

T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YENİ  $\beta$ -AMİLOİD AGREGASYON İNHİBİTÖRÜ BİLEŞİKLER ÜZERİNDE  
SENTEZ VE BİYOAKTİVİTE ÇALIŞMALARI

Doktora Tezi

Uzman Eczacı  
Görkem SARIKAYA

Danışman  
Yrd. Doç. Dr. Ayşe Selcen ALPAN

İZMİR

2018



T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YENİ  $\beta$ -AMİLOİD AGREGASYON İNHİBİTÖRÜ BİLEŞİKLER ÜZERİNDE  
SENTEZ VE BİYOAKTİVİTE ÇALIŞMALARI

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Programı

Doktora Tezi

Uzman Eczacı

Görkem SARIKAYA

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Ayşe Selcen ALPAN

İZMİR

2018

**DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ**

(Adı-Soyadı)

(İmza)

**Başkan** : Yrd. Doç. Dr. Ayşe Selcen ALPAN

(Danışman)

**Üye** : Doç. Dr. Petek Ballar KIRMIZIBAYRAK

**Üye** : Doç. Dr. Vildan ALPTÜZÜN

**Üye** : Prof. Dr. Erhan PALASKA

**Üye** : Prof. Dr. Erdal BEDİR

Doktora Tezinin kabul edildiği tarih: 08.02.2018

## ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasının gerçekleştirilmesinde bilgi ve katkıları ile beni yönlendiren, öngörüsüyle her zaman rehberim olan değerli danışman hocam *Sayın Yrd. Doç. Dr. Ayşe Selcen ALPAN*'a,

Lisansüstü eğitimim boyunca değerli destek ve yardımlarını gördüğüm hocalarım Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Başkanı *Sayın Prof. Dr. Mehmet Varol PABUÇCUOĞLU* ve *Sayın Prof. Dr. Erçin ERCİYAS*'a,

Biyolojik aktivite çalışmalarının yapılmasındaki katkılarından dolayı *Sayın Doç. Dr. Vildan ALPTÜZÜN* ve *Arş. Gör. Dr. Sülünay PARLAR*'a,

Fizikokimyasal parametrelerin çalışılmasındaki katkılarından dolayı *Sayın Prof. Dr. Mustafa Emrah KILINÇ*'a ve *Arş. Gör. Fatma Gülay DER*'e,

Kütle spektrumlarının alınmasındaki katkılarından dolayı *Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Bilimler Araştırma Laboratuvarına (FABAL)*,

NMR spektrumlarının alınmasındaki katkılarından dolayı *Ege Üniversitesi NMR EBİLTEM Uydu Laboratuvarına*,

Çalışmalarına mali destek sağlayan *E. Ü. Araştırma Fonuna* (Proje No: 14/ECZ/040),

Tez çalışmam sırasında bilgi ve tecrübelerini paylaştan *değerli hocalarıma* ve yanımda olan *sevgili çalışma arkadaşlarıma*,

Benim için hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan, desteklerini her zaman hissettiğim *canım aileme* teşekkürlerimi sunarım.

*İzmir, 2018*

*Görkem SARIKAYA*

## ÖZET

### YENİ $\beta$ -AMİLOİD AGREGASYON İNHİBİTÖRÜ BİLEŞİKLER ÜZERİNDE SENTEZ VE BİYOAKTİVİTE ÇALIŞMALARI

Alzheimer Hastalığı (AH), demansın en yaygın şekli olup bellek, biliş ve davranışın bozulması ile karakterize, ilerleyici ve geri dönüşsüz nörodejeneratif bir hastalıktır. Demans, yaşlılarda sık görülen hastalıkların başında yer almaktadır. 65 yaş ve üzeri yaşlı nüfus için AH, Amerika Birleşik Devleti'nde ölüme neden olan hastalıklar arasında beşinci sıradadır.

AH'nin patolojisinde; ekstraselüler beta amiloid ( $A\beta$ ) peptid içeren plaklar, anormal fosforile edilmiş tau proteini içeren intraselüler nörofibril yumaklar (NFY), gliyozis-inflamasyonun yanı sıra nöronal, sinaptik ve kolinerjik kayıplar rol oynamaktadır. "Amiloid Kaskad Hipotezi" olarak adlandırılan hipoteze göre, hastalığı başlatan ana patolojik olay  $A\beta$  peptidinin birikimidir.

Günümüzde AH'nin tedavisinde asetilkolinesteraz (AChE) inhibitörleri (donepezil, rivastigmin ve galantamin) ve *N*-metil-*D*-aspartat (NMDA) reseptör antagonistleri (memantin) kullanılmaktadır. Bugüne kadar hiçbir ilaç ya da uygulama AH'yi tamamen tedavi etmede başarılı olamamıştır. Bu nedenle mevcut semptomatik tedavilere karşılık gelen  $A\beta$  birikimine karşı hedeflenen terapötik stratejiler titizlikle araştırılmıştır. Bu patolojiye karşı en etkili tedavi stratejilerinin arasında  $A\beta$ -peptid inhibisyonu yer almaktadır.

$A\beta$  nörotoksisitesini azalttığı rapor edilen rifampisin, kongo kırmızısı (CR), krizamin-G (CG) ve kurkumin bileşikleri AH'nin tedavisinde kullanılan küçük molekül inhibitörleridir. Tez çalışması kapsamında bu bileşiklerin yapısal özelliklerinden yola çıkılarak, imin ve azo serileri olmak üzere 28 adet bileşiğin sentezi gerçekleştirilmiştir. İmin serisi bileşiklerin sentezi için; [1,1'-bifenil]-4,4'-diildimetanol bileşiği piridinyum klorokromat (PCC) ile oda sıcaklığında reaksiyona tabii tutularak [1,1'-bifenil]-4,4'-dikarbaldehit ara ürünü elde edilmiştir. Ara ürünün uygun aminler ile vereceği kondensasyon tepkimesi sonucunda imin türevleri

sentezlenmiştir. Azo serisi bileşikler ise, 4,4'-dinitrobifenil bileşiğinin baz varlığında uygun aminler ile verdiği redoks reaksiyonu sonucu tek basamakta elde edilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin yapıları spektroskopik yöntemle (IR, <sup>1</sup>H-NMR, LC/MS) ve elementel analiz ile aydınlatılmıştır. Bu bileşiklerin kolinesteraz (ChE) inhibisyonu (Ellman metodu) ve Aβ<sub>42</sub> agregasyon inhibisyonu (tiyoflavin T flüoresans testi) birlikte değerlendirilmiştir. Bileşiklerin dağılım katsayısı (Log P) ve asitlik sabiti (pKa) değerleri potansiyometrik titrasyon metodu ile hesaplanmıştır.

Sentezlenen bileşikler üzerinde gerçekleştirilen ChE inhibisyonu çalışmaları sonucunda, bileşiklerin AChE enzimine seçici etkili oldukları bulunmuştur. Referans bileşikler olarak kullanılan takrin ve galantamin ile kıyaslandığında, sentezlenen bileşikler içerisinde AChE'ye karşı en yüksek aktiviteyi **azo-14** kodlu bileşik (IC<sub>50</sub>= 5.77 ± 0.20 µM); butirikolinesteraza (BuChE) karşı en yüksek aktiviteyi ise **azo-11** kodlu bileşik (IC<sub>50</sub>= 2.72 ± 0.15 µM) sergilemiştir. Aβ<sub>42</sub> agregasyon inhibisyonu çalışmalarında, bileşiklerin 100 µM'daki % inhibisyon sonuçları % 6.55-78.39 aralığında gözlenmiştir. **Azo-9** kodlu bileşik, referans bileşik kurkumine yakın aktivite sergileyerek (100 µM'da % 78.39) Aβ agregasyon inhibisyonu üzerinde etkili bileşik olarak bulunmuştur. Azo serisi bileşikler, imin serisi bileşiklere kıyasla daha etkili bir Aβ agregasyon inhibisyonu profili sergilemiştir.

Son yıllarda anti-Alzheimer konusunda gerçekleştirilen çalışmalar çok hedefli tedavi stratejilerine yönelmenin, hastalığın ilerlemesinin engellenmesi ve tedavisinde olumlu sonuçlar doğurabileceği görüşünde birleşmiştir. Tez kapsamındaki bileşikler üzerinde gerçekleştirilen ChE ve Aβ agregasyon inhibisyonu etkinlikleri birlikte değerlendirildiğinde, azo serisi bileşiklerin çok hedefli ajanlar olarak etki gösterebileceği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Sözcükler:** Alzheimer Hastalığı; β-Amiloid; Sentez; Kolinesteraz inhibisyonu; Aβ agregasyon inhibisyonu

## ABSTRACT

### SYNTHESIS AND BIOACTIVITY STUDIES ON THE NEW $\beta$ -AMYLOID AGGREGATION INHIBITOR COMPOUNDS

Alzheimer's Disease (AD) is characterized by impaired memory, cognition and behavior. AD is a progressive and irreversible neurodegenerative disease and is the most common form of dementia. Dementia is one of the most common diseases in the elderly. AD is the fifth leading cause of death in the United States for aged 65 and older elderly population.

In the pathology of AD; extracellular plaques composed of beta amyloid ( $A\beta$ ) peptide, intracellular neurofibrillary tangles (NFT) consisting of abnormal phosphorylated tau protein, gliosis-inflammation as well as neuronal, synaptic and cholinergic loss play a role. According to the hypothesis, called "Amyloid Cascade Hypothesis", the main pathological event that initiates the disease is the accumulation of  $A\beta$ -peptide.

Currently, acetylcholinesterase (AChE) inhibitors (donepezil, rivastigmine and galantamine) and *N*-methyl-*D*-aspartate (NMDA) receptor antagonists (memantine) are used in the treatment of AD. Until now, no drug or application has succeeded in completely treating AD. Therapeutic strategies targeted against  $A\beta$  accumulation corresponding to the present symptomatic treatments are therefore carefully investigated. Among the most effective treatment strategies against this pathology is the inhibition of  $A\beta$  peptide. Rifampicin, congo red (CR), chrysamine-G (CG) and curcumin compounds which are reported to decrease  $A\beta$ -neurotoxicity, are small molecule inhibitors used in the treatment of AD. Based on the structural properties of these compounds, synthesis of 28 compounds in two series, imine and azo series, was carried out in the thesis study. For the synthesis of imine series compounds; [1,1'-biphenyl]-4,4'-diyldimethanol was reacted with pyridinium chlorochromate (PCC) at room temperature to give 4,4'-biphenyldialdehyde intermediate. The imine



derivatives were synthesized as a result of the condensation reaction of the intermediate with the appropriate amines. Azo series compounds were obtained in a single step in which the redox reaction of the 4,4'-dinitrobiphenyl compound with the appropriate amines in the presence of the base was carried out. The structures of the synthesized compounds were elucidated by spectroscopic methods (IR, <sup>1</sup>H-NMR, LC/MS) and elemental analysis. The cholinesterase (ChE) inhibition of these compounds (Ellman's test) and the inhibition of Aβ<sub>42</sub> aggregation (thioflavine T fluorescence assay) were evaluated together. The partition coefficient (Log P) and acid dissociation constant (pKa) of the compounds were calculated by potentiometric titration method.

As a result of the ChE inhibition studies on the obtained compounds, it was found that the compounds are selective for AChE enzyme. The highest activity against AChE in the synthesized compounds is the **azo-14** coded compound (IC<sub>50</sub> = 5.77 ± 0.20 μM) when compared to the tacrine and galantamine used as reference compounds; the highest activity against butyrylcholinesterase (BuChE) was the **azo-11** coded compound (IC<sub>50</sub> = 2.72 ± 0.15 μM). In the studies of inhibition of Aβ<sub>42</sub> aggregation, the % inhibition results of the compounds at 100 μM were observed in the range of 6.55-78.39 %. The **azo-9** coded compound was found to be the most effective compound on inhibition of Aβ aggregation (78.39 % at 100 μM) by exhibiting activity close to the reference compound curcumin. The azo series compounds exhibit a more effective Aβ aggregation inhibition profile than the imine series compounds.

In recent years, studies on anti-Alzheimer's have merged into the view that direction to multi-targeted treatment strategies may lead to positive outcomes in the prevention and treatment of disease progression. When the ChE and Aβ aggregation inhibition activities on the compounds in the thesis are evaluated together, it has been concluded that the azo series compounds can act as multi-targeted agents.

**Keywords:** Alzheimer's Disease; β-Amyloid; Synthesis; Cholinesterase inhibition; Aβ aggregation inhibition

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	7
I. ALZHEİMER HASTALIĞI.....	7
1. Alzheimer Hastalığının Patolojisi.....	7
1.1. Amiloid Prekürsör Protein.....	8
1.1.1. Non-Amiloidojenik Yolak.....	9
1.1.2. Amiloidojenik Yolak.....	10
1.2. $\beta$ -Amiloid Peptid.....	11
1.3. Senil Plak.....	12
1.4. Nörofibriler Yumak.....	12
2. Amiloid Agregasyonu.....	13
3. Amiloid Kaskad Hipotezi.....	14
4. Alzheimer Hastalığında Tedavi Stratejileri.....	15
4.1. A $\beta$ Hedefli Tedavi Stratejileri.....	18
4.1.1. A $\beta$ Üretimini Azaltmaya Yönelik Stratejiler.....	19
4.1.1.1. $\beta$ -Sekretaz İnhibitörleri.....	19
4.1.1.2. $\gamma$ -Sekretaz İnhibitörleri (GSI) ve Modülatörleri (GSM).....	20
4.1.1.3. $\alpha$ -Sekretaz Aktivatörleri.....	21
4.1.2. A $\beta$ 'nın Klerensini Desteklemeye Yönelik Stratejiler.....	21
4.1.2.1. Aktif İmmünizasyon.....	22
4.1.2.2. Pasif İmmünizasyon.....	23
4.1.3. A $\beta$ Agregasyonunu Önlemeye Yönelik Stratejiler.....	24
4.1.3.1. Non-peptidik Anti-agregat Bileşikleri.....	25
4.1.3.2. Metal Kompleks Ajanları.....	25
4.1.3.3. RAGE İnhibitörleri.....	26
4.1.4. Antiinflamasyona Yönelik Strateji.....	27
4.1.5. Kolesterol Homeostazının Modülasyonuna Yönelik Strateji.....	27

4.1.6. Nöroproteksiyona Yönelik Strateji.....	30
4.2. Kolinerjik Stratejiler.....	31
4.2.1. Kolinerjik Öncüler.....	31
4.2.2. AChE İnhibitörleri.....	31
4.2.3. Muskarinik Reseptörlerin Modülasyonu.....	33
4.2.4. Nikotinik Reseptörlerin Modülasyonu.....	33
4.2.5. Sinir Büyüme Faktörü.....	34
4.2.6. Nöral Transplantasyon ve Gen Tedavisi.....	35
4.3. Küçük Moleküller ile Tedavi Stratejileri.....	37
4.4. Çok Hedefli Tedavi Stratejileri.....	42
4.5. Pre-septomatik Tedavi Stratejileri.....	45
5. A $\beta$ Agregasyon İnhibitörleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar.....	47
6. A $\beta$ Agregasyona Karşı Etkili İnhibitörlerin Tasarımı ve Geliştirilmesi İçin Hesaplamalı Yaklaşımlar.....	61
<b>II. GENEL SENTEZ YÖNTEMLERİ.....</b>	<b>74</b>
1. İmin Bileşiklerinin Eldesi.....	74
2. Azo Bileşiklerinin Eldesi.....	83
<b>GEREÇ ve YÖNTEM.....</b>	<b>90</b>
1. Sentez Çalışmaları.....	90
1.1. Gereçler.....	90
1.2. Yöntemler.....	90
1.2.1. Kromatografik Analizler.....	90
1.2.2. Spektral Analizler.....	91
1.2.3. Erime Noktası Tayinleri.....	91
1.2.4. Kimyasal Sentez Yöntemleri.....	91
1.2.4.1. İmin Türevi Bileşiklerin Sentezi.....	91
1.2.4.2. Azo Türevi Bileşiklerin Sentezi.....	93
2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları.....	94
2.1. AChE/BuChE İnhibitör Aktivite Tayini.....	94
2.1.1. Gereçler.....	94
2.1.2. AChE/BuChE İnhibisyonunda Kullanılan Çözeltiler.....	94
2.1.2.1. Fosfat Tamponu <i>pH</i> 8.0.....	94
2.1.2.2. DTNB Çözeltisi (0.01 M).....	94
2.1.2.3. ATCI Çözeltisi (0.075 M).....	95

2.1.2.4. BTCİ Çözeltilisi (0.075 M).....	95
2.1.2.5. AChE/BuChE Çözeltilisi.....	95
2.1.3. Yöntem.....	95
2.2. A $\beta$ <sub>1-42</sub> Fibril Oluşumu Üzerindeki İnhibitör Aktivite Tayini.....	96
2.2.1. Gereçler.....	96
2.2.2. Yöntem.....	96
3. Dağılım Katsayısı Çalışmaları.....	97
3.1. Gereçler.....	97
3.2. Yöntem.....	97
4. Asitlik Sabiti Çalışmaları.....	97
4.1. Gereçler.....	97
4.2. Yöntem.....	98
<b>BULGULAR.....</b>	<b>99</b>
<b>1. Sentezi Gerçekleştirilen Bileşiklere Ait Spektral Bulgular.....</b>	<b>99</b>
1.1. Aldehit Türevi Ara Ürünün Spektral Bulguları.....	99
1.2. İmin Türevi Bileşiklerin Spektral Bulguları.....	102
1.2.1. İmin-1 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	102
1.2.2. İmin-2 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	106
1.2.3. İmin-3 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	110
1.2.4. İmin-4 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	113
1.2.5. İmin-5 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	116
1.2.6. İmin-6 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	120
1.2.7. İmin-7 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	124
1.2.8. İmin-8 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	128
1.2.9. İmin-9 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	132
1.2.10. İmin-10 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	136
1.2.11. İmin-11 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	140
1.2.12. İmin-12 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	144
1.2.13. İmin-13 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	148
1.2.14. İmin-14 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	157
1.3. Azo Türevi Bileşiklerin Spektral Bulguları.....	161
1.3.1. Azo-1 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	161
1.3.2. Azo-2 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	165
1.3.3. Azo-3 Kodlu Bileşiğin Spektral Bulguları.....	169

1.3.4. Azo-4 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	173
1.3.5. Azo-5 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	177
1.3.6. Azo-6 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	181
1.3.7. Azo-7 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	185
1.3.8. Azo-8 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	189
1.3.9. Azo-9 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	193
1.3.10. Azo-10 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	197
1.3.11. Azo-11 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	201
1.3.12. Azo-12 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	205
1.3.13. Azo-13 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	209
1.3.14. Azo-14 Kodlu Bileşimin Spektrel Bulguları.....	213
2. Biyolojik Aktivite Bulguları.....	217
3. Log P Bulguları.....	220
TARTIŞMA.....	221
I. Spektrel Bulguların Değerlendirilmesi.....	223
1. IR Bulgularının Değerlendirilmesi.....	223
2. Kütle Bulgularının Değerlendirilmesi.....	223
3. Elementel Analiz Bulgularının Değerlendirilmesi.....	224
4. <sup>1</sup> H-NMR Bulgularının Değerlendirilmesi.....	224
II. Biyolojik Aktivite Bulgularının Değerlendirilmesi.....	226
1. Kolinesteraz İnhibisyon Bulgularının Değerlendirilmesi.....	226
2. Aβ Agregasyon İnhibisyonu Bulgularının Değerlendirilmesi.....	228
III. Log P Bulgularının Değerlendirilmesi.....	229
IV. pKa Bulgularının Değerlendirilmesi.....	229
SONUÇ ve ÖNERİLER.....	230
KAYNAKLAR.....	233
ÖZGEÇMİŞ.....	262

## Tablolar, Şekiller Listesi

### Tablo Dizini

Tablo 1. A $\beta$ agregasyonuna ve plak oluşumuna karşı klinik çalışmaları sürdürülen ilaçlar.....	24
Tablo 2. A $\beta$ 'ya karşı doğrudan yönlendirilen çeşitli ilaçların klinik faz dönemleri.....	30
Tablo 3. Sentezlenen bileşiklerin kolinesteraz inhibisyon değerleri.....	218
Tablo 4. Sentezlenen bileşiklerin A $\beta$ agregasyonunun inhibisyon değerleri.....	219
Tablo 5. Sentezlenen bileşiklerin Log P değerleri.....	220

### Şekil Dizini

Şekil 1. Rifampisin bileşiğinin kimyasal yapısı.....	3
Şekil 2. CR bileşiğinin kimyasal yapısı.....	4
Şekil 3. Kurkumin bileşiğinin kimyasal yapısı.....	4
Şekil 4. CG bileşiğinin kimyasal yapısı.....	5
Şekil 5. Tasarlanan bileşiklerin genel kimyasal yapısı.....	6
Şekil 6. APP'nin ve nöronal zar üzerinde üç sekretazın şematik gösterimi.....	8
Şekil 7. Non-amiloidojenik ve amiloidojenik APP metabolizmasının şematik gösterimi.....	10
Şekil 8. (A) A $\beta$ 'nın birincil yapısı; (B) A $\beta$ <sub>1-42</sub> agregasyonunun ve ROS üretiminin varsayılan mekanizması.....	12
Şekil 9. Monomerdan çapraz $\beta$ katlanmış fibrillere doğru A $\beta$ agregasyonunun şematik gösterimi.....	14
Şekil 10. AH'de hücre ölümüne ve nörodejenerasyona yol açan olayların ilerlemesi.....	15
Şekil 11. FDA onaylı anti-Alzheimer ilaçlar.....	16
Şekil 12. AH'deki denemelerin, çeşitli terapötik hedefler ile birlikte gösterimi.....	16
Şekil 13. Amiloidle ilişkili potansiyel hedeflerin çeşitli tedavi stratejileriyle birlikte gösterimi.....	18
Şekil 14. A $\beta$ 'nın klerensini desteklemeye yönelik stratejiler.....	22
Şekil 15. Bazı non-peptidik anti-agregat bileşiklerinin kimyasal yapısı.....	25

Şekil 16. PBT2 bileşiğinin kimyasal yapısı.....	26
Şekil 17. Azeliragon (TTP488) bileşiğinin kimyasal yapısı.....	26
Şekil 18. Karvedilol bileşiğinin kimyasal yapısı.....	27
Şekil 19. 9a kodlu bileşiğin kimyasal yapısı.....	39
Şekil 20. (A) Aβ dimer modelinde 9a kodlu bileşiğin bağlanma modu; (B) Oktamer Aβ sterik fermuar modelinde 9a kodlu bileşiğin bağlanma modu.....	39
Şekil 21. (A) 1 kodlu bileşik; (B) Aβ dimer modelinde 1 kodlu bileşiğin bağlanma modu.....	40
Şekil 22. 2,5-Dikloro- <i>N</i> -(4-piperidinofenil)-3-tiyofensülfonamit bileşiğinin kimyasal yapısı.....	41
Şekil 23. $N^1, N^2$ -bis{5-[(4-dimetilamino)fenil]-1 <i>H</i> -pirazol-3-il}etan-1,2-diamin bileşiğinin kimyasal yapısı.....	42
Şekil 24. Tri-[2-(dimetilamino)propil]-4,4',4''-(1,3,5-triazin-2,3,6-triil)trioksitri benzoat bileşiğinin kimyasal yapısı .....	43
Şekil 25. 5d kodlu bileşiğin kimyasal yapısı.....	43
Şekil 26. 9 kodlu bileşiğin kimyasal yapısı.....	44
Şekil 27. 4 kodlu bileşiğin kimyasal yapısı.....	44
Şekil 28. TxAβ <sub>x-n</sub> 'in tasarımı.....	45
Şekil 29. 3b ve DUO3 kodlu bileşiklerin kimyasal yapısı.....	47
Şekil 30. 18C ve 20L kodlu bileşiklerin kimyasal yapısı.....	48
Şekil 31. [(-)-2] kodlu bileşiğin kimyasal yapısı.....	48
Şekil 32. 13b ve 15b kodlu bileşiğin kimyasal yapısı.....	49
Şekil 33. 14, 19 ve 26 kodlu bileşiklerin kimyasal yapısı.....	50
Şekil 34. 7e kodlu bileşiğin kimyasal yapısı.....	50
Şekil 35. 13k kodlu bileşiğin kimyasal yapısı.....	51
Şekil 36. 2a kodlu bileşiğin kimyasal yapısı.....	52
Şekil 37. 9a-d kodlu bileşiklerin kimyasal yapısı.....	52
Şekil 38. 9 ve 15b kodlu bileşiklerin kimyasal yapısı.....	53
Şekil 39. 3c kodlu bileşiğin kimyasal yapısı.....	54
Şekil 40. 26 ve 52 kodlu bileşiklerin kimyasal yapısı.....	54
Şekil 41. 7d kodlu bileşiğin kimyasal yapısı.....	55
Şekil 42. 7f kodlu bileşiğin kimyasal yapısı.....	56
Şekil 43. 5b kodlu bileşiğin kimyasal yapısı.....	56

Şekil 44. T-22 kodlu bileşiğin kimyasal yapısı.....	57
Şekil 45. 8e kodlu bileşiğin kimyasal yapısı.....	58
Şekil 46. 19 kodlu bileşiğin kimyasal yapısı.....	58
Şekil 47. 4x kodlu bileşiğin kimyasal yapısı.....	59
Şekil 48. 16d ve 19 kodlu bileşiklerin kimyasal yapısı.....	59
Şekil 49. 7l kodlu bileşiğin kimyasal yapısı.....	60
Şekil 50. 7f kodlu bileşiğin kimyasal yapısı.....	61
Şekil 51. Aβ fibril modelleri (A) pdb id: 2LMO; (B) pdb id: 2LMP ve (C) pdb id: 2M4J.....	64
Şekil 52. Amiloid fibril yapısının karakteristiğini özetleyen şematik diyagramlar.....	65
Şekil 53. Anti-paralel ve paralel β-tabakalarının diyagramları.....	66
Şekil 54. CR, <i>in vitro</i> ve hastadan türetilen Aβ fibril modelleri ile bağlanma bölgeleri.....	67
Şekil 55. Aβ'nın, CR'nin artan konsantrasyonları varlığında CD spektrumu.....	68
Şekil 56. Aβ'nın, CR'nin yokluğunda ve varlığında <sup>1</sup> H- <sup>15</sup> N HSQC NMR spektrumu.....	69
Şekil 57. Terminal gruplarının her beşinci peptid zincirine ligasyonu veya peptid zincirleri arasında interkalasyonu yoluyla amiloide bağlanan CR'nin varsayımsal modelleri.....	70
Şekil 58. Kurkumin, demetoksikurkumin ve bisdemetoksikurkumin bileşiklerinin kimyasal yapısı.....	71
Şekil 59. APP-28'e doklanmış kurkumin, demetoksikurkumin ve bisdemetoksikurkumin bileşiklerinin konformasyonu.....	72
Şekil 60. Kurkuminin (A) 72. yapısı ve (B) 195. yapısı ile APP-28 kalıntıları arasındaki etkileşimler.....	73
Şekil 61. Kondensasyon mekanizması.....	75
Şekil 62. Kondensasyon mekanizma örneği 1.....	76
Şekil 63. Kondensasyon mekanizma örneği 2.....	76
Şekil 64. Kondensasyon mekanizma örneği 3.....	76
Şekil 65. Kondensasyon mekanizma örneği 4.....	77
Şekil 66. Hidroaminasyon mekanizması.....	77
Şekil 67. Hidroaminasyon mekanizma örneği 1.....	78
Şekil 68. Hidroaminasyon mekanizma örneği 2.....	79



Şekil 69. Hidroaminasyon mekanizma örneği 3.....	79
Şekil 70. Pd katalizörlüğünde imin ve amin sentezi.....	80
Şekil 71. Molekül içi oksidatif aminasyon örneği.....	80
Şekil 72. Organokatalitik reaksiyon.....	81
Şekil 73. Hidroliz ve eliminasyon ile imin bileşiği eldesi.....	81
Şekil 74. Protonasyon, esterifikasyon ve fragmantasyon ile imin bileşiği eldesi.....	82
Şekil 75. Tek elektron transferine dayanan oksidasyon mekanizması.....	82
Şekil 76. Diazo reaksiyon mekanizması.....	83
Şekil 77. Azo kenetlenme mekanizması.....	84
Şekil 78. Mills reaksiyon mekanizması.....	85
Şekil 79. Wallach reaksiyon mekanizması.....	86
Şekil 80. Redüktif kenetlenme mekanizması.....	87
Şekil 81. Haber'in reaksiyon şeması.....	88
Şekil 82. Amin oksidasyon mekanizması.....	89
Şekil 83. [1,1'-bifenil]-4,4'-dikarbaldehit bileşiğinin sentezi.....	92
Şekil 84. İmin türevi bileşiklerin sentez şeması.....	92
Şekil 85. Azo türevi bileşiklerin sentez şeması.....	93
Şekil 86. İmin serisi bileşiklerin genel yapısı.....	222
Şekil 87. Azo serisi bileşiklerin genel yapısı.....	222
Şekil 88. İmin-13 ve azo-13 kodlu bileşiklerin numaralandırılmaları.....	224

## **Spektrum dizini**

Spektrum 1. İmin-a kodlu bileşiğin IR spektrumu.....	100
Spektrum 2. İmin-a kodlu bileşiğin kütle spektrumu .....	100
Spektrum 3. İmin-a kodlu bileşiğin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	101
Spektrum 4. İmin-1 kodlu bileşiğin IR spektrumu.....	103
Spektrum 5. İmin-1 kodlu bileşiğin kütle spektrumu .....	103
Spektrum 6. İmin-1 kodlu bileşiğin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	104
Spektrum 7. İmin-1 kodlu bileşiğin genişletilmiş <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	105
Spektrum 8. İmin-2 kodlu bileşiğin IR spektrumu.....	107
Spektrum 9. İmin-2 kodlu bileşiğin kütle spektrumu .....	107
Spektrum 10. İmin-2 kodlu bileşiğin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	108

Spektrum 11. İmin-2 kodlu bileşiğin genişletilmiş <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	109
Spektrum 12. İmin-3 kodlu bileşiğin IR spektrumu.....	111
Spektrum 13. İmin-3 kodlu bileşiğin kütle spektrumu.....	111
Spektrum 14. İmin-3 kodlu bileşiğin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	112
Spektrum 15. İmin-4 kodlu bileşiğin IR spektrumu.....	114
Spektrum 16. İmin-4 kodlu bileşiğin kütle spektrumu.....	114
Spektrum 17. İmin-4 kodlu bileşiğin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	115
Spektrum 18. İmin-5 kodlu bileşiğin IR spektrumu.....	117
Spektrum 19. İmin-5 kodlu bileşiğin kütle spektrumu.....	117
Spektrum 20. İmin-5 kodlu bileşiğin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	118
Spektrum 21. İmin-5 kodlu bileşiğin genişletilmiş <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	119
Spektrum 22. İmin-6 kodlu bileşiğin IR spektrumu.....	121
Spektrum 23. İmin-6 kodlu bileşiğin kütle spektrumu.....	121
Spektrum 24. İmin-6 kodlu bileşiğin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	122
Spektrum 25. İmin-6 kodlu bileşiğin genişletilmiş <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	123
Spektrum 26. İmin-7 kodlu bileşiğin IR spektrumu.....	125
Spektrum 27. İmin-7 kodlu bileşiğin kütle spektrumu.....	125
Spektrum 28. İmin-7 kodlu bileşiğin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	126
Spektrum 29. İmin-7 kodlu bileşiğin genişletilmiş <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	127
Spektrum 30. İmin-8 kodlu bileşiğin IR spektrumu.....	129
Spektrum 31. İmin-8 kodlu bileşiğin kütle spektrumu.....	129
Spektrum 32. İmin-8 kodlu bileşiğin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	130
Spektrum 33. İmin-8 kodlu bileşiğin genişletilmiş <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	131
Spektrum 34. İmin-9 kodlu bileşiğin IR spektrumu .....	133
Spektrum 35. İmin-9 kodlu bileşiğin kütle spektrumu .....	133
Spektrum 36. İmin-9 kodlu bileşiğin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	134
Spektrum 37. İmin-9 kodlu bileşiğin genişletilmiş <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....	135
Spektrum 38. İmin-10 kodlu bileşiğin IR spektrumu .....	137
Spektrum 39. İmin-10 kodlu bileşiğin kütle spektrumu .....	137
Spektrum 40. İmin-10 kodlu bileşiğin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....	138
Spektrum 41. İmin-10 kodlu bileşiğin genişletilmiş <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	139
Spektrum 42. İmin-11 kodlu bileşiğin IR spektrumu.....	141
Spektrum 43. İmin-11 kodlu bileşiğin kütle spektrumu.....	141

Spektrum 44. İmin-11 kodlu bileşiğın <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	142
Spektrum 45. İmin-11 kodlu bileşiğın genişletilmiş <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	143
Spektrum 46. İmin-12 kodlu bileşiğın IR spektrumu.....	145
Spektrum 47. İmin-12 kodlu bileşiğın kütle spektrumu.....	145
Spektrum 48. İmin-12 kodlu bileşiğın <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	146
Spektrum 49. İmin-12 kodlu bileşiğın genişletilmiş <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	147
Spektrum 50. İmin-13 kodlu bileşiğın IR spektrumu.....	149
Spektrum 51. İmin-13 kodlu bileşiğın kütle spektrumu.....	149
Spektrum 52. İmin-13 kodlu bileşiğın <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	150
Spektrum 53. İmin-13 kodlu bileşiğın genişletilmiş <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....	151
Spektrum 54. İmin-13 kodlu bileşiğın <sup>13</sup> C-NMR spektrumu.....	152
Spektrum 55. İmin-13 kodlu bileşiğın HSQC spektrumu.....	153
Spektrum 56. İmin-13 kodlu bileşiğın genişletilmiş HSQC spektrumu.....	154
Spektrum 57. İmin-13 kodlu bileşiğın HMBC spektrumu.....	155
Spektrum 58. İmin-13 kodlu bileşiğın genişletilmiş HMBC spektrumu.....	156
Spektrum 59. İmin-14 kodlu bileşiğın IR spektrumu.....	158
Spektrum 60. İmin-14 kodlu bileşiğın kütle spektrumu.....	158
Spektrum 61. İmin-14 kodlu bileşiğın <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	159
Spektrum 62. İmin-14 kodlu bileşiğın genişletilmiş <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	160
Spektrum 63. Azo-1 kodlu bileşiğın IR spektrumu.....	162
Spektrum 64. Azo-1 kodlu bileşiğın kütle spektrumu.....	162
Spektrum 65. Azo-1 kodlu bileşiğın <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	163
Spektrum 66. Azo-1 kodlu bileşiğın genişletilmiş <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	164
Spektrum 67. Azo-2 kodlu bileşiğın IR spektrumu.....	166
Spektrum 68. Azo-2 kodlu bileşiğın kütle spektrumu.....	166
Spektrum 69. Azo-2 kodlu bileşiğın <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	167
Spektrum 70. Azo-2 kodlu bileşiğın genişletilmiş <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	168
Spektrum 71. Azo-3 kodlu bileşiğın IR spektrumu.....	170
Spektrum 72. Azo-3 kodlu bileşiğın kütle spektrumu.....	170
Spektrum 73. Azo-3 kodlu bileşiğın <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	171
Spektrum 74. Azo-3 kodlu bileşiğın genişletilmiş <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	172
Spektrum 75. Azo-4 kodlu bileşiğın IR spektrumu.....	174
Spektrum 76. Azo-4 kodlu bileşiğın kütle spektrumu.....	174
Spektrum 77. Azo-4 kodlu bileşiğın <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	175

Spektrum 78. Azo-4 kodlu bileşimin genişletilmiş <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	176
Spektrum 79. Azo-5 kodlu bileşimin IR spektrumu.....	178
Spektrum 80. Azo-5 kodlu bileşimin kütle spektrumu.....	178
Spektrum 81. Azo-5 kodlu bileşimin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	179
Spektrum 82. Azo-5 kodlu bileşimin genişletilmiş <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....	180
Spektrum 83. Azo-6 kodlu bileşimin IR spektrumu.....	182
Spektrum 84. Azo-6 kodlu bileşimin kütle spektrumu.....	182
Spektrum 85. Azo-6 kodlu bileşimin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	183
Spektrum 86. Azo-6 kodlu bileşimin genişletilmiş <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	184
Spektrum 87. Azo-7 kodlu bileşimin IR spektrumu.....	186
Spektrum 88. Azo-7 kodlu bileşimin kütle spektrumu.....	186
Spektrum 89. Azo-7 kodlu bileşimin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	187
Spektrum 90. Azo-7 kodlu bileşimin genişletilmiş <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	188
Spektrum 91. Azo-8 kodlu bileşimin IR spektrumu.....	190
Spektrum 92. Azo-8 kodlu bileşimin kütle spektrumu.....	190
Spektrum 93. Azo-8 kodlu bileşimin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	191
Spektrum 94. Azo-8 kodlu bileşimin genişletilmiş <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	192
Spektrum 95. Azo-9 kodlu bileşimin IR spektrumu.....	194
Spektrum 96. Azo-9 kodlu bileşimin kütle spektrumu.....	194
Spektrum 97. Azo-9 kodlu bileşimin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	195
Spektrum 98. Azo-9 kodlu bileşimin genişletilmiş <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	196
Spektrum 99. Azo-10 kodlu bileşimin IR spektrumu.....	198
Spektrum 100. Azo-10 kodlu bileşimin kütle spektrumu.....	198
Spektrum 101. Azo-10 kodlu bileşimin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	199
Spektrum 102. Azo-10 kodlu bileşimin genişletilmiş <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	200
Spektrum 103. Azo-11 kodlu bileşimin IR spektrumu.....	202
Spektrum 104. Azo-11 kodlu bileşimin kütle spektrumu.....	202
Spektrum 105. Azo-11 kodlu bileşimin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	203
Spektrum 106. Azo-11 kodlu bileşimin genişletilmiş <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	204
Spektrum 107. Azo-12 kodlu bileşimin IR spektrumu.....	206
Spektrum 108. Azo-12 kodlu bileşimin kütle spektrumu.....	206
Spektrum 109. Azo-12 kodlu bileşimin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	207
Spektrum 110. Azo-12 kodlu bileşimin genişletilmiş <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	208
Spektrum 111. Azo-13 kodlu bileşimin IR spektrumu.....	210

Spektrum 112. Azo-13 kodlu bileşimin kütle spektrumu.....	210
Spektrum 113. Azo-13 kodlu bileşimin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	211
Spektrum 114. Azo-13 kodlu bileşimin genişletilmiş <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	212
Spektrum 115. Azo-14 kodlu bileşimin IR spektrumu.....	214
Spektrum 116. Azo-14 kodlu bileşimin kütle spektrumu.....	214
Spektrum 117. Azo-14 kodlu bileşimin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	215
Spektrum 118. Azo-14 kodlu bileşimin genişletilmiş <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	216

### Kısaltmalar listesi

FAD	Ailevi Alzheimer Hastalığı
Ala	Alanin aminoasidi
$\alpha$ -APP	Alfa amiloid öncül protein fragmanı
APL	Allosterik olarak güçlendirici ligand
AH	Alzheimer Hastalığı
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
A $\beta$	Amiloid beta
A $\beta$ <sub>40</sub>	40 aminoasit uzunluğundaki Amiloid beta
A $\beta$ <sub>42</sub>	42 aminoasit uzunluğundaki Amiloid beta
AICD	Amiloid intraselüler alan
APP	Amiloid öncül protein
BACE-1	Amiloid öncül proteini beta bölgesinden kesen enzim, $\beta$ -sekretaz
ApoE	Apolipoprotein E
ACh	Asetilkolin
AChE	Asetilkolinesteraz
ATCI	Asetiltiyokolin iyodür
ChAT	Asetilkolintransferaz enzimi
pKa	Asitlik sabiti
Asn	Asparajin aminoasidi
Asp	Aspartat aminoasidi
$\beta$ -APP	Beta amiloid öncül protein fragmanı
BOS	Beyin omurilik sıvısı
BuChE	Butirilkolinesteraz

BTCI	S-butirilkolin iyodür
CTF	C-terminal parçası
Log P	Dağılım katsayısı
CD	Dairesel dikroizm
DCM	Diklorometan
DMF	Dimetilformamit
DMSO	Dimetilsülfoksit
ADAM	Disintegrin metaloproteaz alan
DTNB	5,5'-ditiyobis(2-nitrobenzoik asit)
ESI	Elektro sprej iyonizasyon
EGCg	Epigallokateşin-3-gallat
FT-IR	Fourier transform-infrared
Glu	Glutamat aminoasidi
Gly	Glisin aminoasidi
Gln	Glutamin aminoasidi
MCI	Hafif kognitif bozukluk
PD	Hastadan türetilen
PrP <sup>c</sup>	Hüresel prion protein
RAGE	İleri glikozillenme son ürün reseptörü
İTK	İnce tabaka kromatografisi
IR	İnfrared
IC <sub>50</sub>	% 50 inhibisyon konsantrasyonu
HepG2	İnsan hepatoselüler karsinoma
SH-SY5Y	İnsan nöroblastom hücre hattı
IBX	<i>o</i> -İyodobenzoik asit
Ile	İzolösin aminoasidi
KBB	Kan beyin bariyeri
kDa	KiloDalton
ChE	Kolinesteraz
CR	Kongo kırmızısı
CG	Krizamin-G
KPI	Kunitz tipi proteaz inhibitörü
Lys	Lizin aminoasidi
Leu	Lösin aminoasidi

MSS	Merkezi sinir sistemi
Met	Metiyonin aminoasidi
MAO	Monoamim oksidaz
NSAID	Non-steroidal antiinflamatuvar ilaç
NFY	Nörofibriler yumak
PCC	Piridinyum klorokromat
PS1	Presenilin 1
PS2	Presenilin 2
PrP-res	Proteaza dayanıklı prion protein
PDB	Protein bilgi bankası
<sup>1</sup> H-NMR	Proton nükleer manyetik rezonans
PC12	Sıçan feokromositoma hücre hattı
GSI	$\gamma$ -Sekretaz inhibitörleri
GSM	$\gamma$ -Sekretaz modülatörleri
SP	Senil plak
NGF	Sinir büyüme faktörü
SDS-PAGE	Sodyum dodesil sülfat-poliakrilamit jel elektroforezi
SET	Tek elektron transferi
Tx	Trolox
TrkA	Tropomiyozin tirozin kinaz A
Val	Valin aminoasidi
HDL	Yüksek dansiteli lipoprotein

## GİRİŞ

AH, bellek, biliş ve davranışın ilerleyici bozulması ile karakterize bir hastalık olup dünya genelinde ~44 milyon insanı etkileyen demansın en yaygın şeklidir (1). Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde yaşlanan nüfusun artışının bir sonucu olarak, demans yaygınlığının daha da artması beklenmektedir. Tahminlere göre, demans görülme oranı Hindistan ve Sahra altı Afrika'da düşük iken Asya ve Latin Amerika'da daha yüksektir (2). 65 yaş üstü yaşlı nüfus için AH, Amerika Birleşik Devleti'nde ölüme neden olan hastalıklar arasında beşinci sıradadır. AH'nin, önde gelen ölüm nedenlerinden biri olmasının yanı sıra, engelliliğin ve morbiditenin de başlıca sebeplerindendir (3).

AH'nin patolojik ilerlemesi, prelinik AH, hafif kognitif bozukluk (MCI) ve demans olmak üzere üç aşama halinde tanımlanmıştır (4-6). *Prelinik AH* tanısı, biyolojik bir belirteç varlığını gerektirir (Apolipoprotein E4 (ApoE4) geni gibi bir risk faktörü varlığı, amiloid tarama, volumetrik hipokampal analiz, beyin omurilik sıvısında (BOS) tau ya da amiloid seviyeleri). Prelinik AH, tamamen asemptomatik olan, ancak AH gelişme riski altında olanlardan, *MCI* tanısını destekleyecek kadar şiddetli olmayan hafif bilişsel belirtilere sahip kişilerden oluşan bir spektrumdur. Bilişsel testlerde, bilişsel bozukluklar fark edilebilir ve kanıtlanabilir olduğunda, *MCI* tanısı konur. Ancak, hastalık kişinin günlük yaşam aktivitelerine önemli derecede müdahale edecek şiddette olmayıp, biyolojik bir belirteç varlığında "prodromal AH" (hafıza bozukluğu ile karakterize AH'nin en erken formu) olarak sınıflandırılabilir. *Demans* tanısı için ise bilişsel bozukluğa ek olarak, önemli derecede fonksiyonel bozulma gereklidir (7-9). Buna göre demans tedavisinde uygulanan stratejiler AH'nin bu üç aşamasına bağlı olarak değişecektir. Donepezil, rivastigmin ve galantamin gibi AH'nin tedavisinde hali hazırda piyasada bulunan ilaçlar, çeşitli yan etkilerinin yanı sıra sınırlı etkinliğe sahiptir (10, 11). Bu ilaçlar, biliş düzeyinde hafif iyileşmeler sağlar ve AH'nin ilerlemesini yalnızca birkaç aya kadar geciktirir. Bu nedenle, nörodejeneratif bozukluk ve buna bağlı gelişen yan etkilerin sebep olduğu sıkıntıları azaltmak için, bu hastalığın patolojisini anlamak arzu edilir (12).



AH'nin patolojisi; kolinerjik işlev bozukluğu, amiloid/tau toksisitesi ve oksidatif stres/mitokondriyal işlev bozukluğu gibi bir takım faktörlere dayandırılmıştır (13). AH'li beyinlerde ekstraselüler A $\beta$  peptid içeren plaklar, anormal fosforile edilmiş tau intraselüler NFY, gliyozis ve inflamasyonun yanı sıra nöronal, sinaptik ve kolinerjik kayıplar gibi birkaç farklı nöropatolojik özellik görülmektedir (1, 14-17). AH'de nöronların dejenerasyonunda mekanik bir rol oynadığı varsayılan senil plaklar (SP) ve NFY'ler araştırmaların odak noktasıdır (18). AH'nin bu nöropatolojik özellikleri bilhassa parietal ve temporal korteksler, hipokampus, entorinal korteks ve amigdala gibi bölgelerde belirgindir. Buna rağmen, AH'deki erken patolojik olaylardan birinin, bazal ön beyinde bulunan kolinerjik nöronların dejenerasyonu olduğu düşünülmektedir (19-24). Bu lezyonların AH'nin karakteristiği olan bilinç bozukluğu ve nöronal kayıp ile ilişkisi, beyinde A $\beta$  birikiminin hastalığa yol açtığı tespit edilen amiloid kaskad hipotezi de dahil olmak üzere birçok hipotezin temelini oluşturmuştur (25).

Son yıllarda amiloid kaskadın hedeflenmesi, yeni nöroterapötiklerin keşfedilmesi için cazip bir strateji olarak ortaya çıkmıştır. A $\beta$  türlerinin oluşumu, farklı derecelerde çözünürlük ve nörotoksisite ile demansa yol açan bilişteki kademeli düşüş ile ilişkilidir. Beyindeki A $\beta$  birikiminin önlenmesine yönelik yaygın olarak kullanılan iki yaklaşım vardır: (13)

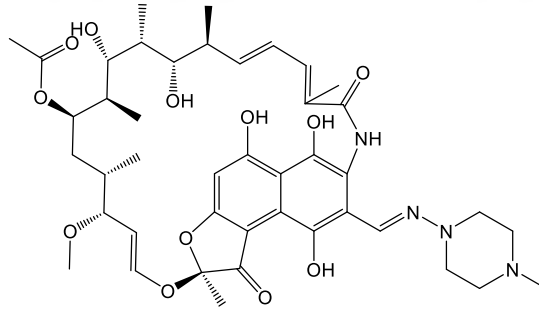
- (i)  $\beta$ -Sekretaz inhibitörlerinin geliştirilmesi
- (ii) A $\beta$  agregasyonuna yönelik doğrudan inhibitörlerin tasarlanması

Beyinde çözünür olmayan A $\beta$  birikimi, AH'nin patolojik bir işaretidir (26). A $\beta$  peptidi, amiloid prekürsör proteinin (APP) bazı enzimler aracılığıyla proteolitik bölünmesi sonucunda oluşur. Bu bölünme, A $\beta_{40}$  ve A $\beta_{42}$  olmak üzere iki ana izoform ile sonuçlanır. A $\beta_{40}$  daha bol miktarda bulunan izoform iken, A $\beta_{42}$  agregasyona daha eğilimli, toksik olan formdur (27). A $\beta$  agregatlarının, ayrıştırmaya ve çözünürlük sorununa karşı yüksek direnç gösteren son derece kararlı yapılar oldukları bildirilmiştir (28, 29). Dahası, A $\beta$  fibrillerinin aşırı düşük enerjili durumu, katlanma ve agregasyon sürecinin tam olarak anlaşılabilmesi için çalışmalarda ciddi bir kısıtlamaya sebep olmaktadır (28). Bu bağlamda çalışmalar, A $\beta$  monomerlerinin agregasyonunun yanı sıra bu agregatların parçalanmasına doğru yönelmiştir (12).

Küçük moleküllü inhibitörlerin birçoğunun, A $\beta$  agregasyonunu inhibe ettiğine dair çalışmalar mevcuttur (30). A $\beta$  agregasyonuna karşı hedeflenen herhangi bir

ilacın henüz piyasada bulunmadığı gerçeği göz önüne alındığında, A $\beta$  küçük molekül inhibitörlerinin keşfedilmesine yönelik çalışmalar önem kazanmıştır (12).

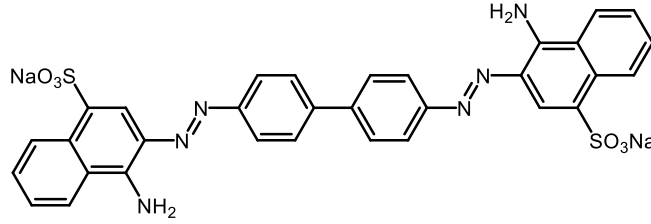
Tomiyama ve arkadaşları tarafından küçük molekülü inhibitör olan rifampisin ve türevlerinin, A $\beta$  agregasyonunu ve nörotoksitesini inhibe ettiği bulunmuştur (30). Çalışmaları takiben, araştırmacılar rifampisin  $\alpha$ -sinüklein gibi diğer amiloidojenik proteinlere karşı etkisini de incelemişlerdir (Şekil 1). Başka bir çalışmada rifampisin, *in vitro* olarak  $\alpha$ -sinüklein fibrilizasyonunu ve kültürü yapılmış hücrelerdeki oligomerizasyonu inhibe ettiği bulunmuştur (31, 32). Umeda ve arkadaşları tarafından, rifampisin A $\beta$ , tau ve  $\alpha$ -sinükleinin oligomer oluşumunu inhibe ettiği, bununla birlikte amiloid depozisyonunu azaltmada başarısız olduğu rapor edilmiştir. Bu araştırmalardan rifampisin, AH'nin patolojik sürecini önlemede çok yönlü bir etkiye sahip olduğu sonucuna varılmıştır (33). Lizuka ve arkadaşları tarafından rifampisin, belirli koşullar altında prelinik ve prodromal AH hastalarında koruyucu etkileri olduğu saptanmıştır (34). Rifampisin, AH ve diğer nörodejeneratif hastalıkların önlenmesinde oral olarak kullanılabilirliği, yan etkilerinin az olması ve nörotoksik oligomerlerin azaltılmasında etkinliğinin iyi olması sebepleriyle umut verici bir ilaç olarak karşımıza çıkmaktadır (33).



Şekil 1. Rifampisin bileşiğinin kimyasal yapısı

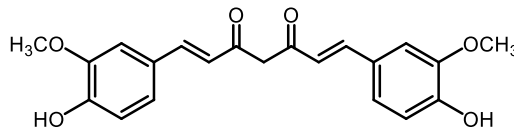
Tanısal amaçlı histopatolojide yaygın olarak kullanılan sülfonlanmış bir azo boyası olan CR'nin, fibril oluşumunu önleyerek veya önceden oluşturulmuş fibrillere bağlanarak peptidlerin sitotoksitesini inhibe ettiği bulunmuştur ve bu çalışmada CR, amiloide bağlanan ilk küçük molekül olarak rapor edilmiştir (Şekil 2) (26). Simetrik bir bileşik olan CR'nin merkezi bifenil halka sisteminde bulunan sülfonik asit grupları; bileşiğin yüksek iyonik karakterinden ve geçirgenliğinden sorumludur. CR'nin kan beyin bariyerinden (KBB) geçememesi ve oral olarak alındığında

benzidin ve türevlerine dönüşüp toksik etki göstermesi sebepleriyle uygun bir ilaç adayı olma olasılığı düşüktür (35).



Şekil 2. CR bileşiğinin kimyasal yapısı

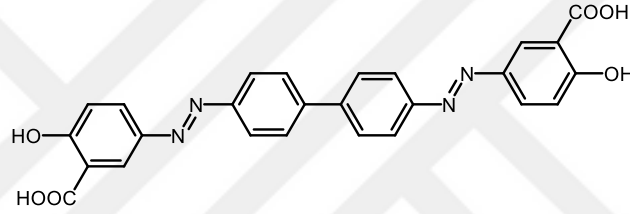
Zerdeçal olarak da bilinen kurkumin, *Curcuma longa* rizomasında doğal olarak bulunan sarı renkli bir pigmenttir (Şekil 3) (36). Kurkumin, iki fenolik fonksiyonel grubu ile konjuge  $\beta$ -diketon sistemiyle bağlanmış basit bir yapıya sahip olmakla birlikte, çeşitli biyolojik aktiviteler sergiler. Kurkumin, antiinflamatuvar, antioksidan, antikanser, antiHIV integras, antianjiyojenik ve antibakteriyel bir bileşiktir. Ayrıca, kurkumin AH patolojisi üzerinde inhibitör etkiye de sahiptir (37). KBB'ye nüfuz etme ve A $\beta$  oligomerlerine bağlanma kabiliyeti ile kayda değer bir bileşik olan kurkumin, A $\beta$  polimerizasyonunu ve beyinde AH'ye sebep olan plağın ileri derecede büyümesini inhibe eder (36). Fareler üzerinde gerçekleştirilen bir dizi deneysel çalışmada, Cole ve arkadaşları tarafından kurkuminin düşük dozlarda AH'yi önleyebileceği ve daha yüksek dozlarda AH'yi tedavi edebileceği ortaya koyulmuştur (38, 39). Kurkuminin terapötik aktivitelerinin yanı sıra, çözünürlüğünün ve stabilitesinin zayıf olması nedeniyle biyoyararlılığına bağlı olarak klinik kullanım için uygun değildir, bu nedenle kurkumin kaynaklı ilaç geliştirme çalışmaları devam etmektedir (40).



Şekil 3. Kurkumin bileşiğinin kimyasal yapısı

Amiloid yapılarını boyayan CG, CR'nin karboksilik asit analogudur (Şekil 4). Bu yapısal farklılık sonucunda CR'den yaklaşık 100 kat daha fazla lipofilik olan CG'nin, beyne daha iyi penetrasyon yaptığı gözlenmiştir. Bu özelliğiyle amiloid için *in vivo* prob olarak düşünülmüştür. CG ve CR, *in vivo* olarak amiloid birikimini

görüntüleme kullanılmıştır. CG, peptid zincirlerinin katyonik aminoasit kalıntılarıyla etkileşerek amiloide bağlanmıştır. Bu etkileşim için uygun hizalama, anti-paralel  $\beta$ -katlanmış fibrillerdeki peptid zincirleri arasındaki düzenli aralık ile sağlanır. Bir  $\beta$ -katlanmış fibrildeki her beşinci peptid zinciri arasındaki mesafe 19.0 Å [bitişik zincirler arasında 4 x 4.76 Å] iken, CG'nin karboksilik asit grupları arasındaki mesafe 19.1 Å'dur (41). Yapılan çalışmada CG'nin A $\beta$  toksisitesini inhibe etmesinin yanı sıra hücre ölümünü de önlediği bulunmuştur. CG'nin lipofilik doğası, bu sınıf amiloid bağlayıcı azo boyalarının AH için uygun birer terapötik aday olduğunu düşündürmüştür (42). CR ve CG gibi bileşikler amiloid yükünü azaltmak için terapötik ajanlar ve/veya A $\beta$  agregatlarına özgü görüntüleme ajanları olarak kullanılabilirler (18).

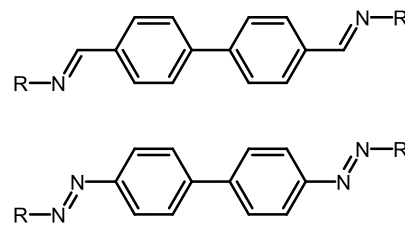


Şekil 4. CG bileşiğinin kimyasal yapısı

Yapılan bir çalışmada, CR'deki merkezi bifenil halka sisteminin düzlemselliğinin ya da bağ rotasyonunun inhibitör aktivite için gerekli olduğu sonucuna ulaşılmıştır (43). Amiloid fibril oluşumundaki aromatik etkileşimlerin rolü hakkındaki ilk hipotez, amiloid ilişkili proteinler ile kısa peptid fragmanlarında aromatik kalıntıların görülmesine ve aromatik kalıntıların etkileşmesine dayanmaktadır (44-49). Yapısal analiz çalışması, amiloidojenik insülin dimerinde CR'nin fenilalaninin aromatik kısmı ile etkileşime girdiğini göstermiştir (50). Aromatik etkileşimlerin, amiloidojenik eğilim üzerinde güçlü bir etkiye sahip olduğu gösterilmiş olup, bu etkileşimlerin anti-paralel  $\beta$ -katlanan yapıyı stabilize ettiği ortaya koyulmuştur (51). Ono ve arkadaşları tarafından, kurkuminin kompakt ve simetrik yapısının, serbest A $\beta$ 'nın spesifik bağlanması ve fibriler formda polimerizasyonunun inhibisyonu için uygun olabileceği önerilmiştir (52). Etkili olan tüm polifenol inhibitörlerinin, iki ile altı atomlu bağlayıcılar içeren en az iki fenolik halkadan ve aromatik halkalar üzerinde en az üç hidroksil grubundan oluştuğu gözlenmiştir (53).

Literatür verilerinden hareketle CR, kurkumin ve CG gibi A $\beta$  agregasyon inhibitörlerinin yapı-aktivite ilişkileri değerlendirilmiş olup, amiloid agregasyon inhibisyonunda etkili olabilecek bileşikler için önemli olan yapılar tespit edilmiştir. Bu bileşiklerin yapısal özellikleri değerlendirildiğinde en iyi inhibitör özellik gösteren ligandların, terminal aromatik halkaları arasındaki kritik mesafesinin 8 ila 16 Å uzunluğunda olan rijit moleküller olduğu görülmüştür (54). Rijit bağlayıcı içeren, her iki ucunda düzlemsel halka iskeleti bulunan küçük moleküllerin, agregasyona uğramış  $\beta$ -katlanan yapıya interkalasyon yaparak konformasyonel değişikliğe neden olduğu bilinmektedir (13). Özetle; molekülün düzlemselliğinin, merkezinde bulunan bifenil halka sisteminin, molekülün her iki ucunda bulunan aromatik halkaların ve bu aromatik halkalarda bulunan süstitüentlerin varlığının aktivite için gerekli olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Tez çalışması kapsamında, CR, kurkumin ve CG'nin kimyasal yapılarından yola çıkarak, A $\beta$  fibril üzerinde inhibisyon yaratacağı düşünülen bir grup A $\beta$ -peptid inhibitörü bileşiğin sentezlenmesi amaçlanmıştır. Bu bağlamda, moleküllerin merkezinde bifenil halka sisteminin rijit bağlayıcı olarak kullanılmasıyla, temel iki seri bileşik tasarlanmıştır (Şekil 5). Bu serilerden biri, bifenil halkasının her iki ucuna bağlı imin yapıları taşıırken, diğer seri her iki uçta azo yapıları taşımaktadır. İmin ve azo yapılarına, düzlemselliğin aktivite üzerine etkisini araştırmak amacıyla çeşitli halkalar ilave edilmiştir. Bu halkaların uçlarına da elektron akseptörü, donörü ya da hidrojen bağı oluşturabilme kapasitesine sahip atom ya da gruplar süstitüe edilmiştir. İnhibitör aktivite için gerekli olduğu düşünülen yapılar dikkate alınarak tasarlanan yeni bileşiklerin sentezlenmesi ve saf olarak elde edilmesinin ardından spektral yöntemlerle (IR, <sup>1</sup>H-NMR, kütle spektroskopisi) ve elementel analiz ile yapıları aydınlatılmıştır. Bu bileşiklerin A $\beta$  agregasyon inhibisyonuna etkileri (tiyoflavin T floresans testi) ve ChE inhibitör aktiviteleri (Ellman metodu) üzerine çalışılmış olup, fizikokimyasal parametrelerden Log P ve pKa değerleri saptanmıştır.



Şekil 5. Tasarlanan bileşiklerin genel kimyasal yapısı

## GENEL BİLGİLER

### I. ALZHEİMER HASTALIĞI

AH, ilk kez 1906 yılında Alman nöropsikiyatrist Alois Alzheimer tarafından tanımlanmıştır (55). Santral sinir sisteminin nörodejeneratif bir hastalığı olup, hafıza kaybına ve bilişsel işlevlerde bozulmaya neden olur (56). Birkaç farklı fenotipik ve genotipik ekspresyonu içeren heterojen bir bozukluk olan AH, orta-geç yetişkinlik dönemi boyunca ilerleyici kognitif bozulma ile karakterizedir (57-62). AH'nin ABD'deki prevalansı ve insidansı için 2017 yılında yayınlanan rapora göre; 65 yaş ve üzeri bireylerde tahminen 5,3 milyon kişi AH demansı ile yaşamakta olup, 2050 yılına kadar bu sayının 13,8 milyona çıkabileceği öngörülmüştür (63).

Nüfusun yaşlanması, yaşam süresinin uzaması ve etkili farmakoterapi seçeneklerinin olmaması gibi bir dizi faktöre bağlı olarak AH, dünyanın her yerinde toplum için ciddi ekonomik ve tıbbi baskı oluşturması nedeniyle büyük bir endişe kaynağıdır. Bugüne kadar hiçbir ilaç veya uygulama AH'yi tamamen tedavi etmede başarılı olamamıştır. Bu nedenle hastaların yaşam kalitesini iyileştirmek, tedavi maliyetlerini azaltmak ve yaşam sürelerini uzatmak için, hastalığın erken klinik tespiti çok önemlidir (13, 64-66).

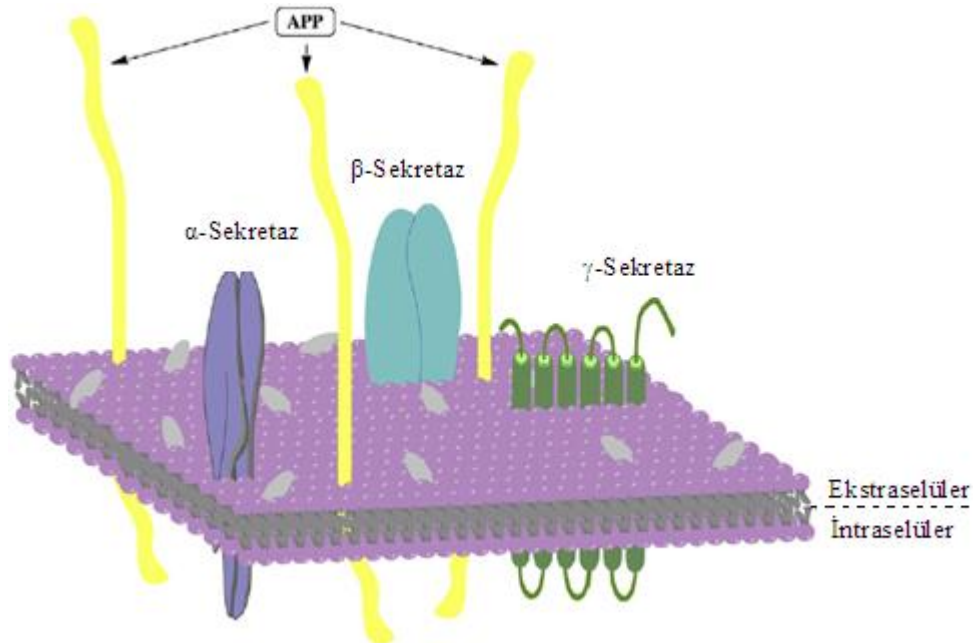
#### 1. Alzheimer Hastalığının Patolojisi

Proteinler, bütün yapısal formları ile organizmada en yüksek oranda bulunan makromoleküllerdir. Yaşamsal bütün olaylar, proteinlerin karmaşık katlanma düzenlemelerine dayanır. Bu karmaşık katlanan yapının yığılmasıyla, minör bozulmalardan çeşitli kompleks hastalıklara kadar organizmada bir çok değişiklik meydana gelir. Nörolojik bir bozukluk olan AH'nin patolojisinin özünde, proteinin yanlış katlanması bulunur. AH'nin klinik belirtileri kognitif bozukluklarla tanımlanırken, hafıza kaybının gözlenmesine yol açan nedenler yanlış katlanmış protein agregatlarının birikmesine bağlıdır (67-71). AH patolojisinde A $\beta$  ve NFY anahtar rol oynar (1). Bu moleküller, agregatlar oluşturarak ya da daha büyük olasılıkla oligomer yapılar halinde nörodejenerasyona yol açmaktadırlar. Bu

agregatlar, beyinde doğal olarak meydana gelen ve son derece önemli olan protein yapılarından türemiştir (13).

### 1.1. Amiloid Prekürsör Protein

A $\beta$  kaskadını ve onun AH patolojisi ile bağlantısını kavrayabilmek için, prekürsör proteinin işlevsel biyolojisini araştırmak gerekir. APP çoğunlukla nöronal dokunun sinaps çevresinde lokalize olan, oldukça korunmuş, ayrılmaz bir membran proteindir. Birincil rolü tam olarak anlaşılamasa da, nöronal plastisite ve sinaps oluşumu için çok önemlidir (72-73). 18 ekzonu mevcut olan APP geni, 21. kromozom üzerinde bulunur ve izoformları 365 ila 770 aminoasit uzunluğundadır (74-75). En yaygın izoformları arasında bulunan APP751 ve APP770 Kunitz tipi proteaz inhibitörü (KPI) içerirken, APP695 KPI bölgesi içermez (74, 76). APP'nin hücre zarına biyolojik olarak yerleşmesi, hücre içi C-terminali bölümüne kıyasla çok daha büyük bir ekstraselüler alan sağlar (Şekil 6). APP üzerindeki birincil proteolitik olaylar, ister *non-amiloidojenik* ister *amiloidojenik* olsun, bir dizi sekretaz enzimi tarafından kesilip işlenebilir (72, 77). Her iki APP metabolik yolağı da normal fizyolojinin bir parçası olup, amiloidojenik yolak AH patolojisi ile ilişkilidir. APP'nin metabolik yolağını olumsuz etkileyen birkaç "missense (kayıp) mutasyonu" tanımlanmış olup, bunlardan biri de ailesel AH (FAD) için presenilin mutasyonlarıdır (1, 76-78).



Şekil 6. APP'nin ve nöronal zar üzerinde üç sekretazın şematik gösterimi (13)

### 1.1.1. Non-amiloidojenik Yolak

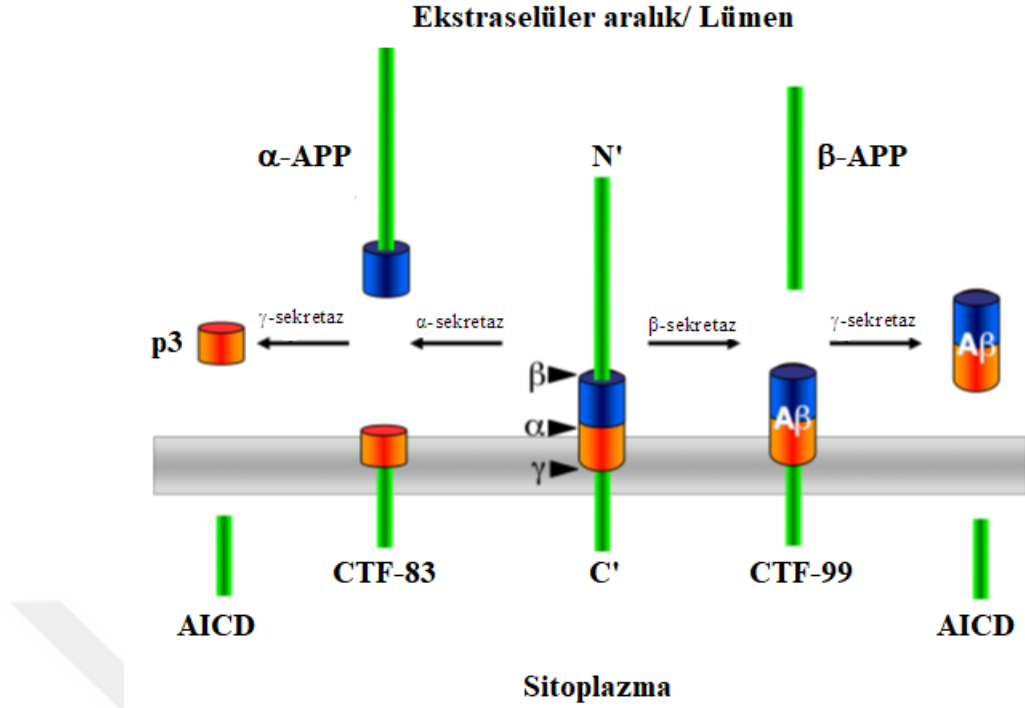
APP metabolizmasına bakıldığında bir  $\alpha$ -sekretaz ile başlatılan yolak, anti-veya non-amiloidojenik yolak olarak bilinir (Şekil 7). Agregasyona eğilimli olan amiloidojenik proteinlerin aksine, amiloidojenik olmayan kavramı agrega olmayan yapıyı ifade eder (79).

Disintegrin metaloproteaz alan (ADAM: a disintegrin and metalloprotease domain) olarak bahsedilen  $\alpha$ -sekretaz, geniş bir proteolitik protein grubunun parçasıdır. Bunlar membran bağlı, çok bölgeli metaloenzimler olup non-AH fizyolojisinde önemli rol oynamaktadır. Çoklu alt tiplerinden ADAM10, AH patolojisinde daha büyük önem taşır (80, 81). APP bölünme bölgesi, hücre zarı yüzeyine çok yakın olup, Lys-16 ve Leu-17 arasında oluşur. Böylece tam uzunlukta  $A\beta_{40/42}$  salınımını açıkça bozar.  $\alpha$ -Sekretaz proteolizinin sonucunda büyük, çözünebilir bir alfa APP fragmanı ( $\alpha$ -APP) ve membrana tutulan C-terminal fragmanı-83 (CTF-83) ekstraselüler aralığa salınır.  $\alpha$ -APP fragmanı, bundan başka sekretaz metabolizmasına tabii değildir (82, 83).

Bir  $\alpha$ -sekretazla ilk bölünmeyi takiben CTF-83, amiloid intraselüler alan (AICD: amyloid intracellular domain) fragmanı ve 3 kDa ağırlığında olan p3 fragmanının (aynı zamanda  $A\beta_{17-40/42}$  olarak da anılır) salınımları için  $\gamma$ -sekretaz tarafından işlenir, kesin mekanizmalar anlaşılmasa da, ikisinin de nöronal fonksiyon üzerine bazı biyolojik etkilere sahip oldukları düşünülmektedir (73, 82, 84).

Diğer sekretazlar gibi  $\gamma$ -sekretaz da bir transmembran proteolitik enzimdir; bununla birlikte, AH bölgesinin dışında birtakım kritik biyolojik rollere sahip daha büyük, multi-submit bir komplekstir. Daha önceki girişimlerde  $\gamma$ -sekretaz inhibitörlerinin kullanımı sonucunda advers etkiler gözlemlendiği için,  $\gamma$ -sekretaz istenen bir ilaç hedefi değildir;  $\gamma$ -sekretazın proteolitik aktivitelerini etkileyen çeşitli mutasyonlara duyarlı bileşen bölgesi (Presenilin-1 ve 2 gibi) olduğu bilinmektedir (74, 85-87).





Şekil 7. Non-amiloidojenik ve amiloidojenik APP metabolizmasının şematik gösterimi

### 1.1.2. Amiloidojenik Yolak

Alternatif APP metabolik yolağı  $\beta$ -sekretaz aracılığıyla başlatılır, ancak  $\gamma$ -sekretaz ile sonlanır (Şekil 7). Bu  $\beta/\gamma$ -sekretaz yolağına APP'nin amiloidojenik metabolizması denir,  $A\beta$ -peptidin salınması bu iki adımlı proteolitik sürecin bir sonucudur (78).

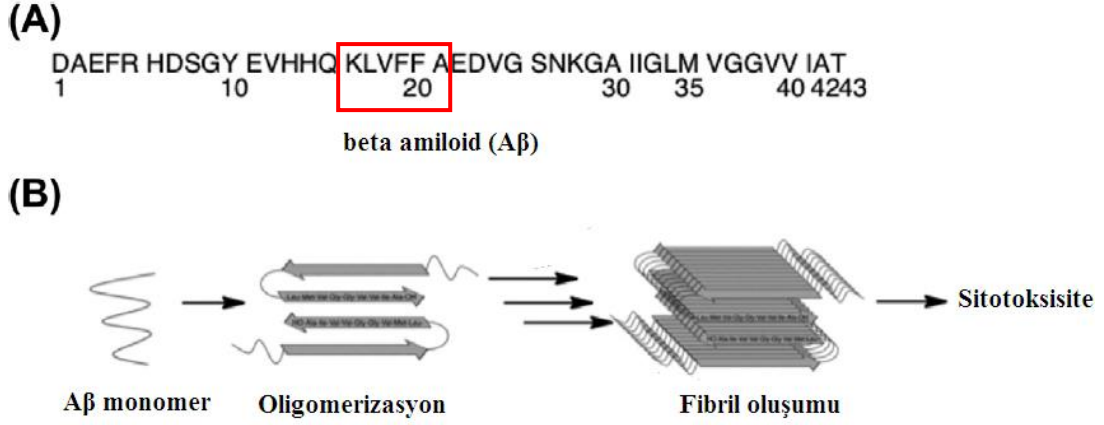
APP'yi  $\beta$  bölgesinden kesen enzim veya  $\beta$ -sekretaz (BACE-1) da  $\alpha$ -sekretaz gibi bir transmembran proteindir. Bölünmeden sorumlu, büyük bir N-terminal alanlı aspartil proteaz olarak sınıflandırılır. Ekstraselüler alanın ilginç bir özelliğı, substrat bağlama ve aktif bölge konformasyonunu yönetmek suretiyle proteolitik aktivitede önemli bir rol oynamasıdır (88, 89). Bu yolağın başlatıcısı olan BACE-1, AH tedavisinin geliştirilmesi için istenen bir hedeftir (90).

BACE-1 bölünmesinin sonucunda,  $\alpha$ -APP'lere kıyasla daha küçük fakat yine de nöroprotektif olan çözünür bir beta APP fragmanı ( $\beta$ -APP) ve N-terminal ucunda tam uzunlukta  $A\beta$ -peptidi taşıyan, membrana tutunan bir CTF-99 üretilir (74, 91). Çözünebilir  $\beta$ -APP'ler daha fazla proteolitik işleme tabi tutulmazken CTF-99, CTF-

83'te olduğu gibi, tam uzunlukta  $A\beta_{1-40/42}$  fragmanına benzer şekilde AICD fragmanı salınması için  $\gamma$ -sekretaz ile işlenir.  $\gamma$ -Sekretaz enzimi aynı zamanda, oluşan  $A\beta$  peptidinin uzunluğunu belirlemektedir (1, 92).

## 1.2. $\beta$ -amiloid Peptid

Beyinde çözümlü olmayan  $A\beta$  depozisyonu AH'nin patolojik bir işaretidir (26).  $A\beta$  peptidi, APP'nin  $\beta$  ve  $\gamma$ -sekretaz tarafından proteolitik bölünmesi sonucunda, çözümlü metabolik bir ürün olarak üretilir (26, 93).  $A\beta$ , agregasyona oldukça eğilimli ve nörotoksik bir peptittir, 39-43 aminoasitten oluşur (Şekil 8A). En iyi bilinen  $A\beta$  türleri, sırasıyla 40 ve 42 aminoasitten oluşan,  $A\beta_{1-40}$  ve  $A\beta_{1-42}$ 'dir. Birçok çalışmada,  $A\beta_{1-42}$ 'nin  $A\beta_{1-40}$ 'tan agregasyona daha fazla eğilim sergilediği ve AH ile ilişkili amiloid plak depozisyonuna yol açan oligomerleri ve fibrilleri oluşturduğu ileri sürülmektedir (94, 95).  $A\beta_{1-42}$ ,  $A\beta_{1-40}$ 'a kıyasla C-terminalinde (Ile ve Ala) iki ek hidrofobik kalıntıya sahiptir, bu yapısal fark  $A\beta_{1-42}$ 'nin hidrofobik birleşme yoluyla kendiliğinden agregasyonunu hızlandırabilir ve amiloid fibrillerin altta yatan ikincil yapılarını oluşturan  $\beta$ -katlanma yapılarının oluşumunu kolaylaştırır (Şekil 8B) (96, 97). Bu nedenle,  $A\beta_{1-42}$ 'nin AH patolojisi ile en sık bağlantı kurulan  $A\beta$  türü olduğu düşünülür (98). Ek olarak, AH etiolojisinde  $A\beta_{1-42}$ 'den daha fazla agregasyon eğilimi ve nörotoksisite gösteren  $A\beta_{1-43}$ 'ün de kritik katılımı kısa süre önce rapor edilmiştir (99, 100). Bu bağlamda,  $A\beta$ 'nin C-terminali, amiloid fibril oluşumunda ve ardından nörotoksisiteden sorumlu plak depozisyonunda önemli bir rol oynamaktadır (101).



Şekil 8. (A) A $\beta$ 'nin birincil yapısı; (B) A $\beta$ <sub>1-42</sub> agregasyonun varsayılan mekanizması

Agregasyonun nükleasyon bölgesi olarak kabul edilen A $\beta$  fragmanı içerisindeki anahtar bölge, K<sub>16</sub>LVFFA<sub>21</sub> bölgesi olarak bilinir. Bu heksapeptid diziliminin, monomer-monomer dinamiklerini kolaylaştırdığı, sterik bir fermuar (zipper) gibi hareket ettiği, dimer oluşumuna ve sonuç olarak daha büyük agregatlara yol açtığı düşünülmektedir (13).

### 1.3. Senil Plak (SP)

SP'ler, AH'de en belirgin olarak görülen ekstraselüler amiloid depozitlerdir, ancak normal yaşlanmada da görülür (102). En büyük transmembran olan APP771'den türeyen, 6-10 nm genişliğindeki filamentler 39-42 aminoasitlik A $\beta$  proteini içerir (103, 104). SP'nin morfolojisi ve büyüklüğü oldukça değişken olup farklı bölgelere (frontal korteks, entorinal korteks, subikulum) bağlıdır (105). Nöritik SP, A $\beta$  plak çekirdeğini çevreleyen distrofik nöritleri (dendritler ve aksonal terminaller) içerir. Amiloid depozit üretilmesinde distrofik nöritlerin birincil rolü sorgulanmış ve tau-immünreaktif distrofik nöritlerin, SP'nin en erken evresi olabileceği bulunmuştur. AH'nin kesin tanısında serebral neokortekste bol veya orta yoğunlukta SP varlığı gereklidir (105).

### 1.4. Nörofibriler Yumak

Tau, normal olgun bir nöronun majör mikrotübüle bağlı proteinidir. İnsan beyinde altı farklı izoformu bulunan tau, 17. kromozom üzerinde tek bir gen

tarafından kodlanır. Bir fosfoprotein olan tau, t b linin mikrotübüllere düzenlenmesinde ve stabilizasyonunda rol alır. AH'de ve tauopatilerde, tau proteini anormal olarak hiperfosforilizasyona uğramış ve filament demetleri halinde agrega olmuştur. AH'li beyinde tau patolojisi, çift helikal filamentlerin intranöronal NFY'si olarak görülür. Anormal olarak hiperfosforile edilmiş filamentlerin agregatları, distrofik n ritlerde ve n ropillerde de görülebilir. Anormal olarak hiperfosforile edilmiş taunun nörofibriler dejenerasyonu, AH'nin ve ilgili tauopatilerin klinik olarak ekspresyonu için gereklidir (106). Tau hiperfosforilizasyonunda, protein kinazların ve protein fosfatazların rol oynadığı düşünülmektedir (107).

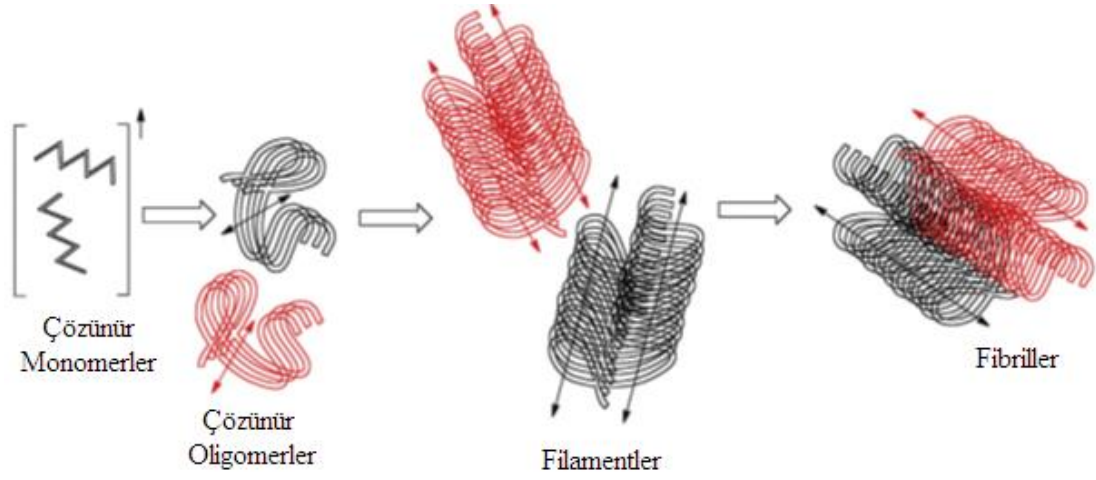
## 2. Amiloid Agregasyonu

Tam uzunluktaki A $\beta$  fragmanının amiloidojenik APP metabolik yolağı aracılığıyla salınımı, n rofizyolojinin normal bir sonucudur (108, 109). APP metabolizması, öncelikle non-amiloidojenikten, amiloidojenik olana doğru değişir (110). APP yükündeki hızlı artış, AH'nin erken evrelerinde ortaya çıkan bir sonuç olup konsantrasyonun artması AH'de gözlemlenen proteopatiyi yönlendirmektedir (13).

A $\beta$ 'yı AH patolojisi ile ilişkilendiren karakteri, çözünebilir formdaki A $\beta$  monomerlerinin yanlış katlanma düzenine maruz kalma kabiliyetidir. A $\beta_{40}$  ve A $\beta_{42}$ 'nin agregasyon özellikleri aynı olmakla birlikte, A $\beta_{42}$ 'deki ilave aminoasitlerin varlığı ve agregasyon hızı sebebiyle agregasyon kinetikleri farklıdır. Bazı alışmalar, her iki türün varlığının, daha büyük toksisiteye sahip melez agregatlar üretebileceğini göstermektedir (111, 112).

Bu A $\beta$  agregatlarının oligomerik yapıları doğada çözünmekte olup tüm agregat formlarının en toksikleridir. Bu oligomerlerin olgunlaşması, amiloid tipi agregatlara dayandırılan anti-paralel, çapraz  $\beta$ -katlanmış oluşumunu üstlenen fibriller oluşturmak üzere bir araya gelen filamentler üretir (Şekil 9) (13, 113).

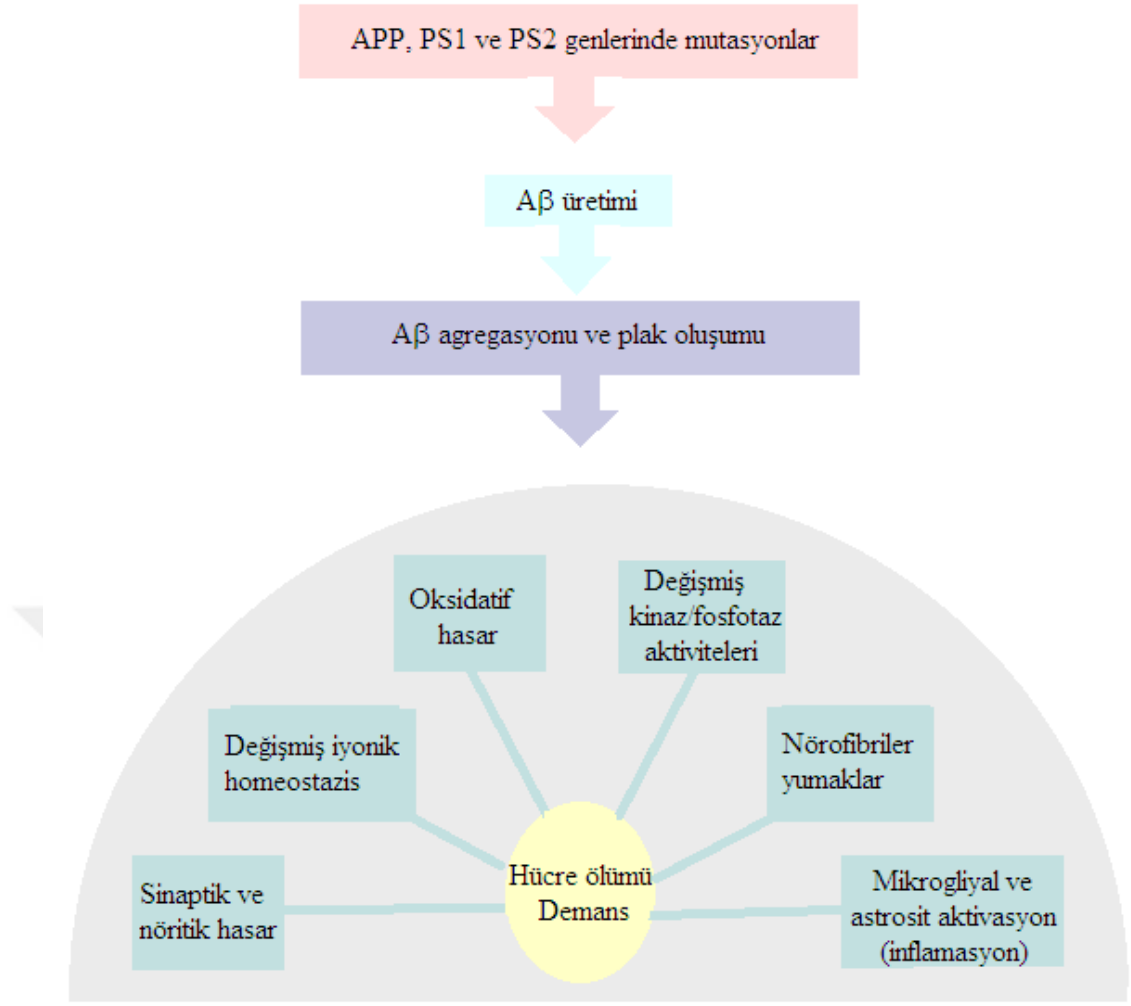
Çeşitli agregat formlarının karışımını içeren yoğun plak kümeleri A $\beta$  agregatlarının nihai morfolojisidir ve bu plaklar bol miktarda agregat türleri için toplanma yeri olarak düşünülebilir (13).



Şekil 9. Monomerden çapraz  $\beta$  katlanmış fibrillere doğru A $\beta$  agregasyonunun şematik gösterimi (13)

### 3. Amiloid Kaskad Hipotezi

AH hastalarının beyinde A $\beta$ 'nin aşırı üretilmesine ve daha sonra plakların oluşumuna neden olan APP ve presenilin genlerindeki (PS1 ve PS2) mutasyonlar, APP sürecini etkiler. Hem ekstraselüler hem de intraselüler A $\beta$  depozitleri, sonunda nörodejenerasyon ve hücre ölümüne yol açan kaskad olaylarını tetikler (114). "Amiloid Kaskad Hipotezi" olarak adlandırılan hipoteze göre; A $\beta$ 'nin birikimi AH'de ana patolojik olay olup, NFY'yi oluşturan hiperfosforile tau proteininin birikimi, sinaptik dejenerasyon, nöronal hücre ölümü ve demans gibi bir dizi ikincil nöropatolojik değişikliğe yol açar (Şekil 10). Bunların arasında, beyinde NFY'leri oluşturan hiperfosforillenmiş tau proteininin intraselüler birikimi ile birlikte toksik plakları oluşturan A $\beta$  ekstraselüler depozitleri AH'nin başlıca patolojik işaretleri olarak sayılmıştır. Beyin NFY'lerinde tau birikiminin, A $\beta$  plaklarının birikmesinin bir sonucu olduğu düşünülmüştür (115-117). Ayrıca, apoE lokusunda genetik varyasyonların patojenik rolünün A $\beta$  metabolizmasını da içerdiği rapor edilmiştir (118). A $\beta$ 'nin parçalanması ve klerensini (plazma antikorları tarafından A $\beta$ 'nin uzaklaştırılması) içeren bir dizi genetik varyasyon AH gelişim riski ile ilişkilendirilmiştir (119). Böylece amiloid kaskad hipotezi, A $\beta$ 'nin serebral birikiminin AH gelişiminde ana patolojik tetikleyici olduğunu gösterirken; tau yumaklarının oluşumu gibi ikincil değişiklikler, A $\beta$  üretimi ve klerensi arasındaki dengesizliğin bir sonucudur (12).

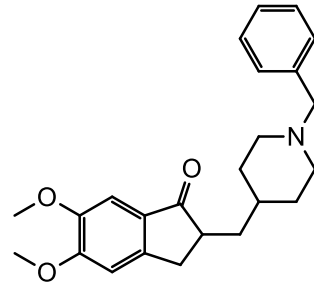


Amiloid Kaskad Hipotezi

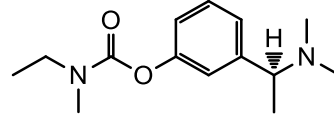
Şekil 10. AH'de hücre ölümüne ve nörodejenerasyona yol açan olayların ilerlemesi (12)

#### 4. Alzheimer Hastalığında Tedavi Stratejileri

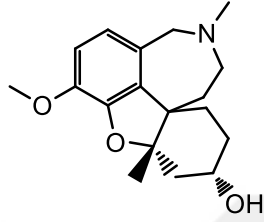
AH, sınırlı etkin terapötik yaklaşımlara bağlı olarak, bireysel sağlık ve sosyal ekonomi için büyük bir yük teşkil etmektedir. Çeşitli potansiyel hedeflerin varlığına rağmen Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA, USA) onaylı ilaçlar, sadece AChE inhibitörleri (donepezil, rivastigmin ve galantamin) ve NMDA reseptör antagonistleri (memantin) ile sınırlıdır (Şekil 11) (120, 121). Bu FDA onaylı ilaçların, AH'nin ilerlemesini yavaşlatmakta beklendiği kadar etkili olmadığı bildirilmiştir (122). Bu nedenle, AH'nin tanımlanmış diğer hedeflerine yönelik yeni ilaçlara acilen ihtiyaç duyulmaktadır (Şekil 12) (12).



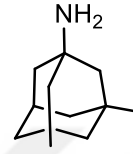
Donepezil



Rivastigmin

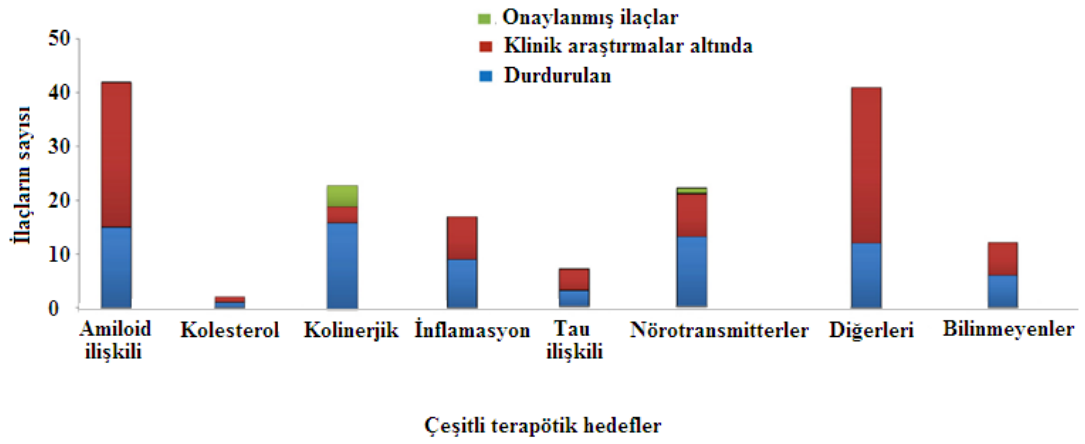


Galantamin



Memantin

Şekil 11. FDA onaylı anti-Alzheimer ilaçları



Şekil 12. AH'deki denemelerin, çeşitli terapötik hedefler ile birlikte gösterimi (12)

AH'nin tedavisinde kullanılan tedavi stratejileri aşağıda listelenmiştir.

#### **4.1. A $\beta$ Hedefli Tedavi Stratejileri**

##### **4.1.1. A $\beta$ Üretimini Azaltmaya Yönelik Stratejiler**

###### **4.1.1.1. $\beta$ -Sekretaz İnhibitörleri**

###### **4.1.1.2. $\gamma$ -Sekretaz İnhibitörleri (GSI) ve Modülatörleri (GSM)**

###### **4.1.1.3. $\alpha$ -Sekretaz Aktivatörü**

##### **4.1.2. A $\beta$ 'nin Klerensini Desteklemeye Yönelik Stratejiler**

###### **4.1.2.1. Aktif İmmünizasyon**

###### **4.1.2.2. Pasif İmmünizasyon**

##### **4.1.3. A $\beta$ Agregasyonunu Önlemeye Yönelik Stratejiler**

###### **4.1.3.1. Non-peptidik Anti-agregat Bileşikleri**

###### **4.1.3.2. Metal Kompleks Ajanları**

###### **4.1.3.3. RAGE İnhibitörleri**

##### **4.1.4. Antiinflamasyona Yönelik Strateji**

##### **4.1.5. Nöroproteksiyona Yönelik Strateji**

##### **4.1.6. Kolesterol Homeostazının Modülasyonuna Yönelik Strateji**

#### **4.2. Kolinerjik Stratejiler**

##### **4.2.1. Kolinerjik Öncüler**

##### **4.2.2. AChE İnhibitörleri**

##### **4.2.3. Muskarinik Reseptörlerin Modülasyonuna Yönelik Strateji**

##### **4.2.4. Nikotinik Reseptörlerin Modülasyonuna Yönelik Strateji**

##### **4.2.5. Sinir Büyüme Faktörü**

##### **4.2.6. Nöral Transplantasyon ve Gen Tedavisine Yönelik Strateji**

#### **4.3. Küçük Moleküller ile Tedavi Stratejileri**

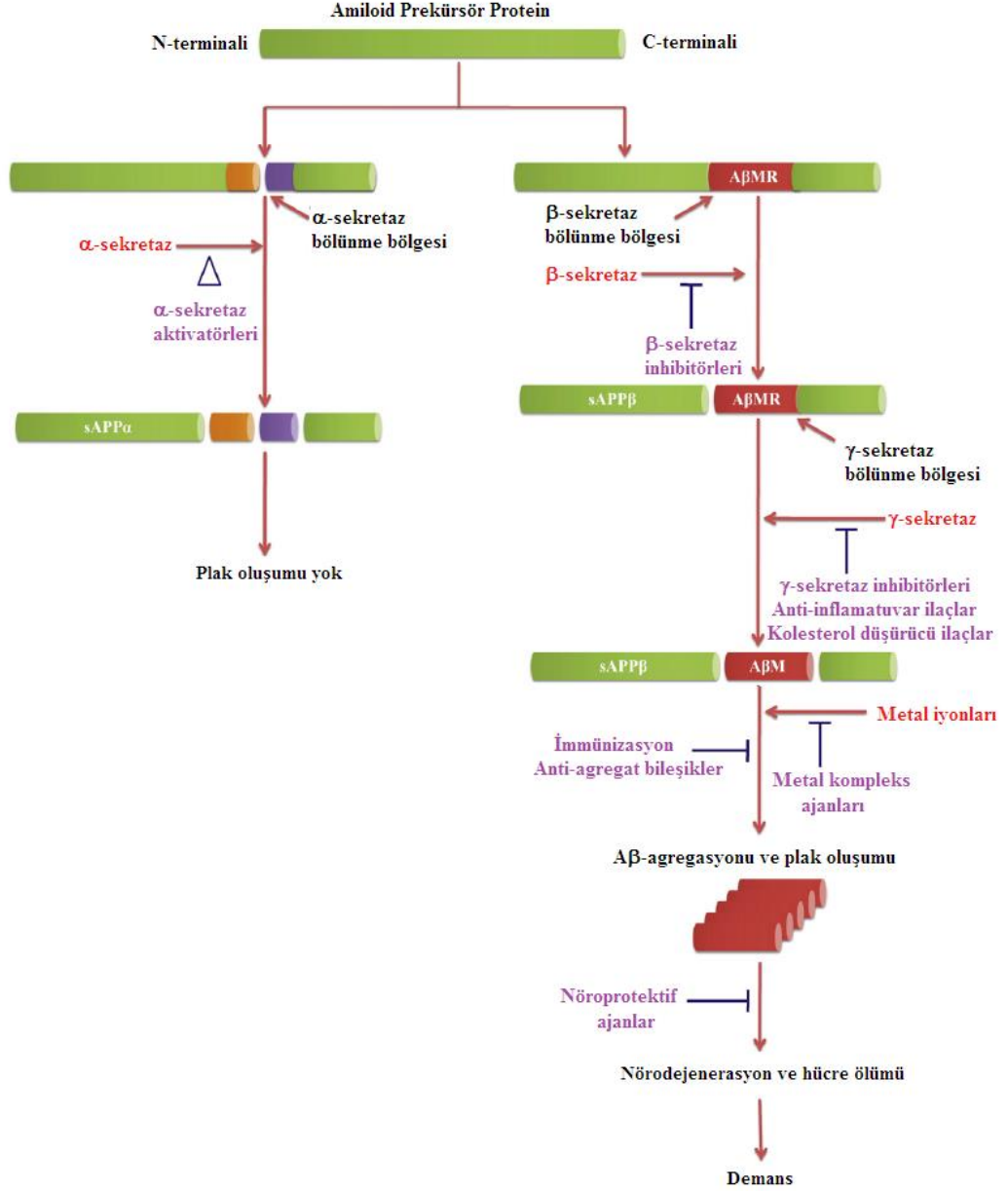
#### **4.4. Çok Hedefli Tedavi Stratejileri**

#### **4.5. Pre-semptomatik Tedavi Stratejileri**



#### 4.1. A $\beta$ Hedefli Tedavi Stratejileri

AH'nin tedavisinde amiloid ilişkili çeşitli hedeflere yönelik altı farklı potansiyel tedavi stratejisi Şekil 13'te gösterilmektedir (12).



Şekil 13. Amiloidle ilişkili potansiyel hedeflerin çeşitli tedavi stratejileriyle birlikte gösterimi (12)

#### 4.1.1. A $\beta$ Üretimini Azaltmaya Yönelik Stratejiler

A $\beta$  üretimi, APP'den A $\beta$  üreten  $\beta$ -sekretaz ve  $\gamma$ -sekretaz ile A $\beta$  bölgesi içinde APP'yi bölen  $\alpha$ -sekretaz olmak üzere üç APP işleme enziminin aktiviteleri değiştirilerek azaltılabilir. Böylece daha uzun bir C-terminal fragmanı meydana gelir. Bu üç proteaz, AH'ye karşı bir ilacın geliştirilmesinde önemli terapötik hedefler olarak düşünülmüştür. Temel prensip,  $\alpha$ -sekretazı aktive ederken  $\beta$ -sekretaz veya  $\gamma$ -sekretazı inhibe etmektir (12).

##### 4.1.1.1. $\beta$ -Sekretaz İnhibitörleri

AH hastaları üzerindeki nöropsikolojik çalışmalar ve AH beyin dokusunun ölüm sonrası analizi yoluyla oldukça fazla bilgiye ulaşılmaktadır. Ancak, hastalığın daha iyi anlaşılabilmesi adına geçerli bir hayvan modelinin oluşturulması AH'de gözlenen bilişsel ve nöropatolojik eksikliklerin tespiti için önemli bir adımdır. AH için daha uygun hayvan modellerinin geliştirilmesi, bu hastalığın altında yatan bilişsel eksikliklerde kolinerjik bazal ön beyin nöronlarının fonksiyonel rolü hakkında daha net bir anlayış geliştirmeye beraber, bu tür modellerin bu eksiklikleri tersine çevirmek, geciktirmek hatta önlemek için yeni tedavi stratejilerinin potansiyel yararlılığını daha iyi değerlendirmemize olanak sağlayacağı düşünülmektedir. Bu kapsamda transgenik modellerin büyük çoğunluğunda APP ve/veya PS1 veya PS2'yi aşırı eksprese edilen fareler kullanılmaktadır. Bu üç genin her birindeki mutasyon, otozomal dominant ailevi AH'ye (FAD) neden olur. Bu transgenik fareler, amiloid birikintileri ve amiloid plakları, nörotik distrofi ve reaktif astrositoz ve mikrogliyoz da dahil olmak üzere AH'yi uyaran nörokimyasal ve yapısal anormallikler dizisi sergilerler. Ayrıca, hastalığın ayırıcı özelliği olan yaygın nöron kaybı da bu farelerde gözlenmiştir (123).

