

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**POTANSİYEL ANTİ-ALZHEİMER HETEROAROMATİK HİDRAZİT-
HİDRAZON TÜREVİ BİLEŞİKLER ÜZERİNDE SENTEZ VE
BİYOAKTİVİTE ÇALIŞMALARI**

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı
Doktora Tezi

Ecz. Gözde SAYAR GÜMÜŞ

Danışman
Doç. Dr. Vildan ALPTÜZÜN

İZMİR

2017

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**POTANSİYEL ANTİ-ALZHEİMER HETEROAROMATİK HİDRAZİT-
HİDRAZON TÜREVİ BİLEŞİKLER ÜZERİNDE SENTEZ VE
BİYOAKTİVİTE ÇALIŞMALARI**

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı
Doktora Tezi

Ecz. Gözde SAYAR GÜMÜŞ

Danışman
Doç. Dr. Vildan ALPTÜZÜN

İZMİR
2017

DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

(Adı Soyadı)

(İmza)

Başkan : Doç. Dr. Vildan ALPTÜZÜN



(Danışman)

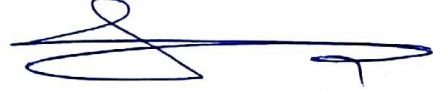
Üye : Prof. Dr. Varol PABUÇÇUOĞLU



Üye : Doç. Dr. Petek BALLAR KIRMIZIBAYRAK



Üye : Prof. Dr. Erhan PALASKA



Üye : Prof. Dr. Erdal BEDİR



Doktora Tezinin kabul edildiği tarih: 08.02.2018

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında yardımlarını, bilgi ve tecrübelerini hiçbir zaman esirgemeyen, bu süre zarfında her zaman sabırlı ve hoşgörülü davranan, çok değerli danışman hocam Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi **Sayın Doç. Dr. Vildan ALPTÜZÜN'e**,

Doktora eğitimim süresince her konuda değerli yardım ve desteklerini gördüğüm hocalarım, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Başkanı **Sayın Prof. Dr. Varol PABUÇÇUOĞLU'na** ve **Sayın Prof. Dr. Erçin ERCİYAS'a**,

Biyolojik aktivite çalışmalarının yapılmasındaki katkılarından dolayı Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi **Sayın Yard. Doç. Dr. Sumru SÖZER KARADAĞLI'ya**,

IR, kütle ve elementel analizlerin yapılmasındaki katkılarından dolayı **E.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmasötik Bilimler Araştırma Laboratuvarı FABAL'a**,

NMR spektrumlarının alınmasındaki katkılarından dolayı **E.Ü. NMR EBİLTEM Uydu Laboratuvarı'na**,

Tez çalışmalarım sırasında desteklerini her zaman hissettiğim **sayın hocalarım** ve **sevgili çalışma arkadaşlarıma**,

Sadece tez çalışmalarım sırasında değil, hayatımın her anında maddi manevi yanımda olan desteklerini ilgilerini esirgemeyen sevgili **aileme** ve tez çalışmam boyunca sabırla yanımda olan **eşime** sonsuz minnet, sevgi ve saygılarımı sunarım.

İzmir, 2017

Ecz. Gözde SAYAR GÜMÜŞ

Bu tez, **E.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (Proje No: 14/ECZ/044)** tarafından desteklenmiştir.

ÖZET

Potansiyel Anti-Alzheimer Heteroaromatik Hidrazit-Hidrazon Türevi Bileşikler Üzerinde Sentez Ve Biyoaktivite Çalışmaları

Alzheimer hastalığı (AH) klinik olarak bellek ve bilişsel bozukluklar ile karakterize, ilerleyici ve ölümcül nörodejeneratif bir hastalıktır. Öncelikli olarak yaşlı popülasyonda görülür ve demansın en yaygın nedenidir.

Alzheimer hastalığının en önemli patolojik özellikleri β -amiloid ($A\beta$) ekstraselüler plaklar, tau proteininin aşırı fosforillenmesiyle meydana gelen hücre içi nörofibriller yumaklar (NFT) ve bazal ön beyinde kolinerjik nöronların kaybıdır. Yetersiz kolinerjik transmisyon, Alzheimer hastalığında bilişsel, işlevsel ve davranışsal belirtilerin ortaya çıkmasında önemli bir rol oynamaktadır. Dolayısıyla, tedaviler genellikle ya reseptör agonisti ya da asetilkolinesteraz inhibitörleri (AChEI) ile kolinerjik sistemin işlevini arttırmaya yönelik planlanmaktadır. Kolinerjik hipoteze dayanarak, Alzheimer hastalığını tedavi etmek için en başarılı yaklaşım, asetilkolin (ACh) seviyesini eski haline getirmektir. ACh, iki tip kolinesteraz (ChE) tarafından, asetilkolinesteraz (AChE) ve butirikolinesteraz (BuChE), metabolize edilir. Ancak Alzheimer tedavisi esas olarak kolinerjik sinapslarda ACh düzeylerini artırabilen AChEI üzerine kurulmuştur. Kolinerjik hipotez, Alzheimer hastalığının doğasını açıklayan ve halen kabul gören tek teoridir. Bununla birlikte, orta ila şiddetli Alzheimer türlerinin semptomatik etkilerini gidermek için günümüzde kullanılan hemen hemen tüm ilaçlar bu hipoteze dayanmaktadır.

Kolinerjik hipotezin esas hedefi asetilkolinesteraz enzim aktivitesinin geliştirilmesidir. Çalışmalar AChE'nin $A\beta$ 'nin pro-agregasyon aktivitesi de dahil olmak üzere çeşitli non-katalitik olaylardan sorumlu olduğunu göstermiştir. Alzheimer hastası bireylerde, asetilkolinesteraz aktivitesi artmıştır ve bu artış asetilkolin yıkımının artmasını tetikler ve beyinde asetilkolin miktarının azalmasına neden olur. Enzim ve Alzheimer hastalığı arasındaki bir diğer ilişki de nörofibriller yumakların ve amiloid plakların meydana gelmesinde enzimin kısmi etkisidir. Asetilkolinesterazın büyüyen fibriller ile kompleks oluşturarak $A\beta$ -peptid fragmanlarının agregasyonuna sebep olduğu gösterilmiştir. AChE enziminin $A\beta$ -peptid fibrillerinin oluşmasını tetikleyen yapısal bölgesinin enzimin periferik anyonik yoresi (PAS) olduğu anlaşılmıştır. Özellikle PAS ile ya da hem enzimatik yöre hem de PAS yoresiyle etkileşen moleküller AChE'nin $A\beta$ 'ye yönelik pro-agregasyon aktivitesini engellemektedirler. Bunların yanı sıra, birtakım AChE inhibitörleri kolinerjik iletimi kolaylaştırmanın yanı sıra toksik $A\beta$ sentezine, birikmesine ve agrega olmasına engel olurlar. Kısacası, AChE inhibisyonunun Alzheimer hastalığının etkin tedavisinde kritik bir strateji olduğu ortaya konmuştur.

AChE inhibitörü ilaçlar (takrin, donepezil, rivastigmin ve galantamin) yapılarında aromatik ve/veya heterosiklik halka sistemi taşımaktadır. Aromatik ve/veya heteroaromatik halkalar, AChE enziminin hem girişindeki, hem de çukurun içindeki amino asit artıklarıyla hidrofobik, yük transfer kompleksi, π - π , katyon- π etkileşim potansiyeline ya da H bağı yapma özelliğine sahiptir. Bu nedenle heterosiklik halkalar, AChE inhibitörü yeni bileşiklerin tasarlanmasında çekirdek yapı olarak kullanılmaktadır.

Öte yandan, hidrazit-hidrazon işlevsel grubu taşıyan pek çok bileşiğin kolinesteraz inhibitör etkinliğe sahip olduğu bildirilmiştir. Hidrazonlar, hidrojen verici ve alıcı azot atomlarına sahiptirler ve enzim çukurundaki amino asitlerle hidrojen bağı yapabilirler. Bu nedenle, moleküler tasarımda tercih edilen fonksiyonel yapılardan biridir.

Çalışmamızda, hem benzimidazol, benzoksazol veya benzotiyazol iskeleti, hem de hidrazon yapısı bulunan 4-(1*H*-benzimidazol/benzoksazol/benzotiyazol-2-il)benzohidrazit-hidrazon türevi 39 adet bileşik tasarlanmış ve sentezleri gerçekleştirilmiştir.

Bileşiklerimizin sentezi üç basamakta gerçekleştirilmiştir. Birinci basamakta 4-formilbenzoat bileşiğinin *o*-fenilendiamin, 2-aminofenol ve 2-aminotiyofenol ile reaksiyona sokularak halka kapama reaksiyonunun gerçekleşmesiyle sırasıyla benzimidazol, benzoksazol ve benzotiyazol halkaları içeren metil 4-(1*H*-benzimidazol-2-il)benzoat, 4-(1*H*-benzoksazol-2-il)benzoat ve 4-(1*H*-benzotiyazol-2-il)benzoat türevleri oluşturulmuştur. Birinci basamak sonunda elde edilen tüm ester yapısındaki ürünler hidrazin hidrat ile reaksiyona tabii tutularak hidrazit türevi ara ürünler elde edilmiş ve son basamakta da elde edilen hidrazit yapısındaki tüm ara ürünler çeşitli aromatik aldehytler ile kondensasyona sokularak hidrazon türevi final bileşikler elde edilmiştir.

Sentezlenen ve saflaştırılan bileşiklerin yapıları IR, ¹H NMR, kütle spektrumları ve elementel analiz sonuçları yorumlanarak aydınlatılmıştır. AChE/BuChE üzerindeki inhibitör etkileri modifiye edilmiş Ellman testi ile tayin edilmiştir.

Sentezlenen tüm bileşikler AChE enzimine karşı 1.0-10.7 μ M arasında IC₅₀ değerine sahip iyiden orta düzeye giden aralıkta bir inhibisyon sergilemiştir. Tüm seri içerisinde AH-9 bileşiği, referans bileşik galantamine yakın bir inhibisyon göstererek AChE'ye karşı en etkili bileşik olmuştur (IC₅₀= 1.0 μ M). CH-6 bileşiği ise iyi AChE inhibisyon aktivitesinin yanısıra iyi bir BuChE inhibisyonuna da sahiptir (IC₅₀=1.83 μ M AChE, 1.81 μ M BuChE).

Ayrıca AH-9 ve AH-5 kodlu bileşiklerin metalle kompleks oluşturma potansiyeli spektrofotometrik olarak incelenmiş ve UV spektrumunda izlenen kaymalar, bileşiklerin kompleks oluşturma potansiyeline dair ön bir veri olarak rapor edilmiştir.

İlaveten, önemli fizikokimyasal parametrelerden biri olan Log P değeri final bileşikler için MOE 2011.10 (Molecular Operating Environment) programı ile hesaplanmış

ve aktiviteyle olan ilişkisi değerlendirilmiştir. Tüm bileşiklerin kan-beyin bariyerini geçebileceği öngörülmektedir.

Tez kapsamında elde edilen 39 adet final bileşiğinin 30 adedi literatürde kayıtlı olmayıp ilk kez bu çalışmada rapor edilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Anti-Alzheimer bileşikler, Asetilkolinesteraz inhibitörleri, Butirilkolinesteraz inhibitörleri, Heteroaromatik bileşikler, Hidrazit-Hidrazon türevleri



ABSTRACT

Synthesis and Bioactivity Studies on Potential Anti-Alzheimer Heteroaromatic Hydrazide-Hydrazone Derivatives

Alzheimer's disease (AD) is a progressive and fatal neurodegenerative disease characterized clinically by memory and cognitive deficits. It is primarily seen in the elderly population and is the most common cause of dementia.

The most important pathological features of Alzheimer's disease are β -amyloid ($A\beta$) extracellular plaques, intracellular neurofibrillary tangles (NFT) resulting from excessive phosphorylation of tau protein, and loss of cholinergic neurons in the basal forebrain. Inadequate cholinergic transmission plays an important role in the development of cognitive, functional and behavioral symptoms in Alzheimer's disease. Therefore, treatments are generally planned to increase the function of the cholinergic system either with receptor agonist or acetylcholinesterase inhibitors (AChEI). Based on the cholinergic hypothesis, the most successful approach to treat Alzheimer's disease is to restore the level of acetylcholine (ACh). ACh is metabolized by two types of cholinesterases (ChE), namely acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BuChE). However, Alzheimer's therapy is based primarily on AChEI, which can increase ACh levels in cholinergic synapses. The cholinergic hypothesis is the only theory that explains the nature of Alzheimer's disease and is still accepted. In addition to this, almost all medicines currently used to relieve the symptomatic effects of moderate to severe Alzheimer species are based on this hypothesis.

The main goal of the cholinergic hypothesis is to improve the activity of AChE. Studies have shown that AChE is responsible for a variety of non-catalytic pathways, including pro-aggregation activity of $A\beta$. In Alzheimer's disease, the activity of acetylcholinesterase is increased, which increases the breakdown of acetylcholine and leads to a decrease in the amount of acetylcholine in the brain. The other relationship between the enzyme and Alzheimer's disease is the partial effect of the enzyme on the formation of neurofibrillary tangles and amyloid plaques. It has been shown that acetylcholinesterase complexes with growing fibrils, leading to aggregation of $A\beta$ peptide fragments. It has been understood that the structural region that triggers the formation of $A\beta$ peptide fibrils of the AChE enzyme is the peripheral anionic region (PAS) of the enzyme. Especially, molecules interacting with PAS, or both the enzymatic region and the PAS region, inhibit pro-aggregation activity of AChE for $A\beta$. Besides, some AChE inhibitors not only promote cholinergic transmission but also prevent toxic $A\beta$ synthesis, accumulation and aggregation.

In summary, AChE inhibition has been shown to be a critical strategy in the effective treatment of Alzheimer's disease.

Many aromatic structures have potential charge-transfer complex, hydrophobic, cation- π and π - π interactions or hydrogen bonding with aromatic amino acid residues at both the AChE entrance and the bottom of the gorge. In the search for new potent acetylcholinesterase inhibitors, many compounds, including Alzheimer's drugs such as tacrine, donepezil, and galantamine, have many heterocyclic rings with significant inhibitory activity. Many heterocyclic systems have been used as a skeleton to design new compounds with AChE inhibitory activity.

On the other hand, it has been reported that many compounds carrying the hydrazide-hydrazone functional group have cholinesterase inhibitor activity. Hydrazones have hydrogen donor and acceptor nitrogen atoms and can generate hydrogen bond with amino acids in the enzyme gorge. For this reason, it is one of the preferred pharmacophore for molecular design.

In our study, 39 compounds were designed and synthesized 4-(1*H*-benzimidazole/benzoxazole/benzothiazol-2-yl) benzohydrazide-hydrazone derivatives including both benzimidazole, benzoxazole or benzothiazole skeleton and hydrazone structures.

Synthesis of the compounds was carried out in three steps. Firstly, 4-formylbenzoate is reacted with *o*-phenylenediamine, 2-aminophenol and 2-aminothiophenol to give methyl 4-(1*H*-benzimidazol-2-yl)benzoate, 4-(1*H*-benzoxazole-2-yl)benzoate and 4-(1*H*-benzothiazol-2-yl)benzoate derivatives, respectively. Then, the products of all the ester structures obtained at the end of the first step are reacted with hydrazine hydrate to yield hydrazide intermediates. Finally, all of the hydrazide derivatives were condensed with various aromatic aldehydes to give hydrazide-hydrazone final compounds.

The structures of the synthesized and purified compounds were clarified by interpretation of IR, ^1H NMR, mass spectra and elemental analysis results. The inhibitor effects on AChE/BuChE were determined by the modified Ellman test.

All synthesized compounds showed from good to moderate inhibition of the AChE enzyme with an IC_{50} value of 1.0-10.7 μM . Compound AH-9 was found to be the most effective compound against AChE ($\text{IC}_{50} = 1.0 \mu\text{M}$), indicating a similar inhibition with the reference compound galantamine. Besides, compound CH-6 exhibited good AChE inhibition activity as well as good BuChE inhibition ($\text{IC}_{50} = 1.83 \mu\text{M}$ M AChE; $1.81 \mu\text{M}$ BuChE).

Compounds AH-9, AH-5 were examined spectroscopically metal complexing capacity and the shifts observed in the UV spectrum were reported as preliminary data on the complexing potential of the compounds.

Log P value, one of the important physicochemical parameters, was calculated by MOE 2011.10 (Molecular Operating Environment) program for the final compounds and the relation with activity was evaluated. All compounds are predicted to cross the blood-brain barrier.

30 of the 39 final compounds obtained within this thesis are not registered in the literature but reported for the first time in this study.

Keywords: Anti-Alzheimer compounds, Acetylcholinesterase inhibitors, Butyrylcholinesterase inhibitors, Heteroaromatic compounds, Hydrazone-Hydrazone derivatives



İÇİNDEKİLER

ÖZET	I
ABSTRACT.....	IV
İÇİNDEKİLER	VII
ŞEKİLLER VE TABLOLAR DİZİNİ	XVI
ŞEKİLLER.....	XVI
ŞEMALAR	XXII
TABLOLAR	XXIII
1. GİRİŞ	1
2. TEORİK BÖLÜM	4
2.1. Alzheimer Hastalığı	4
2.2. Alzheimer Hastalığı Tarihine Genel Bakış	5
2.3. Alzheimer Hastalığı İçin Risk Faktörleri	6
2.4. Alzheimer Hastalığının Patogenezi.....	7
2.4.1. Kolinergic Hipotez	7
2.4.2. Glutamaterjik Hipotez.....	8
2.4.3. Amiloid Hipotez.....	9
2.4.3.1. Amiloid Prekürsör Protein (APP)	10
2.4.3.1.1. Non-Amiloidojenik Yolak	10
2.4.3.1.2. Amiloidojenik Yolak	11
2.4.3.2. Amiloid Agregasyonu	13
2.4.3.2.1. Kendi Kendine-İndüklenen Amiloid Agregasyonu	13
2.4.3.2.2. A β -Heksapeptid İle Amiloid Agregasyonu.....	14
4. Tau Hipotezi.....	14
2.4.4.1. Tau Proteinini.....	15
2.4.4.1.1. Fizyolojisi	15
2.4.4.1.2. Patolojisi	16
2.4.4.1.3. Fibril Oluşumu	17

2.4.5. Kalsiyum Hipotezi	18
2.4.6. Oksidatif Stres Hipotezi	18
2.4.7. Mitokondriyal Kaskad Hipotezi.....	20
2.4.8. İnflamatuar Hipotez	21
2.4.9. Metal Hipotezi	22
2.5. <i>AChE ve BuChE Enzimleri</i>	23
2.5.1. AChE Enzimi	23
2.5.1.1. AChE Enzim Yapısı.....	23
2.5.1.1.1. Katalitik Aktif Yöre (CAS).....	23
2.5.1.1.2. Periferik Anyonik Yöre (PAS).....	25
2.5.2. BuChE Enzimi	25
2.5.2.1. BuChE Enzim Yapısı	26
2.6. Tedavi Stratejileri.....	27
2.6.1. FDA Tarafından Onaylanmış Asetilkolinesteraz İnhibitörleri.....	29
2.6.1.1. Takrin (Cognex®).....	29
2.6.1.2. Donepezil (Aricept®)	30
2.6.1.3. Rivastigmin (Exelon®).....	31
2.6.1.4. Galantamin (Reminyl®).....	32
2.6.2. Kullanımı Kabul Edilen Diğer AChE İnhibitörü Bileşikler.....	33
2.6.2.1. Huperzin A ve Huperzin B.....	33
2.6.3. FDA Tarafından Onaylanmış NMDA Reseptör Antagonistleri.....	33
2.6.3.1. Memantin (Namenda®)	33
2.6.4. FDA Tarafından Onaylanmış AChE İnhibitörü ve NMDA Reseptör Antagonist Kombine Tedavisi	34
2.6.4.1. Donepezil+Memantin (Namzaric®)	34
2.6.5. AChE İnhibitörü Bileşikler Üzerinde Yapılan Çalışmalar.....	35
2.6.5.1. Takrin Analogları.....	35
2.6.5.1.1. Beş Üyeli Heterosiklik Halka Türevleri.....	35

2.6.5.1.1.1. Sübstitüe Pirazol Türevleri.....	36
2.6.5.1.1.2. Furan Türevleri	36
2.6.5.1.1.3. Tiyo Türevleri	37
2.6.5.1.2. Altı Üyeli Sübstitüe Heterosiklik Halkalı Türevler	37
2.6.5.1.2.1. Piridin Sübstitüe Türevler	37
2.6.5.1.2.2. Sübstitüe Piran Türevleri	38
2.6.5.1.3. Kaynaşmış Heterosiklik Halkalı Analoglar	39
2.6.5.1.4. Yakın Tarihte Geliştirilen Sentetik Takrin Analogları.....	40
2.6.5.2. Donepezil Analogları	41
2.6.5.2.1. Benzilpiperidinon Sübstitüe Türevler	41
2.6.5.2.2. TAK-147 ve TAK-802 Kodlu N-Benzilpiperidin Türevleri	42
2.6.5.2.3. Benzofenon Türevleri	42
2.6.5.3. Karbamat Türevleri.....	44
2.6.5.3.1. Rivastigmin Analogları.....	44
2.6.5.3.1.1. Rivastigmin-5-tiya-1-azasiklopenta[a]naftalen Türevleri.....	44
2.6.5.3.1.2. Fenilkarbamatlar	45
2.6.5.3.1.3. Sübstitüefenil-N-butil Karbamatlar.....	46
2.6.5.3.2. Fizostigmin ve Analogları.....	46
2.6.5.4. Galantamin Analogları.....	50
2.6.5.4.1. Açık D-Halkalı Galantamin Analogları.	50
2.6.6. Alzheimer’de Çok-Hedefe Yönlendirilmiş Ligand Stratejisi	51
2.6.6.1. Alzheimer Hastalığında AChE’nin Dual Rolü.....	53
2.6.6.2. Alzheimer Tedavisi İçin Tasarlanan MTDL Hibrit Moleküller.....	54
2.6.6.2.1. Takrin Hibritleri	54
2.6.6.2.1.1. Takrinin Homodimer Hibritleri.....	54
2.6.6.2.1.2. Takrinin Heterodimer Hibritleri.....	55
2.6.6.2.1.2.1. Takrin-Kromen Hibritleri.....	55
2.6.6.2.1.2.2. Takrin-Melatonin Hibritleri	56

2.6.6.2.1.2.3. Takrin-Karbazol Hibritleri	56
2.6.6.2.1.2.4. Takrin-İmidazol Hibritleri	58
2.6.6.2.1.2.5. Takrin-Ksanomelin Hibritleri	59
2.6.6.2.1.2.6. Takrin-Donepezil Hibritleri.....	59
2.6.6.2.1.2.6.1. Takrin-İndanon Hibriti.....	59
2.6.6.2.1.2.6.2. Takrin-N-Benzilpiperidin Hibriti	60
2.6.6.2.1.2.7. Takrin-Oksoizoaporfin Hibritleri	61
2.6.6.2.1.2.8. Takrin-Huperzin Hibritleri	61
2.6.6.2.1.2.9. Takrin-Ebselen Hibritleri	63
2.6.6.2.1.2.10. Takrin-Lipoik Asit Hibriti	64
2.6.6.2.1.2.11. Takrin-Ferulik Asit Hibriti	64
2.6.6.2.1.2.12. Takrin-Troloks Hibritleri.....	65
2.6.6.2.1.2.13. Takrin-Trifluoroasetofenon Hibritleri.....	65
2.6.6.2.2. Donepezil Hibritleri	66
2.6.6.2.2.1. Donepezil-Minaprin Hibritleri	66
2.6.6.2.2.2. Donepezil-AP2238 Hibriti	67
2.6.6.2.2.3. Donepezil-İndolil Hibritleri.....	68
2.6.6.2.2.4. Donepezil-Propargilamin-8-hidroksikinolin (DPH) Hibritleri	68
2.6.6.2.2.5. Donepezil-Ebselen Hibritleri.....	69
2.6.6.2.2.6. Donepezil-N-Süstitüegalantamin Hibritleri	70
2.6.6.2.2.7. Donepezil-Rivastigmin Hibritleri	70
2.6.6.2.2.8. N-Benzilpiperidin Hibritleri.....	71
2.6.6.2.2.8.1. Benzizoksazol-N-Benzilpiperidin Hibritleri	71
2.6.6.2.2.8.2. İkopezil Bileşiği	71
2.6.6.2.2.8.3. 1,2,4-Tiyadiazolidinon-N-Benzilpiperidin Hibritleri.....	72
2.6.6.2.2.8.4. N-Benzilpiperidin-İndol/Pirol Hibritleri	72
2.6.6.2.2.8.5. Diğer N-Benzilpiperidin Hibritleri.....	73
2.6.6.2.3. Rivastigmin Hibritleri	73

2.6.6.2.3.1. Rivastigmin–Rasagilin Hibriti Ladostigil	73
2.6.6.2.3.2. Rivastigmin–Fluoksetin Hibritleri	74
2.6.6.2.3.3. Rivastigmin–Skutellarin Hibritleri.....	75
2.6.6.2.4. Fizostigmin Hibritleri.....	76
2.6.6.2.5. Galantamin Hibritleri	77
2.6.6.2.5.1. Galantamin Homodimerleri	77
2.6.6.2.5.2. Galantamin Heterodimerleri	78
2.6.6.2.6. Obidoksim–Oksim Hibritleri	79
2.6.6.2.7. Rein–Huprin Hibritleri.....	80
2.6.6.2.8. Poliamin Türevi Bileşikler	81
2.6.6.2.8.1. Kaproktamin Bileşiği	81
3. PLANLANAN ÇALIŞMA	82
3.1. Sentezlenmesi Planlanan Bileşiklerle ilgili Literatürde Yapılan Çalışmalar	82
3.1.1. Benzimidazol, Benzoksazol ve Benzotiyazol Halkalarını Taşıyan Bileşikler	82
3.1.1.1. Benzimidazol Halkası Taşıyan Bileşikler	82
3.1.1.1.1. 2-[4-(4-Sübstitüepiperazin-1-il)fenil]benzimidazol Türevi Bileşikler.....	82
3.1.1.1.2. 2-Fenil-1 <i>H</i> -benzimidazol Türevi Bileşikler.....	83
3.1.1.1.3. 2-(<i>p</i> -Nitrofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol Türevi Bileşikler	85
3.1.1.1.4. 3-Sübstitüebenzimidazol-Pirimidintiyöre Türevi Bileşik	86
3.1.1.1.5. <i>N,N</i> -bis(1 <i>H</i> -benzimidazol-2-il) Türevi Bileşikler.....	86
3.1.1.2. Benzoksazol Halkası Taşıyan Bileşikler.....	87
3.1.1.2.1. 2,5-Disübstitüebenzoksazol Türevi Bileşikler	87
3.1.1.3. Benzotiyazol Halkası Taşıyan Bileşikler	87
3.1.1.3.1. Benzotiyazol ve <i>N</i> -Benzilpiperazin Hibrit Bileşikleri	87
3.1.1.3.2. İmidazolidin-2,4,5-trion ve Benzotiyazol Türevi Bileşikler	88
3.1.1.3.3. Takrin, <i>S</i> -Allilsistein (SAC)/ <i>S</i> -Propargilsistein (SPRC) Yapıları ve Benzotiyazol Halkası İçeren Üçlü Hibrit Sistemi	89
3.1.1.3.4. Takrin ve Benzotiyazol Türevi Bileşikler	90

3.1.1.3.5. 3-Hidroksi-4-piridinonbenzotiyazol Türevi Bileşikler.....	91
3.1.1.4. Benzoksazol/Benzotiyazol Halkası Taşıyan Bileşikler.....	93
3.1.1.4.1. 2-Süstitübenzoksazol ve Benzotiyazol Türevi Bileşikler.....	93
3.1.2. Hidrazit/Hidrazon Yapısı Taşıyan Bileşikler.....	93
3.1.2.1. Piridinyum Türevi Bileşikler	93
3.1.2.2. 6-Süstitü-3(2H)-piridazinon-2-asetil-2-(süstitü/nonsüstitübenzal) hidrazon Türevi Bileşikler	96
3.1.2.3. Benzoil Hidrazon Türevi Bileşikler	97
3.2. Tez Kapsamında Planlanan Çalışma.....	98
4. DENEYSEL BÖLÜM	102
4.1. Sentezler ve Spektral Bulgular.....	102
4.1.1. Materyal	102
4.1.2. Yöntemler	102
4.1.2.1. Kromatografik Analizler	102
4.1.2.1.1. İnce Tabaka Kromatografisi.....	102
4.1.2.2. Spektral Analizler	102
4.1.2.3. Erime Noktası Tayinleri.....	103
4.1.2.4. Elementel Analiz.....	103
4.1.3. Bileşiklerin Sentezi ve Spektral Bulguları	103
4.1.3.1. Benzimidazol, Benzoksazol ve Benzotiyazol Halkalarının Sentezi.....	103
4.1.3.1.1. Metil 4-(1H-benz[d]imidazol-2-il) benzoat (A) Sentezi:	103
4.1.3.1.2. Metil 4-(benz[d]oksazol-2-il) benzoat (B) Sentezi:	104
4.1.3.1.3. Metil 4-(benzo[d]tiyazol-2-il) benzoat (C) Sentezi:	104
4.1.3.2. Hidrazit türevi Ara Ürünlerin Sentezi:	106
4.1.3.2.1. Hidrazit türevi Ara Ürünlerin Spektral Verileri	107
(1). AH Bileşiğinin Spektral Bulguları	107
(2). BH Bileşiğinin Spektral Bulguları	108
(3). CH Bileşiğinin Spektral Bulguları	109

4.1.3.3. Hidrazit-Hidrazon Türevi Final Bileşiklerin Sentezi	110
4.1.3.3.1. Hidrazit-Hidrazon Türevi Final Bileşiklerin Spektral Bulguları.....	113
(1). AH-1 Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	113
(2). AH-2 Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	114
(3). AH-3 Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	115
(4). AH-4 Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	116
(5). AH-5 Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	117
(6). AH-6 Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	118
(7). AH-7 Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	119
(8). AH-8 Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	120
(9). AH-9 Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	121
(10). AH-10 Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	122
(11). AH-11 Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	123
(12). AH-12 Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	124
(13). AH-13 Bileşiğinin Spektral Bulguları.....	125
(14). BH-1 Bileşiğinin Spektral Bulguları	126
(15). BH-2 Bileşiğinin Spektral Bulguları	127
(16). BH-3 Bileşiğinin Spektral Bulguları	128
(17). BH-4 Bileşiğinin Spektral Bulguları	129
(18). BH-5 Bileşiğinin Spektral Bulguları	130
(19). BH-6 Bileşiğinin Spektral Bulguları	131
(20). BH-7 Bileşiğinin Spektral Bulguları	132
(21). BH-8 Bileşiğinin Spektral Bulguları	133
(22). BH-9 Bileşiğinin Spektral Bulguları	134
(23). BH-10 Bileşiğinin Spektral Bulguları	135
(24). BH-11 Bileşiğinin Spektral Bulguları	136
(25). BH-12 Bileşiğinin Spektral Bulguları	137
(26). BH-13 Bileşiğinin Spektral Bulguları	138

(27). CH-1 Bileşiğinin Spektral Bulguları	139
(28). CH-2 Bileşiğinin Spektral Bulguları	140
(29). CH-3 Bileşiğinin Spektral Bulguları	141
(30). CH-4 Bileşiğinin Spektral Bulguları	142
(31). CH-5 Bileşiğinin Spektral Bulguları	143
(32). CH-6 Bileşiğinin Spektral Bulguları	144
(33). CH-7 Bileşiğinin Spektral Bulguları	145
(34). CH-8 Bileşiğinin Spektral Bulguları	146
(35). CH-9 Bileşiğinin Spektral Bulguları	147
(36). CH-10 Bileşiğinin Spektral Bulguları	148
(37). CH-11 Bileşiğinin Spektral Bulguları	149
(38). CH-12 Bileşiğinin Spektral Bulguları	150
(39). CH-13 Bileşiğinin Spektral Bulguları	151
4.2. Final Bileşiklerin Biyolojik Aktivite Bulguları	152
4.2.1. AChE/BuChE İnhibitör Aktivite Tayini (Ellman Testi)	152
4.2.1.1. Materyal	152
4.2.1.2. AChE/BuChE İnhibisyon Çalışması	152
4.2.1.3. AChE/BuChE İnhibisyonunda Kullanılan Çözeltiler	153
4.2.1.3.1. Fosfat Tamponu pH 8.0	153
4.2.1.3.2. 5-5-ditiyobis(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) Çözeltisi (0.01 M)	153
4.2.1.3.3. ATC Çözeltisi (0.075 M)	153
4.2.1.3.4. BTC Çözeltisi (0.075 M)	153
4.2.1.3.5. AChE/BuChE Çözeltisi.....	153
4.2.2. Zn^{+2} Cu^{+2} ve Fe^{+2} Metalleriyle Kompleks Oluşturma Üzerine Spektrofotometrik Çalışmalar	155
4.2.3. Final Bileşiklerin Dağılım Katsayıları (Log P).....	157
5. TARTIŞMA	158
5.1. Spektral Bulguların Değerlendirilmesi	160

5.1.1. IR Bulgularının Değerlendirilmesi.....	160
5.1.2. ¹ H NMR Bulgularının Değerlendirilmesi	160
5.1.2.1. (AH, BH, CH) Kod'lu Ara Ürünlerin ¹ H NMR Bulguları	160
5.1.2.2. Final Ürünlerin ¹ H NMR Bulguları.....	163
5.1.3. Kütle (ESI-MS) Bulgularının Değerlendirilmesi	172
5.1.4. Elementel Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	172
5.2. Final Bileşiklerin Biyolojik Aktivite Sonuçlarının Değerlendirilmesi	173
5.3. Final Bileşiklerin Dağılım Katsayılarının (Log P) Değerlendirilmesi	176
5.4. Bazı Bileşiklerin Metalle Kompleks Oluşturma Aktivitesinin Değerlendirilmesi.....	176
6. SONUÇ	177
7. KAYNAKLAR	179
ÖZGEÇMİŞ	228

ŞEKİLLER VE TABLOLAR DİZİNİ

ŞEKİLLER

Şekil 1. Alzheimer hastalığının gelişimini etkileyen faktörler	7
Şekil 2. Kolinerjik sinaps	8
Şekil 3. APP ve sekretazların hücre membranında yerleşimi.....	10
Şekil 4. Non-amiloidojenik yolak.....	11
Şekil 5. Amiloidojenik yolak.....	12
Şekil 6. Non-amiloidojenik ve amiloidojenik yolaklar (149)	13
Şekil 7. Amiloid fibrillerin oluşumu	14
Şekil 8. A β -heksapeptit KLVFFA dizisi	14
Şekil 9. A: En uzun tau izoformunun şematik gösterimi, B: Konformasyon değişikliklerinin ve PHF oluşumuna yol açan hiperfosforilasyonun şematik gösterimi ¹	17
Şekil 10. Alzheimer hastalığı nedenleri arasında bağlantılar	19
Şekil 11. Alzheimer hastalığında mitokondriyal fonksiyon bozuklukları ve tedavide farmakolojik hedefler.....	21
Şekil 12. Glutamaterjik sinapsda çinko, bakır ve A β (236).....	23
Şekil 13. AChE enzim çukuru	24
Şekil 14. AChE enzim çukuru (üstten görünüş)	25
Şekil 15. hAChE (A) ve hBuChE (B) kristal yapılarının ve açıl bağlama ceplerinin farklılıkları	27
Şekil 16. FDA tarafından onaylanmış Anti-alzheimer bileşiklerin kimyasal yapısı ...	29
Şekil 17. Asetilkolinesteraz ve donepezil kompleksi ¹	31
Şekil 18. Huperzin A ve B bileşikleri.....	33
Şekil 19. Donepezil+memantin kombine tedavi yaklaşımı (310)	35
Şekil 20. Takrin bileşiğinin A, B, C bölümleri.....	35
Şekil 21. 3-Sübstitüe pirazol türevi bileşik.....	36
Şekil 22. Furan türevi bileşikler	36
Şekil 23. Sübstitüe piridin türevi bileşik	37

Şekil 24. Moleküler dinamik simülasyonlarından elde edilen bileşik 4'e ait AChE enzimi ile etkileşim modeli.....	38
Şekil 25. Sübstitüe piran türevi bileşik.....	38
Şekil 26. Moleküler dinamik simülasyonlarından elde edilen 5 nolu bileşiğe ait AChE enzimi ile etkileşim modeli.....	39
Şekil 27. Pirazolo[3,4- <i>b</i>]piridin türevi 6 nolu bileşik.....	39
Şekil 28. Takrin, 7-MEOTA ve türevleri	40
Şekil 29. 7 nolu bileşiğin <i>m</i> AChE enzimi ile yapılan moleküler modelleme çalışması	41
Şekil 30. Benzilpiperidinon sübstitüe türevi bileşik.....	41
Şekil 31. TAK-127 ve TAK-802 kodlu donepezil türevi bileşikler	42
Şekil 32. Benzofenon türevi bileşikler	43
Şekil 33. (A) <i>h</i> AChE enzimi ile 12 nolu bileşiğin (yeşil) modellemesi, (B) <i>Tc</i> AChE ve donepezil (mor) arasındaki X-ray kompleksi.....	44
Şekil 34. Rivastigmin bileşiğinin 5-tiya-1-azasiklopenta[<i>a</i>]naftalen türevi bileşik	45
Şekil 35. Fenilkarbamat türevi bileşik.....	46
Şekil 36. Sübstitüefenil- <i>N</i> -butil karbamat türevi bileşiklerin genel yapısı	46
Şekil 37. Fizostigmin bileşiği	46
Şekil 38. <i>h</i> AChE-fenserin bileşiği kompleksi	47
Şekil 39. Fenserin ve tolserin bileşikleri	48
Şekil 40. Genserin ve türevi ganstigmin bileşiği	48
Şekil 41. (3a <i>S</i>)-Tetrahidrofurobenzofuran türevi (22) ve (5 <i>S</i>)-metanodioksepin türevi (23) bileşikler.....	49
Şekil 42. 22 nolu bileşik- <i>Tc</i> AChE kompleksi	50
Şekil 43. Açık D-halkalı galantamin türevi bileşik	50
Şekil 44. Yeni ilaçların keşfedilmesine giden yollar: a) Hedefe dayalı ilaç keşfi yaklaşımı, yani bir molekül-bir hedef yaklaşımı ve b) İlaç keşfinde MTDL yaklaşımları	51
Şekil 45. Hibrit moleküllerin üç olası etki mekanizmasının şematik gösterimi	52
Şekil 46. AChE-SERT dual inhibitörü (Kategori B).....	53

Şekil 47. Takrinin homodimer hibrit bileşikler	55
Şekil 48. Takrin-kromen hibrit bileşiği tasarımı	56
Şekil 49. Takrin-melatonin hibrit bileşiği	56
Şekil 50. Takrin-karbazol hibriti karbakrin bileşiği	57
Şekil 51. Takrin-karbazol hibrit bileşiği	58
Şekil 52. Takrin-imidazol hibrit bileşiği	58
Şekil 53. Takrin-ksanomelin hibrit bileşiği	59
Şekil 54. Donepezil-6-klorotakrin hibrit bileşiği	60
Şekil 55. Takrin-N-benzilpiperidin hibrit bileşiği	61
Şekil 56. Takrin-oksoizoaporfirin hibrit bileşiği	61
Şekil 57. Takrin-huperzin A hibrit bileşik tasarımı	62
Şekil 58. (-)-Huprin X ve Y bileşikler	63
Şekil 59. Huperzin A ve 5-amino-5,6,7,8-tetrahidro-2(1H)-kinolinon türevi bileşik	63
Şekil 60. Takrin-ebşelen hibrit bileşiği	64
Şekil 61. Takrin-lipoik asit hibrit bileşiği lipokrin	64
Şekil 62. Takrin-ferulik asit hibrit bileşiği	65
Şekil 63. Takrin-troloks hibrit bileşiği	65
Şekil 64. Takrin-trifluoroasetofenon hibrit bileşikler	66
Şekil 65. Donepezil-minaprin hibrit bileşikler	67
Şekil 66. Donepezil-AP2238 hibrit bileşikler	67
Şekil 67. Donepezil-indolil hibrit bileşiği	68
Şekil 68. DPH hibrit bileşiği	69
Şekil 69. Donepezil-ebşelen hibrit bileşiği	69
Şekil 70. Donepezil-N-süstitüegalantamin hibrit bileşiği	70
Şekil 71. Donepezil-rivastigmin hibrit bileşiği	70
Şekil 72. Benzizoksazol-N-benzilpiperidin hibrit bileşiği	71
Şekil 73. İkopezil bileşiği	72
Şekil 74. 1,2,4-tiyadiazolidinon-N-benzilpiperidin hibrit bileşiği	72

Şekil 75. İndol- <i>N</i> -benzilpiperidin hibrit bileşiği.....	73
Şekil 76. <i>N</i> -benzilpiperidin bazlı hibrit bileşik tasarımı	73
Şekil 77. Rivastigmin-rasagilin hibrit bileşiği ladostigil	74
Şekil 78. Rivastigmin-fluoksetin hibrit bileşiği.....	75
Şekil 79. Rivastigmin–skutellarin hibrit bileşiği	76
Şekil 80. Fizostigmin heterodimer hibrit bileşikleri	77
Şekil 81. Galantamin homodimer hibrit bileşikleri	78
Şekil 82. Galantamin ve heterodimer hibrit bileşikleri.....	79
Şekil 83. Bis-piridinyum türevi bileşikler	80
Şekil 84. Rein–huprin hibrit bileşiği.....	81
Şekil 85. Kaproktamin bileşiği	81
Şekil 86. 2-[4-(4-sübstitüepiperazin-1-il)fenil]benzimidazol türevi bileşikler.....	83
Şekil 87. 74 nolu bileşiğin BuChE enzimindeki (A) ve AChE enzimindeki (B) yönelimi	83
Şekil 88. 2-fenil-1 <i>H</i> -benzimidazol türevi bileşikler	84
Şekil 89. 76 ve 77 kodlu bileşiklerin <i>TcAChE</i> ve <i>hAChE</i> arasındaki etkileşim şekli karşılaştırması: 76 nolu bileşik mor renk ile, 77 nolu bileşik turuncu renk ile; <i>TcAChE</i> 'deki amino asit artıkları yeşil renk ve <i>hAChE</i> 'deki amino asit artıkları sarı renk ile temsil edilmiştir. Su molekülleri kırmızı küre ile, hidrojen bağı etkileşimleri siyah kesikli çizgilerle temsil edilmiştir.	85
Şekil 90. 2-(<i>p</i> -nitrofenil)-1 <i>H</i> -benzimidazol türevi bileşik.....	85
Şekil 91. 3-sübstitüebenzimidazol türevi bileşik.....	86
Şekil 92. <i>N,N</i> -bis(1 <i>H</i> -benzimidazol-2-il) türevi bileşik	86
Şekil 93. 2,5-disübstitüebenzoksazol türevi bileşik.....	87
Şekil 94. Benzotiyazol ve <i>N</i> -benzilpiperazin hibrit bileşikleri	88
Şekil 95. İmidazolidin-2,4,5-trion ve benzotiyazol türevi bileşik	89
Şekil 96. Takrin, <i>S</i> -allilsistein (SAC)/ <i>S</i> -propargilsistein (SPRC) yapıları ve benzotiyazol halkası içeren üçlü hibrit sistemine örnek bileşik.....	90
Şekil 97. Takrin ve benzotiyazol türevi bileşik	90

Şekil 98. Takrin-benzotiyazol hibrit bileşiklerinin AChE enzimi ile modelleme sonuçları: Üst üste karşılaştırılmış 87 (açık yeşil) ve 87a (pembe) (a), 87b (turuncu) ve 87c (turkuaz) (b), H-bağları siyah çizgilerle gösterilmiştir.	91
Şekil 99. 3-Hidroksi-4-piridinonbenzotiyazol türevi bileşikler.....	92
Şekil 100. AChE ile bazı türevler için yapılan doking sonuçları: (a) 88a (pembe) ile Donepezil (mavi) süperimpozisyonu; (b) 89a (yeşil) ve 89b (sarı); (c) 89a (yeşil) ve 89d (kırmızı). H-bağları siyah çizgiler ile temsil edilmektedir.....	92
Şekil 101. 2-Süstitübenzoksazol ve benzotiyazol türevi bileşikler.....	93
Şekil 102. Bis-piridinyum türevi bileşikler	94
Şekil 103. Piridinyum türevi bileşik.....	94
Şekil 104. 1,4-dihidropiridin türevi bileşik	95
Şekil 105. Benzofuran-piridinyum türevi bileşik	95
Şekil 106. TcAChE (A) ve hAChE (B) ile bileşik 99'un etkileşim modları	96
Şekil 107. 6-Süstitü-3(2H)-piridazinon-2-asetil-2-(süstitü/nonsüstitübenzal) hidrazon türevi bileşik.....	96
Şekil 108. Benzoil hidrazon türevi bileşik.....	97
Şekil 109. AChE'nin aktif yoresindeki 101 nolu bileşiğin TcAChE (üstte) ve hAChE (altta) ile bağlanma modları	98
Şekil 110. 76 ile 77 nolu bileşikler ile TcAChE ve hAChE arasındaki etkileşim şekli karşılaştırması: 76 bileşiği mor renk ile, bileşik 77 turuncu renk ile; TcAChE'deki amino asit artıkları yeşil renk ve hAChE'deki amino asit artıkları sarı renk ile temsil edilmiştir. Su molekülleri kırmızı küre ile, hidrojen bağ etkileşimleri siyah kesikli çizgilerle temsil edilmiştir.	99
Şekil 111. Planlanan molekül tasarımı	100
Şekil 112. AH-9 bileşiğinin (100 µM) ve 100 µM Zn ⁺² , Cu ⁺² ve Fe ⁺² ile oluşturduğu komplekslerin UV spektrumu	156
Şekil 113. AH-5 bileşiğinin (100 µM) ve 100 µM Zn ⁺² , Cu ⁺² ve Fe ⁺² ile oluşturduğu komplekslerin UV spektrumu	156
Şekil 114. 2- (2-hidroksi-5-süstitü-aril)benzimidazollerde hidrojen bağının ve 1,3-tautomerizmin ¹ H NMR incelemesi (405)	162
Şekil 115. 30 °C'de alınan ¹ H NMR spektrumu aromatik saha	171

Şekil 116. 50 °C’de alınan ^1H NMR spektrumu aromatik saha	171
Şekil 117. 80 °C’de alınan ^1H NMR spektrumu aromatik saha	171



ŞEMALAR

Şema 1. Sentezi Planlanan Bileşik Grubu	100
Şema 2. Tepkime denklemi	104
Şema 3. Tepkime denklemi	104
Şema 4. Tepkime denklemi	105
Şema 5. Tepkime denklemi	106
Şema 6. Tepkime denklemi	110
Şema 7. Final bileşikleri ve sentez tepkimeleri	159



TABLÖLAR

Tablo 1. FDA tarafından onaylanmış piyasaya sürülen anti-alzheimer bileşikler	28
Tablo 2. Birinci basamakta elde edilen ara ürünlerin erime dereceleri, % verimleri ve reaksiyon süreleri	105
Tablo 3. İkinci basamakta elde edilen ara ürünlerin erime dereceleri, % verimleri ve reaksiyon süreleri	106
Tablo 4. Final bileşiklerin erime dereceleri, % verimleri ve reaksiyon süreleri	111
Tablo 5. Final bileşiklerin AChE inhibisyon aktivite sonuçları	154
Tablo 6. Final bileşiklerin BuChE inhibisyon aktivite sonuçları	155
Tablo 7. Final bileşiklerin Log P sonuçları	157

KISALTMALAR

A β : Beta-amiloid

ABAD: A β bağlama dehidrojenazı

ABTS^{•+}: 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) radikal katyonu

ACh: Asetilkolin

AChE: Asetilkolinesteraz

AChEI: Asetilkolinesteraz inhibitörü

AD: Alzheimer's disease

AH: Alzheimer hastalığı

ApoE4: Apolipoprotein E4

APP: Amiloid prekürsör protein

Arg: Arjinin (Amino asit)

Asp: Aspartat (Amino asit)

ATC: Asetiltiyokolin iyodür

BACE-1: Beta-yöre APP kesme enzimi (β -sekretaz)

boAChE: *bovine* AChE

BOS: Beyin omurilik sıvısı

BTC: S-butiriltiyokolin klorür

BuChE: Butirilkolinesteraz

CAS: Katalitik aktif yöre

ChAT: Kolinasetiltransferaz

CYP: Sitokrom C 450

DMSO: Dimetil sülfoksit

DTNB: 5,5'-ditiyobis(2-nitrobenzoik asit)

*eel*AChE: *Electrophorus electricus* (electric eel) AChE

*eq*BuChE: *equine* BuChE

FDA: Food and Drug Administration

Glu: Glutamat (Amino asit)
Gly: Glisin (Amino asit)
hAChE: Human AChE
hBuChE: Human BuChE
His: Histidin (Amino asit)
hsBuChE: human serum BuChE
İ.T.K.: İnce tabaka kromatografisi
KBB: Kan-beyin bariyeri
Kbp: Kilobaz çifti
kDa: KiloDalton
Leu: Lösin (Amino asit)
Lys: Lizin (Amino asit)
M₁: Muskarinik
mAChE: mouse AChE
MAO: Monoaminoksidaz
Met: Metiyonin (Amino asit)
MTDL: Çok-hedefli yönlendirilmiş ligand
NMDA: *N*-Metil-D-Aspartat
NFT: Nörofibriler yumaklar
PAS: Periferik anyonik yöre
PDB: Protein Data Bank
Phe: Fenilalanin (Amino asit)
PHF: Çifte sarmal filamentler
PS1: Presenilin 1
PS2: Presenilin 2
rAChE: rat AChE
rBuChE: rat BuChE
rChE: rat kolinesteraz

RNS: Reaktif azot türleri
ROS: Reaktif oksijen türleri
rsBuChE: *rat serum* BuChE
SAR: Yapı etki ilişkisi
Ser: Serin (Amino asit)
SERT: Serotonin taşıyıcı protein
SORL1: Sortilin-aracılı reseptör 1
Tc: Torpedo californica
TLC: Thin layer chromatography
Trp: Triptofan (Amino asit)
Tyr: Tirozin (Amino asit)
Val: Valin (Amino asit)
7-MEOTA: 7-metoksitakrin

1. GİRİŞ

Alzheimer hastalığı (AH) klinik olarak bellek ve bilişsel bozukluklar ile karakterize, ilerleyici ve ölümcül nörodejeneratif bir hastalıktır. Öncelikli olarak yaşlı popülasyonda görülür (1) ve demansın en yaygın nedenidir (2). AH, bugün dünya çapında yaklaşık 35 milyon kişiyi etkilemektedir ve 2030'da 66 milyona, 2050'de 115 milyona erişmek üzere her 20 yılda neredeyse iki katına çıkacağı tahmin edilmektedir (3). Bu rakamlar etkili bir tedavi geliştirmenin aciliyetini gözler önüne sermektedir. AH halen kesin tedavisi olmayan hastalıklar arasında yer almaktadır. AH'de ortaya çıkan nöropatolojik ve nörokimyasal olayların anlaşılmasında kaydedilen ilerlemelere rağmen, yaşlanmayla ilişkili ilerleyici ve zihinsel bilişsel işlev bozukluğunun patolojisi belirsizliğini korumaktadır (4).

Alzheimer hastalığının en önemli patolojik özellikleri β -amiloid ($A\beta$) ekstraselüler plaklar, tau proteininin aşırı fosforillenmesiyle meydana gelen hücre içi nörofibriller yumaklar ve bazal önbeyinde kolinerjik nöronların kaybıdır. Yetersiz kolinerjik transmisyon, Alzheimer hastalığında bilişsel, işlevsel ve davranışsal belirtilerin ortaya çıkmasında önemli bir rol oynamaktadır. Dolayısıyla, tedaviler genellikle ya reseptör agonisti ya da asetilkolinesteraz inhibitörleri (AChE) ile kolinerjik sistemin işlevini arttırmaya yönelik planlanmaktadır (5). Kolinerjik hipoteze dayanarak, Alzheimer hastalığını tedavi etmek için en başarılı yaklaşım, asetilkolin (ACh) seviyesini eski haline getirmektir. Asetilkolin, asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BuChE) olmak üzere iki tip kolinesteraz (ChE) tarafından metabolize edilir. Ancak AH'nin tedavisi esas olarak kolinerjik sinapslarda ACh düzeylerini artırabilen AChE inhibitörleri (AChEI) üzerine kurulmuştur (6). Şu ana kadar, AChE inhibitörleri olarak kullanılmak üzere takrin (Cognex®), donepezil (Aricept®), rivastigmin (Exelon®) ve galantamin (Reminyl®) bileşikleri FDA tarafından onaylanmıştır (7, 8).

AChE'nin, inhibitörlerle etkileşmiş haldeki kristal yapılarının aydınlatılması, enzimde iki ayrı bağlanma yoresinin bulunduğunu ortaya koymuştur, bu bölgeler periferik anyonik bölge (PAS) ve katalitik aktif bölge (CAS) olarak adlandırılmaktadırlar (9–11). Çalışmalar, enzim çukurunun girişinde bulunan PAS bölgesinin $A\beta$ -peptid ile olan etkileşiminin nörotoksik $A\beta$ fibrillerinin agregasyonunu artırabileceğini göstermiştir (12, 13). Son yıllardaki araştırmalar, hem CAS hem de PAS bölgesini aynı anda bloke eden AChE inhibitörlerinin ACh düzeylerini yükselterek Alzheimer hastalarının bilişsel semptomlarını hafifletirken, aynı zamanda $A\beta$ plak oluşumunu geciktiren hastalık önleyici ajanlar olarak görev yapabileceğini göstermektedir (14, 15).

FDA tarafından onaylanan ilaçlardan en kuvvetli ve klinik olarak en etkili AChE inhibitörü olan takrin ilk olarak reversibl AChE ve BuChE inhibitörü olarak tanımlanmıştır.

Ancak, ciddi hepatotoksisite sergilediği için onaylanmasından kısa bir süre sonra piyasadan çekilmiştir (16). İlk çalışmalarda, takrindeki periferik yan etkilerin BuChE enzimini inhibe etmesinden kaynaklandığı düşünüldüğünden, pek çok araştırmacı selektif AChE inhibisyonu yapan bileşikler üzerine araştırmalarını sürdürmüştür. Ancak daha sonraki çalışmalarda, bu görüşün yanlış olduğu ve her ikisinin de AH gelişiminde ve ilerlemesinde rol oynadığı anlaşılmıştır (17). AH'de AChE aktivitesi azalırken, BuChE aktivitesi artmaktadır. Yükselen BuChE seviyesinin ACh hidrolizi için telafi edici bir mekanizma olarak işlev gördüğü ve AH ilerledikçe ACh düzenlemesinin giderek BuChE'ye bağımlı hale gelebileceği düşünülmektedir (19, 20). Bu bulgulara bağlı olarak, BuChE inhibisyonunun da Alzheimer tedavisi için önemli olduğu ileri sürülmüştür (20).

Günümüzde AChEI'leri, orta-şiddetli Alzheimer vakalarının semptomatik tedavide kullanılmakta ancak hastalığı tedavi etmemektedir. Hastalığın moleküler mekanizmalarının aydınlatılmasına bağlı olarak, başta amiloid ve tau hipotezleri olmak üzere mitokondrial kaskad, oksidatif stres, kolesterol, inflamasyon, metal hipotezi gibi çok çeşitli hipotezler üzerinde yeni çıkış yolları aranmaktadır (22, 23).

Yeni potent AChE inhibitörlerinin araştırılmasında, çok sayıda heterosiklik halkanın, takrin, donepezil ve galantamin gibi Alzheimer tedavisi ilaçları da dahil olmak üzere önemli inhibitör etkinlik gösteren bileşiklerde bulunuyor olması dikkate değerdir. Bu yüzden çoğu heterosiklik sistem, AChE inhibitör etkinliğine sahip yeni bileşikler keşfetmek için iskelet olarak kullanılmışlardır (23–35). Bunlar arasında benzimidazol, benzoksazol ve benzotiyazol halkalarının AChE inhibitörü moleküllerin tasarımında çekirdek yapı olarak yer aldığı görülmektedir (24–28, 30–34, 36–45).

Öte yandan, hidrazon fonksiyonel grubu taşıyan bileşiklerin pek çoğunun ChE inhibitörü aktivitesi sergilediği yapılan çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (37, 38). Hidrojen verici ve alıcı azot atomlarına sahip hidrazonlar enzim çukurundaki amino asitlerle hidrojen bağı oluşturma kabiliyetine sahiptir (45).

Çalışmamızda, hem benzimidazol, benzoksazol veya benzotiyazol halkası, hem de hidrazon fonksiyonel grubu taşıyan 4-(1*H*-benzimidazol/benzoksazol/benzotiyazol-2-il)benzohidrazit-hidrazon türevi bir seri anti-Alzheimer bileşik sentezlenmesi amaçlanmıştır.

Tez çalışması kapsamında tasarlanan 39 adet final bileşiğin sentez yöntemleri, yapı aydınlatmaları (IR, ¹H NMR, kütle spektroskopisi, elementel analiz) ve biyolojik aktivite sonuçları rapor edilmektedir. Sentezleri gerçekleştirilen hedef bileşiklerin AChE/BuChE üzerindeki inhibitör etkinlikleri Ellman metodu (47) ile ve seçilen bileşikler üzerinde metallerle kompleks oluşturma yeteneği spektrofotometrik olarak tayin edilerek değerlendirilmiştir. Biyolojik açıdan aktif birçok bileşiğin biyoaktivitelerini yönlendiren

fizikokimyasal parametrelerden biri olan Log P değeri kan-beyin engelini geçmesi beklenen bileşiklerimiz için MOE 2011.10 (Molecular Operating Environment) programında hesaplanmıştır.

Çalışmamızda sentezlenen 39 hedef bileşikten 30 adedi ilk kez tarafımızca rapor edilmektedir.



2. TEORİK BÖLÜM

2.1. Alzheimer Hastalığı

Alzheimer hastalığı demansın en yaygın formlarından biridir. Tahmin edilemeyen ve henüz bilinmeyen etiyojisi, sadece sağlık açısından değil, aynı zamanda toplumsal ve ekonomik parametreler açısından insanlık için giderek rahatsız edici sorunlar ortaya çıkarmaktadır (49, 50).

Demans bazı hastalıklar sonucu oluşan beyin fonksiyonları kaybıdır. Kendini ilk olarak unutkanlıkla gösterir. Demans semptomları konuşma, hafıza bozuklukları, algılama, duygusal durum veya kişilik değişiklikleri ve kognitif yetiler (hesaplama, soyut düşünme veya karar verme gibi) gibi mental fonksiyon alanlarında yaşanan güçlüklerdir. Pek çok tipi irreversibldir (dejeneratif). İrreversibl olmasının sebebi, beyinde demansa sebep olan değişikliklerin durdurulamaz veya geri döndürülemez olmasındandır (41, 42).

Alzheimer hastalığı demansın en önemli sebebidir ve moleküler düzeyde yanlış protein katlanması ve agregasyonu, oksidatif stres, mitokondriyal anormallikler ve nöroinflamatuvar prosesler ile karakterize olan komplike bir nörodejeneratif bozukluktur (43, 44). Kademeli olarak ilerleyen ve eylemsel bellek de dahil bilişsel özelliklerde eksiklikler, ruh hali ve davranış değişiklikleri, konuşma, uygulama, dikkat eksiklikleri ve en yaygın erken semptom olan yeni öğrenilen bilgileri hatırlamada yaşanan zorluklar şeklinde kendini gösteren bir hastalıktır (45, 46). Bazal ön beyin, korteks ve amigdala bölgeleri beyinin en etkilenen bölgeleridir. Bu bölgeler öğrenmenin, hafızanın, dikkat ve duyguların düzenlenmesiyle ilgilidir. Alzheimer hastalığı'nın "Sporadik AH" ve "Ailesel AH" olarak iki tipi tanımlanmıştır. Sporadik AH'de bilişsel fonksiyonlarda hızla ilerleyen bir gerileme ve daha sonra nöronal hücre ölümü görülür. Ailesel AH ise daha hızlı gelişir ve Amiloid Prekürsör Protein (APP), apolipoprotein E4 (ApoE4), presenilin-1 ve presenilin-2 (PS1 ve PS2) ve sortilin-aracılı reseptör-1 (SORL1) gibi amiloid yolak komponentlerinde mutasyonlar görülür (47, 48).

Alzheimer hastalarının % 50'sinden fazlasını 85 yaşın üzerindeki kişiler oluşturmaktadır. Alzheimer hastalığı 65 yaşın üzerindeki insanlarda beşinci sıradaki ölüm nedenidir. Alzheimer hastalığının neden olduğu ölüm vakaları dramatik bir biçimde artmaktadır. 2000 ve 2008 yılları arasında sadece Alzheimer hastalığının neden olduğu ölümlerin oranı % 66 iken, kalp yetmezliği, inme ve prostat kanseri nedeniyle ölüm vakaları yalnızca sırasıyla % 13, 20 ve 8 olarak tespit edilmiştir (51, 52).

Amerika Birleşik Devletleri'nde, 5.4 milyon kişiye Alzheimer hastalığı tanısı konulduğu ve bunların 200.000 'inin 65 yaşın altında olduğu (erken başlangıçlı AH) tahmin edilmektedir. Dünyada demans hastalarının toplam sayısının ise şu anda 35.6 milyon civarında olduğu ve 2050 yılına kadar bu sayının 115.4 milyona kadar çıkması beklenmektedir (49). Avrupa Birliği'nde ise Alzheimer hastalığından yaklaşık 6 milyon kişinin muzdarip olduğu ve bu rakamın 2050 yılına kadar iki katına çıkacağı tahmin edilmektedir (60–62). AH'nin sayısındaki artışın temel nedeni esasen yaşlanan nüfusun artışına karşılık etkili bir tedavinin olmamasıdır. Alzheimer hastalığı patofizyolojisinin tam olarak anlaşılması potansiyel terapötiklerin araştırılmasında en büyük dezavantaj olmuştur (58).

2.2. Alzheimer Hastalığı Tarihine Genel Bakış

Alzheimer hastalığı adını 20. yüzyılın başlarında 4 Kasım 1906'da bu hastalığı ilk kez tanımlayan Alman hekim Alois Alzheimer'dan almıştır. 1901'de Frankfurt'ta bir barınakta doktorluk yapan Alois Alzheimer, Auguste D isimli 51 yaşında bir bayan hastada kavrama ve konuşmada bozukluk, işitsel halüsinasyonlar, sanrılar, paranoya ve agresif davranışlar gözlemlemiştir. Hastanın ölümünden sonra, beyinde yaptığı otopsi sonucu beyinde aterosklerotik değişiklikler, senil plaklar ve nörofibriler yumaklar bulunduğunu görmüş ve bu gözlemlerini 1907'de yayınlamıştır (63). Ancak Alois Alzheimer, hastalığı ilk teşhis ettiğinde belirtileri 65 yaşından önce ortaya çıkan, nadir görülen pre-senil bir bunama olarak tanımlamış ve ne kendisi ne de meslektaşları bu yeni hastalığı, iyi bilinen ve tanımlanan senil bunamadan ayırt edememişlerdir. Alzheimer hastalığının ilerleyici hafıza kaybı, bilişsel işlev bozukluğu, davranış değişiklikleri, bireysel bütünlüğün bozulması, halüsinasyonlar, kişisel kontrolün bozulması ve konuşma-yazma becerisinin azalması şeklinde tanımladığı semptomlar, teşhis konulmuş Alzheimer hastaların çoğunda görülmektedir (49, 50). 20. yüzyılda elektron mikroskopunun icadı, beyin karakteristiğindeki histolojik değişikliklerin, özellikle nöritik plaklar ve nörofibriler yumaklardaki değişikliklerin açıklığa kavuşmasını sağlamıştır (64). 1950'li yıllarda, moleküler biyolojinin gelişimi ile birlikte teorilere ve genel fikirlere artan ilgi genetik kod konseptinin biçimlendirilmesine neden olmuştur (65). 1959'da ise Alzheimer'ın özellikle yaşlılarda görülen bir hastalık olduğu kabul edilmiştir. 1963'te Terry, yumakların ve plakların histolojik yolağı üzerinde çalışmıştır (59, 60). Plakların, amiloid fibriler çekirdek, miyelinsiz distrofik akson ve dendritlerle sarılmış filamentler, yoğun kütleler ve çifte sarmal filamentler (PHF) olduğu tahmin edilmekteydi (68). 1976'da Peter Davies tarafından, hastalığın klinik semptomları (hafıza kaybı) ile Alzheimer hastalarının beyindeki spesifik kolinerjik eksikliklerin arasındaki ilişkinin keşfi, modern nörokimyanın kapılarını açan bir dönüm noktası olmuştur (69).

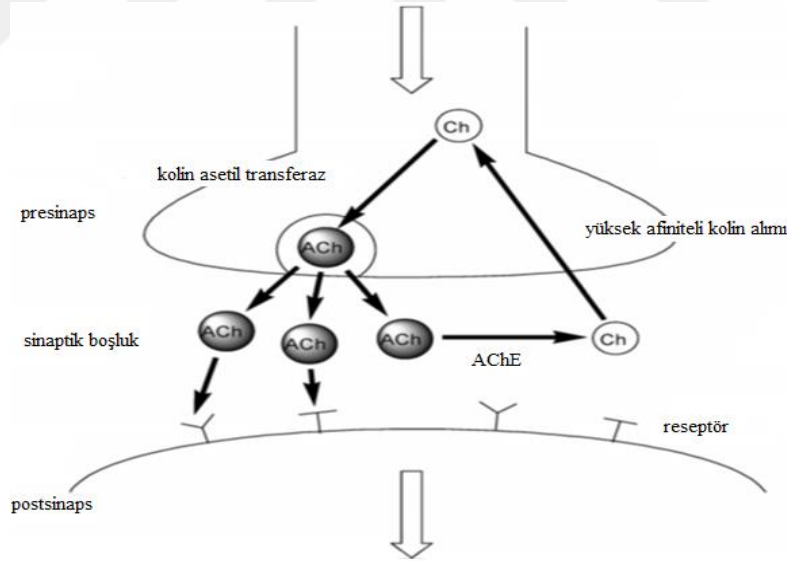
1976'da, Dr. Robert Katzman ise Alzheimer hastalığının görülme sıklığını ve ölüm oranlarını derlemiş ve bu alandaki araştırmalara yoğunlaşılması gerektiğini vurgulamıştır (70). Populasyon yaşının artmasıyla birlikte Alzheimer hastalığının görülme sıklığı da artmıştır ve yıllar içerisinde daha da artacağı öngörülmektedir. Günümüzde epidemiyoloji uzmanları, klinik nörologlar, radyologlar, psikiyatristler ve psikologlar tarafından Alzheimer hastalığının teşhis metotlarını geliştirmek için yoğun çalışmalar yapılmaktadır (71).

2.3. Alzheimer Hastalığı İçin Risk Faktörleri

Alzheimer hastalığının gelişmesine neden olan belirli risk faktörleri belirlenmiş olsa da, hastalığı tetikleyen mekanizma henüz tam olarak anlaşılamamıştır (72). Genetik faktörler ve kalıtım önemli bir rol oynamaktadır. Bilimsel olarak, yakınları (kardeşi, ebeveyni) Alzheimer hastası olan kişilerde, uzak akrabaları Alzheimer hastası olan kişilere göre hastalığın görülme olasılığının daha fazla olduğu kanıtlanmıştır (66, 67). Alzheimer hastalığı genetik olarak apolipoprotein E'nin e4 alelinin (ApoE e4) varlığına bağlıdır. ApoE, alel e2, e3 ve e4 olmak üzere üç izoformdan meydana gelebilir. İlerleyen zamanlarda sadece e4 alelin, Alzheimer riskini arttırdığı, e2 alelinin varlığının ise Alzheimer riskini azalttığı rapor edilmiştir (74–77).

Kardiyovasküler hastalık, beyin hasarı, travma, depresyon, düşük eğitim düzeyi, sigara kullanımı, düşük folat ve vitamin B12 düzeyleri, plazmada yüksek kolesterol, tip 2 diyabet, yüksek tansiyon, fiziksel aktivite eksikliği ve obezite Alzheimer'ın diğer risk faktörleri arasında yer alır. Bu faktörler sadece Alzheimer oluşumuna ve gelişimine sebep olmakla kalmaz aynı zamanda farklı demans alt tiplerinin etiyopatogenezinde ve diğer hastalıklarda da etkili olabilir (78–90). Hastalığın gelişimini etkileyen faktörler Şekil 1'de özetlenmiştir (91–93).

azalmıştır (100–102). Ayrıca beynin aynı kesimlerinde ACh'nin, depolarizasyonla ve presinaptik nöronlara kolin alımıyla indüklenen salımının önemli ölçüde azaldığı bulunmuştur (103). Bartus ve ark. tarafından tüm bu gözlemlerin ve bulguların yayınlanması kolinerjik teoriyi başlatmıştır (104). Bartus, kolinerjik hipotezinde, yaşa bağlı kolinerjik işlev bozukluğu ile Alzheimer tipi demans arasındaki ilişkiyi tam olarak açıklamaktadır. ACh miktarının azalmasının kolinerjik nörotransmisyonun bozulmasına ve bunun sonucunda da zihinsel yeteneklerin azalmasına neden olduğunu rapor etmiştir. Neticede bu hipotez, kolinerjik aktivitede artışın Alzheimer hastalarında bilişsel becerileri artıracakını öne sürmektedir (105). İlk denemeler ACh'nin yıkımından sorumlu AChE'nin inhibisyonu üzerine yoğunlaşmıştır (65, 99). Genç yetişkinlerde merkezi kolinerjik sistemin skopolamin ile bloke edilmesi Alzheimer hastalarında görülen benzer belirtileri meydana getirmiştir (107). Bu deneysel çalışmalara dayanarak, Alzheimer hastalarındaki hafıza kaybının tedavisinde en umut vaat eden bileşikler için (reversibl kolinesteraz inhibitörleri) klinik denemeler yapılmıştır. Araştırmalar başarıyla sonuçlanmış ve takrin (Cognex®), donepezil (Aricept®), rivastigmin (Exelon®) ve galantamin (Reminyl®) başta olmak üzere birçok yeni bileşiğin klinik uygulamaya sokulması sağlanmıştır (65, 99).



Şekil 2. Kolinerjik sinaps

2.4.2. Glutamaterjik Hipotez

Alzheimer hastalığının ilerlemesi, diğer nörotransmitter sistemlerinin bozulması ile de ilişkilidir. Özellikle, eksitotoksik (glutamata bağlı) nöronal hücre hasarı ve ölümünün hastalığın seyrine katkıda bulunduğu düşünülmektedir ve kısmen NMDA reseptörlerinin

aşırı aktivasyonu sonucunda aşırı miktarda Ca^{2+} 'un iyon kanalı vasıtasıyla hücre içine girişine neden olur. Bu durum, serbest radikallerin üretimine ve nöronal kaybı tetikleyen proteolitik süreçlerin aktivasyonuna yol açar. Eksitotoksik hasar ile Alzheimer'ın varsayılan primer özellikleri arasında birçok potansiyel bağlantı vardır **(108)**. Özellikle, $A\beta$ 'ye yanıt olarak üretilen oksidatif stres ve hücre içi Ca^{2+} seviyelerinin artışı ile glutamat aracılı nörotoksitenin arttığı *in vitro* ortamda gösterilmiş olup, ilave kanıtlarla $A\beta$ 'nin NMDA yanıtlarını ve dolayısıyla eksitotoksiteyi artırabileceği anlaşılmıştır **(109)**. Bazı deneysel çalışmalar memantin, $A\beta$ peptidlerin toksik etkilerinden bazal ön beyin kolinerjik nöronlarını koruduğunu ve $A\beta_{1-42}$ enjekte edilen sıçanlarda neokorteksin kolinerjik invazyon kaybını sınırladığını göstermektedir **(110)**. Bu sonuç ayrıca, kolinerjik ve glutamaterjik sistemler arasındaki mevcut etkileşimi ve AChE inhibisyonunu NMDA reseptör antagonizması ile birleştirmenin gerekliliğini ortaya koyar.

2.4.3. Amiloid Hipotez

Amiloid hipotez, hastalığın patogenezinde rol alan yanlış katlanan proteinlerin oluşumuna dayanmaktadır **(111–114)**. Hastalıkta klinik belirtiler bilişsel bozukluklarla tanımlanırken, bellek gerilemesinin nedeni yanlış katlanmış protein agregatlarının birikimine bağlanmaktadır **(115–118)**. Alzheimer'lı beyinlerde yanlış katlanmış protein agregatlarının birikimine bağlı olarak $A\beta$ plaklar ve nörofibriler yumaklar görülmektedir **(119)**. 1984'te, amiloidojenik peptid yapıtaşının, nöritik plaklardaki amiloid fibrilleri oluşturan $A\beta$ protein olduğu bulunmuştur. Amiloid kaskat hipotezi, Alzheimer hastalığının $A\beta$ 'nin aşırı üretimi nedeniyle meydana geldiğini ileri sürmektedir **(113, 114)**.

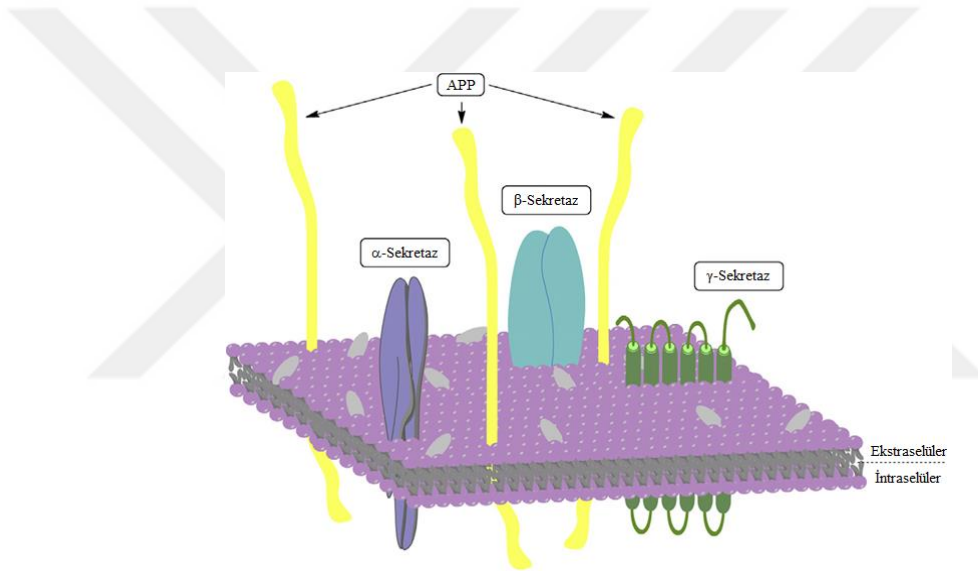
Amiloid hipotezinde, beyinde depolanan yanlış katlanmış $A\beta$ formunun fiziksel olarak hücre membranına bağlanarak hücre ölümüne sebep olduğu düşünülmektedir. Amiloid plak birikimleri ile veya çözünebilir $A\beta$ agregasyonu ile nörotoksik kaskad başlamakta ve Alzheimer hastalığına yol açan nörodejenerasyona sebep olmaktadır **(114, 115)**.

APP, ApoE4, PS1, PS2 ve SORL1 gibi bazı amiloid yolak bileşenlerindeki mutasyonlar sonucunda $A\beta$ metabolizasyonunda anormallikler oluşur. Bu anormallik nedeniyle oluşan nörotoksik yapılar otozomal-dominant erken başlangıçlı ailesel Alzheimer hastalığının oluşmasına neden olur **(116, 117)**. Bundan dolayı $A\beta$ agregasyon inhibitörleri erken safhalardaki Alzheimer hastalığının tedavisi için umut vaadeden adaylar olarak görülmüştür **(118, 119)**. 1990'lardan sonra, amiloid hipotez üzerine araştırmalar hız kazanmıştır **(105)**.

2.4.3.1. Amiloid Prekürsör Protein (APP)

APP, esas olarak nöronal dokunun sinaps çevresinde lokal ekspresyonu olan, oldukça korunmuş, tamamlayıcı bir membran proteinidir. Primer rolü tam olarak anlaşılamasa da, nöronal plastisite ve sinaps oluşumu için çok önemlidir (120, 121). 18 ekson içeren ve 170 kbp'yi aşan uzunluktaki APP geni 21. kromozom üzerinde bulunur. Alternatif bağlanma yollarıyla oluşan gen izoformları 365 ila 770 amino asit arasında değişen uzunluğa sahiptirler (122, 123).

APP hücre zarında hücre içi bölümüne kıyasla çok daha büyük bir kısmı hücre dışı alanda olacak şekilde konumlanmıştır (Şekil 3). APP üzerindeki primer proteolitik olaylar, bir grup sekretaz enzimi (α , β ve γ -sekretaz) tarafından meydana getirilir (120, 124). APP'nin metabolik yolları non-amiloidojenik ve amiloidojenik olarak ikiye ayrılır.



