülfoksit ve mısır yağı kullanılmıştır. Bakır(II) sülfat 2.5 (mg/mL) olarak hazırlanmıştır. Bakır sülfat dozu 25 (mg/kg) olarak önceki araştırmalardan elde edilen CuSO₄'ın LD₅₀ değerlerine göre hesaplanarak belirlenmiştir (**Agarwal ve ark., 1990**). Ligand 1'in dozu 25 (mg/kg) (**Cazarin ve ark., 2021**), çözeltisi 2.5 (mg/mL) olarak %2 DMSO mısır yağı içinde hazırlanmıştır.

Davranış Testleri

Modifiye Yükseltmiş Artı Labirent Testi

Modifiye Yükseltmiş Artı Labirent Testi (mYALT), deney hayvanlarında öğrenme ve hafızayla ilgili davranışları ölçer. Deneyler, bir masa lambasıyla (80 lüks) aydınlatılan aydınlık, yarı ses geçirmez bir odada gerçekleştirildi. Labirent, 5 cm'lik kare bir orta kısım oluşturacak şekilde birbiriyle kesişen iki açık kol (29 cm uzunluk x 5 cm genişlik) ve iki kapalı kol (29 cm x 5 cm x 15 cm yüksekliğinde duvarlar) ile ahşaptan yapılmıştır. Açık alanın etrafı hayvanların düşmesini önlemek amacıyla kısa (1 cm) pleksiglas bordürle çevrildi. Labirent yerden 40 cm yüksekliktedir. Öğrenme ve hafıza deneylerinde değiştirilmiş yükseltmiş artı labirent testi kullanıldığında deneyler iki aşamada gerçekleştirildi. İlk aşama edinim/öğrenme dönemidir. İkinci aşama, bir önceki günün edinim/öğrenme döneminde öğrenilen ve depolandığı düşünülen bilgilerin 24 saat sonra hatırlanacağı akılda tutma dönemidir. İlk gün denekler yükseltmiş artı labirentin açık kollarından birinin ucuna yerleştirilir. Fare 90 saniye içinde kapalı kollardan birine girmezse, yavaşça kapalı kollardan birine doğru itilir. Farenin karanlık kollardan (GS1) birine girmesi için geçen süreyi kaydedilir. Karanlık bölüme geçen farelerin bu kollarda 10 saniye kalmalarına izin verilir ve bu sürenin sonunda fareler ev kafeslerine geri gönderilir. Bu uygulamadan tam 24 saat sonra fare tekrar açık kollardan birinin ucuna yerleştirilir ve koyu renkli kollardan birine girmek için gereken süre kaydedilir (GS2). Bu testte GS1 değerinden daha düşük bir GS2 değeri, denneğin öğrendiğinin kanıtı olarak kabul edilir.

Pasif Sakınma Testi

Bu testte; pasif sakınma test cihazı (Ugo Basile, pasif kaçınma kontrolörü Cat 7551, İtalya) kullanılır. Pasif sakınma genellikle en hızlı öğrenme testlerinden biridir. Test, birbirinden bir erişim kapısıyla ayrılan karanlık bölme (24x12,5x14 cm) ve aydınlık bölme (7x12,5x14 cm) (2000 lüks) olmak üzere iki bölmeden oluşuyordur. Farelerin oda içerisinde çığnediği zemin, 0,3 cm çapında paslanmaz çelik tellerden yapılmış ve 0,9 cm aralıklarla birbirine paralel yerleştirilmiş ızgara yapısına sahiptir. Zemin, deney hayvanlarının ayaklarına programlanmış elektrik şoklarının

verilebileceği şekilde ayarlıdır. Hayvanın elektrik şokunu aldığı bölge karanlık bölgedir. Tipik olarak fareyi ışık odasına yerleştirdikten sonra kısa bir süre içinde tercih ettiği karanlık odaya geçmesi beklenir. Bu testi iki aşamadan oluşur: kazanım denemeleri ve tutma denemeleri. Kazanım denemesinde, fare ızgara zeminden verilen ayak şokundan sakınmayı öğrenmek için eğitilir. Deneyin 1. günü (kazanım denemesi) fare aydınlık bölmeye yerleştirilir ve bölmeler arasındaki kapı 10 saniye sonra açılır. Fare aydınlık bölmeden karanlık bölmeye geçtiğinde (kuyruğun 2/3'ü karanlık bölmeye girmeli), kapı kapatılır ve karanlık kompartmanın ızgara zemininden hayvanın ayağına elektrik şoku (0.25mA/1 saniye) verilir. Ayak şokunu aldıktan 30 saniye sonra, hayvanlar karanlık bölmeden kafeslerine geri alınır. Karanlık bölmeye 5 dakika içinde geçmeyen fareler deneyden çıkarılır. Her eğitim denemesinden sonra, bölmeler temizlenerek kokuya bağlı olumsuz etkiler önlenir. Bu aşamada farenin aydınlık bölümden karanlık bölmeye geçmesi için geçen süre kaydedilir. Hatırlama denemesi, kazanım denemesinden 1 gün sonra yapılır. Fare eğitim denemesinde olduğu gibi aydınlık bölmeye yerleştirilir. Bölmeler arası kapı 10 saniye'lik alıştırma peryodundan sonra açılır. Hayvan elektrik şoku alacağını anlayarak normalde tercih ettiği karanlık bölmeye 5 dakika içinde geçmezse olayı öğrenmiş kabul edilir. Hatırlama denemesinde karanlık bölmeye geçme süresi "hatırlama süresi indeksi" olarak kullanılır. Hatırlama denemesinde farelere ayak şoku uygulanmaz. Hatırlama süresi indeksi arttıkça öğrenilmiş deneyim daha iyi hatırlanır. Hatırlama süresinin kazanım süresine göre uzaması daha iyi bellek fonksiyonunun göstergesidir (Uygun ve ark., 2023).

Zorunlu Yüzme Testi

Zorunlu Yüzme Testinde (ZYT) fareler tek başlarına 23-25°C sıcaklığında su içeren Pleksiglas silindire (çap 12 cm) bırakılırlar ve orada 6 dakika boyunca tutulurlar. Bu durum kaçamayacakları bir durum olduğu için, hayvanlar kısa sürede hareketsiz hale gelirler, dikey pozisyonda ve sadece kafalarını sıvı üstünde muhafaza etmelerini sağlayacak küçük hareketler yaparak su üstünde dururlar. 6 dakikalık test süresinin son 4 dakikasındaki deney hayvanlarının hareketsizlik zamanı kaydedilir. Bu testte, antidepresan-benzeri etki gösteren kimyasalların hareketsizlik süresini kısalttıkları ve hayvanların ortamdan çıkmak için daha çok çaba gösterdikleri gözlemlenmektedir (Can ve ark., 2012).

Rotarod Testi

Rotarod test; performansı, direnme gücünü, denge ve koordineli hareketleri değerlendirmede kullanılır. Rotarod testinde, sabit hızda dönen bir çubuk üzerinde, deney hayvanının düşmeden kaldığı süre kaydedilir. Test düzeneği 4 veya daha fazla bölmeyle birbirinden ayrılmış en az 5 cm çapında bir çubuk, bu çubuğun hızını ayarlayan elektrikle çalışan bir motor sistemi ve çubuğun altına yerleştirilmiş bir ızgaradan oluşmaktadır. Her bir disk dijital saate sahiptir. Dijital saatle; saat, dakika, saniye ve salise düzeyinde süre ölçülebilmektedir. Dijital saat, deney hayvanının üzerinde durduğu çubuktan düştüğü an, otomatik olarak durmaktadır. Disklerin hızı: 16, 20, 24, 28 ve 32 tur/dk olarak

yarlanabilir. Çalışmada denekler dakikada, 32 tur/dk olacak şekilde dönen platformun üstüne yerleştirilir (Ugo Basile, Rotarod 7600, Italy). Her hayvan için cut-off süresi 120 saniyedir. Ölçüm sonucunda, platform üstünde dönen hayvanın spontan aktivitesindeki değişiklikler ve motor koordinasyon hareketleri, yapılan tüm ölçümlerin ortalaması alınarak değerlendirilir. Test süresince deneklerin dönen çubuk üzerinde kalış süresi aletin otomatik sayacı ile (saniye) kaydedilir (**Uzbay, 2004**).



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada usnik asidi türevlendirilerek 3 farklı ligand sentezlenmiş, 1 ile Cu(II) tuzları muamele edilerek bir metal kompleksi sentezlenmiş ve yapıları ICP, LC-MS, TGA, FT-IR, elementel analiz gibi analitik ve spektroskopik yöntemleriyle aydınlatılmıştır. Elde edilen sonuçlar literatür bilgileri ışığında değerlendirilerek ligantlar ve metal kompleksi için yapısal formüller önerilmiştir. Teorik ve deneysel sonuçların birbiriyle uyumu bazı yapılar için gözlemlenememiştir. Sentezler için, materyal ve metod kısmında önerilen yöntemle 1-Cu kompleks sentezlenmiş ancak analiz sonuçlarına göre önerilen yapı yerine yeni bir yapı ortaya çıkmıştır. Kompleksin yapısındaki değişiklik, 1'in bozulmaya uğraması sonucu olarak değerlendirilmiştir. Yeni kompleks "4-Cu" ve 1'in bozulmuş yapısı "4" olarak kodlandırılmıştır.

Sentezlenen 1 için In vivo çalışmaları ÇÜ Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim dalında yürütülmüştür. Alzheimer Hastalığına sebep olan ağır metal birikiminin doku ve organ azaltılması laboratuvar fareleri için Ç.Ü. Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim dalında incelenmiştir.

4.1. Sentezlenen Ligantların Deney Verileri

1 ve 2 açık sarı renkli iken 3 açık kahverengine sahiptir. Ligantların erime noktaları sırayla, 140.2~141.0 °C , 237.0~238.5°C, 120.0~122.8°C.

Çizelge 4.1. ve 4.2. de ligantların fiziksel özellikleri belirtilmektedir.

Çizelge 4.1. Ligantların çözünürlük özellikleri

Çözücü	1	2	3
Hekzan	-	-	-
Etanol	-	-	-
Kloroform	+	+	+
DMSO	+	+	+
Asetonitril	+	-	+
Etilasetat	+	-	+
DMF	+	+	+
THF	+	+	+
Aseton	+	+	+

Çizelge 4.2. Ligantların fiziksel özellikleri

Ligant	Renk	Erime noktası (°C)	%verim
1	Sarı	140.2~141.0	86.50
2	Açık sarı	237.0~238.5	64.00
3	Sütlü kahve	120.0~122.8	41.47

4.2. Elemental Analiz, ICP ve LC-MS Bulgularının Değerlendirilmesi

Sentezlenen ligantların elemental analizi ve 1'in bağladığı Cu(II) yüzdesinin oranları ve ICP sonuçlarının deneysel ve teorik olarak hesaplanan sonuçlar çizelge 4.3.te verilmiştir. Ligantların deneysel ve teorik verilerin birbirleriyle uyumludur. Kompleksin verileri birbirleriyle uymayıp beklenen yapı yerine yeni bir yapı ortaya koyulmuştur.

Çizelge 4.3. Sentezlenen bileşiklerin elemental ve ICP analizleri

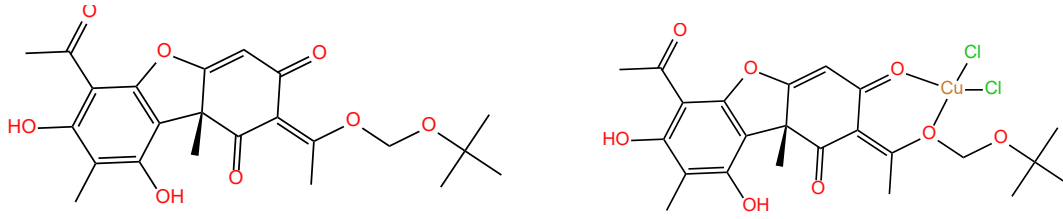
Bileşikler	% Deneysel				% Teorik			
	%C	%H	%N	%Cu(II)	%C	%H	%N	%Cu(II)
1	61.7	6.2	5.8		61,4	5.8	4.2	
2	64.0	5.1	3.9		63.7	5.0	3.0	
3	66.4	5.1	6.4		66.7	5.2	4.7	
1-Cu	53.1	3.6	0.0	10.3	51.4	5.0	4.8	10.9
4-Cu	53.1	3.6	0.0	10.3	53.0	5.4	0.0	11.7

Ligantların LC-MS analizi teorik ve deneysel verileri çizelge 4.4. da verilmiştir. 2'nin LC-MS spektrumu 694'da kesildiği için ligandın moleküler piki tespit edilememiştir.

Çizelge 4.4. Bileşiklerin LC-MS verileri

Ligand	Molekül kütlesi (g/mol)	
	Teorik	Deneysel
1	486.52	487.23
2	726.24	668.00
3	434.15	435.17
4-Cu	563.90	564.70

4.3. 4 ve 4-Cu'nun Açık Yapıları



Şekil 4.1. 4 ve 4-Cu'nun 2D yapıları

4.4. Hesaplamalı Kimya Çalışmaları

Çizelge 4.5. Bileşiklerin hesaplamalı kuantum kimya parametreleri

	1-Cu	1	4-Cu	4
$E_{\text{Elektronik}}$ (a.u.)	-2336.696	-1642.250	-9610.035	-1454.084
μ (D)	11.153	4.179	7.012	7.572
E_{HOMO} (eV)	-6.403	-5.939	-6.438	-6.109
E_{LUMO} (eV)	-4.705	-1.892	-3.256	-2.732
E_{gap} (eV)	1.698	4.047	3.183	3.384
χ (eV)	5.554	3.916	4.847	4.417
η (eV)	0.849	2.021	1.591	1.692
σ (eV ⁻)	1.178	0.494	0.628	0.591
α (10^{-24} esu)	402.637	309.131	343.491	275.620
β (10^{-30} esu)	4.382	0.442	2.908	0.793

Toplam Elektronik Enerji ve Kararlılık

Toplam elektronik enerji değerleri, moleküllerin termodinamik kararlılığını değerlendirmek için önemli bir kriterdir. Yapılan hesaplamalarda en düşük toplam enerji değerine sahip bileşik 4-Cu (-9610.035 au) olarak belirlenmiştir. Bu durum, 4-Cu'nun diğer bileşiklere kıyasla daha kararlı olduğunu ve bozunmaya karşı daha dirençli bir yapıya sahip olduğunu göstermektedir. 1 (-1642.250 au) ve 4 (-1454.084 au) arasında enerji farkı gözlemlense de her iki ligand, 4-Cu'a kıyasla daha az kararlı yapılardır. Bu bilgiler ışığında, 4-Cu gibi kararlı yapılar, uzun süreli kullanım gerektiren kimyasal ve biyolojik uygulamalarda avantaj sağlayabilir.