BACE1, APP'nin ilk bölünmesinden sorumlu bir aspartil proteaz olup, ardından  $\gamma$ -sekretaz ile bölünmesinin sonra A $\beta$  üretiminin artmasına neden olur (124). Bir APP transgenik fare modelinde  $\beta$ -sekretaz inhibisyonu, hafıza eksikliğini gidermiş ve kolinerjik disfonksiyonu önlemiştir (125). Dahası, BACE1 knock-out fareleri,  $\beta$ -sekretaz inhibisyonu ve A $\beta$  azalması arasında doğrudan bir korelasyon ortaya koyarak,  $\beta$ -sekretazın güvenli bir terapötik yaklaşım olarak hedeflendiğini

düşündürmektedir (126). BACE1 eksikliği olan bu fenotip fare modelinin uygulanabilirliğinin yüksek oluşuna rağmen, ileri araştırmalar  $\beta$ -sekretazın uzun süreli inhibisyonunun hipomyelinizasyona ve davranışsal bozukluklara neden olduğunu ortaya koymuştur. (127, 128). Bu yan etkilere, nörogulin-1 gibi, BACE1 tarafından işlenen diğer substratlar neden olmaktadır.  $\beta$ -Sekretazın güçlü inhibitörleri olarak aktif ve KBB'ye penetrasyon kabiliyetine sahip olan bileşiklerin tanımlanması için terapötik moleküller araştırılmaktadır (12).

#### 4.1.1.2. $\gamma$ -Sekretaz İnhibitörleri (GSİ) ve Modulatörleri (GSM)

Bir transmembran proteazı olan  $\gamma$ -sekretaz,  $A\beta$ 'nin üretilmesine yol açan  $\beta$ -sekretazın bölünmesini izleyen APP'nin nihai bölünmesinden sorumlu olduğu için AH'de potansiyel terapötik hedef olarak önerilmektedir (129).  $\gamma$ -Sekretaz, APP sürecine ilaveten, birçok nöronal substratı da içeren elliden fazla farklı substratı etkileyen bir dizi fizyolojik süreçle ilgilidir (130).  $\gamma$ -Sekretaz tarafından işlenen ana substratlardan bir tanesi Notch hücre içi alanını (NICD) çekirdeğe salarak hücre gelişimi, sağkalımı ve ölümü tespitleri sürecini etkileyen genleri düzenleyen Notch 1'i içerir (131). Bu bağlamda GSİ, hematolojik ve gastrointestinal toksisite, cilt reaksiyonları ve saç renginde değişiklikler gibi çeşitli Notch ile ilişkili kusurlara ve anormalilere neden olabilir (132-135). Bu bileşiklerin çoğunun Notch sinyal proteinlerini ve diğer hücre yüzeyi reseptörlerini bozarak yan etkilere yol açması nedeniyle,  $\gamma$ -sekretazın membran geçirgen inhibitörlerinin klinik testleri insanlarda sınırlandırılmıştır (136).

GSİ'nin bu kusurunu önlemek için, GSM olarak bilinen ikinci nesil Notch-kısıtlı olan GSİ, APP'nin spesifik bölgelerinin selektif inhibisyonu amacıyla tasarlanmıştır. GSİ'nin yol açtığı yan etkiler bugüne kadar çözülemediğinden, bunların yerine non-steroidal antiinflamatuvar ilaçları (NSAID) da içeren GSM daha güvenli olarak ortaya çıkmıştır. NSAID'ler, yani ibuprofen, indometazin ve sulindak, Notch ve diğer substratların inhibisyonuna neden olmaksızın daha kısa  $A\beta_{38}$  peptidinin salınması ile birlikte selektif olarak toksik  $A\beta$  üretimini azaltır (137). Notch'un sebep olduğu yan etkilerin önlenmesi, daha kısa ve daha çözünür  $A\beta_{38}$  peptidi üretimi ile agregasyonun azalması ve daha az patojeniklik göstermesi sonucu

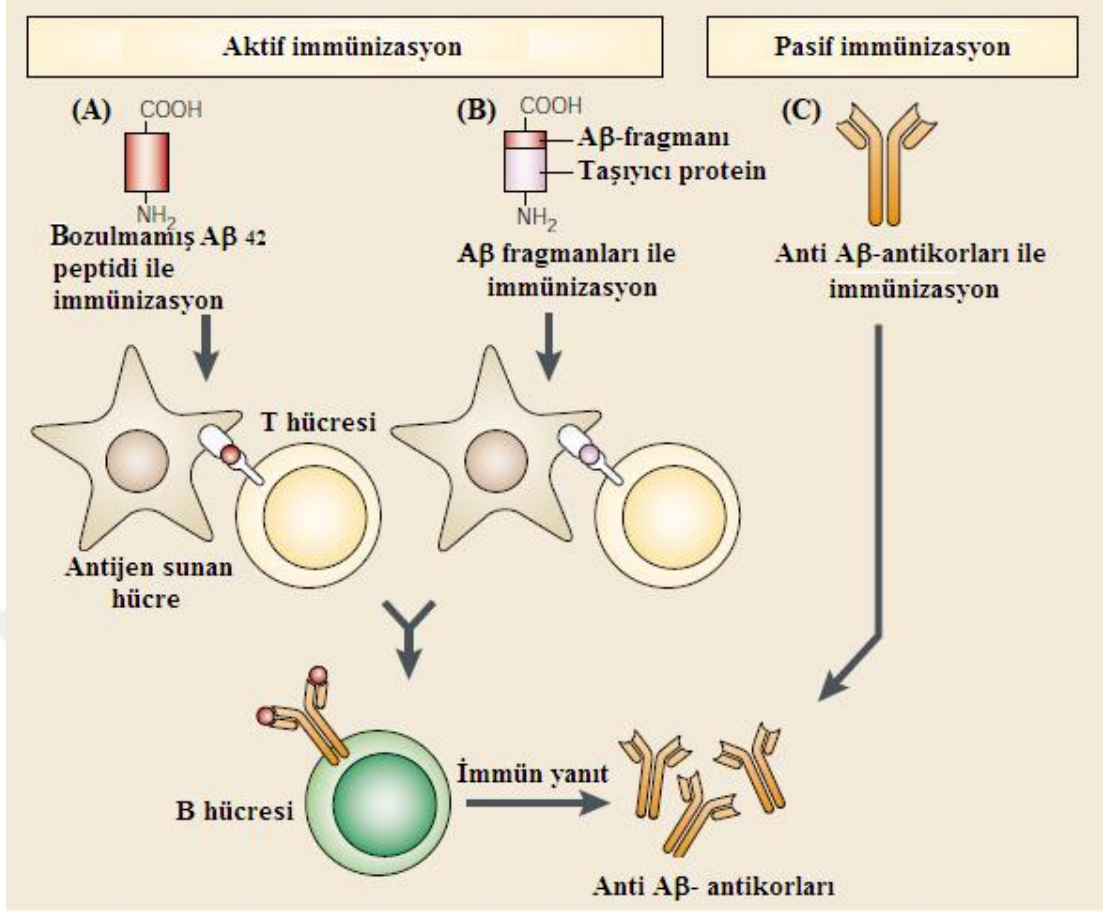
AH'de A $\beta$ 'yı hedefleyen potansiyel terapötik aday olarak GSM'ler üzerinde çalışmalar yoğunlaştırılmıştır (12).

#### 4.1.1.3. $\alpha$ -Sekretaz Aktivatörleri

$\beta$ - ve  $\gamma$ -sekretazlar tarafından gerçekleştirilen bölünmeye ek olarak APP, A $\beta$  bölgesinde alternatif olarak  $\alpha$ -sekretaz ile parçalanabilir, böylece daha uzun bir C-terminal fragmanı üretebilir ve patolojik A $\beta$  monomerlerinin üretilmesini önleyebilir. Dolayısıyla,  $\alpha$ -sekretazın etkinleştirilmesi ile  $\alpha$ -bölünme olasılığının artırılmasının, A $\beta$  monomer üretimini azaltmak ve nöronları korumak için APP'nin çözünür fragmanlarının üretimini desteklemek amacıyla etkili bir yaklaşım olduğu bildirilmiştir (138). Protein kinaz C aktivatörleri, muskarinik, glutamat ve serotonin reseptör agonistleri ile beraber statinler, östrojen ve testosteron  $\alpha$ -sekretaz aktivitesini arttırmaktadır (12).

#### 4.1.2. A $\beta$ 'nın Klerensini Desteklemeye Yönelik Stratejiler

A $\beta$ 'nın monomer üretimi ve AH'li beyindeki klerensi arasındaki dengenin bozulması, amiloid plak oluşumunun temellerinden birisidir. Bu nedenle, A $\beta$ 'nın oligomerleşmesinin önlenmesi ve/veya serebral korteksten klerensinin artırılması, A $\beta$  immünizasyon yaklaşımları kullanılarak AH'nin tedavisinde ikinci bir strateji olarak kullanılabilir. Hem aktif hem de pasif immünizasyon stratejileri, monomerik ve birikmiş A $\beta$ 'yı uzaklaştırmak ve bu agregatların oluşumunu önlemek için geliştirilmiştir. A $\beta$ 'nın klerensi için, antikora bağlanarak A $\beta$ 'nın çözünürlüğünü ve mikrogliya ile zayıflatılmış A $\beta$ 'nın fagositozunu arttıran üç ayrı immün aracılı mekanizma önerilmiştir (Şekil 14) (139).



Şekil 14. Aβ'nin klerensini desteklemeye yönelik stratejiler (25)

#### 4.1.2.1. Aktif İmmünizasyon

Alzheimer hastalarında merkezi sinir sisteminden (MSS) Aβ'nin klerensi, terapötik hedeflerin kapsamını kısıtlayan KBB penetrasyonunu gerektirir (12). Schenk ve arkadaşları tarafından aktif immünizasyonun ilk yöntemi olan doğrudan immünizasyonda, sentetik bozulmamış Aβ<sub>42</sub> peptidi kullanılarak transgenik fare modellerinde T hücresi, B hücresi ve mikroglial immün yanıtlar uyarılmıştır. İkinci yöntemde, yardımcı T hücresi epitoplari sağlayan bir taşıyıcı proteine konjuge Aβ sentetik fragmanlarının uygulanması sonucunda Aβ'ya karşı T hücresinin direkt yanıtı ile ilişkili potansiyel problemlerin önüne geçilmiştir (140).

Çalışma sonucunda, transgenik fare modellerinde aktif immünizasyonun, amiloid plak yükünü hafifleterek, nörotik distrofi geliştirdiği ve Aβ plaklarını azalttığı belirtilmiştir. Böylelikle, hem monomerik hem de Aβ agregatının uzaklaştırılması için potansiyel bir terapötik strateji olarak aktif immünizasyon

önerilmiştir. Aktif immünizasyon, belirli bir düzeyde verilen yüksek antikor konsantrasyonları ile sağlanmaktadır. Bu yüksek antikor konsantrasyonlarının neden olduğu advers etkilerin ortadan kaldırılması hala sorun teşkil etmektedir (12).

#### 4.1.2.2. Pasif İmmünizasyon

Aktif immünizasyon yaklaşımı, APP transgenik fare modelinde yararlı etkiler göstermesine rağmen, Alzheimer hastalarının MSS'lerinde inflamatuvar yanıtın gelişmesine neden olmuştur. Bu sebeple, klinik araştırmaları yapılan birçok aşının daha fazla test edilmesi yasaklanmıştır. Bu bağlamda, inflamatuvar yanıtı önlemek için antikorların doğrudan uygulanmasını içeren alternatif bir yaklaşım tasarlanmış ve klinik testlere tabii tutulmuştur. Pasif immünizasyon stratejisi, amiloid plakların etkin bir şekilde uzaklaştırılmasına, tau hiperfosforilasyonunun azaltılmasına, nörotik ve glial sitopatolojinin önlenmesine ve sinaptik plastisitenin tersine çevrilmesine yardımcı olur (141-143). Pasif immünizasyonda, monoklonal antikorlar/poliklonal immüoglobülinler kullanılır. Bu araçlar, hayvan beyinlerinden A $\beta$  monomerlerinin klerensini sağlayarak oligomer oluşumunu önler ve beyin amiloid yükünü azaltır (144). Aktif immünizasyonda A $\beta$  peptidiyle aşılama biyolojik etki için gerekli değilken, pasif immünizasyonda peptidin N-terminaline ve/veya merkez bölgesine karşı yönlendirilen antikorlar amiloid patolojisine karşı koruma sağlamıştır (140). Antikorlar sadece beyindeki plaklara bağlanmakla kalmaz, aynı zamanda aşılansız hayvanların BOS'unda düşük seviyelerde ve plazmada A $\beta$ 'ya kompleks yapmış olarak bulunabilir (141, 145, 146). Tüm anti-A $\beta$  antikorları A $\beta$ 'nın yalnızca ilk aminoasitlerine, çözültide veya plak yüzeyinde ulaşabilir, böylelikle sadece bu bölgeye yönelik antikorlar etkili olur. Farklı A $\beta$  bölgelerine yönelik monoklonal antikorların kullanıldığı araştırmalarda, N-terminal antikorların plak yükünü azaltmada etkili olduğu halde, C-terminaline karşı yönlendirilenlerin etkili olmadığına işaret edilmiştir (140). *In vitro* çalışmalar, spesifik A $\beta$  epitoplarına yönlendirilmiş monoklonal antikorların *in vivo* A $\beta$ 'nın fibriler agregasyonunu inhibe ederek nörotoksositeye karşı koruyabileceğini de göstermiştir (147-149).

Sonuç olarak, antikor uygulaması aşı uygulamasına kıyasla daha güvenli ve etkilidir (150). Bu antikorlar, A $\beta$ 'nın hem monomerik hem de oligomerik formlarına bağlandıktan sonra bunların klerensini arttırarak A $\beta$  monomerleri ve plakları arasındaki dengeyi bozabilir (119).

#### 4.1.3. A $\beta$ Agregasyonunu Önlemeye Yönelik Stratejiler

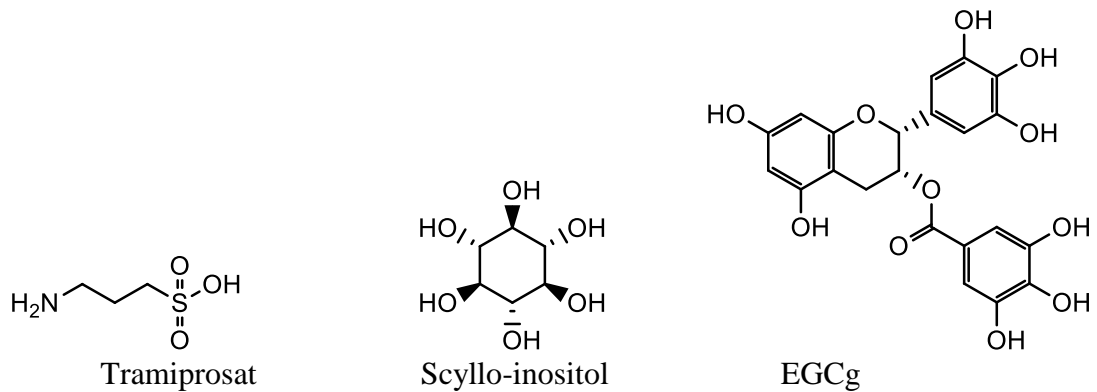
A $\beta$ 'ya bağlı AH'de A $\beta$  monomerlerinin agregasyonu ile birlikte bu agregatların parçalanması bir diğer tedavi stratejisidir. A $\beta$  agregasyonunun önlenmesinde anti-agregat bileşikler, metal kompleks yapıcı ajanlar ve birkaç hücre yüzeyi reseptörü bulunmaktadır. A $\beta$  agregasyonu ve plak oluşumuna karşı hali hazırda klinik araştırmalarda bulunulan bir dizi ilaç Tablo 1'de listelenmiştir (12).

	<b>İlaç</b>	<b>Etki Mekanizması</b>	<b>Klinik Çalışma Dönemi</b>	<b>Yan etkiler</b>
<b>1</b>	Tramiprosat (Vivimind, NC-531, homotaurin, 3APS, Alzhemed)	Proteoglikanların A $\beta$ 'ya bağlanması için gerekli olan iyonik özellikleri taklit ederek çözünür A $\beta$ 'yı bağlar.	Faz III	Mide bulantısı, kusma, diyare
<b>2</b>	Scyllo-inositol (AZD-103, ELND005)	A $\beta$ peptidlerini stabilize eder, fibril oluşturmalarını önler.	Faz II tamamlandı.	Depresyon, konfüzyon
<b>3</b>	Epigallokateşin-3-gallat (EGCg)	A $\beta$ oligomerlerinin oluşumunu inhibe eder.	Faz II/III	Anksiyete, insomnia
<b>4</b>	Azeliragon (TTP488)	RAGE'yi inhibe eder.	Faz III (5 mg/gün)	Yüksek doz (20 mg/gün) plaseboya kıyasla daha olumsuz bilişsel sonuçlara yol açar.
<b>5</b>	PBT2 (hidroksikinolin)	Metal aracılı A $\beta$ agregasyonunu azaltır.	Faz II tamamlandı.	Yorgunluk, baş ağrısı, baş dönmesi, uyuşukluk, nazofarenjit
<b>6</b>	Karvedilol (Coreg, Artist, Aucardic, Kredex, Dilatrend)	A $\beta$ fibril oluşumunu inhibe eder.	Faz III tamamlandı.	Uyuşukluk, mide bulantısı, kusma, diyare, eklem ağrısı, öksürük, iktidarsızlık

Tablo 1. A $\beta$  agregasyonuna ve plak oluşumuna karşı klinik çalışmaları sürdürülen ilaçlar (12)

#### 4.1.3.1. Non-peptidik Anti-agregat Bileşikleri

Non-peptidik anti-agregat bileşiklerden tramiprosat (homotaurin), kliokinol, scyllo-inositol ve epigallokateşin-3-gallat (EGCg) gibi A $\beta$  agregasyonunu inhibe eden birkaç küçük molekül arasında inositol önemli derecede ilgi görmüştür (Şekil 15). Bunun nedeni, çeşitli inositol tiplerinin, yani miyo-inositol, epi-inositol ve scyllo-inositolün beyinde normal olarak bulunmuş olmasından kaynaklanıyor olabilir (151). Scyllo-inositolün A $\beta$  fibril oluşumunun yanı sıra A $\beta$  agregasyonunu önlemede oldukça etkili olduğu rapor edilmiştir (152). Scyllo-inositol, A $\beta$  oligomerlerine bağlanır ve A $\beta$  plaklarının oluşumuna neden olan APP geninde mutasyona sahip transgenik farelerde, A $\beta$  agregasyonunu geciktirir. Transgenik fare modelinin scyllo-inositol kullanılarak zenginleştirilmesi, hafif-orta derecede kognitif bozukluk olan hastalarda klinik araştırmaların ilerlemesine yol açmıştır (153). Yeşil çaydaki bir polifenol olan başka bir anti-agregat bileşiği EGCg,  $\alpha$ -sekretazın aktivasyonu ve katlanmamış peptidin bozulmasıyla hayvan modellerinde A $\beta$  agregasyonunu inhibe etmiştir. EGCg, mitokondriyal fonksiyonun korunmasından, hücre transdüksiyonunun modülasyonundan ve hücre yaşamı, hücre ölümünün düzenlenmesinden sorumludur (154).



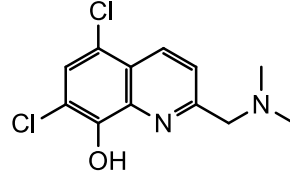
Şekil 15. Non-peptidik anti-agregat bileşiklerinin kimyasal yapısı

#### 4.1.3.2. Metal Kompleks Ajanları

Bir hidroksikinolin türevi olan PBT2'nin, gerçekleştirilen denemelerde fare beyinde A $\beta$  plaklarının deposiyonunu geciktirdiği gözlenmiştir (Şekil 16) (155).



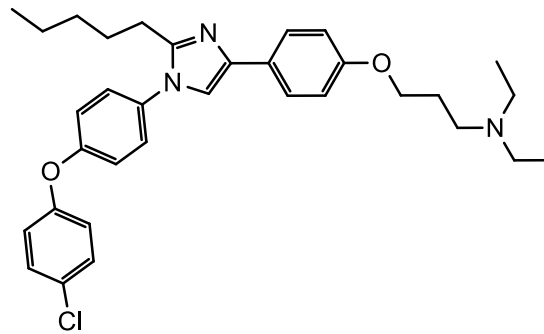
PBT2'nin metal iyonlarının nöronlara yeniden dağılımı yoluyla metaloproteinaz ekspresyonunu artırarak A $\beta$  bozulmasını kolaylaştırdığı da bildirilmiştir (156). Bu deneyler, A $\beta$  agregasyonuna katılan Cu<sup>+2</sup> ve Zn<sup>+2</sup> gibi metal iyonlarının şelasyonunun *in vivo* A $\beta$  depozisyonunu önlediğini doğrulamıştır (157).



Şekil 16. PBT2 bileşiğinin kimyasal yapısı

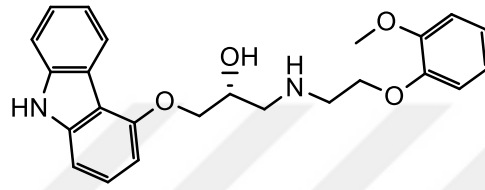
#### 4.1.3.3. RAGE İnhibitörleri

Hücre yüzey reseptörlerinden, ileri glikolizlenme son ürün reseptörünün, (RAGE: Receptor for Advanced Glycation End products) diyabet ve inflamasyona neden olan amiloid fibriller için bir taşıyıcı veya reseptör olarak hareket ettiği bildirilmiştir. Oral biyoyararlanımlı RAGE'nin küçük molekül inhibitörü olan Azeliragon (TTP488)'un *in vitro* çalışmalarda, RAGE ligandlarına bağlanarak çözünür RAGE'yi inhibe ettiği rapor edilmiştir (Şekil 17) (158).



Şekil 17. Azeliragon (TTP488) bileşiğinin kimyasal yapısı

Karvedilol, konjestif kalp yetmezliği ve hipertansiyonun tedavisinde yaygın olarak reçete edilen, non-selektif  $\beta$ -adrenerjik reseptör blokördür (Şekil 18). Karvedilolün,  $A\beta$ 'ya bağlanma ve  $A\beta$ 'nin oligomerik fibriller oluşturmasını önleme kabiliyeti ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Başka bir çalışmada, AH hastalarında karvedilol kullanımının bilişsel yararlar sağladığı gözlenmiştir. Ayrıca, karvedilolün  $\alpha$ -heliks ve  $\beta$ -katlanma konformerlerin veya protofibrillerin oluşumunu etkili bir şekilde önlediği de bildirilmiştir (107).



Şekil 18. Karvedilol bileşiğinin kimyasal yapısı

#### 4.1.4. Antiinflamasyona Yönelik Strateji

İnsan beyinde  $A\beta$ 'nin ilerleyici olarak birikmesinin serebral kortekste hücrenel bir inflamatuvar yanıtı neden olması, antiinflamatuvar yaklaşımın temelini oluşturur (159). Birkaç antiinflamatuvar ilacın, siklooksijenaz ve diğer inflamatuvar mediatörlerin inhibisyonundan bağımsız olarak, APP transgenik farelerde  $\gamma$ -sekretazı inhibe ederek APP'nin bölünmesi ve AH patolojisini azaltması üzerine direkt etkileri olduğu görülmüştür (160, 161). Bu gibi antiinflamatuvar bileşiklerin klinik araştırmaları devam etmekte olup, uzun vadeli güvenlik ve etkinlikleri test edilmektedir (12).

#### 4.1.5. Kolesterol Homeostazının Modülasyonuna Yönelik Strateji

Yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) kolesterolün düşük serum konsantrasyonlarının kognitif bozukluk ve demans ile ilişkisinin bulunduğu ve bu nedenle yüksek plazma kolesterol konsantrasyonlarının AH için bir risk faktörü olduğu düşünülmektedir. *In vitro* araştırmalar kolesterolün,  $A\beta$  oluşumunu desteklediğini ve HDL kolesterol düzeyinin, SP ve NFY ile de güçlü bir ilişkisi

olduğunu öne sürmektedir (162). Kolesterol metabolizması patofizyolojik gelişmede, depozisyonda ve A $\beta$  klerensinde önemli rol oynamaktadır (163). Kolesterol ve AH arasındaki ilişkiler, kolesterolü düşürme stratejisinin AH ilerlemesini etkileyebileceği yönünde umut vadetmektedir (162). Hücre içi kolesterol düzeylerini düşürebilen ve koroner kalp hastalığını önleyebilen statinler, hücre kültüründe A $\beta$  üretimini inhibe etmiştir. Demans oluşumuna karşı koruyucu bir etkiye sahip olmasının yanı sıra lipid düşürücü ilaçlar, pleiotropik etkiler olarak adlandırılan ilave özelliklerinden dolayı, inmeden nörodejeneratif hastalıklara kadar değişen çeşitli beyin hastalıklarının tedavisinde özellikle AH ilerlemesi üzerinde de ilgi uyandırmıştır (162, 164).

Alzheimer benzeri nöropatoloji oluşturmak için yüksek kolesterol diyeti verilen tavşanların beyinleri incelenerek, A $\beta$ , apoE, kateşin D ve süperoksit dismutaz immünoreaktivitelerinin nöronal birikime neden olduğu bulunmuştur (165). APP transgenik farelerde gerçekleştirilen başka bir çalışmada, statinlerin sürekli kullanımını takiben AH insidansının düştüğü ve patolojisinin azaldığı rapor edilmiştir (166, 167).

Pedrin tarafından statinlerin, amiloid birikimi ve plak oluşumuna yol açan belirli enzim reaksiyonlarını bozabileceği belirtilmiştir (163). Birkaç gözlemsel çalışmada, statin kullanımı ile AH veya demans riski arasında ters bir ilişki olduğunu bildirilmiştir (162, 163). Yaş, cinsiyet, eğitim ve ırka bağlı olarak AH insidansında anlamlı bir şekilde azalma olduğu ve statin kullanımının koruyucu etkisinin apoE genotipi ile değiştirilmediğine dair yeni kanıtlar sağladığı bulunmuştur (168). Elde edilen bulgularla statinlerin bu koruyucu etkilerinin doğrulanabildiği takdirde, statin kullanımının bazı popülasyonlarda AH'nin başlamasını geciktirebileceği veya önleyebileceği rapor edilmiştir (163).

AH tedavisinde statinlerin etkinliği konusunda bir görüş birliği bulunmamaktadır. Statin kullanan bireylerde AH insidansının daha düşük olduğu uzun dönem statin kullanımının, özellikle hafif-orta evre AH tedavisinde yararlı olduğu ve AH riskini azalttığı bildirilmiştir (162-168). Diğer yandan kolesterol düzeylerinin ve kolesterol düşürücü ilaç kullanımının AH riskiyle ilişkisi bulunmadığını bildiren yayınlar da mevcuttur (169-171).

Statinler AH semptomlarında kısa süreli iyileşme sağlayabileceği, ancak bu ilaçlar mevcut birinci basamak ilaçlar olan AChE inhibitörlerinden daha az etkili olduğu ve bu nedenle, statinlerin AH'yi tedavi etmek amacıyla kullanılamayacağı

bildirilmiştir (169). Epidemiyolojik ve prelinik statin araştırmaları, genelde yüksek kolesterolün AH ile ilgili aleyhte bir rol oynamasına rağmen, statinler hakkında oldukça değişken verilere sahip olan insan çalışmaları kesin sonuçlar çıkarmayı zorlaştırmaktadır (170). Statin ile indüklenen nöroproteksiyon mekanizmaları tam olarak anlaşılamamıştır. Statinlerin beyin işlevini nasıl değiştirdiğini anlamada ilerlemeyi engelleyen, statinler ve beyin ile ilgili temel konular üzerinde eksiklik devam etmektedir (171). Büyük ölçekli, randomize, plasebo kontrollü alışmalar, AH tedavisinde statinlerin rolünü açığa kavuştırmaya yardımcı olabilir. Bununla birlikte, ileriki çalışmalarda uzun süreli standardize edilmiş dozlarda farklı KBB geçirgenliğine sahip statinlerin kullanımı, uygulandığı AH evresi ve pleiotropik metabolik etkileri de dahil olmak üzere spesifik olarak değerlendirilmesi gerektiği bildirilmiştir (169). İlerleyen yıllarda bu önemli terapötik konunun sonuçları analiz edilirken; statinlerin KBB geçirgenlikleri hesaba katılmalı, düşük dansiteli lipoprotein ve HDL kolesterolü üzerindeki etkilerinin spesifik analizleri değerlendirilmeli ve en önemlisi statin tedavisi çalışmaları hastalık modifikasyonu için hafif evredeki AH'li hastalara uygulanmalıdır. Bu çalışmalarda, birincil sonuç olarak bilişsel gerilemeyi ve AH'yi etkileyebileceğini kaydeden çok sayıda değişken üzerinde eksiksiz alt grup analizi yapılmalıdır (169). Statinlerin oral olarak alımını takiben düşük beyin konsantrasyonları nörodejeneratif hastalıklarda klinik olarak uygulanmasını engellemektedir. Bu endikasyonları etkinleştirmek için uygun bir yaklaşım sağlayabilen farmasötik nanoteknoloji ile nanokapsüllü statinlerin lokal veya hedefli olarak verilmesi, statinlerin beyindeki konsantrasyonlarını arttırmıştır (164).

19. Kromozom üzerinde bulunan apoE geni, beyinde bir kolesterol taşıyıcısı olan apoE'nin sentezine yardımcı olur. Bu gen, geç başlangıçlı AH ile ilişkili olan, amiloid agregasyonuna ve amiloidin beyinden klerensine sebep olan tek gendir (172, 173). Bu genin  $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$  ve  $\epsilon 4$  olmak üzere üç formu bulunur. ApoE  $\epsilon 4$  alleli, AH'nin ailesel olmayan formunun erken yaşta başlangıı ve beyinde artmış A $\beta$  birikimi ile ilişkilidir (174). Bu allel, yaygın olarak bulunan apoE  $\epsilon 3$  alleli ile kıyaslandığında, AH gelişim riskini artırır. Bu nedenle risk faktör geni olarak düşünüür (172, 173).

#### 4.1.6. Nöroproteksiyona Yönelik Strateji

Bu strateji, A $\beta$  monomerlerinin birikiminden ve plak oluşumundan kaynaklanan sinaptotoksik ve nörodejeneratif etkilerin önlenmesi veya tedavisini içerir. Bu bağlamda, antioksidan, nöroprotektif ve nörotrofik özelliklere sahip birtakım terapötik bileşikler AH'nin tedavisi için önerilmiş, ancak bugüne kadar insan beyninde sınırlı veya olumsuz herhangi bir etki gözlemlenmemiştir. A $\beta$ 'ya karşı doğrudan yönlendirilen çeşitli ilaçlar ile birlikte yaygın etkileri Tablo 2'de sunulmuştur (12).

Faz I	Faz II	Faz III	Faz IV
CTTS-21166 <sup>a</sup>	Pioglitazone <sup>a</sup>	MK-8931 <sup>a</sup>	-
E2609 <sup>a</sup>	NIC5-15 <sup>a</sup>	Atorvastatin <sup>a</sup>	
Begacestat <sup>a</sup>	CHF-5074 <sup>a</sup>	Simvastatin <sup>a</sup>	
Affitope AD-01 <sup>b</sup>	EVP-0962 <sup>a</sup>	Semagacestat <sup>a</sup>	
UB311 <sup>b</sup>	Etazolate <sup>a</sup>	RG-7129 <sup>a</sup>	
V950 <sup>b</sup>	Avagacestat <sup>a</sup>	Tarenflurbil <sup>a</sup>	
BIIB-037 <sup>b</sup>	Bryostatin-1 <sup>a</sup>	Rosiglitazone <sup>a</sup>	
GSK-933776 <sup>b</sup>	LY2886721 <sup>a</sup>	Bapineuzumab <sup>b</sup>	
AAB-003 <sup>b</sup>	Intranazal insülin <sup>a</sup>	Gammagard (IVIg) <sup>b</sup>	
SAR-228810 <sup>b</sup>	Affitope AD-02 <sup>b</sup>	AMBAR <sup>b</sup>	
Affitope AD-03 <sup>b</sup>	CAD-106 <sup>b</sup>	Gantenerumab <sup>b</sup>	
	BAN-2401 <sup>b</sup>	Solanezumab <sup>b</sup>	
	Ponezumab <sup>b</sup>	Crenezumab <sup>b</sup>	
	AN-1792 <sup>b</sup>	EGCg <sup>ac</sup>	
	ACC-001 <sup>b</sup>	TTP488 <sup>c</sup>	
	PBT2 <sup>c</sup>	Tramiprosat <sup>c</sup>	
	Scyllo-inositol <sup>c</sup>	Karvedilol <sup>c</sup>	

Tablo 2. A $\beta$ 'ya karşı doğrudan yönlendirilen çeşitli ilaçların klinik faz dönemleri (<sup>a</sup>: A $\beta$  monomer üretimini azaltır, <sup>b</sup>: A $\beta$  monomer tüketimini destekler <sup>c</sup>: A $\beta$  agregasyonundan korur.)

## 4.2. Kolinerjik Stratejiler

Bazal ön beyin kolinerjik sistemi, serebral korteksin kolinerjik innervasyonunu sağlar. Bu nöronal sistemdeki kolinerjik nöronların kaybı, AH'nin bilişsel semptomlarının nedenidir. Asetilkolin (ACh) üretiminin artmasıyla kolinerjik işlevin geliştirilmesine yönelik birkaç farklı tedavi stratejisi bulunmaktadır. Bu tedavi stratejileri arasında kolinerjik öncülerle takviye, sinaptik ACh bozunmasının engellenmesi, post-sinaptik muskarinik ve nikotinik reseptörlerin doğrudan uyarılması, otoresseptörler ile hareket ederek ACh salınımının artırılması ve trofik faktörler, greftler veya gen terapisi ile kolinerjik nöronal ölümün önlenmesi yer almaktadır (123).

### 4.2.1. Kolinerjik Öncüler

Başlangıçta AH hastalarında kolinerjik eksikliğin üstesinden gelme ve kognitif bozuklukların iyileştirilmesine yönelik girişimler, kolin, lesitin ve asetil-L-karnitin gibi ACh öncüleri ile yerine koyma tedavisine odaklanılmıştır (174, 175). Bu ajanların konsantrasyonları, ACh sentez yolağında hız sınırlayıcı bir faktör olmayıp, AH semptomları üzerine net bir fayda sağlayamamıştır. Yapılan çalışmalar kolinerjik öncülerin, KBB'den sınırlı penetrasyonu ve kısa süreli etkisi sebebiyle kognitif bozuklukların tedavisinde kullanımını desteklememektedir (123).

### 4.2.2. AChE İnhibitörleri

ACh öncü yaklaşımının AH tedavisinde başarısız olduğu kanıtlanmış olsa da, AChE inhibitörleri aracılığıyla kolinerjik aktivitenin modülasyonu umut vericidir. AChE inhibitörleri, ACh'yi parçalayan bir enzim olan AChE'nin etkisini durdurarak işlevlerini yerine getirirler ve böylece sinaptik aralıkta ACh düzeyini artırırlar. Hem birinci hem de ikinci kuşak AChE inhibitörleri, AH ile ilişkili kognitif bozuklukların iyileştirilmesi açısından olumlu sonuçlar vermiştir (123).

AH semptomlarının tedavisi için 1990'ların başında onaylanan ilk kuşak AChE inhibitörleri takrin (9-amino-1,2,3,4-tetrahidroakridin, Cognex, Parke-Davis) ve fizostigmindir (176-179). Bununla birlikte takrin, çeşitli ölçekler açısından

değerlendirildiğinde, düşük biyoyararlanımı ve istenmeyen yan etkileri de dahil olmak üzere, majör klinik sınırlamalar göstermiştir (179-182).

İkinci kuşak AChE inhibitörleri, takrinden daha güçlü ve etkili olup yan etkileri daha azdır. Genel terapötik etkileri bilişsel durumu korumaktır, aynı zamanda bilişsel bozukluğu yavaşlatıp günlük yaşam aktivitelerini iyileştirmektedirler (183, 184).

Donepezil (E2020, Aricept, Pfizer Inc.), hafif ile orta dereceli AH için semptomatik bir terapi olarak 1996'da FDA tarafından onaylanan, piperidin bazlı, reversibl, non-kompetitif ve selektif bir AChE inhibitörüdür. Donepezil, günde bir kez uygulanan uygun ve güvenli doz rejimini (günde 5-10 mg) destekleyen farmakokinetik ve güvenlik profili gösterir. Nöropsikolojik değerlendirme, donepezilin bilişsel işlev ve global klinik durum üzerinde hem kısa (6 aya kadar) hem de uzun süreli (1 yıla kadar) pozitif etkileri olduğunu göstermiştir. Donepezil ayrıca, kolinerjik etkinliği ile bağlantılı hafif advers etkilere (bulantı, anormal hareketler, gastrointestinal belirtiler) neden olmaktadır (185-197).

Rivastigmin (SDZ ENA 713, Exelon, Novartis Pharmaceuticals) hızlı oral absorpsiyon özelliklere sahip, AChE ile, nöronal ve glial hücrelerde bulunan bir enzim olan BuChE'nin selektif bir psödo-irrevesibl inhibitörüdür. Rivastigmin, hafif ile orta dereceli AH tedavisi için 1998'de Avrupa'da onay almıştır. Klinik çalışmalarda yüksek doz rivastigmin (günlük 12 mg) ile tedavi edilen AH hastalarının bilişsel performans testleri üzerinde ılımlı fakat önemli bir iyileşme gösterdikleri, buna karşılık aynı dozda klinik evrensel etki skorlarının değişmediği rapor edilmiştir (123).

Hafıza güçlendirici aktiviteye sahip olduğu, takrin ve donepezil ile karşılaştırıldığında minimal periferik kolinerjik yan etkileri ile birlikte daha uzun etki süresine sahip olduğu bildirilen huperzin A, güçlü, reversibl ve selektif bir AChE inhibitörüdür (198).

Son olarak, reversibl ve iyi tolere edilen bir kompetitif AChE inhibitörü olan tersiyer alkaloid galantaminin (Reminyl Janssen-Cigal) insanlardaki çeşitli hafıza testlerinde performansı arttırdığı bildirilmiştir (199-201). 6 aya kadar randomize, çift-kör, plasebo kontrollü çalışmalar sırasında, galantamin (günde 16-24 mg) sürekli olarak bilişsel ve bilişsel olmayan AH semptomları üzerinde yararlı etkiler göstermiş olup, günlük yaşam aktivitesinin sürdürülmesinde faydalı olmuştur. Uzun süreli çalışmalarda (12 ay), galantamin neredeyse temel seviyelerde advers gastrointestinal etkilere neden olmakla birlikte bilişsel ve işlevsel becerileri korumuştur. Biliş artırıcı

özelliklerine ek olarak, takrin ve donepezil gibi AChE inhibitörleri psikotropik aktiviteye sahiptir ve AH'de kolinerjik hipofonksiyonla ilişkili olabilecek ajitasyon, deliryum veya bipolar bozukluklar gibi davranış bozukluklarını azalttığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, ChE inhibisyonu yoluyla ACh aktivitesini arttıran başlıca kısıtlamalardan biri, tekrarlanan AChE inhibitör dozlarının tolerans gelişimine yol açmasıdır. Ancak, başarılarının sınırlı olmasına rağmen AChE inhibitörleri, AH için tek FDA onaylı tedavi seçeneği olarak karşımıza çıkmaktadır (123).

#### 4.2.3. Muskarinik Reseptörlerin Modülasyonu

Merkezi kolinerjik nöronlardan salınan ACh, bilişsel işlevle ilişkilendirilen nikotinik ve muskarinik reseptörleri uyarır. Post-sinaptik M<sub>1</sub> alt tipi kolinerjik reseptörler, AH'li beyinde nispeten korunmakta olup, aktivasyon için potansiyel hedefler olarak düşünülebilir (123). Dahası, *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar, M<sub>1</sub> agonistlerin bilişsel bozuklukları tersine çevirebilme, tau protein fosforilasyonu ve APP/A $\beta$  sürecini azaltma gibi yararlı etkiler gösterebileceğini belirtmektedir (202-204). Bununla birlikte muskarinik reseptör agonistleri, düşük oral biyoyararlanım, insanlardaki hızlı metabolizma, M<sub>1</sub> reseptörleri için etkinlik ve/veya selektiflik dezavantajlarının yanı sıra, klinik etkinliği büyük ölçüde engelleyen birçok ciddi yan etkiye (iştahsızlık, kornea opaklığı, ishal, kardiyovasküler) de sahiptirler (205). Nöropsikolojik test bataryası kullanılarak yapılan bir çalışmada, AH hastalarında bilişsel ve nöropsikiyatrik belirtileri iyileştirdiği gösterilen ksanomelin (kısmi M<sub>1</sub> agonisti), sabkomelin (SB-202026) ve alavamelin M<sub>1</sub> reseptörü için zayıf agonistler olarak değerlendirilmiştir (204, 206-208). Diğer M<sub>1</sub> muskarinik reseptör agonistlerinin faz III çalışmaları (örneğin, sevimelin ve talsaklidin) sona ermiştir (209-211).

#### 4.2.4. Nikotinik Reseptörlerin Modülasyonu

AH'li beyinde otopsi çalışmaları, nikotinik ACh reseptörlerin (nAChR) bölgeye bağımlı kaybı olduğunu göstermiştir (212-217).  $\alpha$ 4 ve  $\alpha$ 3 altbirimleri, AH hastalarının hem hipokampus hem de temporal korteksinde kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde azalma gösterirken anlamlı azalma hipokampüstedir (217). Bu



değişiklikler normal yaşlanmada gözlemlenenen farklıdır ve muhtemelen hastalığın şiddeti ile ilişkilidir. Bu, potansiyel bir terapötik hedef olarak nAChR'lerin önemini vurgular. Newhouse ve arkadaşları altı AH hastasında kolinerjik sistem üzerinde kaygı ve depresif etkilerdeki artışlarla birlikte nikotinin merkezi uyarıcı özelliklerini gözlemlemişlerdir (218). Yapılan çalışma, yaşlanma ve nörolojik hastalıklarla ilişkili kognitif eksikliklerin tedavisinde selektif nAChR agonistlerinin geliştirilmesine yol açmıştır (219-222).

Nikotinic reseptör agonistlerinin AH için tedavide yararlı olduğuna dair kesin bir kanıt bulunmamaktadır. nAChR üzerindeki bir bölgeye bağlanan ve ACh tarafından işgal edilen bölgeden farklı olan ve kolinerjik sinaptik terminalleri kolinerjik transmisyon için daha uyarılabilir hale getiren yeni bir ligand sınıfı (allosterik olarak güçlendirici ligandlar-APL: allosterically potentiating ligands) geliştirilmiştir (123). Kolinerjik transmisyon üzerinde çift etkili hareket mekanizması olan galantamin, AChE üzerinde selektif ve reversibl inhibisyon aktivitesine ek olarak, kolinerjik nöronlar üzerinde pre ve post-sinaptik nAChR'leri pozitif olarak modüle ederek bir APL görevi görür, böylece kolinerjik sinir iletimini artırır (223).

#### **4.2.5. Sinir Büyüme Faktörü**

AH için muhtemel bir tedavi yaklaşımı, bazal ön beyin kolinerjik sistemi, özellikle de sinir büyüme faktörü (NGF) üzerindeki nörotropik maddelerin etkilerinde ve hücre sağkalımında avantaj sağlar (224, 225). Otopsi sonrası yapılan çalışmalar, AH hastalarının hipokampusunda ve korteksinde nörotropik faktör NGF düzeylerinin artabileceğini ve bu artışın kısmen NGF yüksek afiniteli reseptör tropomyozin tirozin kinaz A'nın (TrkA) azalmış ekspresyonuna bağlı olabileceğini göstermiştir. Hem *in vitro* çalışmalar hem de hayvan deneylerinden elde edilen kanıtlar, NGF'nin NGF/TrkA ileti kompleksinin ters yönlü transportu vasıtasıyla nöronların kolinerjik fenotipini muhafaza ettiğini ve/veya düzenlediğini, deneysel cerrahiye takiben kolinerjik nöronları koruduğunu ve yaşlanmış kemirgenlerde hafızayı güçlendirdiğini göstermektedir. NGF, aynı zamanda ACh salınımını arttırmak için genomik olmayan bir mekanizma aracılığıyla davranır. NGF, kolinerjik işlevin önemli bir regülatörü gibi görünse de, MSS'ye geçiş problemleri sebebiyle klinik etkinliği sınırlanabilir (123).

Spesifik beyin bölgeleri içinde NGF üretimini arttırmak için, farklı ilaç türleriyle tedavi stratejileri AH tedavisinde de yararlı olabilir. Bu bağlamda, propentofilin (bir fosfodiesteraz inhibitörü), idebenon, pirolokinolin ve kinon (kinon türevleri) ile nikotin dahil olmak üzere, klasik olmayan bileşiklerin *in vitro* olarak NGF sentezini arttırdığı gözlenmiştir (226). Dahası, AH tedavisinde nörotrofin seviyelerini arttırdığı düşünülen bir NGF-mimetik ilaç olan AIT-082'nin potansiyel etkinliğini değerlendirmek için bir faz II klinik araştırması halen sürmektedir (227). Bu nedenle, küçük moleküllü potansiyel NGF-mimetikler ile bu alanda daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

#### 4.2.6. Nöral Transplantasyon ve Gen Tedavisi

Transplantasyon tekniklerindeki ilerlemeler, AH'de potansiyel bir tedavi seçeneği sunmaya başlamıştır. Bazal ön beyin nöral transplantasyonu, neokortikal projeksiyon alanında kolinerjik nörotransmisyonu arttırarak bazı bilişsel eksiklikleri arttırabilir (123). Yapılan çalışmalarda embriyonik bazal ön beyin dokusundan üretilen greftlerin, eksitotoksisite hayvan modellerinde hafıza eksikliğini iyileştirdiği gösterilmiştir (228, 229). Bir başka çalışmada, embriyonik kolinerjik bakımdan zenginleştirilmiş greftlerin canlılığını sürdürdüğü ve hasar sonrası bazal-kortikal sistemin işlevini değiştirdikleri gözlenmiştir (230). Greftlenmiş embriyonik bazal ön beyin dokusunun, neokortikal işlevi etkileyebileceği mekanizma bilinmemektedir. Ancak transplantasyon sonrasında gözlemlenen işlevsel düzelmeye katkıda bulunabilen çeşitli nörotransmitterleri, peptidleri ve glial faktörleri içerebilir.

Çalışmalarda, greftlenmiş nöronların canlılığını sürdürmesi ve büyümesini geliştirmek için, gen transfer stratejileri transplantasyon çalışmalarına entegre edilip daha uzun süreli etkinlik sağlanmıştır (231, 232). Bu yaklaşım, hastalıkla ilişkili nöronal hücre hasarını veya nörotransmitter işlev kaybını onarmak için, *in vivo* (genetik materyalin virüsleri veya sentetik vektörleri kullanarak intraserebral olarak beyin hücrelerine enjeksiyonu) veya *ex vivo* teknikleri kullanarak beyne gen aktarılmasını içerir (232). Bahsedilen terapötik yaklaşımlarla karşılaştırıldığında, gen terapisinin en büyük avantajı, son derece spesifik bir mekansal ve zamansal modda tek (veya birkaç iyi tanımlanmış) molekül/moleküller sunma yeteneğidir. Yetişkin bazal ön beyinde hasar gören kolinerjik nöronları kurtarmak için, NGF'nin kapasitesine dayalı yapılan başlangıç çalışmaları, NGF üretmek için hücrelerin

genetik modifikasyonu üzerinde durmuştur. NGF salgılayan hücre hattının Meynert'in nükleus bazalisine transplantasyonu yaşlı sıçanlarda kolinerjik nöron atrofisini tersyüz etmiş, bilişsel olarak hasar görmüş yaşlı sıçanlarda, mekansal öğrenme bozukluğunu tersine çevirmiştir (233, 234). Bir başka çalışmada, NGF ve beyinden türetilen nörotrofik faktör vektörlerinin % 50'ye kadar üretildiği, injeksiyondan 6 ay sonra septal nöronlarda asetilkolintransferaz enzim (ChAT) immunreaktivitesinde artış olduğu gösterilmiştir (93). Bu bulgular, büyüme faktörü gen transferinin bazal ön beyin kolinerjik transmisyonunu arttırmak için uygulanabilir bir yaklaşım olabileceğini düşündürmektedir. Viral bir vektör aracılığıyla bazal ön beyin içine NGF enjeksiyonunun, fimbria-fornix transeksiyonuna maruz bırakılan sıçanlarda hasarlı medial septal kolinerjik nöronların hayatta kalmasını sağladığı da bildirilmiştir (235). Dahası, kolinerjik bazal ön beyinde 3 aylık intraparenkimal NGF salgılayan greftler, altı yaşlı maymunun korteks ve hipokampusünde A $\beta$  depozit seviyelerini dengelemiştir ve yetişkin maymunlarda yaralanmaya bağlı nörodejenerasyonu önlemiştir. NGF salgılayan greftlerin nöronal koruması, uygulama yerinin doğruluğuna (yaralı nöronların yakınına) bağlı gibi gözükmektedir (236). Bununla birlikte, transgen ekspresyonunun stabilitesi ve regülasyonu ile ilgili sınırlamalar nedeniyle, gen transferinin kontrolü ve güvenliği de dahil olmak üzere, AH tedavisinde bu stratejinin uygulanmasından önce olası problemler giderilmelidir (123).

Erişkin ve fetüs dokularından elde edilen kök hücrelerin kullanımı, AH dahil olmak üzere çeşitli hastalıklar ile alakalı olabilir. Ancak, etik perspektiften dolayı uygulamayı zorlaştırabilir (237). Davranışsal bir araştırmada, bazal ön beyin kolinerjik nöronları daha önce lezyona uğramış sıçanlarda, MHP36 klonal kök hücre dizisinden türetilen greftlerin mekansal öğrenmeyi güçlendiren özellikleri bildirilmiştir. Nöronal ve glial hücrelerin özelliklerini gösteren greftlenmiş hücrelerin etkinliğinin, lezyonların yaşına ve implantasyonun yerine bağlı olduğu sonucuna ulaşılmıştır (238).

Ende ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada, insan kordon kan hücrelerinin kontrol hayvanlarına kıyasla, insan Alzheimer APP'sini aşırı eksprese ederek farelerin ömrünü uzattığı bildirilmiştir (239). Bu veriler, konvansiyonel olmayan yaklaşımlara dayalı olarak AH terapisinin olumlu sonuçlar doğurabileceğini işaret etmektedir (123).

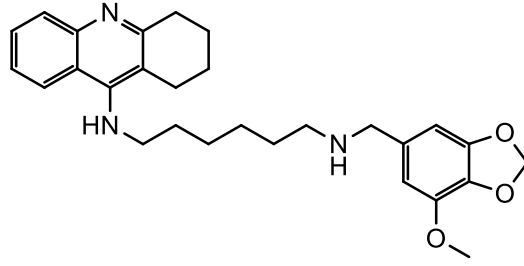
### 4.3. Küçük Moleküller ile Tedavi Stratejileri

Son yıllarda, çeşitli hastalıkların tedavisi için farklı stratejiler geliştirmek amacıyla küçük moleküllerin keşfedilmesinde bir artış görülmüştür. Örneğin, AH patofizyolojisinde birden fazla faktörü (kolinerjik işlev bozukluğu, amiloid/tau toksisitesi ve oksidatif stres gibi) hedefleme kabiliyeti ile hibrit moleküllerin gelişimi büyük ilgi görmüştür (240-243). Bu çok hedefli ajanlardan, AH semptomlarını önlemesi ve hatta sadece ChE inhibisyonuna dayanan geleneksel terapilere karşı hastalık ilerlemesini durdurması beklenmektedir. Küçük sentetik moleküllerin yapısal gereklilikleri birbirlerinden farklı olup; birçok molekül dimer, trimer, tetramer, oligomer, protofibril ve fibril benzeri çeşitli amiloid türlerine karşı benzer inhibisyon profili göstermezler (13).

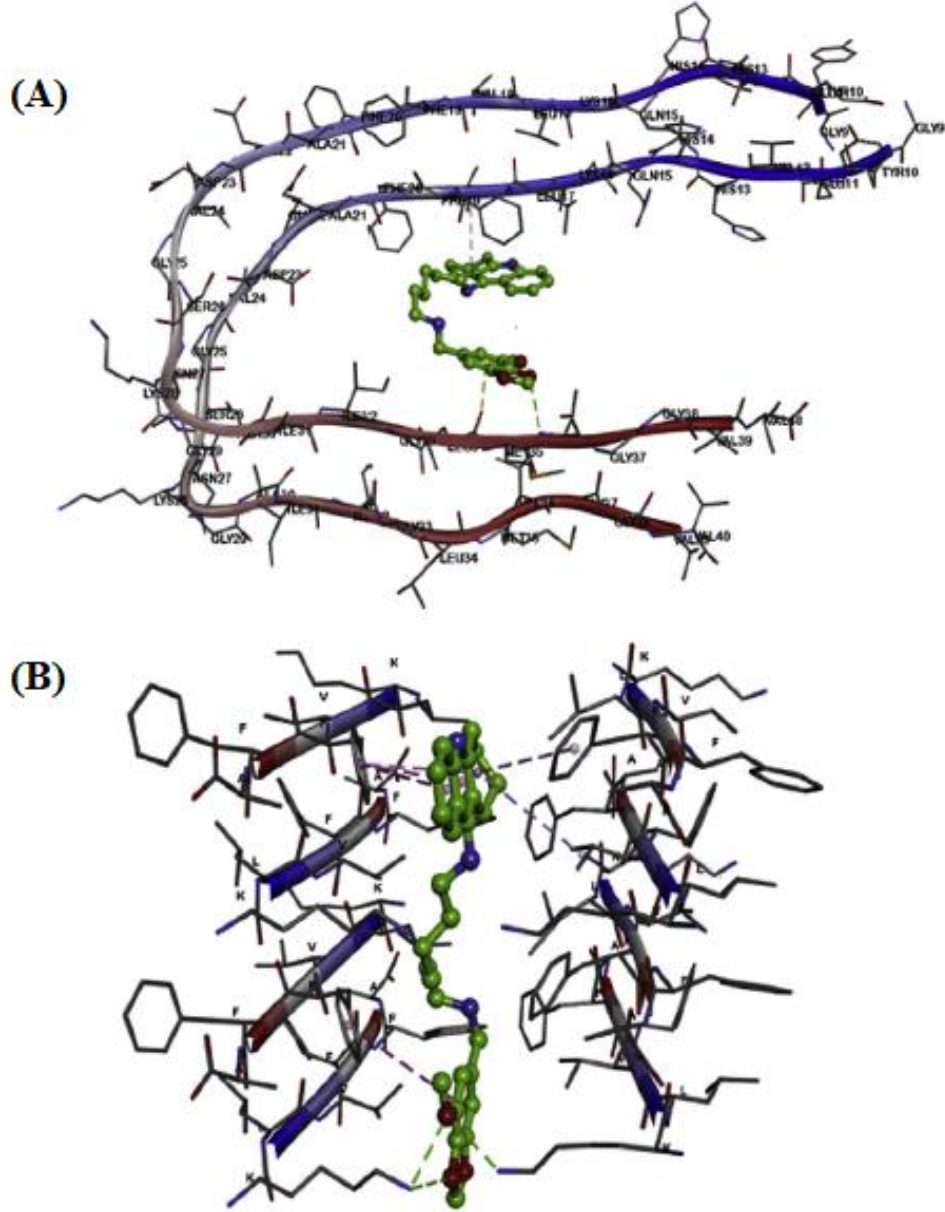
AH tedavisinde onaylanan ilk ChE inhibitörü olan takrinin, anti-amiloid agregasyon özelliklere sahip küçük moleküllerin geliştirilmesinde yararlı bir halka iskeleti olduğu bilinmektedir. Bu bağlamda, Luo ve arkadaşları tarafından kolinesterazların ve A $\beta$  agregasyonunun dual inhibitörleri olarak yeni takrin-alkoksibenzen hibritlerinin tasarımı rapor edilmiştir (244). Modelleme çalışması sonucunda, bu moleküllerin hem katalitik hem de periferik anyonik bölgelere bağlanma yeteneği ile AChE'nin bivalan inhibitörleri olarak hareket edebildiği gösterilmiştir. Çalışmada aynı zamanda bu bileşiklerin otomatik indüksiyonlu A $\beta$  agregasyonunu önleyebildiği bildirilmiştir (13).

Mohamed ve arkadaşları tarafından otomatik indüksiyonlu amiloid agregasyonunun önlenmesinde rol oynayan anahtar etkileşimleri anlamak için bu takrin hibritlerinin bağlanma etkileşimleri araştırılmıştır. Nükleasyon bağımlı A $\beta$  agregasyon sürecinde, dimer, trimer, tetramer, oligomer, protofibril ve fibril içeren çeşitli ara türlerin farklı derecelerde toksisite gösterdiği bilinmektedir (245, 246). Anti-A $\beta$  agregasyon özelliklerine sahip küçük moleküller, bu türlerin her ikisine de bağlanabilir ve toksisitesini (i) agregasyon sürecini bloke ederek ve/veya (ii)  $\beta$ -katlanma toplanma yerinde sitotoksisiteyi azaltmak için konformasyonel değişikliğe neden olarak ve/veya (iii) çözünür agregatların daha az toksik fibrillere hızla dönüştürülmesini destekleyerek azaltabilir (247-249). İyi tanımlanmış bağlanma ceplerine sahip geleneksel enzim hedeflerinin aksine, A $\beta$  agregat türüne bağlı olarak değişen yüzeysel olukların varlığı nedeniyle A $\beta$  agregatları üzerinde çalışma

yapılması oldukça güçtür. A $\beta$  agregasyon yolağında ilk oluşan tür A $\beta$  dimeridir ve daha yüksek dereceli türler oluşturmak üzere daha fazla agrega olabilir (250). Buna göre, Tycko'nun yapısından türetilmiş bir amiloid dimer modeli (pdb id: 2LMN) ile takrin hibridinin (**9a** kodlu bileşik) (Şekil 19) bağlanma etkileşimleri araştırılmıştır (13, 251). Bu çalışmada, **9a** kodlu bileşik, U-şekilli bir konformasyona yönlendirilmiş ve hem N hem de C terminal aminoasit kalıntılarıyla polar ve non-polar etkileşimler yapmıştır (Şekil 20). Tetrahidroakridin halkası, lösin ve valin yan zincirleri (K<sub>16</sub>LVFFA<sub>21</sub>) (uzaklık <5Å) ile  $\pi$ -alkil etkileşimlerine maruz kaldığında LVFF bölgesine yönlendirilmiş, buna karşılık tetrahidroakridin halkasına bağlı sekonder amin valin aminoasitinin karbonili ile hidrojen bağı oluşturmuştur (3.5 Å). Karbon ayırıcı, C-terminal aminoasitler I<sub>32</sub>GLMV<sub>36</sub>'nın yakınında 7-metoksibenzo[d][1,3]dioksol-5-il sübstitüentini yönlendirir ve burada hem polar hem de non-polar etkileşimlere uğrar. **9a** kodlu bileşiğin, toksik  $\beta$ -katlanma toplanma yerinde daha fazla agregasyonu önleyerek dimeri stabilize edebildiği gösterilmiştir. Bir sonraki adımda, K<sub>16</sub>LVFFA<sub>21</sub> sterik fermuar modeli ile **9a** kodlu bileşiğin etkileşimi araştırılmıştır (Şekil 20). Bilinen kristal yapıdan, bir oktamer sterik fermuar modeli yapılmıştır (13). Landau ve arkadaşları tarafından potansiyel anti-A $\beta$  aktivitesi ile küçük moleküllerin bağlanma etkileşimlerini incelemek için K<sub>16</sub>LVFFA<sub>21</sub> hekzapeptid aminoasit segmenti içeren A $\beta$  sterik fermuarın yararlı bir modeli olduğu gösterilmiştir (248, 252). Bu modeller, küçük molekülü anti-A $\beta$  ajanlarının  $\beta$ -katlanma toplanma yerinde konformasyonel değişikliği indüklemeye ve toksisitesini azaltma potansiyelleri hakkında değerli bilgiler sağlayabilir. Yapılan modelleme çalışmasında, **9a** kodlu bileşiğin doğrusal bir konformasyonda dik olarak yönlendirildiği gösterilmektedir; tetrahidroakridin halka sistemi (i) fenilalaninin aromatik halkası ile  $\pi$ - $\pi$  etkileşimi ve (ii) sterik fermuar ara yüzünün her iki yanındaki valin yan zincirleri ile  $\pi$ -alkil etkileşimi oluşturmuştur. Bu gözlemler, doğrusal ara bağlantı gruplarıyla her iki uçtan düzlemsel halka iskeletleri içeren yapıya sahip küçük moleküllerin,  $\beta$ -katlanma toplanma yerinde interkalasyon yaparak A $\beta$  agregatlarında konformasyonel bir değişikliğe ve sitotoksitesinde azalmaya sebep olacağını düşündürmektedir (13).

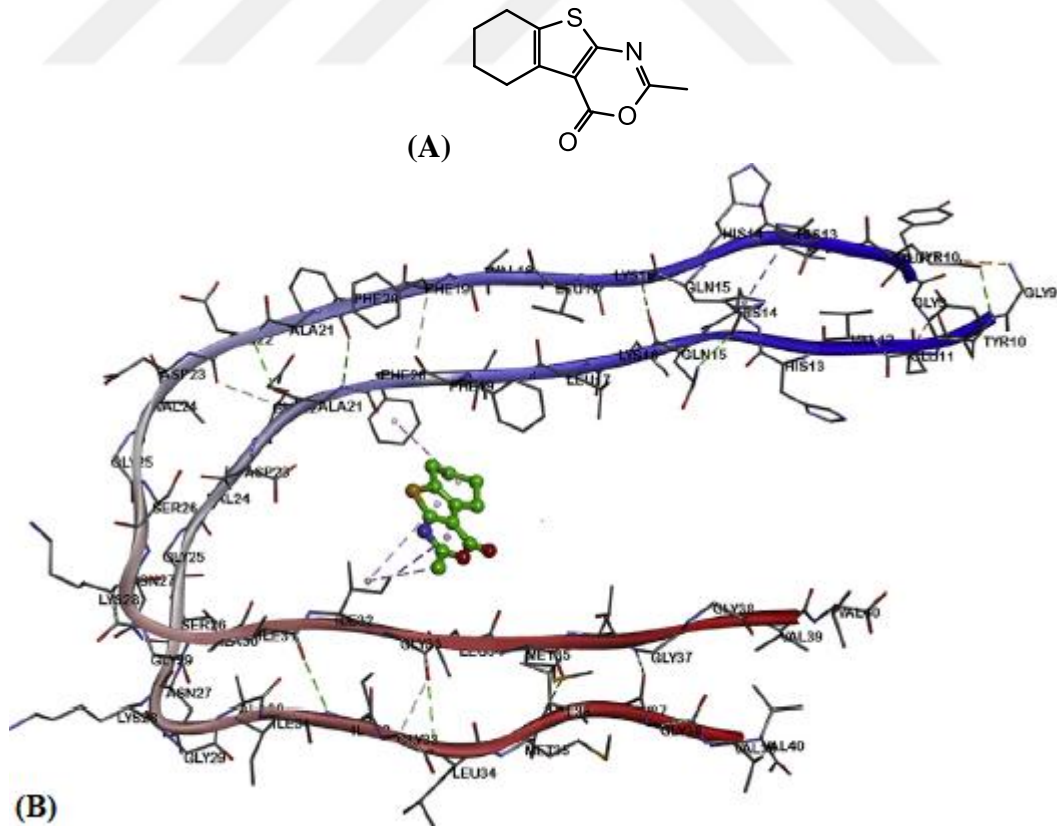


Şekil 19. **9a** kodlu bileşiğinin kimyasal yapısı



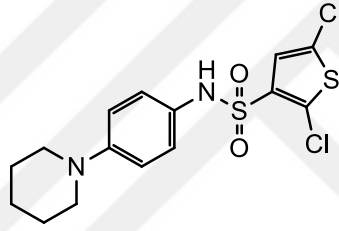
Şekil 20. (A) Aβ dimer modelinde **9a** kodlu bileşiğın bağlanma modu; (B) Oktamer Aβ sterik fermuar modelinde **9a** kodlu bileşiğın bağlanma modu (13)

Lopez ve arkadaşları tarafından high-throughput screening çalışmasına dayanan potansiyel A $\beta$  agregasyon inhibitörü bileşikler tasarlanmıştır. A $\beta_{17-40}$  agregasyonuna *in vitro* olarak müdahale eden, birbirinden farklı beş kimyasal bileşik tanımlanmıştır. Bu bileşikler içerisinde daha düşük toksisite sergileyen dördü, haberci proteinlere kaynaşmış A $\beta_{1-42}$ 'yi eksprese eden iki mantar organizmasında (*Podospora anserina* ve *Saccharomyces cerevisiae*) test edilmiştir. Bu dört bileşik, A $\beta_{1-42}$  oligomerleşmesinin erken evrelerine müdahale ediyor olup, bunların en az ikisinin, mantar organizmalarının kültür ortamına ilave edilmesiyle eksprese edilen A $\beta_{1-42}$  birleşmelerinin intraselüler agregasyonunu önemli ölçüde azalttığı sonucuna ulaşılmıştır (253). Bu bileşikler içinden, (2-metil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-benzo[4,5]tiyeno[2,3-d][1,3]oksazin-4-on) bileşiğiyle (1 kodlu bileşik), A $\beta$  dimer modelinin bağlanma etkileşimleri araştırılmış, tetrahidrobenzotiyeno halkasının fenilalaninlerle van der Waals etkileşimi yaptığı, C-terminalinde benzotiyeno ve oksazinon halkalarının non-polar etkileşim yoluyla izolösin ve lösin yan zincirleri ile etkileştiği bulunmuştur (Şekil 21) (13).



Şekil 21. (A) 1 kodlu bileşiğin kimyasal yapısı; (B) A $\beta$  dimer modelinde 1 kodlu bileşiğin bağlanma modu

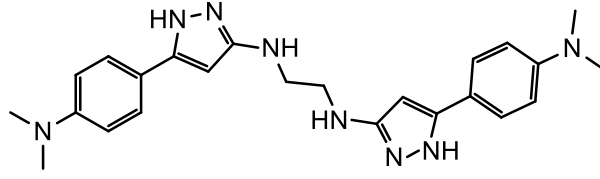
Arai ve arkadaşları tarafından A $\beta$  dizisi K<sub>16</sub>LVFFA<sub>21</sub>'dan türetilen siklik peptidler kullanılarak A $\beta$  agregasyonunu inhibe etmek için, küçük molekülü inhibitörleri tasarlamak ve geliştirmek amacıyla uygun farmakofor gruplar belirlenmiştir (254). Tasarlanan moleküller içinden 2,5-dikloro-*N*-(4-piperidinofenil)-3-tiyofensülfonamit bileşiğinin, A $\beta$  dimer modellemesi yapılarak, fenilpiperidin sübstitüentinin LVFF bölgesinin N-terminaline yönlendiği gösterilmiştir. A $\beta$  sterik fermuar modelinde, bu bileşiğin stabilize edici etkileşimlerinin varlığı, anti-A $\beta$  aktivitesinin iyi olduğu sonucunu desteklemiştir (Şekil 22). Aynı zamanda bu çalışmada A $\beta$  agregasyon inhibitörlerini tasarlamak için, merkezi altı üyeli bir aromatik halkaya bağlı fenoksi, benzil gruplarının faydalı bir model olduğu gösterilmiştir (13).



Şekil 22. 2,5-Dikloro-*N*-(4-piperidinofenil)-3-tiyofensülfonamit bileşiğinin kimyasal yapısı

Kroth ve arkadaşları tarafından, 3-aminopirazol iskeletine dayanan küçük moleküller geliştirmek için A $\beta$ 'nın  $\beta$ -katlanma toplanma yerinde görülen verici-alıcı-verici hidrojen bağlama paterniyle etkileşime giren rasyonel bir yaklaşım kullanılmıştır. Bu yaklaşım ile A $\beta$  oligomerizasyonunu ve fibril oluşumunu engelleyebilen, sitotoksiteyi azaltabilen dimerik 3-aminopirazol türevleri tasarlanmıştır (256). Bu türevlerden en iyi A $\beta$  inhibitör bileşiğinin bağlanma modu, A $\beta$  dimer ve sterik fermuar modellerinde araştırılmıştır. Modellemesi gerçekleştirilen bileşiğin doğrusal bir konformasyon sergilemiş olduğu, sterik fermuar ara yüzüne çok iyi oturduğu sonucuna ulaşılmıştır (Şekil 23). Fenilpirazol kısımları, sterik fermuar ara yüzünün her iki yanındaki fenilalanin, valin ve lizin aminoasitleri ile sırasıyla  $\pi$ - $\pi$ ,  $\pi$ -alkil ve  $\pi$ -kasyon etkileşimleri göstermiştir. Bu sonuçlar ile bileşiğin anti-A $\beta$  agregasyon özelliklerinin desteklendiği bildirilmiştir (13).

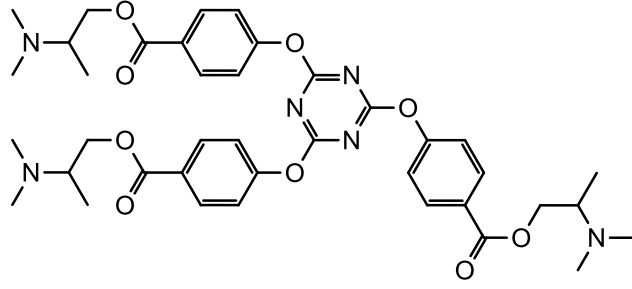




Şekil 23.  $N^1,N^2$ -bis{5-[(4-dimetilamino)fenil]-1*H*-pirazol-3-il}etan-1,2-diamin bileşiğinin kimyasal yapısı

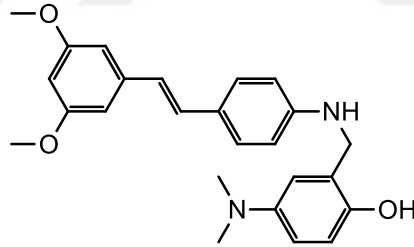
#### 4.4. Çok Hedefli Tedavi Stratejileri

Veloso ve arkadaşları tarafından hazırlanan bir bileşik kütüphanesinde, simetrik triazin yapısı içeren küçük moleküller, dual kolinesteraz ve amiloid inhibisyonu ile çok hedefli ajanlar olarak rapor edilmiştir. Triazinlerin rasyonel optimizasyonu, başarılı türevlendirmeler yoluyla aktivitenin artırılmasına neden olmuştur. Çeşitli disüstitüe ve trisüstitüe simetrik triazin türevlerinin, hem AChE hem de A $\beta$  aktivitesinin modülasyonu açısından mevcut inhibitörlere kıyasla karşılaştırılabilir veya daha büyük bir aktiviteye sahip olduğu sonucuna ulaşılmıştır. ACh benzeri süstitüsyonlar ile birlikte simetrik triazinlerin tasarımı, AH tedavisinde potansiyel aday olarak değerlendirilmiştir (257). Aday bileşiklerden en güçlü triazin bileşiğinin (**3e** kodlu bileşik), A $\beta$  dimer modelinde bağlanma etkileşimleri araştırılmış, birden çok polar ve non-polar etkileşim varlığının A $\beta$  agregasyonunu önlemede ve sitotoksisiteyi azaltmada önemli bir rol oynadığı görülmüştür (Şekil 24). Çok hedefli, güçlü aktiviteye sahip bu bileşik, anti-A $\beta$  aktivitesine rağmen, molekül ağırlığının ve atomik logP değerinin yüksek olması nedeniyle "druggable" (bir genomun bir kısmının özellikle küçük moleküllü bir ilaç tarafından hedeflenebilme kabiliyeti) değildir. Buna ek olarak, iyonize olabilen grupların varlığı, bileşiğin KBB'den geçişini azaltmıştır (13).



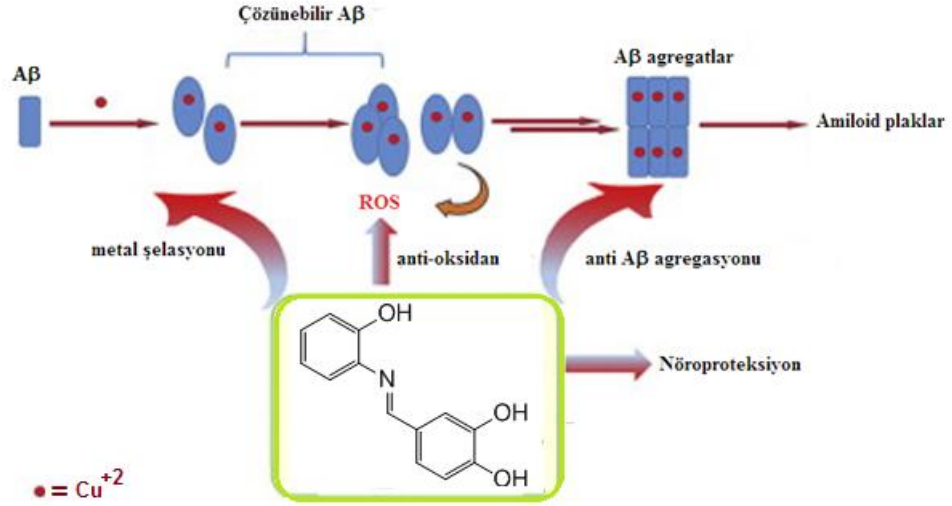
Şekil 24. Tri-[2-(dimetilamino)propil] 4,4',4''-(1,3,5-triazin-2,3,6-triil)trioksitribenzoat bileşiğinin kimyasal yapısı

Doğal bir ürün olan resveratrolü esas alan yeni moleküller, çok hedefli ajanlar olarak geliştirilmiştir. Lu ve arkadaşları tarafından dimetilaminofenol farmakoforuna sahip olan **5d** kodlu bileşiğin, otomatik indüksiyonlu A $\beta$  agregasyonunu önleyebildiği, antioksidan/metal şelasyon özellikleriyle birlikte monoamin oksidaz (MAO) ve AChE inhibisyonu sergilediği bulunmuştur (Şekil 25). Aynı zamanda, *in vitro* olarak KBB'den geçişinin iyi olduğu sonucuna ulaşılmıştır (258).



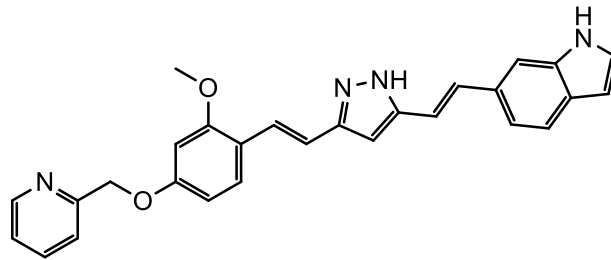
Şekil 25. **5d** kodlu bileşiğinin kimyasal yapısı

Li ve arkadaşları tarafından, bir imin resveratrol türevinin (**9** kodlu bileşik) anti-A $\beta$  agregasyonu, metal şelasyon ve antioksidan özellikler sergileyerek AH tedavisinde çok hedefli bir bileşik olduğu bulunmuş olup yeni bileşikler geliştirmek üzere resveratrolün model alınması önerilmiştir (Şekil 26) (259).



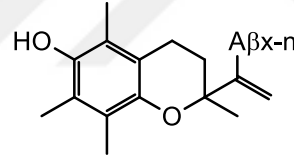
Şekil 26. 9 kodlu bileşiğinin kimyasal yapısı (259)

Okuda ve arkadaşları tarafından, AH'yi tedavi etmede mevcut Aβ ya da tau inhibitörlerinden tek başına daha etkili olan, Aβ ve tau kaskadlarının her ikisine birden etkili bir dual inhibitör önerilmiştir. Bu amaçla, bir dizi kurkumin türevi bileşik tasarlanıp sentezlenmiş ve hem tau hem de Aβ agregasyonuna karşı inhibitör aktiviteleri değerlendirilmiştir. Bu çalışmada, daha güçlü agregasyon inhibitörü olarak 3-[(1E)-2-(1H-indol-6-il)etenil]-5-[(1E)-2-[2-metoksi-4-(2-piridilmetoksi)-fenil]etenil]-1H-pirazol (4 kodlu bileşik, PE859) tanımlanmıştır (Şekil 27). Bu bileşiğin, hem tau hem de Aβ dual agregasyon inhibitörü olan kurkuminden *in vitro* olarak daha güçlü olduğu, dahası *in vivo* olarak kurkuminden daha iyi bir farmakokinetik profile ve güçlü bir farmakolojik etkiye sahip olduğu bulunmuştur (37).



Şekil 27. 4 kodlu bileşiğin kimyasal yapısı

Arai ve arkadaşları tarafından *in vitro* bir modelde A $\beta$ 'nin nörotoksitesini önlenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla, A $\beta$  fibril oluşumu için gerekli unsurlar olarak kabul edilen A $\beta$  peptid türevlerinin C-terminal dizilerine A $\beta_{x-n}$  ( $x = 34, 36, 38, 40; n = 40, 42, 43$ ) Trolox (Tx), radikal yakalamadan sorumlu olan E vitamininin aromatik kısmıyla konjuge bir dizi yeni çok fonksiyonlu antioksidan bileşikler (TxA $\beta_{x-n}$ ) tasarlanmış ve sentezlenmiştir (Şekil 28). Bu bileşiklerin çoğunun anti-agregasyon aktivite sergilediği bulunmuştur. Tasarlanan bileşikler arasında TxA $\beta_{36-42}$ 'nin, A $\beta_{1-42}$  agregasyonunu önemli ölçüde inhibe ettiği bulunmuştur. Aynı zamanda bu bileşik, güçlü antioksidan aktivite göstermiş ve insan nöroblastom hücre hattını (SH-SY5Y) A $\beta_{1-42}$  ile indüklenen sitotoksiteden korumuştur. Bu çalışmanın sonucunda, A $\beta_{1-42}$ 'nin C-terminal dizisinin TxA $\beta_{1-42}$  etkileşiminde önemli bir yapısal özellik olduğu ve fenolik antioksidan Tx ile konjugasyonun A $\beta_{1-42}$  ile ilişkili süreçleri inhibe etmek için yararlı olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle, bu yöntem, çok fonksiyonlu AH terapötik ajanlarının geliştirilmesi için umut verici bulunmuştur (101).



Şekil 28. TxA $\beta_{x-n}$ 'in tasarımı

#### 4.5. Pre-semptomatik Tedavi Stratejileri

Anti-A $\beta$  müdahalesinin yerleşmiş nörodejenerasyonda başarılı olamayacağı ve hafıza işlevini iyileştirme ihtimalinin düşük olması sebebiyle AH'nin klinik semptomların başlangıcından önceki erken evresinde, A $\beta$ 'ya bağlı AH'yi hedef alan stratejilere dayalı yaklaşımın daha etkili olacağı düşünülmektedir. Dolayısıyla, pre-semptomatik AH ile ilişki kurma noktasında AH risk faktörlerinin yönetimi, AH insidansını azaltmayı hedeflemektedir. Klinik semptomların başlamasından önce hastaları tedavi ederek, böylece sağlıklı kalmalarını sağlamak ve potansiyel AH nedenlerini ortadan kaldırmak bu stratejinin başlıca hedefidir. Bu risk faktörlerinin dünya genelinde AH vakalarının yaklaşık yarısında etkili olduğu ve bunların

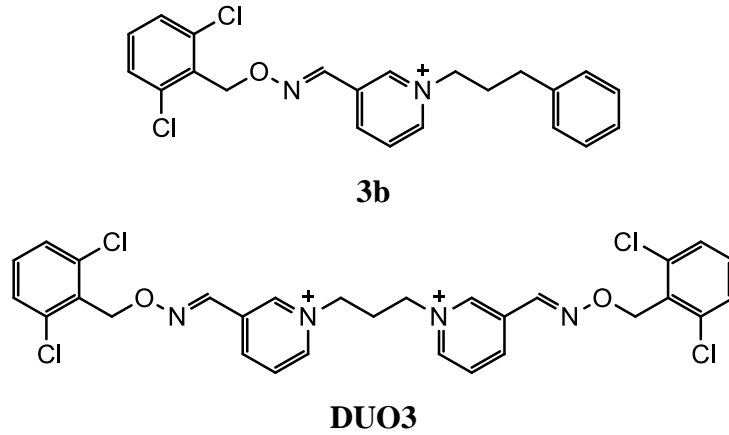
yönetimi ile 2025 yılına kadar yeni vakaların tahmini beşte birinin önlenebileceği öngörülmüştür (260). AH için en yüksek risk faktörü olarak yaşlılık düşünülür; çünkü bu durumda risk 65 yaşından sonra her 5 yılda iki katına çıkar. Diyetin, kardiyovasküler ilişkili hastalık durumlarını etkileyerek demansta önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (261). Demans gelişiminde etkili olan birçok risk faktörü değiştirilebilir ve hastalık müdahaleleri için hedeflenebilir. Bilişsel eğitim, fiziksel aktivite, vasküler risk faktörü kontrolü, beslenme yaklaşımları, stres yönetimi, sosyal katılım ve çok modlu müdahaleler gibi birden fazla sayıda davranış veya yaşam tarzı değişikliklerini içeren agresif risk faktörü yönetimi ile mücadele etmek gerekmektedir (262). AH'nin genetik nedenleri de büyük risk faktörlerindedir. Günümüzde AH, ailesel (FAD) ve ailesel olmayan (sporadik AH) olmak üzere iki sınıfa ayrılır. FAD, APP, PS1 veya PS2'deki genetik mutasyonlar sonucu ortaya çıkar. FAD'ın, erken başlangıçlı ve geç başlangıçlı AH olmak üzere iki formu mevcuttur. Erken başlangıçlı AH vakalarının çoğu kalıtsal olup, 60 yaşın altındaki bireylerde yaygın olarak gözlenir (263). Erken başlangıçlı AH teşhisi konan yetişkin bireyleri incelemek için Dominant Kalıtsal Alzheimer Ağı (DIAN = Dominantly Inherited Alzheimer's Network) gözlemsel çalışması başlatılmıştır. Bu çalışma, otozomal dominant AH'nin klinik, bilişsel, görüntüleme ve biyokimyasal belirteçlerinin analizlerini içermektedir. Çalışmada yer alan gönüllülerde, klinik semptomların başlamasından 15 yıl önce A $\beta$  birikim düzeyinde, beyin atrofisinde ve BOS'un tau düzeyinde artış gözlemlenirken; BOS'un A $\beta$ <sub>42</sub> konsantrasyonunun, mutasyon taşıyıcılarında beklenen semptomun başlangıcından 25 yıl önce azalmaya başladığı ortaya konmuştur. Buna ek olarak, serebral hipometabolizma ve zayıf epizodik bellek 10 yıl önce ortaya çıkmış ve kognitif bozukluk, otozomal dominant AH'nin beklenen semptom başlangıcından 5 yıl önce başlamıştır. Bu çalışmada kognitif, görüntüleme ve biyokimyasal belirteçlerin klinik semptomların başlamasından çok önce tespit edilebileceği ortaya koyulmuştur (264).

Başka bir pre-semptomatik tedavi çalışması olan Alzheimer önleme girişimi, erken başlayan FAD gen mutasyonunu baskın olarak miras alan bilişsel olarak sağlıklı gönüllüler ile başlatılmıştır. Çalışmanın gerçekleştirildiği pre-semptomatik taşıyıcılı bireylerin, taşıyıcı olmayanlara kıyasla sporadik AH'den etkilenen bölgelerinde (precuneus, üst parietal lob ve angular gyrus) hastalığın başlangıcından on iki yıl önce sağ ön hipokampal aktivitede artış ve daha ince serebral korteks görüldüğü bildirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, AH hastalarının beyinde, klinik

semptomların başlangıcından en az altı yıl önce, hem ailevi hem de sporadik AH için prelinik biyolojik belirteçler olarak rol oynayan belirgin pre-semptomatik değişiklikler geliştirmeye başladığını ortaya koymuştur (265).

## 5. A $\beta$ Agregasyon İnhibitörleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar

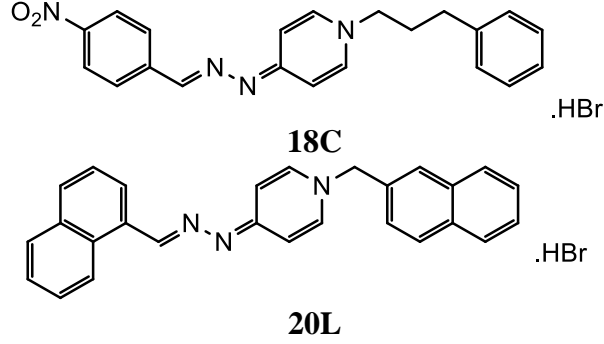
Kapkova ve arkadaşları tarafından, elektronik özelliklerini değiştirmek amacıyla azot atomunun farklı pozisyonlarda bulunduğu piridinyum türevleri, AChE inhibisyon ve A $\beta$  fibril oluşumunu bloke etme yetenekleri bakımından araştırılmıştır. Çalışma sonucunda piridinyum türevi **3b** kodlu bileşik ile bispiridinyum türevi **DUO3** kodlu bileşiğin AChE enzimine karşı inhibitör etkilerinin yanı sıra amiloid fibril oluşumunu da inhibe ettikleri rapor edilmiştir (Şekil 29) (266).



Şekil 29. **3b** ve **DUO3** kodlu bileşiklerin kimyasal yapısı

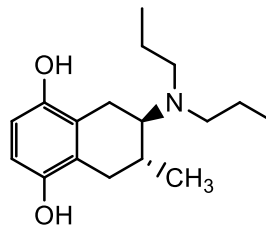
Prinz ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, sinaptik aralıktaki ACh konsantrasyonunu artırmak için AChE ve BuChE enzimlerinin inhibisyonu, buna ilaveten A $\beta$  fibrillerin oluşumunun inhibisyonu ve oluşmuş fibrillerin yok edilmesi amaçlanmıştır. Yakın zamanda AChE inhibitör olarak tanımlanmış 1,4-süstitüe 4-(1*H*)-piridilen-hidrazon iskeletine dayanan bir madde kütüphanesi oluşturulmuş ve AChE/BuChE inhibisyonları ile fibril oluşumu bakımından test edilmişlerdir. Bir transwell deneyi ile KBB'ye taşınabilirliği sağlanmıştır. *p*-Nitrosüstitüe bileşik (**18C**) nanomolar orandaki konsantrasyonda

anti-AChE aktivite sergilerken bisnaftilsübstitüe bileşik (**20L**) en iyi genel AChE/BuChE inhibitör ve fibril yıkımını arttırıcı bileşik olarak bulunmuştur (Şekil 30) (267).



Şekil 30. **18C** ve **20L** kodlu bileşiklerin kimyasal yapısı

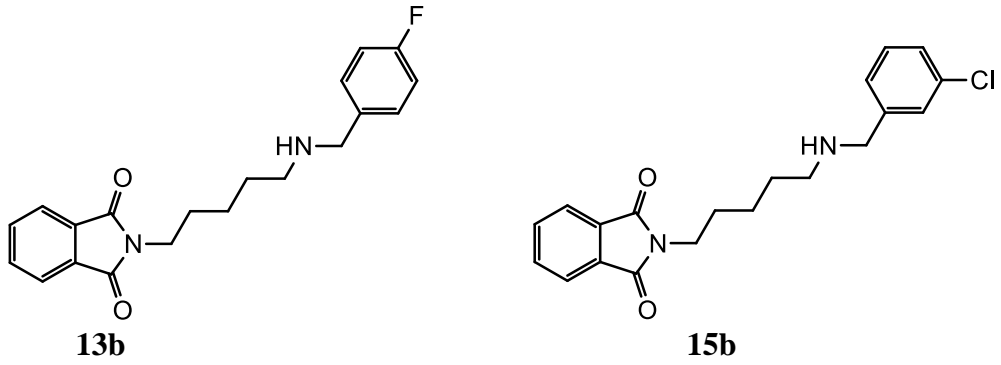
Parker ve arkadaşları tarafından, (-)-5,8-dihidroksi-3*R*-metil-2*R*-(dipropilamino)-1,2,3,4-tetrahidronaftalen [**(-)-2**] kodlu bileşik A $\beta$ <sub>1-42</sub> agregasyon inhibitörü olarak sentezlenmiş ve hidrokinoon türevi olan bileşik gerçekleştirilen iki farklı ölçme sisteminde de (synthaloid ve tiyoflavin T testleri) güçlü bir A $\beta$  fibril agregasyon inhibitörü olarak tespit edilmiştir (Şekil 31) (268).



Şekil 31. [**(-)-2**] kodlu bileşiğin kimyasal yapısı

Guzior ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, donepezilin kimyasal yapısından esinlenilerek bir seri izoindolin-1,3-dion türevi sentezlenmiş ve bileşiklerin AChE/BuChE inhibisyonu, A $\beta$  anti-agregasyon ve nöroprotektif etkisi incelenmiş, moleküler modelleme ve kristallografik çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Tüm bileşiklerin içerisinde **15b** kodlu bileşik en güçlü ve selektif AChE inhibitör

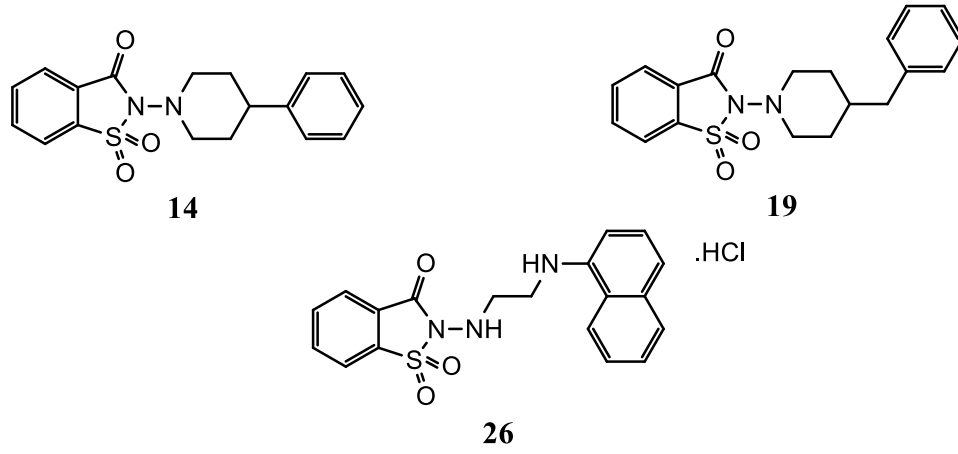
özelliik gösteren bileşik olarak bulunmuştur. Ayrıca **13b** kodlu bileşik, AChE inhibisyonu özelliğine ilave olarak A $\beta$  agregasyonunu inhibe etme ve A $\beta$  toksisitesine karşı nöroprotektif etki özellikleri de göstermiştir. **13b** kodlu bileşik yaşa bağılı nörodejeneratif bozuklukların tedavisinde geliştirilmek üzere ümit vaat edici çok hedefli ligand olarak bulunmuştur (Şekil 32) (255). **15b** kodlu bileşik üzerine modelleme çalışması gerçekleştirilmiştir. Gözlenen polar ve non-polar etkileşimlerin konformasyonel değişikliklere yol açarak ve A $\beta$  agregatlarının sitotoksitesini azaltarak sterik fermuar modelini stabilize ettiği sonucuna ulaşılmıştır (13).



Şekil 32. **13b** ve **15b** kodlu bileşiğin kimyasal yapısı

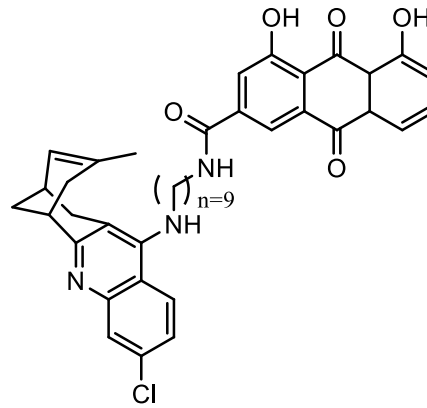
Bag ve arkadaşları ise, AH'nin patolojisinde çeşitli süreçlere karşı çok fonksiyonlu ajanlar geliştirmek amacıyla siklik ve uzun zincirli alifatik sülfonamid türevleri tasarlamış ve sentezlemiştir. Bileşikler, A $\beta$  fibril ve oligomer oluşumunun inhibisyonu, ChE modülasyonları ve serbest radikal tutucu özellikleri bakımından değerlendirilmişlerdir. Çalışma sonucunda, AH için çok fonksiyonlu ilaç adayı olarak üç bileşik (**14**, **19** ve **26**) tespit edilmiştir (Şekil 33) (269).





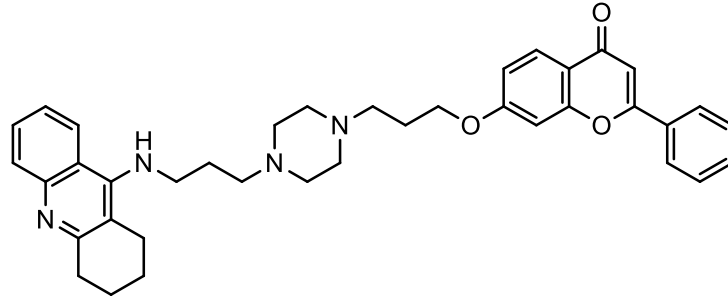
Şekil 33. 14, 19 ve 26 kodlu bileşiklerin kimyasal yapısı

Viayna ve arkadaşları tarafından AH için, rhein-huprin hibritleri sentez edilmiş olup *in vitro* ve *E.coli* hücrelerinde biyolojik taramaları gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda bu hibritlerin *hAChE*, *hBuChE*, *hBACE1*,  $A\beta_{42}$  ve tau anti-agregasyon aktivite ile birlikte KBB geçirgenliğine karşı güçlü inhibitör aktivite gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır. *Ex vivo* çalışmalar ile (+)- ve (-)-7e lider bileşiklerinin, C57bl6 farelerin beyin hücrelerini  $A\beta$ -indüklenmiş sinaptik disfonksiyona karşı etkin bir biçimde koruduğu, sinaptik proteinlerin kaybını önlediği ve/veya uzun süreli potansiyasyon indüksiyonu üzerinde olumlu etkisinin olduğu gösterilmiştir (Şekil 34). *In vivo* çalışmalarda (+)- ve (-)-7e bileşiklerinin APP düzeyindeki artış ile birlikte  $A\beta$  azaltıcı etkiye sahip olduğu gösterilmiş olup bu bileşiklerin anti-Alzheimer ilaç adayları olarak umut verici olduğu bulunmuştur (270).



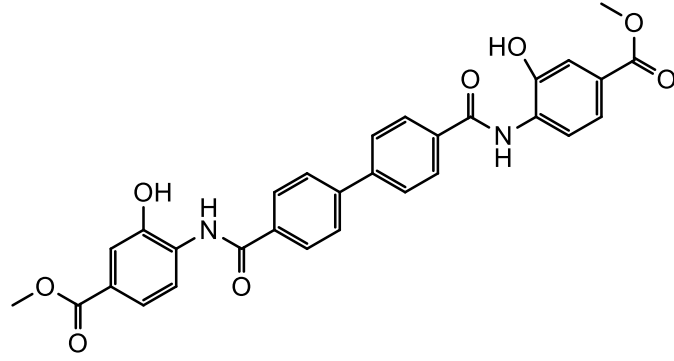
Şekil 34. 7e kodlu bileşiğin kimyasal yapısı

Li ve arkadaşları tarafından bir seri takrin-flavonoid hibrit bileşiği tasarlanıp sentezlenmiş ve AH'ye karşı ChE inhibitör aktiviteleri değerlendirilmiştir. AChE ve BuChE üzerine Ellman yöntemi kullanılarak *in vitro* inhibisyon çalışmaları yapılmış olup, bileşiklerin A $\beta$ <sub>1-42</sub> agregasyon inhibisyonu Tiyoflavin T yöntemi ile test edilmiştir. Kinetik ve moleküler modelleme çalışmaları ile bileşiklerin karışık tip inhibitörler olduğu sonucuna ulaşılmıştır. **13k** kodlu bileşiğin son derece etkin olduğu, ChE ve A $\beta$ <sub>1-42</sub> agregasyon inhibisyonuna karşı dengeli bir inhibe edici özellik gösterdiği bulunmuştur (Şekil 35). Aynı zamanda mükemmel metal şelat yapma özelliği ve düşük hücre toksisitesi göstermiştir. Bu sonuçlar, **13k** kodlu bileşiğinin AH tedavisi için güçlü bir lider bileşik olabileceğini göstermiştir (271).



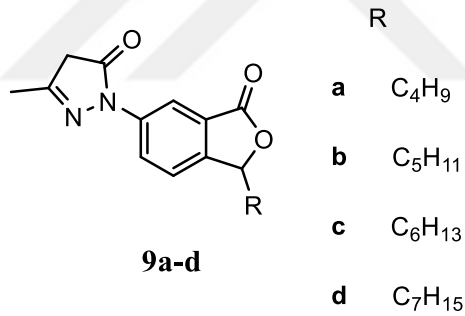
Şekil 35. **13k** kodlu bileşiğin kimyasal yapısı

Sellarajah ve arkadaşları tarafından CR analogları sentezlenmiş ve proteaza dayanlı prion proteinin (PrP-res) yanlış katlanan şeklinin infektivitesini inhibe etme gücü bakımından hücresel bir enfeksiyon modeline karşı değerlendirilmiştir. Bileşikler, aynı zamanda, PrP-res tarafından normal hücresel prion protein (PrP<sup>c</sup>) polimerizasyonunu inhibe etme kabiliyetleri açısından da test edilmiştir. İnhibisyon gösteren birçok bileşiğin içerisinde **2a** kodlu bileşik en yüksek PrP-res infektivite inhibisyonu gösteren bileşik olmuştur (Şekil 36) (272).



Şekil 36. **2a** kodlu bileşiğin kimyasal yapısı

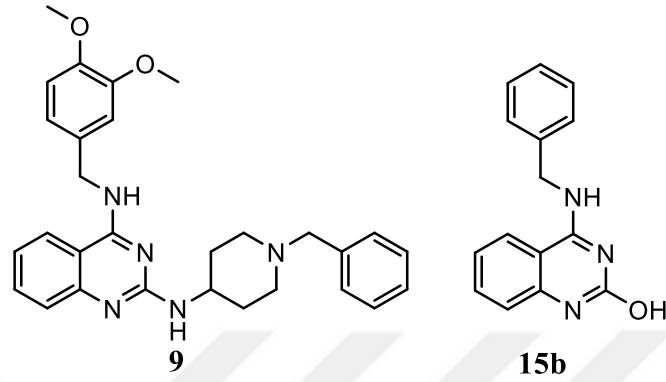
Qiang ve arkadaşları tarafından bir seri *DL*-3-*n*-butilftalit-Edaravone hibritleri tasarlanmış, sentezlenmiş ve AH tedavisinde dual A $\beta$  agregasyonu ve MAO inhibitörleri olarak değerlendirilmiştir. **9a-d** kodlu bileşikler, otomatik indüksiyonlu A $\beta$ <sub>1-42</sub> agregasyonunda % 57.7-71.5 inhibisyon oranı ile iyi bir inhibisyon profili göstermiştir (Şekil 37) (273).



Şekil 37. **9a-d** kodlu bileşiklerin kimyasal yapısı

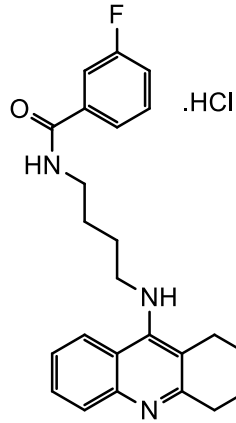
Mohamed ve arkadaşları tarafından AH'yi tedavi etmek için çok hedefli ajanların yeni bir sınıfı olarak 57 adet 2,4-disübstitüe kinazolin türevini içeren bir kütüphane tasarlanıp sentezlenmiştir. Yapılan biyolojik çalışmaların sonucunda, birkaç kinazolin türevinin hem AChE hem de BuChE'yi inhibe etme, A $\beta$  agregasyonunu önleme ve antioksidan özellikleri sergileme kabiliyeti gösterdiği bulunmuştur. **9** kodlu bileşik [*N*<sup>2</sup>-(1-benzilpiperidin-4-il)-*N*<sup>4</sup>-(3,4-dimetoksibenzil)kinazolin-2,4-diamin], kolinesterazların dual bir inhibitörü olarak tanımlanmış olup iyi A $\beta$  agregasyon inhibisyonu sergilemiştir (Şekil 38). **15b** kodlu

bileşğin [4-(benzilamino)kinazolin-2-ol], en güçlü A $\beta$  agregasyon inhibitörü olup referans ajanlar kurkumin ve resveratrol ile karşılaştırıldığında sırasıyla ~4 ve 1.4 kat daha güçlü olduğu bulunmuştur (Şekil 38) (274).



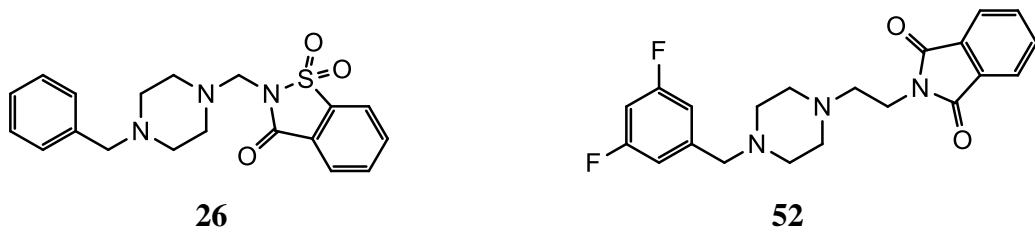
Şekil 38. **9** ve **15b** kodlu bileşiklerin kimyasal yapısı

Czarnecka ve arkadaşları tarafından 2-florobenzoik asit veya 3-florobenzoik asit ile 9-amino-1,2,3,4-tetrahidroakridin türevlerinin yeni bir serisi tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin kolinesteraz ve A $\beta$  agregasyon aktiviteleri değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmada, hedef bileşiklerin çok etkili AChE ve BuChE inhibitörleri olduğu bulunmuş ve en umut verici ajanlar, referans bileşik takrinden daha iyi inhibitör etki göstermiştir. AChE'ye karşı en aktif hedef bileşğin, **3c** kodlu bileşik olduğu bulunmuştur (Şekil 39). Bileşiklerin hemen hemen hepsinin BuChE'ye karşı AChE'den daha etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır. **3c** kodlu bileşğin çeşitli konsantrasyonları, agregasyon deneyiyle test edilmiş, A $\beta$  agregasyon inhibisyonu sırasıyla 50  $\mu$ M ve 100  $\mu$ M'da, % 77.32 ve % 80.43 bulunmuştur. Bu nedenle **3c** kodlu bileşik, AH tedavisinde umut verici bir ajan olarak değerlendirilmiştir (275).