Şekil 3. APP ve sekretazların hücre membranında yerleşimi

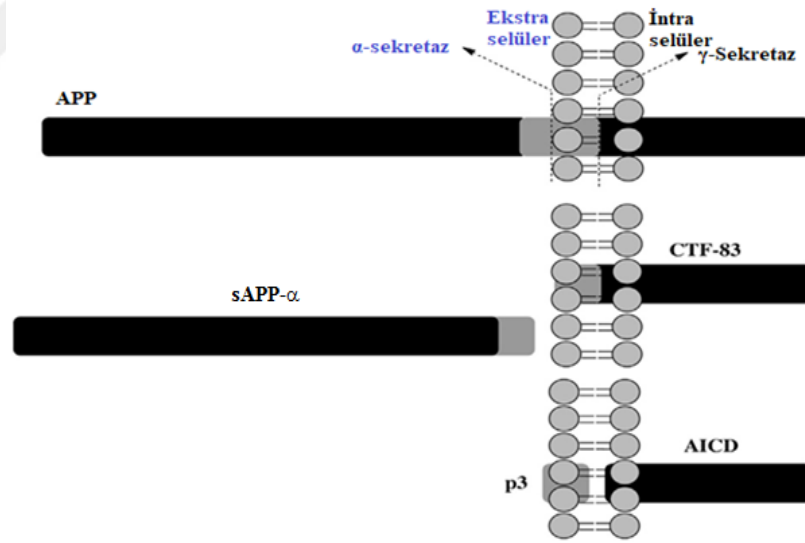
2.4.3.1.1. Non-Amiloidojenik Yolak

APP'nin metabolik yollarından, non-amiloidojenik yolak, Şekil 4'de gösterildiği gibi bir α -sekretaz tarafından başlatılır. Non-amiloidojenik terimi, agregasyon eğiliminde olan amiloidojenik proteinlerin aksine, agrega olmayan niteliklerini ifade eder (132).

α -sekretaz, ADAM (bir disintegrin ve metaloproteaz bölgesi) olarak bilinen geniş bir proteolitik protein grubunun bir parçasıdır. Bu enzimler, Alzheimer hastası olmayanlarda da önemli fizyolojik rollere sahip membrana bağlı çoklu-bölgeli metaloenzimlerdir. Çoklu alt türleri arasından ADAM10 (Protein 10 içeren bir disintegrin ve metaloproteaz proteini), Alzheimer hastalığı patolojisinde daha büyük bir öneme sahiptir (126, 127). α -sekretaz için

APP kesme alanı, hücre zarı yüzeyine çok yakın Lys16 ve Leu17 ($A\beta$ -peptid numaralandırmasına dayalı olarak) arasındadır ve böylelikle bütün haldeki $A\beta_{1-40/42}$ peptidinin salınımını engeller. α -Sekretaz proteolizinin sonucunda, büyük, çözünür bir APP-alfa fragmanı ($sAPP-\alpha$) ve membran tarafından tutulan C-terminal fragmanı (CTF-83) hücre dışına salınır. $sAPP-\alpha$ fragmanı daha ileri bir sekretaz metabolizmasına uğramaz. Bu fragmanın nörotrofik/nöroprotektif etkilere sahip olduğu rapor edilmiştir (128, 129). α -sekretazla ilk bölünmeyi takiben, CTF-83, bir amiloid intraselüler bölge (AICD) fragmanı ve 3 kDa'luk p3 fragmanı (ayrıca $A\beta_{17-40/42}$ olarak anılır) salmak üzere γ -sekretaz tarafından kesilir (121, 128, 130).

Diğer sekretazlar gibi γ -sekretaz da bir transmembran proteolitik enzimidir; Alzheimer hastalığı dışında da birtakım kritik biyolojik rollere sahiptir. γ -sekretaz, $A\beta_{1-40}$ ve $A\beta_{1-42}$ oluşumunda rol oynamaktadır. γ -sekretaz, hücre farklılaşmasında kritik bir rol oynayan diğer tek geçişli transmembran proteinlerini de parçalayabildiğinden, γ -sekretaz inhibitörlerinin ciddi yan etkilere neden olduğu gözlemlenmiştir. Dolayısıyla bu ciddi yan etkiler, γ -sekretaz inhibitörü ilaçların gelişimi için kısıtlayıcı unsur olarak ortaya çıkmaktadır (122, 131–133).



Şekil 4. Non-amiloidojenik yolak

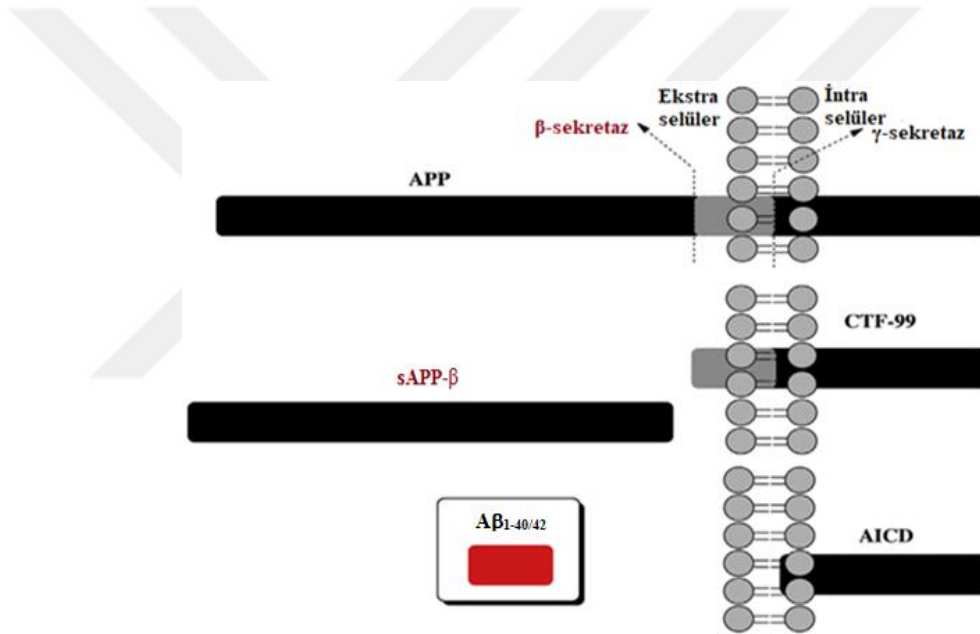
2.4.3.1.2. Amiloidojenik Yolak

Bir diğer APP metabolik yolağı, β -sekretaz ile başlatılır ancak yine Şekil 5'te gösterildiği gibi γ -sekretaz ile sonuçlanır. Bu β/γ -sekretaz yolağına APP'nin amiloidojenik metabolizması denir. $A\beta$ -peptidinin açığa çıkması, iki basamaklı proteolitik bir işlemin sonucudur (134, 135).

α -Sekretaza benzer şekilde, β -sekretaz, diğer adıyla BACE-1 (beta-yöre APP kesme enzimi) de bir transmembran proteindir. Kesme işlevinden sorumlu olan büyük bir *N*-terminal bölgeye sahip olup, bir aspartil proteaz olarak sınıflandırılır (136, 137).

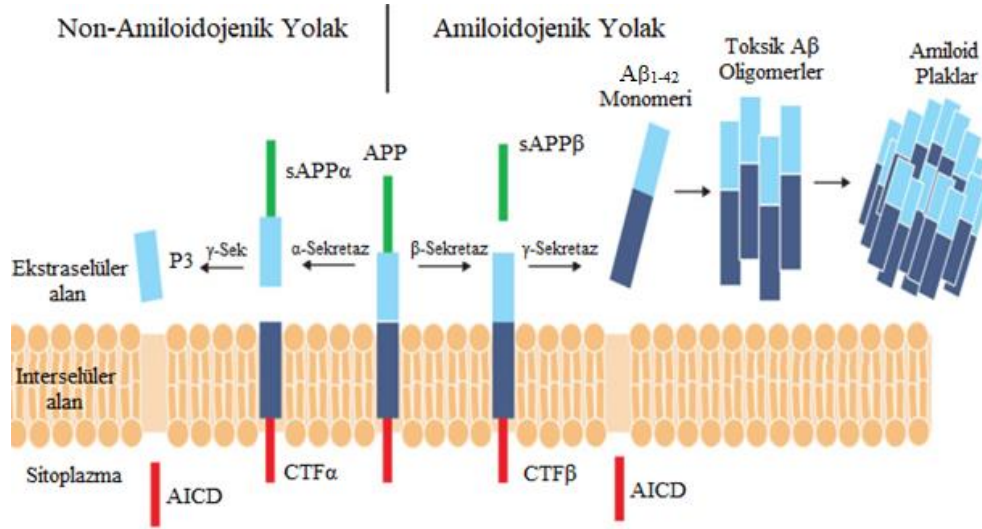
β -sekretaz için APP kesilme bölgesi (Met/Asp arasında) α -sekretazinkine kıyasla daha yukarıdadır ve dolayısıyla, $A\beta$ -peptid dizisini etkilemez. BACE-1 ile kesilme sonucu, sAPP- α 'e kıyasla daha küçük, ancak yine de nöroprotektif olan çözünür bir APP- β -fragmanı (sAPP- β) ve *N*-terminal ucunda bütün haldeki $A\beta$ -peptidini taşıyan membrana tutunmuş bir C-terminal fragmanı (CTF-99) oluşur (122, 138).

Çözünür sAPP- β daha fazla proteolitik işleme tabi tutulmazken CTF-99, CTF-83'de olduğu gibi benzer şekilde bir AICD fragmanını ve bütün halde $A\beta_{1-40/42}$ fragmanını serbest bırakmak için γ -sekretaz ile kesilir (139, 140).



Şekil 5. Amiloidojenik yolak

Bu yolağın başlatıcısı olarak BACE-1, Alzheimer hastalığı için bir hedef olarak kabul edilmiştir (148). Son dönemdeki çalışmalar, yüksek düzeyde selektiviteye sahip BACE-1 inhibitörlerinin geliştirilmesine yöneliktir.



Şekil 6. Non-amiloidojenik ve amiloidojenik yolaklar (149)

2.4.3.2. Amiloid Agregasyonu

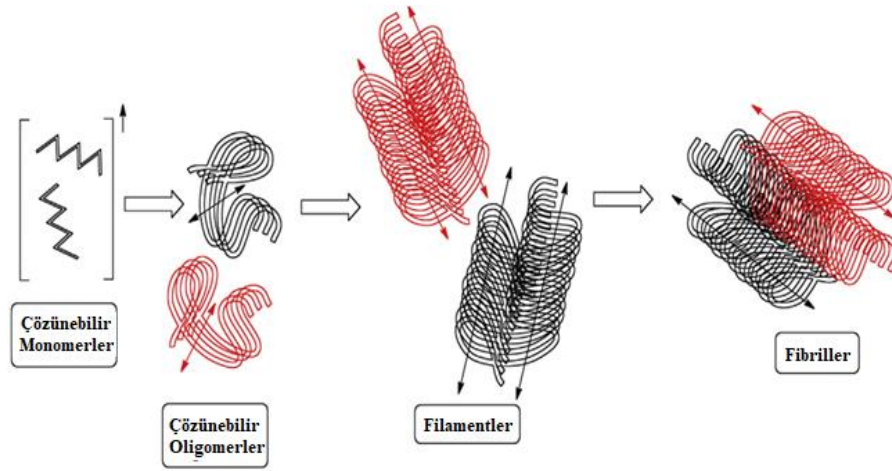
Bütün haldeki Aβ fragmanının amiloidojenik APP metabolik yolu vasıtasıyla serbest bırakılması, APP'nin SSS'de biyolojik fonksiyonlara sahip olduğu göz önüne alındığında nörofizyolojinin normal bir sonucudur (143, 144). Alzheimer hastalığında, geniş kapsamlı bir dizi düzenleyici mekanizma git gide bozulduğu için APP de işlevselliğini kaybetmeye başlar. Örneğin, APP metabolizması, öncelikli non-amiloidojenikten öncelikli amiloidojeniğe kaymaya başlar (145, 146).

2.4.3.2.1. Kendi Kendine-İndüklenen Amiloid Agregasyonu

Alzheimer hastalarında Aβ, fizyolojik koşullarda çözünebilen monomerlerin yanlış katlanmalarına ve bunun neticesinde çeşitli seviyelerde agregatların oluşmasına neden olur. Aβ₁₋₄₀ ve Aβ₁₋₄₂'nin agregasyon özellikleri aynı olmakla birlikte, Aβ₁₋₄₂'deki ek amino asitler peptitin C-terminal ucunun daha hidrofobik olmasını sağlar ve agregasyon oranını artırır. Bu nedenle Aβ₁₋₄₂'nin agregasyon kinetiği farklıdır. Bazı çalışmalar, her iki türün varlığının daha fazla toksisiteye sahip hibrit agregatlar üretebileceğini ileri sürmektedir (147, 148).

Bu Aβ-agregatlarının oligomerik yapıları doğada çözünür ve tüm agregat formlarının en toksikidir. Bu oligomerlerin olgunlaşması, Şekil 7'de görüldüğü gibi, amiloid tipi agregatlar olarak atfedilen anti-paralel, çapraz-β-sheet yapının oluşumuna, filamentlerin bir araya gelmesine ve bunun sonucunda fibrillerin oluşmasına neden olur (109, 149, 150).

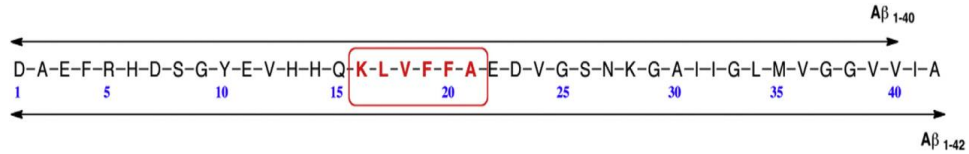
Aβ-agregatlarının nihai morfolojisi, çeşitli agregat formlarını içerebilen yoğun plak çökeltileridir.



Şekil 7. Amiloid fibrillerin oluşumu

2.4.3.2.2. A β -Heksapeptid İle Amiloid Agregasyonu

Agregasyonun odak bölgesi olduğu düşünülen KLVFFA dizisi, A β fragmanı içindeki anahtar bölge olarak bilinir (Şekil 8). Bu heksapeptid diziliminin monomer-monomer dinamiklerini kolaylaştırdığı, dimerik bir fermuar gibi hareket ettiği ve dimer oluşumuna ve sonuçta daha büyük agregatların oluşumuna yol açtığı düşünülmektedir (158–160).



Şekil 8. A β -heksapeptit KLVFFA dizisi

4. Tau Hipotezi

1985te, nörofibriler yumakların ana bileşeninin tau proteini olabileceği ilk kez J.P. Brion ve André Delacourte tarafından ortaya atılmıştır (161). Çok geçmeden 1988’de, Michel Goedert ve çalışma arkadaşları PHF-tau’nun cDNA’sını klonlamışlardır. Tau proteinleri, merkezi sinir sistemi nöronlarında çok sayıda bulunur ve mikrotübüleri stabilize eder. Bu süreçte, hiperfosforillenmiş tau (bozulmuş protein) diğer tau iplikçikleri ile eşleşmeye başlar. Bunun sonucunda da sinir hücrelerinin içinde nörofibriler yumak oluştururlar (162). Nörofibriler yumakların oluşması mikrotübüllerin parçalanmasına ve

nöronların transport sisteminin çökmesine sebep olur **(163)**. Bu durum nöronlar arasındaki biyokimyasal iletimde sorunlara ve sonrasında hücre ölümüne sebep olur **(164)**.

2.4.4.1. Tau Proteini

2.4.4.1.1. Fizyolojisi

Sitoplazmik protein filamentlerinin kompleks bir ağı olan sitoskeleton, hücrelerin çok çeşitli morfolojik değişikliklere uyum sağlamalarına ve koordine hareket etmelerine olanak sağlar. Sitoskeleton, aktin filamentleri, mikrotübüller ve ara filamentler olarak üç çeşit protein filamentinden oluşur. Mikrotübül oluşumu, Mikrotübül-İlişkili Proteinler (MAP) adı verilen bir protein ailesi vasıtasıyla dengede tutulur. MAP ailesinin önemli bir üyesi tau proteini olup, mikrotübülleri oluşturan tübülün dimerlerine bağlanarak birleşme-ayrışmalarında görev alır **(158, 159)**. Tau protein geni, 17. kromozom üzerinde bulunur ve 16 ekzondan oluşur. Ekzon 2, 3 ve 10'dan alternatif eşleşme ile altı olası kombinasyonu ortaya çıkar. Bu kombinasyonlar ağırlıklı olarak nöronlarda bulunan ve çoğunlukla aksonda lokalize, altı tau izoformunu oluşturur. Altı izoform 352 ila 441 amino asitten meydana gelir. Ekzon 10'dan yoksun olan üç izoform, mikrotübüllerle (3R izoformları) üç bağlanma bölgesine sahipken, diğer üçü dört (4R izoform) bölgeye sahiptir. Bu nedenle, ikinci üçlü, mikrotübüllerle daha güçlü bir etkileşime sahiptir ve daha stabil bağlanır **(167)**.

Tau proteinleri kabaca iki kısma ayrılır: birincisi, mikrotübüllere bağlı olmayan N-terminal bölgesini oluşturan ve ekzon 2 ve/veya 3'ün ekspresyonuna bağlı olarak 29 ve/veya 58 amino asit dizisinden oluşan amino ucu; ikincisi, izoformlara bağlı olarak 31 veya 32 amino asit dizisinin üç veya dört tekrarını içeren karboksi ucudur. Bu tekrar bölgesine Mikrotübül Bağlama Bölgesi (MTBR) denir (Şekil 9A) **(166)**.

Tau protein fosforilasyonu aynı zamanda mikrotübüllerin stabilitesini düzenler; 80'den fazla serin ve treonin kalıntısının 30'dan fazlası fosforile edilmiştir. Bu yörelerin çoğu MTBR'nın her iki yanında bulunur. Kinazlar (fosforilasyondan sorumlu) ve spesifik fosfatazlar (defosforilasyondan sorumlu) fosforilasyon derecesini düzenler. Fosforile edilmemiş form tercihen mikrotübüllere bağlanır **(159, 160)**. Tau proteini, doğal formunda dağınık ve çok esnektir. Aynı zamanda en iyi çözünen proteinlerden biridir **(168)**.

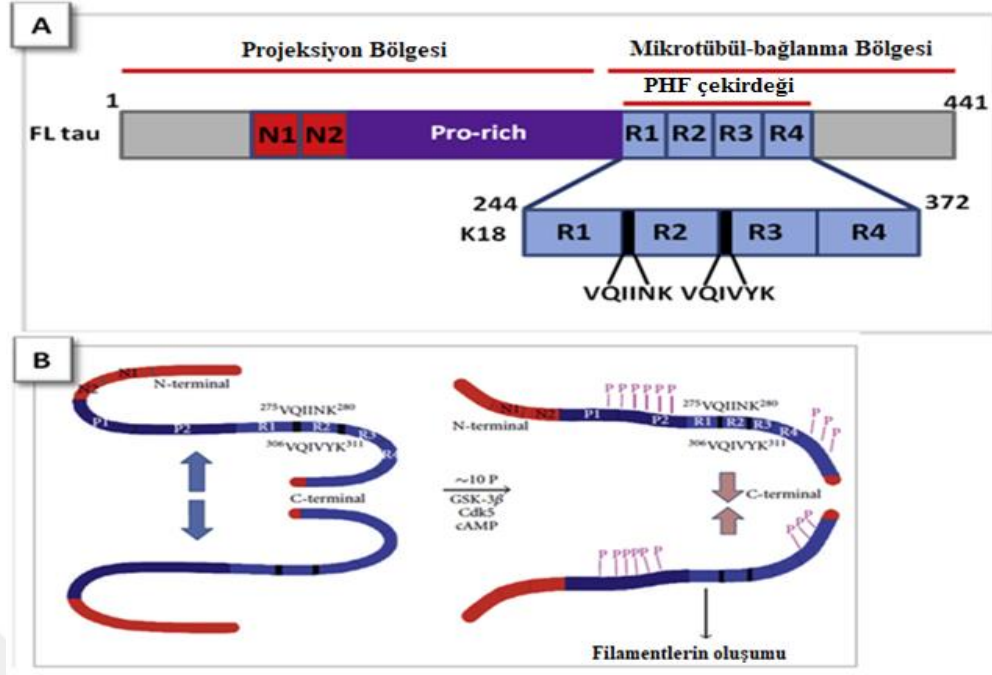
Pekçok nörodejeneratif hastalıkta, anormal olarak fosforile edilmiş tau protein formlarının filamentlere agrega olmasıyla "Tauopati" meydana gelir. Alzheimer hastalığında nörofibriler yumaklar, iki bükülmüş şerit gibi görünen PHF'ler tarafından oluşturulmuştur **(168–170)**.

2.4.4.1.2. Patolojisi

Tau proteini patolojik hale geldiğinde, glikozilasyon, bölünme, nitrasyon, ubikütinasyon, glikasyon veya hiperfosforilasyon (en çok görülen) gibi farklı post-translasyonel modifikasyonlara maruz kalır. Tau proteini, normal erişkin beyinlerde gerçekleşenden daha fazla miktarda fosforile edildiğinde hiperfosforile edilmiş kabul edilir. Hiperfosforilasyon, tau proteini üzerinde etkili kinazlar ve fosfatazların deregulasyonundan kaynaklanmaktadır **(171)**. Beyindeki tau fosforilasyonunda birçok kinazın önemli rol oynadığı bilinmektedir **(172)**. Fizyolojik ve patolojik koşullar altında glikojensentazkinaz-3 β (GSK-3 β) tau fosforilasyonunda anahtar enzimdir **(166)**.

Alzheimer hastalarında bulunan çifte sarmal filamentlerdeki tau proteinlerinde spesifik fosforilasyon bölgeleri bulunmuştur **(167)**. Ayrıca yapılan çalışmalarda tau proteinin, Alzheimer hastalarının beyinlerinde sağlıklı beyinlere kıyasla üç ila dört kat daha fazla fosforile edildiği saptanmıştır **(171)**.

Son yıllarda yapılan bir çalışmada Lippens ve arkadaşları, tau'nun patolojik formunun fosforilasyonunda, fosforile edilen bölgenin konformasyonunda spesifik bir rotasyonun meydana geldiğini göstermişlerdir **(173)**. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, tau'nun konformasyonel bir değişime uğradığı ve bunun da çifte sarmal filamentlerin oluşumuna yol açtığı ve bundan dolayı da mikrotübüllere bağlanamadığı varsayımını güçlendirmektedir (Şekil 9B) **(156)**.



Şekil 9. A: En uzun tau izoformunun şematik gösterimi, B: Konformasyon değişikliklerinin ve PHF oluşumuna yol açan hiperfosforilasyonun şematik gösterimi ¹

¹: N1, N2: asit bölgeleri, Pro-rich: prolince zengin bölgeler, R1-R4: tekrar bölgeleri P1, P2: prolin açısından zengin bölgeler (166).

2.4.4.1.3. Fibril Oluşumu

Tau proteini çok esnek ve yüksek çözünürlüklü olmasına rağmen, birçoğu kolaylıkla agrega olabilir. Normal tau proteini, erişkin ve fetal beyinlerde de fosforile olur ancak filamentlere agrega olmazlar. Fizyolojik koşullar altında yapılan bir çalışmada, rekombinant fosforile olmamış tau proteinin, farklı polianyonlara yerleştirildiğinde, filamentler oluşturduğu gözlenmiştir. Bu bulgular, anormal fosforilasyonun yanı sıra, diğer bilinmeyen mekanizmaların patolojik filament oluşumunda rol oynadığını göstermektedir (167).

Fibrilogeneze, çeşitli safhalarda gelişen yavaş bir süreçtir. Fibrilogeneze için öne sürülen mekanizmalardan biri şöyledir: ilk olarak, disülfid köprüleri (kararlı dimerler) veya iyonik bağlar (kararsız dimerler) yoluyla protein dimerizasyonu oluşur; ikincil olarak bir çekirdeklenme fazı gerçekleşir; bu süre boyunca, bu dimerler oligomerleri oluşturmak üzere kendiliğinden bir araya gelir; sonuç olarak, uzama aşaması bu oligomerlerin büyümesini sağlar. Çekirdeklenme evresi yavaştır; fakat polianyonların varlığı ile önemli ölçüde hızlanabilir (171).

Agregasyon üzerine yapılan *in vitro* çalışmalar bazı önemli faktörleri ortaya çıkarmıştır:

- Tekrar bölgeleri içeren kısa tau fragmanları, bütün haldeki proteinden daha hızlı agrage olur.
- Oksidasyon koşullarında, monomerler arasında disülfid köprüleri oluşur ve yapı taşları olarak işlev gören dimerlerin oluşumuna katkıda bulunabilir.
- Polianyonların eklenmesi, polimerizasyon işlemini önemli ölçüde hızlandırır.
- Çekirdeklenme fazı, polimerizasyon hızını sınırlar. *In vitro* ortamda üretilen veya Alzheimer'lı beyinlerden izole edilen çift sarmal filamentlerin ortama eklenmesi ile hızlandırılabilir.
- Bazı heksapeptidlerin PHF'lerin oluşumunda önemli bir rolü vardır (174).

2.4.5. Kalsiyum Hipotezi

Beyin yaşlanması ve demansta kalsiyum hipotezi 1982'de şekillenmeye başlamıştır. Amiloidojenik yolağın aktive olmasıyla bilişten sorumlu nöronal Ca^{2+} sinyal yollarının değişimi ve hastalık üzerindeki rolü kalsiyum hipotezi ile açıklanmaktadır. APP'nin hidrolizi sonucu Ca^{2+} sinyalini etkileyebilen ürünler oluşmaktadır. Ca^{2+} , glutamaterjik sinapsların etkinliğini artırarak nöronal kalsiyum sinyal sistemleri tarafından koordine edilen öğrenme mekanizmalarını karmaşık hale getirir. Ca^{2+} sinyali ve amiloidojenik yolak arasında çift yönlü bir ilişki vardır (168, 169). Ca^{2+} 'da bir artış amiloid metabolizmasını stimüle edebilir (170, 171). Amiloid metabolizması hem internal depolardan Ca^{2+} salınımını, hem de eksternal Ca^{2+} alımını artırarak Ca^{2+} sinyalinde bir artışa neden olur. Ca^{2+} 'daki bu artış Alzheimer hastalığında meydana gelen hafıza kaybının ilerlemesine ve nöronal ölüm artışına sebep olabilir (105).

2.4.6. Oksidatif Stres Hipotezi

Patofizyolojik olayların sekonder sonucu olarak ortaya çıkabilen oksidatif stres, Alzheimer patojenezinin ve ilerlemesinin major bir belirleyicisi gibi görünmektedir (179).

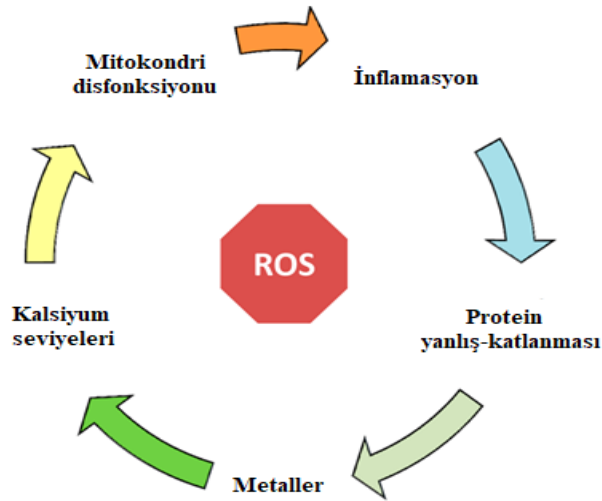
Deneyssel kanıtlar, redoksdaki düzensizliğin Alzheimer hastalığının erken evresinde, nörodejeneratif sürecin başlamasına katkıda bulunan çoklu hücre sinyal yollarını indüklediğini ve aktive ettiğini göstermektedir (180). Alzheimer'lı beyinde reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif azot türleri (RNS) aracılı hasarın bulgularına rastlanmaktadır (181). Alzheimer hastalığı için yapılan birçok çalışmada merkezi ve periferel sistemlerde biyomoleküllerin (proteinler, lipidler, karbonhidratlar ve nükleik asitler) oksidatif belirteçlerinde seviye artışı saptanmış (182–184) ve beyinde antioksidan enzim düzeylerinin değiştiği gözlenmiştir (185). Bütün bu veriler Alzheimer hastalığının "oksidatif stres hipotezini" desteklemektedir. Alzheimer hastalığı başlangıcında ve ilerleyen safhalarında

oksidatif stresin önemini savunan bu teori, Alzheimer hastalığı tedavisinde antioksidanların faydalı terapötik yardımcıları olabileceğini göstermektedir (186).

Bugüne kadar çok çeşitli antioksidanlar nöroprotektif olarak incelenmiştir. Bu araştırmalar, *in vitro* çalışmalarda ve hayvan modellerinde umut vaadeden sonuçlar vermiş olmasına karşın, klinik araştırmalarda beklenen sonuçlar elde edilememiştir (172, 180). Çalışmalar ekzojen antioksidanların pek çoğunun düşük kan-beyin bariyeri geçirgenliğine sahip olduğunu ve zayıf biyoyararlanım sergilediğini göstermektedir (188).

Oksidatif stres, reseptör veya tek bir major metabolik yolak gibi spesifik bir tedavi hedefi bulunmayan, yaygın bir hücresel durumdur (189). Oksidan türlerinin kaynakları ve üretim yerleri, antioksidan yanıttan çok daha yüksek bir çeşitliliğe sahiptir. Antioksidanlar, oksidan türlerinin oluşumunu önleyerek, detoksifiye ederek veya atılmasını sağlayarak işlev görebilirler (181). Antioksidanlar, pro-oksidan enzimleri inhibe edebilir, radikalleri nötralize edebilir veya radikallerin oluşumunu katalize eden geçiş-metali iyonlarını şelatlayabilirler. Buna ek olarak, bazı antioksidanlar etkilerini endojen antioksidan savunmalarını artırarak, redoks duyarlı transkripsiyonel faktörlerin ekspresyonunu up-regüle ederek gösterir (179).

Oksidatif stres ile bu konunun karmaşıklığını güçlendiren diğer önemli Alzheimer hastalığının oluşma nedenleri arasında bağlantılar bulunmakta (Şekil 10) ve oksidatif stres Alzheimer hastalığının çeşitli patojenik mekanizmalarının farklı doğasını ifade edebilen ortak bir anahtar unsur sayılmaktadır (190).



Şekil 10. Alzheimer hastalığı nedenleri arasında bağlantılar

2.4.7. Mitokondriyal Kaskad Hipotezi

Tau hiperfosforilasyonu ve A β birikimi en çok üzerinde durulan patogenetik mekanizmalar olmalarına rağmen, mitokondriyal kaskad hipotezi son zamanlarda çok ilgi görmüştür (191–193).

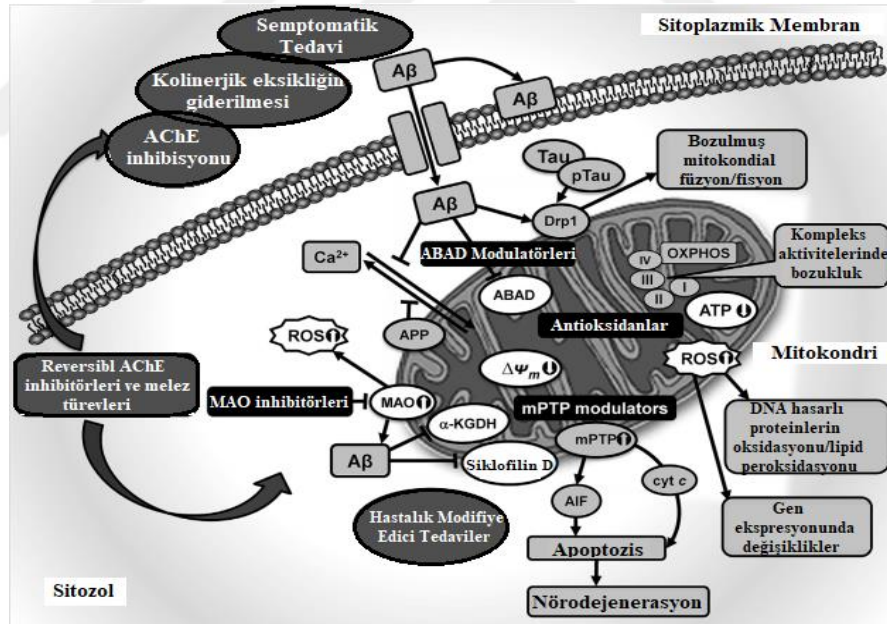
A β , plazma membranı ile etkileşir ve membran bütünlüğünü bozar (194), hücre içine taşınır ve mitokondriyal membranları geçer (195). A β aynı zamanda mitokondriyal membran potansiyelini ($\lambda\psi m$) etkileyebilen mitokondriyal geçiş porlarındaki (mPTP) mitokondriyal proteinlerle etkileşebilir (189, 190). Mitokondriye girdikten sonra A β , ABAD (A β bağlayan alkol dehidrojenaz)’a bağlanır ve ABAD’ın detoksifiye edici rolünü inhibe eder (198). Bu olaylar, mitokondriyal işlev bozukluklarına, sitrik asit döngüsü enzimlerinin (örneğin α -ketoglutarat dehidrojenaz) aktivitelerinin bozulmasına ve oksidatif fosforilasyon komplekslerine, ROS üretiminde artışa ve apoptozun başlatılmasına neden olabilir (192, 193). Elde edilen bu bulgular A β , tau proteini ve fosforile tau proteini ile mitokondriyal fonksiyon bozuklukları arasında bir ilişkinin olduğu ve dolayısıyla mitokondriyal fonksiyonların hem Alzheimer hastalığı patofizyolojisinde, hem de teşhisinde rolü olduğunu göstermektedir (200–202).

Alzheimer’lı hastaların beyinlerinde, hastalığın patolojisine katkıda bulunan mitokondriyal yetersizlikler tanımlanmıştır (203–205). Alzheimer hastalığında moleküler düzeyde, enerji metabolizması bozulmuştur. Mitokondriyal enzimlerde, özellikle de NADH dehidrojenaz (ubikinon) (kompleks I) ve sitokrom C oksidaz (COX, kompleks IV) aktivitesinde mitokondriyal anomaliler ve değişiklikler gözlemlenmiştir. Çalışmalar, Alzheimer’lı hastaların beyinlerinde kompleks I aktivitesinin azaldığını bildirmiştir (199, 200).

Yapılan çalışmalar A β ile indüklenen mitokondriyal disfonksiyonun, enerji metabolizmasının bozulmasına, ROS birikimi/oluşumuna, $\lambda\psi m$ ’nin bozulmasına, mitokondriyal biyogenezi ve dinamiklerinin değiştirilmesine neden olduğunu göstermiştir. Mitokondri ROS’a karşı etkili bir antioksidan sisteme sahiptir ve mitokondriyal metabolizmadaki herhangi bir işlev bozukluğu nihayetinde nörodejenerasyona neden olan ROS üretiminin artmasına neden olur. Mitokondriyal disfonksiyona bağlı olarak nörolojik hastalıkların patofizyolojisini belirlemeye yönelik yapılan yoğun araştırmalara rağmen, kesin mekanizma henüz aydınlatılamamıştır (208).

Monoaminoksidaz enzimi (MAO; EC 1.4.3.4), mitokondri membranı üzerinde bulunan, biyogenik ve ksenobiyotik monoaminlerin oksidatif deaminasyonunu katalize eden bir mitokondriyal enzimdir. İntranöronal MAO’nun başlıca fizyolojik rolü, sitozolik monoamin konsantrasyonlarını düşük seviyede tutmaktır. MAO, substrat tercihi, inhibitör

spesifikliği, doku ve hücre dağılımı ve bağışıklık özellikleri bakımından Tip A (MAO-A) ve Tip B (MAO-B) olarak farklı iki izoformda bulunur. Her iki form da beyinde yüksek seviyelerde bulunur. Serotonerjik nöronlar ve astrositler ise baskın olarak MAO-B'yi içerir. Alzheimer hastaların beyinlerinde MAO enzim aktiviteleri artmıştır (202, 203). MAO enzimi, oksidatif stres kaynaklı nörodejenerasyonla ilişkilidir. Aktive edilmiş MAO, β -sekretaz ve γ -sekretazın ekspresyonunu ve APP'den A β üretimini artırır (210). Nörofibriler yumakların oluşumu ile de ilişkisi olduğu düşünülmektedir. Pek çok MAO inhibitörü ilaç, Parkinson hastalığı ve Alzheimer hastalığı da dahil olmak üzere depresif veya nörodejeneratif bozuklukların tedavisinde terapötik değere sahiptir (204, 205). MAO inhibitörlerinin terapötik etkileri hem monoamin nörotransmitterlerinin katabolizmasının azaltılması hem de hidrojen peroksit üretiminin azaltılması ile ilişkilidir. MAO inhibitörleri, bilişsel özellikleri geliştirirler ve APP'nin proteolitik bölünmesini modüle ederek ve A β 'yi azaltarak A β patolojisini tersine çevirirler. Bundan dolayı MAO inhibitörleri, Alzheimer tedavisinde yeni geliştirilen çok hedefli ilaçların etki mekanizmalarına dahil edilmektedir (210).



Şekil 11. Alzheimer hastalığında mitokondriyal fonksiyon bozuklukları ve tedavide farmakolojik hedefler.

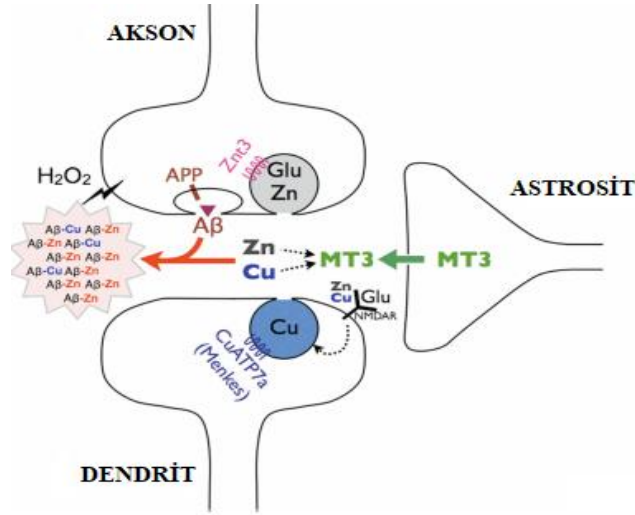
2.4.8. İnflamatuar Hipotez

A β 'nin doğrudan toksik etkilerine ek olarak mikrogial hücrelerin ve astrositlerin aktivasyonu da dahil olmak üzere paralel mekanizmalarla nörodejenerasyonun arttığı

bilinmektedir. Bir mikroglia-yönlendiricili inflamatuvar yanıtın başlaması, bir dizi nörotoksik inflamatuvar mediatörlerin salınmasına yol açar (206, 207). Mikroglia hücreleri aktive edildiğinde, ekstraselüler A β birikimlerine karşı oluşan inflamasyon yanıtı etkin bir şekilde arttıran astrositlere de yardım eder. Alzheimer hastalığının bu nöroinflamatuvar yapısı, nitrik oksit sentaz (iNOS) ve siklooksijenaz-2 (COX-2) gibi inflamatuvar enzim sistemlerinin indüksiyonu ile karakterize edilir. Çeşitli kanıtlar bu faktörlerin hepsinin tek başına veya bir bütün halinde nöronal disfonksiyona ve hücre ölümüne sebep olabileceğini göstermektedir (215–217).

2.4.9. Metal Hipotezi

İlk olarak 1994 yılında, A β 'nin stokiyometrik miktarlarda Zn²⁺ ve Cu²⁺ ile tepkimeye girerek amiloidojen hale geldiği keşfedilmiştir (211, 212). Sonraki yıllarda A β 'nin bir metaloprotein olduğu ve beyin Cu²⁺ ve Zn²⁺ (ve muhtemelen Fe³⁺) intrinsik kaynağının radikal ve hidrojen peroksit üretimi ve agregasyonu yoluyla peptidin toksisitesine aracılık ettiği ortaya çıkmıştır (213, 214). A β , histidin aracılı selektif yüksek ve düşük afiniteli metal bağlanma bölgelerine sahiptir (222–224). A β 'nin oligomerlerle ve fibrillerle birleşmesinin ve Cu²⁺ veya Fe³⁺'e bağlanmasının ötesinde, A β bu metal iyonlarını indirgemekte ve O₂'ye elektron çifti transferi ile H₂O₂ üretmektedir (220). Yapılan çalışmalarla bu reaksiyonun sürekli gerçekleştiği doğrulanmıştır (225–227). A β 'nin N-terminal bölgesinin bir dizi metale bağlandığı ve A β -Cu²⁺ koordinasyonunun kendi kendine peptid oluşumu ve nörotoksisite ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (228). Çinko, bakır ve demirin, Alzheimer hastalarında ve Alzheimer'lı transgenik farelerde A β depozitlerinde belirgin şekilde arttığı pek çok çalışmada rapor edilmiştir (214, 222–228). Alzheimer'lı beyindeki bakır, çinko ve demir ile aynı yaşta sağlıklı beyin örneklerindeki bakır, çinko ve demir oranları karşılaştırılarak, Alzheimer'lı beyinde bu metallerin birkaç kat artmış olduğu bildirilmiştir (229).



Şekil 12. Glutamaterjik sinapsda çinko, bakır ve Aβ (236)

2.5. AChE ve BuChE Enzimleri

2.5.1. AChE Enzimi

Asetilkolinesteraz (EC 3.1.1.7; AChE) α/β hidrolaz katlanmış süper protein ailesindendir. Bu aile kolinesterazlar, karboksilesteraz ve lipazları içeren ortak yapısal homolojiler ile tanımlanan bir gruptur. AChE'nin fizyolojik fonksiyonu sinapsta ve nöromusküler kavşakta asetilkolinin hızlı hidrolizi ile sinirsel sinyalin sonlanmasını sağlamaktır (237). AChE'nin üç boyutlu yapısı ilk defa 1991 yılında Torpedo californica (Tc) üzerinde yapılan detaylı çalışmalar sonucunda belirlenmiştir (231, 232). AChE'in aktif yörenesi iki ayrı ligand bağlanma bölgesi taşıyan dar bir çukurdan meydana gelmektedir. Omurgalılarda, AChE ve BuChE olmak üzere iki tip kolinesteraz enzimi bulunmaktadır. İkisi de asetilkolin hidrolizini katalize etmektedirler. AChE ile BuChE oldukça benzer yapıya sahiptirler. Substrat seçiciliği, dokularda dağılımı ve inhibitörlere duyarlılıkları bakımından farklılık taşımaktadırlar (233, 234).

2.5.1.1. AChE Enzim Yapısı

AChE aktif ve periferik anyonik yöre olmak üzere iki önemli yöre içermektedir.

2.5.1.1.1. Katalitik Aktif Yöre (CAS)

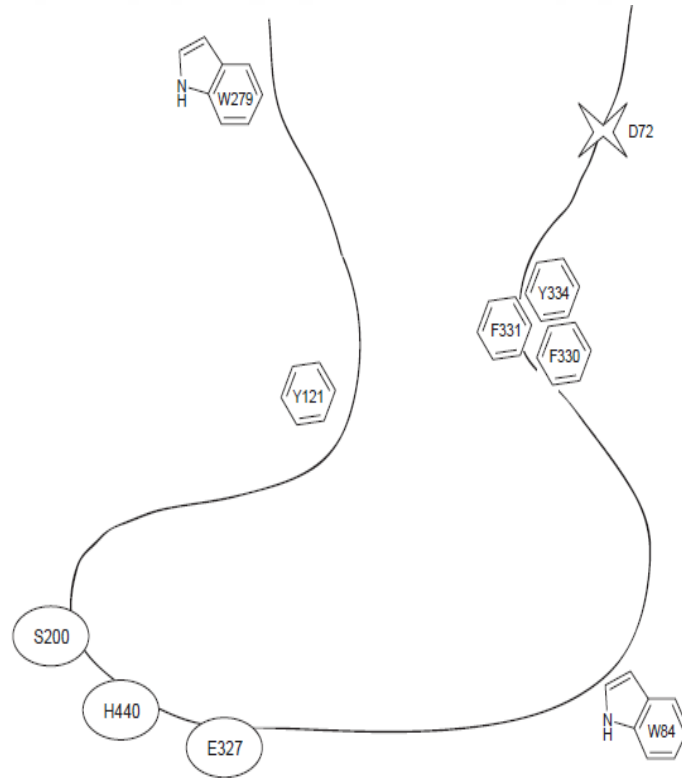
AChE, dar uzun enzim çukurunun (yaklaşık 20 Å uzunluğunda ve en dar yerinin çapı 4.5 Å) dip kısmında düzlemsel bir biçimde dizilmiş üç amino asitten (Ser200, His440 ve Glu327) ve 14 aromatik amino asit artığından oluşan bir esteratik bölgeye sahiptir (242).

Aktif yörede ayrıca anyonik substrat bağlanma bölgesi bulunur. Bu bölge, enzim çukurunun dip kısmına yakın konumlanmıştır. Yapısında bulunan Trp84 amino asit artığı, asetilkolinde ve diğer ligandlarda bulunan katerner amonyum grubu ile kation- π etkileşiminde anahtar rol oynamaktadır. Bu etkileşim Phe330 amino asit artığında da görülmektedir (243). Doğal enzim 575 amino asitlik bir polipeptid dizisi taşımaktadır. AChE aktif yöresi üç majör bölgeden meydana gelmektedir:

- 1- Serin amino asiti taşıyan bir esteratik bölge (237, 238),
- 2- Esteratik serin amino asitine 14.7 Å mesafede bulunan anyonik bölge (9, 239, 240),
- 3- Esteratik ve anyonik bölgeye yakın ya da bitişik bulunan, aril substratların ve aktif yöre ligandlarının bağlanmasında önem taşıyan hidrofobik yöre

Bu üç majör bölgenin yanı sıra enzim çukurunda oksanyon çukur ve açıl bağlama bölgesi olarak adlandırılan iki bölge daha mevcuttur.

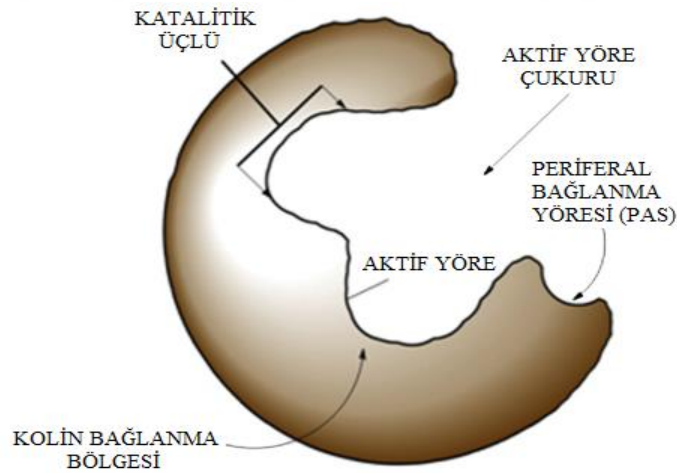
AChE enziminin yapısal özellikleri ve esteratik bölgenin özelliklerinin öğrenilmesi, Alzheimer hastalığı tedavisinde potansiyel ajanlar olarak kullanılmak üzere yeni AChE inhibitörlerinin tasarlanmasına olanak sağlamıştır (Şekil 13) (246).



Şekil 13. AChE enzim çukuru

2.5.1.1.2. Periferal Anyonik Yöre (PAS)

AChE'nin β -anyonik yöresi olarak da bilinen periferal anyonik yöre katalitik çukurun giriş kısmında konumlanmıştır ve aktif merkezden yaklaşık 14 Å uzaklıktadır (248–251). Ligandın, Tyr70, Asp72, Tyr121, Trp279 ve Tyr334 amino asitlerini taşıyan PAS'a bağlanması aktif merkezin konformasyonunu değiştirmektedir (245, 246). Bu amino asitler arasında Trp279, AChE enzimine ligandın tutunmasında anahtar rol oynamaktadır (237). PAS yöresi siklik yapılar içerir ve konformasyonel esnekliğe sahiptir. PAS enzimatik yolağın ilk basamağında substrata kısa süreli olarak bağlanır, substratın aktif yöreye doğru ilerlemesini sağlayarak enzimatik etkinliği artırır. A β peptidin periferal anyonik yöre ile etkileşimi amiloid plakların oluşmasına ve kolinerjik nöronlarda hasara neden olmaktadır (254). Bu nedenle PAS umut vaadeden ilaçların hedefleri arasındadır (248, 249). Son yıllarda AChE enziminin hem aktif yöresi hem periferal yöresi ile aynı anda etkileşebilen yeni AChEI'lerinin tasarlanması yeni stratejiler arasında yer almaktadır. Bu yaklaşımlar, AChE periferal yöre blokajı ile A β agregasyonunun engellenmesini sağlamakta ve enzim afinitesi artışının bir sonucu olarak daha geniş farmakolojik profile sahip yeni antikolinesteraz ajanların geliştirilmesine yön vermektedir (257).



Şekil 14. AChE enzim çukuru (üstten görünüş)

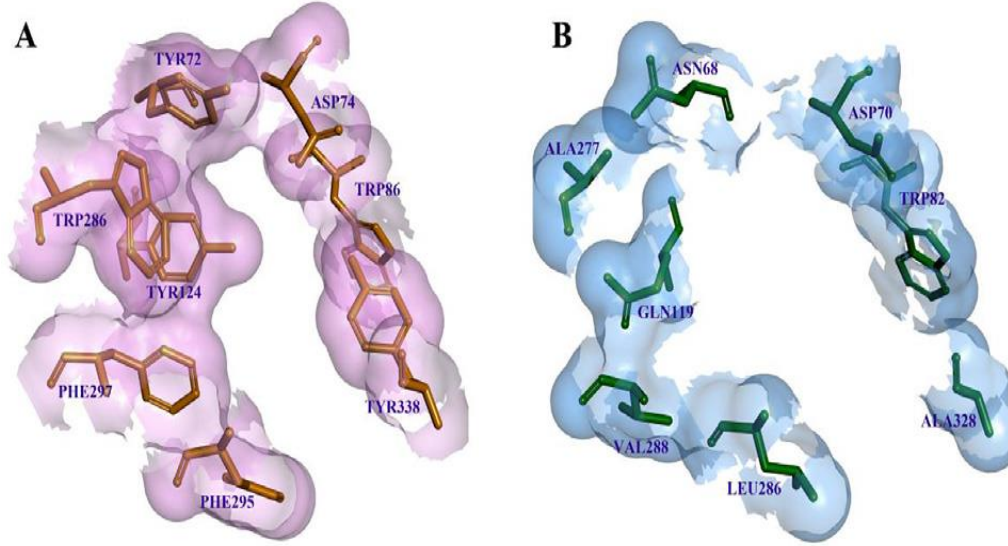
2.5.2. BuChE Enzimi

BuChE hem kolin hem de alifatik esterleri hidroliz eden, spesifik olmayan, psödokolinesteraz veya serum kolinesterazdır ve karaciğerde sentezlenir.

ACh, normal koşullar altında BuChE yerine büyük oranda AChE ile metabolize olmaktadır (251, 252). BuChE'nin beyin ACh düzeyinin düzenlenmesinde küçük bir rolü olmasının yanı sıra ilaç metabolizması ve detoksifikasyon ile obezite, kardiyovasküler hastalık ve hepatik adipozite gibi hastalıklarla da yakından ilişkili olduğu bildirilmiştir (260). Ancak BuChE enzimi çalışmayan insanların sağlıklı bir şekilde yaşayabildiği de görülmektedir (261). Alzheimer hastalarının, hipokampus ve amigdala gibi neokorteks ve limbik yapılarında BuChE seviyelerinin oldukça yükseldiği saptanmıştır (262). İlerlemiş Alzheimer hastalığında, beyindeki AChE seviyesinin normal değerlerin % 55-67'sine kadar düştüğü, BuChE seviyesinin de normal değer % 120'sine kadar yükseldiği belirlenmiştir. Bu bulgular BuChE'nin Alzheimer hastalığının geç evresinde ACh hidrolizi için AChE'nin yerine geçtiğini ve kritik bir rol oynadığını düşündürmektedir (256, 257). İnsan beyinde spesifik bir AChE inhibitörünün varlığında BuChE'nin AChE'nin yerine geçerek ACh'yi hidroliz edebildiği gözlenmiştir (265), böylelikle BuChE'nin AChE eksikliğini telafi ettiği gösterilmiştir (259, 260).

2.5.2.1. BuChE Enzim Yapısı

İki kolinesterazın genel yapısı çok benzerdir. Her ikisinde de katalitik bir aktif bölge (CAS), derin bir çukur ve bir periferik anyonik bölge (PAS) bulunur. AChE ve BuChE'nin amino asit diziliminde yaklaşık % 65 homoloji vardır (268). İnsan AChE'nin (*hAChE*) ve insan BuChE'nin (*hBuChE*) katalitik üçlüleri korunan amino asitlerden oluşur: *hAChE*'de Ser203, His447, Glu334 ve *hBuChE*'de Ser198, His438, Glu325 (238). Bununla birlikte, enzim çukurundaki amino asit artıklarının varlığı ve derecesi farklıdır, özellikle substratı katalize etmek için bir açıl artığı içeren açıl-bağlama cebi bakımından farklılık gösterirler (269) İki ChE'nin kristal yapıları Şekil 15A'da (*hAChE*, PDB id: 4ey4) ve Şekil 15B'de (*hBuChE*, PDB id: 1p0i) gösterilmektedir. Açıl bağlama yöresinde *hAChE*'de Phe295 ve Phe297 amino asit artıkları bulunur, buna karşılık *hBuChE*'de Leu286 ve Val288 amino asit artıkları bulunur. *hAChE*'de iki aromatik amino asit artığı enzim çukurunu daraltacak şekilde konumlanırken, *hBuChE*'de bu yapıların yerini daha küçük amino asit artıkları aldığından daha geniş bir alan sağlar ve daha büyük substratların bağlanmasına ve hidroliz edilmesine olanak tanır (269). İki enzimin farklı yapısal özellikleri substrat özgüllüğüne katkıda bulunur: AChE, ACh gibi küçük moleküller için daha yüksek selektivite gösterirken, BuChE çeşitli nöroaktif peptidlere karşı daha fazla afiniteye sahiptir (270).



Şekil 15. *hAChE* (A) ve *hBuChE* (B) kristal yapılarının ve açıl bağlama ceplerinin farklılıkları

2.6. Tedavi Stratejileri

- NMDA reseptör antagonizması
- Kolinerjik Yaklaşım

Günümüze kadar, kolinerjik fonksiyonları arttırmak için nörotransmisyon mekanizması temelinde birkaç strateji araştırılmıştır. Bunlar:

- AChE inhibitörleri (sinaptik boşlukta ACh seviyesini artırır) (271),
- ACh prekürsörleri (kolin vb.) (272),
- ACh salımını artıranlar (pre-sinaptik nörondan ACh salınmasını hızlandırır) (273),
- Muskarinik agonistler (post-sinapta muskarinik reseptörleri aktive ederler) (274),
- Nikotinik agonistler (post-sinapta nikotinik reseptörleri aktive ederler) (275),

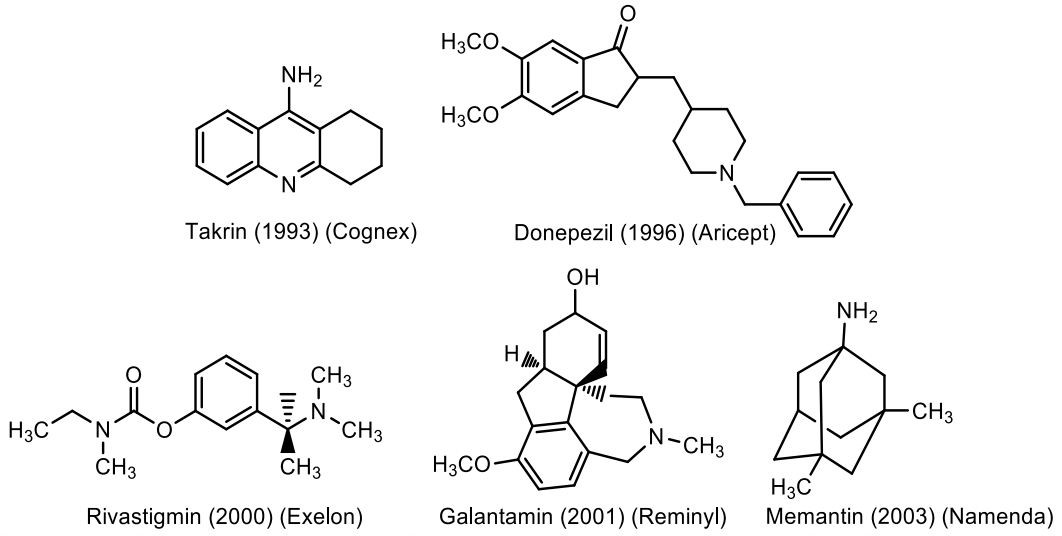
Sonraki yıllarda, fibrillerin oluşumu ve birikimine engel olmak ve patojenik rolleri için çeşitli stratejiler denenmiştir (276–278). Bunlar:

- A β hedefli tedavi yaklaşımları
 - A β agregasyon inhibitörleri
 - A β prodüksiyon inhibitörleri

- β -Sekretaz inhibitörleri
- γ -Sekretaz inhibitörleri
- γ -Sekretaz modölatörleri
- α -Sekretaz aktivatörleri
- A β ile indüklenen nörotoksik etkilerin inhibitörleri
 - Anti-inflamatuvar ajanlar
 - Antioksidan ajanlar
- A β ile indüklenen nörotransmitter etkilerin inhibitörleri
- Tau ile indüklenen nörotoksisite inhibitörleri
 - Tau antiagreganlar
 - Glikojen sentaz kinaz-3 enzim inhibitörleri (279)

Tablo 1. FDA tarafından onaylanmış piyasaya sürülen Anti-alzheimer bileşikler

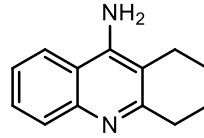
Etken Madde	Ticari İsim	Onaylanma tarihi	Onaylandığı Endikasyon	Etki mekanizması
Takrin	Cognex®	1993	Piyasadan çekildi	AChE inhibitörü
Donepezil	Aricept®	1996	Bütün Alzheimer Evreleri	AChE inhibitörü
Rivastigmin	Exelon®	2000	Hafif-Orta Şiddetli Alzheimer Evreleri	AChE inhibitörü
Galantamin	Reminyl®	2001	Hafif-Orta Şiddetli Alzheimer Evreleri	AChE inhibitörü
Memantin	Namenda®	2003	Orta-Şiddetli Alzheimer Evreleri	NMDA Reseptör Antagonisti
Donepezil+ Memantin	Namzaric®	2014	Bütün Alzheimer Evreleri	AChE inhibitörü+ NMDA Reseptör Antagonisti



Şekil 16. FDA tarafından onaylanmış Anti-alzheimer bileşiklerin kimyasal yapısı

2.6.1. FDA Tarafından Onaylanmış Asetilkolinesteraz İnhibitörleri

2.6.1.1. Takrin (Cognex®)



Takrin (1993) (Cognex)

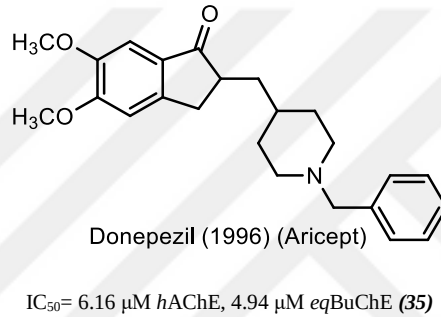
IC_{50} = 0.075 μ M *eel*AChE, 0.0098 μ M *eqBuChE* (34)

Bir aminoakridin türevi olan takrin (1) non-selektif reversibl AChE inhibisyonu yapmaktadır. Hem AChE'nin hem BuChE'nin güçlü bir inhibitörüdür. Monoamin oksidazı (MAO) da inhibe eder, potasyum kanallarını bloke eder ve ayrıca muskarinik ve nikotinik reseptörlerin alt tipleri ile etkileşime girer (271). Takrinin çok yönlü mekanizması, Alzheimer tedavisindeki terapötik önemini ortaya koymaktadır (280). Takrinin X-ray kristal yapısının incelenmesi sonucu (9), ilacın enzime bağlanmasından sorumlu bölümünün molekülün 4-aminokinolin kısmı olduğu ortaya çıkmıştır, bunun yanında sikloheksil halkası ise aktif bölgedeki substrat için bir sterik engel oluşturmaktadır (281). Takrin, enzim çukurunun alt kısmına yakın olarak konumlanmış Trp84 ve Phe330 amino asitleri ile

etkileşir, halkadaki azot His440'ın karbonil oksijeniyle, amino grubundaki azot ise bir su molekülüyle hidrojen bağı oluşturur (282).

Takrin plazma proteinlerine orta derecede bağlanır ve sitokrom P450 (CYP) sistemi ile metabolize olarak hidroksilli metaboliti velnacrine dönüşür (283). Takrin ile periferik kolinesterazlar da inhibe edildiğinden, çoğunlukla gastrointestinal rahatsızlıktan kaynaklanan yan etkilerin daha yüksek oranda görülmesine neden olmaktadır. Takrinin en önemli yan etkisi, Alzheimer tedavisinde kullanımını sınırlayan hepatotoksisitedir. Bu ciddi yan etkisinden ötürü onaylandıktan kısa bir süre sonra piyasadan çekilmiştir (284).

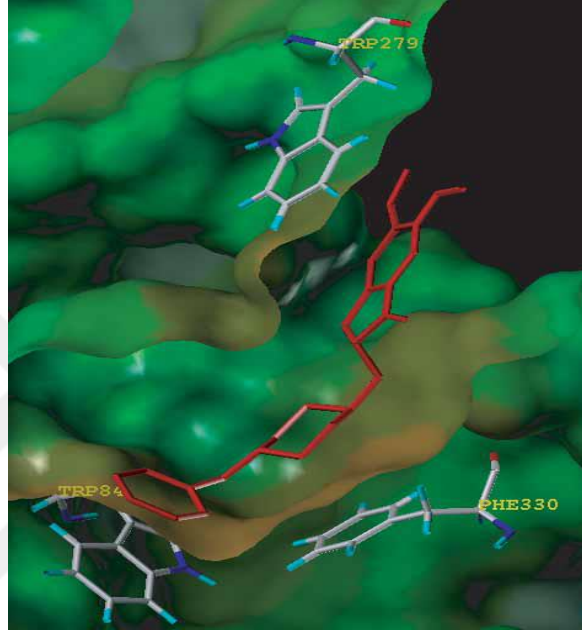
2.6.1.2. Donepezil (Aricept®)



Donepezil, özellikle Alzheimer hastalığı için tasarlanmış bir piperidin sınıfı AChE inhibitörüdür. Hafif-orta şiddetli Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılmak üzere 1996'da onaylanmıştır. Reversibl ve non-kompetitif olarak AChE'yi BuChE'den daha fazla inhibe etmektedir (285). Bunun yanı sıra *in vivo* çalışmalarda hafif-orta dereceli Alzheimer'lı hastalarda APP prosesine doğrudan müdahale etmek suretiyle nöroprotektif bir etkisinin olduğu ve AChE'nin neden olduğu A β agregasyonunu da orta derecede inhibe ettiği ortaya konmuştur (279, 280). Donepezil-TcAChE (*torpedo californica* AChE) kompleksinin kristalografik yapısı (Şekil 24) dimetoksi-indanon yapısının PAS yöresindeki Trp279 ile etkileşime girdiğini, benzil piperidin kısmının ise enzim çukurunun dibine yakın konumlanmış olan Trp84 ve Phe330 amino asit artıklarıyla etkileştiğini ortaya çıkarmıştır. Bu etkileşimleri nedeniyle donepezil, enzim çukurunun aktif yöresindeki anyonik bölgeden, aromatik amino asit kalıntılarıyla aromatik etkileşimler yaparak periferik yöreye kadar uzanan, özel bir yönlenime sahiptir (288).

Donepezil kan beyin bariyerini kolayca geçmekte ve *in vivo* ortamda plazma kolinesterazına kıyasla beyin kolinesterazını güçlü ve seçici bir şekilde inhibe etmektedir (289). Donepezil'in ~70 saatlik uzun plazma yarı ömrü, günde bir kez uygulanmasına olanak

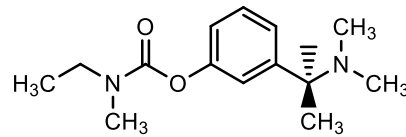
sağlar. Donepezil bileşiğinin, CYP (Sitokrom P450) izoenzimlerine karşı çok düşük inhibitör etkinliğe sahip olduğundan bu enzimlerle metabolize olan veya onları etkileyen diğer ilaçlarla klinik olarak anlamlı etkileşimlere girme olasılığı düşüktür (290). Donepezil, hafif ila orta şiddetli Alzheimer hastalarında bilişsel işlevleri geliştirir ve hepatotoksisite meydana getirmeden çok iyi tolere edilir (289). Bunun dışında karaciğer yetmezliği olan ve ciddi böbrek fonksiyon bozukluğu bulunan hastalarda da güvenlidir ve iyi tolere edilir (291).



Şekil 17. Asetilkolinesteraz ve donepezil kompleksi¹

¹: PDB Tripos Sybyl 7.1 tarafından üretilmiş ve GNU görüntü işleme programı (GIMP) 2 ile görselleştirilmiştir (288).

2.6.1.3. Rivastigmin (Exelon®)



Rivastigmin (2000) (Exelon)

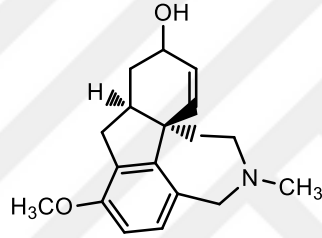
IC₅₀= 4.15 µM hAChE, 0.037 µM pBuChE (292)

Rivastigmin BuChE ve AChE inhibitör özelliğine sahip olan kolaylıkla kan beyin bariyerini geçebilen küçük bir moleküldür. 2000 yılında hafif-orta şiddetli Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılmak üzere onaylanmıştır (105). Rivastigminin yarı ömrü 1

ila 1,5 saat arasında olmasına rağmen, BOS'da farmakodinamik ölçümler, uygulamadan 6 saat sonra AChE'nin inhibisyonunun sürdüğünü göstermiştir (293). Rivastigmin, CYP izoenzimleri tarafından hepatik olarak metabolize edilmez, ancak kolinesteraz ile hidroliz edilir; bu nedenle, hepatik veya böbrek yetmezliği olan hastalar için doz ayarlaması gerekmemektedir.

Rivastigmin, sadece AChE'ye karşı değil, aynı zamanda santral ve periferik BuChE'ye karşı da inhibitör aktivite göstermiştir (5). 2007 yılında transdermal bir patch yoluyla ilaç salınımı sağlamak amacıyla yeniden formüle edilmiştir. Bu yolla verildiğinde oral kapsüle kıyasla daha az gastrointestinal yan etki gözlenmiştir (105).

2.6.1.4. Galantamin (Reminyl®)



Galantamin (2001) (Reminyl)

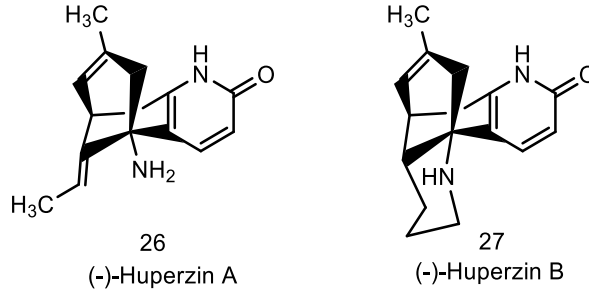
IC₅₀= 0.43 µM *ee*AChE, 14.92 µM *h*BuChE

Galantamin hafif-orta şiddetli Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılmak üzere 2001 Şubat ayında onaylanmıştır. Galantamin, Kafkas kardeleninden (*Galanthus woronowii*) ve Amaryllidaceae familyasının çeşitli türlerinin soğanlarından izole edilmiş bir alkaloid olup, merkezi sinir sistemine etki eden, selektif, reversibl ve kompetitif bir AChE inhibitörüdür. Bunun yanı sıra asetilkolin nöronal nikotinik reseptörünün allosterik modülatörü özelliği de sergilemektedir (294–296). Galantaminin ayrıca γ -aminobutirik asit (GABA) ve glutamat salınımı artırdığı da hipokampus kesitlerinde gösterilmiştir (297).

Galantaminin, hem açıl bağlanma cebi, hem de anyonik bölgesi ile etkileşerek AChE'nin aktif bölgesine bağlandığı belirlenmiştir. Galantaminin tersiyer amin grubunun, enzimin anyonik bölgesindeki Trp84 ve Phe330 amino asit artıkları ile bir su köprüsü vasıtasıyla etkileştiği de saptanmıştır (298). Galantamin diğer AChE inhibitörleriyle kıyaslandığında daha zayıf AChE inhibisyonu yapmakta, buna karşın takrine kıyasla daha az toksisite göstermektedir. Ayrıca A β tarafından indüklenen hücre ölümünü de önlediği rapor edilmiştir (299). Karaciğerdeki CYP izoenzimleri yoluyla metabolize olmaktadır. Bu nedenle serebrovasküler hastalığı olan veya olmayan hafif-orta Alzheimer hastalarının tedavisinde etkili ve güvenlidir (5).

2.6.2. Kullanımı Kabul Edilen Diğer AChE İnhibitörü Bileşikler

2.6.2.1. Huperzin A ve Huperzin B



IC_{50} = 0.065 μ M rAChE, 74 μ M rBuChE (Huperzin A) (300)

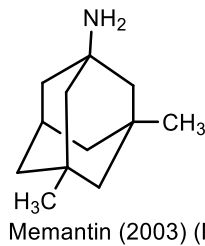
IC_{50} = 14.3 μ M rAChE, 214 μ M rBuChE (Huperzin B) (301)

Şekil 18. Huperzin A ve B bileşikleri

Huperzin A ve Huperzin B geleneksel *Likopodium* türlerinin bir üyesi olan *Huperzia serrata* adlı bitkisel tedavide kullanılan bir Çin bitkisinden izole edilmiş alkaloidlerdir. Yaşlı Alzhiemer hastalarında ve kobaylarda belirgin bir hafıza artışına sebep olmuşlardır. Her iki alkaloid de potent reversibl AChE inhibitörleridir (302). Huperzin A'nın BuChE üzerinde neredeyse hiç etki göstermeyen oldukça selektif ve reversibl bir AChE inhibitörü olduğu rapor edilmiştir. Huperzin A (26) AChE inhibisyonunda huperzin B (27)'den daha güçlü bulunmuştur ancak, Huperzin B huperzin A'ya kıyasla daha yüksek terapötik indekse sahiptir. Huperzin A'nın üstün inhibisyon özellikleri, enzimden çok yavaş dissosiyasyonuna ve uzun etki süresine sahip olmasına bağlanmıştır (303). AChE'nin açıl bağlanma bölgesine bağlandığı ve amino grubunun anyonik bölgedeki Trp84 ve Phe330'un aromatik halkaları ile etkileştiği rapor edilmiştir (304). Huperzin A Çin'de Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılan ilaçlar arasında yer almaktadır.

2.6.3. FDA Tarafından Onaylanmış NMDA Reseptör Antagonistleri

2.6.3.1. Memantin (Namenda®)



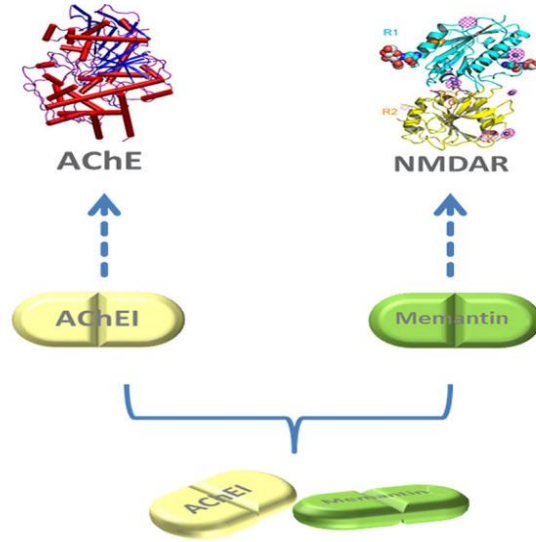
Memantin bileşigi orta ila ileri derecede Alzheimer hastalığının tedavisi için kullanılan, glutamatın aracılık ettiği eksitotoksisiteyi önleyebilen glutamat NMDA reseptörünün bir antagonistidir. FDA tarafından 2003 yılında onaylanan ve piyasaya ulaşmış tek NMDA reseptör antagonistidir.

2.6.4. FDA Tarafından Onaylanmış AChE İnhibitörü ve NMDA Reseptör Antagonist Kombine Tedavisi

2.6.4.1. Donepezil+Memantin (Namzaric®)

Kolinerjik ve glutamaterjik sistemleri etkileyen ilaçların bir kombinasyonu git gide önem kazanmaktadır (Şekil 15) (305). Bu yaklaşımın temelini, AChEI'nin hayatta kalan nöronları stimule ederek bellek ve bilişini düzeltirken, NMDA reseptör antagonisti bileşigin nörodejenerasyonu azaltması oluşturur. Buna ek olarak, glutamaterjik ve kolinerjik nöronal sistemlerin birbirlerini etkilediği ortaya konmuştur (306). Aşırı NMDA reseptör aktivasyonu, Alzheimer'daki kolinerjik nöronların dejenerasyonunun altında yatan süreçler ile ilişkilendirilmiştir (307). Bazal önbeyindeki bazı 'kolinerjik' nöronlar, hem ACh hem de glutamatı salgılamaktadır (308). Sonuç olarak, Alzheimer'ın bu iki patolojik yönünü ele almak, sinerjik veya ilave bir terapötik sonuca yol açabilecek oldukça mantıklı bir yaklaşımdır.

Adamas Pharmaceuticals, yakın tarihte memantin ve kolinesteraz inhibitörü donepezilin kombinasyonunu içeren bir kontrollü salım formülasyon geliştirmiştir ve bu formülasyon 2014 Aralık ayında FDA tarafından onaylanmıştır. Günde bir kez sabit doz kombinasyon ürünü olup, halihazırda donepezil kullanan hastalara kombinasyon tedavisi sunmak için tasarlanmıştır (309).



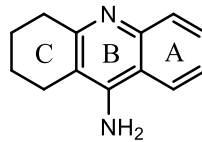
Şekil 19. Donepezil+memantin kombine tedavi yaklaşımı (310)

2.6.5. AChE İnhibitörü Bileşikler Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Alzheimer hastalığı için çeşitli doğal, yarısentetik ve sentetik türevler sentezlenmiştir. Alzheimer hastalığı tedavisinde kullanılmak üzere, çalışmalar FDA onaylı ilaçların yüksek etkinlikli ve aktif türevlerinin tasarımı üzerine yoğunlaşmıştır (105). Bu bileşikler ve analogları aşağıda sınıflandırılmıştır.

2.6.5.1. Takrin Analogları

Takrinin yapısını oluşturan tetrahidroakridin halka sistemindeki 4-aminopiridil parçasının güçlü aktivite için önemli olduğu bulunmuştur (Şekil 20). Heterosiklik halka modifikasyonları ve 4-amino substitüsyonları olarak kategorize edilebilen modifikasyonlar 4-aminopiridil parçasının korunmasıyla yapılmıştır (105).



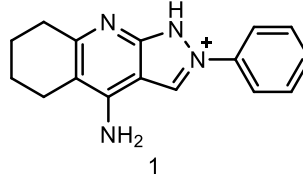
Şekil 20. Takrin bileşiğinin A, B, C bölümleri

2.6.5.1.1. Beş Üyeli Heterosiklik Halka Türevleri

A halkası ya da C halkasında modifikasyon yapılmıştır.

2.6.5.1.1.1. Sübstütie Pirazol Türevleri

Bu türevler, takrin çekirdeğinin A halkasının sübstütie pirazol halkasıyla değıştirilmesine, yapısal olarak 1,2,3,4-tetrahidroakridin sisteminde yer alan kinolin halkasının da pirazolo[3,4-*b*]piridin sistemi ile biyoizosterik yer değışikliğine dayanarak planlanmıştır (**311**). 3 konumunda bir fenil grubu taşıyan 1 nolu bileşik, en iyi aktiviteyi göstermiştir (Şekil 21).

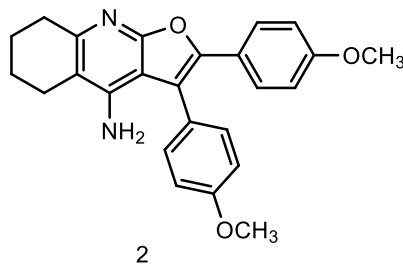


IC₅₀= 6.01 μ M total rChE, 31.9 μ M rBuChE

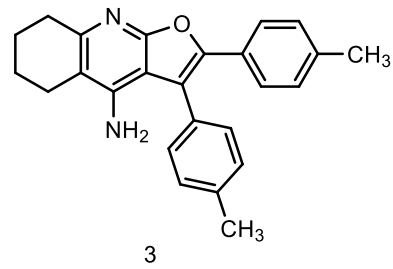
Şekil 21. 3-Sübstütie pirazol türevi bileşik

2.6.5.1.1.2. Furan Türevleri

Bu türevler, A halkasının sübstütie furan halka sistemleri ile değıştirmesiyle oluşturulmuştur. Yeni türevler, AChE'ye karşı yüksek derecede selektiviteye sahip AChE inhibitör potansiyeli göstermişlerdir. 2 ve 3 nolu bileşikler (Şekil 22) en iyi aktiviteye sahip olan türevler olarak rapor edilmiştir (**311**).



IC₅₀= 0.38 μ M boAChE



IC₅₀= 0.46 μ M boAChE

Şekil 22. Furan türevi bileşikler

2.6.5.1.1.3. Tiyeno Türevleri

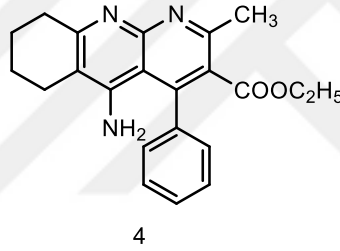
Halka A'nın sübstitüe tiyofen halkasıyla değiştirilmesi sonucu bir grup yeni bileşik elde edilmiş ve AChE'ye karşı inhibitör etkileri test edilmiştir. Ancak bu bileşiklerin AChE'ye karşı çok az inhibitör aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (**311**).

2.6.5.1.2. Altı Üyeli Sübstitüe Heterosiklik Halkalı Türevler

A halkası, sübstitüe altı üyeli heterosiklik halkalar ile değiştirilmiştir.

