

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI 1,4-DİHİDROPİRİDİN TÜREVİ BİLEŞİKLERİN SENTEZ VE
BİYOAKTİVİTE ÇALIŞMALARI**

Farmasötik Kimya Programı
Yüksek Lisans Tezi

Eczacı
Sülünay PARLAR

Danışman Öğretim Üyesi
Yrd. Doç. Dr. Vildan ALPTÜZÜN

İZMİR
2007

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI 1,4-DİHİDROPIRİDİN TÜREVİ BİLEŞİKLERİN SENTEZ VE
BİYOAKTİVİTE ÇALIŞMALARI**

Farmasötik Kimya Programı
Yüksek Lisans Tezi

Eczacı
Sülünay PARLAR

Danışman Öğretim Üyesi
Yrd. Doç. Dr. Vildan ALPTÜZÜN

İZMİR
2007

DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

(Adı ve Soyadı)

(İmza)

Başkan :Yrd. Doç. Dr. Vildan ALPTÜZÜN
(Danışman)

.....

Üye :Prof. Dr. Erçin ERCİYAS

.....

Üye :Prof. Dr. Zeki TOPÇU

.....

Yüksek Lisans Tezinin Kabul Edildiği Tarih:.....

Bu tez çalışmasının gerçekleştirilmesinde her türlü bilgi ve katkılarını hiçbir zaman esirgemeyen danışman hocam *Sayın Yrd. Doç. Dr. Vildan ALPTÜZÜN'e*

Her konuda değerli destek ve yardımlarını gördüğüm Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Başkanı *Sayın Prof. Dr. Erçin Erciyas'a,*

Enzim aktivite testlerinin yapılmasındaki katkılarından dolayı Almanya Würzburg Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi *Sayın Prof. Dr. Ulrike Holzgrabe'ye* ve *Eva Kugelmann'a,*

Tez çalışmasının yazım aşaması sırasında yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen *Öğr. Gör. Dr. Mehmet Ali Ege'ye,*

Çalışmalarına mali destek sağlayan *E. Ü. Araştırma Fonu'na* (Proje No: 04/ECZ/029),

Kütle spektrumlarının alınmasında yardımcı olan Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi *Sayın Prof. Dr. Hakan Göker'e,*

Tez döneminde yaşadığım her türlü sıkıntımı paylaşan, bana ilgi ve destekleriyle her zaman moral kaynağı olan değerli *çalışma arkadaşlarıma,*

Yüksek Lisans tezim boyunca hep yanımda olup, beni destekleyen *aileme* sonsuz teşekkür, sevgi ve saygılarımı sunarım.

İzmir, 2007

Sülünay Parlar

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	i
Şekiller	iv
Şemalar.....	v
Tablolar	vi
Spektrumlar	vii
GİRİŞ	1
TEORİK BÖLÜM.....	6
I. NÖRODEJENERATİF HASTALIKLAR	6
A. Alzheimer Hastalığı	6
1. Alzheimer Hastalığı Tedavisinde Kullanılan veya Geliştirilen Tedavi Stratejileri.....	9
a. Antioksidan Tedavi	11
b. Nonsteroidal Antiinflatuar İlaçlar	11
c. Östrojen Tedavisi	12
d. Kolesterol Sentez İnhibitörleri (Statinler).....	12
e. Metal Kelatörler	12
f. Amiloid Agregasyon İnhibitörleri.....	13
g. β , γ -Sekretaz İnhibitörleri, α -Sekretaz Aktivatörleri.....	14
h. Muskarinik ve Nikotinik Kolinerjik Agonistleri.....	14
i. Asetilkolinesteraz İnhibitörleri	15
(1). Asetilkolinesteraz Enziminin Yapısı.....	16
(a) Periferik Bölge	16
(b) Aktif Bölge.....	17
(2). FDA Onayı Alan Asetilkolinesteraz İnhibitörleri.....	18
(a) Takrin	18
(b) Donapezil	19
(c) Galantamin	20
(d) (-)-Huperzin A, B	20
(e) Karbamatlar-Stigminler.....	21
(3). BuChE'ye karşı AChE: Dual İnhibisyon	22
(4). Araştırma Altındaki Bivalan İnhibitörler.....	23

(a)	Takrin Türevleri	24
(b)	Takrin Hibritleri	26
(c)	Takrin-Dihidropiridin Türevleri	31
(d)	Huperzin Hibritleri	33
(e)	Galantamin Türevleri	36
(f)	Bispridinyum Türevleri	37
DENEYSEL BÖLÜM.....		44
I.	SENTEZLER VE SPEKTRAL BULGULAR.....	44
A.	MATERYAL	44
B.	YÖNTEMLER	44
1.	Kromatografik Analizler	44
a.	İnce Tabaka Kromatografisi.....	44
2.	Spektral Analizler.....	45
3.	Erime Noktası Tayinleri	45
C.	Bileşiklerin Sentezi ve Spektral Bulguların Değerlendirilmesi	46
1.	Ara Ürünlerin Sentezi ve Spektral Bulguları (B-OH, B-CH ₃ , B-OCH ₃) ...	46
a.	B-OH Bileşiğinin Spektral Bulguları	48
b.	B-CH ₃ Bileşiğinin Spektral Bulguları	51
c.	B-OCH ₃ Bileşiğinin Spektral Bulguları	54
2.	Piridinyum Türevi Bileşiklerin Sentezi ve Spektral Bulguları (K1, K2, K3, K4, K5, K6).....	57
a.	K1 Bileşiğinin Spektral Bulguları	59
b.	K2 Bileşiğinin Spektral Bulguları	65
c.	K3 Bileşiğinin Spektral Bulguları	68
d.	K4 Bileşiğinin Spektral Bulguları	73
e.	K5 Bileşiğinin Spektral Bulguları	79
f.	K6 Bileşiğinin Spektral Bulguları	84
3.	1,4-Dihidropiridin Türevi Bileşiklerin Sentezi ve Spektral Bulguları (D1, D2, D3, D4, D5, D6)	89
a.	D1 Bileşiğinin Spektral Bulguları	91
b.	D2 Bileşiğinin Spektral Bulguları	96
c.	D3 Bileşiğinin Spektral Bulguları	102
d.	D4 Bileşiğinin Spektral Bulguları	107
e.	D5 Bileşiğinin Spektral Bulguları	112
f.	D6 Bileşiğinin Spektral Bulguları	117
II.	BİLEŞİKLERİN ASETİLKOLİNESTERAZ ENZİM AKTİVİTESİNİN TAYİN EDİLMESİ.....	122
A.	MATERYAL	122
1.	Çözeltiler	122
a.	Fosfat Tamponu pH=8.0	122
b.	5-5-ditiyobis(2-nitrobenzoik asit) DTNB Çözeltisi (0.01 M)	122
c.	Asetiltiyokolin İyodür (ATC) 0.075 M.....	123
d.	Asetilkolinesteraz (AChE) Çözeltisi	123
B.	YÖNTEMLER	123
1.	İnhibisyon Çalışması	123
III.	1,4-DİHİDROPİRİDİN TÜREVİ BİLEŞİKLERİN DAĞILIM KATSAYILARININ (log P) HESAPLANMASI.....	125
TARTIŞMA		126
I.	SPEKTRAL BULGULARIN DEĞERLENDİRİLMESİ	130
A.	UV BULGULARI VE TARTIŞMA	130

B. IR BULGULARI VE TARTIŞMA.....	130
C. KÜTLE BULGULARI VE TARTIŞMA.....	131
D. ¹ H NMR BULGULARI VE TARTIŞMA.....	131
1. Ara ürünlerin (B-OH, B-CH ₃ , B-OCH ₃) ¹ H NMR Bulguları.....	131
2. K1, K2, K3 Kodlu bileşiklerin ¹ H NMR Bulguları.....	132
3. K4, K5, K6 Kodlu Bileşiklerin ¹ H NMR Bulguları.....	134
4. D1, D2, D3 Kodlu Bileşiklerin ¹ H NMR Bulguları.....	136
5. D4, D5, D6 Kodlu Bileşiklerin ¹ H NMR Bulguları.....	138
SONUÇ.....	141
ÖZET.....	144
SUMMARY.....	146
YARARLANILAN KAYNAKLAR.....	148
ÖZGEÇMİŞ.....	167

Şekiller

Şekil 1. Asetilkolinesteraz Enzim Çukuru	18
Şekil 2. Asetilkolinesteraz İnhibitörleri	38
Şekil 3. Takrin Türevi Asetilkolinesteraz İnhibitörleri.....	39
Şekil 4. Takrin Türevi Asetilkolinesteraz İnhibitörleri.....	40
Şekil 5. Takrin Türevi Asetilkolinesteraz İnhibitörleri.....	41
Şekil 6. Diğer Bivalan Asetilkolinesteraz İnhibitörleri.....	42
Şekil 7. Diğer Bivalan Asetilkolinesteraz İnhibitörleri.....	43

Şemalar

Şema 1. Tepkime Denklemi	46
Şema 2. Tepkime Denklemi	47
Şema 3. Tepkime Denklemi	57
Şema 4. Tepkime Denklemi	89
Şema 5. Tepkime Denklemi	128

Tablolar

Tablo 1. B-OH, B-CH ₃ , B-OCH ₃ Ara Ürünlerin Erime Dereceleri ve % Verimleri.	47
Tablo 2. K1, K2, K3, K4, K5, K6 Kodlu Bileşiklerin Erime Dereceleri, % Verimleri ve Reaksiyon Süreleri	57
Tablo 3. D1, D2, D3, D4, D5, D6 Kodlu Bileşiklerin Erime Dereceleri ve % Verimleri	90

Spektrumlar

Spektrum No 1. B-OH Bileşığının UV Spektrumu	49
Spektrum No 2. B-OH Bileşığının IR Spektrumu	49
Spektrum No 3. B-OH Bileşığının ¹ H NMR Spektrumu	50
Spektrum No 4. B-CH ₃ Bileşığının UV Spektrumu	52
Spektrum No 5. B-CH ₃ Bileşığının IR Spektrumu	52
Spektrum No 6. B-CH ₃ Bileşığının ¹ H NMR Spektrumu	53
Spektrum No 7. B-OCH ₃ Bileşığının UV Spektrumu	55
Spektrum No 8. B-OCH ₃ Bileşığının IR Spektrumu	55
Spektrum No 9. B-OCH ₃ Bileşığının ¹ H NMR Spektrumu	56
Spektrum No 10. K1 Bileşığının UV Spektrumu	61
Spektrum No 11. K1 Bileşığının IR Spektrumu	61
Spektrum No 12. K1 Bileşığının ¹ H NMR Spektrumu	62
Spektrum No 13. K1 Bileşığının D ₂ O İlave Edilmiş Çözeltisinin ¹ H NMR Spektrumu	63
Spektrum No 14. K1 Bileşığının Kütle Spektrumu	64
Spektrum No 15. K2 Bileşığının UV Spektrumu	66
Spektrum No 16. K2 Bileşığının IR Spektrumu	66
Spektrum No 17. K2 Bileşığının ¹ H NMR Spektrumu	67
Spektrum No 18. K3 Bileşığının UV Spektrumu	70
Spektrum No 19. K3 Bileşığının IR Spektrumu	70
Spektrum No 20. K3 Bileşığının ¹ H NMR Spektrumu	71
Spektrum No 21. K3 Bileşığının Kütle Spektrumu	72
Spektrum No 22. K4 Bileşığının UV Spektrumu	75
Spektrum No 23. K4 Bileşığının IR Spektrumu	75
Spektrum No 24. K4 Bileşığının ¹ H NMR Spektrumu	76
Spektrum No 25. K4 Bileşığının D ₂ O İlave Edilmiş Çözeltisinin ¹ H NMR Spektrumu	77
Spektrum No 26. K4 Bileşığının Kütle Spektrumu	78
Spektrum No 27. K5 Bileşığının UV Spektrumu	81
Spektrum No 28. K5 Bileşığının IR Spektrumu	81
Spektrum No 29. K5 Bileşığının ¹ H NMR Spektrumu	82

Spektrum No 30. K5 Bileşığının Kütle Spektrumu.....	83
Spektrum No 31. K6 Bileşığının UV Spektrumu	86
Spektrum No 32. K6 Bileşığının IR Spektrumu.....	86
Spektrum No 33. K6 Bileşığının ¹ H NMR Spektrumu	87
Spektrum No 34. K6 Bileşığının Kütle Spektrumu.....	88
Spektrum No 35. D1 Bileşığının UV Spektrumu	93
Spektrum No 36. D1 Bileşığının IR Spektrumu.....	93
Spektrum No 37. D1 Bileşığının ¹ H NMR Spektrumu	94
Spektrum No 38. D1 Bileşığının Kütle Spektrumu.....	95
Spektrum No 39. D2 Bileşığının UV Spektrumu	98
Spektrum No 40. D2 Bileşığının IR Spektrumu.....	98
Spektrum No 41. D2 Bileşığının ¹ H NMR Spektrumu	99
Spektrum No 42. D2 Bileşığının ¹ H NMR D ₂ SO ₄ Spektrumu.....	100
Spektrum No 43. D2 Bileşığının Kütle Spektrumu.....	101
Spektrum No 44. D3 Bileşığının UV Spektrumu	104
Spektrum No 45. D3 Bileşığının IR Spektrumu.....	104
Spektrum No 46. D3 Bileşığının ¹ H NMR Spektrumu	105
Spektrum No 47. D3 Bileşığının Kütle Spektrumu.....	106
Spektrum No 48. D4 Bileşığının UV Spektrumu	109
Spektrum No 49. D4 Bileşığının IR Spektrumu.....	109
Spektrum No 50. D4 Bileşığının ¹ H NMR Spektrumu	110
Spektrum No 51. D4 Bileşığının Kütle Spektrumu.....	111
Spektrum No 52. D5 Bileşığının UV Spektrumu	114
Spektrum No 53. D5 Bileşığının IR Spektrumu.....	114
Spektrum No 54. D5 Bileşığının ¹ H NMR Spektrumu	115
Spektrum No 55. D5 Bileşığının Kütle Spektrumu.....	116
Spektrum No 56. D6 Bileşığının UV Spektrumu	119
Spektrum No 57. D6 Bileşığının IR Spektrumu.....	119
Spektrum No 58. D6 Bileşığının ¹ H NMR Spektrumu	120
Spektrum No 59. D6 Bileşığının Kütle Spektrumu.....	121

GİRİŞ

Tıp alanındaki teknolojik ilerlemeler ve sağlık hizmetlerinin yaygınlaşması ile doğum ile ölüm hızları düşerek ortalama insan ömrü uzamakta ve dolayısıyla yaşlı nüfus artmaktadır. Bu artışa paralel olarak, demans ya da mental hastalıkların gelişme olasılığı artmaktadır (122). Tüm demans vakalarının %50'den fazlasını Alzheimer hastalığı oluşturmaktadır (109). Yaşlı popülasyon artışının devam etmesiyle Alzheimer hastalığının görülme sıklığının da artışı olasıdır (122). Alzheimer hastalığı endüstrileşmiş ülkelerdeki yaşlı toplum arasında ölüme yol açan hastalıklar arasında dördüncü sırada yer almaktadır (118). Tüm dünyada yaklaşık 18 milyon kişi demanstan etkilenmektedir. Nüfus değişimleri göz önüne alındığında 2025 yılında iki katına çıkarak 34 milyon insanı etkileyeceği öngörülmektedir. Hastalığın 65 yaşından sonra prevalansı değişmez bir şekilde her 5 yılda ikiye katlanmaktadır (69). Bu veriler Alzheimer hastalığının sayısının giderek artacağını ve bu hastalığın tedavisinin tüm toplumlar için önem kazanacağını göstermektedir.

Alzheimer hastalığında görülen en sık patolojik bulgular, nöronal apoptosis, senil plaklarda β -amiloid birikimi, tau proteinlerinin hiperfosforilasyonundan kaynaklanan nörofibriler yumaklar, serebrovasküler disfonksiyon ve beynin belirli

bölgelerinde kolinerjik transmisyonunda önemli ölçüde kayıptır (109). Tüm bu bulgular, Alzheimer hastalığının tedavi yaklaşımları açısından potansiyel hedeflerdir. Alzheimer hastalığında görülen bu patolojik bulgulara karşın en etkin tedavi stratejileri iki grupta toplanmaktadır. Bunlardan birisi β -amiloid peptid diğeri ise kolinerjik transmisyondur (6). Hastalığın semptomatik tedavisinde günümüzde en başarılı yaklaşım kolinerjik hipotezdir (6).

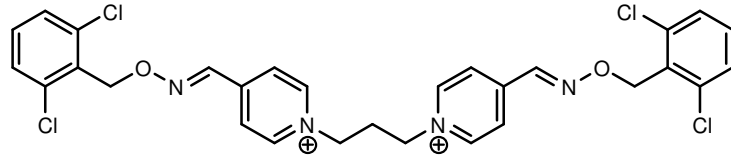
Alzheimer hastalarında bilişsel fonksiyonlardaki azalma, santral sinir sistemindeki nörotransmitter asetilkolindeki eksiklikten kaynaklanmaktadır. Bu yüzden tedavideki kolinerjik yaklaşım, ya bir agonist ile ya da asetilkolinesteraz inhibitörleri ile kolinerjik sistemin fonksiyonlarını artırmaktır (52). Alzheimer hastalığında bilişsel eksikliğin tedavisinde onaylanan mevcut ilaçlar, asetilkolinesteraz enzimini inhibe ederek etkisini göstermektedir (6). Günümüzde çalışmaların çoğu daha güvenli ve daha etkili yeni asetilkolinesteraz enzim inhibitörlerinin (AChEI) geliştirilmesine yöneliktir.

Asetilkolinesteraz enzim inhibitörlerinden ilk tedaviye giren takrin nonselektif olarak enzimi inhibe ederken, daha sonra tedaviye giren selektif etkili donepezil selektif etkisinin kolinerjik yan etkileri azaltması açısından daha etkili olduğu düşünülmüştür. Fakat bu hipotez artık kabul edilmemektedir. Aksine, yapılan son çalışmalarda hem asetilkolinesterazı hem de butirilkolinesterazı inhibe eden dual kolinesteraz inhibitörlerin enzim inhibisyonu yanında nöroprotektif etkilerinin de olduğu gösterilmiştir (39, 43, 134, 137).

Daha sonra yapılan çalışmalar bivalan inhibitörlerin geliştirilmesi üzerinde yoğunlaşmıştır. Asetilkolinesteraz enziminin hem aktif, hem de periferik yöresi ile etkileşen hetero-homodimerik takrin bileşikleri geliştirilmeye başlanmıştır. Uygun uzunlukta bağlayıcılarla iki molekül birbirine bağlanmış ve dimerik molekülün bir

molekülü enzimin aktif yöresi ile etkileşirken diğer takrin molekülü enzimin giriş kısmındaki PAS yöresi ile etkileşme göstermiş ve inhibitör etkide artış gözlenmiştir. Aynı zamanda bivalan inhibitörlerin nörodejenerasyonu önlediği düşünülmektedir (85).

Bis-takrin derivelerine benzerlik gösteren asetilkolinesteraz reaktivatör obidoksim analogu bispridinyum tipi bileşiklerin bisbenzileter özellikteki homodimer DUO3 bileşikleri üzerinde yapılan çalışmalarda diğer bis-yapılı bileşiklerin aksine belirgin bir şekilde daha düşük etki ortaya çıkmıştır (58). Bu etkideki azalışın molekülün tümünün enzim çukuru ile etkileşme için çok uzun olduğu dolayısı ile molekülün diğer parçasının enzim dışında kaldığı düşünülmüştür. DUO3 üzerinde yapılan moleküler modelleme çalışmalarında molekülün enzimle etkileşen kısmı, moleküldeki piridinyum halkasının enzimdeki aminoasit artığı Phe331 ve Tyr334 ile katyon- π ve π - π etkileşmesi gösterdiği saptanmıştır. Moleküldeki benzil artığı taşıyan diğer halkanın da Trp84 ile π - π etkileşmesi gösterdiği tespit edilmiştir.

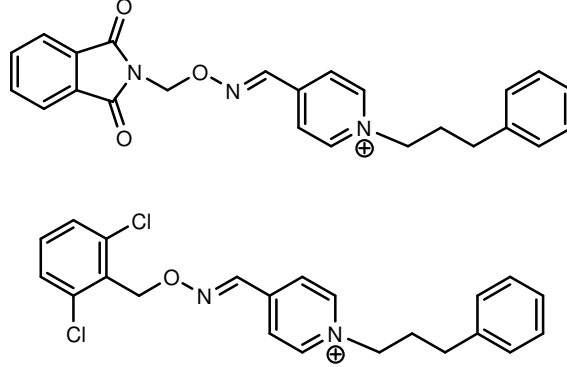


DUO3

Bir sonraki çalışmada DUO3 bileşiğinin kısaltılmış yeni deriveleri sentezlenmiş ve beklendiği gibi etkide belirgin bir artış gözlenmiştir. Bu bileşiklerin aynı zamanda amiloid fibril oluşumunu da engellediği tespit edilmiştir (2, 57).

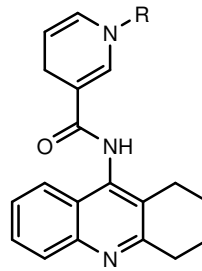
Bis yapısı gösteren DUO3 bileşiklerinin kısaltılması ile elde edilen mono türevlerin etkilerinde saptanan artışla yapılan moleküler modelleme çalışmalarından

elde edilen sonuçlar doğrultusunda yapıda enzimle etkileşme için + yüklü merkezin ve aromatik düzlemsel yapıların gerekli olduğu düşüncesine varılmıştır. Fakat bu grup bileşiklerin + yüklü merkez taşımaları sebebi ile kan-beyin engelini geçmeleri oldukça güçtür.



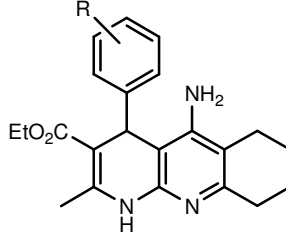
DUO3 Bileşiğinin Kısaltılmış Mono Türevleri

1,4-dihidropiridin yapısı bileşiklerin, birçok çalışmada taşıyıcı grup olarak kullanıldığı bilinmektedir (**94**, **95**, **116**). Yapılan çalışmalardan taşıyıcı grup olarak kullanılan 1,4-dihidropiridin yapısı taşıyan bileşiklerin kan-beyin bariyerini kolayca geçebildikleri ve daha sonra beyindeki fizyolojik ortamda aktif katerner yapıya okside oldukları bilinmektedir. Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılan takrin molekülüne 1,4-dihidropiridin grubu bağlanarak molekülün kan-beyin bariyerini geçişi kolaylaştırılmıştır (**95**).



Takrin-1,4-Dihidropiridin Türevi

1,4-dihidropiridin yapısındaki kalsiyum kanal blokörü nimodipinin nöroprotektif etkisinin olduğu tespit edilmiştir (90). Contelles ve arkadaşları takrin ve nimodipinin hibrid molekülünü sentezleyerek hem asetilkolinesterazı inhibe eden hem de nöroprotektif etki gösteren dual etkili takripirin adlı molekül sentezlemişlerdir. Çalışma sonucunda bu bileşiklerin selektif asetilkolinesteraz inhibisyonu ve nöroprotektif etki gösterdiğini tespit etmişlerdir (76).



Takripirin

Çalışmamızda DUO3 bileşiklerinin kısaltılması ile elde edilen mono türevi bileşiklere benzer yapı gösteren katerner yapıdaki bileşikler ve onların 1,4-dihidropiridin yapısındaki türevlerinin sentezlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda, tasarlanan bileşiklerin sentez yöntemleri ve yapı doğrulamaları rapor edilmektedir. Sentezi gerçekleştirilen katerner yapıdaki iki türevin de Ellman testi ile asetilkolinesteraz enzimine karşı inhibitör etkileri test edilmiştir (30). Biyolojik açıdan aktif birçok bileşiğin biyoaktivitelerini yönlendiren fizikokimyasal parametrelerden biri olan log P değeri kan-beyin engelini geçmesi beklenen 1,4-dihidropiridin yapısındaki bileşiklerimiz için ChemDraw Ultra 9.0 programında hesaplanmıştır. 1,4-Dihidropiridin yapısının asit ortamda katerner yapıya dönüştüğünü tespit etmek amacıyla D2 kodlu bileşiğimiz örnek olarak seçilmiş ve dötoroasit içerisinde ¹H NMR spektrumu alınmıştır. Elde edilen spektrum verileri bu hipotezi destekleyici niteliktedir.

Çalışmamızda sentezlenen K ve D serisi bileşikler ilk kez tarafımızdan rapor edilmektedir.

TEORİK BÖLÜM

I. NÖRODEJENERATİF HASTALIKLAR

Nörodejeneratif hastalıklar nöronların fonksiyonlarının ya da yapısının ilerleyen kaybı ile karakterize nörolojik hastalıkların alt tipini oluşturmaktadır. En yaygın görülen nörodejeneratif hastalıklar Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, Lewy cisimcikli demans, subkortikal vasküler demans ve Huntington hastalığı sayılabilir.

A. Alzheimer Hastalığı

Alzheimer hastalığı (AD), bilişsel işlevlerde bozulma, günlük yaşam aktivitelerinde azalma, davranışsal ve psikolojik bozukluklarla sonuçlanan ilerleyici bir nörodejeneratif hastalıktır (62). Geri dönüşsüz ve ilerleyici bilişsel yıkımın yol açtığı klinikle, hastanın ve hasta yakınlarının uyumu ve idamesi oldukça güçtür (56).

Alzheimer hastalığı, kardiyovasküler hastalıklar ve kanserle beraber, ekonomik olarak gelişmiş ülkelerdeki en önemli sağlık problemlerinden biridir (5). En sık demans nedeni olan ve tüm demans vakalarının % 50-70'ini oluşturan Alzheimer

hastalığı 65 yaşın üstündeki insanları % 10, 85 yaşın üstündekileri ise %30-35 oranında etkiler (59).

Alzheimer hastalığının gelişiminde ortaya konan kesin risk faktörleri yaş, aile öyküsü ve kişinin ApoE e4 alleline sahip olmasıdır (3, 59, 133). Hastalığın görülme sıklığı 60 yaşından önce nadirken, 65-85 yaşları arasında her 5 senede bir iki katına çıkmaktadır (124). Aile öyküsünde özellikle birinci derece akrabaların etkilenmesi önemlidir, bu durumda risk 4 kat artmaktadır (22, 51).

Yapılan çalışmalarda, kadınlarda hastalığın görülme sıklığının erkeklerden daha fazla olduğu tespit edilmiştir (82). Genel olarak kadın erkek görülme sıklığı oranı 2/1 olarak belirtilmektedir (123).

Kolesterol transportunda görevli bir protein olan apolipoprotein E'nin e4 alleli yapılan araştırmalarda normal beyaz popülasyonda %16 iken Alzheimer hastalarında %35-50 sıklıkta bulunması nedeniyle hastalığın majör faktörlerindedir (99).

Hastalığın diğer olası risk faktörleri ise; düşük eğitim düzeyi (37, 60), bilinç kaybına neden olan kafa travmaları, kardiyovasküler hastalık ve risk faktörleri (26, 62, 81), uzun süreli alkol kullanımı (127, 131), insüline bağımlı diyabet hastalığı ve Down sendromudur (59, 67, 80). Down sendromu olanların %90'ında 30 yaşında iken amiloid plaklar, nörofibriler yumaklar ve kolinerjik eksiklikler vardır (22).

Boksörlerde görülen demans kafaya gelen tekrarlayıcı darbelere bağlanmaktadır ve kafa travması ile demans gelişimi arasında uzun yıllar süren bir latent dönem olasıdır. Kapalı kafa travmasının en yaygın patolojik sonuçlarından biri aksonal harabiyettir. Önemli aksonal harabiyetin prelinik Alzheimer hastalığı semptomlarını şiddetlendirdiği ve klinik tanıya götürecektir bulguları arttırdığı ya da bir dizi hücrel bozukluğu başlattığı ve sonuçta anormal yapıda protein birikimlerine neden olabileceği düşünülmektedir.

Alzheimer hastalığı oluşumunda rol oynadığı ileri sürülen ve en çok tartışılan faktörlerden birisi de 'alüminyum' dur. Sanayide ve tıpta çok değişik alanlarda kullanılan alüminyum bileşiklerinin yol açtığı ensefalopati olguları ve deneysel bulgular mevcuttur ancak klinik ve histopatolojik olarak Alzheimer hastalığıyla benzerlik saptanmamıştır.

Alzheimer hastalığının oluşma riskini azalttığı düşünülen faktörler ise östrojen kullanımı ve non-steroid antiinflamatuvar ilaçlardır. Son çalışmalar sigara kullanımının Alzheimer gelişme riskini azalttığı bildirilmişse de, bu çalışmalar prevelans çalışmaları olmaları nedeniyle eleştirilmiştir. Son çalışmalar sigara kullanımının ApoE e4 alleleline sahip bireylerde hastalık oluşma riskini azalttığı, ApoE e4 alleleline sahip olmayan bireylerde hastalık oluşma riskini arttırdığı şeklindedir (78, 101).

Alzheimer hastalığının kesin tanısı nöropatolojik inceleme ile konulabilmektedir. Alzheimer hastalığının patolojisindeki özellikler kısaca, özellikle assosiasyon alanlarındaki ve bazı nükleuslardaki büyük nöronların kaybı, tau'nun nöron içi yumaklar halinde birikimi, beta amiloid proteinin korteks ve leptomeninkslerde plak adı verilen noktalarda ve arter duvarlarında birikimi ve astrosit ve mikrogliya çoğalması olarak sayılabilir.

Nörofibriler yumaklar Alzheimer hastalığındaki bulgularından biridir. Yumaklar çift sarmal iplikçiklerden oluşur ve tau proteinlerini içerir. Tau proteinin anormal fosforilasyonu çift sarmal iplikçilere, onların birikimi de nörofibriler yumaklara yol açar. Nörofibriler yumaklar hücre iskeletinde değişikliğe, aksonel taşımanın bozulmasına ve nöronal işlevlerin bozulmasına neden olur (81).

Hücre dışı yerleşimli senil amiloid plaklar amiloid prekürsör proteinden (APP) kaynaklanan 40-42 aminoasitlik santral yerleşimli β -amiloid peptid çekirdeği içerir.

Hastalığın patogenezi en iyi açıklayan hipotez olan amiloid kaskad hipotezinde, anahtar nokta, artmış ve uzun β amiloid plakların oluşmasıdır. Normal bir proteinin yanlış katlanan parçalarının, bir kitle halinde topaklanmasıdır. Bu normal protein, yani amiloid prekürsör proteini (APP) çeşitli dokularda hücrelerin dış zarında bulunmaktadır. APP alfa, beta ve gama sekretaz enzimlerince, üç ayrı bölgeden parçalara ya da peptidlere ayrılabilir. Alfa bölgesinden kesildiğinde oluşan parçalar hücreye zarar vermeden, daha kısa protein parçalarının oluşmasına neden olurken, beta ve gama bölgelerinden kesildiğinde, hidrofobik yapılar açıkta kalmakta ve ortaya çıkan parça, çözünmeyen toksik plaklar oluşturmak üzere topaklanmaktadır. Böyle oluşan peptidlerin en toksik beta sekretaz bölgesinden sonra ilk 42 aminoasidi içerdiğinden, amiloid beta 1-42 ($A\beta$ 1-42) olarak adlandırılmaktadır. En sık görülen peptid ise $A\beta$ 1-40'dır. Bu toksik plaklanmalar, çevrelerindeki beyin hücrelerinin işlevlerinin bozulmasına ve sonunda da ölmelerine neden olmaktadır (81).

1. Alzheimer Hastalığı Tedavisinde Kullanılan veya Geliştirilen Tedavi Stratejileri

20. yüzyılda tıptaki gelişmelere paralel olarak mortalite hızının azalması ile ortalama yaşam süresi 80'e yaklaşmıştır. ABD de yapılan epidemiyolojik araştırmalar 2050 yılında, bu ülkede 80 yaşın üzerinde olan insan sayısının nüfus içinde önemli bir miktarda olacağına işaret etmektedir. 85 yaşın üzerindeki insanların ise yaklaşık olarak yarısının Alzheimer hastası olacağı tahmin edilmektedir. Diğer taraftan tüm toplumlarda mortalite hızının azalmasına paralel olarak toplumun yaşlı insan dilimi büyümektedir (123). Bu veriler Alzheimer hastalığının sayısının giderek artacağını ve bu hastalığın tedavisinin tüm toplumlar için önem kazanacağını göstermektedir. Alzheimer hastalığı halen ilaçla kökten tedavisi mümkün olmayan

hastalıklar arasındadır. Bu bağlamda, bilimsel araştırma projelerine yönelik bütçelerin çoğu Alzheimer hastalığı ile ilişkili araştırmalara yönelmektedir (13).

Günümüzde Alzheimer hastalığının tedavisi için piyasada sadece birkaç çeşit terapötik ilaç bulunmaktadır. İlaçların asıl farmakolojik etkisi kolinerjik nörotransmitter sistemin hipofonksiyonuna bağlı olarak oluşan bilişsel fonksiyonlardaki azalmanın düzeltilmesi şeklindedir. Aynı zamanda Alzheimer hastalığının gelişiminin moleküler mekanizmasının genel içeriğine dayandırılan yeni tedavi yaklaşımları ise oldukça ümit vericidir. Bu yaklaşımlar, hem bilişsel-stimüle edici, hem de nöroprotektif özellikleri kombine eden akılcı ilaç dizaynının geliştirilmesi üzerinedir (36).

Şu anki çalışmaların ana hedefi, oluşan bilişsel fonksiyonlardaki azalmanın düzeltilmesinin yanı sıra, Alzheimer hastalığının önlenmesi ve tedavisi yönündedir.

Alzheimer hastalığı tedavisinde kullanılan ya da geliştirilen tedavi stratejileri şu ana başlıklar altında incelenebilir:

- a. Antioksidan Tedavi
- b. Nonsteroidal Antiinflamatuvar İlaçlar
- c. Östrojen Tedavisi
- d. Kolesterol Sentez İnhibitörleri (Statinler)
- e. Metal Kelatörler
- f. Amiloid Agregasyon İnhibitörleri
- g. β , γ -Sekretaz İnhibitörleri, α -Sekretaz Aktivatörleri
- h. Muskarinik ve Nikotinik Kolinerjik Agonistleri
- i. Asetilkolinesteraz İnhibitörleri

a. Antioksidan Tedavi

Yaşlanma ile birlikte serbest radikaller ve diğer oksidatif mekanizmalarda artış olduğuna ilişkin kanıtlar vardır. İleri yaşın Alzheimer hastalığının gelişiminde 'Primer Risk Faktörü' oluşu da bu mekanizmaların patogenezinde önemli olabileceğini düşündürmektedir.

Alzheimer hastalığı patogenezinde oksidatif hasarın nöron üzerindeki etkisi oldukça önemlidir. Oksidatif stresi azaltmanın ve antioksidan korumayı artırmanın hastalığın başlamasını ve ilerlemesini azaltmasında etkili olabileceği düşünülmektedir. Preklinik çalışmalar, antioksidanların tedavi edici etkileri olduğunu göstermiştir. Özellikle ginko biloba ekstresinin hidrojen peroksite bağlı hasardan nöronları koruduğu gösterilmiştir (88). Ayrıca yapılan bir klinik çalışmada hastaların bazı semptomlarında belirgin bir düzelme sağlanmıştır (68). Melatoninin antioksidan etkisine ilaveten antiamiloidojenik etkisi olduğu da gösterilmiştir (3, 91). Ayrıca antioksidan etkili vitamin E'nin orta dereceli Alzheimer hastalarında hastalığın gelişimini azalttığı bulunmuştur (128). Yapılan çalışmalarda idebenonun antioksidan etki gösterdiği ve Alzheimer tedavisinde güvenilir bir ilaç olduğu gözlenmiştir (46).

b. Nonsteroidal Antiinflamatuvar İlaçlar

Yapılan çalışmalar, nonsteroidal antinflatuar ilaç kullananlarda Alzheimer hastalığının daha ileri yaşlarda başladığını ve daha hafif seyrettiğini göstermiştir (46, 54). İbuprofen, Alzheimer hastalığının tedavisinde önerilen ilk nonsteroidal antinflatuar ilaçtır (73). Lim ve arkadaşları ibuprofenin β amiloid plak oluşumunu azaltarak Alzheimer üzerinde olumlu etkiler oluşturduğunu ileri sürmüştür (73). Yapılan çalışmalarda indometazin de Alzheimer hastalığının ilerleyişini azalttığı

tespit edilmiştir (103). Son bulgular, nonsteroidal antinflamatuar ilaçların COX aktivitesinden bağımsız olarak AP β 42 peptid düzeyini azaltarak beyinde direk olarak amiloid patolojisine etki ettiğine dikkati çekmektedir (136).

c. Östrojen Tedavisi

Östrojenin NGF'yi uyarıcı etki gösterdiği ya da antioksidan etki gösterdiği düşünülmektedir. Sinir hücreleri üzerindeki protektif etkilerinin antioksidan etkisinden dolayı olduğu düşünülmektedir (107). Aynı zamanda östrojenin, kolinesteraz aktivitesini arttırdığı tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda östrojen kullanan kadınların takrin tedavisinden daha fazla yararlandığı belirtilmiştir (103).

d. Kolesterol Sentez İnhibitörleri (Statinler)

Kolesterol yüksekliği ile Alzheimer hastalığı oluşması arasında pozitif bir ilişki olduğu saptanmıştır. Statinlerle tetiklenen kolesterol düzeyindeki azalma, APP metabolizmasını değiştirdiği ve AP β 'nin üretimini azalttığı düşünülmektedir (98). Yapılan çalışmalarda, simvastatinin, hastalarda A β sentezini azaltırken paralel olarak Alzheimer hastalığının ilerlemesini yavaşlattığı tespit edilmiştir (32, 141).

e. Metal Kelatörler

Çalışmalar, ileri yaşlarda bakır, alüminyum, demir ve çinko gibi metal iyonlarının beyinde daha fazla konsantre olduğunu göstermiştir (16). Bu metal iyonları A β agregasyonunu indüklemekte ve Alzheimer oluşumuna neden olmaktadır (16). Alzheimer hastalığında yüksek konsantrasyonlarda olduğu saptanan bu metal iyonlarının azaltılması ile tedavide başarı elde edilmiştir (35).

Dezferroksamin isimli kelatör ile metal iyonlarının uzaklaştırılması, beyinde oluşan senil plaklarda çözülme başlattığını göstermiştir (86).

Daha önce antibiyotik olarak kullanılan fakat B₁₂ eksikliği oluşturduğu için 1970'li yıllarda Japonya'da ruhsatı iptal edilen kliokinol bu metallerle kelat oluşturmaktadır. Alzheimer hastalığı modellenmiş farelerde yapılan bir çalışmada, kliokinol alan farelerde, kontrollere göre hastalığın ilerlemesini yavaşlattığı ve A β birikiminin azaldığı, bunun yanı sıra bilişsel yeteneklerde de belirgin bir iyileşme olduğu gözlenmiştir. Amerika'da kullanımdan çekilmeyen ve B₁₂ ilave edilerek kullanılmaya devam eden kliokinol ile Alzheimer hastalığına yönelik yeni endikasyon için klinik çalışmalar devam etmektedir (49).

f. Amiloid Agregasyon İnhibitörleri

Mutasyona bağlı oluşan A β 'ların fibrillerde ve oligomerlerde birikmesini veya toplanmasını durdurmak, nörotik plakların oluşmasını engellemektedir. Bazı kritik konsantrasyonlarda A β 'lar, solüsyon içerisinde stabil olarak kalmamakta ve çökmektedir (92).

Kolilamid PPI 368, D-peptid PPI 1019 ve L-peptid iA β 5p bileşiklerinin yapılan *in vitro* deneyler sonucunda fibril oluşumunu bloke ettiği ve A β çökmesini önlediği bulunmuştur. Alzheimer hastalığının tedavisinde katkısı olabileceği düşünülmektedir (34). Plazmada yıkılıma uğradıkları için *in vivo* etkileri henüz saptanmamıştır. Bu durum klinik denemelerin önündeki en büyük engeldir (34).

AP β 'nın modifiye analogları olan uzun zincirli peptidlerin antiagregasyon özelliği taşıdığı tespit edilmesine rağmen bu peptidlerin klinikte kan-beyin bariyerini geçişi çok yavaş olmasından ve alerjik reaksiyonlar gibi yan etkilerinden dolayı, son yıllarda, düşük molekül ağırlıklı bir grup peptid sentezlenmesi üzerinde araştırmalar yoğunlaşmıştır ve bu peptidlerin amiloid fibril oluşturmasına karşı protektif etkileri ve güçlü AP β anti-agregasyon özelliklerinin olduğu tespit edilmiştir (65, 119, 129).

g. β , γ -Sekretaz İnhibitörleri, α -Sekretaz Aktivatörleri

Alzheimer hastalığını tedavi etmek için veya oluşumunu engellemek için, A β 42'nin neden olduğu amiloid plak oluşumunu inhibe etmek ya da azaltmak en temel yaklaşımdır. Çökmek suretiyle plak oluşumuna neden olan bu A β peptidi sentezinde rol oynayan sekretaz (β ve γ) enzimlerini inhibe etmek üzerine yoğun çalışmalar mevcuttur (139).

APP'nin A β bölgesinde, β -sekretaz enzim aktivitesini inhibe eden çeşitli aspartil proteaz katalizörü maddeler yapılmıştır. Bunlar genellikle aspartatları kataliz eden iki hidroksietil grubu içeren statin benzeri bileşiklerdir (40, 53). Bu grup bileşiklerle hastalığın patogenezinde rol oynayan A β sentezi, başlangıç döneminde inhibe edilmiş olur. Ancak bu tür bileşiklerin membranlardan geçişi zayıftır (41).

γ -sekretaz enzimi diğer sekretazlara göre daha karmaşık yapıda bir enzimdir. γ -sekretaz enzimi presenilin içeren karmaşık bir membran proteini yapısındadır (140). γ -sekretaz enziminin hücre membranından geçebilen inhibitörleri sentezlenmiş ve bunların Alzheimer hastalığı tedavisindeki yeri araştırma konusu olmuştur (113). Aspartil proteaz içeren benzodiazepin benzeri yapıya sahip bazı bileşiklerin *in vitro* inhibitör etki gösterdiği tespit edilmiştir (71). Benzokoprolaktam isimli bir başka γ -sekretaz inhibitörü ajanın farelerde amiloid plak oluşumunu azalttığı saptanmıştır (25, 47).

h. Muskarinik ve Nikotinik Kolinergik Agonistleri

Alzheimer hastalarında bilişsel işlevlerin ve özellikle bellek bozukluğunun azalmış kolinergik transmisyonundan kaynaklandığı öngörülmektedir. Alzheimer hastalarında kolinergik sistemin artırılmasının bir yolu, direk kolinergik reseptörlerin uyarılmasıdır. Öğrenmekte ve bellekte rol oynayan kortikal ve hipokampal yapılarda

bulunan MI reseptörlerinin, kolinerjik inputun azalmasına rağmen sağlam kaldığı gösterilmiştir. Alzheimer hastalarında bu nedenle MI reseptör agonistlerinin etkili olabileceği düşünülmüştür. Selektif MI agonisti olan xanomeline orta ve hafif şiddette Alzheimer hastalarında denenmiş ve hastalarda bilişsel testlerde ilerleme gözlenmiştir. Ancak hastalarda ilaca bağlı gelişen senkop atakları ve gastro-intestinal yan etkiler ilacın kullanımını zorlaştırmıştır (110).

i. Asetilkolinesteraz İnhibitörleri

Alzheimer hastalığının tanımlanan üç belirgin patolojisi, β -amiloid plaklar, nörofibriler yumaklar ve kolinerjik nöronlardır. Kolinerjik transmisyonun eksikliği, Alzheimer hastalarında fonksiyonel ve bilişsel semptomların ifadesinde önemli rol oynamaktadır. Bu yüzden tedavide amaç, ya reseptör agonistleri ile ya da asetilkolinesteraz inhibitörleri (AChEI) ile kolinerjik sistemin fonksiyonlarını arttırmaktır. Bu yaklaşımlar arasında asetilkolinesteraz inhibitörleri hastalığın semptomlarını azaltmada ve kolinerjik eksikliği iyileştirmede en etkili grup olarak gözükmektedir (14).

Asetilkolinesteraz inhibitörlerinin etki mekanizması, asetilkolinin hidrolizinin inhibisyonuna dayanmaktadır. Ek olarak, Alzheimer hastalığının ilerlemesi üzerinde bir etkiye sahip olan asetilkolinesterazın non-katalitik rolleri; A β fibrilojenezis ve plak oluşumu, tau fosforilasyonu ve serebral sıvı akışının kolinerjik modülasyonunu içerir. Alzheimer hastalarının beyinde ekstraselüler plakların birikimi ve oluşumunda asetilkolinesterazın potansiyel ilgisi saptanmıştır (7). Dual bağlanma gösteren moleküllerin asetilkolinesteraz enzimini inhibe ettiği aynı zamanda asetilkolinesteraz-kaynaklı agregasyonu bloke ettiği bulunmuştur. Bu bulgular,

asetilkolinesterazın amiloidojenik özelliklerinin bazı asetilkolinesteraz inhibitörleri tarafından bloke edilebildiği gösterilmiştir (12).

(1).Asetilkolinesteraz Enziminin Yapısı

Asetilkolinesteraz insan kromozomunda tek bir gen tarafından kodlandırılır. Kodlu bölgede farklı şekilde bağlantı yapması ile AChE farklı moleküler formu oluşur. Bağlantı olasılıkları, benzer katalitik özellik fakat farklı selüler ve ekstraselüler dağılım göstermektedir. Vertebralarda AChE'nin ana dağılımı beyin nöron ve aksonlarında ve eritrositlerdedir. Enzimin alternatif bağlantılı üç izoformu aydınlatılmıştır. AChE'nin tetrametrik çözünür formu (AChE-S) sinaptik boşlukta lokalizedir. Glikofosfotidilinositol-bağlı AChE-E izoformu bir dimerdir. Diğer alternatif izoformu ise monomerik AChE-R'dir. Bu formun nöroprotektif etki sağladığı düşünülmektedir (121). Asetilkolinesteraz enzim inhibitörlerinin Alzheimer hastalarına uygulanması, AChE-R izoformunun salınmasına yol açtığı gösterilmiştir. Bu durum bilişsel fonksiyonların artmasını sağlamaktadır (87).

Torpedo Californica'nın elektrik organından Asetilkolinesteraz enziminin 3D X-Ray yapısı açıklanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre:

Asetilkolinesteraz 'Periferik Bölge' ve 'Aktif Bölge' olmak üzere iki bağlanma bölgesi ile karakterizedir.

(a) Periferik Bölge

PAS (periferik anyonik bölge) olarak adlandırılan periferik bölge aktif çukurun ağız kısmında (girişinde) bulunmaktadır. Temel olarak Trp279, Tyr70 aromatik aminoasit artığı taşımaktadır (Şekil 1) (125). Yapılan çalışmalar, özellikle 20 Å'dan

uzun bis yapılar için, PAS bölgesinin ikinci bir katerner grubun bağlanma yeri olduğunu göstermektedir.

(b) Aktif Bölge

Dar, uzun, ~ 20 Å uzunlukta, hidrofobik bir çukurdan oluşmaktadır. Enzimin orta kısmına yakın bölgede yer alan en dar kısmın çapının 4.4 Å olduğu saptanmıştır. Aktif yörede 5 majör bağlanma bölgesi bulunmaktadır(*125*).

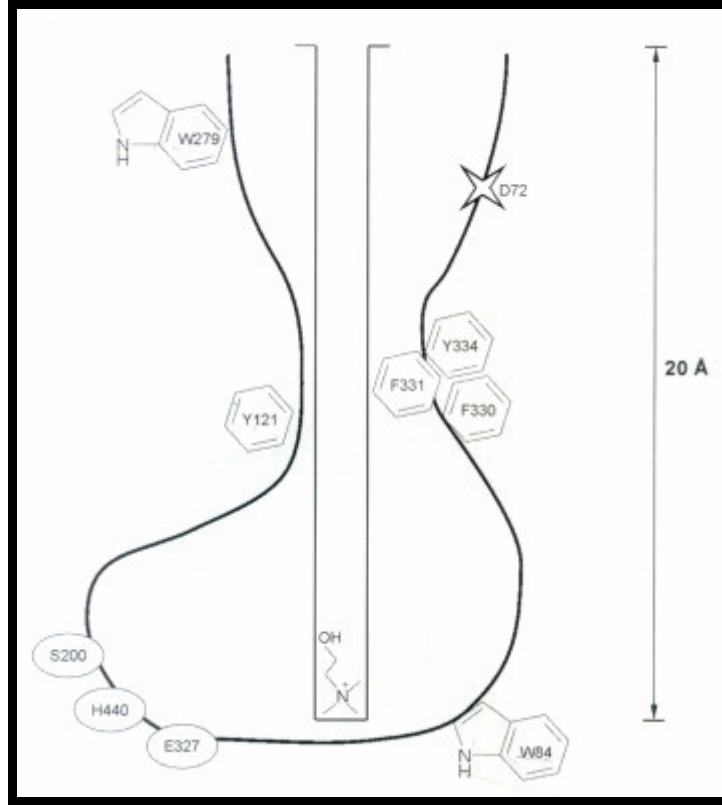
Oksanyonik çukur: Hidrofobik Gly118, Gly119, Ala201 amino asit artığı taşımaktadır.

Esteratik bölge: Çukurun dip kısmında katalitik üçlü olarak adlandırılan Ser200-His440-Glu327 aminoasit artığı bulunmaktadır.

Anyonik substrat bağlanma bölgesi: Az sayıda (-) yükler, çok sayıda aromatik amino asit artığı bulunmaktadır. Trp84 çukurun dip kısmına yakındır. Phe330 çukurun ortasına yakın bir yerde lokalizedir. İki amino asit arasında 4.5 Å mesafe bulunmaktadır. Trp84 ile periferik yöredeki Trp279 arasında 12 Å'luk bir mesafe olduğu saptanmıştır.

Selektif aromatik bağlanma bölgesi: Aril substratların bağlanma yeridir. Esteratik ve anyonik yöreye yakın bölgede bulunmaktadır.

Açıl bağlanma bölgesi: Asetilkolinin asetil grubunun bağlandığı bölgedir.



Şekil 1. Asetilkolinesteraz Enzim Çukuru

(2).FDA Onayı Alan Asetilkolinesteraz İnhibitörleri

(a) Takrin

İlk asetilkolinesteraz inhibitörleri takrin, velnakrin ve onun deriveleri ve fizostigmindir. Bunlar arasında yalnızca takrin (Şekil 2) 1993 yılında Alzheimer hastalığı tedavisi için onay almıştır (23). Takrinden sonra, daha spesifik ve daha iyi tolere edilebilen bileşikler geliştirilmeye çalışıldı. Bu gelişmeyi 1996 da donepezil, 2000 de rivastigmin ve 2001 de galantamin izledi. Son zamanlarda Çinde onaylanan bileşik ise huperzin A'dır. Faz III çalışmaları devam eden ilaç olarak fenserin bulunmaktadır.

Takrin, seçici olmayan, reversibl asetilkolinesteraz inhibitörüdür. Aynı zamanda, butirilkolinesterazı, monoaminoksidazı inhibe eder, potasyum kanallarını bloke eder, muskarinik ve nikotinik reseptörlerin alt tipleri ile etkileşir (79).

Takrinin X-ray kristal yapısının aydınlatılmasıyla, takrinin 4-aminokinolin kısmının ilacın enzime bağlanmasından sorumlu olan kısmı olduğu anlaşılmıştır (48). Takrin, çukurun uç kısmına yakın kısmında yer alır. Halka azotu His440'ın ana zincir karbonil oksijenine hidrojen bağı ile bağlanır. Amino azotu bir su molekülü ile bir hidrojen bağı oluşturur (145).

Takrinin hepatotoksik yan etkisi kullanımını kısıtlamaktadır. Çalışmalar, periferel toksisiteyi azaltmak amacıyla selektif etkili bileşikler geliştirmeye yönelmiştir. Bu hipotezle ikinci jenerasyon asetilkolinesterazlar bulunmuştur.

(b) Donepezil

Donepezil, Alzheimer hastalığı için dizayn edilen piperidin-sınıfı asetilkolinesteraz inhibitörüdür. Reversibl ve nonkompetatif olarak asetilkolinesterazı inhibe eder. Takrin butirilkolinesterazı (BuChE) ve asetilkolinesterazı (AChE) aynı derecede inhibe ederken donepezil AChE'yi daha fazla inhibe eder (83). *In vivo* çalışmalarda donepezilin amiloid prekürsör protein işlemini direkt engelleyerek, nöroprotektif etkisi ve ayrıca asetilkolinesteraz enzim-kaynaklı A β agregasyonunun inhibisyon etkisi saptanmıştır (Şekil 2) (85, 97).

Donepezil-enzim kristalografik yapısı, PAS'daki Trp279 ile dimetoksi-indanon yapısının etkileştiğini, buna karşın, donepezilin benzilpiperidin artığının çukurun dip kısmındaki Trp84 ve Phe330 artığı ile etkileştiğini ortaya çıkarmıştır. Yani donepezil hem aktif bölge hem de giriş kısmındaki PAS bölge ile etkileşmektedir (65).

Donepezil beyine kolayca penetre olur ve plazma kolinesteraza göre, daha potent ve selektif beyin kolinesteraz inhibitörüdür (122). Hepatotoksik etkisi yoktur, bu yüzden güvenilirdir ve hepatik hasarlı hastalarda iyi tolere edilir (100).

(c) Galantamin

Galantamin asetilkolinin reversibl, kompetatif inhibisyonu ile nikotinic ACh reseptörlerinin allosterik modülasyonunu birleştiren bir dual mekanizmaya sahiptir (72). Bu allosterik modülasyon nöronal kolinerjik nikotinic reseptörlerin artmış sensitivitesi olarak tanımlanır ki bu da bir nörotransmitter serbestlenmesinde artışa yol açar (III). Galantamin AChE'nin giriş kısmındaki boğazda, hem açıl bağlayıcı kısım, hem de katerner amonyum bağlayıcı kısım ile etkileşerek bağlanır. Ayrıca galantaminin tersiyer amin grubu Trp84 ve Phe330 ile bir molekül su aracılığı ile hidrojen bağı yaparak etkileşir (93). Galantamin düşük potansiyelli bir AChEI'dür. Ama takrinden daha az toksiktir (Şekil 2).

(d) (-)-Huperzin A, B

Doğal ürün huperzin A, B Çinlilerin halk ilacı *Huperzia serrata*' dan keşfedilmiş yeni bir likopodyum alkoloididir (126). ABD'de hala kabul gören ve Çin'de Alzheimer hastaları için özel bir tedavi olarak kullanılan daha aktif enantiyomeri (-)-huperzin A'dır.