Şekil 39. **3c** kodlu bileşiğin kimyasal yapısı

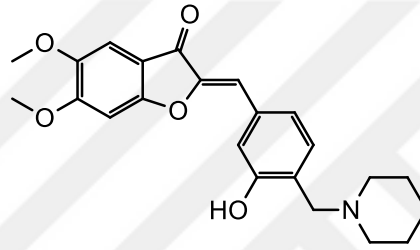
Yapılan başka bir çalışmada, bir seri ftalimit ve sakarin türevleri tasarlanmış, sentezlenmiş ve kolinesteraz,  $\beta$ -sekretaz ve A $\beta$  inhibitör aktiviteler ile çok hedefli anti-Alzheimer ajanlar olarak değerlendirilmiştir. Bu bileşikler arasında iki adet çok hedefli bileşik (**26**, **52**) tanımlanmıştır (Şekil 40). **26** kodlu bileşik, *Ee*AChE'ye karşı en yüksek inhibitör etki ve *h*BACE1'e karşı inhibitör aktivite sergilemiştir. **52** kodlu bileşik, BACE1 inhibitör aktiviteye sahip selektif bir AChE inhibitörüdür ve elde edilen tüm bileşikler arasında en önemli A $\beta$  anti-agregasyon özelliği sergilemiştir. Kinetik ve moleküler modelleme çalışmaları, **26** kodlu bileşiğin, enzimin hem katalitik hem de periferik aktif bölgesi ile etkileşebilen, non-kompetitif AChE inhibitörü olarak hareket edebileceğini göstermiştir (276).



Şekil 40. **26** ve **52** kodlu bileşiklerin kimyasal yapısı

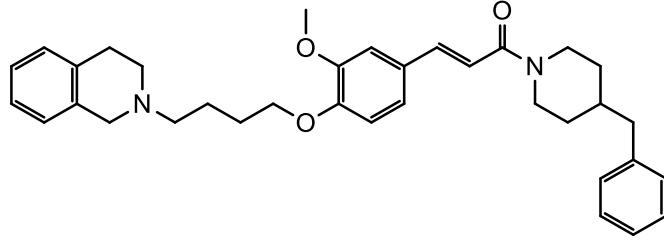
Bir dizi auron Mannich bazı türevi tasarlanmış, sentezlenmiş ve AH tedavisinde çok hedefli ajanlar olarak değerlendirilmiştir. *In vitro* çalışmalar, bu türevlerin çoğunun çok iyi fonksiyonel özelliklere sahip selektif AChE inhibitörleri

olduğunu göstermiştir. Bunların arasında, **7d** kodlu bileşik, *RatAChE*, *EeAChE* ve *hAChE* için olağanüstü inhibisyon aktivitesi sergilemiştir (Şekil 41). Üstelik **7d** kodlu bileşik yüksek antioksidan aktivite göstermiştir ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynaklı sıçan feokromositoma hücre hattına (PC12) hücre yaralanmasına karşı önemli nöroprotektif etki sağlayabileceği düşünülmüştür. **7d** kodlu bileşik, ayrıca biyometal şelatlama yeteneği, otomatik indüksiyonlu ve Cu<sup>+2</sup> ile indüklenen Aβ<sub>1-42</sub> agregasyon inhibitör etki ve yüksek KBB permeabilitesi göstermiştir. Bu çok hedefli özellikler, AH'ye karşı yeni ilaçların geliştirilmesine yönelik daha ileri çalışmalar için umut vaat eden bir aday olarak **7d** kodlu bileşiği vurgulamaktadır (277).



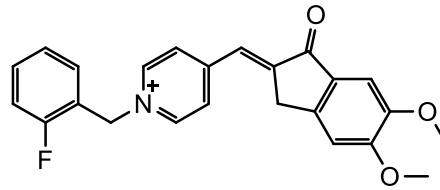
Şekil 41. **7d** kodlu bileşiğin kimyasal yapısı

Bir dizi yeni ferulik asit-*O*-alkilamin türevi bileşik tasarlanıp sentezlenmiş, AH'ye karşı çok hedefli ligandlar olarak değerlendirilmiştir. Sentezlenen tüm hedef bileşikler BuChE'ye karşı etkileyici inhibitör aktivite, otomatik indüksiyonlu Aβ agregasyon inhibisyonu/disagregasyonu göstermiş olup, potansiyel antioksidanlar gibi davranmıştır. En güçlü BuChE inhibitörü olan **7f** kodlu bileşiğin, iyi bir AChE inhibitörü olduğu bulunmuş ve selektif BuChE inhibitör aktivitesi için moleküler doking çalışması yapılmıştır (Şekil 42). **7f** kodlu bileşiğin ayrıca otomatik indüksiyonlu Aβ<sub>1-42</sub> agregasyonu üzerinde kayda değer inhibitör etkilere sahip olduğu ve otomatik indüksiyonlu Aβ<sub>1-42</sub> agregasyonunun, kendiliğinden indüklenen Aβ<sub>1-42</sub> agregasyonunu disagrega ettiği görülmüştür. Aynı zamanda bu bileşik ılımlı antioksidan aktivite ve düşük toksisite ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynaklı PC12 hücre hasarına karşı iyi protektif etki göstermiş olup, *in vitro* KBB'den geçebilir. Bütün bu çalışmalar, **7f** kodlu bileşiğin AH'de, özellikle de AH'nin ileri evrelerinin tedavisinde oldukça umut verici çok hedefli bir ajan olduğunu göstermiştir (278).



Şekil 42. **7f** kodlu bileşiğin kimyasal yapısı

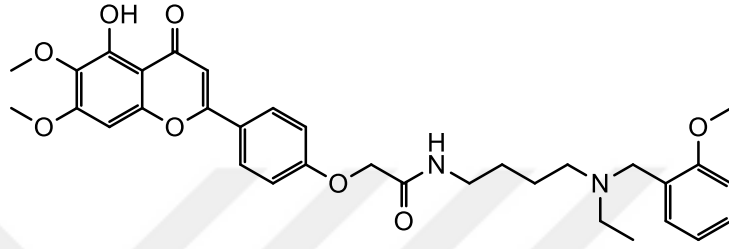
Bir seri yeni donepezil türevi bileşik tasarlanıp sentezlenmiş ve AH'ye karşı çok fonksiyonlu kolinesteraz inhibitörleri olarak değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin çoğu AChE'yi ve otomatik indüksiyonlu A $\beta$  agregasyonunu inhibe etmiş, antioksidan aktiviteyi yönetmiştir. **5b** kodlu bileşik AChE'yi güçlü bir şekilde inhibe etmiş olup, ayrıca iyi A $\beta$  agregasyon inhibisyonu ve antioksidan aktivite özelliği göstermiştir (Şekil 43). Kinetik ve moleküler modelleme çalışmaları, **5b** kodlu bileşiğin AChE'nin katalitik aktif bölge ve periferik anyonik bölgesine eşzamanlı olarak bağlanan karışık tip bir inhibitör olduğunu göstermiştir. Buna ek olarak, bu bileşik oksidatif stres ve A $\beta_{1-42}$  ile indüklenen PC12 hücrelerinin ölümünü azaltmıştır. Elde edilen sonuçlar, **5b** kodlu bileşiğin AH tedavisi için mükemmel çok fonksiyonlu ajan olabileceğini önermektedir (279).



Şekil 43. **5b** kodlu bileşiğin kimyasal yapısı

AH'nin tedavisinde çok hedefli ligand stratejisine dayanan bir seri scutellarein-*O*-asetamidoalkilbenzilamin türevi tasarlanmıştır. Tasarlanan bileşikler arasında, **T-22** kodlu bileşik, mükemmel AChE inhibisyonu ve orta düzeyde otomatik indüksiyonlu A $\beta_{1-42}$  agregasyonu, Cu<sup>+2</sup> ile indüklenen A $\beta_{1-42}$  agregasyonu, hAChE'nin neden olduğu A $\beta_{1-40}$  agregasyonu göstermiştir (Şekil 44). Aynı zamanda potansiyel antioksidan ve biyometal şelatörü olarak da görev yapmışlardır. Hem

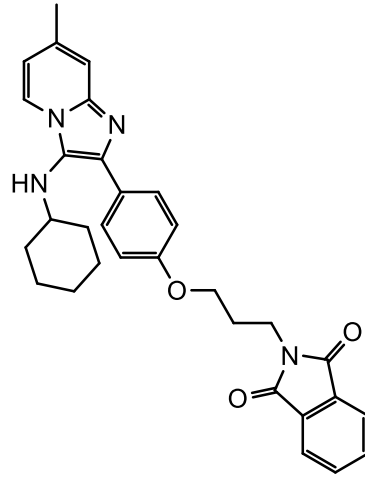
AChE inhibisyonunun kinetik analizi hem de moleküler modelleme çalışması, **T-22** kodlu bileşiğin AChE'nin katalitik aktif bölgesi ve periferik anyonik bölgesi ile etkileşime girdiğini ortaya koymuştur. Dahası bu bileşik, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile uyarılan PC12 hasarına ve SH-SY5Y hücrelerinde düşük toksisiteye karşı iyi bir nöroprotektif etki göstermiştir. Sonuçlar, **T-22** kodlu bileşiğin, AH için daha fazla çalışmaya değercek çok fonksiyonlu lider bir bileşik olduğunu göstermiştir (280).



Şekil 44. **T-22** kodlu bileşiğin kimyasal yapısı

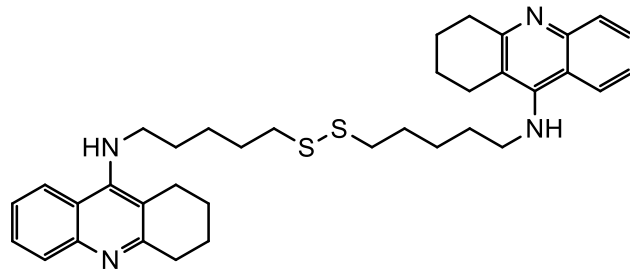
BACE1 inhibitörleri olarak ftalimit taşıyan bir seri imidazopiridin halkası içeren bileşik tasarlanmıştır. Sentezlenen bileşiklerin BACE1 inhibitör etkileri değerlendirildiğinde, imidazopiridin çekirdeğine bir sikloheksilamino grubunun eklenmesi ile etkide bir iyileşme ortaya çıkmıştır. Bu bağlamda, IC<sub>50</sub> değeri 2.84 (± 0.95) µM olan **8e** kodlu bileşiğin, BACE1'e karşı en etkili bileşik olduğu bulunmuştur (Şekil 45). Moleküler doking çalışmaları, imidazopiridinlerin azot atomunun ve fenoksipropil bağlayıcının oksijen atomunun, sırasıyla BACE1 aktif alanında bulunan Asp228 ve Asp32 ile hidrojen bağıyla etkileştiğini ortaya koymuştur. Elde edilen bulgular, ftalimit parçasını taşıyan imidazopiridin temelli bileşiklerin, Aβ seviyelerini azaltma potansiyeline ve AH'de semptomları iyileştirme özelliğine sahip olduğunu göstermiştir (281).





Şekil 45. **8e** kodlu bileşiğin kimyasal yapısı

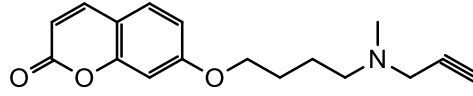
Anti-Alzheimer ve antiproliferatif özellikleri değerlendirilmek üzere, antioksidan bir bağlayıcı içeren bir dizi homodimer ve heterodimer takrin yapısında yeni dual etkili bileşikler tasarlanmıştır. Serinin en aktif bileşikler olan simetrik homodimerler, düşük konsantrasyonlarda sergiledikleri inhibisyon sabitleri ile etkin ve selektif AChE inhibitörleri olarak bulunmuştur. Üç homodimer, otomatik indüksiyonlu A $\beta$  agregasyonuna karşı iyi inhibitör aktivite göstermiştir. Simetrik disülfür türevi **19** kodlu bileşik, en iyi multipotent profil göstermiş ve fare kortikal nöronlarında 50  $\mu$ M konsantrasyonda bile nörotoksik bulunmamıştır (Şekil 46) (282).



Şekil 46. **19** kodlu bileşiğin kimyasal yapısı

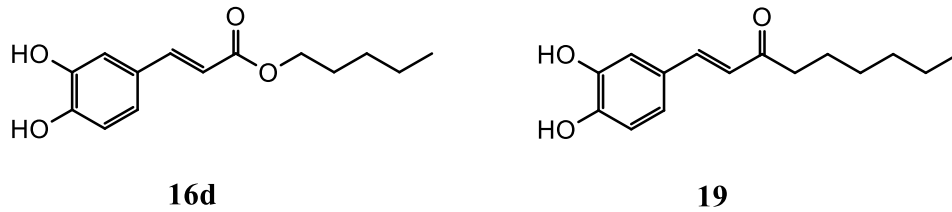
Bir dizi kumarin-parjilil hibrit (**4a-x**), AH'de yeni dual inhibitörler olarak tasarlanmış, sentezlenmiş ve değerlendirilmiştir. Bileşiklerin çoğunun, A $\beta$

agregasyonunu ve MAO'ları inhibe etme potansiyeline sahip olduğu bulunmuştur. **4x** kodlu bileşik, MAO'lara ve A $\beta$ <sub>1-42</sub> agregasyonuna karşı belirgin inhibitör aktivite sergilemiştir (Şekil 47). Dahası, bu bileşik *in vitro* hücre toksisite testinde düşük toksisite göstermiştir. KBB için paralel yapay membran geçirgenlik testinin sonuçları, **4x** kodlu bileşiğin KBB'yi geçebileceğini işaret etmiş, elde edilen tüm bulgular, **4x** kodlu bileşiğin AH tedavisinde etkili ve umut verici bir aday olduğunu göstermiştir (283).



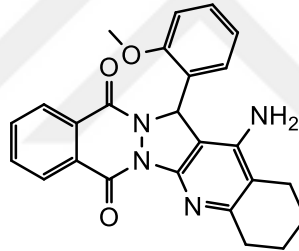
Şekil 47. **4x** kodlu bileşiğin kimyasal yapısı

Lamiaceae familyasından türetilmiş agregasyon inhibitörlerinden olan rosmarinik asit, lider bileşik olarak kullanılarak türevleri sentezlenmiştir. Bu çalışmada, rosmarinik asit türevlerinin A $\beta$  agregasyon inhibitör etkileri, antioksidan özellikleri ve ksantin oksidaz inhibisyonu için yapı aktivite ilişkileri değerlendirilmiştir. Test edilen bileşikler arasında **16d** ve **19** kodlu bileşiklerin en kuvvetli amiloid agregasyon inhibitörleri oldukları bulunmuştur (Şekil 48). SAR çalışması, molekülün bir tarafında fenolik hidroksil varlığının yanı sıra tüm molekülün lipofilikliğin gerekli olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu yapısal özelliklerin önemi doking simülasyonları ile desteklenmiştir (284).



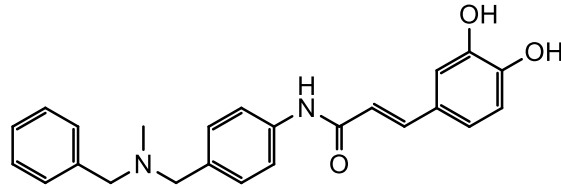
Şekil 48. **16d** ve **19** kodlu bileşiklerin kimyasal yapısı

Kaynaştırılmış bir pirazolo[1,2-*b*]ftalazin yapısına sahip takrin benzeri bileşikler, AChE'nin güçlü ve selektif inhibitörleri olarak tasarlanmış ve sentezlenmiştir. *In vitro* biyolojik değerlendirmeler, çeşitli bileşiklerin nanomolar seviyede yüksek AChE inhibitör aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. **71** kodlu bileşiğin, takrine göre 7 kat daha güçlü ve takrinden farklı olarak, BuChE'ye kıyasla AChE'ye karşı oldukça selektif olduğu bulunmuştur (Şekil 49). İnsan hepatoselüler karsinoma (HepG2) ve PC12 hücre hatlarına yönelik çalışmalar, **71** kodlu bileşiğin takrinden çok daha düşük hepatotoksositeye sahip olduğunu ve PC12 hücrelerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin yol açtığı hasara karşı ilave nöroprotektif aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu bileşik ayrıca AChE'nin indüklediği ve otomatik indüksiyonlu Aβ agregasyonunu da inhibe edebilmiştir. Sentetik erişilebilirlik, yüksek etki ve selektiflik, düşük toksisite, yardımcı nöroprotektif ve Aβ agregasyonunu inhibe etme aktivitesi gibi avantajlar, bu bileşiği AH'de yeni ilaç keşfi için çok hedefli lider bileşik haline getirmiştir (285).



Şekil 49. **71** kodlu bileşiğin kimyasal yapısı

Yeni bir seri sinnamamit-dibenzilamin hibritleri biyolojik olarak tasarlanmış, sentezlenmiş ve değerlendirilmiştir. *In vitro* deneyler, hedef bileşiklerin çoğunun, ChE'leri ve otomatik indüksiyonlu Aβ agregasyonunu kuvvetle inhibe etme, potansiyel antioksidan ve biyometal şelatör özellikleri olduğunu göstermiştir. Yapılan çalışma, **7f** kodlu bileşiğin AChE'nin hem katalitik aktif bölgesini hem de periferik anyonik bölgesini hedeflediğini göstermiştir (Şekil 50). Buna ek olarak, bu bileşiğin metal iyonlarını şelatlayabildiği, oksidatif stresle indüklenen PC12 hücrelerinin ölümünü azalttığı ve KBB'ye nüfuz edebildiği bulunmuştur. Genel olarak, bu *in vitro* sonuçların hepsi vaat edilen *in vivo* sonuçlar ile kombinasyon halinde, **7f** kodlu bileşiğin daha ileri araştırmalara geçecek lider bir yapı olabileceğini vurgulamıştır (286).



Şekil 50. **7f** kodlu bileşiğin kimyasal yapısı

## 6. A $\beta$ Agregasyona Karşı Etkili İnhibitörlerin Tasarımı ve Geliştirilmesi İçin Hesaplamalı Yaklaşımlar

Bir hedef protein/peptid üzerindeki ligand bağlanma bölgelerinin belirlenmesi, araştırma konularının içerisinde yer almaktadır. Birçok protein, moleküllerle küçük bir alanda spesifik etkileşimde bulunarak işlevlerini yerine getirirler. Bu nedenle hesaplamalı yaklaşımların kullanılması, ligandların nereye, nasıl bağlandığı ve hedef proteinin işlevi hakkında önemli bilgiler sağlayabilmektedir. Protein Bilgi Bankası (PDB)'nda üç boyutlu yapıya sahip proteinlerin % 40'ının ligand bağlanma verisi yoktur. Proteinin liganda bağlanma yerinin bilinmesi, proteinin aktivitesini değiştirerek inhibitör/aktivatörlerin rasyonel yapı temelli tasarımında oldukça önemlidir. Hastalık ile ilişkili birçok proteinin aktif bölgesi, allosterik bölgesi, "druggable" bağlayıcı cebi ve/veya etkin noktasını temsil eden hedef bölgeleri high-throughput ligand screening yöntemi kullanılarak belirlenebilmiştir. Bilinen bir ilacın bilinmeyen bir mekanizma ile çalışması halinde ve ligandın birden çok ve/veya istenmeyen yere bağlandığı durumlarda yan etkiler gelişebilir. Bu yan etkileri engellemek için daha önceden hedef protein üzerinde ilacın tanımlanmış bağlanma yerinin yapısına dayanarak yeni bileşiklerin tasarlanması mümkündür.

Birden çok aromatik halka taşıyan çok sayıda küçük molekül, A $\beta$  agregasyonunu önleme ve nörotoksisiteyi azaltma yetenekleri açısından çeşitli araştırmacılar tarafından incelenmiştir. A $\beta$ 'nin gelişiminde önemli rol oynayan A $\beta$  peptid agregasyon mekanizmasının tam olarak anlaşılabilmesi nedeniyle bu hastalığı etkili bir şekilde tedavi eden hiçbir terapötik ilaç bulunmamaktadır. A $\beta$ 'nin esnek bir yapıya sahip olması ve agregasyon eğilimi sebepleriyle sekonder ve tersiyer yapılarını deneysel ya da teorik olarak karakterize etmek zordur. A $\beta$  peptid formunun agregasyon öncesi denge halindeki geçici yapıları nasıl oluşturduğunu

anlamak, AH'ye karşı yeni terapötik moleküllerin tasarımına katkıda bulunacaktır (287).

A $\beta$  peptidi, ağırlıklı olarak sarmal yapıyı benimseyen esas olarak bozulmuş bir protein olarak düşünülmektedir. Ayrıntıda, A $\beta$  peptidinin katlanmış yapısı bu nedenle mükemmel değildir. A $\beta$ 'nın sekonder yapıları üzerinde birçok araştırma grubu çeşitli sonuçlar bildirmiş olduğu için, sulu ortamda A $\beta$  monomerinin geçici yapıları ile ilgili soru işaretleri bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda görüş birliğine varılan tam uzunluktaki A $\beta_{1-42}$  peptid modeli; N-terminal bölgesi (1. ve 16. aminoasit aralığı), merkezi hidrofobik çekirdek (17. ve 21. aminoasit aralığı), fibrilin dönme bölgesi (22. ve 29. aminoasit aralığı) ve C-terminal bölgesi (30. ve 42. aminoasit aralığı) olmak üzere oligomerizasyonda farklı rol oynayan dört bölüme ayrılmıştır. N-terminal bölgesi ağırlıklı olarak yapılandırılmamıştır, ancak  $\beta$ -iplikleri oluşturmaya meyilli olup muhtemelen diğer birçok bölge ile temas halindedir. Merkezi hidrofobik çekirdek,  $\beta$  zengin yapılar oluşturma yönünde önemli bir eğilime sahiptir. Fibrilin dönme bölgesinde 7.-8. ve 12.-15. aminoasitlerde ve C-terminal bölgesinde dönme motifleri rastgele izlenir. C-terminal bölgesinde  $\beta$ -iplik yapıları hakimdir, bunlar arasında 31.-34. ve 38.-41. aminoasitler sıklıkla vurgulanır (288). A $\beta_{42}$  fibrillerinin bildirilen üç boyutlu yapısında, 17.-42. aminoasitlerin molekül içi çekirdek yapısını ve 17.-20. aminoasitlerin hidrofobik yüzeyi oluşturulduğu görülmektedir. A $\beta_{42}$  monomeri,  $\beta$ -iplikleri oluşturan 18.-26. ve 31.-42. aminoasitlere sahip hidrojen bağı ile etkileşen anti-paralel  $\beta$ -tabakalardan oluşmaktadır (289).

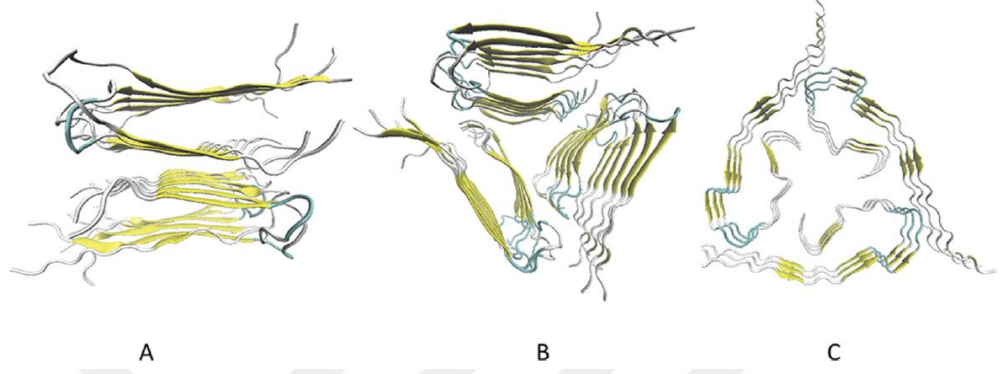
Agregasyon esas olarak KLVFF motifi ve hidrofobik C-terminal bölgesi ile ilişkilidir.  $\alpha$ -Sarmal form, lipofilik ortamda özellikle monomerler serbest bırakılmadan önce hücre zarında egemen olurken,  $\beta$ -tabaka yapısı içeren agregatlar sulu çözeltilerde bulunur (290). A $\beta$ 'nın konformasyonu, bu sözü edilen kimyasal çevresine kuvvetle bağlıdır.

Farklı konformasyonlarda bulunan A $\beta$  monomerleri kendiliğinden kompleks oluşturarak, non-kovalent bağlı metastabil oligomerler üretir. Bu, A $\beta$  monomer katlanma ve oligomerizasyon sürecinin tespiti için, dairesel dikroizm (CD), Fourier transform-infrared (FT-IR) ve nükleer manyetik rezonans (NMR) gibi spektroskopik teknikler kullanılmaktadır. Aynı zamanda, sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) kullanılarak oligomerlerin tespiti yapılabilir. A $\beta$  yapısını belirlemek için, A $\beta$  monomer katlanma sürecini anlayarak ve A $\beta$  oligomerleşmesini

önleyerek terapötik bileşikler geliştiren, bilgisayar destekli yöntemler (*in silico*) içeren güçlü bir yaklaşım rağbet görmektedir. Bilgisayar destekli ilaç tasarımı alanında bilişimsel ilerlemelerin rolünü içeren bir dizi rapor mevcuttur. Bu bilişimsel yaklaşımlar; küçük moleküllerin, makromoleküllerin ve bunların doklanmış komplekslerinin konformasyonel modellemesini, fiziksel, biyolojik ve kimyasal özelliklerinin yapısal ilişkilerini ve yeni moleküllerin tasarımını içerir. Dolayısıyla, *in silico* yaklaşımlar yeni potansiyel lider bileşiklerin tanımlanmasında, klinik denemeler sırasında maliyet ve zamandan tasarruf edilmesinde ve yeni ilaçların başarı oranının arttırılmasında fırsat sağlamıştır (12).

A $\beta$  monomerindeki bağlanma yerleri hakkında bilgilerimiz oldukça sınırlıdır. Hem hesaplamalı hem de deneysel yöntemler, ligand-protein/peptid etkileşim bölgelerini aydınlatmak için kullanılmaktadır (287). Amiloidin hem sarmal monomerik hem de  $\beta$ -tabakalı oligomerik yapısı NMR spektroskopi ile tespit edilebilir (290). A $\beta$ 'nın sulu çözeltisinde bağlanma oldukça zayıf olsa bile, aminoasit seviyesinde ligand-protein etkileşim bölgesi bilgisi NMR verileri ile sağlanabilir. Bununla birlikte bu yöntem zaman alıcı, zor ve pahalıdır. X-ışını kristalografisinde, kristal yapısındaki numunelerin kullanılması gerektiği için sulu çözeltilerde bağlanma izlenemeyebilir. Son yıllarda literatürlerde, bir yüzey üzerinde ana peptidin bir parçasını veya küçük molekül ligandını hareketsiz hale getiren ve sonuçta ortaya çıkan bağlanmayı saptayan, birkaç aminoasit dizisi temelli yöntem bildirilmiştir. Yenilikçi olmasına rağmen, bu yaklaşımlar tam uzunlukta hedef proteinin kısaltılmış aminoasit fragmanlarının kullanılmasını gerektirir. Bu kısa fragmanlar, tam uzunluktaki üç boyutlu protein/peptid yapısının ligand bağlanma bölgelerinin değerlendirilmesine olanak sağlamamaktadır. Peptid fragmanı faj görüntüleme yönteminde de benzer bir kısıtlama mevcuttur. Hesaplamalı yaklaşımlarda ilerleme devam ettikçe, hedef proteinler üzerindeki ligand bağlanma yerlerini tahmin edebilen bilgisayar temelli yöntemler de gelişmektedir. Bu yöntemlerin başlıca kategorileri geometrik, enerji temelli ve doking programlarıdır. Bu tekniklerin neredeyse tamamı, tüm hedef proteinler ve/veya karmaşık moleküler dinamik simülasyonları için mevcut olmayan, kurgulanmış bir üç boyutlu pdb proteini/peptid yapısını gerektirir. Ayrıca, hesaplamalı yöntemler tarafından öngörülen ligand bağlanma alanları genellikle deneysel doğrulama gerektirir (287).

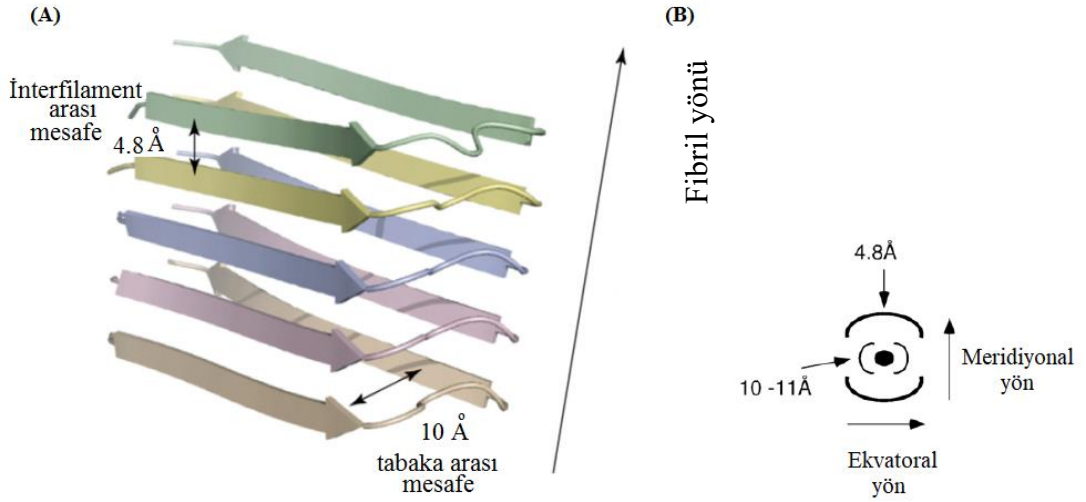
Tycko grubu, katı hal NMR'ı kullanarak farklı A $\beta$  fibril modelleri belirlemiştir: pdb id: 2LMO ve pdb id: 2LMP. Aynı zamanda tek bir hastadan türetilen fibril modeli de mevcuttur (pdb id: 2M4J) (Şekil 51).



Şekil 51. A $\beta$  fibril modelleri (A) pdb id: 2LMO; (B) pdb id: 2LMP ve (C) pdb id: 2M4J

Hastadan türetilen model (C) ile *in vitro* modeller (A ve B) arasındaki farklılıkların AH'yi yavaşlatabilen veya tersine çevirebilen potansiyel ilaç adaylarına nasıl bağlandığı ilgi konusudur. Mevcut A $\beta$  inhibitörleri sadece *in vitro* A $\beta$  fibril yapıları kullanılarak geliştirildiğinden, bu önemli bir sorundur. Dolayısıyla, *in vitro* ve hastadan türetilmiş yapılara bağlanma farklılıkları, bu tür ilaç adaylarının sınırlı başarısını açıklayabilir (291).

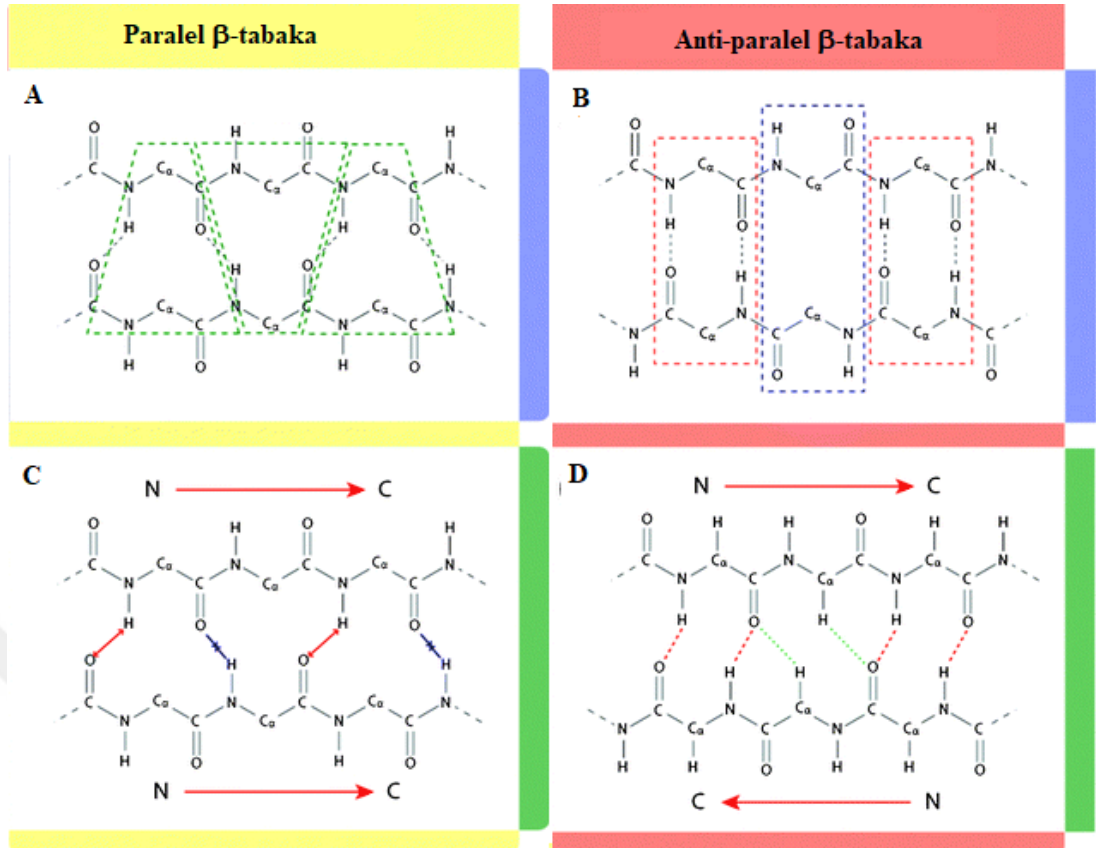
Küçük moleküler boyutlarına ve KBB penetrasyonuna dayanarak CR analogları, hem antemortem hem de *in vivo* görüntüleme ve beyin amiloid miktarının belirlenmesinde kullanılabilir. Amiloide bağlanma, CR'nin maksimum optik absorbansında 490 nm'den 540 nm'ye kadar karakteristik bir kaymaya yol açmıştır. Amiloid iplikler genellikle 75-100 Å genişliğinde olup, olgun iplikler oluşturmak için çeşitli yollarla bir araya getirilebilen çok sayıda ince protofilamentlerden oluşur. X-ışını yansıma modeli, amiloidde bulunan protofilamentlerin yaklaşık 4.8 Å'luk mesafe ile  $\beta$ -tabakada düzenlendiğini göstermiştir (Şekil 52).



Şekil 52. Amiloid fibril yapısının karakteristiğini özetleyen şematik diyagramlar  
**(A)** Kümelenmiş çapraz-β tabakaları; **(B)** amiloid fibrilin X-ışını kırınım görüntüsü

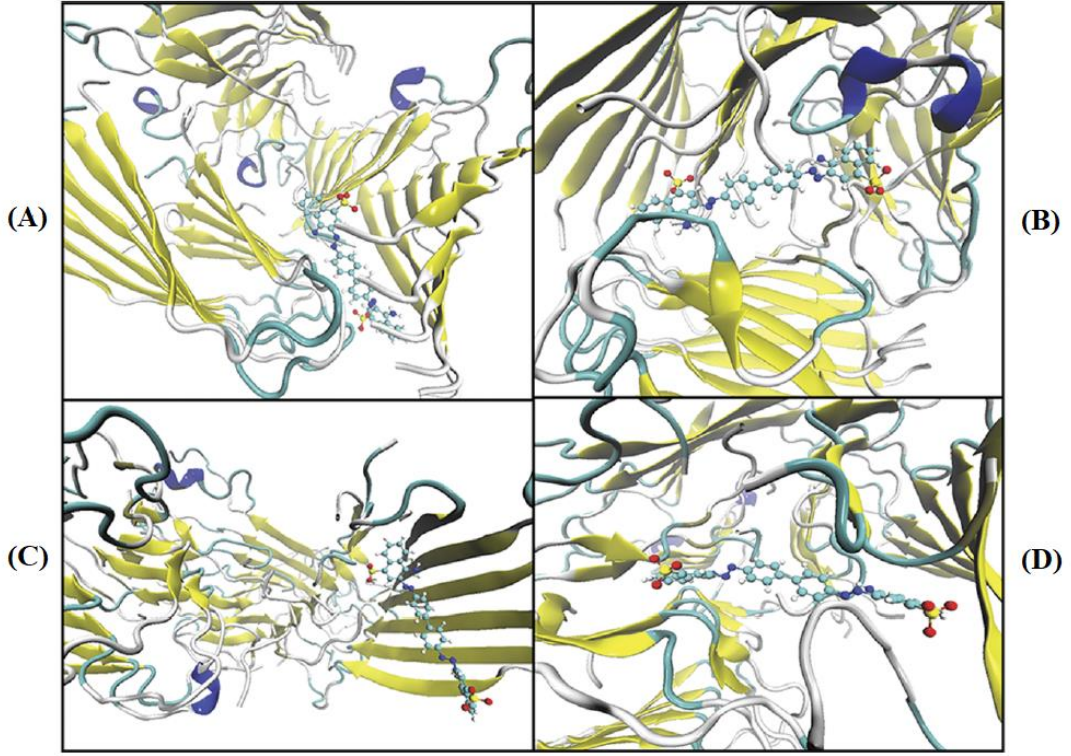
Bireysel polipeptid zincirleri, tüm N ve C-terminal uçlarının aynı sırayla bulunduğu paralel veya değişen sırayla bulunduğu anti-paralel β-tabakası halinde bulunabilirler (Şekil 53). "Normal-β" modelleri üreten fibriller, fibril eksenine paralel yönlendirilmiş protofilamentlere sahip iken, "çapraz-β" tabakalarının fibril eksenine dik olarak yönlendirilmiş polipeptid zincirlerine sahip olduğu bulunmuştur (290).





Şekil 53. Anti-paralel ve paralel β-tabakalarının diyagramları (A) Paralel β-tabakada tek çapraz iplik bölgesi [hidrojen bağı bölgesi (yeşil renkli)]; (B) Anti-paralel β-tabakada iki farklı çapraz iplik bölgesi [hidrojen bağı (kırmızı renkli) ve hidrojen bağı olmayan bölgeleri (mavi renkli)]; (C) Paralel β-tabakada aminoasit yönü; (D) Anti-paralel β-tabakada aminoasit yönü

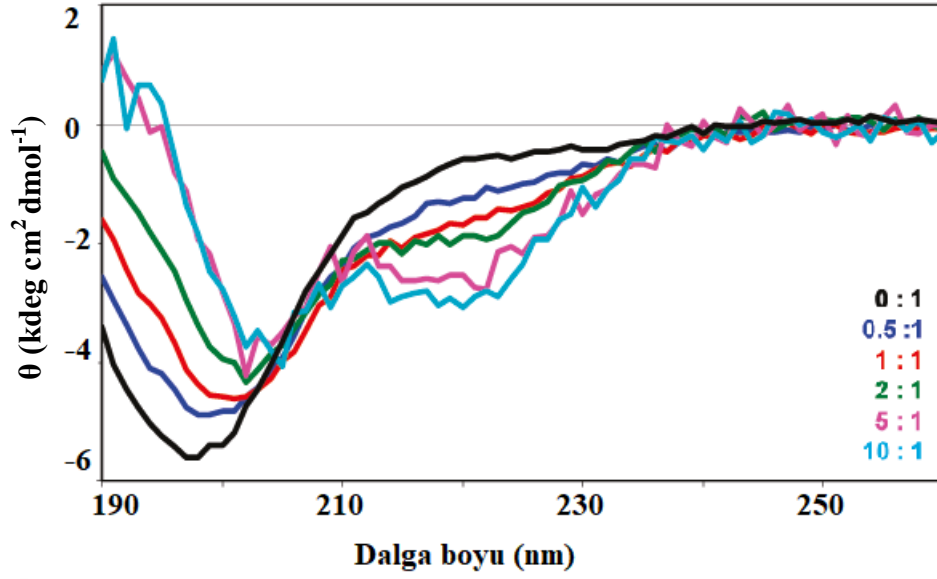
β-Tabakaların hidrofobik-aromatik N-terminal kalıntılarından oluşan alan içindeki amiloid fibrillerine CR'nin bağlandığında yapılan doking çalışmaları sonucunda, CR'nin uzun ekseninin fibril eksenine paralel yönlendiği bulunmuştur. Yapısında bulunan iki adet sülfat grubu, bağlanma sürecini yönlendirmede önemli bir rol oynamıştır. Paralel yönlendirmeye en elverişli olan CR'nin çeşitli bağ yönelimleri doking programları ile gözlenmiştir. Kullanılan Molegro doking programı ile CR'nin bağlanma bölgelerinin, ligandın fibril büyümesine dik olduğu sonucu elde edilmiştir (Şekil 54). Ligandın yönlendirilmesi doking yazılımına bağlı gibi görünse de, yazılım *in vitro* ve hastadan türetilen (PD) amiloid fibril modellerinin her ikisi için de aynı etkileşime yol açmamıştır (291).



Şekil 54. CR, *in vitro* ve PD A $\beta$  fibril modelleri ile; (A) *in vitro*<sub>autodock</sub>; (B) *in vitro*<sub>molegro</sub>; (C) PD<sub>autodock</sub> ve (D) PD<sub>molegro</sub> bağlanma bölgeleri

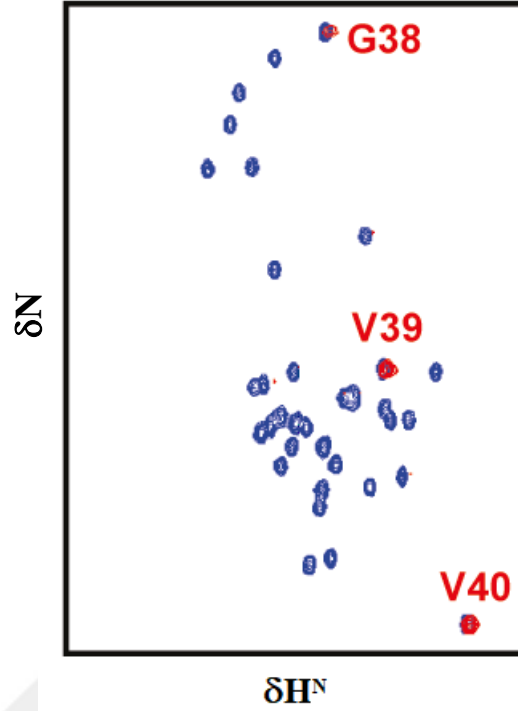
Birbirinden bağımsız olarak yapılan çalışmalarda, CR'nin A $\beta$  monomerlerinde farklı spesifik bağlanma alanları tanımlanmıştır. Örneğin, Pedersen ve arkadaşları NMR spektroskopisi kullanarak A $\beta$ <sub>40</sub> monomerlerinin 40 aminoasit kalıntısıyla etkileşime girdiğini ve en önemli bağlanmanın 14.-26. ve 31.-37. aminoasit bölgelerinde meydana geldiğini bulurken, Abelein ve arkadaşları aynı yöntemle, A $\beta$ <sub>40</sub> monomerlerinde CR'nin en önemli etkileşim bölgeleri olarak 7., 15.-25. ve 31.-37. aminoasit bölgelerini tanımlamışlardır. Son olarak, Grelle ve arkadaşları, en kuvvetli CR bağlanma bölgelerininin 12.-22. ve 24.-36. aminoasit bölgeleri olduğunu rapor etmiştir (287).

CD spektroskopisi, A $\beta$ <sub>1-40</sub>'a CR eklenmesi ile A $\beta$ 'nın konformasyonunda önemli değişiklikler olduğunu ortaya koymaktadır (Şekil 55). Spektral özellikleri, rastgele sarmal yapının  $\beta$  yapısına döndüğüne işaret etmektedir. Titrasyonda izlenen izodikroik nokta, iki ana yapı arasındaki geçişi göstermektedir.



Şekil 55. A $\beta$ 'nin, CR'nin artan konsantrasyonları varlığında CD spektrumu (292)

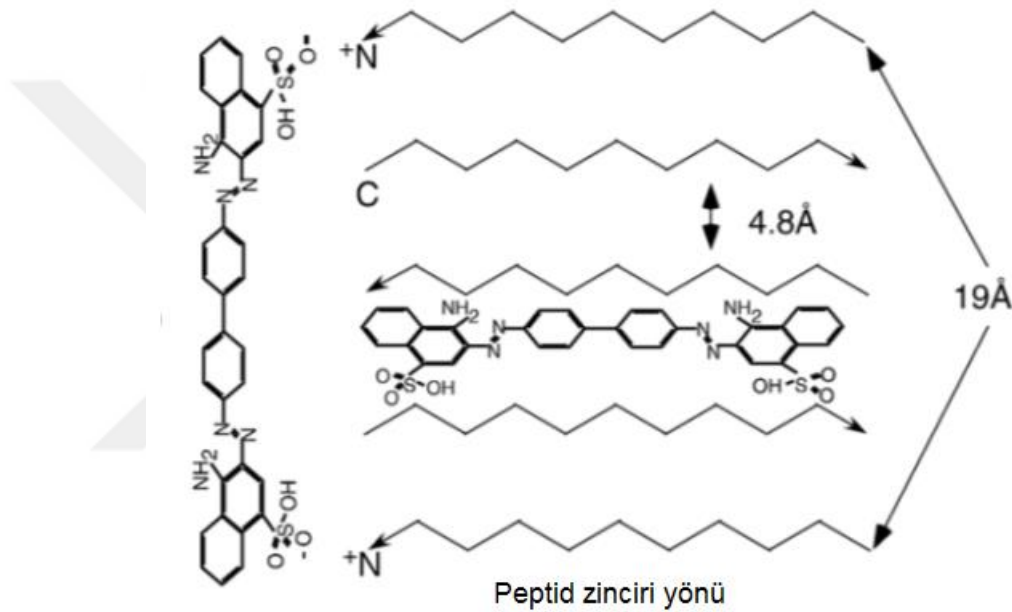
$^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  NMR korelasyon spektroskopisi, CR ile etkileşen A $\beta_{1-40}$  bölgelerini tanımlamak için kullanılmıştır (Şekil 56). Ekimolar miktarlarda CR'nin A $\beta$ 'ya eklenmesi sonucunda, bütün peptid dizisi için spektrumlardaki spotlarda kayda değer genişleme gerçekleşmektedir. Kimyasal kayma değişiklikleri sonucu gözlenen spot genişlemesinin, zaman ölçeğinde geçici yapıların kimyasal değişim süreçlerinden kaynaklandığını göstermektedir (292).



Şekil 56. Aβ'nin, CR'nin yokluğunda ve varlığında  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  HSQC NMR spektrumu  
(292)

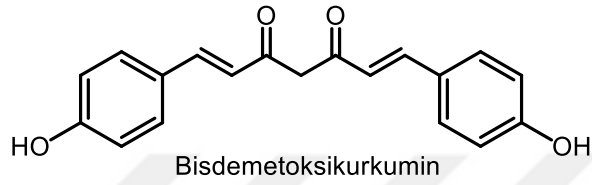
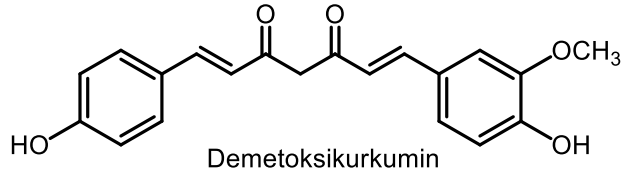
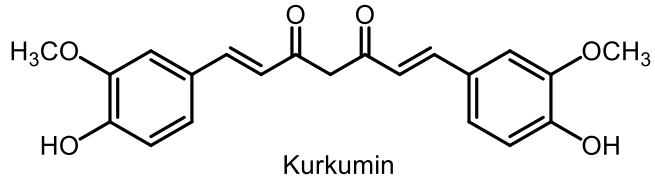
CR'nin bağlaması, fibrilin sekonder konfigürasyonuna bağlı olup ağırlıklı olarak çapraz- $\beta$ -katlı tabakalar içermektedir. CR'nin benzidin merkezi ve elektrostatik yüklü terminal gruplarının oluşturduğu hidrofobik etkileşimlerin bir kombinasyonu sonucu bağlanma gerçekleşmiştir. Bu bağlantıyı, terminaldeki iki tane negatif yüklü sülfat grubu ile fibrildeki iki ayrı protofilamentin iki adet pozitif yüklü aminoasit kalıntısı sağlamıştır. Yaygın olarak bir interfilament mesafesi 4.8 Å'dür. Her bir protofilament ( $n\dots n+4$ ) yaklaşık 19 Å'luk mesafe ile ayrılmıştır, bu uzunluk da CR'nin iki sülfonik asit grubu arasındaki mesafeye benzerdir (19.3 Å). Her beşinci protofilament ( $n+4$ ) bağlanmaya katılmaktadır. Protofilamentlerin hepsinin paralel ya da anti-paralel yönlendiği  $\beta$ -katlı tabaka modelinde, CR molekülünün uzun eksenini amiloid fibrillerine paralel, fakat birbirinden ayrı polipeptid zincirlerinin yönüne dik olarak uzanmaktadır. Fibriller boyunca CR'nin paralel yönelimi ve polipeptid zincirlerinin yakınlığından kaynaklanan fiziksel sınırlama, CR'nin neden olduğu pozitif çift kırınımı yani ışın demetinin ikiye ayrılmasını açıklamaktadır. CR'nin peptid zincirlerine sadece paralel olarak hizalanmasını öneren modelde, uzun

ekseni fibril yönüne dik olarak uzanmaktadır. Protofilamentler,  $\beta$ -tabakanın her bir yanındaki yan zincirlere tabaka yönünde ve ipliklere dik olarak düzgün sıralar oluşturacak şekilde düzenlenebilmiştir (Şekil 57). İkinci interflament arasındaki uygun genişlik, CR'nin eklenmesine olanak sağlamaktadır. Bu nedenle amiloide bağlamanın bir diğer yolu, CR'nin uzun eksen iplikler ile paralel olduğunda, simetrik olarak anti-paralel yönlenmiş  $\beta$ -iplikleri arasına CR'nin interkalasyonu olabilir (290).



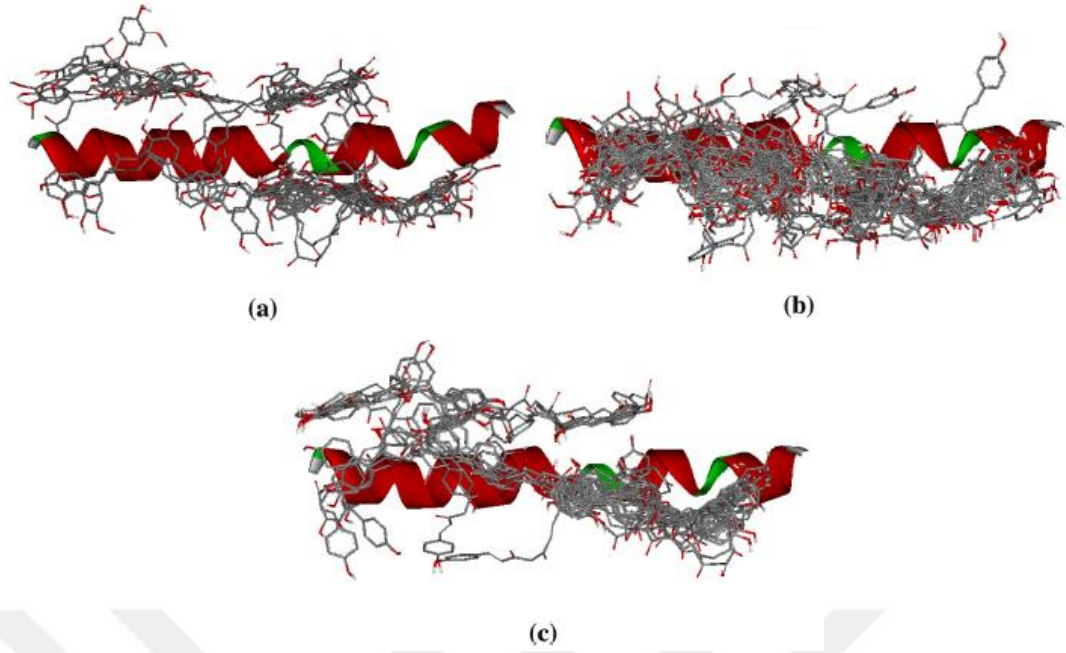
Şekil 57. Terminal gruplarının her beşinci peptid zincirine ligasyonu veya peptid zincirleri arasında interkalasyonu yoluyla amiloide bağlanan CR'nin varsayımsal modelleri (290)

Tautomerik forma sahip olan kurkumin, demetoksikurkumin ve bisdemetoksikurkumin bileşiklerinin yapıları *ab initio* yöntemiyle optimize edilmiş ve diketon formları kararlı bulunmuştur (Şekil 58).



Şekil 58. Kurkumin, demetoksikurkumin ve bisdemetoksikurkumin bileşiklerinin kimyasal yapısı

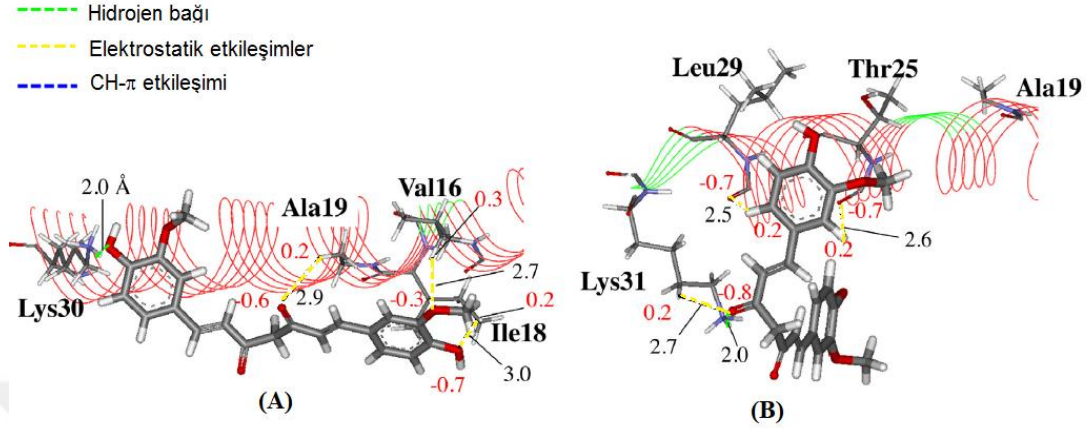
Diketon yapısında bulunan kurkumin ve türevleri, APP-28'e doklanmıştır (Şekil 59). AutoDock 4.2 programı kullanılarak, her APP-28/kurkumin kompleksi için aday yapılar oluşturulmuştur. Öngörülen bağlanma pozları içerisinde, kurkuminin APP-28'in N ve C terminallerinin dışındaki bölümlere doklandığı uygun yapıları seçilmiştir. Kurkumin (**a**) ve bisdemetoksikurkumin (**c**) APP-28'in merkezi kısmı yerine N veya C terminal bölgelerine, buna karşılık demetoksikurkumin (**b**) APP-28'in merkez kısmına bağlanmayı tercih etmiştir. Bağlanma pozundaki bu fark, muhtemelen demetoksikurkumindeki bozulmuş simetriden kaynaklanmıştır.



Şekil 59. APP-28'e doklanmış kurkumin, demetoksikurkumin ve bisdemetoksikurkumin bileşiklerinin konformasyonu (293)

APP-28/kurkumin kompleksi için en kararlı yapıyı doğru olarak saptamak amacıyla, *ab initio* yöntemi kullanılarak optimize edilen yapıların toplam enerjileri değerlendirilmiştir. APP-28/kurkumin kompleksine ait iki kararlı yapının (72. ve 195. yapılar) APP-28 ile etkileşimleri incelenmiştir (Şekil 60). 72. yapıda, kurkuminin APP-28'in birçok kalıntısıyla zayıf bir şekilde etkileşime girerek APP-28'i geniş bir şekilde kapladığı gözlenmiştir. Buna ek olarak, Ala19'un yanı sıra Val16 da kurkumin tarafından kaplanmıştır. Bu nedenle kurkuminin etkili bir şekilde  $A\beta_{42}$  ve  $A\beta_{40}$  üretimini engelleyebileceği beklenmiştir. Öte yandan 195. yapıda, Ala19 pozisyonunda, kurkumin ile Lys31 arasındaki kuvvetli etkileşime bağlı olarak kaplamanın mümkün olmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Kurkumin üzerinde, Ala19 ve Val16 pozisyonlarını kaplayacak güçlü inhibitörler elde etmek için 72. yapının konformasyonunun korunmasını sağlayarak APP-28 ve kurkumin arasındaki bağlanmayı güçlendirmesi beklenen bazı modifikasyonlar gerçekleştirilmiştir. Kurkuminin merkezinde bulunan metilene ait protonlar oksijen atomu, hidroksil veya metil grupları ile değiştirilerek APP-28'in Ala19 bölgesini  $\gamma$ -sekretaz saldırısından korumak için etkili inhibitörler tasarlanmıştır. Çalışmada, kurkuminin iki fenil

grubunun önem taşıdığı ve Ala19'un kurkuminin diketon yapısının yakınında bulunduğu belirtilmiştir (293).



Şekil 60. Kurkuminin (A) 72. yapısı; (B) 195. yapısı ile APP-28 kalıntıları arasındaki etkileşimler (293)

(Atomlar arası mesafe siyah veya mavi olarak gösterilirken, atom yükleri kırmızı olarak gösterilmiştir.)

Aynı ekibin sonraki çalışmasında, elde ettikleri verilerden hareketle kurkuminin merkezinde bulunan metilen yapısının modifikasyonlarına devam edilmiştir. *Ab initio* yöntemi kullanılarak kurkumin ve APP arasındaki spesifik etkileşimler incelenmiş ve APP'ye daha güçlü bir şekilde bağlanarak Ala19 bölgesini  $\gamma$ -sekretaz saldırısından koruyan yapılara ait özellikler aşağıda listelenmiştir.

(1) Dihidroperoksi yapısı taşıyan kurkumin türevi, APP'nin Ala19 kalıntısı ile elektrostatik etkileşim göstermiş ve APP'ye güçlü bir şekilde bağlanmıştır. Bu bileşiğin, A $\beta$ <sub>42</sub> peptidlerinin üretimini bastırabileceği belirtilmiştir.

(2) APP'nin Ile9, Met12 ve Val13 aminoasitlerinin iskelet oksijen atomlarının APP ve kurkumin türevleri arasındaki hidrojen bağı etkileşimleri için önemli olduğu rapor edilmiştir.

(3) Merkezinde hidrofilik grup taşıyan kurkumin türevlerinde, hidroksil grubunun etkileşime katkıda bulunduğu ve daha büyük bir bağlama enerjisi elde edildiği bulunmuştur (294).



Kurkumin-A $\beta$  etkileşimlerinin gözlemlendiği bir başka çalışmada, kurkuminin esas olarak A $\beta$ 'ya Phe19 ile hidrofobik  $\pi$ - $\pi$  etkileşimler ve Glu22, Met35 ve Gly37 ile hidrojen bağı aracılığıyla bağlandığı rapor edilmiştir (295).

Kurkuminin A $\beta$  dimerinin kararlılığı üzerindeki etkisi, çözücü simülasyonları ile incelenmiştir. Kurkuminin hidrofobik özelliği ve amiloid ile  $\pi$ - $\pi$  etkileşimlerinin bulunması bileşiğin A $\beta$  üzerinde etkili olmasını sağlamıştır. Simülasyon boyunca kurkuminin keto/enol yapısı ile A $\beta$ 'nın aromatik halkaları arasında  $\pi$ -etkileşimi gözlemlenmiştir. Potansiyel ligand bağlanma bölgelerini tahmin etmek amacıyla, amit-karbonil hidrojen bağları kullanılmıştır. Val24 ve Asn27, Glu11 ve Gln15, Leu34 ve Ile41'in amit-karbonil hidrojen bağları oldukça dengeli dehidronlar olduğu bulunmuştur (dehidron: su ataklarına karşı tamamen korunmayan bir protein iskelet hidrojen bağıdır). Kurkumin A $\beta$  dimerine yaklaştığında, kurkuminin hidrofobik merkezleri ve dimerin dehidronları hidrofobik etkiden dolayı kompleks oluştururlar. Kurkuminin polar grupları ile A $\beta$  dimerinin hidrojen bağı oluşturabilme kapasitesi mevcuttur. Kurkumin ile dimer arasındaki  $\pi$ - $\pi$  etkileşimi, kurkuminin aromatik kollarını kısmen hareketsizleştirir ve bu nedenle iki tür arasındaki hidrojen bağı ağı güçlenir. Kurkumin ve A $\beta$  proteinleri arasındaki etkileşim dinamik olup A $\beta$  üzerinde kurkuminin tercihli bağlanma bölgesi açığa kavuşturulmuştur. Yapılan analiz sonucunda, kurkumin moleküllerinin düzenli olarak Leu34 kalıntısı ile etkileştiği gözlemlenmiştir (296).

## II. GENEL SENTEZ YÖNTEMLERİ

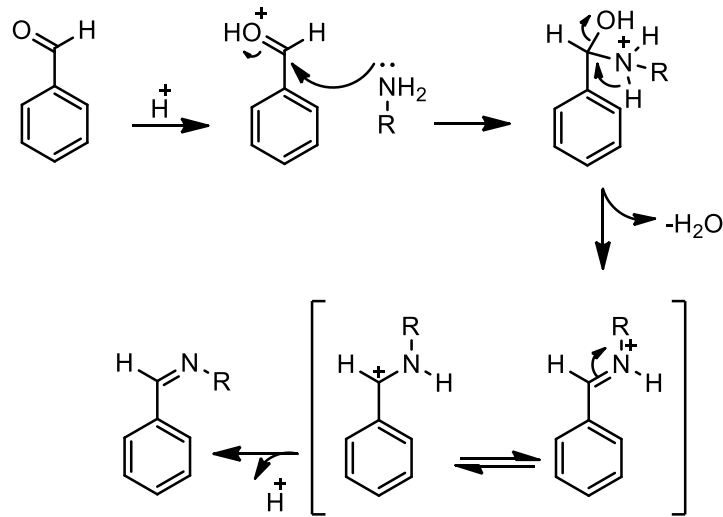
### 1. İmin Bileşiklerinin Eldesi

Molekül yapısında azometin grubu (-C=N-) taşıyan imin bileşikleri, doğada yaygın olarak bulunan ve birçok önemli farmakolojik aktiviteye sahip çok yönlü elektrofillerdir (297). Sentetik organik kimyada ve  $\beta$ -laktamlar gibi farmasötik bileşiklerde önemli ara ürünler olan imin bileşiklerinin hazırlanması için uygun yöntemlerin geliştirilmesi ilgi çekici bir konudur (298).

Çoğunlukla amin türevlerinin karbonil grubu içeren bileşiklerle kondensasyonu sonucu imin analogları elde edilir. Bununla birlikte, amin türevlerinin oksidasyonu, oksidatif kondensasyonu, ayrıca alkol türevlerinin yine amin grubu içeren bileşikler

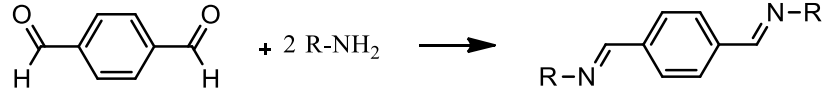
ile oksidatif bağlanmasıyla da imin bileşikleri elde edilirler. Dehidre edici ajanlar veya Lewis asit katalizörleri, karbonil grubu içeren bileşikler üzerinde nükleofilik saldırıyı kolaylaştırırlar (298). İminler; genelde etanolde çözünmez ve çözültiden çöktürülür; süzme ve yıkama ile genel olarak iyi verimlerde bileşikler elde edilir. Bu metodolojilerin dezavantajları, reaksiyon sıcaklıklarının ve maliyetlerinin yüksek olması, uzun reaksiyon süreleri veya neme karşı hassas reaktifler/katalizörlere gerek duymalarıdır (272). Amonyak ile tepkimeden elde edilen iminler dayanıklı değildir, amonyak yerine primer aminler kullanıldığında, daha dayanıklı olan sübstitüe iminler meydana gelir. Schiff bazı da denilen sübstitüe iminler  $RC=NR'$  genel formülüne sahiptir. Burada R ve R' alkil veya aril sübstitüentleridir (299). Doğrudan imin bileşiklerinin oluşumu için kullanılan yöntemlerin çoğunda, karbonil türevi bileşiklerin asit katalizörlüğünde (protik veya metalik) aktive edilmesi ve/veya reaksiyon ortamındaki suyun geri dönüşümsüz olarak uzaklaştırılması gereklidir (298).

İmin bileşikleri, asit katalizörlüğünde, aldehitin uygun amin türevleri ile kondensasyonu sonucu iki basamakta elde edilir (Şekil 61). İlk basamak, nükleofilik aminin kısmi pozitif yük taşıyan karbonil karbonuna katılması, sonra azotun bir proton kaybetmesi ve oksijene bir proton bağlanmasıdır. İkinci basamakta ise, protonlanmış olan OH grubu su olarak ayrılır.



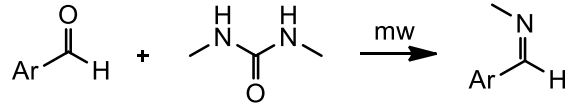
Şekil 61. Kondensasyon mekanizması

Aldehit olarak tereftaldehitin kullanıldığı farklı çalışmalarda, uygun amin bileşikleri 2:1 oranında reaksiyona tabi tutulmuştur (Şekil 62). Bu çalışmalarda ortam sıcaklığı ya da çözücüsü değiştirilerek (etanol, asetik asit, benzen), çeşitli katalizörler kullanılarak (*p*-toluen sülfonik asit, çinko (II) klorür) farklı reaksiyon koşulları altında imin bileşikleri sentezlenmiştir (272, 300-303).



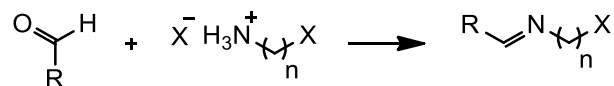
Şekil 62. Kondensasyon mekanizma örneği 1

Uçucu olmayan amin bileşikleri mikrodalga radyasyona tabii tutularak imin bileşiklerini vermek üzere, herhangi bir katalizör veya çözücüye ihtiyaç duymadan çeşitli aromatik aldehit bileşikleri ile reaksiyona girerler. Montmorillonit K10 üzerinde dağılmış 1,3-dimetilüre amin öncüsü olarak, *N*-metil imin bileşiklerinin elde edilmesinde kullanılır (Şekil 63) (304).



Şekil 63. Kondensasyon mekanizma örneği 2

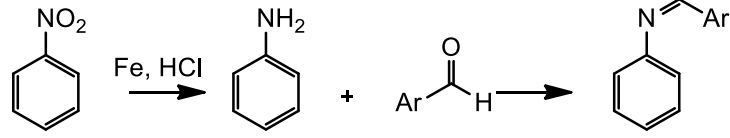
Ayrıca, imin türevlerinin eldesinde, farklı aldehit bileşikleri ve haloalkilamonyum halojenür türevleri kullanılır (Şekil 64) (305, 306).



Şekil 64. Kondensasyon mekanizma örneği 3

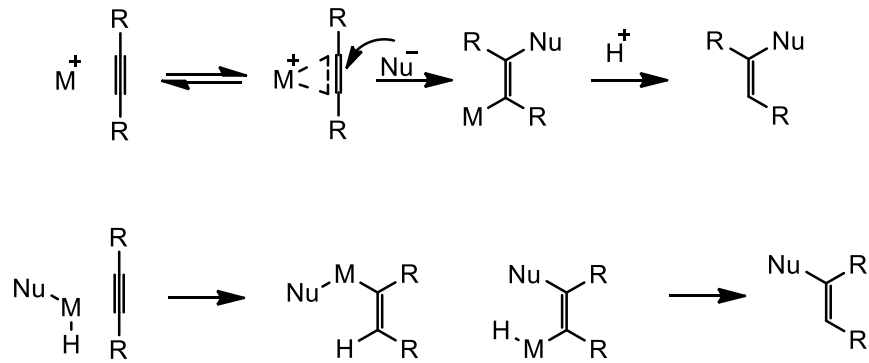
Nitroaren ve aril aldehit bileşiklerinden yola çıkılarak metalik Fe ve dilüe asit varlığında molekül içi Schiff bazı oluşturulur ve yüksek verimle diarilimin bileşikleri

elde edilir (Şekil 65). İki basamaklı olan bu reaksiyonun ilk basamağında, nitroaren aniline indirgenir. İzole edilerek ortamdan ayrılan anilin, uygun aril aldehit türevleri ile kondensasyona uğrar. Nitroarenler için Fe etkili bir redüktif ajandır (307).



Şekil 65. Kondensasyon mekanizma örneği 4

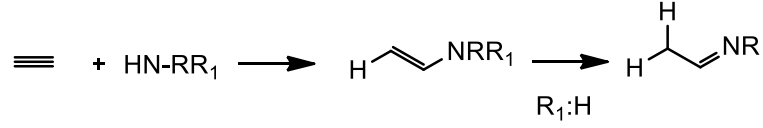
Hidroaminasyon reaksiyonunda, doymamış bir karbon-karbon bağına bir amin grubunun katımıyla yeni bir karbon-azot bağına oluşumu söz konusudur. Reaksiyonun entropisi negatif olup nispeten düşük reaksiyon sıcaklıkları (genellikle 200-300°C) gereklidir. Daha yüksek sıcaklıklarda dönüşüm, reaksiyon dengesiyle sınırlandırılmıştır (308). Karbon-karbon üçlü bağına aktivasyonu Lewis asitliği yüksek olan metaller tarafından nükleofilik atak ile gerçekleştirilir (Şekil 66). Nükleofilin anti-katımının bir sonucu olarak, ürün trans formda elde edilir. Bununla birlikte, alkin parçasının "HM-Nu" komplekslerinin M-H veya M-Nu bağlarına sokulması sonucu tipik olarak sin-katımı ortaya çıkar (309).



Şekil 66. Hidroaminasyon mekanizması

C=C bağlarının düşük reaktivitesi ve elektron yoğunluğu nedeniyle alken bileşiklerinin hidroaminasyonu, alkin bileşiklerine kıyasla daha zordur. Korunan amin bileşiklerinin, alkin bileşiklerine Markovnikov katımı bilinen bir sentez

stratejisidir (Şekil 67). Çoğunlukla alkali ve lantanit metal katalizörleri kullanılır. Son yıllarda zirkonyum, titanyum ve geç geçiş metali katalizörlerinin kullanımı da mevcuttur (308).



Şekil 67. Hidroaminasyon mekanizma örneği 1

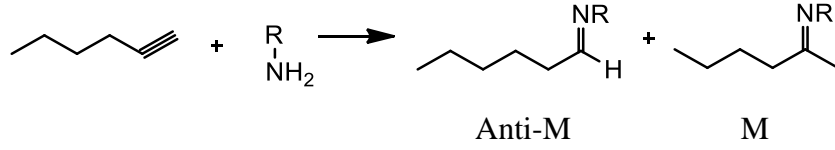
Katalitik ve katalitik olmayan yöntemlerin her ikisinde de yüksek aktivasyon enerjisi gerekir. Alkinlerin katalitik hidroaminasyon için farklı katalizörler veya başlatıcı ajanlar kullanılır;

*Erken Geçişli-Metal Katalizörleri:* Titanyum ve zirkonyum komplekslerine dayalı katalizörler, bazı toksik (Hg, Tl) veya daha pahalı metallere (Ru, Rh, Pd, U, Th) kıyasla kolay elde edilebilir ve nispeten ucuz olmaları gibi önemli avantajlara sahiptir (309).

*Lantanit ve Aktinit katalizörleri:* f-Elementi merkezlerinin yüksek elektrofilikliği, nispeten büyük iyonik yarıçapları, geleneksel oksidatif-katım/indirgeme-eliminasyon basamaklarının bulunmaması ve yüksek kinetik kararsızlığı sonucu organolantanit ve organoaktinit kompleksleri, doymamış organik bileşiklerin aktivasyonu için benzersiz reaktivite sergilerler. Bu katalizörler, esasen metalosen kompleksleri olmak üzere katalizör öncüleri olarak da kullanılırlar (309).

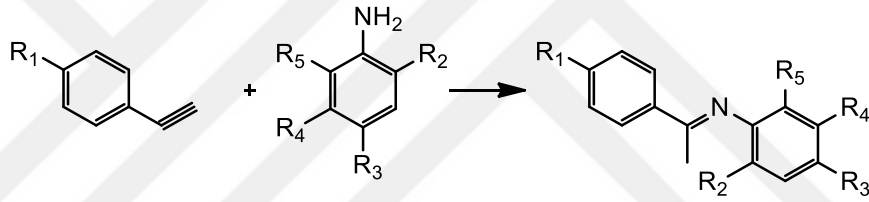
*Geç Geçişli-Metal Katalizörleri:* Alkinlerin molekül içi katalitik hidroaminasyonunda kullanılan başlıca katalizörler Ru, Rh, Pd ve Cu metalleri (309).

Alkin bileşiklerinin doğrudan hidroaminasyonu yönteminde, yan ürün olarak suyun üretilmediği ek bir avantaj söz konusudur. Terminal alkin bileşiklerinin alifatik aminler ile hidroaminasyonunda, titanosen-alkin kompleksleri ( $[\text{Cp}_2\text{Ti}(\eta^2\text{-Me}_3\text{SiC}\equiv\text{CSiMe}_3)]$ ,  $[\text{Cp}_2\text{Ti}(\eta^2\text{-Me}_3\text{SiC}\equiv\text{CPh})]$ ) katalizör olarak kullanılır. Oldukça selektif olup anti-Markovnikov fonksiyonlu iminler elde edilir. Sterik olarak daha da engellenmiş titanosen bileşikleri kullanılarak anti-Markovnikov aminasyonlarında daha yüksek selektivite beklenir (Şekil 68) (310).



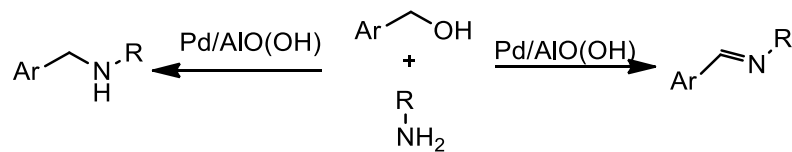
Şekil 68. Hidroaminasyon mekanizma örneği 2

Aktive edilmiş alkin kompleksine nükleofilik amin bileşiğinin katımı bir çok Au(I) katalizli hidroaminasyonda hız sınırlayıcı adımlardır. Metal katalizörü olarak Au(I)-prekatalizörünün kullanıldığı çalışmada alkin bileşiklerinin hidroaminasyonu sonucu imin bileşikleri elde edilmiştir (Şekil 69) (311).



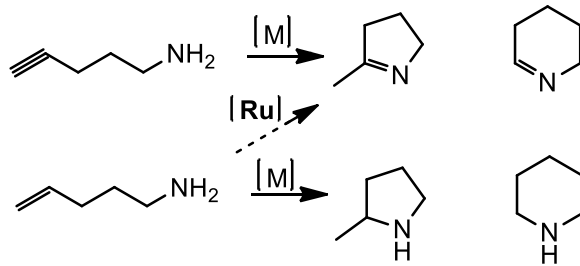
Şekil 69. Hidroaminasyon mekanizma örneği 3

İmin ve sekonder amin bileşikleri, benzil alkollerin primer amin bileşikleri ile Pd katalizli tek basamaklı reaksiyonları sonucunda selektif bir şekilde sentezlenir. Oksidan ajan olarak  $\text{MnO}_2$  ve indirgen ajan olarak polimer destekli siyanoborohidrürün kullanıldığı bir çalışmada aktif alkol bileşikleri imin ve amin bileşiklerine dönüştürülür. Bu dönüşüm sırasında gerçekleşen oksidasyon, iminasyon ve indirgeme dizisinde heterojen bir Pd katalizörü ( $\text{Pd}/\text{AlO}(\text{OH})$ ) kullanılır (Şekil 70) (312).



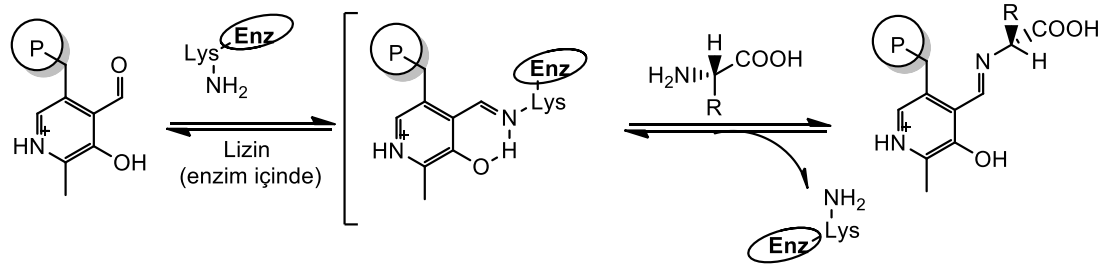
Şekil 70. Pd katalizörlüğünde imin ve amin sentezi

Aminoalkin bileşiklerinin geçiş metal katalizörleri ile hidroaminasyonu siklik iminler, enamınler, piroller ve indoller gibi çeşitli doymamış azot taşıyan heterosiklik bileşikler için önemli bir yoldur. Basit hidroaminasyon yerine aminoalken bileşiklerinin molekül içi oksidatif aminasyonu geçiş metali katalizörleri ile başarılabılırse, pahalı aminoalkin bileşiklerinin kullanılmı olmaksızın aminoalken bileşiklerinden siklik imin bileşikleri doğrudan elde edilebilir. Ru katalizörlüğünde aminoalken bileşiklerinden oksidatif aminasyon ile imin bileşikleri elde edilmiştir. Tek yan ürün, aminoalken bileşiklerinin dehidrojenasyonu sonucu elde edilen nitril yapılarıdır. Bu yöntem ile beş ya da altı üyeli siklik imin bileşikleri regioselektif olarak elde edilir. Olası reaksiyon mekanizmasında, başlangıç basamağı, bir (hidrido)(amido)Ru ara ürünü elde etmek üzere, aminoalken bileşiklerinde yer alan amin grubunun koordinasyonunu ve oksidatif katımını içerir. Ardından Ru-N bağına alken yapısının ilavesini  $\beta$ -hidrür eliminasyonu ve redüktif eliminasyon/izomerizasyon izler. Böylelikle siklik imin bileşikleri elde edilir (Şekil 71) (309, 313).



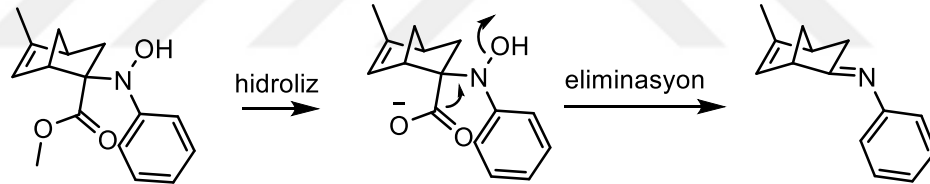
Şekil 71. Molekül içi oksidatif aminasyon örneği

Bir aldehit bileşiği, bir amin türevi ve katalizör olarak pirolidin kullanılarak organokatalik bir reaksiyonla aldiminlerin sentezi gerçekleştirilir (Şekil 72). Bu nükleofilik kataliz, basit koşullar altında asit ve metale ihtiyaç duymadan iminyum aktivasyonu yoluyla ilerler. Bu yöntem, *N*-sülfinil, *N*-sülfonil, *N*-fosfinoil, *N*-alkil ve *N*-aril iminlerin sentezi için uygulanır (314).



Şekil 72. Organokatalitik reaksiyon

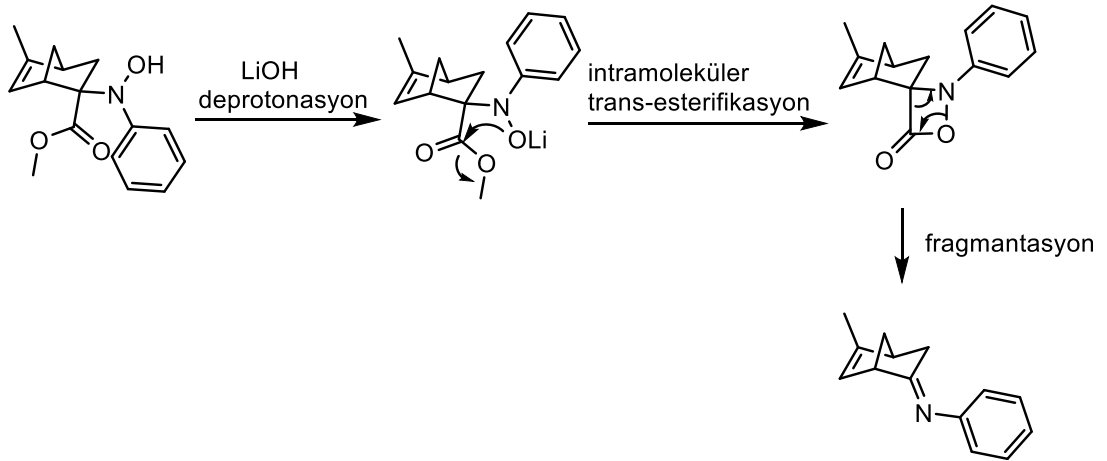
Tek basamaklı oksidatif karbon-karbon bağ kırılma yönteminde çeşitli karbonil bileşikleri ile nitrozobenzen aracılı reaksiyon sonucunda, keton ya da imin bileşikleri elde edilir. *N*-hidroksi bileşiğinden hareketle *N*-fenil imin bileşiği sentezlenmiştir. Bu dönüşüm için olası iki reaksiyon mekanizması mevcuttur. Birinci mekanizmada önce başlangıç bileşiği hidroliz olup karboksilat ara ürünü meydana gelir. Ardından, CO<sub>2</sub> in uzaklaşması, hidroksit iyonunun eliminasyonu sonucu imin bileşiği elde edilir (Şekil 73) (315)



Şekil 73. Hidroliz ve eliminasyon ile imin bileşiği eldesi

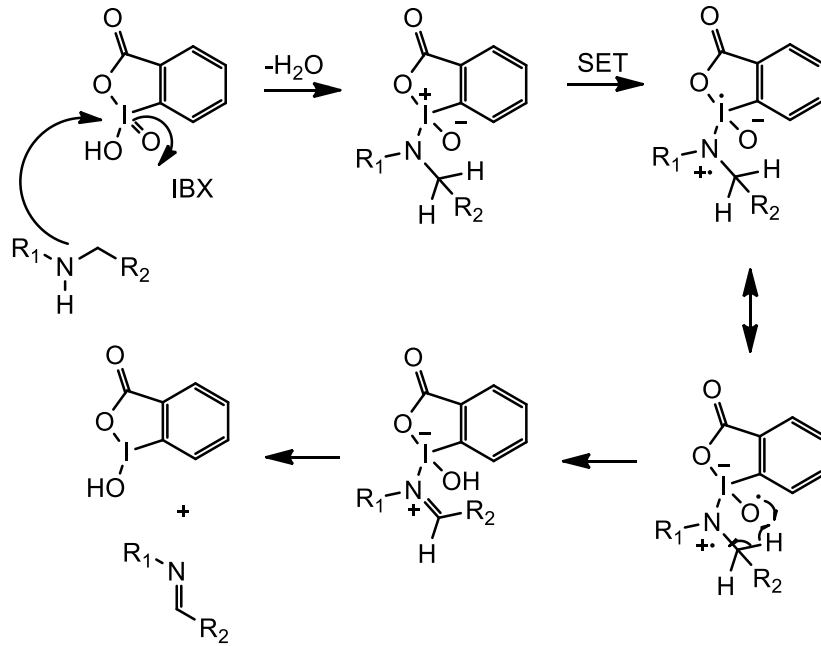
İkinci mekanizmada ise, *N*-hidroksi bileşiği deprotonasyona uğrar ardından metil esterin oksianyon ile intramoleküler atağı, yüksek enerjili spiro ara ürünü verir. Bu gergin bileşikten CO<sub>2</sub> uzaklaştırılır ve imin bileşiği elde edilir (Şekil 74) (315).





Şekil 74. Deprotonasyon, esterifikasyon ve fragmantasyon ile imin bileşiği eldesi

*o*-İyodobenzoik asit (IBX) kuvvetli tek elektron transfer ajanıdır. IBX keton, aldehit ve eter bileşiklerinin oksidasyonunu sağlar, benzilik pozisyonları oksitler, *N*-aril amit, (tiyo)karbamat ve üre bileşiklerinin siklizasyonunu kolaylaştırır. Korunmayan amin bileşiklerinin doğrudan oksidasyonunda IBX reaktifi kullanılır. Sekonder amin bileşikleri ılımlı koşullar altında, IBX tarafından oksidasyona uğrayarak yüksek verimde imin bileşiklerini verir (Şekil 75) (316).

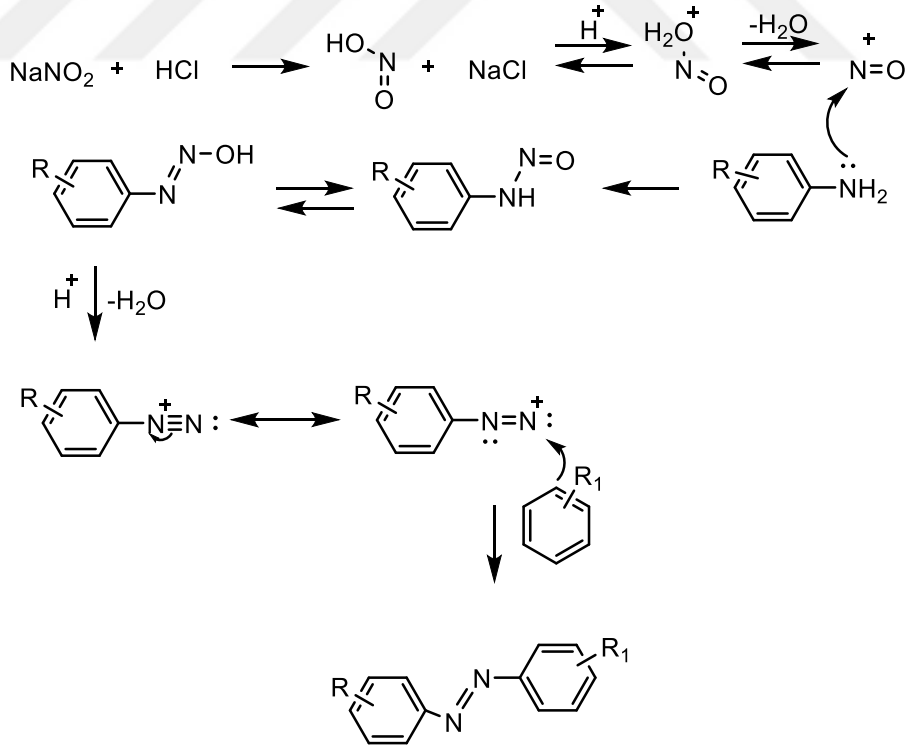


Şekil 75. Tek elektron transferine (SET) dayanan oksidasyon mekanizması

## 2. Azo Bileşiklerinin Eldesi

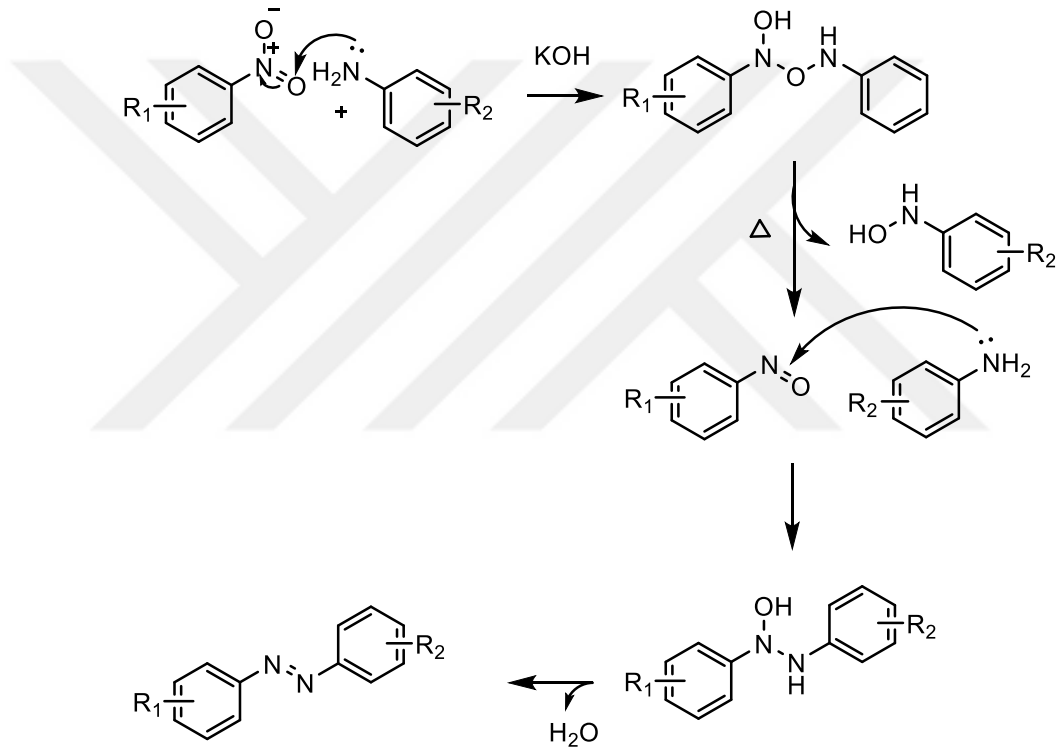
Azo bileşikleri, molekül yapısında azo grubunun (-N=N-) bulunduğu organik kimyasal bileşiklerdir. Azot atomlarına aromatik grupların ilavesiyle oluşan aromatik azo bileşikleri boya, gıda katkı maddesi ve ilaç olarak yaygın halde kullanılırlar.

Bir diazonyum tuzu ve aktif bir aren bileşiği kullanılarak endüstriyel bir yöntem olan azo kenetlenme reaksiyonu sonucunda azo bileşikleri sentezlenir. Diazonyum tuzu, primer aromatik bir aminin sodyum nitrit ve güçlü bir asit ile oksidasyonu sonucu, pH bağımlı olarak, 0°C'de *in situ* olarak hazırlanır. Sodyum nitrit ve asitten, nitroz asit serbest kalır. Protonasyon ve su eliminasyonunun ardından nitrolama ajanı ( $^+N=O$ ) elde edilir. Bu karbokasyonun amin bileşikleri ile reaksiyonu diazohidroksit tautomeri olan *N*-nitrozo türevlerine yol açar. Diazonyum tuzları, ikinci bir protonasyon ve su eliminasyonunun ardından rezonans ile stabilize hale gelir. Diazonyum tuzları ile elektronca zengin aromatik bileşikler reaksiyona girerek azo bileşikleri elde edilir (Şekil 76) (317).



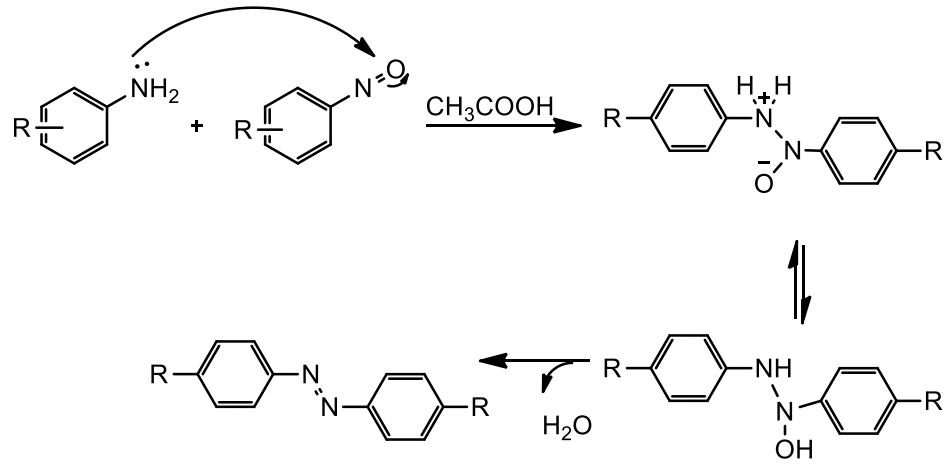
Şekil 76. Diazo reaksiyon mekanizması

Nitroaromatik ve sübstitüe anilin bileşiklerinden, KOH katalizörlüğünde yüksek verimle hem simetrik hem de asimetrik aromatik azo bileşikleri elde edilir. Reaksiyonun mekanizması şöyle açıklanabilir; nitro grubuna, sübstitüe anilin bileşiği üzerindeki amino grubu nükleofilik atak yapar. Baz varlığında oluşan ara ürünün ısıtmanın ardından parçalanmasıyla nitrozo bileşiği elde edilir. Bu bileşiğe ikinci bir sübstitüe anilin bileşiğinin nükleofilik atak yapması sonucu hidrazin türevi ara ürün oluşur. Bu ara ürün dehidrasyona uğrayarak azo bileşiklerine ulaşılır (Şekil 77) (318).



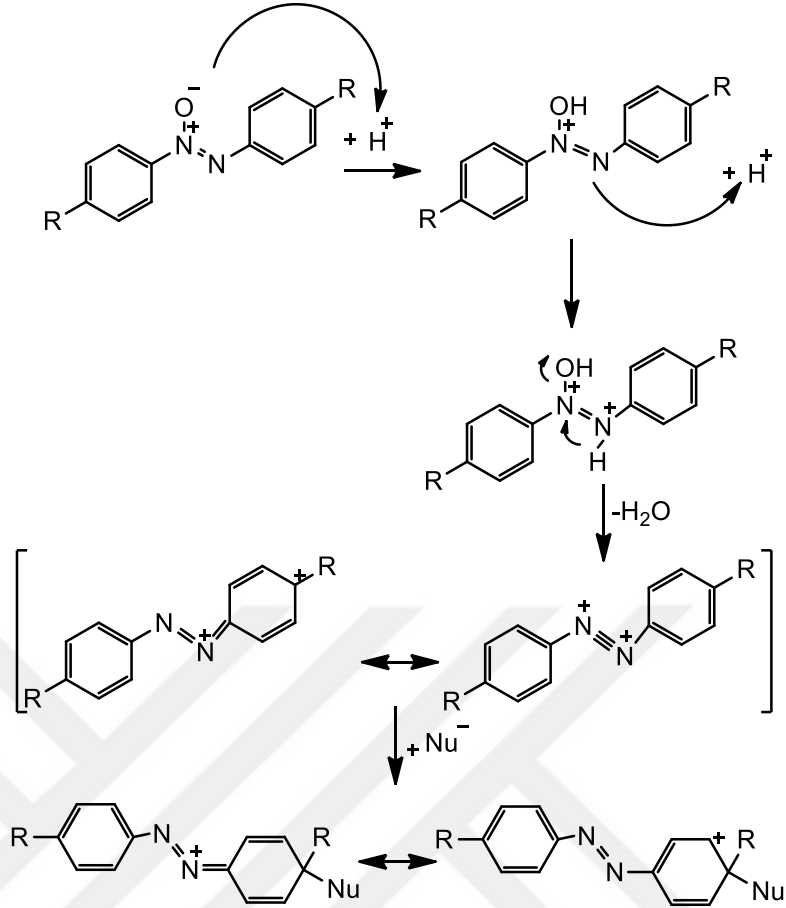
Şekil 77. Azo kenetlenme mekanizması

Mills reaksiyonunda, glasiyel asetik asit içerisinde aromatik nitrozo bileşikleri ile anilin türevleri reaksiyona girerek azobenzen bileşiklerini verir (Şekil 78) (317).



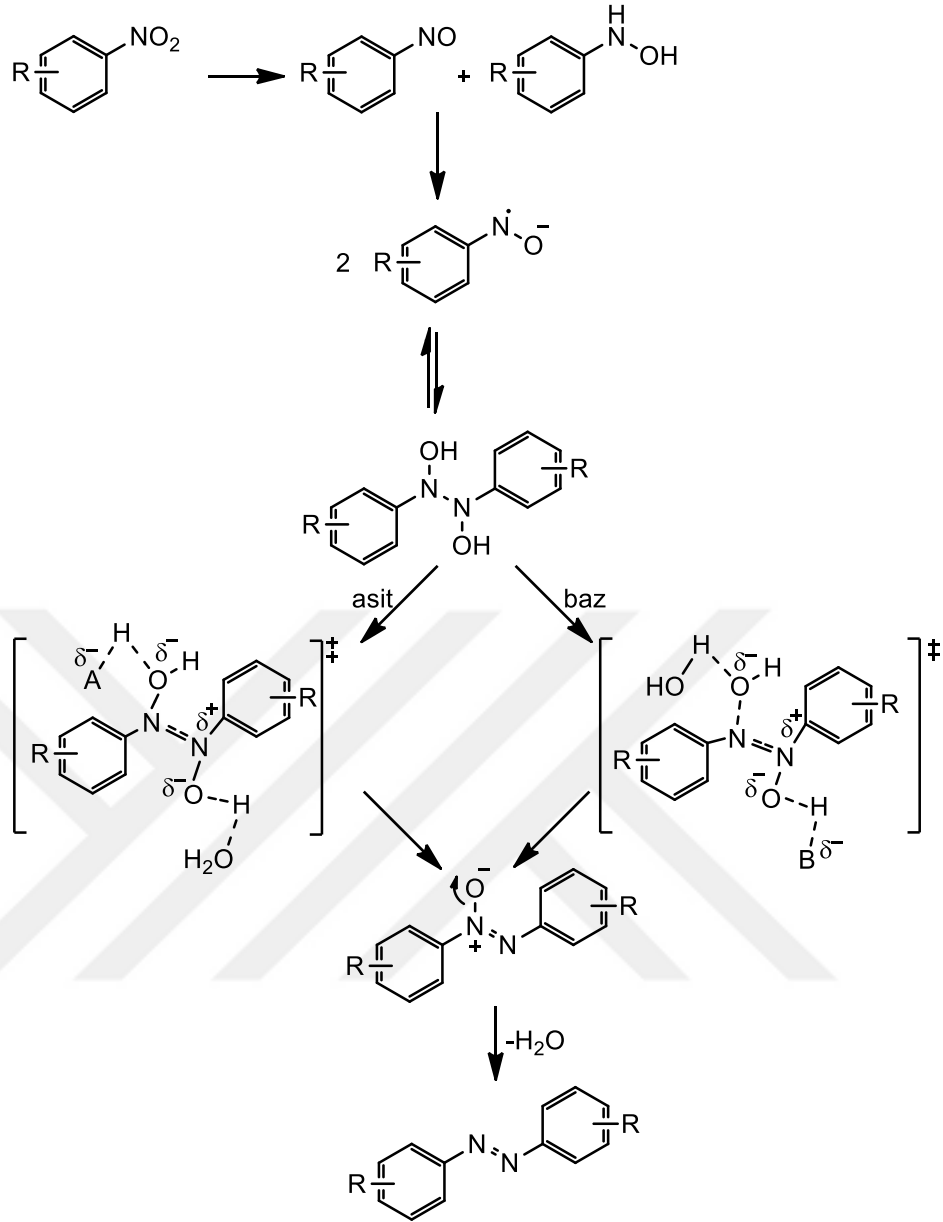
Şekil 78. Mills reaksiyon mekanizması

Wallach reaksiyonu, asit varlığında azoksibenzen bileşiklerinin çevrilmesini içerir. Reaksiyon mekanizmasında azoksibenzen bileşiği diprotonasyon ve dehidrasyona uğrayarak dikatyonik ara ürün elde edilir. Elde edilen ara ürüne, nükleofilin atak yapması sonucu azobenzen yapıları sentez edilir (Şekil 79) (317).