Dipol Momenti (μ) ve Polarite

Dipol momenti, moleküllerin polarite seviyesini belirler ve çözücü seçimi ile moleküller arası etkileşimler üzerinde önemli bir rol oynar. 1-Cu'nun dipol momenti 11.153 D ile en yüksek değer

olarak bulunmuştur ve bu durum, molekülün oldukça polar bir yapı sergilediğini gösterir. Yüksek polarite, 1-Cu'nun polar çözücülerde kolayca çözünmesine ve polar ortamlarda etkili bir şekilde etkileşim kurmasına olanak tanır. Öte yandan, 1'in düşük dipol momenti (4.179 D) ile daha apolar bir karakter sergiler. Bu durum, 1'in lipofilik (yağda çözünebilen) uygulamalar için uygun olabileceğini ifade eder. Polariteye bağlı olarak bu bileşikler, katalizör sistemleri, biyolojik taşıyıcılar, ve çözücü-temelli reaksiyonlar için uyarlanabilir.

HOMO-LUMO Enerjileri ve Kimyasal Reaktivite

HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital) ve LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) enerji seviyeleri, bir molekülün elektron verme (HOMO) veya alma (LUMO) eğilimini belirler. 1-Cu, düşük HOMO enerjisine (-6.403 eV) sahip olup, elektron bağış konusunda düşük bir eğilim göstermektedir. HOMO-LUMO enerji farkı (Egap), molekülün elektronik geçiş eğilimini ve kimyasal reaktivitesini belirler. En düşük Egap değeri 1-Cu'da (1.698 eV) gözlemlenmiş ve bu durum, bu bileşiğin yüksek kimyasal reaktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Reaktif moleküller, fotokimyasal reaksiyonlarda, organik yarı iletkenlerde, ve sensör teknolojilerinde geniş bir kullanım alanına sahiptir.

Elektronegatiflik (χ) ve Elektron Alıcılığı

Elektronegatiflik (χ), molekülün elektron çekme kapasitesini ifade eder. Yapılan hesaplamalar sonucunda en yüksek elektronegatiflik değeri 1-Cu'da (5.554 eV) bulunmuştur. Bu durum, 1-Cu'nun elektron alıcı bir yapı sergilediğini ve kimyasal bağlar oluştururken elektron yoğunluğu çekebileceğini göstermektedir. Buna karşılık, 1 (3.916 eV) en düşük elektronegatiflik değerine sahip olup, elektron bağışlama eğiliminde olan bir yapıyı temsil eder. Elektron alıcı veya bağışlayıcı özellikler, fotovoltaiik sistemler, organik LED (OLED) teknolojileri ve elektron transfer reaksiyonları gibi uygulamalarda önemli rol oynar.

Polarizabilite (α) ve Elektriksel Duyarlılık

Polarizabilite, moleküllerin bir elektrik alan karşısında ne kadar kolay uyarıldığını gösterir. En yüksek polarizabilite değeri 1-Cu'da (402.637×10^{-24} esu) gözlemlenmiştir ve bu durum, bu molekülün elektriksel alanlara karşı yüksek hassasiyet gösterdiğini ifade eder. Bu özellik, 1-Cu'nun optik materyaller, elektriksel sensörler, ve kapasitif cihazlar gibi uygulamalarda kullanımını destekler. En düşük polarizabilite değeri ise 1'de (309.131×10^{-24} esu) hesaplanmış ve bu, 1'in elektriksel alanlarla daha az etkileşim sergileyebileceğini göstermiştir. Polarizabilite değerleri, bileşiklerin elektronik cihazlar ve elektriksel özellik gerektiren sistemlerdeki uygulama potansiyelini belirlemede kritik öneme sahiptir.

Kimyasal Sertlik (η) ve Yumuşaklık (σ)

Kimyasal sertlik (η), molekülün kimyasal reaksiyonlara karşı direncini; kimyasal yumuşaklık (σ) ise reaktivite eğilimini belirler. 1, en yüksek sertlik değerine (2.021 eV) sahiptir ve bu durum, bu molekülün kimyasal reaksiyonlara karşı oldukça dirençli olduğunu göstermektedir. Buna karşılık, 1-Cu ($\eta = 0.849$ eV) en düşük kimyasal sertlik değeriyle, yüksek reaktivite sergilemektedir. Yumuşak ve reaktif bileşikler, organik sentezlerde veya reaktif ara ürün olarak tercih edilirken, sert ve kararlı bileşikler ilaç taşıyıcı veya biyolojik sistemlerde stabil yapı olarak kullanılabilir.

Sonuç ve Potansiyel Uygulama Alanları

Bu veriler ışığında, bileşiklerin teorik özellikleri değerlendirildiğinde aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır:

- 1-Cu, yüksek polarizabilitesi, düşük $E_{\text{elektronik}}$ değeri ve yüksek elektronegatifliği ile optik ve elektronik cihazlar için ideal bir adaydır. Ayrıca, polar ortamlarla uyumu sayesinde sensör uygulamalarında kullanılabilir.
- 1, düşük polarizabilitesi ve yüksek sertlik değeri ile kimyasal reaksiyonlara karşı dirençli olup, ilaç taşıyıcı sistemlerde veya stabil kaplama materyalleri olarak kullanılabilir.
- 4-Cu, düşük toplam enerji ve kimyasal kararlılığı sayesinde katalizör taşıyıcı veya biyolojik sistemlerde uzun süreli stabil bir yapı olarak değerlendirilebilir.
- 4, HOMO ve LUMO seviyelerinin yüksekliği nedeniyle optik materyaller ve organik yarı iletkenler için potansiyel göstermektedir.

Bu özelliklerin detaylı analizi, bileşiklerin hem kimyasal hem de endüstriyel uygulamalar için uygunluğunu değerlendirmeye olanak tanır. Gelecekte yapılacak deneysel çalışmalar, bu teorik verilerin doğruluğunu ve pratik kullanım potansiyelini daha iyi anlamamıza yardımcı olacaktır.

4.5. Moleküler Kenetlenme Çalışmaları

4.5.1. 1

Ligantlardan, enzimler ile etkileşimini araştırılmak üzere '1' seçilmiştir.

Asetilkolinesteraz Kenetlenme Çalışması Analizi

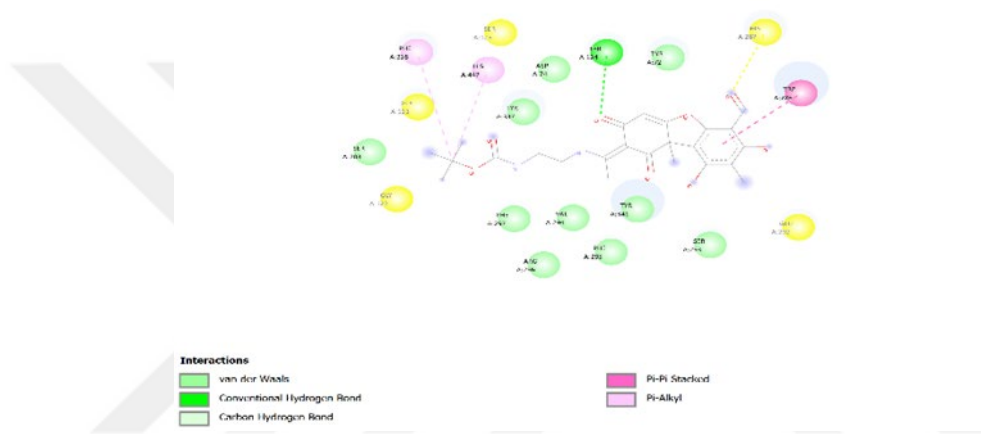
Protein data banktan yapılan tarama sonrasında 4M0E kodlu pdb yapısı seçilmiştir. Bu yapının seçilmesinin nedenleri;

- İnsan kaynaklı olması
- X-RAY yönteminin kullanılmış olması
- Çözünürlük katsayısının 2 olması

- Yılıının yeni olmasıdır.

Seçilen 4M0E kodlu AChE enzimi Autodock Vina Tools ara yüzü kullanılarak açılmış ve içerisinde var olan sular silinmiştir. Daha sonra enzim içerisinde bulunan 1YL, NAG, EDO ve NO₃ ligandları silinmiştir. Polar hidrojenler eklenmiştir ve yükleri hesaplanmıştır. Aktif bölgeyi tanımlamak amacıyla grid box değerlerinin bulunduğu config.txt dosyası hazırlanmıştır.

Yapılan doking çalışması sonrasında, A zincirinde yer alan TYR124 nolu amino asit ile 1H bağı gözlenmiş, Van der Waals ve pi-pi etkileşimlerinin var olduğu gözlenmiştir. Bağlanma enerjisi -9.7 kcal/mol'dur. Aktif bölgede ligandın etkileşimde olduğu aminoasitler aşağıdaki şekilde görülebilir.



Şekil 4.2. 1'in AChE ile etkileşimi

Butirilkolinesteraz Kenetlenme Çalışması Analizi

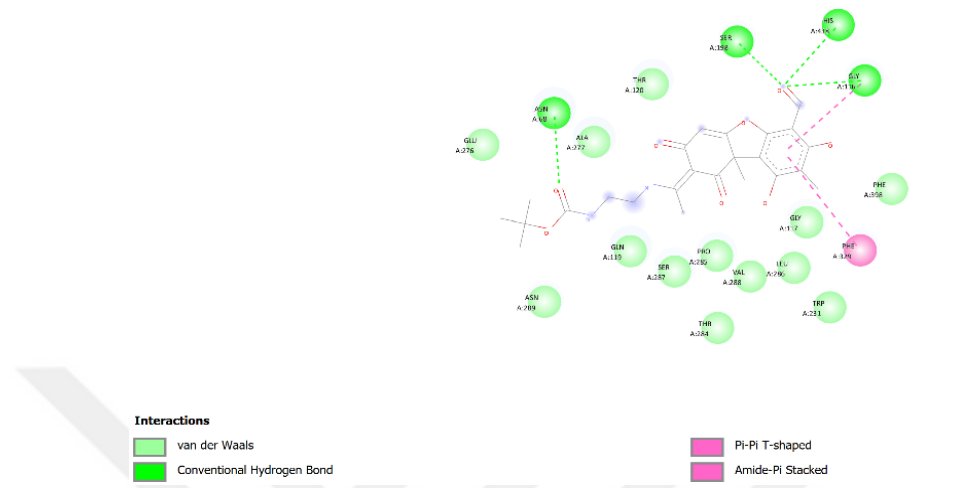
Protein databanktan yapılan tarama sonrasında 4BDS kodlu pdb yapısı seçilmiştir. Bu yapının seçilmesinin nedenleri;

- İnsan kaynaklı olması
- X-RAY yönteminin kullanılmış olması
- Çözünürlük katsayısının 2.10 olması
- Yılıının yeni olmasıdır.

Seçilen 4BDS kodlu BChE enzimi Autodock Vina Tools ara yüzü kullanılarak açılmış ve içerisinde var olan sular silinmiştir. Daha sonra enzim içerisinde bulunan NAG, THA, FUC, FPK, SO₄, GOL, Cl ve UNX ligandları silinmiştir. Polar hidrojenler eklenmiştir ve yükleri hesaplanmıştır.

Aktif bölgeyi tanımlamak amacıyla grid box değerlerinin bulunduğu config.txt dosyası hazırlanmıştır. Bu şekilde moleküler kenetlenme hazır hale getirilmiştir.

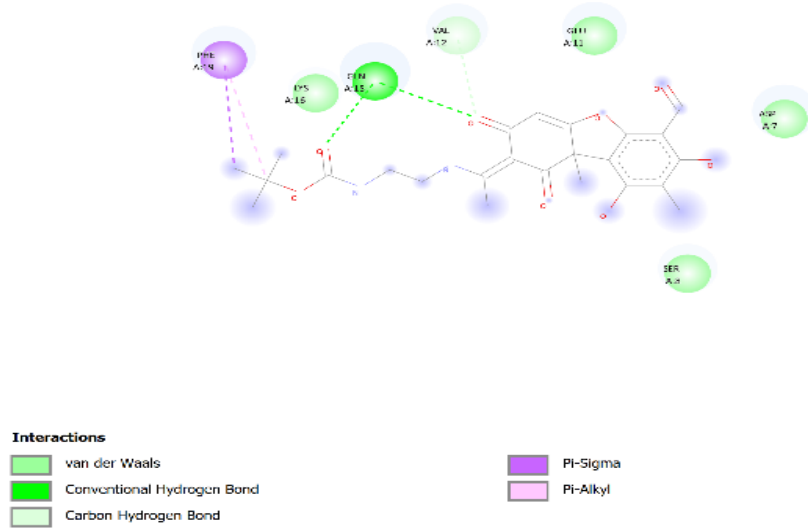
Yapılan kenetlenme çalışması sonrasında, A zincirinde yer alan SER198, HIS438, GLY116 ve ASN68 nolu amino asit ile 4H bağı gözlenmiş, Van der Waals ve pi-pi etkileşimlerinin var olduğu gözlenmiştir. Bağlanma enerjisi -9.4 kcal/mol'dur. Aktif bölgede ligandın etkileşimde olduğu aminoasitler aşağıdaki şekilde görülebilir.



Şekil 4.3. 1'in BuChE ile etkileşimi

Beta Ameloid Kenetlenme Çalışması Analizi

Yapılan doking çalışması sonrasında, A zincirinde yer alan GLN15 nolu amino asit ile 2H bağı gözlenmiş, A zincirindeki VAL12 nolu aminoasit ile C-H bağı gözlenmiş, Van der Waals ve pi-pi etkileşimlerinin var olduğu gözlenmiştir. Bağlanma enerjisi -5.4 kcal/mol'dur. Aktif bölgede ligandın etkileşimde olduğu aminoasitler aşağıdaki şekilde görülebilir.



Şekil 4.4. 1'in beta ameloid ile etkileşimi

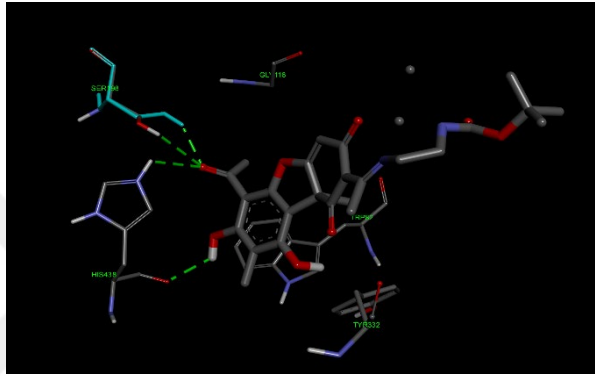
4.5.2. 1-Cu

1'in, Cu(II) ile kompleksinin enzimler ile etkileşimi moleküler kenetlenme ile araştırılmıştır.

Asetilkolinesteraz Kenetlenme Çalışması Analizi

Seçilen 4M0E kodlu AChE enzimi Autodock Vina Tools ara yüzü kullanılarak açılmış ve içerisinde var olan sular silinmiştir. Daha sonra enzim içerisinde bulunan 1YL, NAG, EDO ve NO₃ ligandları silinmiştir. Polar hidrojenler eklenmiştir ve yükleri hesaplanmıştır. Aktif bölgeyi tanımlamak amacıyla grid box değerlerinin bulunduğu config.txt dosyası hazırlanmıştır.