Huperzin A neredeyse BuChE üzerinde hiçbir etkisi olmayan selektif ve reversibl etkili mükemmel bir ilaç olarak gösterilmektedir. Huperzin A'nın üstün inhibisyon özelliği, onun enzimden yavaş ayrılışından ve etki süresinin uzun oluşundan ileri gelmektedir (89). Huperzin B daha az aktif olmasına rağmen huperzin A ile karşılaştırıldığında daha uzun etki süresine bağlı olarak yüksek bir

terapötik indekse sahiptir. Huperzin A iyi tolere edilebilir. Enzimin açılasyon yöresine bağlanır ve bu inhibitörün amino grubu, Trp84 ve Phe330'un aromatik halkalarıyla etkileşir (Şekil 2) (**142**).

In vivo çalışmalarda, Hup A'nın oral yoldan kullanımı donapezil ve takrine kıyasla oldukça yüksek bir AChE inhibisyonu oluşturmuştur. Bu da daha fazla biyoyararlanıma sahip olduğunu ve kan-beyin engeline kolayca penetre olduğunu göstermektedir (**144**). Asetilkolinesterazın G4 formu, memeliler de dahil, birçok yöredeki en major formudur. G4, asetilkolinesterazın kolinerjik sinapslardaki fizyolojik formudur. Ve bu formun inhibisyonunun, ACh'nin etkisini uzattığı tahmin edilmektedir. Korteks ve hipokampusdeki G4 asetilkolinesteraz etkili inhibitörlerin, kolinerjik nörotransmisyon defektlerinde tedavi için etkili olduğu düşünülmektedir. Huperzin A birçok beyin bölgesinde selektif G4 etkilidir ve Huperzin A'nın diğer asetilkolinesteraz enzim inhibitörlerine göre hipokampus ve korteks G4 formunun oldukça yüksek spesifitesi olduğu kanıtlanmıştır (**135**).

(e) Karbamatlar-Stigminler

Fizostigmin alkolloidinin geçmişteki gelişmeleri birçok molekülün gelişmesine yol göstermiştir. Bunlardan bazıları; karbamat tipi parasempatometik ilaçlardan neostigmin, fizostigmin ve yüksek AChE inhibitör özellik gösteren eptastigmin, rivastigmin ve fenserin'dir. Fenserinin faydası, etki süresine, yüksek beyin dağılımına, önemli yan etkileri olmadan hastalığın bilişsel etkilerini azaltan etkisine bağlıdır (**15, 104**). Ayrıca fenserinin APP ve A β oluşumuna karşı *in vivo* inhibitör etkisi kanıtlanmıştır (**115, 132**). Fenserin sempatometik tedaviye karşı AChEI ile beraber bulunarak etki eder. Fenserin faz III klinik denemeleri içerisinde (Şekil 2).

Rivastigmin, karbamoyilleyici bir pseudo-irreversibl AChE inhibitörüdür (Şekil 2). Nöronal dejenerasyondan oldukça etkilenmiş beyin bölgeleri için önemli ölçüde santral sinir sistemi üzerinde seçiciliğe sahiptir (31). Striatum ve pons/medullaya göre korteks ve hipokampüste AChE'yi daha yüksek oranda inhibe eder (24). İlaç, enzimin monomerik formuna karşı daha etkilidir. Alzheimer hastalarının beyin bölgelerinde monomerik formu (G1) daha yüksek konsantrasyonlarda bulunur (135). Ayrıca rivastigminin sadece AChE'ye karşı inhibitör etkisi yoktur, aynı zamanda santral ve periferel BuChE'ye karşı da inhibitör etkisi vardır.

(3).BuChE'ye karşı AChE: Dual İnhibisyon

Başlangıçta selektif AChE inhibisyonunun yararlı olacağı düşünülmüştür, çünkü kolinerjik yan etkilerin periferel BuChE inhibisyonuyla oluştuğu açıklanmıştır. Fakat bu fikir çok uzun sürmemiştir. Transgenik farelerdeki selektif BuChE inhibisyonu kolinerjik toksisiteye yol açmamıştır. Normal beyinde en çok kolinesteraz aktivite AChE ile ilişkilidir. Her nasılsa, Alzheimer hastalığı gidişatının üzerine, AChE aktivitesi beyin bölgelerinde ilerleyerek azalmakta, halbuki BuChE aktivitesi artmakta ve BuChE, AChE hidrolizi için bir kompensatuar (telafi edici) mekanizma gibi davranmaktadır. Alzheimer hastalığı ilerledikçe ACh regülasyonu gittikçe artarak BuChE'ye bağlı olmaya başlayabilir. Üstelik yeni bir klinik çalışma, BuChE inhibe ederek etki gösteren ilaçları kullanan hastalarda, selektif AChE inhibitörlerini kullananlara nazaran daha az kortikal atropik değişiklikler olduğunu göstermiştir. Dolayısıyla bu Alzheimer hastalığında dual inhibitörlerin nöroproteksiyonu için ilave etkiye deneysel bir kanıt sağlamıştır (137).

Sonuç olarak, yeni yaklaşımlar arasında, Alzheimer hastalığında, hem AChE'yi hem BuChE'yi inhibe eden non-selektif kolinesteraz inhibitörlerinin kullanımı

selektif AChEI'leri kullananlara karşı daha yararlı olabilir. Selektif AChEI'lerine karşı, bu dual inhibisyon stratejisi terapötik avantajlara yol açabilir. Selektif AChEI donapezil ve non-selektif kolinesteraz inhibitörü rivastigminin klinik bir denemenin mukayesesi ve rastgele bir karşılaştırmadan elde edilen bulgular bilişsel fonksiyonların ölçümlerinde benzer etki göstermiştir (74). Diğer yandan preklinik veriler, daha selektif AChEI'lerinin non-selektiflere göre daha az periferik kolinerjik etkiler ürettiğini rapor etmiştir. Bu durum Alzheimer hastalarının klinik denemelerindeki bulgularla uyum içerisindedir. Buna göre, AChE ve BuChE'nin kombine inhibisyonu daha üstün bir etki için olasılık dışıdır (44). Venneri ve arkadaşları, farklı tedavi gruplarında oldukça görülen beynin morfometrik değişimlerinin rivastigmin grup içerisindeki BuChE inhibisyonuna bağlı olduğunu ileri sürmüştür.

(4).Araştırma Altındaki Bivalan İnhibitörler

AChE'nin hem aktif hem periferik yöresiyle etkileşen bileşikler daha yararlı gibi görünmektedir. Bivalan ligandlar olarak adlandırılan bu bileşiklerin geliştirilmesine başlanmıştır. İlk önce, değişken uzunluklardaki bir oligometilen bağlayıcısıyla bağlanan iki lateral takrin molekülü gibi homodimerik bileşikler sentez edilmiştir. Böylece bir AChEI molekülü aktif yöre ile etkileşirken ikincisi PAS ile etkileşmiştir. Sonra, iki farklı AChEI molekülüne sahip heterodimerik bileşikler dizayn edilmiştir. İlginç şekilde, bu bivalan bileşiklerin çoğu ana bileşiklerinden daha etkili bulunmuştur. Sonuç olarak, yeni yaklaşımlar arasında, Alzheimer hastalığında, hem AChE'yi hem BuChE'yi inhibe eden non-selektif kolinesteraz inhibitörlerinin kullanımı selektif AChEI'leri kullananlara karşı daha yararlı olabilir.

Selektif AChEI'lerine karşı, bu dual inhibisyon stratejisi terapötik avantajlara yol açabilir.

(a) Takrin Türevleri

İlk sentez edilen dimerlerden olan bis(7)-takrin (7a) (Şekil 3), ana bileşik takrine oranla, 149 kat daha etkili ($IC_{50} = 1.5 \text{ nM}$) ve BuChE'ye kıyasla AChE'ye karşı 250 kat daha selektiftir. Bis(7)-takrin şu açıdan uygun bir inhibitördür ki; hem katalitik yöre hem PAS ile elverişli sandwich-tipi etkileşimler oluşturur. X-Ray çalışmalarda (108) takrin artığından biri olan tetrahidroakridin parçasının Trp84 ve Tyr330 aromatik halkalarına karşı kümelenmiş ve çukurun dip kısmında lokalize olmuştur ve aromatik azot atomu His440'ın karbonil oksijenine bir molekül su aracılığı ile hidrojen bağı yaparak bağlanmıştır. Diğer takrin parçası ise, PAS'da Trp279'un indol halkası ile klasik $\pi-\pi$ etkileşmesi göstermiştir. Daha kısa dimerler (5-6 zincirli) veya daha uzun dimerler (8-10 zincirli), takrin monomerinden daha etkili bulunmuş, ancak bis(7)-takrine göre belirgin derecede düşük etki sergilemişlerdir. Dimerler takrin ünitelerinin aktif ve periferel yöreye eşzamanlı bağlanması açısından da avantaj göstermişlerdir. Zincir uzunlukları beş metilen grubundan kısa olanlar dual bağlayıcı yöre etkileşimine olanak vermemiştir.

İlk *in vivo* çalışmalara göre heptilen-bağlı takrin dimer, takrine kıyasla daha üstün etki, gelişmiş beyin AChE inhibisyonu, daha yüksek biyoyararlanım, ve daha az yan etki göstermiştir. İlave olarak heptilen-bağlı takrin dimer, skopolamin ile indüklenmiş hafıza kaybını azaltabilmekte ve yüksek derecede $GABA_A$ reseptörünü antogonize edebilmektedir. Bu durum anti- $GABA_A$ /anti-AChE sinerjizmine heptilen-bağlı takrin dimerin daha üstün hafıza artırıcı özelliği için kısmen de olsa olanak vermektedir. Feokromositoma hücrelerinde hidrojen peroksit ile indüklenmiş

apoptosis hasarına karşı koruyucu özellik gösterir (**143**). Bis(7)-takrin aynı anda oluşan anti-NMDA ve anti-AChE aktivitelerini de sahiptir. Bu sinerjizm, geç safhadan erken safhaya kadar olan Alzheimer hastaları için bilişsel bozulmayı hafifletmenin yanı sıra, nörodejenerasyonu oldukça etkili bir şekilde engelleyebilir (**70**). Takrinin APP oluşum yolağını etkileyerek A β seviyelerini düşürücü etkisi bilinmesine rağmen, bis(7)-takrinin APP oluşum yolağı ve AChE-kaynaklı A β agregasyonu üzerine olan etkisine dair hiçbir çalışma şimdiye kadar rapor edilmemiştir (**85**).

Takrinlerden birinin fenil, amino, dimetilamino, 4-piridilamino veya 4-quinolinamino grupları ile yer değiştirilmesine dair denemeler etkide daha fazla bir gelişmeye neden olmamıştır. Oysa teorik olarak tüm bu grupların periferik yörede Trp279 ile katyon- π veya hidrofobik π - π etkileşimlerinin olduğu tespit edilmiştir (**20**).

Recanatini ve arkadaşları değişik pozisyonlarda değişik elektronik özelliklere sahip süstitüentleri kullanarak bir seri takrin türevleri çalışmıştır (**96**). Sonuçlar, 7 pozisyonunda süstitüentlerin zararlı etkilerinin olduğunu 6 pozisyonunda ise elverişli, yararlı etkilerinin olduğunu göstermiştir. Recanatini ve arkadaşları, hipotezlerinde takrinin 6 konumundaki süstitüentler ile bazı enzim artıkları arasında hidrofobik etkileşimler olduğu sonucuna yer vermiştir. Takrinin aromatik halkasındaki elektron yoğunluğunun azalmasına bağlı olarak, takrinin 6 konumuna klor atomunun sokulması (**55**), enzimin aktif yöresinde elverişli π -etkileşimlerine ve sonuç olarak inhibitör aktivite de bir artışa (**42, 138**) yol açmıştır. Bu sebepten, bis(6-kloro)-takrin (7b) (Şekil 3) 0.07 nM'lık bir IC₅₀ değeriyle nonsüstitüe bis(7)-takrinden daha etkili bulunmuştur (**85, 96**). Klor süstitüenti inhibitör aktiviteye oldukça fazla bir katkı sağlamıştır. Çünkü Trp432, Met436, ve Ile439 tarafından

oluşturulmuş küçük hidrofobik cebe çok güçlü bir şekilde bağlanmaktadır (28). Üstelik takrin molekülüne klor sübstitüentinin girmesinin AChE/BuChE selektivitesi üzerinde büyük bir etkisinin olduğu bulunmuştur. Klor sübstitüentli takrin türevlerinin AChE selektivitesi nonsübstitüe takrin türevlerine göre 100 kat daha fazla bulunmuştur.

Savini ve arkadaşları AChE'nin aktif bölgesinde çukurun orta kısmı (mid-gorge) ile olan etkileşimlerin olduğunu dair bir hipotez ileri sürmüştür (17, 112). Bu hipotezin doğruluğunu kanıtlayan daha fazla araştırmalar bis(7)-takrinde zincirdeki merkez metilen grubunun protonlanabilir amin fonksiyonu ile yer değişiminin aktivitede ve selektivitede iyi bir artışa yol açtığını göstermiştir(7c),(Şekil 3). Bu durum, aktif çukur yöresinde aromatik artıklar ile ilave spesifik etkileşimler olduğunu göstermektedir.

(b) Takrin Hibritleri

Takrin sadece başka bir takrin artığına bağlanmak zorunda değildir, diğer trisiklik sistemlere de bağlanabilir. Çalışmalar, heptadan nonaya kadar değişen zincir uzunluklarında metilen ile diğer bir trisiklik sisteme bağlı takrin ünitesinde, zincirin ortasına bir amin fonksiyonu sokulmasıyla, etkinlik ve selektivitede önemli bir artışa yol açtığını göstermiştir. Bu durum yeni bir seri takrin hibritlerinin gelişimine yol gösterici olmuştur.

Heterodimerik dual bağlayıcı AChEI'lerin bu sınıf içerisindeki bir grup bileşiği; bir takrin ünitesinin donapezilin (E2020), *N*-benzilpiperidin artığı ile kombinasyonu sonucu oluşturulmuştur. Bu sınıf içerisinde en etkili bileşik heterodimer 8 no'lu bileşik olan bir takrin-E2020 hibritidir (Şekil 3). Bu bileşik

donapezil ve bis(7)-takrinden daha az etkili ancak takrin monomerinden daha fazla etkili bulunmuştur.

Etkiyi artırmanın yolu, daha iyi ve eş zamanlı olarak AChE'nin her iki yöresine bağlanmaya bağlıdır. Moleküler modelleme çalışmaları göstermiştir ki; benzil halkasının bir yüzü çukurun dip kısmındaki Trp84'ün indol halkası ile π - π etkileşmesi yapar. Oysa çukurun orta kısmında protonlanmış piperidinin azot atomu ile Phe330'un fenil halkası arasında katyon- π etkileşmesi vardır. Takrinin PAS'da Trp279'un indol halkası ile π - π kümeleşmesi yaptığı kanıtlanmıştır. Üstelik Tyr121'in oksijen atomu ile amit fonksiyonu arasındaki hidrojen bağı ilave etkileşimlere ve buna bağlı olarak da molekülün bütününün çukur içerisinde stabilizasyonuna sebep olmaktadır (*114*).

Oluşturulmuş heterodimerlerin takrin monomerine göre daha etkili bulunmasına rağmen, takrin ünitesi ile donapezilin dimetoksiindanon artığının kombinasyonu, bahsedilen kombinasyonlar gibi etkili AChE inhibisyonu yaratmazlar (*85*). Alonso ve arkadaşları (*1*), donapezil-takrin hibritlerinde indanon artığının ftalimit artığı ile yer değiştirilmiş (9a-c) (Şekil 3, 4) türevlerini çalışmıştır. Onların çalışmaları; çukurun dip kısmında tetrahidroakridin/akridin artığının bulunduğu yerde lokalize olmuş takrinin, Trp84 ile Tyr330'un aromatik halkalarına karşı kümeleşmiş durumda olduğunu ve aromatik azot atomunun His440'ın karbonil oksijeni ile bir su molekülü aracılığı ile hidrojen bağı olduğunu açığa vurmuştur. Takrin üstündeki klor atomu ise Trp432, Met436, Ile439 tarafından oluşturulmuş küçük hidrofobik cebi işgal etmiştir (*138*). Ftalimit halkası, PAS'da bulunan Trp279'un aromatik halkası ile etkileşim içerisinde. Üstelik ftalimit halkasının karbonil grubu Phe288'in NH grubu ile direk bir hidrojen bağı yapmakta, Gln74'ün amit ünitesiyle de su-bazlı etkileşimler yapmaktadır. 9b bileşiğinin zincirdeki tersiyer

amin grubu Asp72'nin karboksil grubu ile etkileşim içerisindedir, bu sayede bağlayıcı içerisindeki sterik gerginliği azaltır. Bu sebepten dolayı zincirde ilave bir metilen grubu bulunmalıdır. Zincir uzunluğunun dokuzdan on metilen ünitesine artması inhibitör etkide azalmaya yol açmıştır.

AChEI'lerin oldukça etkili bir bileşiğindeki takrin monomerinde bir klor sübstitüenti varlığında takrin ünitesine lipoik asit bağlanması, rapor edilmiştir. Melchiorre'nin grubunun geliştirdiği lipokrin (10) sadece AChE'nin etkili bir inhibitörü değil aynı zamanda AChE-kaynaklı A β agregasyonun da etkili bir inhibitörüdür, hem de reaktif oksijen türlerine karşı hücreleri koruyucudur (106). Ancak şu ana kadar herhangi bir moleküler modelleme çalışması yayınlanmamıştır. Bu sebepten dolayı bağlanma şekli ile ilgili ve dolayısıyla yüksek inhibitör aktivitesi ile ilgili herhangi bir kesin açıklama yoktur.

Munoz-Ruiz ve arkadaşları (84) oldukça etkili farklı bir grup AChEI olan ve ve AChE-kaynaklı A β peptit agregasyonunu *in vitro* inhibe eden bazı takrin-indol heterodimerleri (11) (Şekil 4) sentez etmişlerdir. Farelerdeki ilk *in vivo* çalışmalar, bazı takrin-indol heterodimerleri sayesinde A β peptit plakların azalmış olduğunu ve bilişsel fonksiyonların hafiflemiş olduğunu göstermiştir. Bu dual inhibitörlerin en önemli özelliği AChE-kaynaklı A β peptit agregasyonunu propidyumdan daha düşük bir IC₅₀ değeriyle inhibe eder. Bu sebepten, bu aktivitelerinden dolayı oldukça etkili bileşiklerdir (84). Katalitik anyonik yöre bağlayıcı birim, her zaman olduğu gibi, indol halkasına, uygun uzunluktaki bir bağlayıcı ile bağlı 6-klorotakrin artığını barındırır. İndol halkası PAS'a bağlanır. Bağlayıcı içerisine bir amit grubunun dahil edilmesi ve tam doğru bir şekilde lokalize olması heterodimerin inhibitör potansiyelinin şekillenmesinde sonucu belirleyici bir rol oynar. Amit grubunun en uygun pozisyonu, indol halkasına iki metilen grup uzaklıkta olması ve takrin ünitesi

ile amit fonksiyonu arasında altı veya yedi metilen grup mesafesinde olmasıdır. Amido grubu bir veya üç metilen grubu ile beraber indol halkasından ayrıldığında, oluşan sonuç bileşikler 2-10 kat arasında değişen oranlarda bileşik 11'e göre daha az aktif bulunmuştur (84).

11 no'lu bileşiğin yüksek inhibitör aktivitesi AChE'nin bağlayıcı yoresi içerisinde molekülün en iyi şekilde yerleşmesinden dolayıdır. Bu nedenle takrin ünitesi çukurun dip kısmındaki enzimin aktif bölgesine Trp84 ve Trp330'un aromatik halkalarıyla etkileşime girerek sımsıkı bağlanmıştır. Takrinin aromatik azot atomu His440'ın karbonil oksijeni ile bir molekül su aracılığı ile hidrojen bağı yaparak bağlanmıştır. Ayrıca takrinin amino NH grubu ile Trp84'ün karbonil oksijeni arasında da bir hidrojen bağı oluşturmuştur. Klor atomu Trp432, Met436 ve Ile439 tarafından oluşturulmuş küçük hidrofobik cebi işgal etmiştir. Çukur boyunca sıralanmış bağlayıcı amido grubu üzerinden etkileşmektedir. Bu nedenle NH grubu Tyr330'un hidroksil oksijenine hidrojen bağı ile bağlanmıştır, karbonil oksijeni ise Tyr121'in hidroksil oksijenine hidrojen bağı ile bağlanmıştır. Ve en son olarak, indol halkası Trp279'un aromatik halkası üzerinde kümeleşmektedir ve indol halkasının NH grubu Tyr70'in hidroksil oksijeni ile etkileşime girmektedir (84).

Şu ana kadar bilinen AChEI sınıfı içerisinde en etkili bileşik gruplarından birini teşkil eden bir başka sınıf da takrin-melatonin hibritleridir. Bu sınıf içerisinde heksametilen zinciri ile bağlanmış bileşikler en iyi inhibitör aktiviteye sahiptir (12a) (Şekil 4). İlginç olarak, bis-takrin bileşiklerine kıyasla, takrin iskeletine ikinci bir klor atomunun sokulması benzer heterodimerlerin etki ve selektivitesinde bir artışa yol açmıştır (12b) (Şekil 5). İndol halkasına metoksil grubunun sokulması ise etkide bir azalmaya sebep olmuştur. 12a bileşiği, takrin-indol heterodimer 11'e oldukça benzerlik göstermiştir. Melatonin hibritlerinin enzim çukuruna yerleşmesine ait

çalışmalar hala bilinmiyor olmasına rağmen, amido grubunun Tyr121 ve Tyr330 amino asitleri ile iyi bir etkileşime girdiği bilinmektedir.

Takrin-melatonin hibritleri, etkili ve selektif AChE inhibisyonlarının yanı sıra ana bileşik melatonine nazaran daha yüksek oksijen radikal absorbands kapasitesine sahiptir. Ayrıca yapılan çalışmalarda, kan-beyin engelini geçip santral sinir sistemindeki biyolojik hedef bölgelerine ulaştıkları tahmin edilmektedir. Bu özellikleri nedeniyle, sadece AChE'leri olarak değil aynı zamanda serbest radikal toplayıcıları olarak da araştırılan hedef bileşikler grubuna sokulmuştur (*102*).

Propidyumun, AChE'nin PAS'ı için en selektif ligandı olduğu bilinmektedir (*114*). ve uzun zaman AChE-kaynaklı A β agregasyonu için en etkili bileşik olarak kullanılmıştır (*1, 7*). AChE'nin aktif ve periferik yöresine iki ligandın eş zamanlı bağlanma olanağının bulunması ihtimalinden dolayı bivalent ligandlar sentez edilmiştir. Ayrıca bu bileşiklerdeki iki yapıyı birbirine bağlayan kısım sadece birleştirici bir birim olarak davranmayıp aynı zamanda kendi de enzimle etkileşebilmektedir. Bundan sonra Melchiorre ve arkadaşları (*10*) takrin-propidyum hibritini sentezlemiştir(13a), (Şekil 5). Bu yapı sadece AChE'ye karşı inhibitör etki göstermeyip aynı zamanda AChE-kaynaklı A β agregasyonuna karşı da etkili inhibitör aktivite göstermiştir. Melchiorre ve arkadaşlarının, metoktramin ve onun türevleri üzerine olan ilk çalışmaları (*106*) neticesinde, bu azot atomlarını ayıran bağ uzunluğu ve amin fonksiyonlarının sayısındaki artışın çok büyük ölçüde biyolojik aktivitede artışa yol açtığı sonucunu doğrulamıştır. Denenmiş tüm bileşikler, prototip metoktramin gibi, AChE inhibitör etkisinin yanı sıra muskarinik antagonist etki göstermişlerdir (*9, 130*).

Bunun yanı sıra Sharpless ve arkadaşları (*11, 64*) takrin-propidyum hibritini (13b) (Şekil 5) keşfetmiştir. Triazol artığı hidrojen bağı ile bağlanmakta ve çukurun

duvarındaki Phe297 ve Phe338 ile kümeleşen etkileşimlere girmektedir. Azot atomunun elektron çifti, bundan başka, hidrojen bağ akseptörleri olarak da yarar sağlarlar. Bu sayede bağlanma afinitesini artırır (130). Aslında pozitif yüklü bileşikler kan-beyin engelini geçemezler ve Alzheimer hastalığı tedavisinde kullanılamazlar, ancak mükemmel bir lider bileşiklerdir.

(c) Takrin-Dihidropiridin Türevleri

Takripirinler olarak da adlandırılan bu takrin-dihidropiridin türevi inhibitörler, bir AChEI'i (takrin gibi) ile bir 1,4-dihidropiridin molekülününün (nimodipin gibi) birleştirilmesiyle oluşturulmuşlardır. Bilindiği üzere hücre ölümüne sebep olan yolaktaki olayları başlatan bir diğer etmen de Ca^{2+} yüklenmesidir. Birçok kanıt Ca^{2+} 'nin Alzheimer hastalığı patogenezi karışmış olduğunu göstermektedir. Ca^{2+} 'nin L kanallarından içeri girişi kalsiyum yüklenmesine ve mitokondriyal bozulmaya sonuçta da hücre ölümüne ve apoptotik kaskada neden olmaktadır. Ca^{2+} 'nin bu alt tip Ca^{2+} kanallarından içeri girmesinin engellenmesi hücre ölümlerinin önüne geçmek için iyi bir strateji olabilir. Marco-Contelles ve arkadaşları 1,4-dihidropiridinlerin L-tipi-voltaj-bağımlı Ca^{2+} kanallarını selektif olarak bloke etmesi sebebiyle bir AChEI ve bir dihidropiridin molekülüne dayandırılan, takrin ve nimodipin gibi, yeni hibrit moleküllerin farmakolojik çalışmalarına yönelmişler ve AChE/BuChE inhibisyonunu, propidyum iyodür yer değişimini, Ca^{2+} blokajını ve nöroprotektif aktivitelerini içeren sentez ve biyolojik yararları üzerinde çalışmışlardır. Bu amaçla aromatik halkada 2, 3 ve 4 konumlarında değişik sübstitüentler taşıyan çeşitli takripirinler (15) sentezlenmiştir (Şekil 5) ve bu bileşiklerin AChE inhibitör etkinlikleri, Ca^{2+} kanal blokaj ve antioksidan etkileri ile nöroprotektif etkileri araştırılmıştır.

Sonuç olarak hem AChE inhibitör etki gösteren hem de nöroprotektif etki gösteren bir grup yeni AChEI'ler sentezlenmiştir. Bunlar arasında 4 konumunda metoksil taşıyan molekül takrinden 4 kat daha etkili, oldukça iyi bir selektivite göstererek BuChE'a karşı da 1000 kat daha az etkili bulunmuştur.

Bu çalışmanın sonucunda takripirinleri nöropotektif ve Ca^{2+} kanal blokaj etkisine sahip aktif ve oldukça selektif AChEI'leri olarak Alzheimer hastalığı tedavisi için hedeflenen bileşikler olarak düşünülebileceği kesinlik kazanmıştır.

Ayrıca 1,4-dihidropiridin molekülü Kimyasal Taşıma Sistemleri için önemli fonksiyonel gruplardır (*94, 95, 116*). Kimyasal Taşıma Sistemi bazı enzimatik ve kimyasal dönüşümlerle aktif terapötik ajana dönüşen biyolojik olarak inert moleküllerdir. Burada amaç aktif ilaçların kan-beyin engelini geçebilen bir beyin-spesifik taşıyıcı ajana bağlanarak bu engeli geçmesi, sonra enzimatik olaylar sonucunda aktif formunun hedef bölgede etkisini göstermesi şeklindedir.

Lipofilik dihidropiridin türevlerinin iyonik, lipitte çözünürlüğü olmayan piridinyum tuzuna redoks dönüşümüne dayandırılan kimyasal taşınma da asıl istenen terapötik ajanların santral sinir sistemine olan etkisini artırmak, periferel yan etkileri azaltmak ayrıca uzun etki sağlamaktır. Buna göre 1,4-dihidropiridinler taşıyıcı sistemler olarak birçok santral sinir sistemi hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (*29*). Alzheimer hastalığı tedavisinde kullanılan takrin de bu tarz kullanılan ajanlar arasında ilk kullanılan ilaç moleküllerinden olmuştur. Takrin tek başına karaciğer toksisitesine sebep olurken 1,4-dihidropiridin molekülüne bağlanması ile oluşturulmuş (16) Kimyasal Taşıma Sisteminde bu periferel yan etkileri azaltılmıştır. Takrin için daha birçok Kimyasal Taşıma Sistemleri hazırlanmıştır. Bu bileşikler (16) lipofilik parametrelere bakıldığında takrine kıyasla

artan bir lipit çözünlülük göstermiştir. *N*-benzil türevi en hidrofobik molekül olarak tespit edilmiştir (Şekil 5) (95).

(d) Huperzin Hibritleri

Takrine ilave olarak, bivalan yöre AChEI'lerinin yapımı için diğer AChEI'leri monomer olarak kullanılmışlardır. (-)-huperzin A (5a) alkolloidi, zaten bilinen bir AChEI'dür. Bu inhibitörün amino grubu Trp84 ve Phe330'un aromatik halkaları ile etkileşir, karbonil grubu ise, sonuçta etilenin metil grubu ile His440'ın oksijeni arasında alışılmadık yakın bir temasla sonuçlanan, Tyr130'un hidroksil oksijeni ile hidrojen bağlıdır (6). Bis-takrin bileşiklerine kıyasla, hupA'nın alkil-bağlı dimerleri monomerine göre bariz düşük bir inhibitör etki gösterirler.

Benzer çalışmalar, hupA'nın doğal bir türevi olan (-)-huperzin B için de yapılmış ancak daha az etkili bulunmuştur. İlginç olarak, bis-hupB türevleri monomer (-)-hupB türevlerine göre daha yüksek bir inhibitör aktivite göstermiştir. İnhibitör aktivite ve selektivitenin zincirin uzunluğuna ve şekline bağlı olduğu sonucuna dayandırılmıştır. En iyi inhibitör aktiviteyi heterodimer bis(18)-hupB vermiştir (17) (Şekil 6). İki hupB molekülü, hupB'lerin sekonder amino grubu üzerinden karbon-azot bağı ile bağlanmışlardır. Bu bis-hupB, ACh'nin bilinen reseptörü ve AChE'nin inhibitörü olan dekametonyuma benzer şekilde davranır, tersiyer ve katerner amino fonksiyonları her iki durumda dekametilen zinciri içinden bağlanır (76). Bis-huperzin B'nin artmış AChE inhibisyonu ve selektivitesi, AChE'nin her iki yöresiyle olası etkileşimlerden kaynaklandığı tahmin edilmektedir (33).

Takrinde yapıldığı gibi, artmış aktiviteye sahip ilgili hupA bileşikleri elde etmek için dual bağlayıcı yöre stratejisi bir yol olarak düşünülmüştür. Bu amaçla

hupA'nın hupiridone kısmı basitleştirilmiş ve sentezi kolaylaştırılmış hupA monomeri olarak seçilmiştir. Huperzin A'dan üç-karbon köprüsünü ve etilen ünitesini kaldırmakla farmakolojik olarak inaktif olan basit bir tetrahidrokinolinon türevi ortaya çıkmıştır. Bu kısmın, dekametilen zinciri ile takrine bağlı kombinasyonu, hupA monomerinden 13 kat, takrin monomerinden 25 kat daha fazla AChEI etkisi sağlamıştır (21). Hupiridone kısmının bir takrin ünitesine bağlı olmayan ancak alkilen bağlayıcı ile bağlı dimer bileşiminde (18) (Şekil 6), etkide ve selektivite de artış gözlenmiştir. Yapılar, bir hupA benzeri ünitenin Trp84'e komşu aktif yörenin anyonik bölgesine bağlandığını, diğer ünitenin de çukurun üst kısmındaki PAS'da Trp279'e yakın bölgede katyon- π ve hidrojen bağı etkileşimleri yaptığını açığa çıkarmıştır (89). Bu dimer çukur boyunca uzanmaktadır. Daha sonraki çalışmalar hupiridone ünitesinin tek başına, enzimin periferik bölgesine, daha kompleks olan (-)-huperzin A'ya göre çok daha zayıf bağlandığını göstermiştir.

Takrin ünitesinin 4-aminokinolin ünitesiyle (-)-huperzin A'nın karboksilik ünitesi kombine edilerek takrin-huperzin hibritleri veya huprinleri (19a,b) (Şekil 6) olan yeni bir sınıf AChEI'leri geliştirilmiştir. Takrin ve huperzin A'nın heterosiklik halkaları enzimin aktif yöresine bağlanmak için çok gereklidir ve hibrit ana bileşiklere göre artmış etki göstermektedir. Huprinlerin bağlanma şekillerinin asıl esası, kinolin halkasının Trp84 ve Phe330 halkaları arasında kümeleşmesi şeklinde, Asp72 ve Ser122 artıklarının amino grubunun su bazlı etkileşimleri şeklinde ve His440'ın karbonil oksijenine halka NH grubunun hidrojen bağı ile bağlanması şeklinde ve bisiklo[3.3.1]nonadien ünitesinin Tyr121, Phe290, Phe330 ve Phe331 tarafından oluşturulan hidrofobik cebe yerleştirilmesi şeklindedir. Ayrıca 3 konumuna klor atomunun bağlanması takrinde olduğu gibi inhibitör etkide apaçık bir artış yaratmıştır. İlaveten etil grubunun metil grubu ile yer değiştirilmesi etkide hafif

bir artış meydana getirmiştir, ancak daha hacimli sübstitüentler etkide bir azalmaya yol açmıştır. Pozisyon 3'ün klorlanması üzerine artmış bağlanma afinitesi, Met436, Ile439, ve Trp432 tarafından oluşturulmuş hidrofobik çukurun klor tarafından doldurmasıyla ilişkilidir (28). Buna bağlı olarak huprinler, özellikle (\pm)-huprin Y (19a) ve (\pm)-huprin X (19b), çok etkili AChEI'leridir, BuChE'ye nazaran AChE'ye karşı yüksek selektivite gösterirler. Canudas ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada huprin Y'nin nörodejenerasyon hastalıklarının önleminde potansiyel bir bileşik olduğu sonucuna varmışlardır (19).

Çalışmalar; nonsübstitüe metilen köprüsü, bir metil veya etil sübstitüenti taşıyan üç-karbon doymamış köprüsü ve 4-aminokinolin sistemi taşıyan huprinlerde bu yapıların AChE inhibitör aktivite için çok gerekli olduğunu göstermiştir. Klor atomunun da yapıya girmesi ile etkide yüksek bir artış gözlenmiştir. Sonuç olarak, takrin ve (-)-huperzin A ana bileşiklerine kıyasla huprinlerin yapmış oldukları ilave etkileşimler onların büyük oranda artmış inhibitör etkilerini açıklamaktadır (18).

Ayrıca, Camps ve arkadaşları (18), AChE aktivite de başka bir formda artış gösteren takrin-huprin Y heterodimer bileşiklerini keşfetmişlerdir (20a,b) (Şekil 6, 7) Bu nedenle, PAS bağlayıcı birim olarak klorotakrin artığı ile aktif yöre bağlanıcısı huprin Y'yi birbirine bağlamışlardır. Bağlayıcı yapı heptametilen zincirinden oluşmaktadır ve zincirin ortasında protonlanabilir bir amino grubu vardır. Tüm bu heterodimerler, takrin, (-)-huperzin A, ve (\pm)-huprinden çok daha etkili AChEI'leridir. Hepsi subnanomolar oranında bir IC₅₀ değeriyle etki göstermektedirler. Bu bileşikler iki aktivite stratejisini birleştirmişlerdir; bir yanda yüksek oranda etkili inhibitörlerin kombinasyonları ile AChE'nin aktif yöresine uzatılmış bağlanma, diğer yanda PAS'a en elverişli bağlanma. Ayrıca, bağlayıcıya

protanlanabilir bir amino grubun sokulması çukurda ilave etkileşimlere sebep olmaktadır. Bu durum da ilave olarak bileşiklerin gelişmesini sağlamaktadır (18).

(e) Galantamin Türevleri

Galantamin de diğer AChEI'leri gibi dual bağlayıcı yöre inhibitörleri için bir model olarak düşünülebilir. Bis-takrin bileşiklerine benzer olarak, Guillou ve arkadaşları tarafından homodimerik alkilen-bağlı galantaminler, *O*- ve *N*- süstitüe galantaminler, ve heterodimerik galantamin-galantaminyum türevleri geliştirilmiştir (45, 77). Homodimerik galantamin türevleri oluşturmak için, iki galantamin molekülü azot atomlarından bir bağlayıcı ile kafa kafaya bağlanmışlardır. Moleküler modelleme çalışmaları ve deneyleri, en iyi etkili yapının iki galantamin molekülü arasına beş metilen ünitesinin sokulmasıyla sağlandığını göstermiştir. Guillou ve arkadaşları, heterodimerik serinin homodimerik seriye göre daha etkili olduğunu bulmuştur. Böylece en etkili galantamin türevi, norgalantaminden ve norgalantaminin alkillenmiş bir iminyum türevinden geliştirilmiş ve dekametilen zinciri ile bağlanmıştır (21a) (Şekil 7). Bu heterodimerik bis-galantamin türevleri galantamin ve takrinden daha etkili, bis-takrin ve bis-huperzinden ise daha az etkili bulunmuştur (45).

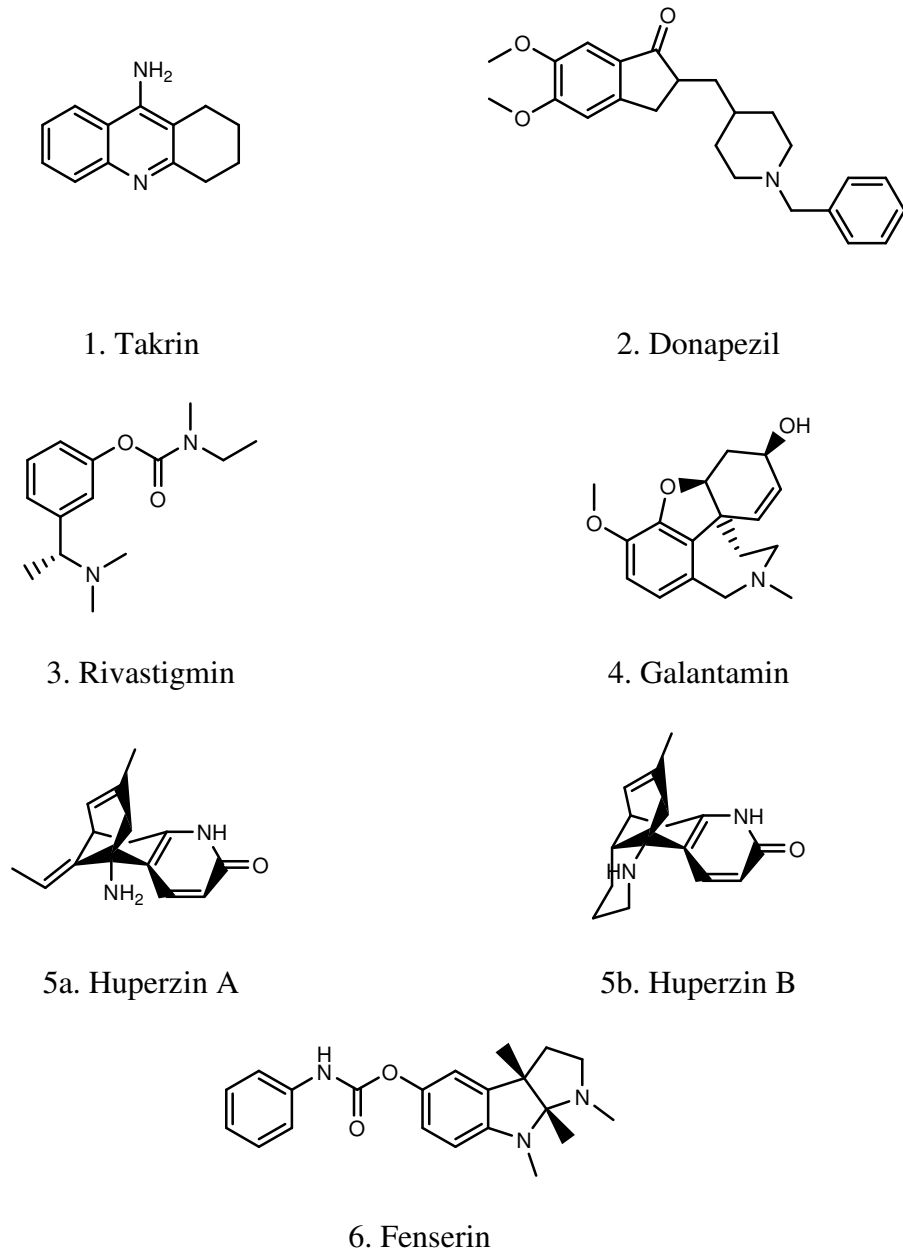
Bu bileşiklerde bir iminyum fonksiyonunun varlığı inhibitör aktiviteyi artıran bir unsurdur ve bu durumun Trp kalıntıları ile yapmış olduğu katyon- π etkileşimlerinden olduğu tahmin edilmektedir. Bir terminal ftalimido grup ile farklı alkil bağlayıcılarının varyasyonları planlanmış ve *N*-demetilgalantaminin azotuna ve 6-*O*-demetilgalantaminin oksijenine bağlanmıştır. Beklenildiği üzere, alkil bağlayıcısının uzunluğu inhibitör aktivite potansiyeli için anahtar konumdadır. Bunu rağmen, aynı alkil zincirine sahip bileşiklerde lokalizasyona bağlı en iyi inhibitör

aktivite bağlayıcının sonundaki fonksiyona bağlıdır. Bu yüzden, *N*- ve *O*-ftalimidoalkil bis-etkileşen ligandların inhibitör aktivitesi oktametilen bağlayıcısı ile optimal durumdadır ancak zincir daha fazla uzatıldığında aktivite azalmaktadır. Alkil zincir uzunluğu en uygun uzunluğundayken, bis-etkileşen bileşikler hem Trp84 hem Trp279 ile etkileşime girebilirler. Alkil zinciri daha kısayken, ftalimido grubu çukurun dar kısmında molekülün en uygun formunu engeller. Sonuç olarak bu durum bileşiklerin inhibitör aktivitelerini negatif olarak etkiler (77). Sonraki çalışmalarda azot atomu üzerinden yapılan bağlanmalar oksijen atomu üzerinden yapılan bağlanmalara göre daha elverişli bulunmuştur. İminyum fonksiyonunun girmesi ve galantamin artığındaki azot atomunun *N*-alkilasyonu ile bir alkil bağlayıcısının bulunması aktivitede artışa yol açmıştır. Bu sınıf içerisindeki en etkili bileşik 21b (Şekil 7) numaralı bileşik olmuştur (8).

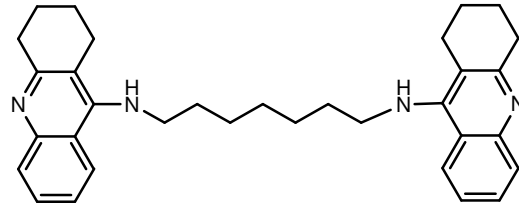
(f) Bispidinyum Türevleri

Reaktivatör obidoksim de homodimer bileşiklerin geliştirilmesi amacıyla lider bir bileşik olarak kullanılmıştır. Bis-piridinyum tip bileşik TMB-4'ün bisbenzil eterleri tarafından nitelendirilmiştir. TMB-4, AChE reaktivatörü obidoksimin bir analogudur. DUO bileşiklerin bir serisi (22) (2), Pang ve arkadaşları tarafından sentezlenmiş ditopik bis-takrin türevlerine benzerlik göstermiştir. DUO bileşiklerin benzil artıklarından biri, çukurun dip kısmında π - π kümeleşmesiyle Trp84 ile etkileşime girebilmektedir. Diğer yandan piridinyum halkası çukurun yarısında Tyr334 ve Phe331 ile etkileşmektedir. Ayrıca diğer piridinyum halkası PAS'da Trp279 ile etkileşim gösterebilir. Dual bağlayıcı karakterlerine rağmen, bu bileşikler diğer bis bileşiklere göre daha düşük aktivite göstermişlerdir. Bu durum, aşırı bir uzunlukta olmalarından dolayı molekülün tamamının, enzim ile etkileşime giremiyor

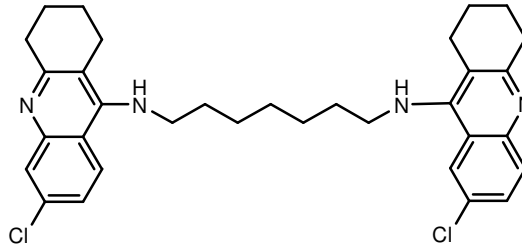
olmasındandır. Sonuç olarak yeni türevler sentez edilmiştir. DUO3 molekülünün bir ucundan kısaltma yapılmış ve bir ftalimido (23) veya bir diklorobenzil (24) (Şekil 7) artığı sokulmuştur. Bu kısaltma aktivitede artışa yol açmıştır. İlginç olan, bu bileşikler AChE inhibitör aktivitelerinden ayrı olarak amiloid fibrillerin oluşumunu inhibe eden aktivite de sergilemektedirler (85,57).



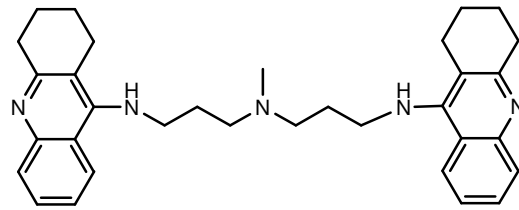
Şekil 2. Asetilkolinesteraz İnhibitörleri



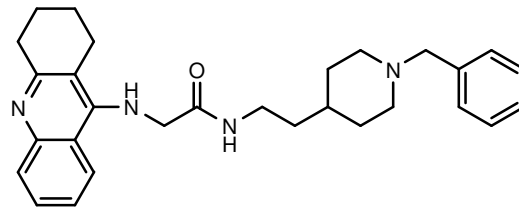
7a
 $IC_{50} = 1.5 \text{ nM}$



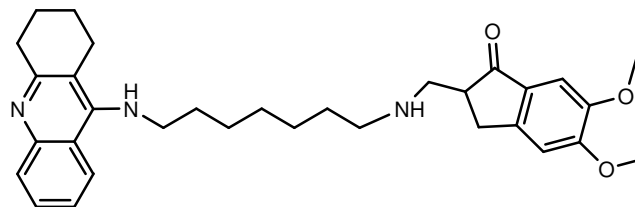
7b
 $IC_{50} = 0.07 \text{ nM}$



7c
 $IC_{50} = 0.08 \text{ nM}$

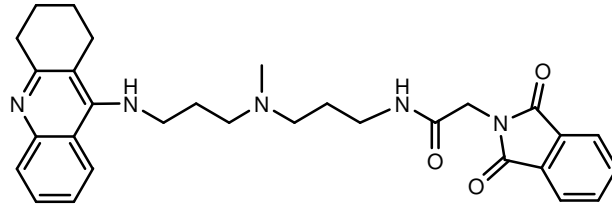


8
 $IC_{50} = 6.0 \text{ nM}$

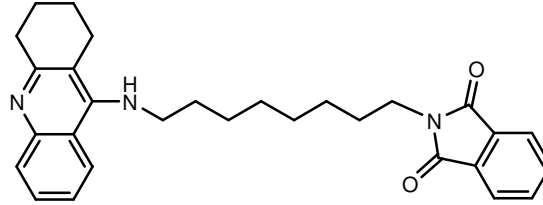


9a
 $IC_{50} = 25 \text{ nM}$

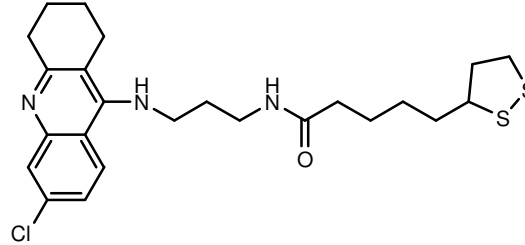
Şekil 3. Takrin Türevi Asetilkolinesteraz İnhibitörleri



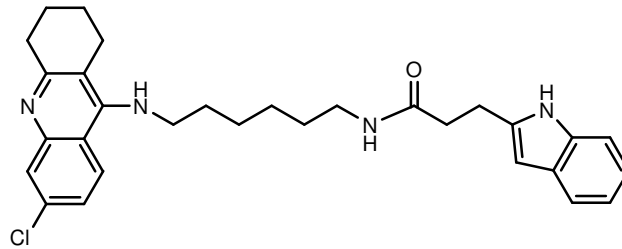
9b
 $IC_{50} = 2.8 \text{ nM}$



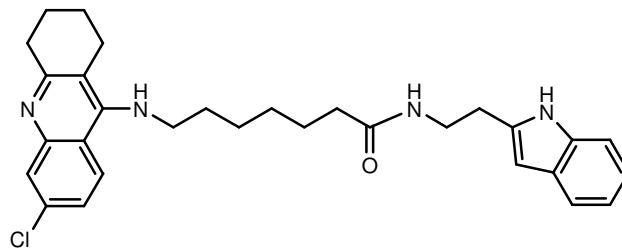
9c
 $IC_{50} = 2.4 \text{ nM}$



10
 $IC_{50} = 0.253 \text{ nM}$

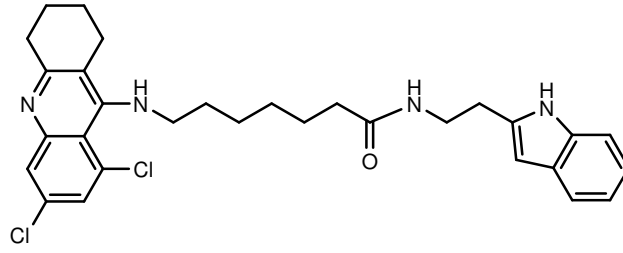


11
 $IC_{50} = 0.02 \text{ nM}$

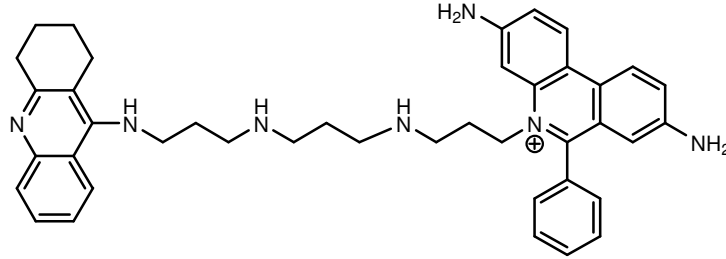


12a
 $IC_{50} = 0.1 \text{ nM}$

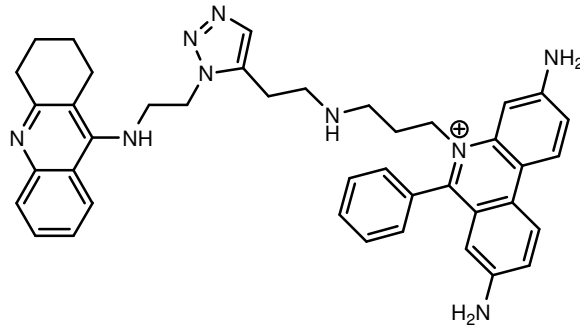
Şekil 4. Takrin Türevi Asetilkolinesteraz İnhibitörleri



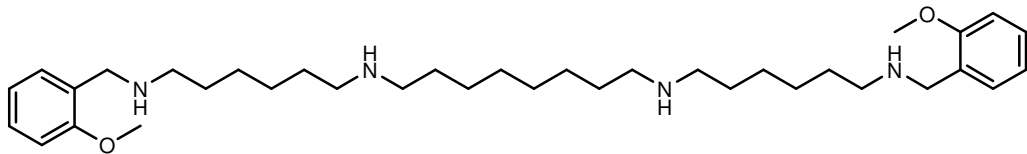
12b
 $IC_{50} = 0.008 \text{ nM}$



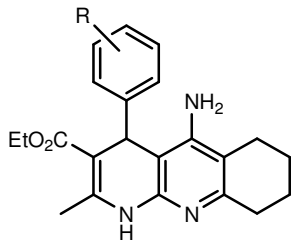
13a
 $IC_{50} = 1.55 \text{ nM}$



13b

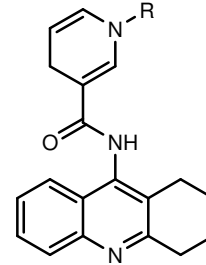


14



15

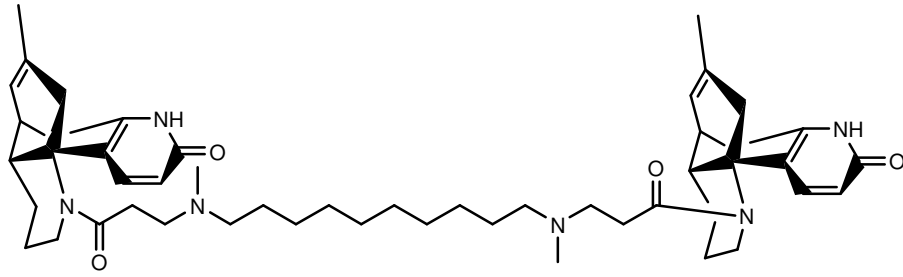
R = H, F, NO₂, CH₃, OCH₃



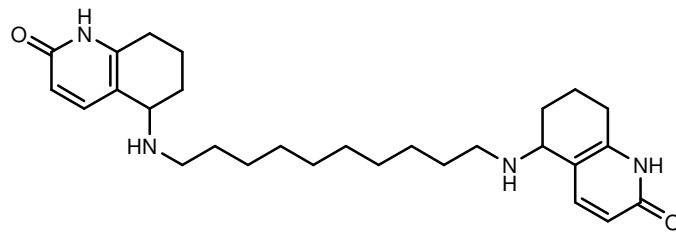
16

R = CH₃, C₃H₇, benzil, p-nitrobenzil

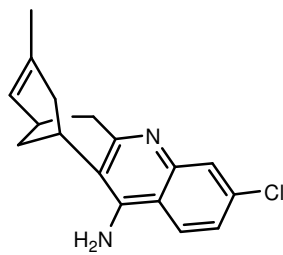
Şekil 5. Takrin Türeveli Asetilkolinesteraz İnhibitörleri



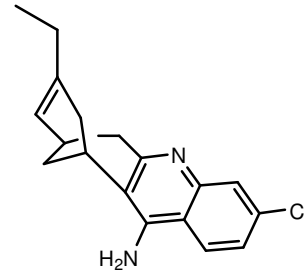
17

 $IC_{50} = 4.93 \text{ nM}$ 

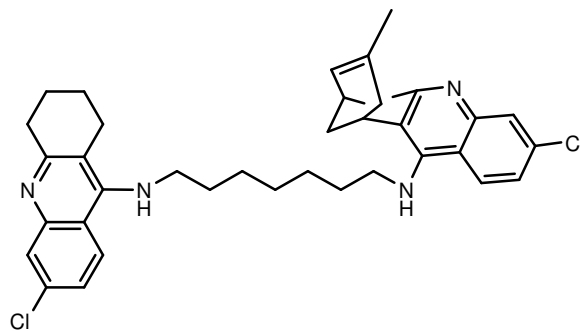
18

 $IC_{50} = 2.4 \text{ nM}$ 

19a

 $IC_{50} = 0.78 \text{ nM}$ 

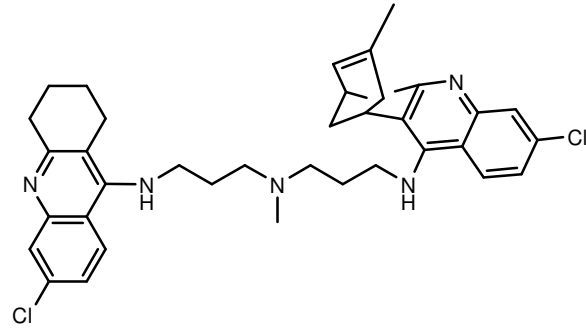
19b

 $IC_{50} = 1.30 \text{ nM}$ 

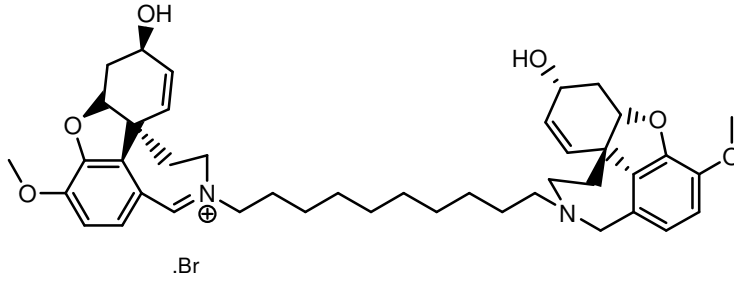
20a

 $IC_{50} = 0.33 \text{ nM}$

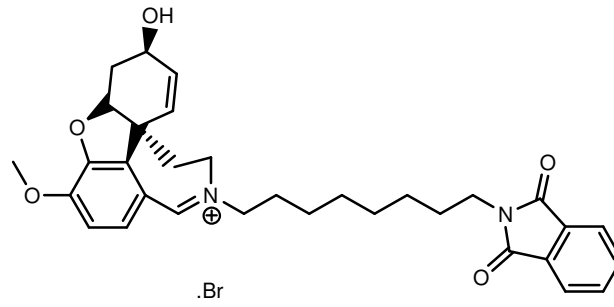
Şekil 6. Diğer Bivalan Asetilkolinesteraz İnhibitörleri



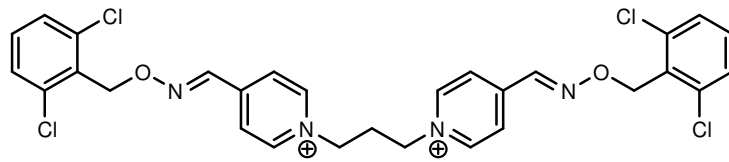
20b

 $IC_{50} = 0.29 \text{ nM}$ 

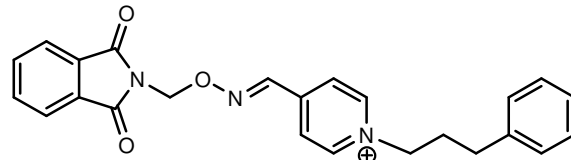
21a

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

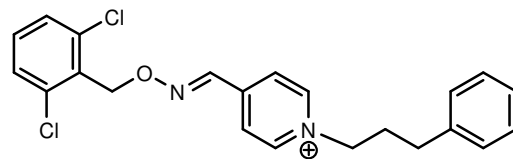
21b

 $IC_{50} = 10 \text{ nM}$ 

22

 $IC_{50} = 340 \text{ nM}$ 

23

 $IC_{50} = 73 \text{ nM}$ 

24

Şekil 7. Diğer Bivalan Asetilkolinesteraz İnhibitörleri

DENEYSEL BÖLÜM

I. SENTEZLER VE SPEKTRAL BULGULAR

A. MATERYAL

Sentez çalışmalarında kullanılan başlangıç maddelerinden 4-kloropiridin HCl Acros firmasından, hidrazinyum hidroksit Merck firmasından, 2-hidroksibenzaldehit, 2-metilbenzaldehit, 2-metoksibenzaldehit, ve 3-fenilpropil bromür, Merck-Schuchardt firmasından, 2,6-diklorobenzil klorür Fluka firmasından, sodyum hidroksit Merck firmasından temin edilmiştir. Çalışmalarda kullanılan çözücülerden 1-propanol Merck firmasına, diklorometanol Carlo Erba firmasına, etilasetat ve dietileter Riedel de Haën firmasına, etanol ve metanol ise J. T. Baker firmasına ait olup, hepsi analitik saflıktadır.