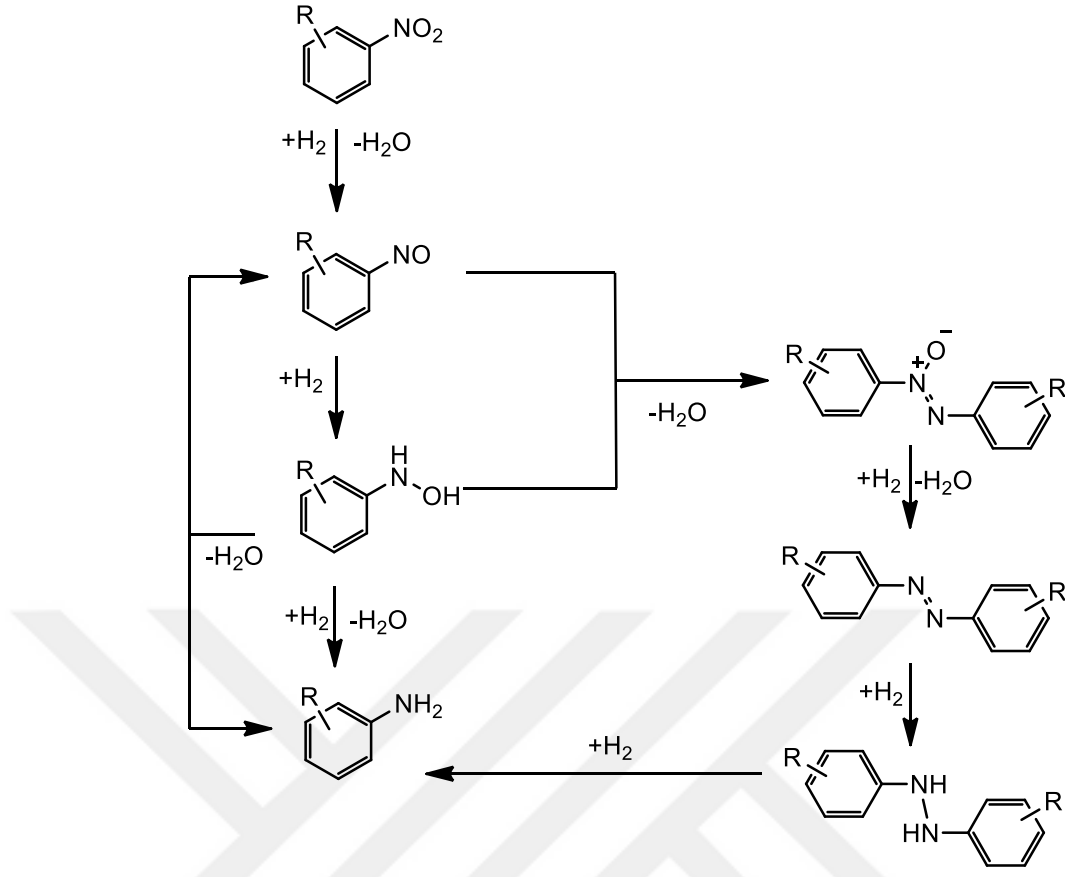
Şekil 79. Wallach reaksiyon mekanizması

Simetrik azo bileşiklerinin sentezi için bir diğer alternatif yol, farklı tipte redüktif ajanlar kullanılarak baz veya asit varlığında aromatik nitro bileşiklerinin redüktif kenetlenmesidir. Bununla birlikte, bu yöntemde çok sayıda yan ürün üretilir. Bu nedenle, aromatik nitro bileşiklerinden doğrudan azo bileşikleri elde etmek için katalitik heterojen yöntemler (LiAlH<sub>4</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>NaO<sub>2</sub>, NaBH<sub>4</sub>) geliştirmek büyük bir ilgi görmüştür (319-321). Reaksiyon mekanizmasında nitro aromatik bileşik redüktif ajan ile reaksiyona girerek nitrozo türevi ve hidroksilamin türevi karışımı elde edilir. Her iki türev de, *N,N'*-dihidroksi ara ürününe yol açan bir çift N-N bağının üretilmesi için radikal anyonlara dönüşür. Bu ara ürünün dehidrasyonu, azoksi bileşiğinin oluşturulması için hız belirleyici adımdır. Asidik veya bazik ortamdaki proton ve hidroksit iyonunun ayrılması su molekülleri tarafından desteklenmektedir. Nihai bileşik, azo bileşiğini verecek şekilde indirgenir (Şekil 80) (317).



Şekil 80. Redüktif kenetlenme mekanizması

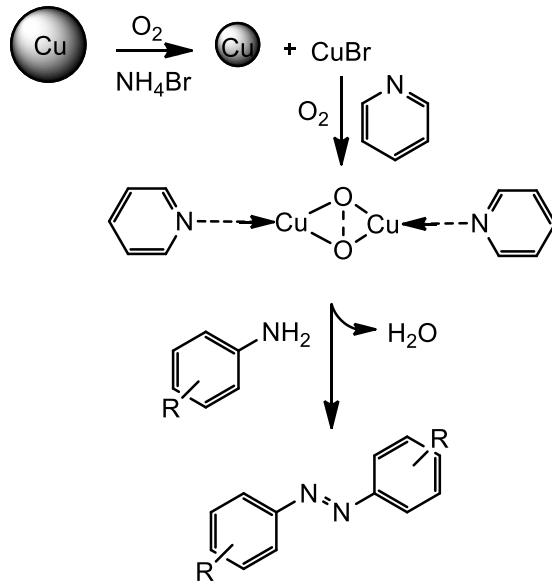
Haber'in önerdiği reaksiyon şemasında aromatik nitro bileşiklerinin indirgenmesi gösterilmiştir. Metalin türü, parçacık boyutu, aromatik halkanın süstitüsüyonu ve çözücü gibi reaksiyon koşulları değiştirilmiştir. Söz konusu şemada, nitrozobenzenin fenilhidroksilamine, ardından aniline direk olarak geçişi gösterilmiştir. Fenilhidroksilamin bileşiğinin anilin bileşiğine indirgenmesi hız sınırlayıcı basamaktır. Ayrıca, diğer bir yol olan kondensasyon ile nitrozobenzen ve fenilhidroksilamin bileşiklerinden hareketle elde edilen bir ara ürün olan azoksi bileşikleri aracılığıyla azo yapılarını hazırlamak mümkündür (Şekil 81) (322).



Şekil 81. Haber'in reaksiyon şeması

Kondensasyon yolu ile gerçekleştirilen örnek çalışmalarda, nitrobenzen türevlerinden hareketle iki nitrozobenzen molekülü arasında ya da nitrozobenzen ile hidroksilamin molekülü arasında reaksiyonun katalizlenmesi sonucu (Au/CeO<sub>2</sub>, Au/TiO<sub>2</sub>, Au/ZrO<sub>2</sub>, Pt, Pd) simetrik veya asimetrik azo bileşikleri tek basamakta elde edilir (323-325). Katalizör ile adsorblanmış nitrozo bileşikleri ve azoksibenzen oluşturmak üzere nitrozo bileşikleri ile fenilhidroksilamin arasındaki yüzey bağlantıları, reaksiyonun anahtar basamaklarıdır (323).

Oksijen içeren ortamda (1 atm) bakır yüzeyi NH<sub>4</sub>Br ile reaksiyona girerek CuBr oluşturur. Oluşan Cu (I) iyonu ile piridin kenetlenir ardından oksijen ile oksidasyonu sağlanarak aktif Cu-oksijen kompleksi elde edilir. Amin oksidasyonu için anahtar katalizör olan moleküler oksijen aktive edilir. Aromatik azo bileşikleri, süstitüe amin bileşiklerinden aktif Cu-oksijen kompleksi aracılığı ile oksidasyon reaksiyonu sonucu sentezlenir (Şekil 82) (326).



Şekil 82. Amin oksidasyon mekanizması



## GEREÇ ve YÖNTEM

### 1. Sentez Çalışmaları

#### 1.1. Gereçler

Sentez çalışmalarında kullanılan 4,4'-bifenildimetanol AstaTech Inc firmasından; 4,4'-dinitrobifenil TCI firmasından; piridinyum klorokromat, 3-aminopiridin ve 4-aminopiridin Alfa Aesar firmasından; 2-aminopiridin, 4-nitroanilin, 4-kloroanilin, 4-aminobenzoik asit ve  $\alpha$ -naftilamin Fluka firmasından; anilin, *p*-aminofenol, *p*-toluidin, 8-aminokinolin ve 4-metoksianilin Merck firmasından; benzilamin,  $\beta$ -fenetilamin ve potasyum hidroksit Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir.

Çalışmalarda kullanılan çözücülerin tamamı analitik saflıktadır.

#### 1.2. Yöntemler

##### 1.2.1. Kromatografik Analizler

Sentez çalışmaları esnasında tepkimeleri takip etmek ve sentezlenen bileşiklerin saflığını kontrol etmek amacıyla ince tabaka kromatografisinden (İTK) yararlanılmıştır. İTK kullanılarak yapılan çalışmalarda Kieselgel 60F<sub>254</sub> (Merck 5715) 20x20 cm boyutlarında 0.25 mm kalınlıkta alüminyum hazır plaklar kullanılmıştır. Kromatografi çalışmaları oda sıcaklığında yapılmış olup developman işlemi kromatografi tanklarının çözücü buharlarıyla doyurulmasını takiben gerçekleştirilmiştir. Sürüklenme işlemleri tamamlandıktan sonra açık havada kurutulan plakların üzerindeki lekeler 254 nm'de ultraviyole ışığı altında tespit edilmiştir. İTK uygulamalarında çözücü sistemi olarak kloroform/metanol (9:1) ve etil asetat/*n*-hekzan (1:1) karışımı kullanılmıştır.

Sentez tepkimeleri sonucunda reaksiyon ortamından istenilen ürüne ulaşmak için ayırma ve saflaştırma yöntemi olarak sütun kromatografisinden faydalanılmıştır. Sütun kromatografisinde adsorban olarak 0.063-0.200 mm partikül büyüklüğüne

sahip sütun kromatografisi için hazırlanmış Merck firmasına ait Kieselgel 60 kullanıldı. Ayrıma tabi tutulan tepkime ürünlerinin 0.1 g'ı için 100 g adsorban ve 20 mm çapında bir cam sütun kullanılmıştır. Son ürünlerin saflaştırılması için kullanılan sütun kromatografisinde çözücü sistemi olarak kloroform/metanol (9:1) kullanılmıştır.

### **1.2.2. Spektral Analizler**

Sentezlenen bileşiklerin yapıları IR, <sup>1</sup>H NMR, kütle spektroskopisi ve elementel analiz yöntemleri ile aydınlatılmıştır.

IR spektrumları, Perkin Elmer Spectrum 100 FT-IR Spektrofotometresinde Azaltılmış Toplam Yansıma (ATR: Attenuated Total Reflectance) tekniği kullanılarak alınmıştır.

<sup>1</sup>H NMR spektrumları, DMSO-d<sub>6</sub> ve CDCl<sub>3</sub> çözücüleri içinde Varian AS 400 Mercury Plus NMR Spektrometresinde alınmıştır.

Bileşiklerin kütle spektrumları metanol çözeltisi içerisindeki çözeltilerinden pozitif iyon elektrosprey iyonizasyon tekniği (ESI+) ile LCT premier XE UPLC/MS-TOF sistemi analizi ve Mass Lynx 4.1 yazılımı kullanılarak alınmıştır.

Bileşiklerin elementel analizleri (C, H, N, S) Leco TruSpec Micro model analiz cihazı kullanılarak yapılmıştır.

### **1.2.3. Erime Noktası Tayinleri**

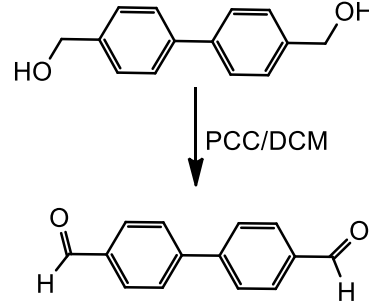
Bileşiklerin erime derecesi tayinleri Stuart SMP30 marka erime derecesi tayin cihazında belirlenmiştir. Erime derecesi değerleri düzeltilmeden verilmiştir.

### **1.2.4. Kimyasal Sentez Yöntemleri**

#### **1.2.4.1. İmin Türevi Bileşiklerin Sentezi**

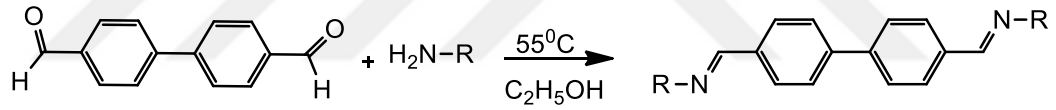
1 mmol [1,1'-bifenil]-4,4'-diildimetanol bileşiği 6 ml diklorometan (DCM) içerisinde çözüldürüldü, şiddetli karıştırma altında 5 ml dioksan içinde 3 mmol PCC porsiyonlar halinde ilave edildi. Karışım 2,5 saat oda sıcaklığında karıştırıldı. Süre

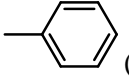
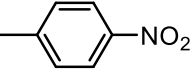
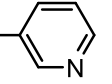
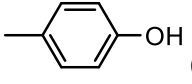
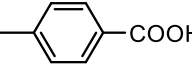
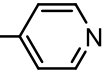
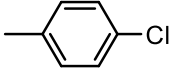
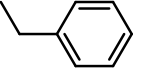
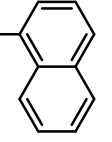
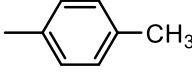
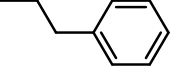
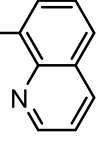
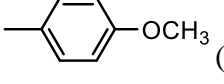
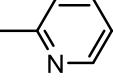
sonunda çözücü uçurulup kalan bakiye sütun kromatografisi ile izole edilip etanolden kristallendirildi (Şekil 83). Verim % 80 bulundu.



Şekil 83. [1,1'-bifenil]-4,4'-dikarbaldehit bileşiğinin sentezi

0.4 mmol [1,1'-bifenil]-4,4'-dikarbaldehit, 0.8 mmol non-sübstitüe veya sübstitüe anilin türevleri ile 10 ml etanol içerisinde çözüldü. Reaksiyon İTK ile takip edilerek karışım 5 saat süreyle yağ banyosunda 55<sup>0</sup>C'de ısıtıldı. Süre sonunda reaksiyon ortamında oluşan çökelek süzüldü, nihai ürün çeşitli çözeltiler ile yıkayıp izole edildi (Şekil 84).

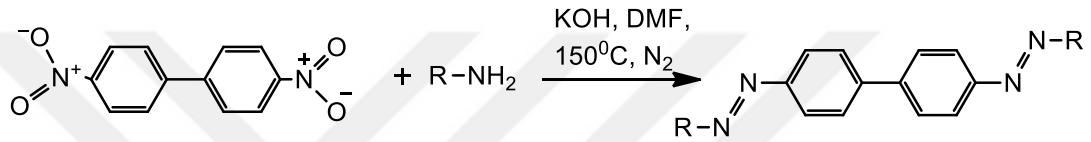


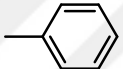
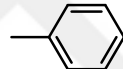
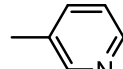
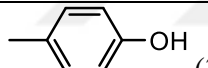
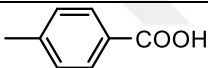
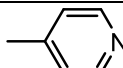
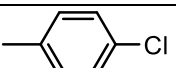
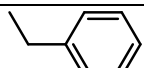
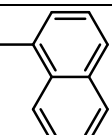
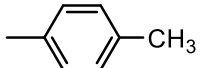
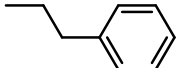
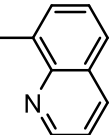
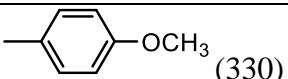
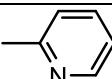
Kod	R	Kod	R	Kod	R
İmin-1	 (272)	İmin-6	 NO <sub>2</sub>	İmin-11	
İmin-2	 OH (327)	İmin-7	 COOH (327)	İmin-12	
İmin-3	 Cl	İmin-8		İmin-13	
İmin-4	 CH <sub>3</sub>	İmin-9		İmin-14	
İmin-5	 OCH <sub>3</sub> (327)	İmin-10			

Şekil 84. İmin türevi bileşiklerin sentez şeması

### 1.2.4.2. Azo Türevi Bileşiklerin Sentezi

1 mmol 4,4'-dinitrobifenil bileşiğinin 5ml dimetilformamit (DMF) içerisindeki çözeltisine, 3 mmol non-süstitüe/süstitüe anilin türevleri ve 10 mmol potasyum hidroksit ilave edilip kuvvetlice çalkalandı. Reaksiyon karışımı 150 °C'de yağ banyosunda 24 saat süreyle kaynatıldı. Süre sonunda çözücü rotavaporda yoğunlaştırıldı. Bakiye etil asetat ile yıkanıp, su ve doygun tuzlu su ile ekstre edildi. Ardından fazla çözücü yoğunlaştırıldı. Nihai ürün sütun kromatografisi yardımıyla izole edildi (Şekil 84).



Kod	R	Kod	R	Kod	R
Azo-1	 (328)	Azo -6		Azo-11	
Azo-2	 (329)	Azo-7		Azo -12	
Azo-3		Azo-8		Azo -13	
Azo-4		Azo-9		Azo -14	
Azo-5	 (330)	Azo-10			

Şekil 84. Azo türevi bileşiklerin sentez şeması

## 2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

### 2.1. AChE/BuChE İnhibitör Aktivite Tayini

#### 2.1.1. Gereçler

Biyoaktivite çalışmasında kullanılan AChE enzimi (AChE, E.C.3.1.1.7, tip VI-S, electric eel), BuChE enzimi (BuChE, E.C.3.1.1.8, horse serum), Ellman belirteci [5,5'-ditiyobis(2-nitrobenzoik asit); DTNB], asetiltiyokolin iyodür (ATCI), S-butiriltiyokolin iyodür (BTCl) 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 edilen deiyonize su kullanılmıştır. Spektrofotometrik ölçümler Shimadzu UV/160A spektrofotometresinde gerçekleştirilmiştir.

#### 2.1.2. AChE/BuChE İnhibisyonunda Kullanılan Çözeltiler

##### 2.1.2.1. 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 süzülmüştür. Tampon çözelti her hafta taze olarak hazırlanmış ve 4°C'de muhafaza edilmiştir.

##### 2.1.2.2. DTNB Çözeltisi (0.01 M)

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

### 2.1.2.3. ATCI Çözeltisi (0.075 M)

0.217 gr ATCI tartılıp 10 ml distile suda çözülmüştür. Bu çözelti 0.4 ml'lik ependorf tüplerinde -30°C'de saklanmıştır.

### 2.1.2.4. BTCI Çözeltisi (0.075 M)

0.238 gr BTCI tartılıp 10 ml distile suda çözülmüştür. Bu çözelti 0.4 ml'lik ependorf tüplerinde -30°C'de saklanmıştır.

### 2.1.2.5. 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.

## 2.1.3. Yöntem

Sentezlenmiş olan final bileşiklerin AChE ve BuChE inhibitör aktiviteleri modifiye edilmiş kolorimetrik Ellman testi ile saptanmıştır (266, 331). 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 ATCI/BTCI 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 Graphad Prism (Graphad Software, San Diego, CA, USA) programı ile analiz edilmiştir.

AChE ve BuChE inhibitör aktivite sonuçları Tablo 3'te toplu halde gösterilmektedir.

## **2.2. Aβ<sub>1-42</sub> Fibril Oluşumu Üzerindeki İnhibitör Aktivite Tayini**

### **2.2.1. Gereçler**

Aβ agregasyonu üzerindeki inhibitör aktivite tayini Tiyoflavin T Floresans Testi ile florometrik olarak ölçülmüştür. İnhibisyon sonuçları Anaspec marka (AS-72214) SensoLyte® Thioflavin T β-Amyloid<sub>1-42</sub> Aggregation Kit'i kullanılarak tayin edilmiştir. Üretici firma tarafından tavsiye edildiği üzere -20°C'de saklanmıştır. 96-kuyucuklu Nunc marka mikroparka Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir.

### **2.2.2. Yöntem**

İnhibitörlerin 96-kuyucuklu mikropark içinde gerçekleşen Aβ<sub>1-42</sub> peptid üzerindeki inhibitör etkileri literatürde bildirilen yönteme göre tayin edilmiştir (332). İnhibitör bileşiklerin 100 µM ve 25 µM konsantrasyonları tampon çözeltisi içerisinde hazırlanmıştır. Kuyucuklara inhibitör bileşiklerin çözeltisinden 5 µL (veya solvan kontrolü için 5 µl DMSO) konulup üzerine tampon çözeltisi içerisinde çözüldürülmüş Aβ<sub>1-42</sub> çözeltisinden 85 µl ve Tiyoflavin T çözeltisinden 10 µl ilave edilerek oluşması beklenen floresans yoğunluğu ölçülmüştür. Her iki konsantrasyon 3 kez analiz edilmiştir.

Ölçümler 96-kuyucuklu mikroparkta 37°C'de gerçekleştirilmiştir. Floresans yoğunluğu Thermo Scientific Varioskan Flash Spektrofotometresinde florometrik olarak ölçülmüştür. (ölçüm süresi: 180 dakika, ölçüm aralığı: 5 dakika, eksitasyon dalga boyu: 440 nm, emisyon dalga boyu: 484 nm).

Referans bileşik olarak kurkumin kullanılmıştır. Bileşiklerin % inhibisyon değerleri Tablo 4'te toplu halde gösterilmektedir.

### 3. Dağılım Katsayısı Çalışmaları

#### 3.1. Gereçler

NaOH ve *n*-oktanol Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir. Çalışma Hanna HI 5222 *pH*-metre kullanılarak, Isolab marka büret ve Heidolph MR Hei-Standard manyetik karıştırıcı ile gerçekleştirilmiştir. *pH*-metrenin kalibrasyonu, standart Thermo Scientific Orion *pH* 4.01, *pH* 7.00 ve *pH* 10.01 tampon çözeltileri kullanılarak yapılmıştır.

#### 3.2. Yöntem

Potansiyometrik titrasyon analiz yöntemi ile bileşiklerin dağılım katsayılarının belirlenmesinde su-oktanol iki fazlı sistem içerisinde 0.01 mmol bileşik çözüldürüldü. Çözünmüş madde karışımı beher içerisine alınarak, oda sıcaklığında azot gazı geçirilerek magnetik karıştırıcıda karıştırıldı. 0.01 M NaOH çözeltisi ile titre edildi. Titrasyon sonucunda harcanan NaOH hacimlerine karşı, *pH* değerleri kullanılarak grafik oluşturuldu. Titrasyon eğrisindeki her bir noktanın *pH*'ı hesaplandı. Hesaplanan noktalar, ölçülen eğri dikkate alınarak P değeri değiştirildi. En iyi uyumu sağlayan P değeri, ölçülen P değeri olarak kabul edilip logaritması alınarak rapor edildi.

Bileşiklerin dağılım katsayısı değerleri Tablo 5'te toplu halde gösterilmektedir.

### 4. Asitlik Sabiti Çalışmaları

#### 4.1. Gereçler

Asitlik sabiti çalışmalarında kullanılan metanol, asetik asit, sodyum hidroksit ve DMSO Sigma-Aldrich firmasından; sodyum asetat, fosforik asit, disodyum hidrojenfosfat ve sodyum dihidrojenfosfat Riedel firmasından temin edilmiştir. Çalışma Hanna HI 5222 *pH*-metre kullanılarak, Isolab marka büret ve Heidolph MR Hei-Standard manyetik karıştırıcı ile gerçekleştirilmiştir. *pH*-metrenin kalibrasyonu, standart Thermo Scientific Orion *pH* 4.01, *pH* 7.00 ve *pH* 10.01 tampon çözeltileri kullanılarak yapılmıştır.



## 4.2. Yöntem

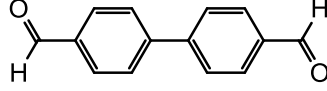
Potansiyometrik titrasyon analiz yöntemi ile bileşiklerin asitlik sabitlerinin belirlenmesinde 0.01 mmol bileşik 1 ml DMSO içinde çözündürüldü. 10 ml'ye etanol ile seyreltildi. Çözünmüş madde karışımı beher içerisine alınarak, oda sıcaklığında azot gazı geçirilerek magnetik karıştırıcıda karıştırıldı. 0.01 M sodyum hidroksit çözeltisi ile titre edildi. Titrasyon sonucunda harcanan NaOH hacimlerine karşı, *pH* değerleri kullanılarak grafikler oluşturulup pKa değerleri saptandı.



## BULGULAR

### 1. Sentezi Gerçekleştirilen Bileşiklere Ait Spektral Bulgular

#### 1.1. Aldehit Türevi Ara Ürünün (İmin-a) Spektral Bulguları



[1,1'-bifenil]-4,4'-dikarbaldehit

Verim: % 80, Erime Derecesi: 137 °C

**IR** (Spektrum No 1)

$\nu_{\text{maks}}$  (FT/ATR): 2923, 1693, 1604, 1563, 1313, 1213, 1169, 1007, 862, 813, 660  $\text{cm}^{-1}$

**MS** (ESI+) (Spektrum No 2)

m/z: 211 [M+H]

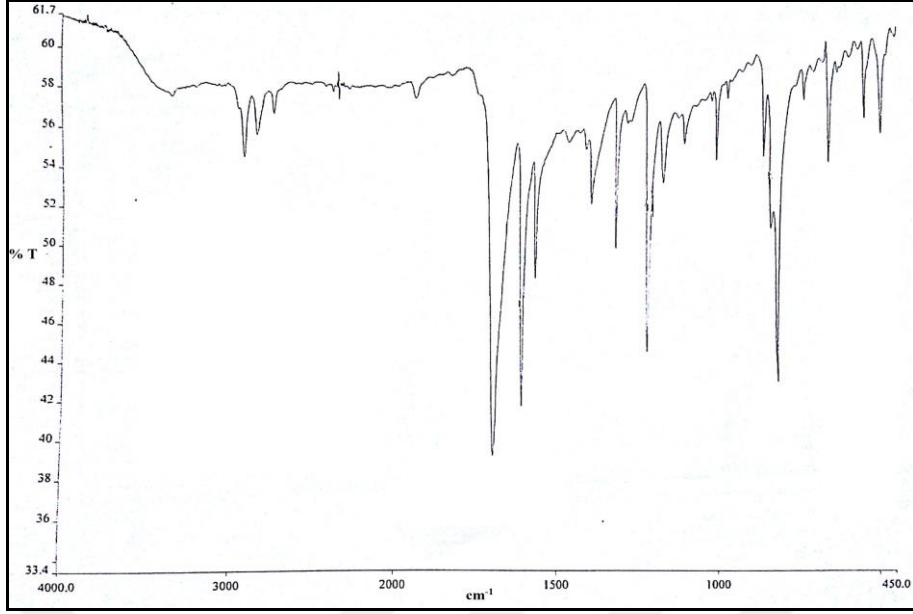
**<sup>1</sup>H NMR** (Spektrum No 3)

(400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.80 (4H, d,  $J= 6.0$  Hz, H-2, H-2', H-6, H-6'), 8.00 (4H, d,  $J= 6.8$  Hz, H-3, H-3', H-5, H-5'), 10.09 (2H, s, Ar-CHO) ppm.

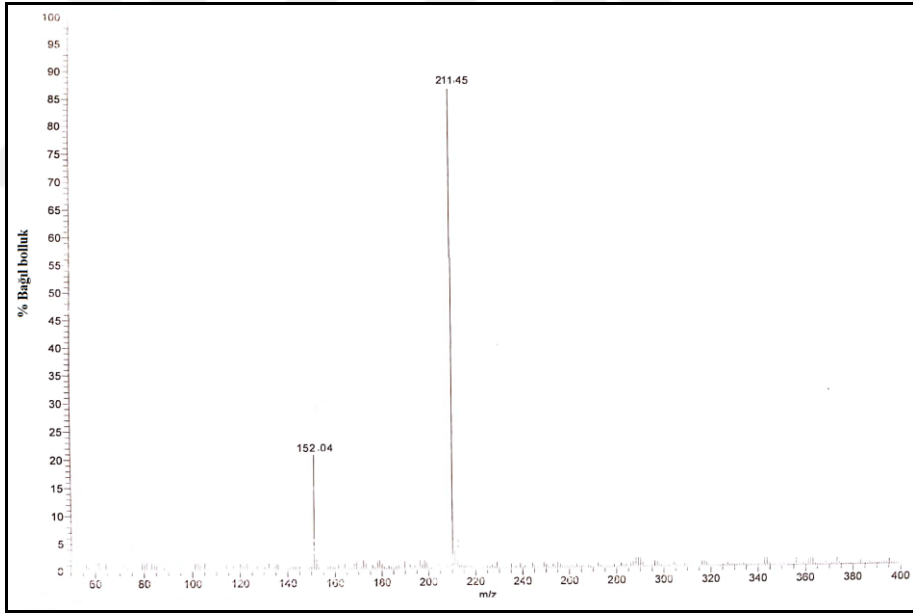
**Elementel Analiz:**  $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_2$

Hesaplanan (%): C, 79.98; H, 4.79.

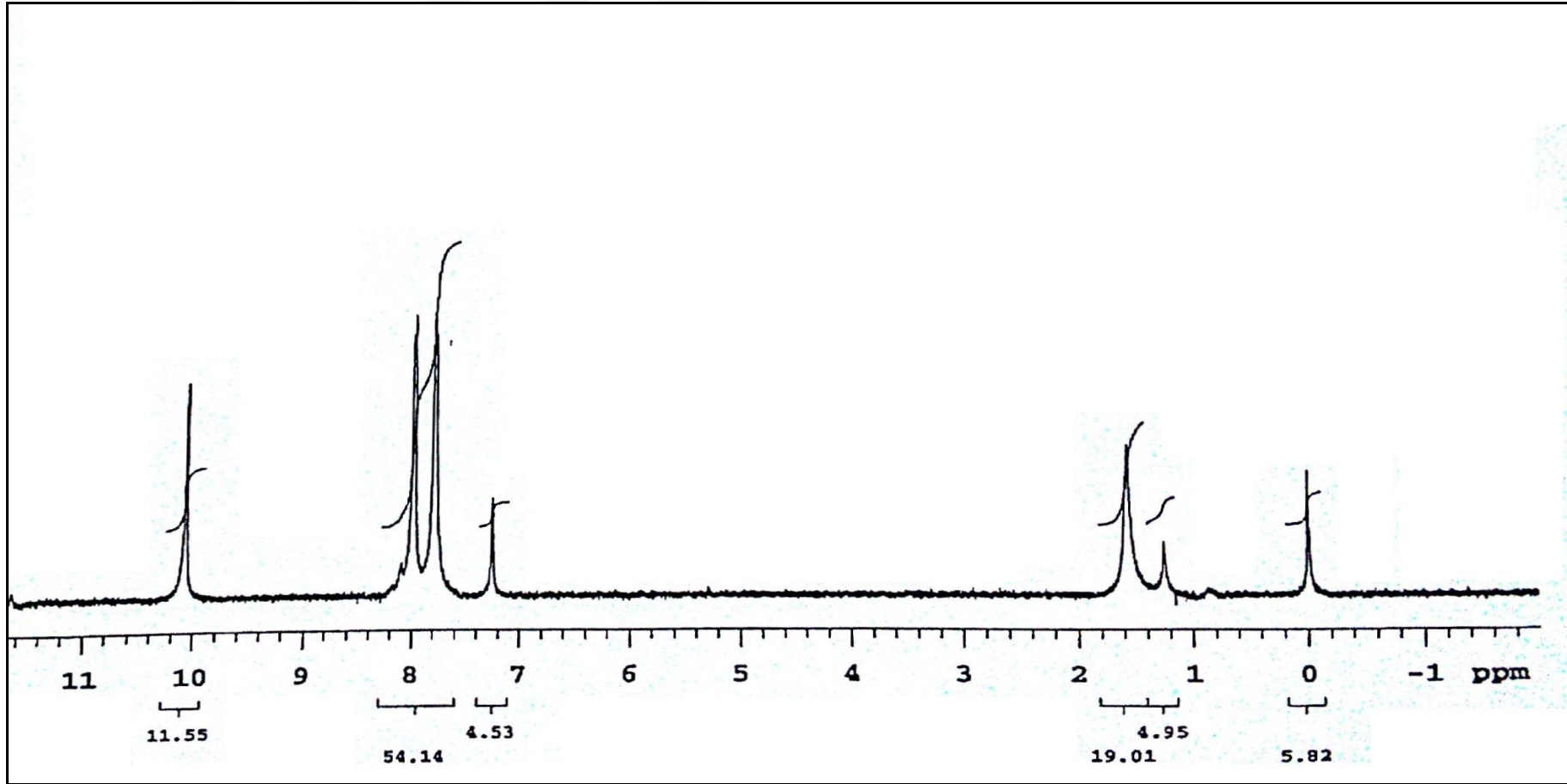
Bulunan (%): C, 80.37; H, 5.05.



Spektrum No 1. İmin-a kodlu bileşğin IR spektrumu



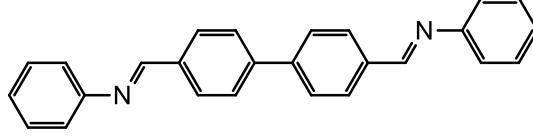
Spektrum No 2. İmin-a kodlu bileşğin kütle spektrumu



Spektrum No 3. İmin-a kodlu bileşiğin  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu

## 1.2. İmin Türevi Bileşiklerin Spektral Bulguları

### 1.2.1. İmin-1 kodlu bileşik



*N*-(4'-[(fenilimino)metil]-[1,1'-bifenil]-4-il)metilen)anilin

Verim: % 77, Erime Derecesi: 240 °C

**IR** (Spektrum No 4)

$\nu_{\text{maks}}$  (FT/ATR): 3060, 2880, 1619, 1585, 1481, 1449, 814, 755, 691  $\text{cm}^{-1}$ .

**MS** (ESI+) (Spektrum No 5)

$m/z$ : 361 [M+H]

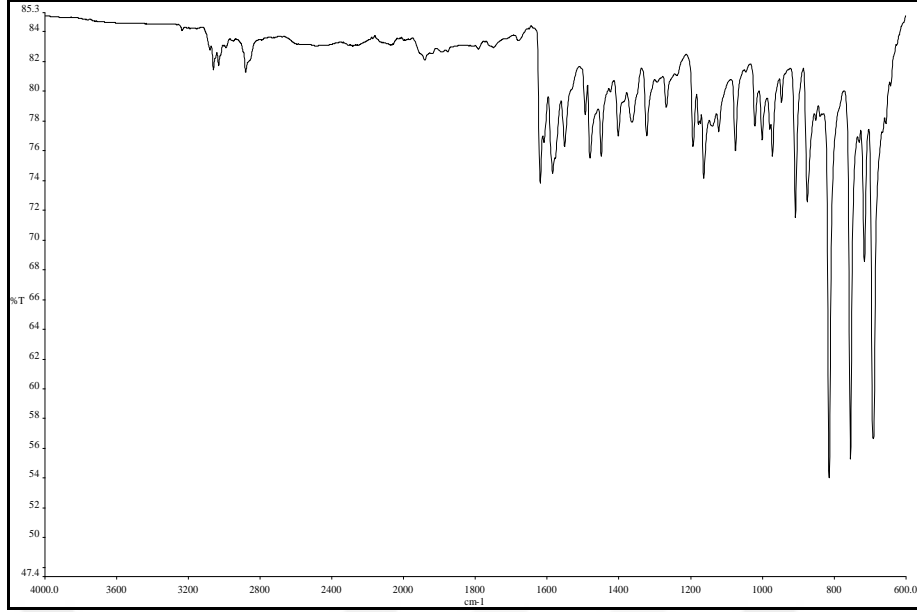
**$^1\text{H}$  NMR** (Spektrum No 6)

(400 MHz, DMSO)  $\delta$  7.28-7.35 (6H, m, H-2''', H-4''', H-6'''), 7.42 (4H, t,  $J= 7.6$  Hz, H-3''', H-5'''), 7.97 (4H, d,  $J= 7.6$  Hz, H-2, H-2', H-6, H-6'), 8.10 (4H, d,  $J= 7.6$  Hz, H-3, H-3', H-5, H-5'), 8.69 (2H, s, H-1'') ppm.

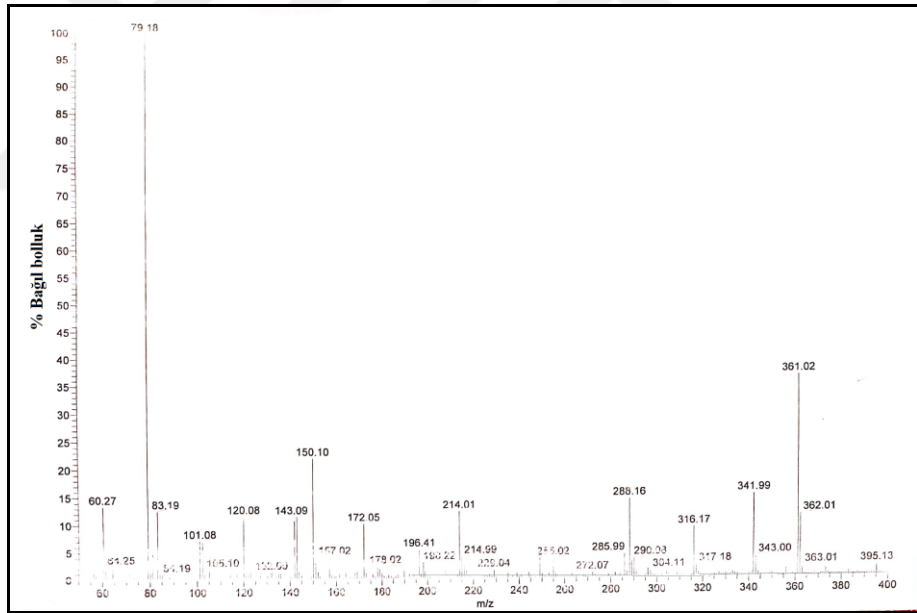
**Elementel Analiz:**  $\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{N}_2$

Hesaplanan (%): C, 86.64; H, 5.59; N, 7.77.

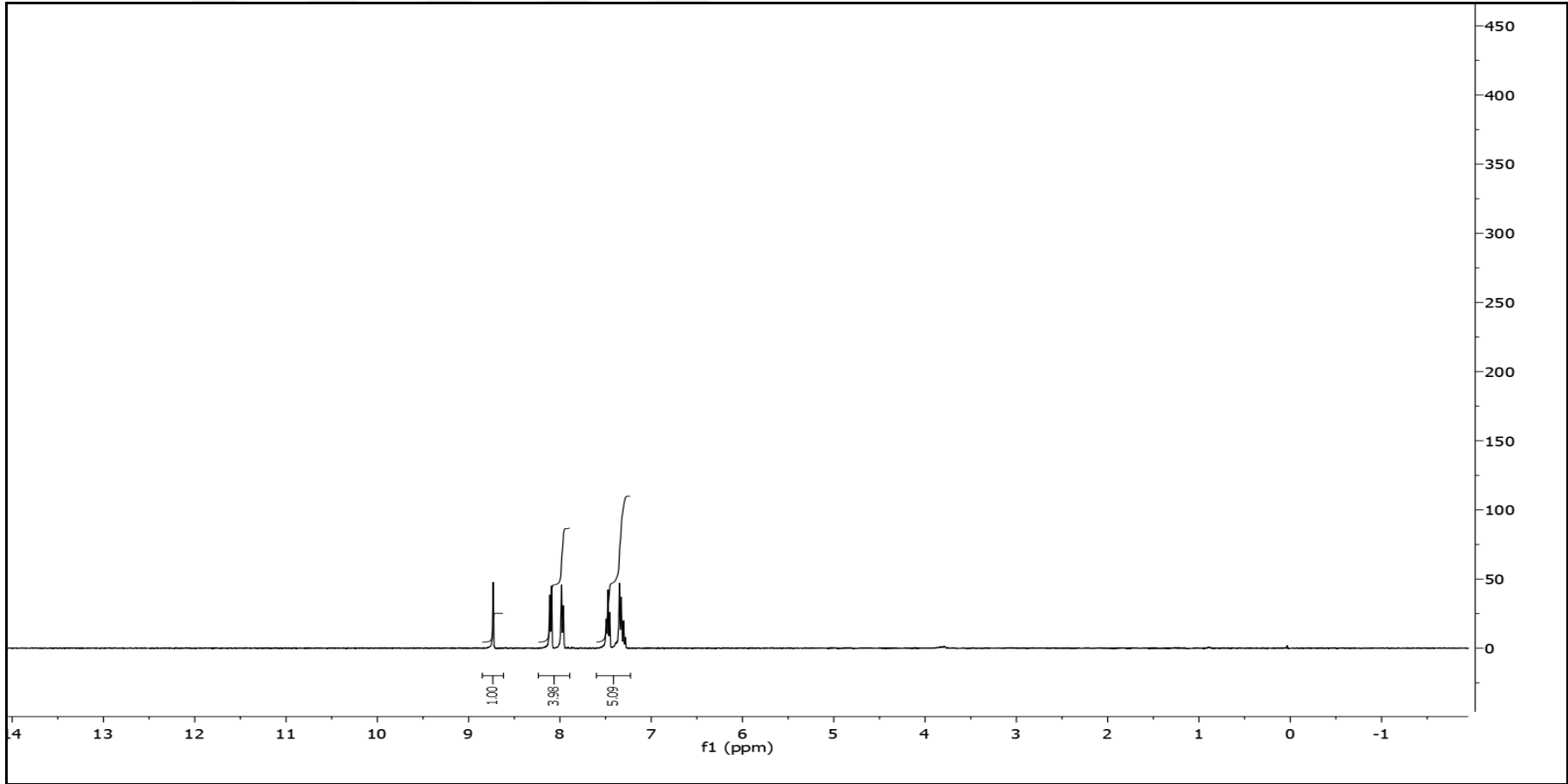
Bulunan (%): C, 86.47; H, 5.43; N, 7.40.



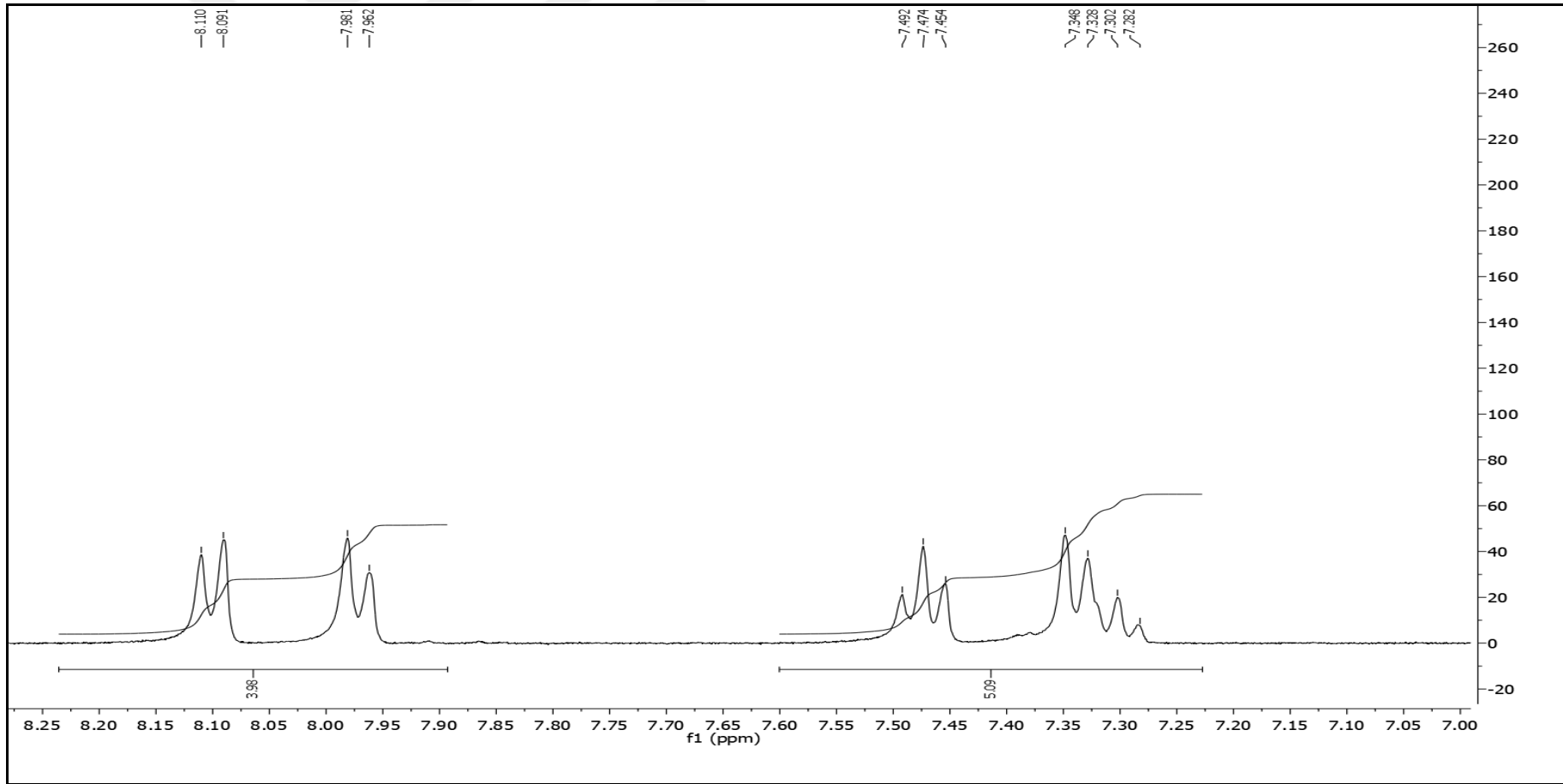
Spektrum No 4. İmin-1 kodlu bileşğin IR spektrumu



Spektrum No 5. İmin-1 kodlu bileşğin kütle spektrumu



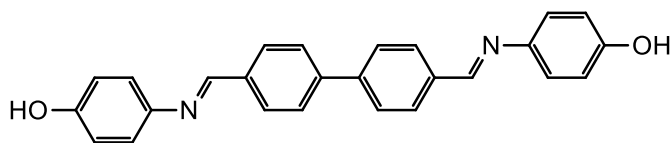
Spektrum No 6. İmin-1 kodlu bileşiğin  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu



Spektrum No 7. İmin-1 kodlu bileşiğin genişletilmiş  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu



### 1.2.2. İmin-2 kodlu bileşik



4-[[[(4'-hidroksifenil)imino]metil]-1,1'-bifenil-4-il)metilen]amino}fenol

Verim: % 40, Erime Derecesi: > 300 °C

**IR** (Spektrum No 8)

$\nu_{\text{maks}}$  (FT/ATR): 3422, 1619, 1592, 1504, 1445, 1245, 829, 815, 781  $\text{cm}^{-1}$ .

**MS** (ESI+) (Spektrum No 9)

m/z: 393 [M+H]

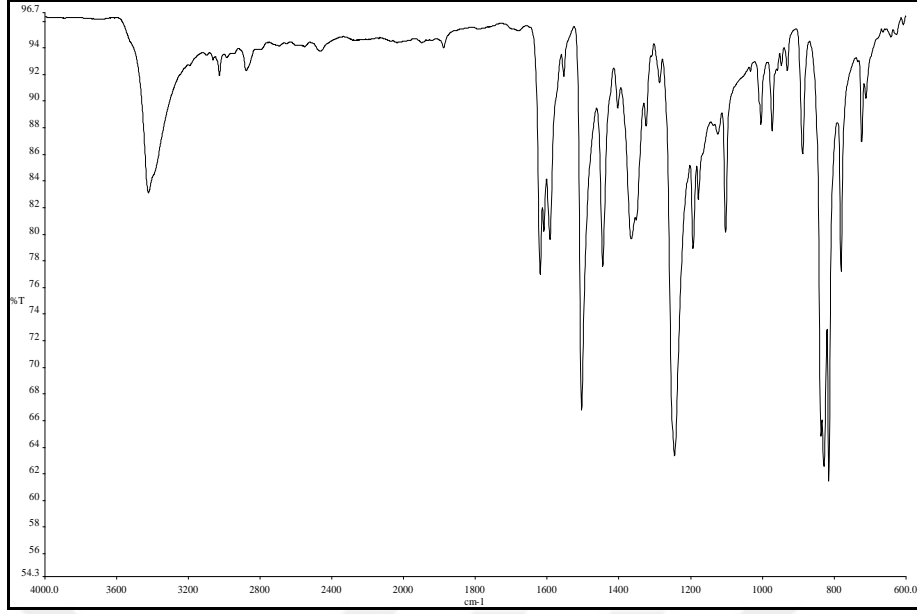
**$^1\text{H}$  NMR** (Spektrum No 10)

(400 MHz, DMSO)  $\delta$  6.80 (4H, d,  $J= 8.4$  Hz, H-3''', H-5'''), 7.23 (4H, d,  $J= 8.0$  Hz, H-2''', H-6'''), 7.87 (4H, d,  $J= 8.0$  Hz, H-2, H-2', H-6, H-6'), 7.99 (4H, d,  $J= 8.0$  Hz, H-3, H-3', H-5, H-5'), 8.66 (2H, s, H-1''), 9.53 (2H, s, Ar-OH) ppm.

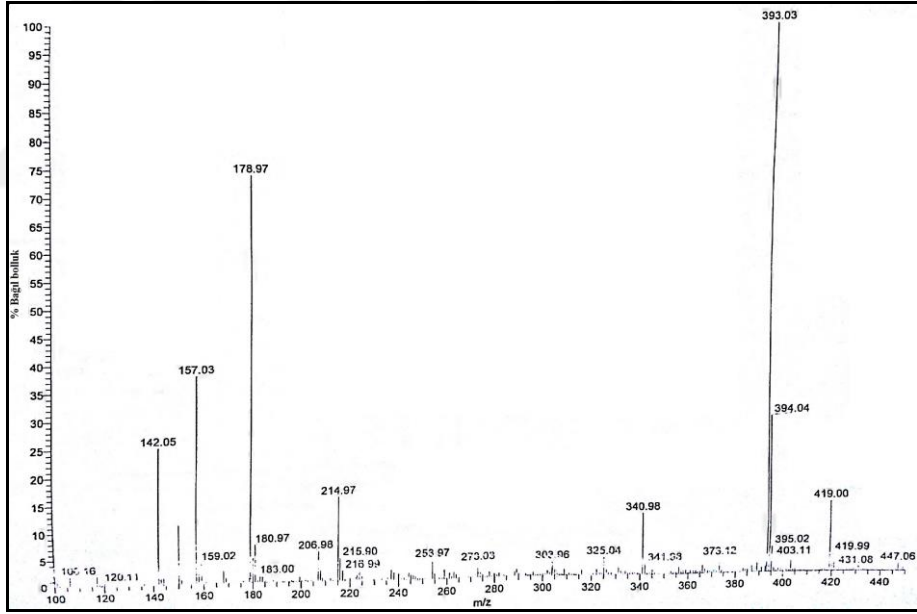
**Elementel Analiz:**  $\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$

Hesaplanan (%): C, 79.57; H, 5.14; N, 7.14.

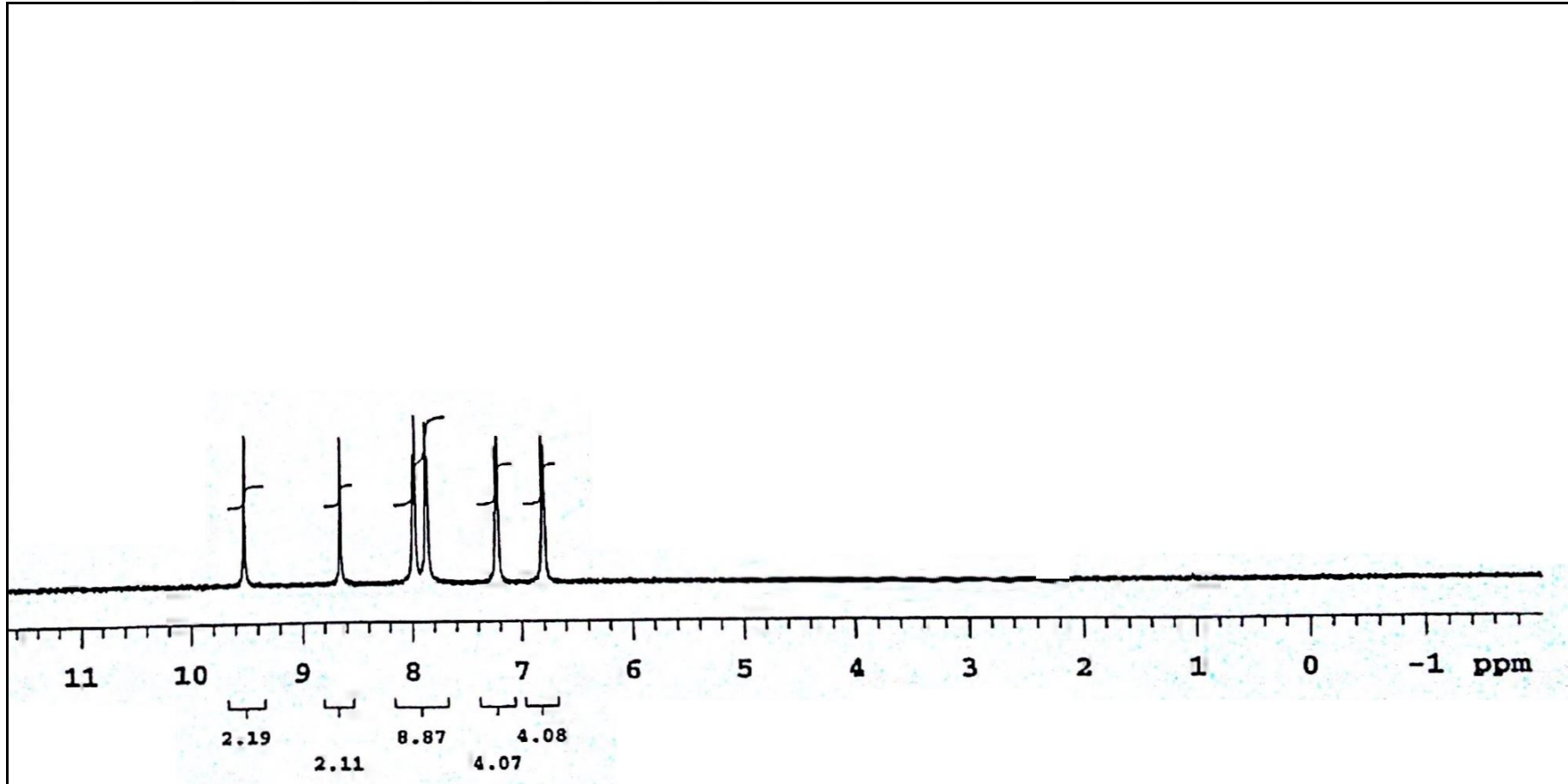
Bulunan (%): C, 79.47; H, 5.43; N, 7.30.



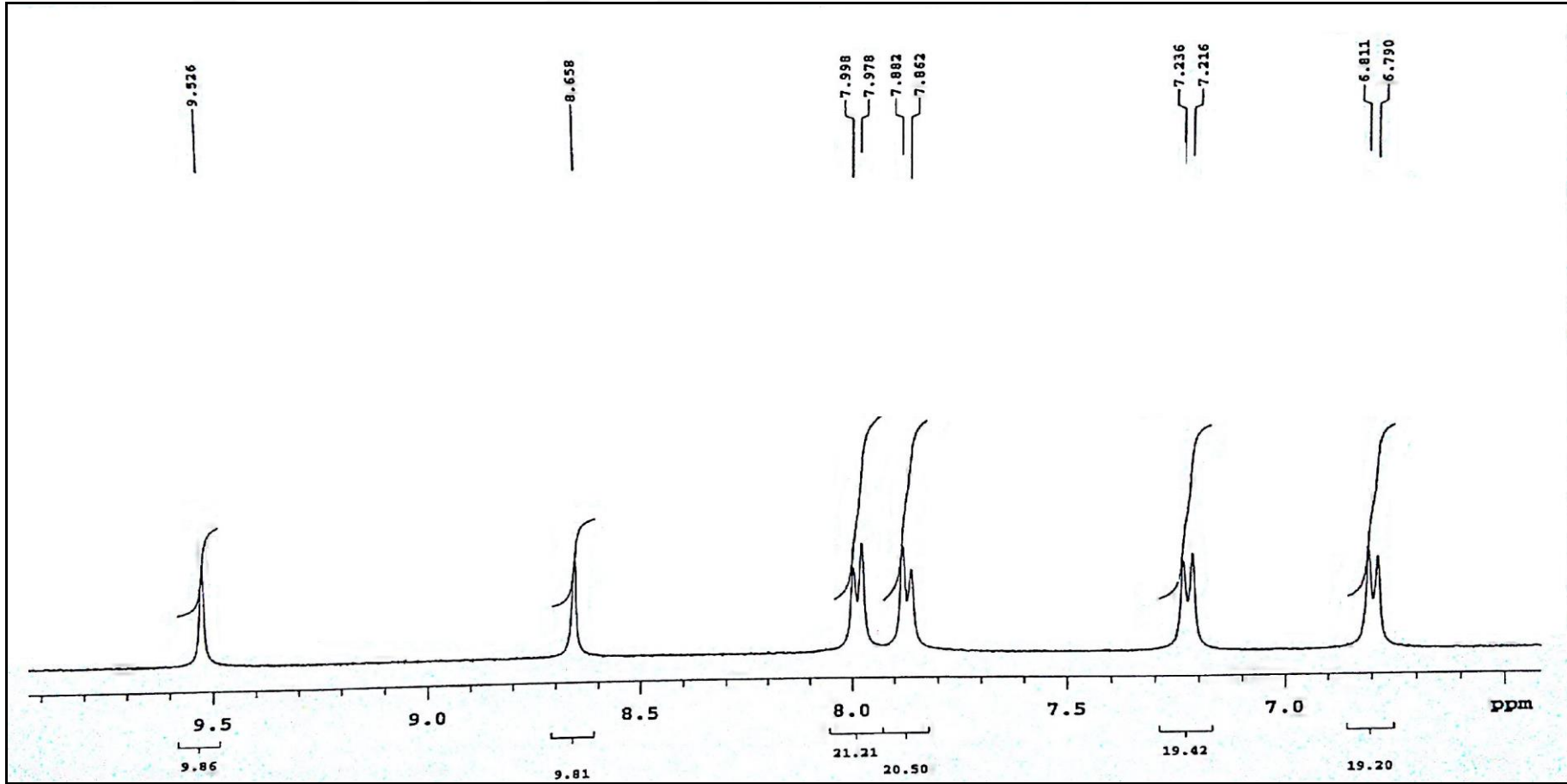
Spektrum No 8. İmin-2 kodlu bileşiğin IR spektrumu



Spektrum No 9. İmin-2 kodlu bileşiğin kütle spektrumu

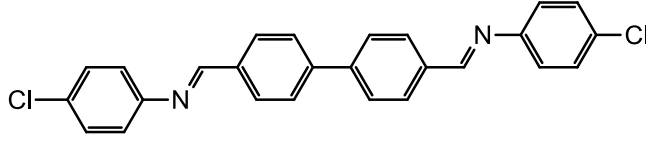


Spektrum No 10. İmin-2 kodlu bileşiğin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu



Spektrum No 11. İmin-2 kodlu bileşimin genişletilmiş  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu

### 1.2.3. İmin-3 kodlu bileşik



*N*-({4'-[klorofenilimino)metil]-[1,1'-bifenil]-4-il}metilen)-4-kloroanilin

Verim: % 54, Erime Derecesi: 256 °C

**IR** (Spektrum No 12)

$\nu_{\text{maks}}$  (FT/ATR): 1620, 1479, 1098, 843, 829, 722  $\text{cm}^{-1}$ .

**MS** (ESI+) (Spektrum No 13)

$m/z$ : 429 [M+H], 431 [M+H+2], 433 [M+H+4].

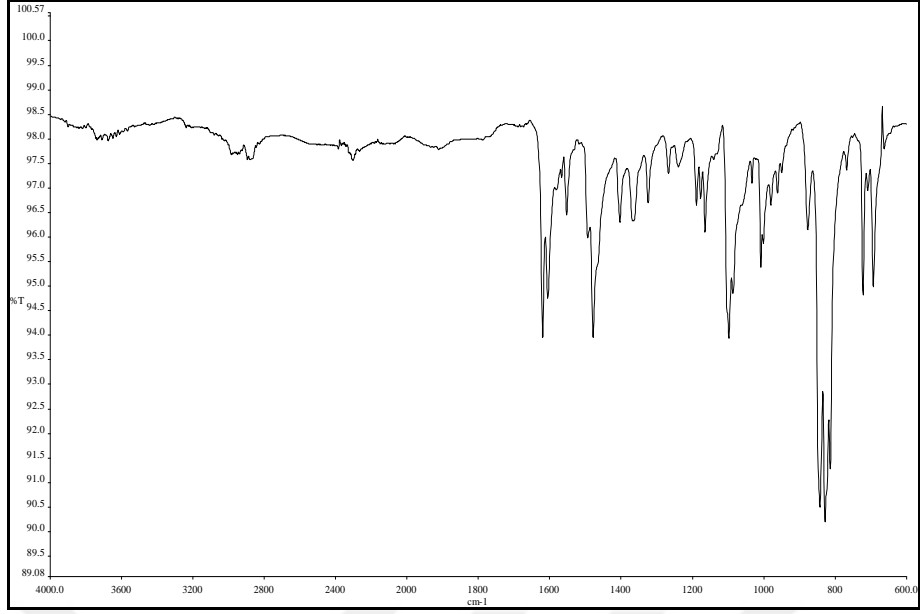
**<sup>1</sup>H NMR** (Spektrum No 14)

(400 MHz, DMSO)  $\delta$  7.30 (4H, d,  $J$ = 8.8 Hz, H-2''', H-6'''), 7.44 (4H, d,  $J$ = 8.8 Hz, H-3''', H-5'''), 7.89 (4H, d,  $J$ = 8.4 Hz, H-2, H-2', H-6, H-6'), 8.04 (4H, d,  $J$ = 8.4 Hz, H-3, H-3', H-5, H-5'), 8.67 (2H, s, H-1'') ppm.

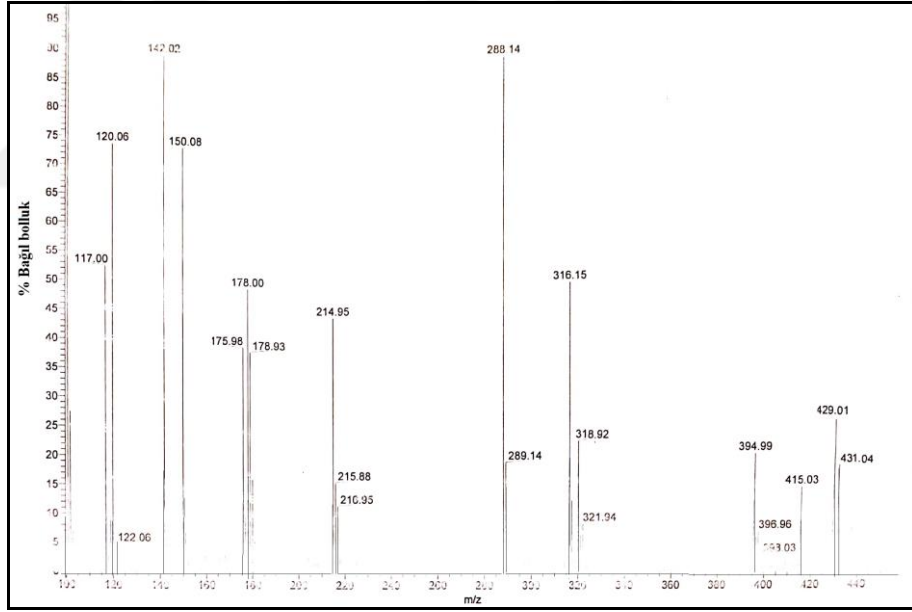
**Elementel Analiz:** C<sub>26</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>

Hesaplanan (%): C, 72.73; H, 4.23; N, 6.52.

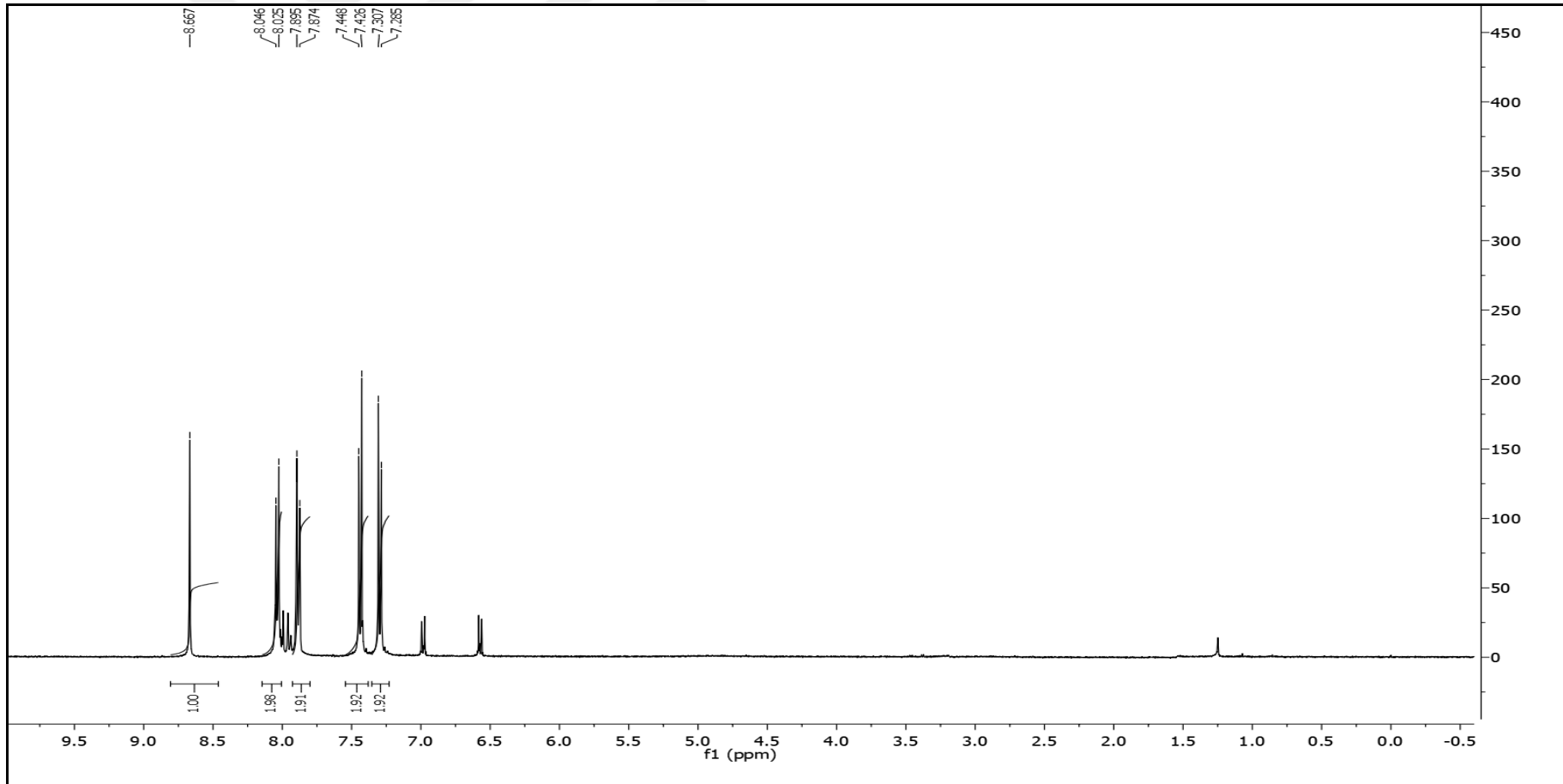
Bulunan (%): C, 72.47; H, 4.40; N, 6.32.



Spektrum No 12. İmin-3 kodlu bileşğin IR spektrumu

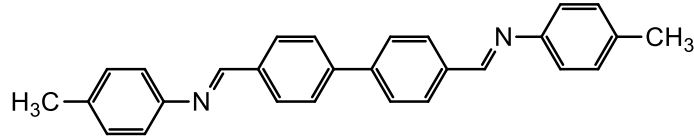


Spektrum No 13. İmin-3 kodlu bileşğin kütle spektrumu



Spektrum No 14. İmin-3 kodlu bileşiğin  $^1\text{H-NMR}$ spektrum

#### 1.2.4. İmin-4 kodlu bileşik



*N*-({4'-[(toluylimino)metil]-[1,1'-bifenil]-4-il}metilen)-4-metilanilin

Verim: % 57, Erime Derecesi: 257 °C

**IR** (Spektrum No 15)

$\nu_{\text{maks}}$  (FT/ATR): 2918, 1623, 1594, 1504, 826  $\text{cm}^{-1}$ .

**MS** (ESI+) (Spektrum No 16)

$m/z$ : 389 [M+H]

**$^1\text{H}$  NMR** (Spektrum No 17)

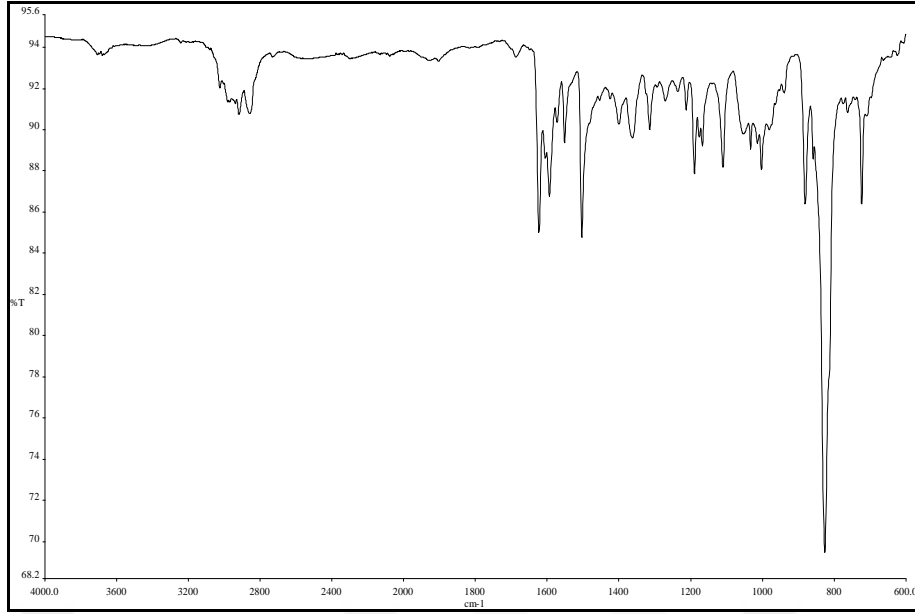
(400 MHz, DMSO)  $\delta$  2.33 (6H, s, Ar-CH<sub>3</sub>), 7.18-7.23 (8H, m, H-2''', H-3''', H-5''', H-6'''), 7.87 (4H, d,  $J= 8.0$  Hz, H-2, H-2', H-6, H-6'), 8.02 (4H, d,  $J= 8.0$  Hz, H-3, H-3', H-5, H-5'), 8.66 (2H, s, H-1'') ppm.

**Elementel Analiz:** C<sub>28</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>

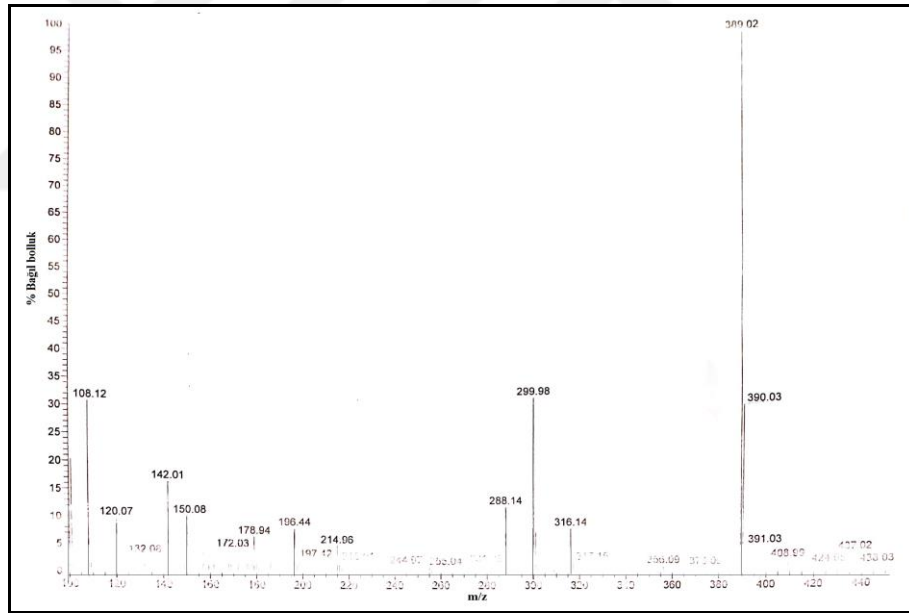
Hesaplanan (%): C, 86.56; H, 6.23; N, 7.21.

Bulunan (%): C, 86.81; H, 6.35; N, 7.57.

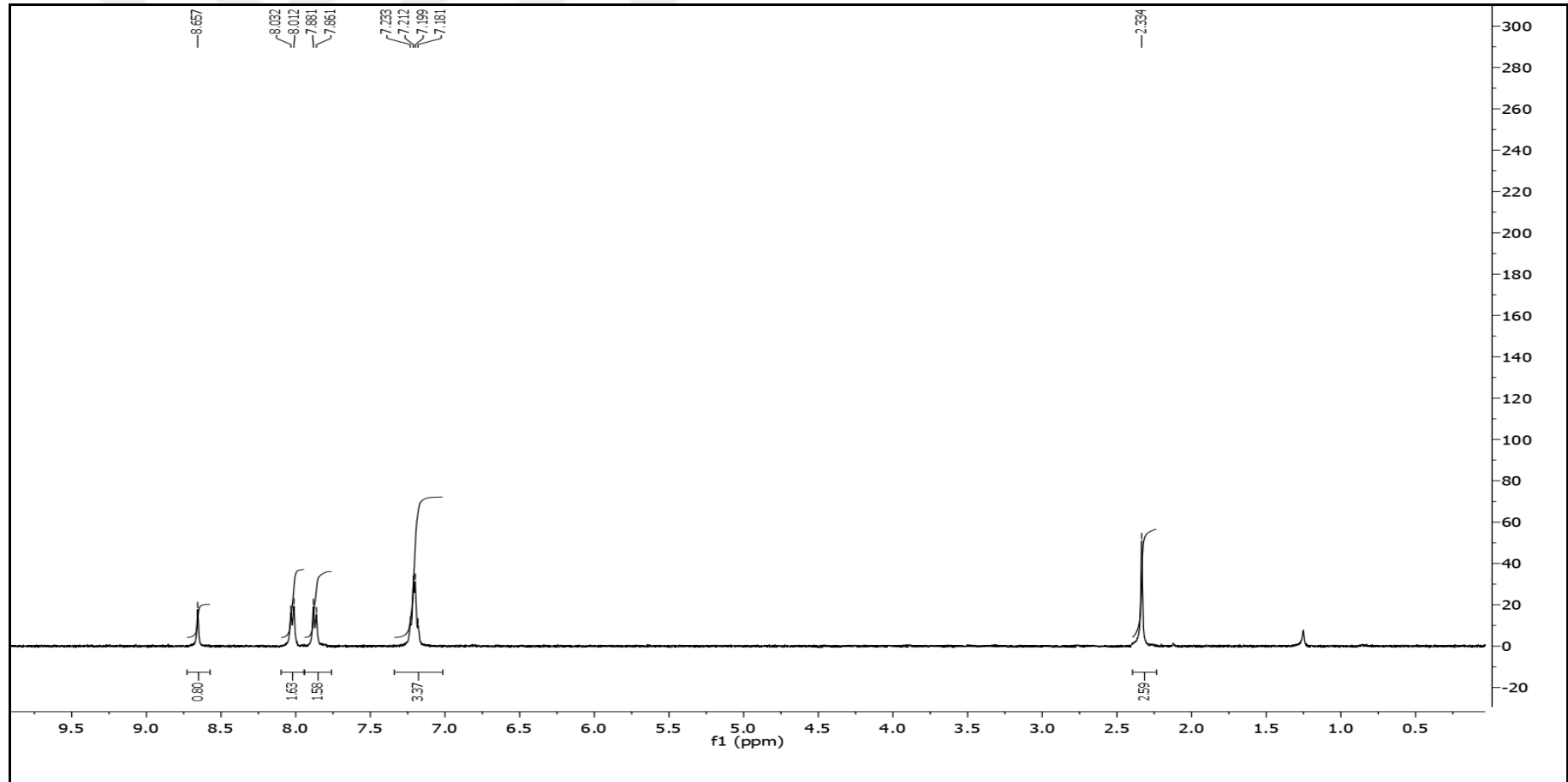




Spektrum No 15. İmin-4 kodlu bileşğin IR spektrumu

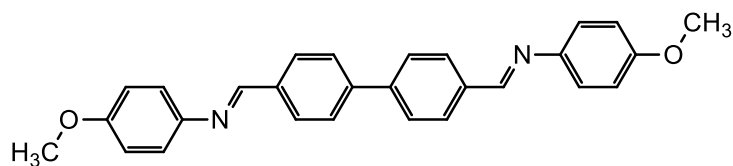


Spektrum No 16. İmin-4 kodlu bileşğin kütle spektrumu



Spektrum No 17. İmin-4 kodlu bileşiğin <sup>1</sup>H-NMRspektrumu

### 1.2.5. İmin-5 kodlu bileşik



*N*-((4'-[(metoksifenilimino)metil]-[1,1'-bifenil]-4-il)metilen)-4-metoksianilin

Verim: % 82, Erime Derecesi: 263 °C

**IR** (Spektrum No 18)

$\nu_{\text{maks}}$  (FT/ATR): 2956, 1619, 1504, 1248, 1031, 837, 758  $\text{cm}^{-1}$ .

**MS** (ESI+) (Spektrum No 19)

*m/z*: 421 [M+H]

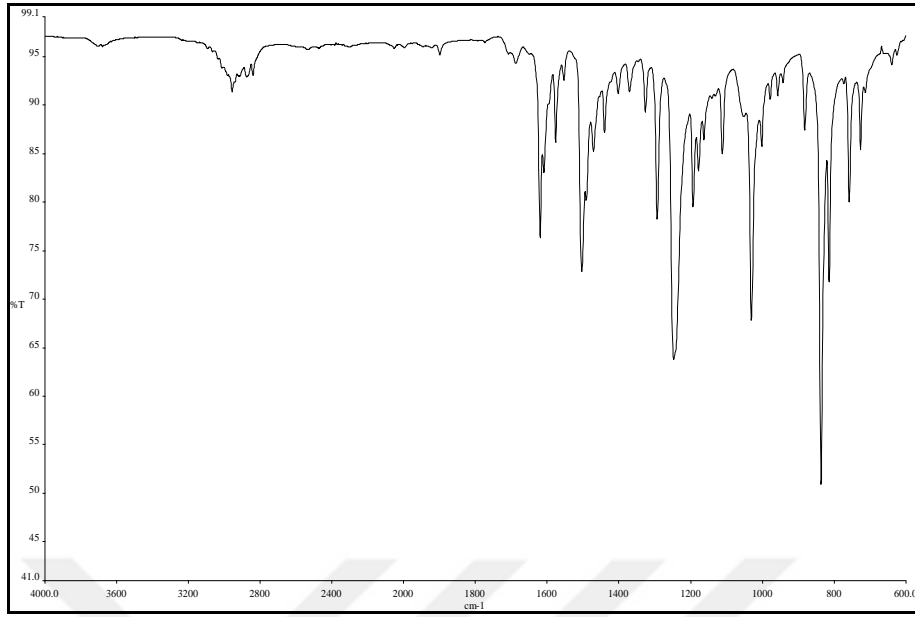
**<sup>1</sup>H NMR** (Spektrum No 20)

(400 MHz, DMSO)  $\delta$  3.72 (6H, s, Ar-OCH<sub>3</sub>), 6.98 (4H, d,  $J_1 = 1.8$  Hz  $J_2 = J = 6.8$  Hz, H-3''', H-5'''), 7.26 (4H, dd,  $J_1 = 2.2$  Hz  $J_2 = 7.2$  Hz, H-2''', H-6'''), 7.92 (4H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-2, H-2', H-6, H-6'), 7.98 (4H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-3, H-3', H-5, H-5'), 8.70 (2H, s, H-1'') ppm.

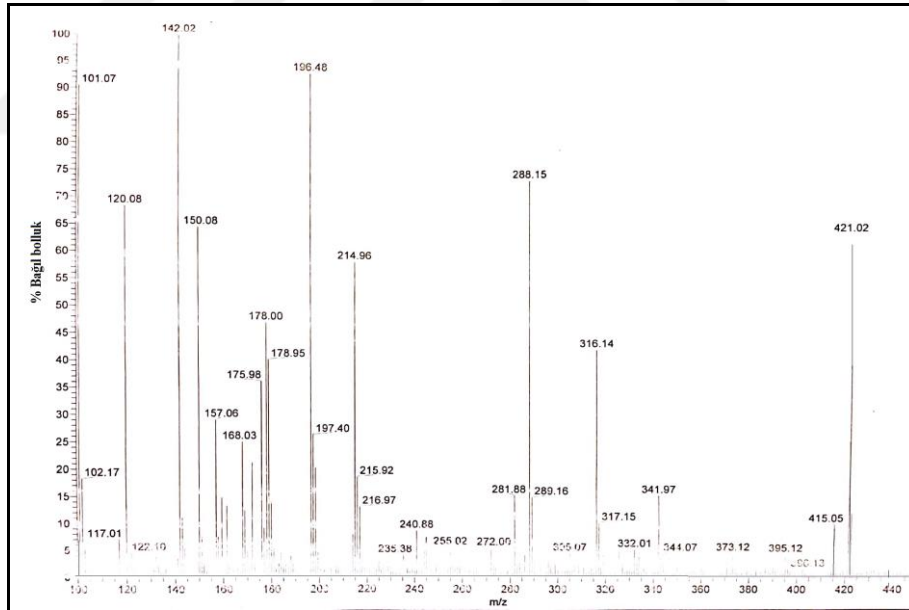
**Elementel Analiz:** C<sub>28</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Hesaplanan (%): C, 79.98; H, 5.75; N, 6.66.

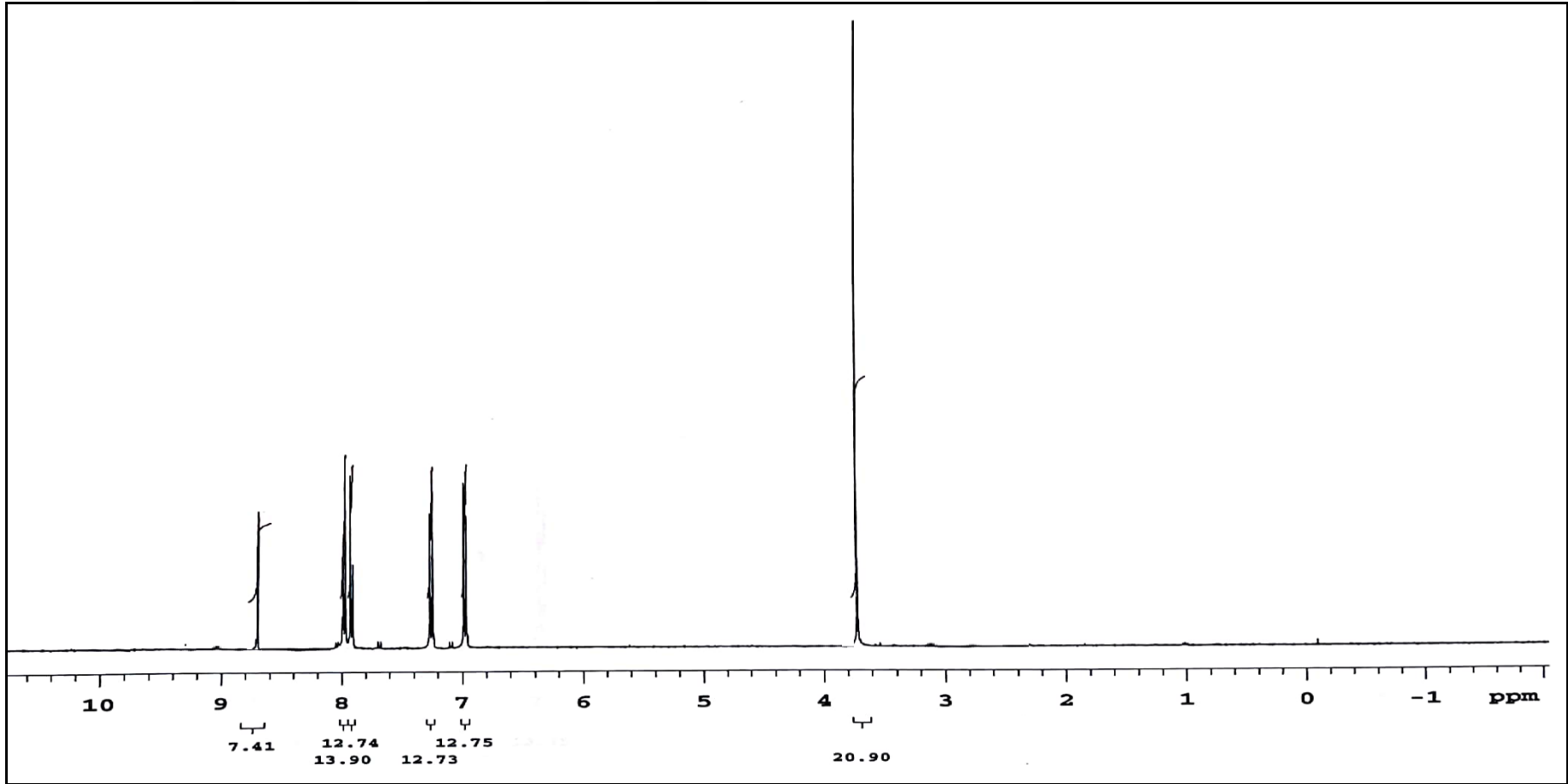
Bulunan (%): C, 79.57; H, 5.45; N, 6.35.



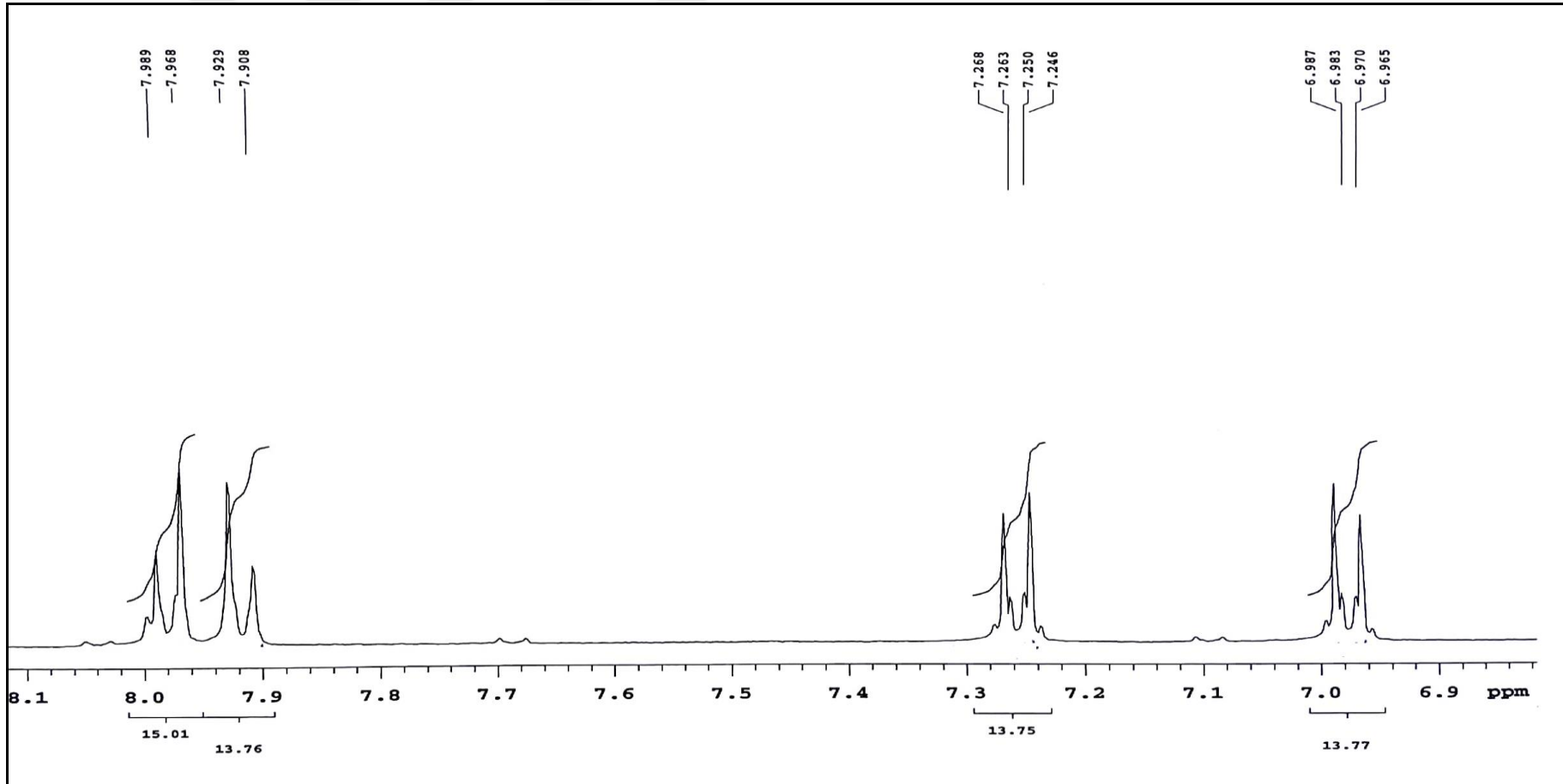
Spektrum No 18. İmin-5 kodlu bileşğin IR spektrumu



Spektrum No 19. İmin-5 kodlu bileşğin kütle spektrumu

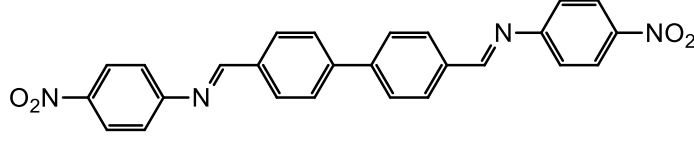


Spektrum No 20. İmin-5 kodlu bileşiğin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu



Spektrum No 21. İmin-5 kodlu bileşimin genişletilmiş  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu

### 1.2.6. İmin-6 kodlu bileşik



*N*-({4'-[(nitrofenilimino)metil]-[1,1'-bifenil]-4-il}metilen)-4-nitroanilin

Verim: % 11, Erime Derecesi: > 300 °C

**IR** (Spektrum No 22)

$\nu_{\text{maks}}$  (FT/ATR): 2973, 1624, 1581, 1506, 1336, 1106, 814  $\text{cm}^{-1}$ .

**MS** (ESI+) (Spektrum No 23)

$m/z$ : 451 [M+H]

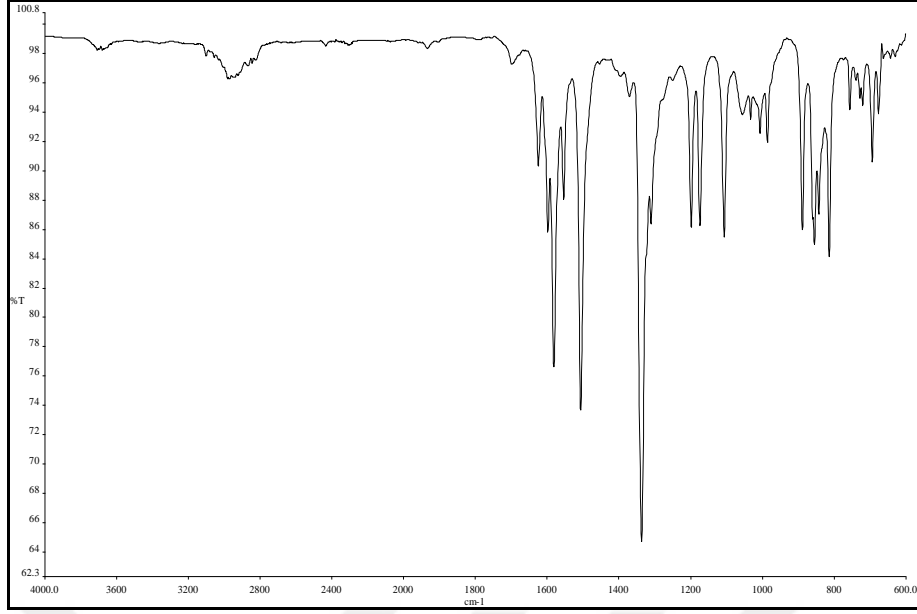
**$^1\text{H}$  NMR** (Spektrum No 24)

(400 MHz, DMSO)  $\delta$  7.35 (4H, d,  $J$ = 8.4 Hz, H-2''', H-6'''), 7.49 (4H, d,  $J$ = 8.4 Hz, H-2, H-2', H-6, H-6'), 7.92 (4H, d,  $J$ = 8.4 Hz H-3, H-3', H-5, H-5'), 7.98 (4H, d,  $J$ = 7.6 Hz, H-3''', H-5'''), 8.72 (2H, s, H-1'') ppm.

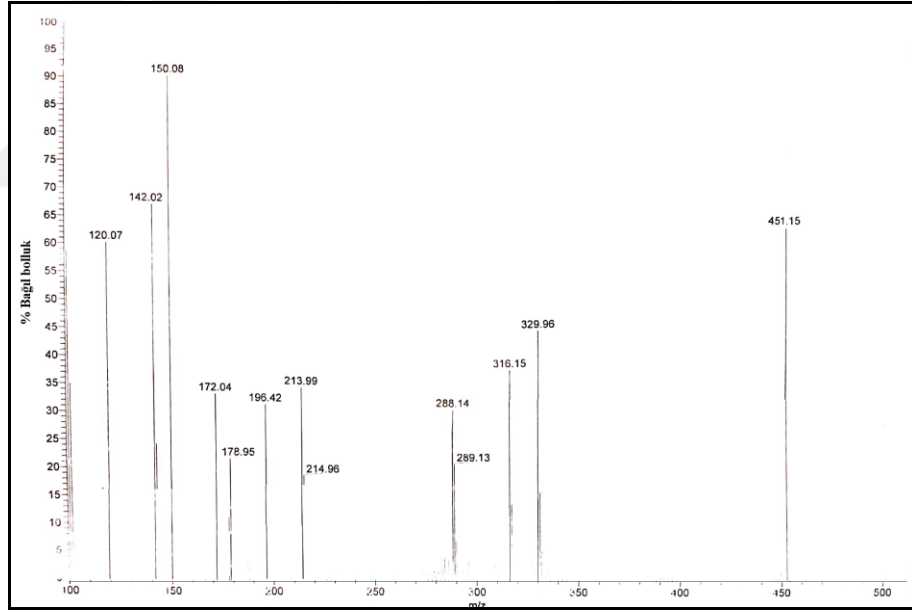
**Elementel Analiz:**

Hesaplanan (%): C, 69.33; H, 4.03; N, 12.44.

Bulunan (%): C, 69.47; H, 4.43; N, 12.80.

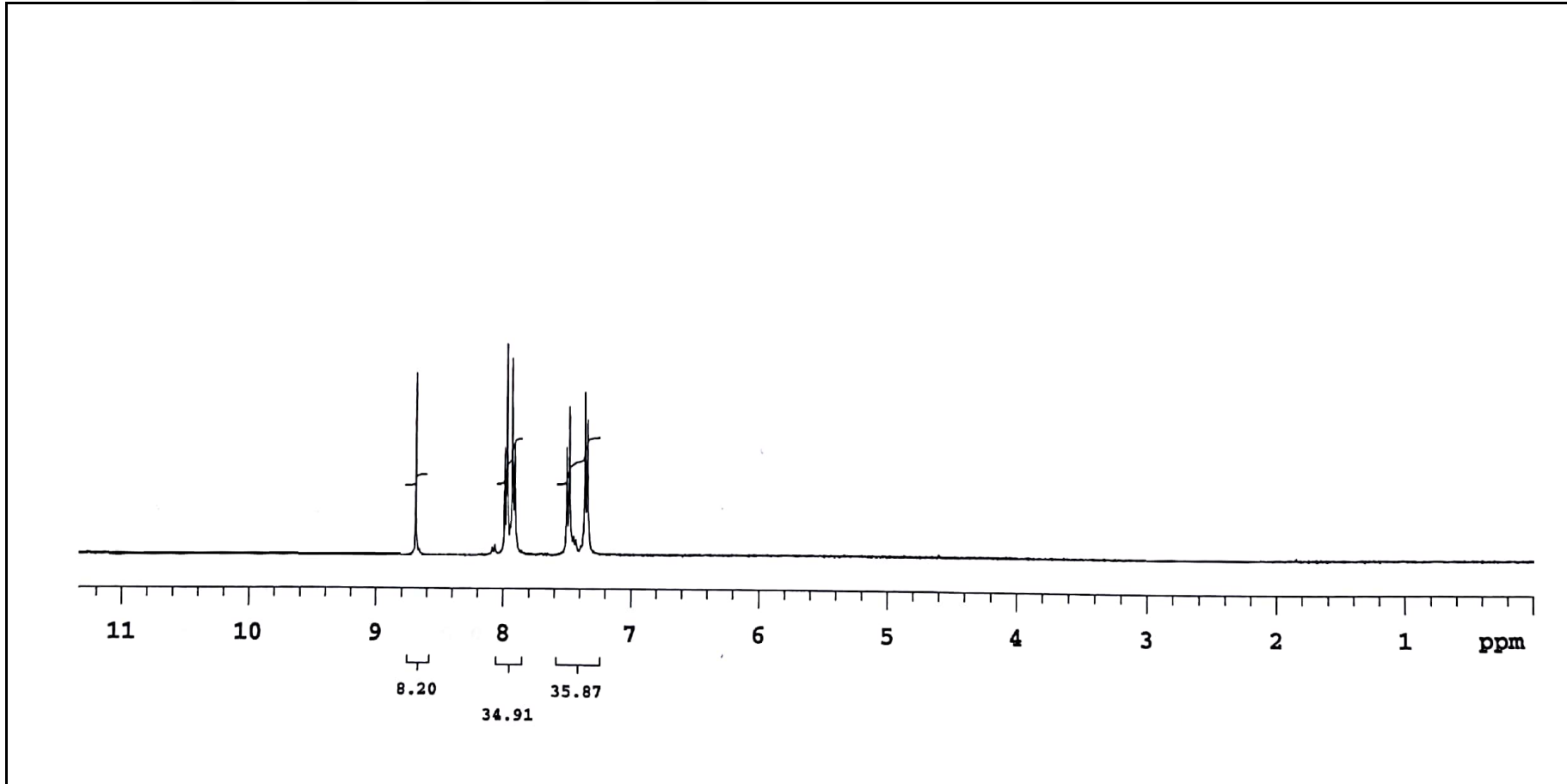


Spektrum No 22. İmin-6 kodlu bileşğin IR spektrumu

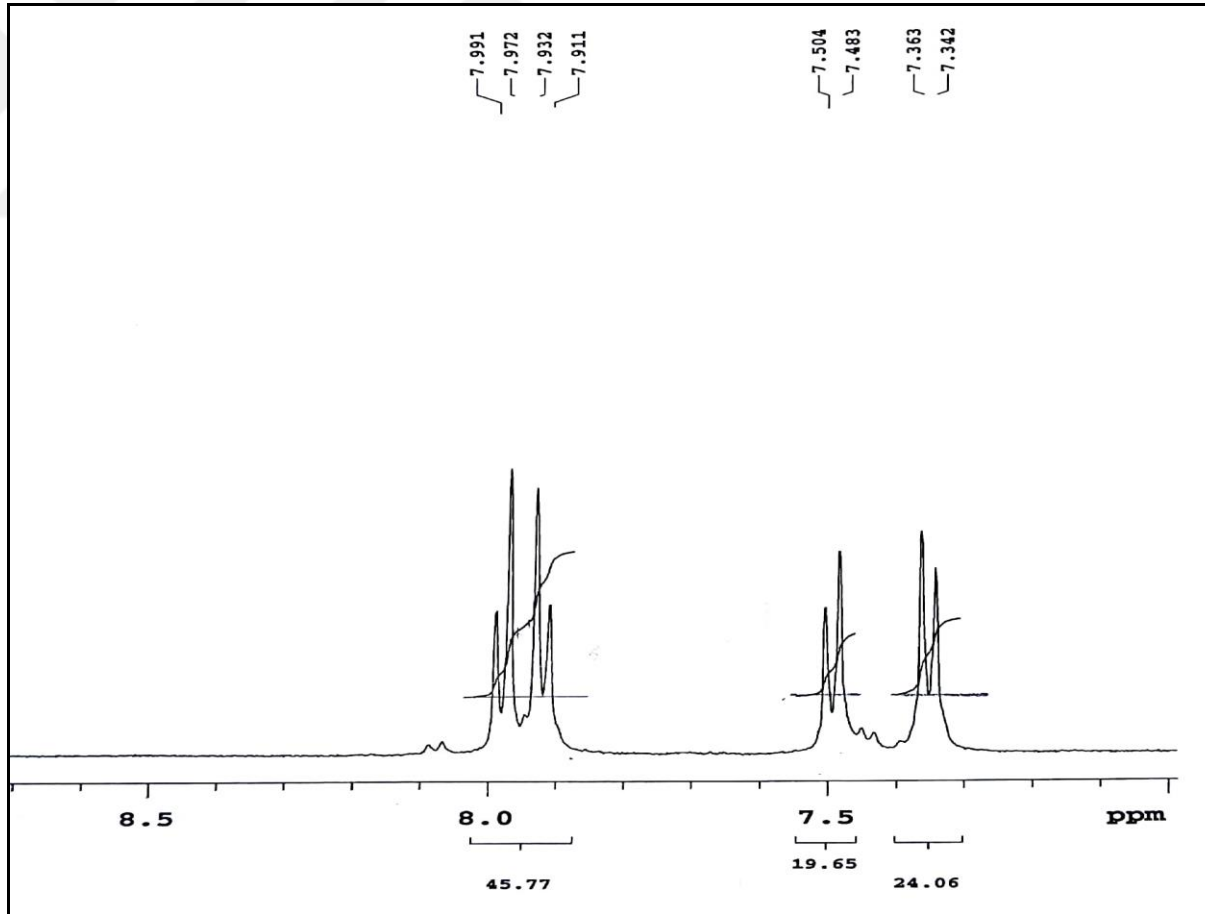


Spektrum No 23. İmin-6 kodlu bileşğin kütle spektrumu



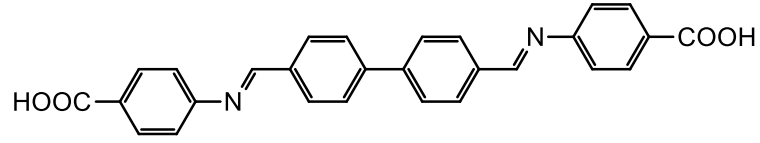


Spektrum No 24. İmin-6 kodlu bileşiğin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu



Spektrum No 25. İmin-6 kodlu bileşiğin genişletilmiş  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu

### 1.2.7. İmin-7 kodlu bileşik



4,4'-{[(1,1'-bifenil)-4,4'diilbis(metaniliden)]bis(azaniliden)}dibenzoik asit

Verim: % 58, Erime Derecesi: 242 °C

**IR** (Spektrum No 26)

$\nu_{\text{maks}}$  (FT/ATR): 2973, 1677, 1591, 1290, 1167, 817, 774  $\text{cm}^{-1}$ .