Yapılan kenetlenme çalışması sonrasında, A zincirinde yer alan TYR72, GLU292, SER293 ve LEU289 nolu amino asitler ile 4H bağı gözlenmiş, Van der Waals ve pi-pi etkileşimlerinin var olduğu gözlenmiştir. Bağlanma enerjisi -7.2 kcal/mol'dur. Aktif bölgede ligandın etkileşimde olduğu aminoasitler aşağıdaki şekilde görülebilir.

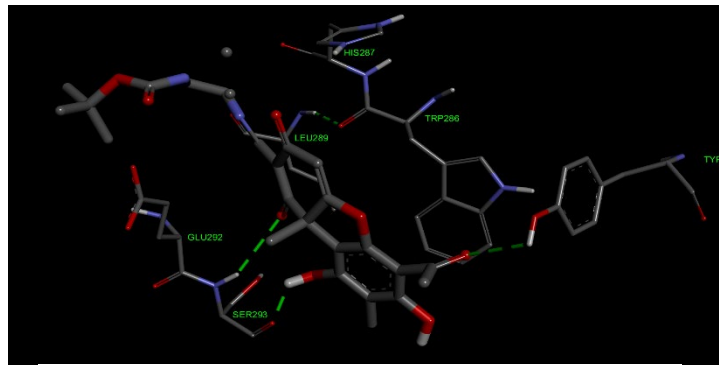


Şekil 4.5. 1-Cu'nun AChE ile etkileşimi

Butirilkolinesteraz Kenetlenme Çalışması Analizi

Seçilen 4BDS kodlu BChE enzimi Autodock Vina Tools ara yüzü kullanılarak açılmış ve içerisinde var olan sular silinmiştir. Daha sonra enzim içerisinde bulunan NAG, THA, FUC, FPK, SO₄, GOL, Cl ve UNX ligandları silinmiştir. Polar hidrojenler eklenmiştir ve yükleri hesaplanmıştır. Aktif bölgeyi tanımlamak amacıyla grid box değerlerinin bulunduğu config.txt dosyası hazırlanmıştır.

Yapılan Kenetlenme çalışması sonrasında, A zincirinde yer alan SER198 ve HIS438 nolu amino asit ile 4H bağı gözlenmiş, Van der Waals ve pi-pi etkileşimlerinin var olduğu gözlenmiştir. Bağlanma enerjisi -10.6 kcal/mol'dur. Aktif bölgede ligandın etkileşimde olduğu aminoasitler aşağıdaki şekilde görülebilir.

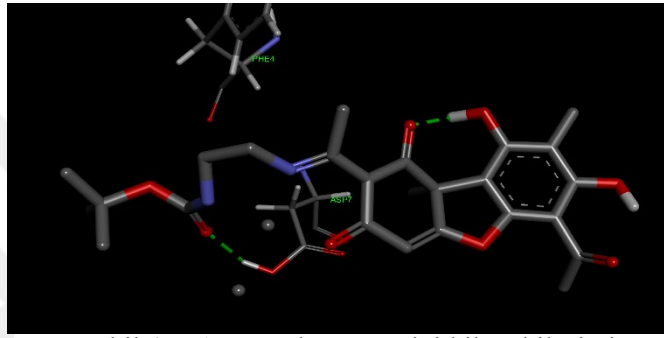


Şekil 4.6. 1-Cu'nun BuChE ile etkileşimi

Beta Ameloid Kenetlenme Çalışması Analizi

Seçilen 1IYT kodlu Beta Amyloid enzimi Autodock Vina Tools ara yüzü kullanılarak açılmış ve içerisinde var olan sular silinmiştir. Polar hidrojenler eklenmiştir ve yükleri hesaplanmıştır. Aktif bölgeyi tanımlamak amacıyla grid box değerlerinin bulunduğu config.txt dosyası hazırlanmıştır.

Yapılan kenetlenme çalışması sonrasında, A zincirinde yer alan ASP7 nolu amino asit ile 1H bağı gözlenmiş, Van der Waals ve pi-pi etkileşimlerinin var olduğu gözlenmiştir. Bağlanma enerjisi -5.6 kcal/mol'dur. Aktif bölgede ligandın etkileşimde olduğu aminoasitler aşağıdaki şekilde görülebilir.

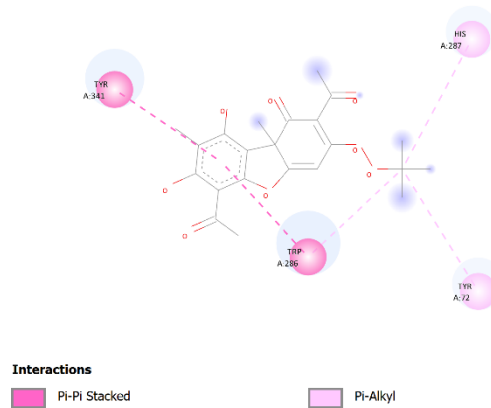


Şekil 4.7. 1-Cu'nun beta Ameloid ile etkileşimi

4.5.3. 4

Asetilkolinesteraz Moleküler Kenetlenme Çalışması

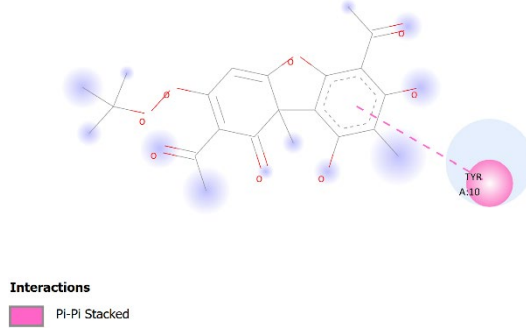
Yapılan kenetlenme çalışması sonrasında, A zincirinde yer alan HIS287, TRP286, TYR341 ve TYR72 ile aktif bölgede etkileşimlerin var olduğu görülmüştür. TRP286 ve TYR341 aminoasitleri ile pi-pi etkileşimi görülmüştür. TYR72 ve HIS287 aminoasitleri ile ise pi-alkil etkileşimi gözlenmiştir. Bağlanma enerjisi -8.1 kcal/mol'dur. Aktif bölgede ligandın etkileşimde olduğu aminoasitler aşağıdaki şekilde görülebilir.



Şekil 4.8. 4'ün AChE ile etkileşimi

Bütürlükolinesteraz Moleküler Kenetlenme Çalışması

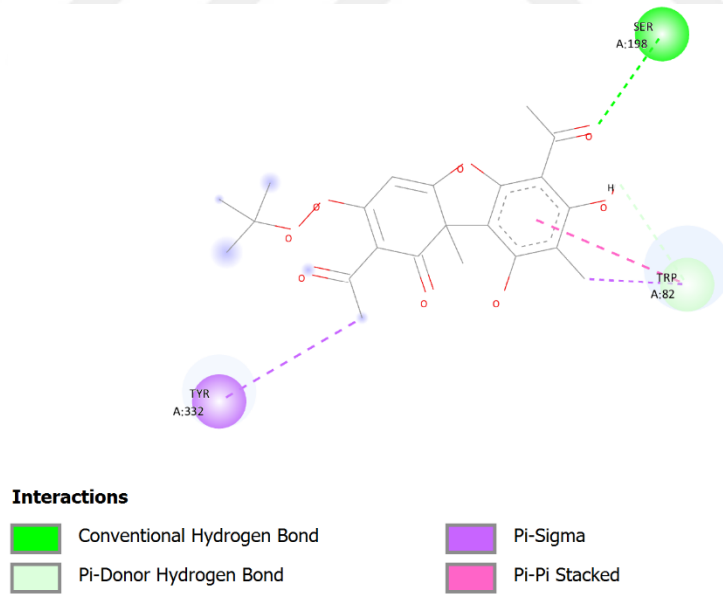
Yapılan kenetlenme çalışması sonrasında, A zincirinde yer alan TYR332 ve TRP82 nolu amino asitler ile pi-sigma etkileşimleri gözlenmiştir. Ayrıca TRP82 aminoasiti ile pi-pi etkileşimleri vardır. Bağlanma ejisi -9.0 kcal/moldur. Aktif bölgede ligandın etkileşimde olduğu aminoasitler aşağıdaki şekilde görülebilir.



Şekil 4.9. 4'ün BuChE ile etkileşimi

Beta Ameloid Moleküler Kenetlenme Çalışması

Yapılan kenetlenme çalışması sonrasında, TYR10 nolu amino asit ile pi-pi etkileşimlerinin var olduğu gözlenmiştir. Bağlanma enerjisi -5.3 kcal/moldur. Aktif bölgede ligandın etkileşimde olduğu aminoasitler aşağıdaki şekilde görülebilir.

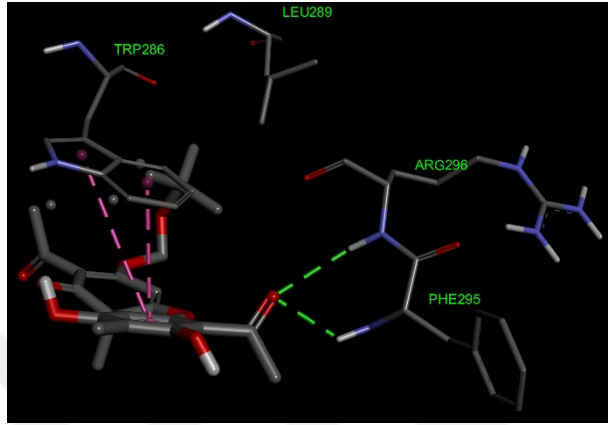


Şekil 4.10. 4'ün beta ameloid ile etkileşimi

4.5.4. 4-Cu

Asetilkolinesteraz Moleküler Kenetlenme Çalışması

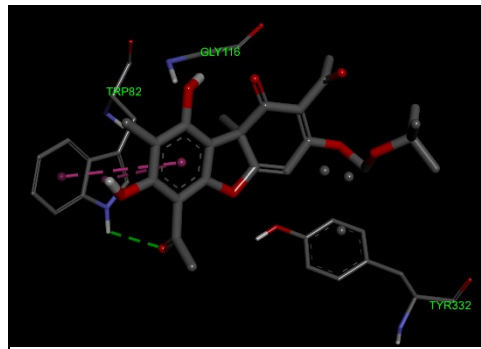
Yapılan kenetlenme çalışması sonrasında, A zincirinde yer alan ARG296 ve PHE295 aminoasitleri ile 2 adet Hidrojen Bağı etkileşimi görülmüştür. TRP286 aminoasiti ile ise pi-pi etkileşimi gözlenmiştir. Bağlanma enerjisi -8.1 kcal/moldur. Aktif bölgede ligandın etkileşimde olduğu aminoasitler aşağıdaki şekilde görülebilir.



Şekil 4.11. 4-Cu'nun AChE ile etkileşimi

Bütirikolinesteraz Moleküler Kenetlenme Çalışması

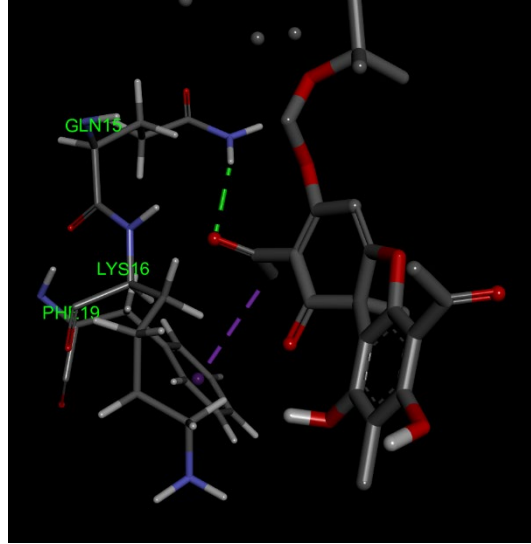
Yapılan kenetlenme çalışması sonrasında, A zincirinde yer alan TRP82 nolu amino asit ile 1 adet Hidrojen Bağı gözlenmiştir. Ayrıca TRP82 amino aside ile pi-sigma etkileşimleri gözlenmiştir. Ayrıca TRP82 aminoasiti ile pi-pi etkileşimleri de vardır. Bağlanma ejisi -9.3 kcal/moldur. Aktif bölgede ligandın etkileşimde olduğu aminoasitler aşağıdaki şekilde görülebilir.



Şekil 4.12. 4-Cu'ın BuChE ile etkileşimi

Beta Ameloid Moleküler Kenetlenme Çalışması

Yapılan kenetlenme çalışması sonrasında, GLN15 nolu amino asit ile 1 adet Hidrojen Bağı etkileşiminin var olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, PHE19 aminoasiti ile pi-sigma etkileşimi mevcuttur. Bağlanma enerjisi -5.1 kcal/moldur. Aktif bölgede ligandın etkileşimde olduğu aminoasitler aşağıdaki şekilde görülebilir.



Şekil 4.13. 4-Cu'ın beta ameloid ile etkileşimi

Moleküler Kenetlenme Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Yapılan çalışmalar sonrasında, 3 enzim ile kompleks ligandın kenetlenmesi karşılaştırıldığında, en iyi bağlanmayı bütilkolinesteraz ile gerçekleştirdiği görülmektedir. Burada yapılan 4 H bağı ve diğer etkileşimlerdeki fazlalık, bağlanma enerjisinin diğerlerine göre daha yüksek olmasına ve ilaç adayı olarak BuChE enzimine daha uygun olmasına sebep olmaktadır.

Sonuçlardan da anlaşılacağı üzere, Cu(II) ve Cl varlığı genel olarak enzim etkileşimlerinde bağlanma potansiyelini arttırmıştır. Her enzim için değerlendirildiğinde;

- Asetilkolinesteraz enziminde; Aktif bölge cebine kompleks yapı büyük gelmiş ve tam yerleşim sağlanamadığından bağlanma enerjisi düşmüştür.
- Bütilkolinesteraz enziminde; aktif bölge cebine kompleks yapı daha iyi yerleşmiş ve H bağı, vander walls bağı ve pi-pi etkileşimlerinde artış yaşanmıştır. Kompleks yapı bu enzim için iyi bir ilaç.
- Beta adaydır amyloid enziminde; kompleks yapının varlığı etkileşim açısından bir değişiklik göstermemiştir. İlgili enzimin kısa zincirli olması ve aktif bölge cebinin diğer enzimlere göre oldukça küçük olması her iki ligand yapısı için negative bir etki yaratmıştır. Bağlanma enerjisinde de etkileşime girilecek aminoasit sayısında artış zincir küçüklüğünden dolayı gerçekleşmediğinden önemli bir değişiklik yaşanmamıştır.