B. YÖNTEMLER

1. Kromatografik Analizler

a. İnce Tabaka Kromatografisi

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

İ.T.K. kullanılarak yapılan çalışmalarda Kieselgel 60F₂₅₄ (Merck 5715) 20x20 cm boyutlarında 0.25 mm kalınlıkta hazır plaklar kullanıldı. Kromatografi çalışmaları oda sıcaklığında yapıldı ve developman işlemi kromatografi tanklarının çözücü buharlarıyla doyurulmasını takiben gerçekleştirildi. Sürükleme işlemleri tamamlandıktan sonra açık havada kurutulan plakların üzerindeki lekeler 254 nm de ultraviyole ışığı altında tespit edildi. İ.T.K. uygulamalarında çözücü sistemi olarak diklorometan/etilasetat/metanol (5:4:1.5) karışımı kullanıldı.

2. Spektral Analizler

Sentezi yapılan bileşiklerin yapıları erime derecesi değerleri, UV, IR, ¹H NMR, ve kütle spektroskopisi yöntemleriyle aydınlatıldı.

Bileşiklerin UV spektrumları, metanoldeki çözeltileri halinde 1cm'lik kuvarz küvet içinde Shimadzu 160-A Spektrofotometresinde alındı.

IR spektrumları, analitik saflıktaki potasyum bromür (Merck) pelletleri halinde Jasco FT/IR-430 Spektrofotometresinde alındı.

¹H NMR spektrumları DMSO-d₆ çözücüsü içinde Varian AS 400 Mercury Plus NMR Spektrofotometresinde alındı.

Kütle spektrumları Waters ZQ micromass LC-MS Spektrofotometresinde alındı.

3. Erime Noktası Tayinleri

Bileşiklerin erime derecesi tayinleri Barnstead Electrothermal IA9000 Series marka erime derecesi tayin cihazında gerçekleştirildi.

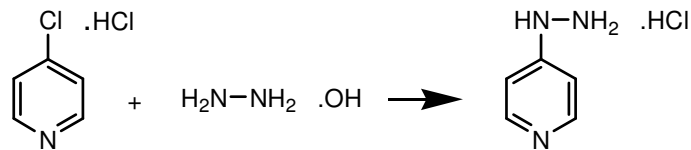
C. Bileşiklerin Sentezi ve Spektral Bulguların Değerlendirilmesi

1. Ara Ürünlerin Sentezi ve Spektral Bulguları (B-OH, B-CH₃, B-OCH₃)

4-Hidrazinilpiridin Sentezi

(3.41 g, 30 mmol), 4-kloropiridin HCl, 15 ml 2N NaOH içerisinde çözüldü, 3 kez 15'er ml'lik kısımlar halinde dietil eter ile ekstre edildi. Sonra susuz sodyum sülfat üzerinden kurutma yapılarak, rotavaporda yoğunlaştırıldı. Bakiye (2.15 g, 18.9 mmol), hidrazinyum hidroksit (1.26 ml, 25.9 mmol) ile 6.5 ml 1-propanol içerisinde geri çeviren soğutucu altında 120 °C de yağ banyosunda kaynatıldı. Tepkime İ.T.K ile takip edilerek 24 saatin sonunda tamamlandı. Karışım oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Soğuduktan sonra oluşan çökelti soğuk 1-propanol ile yıkandı, kurutuldu. Elde edilen ham ürün 1-propanolden kristallendirildi (Şema 1).

Elde edilen ürünün tuzundan bazına geçmek için, % 50'lik NaOH'ten bazik oluncaya kadar üzerine ilave edildi. 3 kez 15'er ml'lik kısımlar halinde etil asetat ile ekstre edildi. Susuz sodyum sülfat üzerinden kurutma yapılarak, rotavaporda yoğunlaştırıldı.



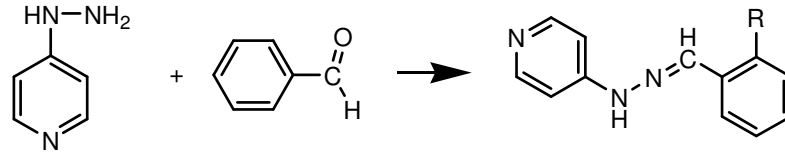
Şema 1. Tepkime Denklemi

4-[N²-(2'-süstitübenziliden)hidrazinil]piridin Sentezi

Çalışmanın bu kısmında, 4-hidrazinilpiridin ile 2-süstitübenzaldehit türevi bileşiklerin aldehit kondensasyonu sonucunda 4-[N²-(2'-süstitübenziliden)hidrazinil]piridin türevi bileşiklerin elde edilmesi hedeflenmiştir.

Reaksiyon için, (2 g, 18.2 mmol) 4-hidrazinilpiridin ile 21.8 mmol 2-sübstitübenzaldehit, yaklaşık 25-30 ml absölü etanol içerisinde, oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Tepkime İ.T.K ile takip edilerek 25 saatin sonunda tamamlandı. Karışım süzöldü, soğuk etanol ile yıkandı ve çökelti oda sıcaklığında kurutuldu. Elde edilen ürün etanolden kristallendirildi. Bu yöntemle, B-OH, B-CH₃, B-OCH₃ kodlu ara ürünler elde edildi (Şema 2).

Sentezlenen bileşiklerin erime dereceleri ve % verimleri Tablo 1’de toplu halde verilmiştir.

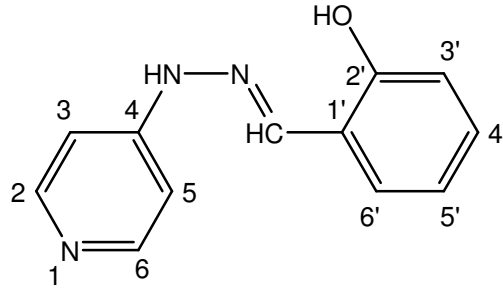


Şema 2. Tepkime Denklemi

Tablo 1. B-OH, B-CH₃, B-OCH₃ Ara Ürünlerin Erime Dereceleri ve % Verimleri

Bileşik No	R	Erime Derecesi (°C)	% Verim
B-OH	-OH	185	58
B-CH ₃	-CH ₃	202	65
B-OCH ₃	-OCH ₃	205	69

a. B-OH Bileşğinin Spektral Bulguları



4-[N^2 -(2'-hidroksibenziliden)hidrazinil]piridin

UV (Spektrum No 1)

λ_{maks} (log ϵ) (MeOH)

339 (4.58), 311 (4.38, sh), 208 (4.45) nm

IR (Spektrum No 2)

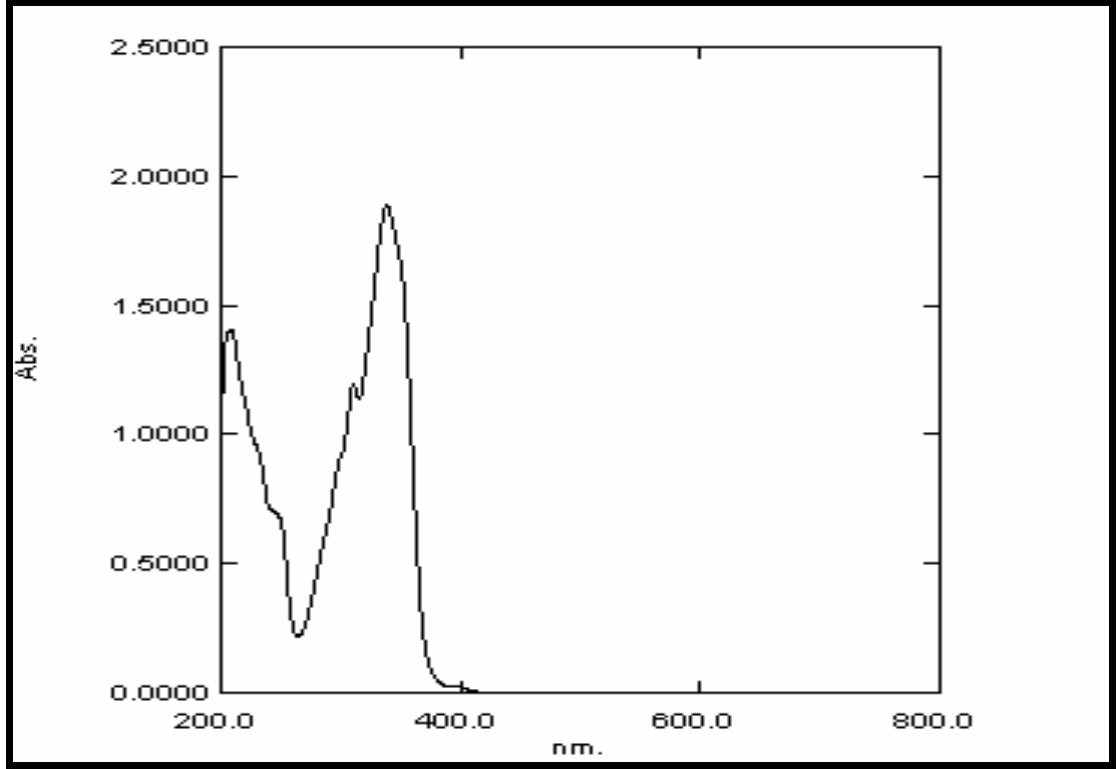
ν_{maks} (KBr)

3525 (O-H gerilme), 3004 (Aromatik halka C-H gerilme), 1598, 1542, 1500, 1425 (Aromatik halka C=C ve C=N gerilme), 775, 746, 715 (Aromatik halka C-H düzlem dışı eğilmesi) cm^{-1}

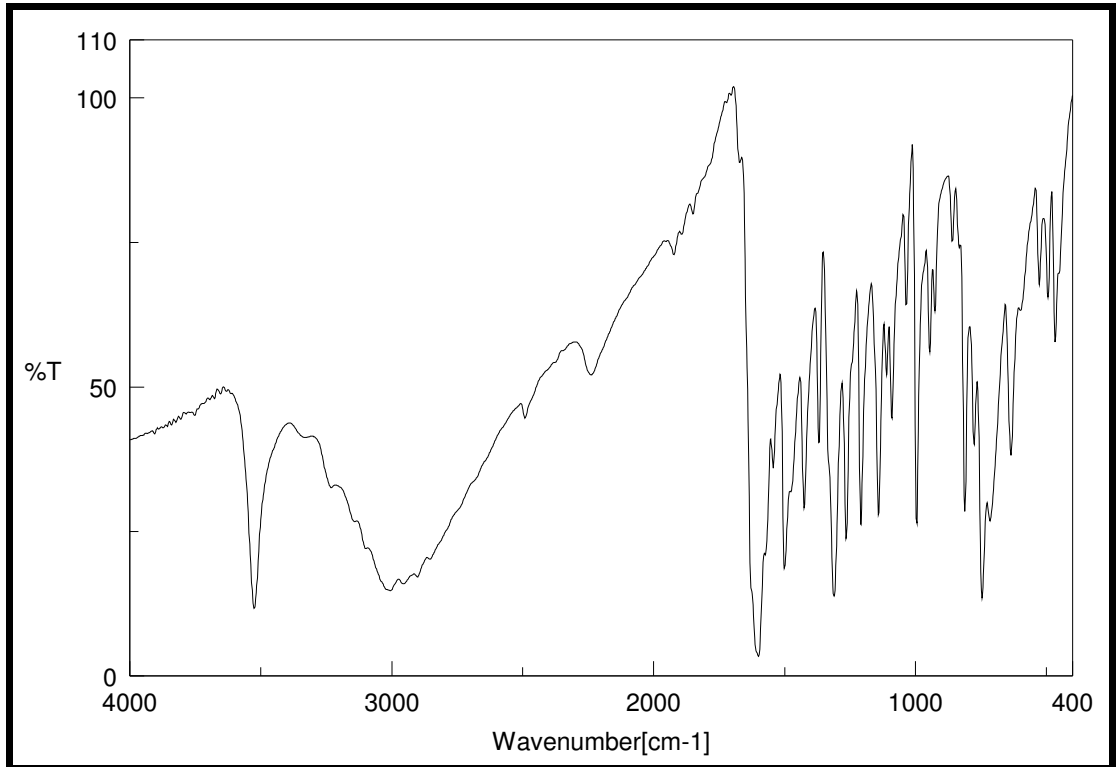
$^1\text{H NMR}$ (Spektrum No 3)

(400 MHz, DMSO- d_6)

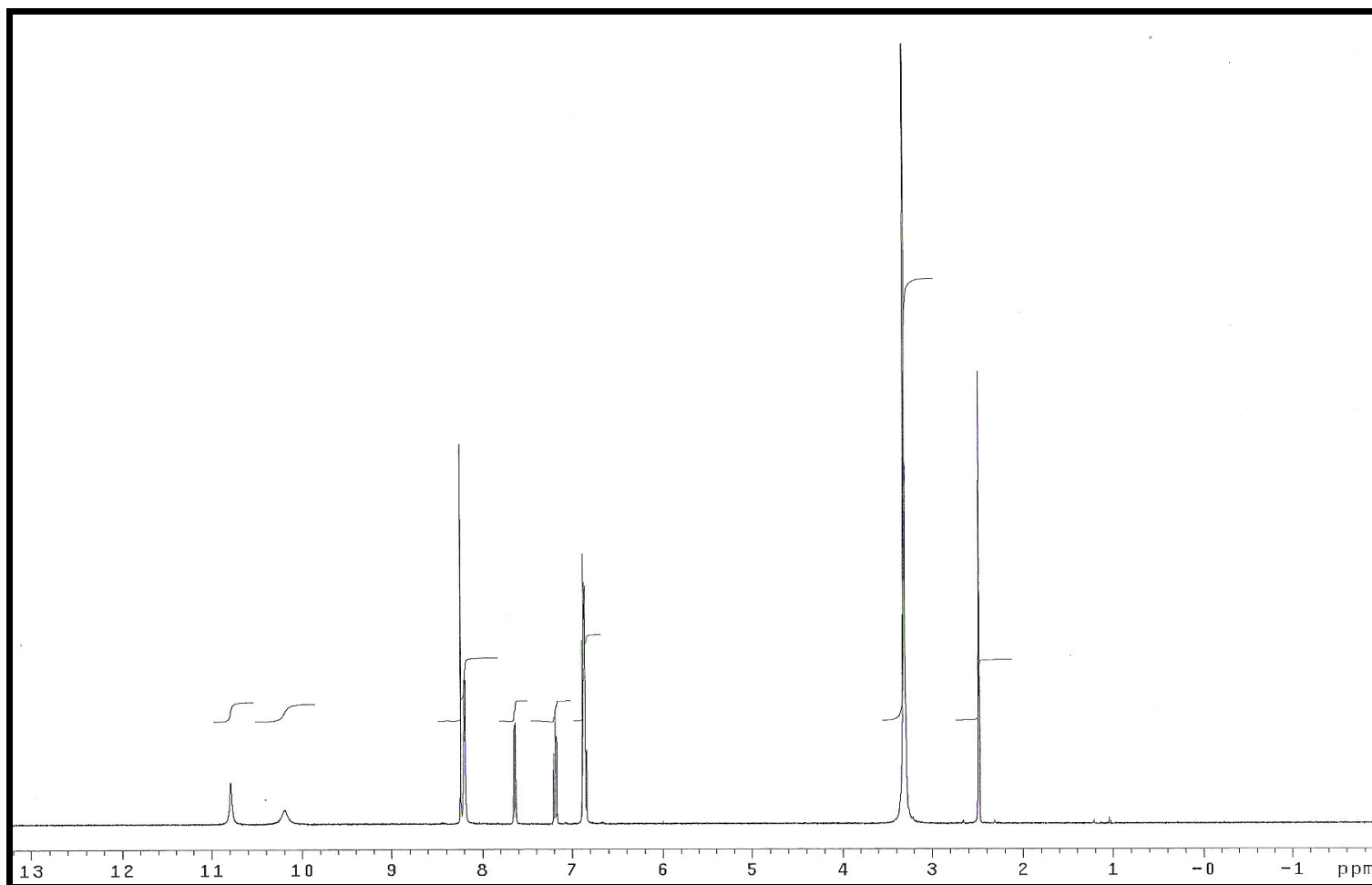
δ 10.79 (1H, s, N-H), 10.20 (1H, s, O-H), 8.24 (1H, s, N=CH), 8.20 (2H, d, $J=5.9$ Hz, H-2, H-6), 7.64 (1H, dd, $J=1.6, 7.8$ Hz, H-6'), 7.19 (1H, td, $J=7.8, 1.6$ Hz, H-4'), 6.89-6.84 (4H, m, H-3, H-5, H-3', H-5') ppm



Spektrum No 1. B-OH Bileşğinin UV Spektrumu

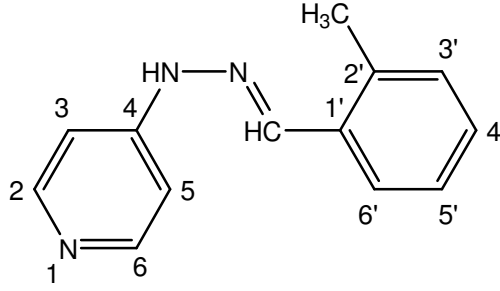


Spektrum No 2. B-OH Bileşğinin IR Spektrumu



Spektrum No 3. B-OH Bileşiğinin ^1H NMR Spektrumu

b. B-CH₃ Bileşğinin Spektral Bulguları



4-[N²-(2'-metilbenziliden)hidrazinil]piridin

UV (Spektrum No 4)

λ_{maks} (log ϵ) (MeOH)

331 (4.55), 228 (4.24, sh), 204 (4.43) nm

IR (Spektrum No 5)

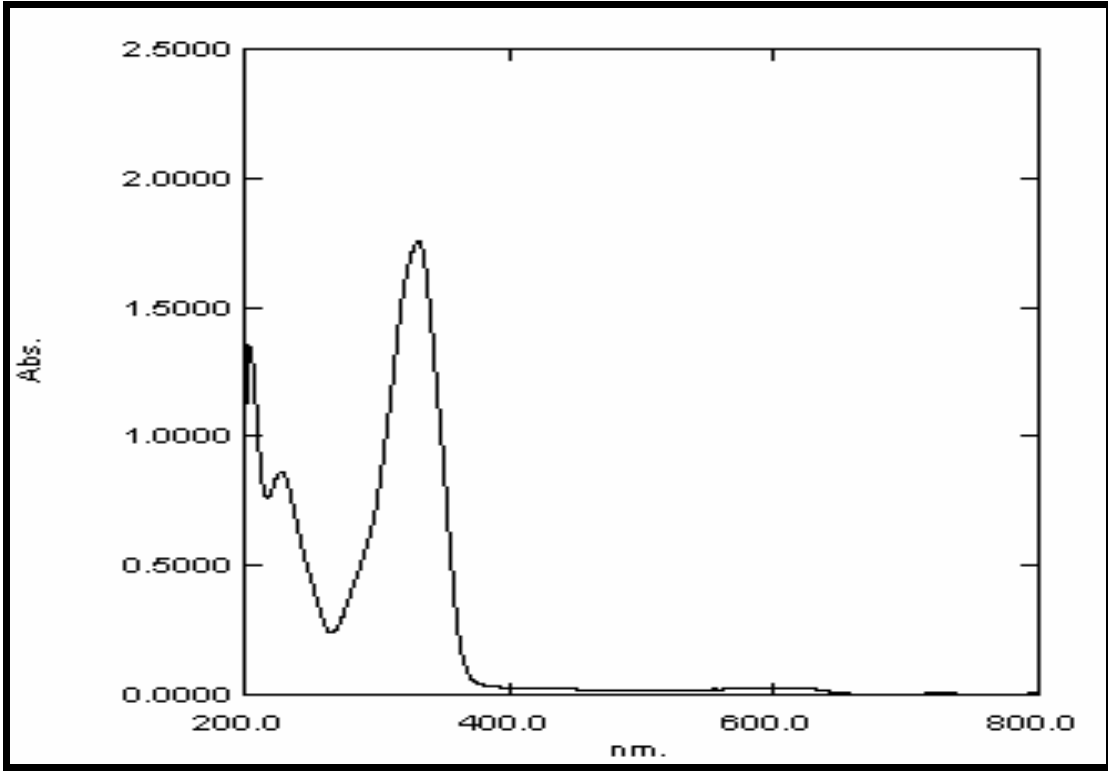
ν_{maks} (KBr)

3210 (N-H gerilme), 3014 (Aromatik halka C-H gerilme), 2948, 2886 (Alifatik C-H gerilme), 1538, 1527, 1486, 1452, 1427 (Aromatik halka C=C, C=N gerilme), 748, 713 (Aromatik halka C-H düzlem dışı eğilmesi) cm⁻¹

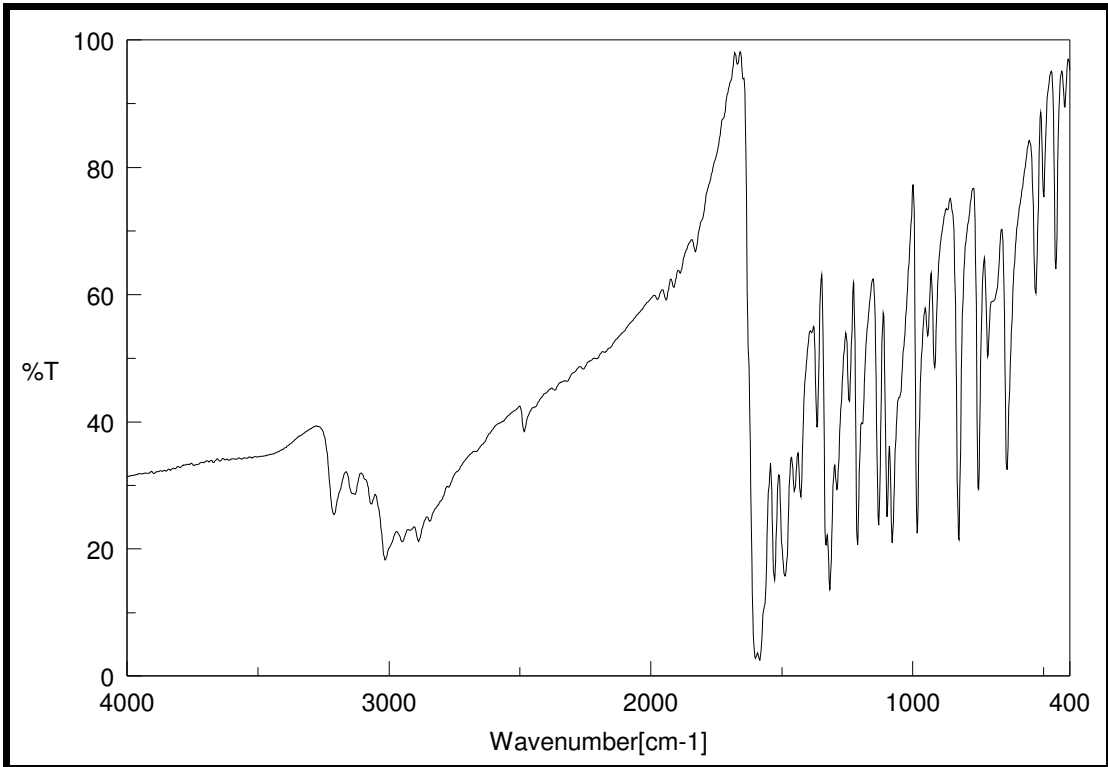
¹H NMR (Spektrum No 6)

(400 MHz, DMSO-d₆)

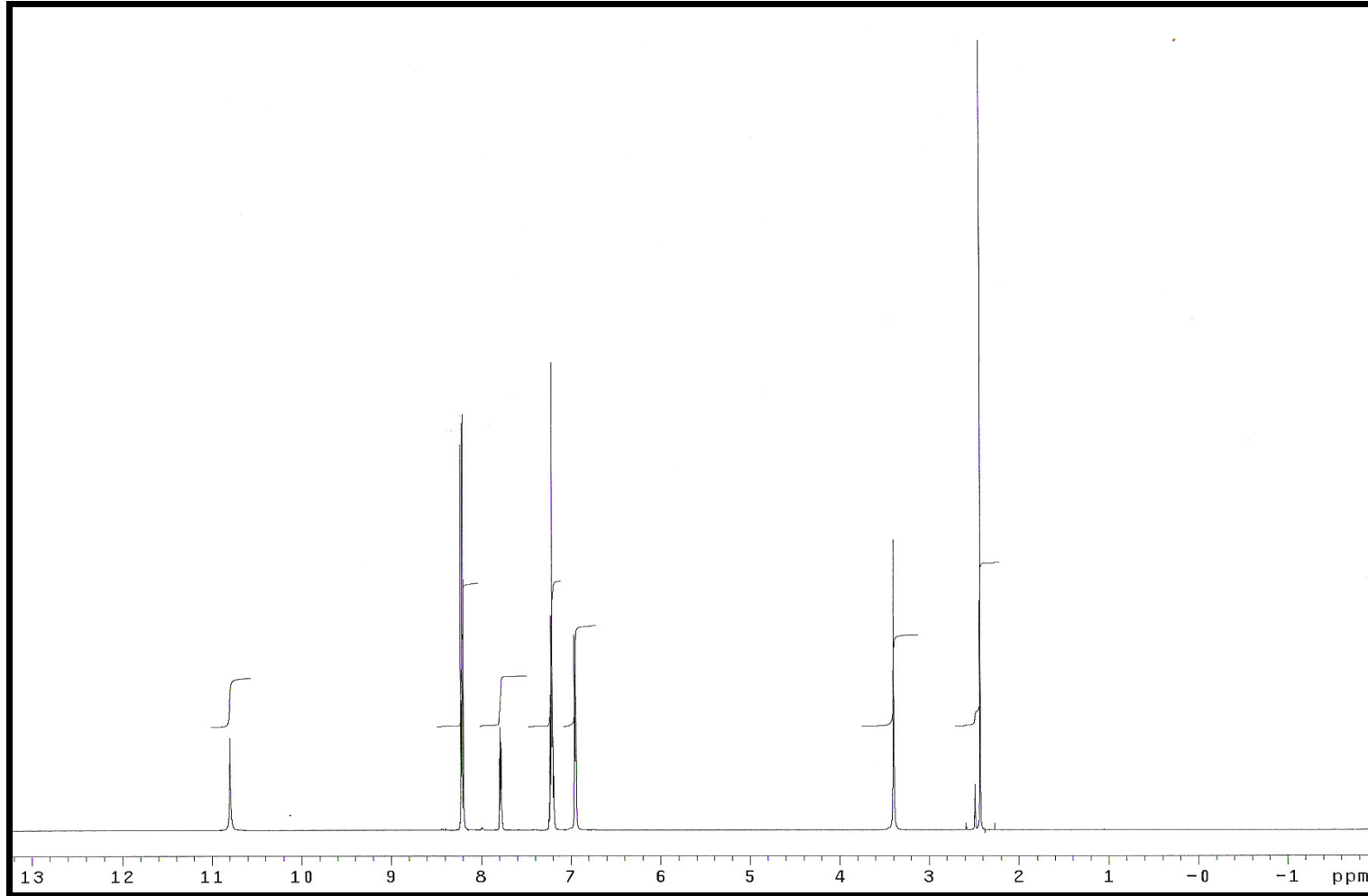
δ 10.80 (1H, s, N-H), 8.21 (2H, d, $J= 6.2$ Hz, H-2, H-6), 8.19 (1H, s, N=CH), 7.83 (1H, dd, $J= 8.2$ Hz, H-6'), 7.23-7.19 (3H, m, H-3', H-4', H-5'), 6.97 (2H, d, $J= 6.2$ Hz, H-3, H-5) ppm



Spektrum No 4. B-CH₃ Bileşığının UV Spektrumu

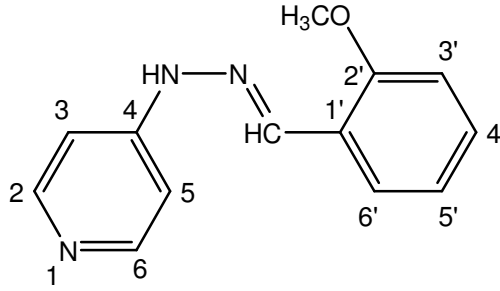


Spektrum No 5. B-CH₃ Bileşığının IR Spektrumu



Spektrum No 6. B-CH₃ Bileşğinin ^1H NMR Spektrumu

c. B-OCH₃ Bileşğinin Spektral Bulguları



4-[N²-(2'-metoksibenziliden)hidrazinil]piridin

UV (Spektrum No 7)

λ_{maks} (log ϵ) (MeOH)

340 (4.48), 228 (4.12, sh), 204 (4.36) nm

IR (Spektrum No 8)

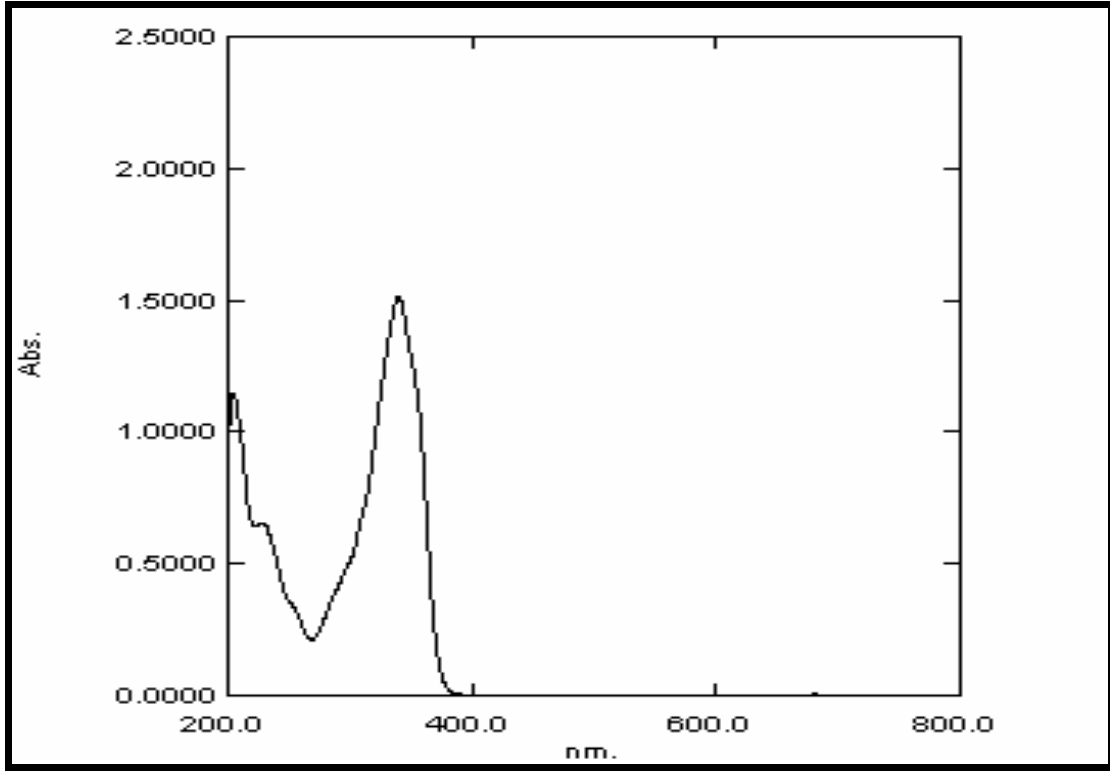
ν_{maks} (KBr)

3212 (N-H gerilme), 3083 (Aromatik halka C-H gerilme), 2992, 2940, 2886, 2834 (Alifatik C-H gerilme), 1592, 1533, 1492, 1465 (Aromatik halka C=C ve C=N gerilme), 1249 (C-O-C asimetrik gerilme), 781, 750 (Aromatik halka C-H düzlem dışı eğilmesi) cm^{-1}

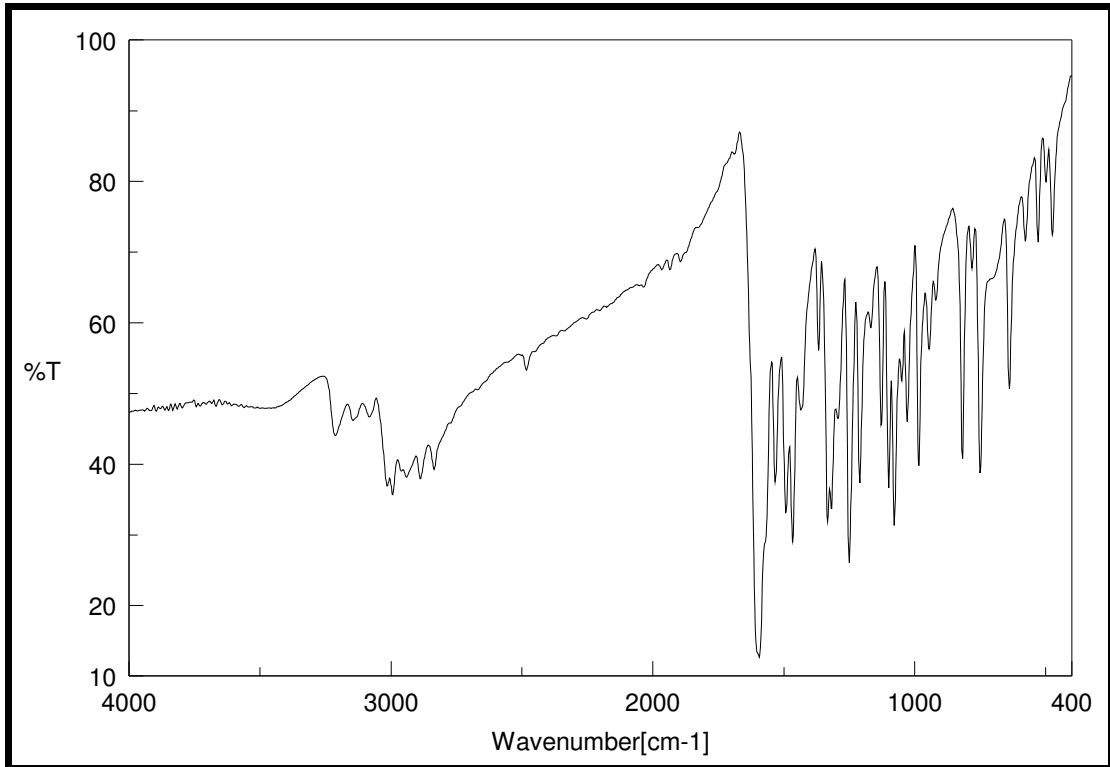
¹H NMR (Spektrum No 9)

(400 MHz, DMSO-d₆)

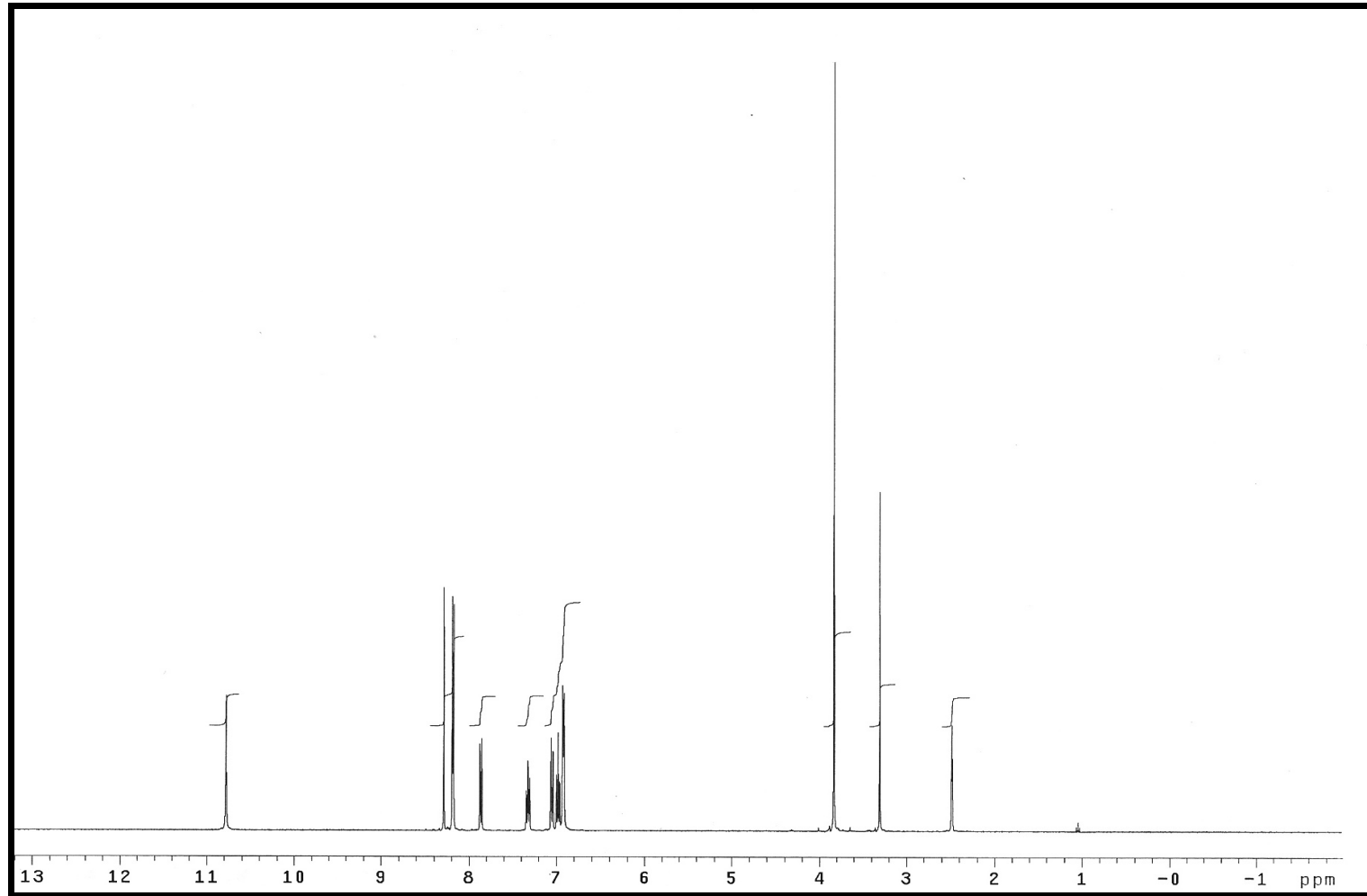
δ 10.78 (1H, s, N-H), 8.29 (1H, s, N=CH), 8.19 (2H, d, $J= 6.0$ Hz, H-2, H-6), 7.86 (1H, dd, $J= 1.6, 8.0$ Hz, H-6'), 7.32 (1H, td, $J= 7.8, 1.6$ Hz, H-4'), 7.05 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-3'), 6.98 (1H, t, $J= 7.2$ Hz, H-5'), 6.92 (2H, d, $J= 6.4$ Hz, H-3, H-5), 3.83 (3H, s, OCH₃) ppm



Spektrum No 7. B-OCH₃ Bileşğinin UV Spektrumu



Spektrum No 8. B-OCH₃ Bileşğinin IR Spektrumu

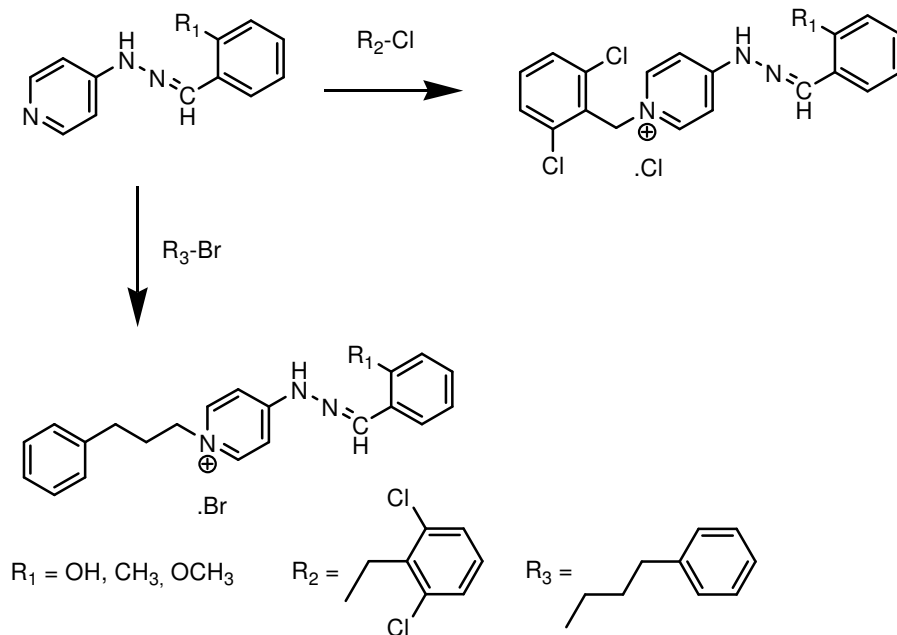


Spektrum No 9. B-OCH₃ Bileşğinin ^1H NMR Spektrumu

2. Piridinyum Türevi Bileşiklerin Sentezi ve Spektral Bulguları (K1, K2, K3, K4, K5, K6)

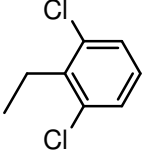
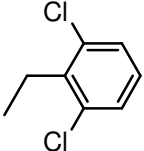
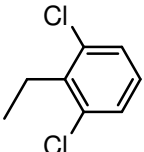
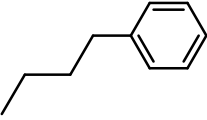
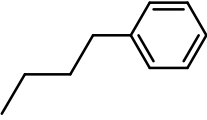
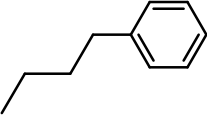
0.01 mol 4-[N²-(2'-Süstitübenziliden)hidrazinil]piridin K1, K2, K3 kodlu bileşikler için; 0.018 mol 2,6-diklorobenzil klorür ile, K4, K5, K6 kodlu bileşikler için 0.018 mol 3-fenilpropil bromür ile, 20 ml absöü etanol içerisinde çözüldü. Geri çeviren soğutucu altında 120 °C de yağ banyosunda kaynatıldı. Tepkime İ.T.K ile takip edilerek reaksiyonun bittiği tespit edildi. Karışım oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Soğuduktan sonra oluşan çökelti soğuk etanol ile yıkanarak süzöldü ve kurutuldu. Elde edilen ham ürün etanolden kristallendirildi. Bu yöntemle, K1, K2, K3, K4, K5, K6 kodlu bileşikler elde edildi (Şema 3).

Sentezlenen bileşiklerin erime dereceleri, % verimleri ve reaksiyon süreleri Tablo 2'de toplu halde verilmiştir.

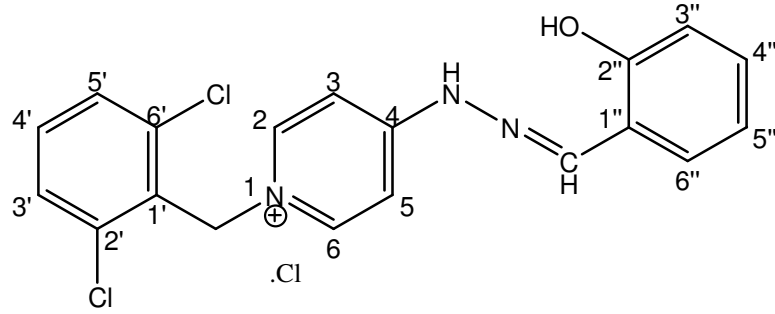


Şema 3. Tepkime Denklemi

Tablo 2. K1, K2, K3, K4, K5, K6 Kodlu Bileşiklerin Erime Dereceleri, % Verimleri ve Reaksiyon Süreleri

Bileşik No	R ₁	R ₂	Erime Derecesi (°C)	% Verim	Reaksiyon Süresi (saat)
K1	-OH		288	68	6
K2	-CH ₃		290	72	8
K3	-OCH ₃		274	79	7
K4	-OH		197	41	69
K5	-CH ₃		160	45	70
K6	-OCH ₃		165	59	55

a. K1 Bileşiminin Spektral Bulguları



1-(2',6'-diklorobenzil)-4-[N²-(2''-hidroksibenziliden)hidrazinil]piridinyum klorür

UV (Spektrum No 10)

λ_{maks} (log ϵ) (MeOH)

404 (3.72, sh), 358 (4.49), 321 (4.18, sh), 254 (3.74, sh), 205 (4.62) nm

IR (Spektrum No 11)

ν_{maks} (KBr)

3446 (N-H gerilme), 3062 (Aromatik halka C-H gerilme), 2892, 2825 (Alifatik C-H gerilme), 1643, 1604, 1548, 1513, 1477, 1440 (Aromatik halka C=C gerilme ve N=CH gerilme), 786, 755, 711 (Aromatik halka C-H düzlem dışı eğilmesi) cm⁻¹

¹H NMR (Spektrum No 12)

(400 MHz, DMSO-d₆)

δ 12.70 (1H, s, N-H), δ 10.25 (1H, s, O-H), δ 8.59 (1H, s, N=CH), 8.34 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-2 veya H-6), 8.17 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-2 veya H-6), 7.80 (1H, dd, J =1.6, 7.6 Hz, H-6''), 7.64 (2H, d, J = 8.0 Hz, H-3', H-5'), 7.56-7.52 (2H, m, H-3 veya H-5, H-4'), 7.28 (1H, td, J = 7.6, 1.6 Hz, H-4''), 7.06 (1H, dd, J = 2.4, 7.2 Hz, H-3 veya H-4'')

5), 6.94 (1H, d, $J= 8.4$ Hz, H-3"), δ 6.87 (1H, t, $J= 7.8$ Hz, H-5"), 5.70 (2H, s, CH₂) ppm

¹H NMR D₂O (Spektrum No 13)

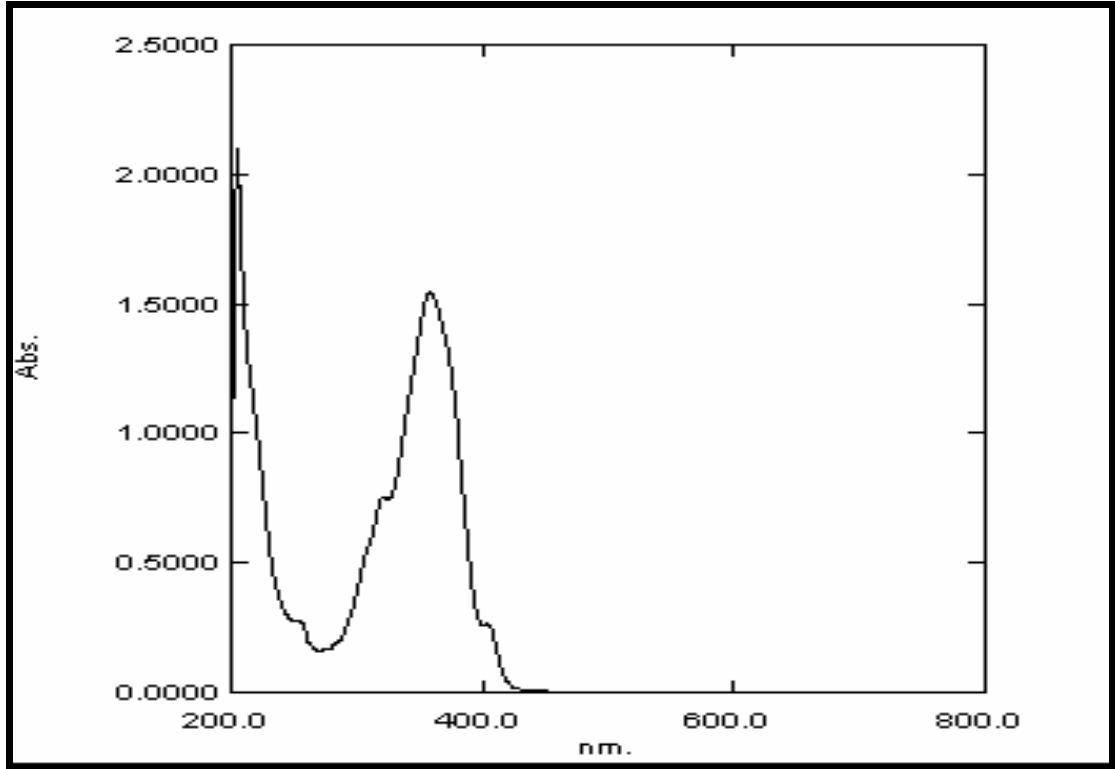
(400 MHz, DMSO-d₆)

δ 8.53 (1H, s, N=CH), 8.29 (1H, d, $J= 7.4$ Hz, H-2 veya H-6), 8.15 (1H, d, $J= 7.4$ Hz, H-2 veya H-6), 7.78 (1H, dd, $J=1.6, 7.8$ Hz, H-6"), 7.60 (2H, d, $J= 7.8$ Hz, H-3', H-5'), 7.54-7.49 (2H, m, H-3 veya H-5, H-4'), 7.27 (1H, td, $J= 7.8, 1.6$ Hz, H-4"), 6.99 (1H, dd, $J= 2.7, 7.2$ Hz, H-3 veya H-5), 6.91 (1H, d, $J= 8.6$ Hz, H-3"), δ 6.87 (1H, t, $J= 7.4$ Hz, H-5"), 5.67 (2H, s, CH₂) ppm

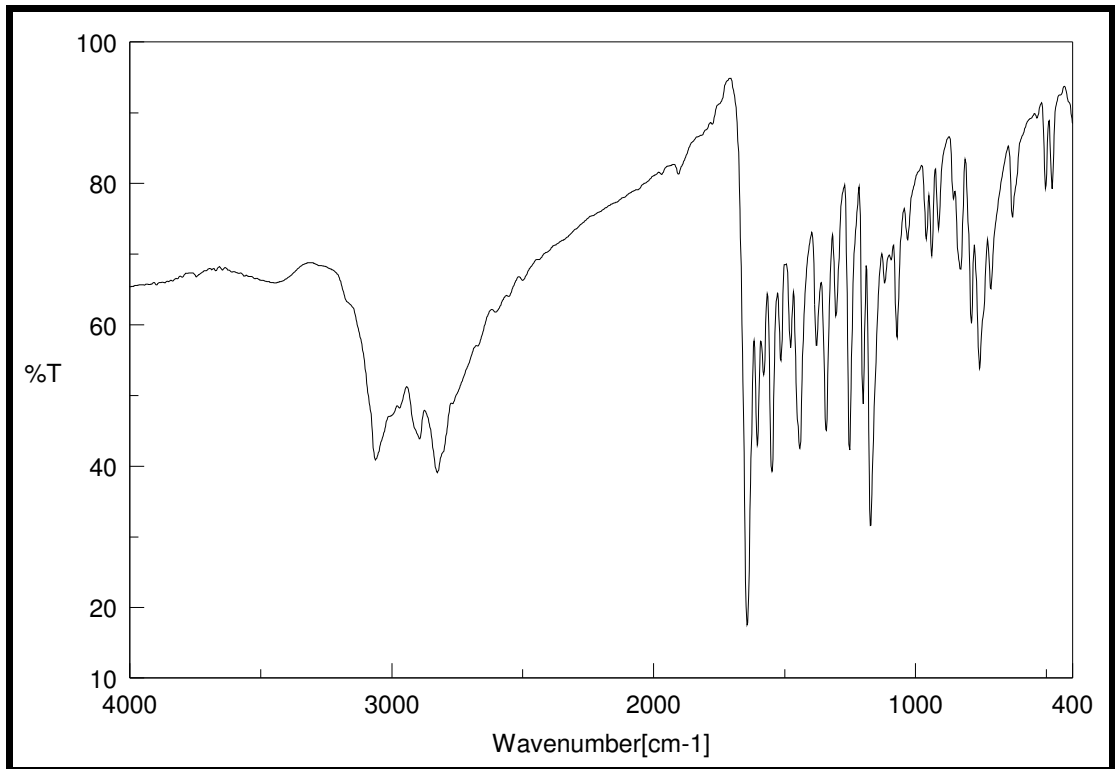
MS (ESI) (Spektrum No 14)

m/z (% bağıl bolluk)