**MS** (ESI+) (Spektrum No 27)

m/z: 449 [M+H]

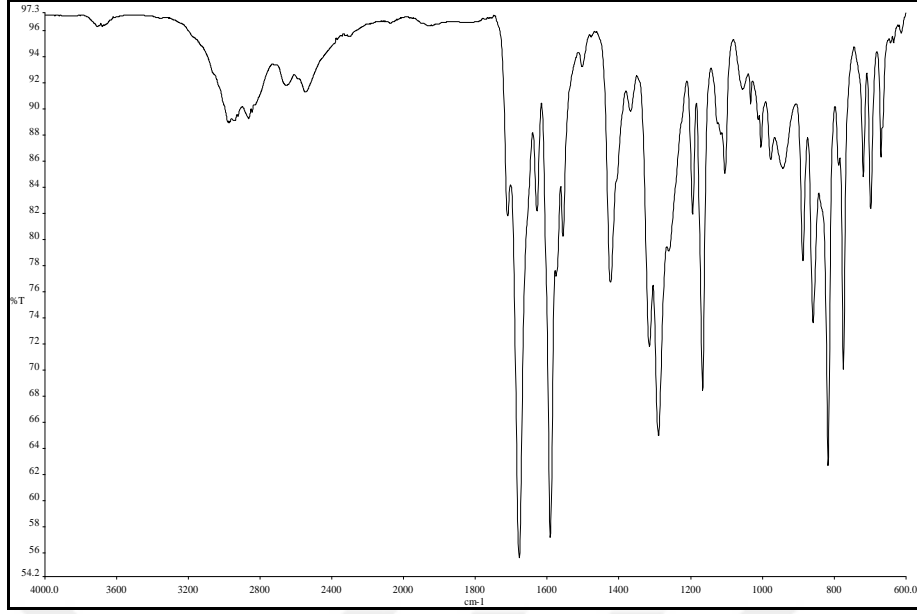
**$^1\text{H}$  NMR** (Spektrum No 28)

(400 MHz, DMSO)  $\delta$  7.34 (4H, d,  $J= 8.4$  Hz, H-2''', H-6'''), 7.96 (4H, d,  $J= 8.8$  Hz, H-2, H-2', H-6, H-6'), 8.03-8.00 (4H, m, H-3, H-3', H-5, H-5'), 8.07 (4H, d,  $J= 8.4$  Hz, H-3''', H-5'''), 8.70 (2H, s, H-1''), 10.07 (2H, s, Ar-COOH) ppm.

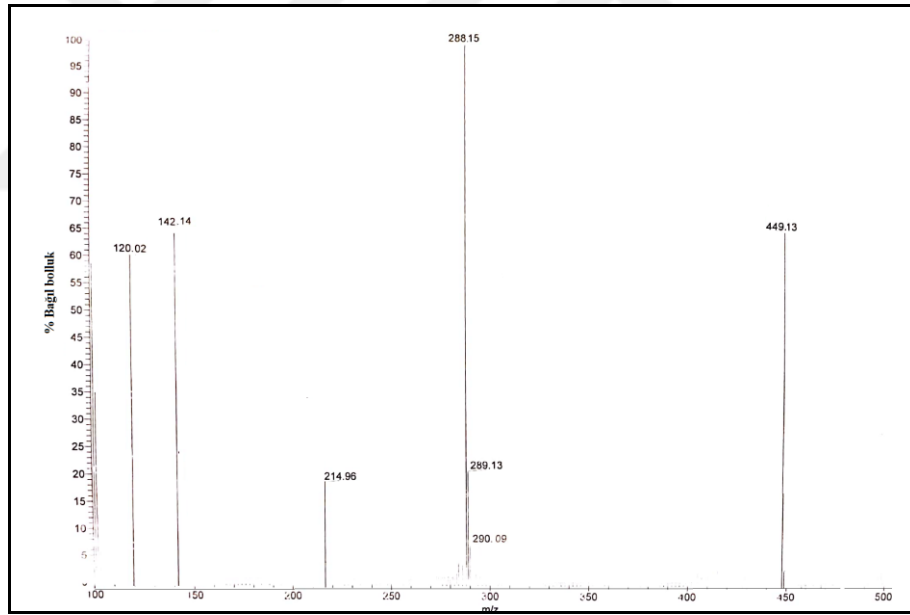
**Elementel Analiz:**  $\text{C}_{28}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4$

Hesaplanan (%): C, 74.99; H, 4.50; N, 6.25.

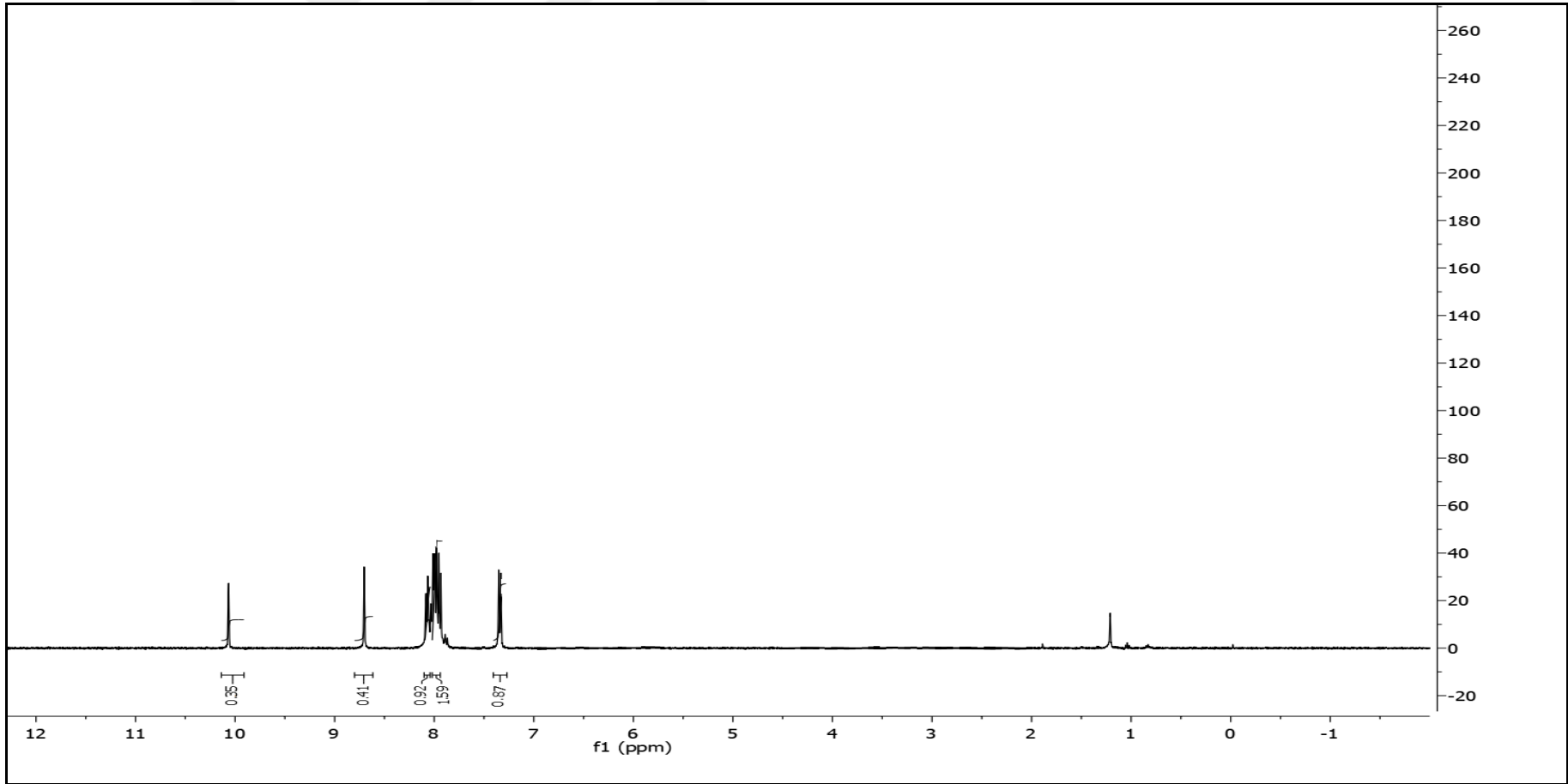
Bulunan (%): C, 74.69; H, 4.48; N, 6.42.



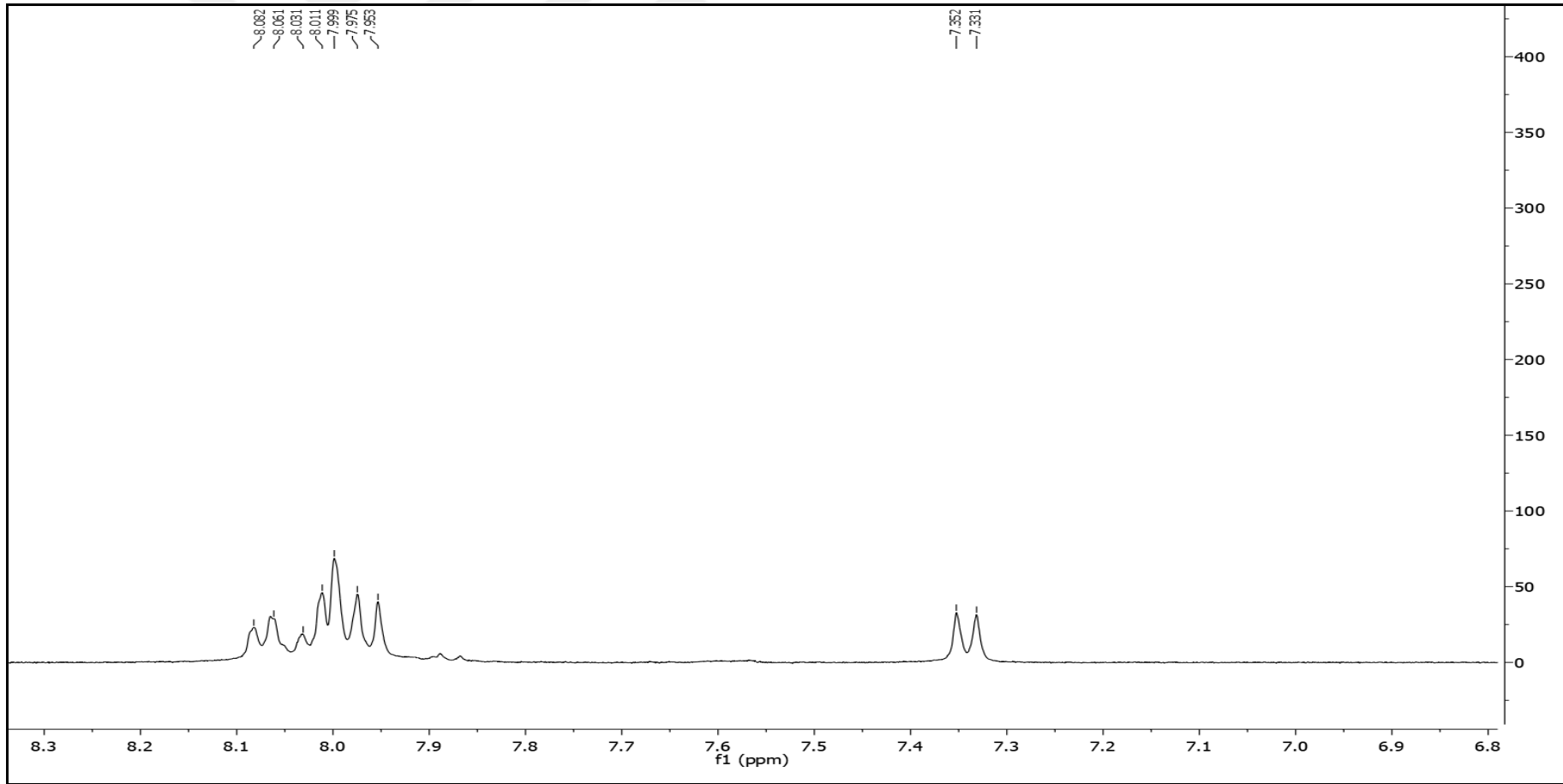
Spektrum No 26. İmin-7 kodlu bileşğin IR spektrumu



Spektrum No 27. İmin-7 kodlu bileşğin kütle spektrumu

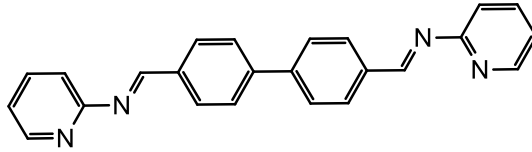


Spektrum No 28. İmin-7 kodlu bileşiğin  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu



Spektrum No 29. İmin-7 kodlu bileşiğin genişletilmiş  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu

### 1.2.8. İmin-8 kodlu bileşik



4-[(4'-(piridin-2-il-imino)metil)-[1,1'-bifenil]-4-il]metilen)piridin-2-amin

Verim: % 29, Erime Derecesi: 265°C

**IR** (Spektrum No 30)

$\nu_{\text{maks}}$  (FT/ATR): 3028, 1599, 1503, 1416, 1053, 768  $\text{cm}^{-1}$ .

**MS** (ESI+) (Spektrum No 31)

m/z: 363 [M+H]

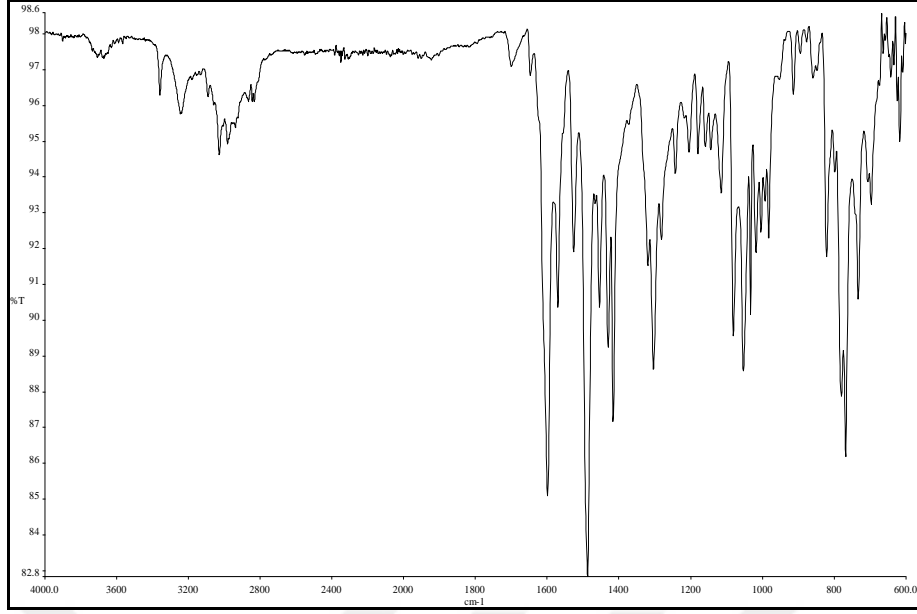
**<sup>1</sup>H NMR** (Spektrum No 32)

(400 MHz, DMSO)  $\delta$  7.06 (2H, t,  $J= 6.6$  Hz, H-3'''), 7.73 (4H, d,  $J= 8.4$  Hz, H-4''', H-5'''), 8.08 (4H, d,  $J= 8.4$  Hz, H-2, H-2', H-6, H-6'), 8.14 (4H, d,  $J= 8.4$  Hz, H-3, H-3', H-5, H-5'), 8.48-8.51 (2H, m, H-6'''), 8.77 (2H, s, H-1'') ppm.

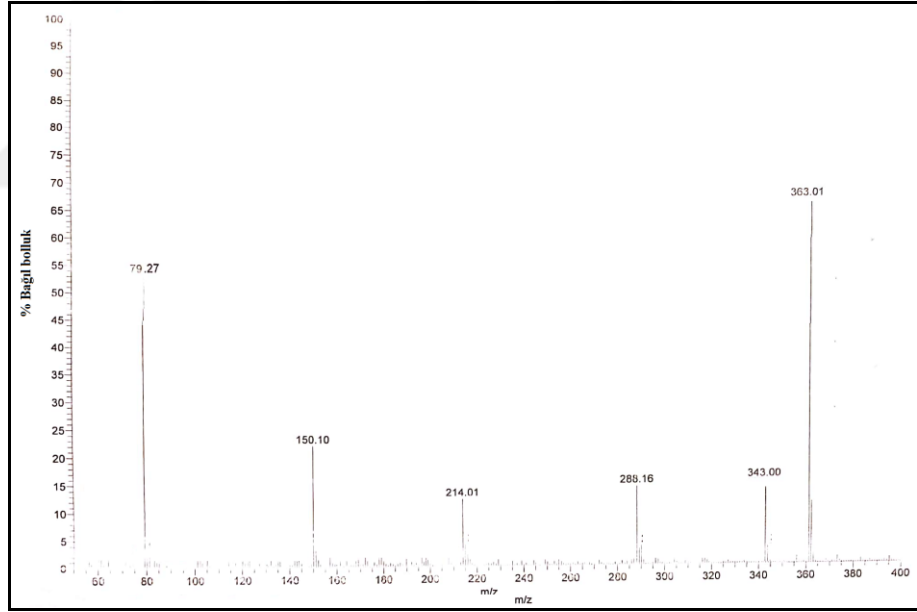
**Elementel Analiz:** C<sub>24</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>

Hesaplanan (%): C, 79.54; H, 5.01; N, 15.46.

Bulunan (%): C, 79.45; H, 4.83; N, 15.30.

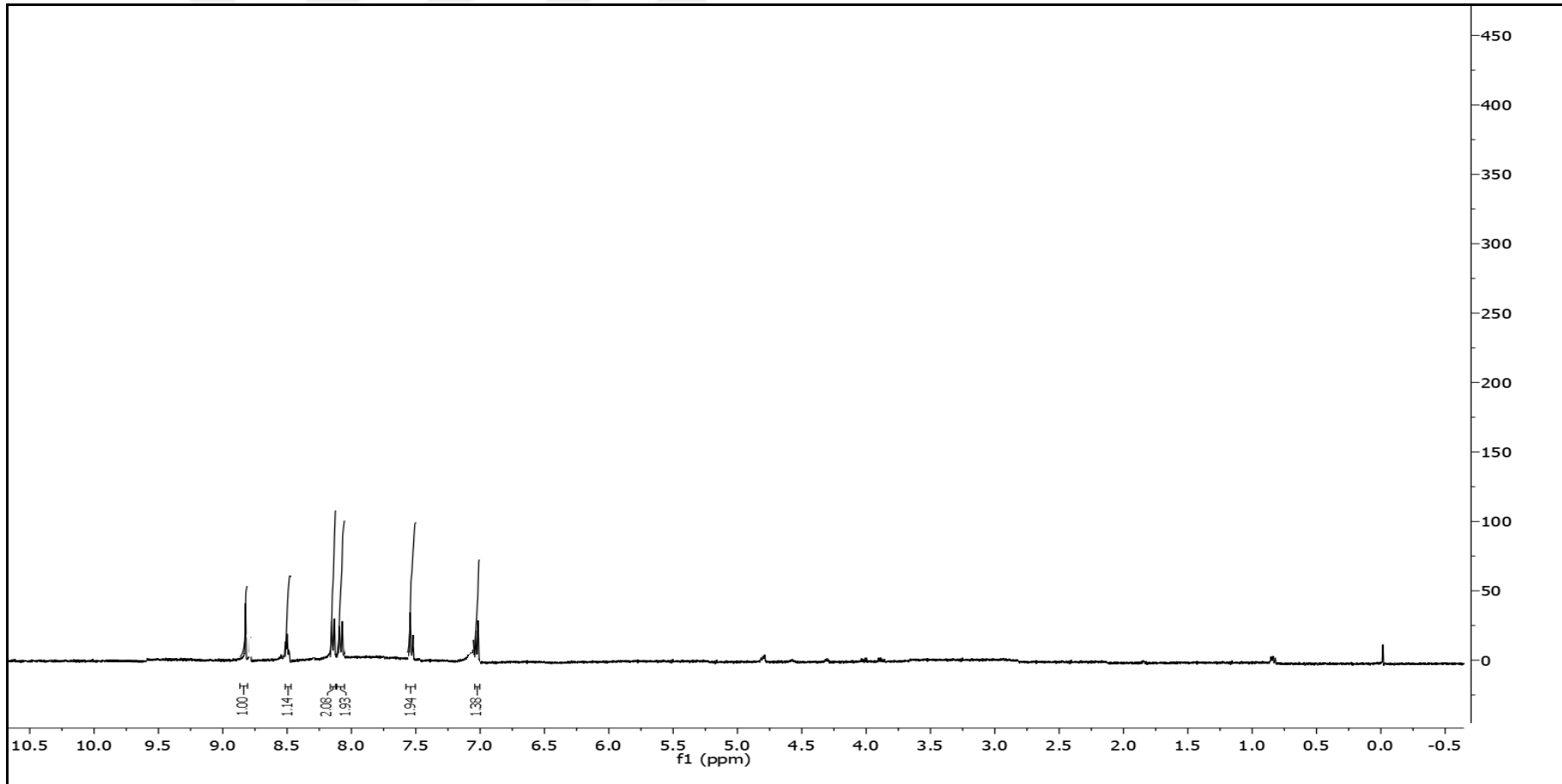


Spektrum No 30. İmin-8 kodlu bileşğin IR spektrumu

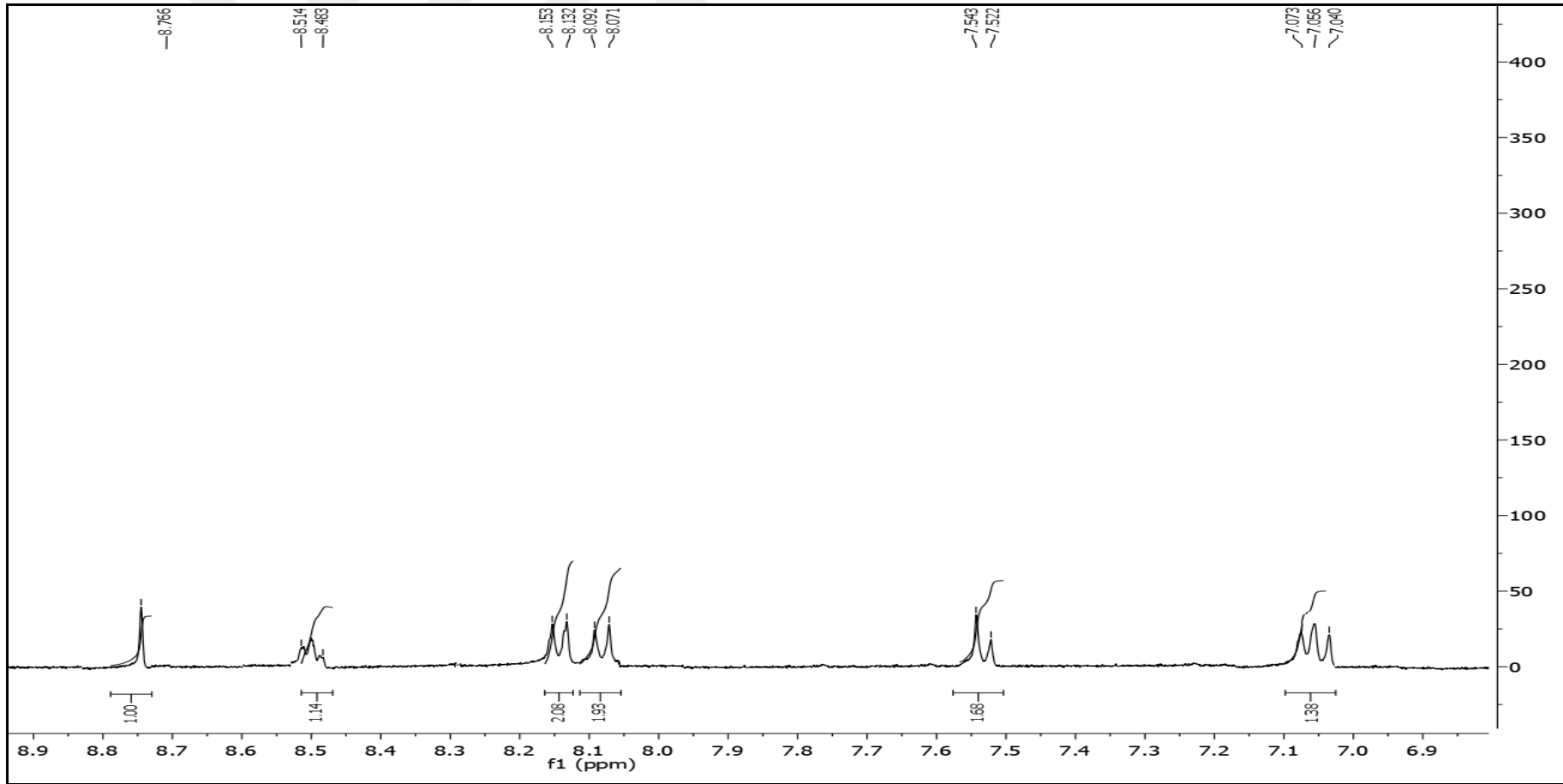


Spektrum No 31. İmin-8 kodlu bileşğin kütle spektrumu



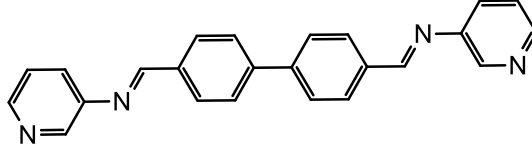


Spektrum No 32. İmin-8 kodlu bileşiğin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu



Spektrum No 33. İmin-8 kodlu bileşiğin genişletilmiş <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

### 1.2.9. İmin-9 kodlu bileşik



4-[(4'-(piridin-3-il-imino)metil)-[1,1'-bifenil]-4-il]metilenpiridin-3-amin

Verim: % 26, Erime Derecesi: 230 °C

**IR** (Spektrum No 34)

$\nu_{\text{maks}}$  (FT/ATR): 2973, 1621, 1605, 1419, 819, 700  $\text{cm}^{-1}$ .

**MS** (ESI+) (Spektrum No 35)

m/z: 363 [M+H]

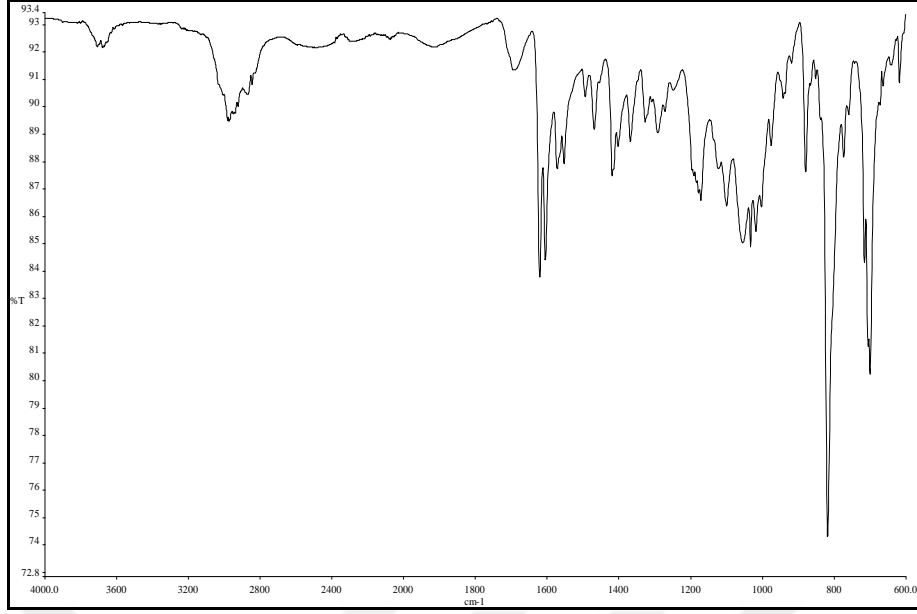
**<sup>1</sup>H NMR** (Spektrum No 36)

(400 MHz, DMSO)  $\delta$  7.46 (2H, q,  $J = 4.8$  Hz, H-5'''), 7.73 (2H, dd,  $J_1 = 2.4$  Hz  $J_2 = 8.8$  Hz, H-4'''), 7.95 (4H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-2, H-2', H-6, H-6'), 8.07 (4H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-3, H-3', H-5, H-5'), 8.46 (2H, d,  $J = 4.4$  Hz, H-6'''), 8.52-8.53 (2H, m, H-2'''), 8.76 (2H, s, H-1'') ppm.

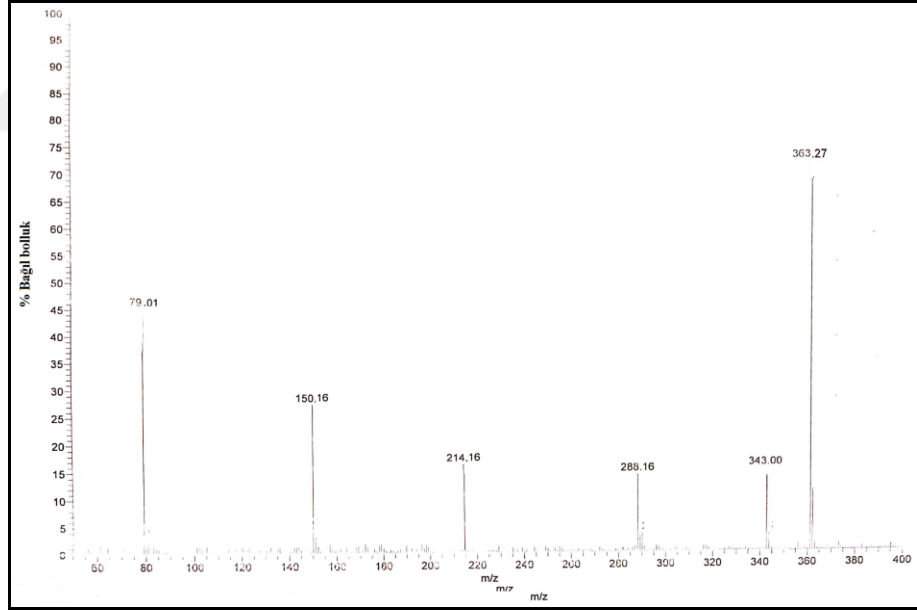
**Elementel Analiz:** C<sub>24</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>

Hesaplanan (%): C, 79.54; H, 5.01; N, 15.46.

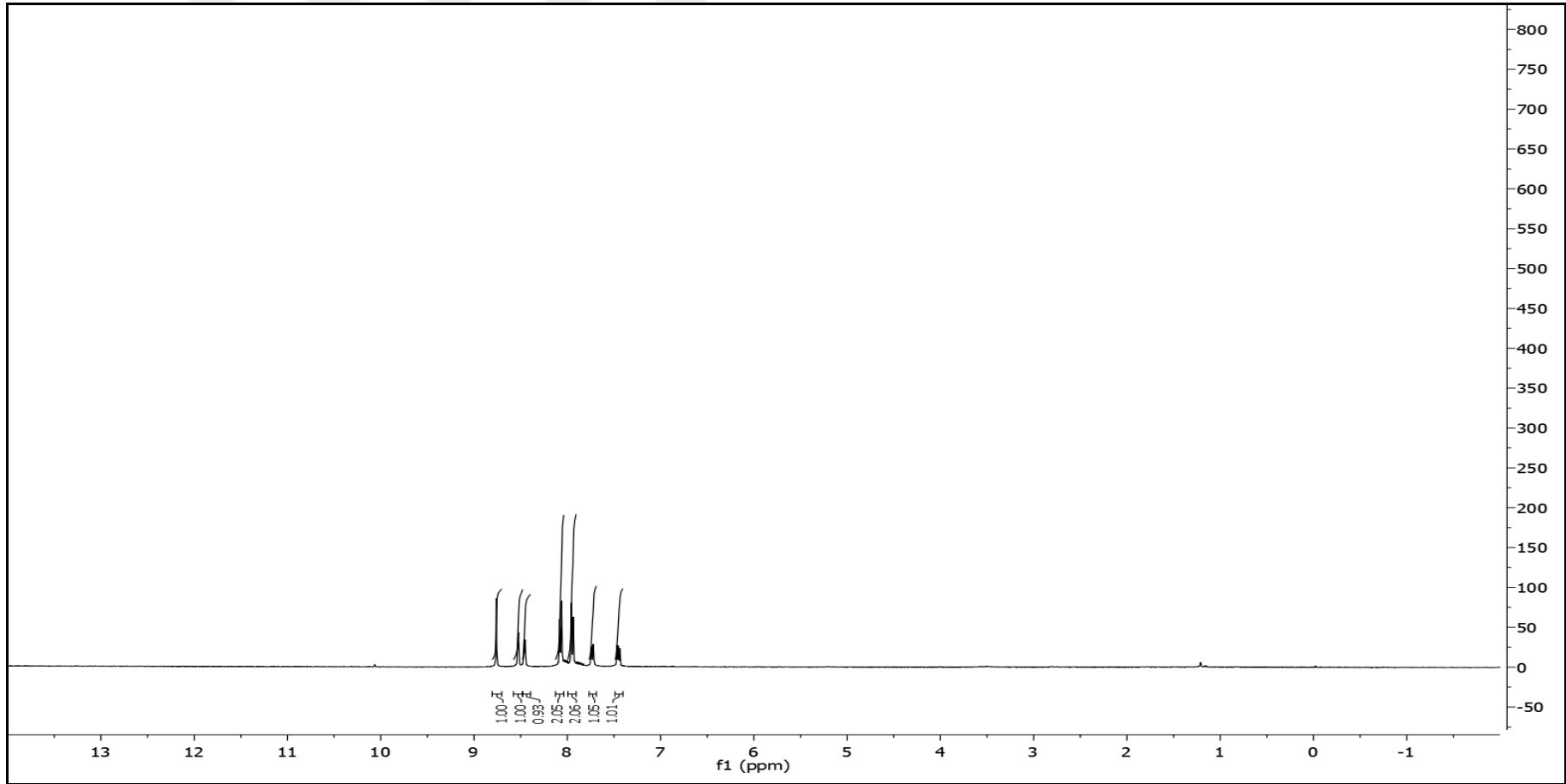
Bulunan (%): C, 79.67; H, 4.82; N, 15.26.



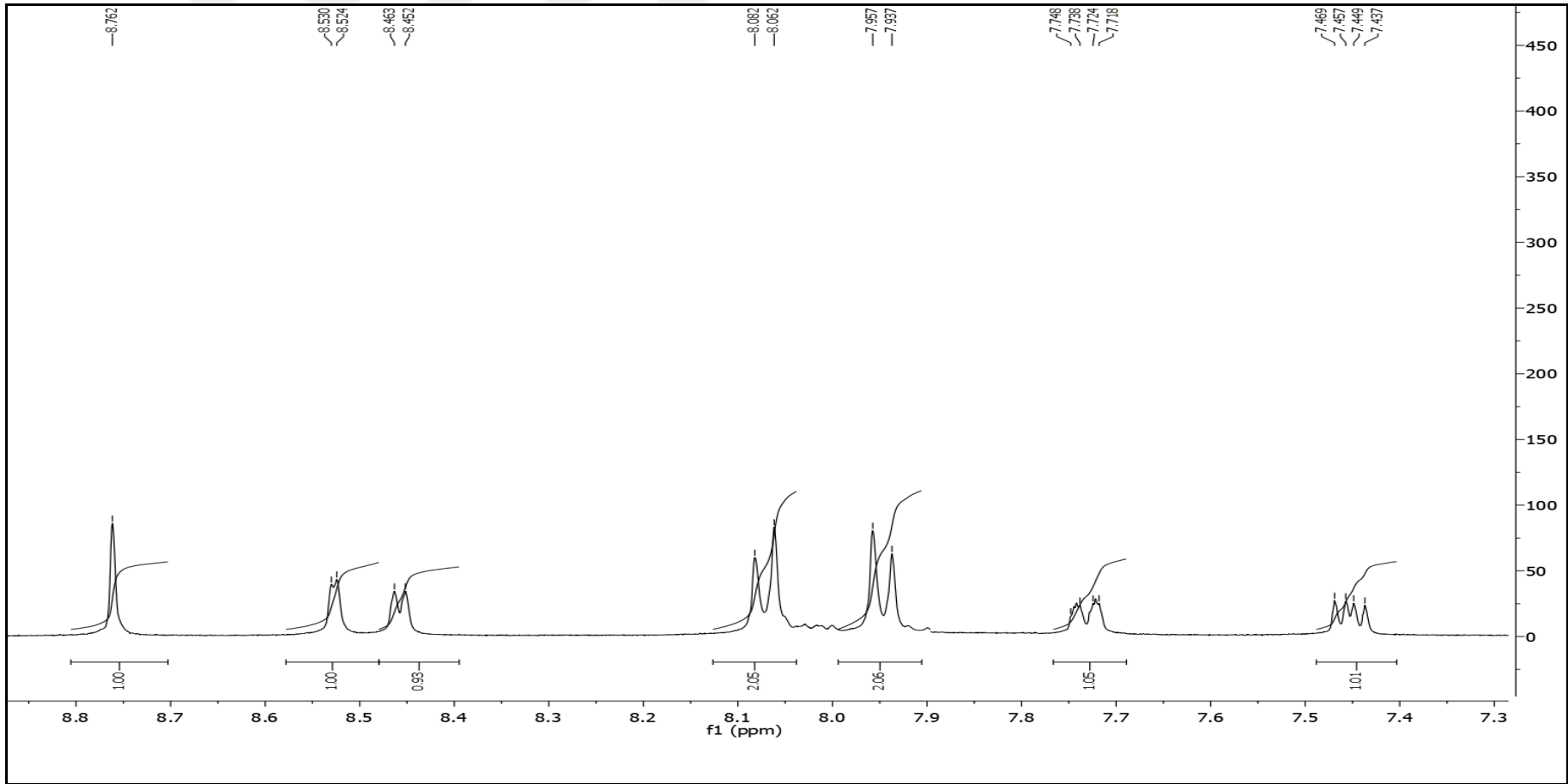
Spektrum No 34. İmin-9 kodlu bileşğin IR spektrumu



Spektrum No 35. İmin-9 kodlu bileşğin kütle spektrumu

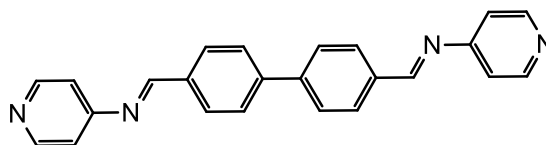


Spektrum No 36. İmin-9 kodlu bileşiğin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu



Spektrum No 37. İmin-9 kodlu bileşiğin genişletilmiş  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu

### 1.2.10. İmin-10 kodlu bileşik



4-[(4'-[(piridin-4-il-imino)metil]-[1,1'-bifenil]-4-il}metilen)piridin-4-amin

Verim: % 16, Erime Derecesi: 252 °C

**IR** (Spektrum No 38)

$\nu_{\text{maks}}$  (FT/ATR): 2981, 1647, 1597, 1506, 1216, 990, 821  $\text{cm}^{-1}$ .

**MS** (ESI+) (Spektrum No 39)

m/z: 363 [M+H]

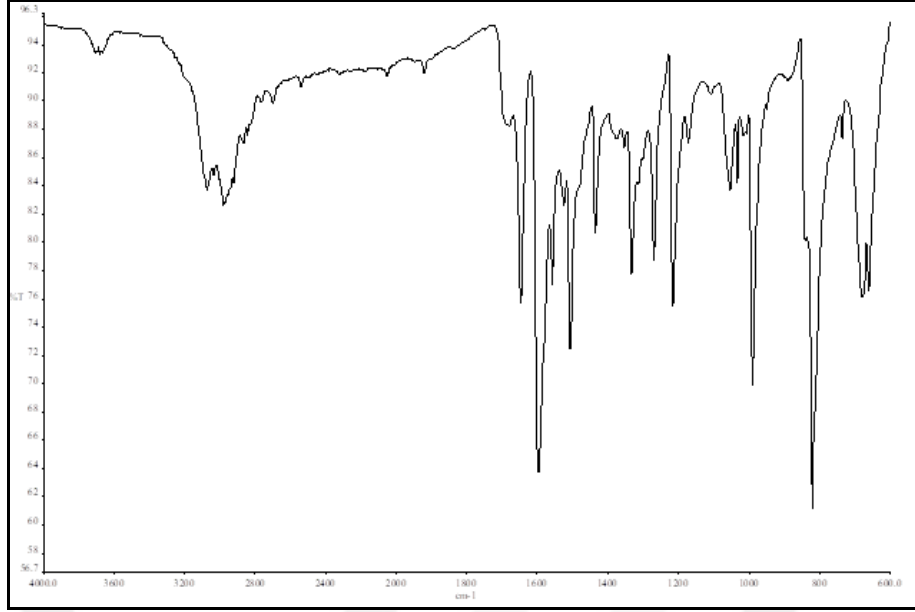
**$^1\text{H}$  NMR** (Spektrum No 40)

(400 MHz, DMSO)  $\delta$  7.44 (4H, d,  $J= 7.2$  Hz, H-3''', H-5'''), 7.95 (4H, d,  $J= 8.0$  Hz, H-2, H-2', H-6, H-6'), 8.07 (4H, d,  $J= 8.0$  Hz, H-3, H-3', H-5, H-5'), 8.45 (4H, d,  $J= 7.2$  Hz, H-2''', H-6'''), 8.76 (2H, s, H-1'') ppm.

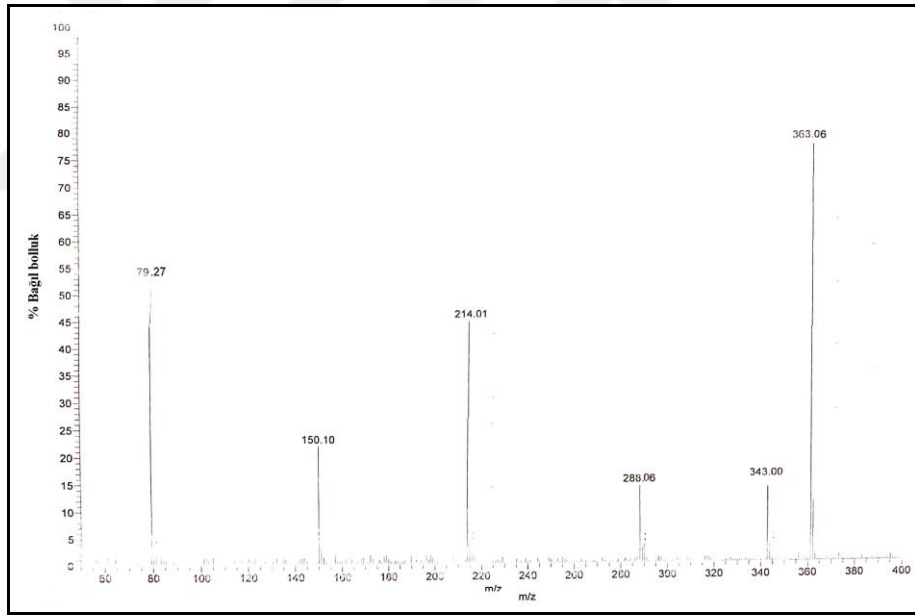
**Elementel Analiz:**  $\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{N}_4$

Hesaplanan (%): C, 79.54; H, 5.01; N, 15.46.

Bulunan (%): C, 79.82; H, 5.35; N, 15.75.

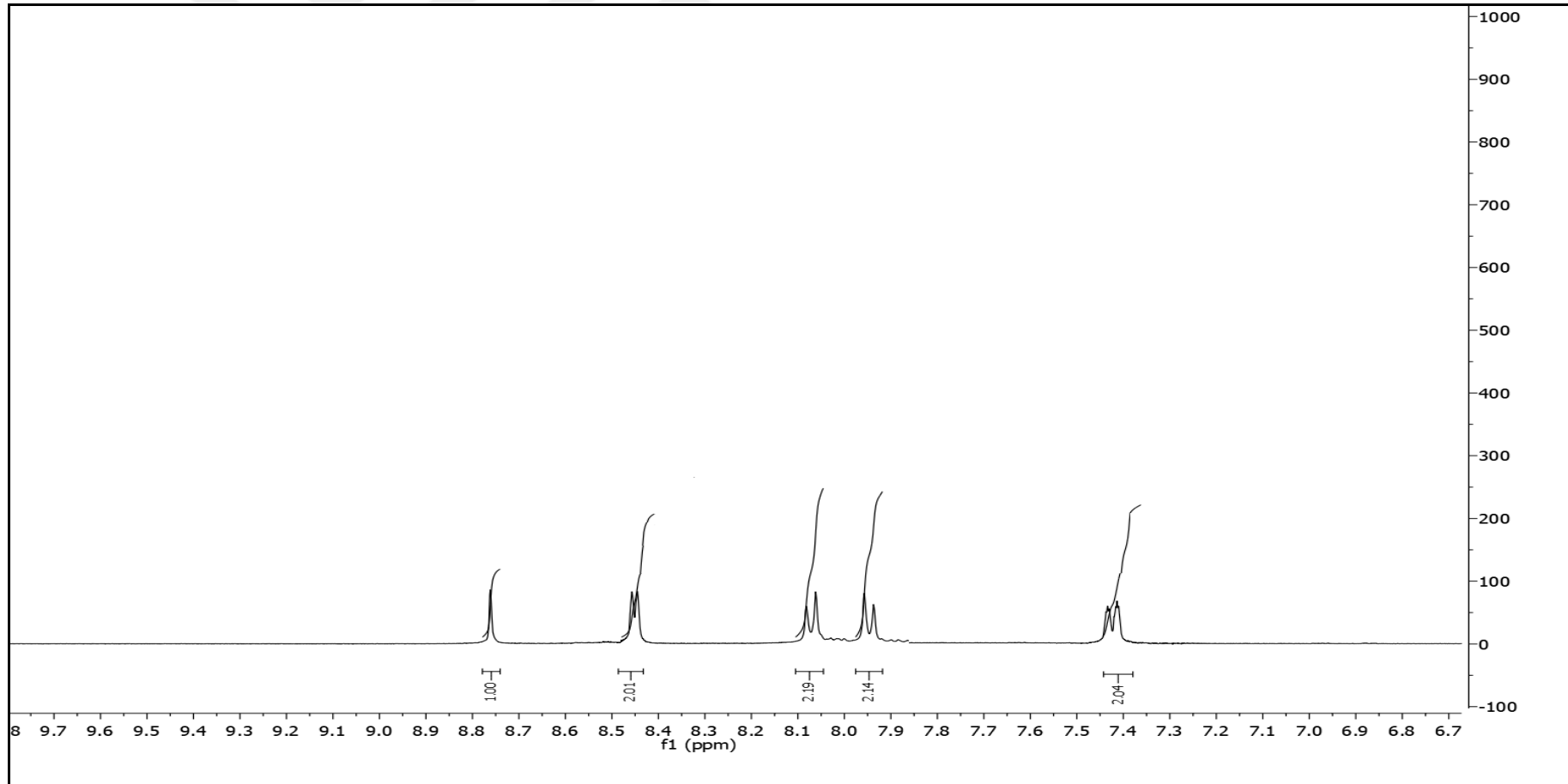


Spektrum No 38. İmin-10 kodlu bileşğin IR spektrumu

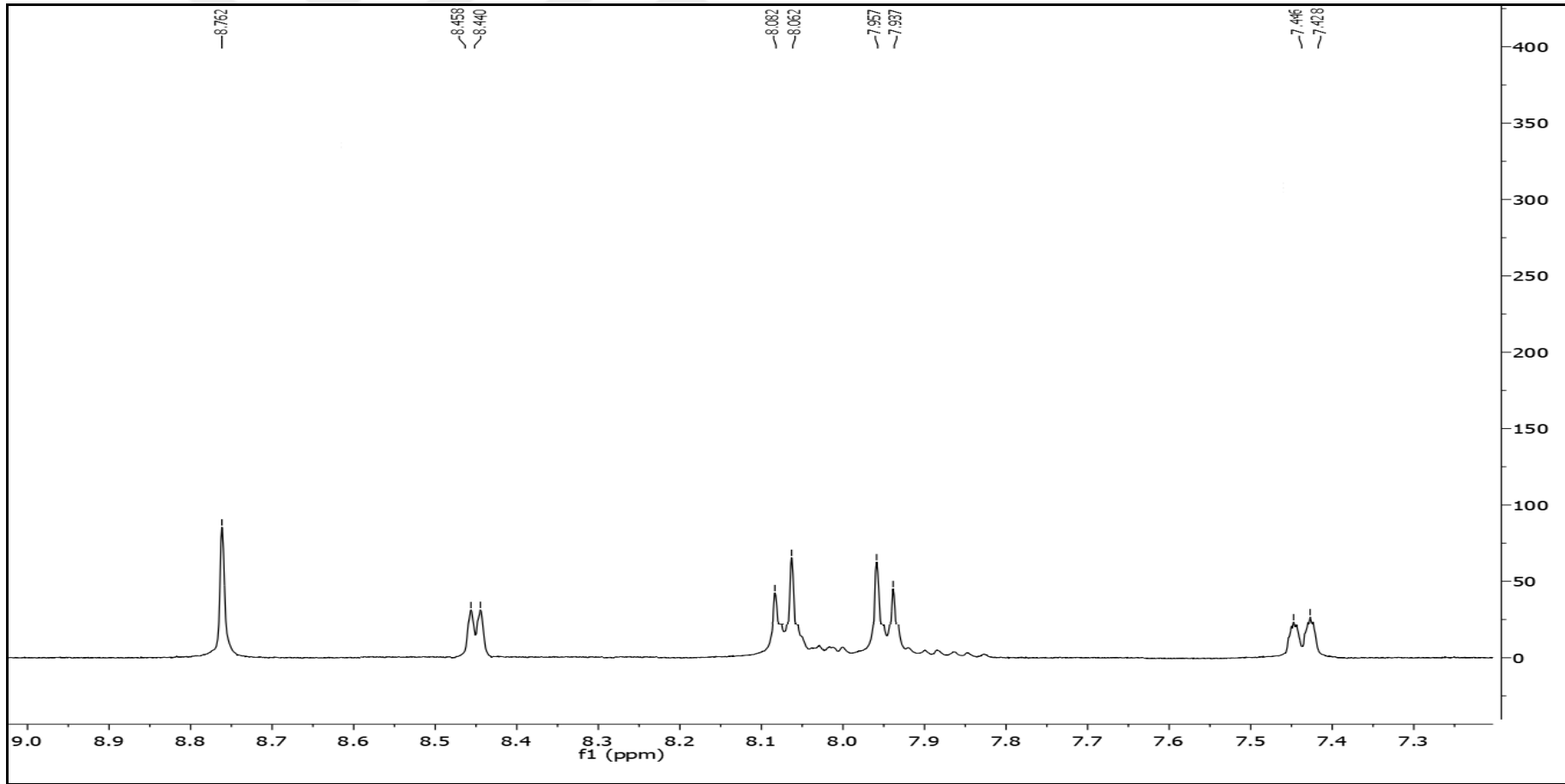


Spektrum No 39. İmin-10 kodlu bileşğin kütle spektrumu



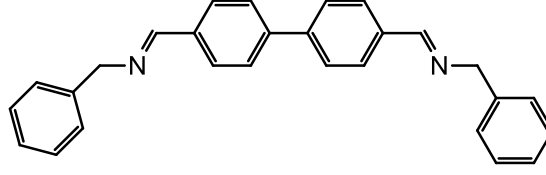


Spektrum No 40. İmin-10 kodlu bileşiğin  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu



Spektrum No 40. İmin-10 kodlu bileşimin genişletilmiş  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu

### 1.2.11. İmin-11 kodlu bileşik



4-[(4'-[(fenilmetilimino)metil]-[1,1'-bifenil]-4-il)metilen)amino)metil]benzen

Verim: % 56, Erime Derecesi: 189 °C

**IR** (Spektrum No 42)

$\nu_{\text{maks}}$  (FT/ATR): 2873, 1638, 1605, 1045, 823, 729  $\text{cm}^{-1}$ .

**MS** (ESI+) (Spektrum No 43)

$m/z$ : 389 [M+H]

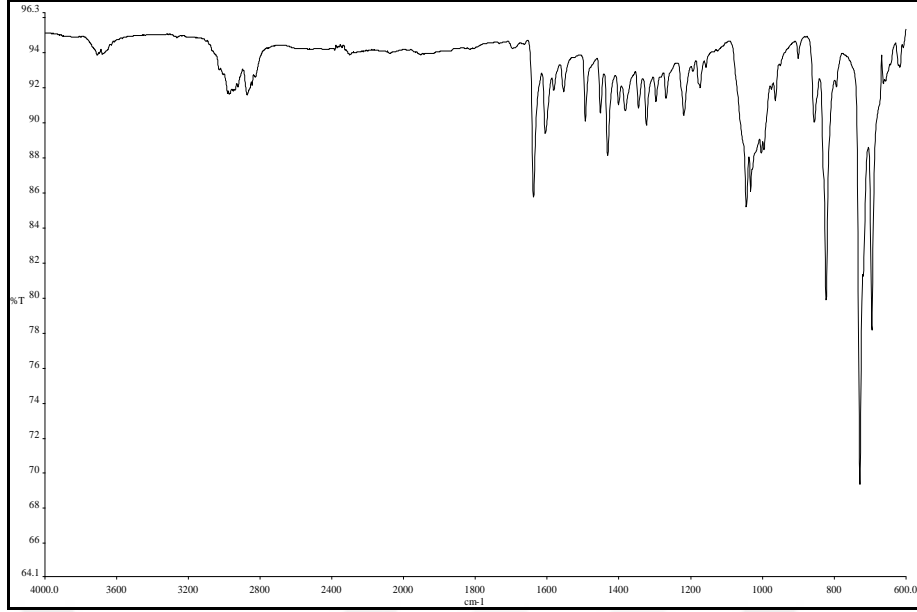
**$^1\text{H}$  NMR** (Spektrum No 44)

(400 MHz, DMSO)  $\delta$  4.78 (4H, s, H-2'''), 7.22-7.28 (2H, m, H-4'''), 7.32-7.36 (8H, m, H-2''', H-3''', H-5''', H-6'''), 7.80 (4H, d,  $J= 8.4$  Hz, H-2, H-2', H-6, H-6'), 7.87 (4H, d,  $J= 8.4$  Hz, H-3, H-3', H-5, H-5'), 8.54 (2H, s, H-1'') ppm.

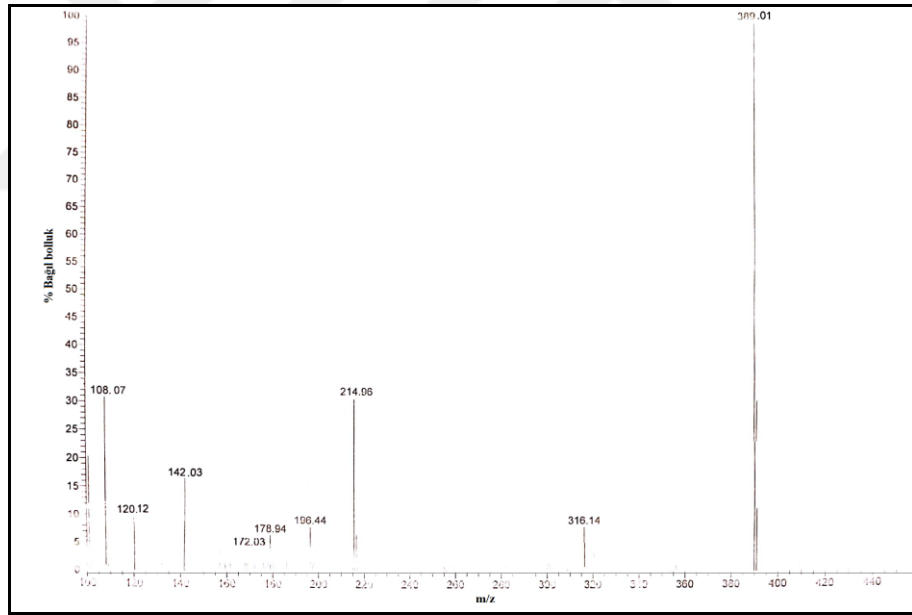
**Elementel Analiz:**  $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{N}_2$

Hesaplanan (%): C, 86.56; H, 6.23; N, 7.21.

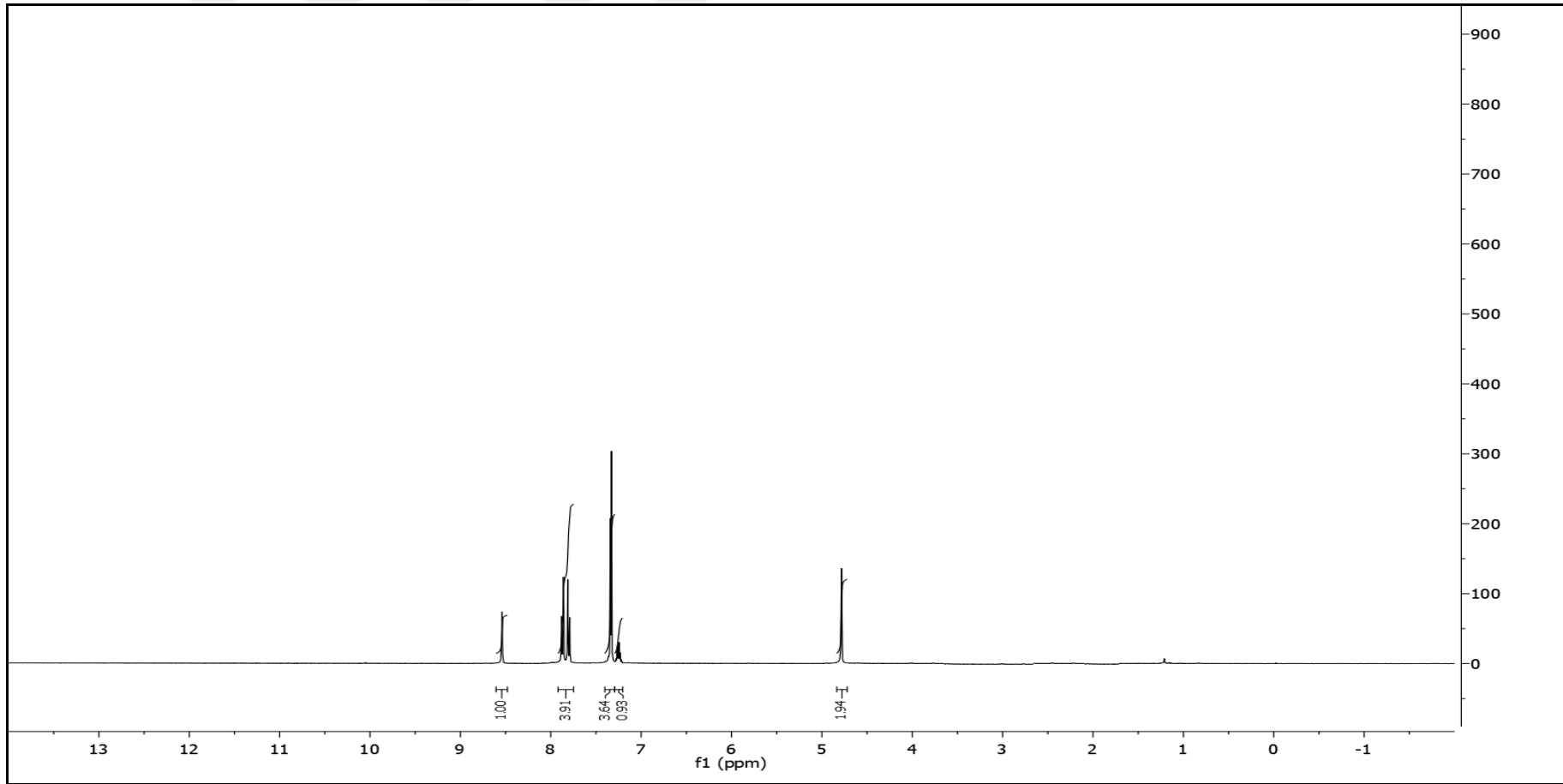
Bulunan (%): C, 86.28; H, 6.45; N, 7.30.



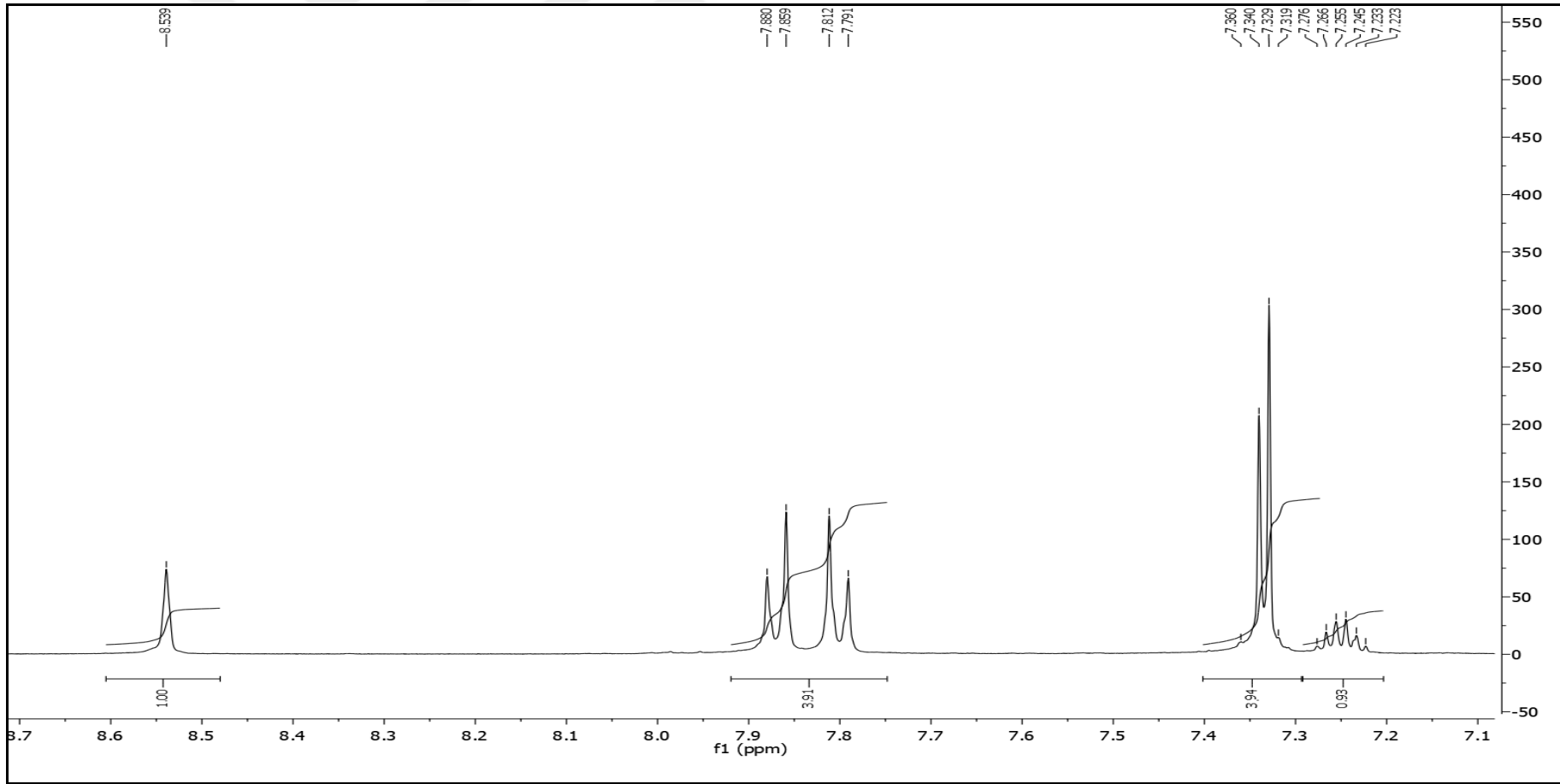
Spektrum No 42. İmin-11 kodlu bileşimin IR spektrumu



Spektrum No 43. İmin-11 kodlu bileşimin kütle spektrumu

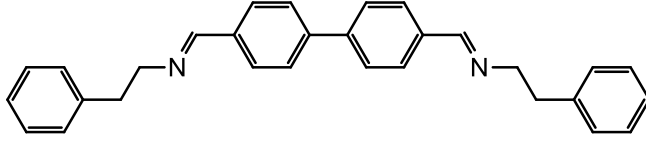


Spektrum No 44. İmin-11 kodlu bileşiğin  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu



Spektrum No 45. İmin-11 kodlu bileşiğin genişletilmiş  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu

### 1.2.12. İmin-12 kodlu bileşik



4-[(4'-[feniletlimino)metil]-[1,1'-bifenil]-4-il]metilen)amino)etil]benzen

Verim: % 22, Erime Derecesi: 186 °C

**IR** (Spektrum No 46)

$\nu_{\text{maks}}$  (FT/ATR): 2936, 2837, 1643, 1033, 820, 746, 700  $\text{cm}^{-1}$ .

**MS** (ESI+) (Spektrum No 47)

m/z: 417 [M+H]

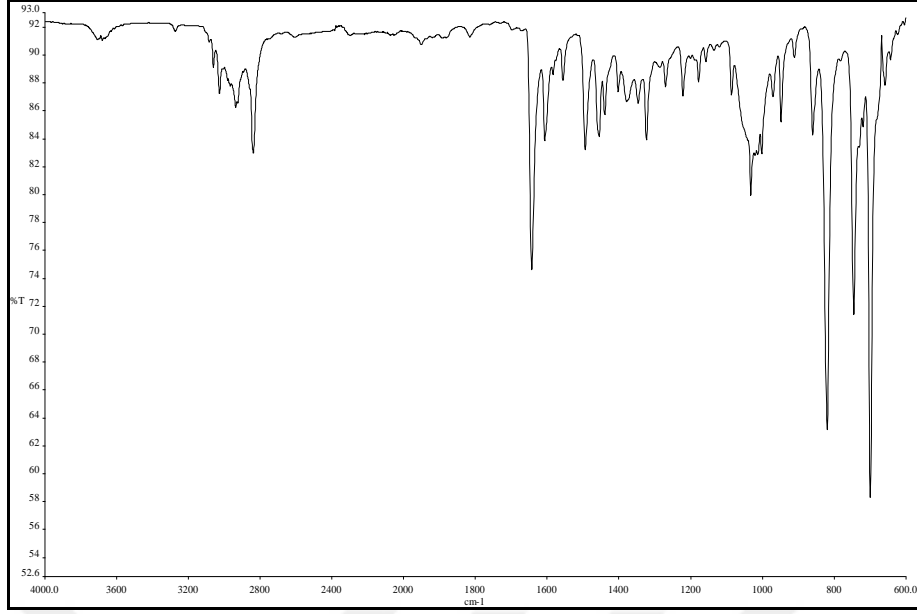
**<sup>1</sup>H NMR** (Spektrum No 48)

(400 MHz, DMSO)  $\delta$  2.93 (4H, t,  $J= 7.2$  Hz, H-2'''), 3.82 (4H, t,  $J= 7.4$  Hz, H-1'''), 7.15-7.19 (2H, m, H-4''), 7.24-7.29 (8H, m, H-2''', H-3''', H-5''', H-6'''), 7.54-7.80 (8H, m, H-2, H-2', H-3, H-3', H-5, H-5', H-6, H-6'), 8.29 (2H, s, H-1'') ppm.

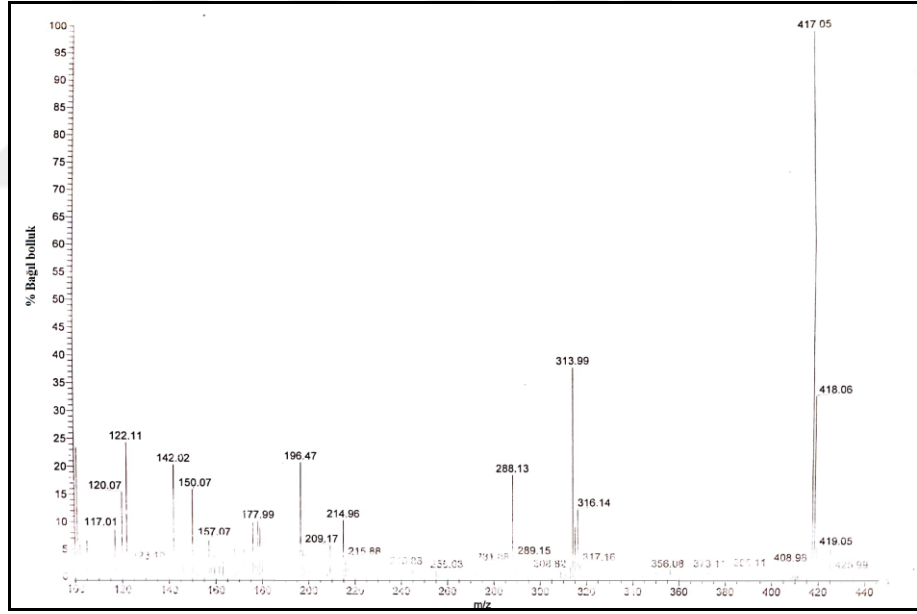
**Elementel Analiz:** C<sub>30</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>

Hesaplanan (%): C, 86.50; H, 6.78; N, 6.72.

Bulunan (%): C, 86.47; H, 6.48; N, 6.52.

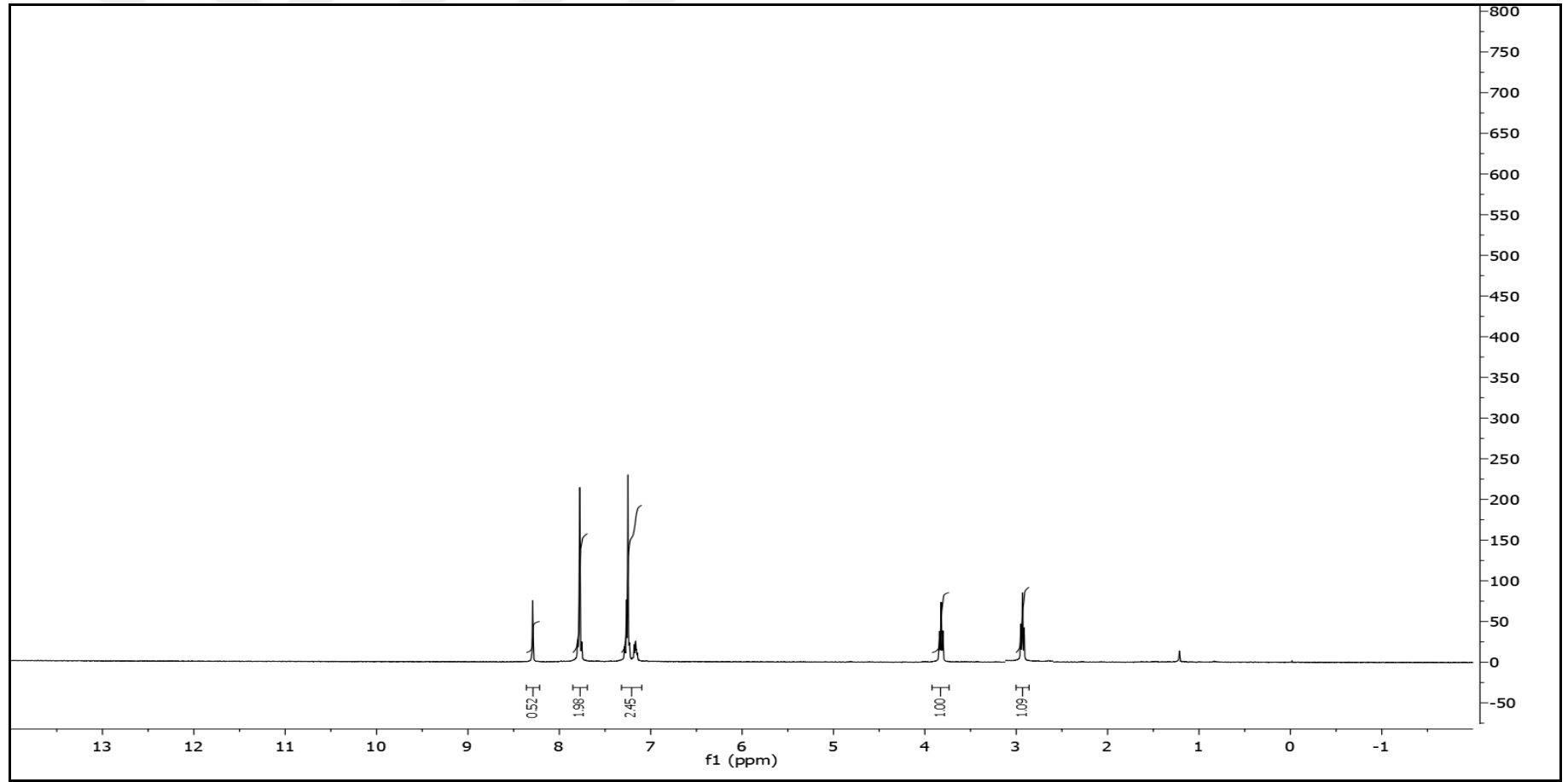


Spektrum No 46. İmin-12 kodlu bileşğin IR spektrumu

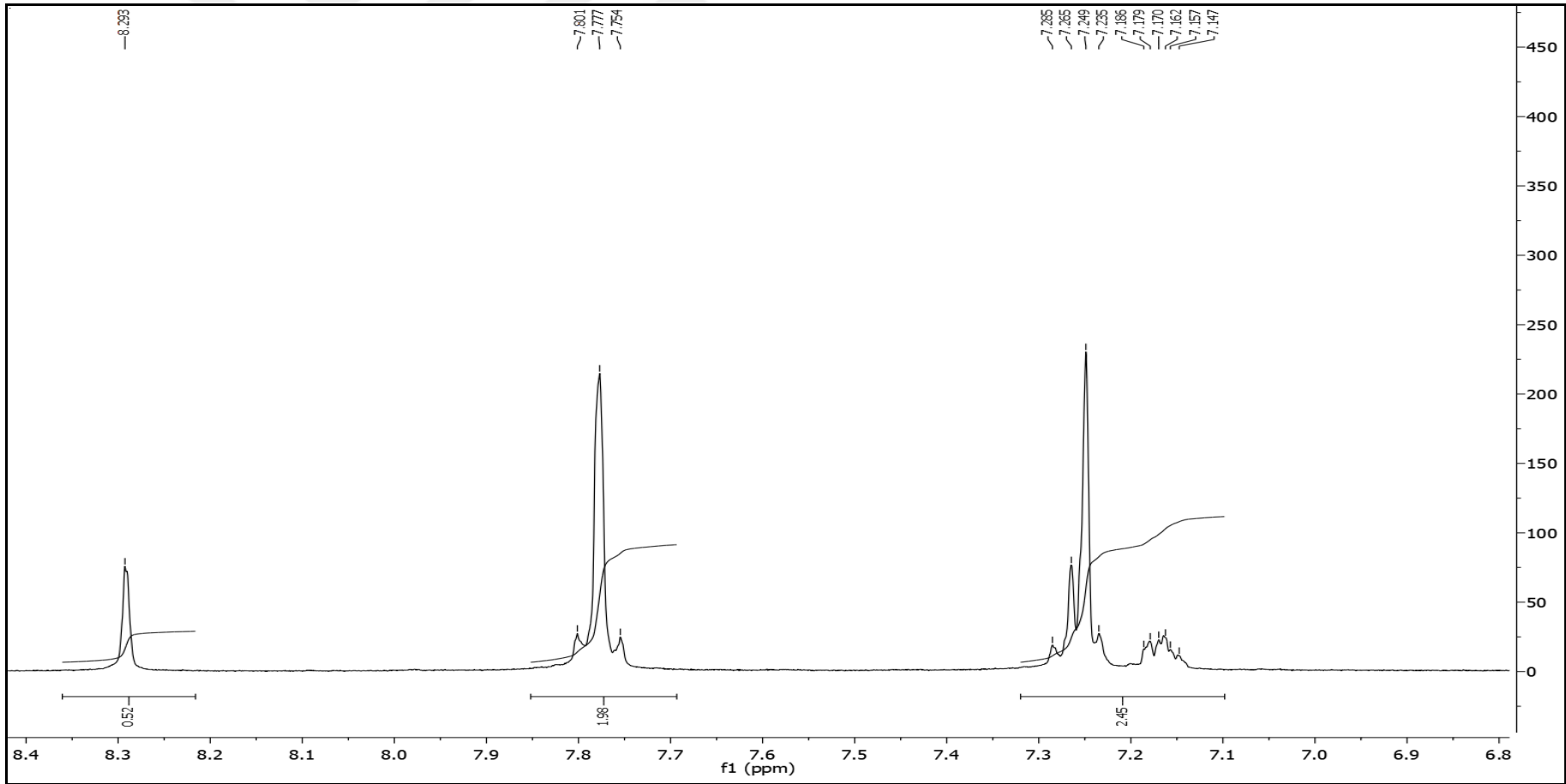


Spektrum No 47. İmin-12 kodlu bileşğin kütle spektrumu



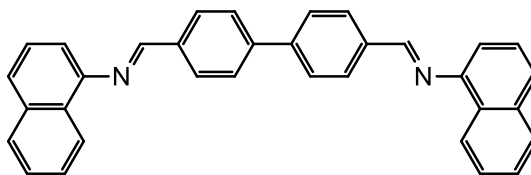


Spektrum No 48. İmin-12 kodlu bileşiğin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu



Spektrum No 49. İmin-12 kodlu bileşiğin genişletilmiş <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

### 1.2.13. İmin-13 kodlu bileşik



4-({4'-[(naftil-1-il-imino)metil]-[1,1'-bifenil]-4-il}metilen)naftil-1-amin

Verim: % 63, Erime Derecesi: > 300 °C

**IR** (Spektrum No 50)

$\nu_{\text{maks}}$  (FT/ATR): 2938, 1618, 1603, 1394, 822, 771  $\text{cm}^{-1}$ .

**MS** (ESI+) (Spektrum No 51)

m/z: 461 [M+H]

**<sup>1</sup>H NMR** (Spektrum No 52)

(400 MHz, DMSO)  $\delta$  7.27 (2H, d,  $J=6.8$  Hz, H-2'''), 7.52-7.57 (6H, m, H-3''', H-6''', H-7'''), 7.81 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-5'''), 7.93-7.96 (2H, m, H-4'''), 8.02 (4H, d,  $J=8.0$  Hz, H-2, H-2', H-6, H-6'), 8.18 (4H, d,  $J=8.0$  Hz, H-3, H-3', H-5, H-5'), 8.29-8.34 (2H, m, H-8'''), 8.79 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-1'') ppm.

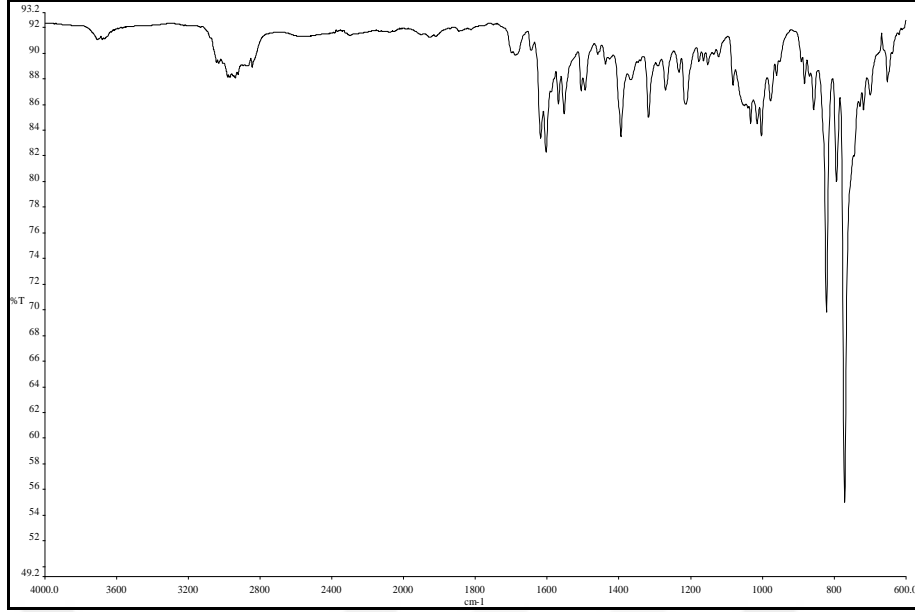
**<sup>13</sup>C NMR** (Spektrum No 54)

(100 MHz, DMSO)  $\delta$  113.5, 123.9, 126.3 (x2), 126.8, 126.9, 127.8 (x2), 127.9, 128.1, 128.9, 130.0, 130.1 (x2), 134.0 (x2), 134.1, 136.3, 142.5, 148.8, 160.9 ppm.

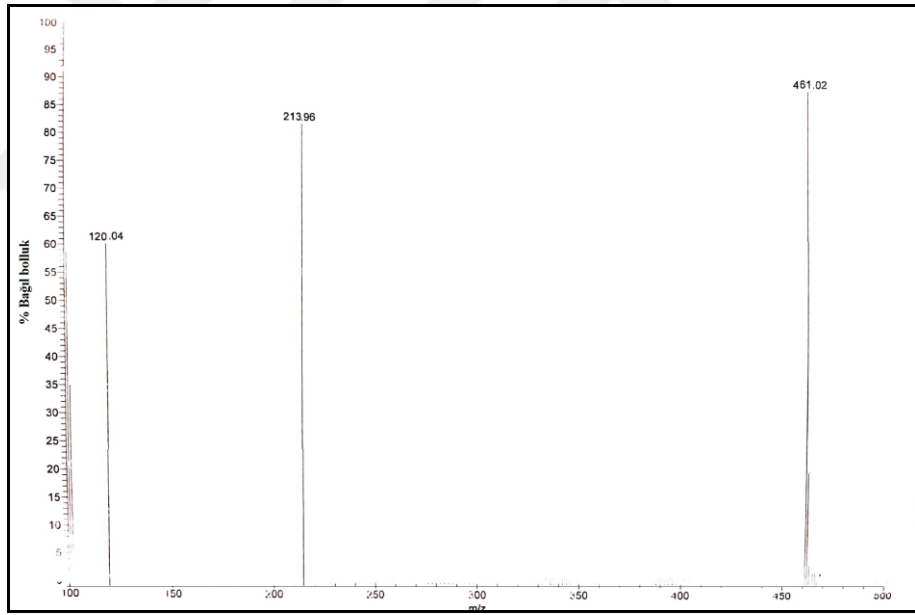
**Elementel Analiz:** C<sub>34</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>

Hesaplanan (%): C, 88.67; H, 5.25; N, 6.08.

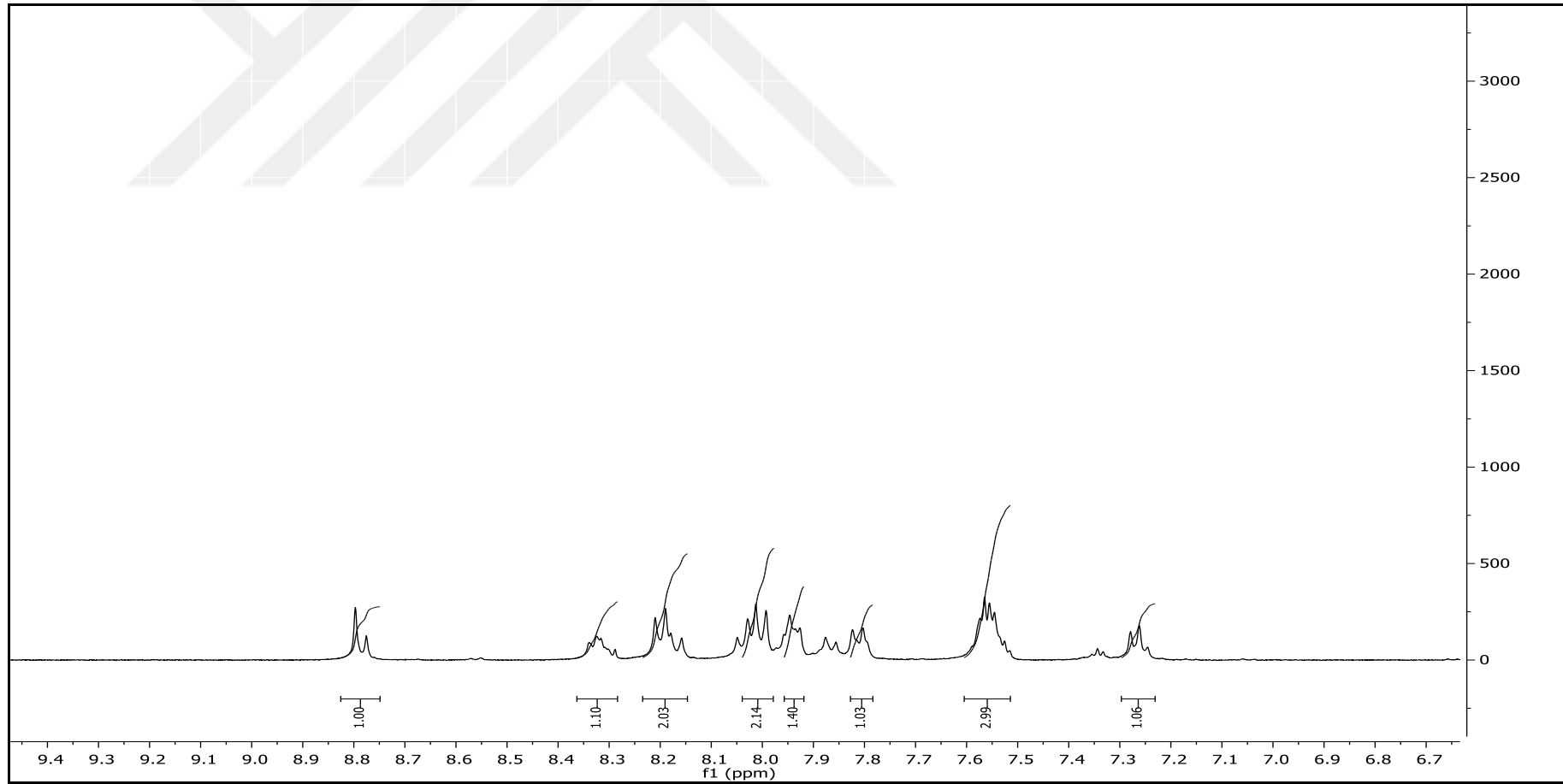
Bulunan (%): C, 88.47; H, 5.40; N, 6.26.



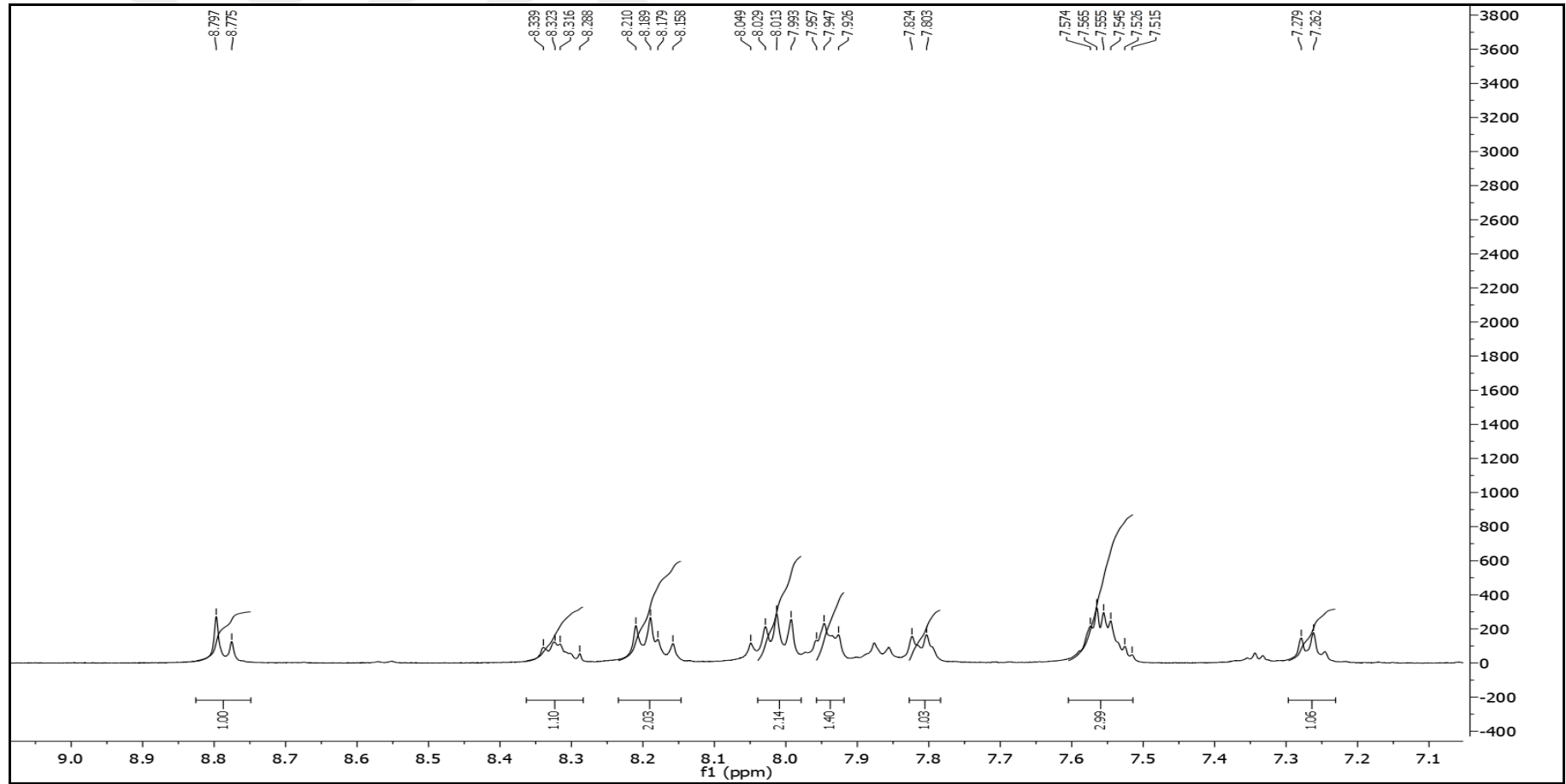
Spektrum No 50. İmin-13 kodlu bileşiğin IR spektrumu



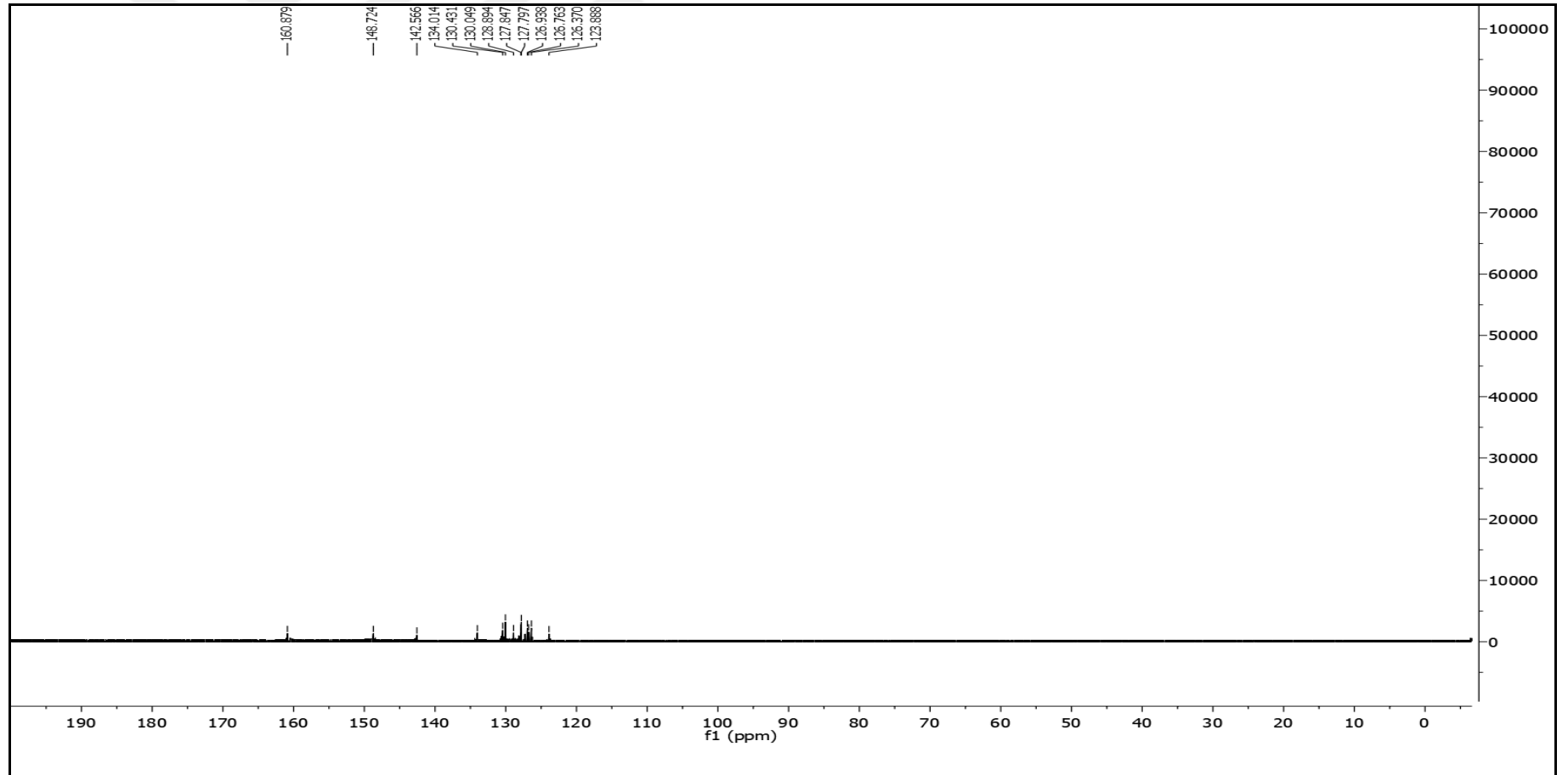
Spektrum No 51. İmin-13 kodlu bileşiğin kütle spektrumu



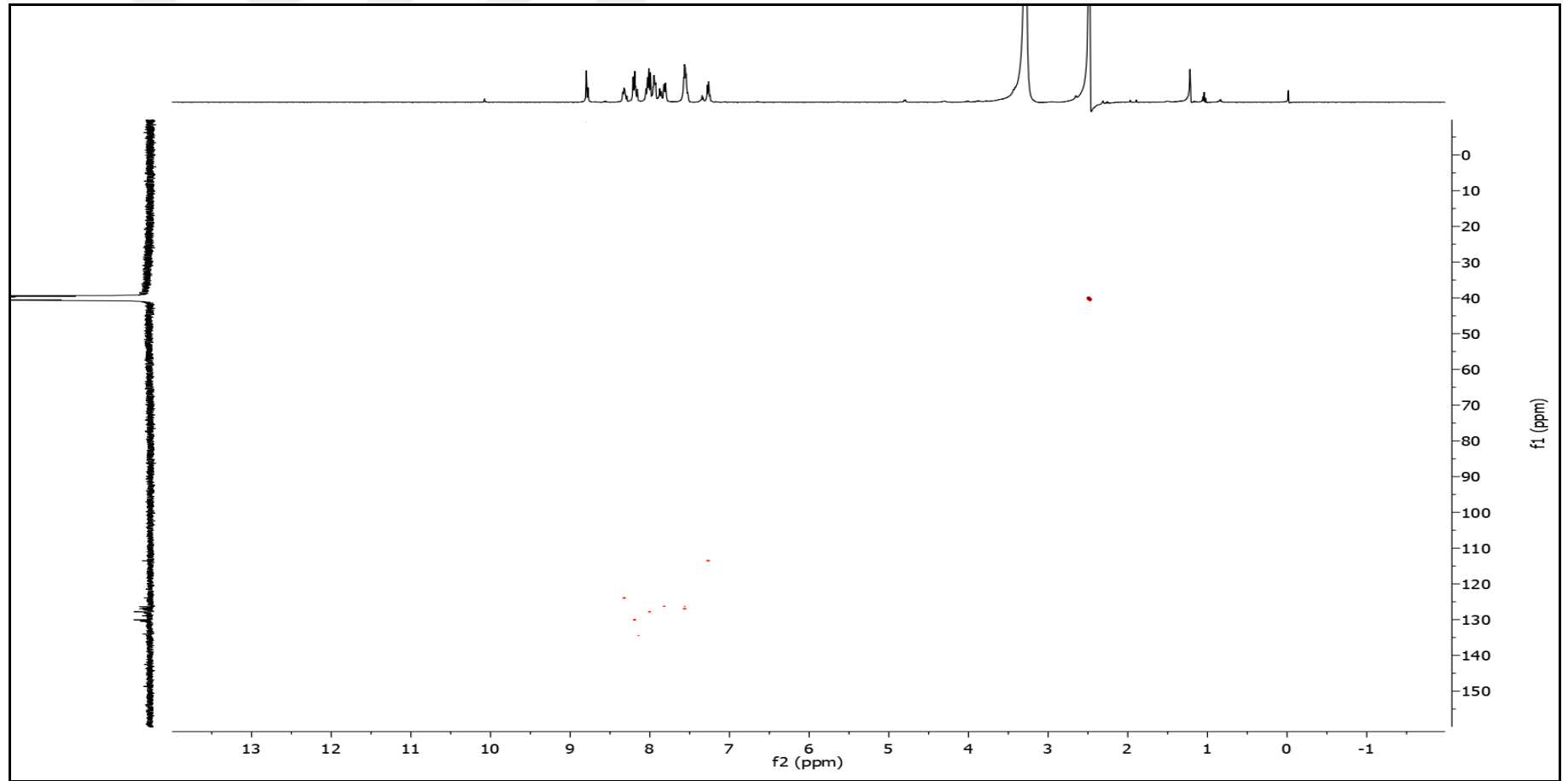
Spektrum No 52. İmin-13 kodlu bileşiğin  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu



Spektrum No 53. İmin-13 kodlu bileşiğin genişletilmiş  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu

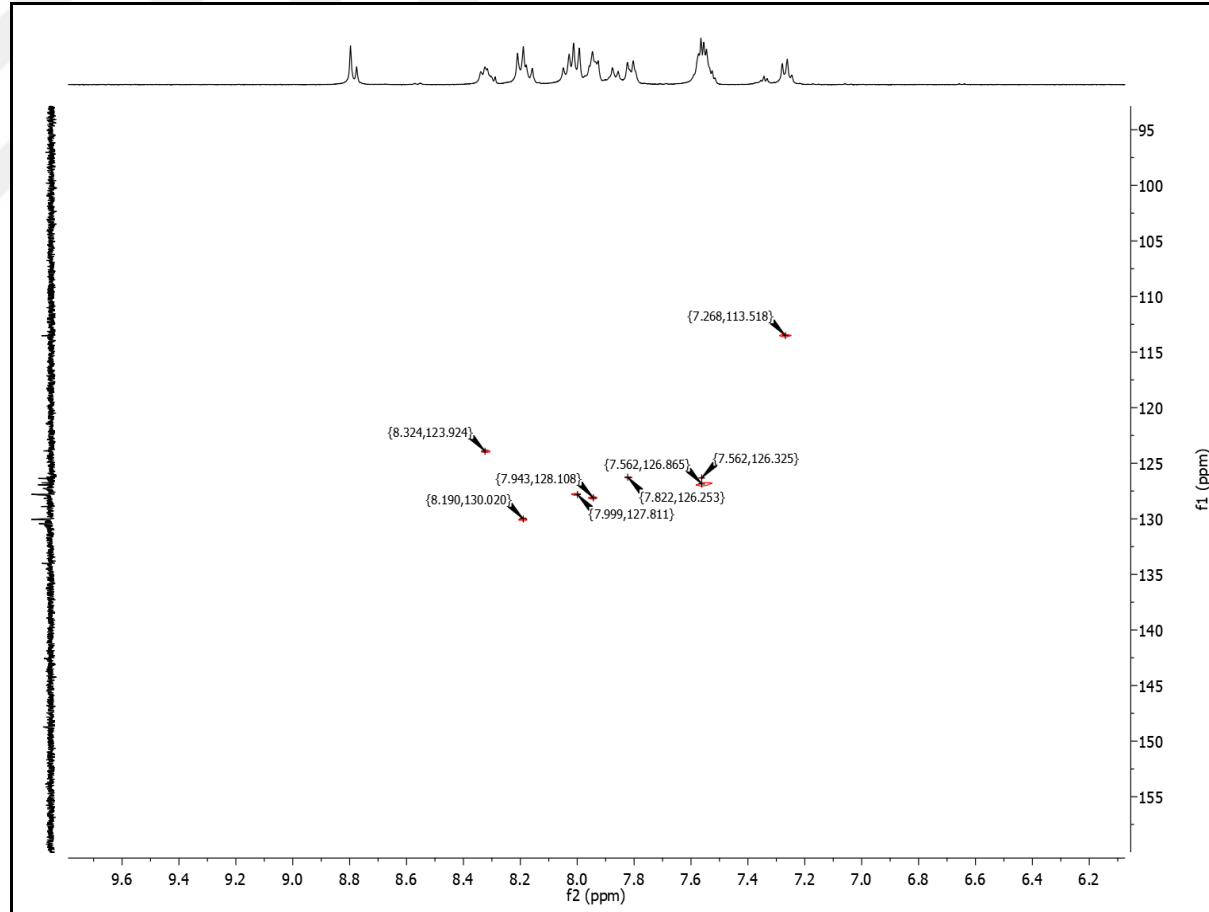


Spektrum No 54. İmin-13 kodlu bileşiğin  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu

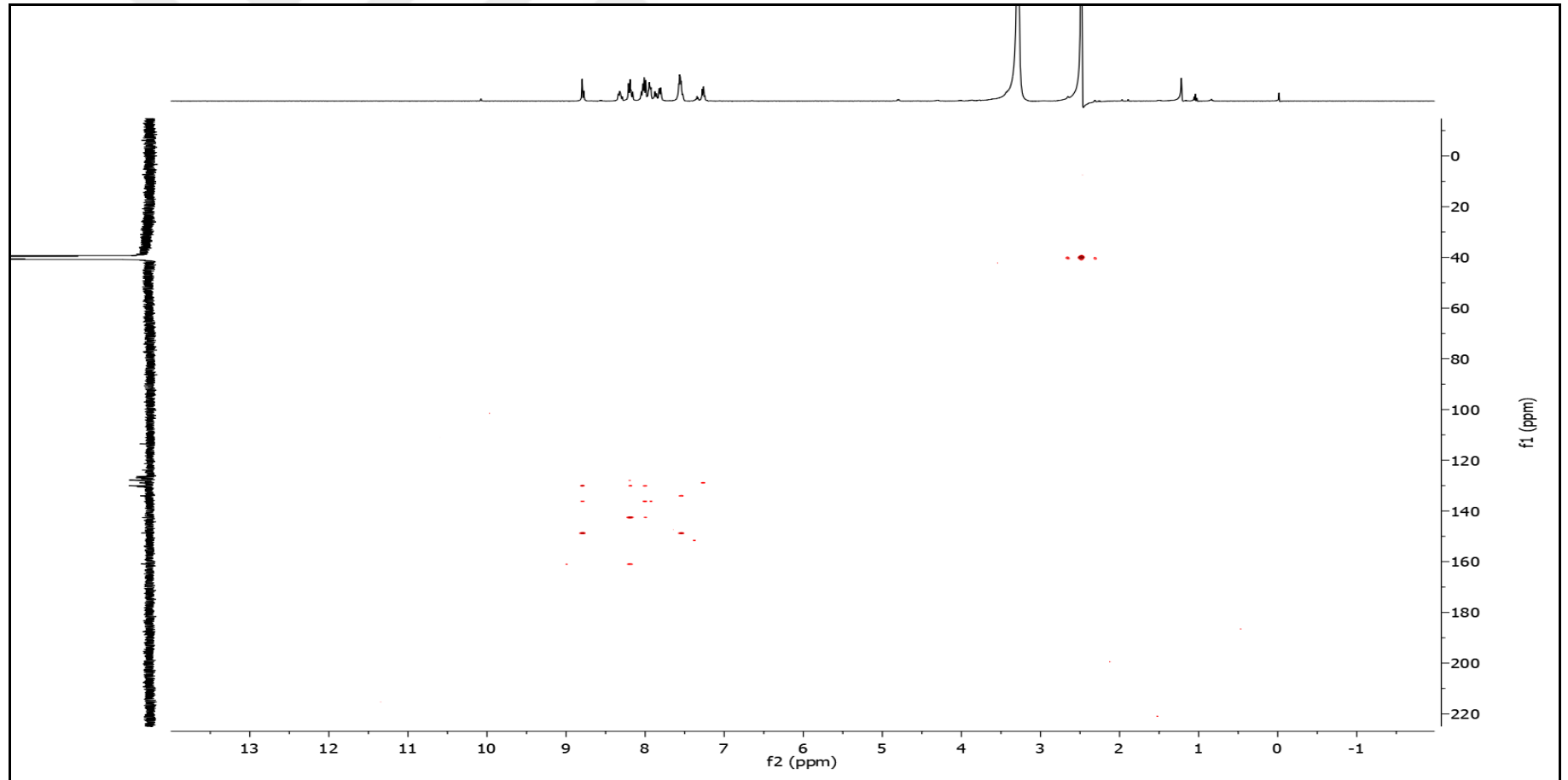


Spektrum No 55. İmin-13 kodlu bileşiğin HSQC spektrumu

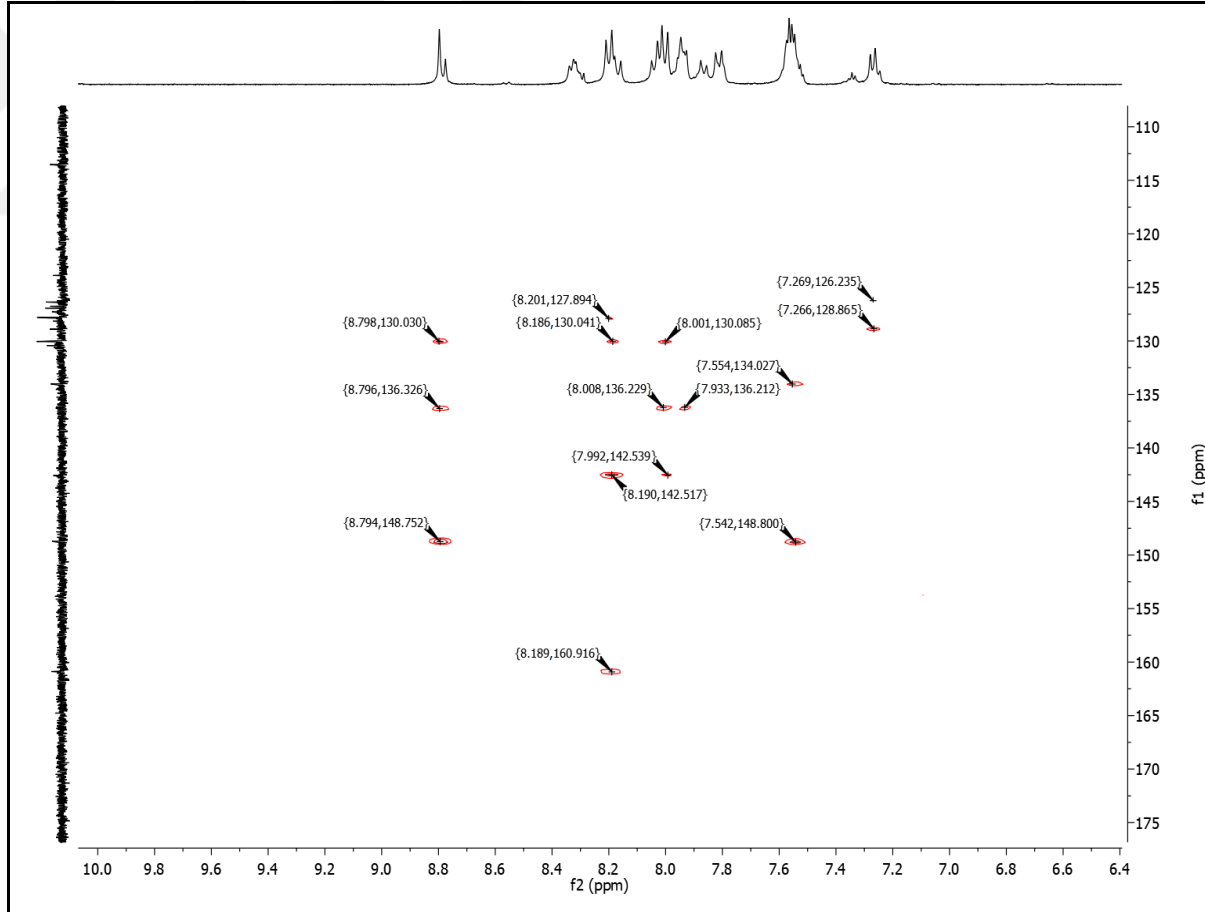




Spektrum No 56. İmin-13 kodlu bileşğin genişletilmiş HSQC spektrumu

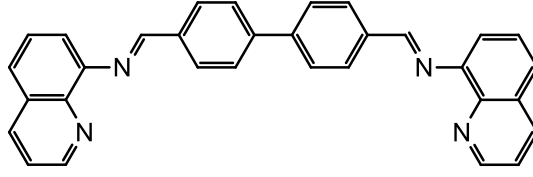


Spektrum No 57. İmin-13 kodlu bileşiğin HMBC spektrumu



Spektrum No 58. İmin-13 kodlu bileşimin genişletilmiş HMBC spektrumu

### 1.2.14. İmin-14 kodlu bileşik



4-[(4'-[kinolin-8-il-imino)metil]-[1,1'-bifenil]-4-il]metilen)kinolin-8-amin

Verim: % 15, Erime Derecesi: 262 °C

**IR** (Spektrum No 59)

$\nu_{\text{maks}}$  (FT/ATR): 2935, 1621, 1495, 816  $\text{cm}^{-1}$ .