2.6.5.1.2.1. Piridin Sübstitüe Türevler

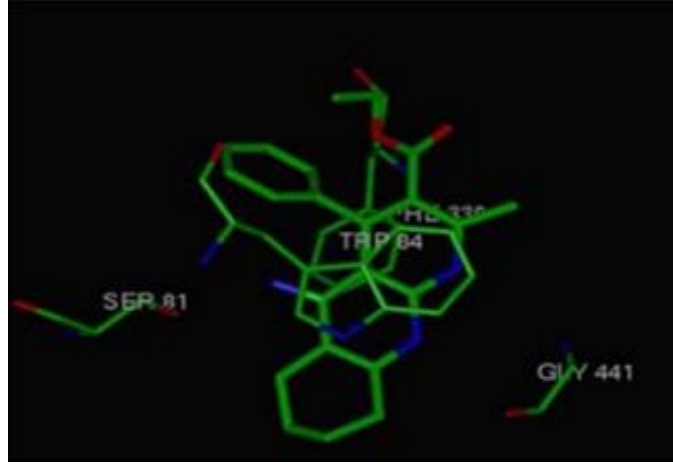
Bu bileşik serisinde hem A hem de C halkasında modifikasyon yapılmış, yani takrinin A halkasının sübstitüe piridin ile değiştirilmesi ve takrinin C halkasının büyütülmesi ile oluşturulmuştur. Sentezlenen türevlerden 4 nolu bileşik (Şekil 23) en yüksek AChE inhibitör aktivitesi gösteren türev olarak bulunmuştur (**301, 302**).



IC₅₀= 0.82 μ M *eel*AChE, 5.0 μ M *hsBu*ChE

Şekil 23. Sübstitüe piridin türevi bileşik

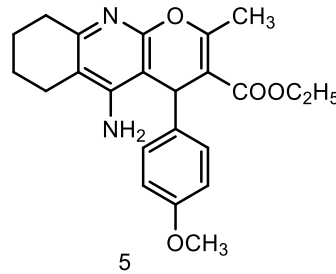
4 nolu bileşiğin moleküler modelleme çalışmalarında, ester yapısı bulunan yan zincirin sterik engel oluşturması nedeniyle Trp84 ve Phe330 amino asit halkaları arasından geçemeyerek enzim çukuruna tam olarak yerleşemediği ve bu yüzden takrin yapısındaki azot atomu ile His440 amino asitindeki karbonil (C=O) grubu arasındaki etkileşimin oluşmadığı sonucuna varılmıştır (Şekil 24). Bu durum AChE inhibitör aktivitesinin takrine kıyasla yaklaşık 4 kat daha az olmasını açıklamaktadır.



Şekil 24. Moleküler dinamik simülasyonlarından elde edilen bileşik 4'e ait AChE enzimi ile etkileşim modeli.

2.6.5.1.2.2. Sübstitüe Piran Türevleri

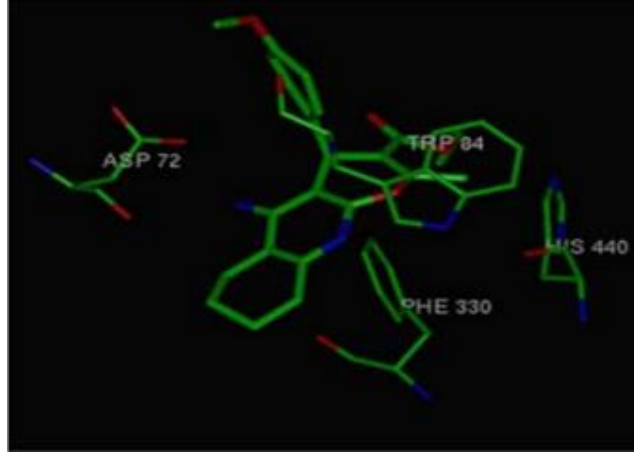
Bu türevler, takrinin A halkasının sübstitüe piran ile değiştirilmesiyle oluşturulmuştur. Sentezlenmiş çeşitli sübstitüe piran türevlerinden 5 numaralı türev (Şekil 25) en yüksek AChE inhibitör potansiyeli göstermiştir (312).



IC₅₀ = 0.87 μ M *ee*lAChE, 6.2 μ M *hs*BuChE

Şekil 25. Sübstitüe piran türevi bileşik

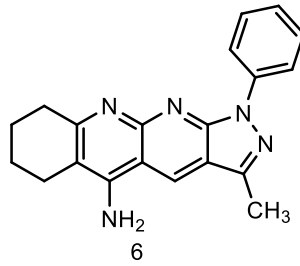
5 nolu bileşiğin moleküler modelleme çalışmalarında, 4 nolu bileşiğe benzer şekilde ester yapısı bulunan yan zincirin sterik engel oluşturmasının yanı sıra metoksibenzen yapısının da sterik engel oluşturması nedeniyle AChE inhibitör aktivitesi takrin bileşiğine kıyasla daha az bulunmuştur (Şekil 26).



Şekil 26. Moleküler dinamik simülasyonlarından elde edilen 5 nolu bileşiğe ait AChE enzimi ile etkileşim modeli.

2.6.5.1.3. Kaynaşmış Heterosiklik Halkalı Analoglar

Bu türevler, takrinin A halkasının kaynaşmış heterosiklik halkalarla değiştirilmesiyle elde edilmiştir. Bu grup içerisinde pirazolo[3,4-*b*]piridin halka sistemi içeren 6 nolu bileşik (Şekil 27) AChE'ye karşı en yüksek inhibitör potansiyel sergileyen türev olmuştur. Bunun yanında bu türev AChE enzimine karşı BuChE enzimine kıyasla 21 kat daha selektif bulunmuştur (313).



IC₅₀= 6.39 µM total rChE, 134 µM rBuChE

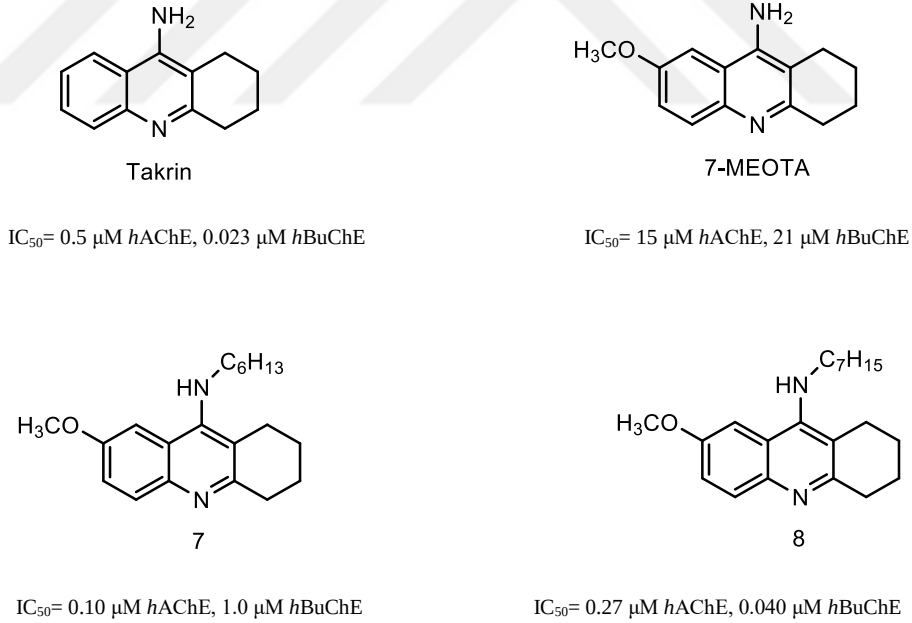
Şekil 27. Pirazolo[3,4-*b*]piridin türevi 6 nolu bileşik

6 nolu bileşik ile yapılan moleküler dinamik çalışmalarından Trp84'ün karbonil oksijen atomu ile bileşiğin N-H grubu arasındaki hidrojen bağının yanısıra Trp84'ün indol halkası ile bileşiğin siklohekzan halkası arasında van der Waals etkileşimlerinin meydana geldiği sonucuna varılmıştır.

2.6.5.1.4. Yakın Tarihte Geliştirilen Sentetik Takrin Analogları

İlk geliştirilen AChE inhibitörü takrin, doza-bağımlı reversibl karaciğer toksisitesine sebep olmuştur. 7-metoksitakrin (7-MEOTA) ise farmakolojik olarak takrine eşit ama takrinden daha az toksisiteye sahip olan bir analogudur (314). Korabecny ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada 14 adet 7-MEOTA analogu sentezlenmiştir. Bu yeni analogların *in vitro* ortamda değerlendirilmesi sırasında *h*AChE ve *h*BuChE kullanılmıştır. Bu bileşikler takrin ve 7-MEOTA bileşikleriyle kıyaslanmış ve bazı türevlerin daha yüksek aktivite sergilediği saptanmıştır (Şekil 28) (314).

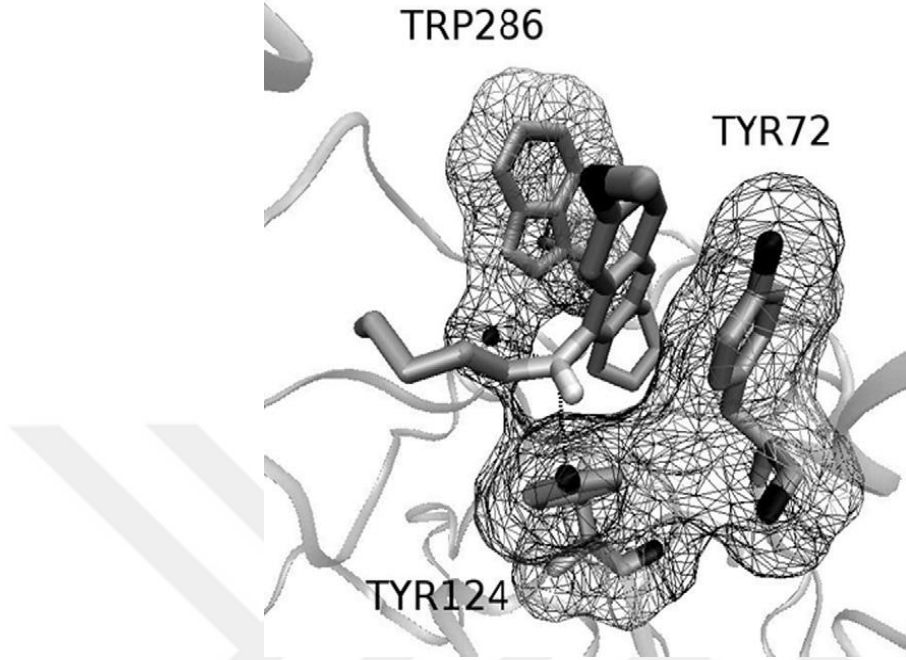
Yapı aktivite çalışmaları incelendiğinde, takrin bileşiğinin 7 konumuna metoksi sübstitüentinin girişi aktiviteyi azaltmakla beraber takrinin toksisitesini tolere edilebilir sınırlara düşürmüştür. Aromatik aminin alkilasyonu ile ise C₂-C₄ ve C₁₀-C₁₅ zincir uzunlukları aktiviteyi azaltırken, C₅-C₉ arasındaki zincir uzunlukları aktiviteyi artırmıştır. Bu bileşiklerden de heksil zinciri taşıyan 7 nolu bileşik en iyi AChE inhibitörü olarak, heptil zinciri taşıyan 8 nolu bileşik ise en iyi BuChE inhibitörü olarak sonuç vermiştir. 7 nolu bileşik aynı zamanda AChE inhibitör etkisi bakımından en selektif bileşiktir.



Şekil 28. Takrin, 7-MEOTA ve türevleri

*m*AChE (*mouse* AChE) enzimi ile yapılan modelleme çalışmaları da bu bulguları desteklemektedir. 6 karbonlu alkil sübstitüsyonu olan 7 nolu bileşik enzim çukuruna tam olarak yerleşebilmiş ve enzimin PAS yöresindeki Trp286 ve Try72 amino asit artıkları ile π -

π etkileşimi yapabilmiştir (Şekil 29). 2-4 karbonlu alkil süstitüsü olan bileşikler bunun için kısa, 10-15 karbonlular ise uzun gelmiş ve bu etkileşimler gerçekleşmemiştir.

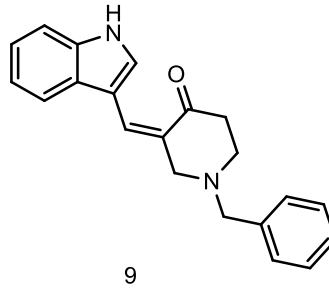


Şekil 29. 7 nolu bileşiğin mAChE enzimi ile yapılan moleküler modelleme çalışması

2.6.5.2. Donepezil Analogları

2.6.5.2.1. Benzilpiperidinon Süstitüe Türevler

Bu türevler, donepezilin indanon yapısının süstitüe indol veya pirol halkasıyla değiştirilmesiyle elde edilmiştir. 9 nolu bileşik (Şekil 30), 8 μ M lık bir IC₅₀ değeriyle AChE enzimini inhibe etmiştir (315).



9

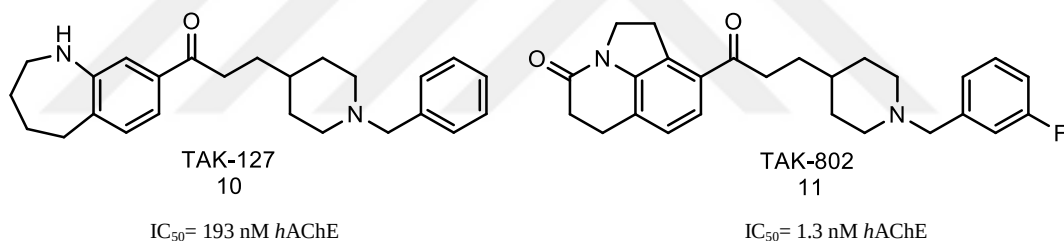
IC₅₀= 8 μ M AChE

Şekil 30. Benzilpiperidinon süstitüe türevi bileşik

9 nolu bu bileşik hem takrinden hem de donepezilden daha düşük bir AChE inhibitör aktivitesine sahiptir. Yapılan moleküler modelleme çalışmaları ışığında bunun sebeplerinden biri bileşiğin indol halkasının donepezilin indanon halkasından farklı yönelmesinden dolayı Trp279 kalıntısı ile olan etkileşiminin kaybolması olabilir. Düşük AChE inhibitör aktivitesinin diğer bir nedeni, bağlanma bölgesine ulaşmak için AChE enzim çukuruna yerleşmesini engelleyebilecek olan 3-[(4-oksopiperidin-3-iliden)metil]indol iskeletinin kısmi rijitliği olabilir.

2.6.5.2.2. TAK-147 ve TAK-802 Kodlu *N*-Benzilpiperidin Türevleri

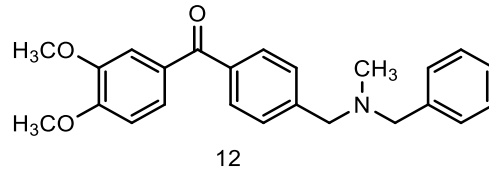
TAK-147 (10) ve TAK-802 (11) kodlu bileşikler geliştirilmiştir (Şekil 31). Yapılan ilk SAR çalışmaları, TAK-147 bileşiğinin yapısına ek bir halkanın girmesinin iki halkalı türevlere kıyasla biyolojik aktivitenin 10 ila 100 kat artmasına neden olduğu görülmekte olup, diğer süstitüsyonlara nazaran hidroksi ve floro gruplarının fenil halkasına süstitüe olması da aktiviteyi olumlu etkilemiştir (316).



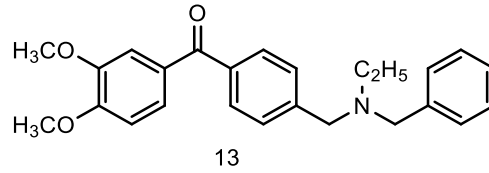
Şekil 31. TAK-127 ve TAK-802 kodlu donepezil türevi bileşikler

2.6.5.2.3. Benzofenon Türevleri

Bu bileşikler bir aromatik yapı ile bir tersiyer amin grubunu çeşitli ara zincirler vasıtasıyla birbirine bağlayan türevlerden oluşmaktadırlar. Örneğin, aromatik yapı olarak benzofenon çekirdeği ve tersiyer amin yapısı olarak *N,N*-benzilmetilamin seçilmiştir. 12 ve 13 nolu bileşiklerin (Şekil 32) yüksek derecede AChE inhibitör potansiyeline sahip olduğu saptanmıştır (317).



IC₅₀= 0.46 μ M *hAChE*, 60.6 μ M *hBuChE*

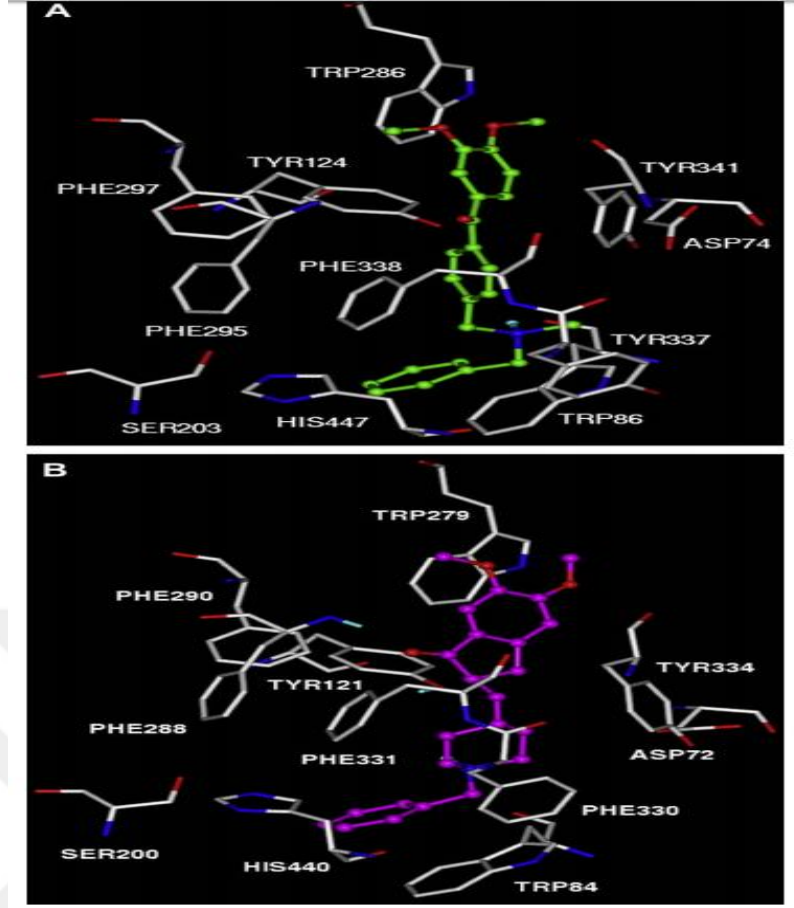


IC₅₀= 0.57 μ M *hAChE*, 71.5 μ M *hBuChE*

Şekil 32. Benzofenon türevi bileşikler

Bu çalışmada azot atomundaki benzil grubunun korunmasının inhibitör aktivite için vazgeçilmez bir gereklilik olduğu kanıtlanmıştır. Hem sübstütentlerin bulunmasına hem de molekülün uzamasına bağlı olarak sterik engelin artması, bu parçanın AChE enzim çukurunun tabanını tamamen doldurmasını engellediği varsayılmıştır. Azot atomuna küçük bir alkil grubunun (metil veya etil) yerleştirilmesi, enzimin orta bölgesinin hidrofobik özelliğinin önemini düşündüren uygun bir sonuç vermiştir. Ek olarak, 3,4-dimetoksifenil grubunun, biyolojik aktivite için önemli olduğu kanıtlanmıştır, çünkü 3-metoksi grubunun çıkarılmasıyla elde edilen basitleştirme, inhibitör aktiviteyi olumsuz etkilemiştir.

Moleküler modelleme çalışmalarına göre 12 nolu bileşik ile *hAChE* enzim çukuru boyunca bulunan aromatik kalıntılar arasında bazı aromatik ve hidrofobik etkileşimler tespit edilmiştir. Olası bir etkileşim benzofenon yapısının karbonil oksijeni için tespit edilmiş; bazı doking pozları Phe295 iskeletiyle bir hidrojen bağının kurulması için doğru mesafeye yerleştirilmiştir. Bununla birlikte, bu bileşik *hAChE*'de bulunan PAS'in anahtar amino asiti Trp286'ya düzgün şekilde erişememiştir. Bu, donepezile kıyasla daha düşük etkinliğe sahip olmasının olası bir açıklaması olabilir. Donepezilde bu etkileşim daha iyi görünmektedir (Şekil 33).



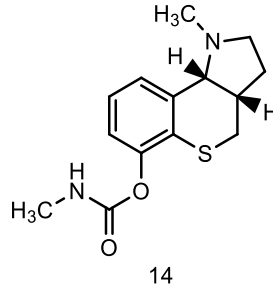
Şekil 33. (A) *hAChE* enzimi ile 12 nolu bileşiğin (yeşil) modellemesi, (B) *TcAChE* ve donepezil (mor) arasındaki X-ray kompleksi.

2.6.5.3. Karbamat Türevleri

2.6.5.3.1. Rivastigmin Analogları

2.6.5.3.1.1. Rivastigmin-5-tiya-1-azasiklopenta[*a*]naftalen Türevleri

Rivastigmin bileşiğinin 5-tiya-1-azasiklopenta[*a*]naftalen-karbamat türevi 14 nolu bileşik (Şekil 34) nanomolar düzeyde rivastigmin bileşiğinden 192 kat daha yüksek inhibitör aktivite göstermiştir. Metil zincirinin etil zinciri ile değiştirilmesi AChE inhibitör aktiviteyi 14 ila 23 kat azaltmaktadır. Karbamoil azotuna bağlı alkil süstitüenti aktivite profilini belirlemektedir. Karbamoil yapısındaki metil grubunun 1-feniletıl süstitüenti ile değiştirilmesinin hem AChE, hem BuChE inhibitör aktivitesinde ciddi şekilde azalmaya yol açtığı saptanmıştır (318).



IC₅₀= 8.11 nM hAChE, 10.5 nM hsBuChE

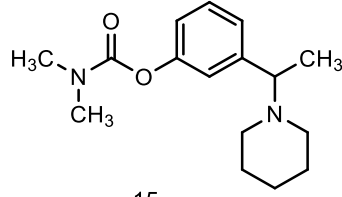
Şekil 34. Rivastigmin bileşiğinin 5-tia-1-azasiklopenta[a]naftalen türevi bileşik

Yapı aktivite çalışmalarına göre, oksijen veya karbon atomunun yerine kükürt atomunun girişi AChE ve BuChE inhibisyon aktivitesini bir miktar artırmıştır ve kükürt atomunun Trp86'nın (AChE) aromatik kısmı ve Trp82 (BuChE) ile bir etkileşiminin olduğunu düşündürmüştür.

AChE/BuChE seçiciliğinin olmaması, inhibitörlerin daha önce bildirilen bir tiyoflavin T florometrik testte AChE'nin Aβ'ye yönelik proagregasyon etkisini engellemede zayıf olduğu bulgusu ile tutarlıdır. Bileşikler enzim aracılı Aβ agregasyonunda önemli bir rol oynayan AChE'nin periferik anyonik bölgesi (PAS) ile güçlü bir şekilde etkileşim kuramamaktadır.

2.6.5.3.1.2. Fenilkarbamatlar

Yapı olarak rivastigmine benzerliğinden dolayı fenilkarbamatların *in vivo* ve *in vitro* biyolojik aktiviteleri incelenmiştir. Bu bileşikler arasında en yüksek aktiviteye sahip olan 1-[1-(3-dimetilkarbamoiloksifenil)etil]piperidin (15) bileşiğidir (Şekil 35). Bu bileşikte karbamat karbonu ile piperidin azotu arasındaki mesafe asetilkolindekine oldukça yakındır. Bu mesafenin aktivitede kritik olduğu sonucuna varılabilir. *Meta* süstitüe türevlerin kolinesterazları, *orto* süstitüe türevlerden daha güçlü bir şekilde inhibe ettiği tespit edilmiştir. Metilen köprüsüne bir metil süstitüe edilmesi aktiviteyi olumlu etkilemiştir. 15 nolu bileşik, dozlamadan 2 saat sonra iyi derecede AChE inhibisyonu sergilemiş ve tedavi sonrası 3 saat hala aktivite göstermeye devam etmiştir (319).



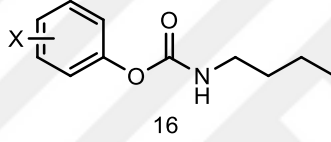
15

IC₅₀= 7.0 nM rAChE, 8.0 nM rBuChE

Şekil 35. Fenilkarbamat türevi bileşik

2.6.5.3.1.3. Sübstüüfenil-N-butil Karbamatlar

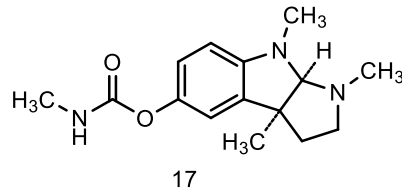
16 nolu bileşik (Şekil 36) AChE enziminin PAS yöresini etkin ve irreversibl olarak inhibe edebilmektedir (320).



16

Şekil 36. Sübstüüfenil-N-butil karbamat türevi bileşiklerin genel yapısı

2.6.5.3.2. Fizostigmin ve Analogları.



17

IC₅₀= 28 nM hAChE, 16 nM hsBuChE

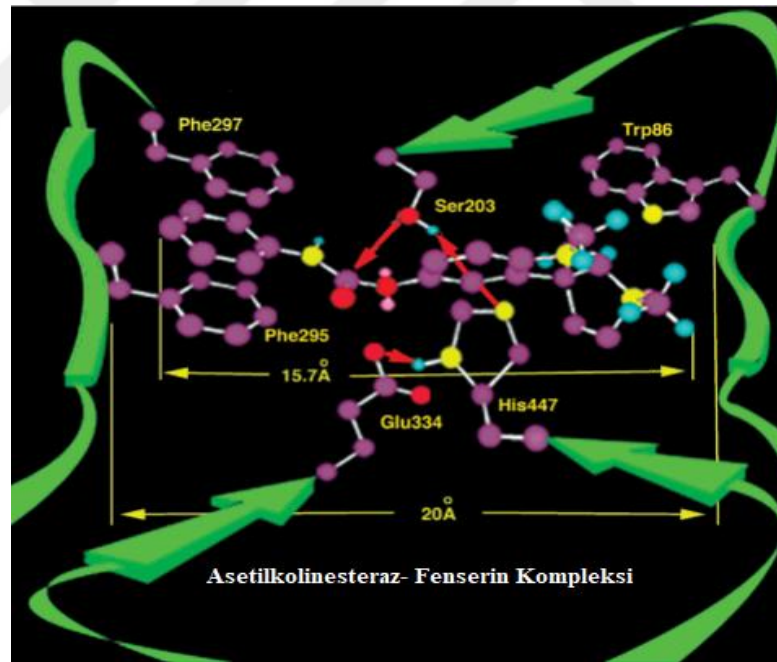
Şekil 37. Fizostigmin bileşiği

Alzheimer tedavisi ilk olarak 1890 başlarında ilk AChE inhibitörü olan salisilat veya sülfat tuzu olarak fizostigmin (17, Şekil 37) kullanılarak başlatılmıştır (311, 312). Fizostigmin, Fizostigma venenosumdan izole edilen AChE inhibitör aktivitesine sahip bir alkaloiddir. Fizostigmin, kan-beyin bariyerini geçme kabiliyeti açısından avantajına rağmen kısa yarılanma ömrü, dar terapötik indeks ve periferik yan etkileri nedeniyle çelişkili klinik

etkinlik göstermiştir (323). Fizostigmin, aynı zamanda BuChE inhibitörüdür. Bu nedenle, bulantı, kusma, baş dönmesi, baş ağrısı ve diyare gibi bazı yan etkilerinin BuChE inhibisyonu kaynaklı olabileceği düşünülmüştür (324). Bu yan etkilerin azaltılması veya giderilmesi ve etki süresinin uzatılması için çeşitli türevleri hazırlanmaya çalışılmıştır. Bunun sonucunda rivastigmin analoglarında olduğu gibi karbamat yapısına sahip fenserin (18), tolserin (19) ve genserin (20) gibi ekstra lipofilik fizostigmin analogları elde edilmiştir (Şekil 39, 40) (325–327).

Fenserin bileşiği fizostigminin nonsubstitüefenil karbamat türevidir. Dual etkiye sahiptir: A β prekürsör proteinini azaltır ve reversibl AChE inhibisyonu yapar. AChE'ye karşı BuChE'den 70 kat daha selektiftir. 2003 ila 2004 yıllarında Faz III klinik çalışmalarına başlanmıştır.

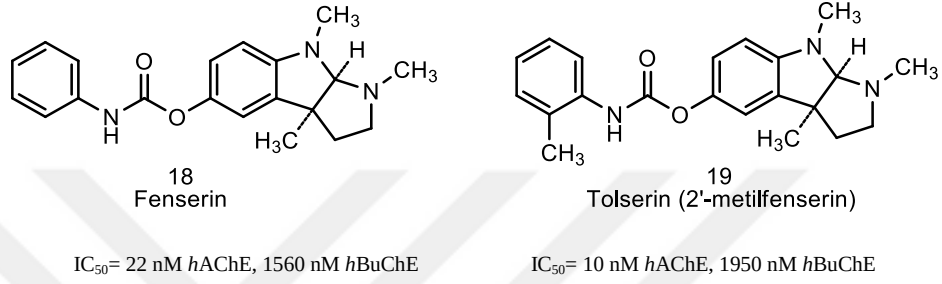
Bu bileşik enzime asetilkolin ile aynı şekilde bağlanır (Şekil 38) ve allosterik bir modülasyonla enzimin konformasyonunu değiştirir ve ligandın enzim çukuruna girişini engeller (21).



Şekil 38. hAChE-fenserin bileşiği kompleksi

Fenserin bileşiği üzerinde yapılan modifikasyonlarda fenilkarbamoil yapısında 2-metil sübstütüsyonu bulunmasının aktiviteyi artırdığı görülmüştür. Böylece diğer bir fizostigmin analogu bileşik tolserin elde edilmiştir. Tolserinin yapısal analoglarının, fizostigmin ve fenserine kıyasla hAChE enzimine karşı daha yüksek bir inhibisyon gösterdiği belirlenmiştir.

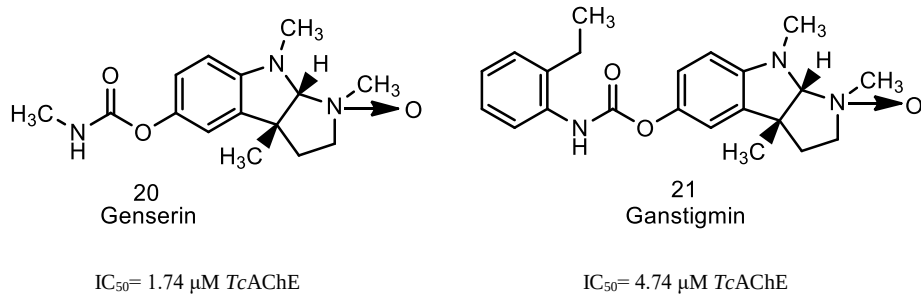
Preklinik çalışmaları 2000 yılında başlatılmış ve çalışmalar sonucunda *hAChE*'ye karşı *hBuChE*'den 200 kat daha selektif olduğu gösterilmiştir (329). Bu grup içerisinde fenil halkasının farklı pozisyonlarında bir, iki veya üç metil grubu taşıyan fenserin türevleri de sentezlenmiştir. Mono-süstitüe türevler grubunda, 2-metil süstitüenti taşıyan 19 nolu bileşiğin (Şekil 39) en aktif ve selektif AChE inhibitörü olduğu tespit edilmiştir. Disüstitüefenil halkası taşıyan bileşikler AChE selektivitesi bakımından benzer aktiviteye sahipken, trisüstitüe türevleri inaktif bulunmuştur (330).



Şekil 39. Fenserin ve tolserin bileşikler

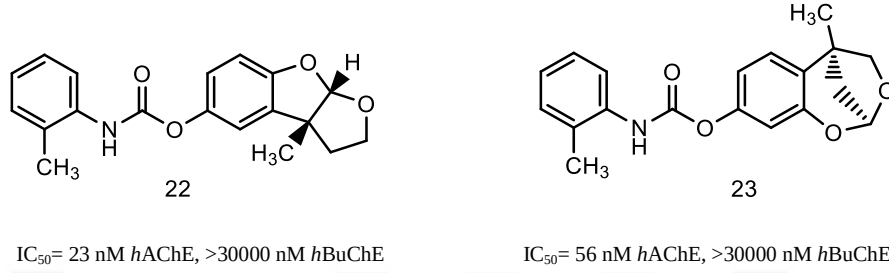
Bunun dışında, karbamoil azot atomuna bağlı süstitüe fenil halkası içeren bazı genserin (20) türevleri sentezlenmiştir (331). Bu türevler içerisinde 21 nolu ganstigmin bileşiğinin serinin en aktif bileşiği olduğu belirlenmiştir (Şekil 40).

Ganstigmin bileşiğinde 2 konumuna süstitüe edilen etil zincirinin enzimin tabanındaki aktif yörede bulunan amino asit artıklarıyla sarılmasını kolaylaştırdığı ve sterik etkiyle hidrolizini geciktirdiği düşünülmektedir. Bundan dolayı bu bileşiğin etki süresi uzamış ve 6 saatin sonunda hala AChE inhibisyonu yapabilmıştır (331).



Şekil 40. Genserin ve türevi ganstigmin bileşiği

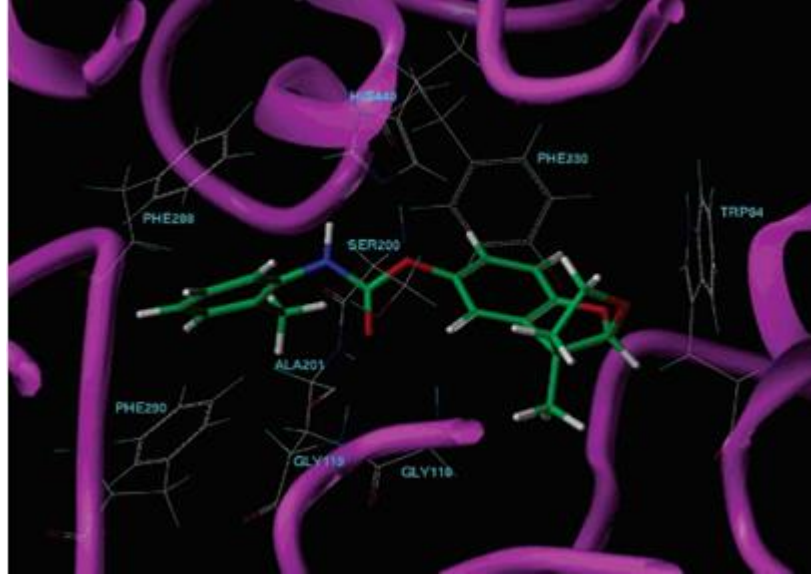
Ayrıca bir başka çalışmada, tetrahidrofurobenzofuran enantiyomerleri ve metanobenzodioksepinlerin AChE inhibitör aktiviteleri de değerlendirilmiştir (292). (3aS)-tetrahidrofurobenzofuranlardan 22 nolu ve (5S)-metanodioksepinlerden 23 nolu bileşiklerin nanomolar düzeyde sergiledikleri inhibisyonla selektif güçlü AChE inhibitörü oldukları gösterilmiştir (Şekil 41).



Şekil 41. (3aS)-Tetrahidrofurobenzofuran türevi (22) ve (5S)-metanodioksepin türevi (23) bileşikler

Bu bileşiklerden 22 kodlu türev ile AChE arasındaki hidrojen bağlarını ve diğer etkileşimleri değerlendirmek için TcAChE ile modelleme çalışması yapılmıştır (Şekil 42).

Karbamat N-H'ı, katalitik üçlü bölgesindeki His440 ile etkileşmektedir. Katyonik olmayan trisiklik yapı hidrofobik etkileşimlerle bağlanma enerjisi kazanan Trp84 ve Phe330 hidrofobik amino asit artıkları ile kaplı anyonik bölgeye yönlendirilmektedir. Bileşik 22'nin o-tolil grubu, aktif bölgeye Phe288 ve Phe290 hidrofobik artıklarının arasına bağlanır ve bu amino asitlerle olan etkileşim aynı zamanda molekülün AChE seçiciliğini açıklamaktadır (323, 324).

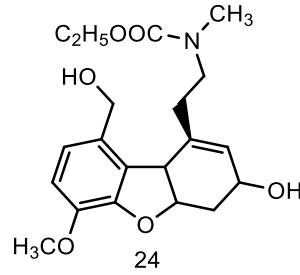


Şekil 42. 22 nolu bileşik-*TcAChE* kompleksi

2.6.5.4. Galantamin Analogları

2.6.5.4.1. Açık D-Halkalı Galantamin Analogları.

Yeni optik olarak saf açık D-halkalı galantamin analogları sentezlenmiştir. Bu bileşikler ana bileşik galantaminden daha düşük etkili bulunmuştur. BuChE enzimine daha selektif olmasının daha hacimli grupların katalitik yoresi ile daha iyi etkileşebilmesi nedeniyle olabileceği düşünülmektedir. Türevler arasında en aktif inhibitörün 24 nolu bileşik (Şekil 43) olduğu bildirilmiştir (**332**).

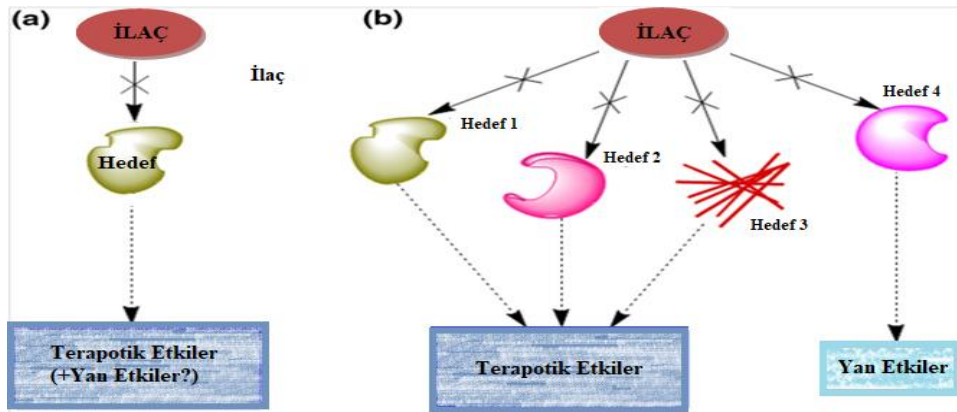


IC_{50} = 580 μ M *ee*AChE, 216 μ M *hs*BuChE

Şekil 43. Açık D-halkalı galantamin türevi bileşik

2.6.6. Alzheimer’de Çok-Hedefe Yönlendirilmiş Ligand Stratejisi

Alzheimer hastalığı kompleks bir patogeneze sahip çok etkenli bir hastalık olarak bilinir. “Bir molekül-bir-hedef” modeline dayanarak Alzheimer hastalığını tedavi etmek için ilaç geliştirmedeki güncel eğilim, günümüzde iyileştirici olmaktan ziyade palyatif hale gelmiştir. AH’nin oluşumu ve ilerlemesinde birden fazla moleküler mekanizma yer aldığından, AH’nin tedavisi üzerine ilaç geliştirme çalışmalarında, tek molekül-tek hedef stratejisinden çok, tek molekül-çok hedefe yönelik moleküllerin keşfi daha akılcı bir yaklaşım olarak görülmektedir. Bu nedenle, nörotoksik kaskadın farklı evrelerinde etkili olan ilaç kombinasyonları Alzheimer ve diğer nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde yeni ufuklar sunmaktadırlar (333). Bu bağlamda, medisinal kimyada yeni bir örnek oluşturan, çok sayıda hedefi aynı anda yüksek etkinlik ve güvenlik profili ile modüle eden yeni moleküllerin geliştirilmesini amaçlayan yeni bir ilaç tasarımı yaklaşımı ortaya çıkmaktadır. “Çok-hedefe yönlendirilmiş ligand” (MTDL) tasarımı, Alzheimer alanında ve diğer çeşitli hastalıklarda yapılan araştırmalarda etkin biçimde kullanılmaya başlanmıştır (327, 328). MTDL tasarım stratejisinde, tek bir ilaç molekülü, hastalık patolojisinde yer alan çeşitli hedefleri tanıyabilir. Dolayısıyla, bu tür ilaçlar, çok etkenli hastalıkların tedavisi için büyük ölçüde etkilidir. Aynı zamanda, hastalıkta rol oynamayan diğer hedeflere de bağlanabileceği için tek hedefe yönelmiş ilaç molekülleri yan etkilerden de sorumlu olabilir (Şekil 44).

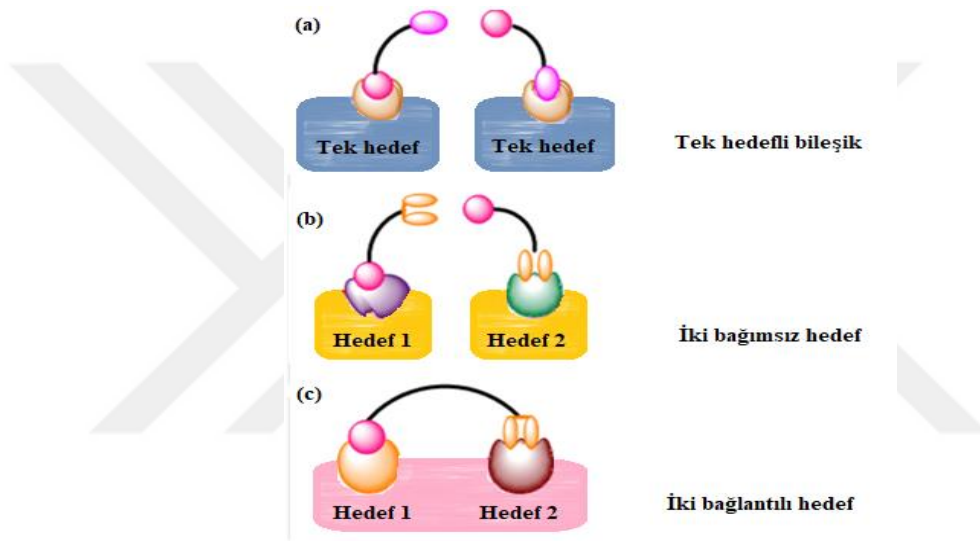


Şekil 44. Yeni ilaçların keşfedilmesine giden yollar: a) Hedefe dayalı ilaç keşfi yaklaşımı, yani bir molekül-bir hedef yaklaşımı ve b) İlaç keşfinde MTDL yaklaşımları

Araştırmacılar, aynı hedefe yönelik yan etkileri olmayan aynı patolojide yer alan farklı hedeflerle eş zamanlı olarak etkileşime giren hibrit moleküllerin tasarımını hedeflemişlerdir. Bu çok işlevli hibrit moleküller, AH’nin patogenevizinden sorumlu çok sayıdaki yolağa tek bir molekülle, yani hibrit molekül ile, aynı anda hedeflenerek tasarlanabilir (329, 330). Hibrit

moleküller, bir molekülde kovalent bağlanmış iki veya daha fazla yapısal fragmana ve biyolojik fonksiyonlara sahip kimyasal yapılardır. Hibrit moleküller, bir moleküler birleştirmeden oluşur, bu birleştirmede farklı ilaçların farklı farmakoforları mevcuttur. Her ilacın farmakoforu, hedefler üzerindeki spesifik yöreler ile etkileşime geçme potansiyelini korumaktadırlar ve böylece çok unsurlu hastalıkların tedavisini kolaylaştıracak çeşitli spesifik farmakolojik yanıtlar alınabilmektedir. Ayrıca ilaç-ilaç etkileşimlerini azaltması ve farmakodinamik ve farmakokinetik çalışmaları basitleştirmesi beklendiğinden AH'nin tedavisinde hibrit moleküllerin avantaj sağlayacağı düşünülmektedir (333).

Bu moleküller, etki mekanizmalarına göre üç farklı kategoriye ayrılmıştır (Şekil 45).



Şekil 45. Hibrit moleküllerin üç olası etki mekanizmasının şematik gösterimi

Kategori 'A', hibrit molekülün her iki kimyasal bileşeninin de etkileşime girdiği tek bir hedefe sahiptirler ve bu hibritlerin hedef üzerinde benzer dual etkileri vardır.

Kategori 'B', iki farklı ve birbiriyle ilişkili olmayan hedef üzerinde ayrı ayrı işlev gören hibrit molekül iki kimyasal bileşenden oluşmaktadır. Örneğin fluoksetin ve rivastigminin esinlenilen AChE-SERT hibritleri, Alzheimer hastalığını tedavi etmek için tasarlanmış olup sırasıyla AChE ve serotonin reseptörlerini inhibe ederler (Şekil 46). Bu hibrit bileşikler, bir bağlayıcı (linker) görevi gören yaygın etilamin ara zinciri kullanılarak tasarlanmıştır (338).

2.6.6.2. Alzheimer Tedavisi İçin Tasarlanan MTDL Hibrit Moleküller

30 yıldan daha kısa bir süre sonunda, nörodejenerasyonun patogenezi hakkında önemli bir yol kat edilmiştir. Metabolik ürünlerin sebep olduğu nörotoksisiteyi azaltmak ve hücre ölümüne sebep olan süreçleri engellemek için yeni stratejiler geliştirilmektedir. Pek çok klinik çalışmalar yapılmakta, Alzheimer hastalık riskini azaltabilecek yaygın kullanılan çeşitli ilaçlarla (örneğin antioksidanlar, antiinflamatuvar ajanlar, statinler, vitaminler) yapılan çalışmalara destek verilmektedir.

Son zamanlarda, Alzheimer hastalığı için nöroprotektif ve AChE inhibisyon özelliklerinin kombinasyonu kullanılarak çok sayıda hibrit bileşik bildirilmiştir. Pek çok hibrit bileşik tasarlanmış, sentezlenmiş ve Alzheimer hastalığıyla ilişkili farklı hedeflere karşı değerlendirilmiştir.

2.6.6.2.1. Takrin Hibritleri

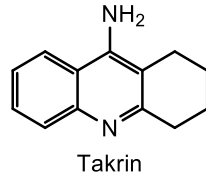
Takrin molekülü ile çeşitli hibritler sentezlenmiş ve yapı-etki ilişkisi (SAR) çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

2.6.6.2.1.1. Takrinin Homodimer Hibritleri

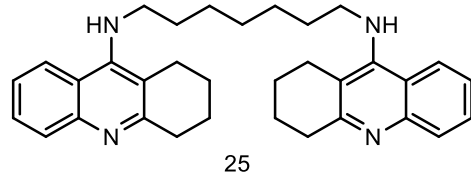
Çeşitli uzunluklarda alkilen zincirleri vasıtasıyla bağlanan iki takrin yapısından oluşan bir dizi homodimer bileşik Rodriguez-Franco ve arkadaşları tarafından sentezlenmiştir (343). Bu dimerik hibritlerin, tetrahidroakridin ile karşılaştırıldığında daha fazla hidrofobiye sahip oldukları görülmüştür. Ayrıca, alkilen zincir vasıtasıyla aynı zamanda CAS ve PAS ile güçlü etkileşimler göstermektedir. Bir heptametilen zincir ile bağlanan iki takrin alt ünitesine sahip dimerik bir molekül olan 25 nolu bileşiğin takrinden daha güçlü olduğu bulunmuştur (Şekil 47).

Nöroprotektif aktiviteler çeşitli modellerde değerlendirilmiş ve 25 nolu bileşiğin (bis-(7)takrin) bir NMDA reseptör antagonisti olduğu, ayrıca AChE'nin neden olduğu A β agregasyonunu baskıladığı bulunmuştur (IC_{50} = 41.7 μ M). Üstelik 25 nolu bileşik, IC_{50} = 7.5 μ M ile BACE-1 inhibitör aktivite de sergilemektedir (344). Takrin homodimerleri, takrin ile karşılaştırıldığında AChE inhibisyonu için BuChE inhibisyonundan daha fazla seçicilik göstermiştir.

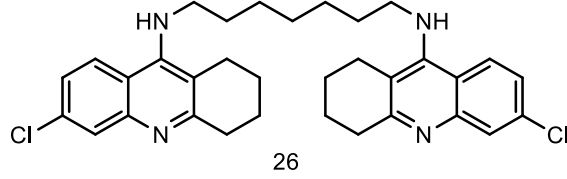
Takrinin 6- numaralı pozisyonuna kloro sübstütüsüyonu, AChE inhibitör aktiviteyi arttırmaktadır. Hu ve ark., çeşitli homodimerik takrin türevleri tasarlamış ve değerlendirmişlerdir. Çalışmada AChE'ye karşı heptametilen-bağlı bis (6-kloro)-takrinin (26), nonsubstitüe bis (7)-takrinden (25) daha fazla selektivite ve etkinlik gösterdiği bulunmuştur (Şekil 47) (345).



IC₅₀= 333 nM rAChE, 89 nM hsBuChE



IC₅₀= 0.2 nM rAChE, 54 nM hsBuChE



IC₅₀= 0.07 nM rAChE, 26 nM hsBuChE

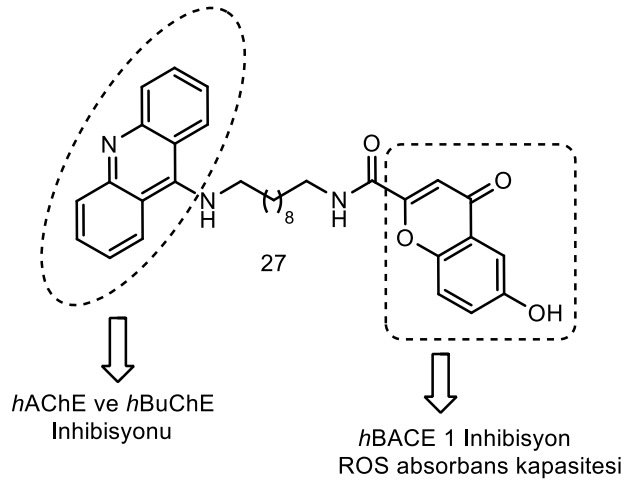
Şekil 47. Takrinin homodimer hibrit bileşikleri

2.6.6.2.1.2. Takrinin Heterodimer Hibritleri

Birçok güçlü ve seçici AChE inhibitörünün, heterodimerler şeklinde tasarlandığı görülmektedir.

2.6.6.2.1.2.1. Takrin-Kromen Hibritleri

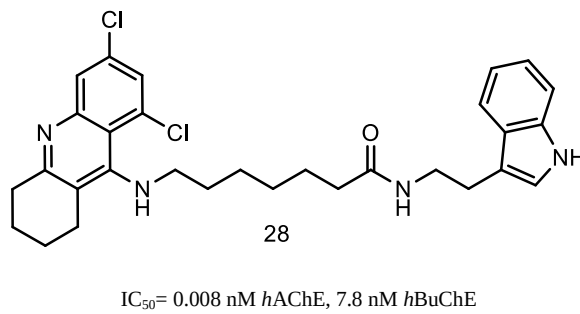
Fernandez-Bachiller ve arkadaşları tarafından takrinin 4-okso-4*H*-kromen ile hibritleri tasarlanmıştır. Kolinesteraz inhibitör aktivitesinden sorumlu takrin parçası ve serbest radikal süpürme ve β -sekretaz (BACE-1) inhibitör özelliklerden sorumlu flavon parçası ile meydana gelen hibrit bileşik, ana inhibitör takrinden ve apigeninden daha fazla etkinlik göstermiştir. Şekil 48'deki takrin-kromen hibritinin, kolinesteraz ve BACE-1'in güçlü inhibisyonuna ek olarak KBB'ni geçebilme özelliğine ve antioksidan özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (346).



Şekil 48. Takrin-kromen hibrit bileşiği tasarımı

2.6.6.2.1.2.2. Takrin-Melatonin Hibritleri

Aminosüstitüemelatonin-takrin hibritlerinin, çeşitli reaktif oksijen türlerini süpürme kabiliyeti ile güçlü AChE inhibitör potansiyeline sahip olduğu bildirilmiştir. Bu türevler arasında 28 nolu bileşik (Şekil 49), AChE inhibitör aktivitesi için 0.008 nM'lik IC_{50} değerine sahip olup AChE'ye karşı BuChE'ye kıyasla 1000 kat daha selektiftir (IC_{50} = 7.8 nM). Ayrıca bu bileşik iyi antioksidan özellik göstermektedir ve trolokstan 2.5 kat daha güçlüdür. Melatonin aynı zamanda mikrogial hücrelerde A β toksisitesine karşı nöroprotektif olarak da kullanılmaktadır (336, 340).

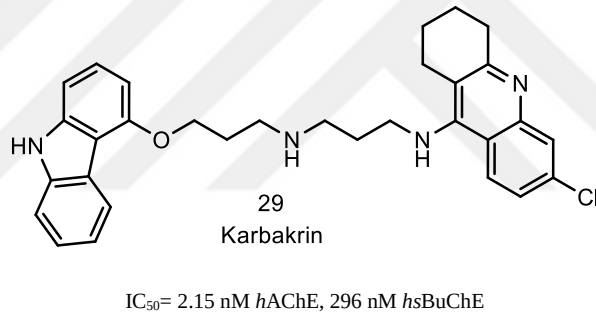


Şekil 49. Takrin-melatonin hibrit bileşiği

2.6.6.2.1.2.3. Takrin-Karbazol Hibritleri

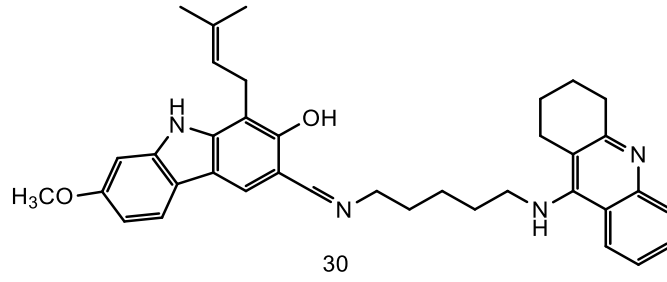
Bir NMDA antagonisti olan karvedilol bileşiğinin karbazol yapısı seçilmiş ve bu yapıya 6-klorotakrin gibi takrin türevleri eklenerek sentezlenmişlerdir. Ayrıca süstitüe karbazol yapılarının A β fibril oluşumunu etkili şekilde inhibe ettiği de bilinmektedir.

Tasarlanan tüm bu bileşikler nanomolar düzeyde AChE inhibisyonu yapabilmekte olup, takrinden ve 6-klorotakrinden daha etkindirler. Thiramatrakul ve ark., potansiyel anti-Alzheimer ajanlar olarak takrin-karbazol hibritlerinin, BuChE üzerinde iyi bir selektif inhibisyon sergilediğini ve AChE'ye karşı inhibitör etkinin 0.48 ila 1.03 μM arasında IC_{50} değerlerine sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Karbakrin (29, Şekil 50) nanomolar seviyede AChE aktivitesini inhibe edebilmekte, AChE aracılı ve kendiliğinden meydana gelen A β agregasyonunu *in vitro* bloke edebilmekte, NMDA reseptörünü antagonize etmekte ve oksidatif stresi azaltabilmektedir (348). Karbakrinin doking çalışmaları, karbazol ve tetrahidroakridin kısımlarının sırasıyla PAS'ın Trp286 amino asit artığı ile ve katalitik çukurdaki Trp86 amino asit artığı ile etkileşime girdiğini ortaya koymuştur. Üç metilen zinciri, enzimin her iki bölgesi ile uygun etkileşim için gerekli olan uzunluğu sağlamaktadır. Karbakrinin ROS oluşumunu engelleme yeteneği insan nöron hücreleri olan SH-SY5Y hücre hattında değerlendirilmiş ve nöronal hücreleri oksidatif stres kaynaklı ROS oluşumuna karşı koruduğu bulunmuştur (341, 342).



Şekil 50. Takrin-karbazol hibriti karbakrin bileşiği

5-Metilen ara zincirine sahip 30 nolu türev hem AChE inhibitör aktivitesi ($\text{IC}_{50} = 0.48 \mu\text{M}$) hem de radikal süpürme aktivitesi için en yüksek etkinliğe sahiptir ve skopolamin ile indüklenen farelerde hem kısa hem de uzun vadeli hafıza kayıplarını iyileştirme yeteneği sergilemiştir (Şekil 51). Karbazol kısmı doğrudan ROS'u süpürür ve güçlü antioksidan etkilere sahiptir. Bununla birlikte, A β agregasyonunu inhibe etme özelliği de göstermektedir. Doking çalışmaları, hibrit moleküllerin PAS, CAS ve AChE enziminin orta kısmı ile çoklu bağlanma modları sergilediğini ortaya koymuştur. Takrin yapısı, CAS'ta Trp84'ün indol halkası ve Phe330'un aromatik halkası ile π - π etkileşimlerine sahiptir. Takrinin aromatik azotu His440'ın karbonil oksijeni ile hidrojen bağı oluşturmaktadır. Alkilendiamin ara zinciri, enzim çukuru boyunca hizalanmakta ve hidrofob bölge (Tyr121 ve Tyr334) ile etkileşime girmektedir. Buna ek olarak, bu hibrit bileşik, H_2O_2 ve A β_{1-42} toksisitesi ile indüklenen oksidatif strese karşı nöroprotektif bir etki de göstermektedir (350).

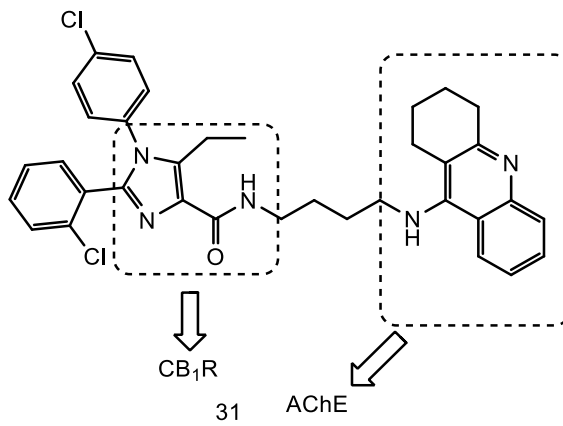


$$IC_{50} = 0.48 \mu M \text{ eelAChE}, 52.1 \mu M \text{ hsBuChE}$$

Şekil 51. Takrin-karbazol hibrit bileşiği

2.6.6.2.1.2.4. Takrin-İmidazol Hibritleri

Lange ve ark., AChE inhibisyonu ile beraber kannabinoid reseptörlerini (CBR) hedef almışlardır. Hibrit moleküller takrinin CB₁R (Kannabinoid reseptörü Tip 1)'nin iki bilinen antagonisti olan 1,2-diarilimidazol ve 3,4-diarilpirazolin yapıları ile bağlanması sonucu oluşturulmuştur. Bu şekilde tasarlanan bileşikler arasında 31 nolu bileşik (Şekil 52) güçlü bir AChE inhibitörü olmakla beraber, CB₁R'yi de yüksek afinite ile bloke edebilir. *p*-Klorofenil yapısının CB₁R ile etkileşimde önemli bir rol oynadığı bulunmuştur. Yapılan doking çalışmasıyla imidazolon çekirdeğinin AChE enziminin anyonik bölgesiyle tam örtüştüğü görülmüş ve buna ek olarak takrin çekirdeğinin ise enzim çukurunun dibindeki katalitik bölgeyle etkileşime girdiği belirlenmiştir (**351**).

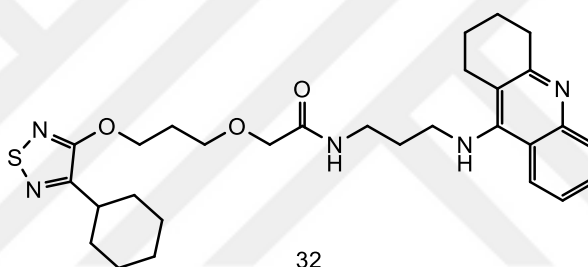


Şekil 52. Takrin-imidazol hibrit bileşiği

2.6.6.2.1.2.5. Takrin-Ksanomelin Hibritleri

Muskarinik (M_1) reseptörlerin uyarılmaları, protein kinaz C (PKC)'yi aktive eder. PKC aktivasyonu ile $A\beta_{1-42}$ ve tau oluşumunu azaltıp, çözünebilir APP üretimini daha da arttırdığı için Alzheimer ilaçlarının tasarımında M_1 reseptörleri büyük ilgi görmüştür. Bu reseptörler, muskarinik agonistler ile doğrudan veya ACh arttırıcılar gibi davranan farklı allosterik ajanlarla dolaylı olarak aktive edilebilirler (352).

Fang ve ark., takrinin tetrahidroakridin halkasını, potansiyel *in vivo* anti-demans aktivitesi gösteren, seçici bir M₁ muskarinik agonisti olan ksanomelin ile, 10-17 atomluk bir ara zincirle bağlamışlardır. Bu serinin öncüsü olan 32 nolu bileşiğin, AChE inhibisyonu (pIC₅₀= 8.21 nM) referans moleküllerden daha etkilidir (Şekil 53). BuChE enzimini de (pIC₅₀= 8.23 nM) inhibe edebilmektedir. Aynı zamanda M₁ reseptörü için referans moleküle benzer bir bağlanma afinitesine sahiptir (353).

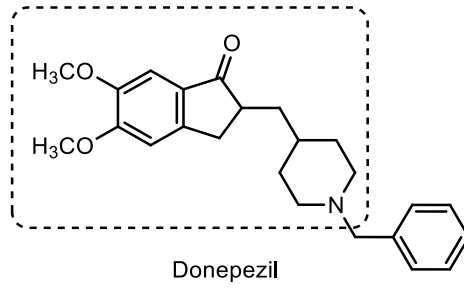


Şekil 53. Takrin-ksanomelin hibrit bileşiği

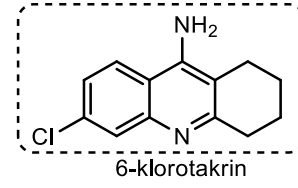
2.6.6.2.1.2.6. Takrin–Donepezil Hibritleri

2.6.6.2.1.2.6.1. Takrin-İndanon Hibriti

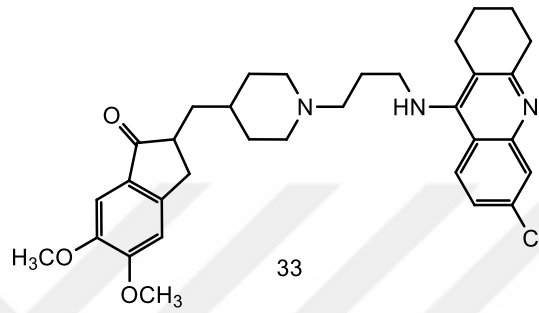
Bu hibritler, 6-klorotakrinin amino grubuna donepezilin sübstitüe edilmesi ile oluşturulmuştur. AChE enzimine dual bağlanma özelliğine sahip bir inhibitör olan 33 nolu hibrit bileşik (Şekil 54), takrin ve donepezilin 5,6-dimetoksi-2-[(4-piperidinil)-metil-1-indanon] yapısının TcAChE'ye bağlanma yerlerine dayanılarak tasarlanmıştır (354). Donepezilin indanon halkası PAS ile, piperidin kısmı ise enzim çukurunun ortası ile etkileşir. Bu bileşik, AChE'yi subnanomolar bir düzeyde inhibe etmiştir (IC_{50} = 0.09 nM). Aynı zamanda, BuChE'yi de (IC_{50} = 66.3 nM) nanomolar düzeyde inhibe etmiş ve AChE'nin PAS bölgesiyle etkileşerek AChE'nin neden olduğu A β agregasyonunu (100 μ M'da % 46.1) önlemiştir (355).



IC_{50} = 8.12 nM *boAChE*, 7273 nM *hsBuChE*



IC_{50} = 5.73 nM *boAChE*, 916 nM *hsBuChE*

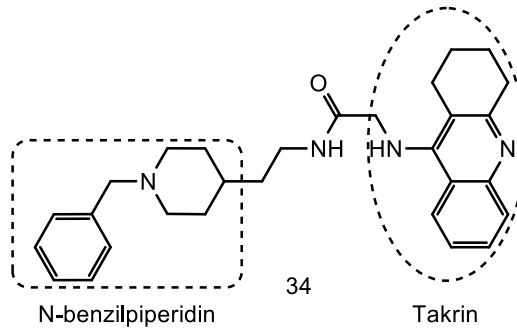


IC_{50} = 0.09 nM *boAChE*, 66.3 nM *hsBuChE*

Şekil 54. Donepezil-6-klorotakrin hibrit bileşiği

2.6.6.2.1.2.6.2. Takrin-N-Benzilpiperidin Hibriti

Donepezilin *N*-benzilpiperidin yapısı ve takrinden oluşan bir heterodimerin (34, Şekil 55), takrinden 37 kat daha güçlü AChE inhibitörü (IC_{50} = 6.0 nM, sıçan beyni AChE) olduğu ve AChE'ye karşı BuChE'den 31 kat daha seçici olduğu bulunmuştur. Bu hibrit bileşiğin benzil yapısı Trp84'ün indol halkası ile bir π - π etkileşimi göstermekte ve protonlanmış piperidin azot atomu Phe330'un fenil halkasıyla etkileşmektedir. Öte yandan, takrin, PAS'ın Trp279'u ile π - π etkileşimine girmektedir. Buna ek olarak, ara zincirdeki amid grubuna bağlı hidrojen atomunun Tyr121'in oksijen atomuyla bir hidrojen bağı oluşturduğu gözlenmiştir (356).

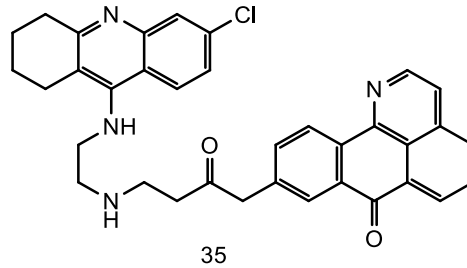


$IC_{50} = 6.0 \text{ nM } rAChE, 76 \text{ nM } rsBuChE$

Şekil 55. Takrin-*N*-benzilpiperidin hibrit bileşiği

2.6.6.2.1.2.7. Takrin–Oksoizoaporfin Hibritleri

Takrinle veya onun türeviyle 1-azabenzantron yapısının çeşitli pozisyonlarında bir amino grubu taşıyan bir metilen ara zinciriyle bağlanmasından takrin–oksoizoaporfin hibritleri (35, Şekil 56) meydana gelmiştir. Bu hibritler, *in vitro* AChE inhibitör etkinliği ($IC_{50} = 3.4 \text{ nM}$), AChE tarafından (% 83.3) ve kendiliğinden indüklenen A β agregasyon inhibitör (% 79.8) etkinliği göstermektedirler. Elde edilen yapı etki çalışmalarından ara zincirin optimal uzunluğunun AChE inhibisyonu için altı karbon olması gerektiği görülmektedir (357).



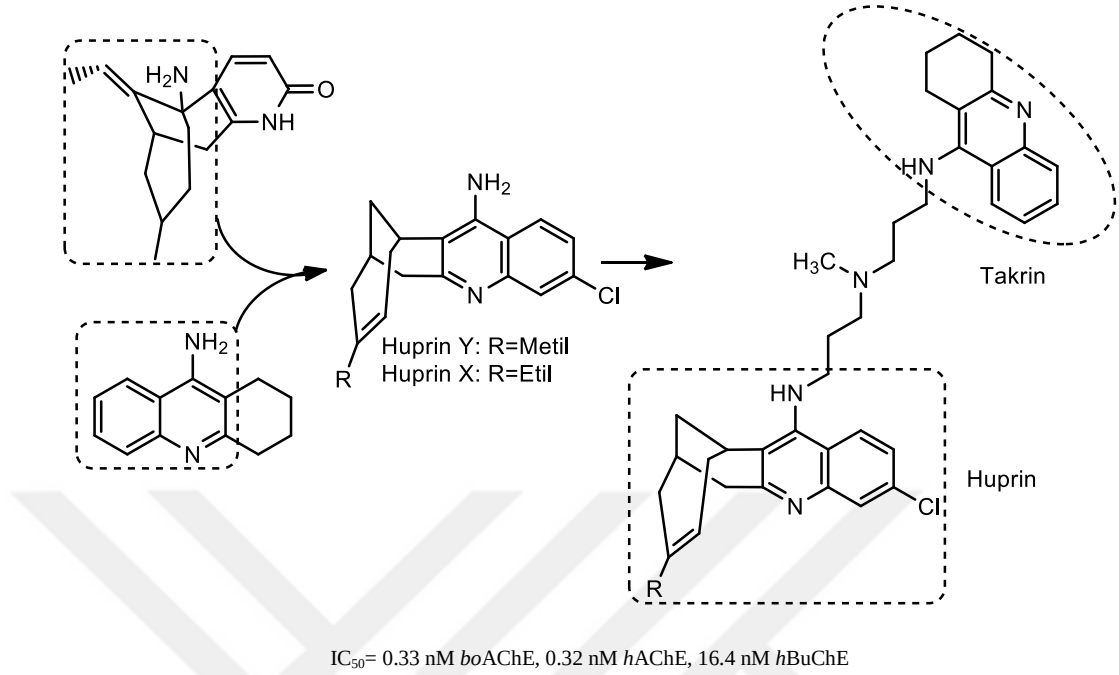
$IC_{50} = 3.4 \text{ nM } eelAChE, 110 \text{ nM } eqBuChE$

Şekil 56. Takrin-oksoizoaporfin hibrit bileşiği

2.6.6.2.1.2.8. Takrin–Huperzin Hibritleri

Badia ve ark. çok sayıda takrin-huperzin A hibritleri üzerine yaptıkları çalışmaları rapor etmişlerdir (358). Takrinin 4-aminokinolin kısmı ile kombine edilmiş (-)-huperzin A'nın karbobisiklik yapısını ihtiva eden Huprin X ve Y, sığır ve insan AChE enzimlerini iyi derecede, BuChE enzimini orta derecede inhibe etme potansiyeli sergilemişlerdir. En yüksek

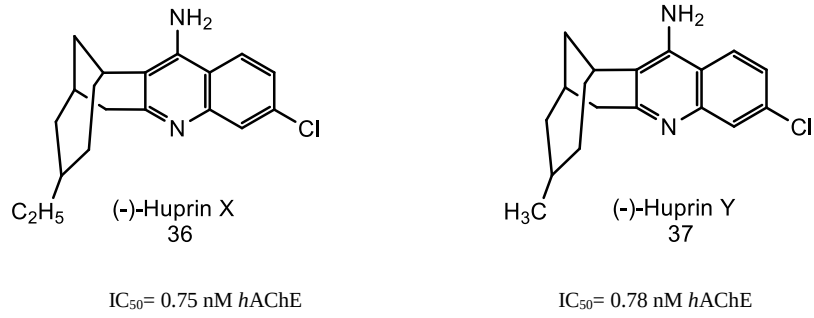
aktivite (subnanomolar), takrin ve (-)-huperzin A parçasının *N*-metilamin grubu içeren bir ara zincir ile birleştirildiği hibrit bileşikte gözlenmiştir (Şekil 57) (359).



Şekil 57. Takrin-huperzin A hibrit bileşik tasarımı

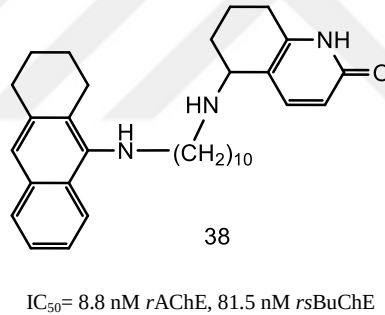
Bileşikler üzerinden elde edilen SAR çalışmaları, AChE inhibitör aktivite için 4-aminokinolin bazlı huprinlerin bulunduğu bir metil veya etil sübstitüe üç karbonlu doymamış bir köprü ile nonsübstitüe bir metilen köprüsü varlığının önemi olduğunu ortaya çıkarmıştır. Huprin yapısının birinci ve/veya üçüncü konumlardaki klor, flor ve metil grupları da etkinliği arttırmaktadırlar.

Bu hibrit bileşiklerin yanısıra huprinlerin de (36 ve 37) güçlü türevler olduğu ortaya çıkmış ve piyasaya sürülen AChEI'lere kıyasla AChE'ye karşı etkinlik, selektivite ve afinite bakımından çok daha iyi oldukları bulunmuştur (Şekil 58) (359–361).



Şekil 58. (-)-Huprin X ve Y bileşikleri

Rasemik formdaki huperzin A'nın 5-amino-5,6,7,8-tetrahidro-2(1*H*)-kinolinon yapısının bir dekametilen aracılığıyla bir takrin birimine bağlanması 38 nolu bileşiği verir (Şekil 59). Bu bileşik, (-)-huperzin A ve takrine kıyasla kaynak alındığı bileşiklerden sırasıyla 13 kat ve 25 kat daha etkindir ($IC_{50} = 8.8 \text{ nM}$). Bileşik 38'in, AChE'ye karşı takrine kıyasla yaklaşık 23 kat daha fazla selektif olduğu, ancak (-)-huperzin A'ya ve bis-(7)takrine göre daha düşük selektiviteye sahip olduğu bulunmuştur (362).

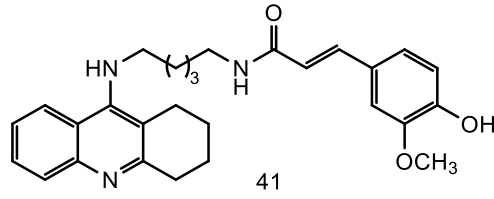


Şekil 59. Huperzin A ve 5-amino-5,6,7,8-tetrahidro-2(1*H*)-kinolinon türevi bileşik

2.6.6.2.1.2.9. Takrin–Ebselen Hibritleri

Mao ve ark., çok fonksiyonlu ajanlar olarak Alzheimer hastalığına karşı takrin-ebselele hibritlerini geliştirmişlerdir (363). Hem AChE hem de BuChE enzimlerinin inhibisyonu, alkil zincir uzunluğundan etkilenmiştir. Örneğin, takrin ile 5,6-dimetoksibenzo[*d*][1,2]selenazol-3(2*H*)-on (39) arasında altı karbonlu bir ara zincir olan türevin, etkili hidrojen peroksit ve peroksinitrit temizleme aktiviteleri ile birlikte, sırasıyla 2.55 ve 2.80 nM IC_{50} değerlerine sahip en güçlü AChE ve BuChE inhibitörü olduğu bulunmuştur (Şekil 60). 39 nolu bileşiğin moleküler modelleme çalışmalarından enzimin hem CAS hem de PAS alanları ile uygun dual etkileşim gösterdiği bulunmuştur (364).



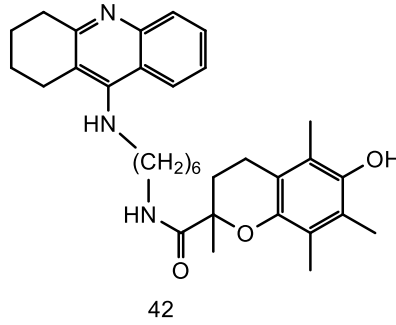


IC₅₀= 4.4 nM *eel*AChE, 6.7 nM *eq*BuChE

Şekil 62. Takrin–ferulik asit hibrit bileşiği

2.6.6.2.1.2.12. Takrin–Troloks Hibritleri

Yakın zamanda Alzheimer hastalığına karşı, hepatoprotektif özellikleri nedeniyle troloks ile takrinin yeni çok işlevli hibritleri tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Hibritlerin çoğu, tek başına troloksa yakın belirgin antioksidan aktiviteye sahip olmalarının yanı sıra, AChE’yi nanomolar düzeyde inhibe etmişlerdir. 42 nolu bileşik (Şekil 63), güçlü bir AChEI (IC₅₀= 23.5 nM) ve BuChEI (IC₅₀= 20.5 nM) olup, takrinden daha az hepatotoksik bulunmuştur. Bileşik 42 aynı zamanda H₂O₂ kaynaklı PC₁₂ hücre hasarına karşı nöroprotektif bir etki sergilemiştir ve KBB’ni geçme kabiliyetine sahiptir (369).



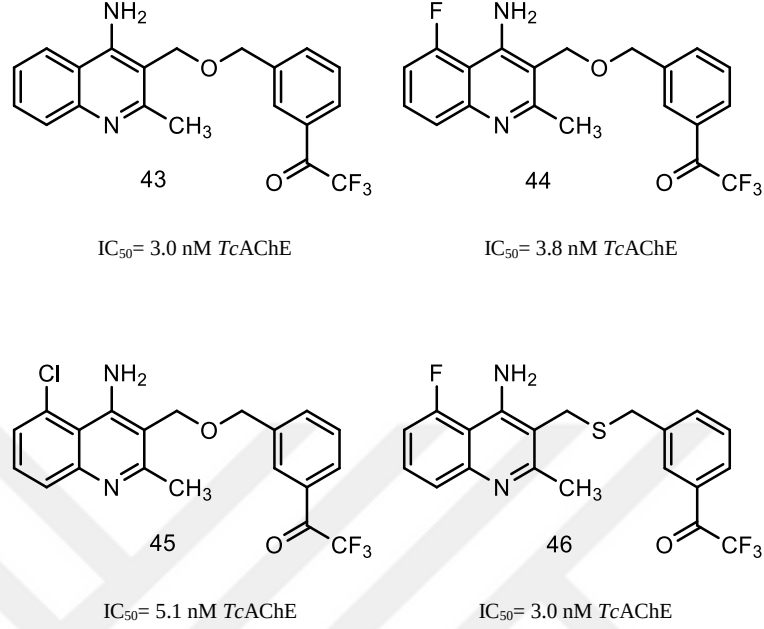
IC₅₀= 23.5 nM *h*AChE, 20.5 nM *hs*BuChE

Şekil 63. Takrin–troloks hibrit bileşiği

2.6.6.2.1.2.13. Takrin-Trifluoroasetofenon Hibritleri

Yeni yüksek afiniteli selektif AChE inhibitör hibritleri, trifluoroasetofenon yapısıyla takrinin 4-aminokinolin parçasının uygun bir ara zincir ile birleştirilmesiyle oluşturulmuşlardır. 4-aminokinolin yapısı ile AChE enziminin Trp84 amino asiti arasında π - π etkileşimi meydana gelirken, trifluoroasetofenon yapısı ise Ser200 amino asit parçasıyla

etkileşmektedir. Bileşik 43-46 (IC_{50} = 3, 3.8, 5.1, 3 nM) gibi çeşitli hibritler, iyi derecede AChE inhibitör aktivite sergilemişlerdir (Şekil 64) (370).