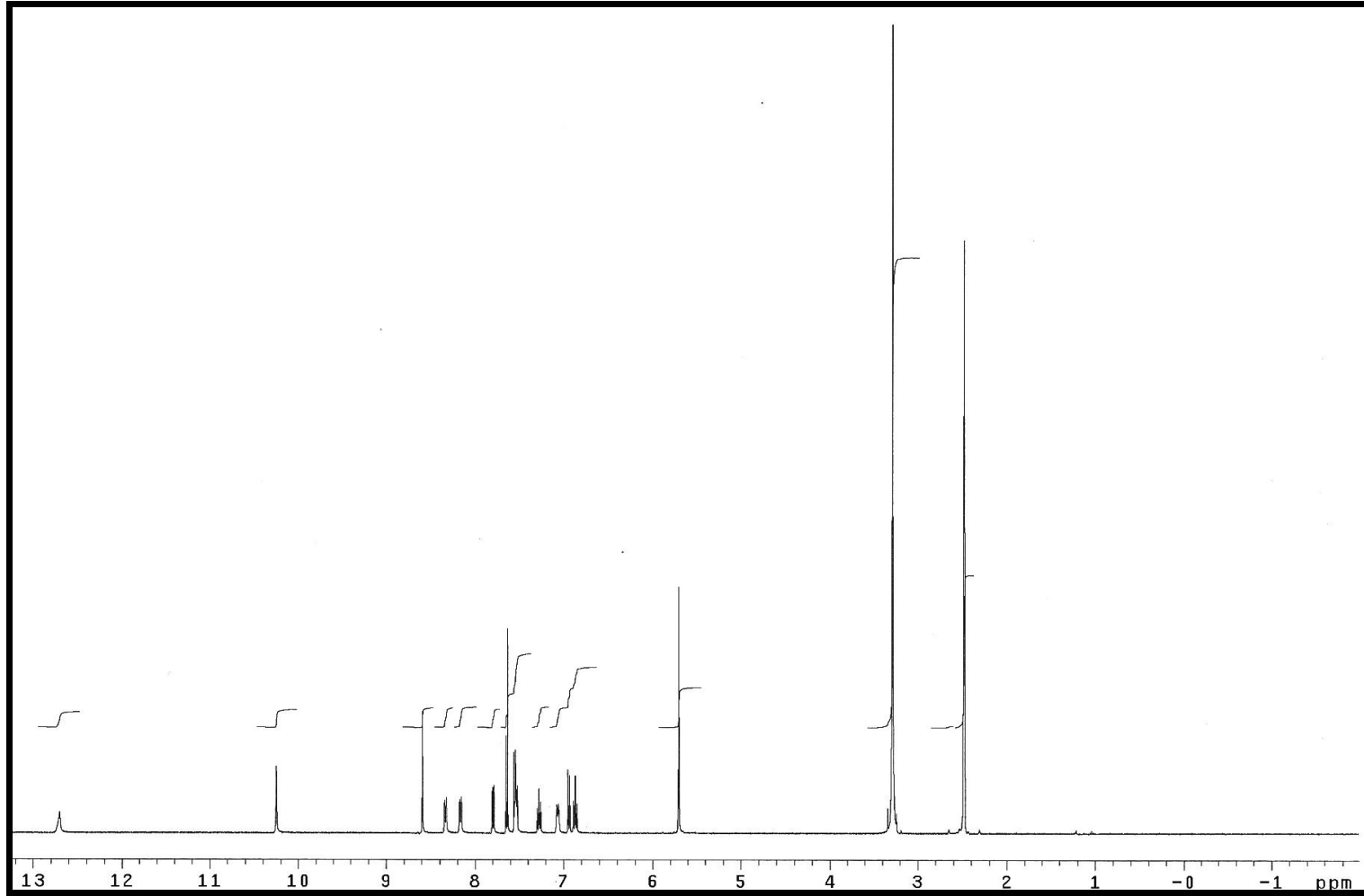
372 (M⁺, 100), 374 (M+2, 69)



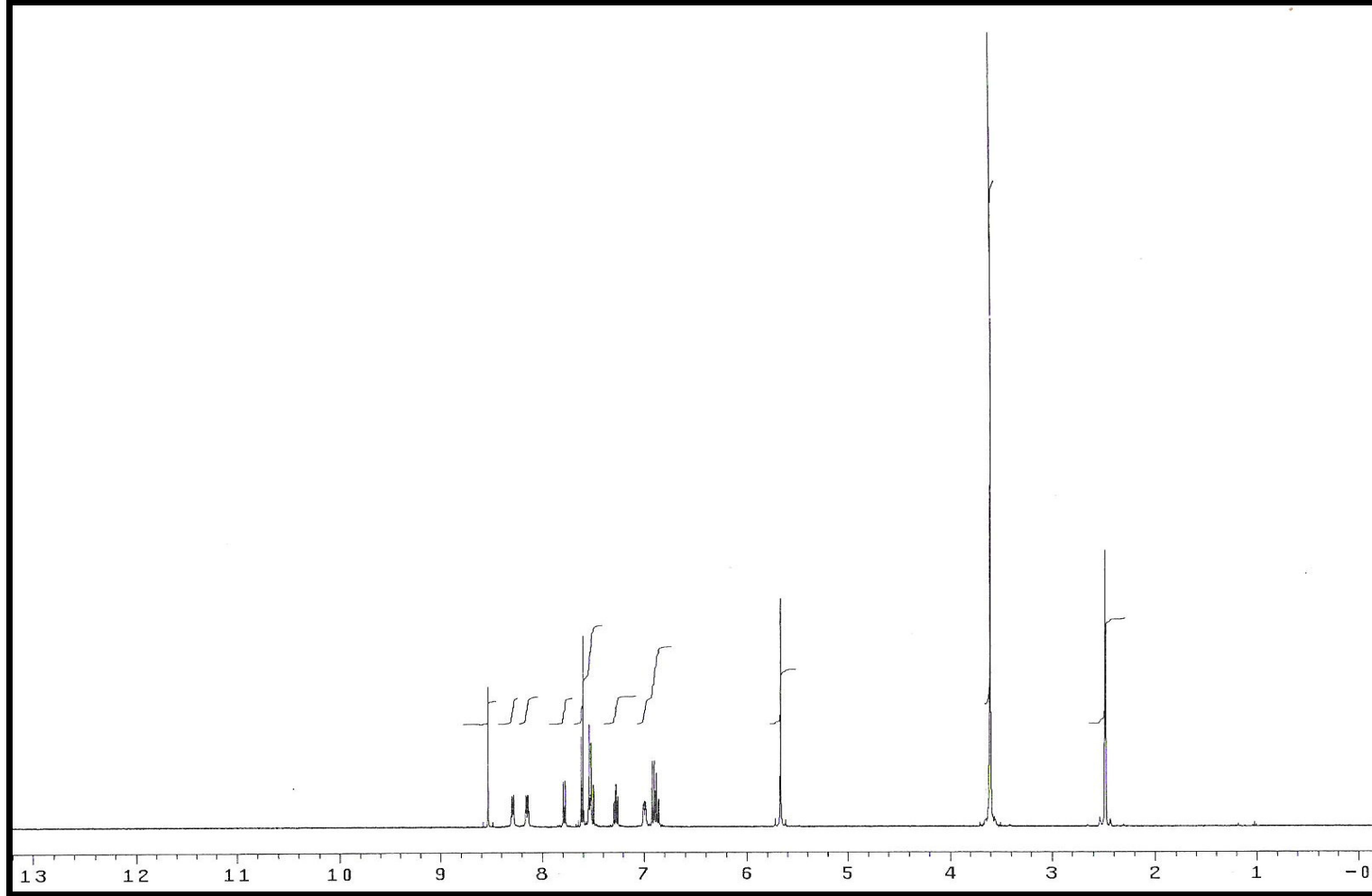
Spektrum No 10. K1 Bileşğinin UV Spektrumu



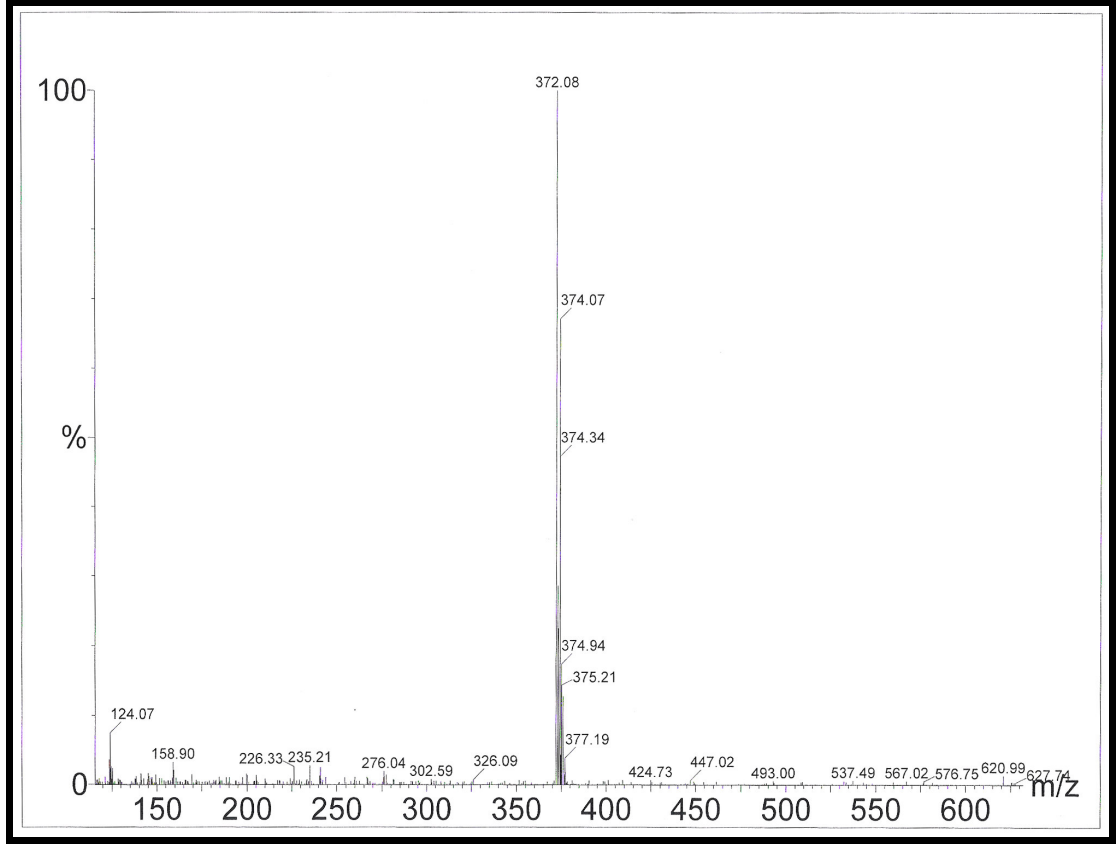
Spektrum No 11. K1 Bileşğinin IR Spektrumu



Spektrum No 12. K1 Bileşğinin ^1H NMR Spektrumu

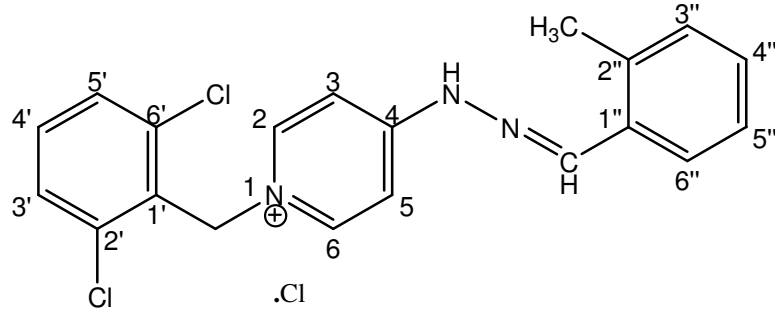


Spektrum No 13. K1 Bileşğinin D_2O İlave Edilmiş Çözeltisinin ^1H NMR Spektrumu



Spektrum No 14. K1 Bileşğinin Kütle Spektrumu

b. K2 Bileşiminin Spektral Bulguları



1-(2',6'-diklorobenzil)-4-[N²-(2''-metilbenziliden)hidrazinil]piridinyum klorür

UV (Spektrum No 15)

λ_{maks} (log ϵ) (MeOH)

347 (4.39), 205 (4.63) nm

IR (Spektrum No 16)

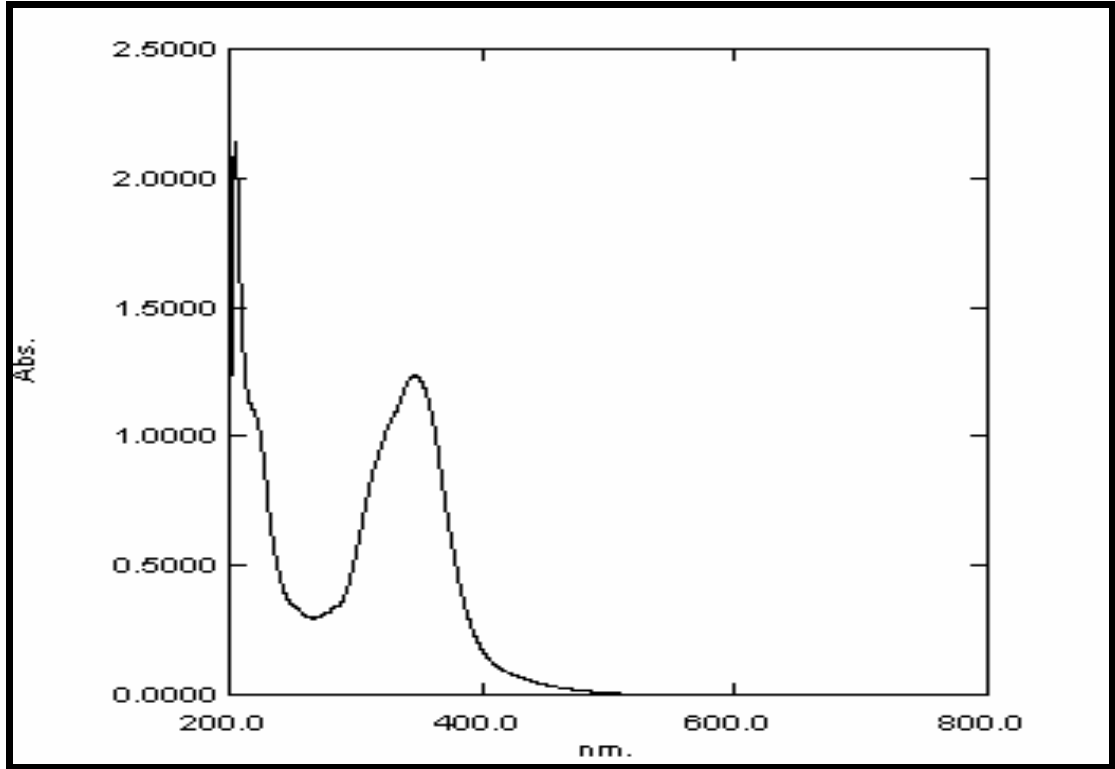
ν_{maks} (KBr)

3442 (N-H gerilme), 3052 (Aromatik halka C-H gerilme), 2886, 2694 (Alifatik C-H gerilme), 1643, 1581, 1513, 1436 (Aromatik halka C=C gerilme ve N=CH gerilme), 784,761, 748 (Aromatik halka C-H düzlem dışı eğilmesi) cm⁻¹

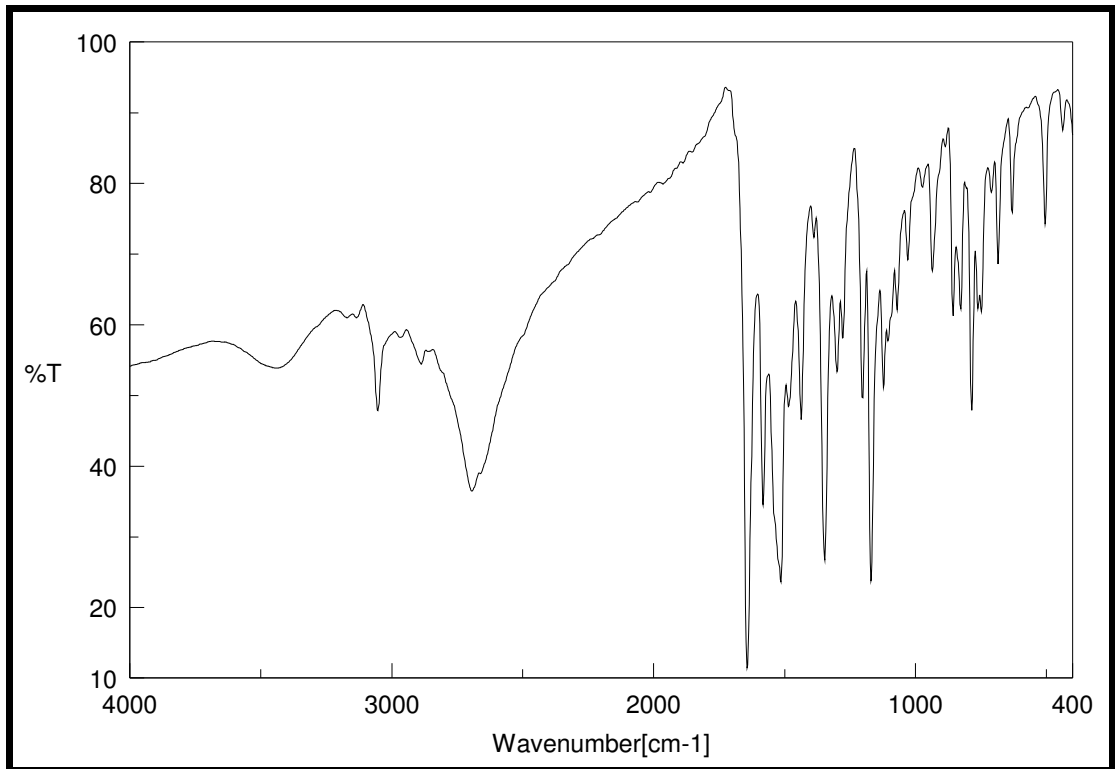
¹H NMR (Spektrum No 17)

(400 MHz, DMSO-d₆)

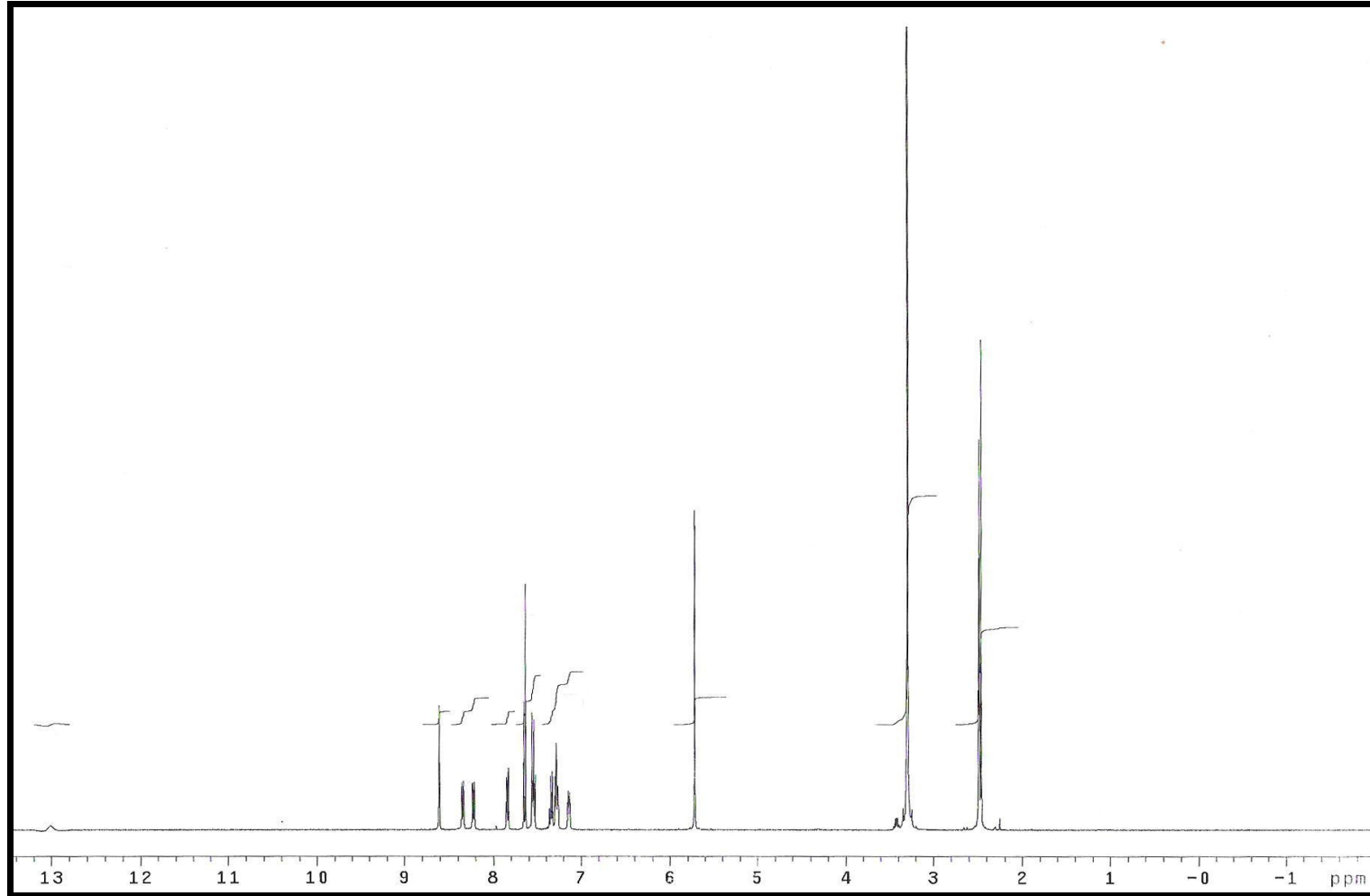
δ 13.00 (1H, s, N-H), δ 8.60 (1H, s, N=CH), 8.34 (1H, dd, J = 1.6, 7.2 Hz, H-2 veya H-6), 8.22 (1H, dd, J = 1.6, 7.0 Hz, H-2 veya H-6), 7.84 (1H, dd, J =1.6, 8.4 Hz, H-6''), 7.64 (2H, d, J = 8.0 Hz, H-3', H-5'), 7.56-7.52 (2H, m, H-3 veya H-5, H-4'), 7.34 (1H, td, J = 7.4, 1.2 Hz, H-4''), 7.30-7.26 (2H, m, H-3'', H-5''), 7.14 (1H, dd, J = 2.8, 7.2 Hz, H-3 veya H-5), 5.70 (2H, s, CH₂), 2.46 (3H, s, CH₃) ppm



Spektrum No 15. K2 Bileşğinin UV Spektrumu

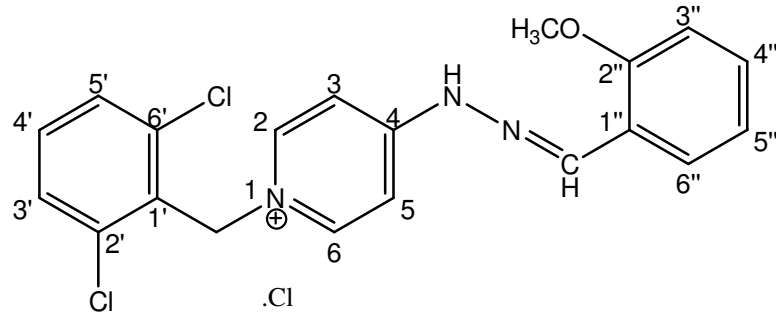


Spektrum No 16. K2 Bileşğinin IR Spektrumu



Spektrum No 17. K2 Bileşğinin ^1H NMR Spektrumu

c. K3 Bileşiminin Spektral Bulguları



1-(2',6'-diklorobenzil)-4-[N²-(2''-metoksibenziliden)hidrazinil]piridinyum klorür

UV (Spektrum No 18)

λ_{maks} (log ϵ) (MeOH)

356 (4.43), 275 (3.38, sh) 204 (4.55) nm

IR (Spektrum No 19)

ν_{maks} (KBr)

3315 (N-H gerilme), 3064 (Aromatik halka C-H gerilme), 2904, 2724 (Alifatik C-H gerilme), 1641, 1602, 1542, 1513, 1479, 1459, 1434, (Aromatik halka C=C gerilme ve N=CH gerilme), 1247 (C-O-C asimetrik gerilme), 788, 754 (Aromatik halka C-H düzlem dışı eğilmesi) cm^{-1}

¹H NMR (Spektrum No 20)

(400 MHz, DMSO-d₆)

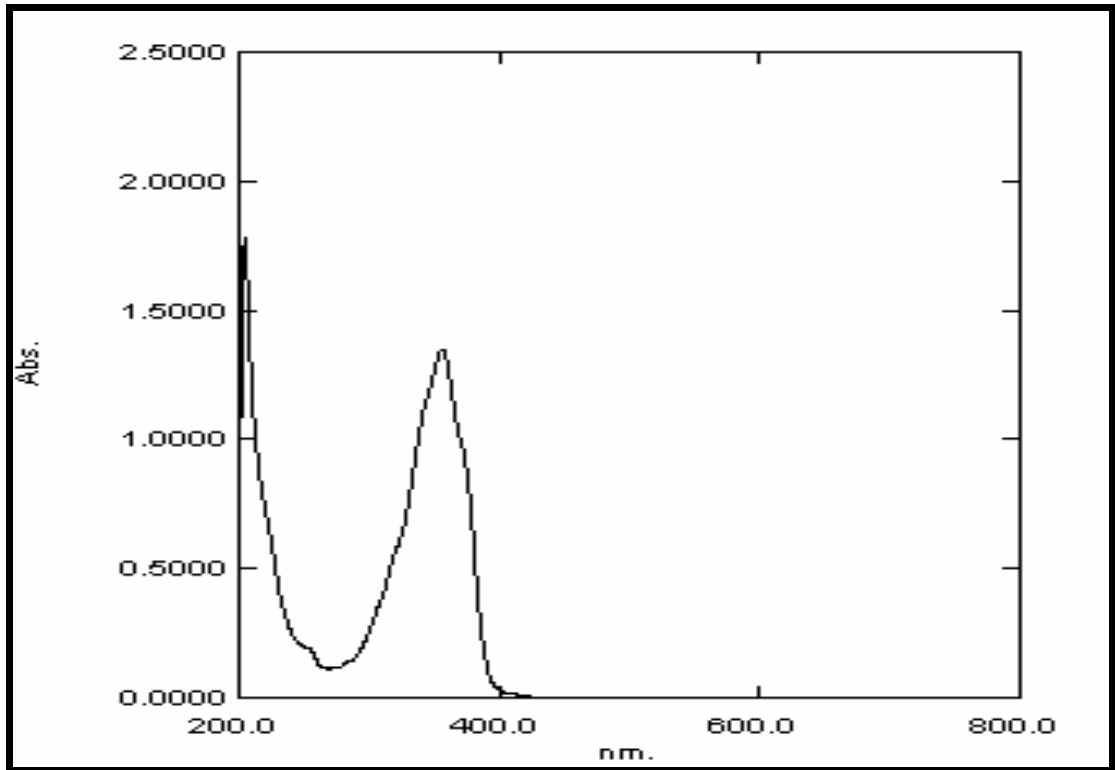
δ 8.59 (1H, s, N=CH), 8.34 (1H, dd, $J= 1.6, 7.2$ Hz, H-2 veya H-6), 8.17 (1H, d, $J= 7.2$ Hz, H-2 veya H-6), 7.91 (1H, dd, $J=1.6, 7.6$ Hz, H-6''), 7.64 (2H, d, $J= 8.0$ Hz, H-3' ve H-5'), 7.58 (1H, dd, $J= 2.8, 7.6$ Hz, H-3 veya H-5), 7.54 (1H, dd, $J= 7.2, 8.8$

Hz, H-4'), 7.45 (1H, td, $J= 7.8, 1.6$ Hz, H-4''), 7.12 (1H, d, $J= 8.0$ Hz, H-3''), 7.04-7.01 (2H, m, H-3 veya H-5, H-5''), 5.71 (2H, s, CH₂), 3.86 (3H, s, OCH₃) ppm

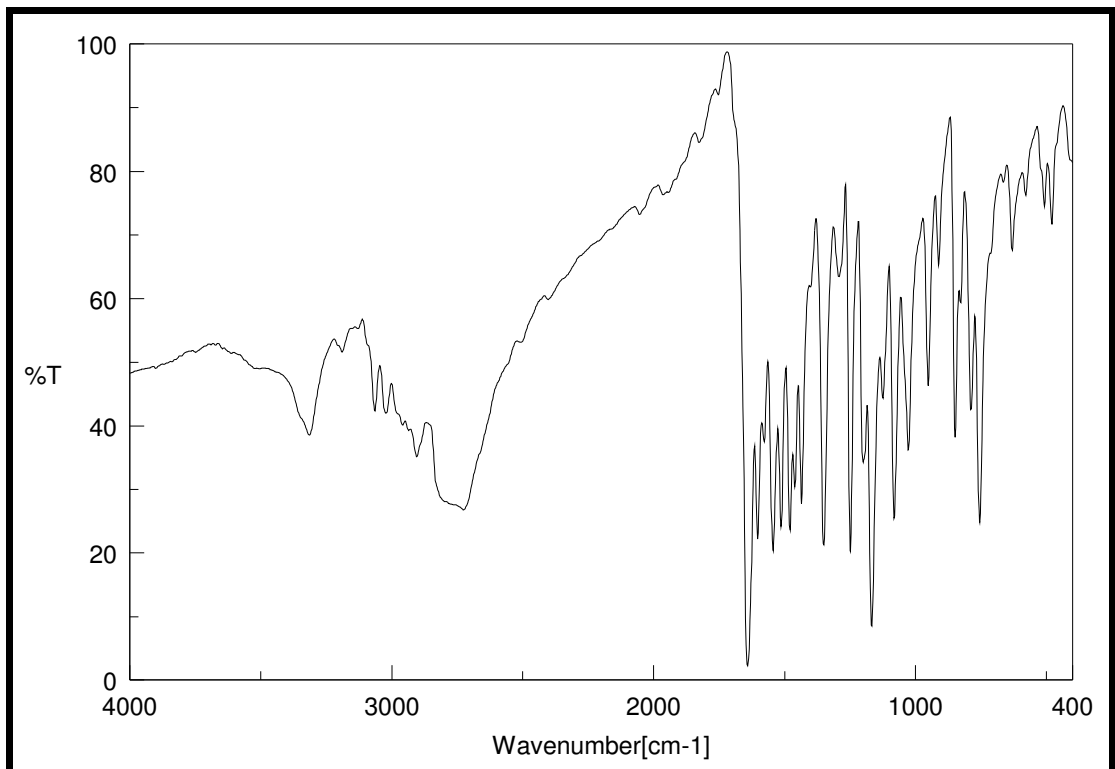
MS (ESI) (Spektrum No 21)

m/z (% bağıl bolluk)

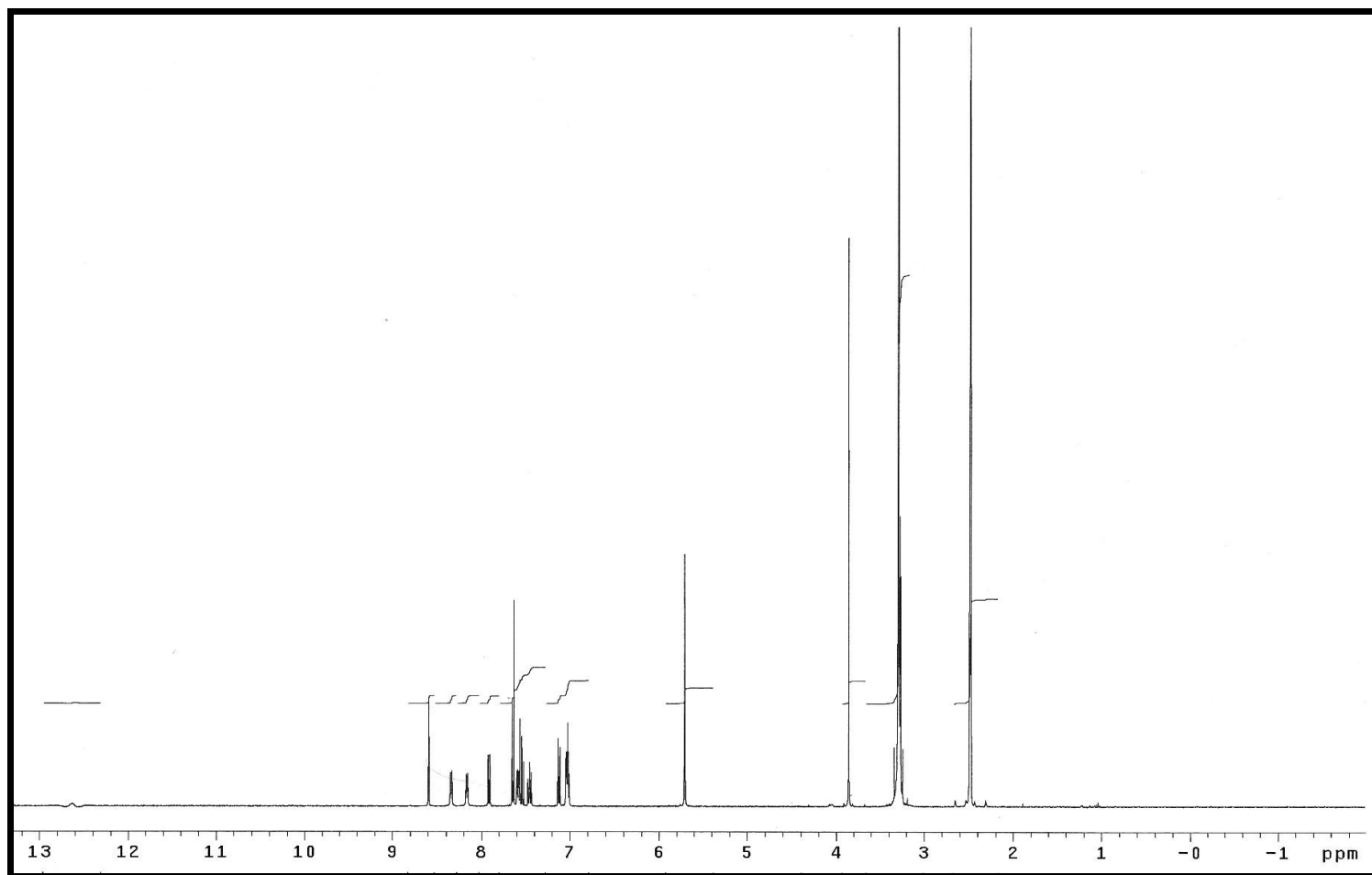
386 (M⁺, 100), 388 (M+2, 69), 390 (M+4,15)



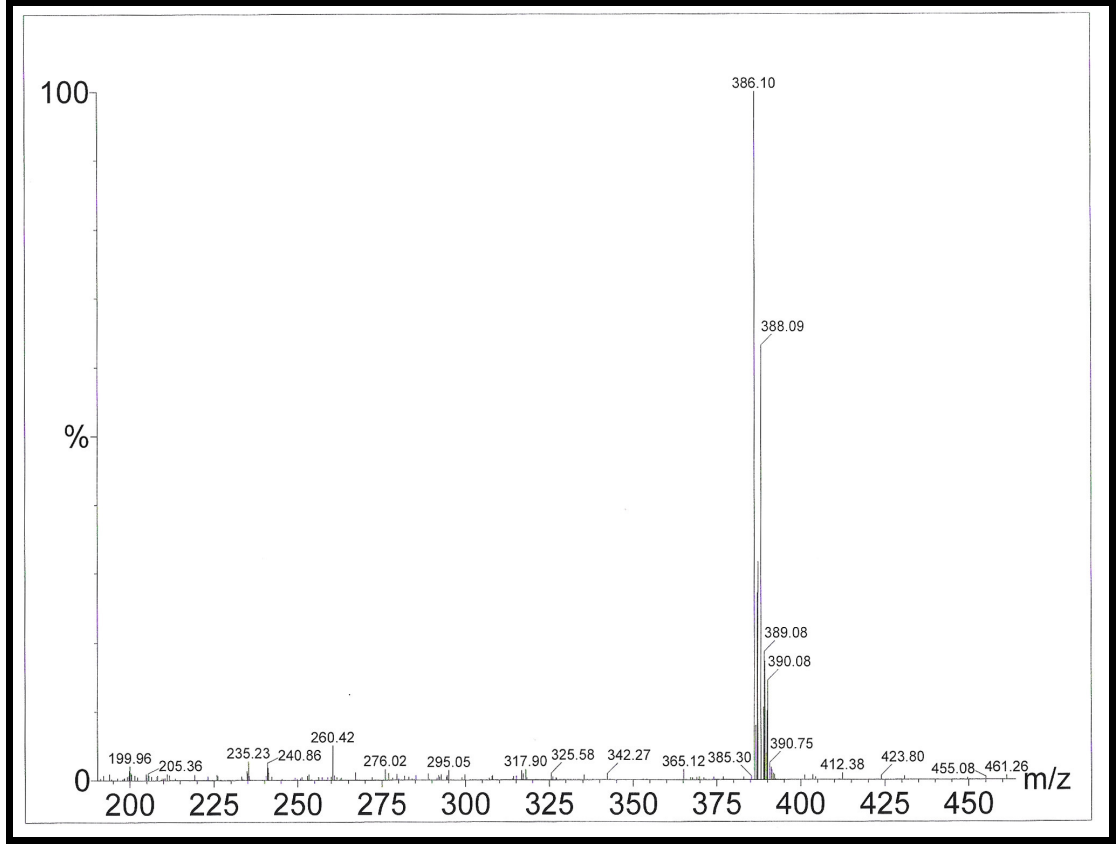
Spektrum No 18. K3 Bileşğinin UV Spektrumu



Spektrum No 19. K3 Bileşğinin IR Spektrumu

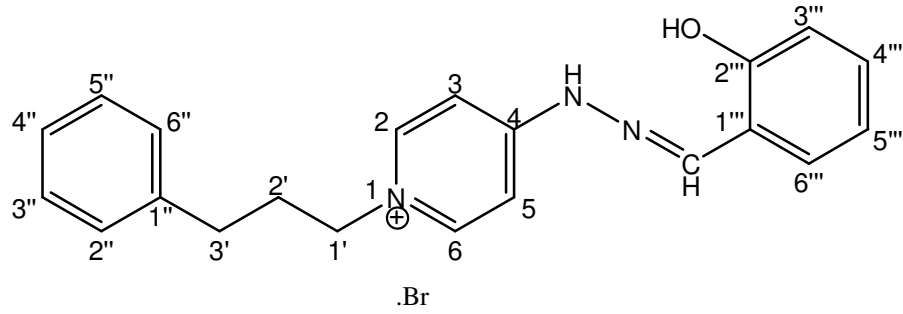


Spektrum No 20. K3 Bileşğinin ^1H NMR Spektrumu



Spektrum No 21. K3 Bileşğinin Kütle Spektrumu

d. K4 Bileşiminin Spektral Bulguları



1-(3'-fenilpropil)-4-[N²-(2'''-hidroksibenziliden)hidrazinil]piridinyum bromür

UV (Spektrum No 22)

λ_{maks} (log ϵ) (MeOH)

403 (3.55, sh), 354 (4.56), 320 (4.28, sh), 253 (3.81, sh), 205 (4.50) nm

IR (Spektrum No 23)

ν_{maks} (KBr)

3419 (N-H gerilme), 3031 (Aromatik halka C-H gerilme), 2904, 2832 (Alifatik C-H gerilme), 1644, 1552, 1515, 1513, 1492, 1459 (Aromatik halka C=C gerilme ve N=CH gerilme), 761, 705 (Aromatik halka C-H düzlem dışı eğilmesi) cm⁻¹

¹H NMR (Spektrum No 24)

(400 MHz, DMSO-d₆)

δ 12.32 (1H, s, N-H), 10.17 (1H, s, O-H), 8.58 (1H, s, N=CH), 8.44 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-2 veya H-6), 8.37 (1H, d, J = 7.2 Hz, H-2 veya H-6), 7.84 (1H, dd, J = 1.6, 7.6 Hz, H-6'''), 7.54 (1H, dd, J = 2.4, 7.6 Hz, H-3 veya H-5), 7.30-7.15 (6H, m, H-2'', H-3'', H-4'', H-5'', H-6'' ve H-4'''), δ 7.03 (1H, d, J = 6.8 Hz, H-3 veya H-5), 6.93 (1H, d,

$J= 8.0$ Hz, H-3'''), 6.88 (1H, t, $J= 7.6$ Hz, H-5'''), 4.26 (2H, t, $J= 7.4$ Hz, $-\text{CH}_2\text{-N}^+$), 2.59 (2H, t, $J= 8.0$ Hz, Fenil- CH_2 -), δ 2.12 (2H, quin, $J= 7.6$ Hz, $-\text{CH}_2$ -) ppm

$^1\text{H NMR D}_2\text{O}$ (Spektrum No 25)

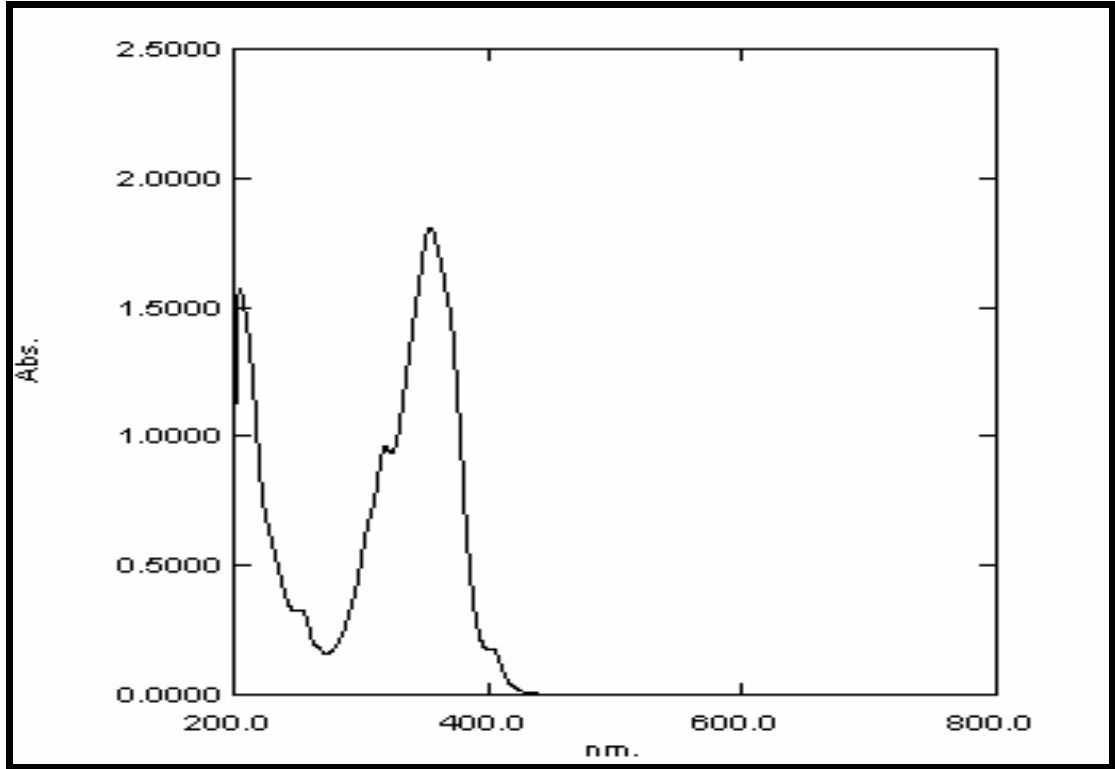
(400 MHz, DMSO- d_6)

δ 8.53 (1H, s, N=CH), 8.37 (1H, d, $J= 7.0$ Hz, H-2 veya H-6), 8.30 (1H, d, $J= 7.0$ Hz, H-2 veya H-6), 7.81 (1H, dd, $J= 2.0, 7.8$ Hz, H-6'''), 7.51 (1H, dd, $J= 2.4, 7.0$ Hz, H-3 veya H-5), 7.30-7.13 (6H, m, H-2'', H-3'', H-4'', H-5'', H-6'' ve H-4'''), 6.98 (1H, dd, $J= 2.4, 7.4$ Hz, H-3 veya H-5), 6.91 (1H, d, $J= 8.2$ Hz, H-3'''), 6.88 (1H, t, $J= 7.4$ Hz, H-5'''), 4.23 (2H, t, $J= 7.4$ Hz, $-\text{CH}_2\text{-N}^+$), 2.57 (2H, t, $J= 7.8$ Hz, Fenil- CH_2 -), δ 2.01 (2H, quin, $J= 7.4$ Hz, $-\text{CH}_2$ -) ppm

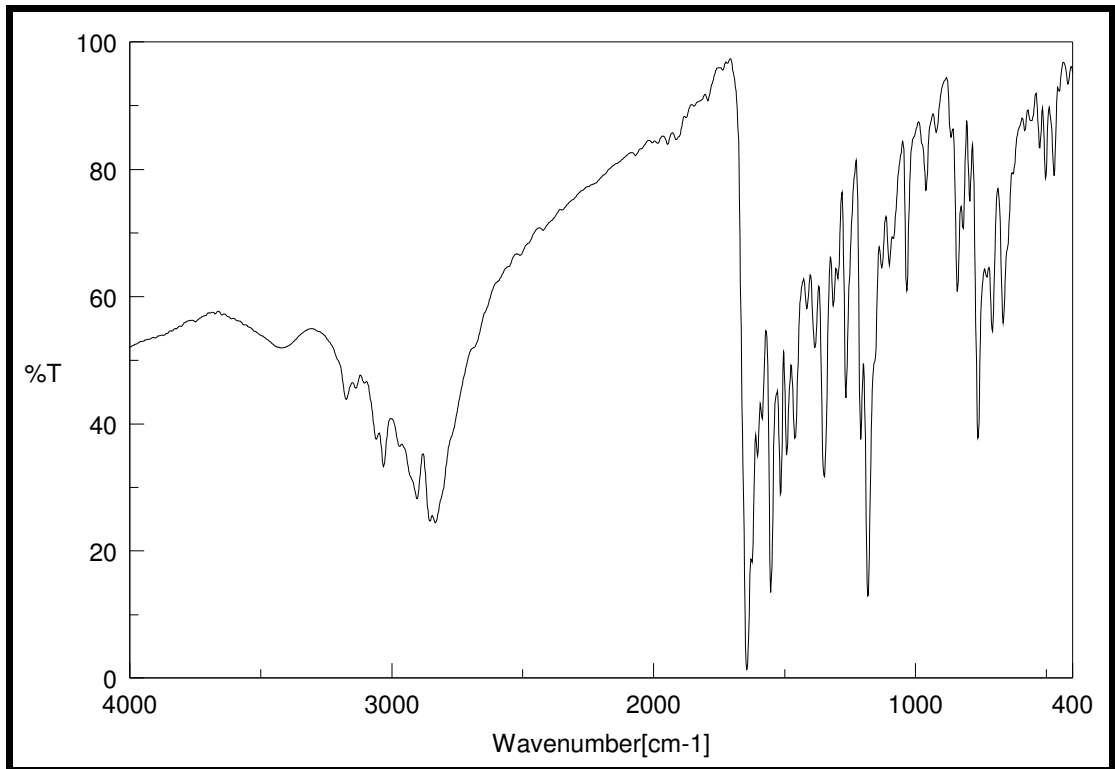
MS (ESI) (Spektrum No 26)

m/z (% bağıl bolluk)

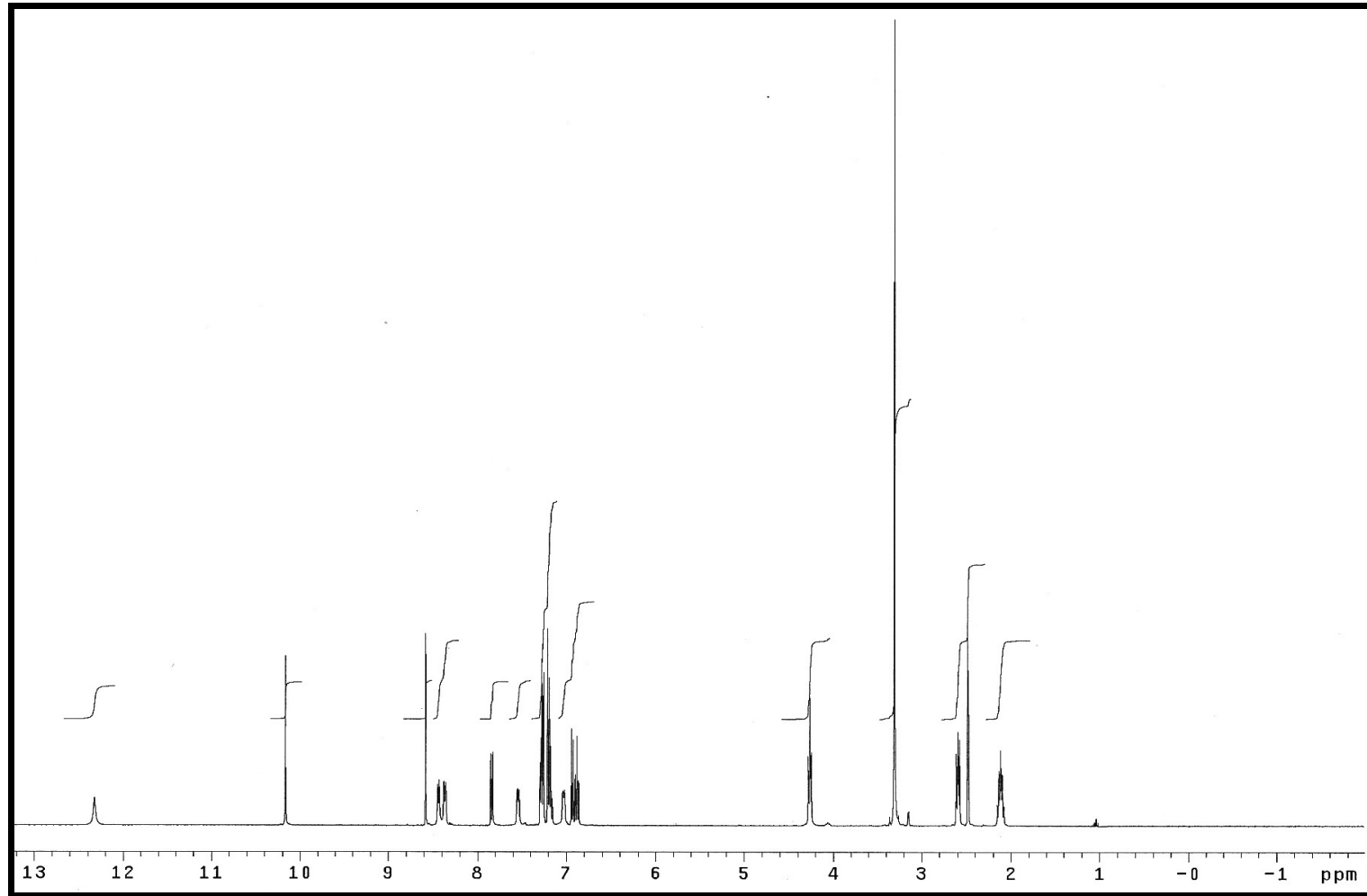
332 (M^+ , 100), 333 ($\text{M}+1$, 31)



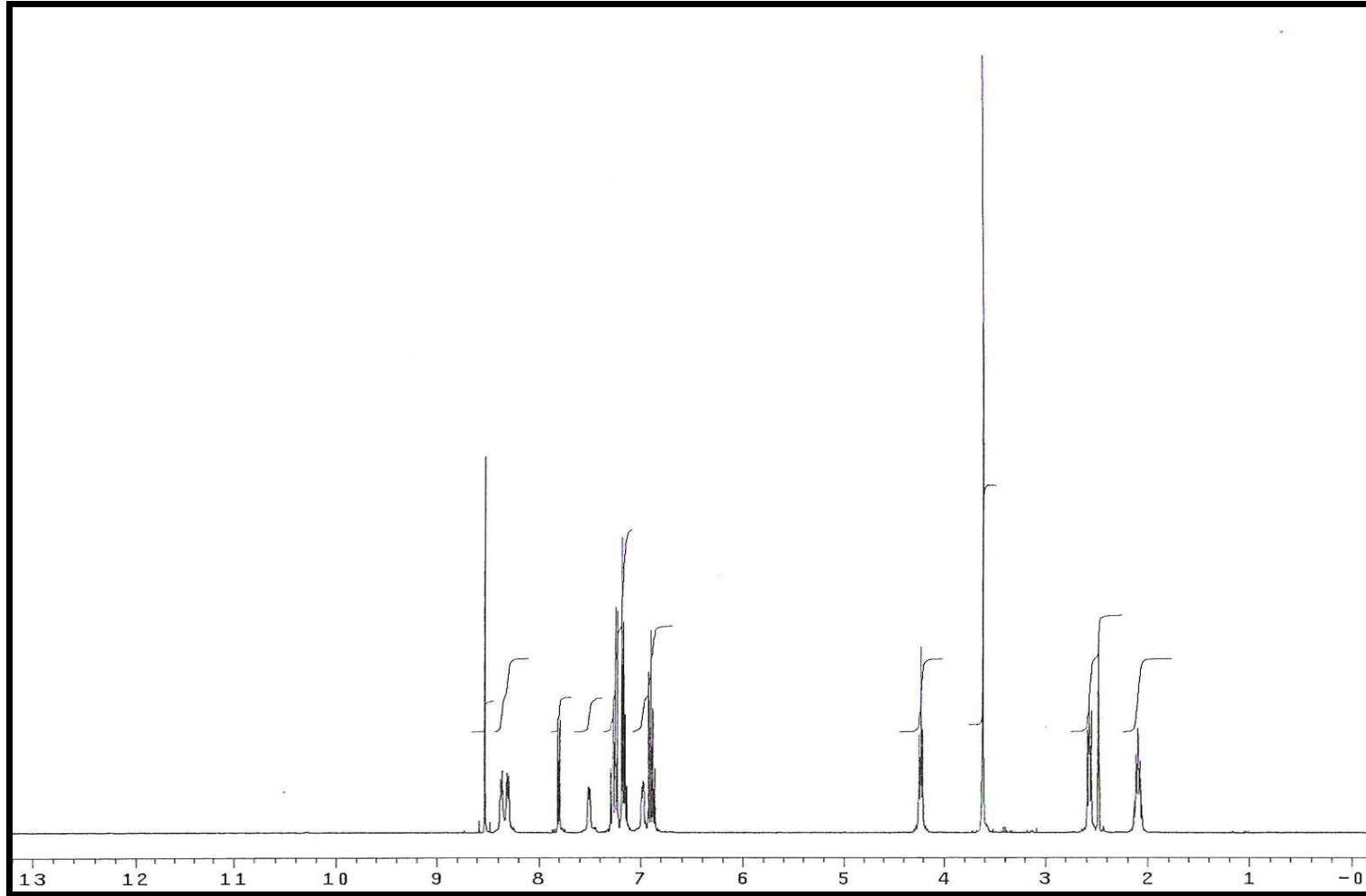
Spektrum No 22. K4 Bileşğinin UV Spektrumu