**MS** (ESI+) (Spektrum No 60)

m/z: 463 [M+H]

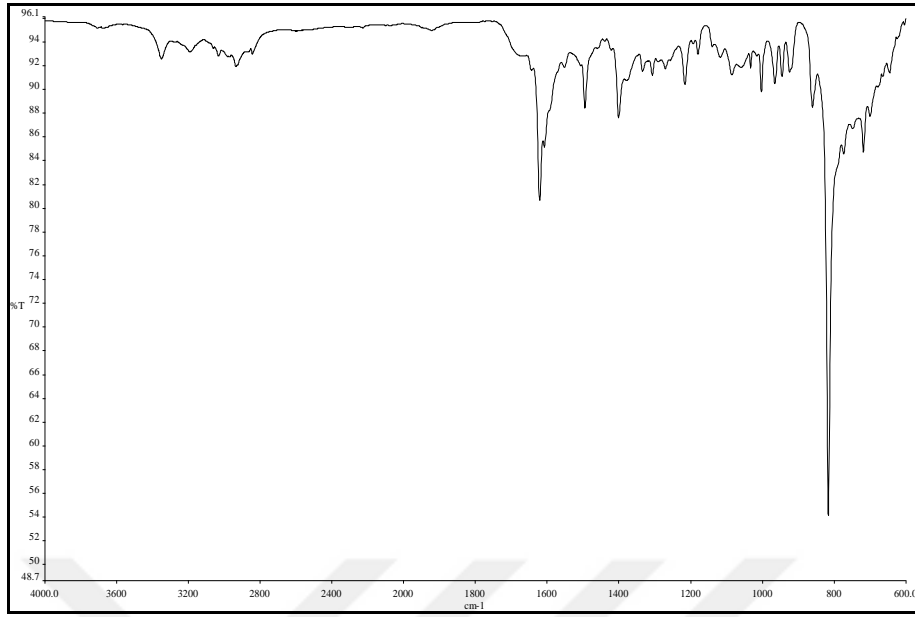
**<sup>1</sup>H NMR** (Spektrum No 61)

(400 MHz, DMSO)  $\delta$  7.42-7.54 (6H, m, H-3''', H-6''', H-7'''), 7.96 (4H, d,  $J= 8.0$  Hz, H-2, H-2', H-6, H-6'), 8.01 (4H, d,  $J= 6.8$  Hz, H-3, H-3', H-5, H-5'), 8.14-8.16 (2H, m, H-4''' veya H-5'''), 8.21-8.24 (2H, m, H-4''' veya H-5'''), 8.69 (2H, bs, H-1''), 8.72 (2H, bs, H-2''') ppm.

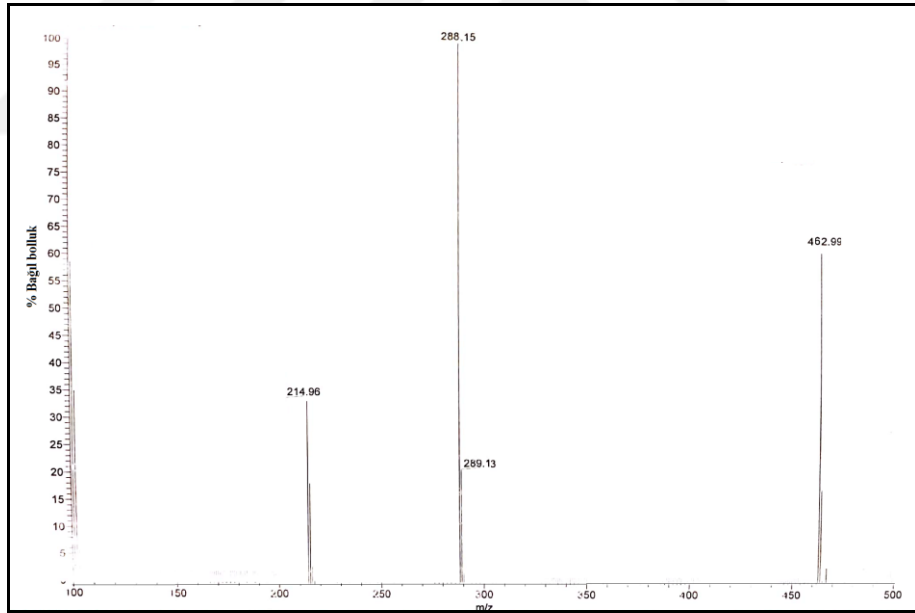
**Elementel Analiz:** C<sub>32</sub>H<sub>22</sub>N<sub>4</sub>

Hesaplanan (%): C, 83.09; H, 4.79; N, 12.11.

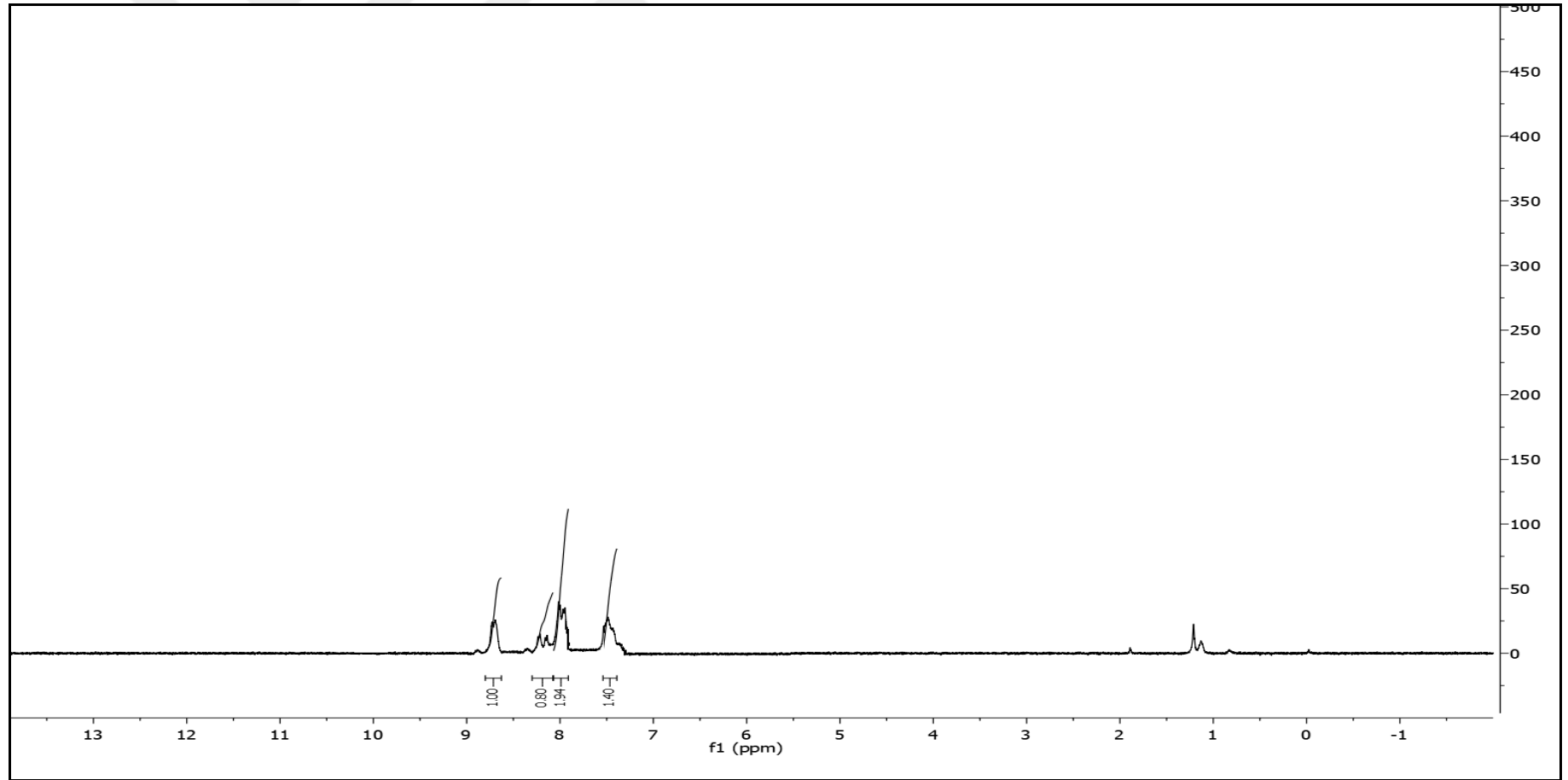
Bulunan (%): C, 83.46; H, 4.52; N, 12.26.



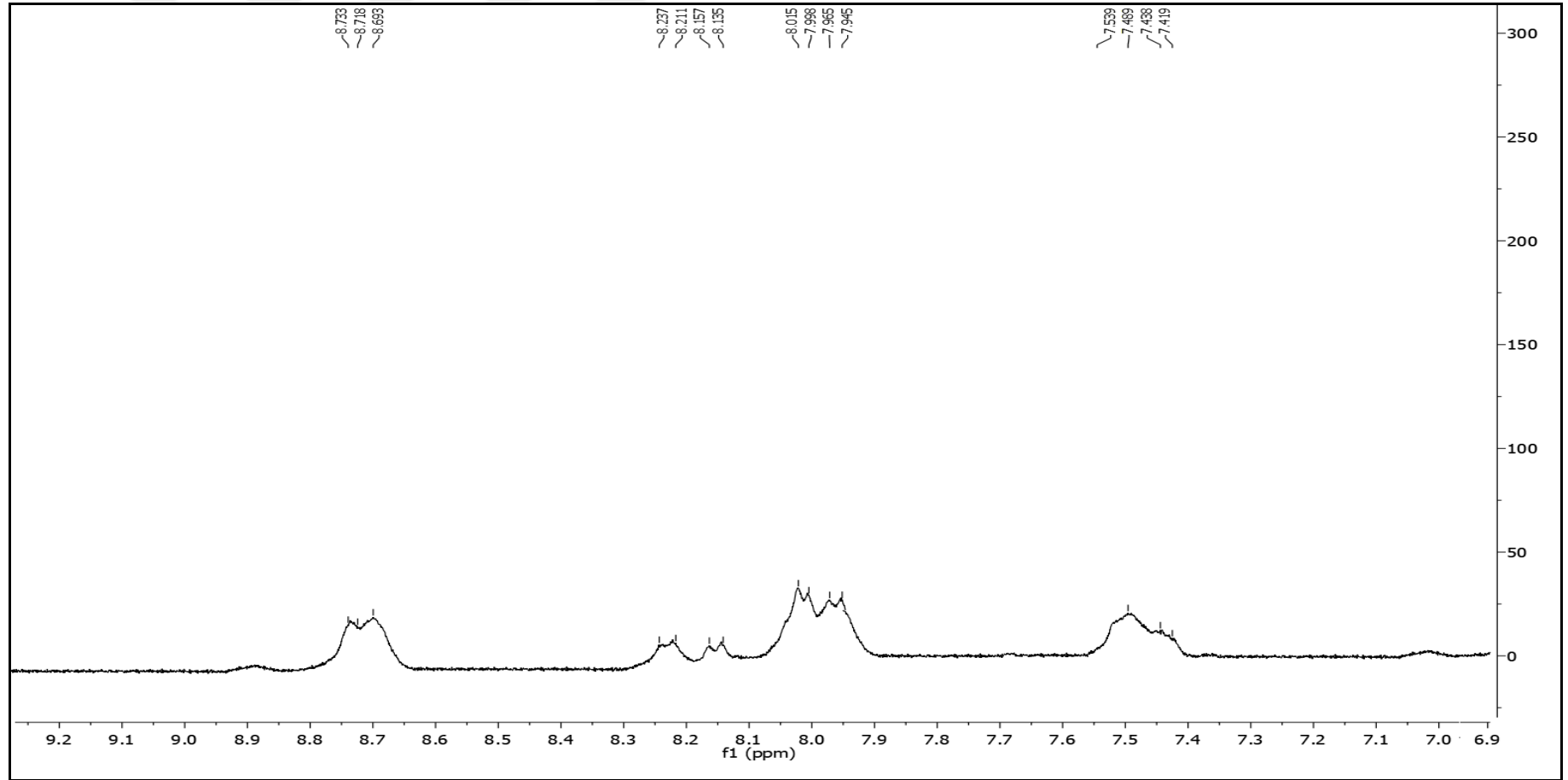
Spektrum No 59. İmin-14 kodlu bileşğin IR spektrumu



Spektrum No 60. İmin-14 kodlu bileşğin kütle spektrumu



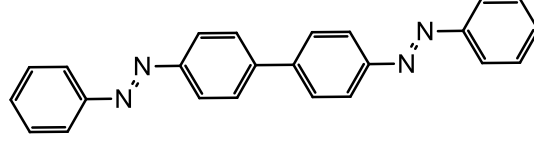
Spektrum No 61. İmin-14 kodlu bileşiğin  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu



Spektrum No 62. İmin-14 kodlu bileşimin genişletilmiş  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu

### 1.3. Azo Türevi Bileşiklerin Spektral Bulguları

#### 1.3.1. Azo-1 kodlu bileşik



4,4'-bis(fenildiazenil)-1,1'-bifenil

Verim: % 29, Erime Derecesi: 189 °C

**IR** (Spektrum No 63)

$\nu_{\text{maks}}$  (FT/ATR): 2937, 1593, 1506, 1340, 850, 838, 738  $\text{cm}^{-1}$ .

**MS** (ESI+) (Spektrum No 64)

$m/z$  (% bağıl bolluk): 363 [M+H]

**$^1\text{H NMR}$**  (Spektrum No 65)

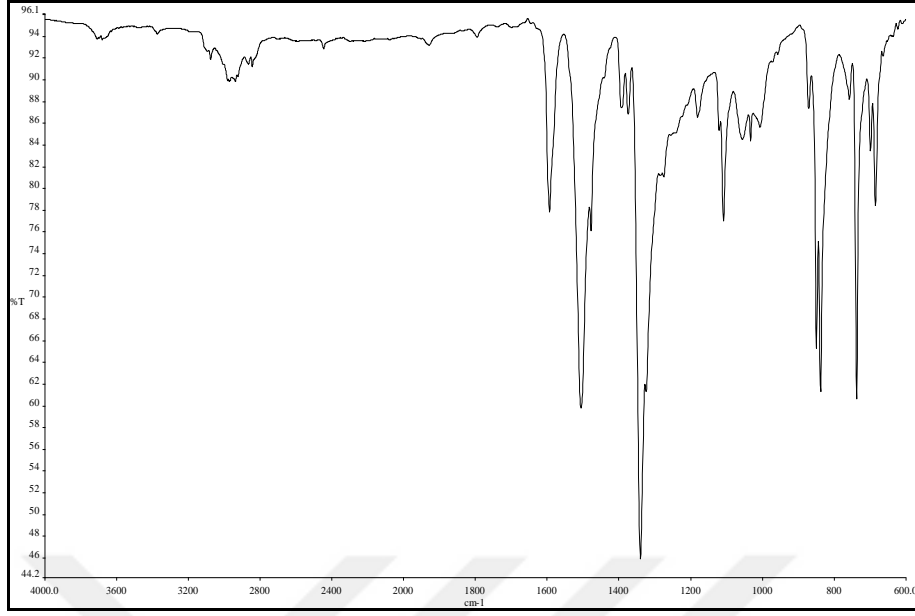
(400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.32 (2H, d,  $J= 8.4$  Hz, H-4''), 7.66 (4H, d,  $J= 8.4$  Hz, H-2, H-2', H-6, H-6' veya H-3'', H-5''), 7.73 (4H, d,  $J= 8.8$  Hz, H-2, H-2', H-6, H-6' veya H-3'', H-5''), 8.17 (4H, d,  $J= 8.8$  Hz, H-3, H-3', H-5, H-5' veya H-2'', H-6''), 8.30 (4H, d,  $J= 8.4$  Hz, H-3, H-3', H-5, H-5' veya H-2'', H-6'') ppm.

**Elementel Analiz:**  $\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{N}_4$

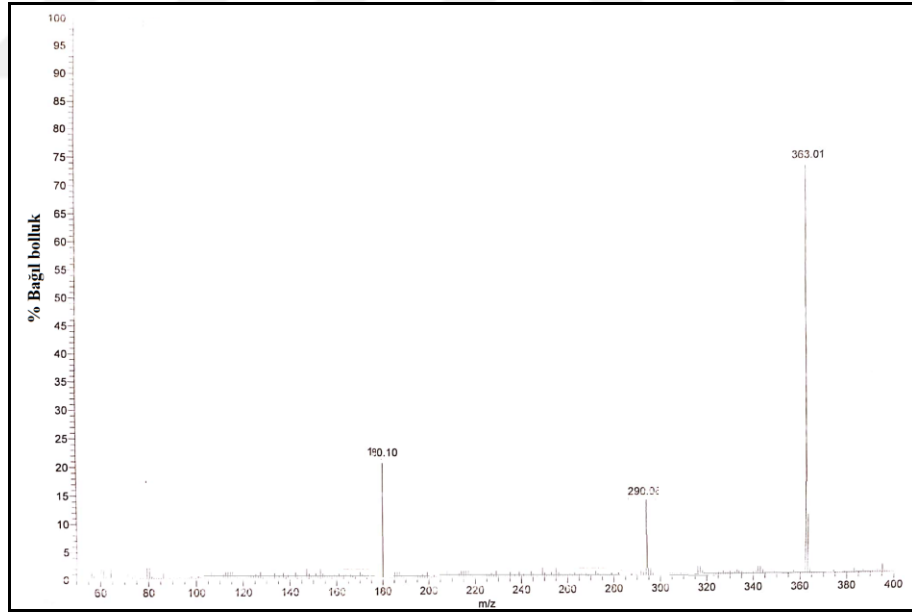
Hesaplanan (%): C, 79.54; H, 5.01; N, 15.46.

Bulunan (%): C, 79.82; H, 5.38; N, 15.72.

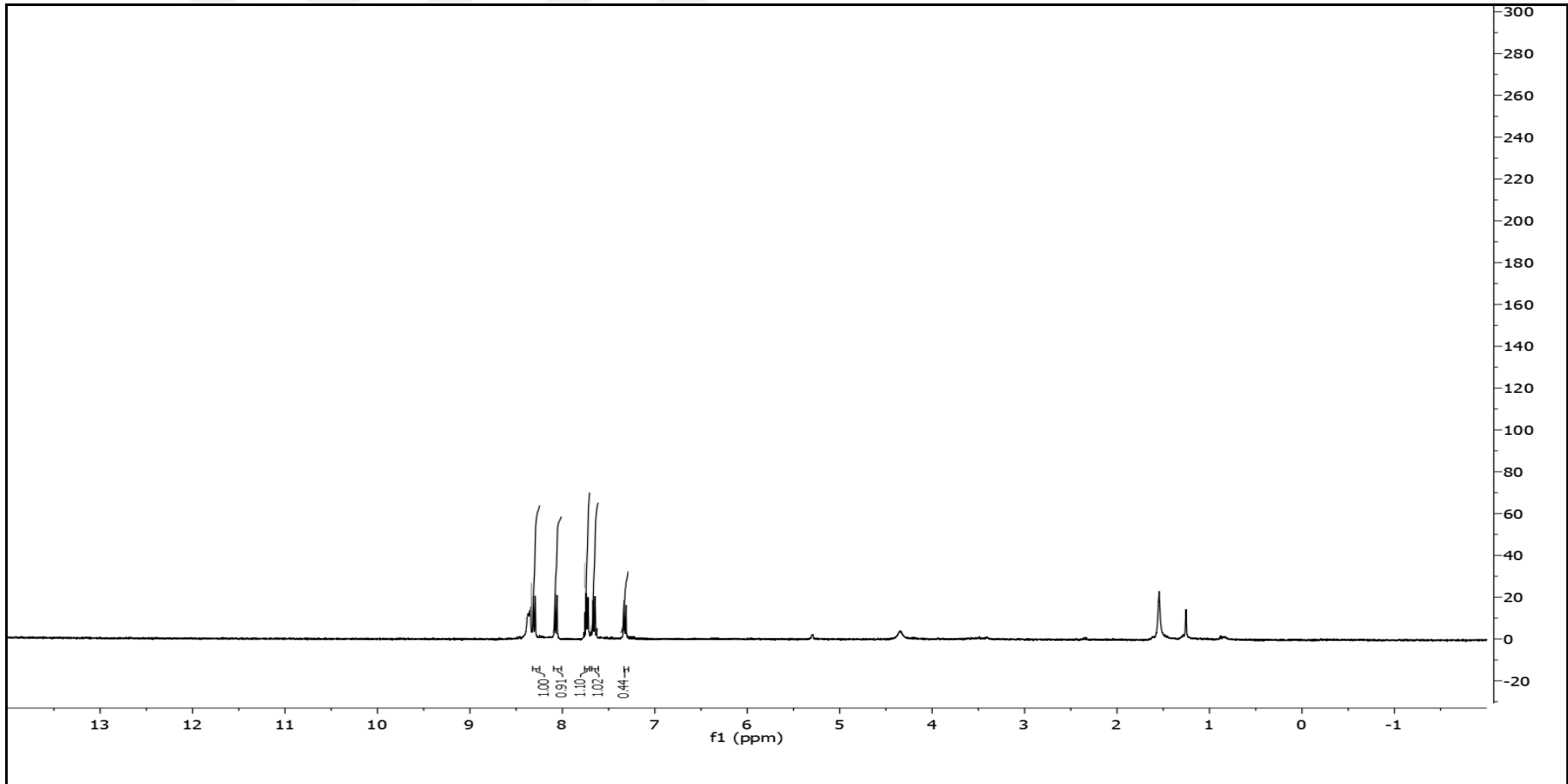




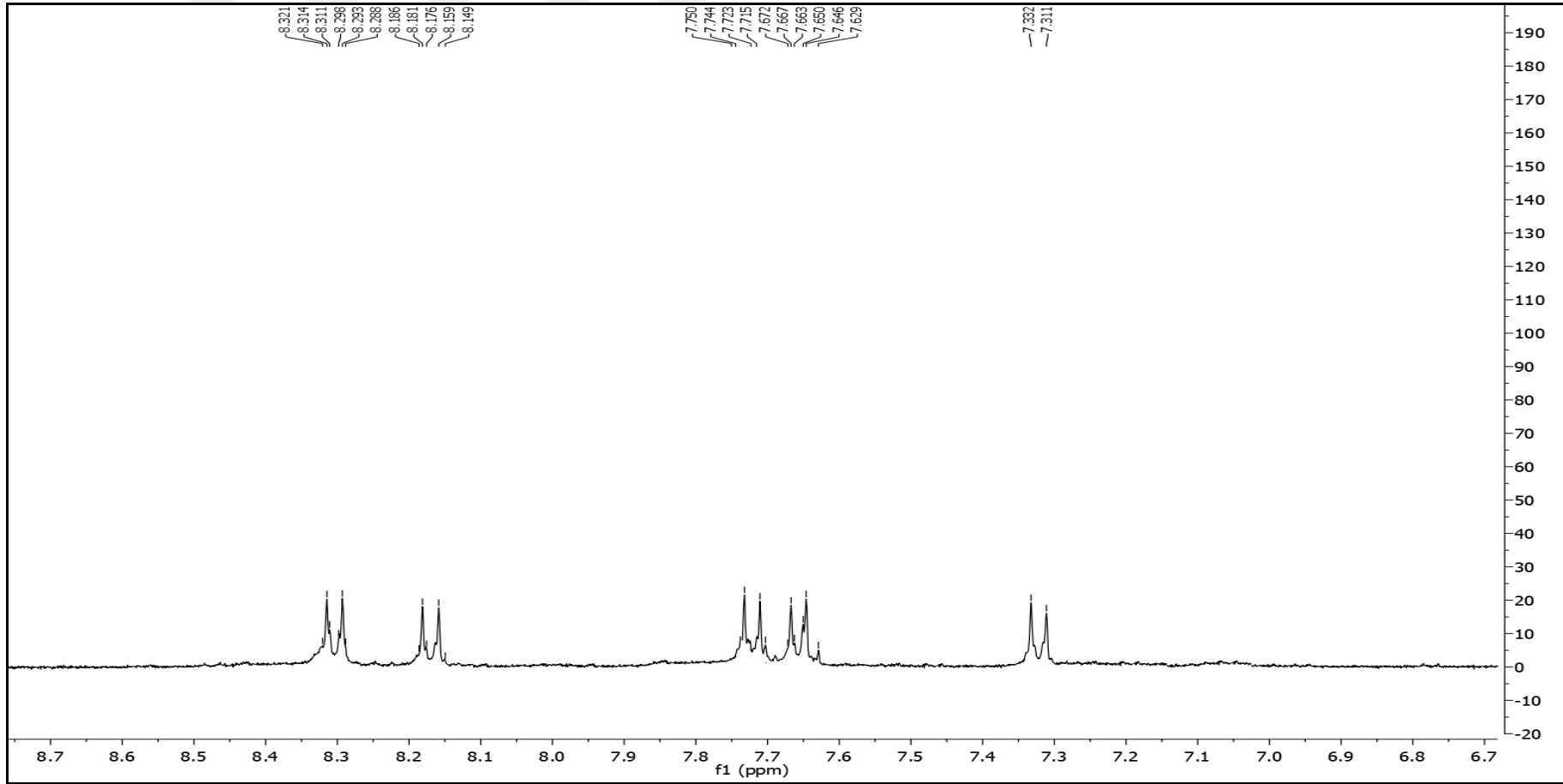
Spektrum No 63. Azo-1 kodlu bileşğin IR spektrumu



Spektrum No 64. Azo-1 kodlu bileşğin kütle spektrumu

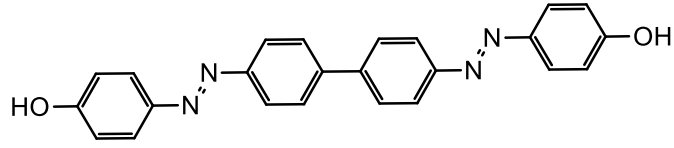


Spektrum No 65. Azo-1 kodlu bileşiğin  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu



Spektrum No 66. Azo-1 kodlu bileşiğin genişletilmiş <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

### 1.3.2. Azo-2 kodlu bileşik



4,4'-bis-[1,1'-bifenil]-4,4'-diilbis(diazen-2,1-diil)difenol

Verim: % 33, Erime Derecesi: 280 °C

**IR** (Spektrum No 67)

$\nu_{\text{maks}}$  (FT/ATR): 2973, 1513, 1592, 1055, 831  $\text{cm}^{-1}$ .

**MS** (ESI+) (Spektrum No 68)

m/z: 395 [M+H]

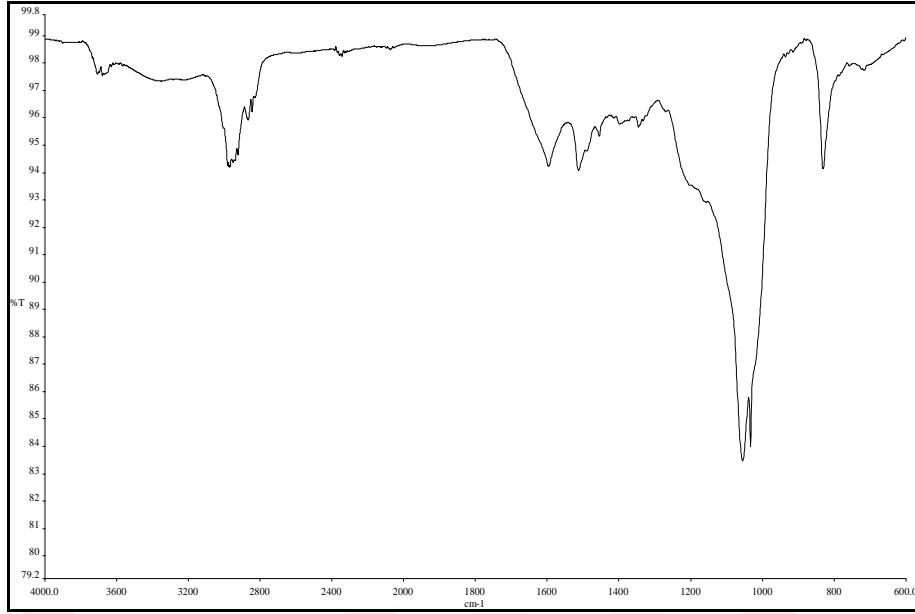
**$^1\text{H}$  NMR** (Spektrum No 69)

(400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.32 (4H, d,  $J= 8.4$  Hz, H-2'', H-6''), 7.74 (4H, d,  $J= 8.4$  Hz, H-3'', H-5''), 8.07 (4H, d,  $J= 8.8$  Hz, H-2, H-2', H-6, H-6'), 8.17 (4H, d,  $J= 8.8$  Hz, H-3, H-3', H-5, H-5), 9.55 (2H, s, Ar-OH) ppm.

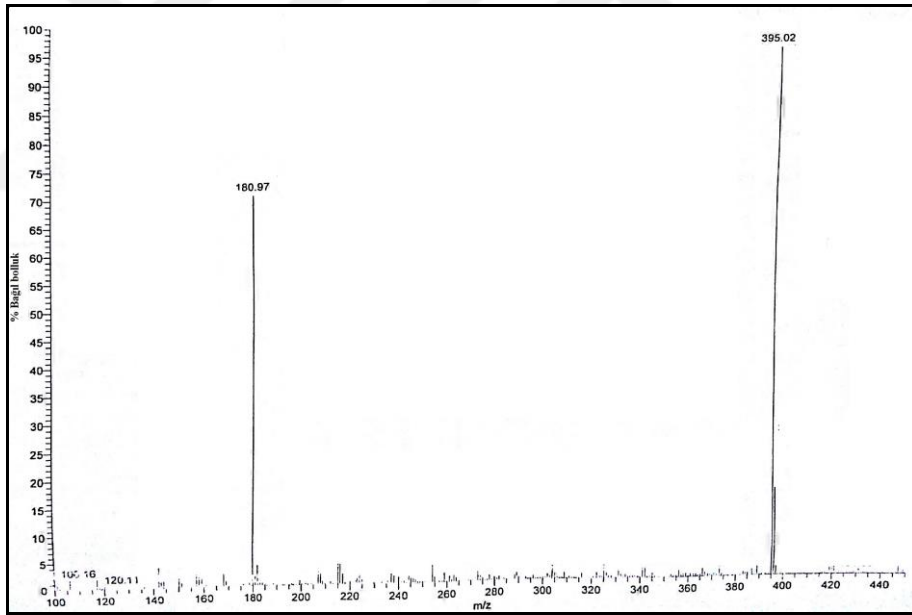
**Elementel Analiz:**  $\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_2$

Hesaplanan (%): C, 73.08; H, 4.60; N, 14.20.

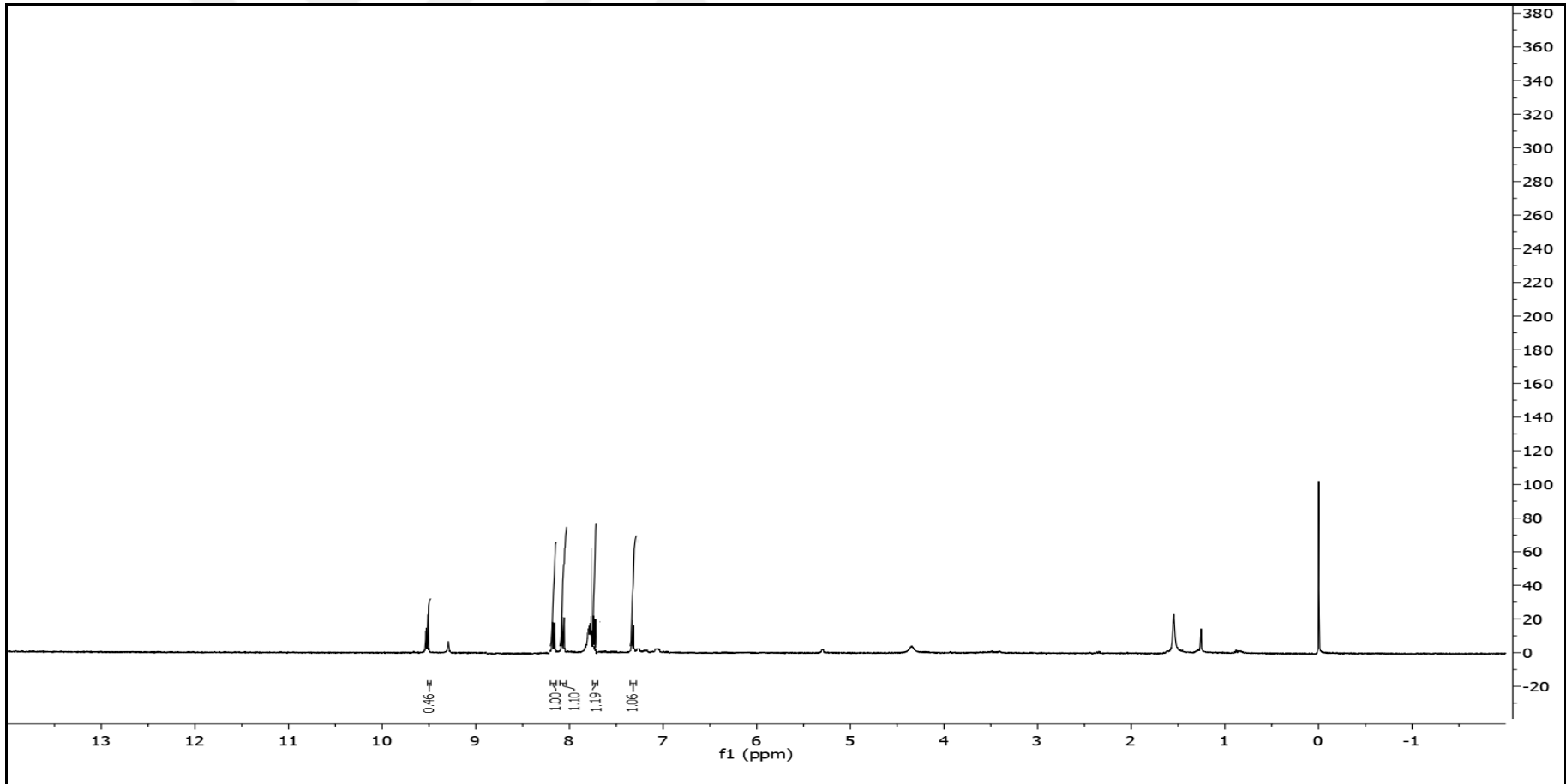
Bulunan (%): C, 73.28; H, 4.82; N, 14.35.



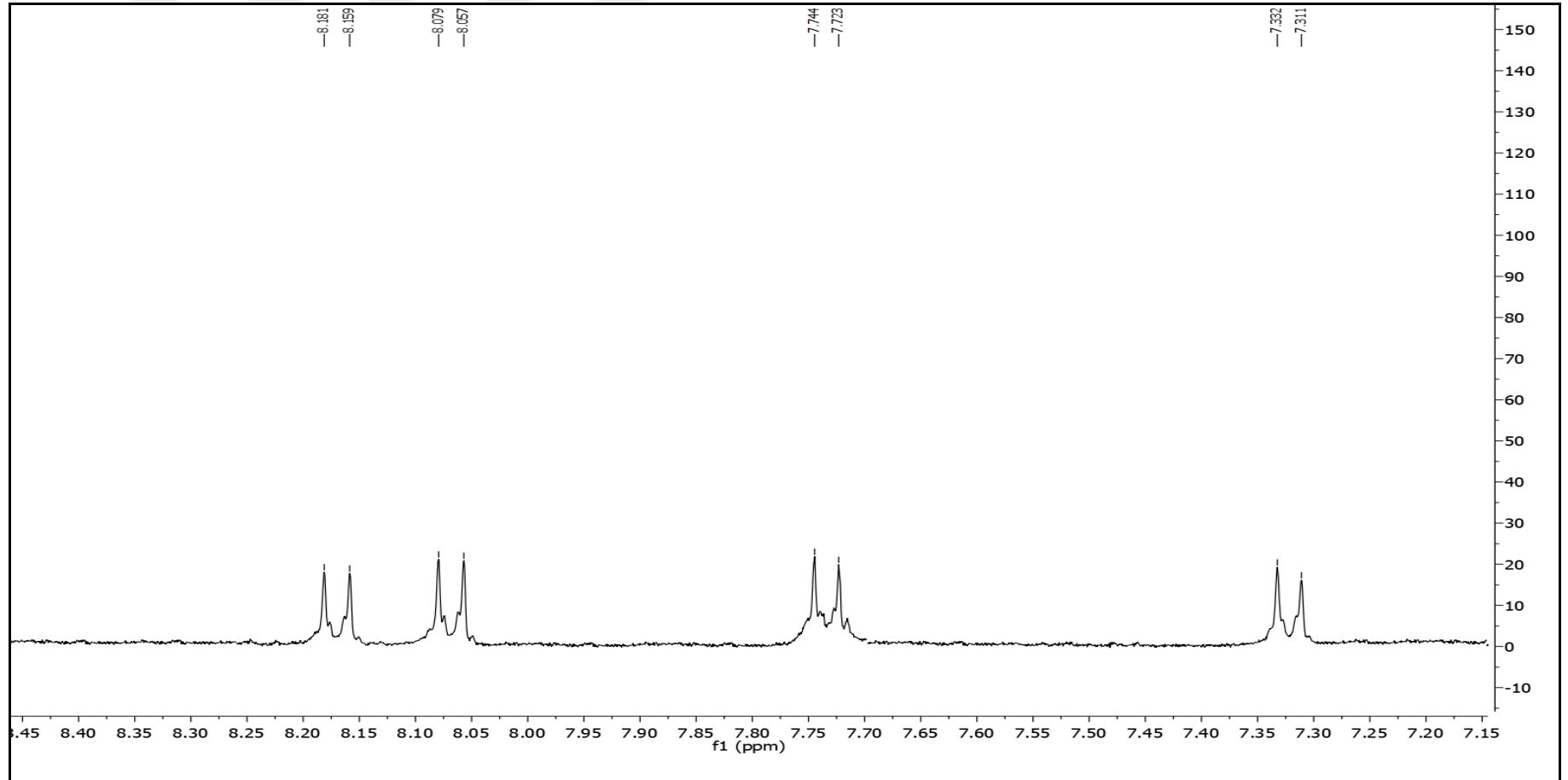
Spektrum No 67. Azo-2 kodlu bileşğin IR spektrumu



Spektrum No 68. Azo-2 kodlu bileşğin kütle spektrumu

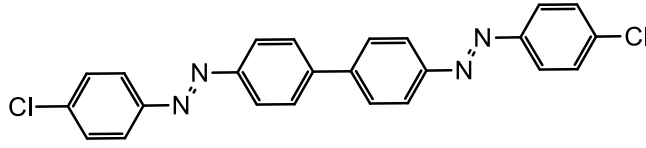


Spektrum No 69. Azo-2 kodlu bileşğin  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu



Spektrum No 70. Azo-2 kodlu bileşimin genişletilmiş  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu

### 1.3.3. Azo-3 kodlu bileşik



4,4'-bis[(4-klorofenil)diazenil]-1,1'-bifenil

Verim: % 28, Erime Derecesi: 235 °C

**IR** (Spektrum No 71)

$\nu_{\text{maks}}$  (FT/ATR): 2924, 1589, 1508, 1482, 1335, 1109, 821, 755  $\text{cm}^{-1}$ .

**MS** (ESI+) (Spektrum No 72)

m/z: 431 [M+H], 433 [M+H+2], 435 [M+H+4]

**<sup>1</sup>H NMR** (Spektrum No 73)

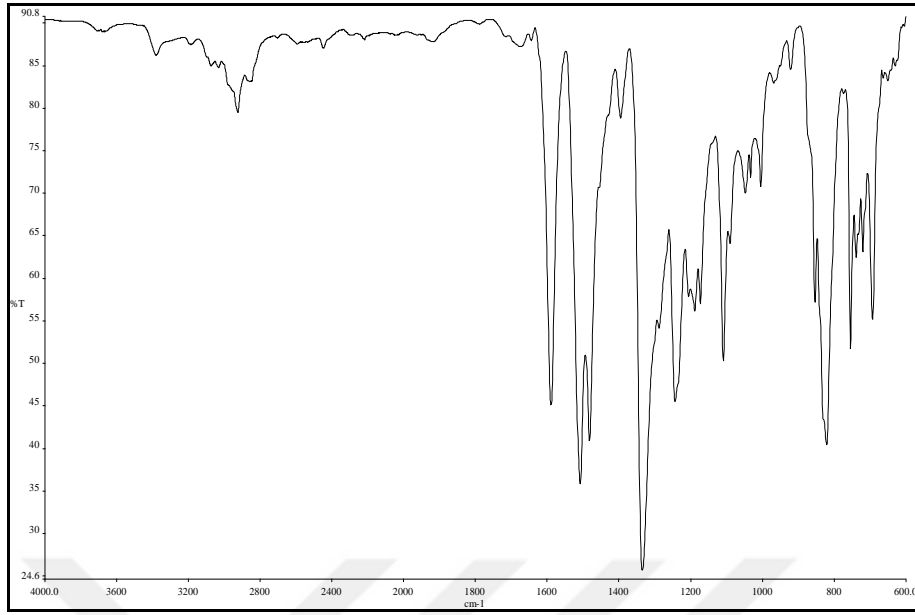
(400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.70 (4H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-2, H-2', H-6, H-6' veya H-3'', H-5''), 7.78 (4H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-2, H-2', H-6, H-6' veya H-3'', H-5''), 8.06 (4H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-3, H-3', H-5, H-5' veya H-2'', H-6''), 8.30 (4H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-3, H-3', H-5, H-5' veya H-2'', H-6'') ppm.

**Elementel Analiz:**  $\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{Cl}_2$

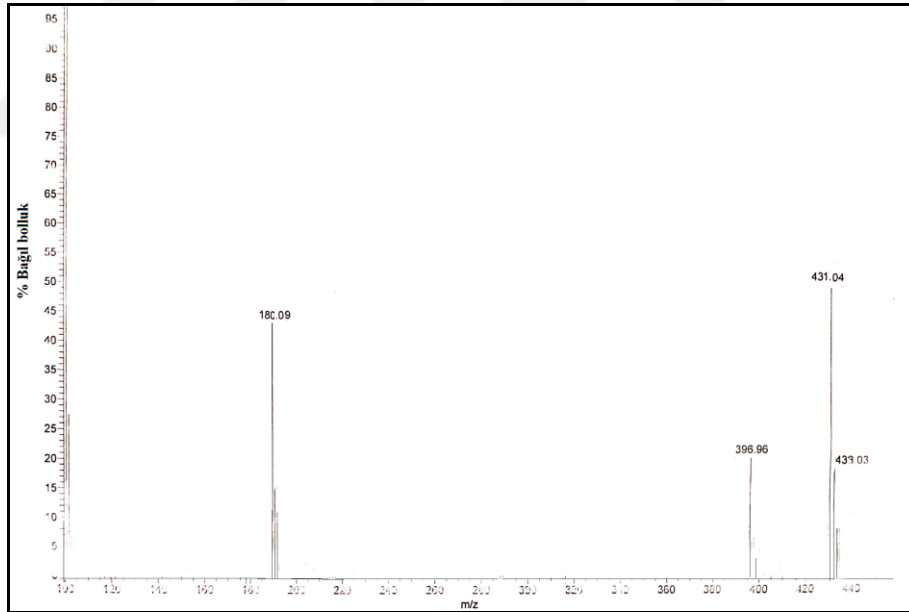
Hesaplanan (%): C, 66.83; H, 3.74; N, 12.99.

Bulunan (%): C, 67.08; H, 3.96; N, 13.02.

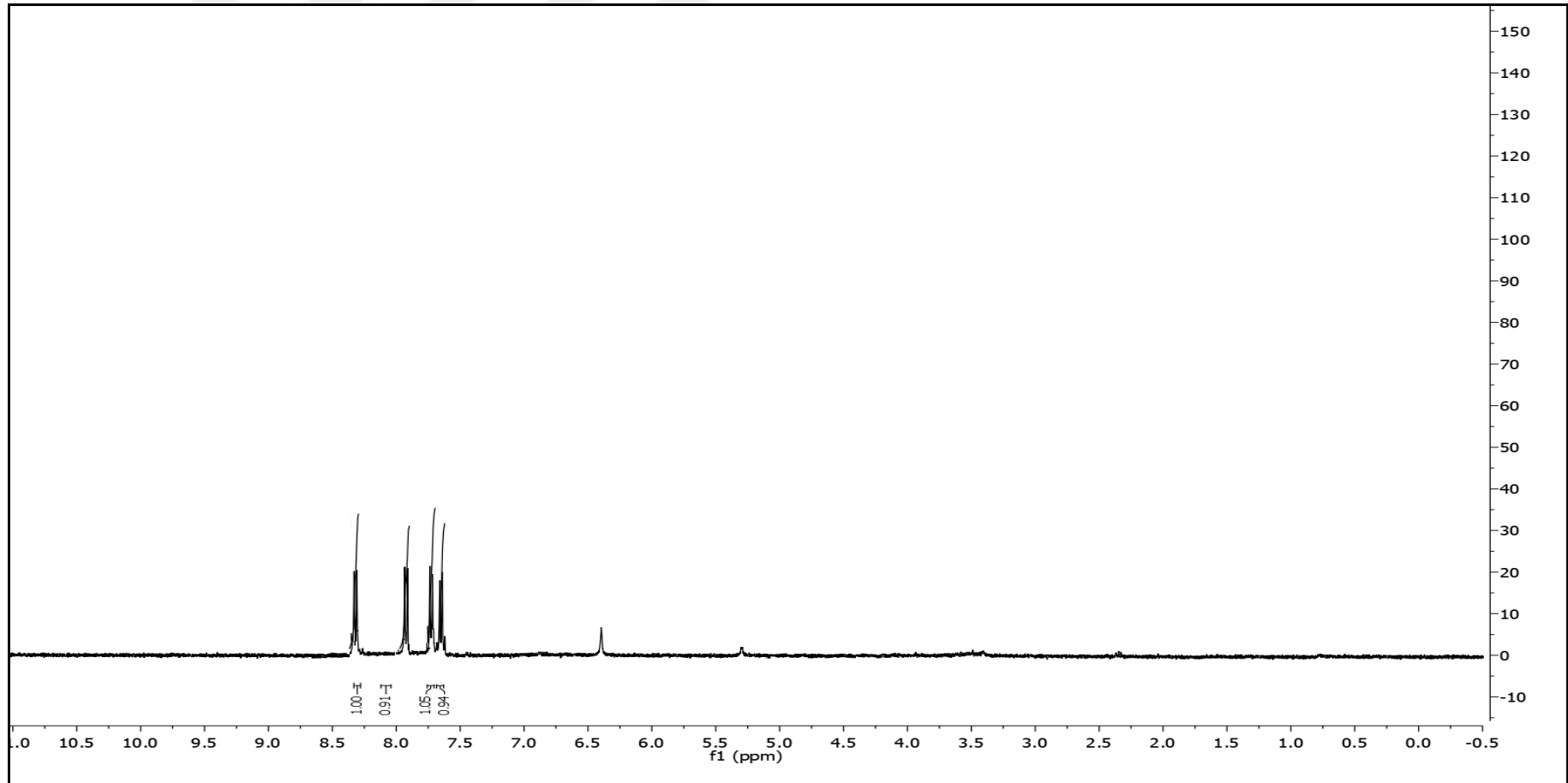




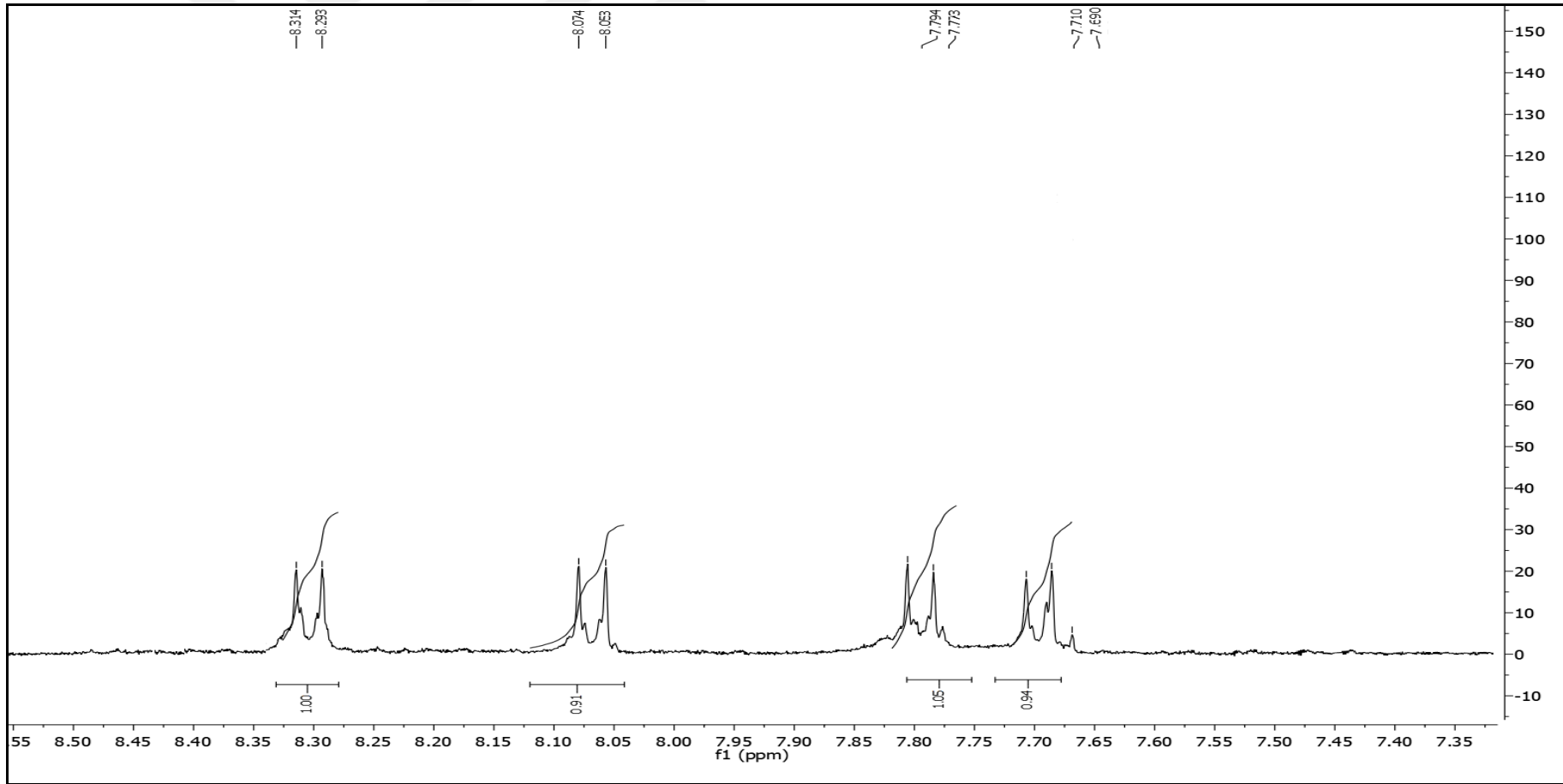
Spektrum No 71. Azo-3 kodlu bileşğin IR spektrumu



Spektrum No 72. Azo-3 kodlu bileşğin kütle spektrumu

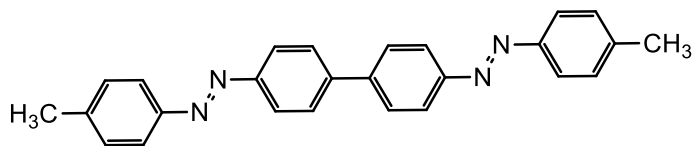


Spektrum No 73. Azo-3 kodlu bileşiğin  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu



Spektrum No 74. Azo-3 kodlu bileşimin genişletilmiş <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

### 1.3.4. Azo-4 kodlu bileşik



4,4'-bis((*p*-toluoldiazenil)-1,1'-bifenil

Verim: % 15, Erime Derecesi: 248 °C

**IR** (Spektrum No 75)

$\nu_{\text{maks}}$  (FT/ATR): 2938, 1594, 1503, 1344, 851, 839, 740  $\text{cm}^{-1}$ .

**MS** (ESI+) (Spektrum No 76)

$m/z$ : 391 [M+H]

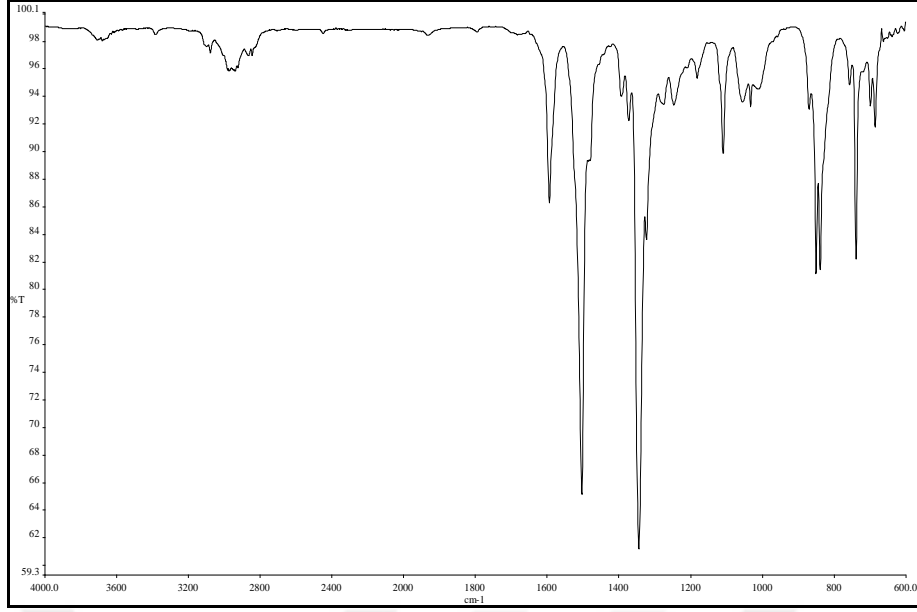
**$^1\text{H}$  NMR** (Spektrum No 77)

(400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.51 (6H, s, Ar- $\text{CH}_3$ ), 7.33 (4H, d,  $J= 8.4$  Hz, H-3'', H-5''), 7.47 (4H, d,  $J= 8.4$  Hz, H-2'', H-6''), 8.23 (4H, d,  $J= 8.0$  Hz, H-2, H-2', H-6, H-6'), 8.46 (4H, d,  $J= 8.0$  Hz, H-3, H-3', H-5, H-5') ppm.

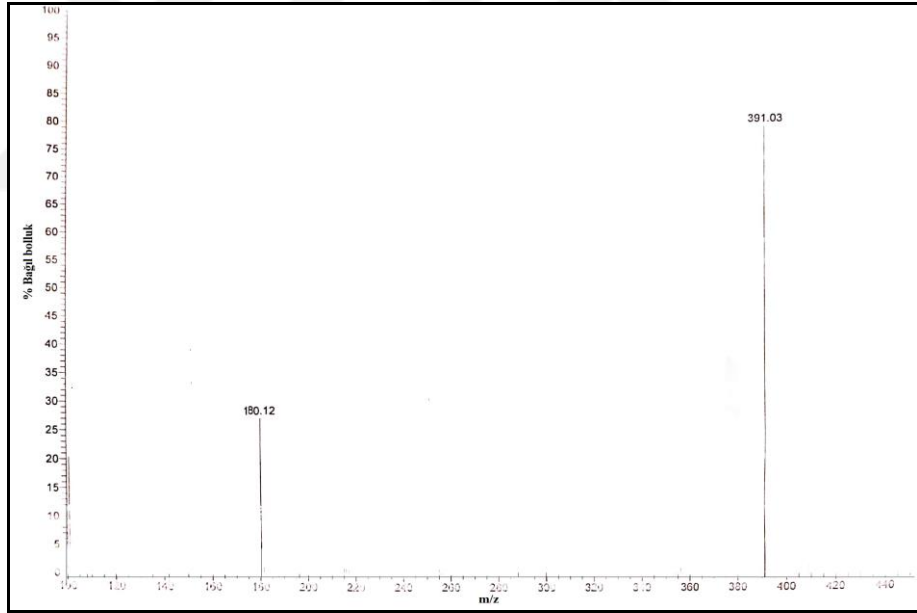
**Elementel Analiz:**  $\text{C}_{26}\text{H}_{14}\text{N}_4$

Hesaplanan (%): C, 79.97; H, 5.68; N, 14.35.

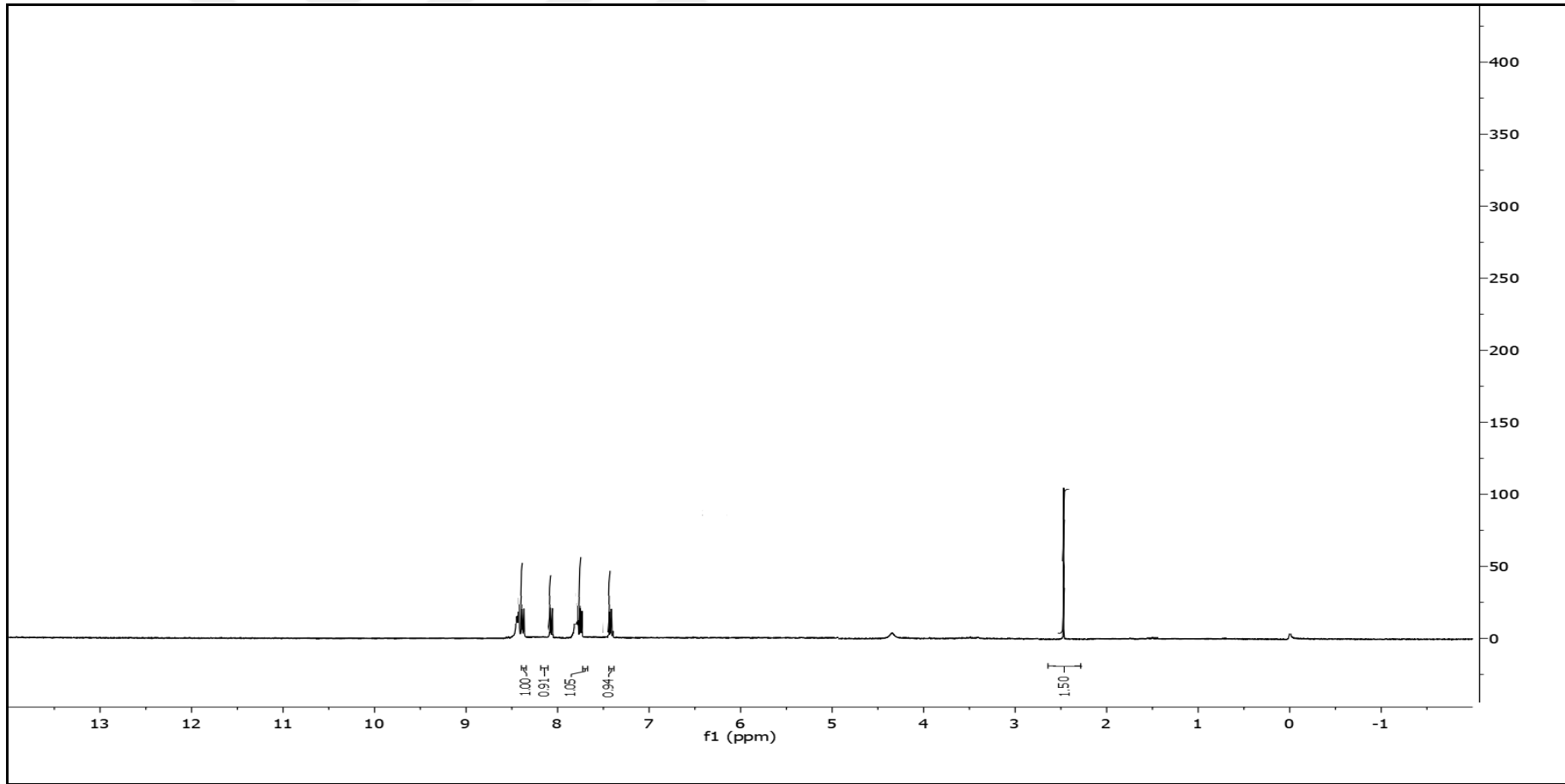
Bulunan (%): C, 80.05; H, 5.85; N, 14.32.



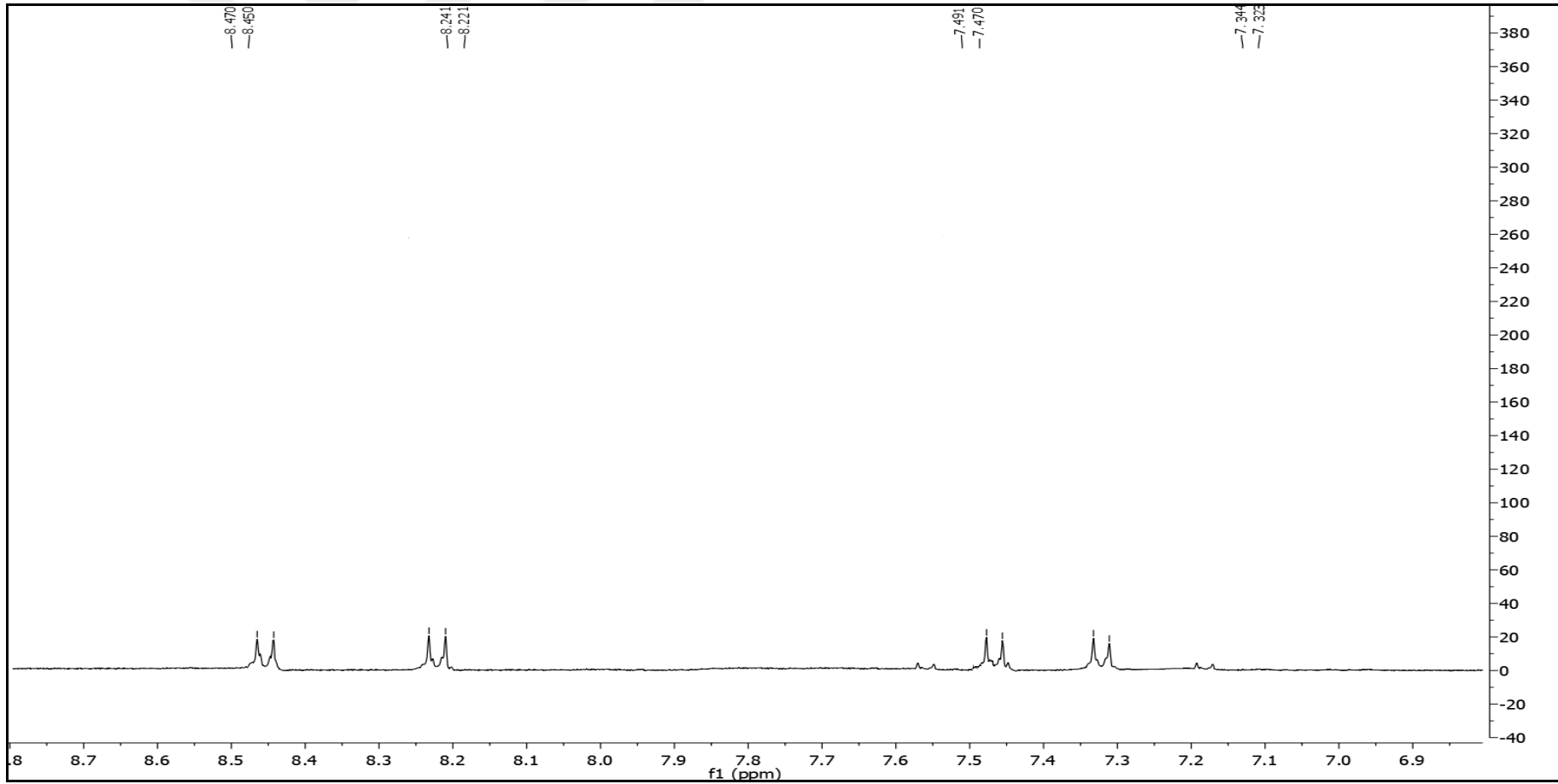
Spektrum No 75. Azo-4 kodlu bileşğin IR spektrumu



Spektrum No 76. Azo-4 kodlu bileşğin kütle spektrumu

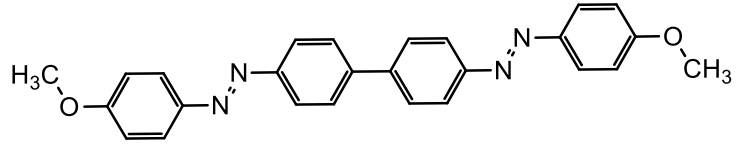


Spektrum No 77. Azo-4 kodlu bileşğin  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu



Spektrum No 78. Azo-4 kodlu bileşğin genişletilmiş <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

### 1.3.5. Azo-5 kodlu bileşik



4,4'-bis[(4-metoksifenil)diazenil]-1,1'-bifenil

Verim: % 10, Erime Derecesi: > 300 °C

**IR** (Spektrum No 79)

$\nu_{\text{maks}}$  (FT/ATR): 2967, 1594, 1508, 1347, 1247, 1110, 1033, 839, 740  $\text{cm}^{-1}$ .

**MS** (ESI+) (Spektrum No 80)

m/z: 423 [M+H]

**$^1\text{H}$  NMR** (Spektrum No 81)

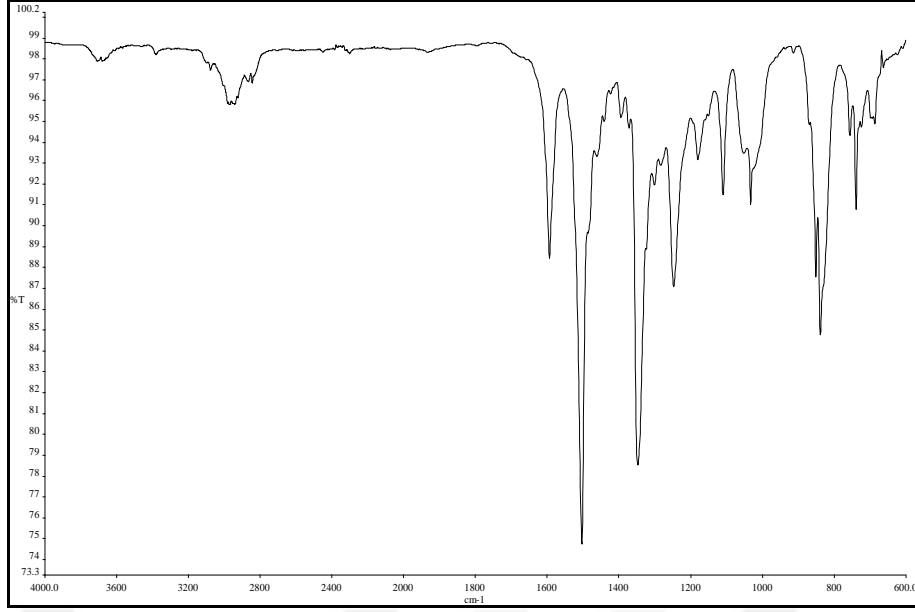
(400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3.84 (6H, s, Ar-OCH<sub>3</sub>), 7.32 (4H, d,  $J= 8.4$  Hz, H-3'', H-5''), 7.61 (4H,  $J= 8.4$  Hz, H-2, H-2', H-6, H-6'), 8.07 (4H,  $J= 8.4$  Hz, H-3, H-3', H-5, H-5' veya H-2'', H-6''), 8.30 (4H,  $J= 8.8$  Hz, H-3, H-3', H-5, H-5' veya H-2'', H-6'') ppm.

**Elementel Analiz:** C<sub>26</sub>H<sub>22</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>

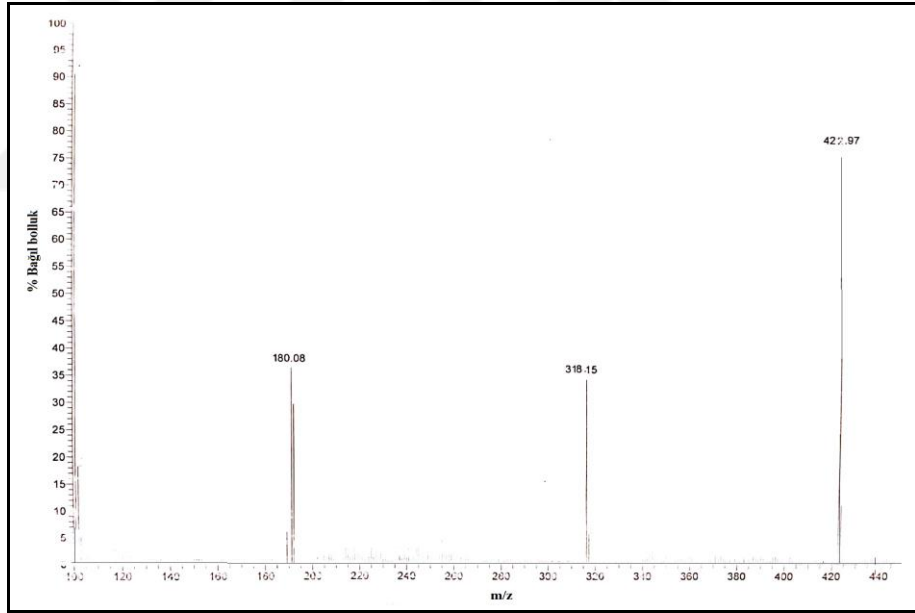
Hesaplanan (%): C, 73.92; H, 5.25; N, 13.26.

Bulunan (%): C, 74.15; H, 5.37; N, 13.46.

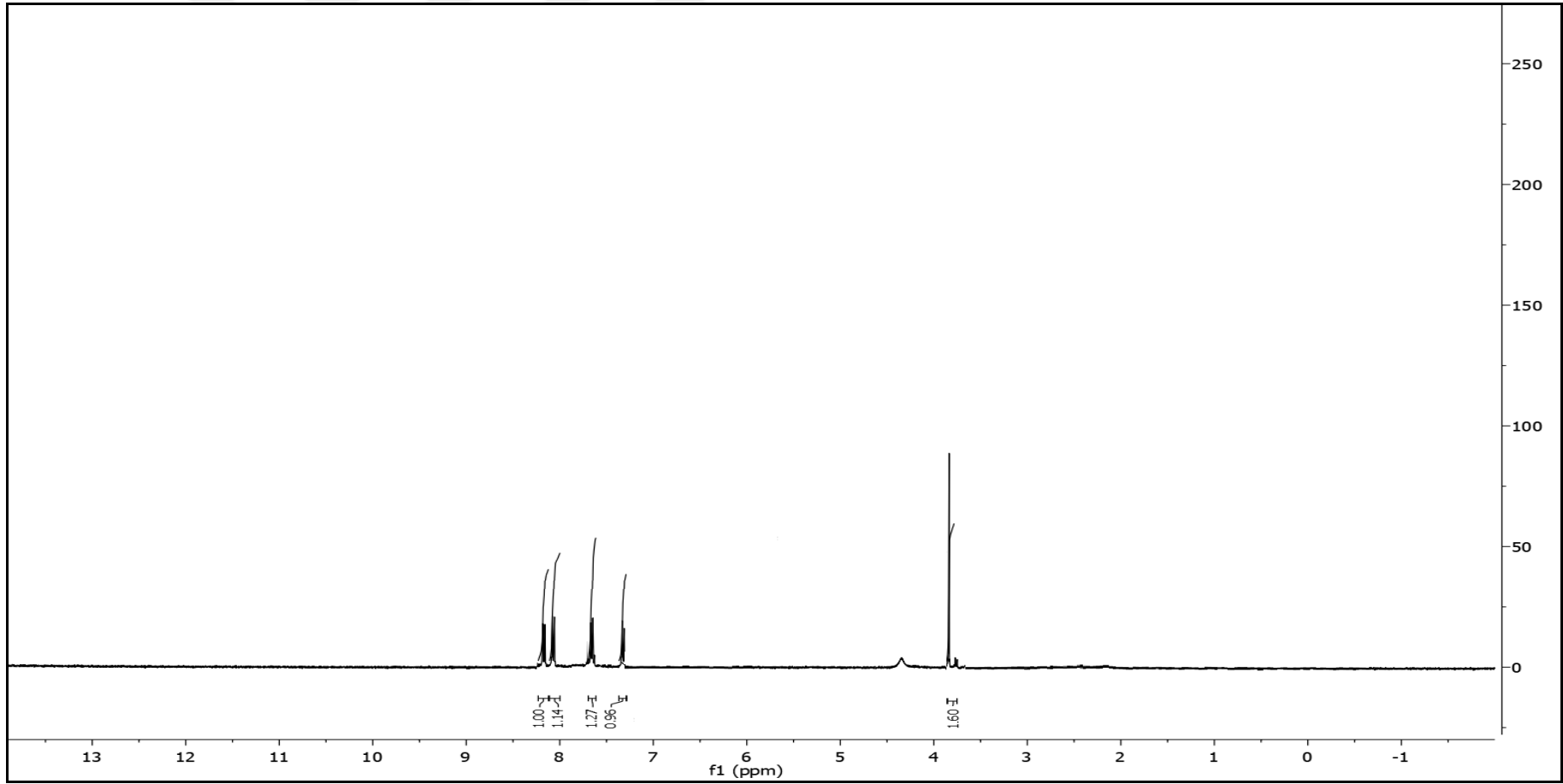




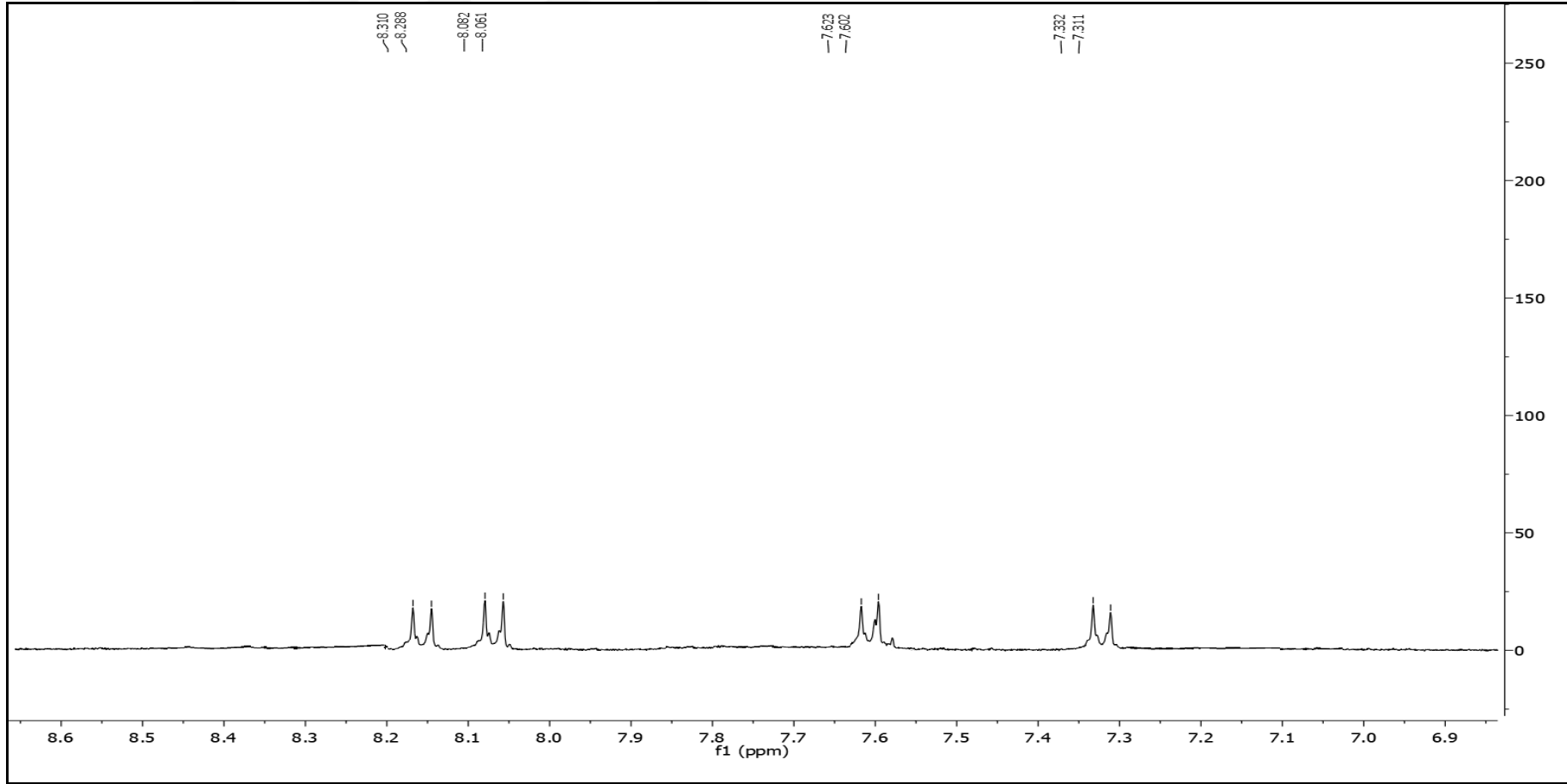
Spektrum No 79. Azo-5 kodlu bileşğin IR spektrumu



Spektrum No 80. Azo-5 kodlu bileşğin kütle spektrumu

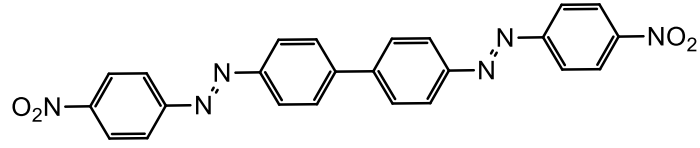


Spektrum No 81. Azo-5 kodlu bileşigin  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu



Spektrum No 82. Azo-5 kodlu bileşimin genişletilmiş  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu

### 1.3.6. Azo-6 kodlu bileşik



4,4'-bis[(4-nitrofenil)diazenil]-1,1'-bifenil

Verim: % 18, Erime Derecesi: 185 °C

**IR** (Spektrum No 83)

$\nu_{\text{maks}}$  (FT/ATR): 3368, 2938, 1624, 1593, 1502, 1344, 1302, 1109, 850, 839, 738  $\text{cm}^{-1}$ .

**MS** (ESI+) (Spektrum No 84)

m/z: 453 [M+H]

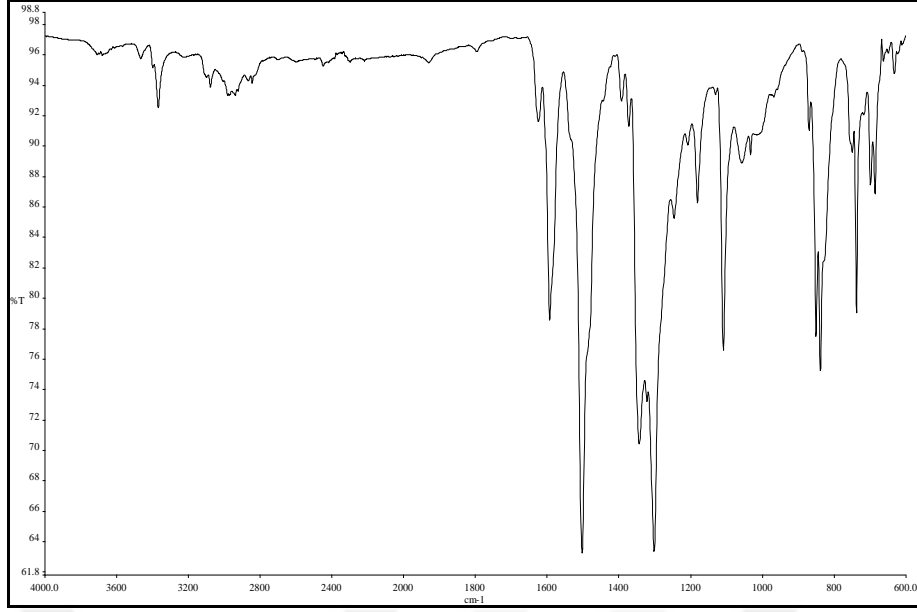
**$^1\text{H}$  NMR** (Spektrum No 85)

(400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.72 (4H, d,  $J= 8.8$  Hz, H-2, H-2', H-6, H-6'), 7.87 (4H, d,  $J= 7.6$  Hz, H-2'', H-6''), 8.09 (4H, d,  $J= 8.4$  Hz, H-3, H-3', H-5, H-5'), 8.30 (4H, d,  $J= 7.6$  Hz, H-3'', H-5'') ppm.

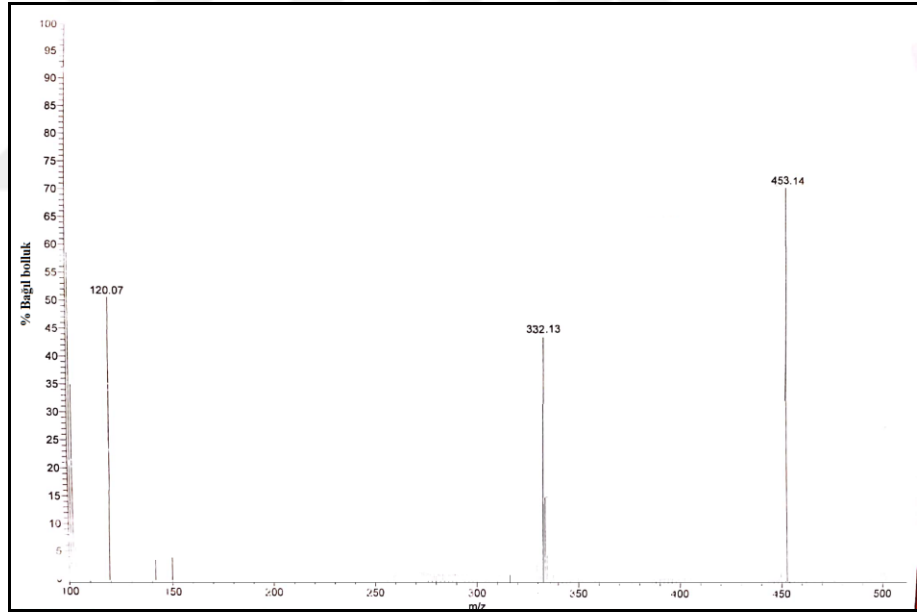
**Elementel Analiz:**  $\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{N}_6\text{O}_4$

Hesaplanan (%): C, 63.71; H, 3.56; N, 18.58.

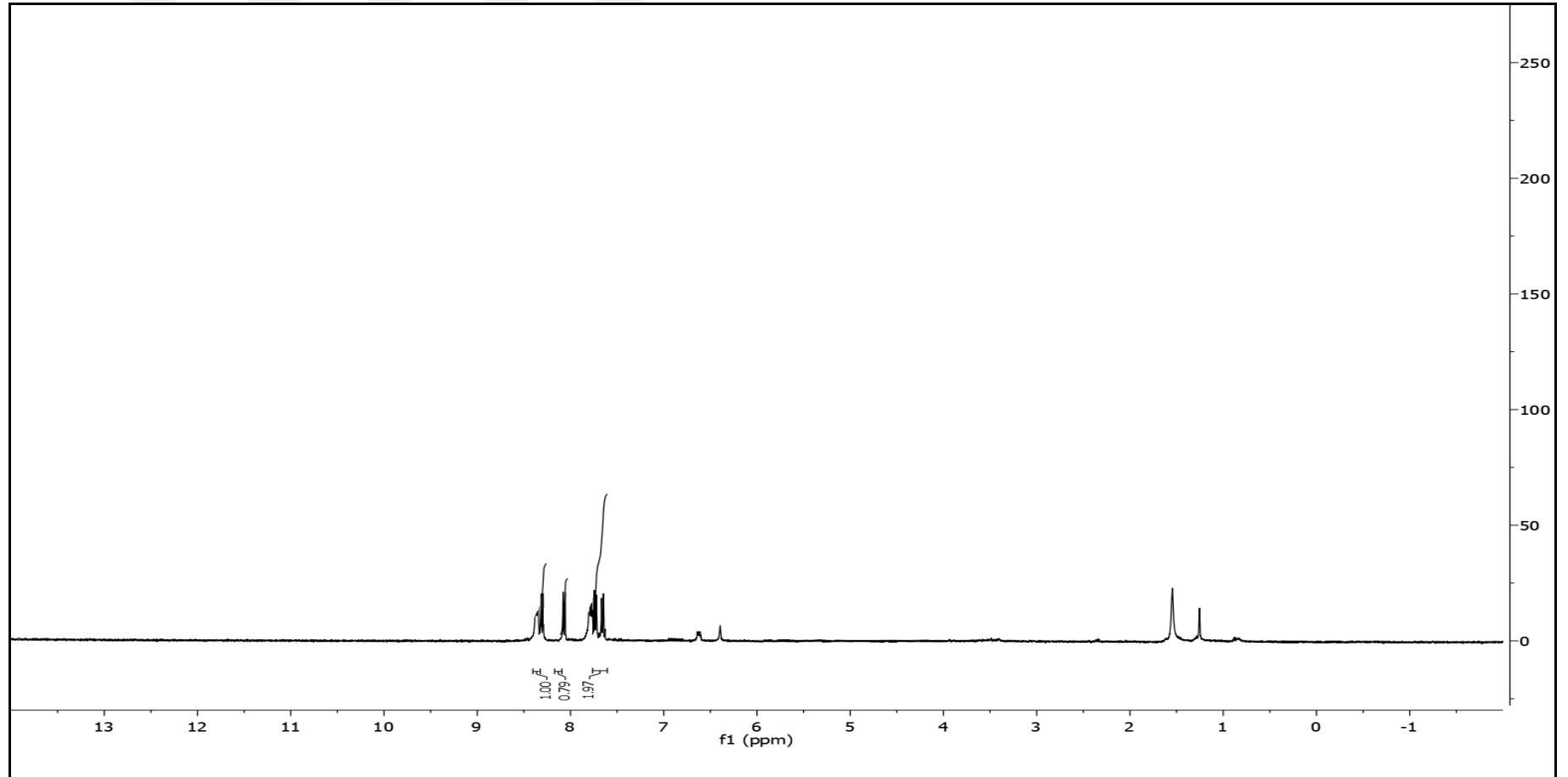
Bulunan (%): C, 63.75; H, 3.59; N, 18.70.



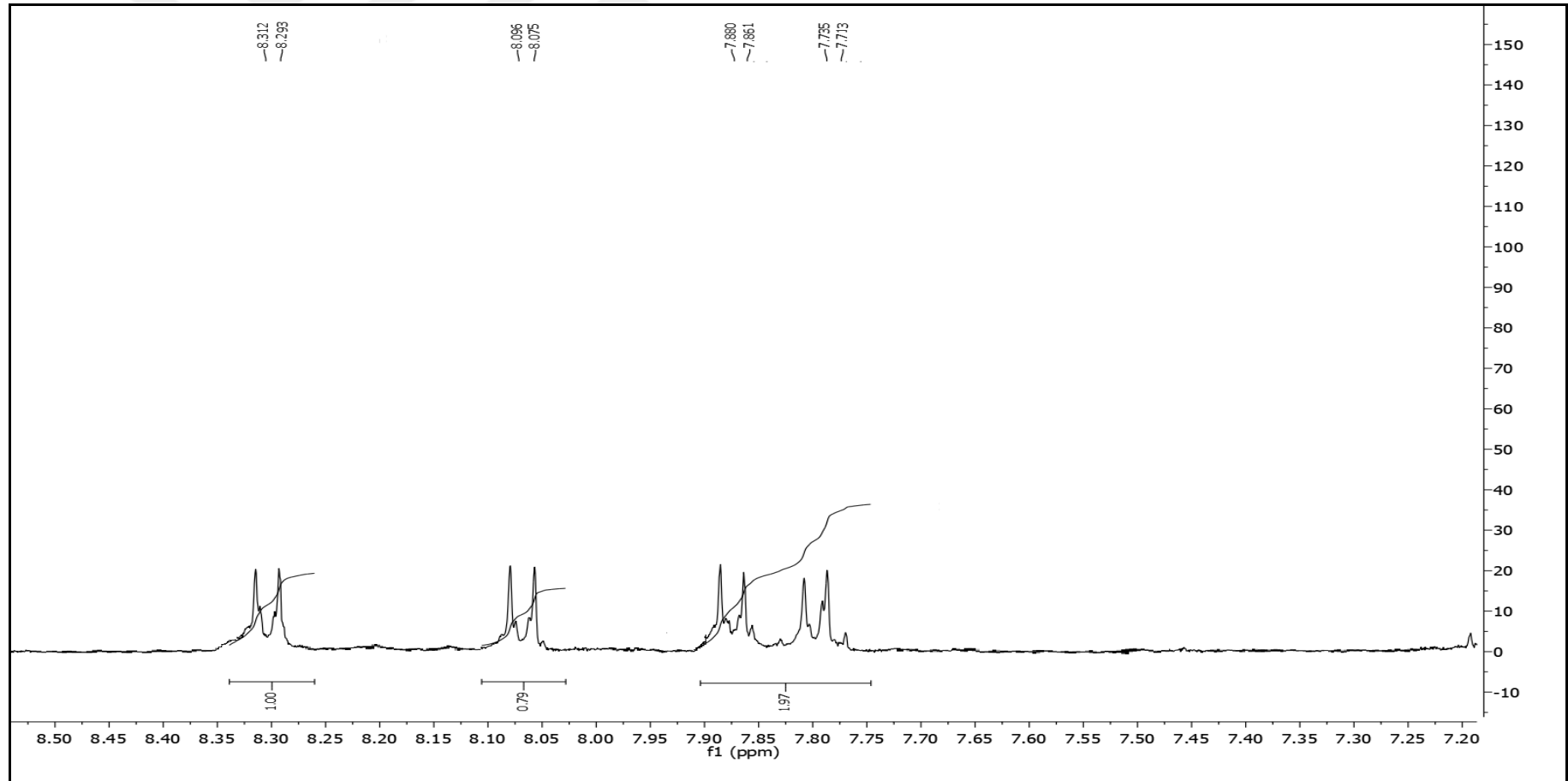
Spektrum No 83. Azo-6 kodlu bileşğin IR spektrumu



Spektrum No 84. Azo-6 kodlu bileşğin kütle spektrumu

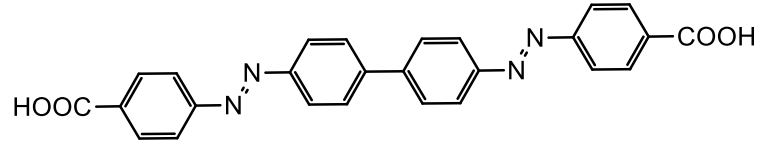


Spektrum No 85. Azo-6 kodlu bileşigin  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu



Spektrum No 86. Azo-6 kodlu bileşimin genişletilmiş  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu

### 1.3.7. Azo-7 kodlu bileşik



4,4'-{[1,1'-bifenil]-4,4'-diilbis(diazen-2,1-diil)}dibenzoik asit

Verim: % 25, Erime Derecesi: 273 °C

**IR** (Spektrum No 87)

$\nu_{\text{maks}}$  (FT/ATR): 2934, 1594, 1507, 1339, 1108, 838, 736  $\text{cm}^{-1}$ .

**MS** (ESI+) (Spektrum No 88)

m/z: 451 [M+H]

**$^1\text{H}$  NMR** (Spektrum No 89)

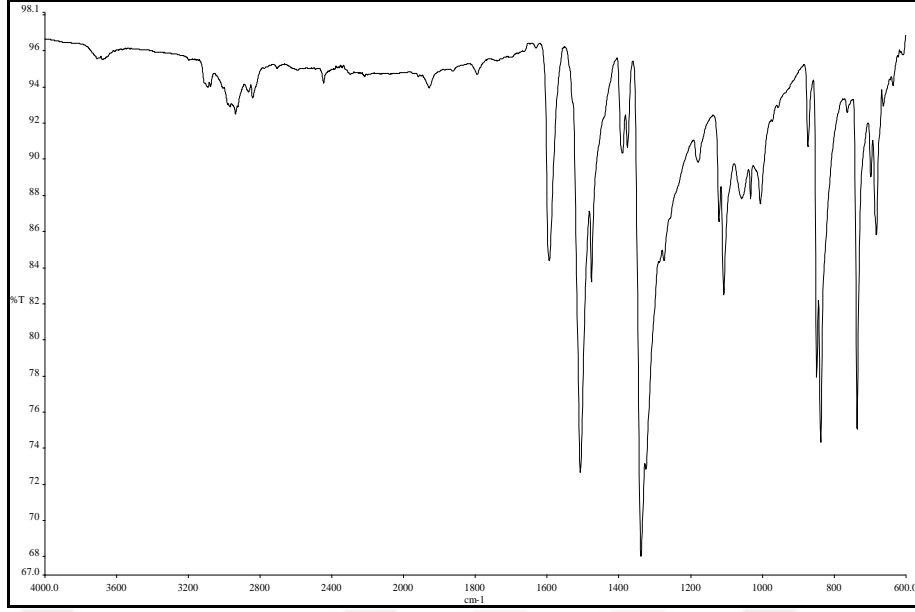
(400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.75 (4H, d,  $J= 8.4$  Hz, H-2, H-2', H-6, H-6'), 8.12 (4H, d,  $J= 8.4$  Hz, H-3, H-3', H-5, H-5), 8.27 (4H, d,  $J= 8.0$  Hz, H-2'', H-6''), 8.47 (4H, d,  $J= 8.0$  Hz, H-3'', H-5''), (10.85 2H, s, Ar-COOH) ppm.