Çizelge 4.6. Ligant, kompleks, usnik asit ve takrinin enzimler ile bağlanma afiniteleri

Bağlanma afinitesi (Kcal/mol)	1	1-Cu	4	4-Cu	UA	Takrin
AchE	-9.70	-7.20	-8.10	-8.10	-9.36	-7.46
BuChE	-9.40	-10.60	-9.00	-9.30	-8.16	-6.45
Aβ	-5.40	-5.60	-5.30	-5.10	-	-5.10

Çizelge 4.6. göz önünde bulundurarak, sentezlenen 1, AChE ve BuChE için hem tacrine hem de usnik asitten daha iyi bağlanma eğilimi göstermiştir. 1-Cu, AChE için takrine'e benzer bir bağlanma eğilimi gösterirken, usnik aside göre daha az bağlanma eğilimi gösterir; BuChE için ise, hem usnik aside hem de tacrine'e göre daha yüksek bağlanma eğilimi sergilemiştir. Beta amyloid için, bütün bileşikler takrine benzer etki göstermiştir.

4.6. Ligantların Antioksidan Aktivitelerin Değerlendirilmesi

Çizelge 4.7. sonuçlar, usnik asit ligandların antioksidan aktivitelerini DPPH, ABTS ve CUPRAC yöntemlerine göre göstermektedir.

DPPH Serbest Radikal Süpürme Kapasitesi:

1, 2, 3 ve Usnik Asit için DPPH serbest radikal süpürme kapasitesi IC_{50} değerleri >1000 mM olarak verilmiş. Bu, bu bileşiklerin DPPH radikallerine karşı oldukça düşük antioksidan aktiviteye sahip olduğunu gösterir.

ABTS Katyon Radikali Süpürme Kapasitesi:

1 ve 2 yine >1000 mM IC_{50} değerleriyle düşük bir antioksidan aktivite göstermiş. 3 ise 118.67 ± 1.23 mM ile biraz daha iyi bir aktivite sergilemiş. Usnik asit için IC_{50} değeri 222.63 ± 2.54 mM olarak verilmiş, yani ABTS radikaline karşı orta derecede düşük bir aktivite ve 3'e göre daha düşük aktiveye sahiptir.

CUPRAC (Bakır İndirgeme Kapasitesi):

3 (72.52 ± 0.19 mM) bu testte en iyi sonucu veren ligandlardan biri olarak öne çıkıyor. 1 ve usnik asit ise daha yüksek değerlerle (105.74 ± 1.14 mM ve 154.94 ± 1.84 mM) daha düşük antioksidan aktivite göstermiştir.

Genel Değerlendirme:

1, 2 ve usnik asit genel olarak hem DPPH hem de ABTS radikallerine karşı düşük antioksidan aktivite sergiliyor. 3 ise özellikle ABTS ve CUPRAC testlerinde daha iyi sonuçlar vermiş, yani nispeten daha güçlü bir antioksidan olabilmektedir.

Bu sonuçlara göre, ligandlar referans bileşiklere göre daha zayıf antioksidan özellikler sergiliyor, ancak 3 özellikle ABTS ve CUPRAC testlerinde görece daha iyi performans göstermektedir.

Çizelge 4.7. Ligantların antioksidan aktiviteleri

Bileşikler	IC ₅₀ değerleri (μM) ^a		A _{0.5} değerleri (μM) ^b
	DPPH serbest radikal	ABTS katyon radikal	CUPRAC
1	>1000	>1000	105.74±1.14
2	>1000	>1000	163.20±0.34
3	>1000	118.67±1.23	72.52±0.19
UA	>1000	222.63±2.54	154.94±1.84
BHA ^c	68.27±1.46	2.51±0.06	19.28±0.65
α-TOC ^c	49.88±0.79	13.82±0.91	54.33±0.02
BHT ^c	64.29±0.46	25.29±0.11	20.09±0.17

^a Değerler, DPPH serbest radikal ve ABTS katyon radikal süpürme aktiviteleri için IC₅₀ olarak verildi.

^b Değerler, CUPRAC aktivitesi için A_{0.5} olarak verildi.

^c Standart bileşikler.

4.7. Ligantların Antikolinesteraz Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

Çizelge 4.8. de ligandların Asetilkolinesteraz (AChE) ve Butirilkolinesteraz (BChE) enzimleri üzerindeki inhibitör etkileri incelenmiş. AChE ve BChE inhibisyonu, özellikle Alzheimer hastalığı tedavisinde önemli bir hedef olduğundan, bu sonuçlar biyolojik aktivite açısından büyük önem taşır.

AChE Inhibisyonu:

1: AChE inhibisyon oranı %17.93±0.59 ile düşük bir inhibisyon göstermiş. 2: %32.52±0.51 inhibisyon değeriyle 1'e göre daha yüksek bir inhibitör aktivite göstermiş. 3: AChE inhibisyon verisi bulunmamakta (NA). Usnik Asit: %32.63±0.71 ile AChE inhibisyonunda 2'e yakın bir etki göstermiş. Galantamin (standart bileşik): %91.15±0.18 inhibisyon oranı ile en yüksek AChE inhibisyonunu gösteren bileşik olmuştur.

Galantamin gibi standart bir inhibitör ile karşılaştırıldığında, Ligandlarının AChE inhibisyonu oldukça düşük kalmakta. Ancak 2 ve usnik Asit için belirgin bir inhibisyon etkisi görülmektedir. Bu bileşikler, AChE inhibisyonunda orta derecede etkili olabilir.

BChE Inhibisyonu:

1: BuChE inhibisyonu verisi bulunmamaktadır (NA). 2: %29.31±1.30 inhibisyon oranıyla BChE üzerinde orta düzeyde bir inhibitör etkiye sahiptir. 3: %8.45±0.05 gibi oldukça düşük bir inhibisyon oranı göstermiştir. Usnik Asit: %2.11±0.00 ile çok düşük bir inhibisyon göstermiştir.

Galantamin: 79.59 ± 0.46 ile BuChE inhibisyonunda en yüksek etkiyi göstermiştir. 2'in BuChE üzerindeki inhibitör etkisi, diğer ligandlara ve usnik asite göre daha yüksek olsa da, standart bileşik olan galantamine göre çok daha zayıf bir inhibisyona sahiptir. 3 ve usnik asit, BuChE inhibisyonunda oldukça düşük aktivite sergilemektedir.

Bu sonuçlar, ligandlarının ve usnik asidin, Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde kullanılan standart inhibitörler kadar güçlü olmadığını, ancak potansiyel bir inhibitör etkiye sahip olabileceklerini göstermektedir.

Çizelge 4.8. Ligantların AChE ve BuChE inhibisyon aktiviteleri

Bileşikler	İnhibisyon %	
	AChE	BChE
1	17.93 ± 0.59	NA
2	32.52 ± 0.51	29.31 ± 1.30
3	NA	8.45 ± 0.05
UA	32.63 ± 0.71	2.11 ± 0.00
Galanthamin ^a	91.15 ± 0.18	79.59 ± 0.46

*Değerler üç paralel ölçümün ortalaması $\pm$ Standart sapma olarak verilmiştir. N = 3

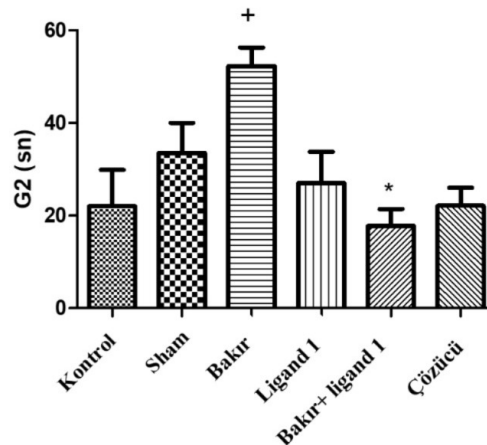
^a AChE ve BChE için standart bileşik

4.8. Farmakoloji Çalışmaları

4.8.1. Davranış Testleri

Modifiye Yükseltilmiş Artı Labirent Testi Bulguları

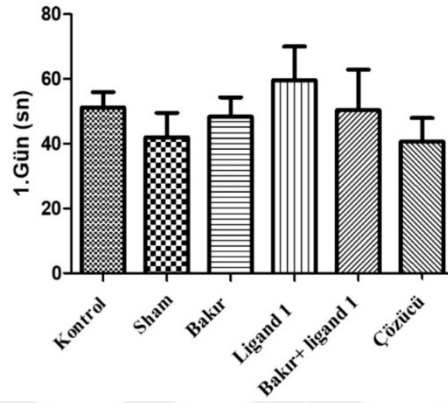
Çalışmamızda GS2 süresi kontrol, sham, bakır, ligand 1, bakır+ligand 1 ve çözücü gruplarında sırasıyla $22 \pm 7,8$, $33,5 \pm 6,6$, $52,25 \pm 4$, $27 \pm 6,7$, $17,8 \pm 4$, $23,6 \pm 3,5$ ölçülmüştür. Bu sonuçlara göre bakır uygulanan grupta kontrol grubuna göre karanlık kola geçiş süresi anlamlı şekilde uzarken, bakır+ligand 1 uygulanan grupta karanlık alana geçiş süresi bakır grubuna göre anlamlı şekilde kısalmıştır ($P < 0.05$). Bu sonuçlar bakır uygulamasına bağlı olarak farelerde öğrenme-bellek fonksiyonlarının bozulduğunu ve bakırla birlikte uygulanan 1'in bu bozulmayı önlediğini göstermektedir.



Şekil 4.14. Kontrol, Sham, Bakır, Ligand 1, Bakır+ligand 1 ve çözücü gruplarının Modifiye Yükseltmiş Artı Labirent Testinde G2 (sn) değerleri; + kontrole göre, * Bakır'a göre anlamlı ($p<0.05$).

Pasif Sakınma Testi Bulguları

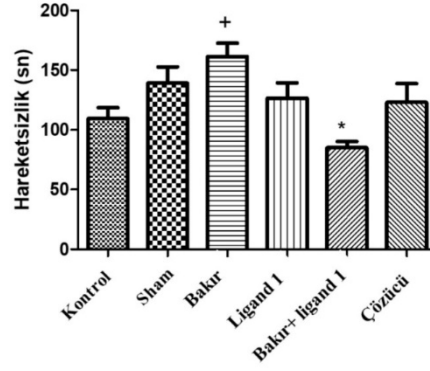
Çalışmamızda pasif sakınma testinde (sn) 1. Gün değerleri kontrol, sham, bakır, ligand 1, bakır+ligand ve çözücü gruplarında sırasıyla $51,2\pm4,7$, $42\pm8,3$, $48,4\pm5,9$, $59,66\pm11,3$, $50,42\pm13,4$, $40,71\pm7,8$ ölçülmüştür. İkinci gün tüm gruplardaki fareler karanlık alana girmemiş 300 sn'lik test süresince aydınlık alanda kalmıştır (bulgular gösterilmemiştir)



Şekil 4.15. Kontrol, Sham, Bakır, Ligand 1, Bakır+ligand 1 ve çözücü gruplarının Pasif Sakınma Test (sn) değerleri ($p<0.05$)

Zorunlu Yüzme Testi Bulguları

Çalışmamızda Zorunlu Yüzme Testinde kontrol, sham, bakır, ligand 1, bakır+ligand 1 ve çözücü gruplarında hareketsizlik süresi (sn) olarak sırasıyla $109,4\pm9,2$, $139\pm15,2$, $161,4\pm11,1$, $126,6\pm 12,8$, $85\pm5,2$, $123\pm 15,7$ ölçülmüştür. Bu sonuçlar bakır uygulanan grupta kontrole göre depresif davranışların arttığını, bakır+ ligand 1 grubunda ise hareketsizlik zamanının bakır grubuna göre azaldığını göstermektedir. Bu bulgular bakırın öğrenme- bellek davranışlarını azaltırken depresyon davranışlarını ortaya çıkardığını, bakırla birlikte kullanılan 1'in depresyon davranışlarını azalttığını göstermektedir.



Şekil 4.16. Kontrol, Sham, Bakır, Ligand 1, Bakır+ Ligand 1 ve çözücü gruplarının Zorunlu Yüzme Testinde hareketsizlik zamanı (sn) değerleri; + kontrole göre, * Bakır'a göre anlamlı ($p<0.05$).

Rotarod Test Bulguları

Rotarod testi; direnme gücünü, denge, performansı, ve koordineli hareketleri değerlendirmek amacıyla kullanılan bir testtir. Çalışmamızda tüm deney gruplarında deneyler başlamadan önce ve ilaç uygulamalarının sonunda yapılan ölçümlerde Rotarod test sonuçları tam değer olan 120 sn olarak ölçülmüştür (Bulgular gösterilmemiştir). Bu sonuçlar deney gruplarının motor fonksiyonlarının uygulanan ilaçlara bağlı olarak değişmediğini göstermektedir.

Genel değerlendirme

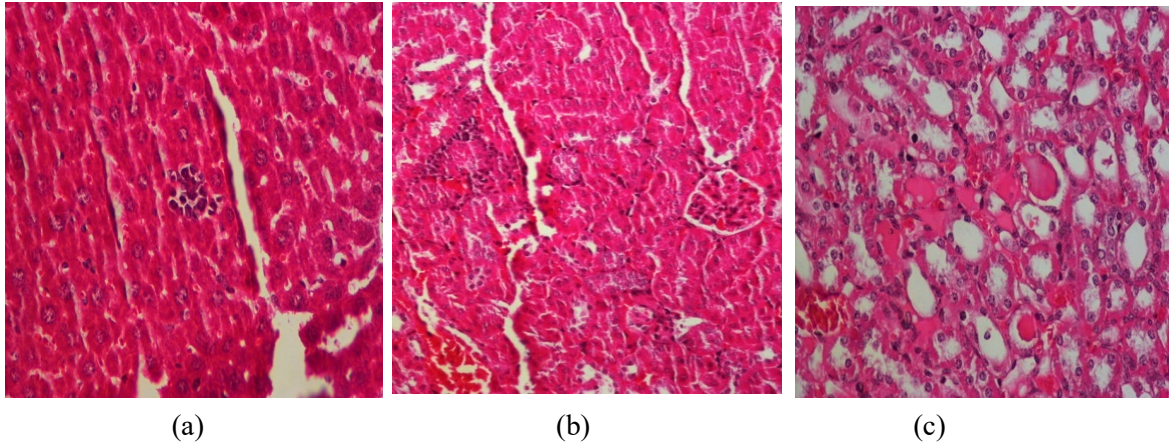
Çalışmada elde edilen sonuçlar; Cu(II) uygulamasına bağlı Alzheimer oluşturulan deney hayvanlarında, yeni sentezlenen ve Cu(II) ile şelasyon yapabilen 1 molekülünün uygulanması sonucu, Alzheimer tablosunda gelişen öğrenme ve bellek fonksiyon bozukluklarının, depresyon davranışlarının düzeldiğini göstermektedir. 1'in bu etkisinin oluşmasında antikolinesteraz, antiinflamatuvar, antioksidan ve rejeneratif etkisinin olabileceği düşünülmektedir. Ancak 1'in hangi mekanizmalar üzerinden etki oluşturduğunun daha detaylı deneylerle araştırılması gerekmektedir. Ayrıca beyin dokusundaki etkilerinin histopatolojik yöntemlerle gösterilmesi gerekmektedir. Yeni sentezlenen bu molekülün daha detaylı araştırılması sonucunda belki gelecekte Alzheimer hastalığının tedavisinde yeni bir molekül olarak yer alacaktır.

4.9. Deney Hayvan Gruplarının Histopatolojik Bulguları

Kontrol Grubu:

- Karaciğer: sinüzoidal dilatasyon, konjesyon, seyrek tek hücre nekrozları ve bazı hepatositlerde balonlaşma dejenerasyonu izlendi.

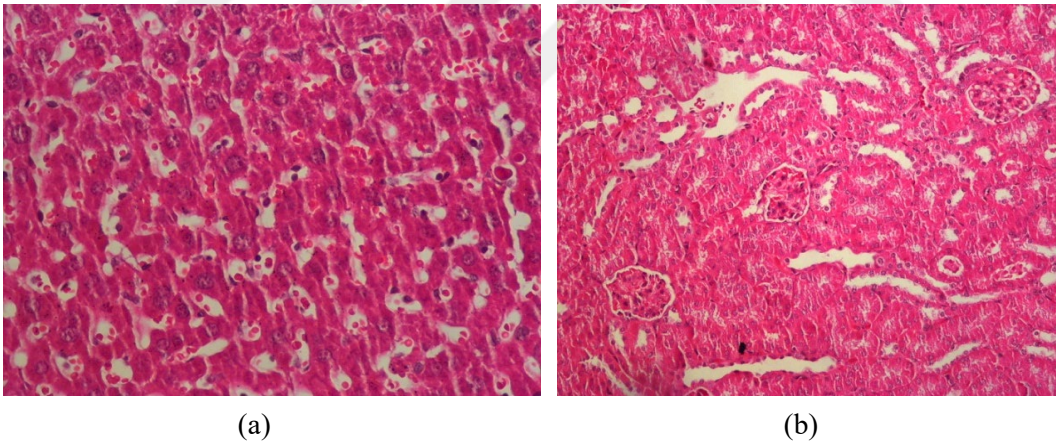
- Böbrek: parankim ve glomerüllerde konjesyon, tübül lümenlerinde hyalen silindirler ve intertisyumda hafif inflamasyon gözlendi.



Şekil 4.17. Kontrol grubuna ait karaciğer (a,b) ve böbrek (c) örneklerinin histolojik görüntüleri

Sham Grubu:

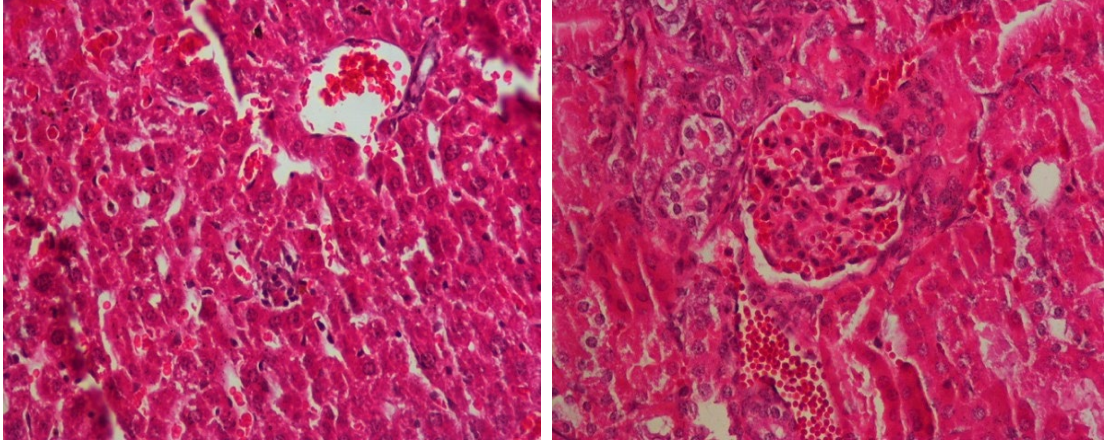
- Karaciğer: hafif sinüzoidal dilatasyon ve konjesyon görüldü.
- Böbrek: konjesyon dışında belirgin bir patolojik bulgu saptanmadı.



Şekil 4.18. Sham grubuna ait karaciğer (a) ve böbrek (b) örneklerinin histolojik görüntüleri

Çözücü Grubu:

- Karaciğer: hepatositlerde balonlaşma dejenerasyonu, seyrek tek hücre nekrozları, hafif sinüzoidal dilatasyon ve konjesyon gözlendi.
- Böbrek: bazı glomerül yumaklarında konjesyon ve hafif irileşme dışında bulgu bulunmadı.



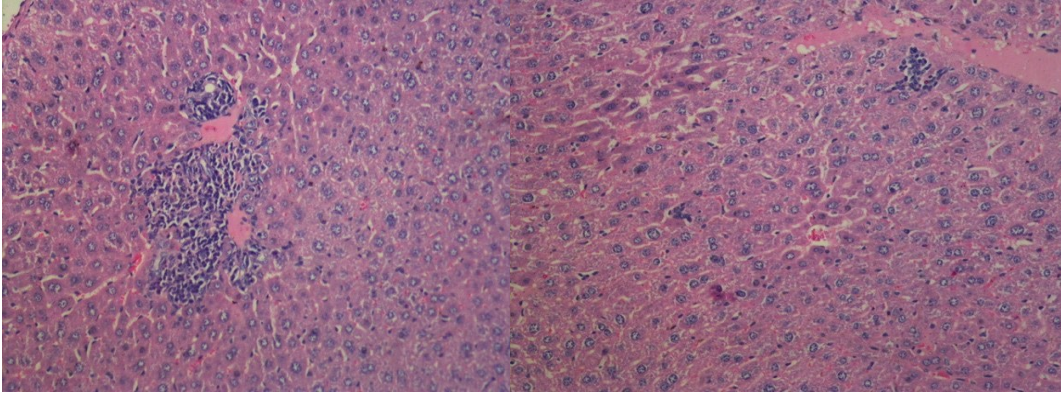
(a)

(b)

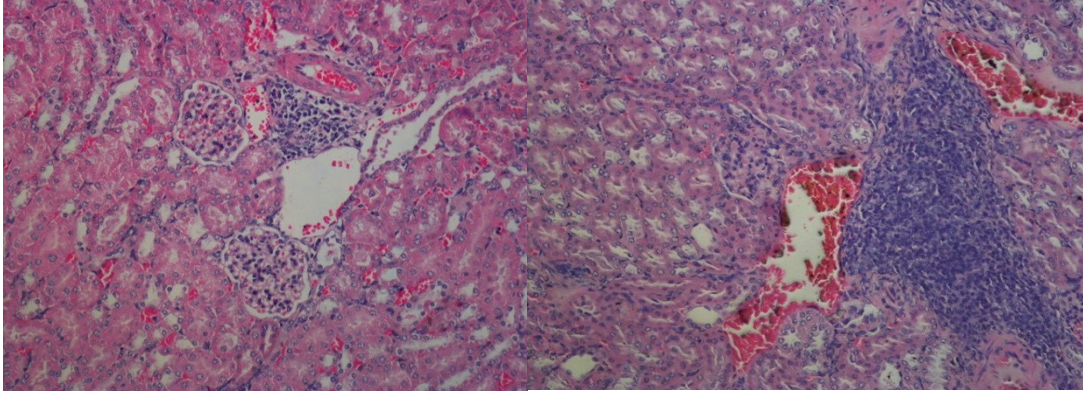
Şekil 4.19. Çözücü grubuna ait karaciğer (a) ve böbrek (b) örneklerinin histolojik görüntüleri

Bakır Grubu:

- Karaciğer: portal alanlarda hafif-orta, yer yer şiddetli inflamasyon, hepatositlerde balonlaşma dejenerasyonu, yaygın tek hücre nekrozları, hafif sinüzoidal dilatasyon ve Kupffer hücre hiperplazisi gözlemlendi.
- Böbrek: glomerül yumaklarında irileşme, konjesyon, sellülerite artışı, interstisyumda orta ve yer yer şiddetli inflamasyon izlendi.



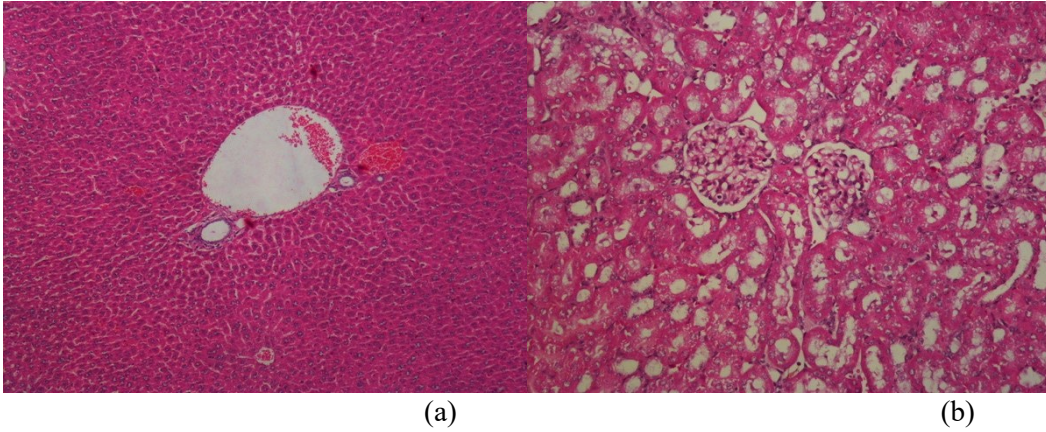
Şekil 4.20. Bakır grubunda karaciğerde portal inflamasyon ve tek hücre nekrozları izlenmekte



Şekil 4.21. Bakır grubunda böbreklerde glomerül yumaklarında hafif sellülerite artışı, konjesyon ve intertisyel inflamasyon izlenmektedir

Ligand 1'in Grubu:

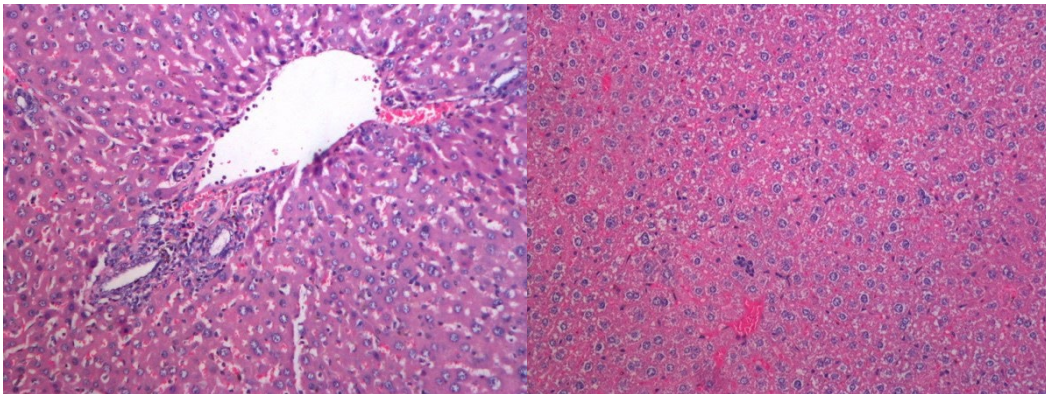
- Karaciğer: Konjesyon, sinüsoidal dilatasyon ve hafif balonlaşma dejenerasyonu tespit edildi.
- Böbrek: Glomerül yumaklarında ve parankimde konjesyon gözlemlendi.



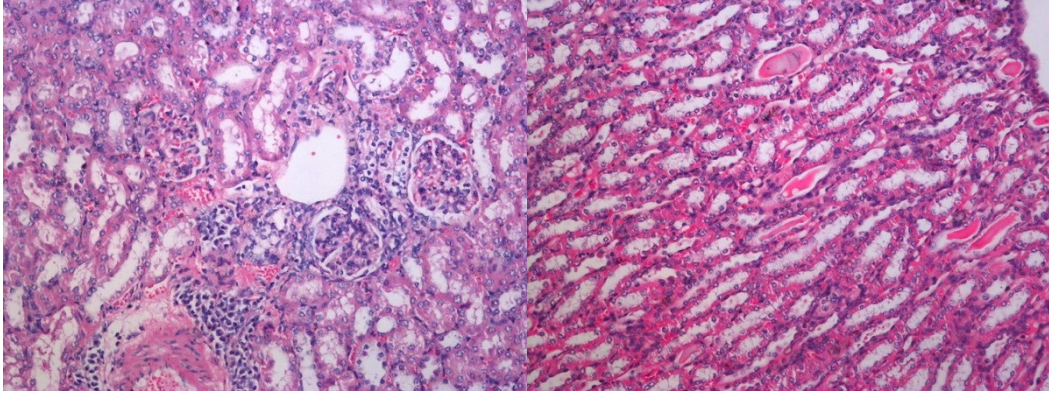
Şekil 4.22. Ligand 1 grubunda karaciğer (a) ve böbreklerde (b) konjesyone görünüm

Bakır-Ligand 1'in Grubu:

- Karaciğer: Portal alanlarda minimal inflamasyon, parankimde tek hücre nekrozları, hepatositlerde nükleer irileşme ve balonlaşma dejenerasyonu saptandı.
- Böbrek: Glomerül yumaklarında irileşme, konjesyon, sellülerite artışı, intertisyumda hafif inflamasyon ve tübüllerde az sayıda hyalen silindirler izlendi.



Şekil 4.23. Bakır-ligand 1 grubunda karaciğerde portal alanlarda minimal inflamasyon, parankimde tek hücre nekrozları, hepatositlerde nükleer irileşme, balonlaşma dejenerasyonu



Şekil 4.24. Bakır-ligand 1 grubunda böreklerde glomerül yumaklarında irileşme, sellülerite artışı ve konjesyon, intertisyumda hafif derecede inflamasyon ve tübüllerde hyalen silendirler izlendi

Değerlendirme:

Deney sonuçları, sham, kontrol ve ligand 1 gruplarında izlenen konjesyon ve karaciğerde ki hafif sinüzoidal dilatasyon bulgularının normale yakın olduğu değerlendirilmiştir. Cu(II) kullanımıyla oluşturulan Alzheimer modelinin karaciğer ve böbrek üzerinde belirgin toksik etkiler gösterdiğini, ancak 1'in tedavi edici potansiyelinin bu etkileri hafiflettiğini ortaya koymaktadır. Bakır-ligand 1 grubunda inflamasyon ve nekroz gibi patolojik değişikliklerin minimal düzeyde olması, 1'in koruyucu bir rol üstlenebileceğini düşündürmektedir. Bu bulgular, 1'in Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklarda terapötik bir ajan olarak değerlendirilebileceğini destekler niteliktedir.



5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, insan sağlığını tehdit eden Cu(II) fazlalığı ve bu metalin aşırı birikiminin yol açabileceği sağlık sorunları ele alınmıştır. Aynı zamanda, bu metalin fazla birikimini azaltmak için kimya ve tıp bilimlerinin ortak çalışmasıyla oluşturulan sinerjinin, olası çözümler açısından ne kadar faydalı olabileceği incelenmiştir. Araştırma, ağır metal toksisitesinin etkilerini azaltmaya yönelik disiplinler arası bir yaklaşımı keşfetmeyi amaçlamaktadır.

Bu çalışmada Usnik Asidin orjinal üç farklı ligandı sentezlenmiş, ayrıca 1'in Cu(II) ile kompleksi sentezlenmiştir. Erime noktası, elementel analiz, FT-IR, ICP, TG yöntemleri kullanılarak karakterize edilmiştir. Ligantlar DMSO, DMF ve kloroform'da çözünmektedir. Ligantların teorik ve deneysel sonuçların birbiriyle uyum içerisinde olduğu gözlemlenmişken kompleksin sonuçları uyumamıştır. Analiz bulguları ve literatür bilgileri dikkate alınarak ligantlar ve kompleks için en uygun yapısal formüller önerilmiştir.

Yapılan teorik analizler sonucunda elde edilen bulgular, çalışılan bileşiklerin kimyasal ve endüstriyel uygulamalar için potansiyel taşıdığını göstermektedir, 1-Cu, yüksek polarizabilitesi, düşük E_{gap} değeri ve yüksek elektronegatifliği ile optik ve elektronik cihazlar için ideal bir aday olarak öne çıkmaktadır. Ayrıca, polar ortamlarla uyumu sayesinde sensör uygulamalarında kullanılma potansiyeline sahiptir. 1, düşük polarizabilitesi ve yüksek sertlik değeriyle kimyasal reaksiyonlara karşı direnç göstermekte ve bu nedenle ilaç taşıyıcı sistemlerde veya stabil kaplama materyali olarak değerlendirilebilmektedir. 4-Cu, düşük toplam enerji ve yüksek kimyasal kararlılığı sayesinde katalizör taşıyıcı olarak veya biyolojik sistemlerde uzun süreli stabil bir yapı olarak kullanılabilir. 4, HOMO ve LUMO enerji seviyelerinin yüksekliği nedeniyle optik materyaller ve organik yarı iletkenler için güçlü bir aday olarak değerlendirilmiştir.

Bu teorik özelliklerin detaylı analizi, bileşiklerin potansiyel kullanım alanlarına ışık tutmuş ve gelecek çalışmalar için önemli bir temel oluşturmuştur. İleride yapılacak deneysel çalışmalar, bu teorik bulguların doğruluğunu test etmek ve bileşiklerin pratik uygulamadaki etkinliğini daha iyi değerlendirmek açısından kritik öneme sahiptir.

Moleküler kenetlenme çalışmalarında, sentezlenen 1, AChE ve BuChE için hem takrin hem de usnik asitten daha iyi bağlanma eğilimi göstermiştir. 1-Cu, AChE için takrine'e benzer bir bağlanma eğilimi gösterirken, usnik aside göre daha az bağlanma eğilimi gösterir; BuChE için ise, hem usnik aside hem de takrin'e göre daha yüksek bağlanma eğilimi sergilemiştir. Beta amyloid için, bütün bileşikler takrine benzer etki göstermiştir. Bu sonuçlar, bu bileşiklerin Alzheimer hastalığı için ilaç potansiyelleri olduğu göstermektedir.

In vitro olarak ligandlarının ve usnik asidin, Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde kullanılan standart inhibitörler kadar güçlü olmadığını, ancak potansiyel bir inhibitör etkiye sahip olabileceklerini göstermektedir. 3, özellikle ABTS ve CUPRAC testlerinde iyi performans göstermektedir.

In vivo çalışmalarında, Cu(II) uygulamasına bağlı AH oluşturulan deney hayvanlarında, yeni sentezlenen ve Cu(II) ile şelasyon yapabilen 1 molekülünün uygulanması sonucu, AH tablosunda gelişen öğrenme ve bellek fonksiyon bozukluklarının, depresyon davranışlarının düzeldiğini göstermektedir. 1'in bu etkisinin oluşmasında koruyucu etkisinin olabileceği düşünülmektedir. Ancak 1'in hangi mekanizmalar üzerinden etki oluşturduğunun daha detaylı deneylerle araştırılması gerekmektedir. Ayrıca beyin dokusundaki etkilerinin histopatolojik yöntemlerle gösterilmesi gerekmektedir. Patoloji çalışmalarına göre, Cu(II) kullanımıyla oluşturulan AH modelinin karaciğer ve böbrek üzerinde belirgin toksik etkiler gösterdiğini, ancak 1'in tedavi edici potansiyelinin bu etkileri hafiflettiğini ortaya koymaktadır. Bakır-ligand 1 grubunda inflamasyon ve nekroz gibi patolojik değişikliklerin minimal düzeyde olması, 1'in koruyucu bir rol üstlenebileceğini düşündürmektedir. Bu bulgular, 1'in AH gibi nörodejeneratif hastalıklarda terapötik bir ajan olarak değerlendirilebileceğini destekler niteliktedir. Yeni sentezlenen bu molekülün daha detaylı araştırılması sonucunda belki gelecekte Alzheimer hastalığının tedavisinde yeni bir molekül olarak yer alacaktır.

Usnik Asit ligantlarının ve metal kompleksinin sentezi ve moleküler kenetlenme çalışmalarının incelenmesi konulu poster 26-27 şubat 2023 tarihli Milazzo 4th European NECTAR Conference and Final Action Meeting'nde sunulmuştur (Ek. N)

KAYNAKLAR

- ACS, 2021. Usnic Acid. <https://www.acs.org/molecule-of-the-week/archive/u/usnic-acid.html> [Son erişim tarihi: 24.06.2024].
- Agarwal, K., Sharma, A., ve Talukder, G., 1990. Clastogenic effects of copper sulphate on the bone marrow chromosomes of mice in vivo. *Mutat Res*, 243(1):1-6.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., ve Karademir, S. E., 2004. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamin C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26): 7970-7981. <https://doi.org/10.1021/jf048741x>
- Aslan Engin, T., Emsen, B., Yılmaz, R., Cakir Koc, R., İnan, B. ve Ozcimen, D., 2023. Cytotoxicity of *Usnea longissima* Ach. extracts and its secondary metabolite, usnic acid on different cells. *Anatolian Journal of Botany*, 7(2):140-145.
- Aşiret, G.D., ve Kapucu, S., 2016. Alzheimer Hastalarının Bilişsel ve Davranışsal Sorunları zerine Etkili Bir Yöntem: Anımsama Terapisi. *Hacettepe Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Dergisi*, 2(3): 60-68.
- ATSDR, 1992. Toxicological Profile For Aluminium. <https://wwwn.cdc.gov/TSP/ToxProfiles/ToxProfiles.aspx?id=191&tid=34> [son erişim tarihi: 26.06.2024].
- Becke, A. D., 1998. Density-functional Exchange Energy Approximation with Correct Asymptotic Behavior. *Physical Review A*, 38: 3098–3100.
- Blois, M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617): 1199-1200. <https://doi.org/10.1038/1811199a0>
- Borisov, S.A., Luzina, O.A., Khvostov, M.V., Tolstikova, T.G., ve Salakhutdinov, N.F., Synthesis and Pharmacological Evaluation of (+)-Usnic Acid Derivatives as Hypoglycemic Agents. *Molbank*, 2022(4): 1-3. <https://doi.org/10.3390/M1459>
- Buluz, E.C., 2023. Schrödinger'in Dalga Fonksiyonundan Elektronik Yapıların Aydınlatılmasına: Hesaplamalı Kimya Yazı Serisi — 1. https://medium.com/@emrecn_blz/schr%C3%B6dingerin-dalga-fonksiyonundan-elektronik-yap%C4%B1lar%C4%B1n-ayd%C4%B1lat%C4%B1lmas%C4%B1na-hesaplamal%C4%B1-kimya-yaz%C4%B1-608d9bc30806 [Son erişim tarihi: 18.11.2024].
- Campanella, L., Delfini, M., Ercole, P., Iacoangeli, A., and Risuleo, G., 2002. Molecular characterization and action of usnic acid: a drug that inhibits proliferation of mouse polyomavirus in vitro and whose main target is RNA transcription. *Biochimie*, 84(4): 329–334. [https://doi.org/10.1016/s0300-9084\(02\)01386-x](https://doi.org/10.1016/s0300-9084(02)01386-x)

- Can, A., Dao, D. T., Arad, M., Terrillion, C. E., Piantadosi, S. C., ve Gould, T. D., 2012. The mouse forced swim test. Journal of visualized experiments, JoVE(59): e3638. <https://doi.org/10.3791/3638>
- Canbolat, E., ve Yardımcı, H., 2016. Alzheimer Hastalığı ve Koruyucu Besin Öğeleri. Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 6(2): 139-145.
- Cazarin, C. A., Dalmagro, A. P., Gonçalves, A. E., Boeing, T., Silva, L. M. D., Corrêa, R., Klein-Júnior, L. C., Pinto, B. C., Lorenzetti, T. S., Sobrinho, T. U. D. C., Fátima, Â., Lage, T. C. A., Fernandes, S. A., ve Souza, M. M., 2021. Usnic acid enantiomers restore cognitive deficits and neurochemical alterations induced by A β 1-42 in mice. Behavioural brain research, 397(112945). <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.112945>
- Cerner, M., 2023. Galantamine. <https://www.drugs.com/mtm/galantamine.html> [Son erişim tarihi: 16.07.2023].
- Chollet-Krugler, M., Tomasi, S., Uriac, P., Toupet, L., ve van de Weghe, P., 2008. Preparation and characterization of copper(II) and nickel(II) complexes of a new chiral salen ligand derived from (+)-usnic acid. Dalton transactions, 46: 6524-6526 . <https://doi.org/10.1039/b811589c>
- Colović, M. B., Krstić, D. Z., Lazarević-Pašti, T. D., Bondžić, A. M., ve Vasić, V. M., 2013. Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology. Current neuropharmacology, 11(3): 315–335. <https://doi.org/10.2174/1570159X11311030006>
- Croce, N., Pitaro, M., Gallo, V., ve Antonini, G., 2022. Toxicity of Usnic Acid: A Narrative Review. Journal of Toxicology, 1(2022). <https://doi.org/10.1155/2022/8244340>
- Çalış, Ü., ve Aytemir, M., 2019. Farmasötik ve Medisinal Kimya 1: Alzheimer Tedavisinde Kullanılan İlaçlar, Hacettepe Üniversitesi Basımevi, Ankara, 655s.
- Çetin Çakmak, K., ve Gülçin, İ., 2019. Anticholinergic and antioxidant activities of usnic acid-an activity-structure insight. Toxicology reports, 6(2019): 1273–1280. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2019.11.003>
- Çöl, Ö.F., 2019. Asetilkolinesteraz Enzim İnhibitör Etkili Heterosiklik Bileşiklerin Sentezi ve Yapı Aktivite İlişkileri İle İlgili Çalışmalar. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara, 153s.
- Demir, Z., ve Türkan, F., 2022. Asetilkolinesteraz ve Bütirilkolinesteraz Enzimlerinin Alzheimer Hastalığı ile İlişkisi . Journal of the Institute of Science and Technology , 12 (4): 2386-2395. doi: 10.21597/jist.1161271
- Dinçsoy, A., 2017. Paklitaksel/Usnik Asit Kombinasyonunun Meme Kanseri Hücre Hatları Üzerine Etkisi. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 80s.
- Dünya Sağlık Örgütü., 2015. Dementia Fact Sheet No. 362. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs362/en>
- DSÖ., 2003. Aluminium in Drinking-water. Background Document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality <https://iris.who.int/handle/10665/75362> [son erişim tarihi: 24.06.2024]

- Farlow, M.R., 1998. Pharmacological treatment of cognition in Alzheimer's disease, *Neurology*, 51(1-suppl-1): 36-44. https://doi.org/10.1212/wnl.51.1_suppl_1.s36
- Fernández-Moriano, C., Divakar, P. K., Crespo, A., ve Gómez-Serranillos, M. P., 2017. Protective effects of lichen metabolites evernic and usnic acids against redox impairment-mediated cytotoxicity in central nervous system-like cells. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 105: 262–277. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.04.030>
- Frisch, M. J., Trucks, G.W., Schlegel, H.B., Scuseria, G.E., Robb, M.A., Cheeseman, J.R., Scalmani, G., Barone, V., Mennucci, B., Petersson, G.A., Nakatsuji, H., Caricato, M., Li, X., Hratchian, H.P., Izmaylov, A.F., Bloino, J., Zheng, G., Sonnenberg, J.L., Hada, M., Ehara, M., Toyota, K., Fukuda, R., Hasegawa, J., Ishida, M., Nakajima, T., Honda, Y., Kitao, O., Nakai, H., Vreven, T., Montgomery, J.A., Vreven, T.J., Peralta, J.E., Ogliaro, F., Bearpark, M., Heyd, J.J., Brothers, E., Kudin, N., Staroverov, V.N., Kobayashi, R., Normand, J., Raghavachari, K., Rendell, A., Burant, J.C., Iyengar, S.S., Tomasi, J., Cossi, M., Rega, N., Millam, J.M., Klene, M., Knox, J.E., Cross, J. B., Bakken, V., Adamo, C., Jaramillo, J., Gomperts, R., Stratmann, R.E., Yazyev, O., Austin, A.J., Cammi, R., Pomelli, C.J., Ochterski, W., Martin, L.R., Morokuma, K., Zakrzewski, V.G., Voth, G.A., Salvador, P., Dannenberg, J.J., Dapprich, S., Daniels, A.D., Farkas, O., Foresman, J.B., Ortiz, J.V., Cioslowski, J., ve Fox, D.J., 2009. Gaussian Inc,
- Ekiz, M., 2016. Yeni Takrin Türevlerinin Etkili Yöntemlerle Sentezi. Doktora Tezi, Sakarya Üniversitesi, Sakarya, 135 s.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V. ve Featherstone, R.M., 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(2): 88-95. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)
- Güven, A., 2000. Asetilkoliesteraz'ın Önemi ve İnhibitörleri, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 6(1-2): 145-151.
- Hao, Y. M., Yan, Y. C., Zhang, Q., Liu, B. Q., Wu, C. S., & Wang, L. N., 2023. Phytochemical composition, antimicrobial activities, and cholinesterase inhibitory properties of the lichen *Usnea diffracta* Vain. *Frontiers in chemistry*, 10(2022): 1063645. <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.1063645>
- Huey, R., Morris, G. M., Forli S., 2012. Using AutoDock 4 and AutoDock Vina with AutoDockTools: A Tutorial. The Scripps Research Institute Molecular Graphics Laboratory, 10550: 92037.
- Kendirci, M., 2013. Alzheimer Hastalarının Saç Ve Tırnaklarında Eser Element Düzeyleri. Tıpta uzmanlık tezi, Erciyes Üniversitesi, Kayseri, 62 s.
- Khoury, R., Rajamanickam, J., ve Grossberg, G. T., 2018. An update on the safety of current therapies for Alzheimer's disease: focus on rivastigmine. *Therapeutic advances in drug safety*, 9(3), 171–178. <https://doi.org/10.1177/2042098617750555>

- Kohn, W., Sham, L.J., 1965. Self-consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. *Physical Review*, 140(4A): A1133.
- Kumar, A., Gupta, V., ve Sharma, S., 2021. Donepezil. In StatPearls. StatPearls Publishing.
- Lee, C., Yang, W., Parr, R.G., 1988. Development of The Colle-Salvetti Correlation-energy Formula Into a Functional of The Electron Density. *Physical Review B*, 37(2): 785.
- Luzina O.A., Sokolov D.N., Pokrovskii M.A., Pokrovskii A.G., Bekker O.B., Danilenko V.N., ve Salakhutdinov N.F., 2015. Synthesis and Biological Activity of Usnic Acid Enamine Derivatives. *Chemistry of Natural Compounds*, 51(4):646–651. doi: 10.1007/s10600-015-1376-7
- Mendiola-Precoma, J., Berumen, L.C., Padilla, K., ve Garcia-Alcocer, G., 2016. Therapies for Prevention and Treatment of Alzheimer's Disease. *BioMed Research International*, 2016(1): 1-17. <https://doi.org/10.1155/2016/2589276>
- National Institute for Health and Care Excellence, 2011. Donepezil, galantamine, rivastigmine and memantine for the treatment of Alzheimer's disease. <https://www.nice.org.uk/guidance/ta217> [son erişim tarihi: 17.07.2023]
- Öber, A., 2008. Alzheimer Hastalığında Moleküllerin Rolü . *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, (1): 23-31 . Retrieved from <https://dergipark.org.tr/tr/pub/derleme/issue/35069/388944>
- Özpak, L., Pazarbaşı, A., ve Keser, N., 2017. Alzheimer Hastalığının Genetiği ve Epigenetiği. *Aktd*, 26(1): 34-49.
- Özbolat, G., ve Tuli, A., 2016. Ağır Metal Toksisitesinin İnsan Sağlığına Etkileri. *Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Arşiv Tarama Dergisi*, 25(4): 502-521.
- Patel, R., ve Aschner, M. 2021. Commonalities between Copper Neurotoxicity and Alzheimer's Disease. *Toxics*, 9(1): 4. <https://doi.org/10.3390/toxics9010004>
- Perry, E.K., 1986. The cholinergic hypothesis-ten years on. *British Medical Bulletin*, 42(1):63-69. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.bmb.a072100>
- Piska, K., Galanty, A., Koczurkiewicz, P., Żmudzki, P., Potaczek, J., Podolak, I., ve Pękala, E., 2018. Usnic acid reactive metabolites formation in human, rat, and mice microsomes. Implication for hepatotoxicity. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 120: 112–118. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.07.005>
- Pyrzszak-Felczykowska, A., Narlawar, R., Pawlik, A., Guzow-Krzemińska, B., Artymiuk, D., Hać, A., Ryś, K., Rendina, L.M., Reekie, T.A., Herman-Antosiewicz, A., ve Kassiou, M., 2019. Synthesis of Usnic Acid Derivatives and Evaluation of Their Antiproliferative Activity against Cancer Cells. *Journal of natural products*, 82(7): 1768-1778. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.8b00980>
- Rizzi, L., Rosset, I., ve Roriz-Cruz, M., 2014. Global Epidemiology of Dementia: Alzheimer's and Vascular Types. *BioMed research international*, 2014(3): 908915.

- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. ve Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26: 1231-1237.
- Shi, C. J., Peng, W., Zhao, J. H., Yang, H. L., Qu, L. L., Wang, C., Kong, L. Y., ve Wang, X. B., 2020. Usnic acid derivatives as tau-aggregation and neuroinflammation inhibitors. *European journal of medicinal chemistry*, 187: 111961. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111961>
- Soner, S., 2017. Alzheimer hastalık sürecinde bakım veren aile üyelerinin yaşadıkları güçlükler ve sosyal hizmet. *Ahi Evran Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi*, 3(2), 375-387.
- Swerdlow, R.H., 2012. Alzheimer's disease pathologic cascades: Who comes first, What drives what. *Neurotoxicity Research*, 22(3): 182-194. <https://doi.org/10.1007%2Fs12640-011-9272-9>
- Şener, M., ve Tekin, H.H. 2020. Sosyal Belediyecilik Bağlamında Yaşlı Bakım ve Alzheimer Gündüz Yaşam Merkezleri. *Geriatrik bilimler dergisi*, 3(3): 138-146.
- Takani, M., Yajima, T., Masuda, H., ve Yamauchi, O., 2002. Spectroscopic and structural characterization of copper(II) and palladium(II) complexes of a lichen substance usnic acid and its derivatives. Possible forms of environmental metals retained in lichens. *Journal of inorganic biochemistry*, 91(1): 139–150. [https://doi.org/10.1016/s0162-0134\(02\)00439-7](https://doi.org/10.1016/s0162-0134(02)00439-7)
- Turhan Irak, Z., Gümüş, S., 2017. Heterotricyclic Compounds via Click Reaction: A computational Study. *Noble International Journal Science*, 7: 80-89.
- Uygun, İ., Başarır Bozkurt, Ş., Al Yousef M., Mohammed, MOK., Tanyeri, P., Akar, F., Erden, F., ve Mutlu, O., 2023. Piroglutamil Peptidlerin Farelerde Skopolaminle Oluşturulmuş Öğrenme-Bellek Bozukluğu Üzerine Etkisi. *Sakarya Tıp Dergisi*, 13(3): 446-455. DOI: 10.31832/smj.1239798
- Uzbay, I.T., 2004. Psikofarmakolojinin Temelleri ve Deneysel Araştırma Teknikleri, Çizgi Tıp Yayınevi, Ankara, 97-142.
- Yang, A., Liu, W., & Li, X., Wu, W., Kou, X., and Shen, R., 2022. Stüdyon on the novel usnic acid derivatives: Design, synthesis, X-Ray crystal structure of Cu(II) complex and anti-AD activities. *Journal of Molecular Structure*, 1263: 133018. 10.1016/j.molstruc.2022.133018.



ÖZGEÇMİŞ

Ghadir JUMAH . Öğretimini liseye kadar Şamın okullarında bitirdi. 2017 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Eebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde eğitim görmeye başladı ve 2021 yılında kimya bölümünden bölüm birincisi olarak mezun oldu. 2021 yılında Çukurova Üniversitesi Fen bilimleri Enstetüsü Kimya anabilim dalında yüksek lisans yapmaya başladı.



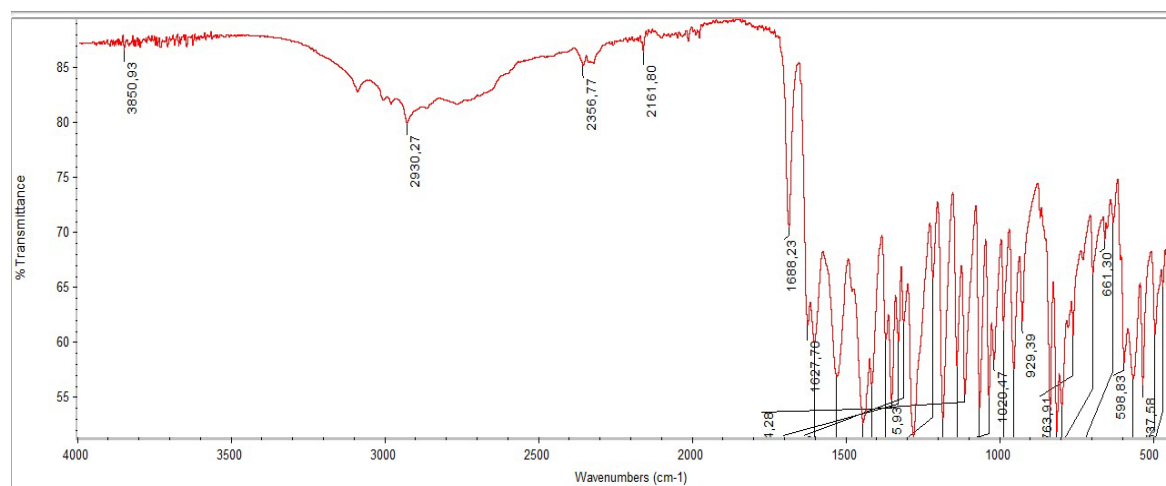




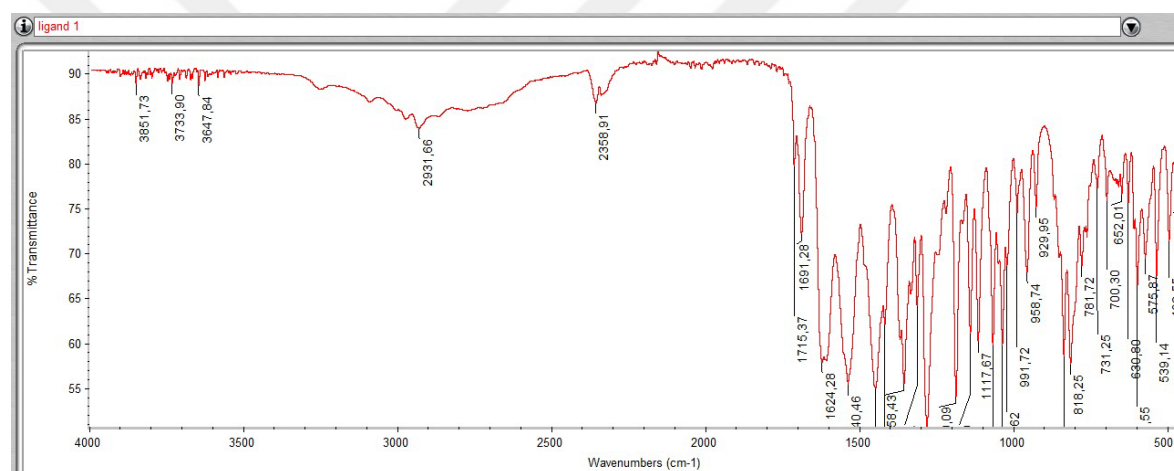
EKLER



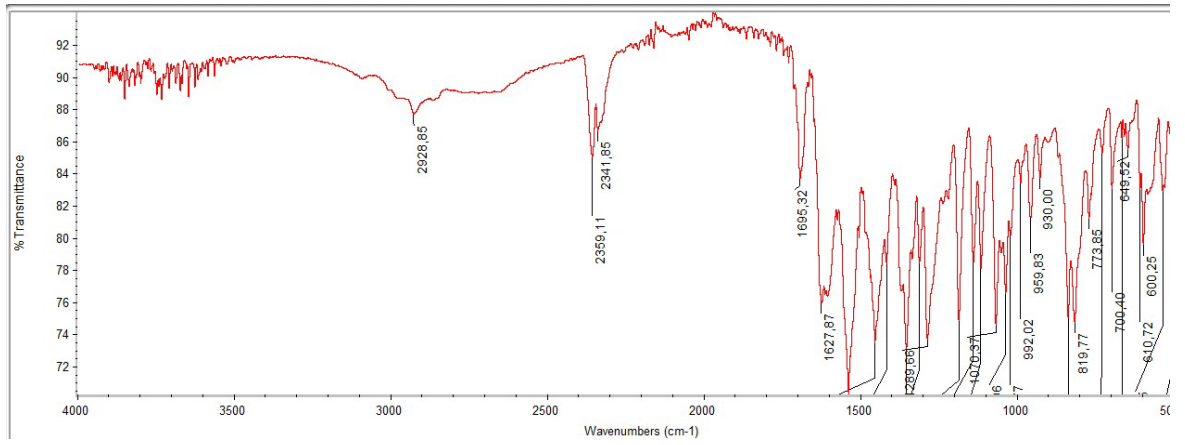
EK A. Usnik acid'in IR spektrumu



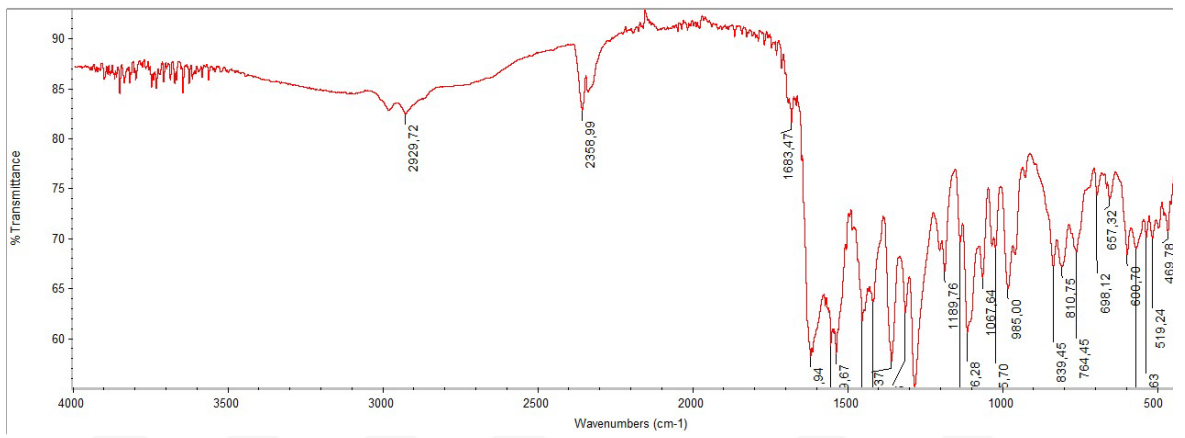
EK B. 1' in IR spektrumu



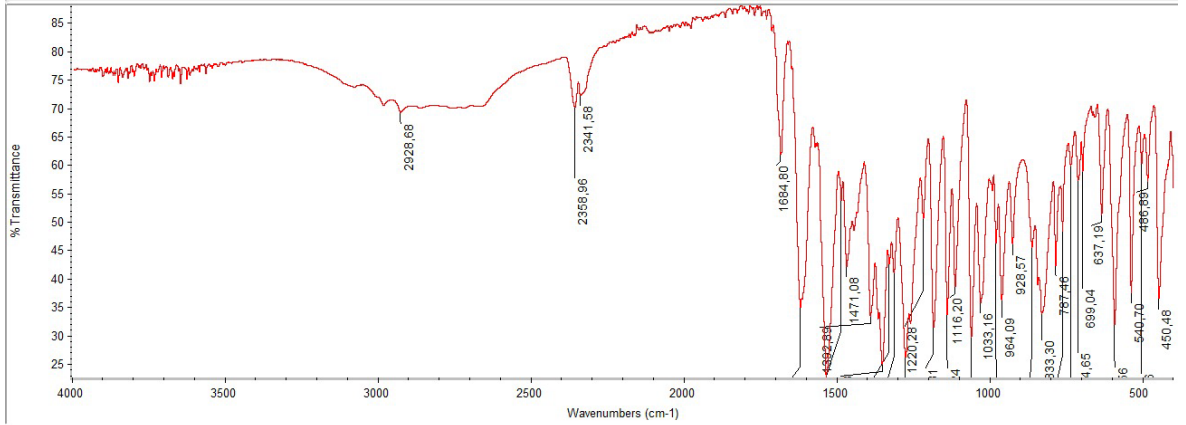
EK C. 2'nin IR spektrumu



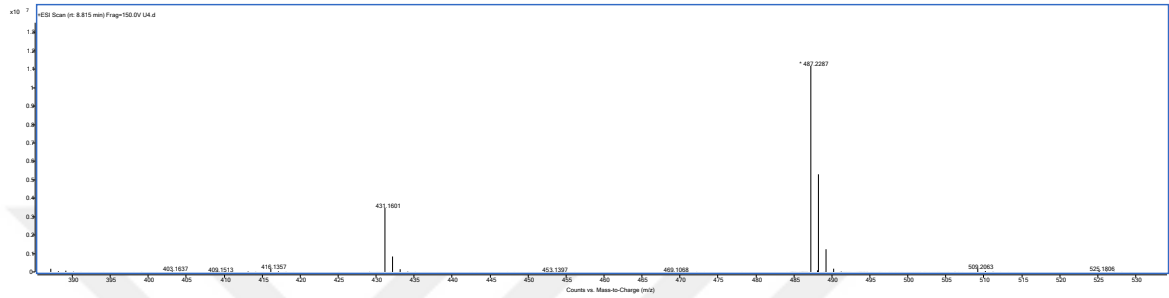
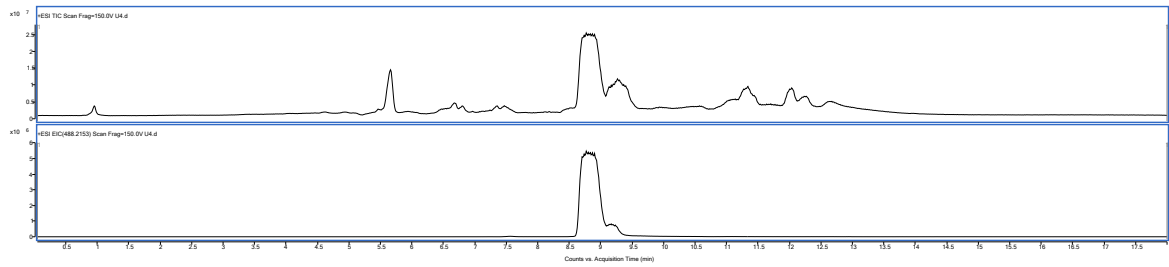
EK D. 3'ün IR spektrumu



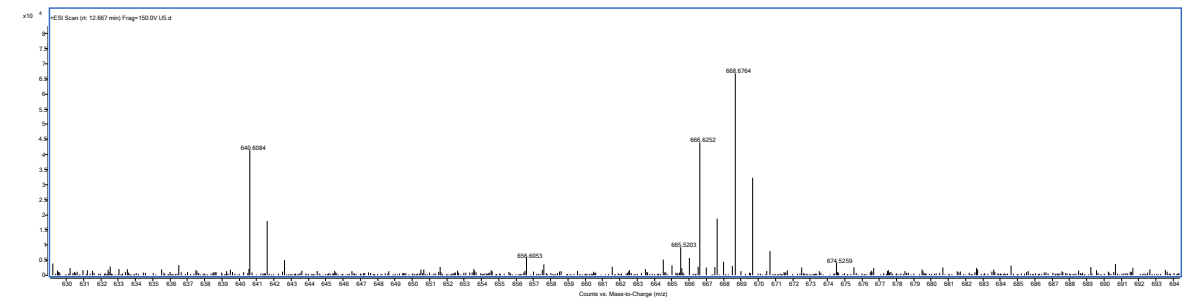
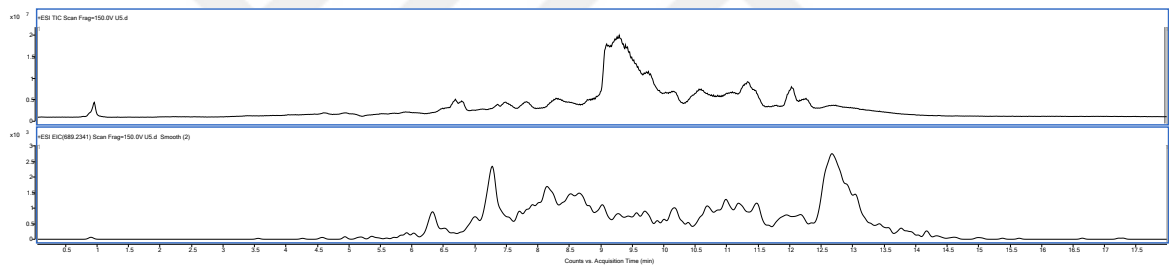
EK E 1-Cu'nin IR spektrumu



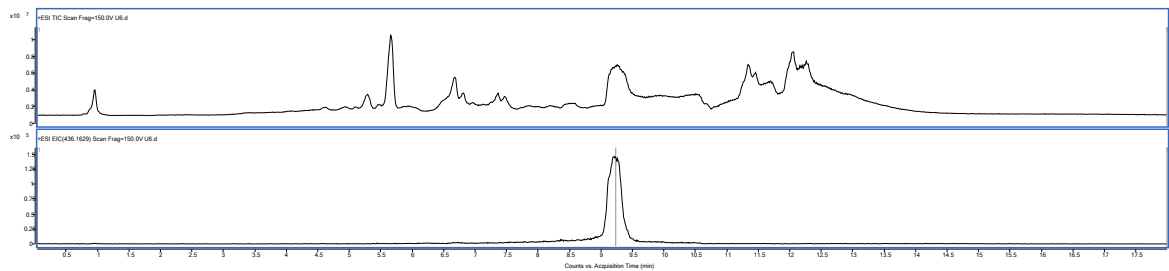
EK F. 1'in LC-MS spektrumu

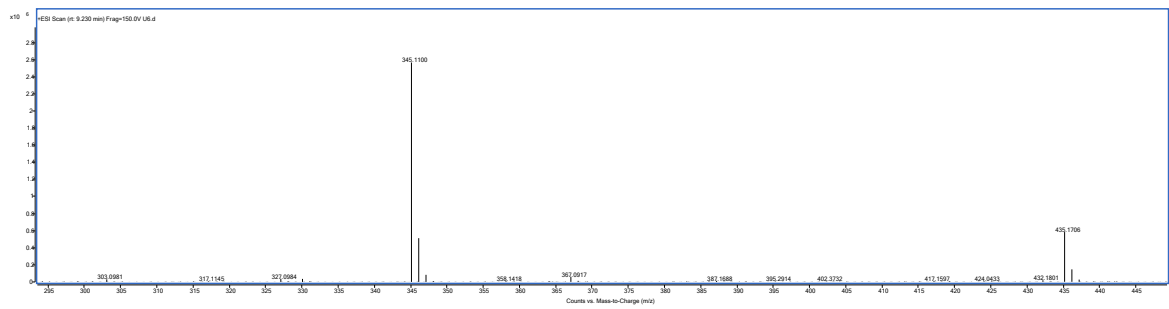


EK G. 2'nin LC-MS spektrumu

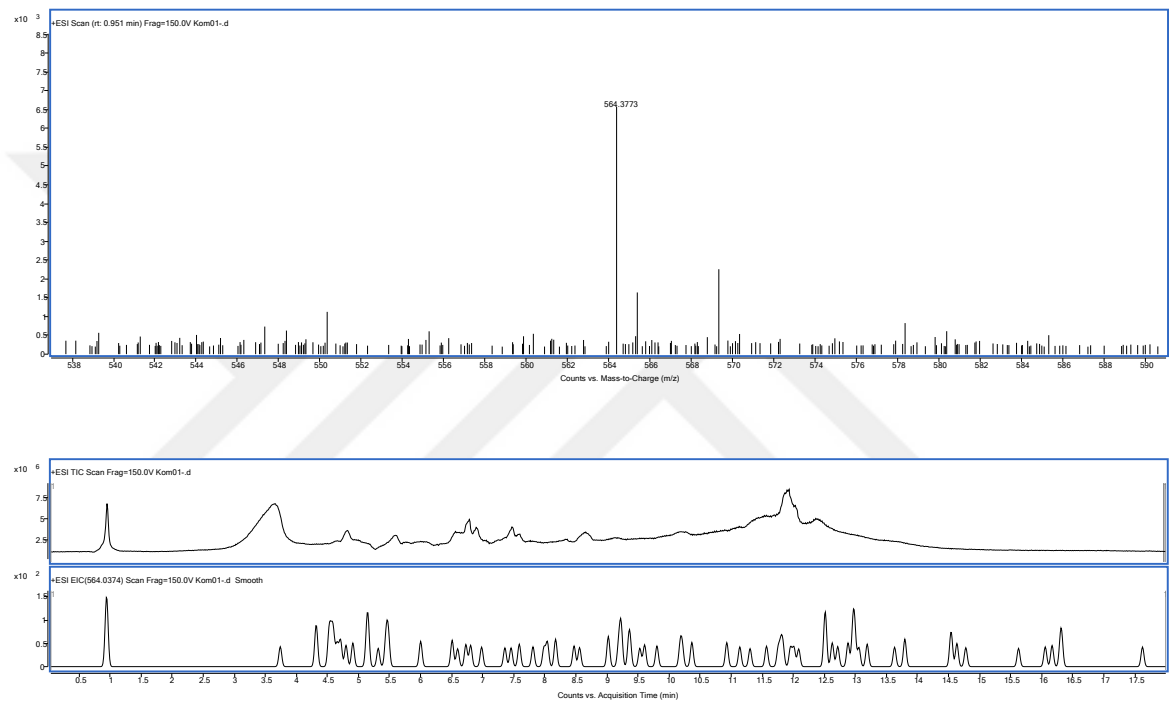


EK H. 3'ün LC-MS spektrumu

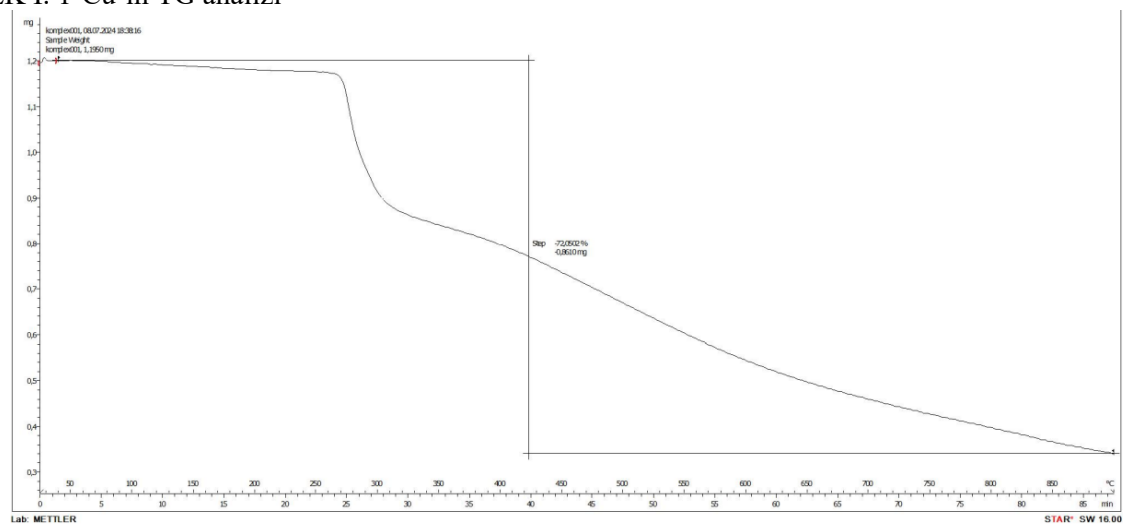




EK İ. 1-Cu'ın LC-MS spektumu



EK I. 1-Cu'ın TG analizi



EK J. 1'in asetilkolinesteraz ile etkileşimi

Kod	Kaynak	Mutasyon	Çözünürlük Å	Metod	Yıl	ligandı	Tanım
1EVE	Tetronarc ecaliforni a	Yok	2.50	X-Ray	1999	E2020	Structure of acetylcholinesterase complexed with E2020 (Aricept): implications for the design of new anti-Alzheimer drugs.
1GQR	Tetronarc ecalifornc a	Yok	2.20	X-Ray	2002	Rivasti gmine	ACETYLCHOLINE STERASE (E.C. 3.1.1.7) COMPLEXED WITH RIVASTIGMINE
1QTI	Tetronarc ecalifornc a	Yok	2.50	X-Ray	1999	-	Acetylcholinesterase
4M0E	Homo Sapiens	Yok	2.00	X-Ray	2013	dihydr otansh inone I	Structure of human acetylcholinesterase in complex with dihydrotanshinone I
1OCE	Tetronarc ecalifornc a	Yok	2.70	X-Ray	1999	MF26 8	ACETYLCHOLINE STERASE (E.C. 3.1.1.7) COMPLEXED WITH MF268

EK K. 1'in butirikolinesteraz ile etkileşimi

Kod	Kaynak	Mutasyon	Çözünürlük (Å)	Metod	Yıl	ligandı	Tanım
NN0	Homosapiens	Yes	2.10	X-Ray	2018	8 tane var	Crystal structure of huBChE with N-((1-(2,3-dihydro-1H-inden-2-yl)piperidin-3-yl)methyl)-N-(2-(dimethylamino)ethyl)-2-naphthamide.
R6V	Homosapiens	Yes	2.50	X-Ray	2020	3 tane var	Structure of recombinant human butyrylcholinesterase in complex with a fluorescent coumarin-based probe
XLV	Homosapiens	Yes	2.25	X-Ray	2005	5 tane var	Ethylphosphorylated Butyrylcholinesterase (Aged) Obtained By Reaction With Echothiophate
XLW	Homosapiens	Yes	2.10	X-Ray	2005	5 tane var	Diethylphosphorylated Butyrylcholinesterase (Nonaged) Obtained By Reaction With Echothiophate
BDS	Homosapiens	Yes	2.10	X-ray	2013	8 tane var	Human butyrylcholinesterase in complex with tacrine https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2020.107355

EK L. 1'in beta amyloid ile etkileşimi

Code	Name	Dissolution Method	Source
1IYT	Solution structure of the Alzheimer's disease amyloid beta-peptide (1-42)	NMR	Human
2BEG	3D Structure of Alzheimer's Abeta(1-42) fibrils	NMR	Human
8AZT	Type II amyloid-beta 42 filaments from high-spin supernatants of aqueous extracts from Alzheimer's disease brains ABeta42	ELECTRON MICROSCOPY	Human

Toplantı Sayısı	Toplantı Tarihi	Toplantı Yeri	Oturum Başkanı
8	16.12.2022	Ç.Ü- SABİDAM	Dr. Öğr. Üyesi Sinan KANDIR

KARAR NO : 17 - ÇÜ Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nde görevli Prof. Dr. Emel YILDIZ'ın yöneticisi olduğu **"Usnik Asit Türevlerinin Cu(I) Ve Cu(II) Komplekslerinin Sentezi Ve Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması."** konusu, araştırma etiği yönünden değerlendirildi; toplantıya katılan üyelerin oy birliğiyle uygun olduğuna karar verildi.