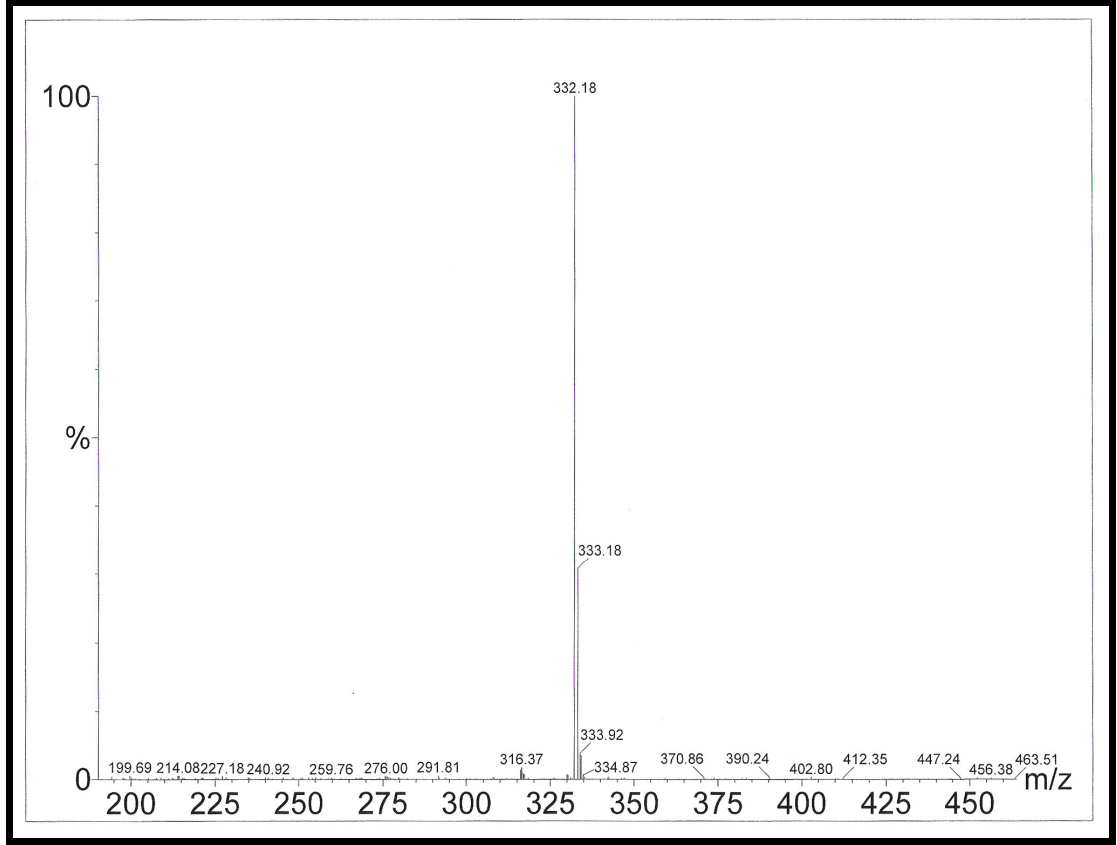
Spektrum No 23. K4 Bileşğinin IR Spektrumu



Spektrum No 24. K4 Bileşğinin ^1H NMR Spektrumu

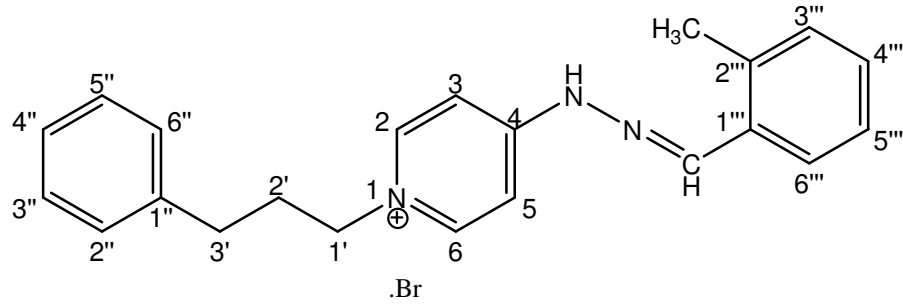


Spektrum No 25. K4 Bileşğinin D_2O İlave Edilmiş Çözeltisinin ^1H NMR Spektrumu



Spektrum No 26. K4 Bileşğinin Kütle Spektrumu

e. K5 Bileşiminin Spektral Bulguları



1-(3'-fenilpropil)-4-[N²-(2'''-metilbenziliden)hidrazinil]piridinyum bromür

UV (Spektrum No 27)

λ_{maks} (log ϵ) (MeOH)

343 (4.63), 250 (3.84, sh), 229 (4.07, sh), 205 (4.51) nm

IR (Spektrum No 28)

ν_{maks} (KBr)

3424 (N-H gerilme), 3058 (Aromatik halka C-H gerilme), 2915, 2827 (Alifatik C-H gerilme), 1644, 1585, 1552, 1511, 1488, 1454 (Aromatik halka C=C gerilme ve N=CH gerilme), 763, 711 (Aromatik halka C-H düzlem dışı eğilmesi) cm⁻¹

¹H NMR (Spektrum No 29)

(400 MHz, DMSO-d₆)

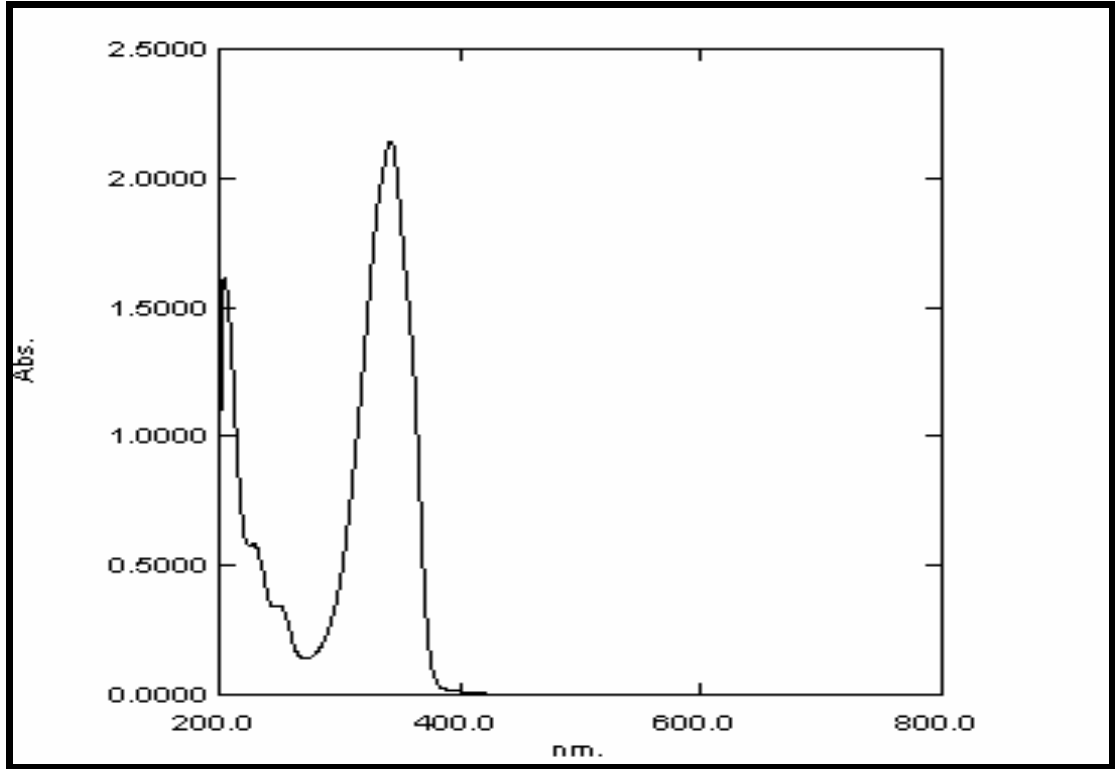
δ 12.34 (1H, s, N-H), 8.52 (1H, s, N=CH), 8.46 (1H, d, $J= 7.2$ Hz, H-2 veya H-6) , 8.39 (1H, d, $J= 6.8$ Hz, H-2 veya H-6), 7.89 (1H, dd, $J=2.0, 7.6$ Hz, H-6'''), 7.56 (1H, dd, $J= 2.4, 6.8$ Hz, H-3 veya H-5), 7.35 (1H, td, $J= 7.2, 1.6$ Hz, H-4'''), 7.30-7.16 (7H, m, H-2'', H-3'', H-4'', H-5'', H-6'', H-3''', H-5'''), 7.06 (1H, dd, $J= 2.4, 7.2$ Hz, H-3

veya H-5), 4.28 (2H, t, $J= 7.2$ Hz, $-\text{CH}_2\text{-N}^+$), 2.60 (2H, t, $J= 7.8$ Hz, Fenil- CH_2-),
2.12 (2H, quin, $J= 7.6$ Hz, $-\text{CH}_2-$) ppm

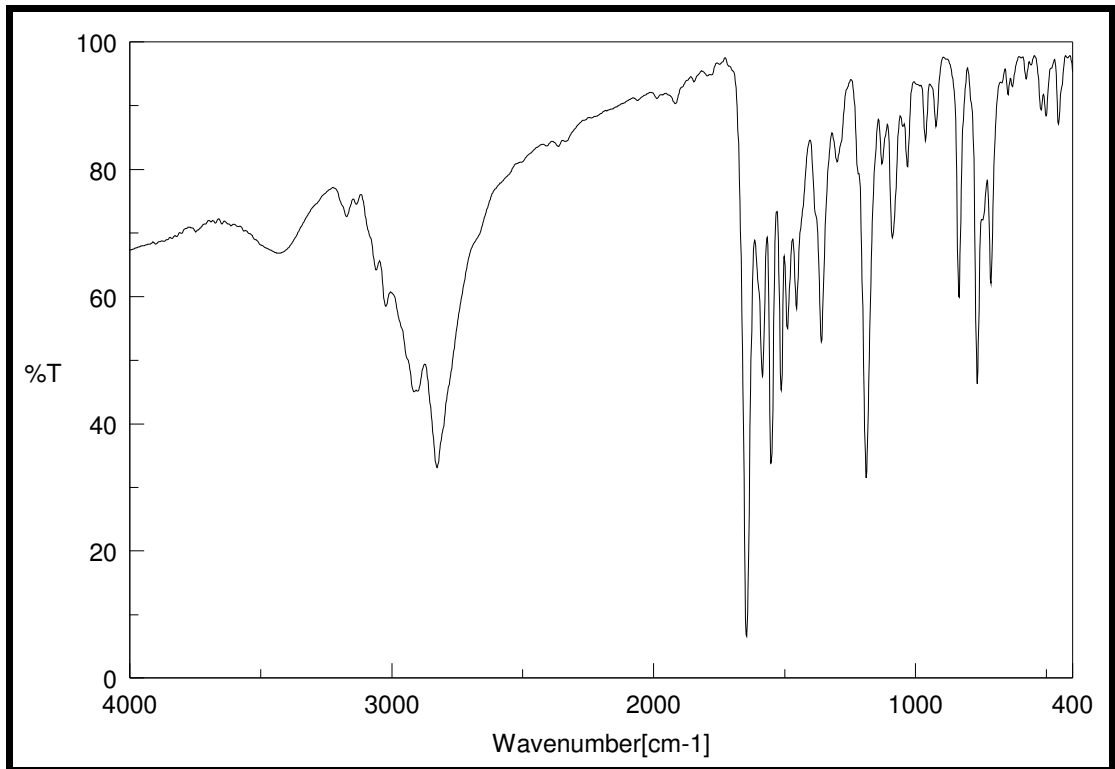
MS (ESI) (Spektrum No 30)

m/z (% bağıl bolluk)

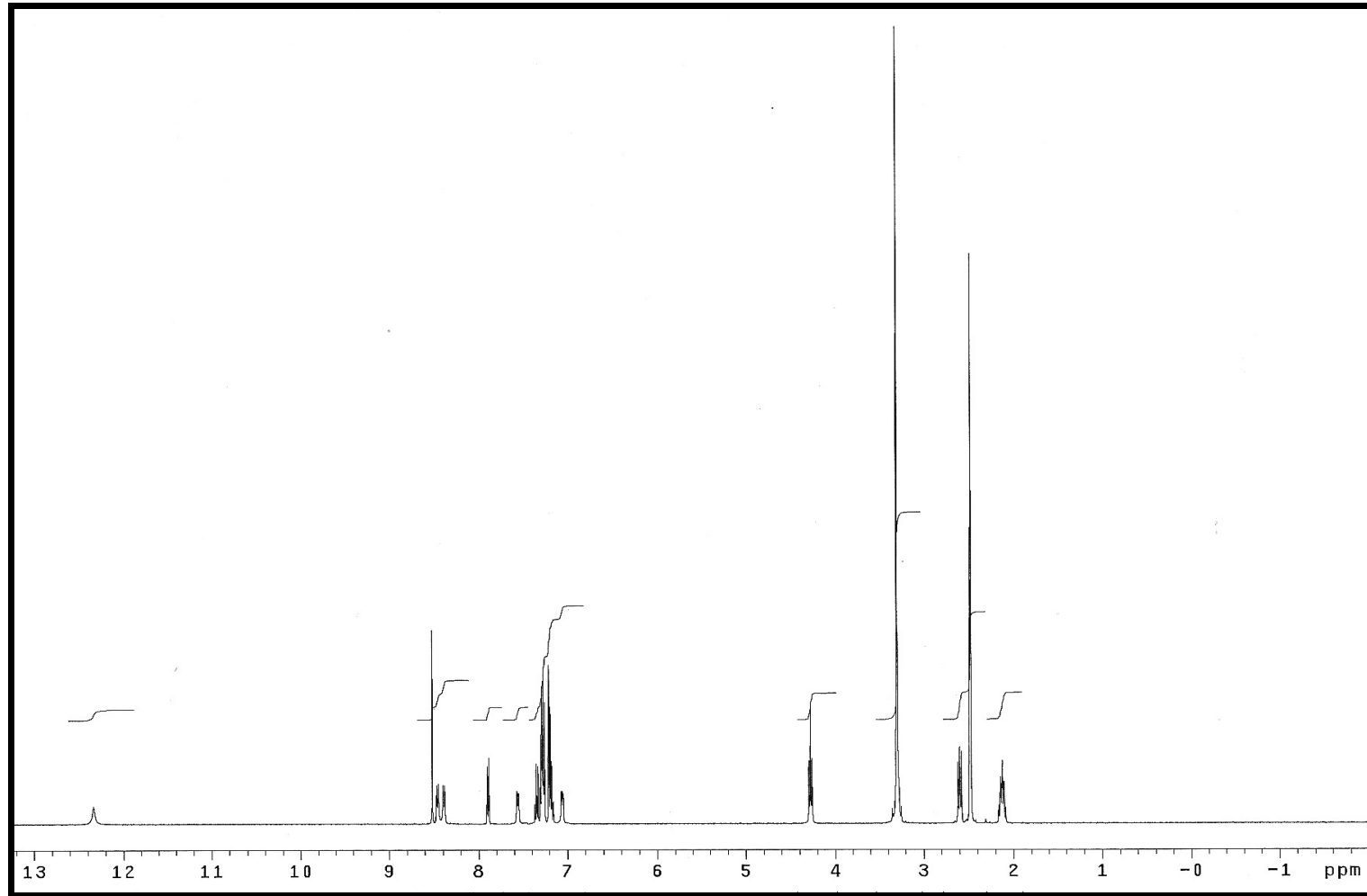
330 (M+, 100), 331 (M+1, 28)



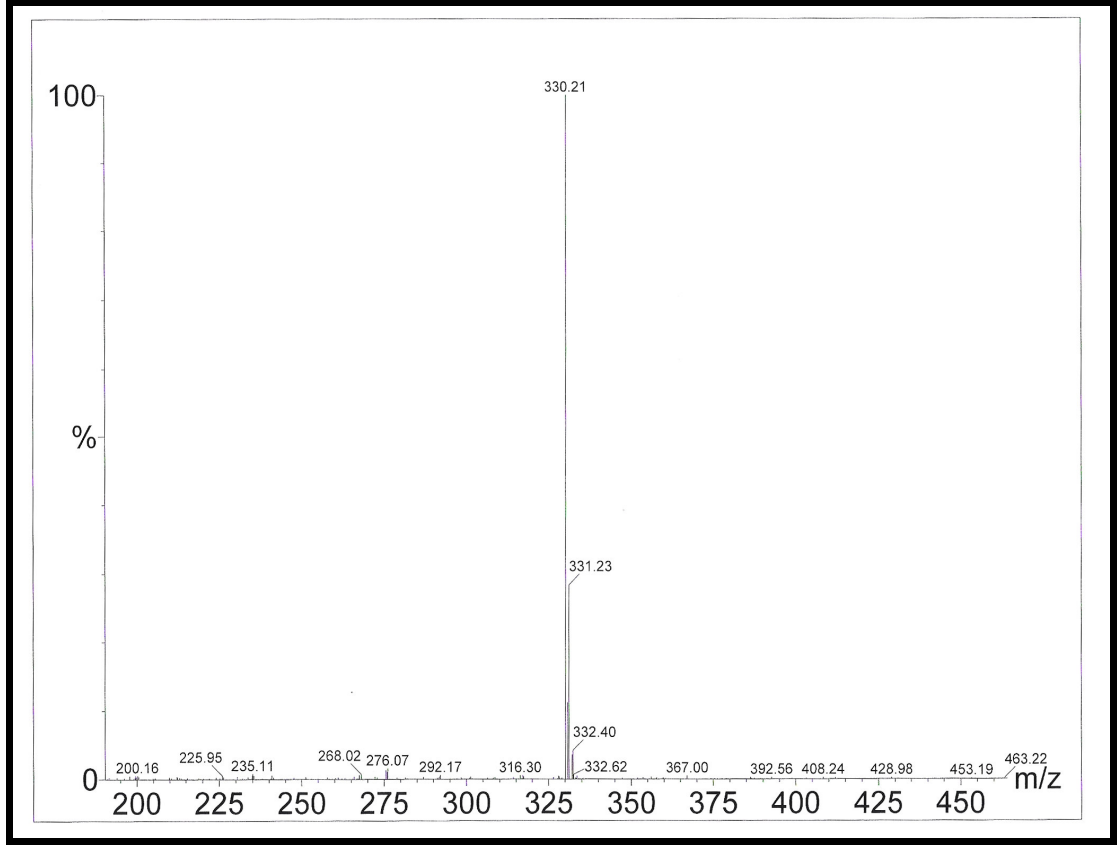
Spektrum No 27. K5 Bileşğinin UV Spektrumu



Spektrum No 28. K5 Bileşğinin IR Spektrumu

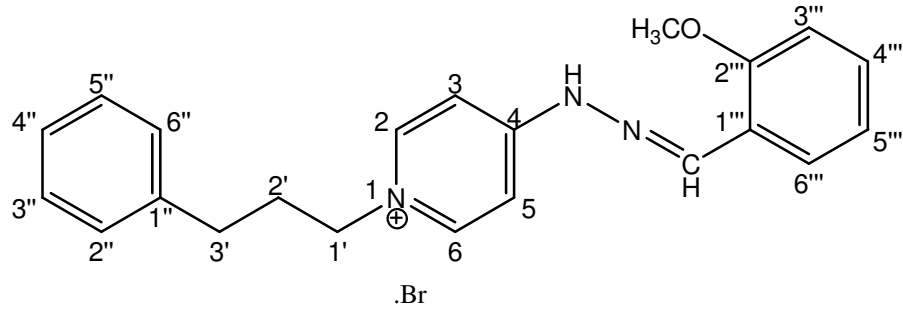


Spektrum No 29. K5 Bileşğinin ^1H NMR Spektrumu



Spektrum No 30. K5 Bileşğinin Kütle Spektrumu

f. K6 Bileşiminin Spektral Bulguları



1-(3'-fenilpropil)-4-[N²-(2'''-metoksibenziliden)hidrazinil]piridinyum bromür

UV (Spektrum No 31)

λ_{maks} (log ϵ) (MeOH)

354 (4.48), 204 (4.39) nm

IR (Spektrum No 32)

ν_{maks} (KBr)

3421 (N-H gerilme), 3066 (Aromatik halka C-H gerilme), 2962, 2908, 2832 (Alifatik C-H gerilme), 1644, 1598, 1571, 1546, 1511, 1457, (Aromatik halka C=C gerilme ve N=CH gerilme), 1245 (C-O-C asimetrik gerilme), 759, 709 (Aromatik halka C-H düzlem dışı eğilmesi) cm^{-1}

¹H NMR (Spektrum No 33)

(400 MHz, DMSO-d₆)

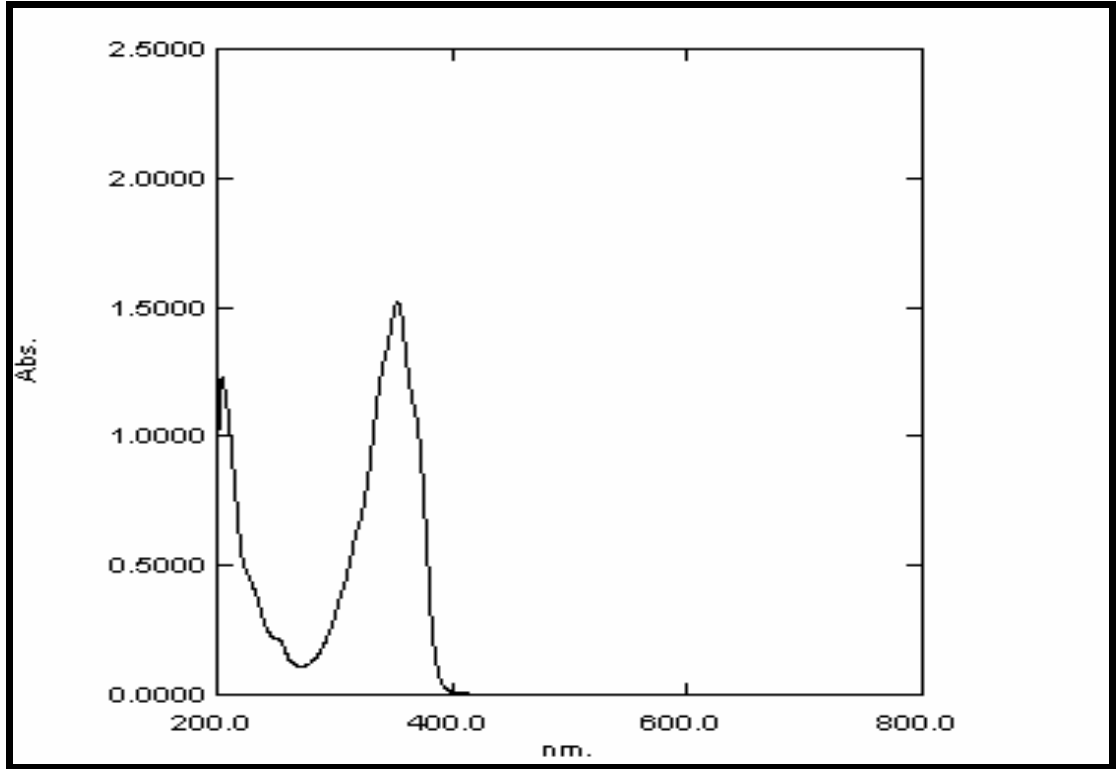
δ 12.30 (1H, s, N-H), 8.58 (1H, s, N=CH), 8.44 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-2 veya H-6), 8.36 (1H, d, J = 7.2 Hz, H-2 veya H-6), 7.96 (1H, dd, J = 1.6, 7.4 Hz, H-6'''), 7.59 (1H, dd, J = 2.4, 7.0 Hz, H-3 veya H-5), 7.45 (1H, td, J = 7.8, 1.6 Hz, H-4'''), 7.30-7.16 (5H, m, H-2'', H-3'', H-4'', H-5'', H-6''), 7.12 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-3'''), 7.05-6.98

(2H, m, H-5", H-3 veya H-5), 4.26 (2H, t, $J= 7.4$ Hz, $-\text{CH}_2\text{-N}^+$), 3.86 (3H, s, OCH_3),
2.59 (2H, t, $J= 7.8$ Hz, Fenil- CH_2-), 2.12 (2H, quin, $J= 7.6$ Hz, $-\text{CH}_2-$) ppm

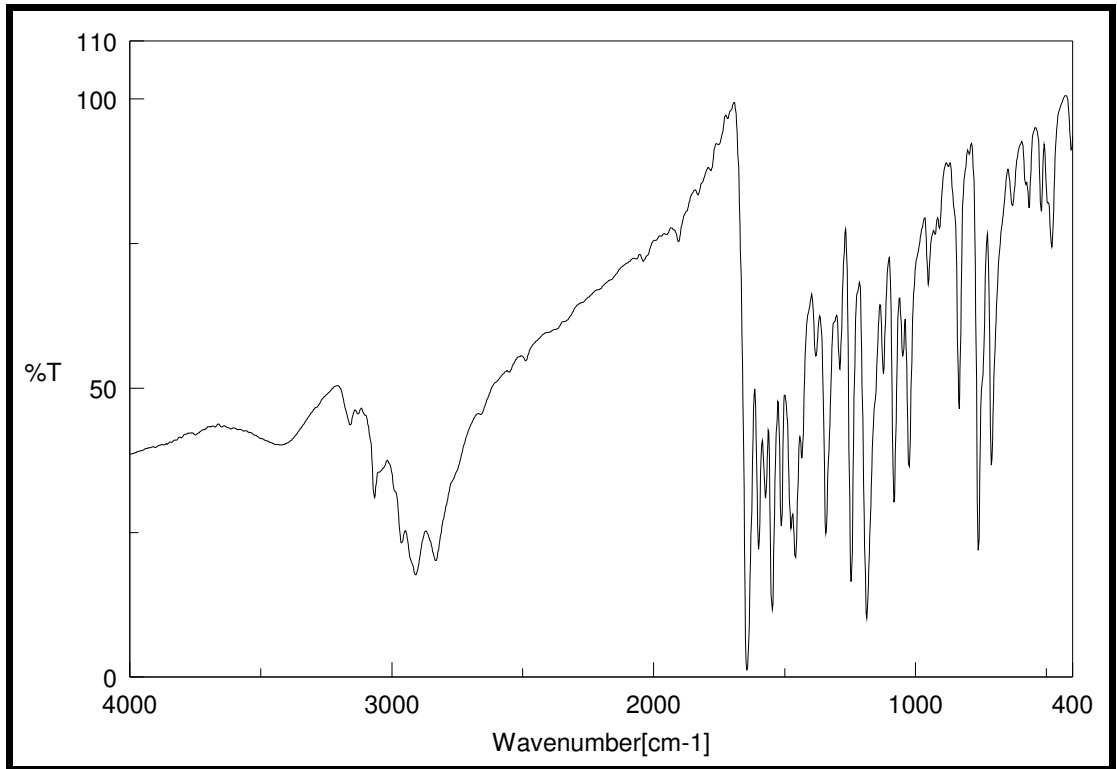
MS (ESI) (Spektrum No 34)

m/z (% bağıl bolluk)

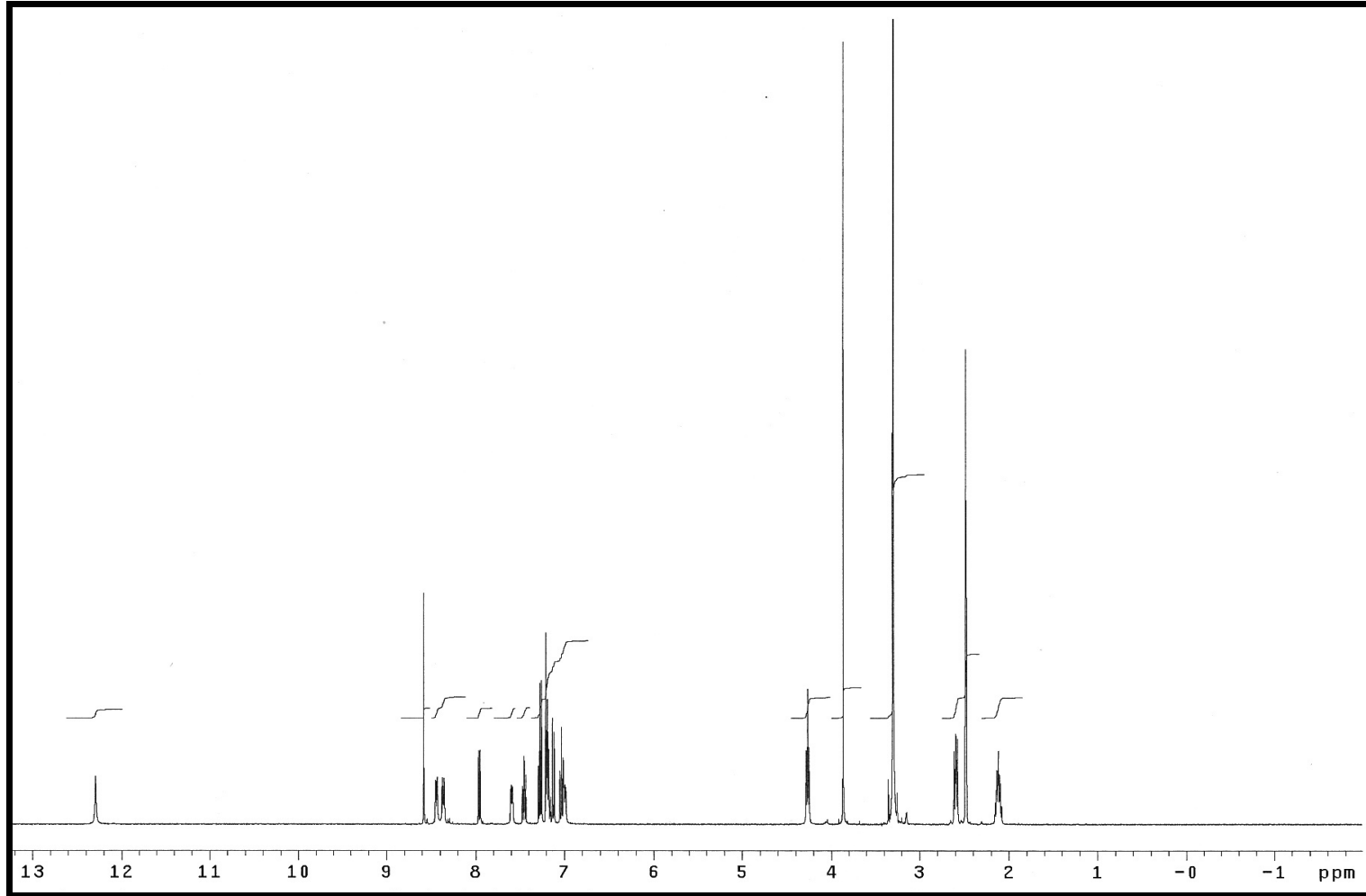
346 (M^+ , 100), 347 ($\text{M}+1$, 25)



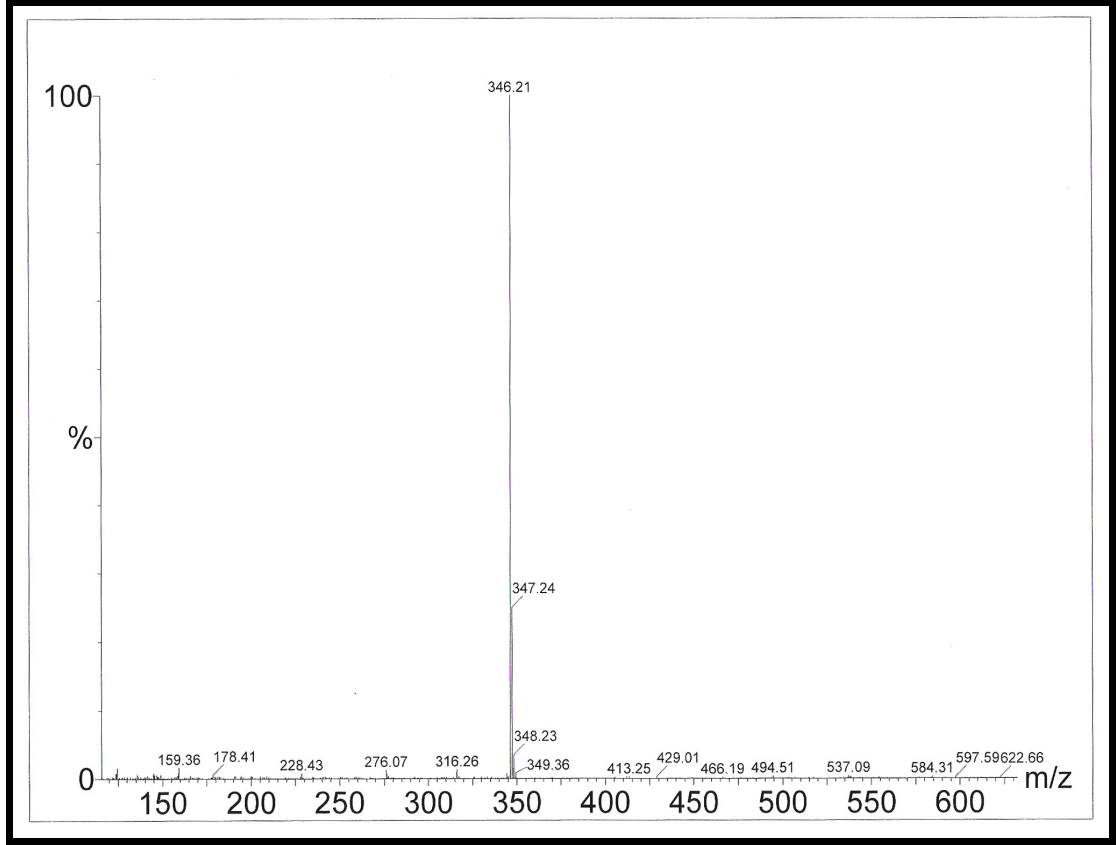
Spektrum No 31. K6 Bileşğinin UV Spektrumu



Spektrum No 32. K6 Bileşğinin IR Spektrumu



Spektrum No 33. K6 Bileşğinin ^1H NMR Spektrumu

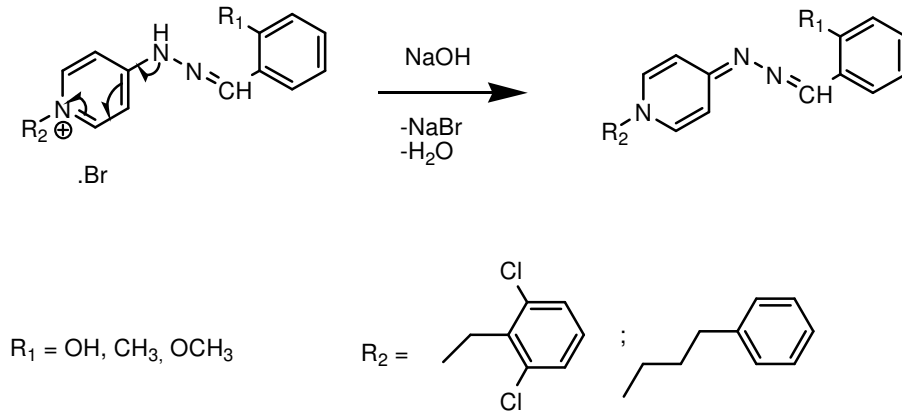


Spektrum No 34. K6 Bileşğinin KütLe Spektrumu

3. 1,4-Dihidropiridin Türevi Bileşiklerin Sentezi ve Spektral Bulguları (D1, D2, D3, D4, D5, D6)

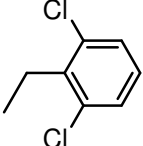
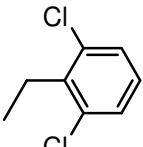
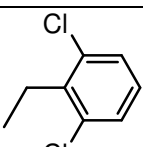
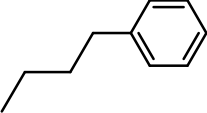
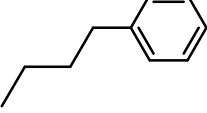
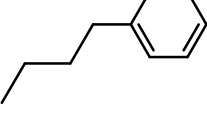
Sentezleri gerçekleştirilen K1, K2, K3, K4, K5 ve K6 kodlu bileşiklerin her biri 1 g civarında tartularak 25'şer ml 2N NaOH çözeltisi içerisinde çözündürüldü. Daha sonra her biri 3 kez 25'er ml'lik kısımlar halinde diklorometan ile ekstre edildi. Sonra susuz sodyum sülfat üzerinden kurutma yapılarak, diklorometanlı kısım rotavaporda yoğunlaştırıldı. Bakiye soğumaya bırakıldı. Soğuduktan sonra elde edilen ham ürün metanolden kristallendirildi. Bu yöntemle D1, D2, D3, D4, D5, D6 kodlu bileşikler elde edildi (Şema 4).

Sentezlenen bileşiklerin erime dereceleri ve % verimleri Tablo 3'de toplu halde verilmiştir. D4, D5, D6 maddeleri yağimsı olarak elde edilmiştir.

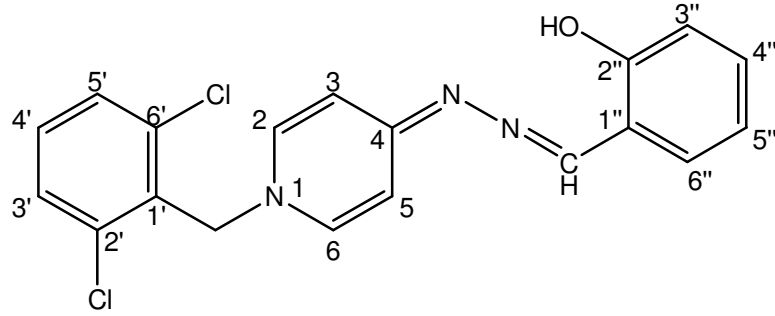


Şema 4. Tepkime Denklemi

Tablo 3. D1, D2, D3, D4, D5, D6 Kodlu Bileşiklerin Erime Dereceleri ve % Verimleri

Bileşik No	R ₁	R ₂	Erime Derecesi (°C)	% Verim
D1	-OH		202	75
D2	-CH ₃		190	72
D3	-OCH ₃		128	82
D4	-OH		-	47
D5	-CH ₃		-	41
D6	-OCH ₃		-	51

a. D1 Bileşiminin Spektral Bulguları



1-(2',6'-diklorobenzil)-4-[N²-(2''-hidroksibenziliden)hidrazono]-1,4-dihidropiridin

UV (Spektrum No 35)

λ_{maks} (log ϵ) (MeOH)

405 (4.28, sh), 382 (4.45), 369 (4.45), 324 (4.07, sh), 256 (3.79, sh), 205 (4.64) nm

IR (Spektrum No 36)

ν_{maks} (KBr)

3064, 3031 (Aromatik halka C-H gerilme), 2917 (Alifatik C-H gerilme), 1644, 1506, 1450 (Aromatik halka C=C gerilme ve N=C gerilme), 790, 761 (Aromatik halka C-H düzlem dışı eğilmesi) cm^{-1}

¹H NMR (Spektrum No 37)

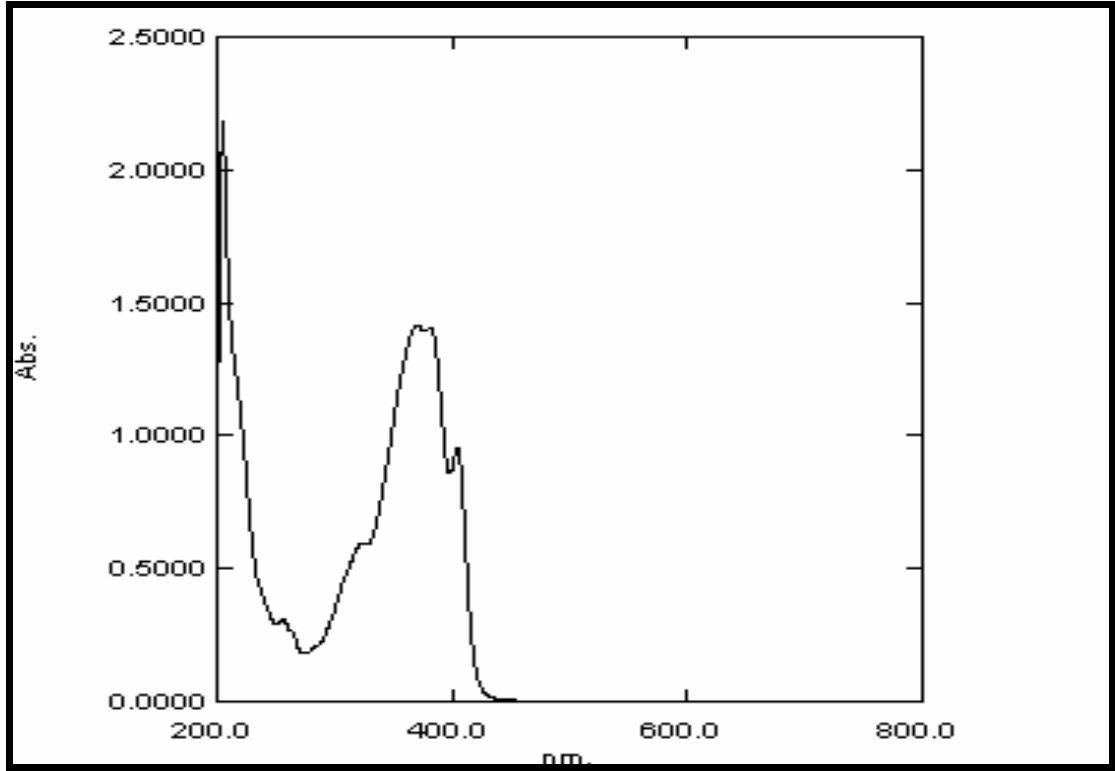
(400 MHz, DMSO-d₆)

δ 8.40 (1H, s, N=CH), 7.59 (2H, d, J = 8.2 Hz, H-3', H-5'), 7.48 (1H, dd, J = 7.4, 8.6 Hz, H-4'), 7.40-7.34 (2H, m, H-2, H-6 veya H-4'', H-6''), 7.24-7.16 (2H, m, H-2, H-6 veya H-4'', H-6''), 6.87-6.83 (2H, m, H-3'', H-5''), 6.52 (1H, dd, J = 2.7, 7.8 Hz, H-3 veya H-5), 6.21 (1H, dd, J = 2.7, 7.8 Hz, H-3 veya H-5) 5.21 (2H, s, CH₂) ppm

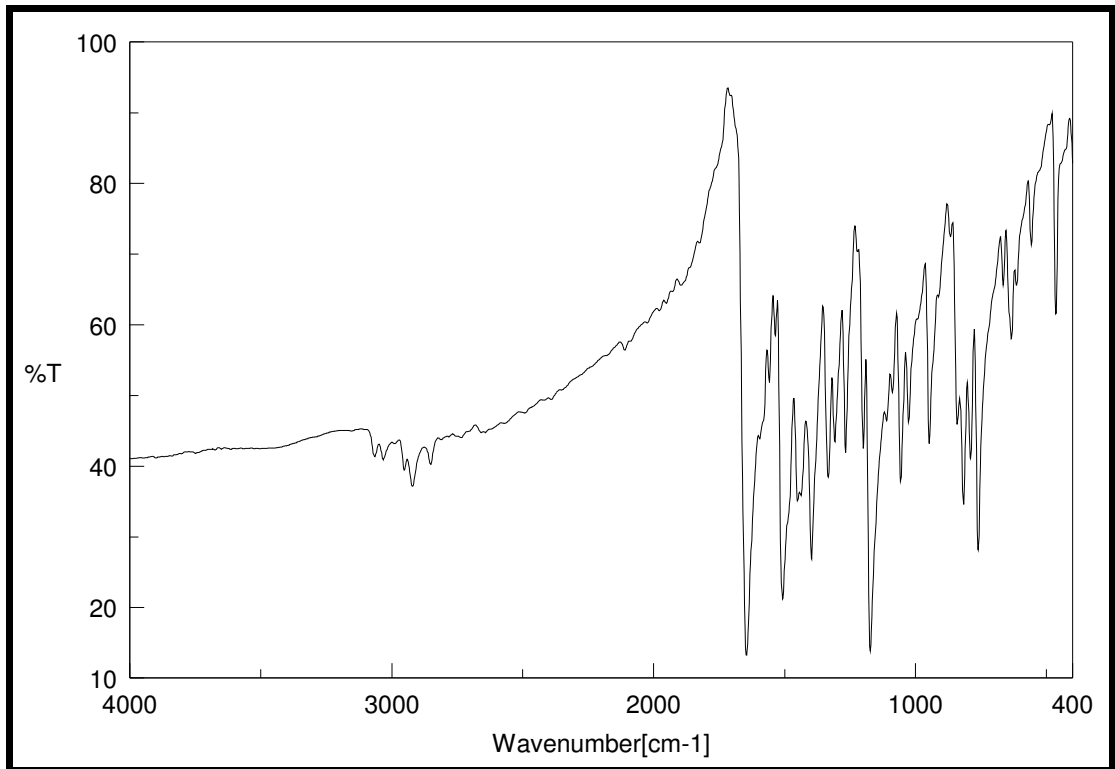
MS (ESI) (Spektrum No 38)

m/z (% bağıl bolluk)

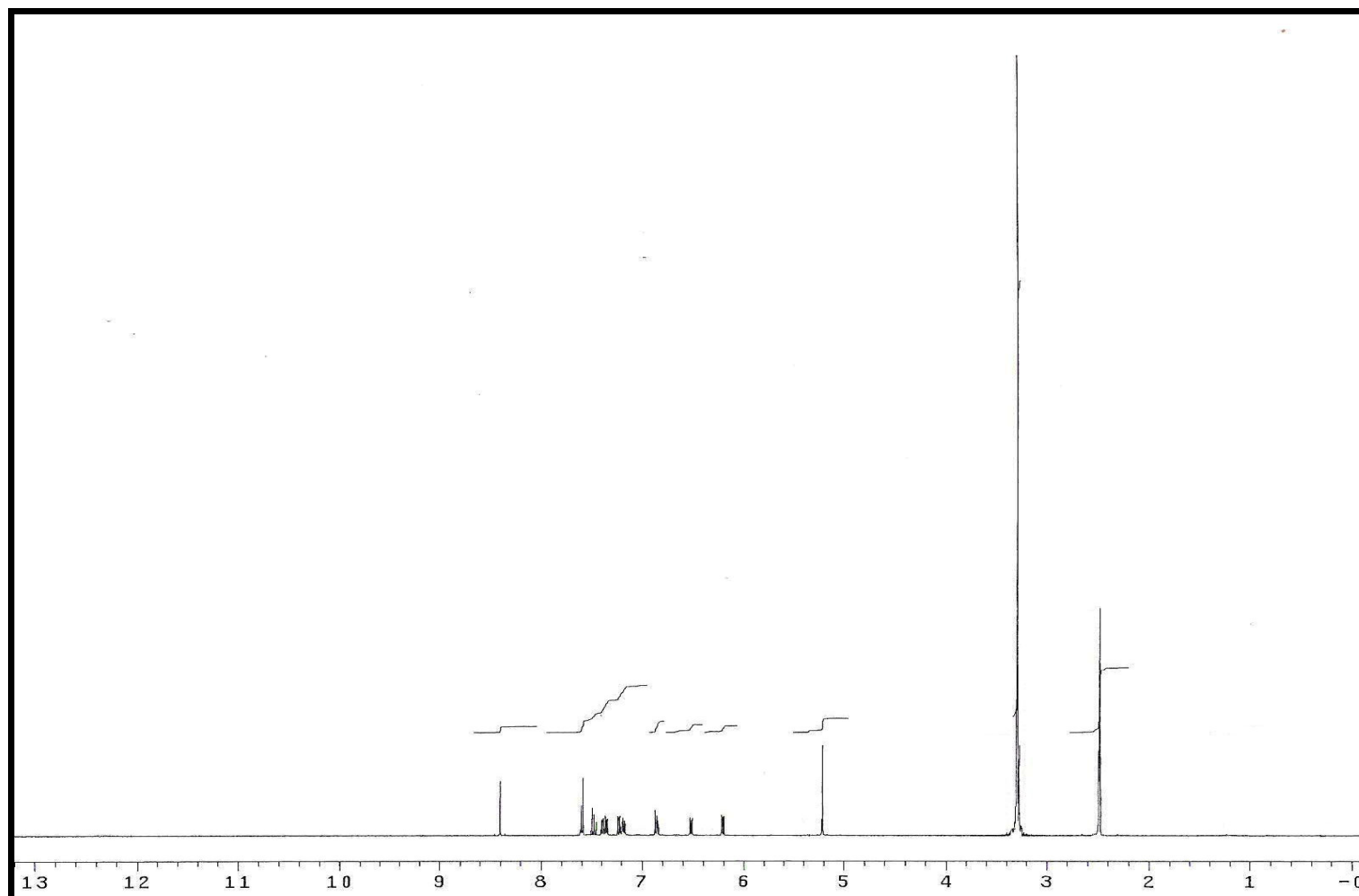
372 (M+1, 100), 374 (M+2+1, 69), 376 (M+4+1, 13)



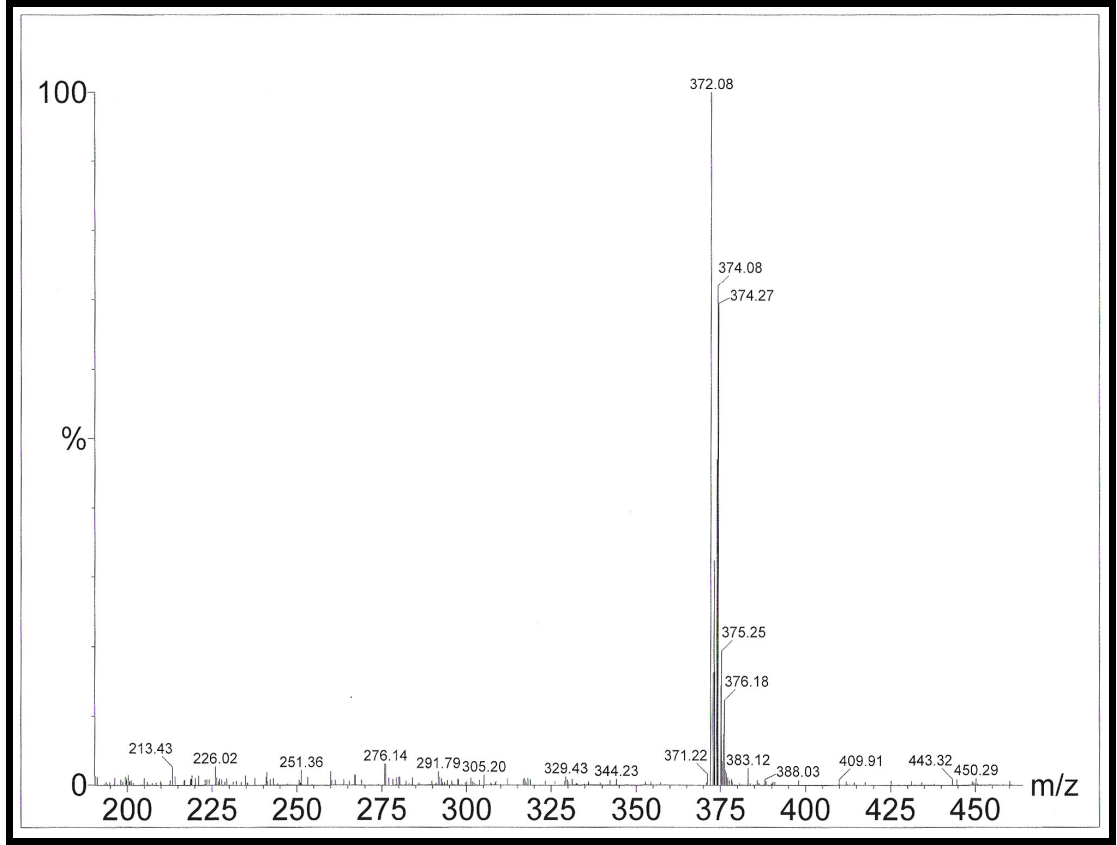
Spektrum No 35. D1 Bileşğinin UV Spektrumu



Spektrum No 36. D1 Bileşğinin IR Spektrumu

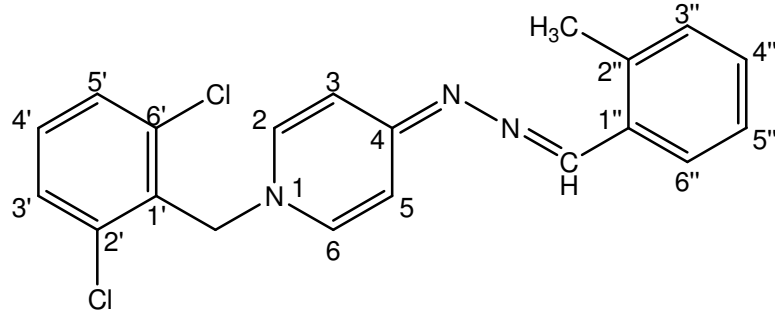


Spektrum No 37. D1 Bileşğinin ^1H NMR Spektrumu



Spektrum No 38. D1 Bileşğinin Kütle Spektrumu

b. D2 Bileşiminin Spektral Bulguları



1-(2',6'-diklorobenzil)-4-[N²-(2''-metilbenziliden)hidrazono]-1,4-dihidropiridin

UV (Spektrum No 39)

λ_{maks} (log ϵ) (MeOH)

345 (4.54), 204 (4.65) nm

IR (Spektrum No 40)

ν_{maks} (KBr)

3058 (Aromatik halka C-H gerilme), 2919 (Alifatik C-H gerilme), 1644, 1506, 1436 (Aromatik halka C=C gerilme ve N=C gerilme), 788, 757 (Aromatik halka C-H düzlem dışı eğilmesi) cm^{-1}

¹H NMR (Spektrum No 41)