**Elementel Analiz:**  $\text{C}_{26}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_4$

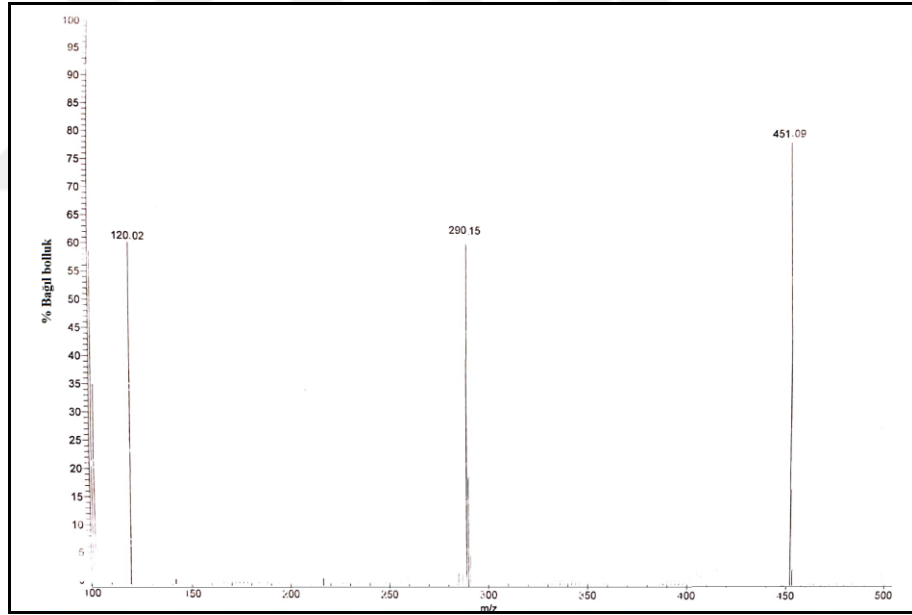
Hesaplanan (%): C, 69.33; H, 4.03; N, 12.44.

Bulunan (%): C, 69.70; H, 4.09; N, 12.50.

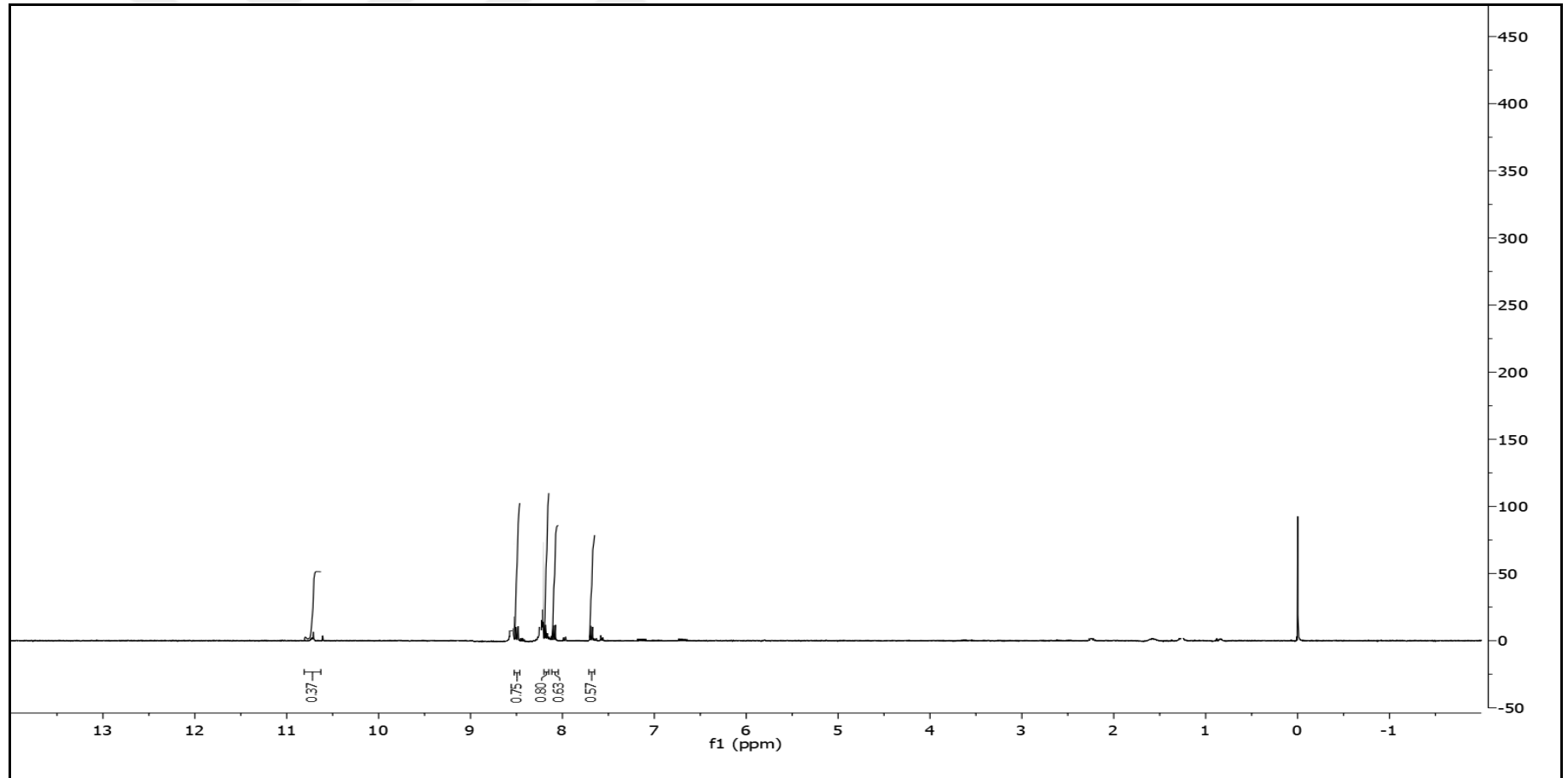




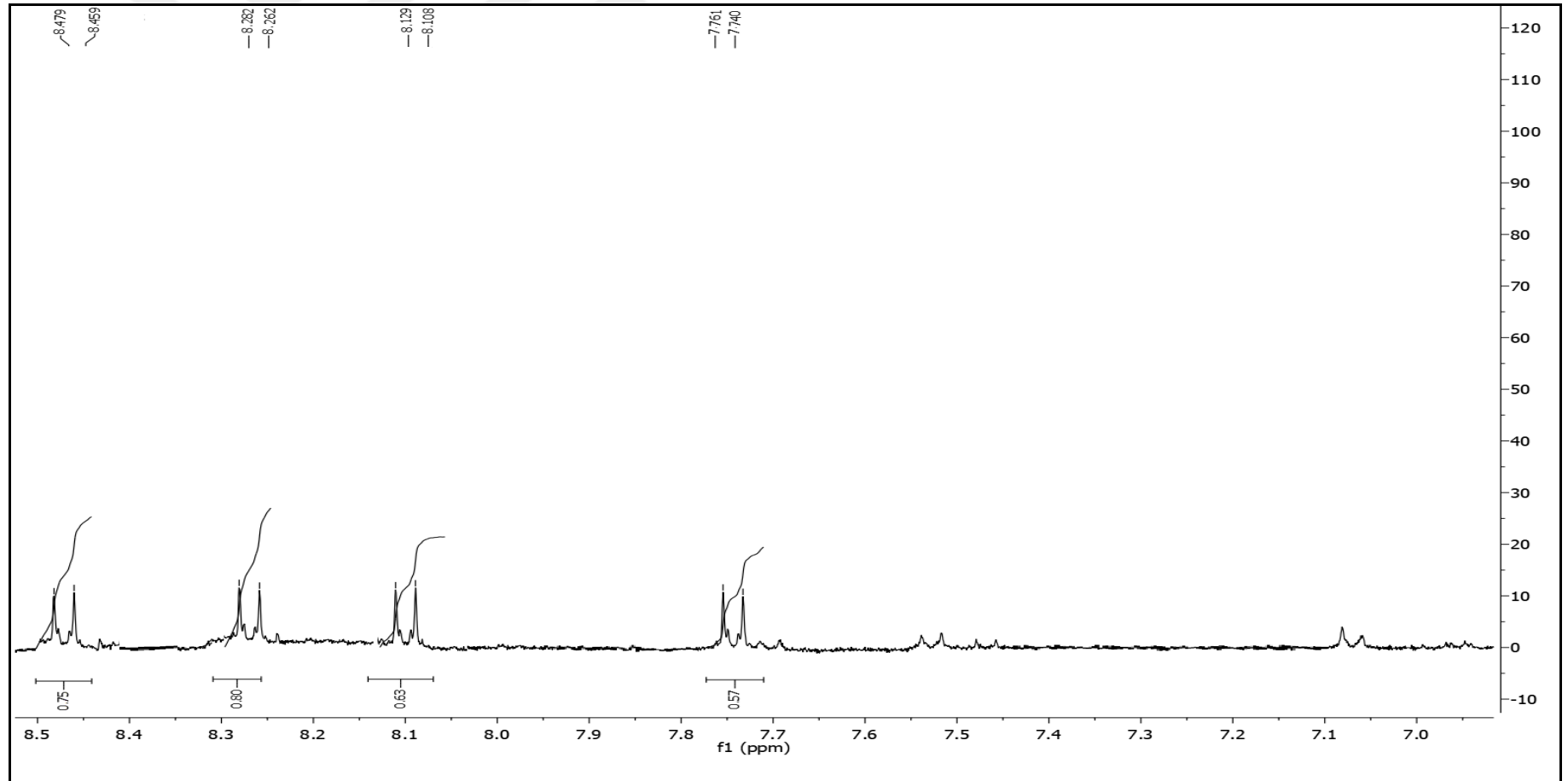
Spektrum No 87. Azo-7 kodlu bileşğin IR spektrumu



Spektrum No 88. Azo-7 kodlu bileşğin kütle spektrumu

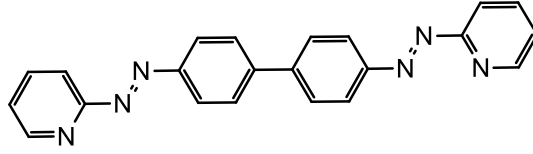


Spektrum No 89. Azo-7 kodlu bileşiğin  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu



Spektrum No 90. Azo-7 kodlu bileşigin genişletilmiş  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu

### 1.3.8. Azo-8 kodlu bileşik



4,4'-bis(piridin-2-ildiazenil)-1,1'-bifenil

Verim: % 70, Erime Derecesi: 251 °C

**IR** (Spektrum No 91)

$\nu_{\text{maks}}$  (FT/ATR): 2937, 1598, 1509, 1341, 850, 838, 737  $\text{cm}^{-1}$ .

**MS** (ESI+) (Spektrum No 92)

m/z: 365 [M+H]

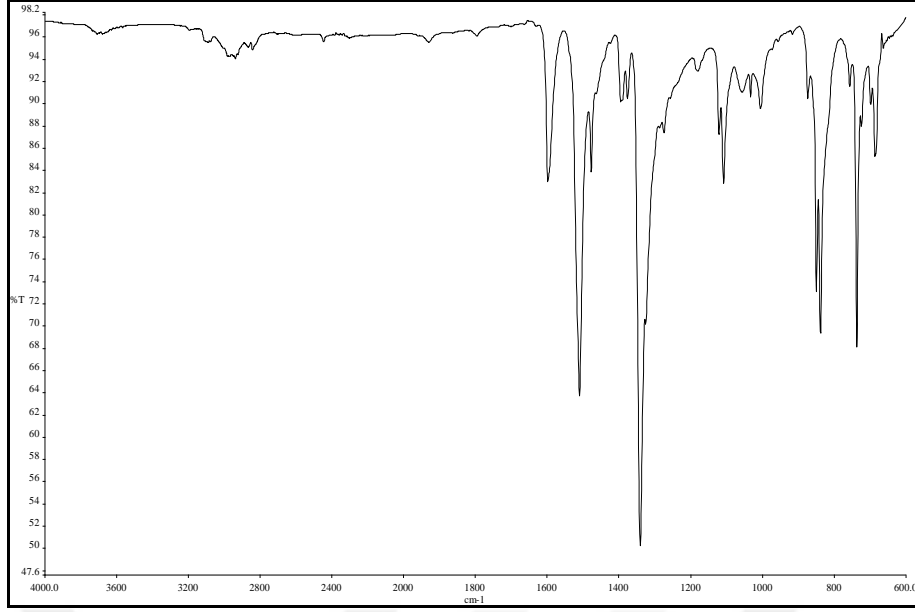
**$^1\text{H}$  NMR** (Spektrum No 93)

(400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.47 (4H, d,  $J= 8.8$  Hz, H-2, H-2', H-6, H-6'), 7.52-7.54 (4H, d,  $J= 8.4$  Hz, H-4'', H -5''), 7.66 (4H, d,  $J= 8.8$  Hz, H-3, H-3', H-5, H-5'), 7.73-7.75 (2H, m, H-3''), 8.23-8.25 (2H, m, H-6'') ppm.

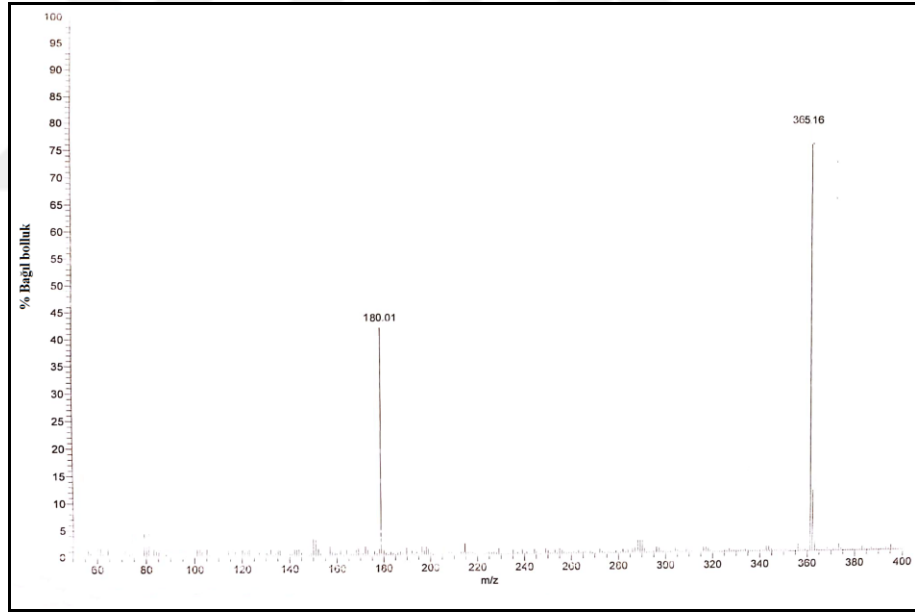
**Elementel Analiz:**  $\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{N}_6$

Hesaplanan (%): C, 72.51; H, 4.43; N, 23.06.

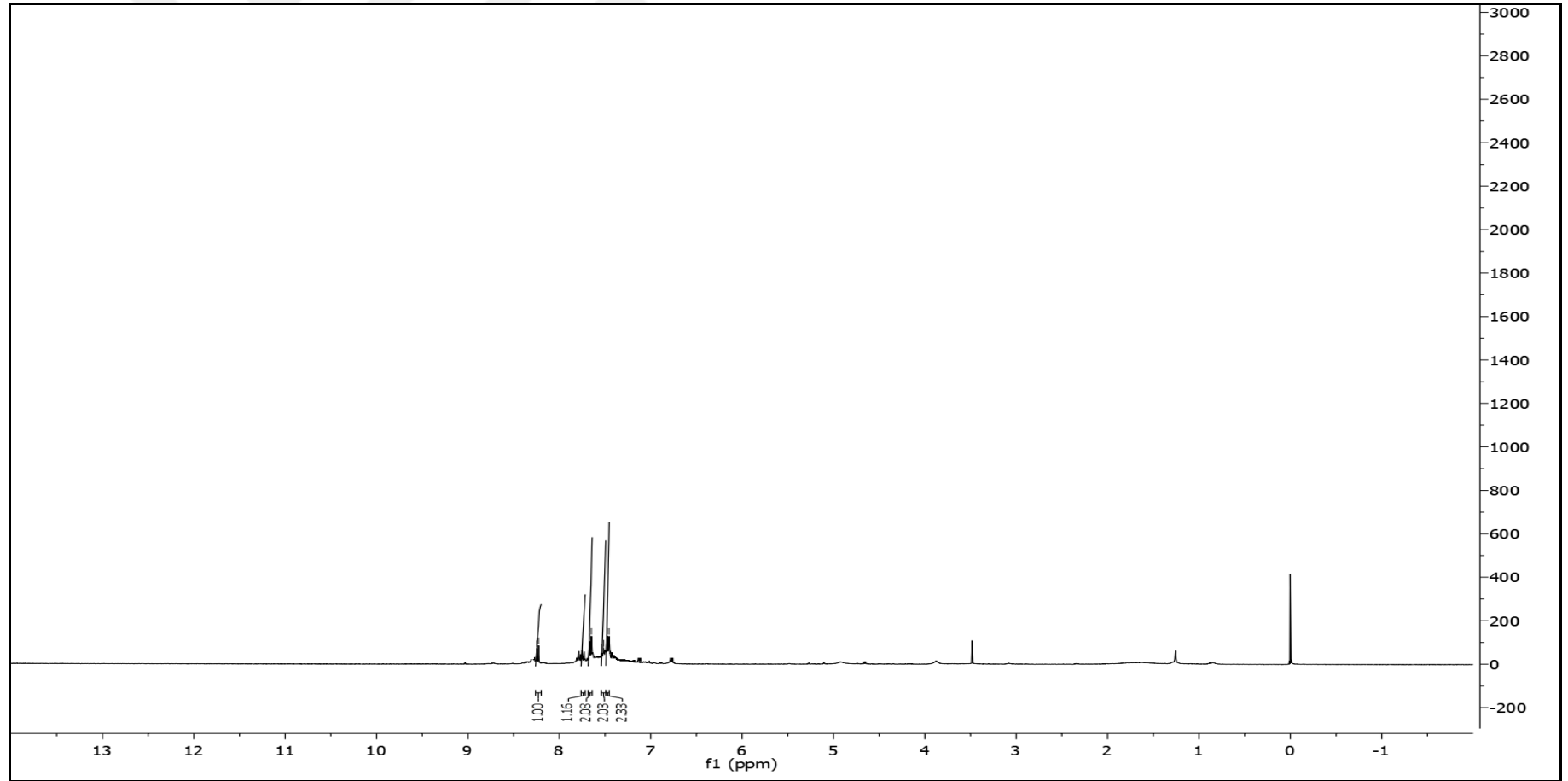
Bulunan (%): C, 72.81; H, 4.56; N, 23.14.



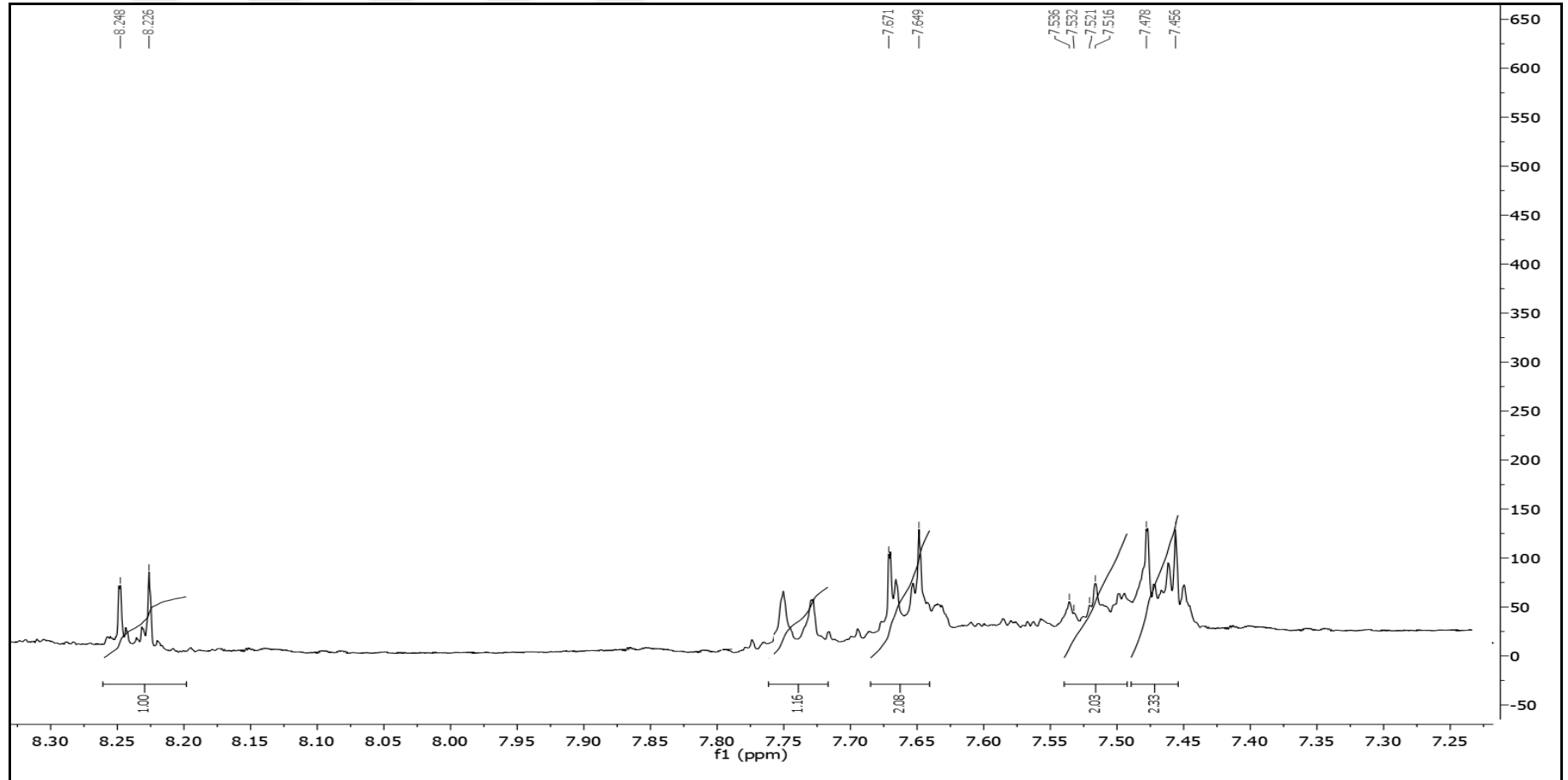
Spektrum No 91. Azo-8 kodlu bileşğin IR spektrumu



Spektrum No 92. Azo-8 kodlu bileşğin kütle spektrumu

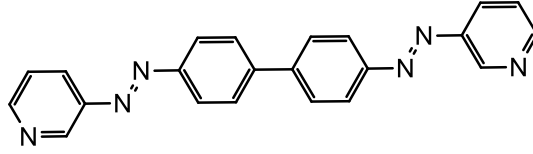


Spektrum No 93. Azo-8 kodlu bileşigin  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu



Spektrum No 94. Azo-8 kodlu bileşigin genişletilmiş <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

### 1.3.9. Azo-9 kodlu bileşik



4,4'-bis(piridin-3-ildiazenil)-1,1'-bifenil

Verim: % 22, Erime Derecesi: 185 °C

**IR** (Spektrum No 95)

$\nu_{\text{maks}}$  (FT/ATR): 2981, 1593, 1502, 1344. 851, 838, 739  $\text{cm}^{-1}$ .

**MS** (ESI+) (Spektrum No 96)

m/z: 365 [M+H]

**$^1\text{H NMR}$**  (Spektrum No 97)

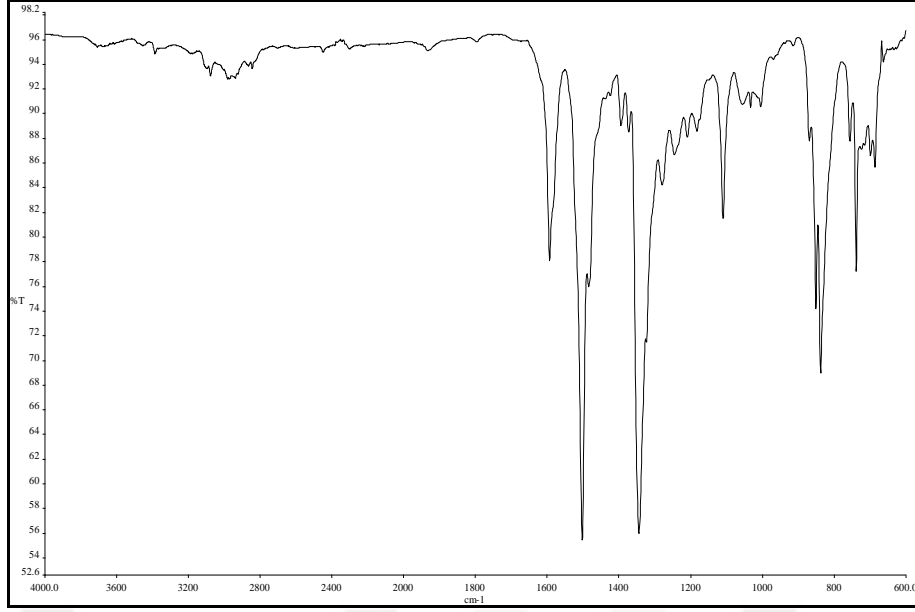
(400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.81 (4H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-2, H-2', H-6, H-6'), 8.02 (2H, q,  $J = 4.8$  Hz, H-5''), 8.14 (4H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-3, H-3', H-5, H-5'), 8.52 (2H, d,  $J = 4.0$  Hz, H-4''), 8.58-8.59 (2H, m, H-6''), 8.88 (2H, s, H-2'') ppm.

**Elementel Analiz:**  $\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{N}_6$

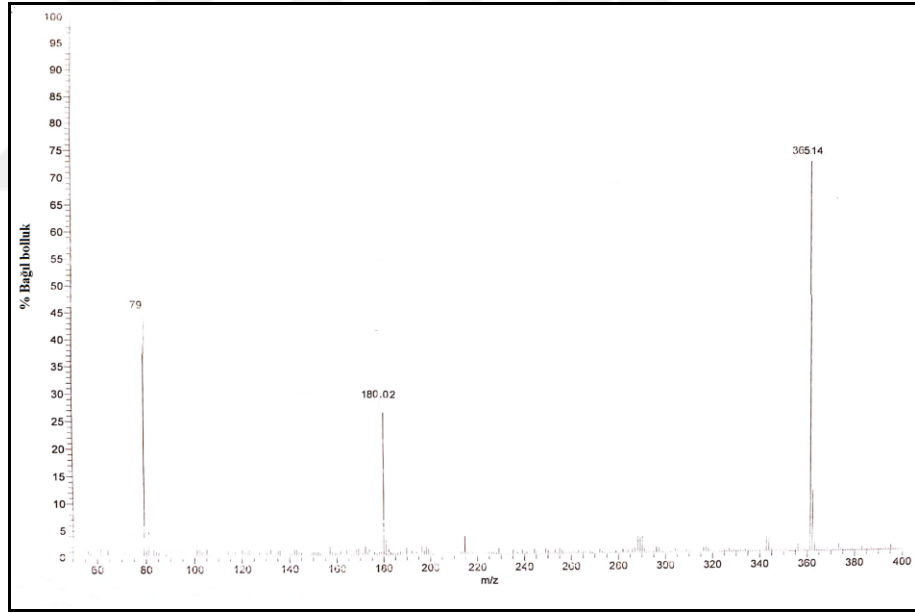
Hesaplanan (%): C, 72.51; H, 4.43; N, 23.06.

Bulunan (%): C, 72.21; H, 4.25; N, 22.85.

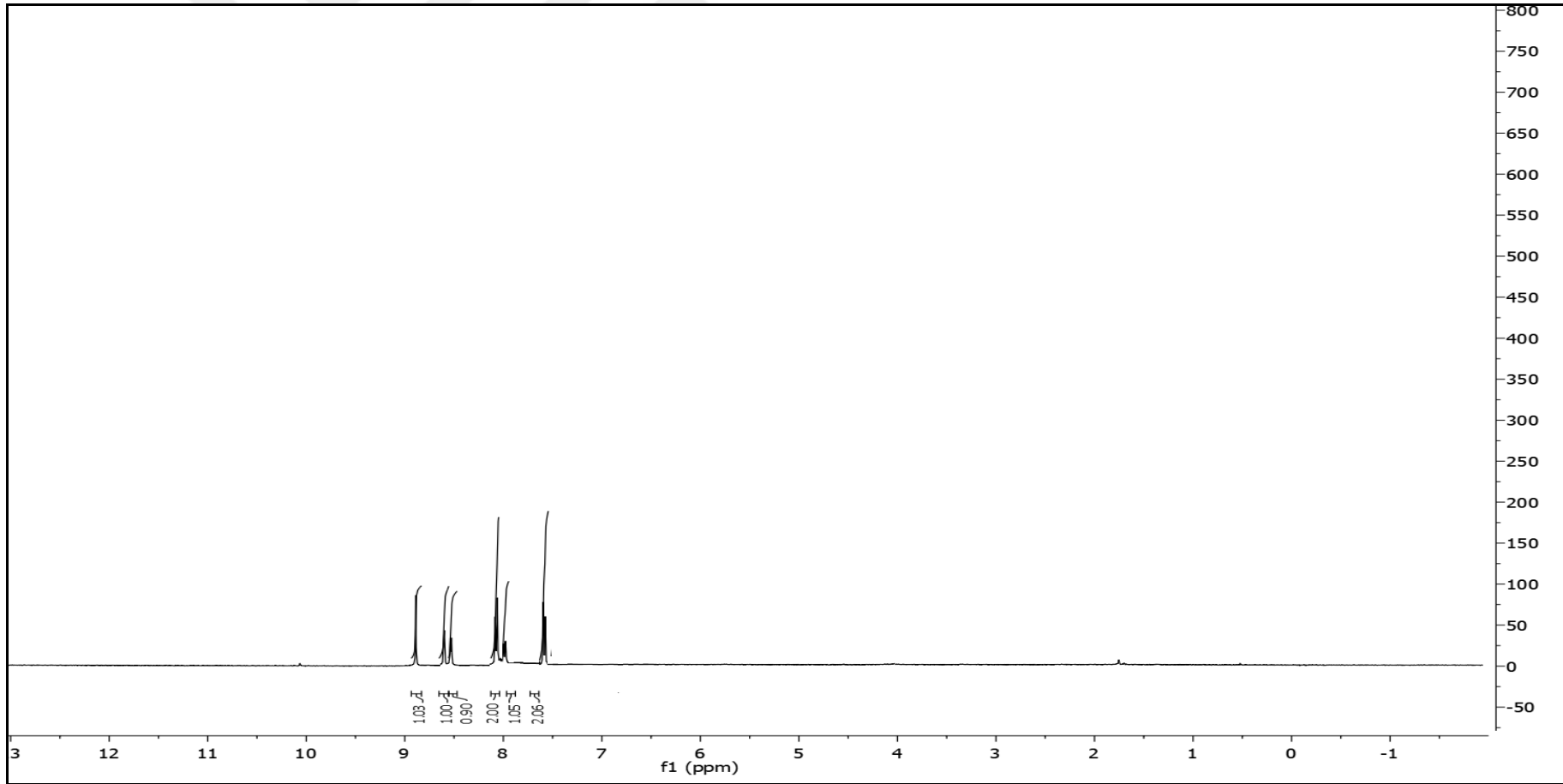




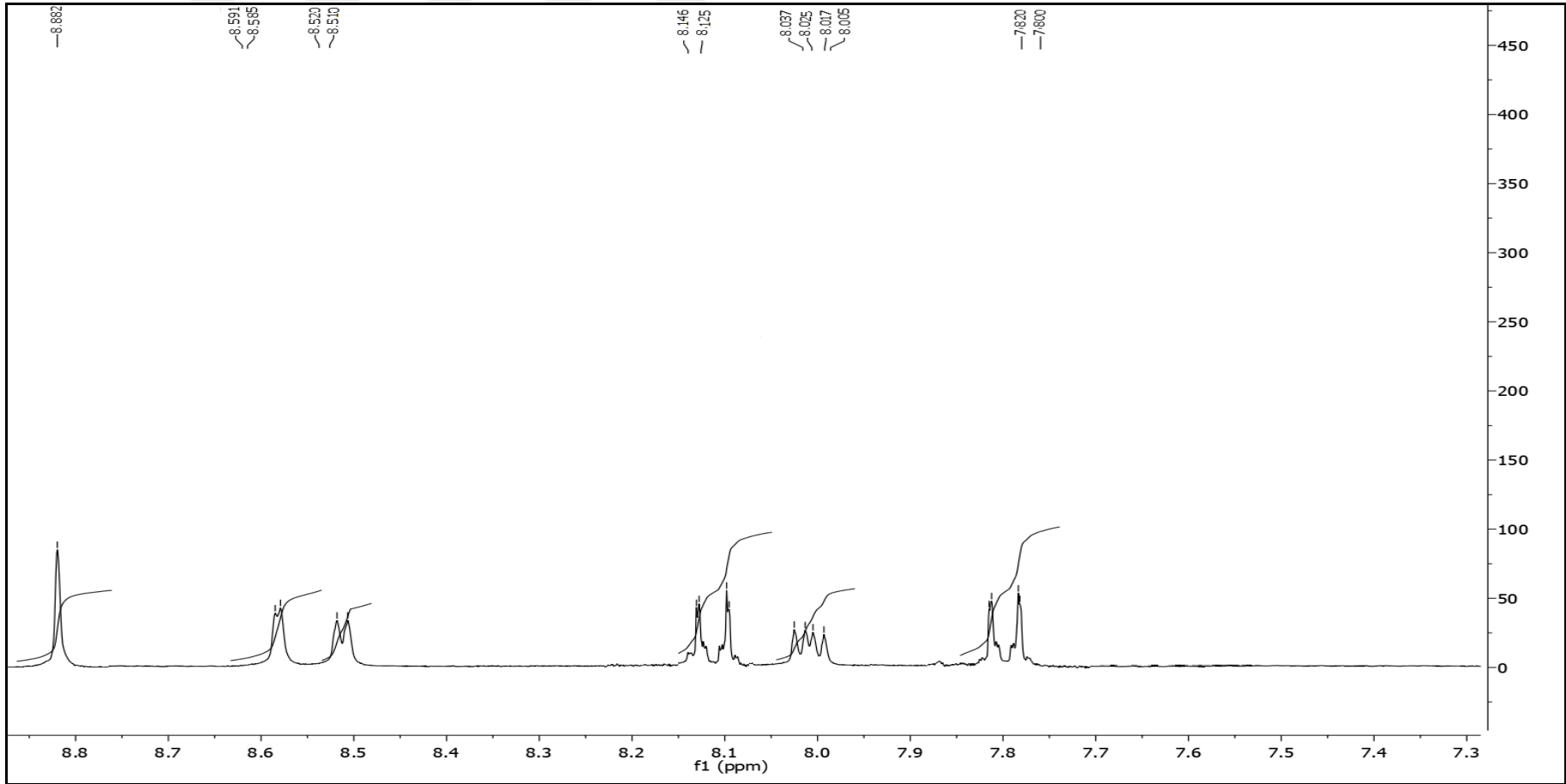
Spektrum No 95. Azo-9 kodlu bileşğin IR spektrumu



Spektrum No 96. Azo-9 kodlu bileşğin kütle spektrumu

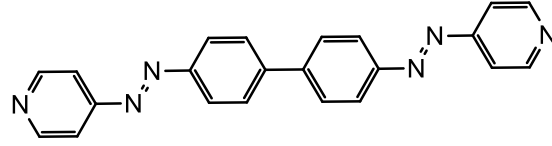


Spektrum No 97. Azo-9 kodlu bileşimin NMR spektrumu



Spektrum No 98. Azo-9 kodlu bileşğin NMR spektrumu

### 1.3.10. Azo-10 kodlu bileşik



4,4'-bis((piridin-4-ildiazenil)-1,1'-bifenil

Verim: % 12, Erime Derecesi: 181 °C

**IR** (Spektrum No 99)

$\nu_{\text{maks}}$  (FT/ATR): 2937, 1593, 1507, 1339, 838, 738  $\text{cm}^{-1}$ .

**MS** (ESI) (Spektrum No 100)

m/z: 365 [M+H]

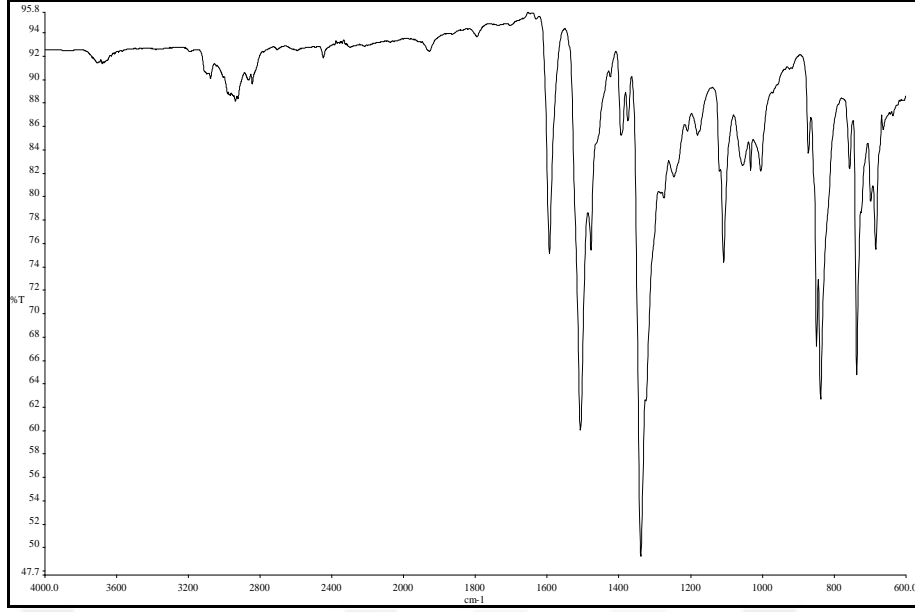
**$^1\text{H}$  NMR** (Spektrum No 101)

(400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.47 (4H, d,  $J= 8.8$  Hz, H-2, H-2', H-6, H-6'), 7.66 (4H, d,  $J= 9.2$  Hz, H-3'', H-5''), 8.09 (4H, d,  $J= 8.4$  Hz, H-3, H-3', H-5, H-5'), 8.24 (4H, d,  $J= 9.2$  Hz, H-2'', H-6'') ppm.

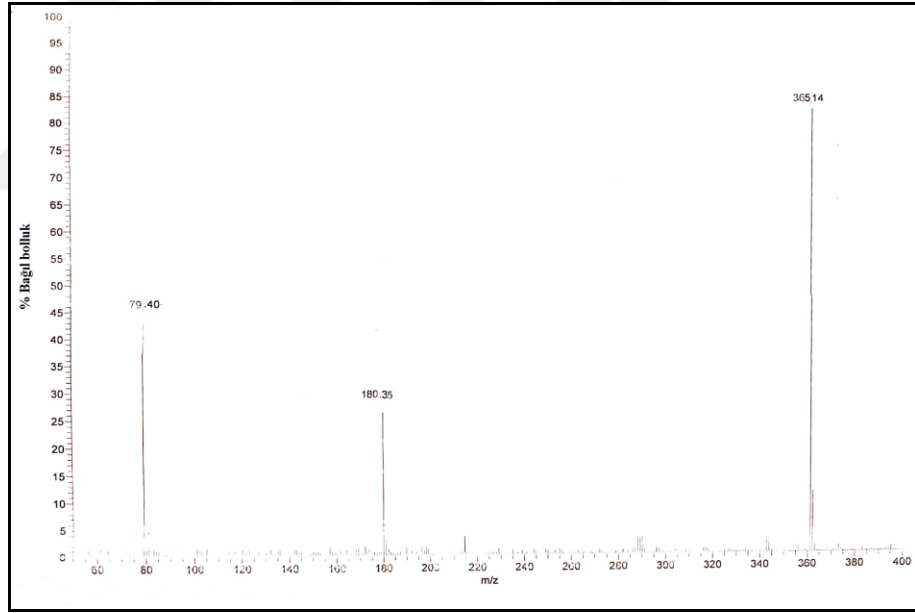
**Elementel Analiz:**  $\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{N}_6$

Hesaplanan (%): C, 72.51; H, 4.43; N, 23.06.

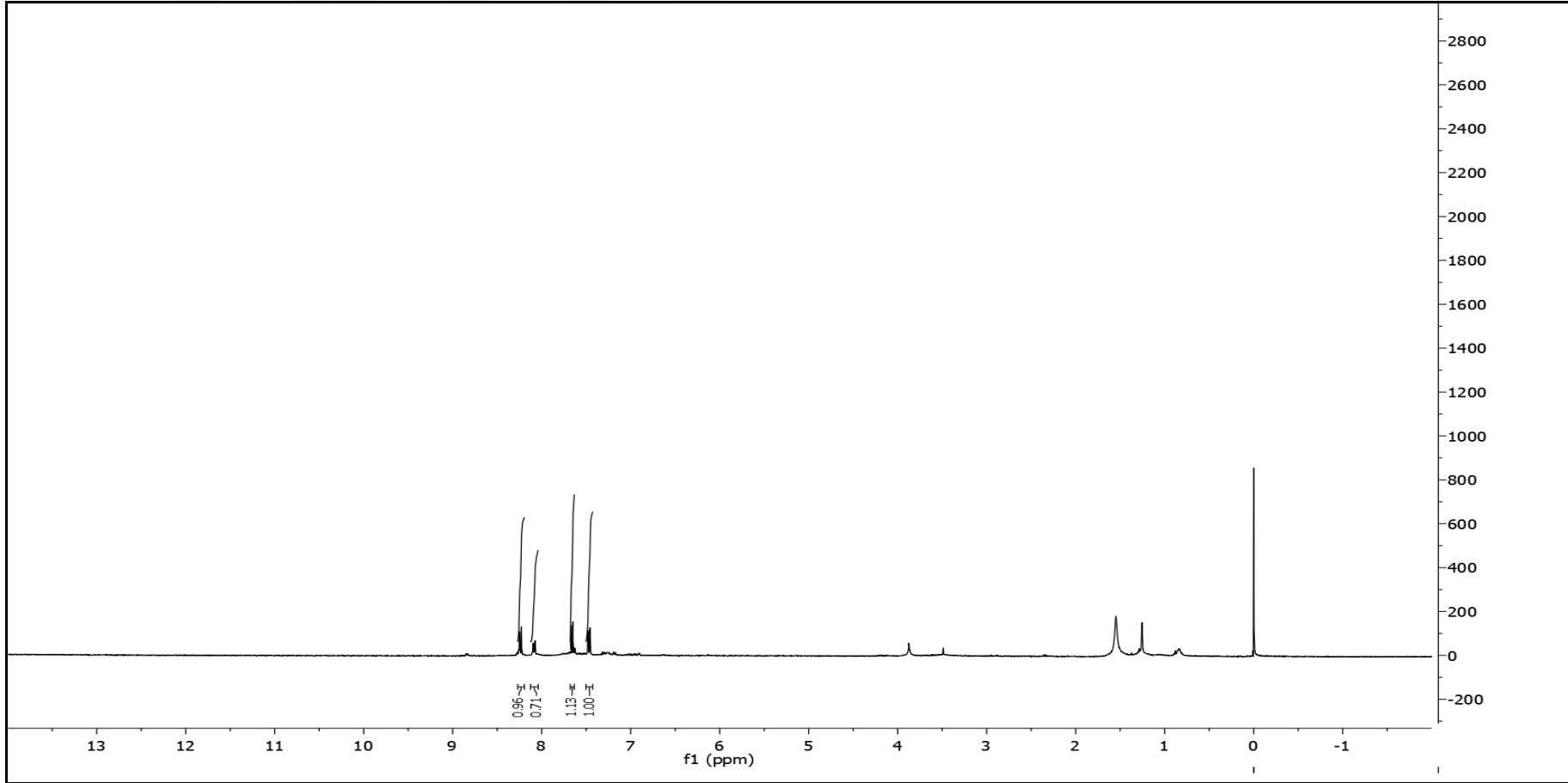
Bulunan (%): C, 72.21; H, 4.25; N, 23.15.



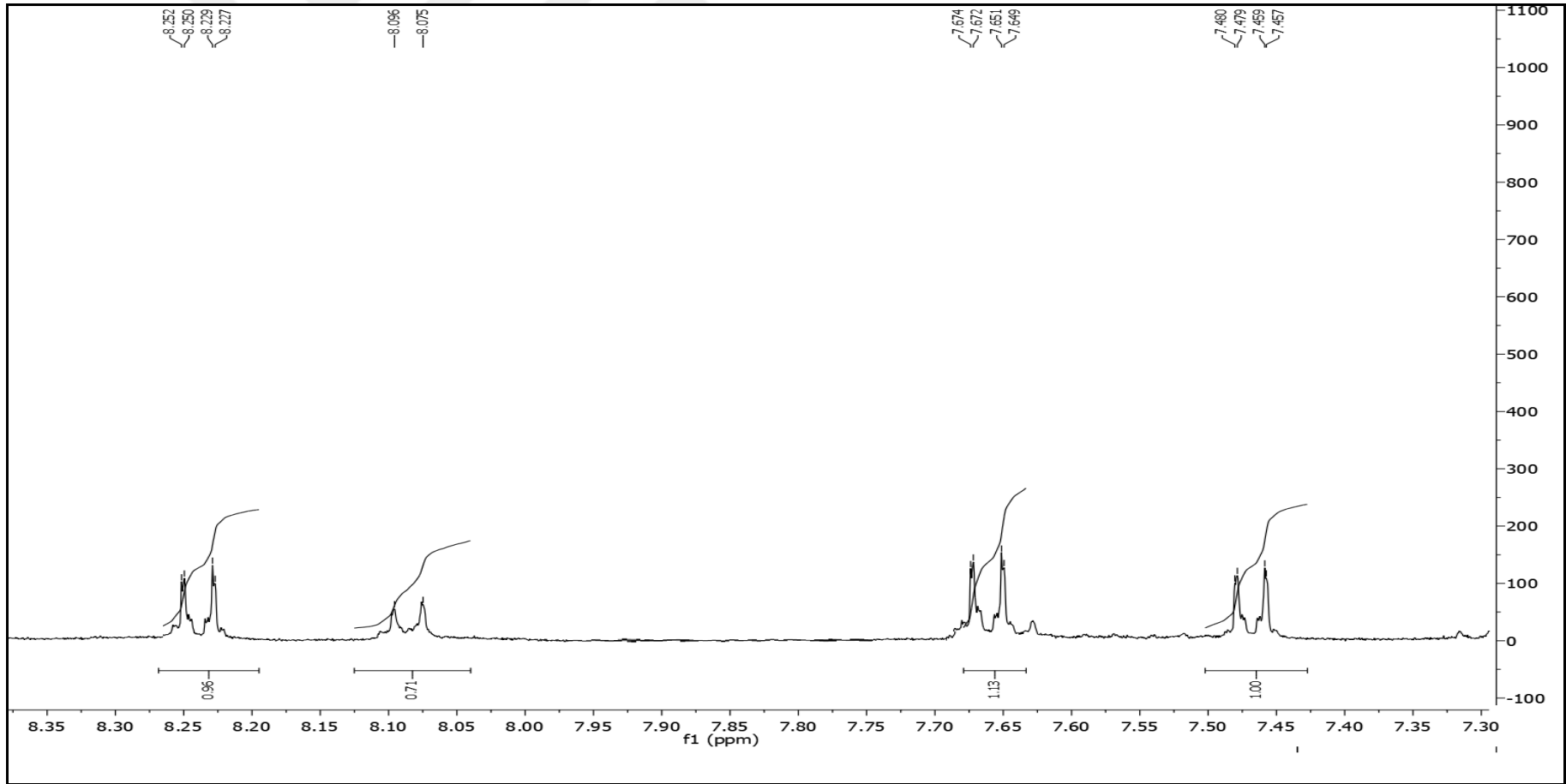
Spektrum No 99. Azo-10 kodlu bileşğin IR spektrumu



Spektrum No 100. Azo-10 kodlu bileşğin kütle spektrumu

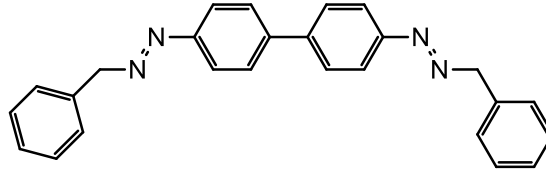


Spektrum No 101. Azo-10 kodlu bileşigin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu



Spektrum No 102. Azo-10 kodlu bileşimin genişletilmiş <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

### 1.3.11. Azo-11 kodlu bileşik



4,4'-bis((benzildiazenil)-1,1'-bifenil

Verim: % 8, Erime Derecesi: 175 °C

**IR** (Spektrum No 103)

$\nu_{\text{maks}}$  (FT/ATR): 3387, 2973, 1615, 1593, 1508, 1342, 825, 693  $\text{cm}^{-1}$ .

**MS** (ESI+) (Spektrum No 104)

m/z: 391 [M+H]

**<sup>1</sup>H NMR** (Spektrum No 105)

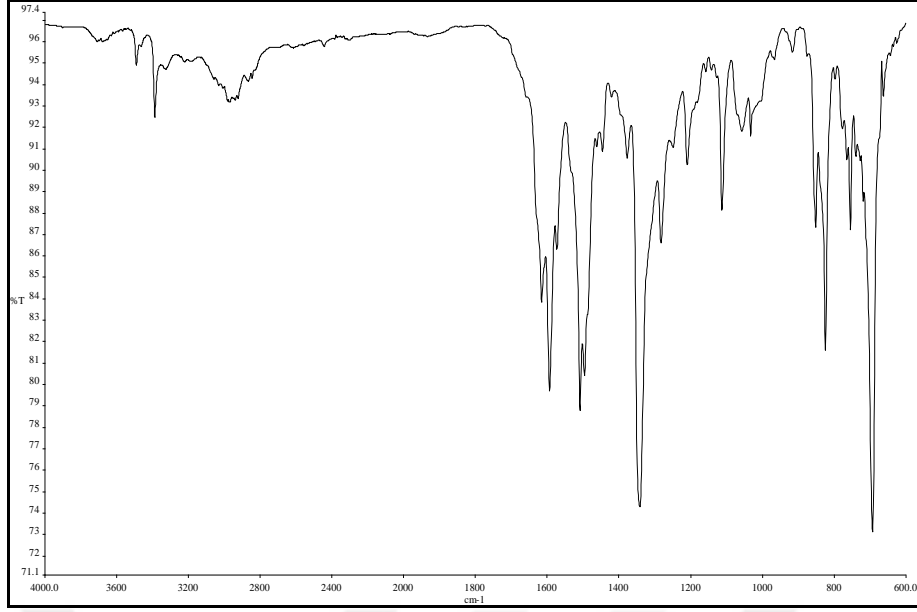
(400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.67 (4H, s, H-2''), 7.23-7.25 (2H, d,  $J= 8.0$  Hz, H-4'''), 7.30-7.38 (8H, m, H-2''', H-3''', H-5''', H-6'''), 7.47 (4H, d,  $J= 8.4$  Hz, H-2, H-2', H-6, H-6'), 7.66 (4H, d,  $J= 8.4$  Hz, H-3, H-3', H-5, H-5) ppm.

**Elementel Analiz:**  $\text{C}_{26}\text{H}_{22}\text{N}_4$

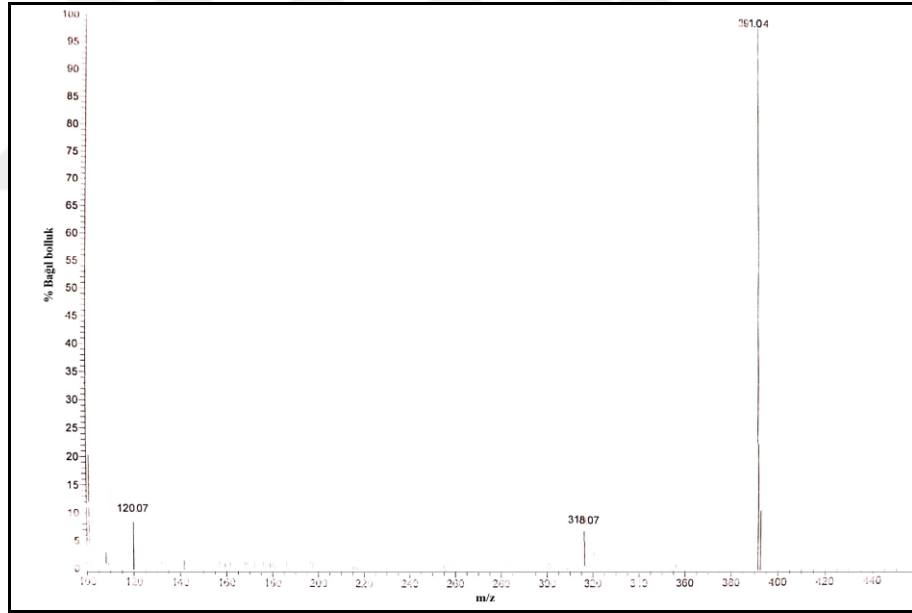
Hesaplanan (%): C, 79.97; H, 5.68; N, 14.35.

Bulunan (%): C, 80.15; H, 5.76; N, 14.42.

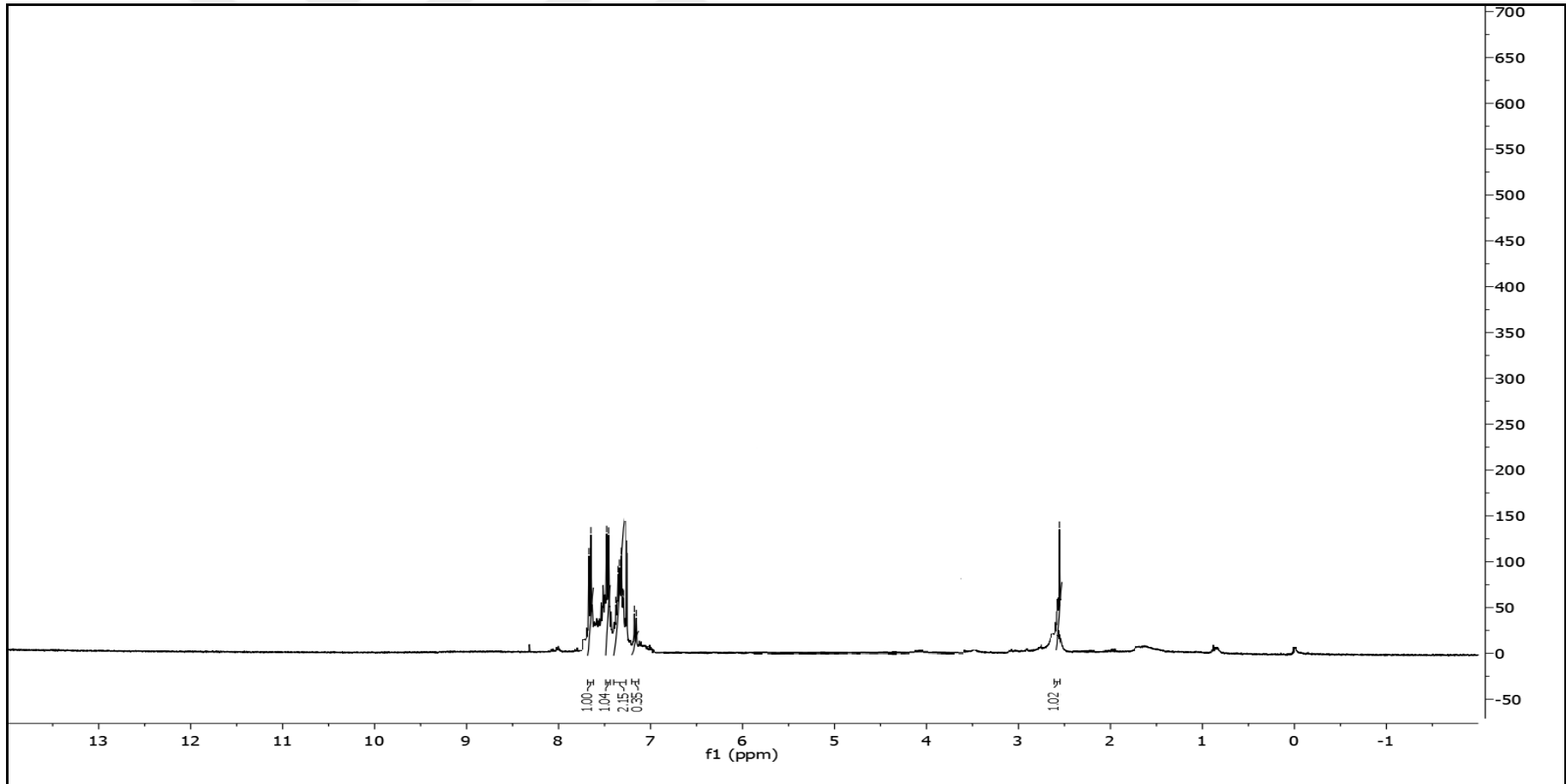




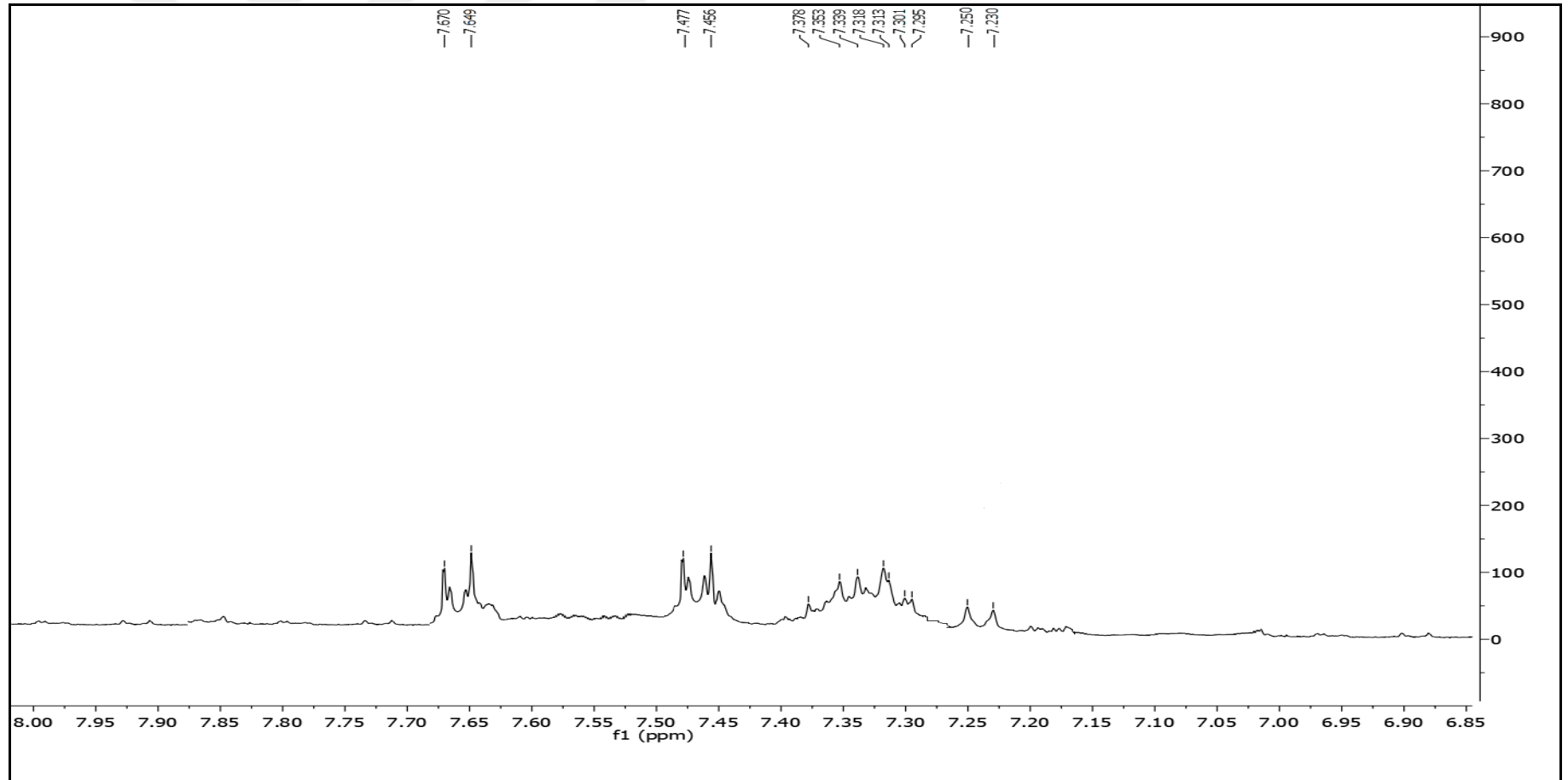
Spektrum No 103. Azo-11 kodlu bileşğin IR spektrumu



Spektrum No 104. Azo-11 kodlu bileşğin kütle spektrumu

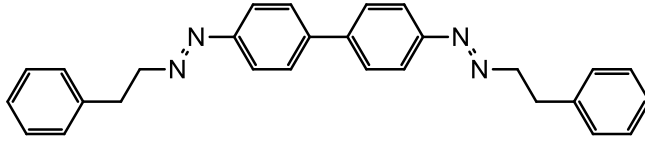


Spektrum No 105. Azo-11 kodlu bileşigin  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu



Spektrum No 106. Azo-11 kodlu bileşigin genişletilmiş <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

### 1.3.12. Azo-12 kodlu bileşik



4,4'-bis(fenetildiazenil)-1,1'-bifenil

Verim: % 8, Erime Derecesi: 254 °C

**IR** (Spektrum No 107)

$\nu_{\text{maks}}$  (FT/ATR): 3077, 1594, 1502, 1342, 1109, 838, 740  $\text{cm}^{-1}$ .

**MS** (ESI+) (Spektrum No 108)

m/z: 419 [M+H]

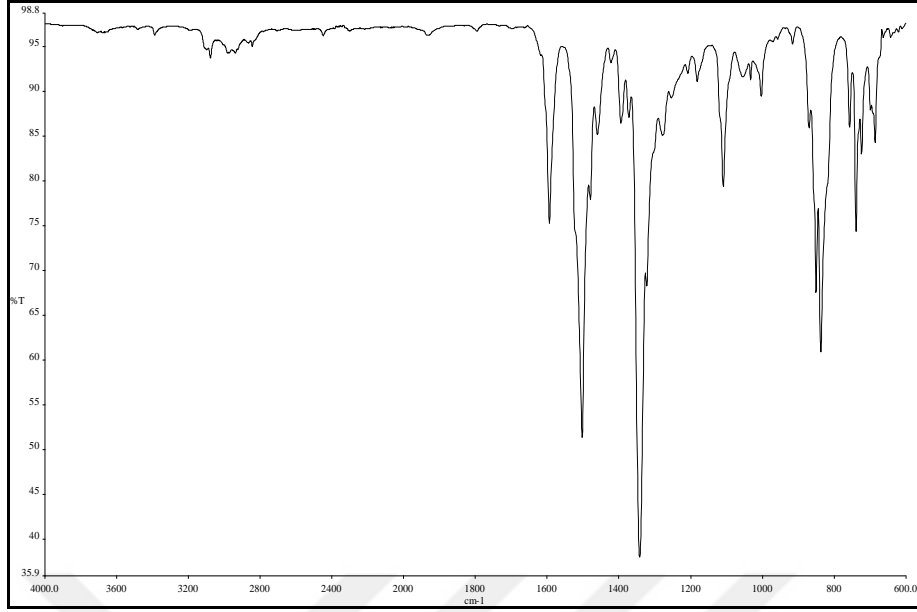
**$^1\text{H}$  NMR** (Spektrum No 109)

(400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.82 (4H, t,  $J = 7.2$  Hz, H-2''), 2.91 (4H, t,  $J = 7.2$  Hz, H-1''), 7.26-7.28 (2H, m, H-4'''), 7.30 (4H, dt,  $J_1 = 1.2$  Hz  $J_2 = 7.2$  Hz, H-2''', H-6'''), 7.32-7.35 (4H, m, H-3''', H-5'''), 7.41 (4H, dd,  $J_1 = 1.2$  Hz  $J_2 = 6.4$  Hz, H-2, H-2', H-6, H-6'), 7.68 (4H, d,  $J = 6.8$  Hz, H-3, H-3', H-5, H-5) ppm.

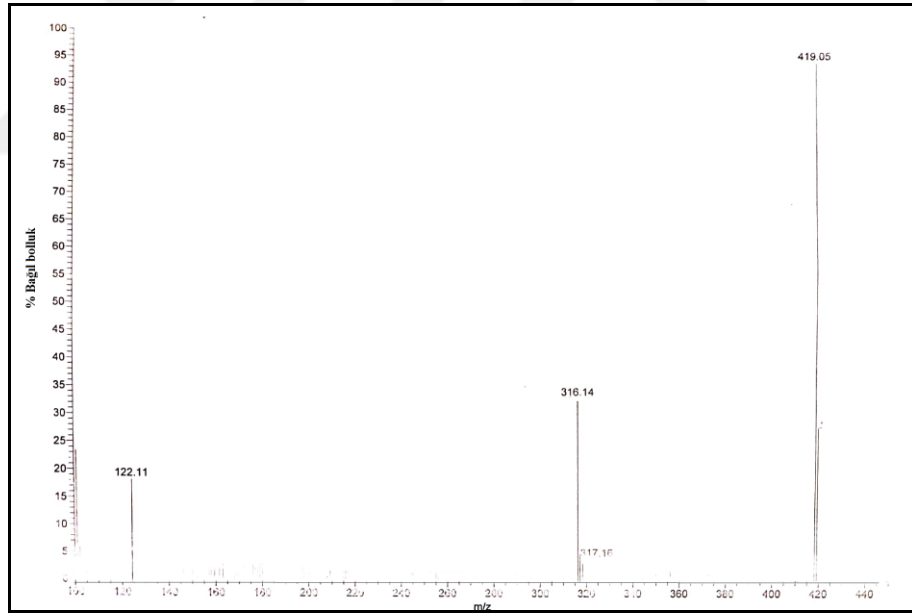
**Elementel Analiz:**  $\text{C}_{28}\text{H}_{26}\text{N}_4$

Hesaplanan (%): C, 80.35; H, 6.26; N, 13.39.

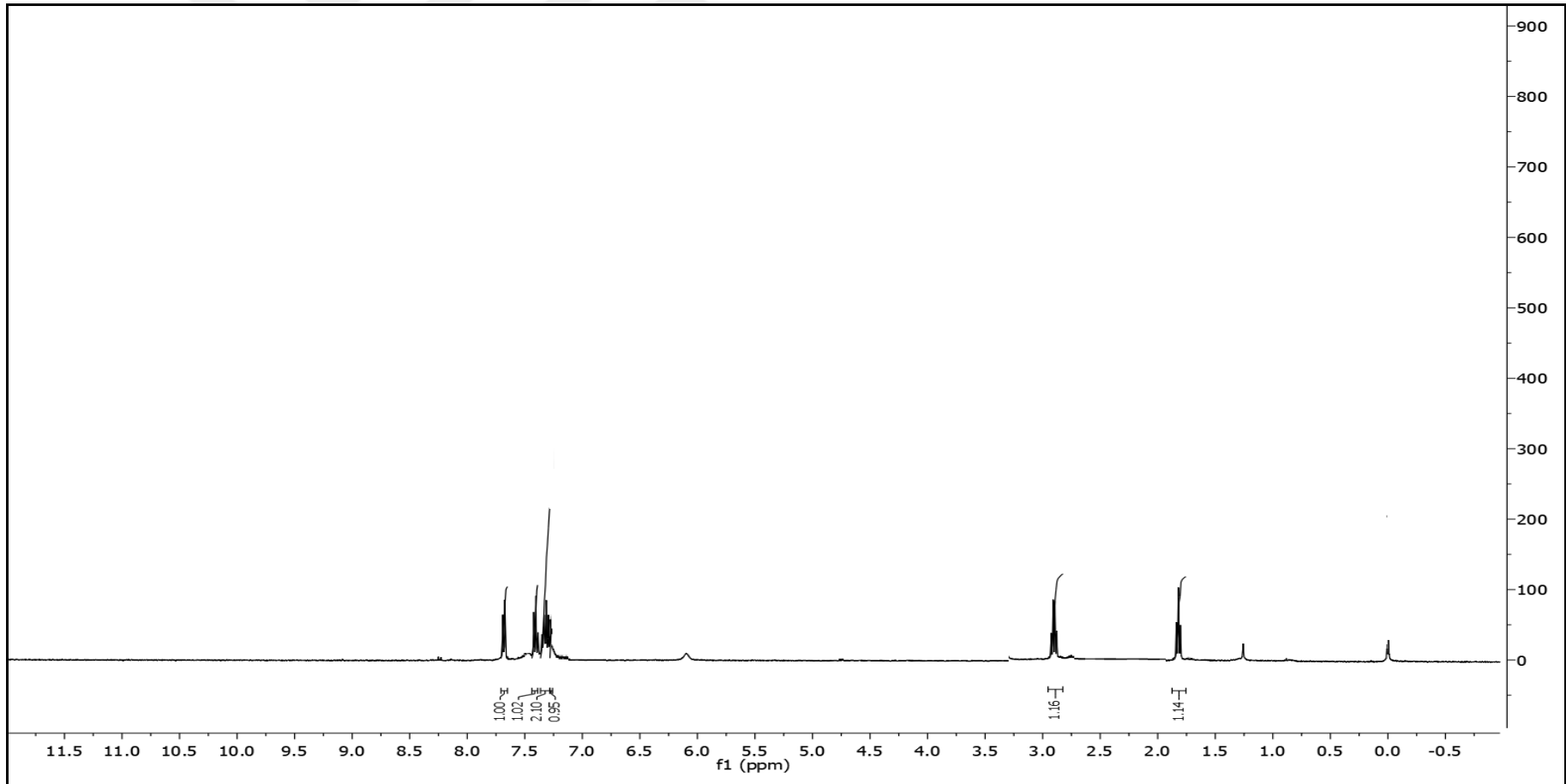
Bulunan (%): C, 80.47; H, 6.31; N, 13.55.



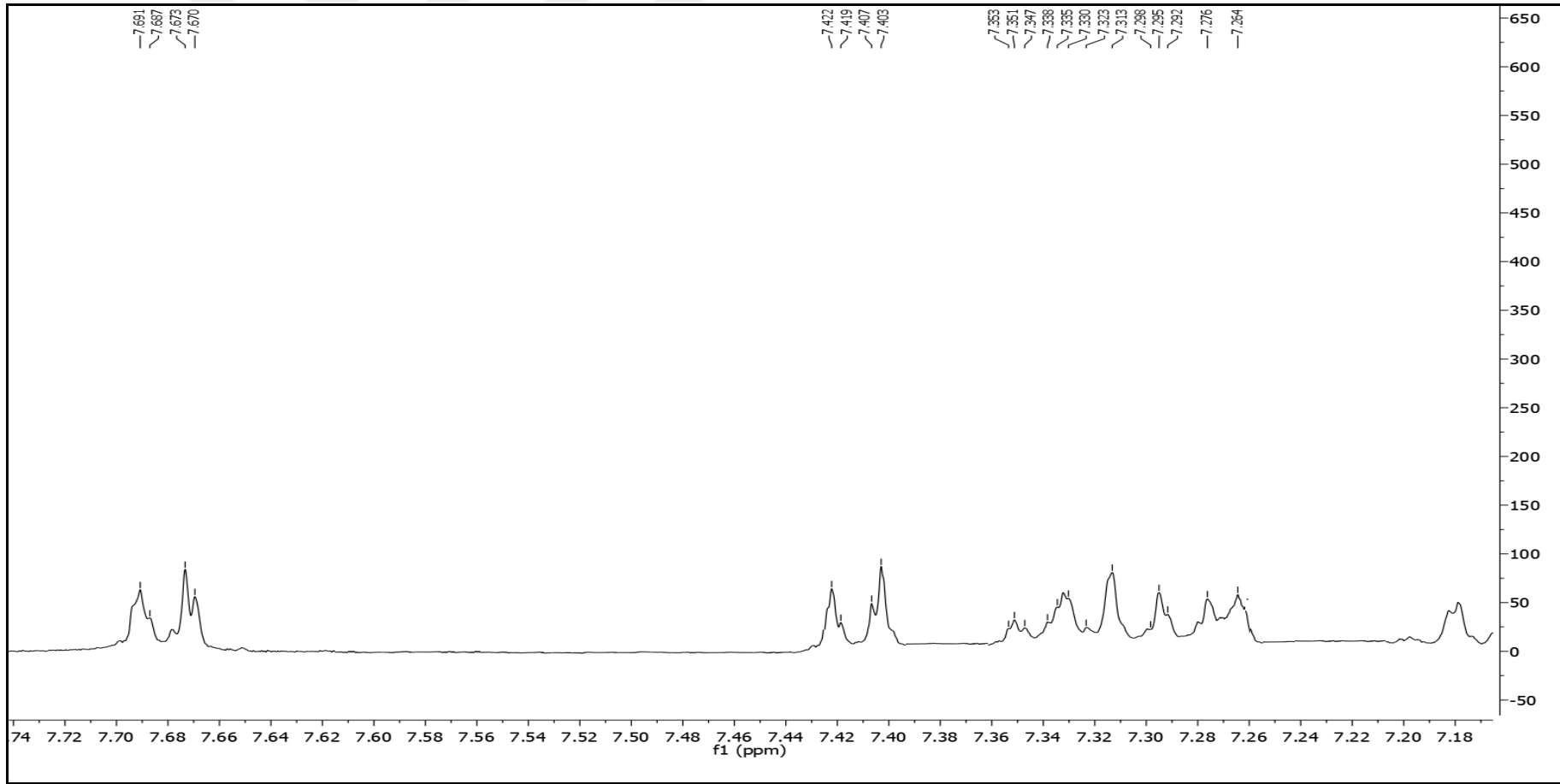
Spektrum No 107. Azo-12 kodlu bileşğin IR spektrumu



Spektrum No 108. Azo-12 kodlu bileşğin kütle spektrumu

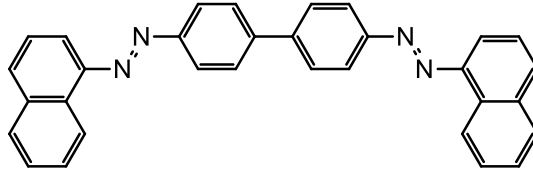


Spektrum No 109. Azo-12 kodlu bileşigin  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu



Spektrum No 110. Azo-12 kodlu bileşimin genişletilmiş <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

### 1.3.13. Azo-13 kodlu bileşik



4,4'-bis(naftalen-1-ildiazenil)-1,1'-bifenil

Verim: % 5, Erime Derecesi: 278 °C

**IR** (Spektrum No 111)

$\nu_{\text{maks}}$  (FT/ATR): 3043, 2960, 1623, 1574, 1512, 1404, 1289, 1013, 788, 767  $\text{cm}^{-1}$ .

**MS** (ESI+) (Spektrum No 112)

m/z: 463 [M+H]

**$^1\text{H}$  NMR** (Spektrum No 113)

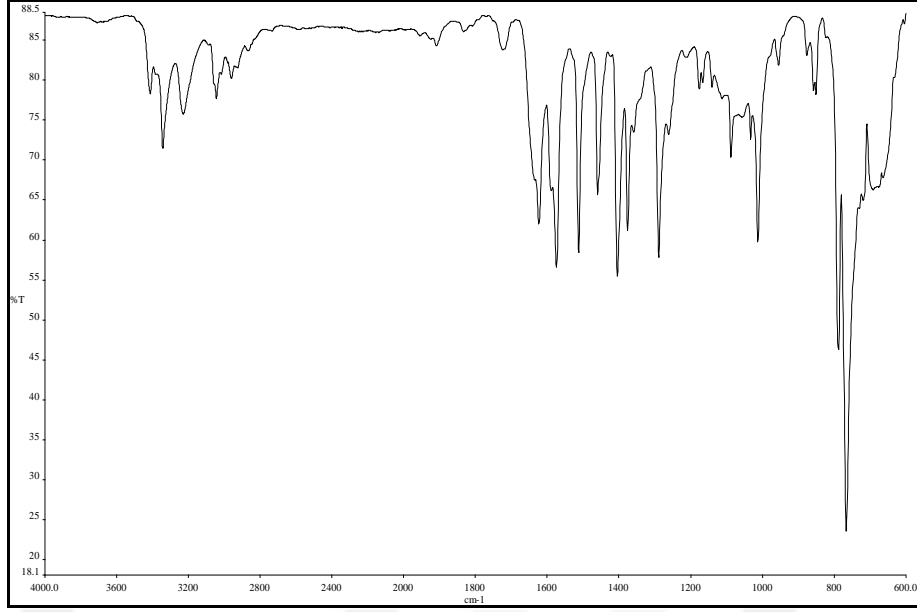
(400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.63-7.74 (6H, m, H-3'', H-6'', H-7''), 7.77-7.79 (6H, m, H-2'', H-4'', H-5''), 8.25 (4H, d,  $J= 7.8$  Hz, H-2, H-2', H-6, H-6'), 8.30 (4H, d,  $J= 9.2$  Hz, H-3, H-3', H-5, H-5'), 8.36 (2H, d,  $J= 8.8$  Hz, H-8'') ppm.

**Elementel Analiz:**  $\text{C}_{32}\text{H}_{22}\text{N}_4$

Hesaplanan (%): C, 83.09; H, 4.79; N, 12.11.

Bulunan (%) : C,83.22; H, 4.89; N, 12.20.

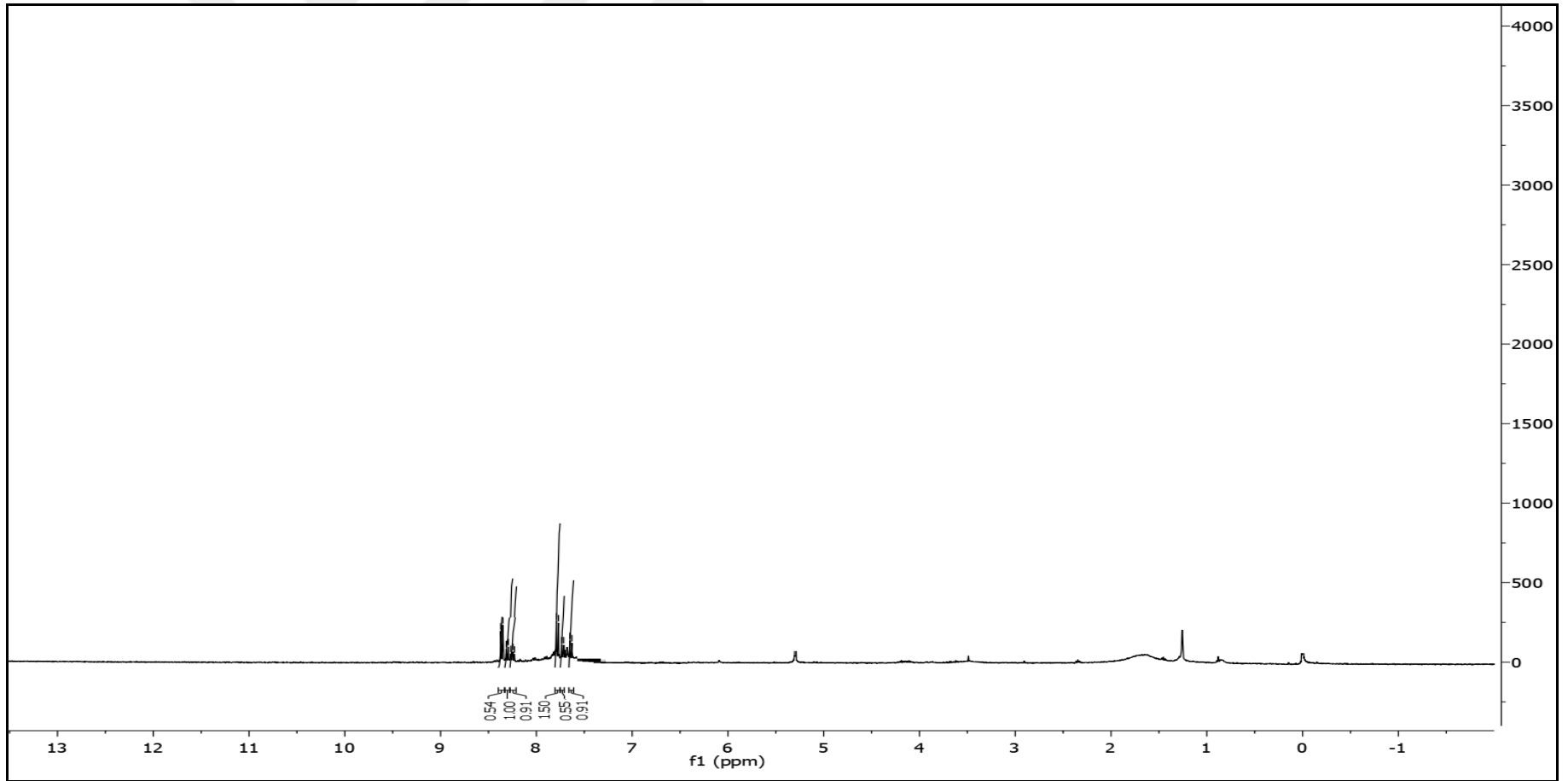




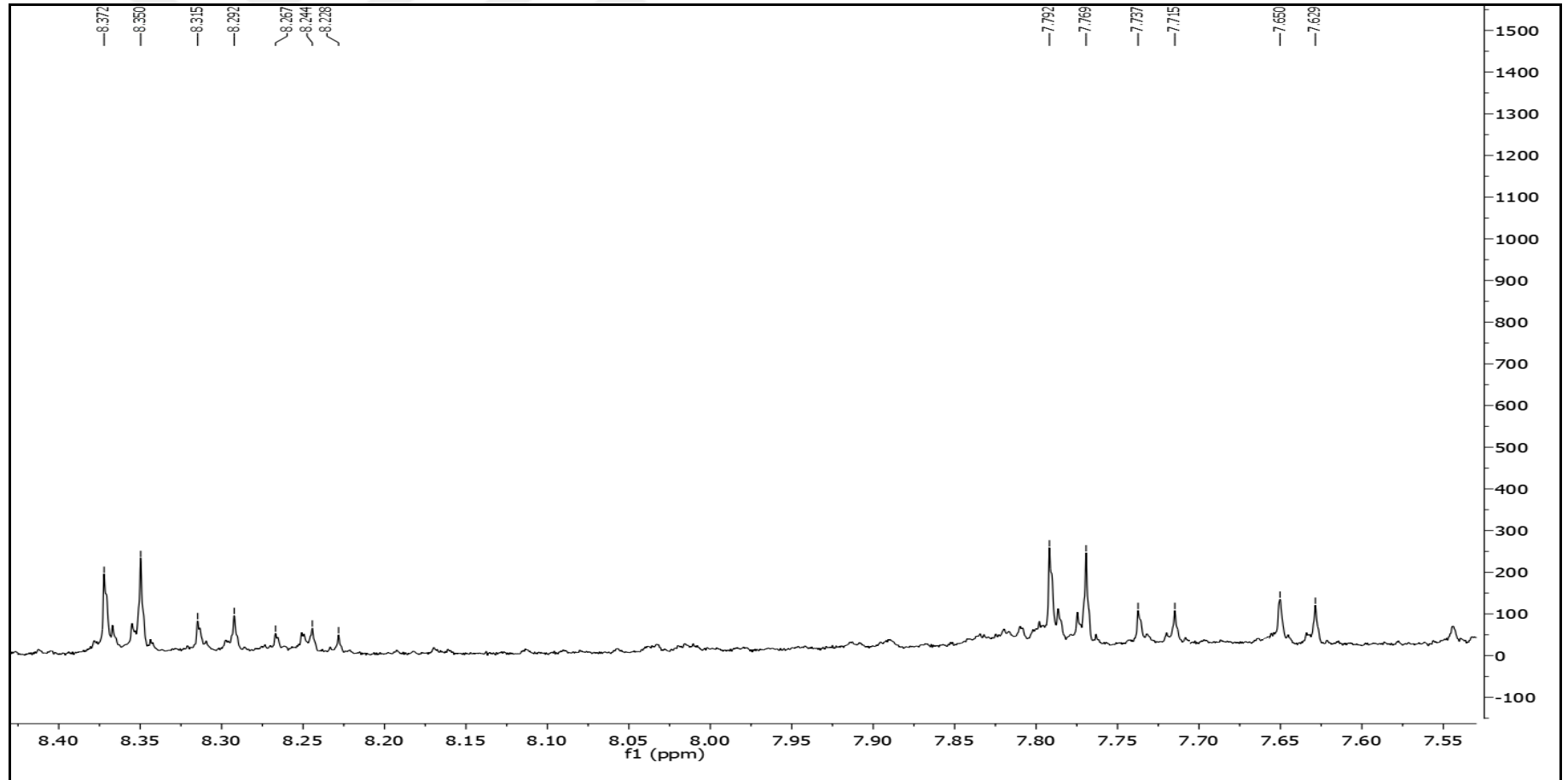
Spektrum No 111. Azo-13 kodlu bileşğin IR spektrumu



Spektrum No 112. Azo-13 kodlu bileşğin kütle spektrumu

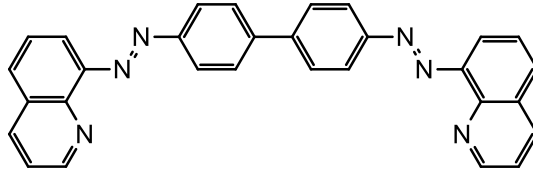


Spektrum No 113. Azo-13 kodlu bileşigin  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu



Spektrum No 114. Azo-13 kodlu bileşigin genişletilmiş <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

### 1.3.14. Azo-14 kodlu bileşik



4,4'-bis(kinolin-8-ildiazenil)-1,1'-bifenil

Verim: % 19, Erime Derecesi: 182 °C

**IR** (Spektrum No 115)

$\nu_{\text{maks}}$  (FT/ATR): 3085, 1614, 1592, 1505, 1369, 1336, 819, 789, 753  $\text{cm}^{-1}$ .

**MS** (ESI+) (Spektrum No 116)

m/z: 465 [M+H]

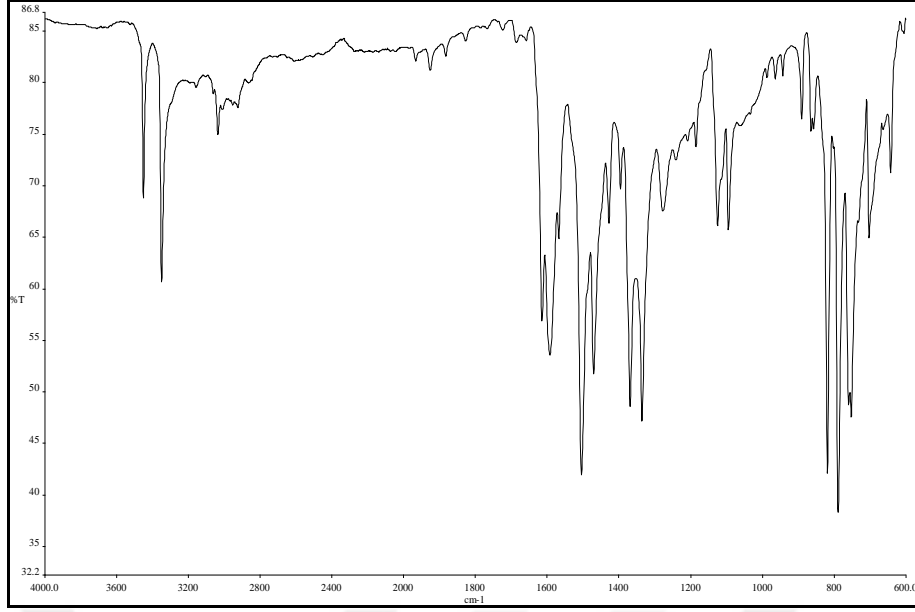
**$^1\text{H}$  NMR** (Spektrum No 117)

(400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.70-7.84 (10H, m, H-2, H-2', H-6, H-6', H-3'', H-6'', H-7'')  
8.07-8.09 (2H, m, H-4'' veya H-5''), 8.32-8.34 (2H, m, H-4'' veya H-5''), 8.35-8.38  
(6H, m, H-3, H-3', H-5, H-5', H-2'') ppm.

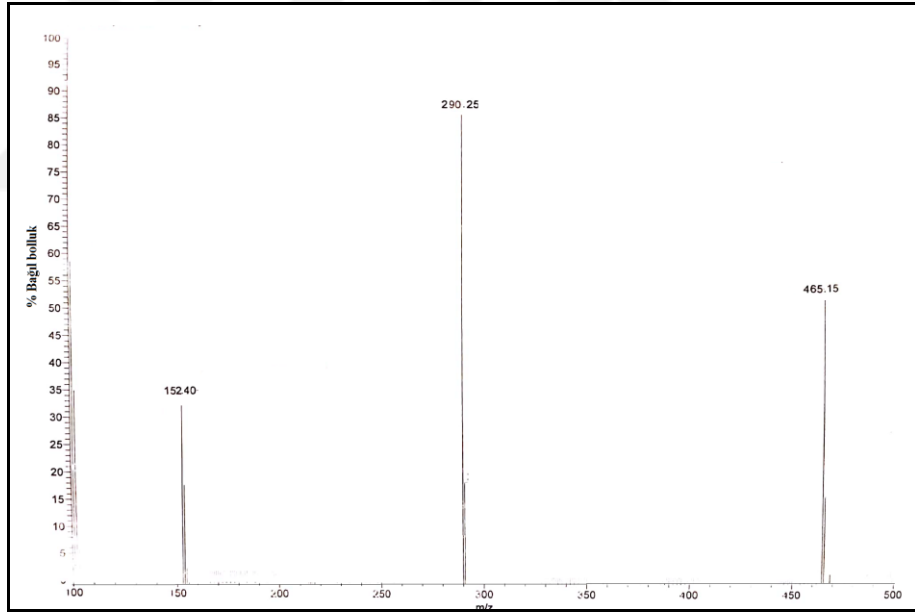
**Elementel Analiz:**  $\text{C}_{30}\text{H}_{20}\text{N}_6$

Hesaplanan (%): C, 77.57; H, 4.34; N, 18.09.

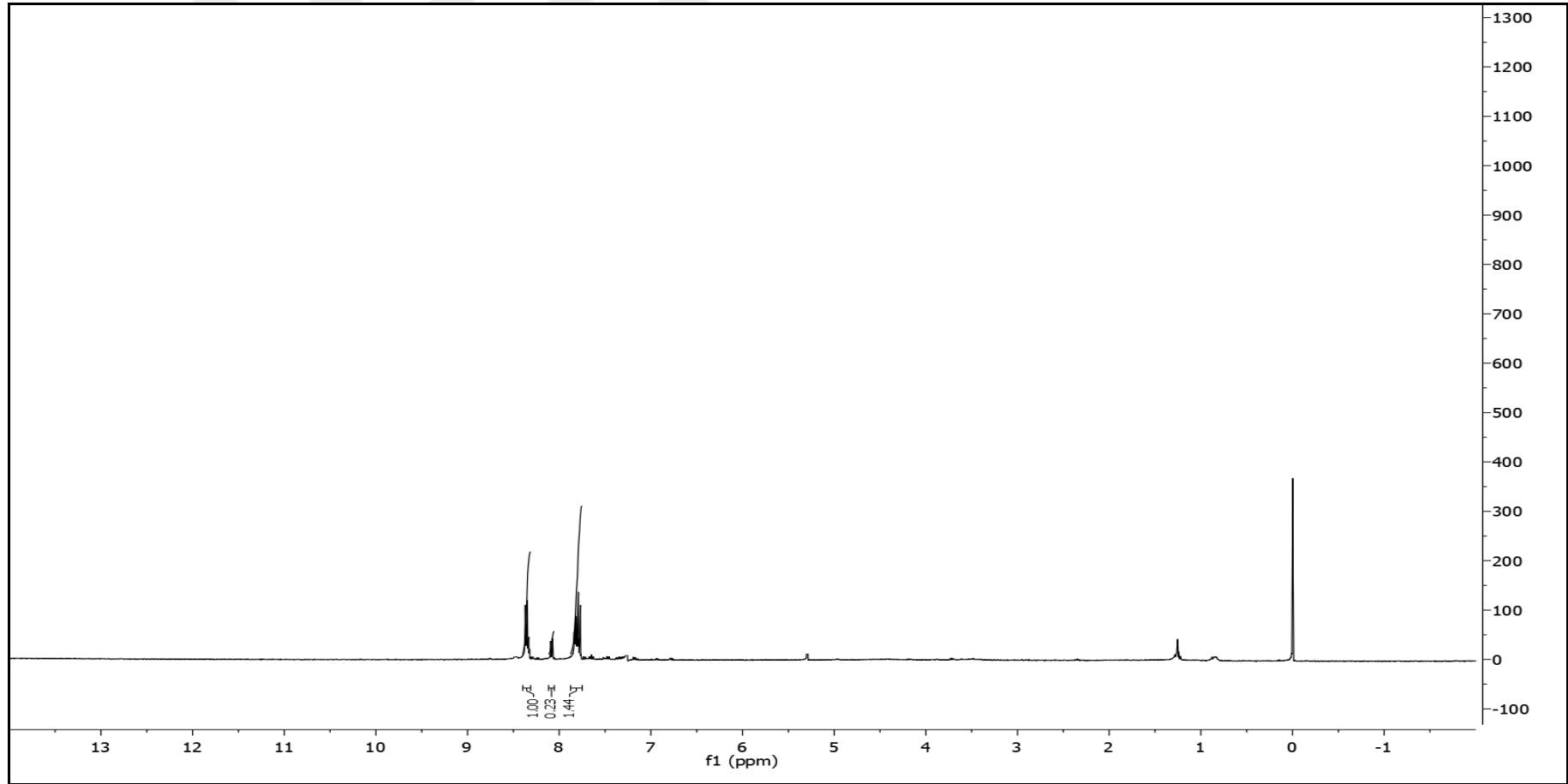
Bulunan (%): C, 77.75; H, 4.46; N, 18.12.



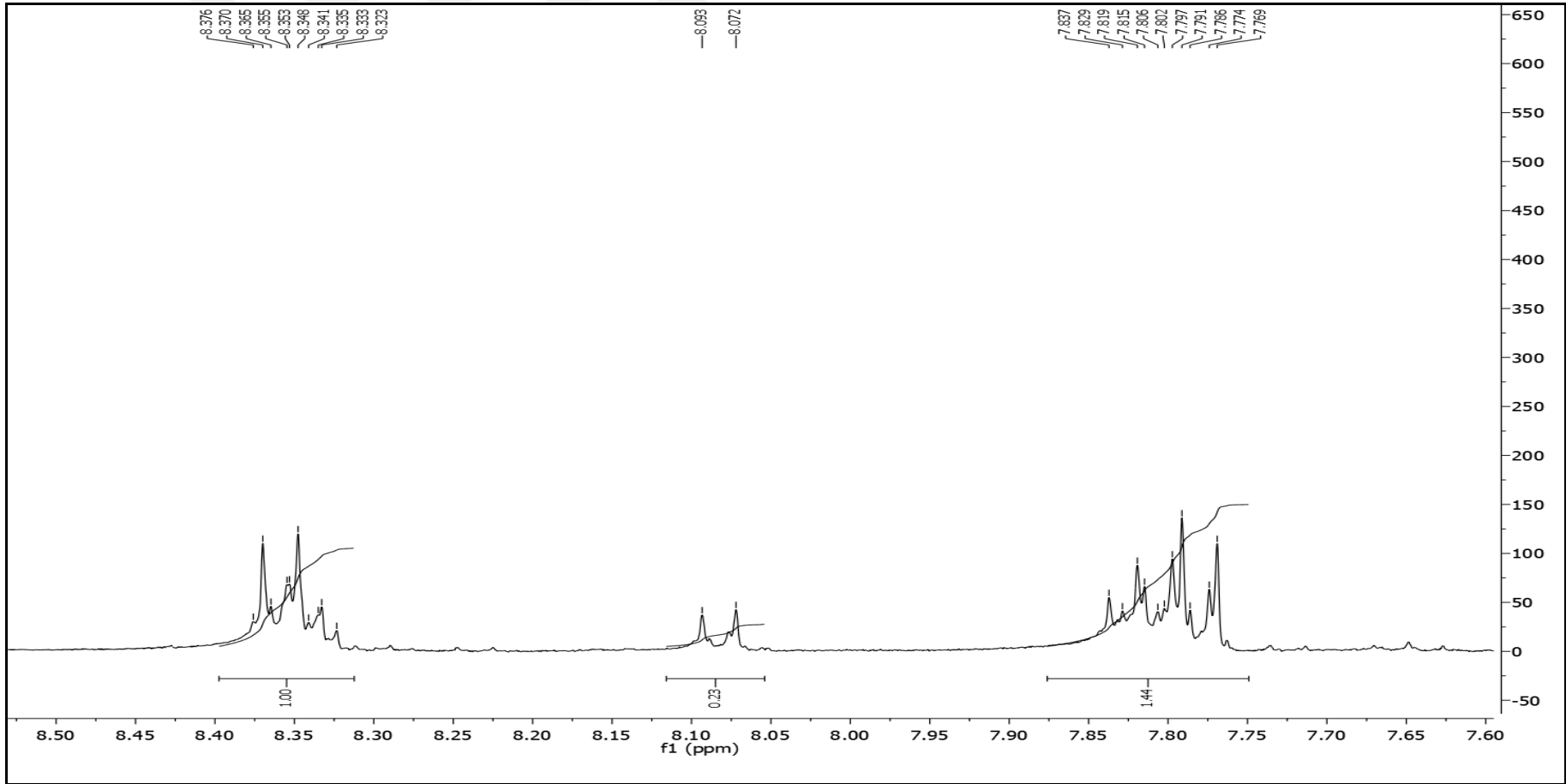
Spektrum No 115. Azo-14 kodlu bileşğin IR spektrumu



Spektrum No 116. Azo-14 kodlu bileşğin kütle spektrumu



Spektrum No 117. Azo-14 kodlu bileşğin  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu



Spektrum No 118. Azo-14 kodlu bileşimin genişletilmiş  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu

## 2. Biyolojik Aktivite Bulguları

Bileşik	AChE	BuChE	AChE/BuChE
	IC <sub>50</sub> (μM) ± SEM		Selektivite
İmin-1	6.73 ± 0.08	>100 (107)	
İmin-2	6.88 ± 0.22	30.43 ± 0.73	0.23
İmin-3	8.24 ± 0.21	79.31 ± 5.80	0.10
İmin-4	7.46 ± 0.28	>100	
İmin-5	6.47 ± 0.18	>100 (161.4)	
İmin-6	7.65 ± 0.68	69.47 ± 3.60	0.11
İmin-7	10.51 ± 0.17	41.72 ± 0.73	0.25
İmin-8	14.69 ± 0.50	77.03 ± 5.34	0.19
İmin-9	9.85 ± 0.38	50.71 ± 0.40	0.19
İmin-10	11.66 ± 0.33	>100	
İmin-11	8.70 ± 0.16	63.76 ± 3.35	0.13
İmin-12	8.02 ± 0.71	>100	
İmin-13	8.61 ± 0.18	46.52 ± 1.84	0.19
İmin-14	11.49 ± 0.46	>100 (280)	
Azo-1	7.76 ± 0.15	>100	
Azo-2	7.06 ± 0.27	>100	
Azo-3	7.33 ± 0.10	27.83 ± 0.89	0.26
Azo-4	8.22 ± 0.33	>100	
Azo-5	7.21 ± 0.14	>100 (103.3)	
Azo-6	8.79 ± 0.21	>100	
Azo-7	16.22 ± 0.45	78.16 ± 5.66	0.21
Azo-8	6.26 ± 0.14	>100	
Azo-9	9.60 ± 0.24	>100	
Azo-10	7.25 ± 0.99	>100 (298)	



Azo-11	8.98 ± 0.16	2.72 ± 0.15	3.30
Azo-12	14.71 ± 0.45	>100 (119.7)	
Azo-13	7.89 ± 0.22	>100	
Azo-14	5.77 ± 0.20	>100	
<b>Takrin</b>	0.075 ± 0.02	0.0098 ± 0.0002	
<b>Galantamin</b>	0.43 ± 0.03	14.92 ± 0.57	

Tablo 3. Sentezlenen bileşiklerin kolinesteraz inhibisyon değerleri

Bileşik	A $\beta$ <sub>1-42</sub> fibril oluşumu üzerinde % inhibisyon	
	25 $\mu$ M	100 $\mu$ M
İmin-1	10.98	27.03
İmin-2	15.16	31.43
İmin-3	-	7.69
İmin-4	-	6.55
İmin-5	17.36	20.00
İmin-6	-	23.35
İmin-7	-	-
İmin-8	15.90	24.04
İmin-9	19.17	22.89
İmin-10	4.67	22.92
İmin-11	-	15.64
İmin-12	-	17.75
İmin-13	10.42	24.82
İmin-14	25.56	39.38
Azo-1	11.51	31.36
Azo-2	5.21	33.80
Azo-3	17.85	38.01

Azo-4	22.20	40.56
Azo-5	55.35	74.08
Azo-6	37.87	54.99
Azo-7	14.11	17.60
Azo-8	17.55	25.52
Azo-9	61.36	78.39
Azo-10	15.79	20.76
Azo-11	38.41	64.10
Azo-12	21.80	31.87
Azo-13	33.85	52.33
Azo-14	20.73	43.33
<b>Kurkumin</b>	92.79	98.38

- : aktivite saptanamamıştır.