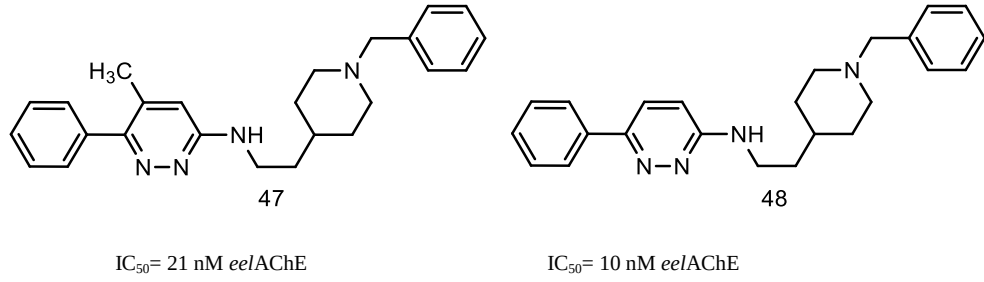


Şekil 64. Takrin-trifluoroasetofenon hibrit bileşikler

2.6.6.2.2. Donepezil Hibritleri

2.6.6.2.2.1. Donepezil–Minaprin Hibritleri

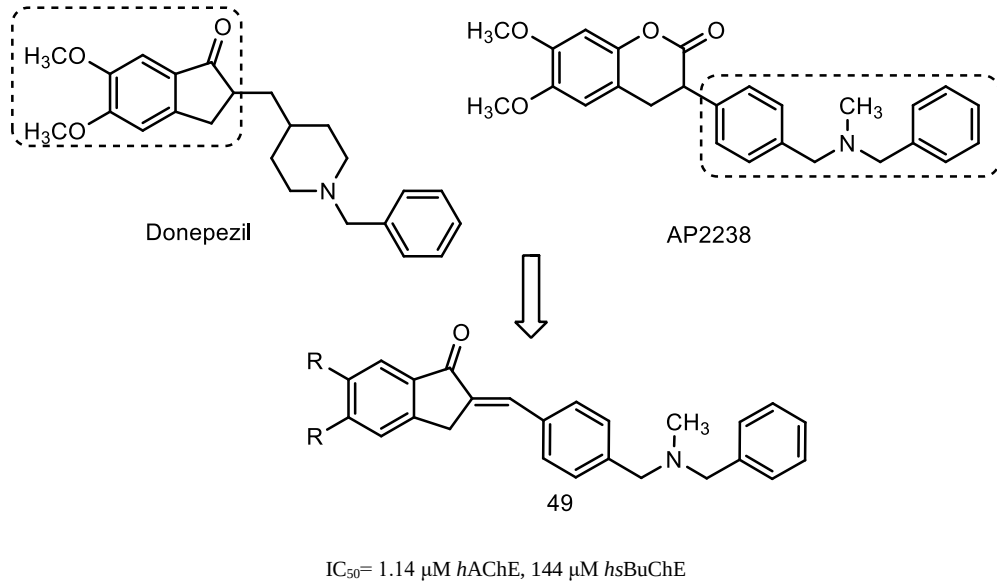
Bir antidepresan olan minaprin, çok zayıf AChE inhibitör aktiviteye (IC_{50} = 600 μ M) sahiptir. Contreras ve ark., donepezilin *N*-benzilpiperidin yapısıyla minaprinin 3-amino-6-fenilpiridazin yapısını birleştirerek daha iyi aktiviteye sahip yeni AChE dual inhibitörü geliştirmişlerdir. Tüm sentezlenmiş türevler arasında 47 (IC_{50} = 21 nM) ve 48 (IC_{50} = 10 nM) nolu bileşikler en güçlü hibritlerdir ancak donepezilden daha düşük selektivitede oldukları bulunmuştur (371). Moleküller üzerinde yapılan doking çalışmaları, benzil grubunun aromatik halkasıyla Trp84'ün indol halkası arasında π - π türü bir etkileşim oluşurken, protonlanmış piperidin azot atomunun Phe330 ve Trp84 amino asit artıkları ile bir π -katyon etkileşimi, Ser122 ve Tyr12 amino asitleri ile de su-köprülü bir H-bağı oluşturduğunu ortaya çıkarmıştır. Bununla birlikte, arilpiridazin yapısının AChE'nin PAS (Tyr70 ve Trp279) yöresi ile etkileştiği rapor edilmiştir (372).



Şekil 65. Donepezil–minaprin hibrit bileşikler

2.6.6.2.2.2. Donepezil-AP2238 Hibriti

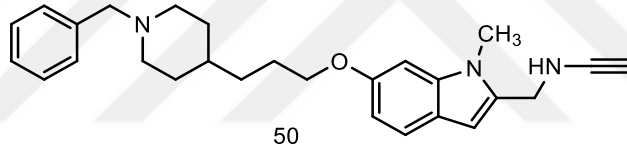
Rizzo ve ark. AP2238 ile donepezil bileşiğinin bir hibritini tasarlamışlardır. Şekil 66’da görüldüğü gibi, AP2238’in fenil-*N*-metilbenzilamino yapısı donepezilin indanon çekirdeği ile bir çifte bağ aracılığıyla birleştirilmiştir. AChE’nin hem CAS hem de PAS yöresiyle dual etkileşim kurmak için 5. ve 6. pozisyonlardaki süstitüsyonun gerekli olduğu görülmektedir. SAR çalışmaları, benzil grubunun Trp86’nın indol halkasıyla π - π türü bir etkileşime girdiğini, protonlanmış amino grubunun Tyr337’nin fenol halkasıyla katyon- π türü bir etkileşime girdiğini, bisiklik aromatik yapının Trp286 ile π - π etkileşimine girdiğini ve karbonil grubunun da Arg296’nın ve Phe295’in amid yapıları ile H-bağı oluşturduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, bileşiğin klinik öncesi toksisitesi ve klinik güvenlik profili henüz tanımlanmamıştır. 49 nolu bu hibrit (Şekil 66), AChE’nin ve AChE tarafından indüklenen A β agregasyon inhibitörü özelliğine sahip iyi bir aday moleküldür (373).



Şekil 66. Donepezil-AP2238 hibrit bileşikler

2.6.6.2.2.3. Donepezil–İndolil Hibritleri

Donepezil-indolil bazlı hibritler Alzheimer hastalığına karşı monoamin oksidaz (MAO) ve ChE enzim inhibisyonu için dizayn edilmiş, sentezlenmiş ve değerlendirilmiştir. *N*-benzilpiperidin yapısının üç karbonlu bir ara zincirle indol halkasının C₅'ine bir oksijen atomu aracılığıyla bağlanmasıyla hibrit moleküller elde edilmiştir. Bunların arasında Şekil 67'deki 50 nolu bileşik IC₅₀ değeri 5.5 nM olan en güçlü *h*MAO-A inhibitörü ve IC₅₀ değeri 150 nM olan orta derecede güçlü bir *h*MAO-B inhibitörüdür (Şekil 67). Bileşik 50, hem *ee*lAChE'yi (IC₅₀= 190 nM) hem de *eq*BuChE'yi (IC₅₀= 830 nM) inhibe etmiştir. Bu bileşiğin moleküler modelleme çalışması, indol yapısının enzim çukurunun tabanına yerleştiğini ve propargilamin iskeletinin Trp86 ile π - π etkileşimine girdiğini göstermektedir. Bileşiğin alifatik alkil zinciri, Tyr341, Tyr124 ve Phe338'in fenil halkaları tarafından çevrelenmiştir. PAS'da, bileşiğin fenil halkası, enzim çukurunun girişinde bulunan Trp286 ve Tyr72 amino asitleri arasına yerleşmektedir. Elde edilen verilerle 50 nolu bileşiğin AChE'nin hem CAS hem de PAS yöresine bağlandığı ve dual AChE inhibitör aktivitesi sergilediği sonucuna varılmıştır (374).



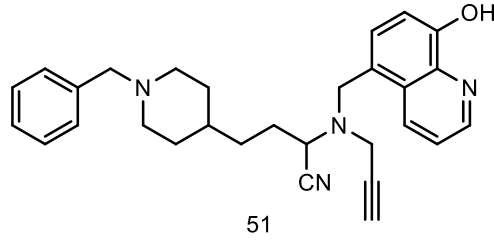
IC₅₀= 190 nM *ee*lAChE, 830 nM *eq*BuChE

Şekil 67. Donepezil–indolil hibrit bileşiği

2.6.6.2.2.4. Donepezil–Propargilamin–8-hidroksikinolin (DPH) Hibritleri

Yakın zamanda Wang ve ark., Alzheimer hastalığı tedavisi için DPH'nin yeni multifonksiyonel hibritlerinin tasarlanması, sentezi, ADMET (Absorbsiyon, Dağılım, Metabolizma, Atılım, Toksisite) çalışmaları, biyokimyasal tahminler ve hesaplama çalışmalarını rapor etmişlerdir. En ilginç türev rasemik α -aminonitril 4-(1-benzilpiperidin-4-il)-2-((8-hidroksikinolin-5-il)metil)(prop-2-in-1-il)amino)butanonitril (51) bileşiği olup [MAO-A (IC₅₀= 6.2 μ M); MAO- β (IC₅₀= 10.2 μ M); AChE (IC₅₀= 1.8 μ M); ve BuChE (IC₅₀= 1.6 μ M)], irreversibl bir MAO A/ β inhibitör ve dual AChE inhibitör etkinliğine ek olarak metal-kenetleme özelliğine de sahiptir (Şekil 68). Doking çalışmaları, 51 nolu bileşiğin AChE'nin CAS ve PAS yöresi ile etkileşime girdiği için dual AChE inhibisyon özelliklerine sahip olduğunu ortaya koymuştur. Siyano grubu, ligandın AChE, BuChE ve MAO-A'nın bağlanma bölgelerindeki önemli amino asit yapılarıyla hidrojen bağları oluşturarak uygun bir

şekilde konumlandırılmasında önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca bileşik, orta derecede ADMET özelliklerine ve SSS aktivitesi için beyin penetrasyonuna sahiptir. Sonuç olarak 51 nolu bileşik, Alzheimer’da iki kilit enzimatik sistemle etkileşime girebilen multi fonksiyonel bir bileşik olarak tanımlanan bir α -aminonitrildir ve Alzheimer hastalığının potansiyel tedavisinde daha ileri çalışmalar için yeni bir lider bileşik olarak ele alınabilir (375).



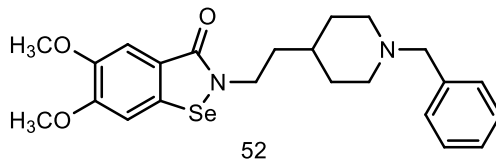
IC_{50} = 1.8 nM *ee*lAChE, 1.6 nM *eq*BuChE

Şekil 68. DPH hibrit bileşiği

2.6.6.2.2.5. Donepezil–Ebselen Hibritleri

Alzheimer tedavisi için multi fonksiyonel ajanlar olarak donepezil ve ebselen birleştirilerek yeni bir hibrit serisi sentezlenmiştir. 52 nolu bileşik (Şekil 69), güçlü BuChE inhibitör aktiviteye (IC_{50} = 1.59 μ M) sahip en güçlü AChE inhibitörü türevidir (IC_{50} = *ee*lAChE için 0.042 μ M ve *h*AChE için 0.097 μ M). Üstelik 2000 mg/kg’lık bir dozda farelerde herhangi bir toksisite olmaksızın H_2O_2 ve peroksinitriti glutatyon peroksidaz benzeri bir aktivite ile süpürmüştür.

Moleküler modelleme çalışmaları, 52 nolu bileşiğin dimetoksibenzo[*d*][1,2]elenazol-3(2*H*)-on üzerindeki karbonil grubunun Phe288 artığı ile etkileştiği, fenil halkasının dimetoksi grubunun PAS’ın Trp279 artığı ile etkileştiği, piperidin halkasının ise aromatik çukurun içinde konumlanarak Trp84 artığı ile etkileştiği gözlenmiştir. Yani böylece bileşiğin hem PAS hem de CAS yöresiyle dual etkileşime girdiği gösterilmiştir (376).

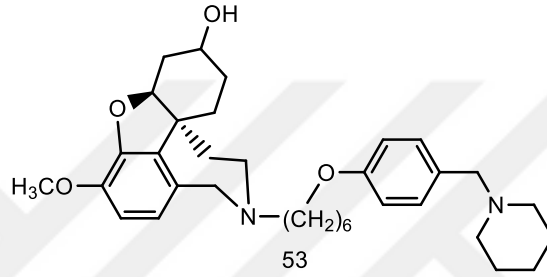


IC_{50} = 0.042 μ M *ee*lAChE, 0.097 μ M *h*AChE, 1.59 nM *eq*BuChE

Şekil 69. Donepezil-ebselen hibrit bileşiği

2.6.6.2.2.6. Donepezil-*N*-Süstitüegalantamin Hibritleri

Yapılan çalışmalar, galantamin azot atomunda yapılan değişikliklerin AChE inhibitör aktiviteyi iyileştirebileceğini ve PAS ile etkileşebileceğini ortaya koymaktadır. Bir seri *N*-süstitü galantamin türevleri, farmakoforik birimler olarak benzil amino grupları ve muhtelif benzil amino yapıları kullanılarak tasarlanmıştır. Ayrıca, galantamin ve benzil amino yapıları arasındaki alkil zincirinin uzunluğunda da değişiklikler yapılmıştır. 53 nolu bileşiğin (Şekil 70) en aktif türev olduğu gözlenmiştir (377).

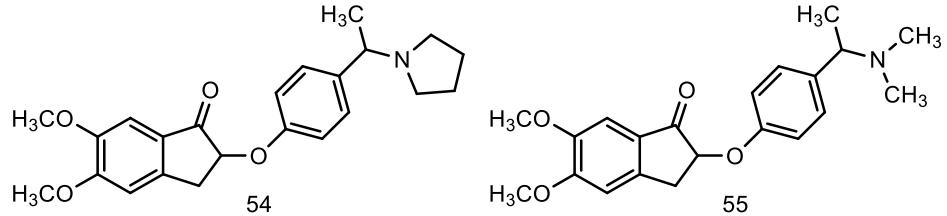


IC₅₀= 5.62 nM rAChE, 33 µM rsBuChE

Şekil 70. Donepezil-*N*-süstitüegalantamin hibrit bileşiği

2.6.6.2.2.7. Donepezil-Rivastigmin Hibritleri

Bu hibritler, donepezilin 5,6-dimetoksi-indan-1-on ve rivastigminin dialkilbenzilamin yapılarından elde edilmişlerdir. AChE'nin CAS ve PAS bölgeleriyle etkileşebilme özelliğine sahiptir ve dolayısıyla enzimin hem katalitik hem de katalitik olmayan eylemlerini önleyebilirler. 54 ve 55 nolu bileşikler (Şekil 71), tasarlanan tüm bileşikler arasında en yüksek aktiviteye sahiptirler (378).



IC₅₀= 0.14 µM rAChE, 130 µM rsBuChE

IC₅₀= 0.15 µM rAChE, 1370 µM rsBuChE

Şekil 71. Donepezil-rivastigmin hibrit bileşiği

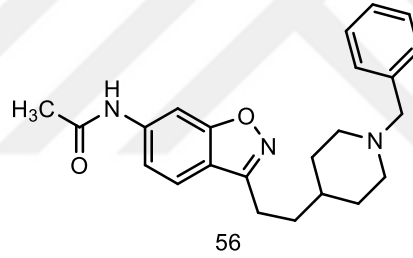
2.6.6.2.2.8. *N*-Benzilpiperidin Hibritleri

Çeşitli araştırma grupları, donepezilin indanon halka sisteminin biyoizosterlerini kullanarak kimyasal olarak donepezile benzeyen bileşikler tasarlamış ve sentezlemişlerdir.

2.6.6.2.2.8.1. Benzizoksazol-*N*-Benzilpiperidin Hibritleri

Villalobos ve ark. bir benzizoksazol sistemine sahip *N*-benzilpiperidin-bazlı hibritler (56) tasarlamış ve sentezlemişlerdir (Şekil 72) (379).

56 nolu hibrit bileşik düşük nanomolar aralıkta (IC_{50} = 2.8 nM) güçlü AChE inhibitör aktivite göstermiştir ki bu da, donepezilden 2.9 misli daha fazladır ve AChE'ye karşı BuChE'den daha yüksek seçiciliğe sahiptir. Bu bileşiğin iyi bir aktivitesi olmasına rağmen, asetamid grubunun anilin metabolitlerine hidrolizinden dolayı metabolik olarak stabil değildir ve bu yüzden daha az etkilidir. Stabilitayı artırmak amacıyla Villalobos ve ark., beş veya altı üyeli heterosiklik halkalar kullanarak ve *N*-asetil yapısını koruyarak birkaç türev daha sentezlemişlerdir (379).

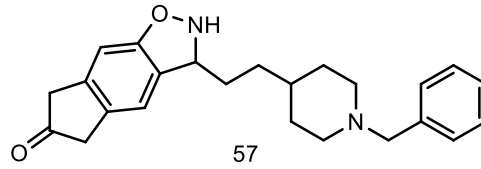


IC_{50} = 2.8 nM hAChE, 9000 nM hsBuChE

Şekil 72. Benzizoksazol-*N*-benzilpiperidin hibrit bileşiği

2.6.6.2.2.8.2. İkopezil Bileşiği

İkopezil (57, Şekil 73), *in vivoda* gelişmiş bir farmakokinetik profile sahip (ACHE'ye göre BuChE'den 10.000 kat daha güçlü) son derece güçlü bir AChE inhibitörü ilaçtır (IC_{50} = 0.33 nM). Ayrıca sıçanlarda yapılan *in vivo* çalışmalarda ekstraselüler ACh seviyelerini artırdığı görülmüştür (380).

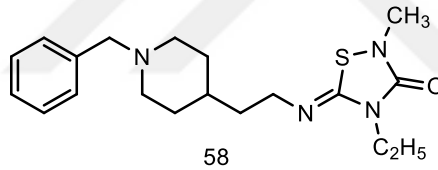


IC₅₀= 0.33 nM hAChE, 7200 nM hsBuChE

Şekil 73. İkopezil bileşiği

2.6.6.2.8.3. 1,2,4-Tiyadiazolidinon-*N*-Benzilpiperidin Hibritleri

Martinez ve ark., indanon yerine 1,2,4-tiyadiazolidinon halka sisteminin kullanıldığı bir dizi bileşik geliştirmişlerdir. Sentezlenen tüm bileşiklerin arasında 58 nolu bileşiğin (Şekil 74) takrin ile eşdeğer etkinlikte, ancak donepezilden 3.5 kat daha az etkin olduğu ve AChE'ye karşı dual bağlanma kabiliyeti olduğu bulunmuştur (IC₅₀= 14 µM). Ayrıca, BuChE'ye kıyasla AChE'ye karşı yüksek selektivite (61 kat daha güçlü) göstermiştir. Bu bileşiğin TcAChE ile bağlanma modelini belirlemek için moleküler dinamik araştırmaları yapılmış ve AChE'nin PAS yöresiyle de mükemmel şekilde etkileştiği gösterilmiştir (**381**).

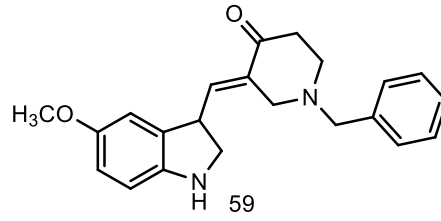


IC₅₀= 0.14 µM hAChE, 8.55 µM hsBuChE

Şekil 74. 1,2,4-tiyadiazolidinon-*N*-benzilpiperidin hibrit bileşiği

2.6.6.2.8.4. *N*-Benzilpiperidin-İndol/Pirol Hibritleri

Andreani ve ark., benzilpiperidin, indol veya pirol halkası kullanarak çeşitli hibritler sentezlemişlerdir. Benzilpiperidinindol hibritlerinin modelleme çalışmalarında donepezilden farklı şekillerde yönlendikleri gözlenmiştir. Bileşik 59'un indol parçasının doğru şekilde yönlendirilmediği ve bileşiğin AChE enziminin PAS yöresindeki Trp279 artığıyla düzgün şekilde etkileşime girmediği, bu nedenle donepezil ile karşılaştırıldığında düşük inhibisyon aktivitesine sahip olduğu gözlemlenmiştir (IC₅₀= 6000 nM, Şekil 75) (**315**).

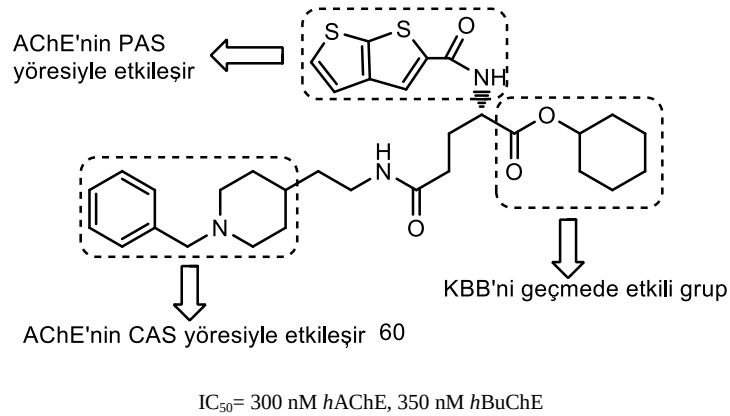


IC₅₀=6000 nM AChE

Şekil 75. İndol-*N*-benzilpiperidin hibrit bileşiği

2.6.6.2.2.8.5. Diğer *N*-Benzilpiperidin Hibritleri

Ara zincir olarak bir L-glutamik asit artığı taşıyan üç farklı farmakoforik grup taşıyan yeni hibritler tasarlanmıştır: (a) AChE'nin CAS yöresiyle etkileşebilen bir ω -konumlu *N*-benzilpiperidin artığı ve (b) PAS yöresine bağlanabilen bir *N*-koruyucu grup ile A β agregasyonunu inhibe edebileceği bulunmuştur. Son olarak, (c) bir lipofilik hekzil ester yapısının varlığı KBB'nden geçişi artırmıştır. Şekil 76'daki 60 nolu hibrit, anti-A β -agregasyon aktivitesine sahip olduğu kadar AChE'ye (IC₅₀= 300 nM) karşı da iyi inhibitör aktivite göstermiştir. Aynı zamanda, mitokondride serbest radikallere karşı nöroproteksiyon, düşük toksisite ve KBB'ni geçebilme yeteneği göstermiştir (92, 376).



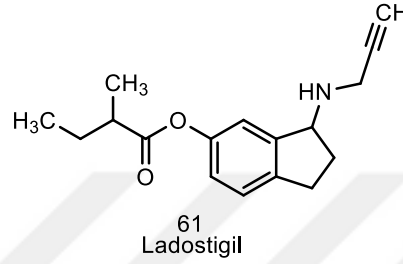
Şekil 76. *N*-benzilpiperidin bazlı hibrit bileşik tasarımı

2.6.6.2.3. Rivastigmin Hibritleri

2.6.6.2.3.1. Rivastigmin-Rasagilin Hibriti Ladostigil

Weinstock ve ark., rivastigmin bileşiğinin fenil *N*-etil-*N*-metilkarbammat yapısı ile selektif irreversible bir MAO-B inhibitör özelliği olan rasagilin bileşiğinin *N*-propargil-(1R)-

aminoindan yapısını birleştirerek ladostigil bileşiğini (61, Şekil 77) tasarlamışlardır (383). Nöroprotektif, multimodal beyin-selektif MAO ve ChE inhibitör özelliklerine sahip yeni bir anti-Alzheimer bileşiktir (384). Ladostigil yakın zamanda yapılan Faz II klinik çalışmalarına göre kortikal AChE aktivitesinin yaşa bağımlı olarak azalmasını engellemektedir. Ayrıca hipokampüsteki BuChE aktivitesini artırdığından dolayı Alzheimer hastalığı ve demans ile birlikte seyreden ekstrapiramidal bozukluklar ve depresyonun tedavisi için kullanılması planlanmaktadır.

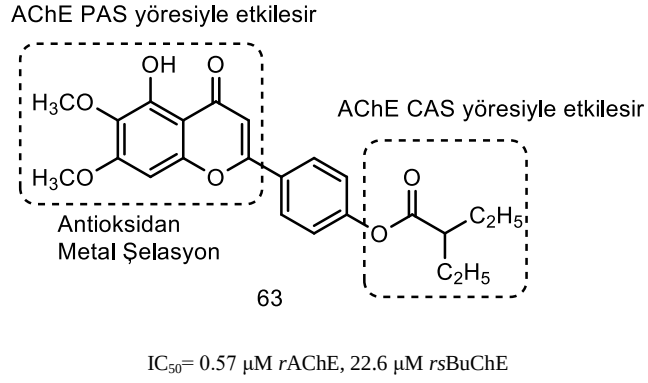


$IC_{50} = 51 \mu M$ hAChE, $1.7 \mu M$ eqBuChE

Şekil 77. Rivastigmin-rasagilin hibrit bileşiği ladostigil

2.6.6.2.3.2. Rivastigmin–Fluoksetin Hibritleri

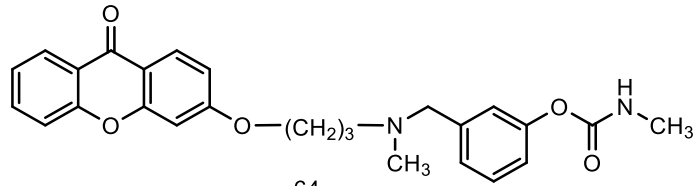
Alzheimer hastalarında görülen depresyonun tedavisi için serotonin taşıyıcı (SERT) inhibitörleri kullanılmaktadır. Ancak bu bileşiklerin herhangi bir anti-kolinerjik etkisi yoktur. Bu bağlamda, Kogen ve ark. tarafından depresyonla birlikte Alzheimer tedavisi için dual AChE ve SERT inhibitörleri tasarlanmıştır (Şekil 78). 62 nolu bileşiğinin tasarlanmasında, AChE inhibitörü etki için rivastigmin, SERT inhibitörü etki için fluoksetin kullanılmıştır. Tasarlanan bileşik rivastigminden de ($IC_{50} = 11 \mu M$, *rbAChE*), serotonin taşıyıcı inhibitörü fluoksetinden de daha yüksek etkinlik göstermiştir ($IC_{50} = 101$ nM AChE) (331, 379).



Şekil 79. Rivastigmin–skutellarin hibrit bileşiği

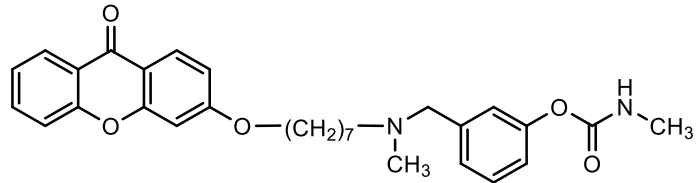
2.6.6.2.4. Fizostigmin Hibritleri

Çeşitli fizostigmin analogları, dual bağlanma özelliğine sahip farmakolojik analoglar geliştirmek amacı ile tasarlanmıştır. Recanatini ve ark. tarafından, fizostigmin hibritleri fizostigmin bileşiğinin tersiyer amin azotuna *N*-metil-*N*-(3-karbamoiloksifenil)metilamino türevlerinin çeşitli uzunluktaki alkoksi zincirleriyle bağlanmasıyla tasarlanmışlardır **(387)**. Heterodimer hibrit molekül ksantostigmin (64, Şekil 80), fizostigminden daha iyi bir afinite ve etkinlik ile AChE'nin PAS yöresiyle etkileşime girmiştir. Fizostigminden 46 kat fazla etkinlik ve 100 kat daha fazla seçicilik ile *h*AChE inhibitör aktivitesi sergilemiştir. IC_{50} değeri 0.32 nM olan başka bir fizostigminin hibrit bileşiği (65, Şekil 80), fizostigminden daha etkin ve selektiftir, ancak ksantostigminden daha az selektiftir **(43)**.



64
Ksantostigmin

IC₅₀ = 0.30 nM *hAChE*, 48 nM *hsBuChE*



65

IC₅₀ = 0.32 nM *hAChE*, 16.5 nM *hsBuChE*

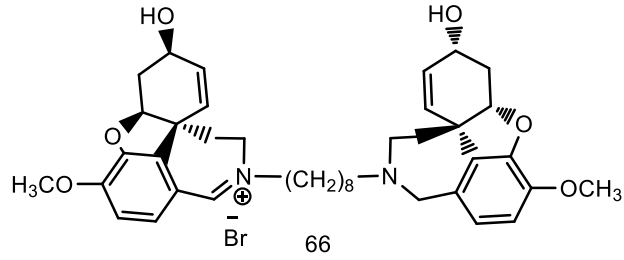
Şekil 80. Fizostigmin heterodimer hibrit bileşikler

2.6.6.2.5. Galantamin Hibritleri

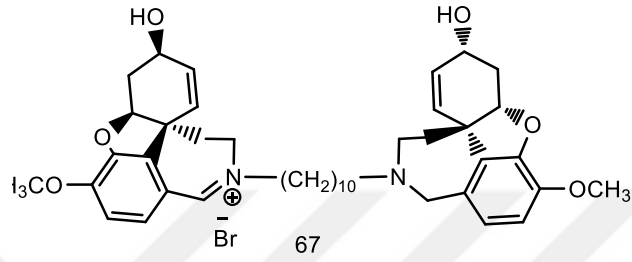
Galantamin-bazlı hibritler, daha etkili dual AChE inhibitörleri olarak işlev görmesi amacıyla tasarlanmıştır. Bu çalışmada, çeşitli nötr ve katyonik bis-etkileşimli galantamin bazlı homodimerler ve heterodimerler geliştirilmiştir.

2.6.6.2.5.1. Galantamin Homodimerleri

66 ve 67 nolu galantamin-homodimer bileşikler (Şekil 81) galantamin bileşiğine göre daha iyi bir AChE inhibitör potansiyeline sahiptir **(388)**.



$IC_{50} = 22 \text{ nM } eelAChE$

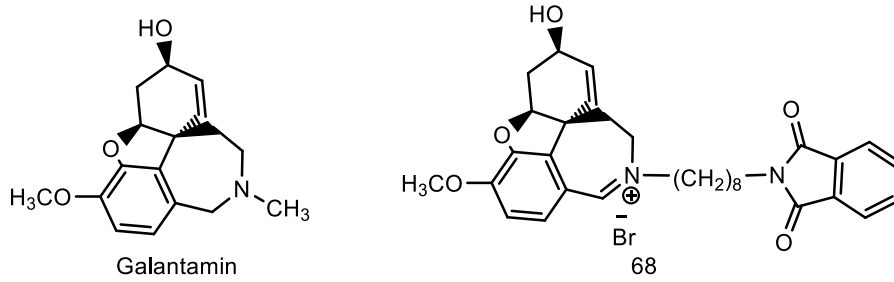


$IC_{50} = 12 \text{ nM } eelAChE$

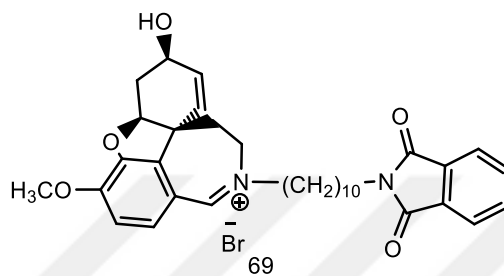
Şekil 81. Galantamin homodimer hibrit bileşikleri

2.6.6.2.5.2. Galantamin Heterodimerleri

68 nolu ($IC_{50} = 10 \text{ nM}$) ve 69 nolu ($IC_{50} = 22 \text{ nM}$) galantamin heterodimerleri, takrinden ($IC_{50} = 50 \text{ nM}$) 2-5 kat ve galantaminden 16-36 kat daha güçlüdür (Şekil 82). İminyum yapısı AChE'nin Trp84 amino asitiyle katyon- π etkileşimlerini meydana getirir. Bu etkileşim inhibitör etkiden sorumlu olduğundan iminyum yapısı bu türevlerin önemli bir yapısal özelliğidir. Buna karşın, sürekli bir pozitif yük varlığı, Alzheimer tedavisi için elverişli değildir (388).



IC₅₀ = 10 nM AChE

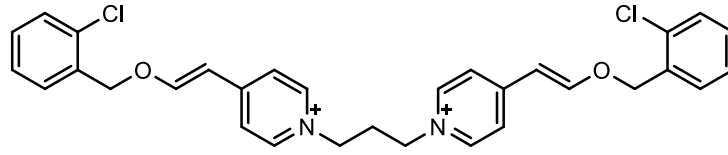


IC₅₀ = 22 nM AChE

Şekil 82. Galantamin ve heterodimer hibrit bileşikler

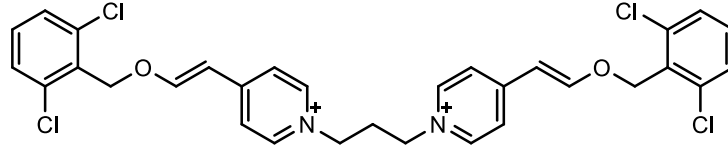
2.6.6.2.6. Obidoksim–Oksim Hibritleri

Bir dizi hibrit obidoksim-oksım molekülünün AChE inhibitör aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir. Bu moleküller, obidoksim türevleri ve piridinyum oksım eterden oluşmaktadır. Çalışmada monopiridinyum ve bispiridinyum hibritlerinin mikromolar düzeyde AChE inhibitör aktivite sergilediği bulunmuştur. Bu hibritler, hem aktif yöreye hem de periferel yöreye bağlanmaya olanak tanıyacak şekilde tasarlanmış dual bağlanma özelliğine sahiptirler. Gözlemlenen en yüksek inhibisyon aktivitesi fenil halkasında 2-kloro sübstitüenti bulunan 70 nolu ve yine fenil halkasında 2,6-dikloro sübstitüenti bulunan 71 nolu türevleri için bulunmuştur (Şekil 83). Aktif ve periferel yöredeki aktivitesinin yanında, kendi kendine gerçekleşen agregasyonun ve amiloid fibril oluşumunun inhibisyonundan da sorumludurlar (41, 42, 390).



DUO12
70

$IC_{50} = 0.58 \mu M$ *eelAChE*



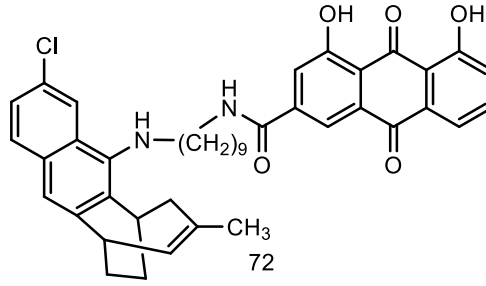
DUO3
71

$IC_{50} = 0.34 \mu M$ *eelAChE*, $1.83 \mu M$ BuChE

Şekil 83. Bis-piridinyum türevi bileşikler

2.6.6.2.7. Rein–Huprin Hibritleri

Viayna ve ark., Alzheimer hastalığı için çok sayıda hedefe yönelik yeni rein-huprin hibrit molekülleri sentezlemişlerdir. Bu bileşikler, penta-undekametilen veya 1,4-fenilen-bis(metilen) ara zincirleri vasıtasıyla bağlanmış bir rein ve bir huprin Y sisteminden oluşmuştur. Bütün bileşikler, *E. Coli* hücrelerinde AChE, BuChE, BACE-1, dual $A\beta_{1-42}$ ve tau anti-agregasyon aktivitesine karşı biyolojik olarak değerlendirilmiş ve etkin oldukları bulunmuştur. Sentezlenen bileşikler arasında 72 nolu bileşik, $10 \mu M$ 'da % 43 $A\beta_{1-42}$ agregasyonu ile birlikte *hAChE* ($IC_{50} = 2.39$ nM), *hBuChE* ($IC_{50} = 513$ nM), BACE-1 ($IC_{50} = 80$ nM) inhibisyon özelliklerine sahip hastalığı modifiye eden bir anti-Alzheimer ilaç adayı olarak ortaya çıkmıştır (Şekil 84). Bileşik 72'nin *in vivo* çalışmaları, $A\beta_{1-42}$ agregasyonunu % 47 oranında ve tau agregasyonunu % 34 oranında inhibe ettiğini göstermiştir. Ayrıca, *in vivo* denemelerde APP-PS1 farelerinde santral $A\beta$ 'yi ve $A\beta$ ile indüklenen sinaptik protein kaybını önler. Yapılan bir doking çalışmasında, bu molekülün enzimin hem CAS hem de PAS yöresine dual bağlanma kabiliyetine sahip olduğu bulunmuştur (390).



IC_{50} = 2.39 nM *hAChE*, 513 nM *hBuChE*, 80 nM BACE-1

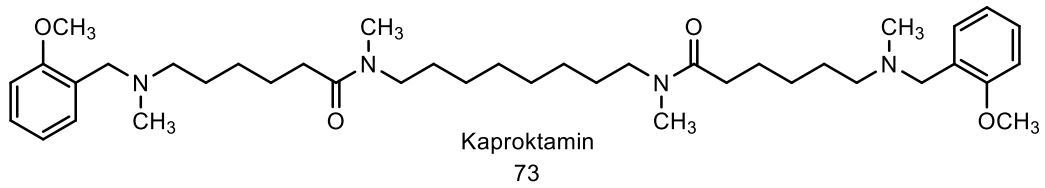
Şekil 84. Rein–huprin hibrit bileşiği

2.6.6.2.8. Poliamin Türevi Bileşikler

2.6.6.2.8.1. Kaproktamin Bileşiği

Kaproktamin (73, Şekil 85), aynı zamanda muskarinik (M_2) reseptörünü bloke eden poliamin bazlı dual AChE inhibitörüdür **(391)**.

Kaproktamin iskeleti, *o*-metoksibenzilamin birimlerinin AChE'nin Trp279 (PAS) ve Trp84 (CAS) yakınlarına ulaşabilmekte ve buna karşılık lipofilik zincir çok sayıda aromatik artıklar ile farklı hidrofobik etkileşimler meydana getirmektedir. AChE inhibitörü ve kompetitif muskarinik (M_2) reseptör antagonisti aktivitelerine rağmen, aynı zamanda AChE aracılı A β agregasyonunu önleme potansiyeline de sahiptir **(392)**.



IC_{50} = 0.17 μ M *hAChE*

Şekil 85. Kaproktamin bileşiği

3. PLANLANAN ÇALIŞMA

3.1. Sentezlenmesi Planlanan Bileşiklerle ilgili Literatürde Yapılan Çalışmalar

3.1.1. Benzimidazol, Benzoksazol ve Benzotiyazol Halkalarını Taşıyan Bileşikler

Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılan AChE inhibitörü ilaçlar (takrin, donepezil, rivastigmin ve galantamin) yapılarında aromatik ve/veya heterosiklik halka sistemi taşımaktadır. AChE enzim çukurunun gerek PAS gerekse aktif yörenesi bir çok aromatik amino asit artığı içermektedir. Aromatik ve/veya heteroaromatik halkalar, hem AChE enzim çukuru girişindeki, hem de içindeki amino asit artıklarıyla hidrofobik, yük transfer kompleksi, π - π , kation- π etkileşim potansiyeline ya da H bağı yapma özelliğine sahiptir. Örneğin, takrinin kinolin halkasındaki azot atomunun His440'ın karbonil oksijeniyle hidrojen bağı oluşturduğu, donepezilin indanon yapısının da PAS yörenesindeki Trp279 ile etkileşime girdiği yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. Bu yüzden, AChE inhibitörü yeni bileşiklerin tasarımında pek çok heterosiklik sistem iskelet yapı olarak kullanılmaktadır (40, 394, 395).

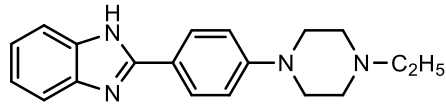
3.1.1.1. Benzimidazol Halkası Taşıyan Bileşikler

Hetroaromatik halkalardan benzimidazol halkası medisinal kimyada çekirdek yapı olarak birçok molekülün tasarımında kullanılmaktadır. AChE inhibitör aktivitesine sahip yeni adayların keşfedilmesinde de yer aldığı görülmektedir (35, 391, 393).

3.1.1.1.1. 2-[4-(4-Sübstitüepiperazin-1-il)fenil]benzimidazol Türevi Bileşikler

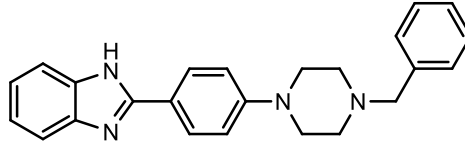
Özadalı-Sarı ve ark., bir seri 2-[4-(4-sübstitüepiperazin-1-il)fenil]benzimidazol türevi bileşik sentezlemiş ve bileşiklerin AChE/BuChE inhibisyonu, A β antiagregasyon ve nöroprotektif etkilerini incelemişlerdir. 74 ve 75 nolu türevlerin (Şekil 86) BuChE enzimi üzerine selektif inhibisyon aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir. Moleküler modelleme çalışmalarında 74 ve 75 kodlu bileşiklerin BuChE enzminin Trp82 amino asiti ile hidrofobik etkileşimler oluşturduğu görülmüştür.

AChE ile doking çalışmalarında, PAS bölgesinin üç aromatik kalıntısından (Tyr72, Trp286 ve Tyr341) biri olan Tyr341 ile benzimidazol halkasının 2- konumundaki fenil arasında oluşan π - π etkileşimi, bu bileşiklerin en temel etkileşimi olarak tanımlanmıştır (Şekil 87) (35).



74

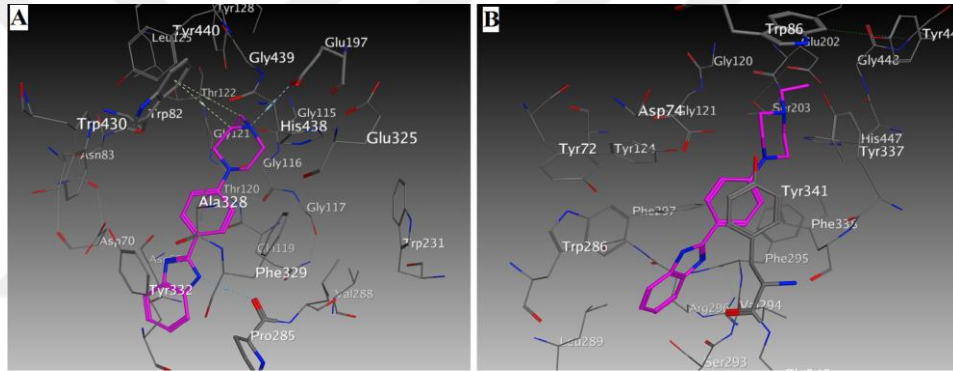
IC₅₀= 34.85 µM *hAChE*, 5.18 µM *eqsBuChE*



75

IC₅₀= 97.2 µM *hAChE*, 5.22 µM *eqsBuChE*

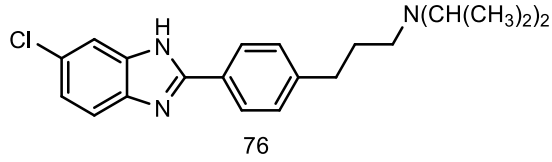
Şekil 86. 2-[4-(4-süstitüepiperazin-1-il)fenil]benzimidazol türevi bileşikler



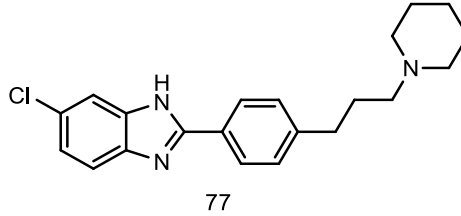
Şekil 87. 74 nolu bileşiğin BuChE enzimindeki (A) ve AChE enzimindeki (B) yönelimi

3.1.1.1.2. 2-Fenil-1*H*-benzimidazol Türevi Bileşikler

Alpan ve ark. tarafından, 2-fenil-1*H*-benzimidazol çekirdeği iskelet yapı olarak belirlenmiş ve etoksi zinciri ile bu iskelete bazik siklik, asiklik amino kalıntıları eklenmiş ve bu bileşiklerin kolinesteraz inhibitör aktiviteleri araştırılmıştır. Bileşiklerin çoğunun AChE ve/veya BuChE inhibitörü aktivitesi sergilediği ve az sayıda bileşiğin AChE'ye karşı daha selektif olduğu keşfedilmiştir. Bileşik 76 ve 77, sırasıyla *eelAChE*'ye ve *hAChE*'ye karşı seride en aktif bileşikler olarak rapor edilmiştir (Şekil 88).



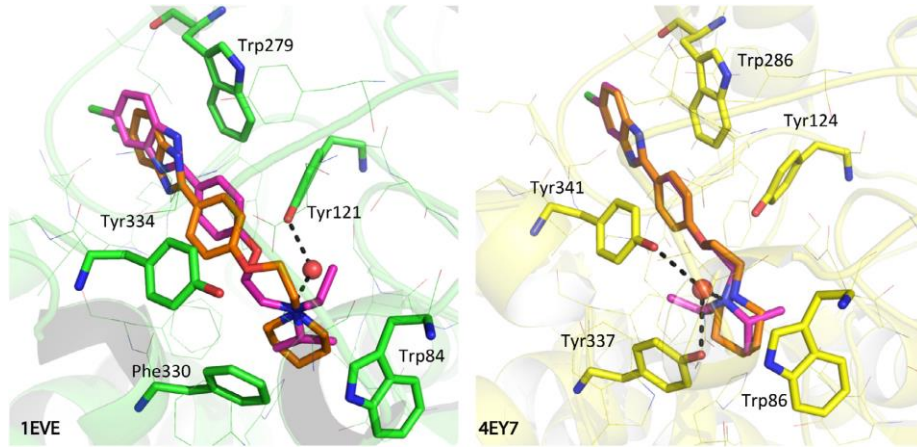
IC_{50} = 0.58 μ M *eel*AChE, 3.68 μ M *hAChE*, 7.44 μ M *eqBuChE*



IC_{50} = 0.61 μ M *eel*AChE, 0.13 μ M *hAChE*, >100 μ M *eqBuChE*

Şekil 88. 2-fenil-1*H*-benzimidazol türevi bileşikler

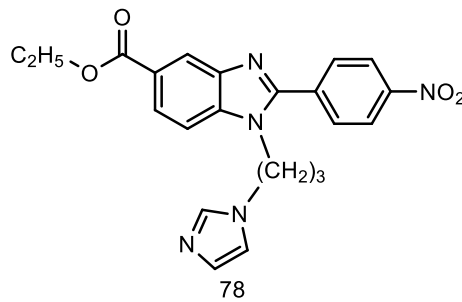
Yapılan moleküler modelleme çalışmalarında, 77 nolu bileşiğin yan zincirindeki fizyolojik pH'da protonlanmış azot atomunun, Tyr121'in yan zinciri ile bir su molekülü aracılığıyla hidrojen bağı yaptığı, benzimidazol kısmının PAS'a ait π - π etkileşimleri vasıtasıyla Trp279 ve Tyr334 artıkları ile etkileşime girebildiği gözlenmiştir. Bu durum 76 ve 77 nolu bileşiklerin *TcAChE*'nin PAS bölgesi ile etkileşimde bulunduğunu göstermektedir. *hAChE* ile olan etkileşimde ise, Tyr341 ve Tyr337'nin yan zincirleri ile bir su molekülü aracılığıyla hidrojen bağı yaptığı, benzimidazol halkasının da Trp286 ve Tyr341 aminoasitleriyle π - π etkileşimleri gösterdiği görülmüştür (Şekil 89) (34).



Şekil 89. 76 ve 77 kodlu bileşiklerin *TcAChE* ve *hAChE* arasındaki etkileşim şekli karşılaştırması: 76 nolu bileşik mor renk ile, 77 nolu bileşik turuncu renk ile; *TcAChE*'deki amino asit artıkları yeşil renk ve *hAChE*'deki amino asit artıkları sarı renk ile temsil edilmiştir. Su molekülleri kırmızı küre ile, hidrojen bağı etkileşimleri siyah kesikli çizgilerle temsil edilmiştir.

3.1.1.1.3. 2-(*p*-Nitrofenil)-1*H*-benzimidazol Türevi Bileşikler

Yoon ve ark., 4-floro-3-nitrobenzoik asitten başlayarak 34 adet benzimidazol yapısı içeren potansiyel AChE ve BuChE inhibitörleri sentezlemiş ve enzim üzerindeki inhibitör aktivitelerini araştırmışlardır. Bu bileşiklerden üç tanesi 10 μM 'dan daha düşük IC_{50} değerlerine sahip AChE inhibisyonu sergilemiş olup 78 kodlu türev en aktif bileşik olarak bulunmuştur (Şekil 90).



IC_{50} = 8.63 μM *eelAChE*, 5.12 μM *eqBuChE*

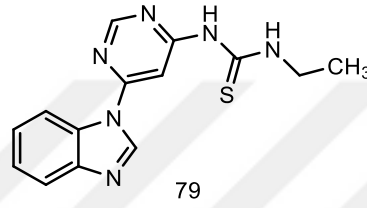
Şekil 90. 2-(*p*-nitrofenil)-1*H*-benzimidazol türevi bileşik

Yapı-aktivite çalışmaları, benzimidazolün 2- konumunda bir fenil halkasının bulunmasının ve fenil halkasının da 4- konumunda ($-\text{NO}_2$), ($-\text{CF}_3$) ve ($-\text{COOH}$) gibi

süstitüentler taşımalarının AChE inhibisyon aktivitesini olumlu etkilediğini göstermiştir. Ayrıca doking çalışmalarından, benzimidazol kısmının Trp279 ile, 2- konumundaki fenil halkasının da Ser286 ve Gly335 amino asitleri ile etkileştiği anlaşılmıştır (33).

3.1.1.1.4. 3-Süstitübenzimidazol-Pirimidintiyöre Türevi Bileşik

Jian Li ve ark., bir seri pirimidiniltiyöre türevi bileşikler sentezlemiş ve Alzheimer hastalığına karşı MTDL ajanlar olarak değerlendirmişlerdir. Bu bileşiklerden 79 kodlu olan bileşik (Şekil 91) 3-süstitübenzimidazol yapısı taşımaktadır ve mikromolar düzeyde AChE inhibitör aktivitesi sergilemiştir (32).

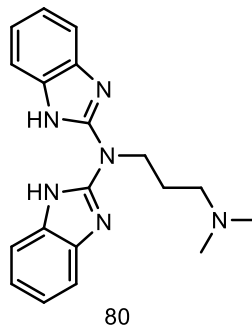


$IC_{50} = 8.63 \mu M$ *eel*AChE

Şekil 91. 3-süstitübenzimidazol türevi bileşik

3.1.1.1.5. N,N-bis(1H-benzimidazol-2-il) Türevi Bileşikler

Luo ve ark., CN103121969 nolu patente kolinesteraz aktivitesini selektif olarak inhibe eden özellikle Alzheimer hastalığı ve epilepsi ile ilişkili nöropsikozun tedavisinde ya da önlenmesinde etkili benzimidazol türevi bir seri bileşik bildirmişlerdir. Bu bileşikler arasında 80 nolu türevin (Şekil 92) mikromolar seviyede kolinesteraz inhibisyonu yaptığı bulunmuştur (31).



$IC_{50} = 2.26 \mu M$ ChE

Şekil 92. N,N-bis(1H-benzimidazol-2-il) türevi bileşik

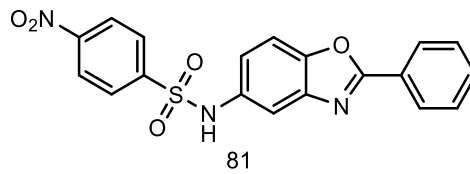
3.1.1.2. Benzoksazol Halkası Taşıyan Bileşikler

Heterosiklik halkalardan bir diğeri benzoksazol halkasıdır ve farmakolojik olarak aktif bileşiklerde bulunan en önemli iskelet yapılardan biridir. Pek çok benzoksazol içeren bileşik, antitümör, antimikrobik, antiviral, antialerjik, antikonvülsan, antihelmintik, antidepresan, antioksidan ve analjezik etkiler gibi geniş bir biyolojik aktivite yelpazesine sahiptir. Benzoksazol halkası içeren bileşikler, koroner kalp hastalığı, Alzheimer hastalığı, diyabet ve hepatit gibi patolojik hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadır. Benzoksazolün hem O-1 hem de N-3 atomları hidrojen bağı yapabilir ve aromatik halka, hem π - π etkileşimi hem de π -katyon etkileşimine girebilir. Lipofilik karakterinden dolayı, benzoksazol yapısı hidrofobik etkileşimler yoluyla bir reseptör ile etkileşebilir (395).

3.1.1.2.1. 2,5-Disübstitüebenzoksazol Türevi Bileşikler

Temiz-Arpacı ve ark., bir dizi 2,5-disübstitüebenzoksazol türevi bileşiğin potansiyel AChE ve BuChE inhibitör aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Sonuçlar, bir bileşik haricinde tüm bileşiklerin, 50 μ M konsantrasyonda % 6.80 ila % 90.21 arasında değişen geniş bir aralıkta AChE/ BuChE inhibitör etki sergilediğini ortaya koymuştur. 81 nolu bileşik, AChE ve BuChE'ye karşı galantamine yakın bir inhibisyon sergilemiştir (Şekil 93).

Bileşik-enzim etkileşimlerini anlamak için, bileşikler üzerinde moleküler doking çalışmaları yapılmıştır. Elde edilen verilere göre, moleküllerin, AChE enziminin özellikle Tyr124 ve Tyr337 amino asitleri ile etkileşime girdikleri görülmüştür (30).



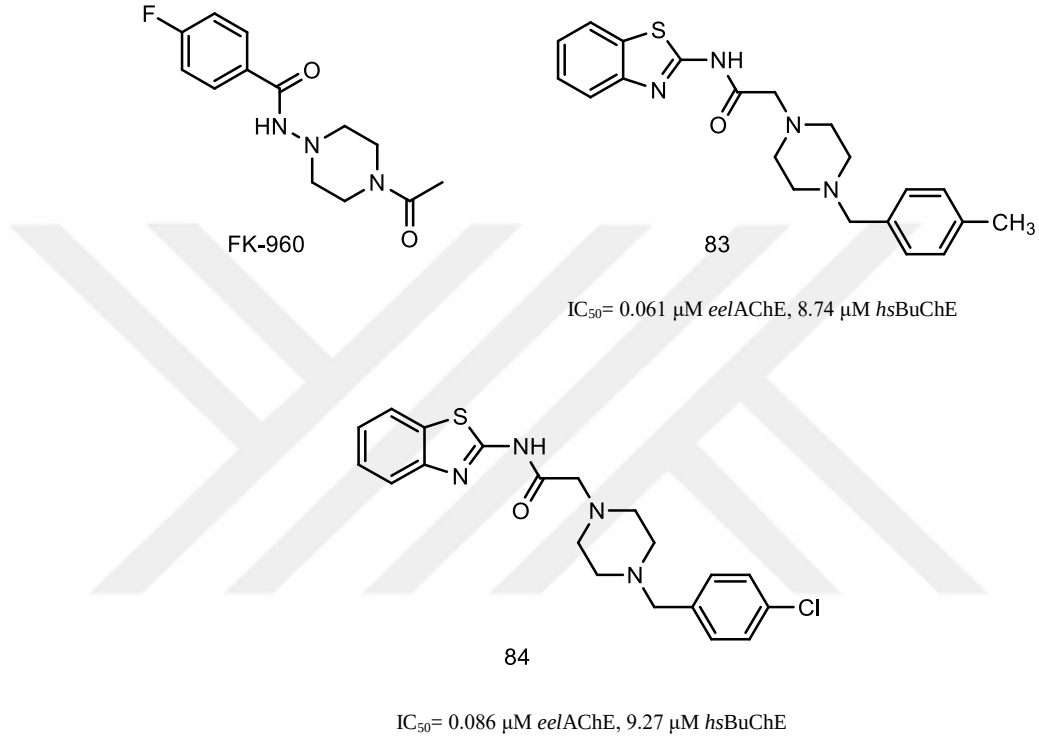
Şekil 93. 2,5-disübstitüebenzoksazol türevi bileşik

3.1.1.3. Benzotiyazol Halkası Taşıyan Bileşikler

3.1.1.3.1. Benzotiyazol ve N-Benzilpiperazin Hibrit Bileşikleri

Özkay ve ark., benzotiyazol ve piperazin yapılarını aynı iskelette taşıyan bir seri bileşik tasarlamışlar ve anti-Alzheimer etkinliğini incelemişlerdir. Moleküler hibridizasyon stratejisine dayalı olarak sabeluzol bileşiğinden benzotiyazol yapısını, donepezil bileşiğinden

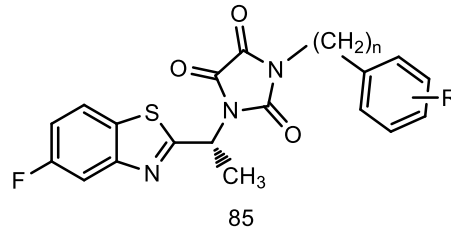
benzil piperidin yapısını ve yeni bir anti-Alzheimer ilaç adayı olan Fk-960 bileşiğinden piperazin yapısını kombine etmişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin AChE ve BuChE inhibitör aktiviteleri incelenmiş olup bileşiklerde bulunan piperazin ile 4-sübstitüefenil yapıları arasına giren bir metilen grubunun aktiviteyi oldukça artırdığı belirlenmiştir. 83 ve 84 nolu iki bileşik (Şekil 94) submikromolar seviyede AChE inhibisyonu ve mikromolar seviyede BuChE inhibisyonu sergilemiştir (28).



Şekil 94. Benzotiyazol ve *N*-benzilpiperazin hibrit bileşikleri

3.1.1.3.2. İmidazolidin-2,4,5-trion ve Benzotiyazol Türevi Bileşikler

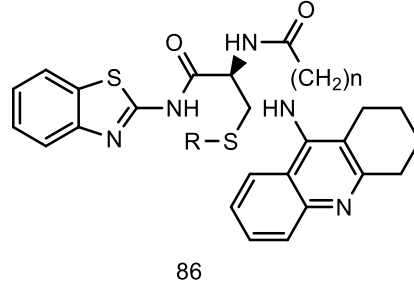
Pejchal ve ark., imidazolidin-2,4,5-trion yapısı içeren sübstitüe benzotiyazollerden türetilen bir dizi yeni ve yüksek derecede aktif AChE ve BuChE inhibitörleri sentezlemişlerdir. Bileşiklerin BuChE ve AChE üzerindeki *in vitro* inhibitör aktiviteleri belirlenmiştir. AChE üzerindeki inhibe edici aktivitesi, rivastigminde daha yüksek bulunmuştur. Yapılan çalışmalara göre, AChE'nin *orto* sübstitüsyon yerine *para* ve *meta* sübstitüsyonu tercih ettiği, buna karşılık BuChE'nin *orto* ve *meta* sübstitüsyon yerine *para* sübstitüsyonu tercih ettiği söylenebilir. Bu sonuçlar, her iki enzimin aktif bölgelerinde sterik farklılıkların bulunabileceğini ortaya koymaktadır (37). Yüksek inhibisyon aktivitesine sahip bileşiklerin (85, Şekil 95) dallanmış bir sübstitüente sahip olmaları da dikkate değerdir (27).



Şekil 95. İmidazolidin-2,4,5-trion ve benzotiyazol türevi bileşik

3.1.1.3.3. Takrin, S-Allilsistein (SAC)/S-Propargilsistein (SPRC) Yapıları ve Benzotiyazol Halkası İçeren Üçlü Hibrit Sistemi

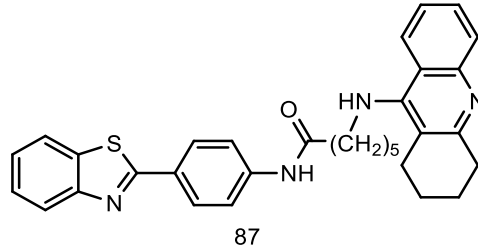
Hiremathad ve ark., takrin, S-allilsistein (SAC), S-propargilsistein (SPRC) yapıları ve benzotiyazol halkası (BTA) içeren üçlü hibrit sistemi içeren bir seri bileşik tasarlamış ve sentezlemişlerdir (Şekil 96). Sonuçlar, yeni trihibritlerin (TAK-SAC/SPRC-BTA) farklı olarak, bihibritlerin (TAC-SAC/SPRC) AChE inhibisyonu ve anti-ROS kapasitesinin yanında, A β agregasyonunun inhibisyonuna sahip olduğunu göstermiştir. Aynı zamanda moleküler modelleme çalışmalarında, benzotiyazol yapısının varlığında, AChE'nin PAS ve CAS bölgesine eş zamanlı olarak bağlanmasından dolayı trihibritlerde AChE'ye karşı inhibisyonun belirgin bir şekilde arttığı görülmektedir. Bileşiklerin tamamının submikromolar konsantrasyonlarda (0.25-0.37 μ M) AChE inhibisyonu yaptığı belirlenmiştir. Takrin kısmının, enzim çukurunun tabanına yerleşerek CAS bölgesinde bulunan Trp84 ve Phe330 ile paralel bir π - π etkileşim sergilediği, benzotiyazol kısmının ise, PAS'ta yer alan Trp279 ve Tyr70 ile π - π etkileşiminde bulunduğu tespit edilmiştir. Uzun ara zincirli (n=5) bileşiklerin, kısa zincirli bileşiklere nazaran daha düşük aktivite sergilemesinin nedeninin, bu bileşiklerdeki benzotiyazol yapısının uzaklaşmasıyla PAS ile daha zayıf π - π etkileşimi göstermeleri olabileceği düşünülmektedir. PAS bölgesi ile etkileşen benzotiyazol halkasının yapıya eklenmesinin molekülün hem CAS hem de PAS yörelerine dual bağlanarak AChE inhibisyon aktivitesini artırdığı, ayrıca benzotiyazol halkasının A β afinitesinden dolayı kendiliğinden indüklenen A β -agregasyonunu yüksek düzeyde inhibe ettiği saptanmıştır (26).



Şekil 96. Takrin, S-allilsistein (SAC)/S-propargilsistein (SPRC) yapıları ve benzotiyazol halkası içeren üçlü hibrit sistemine örnek bileşik

3.1.1.3.4. Takrin ve Benzotiyazol Türevi Bileşikler

Keri ve ark., takrin ve benzotiyazol yapılarını çeşitli bağlayıcılarla birbirlerine bağlayarak bir seri hibrit bileşik sentezlemişlerdir. Bu bileşiklerin AChE'nin ve kendiliğinden indüklenen Aβ agregasyonunun inhibisyonu ve ayrıca nöronal hücre ölümünü engelleme kapasiteleri *in vitro* ve *ex vivo* olarak değerlendirilmiştir. Takrin-benzotiyazol hibritleri *in vitro* ortamda mikromolar düzeyde AChE inhibisyonu gerçekleştirmiş ve Aβ agregasyonunu da yüksek oranlarda inhibe etmiştir. En kısa zincirli bağlayıcı içeren 87 nolu bileşik, AChE'ye karşı en iyi inhibe edici aktiviteye ($IC_{50} = 0.34 \mu M$) sahip bileşik olarak bulunmuştur (Şekil 97).

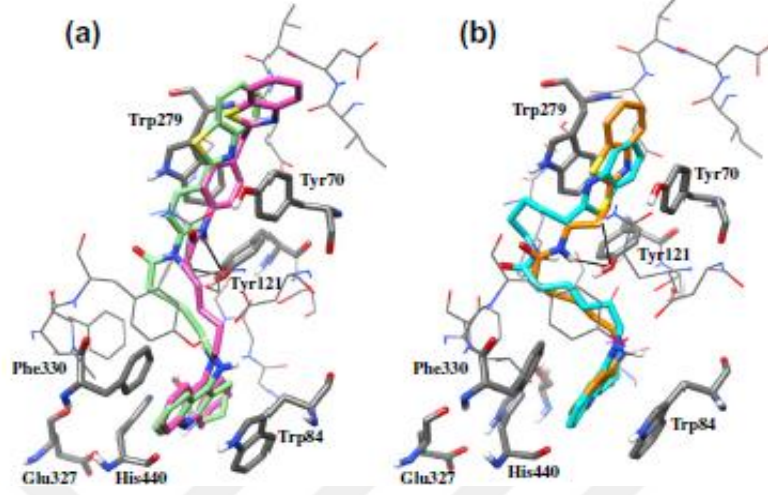


$IC_{50} = 0.34 \mu M$ AChE

Şekil 97. Takrin ve benzotiyazol türevi bileşik

Doking çalışmaları, tüm bileşiklerin AChE'nin hem CAS bölgesi, hem de PAS bölgesi ile etkileşebildiğini ortaya koymuştur. Takrin artığı CAS bölgesindeki Trp84 ve Phe330'un aromatik halkası ile π - π etkileşimi göstermiştir. Genel olarak ara zincir kısmı hidrofobik boşluk boyunca iyi yerleşmiş gibi gözükmemektedir. Öte yandan, benzotiyazol kısmı da enzim çukurunun girişine yerleşerek, Tyr70 ve Trp279 aromatik artıkları ile etkileşerek PAS'a bağlanabilmektedir. Ayrıca Tyr121 amino asitinin OH grubu ile ara zincirdeki amidin NH

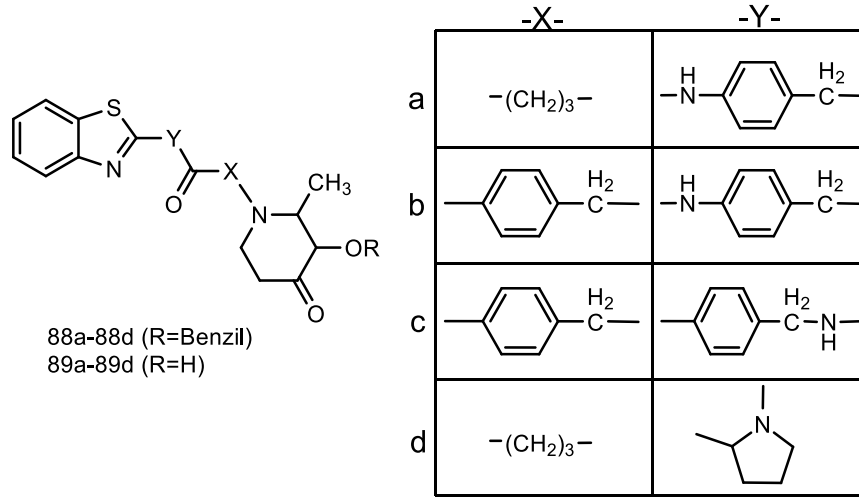
grubu arasında oluşan bir hidrojen bağı, bileşiğin daha yüksek inhibitör kapasitesini açıklamaktadır (25).



Şekil 98. Takrin-benzotiyazol hibrit bileşiklerinin AChE enzimi ile modelleme sonuçları: Üst üste çakıştırılmış 87 (açık yeşil) ve 87a (pembe) (a), 87b (turuncu) ve 87c (turkuaz) (b), H-bağları siyah çizgilerle gösterilmiştir.

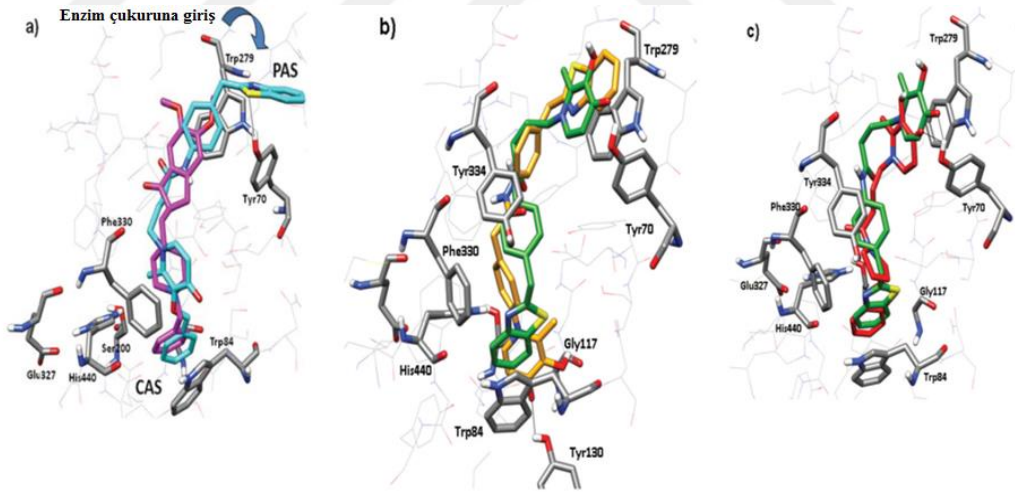
3.1.1.3.5. 3-Hidroksi-4-piridinonbenzotiyazol Türevi Bileşikler

Santos ve ark., bir seri çok işlevli bileşiklerin tasarımı yapmış, sentezlemiş, asit-baz özelliklerini, demir kompleks oluşturma kabiliyetlerini, antioksidan özelliklerini değerlendirmiş ve demir/askorbat varlığında/yokluğunda A β ile meydana gelen nöronal strese hücreleri kurtarma kapasitelerinin yanı sıra AChE inhibisyonu ve A β agregasyonu özelliklerini araştırmışlardır. Yeni bileşiklerin AChE'ye karşı inhibe edici profili incelendiğinde en düşük inhibitör aktivite, düşük mikromolar aralıkta (IC_{50} = 14-29 μ M) 88a, 88b, 88c ve 89d kodlu bileşikler için bulunmuştur (Şekil 99).



Şekil 99. 3-Hidroksi-4-piridinonbenzotiyazol türevi bileşikler

Modelleme çalışmaları, piridinonun *orto* konumundaki benzil grubu ile CAS'ın Trp84 kalıntısı arasında $\pi-\pi$ etkileşimi olduğunu, benzotiyazol kısmının ise PAS yöresindeki Tyr70 ve Trp279 ile aromatik etkileşimlerde bulunduğunu göstermiştir (24).

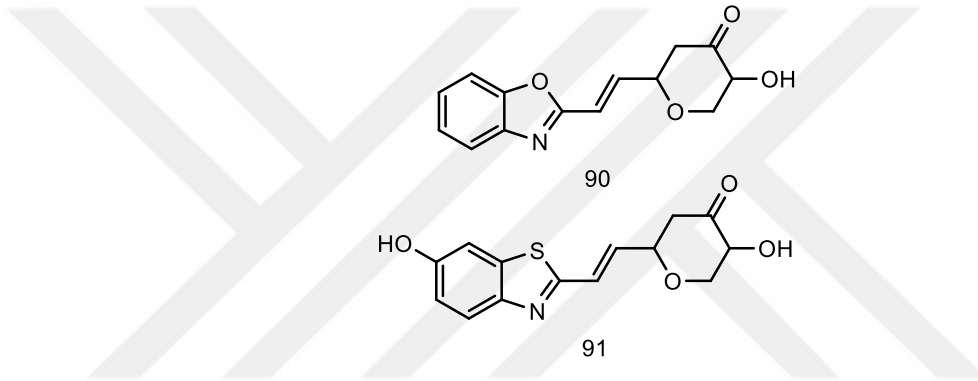


Şekil 100. AChE ile bazı türevler için yapılan doking sonuçları: (a) 88a (pembe) ile Donepezil (mavi) süperimpozisyonu; (b) 89a (yeşil) ve 89b (sarı); (c) 89a (yeşil) ve 89d (kırmızı). H-bağları siyah çizgiler ile temsil edilmektedir.

3.1.1.4. Benzoksazol/Benzotiyazol Halkası Taşıyan Bileşikler

3.1.1.4.1. 2-Süstitübenzoksazol ve Benzotiyazol Türevi Bileşikler

Jiang ve ark., farmakofor-kombine stratejisi kullanarak Alzheimer hastalığı tedavisi için MTDL'ler gibi bir seri 2-süstitübenzotiyazol ve benzoksazol türevi tasarlamış ve sentezlemişlerdir. Biyolojik aktivite sonuçlarına göre, bileşiklerin çoğunluğu A β agregasyonu, oksidatif stres ve metal homeostaz bozukluğuna müdahale ederek istenilen üçlü fonksiyonu sergilemektedirler. 90 ve 91 nolu türevler (Şekil 101) en etkin bileşikler olup A β_{1-42} agregasyonunu inhibe edici etki, ABTS⁺ temizleme aktivitesi, güçlü biyometal kenetleme ve A β_{1-42} fibrillerini ayrıştırma aktivitesi sergilemişlerdir (38).

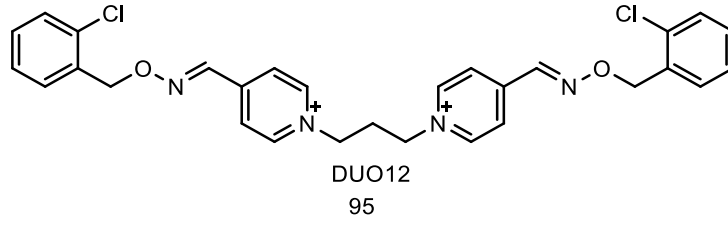


Şekil 101. 2-Süstitübenzoksazol ve benzotiyazol türevi bileşikler

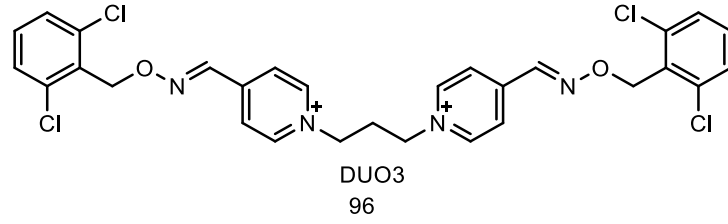
3.1.2. Hidrazit/Hidrazon Yapısı Taşıyan Bileşikler

3.1.2.1. Piridinyum Türevi Bileşikler

Alptüzün ve ark., oksim ve hidrazon grubu taşıyan piridinyum türevlerini sentezlemiş, AChE/BuChE ve A β agregasyonu üzerindeki inhibisyon etkilerini değerlendirmişlerdir (394). Daha önceki çalışmada Kapková ve ark. tarafından, biskaterner-A tipi bileşiklerin (Şekil 102) iyi düzeyde AChE inhibisyonu yaptıkları bulunmuştur, ancak uzunluklarından ötürü AChE'nin katalitik çukuruna tam olarak bağlanamadıkları tespit edilmiştir (42).



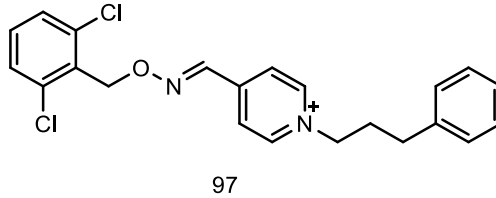
$IC_{50} = 0.58 \mu M$ *eelAChE*



$IC_{50} = 0.34 \mu M$ *eelAChE*, $1.83 \mu M$ BuChE

Şekil 102. Bis-piridinyum türevi bileşikler

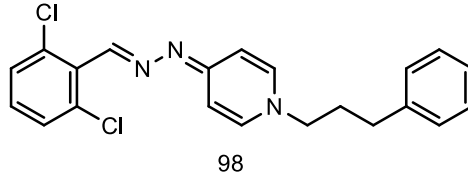
Bu bileşiklerin sistematik olarak kısaltılması ile AChE'yi yüksek nanomolar konsantrasyonda inhibe eden bir seri bileşik elde edilmiş ve ilaveten, bu bileşiklerin A β -fibrillerinin oluşumunu da engellediği belirlenmiştir (Şekil 103) **(41)**.



$IC_{50} = 0.18 \mu M$ *eelAChE*

Şekil 103. Piridinyum türevi bileşik

Bu bileşik sınıfı kalıcı olarak pozitif yüklü olduğu için, aktif taşıyıcı bir grupta taşınamazsa, KBB'ni geçmesi oldukça zor olacağından, piridinyum halkası, farklı şekilde bağlanmış piperidin halkaları ile değiştirilmiş, ancak bu değişiklik daha düşük inhibitör aktivite ile sonuçlanmıştır. Aktiviteyi tekrar kazanmak için, dihidropiridin yapısı içeren konjüge bir sistem sunulmuştur (Şekil 104).

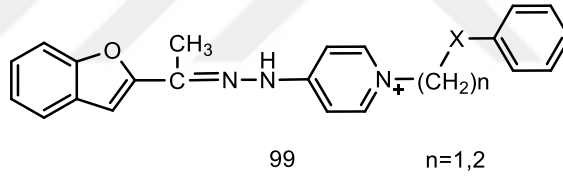


$$IC_{50} = 0.98 \mu M \text{ eelAChE}$$

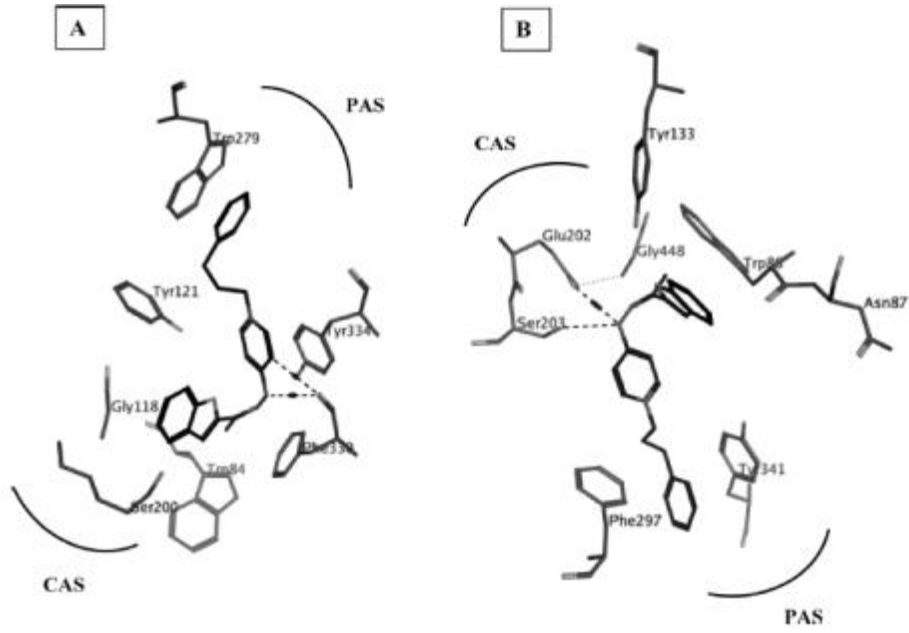
Şekil 104. 1,4-dihidropiridin türevi bileşik

98 nolu bileşik, A β fibrilleri ile etkileşim için geniş bir konjuge sisteme sahiptir (**390**).

Parlar ve ark., piridinyum-hidrazon türevi bir seri bileşik sentezlemiş, AChE ve BuChE inhibitör aktivitelerini araştırmışlardır. Seri içerisinde benzofuran çekirdeğine sahip bileşik en aktif bulunmuştur (99, Şekil 105). Moleküler modelleme çalışmalarına göre hidrazon işlevsel grubunun CAS bölgesine yakın bulunan hidrofobik cepteki Phe330 amino asit artığının karbonil grubuyla hidrojen bağı yaptığı, benzofuran halkasının aktif cepteki Trp84 amino asit artığına ulaştığı, terminaldeki fenil halkasının da PAS yöresindeki Trp279 ile π - π etkileşimine girdiği görülmüştür (Şekil 106) (**45**).



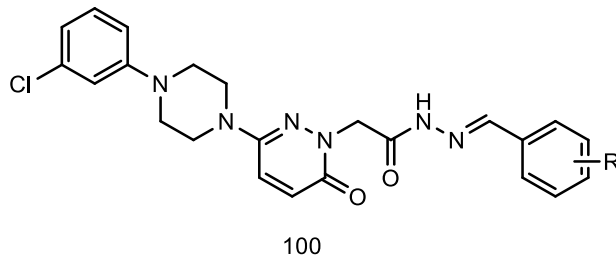
Şekil 105. Benzofuran-piridinyum türevi bileşik



Şekil 106. TcAChE (A) ve hAChE (B) ile bileşik 99'un etkileşim modları

3.1.2.2. 6-Süstitüe-3(2H)-piridazinon-2-asetil-2-(süstitüe/nonsüstitüebenzal)hidrazon Türevi Bileşikler

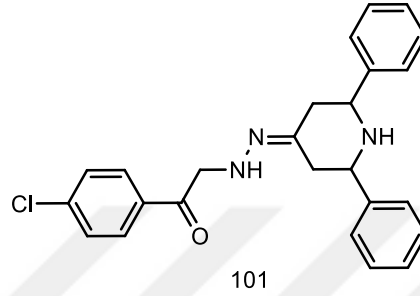
Utku ve ark. tarafından, bir seri 6-süstitüe-3(2H)-piridazinon-2-asetil-2-(süstitüe/nonsüstitüe benzal)hidrazon türevi bileşik AChE ve BuChE inhibitörleri olarak sentezlenmişlerdir (Şekil 107). Bu türevlerin bazıları önemli AChE inhibitör etki sergilerken, bileşiklerin hiçbiri BuChE inhibitör etki göstermemiştir. Sonuçlar, bu bileşiklerin selektif AChE inhibitörleri olduklarını göstermektedir (44).



Şekil 107. 6-Süstitüe-3(2H)-piridazinon-2-asetil-2-(süstitüe/nonsüstitüebenzal)hidrazon türevi bileşik

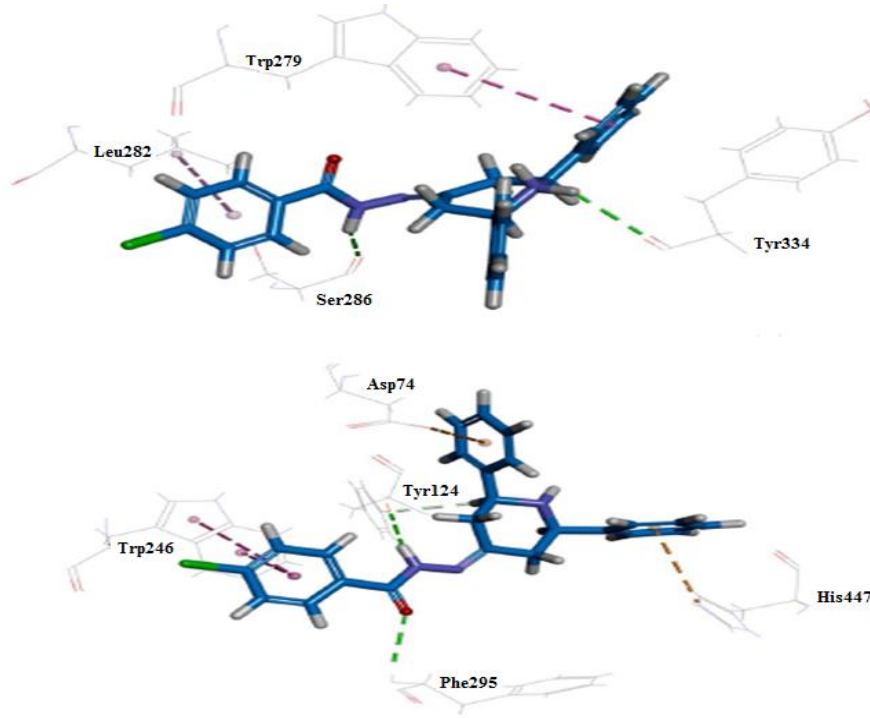
3.1.2.3. Benzoil Hidrazon Türevi Bileşikler

Karaman ve ark., etil 4-oksopiperidin-1-karboksilat ve 2,6-difenilpiperidin-4-on'dan türetilmiş yeni benzoil hidrazonların sentezini gerçekleştirmişlerdir. Sentezlenen bileşikler, antioksidan, antikolinesteraz ve antikanser aktiviteleri açısından araştırılmıştır. Antikolinesteraz aktiviteleri incelenmiş olup 101 nolu bileşiğin ($IC_{50} = 35.30 \mu M$) BuChE'yi galantaminden daha iyi inhibe ettiği saptanmıştır ($IC_{50} = 46.03 \mu M$) (Şekil 108).



Şekil 108. Benzoil hidrazon türevi bileşik

101 nolu bileşik ile yapılan moleküler modelleme çalışmalarında, hidrazon yapısının enzim çukurundaki çeşitli amino asit artıkları ile hidrojen bağı yaptığı görülmüştür (Şekil 109) (39).

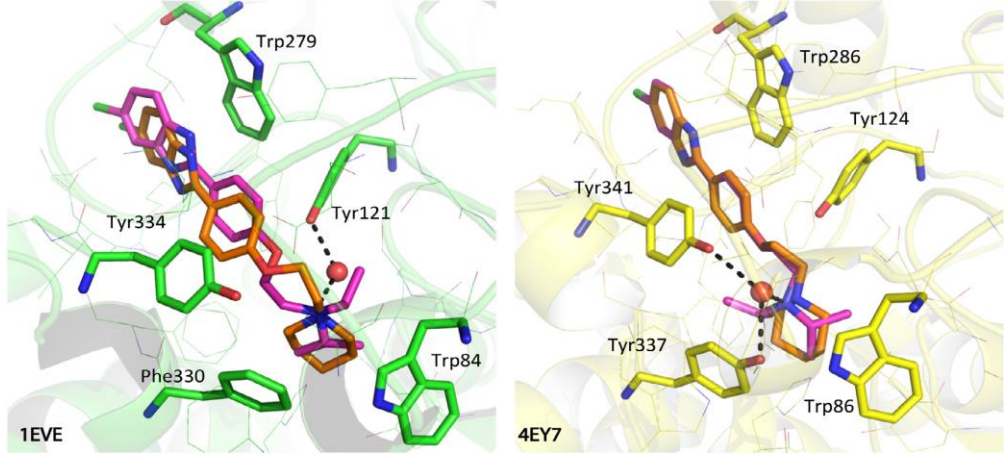


Şekil 109. AChE'nin aktif yöresindeki 101 nolu bileşiğin *TcAChE* (üstte) ve *hAChE* (altta) ile bağlanma modları

3.2. Tez Kapsamında Planlanan Çalışma

Yapılan literatür araştırmalarından benzimidazol, benzoksazol ve benzotiyazol halkaları içeren birçok molekülün AChE ve BuChE enzimi üzerinde inhibitör etki gösterdiği saptanmıştır. Modelleme çalışmalarına göre, bu halkaların enzimin gerek PAS gerekse aktif yöresindeki amino asit artıkları ile etkileşebildiği görülmektedir. AChE enzimi dar bir çukurdan oluştuğu için, özellikle donepezil gibi lineer yapıdaki bileşikler enzimin giriş kısmındaki PAS bölge ve çukurun içindeki aktif yöre ile aynı anda etkileşim gösterirler. Donepezil molekülünün terminaldeki fenil halkası, enzim çukurunun dip kısmındaki Trp84 ile diğer terminalde bulunan indanon halkası da PAS bölgesindeki Trp279 ile π - π etkileşimi göstermektedir. Özellikle lineer yapıdaki bir molekülün her iki ucunda aromatik halka taşımalarının, bu halkaların söz konusu yörelerdeki aromatik amino asit artıkları ile etkileşmesi açısından önemli olduğu düşünülmektedir.

Alpan ve ark.'ları tarafından 2-fenilsübtitübenzimidazoller üzerinde yapılan moleküler modelleme çalışmalarında, 90 no'lu bileşikteki benzimidazol kısmının PAS bölgesindeki Trp279 ve Tyr334 artıkları ile π - π etkileşimleri vasıtasıyla etkileşime girebildiği görülmüştür (Şekil 110) (34).



Şekil 110. 76 ile 77 nolu bileşikler ile *TcAChE* ve *hAChE* arasındaki etkileşim şekli karşılaştırması: 76 bileşiği mor renk ile, bileşik 77 turuncu renk ile; *TcAChE*'deki amino asit artıkları yeşil renk ve *hAChE*'deki amino asit artıkları sarı renk ile temsil edilmiştir. Su molekülleri kırmızı küre ile, hidrojen bağ etkileşimleri siyah kesikli çizgilerle temsil edilmiştir.

Hidrazit-hidrazon işlevsel grubu taşıyan pek çok bileşiğin ChE inhibitör etkinliğe sahip olduğu rapor edilmiştir (37, 38). Bu fonksiyonel gruplar, hidrojen donör ve akseptör atomlarına sahip olduğundan ve enzim çukurundaki amino asitlerle hidrojen bağı yapabilme potansiyeli taşıdığından bir çok molekülün çekirdek yapısında yer almaktadır.

Bu bulgulardan hareketle, bir uçta 2- konumunda benzohidrazit taşıyan benzimidazol, benzoksazol ve benzotiyazol halkası, hidrazit grubu üzerinden hidrazon fonksiyonel grubu oluşturacak şekilde diğer uçtaki aromatik/heteroaromatik halka ile birleştirilerek dual bağlanma potansiyeline sahip, yani AChE enziminin hem PAS hem de CAS bölgesi ile etkileşmesi beklenen bir seri bileşiğin sentezlenmesi amaçlanmıştır (Şema 1).

Bununla birlikte bazı bileşiklerin çeşitli metallerle kompleks oluşturma aktiviteleri de incelenerek AChE inhibisyon aktivitesine ek olarak metal kompleksi oluşturma özelliği gösterip göstermeyeceği araştırılmak istenmiştir.

Yapılması planlanan modifikasyon çalışmaları şu şekilde özetlenebilir;

A Bölümü

Heterosiklik aromatik halka yapısı benzimidazol, benzoksazol ve benzotiyazol olarak çeşitlendirilmiş ve elde edilecek moleküllerin aktiviteye katkısı araştırılmak istenmiştir.

B Bölümü

Terminal olarak yapıda bir aromatik halkanın enzimle etkileşime girme potansiyeli olduğu bilindiğinden çeşitli aromatik aldehytler kullanılarak moleküller her iki ucunda aromatik yapılar bulunacak şekilde tasarlanmıştır. Fenil, benzil, feniletil, stiril, piridin-2-il, piridin-3-il, piridin-4-il, pirol-2-il, furan-2-il, tiyofen-2-il, türevleri bu amaçla tercih edilmiş ve sentezleri planlanmıştır.

Yan zincirdeki fenil halkasının *p*-dialkilamino sübstitüsyonu sonucu oluşacak türevlerde, bu sübstitüsyonun aktiviteye olan katkısı araştırılmak istenmiş bu amaçla sentezlenecek bileşikler arasına *p*-dimetilaminofenil, *p*-dietilaminofenil, 3-(*p*-dimetilaminofenil)stiril türevlerinin de ilave edilmesi kararlaştırılmıştır.

Tez kapsamında yapılması planlanan çalışmalar şöyle özetlenebilir;

- a. Tasarlanan bileşiklerin sentezi ve saflaştırmalarının yapılması
- b. Sentezlenen bileşik yapılarının IR, ¹H NMR, kütle spektroskopisi ve elementel analiz yöntemleri ile aydınlatılması
- c. Bileşiklerin AChE, BuChE inhibitör aktivitelerinin, metal kompleksi oluşturma yeteneklerinin tayin edilmesi ve yapı-aktivite açısından değerlendirilmesi
- d. Bileşiklerin Log P değerlerinin hesaplanması ve aktiviteyle olan ilişkilerinin değerlendirilmesi

4. DENEYSEL BÖLÜM

4.1. Sentezler ve Spektral Bulgular

4.1.1. Materyal

Sentez çalışmalarında kullanılan metil 4-formilbenzoat, hidrazin hidrat, 2-aminofenol, moleküler sieve (su tutucu ajan), 2-furfuraldehit, sodyum sülfat, sodyum siyanür ve alüminyum destek maddeli TLC Silica gel 60 F254 Merck firmasından, 2-aminotiyofenol, fenilasetaldehit, benzaldehit, 4-(dimetilamino)benzaldehit, 4-(dietilamino)benzaldehit, piridin-2-karbaldehit, pirol-2-karbaldehit, tiyofen-2-karbaldehit Alfa Aesar firmasından, sinnamaldehit, piridin-3-karbaldehit, piridin-4-karbaldehit Sigma-Aldrich firmasından, 3-fenilpropionaldehit Fluka firmasından, sodyum disülfid J.T. Baker firmasından ve 4-(dimetilamino)sinnamaldehit Chem-İmpex firmasından temin edilmiştir. Çalışmalarda kullanılan çözücülerden absolü etanol ve metanol Merck firmasına, kloroform, butanol VWR firmasına, *N,N*-dimetilformamit Sigma-Aldrich firmasına ait olup, hepsi analitik saflıktadır.

4.1.2. Yöntemler

4.1.2.1. Kromatografik Analizler

4.1.2.1.1. İnce Tabaka Kromatografisi

Sentez çalışmaları esnasında tepkimeleri takip etmek ve elde edilen bileşiklerin saflığını kontrol etmek için ince tabaka kromatografisinden (İ.T.K.) yararlanıldı.

İ.T.K. kullanılarak yapılan çalışmalarda Merck firmasına ait TLC Silica gel 60 F254 hazır alüminyum kromatografi plakları (20x20 cm) kullanıldı. Kromatografi çalışmaları oda sıcaklığında yapıldı ve developman işlemi kromatografi tanklarının çözücü buharlarıyla doyurulmasını takiben gerçekleştirildi. Sürüklenme işlemleri tamamlandıktan sonra açık havada kurutulan plakların üzerindeki lekeler 254 nm dalga boyundaki ultraviyole ışığı altında tespit edildi. İ.T.K. uygulamalarında çözücü sistemi olarak kloroform/metanol (10:1) karışımı kullanıldı.

4.1.2.2. Spektral Analizler

Ara ürünlerin yapıları erime derecesi değerleri, IR, ¹H NMR spektroskopisi yöntemleri ile, sentezlenen final bileşiklerin yapıları ise erime derecesi değerleri, IR, ¹H NMR, kütle spektroskopisi ve elementel analiz yöntemleriyle aydınlatıldı.

Bileşiklerin IR spektrumları, Perkin Elmer Spectrum 100 FT-IR Spektrofotometresinde ATR (Attenuated Total Reflectance) tekniği kullanılarak alındı.

¹H NMR spektrumları DMSO-*d*₆ çözücüsü içinde Varian AS 400 Mercury Plus NMR Spektrofotometresinde alındı.

Kütle spektrumları analitik saflıktaki çözücüler içerisinde Thermo MSQ Plus marka LC-MS cihazlarında elektrosprey iyonizasyon (MS-ESI) yöntemi ile alındı.

4.1.2.3. Erime Noktası Tayinleri

Bileşiklerin erime derecesi tayinleri Stuart SMP30 marka erime derecesi tayin cihazında gerçekleştirildi ve erime derecesi değerleri düzeltilmeden verildi (Tablo 2, 3, 4).

4.1.2.4. Elementel Analiz

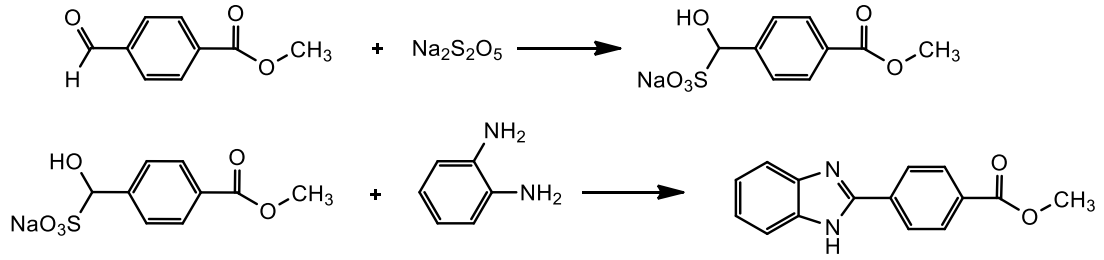
Sentez çalışmalarımızdaki final bileşiklerin elementel analizleri LECO CHNS 932 Elementel Analiz cihazı kullanılarak yapıldı.

4.1.3. Bileşiklerin Sentezi ve Spektral Bulguları

4.1.3.1. Benzimidazol, Benzoksazol ve Benzotiyazol Halkalarının Sentezi

4.1.3.1.1. Metil 4-(1*H*-benz[*d*]imidazol-2-il) benzoat (A) Sentezi:

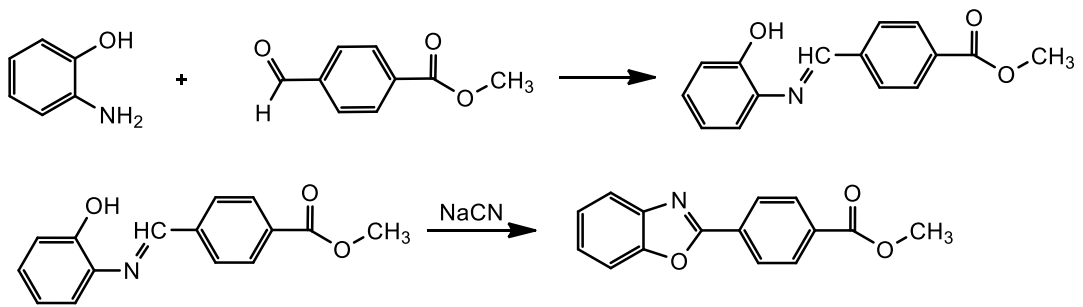
16.4 g (100 mmol) metil 4-formilbenzoat ve 9.5 g (50 mmol) Na₂S₂O₅ (sodyum disülfid) 100 ml % 80'lik etanolde çözüldü ve oda sıcaklığında 30 dakika boyunca karıştırıldı. Süre sonunda içine 20 ml daha etanol ilave edildi ve 2 saat boyunca buz banyosunda karıştırıldı. Oluşan tuz alkolle yıkanarak süzüldü, kurutuldu. Halka kapanmasını gerçekleştirmek amacıyla elde edilen bu tuz (21.44 g, 80 mmol) ve *o*-fenilendiamin (8.64 g, 80 mmol) 40 ml *N,N*-dimetilformamit içerisinde çözüldü ve 130 °C'de geri çeviren soğutucu altında kaynatıldı. Reaksiyonun tamamlandığı İ.T.K. ile takip edilerek tespit edildi. Daha sonra karışımın soğuması beklenmeden buzlu su içerisine aktarıldı. Ham ürünün katılaşması için bir süre bekletildi, soğuk etanol ile yıkanarak süzüldü ve etanolden kristallendirildi (Şema 2) **(396)**.



Şema 2. Tepkime denklemi

4.1.3.1.2. Metil 4-(benz[d]oksazol-2-il) benzoat (B) Sentezi:

1.09 g (10 mmol) 2-aminofenol ve 1.64 g (10 mmol) metil 4-formilbenzoat 80 ml absölü etanol içerisinde çözüldü, 80 °C’de argon gazı altında reaksiyona tabi tutuldu. Reaksiyonun tamamlandığı İ.T.K. ile takip edilerek saptandı. Karışım oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Soğuduktan sonra rotavaporda yoğunlaştırıldı. Katı haldeki ham ürün etanolden kristallendirildi. Halka kapanmasının gerçekleşmesi için elde edilen bu imin yapısındaki ara ürün (1.28 g, 0.50 mmol) ve sodyum siyanür (2.5 mg, 0.050 mmol) 20 ml *N,N*-dimetilformamit içerisinde çözüldü. Karışım oda sıcaklığında ağzı açık olmak suretiyle dibi yuvarlak bir balonun içerisinde karıştırıldı ve reaksiyonun tamamlandığı İ.T.K. ile takip edilerek tespit edildi. Karışımın üzerine 50 ml su ilave edildi. Bir müddet karıştırıldıktan sonra su ile yıkamak suretiyle süzöldü. Beyaz renkli ham ürün etanolden kristallendirildi (Şema 3) **(397)**.

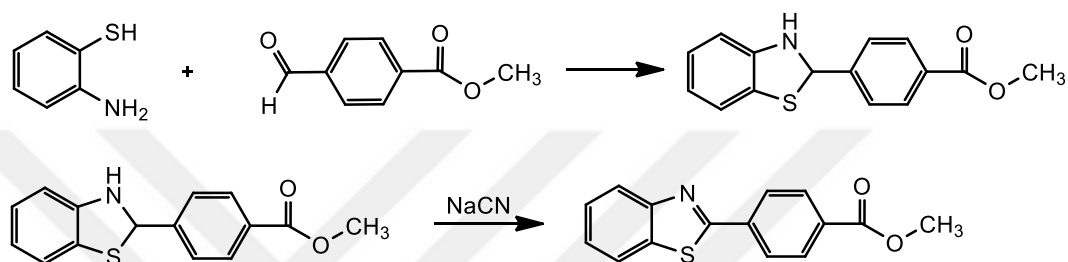


Şema 3. Tepkime denklemi

4.1.3.1.3. Metil 4-(benzo[d]tiyazol-2-il) benzoat (C) Sentezi:

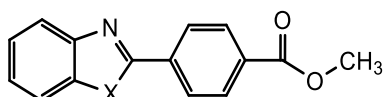
250 mg (2 mmol) 2-aminotiyofenol, 32.8 mg (0.2 mmol) metil 4-formilbenzoat ve 100 mg moleküler sieve 10 ml *N,N*-dimetilformamit içerisinde karıştırıldı ve metil 4-formilbenzoat tükeninceye kadar 60 °C’de manyetik karıştırıcı ile geri çeviren soğutucu

altında reaksiyona tabi tutuldu. Karışım oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra reaksiyon ortamına 10 mg NaCN ilave edildi ve oda sıcaklığında ağzı açık olmak suretiyle manyetik karıştırıcı ile karıştırmaya devam edildi. Reaksiyonun tamamlandığı İ.T.K. ile takip edilerek saptandı. Karışımın üzerine 10 ml su ilave edildi, karıştırıldı. 20 ml kloroform ile 3 kez ekstraksiyona tabii tutuldu. Kloroform fazı susuz sodyum sülfat ile kurutularak rotavaporda yoğunlaştırıldı. Karışım içerisine 15 ml absolü etanol ilave edilip, 0-4 °C’de 1 saat bekletildi. Katı halde çöken beyaz renkli ham ürün etanolla yıkanarak süzüldü ve etanolden kristallendirildi (Şema 4) (397).



Şema 4. Tepkime denklemi

Birinci basamakta sentezlenen ara ürünlerin erime dereceleri, % verimleri ve reaksiyon süreleri Tablo 2’de toplu halde verilmiştir.

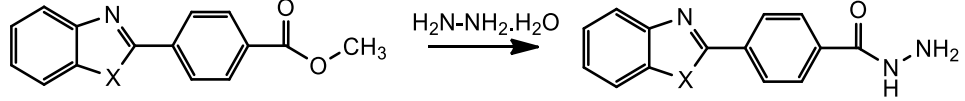


Tablo 2. Birinci basamakta elde edilen ara ürünlerin erime dereceleri, % verimleri ve reaksiyon süreleri

Bileşik	X	Erime Derecesi (°C)	% Verim	Reaksiyon Süresi (Saat)
A	NH	220	%80	6
B	O	197	%80	6
C	S	160	%60	10

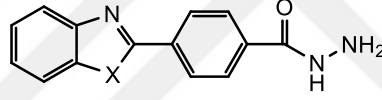
4.1.3.2. Hidrazit türevi Ara Ürünlerin Sentezi:

Ester türevi 1. basamak ara ürünleri (40 mmol) 50 ml absölü etanol içerisinde süspande edildi ve 15 ml hidrazin hidrat (% 80) ilave edildi. Karışım 100 °C’de geri çeviren soğutucu altında yağ banyosunda kaynatıldı. Reaksiyonun tamamlandığı İ.T.K. ile takip edilerek tespit edildi. Karışım oda sıcaklığına geldikten sonra rotavaporda yoğunlaştırıldı. Bakiye su ile yıkandı ve etanolden kristallendirildi (Şema 5) (396).



Şema 5. Tepkime denklemi

İkinci basamakta sentezlenen ara ürünlerin erime dereceleri, % verimleri ve reaksiyon süreleri Tablo 3’te toplu halde verilmiştir.

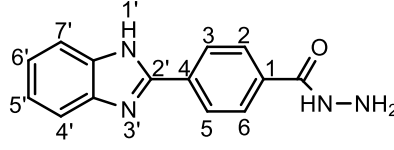


Tablo 3. İkinci basamakta elde edilen ara ürünlerin erime dereceleri, % verimleri ve reaksiyon süreleri

Bileşik	X	Erime Derecesi (°C)	% Verim	Reaksiyon Süresi (Saat)
AH	NH	300	%90	24
BH	O	280	%90	21
CH	S	270	%80	21

4.1.3.2.1. Hidrazit türevi Ara Ürünlerin Spektral Verileri

(1). AH Bileşiğinin Spektral Bulguları



4-(1H-benz[d]imidazol-2-il)benzohidrazit

IR (Spektrum No 1)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

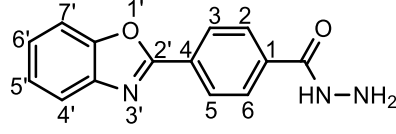
3300 (NH-NH_2 ve N-H gerilmeleri), 3238, 3182 (NH-NH_2 gerilmesi), 3070 (Aromatik C-H gerilmesi), 1633, 1568, 1542, 1520, 1490, 1473, 1428 (C=O, aromatik C=C, C=N gerilmeleri, N-H eğilmesi), 1309, 1277 (C-N gerilmesi), 867, 733, 662 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi)

^1H NMR (Spektrum No 2)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 4.54 (2H, s, NH_2), 7.21-7.25 (2H, m, H-5', H-6'), 7.53 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-4'/H-7'), 7.67 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-4'/H-7'), 7.97 (2H, d, $J=8.0$ Hz, H-3, H-5), 8.22 (2H, d, $J=8.0$ Hz, H-2, H-6), 9.87 (1H, s, NH-NH_2), 13.00 (1H, s, N-H) ppm

(2). BH Bileşiğinin Spektrel Bulguları



4-(benz[d]oksazol-2-il)benzohidrazit

IR (Spektrum No 3)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

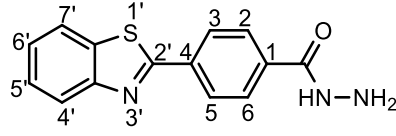
3301 (NH-NH₂ gerilmesi), 3194 (NH-NH₂ gerilmesi), 3019 (Aromatik C-H gerilmesi), 1662 (C=O gerilmesi), 1608, 1496, 1475, 1452 (Aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1342, 1292, 1245, 1052 (Aromatik C-O-C gerilmeleri, C-N gerilmesi ve aromatik C-H düzlem içi eğilmesi), 881, 854, 811, 723, 698 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi)

¹H NMR (Spektrum No 4)

(400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 4.59 (2H, s, NH₂), 7.41-7.48 (2H, m, H-5', H-6'), 7.79-7.85 (2H, m, H-4', H-7'), 8.04 (2H, d, *J*= 8.3 Hz, H-3, H-5), 8.26 (2H, d, *J*= 8.4 Hz, H-2, H-6), 9.98 (1H, s, N-H) ppm

(3). CH Bileşiğinin Spektral Bulguları



4-(benzo[d]tiyazol-2-il)benzohidrazit

IR (Spektrum No 5)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3319 (NH-NH₂ gerilmesi), 3182 (NH-NH₂ gerilmesi), 3052, 3018 (Aromatik C-H gerilmesi), 1652 (C=O gerilmesi), 1620, 1561, 1482, 1432 (Aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1344, 1315 (C-N gerilmesi), 882, 853, 751, 719 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi ve aromatik C-S-C gerilmeleri)

¹H NMR (Spektrum No 6)

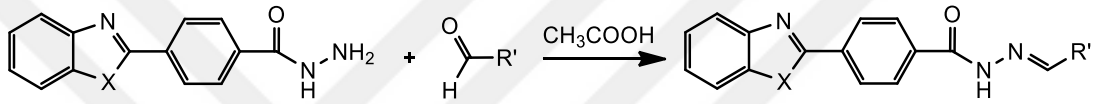
(400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 4.58 (2H, s, NH₂), 7.49 (1H, t, J = 7.6 Hz, H-6'), 7.57 (1H, t, J = 7.6 Hz, H-5'), 8.01 (2H, d, J = 7.6 Hz, H-3, H-5), 8.10 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-4'), 8.15-8.18 (3H, m, H-7', H-2, H-6), 9.96 (1H, s, N-H) ppm

4.1.3.3. Hidrazit-Hidrazon Türevi Final Bileşiklerin Sentezi

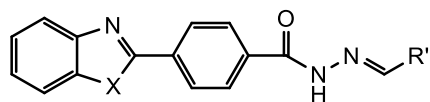
Çalışmanın bu bölümünde bir önceki basamakta sentezlenmiş olan benzimidazol, benzoksazol ve benzotiyazol halkaları içeren hidrazit türevi bileşiklerin her biri 13 farklı aldehitte tepkimeye sokularak hidrazit hidrazonu yapısındaki bileşiklerin elde edilmesi amaçlandı.

Hidrazit türevi ara ürünler (2 mmol) ile çeşitli aldehitler (2 mmol) 25 ml butanol içerisinde karıştırıldı. Katalitik miktarda asetik asit ilave edildi ve 100 °C’de geri çeviren soğutucu altında yağ banyosunda kaynatıldı. Reaksiyonun tamamlanması İ.T.K. ile takip edilerek tespit edildi. Karışım oda sıcaklığına geldikten sonra çöken ham ürün soğuk etanol ile yıkanarak süzüldü ve etanolden kristallendirildi (Şema 6) (396).



Şema 6. Tepkime denklemi

Sentezlenen 3. basamak final bileşiklerin erime dereceleri, % verimleri ve reaksiyon süreleri Tablo 4’de toplu halde verilmiştir.



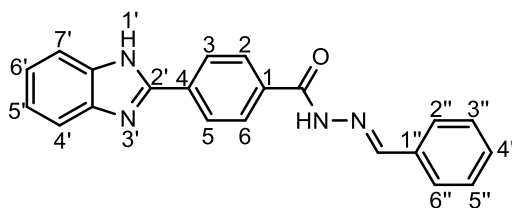
Tablo 4. Final bileşiklerin erime dereceleri, % verimleri ve reaksiyon süreleri

Bileşik	X	R'	Erime Derecesi (°C)	% Verim	Reaksiyon Süresi (saat)
AH-1	NH	fenil	274	86	4
AH-2	NH	benzil	165	25	8
AH-3	NH	feniletil	226	60	4
AH-4	NH	stiril	268	87	3
AH-5	NH	4-dimetilaminostiril	295	80	4
AH-6	NH	piridin-2-il	261	60	4
AH-7	NH	piridin-3-il	296	86	3
AH-8	NH	piridin-4-il	305	82	3
AH-9	NH	pirol-2-il	320	66	6
AH-10	NH	furan-2-il	280	88	3
AH-11	NH	tiyofen-2-il	281	85	3
AH-12	NH	4-dimetilaminofenil	311	78	8
AH-13	NH	4-dietilaminofenil	185	55	8
BH-1	O	fenil	281	97	3
BH-2	O	benzil	241	57	4
BH-3	O	feniletil	263	68	3
BH-4	O	stiril	291	91	3
BH-5	O	4-dimetilaminostiril	285	88	5
BH-6	O	piridin-2-il	214	46	4
BH-7	O	piridin-3-il	290	52	3
BH-8	O	piridin-4-il	276	58	3

BH-9	O	pirol-2-il	279	64	5
BH-10	O	furan-2-il	259	92	3
BH-11	O	tiyofen-2-il	266	78	3
BH-12	O	4-dimetilaminofenil	279	78	3
BH-13	O	4-dietilaminofenil	212	41	3
CH-1	S	fenil	291	56	4
CH-2	S	benzil	237	80	4
CH-3	S	feniletil	255	52	5
CH-4	S	stiril	288	54	3
CH-5	S	4-dimetilaminostiril	272	63	4
CH-6	S	piridin-2-il	218	43	5
CH-7	S	piridin-3-il	276	66	4
CH-8	S	piridin-4-il	285	37	4
CH-9	S	pirol-2-il	275	43	5
CH-10	S	furan-2-il	267	77	3
CH-11	S	tiyofen-2-il	279	48	3
CH-12	S	4-dimetilaminofenil	273	60	4
CH-13	S	4-dietilaminofenil	230	35	5

4.1.3.3.1. Hidrazit-Hidrazon Türevi Final Bileşiklerin Spektral Bulguları

(1). AH-1 Bileşiğinin Spektral Bulguları



4-(1H-benz[d]imidazol-2-il)-N'-benzilidenbenzohidrazit (396)

IR (Spektrum No 7)

$\nu_{\text{maks}} (\text{cm}^{-1})$

3472 (N-H gerilmesi), 3231 (N-N-H gerilmesi), 3054 (Aromatik C-H ve N=C-H gerilmeleri), 1663 (C=O gerilmesi), 1632, 1616, 1567 (Aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1305, 1286, 1276 (C-N gerilmesi), 855, 757, 710 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi)

^1H NMR (Spektrum No 8)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 7.23-7.26 (2H, m, H-5', H-6'), 7.47-7.49 (3H, m, H-3'', H-5'', H-4''), 7.58-7.70 (2H, m, H-4', H-7'), 7.76 (2H, d, J = 8.0 Hz, H-2'', H-6''), 8.12 (2H, d, J = 8.0 Hz, H-3, H-5), 8.34 (2H, d, J =8.0 Hz, H-2, H-6), 8.51 (1H, s, N=CH), 11.96 (1H, s, N-NH), 13.08 (1H, s, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 9)

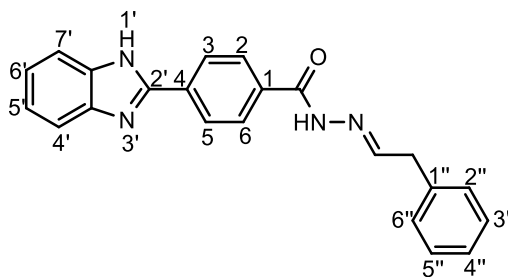
m/z

341 ($M+H^+$), 342 ($M+H+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O} \cdot \text{H}_2\text{O}$	C	H	N
Hesaplanan	70.38	5.06	15.63
Bulunan	70.17	5.37	15.79

(2). AH-2 Bileşığının Spektral Bulguları



(1H-benzo[d]imidazol-2-il)-N'-(2-feniletilden)benzohidrazit

IR (Spektrum No 10)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3465, 3402 (N-H gerilmesi), 3202 (N-N-H gerilmesi), 3066, 3028 (Aromatik, alifatik C-H ve N=C-H gerilmeleri), 1668 (C=O gerilmesi), 1634, 1571 (Aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1306, 1275 (C-N gerilmesi), 1118, 1088 (Aromatik C-H düzlem içi eğilmesi), 856, 743, 695 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi)

^1H NMR (Spektrum No 11)

(600 MHz, DMSO- d_6)

δ 3.65 (2H, d, $J = 5.6$ Hz, CH_2), 7.21-7.32 (5H, m, H-2'', H-3'', H-4'', H-5'', H-6''), 7.36 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, H-5', H-6'), 7.56 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-4'/H-7'), 7.69 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-4'/H-7'), 7.87 (1H, t, $J = 5.7$ Hz, N=CH), 8.03 (2H, d, $J = 8.1$ Hz, H-3, H-5), 8.29 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2, H-6), 11.61 (1H, s, N-NH), 13.05 (1H, s, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 12)

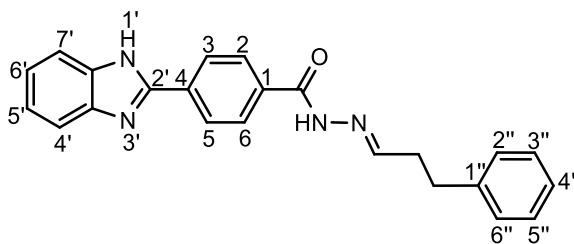
m/z

355 ($\text{M}+\text{H}^+$), 356 ($\text{M}+\text{H}+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O} \cdot 1.25 \text{H}_2\text{O}$	C	H	N
Hesaplanan	70.10	5.48	14.86
Bulunan	70.09	5.49	14.78

(3). AH-3 Bileşığının Spektral Bulguları



4-(1H-benz[d]imidazol-2-il)-N'-(3-fenilpropiliden)benzohidrazit

IR (Spektrum No 13)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3483 (N-H gerilmesi), 3201 (N-N-H gerilmesi), 3086, 3025, 2906 (Aromatik, alifatik C-H ve N=C-H gerilmeleri), 1664 (C=O gerilmesi), 1633, 1570, 1496 (Aromatik C=C, C=N gerilmeleri, N-H eğilmesi), 1302, 1274 (C-N gerilmesi), 856, 744, 728 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi)

^1H NMR (Spektrum No 14)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 2.62 (2H, q, $J = 6.7$ Hz, N=CH-CH₂-CH₂), 2.85 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, N=CH-CH₂-CH₂), 7.18-7.33 (7H, m, H-5', H-6', H-2'', H-3'', H-4'', H-5'', H-6''), 7.54-7.72 (2H, m, H-4', H-7'), 7.81 (1H, t, $J = 5.0$ Hz, N=CH), 8.03 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-3, H-5), 8.29 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2, H-6), 11.56 (1H, s, N-NH), 13.04 (1H, s, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 15)

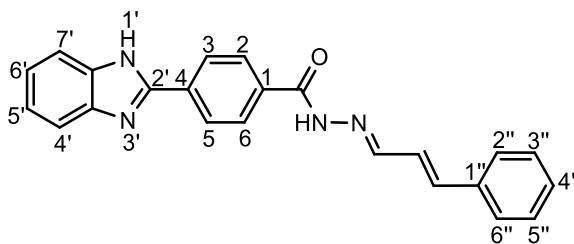
m/z

369 ($M+H^+$), 370 ($M+H+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O} \cdot 1\text{H}_2\text{O}$	C	H	N
Hesaplanan	71.48	5.74	14.50
Bulunan	71.26	5.90	14.25

(4). AH-4 Bileşığının Spektral Bulguları



4-(1*H*-benz[*d*]imidazol-2-il)-*N*'-((*E*)-3-fenilalliliden)benzohidrazit

IR (Spektrum No 16)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3470 (N-H gerilmesi), 3224 (N-N-H gerilmesi), 3067 (Aromatik C-H ve alifatik =C-H gerilmeleri), 1671 (C=O gerilmesi), 1633, 1622, 1569 (Aromatik C=C, C=N, alifatik C=C gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1303, 1278 (C-N gerilmesi), 857, 765, 681 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi)

^1H NMR (Spektrum No 17)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 6.97-7.07 (2H, m, CH=CH), 7.19-7.25 (2H, m, H-5', H-6'), 7.34 (1H, tt, $J=7.3, 1.7$ Hz, H-4''), 7.36-7.41 (2H, m, H-3'', H-5''), 7.53-7.71 (4H, m, H-4', H-7', H-2'', H-6''), 8.04 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-3, H-5), 8.25-8.29 (3H, m, N=CH, H-2, H-6), 11.56 (1H, s, N-NH), 12.80 (1H, brs, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 18)

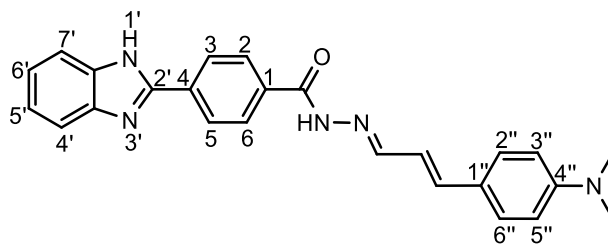
m/z

367 ($M+H^+$), 368 ($M+H+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}\cdot\text{1H}_2\text{O}$	C	H	N
Hesaplanan	71.86	5.24	14.57
Bulunan	71.59	5.63	14.37

(5). AH-5 Bileşığının Spektral Bulguları



4-(1H-benz[d]imidazol-2-il)-N'-((E)-3-(4-(dimetilamino)fenil)alliliden)benzohidrazit

IR (Spektrum No 19)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3470 (N-H gerilmesi), 3207 (N-N-H gerilmesi), 3084, 2888 (Aromatik ve alifatik C-H gerilmeleri), 1670 (C=O gerilmesi), 1631, 1602, 1566, 1524 (Aromatik C=C, alifatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1303, 1276 (C-N gerilmeleri), 856, 800, 740 (Aromatik C-H düzlem dışı gerilmesi)

^1H NMR (Spektrum No 20)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 2.95 (6H, s, CH_3)₂, 6.71 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3'', H-5''), 6.81 (1H, dd, $J = 15.9, 9.3$ Hz, N=CH-CH=CH), 6.93 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, N=CH-CH=CH), 7.22-7.26 (2H, m, H-5', H-6'), 7.45 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2'', H-6''), 7.64 (2H, brs, H-4', H-7'), 8.08 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3, H-5), 8.22 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, N=CH), 8.31 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2, H-6), 11.69 (1H, brs, N-NH), 13.05 (1H, brs, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 21)

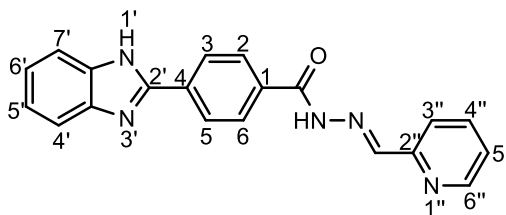
m/z

410 ($\text{M}+\text{H}^+$), 411 ($\text{M}+\text{H}+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O} \cdot 1.25 \text{H}_2\text{O}$	C	H	N
Hesaplanan	69.51	5.95	16.21
Bulunan	69.73	6.03	16.40

(6). AH-6 Bileşiğinin Spektral Bulguları



4-(1*H*-benz[*d*]imidazol-2-il)-*N*'-(piridin-2-ilmetilen)benzohidrazit

IR (Spektrum No 22)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3464 (N-H gerilmesi), 3261, 3192 (N-N-H gerilmesi), 3077, 3054 (Aromatik C-H ve N=C-H gerilmeleri), 1664 (C=O gerilmesi), 1634, 1566, 1466 (Aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1308, 1285 (C-N gerilmesi), 856, 740 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi)

¹H NMR (Spektrum No 23)

(400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 7.25 (2H, brs, H-5', H-6'), 7.43 (1H, t, *J*= 5.8 Hz, H-5''), 7.57-7.72 (2H, m, H-4', H-7'), 7.90 (1H, t, *J*= 7.5 Hz, H-4''), 8.02 (1H, d, *J*= 7.2 Hz, H- 3''), 8.12 (2H, d, *J*= 8.0 Hz, H-3, H-5), 8.34 (2H, d, *J*= 8.0 Hz, H-2, H-6), 8.53 (1H, s, N=CH), 8.63 (1H, d, *J*= 3.8 Hz, H- 6''), 12.15 (1H, s, N-NH), 13.08 (1H, s, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 24)

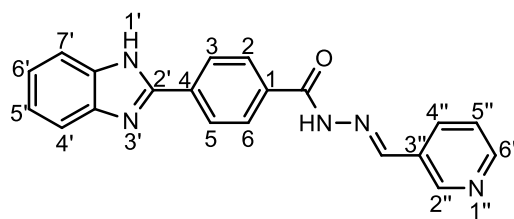
m/z

342 (M+H⁺), 343 (M+H+1⁺), 221 (C₁₄H₉N₂O⁺)

Elementel Analiz (%)

C ₂₀ H ₁₅ N ₅ O·1.14 H ₂ O	C	H	N
Hesaplanan	66.37	4.81	19.35
Bulunan	66.37	5.10	19.49

(7). AH-7 Bileşığının Spektral Bulguları



(E)-4-(1H-benz[d]imidazol-2-il)-N'-(piridin-3-ilmetilen)benzohidrazit

IR (Spektrum No 25)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3469 (N-H gerilmesi), 3250 (N-H gerilmesi), 3090, 3035 (Aromatik C-H ve N=C-H gerilmeleri), 1661 (C=O gerilmesi), 1633, 1616, 1568 (Aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1306, 1277 (C-N gerilmesi), 855, 745, 704 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi)

^1H NMR (Spektrum No 26)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 7.22-7.26 (2H, m, H-5', H-6'), 7.50 (1H, dd, J = 4.8, 7.4 Hz, H-5''), 7.64 (2H, brs, H-4', H-7'), 8.12 (2H, d, J = 8.0 Hz, H-3, H-5), 8.17 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-4''), 8.34 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2, H-6), 8.55 (1H, s, N=CH), 8.63 (1H, d, J = 4.0 Hz, H-6''), 8.89 (1H, brs, H-2''), 12.15 (1H, brs, N-NH), 13.07 (1H, brs, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 27)

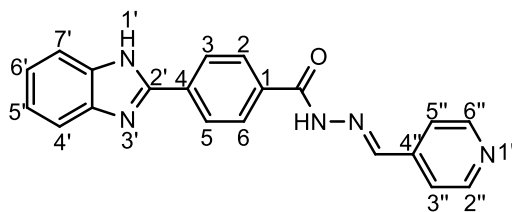
m/z

342 ($M+H^+$), 343 ($M+H+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}\cdot\text{1H}_2\text{O}$	C	H	N
Hesaplanan	66.84	4.77	19.49
Bulunan	66.77	5.01	19.55

(8). AH-8 Bileşığının Spektral Bulguları



(E)-4-(1H-benz[d]imidazol-2-il)-N'-(piridin-4-ilmetilen)benzohidrazit

IR (Spektrum No 28)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3478 (N-H gerilmesi), 3256, 3207 (N-N-H gerilmesi), 3075, 3046 (Aromatik C-H ve N=C-H gerilmeleri), 1666 (C=O gerilmesi), 1635, 1616, 1566 (Aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1302, 1285 (C-N gerilmeleri), 855, 753 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi)

^1H NMR (Spektrum No 29)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 7.23-7.26 (2H, m, H-5', 6'), 7.54-7.72 (4H, m, H-4', 7', H-3'', H-5''), 8.11 (2H, d, J = 7.6 Hz, H-3, H-5), 8.33 (2H, d, J = 8.0 Hz, H-2, H-6), 8.48 (1H, s, N=CH), 8.67 (2H, d, J = 4.4 Hz, H-2'', H-6''), 12.21 (1H, s, N-NH), 13.09 (1H, s, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 30)

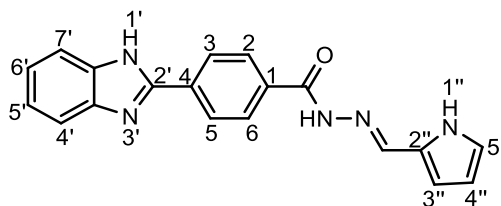
m/z

342 ($M+H^+$), 343 ($M+H+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O} \cdot 1\text{H}_2\text{O}$	C	H	N
Hesaplanan	66.84	4.77	19.49
Bulunan	66.65	4.98	19.67

(9). AH-9 Bileşığının Spektral Bulguları



N'-((1*H*-pirol-2-il)metilen)-4-(1*H*-benz[*d*]imidazol-2-il)benzohidrazit

IR (Spektrum No 31)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3252, 3182 (N-H ve N-N-H gerilmeleri), 3040 (Aromatik C-H ve N=C-H gerilmesi), 1632, 1604, 1568, 1557 (C=O, aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1311, 1290, 1282 (C-N gerilmesi), 857, 749, 730 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi)

¹H NMR (Spektrum No 32)

(400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 6.16 (1H, dd, $J=2.4, 5.5$ Hz, H-4''), 6.51 (1H, brs, H-3''), 6.94 (1H, brs, H-5''), 7.22-7.26 (2H, m, H-5', H-6'), 7.64 (2H, brs, H-4', H-7'), 8.09 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-3, H-5), 8.32 (2H, d, $J=8.6$ Hz, H-2, H-6), 8.33 (1H, s, N=CH), 11.55 (1H, s, N-H-1''), 11.62 (1H, s, N-NH), 13.06 (1H, s, N-H-1') ppm

MS (ESI) (Spektrum No 33)

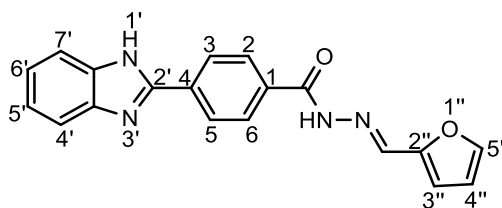
m/z

330 ($M+H^+$), 331 ($M+H+1^+$)

Elementel Analiz (%)

C₁₉H₁₅N₅O	C	H	N
Hesaplanan	69.29	4.59	21.26
Bulunan	69.05	4.96	21.35

(10). AH-10 Bileşiminin Spektrel Bulguları



4-(1H-benz[d]imidazol-2-il)-N'-(furan-2-ilmetilen)benzohidrazit

IR (Spektrum No 34)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3478 (N-H gerilmesi), 3224 (N-H gerilmesi), 3070 (Aromatik C-H ve N=C-H gerilmeleri), 1666 (C=O gerilmesi), 1634, 1621, 1566 (Aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1303, 1277, 1064, 1012 (Aromatik C-O-C gerilmeleri, C-N gerilmesi ve aromatik C-H düzlem içi gerilmesi), 856, 734, 675 (Aromatik C-H düzlem dışı gerilmesi)

^1H NMR (Spektrum No 35)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 6.65 (1H, brs, H-4''), 6.96 (1H, d, $J = 2.8$ Hz, H-3''), 7.21-7.26 (2H, m, H-5', H-6'), 7.59-7.68 (2H, m, H-4', H-7'), 7.86 (1H, brs, H-5''), 8.08 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3, H-5), 8.32 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2, H-6), 8.38 (1H, s, N=CH), 11.89 (1H, s, N-NH), 13.07 (1H, s, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 36)

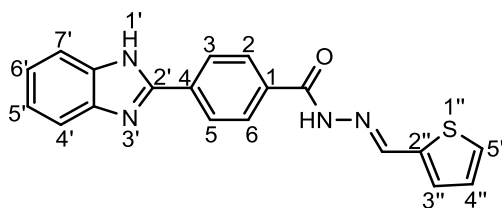
m/z

331 ($M+H^+$), 332 ($M+H+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2$	C	H	N
Hesaplanan	65.51	4.63	16.08
Bulunan	65.25	4.96	16.05

(11). AH-11 Bileşiğinin Spektral Bulguları



4-(1*H*-benz[*d*]imidazol-2-il)-*N*'-(tiyofen-2-ilmetilen)benzohidrazit

IR (Spektrum No 37)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3476 (N-H gerilmesi), 3199 (N-N-H gerilmesi), 3035 (Aromatik C-H ve N=C-H gerilmeleri), 1663 (C=O gerilmesi), 1630, 1567, 1428 (Aromatik C=C ve C=N gerilmeleri, N-H eğilmesi), 1304, 1290, 1282 (C-N gerilmesi), 856, 740, 690 (Aromatik C-H düzlem dışı gerilmesi ve C-S-C gerilmeleri)

^1H NMR (Spektrum No 38)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 7.16 (1H, t, $J = 4.2$ Hz, H-4''), 7.22-7.26 (2H, m, H-5', H-6'), 7.49 (1H, d, $J = 2.8$ Hz, H-3''), 7.64 (2H, brs, H-4', H-7'), 7.69 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H-5''), 8.08 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, H-3, H-5), 8.32 (2H, d, $J = 8.3$ Hz, H-2, H-6), 8.71 (1H, s, N=CH), 11.93 (1H, brs, N-NH), 13.03 (1H, brs, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 39)

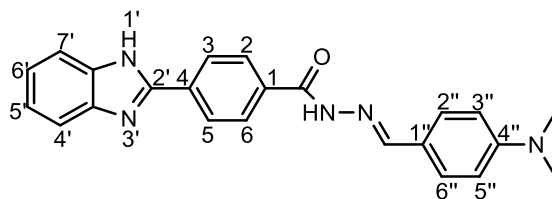
m/z

347 ($M+H^+$), 348 ($M+H+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{OS}$	C	H	N	S
Hesaplanan	65.88	4.07	16.17	9.26
Bulunan	65.71	4.06	16.16	9.19

(12). AH-12 Bileşiğinin Spektrel Bulguları



4-(1H-benz[d]imidazol-2-il)-N'-(4-(dimetilamino)benziliden)benzohidrazit (**396**)

IR (Spektrum No 40)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3456 (N-H gerilmesi), 3209 (N-N-H gerilmesi), 3090, 3055, 2892 (Aromatik, alifatik C-H gerilmeleri ve N=C-H gerilmeleri), 1664 (C=O gerilmesi), 1611, 1597, 1570, 1524 (Aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1304, 1275, 1184 (C-N gerilmeleri), 855, 810, 741 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi)

^1H NMR (Spektrum No 41)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 2.98 (6H, s, $(\text{CH}_3)_2$), 6.77 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3'', H-5''), 7.22-7.26 (2H, m, H-5', H-6'), 7.56 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2'', H-6''), 7.64 (2H, brs, H-4', H-7'), 8.08 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3, H-5), 8.31 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2, H-6), 8.35 (1H, s, N=CH), 11.65 (1H, brs, N-NH), 13.05 (1H, brs, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 42)

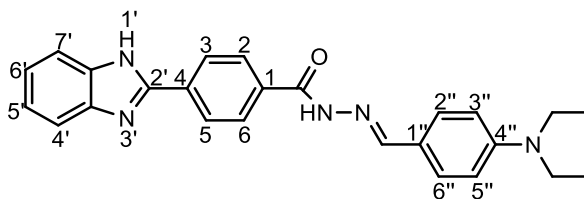
m/z

384 ($\text{M}+\text{H}^+$), 385 ($\text{M}+\text{H}+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O} \cdot 1\text{H}_2\text{O}$	C	H	N
Hesaplanan	68.81	5.77	17.44
Bulunan	68.87	5.75	17.25

(13). AH-13 Bileşiğinin Spektral Bulguları



4-(1H-benz[d]imidazol-2-il)-N'-(4-(dietilamino)benziliden)benzohidrazit

IR (Spektrum No 43)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3430 (N-H gerilmesi), 3200 (N-N-H gerilmesi), 3056, 2971 (Aromatik, alifatik C-H ve N=C-H gerilmeleri), 1652 (C=O gerilmesi), 1609, 1591, 1524 (Aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1293, 1270, 1186, 1156 (C-N gerilmeleri), 818, 760, 701 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi)

^1H NMR (Spektrum No 44)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 1.11 (6H, t, $J = 7.0$ Hz, $(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 3.39 (4H, q, $J = 7.0$ Hz, $(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 6.72 (2H, d, $J = 9.2$ Hz, H-3'', H-5''), 7.23-7.26 (2H, m, H-5', H-6'), 7.53 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2'', H-6''), 7.64 (2H, brs, H-4', H-7'), 8.08 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3, H-5), 8.31 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2, H-6), 8.33 (1H, s, N=CH), 11.61 (1H, s, N-NH), 13.05 (1H, brs, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 45)

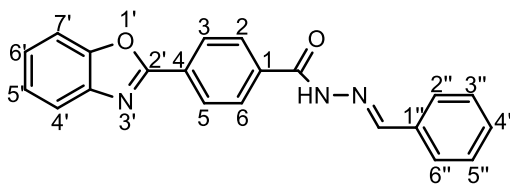
m/z

412 ($\text{M}+\text{H}^+$), 413 ($\text{M}+\text{H}+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O} \cdot 1\text{H}_2\text{O}$	C	H	N
Hesaplanan	69.91	6.34	16.31
Bulunan	69.93	6.40	16.63

(14). BH-1 Bileşiğinin Spektrel Bulguları



4-(benz[d]oksazol-2-il)-N'-benzilidenbenzohidrazit

IR (Spektrum No 46)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3219 (N-H gerilmesi), 3056 (Aromatik C-H ve N=C-H gerilmeleri), 1659 (C=O gerilmesi), 1634, 1608, 1571, 1449 (Aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1298, 1287, 1242, 1053 (Aromatik C-O-C gerilmeleri, C-N gerilmesi ve aromatik C-H düzlem içi eğilmesi), 751, 744 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi)

^1H NMR (Spektrum No 47)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 7.44-7.48 (5H, m, H-3'', H-4'', H-5'', H-5', H-6'), 7.75-7.77 (2H, m, H-2'', H-6''), 7.80-7.86 (2H, m, Hz, H-4', H-7'), 8.12 (2H, d, J = 8.3 Hz, H-3, H-5), 8.34 (2H, d, J = 8.3 Hz, H-2, H-6), 8.46 (1H, s, N=CH) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 48)

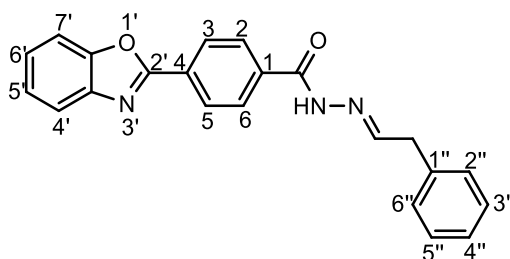
m/z

342 ($M+H^+$), 343 ($M+H+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{21}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	C	H	N
Hesaplanan	70.18	4.77	11.69
Bulunan	69.95	5.06	11.49

(15). BH-2 Bileşiminin Spektrel Bulguları



4-(benz[d]oksazol-2-il)-N'-(2-feniletiliden)benzohidrazit

IR (Spektrum No 49)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3234 (N-H gerilmesi), 3061, 3031 (Aromatik, alifatik C-H ve N=C-H gerilmeleri), 1647 (C=O gerilmesi), 1619, 1545, 1454 (Aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1280, 1247, 1059, 1040 (Aromatik C-O-C gerilmeleri, C-N gerilmesi ve aromatik C-H düzlem içi eğilmesi), 853, 739, 696 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi)

^1H NMR (Spektrum No 50)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 3.66 (2H, d, J = 6.0 Hz, CH₂), 7.24-7.30 (3H, m, H-2'', H-4'', H-6''), 7.36 (2H, t, J = 7.4 Hz, H-3'', H-5''), 7.41-7.49 (2H, m, H-5', H-6'), 7.79-7.85 (2H, m, H-4', H-7'), 7.88 (1H, t, J = 5.8 Hz, N=CH), 8.08 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-3, H-5), 8.31 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2, H-6), 11.69 (1H, s, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 51)

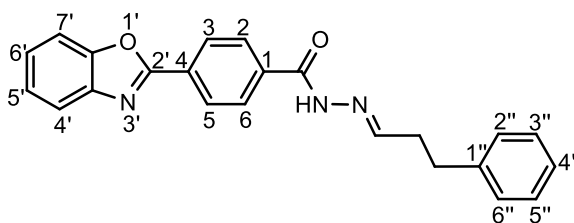
m/z

356 (M+H⁺), 357 (M+H+1⁺)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_2 \cdot 0.2 \text{H}_2\text{O}$	C	H	N
Hesaplanan	73.60	4.89	11.71
Bulunan	73.66	5.07	11.80

(16). BH-3 Bileşiğinin Spektral Bulguları



4-(benz[d]oksazol-2-il)-N'-(3-fenilpropiliden)benzohidrazit

IR (Spektrum No 52)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3229 (N-H gerilmesi), 3056, 2986, 2906 (Aromatik, alifatik ve $\text{N}=\text{C}-\text{H}$ gerilmeleri), 1651 ($\text{C}=\text{O}$ gerilmesi), 1627, 1554, 1497, 1452 (Aromatik $\text{C}=\text{C}$, $\text{C}=\text{N}$ gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1290, 1243, 1056, 1016 (Aromatik C-O-C gerilmeleri, C-N gerilmesi ve aromatik C-H düzlem içi eğilmesi), 877, 751, 699 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi)

^1H NMR (Spektrum No 53)

(400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)

δ 2.62 (2H, q, $J= 6.4$ Hz, $\text{N}-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2$), 2.86 (2H, t, $J= 7.4$ Hz, $\text{N}-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2$), 7.17-7.22 (1H, m, H-4''), 7.27-7.32 (4H, m, H-2'', H-3'', H-5'', H-6''), 7.41-7.49 (2H, m, H-5', H-6'), 7.81-7.86 (3H, m, $\text{N}=\text{CH}$, H-4', H-7'), 8.07 (2H, d, $J= 7.8$ Hz, H-3, H-5), 8.31 (2H, d, $J= 7.5$ Hz, H-2, H-6), 11.65 (1H, s, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 54)

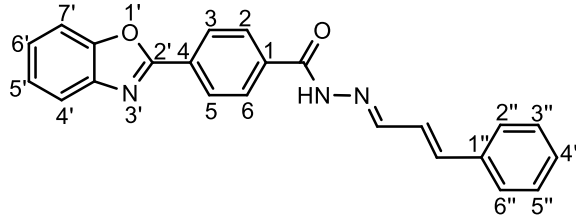
m/z

370 ($\text{M}+\text{H}^+$), 371 ($\text{M}+\text{H}+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2 \cdot 0.1 \text{H}_2\text{O}$	C	H	N
Hesaplanan	74.42	5.21	11.32
Bulunan	74.40	5.43	11.08

(17). BH-4 Bileşiğinin Spektrel Bulguları



4-(benz[d]oksazol-2-il)-N'-((E)-3-fenilalliliden)benzohidrazit

IR (Spektrum No 55)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3288 (N-H gerilmesi), 3059, 3036 (Aromatik C-H ve alifatik =C-H gerilmeleri), 1651 (C=O gerilmesi), 1629, 1528, 1495, 1449 (Aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1263, 1244, 1132, 1060, 977 (Aromatik C-O-C gerilmeleri, C-N gerilmesi ve aromatik C-H düzlem içi eğilmesi), 855, 741, 690 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi)

^1H NMR (Spektrum No 56)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 7.01 (1H, dd, $J=16.0, 7.8$ Hz, N=CH-CH=CH), 7.08 (1H, d, $J=15.9$, N=CH-CH=CH), 7.32-7.35 (1H, m, H-4''), 7.38-7.49 (4H, m, H-3'', H-5'', H-5', H-6'), 7.61 (2H, d, $J=7.3$ Hz, H-2'', H-6''), 7.73-7.85 (2H, m, H-4', H-7'), 8.11 (2H, d, $J=8.2$ Hz, H-3, H-5), 8.25-8.29 (1H, m, N=CH), 8.33 (2H, d, $J=8.3$ Hz, H-2, H-6), 11.65 (1H, brs, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 57)

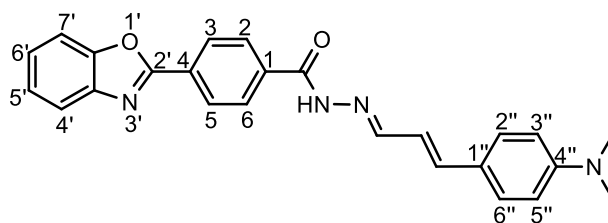
m/z

368 ($M+H^+$), 369 ($M+H+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{23}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_2 \cdot 0.5 \text{H}_2\text{O}$	C	H	N
Hesaplanan	73.39	4.82	11.16
Bulunan	73.20	4.90	11.24

(18). BH-5 Bileşiğinin Spektrel Bulguları



4-(benzo[d]oksazol-2-il)-N'-((E)-3-(4-(dimetilamino)fenil)alliliden)benzohidrazit

IR (Spektrum No 58)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3293 (N-H gerilmesi), 3021, 2853 (Aromatik, alifatik C-H ve alifatik =C-H gerilmeleri), 1650 (C=O gerilmesi), 1602, 1573, 1529, 1494 (Aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1264, 1162, 1133 (Aromatik C-O-C gerilmeleri, C-N gerilmeleri ve aromatik C-H düzlem içi eğilmesi), 810, 743 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi)

^1H NMR (Spektrum No 59)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 2.95 (6H, s, $(\text{CH}_3)_2$), 6.70 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3'', H-5''), 6.81 (1H, dd, $J = 15.9, 9.3$ Hz, N=CH-CH=CH), 6.94 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, N=CH-CH=CH), 7.42-7.51 (4H, m, H-2'', H-6'', H-5', H-6'), 7.80-7.85 (2H, m, H-4', H-7'), 8.12 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, H-3, H-5), 8.22 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, N=CH), 8.32 (2H, d, $J = 8.1$ Hz, H-2, H-6), 11.75 (1H, s, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 60)

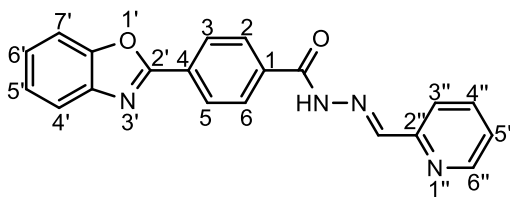
m/z

411 ($\text{M}+\text{H}^+$), 412 ($\text{M}+\text{H}+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_2 \cdot 0.33 \text{H}_2\text{O}$	C	H	N
Hesaplanan	72.10	5.49	13.45
Bulunan	72.07	5.70	13.83

(19). BH-6 Bileşiminin Spektrel Bulguları



4-(benzo[d]oksazol-2-il)-N'-(piridin-2-ilmetilen)benzohidrazit

IR (Spektrum No 61)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3196 (N-H gerilmesi), 3052 (Aromatik C-H ve N=C-H gerilmeleri), 1657 (C=O gerilmesi), 1565, 1466, 1451, 1438 (Aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1285, 1245, 1144, 1065 (Aromatik C-O-C gerilmeleri, C-N gerilmesi ve aromatik C-H düzlem içi eğilmesi), 740, 709 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi)

^1H NMR (Spektrum No 62)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 7.42-7.50 (3H, m, H-5'', H-5', H-6'), 7.81-7.87 (2H, m, H-4', H-7'), 7.88-7.92 (1H, m, H-4''), 8.01 (1H, d, J = 7.9 Hz, H-3''), 8.16 (2H, d, J = 8.0 Hz, H-3, H-5), 8.36 (2H, d, J = 8.2 Hz, H-2, H-6), 8.52 (1H, s, N=CH), 8.63 (1H, d, J = 4.4 Hz, H-6''), 12.21 (1H, s, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 63)

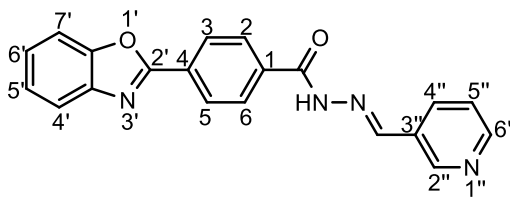
m/z

343 ($M+H^+$), 344 ($M+H+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2 \cdot 1\text{H}_2\text{O}$	C	H	N
Hesaplanan	66.66	4.48	15.55
Bulunan	66.35	4.68	15.40

(20). BH-7 Bileşiğinin Spektrel Bulguları



4-(benz[d]oksazol-2-il)-N'-(piridin-3-ilmetilen)benzohidrazit

IR (Spektrum No 64)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3195 (N-H gerilmesi), 3034 (Aromatik C-H ve $\text{N}=\text{C}-\text{H}$ gerilmeleri), 1667 ($\text{C}=\text{O}$ gerilmesi), 1635, 1611, 1592, 1554, 1451 (Aromatik $\text{C}=\text{C}$, $\text{C}=\text{N}$ gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1277, 1245, 1138, 1054 (Aromatik C-O-C gerilmeleri, C-N gerilmesi ve aromatik C-H düzlem içi eğilmesi), 811, 743 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi)

^1H NMR (Spektrum No 65)

(400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)

δ 7.42-7.53 (3H, m, H-5', H-6', H-5''), 7.81- 7.86 (2H, m, H-4', H-7'), 8.14-8.18 (3H, m, H-3, H-5, H-4''), 8.35 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2, H-6), 8.55 (1H, s, $\text{N}=\text{CH}$), 8.63 (1H, d, $J = 3.3$ Hz, H-6''), 8.89 (1H, brs, H-2''), 12.18 (1H, s, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 66)

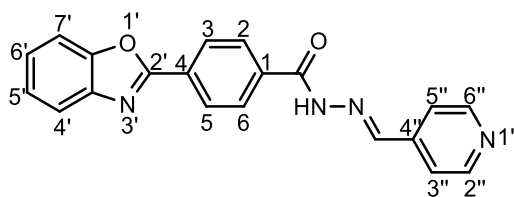
m/z

343 ($\text{M}+\text{H}^+$), 344 ($\text{M}+\text{H}+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2 \cdot 0.8 \text{H}_2\text{O}$	C	H	N
Hesaplanan	67.33	4.41	15.70
Bulunan	67.07	4.64	15.63

(21). BH-8 Bileşiğinin Spektrel Bulguları



4-(benz[d]oksazol-2-il)-N'-(piridin-4-ilmetilen)benzohidrazit

IR (Spektrum No 67)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3220 (N-H gerilmesi), 3049, 2972 (Aromatik C-H ve N=C-H gerilmeleri), 1659 (C=O gerilmesi), 1639, 1570, 1451 (Aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1287, 1245, 1139, 1054 (Aromatik C-O-C gerilmeleri, C-N gerilmesi ve aromatik C-H düzlem içi eğilmesi), 812, 744, 707 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi)

^1H NMR (Spektrum No 68)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 7.42-7.49 (2H, m, H-5', H-6'), 7.69 (2H, brs, H-3'', H-5''), 7.81-7.86 (2H, m, H-4', H-7'), 8.16 (2H, d, J = 7.7 Hz, H-3, H-5), 8.35 (2H, d, J = 8.0 Hz, H-2, H-6), 8.48 (1H, s, N=CH), 8.67 (2H, brs, H-2'', H-6''), 12.28 (1H, brs, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 69)

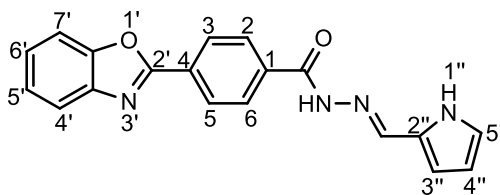
m/z

343 ($\text{M}+\text{H}^+$), 344 ($\text{M}+\text{H}+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2 \cdot 1.25 \text{H}_2\text{O}$	C	H	N
Hesaplanan	65.84	4.56	15.36
Bulunan	65.76	4.74	15.62

(22). BH-9 Bileşiğinin Spektrel Bulguları



N'-((1*H*-pirol-2-il)metylen)-4-(benz[*d*]oksazol-2-il)benzohidrazit

IR (Spektrum No 70)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3388 (N-H gerilmesi), 3224 (N-NH gerilmesi), 3056 (Aromatik C-H ve N=C-H gerilmeleri), 1651, 1636, 1611, 1570, 1554, 1452 (C=O ve aromatik C=C, C=N gerilmeleri, N-H eğilmesi), 1302, 1285, 1243, 1029 (Aromatik C-O-C gerilmeleri, C-N gerilmesi ve aromatik C-H düzlem içi eğilmesi), 855, 734, 714 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi)

^1H NMR (Spektrum No 71)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 6.16 (1H, brs, H-4''), 6.52 (1H, brs, H-3''), 6.94 (1H, s, H-5''), 7.43-7.50 (2H, m, H-5', H-6'), 7.81- 7.87 (2H, m, H-4', H-7'), 8.13 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-3, H-5), 8.30-8.35 (3H, m, H-2, H-6, N=CH), 11.56 (1H, s, N-H-1''), 11.71 (1H, s, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 72)

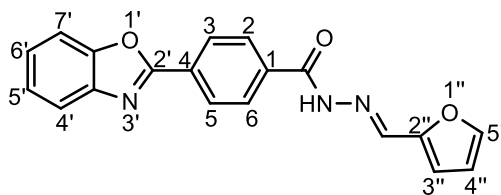
m/z

331 ($M+H^+$), 332 ($M+H+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2 \cdot 1\text{H}_2\text{O}$	C	H	N
Hesaplanan	65.51	4.63	16.08
Bulunan	65.27	4.99	15.94

(23). BH-10 Bileşığının Spektral Bulguları



4-(benz[d]oksazol-2-il)-N'-(furan-2-ilmetilen)benzohidrazit

IR (Spektrum No 73)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3203, 3154 (N-H gerilmesi), 3072, 3028 (Aromatik C-H ve N=C-H gerilmeleri), 1655 (C=O gerilmesi), 1579, 1561, 1549, 1451 (Aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1277, 1245, 1133, 1062, 1013 (Aromatik C-O-C gerilmeleri, C-N gerilmesi ve aromatik C-H düzlem içi eğilmesi), 858, 739, 708 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi)

^1H NMR (Spektrum No 74)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 6.64 (1H, brs, H-4''), 6.95 (1H, d, J = 3.1 Hz, H-3''), 7.43-7.50 (2H, m, H-5', H-6'), 7.81-7.87 (3H, m, H-4', H-7', H-5''), 8.11 (2H, d, J = 8.2 Hz, H-3, H-5), 8.33 (2H, d, J = 8.2 Hz, H-2, H-6), 8.36 (1H, s, N=CH), 11.95 (1H, s, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 75)

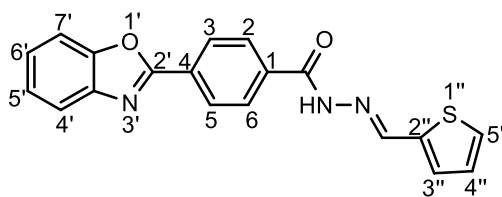
m/z

332 ($M+H^+$), 333 ($M+H+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_3 \cdot 1\text{H}_2\text{O}$	C	H	N
Hesaplanan	65.32	4.33	12.03
Bulunan	65.13	4.61	11.94

(24). BH-11 Bileşiğinin Spektrel Bulguları



4-(benz[d]oksazol-2-il)-N'-(tiyofen-2-ilmetilen)benzohidrazit

IR (Spektrum No 76)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3213 (N-H gerilmesi), 3080, 3045 (Aromatik C-H ve N=C-H gerilmeleri), 1655, 1637, 1595, 1574, 1498, 1451 (C=O, aromatik C=C, C=N gerilmeleri, N-H eğilmesi), 1299, 1288, 1244, 1054, 1039 (Aromatik C-O-C gerilmeleri, C-N gerilmesi ve aromatik C-H düzlem içi eğilmesi), 902, 744, 704 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi ve Aromatik C-S-C gerilmeleri)

¹H NMR (Spektrum No 77)

(400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 7.16 (1H, t, *J*= 3.8 Hz, H-4''), 7.42-7.50 (3H, m, H-3'', H-5', H-6'), 7.69 (1H, d, *J*= 4.4 Hz, H-5''), 7.81-7.86 (2H, m, H-4', H-7'), 8.12 (2H, d, *J*= 7.9 Hz, H-3, H-5), 8.34 (2H, d, *J*= 7.7 Hz, H-2, H-6), 8.70 (1H, s, N=CH), 11.99 (1H, s, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 78)

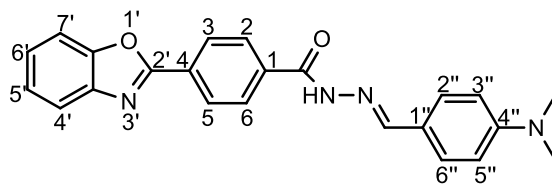
m/z

348 (M+H⁺), 349 (M+H+1⁺)

Elementel Analiz (%)

C₁₉H₁₃N₃O₂S·0.8 H₂O	C	H	N	S
Hesaplanan	63.07	4.07	11.61	8.86
Bulunan	62.76	4.16	12.01	9.14

(25). BH-12 Bileşiğinin Spektrel Bulguları



4-(benz[d]oksazol-2-il)-N'-(4-(dimetilamino)benziliden)benzohidrazit

IR (Spektrum No 79)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3305 (N-H gerilmesi), 3049, 2857, 2802 (Aromatik, alifatik C-H ve $\text{N}=\text{C}-\text{H}$ gerilmeleri), 1653 (C=O gerilmesi), 1595, 1520, 1495 (Aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1265, 1186, 1111, 1062 (Aromatik C-O-C gerilmeleri, C-N gerilmeleri ve aromatik C-H düzlem içi eğilmesi), 816, 744 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi)

^1H NMR (Spektrum No 80)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 2.98 (6H, s, $(\text{CH}_3)_2$), 6.76 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3'', H-5''), 7.41-7.49 (2H, m, H-5', H-6'), 7.56 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2'', H-6''), 7.80-7.86 (2H, m, H-4', H-7'), 8.12 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3, H-5), 8.32 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2, H-6), 8.35 (1H, s, $\text{N}=\text{CH}$), 11.72 (1H, s, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 81)

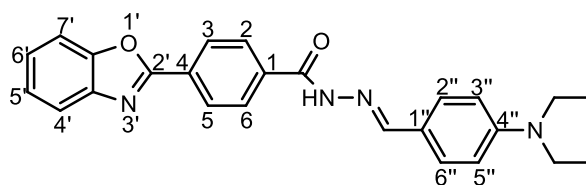
m/z

385 ($\text{M}+\text{H}^+$), 386 ($\text{M}+\text{H}+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_2 \cdot 0.2 \text{H}_2\text{O}$	C	H	N
Hesaplanan	71.19	5.30	14.44
Bulunan	71.48	5.49	14.07

(26). BH-13 Bileşiminin Spektrel Bulguları



4-(benz[d]oksazol-2-il)-N'-(4-(dietilamino)benziliden)benzohidrazit

IR (Spektrum No 82)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3233 (N-H gerilmesi), 3077, 2975, 2892 (Aromatik, alifatik C-H ve $\text{N}=\text{C}-\text{H}$ gerilmeleri), 1653 (C=O gerilmesi), 1596, 1569, 1521, 1495 (Aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1269, 1244, 1186, 1079, 1062 (Aromatik C-O-C gerilmeleri, C-N gerilmeleri ve aromatik C-H düzlem içi eğilmesi), 813, 740 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi)

^1H NMR (Spektrum No 83)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 1.11 (6H, t, $J = 7.0$ Hz, $(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 3.38 (4H, q, $J = 7.0$ Hz, $(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 6.71 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3'', H-5''), 7.42-7.50 (2H, m, H-5', H-6'), 7.53 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2'', H-6''), 7.81-7.86 (2H, m, H-4', H-7'), 8.13 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3, H-5), 8.32 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2, H-6), 8.32 (1H, s, N=CH), 11.69 (1H, s, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 84)

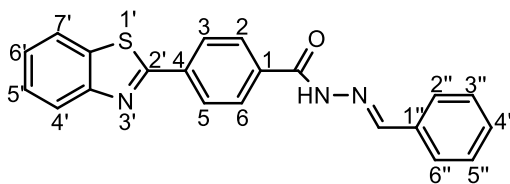
m/z

413 ($\text{M}+\text{H}^+$), 414 ($\text{M}+\text{H}+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	C	H	N
Hesaplanan	69.75	6.09	13.01
Bulunan	69.45	6.17	13.00

(27). CH-1 Bileşığının Spektral Bulguları



4-(benzo[d]tiyazol-2-il)-N'-benzilidenbenzohidrazit (**398, 399**)

IR (Spektrum No 85)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3207 (N-H gerilmesi), 3058 (Aromatik C-H ve N=C-H gerilmeleri), 1633, 1539, 1481 (C=O, aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1362, 1315, 1275 (C-N gerilmesi), 860, 757, 695 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi ve aromatik C-S-C gerilmeleri)

^1H NMR (Spektrum No 86)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 7.47-7.53 (4H, m, H-3'', H-4'', H-5'', H-6'), 7.59 (1H, t, J = 7.6 Hz, H-5'), 7.76 (2H, d, J = 6.4 Hz, H-2'', H-6''), 8.10- 8.13 (3H, m, H-4', H-3, H-5), 8.19 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-7'), 8.25 (2H, d, J = 8.0 Hz, H-2, H-6), 8.51 (1H, s, N=CH), 12.00 (1H, s, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 87)

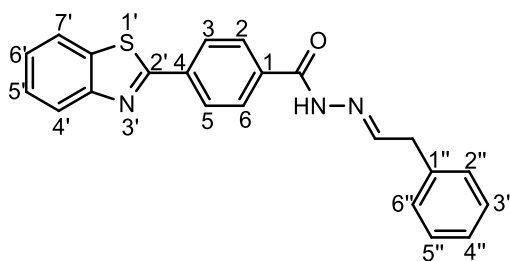
m/z

358 ($\text{M}+\text{H}^+$), 359 ($\text{M}+\text{H}+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{21}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{OS}\cdot 0.1\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	C	H	N	S
Hesaplanan	70.35	4.33	11.62	8.87
Bulunan	70.75	4.25	11.22	9.27

(28). CH-2 Bileşiminin Spektral Bulguları



4-(benzo[d]tiyazol-2-il)-N'-(2-feniletiliden)benzohidrazit

IR (Spektrum No 88)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3196 (N-H gerilmesi), 3056 (Aromatik C-H ve N=C-H gerilmeleri), 1642 (C=O gerilmesi), 1619, 1547, 1482 (Aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1361, 1290 (C-N gerilmesi), 851, 758, 729, 695 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi ve aromatik C-S-C gerilmeleri)

^1H NMR (Spektrum No 89)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 3.66 (2H, d, J = 5.7 Hz, CH_2), 7.25-7.31 (3H, m, H-2'', H-4'', H-6''), 7.36 (2H, t, J = 7.4 Hz, H-3'', H-5''), 7.50 (1H, td, J = 7.6, 1.1 Hz, H-6'), 7.58 (1H, td, J = 7.7, 1.2 Hz, H-5'), 7.89 (1H, t, J = 5.8 Hz, N=CH), 8.05 (2H, d, J = 8.2 Hz, H-3, H-5), 8.11 (1H, d, J = 7.7 Hz, H-4'), 8.18 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-7'), 8.21 (2H, d, J = 8.3 Hz, H-2, H-6), 11.66 (1H, s, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 90)

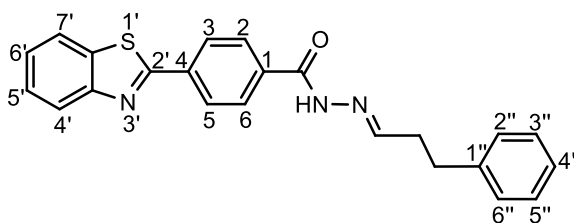
m/z

372 ($\text{M}+\text{H}^+$), 373 ($\text{M}+\text{H}+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{OS}$	C	H	N	S
Hesaplanan	71.14	4.61	11.31	8.63
Bulunan	70.85	4.66	11.57	8.78

(29). CH-3 Bileşiğinin Spektrel Bulguları



4-(benzo[d]tiyazol-2-il)-N'-(3-fenilpropiliden)benzohidrazit

IR (Spektrum No 91)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3216 (N-H gerilmesi), 3060, 3023, 2923, 2846 (Aromatik, alifatik C-H ve N=C-H gerilmeleri), 1647 (C=O gerilmesi), 1624, 1545, 1481 (Aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1306, 1291 (C-N gerilmesi ve alifatik C-H eğilmesi), 851, 759, 697 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi ve aromatik C-S-C gerilmeleri)

^1H NMR (Spektrum No 92)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 2.62 (2H, q, $J = 6.7$ Hz, N=CH-CH₂), 2.85 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, CH₂-CH₂), 7.18-7.22 (1H, m, H-4''), 7.28-7.33 (4H, m, H-2'', H-3'', H-5'', H-6''), 7.50 (1H, td, $J = 7.6, 1.2$ Hz, H-6'), 7.58 (1H, td, $J = 7.6, 1.2$ Hz, H-5'), 7.82 (1H, t, $J = 5.2$ Hz, N=CH), 8.04 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, H-3, H-5), 8.11 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-4'), 8.18 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-7'), 8.21 (2H, d, $J = 8.3$ Hz, H-2, H-6), 11.62 (1H, s, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 93)

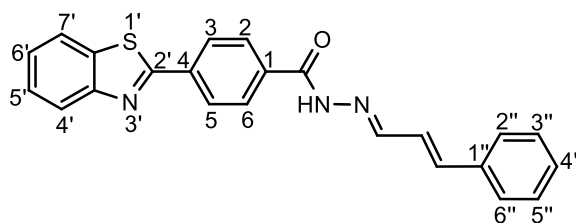
m/z

386 ($M+H^+$), 387 ($M+H+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{OS}$	C	H	N	S
Hesaplanan	71.66	4.97	10.90	8.32
Bulunan	72.02	5.02	10.51	8.65

(30). CH-4 Bileşiğinin Spektral Bulguları



4-(benzo[d]tiyazol-2-il)-N'-((E)-3-fenilalliliden)benzohidrazit

IR (Spektrum No 94)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3225 (N-H gerilmesi), 3054, 3033 (Aromatik C-H ve alifatik =C-H gerilmeleri), 1639, 1626, 1528, 1511, 1483 (C=O, aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1315, 1267 (C-N gerilmesi), 857, 751, 688 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi ve aromatik C-S-C gerilmeleri)

^1H NMR (Spektrum No 95)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 7.01 (1H, dd, $J = 16.3, 7.8$ Hz, N=CH-CH=CH), 7.07 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, N=CH-CH=CH), 7.31-7.35 (1H, m, H-4''), 7.38-7.42 (2H, m, H-3'', H-5''), 7.48-7.52 (1H, m, H-6'), 7.56-7.62 (3H, m, H-5', H-2'', H-6''), 8.08 (2H, d, $J = 8.3$ Hz, H-3, H-5), 8.11 (1H, dt, $J = 8.1, 0.6$ Hz, H-4'), 8.16 (1H, dt, $J = 8.0, 0.6$ Hz, H-7'), 8.22 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, H-2, H-6), 8.25-8.30 (1H, m, N=CH), 11.63 (1H, s, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 96)

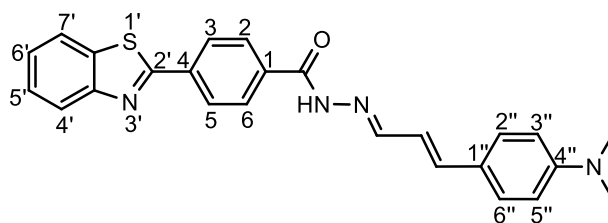
m/z

384 ($M+H^+$), 385 ($M+H+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{OS}$	C	H	N	S
Hesaplanan	72.04	4.47	10.96	8.36
Bulunan	72.36	4.42	10.66	8.40

(31). CH-5 Bileşiğinin Spektral Bulguları



4-(benzo[d]tiyazol-2-il)-N'-((E)-3-(4-(dimetilamino)fenil)allilidene)benzohidrazit

IR (Spektrum No 97)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3227 (N-H gerilmesi), 3052, 2951, 2843 (Aromatik C-H ve alifatik C-H gerilmeleri), 1648 (C=O gerilmesi), 1602, 1573, 1537, 1518 (Aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1315, 1278 (C-N gerilmesi), 1163, 1130 (Alifatik C-N gerilmesi ve aromatik C-H düzlem içi eğilmesi), 806, 755, 727 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi ve aromatik C-S-C gerilmeleri)

^1H NMR (Spektrum No 98)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 2.95 (6H, s, $(\text{CH}_3)_2$), 6.71 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-3'', H-5''), 6.81 (1H, dd, $J = 16.0, 9.2$ Hz, N=CH-CH=CH), 6.94 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, N=CH-CH=CH), 7.45 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2'', H-6''), 7.50 (1H, t, $J = 7.2$ Hz, H-6'), 7.58 (1H, t, $J = 7.2$ Hz, H-5'), 8.07-8.12 (3H, m, H-4', H-3, H-5), 8.18 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-7'), 8.20-8.24 (3H, m, N=CH, H-2, H-6), 11.73 (1H, s, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 99)

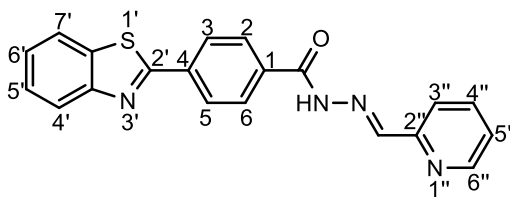
m/z

427 ($\text{M}+\text{H}^+$), 428 ($\text{M}+\text{H}+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{OS}$	C	H	N	S
Hesaplanan	70.40	5.20	13.14	7.52
Bulunan	70.39	5.01	12.81	7.87

(32). CH-6 Bileşiminin Spektrel Bulguları



4-(benzo[d]tiyazol-2-il)-N'-(piridin-2-ilmetilen)benzohidrazit (**399**)

IR (Spektrum No 100)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3197 (N-H gerilmesi), 3066 (Aromatik C-H ve N=C-H gerilmeleri), 1653 (C=O gerilmesi), 1559, 1468, 1433 (Aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmeleri), 1318, 1282 (C-N gerilmesi), 854, 758, 728, 676 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi ve aromatik C-S-C gerilmeleri)

^1H NMR (Spektrum No 101)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 7.43 (1H, t, J = 5.8 Hz, H-5''), 7.51 (1H, td, J = 7.6, 1.2 Hz, H-6'), 7.59 (1H, td, J = 7.7, 1.4 Hz, H-5'), 7.90 (1H, t, J = 7.8 Hz, H-4''), 8.02 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-3''), 8.11-8.14 (3H, m, H-4', H-3, H-5), 8.19 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-7'), 8.26 (2H, d, J = 8.0 Hz, H-2, H-6), 8.53 (1H, s, N=CH), 8.64 (1H, d, J = 4.4 Hz, H-6''), 12.20 (1H, s, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 102)

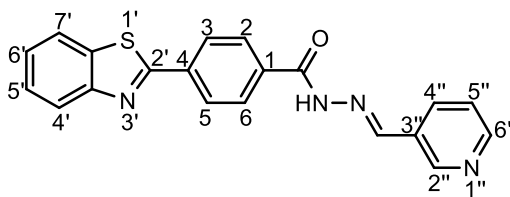
m/z

359 ($M+H^+$), 360 ($M+H+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{OS}\cdot\text{H}_2\text{O}$	C	H	N	S
Hesaplanan	63.81	4.28	14.88	8.52
Bulunan	63.88	4.39	14.53	8.90

(33). CH-7 Bileşiminin Spektral Bulguları



4-(benzo[d]tiyazol-2-il)-N'-(piridin-3-ilmetilen)benzohidrazit (**399**)

IR (Spektrum No 103)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3175 (N-H gerilmesi), 3001 (Aromatik C-H ve N=C-H gerilmeleri), 1666 (C=O gerilmesi), 1592, 1547, 1480 (Aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1275 (C-N gerilmesi), 857, 760 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi ve aromatik C-S-C gerilmeleri)

¹H NMR (Spektrum No 104)

(400 MHz, DMSO-*d*₆)

δ 7.48-7.53 (2H, m, H- 6', H-5''), 7.59 (1H, t, *J*= 7.6 Hz, H-5'), 8.11-8.20 (5H, m, H-4'', H-4', H-7', H-3, H-5), 8.26 (2H, d, *J*= 8.0 Hz, H-2, H-6), 8.56 (1H, s, N=CH), 8.63 (1H, d, *J*= 4.4 Hz, H-6''), 8.89 (1H, brs, H-2''), 12.17 (1H, s, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 105)

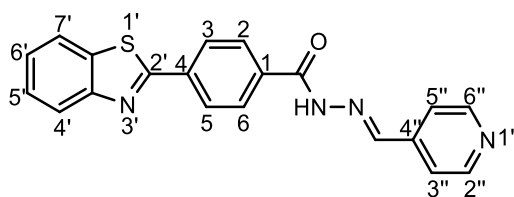
m/z

359 (M+H⁺), 360 (M+H+1⁺)

Elementel Analiz (%)

C₂₀H₁₄N₄OS	C	H	N	S
Hesaplanan	67.02	3.94	15.63	8.95
Bulunan	67.34	4.10	16.00	9.23

(34). CH-8 Bileşiminin Spektrel Bulguları



4-(benzo[d]tiyazol-2-il)-N'-(piridin-4-ilmetilen)benzohidrazit (**399**)

IR (Spektrum No 106)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3287 (N-H gerilmesi), 3059, 3035 (Aromatik C-H ve $\text{N}=\text{C}-\text{H}$ gerilmeleri), 1657 (C=O gerilmesi), 1533, 1515 (Aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1271 (C-N gerilmesi), 846, 813, 754, 730 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi ve aromatik C-S-C gerilmeleri)

^1H NMR (Spektrum No 107)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 7.50 (1H, t, $J = 7.6$ Hz, H-6'), 7.58 (1H, t, $J = 7.6$ Hz, H-5'), 7.69 (2H, brs, H-3'', H-5''), 8.10-8.13 (3H, m, H-4', H-3, H-5), 8.19 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-7'), 8.26 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2, H-6), 8.49 (1H, s, N=CH), 8.67 (2H, brs, H-2'', H-6''), 12.26 (1H, s, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 108)

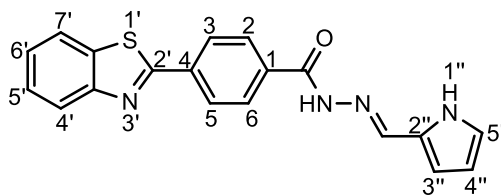
m/z

359 ($\text{M}+\text{H}^+$), 360 ($\text{M}+\text{H}+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{OS} \cdot 0.33 \text{H}_2\text{O}$	C	H	N	S
Hesaplanan	65.92	4.06	15.37	8.80
Bulunan	66.01	4.10	15.03	8.90

(35). CH-9 Bileşiğinin Spektral Bulguları



N'-((1H-pirol-2-il)metilen)-4-(benzo[d]tiyazol-2-il)benzohidrazit

IR (Spektrum No 109)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3304 (N-H gerilmesi), 3193 (N-N-H gerilmesi), 3052, 3028 (Aromatik C-H ve N=C-H gerilmeleri), 1636 (C=O gerilmesi), 1607, 1529, 1480 (Aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1312, 1281 (C-N gerilmesi), 896, 763, 740 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi ve aromatik C-S-C gerilmeleri)

^1H NMR (Spektrum No 110)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 6.16 (1H, dd, $J = 5.4, 2.2$ Hz, H- 4''), 6.52 (1H, brs, H-3''), 6.94 (1H, brs, H-5''), 7.50 (1H, t, $J = 7.6$ Hz, H-6'), 7.58 (1H, t, $J = 7.6$ Hz, H-5'), 8.09-8.12 (3H, m, H-4', H-3, H-5), 8.18 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-7'), 8.23 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2, H-6), 8.34 (1H, s, N=CH), 11.56 (1H, s, N-H-1''), 11.68 (1H, s, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 111)

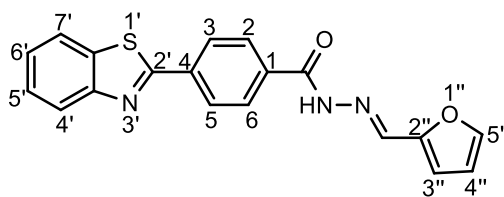
m/z

347 ($M+H^+$), 348 ($M+H+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{OS}$	C	H	N	S
Hesaplanan	65.88	4.07	16.17	9.26
Bulunan	66.01	4.34	16.35	9.46

(36). CH-10 Bileşiminin Spektrel Bulguları



4-(benzo[d]tiyazol-2-il)-N'-(furan-2-ilmetilen)benzohidrazit (**399**)

IR (Spektrum No 112)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3288 (N-H gerilmesi), 3128, 3108, 3077 (Aromatik C-H ve N=C-H gerilmeleri), 1651 (C=O gerilmesi), 1544, 1484 (Aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1346, 1271, 1135, 1059, 960 (Aromatik C-O-C gerilmeleri, C-N gerilmesi ve aromatik C-H düzlem içi eğilmesi), 755, 726 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi ve aromatik C-S-C gerilmeleri)

^1H NMR (Spektrum No 113)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 6.65 (1H, brs, H-4''), 6.97 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-3''), 7.50 (1H, t, $J = 7.6$ Hz, H-6'), 7.58 (1H, t, $J = 7.6$ Hz, H-5'), 7.87 (1H, brs, H-5''), 8.09-8.12 (3H, m, H-4', H-3, H-5), 8.18 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-7'), 8.24 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2, H-6), 8.39 (1H, s, N=CH), 11.95 (1H, s, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 114)

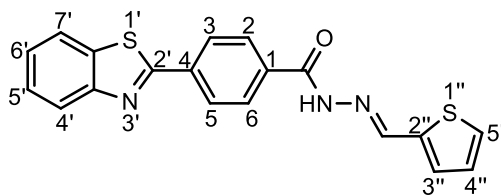
m/z

348 ($M+H^+$), 349 ($M+H+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$	C	H	N	S
Hesaplanan	65.69	3.77	12.10	9.23
Bulunan	65.34	3.98	11.99	9.32

(37). CH-11 Bileşığının Spektral Bulguları



4-(benzo[d]tiyazol-2-il)-N'-(tiyofen-2-ilmetilen)benzohidrazit (399)

IR (Spektrum No 115)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3213 (N-H gerilmesi), 3074, 3025 (Aromatik C-H ve $\text{N}=\text{C}-\text{H}$ gerilmeleri), 1631, 1592, 1542 ($\text{C}=\text{O}$, aromatik $\text{C}=\text{C}$, $\text{C}=\text{N}$ gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1315, 1275, 1222 (C-N gerilmesi), 858, 759, 715 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi ve aromatik C-S-C gerilmeleri)

^1H NMR (Spektrum No 116)

(400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)

δ 7.16 (1H, t, $J = 4.2$ Hz, H-4''), 7.49-7.52 (2H, m, H-3'', H-6'), 7.59 (1H, t, $J = 7.6$ Hz, H-5'), 7.70 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H-5''), 8.08-8.12 (3H, m, H-4', H-3, H-5), 8.17 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-7'), 8.25 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2, H-6), 8.71 (1H, s, $\text{N}=\text{CH}$), 11.96 (1H, s, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 117)

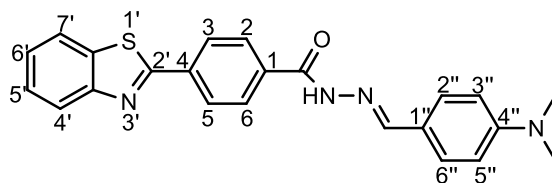
m/z

364 ($\text{M}+\text{H}^+$), 365 ($\text{M}+\text{H}+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OS}_2 \cdot 0.5\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	C	H	N	S
Hesaplanan	62.15	4.17	10.87	16.59
Bulunan	62.30	3.96	10.58	16.55

(38). CH-12 Bileşiminin Spektrel Bulguları



4-(benzo[d]tiyazol-2-il)-N'-(4-(dimetilamino)benziliden)benzohidrazit (**398**)

IR (Spektrum No 118)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3283, 3206 (N-H gerilmesi), 3052, 2806 (Aromatik, alifatik C-H ve $\text{N}=\text{C}-\text{H}$ gerilmeleri), 1647 (C=O gerilmesi), 1593, 1523, 1479 (Aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1314, 1269, 1225 (C-N gerilmeleri), 810, 752, 726 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi ve aromatik C-S-C gerilmeleri)

^1H NMR (Spektrum No 119)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 2.98 (6H, s, $(\text{CH}_3)_2$), 6.76 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3'', H-5''), 7.50 (1H, t, $J = 7.6$ Hz, H-6'), 7.56-7.60 (3H, m, H-5', H-2'', H-6''), 8.08- 8.12 (3H, m, H- 4', H-3, H-5), 8.18 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-7'), 8.23 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2, H-6), 8.35 (1H, s, $\text{N}=\text{CH}$), 11.70 (1H, s, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 120)

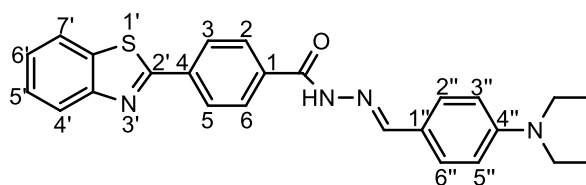
m/z

401 ($\text{M}+\text{H}^+$), 402 ($\text{M}+\text{H}+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{OS}$	C	H	N	S
Hesaplanan	68.98	5.03	13.99	8.01
Bulunan	68.97	5.02	14.10	8.11

(39). CH-13 Bileşığının Spektral Bulguları



4-(benzo[d]tiyazol-2-il)-N'-(4-(dietilamino)benziliden)benzohidrazit

IR (Spektrum No 121)

$\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$

3287, 3187 (N-H gerilmesi), 3051, 2972, 2930 (Aromatik, alifatik C-H ve N=C-H gerilmeleri), 1640 (C=O gerilmesi), 1609, 1588, 1521 (Aromatik C=C, C=N gerilmeleri ve N-H eğilmesi), 1402, 1352 (Alifatik C-H eğilmesi), 1270, 1186, 1157 (C-N gerilmeleri), 810, 755, 725, 685 (Aromatik C-H düzlem dışı eğilmesi ve aromatik C-S-C gerilmeleri)

^1H NMR (Spektrum No 122)

(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 1.11 (6H, t, $J = 7.0$ Hz, ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$)₂), 3.39 (4H, q, $J = 7.0$ Hz, ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$)₂), 6.71 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3'', H-5''), 7.48-7.58 (4H, m, H-2'', H-6'', H-5', H-6'), 8.09-8.12 (3H, m, H-4', H-3, H-5), 8.18 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-7'), 8.23 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, H-2, H-6), 8.33 (1H, s, N=CH), 11.67 (1H, s, N-H) ppm

MS (ESI) (Spektrum No 123)

m/z

429 ($\text{M}+\text{H}^+$) 430 ($\text{M}+\text{H}+1^+$)

Elementel Analiz (%)

$\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{OS}$	C	H	N	S
Hesaplanan	70.07	5.64	13.07	7.48
Bulunan	70.04	5.29	12.72	7.88

4.2. Final Bileşiklerin Biyolojik Aktivite Bulguları

4.2.1. AChE/BuChE İnhibitör Aktivite Tayini (Ellman Testi)

4.2.1.1. Materyal

Biyoaktivite çalışmasında kullanılan asetilkolinesteraz enzimi (AChE, E.C.3.1.1.7, tip VI-S, electric eel), butirilkolinesteraz enzimi (BuChE, E.C.3.1.1.8, horse serum), Ellman belirteci (5,5'-ditiyobis(2-nitrobenzoik asit), DTNB), asetiltiyokolin iyodür (ATC), S-butiriltiyokolin iyodür (BTC) ile dimetilsülfoksit (DMSO) Sigma-Aldrich (Almanya) firmasından temin edilmiştir. Tampon bileşikler (potasyum dihidrojen fosfat, potasyum hidroksit) ve sodyum hidrojen karbonat Merck (Almanya) firmasından sağlanmış ve saflaştırma aparatından (Millipore®, Eschborn, Almanya) elde elden deiyonize su kullanılmıştır. Spektrofotometrik ölçümler Shimadzu 160-A UV Spektrofotometresinde gerçekleştirilmiştir.

4.2.1.2. AChE/BuChE İnhibisyon Çalışması

Sentezlenmiş olan final bileşiklerin AChE ve BuChE inhibitör aktiviteleri modifiye edilmiş kolorimetrik Ellman testi ile saptanmıştır (**40, 384**). Enzimatik hidrolizin ürünü olan tiyokolin, UV dedeksiyonunda önemli bir kromofora sahip değildir. Bu nedenle enzim aktivitesinin değerlendirilmesi spesifik kromojenik belirteci DTNB kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İnhibitör bileşiklerin stok çözeltileri %2'lik DMSO çözeltisinde hazırlanmıştır. Enzim aktivitesi, AChE ve BuChE inhibisyonu elde etmek için inhibitörün 5 farklı konsantrasyonları (genellikle 10^{-2} - 10^{-8} M) varlığında tayin edilmiştir. Aktivite 0 ile %100 arasını kapsamaktadır. Her iki enzim inhibisyonunun analizi için her konsantrasyon 3 kez analiz edilmiştir. Örnekler hazırlandıktan hemen sonra incelenmiştir.

Tüm çözeltiler kullanımdan önce 20° C'ye getirilmiştir. Enzim çözeltisi (100 µL) ve inhibitör çözelti (100 µL) fosfat tamponu ihtiva eden (3.0 mL, 0.1 M, pH 8.0) küvete ilave edilmiştir. 5 dakika inkübasyonun ardından gereken DTNB çözeltisi 100 µL'lik ve asetiltiyokolin/butiriltiyokolin iyodür 20 µL' lik kısımlar halinde eklenmiştir. Hızlı ve çabuk bir karıştırmanın ardından 412 nm'de absorpsiyonu ölçülmüştür. Enzimin inhibitörsüz çözeltisi aynı prosedürü takiben işleme tabi tutulmuş ve aynı dalga boyunda absorbansı ölçülmüştür. Boş okunan 3.0 mL tampon, 200 µL su, 100 µL DTNB, ve 20 µL substrat içermektedir. Sonuçlar non-lineer regresyon analizini bir sigmoid doz-yanıt modeline karşı kullanılarak Graphpad Prism (Graphpad Software, San Diego, CA, USA) programı ile analiz edilmiştir.

AChE inhibisyon aktivite sonuçları Tablo 5'te, BuChE inhibisyon aktivite sonuçları Tablo 6'da toplu olarak gösterilmektedir.

4.2.1.3. AChE/BuChE İnhibisyonunda Kullanılan Çözeltiler

4.2.1.3.1. Fosfat Tamponu pH 8.0

Potasyum dihidrojen fosfat (13.61 g) 1 L distile suda çözüldükten sonra potasyum hidroksit ile pH 8.0 ± 0.1 'e ayarlanmıştır. Tampon çözelti kullanılmadan önce por genişliği 0.22 μm olan tek kullanımlık filtrelerden (Schleicher and Schuell, Dassel, Almanya) süzölmüştür. Tampon çözelti her hafta taze olarak hazırlanmış ve 4° C'de muhafaza edilmiştir.

4.2.1.3.2. 5-5-ditiyobis(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) Çözeltisi (0.01 M)

0.396 g DTNB ve 0.15 g sodyum hidrojen karbonat tartılıp 100 mL distile suda çözülmüştür. Hazırlanan çözelti ya direk olarak kullanılmıştır ya da kullanılıncaya kadar -30° C'de muhafaza edilmiştir.

4.2.1.3.3. ATC Çözeltisi (0.075 M)

0.217 g ATC tartılıp 10 mL distile suda çözülmüştür. Bu çözelti 0.4 mL'lik ependorf tüplerinde -30° C'de saklanmıştır.

4.2.1.3.4. BTC Çözeltisi (0.075 M)

0.238 g BTC tartılıp 10 mL distile suda çözülmüştür. Bu çözelti 0.4 mL'lik ependorf tüplerinde -30° C'de saklanmıştır.

4.2.1.3.5. AChE/BuChE Çözeltisi

AChE ve BuChE enzimleri jelatin çözeltisinde (1 mL, % 1) çözüldükten sonra distile su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır. Bu stok çözelti 0.7 mL'lik kısımlar halinde ependorf tüplerinde -30° C'de muhafaza edilmiştir.

Tablo 5. Final bileşiklerin AChE inhibisyon aktivite sonuçları

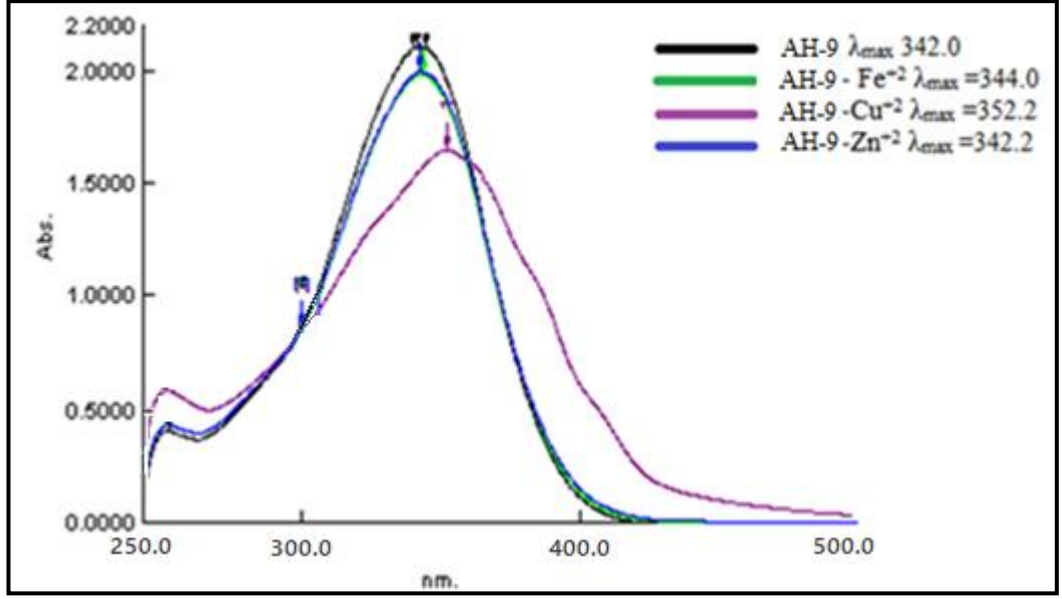
Bileşik	IC₅₀ [μM] (AChE)	Bileşik	IC₅₀ [μM] (AChE)	Bileşik	IC₅₀ [μM] (AChE)
AH1	2.25 ± 0.18	BH1	6.63 ± 0.81	CH1	5.43 ± 0.41
AH2	1.09 ± 0.09	BH2	6.98 ± 0.60	CH2	4.83 ± 0.22
AH3	2.05 ± 0.10	BH3	7.28 ± 0.92	CH3	3.57 ± 0.16
AH4	2.34 ± 0.20	BH4	5.85 ± 0.19	CH4	4.88 ± 0.24
AH5	2.39 ± 0.15	BH5	2.71 ± 0.19	CH-5	2.08 ± 0.07
AH6	2.61 ± 0.59	BH6	5.12 ± 1.06	CH-6	1.83 ± 0.05
AH7	8.10 ± 0.35	BH7	7.12 ± 0.44	CH-7	6.74 ± 0.61
AH8	10.7 ± 2.00	BH8	6.22 ± 0.35	CH-8	8.11 ± 0.55
AH9	1.00 ± 0.15	BH9	1.94 ± 0.12	CH-9	5.53 ± 0.38
AH10	6.96 ± 0.54	BH10	3.83 ± 0.20	CH-10	5.53 ± 0.24
AH11	2.72 ± 0.22	BH11	5.34 ± 0.33	CH-11	2.80 ± 0.11
AH12	2.03 ± 0.17	BH12	3.44 ± 0.11	CH-12	6.16 ± 0.51
AH13	1.81 ± 0.19	BH13	2.95 ± 0.20	CH-13	5.44 ± 0.46
				Galantamin	0.43 ± 0.03
				Takrin	0.075 ± 0.02

Tablo 6. Final bileşiklerin BuChE inhibisyon aktivite sonuçları

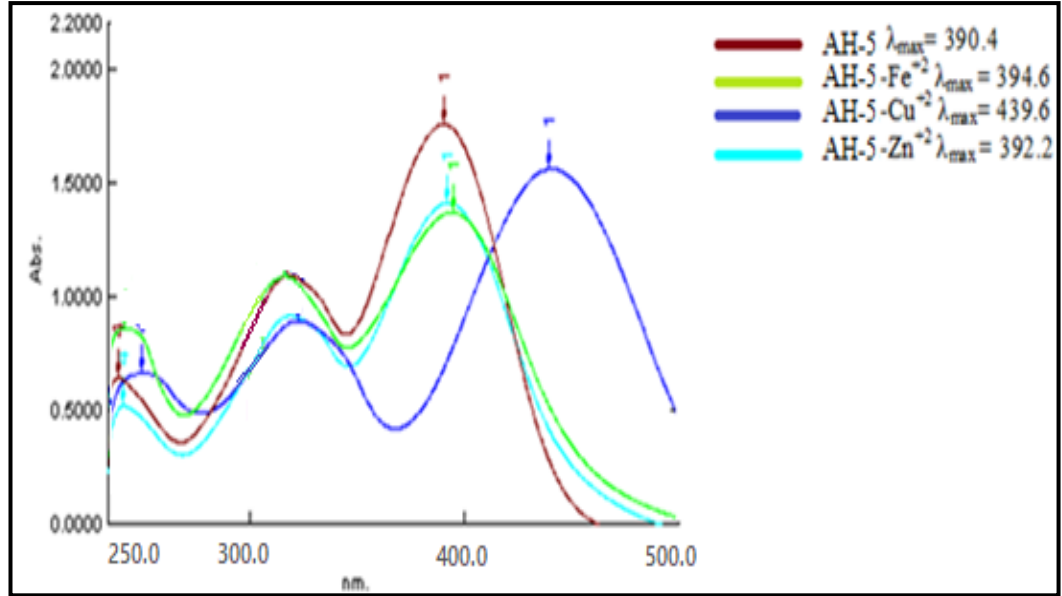
Bileşik	IC ₅₀ [μM] (BuChE)	Bileşik	IC ₅₀ [μM] (BuChE)	Bileşik	IC ₅₀ [μM] (BuChE)
AH1	>50	BH1	21.37 ± 0.5	CH1	26.93 ± 2.29
AH2	>50	BH2	>50	CH2	22.15 ± 0.42
AH3	>50	BH3	>50	CH3	>50
AH4	>50	BH4	19.41 ± 0.67	CH4	18.76 ± 1.35
AH5	>50	BH5	8.77 ± 0.11	CH-5	2.37 ± 0.14
AH6	>50	BH6	4.93 ± 0.11	CH-6	1.81 ± 0.17
AH7	>50	BH7	>50	CH-7	>50
AH8	>50	BH8	>50	CH-8	>50
AH9	>50	BH9	7.32 ± 0.10	CH-9	>50
AH10	>50	BH10	>50	CH-10	4.72 ± 0.05
AH11	>50	BH11	4.24 ± 0.43	CH-11	6.0 ± 0.08
AH12	>50	BH12	>50	CH-12	>50
AH13	>50	BH13	>50	CH-13	>50
				Galantamin	14.92 ± 0.57
				Takrin	0.0098 ± 0.0002

4.2.2. Zn⁺² Cu⁺² ve Fe⁺² Metalleriyle Kompleks Oluşturma Üzerine Spektrofotometrik Çalışmalar

Metallerle kompleks oluşturma üzerine spektrofotometrik çalışmalar, oda sıcaklığında, çözücü olarak etanol kullanılarak, 200 ile 500 nm arasında değişen dalga boyu aralığında UV-vis spektrofotometre (Shimadzu 160-A Spektrofotometresinde) cihazı kullanılarak yapıldı. AH-9, AH-5 bileşiklerinin etanol içerisinde 400 μM konsantrasyonlarda stok çözeltileri hazırlandı. ZnCl₂, CuSO₄ ve FeSO₄ metal tuzlarının etanol içerisinde 200 μM konsantrasyonlarda stok çözeltileri hazırlandı. 3 cm³ kuarz küvet içerisine bu stok çözeltilerden sırasıyla 300 μL, 600 μL (her bir metal tuzu için ayrı olmak üzere) konuldu ve 2100 μL etanol ile seyreltildi. Oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra UV absorbans değerleri ölçüldü. Aynı işlemler metal tuzu çözeltilerinin yokluğunda, yerine 600 μL etanol konularak yapıldı. Tüm sonuçlardan kör çözeltisi için yapılan ölçüm değerleri çıkarıldı (Kör çözeltisi= Etanol). Ölçümler 3'er kez tekrar edildi (Şekil 112, 113) (400).



Şekil 112. AH-9 bileşiğinin (100 μ M) ve 100 μ M Zn²⁺, Cu²⁺ ve Fe²⁺ ile oluşturduğu komplekslerin UV spektrumu



Şekil 113. AH-5 bileşiğinin (100 μ M) ve 100 μ M Zn²⁺, Cu²⁺ ve Fe²⁺ ile oluşturduğu komplekslerin UV spektrumu

4.2.3. Final Bileşiklerin Dağılım Katsayıları (Log P)

Hedef bileşiklerimizin ilaç etkisinde önemli bir fizikokimyasal parametre olan Log P değerleri MOE 2011.10 (Molecular Operating Environment) programı ile hesaplanmıştır. Buna göre bileşiklerimizin Log P değerleri Tablo 7’de gösterilmektedir.

Tablo 7. Final bileşiklerin Log P sonuçları

BİLEŞİK	Log P	BİLEŞİK	Log P	BİLEŞİK	Log P
AH-1	5.069	BH-1	5.132	CH-1	5.947
AH-2	5.157	BH-2	5.220	CH-2	6.035
AH-3	5.245	BH-3	5.308	CH-3	6.123
AH-4	5.713	BH-4	5.776	CH-4	6.591
AH-5	5.628	BH-5	5.691	CH-5	6.506
AH-6	3.798	BH-6	3.861	CH-6	4.676
AH-7	3.836	BH-7	3.899	CH-7	4.714
AH-8	3.837	BH-8	3.900	CH-8	4.715
AH-9	3.965	BH-9	4.028	CH-9	4.843
AH-10	3.784	BH-10	3.847	CH-10	4.662
AH-11	4.599	BH-11	4.662	CH-11	5.472
AH-12	4.984	BH-12	5.047	CH-12	5.862
AH-13	5.666	BH-13	5.729	CH-13	6.544

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda 2- pozisyonunda benzohidrazit grubuna sahip benzimidazol, benzoksazol ve benzotiyazol halkaları, çeşitli aromatik/heteroaromatik halka içeren aldehitlerle hidrazit-hidrazonları oluşturularak AChE/BuChE inhibisyonu üzerinde inhibitör özellik göstermesi beklenen bir seri bileşik tasarlanmıştır. Tasarladığımız bileşiklerin sentezlerinin gerçekleştirilmesi, saflaştırılması ve yapılarının aydınlatılmasından sonra AChE/BuChE inhibisyonu üzerinde inhibitör etkileri araştırılmıştır.

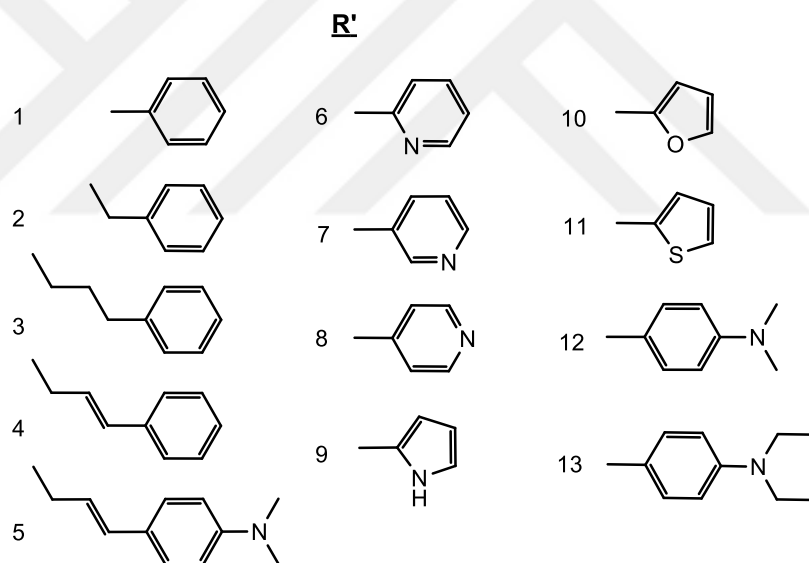
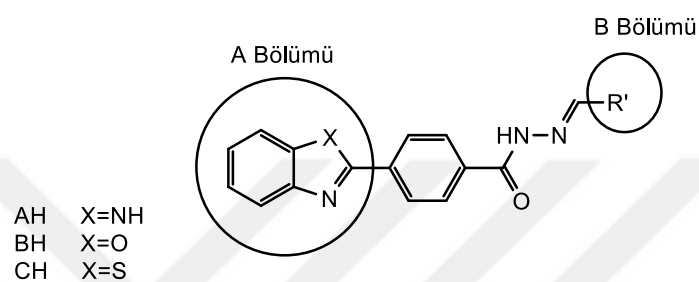
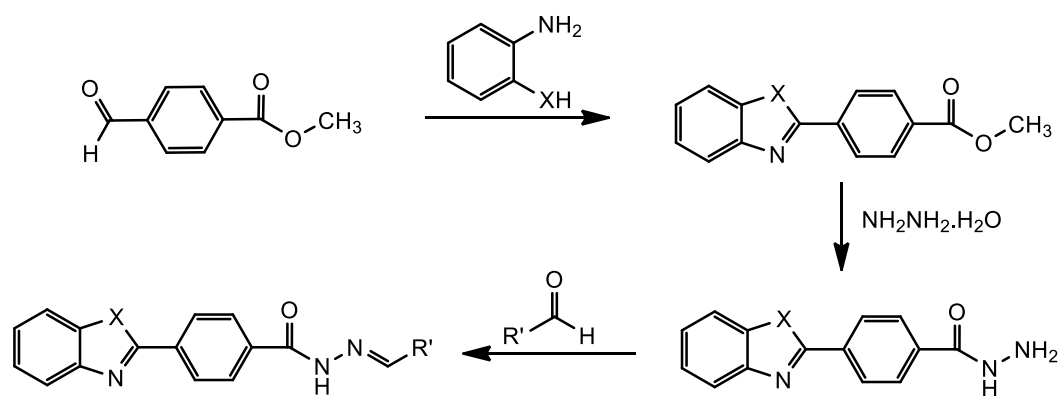
Bileşiklerimizin sentezi üç basamakta gerçekleştirilmiştir. Birinci basamakta metil 4-formilbenzoat bileşiğinin *o*-fenilendiamin, 2-aminofenol ve 2-aminotiyofenol ile reaksiyona sokularak halka kapama reaksiyonunun gerçekleşmesiyle sırasıyla benzimidazol, benzoksazol ve benzotiyazol halkaları içeren metil 4-(1*H*-benzimidazol-2-il)benzoat, 4-(benzoksazol-2-il)benzoat ve 4-(benzotiyazol-2-il)benzoat türevleri oluşturuldu. Birinci basamak sonunda elde edilen tüm ester yapısındaki ürünler hidrazin hidrat ile reaksiyona tabii tutularak hidrazit türevi ara ürünler elde edildi. Son basamakta ise elde edilen hidrazit yapısındaki tüm ürünler çeşitli aromatik aldehitler ile (Şema 6) kondensasyona sokularak hidrazon türevi final bileşikler elde edildi.

İkinci ara ürünlerin ve final bileşiklerimizin yapı teyitleri IR ve ¹H NMR, kütle spektroskopik yöntemleri ve elementel analiz değerlendirilmesiyle sağlanmıştır.

Final bileşiklerin sentezleri ve yapı aydınlatmaları tamamlandıktan sonra anti-Alzheimer etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla biyolojik aktivite testlerine tabi tutulmuşlardır. AChE ve BuChE üzerindeki inhibitör etkileri Ellman testi (47) ile tespit edilmiş olup, inhibitör bileşiklerin biyolojik aktivite sonuçları deneysel bölümde Tablo 5 ve 6'da ayrıntılı olarak gösterilmektedir.

AH-5 ve AH-9 bileşiklerinin Cu⁺², Fe⁺² ve Zn⁺² gibi metaller ile kompleks yapabilme yeteneğini bulmak amacıyla 200-500 nm dalga boyu aralığında çözücü olarak etanol kullanılarak spektrofotometrik bir çalışma yapılmıştır. Sonuçlar deneysel bölümde Şekil 112 ve 113'de ayrıntılı olarak gösterilmektedir.

Sentezleri gerçekleştirilen 39 adet final bileşiğinin 30 adedi tarafımızdan ilk kez rapor edilmektedir.



Şema 7. Final bileşikleri ve sentez tepkimeleri

5.1. Spektral Bulguların Değerlendirilmesi

5.1.1. IR Bulgularının Değerlendirilmesi

Bileşiklerin infrared spektrumları ATR (Attenuated Total Reflectance) ünitesi kullanılarak alınmıştır. Spektrumlarda $3483-3319\text{ cm}^{-1}$ arasında görülen orta şiddetteki bantlar benzimidazol ve pirol halkalarında bulunan N-H gerilme titreşimlerinden ve ara ürünlerde hidrazit işlevsel grubunda bulunan NH_2 gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır (**401–403**). $3261-3182\text{ cm}^{-1}$ arasında görülen orta şiddetteki bantlar ise ara ürünlerde hidrazit, final ürünlerinde hidrazit-hidrazon işlevsel grubunda bulunan -NH-'a ait gerilmelerinden kaynaklanmaktadır. $3090-3000\text{ cm}^{-1}$ arasında görülen bantlar aromatik C-H, $3028-2830\text{ cm}^{-1}$ arasında görülen bantlar ise alifatik C-H gerilmelerinden kaynaklanmaktadır (**401–403**). $1671-1632\text{ cm}^{-1}$ arasında görülen orta şiddetli-şiddetli bantlar C=O gerilme titreşimlerine aittir. $1634-1428\text{ cm}^{-1}$ arasında görülen titreşimler aromatik C=C ile C=N gerilme titreşimlerine ve N-H eğilme titreşimlerine aittir (**401–403**). $1344-983\text{ cm}^{-1}$ arasında gözlenen bantlar aromatik C-O-C ile C-N gerilme titreşimleri ve aromatik C-H düzlem içi eğilmelerinden kaynaklanmaktadır (**401**). $985-650\text{ cm}^{-1}$ arasında görülen bantlar aromatik C-S-C gerilmeleri, aromatik C-H düzlem dışı eğilmeleri ve heterosiklik halkalara ait titreşimlerden kaynaklanmaktadır (**401**).

5.1.2. ^1H NMR Bulgularının Değerlendirilmesi

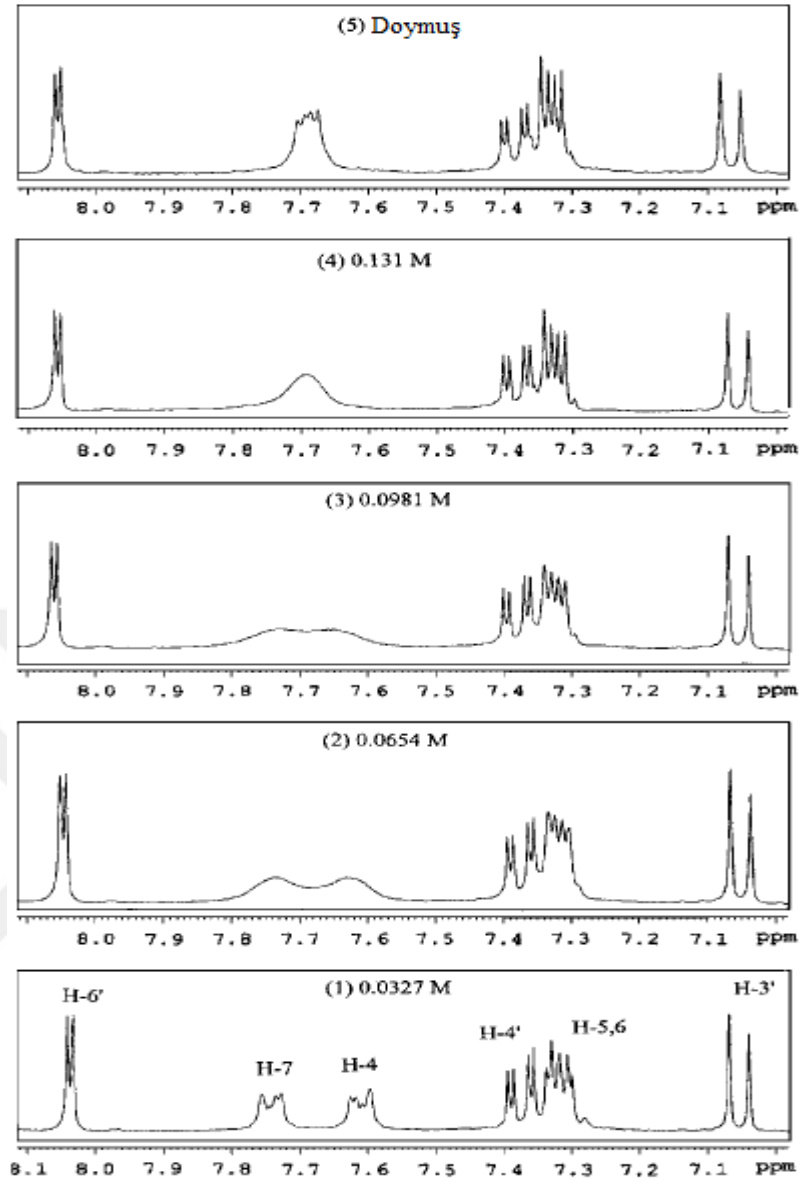
5.1.2.1. (AH, BH, CH) Kod'lu Ara Ürünlerin ^1H NMR Bulguları

Sentezini gerçekleştirdiğimiz ara ürünlerin oluştuğuna dair destekleyici önemli bulgular bileşiklerin ^1H NMR spektrumlarından elde edilmiştir. Çalışmamızda AH, BH, CH kodlu ara ürünler olarak sentezleri gerçekleştirilen bileşiklere ait ^1H NMR bulguları DMSO- d_6 çözücüsü içerisinde alınmıştır.

Bileşiklerden yalnızca benzimidazol halkası taşıyan AH bileşiğinde $\delta\ 13.00$ 'da görülen tek protonluk keskin singlet halka yapısındaki N-H protonundan kaynaklanmaktadır. Tüm ara ürünlerde $\delta\ 9.87-9.96$ arasında görülen tek protonluk keskin singlet ise hidrazit yapısında bulunan NH-NH_2 protonuna aittir. Bileşiklerde heterosiklik halkanın 2 konumunda bulunan fenil halkasının *p*- konumuna hidrazit yapısı sübtitüedir, bu yüzden fenil halkasının protonları AA'XX' spin sistemi özellikleri göstermiş olup spektrumda iki protonluk o-etkileşmeden kaynaklanan iki dublet vermişlerdir. Bu dublet sinyallerini incelediğimizde AH bileşiğinde $\delta\ 8.22$ ($J\ 8.0\text{ Hz}$)'de, BH bileşiğinde $\delta\ 8.26$ ($J\ 8.4\text{ Hz}$)'da ve CH bileşiğinde $\delta\ 8.18-8.15$ (*m*)'de görülen sinyallerin H-2 ve H-6 protonlarına, daha yukarı alanda AH

bileşğinde δ 7.97 (J 8.0 Hz)'de, BH bileşğinde δ 8.04 (J 8.3 Hz)'te ve CH bileşğinde δ 8.01 (J 7.6 Hz)'de görülen sinyallerin ise H-3 ve H-5 protonlarına ait olduğu düşünülmektedir. Bu, hidrazit işlevsel grubunun karbonilden süstitüe olması ve karbonilin rezonans etki ile elektronları üzerine çekmesinden dolayı *o*- konumdaki protonlar üzerinde gölgelememe etkisinin daha fazla olmasından kaynaklanır (402).

Benzimidazol halkası taşıyan ara ürün: Benzimidazolün A halkasında bulunan hidrojenler, halkanın imin azotu ile NH arasında oluşan 1,3-tautomerizasyonu sonucu hızlı proton değişimi sebebiyle spektrumdaki diğer aromatik protonlardan ayrılmaktadır. Bu bileşik simetrik bir yapıya sahip olduğundan dolayı H-4'/H-7' ve H-5'/H-6' hidrojenleri eşdeğerdirler ve genelde geniş görünümlü pikler halinde gözlenirler ve integrasyonları beklenenden daha azdır (410, 411). AH bileşğinde ise durum bundan farklıdır. H-4' ve H-7' protonları ayrı ayrı dubletler halinde δ 7.67 (J 7.6 Hz)'de ve δ 7.53 (J 7.6 Hz)'de görülmektedir. Bunun sebebi analiz örneğinin DMSO- d_6 çözücüsü içerisinde düşük konsantrasyonlu olarak hazırlanmış olması olabilir. Düşük konsantrasyonlu olarak hazırlanan analiz örneklerinden elde edilen NMR bulgularında halkadaki değişebilir protonun çözücü ile N-H---O tipi hidrojen bağı yapmasından ötürü 1,3-tautomerizasyonu kısıtlanmış olduğundan tek bir izomerin sinyalleri kaydedilir ve H-4' ve H-7' ayrı ayrı dubletler olarak görülebilirler (Şekil 114). Konsantrasyon arttıkça da hidrojen bağı yapmamış bileşik miktarı artar, hidrojen atomunun yer değiştirebilme kabiliyeti de git gide artar ve ayrı durumdaki iki sinyal birleşerek yayvan bir singlet halinde gözlenir. Doymuş çözeltilerinde ise artık hem H-4'/H-7' hem de H-5'/H-6' ya ait protonlar dublet dublet bölünmüş olarak gözlenir (405). H-5' ve H-6' protonlarının ise kimyasal kayma değerlerin birbirine yakın olmasından dolayı dublet dublet gözlenmesi beklenen sinyalin δ 7.21 (J 8.4 Hz)'de triplet sinyal olarak gözlemlendiği düşünülmektedir.



Şekil 114. 2- (2-hidroksi-5-sübstütü-aril)benzimidazollerde hidrojen bağının ve 1,3-tautomerizmin ^1H NMR incelemesi (405)

Benzoksazol halkası taşıyan ara ürün: Benzoksazol halkası içeren BH ara ürününde ise aromatik saha incelendiğinde H-4' ve H-7' protonlarının dublet dublet bölünmeye sahip olup, sinyaller kimyasal kayma değerleri birbirine yakın olduğundan spektrumda iç içe geçmiş şekilde görünmektedirler. Bu yüzden etkileşme değişmezi (J) değeri hesaplanamamış ve H-7' ve H-4' protonları δ 7.85-7.79 arasında iki hidrojenlik integrasyona sahip multipler sinyal olarak rapor edilmiştir. H-5' ve H-6' protonlarının bölünmesi ise dublet dublet beklendiği halde yine spektrumda iç içe geçtiklerinden quintet dublet görünümünde gözlenmektedir. Her bir protonun komşudaki iki proton ile etkileşiminde J değeri yakın değerlerde olabileceğinden, dublet dublet görülmesi beklenen bölünmeler triplet dublet

olarak görünmekte ve yakın kimyasal kayma değerlerinden dolayı iç içe geçtikleri için quintet dublet gibi göründükleri düşünülmektedir. Bu yüzden bölünmelerin J değerleri sağlıklı bir şekilde hesaplanamamış ve bu protonlar δ 7.4-7.41 arasında iki protonluk integrasyona sahip multiplet sinyal olarak rapor edilmiştir.

Benzotiyazol halkası taşıyan ara ürün: Benzotiyazol halkası içeren CH ara ürününde ise aromatik saha incelendiğinde dublet olarak izlemeyi beklediğimiz H-7' protonuna ait sinyalin δ 8.18-8.15'de gözlenen integrasyon değeri üç protona karşılık gelen multiplet sinyalin içinde bulunduğu, fenil halkasının H-2 ve H-6 protonları ile üst üste çakıştığı düşünülmektedir. H-4' protonuna ait sinyal ise δ 8.10 (J 8.1 Hz)'da dublet vermiştir. H-7' nin H-4' ten daha aşağı alanda sinyal vermesinin, halkadaki kükürt atomunun azot atomuna göre daha hacimli olmasından dolayı alan etkisi ile H-7' protonu üzerine gölgelememe etkisinin daha fazla olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. H-5' ve H-6' protonlarının bölünmesi ise dublet dublet beklediği halde iki ayrı triplet olarak gözlenmektedir. Benzoksazol halkasında da olduğu gibi, her bir protonun komşudaki iki proton ile etkileşiminde J değerleri yakın değerlerde olabileceği ve dublet dublet beklenen bölünmelerin triplet dublet olarak gerçekleşmiş olabileceği düşünülmektedir. Ancak p -etkileşmeden kaynaklanan dublet bölünmelerin J değerleri hesaplanamamış ve H-6' protonu δ 7.57 (J 7.6 Hz)'de, H-5' protonu ise δ 7.49 (J 7.6 Hz)'da triplet sinyaller olarak rapor edilmiştir. H-6''nın H-5''ten daha aşağı alanda sinyal vermesinin ise, halkadaki azot atomunun ortaklanmamış bir elektron çiftinin halka rezonansına katılmadığından birinci grup yönlendirici olarak davranıp benzen halkasının o - ve p - konumlarını daha fazla gölgelemesi ve böylece rezonans etki ile H-6' protonu üzerine gölgelememe etkisinin H-5' protonuna nazaran daha fazla olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu bilgi aynı zamanda yukarıda bahsettiğimiz H-4' protonunun H-7' protonundan daha fazla korunuyor olmasını destekler niteliktedir.

Alifatik sahayı incelediğimizde, tüm ara ürünlerde δ 4.59-4.54 arasında görülen iki protona ait keskin singlet hidrazit yapısında bulunan NH-NH₂ protonlarına aittir.

5.1.2.2. Final Ürünlerin ¹H NMR Bulguları

Sentezleri gerçekleştirilen tüm final bileşiklere ait ¹H NMR bulguları DMSO-*d*₆ çözücüsü içerisinde alınmıştır. Ara ürünlerde olduğu gibi final bileşiklerde de benzimidazol halkası taşıyan türevlerde halkada 1 konumunda bulunan N-H protonu δ 13.08-13.03 arasında sinyal vermektedir. Final ürünlerinde ara ürünlerden farklı olarak NH-NH₂ protonlarına ait sinyale artık rastlanmamaktadır. Onun yerine hidrazitin hidrazonu oluştuğundan NH-N=CH protonuna ait sinyal BH-1 hariç tüm bileşiklerde δ 12.28-11.56

arasında tek protonluk singlet veya broad singlet olarak gözlenmektedir. Spektrumun aşağı alanlarında gözlenen bir diğer proton AH-9, BH-9 ve CH-9 bileşiklerinde pirol halkasında bulunan N-H protonudur ve δ 11.56-11.55'te tek protonluk singlet sinyali vermektedir. Tüm bileşiklerde N=CH proton sinyali ise δ 8.71-7.81 arasında çoğunlukla singlet, bazı bileşiklerde ise dublet, triplet veya multipler olarak gözlenmektedir (İleriki bölümlerde tartışılacaktır). Nonsüstitüe fenil türevlerinden AH-2, AH-3, BH-2, BH-3, CH-2, CH-3 bileşiklerinde fenil halkası ile N=CH yapısı arasında alkil zinciri bulunduğu için bu bileşiklerdeki N=CH protonu diğer bileşiklerdekilere nazaran daha fazla gölgeleme etkisi altındadırlar ve δ 7.89-7.81 arasında triplet sinyal vermektedirler. AH-9, AH-10, AH-11, BH-9, BH-10, BH-11, CH-9, CH-10, CH-11 bileşiklerine bakıldığında ise pirol, furan ve tiyofen halkalarının yapıya o- pozisyonlarından süstitüe oldukları görülmektedir. Bu bileşiklerden pirol ve furan taşıyan AH-9, AH-10, BH-9, BH-10, CH-9, CH-10 bileşiklerinde N=CH δ 8.39-8.30 arasında sinyal verirken, tiyofen taşıyan AH-11, BH-11, CH-11 bileşiklerinde N=CH protonuna ait sinyal δ 8.71-8.70'da gözlenmektedir. Bunun sebebinin tiyofen halkasında bulunan kükürt atomunun hacim olarak daha büyük olmasından dolayı alan etkisi ile N=CH protonunu diğer tüm bileşiklere kıyasla daha fazla gölgelememe etkisinde bırakması olabileceği düşünülmektedir.

Tüm final bileşiklerinin bir diğer ortak özelliği ara ürünlerde de olduğu gibi heterosiklik halkaya bağlı 4-süstitüefenil yapısı taşımalarıdır. Fenil halkasının protonları AA'XX' spin sistemi özellikleri gösterdiğinden spektrumlarda iki protonluk o- etkileşmeden kaynaklanan iki dublet sinyali gözlenmektedir. Bu dublet sinyallerini incelediğimizde aşağı alanda δ 8.36-8.20 (J 8.4-8.0 Hz) görülen sinyallerin H-2 ve H-6 protonlarına, daha yukarı alanda δ 8.18-8.03'te görülen sinyallerin ise H-3 ve H-5 protonlarına ait olduğu düşünülmektedir. Benzotiyazol halkası taşıyan türevlerde (CH-2, CH-3 ve CH-4 hariç) benzotiyazol halkasının H-4' protonuna ait dublet sinyal ile üst üste çakışmasından dolayı bu aralıkta üç protonluk multipler olarak gözlenen sinyallerin H-3 ve H-5 protonlarına ait olduğu düşünülmektedir. CH-2, CH-3 ve CH-4 bileşiklerinde ise H-3 ve H-5 protonlarına ait sinyal δ 8.08-8.04 (J 8.3-8.2 Hz) arasında iki protonluk dublet olarak izlenmektedir.

Benzimidazol halkası bulunan final bileşikleri: Halkaya ait protonlara bakıldığında bazı türevlerin AH ara ürününde olduğu gibi sinyaller verdiği, bazılarında ise 1-3 tautomerizasyonundan dolayı farklılıklar olduğu gözlenmiştir. AH-2 ve AH-4 bileşiklerinde H-4' ve H-7' protonları tıpkı AH ara ürününde olduğu gibi birer protonluk integrasyona sahip iki ayrı dublet olarak δ 7.71-7.69 (J 7.9-7.4 Hz) ve δ 7.57-7.52 (J 7.9-7.2 Hz) aralıklarında sinyal vermektedirler. AH-1, AH-3, AH-6, AH-8, AH-10 bileşiklerinde söz konusu protonlara ait sinyaller Şekil 114'de (2) ve (3) örneğinde görüldüğü gibi ara formda δ

7.72-7.54 arasında multiplet sinyaller olarak gözlenmektedirler. AH-5, AH-7, AH-9, AH-11, AH-12, AH-13 bileşiklerinde ise (4) örneğinde görüldüğü gibi H-4' ve H-7' protonları iki protonluk integrasyona sahip broad singlet olarak δ 7.64'de gözlenmektedir. Halkanın H-5' ve H-6' protonlarına ait sinyallerin AH-2 ve AH-6 bileşiği hariç tüm türevlerde δ 7.18-7.33 arasındaki multiplet sinyalin içinde olduğu düşünülmektedir. AH-2 bileşiğinde bu protonlar tıpkı AH ara ürününe olduğu gibi iki protonluk integrasyona sahip triplet olarak δ 7.36 (J 7.4 Hz)'da sinyal vermektedirler. AH-6 bileşiğinde ise bu proton δ 7.25'te göreceli olarak bir miktar yayvan iki protonluk broad singlet sinyali vermektedir.

Benzoksazol halkası bulunan final bileşikleri: Halkaya ait protonlar BH ara ürününe olduğu gibi H-4' ve H-7' protonları dublete benzer sinyaller şekilde izlenmiştir. Bölünmelere bakılacak olursa *o*- dışında *m*- etkileşime de sahip oldukları düşünülmektedir ancak bölünmeler düzensiz olup, J değeri hesaplanamadığından δ 7.87-7.80 arasında multiplet olarak rapor edilmişlerdir. H-5' ve H-6' protonlarına ait sinyaller ise quintet, bazı bileşiklerde quintet dublet gibi görünmektedir. Ancak bunların ara üründe olduğu gibi üst üste çakışmış triplet ve bazı bileşiklerde triplet dublet sinyaller olduğu düşünülmektedir. Ancak bölünmelerin J değerleri sağlıklı bir şekilde hesaplanamamış ve bu protonlar δ 7.50-7.32 arasında multiplet sinyaller olarak rapor edilmiştir.

Benzotiyazol halkası bulunan final bileşikleri: H-4' ve H-7' protonlarına ait sinyallerin iki ayrı dublet sinyal şeklinde gözlenmesi beklenmektedir ancak H-4' protonuna ait sinyalin CH-2, CH-3 ve CH-4, CH-7 bileşikleri haricindeki tüm bileşiklerde 4-sübstitüefenil yapısına ait H-3 ve H-5 protonları ile üst üste çakıştığı için genelde triplet sinyal gibi görünmektedirler. CH-2 ve CH-3 bileşiklerinde H-7' protonu δ 8.18 (J 8.1-8.0 Hz)'de, H-4' protonu da δ 8.11 (J 8.0-7.7 Hz)'de birer protonluk integrasyona sahip dublet sinyal vermişlerdir. Bu bileşiklere ait H-4' protonunun diğerlerinden farklı olarak yapıda bulunan alkil zincirinden dolayı 4-sübstitüefenil yapısına ait H-3 ve H-5 protonlarını daha fazla gölgeleyerek diğerlerine kıyasla daha yukarı alanda sinyal verdiği için H-4' protonu ile üst üste çakışmadıkları tahmin edilmektedir. CH-4 bileşiğinde de H-7' protonu δ 8.16 (J 8.0, 0.6 Hz)'de, H-4' protonu da δ 8.11 (J 8.1, 0.6 Hz)'de birer protonluk dublet triplet sinyaller olarak izlenmişlerdir. CH-7 bileşiğinde ise hem H-4' hem H-7' protonunun δ 8.20-8.11 arasında gözlenen beş protonluk multiplet sinyalin içerisinde olduğu tahmin edilmektedir. Diğer tüm final bileşiklerinde H-7' protonuna ait sinyaller δ 8.20-8.17 (J 8.1-7.6 Hz) arasında dublet olarak izlenirken, H-4' protonuna ait sinyallerin δ 8.14-8.07 (m) arasında gözlenen üç protonluk sinyallerin içinde olduğu düşünülmektedir. H-5' ve H-6' protonlarına ait sinyaller ise CH ara ürününe olduğu gibi birer protonluk integrasyona sahip triplet sinyaller, bazı bileşiklerde ise triplet dublet sinyaller olarak izlenmişlerdir. CH-5, CH-8, CH-

9, CH-10, CH-12 bileşiklerinde H-6' protonu triplet sinyaller olarak δ 7.51-7.50 (J 7.6-7.2 Hz)'de, CH-2, CH-3, CH-6 bileşiklerinde de o - etkileşim ile birlikte m - etkileşim de meydana geldiği için triplet dublet sinyaller olarak δ 7.51-7.50 (J 7.6 ve 1.2-1.1 Hz)'de gözlenmektedir. CH-1, CH-4, CH-7, CH-11 ve CH-13 bileşiklerinde H-6' sinyalinin δ 7.55-7.47 aralığında gözlenen multipler sinyallerin içerisinde olduğu tahmin edilmektedir. H-5' protonuna ait sinyal ise CH-1, CH-5, CH-7, CH-8, CH-9, CH-10, CH-11 bileşiklerinde triplet olarak δ 7.59-7.58 (J 7.6-7.2 Hz)'de, CH-2, CH-3, CH-6 bileşiklerinde ise o - etkileşim ile birlikte m - etkileşim de meydana geldiği için triplet dublet olarak δ 7.59-7.58 (J 7.7-7.6 ve 1.4-1.2 Hz)'de gözlenmektedir. CH-4, CH-12 ve CH-13 bileşiklerinde ise δ 7.62-7.48 arasında gözlenen multipler sinyalin içinde olduğu tahmin edilmektedir.

Nonsübstitüefenil halkası taşıyan final bileşikleri: AH-1, AH-2, AH-3, AH-4, BH-1, BH-2, BH-3, BH-4, CH-1, CH-2, CH-3, CH-4 bileşiklerinin ortak özelliği hepsinin nonsübstitüefenil halkası taşımalarıdır. Fenil halkasına ait protonların kimyasal kayma değerleri her bir grupta farklılıklar göstermektedir. AH-1, BH-1 ve CH-1 bileşiklerinde δ 7.77-7.75 arasında iki protonluk integrasyona sahip sinyallerin H-2'' ve H-6'' protonlarına ait olduğu düşünülmektedir (**402**). AH-1 ve CH-1 bileşiklerinde o - etkileşmeden (J 8.0-6.4 Hz) kaynaklanan 2 protona karşılık gelen dublet sinyaller gözlenmekte iken, BH-1 bileşiğinde aynı kimyasal kayma değerine karşılık gelen yerde bulunan multipler sinyalin içerisinde olduğu tahmin edilmektedir. Bu üç türevde H-3'', H-4'' ve H-5'' protonlarının ise δ 7.53-7.44 arasında gözlenen üç protonluk multipler sinyaller olduğu düşünülmektedir. Fenil halkasının bağlı olduğu N=CH yapısı halkadaki elektronları rezonans etki ile çektiğinden dolayı fenil halkasının 2'' ve 6'' konumundaki protonların daha aşağı alana kaymış olabileceği düşünülmektedir. AH-2, BH-2 ve CH-2 bileşiklerinde ise araya bir metil yapısı girdiği için kimyasal kayma değerleri değişmiştir. Metil karbonundaki elektronlar rezonans etkiyle halkaya doğru akacağından, AH-1, BH-1 ve CH-1 bileşiklerinde olanın tam tersi, o - ve p - pozisyonu elektronca daha zengin olup daha fazla gölgeleneceği için sinyallerin daha yukarı alanda çıkacağı tahmin edilmektedir (**402**). Beklendiği üzere BH-2 ve CH-2 bileşiklerinde δ 7.36 (J 7.4 Hz)'da iki protonluk integrasyona sahip triplet sinyallerin iki adet o - etkileşime sahip olan H-3'' ve H-5'' protonlarına ait olduğu, δ 7.31-7.24 arasında gözlenen üç protona karşılık gelen multipler sinyallerin ise H-2'', H-4'' ve H-6'' protonlarına karşılık geldiği düşünülmektedir. AH-2 bileşiğinde ise fenil halkasındaki tüm protonlara ait sinyallerin δ 7.32-7.21 arasında gözlenen beş protonluk multipler sinyali içerisinde olduğu düşünülmektedir. AH-3, BH-3, CH-3 bileşiklerinde ise zincir bir karbon daha uzamış, bundan dolayı kimyasal kayma değerleri AH-2, BH-2 ve CH-2'ye oranla bir miktar daha yukarı alana kaymıştır. BH-3 ve CH-3 bileşiklerinde δ 7.33-7.27 arasında gözlenen dört protona karşılık gelen multipler sinyallerinin H-2'', H-3'', H-5'' ve H-6''

protonlarına ait olduğu, δ 7.22-7.17 arasında gözlenen bir protona karşılık gelen multipler sinyalin ise H-4'' protonuna ait olduğu düşünülmektedir. AH-3 bileşiğinde ise fenil halkasındaki tüm protonlara ait sinyallerin δ 7.33-7.18 arasında gözlenen yedi protonluk multipler sinyali içerisinde olduğu düşünülmektedir. AH-4, BH-4 ve CH-4 bileşiklerindeki fenil halkasındaki protonlar da AH-1, BH-1 ve CH-1'deki ile benzerlik göstermektedir. Farklı olarak H-4'' protonu H-3'' ve H-5'' protonlarına ait sinyallerden ayrılmış ve biraz daha aşağı alanda δ 7.35-7.31 arasında bir protona karşılık gelen sinyaller vermiştir. H-3'' ve H-5'' protonları δ 7.49-7.36 arasında multipler sinyaller olarak, H-2'' ve H-6'' protonlarına ait sinyaller ise diğerlerinden daha aşağı alanda δ 7.71-7.53 arasında izlenmiştir.

4-Dialkilaminofenil halkası taşıyan final bileşikler: AH-5, BH-5, CH-5, AH-12, BH-12, CH-12, AH-13, BH-13 ve CH-13 bileşikler N=CH yapısına bağlı 4-dialkilaminofenil süstitüentine sahiptirler. Bu fenil halkasındaki protonlar da AA'XX' spin sistemine sahip olup iki protonluk o- etkileşmeden kaynaklanan dublet sinyaller vermişlerdir. Yapıyı incelediğimizde 4-dialkilamino süstitüenti yapısındaki ortaklanmamış elektronları halkanın rezonansına katarak o- ve p- pozisyonunun elektronca m- pozisyonundan daha zengin olmasını sağlamaktadır. Diğer yandan da CH=N yapısının rezonans etki ile halkadan elektronları üzerine çekerek o- ve p- pozisyonun m- pozisyonuna göre elektronca daha fakir olmasını sağlamaktadır. Sonuç olarak halkanın H-2'' ve H-6'' protonlarının elektronlar ile gölgelenmesi oldukça azalmış iken H-3'' ve H-5'' protonlarının elektronlar ile gölgelenmesi artmıştır. Bundan dolayı H-2'' ve H-6'' protonlarının spektrumda daha aşağı alanda, H-3'' ve H-5'' protonlarının daha yukarı alanda sinyal vereceği düşünülmektedir. Beklendiği gibi H-2'', H-6'' protonları daha aşağı alanda δ 7.56-7.45 (*J* 8.8-8.6 Hz) arasında, H-3'' ve H-5'' protonları ise daha yukarı alanda δ 6.77-6.71 (*J* 9.2-8.4 Hz) arasında sinyal vermişlerdir. CH-12 ve CH-13 bileşiklerinin H-2'' ve H-6'' protonlarına ait sinyaller benzoksazol halkasının sinyalleriyle üst üste çakıştığı için multipler sinyaller olarak gözlenmişlerdir.

Piridin-2/3/4-il halkası taşıyan final bileşikler: AH-6, AH-7, AH-8, BH-6, BH-7, BH-8, CH-6, CH-7 ve CH-8 bileşikler süstitüent olarak piridin-2/3/4-il halkalarını taşımaktadırlar ve spektrumlar incelendiğinde piridine ait pikler spektrumda beklenen kimyasal kayma değerlerinde izlenmiş ve beklenen bölünmelere ve *J* etkileşim değişmezlerine sahip oldukları gözlenmiştir (402). AH-6, BH-6 ve CH-6 bileşikler incelendiğinde piridin-2-il halkasının H-6'' protonu en aşağı alanda δ 8.64-8.63 (*J* 4.4-3.8 Hz) arasında dublet sinyali, H-3'' protonu piridin halkasının en çok gölgeleme etkisinde olan iki konumundan biri olduğu halde süstitüsyonun o- konumunda kaldığı için rezonans etki ile halkadan elektron çekildiğinde beklenenden daha aşağı alanda δ 8.02-8.01 (*J* 7.9-7.2 Hz) arasında dublet sinyali, H-4'' protonu beklediği yerde δ 7.90 (*J* 7.8-7.5 Hz)'da triplet

sinyali, H-5'' protonu piridin halkasının en çok gölgeleme etkisinde olan protonu olduğundan beklendiği gibi en yukarı alanda δ 7.43 (J 5.8 Hz)'de gözlenmiş olup, dublet dublet sinyali olarak beklendiği halde triplet sinyali vermiştir. BH-6 bileşiğinde bu protonun δ 7.50-7.42 arasında gözlenen üç protonluk multiplet sinyalinin içinde olduğu tahmin edilmektedir. AH-7, BH-7 ve CH-7 bileşiklerinde ise hem süstitüsyonun hem piridin azotunun *o*- konumunda olmasından dolayı en aşağı alanda çıkması beklenen H-2'' protonu beklendiği gibi δ 8.89'da bir protonluk integrasyona sahip singlet sinyal olarak gözlenmiştir. İkinci en az gölgeleme etkisinde olması beklenen H-6'' protonu, piridin azotuna *o*- konumda olması ve bu yüzden *m*- konumuna göre daha fazla gölgelememe etkisi altında olması sebebiyle δ 8.63'te 4.4-3.3 Hz aralığında J değerine sahip olan bir protonluk dublet sinyal olarak gözlenmiştir. H-4'' protonu ise hem piridin azotuna göre *p*- konumunda olmasından, hem de süstitüsyonun *o*- konumunda bulunmasından dolayı beklenenden daha da aşağı alanda δ 8.20-8.11 arasında gözlenmektedir. AH-7 bileşiğinde bu proton J 7.6 Hz değerinde *o*- bölünmeye sahip dublet sinyal olarak, BH-7 ve CH-7 bileşiklerinde ise üç protonluk multiplet sinyalin içinde gözlenmiştir. H-5'' protonu ise azot atomunun *m*- konumunda kaldığı için en az gölgelememe etkisi altında olan protondur ve beklendiği gibi daha yukarı alanda δ 7.53-7.42 arasında, AH-7 bileşiğinde J 4.8, 7.4 Hz değerinde iki *o*- etkileşimden kaynaklanan dublet dublet sinyal olarak, BH-7 ve CH-7 bileşiğinde ise üç protonluk multiplet sinyalin içinde gözlenmiştir. AH-8, BH-8, CH-8 bileşiklerinde ise piridin halkası 4 konumundan süstitüe olduğundan yapı simetriktir, dolayısıyla H-2'' ve H-6'' protonları daha aşağı alanda, H-3'' ve H-5'' protonları ise daha yukarı alanda olmak üzere ikişer protonluk dublet sinyaller gözlenmesi beklenir. H-2'' ve H-6'' protonları beklendiği gibi daha aşağı alanda δ 8.67'de piridin halkasına ait J 4.4-4.0 Hz değerlerine sahip *o*- etkileşimler sonucu iki protonluk dublet sinyal vermektedir. BH-8 bileşiğinde bu sinyal tam bölünememiş ve broad singlet olarak gözlenmiştir. H-3'' ve H-5'' protonları ise daha aşağı alanda BH-8 ve CH-8 bileşiklerinde δ 7.69'da tam bölünemeyip broad singlet olarak izlenmekte, AH-8 bileşiğinde ise δ 7.72-7.54 arasında gözlenen üç protonluk multiplet sinyalinin içinde olduğu tahmin edilmektedir.

Pirol-2-il halkası içeren final bileşikler: AH-9, BH-9, CH-9 bileşiklerinde pirol-2-il süstitüenti bulunmaktadır. Bu bileşiklerin spektrumları incelendiğinde üç adet birer protonluk pirol süstitüentine ait sinyal diğer aromatik protonlardan daha yukarı alanda izole bir şekilde gözlenmektedir. En aşağı alanda H-5'' protonuna ait sinyal δ 6.94'te dublet bölünmesi beklenirken broad singlet olarak, H-3'' protonu δ 6.52'de yine dublet olarak bölünmesi beklenirken broad singlet sinyal olarak gözlenmişlerdir. H-4'' protonu ise AH-9 ve CH-9 bileşiğinde beklendiği üzere J 5.5-2.3 Hz etkileşim değişmezi ile dublet dublet

bölünmeye sahip sinyal olarak δ 6.16'da gözlenmiş, BH-9'daki H-4'' protonu ise bölünemeyip aynı kimyasal kayma değerinde broad singlet olarak izlenmiştir.

Furan-2-il halkası taşıyan final bileşikler: AH-10, BH-10, CH-10 bileşiklerinde furan-2-il sübstitüenti bulunmaktadır. Pirolde farklı olarak ikisi diğer aromatik sinyallerden daha yukarı alanda olmak üzere üç adet birer protonluk integrasyona sahip sinyaller gözlenmiştir. Bunun sebebi oksijenin daha elektronegatif olması dolayısıyla elektronları üzerine çekerek özellikle o- konumunu gölgelememe etkisi altında bırakmasıdır, bu yüzden pirole kıyasla o- pozisyonundaki H-5'' protonu daha aşağı alanda δ 7.87-7.80 arasında sinyal verir (**402**). AH-10 ve CH-10 bileşiklerinde bu protona ait sinyal dublet beklenirken broad singlet olarak, BH-10 bileşiğinde ise üç protonluk multipler sinyalin içinde rapor edilmiştir. Bileşiklerin H-3'' protonları beklendiği gibi δ 6.97-6.95 arasında (J 3.1- 2.4 Hz) birer protonluk dublet sinyalleri vermişlerdir. H-4'' protonları ise dublet dublet bölünmeleri beklenirken δ 6.65-6.64 arasında broad singlet sinyaller olarak izlenmişlerdir.

Tiyofen-2-il halkası taşıyan final bileşikler: AH-11, BH-11, CH-11 bileşiklerinde tiyofen-2-il sübstitüenti bulunmaktadır. Bu bileşiklerde kükürt atomu alan etkisi ile tüm protonları gölgelememe etkisinde bırakır bu yüzden tüm sinyaller pirol ve furana nazaran daha aşağı alanda beklenmektedirler (**402**). En aşağı alanda H-5'' protonu δ 7.70-7.69 arasında J 4.8-4.4 Hz arasındaki etkileşim değişimine sahip dublet sinyaller olarak gözlenmektedir. H-3'' protonu ise AH-11 bileşiğinde δ 7.52-7.45 arasında J 2.8 Hz etkileşme değişimine sahip dublet sinyali olarak gözlenirken BH-11 ve CH-11 bileşiklerinde ise iki protonluk multipler sinyallerinin içerisinde olduğu tahmin edilmektedir. H-4'' protonu ise en yukarı alanda δ 7.16'da AH-11 bileşiğinde J 4.6, 3.9 Hz etkileşme değişimlerine sahip olan dublet dublet sinyal olarak, BH-11 ve CH-11 ise tam bölünemeyip J 4.2-3.8 Hz etkileşim değişimine sahip tripler sinyaller olarak gözlenmişlerdir.

Alken yapısı taşıyan final bileşikler: AH-4, AH-5, BH-4, BH-5, CH-4 ve CH-5 bileşiklerinde bulunan alken yapılarına ait sinyallere bakıldığında $N=CH-CH=CH-$ yapısında alken grubuna ait protonlar için gözlenen kimyasal kayma ve J etkileşme değişimi değerleri beklendiği gibi gözlenmiştir. Bileşiklerin $N=CH$ protonları δ 8.30-8.20 arasında multipler sinyal olarak gözlenirken, AH-5 ve BH-5 bileşiklerinde J 9.2-9.0 Hz arasında etkileşim değişimi ile dublet sinyal olarak gözlenmektedir. $N=CH-CH=CH$ protonları δ 7.08- 6.93 (J 16.0- 15.8 Hz) arasında birer protonluk dublet sinyal olarak izlenirken, $N=CH-CH=CH$ protonları BH-4 ve CH-4 türevlerinde δ 7.01-6.81 (J 16.3-15.9 ve 9.3-7.8 Hz) arasında dublet dublet bölünmüş birer protonluk sinyaller vermektedirler. AH-4 bileşiğinde ise bu iki protona ait sinyaller δ 7.07-6.97 arasında iki protonluk multipler sinyal olarak izlenmiştir.

Alifatik sahada sinyal gözlenen final bileşikler: Alifatik sahayı incelediğimizde yalnızca AH-2, AH-3, AH-5, AH-12, AH-13, BH-2, BH-3, BH-5, BH-12, BH-13, CH-2, CH-3, CH-5, CH-12 ve CH-13 bileşiklerinin alifatik sahada sinyalleri olduğu gözlenmektedir.

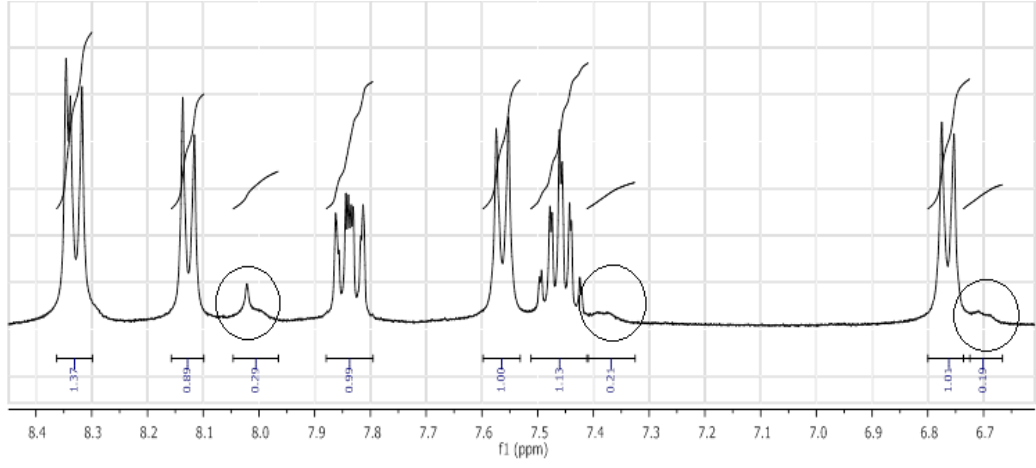
AH-2, BH-2 ve CH-2 bileşikleri incelendiğinde alifatik sahada beklendiği gibi iki protona karşılık gelen integrasyona sahip bir adet dublet sinyal δ 3.66-3.65 (J 6.0-5.6 Hz) arasında izlenmektedir. Fenil halkası ile N=CH yapısı arasında alkil zinciri bulunduğu için bu bileşiklerdeki N=CH protonu ise diğer bileşiklerdekilere nazaran daha fazla gölgeleme etkisi altında olduğu için pek çok bileşikte singlet sinyal olarak gözlenen kimyasal kayma değerinden daha yukarı alanda triplet sinyal olarak δ 7.89-7.87 (J 5.8-5.7 Hz) arasında izlenmektedir.

AH-3, BH-3 ve CH-3 bileşiklerinde ise alifatik sahada beklendiği gibi biri daha aşağı alanda biri daha yukarı alanda ikişer protona karşılık gelen integrasyona sahip sinyal sırasıyla δ 2.86-2.85 (J 7.6-7.4 Hz) arasında triplet olarak ve δ 2.62 (J 6.7-6.4 Hz)'de quartet olarak izlenmektedir. N=CH protonu ise yukarıda bahsedilen türevler gibi daha yukarı alanda δ 7.86-7.81 arasında AH-3 ve CH-3 bileşikleri için J 5.2-5.0 Hz arasında etkileşim değişmezine sahip triplet sinyaller olarak gözlenmekte ve BH-3 bileşiğinde ise üç protonluk multiplet sinyalin içinde olduğu düşünülmektedir.

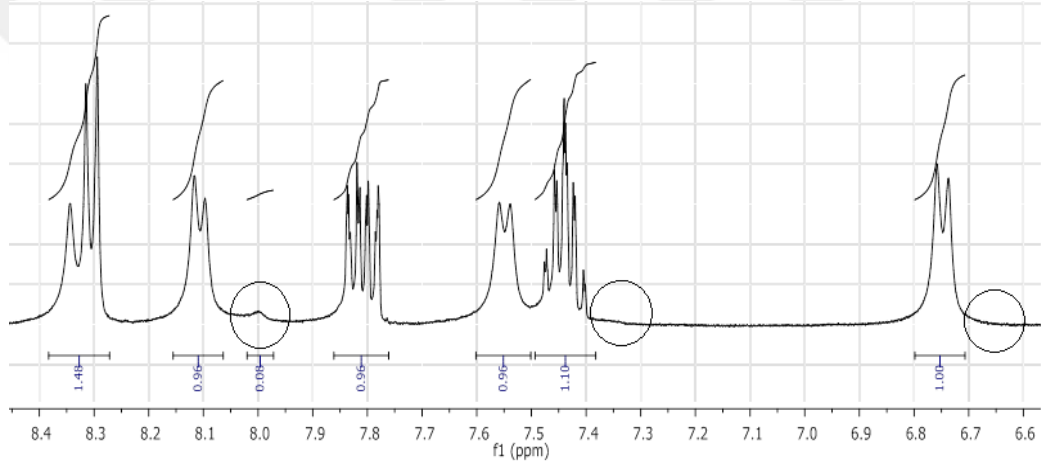
Fenil sübstitüentinde *N,N*-dimetilamino yapısı taşıyan AH-5, BH-5, CH-5 ve AH-12, BH-12, CH-12 bileşikleri incelendiğinde alifatik sahada sırasıyla δ 2.95 ve δ 2.98 kimyasal kayma değerindeki altı protonluk singlet sinyallerin varlığı her iki türevde metillerin varlığını kanıtlanmıştır.

Fenil sübstitüentinde *N,N*-dietilamino yapısı taşıyan bileşiklerde ise alifatik sahada dört protonluk ve altı protonluk integrasyona sahip J 7.0 Hz etkileşim değişmeziyle sırasıyla quartet ve triplet bölünmeye uğrayan iki adet sinyal δ 3.39-3.38 arasında ve δ 1.11'de gözlenmektedirler. Tüm bileşiklerdeki triplet ve quartet bölünmelerin etkileşme değişmezleri visinal bölünmenin varlığını doğrulamaktadır.

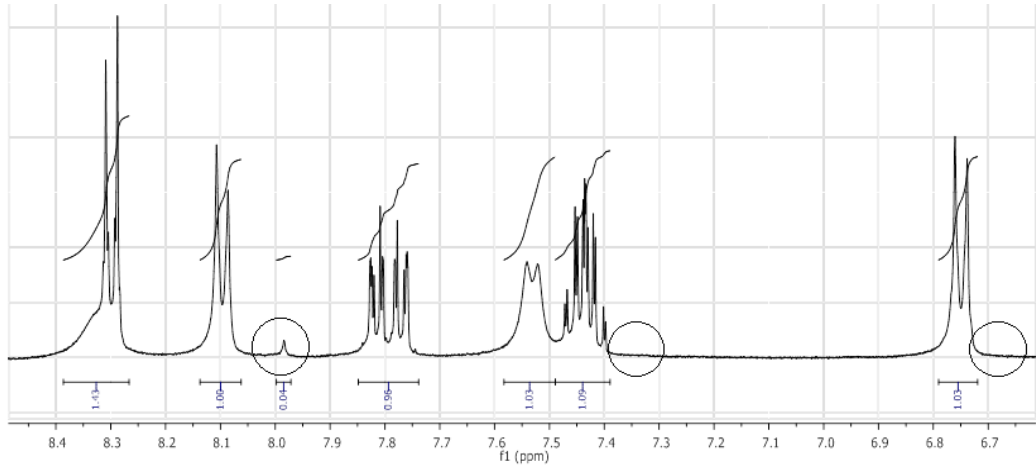
Ayrıca moleküllerin bir kısmında, özellikle de fenil sübstitüentinde *N,N*-dimetilamino ve *N,N*-dietilamino yapısı taşıyan AH-12, AH-13, BH-12, BH-13, CH-12 ve CH-13 kodlu bileşiklerde izomerlik kaynaklı olduğunu düşündüğümüz integrasyonu yaklaşık % 10 oranında olan sinyallerin araştırılması için BH-12 bileşiğinin 30 °C, 50 °C ve 80 °C'lerde ^1H NMR spektrumları alınmıştır (Şekil 115, 116, 117). ^1H NMR sonuçlarının aromatik sahası genişletilmiş ve ısı artışıyla spektrumda meydana gelen değişiklikler incelenmiştir.



Şekil 115. 30 °C’de alınan ^1H NMR spektrumu aromatik saha



Şekil 116. 50 °C’de alınan ^1H NMR spektrumu aromatik saha



Şekil 117. 80 °C’de alınan ^1H NMR spektrumu aromatik saha

Isı artışıyla daire içerisinde gösterilen sinyallerin azalması ve kaybolması yapıda hidrazit-hidrazon grubundan kaynaklanan 1/10 oranında bir izomerliğin oluştuğu düşüncesini desteklemektedir.

5.1.3. Kütle (ESI-MS) Bulgularının Değerlendirilmesi

Final bileşiklerimizin kütle spektrumları ESI (Elektron Sprey İyonizasyon) yöntemine göre alınmış ve pozitif iyonizasyon spektrum verileri deneysel bölümde özetlenmiştir. Bileşiklerin spektrumlarında $(M+H)^+$ moleküler iyon piklerinin % 100 bağıl bollukta, hesaplanan ve beklenen molekül ağırlıklarıyla tam bir uyum içerisinde olduğu görülmektedir.

5.1.4. Elementel Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Bileşiklerin elementel analiz sonuçları $\% \pm 0.4$ ve daha düşük değerde sapma göstermiştir. Bulgular deneysel bölümde ayrıntılı olarak verilmiştir.

5.2. Final Bileşiklerin Biyolojik Aktivite Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Sentezlerini gerçekleştirdiğimiz tüm final bileşiklerin AChE ve BuChE üzerindeki inhibitör etkileri Ellman testi ile (47) referans bileşik takrin ve galantamin kullanılarak (IC_{50} = 0.075 μ M ve 0.43 μ M, AChE) tayin edilmiştir.

İnhibitör bileşiklere ve referans maddelere ait tüm aktivite verileri deneysel bölümde Tablo 5 ve 6'da gösterilmektedir. Buna göre yapı-aktivite sonuçları şu şekilde değerlendirilebilir;

Benzimidazol halkası içeren bileşikler AH1-13, benzoksazol halkası içeren bileşikler BH1-13, benzotiyazol halkası içeren bileşikler CH1-13 olarak numaralandırılmıştır.

Benzimidazol halkası içeren final bileşikleri (AH1-13): Benzimidazol halkası içeren A serisi bileşikler AH-5, AH-6, AH-7, AH-8, AH-10 bileşiklerin haricinde, benzoksazol (BH1-13) ve benzotiyazol (CH1-13) halkaları içeren serilere kıyasla daha iyi AChE inhibisyon aktivitesine sahiptirler.

AH-1, AH-2 ve AH-3 bileşiklerinin AChE inhibitör aktiviteleri incelendiğinde, N=CH yapısı ile uçta bulunan fenil halkası arasındaki mesafenin aktiviteyi etkilediği görülmektedir. Bir metil grubunun eklenmesi (AH-2) aktiviteyi artırırken, etil zinciri eklendiğinde (AH-3) AH-2 türevine göre aktivite azalmakla birlikte yine de fenil sübstitüentinin doğrudan N=CH'a bağlı olduğu AH-1 bileşiğine kıyasla aktivite daha iyi bulunmuştur. AH-4 ve AH-5 bileşiklerinde N=CH ile fenil halkası arasında AH-3 bileşiğinde olduğu gibi iki karbonluk bir mesafe vardır ancak çift bağ içeren bu karbonlar uçtaki fenil halkası ile konjuge durumunda bulunmaktadır. Bu bileşiklerin aktiviteleri AH-1 bileşiğinden çok farklı bulunmamakla birlikte çift bağ içermeyen iki karbonluk bir mesafeye sahip AH-3 türevine kıyasla bir miktar azalmıştır. Ayrıca konjuge sistem içeren bu bileşiğin uçtaki fenil halkasına *para* konumunda N,N-dimetilamin sübstitüenti girişinin (AH-5) aktiviteyi belirgin derecede etkilemediği görülmektedir. Buna karşın nonsübtitüe AH-1 bileşiğiyle bu bileşiğin uçtaki fenil halkasının *para* konumuna N,N-dimetilamin (AH-12) ve N,N-dietilamin (AH-13) içeren türevleri kıyaslandığında sübstitüent ilavesinin aktivitede az da olsa bir artışa neden olduğu gözlenmiştir. AH-13 bileşiğinde aktivite AH-12 bileşiğine göre kısmen daha iyi bulunmuştur.

AH-6, AH-7 ve AH-8 bileşikleri farklı konumlarından sübstitüe edilmiş piridin halkası içermektedir. Bu bileşiklerde azot atomunun konumu aktiviteyi belirgin derecede değiştirmiştir. En iyi aktivite azot atomunun, halkanın sübstitüe olduğu konuma 2-pozisyonunda bulunduğu türev olan AH-6 bileşiğinde gözlenmiştir. Azot atomu 3-konumunda iken aktivite yaklaşık 4 kat, 4-konumunda iken yaklaşık 5 kat azalmaktadır.

AH-9, AH-10 ve AH-11 bileşiklerinde ise 2- konumundan süstitüe sırasıyla pirol, furan ve tiyofen halkaları bulunmaktadır. Pirol halkası taşıyan AH-9 bileşiği belirgin derecede daha aktif bulunmuştur. Piridin halkası içeren türevlerde en yüksek aktivitenin azot atomunun 2-konumunda bulunduğu türev olmasına benzer şekilde pirol türevinde de azot atomu halkanın 2-konumunda bulunmaktadır. AH-9 bileşiği aynı zamanda benzimidazol serisinin de en aktif türevidir. Bu türev, furan (AH-10) ve tiyofen (AH-11) halkaları bulunan türevlerden sırasıyla 7 ve 3 kat daha aktif bulunmuştur.

Bu serideki bileşiklerin hiç birisi kayda değer BuChE inhibitör aktivitesi göstermemiş olup AChE enzimine karşı selektiftir.

Benzoksazol halkası içeren final bileşikleri (BH1-13): Benzimidazolün halka izosteri benzoksazol halkası içeren B serisi bileşiklerde, BH-7, BH-8, BH-10 bileşikleri haricinde, benzimidazol halkası taşıyan A serisi bileşiklere kıyasla AChE' ye karşı inhibitör aktivitenin belirgin şekilde azaldığı ve bu izosterik değişimin aktiviteyi olumsuz etkilediği görülmektedir.

BH-1, BH-2 ve BH-3 bileşiklerinin AChE inhibitör aktiviteleri incelendiğinde, N=CH yapısı ile fenil halkası arasındaki mesafenin aktiviteyi belirgin bir şekilde etkilemediği gözlenmiştir. Benzimidazol halkası taşıyan türevlerin (AH-1, AH-2, AH-3) aksine bir metil ara zincirinin eklenmesi (BH-2) aktivitede belirgin bir değişiklik yaratmazken, etil ara zinciri eklendiğinde (BH-3) aktivite azalmaktadır. BH-4 ve BH-5 bileşiklerinde N=CH ile fenil halkası arasında BH-3 bileşiğinde olduğu gibi iki karbonluk bir mesafe vardır ancak farklı olarak çift bağ bulunduğundan konjugasyon artmıştır. Bu bileşiklerin aktiviteleri BH-3 bileşiğine kıyasla arttığı, dolayısıyla konjugasyonun aktiviteyi olumlu etkilediği görülmektedir. Buna ilaveten BH-4 bileşiğindeki fenil halkasının *para* konumuna *N,N*-dimetilamin (BH-5) süstitüentinin girişi aktiviteyi belirgin derecede artırmıştır. BH-5 bileşiği BH-4 türevinden iki kat daha iyi aktiviteye sahiptir. Diğer taraftan *N,N*-dimetilamin ve *N,N*-dietilamin süstitüenti içeren BH-12 ve BH-13 bileşikleri nonsüstitüe BH-1 türevine göre AChE'ye karşı daha iyi bir inhibisyon sergilemiştir. BH-1 bileşiğine bu süstitüentlerin girişi inhibitör aktiviteyi yaklaşık iki kat arttırmıştır.

Farklı konumlarından süstitüe edilmiş piridin halkası taşıyan BH-6, BH-7 ve BH-8 bileşiklerinde azot atomunun konumu aktiviteyi değiştirmiştir. Piridin halkasının süstitüe olduğu konuma göre azot atomunun 2-pozisyonunda bulunduğu BH-6 bileşiğinde en yüksek aktivite, 4- pozisyonunda bulunduğu BH-8 bileşiğinde ise en düşük aktivite görülmüştür.

BH-9, BH-10 ve BH-11 bileşiklerinde ise beş üyeli heterosiklik halkalar bulunmaktadır. Bu bileşikler arasında pirol halkası taşıyan BH-9 bileşiği belirgin derecede daha aktif bulunmuştur. Benzimidazol halkası taşıyan A serisi bileşiklerde de olduğu gibi

aynı zamanda serinin de en aktif bileşiği olup 1.94 μM 'lık IC_{50} değerine sahip bir inhibisyon sergilemiştir. Pirolün halka izosteri furan halkası taşıyan AH-10 bileşiğinde aktivite yaklaşık 2 kat, tiyofen halkası taşıyan AH-11 bileşiğinde ise aktivite yaklaşık 3 kat azalmıştır.

Bu serideki bileşikler BH-5, BH-6, BH-9, BH-11 bileşikleri haricinde kayda değer BuChE inhibitör aktivitesi göstermemişlerdir.

Benzotiyazol halkası içeren final bileşikleri (CH1-13): Benzimidazol halkasının izosteri benzotiyazol halkası içeren C serisi bileşiklerde CH-5, CH-6, CH-7, CH-8, CH-10 bileşikleri haricinde, benzimidazol halkası taşıyan bileşiklere kıyasla AChE'ye karşı inhibitör aktivite belirgin şekilde azalmış buna karşın, CH-8, CH-9, CH-10, CH-12, CH-13 bileşikleri haricinde benzoksazol halkası taşıyan türevlere kıyasla ise aktivite bir miktar artmıştır.

N=CH yapısı ile fenil halkası arasındaki mesafenin giderek arttığı CH-1, CH-2 ve CH-3 bileşiklerinde zincir uzunluğunun artmasıyla AChE'ye karşı inhibitör aktivitenin de arttığı saptanmıştır. CH-3 bileşiğinin konjuge çift bağ taşıyan CH-4 ve CH-5 türevleri CH-3 bileşiği ile karşılaştırıldığında, nonsüstitüe CH-4 bileşiği daha düşük aktivite sergilerken, fenil halkasının *para* konumunda *N,N*-dimetilamin süstitüenti taşıyan CH-5 türevi ise iki kat daha yüksek inhibisyon göstermiştir. Diğer taraftan, fenil halkasının *para* konumunda *N,N*-dimetilamin (CH-12) ve *N,N*-dietilamin (CH-13) süstitüenti taşıyan türevlerin AChE inhibitör etkileri nonsüstitüe CH-1 bileşiği ile karşılaştırıldığında CH-13 bileşiğinin aktivitesi hemen hemen CH-1 türeviyle aynı iken CH-12 bileşiğinde ise az da olsa azalmıştır.

Piridin halkasının süstitüe olduğu konuma göre azot atomunun 2-, 3-, 4-pozisyonunda olduğu sırasıyla CH-6, CH-7 ve CH-8 bileşiklerinde en iyi aktivite benzimidazol ve benzoksazol serilerinde olduğu gibi azotun 2- konumunda bulunduğu CH-6 türevinde gözlenmiştir. Bu türev, piridin-3-il (CH-7) ve piridin-4-il (CH-8) türevlerine göre sırasıyla yaklaşık 4 ve 5 kat daha iyi aktivite sergilemiştir.

Beş üyeli heterosiklik halkalar olarak pirol, furan ve tiyofen taşıyan sırasıyla CH-9, CH-10 ve CH-11 bileşiklerinin AChE inhibitör aktiviteleri karşılaştırıldığında, pirol halkası taşıyan CH-9 ile furan halkası taşıyan CH-10 bileşiği aktivite bakımından bir farklılık göstermezken, tiyofen halkası taşıyan C-11 bileşiğinde aktivite neredeyse 2 kat artmıştır.

Bu serideki bileşikler CH-5, CH-6, CH-10, CH-11 bileşikleri haricinde kayda değer BuChE inhibitör aktivitesi göstermemişlerdir. Benzimidazol, benzoksazol ve benzotiyazol türevleri arasında BuChE'ye karşı en iyi inhibitör aktivite benzotiyazol serilerinde görülmüş olup tüm seri içerisinde en yüksek aktiviteyi 1.81 μM lık IC_{50} değeri ile CH-6 bileşiği göstermiştir.

Ayrıca AChE/BuChE aktivite selektivitesi bakımından bileşikler incelendiğinde benzimidazol türevi AH(1-13) serisinin diğer serilere kıyasla selektif AChE inhibisyonu gerçekleştirdiği gözlenmiştir.

5.3. Final Bileşiklerin Dağılım Katsayılarının (Log P) Değerlendirilmesi

Yapılan hesaplamalarda bileşiklerin Log P değeri 3.78-6.60 aralığında bulunmuştur. Bu değerler maddelerimizin lipofilik özelliğe sahip olduğunu göstermektedir. Final bileşiklerin biyoaktivite sonuçları ile Log P değerleri arasında anlamlı bir korelasyon kurulamamasına karşın, bileşiklerimizin lipofilik özellikleri nedeniyle kan-beyin engelini geçebileceği tahmin edilmektedir.

5.4. Bazı Bileşiklerin Metalle Kompleks Oluşturma Aktivitesinin Değerlendirilmesi

AH-9 ve AH-5 bileşiğinin Cu^{+2} , Zn^{+2} ve Fe^{+2} gibi metaller ile kompleks oluşturma yeteneğini bulmak amacıyla 200-500 nm dalga boyu aralığında çözücü olarak etanol kullanılarak spektrofotometrik bir çalışma yapılmıştır. Her iki bileşiğin çeşitli metal çözeltileriyle muamele edilmeleri sonucunda UV spektrumlarında absorpsiyon şiddetlerinde azalma ve λ_{max} değerlerinde batokromik kayma gerçekleşmiştir. Özellikle Cu^{+2} metal iyonu ile bileşiklerin metal-kompleksi oluşturma yeteneğinin daha iyi olduğu görülmektedir.

Sonuç olarak AH-9 bileşiğinin güçlü selektif bir AChE inhibitörü olmasının yanında Cu^{+2} metal-kompleksi oluşturma yeteneğinin olduğu söylenebilir.

6. SONUÇ

Tez çalışması kapsamında AChE/BuChE enzimi üzerinde potansiyel anti-Alzheimer etkili yeni bir grup heteroaromatik hidrazit-hidrazon türevi bileşiklerin biyolojik aktivite sonuçları değerlendirildiğinde şu genellemeler yapılabilir;

Nonsüstitüe fenil taşıyan 1 serisi bileşiklerde benzimidazol halkası taşıyan bileşiklerin aktivitesi benzoksazol ve benzotiyazol halkası taşıyan türevlere nazaran belirgin şekilde daha iyi bulunmuştur. Ayrıca 1 serisindeki fenil halkasının *para* konumuna *N,N*-dimetilamin ve *N,N*-dietilamin süstitüsyonu, benzimidazol ve benzoksazol türevlerinde aktiviteyi arttırmaktadır. Bu bileşiklerin *N,N*-dietilamin süstitüsyonu ile daha iyi aktivite göstermesi, karbon sayısının artışı ile hidrofobik parçanın artması ve hidrofobik özelliğe sahip AChE enziminin aktif cebindeki amino asit artıkları ile hidrofobik etkileşim gösterebileceğini akla getirmektedir.

Nonsüstitüe fenil yerine çeşitli konumlarında süstitüe piridin halkaları içeren türevler incelendiğinde bu türevlerin halka izosteri olan nonsüstitüe fenil taşıyan bileşiklere kıyasla aktiviteyi değiştirdikleri gözlenmiştir. Piridin halkasının süstitüe olduğu konuma göre 2- konumunda azot atomu bulunan türevlerin AChE inhibisyon aktivitesi genel olarak nonsüstitüe türevlerden daha iyi bulunurken azot atomunun yeri değiştiğinde aktivite azalmaktadır. Ayrıca benzimidazol ve benzoksazol halkaları taşıyan türevlerde fenil halkasının pirol halkası ile değiştirilmesi aktiviteyi oldukça artırmaktadır. Hem pirol hem de piridin halkasında süstitüe olduğu konuma göre azot atomunun 2- pozisyonda bulunması, 2- konumunun enzim ile etkileşim açısından kritik olduğunu düşündürmektedir.

Tez kapsamında sentezlenen final bileşiklerin tümü AChE enzimine karşı 1.0-10.7 μM arasında IC_{50} değerine sahip iyiden orta düzeye yakın bir inhibisyon göstermiştir. Final bileşikleri arasında en iyi AChE inhibitör aktiviteye sahip bileşikler sırasıyla AH-9 ($\text{IC}_{50}=1.0 \mu\text{M}$), AH-2 ($\text{IC}_{50}=1.09 \mu\text{M}$), AH-13 ($\text{IC}_{50}=1.81 \mu\text{M}$), CH-6 ($\text{IC}_{50}=1.83 \mu\text{M}$) ve BH-9 ($\text{IC}_{50}=1.94 \mu\text{M}$) kodlu türevlerdir.

Sentezlenen tüm final bileşikleri arasında pirol-2-il süstitüenti taşıyan AH-9 molekülü, referans bileşik galantamine ($\text{IC}_{50}=0.43 \mu\text{M}$) yakın bir inhibisyon göstererek AChE'ye karşı en etkili bileşik olmuştur.

AChE üzerinde iyi inhibisyon gösteren CH-6 bileşiği aynı zamanda iyi bir BuChE inhibisyonuna sahiptir ($\text{IC}_{50}=1.83 \mu\text{M}$ AChE, $1.81 \mu\text{M}$ BuChE). Her iki enzimi de inhibe edebilen ikinci bileşik CH-5 ($\text{IC}_{50}=2.08 \mu\text{M}$ AChE, $2.37 \mu\text{M}$ BuChE) kodlu türevdir. Bu bileşik dışında BH-5, BH-6, BH-9, BH-11, CH-10, CH-11 bileşikleri her iki enzimi de

mikromolar düzeyde inhibe edebilme potansiyeline sahiptirler. Bu bileşikler dual etkili inhibitör özelliğine sahiptirler.

BuChE inhibisyon aktivitesi gözlenen bileşiklerin hepsinin (BH-5, BH-6, CH-5, CH-6, BH-9, CH-10, BH-11 ve CH-11) fenil halkasında heteroatom taşıması da dikkat çekicidir.

Sonuç olarak, AChE'ye karşı etkili bulunan bileşiklerin pek çoğunun BuChE inhibisyonu göstermemesi bu moleküllerin selektif AChE inhibitör bileşikleri olarak, her iki enzimi yüksek seviyede inhibe edebilen CH-5 ve CH-6 bileşiklerinin ise nonselektif ChE inhibitörleri olarak lider moleküller olabileceği, tüm seri içerisinde en iyi AChE inhibitörü aktivitesine sahip AH-9 bileşiğinin ayrıca metalle kompleks oluşturma yeteneği de olduğundan anti-Alzheimer bileşikleri için umut vadeden bir aday molekül olabileceği düşünülmektedir.



7. KAYNAKLAR

1. Skovronsky DM, Lee VM-Y, Trojanowski JQ. Neurodegenerative Diseases: New Concepts of Pathogenesis and Their Therapeutic Implications. *Annu Rev Pathol Mech Dis* [Internet]. 2006 Feb [cited 2017 Dec 5];1(1):151–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18039111>
2. Mayeux R. Epidemiology of neurodegeneration. *Annu Rev Neurosci* [Internet]. 2003 Mar 28 [cited 2017 Dec 5];26(1):81–104. Available from: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.neuro.26.043002.094919>
3. Ferri CP, Sousa R, Albanese E, Ribeiro WS, Honyashiki M. World Alzheimer Report 2009 [Internet]. 2009 [cited 2017 Dec 5]. Available from: <https://www.alz.co.uk/research/files/WorldAlzheimerReport.pdf>
4. Budimir A. Metal ions, Alzheimer's disease and chelation therapy. *Acta Pharm* [Internet]. 2011 Jan 1 [cited 2017 Dec 5];61(1):1–14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21406339>
5. Holzgrabe U, Kapková P, Alptüzün V, Scheiber J, Kugelmann E. Targeting acetylcholinesterase to treat neurodegeneration. *Expert Opin Ther Targets* [Internet]. 2007 Feb 17 [cited 2017 Nov 22];11(2):161–79. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17227232>
6. Gura T. Hope in Alzheimer's fight emerges from unexpected places. *Nat Med* [Internet]. 2008 Sep [cited 2017 Dec 5];14(9):894–894. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18776868>
7. Colombres M, Sagal JP, Inestrosa NC. An overview of the current and novel drugs for Alzheimer's disease with particular reference to anti-cholinesterase compounds. *Curr Pharm Des* [Internet]. 2004 [cited 2017 Dec 5];10(25):3121–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15544502>
8. Contestabile A. The history of the cholinergic hypothesis. *Behav Brain Res* [Internet]. 2011 Aug 10 [cited 2017 Dec 5];221(2):334–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20060018>
9. Harel M, Schalk I, Ehret-Sabatier L, Bouet F, Goeldner M, Hirth C, et al. Quaternary ligand binding to aromatic residues in the active-site gorge of acetylcholinesterase. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 1993 Oct 1 [cited 2017 Nov 22];90(19):9031–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8415649>
10. Raves ML, Harel M, Pang YP, Silman I, Kozikowski AP, Sussman JL. Structure of

- acetylcholinesterase complexed with the nootropic alkaloid, (-)-huperzine A. *Nat Struct Biol* [Internet]. 1997 Jan [cited 2017 Dec 5];4(1):57–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8989325>
11. Kryger G, Silman I, Sussman JL. Structure of acetylcholinesterase complexed with E2020 (Aricept): implications for the design of new anti-Alzheimer drugs. *Structure* [Internet]. 1999 Mar 15 [cited 2017 Dec 5];7(3):297–307. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10368299>
 12. Inestrosa NC, Alvarez A, Pérez CA, Moreno RD, Vicente M, Linker C, et al. Acetylcholinesterase accelerates assembly of amyloid-beta-peptides into Alzheimer's fibrils: possible role of the peripheral site of the enzyme. *Neuron* [Internet]. 1996 Apr [cited 2017 Nov 22];16(4):881–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8608006>
 13. Bourne Y, Taylor P, Radić Z, Marchot P. Structural insights into ligand interactions at the acetylcholinesterase peripheral anionic site. *EMBO J* [Internet]. 2003 Jan 2 [cited 2017 Dec 5];22(1):1–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12505979>
 14. Piazzzi L, Rampa A, Bisi A, Gobbi S, Belluti F, Cavalli A, et al. 3-(4-[[Benzyl(methyl)amino]methyl]phenyl)-6,7-dimethoxy-2H-2-chromenone (AP2238) inhibits both acetylcholinesterase and acetylcholinesterase-induced β -amyloid aggregation: a dual function lead for Alzheimer's disease therapy. *J Med Chem* [Internet]. 2003 Jun 5 [cited 2017 Dec 5];46(12):2279–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12773032>
 15. Carlier PR, Han YF, Chow ES, Li CP, Wang H, Lieu TX, et al. Evaluation of short-tether bis-THA AChE inhibitors. A further test of the dual binding site hypothesis. *Bioorg Med Chem* [Internet]. 1999 Feb [cited 2017 Dec 5];7(2):351–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10218828>
 16. Watkins PB, Zimmerman HJ, Knapp MJ, Gracon SI, Lewis KW. Hepatotoxic effects of tacrine administration in patients with Alzheimer's disease. *JAMA* [Internet]. 1994 Apr 6 [cited 2017 Dec 5];271(13):992–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8139084>
 17. Greig NH, Utsuki T, Yu Q, Zhu X, Holloway HW, Perry T, et al. A New therapeutic target in alzheimer's disease treatment: attention to butyrylcholinesterase. *Curr Med Res Opin* [Internet]. 2001 Jan [cited 2017 Dec 8];17(3):159–65. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11900310>

18. Giacobini E. Drugs that target cholinesterases. In: Cognitive Enhancing Drugs [Internet]. Basel: Birkhäuser Basel; 2004 [cited 2017 Dec 8]. p. 11–36. Available from: http://link.springer.com/10.1007/978-3-0348-7867-8_2
19. Greig NH, Lahiri DK, Sambamurti K. Butyrylcholinesterase: an important new target in Alzheimer's disease therapy. *Int psychogeriatrics* [Internet]. 2002 [cited 2017 Dec 8];14 Suppl 1:77–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12636181>
20. Coban G, Carlino L, Tarikogullari HA, Parlar S. 1H-Benzimidazole derivatives as butyrylcholinesterase inhibitors: synthesis and molecular modeling studies. *Chemistry (Easton)*. 2016;25:2005–14.
21. Prinz M, Parlar S, Bayraktar G, Alptuzun V, Erciyas E, Fallarero A, et al. 1,4-Substituted 4-(1H)-pyridylene-hydrazone-type inhibitors of AChE, BuChE, and amyloid- β aggregation crossing the blood–brain barrier. *Eur J Pharm Sci* [Internet]. 2013 Jul 16 [cited 2015 Dec 8];49(4):603–13. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928098713001620>
22. Singh M, Kaur M, Chadha N, Silakari O. Hybrids: a new paradigm to treat Alzheimer's disease. *Mol Divers* [Internet]. 2016 Feb [cited 2016 Feb 27];20(1):271–97. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26328942>
23. Soyer Z, Uysal S, Parlar S, Tarikogullari Dogan AH, Alptuzun V. Synthesis and molecular docking studies of some 4-phthalimidobenzenesulfonamide derivatives as acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors. *J Enzyme Inhib Med Chem* [Internet]. 2017 Jan 21 [cited 2017 Dec 5];32(1):13–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27766908>
24. Santos MA, Nunes A, Marques SM, Quintanova C, Silva DF, Cardoso SM, et al. Multifunctional iron-chelators with protective roles against neurodegenerative diseases. *Dalt Trans* [Internet]. 2013 May 7 [cited 2017 Nov 22];42(17):6058. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23487286>
25. Keri RS, Quintanova C, Marques SM, Esteves AR, Cardoso SM, Santos MA. Design, synthesis and neuroprotective evaluation of novel tacrine–benzothiazole hybrids as multi-targeted compounds against Alzheimer's disease. *Bioorg Med Chem* [Internet]. 2013 Aug 1 [cited 2017 Nov 22];21(15):4559–69. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0968089613004641>
26. Hiremathad A, Chand K, Esteves AR, Cardoso SM, Ramsay RR, Chaves S, et al. Tacrine-allyl/propargylcysteine–benzothiazole trihybrids as potential anti-

- Alzheimer's drug candidates. RSC Adv [Internet]. 2016 May 31 [cited 2017 Nov 22];6(58):53519–32. Available from: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C6RA03455A>
27. Pejchal V, Stepankova S, Padelkova Z, Imramovsky A, Jampilek J. 1,3-Substituted Imidazolidine-2,4,5-triones: synthesis and inhibition of cholinergic enzymes. *Molecules* [Internet]. 2011 Sep 5 [cited 2017 Nov 22];16(12):7565–82. Available from: <http://www.mdpi.com/1420-3049/16/9/7565/>
 28. Demir Özkay Ü, Can ÖD, Özkay Y, Öztürk Y. Effect of benzothiazole/piperazine derivatives on intracerebroventricular streptozotocin-induced cognitive deficits. *Pharmacol Reports* [Internet]. 2012 Jul 1 [cited 2017 Nov 22];64(4):834–47. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1734114012708782?via%3Dihub>
 29. Szymański P, Janik A, Zurek E, Mikiciuk-Olasik E. Design, synthesis and biological evaluation of new 2-benzoxazolinone derivatives as potential cholinesterase inhibitors for therapy of alzheimer's disease. *Pharmazie* [Internet]. 2011 Jun [cited 2017 Nov 22];66(6):399–403. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21699076>
 30. Temiz-arpaci O, Arisoy M, Sac D, Doganci F, Tasci M, Senol FS, et al. Biological evaluation and docking studies of some benzoxazole derivatives as inhibitors of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. *Zeitschrift für Naturforsch C* [Internet]. 2016 Jan 1 [cited 2017 Dec 6];71(11–12):409–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27505087>
 31. Wang M, Han X, Zhou Z. New substituted benzimidazole derivatives: a patent review (2013 – 2014). *Expert Opin Ther Pat* [Internet]. 2015 May 4 [cited 2017 Nov 22];25(5):595–612. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1517/13543776.2015.1015987>
 32. Li X, Wang H, Lu Z, Zheng X, Ni W, Zhu J, et al. Development of multifunctional pyrimidinylthiourea derivatives as potential anti-Alzheimer agents. *J Med Chem* [Internet]. 2016 Sep 22 [cited 2017 Nov 22];59(18):8326–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27552582>
 33. Yoon YK, Ali MA, Wei AC, Choon TS, Khaw K-Y, Murugaiyah V, et al. Synthesis, characterization, and molecular docking analysis of novel benzimidazole derivatives as cholinesterase inhibitors. *Bioorg Chem* [Internet]. 2013 Aug [cited 2017 Nov 28];49:33–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045206813000254>

34. Alpan AS, Parlar S, Carlino L, Tarikogullari AH, Alptüzün V, Güneş HS. Synthesis, biological activity and molecular modeling studies on 1H-benzimidazole derivatives as acetylcholinesterase inhibitors. *Bioorg Med Chem* [Internet]. 2013 Sep 1 [cited 2015 Dec 8];21(17):4928–37. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968089613006056>
35. Ozadali-Sari K, Tüylü Küçükkılınç T, Ayazgok B, Balkan A, Unsal-Tan O. Novel multi-targeted agents for Alzheimer's disease: Synthesis, biological evaluation, and molecular modeling of novel 2-[4-(4-substitutedpiperazin-1-yl)phenyl]benzimidazoles. *Bioorg Chem* [Internet]. 2017 Jun [cited 2017 Dec 6];72:208–14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28478328>
36. Ozadali-sari K, Tüylü T, Ayazgok B, Balkan A, Unsal-Tan O. Bioorganic Chemistry Novel multi-targeted agents for Alzheimer ' s disease : Synthesis , biological evaluation , and molecular modeling of novel 2- [4- (4- substitutedpiperazin-1-yl) phenyl] benzimidazoles. *Bioorg Chem* [Internet]. 2017;72:208–14. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bioorg.2017.04.018>
37. Chiou SY, Huang CF, Hwang MT, Lin G. Comparison of active sites of butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase based on inhibition by geometric isomers of benzene-di-N-substituted carbamates. *J Biochem Mol Tox*. 2009;5:303–308.
38. Jiang L, Zhang M, Tang L, Weng Q, Shen Y, Hu Y, et al. Identification of 2-substituted benzothiazole derivatives as triple-functional agents with potential for AD therapy. *RSC Adv* [Internet]. 2016 Feb 9 [cited 2017 Nov 22];6(21):17318–27. Available from: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C5RA25788C>
39. Karaman N, Sıcak Y, Taşkın-Tok T, Öztürk M, Karaküçük-İyidoğan A, Dikmen M, et al. New piperidine-hydrazone derivatives : Synthesis , biological evaluations and molecular docking studies as AChE and BChE inhibitors. *Eur J Med Chem*. 2016;124:270–83.
40. Ali MA, Ismail R, Choon TS, Yoon YK, Wei AC, Pandian S, et al. Substituted spiro [2.3'] oxindolespiro [3.2"]-5,6-dimethoxy-indane-1"-one-pyrrolidine analogue as inhibitors of acetylcholinesterase. *Bioorg Med Chem Lett* [Internet]. 2010 Dec [cited 2017 Nov 28];20(23):7064–6. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960894X10014174>
41. Kapková P, Alptüzün V, Frey P, Erciyas E, Holzgrabe U. Search for dual function inhibitors for Alzheimer's disease: synthesis and biological activity of acetylcholinesterase inhibitors of pyridinium-type and their Abeta fibril formation

- inhibition capacity. *Bioorg Med Chem* [Internet]. 2006 Jan 15 [cited 2015 Dec 8];14(2):472–8. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968089605007881>
42. Alptüzün V, Kapková P, Baumann K, Erciyas E, Holzgrabe U. Synthesis and biological activity of pyridinium-type acetylcholinesterase inhibitors. *J Pharm Pharmacol* [Internet]. 2003 Oct [cited 2017 Nov 22];55(10):1397–404. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14607022>
 43. Rampa A, Piazzzi L, Belluti F, Gobbi S, Bisi A, Bartolini M, et al. Acetylcholinesterase inhibitors: SAR and kinetic studies on omega-[N-methyl-N-(3-alkylcarbamoxyloxyphenyl)methyl]aminoalkoxyaryl derivatives. *J Med Chem* [Internet]. 2001 Nov 8 [cited 2017 Nov 22];44(23):3810–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11689067>
 44. Utku S, Gökçe M, Orhan İ, Şahin M. Synthesis of novel 6-substituted-3(2H)-pyridazinone-2-acetyl-2-(substituted/-nonsubstituted benzal)hydrazone derivatives and acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activities in vitro. *Arzneimittelforschung* [Internet]. 2011 Nov 28 [cited 2017 Nov 22];61(1):1–7. Available from: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0031-1296161>
 45. Parlar S, Bayraktar G, Tarikogullari AH, Alptüzün V. Synthesis, biological evaluation and molecular docking study of hydrazone-containing pyridinium salts as cholinesterase inhibitors. *Chem Pharm Bull*. 2016;64(9):1281–7.
 46. Khalid H, Rehman AU, Abbasi MA, Hussain R, Khan KM, Ashraf M, et al. Synthesis, biological evaluation, and molecular docking of N'-(Aryl/alkylsulfonyl)-1-(phenylsulfonyl)piperidine-4-carbohydrazone derivatives. *Turkish J Chem* [Internet]. 2014 [cited 2017 Dec 6];38:189–201. Available from: <http://journals.tubitak.gov.tr/chem/issues/kim-14-38-2/kim-38-2-3-1303-89.pdf>
 47. Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Feather-Stone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol* [Internet]. 1961 Jul [cited 2017 Dec 2];7:88–95. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13726518>
 48. Mega MS, Cummings JL, Fiorello T, Gornbein J. The spectrum of behavioral changes in Alzheimer's disease. *Neurology* [Internet]. 1996 Jan [cited 2017 Nov 21];46(1):130–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8559361>
 49. Association A. 2012 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's Dement* [Internet]. 2012;8(2):131–68. Available from:

<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1552526012000325>

50. Pievani M, de Haan W, Wu T, Seeley WW, Frisoni GB. Functional network disruption in the degenerative dementias. *Lancet Neurol* [Internet]. 2011 Sep;10(9):829–43. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21778116>
51. Caselli RJ, Boeve BF. Textbook of Clinical Neurology [Internet]. 3rd ed. Goetz C, editor. The degenerative dementias; in: C.G. Goetz (Ed.); Textbook of Clinical Neurology. Saunders Elsevier; Philadelphia; 2007 [cited 2017 Nov 21]. 699-702 p. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781416036180100384>
52. Goedert M, Spillantini MG. A century of Alzheimer's disease. *Science* (80-) [Internet]. 2006 Nov 3 [cited 2017 Nov 21];314(5800):777–81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17082447>
53. Bolognesi ML, Cavalli A, Valgimigli L, Bartolini M, Rosini M, Andrisano V, et al. Multi-target-directed drug design strategy: From a dual binding site acetylcholinesterase inhibitor to a trifunctional compound against Alzheimer's disease. *J Med Chem* [Internet]. 2007 Dec 27 [cited 2017 Nov 24];50(26):6446–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18047264>
54. Storandt M. Cognitive deficits in the early stages of Alzheimer's disease. *Curr Dir Psychol Sci* [Internet]. 2008 Jun 1 [cited 2017 Nov 21];17(3):198–202. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1111/j.1467-8721.2008.00574.x>
55. Squire LR. Memory systems of the brain: A brief history and current perspective. *Neurobiol Learn Mem* [Internet]. 2004 Nov [cited 2017 Nov 21];82(3):171–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15464402>
56. Berridge MJ. Calcium hypothesis of Alzheimer's disease. *Pflügers Arch J Physiol* [Internet]. 2010 Feb 1 [cited 2017 Nov 21];459(3):441–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19795132>
57. Wilkins RH, Brody IA. Alzheimer's Disease. *Arch Neurol* [Internet]. 1969 Jul 1 [cited 2017 Nov 21];21(1):109–10. Available from: <http://archneur.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=569049>
58. Alzheimer's Association. 2012 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's Dement* [Internet]. 2012 Mar [cited 2017 Nov 21];8(2):131–68. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22404854>
59. Chopra K, Misra S, Kuhad A. Current perspectives on pharmacotherapy of Alzheimer's disease. *Expert Opin Pharmacother* [Internet]. 2011 Feb 11 [cited 2017

Nov 21];12(3):335–50. Available from:
<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1517/14656566.2011.520702>

60. Launer, L. J.; Fratiglioni, L.; Andersen, K.; Breteler, M. M. B.; Copeland, R. J. M.; Dartiques, J. F.; Lobo, A.; Martinez-Lage, J.; Soininen, H.; Hofman A. Dementia in Europe Yearbook 2008 with a focus on social support, socio-economic cost, psycho-social interventions and prevention Including the Alzheimer Europe Annual Report 2007 [Internet]. 20th ed. 2008 [cited 2017 Nov 21]. 1-178 p. Available from: http://ec.europa.eu/health/archive/ph_information/reporting/docs/2008_dementiayearbook_en.pdf
61. Weiner MW, Aisen PS, Jack CR, Jagust WJ, Trojanowski JQ, Shaw L, et al. The Alzheimer's disease neuroimaging initiative: progress report and future plans. *Alzheimers Dement* [Internet]. 2010 May [cited 2017 Nov 21];6(3):202–11.e7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20451868>
62. Green RC, Cupples LA, Go R, Benke KS, Edeki T, Griffith PA, et al. Risk of dementia among white and African American relatives of patients with Alzheimer disease. *JAMA* [Internet]. 2002 Jan 16 [cited 2017 Nov 21];287(3):329–36. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11790212>
63. Jarvik L, Greenson H. About a peculiar disease of the cerebral cortex. By Alois Alzheimer, 1907. *Alzheimer Dis Assoc Disord* [Internet]. 1987 [cited 2017 Nov 21];1(1):3–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3331112>
64. Price JL, Davis PB, Morris JC, White DL. The distribution of tangles, plaques and related immunohistochemical markers in healthy aging and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* [Internet]. 1991 [cited 2017 Nov 21];12(4):295–312. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1961359>
65. Crick FH, Barnett L, Brenner S, Watts-Tobin RJ. General Nature Of The Genetic Code For Proteins. *Nature* [Internet]. 1961 [cited 2017 Nov 21];192:1227–31. Available from: <https://profiles.nlm.nih.gov/ps/access/SCBCBJ.pdf>
66. Terry RD, Gonatas NK, Weiss M. Ultrastructural studies in Alzheimer's presenile dementia. *Am J Pathol* [Internet]. 1964 Feb [cited 2017 Nov 21];44(2):269–97. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14119171>
67. Terry RD. The fine structure of neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *J Neuropathol Exp Neurol* [Internet]. 1963 Oct [cited 2017 Nov 21];22:629–42. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14069842>
68. Wiśniewski HM, Narang HK, Terry RD. Neurofibrillary tangles of paired helical

- filaments. *J Neurol Sci* [Internet]. 1976 Feb [cited 2017 Nov 21];27(2):173–81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/129541>
69. Katzman R, Bick KL. The cholinergic story: hope for the patient and family, in: Alzheimer disease, the changing view. 5th ed. Academic Press, London; 2000. 182 p.
 70. Katzman R. The prevalence and malignancy of Alzheimer disease. A major killer. *Arch Neurol* [Internet]. 1976 Apr [cited 2017 Nov 21];33(4):299–308. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1259639>
 71. Whitehouse PJ, Maurer K, Ballenger JF. Concepts of Alzheimer disease : biological, clinical, and cultural perspectives. Whitehouse PJ, Maurer K, Ballenger JF, editors. Johns Hopkins University Press; 2000. 321 p.
 72. Birks JS. Cholinesterase inhibitors for Alzheimer’s disease. In: Birks JS, editor. Cochrane Database of Systematic Reviews [Internet]. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2006 [cited 2017 Nov 21]. p. CD005593. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16437532>
 73. Lautenschlager NT, Cupples LA, Rao VS, Auerbach SA, Becker R, Burke J, et al. Risk of dementia among relatives of Alzheimer’s disease patients in the MIRAGE study: What is in store for the oldest old? *Neurology* [Internet]. 1996 Mar [cited 2017 Nov 21];46(3):641–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8618660>
 74. Bertram L, Tanzi RE. The genetics of Alzheimer’s disease. In: Progress in molecular biology and translational science [Internet]. 2012 [cited 2017 Nov 21]. p. 79–100. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22482448>
 75. Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, et al. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer’s disease in late onset families. *Science* [Internet]. 1993 Aug 13 [cited 2017 Nov 21];261(5123):921–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8346443>
 76. Corder EH, Saunders AM, Risch NJ, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, et al. Protective effect of apolipoprotein E type 2 allele for late onset Alzheimer disease. *Nat Genet* [Internet]. 1994 Jun 1 [cited 2017 Nov 21];7(2):180–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7920638>
 77. Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel D, George-Hyslop PH, Pericak-Vance MA, Joo SH, et al. Association of apolipoprotein E allele epsilon 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer’s disease. *Neurology* [Internet]. 1993 Aug [cited

- 2017 Nov 21];43(8):1467–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8350998>
78. Clarke R, Smith AD, Jobst KA, Refsum H, Sutton L, Ueland PM. Folate, vitamin B12, and serum total homocysteine levels in confirmed Alzheimer disease. *Arch Neurol* [Internet]. 1998 Nov [cited 2017 Nov 21];55(11):1449–55. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9823829>
 79. Green RC, Cupples LA, Kurz A, Auerbach S, Go R, Sadovnick D, et al. Depression as a risk factor for Alzheimer disease: the MIRAGE Study. *Arch Neurol* [Internet]. 2003 May [cited 2017 Nov 21];60(5):753–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12756140>
 80. Launer LJ, Andersen K, Dewey ME, Letenneur L, Ott A, Amaducci LA, et al. Rates and risk factors for dementia and Alzheimer's disease: results from EURODEM pooled analyses. EURODEM Incidence Research Group and Work Groups. European Studies of Dementia. *Neurology* [Internet]. 1999 Jan 1 [cited 2017 Nov 21];52(1):78–84. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9921852>
 81. Kivipelto M, Ngandu T, Fratiglioni L, Viitanen M, Kåreholt I, Winblad B, et al. Obesity and vascular risk factors at midlife and the risk of dementia and Alzheimer disease. *Arch Neurol* [Internet]. 2005 Oct 1 [cited 2017 Nov 21];62(10):1556–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16216938>
 82. Yaffe K. Metabolic syndrome and cognitive decline. *Curr Alzheimer Res* [Internet]. 2007 Apr [cited 2017 Nov 21];4(2):123–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17430234>
 83. Whitmer RA, Gustafson DR, Barrett-Connor E, Haan MN, Gunderson EP, Yaffe K. Central obesity and increased risk of dementia more than three decades later. *Neurology* [Internet]. 2008 Sep 30 [cited 2017 Nov 21];71(14):1057–64. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18367704>
 84. Wu W, Brickman AM, Luchsinger J, Ferrazzano P, Pichiule P, Yoshita M, et al. The brain in the age of old: The hippocampal formation is targeted differentially by diseases of late life. *Ann Neurol* [Internet]. 2008 Dec [cited 2017 Nov 21];64(6):698–706. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19107993>
 85. Tsivgoulis G, Alexandrov AV, Wadley VG, Unverzagt FW, Go RCP, Moy CS, et al. Association of higher diastolic blood pressure levels with cognitive impairment. *Neurology* [Internet]. 2009 Aug 25 [cited 2017 Nov 21];73(8):589–95. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19704077>

86. Solomon A, Kivipelto M, Wolozin B, Zhou J, Whitmer RA. Midlife Serum Cholesterol and Increased Risk of Alzheimer and Vascular Dementia Three Decades Later. *Dement Geriatr Cogn Disord* [Internet]. 2009 [cited 2017 Nov 21];28(1):75–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19648749>
87. Pendlebury ST, Rothwell PM. Prevalence, incidence, and factors associated with pre-stroke and post-stroke dementia: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol* [Internet]. 2009 Nov [cited 2017 Nov 21];8(11):1006–18. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19782001>
88. Raji CA, Ho AJ, Parikshak NN, Becker JT, Lopez OL, Kuller LH, et al. Brain structure and obesity. *Hum Brain Mapp* [Internet]. 2010 Mar [cited 2017 Nov 21];31(3):353–64. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19662657>
89. Rusanen M, Kivipelto M, Quesenberry CP, Zhou J, Whitmer RA. Heavy smoking in midlife and long-term risk of Alzheimer disease and vascular dementia. *Arch Intern Med* [Internet]. 2011 Feb 28 [cited 2017 Nov 21];171(4):333–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20975015>
90. Anstey KJ, von Sanden C, Salim A, O’Kearney R. Smoking as a risk factor for dementia and cognitive decline: A meta-analysis of prospective Studies. *Am J Epidemiol* [Internet]. 2007 Jun 14 [cited 2017 Nov 21];166(4):367–78. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17573335>
91. Gehrman J, Matsumoto Y, Kreutzberg GW. Microglia: intrinsic immune effector cell of the brain. *Brain Res Brain Res Rev* [Internet]. 1995 Mar [cited 2017 Nov 21];20(3):269–87. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7550361>
92. Ott A, Stolk RP, van Harskamp F, Pols HA, Hofman A, Breteler MM. Diabetes mellitus and the risk of dementia: The Rotterdam Study. *Neurology* [Internet]. 1999 Dec 10 [cited 2017 Nov 21];53(9):1937–42. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10599761>
93. Prince M, Cullen M, Mann A. Risk factors for Alzheimer’s disease and dementia: a case-control study based on the MRC elderly hypertension trial. *Neurology* [Internet]. 1994 Jan [cited 2017 Nov 21];44(1):97–104. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8290099>
94. Craig LA, Hong NS, McDonald RJ. Revisiting the cholinergic hypothesis in the development of Alzheimer’s disease. *Neurosci Biobehav Rev* [Internet]. 2011 May [cited 2017 Nov 21];35(6):1397–409. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21392524>

95. Dumas JA, Newhouse PA. The cholinergic hypothesis of cognitive aging revisited again: cholinergic functional compensation. *Pharmacol Biochem Behav* [Internet]. 2011 Aug [cited 2017 Nov 21];99(2):254–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21382398>
96. Bartus RT, Dean RL, Goas JA, Lippa AS. Age-related changes in passive avoidance retention: modulation with dietary choline. *Science* [Internet]. 1980 Jul 11 [cited 2017 Nov 21];209(4453):301–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7384805>
97. Balin B, Abrams JT, Schrogie J. Toward a Unifying Hypothesis in the Development of Alzheimer's Disease. *CNS Neurosci Ther* [Internet]. 2011 [cited 2017 Nov 21];17:587–9. Available from: <http://www.therimunex.com/assets/unifying-hypothesis-in-ad-2011.pdf>
98. Perry EK, Tomlinson BE, Blessed G, Perry RH, Cross AJ, Crow TT. Noradrenergic and cholinergic systems in senile dementia of Alzheimer type. *Lancet* (London, England) [Internet]. 1981 Jul 18 [cited 2017 Nov 21];2(8238):149. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6113507>
99. Arce MP, Rodríguez-Franco MI, González-Muñoz GC, Pérez C, López B, Villarroja M, et al. Neuroprotective and Cholinergic Properties of Multifunctional Glutamic Acid Derivatives for the Treatment of Alzheimer's Disease. *J Med Chem* [Internet]. 2009 Nov 26 [cited 2017 Nov 21];52(22):7249–57. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jm900628z>
100. Bowen DM, Smith CB, White P, Davison AN. Neurotransmitter-related enzymes and indices of hypoxia in senile dementia and other abiotrophies. *Brain* [Internet]. 1976 Sep [cited 2017 Nov 21];99(3):459–96. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11871>
101. Davies P, Maloney AJF. Selective loss of central cholinergic neurones in Alzheimer's disease. *Lancet* [Internet]. 1976 Dec 25 [cited 2017 Nov 21];308(8000):1403. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014067367691936X>
102. Perry EK, Gibson PH, Blessed G, Perry RH, Tomlinson BE. Neurotransmitter enzyme abnormalities in senile dementia. Choline acetyltransferase and glutamic acid decarboxylase activities in necropsy brain tissue. *J Neurol Sci* [Internet]. 1977 Nov [cited 2017 Nov 21];34(2):247–65. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/144789>
103. Drachman DA, Leavitt J. Human memory and the cholinergic system. A relationship

- to aging? Arch Neurol [Internet]. 1974 Feb [cited 2017 Nov 21];30(2):113–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4359364>
104. Bartus RT, Dean RL, Beer B, Lippa AS. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. Science [Internet]. 1982 Jul 30 [cited 2017 Nov 21];217(4558):408–14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7046051>
 105. Singh M, Kaur M, Kukreja H, Chugh R, Silakari O, Singh D. Acetylcholinesterase inhibitors as Alzheimer therapy: From nerve toxins to neuroprotection. Eur J Med Chem [Internet]. 2013;70:165–88. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.09.050>
 106. Corbett A, Ballard C. New and emerging treatments for Alzheimer’s disease. Expert Opin Emerg Drugs [Internet]. 2012 Jun 23 [cited 2017 Nov 21];17(2):147–56. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22439621>
 107. Drachman DA. Memory and cognitive function in man: does the cholinergic system have a specific role? Neurology [Internet]. 1977 Aug [cited 2017 Nov 21];27(8):783–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/560649>
 108. Danysz W, Parsons CG. Alzheimer’s disease, β -amyloid, glutamate, NMDA receptors and memantine - searching for the connections. Br J Pharmacol [Internet]. 2012 Sep [cited 2017 Nov 30];167(2):324–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22646481>
 109. Lipton SA. Paradigm shift in neuroprotection by NMDA receptor blockade: Memantine and beyond. Nat Rev Drug Discov [Internet]. 2006 Feb 20 [cited 2017 Nov 30];5(2):160–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16424917>
 110. Nyakas C, Granic I, Halmy LG, Banerjee P, Luiten PGM. The basal forebrain cholinergic system in aging and dementia. Rescuing cholinergic neurons from neurotoxic amyloid- β 42 with memantine. Behav Brain Res [Internet]. 2011 Aug 10 [cited 2017 Dec 12];221(2):594–603. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20553766>
 111. Bucciantini M, Giannoni E, Chiti F, Baroni F, Formigli L, Zurdo J, et al. Inherent toxicity of aggregates implies a common mechanism for protein misfolding diseases. Nature [Internet]. 2002 Apr 4 [cited 2017 Nov 21];416(6880):507–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11932737>
 112. Chiti F, Dobson CM. Protein Misfolding, Functional Amyloid, and Human Disease.

- Annu Rev Biochem [Internet]. 2006 Jun [cited 2017 Nov 21];75(1):333–66. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16756495>
113. Selkoe DJ. Cell biology of protein misfolding: The examples of Alzheimer's and Parkinson's diseases. Nat Cell Biol [Internet]. 2004 Nov [cited 2017 Nov 21];6(11):1054–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15516999>
 114. Knowles TPJ, Vendruscolo M, Dobson CM. The amyloid state and its association with protein misfolding diseases. Nat Rev Mol Cell Biol [Internet]. 2014 May 23 [cited 2017 Nov 21];15(6):384–96. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24854788>
 115. Association A. 2011 Alzheimer's disease facts and figures. Alzheimer's Dement [Internet]. 2011;7(2):208–44. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1552526011000367>
 116. Ross CA, Poirier MA. Protein aggregation and neurodegenerative disease. Nat Med [Internet]. 2004 Jul [cited 2017 Nov 21];10(7):S10–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15272267>
 117. Gibbs ME, Maksel D, Gibbs Z, Hou X, Summers RJ, Small DH. Memory loss caused by beta-amyloid protein is rescued by a beta(3)-adrenoceptor agonist. Neurobiol Aging [Internet]. 2010 Apr [cited 2017 Nov 21];31(4):614–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18632189>
 118. Francis PT, Ramírez MJ, Lai MK. Neurochemical basis for symptomatic treatment of Alzheimer's disease. Neuropharmacology [Internet]. 2010 Sep [cited 2017 Nov 21];59(4–5):221–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20156462>
 119. Lewczuk P, Mroczko B, Fagan A, Kornhuber J. Biomarkers of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a current perspective. Adv Med Sci [Internet]. 2015 Mar [cited 2017 Nov 21];60(1):76–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25579841>
 120. Glenner GG, Wong CW. Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. Biochem Biophys Res Commun [Internet]. 1984 May 16 [cited 2017 Nov 21];120(3):885–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6375662>
 121. Hardy J, Selkoe DJ. The Amyloid Hypothesis of Alzheimer's Disease: Progress and Problems on the Road to Therapeutics. Science (80-) [Internet]. 2002 Jul 19 [cited 2017 Nov 21];297(5580):353–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12130773>

122. Selkoe DJ, Schenk D. Alzheimer's Disease: Molecular understanding predicts amyloid-based therapeutics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* [Internet]. 2003 Apr [cited 2017 Nov 21];43(1):545–84. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12415125>
123. Bekris LM, Yu C-E, Bird TD, Tsuang DW. Review Article: Genetics of Alzheimer Disease. *J Geriatr Psychiatry Neurol* [Internet]. 2010 Dec 2 [cited 2017 Nov 21];23(4):213–27. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21045163>
124. Liu F, Ikram MA, Janssens ACJW, Schuur M, Koning I de, Isaacs A, et al. A study of the SORL1 gene in alzheimer's disease and cognitive function. *J Alzheimer's Dis* [Internet]. 2009 Jul 29 [cited 2017 Nov 21];18(1):51–64. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19584446>
125. Tabner BJ, El-Agnaf OMA, Turnbull S, German MJ, Paleologou KE, Hayashi Y, et al. Hydrogen Peroxide Is Generated during the Very Early Stages of Aggregation of the Amyloid Peptides Implicated in Alzheimer Disease and Familial British Dementia. *J Biol Chem* [Internet]. 2005 Oct 28 [cited 2017 Nov 21];280(43):35789–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16141213>
126. Leuner K, Hauptmann S, Abdel-Kader R, Scherping I, Keil U, Strosznajder JB, et al. Mitochondrial Dysfunction: The First Domino in Brain Aging and Alzheimer's Disease? *Antioxid Redox Signal* [Internet]. 2007 Oct [cited 2017 Nov 24];9(10):1659–76. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17867931>
127. Nhan HS, Chiang K, Koo EH. The multifaceted nature of amyloid precursor protein and its proteolytic fragments: friends and foes. *Acta Neuropathol* [Internet]. 2015 Jan 7 [cited 2017 Nov 21];129(1):1–19. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25287911>
128. Zheng H, Koo EH. The amyloid precursor protein: beyond amyloid. *Mol Neurodegener* [Internet]. 2006 Jul 3 [cited 2017 Nov 21];1(1):5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16930452>
129. Suh Y-H, Checler F. Amyloid precursor protein, presenilins, and alpha-synuclein: molecular pathogenesis and pharmacological applications in Alzheimer's disease. *Pharmacol Rev* [Internet]. 2002 Sep [cited 2017 Nov 21];54(3):469–525. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12223532>
130. Felician O, Sandson TA. The Neurobiology and Pharmacotherapy of Alzheimer's Disease. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* [Internet]. 1999 Feb 1 [cited 2017 Nov 21];11(1):19–31. Available from:

<http://psychiatryonline.org/doi/abs/10.1176/jnp.11.1.19>

131. Epis R, Marcello E, Gardoni F, Di Luca M. Alpha, beta-and gamma-secretases in Alzheimer's disease. *Front Biosci (Schol Ed)* [Internet]. 2012 Jan 1 [cited 2017 Nov 21];4:1126–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22202113>
132. Howlett DR, Simmons DL, Dingwall C, Christie G. In search of an enzyme: the beta-secretase of Alzheimer's disease is an aspartic proteinase. *Trends Neurosci* [Internet]. 2000 Nov [cited 2017 Nov 21];23(11):565–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11074266>
133. Kuhn P-H, Wang H, Dislich B, Colombo A, Zeitschel U, Ellwart JW, et al. ADAM10 is the physiologically relevant, constitutive α -secretase of the amyloid precursor protein in primary neurons. *EMBO J* [Internet]. 2010 Sep 1 [cited 2017 Nov 21];29(17):3020–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20676056>
134. Lichtenthaler SF. Alpha-secretase in Alzheimer's disease: molecular identity, regulation and therapeutic potential. *J Neurochem* [Internet]. 2011 Jan [cited 2017 Nov 21];116(1):10–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21044078>
135. Cappai R. Making sense of the amyloid precursor protein: its tail tells an interesting tale. *J Neurochem* [Internet]. 2014 Aug 1 [cited 2017 Nov 21];130(3):325–7. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/jnc.12707>
136. Thinakaran G, Koo EH. Amyloid Precursor Protein Trafficking, Processing, and Function. *J Biol Chem* [Internet]. 2008 Oct 31 [cited 2017 Nov 21];283(44):29615–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18650430>
137. Szczepanik AM, Rampe D, Ringheim GE. Amyloid-beta peptide fragments p3 and p4 induce pro-inflammatory cytokine and chemokine production in vitro and in vivo. *J Neurochem* [Internet]. 2001 Apr [cited 2017 Nov 21];77(1):304–17. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11279286>
138. Hardy J. Amyloid, the presenilins and Alzheimer's disease. *Trends Neurosci* [Internet]. 1997 Apr [cited 2017 Nov 21];20(4):154–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9106355>
139. Shelton CC, Zhu L, Chau D, Yang L, Wang R, Djaballah H, et al. Modulation of γ -secretase specificity using small molecule allosteric inhibitors. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2009 Dec 1 [cited 2017 Nov 21];106(48):20228–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19906985>

140. Kreft AF, Martone R, Porte A. Recent Advances in the Identification of γ -Secretase Inhibitors To Clinically Test the A β Oligomer Hypothesis of Alzheimer's Disease. *J Med Chem* [Internet]. 2009 Oct 22 [cited 2017 Nov 21];52(20):6169–88. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jm900188z>
141. Sambamurti K, Greig NH, Lahiri DK. Advances in the Cellular and Molecular Biology of the Beta-Amyloid Protein in Alzheimer 's Disease. *NeuroMolecular Med* [Internet]. 2002 [cited 2017 Nov 21];1(1):1–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12025813>
142. Liu Q, Zhang J, Tran H, Verbeek MM, Reiss K, Estus S, et al. LRP1 shedding in human brain: roles of ADAM10 and ADAM17. *Mol Neurodegener* [Internet]. 2009 Apr 16 [cited 2017 Nov 21];4(1):17. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19371428>
143. Spronk SA, Carlson HA. The role of tyrosine 71 in modulating the flap conformations of BACE1. *Proteins Struct Funct Bioinforma* [Internet]. 2011 Jul [cited 2017 Nov 21];79(7):2247–59. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21590744>
144. Vassar R. BACE1: The β -Secretase Enzyme in Alzheimer's Disease. *J Mol Neurosci* [Internet]. 2004 [cited 2017 Nov 21];23(1–2):105–14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15126696>
145. Menting KW, Claassen JAHR. β -secretase inhibitor; a promising novel therapeutic drug in Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci* [Internet]. 2014 [cited 2017 Nov 21];6:165. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25100992>
146. Selkoe DJ. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiol Rev* [Internet]. 2001 Apr [cited 2017 Nov 21];81(2):741–66. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11274343>
147. Selkoe DJ. Physiological production of the beta-amyloid protein and the mechanism of Alzheimer's disease. *Trends Neurosci* [Internet]. 1993 Oct [cited 2017 Nov 21];16(10):403–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7504355>
148. John V, Beck JP, Bienkowski MJ, Sinha S, Heinrikson RL. Human β -Secretase (BACE) and BACE Inhibitors. *J Med Chem* [Internet]. 2003 Oct 23 [cited 2017 Nov 24];46(22):4625–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14561080>
149. Bachurin SO, Bovina E V., Ustyugov AA. Drugs in Clinical Trials for Alzheimer's Disease: The Major Trends. *Med Res Rev* [Internet]. 2017 Sep [cited 2017 Nov

- 21];37(5):1186–225. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28084618>
150. Wang H, Megill A, He K, Kirkwood A, Lee H-K. Consequences of Inhibiting Amyloid Precursor Protein Processing Enzymes on Synaptic Function and Plasticity. *Neural Plast* [Internet]. 2012 [cited 2017 Nov 21];2012:1–24. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22792491>
 151. Hartmann T. Cholesterol, A β and alzheimer's disease. *Trends Neurosci* [Internet]. 2001 Nov 1 [cited 2017 Nov 21];24(11):S45–8. Available from:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166223600019901?via%3Dihub>
 152. Pagani L, Eckert A. Amyloid-Beta Interaction with Mitochondria. *Int J Alzheimers Dis* [Internet]. 2011 Mar 15 [cited 2017 Nov 21];2011:1–12. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21461357>
 153. Zhang Y, Thompson R, Zhang H, Xu H. APP processing in Alzheimer's disease. *Mol Brain* [Internet]. 2011 Jan 7 [cited 2017 Nov 21];4(1):3. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21214928>
 154. Chang C-C, Althaus JC, Carruthers CJL, Sutton MA, Steel DG, Gafni A. Synergistic Interactions between Alzheimer's A β 40 and A β 42 on the Surface of Primary Neurons Revealed by Single Molecule Microscopy. Lukiw W, editor. *PLoS One* [Internet]. 2013 Dec 2 [cited 2017 Nov 21];8(12):e82139. Available from:
<http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0082139>
 155. Bitan G, Kirkitadze MD, Lomakin A, Vollers SS, Benedek GB, Teplow DB. Amyloid beta -protein (Abeta) assembly: Abeta 40 and Abeta 42 oligomerize through distinct pathways. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2003 Jan 7 [cited 2017 Nov 21];100(1):330–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12506200>
 156. Soto C. Unfolding the role of protein misfolding in neurodegenerative diseases. *Nat Rev Neurosci* [Internet]. 2003 Jan [cited 2017 Nov 21];4(1):49–60. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12511861>
 157. Lee C, Ham S. Characterizing amyloid-beta protein misfolding from molecular dynamics simulations with explicit water. *J Comput Chem* [Internet]. 2011 Jan 30 [cited 2017 Nov 21];32(2):349–55. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20734314>
 158. Landau M, Sawaya MR, Faull KF, Laganowsky A, Jiang L, Sievers SA, et al. Towards a Pharmacophore for Amyloid. Weissman JS, editor. *PLoS Biol* [Internet]. 2011 Jun 14 [cited 2017 Nov 21];9(6):e1001080. Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21695112>

159. Rajasekhar K, Suresh SN, Manjithaya R, Govindaraju T. Rationally Designed Peptidomimetic Modulators of A β Toxicity in Alzheimer's Disease. *Sci Rep* [Internet]. 2015 Jul 30 [cited 2017 Nov 22];5(1):8139. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25633824>
160. Arai T, Sasaki D, Araya T, Sato T, Sohma Y, Kanai M. A Cyclic KLVFF-Derived Peptide Aggregation Inhibitor Induces the Formation of Less-Toxic Off-Pathway Amyloid- β Oligomers. *ChemBioChem* [Internet]. 2014 Nov 24 [cited 2017 Nov 22];15(17):2577–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25262917>
161. Crespo-Biel N, Theunis C, Van Leuven F. Protein Tau: Prime Cause of Synaptic and Neuronal Degeneration in Alzheimer's Disease. *Int J Alzheimers Dis* [Internet]. 2012 Jun 8 [cited 2017 Nov 22];2012:1–13. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/ijad/2012/251426/>
162. Goedert M, Spillantini MG, Crowther RA. Tau proteins and neurofibrillary degeneration. *Brain Pathol* [Internet]. 1991 Jul [cited 2017 Nov 22];1(4):279–86. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1669718>
163. Iqbal K, Alonso A del C, Chen S, Chohan MO, El-Akkad E, Gong C-X, et al. Tau pathology in Alzheimer disease and other tauopathies. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis* [Internet]. 2005 Jan 3 [cited 2017 Nov 22];1739(2–3):198–210. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15615638>
164. Chun W, Johnson GVW. The role of tau phosphorylation and cleavage in neuronal cell death. *Front Biosci* [Internet]. 2007 Jan 1 [cited 2017 Nov 22];12:733–56. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17127334>
165. Cleveland DW, Hwo SY, Kirschner MW. Purification of tau, a microtubule-associated protein that induces assembly of microtubules from purified tubulin. *J Mol Biol* [Internet]. 1977 Oct 25 [cited 2017 Nov 22];116(2):207–25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/599557>
166. Kolarova M, García-Sierra F, Bartos A, Ricny J, Ripova D. Structure and Pathology of Tau Protein in Alzheimer Disease. *Int J Alzheimers Dis* [Internet]. 2012 May 29 [cited 2017 Nov 22];2012:1–13. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/ijad/2012/731526/>
167. Buée L, Bussi  re T, Bu  e-Scherrer V, Delacourte A, Hof PR. Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders. *Brain Res Brain Res Rev*

- [Internet]. 2000 Aug [cited 2017 Nov 22];33(1):95–130. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10967355>
168. Mandelkow E, von Bergen M, Biernat J, Mandelkow E-M. Structural Principles of Tau and the Paired Helical Filaments of Alzheimer's Disease. *Brain Pathol* [Internet]. 2007 Jan [cited 2017 Nov 22];17(1):83–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17493042>
 169. Kosik KS, Joachim CL, Selkoe DJ. Microtubule-associated protein tau (tau) is a major antigenic component of paired helical filaments in Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 1986 Jun [cited 2017 Nov 22];83(11):4044–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2424016>
 170. Crowther RA. Tau protein and paired helical filaments of Alzheimer's disease. *Curr Opin Struct Biol* [Internet]. 1993 Apr 1 [cited 2017 Nov 22];3(2):202–6. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959440X05801538>
 171. Jouanne M, Rault S, Voisin-Chiret A-S. Tau protein aggregation in Alzheimer's disease: An attractive target for the development of novel therapeutic agents. *Eur J Med Chem* [Internet]. 2017 Oct 20 [cited 2017 Nov 22];139:153–67. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28800454>
 172. Martin L, Latypova X, Wilson CM, Magnaudeix A, Perrin M-L, Yardin C, et al. Tau protein kinases: Involvement in Alzheimer's disease. *Ageing Res Rev* [Internet]. 2013 Jan [cited 2017 Nov 22];12(1):289–309. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22742992>
 173. Gandhi NS, Landrieu I, Byrne C, Kukic P, Amniai L, Cantrelle F-X, et al. A Phosphorylation-Induced Turn Defines the Alzheimer's Disease AT8 Antibody Epitope on the Tau Protein. *Angew Chemie Int Ed* [Internet]. 2015 Jun 1 [cited 2017 Nov 22];54(23):6819–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25881502>
 174. Barghorn S, Mandelkow E. Toward a Unified Scheme for the Aggregation of Tau into Alzheimer Paired Helical Filaments. *Biochemistry* [Internet]. 2002 Dec 17 [cited 2017 Nov 22];41(50):14885–96. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bi026469j>
 175. Bojarski L, Herms J, Kuznicki J. Calcium dysregulation in Alzheimer's disease. *Neurochem Int* [Internet]. 2008 Mar [cited 2017 Nov 22];52(4–5):621–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18035450>
 176. Green KN, LaFerla FM. Linking Calcium to A β and Alzheimer's Disease. *Neuron*

- [Internet]. 2008 Jul 31 [cited 2017 Nov 22];59(2):190–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18667147>
177. Pierrot N, Santos SF, Feyt C, Morel M, Brion J-P, Octave J-N. Calcium-mediated transient phosphorylation of tau and amyloid precursor protein followed by intraneuronal amyloid-beta accumulation. *J Biol Chem* [Internet]. 2006 Dec 29 [cited 2017 Nov 22];281(52):39907–14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17085446>
 178. Querfurth HW, Selkoe DJ. Calcium Ionophore Increases Amyloid .beta. Peptide Production by Cultured Cells. *Biochemistry* [Internet]. 1994 Apr 19 [cited 2017 Nov 22];33(15):4550–61. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bi00181a016>
 179. Rosini M, Simoni E, Milelli A, Minarini A, Melchiorre C. Oxidative Stress in Alzheimer ' s Disease : Are We Connecting the. 2014;
 180. Feng Y, Wang X. Antioxidant Therapies for Alzheimer's Disease. *Oxid Med Cell Longev* [Internet]. 2012 Jul 25 [cited 2017 Nov 22];2012:1–17. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/omcl/2012/472932/>
 181. Praticò D. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease: a reappraisal. *Trends Pharmacol Sci* [Internet]. 2008 Dec [cited 2017 Nov 22];29(12):609–15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18838179>
 182. Sultana R, Mecocci P, Mangialasche F, Cecchetti R, Baglioni M, Butterfield DA. Increased Protein and Lipid Oxidative Damage in Mitochondria Isolated from Lymphocytes from Patients with Alzheimer's Disease: Insights into the Role of Oxidative Stress in Alzheimer's Disease and Initial Investigations into a Potential Biomarker for this Dementing Disorder. *J Alzheimer's Dis* [Internet]. 2011 Jan 1 [cited 2017 Nov 22];24(1):77–84. Available from: <https://content.iospress.com/articles/journal-of-alzheimers-disease/jad101425>
 183. Moreira PI, Nunomura A, Nakamura M, Takeda A, Shenk JC, Aliev G, et al. Nucleic acid oxidation in Alzheimer disease. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 2008 Apr 15 [cited 2017 Nov 22];44(8):1493–505. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18258207>
 184. Fukuda M, Kanou F, Shimada N, Sawabe M, Saito Y, Murayama S, et al. Elevated levels of 4-hydroxynonenal-histidine Michael adduct in the hippocampi of patients with Alzheimer's disease. *Biomed Res* [Internet]. 2009 Aug [cited 2017 Nov 22];30(4):227–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19729853>

185. Sultana R, Butterfield DA. Role of Oxidative Stress in the Progression of Alzheimer's Disease. Lovell MA, editor. J Alzheimer's Dis [Internet]. 2010 Jan 6 [cited 2017 Nov 22];19(1):341–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20061649>
186. Markesbery WR. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. Free Radic Biol Med [Internet]. 1997 [cited 2017 Nov 22];23(1):134–47. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9165306>
187. Mecocci P, Polidori MC. Antioxidant clinical trials in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis [Internet]. 2012 May [cited 2017 Nov 22];1822(5):631–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22019723>
188. Fazil M, Shadab, Baboota S, Sahni JK, Ali J. Nanotherapeutics for Alzheimer's disease (AD): Past, present and future. J Drug Target [Internet]. 2012 Feb 25 [cited 2017 Nov 22];20(2):97–113. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22023651>
189. Galasko DR, Peskind E, Clark CM, Quinn JF, Ringman JM, Jicha GA, et al. Antioxidants for Alzheimer Disease: a randomized clinical trial with cerebrospinal fluid biomarker measures. Arch Neurol [Internet]. 2012 Jul 1 [cited 2017 Nov 22];69(7):836–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22431837>
190. Bernhardt R von, Eugenín J. Alzheimer's disease: redox dysregulation as a common denominator for diverse pathogenic mechanisms. Antioxid Redox Signal [Internet]. 2012 May 1 [cited 2017 Nov 22];16(9):974–1031. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22122400>
191. Hardy JA, Higgins GA. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. Science [Internet]. 1992 Apr 10 [cited 2017 Nov 22];256(5054):184–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1566067>
192. Mohandas E, Rajmohan V, Raghunath B. Neurobiology of *Alzheimer's disease*. Indian J Psychiatry [Internet]. 2009 Jan [cited 2017 Nov 22];51(1):55. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19742193>
193. Swerdlow RH, Burns JM, Khan SM. The Alzheimer's Disease Mitochondrial Cascade Hypothesis. Zhu X, Beal MF, Wang X, Perry G, Smith MA, editors. J Alzheimer's Dis [Internet]. 2010 Jun 3 [cited 2017 Nov 22];20(s2):S265–79. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20442494>
194. Hashimoto M, Rockenstein E, Crews L, Masliah E. Role of Protein Aggregation in

- Mitochondrial Dysfunction and Neurodegeneration in Alzheimer's and Parkinson's Diseases. *NeuroMolecular Med* [Internet]. 2003 [cited 2017 Nov 22];4(1–2):21–36. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14528050>
195. Devi L, Prabhu BM, Galati DF, Avadhani NG, Anandatheerthavarada HK. Accumulation of Amyloid Precursor Protein in the Mitochondrial Import Channels of Human Alzheimer's Disease Brain Is Associated with Mitochondrial Dysfunction. *J Neurosci* [Internet]. 2006 Aug 30 [cited 2017 Nov 22];26(35):9057–68. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16943564>
 196. Lustbader JW, Cirilli M, Lin C, Xu HW, Takuma K, Wang N, et al. ABAD Directly Links A β to Mitochondrial Toxicity in Alzheimer's Disease. *Science* (80-) [Internet]. 2004 Apr 16 [cited 2017 Nov 22];304(5669):448–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15087549>
 197. Camilleri A, Zarb C, Caruana M, Ostermeier U, Ghio S, Högen T, et al. Mitochondrial membrane permeabilisation by amyloid aggregates and protection by polyphenols. *Biochim Biophys Acta - Biomembr* [Internet]. 2013 Nov [cited 2017 Nov 22];1828(11):2532–43. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23817009>
 198. Takuma K, Yao J, Huang J, Xu H, Chen X, Luddy J, et al. ABAD enhances A - induced cell stress via mitochondrial dysfunction. *FASEB J* [Internet]. 2005 Jan 24 [cited 2017 Nov 22];19(6):597–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15665036>
 199. Tillement L, Lecanu L, Papadopoulos V. Alzheimer's disease: Effects of β -amyloid on mitochondria. *Mitochondrion* [Internet]. 2011 Jan [cited 2017 Nov 22];11(1):13–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20817045>
 200. Chaturvedi RK, Flint Beal M. Mitochondrial Diseases of the Brain. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 2013 Oct [cited 2017 Nov 22];63:1–29. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23567191>
 201. Cummings JL. Biomarkers in Alzheimer's disease drug development. *Alzheimer's Dement* [Internet]. 2011 May [cited 2017 Nov 22];7(3):e13–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21550318>
 202. Kristofikova Z, Ripova D, Hegnerová K, Sirova J, Homola J. Protein τ -Mediated Effects on Rat Hippocampal Choline Transporters CHT1 and τ -Amyloid β Interactions. *Neurochem Res* [Internet]. 2013 Sep 4 [cited 2017 Nov 22];38(9):1949–59. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23824558>

203. Bosetti F, Brizzi F, Barogi S, Mancuso M, Siciliano G, Tendi EA, et al. Cytochrome c oxidase and mitochondrial F1F0-ATPase (ATP synthase) activities in platelets and brain from patients with Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* [Internet]. [cited 2017 Nov 22];23(3):371–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11959398>
204. Cardoso SM, Proença MT, Santos S, Santana I, Oliveira CR. Cytochrome c oxidase is decreased in Alzheimer's disease platelets. *Neurobiol Aging* [Internet]. 2004 Jan [cited 2017 Nov 22];25(1):105–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14675736>
205. Gibson GE, Sheu K-FR, Blass JP. Abnormalities of mitochondrial enzymes in Alzheimer disease. *J Neural Transm* [Internet]. 1998 Nov 4 [cited 2017 Nov 22];105(8–9):855–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9869323>
206. Chandrasekaran K, Hatanpää K, Brady DR, Rapoport SI. Evidence for Physiological Down-regulation of Brain Oxidative Phosphorylation in Alzheimer's Disease. *Exp Neurol* [Internet]. 1996 Nov [cited 2017 Nov 22];142(1):80–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8912900>
207. Parker WD, Parks J, Filley CM, Kleinschmidt-DeMasters BK. Electron transport chain defects in Alzheimer's disease brain. *Neurology* [Internet]. 1994 Jun [cited 2017 Nov 22];44(6):1090–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8208407>
208. Hroudová J, Singh N, Fišar Z, Ghosh KK. Progress in drug development for Alzheimer's disease: An overview in relation to mitochondrial energy metabolism. *Eur J Med Chem* [Internet]. 2016 Oct 4 [cited 2017 Nov 22];121:774–84. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27094132>
209. Sherif F, Gottfries CG, Alafuzoff I, Oreland L. Brain gamma-aminobutyrate aminotransferase (GABA-T) and monoamine oxidase (MAO) in patients with Alzheimer's disease. *J Neural Transm Park Dis Dement Sect* [Internet]. 1992 [cited 2017 Nov 22];4(3):227–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1627256>
210. Cai Z. Monoamine oxidase inhibitors: Promising therapeutic agents for Alzheimer's disease (Review). *Mol Med Rep* [Internet]. 2014 Mar 11 [cited 2017 Nov 22];9(5):1533–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24626484>
211. Youdim MBH, Edmondson D, Tipton KF. The therapeutic potential of monoamine

- oxidase inhibitors. *Nat Rev Neurosci* [Internet]. 2006 Apr [cited 2017 Nov 22];7(4):295–309. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16552415>
212. Fisar Z, Hroudová J, Raboch J. Inhibition of monoamine oxidase activity by antidepressants and mood stabilizers. *Neuro Endocrinol Lett* [Internet]. 2010 [cited 2017 Nov 24];31(5):645–56. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21200377>
 213. Tan J, Town T, Paris D, Mori T, Suo Z, Crawford F, et al. Microglial activation resulting from CD40-CD40L interaction after beta-amyloid stimulation. *Science* [Internet]. 1999 Dec 17 [cited 2017 Nov 22];286(5448):2352–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10600748>
 214. Akiyama H, Barger S, Barnum S, Bradt B, Bauer J, Cole GM, et al. Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* [Internet]. 2000 [cited 2017 Nov 22];21(3):383–421. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10858586>
 215. Abbas N, Bednar I, Mix E, Marie S, Paterson D, Ljungberg A, et al. Up-regulation of the inflammatory cytokines IFN-gamma and IL-12 and down-regulation of IL-4 in cerebral cortex regions of APP(SWE) transgenic mice. *J Neuroimmunol* [Internet]. 2002 May [cited 2017 Nov 22];126(1–2):50–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12020956>
 216. Bezzi P, Domercq M, Brambilla L, Galli R, Schols D, De Clercq E, et al. CXCR4-activated astrocyte glutamate release via TNF α : amplification by microglia triggers neurotoxicity. *Nat Neurosci* [Internet]. 2001 Jul 1 [cited 2017 Nov 22];4(7):702–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11426226>
 217. Brown GC, Bal-Price A. Inflammatory Neurodegeneration Mediated by Nitric Oxide, Glutamate, and Mitochondria. *Mol Neurobiol* [Internet]. 2003 Jun [cited 2017 Nov 22];27(3):325–55. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12845153>
 218. Bush AI, Pettingell WH, Paradis MD, Tanzi RE. Modulation of A beta adhesiveness and secretase site cleavage by zinc. *J Biol Chem* [Internet]. 1994 Apr 22 [cited 2017 Nov 22];269(16):12152–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8163520>
 219. Bush AI, Pettingell WH, Multhaup G, Paradis M d., Vonsattel J-P, Gusella JF, et al. Rapid induction of Alzheimer A-beta amyloid formation by zinc. *Science* (80-) [Internet]. 1994 Sep 2 [cited 2017 Nov 22];265(5177):1464–8. Available from: <http://go.galegroup.com/ps/i.do?id=GALE%7CA15828370&sid=googleScholar&v=2.1&it=r&linkaccess=fulltext&issn=00368075&p=AONE&sw=w&authCount=1&u=e>

ge&selfRedirect=true

220. Opazo C, Huang X, Cherny RA, Moir RD, Roher AE, White AR, et al. Metalloenzyme-like Activity of Alzheimer's Disease β -Amyloid. *J Biol Chem* [Internet]. 2002 Oct 25 [cited 2017 Nov 22];277(43):40302–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12192006>
221. Dong J, Atwood CS, Anderson VE, Siedlak SL, Smith MA, Perry G, et al. Metal Binding and Oxidation of Amyloid- β within Isolated Senile Plaque Cores: Raman Microscopic Evidence [†]. *Biochemistry* [Internet]. 2003 Mar 18 [cited 2017 Nov 24];42(10):2768–73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12627941>
222. Atwood CS, Scarpa RC, Huang X, Moir RD, Jones WD, Fairlie DP, et al. Characterization of copper interactions with alzheimer amyloid beta peptides: identification of an attomolar-affinity copper binding site on amyloid beta1-42. *J Neurochem* [Internet]. 2000 Sep [cited 2017 Nov 22];75(3):1219–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10936205>
223. Syme CD, Viles JH. Solution ¹H NMR investigation of Zn²⁺ and Cd²⁺ binding to amyloid-beta peptide (A β) of Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta - Proteins Proteomics* [Internet]. 2006 Feb [cited 2017 Nov 22];1764(2):246–56. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16266835>
224. Danielsson J, Pierattelli R, Banci L, Gräslund A. High-resolution NMR studies of the zinc-binding site of the Alzheimer's amyloid β -peptide. *FEBS J* [Internet]. 2007 Jan [cited 2017 Nov 22];274(1):46–59. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17222176>
225. Tabner BJ, Turnbull S, El-Agnaf OMA, Allsop D. Formation of hydrogen peroxide and hydroxyl radicals from A(beta) and alpha-synuclein as a possible mechanism of cell death in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 2002 Jun 1 [cited 2017 Nov 22];32(11):1076–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12031892>
226. Dikalov SI, Vitek MP, Mason RP. Cupric-amyloid β peptide complex stimulates oxidation of ascorbate and generation of hydroxyl radical. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 2004 Feb 1 [cited 2017 Nov 22];36(3):340–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15036353>
227. Nelson TJ, Alkon DL. Oxidation of Cholesterol by Amyloid Precursor Protein and β -Amyloid Peptide. *J Biol Chem* [Internet]. 2005 Feb 25 [cited 2017 Nov

- 22];280(8):7377–87. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15591071>
228. Dong J, Canfield JM, Mehta AK, Shokes JE, Tian B, Childers WS, et al. Engineering metal ion coordination to regulate amyloid fibril assembly and toxicity. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2007 Aug 14 [cited 2017 Nov 22];104(33):13313–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17686982>
 229. Lovell MA, Robertson JD, Teesdale WJ, Campbell JL, Markesbery WR. Copper, iron and zinc in Alzheimer's disease senile plaques. *J Neurol Sci* [Internet]. 1998 Jun 11 [cited 2017 Nov 22];158(1):47–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9667777>
 230. Lee JY, Mook-Jung I, Koh JY. Histochemically reactive zinc in plaques of the Swedish mutant beta-amyloid precursor protein transgenic mice. *J Neurosci* [Internet]. 1999 Jun 1 [cited 2017 Nov 22];19(11):RC10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10341271>
 231. Suh SW, Jensen KB, Jensen MS, Silva DS, Kesslak PJ, Danscher G, et al. Histochemically-reactive zinc in amyloid plaques, angiopathy, and degenerating neurons of Alzheimer's diseased brains. *Brain Res* [Internet]. 2000 Jan 10 [cited 2017 Nov 22];852(2):274–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10678753>
 232. Friedlich AL, Lee J-Y, van Groen T, Cherny RA, Volitakis I, Cole TB, et al. Neuronal Zinc Exchange with the Blood Vessel Wall Promotes Cerebral Amyloid Angiopathy in an Animal Model of Alzheimer's Disease. *J Neurosci* [Internet]. 2004 Mar 31 [cited 2017 Nov 22];24(13):3453–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15056725>
 233. Stoltenberg M, Bruhn M, Søndergaard C, Doering P, West MJ, Larsen A, et al. Immersion autometallographic tracing of zinc ions in Alzheimer beta-amyloid plaques. *Histochem Cell Biol* [Internet]. 2005 Jun 25 [cited 2017 Nov 22];123(6):605–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15981003>
 234. Miller LM, Wang Q, Telivala TP, Smith RJ, Lanzirotti A, Miklossy J. Synchrotron-based infrared and X-ray imaging shows focalized accumulation of Cu and Zn co-localized with β -amyloid deposits in Alzheimer's disease. *J Struct Biol* [Internet]. 2006 Jul [cited 2017 Nov 22];155(1):30–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16325427>
 235. Stoltenberg M, Bush AI, Bach G, Smidt K, Larsen A, Rungby J, et al. Amyloid

- plaques arise from zinc-enriched cortical layers in APP/PS1 transgenic mice and are paradoxically enlarged with dietary zinc deficiency. *Neuroscience* [Internet]. 2007 Dec 5 [cited 2017 Nov 22];150(2):357–69. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17949919>
236. Bush AI, Tanzi RE. Therapeutics for Alzheimer's disease based on the metal hypothesis. *Neurother J Am Soc Exp Neurother*. 2008;5(July):421–32.
 237. Johnson G, Moore SW. The peripheral anionic site of acetylcholinesterase: structure, functions and potential role in rational drug design. *Curr Pharm Des* [Internet]. 2006 [cited 2017 Nov 22];12:217–25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16454738>
 238. Shafferman A, Kronman C, Flashner Y, Leitner M, Grosfeld H, Ordentlich A, et al. Mutagenesis of human acetylcholinesterase. Identification of residues involved in catalytic activity and in polypeptide folding. *J Biol Chem* [Internet]. 1992 Sep 5 [cited 2017 Nov 22];267(25):17640–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1517212>
 239. Shafferman A, Barak D, Kaplan D, Ordentlich A, Kronman C, Velan B. Functional requirements for the optimal catalytic configuration of the AChE active center. *Chem Biol Interact* [Internet]. 2005 Dec 15 [cited 2017 Nov 22];157–158:123–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16256968>
 240. Lane RM, Potkin SG, Enz A. Targeting acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in dementia. *Int J Neuropsychopharmacol* [Internet]. 2005 Aug 5 [cited 2017 Nov 22];9(1):101. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16083515>
 241. Zimmerman G, Soreq H. Termination and beyond: acetylcholinesterase as a modulator of synaptic transmission. *Cell Tissue Res* [Internet]. 2006 Nov 27 [cited 2017 Nov 22];326(2):655–69. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16802134>
 242. Quinn DM. Acetylcholinesterase: enzyme structure, reaction dynamics, and virtual transition states. *Chem Rev* [Internet]. 1987 Oct [cited 2017 Nov 22];87(5):955–79. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/cr00081a005>
 243. Massoulie J, Bon S. The Molecular Forms of Cholinesterase and Acetylcholinesterase in Vertebrates. *Annu Rev Neurosci* [Internet]. 1982 Mar [cited 2017 Nov 22];5(1):57–106. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6176173>
 244. MacPhee-Quigley K, Taylor P, Taylor S. Primary structures of the catalytic subunits

- from two molecular forms of acetylcholinesterase. A comparison of NH₂-terminal and active center sequences. *J Biol Chem* [Internet]. 1985 Oct 5 [cited 2017 Nov 22];260(22):12185–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3900071>
245. Schaffer NK, Michel HO, Bridges AF. Amino acid sequence in the region of the reactive serine residue of eel acetylcholinesterase. *Biochemistry* [Internet]. 1973 Jul [cited 2017 Nov 22];12(15):2946–50. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bi00739a027>
 246. Rosenberry TL. Acetylcholinesterase. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol* [Internet]. 1975 [cited 2017 Nov 22];43:103–218. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/891>
 247. Massoulie, J., Alain Anselmet, Suzanne Bon, Eric Krejci, Claire Legay, Nathalie Morel SS. Acetylcholinesterase: C-terminal domains, molecular forms and functional localization. *J Physiol* [Internet]. 1998 Jun 1 [cited 2017 Nov 22];92(3–4):183–90. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928425798800077>
 248. Pohanka M. Cholinesterases, a target of pharmacology and toxicology. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* [Internet]. 2011 Sep [cited 2017 Nov 22];155(3):219–29. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22286807>
 249. Berman HA, Yguerabide J, Taylor P. Fluorescence Energy Transfer on Acetylcholinesterase: Spatial Relationship between Peripheral Site and Active Center[^]. *Biochem Biochim Biophys Acta Lancet Biochem Life Sci Proc Natl Acad Sci USA Lancet Anna Rev Biochem* [Internet]. 1980 [cited 2017 Nov 22];19(45):2226–35. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/bi00551a036>
 250. Mooser G, Sigman DS. Ligand binding properties of acetylcholinesterase determined with fluorescent probes. *Biochemistry* [Internet]. 1974 May 21 [cited 2017 Nov 22];13(11):2299–307. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4857568>
 251. Taylor P, Lappi S. Interaction of fluorescence probes with acetylcholinesterase. The site and specificity of propidium binding. *Biochemistry* [Internet]. 1975 May 6 [cited 2017 Nov 22];14(9):1989–97. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1125207>
 252. H.A. Berman PT. Fluorescent phosphonate label for serine hydrolases, pyrenebutyl

- methylphosphonofluoridate: reaction with acetylcholinesterase. *Biochemistry* [Internet]. 1978 [cited 2017 Nov 22];62(17):1704–13. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/bi00602a019>
253. Berman HA, Becktel W, Taylor P. Spectroscopic studies on acetylcholinesterase: influence of peripheral-site occupation on active-center conformation. *Biochemistry* [Internet]. 1981 Aug [cited 2017 Nov 22];20(16):4803–10. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bi00519a043>
 254. Inestrosa NC, Dinamarca MC, Alvarez A. Amyloid-cholinesterase interactions. *FEBS J* [Internet]. 2008 Feb [cited 2017 Nov 22];275(4):625–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18205831>
 255. Haviv H, Wong DM, Silman I, Sussman JL. Bivalent ligands derived from Huperzine A as acetylcholinesterase inhibitors. *Curr Top Med Chem* [Internet]. 2007 [cited 2017 Nov 22];7(4):375–87. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17305579>
 256. Eichler J, Anselment A, Sussman JL, Massoulié J, Silman I. Differential effects of peripheral site ligands on Torpedo and chicken acetylcholinesterase. *Mol Pharmacol* [Internet]. 1994 Feb [cited 2017 Nov 22];45(2):335–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8114681>
 257. Castro A, Martinez A. Peripheral and dual binding site acetylcholinesterase inhibitors: implications in treatment of Alzheimer's disease. *Mini Rev Med Chem* [Internet]. 2001 Sep [cited 2017 Nov 22];1(3):267–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12369973>
 258. Chatonnet A, Lockridge O. Comparison of butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase. *Biochem J* [Internet]. 1989 Jun 15 [cited 2017 Nov 22];260(3):625–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2669736>
 259. Mack A, Robitzki A. The key role of butyrylcholinesterase during neurogenesis and neural disorders: an antisense-5'butyrylcholinesterase-DNA study. *Prog Neurobiol* [Internet]. 2000 Apr [cited 2017 Nov 22];60(6):607–28. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10739090>
 260. Carolan CG, Dillon GP, Khan D, Ryder SA, Gaynor JM, Reidy S, et al. Isosorbide-2-benzyl Carbamate-5-salicylate, A Peripheral Anionic Site Binding Subnanomolar Selective Butyrylcholinesterase Inhibitor. *J Med Chem* [Internet]. 2010 Feb 11 [cited 2017 Nov 22];53(3):1190–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20067290>

261. Manoharan I, Boopathy R, Darvesh S, Lockridge O. A medical health report on individuals with silent butyrylcholinesterase in the Vysya community of India. *Clin Chim Acta* [Internet]. 2007 Mar [cited 2017 Nov 22];378(1–2):128–35. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17182021>
262. Arendt T, Brückner MK, Lange M, Bigl V. Changes in acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in alzheimer's disease resemble embryonic development a study of molecular forms. *Neurochem Int* [Internet]. 1992 Oct [cited 2017 Nov 22];21(3):381–96. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1303164>
263. Greig NH, Utsuki T, Yu Q, Zhu X, Holloway HW, Perry T, et al. A New Therapeutic Target in Alzheimer's Disease Treatment: Attention to Butyrylcholinesterase. *Curr Med Res Opin* [Internet]. 2001 Jan [cited 2017 Nov 22];17(3):159–65. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11900310>
264. Mushtaq G, Greig NH, Khan JA, Kamal MA. Status of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in Alzheimer's disease and type 2 diabetes mellitus. *CNS Neurol Disord Drug Targets* [Internet]. 2014 [cited 2017 Nov 22];13(8):1432–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25345511>
265. Mesulam M, Guillozet A, Shaw P, Quinn B. Widely Spread Butyrylcholinesterase Can Hydrolyze Acetylcholine in the Normal and Alzheimer Brain. *Neurobiol Dis* [Internet]. 2002 Feb [cited 2017 Nov 22];9(1):88–93. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11848688>
266. Mesulam M-M, Guillozet A, Shaw P, Levey A, Duysen EG, Lockridge O. Acetylcholinesterase knockouts establish central cholinergic pathways and can use butyrylcholinesterase to hydrolyze acetylcholine. *Neuroscience* [Internet]. 2002 [cited 2017 Nov 22];110(4):627–39. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11934471>
267. Xie W, Stribley JA, Chatonnet A, Wilder PJ, Rizzino A, McComb RD, et al. Postnatal developmental delay and supersensitivity to organophosphate in gene-targeted mice lacking acetylcholinesterase. *J Pharmacol Exp Ther* [Internet]. 2000 Jun [cited 2017 Nov 22];293(3):896–902. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10869390>
268. Nicolet Y, Lockridge O, Masson P, Fontecilla-Camps JC, Nachon F. Crystal Structure of Human Butyrylcholinesterase and of Its Complexes with Substrate and Products. *J Biol Chem* [Internet]. 2003 Oct 17 [cited 2017 Nov 22];278(42):41141–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12869558>

269. Brus B, Košak U, Turk S, Pišlar A, Coquelle N, Kos J, et al. Discovery, Biological Evaluation, and Crystal Structure of a Novel Nanomolar Selective Butyrylcholinesterase Inhibitor. *J Med Chem* [Internet]. 2014 Oct 9 [cited 2017 Nov 22];57(19):8167–79. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/jm501195e>
270. Taylor P, Radic Z. The Cholinesterases: From Genes to Proteins. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* [Internet]. 1994 Apr [cited 2017 Nov 22];34(1):281–320. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8042853>
271. McGleenon BM, Dynan KB, Passmore AP. Acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease. *Br J Clin Pharmacol* [Internet]. 1999 Oct [cited 2017 Nov 22];48(4):471–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10583015>
272. Dolmella, Alessandro; Bandoli, Giudiano; Nicolini M. alzheimer's disease a pharmacological challenge. 25th ed. 1994. 207-294 p.
273. Wesseling A. AS. Effects of 4-Aminopyridine in Elderly Patients With Alzheimer's Disease. *N Engl J Med* [Internet]. 1984 Apr 12 [cited 2017 Nov 22];310(15):988–9. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM198404123101514>
274. Greenlee W, Clader J, Asberom T, McCombie S, Ford J, Guzik H, et al. Muscarinic agonists and antagonists in the treatment of Alzheimer's disease. *Farmacol* [Internet]. 2001 Apr [cited 2017 Nov 22];56(4):247–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11421251>
275. Alfred Maelicke and Edson X. Albuquerque. New approach to drug therapy in Alzheimer's dementia. *Drug Discov Today* [Internet]. 1996 Feb 1 [cited 2017 Nov 22];1(2):53–9. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359644696890891>
276. Estrada LD, Lasagna C, Soto C. Design of Inhibitors of Amyloid- β Misfolding and Aggregation for Alzheimer's Therapy. In: *Pharmacological Mechanisms in Alzheimer's Therapeutics* [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2007 [cited 2017 Nov 22]. p. 238–54. Available from: http://link.springer.com/10.1007/978-0-387-71522-3_15
277. Kepp KP. Bioinorganic Chemistry of Alzheimer's Disease. *Chem Rev* [Internet]. 2012 Oct 10 [cited 2017 Nov 22];112(10):5193–239. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/cr300009x>
278. Citron M. Alzheimer's disease: strategies for disease modification. *Nat Rev Drug Discov* [Internet]. 2010 May [cited 2017 Nov 22];9(5):387–98. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20431570>

279. Carter MD, Simms GA, Weaver DF. The Development of New Therapeutics for Alzheimer's Disease. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2010 Oct 1 [cited 2017 Nov 22];88(4):475–86. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20811351>
280. Wang R, Zhou J, Tang XC. Tacrine attenuates hydrogen peroxide-induced apoptosis by regulating expression of apoptosis-related genes in rat PC12 cells. *Brain Res Mol Brain Res* [Internet]. 2002 Oct 30 [cited 2017 Nov 22];107(1):1–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12414117>
281. Sussman JL, Harel M, Silman I. Three-dimensional structure of acetylcholinesterase and of its complexes with anticholinesterase drugs. *Chem Biol Interact* [Internet]. 1993 Jun [cited 2017 Nov 22];87(1–3):187–97. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8343975>
282. Zhao Q, Tang XC. Effects of huperzine A on acetylcholinesterase isoforms in vitro: comparison with tacrine, donepezil, rivastigmine and physostigmine. *Eur J Pharmacol* [Internet]. 2002 Nov 29 [cited 2017 Nov 22];455(2–3):101–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12445575>
283. Davis K, Powchick P. Tacrine. *Lancet* [Internet]. 1995 Mar 11 [cited 2017 Nov 22];345(8950):625–30. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014067369590526X>
284. Blackard WG, Sood GK, Crowe DR, Fallon MB. Tacrine. A cause of fatal hepatotoxicity? *J Clin Gastroenterol* [Internet]. 1998 Jan [cited 2017 Nov 22];26(1):57–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9492866>
285. Misson J, Kendall MJ. Therapeutic advances: donepezil for the treatment of Alzheimer's disease. *J Clin Pharm Ther* [Internet]. 1997 Aug [cited 2017 Nov 22];22(4):251–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9548205>
286. Rees T, Hammond PI, Soreq H, Younkin S, Brimijoin S. Acetylcholinesterase promotes beta-amyloid plaques in cerebral cortex. *Neurobiol Aging* [Internet]. 2003 Oct [cited 2017 Nov 22];24(6):777–87. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12927760>
287. Muñoz-Torrero D, Camps P. Dimeric and hybrid anti-Alzheimer drug candidates. *Curr Med Chem* [Internet]. 2006 [cited 2017 Nov 22];13(4):399–422. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16475930>
288. Kryger G, Silman I, Sussman JL. Structure of acetylcholinesterase complexed with E2020 (Aricept®): implications for the design of new anti-alzheimer drugs. *Structure* [Internet]. 1999 Mar 15 [cited 2017 Nov 22];7(3):297–307. Available from:

[http://www.cell.com/structure/pdf/S0969-2126\(99\)80040-9.pdf](http://www.cell.com/structure/pdf/S0969-2126(99)80040-9.pdf)

289. Sugimoto H, Ogura H, Arai Y, Limura Y, Yamanishi Y. Research and development of donepezil hydrochloride, a new type of acetylcholinesterase inhibitor. *Jpn J Pharmacol* [Internet]. 2002 May [cited 2017 Nov 22];89(1):7–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12083745>
290. Jackson S, Ham RJ, Wilkinson D. The safety and tolerability of donepezil in patients with Alzheimer's disease. *Br J Clin Pharmacol* [Internet]. 2004 Nov [cited 2017 Nov 22];58 Suppl 1(Suppl 1):1–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15496217>
291. Reyes JF, Vargas R, Kumar D, Cullen EI, Perdomo CA, Pratt RD. Steady-state pharmacokinetics, pharmacodynamics and tolerability of donepezil hydrochloride in hepatically impaired patients. *Br J Clin Pharmacol* [Internet]. 2004 Nov [cited 2017 Nov 22];58 Suppl 1(Suppl 1):9–17. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15496218>
292. Luo W, Yu Q, Zhan M, Parrish D, Deschamps JR, Kulkarni SS, et al. Novel anticholinesterases based on the molecular skeletons of furobenzofuran and methanobenzodioxepine. *J Med Chem* [Internet]. 2005 Feb 24 [cited 2017 Nov 22];48(4):986–94. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15715468>
293. Ballard CG. Advances in the treatment of Alzheimer's disease: benefits of dual cholinesterase inhibition. *Eur Neurol* [Internet]. 2002 [cited 2017 Nov 22];47(1):64–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11803198>
294. N.F. Proskurnina APY. Oral solution containing galanthamine and a sweetening agent. 1957. p. 1899–902.
295. G.M. Bores RWK. Galanthamine derivatives for the treatment of Alzheimer's disease. 1996. p. 621–35.
296. Lilienfeld S. Galantamine--a novel cholinergic drug with a unique dual mode of action for the treatment of patients with Alzheimer's disease. *CNS Drug Rev* [Internet]. 2002 [cited 2017 Nov 22];8(2):159–76. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12177686>
297. Santos MD, Alkondon M, Pereira EFR, Aracava Y, Eisenberg HM, Maelicke A, et al. The nicotinic allosteric potentiating ligand galantamine facilitates synaptic transmission in the mammalian central nervous system. *Mol Pharmacol* [Internet]. 2002 May [cited 2017 Nov 22];61(5):1222–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11961141>

298. Pilger C, Bartolucci C, Lamba D, Tropsha A, Fels G. Accurate prediction of the bound conformation of galanthamine in the active site of *Torpedo californica* acetylcholinesterase using molecular docking. *J Mol Graph Model* [Internet]. 2001 [cited 2017 Nov 22];19(3–4):288–96, 374–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11449566>
299. Arias E, Alés E, Gabilan NH, Cano-Abad MF, Villarroja M, García AG, et al. Galantamine prevents apoptosis induced by beta-amyloid and thapsigargin: involvement of nicotinic acetylcholine receptors. *Neuropharmacology* [Internet]. 2004 Jan [cited 2017 Nov 22];46(1):103–14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14654102>
300. Hu Y, Zhang J, Chandrashankra O, Ip FCF, Ip NY. Design, synthesis and evaluation of novel heterodimers of donepezil and huperzine fragments as acetylcholinesterase inhibitors. *Bioorg Med Chem* [Internet]. 2013 [cited 2017 Dec 31];21:676–83. Available from: https://ac.els-cdn.com/S0968089612009376/1-s2.0-S0968089612009376-main.pdf?_tid=ee2345d6-ee68-11e7-b607-00000aabb0f02&acdnat=1514752190_34e53f9c535cdf6da18108f568b50b37
301. Shi Y-F, Zhang H-Y, Wang W, Fu Y, Xia Y, Tang X-C, et al. Novel 16-substituted bifunctional derivatives of huperzine B: multifunctional cholinesterase inhibitors. *Acta Pharmacol Sin* [Internet]. 2009 [cited 2017 Dec 31];30(30):1195–203. Available from: <https://www.nature.com/articles/aps200991.pdf>
302. Jiang H, Luo X, Bai D. Progress in clinical, pharmacological, chemical and structural biological studies of huperzine A: a drug of traditional chinese medicine origin for the treatment of Alzheimer's disease. *Curr Med Chem* [Internet]. 2003 Nov [cited 2017 Nov 22];10(21):2231–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14529340>
303. Pang YP, Quiram P, Jelacic T, Hong F, Brimijoin S. Highly potent, selective, and low cost bis-tetrahydroaminacrine inhibitors of acetylcholinesterase. Steps toward novel drugs for treating Alzheimer's disease. *J Biol Chem* [Internet]. 1996 Sep 27 [cited 2017 Nov 22];271(39):23646–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8798583>
304. Wong DM, Greenblatt HM, Dvir H, Carlier PR, Han Y-F, Pang Y-P, et al. Acetylcholinesterase complexed with bivalent ligands related to huperzine A: experimental evidence for species-dependent protein–ligand complementarity. *J Am Soc* [Internet]. 2002 [cited 2017 Nov 22];125(2):363–73. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja021111w>

305. Patel L, Grossberg GT. Combination Therapy for Alzheimer's Disease. *Drugs Aging* [Internet]. 2011 Jul 1 [cited 2017 Dec 1];28(7):539–46. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21721598>
306. Parsons CG, Danysz W, Dekundy A, Pulte I. Memantine and Cholinesterase Inhibitors: Complementary Mechanisms in the Treatment of Alzheimer's Disease. *Neurotox Res* [Internet]. 2013 Oct 9 [cited 2017 Dec 1];24(3):358–69. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23657927>
307. Greenamyre JT, Young AB. Excitatory amino acids and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* [Internet]. 1989 [cited 2017 Dec 1];10(5):593–602. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2554168>
308. Allen TGJ, Abogadie FC, Brown DA. Simultaneous Release of Glutamate and Acetylcholine from Single Magnocellular "Cholinergic" Basal Forebrain Neurons. *J Neurosci* [Internet]. 2006 Feb 1 [cited 2017 Dec 1];26(5):1588–95. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16452682>
309. Fda. NAMZARIC (memantine hydrochloride extended-release and donepezil) [Internet]. 2014 [cited 2017 Dec 1]. Available from: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2014/206439lbl.pdf
310. Rosini M, Simoni E, Minarini A, Melchiorre C. Multi-target Design Strategies in the Context of Alzheimer's Disease: Acetylcholinesterase Inhibition and NMDA Receptor Antagonism as the Driving Forces. *Neurochem Res* [Internet]. 2014 Oct 4 [cited 2017 Dec 1];39(10):1914–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24493627>
311. Marco JL, de los Ríos C, Carreiras MC, Baños JE, Badia A, Vivas NM. Synthesis and Acetylcholinesterase/Butyrylcholinesterase Inhibition Activity of 4-Amino-2, 3-diaryl-5, 6, 7, 8-tetrahydrofuro(and thieno)[2, 3-b]-quinolines, and 4-Amino-5, 6, 7, 8, 9-pentahydro-2, 3-diphenylcyclohepta[e]furo(and thieno)-[2, 3-b]pyridines. *Arch Pharm (Weinheim)* [Internet]. 2002 Sep [cited 2017 Nov 22];335(7):347–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12207285>
312. Marco JL, de los Ríos C, García AG, Villarroja M, Carreiras MC, Martins C, et al. Synthesis, biological evaluation and molecular modelling of diversely functionalized heterocyclic derivatives as inhibitors of acetylcholinesterase/butyrylcholinesterase and modulators of Ca²⁺ channels and nicotinic receptors. *Bioorg Med Chem* [Internet]. 2004 May 1 [cited 2017 Nov 22];12(9):2199–218. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15080920>

313. Barreiro EJ, Camara CA, Verli H, Brazil-Más L, Castro NG, Cintra WM, et al. Design, Synthesis, and Pharmacological Profile of Novel Fused Pyrazolo[4,3- *d*]pyridine and Pyrazolo[3,4- *b*] [1,8]naphthyridine Isosteres: A New Class of Potent and Selective Acetylcholinesterase Inhibitors. *J Med Chem* [Internet]. 2003 Mar 27 [cited 2017 Nov 22];46(7):1144–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12646025>
314. Korabecny J, Musilek K, Holas O, Binder J, Zemek F, Marek J, et al. Synthesis and in vitro evaluation of N-alkyl-7-methoxytacrine hydrochlorides as potential cholinesterase inhibitors in Alzheimer disease. *Bioorg Med Chem Lett* [Internet]. 2010 Oct 15 [cited 2017 Nov 22];20(20):6093–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20817518>
315. Andreani A, Cavalli A, Granaiola M, Guardigli M, Leoni A, Locatelli A, et al. Synthesis and Screening for Antiacetylcholinesterase Activity of (1-Benzyl-4-oxopiperidin-3-ylidene)methylindoles and -pyrroles Related to Donepezil. *J med* [Internet]. 2001 [cited 2017 Nov 22];44(23):4011–4. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jm0109356>
316. Ishichi Y, Sasaki M, Setoh M, Tsukamoto T, Miwatashi S, Nagabukuro H, et al. Novel acetylcholinesterase inhibitor as increasing agent on rhythmic bladder contractions: SAR of 8-{3-[1-(3-fluorobenzyl)piperidin-4-yl]propanoyl}-1,2,5,6-tetrahydro-4H-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-4-one (TAK-802) and related compounds. *Bioorg Med Chem* [Internet]. 2005 Mar 15 [cited 2017 Nov 29];13(6):1901–11. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968089605000301?via%3Dihub>
317. Belluti F, Piazzzi L, Bisi A, Gobbi S, Bartolini M, Cavalli A, et al. Design, synthesis, and evaluation of benzophenone derivatives as novel acetylcholinesterase inhibitors. *Eur J Med Chem* [Internet]. 2009 Mar [cited 2017 Nov 22];44(3):1341–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18396354>
318. Bolognesi ML, Bartolini M, Cavalli A, Andrisano V, Rosini M, Minarini A, et al. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Conformationally Restricted Rivastigmine Analogues. *J Med Chem* [Internet]. 2004 Nov 18 [cited 2017 Nov 22];47(24):5945–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15537349>
319. C. Mustazza, A. Borioni, M.R. Del Giudice, F. Gatta, R. Ferreti, A. Meneguz, M.T. Volpe PL. Synthesis and cholinesterase activity of phenylcarbamates related to Rivastigmine, a therapeutic agent for Alzheimer's disease. *Eur J Med Chem*

- [Internet]. 2002 Feb 1 [cited 2017 Nov 22];37(2):91–109. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523401013241>
320. G. Lin, C.Y. Lai WCL. Molecular recognition by acetylcholinesterase at the peripheral anionic site: structure–activity relationships for inhibitions by aryl carbamates. *Bioorg Med Chem* [Internet]. 1999 Dec 1 [cited 2017 Nov 22];7(12):2683–9. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968089699002138>
 321. Davis KL, Mohs RC. Enhancement of memory processes in Alzheimer’s disease with multiple- dose intravenous physostigmine. *Am J Psychiatry* [Internet]. 1982 Nov [cited 2017 Nov 30];139(11):1421–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6753611>
 322. Thal LJ, Fuld PA, Masur DM, Sharpless NS. Oral physostigmine and lecithin improve memory in Alzheimer disease. *Ann Neurol* [Internet]. 1983 May [cited 2017 Nov 30];13(5):491–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6347034>
 323. Perola E, Cellai L, Lamba D, Filocamo L, Brufani M. Long chain analogs of physostigmine as potential drugs for Alzheimer’s disease: new insights into the mechanism of action in the inhibition of acetylcholinesterase. *Biochim Biophys Acta* [Internet]. 1997 Nov 14 [cited 2017 Nov 30];1343(1):41–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9428657>
 324. Houghton PJ, Howes M-J. Natural Products and Derivatives Affecting Neurotransmission Relevant to Alzheimer’s and Parkinson’s Disease. *Neurosignals* [Internet]. 2005 [cited 2017 Nov 30];14(1–2):6–22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15956811>
 325. Triggle DJ, Mitchell JM, Filler R. The Pharmacology of Physostigmine. *CNS Drug Rev* [Internet]. 1998 Jun 1 [cited 2017 Nov 22];4(2):87–136. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1527-3458.1998.tb00059.x>
 326. Zhan Z-J, Bian H-L, Wang J-W, Shan W-G. Synthesis of physostigmine analogues and evaluation of their anticholinesterase activities. *Bioorg Med Chem Lett* [Internet]. 2010 Mar 1 [cited 2017 Nov 22];20(5):1532–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20144867>
 327. Iijima S, Greig NH, Garofalo P, Spangler EL, Heller B, Brossi A, et al. Phenserine: a physostigmine derivative that is a long-acting inhibitor of cholinesterase and demonstrates a wide dose range for attenuating a scopolamine-induced learning

- impairment of rats in a 14-unit T-maze. *Psychopharmacology (Berl)* [Internet]. 1993 [cited 2017 Nov 22];112(4):415–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7871051>
328. Yu Q, Holloway HW, Flippen-Anderson JL, Hoffman B, Brossi A, Greig NH. Methyl Analogues of the Experimental Alzheimer Drug Phenserine: Synthesis and Structure/Activity Relationships for Acetyl- and Butyrylcholinesterase Inhibitory Action. *J Med Chem* [Internet]. 2001 Nov [cited 2017 Nov 30];44(24):4062–71. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jm010080x>
 329. Orhan G, Orhan I, Subutay-Oztekin N, Ak F, Sener B. Contemporary anticholinesterase pharmaceuticals of natural origin and their synthetic analogues for the treatment of Alzheimer's disease. *Recent Pat CNS Drug Discov* [Internet]. 2009 Jan [cited 2017 Nov 22];4(1):43–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19149713>
 330. Yu Q, Holloway HW, Flippen-Anderson JL, Hoffman B, Brossi A, Greig NH. Methyl analogues of the experimental Alzheimer drug phenserine: synthesis and structure/activity relationships for acetyl- and butyrylcholinesterase inhibitory action. *J Med Chem* [Internet]. 2001 Nov 22 [cited 2017 Nov 22];44(24):4062–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11708910>
 331. Bartolucci C, Siotto M, Ghidini E, Amari G, Bolzoni PT, Racchi M, et al. Structural Determinants of Torpedo californica Acetylcholinesterase Inhibition by the Novel and Orally Active Carbamate Based Anti-Alzheimer Drug Ganstigmine (CHF-2819). *J Med Chem* [Internet]. 2006 Aug 24 [cited 2017 Nov 22];49(17):5051–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16913695>
 332. Herlem D, Martin MT, Thal C, Guillou C. Synthesis and structure-activity relationships of open D-Ring galanthamine analogues. *Bioorg Med Chem Lett* [Internet]. 2003 Jul 21 [cited 2017 Nov 22];13(14):2389–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12824041>
 333. Schmitt B, Bernhardt T, Moeller H-J, Heuser I, Frölich L. Combination therapy in Alzheimer's disease: a review of current evidence. *CNS Drugs* [Internet]. 2004 [cited 2017 Nov 22];18(13):827–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15521788>
 334. Cavalli A, Bolognesi ML, Minarini A, Rosini M, Tumiatti V, Recanatini M, et al. Multi-target-Directed Ligands To Combat Neurodegenerative Diseases. *J Med Chem* [Internet]. 2008 Feb 14 [cited 2017 Nov 21];51(3):347–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18181565>

335. Zhang H-Y. One-compound-multiple-targets strategy to combat Alzheimer's disease. *FEBS Lett* [Internet]. 2005 Oct 10 [cited 2017 Nov 22];579(24):5260–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16194540>
336. Morphy R, Rankovic Z. Designed Multiple Ligands. An Emerging Drug Discovery Paradigm. *J Med Chem* [Internet]. 2005 Oct 20 [cited 2017 Nov 22];48(21):6523–43. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16220969>
337. Youdim MBH, Buccafusco JJ. Multi-functional drugs for various CNS targets in the treatment of neurodegenerative disorders. *Trends Pharmacol Sci* [Internet]. 2005 Jan [cited 2017 Nov 22];26(1):27–35. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15629202>
338. Kogen H, Toda N, Tago K, Marumoto S, Takami K, Ori M, et al. Design and synthesis of dual inhibitors of acetylcholinesterase and serotonin transporter targeting potential agents for Alzheimer's disease. *Org Lett* [Internet]. 2002 Oct 3 [cited 2017 Nov 22];4(20):3359–62. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12323018>
339. Ting Liu, Zheng Xia, Wei-Wei Zhang, Jian-rong Xu, Xin-Xing Ge, Juan Li, Yongyao Cui, Zhui-Bai Qiu, Jun Xu, Qiong Xie, Hao Wang H-ZC. Bis(9)-(–)-nor-meptazinol as a novel dual-binding AChEI potently ameliorates scopolamine-induced cognitive deficits in mice. *Pharmacol Biochem Behav* [Internet]. 2013 Mar 1 [cited 2017 Nov 22];104:138–43. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091305712003206?via%3Dihub>
340. Alvarez A, Opazo C, Alarcón R, Garrido J, Inestrosa NC. Acetylcholinesterase promotes the aggregation of amyloid- β -peptide fragments by forming a complex with the growing fibrils 1 1Edited by A. R. Fersht. *J Mol Biol* [Internet]. 1997 Sep 26 [cited 2017 Nov 22];272(3):348–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9325095>
341. Alvarez A, Alarcón R, Opazo C, Campos EO, Muñoz FJ, Calderón FH, et al. Stable complexes involving acetylcholinesterase and amyloid-beta peptide change the biochemical properties of the enzyme and increase the neurotoxicity of Alzheimer's fibrils. *J Neurosci* [Internet]. 1998 May 1 [cited 2017 Nov 22];18(9):3213–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9547230>
342. De Ferrari G V, Canales MA, Shin I, Weiner LM, Silman I, Inestrosa NC. A structural motif of acetylcholinesterase that promotes amyloid beta-peptide fibril formation. *Biochemistry* [Internet]. 2001 Sep 4 [cited 2017 Nov 22];40(35):10447–57. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11523986>

343. Rodríguez-Franco MI, Fernández-Bachiller MI, Pérez C, Hernández-Ledesma B, Bartolomé B. Novel Tacrine–Melatonin Hybrids as Dual-Acting Drugs for Alzheimer Disease, with Improved Acetylcholinesterase Inhibitory and Antioxidant Properties. *J Med Chem* [Internet]. 2006 Jan 26 [cited 2017 Nov 22];49(2):459–62. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16420031>
344. Fu H, Li W, Luo J, Lee NTK, Li M, Tsim KWK, et al. Promising anti-Alzheimer's dimer bis(7)-tacrine reduces β -amyloid generation by directly inhibiting BACE-1 activity. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2008 Feb [cited 2017 Nov 22];366(3):631–6. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006291X07024886>
345. Hu M-K, Wu L-J, Hsiao G, Yen M-H. Homodimeric tacrine congeners as acetylcholinesterase inhibitors. *J Med Chem* [Internet]. 2002 May 23 [cited 2017 Nov 22];45(11):2277–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12014965>
346. Fernández-Bachiller MI, Pérez C, Monjas L, Rademann J, Rodríguez-Franco MI. New Tacrine–4-Oxo-4 *H* -chromene Hybrids as Multifunctional Agents for the Treatment of Alzheimer's Disease, with Cholinergic, Antioxidant, and β -Amyloid-Reducing Properties. *J Med Chem* [Internet]. 2012 Feb 9 [cited 2017 Nov 22];55(3):1303–17. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22243648>
347. Jang M-H, Jung S-B, Lee M-H, Kim C-J, Oh Y-T, Kang I, et al. Melatonin attenuates amyloid beta25-35-induced apoptosis in mouse microglial BV2 cells. *Neurosci Lett* [Internet]. 2005 [cited 2017 Nov 22];380(1–2):26–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15854745>
348. Rosini M, Simoni E, Bartolini M, Cavalli A, Ceccarini L, Pascu N, et al. Inhibition of Acetylcholinesterase, β -Amyloid Aggregation, and NMDA Receptors in Alzheimer's Disease: A Promising Direction for the Multi-target-Directed Ligands Gold Rush. *J Med Chem* [Internet]. 2008 Aug [cited 2017 Nov 22];51(15):4381–4. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jm800577j>
349. Lysko PG, Lysko KA, Webb CL, Feuerstein G, Mason PE, Walter MF, et al. Neuroprotective activities of carvedilol and a hydroxylated derivative: role of membrane biophysical interactions. *Biochem Pharmacol* [Internet]. 1998 Dec 15 [cited 2017 Nov 22];56(12):1645–56. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9973186>
350. Thiratmatrakul S, Yenjai C, Waiwut P, Vajragupta O, Reubroycharoen P, Tohda M, et al. Synthesis, biological evaluation and molecular modeling study of novel tacrine–

- carbazole hybrids as potential multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease. *Eur J Med Chem* [Internet]. 2014 Mar 21 [cited 2017 Nov 22];75:21–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24508831>
351. Lange JHM, Coolen HKAC, van der Neut MAW, Borst AJM, Stork B, Verveer PC, et al. Design, Synthesis, Biological Properties, and Molecular Modeling Investigations of Novel Tacrine Derivatives with a Combination of Acetylcholinesterase Inhibition and Cannabinoid CB₁ Receptor Antagonism. *J Med Chem* [Internet]. 2010 Feb 11 [cited 2018 Feb 16];53(3):1338–46. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jm901614b>
352. Fisher A. M1 Muscarinic Agonists Target Major Hallmarks of Alzheimer's Disease – The Pivotal Role of Brain M1 Receptors. *Neurodegener Dis* [Internet]. 2008 [cited 2017 Nov 22];5(3–4):237–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18322400>
353. Fang L, Jumpertz S, Zhang Y, Appenroth D, Fleck C, Mohr K, et al. Hybrid Molecules from Xanomeline and Tacrine: Enhanced Tacrine Actions on Cholinesterases and Muscarinic M₁ Receptors. *J Med Chem* [Internet]. 2010 Mar 11 [cited 2017 Nov 22];53(5):2094–103. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jm901616h>
354. Camps P, Formosa X, Galdeano C, Gómez T, Muñoz-Torrero D, Scarpellini M, et al. Novel Donepezil-Based Inhibitors of Acetyl- and Butyrylcholinesterase and Acetylcholinesterase-Induced β -Amyloid Aggregation. *J Med Chem* [Internet]. 2008 Jun 26 [cited 2017 Nov 22];51(12):3588–98. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18517184>
355. Carlier PR, Chow ES, Han Y, Liu J, El Yazal J, Pang YP. Heterodimeric tacrine-based acetylcholinesterase inhibitors: investigating ligand-peripheral site interactions. *J Med Chem* [Internet]. 1999 Oct 7 [cited 2017 Nov 22];42(20):4225–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10514292>
356. Shao D, Zou C, Luo C, Tang X, Li Y. Synthesis and evaluation of tacrine–E2020 hybrids as acetylcholinesterase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. *Bioorg Med Chem Lett* [Internet]. 2004 Sep 20 [cited 2017 Nov 22];14(18):4639–42. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15324879>
357. Tang H, Zhao L-Z, Zhao H-T, Huang S-L, Zhong S-M, Qin J-K, et al. Hybrids of oxoisoaporphine-tacrine congeners: Novel acetylcholinesterase and acetylcholinesterase-induced β -amyloid aggregation inhibitors. *Eur J Med Chem* [Internet]. 2011 Oct [cited 2017 Nov 22];46(10):4970–9. Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21871694>

358. Badia A, Baños JE, Camps P, Contreras J, Görbig DM, Muñoz-Torrero D, et al. Synthesis and evaluation of tacrine-huperzine A hybrids as acetylcholinesterase inhibitors of potential interest for the treatment of Alzheimer's disease. *Bioorg Med Chem* [Internet]. 1998 Apr [cited 2017 Nov 22];6(4):427–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9597187>
359. Camps P, Formosa X, Muñoz-Torrero D, Petriguet J, Badia A, Clos MV. Synthesis and Pharmacological Evaluation of Huprine–Tacrine Heterodimers: Subnanomolar Dual Binding Site Acetylcholinesterase Inhibitors. *J Med Chem* [Internet]. 2005 Mar 24 [cited 2017 Nov 22];48(6):1701–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15771413>
360. Camps P, Gómez E, Muñoz-Torrero D, Badia A, Vivas NM, Barril X, et al. Synthesis, in vitro pharmacology, and molecular modeling of syn-huprines as acetylcholinesterase inhibitors. *J Med Chem* [Internet]. 2001 Dec 20 [cited 2017 Nov 22];44(26):4733–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11741490>
361. Camps P, El Achab R, Görbig DM, Morral J, Muñoz-Torrero D, Badia A, et al. Synthesis, in Vitro Pharmacology, and Molecular Modeling of Very Potent Tacrine–Huperzine A Hybrids as Acetylcholinesterase Inhibitors of Potential Interest for the Treatment of Alzheimer's Disease. *J Med Chem* [Internet]. 1999 [cited 2017 Nov 22];42(17):3227–3242. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jm980620z>
362. Carlier PR, Du DM, Han Y, Liu J, Pang YP. Potent, easily synthesized huperzine A-tacrine hybrid acetylcholinesterase inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett* [Internet]. 1999 Aug 16 [cited 2017 Nov 22];9(16):2335–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10476864>
363. Mao F, Chen J, Zhou Q, Luo Z, Huang L, Li X. Novel tacrine-ebesen hybrids with improved cholinesterase inhibitory, hydrogen peroxide and peroxynitrite scavenging activity. *Bioorg Med Chem Lett* [Internet]. 2013 Dec 15 [cited 2017 Nov 22];23(24):6737–42. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24220172>
364. Van der Zee EA, Platt B, Riedel G. Acetylcholine: Future research and perspectives. *Behav Brain Res* [Internet]. 2011 Aug 10 [cited 2017 Nov 22];221(2):583–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21295616>
365. Holmquist L, Stuchbury G, Berbaum K, Muscat S, Young S, Hager K, et al. Lipoic

- acid as a novel treatment for Alzheimer's disease and related dementias. *Pharmacol Ther* [Internet]. 2007 Jan [cited 2017 Nov 22];113(1):154–64. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16989905>
366. Rosini M, Simoni E, Bartolini M, Tarozzi A, Matera R, Milelli A, et al. Exploiting the lipoic acid structure in the search for novel multitarget ligands against Alzheimer's disease. *Eur J Med Chem* [Internet]. 2011 Nov [cited 2017 Nov 22];46(11):5435–42. Available from: http://www.academia.edu/31579857/Exploiting_the_lipoic_acid_structure_in_the_search_for_novel_multitarget_ligands_against_Alzheimer_s_disease
 367. Fang L, Kraus B, Lehmann J, Heilmann J, Zhang Y, Decker M. Design and synthesis of tacrine–ferulic acid hybrids as multi-potent anti-Alzheimer drug candidates. *Bioorg Med Chem Lett* [Internet]. 2008 May [cited 2017 Nov 22];18(9):2905–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960894X08003582>
 368. Yan J-J, Cho J-Y, Kim H-S, Kim K-L, Jung J-S, Huh S-O, et al. Protection against β -amyloid peptide toxicity *in vivo* with long-term administration of ferulic acid. *Br J Pharmacol* [Internet]. 2001 May [cited 2017 Nov 22];133(1):89–96. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11325798>
 369. Xie S-S, Lan J-S, Wang X-B, Jiang N, Dong G, Li Z-R, et al. Multifunctional tacrine–trolox hybrids for the treatment of Alzheimer's disease with cholinergic, antioxidant, neuroprotective and hepatoprotective properties. *Eur J Med Chem* [Internet]. 2015 Mar 26 [cited 2017 Nov 22];93:42–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25656088>
 370. Caroline Doucet-Personeni †, Philip D. Bentley †, Rodney J. Fletcher †, Adrian Kinkaid †, Gitay Kryger ‡, Bernard Pirard †, et al. A Structure-Based Design Approach to the Development of Novel, Reversible AChE Inhibitors. 2001 [cited 2017 Nov 22]; Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jm010826r>
 371. Contreras J-M, Rival YM, Chayer S, Bourguignon J-J, Wermuth CG. Aminopyridazines as Acetylcholinesterase Inhibitors. *J Med Chem* [Internet]. 1999 Feb 25 [cited 2017 Nov 22];42(4):730–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10052979>
 372. Contreras JM, Parrot I, Sippl W, Rival YM, Wermuth CG. Design, synthesis, and structure-activity relationships of a series of 3-[2-(1-benzyl)piperidin-4-yl)ethylamino]pyridazine derivatives as acetylcholinesterase inhibitors. *J Med Chem* [Internet]. 2001 Aug 16 [cited 2017 Nov 22];44(17):2707–18. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11495583>

373. Rizzo S, Bartolini M, Ceccarini L, Piazzzi L, Gobbi S, Cavalli A, et al. Targeting Alzheimer's disease: Novel indanone hybrids bearing a pharmacophoric fragment of AP2238. *Bioorg Med Chem* [Internet]. 2010 Mar 1 [cited 2017 Nov 22];18(5):1749–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20171894>
374. Bautista-Aguilera OM, Esteban G, Bolea I, Nikolic K, Agbaba D, Moraleda I, et al. Design, synthesis, pharmacological evaluation, QSAR analysis, molecular modeling and ADMET of novel donepezil–indolyl hybrids as multipotent cholinesterase/monoamine oxidase inhibitors for the potential treatment of Alzheimer's disease. *Eur J Med Chem* [Internet]. 2014 Mar 21 [cited 2017 Nov 22];75:82–95. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24530494>
375. Wang L, Esteban G, Ojima M, Bautista-Aguilera OM, Inokuchi T, Moraleda I, et al. Donepezil + propargylamine + 8-hydroxyquinoline hybrids as new multifunctional metal-chelators, ChE and MAO inhibitors for the potential treatment of Alzheimer's disease. *Eur J Med Chem* [Internet]. 2014 Jun 10 [cited 2017 Nov 22];80:543–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24813882>
376. Luo Z, Sheng J, Sun Y, Lu C, Yan J, Liu A, et al. Synthesis and Evaluation of Multi-Target-Directed Ligands against Alzheimer's Disease Based on the Fusion of Donepezil and Ebselen. *J Med Chem* [Internet]. 2013 Nov 27 [cited 2017 Nov 22];56(22):9089–99. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24160297>
377. Jia P, Sheng R, Zhang J, Fang L, He Q, Yang B, et al. Design, synthesis and evaluation of galanthamine derivatives as acetylcholinesterase inhibitors. *Eur J Med Chem* [Internet]. 2009 Feb [cited 2017 Nov 22];44(2):772–84. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0223523408002146>
378. Sheng R, Lin X, Li J, Jiang Y, Shang Z, Hu Y. Design, synthesis, and evaluation of 2-phenoxy-indan-1-one derivatives as acetylcholinesterase inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett* [Internet]. 2005 Sep 1 [cited 2017 Nov 22];15(17):3834–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15993600>
379. Villalobos A, Blake JF, Biggers CK, Butler TW, Chapin DS, Chen YL, et al. Novel benzisoxazole derivatives as potent and selective inhibitors of acetylcholinesterase. *J Med Chem* [Internet]. 1994 Aug 19 [cited 2017 Nov 22];37(17):2721–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8064800>
380. Villalobos A, Butler TW, Chapin DS, Chen YL, DeMattos SB, Ives JL, et al. 5,7-dihydro-3-[2-[1-(phenylmethyl)-4-piperidinyl]ethyl]-6H-pyrrolo[3,2-f]-1,2-benzisoxazol-6-one: a potent and centrally-selective inhibitor of acetylcholinesterase

- with an improved margin of safety. *J Med Chem* [Internet]. 1995 Jul 21 [cited 2017 Nov 22];38(15):2802–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7636841>
381. Martinez A, Fernandez E, Castro A, Conde S, Rodriguez-Franco I, Baños JE, et al. N-Benzylpiperidine derivatives of 1,2,4-thiadiazolidinone as new acetylcholinesterase inhibitors. *Eur J Med Chem* [Internet]. 2000 Oct [cited 2017 Nov 22];35(10):913–22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11121617>
 382. Prokai-Tatrai K, Nguyen V, Zharikova AD, Braddy AC, Stevens SM, Prokai L. Prodrugs to enhance central nervous system effects of the TRH-like peptide pGlu-Glu-Pro-NH₂. *Bioorg Med Chem Lett* [Internet]. 2003 Mar [cited 2017 Nov 22];13(6):1011–4. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960894X03000817>
 383. Weinstock M, Goren T, Youdim MBH. Development of a Novel Neuroprotective Drug (TV3326) for the Treatment of Alzheimer’s Disease, With Cholinesterase and Monoamine Oxidase Inhibitory Activities. *Drug Dev Res* [Internet]. 2000 Jul 1 [cited 2017 Nov 22];50(3–4):216–22. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/1098-2299%28200007%2F08%2950%3A3%2F4%3C216%3A%3AAID-DDR4%3E3.0.CO%3B2-Z>
 384. Weinreb O, Amit T, Bar-Am O, Youdim MBH. A novel anti-Alzheimer’s disease drug, ladostigil. In: *International review of neurobiology* [Internet]. 2011 [cited 2017 Nov 22]. p. 191–215. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21971009>
 385. Toda N, Tago K, Marumoto S, Takami K, Ori M, Yamada N, et al. A conformational restriction approach to the development of dual inhibitors of acetylcholinesterase and serotonin transporter as potential agents for Alzheimer’s disease. *Bioorg Med Chem* [Internet]. 2003 Oct 1 [cited 2017 Nov 22];11(20):4389–415. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13129577>
 386. Sang Z, Li Y, Qiang X, Xiao G, Liu Q, Tan Z, et al. Multifunctional scutellarin–rivastigmine hybrids with cholinergic, antioxidant, biometal chelating and neuroprotective properties for the treatment of Alzheimer’s disease. *Bioorg Med Chem* [Internet]. 2015 Feb 15 [cited 2017 Nov 22];23(4):668–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25614117>
 387. Recanatini M, Valenti P. Acetylcholinesterase inhibitors as a starting point towards improved Alzheimer’s disease therapeutics. *Curr Pharm Des* [Internet]. 2004 [cited 2017 Nov 22];10(25):3157–66. Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15544505>

388. Guillou C, Mary A, Renko DZ, Gras E, Thal C. Potent acetylcholinesterase inhibitors: design, synthesis and structure-activity relationships of alkylene linked bis-galanthamine and galanthamine-galanthaminium salts. *Bioorg Med Chem Lett* [Internet]. 2000 Apr 3 [cited 2017 Nov 22];10(7):637–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10762042>
389. Kapková P, Stiefl N, Sürig U, Engels B, Baumann K, Holzgrabe U. Synthesis, Biological Activity, and Docking Studies of New Acetylcholinesterase Inhibitors of the Bispyridinium Type. *Arch Pharm (Weinheim)* [Internet]. 2003 Nov [cited 2017 Nov 22];336(11):523–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14639745>
390. Viayna E, Sola I, Bartolini M, De Simone A, Tapia-Rojas C, Serrano FG, et al. Synthesis and multitarget biological profiling of a novel family of rhein derivatives as disease-modifying anti-alzheimer agents. *J Med Chem* [Internet]. 2014 Mar 27 [cited 2017 Nov 22];57(6):2549–67. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24568372>
391. Melchiorre C, Antonello A, Banzi R, Bolognesi ML, Minarini A, Rosini M, et al. Polymethylene tetraamine backbone as template for the development of biologically active polyamines. *Med Res Rev* [Internet]. 2003 Mar [cited 2017 Nov 22];23(2):200–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12500289>
392. Melchiorre C, Andrisano V, Bolognesi ML, Budriesi R, Cavalli A, Cavrini V, et al. Acetylcholinesterase Noncovalent Inhibitors Based on a Polyamine Backbone for Potential Use against Alzheimer's Disease. *J Med Chem* [Internet]. 1998 Oct 22 [cited 2017 Nov 22];41(22):4186–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9784091>
393. Dorronsoro I, Alonso D, Castro A, del Monte M, García-Palomero E, Martínez A. Synthesis and Biological Evaluation of Tacrine-Thiadiazolidinone Hybrids as Dual Acetylcholinesterase Inhibitors. *Arch Pharm (Weinheim)* [Internet]. 2005 Jan 1 [cited 2017 Nov 22];338(1):18–23. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/ardp.200400919>
394. Alptüzün V, Prinz M, Hörr V, Scheiber J, Radacki K, Fallarero A, et al. Interaction of (benzylidene-hydrazono)-1,4-dihydropyridines with beta-amyloid, acetylcholine, and butyrylcholine esterases. *Bioorg Med Chem* [Internet]. 2010 Mar 1 [cited 2015 Dec 8];18(5):2049–59. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096808961000009X>

395. Demmer CS, Bunch L. Benzoxazoles and oxazolopyridines in medicinal chemistry studies. *Eur J Med Chem* [Internet]. 2015 Jun 5 [cited 2017 Nov 22];97:778–85. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25487760>
396. Özkay Y, Tunalı Y, Karaca H, Işıkdag I, Tunalı Y, Karaca H, et al. Antimicrobial activity and a SAR study of some novel benzimidazole derivatives bearing hydrazone moiety. *Eur J Med Chem* [Internet]. 2010 Aug [cited 2017 Nov 22];45(8):3293–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20451306>
397. Cho YH, Lee CY, Cheon CH. Cyanide as a powerful catalyst for facile synthesis of benzofused heteroaromatic compounds via aerobic oxidation. *Tetrahedron* [Internet]. 2013;69(32):6565–73. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tet.2013.05.138>
398. El-Hamouly WS, Amin KM, El-Assaly SA, Abd El-Meguid EA. Synthesis and antitumor activity of some new N-substituted-sulfonyl, 1,2,4- triazole, N-substituted-benzylidene and pyrrole derivatives attached to 4- (benzo[d]thiazol-2-yl)benzohydrazide. 2011 [cited 2018 Feb 16];3(6):293–306. Available from: <http://derpharmachemica.com/archive.html>
399. Taha M, Ismail NH, Lalani S, Fatmi MQ, Atia-tul-Wahab, Siddiqui S, et al. Synthesis of novel inhibitors of α -glucosidase based on the benzothiazole skeleton containing benzohydrazide moiety and their molecular docking studies. *Eur J Med Chem* [Internet]. 2015 Mar 6 [cited 2018 Feb 16];92:387–400. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523415000288?via%3Dihub>
400. Mao F, Huang L, Luo Z, Liu A, Lu C, Xie Z, et al. O-Hydroxyl- or o-amino benzylamine-tacrine hybrids: Multifunctional biometals chelators, antioxidants, and inhibitors of cholinesterase activity and amyloid- β aggregation. *Bioorg Med Chem* [Internet]. 2012 Oct 1 [cited 2017 Dec 2];20(19):5884–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22944335>
401. Nakanishi K, Solomon PH. Infrared absorption spectroscopy [Internet]. Holden-Day; 1977 [cited 2017 Dec 3]. 287 p. Available from: https://books.google.com.tr/books/about/Infrared_absorption_spectroscopy.html?id=KHfvAAAAIAAJ&redir_esc=y
402. Hesse M, Meier H, Zeeh B. Spectroscopic methods in organic chemistry [Internet]. G. Thieme; 1997 [cited 2017 Dec 3]. 365 p. Available from: https://books.google.com.tr/books/about/Spectroscopic_methods_in_organic_chemist.html?id=IEwvAQAAIAAJ&redir_esc=y
403. Silverstein RM (Robert M, Webster FX, Kiemle DJ, Bryce DL (David L.

Spectrometric identification of organic compounds. 1963. 455 p.

404. Alpan AS. Bazı süstitüe benzimidazol türevlerinin sentezi ve bu bileşikler üzerinde yapı etki çalışmaları. 2005.
405. Sridharan V, Saravanan S, Muthusubramanian S, Sivasubramanian S. NMR investigation of hydrogen bonding and 1,3-tautomerism in 2-(2-hydroxy-5-substituted-aryl) benzimidazoles. Magn Reson Chem [Internet]. 2005 Jul 1 [cited 2017 Dec 3];43(7):551–6. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/mrc.1588>



ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Sinop'ta doğdum. İlköğrenimimi Aksaray Cumhuriyet İlkokulu'nda, orta öğrenimimi Kılıçarslan İlköğretim Okulu'nda ve lise öğrenimimi Aksaray Fen Lisesi'nde tamamladım. 2005 yılında başladığım Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden 2010 Haziran ayında mezun oldum. 2010 yılı Eylül ayında Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi kadrosuna atandım. 2011 yılı Şubat ayında Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'nda doktora programına kayıtlandım. 2017 Nisan ayında Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'ndeki görevimden ayrılarak Antalya İl Sağlık Müdürlüğü'nde Eczacı kadrosuna atandım. Halen Antalya İl Sağlık Müdürlüğünde Eczacı olarak çalışmaktayım.