(400 MHz, DMSO-d₆)

δ 8.43 (1H, s, N=CH), 7.79 (1H, dd, $J=2.3, 7.2$ Hz, H-6''), 7.59 (2H, d, $J=7.8$ Hz, H-3', H-5'), 7.47 (1H, dd, $J=7.8, 8.6$, H-4'), 7.22-7.12 (5H, m, H-2, H-6, H-3'', H-4'', H-5''), 6.93 (1H, dd, $J=2.7, 7.8$ Hz, H-3 veya H-5), 6.11 (1H, dd, $J=2.7, 7.6$ Hz, H-3 veya H-5), 5.16 (2H, s, CH₂), 2.42 (3H, s, CH₃) ppm

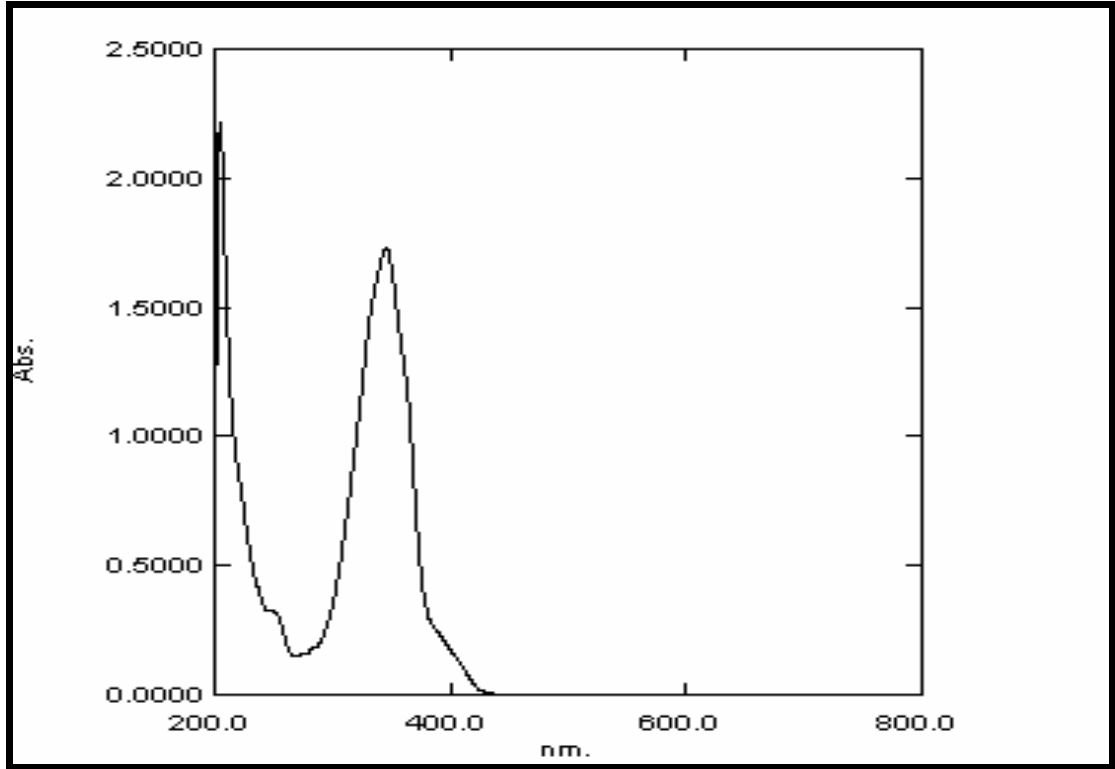
¹H NMR D₂SO₄ (Spektrum No 42)(400 MHz, DMSO-d₆)

δ 12.42 (1H, s, N-H), 8.51 (1H, s, N=CH), 8.35 (1H, d, *J*= 7.0 Hz, H-2 veya H-6), 8.23 (1H, d, *J*= 7.4 Hz, H-2 veya H-6), 7.84 (1H, dd, *J*= 2.0, 7.4 Hz, H-6"), 7.63 (2H, d, *J*= 8.0 Hz, H-3', H-5'), 7.57 (1H, dd, *J*= 2.7, 7.4 Hz, H-3 veya H-5), 7.54 (1H, dd, *J*= 7.4, 8.9 Hz, H-4'), 7.34 (1H, td, *J*= 7.4, 1.6 Hz, H-4"), 7.29-7.25 (2H, m, H-3", H-5"), 7.07 (1H, dd, *J*= 2.7, 7.4 Hz, H-3 veya H-5), 5.71 (2H, s, CH₂), 2.42 (3H, s, CH₃) ppm

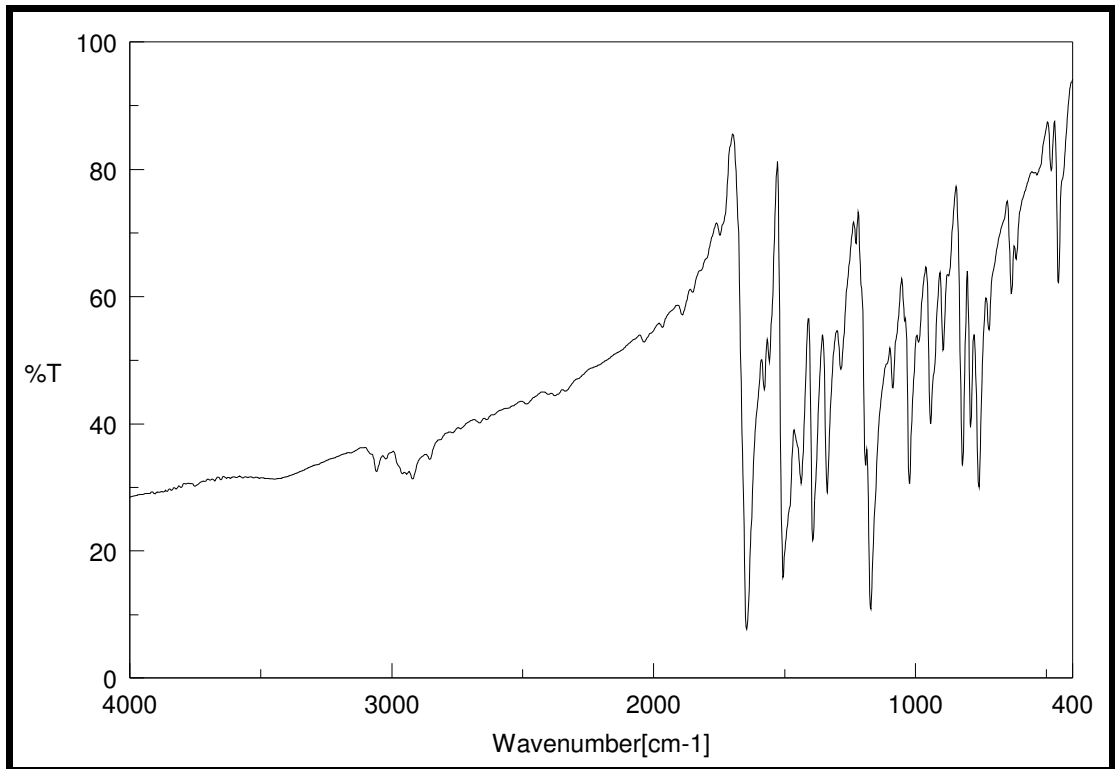
MS (ESI) (Spektrum No 43)

m/z (% bağıl bolluk)

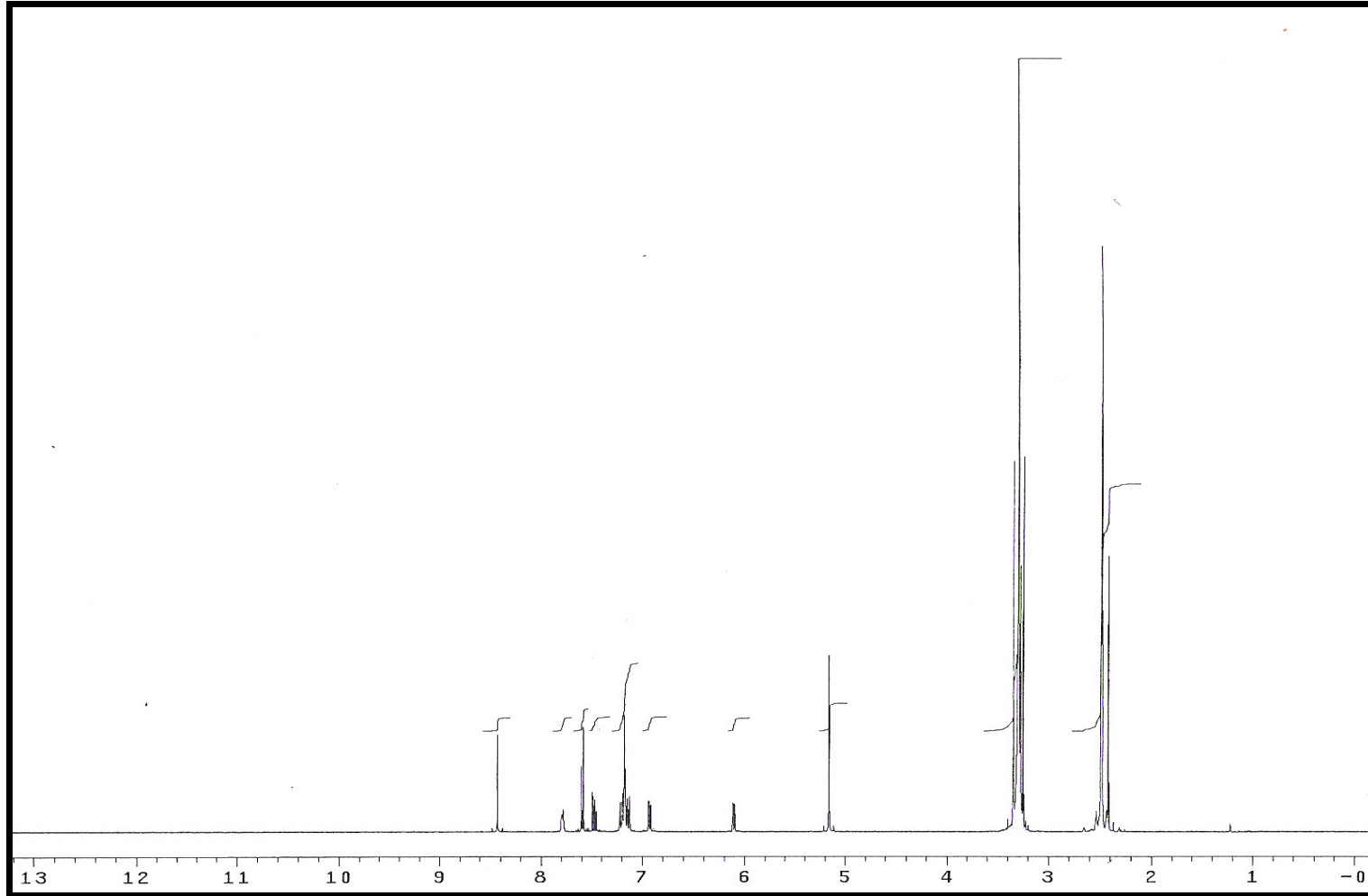
370 (M+1, 100), 372 (M+2+1, 60), 374 (M+4+1, 14)



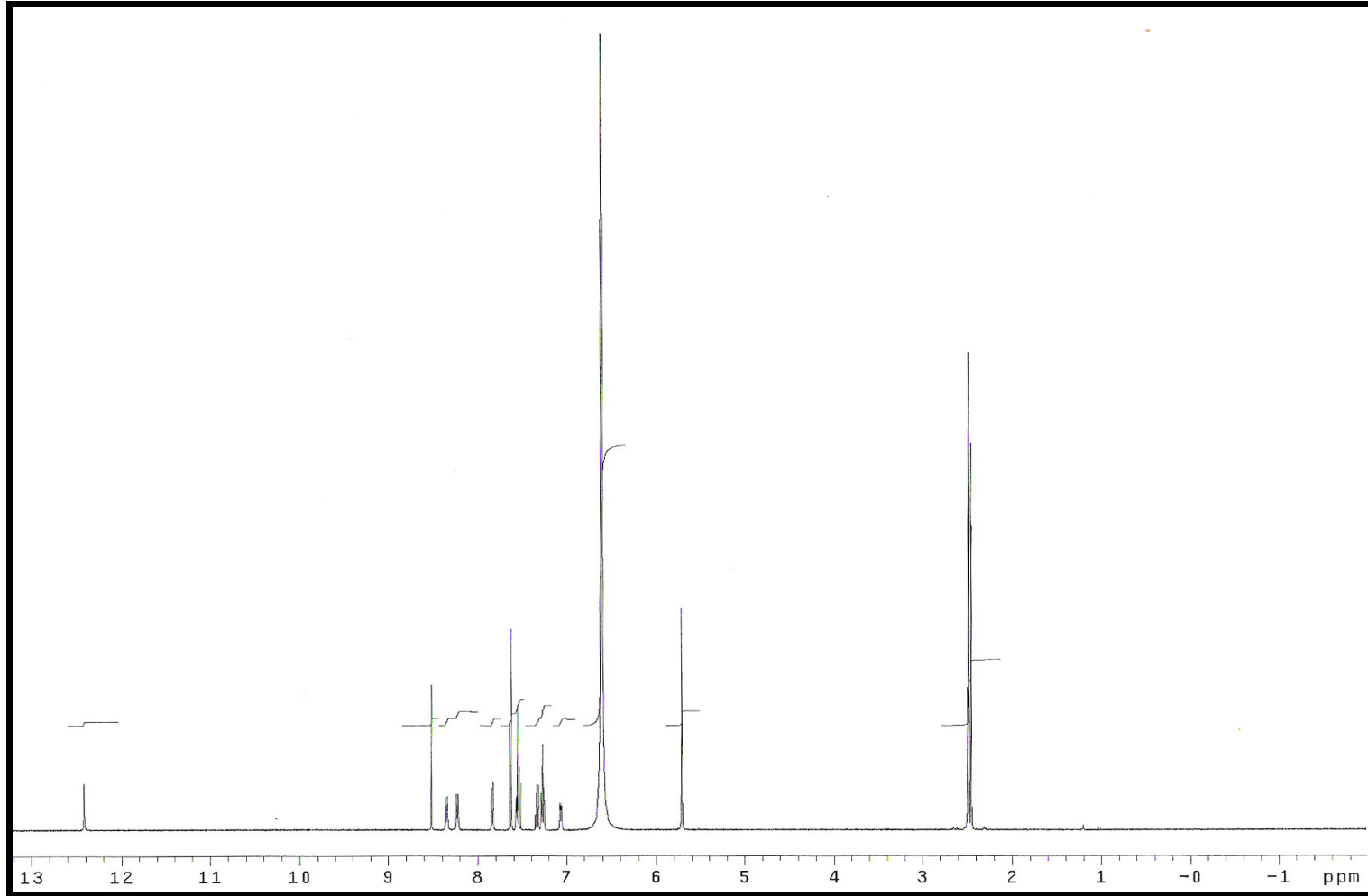
Spektrum No 39. D2 Bileşğinin UV Spektrumu



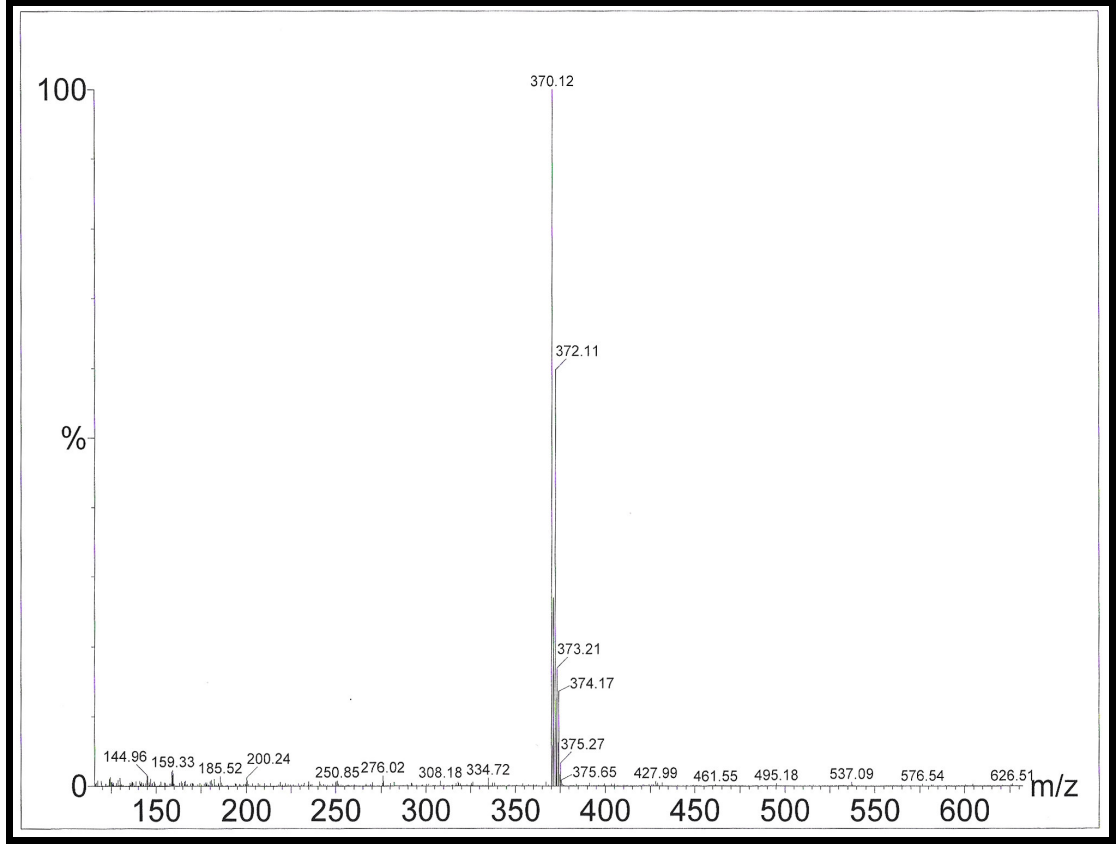
Spektrum No 40. D2 Bileşğinin IR Spektrumu



Spektrum No 41. D2 Bileşğinin ^1H NMR Spektrumu

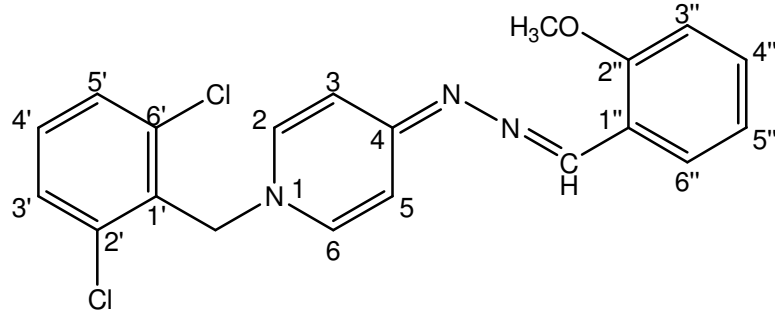


Spektrum No 42. D2 Bileşğinin ^1H NMR D_2SO_4 Spektrumu



Spektrum No 43. D2 Bileşğinin Kütle Spektrumu

c. D3 Bileşiminin Spektral Bulguları



1-(2',6'-diklorobenzil)-4-[N²-(2''-metoksibenziliden)hidrazono]-1,4-dihidropiridin

UV (Spektrum No 44)

λ_{maks} (log ϵ) (MeOH)

356 (4.61), 275 (3.58, sh), 206 (4.68) nm

IR (Spektrum No 45)

ν_{maks} (KBr)

3056 (Aromatik halka C-H gerilme), 2964, 2836 (Alifatik C-H gerilme), 1646, 1596, 1511, 1455, 1434, 1405 (Aromatik halka C=C gerilme ve N=C gerilme), 1249 (C-O-C asimetric gerilme), 784, 752 (Aromatik halka C-H düzlem dışı eğilmesi) cm^{-1}

¹H NMR (Spektrum No 46)

(400 MHz, DMSO-d₆)

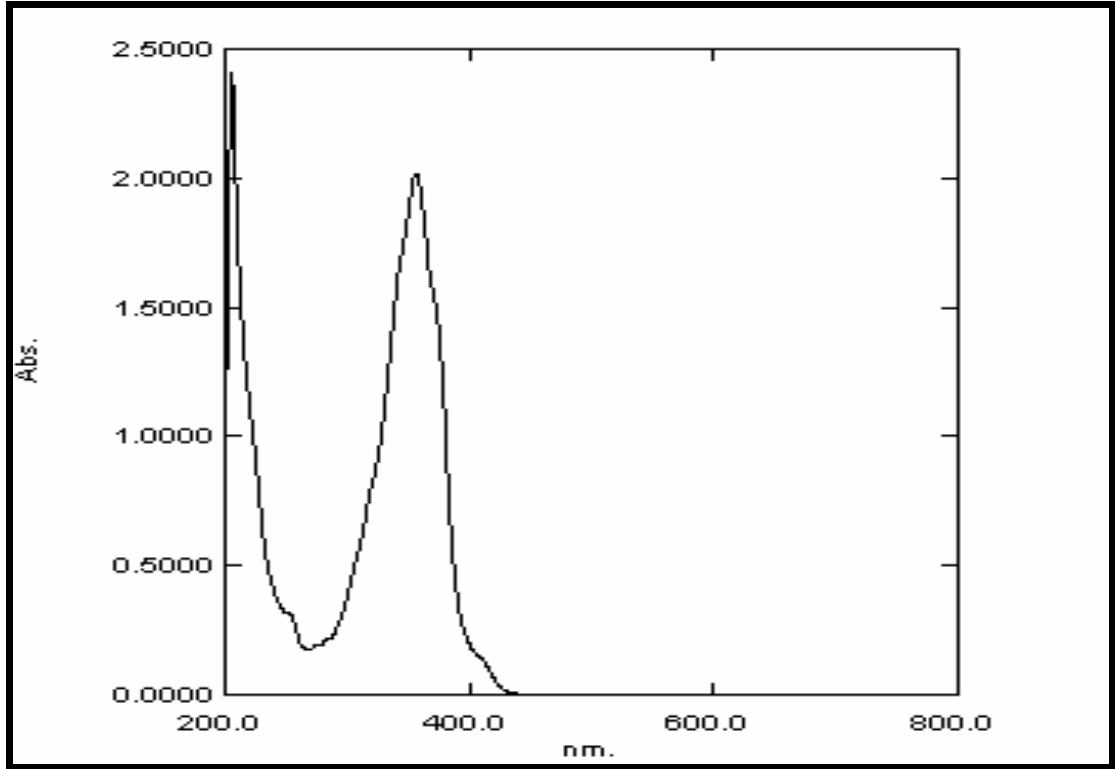
δ 8.46 (1H, s, N=CH), 7.88 (1H, dd, J = 1.6, 7.6 Hz, H-6''), 7.58 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-3', H-5'), 7.46 (1H, dd, J = 7.4, 8.6 Hz, H-4'), 7.28 (1H, td, J = 7.8, 1.6 Hz, H-4''), 7.18 (1H, dd, J = 2.3, 8.0 Hz, H-2 veya H-6), 7.10 (1H, dd, J = 2.3, 7.6 Hz, H-2 veya H-6), 7.00 (1H, d, J = 8.6 Hz, H-3''), 6.95 (1H, dd, J = 2.7, 7.8 Hz, H-3 veya H-5),

6.92 (1H, t, $J= 7.8$ Hz, H-5"), 6.08 (1H, dd, $J= 2.7, 7.6$ Hz, H-3 veya H-5), 5.15 (2H, s, CH₂), 3.80 (3H, s, OCH₃) ppm

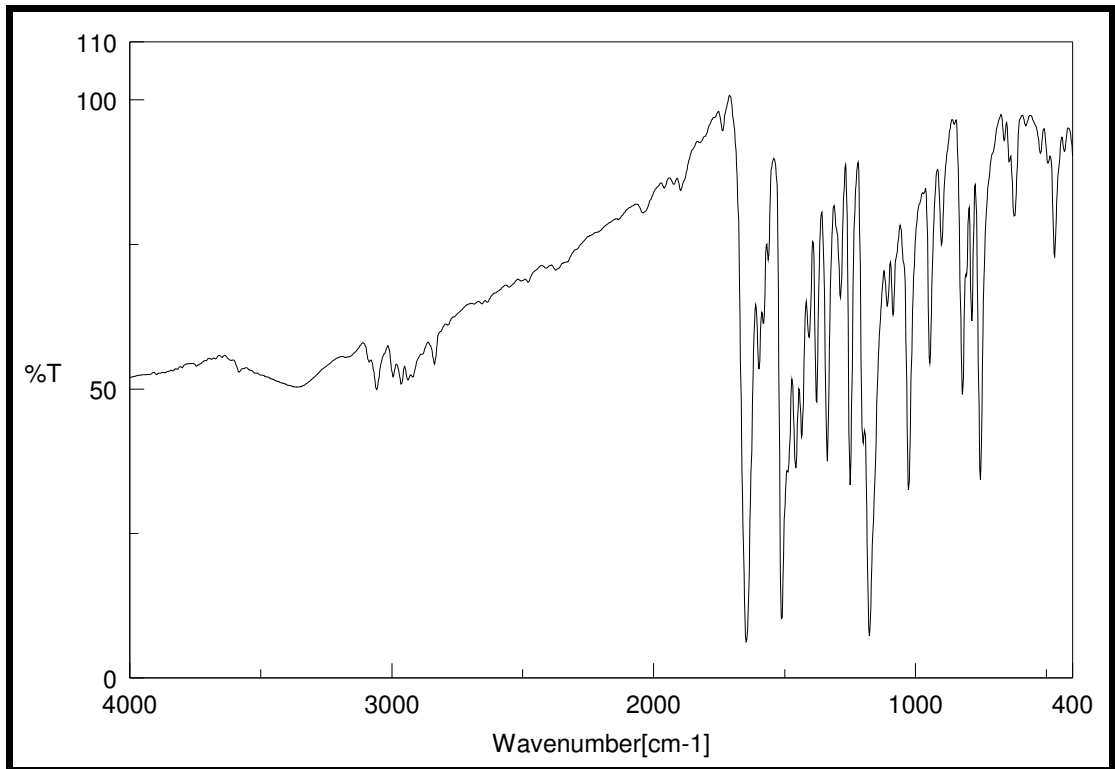
MS (ESI) (Spektrum No 47)

m/z (% bağıl bolluk)

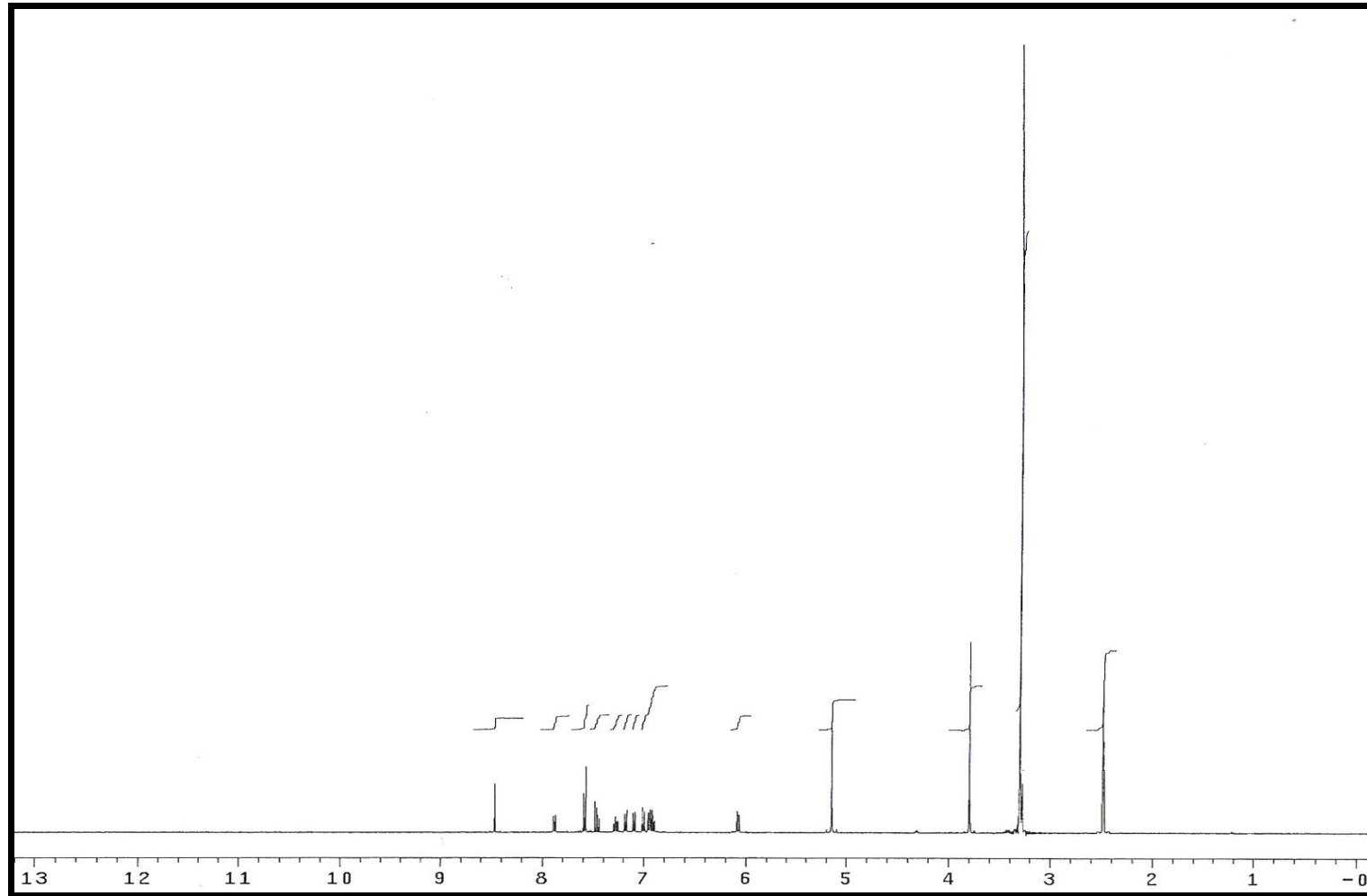
386 (M+1, 100), 388 (M+2+1, 61), 390 (M+4+1, 13)



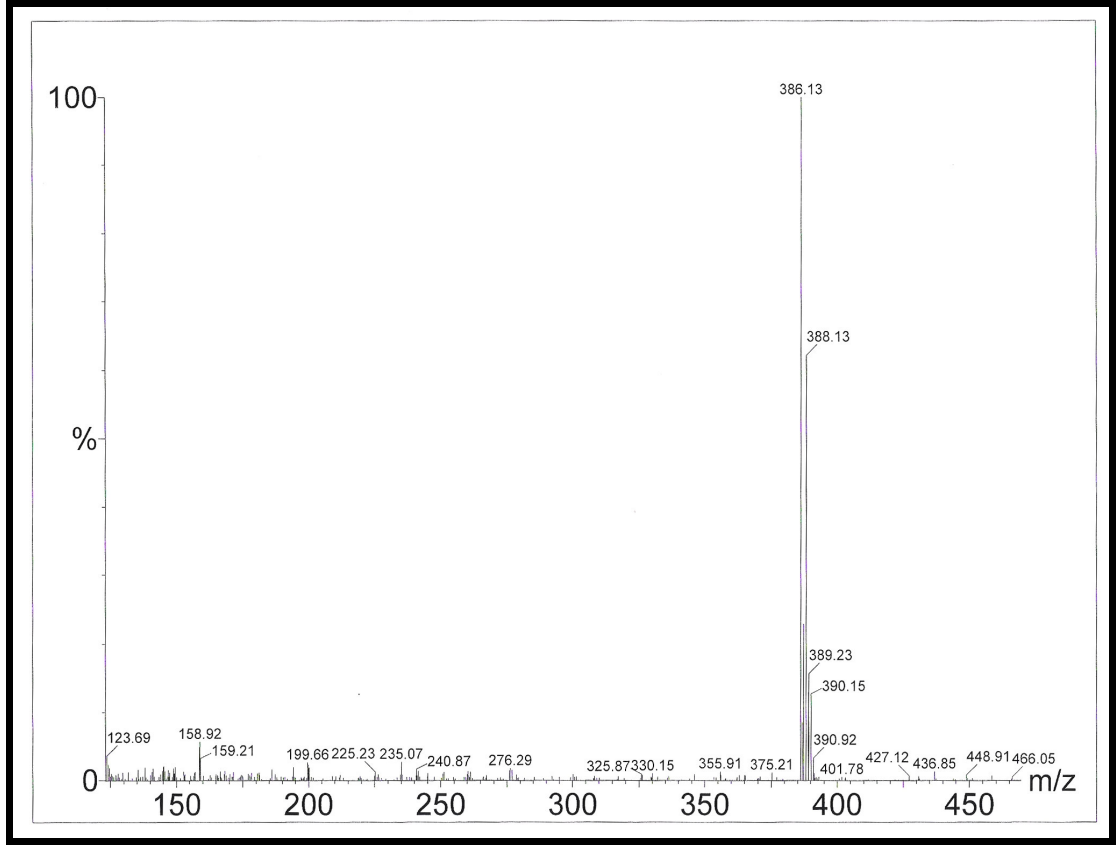
Spektrum No 44. D3 Bileşğinin UV Spektrumu



Spektrum No 45. D3 Bileşğinin IR Spektrumu

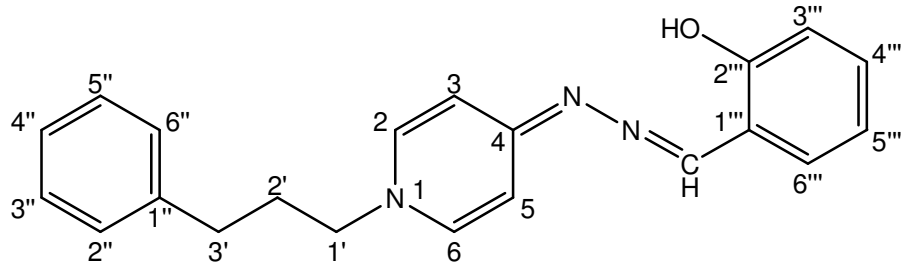


Spektrum No 46. D3 Bileşğinin ^1H NMR Spektrumu



Spektrum No 47. D3 Bileşğinin Kütle Spektrumu

d. D4 Bileşiminin Spektral Bulguları



1-(3'-fenilpropil)-4-[N²-(2'''-hidroksibenziliden)hidrazono]-1,4-dihidropiridin

UV (Spektrum No 48)

λ_{maks} (log ϵ) (MeOH)

404 (4.04, sh), 358 (4.43), 255 (3.80, sh), 206 (4.45) nm

IR (Spektrum No 49)

ν_{maks} (KBr)

3025 (Aromatik halka C-H gerilme), 2925, 2856 (Alifatik C-H gerilme), 1646, 1598, 1513, 1454, 1400 (Aromatik halka C=C gerilme ve N=C gerilme), 754, 700 (Aromatik halka C-H düzlem dışı eğilmesi) cm^{-1}

¹H NMR (Spektrum No 50)

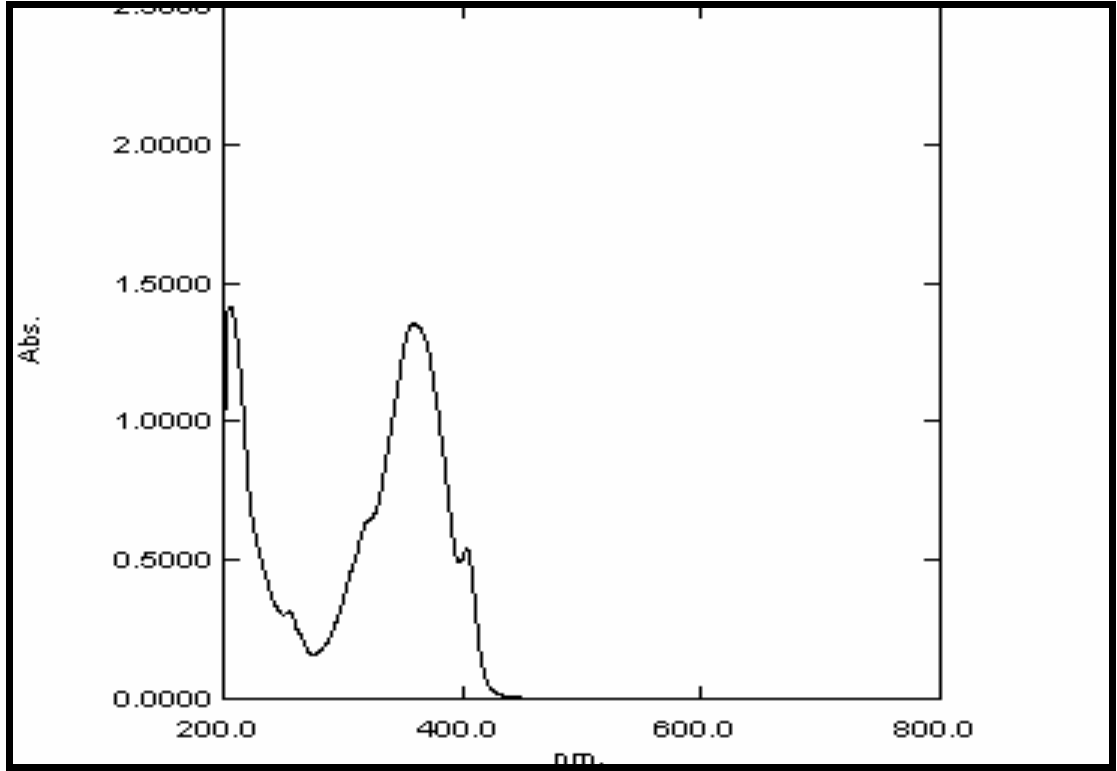
(400 MHz, DMSO-d₆)

δ 8.39 (1H, s, N=CH), 7.47 (1H, dd, $J= 2.0, 7.8$ Hz, H-6'''), 7.39-7.33 (2H, m, H-2, H-6), 7.29-7.15 (6H, m, H-2'', H-3'', H-4'', H-5'', H-6'', H-4'''), 6.87-6.84 (2H, m, H-3''', H-5'''), 6.50 (1H, dd, $J= 2.7, 7.4$ Hz, H-3 veya H-5), 6.21 (1H, dd, $J= 2.7, 7.4$ Hz, H-3 veya H-5), 3.78 (2H, t, $J= 7.2$ Hz, -CH₂-N⁺), 2.55 (2H, t, $J= 8.0$ Hz, Fenil-CH₂-), 1.97 (2H, quin, $J= 7.4$ Hz, -CH₂-) ppm

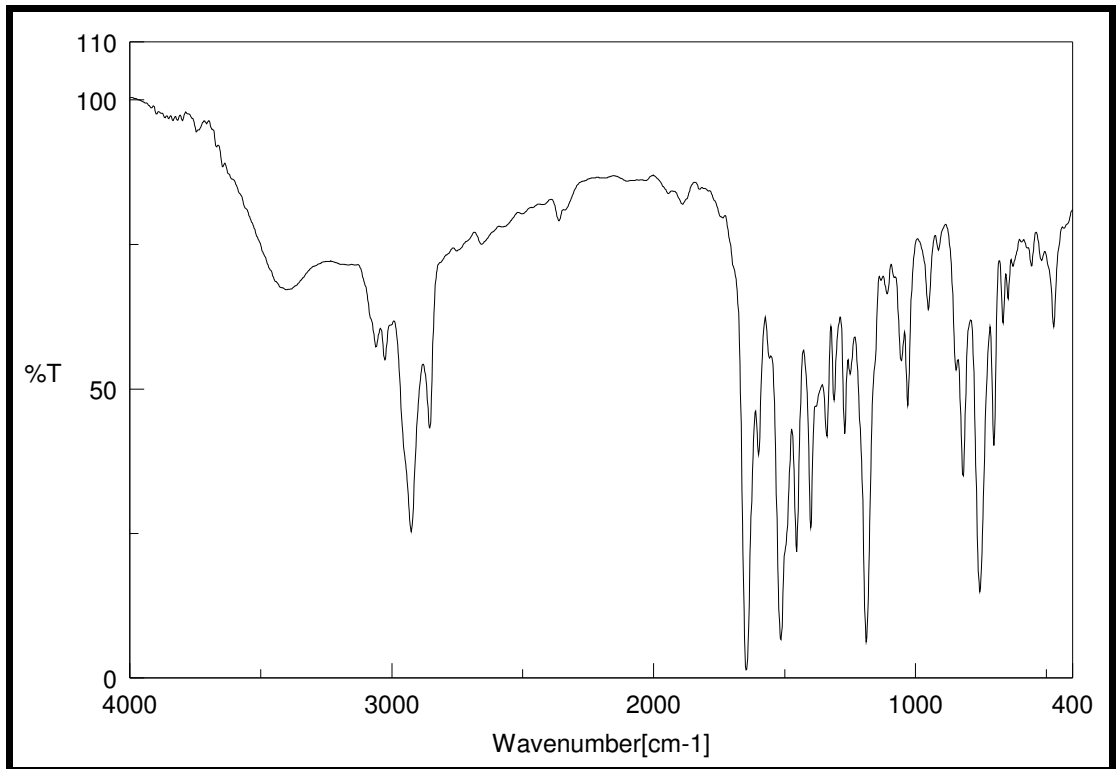
MS (ESI) (Spektrum No 51)

m/z (% bağıl bolluk)

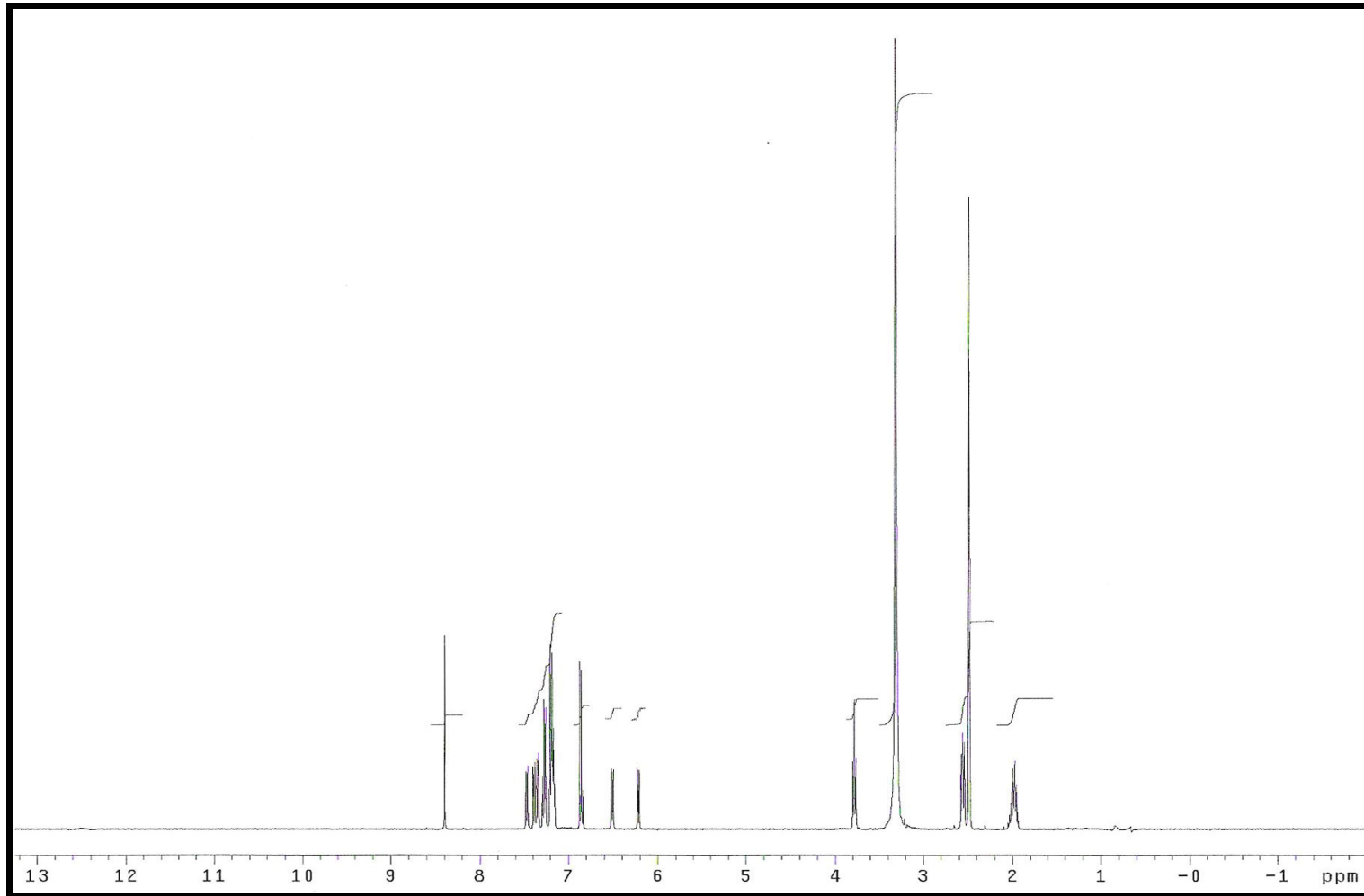
332 (M+1, 100), 333 (M+2, 21)



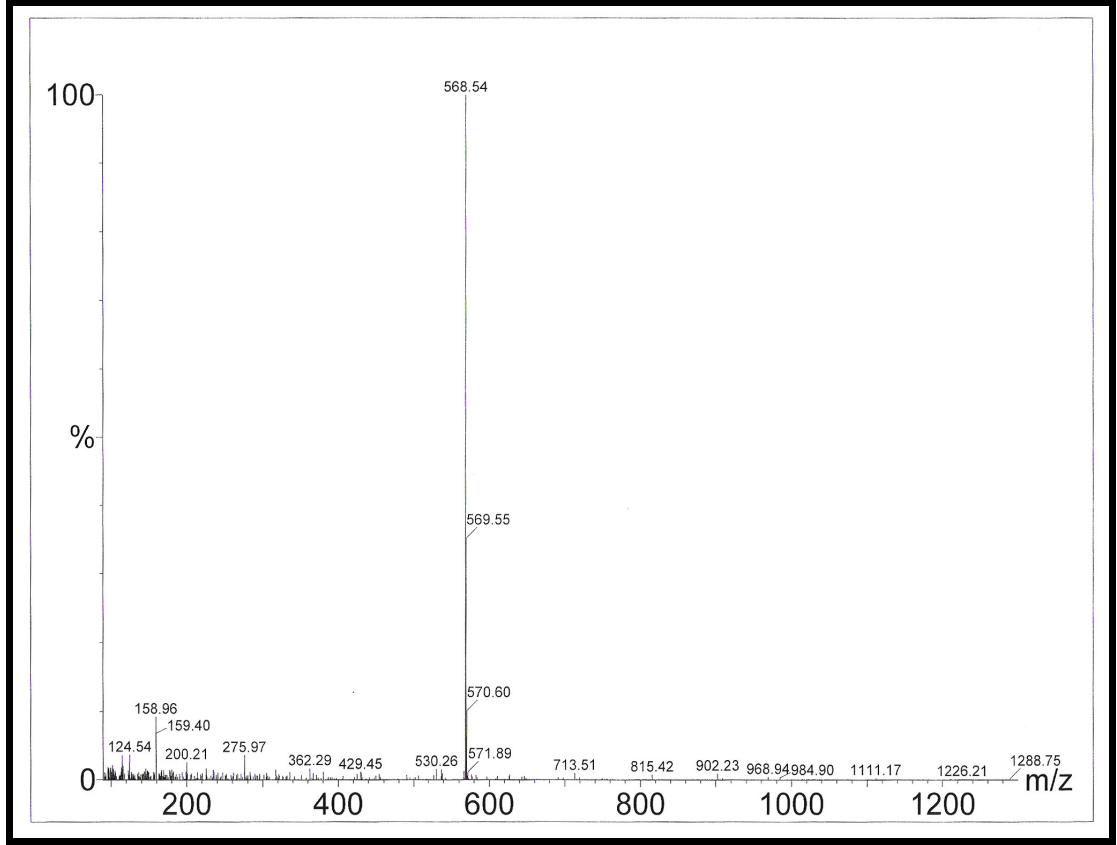
Spektrum No 48. D4 Bileşğinin UV Spektrumu



Spektrum No 49. D4 Bileşğinin IR Spektrumu

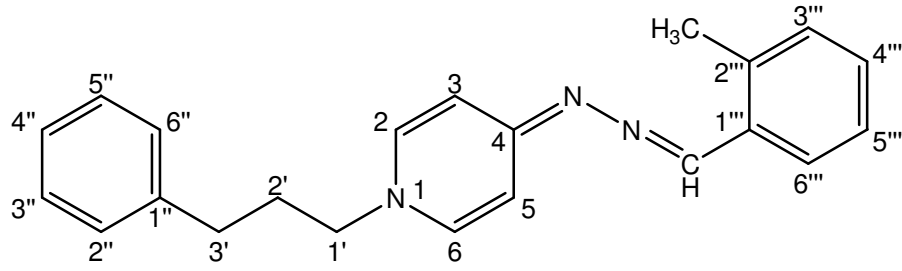


Spektrum No 50. D4 Bileşğinin ^1H NMR Spektrumu



Spektrum No 51. D4 Bileşğinin Kütle Spektrumu

e. D5 Bileşiminin Spektral Bulguları



1-(3'-fenilpropil)-4-[N²-(2'''-metilbenziliden)hidrazono]-1,4-dihidropiridin

UV (Spektrum No 52)

λ_{maks} (log ϵ) (MeOH)

342 (4.53), 250 (3.82, sh), 229 (4.01, sh), 205 (4.47) nm

IR (Spektrum No 53)

ν_{maks} (KBr)

3023 (Aromatik halka C-H gerilme), 2925, 2856 (Alifatik C-H gerilme), 1646, 1511, 1455 (Aromatik halka C=C gerilme ve N=CH gerilme), 754, 700 (Aromatik halka C-H düzlem dışı eğilmesi) cm^{-1}

¹H NMR (Spektrum No 54)

(400 MHz, DMSO-d₆)

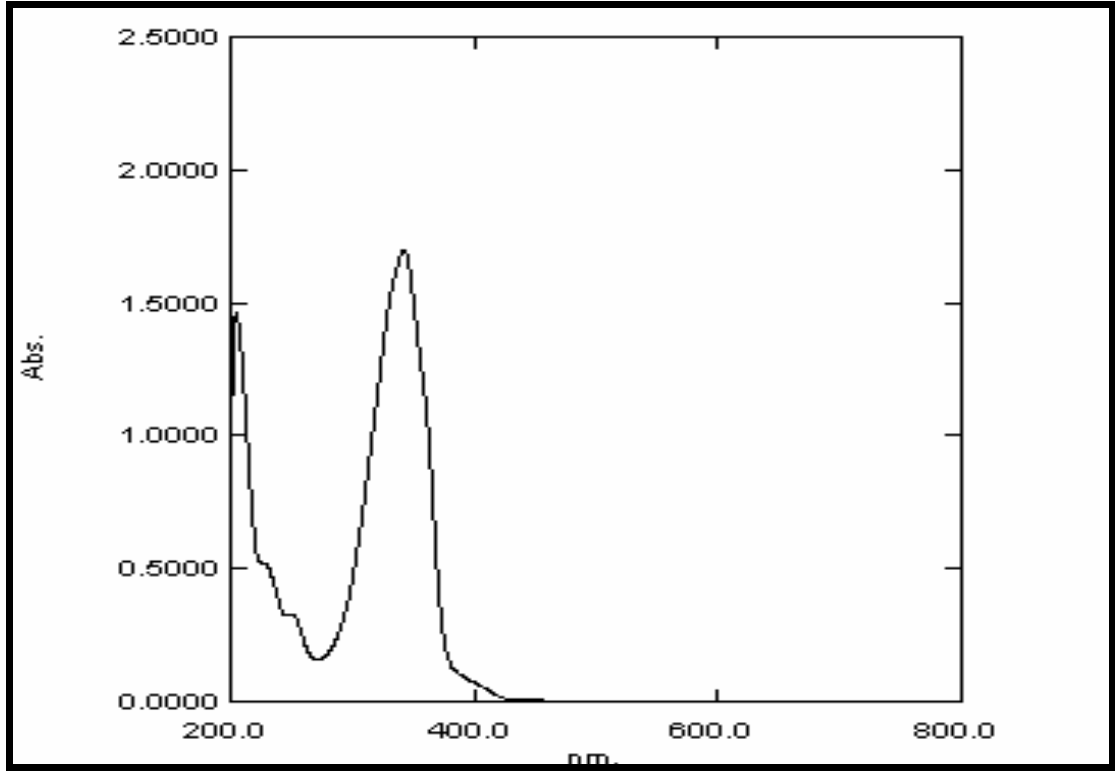
δ 8.42 (1H, s, N=CH), 7.81 (1H, m, H-6'''), 7.29-7.15 (10H, m, H-2, H-6, H-2'', H-3'', H-4'', H-5'', H-6'', H-3''', H-4''', H-5'''), 6.94 (1H, dd, $J = 2.7, 7.8$ Hz, H-3 veya H-5), 6.11 (1H, dd, $J = 2.7, 7.6$ Hz, H-3 veya H-5), 3.72 (2H, t, $J = 7.0$ Hz, -CH₂-N⁺), 2.55 (2H, t, $J = 7.8$ Hz, Fenil-CH₂-), 2.42 (3H, s, CH₃), 1.95 (2H, quin, $J = 7.8$ Hz, -CH₂-)

ppm

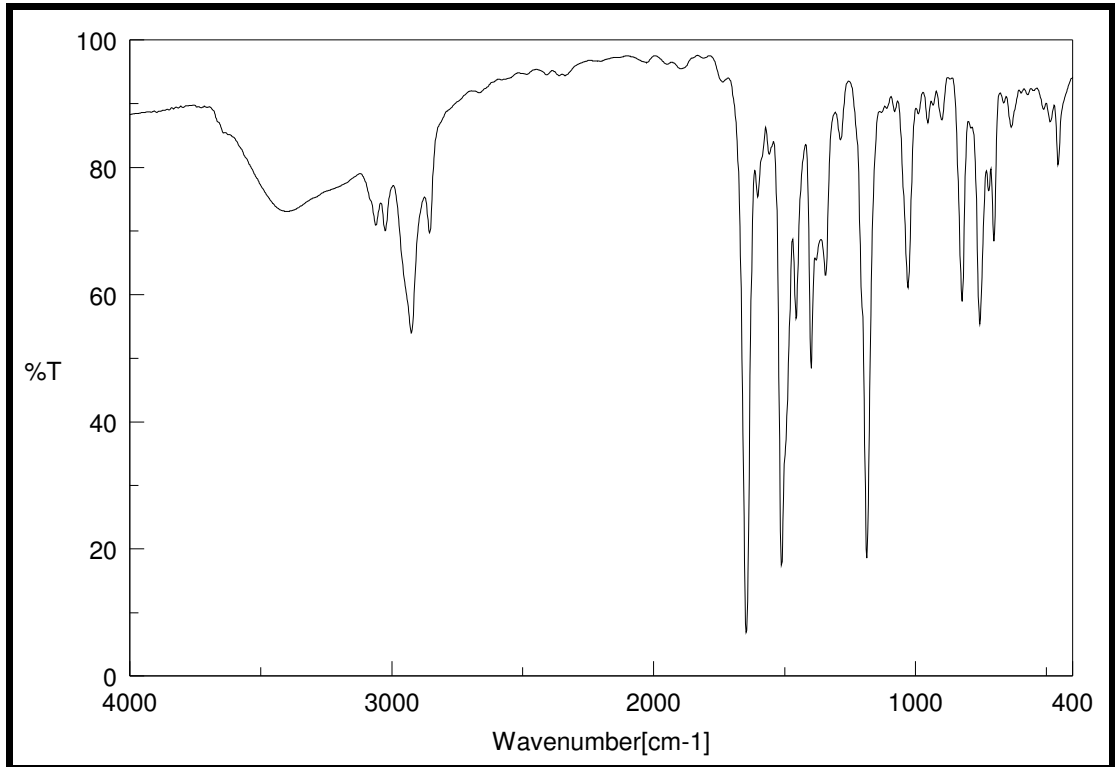
MS (ESI) (Spektrum No 55)

m/z (% bağıl bolluk)