Tablo 4. Sentezlenen bileşiklerin A $\beta$  agregasyonunun inhibisyon değerleri

### 3. Log P Bulguları

<b>Bileşik</b>	<b>Hesaplanan Log P</b>	<b>Log P</b>	<b>Bileşik</b>	<b>Hesaplanan Log P</b>	<b>Log P</b>
İmin-1	7.30	7.44	Azo-1	8.60	8.58
İmin-2	6.52	6.67	Azo-2	7.72	7.8
İmin-3	8.12	8.42	Azo-3	9.44	9.56
İmin-4	7.20	7.19	Azo-4	8.30	8.33
İmin-5	8.35	8.56	Azo-5	9.61	9.7
İmin-6	5.82	5.95	Azo-6	6.35	6.37
İmin-7	6.43	6.56	Azo-7	7.28	7.71
İmin-8	6.15	6.21	Azo-8	7.30	7.34
İmin-9	4.73	4.77	Azo-9	5.80	5.91
İmin-10	4.75	4.77	Azo-10	5.82	5.91
İmin-11	7.45	7.58	Azo-11	8.70	8.72
İmin-12	8.03	8.14	Azo-12	8.17	8.28
İmin-13	9.42	9.44	Azo-13	10.52	10.58
İmin-14	7.56	7.61	Azo-14	8.75	8.75

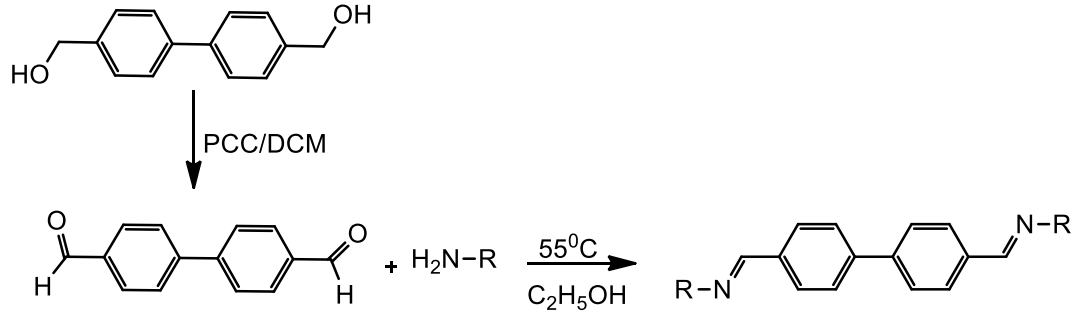
Tablo 5. Sentezlenen bileşiklerin **Log P** değerleri

## TARTIŞMA

Literatür verilerinden hareketle, A $\beta$  agregasyonunun inhibisyonunda düzlemselliğin, aromatikliğin, molekülün ucunda bir veya daha fazla sayıda polar, hidrojen bağı yapabilen bir sübstitüent varlığının ve bağlayıcı uzunluğunun (8-16 Å) önemli olduğu sonucuna varılmıştır (37, 43, 54). Çalışmamızda, bu veriler ışığında AH tedavisinde A $\beta$  agregasyon inhibitörü olarak iki seri halinde 28 adet bileşiğin sentezi gerçekleştirilmiştir.

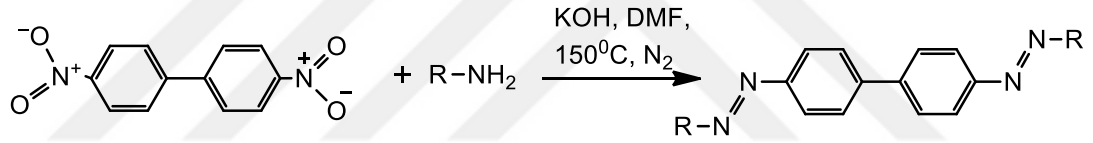
Düzlemselliğin sağlanması amacıyla, sentezlenen tüm bileşiklerin merkezinde bifenil halka sistemi kullanılmış ve sistemin her iki ucuna imin ve azo yapılarının getirilmesi ile düzlemsellik devam ettirilmiştir. Aktivite için molekülün her iki ucunda aromatik bir yapının gerekli olduğu bilgisinden yola çıkılarak benzen, naftalen, kinolin ve piridin halkaları ilave edilmiştir. Piridin halkası farklı konumlarından sübstitüe edilmiştir. Uç aromatik yapı olarak benzen halkasının seçildiği bileşiklerde elektron akseptörü veya donörü çeşitli sübstitüentler kullanılmıştır. Düzlemselliğin aktivite üzerine etkilerini doğrulamak amacıyla, molekülün her iki ucuna benzil veya fenetil yapıları ilave edilmiştir. Oluşturulan molekül yapılarının uzunluğu ölçüldüğünde 16-18.1 Å aralığında bulunmuştur.

Tasarlanan iki seriden imin türevi olan bileşikler: bifenil halka sisteminin her iki ucunda imin yapısı taşıyan bileşikler olup, 9 tanesi orijinal olmak üzere toplam 14 bileşiktir. Bu serinin sentezi için ilk olarak, [1,1'-bifenil]-4,4'-diildimetanol bileşiği ile PCC oda sıcaklığında reaksiyona sokularak [1,1'-bifenil]-4,4'-dikarbaldehit bileşiği oluşturulmuştur. Elde edilen bu bileşiğin etanol içerisinde uygun aminler ile vereceği kondensasyon tepkimesi sonucunda imin türevleri sentezlenmiştir (Şekil 86).



Şekil 86. İmin serisi bileşiklerin genel yapısı

Azo serisi bileşikler: bifenil halka sisteminin her iki ucunda azo yapısı taşıyan bileşikler olup, 11 tanesi orijinal olmak üzere toplam 14 bileşiktir. Bu seri bileşikler, 4,4'-dinitrobifenil bileşiğinin baz varlığında uygun aminler ile vereceği redoks reaksiyonu sonucu tek basamakta elde edilmiştir (Şekil 87).



Şekil 87. Azo serisi bileşiklerin genel yapısı

Final bileşiklerinin yapıları IR, <sup>1</sup>H-NMR, kütle spektroskopik yöntemleri ve elementel analiz verilerinin değerlendirilmesiyle aydınlatılmış ve imin-13 kodlu bileşiğe ileri NMR teknikleri uygulanarak protonlar yerleştirilmiş olup literatür verileri ile karşılaştırılmıştır (272). Bileşiklerinin yapıları aydınlatıldıktan sonra biyolojik aktivitelerinin değerlendirilmesi amacıyla Ellman ve tiyoflavin T testlerine tabi tutulmuşlardır. Fizikokimyasal parametreleri ölçmek amacıyla, elde edilen bileşiklerin Log P ve pKa değerleri potansiyometrik titrasyon metodu ile hesaplanmıştır.

## I. Bileşiklerin Spektral Bulgularının Değerlendirilmesi

### 1. IR Bulgularının Değerlendirilmesi

Tüm bileşiklerde aromatik yapılara ait =C-H gerilmesine ait titreşimler 3105-3022  $\text{cm}^{-1}$  arasında ve C=C gerilmesine ait orta şiddetli titreşimler 1610-1442  $\text{cm}^{-1}$  arasında olup, 837-702  $\text{cm}^{-1}$  arasında izlenen sinyaller hidrojene ait C-H düzlem dışı eğilmelerinden kaynaklanmaktadır. İmin serisi bileşiklerin spektrumlarında 1615-1420  $\text{cm}^{-1}$  arasında C=N gerilmesine ait orta şiddetli titreşimler söz konusu iken azo serisi bileşiklerde görülen N=N gerilmesine ait titreşimler 1580-1530  $\text{cm}^{-1}$ 'de bulunmaktadır. Ayrıca, imin serisi bileşiklerde elde edilen ara üründe bulunan aldehit yapısına ait C=O gerilme titreşimi 1693  $\text{cm}^{-1}$ 'de çok şiddetli bir bant halinde izlenmiştir.

Bileşiklerin uç kısımlarında bulunan süstitüentler bakımından değerlendirildiğinde; nitro yapısına ait N-O gerilme titreşimleri 1370-1390  $\text{cm}^{-1}$  ve 1440-1460  $\text{cm}^{-1}$ 'de şiddetli iki bant halinde **imin-6** ve **azo-6** kodlu bileşiklerde, fenolik hidroksil yapısına ait O-H gerilme titreşimleri 3428-3400  $\text{cm}^{-1}$ 'de orta şiddetli ve =C-O gerilme titreşimleri 1270-1252  $\text{cm}^{-1}$ 'de çok şiddetli bantlar **imin-2** ve **azo-2** kodlu bileşiklerde, karboksilik asit yapısına ait O-H gerilme titreşimleri 3075-3050  $\text{cm}^{-1}$ 'de ve =C-O gerilme titreşimleri 1664-1650  $\text{cm}^{-1}$ 'de şiddetli bir bant halinde **imin-7** ve **azo-7** kodlu bileşiklerde, metoksi yapısına ait C-O gerilme titreşimleri ise 1020-1100  $\text{cm}^{-1}$ 'de güçlü bir bant halinde **imin-5** ve **azo-5** kodlu bileşiklerde gözlenmiştir.

### 2. Kütle Bulgularının Değerlendirilmesi

Elde edilen bileşiklerin kütle spektrumları pozitif iyon elektrosprey iyonizasyon (ESI+) yöntemine göre alınmış ve pozitif iyonizasyon spektrum verileri bulgular bölümünde özetlenmiştir.

Bileşiklerin spektrumlarında  $[\text{M}+\text{H}]^+$  moleküler iyon piklerinin, hesaplanan ve beklenen molekül ağırlıklarıyla tam bir uyum içerisinde olduğu görülmektedir.

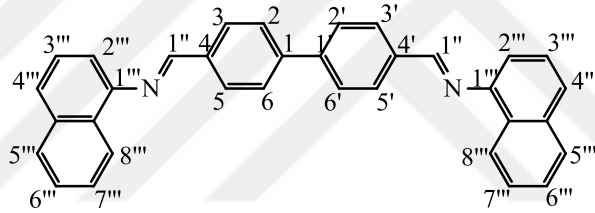
İki klor atomu taşıyan **imin-3** ve **azo-3** kodlu final bileşiklerin spektrumlarında,  $[\text{M}+\text{H}]^+$  moleküler iyon pikine ilaveten beklenildiği üzere  $[\text{M}+\text{H}+2]^+$  ve  $[\text{M}+\text{H}+4]^+$  izotop pikleri gözlenmiştir.

### 3. Elementel Analiz Bulgularının Değerlendirilmesi

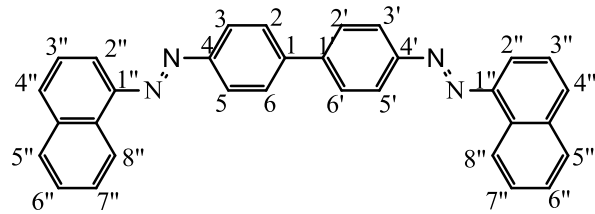
Bileşiklerin elementel analiz sonuçları % 0.4 ve daha düşük değerde sapma göstermiştir. Analiz sonuçları, bulgular bölümünde ayrıntılı olarak verilmiştir.

### 4. <sup>1</sup>H-NMR Bulgularının Değerlendirilmesi

Sentezi gerçekleştirilen tüm bileşiklerin <sup>1</sup>H NMR verilerinin değerlendirilmesi sırasında kullanılmak üzere imin türevlerine örnek olması amacıyla **imin-13** kodlu bileşiğin, azo türevlerine örnek olması amacıyla ise **azo-13** kodlu bileşiğin numaralandırması şekil 88'de gösterilmiştir.



imin-13 kodlu bileşiğin numaralandırılması



azo-13 kodlu bileşiğin numaralandırılması

Şekil 88. İmin-13 ve azo-13 kodlu bileşiklerin numaralandırılmaları

İmin serisi bileşiklerin ara ürünü olan **imin-a** kodlu [1,1'-bifenil]-4,4'-dikarbaldehit bileşiğinde,  $\delta$  8.00 ( $J = 6.8$  Hz)'de görülen dört hidrojene karşılık gelen dublet sinyalin H-3, H-3', H-5 ve H-5' protonlarına, daha yukarı alanda  $\delta$  7.80 ( $J = 6.0$  Hz)'de görülen dört hidrojenlik dublet sinyalin ise H-2, H-2', H-6 ve H-6' protonlarına ait olduğu, ayrıca aromatik sahada  $\delta$  10.09'da görülen iki hidrojenlik keskin singletin de aromatik aldehit protonunun sinyali olduğu görüşüne varılmıştır.

Final bileşiklerimizin  $^1\text{H}$  NMR spektrumlarında terminal aromatik halkaların taşıdığı protonlara ait sinyaller uygun kimyasal kayma değerinde ve bölünme tiplerinde izlenmiş olup  $^1\text{H}$ -NMR değerleri literatür verilerine göre yerleştirilmiştir (272).

Çalışmamızda sentezlenen tüm bileşiklerin yapısında yer alan bifenil halkasına ait *p*-disübstitüe benzen halkasının aromatik hidrojenleri AA'BB' spin sistemine uygun şekilde, spektrumlarında *orto* etkileşmeden kaynaklanan dörder protonluk iki dublet halinde izlenmiştir. İmin serisi bileşiklerde bu protonlara ait sinyaller  $\delta$  7.99-8.16 ve  $\delta$  7.85-7.87 ppm aralıklarında, dörder hidrojenlik iki dublet halinde, 8.0 Hz'lik *J* değerine; azo serisi bileşiklerde ise  $\delta$  7.54-8.06 ve  $\delta$  7.39-7.85 ppm aralıklarında, dörder hidrojenlik iki dublet halinde, 8.2 Hz'lik *J* değerine sahiptirler.

İmin serisi bileşiklerde  $\delta$  8.66-8.78 ppm arasında görülen iki hidrojene karşılık gelen keskin singlet CH=N yapısına aittir.

Terminal aromatik yapı olarak benzen halkası taşıyan **imin-1** ve **azo-1** kodlu bileşiklere ait proton sinyalleri  $\delta$  6.98-8.00 ppm aralığında 10 hidrojen değerinde multipler olarak tespit edilmiştir.

Terminal aromatik yapı olarak benzen halkası bulunan bileşiklerin *para* konumunda taşıdıkları sübstitüentlere göre değerlendirme yapıldığında;

Tüm bileşiklere ait aromatik hidrojenler AA'BB' spin sistemi özelliği göstermiş olup, *orto* etkileşmeden kaynaklanan dörder hidrojenlik iki dublet halinde ve sübstitüentin cinsine göre değişen uygun kimyasal kayma değerlerinde izlenmiştir. Hidroksil sübstitüenti bulunan **imin-2** ve **azo-2** kodlu bileşiklerin spektrumunda sırasıyla  $\delta$  9.53 ve 9.72 ppm'de ikişer hidrojenlik keskin singlet, karboksilik asit sübstitüenti taşıyan **imin-7** ve **azo-7** kodlu bileşiklerde sırasıyla  $\delta$  10.07 ve 10.85 ppm'de ikişer hidrojenlik singlet, metil sübstitüenti bulunan **imin-4** ve **azo-4** kodlu bileşiklerin spektrumunda sırasıyla  $\delta$  2.34 ve 2.45 ppm'de altışar hidrojenlik singlet, metoksi sübstitüenti bulunan **imin-5** ve **azo-5** kodlu bileşiklerin spektrumunda ise sırasıyla  $\delta$  3.83 ve 3.96 ppm'de altışar hidrojenlik singlet olarak gözlenmiştir.

Terminal aromatik yapı olarak 2-piridin halkası taşıyan **imin-8** ve **azo-8** kodlu bileşiklerde H-4'', H-5'' ve H-6'' protonlarına ait sinyaller  $\delta$  7.52-8.51 ppm aralığında altı hidrojen değerinde multipler olarak tespit edilmiş olup, H-3'' protonuna ait sinyaller  $\delta$  7.06-7.54 ppm aralığında iki hidrojene karşılık gelen 6.6 Hz'lik *J* değerine sahip triplet şeklinde gözlenmiştir.



Terminal aromatik yapı olarak 3-piridin halkası taşıyan **imin-9** ve **azo-9** kodlu bileşiklerde H-2'' ve H-6'' protonlarına ait sinyaller  $\delta$  8.46-8.88 ppm aralığında dört hidrojen değerinde multipler olarak tespit edilmiş olup, H-4'' protonuna ait sinyaller  $\delta$  7.73-8.52 ppm aralığında iki hidrojene karşılık gelen 4.0 Hz'lik *J* değerine sahip dublet halinde, H-5'' protonuna ait sinyaller ise  $\delta$  7.46-8.02 ppm aralığında iki hidrojene karşılık gelen 4.8 Hz'lik *J* değerine sahip quartet halinde gözlenmiştir.

Terminal aromatik yapı olarak 4-piridin halkası taşıyan **imin-10** ve **azo-10** kodlu bileşiklere ait proton sinyalleri  $\delta$  8.40-8.62 (*J* = 7.2 Hz) ve  $\delta$  7.40-8.05 (*J* = 7.2 Hz) ppm aralığında dörder protonluk iki dublet halinde izlenmiştir.

İmin ve azo gruplarına bağlı benzil yapısına ait metilen protonları **imin-11** kodlu bileşikte  $\delta$  4.87 ppm'de, **azo-11** kodlu bileşikte  $\delta$  2.67 ppm'de ikişer hidrojenlik singlet halinde, bu gruplara bağlı fenetil yapısına ait metilen protonları **imin-12** kodlu bileşikte  $\delta$  3.88 ve 3.23 ppm'de, **azo-12** kodlu bileşikte  $\delta$  2.91 ve 1.82 ppm'de dörder hidrojenlik tripletler halinde görülmüştür.

Terminal aromatik yapı olarak naftalen halkası taşıyan **imin-13** ve **azo-13** kodlu bileşiklere ait proton sinyalleri  $\delta$  7.44-8.11 ppm aralığında olup bu sinyaller de 14 hidrojen değerinde multipler olarak tespit edilmiştir.

Terminal aromatik yapı olarak kinolin, halkası taşıyan **imin-14** ve **azo-14** kodlu bileşiklere ait proton sinyalleri  $\delta$  7.43-8.85 ppm aralığında olup bu sinyaller de 12 hidrojen değerinde multipler olarak tespit edilmiştir.

## II. Bileşiklerin Biyolojik Aktivite Bulgularının Değerlendirilmesi

### 1. Kolinesteraz İnhibisyon Bulgularının Değerlendirilmesi

Sentezlerini gerçekleştirdiğimiz tüm bileşiklerin ChE inhibitör etkileri referans bileşikler olarak takrin (AChE  $IC_{50}$  = 0.075  $\pm$  0.02  $\mu$ M, BuChE  $IC_{50}$  = 0.0098  $\pm$  0.0002  $\mu$ M) ve galantamin (AChE  $IC_{50}$  = 0.43  $\pm$  0.03  $\mu$ M, BuChE  $IC_{50}$  = 14.92  $\pm$  0.57  $\mu$ M) kullanılmak suretiyle kolorimetrik Ellman testi ile tayin edilmiştir (266, 327). İnhibitör bileşiklere ve referans bileşiklere ait ChE inhibitör aktivite sonuçları gereç ve yöntem bölümünde Tablo 3'te gösterilmiştir.

İmin ve azo serisi bileşiklere ait ChE inhibitör yapı-aktivite sonuçları değerlendirildiğinde;

İmin serisi bileşiklerin AChE enzimine karşı IC<sub>50</sub> değerlerinin 6.47-14.69 µM aralığında değişmekte olduğu gözlenmiştir. Bu bileşikler içerisinde, terminaldeki benzen halkalarının *p*-konumunda metoksi grubu taşıyan türev (**imin-5**) (IC<sub>50</sub> = 6.47 ± 0.18 µM) AChE enzimi üzerinde en yüksek inhibitör özelliğe sahiptir. Nonsüstitüe benzen halkasına kıyasla, *p*-konumlarına hidroksil, klor, metil, nitro ve karboksilik asit süstitüsüyonu AChE inhibisyonunda azalmaya neden olurken metoksi süstitüsüyonu inhibitör etkide artışa yol açmıştır. Benzen halkalarının *p*-konumlarına yerleştirilen süstitüentler bakımından değerlendirildiğinde, elektron çeken ya da veren gruplar arasında aktivite açısından dikkate değer bir fark gözlenmemiştir.

Terminal aromatik halka olarak benzen, farklı konumlardan süstitüe piridin halkası ile yer değiştirildiğinde ya da naftalen/kinolin halkaları ile konjugasyon arttırıldığında AChE inhibisyonuna karşı aktivite olumsuz yönde etkilenmiştir. Ayrıca, imin yapıları ile terminal benzen halkaları arasına ara zincir ilavesi inhibitör etkide azalmaya sebep olmuştur.

İmin serisi bileşiklerin tümünün BuChE üzerine inhibitör aktiviteleri oldukça zayıf bulunmuştur.

Genel olarak değerlendirildiğinde, seriye ait bileşiklerin tamamı AChE enzimine karşı selektif enzim inhibitör aktivitesine sahip olup, en yüksek AChE inhibitör etkili **imin-5** kodlu bileşik aynı zamanda en selektif bileşik olarak bulunmuştur.

Azo serisi bileşiklerin AChE enzimine karşı IC<sub>50</sub> değerleri 5.77-16.22 µM aralığında değişmektedir. Bu bileşikler arasında en etkili AChE inhibisyonu **azo-14** kodlu bileşikte (IC<sub>50</sub> = 5.77 ± 0.20 µM) gözlenmiştir. Bu serideki bileşiklerde, terminal benzen halkalarının *p*-konumlarına hidroksil, klor ve metoksi süstitüsüyonu nonsüstitüe benzene nazaran AChE inhibisyonunda artışa neden olurken metil, nitro ve karboksilik asit süstitüsüyonu inhibitör etkide azalmaya yol açmıştır. İmin türevlerinde de olduğu gibi, elektron çeken ya da veren gruplar aktivitede önemli farklılık yaratmamıştır.

Terminal benzen halkaları, farklı konumlardan süstitüe olmuş piridin halkası ile yer değiştirildiğinde, 3-piridil yapısı haricinde, AChE inhibisyonuna karşı aktivite olumlu yönde etkilenmiştir.

Azo grubu ile terminal benzen halkaları arasına ara zincirin ilavesiyle oluşan türevlerde AChE enzim aktivitesinde düşüş gözlenmiş olup, benzen halkalarının

naftalen halkası ile yer değiştirmesi aktivitede önemli bir değişiklik oluşturmazken kinolin halkası aktivitede olumlu değişiklik meydana getirmiştir.

Azo türevleri arasında **azo-11** kodlu bileşik ( $IC_{50} = 2.72 \pm 0.15 \mu M$ ) haricinde kalan bileşiklerin tamamında BuChE enzimi üzerinde belirgin bir inhibitör etki gözlenmemiştir. **Azo-11** kodlu bileşiğin her iki kolinesteraza karşı da iyi derecede inhibitör aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

Elde edilen ChE inhibitör sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde, bileşikler AChE enzimine karşı iyi derecede inhibitör aktivite gösterirken, BuChE enzimine karşı dikkate değer bir aktivite göstermemiştir.

## 2. A $\beta$ Agregasyon İnhibisyonu Bulgularının Değerlendirilmesi

Kolinesteraz inhibisyonu için test edilen tüm bileşikler, oto indüksiyonlu A $\beta_{1-42}$  agregasyonunu inhibe etme yetenekleri için tiyoflavin T testi ile değerlendirilmiştir (332). Kurkumin, kendiliğinden agregasyona karşı inhibe edici aktivitesi (25  $\mu M$ 'da % 92.79, 100  $\mu M$ 'da % 98.38) nedeniyle referans bileşik olarak kullanılmıştır. Bileşiklerin A $\beta_{1-42}$  agregasyonuna karşı inhibitör etkileri gereç ve yöntem bölümünde Tablo 4'te özetlenmiştir.

İmin ve azo serisi bileşiklere ait agregasyon inhibisyonu yapı-aktivite sonuçları değerlendirildiğinde;

İmin serisi bileşiklerde, terminaldeki benzen halkalarının *p*-konumunda sübstitüent bulunan türevler içerisinde sadece hidroksil grubu taşıyan türev nonsübstitüe benzen göre daha iyi aktivite göstermiştir. Bu türevlerden *p*-metoksi ve *p*-nitro sübstitüe bileşikler de nonsübstitüe benzen türevine yakın aktivite sergilemişlerdir.

Terminal benzen halkalarının farklı konumlardan sübstitüe edilmiş piridin halkası ile yer değiştirilmesiyle aktivitede belirgin bir artış gözlenmemiştir.

İmin yapısı ile uç benzen halkalarının arasına karbon zincirinin ilavesi ile aktivite azalırken, benzen yerine naftalen ya da kinolin halkalarının getirilmesi ile elde edilen bileşiklerde benzen türevine yakın derecede aktivite görölmüştür.

Azo serisi bileşikler, imin serisi bileşiklere kıyasla genel olarak A $\beta$  agregasyonuna karşı daha iyi bir inhibisyon profili sergilemiştir. Seri içerisinde en aktif bileşik **azo-9** kodlu bileşik (100  $\mu M$ 'da % 78.39) iken, **azo-5** ve **azo-11** kodlu

bileşikler (100  $\mu$ M'da sırasıyla, % 74.08 ve % 64.10) de kayda değer aktivite göstermişlerdir.

Terminal benzen halkalarının *p*-konumunda süstitüent bulunan bileşikler içerisinde karboksilik asit taşıyan türev haricindekilerin tümü, nonsüstitüe benzen türevine göre yüksek inhibitör aktivite sergilemişlerdir. Bu türevlerin içerisinde en güçlü inhibisyonu gösteren bileşik, *p*-konumunda metoksi grubu taşıyan **azo-5** kodlu bileşik olarak bulunmuştur.

Azo serisi bileşiklerin her iki ucuna farklı konumlardan piridin halkası süstitüe edilmiş olan türevler içerisinde 3-piridil yapısı taşıyan bileşik (**azo-9**) diğerlerine göre oldukça yüksek inhibitör aktivite sergilemiştir.

Bileşiklerin terminal benzen halkaları ile azo grubu arasına metilen ara zincirinin ilavesiyle aktivite belirgin derecede artarken bu ara zincirin uzaması ile aktivitede bir değişiklik gerçekleşmemiştir.

Uç kısımlardaki benzen halkalarının naftalen ya da kinolin halkaları ile yer değiştirilmesi sonucu oluşan bileşiklerde inhibitör aktivitede artış gözlenmiştir.

### **III. Log P Bulgularının Değerlendirilmesi**

Bileşiklerin dağılım katsayılarının hesaplanması sonucunda Log P değerleri, imin serisi bileşiklerde 4.77-9.44 ve azo serisi bileşiklerde 5.91-10.38 aralığında bulunmuştur. Bu değerler aynı zamanda MOE.2016 programı ile karşılaştırılmış olup, değerlerin korelasyon içinde olduğu izlenmiştir.

### **IV. pKa Bulgularının Değerlendirilmesi**

Sentezi gerçekleştirilmiş imin ve azo serisi bileşiklerin asidik iyonlaşma sabitleri potansiyometrik titrasyon metodu ile bulunan değerler doğrultusunda hesaplanmıştır. İmin serisi bileşiklerin deneysel değerleri 3.16-9.06 arasında iken; azo serisi bileşiklerin 2.78-8.56 arasında bulunmuştur.

## SONUÇ ve ÖNERİLER

AH, milyonlarca insanı etkileyen demansın en yaygın şekli olup senil plaklarda A $\beta$  birikimi ve NFY ile karakterizedir. AH'nin tedavisinde kullanılan kolinesteraz inhibitörleri ve NMDA reseptörü antagonistleri, AH'nin patofizyolojik nedenlerini durduramamakta ya da geriye döndürememektedirler. Son yıllarda gerçekleştirilen ilaç geliştirme çalışmaları dikkate alındığında hastalığın oluşumu ve gelişiminde birden fazla mekanizmanın rol aldığı görülmektedir. Bu sebeple, AH'yi tedavi etmede mevcut inhibitörlerden tek başına daha etkili olan, hem A $\beta$  kaskadına etkili hem ChE inhibisyonu sergileyen inhibitörler geliştirilmiş ve böylece AH için çok hedefli tedavi stratejileri önem kazanmıştır.

Tez çalışması kapsamında, A $\beta$  agregasyon inhibitörü bileşiklerin yapısal özelliklerinden yola çıkarak, merkezinde bifenil halka sisteminin bulunduğu ve sistemin her iki ucuna imin veya azo yapılarının getirildiği ve molekülün iki uç kısmına aromatik halka olarak benzen, naftalen, kinolin veya farklı konumlarından süstitüe edilmiş piridin halkalarının ilave edildiği iki seri bileşik grubu tasarlanmıştır. Uç aromatik yapı olarak benzen halkasının tercih edildiği bileşiklerde, *p*-konumuna elektron akseptörü veya donörü çeşitli atom veya gruplar süstitüe edilmiştir. Ayrıca, molekülün uç kısmındaki nonsüstitüe benzen halkarı ile imin/azo yapılarının arasına karbon zincirinin ilavesini içeren türevler planlanmıştır.

Tasarlanan bileşiklerin 20 tanesi orijinal olmak üzere 28 adedinin sentezi gerçekleştirilmiştir. İmin serisi bileşikler iki basamakta sentezlenmiştir; öncelikle bifenil-4,4'-dikarbaldehit ara ürününü elde etmek üzere 4,4'-bis(hidroksimetil)bifenil bileşiği dioksan varlığında piridinyum klorokromat ile reaksiyona tabii tutulmuştur. Elde edilen ara ürünün saflaştırılmasının ardından, etanol içerisinde uygun amin bileşikleri ile kondensasyon tepkimesi gerçekleştirilerek imin türevleri sentezlenmiştir. Azo serisi bileşikler ise, aromatik nitro bileşiklerinin baz varlığında uygun amin bileşikleri ile reaksiyonu sonucu tek basamakta sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin yapıları IR, <sup>1</sup>H NMR, kütle ve elementel analiz yöntemleri ile aydınlatılmıştır.

Sentez edilen tüm bileşiklerin fizikokimyasal parametrelerden olan Log P ve pKa değerleri potansiyometrik titrasyon yöntemi ile saptanmıştır.

Elde edilen tüm bileşiklerin ChE inhibisyonu Ellman metodu ile A $\beta$  agregasyon inhibisyonu tiyoflavin T floresans testi ile değerlendirilmiştir.

Sentezlenen bileşikler üzerinde gerçekleştirilen ChE inhibisyon aktivitesi çalışmaları sonucunda, bileşiklerin AChE enzimine 5.77-16.22  $\mu$ M aralığındaki IC<sub>50</sub> değerleriyle seçici etkili oldukları bulunmuştur. Referans bileşik olarak kullanılan takrin ve galantamin ile mukayese edildiğinde AChE'ye karşı en yüksek aktiviteyi **azo-14** kodlu bileşik (IC<sub>50</sub>= 5.77  $\pm$  0.20  $\mu$ M); BuChE' ye karşı en yüksek aktiviteyi ise **azo-11** kodlu bileşik (IC<sub>50</sub>= 2.72  $\pm$  0.15  $\mu$ M) sergilemiştir. A $\beta$ <sub>1-42</sub> agregasyon inhibisyonu aktivitesi çalışmalarında 100  $\mu$ M daki % inhibisyon sonuçları da % 6.55-78.39 aralığında gözlenmiş olup, **azo-9** kodlu bileşik, referans bileşik kurkumine yakın aktivite sergileyerek (100  $\mu$ M'da % 78.39) A $\beta$  agregasyon inhibisyonu üzerinde en etkili bileşik olarak bulunmuştur.

Bileşiklerin hepsi AChE inhibisyonuna karşı aktivite sergilerken, BuChE inhibisyonuna karşı, **azo-11** kodlu bileşik hariç dikkate değer bir etki göstermemiştir. İmin serisi bileşiklerde A $\beta$  agregasyon inhibisyonunda belirgin bir inhibitör etki gözlenmezken, azo serisi bileşikler daha iyi bir inhibisyon profili sergilemiştir.

Sonuç olarak, etkili bileşikler AChE ve A $\beta$  agregasyon inhibisyonu etkinlikleri bakımından değerlendirildiklerinde azo serisi bileşiklerin çok hedefli ajanlar olarak etki gösterebileceği düşünülmektedir. Bileşiklerin çoğunun düzlemsel aromatik konjuge sisteme sahip olması, bu bileşiklerin plaklar arasında interkalasyon yaparak A $\beta$  üzerinde inhibitör etki oluşturabileceklerini ve A $\beta$  agregatlarında konformasyonel değişikliğe sebep olabileceklerini akla getirmektedir.

Tez çalışması kapsamında sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin ChE ve A $\beta$  agregasyon inhibisyonu aktiviteleri sonucunda elde edilen veriler ışığında ileri çalışmalar planlanmış ve 2017 yılında TÜBİTAK 216S672 nolu projeye başlanmıştır. Bu proje kapsamında; rijit bağlayıcı olarak bifenil halkasının kullanıldığı imin ve azo serisi bileşiklerin her iki ucuna aromatik halka olarak fenil ya da piridin halkaları yerleştirilerek, aromatik halkaların *orto*, *meta* ve *para* konumlarına farklı sübstitüentlerin ilave edilmesi ile daha etkili türevlerin araştırılmasını hedeflenmiştir. Çok hedefli ajanlar olarak tasarlanan bileşiklerin

aktivite çalışmalarının gerçekleştirilmesinin ardından yapılacak moleküler modelleme çalışmaları ile bileşiklerin etkileşim şekilleri değerlendirilecektir.



## KAYNAKLAR

1. Selkoe DJ. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiol Rev* 2001;81(2):741-66.
2. Kalaria RN, Maestre GE, Arizaga R, Friedland RP, Galasko D, Hall K et. al. Alzheimer's disease and vascular dementia in developing countries: prevalence, management, and risk factors. *Lancet Neurol* 2008;7:812-26.
3. Alzheimer's Association, Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement*, 10 2014. ([http://www.alz.org/downloads/Facts\\_Figures\\_2014.pdf](http://www.alz.org/downloads/Facts_Figures_2014.pdf))
4. Sperling RA, Aisen PS, Beckett LA, Bennett DA, Craft S, Fagan AM et. al. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2011;7:280-92.
5. Albert MS, DeKosky ST, Dickson D, Dubois B, Feldman HH, Fox NC et. al. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2011;7:270-9.
6. McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR, Kawas CH et. al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2011;7:263-9.
7. Blennow K, Hampel H. CSF markers for incipient Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 2003;2:605-13.
8. Hampel H, Frank R, Broich K, Teipel SJ, Katz RG, Hardy J. Biomarkers for Alzheimer's disease: academic, industry and regulatory perspectives. *Nat Rev Drug Discov* 2010;9:560-74.



9. Lorenzi M, Donohue M, Paternico D, Scarpazza C, Ostrowitzki S, Blin O et. al. Enrichment through biomarkers in clinical trials of Alzheimer's drugs in patients with mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging* 2010;31:1443-51.
10. Chopra K, Misra S, Kuhad A. Current perspectives on pharmacotherapy of Alzheimer's disease. *Expert Opin Pharmacother* 2011;12:335-50.
11. Grutzendler J, Morris JC. Cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Drugs* 2001;61:41-52.
12. Awasthi M, Singh S, Pandey VP, Dwivedi UN. Alzheimer's disease: An overview of amyloid beta dependent pathogenesis and its therapeutic implications along with in silico approaches emphasizing the role of natural products. *J Neurol Sci* 2016;361:256-71.
13. Mohamed T, Shakeri A, Rao PP. Amyloid cascade in Alzheimer's disease: Recent advances in medicinal chemistry. *Eur J Med Chem* 2016;113:258-72.
14. Geula C. Abnormalities of neural circuitry in Alzheimer's disease: hippocampus and cortical cholinergic innervation. *Neurology* 1998;51(1Suppl1):S18-29,(Discussion,S65-7).
15. Lee VM, Goedert M, Trojanowski JQ. Neurodegenerative tauopathies. *Annu Rev Neurosci* 2001;24:1121-59.
16. McGeer PL, McGeer EG. Inflammation, autotoxicity and Alzheimer disease. *Neurobiol Aging* 2001;22:799-809.
17. Schubert P, Ogata T, Marchini C, Ferroni S. Glia-related pathomechanisms in Alzheimer's disease: a therapeutic target. *Mech Ageing Dev* 2001;123:47-57.
18. Lee VM. Amyloid binding ligands as Alzheimer's disease therapies. *Neurobiol Aging* 2002;23(6):1039-42.
19. Bowen DM, Smith CB, White P, Davison AN. Neurotransmitter-related enzymes and indices of hypoxia in senile dementia and other abiotrophies. *Brain* 1976;99:459-96.
20. Davies P, Maloney AJ. Selective loss of central cholinergic neurons in Alzheimer's disease. *Lancet* 1976;2(8000):1403.
21. Whitehouse PJ, Price DL, Struble RG, Clark AW, Coyle JT, Delon MR. Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neurons in the basal forebrain. *Science* 1982;215:1237-9.
22. Whitehouse PJ, Struble RG, Clark AW, Price DL. Alzheimer disease: plaques, tangles, and the basal forebrain. *Ann Neurol* 1982;12:494.

23. Coyle JT, Price DL, DeLong MR. Alzheimer's disease: a disorder of cortical cholinergic innervation. *Science* 1983;219:1184-90.
24. Pearson RC, Sofroniew MV, Cuello AC, Powell TP, Eckenstein F, Esiri MM et. al. Persistence of cholinergic neurons in the basal nucleus in a brain with senile dementia of the Alzheimer's type demonstrated by immunohistochemical staining for choline acetyltransferase. *Brain Res* 1983;289:375-9.
25. Schenk DB, Seubert P, Lieberburg I, Wallace J.  $\beta$ -Peptide immunization, a possible new treatment for alzheimer disease. *Arch Neurol* 2000;57:934-6.
26. Lorenzo A, Yankner BA.  $\beta$ -Amyloid neurotoxicity requires fibril formation and is inhibited by Congo red. *Proc Nati Acad Sci USA* 1994;91:12243-7.
27. Das P, Chacko AR, Belfort G. Alzheimer's protective cross-interaction between wild-type and A2T variants alters  $A\beta_{42}$  dimer structure. *ACS Chemical Neuroscience* 2016, 1-43.
28. M. Calamai, F. Chiti, C. M. Dobson, Amyloid fibril formation can proceed from different conformations of a partially unfolded protein. *Biophys J* 2005;89:4201-10.
29. Roher AE, Palmer KC, Yurewicz EC, Ball MJ, Greenberg BD. Morphological and biochemical analyses of amyloid plaque core proteins purified from Alzheimer disease brain tissue. *J Neurochem* 1993;61:1916-26.
30. Tomiyama T, Shoji A, Kataoka K, Suwa Y, Asano S, Kaneko H et. al. Inhibition of amyloid  $\beta$  protein aggregation and neurotoxicity by rifampicin. *J Biol Chem* 1996;271:6839.
31. Li J, Zhu M, Rajamani S, Uversky VN, Fink AL. Rifampicin inhibits  $\alpha$ -synuclein fibrillation and disaggregates fibrils. *Chem Biol* 2004;11:1513-21.
32. Xu J, Wei C, Xu C, Bennett MC, Zhang G, Li F. Rifampicin protects PC12 cells against MPP + -induced apoptosis and inhibits the expression of an  $\alpha$ -Synuclein multimer. *Brain Res* 2007;1139:220-5.
33. Umeda T, Ono K, Sakai A, Yamashita M, Mizuguchi M, Klein WL et. al. Rifampicin is a candidate preventive medicine against amyloid- $\beta$  and tau oligomers. *Brain* 2016;139:1568-86.
34. Lizuka T, Morimoto K, Sasaki Y, Kameyama M, Kurashima A, Hayasaka K et. al. Preventive effect of rifampicin on alzheimer disease needs at least 450 mg

- daily for 1 Year: An FDG-PET follow-up study. *Dement Geriatr Cogn Disord Extra* 2017;7:204-14.
35. Rudyk H, Vasiljevic S, Hennion RM, Birkett CR, Hope J, Gilbert IH. Screening Congo Red and its analogues for their ability to prevent the formation of PrP-res in scrapie-infected cells. *J Gen Virol* 2000;81:1155-64.
  36. Balasubramanian K. Quantum Chemical Insights into Alzheimer's Disease: Curcumin's Chelation with Cu(II), Zn(II), and Pd(II) as a Mechanism for its Prevention. *Int J Quantum Chem* 2016;116:1107-19.
  37. Okuda M, Hijikuro I, Fujita Y, Teruya T, Kawakami H, Takahashi T et. al. Design and synthesis of curcumin derivatives as tau and amyloid  $\beta$  dual aggregation inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett* 2016;26:5024-8.
  38. Yang F, Lim GP, Begum AN, Ubada OJ, Simmons MR, Ambegaokar SS et. al. Curcumin inhibits formation of amyloid beta oligomers and fibrils, binds plaques, and reduces amyloid *in vivo*. *J Biol Chem* 2004;280:5892-901.
  39. Lim GP, Chiu T, Yang F, Beech W, Frautschy SA, Cole GM. The curry spice curcumin reduces oxidative damage and amyloid pathology in an Alzheimer transgenic mouse. *J Neurosci* 2001;21:8370-7.
  40. Belkacemi A, Doggui S, Dao L, Ramassamy C. Challenges associated with curcumin therapy in Alzheimer disease. *Expert Rev Mol Med* 2011;13:e34.
  41. Klunk WE, Debnath ML, Pettegrew JW. Chrysamine-G binding to alzheimer and control brain: autopsy study of a new amyloid probe. *Neurobiol Aging* 1995;16(4):51-8.
  42. Klunk WE, Debnath ML, Koros AMC, Pettegrew JW. Chrysamine-G, a lipophilic analogue of congo red, inhibits adinduced toxicity in PC12 cells. *Life Sciences* 1998;63(20):1807-14.
  43. Demaimay R, Harper J, Gordon H, Weaver D, Chesebro B, Caughey B. Structural aspects of Congo red as an inhibitor of protease-resistant prion protein formation. *J Neurochem* 1998;71:2534-41.
  44. Tartaglia GG, Cavalli A, Pellarin R, Caflisch A. The role of aromaticity, exposed surface, and dipole moment in determining protein aggregation rates. *Protein Sci* 2004;13:1939-41.
  45. Gazit E. A possible role for pi-stacking in self-assembly of amyloid fibrils. *FASEB J* 2002;16:77-83.

46. Gazit E. Mechanistic studies of the process of amyloid fibrils formation by the use of peptide fragments and analogues: implications for the design of fibrillization inhibitors. *Curr Med Chem* 2002;9:1725-35.
47. Aggeli A, Bell M, Boden N, Keen JN, Knowles PF, McLeish TC et. al. Responsive gels formed by the spontaneous self-assembly of peptides into polymeric beta-sheet tapes. *Nature* 1997;386:259-62.
48. Burley SK, Petsko GA, Aromatic-aromatic interaction: a mechanism of protein structure stabilization. *Science* 1985;229:23-28.
49. Claessens CG, Stoddart JF.  $\pi$ - $\pi$  Interactions in self-assembly. *J Phys Org Chem* 1997;10:254-72.
50. Turnell WG, Finch JT. Binding of the dye congo red to the amyloid protein pig insulin reveals a novel homology amongst amyloid-forming peptide sequences. *J Mol Biol* 1992;227:1205-23.
51. Makin OS, Atkins E, Sikorski P, Johansson J, Serpell LC. Molecular basis for amyloid fibril formation and stability. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:315-320.
52. Ono K, Hasegawa K, Naiki H, Yamada M. Curcumin has potent anti-amyloidogenic effects for Alzheimer's beta-amyloid fibrils *in vitro*. *J Neurosci Res* 2004;75:742-50.
53. Porat Y, Abramowitz A, Gazit E. Inhibition of Amyloid Fibril Formation by Polyphenols: Structural similarity and aromatic interactions as a common inhibition mechanism. *Chem Biol Drug Des* 2006;67:27-37.
54. Reinke AA, Gestwicki JE. Structure-activity relationships of amyloid beta-aggregation inhibitors based on curcumin: influence of linker length and flexibility. *Chem Biol Drug Des* 2007;70:206-15.
55. Alzheimer A. Über einen eigenartigen schweren Erkrankungsprozeß  $\beta$  der Hirnrinde. *Neurol Central* 1906;25:1134.
56. Glenner GG. Alzheimer's disease, The commonest form of amyloidosis. *Arch Pathol Lab Med* 1983;107(6):281-2.
57. Katzman R. Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 1986;314:964-73.
58. Hodges JR, Patterson K. Is semantic memory consistently impaired early in the course of Alzheimer's disease? Neuroanatomical and diagnostic implications. *Neuropsychologia* 1995;33:441-59.

59. Selkoe DJ. Alzheimer's disease: genotypes, phenotypes, and treatments. *Science* 1997;275:630-1.
60. Lawrence AD, Sahakian BJ. Alzheimer disease, attention, and the cholinergic system. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 1995;9:43-9.
61. Bozeat S, Gregory CA, Ralph MA, Hodges JR. Which neuropsychiatric and behavioral features distinguish frontal and temporal variants of frontotemporal dementia from Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2000;69:178-86.
62. Marin DB, Sewell MC, Schlechter A. Alzheimer's disease. Accurate and early diagnosis in the primary care setting. *Geriatrics* 2002;57:36-40 (Quiz 43).
63. Alzheimer's Association, Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement* 2017;13:325-73.
64. Campbell-Taylor I. Contribution of Alzheimer disease to mortality in the United States. *Neurology* 2014;83(14):1302.
65. Roberson ED, Mucke L. 100 years and counting: prospects for defeating Alzheimer's disease. *Science* 2006;314(5800):781-4.
66. Nordberg A. Amyloid imaging in Alzheimer's disease. *Neuropsychologia* 2008;46(6):1636-41.
67. Valastyan JS, Lindquist S. Mechanisms of protein-folding diseases at a glance. *Dis Model Mech* 2014;7:9-14.
68. Dobson CM. Protein folding and misfolding. *Nature* 2003;426(6968): 884-90.
69. Stefani M, Dobson CM. Protein aggregation and aggregate toxicity: new insights into protein folding, misfolding diseases and biological evolution. *J Mol Med (Berl)* 2003;81(11):678-99.
70. Uversky VN. Intrinsically disordered proteins and their (disordered) proteomes in neurodegenerative disorders. *Front Aging Neurosci* 2015;7:18.
71. Quist A, Doudevski I, Lin H, Azimova R, Ng D, Frangione B et. al. Amyloid ion channels: a common structural link for protein misfolding disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102(30):10427-32.
72. Nhan HS, Chiang K, Koo EH. The multifaceted nature of amyloid precursor protein and its proteolytic fragments: friends and foes. *Acta Neuropathol* 2015;129:1-19.
73. Zheng H, Koo EH. The amyloid precursor protein: beyond amyloid. *Mol Neurodegener* 2006;1:5.

74. Suh YH, Checler F. Amyloid precursor protein, presenilins, and  $\alpha$ -synuclein molecular pathogenesis and pharmacological applications in Alzheimer's disease. *Pharmacol Rev* 2002;54:469-525.
75. Felician O, Sandson TA. The neurobiology and pharmacotherapy of Alzheimer's disease. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 1999;11:19-31.
76. Sinha S. The metabolism of the amyloid precursor protein and its relevance to Alzheimer's disease. *Perspect Drug Discov Des* 1995;2:363-9.
77. Epis R, Marcello E, Gardoni F, Luca MD. Alpha, beta and gamma-secretases in Alzheimer's disease. *Front Biosci* 2012;4:1126-50.
78. Sambamurti K, Greig NH, Lahiri DK. Advances in the cellular and molecular biology of the beta-amyloid protein in Alzheimer's disease. *Neuromol Med* 2002;1:1-31.
79. Howlett DR, Simmons DL, Christie G. In search of an enzyme: the  $\beta$ -secretase of Alzheimer's disease is an aspartic proteinase. *Trends Neurosci* 2000;23:565-70.
80. Kuhn PH, Wang H, Dislich B, Colombo A, Zeitschel U, Ellwart JW et. al. ADAM10 is the physiologically relevant, constitutive  $\alpha$ -secretase of the amyloid precursor protein in primary neurons. *EMBO J* 2010;29:3020-32.
81. Lichtenthaler SF. Alpha-secretase in Alzheimer's disease: molecular identity, regulation and therapeutic potential. *J Neurochem* 2011;116:10-21.
82. Cappai R. Making sense of the amyloid precursor protein: its tail tells an interesting tale. *J Neurochem* 2014;130:325-7.
83. Thinakaran G, Koo EH. Amyloid precursor protein trafficking, processing, and function. *J Biol Chem* 2008;283:29615-9.
84. 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* 2001;77:304-17.
85. Hardy J. Amyloid, the presenilins and Alzheimer's disease. *Trends Neurosci* 1997;20:154-9
86. Shelton CC, Zhu L, Chau D, Yang L, Wang R, Djaballah H, Zheng H, Li YM. Modulation of gamma-secretase specificity using small molecule allosteric inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:20228-33.

87. Kreft AF, Martone R, Porte A. Recent advances in the identification of gamma-secretase inhibitors to clinically test the abeta oligomer hypothesis of Alzheimer's disease. *J Med Chem* 2009;52:6169-88.
88. Spronk SA, Carlson HA. The role of tyrosine 71 in modulating the flap conformations of BACE1. *Proteins* 2011;79:2247-59.
89. Vassar R. BACE1: the  $\beta$ -secretase enzyme in Alzheimer's disease. *J Mol Neurosci* 2004;23:105-13.
90. John V, Beck JP, Bienkowski MJ, Sinha S, Heinrikson RL. Human betasecretase (BACE) and BACE Inhibitors. *J Med Chem* 2003;46:4625-30.
91. Menting KW, Claassen JA. Beta-secretase inhibitor; a promising novel therapeutic drug in Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci* 2014;6:165.
92. Selkoe DJ. Physiological production of the  $\beta$ -amyloid protein and the mechanism of Alzheimer's disease. *Trends Neurosci* 1993;16:403-9.
93. Klein AM, Kowall NW, Ferrante RJ. Neurotoxicity and oxidative damage of beta amyloid 1-42 versus beta amyloid 1-40 in the mouse cerebral cortex. *Ann NY Acad Sci* 1999;893:314-20.
94. Jarrett JT, Berger EP, Lansbury PT Jr. The carboxy terminus of the beta amyloid protein is critical for the seeding of amyloid formation: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Biochemistry* 1993;32(18):4693-7.
95. Jan A, Gokce O, Luthi-Carter R, Lashuel HA. The ratio of monomeric to aggregated forms of Abeta40 and Abeta42 is an important determinant of amyloid-beta aggregation, fibrillogenesis, and toxicity. *J Biol Chem* 2008;283(42):28176-89.
96. Olofsson A, Lindhagen-Persson M, Sauer-Eriksson AE, Ohman A. Amide solvent protection analysis demonstrates that amyloid-beta(1-40) and amyloid-beta(1-42) form different fibrillar structures under identical conditions. *Biochem J* 2007;404(1):63-70.
97. Olofsson A, Sauer-Eriksson AE, Ohman A. The solvent protection of Alzheimer amyloid- $\beta$ -(1-42) fibrils as determined by solution NMR spectroscopy. *J Biol Chem* 2006;281:477-83.
98. Younkin SG. Evidence that Abeta 42 is the real culprit in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1995;37(3):287-8.

99. Saito T, Suemoto T, Brouwers N, Slegers K, Funamoto S, Mihira N et. al. Potent amyloidogenicity and pathogenicity of A $\beta$ <sub>43</sub>. *Nat Neurosci* 2011;14:1023-32.
100. Conicella AE, Fawzi NL. The C-terminal threonine of A $\beta$ <sub>43</sub> nucleates toxic aggregation via structural and dynamical changes in monomers and protofibrils. *Biochemistry* 2014;53(19):3095-105.
101. Arai T, Ohno A, Kazunori M, Kakizawa T, Kuwata H, Ozawa T et. al. Design, synthesis, and evaluation of Trolox-conjugated amyloid- $\beta$  C-terminal peptides for therapeutic intervention in an *in vitro* model of Alzheimer's disease. *Bioorg Med Chem* 2016;24:4138-43.
102. Terry RD. Alzheimer's disease. In: Davis RL, Robertson DM (editors). *Textbook of Neuropathology*. Williams & Wilkins, Baltimore, 1985:824-841.
103. Glenner GG, Wong CW. Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem Biophys Res Commun* 1984;120(3):885-90.
104. Cras P, Kawai M, Lowery D, Gonzalez-Dewhit P, Greenberg B, Perry G. Senile plaque neurites in Alzheimer disease accumulate amyloid precursor protein. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1991;88:7552-6.
105. Wisniewski HM, Bancher C, Barcikowska M, Wen GY, Currie J. Spectrum of morphological appearance of amyloid deposits in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol* 1989;78:337-47.
106. Iqbal K, Liu F, Gong C-X, Grundke-Iqbal I. Tau in alzheimer disease and related tauopathies. *Curr Alzheimer Res* 2010;7(8):656-64.
107. Wang J, Ono K, Dickstein DL, Arrieta-Cruz I, Zhao W, Qian X et. al. Carvedilol as a potential novel agent for the treatment of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2011;32(12):2321,e1-12.
108. Wang H, Megill A, He K, Kirkwood A, Lee HK. Consequences of inhibiting amyloid precursor protein processing enzymes on synaptic function and plasticity. *Neural Plast* 2012;2012:272374.
109. Hartmann T. Cholesterol, A $\beta$  and Alzheimer's disease. *Trends Neurosci* 2001;24:45-8.
110. Zhang YW, Thompson R, Zhang H, Xu H. APP processing in Alzheimer's disease. *Mol Brain* 2011;4:3.



111. Chang CC, Althaus JC, Carruther CJ, Sutton MA, Steel DG, Gafni A. Synergistic interactions between Alzheimer's A $\beta$ <sub>40</sub> and A $\beta$ <sub>42</sub> on the surface of primary neurons revealed by single molecule microscopy. *PLoS One* 2013;8(12):e82139.
112. Bitan G, Kirkitadze MD, Lomakin A, Vollers SS, Benedek GB, Teplow DB. Amyloid beta-protein (A $\beta$ ) assembly: A $\beta$  40 and A $\beta$  42 oligomerize through distinct pathways. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 2003;100:330-5.
113. Lee C, Ham S. Characterizing amyloid-beta protein misfolding from molecular dynamics simulations with explicit water. *J Comput Chem* 2011;32:349-55.
114. Kowalska A. The beta-amyloid cascade hypothesis: a sequence of events leading to neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Neurol Neurochir Pol* 2004;38:405-11.
115. Hardy J, Duff K, Hardy K, Perez-Tur J, Hutton M. Genetic dissection of Alzheimer's disease and related dementias: amyloid and its relationship to tau. *Nat Neurosci* 1998;1:355-8.
116. Hutton M, Lendon CL, Rizzu P, Baker M, Froelich S, Houlden H et. al. Association of missense and 5'-splice-site mutations in tau with the inherited dementia FTDP-17. *Nature* 1998;393:702-5.
117. Lewis J, Dickson DW, Lin WL, Chisholm L, A Corral, Jones G et. al. Enhanced neurofibrillary degeneration in transgenic mice expressing mutant tau and APP. *Science* 2001;297:1487-1.
118. Bales KR, Verina T, Dodel RC, Du Y, Altstiel L, Bender M et. al. Lack of apolipoprotein E dramatically reduces amyloid beta-peptide deposition. *Nat Genet* 1997;17:263-4.
119. Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* 2002;297:353-6.
120. Lleo A, Greenberg SM, Growdon JH. Current pharmacotherapy for Alzheimer's disease. *Annu Rev Med* 2006;57:513-33.
121. Pohanka M. Cholinesterases, a target of pharmacology and toxicology. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2011;155:219-29.
122. Bullock R. Efficacy and safety of memantine in moderate-to-severe Alzheimer disease: the evidence to date. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2006;20:23-9.

123. Auld DS, Kornecook TJ, Bastianetto S, Quirion R. Alzheimer's disease and the basal forebrain cholinergic system: relations to  $\beta$ -amyloid peptides, cognition, and treatment strategies. *Progress in Neurobiolog*, 2002;68:209-45.
124. Yan R, Blenkowski MJ, Shuck ME, Miao H, Tory MC, Pauley AM et. al. Membrane anchored aspartyl protease with Alzheimer's disease  $\beta$ -secretase activity. *Nature* 1999;402:533-7.
125. Ohno M, Sametsky EA, Younkin LH, Oakley H, Younkin SG, Citron M et. al. BACE1 deficiency rescues memory deficits and cholinergic dysfunction in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neuron* 2004;41:27-33.
126. Luo Y, Bolon B, Kahn S, Bennett BD, Babu-Khan S, Denis P et. al. Mice deficient in BACE1, the Alzheimer's  $\beta$ -secretase, have normal phenotype and abolished  $\beta$ -amyloid generation. *Nat Neurosci* 2001;4:231-2.
127. Kobayashi D, Zeller M, Cole T, Buttini M, McConlogue L, Sinha S et. al. BACE1 gene deletion: impact on behavioral function in a model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2008;29:861-73.
128. Willem M, Garratt AN, Novak B, Citron M, Kaufmann S, Rittger A et. al. Control of peripheral nerve myelination by the  $\beta$ -secretase BACE1. *Science* 2006;314:664-6.
129. Haass C, Schlossmacher MG, Hung AY, Vigo-Pelfrey C, Mellon A, Ostaszewski BL et. al. Amyloid betapeptide is produced by cultured cells during normal metabolism. *Nature* 1992;359:322-5.
130. Henley DB, May PC, Dean RA, Siemers ER. Development of semagacestat (LY450139), a functional  $\gamma$ -secretase inhibitor, for the treatment of Alzheimer's disease. *Expert Opin Pharmacothe* 2009;10:1657-64.
131. Imbimbo B. Therapeutic potential of  $\gamma$ -secretase inhibitors and modulators. *Curr Top Med Chem* 2008;8:54-61
132. Maillard I, Adler SH, Pear WS. Notch and the immune system. *Immunity* 2003;19:781-91.
133. Stanger BZ, Datar R, Murtaugh LC, Melton DA. Direct regulation of intestinal fate by Notch. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:12443-48.
134. Nicolas M, Wolfer A, Raj K, Kummer JA, Mill P, van Noort M et al. Notch1 functions as a tumor suppressor in mouse skin. *Nat Genet* 2003;33:416-21.

135. Fleisher AS, Raman R, Siemers ER, Becerra L, Clark CM, Dean RA et. al. Phase 2 safety trial targeting amyloid- $\beta$  production with a  $\gamma$ -secretase inhibitor in Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2008;65:1031-8.
136. Haass C, De Strooper B. The presenilins in Alzheimer's disease-proteolysis holds the key. *Science* 1999;286:916-19.
137. Weggen S, Eriksen JL, Das P, Sagi SA, Wang R, Pietrzik CU et. al. A subset of NSAIDs lower amyloidogenic  $\beta_{A_{42}}$  independently of cyclooxygenase activity. *Nature* 2001;414:212-16.
138. Van Marum RJ. Current and future therapy in Alzheimer's disease. *Fundam Clin Pharmacol* 2008;22:265-74.
139. Mangialasche F, Solomon A, Winblad B, Mecocci P, Kivipelto M. Alzheimer's disease: clinical trials and drug development. *Lancet Neurol* 2010;9:702-16.
140. Schenk D. Amyloid- $\beta$  immunotherapy for Alzheimer's disease: the end of the beginning. *Nature* 2002;3:824-8.
141. Bard F, Cannon C, Barbour R, Burke RL, Games D, Grajeda H et. al. Peripherally administered antibodies against amyloid  $\beta$ -peptide enter the central nervous system and reduce pathology in a Mouse model of Alzheimer disease. *Nat Med* 2000;6:916-9.
142. Wilcock DM, Gharkholonarehe N, VanNostrand WE, Davis J, Vitek MP, Colton CA. Amyloid reduction by amyloid- $\beta$  vaccination also reduces mouse tau pathology and protects from neuron loss in twomouse models of Alzheimer's disease. *J Neurosci* 2009;29:7957-65.
143. Klyubin I, Walsh DM, Lemere CA, Cullen WK, Shankar GM, Betts V et. al. Amyloid  $\beta$  protein immunotherapy neutralizes A $\beta$  oligomers that disrupt synaptic plasticity *in vivo*. *Nat Med* 2005;11:556-61.
144. Wilcock DM, Colton CA. Anti-amyloid-beta immunotherapy in Alzheimer's disease: relevance of transgenic mouse studies to clinical trials. *J Alzheimers Dis* 2008;15:555-69.
145. Schenk D, Barbour R, Dunn W, Gordon G, Grajeda H, Guido T et. al. Immunization with amyloid- $\beta$  attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP Mouse. *Nature* 1999;400:173-7.

146. DeMattos, RB, Bales KR, Cummins DJ, Dodart J, Paul SM, Holtzman DM. Peripheral anti-A $\beta$  antibody alters CNS and plasma A $\beta$  clearance and decreases brain A $\beta$  burden in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:8850-5.
147. Solomon B, Koppel R, Hanan E, Katzav T. Monoclonal antibodies inhibit in vitro fibrillar aggregation of the Alzheimer  $\beta$ -amyloid peptide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:452-5.
148. Solomon B, Koppel R, Frenkel D, Hanan-Aharon E. Disaggregation of Alzheimer  $\beta$ -amyloid by site-directed mAb. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:4109-12.
149. Frenkel D, Katz O, Solomon B. Immunization against Alzheimer's  $\beta$ -amyloid plaques via EFRH phage administration. *Proc Natl Acad Sci. USA* 2000;97:11455-59.
150. McElhaney E, Effros RB. Immuno-senescence: what does it mean to health outcomes in older adults? *Curr Opin Immunol* 2009;21:418-24.
151. McLaurin J, Golomb R, Jurewicz A, Antel JP, Fraser PE. Inositol stereoisomers stabilize an oligomeric aggregate of Alzheimer amyloid beta peptide and inhibit A $\beta$ -induced toxicity. *J Biol Chem* 2000;275:18495-502.
152. Sun Y, Zhang G, Hawkes CA, Shaw JE, McLaurin J, Nitz M. Synthesis of scyllo-inositol derivatives and their effects on amyloid beta peptide aggregation. *Bioorg Med Chem* 2008;16:7177-84.
153. DaSilva KA, Shaw JE, McLaurin J. Amyloid-beta fibrillogenesis: structural insight and therapeutic intervention. *Exp Neurol* 2010;223:311-21.
154. Mandel SA, Amit T, Kalfon L, Reznichenko L, Weinreb O, Youdim MB. Cell signaling pathways and iron chelation in the neurorestorative activity of green tea polyphenols: special reference to epigallocatechin gallate (EGCG). *J Alzheimers Dis* 2008;15:211-22.
155. Cherny RA, Atwood CS, Xilinas ME, Gray DN, Jones WD, McLean CA et. al. Treatment with a copper-zinc chelator markedly and rapidly inhibits  $\beta$ -amyloid accumulation in Alzheimer's disease transgenic mice. *Neuron* 2001;30:665-76.
156. Adlard PA, Cherny RA, Finkelstein DI, Gautier E, Robb E, Cortes M et. al. Rapid restoration of cognition in Alzheimer's transgenic mice with 8-hydroxy

- quinoline analogs is associated with decreased interstitial Abeta. *Neuron* 2008;59:43-55.
157. Bush AI, Pettingell WH, Multhaup G, Paradis M, Vonsattel JP, Gusella JF et. al. Rapid induction of Alzheimer A $\beta$  amyloid formation by zinc. *Science* 1994;265:1464-7.
158. Sabbagh MN, Agro A, Bell J, Aisen PS, Schweizer E, Galasko D. PF-04494700, an oral inhibitor of receptor for advanced glycation end products (RAGE), in alzheimer's disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2011;25(3):206-12.
159. Rogers J, Webster S, Lue LF, Brachova L, Civin WH, Emmerling M et. al. Inflammation and Alzheimer's disease pathogenesis. *Neurobiol Aging* 1996;17:681-6.
160. Yan Q, Zhang J, Liu H, Babu-Khan S, Vassar R, Biere AL et. al. Anti-inflammatory drug therapy alters  $\beta$ -amyloid processing and deposition in an animal model of Alzheimer's disease. *J Neurosci* 2003;20:7504-9.
161. Jantzen PT, Connor KE, DiCarlo G, Wenk GL, Wallace JL, Rojiani AM et. al. Microglial activation and beta-amyloid deposit reduction caused by a nitric oxide-releasing nonsteroidal anti-inflammatory drug in amyloid precursor protein plus presenilin-1 transgenic mice. *J Neurosci* 2002;22:2246-54.
162. Masse I, Bordet R, Deplanque D, Al Khedr A, Richard F, Libersa C et. al. Lipid lowering agents are associated with a slower cognitive decline in Alzheimer's disease. *Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005;76:1624-9.
163. Zigman WB, Schupf N, Jenkins EC, Urv TK, Tycko B, Silverman W. Cholesterol level, statin use and alzheimer's disease in adults with down syndrome. *Neurosci Lett* 2007; 416(3):279-84.
164. Sonvico F, Zimetti F, Pohlmann AR, Guterres SS. Drug delivery to the brain: how can nanoencapsulated statins be used in the clinic? *Ther Deliv* 2017;8(8):625-31.
165. Sparks DL, Kuo YM, Roher A, Martin T, Lukas RJ. Alterations of Alzheimer's disease in the cholesterol-fed rabbit, including vascular inflammation. Preliminary observations. *Ann N Y Acad Sci* 2000;903:335-44.

166. Refolo LM, Pappolla MA, LaFrancois J, Malester B, Schmidt SD, Thomas-Bryant T et. al. A cholesterol-lowering drug reduces  $\beta$ -amyloid pathology in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis* 2001;8:890-9.
167. Wolozin B, Kellman W, Ruosseau P, Celesia GG, Siegel G. Decreased prevalence of Alzheimer's disease associated with 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors. *Arch Neurol* 2000;57:1439-43.
168. Green RC, McNagny SE, Jayakumar P, Cupples LA, Benke K, Farrer LA. Statin use and the risk of Alzheimer's disease: The MIRAGE Study. *Alzheimers Dement* 2006;2:96-103.
169. Desilets AR, Koslowski DA, Dunican KC. The role of statins in the prevention and treatment of Alzheimer's disease. *J Pharm Technol* 2010;26:276-84.
170. Shepardson NE, Shankar GM, Selkoe DJ. Cholesterol and statins in Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 2011;68(11):1385-92.
171. Wood WG, Eckert GP, Igbavboa U, Müller WE. Statins and neuroprotection: A prescription to move the field forward. *Ann N Y Acad Sci* 2010;1199:69-76.
172. Breitner JC, Wyse BW, Anthony JC, Welsh-Bohmer KA, Steffens DC, Norton MC et. al. APOEepsilon4 count predicts age when prevalence of AD increases, then declines: the Cache County study. *Neurology* 1999;53:321-31.
173. Van Duijn CM, De Knijff P, Cruts M, Wehnert A, Havekes LM, Hofman A et. al. Apolipoprotein E4 allele in a population-based study of early-onset Alzheimer's disease. *Nat Genet* 1994;7:74-8.
174. Etienne P, Gauthier S, Dastoor D, Collier B, Ratner J. Lecithin in Alzheimer's disease. *Lancet* 1978; 2(8101):1206.
175. Higgins JP, Flicker L. Lecithin for dementia and cognitive impairment. *Cochrane Database Syst Rev* 2000;(2):CD001015.
176. Stern Y, Sano M, Mayeux R. Effects of physostigmine in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1987;22(3):306-10.
177. Farlow M, Gracon SI, Hershey LA, Lewis KW, Sadowsky CH, Dolan-Ureno JA. Controlled trial of tacrine in Alzheimer's disease. The Tacrine Study Group. *J Am Med Assoc* 1992;268:2523-29.
178. Knapp MJ, Knopman DS, Solomon PR, Pendlebury WW, Davis CS, Gracon SI. A 30-week randomized controlled trial of high-dose tacrine in patients with Alzheimer's disease. The Tacrine Study Group. *J Am Med Assoc* 1994;271:985-91.

179. Kurz A. The therapeutic potential of tacrine. *J Neural Transm Suppl* 1998;54:295-99.
180. Watkins PB, Zimmerman HJ, Knapp MJ, Gracon SI, Lewis KW. Hepatotoxic effects of tacrine administration in patients with Alzheimer's disease. *J Am Med Assoc* 1994;271:992-98.
181. Jeyarasasingam G, Yeluashvili M, Quik M. Tacrine, a reversible acetylcholinesterase inhibitor, induces myopathy. *NeuroReport* 2000; 11:1173-6.
182. Qizilbash N, Birks J, Lopez-Arrieta J, Lewington S, Szeto S. Tacrine for Alzheimer's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2000;2:CD000202.
183. Giacobini E. Cholinesterase inhibitors stabilize Alzheimer's disease. *Ann NY Acad Sci* 2000;920:321-7.
184. Giacobini E. Cholinesterase inhibitor therapy stabilizes symptoms of Alzheimer's disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2000;14:S3-S10.
185. Bryson HM, Benfield P. Donepezil. *Drugs Aging* 1997;10:234-9.
186. Rogers SL, Farlow MR, Doody RS, Mohs R, Friedhoff LT. A 24-week, double-blind, placebo-controlled trial of donepezil in patients with Alzheimer's disease. Donepezil Study Group. *Neurology* 1998;50:136-45.
187. Rogers SL, Doody RS, Pratt RD, Ieni JR. Long-term efficacy and safety of donepezil in the treatment of Alzheimer's disease: final analysis of a US multicentre open-label study. *Eur Neuropsychopharmacol* 2000;10: 195-03.
188. Alagiakrishnan K, Wong W, Blanchette PL. Use of donepezil in elderly patients with Alzheimer's disease-a Hawaii based study. *Hawaii Med J* 2000;59:57-9.
189. Dooley M, Lamb HM. Donepezil: a review of its use in Alzheimer's disease. *Drugs Aging* 2000;16:199-226.
190. Homma A, Takeda M, Imai Y, Udaka F, Hasegawa K, Kameyama M et. al. Clinical efficacy and safety of donepezil on cognitive and global function in patients with Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2000;11:299-313.
191. Amouyal-Barkate K, Bagheri-Charabiani H, Montastruc JL, Moulias S, Vellas B. Abnormal movements with donepezil in Alzheimer's disease. *Ann Pharmacother* 2000;34:1347.

192. Matthews HP, Korbey J, Wilkinson DG, Rowden J. Donepezil in Alzheimer's disease: 18-month results from Southampton Memory. *Clinic Int J Geriatr Psychiatry* 2000;15:713-20.
193. Evans M, Ellis A, Watson D, Chowdhury T. Sustained cognitive improvement following treatment of Alzheimer's disease with donepezil. *Int J Geriatr Psychiatry* 2000;15:50-53.
194. Doody RS, Geldmacher DS, Gordon B, Perdomo CA, Pratt RD. Open-label, multicenter, phase III extension study of the safety and efficacy of donepezil in patients with Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 2001;58:427-33.
195. Feldman H, Gauthier S, Hecker J, Vellas B, Subbiah P, Whalen E. Donepezil MSAD Study Investigators Group. A 24-week, randomized, double-blind study of donepezil in moderate to severe Alzheimer's disease. *Neurology* 2001;57:613-20.
196. Gauthier S. Cholinergic adverse effects of cholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease: epidemiology and management. *Drugs Aging* 2001;18:853-62.
197. Tariot PN. Maintaining cognitive function in Alzheimer disease: how effective are current treatments. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2001;1:S26-S33.
198. Bai DL, Tang XC, He XC. Huperzine A, a potential therapeutic agent for treatment of Alzheimer's disease. *Curr Med Chem* 2000;7:355-74.
199. Lilienfeld S, Parys W. Galantamine: additional benefits to patients with Alzheimer's disease. *Dement. Geriatr Cogn Disord* 2000;11:S19-S27.
200. Scott LJ, Goa KL. Galantamine: a review of its use in Alzheimer's disease. *Drugs* 2000;60:1095-22.
201. Blesa R. Galantamine: therapeutic effects beyond cognition. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2000;11:28-34.
202. Avery EE, Baker LD, Asthana S. Potential role of muscarinic agonists in Alzheimer's disease. *Drugs Aging* 1997;11:450-9.
203. Muller D, Wiegmann H, Langer U, Moltzen-Lenz S, Nitsch RM. Lu25-109, a combined M1 agonist and M2 antagonist, modulates regulated processing of the amyloid precursor protein of Alzheimer's disease. *J Neural Transm* 1998;105:1029-43.
204. Fisher, A. Therapeutic strategies in Alzheimer's disease: M1 muscarinic agonists. *Jpn J Pharmacol* 2000;84:101-12.



205. Korczyn AD. Muscarinic M1 agonists in the treatment of Alzheimer's disease. *Expert Opin Investig Drugs* 2000;9:2259-67.
206. Veroff AE, Bodick NC, Offen WW, Sramek JJ, Cutler NR. Efficacy of xanomeline in Alzheimer disease: cognitive improvement measured using the Computerized Neuropsychological Test Battery (CNTB). *Alzheimer Dis Assoc Disord* 1998;12:304-12.
207. Bodick NC, Offen WW, Levey AI, Cutler NR, Gauthier SG, Satlin A et al. Effects of xanomeline, a selective muscarinic receptor agonist, on cognitive function and behavioral symptoms in Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 1997;54:465-73.
208. Schwarz RD, Callahan MJ, Coughenour LL, Dickerson MR, Kinsora JJ, Lipinski WJ et al. Milameline (CI-979/RU35926): a muscarinic receptor agonist with cognition-activating properties: biochemical and *in vivo* characterization. *J Pharmacol Exp Ther* 1999;291:812-22.
209. Emilien G, Beyreuther K, Masters ML, Maloteaux JM. Prospects for pharmacological intervention in Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 2000;57:454-9.
210. Zhao X, Kuryatov A, Lindstrom JM, Yeh JZ, Narahashi T. Nootropic drug modulation of neuronal nicotinic acetylcholine receptors in rat cortical neurons. *Mol Pharmacol* 2001;59:674-83.
211. Quirion R, Richard J, Wilson A. Muscarinic and nicotinic modulation of cortical acetylcholine release monitored by *in vivo* microdialysis in freely moving adult rats. *Synapse* 1994;17:92-100.
212. Whitehouse PJ, Martino AM, Antuono PG, Lowenstein PR, Coyle JT, Price DL et al. Nicotinic acetylcholine binding sites in Alzheimer's disease. *Brain Res* 1986;371:146-151.
213. Perry EK, Perry RH, Smith CJ, Dick DJ, Candy JM, Edwardson JA et al. Nicotinic receptor abnormalities in Alzheimer's and Parkinson's diseases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1987;50:806-9.
214. Araujo DM, Lapchak PA, Collier B, Quirion R. *N*-[3H]methylcarbamylcholine binding sites in the rat and human brain: relationship to functional nicotinic autoreceptors and alterations in Alzheimer's disease. *Prog Brain Res* 1989;79:345-52.

215. Aubert I, Araujo DM, Cecyre D, Robitaille Y, Gauthier S, Quirion R. Comparative alterations of nicotinic and muscarinic binding sites in Alzheimer's and Parkinson's diseases. *J Neurochem* 1992;58:529-41.
216. Martin-Ruiz CM, Court JA, Molnar E, Lee M, Gotti C, Mamalaki A et. al. Alpha4 but not alpha3 and alpha7 nicotinic acetylcholine receptor subunits are lost from the temporal cortex in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 1999;73:1635-40.
217. Nordberg A. Nicotinic receptor abnormalities of Alzheimer's disease: therapeutic implications. *Biol Psychiatry* 2001;49:200-10.
218. Newhouse PA, Sunderland T, Tariot PN, Blumhardt CL, Weingartner H, Mellow A et. al. Intravenous nicotine in Alzheimer's disease: a pilot study. *Psychopharmacology* 1988;95:171-5.
219. Lloyd GK, Menzaghi F, Bontempi B, Suto C, Siegel R, Akong M et. al. The potential of subtype-selective neuronal nicotinic acetylcholine receptor agonists as therapeutic agents. *Life Sci* 1998;62:1601-6.
220. Prendergast MA, Jackson WJ, Terry Jr AV, Decker MW, Arneric SP, Buccafusco JJ. Central nicotinic receptor agonists ABT-418, ABT-089, and (-)-nicotine reduce distractibility in adult monkeys. *Psychopharmacology* 1998;136:50-8.
221. Cosford ND, Bleicher L, Vernier JM, Chavez-Noriega LE, Rao TS, Siegel RS et. al. Recombinant human receptors and functional assays in the discovery of altinicline (SIB-1508Y), a novel acetylcholine-gated ion channel (nAChR) agonist. *Pharm Acta Helv* 2000;74:125-30.
222. Nielsen SF, Nielsen EO, Olsen GM, Liljefors T, Peters D. Novel potent ligands for the central nicotinic acetylcholine receptor: synthesis, receptor binding, and 3D-QSAR analysis. *J Med Chem* 2000;43:2217-26.
223. Woodruff-Pak DS, Vogel III RW, Wenk GL. Galantamine: effect on nicotinic receptor binding, acetylcholinesterase inhibition, and learning. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;98:2089-94.
224. Cuello AC. Trophic responses of forebrain cholinergic neurons: a discussion. *Prog Brain Res* 1993;98:265-77.
225. Nabeshima T, Yamada K. Neurotrophic factor strategies for the treatment of Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2000;14:S39-S46.

226. Kwon OS, Chung YB, Kim MH, Hahn HG, Rhee HK, Ryu JC. Pharmacokinetics of propentofylline and the quantitation of its metabolite hydroxypropentofylline in human volunteers. *Arch Pharmacol Res* 1998;21:698-702.
227. Lahiri DK, Ge YW, Farlow MR. Effect of a memory-enhancing drug, AIT-082, on the level of synaptophysin. *Ann NY Acad Sci* 2000;903:387-93.
228. Fine A, Dunnett SB, Bjorklund A, Iversen SD. Cholinergic ventral forebrain grafts into the neocortex improve passive avoidance memory in a rat model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;82:5227-30.
229. Dunnett SB. Neural transplants as a treatment for Alzheimer's disease. *Psychol Med* 1991;21:825-30.
230. Stahl T, Goldammer A, Lushekina E, Beck M, Schliebs R, Bigl V. Long-term basal forebrain cholinergic-rich grafts derived from trisomy 16 mice do not develop beta-amyloid pathology and neurodegeneration but demonstrate neuroinflammatory responses. *Int J Dev Neurosci* 1998;16:763-75.
231. Barkats M, Bilang-Bleuel A, Buc-Caron MH, Castel-Barthe MN, Corti O, Finiels F et. al. Adenovirus in the brain: recent advances of gene therapy for neurodegenerative diseases. *Prog Neurobiol* 1998;55:333-41.
232. Baekelandt V, De Strooper B, Nuttin B, Debyser Z. Gene therapeutic strategies for neurodegenerative diseases. *Curr Opin Mol Ther* 2000;2:540-54.
233. Martinez-Serrano A, Fischer W, Bjorklund A. Reversal of age-dependent cognitive impairments and cholinergic neuron atrophy by NGF-secreting neural progenitors grafted to the basal forebrain. *Neuron* 1995;15:473-84.
234. Wyman T, Rohrer D, Kirigiti P, Nichols H, Pilcher K, Nilaver G et. al. Promoter-activated expression of nerve growth factor for treatment of neurodegenerative diseases. *Gene Ther* 1999;6:1648-60.
235. Mandel RJ, Gage FH, Clevenger DG, Spratt SK, Snyder RO, Leff SE. Nerve growth factor expressed in the medial septum following *in vivo* gene delivery using a recombinant adeno-associated viral vector protects cholinergic neurons from fimbria-fornix lesion-induced degeneration. *Exp Neurol* 1999;155:59-64.
236. Tuszynski MH, Roberts J, Senut MC, Phillips HS, Gage FH. Gene therapy in the adult primate brain: intraparenchymal grafts of cells genetically modified to produce nerve growth factor prevent cholinergic neuronal degeneration. *Gene Ther* 1996;3:305-14.

237. Mattson MP. Emerging neuroprotective strategies for Alzheimer's disease: dietary restriction, telomerase activation, and stem cell therapy. *Exp Gerontol* 2000;35:489-502.
238. Grigoryan GA, Gray JA, Rashid T, Chadwick A, Hodges H. Conditionally immortal neuroepithelial stem cell grafts restore spatial learning in rats with lesions at the source of cholinergic forebrain projections. *Restor Neurol Neurosci* 2000;17:1.
239. Ende N, Chen R, Ende-Harris D. Human umbilical cord blood cells ameliorate Alzheimer's disease in transgenic mice. *J Med* 2001;32:241-47.
240. 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* 2008;51:347-72.
241. Leon R, Garcia AG, Marco-Contelles J. Recent advances in the multitarget directed ligands approach for the treatment of Alzheimer's disease. *Med Res Rev* 2013;33:139-89.
242. Agis-Torres A, Solhuber M, Fernandez M, Sanchez-Montero JM. Multitarget-directed ligands and other therapeutic strategies in the search of a real solution for Alzheimer's disease. *Curr Neuropharmacol* 2014;12:2-36.
243. Prati F, Uliassi E, Bolgnesi ML. Two diseases, one approach: multitarget drug discovery in Alzheimer's and neglected tropical diseases. *Med Chem Commun* 2014;5:853-61.
244. Luo W, Li YP, He Y, Huang SL, Tan JH et al. Design, synthesis and evaluation of novel tacrine-multialkoxybenzene hybrids as dual inhibitors for cholinesterases and amyloid beta aggregation. *Bioorg Med Chem* 2011;19:763-70.
245. Kotler SA, Walsh P, Brender JR, Ramamoorthy A. Differences between amyloid- $\beta$  aggregation in solution and on the membrane: insights into elucidation of the mechanistic details of Alzheimer's disease. *Chem Soc Rev* 2014;43:6692-700.
246. Kaye R, Lasagna-Reeves CA. Molecular mechanisms of amyloid oligomers toxicity. *J Alzheimers Dis* 2013;33:S67-S78.
247. Stains CI, Ghosh MKI. Molecules that target beta-amyloid. *Chem Med Chem* 2007;12:1674-92.

248. Jiang L, Liu C, Leibly D, Landau M, Zhao M et. al. Structure-based discovery of fiber-binding compounds that reduced the cytotoxicity of amyloid beta. *Elife* 2013;2:e00857.
249. Bieschke J, Herbst M, Wiglenda T, Friedrich RP, Boeddrich A et al. Small-molecule conversion of toxic oligomers to nontoxic  $\beta$  sheet-rich amyloid fibrils. *Nat Chem Biol* 2011;8:93-101.
250. Wei G, Mousseau N, Derreumaux P. Computational simulations of the early steps of proetin aggregation. *Prion* 2007;1:3-8.
251. Petkova AT, Yau WM, Tycko R. Experimental constraints on quaternary structure in Alzheimer's beta-amyloid fibrils. *Biochemistry* 2006;45:498-512.
252. Landau M, Sawaya MR, Faull KF, Laganowsky A, Jiang H et al. Towards a pharmacophore for amyloid. *PLoS Biol* 2011;9:1-13.
253. Lopez LC, Dos-Reis S, Espargaro A, Carrodegua JA, Maddelein ML et al. Discovery of novel inhibitors of amyloid  $\beta$ -peptide 1-42 aggregation. *J Med Chem* 2012;55:9521-30.
254. Arai T, Araya T, Sasaki D, Taniguchi A, Sato T et. al. Rational design and identification of a non-peptidic aggregation inhibitor of amyloid  $\beta$  based on a pharmacophore motif obtained from cyclo[-Lys-Leu-Val-Phe-Phe-]. *Angew Chem Int Ed Engl* 2014;53:8236-9.
255. Guzior N, Bajda M, Skrok M, Kurpiewska K, Lewinski K et al. Development of multifunctional, heterodimeric isoindoline-1,3-dione derivatives as cholinesterase and  $\beta$ -amyloid aggregation inhibitors with neuroprotective properties. *Eur J Med Chem* 2015;92:738-49.
256. Kroth H, Ansaloni A, Varisco Y, Jan A, Sreenivasachary N et. al. Discovery and structure activity relationship of small molecule inhibitors of toxic  $\beta$ -amyloid-42 fibril formation. *J Biol Chem* 2012;287:34786-800.
257. Veloso AJ, Dhar D, Chow AM, Zhang B, Tang DW et. al. Sym-triazines for directed multitarget modulation of cholinesterases and amyloid- $\beta$  in Alzheimer's disease. *ACS Chem Neurosci* 2013;4:339-49
258. Lu C, Guo Y, Yan J, Luo Z, Luo HB et. al. Design, synthesis and evaluation of multitarget-directed resveratrol derivatives for the treatment of Alzheimer's disease. *J Med Chem* 2013;56:5843-59.

259. Li SY, Wang XB, Kong LY. Design, synthesis and evaluation of multitarget directed resveratrol derivatives for the treatment of Alzheimer's disease. *Eur J Med Chem* 2014;71:36-45.
260. Smith AD, Yaffe K. Dementia (including Alzheimer's disease) can be prevented: statement supported by international experts. *J Alzheimers Dis* 2014;38:699-703.
261. Daviglius ML, Bell CC, Berrettini W, Bowen PE, Connolly Jr ES et. al. NIH state-of-the-science conference statement: preventing Alzheimer's disease and cognitive decline. *NIH Consens State Sci Statements* 2010;27:1-30.
262. Han JY, Han SH. Primary prevention of Alzheimer's disease: is it an attainable goal? *J Korean Med Sci* 2014;29:886-892.
263. Bekris LM, Yu CE, Bird TD, Tsuang DW. Genetics of Alzheimer disease. *J Geriatr Psychiatry Neurol* 2010;23:213-27.
264. Bateman RJ, Xiong C, Benzinger TL, Fagan AM, Goate A et. al. Clinical and biomarker changes in dominantly inherited Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2012;367:795-804.
265. Reiman EM, Jessica BS, Langbaum AS, Fleisher RJ, Caselli KC et. al. Alzheimer's prevention initiative: a plan to accelerate the evaluation of presymptomatic treatments. *J Alzheimers Dis* 2011;26:321-9.
266. Kapkova 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 A $\beta$  fibril formation inhibition capacity. *Bioorg Med Chem* 2006;14:472-8.
267. Prinz M, Parlar S, Bayraktar G, Alptüzün V, Erciyas, E et. al. 1,4-Substituted 4-(1*H*)-pyridylene-hydrazone-type inhibitors of AChE, BuChE, and amyloid- $\beta$  aggregation crossing the blood-brain barrier. *Eur J Pharm Sci* 2013;49:603-13.
268. Parker MH, Chen R, Conway KA, Lee DHS, Luo C et. al. Synthesis of (-)-5,8-Dihydroxy-3*R*-methyl-2*R*-(dipropylamino)-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene: an inhibitor of  $\beta$ -amyloid<sub>1-42</sub> aggregation. *Bioorg Med Chem* 2002;10:3565-9.
269. Bag S, Tulsan R, Sood A, Cho H, Redjeb H et. al. Sulfonamides as multifunctional agents for Alzheimer's disease. *Bioorg Med Chem Lett* 2015;25:626-30.

270. Viayna E, Sola I, Bartolini M, De Simone A, Tapia-Rojas C et. al. Synthesis and multitarget biological profiling of a novel family of rhein derivatives as disease-modifying anti-Alzheimer agents. *J Med Chem* 2014;57(6):2549-67.
271. Li S, Wang X, Xie S, Jiang N, Wang KDG et. al. Multifunctional tacrine-flavonoid hybrids with cholinergic,  $\beta$ -amyloid-reducing, and metal chelating properties for the treatment of Alzheimer's disease. *Eur J Med Chem* 2013;69:632-46.
272. Sellarajah S, Lekishvili T, Bowring C, Thompsett AR, Rudyk H et. al. Synthesis of analogues of Congo Red and evaluation of their anti-prion activity. *J Med Chem* 2004;47(22):5515-34.
273. Qiang X, Li Y, Yang X, Luo L, Xu R et. al. DL-3-*n*-butylphthalide-Edaravone hybrids as novel dual inhibitors of amyloid- $\beta$  aggregation and monoamine oxidases with high antioxidant potency for Alzheimer's therapy. *Bioorg Med Chem Lett* 2017;27:718-22.
274. Mohamed T, Rao PPN. 2,4-Disubstituted quinazolines as amyloid- $\beta$  aggregation inhibitor with dual cholinesterase inhibition and antioxidant properties: Development and structure-activity relationship (SAR) studies. *Eur J Med Chem* 2017;126:823-43.
275. Czarnecka K, Szymanski P, Girek M, Mikiciuk-Olasik E, Skibinski R et. al. Tetrahydroacridine derivatives with fluorobenzoic acid moiety as multifunctional agents for Alzheimer's disease treatment. *Bioorg Chem* 2017;72:315-22.
276. Panek D, Wieckowska A, Wichur T, Bajda M, Godyna J et. al. Design, synthesis and biological evaluation of new phthalimide and saccharin derivatives with alicyclic amines targeting cholinesterases, beta-secretase and amyloid beta aggregation. *Eur J Med Chem* 2017;125:676-95.
277. Li Y, Qiang X, Luo L, Yang X, Xiao G et. al. Aurone Mannich base derivatives as promising multifunctional agents with acetylcholinesterase inhibition, anti- $\beta$ -amyloid aggregation and neuroprotective properties for the treatment of Alzheimer's disease. *Eur J Med Chem* 2017;126:762-75.
278. Sang Z, Pan W, Wang K, Ma Qa, Yu L et. al. Design, synthesis and evaluation of novel ferulic acid-O-alkylamine derivatives as potential multifunctional

- agents for the treatment of Alzheimer's disease. *Eur J Med Chem* 2017;130:379-92.
279. Lan J, Zhang T, Liu Y, Yang J, Xie S et. al. Design, synthesis and biological activity of novel donepezil derivatives bearing *N*-benzyl pyridinium moiety as potent and dual binding site acetylcholinesterase inhibitors. *Eur J Med Chem* 2017;133:184-96.
280. Sang Z, Qiang X, Li Y, Xu R, Cao Z et. al. Design, synthesis and evaluation of scutellarein-*O*-acetamidoalkylbenzylamines as potential multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease. *Eur J Med Chem* 2017;135:307-23.
281. Azimi S, Zonouzi A, Firuzi O, Iraj Aida, Saeedi M et. al. Discovery of imidazopyridines containing isoindoline-1,3-dione framework as a new class of BACE1 inhibitors: Design, synthesis and SAR analysis. *Eur J Med Chem* 2017;138:729-37.
282. Roldan-Pena JM, Alejandre-Ramos D, Lopez O, Maya I, Lagunes I et. al. New tacrine dimers with antioxidant linkers as dual drugs: Anti-Alzheimer's and antiproliferative agents. *Eur J Med Chem* 2017;138:761-73.
283. Yang H, Cai P, Liu Q, Yang X, Li F et. al. Design, synthesis and evaluation of coumarin-pargyline hybrids as novel dual inhibitors of monoamine oxidases and amyloid- $\beta$  aggregation for the treatment of Alzheimer's disease. *Eur J Med Chem* 2017;138:715-28.
284. Taguchi R, Hatayama K, Takahashi T, Hayashi T, Sato Y et. al. Structure-activity relations of rosmarinic acid derivatives for the amyloid  $\beta$  aggregation inhibition and antioxidant properties. *Eur J Med Chem* 2017;138:1066-75.
285. Jalili-Baleh L, Nadri H, Moradi A, Bukhari SNA, Shakibaie M et. al. New racemic annulated pyrazolo[1,2-*b*]phthalazines as tacrine-like AChE inhibitors with potential use in Alzheimer's disease, *Eur J Med Chem* 2017;139:280-9.
286. Wang J, Cai P, Yang X, Li F, Wu J et. al. Novel cinnamamide-dibenzylamine hybrids: Potent neurogenic agents with antioxidant, cholinergic, and neuroprotective properties as innovative drugs for Alzheimer's disease. *Eur J Med Chem* 2017;139:68-83.
287. Irwin JA, Wong HE, Kwon I. Determining binding sites of polycyclic aromatic small molecule-based amyloid-beta peptide aggregation modulators using sequence-specific antibodies. *Anal Biochem* 2015; 470:61-70.



288. Tran L, Ha-Duong T. Exploring the Alzheimer amyloid- $\beta$  peptide conformational ensemble: A review of molecular dynamics approaches. *Peptides* 2015;69:86-91.
289. Wang HY, Ying YL, Li Y, Kraatz HB, Long YT. Nanopore analysis of  $\beta$ -amyloid peptide aggregation transition induced by small molecules. *Anal Chem* 2011;83:1746-52.
290. Frid P, Anisimov SV, Popovic N. Congo red and protein aggregation in neurodegenerative diseases. *Brain Res Rev* 2007;53:135-60.
291. Bhavaraju M, Phillips M, Bowman D, Aceves-Hernandez JM, Hansmann UHE. Binding of ACE-inhibitors to *in vitro* and patient-derived amyloid- $\beta$  fibril models. *J Chem Phys* 2016;144:015101-13.
292. Lendel C, Bolognesi B, Wahlström A, Dobson CM, Gräslund A. Detergent-like interaction of congo red with the amyloid  $\beta$  peptide. *Biochem* 2010;49:1358-60.
293. Ishimura H, Kadoya R, Suzuki T, Murakawa T, Shulga S, Kurita N. Specific interactions between amyloid- $\beta$  peptide and curcumin derivatives: *Ab initio* molecular simulations. *Chem Phys Lett* 2015;633:139-45.
294. Ota S, Fujimori M, Ishimura H, Shulga S, Kurita N. Proposal for novel curcumin derivatives as potent inhibitors against Alzheimer's disease: *Ab initio* molecular simulations on the specific interactions between amyloid-beta peptide and curcumin. *Chem Phys Lett* 2017;685:482-9.
295. Kundaikar HS, Degani MS. Insights into the interaction mechanism of ligands with A $\beta$ <sub>42</sub> based on molecular dynamics simulations and mechanics: implications of role of common binding site in drug design for alzheimer's disease. *Chem Biol Drug Des* 2015;86:805-8-12.
296. Zhao LN, Chiu S-W, Benoit J, Chew LY, Mu Y. The Effect of Curcumin on the Stability of A $\beta$  Dimers. *J Phys Chem B* 2012;116(25):7428-35.
297. D'Angelo J, Desmaële D, Dumas F, Guingant A. The asymmetric Michael addition reactions using chiral imines. *Tetrahedron: Asymmetry* 1992;3(4):459-505.
298. Huang J-M, Zhang J-F, Dong Y, Gong W. An Effective Method To Prepare Imines from Aldehyde, Bromide/Epoxide, and Aqueous Ammonia. *J Org Chem* 2011;76:3511-14.

299. Fessenden RJ, Fessenden JS, Logue MW. *Organik Kimya*. Uyar T, editör. 9. baskı 2008;652-670.
300. Nourmohammadian F, Gholamib MD. Two novel push pull series of benzothiazole-based dyes: synthesis and characterization. *Helvetica Chimica Acta* 2012;95:1548-55.
301. Lewkowski J. The stereochemical behavior of terephthalic schiff bases in addition of dialkyl or diaryl phosphites. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements* 2005;180(1):179-95.
302. Das S, Das VK, Lakhinath S, Thakur AJ. Environment-friendly and solvent-free synthesis of symmetrical bis-imines under microwave irradiation. *Green Chemistry Letters and Reviews* 2012;5(3):457-74.
303. Liu H, Fu Z, Xu K, Cai, Liu X, Chen M. Structure-property relationship of highly  $\pi$ -conjugated schiff-base moiety in liquid crystal diepoxide polymerization and mesophases stabilization. *J Phys Chem B* 2011;115(23):7568-7.
304. L. Paquin, J. Hamelin, F. Texier-Boullet, *Synthesis* 2006;1652-1656.
305. Brabandt WV, Vanwalleghem M, D'hooghe M, De Kimpe N. Asymmetric synthesis of 1-(2- and 3-Haloalkyl)azetid-2-ones as precursors for novel piperazine, morpholine, and 1,4-diazepane annulated beta-lactams. *J Org Chem* 2006;71:7083-6.
306. Huang JM, Zhang JF, Dong Y and Gong W. An effective method to prepare imines from aldehyde, bromide/epoxide, and aqueous ammonia. *J Org Chem* 2011;76:3511-4.
307. Korich AL and Hughes TS. A facile, one-pot procedure for forming diarylimines from nitroarenes and benzaldehydes. *Synlett* 2007;16:2602-4.
308. Müller TE, Hultsch KC, Yus M, Foubelo F, Tada M. Hydroamination: Direct Addition of Amines to Alkenes and Alkynes. *Chem Rev* 2008; 108:3795-892.
309. Alonso F, Beletskaya IP, Yus M. Transition-metal-catalyzed addition of heteroatom-hydrogen bonds to alkynes. *Chem Rev* 2004;104:3079-159.
310. Tillack A, Castro IG, Hartung CG and Beller M. Anti-markovnikov hydroamination of terminal alkynes. *Angew Chem Int Ed* 2002;41(14):2541-3.
311. Mir R, Dudding T. A Au(I)-Precatalyst with a cyclopropenium counterion: an unusual ion pair. *J Org Chem* 2016;81:2675-9.

312. Kwon MS, Kim S, Park S, Bosco W, Chidrala RK, Park J. One-pot synthesis of imines and secondary amines by Pd-catalyzed coupling of benzyl alcohols and primary amines. *J Org Chem* 2009;74:2877-79.
313. Kondo T, Okada T and Mitsudo T. Ruthenium-catalyzed intramolecular oxidative amination of aminoalkenes enables rapid synthesis of cyclic imines. *J Am Chem Soc* 2002;9(124)(2):186-7.
314. Morales S, Guijarro FG, Ruano JLG and Cid MB. A general aminocatalytic method for the synthesis of aldimines. *J Am Chem Soc* 2014;136:1082-9.
315. Payette JN and Yamamoto H. Nitrosobenzene-mediated C-C bond cleavage reactions and spectral observation of an oxazetidin-4-one ring system. *J AM CHEM SOC* 2008;130:12276-8.
316. Nicolaou KC, Mathison CJN and Montagnon T. New reactions of IBX: oxidation of nitrogen and sulfur-containing substrates to afford useful synthetic intermediates. *Angew Chem Int Ed* 2003;42:4077-82.
317. Merino E. Synthesis of azobenzenes: the coloured pieces of molecular materials. *Chem Soc Rev* 2011;40:3835-53.
318. Zhao R, Tan C, Xie Y, Gao C, Liu H, Jiang Y. One step synthesis of azo compounds from nitroaromatics and anilines. *Tetra Lett* 2011;52:3805-9.
319. Nystroman RF, Brown DW. Reduction of organic compounds by lithium aluminum hydride. III. Halides, Quinones, Miscellaneous Nitrogen Compounds. 1948;70:3738-40.
320. Tadros W, Ishak MS, Bassili E. The reducing action of glycols in alkali. Part II. 1959;627-30.
321. Hutchins RO, Lamson DW, Rua L, Milewski C, Maryanoff B. Reduction of aromatic nitro compounds with sodium borohydride in dimethyl sulfoxide or sulfolane. Synthesis of azo or azoxy derivatives. *J Org Chem* 1971;36(6):803-6.
322. Richner G, van Bokhoven JA, Neuhold Y-M, Makosch M, Hungerbühler K. *In situ* infrared monitoring of the solid/liquid catalyst interface during the three-phase hydrogenation of nitrobenzene over nanosized Au on TiO<sub>2</sub>. *Phys Chem Chem Phys* 2011;13:12463-71.
323. Combata D, Concepción P, Corma A. Gold catalysts for the synthesis of aromatic azocompounds from nitroaromatics in one step. *J Catalysis* 2014;311:339-49.

324. Zhu H, Ke X, Yang X, Sarina S, Liu H. Reduction of nitroaromatic compounds on supported gold nanoparticles by visible and ultraviolet light. *Angew Chem Int Ed* 2010;49:9657-61.
325. Hu L, Cao X, Chen L, Zheng J, Lu J, Sun X et. al. Highly efficient synthesis of aromatic azos catalyzed by unsupported ultra-thin Pt nanowiresw. *Chem Commun* 2012;48:3445-47.
326. Wang J, He J, Zhi C, Luo B, Li X, Pan Y et. al. Highly efficient synthesis of azos catalyzed by the common metal copper (0) through oxidative coupling reactions. *RSC Adv* 2014;4:16607.
327. Massarani E, Nardi D, Mauri L. Antiviral compounds. XII. *Boll Chim Farm* 1965;104(3):155-69.
328. Cook AH, Jones DG. Cis azo compounds. II. *J Chem Soc* 1939;1309-15.
329. Altpeter J. The production of *p*-aminophenol. *Chemisch-Metallurgische Zeitschrift* 1930;20:2803-4.
330. Wirth HO, Herrmann FU, Herrmann G, Kern W. Correlations between constitution and scintillation properties in the *p*-oligophenylene series. *Mol Cryst* 1968;4(1-4):321-42.
331. Ellman GL, Courtney KD, Andres BJ, Featherstone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol* 1961;7:88-95.
332. Levine H. Thioflavine T interaction with synthetic alzheimer's disease  $\beta$ -amyloid peptides: detection of amyloid aggregation in solution. *Protein Science* 1993;2(3):404-10.

## ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Kocaeli’nde doğdum. 2004 yılında lisans eğitimime başladığım Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesinden 2008 yılında mezun oldum. Aynı yılın Eylül ayında lisansüstü eğitimime Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsünün açtığı Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programında başladım. 2009 yılında Farmasötik Kimya Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi kadrosuna atandım. 2011 yılında "Potansiyel 1*H*-Benzimidazol Türevi Bileşiklerin Sentez ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları" yüksek lisans tezimi tamamlayarak, aynı yıl Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsünün açtığı Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Doktora Programına kayıtlı oldum. Halen Farmasötik Kimya Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.