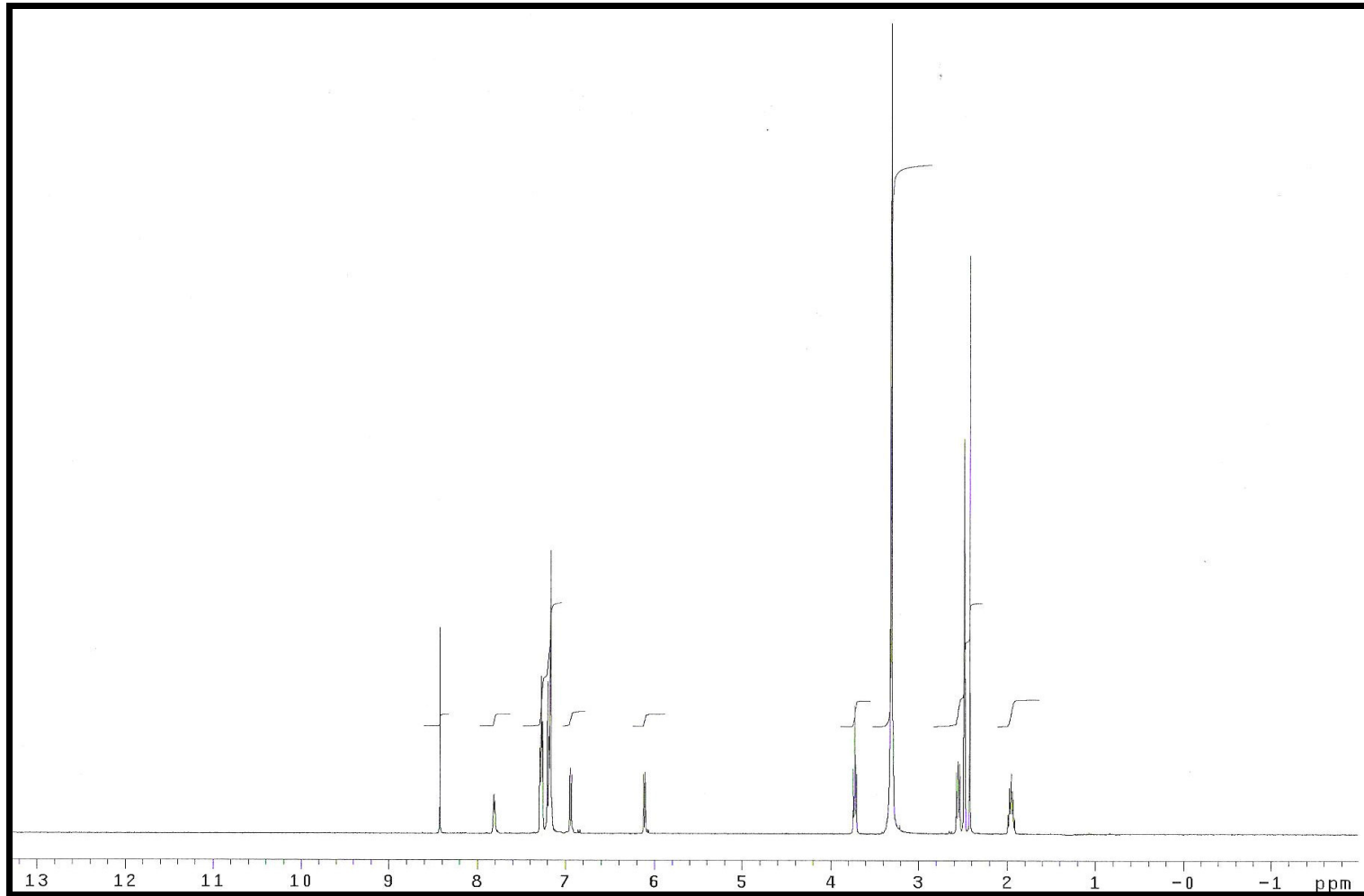
330 (M+1, 100), 331 (M+2, 23)



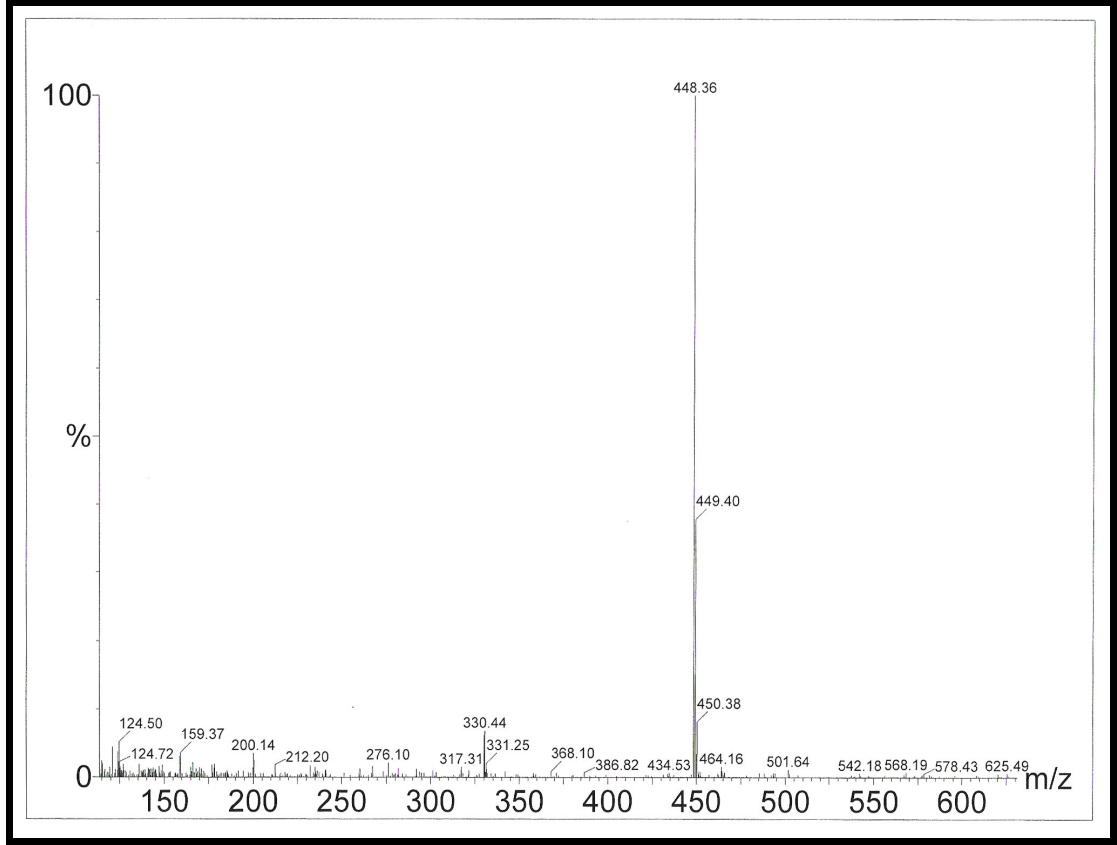
Spektrum No 52. D5 Bileşğinin UV Spektrumu



Spektrum No 53. D5 Bileşğinin IR Spektrumu

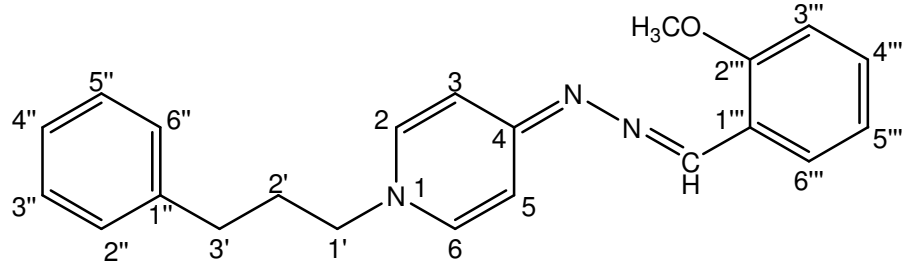


Spektrum No 54. D5 Bileşğinin ^1H NMR Spektrumu



Spektrum No 55. D5 Bileşğinin Kütle Spektrumu

f. D6 Bileşiminin Spektral Bulguları



1-(3'-fenilpropil)-4-[N²-(2'''-metoksibenziliden)hidrazono]-1,4-dihidropiridin

UV (Spektrum No 56)

λ_{maks} (log ϵ) (MeOH)

354 (4.64), 206 (4.53) nm

IR (Spektrum No 57)

ν_{maks} (KBr)

2923, 2854 (Alifatik C-H gerilme), 1644, 1509 (Aromatik halka C=C gerilme ve N=CH gerilme), 1245 (C-O-C asimetrik gerilme), 771, 700 (Aromatik halka C-H düzlem dışı eğilmesi) cm^{-1}

¹H NMR (Spektrum No 58)

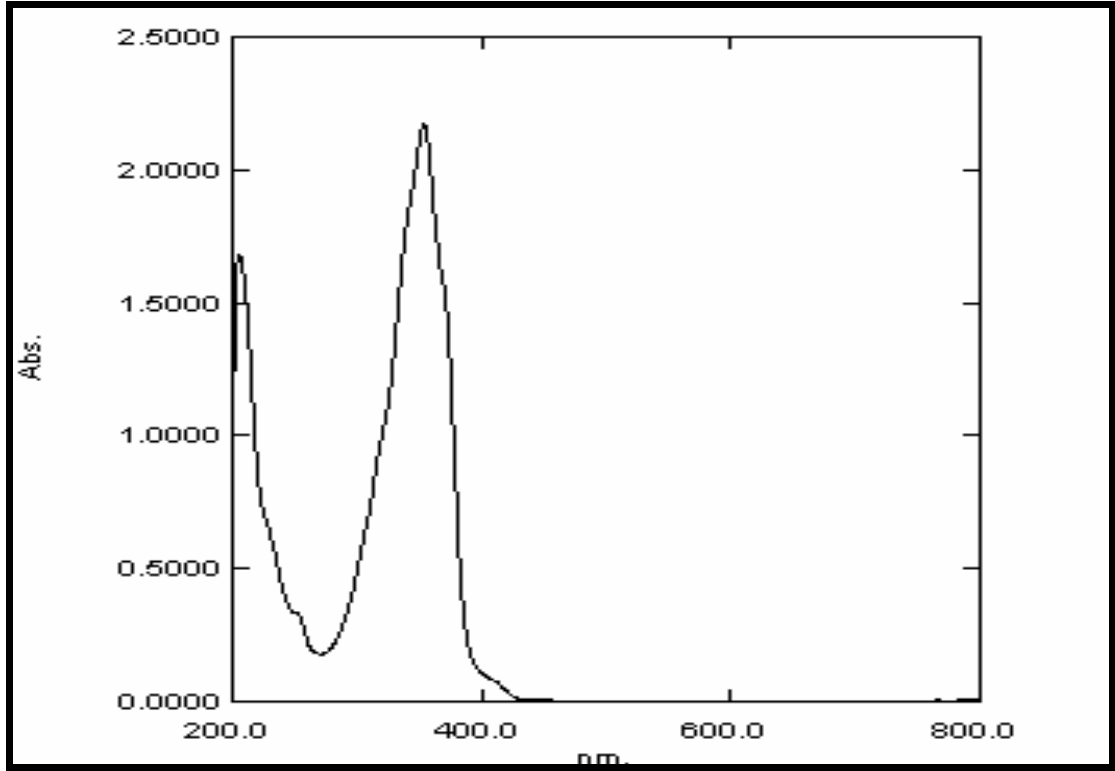
(400 MHz, DMSO-d₆)

δ 8.49 (1H, s, N=CH), 7.93 (1H, dd, $J = 1.6, 7.6$ Hz, H-6'''), 7.36-7.19 (8H, m, H-2, H-6, H-2'', H-3'', H-4'', H-5'', H-6'', H-4'''), 7.04-7.01 (2H, m, H-3''', H-3 veya H-5), 6.95 (1H, t, $J = 7.4$ Hz, H-5'''), 6.19 (1H, dd, $J = 2.0, 7.6$ Hz, H-3 veya H-5), 3.83 (3H, s, OCH₃), 3.77 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, -CH₂-N⁺), 2.57 (2H, t, $J = 8.0$, Fenil-CH₂-), 1.98 (2H, quin, $J = 8.0$ Hz, -CH₂-) ppm

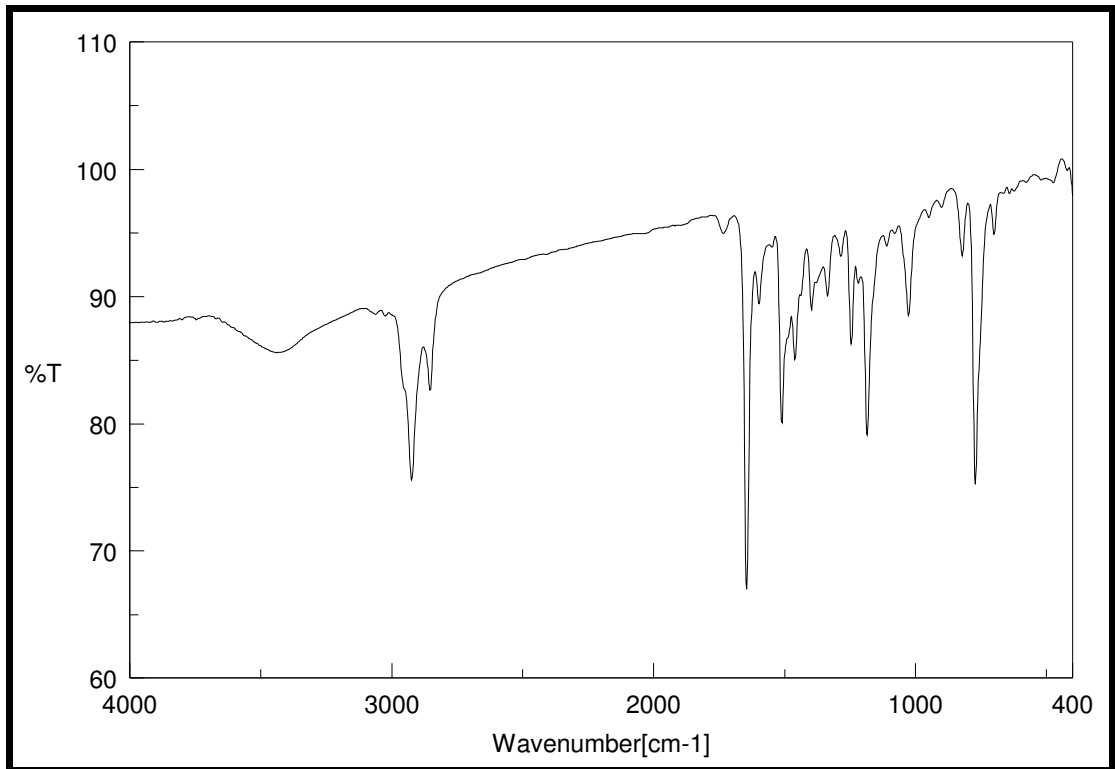
MS (ESI) (Spektrum No 59)

m/z (% bağıl bolluk)

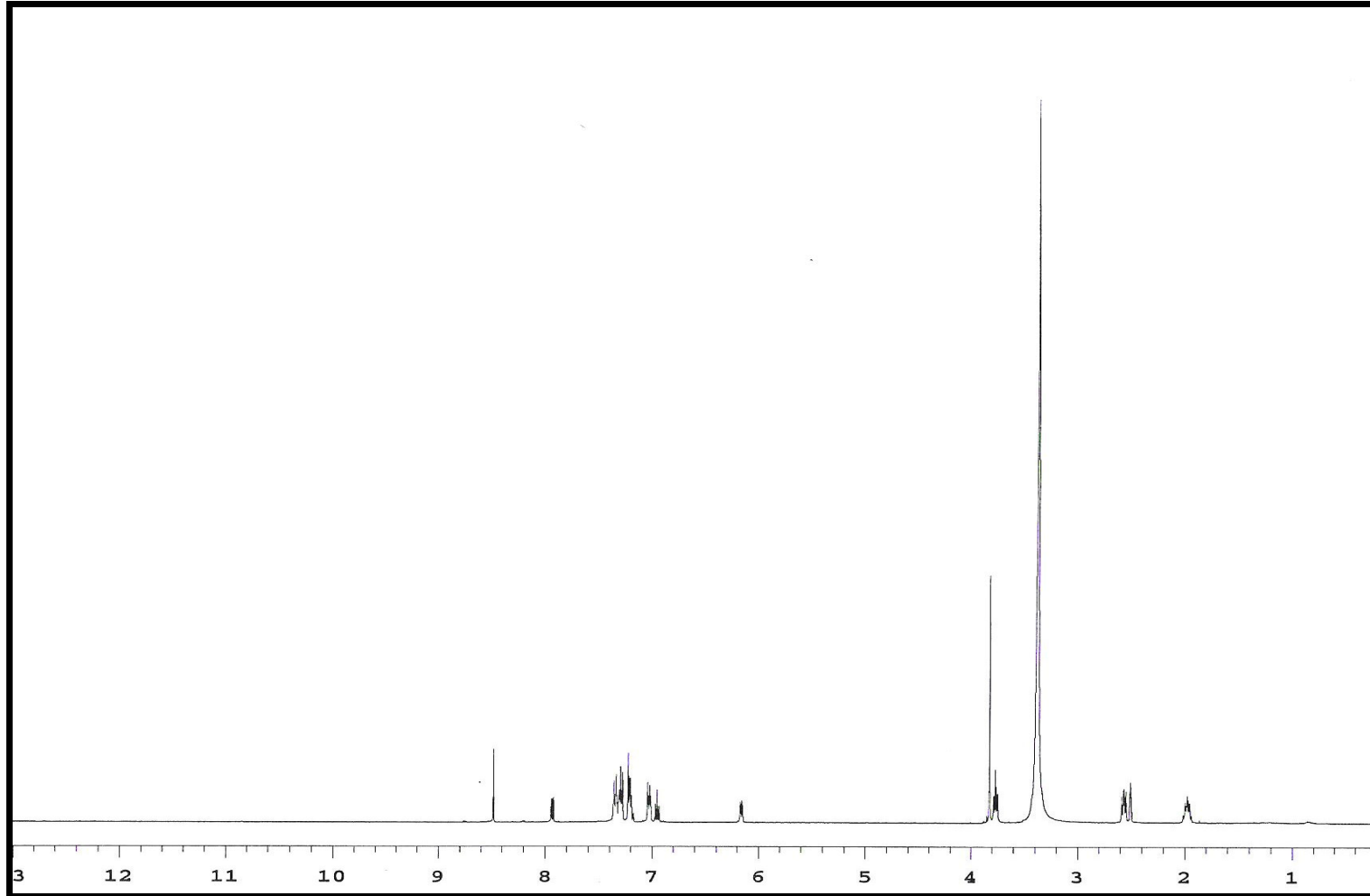
346 (M+1, 100), 347 (M+2, 21)



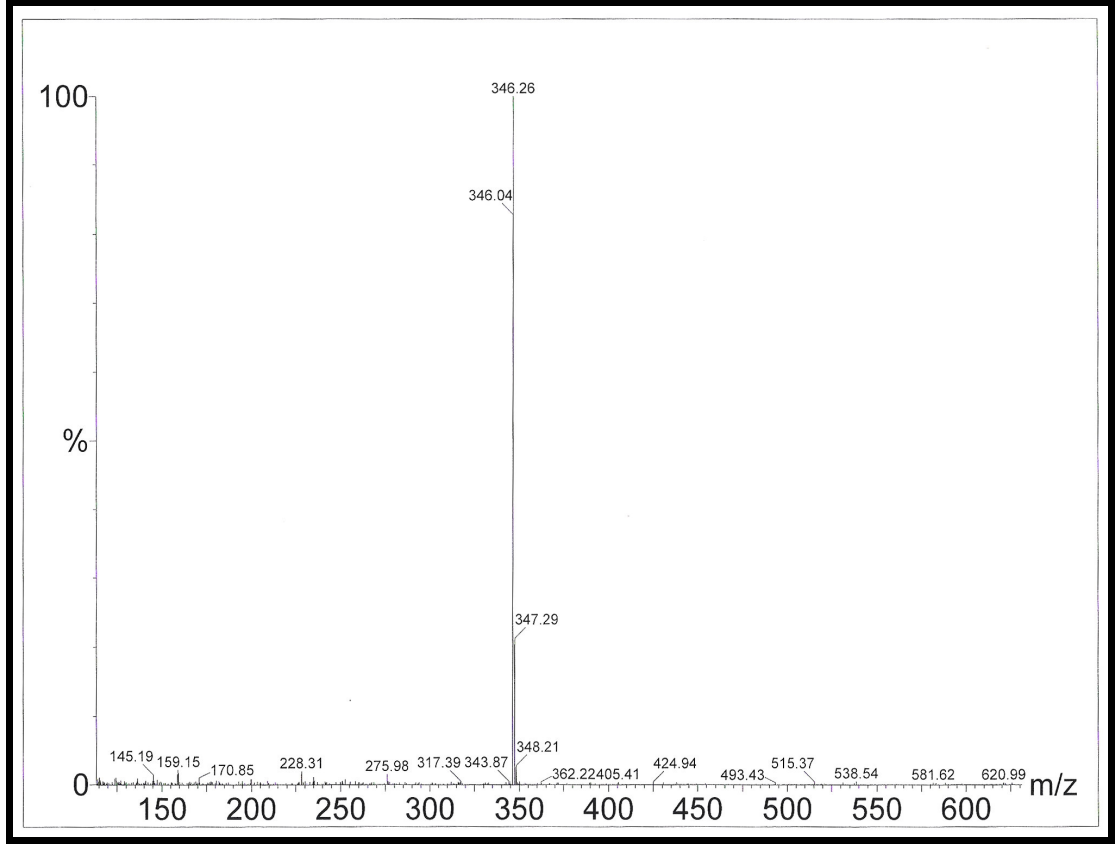
Spektrum No 56. D6 Bileşğinin UV Spektrumu



Spektrum No 57. D6 Bileşğinin IR Spektrumu



Spektrum No 58. D6 Bileşğinin ^1H NMR Spektrumu



Spektrum No 59. D6 Bileşğinin Kütle Spektrumu

II. BİLEŞİKLERİN ASETİLKOLİNESTERAZ ENZİM AKTİVİTESİNİN TAYİN EDİLMESİ

A. MATERYAL

Sentezini gerçekleştirdiğimiz katerner grubu bileşiklerden K2 ve K3 maddelerinin asetilkolinesteraz enzim inhibitör aktiviteleri Ellman testi ile saptanmıştır. Çalışmalarda kullanılan Asetilkolinesteraz (AChE)-E.C.3.1.1.7, tip VI-S, Sigma Aldrich firmasından temin edilmiştir. Ellman belirteci 5,5'-ditiyobis(2-nitrobenzoik asit)DTNB, tampon bileşikler (potasyum dihidrojen fosfat, potasyum hidroksit),sodyum hidrojen karbonat ve asetiltiyokolin iyodür (ATC) Fluka firmasından sağlanmıştır. Milli-Q saflaştırma aparatından (Millipore®; Eschborn, FRG) elde elden deiyonize su kullanılmıştır. Spektrofotometrik ölçümler termostatlı Varian Cary 50 UV-Vis Spektrofotometresinde gerçekleştirilmiştir.

1. Çözeltiler

a. Fosfat Tamponu pH=8.0

Potasyum dihidrojen fosfat (13,61 g), 1 l suda çözüldükten sonra potasyum hidroksit ile pH 8.0 ± 0.1 'e ayarlanmıştır. Tampon çözelti kullanılmadan önce por genişliği 0.22 μm olan tek kullanımlık filtrelerden (Schleicher and Schuell, Dassel, FRG) süzülmüştür. Tampon çözelti her hafta taze olarak hazırlanmış ve 4° C'de muhafaza edilmiştir.

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

Çözelti 100 ml suda hazırlanmıştır. 0.396 gr DTNB ve 0.15 gr sodyum hidrojen karbonat içermektedir. Çözelti ya direk olarak kullanılmıştır ya da gerekli olana kadar -30° C'de dondurucuda muhafaza edilmiştir.

c. Asetiltiyokolin İyodür (ATC) 0.075 M

0.2167 gr ATC tartılıp 10 ml suda çözülmüştür. Bu çözelti 0.4 ml'lik Eppendorf tüplerinde -30° C'de saklanmıştır.

d. Asetilkolinesteraz (AChE) Çözeltisi

Enzim (500 Ünite), jelatin çözeltisinde (1 ml, %1) çözülmüş ve 100 ml'lik volumetrik balona aktarılmıştır. Suyu 5u/ml' ye seyreltilmiştir. Bu stok çözelti 0.7 ml'lik kısımlar halinde -30° C'de muhafaza edilmiştir. Kullanımdan önce eritilmiş ve final konsantrasyonuna $c= 2.5$ u/ml'ye dilüe edilmiştir.

B. YÖNTEMLER

Enzim aktivitesi, Ellman ve arkadaşları tarafından biraz modifiye edilmiş kolorimetrik method kullanılarak incelenmiştir. Enzimatik hidrolizin ürünü olan tiyokolin, UV dedeksiyonunda önemli bir kromofora sahip değildir. Enzim aktivitesinin değerlendirilmesi spesifik kromojenik belirteci DTNB kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İnhibitör bileşiklerin stok çözeltileri %2'lik DMSO'da hazırlanmıştır. Enzim aktivitesi, AChE (asetilkolinesteraz) inhibisyonu elde etmek için, inhibitörün en az 5 farklı konsantrasyonları varlığında (genellikle 10^{-4} - 10^{-9}) tayin edilmiştir. Aktivite 0 ile %100 arasını kapsamaktadır. Her konsantrasyon 3 kez analiz edilmiştir. Örnekler hazırlandıktan hemen sonra incelenmiştir.

1. İnhibisyon Çalışması

Tüm çözeltiler kullanımdan önce 20° C'ye getirilmiştir. Enzim çözeltisi (100 µl) ve inhibitör çözelti (100 µl) fosfat tamponu ihtiva eden (3.0 ml, 0.1 M, pH= 8.0) küvete ilave edilmiştir. 5 dakika inkübasyonun ardından gereken DTNB çözeltisi 100 µl'lik ve asetiltiyokolin iyodür 20 µl' lik kısımlar halinde eklenmiştir. Hızlı ve çabuk

bir karıştırmanın ardından 412 nm'de absorpsiyonu ölçülmüştür. Referans olarak enzimin inhibitörsüz benzer çözeltisi aynı prosedürü takiben işleme tabii tutulmuştur. Boş okunan 3.0 ml tampon, 200 µl su, 100 µl DTNB, ve 20 µl substrat içermektedir. Göreceli enzim aktivitesi şu denkleme bağlı olarak hesaplanmıştır;

$$\text{Aktivite(\%)} = M_{\text{corr}} \times 100 / R_{\text{corr}}$$

M_{corr} = İnhibitör varlığındaki enzim aktivitesi

R_{corr} = Referans çözeltinin (inhibitörsüz) enzim aktivitesi

Her iki değer boş okunan değer ile doğrulanmıştır. Sonuçlar non-linear regresyon analizini bir sigmoid doz-yanıt modeline karşı kullanılarak Graphad Prism (Graphad Software, San Diego, CA, USA) programı ile analiz edilmiştir.

İnhibisyon eğrileri her bileşik için, inhibitör varlığındaki %'de enzim aktivitesinin test çözeltisindeki inhibitör konsantrasyonuna karşı çizilmesiyle elde edilmiştir. Her inhibisyon eğrisi için 4 değişen ölçülmüştür:

IC_{50} (cevap olduğundaki $\log(\text{doz}) = \%50$), tepe eğimi, altplato, üstplato

Çalışmamızda K2 ve K3 Kodlu Bileşiklerimizin enzim aktiviteleri ölçülmüştür. Takrin HCl = 44 nM'lık inhibitör etki yaratırken, K2 bileşiği $IC_{50} = 64.5$ nM'lık bir değerle takrine yakın inhibitör aktivite göstermiştir. K3 bileşiği ise $IC_{50} = 395.2$ nM'lık bir inhibitör aktivite sergilemiş olup K2'ye göre daha az bir inhibitör etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir.

III. 1,4-DİHİDROPİRİDİN TÜREVİ BİLEŞİKLERİN DAĞILIM KATSAYILARININ (log P) HESAPLANMASI

Hedef bileşiklerimizin ilaç etkisinde önemli bir fizikokimyasal parametre olan log P değerleri ChemDraw Ultra 9.0 programı ile hesaplanmıştır. Buna göre bileşiklerimizin log P değerleri şu şekildedir:

$$D1 = 5.20$$

$$D4 = 4.78$$

$$D2 = 6.08$$

$$D5 = 5.66$$

$$D3 = 5.46$$

$$D6 = 5.04$$

TARTIŞMA

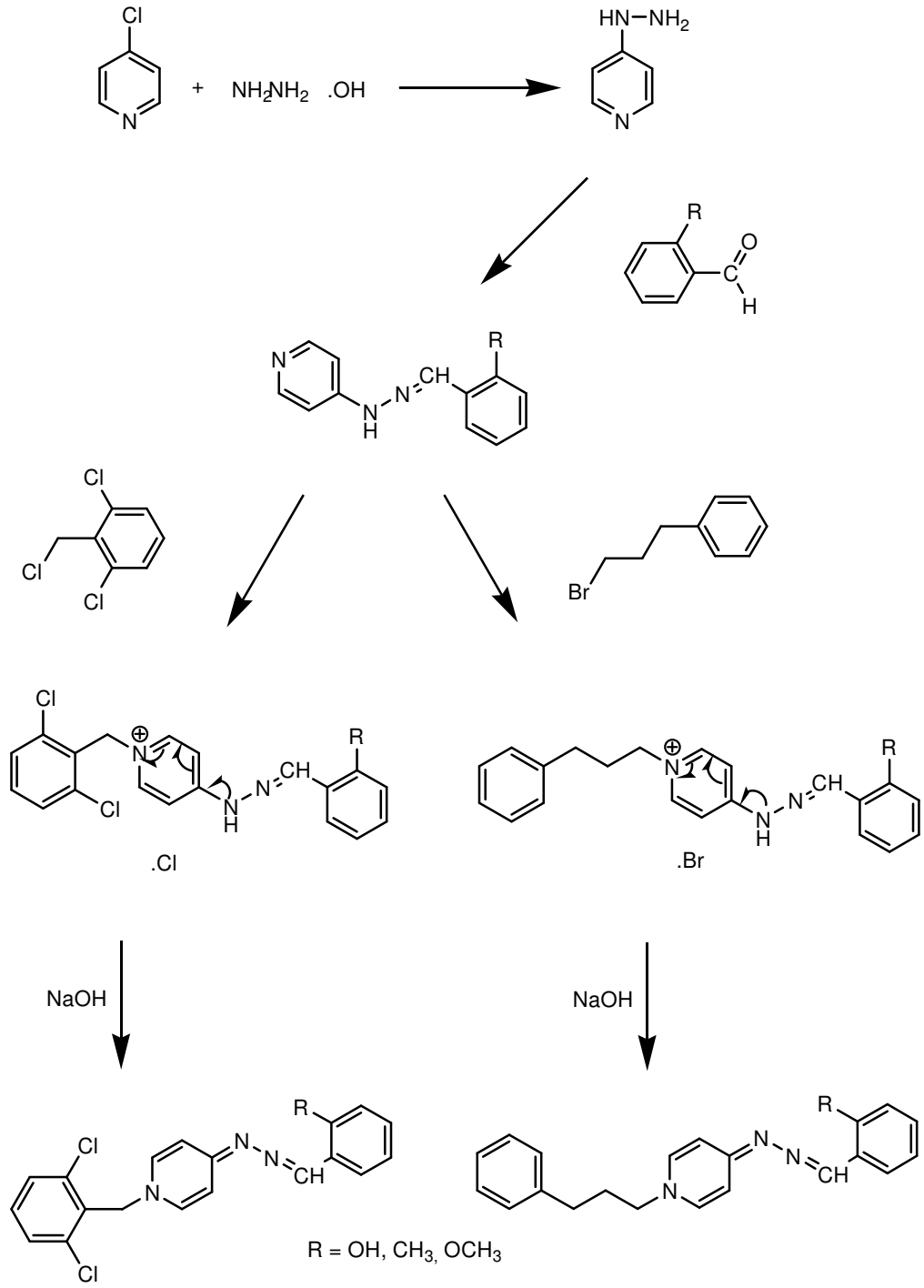
Bu çalışmada, Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılan tedavi yaklaşımlarından biri olan asetilkolinesteraz enzimi üzerinde inhibitör özellik göstermesi düşünülen, kan-beyin engelini geçerek katerner yapıya okside olabilme özelliğine sahip (29, 94, 95) yeni bir grup 1,4-dihidropiridin türevi bileşiklerin sentezi hedeflenmiştir

Bis-takrin derivelerine benzerlik gösteren asetilkolinesteraz reaktivatör obidoksim analogu bispridinyum tipi bileşiklerin bisbenzileter özellikteki homodimer DUO3 bileşikleri üzerinde yapılan çalışmalarda diğer bis-yapılı bileşiklerin aksine belirgin bir şekilde daha düşük etki ortaya çıkmıştır (58). Bu etkideki azalışın molekülün tümünün enzim çukuru ile etkileşme için çok uzun olduğu dolayısı ile molekülün diğer parçasının enzim dışında kaldığı düşünülmüştür. Elde edilen bu sonuçlardan hareketle bir sonraki çalışmada DUO3 bileşiklerinin kısaltılmış mono türevleri sentezlenmiş ve bu bileşiklerde homodimer DUO3'ün aksine asetilkolinesteraz enzim inhibisyonu üzerinde belirgin bir artış gözlenmiştir. Aynı zamanda amiloid fibril oluşumunu da engellediği tespit edilmiştir (2, 57)

DUO3 bileşikleri üzerinde yapılan çalışmalarda, katerner yapıdaki bileşiklerin asetilkolinesteraz enzimi üzerinde iyi düzeyde inhibitör etki göstermelerine rağmen, bu grup bileşiklerin hidrofilik yapısı nedeniyle kan-beyin engelini aşamaları en

büyük sorunu oluşturmaktadır. Çalışmamızda amaç, katerner yapıdaki hedef bileşiklerimizin 1,4-dihidropiridin yapısındaki formunun lipofilik özellikte olması ve taşıyıcı grup olarak kullanılması sebebiyle (94, 95, 116, 120), kan-beyin engelini geçmesi daha sonra beynin asit ortamında katerner yapısına dönüşerek inhibitör etkisini oluşturması yönündedir.

Hedeflenen bileşikler üç basamakta sentez edilmiştir. Birinci basamakta 4-kloropiridin, hidrazinyum hidroksit ile 63 no'lu literatürde belirtildiği yönteme göre tepkimeye tabi tutularak 4-hidrazinilpiridin bileşiği sentez edilmiş, daha sonra 2 konumunda hidroksil, metil ve metoksil süstitüenti taşıyan aldehit türevleri ile 27 no'lu literatürde bildirilen yönteme göre kondensasyon tepkimesine tabi tutularak ara ürün olarak hidrazon türevi bileşikler (B-OH, B-CH₃, B-OCH₃) hazırlanmıştır. Sentezi gerçekleştirilen ara ürünlerin, sırasıyla 2,6-diklorobenzil klorür ve 3-fenilpropil bromür ile 27 no'lu literatürde bildirilen yönteme göre katernizasyona tabi tutularak K1, K2, K3, K4, K5, K6 kodlu hedef bileşikler elde edilmiştir (Şema 5). Elde edilen K serisi bileşikler NaOH çözeltisi ile çalkanarak, katerner piridinyum yapılarının 1,4-dihidropiridin yapısına dönüştüğü yeni bir grup bileşik (D1, D2, D3, D4, D5, D6) elde edilmiştir (27) (Şema 5). Elde edilen tüm hedef bileşiklere literatürde rastlanmamıştır.



Şema 5. Tepkime Denklemi

Ara ürünlerin yapı teyitleri UV, IR ve ^1H NMR spektroskopik yöntemlerinin kullanılmasıyla, hedef bileşiklerimizin yapı teyitleri ise UV, IR, ^1H NMR ve Kütle spektroskopik yöntemlerinin değerlendirilmesiyle sağlanmıştır.

Hedef bileşiklerimizden K2 ve K3 bileşiklerinin asetilkolinesteraz enzim inhibitör etkinlikleri etanol içerisinde Ellmann testi (30) ile takrin HCl'e kıyasla tayin edilmiştir. Takrin HCl $\text{IC}_{50} = 44$ nm iken K2 bileşiği için $\text{IC}_{50} = 64.5$ nM, K3 bileşiği için $\text{IC}_{50} = 395.2$ nM olarak tespit edilmiştir. Buna göre K2 bileşiği takrine yakın bir inhibitör etki meydana getirirken K3 bileşiği daha az bir inhibitör etkiye sahiptir.

Hedef bileşiklerimizin ilaç etkisinde önemli bir fizikokimyasal parametre olan log P değerleri de ChemDraw Ultra 9.0 Programı ile hesaplanmıştır. Yapılan hesaplamalarda dihidropiridin yapısındaki bileşiklerin log P değeri 4,78-6.08 aralığında bulunmuştur. Bu değerler 1,4-dihidropiridin yapısındaki maddelerimizin lipofilik özelliğe sahip olduğunu göstermektedir. Dolayısıyla dihidropiridin yapısındaki bileşiklerimizin kolaylıkla kan-beyin engelini geçebileceği düşünülmektedir

1,4-dihidropiridin yapısına sahip D serisi bileşiklerimizden bir tanesi (D2 kodlu bileşik) örnek olarak seçilmiş ve asit ortamda katerner yapıya dönüşüp dönüşmeyeceği test edilmiştir. DMSO- d_6 içerisindeki çözeltisine bir damla dötrosülfürikasit (D_2SO_4) ilave edilmesinin ardından alınan ^1H NMR spektroskopisi değerlendirilmiştir. Asit ortamda alınan spektrum incelendiğinde katerner yapıda bulunan 1,4-dihidropiridin yapısında bulunmayan hidrazinin azotuna ait protona spektrumda rastlanmıştır. Ayrıca 1,4-dihidropiridin halkasına ait protonların daha aşağı alana kaydığı gözlenmiştir. Bu durum kan-beyin engelini geçebileceği düşünülen 1,4-dihidropiridin yapısındaki bileşiklerimizin beyin asit ortamında katerner yapıya dönüşebileceği hipotezini desteklemektedir

I. SPEKTRAL BULGULARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

A. UV BULGULARI VE TARTIŞMA

Çalışmamızda hem ara ürünler hem hedef ürünler olarak sentezlenen bileşiklerimizin UV spektrumlarında benzen kromoforuna ait olan ve $\pi-\pi^*$ geçişlerinden ortaya çıkan karakteristik E₂ bantları 203-205 nm arasında izlenmiştir. Konjuge kromoforların varlığını teyit eden K bantları ise oksokromik süstitüsyonların da katkısıyla belirgin bir batokromik kaymaya uğrayarak 338-369 nm arasında absorpsiyon maksimumları vermiştir. B bantları ise K bantlarının altında kalarak bir kısım bileşikde sadece omuz olarak saptanabilmiştir.

B. IR BULGULARI VE TARTIŞMA

Ara ürünler de dahil olmak üzere bileşiklerin KBr pellet içerisinde alınan IR spektrumlarında; aromatik halka C-H gerilme titreşimleri 3083-3004 cm⁻¹ arasında izlenmiştir. Bileşiklerde 2992-2694 cm⁻¹ arasında görülen bantlar alifatik C-H gerilmelerinden kaynaklanmaktadır. 1646-1400 cm⁻¹ arasında görülen titreşimler aromatik halka C=C ile C=N titreşimine aittir. Aromatik halka C-H düzlem dışı eğilme bantları 790-700 cm⁻¹ arasında izlenmiştir. D serisi bileşikler hariç (D1, D2, D3, D4, D5, D6), K serisi bileşiklerde (K1, K2, K3, K4, K5, K6) ve ara ürünlerde bulunan N-H gerilme titreşimi ise 3446-3210 cm⁻¹ arasında görülmektedir. B-OH bileşiğinde O-H gerilmesi 3525 cm⁻¹ görülmektedir. Fenil halkasında metoksil süstitüenti taşıyan B-OCH₃, K3, K6, D3, D6 bileşiklerinde C-O-C gerilme titreşimi ise beklenildiği üzere 1249-1245 cm⁻¹ arasında izlenmiştir (50, 117).

K1 ve K4 bileşiklerimizin IR spektrumlarında 3600-3400 cm⁻¹ arasında beklenen O-H gerilmesine ait bandı göremediğimizden dolayı her iki bileşiğin D₂O

ilave edilmiş çözeltilisinin NMR spektrumları alınmıştır. ^1H NMR spektrumlarında izlenen hidroksil protonunun D_2O spektrumunda kaybolması bileşiklerde bulunan hidroksil grubunu kanıtlayıcı yöndedir.

C. KÜTLE BULGULARI VE TARTIŞMA

Elde edilen bileşiklerimizin kütle spektrumları ESI (Elektron Sprey İyonizasyon) yöntemine göre alınmıştır. Bileşiklerin spektrumlarında okunan moleküler iyon değerlerinin $[(\text{M})^+, (\text{M}+1)^+]$, hesaplanan ve beklenen molekül ağırlıklarıyla tam bir uyum içerisinde olduğu görülmektedir. 2,6-diklorofenil halkası taşıyan K1, K2, K3 ve D1, D2, D3 bileşiklerinde 2 ve 6 konumundaki klor atomlarından dolayı beklenildiği üzere (M+2) ve (M+4) pikleri de izlenmiştir (50, 117)

D. ^1H NMR BULGULARI VE TARTIŞMA

1. Ara ürünlerin (B-OH, B-CH₃, B-OCH₃) ^1H NMR Bulguları

Sentezini gerçekleştirdiğimiz gerek ara ürünlerin, gerekse son ürünlerin oluştuğuna dair destekleyici en önemli bulgular bileşiklerin ^1H NMR spektrumlarından sağlanmıştır. Çalışmamızda ara ürünler olarak sentezi gerçekleştirilen 4-[N²-(2'-sübstitüebenziliden)hidrazinil]piridin türevlerine (B-OH, B-CH₃, B-OCH₃ kodlu bileşikler) ait ^1H NMR bulguları DMSO-d₆ çözücüsü içerisinde alınmıştır. Her üç bileşikde δ 10.80-10.78 arasında görülen tek protonluk singlet piridin halkasına bağlı N-H protonuna aittir. δ 8.29-8.19 arasında görülen tek protona ait keskin singlet ise N=CH protonundan kaynaklanmaktadır. Bu bileşiklerdeki piridin heterosiklik halkasına ait H-2 ve H-6 protonlarının halka azotuna orto konumdan sübstitüe olmaları sebebiyle H-3 ve H-5 protonlarına nazaran daha aşağı alanda sinyal vermeleri beklenir. Buna göre her üç bileşikde H-2 ve H-6

protonları δ 8.21-8.19 arasında entegrasyon değeri iki protona karşılık gelen J değeri 5.9-6.2 Hz'lik dublet-dublet sinyal olarak görülmektedir. H-3 ve H-5 protonları B-CH₃ ve B-OCH₃ bileşiğinde δ 6.97-6.92 arasında iki protonluk entegrasyona ve 6.2-6.4 Hz'lik etkileşme değişimine sahip dublet olarak izlenirken, B-OH bileşiğinde her iki protonun δ 6.89-6.84 arasındaki dört protonluk multipler sinyal içerisinde olduğu düşünülmektedir. Bileşiklerimizdeki fenil halkasına ait aromatik hidrojenler incelendiğinde; yapıdaki süstitüente meta uzaklıkta olan H'-4 ve H'-6 protonlarının gölgelememe değişmezlerinin hesaplanmasıyla H'-3 ve H'-5 protonlarına nazaran daha aşağı alanda olması beklenir. H'-6 protonun H'-4 protonuna göre daha aşağı alanda gözlenmesi H'-6 protonunun hem konjuge yapıya, hem azot protonuna daha yakın konumda olmasından dolayıdır. δ 7.86-7.64 arasında görülen tek protonluk sinyalin fenil halkasının daha aşağı alanda sinyal vermesi beklenen H'-6 protonuna ait olduğu düşünülmektedir. H'-4 protonu ise B-OH ve B-OCH₃ bileşiklerinde δ 7.32-7.19 arasında triplet-dublet sinyal olarak izlenirken, B-CH₃ bileşiğinde aynı protonun 7.23-7.19 arasındaki multipler sinyal içerisinde olduğu düşünülmektedir. Fenil halkasının H'-3 ve H'-5 protonları B-OCH₃ bileşiğinde sırasıyla δ 7.05 de dublet, δ 6.98 de triplet sinyal olarak görülürken, B-OH bileşiğinde δ 6.89-6.84 arasında ve B-CH₃ bileşiğinde δ 7.23-7.19 arasında görülen multipler sinyaller içerisinde olduğu düşünülmektedir. Diğerlerinden farklı olarak B-OH bileşiğindeki hidroksil protonu δ 10.20 de izlenmiştir. Ayrıca B-OCH₃ bileşiğindeki metoksil protonları δ 3.83 de üç protonluk keskin singlet olarak görülmektedir.

2. K1, K2, K3 Kodlu bileşiklerin ¹H NMR Bulguları

K1, K2, K3 bileşiklerin ¹H NMR spektrumları, yapı doğrulama açısından önemli bilgiler sağlamış ve proton sinyalleri beklenen kimyasal kayma değerlerinde, beklenen bölünme şekilleri ve değişmezleri ile izlenmiştir. Bileşiklerin DMSO-d₆

içerisinde alınan ^1H NMR spektrumları incelendiğinde; aromatik sahada δ 13.00-12.70 arasında tek protonluk geniş singlet piridinyum halkasına bağlı N-H protonuna aittir. Her üç bileşikde (K1, K2, K3) bulunan N=CH protonu δ 8.60-8.59 arasında bir proton değerinde keskin bir singlet olarak izlenmiştir. Bu bileşiklerdeki piridinyum heterosiklik halkasına ait H-2 ve H-6 protonlarının halkanın katerner azotuna orto konumdan süstitüe olmaları sebebiyle H-3 ve H-5 protonlarına nazaran daha aşağı alanda sinyal vermeleri beklenir. Buna göre her üç bileşikde, H-2 ve H-6 protonlarından biri δ 8.34' da, diğeri ise δ 8.22-8.17 arasında sinyal vermiştir. Piridinyum heterosiklik halkasının daha yukarı alanda sinyal veren H-3 ve H-5 protonlarından biri K3 bileşiğinde δ 7.58 de tek proton değerinde dublet-dublet sinyal olarak izlenirken, K1 ve K2 bileşiklerinde δ 7.56-7.52 arasında 2'-6'-diklorofenil halkasının H'-4 protonuna ait dublet-dublet sinyalin bacaklarıyla çakışmaktadır. Diğeri proton ise K1 ve K2 bileşiklerinde δ 7.14-7.06 arasında dublet-dublet sinyal olarak görülürken, K3 bileşiğinde δ 7.04-7.01 arasındaki iki protonluk multipler sinyal içerisinde olduğu düşünülmektedir. 2',6'-diklorofenil halkasındaki H'-3 ve H'-5 protonları her üç bileşikde de δ 7.64 de iki proton değerinde orto etkileşimden kaynaklanan bir dublet sinyal vermiştir. 2',6'-diklorofenil halkasının H'-4 protonu ise δ 7.56-7.52 arasında iki orto etkileşimden kaynaklanan dublet-dublet sinyal vermiştir. Her üç bileşikteki 2''-süstitüefenil halkasındaki aromatik hidrojenler incelendiğinde; yapıdaki süstitüente (K1 için hidroksil, K2 için metil, K3 için metoksil) meta uzaklıkta olan H''-4 ve H''-6 protonlarının gölgelememe değışmezlerinin hesaplanmasıyla H''-3 ve H''-5 protonlarına göre daha aşağı alanda olması beklenir. H''-6 protonu ise hem konjuge yapıya hem azot protonuna daha yakın konumda olması sebebiyle H''-4 protonuna göre daha aşağı alanda sinyal vermesi beklendiğinden dolayı 2''-süstitüefenil aromatik halkasındaki H''-6 protonu

en aşağı alanda izlenen proton olarak kabul edilmiş ve bir orto, bir meta bölünmeyi karakterize eden 1.6 ve 7.6 Hz'lik etkileşme değişmezleriyle δ 7.91-7.80 arasında dublet-dublet sinyal olarak izlenmiştir. Daha yukarı alanda çıkan δ 7.45-7.28 arasında iki orto bir meta etkileşmeyle oluşan ve 7.8 ve 1.6 Hz'lik etkileşme değişmezlerine sahip triplet-dublet sinyalin H"-4 protonuna ait olduğu düşünülmektedir. K1 ve K3 bileşiklerinde δ 7.12-6.94 arasında görülen tek protonluk dublet sinyal H"-3 protonuna aittir. K2 bileşiğinde bu protonun δ 7.30-7.26 arasında görülen multipler sinyal içerisinde olduğu düşünülmektedir. H"-5 protonu ise K1 bileşiğinde δ 6.87 de tek protonluk triplet sinyal olarak izlenmektedir. K2 ve K3 bileşiklerindeki bu protonun δ 7.30-7.01 arasında görülen multipler sinyaller içerisinde olduğu düşünülmektedir. Alifatik sahada ise; her üç bileşikde δ 5.71-5.70 arasında görülen iki protonluk keskin singlet, bir taraftan piridinyum halkasının katerner azotuna diğer taraftan 2',6'-diklorofenil halkasına bağlı metilen protonundan kaynaklanmaktadır. Birbirlerinden farklı olarak ise K1 bileşiğindeki hidroksil protonu δ 10.25 de görülmektedir. K2 bileşiğinde 2"-metilfenil aromatik halkasına bağlı metil sübstitüentine ait üç protonluk keskin singlet δ 2.46 da görülmektedir. K3 bileşiğinin 2"-metoksifenil halkasındaki metoksil protonları ise δ 3.86 da üç protonluk keskin bir singlet olarak izlenmiştir.

3. K4, K5, K6 Kodlu Bileşiklerin ¹H NMR Bulguları

K4, K5, K6 bileşiklerin yapılması istenen bileşikler olduğuna dair somut bilgileri bileşiklerin DMSO-d₆ içerisinde alınan ¹H NMR spektrumlarından elde etmekteyiz. Spektrumlarda görülen tüm sinyaller oluşması beklenen bileşiklerin formülleri ile uyum içerisinde. Aromatik sahadaki sinyalleri incelersek; her üç bileşikde δ 12.34-12.30 arasında görülen integral değeri tek protona karşılık gelen singletin, piridinyum heterosiklik halkasına meta konumdan bağlı hidrazinin azot

protonundan kaynaklandığı görülür. K4 bileşiğindeki 2''-hidroksifenil aromatik halkasındaki hidroksil protonu δ 10.17 de tek protonluk singlet sinyal şeklinde görülmektedir. Her üç bileşikdeki N=CH protonu δ 8.58-8.52 arasında tek protonluk keskin bir singlet olarak izlenmiştir. Piridinyum heterosiklik halkasına ait H-2 ve H-6 protonlarının halkanın katerner azotuna orto konumdan süstitüe olmaları sebebiyle H-3 ve H-5 protonlarına nazaran daha aşağı alanda sinyal vermeleri beklenir. Buna göre her üç bileşiğe ait spektrumlara bakılacak olursa bileşiklerdeki H-2 ve H-6 protonlarından birinin δ 8.46-8.44 arasında, diğerinin δ 8.39-8.36 arasında birer protonluk dublet sinyal verdikleri görülmektedir. Piridinyumun daha yukarı alanda sinyal veren protonlarından biri δ 7.59-7.54 arasında sinyal verirken diğeri K4 ve K5 bileşiklerinde δ 7.06-7.03 arasında sinyal vermiştir. Bu protonun K6 bileşiğinde δ 7.05-6.98 arasındaki multipler sinyal içerisinde olduğu düşünülmektedir. Her üç bileşikde bulunan 3'-fenilpropil yapısının fenil halkasına ait aromatik protonları, kimyasal kaymalarının birbirine yakın olması sebebiyle δ 7.30-7.15 arasında multipler sinyaller olarak izlenmiştir. Bileşiklerdeki 2''-süstitüefenil halkasına ait aromatik hidrojenler incelendiğinde, H-6'' protonu δ 7.96-7.84 arasında dublet-dublet sinyal olarak izlenmiştir. Daha yukarı alanda çıkan δ 7.45-7.35 arasında iki orto bir meta etkileşmeyle oluşan tek protonluk entegrasyona sahip triplet-dublet sinyalin H''-4 protonuna ait olduğu düşünülmektedir. K4 bileşiğinde ise bu alanda sinyal vermesi beklenen H''-4 protonunun, δ 7.30-7.15 arasında 3'-fenilpropil halkasının fenil protonlarına ait multipler sinyalin bacaklarıyla çakıştığı düşünülmektedir. K4 ve K6 bileşiklerindeki δ 7.12-6.93 arasında bir orto etkileşmeyle oluşan tek protonluk dubletin H''-3 protonuna ait olduğu düşünülmektedir. K4 bileşiğinde δ 6.88 de görülen tek protonluk triplet H''-5 protonuna aittir. K5 bileşiğinin H''-3 ve H''-5 protonlarına ait sinyallerin, δ 7.30-7.16

arasında 3'-fenilpropil halkasının fenil protonlarına ait multipler sinyalin bacaklarıyla çakıştığı düşünülmektedir. K6 bileşiğinde ise H-5''' protonunun δ 7.05-6.98 arasında izlenen multipler sinyal içerisinde olduğu düşünülmektedir. Her üç bileşikde alifatik sahadaki protonları incelersek; bir taraftan piridinyum azotuna bağlı diğer taraftan 3'-fenil halkasına bağlı bir propilen zinciri olduğu görülmektedir. Bu zincirdeki piridin halkasına bağlı metilen protonları δ 4.28-4.26 arasında iki orto etkileşimle oluşan integral değeri iki protona karşılık gelen triplet şeklinde bölünmüşlerdir. δ 2.60-2.59 arasındaki iki protonluk triplet sinyal ise fenil halkasının metilen protonlarına aittir. Propilen zincirinde her iki taraftan metilen grubuna bağlı olan karbon üzerindeki protonlar beklendiği gibi quintet şeklinde δ 2.12 de sinyal vermişlerdir. K6 bileşiğinde 2'''-metoksifenil halkasında bulunan metoksil grubuna ait protonlar δ 3.86 da üç proton değerinde keskin singlet olarak görülmektedir.

4. D1, D2, D3 Kodlu Bileşiklerin ^1H NMR Bulguları

Piridinyum heterosiklik halkasına sahip K1, K2, K3 kodlu bileşikler NaOH çözeltisi ile çalkalandıktan sonra yapıları 1,4-dihidropiridin yapısına sahip D1, D2, D3 kodlu bileşiklere dönüşmektedir. D1, D2, D3 kodlu bileşiklerimizin DMSO- d_6 içerisinde alınan ^1H NMR spektrumları oluşması beklenen bileşiklerin yapısı ile uyum içerisinde. Katerner bileşiklerde (K1, K2, K3) δ 13.00-12.70 arasında görülen N-H sinyali, 1,4-dihidropiridin bileşiklerinde (D1, D2, D3) kaybolmuştur. 1,4-dihidropiridin halkasına ait piridin protonlarının, K1, K2, K3 bileşiklerindeki piridinyum protonlarına göre halkanın aromatikliğinin kısmen doymuş 1,4-dihidropiridin yapısına dönüşmesi sebebiyle daha yukarı alanda sinyal vermeleri beklenmektedir. Buna göre, K1, K2 ve K3 bileşiklerinde piridinyum halkasına ait H-3 veya H-5 protonlarından δ 7.58-7.52 arasında sinyal veren protonu D1, D2, D3 bileşiklerinde δ 6.95-6.52 arasında sinyal olarak izlenirken, δ 7.14-7.01 arasındaki

diğer protona ait sinyal D1, D2 ve D3 bileşiklerinde δ 6.21-6.08 arasında görülmektedir. Aynı şekilde, Hem D serisi bileşiklerde (D1, D2, D3) hem K serisi bileşiklerde (K1, K2, K3), H-3 ve H-5 protonlarına nazaran daha aşağı alanda sinyal veren H-2 ve H-6 protonlarından biri K serisinde δ 8.34 de, diğeri ise δ 8.22-8.17 arasında sinyal verirken bu protonların D1 ve D2 bileşiklerinde δ 7.40-7.12 arasında multipler sinyal içerisinde olduğu düşünülmektedir. Aynı protonlardan biri D3 bileşiginde ise δ 7.18 de diğeri ise δ 7.10 da birer protonluk dublet-dublet sinyaller olarak izlenmiştir. Buna göre D serisindeki piridin protonlarının K serisine göre daha yukarı alanda çıkması katerner yapının yapılması hedeflenen 1,4-dihidropiridin yapısına dönüştüğü sonucunu doğrulayıcı niteliktedir.

Her üç bileşikde N=CH protonu δ 8.46-8.40 arasında tek protonluk keskin singlet olarak görülmektedir. 2',6'-diklorofenil aromatik halkasının H'-3 ve H'-5 protonları δ 7.59-7.58 arasında iki proton değerinde orto etkileşimden kaynaklanan bir dublet sinyal olarak izlenmiştir. δ 7.48-7.46 arasında tek protonluk iki orto etkileşimden kaynaklanan dublet-dublet sinyal ise H'-4 protonuna aittir.

Bileşiklerimizin 2"-süstitüefenil halkası protonları bulunduğu pozisyona ve söz konusu süstitüenlerin gölgelememe değışmezlerine göre farklı kimyasal kayma değerlerinde, komşu proton sayılarına bağı olarak çoklu sinyaller vermişlerdir. Daha önce K serisi bileşiklerde de anlatıldığı üzere H'-6 protonunun 2"-süstitüefenil halkasının diğeri protonlarına göre daha aşağı alanda görülme nedeni, 2 konumdaki süstitüente meta uzaklıkta olmasından ve hem konjuge yapıya hem azot protonuna diğerilerinden daha yakın olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Buna göre D2 ve D3 bileşiklerinde δ 7.88-7.79 arasında görülen tek protonluk dublet-dublet sinyalin H'-6 protonuna ait olduğu düşünülmektedir. D1 bileşiginde aynı protonun δ 7.40-7.34 arasında izlenen multipler sinyal içerisinde olduğu düşünülmektedir. D3

bileşiginde H"-4, H"-3 ve H"-5 protonları sırasıyla δ 7.28 de triplet-dublet, δ 7.00 da dublet, δ 6.92 de triplet sinyaller olarak görülürken, D1 bileşiginde δ 7.40-7.16 ile δ 6.87-6.83 arasında, D2 bileşiginde δ 7.22-7.11 arasında görülen multipler sinyallerin içerisinde oldukları düşünülmektedir. Her üç bileşikde alifatik sahada δ 5.21-5.15 arasında entegrasyon değeri iki protona karşılık gelen keskin singlet sinyal bir taraftan 1,4-dihidropiridin halka azotuna diğer taraftan 2',6'-diklorofenil halkasına bağlı metilen protonuna aittir. D2 bileşigindeki metil süstitüenti δ 2.42 de üç protonluk keskin singlet olarak görülmektedir. D3 bileşiginin 2"-metoksifenil halkasındaki metoksil süstitüentine ait protonlar alifatik sahada δ 3.80 de üç protonu temsil eden keskin singlet sinyal olarak izlenmiştir.

5. D4, D5, D6 Kodlu Bileşiklerin ¹H NMR Bulguları

D4, D5 ve D6 kodlu bileşikler, D1, D2 ve D3 bileşiklerindeki 1,4-dihidropiridin azotuna bağlı 2,6-diklorobenzil yapısının yerine 3-fenilpropil yapısı taşırlar. K4, K5, K6 kodlu bileşiklerin NaOH çözeltisi ile çalkalanmaları sonucu piridinyum heterosiklik halkasının 1,4-dihidropiridin yapısına dönüşmesiyle elde edilirler. D1, D2, ve D3 bileşiklerinde de görüldüğü üzere; katerner bileşiklerde (K4, K5, K6) δ 12.34-12.30 arasında görülen N-H sinyali D4, D5, D6 bileşiklerinde kaybolmuştur. Piridin halkasına ait protonlar ise D4, D5 ve D6 bileşiklerinde katerner bileşiklere göre daha yukarı alanda sinyal vermişlerdir. K4, K5 ve K6 bileşiklerinde piridinyum halkasına ait H-3 veya H-5 protonlarından biri δ 7.59-7.54 arasında sinyal verirken aynı proton D4 ve D5 bileşiklerinde δ 6.94-6.50 arasında dublet-dublet sinyal olarak görülmektedir. D6 bileşiginde, aynı protonun δ 7.04-7.01 arasındaki multipler sinyalin içerisinde olduğu düşünülmektedir. Diğer protona ait sinyal ise K4, K5, K6 bileşiklerinde δ 7.06-6.98 arasında izlenirken D4, D5 ve D6 bileşiklerinde δ 6.21-6.19 arasında dublet-dublet sinyaller olarak izlenmiştir. Aynı

şekilde, hem D serisi bileşiklerde (D4, D5, D6) hem K serisi bileşiklerde (K4, K5, K6), H-3 ve H-5 protonlarına nazaran daha aşağı alanda sinyal veren H-2 ve H-6 protonlarından biri K serisinde δ 8.46-8.44 arasında, diğeri ise δ 8.39-8.36 arasında sinyal verirken D4, D5 ve D6 bileşiklerinde bu protonların δ 7.39-7.15 arasındaki multipler sinyaller içerisinde olduğu düşünülmektedir. Buna göre D serisindeki piridin protonlarının da K serisine göre daha yukarı alanda çıkması katerner yapının yapılması hedeflenen 1,4-dihidropiridin yapısına dönüştüğü sonucunu doğrulayıcı niteliktedir.

Her üç bileşikde N=CH protonu δ 8.49-8.39 arasında tek protonluk keskin singlet olarak görülmektedir. Bileşiklerin spektrumlarında, kimyasal kaymalarının birbirine yakın olmasından dolayı 3'-fenilpropil yapısındaki fenil halkasına ait beş protonluk sinyalin her üç bileşikde δ 7.39-7.15 arasında görülen multipler sinyallerin içerisinde olduğu düşünülmektedir. 2"-süstitüefenil halkasının H-3"ve H-5" protonlarına ait sinyallerinin, D4 bileşiğinde δ 6.87-6.84 arasındaki, D5 bileşiğinde ise δ 7.29-7.15 arasındaki multipler sinyaller içerisinde olduğu tahmin edilmektedir. D6 bileşiğinde ise H-3" protonun δ 7.04-7.01 arasında görülen multipler sinyal içerisinde olduğu düşünülmekte, H-5" protonuna ait olduğu düşünülen sinyali ise δ 6.95'de triplet olarak izlenmektedir. H-4" protonu ise her üç bileşikde δ 7.39-7.15 arasındaki multipler sinyallerin içerisinde olduğu tahmin edilmektedir.

Her üç bileşikde alifatik sahadaki protonları incelersek; propilen zincirindeki 1,4-dihidropiridin azotuna bağlı metilen protonları δ 3.78-3.72 arasında iki orto etkileşmeyle oluşan integral değeri iki protona karşılık gelen triplet şeklinde bölünmüşlerdir. δ 2.57-2.55 arasında iki protonluk triplet sinyal ise fenil halkasına bağlı metilen protonlarına aittir. Propilen zincirinde her iki taraftan metilen protonuna bağlanan karbondaki protonlar quintet şeklinde δ 1.98-1.95 arasında sinyal

vermişlerdir. D6 bileşğinde 2"-metoksifenil halkasında bulunan metoksil grubuna ait protonlar δ 3.83 de üç proton değerinde keskin singlet olarak görülmektedir. D5 bileşimindeki metil protonları ise δ 2.42 de üç protonu temsil eden keskin singlet sinyal olarak izlenmiştir.

SONUÇ

Alzheimer hastalığı, kardiyovasküler hastalıklar ve kanserle beraber, ekonomik olarak gelişmiş ülkelerdeki en önemli sağlık problemlerinden biridir (5). En sık demans nedeni olan ve tüm demans vakalarının % 50-70 ini oluşturan Alzheimer hastalığı 65 yaşın üstündeki insanların % 10, 85 yaşın üstündekilerin ise %30-35 oranında etkiler (59). ABD de yapılan epidemiyolojik araştırmalar 2050 yılında, bu ülkede 80 yaşın üzerinde olan insan sayısının nüfus içinde önemli bir miktarda olacağına olacağı işaret etmektedir. 85 yaşın üzerindeki insanların ise yaklaşık olarak yarısının Alzheimer hastası olacağı tahmin edilmektedir. Diğer taraftan tüm toplumlarda mortalite hızının azalmasına paralel olarak toplumun yaşlı insan dilimi büyümektedir (122). Bu veriler Alzheimer hastalığının sayısının giderek artacağını ve bu hastalığın tedavisinin tüm toplumlar için önem kazanacağını göstermektedir. Alzheimer hastalığı halen ilaçla kökten tedavisi mümkün olmayan hastalıklar arasındadır. Bu bağlamda, bilimsel araştırma projelerine yönelik bütçelerin çoğu Alzheimer hastalığı ile ilişkili araştırmalar yönelmektedir (13).

Günümüzde Alzheimer hastalığının tedavisi için piyasada sadece birkaç çeşit terapötik ilaç bulunmaktadır. Kolinerjik transmisyonun eksikliği, Alzheimer hastalarında fonksiyonel ve bilişsel semptomların ifadesinde önemli rol oynamaktadır. İlaçların asıl farmakolojik etkisi kolinerjik nörotransmitter sistemin hipofonksiyonuna bağlı olarak oluşan bilişsel fonksiyonlardaki azalmanın düzeltilmesi şeklindedir. Bu yüzden tedavide amaç, ya reseptör agonistleri ile ya da asetilkolinesteraz inhibitörleri ile kolinerjik sistemin fonksiyonlarını arttırmaktır. Bu yaklaşımlar arasında asetilkolinesteraz inhibitörleri hastalığın semptomlarını azaltmada ve kolinerjik eksikliği iyileştirmede en etkili grup olarak gözükmektedir (36).

Çalışmamızda, asetilkolinesteraz enzimini inhibe ederek Alzheimer hastalığında etkili olabileceği düşünülen yeni bir grup katerner piridinyum türevi bileşiğin sentezlenmesi amaçlanmıştır. Katerner piridinyum yapısı bileşikler iyi düzeyde asetilkolinesteraz enzimi üzerinde inhibitör etki göstermesine rağmen, kan-beyin engelini yeterli düzeyde geçmemektedir. Bir çok ilaç molekülünde 1,4-dihidropiridin yapısının taşıyıcı grup olarak kullanıldığı bilinmektedir (94, 95, 116) Bu veriden hareketle, katerner piridinyum türevi bileşiklerimizin kan-beyin engelini kolayca geçmesi beklenen 1,4-dihidropiridin formu hazırlanmıştır.

Bileşiklerin sentezi üç basamakta gerçekleştirilmiştir. İlk basamakta 4-kloropiridin ile hidrazinyum hidroksit tepkimeye sokularak 4-hidrazinopiridin elde edilmiş ve 4-hidrazinopiridin yapısı 2- konumunda değişik sübstitüentler taşıyan çeşitli aldehitlerle kondansasyon tepkimesine sokulmuşlardır. Sonra sırasıyla 2,6-diklorobenzil klorür ve 3-fenilpropil bromür ile tepkimeye tabi tutularak katerner piridinyum yapılarına dönüştürülmüşlerdir. Katerner piridinyum türevi bileşikler, NaOH ile muamele edilerek 1,4-dihidropiridin yapısına dönüştürülmüştür.

Tez kapsamında final bileşikler olarak, farklı süstitüent taşıyan 6 adet katerner piridinyum türevi ve 6 adet 1,4-dihidropiridin türevi bileşik elde edilmiştir.

Sentezlenen final bileşikleri çeşitli saflaştırma yöntemleri ile saflaştırıldıktan sonra, UV, IR, ¹H NMR, ve Kütle spektroskopisi yöntemi ile yapıları doğrulanmıştır.

Sentezi gerçekleştirilen katerner yapıdaki iki türevin de Ellman testi ile asetilkolinesteraz enzimine karşı inhibitör etkileri test edilmiştir (30). Ellmann testi (30) ile takrin HCl'e kıyasla tayin edilmiştir. Takrin HCl IC₅₀ = 44 nm iken K2 bileşiği için IC₅₀ = 64.5 nM, K3 bileşiği için IC₅₀= 395.2 nM olarak tespit edilmiştir. Biyolojik açıdan aktif birçok bileşiğin biyoaktivitelerini yönlendiren fizikokimyasal parametrelerden biri olan log P değeri kan-beyin engelini geçmesi beklenen 1,4-dihidropiridin yapısındaki bileşiklerimiz için ChemDraw Ultra 9.0 programında hesaplanmıştır. Yapılan hesaplamalarda 1,4-dihidropiridin yapısındaki bileşiklerin log P değeri 4,78-6.08 aralığında bulunmuştur. Bu değerler 1,4-dihidropiridin yapısındaki maddelerimizin lipofilik özelliğe sahip olduğunu göstermektedir. 1,4-Dihidropiridin yapısının asit ortamda katerner yapıya dönüştüğünü tespit etmek amacıyla D2 kodlu bileşiğimiz örnek olarak seçilmiş ve dötoroasit içerisinde ¹H NMR spektrumu alınmıştır ve spektrum verileri tartışma bölümünde yorumlanmıştır. Elde edilen veriler, kan-beyin engelini geçebileceği düşünülen 1,4-dihidropiridin yapısındaki bileşiklerimizin beynin asit ortamında katerner yapıya dönüşebileceği hipotezini desteklemektedir

Elde edilen tüm hedef bileşikler, çalışmamızda ilk kez rapor edilmektedir. Daha önce literatürde kaydına rastlanmamıştır.

ÖZET

Bu çalışmada, asetilkolinesteraz enzimini inhibe ederek Alzheimer hastalığında etkili olabileceği düşünülen yeni bir grup katerner piridinyum türevi bileşiğin ve onların kan-beyin engelini geçebilen 1,4-dihidropiridin formunun sentezi ve yapı aydınlatma çalışmaları yapılmıştır.

Bileşiklerin sentezi üç basamakta gerçekleştirilmiştir. İlk basamakta 4-kloropiridin ile hidrazinyum hidroksit tepkimeye sokularak 4-hidrazinilpiridin elde edilmiş ve 4-hidrazinilpiridin yapısı 2- konumunda değişik süstitüentler taşıyan çeşitli aldehitlerle kondansasyon tepkimesine sokulmuşlardır. Sonra sırasıyla 2,6-diklorobenzil klorür ve 3-fenilpropil bromür ile tepkimeye sokularak katerner piridinyum yapılarına dönüştürülmüşlerdir. Ayrıca hedef bileşiklerin kan-beyin engelini geçebilen 1,4-dihidropiridin yapılarına dönüştürülme işlemi için sodyum hidroksit çözeltisi ile çalkanmışlardır.

Sentezlenen bileşiklerin yapıları spektroskopik yöntemler (UV, IR, ¹H NMR, ve Kütle) ile aydınlatılmıştır.

Sentezleri gerçekleştirilen bileşiklerden K2 ve K3 kodlu bileşiklerin asetilkolinesteraz enzim aktiviteleri araştırılmıştır.

Tez kapsamında sentezleri gerçekleştirilen katerner piridinyum ve 1,4-dihidropiridin türevi bileşikler literatürde kayıtlı olmayan bileşiklerdir. İlk kez bu çalışma ile rapor edilmektedirler.

SUMMARY

In this study, a novel group of quaternary pyridinium compounds and their 1,4-dihydropyridine forms which across the Blood Brain Barrier were synthesized and identified the structures. These compounds are considered to be effective for Alzheimer's Disease by inhibiting the acetylcholinesterase enzyme.

The target compounds were prepared by three-step synthesis. In the first step, 4-chloropyridine and hydrazinium hydroxide were reacted to obtain 4-hydrazinylpyridine and 4-hydrazinylpyridine was condensed with different aldehydes which have various substituents (2-hydroxy, 2-methyl, 2-methoxy) on phenyl ring. Then the target compounds were synthesized by the quaternization of the pyridine nitrogen with 2,6-dichlorobenzyl chloride or 3-phenylpropyl bromide. After they convert to their 1,4-dihydropyridine forms by treating with sodium hydroxide solution.

The structures of all synthesized compounds were analysed with spectroscopic methods(UV, IR, ^1H NMR, MS).

Among the synthesized compounds, K2 and K3 coded compounds were selected and their acetylcholinesterase enzyme activities have been examined.

The quaternary and 1,4-dihydropyridine compounds obtained in this thesis have been reported for the first time.

YARARLANILAN KAYNAKLAR

1. Alonso, D., Dorronsoro, I., Rubio, L., (2005). Donapezil-Tacrine Hybrid Related Derivatives as New Dual Binding Site Inhibitors of AChE, *Bioorg. Med. Chem.*, **13**: 6588-6597
2. Alptuzun, V., Kapkova, P., Baumann, K., Erciyas, E., Holzgrabe, U., (2003). Synthesis and Biological Activity of Pyridinium-Type Acetylcholinesterase Inhibitors, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **55**: 1397-1404
3. Amaducci, L., Falcini, M., Lippi, A., (1992). Descriptive Epidemiology and Risk Factors for Alzheimer's Disease, *Acta. Neurol. Scand.*, **139**: 21-25
4. Antunes, F., Barclay, L., Ingold, K., King, M., Norris, J., Scaiano, J., Xi, F., (1999). On the Antioxidant Activity of Melatonin, *Free Radical Biol. Med.*, **26**: 117-128
5. Bachurin, S. O., (2002). Medicinal Chemistry Approaches for the Treatment and Prevention of Alzheimer's Disease, *Medicinal Research Reviews*, **23(1)**: 48-88
6. Barril, X., Kalko, S. G., Orozco, M., Luque, F. J., (2002). Rational Design of Reversible Acetylcholinesterase Inhibitors, *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, **2**: 27-36

7. Bartolini, M., Bertucci, C., Cavrini, V., Andrisano, V., (2003). B-Amyloid Aggregation Induces by Human Acetylcholinesterase: Inhibition Studies, *Biochem. Pharmacol.*, **65**: 407-416
8. Bartolucci, C., Perola, E., Pilger, C. H., Fels, G., Lamba, D., (2001). Three-Dimensional Structure of a Complex of Galantamine (Nicaline®) with Acetylcholinesterase from *Torpedo Californica*: Implications for the Design of New Anti-Alzheimer Drugs, *Proteins Struct. Funct. Genet.*, **42**: 182-191
9. Bolognesi, M. I., Bixel M. G., Marucci, G., (2002). Structure-Activity Relationships of Methoctramine-Related Polyamines as Muscular Nicotinic Receptor Noncompetitive Antogonists. 3.1 Effect of Inserting the Tetraamine Backbone into a Macrocyclic Structure, *J. Med. Chem.*, **45**: 3286-3295
10. Bolognesi, M. L., Andrisano, V., Bartolini, M., Banzi, R., Melchiorre, C., (2005). Propidium-Based Polyamine Ligands as Potent Inhibitors of Acetylcholinesterase and Acetylcholinesterase-Induced Amyloid- β -Aggregation, *J. Med. Chem.*, **48**: 24-27
11. Bourne, Y., Kolb, H. C., Radic, Z., Sharpless, K. B., Taylor, P., Marchot, P., (2004). Freeze-Frame Inhibitor Captures Acetylcholinesterase in a Unique Conformation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**: 1449-1454
12. Bourney, Y., Taylor, P., Bougis, P. E., Marchot, P., (1999). A Peripheral Site-Occluding Loop in a Tetrameric Assembly, *J. Biol. Chem.*, **274**(5): 2963-2970
13. Brookmeyer, R., Gray, S., Kawas, C., (1998). Projections of Alzheimer's Disease in the United States and the Public Health Impact of Delaying Disease Onset, *Am. J. Public Health*, **88**: 1337-1342
14. Brufani, M., Filocamo, L., Lappa, S., Magg, A., (1997). *Drugs Future*, **22**: 397

15. Brufani, M., Filocamo, L., Lappa, S., Maggi, A., (1997). New Acetylcholinesterase Inhibitors, *Drug. Fut.*, **22**: 379-410
16. Bush, A. I., Pettingel, W. H., Multhaup, G., (1994a). Rapid Induction of Alzheimer A Beta Amyloid Formation by Zinc, *Science*, **265**: 1464-1467
17. Campiani, G., Fattorusso, C., Butini, S., (2005). Development of Molecular Probes of the Identification of Extra Interaction Sites in the Mid-Gorge and Peripheral Sites of Butyrylcholinesterase (BuChE), Rational Design of Novel, Selective and Highly Potent BuChE Inhibitors, *J. Med. Chem.*, **48**: 1919-1929
18. Camps, P., Formosa, X., Munoz-Torrero, D., Petriguet, J., Badia, A., Clos, M. V., (2005). Synthesis and Pharmacological Evaluation of Huprine-Tacrine Heterodimers: Subnanomolar Dual Binding Site Acetylcholinesterase Inhibitors, *J. Med. Chem.*, **48**: 1701-1704
19. Canudas, A. M., Pubill, D., Sureda, F. X., (2003). Neuroprotective Effects of (\pm)-Huprine Y on In Vitro and In Vivo Models of Exitoxicity Damage, *Exp. Neurol.* **180**: 123-130
20. Carlier, P. R., Chow, ES-H., Han, Y. F., Liu, J., Yazal, J. E., Pang, Y. P., (1999). Heterodimeric Tacrine-Based Acetylcholinesterase Inhibitors: Investigating Ligand-Peripheral Site Interactions, *J. Med. Chem.*, **42**: 4225-4231
21. Carlier, P. R., Du, D-M., Han, Y., Liu, J., Pang, Y-P., (1999). Potent, Easily Synthesized Huperzine A-Tacrine Hybrid Acetylcholinesterase Inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **9**: 2335-2338
22. Clark, R., (2005). Genel Bakış –Alzheimer Hastalığı, Best Medicine Alzheimer Hastalığı Ed.: Kassianos, G., Benbow CSF Medikal Communications Ltd Çeviri Edi: Dursun, A., 1-13

23. Crismon, M. L., (1994). Takcrine: First Drug Approved for Alzheimer' Disease, *Ann. Pharmacotherapy*, **28**: 744-751
24. Cutler, N. R., Polinsky, R. J., Sramek, J. J., (1998). Dose Dependent CFS Acetylcholinesterase Inhibition by SDZ ENA 713 in Alzheimer's Disease, *Acta. Neurol. Scand.*, **97**: 244-250
25. Doerfler, P., Shearman, M. S., Perlmutter, R. M., (2001). Presenilin-Dependent γ -Secretase Activity Modulates Thymocyte Development, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**: 9312-9317
26. Doll, R., Peto, R., Boreham, J., Sutherland, I., (2000). Smoking and Dementia in Male British Doctors: Prospective Study, *BMJ*, **320(7242)**: 1097-1102
27. Douglas, A. W., Fisher, M. H., Fishinger, J. J., Gund, P., Harris, E. E., Olson, G. Patchett, A. A., Ruyle, W. V., (1977). Anticoccidial 1-Substituted 4(1H)-Pyridinone Hyrdazones, *Journal of Medicinal Chemistry*, **20**: 7
28. Dvir, H., Wong, D. M., Harel, M., (2002). 3D Structure of Torpedo Californica Acetylcholinesterase Complexed with Huprine X at 2.1 Å Resolution: Kinetic and Molecular Dynamic Correlates, *Biochemistry*, **41**: 2970-2981
29. Eisner, Ulli., Kuthan, J., (1972). The Chemistry of Dihydropyridines, *Chemical Reviews*, **72**: 1
30. Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, B. J., Featherstone, R. M., (1961). A New and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity, *Biochem. Pharmacol.*, **7**: 88-95
31. Enz, A., Amstutz, R., Boddeke, H., Gmelin, G., Malanowski, J., (1993). Brain Selective Inhibition Acetylcholinesterase: A Novel Approach to Therapy for Alzheimer's Disease, *Prog. Brain Res.*, **98**: 431-438

32. Fassbender, K., Simons, M., Bergmann, C., (2001). Simvastatin Strongly Reduces Levels of Alzheimer's Disease β -Amyloid Peptides A β 42 and A β 40 In Vitro and In Vivo, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**: 5856-5861
33. Feng, S., Wang, Z., He, X., (2005). Bis-Huperzine B: Highly Potent and Selective Acetylcholinesterase Inhibitors, *J. Med. Chem.*, **48**: 655-657
34. Findies, M. A., (2002). Peptide Inhibitors of β -Amyloid Aggregation, *Curr. Top. Med. Chem.*, **2**: 417-423
35. Flaten, T. P., (2001). Aluminium as a Risk Factor in Alzheimer's Disease, with Emphasis on Drinking Water, *Brain Res. Bull.*, **55**: 187-196
36. Forette, F., Boller, F., (1999). Trends in Alzheimer's Disease Treatment and Prevention, Iqbal, K., Swaab, D. F., Winblad, B., Wisniewski, H. M., Editors, Alzheimer Disease and Related Disorders, Chichester: *J. Wiley & Sons. Ltd.*, 623-631
37. Ganguli, M., Dodge, H. H., Chen, P., Belle, S., DeKosky S. T., (2000). Ten-year Incidence of Dementia in a Rural Elderly US Community Population: The Movies Project, *Neurology*, **54(5)**: 1109-1116
38. Gazi Tıp Dergisi 2:53-59, 1991 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Anabilim Dalı Dr. Sami Eren
39. Giacobini, (2004). Cholinesterase Inhibitors: New Roles and Therapeutic Alternatives, *Pharmacol. Res.*, **50**: 433-440
40. Glish, A. K., Shin, D., Downs, D., (2000). Design of Potent Inhibitors for Human Brain Memapsin 2 (β -Secretase), *J. Am. Chem. Soc.*, **122**: 3522-3523
41. Glish, A. K., Shin, D., Downs, D., (2001). Structure-Based Design: Potent Inhibitors of Human Brain Memapsin 2 (β -Secretase), *J. Am. Med. Chem.*, **44**: 2865-2868

42. Gregor, V. E., Emmerling, M. R., Lee, C. H., Moore, C. J., (1992). The Synthesis and In Vitro Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Inhibitory Activity of Tacrine (Cognex®) Derivatives, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2**: 861-864
43. Greig, N. H., Lahiri, D. K., Sambamurti, K., Butyrylcholinesterase: An Important New Target in Alzheimer's Disease Therapy, *Int. Psychogeriatr.*, **14**: 77-91
44. Greig, N. H., Pei, X. F., Soncrant, T. F., Ingram, D. K., Brossi, A., (1995). Phenserine and Ring-C Heteroanalogues: Drug Candidates for Treatment of Alzheimer's Disease, *Med. Chem. Rev.*, **15**: 3-31
45. Guillou, C., Mary, A., Renko, D. Z., Gras, E., Thal, C., (2000). Potent Acetylcholinesterase Inhibitors: Design, Synthesis and Structure-Activity Relationships of Alkylene Linked Bis-Galantamine and Galantamine-Galantaminium Salts, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **10**: 637-639
46. Gutzman, H., Hadler, D., (1998). Sustained Efficacy and Safety of Idebenone in the Treatment of Alzheimer's Disease: Update on a 2-year Double-Blind Multicentre Study, *J. Neural. Transm. Suppl.*, **54**: 301-310
47. Handland, B. K., Menley, N. R., Su, D., (2001). γ -Secretase Inhibitors Repress Thymocyte Development, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**: 7487-7491
48. Harel, M., Schalk, I., Ehret-Sabatier, L., (1993). Quaternary Ligand Binding to Aromatic Residues in the Active-Site Gorge of Acetylcholinesterase, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**: 9031-9035
49. Helmuth, L., (2002). New Alzheimer Treatments That May Ease the Mind, *Science*, **297**: 1260-1263
50. Hesse, M., Meier, H., Zeeh, B., (1997). Spectroscopic Methods in Organic Chemistry, Enders, D., Noyori, R., Trost, B. M., (Series Ed.), New York: Georg Thieme Verlag Stuttgart

51. Hofman, A., Schulte, W., Tanja, T. A., (1989). History of Dementia and Parkinson's Disease in 1st-degree Relatives of Patients with Alzheimer's Disease, *Neurology*, **39**: 1589-1592
52. Holzgrabe, U., Kapkova, P., Alptüzün, V., Scheiber, J., Kugelmann, E., (2007). Targeting Acetylcholinesterase to Treat Neurodegeneration, *Expert Opin. Ther. Targets*, **11(2)**: 161-179
53. Hong, L., Koelsch, G., Lin, X., (2000). Structure of the Protease Domain of Mamapsin 2 (β -Scretase) Complexed with Inhibitor, *Science*, **290**: 150-153
54. Hu, M-K., Wu, L-J., Hsiao, G., Yen, M-H., (2002). Homodimeric Tacrine Congeners as Acetylcholinesterase Inhibitors, *J. Med. Chem.*, **45**: 2277-2282
55. Hull, M., Fiebich, B. L., Schumann, G., Lieb, K., Bauer, J., (1999). Anti-Inflammatory Substances: A New Therapeutic Option in Alzheimer's Disease, *Drug Discov. Today*, **4**: 275-282
56. İçelli, İ., (2001). Demans ve Komorbid Durumları, *Psikiyatri Dünyası.*, **5**: 49-54
57. Kapkova, P., Alptüzün, V., Frey, P., Erciyas, E., Holzgrabe, U., (2006). Search for Dual Function Inhibitors for Alzheimer's Disease: Synthesis and Biological Activity of Acetylcholinesterase Inhibitors of Pyridinium-Type and Their A β Fibril Formation Inhibition Capacity, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **14**: 472-478
58. Kapkova, P., Stiefl, N., Sürig, U., Engels, B., Baumann, K., Holzgrabe, U., (2003). Synthesis and Biological Activity and Docking Studies of New Acetylcholinesterase Inhibitors of the Bispyridinium Type, *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.*, **336**: 523-540

- 59.** Kawas, C. H., (1997). Epidemiology of Alzheimer's Disease: Dementia Update, American Academy of Neurology 49th Annual Meeting April 12-19, 1997 Boston, MA:1997, *American Academy of Neurology Press. USA*, 23-28
- 60.** Kawas, C., Gray, S., Brookmeyer, Fozard, J., Zonderman, A., (2000). Age Specific Incidence Rates of Alzheimer's Disease: The Baltimore Longitudinal Study, *Neurology*, **54**: 2072-2077
- 61.** Kemper, P., Murtaugh, C. M., (1991). Lifetime Use of Nursing Home Care, *England Journal of Medicine*, **324**: 595-600
- 62.** Kivipelto, M., Helkala E. L., Laakso M. P., (2001). Midlife Vascular Risk Factors and Alzheimer's Disease in Later Life: Longitudinal, Population Based Study, *BMJ*, **322(7300)**: 1447-1451
- 63.** Koenigs, E., Weiss, W., Zscharn, A., (1926). γ -Pyridyl-Hydrazin, *Berichte*, **59**: 316
- 64.** Krasinski, A., Radic, Z., Manetsch, R., (2005). In Situ Selection of Lead Compounds by Click Chemistry: Target-Guided Optimization of Acetylcholinesterase Inhibitors, *J. Am. Chem. Soc.* **127**: 6686-6692
- 65.** Kryger, G., Silman, I., Sussman, J. L., (1999). AChE-E2020 Complex Structure, *Structure*, **7**: 297-307
- 66.** Kuner, P., Bohrmann, B., Tjenberg, L. O., Naslund, J., Huber, G., Celenk, S., Gruninger-Leitch, F., Richards, J. G., Jakob-Roetne, R., Kemp, J. A., Nordtstedt, C., (2000). Controlling Polymerization of Beta-Amyloid and Prion-Derived Peptides with Synthetic Small Molecule Ligands, *J. Biol. Chem.*, **275**: 1673-1678
- 67.** Lai, F., Williams, R. S., (1989). A Prospective Study of Alzheimer Disease in Down Syndrome, *Arch Neurol*, **46**: 849-853

68. Le Bars, P. L., Katz, M. M., Berman, N., (1997). Placebo-Controlled, Double-Blind Randomized Trial of an Extract of Ginkgo Bilobafor Dementia, *JAMA*, **278**: 1327-1332
69. Lehr, U., (1994). Yaşlanmanın Psikolojisi, *İstanbul Bilimsel ve Teknik Yayınları Çeviri Vakfı*, 47
70. Li, W., Pi, R., Chan, H. H. N., Fu, H., Lee, N. T. K., (2005). Novel Dimeric Acetylcholinesterase Inhibitors Bis(7)-Tacrine, but not Donapezil, Prevents Glutamate-Induced Neuronal Apoptosis by Blocking N-methyl-D-aspartate Receptors, *J. Biol. Chem.*, **280**: 18179-18188
71. Li, Y. M., Lai, M. T., Xu, M., (2000). Presenilin-1 is Linked with γ -Secretase Activity in the Detergent Solubilized State, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**: 6138-6143
72. Lilienfeld, S., Prays, W., (2000). Galantamine: Additional Benefits to Patients with Alzheimer's Disease, *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.*, **11**: 19-27
73. Lim, G. P., Yang, F., Chu, T., Chen, P., Beech, W., Teter, B., Tran, T., Ubeda, O., Ashe, K. H., Frautschy, S. A., Cole, G. M., (2000). Ibuprofen Suppresses Plaque Pathology and Inflammation in a Mouse Model for Alzheimer's Disease, *J. Neurosci.*, **20**: 5709-5714
74. Liston, D. R., Nielsen, J. A., Villalobos, A., Chapin, D., Jones, S. B., (2004). Pharmacology of Selective Acetylcholinesterase Inhibitors: Implications for Use in Alzheimer's Disease, *Eur. J. Pharmacol.*, **486**: 9-17
75. Liu, Y., Dilger, J. P., (1993). Decamethonium is a Partial Agonist at the Nicotinic Acetylcholine Receptor, *Synapse*, **13**: 57-62
76. Marco-Contelles, J., Leon, R., Rios, C., Guglietta, A., Terencio, J., Lopez, M. G., Garcia, A. G., Villarroya, M., (2006). Novel Multipotent Tacrie-Dihydropyridine

- Hybrids with Improved Acetylcholinesterase Inhibitory and Neuroprotective Activities as Potential Drugs for the Treatment of Alzheimer's Disease, *J. Med. Chem.*, **49**: 7607-7610
- 77.** Mary, A., Renko, D. Z., Guillou, C., Thal, C., (1998). Potent Acetylcholinesterase Inhibitors: Design, Synthesis and Structure-Activity Relationships of Bis-Interacting Ligands in the Galantamine Series, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **6**: 835-1850
- 78.** McGeer, P. L., Schulzer, M., McGeer, E. G., (1997). Arthritis and Antiinflammatory Agents as Possible Protective Factors for Alzheimer's Disease: A Review of 17 Epidemiologic Studies, *Neurology*, **47**: 425-443
- 79.** McGleenon, M., Dynan, K. B., Passmore, A. P., (1999). Acetylcholinesterase Inhibitors in Alzheimer's Disease, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **48**: 471-480
- 80.** Mendez, M. F., Underwood, K. L., Zander, B. A., (1992). Risk Factors in Alzheimer's Disease: A Clinocopathologic Study, *Neurology*, **42**: 770-775
- 81.** Mesulam, M., (2004). Davranışsal ve Kognitif Nörolojinin İlkeleri, Çeviri Editörü I.Hakan Gürvit, Oxford University Press., Inc. Yelkovan Yayıncılık
- 82.** Miech, R. A., Breitner, J. C. S., Zandi, P. P., Khachaturian, A. S., Anthony, J. C., Mayer, L., (2002). Incidence of AD May Decline in the Early 90s for Men, Later for Women: The Cache County Study, *Neurology*, **58(2)**: 209-218
- 83.** Misson, J., Kendall, M. J., (1997). Therapeutic Advances: Donapezil for the Treatment of Alzheimer's Disease, *J. Clin. Pharm. Ther.*, **22**: 251-255
- 84.** Munoz-Ruiz, P., Rubio, L., Palomero, E. G., (2005). Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Dual Binding Site Acetylcholinesterase Inhibitors: New Disease-Modifying Agents for Alzheimer's Disease, *J. Med. Chem.*, **48**: 7223-7233

- 85.** Munoz-Torrero, D., Camps, P., (2006). Dimeric and Hybrid Anti-Alzheimer Drug Candidates, *Curr. Med. Chem.*, **13**: 399-422
- 86.** Murayama, H., Shin, R. W., Higuchi, J., (1999). Interaction of Aluminium with PHFtau in Alzheimer's Disease Neurofibrillary Degeneration Evidenced by Desferrioxamine-Assisted Chelating Autoclave Method, *Am. J. Pathol.*, **155**: 877-885
- 87.** Nordberg, A., (2006). Mechanisms Behind the Neuroprotective Actions of Cholinesterase in Alzheimer's Disease, *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.*, **20(1)**: S12-S18
- 88.** Oyama, Y., Chikahisa, L., Ueha, T., (1996). Ginkgo Biloba Extract Protects Brain Neurons Against Oxidative Stress Induced by Hydrogen Peroxide, *Brain Res.*, **712**: 349-352
- 89.** Pang, Y. P., Quiram, P., Jelacic, T., Hong, F., Brimijoin, S., (1996). Highly Potent, Selective, and Low Cost Bis-Tetrahydroaminoacrine Inhibitors of Acetylcholinesterase: Steps Toward Novel Drugs for Treating Alzheimer's Disease, *J. Biol. Chem.*, **271**: 23646-2649
- 90.** Pantoni, L., Carosi, M., Amigoni, S., Mascalchi, M., Inzitari, D., (1996). A Preliminary Open Trial With Nimodipine in Patients With Cognitive Impairment and Leukoaraiosis, *Clin. Neuropharmacol.*, **19**: 497-506
- 91.** Pappolla, M. A., Chyan, Y. J., Poeggeler, B., (2000). An Assessment of the Antioxidant and Anti-amyloidogenic Properties of Melatonin, Implications for Alzheimer's Disease, *J. Neural. Transm.*, **107**: 203-231
- 92.** Pike, C. J., Burdick, D., Walencewicz, A. J., (1993). Neurodegeneration Induced by β -Amyloid Peptides In Vitro: The Role of Peptide Assembly State, *J. Neurosci.*, **13**: 1676-1687

93. Pilger, C., Bartollucci, C., Lamba, D., Tropsha, A., Fels, G. J., (2001). Accurate Prediction of the Bound Confirmation of Galantamine in the Active Site of Torpedo Californica Acetylcholinesterase Using Molecular Docking, *J. Mol. Graphics Model*, **19**: 288-296
94. Pop, E., Prokai-Tatrai, K., Scott, J. D., Brewster, M. E., Bodor, N., (1990). Application of a Brain-Targeting Chemical Delivery System to 9-Amino-1,2,3,4-Tetrahydroacridine, *Pharmaceutical Research*, **7**: 6
95. Prokai, L., Prokai-Tatrai, K., Bodor, N., (2000). Targeting Drugs to the Brain by Redox Chemical Delivery Systems, *Med. Res. Rev.* **20(5)**: 367-416
96. Recanatini, M., Cavalli, A., Belluti, F., Piazzini, L., Rampa, A., Bisi, A., (2000). SAR of 9-amino-1,2,3,4-tetrahydroacridine-Based Acetylcholinesterase Inhibitors: Synthesis, Enzyme Inhibitory Activity, QSAR and Structure-Based CoMFA of Tacrine Analogues, *J. Med. Chem.*, **43**: 2007-2018
97. Rees, T., Hammond, P. I., Soreq, H., Younkin, S., Brimijoin, S., (2003). Acetylcholinesterase Promotes β -Amyloid Plaques in Cerebral Cortex, *Neurobiol. Aging*, **24**: 777-787
98. Refolo, L. M., Pappolla, M. A., Malester, B., LaFrancois, J., Bryant-Thomas, T., Wang, R., Tint, G. S., Sambamurti, K., Duff, K., (2000). Hypercholesterolemia Accelerates the Alzheimer's Amyloid Pathology in a Transgenic Mouse Model, *Neurobiol. Dis.*, **7**: 321-331
99. Relkin, N. R., (1997). The Clinical Utility of Apolipoprotein E Genotyping in Neurological Practice: Dementia Update, American Academy of Neurology 49th Annual Meeting, April 1997 Boston, MA: 1997, *American Academy of Neurology Pres. USA*, 63-75

- 100.** Reyes, F. J., Vargas, R., Kumar, D., Cullen, I. E., Perdona, C., Pratt, R. D., (2004). Stead-State Pharmacokinetics, Pharmacodynamics and Tolerability of Donapezil Hydrochloride in Hepatically Impaired Patients with, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **58**: 9-17
- 101.** Riggs, J. E., (1993). Smooking and Alzheimer's Disease: Protective Efect or Differential Survival Bias?, *Lancet*, **342**: 793-794
- 102.** Rodriquez-Franco, M. I., Fernandez-Bachiller, M. I., Perez, C., Hernandez-Ledesma, B., Bartolome, B., (2006). Novel Tacrine-Melatonin Hybrids as Dual-Acting Drugs for Alzheimer's Disease, with Improved Acetylcholinesterase Inhibitory and Antioxidant Properties, *J. Med. Chem.*, **49**: 459-462
- 103.** Rogers, J., Kirby, L. C., Hempelman, S. R., (1993). Clinical Trials of Indomethacine in Alzheimer's Disease, *Neurology*, **43**: 1609-1611
- 104.** Ronald, J., Polinsky, M. D., (1998). Clinical Pharmacology of Rivastigmin: A New-Generation Acetylcholinesterase Inhibitor for the Treatment, *Clin. Ther.*, **20**: 634-647
- 105.** Rosini, M., Andrisano, V., Bartolini, M., (2005). Rational Approach to Discover Multipotent Anti-Alzheimer Drugs, *J. Med. Chem.*, **48**: 360-363
- 106.** Rosini, M., Bixel, M. G., Marucci, G., (2002). Structure-Activity Relationships of Methoctramine-Related Polyamines as Muscular Nicotinic Receptor Noncompetitive Antogonists. 2.1 Role of Polymethylene Chain Lengths Separating Amine Functions and of Substituents on the Terminal Nitrogen Atoms, *J. Med. Chem.*, **45**: 1860-1878
- 107.** Rupprecht, R., Holsboer, F., (1999). Neuroactive Steroids: Mechanism of Action and Neuropsychopharmacological Perspectives, *TINS*, **22**: 410-416

- 108.** Rydberg, E. H., Bruhamshtein, B., Greenblatt, H. M., (2006). Complexes of Alkylene-Linked Tacrine Dimmers with Torpedo Californica Acetylcholinesterase: Binding of Bis(5)-Tacrine Produces a Dramatic Rearrangement in the Active-Site Gorge, *J. Med. Chem.*, **49**: 5491-5500
- 109.** Sadashiva, C. T., Chandra, J. N. N. S., Ponnappa, K. C., Gowda, T. V., Rangappa, K. S., (2006). Synthesis and Efficacy of 1-[Bis(4-fluorophenyl)-methyl]piperazine Derivatives for Acetylcholinesterase Inhibition, as a Stimulant of Central Cholinergic Neurotransmission in Alzheimer's Disease, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **16**: 3932-3936
- 110.** Sano, M., (1997). Update on Treatment of Cognitive Symptoms in Dementia: Dementia Update, American Academy of Neurology 49th Annual Meeting, April 12-19, 1997 Boston, MA: 1997, *American Academy of Neurology Press., USA*, 107-115
- 111.** Santos, M. D., Alkondon, M., Pereira, E. F., Aracava, Y., Eisenberg, H. M., (2002). The Nicotinic Allosteric Potentiating Ligand Galantamine Facilitates Synaptic Transmission in the Mammalian Central Nervous System, *Mol. Pharmacol.*, **61**: 1222-1234
- 112.** Savini, L., Gaeta, A., Fattorusso, C., (2003). Specific Targeting of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Recognition Site, Rational Design of Novel, Selective and Highly Potent Cholinesterase Inhibitors, *J. Med. Chem.*, **46**: 1-4
- 113.** Seiffert, D., Bardley, J. D., Romingen, C. M., (2000). Presenilin-1 and -2 are Molecular Targets for γ -Secretase Inhibitors, *J. Biol. Chem.*, **275**: 34086-34091

- 114.** Shao, D., Zou, C. H., Luo, C. H., Tang, X., Li, Y., (2004). Synthesis and Evaluation of Tacrine-E2020 Hybrids as Acetylcholinesterase Inhibitors for the Treatment of Alzheimer's Disease, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **14**: 4639-4642
- 115.** Shaw, K. T. Y., Utsuki, T., Rogers, J., (2001). Phenserine Regulates Translation of β -Amyloid Precursor Protein mRNA by a Putative Interleukin-1 Responsive Element, A Target for Drug Development, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**: 7605-7610
- 116.** Shek, E., Higuchi, T., Bodor, N., (1976). Improved Delivery Through Biological Membranes: 2. Distribution, Excretion and Metabolism of *N*-Methyl-1,6-Dihydropyridine-2-Carbaldoxime Hydrochloride, a Pro-Drug of *N*-Methylpyridinium-2-Carbaldoxime Chloride, *Journal of Medicinal Chemistry*, **19**: 1
- 117.** Silverstein, R. M., Bassler, G. C., Morrill, T. C., (1974). Spectroscopic Identification of Organic Compounds, 3rd Ed., Newyork: John Wiley and Sons Inc.
- 118.** Sippl, W., Contreras, J. M., Rival, Y., Wermuth, C. G., (2001). Structur-Based 3D QSAR and Design of Novel Acetylcholinesterase Inhibitors, *Rational Approaches to Drug Design*, 56-64
- 119.** Soto, C., Sigurdsson, E. M., Morelli, L., Kumar, R. A., Castano, E. M., Frangione, B., (1998). B-Sheek Breaker Peptides Inhibit Fibrilogenesis in a Rat Brain Model of Amyloidosis: Implication to Alzheimer's Therapy, *Nature Med.*, **4**: 822-826
- 120.** Stella, V. J., Himmelstein, K. J., (1980). Prodrugs and Site-Specific Drug Delivery, *Journal of Medicinal Chemistry*, **23**: 1275

121. Sternfeld, M., Shoham, S., Klein, O., (2000). Excess "Read-Through" Acetylcholinesterase Attenuates But the "Synaptic" Variant Intensifies Neurodeterioration Correlates, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**: 8647-8652
122. Sugimoto, H., Ogura, H., Arai, Y., Iimura, Y., Yamanishi, Y., (2002). Research and Development of Donapezil Hydrochloride, A New Type of Acetylcholinesterase Inhibitor: New Drug and Recent Technique Review, *Jpn. J. Pharmacol.*, **89**: 7-20
123. Suh, Y., Checler, F., (2002). Amyloid Precursor Protein, Presenilin, and α -synuclein: Molecular Pathogenesis and Pharmacological Applications in Alzheimer's Disease, *Pharmacol. Rev.*, **54**: 469-525
124. Sujuan, G., Hugh, C., Hendrie, M. B., Kathleen, S. H., Siu H., (1998). The Relationships Between Age, Sex, and the Incidence of Dementia and Alzheimer Disease, *Arch. Gen. Psychiatry*, **55**: 809-815
125. Sussman, J. L., Harel, M., Frolow, F., (1991). Atomic Structure of Acetylcholinesterase from *Torpedo Californica*: A Prototypic Acetylcholine-Binding Protein, *Science*, **253**: 872-879
126. Tang, X. C., He, X. C., Bai, D. L., (1999). Huperzine A: A Novel Acetylcholinesterase Inhibitor, *Drugs Fut.*, **24**: 647-663
127. Teri, L., Hughes, J. P., Lerson, E. B., (1990). Cognitive Deterioration in Alzheimer's Disease: Behavioral and Health Factors, *Journal of Gerontology*, **45**: 58-63
128. Thal, L. J., (1998). Clinical and Preclinical Information of Anti-Oxidants: Idebenone & Vitamin E, *Neurobiol. Aging*, **19(Supp14S)**: 20

- 129.** Tjenberg, L. O., Naslund, J., Lindqvist, F., Johansson, J., Karlstrom, A. R., Thyberg, J., Terenius, L., Nordstedt, C., (1996). Arrest of Beta-Amyloid Fibril Formation by a Pentapeptide Ligand, *J. Biol. Chem.*, **271**: 8545-8548
- 130.** Tumiatti, V., Rosini, M., Bartolini, M., (2003). Structure Activity Relationships of Acetylcholinesterase Noncovalent Inhibitors based on a Polyamine Backbone. 2. Role of the Substituents on the Phenyl Ring and Nitrogen Atoms of Caproctamine, *J. Med. Chem.*, **46**: 954-966
- 131.** Tyas, S. L., (2001). Alcohol Use and Risk of Developing Alzheimer's Disease, *Alcohol Res. Health.*, **25(4)**: 299-306
- 132.** Utsuki, T., Yu, Q. S., Davidson, D., (2006). Identification of Novel Small Molecule Inhibitors of Amyloid Precursor Protein Synthesis as a Route to Lower Alzheimer's Disease Amyloid- β Peptide, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **318**: 855-862
- 133.** Van Duijn, C. M., Stijnen, T., Hofman, A., (1991). Risk Factors for Alzheimer's Disease: Overview of the EURODEM Collaborative Re-Analysis of Case-Control Studies, *International Journal of Epidemiology*, **20**: S4-S12
- 134.** Venneri, A., McGeown, J. W., Shank, M. F., (2005). Empirical Evidence of Neuroprotection by Dual Cholinesterase Inhibition in Alzheimer's Disease, *Neuroreport.*, **16**: 107-110
- 135.** Wang, R., Zhou, J., Tang, X. C., (2002). Tacrine Attenuates Hydrogen Peroxide-Induced Apoptosis by Regulating Expression of Apoptosis-Related Genes in Rat PCI12 Cells, *Mol. Brain. Res.*, **107**: 1-8
- 136.** Weggen, S., Eriksen, J. L., Das, P., Sagi, S. A., Wang, R., Pietrizk, C. U., Findlay, K. A., Smith, T. E., Murphy, M. P., Bulter, T., Kang, D. E., Marquez-Sterling, N., Golde, T. E., Koo, E. H., (2001). A Subset of NSAIDs Lower

- Amyloidogenic Abeta42 Independently of Cyclooxygenase Activity, *Nature*, **414**: 212-216
- 137.** Wilkinson, D. G., Passmore, A. P., Bullock, R., Hopker, S. W., (2002). A Multinational, Randomized, 12-Week, Comparative Study of Donapezil and Rivastigmin in Patients with Mild to Moderate Alzheimer's Disease, *Int. J. Clin. Pract.*, **56**: 441-446
- 138.** Wlodek, S. T., Antosiewicz, J., McCammon, J. A., (1996). Binding of Tacrine and 6-chlorotacrine by Acetylcholinesterase, *Biopolymers*, **38**: 109-117
- 139.** Wolfe, M. S., (2001). Secretase Targets for Alzheimer's Disease, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **11**: 859-866
- 140.** Wolfe, M. S., (2002). Therapeutic Strategies for Alzheimer's Disease, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **11**: 859-866
- 141.** Wolozin, B., Kellman, W., Rousseau, P., (2000). Decrease Prevalence of Alzheimer's Disease Associated with 3-hydroxy-3-methylglutaryl Coenzyme A Reductase Inhibitors, *Arch. Neurol.*, **57**: 1439-1443
- 142.** Wong, D. M., Greenblatt, H. M., Dvir, H., (2003). Acetylcholinesterase Complexed with Bivalent Ligands Related to Huperzin A: Experimental Evidence for Species-Dependent Protein-Ligand Complementarity, *J. Am. Chem. Soc.*, **125**(2): 363-373
- 143.** Wu, D. C., Xiao, X. Q., Ng, A. K., (2000). Protection Against Ischemic Injury in Primary Cultured Mouse Astrocytes by Bis(7)-Tacrine, A Novel Acetylcholinesterase Inhibitor, *Neurosci. Lett.*, **288**: 95-98
- 144.** Zangara, A., (2003). The Psychopharmacology of Huperzine A: An Alkolloid with Cognitive Enhancing and Neuroprotective Properties of Interest in the Treatment of Alzheimer's Disease, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **75**: 675-686

- 145.** Zhao, Q., Tang, X. C., (2002). Effects of Huperzine A on Acetylcholinesterase Isoforms In Vitro: Comparison with Tacrine, Donapezil, Rivastigmin, and Physostigmin, *Eur. J. Pharmacol.*, **455**: 101-107

ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Adana'da doğdum. İlköğrenimimi Kayseri Sumer İlkokulunda, orta ve lise öğrenimimi Kayseri Nuh Mehmet Küçükçalık Anadolu Lisesinde tamamladım. 1999 yılında başladığım Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden 2003 Haziran ayında mezun oldum. 2004 yılı Eylül ayında Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans programına kayıtlı oldum. 2004 yılı Aralık ayında Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi kadrosuna atandım. Halen Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım.