T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

ASETİLKOLİNESTERAZ ENZİM İNHİBİTÖR ETKİLİ HETEROSİKLİK BİLEŞİKLERİN SENTEZİ VE YAPI AKTİVİTE İLİŞKİLERİ İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR

ÖMER FARUK ÇÖL

FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

ARALIK 2019


GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Gazi
1926

ASETİLKOLİNESTERAZ ENZİM İNHİBİTÖR ETKİLİ HETEROSİKLİK BİLEŞİKLERİN SENTEZİ VE YAPI AKTİVİTE İLİŞKİLERİ İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR

Ömer Faruk ÇÖL

DOKTORA TEZİ
FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ARALIK 2019

Ömer Faruk ÇÖL tarafından hazırlanan "Asetilkolinesteraz Enzim İnhibitör Etkili Heterosiklik Bileşiklerin Sentezi ve Yapı Aktivite İlişkileri ile İlgili Çalışmalar"adlı tezçalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / ~~OY ÇOKLUĞU~~ ile Gazi Üniversitesi Farmasötik Kimya AnabilimDalında DOKTORATEZİ olarak kabuledilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Mehtap UYSAL

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Bu tezin, kapsamvekalite olarak DoktoraTezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~ .....

Başkan : Prof. Dr. Erden BANOĞLU

Farmasötik Kimya AnabilimDalı, Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~ .....

Üye :Prof. Dr. Tijen ÖNKOL

Farmasötik Kimya AnabilimDalı, Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak DoktoraTezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~ .....

Üye : Prof. Dr. Öztekin ALGÜL

Farmasötik Kimya AnabilimDalı, Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak DoktoraTezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~ .....

Üye :Dr. Öğretim Üyesi Yalçın EROĞLU

Farmasötik Kimya AnabilimDalı, Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak DoktoraTezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~ .....

Üye :Dr. Öğretim Üyesi İrem BOZBEY

Farmasötik Kimya AnabilimDalı, Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Butezin, kapsam ve kalite olarak DoktoraTezi olduğunuonaylıyorum/~~onaylamıyorum~~ .....

Tez SavunmaTarihi: 25./12./2019

Jüri üyeleri tarafından DOKTORA tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mustafa ASLAN

Sağlık Bilimleri EnstitüsüMüdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Ömer Faruk ÇÖL
25/12/2019



ASETİLKOLİNESTERAZ ENZİM İNHİBİTÖR ETKİLİ HETEROSİKLİK BİLEŞİKLERİN SENTEZİ VE YAPI AKTİVİTE İLİŞKİLERİ İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR

(Doktora Tezi)

Ömer Faruk ÇÖL

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Aralık 2019

ÖZET

Alzheimer hastalığı (AH), kişinin günlük aktivitelerini gerçekleştirme yeteneğinde bozulma ve hastalığın ilerleyen dönemlerinde kognitif fonksiyon bozuklukları ve değişik nöropsikiyatrik semptomlarla karakterize, devamlı ilerleyen ölümcül bir nörodejeneratif hastalıktır. Yaşlılarda görülen demansın en yaygın şekli olan Alzheimer hastalığının görülme yüzdesi her beş yaşta iki katına çıkarak, 60 yaşında %1 iken 85 yaşında %30'a ulaşmaktadır. Alzheimer hastalığı ile ilgili yapılan epidemiyolojik çalışmaların sonucuna göre hasta sayısının Amerika Birleşik Devletleri'nde yaklaşık 5 milyon, dünya çapında ise 24 milyon kişi olduğu tahmin edilmektedir. Tahminler bu sayının her 20 yılda iki katına çıkarak 2020'de 42 milyona, 2040'da ise 81 milyona ulaşacağı yönündedir. Alzheimer hastalığının tedavisinde, asetilkolin düzeyinin artırılması ve bunun için de asetilkolini yıkan asetilkolinesteraz enziminin baskılanması sık başvurulan tedavi yöntemlerinden biridir. Kolinerjik anormallikler aynı zamanda bilişsel olmayan davranışsal anormalliklere ve AH'da toksik nöritik plakların birikmesine de neden olabilmektedir. Bu nedenle, kolinerjik temelli stratejiler, AH'nın diğer demans formlarının tedavisinde rasyonel ilaç geliştirilmesine yönelik bir yaklaşım olarak geçerli kalacaktır. Bütün bu bilgilerin ışığında bu tezde, asetilkolin esteraz aktivite göstermesini beklediğimiz 3(*2H*)-piridazinon türevi yeni 12 bileşiğin sentezi yapılmıştır. Bileşikler glioksalik asit ve asetofenon türevlerinden hareketle sentezlenmiştir. İlk basamakta elde edilen 6-sübstitüefenil3(2H)-piridazonun etil 3-bromopropiyonat ile bazik ortamdaki reaksiyonu sonucu ester türevi oluşturulmuştur. Ester yapısındaki piridazinon bileşiğinin hidrazin hidrat ile reaksiyonundan ise propiyonohidrazit türevi elde edilmiş, elde edilen bu bileşik ile çeşitli sübstitüe ve nonsübstitüe benzen sulfonilklorür türevlerinin reaksiyonu sonucunda sonuç bileşiklerine ulaşılmıştır. Sentezi yapılan ve saflaştırılan bileşiklerin yüzde verimleri, erime dereceleri, fiziksel özellikleri, ince tabaka kromatografisinde R_f değerleri belirlenmiş; yapıları IR, ^{1}H-NMR, ve kütle spektrumu verileri ile kanıtlanmıştır. Bileşiklerin asetilkolinesteraz üzerindeki IC_{50} değeri referans bileşik takrinin IC_{50} değerinden çok düşük bulunmuştur. En etkili olan bileşik 4g, takrinden 40 kat daha aktifdir.

Bilim Kodu : 1019

Anahtar Kelimeler : Asetilkolinesteraz, Butirilkolinesteraz, Piridazinon

Sayfa Adedi : 153

Danışman : Prof. Dr. Mehtap UYSAL

STUDIES ON SYNTHESIS AND STRUCTURAL ACTIVITY RELATIONSHIPS OF HETEROCYCLIC COMPOUNDS ACETYLCHOLINESTERASE ENZYME INHIBITOR EFFECT

(Ph. D. Thesis)

Ömer Faruk ÇÖL

GAZI UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

December 2019

ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) is a fatal neurodegenerative disease characterized by the individual's inability to perform daily activities of the person and progressive cognitive dysfunctions and various neuropsychiatric symptoms in the later stages of the disease. The prevalence of AD, one of the types of dementia seen in the elderly, doubles everyfive years, reaching 30% at the age of 85 while it is %1 at the age of 60. According to the results of the epidemiological studies on AD, it is estimated that the number of patients is approximately 5 million in the United States and 24 million in the world. Estimates suggest that this number will be doubled after 20 years and it can be attained 42 million in 2020 and 81 million in 2040. In the treatment of AD, increasing acetylcholine level and suppressing acetylcholinesterase enzyme is one of the frequently used treatment modalities. Cholinergic abnormalities can also cause noncognitive behavioral abnormalities and accumulation of toxic neuritic plaques in AD. Besides, the methods which are cholinergic-based will continue as an approach to progress of rational drugs in the medication of AD and another types of mental disorder. All these findings in this thesis, the synthesis of 12 new compounds, 3 (2H) -pyridazinone derivative, which we expect to exhibit acetylcholinesterase activity, was performed. Compounds have been synthesized starting from glyoxalic acide and acetophenone derivatives. Ester derivative was obtained from the reaction of the resulting lactam compound with ethyl 3-bromopropionate. After that propionhydrazide derivative was contituted by reaxion of this ester derivative compound with hydrazine hydrate and the propionohydrazides were changed to title compounds which have sulphonylchloride structure by using substituted/nonsubstituted sulphonylchlorides. Yields, melting points, physical properties, values in thin-layer chromatography were determined. Their structures have been confirmed by IR, ^{1}H-NMR, ^{1} and mass spectrum datas. The IC_{50} value of compounds on AChE was found to be much lower than IC_{50} value of tacrine. 4g, Most effective compounds was found to be 40 times more active than tacrine.

Sience Code : 1019

Key Words : Acetylcholinesterase, Butyrylcholinesterase, Pyridazinone.

Page Number : 153

Supervisor : Prof. Dr. Mehtap UYSAL

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim sırasında öğrencisi olduğum için gurur duyduğum, vicdanî ve etik değerlerini düstur edindiğim, çok kıymetli hocam Prof. Dr. Mehtap UYSAL'a tez çalışmalarımı yürütürken gösterdiği anlayış ve fedakârlıktan dolayı müteşekkirim.

Bu süreçte bana destek olan Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Başkanı değerli Hocam Prof. Dr. Erden BANOĞLU'na ve Anabilim Dalımızın çok saygın hocalarına teşvik ve emeklerinden dolayı teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde emeklerini asla ödeyemeyeceğim Canım Annem ve Rahmetli Babama, çalışmalarım sırasında beni özveri ile destekleyen sevgili eşim Kübra'ya minnet ve şükranlarımı sunarım.

Akademik çalışmalarım esnasında her zaman gönülden destekleyen biricik ağabeyim İsmail ÇÖL'e, canım kardeşlerim Mehmet Akif ÇÖL ve Kaan Sabri ÇÖL'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

En güzel günlerimizden fedakârlık ederek çalışmalarımda bana anlayış gösteren canım oğlum Mehmet'e ve güzel kızlarım Aysel ve Sinem'e sevgilerimle…

Babam Murtaza Mehmet ÇÖL'ün aziz hatırasına…

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET iv

ABSTRACT v

TEŞEKKÜR vi

İÇİNDEKİLER viii

ÇİZELGELERİN LİSTESİ xi

ŞEKİLLERİN LİSTESİ xii

SİMGELER VE KISALTMALAR xvi

Dekstran Sodyum Sülfat Kolit xvi

Peroksim Proliferatör Aktive Reseptör xvii

1. GİRİŞ 1

2. GENEL BİLGİLER 13

2.1. Piridazinon 13

2.1.1. Piridazinon türevlerinin antienflamatuar ve analjezik aktivitesi 15

2.1.2. Piridazinon türevlerinin antikanser aktivitesi 21

2.1.3. Piridazinon türevlerinin antiviral aktivitesi 30

2.1.4. Piridazinon türevlerinin antimikrobiyal aktivitesi 33

2.1.5. Piridazinon türevlerinin kardiyovasküler aktivitesi 36

2.1.6. Piridazinon türevlerinin antitüberküler aktivitesi 42

2.1.7. Piridazinon türevlerinin antiobezite aktivitesi 43

2.1.8. Piridazinon türevlerinin antidiyabetik aktivitesi 44

2.1.9. Piridazinon türevlerinin nöroprotektif aktivitesi 45

2.1.10. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri 47

2.2. Alzheimer Hastalığı ve Tedavi Yaklaşımları 58

2.2.1. Asetilkolin 64

Sayfa

2.2.2. Kolinesteraz enzimleri 66

2.2.3. Kolinesteraz enzim inhibitörü ilaçlar 69

2.2.4. Yeni geliştirilen kolinesteraz inhibitörleri 74

3. GEREÇ VE YÖNTEM 87

3.1. Kimyasal Çalışmalar 87

3.1.1. Kimyasal bileşikler 87

3.1.2. Sentez yöntemleri 87

3.1.3. Analitik yöntemler 88

3.2. Antikolinesteraz Aktivite Tayini 90

3.2.1. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanması 90

3.2.2. AChE enzimi aktivite ölçüm metodu 90

4. BULGULAR 93

4.1. Kimyasal Çalışmalar 93

4.2. Antikolinesteraz Aktivite 105

4.2.1. AChE enzimi aktivitesi üzerine sentezlenen yeni ilaç moleküllerinin etkilerinin incelenmesinin sonuçları 105

4.2.2. AChE enzimi üzerine inhibitör etkisi gösteren sentezlenen yeni ilaç molekülleri için K_I sabitlerinin belirlenmesine ait çalışmaların sonuçları 105

4.2.3. Fizikokimyasal ve farmakokinetik parametrelerin tahmin edilmesi 105

4.2.4. Moleküler modelleme 105

4.3. 4D-QSAR 107

4.3.1. MCET metodu 108

4.3.2. MCET metodu'nun tez bileşiklerine uygulanması 110

5. TARTIŞMA 115

5.1. Kimyasal Sentez 116

5.2. Yapı Aydınlatma Çalışmaları 118

Sayfa

5.2.1. Infrared spektrumlarının yorumlanması 118

5.2.2. ^{1}H-Nükleer magnetik rezonans spektrumlarının yorumlanması 119

5.3. Antikolinesteraz Aktivite Tayin Çalışmaları 120

5.4. Kantitatif Yapı Etki Çalışmaları 121

KAYNAKLAR 123

ÖZGEÇMİŞ 153

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 1.1. Alzheimer hastalığının devreleri ve ilgili semptomlar 3

Çizelge 1.2. Tez kapsamında ilk defa sentezlenen N'-[Sübstitüe/ nonsübstitefenilsülfonil]-2-(6-(4-substitüefenil)-3(2*H*)-piridazinon-2-il) propiyonhidrazit türevlerinin yapıları..... 11

Çizelge 2.1. Piridazinon halkası taşıyan farmakolojik ajanlar..... 13

Çizelge 3.1. AChE enziminin aktivite ölçüm küvet içeriği 90

Çizelge 4.1. AChE enzimi aktivitesi üzerine etki eden sentezlenen yeni ilaç moleküllerinin IC_{50} değerleri ve K_I sabitleri..... 106

Çizelge 4.2. Sentezlenen yeni ilaç molekülleri için yapılan #Yıldız, #RtfFG, MA, ÇEYA, Hacim, Donör HB, Akseptör HB, QPpolrz, QPlogPo/s ve QPlogS tahmini sonuçları..... 106

Çizelge 4.3. Sentezlenen yeni ilaç molekülleri için yapılan QPlogHERG, QPPcaco, QPlogKB, QPPMDCK, #metab, QPlogKisa, % Oral absorpsiyon, 5K ve 3K tahmini sonuçları..... 106

Çizelge 4.4. N'-[(Sübstitüefenil) sülfonil]-2-(6-sübstitüe-3(2H)-piridazinon-2-il) propiyohidrazit (4a-o) serisine ait temel iskeletler, bağlı sübstitüentler, deneysel aktivite değerleri (pKi). 110

Çizelge 4.5. 4a numaralı molekülün Boltzman dağılımına göre en düşük enerjili konformerindeki atomların Kartezyen koordinatları..... 111

Çizelge 4.6. N'-[(Sübstitüe fenil)sülfonil]-2-(6-sübstitüe-3(2H)-piridazinon-2-il) propiyo-hidrazit (4a-o) türevlerinde farmakofor yapısını içeren 4a, 4b, 4e ve 4g bileşiklerinin atomlarının pozisyonları. 112

Çizelge 4.7. N'-[(Sübstitüe fenil)sülfonil]-2-(6-sübstitüe-3(2H)-piridazinon-2-il) propiyo-hidrazit (4a-o) türevlerinin deneysel ve hesaplanan aktiviteleri.. 113

Çizelge 5.1. Tez kapsamında sentezi yapılan özgün bileşiklerin yapıları, erime dereceleri, molekül ağırlıkları ve moleküler formülleri 118

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil **Sayfa**

Şekil 1.1. 2017'de AH için Dünya çapında gerçekleştirilen klinik deneme sayısı 6

Şekil 1.2. Asetilkolin esteraz inhibitörü olarak kullanılan ilaçlar..... 8

Şekil 1.3. Asetilkolin esteraz inhibitörü ilaçların genel yapısı 9

Şekil 1.4. Tez kapsamında ilk defa sentezlenen N'-[Sübstitüe/ nonsübstitefenilsülfonil]-2-(6-(4-sübstitüefenil)-3(2*H*)-piridazinon-2-il) propiyonhidrazit türevlerinin reaksiyon şeması 10

Şekil 2.1. Antiinflamatuar ve Analjezik etkili piridazinon türevleri 16

Şekil 2.2. Antiinflamatuar ve Analjezik etkili piridazinon türevleri 18

Şekil 2.3. Antiinflamatuar ve Analjezik etkili piridazinon türevleri 19

Şekil 2.4. Antiinflamatuar ve Analjezik etkili piridazinon türevleri 20

Şekil 2.5. Antiinflamatuar ve Analjezik etkili piridazinon türevleri 21

Şekil 2.6. Antikanser etkili piridazinon türevleri..... 23

Şekil 2.7. Antikanser etkili piridazinon türevleri..... 25

Şekil 2.8. Antikanser etkili piridazinon türevleri..... 27

Şekil 2.9. Antikanser etkili piridazinon türevleri..... 28

Şekil 2.10. Antikanser etkili piridazinon türevleri..... 29

Şekil 2.11. Antikanser etkili piridazinon türevleri..... 30

Şekil 2.12. Antiviral etkili piridazinon türevleri..... 32

Şekil 2.13. Antiviral etkili piridazinon türevleri..... 33

Şekil 2.14. Antimikrobiyal etkili piridazinon türevleri..... 35

Şekil 2.15. Antimikrobiyal etkili piridazinon türevleri..... 36

Şekil 2.16. Kardiyovasküler etkili piridazinon türevleri..... 38

Şekil 2.17. Kardiyovasküler etkili piridazinon türevleri..... 40

Şekil 2.18. Kardiyovasküler etkili piridazinon türevleri..... 41

Şekil 2.19. Kardiyovasküler etkili piridazinon türevleri..... 42

Şekil **Sayfa**

Şekil 2.20. Antitüberküler, Antiobesite ve Antidiyabetik etkili pridazinon türevleri..... 44

Şekil 2.21. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri..... 46

Şekil 2.22. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri..... 48

Şekil 2.23. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri..... 51

Şekil 2.24. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri..... 52

Şekil 2.25. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri..... 54

Şekil 2.26. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri..... 55

Şekil 2.27. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri..... 56

Şekil 2.28. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri..... 57

Şekil 2.29. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri..... 58

Şekil 2.30. Sağlıklı bir beyin ile Alzheimer hastalığı olan bir beyinin kıyaslanması..... 59

Şekil 2.31. Asetilkolinin biyosentezi ve biyotransformasyonu 64

Şekil 2.32. Asetilkolinin biyosentez, depolama, salınım ve hidrolizi..... 65

Şekil 2.33. AChE ve BChE enziminin yapıları..... 67

Şekil 2.34. AChEI'ler için yapısal hipotez..... 68

Şekil 2.35. Donazepilin AChE enziminin aktif bölgesi ile etkileşiminin moleküler modelleme çalışması ile gösterimi 69

Şekil 2.36. Takrinin yapısı..... 71

Şekil 2.37. Fizostigminin yapısı..... 71

Şekil 2.38. Rivastigminin yapısı 72

Şekil 2.39. Donazepilin yapısı 72

Şekil 2.40. Galantaminin yapısı..... 73

Şekil 2.41. Huperzin A yapısı..... 73

Şekil 2.42. Metrifonatın yapısı..... 74

Şekil 2.43. 6-[(sübstitüe-fenilpiperazin]-3(*2H*)-piridazinon-2-il propiyonat..... 75

Şekil **Sayfa**

Şekil 2.44. N'-[(4-triflorometilfenil) sülfonil]-2-[4-(2-florofenil)-piperazin]-3(*2H*)-piridazinon-2-il asetohidrazit bileşiklerinin en aktif olduğu, N'-[(4-triflorometilfenil) sülfonil]-2-[4-(2-florofenil)-piperazin]-3(*2H*)-piridazinon-2-il asetohidrazit 75

Şekil 2.45. 6-(2-metilfenil) amino-2-(4-*N*-etil-*N* izopropil asetamit piperidin) aminobenzil-3(2*H*)-piridazinon 76

Şekil 2.46. 6-[4-(3,4-dikolorofenil) piperazin-1-il]-3(2*H*) piridazinon-2-asetil-2-(3-metil-benzal) hidrazon 77

Şekil 2.47. (±)p-metoksiakripirin 78

Şekil 2.48. Memoquinin yapısı 78

Şekil 2.49. AP2238 yapısal formülü 79

Şekil 2.50. 4-Benzil piperidin/piperazin türevleri 79

Şekil 2.51. Benzo[e][1,2,4] triazin-7(1*H*)-on türevi ve [1,2,4]-triazino[5,6,1j,k]-carbazol-6-on yapısı 80

Şekil 2.52. Arillenmiş indenokinolin bazlı türevlerin yapısı 81

Şekil 2.53. Donazepil-Takrin hibritinin yapısı 81

Şekil 2.54. Takrin-8-hidroksikinolin hibritleri 82

Şekil 2.55. Takrin-sinnamik asit hibritlerinin yapısı 82

Şekil 2.56. Galantamin-Memantin dual bağlanma hibritinin yapısı 84

Şekil 2.57. Kalkon kumarin hibritlerinin yapısı 84

Şekil 2.58. Lipokrinin yapısı 85

Şekil 4.1. N'-[Fenilsülfonil]-3-(6-(4-klorofenil)-3(2H)-piridazinon-2-il)propiyon hidrazit 93

Şekil 4.2. N'-[(4-Klorofenil) sülfonil]-3-(6-(4-klorofenil) -3(2H)-piridazinon-2-il) propiyon hidrazit 94

Şekil 4.3. N'-[(4-Florofenil) sülfonil]-3-(6-(4-klorofenil)-3(2H)-piridazinon-2-il) propiyon hidrazit 95

Şekil 4.4. N'-[(4-Triflorometil) fenilsülfonil]-3-(6-(4-klorofenil)-3(2H)-piridazinon-2-il) propiyonhidrazit 96

Şekil 4.5. N'-[(Fenil)sülfonil]-3-(6-(4-metil)fenil-3(2H)-piridazinon-2-il)propiyonhidrazit 97

Şekil **Sayfa**

Şekil 4.6. N'-[(4-Klorofenil) sülfonil]-3-(6-(4-metilfenil) -3(2H)-piridazinon-2-il) propiyonhidrazit 98

Şekil 4.7. N'-[(4-Florofenil) sülfonil]-3-(6-(4-metilfenil) -3(2H)-piridazinon-2-il) asetohidrazit 99

Şekil 4.8. N'-[(4-Triflorometilfenil) sülfonil]-3-(6-(4-metilfenil) -3(2H)-piridazinon-2-il) asetohidrazit 100

Şekil 4.9. N'-[(4-Fenil) sülfonil]-3-(6-(4-metoksifenil) -3(2H)-piridazinon-2-il) asetohidrazit 101

Şekil 4.10. N'-[(4-Klorometilfenil) sülfonil]-3-(6-(4-metoksifenil) -3(2H)-piridazinon-2-il) asetohidrazit 102

Şekil 4.11. N'-[(4-Florometilfenil) sülfonil]-2-(6-(4-metoksifenil) -3(2H)-piridazinon-2il) asetohidrazit 103

Şekil 4.12. N'-[(4-Florometilfenil) sülfonil]-3-(6-(4-metoksifenil) -3(2H)-piridazinon-2-il) asetohidrazit 104

Şekil 4.13. Bileşik Vg'nin AChE (PDB iD 4M0E) enziminin aktif bölgesindeki amino asitlerle etkileşiminin 2D gösterimi 107

Şekil 4.14. Molekül 4a'nın 3 boyutlu gösterimi 111

Şekil 4.15. N'-[(Sübstitüe fenil)sülfonil]-2-(6-sübstitüe-3(2H)-piridazinon-2-il) propiyo-hidrazit (4a-o)türev setindeki aktif moleküllerin ortak yapsındaki Pha grubu 112

Şekil 5.1. Tez kapsamında sentezi yapılan özgün bileşiklerin genel reaksiyon şeması 117

Şekil 5.2. Bileşik 4f 'nin IR Spektrumu 119

Şekil 5.3. Bileşik 4e 'in ^{1}H-NMR spektrumu 120

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	**Açıklamalar**
µ	Mikron
Hz	Hertz
Ppm	Milyonda Bir Birim
Δ	Kimyasal Kayma

Kısaltmalar	**Açıklamalar**
ACh	Asetilkolin
AChE	Asetilkolinesteraz
AD	Alzheimer Hastalığı
Anti-TMV	Anti-Tütün Mozaik Virüsü
APP	Amiloid Prekürsör Protein
Aβ	Amiloid Beta Plak
BACE	Alzheimer Hastalığında β-Sekretaz Enzimi
BChE	Butirilkolinesteraz
CAS	Katyonik Anyonik Bölge
ChAT	Kolin Asetiltransferaz
ChEI	Kolinesteraz İnhibitör
COX	Siklooksijenaz
CT	Bilgisayar Tomografi
DMT	Hastalık Modifiye Edici Tedaviler
DSS colitis	Dekstran Sodyum Sülfat Kolit
ED_{50}	Etkin doz_{50}
FDA	Gıda ve İlaç İdaresi
HBV	Hepatit B Virüs
HCMV	İnsan Sitomegalovirüsü
HCV	Hepatit C Virüs

Kısaltmalar	Açıklamalar
HIV	İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü
HSV	Herpes Simpleks Virüsü
IL-1B	Interlökin 1 Beta
LOX	Lipoksijenaz
MAP	Maksimum Arter Basıncı
MCH-R1	Melanin-Konsantre Hormone Reseptör 1
MCI	Hafif Bilişsel Bozukluk
MDTL	Çoklu Hedefe Yönlendirilmiş Ligantlar
MRI	Magnetik Resonans Görüntüleme
NFTs	Nörofibriller Yumaklar
NMDA	N-Metil-D-Aspartat
NS5B	Nükleosid Polimeraz İnhibitör Enzim
NSAID	Non Steroidal Antiinflamatuar İlaçlar
P2X7	P2X Pürinopeptör 7
PARP-1	Poli ADP-Riboz Polimeraz
PAS	Periferik Anyonik Bölge
PDE	Fosfodiesteraz
PET	Positron Emisyon Tomografi
PGI2	Prostaglandin I2
PPAR	Peroksim Proliferatör Aktive Reseptör
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SAR	Yapı Aktivite İlişkileri
SPECT	Tek Foton Emisyon Bilgisayarlı Tomografi
TNF	Tümör Nekrosis Faktör
VAP-1	Vaskülar Adhezyon Protein-1
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

Alzheimer hastalığı (AH), hafızada ve günlük yaşamı etkileyecek kadar ciddi seviyelerde diğer entellektüel yeteneklerde kayıp için kullanılan genel bir terimdir. Demansların %60-80'ninden sorumludur. Karakteristik özellikleri amiloid beta plaklarının (Aβ) ve tau proteini düğümlerinin beyinde agregasyonudur [1]. AH gelişmesi ile ilişikili diğer önemli bir özellikte beyindeki asetilkolin (ACh) seviyelerinin azalmasıdır. AH'nın konvansiyonel farmakoterapisinde ACh'ı inhibe edecek ilaçlar kullanılmaktadır (örneğin; donepezil, rivastigmine) ve böylelikle de beyindeki ACh seviyeleri artar [2]. Son zamanlarda başka bir ilaç, memantin, tedaviye girmiştir. Glutamerjik antagonist olan bu ilaç sinir hücrelerini glutamat aracılı eksitoksisiteden korur. Fakat bu iki sınıf ilaç da semptomatik tedavi sağlar [3]. Son 50 yıldan bu yana AH'nın altında yatan sebepleri tedavi edebilecek ve böylelikle de hastalığa yatkınlığı bulunan bireylerde hastalığın gelişimini durdurabilecek bir ilaca çok fazla ihtiyaç duyulmaktadır. AH'nın semptomlarına ve komplikasyonlarına karşı yarar sağlayabilen birkaç bitki ve türevlendirilmiş ürün bulunmaktadır. AH'ı kontrol altına alabilen birkaç ilaç şu an klinik denemelerdedir.

AH ilk olarak Alman patolog Alois Alzheimer tarafından 1906 yılında tanımlanmıştır. AH 21. Yüzyılın başından beri yaşlı bireylerde en yaygın demans formu olarak kabul edilmektedir. 2016 yılında Dünya çapında 47,5 milyondan fazla insanın demansla yaşadığı tahmin edilmektedir. 2030'a kadar bu sayının 75,6 milyona kadar çıkacağı tahmin edilmektedir. AH genelde genç yetişkinliğin ortalarında ortaya çıkan nörodejeneratif bir bozukluktur. AH ilerleyici ve daha ziyade diğer kognitif yeteneklerle birlikte bilinçteki bir azalma ile ilişkilidir. AH'de beyin kütlesinin azalmasıyla birlikte beynin serebral korteksinin nöronal bağlantılarında hasar ve bozulma görülür [4]. AH ilerleyici bir hastalıktır ve başlangıçtan 5-10 sene sonra da ölümcüldür. Ölüm hastalığın komplikasyonlarından kaynaklanır [5].

Tüm demans vakalarının %50-70 ininde nörodejenerasyon ile beraber alzheimer hastalığı gözlenmektedir. Her demans hastası Alzheimer hastası değildir ama her alzheimer hastalığında demans vardır [6].

AH iki nöropatolojik göstergenin; (β-amiloid plaklar (Aβ) ve intrasellüler tau nörofibriler düğümleri (NFTs) karakterizedir. Sırasıyla β-sekretaz ve α-sekretaz denilen 2 enzim tarafından büyük bir prokürsör protein olan Amiloid prekürsör proteinin (APP)'nin ardışık klevajıyla β-amiloid plaklar (Aβ) oluşur. Bununla birlikte, APP ilk olarak β sekretaz yerine α-sekretaz enzimi

ile klevaj edildiğinde Aβ oluşmaz. NFTs başlıca mikrotübül ilişkili protein (MAP) taudan oluşur yani bu protein hücrede mikrotübüllere bağlanıp nöronal taşımayı kolaylaştırır. AD gelişiminde, tau mikrotübüllerden ayrılır ve düğümler halinde agrege olur ve böylece transportu inhibe eder ve mikrotübül ayrışmasıyla sonuçlanır. Bu ayrıca taunun fosforilasyonuna bağlıdır [7].

Alzheimer hastalığının gelişiminin arkada yatan gerçek sebepleri hala iyi bir şekilde belirlenememiştir. Fakat tau proteini fosforlilasyonunda anomaliler, kalsiyum metabolizmasındaki değişiklikler, oksidatif stres, nöroinflamasyon, anormal enerji metabolizması ve protein işlenmesi yani istenmeyen Aβ oluşumu ve agregasyonu gibi belirli faktörler AH'nın patogenezinde önemli faktörler olarak düşünülmektedir [8].

AH'nın patogenezi için nispeten yeni bir mitokondriyal disfonksiyon hipotezi, AH'li beyinin mitokondriyal disfonksiyonunun, amiloidoz, hücre döngüsüne yeniden giriş (cell cycle reentry) ve tau fosforilasyonuna yol açtığını önermektedir [9].

Glutamerjik ve kolinerjik nörokimyasal sistemlerin AH etiyolojisi ile ilişkili olduğunu öneren kanıtlar bulunmaktadır. Asetilkolin (ACh) zihinsel fonksiyonlar ve öğrenmeden sorumlu esansiyel bir nörotransmitterdir. AH'lı hastaların beyninde hem ACh fonksiyonunda hem de konsantrasyonunda azalma vardır. Bu eksiklik ve kolinerjik nöronal ağın kaybı ve AChE aktivitesindeki azalma gibi diğer presinaptik kolinerjik sınırlamalar AH kolinerjik hipotezinin geçerliliğini sağlamaktadır. Diğer bir nörokimyasal hipotez N-metil D-aspartat (NMDA) aracılı glutamerjik hipotezdir. Glutamat öğrenme ve hafızada önemli rol oynayan NMDA reseptörleri üzerinde etki gösteren ekstitatör bir nörotransmitterdir. Fakat bazı durumlarda NMDA reseptörlerinin glutamat tarafından fazla uyarılması eksitoksisite kaynaklı nöronal hasara yol açmaktadır [10].

AH'nın teşhisi hastanın ve arkadaşlarının veya akrabalarının bazı sorular sormasını içerir. Beynin bilgisayarlı tomografisi (CT), manyetik rezonans görüntülemesi (MRI) ya da pozitron emisyon tomografisi gibi görüntüleme ve tarama teknikleri ihtiyaca göre, ciddi semptomlarda ve durumlarda kullanılabilir. Fakat kesin tanı öldükten sonra klinik verilerle birlikte beyin dokusunun otopsiyle analiziyle konulabilmektedir.

Hastalığın ilerleyiş hızı değişkenlik gösterse de AH semptomları zamanla kötüleşir. AH ile ilgili beyindeki değişmeler klinik bulgulardan yıllar önce başlar. Birkaç yıl süren bu süreç preklinik

AH olarak bilinir. AH'nın ilerleyişi, hafif AH (erken evre), Orta şiddetli AH (Ara evre) ve ciddi AH (son evre) şeklinde gerçekleşir. Bütün aşamalarla ilgili semptomlar Çizelge 1.1'de verilmiştir [11].

Çizelge 1.1. Alzheimer hastalığının devreleri ve ilgili semptomlar

Hafif Alzheimer Hastalığı	Orta Dereceli Alzheimer Hastalığı (Yıllarca süren en uzun evre)	Ağır Alzheimer Hastalığı (Son evre)
• Bağımsız şekilde iş görebilme • Rutin ev işlerini sürdürebilme • Bazı hafıza kayıpları hissetme	• Kelime telaffuzunda bozulma • Ruh halinde değişme • Beklenmeyen şekilde davranma • Fikirlerini ifadede zorluk • Başkaları tarafından fark edilebilir semptomlar	• Doğalçevreye tepki kabiliyetinde değişmez kayıp • Doğru iletişim kurabilme kabiliyetlerinde kayıp • Hareketlerde kayıp • Günlük faaliyetlerde yardıma muhtaç olma

AH bir ilaçla veya başka bir yöntemle başarılı şekilde tedavi edilmesi olanaksız olan bir hastalıktır. Güncel farmakoterapötik yaklaşımlar hastaların mental yeteneklerini korumaya, davranışlarını düzenlemeye ve hastalığın ilerleyişini geciktirerek böylece hastalığın semptomlarının çıkmasını yavaşlatmaya yöneliktir. Şu an ki tüm tedaviler başlıca ACh ve glutamat olmak üzere beyindeki belirli nörotransmitterlerin seviyelerini düzenleyerek etki gösterir. Bu tedaviler düşünme, kognitif fonksiyonlar ve iletişim yeteneğini sürdürmede faydalı olabilir ve belli bir dereceye kadar davranışsal problemleri de iyileştirebilir. Fakat bu yaklaşımlar hastalığın altta yatan sebeplerini tedavi etmez. Bunlar tüm AH hastaları için etkili değildir fakat etkinlik ve zaman bakımından belli bir dereceye kadar faydalı olabilirler. FDA kontrolü altında birkaç ilaç semptomatik tedavi sağlamak için piyasada bulunmaktadır.

Bu ilaçların ilk grubu Asetilkolin esteraz inhibitörleridir. Bu ilaçlar sistemik olarak çeşitli seviyelerde yan etkiler açığa çıkarırlar ve doza bağımlı etki göstererek semptomları hafifletirler. Bu ilaç kategorisine ait ilk çalışmalar takrini, fizositigmini ve velnakrini içerir. Bununla birlikte, bu bileşiklerden sadece takrin klinik denemelerde incelenmek üzere seçilmiştir. Buna karşın Amerika'da ve Avrupa'nın bazı bölgelerinde ticari bir lansman görmüştür. İlerleyen zamanlarda donepezil ve rivasitigmin gibi yeni ilaçlarda bu grubun içine girdi ve takrin reçetelerinin yerini aldı.

AH'lığı olan bireylerde asetilkolin esteraz aktivitesi artar ve asetilkolin yıkımının artmasına sebep olur ve beyindeki asetilkolin seviyelerini azaltır. Bu enzim ayrıca amiloid plakların ve nörofibriller düğümlerin oluşumuyla da ilgilidir. Asetilkolin esteraz büyüyen fibrillerle kompleksler

oluşturarak β-amiloid peptit fragmanlarının agrege olmasına yardımcı olur ve bu sayede de bir promotör gibi de davranır. Oluşan kompleksler β-amiloid fibrillerden daha sitotoksiktir [12].

Bu ilaçlar düşük-orta şiddetli AH hastalarında asetilkolinin parçalanmasından sorumlu asetilkolin esterazı inhibe ederek beyinde azalmış asetilkolin seviyelerini artırır ve böylece de asetilkolin seviyelerini artırmış olur. Bu ilaçlar hastaların çoğunda iyi tolere edilir [13].

Alzheimer hastalığında kullanılan ilaçların 2. grubu NMDA antagonistleridir (glutamat inhibitörleri). Glutamat çeşitli iyonotropik ve metabotropik glutamat reseptörlerinde ekstitatör postsinaptik iletide rol oynayan memelilerin beynindeki başlıca nörotransmitterlerden biridir. Glutamat-kapılı kanallar ve bir grup G-protein bağlı reseptör glutamat aracılı olarak intrinsik depolardan kalsiyumu harekete geçirir. Bu kanallar kendi sentetik agonistlerine göre adlandırılırlar [14].

NMDA reseptörleri sinaptik plastisiteye (şekil verilebilirlik) dedektör olarak aracılık ederler. NMDA reseptörlerinin geçici ve uzaysal olarak spesifik aktivasyonunu gösteren sinapslar Mg^{+2} 'nin hızlı akışından sonra Ca^{+2} 'nin akışıyla birlikte plastik değişiklikler gösterirler. Magnezyuma bağımlı voltaj patolojik şartlar altında belirgindir. Mg^{+2} NMDA reseptörünü orta derecede bir depolarizasyonda bırakır ve böylelikle hafıza ve öğrenmeyi engeller [15].

Glutamerjik aşırı stimülasyon nöronal kalsiyum yükünü artırarak nöronal hasara neden olan eksitoksisite denilen bir olayla sonuçlanır. Memantin beyinde artmış glutamat seviyelerinden kaynaklı yan etkileri antagonize eden bir non-competetive NMDA reseptör antagonistidir. Bu özelliği sayesinde AH'de değerli bir terapötik ajan olarak kendine yer bulmuştur. Memantinin kognitif yetenekler ve diğer tüm bulgularda iyileştirici etkisi olduğu kanıtlanmıştır. Şu an bu ilaç orta dereceden yüksek dereceye kadar olan AH için piyasada FDA onaylı bir ilaç olarak bulunmaktadır [16].

İlaç genel olarak iyi tolere edilmektedir. Bununla birlikte hafif ve geçici yan etkiler görülebilmektedir. Farmakolojik profili nedeniyle, diğer bazı ilaçlarla etkileşime girebilir. Etki mekanizmasından dolayı levodopa, diğer dopamin agonistleri ve antikolinerjiklerle eşzamanlı tedavi, farmakolojik etkilerini artırabilir. Diğer taraftan barbitürat ve nöroleptik ajanların etkileri azalmaktadır. Memantin'in kimyasal olarak benzer diğer NMDA reseptör antagonistleri (amantadin, budipin, ketamin ve dekstrometorfan) ile kullanımı toksik psikoza sebep olabilir.

Klinik çalışmalarda, en sık görülen semptomlar ağırlıklı olarak baş dönmesi, ajitasyon, halüsinasyonlar, baş ağrısı ve halsizliktir. Diğer seyrek bildirilen belirtiler anksiyete, kusma, idrar yolu enfeksiyonu ve artmış terlemedir [17].

Alzheimer hastalığının tedavisi ile ilgili olarak özellikle son 10 yılda çok sayıda bileşik geliştirilmiş ve aday moleküller olarak denenmiştir. AH'nın kontrolünde ve tedavisinde preklinik olarak etkili olmuş bazı ilaçlar ve kimyasal bileşikler çeşitli sebeplerden ötürü klinik denemelerde başarısızlığa uğramıştır.

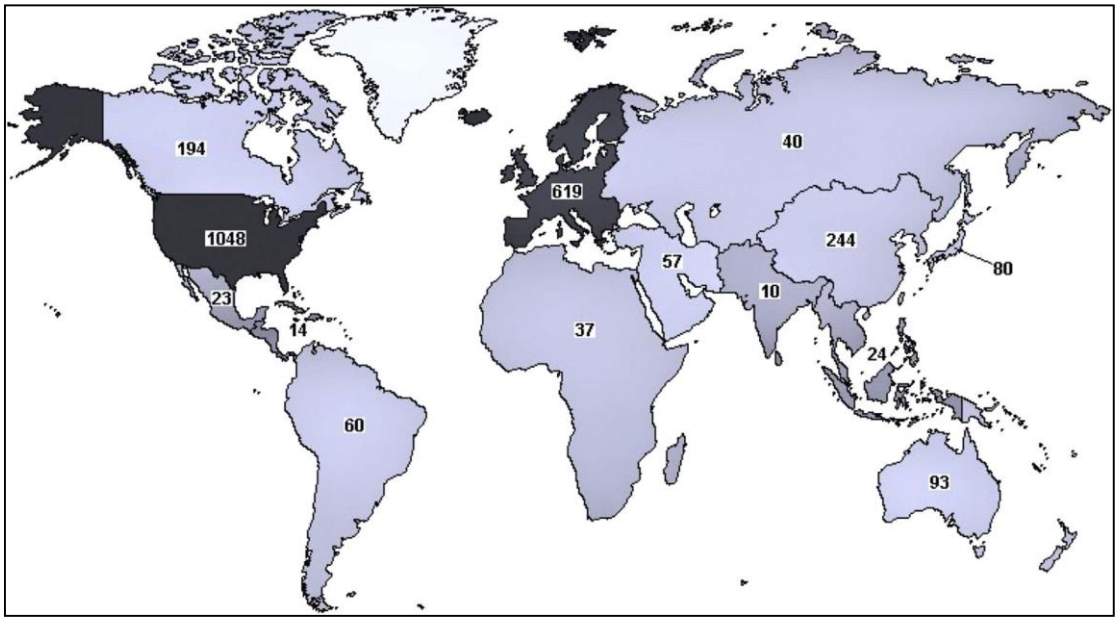
AH için yeni terapötik yöntemlerin geliştirilmesi yanlış patolojiyle uğraşma tehtidi altındadır. AH'nın gelişimi için belirli bir patolojik mekanizma ile ilgili sağlam temelli somut bir kanıt olmadığından, hipotez bazlı farmakoterapötikler geliştirilmektedir. İlk olarak kolinerjik hipotez, üzerinde araştırma yapmak için potansiyel bir zemin olarak ortaya çıkmıştır. Beyindeki ACh seviyelerini artırmak amacıyla asetilkolin esterazı hedefleyen birkaç bileşik geliştirilmiştir. Bu ajanlar hala kullanımdadır fakat sadece semptomatik yarar sağlamaktadır. Ayrıca birçok yan etki bu ajanlarla ilişkilidir. Birkaç yıl sonra glutamat eksitoksisitesine karşı bir koruyucu olarak memantin ortaya çıkmıştır. Fakat bu ilaç da semptomatik etkiden daha fazlasını sunamamıştır.

Anti-AH etkileri için yeni bileşiklerin preklinik taranması, dünya çapında büyük ölçekte gerçekleştirilmektedir. Bununla birlikte, hayvanlardaki çalışmaların büyük oranda yanıltıcı olabileceği düşünülmektedir. Hayvan modelleri, yanlış pozitif sonuçların ortaya çıkarılmasına oldukça yatkındır çünkü laboratuvar hayvanları sınırlı genetik yapıya ve kontrollü ortama sahiptir. Aksine, insanlar genetik, etik, zamansal ve tıbbi açıdan oldukça heterojendir. Homojenite eksikliği genel olarak preklinik değerlendirmede umut vadeden ilaçların etkilerini olumlu ya da olumsuz etkileyebilir.

AH için yeni terapötik önlemlerin geliştirilmesindeki artan başarısızlıklara katkıda bulunan bir diğer faktör, mevcut deneme tasarımlarının oldukça nonspesifik ve yetersiz olmalarıdır. Bilişsel yeteneklerin ölçülmesi hastalık çok karmaşık olduğu için indirgemeci/yetersiz bir yaklaşımdır. Patobiyolojik değişikliklerin çoğu bilişsel süreçlerde değişiklik göstermez ve bu nedenle bu iki parametre ilişkilendirilemez. Amiloid patolojiyi hedefleyen ilaç adayları sıklıkla β-amiloid plaklarla ilişkili nörodejenerasyon başladığında kullanılır. Bu da yeni anti-AH ilaçlarda başarısızlığın artmasını daha da artırır.

Anti AH ilaç görüntülenmesinde transgenik hayvan modellerinin kullanımı günümüzde oldukça popülerdir. Fakat unutulmamalıdır ki bu transgenik hayvan modelleri insanlardaki çeşitli patofizyolojik mekanizmaları taklit etmede yetersizdir. Tedavi altta yatan patolojik mekanizmaların tek bir tanesi yerine birkaçını hedef alacak şekilde olmalıdır. Fakat bugüne kadar multiple hedefli bir çalışma yürütülmemiştir. Yeni bir ilaç için (nutrasötik ürünler hariç) FDA'nın son on yılda onay vermediğine dikkat edilmelidir. Anti-AH terapötik alanında 2002'den 2012'ye kadar geçen on yılda %99,6 (% 0,4 başarı) genel başarısızlık oranı ile büyük bir başarısızlık oranı elde edilmiştir. Hastalığı azaltan ajan için deney uzunluğu ve magnitüdü semptomatik ajanlar için olanlardan daha fazladır. Bir bileşiğin bir klinik fazdan diğerine aşama kaydetmesinin başarı oranı düşüktür. Düzenli incelemeye giden bileşiklerin sayısı diğer terapötik geliştirme alanlarınınkinden daha düşüktür.

Sınırlı sayıda terapötik ajan bulunmasından dolayı son zamanlarda Alzheimer hastalığının tedavisi için potansiyeli bulunduğu iddia edilen birkaç yeni molekül ortaya çıkmıştır. Şu anda Dünya çapında klinik denemede olan birkaç molekül bulunmaktadır. 2017'de AH için Dünya çapında gerçekleştirilen klinik deneme sayısı Şekil 1.1'de gösterilmiştir.



Şekil 1.1. 2017'de AH için Dünya çapında gerçekleştirilen klinik deneme sayısı

Varolan anti-AH ilaç çalışması sayısı Alzheimer hastalığı ile ilişkili çok fazla zorluk bulunduğu düşünüldüğünde normaldir. AH şu an hızla artan yaşlı nüfus sayısı ile beraber ABD ekonomisine kardiovasküler hastalıklar ve kanserden bile daha fazla yük bindirmektedir.

Alzheimer hastalığı dünya çapında hızla yayılan bir hastalıktır. Belirsiz tanı, çeşitli semptomlar ve hastalık patogenezinden sorumlu değişik faktörlerden dolayı yaşanan zorluklar için farmakoterapötik yaklaşımlar yeterli olamamıştır. Varolan ilaçlar (donepezil, rivastigmin, galantamin, takrin, memantin) beyinde glutamin ve asetilkolin seviyelerini düzenleyerek sadece semptomatik tedavi sağlar. Yıllar içinde, çeşitli araştırmalar, hastalığın ilerleyişini durdurmak ya da geciktirmek için hastalığın patogenezini hedef alma potansiyeli olan ilaçlar bulmaya odaklanmıştır.

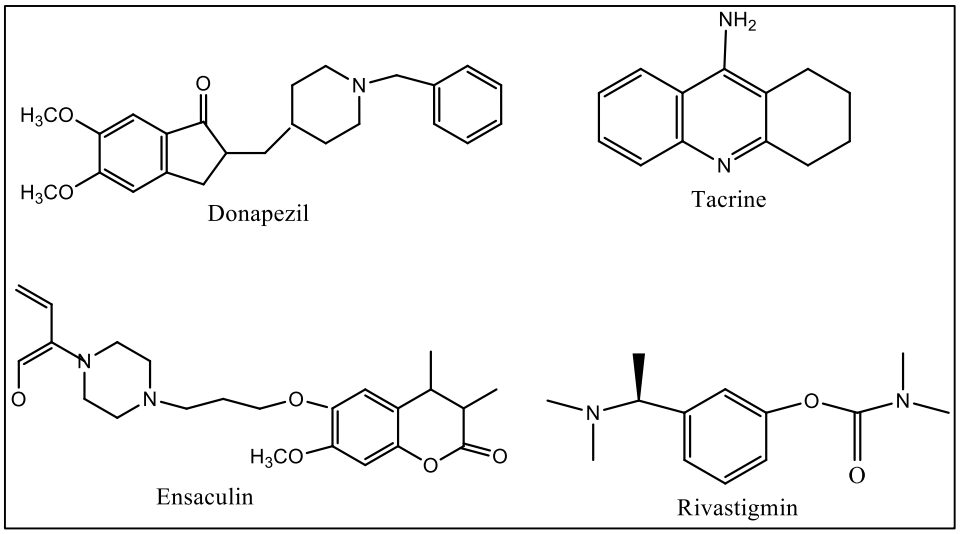
Bu amaçla çeşitli doğal bileşikler (bitkiler ve bitki ekstreleri) AH etkinliği açısından değerlendirilmiştir. Bazıları ilksel in vitro ve in vivo çalışmaları geçip klinik denemelere girse de diğerleri Alzheimer hastalığının tedavisinde tedaviyi desteklemek amacıyla nutrasötik olmuştur. Tüm dünyada araştırmacılar tarafından AH için potansiyel yararları olduğu düşünülen birkaç yeni kimyasal bileşik geliştirilmiştir. Fakat bunların birçoğu klinik denemelerde genellikle yan etkiler ve istenen etkinin alınamaması gibi çeşitli sebeplerden başarısız olmuştur.

Bu araştırmacıları AH için yeni tedavi olasılıkları düşünmekten alıkoymamıştır. AH'nı kontrol altına alabilmek için araştırmacılar mevcut terapötik hedeflere karşı daha güvenli ve daha etkili ilaç adayları geliştirmekten görece daha yeni hedefleri hedefleyen bileşikler geliştirmeye kadar her türlü olasılığı denemektedir. Bununla birlikte AH için belirli bir hastalığın modifiye edici tedavisi yanlış patolojiyi kovalama tehditi altındadır. Farmakolojik olarak daha kolay müdahale edilebilecek AH oluşumundaki yeni yolakların analizi ve keşfi, karmaşık AH patolojisinin daha iyi anlaşılması ve kombine terapilerin uygulanması AH farmakoterapisi için yeni yaklaşımlara ışık tutabilir. AH terapötikleri alanındaki gelişmelere bakıldığında AH'nın tedavi edilebilir olacağı gün çok da uzak görünmemektedir.

Alzheimer hastalığı ile birçok nörotransmitter sistem (kolinerjik, nonkolinerjik, serotonerjik, dopaminerjik, aminoasiderjik ve nöropeptiderjik) değişim göstermekle birlikte en çarpıcı olanı kolinerjik sistemde gözlenen değişimdir. Kolinerjik hipoteze göre, Alzheimer hastalığı asetilkolinesteraz ve kolin asetil transferaz gibi kolinerjik belirleyicilerin azalmasıyla ilişkilidir. Asetilkolinesteraz inhibitörleri, nörotransmiterlerin sinapsta yüksek konsantrasyonda kalmasını temin etmek için asetilkolini yıkan enzimin inhibisyonuna neden olurlar. Asetilkolin düzeyini artırmak için uygulanacak yöntemlerden biri asetilkolini yıkan asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinnesteraz (BChE) enziminin baskılanmasıdır. AChE'nin kolinerjik iletimdeki rolü oldukça iyi bilinmekle birlikte BChE'nin rolü yeterince aydınlatılamamıştır. Sağlıklı beyin

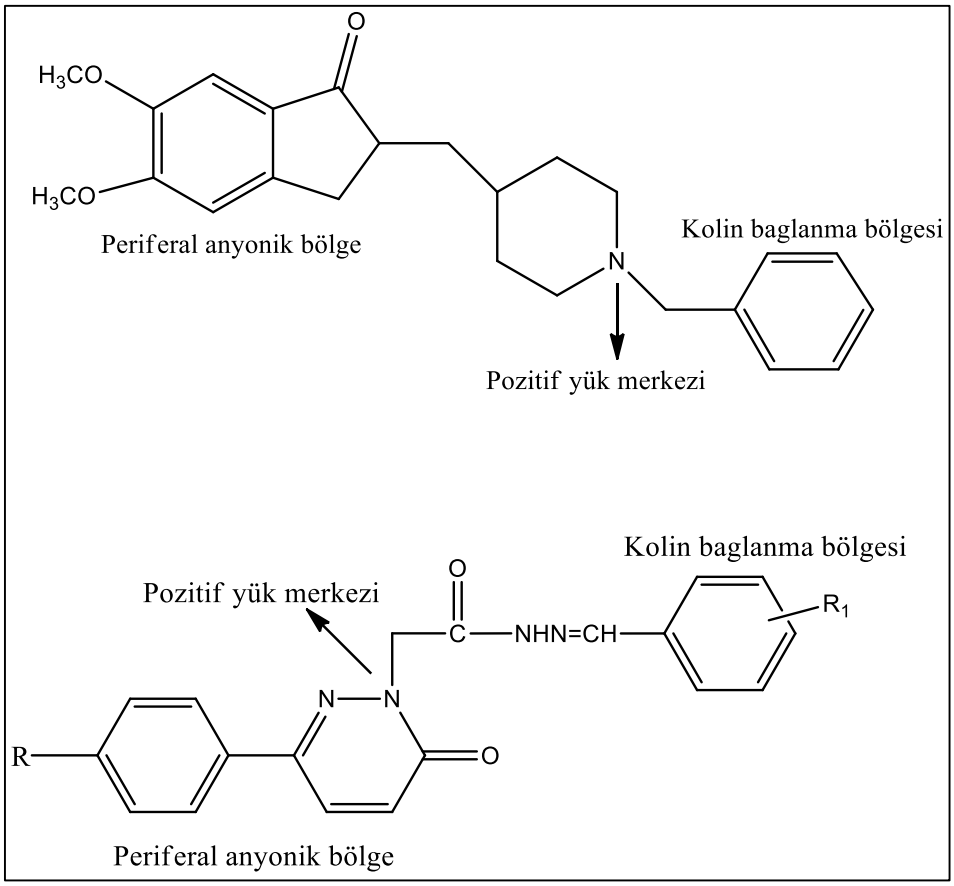
hücrelerinde sinaptik asetilkolin hidrolizi esas olarak AChE tarafından gerçekleştirilmekte, BChE'nin bu hidrolize katkısının çok az olduğu kabul edilmekte; fakat hem AChE'nin hem de BChE'nin nöron gelişimi ve kolinerjik iletimde birlikte aktif rol oynadığı bilinmektedir [18, 19]. Çalışmalar, asetilkolin esteraz inhibisyonuna bağlı asetilkolin düzeyi artışlarının, Alzheimer hastalığının erken evrelerindeki kognitif yetmezliği iyileştirebileceğini göstermektedir.

Asetilkolinesteraz inhibitörü olan takrin, bazı Alzheimerli hastalarda klinik çalışmalar sonucu kavramayla ilgili fonksiyonlarda gelişmeler sağlamış ve Alzheimer tedavisi için Food Drug Administration (FDA) tarafından önerilmiştir. Ancak, takrinin kullanımı karaciğer harabiyetine neden olması bakımından sınırlıdır [20]. Takrinin Alzheimerli hastalarda etkili olması, yeni asetilkolinesteraz inhibitörü bileşiklerin geliştirilmesine neden olmuştur. Asetilkolin esteraz inhibitörü olarak kullanıma giren diğer bileşikler arasında ensaculin, rivastigmin ve donapezil (Şekil 1.2) vardır ve bunlar arasında tedavide en başarılı olanı donapezil olmuştur. Donezepilin 5-10 mg günlük oral dozlarda algılamayı ve klinik fonksiyonları 21-81 hafta arasında iyileştirdiği belirlenmiştir [3].



Şekil 1.2. Asetilkolin esteraz inhibitörü olarak kullanılan ilaçlar

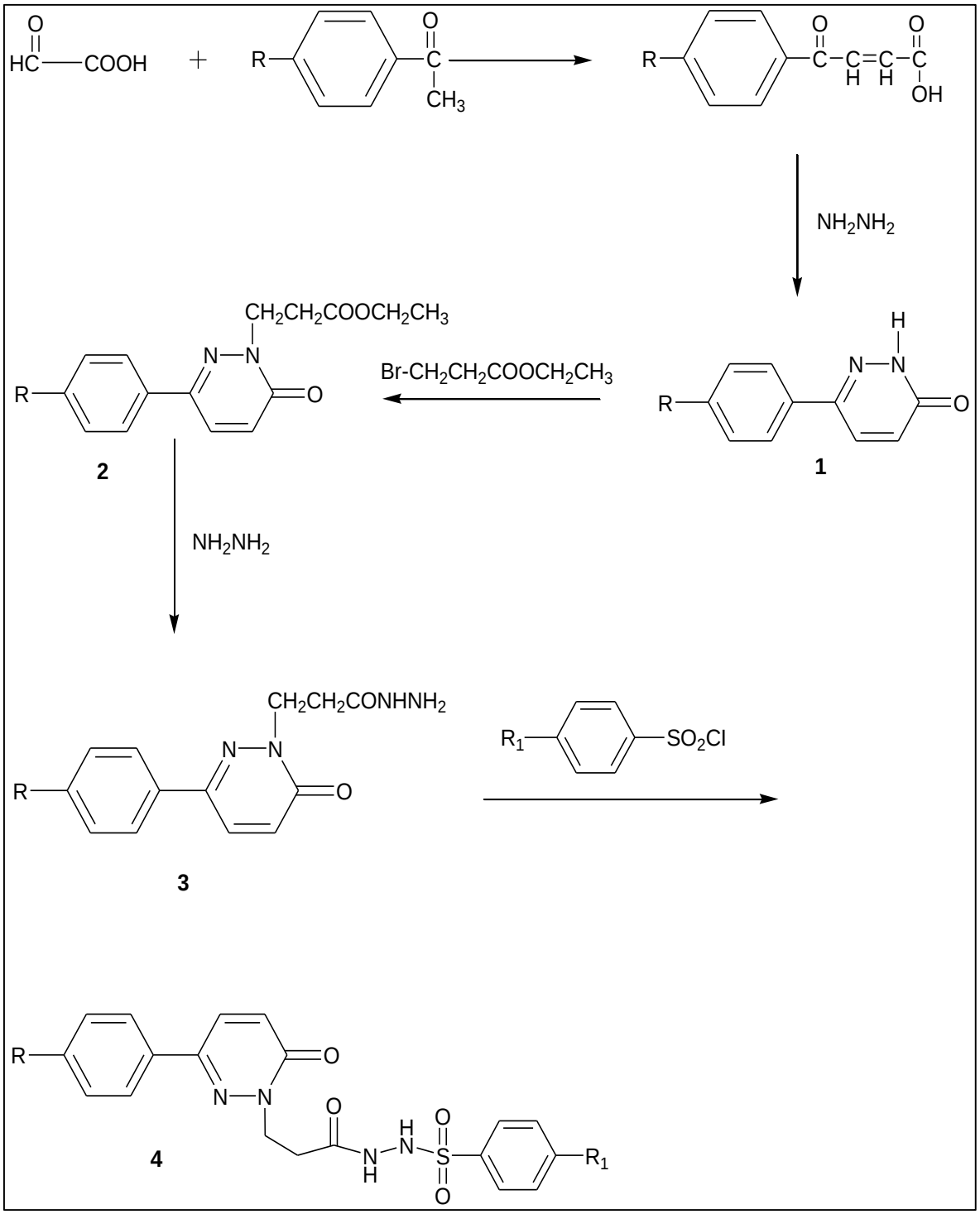
Asetilkolin esteraz inhibitörü, ilaçların genel yapısında bir periferal anyonik bölge, bir pozitif yük merkezi ve bir de aromatik halka (kolin bağlama bölgesi) bulunmaktadır ve bileşiklerin bu şekilde asetil kolin esteraz enziminin reseptöre bağlanma bölgesini bloke ederek inhibisyon gösterdikleri düşünülmektedir [21].



Şekil 1.3. Asetilkolin esteraz inhibitörü ilaçların genel yapısı

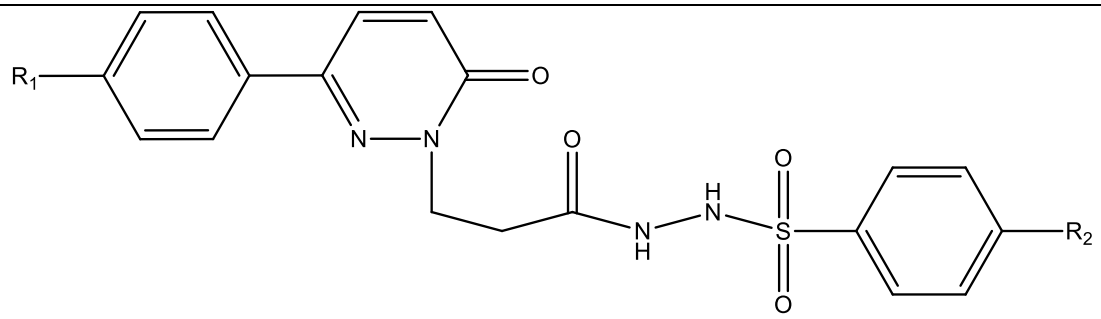
Sunduğumuz tez çalışmasında sentezlediğimiz N'-[Sübstitüe/nonsübstitefenilsülfonil]-2-(6-(4-sübstitüefenil)-3(2*H*)-piridazinon-2-il) propiyonhidrazit türevleri de asetilkolin esteraz türevi bileşiklerinin yapılarına benzer şekilde bir periferal anyonik bölge, bir pozitif yük merkezi ve bir de aromatik halka (kolin bağlama bölgesi) bulunmaktadır. Literatürde 3(*2H*)-piridazinon yapısında antikolinesteraz aktivite gösterdiği bildirilen bileşikler bulunmaktadır ve bu çalışmaların bir kısmı da çalışma grubumuz tarafından yapılmıştır [22-26].

Yukarıdaki literatür verilerinden hareketle bu doktora tezi kapsamında, 3(*2H*)-piridazinon türevi yeni bileşiklerin sentezlerinin yapılması; bu bileşiklerin antikolinesteraz ve butirilkolinesteraz aktivitelerinin araştırılması amaçlanmıştır. Değişik sülfonilüre türevleri kullanılarak hazırlanan bileşik serisinde fenil halkası üzerindeki farklı sübstitüentlerin aktiviteye katkısı araştırılmış ve aktivite için öncü molekülün bulunması amaçlanmıştır. Sentezi yapılan bileşiklerin yapıları aşağıda gösterilmiştir. Sentezlenen hedef bileşiklerin tamamı bu tez kapsamında ilk defa sentezlenmiştir.



Şekil 1.4. Tez kapsamında ilk defa sentezlenen N'-[Sübstitüe/nonsübstitefenilsülfonil]-2-(6-(4-sübstitüefenil)-3(2H)-piridazinon-2-il) propiyonhidrazit türevlerinin reaksiyon şeması

Çizelge 1.2. Tez kapsamında ilk defa sentezlenen N'-[Sübstitüe/nonsübstitefenilsülfonil]-2-(6-(4-substitüefenil)-3(2H)-piridazinon-2-il) propiyonhidrazit türevlerinin yapıları



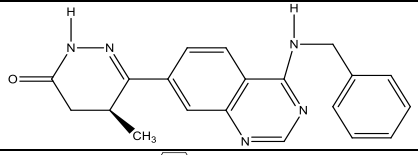
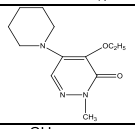
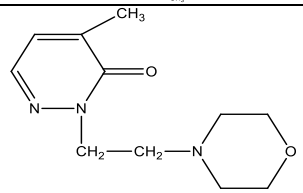
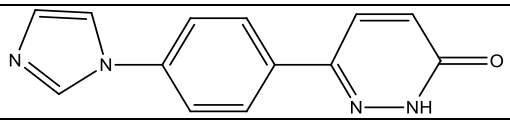
Bileşik	R_1	R_2
4a	Cl	H
4b	Cl	CI
4c	Cl	F
4d	Cl	CF_3
4e	CH_3	H
4f	CH_3	CI
4g	CH_3	F
4h	CH_3	CF_3
4k	OCH_3	H
4m	OCH_3	CI
4n	OCH_3	F
4o	OCH_3	CF_3

2. GENEL BİLGİLER

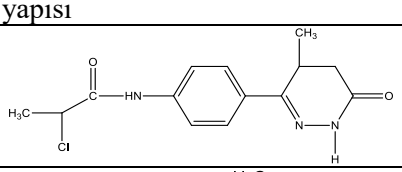
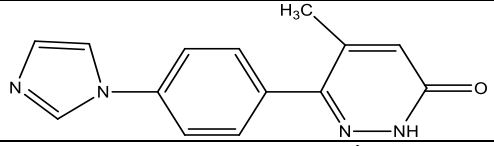
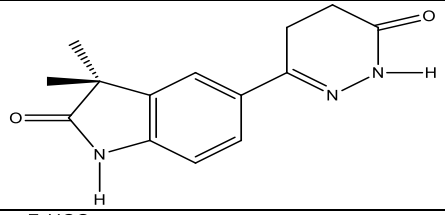
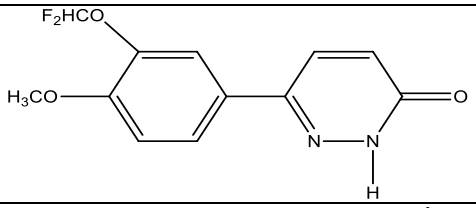
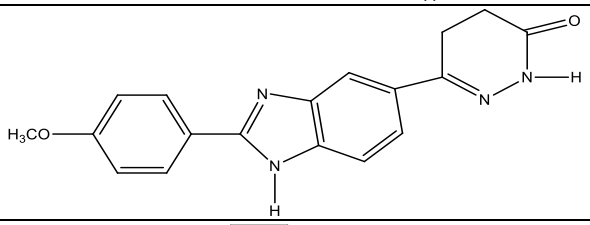
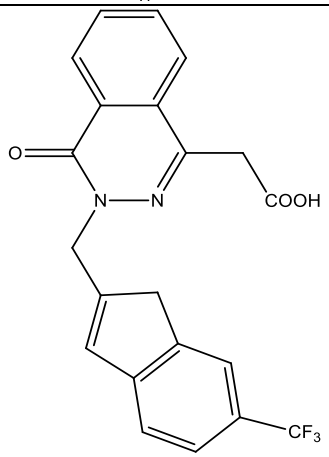
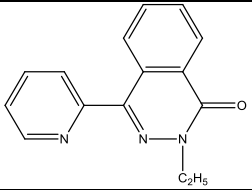
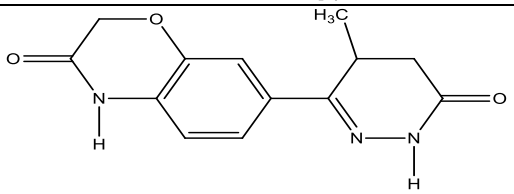
2.1. Piridazinon

Piridazinon kimyası son yıllarda ilgi çekici bir konu haline gelmeye başlamış, piridazinon türevlerinin sentezi ve kimyasal ve biyolojik özelliklerinin incelenmesi; biyolojik, farmakolojik ve tıbbi açıdan büyük önem kazanmıştır [27]. Doğada bulunurluğu kısıtlı olan N-N bağ yapısını canlılarda da az bulunaktadır. Piridazinonların farmakolojik etkisi geniş çapta çalışılmış ve en iyi bilinen etkisi kardiyovasküler etkileri olmuştur [28, 29]. Bu alanda, zardaverin veya imazodan gibi birkaç bileşik, yeni antitrombosit veya kardiyotik ajanların araştırılmasında PDE III inhibitörleri olarak geliştirilmiştir [30, 31]. Sübstitüe piridazinonların antidepresan [32], antihipertansif [33], antikonvülzan [34], kardiyotik [35], antibakteriyel [36], diüretik [37], anti-HIV [38] ve anti-kanser [39] aktiviteleri ile ilgili son 10 yılda çok sayıda çalışma yapılmıştır. Piridazinon türevi kardiyovasküler ilaçlar otonom sinir sistemini etkilemeden, arteryal tonu azaltarak arterioler düz kasın doğrudan rahatlamasını sağlar. Bu eylemi gerçekleştiren moleküler mekanizmalar net değildir, ancak sonuç olarak hücre içi kalsiyum konsantrasyonlarında bir düşüşe yol açması muhtemeldir. Hücresel sinyal yolaklarındaki çeşitli değişiklikler hidralazin gibi arteriolar vazodilatörler tarafından etkilenirken arterleri genişletme kapasitesini açıklayan tam moleküler hedefler belirsizliğini korumaktadır. Bu altı üyeli halka, çeşitli terapötik aktivitelerle farklı kategorilere ait olan iyi üretilmiş ilaçların bir üyesi olarak tasarlanabilir. Bu tür ilaçlar Çizelge 2.1'de listelenmiştir.

Çizelge 2.1. Piridazinon halkası taşıyan farmakolojik ajanlar

Bileşiğin adı	Kimyasal yapısı	Farmakolojik etkisi
KF15232		Kongestif kalp hastalıkları tedavisi [40]
Emorfazone		Analjezik [41]
Ag246		Analjezik [42]
İmazodan		Kardiyotonik [43]

Çizelge 2.1. (devam) Piridazinon halkası taşıyan farmakolojik ajanlar

Bileşiğin adı	Kimyasal yapısı	Farmakolojik etkisi
Amipizone		Antitrombotik [44]
Cl903		Fosfodiesteraz inhibitörü [45]
Indolidan		Kardiyotonik [46]
Zardaverin		Fosfodiesteraz III/IV inhibitör [47]
Pimobendan		Kardiyotonik [48]
Zopolrestat		Antidiyabetik [49]
KK505		Antiastmatik [50]
Bemoradan		Kardiyotonik [51]

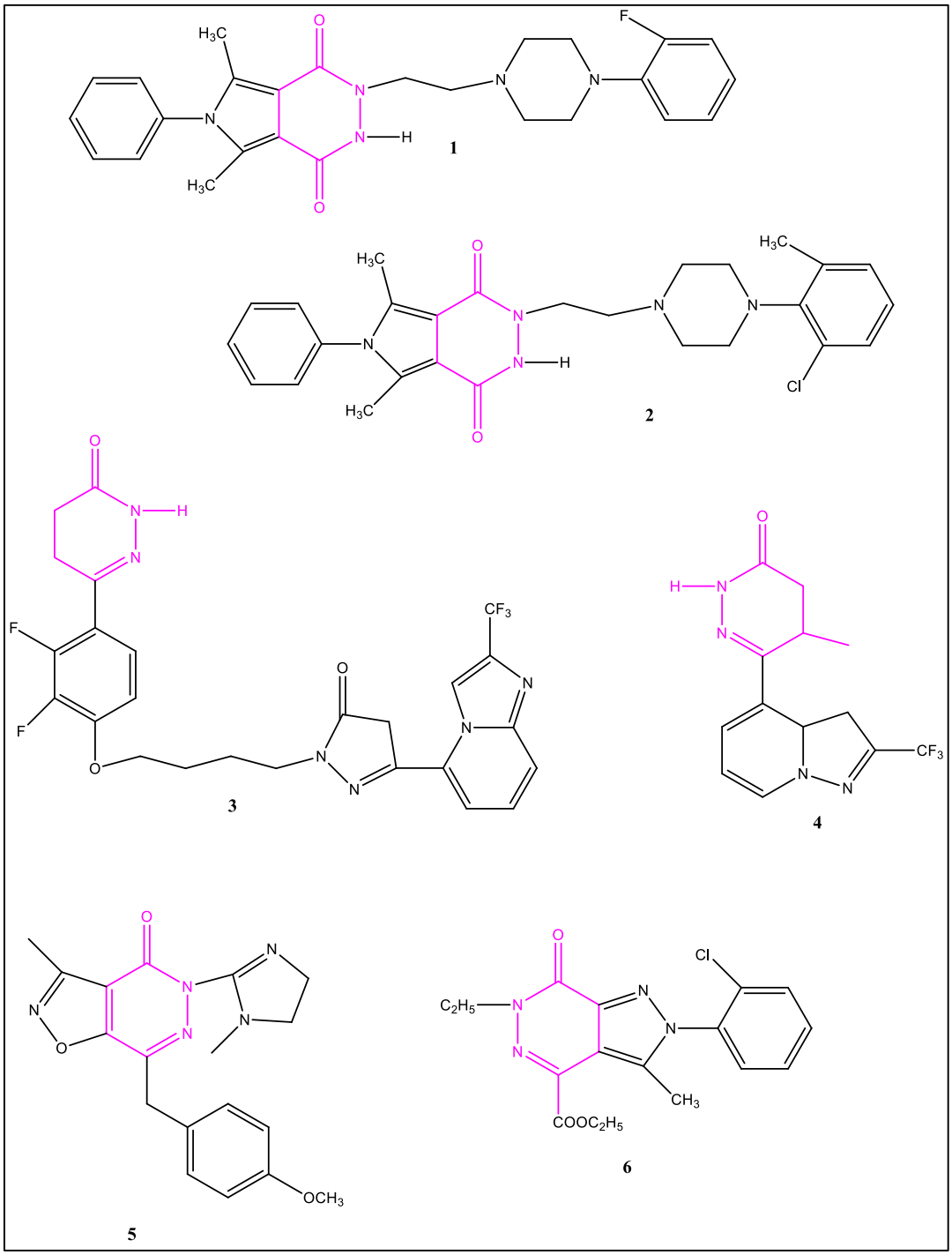
2.1.1. Piridazinon türevlerinin antienflamatuar ve analjezik aktivitesi

Enflamasyon kontrolü; astım, ateroskleroz, osteoartrit, Crohn Hastalığı, alzheimer, gut, diyabet, multiple skleroz, romatoid artrit, karsinoma, psöriazis, viral ve bakteriyel enfeksiyonlar vb. çeşitli hastalıklarda hayli öneme sahiptir. Non-steroidal antienflamatuar ilaçların (NSAID) inflamasyon ve ağrı durumlarının tedavisinde geniş bir klinik kullanımı vardır. Siklooksijenaz enziminin (COX) iki izoformu olan COX-1 ve COX-2 çoğu klasik NSAID tarafından yetersiz bir şekilde ayırt edilebilmektedir [52, 53].

Mogilski ve arkadaşlarının sentezledikleri piridazinon türevlerinden bileşik **1** ve 2, 100 μm/Ml konsantrasyonda antiinflamatuar ve sitokin (TNF, IL-1B) inhibisyon etkisi göstermiştir [54]. Ödem oluşumu her iki bileşikle de önemli ölçüde azalmıştır.

Ochiai ve arkadaşlarının sentezledikleri piridazinon türevlerinden biri olan bileşik **3**, PDE3A ve PDE4B'ye karşı 5 ve 6,7 nm'lik yarı maksimum inhibisyon konsantrasyonunda (IC_{50}) en yüksek antienflamatuar etkiyi göstermiştir [55]. Ochiai ve arkadaşları aynı zamanda başka piridazinon türevleri de geliştirmiş ve onlardan biri olan bileşik **4**, 0,042 ve 0,36 μm'lik IC_{50} değeri ile sırasıyla PDE4B ve PDE3A'ya karşı önemli ölçüde in vivo antienflamatuar etki göstermiştir [56].

Piridazinon analogları sentezleyen Ozadali ve arkadaşları bileşiklerin antienflamatuar aktivitesini değerlendirmişlerdir. Buna göre, bütün bileşikler güçlü in vitro (COX-1/COX-2, 5-LOX) ve in-vivo (sıçan pençe ödemi deneyi) antienflamatuar etki göstermiştir. Ancak, bileşik **5**'in hem COX-2 (IC_{50}=2,1 μm) hem de 5-LOX (IC_{50}=6,3 Um) enzimlerinin inhibisyonunda en aktif bileşik olduğu bulunmuştur [57]. Biagini ve arkadaşları tarafından sentezlenen bir dizi pirazol ve pirazolo [3,4-d] piridazinon türevi bileşik PDE4 inhibisyon aktiviteleri açısından değerlendirilmiştir [58].



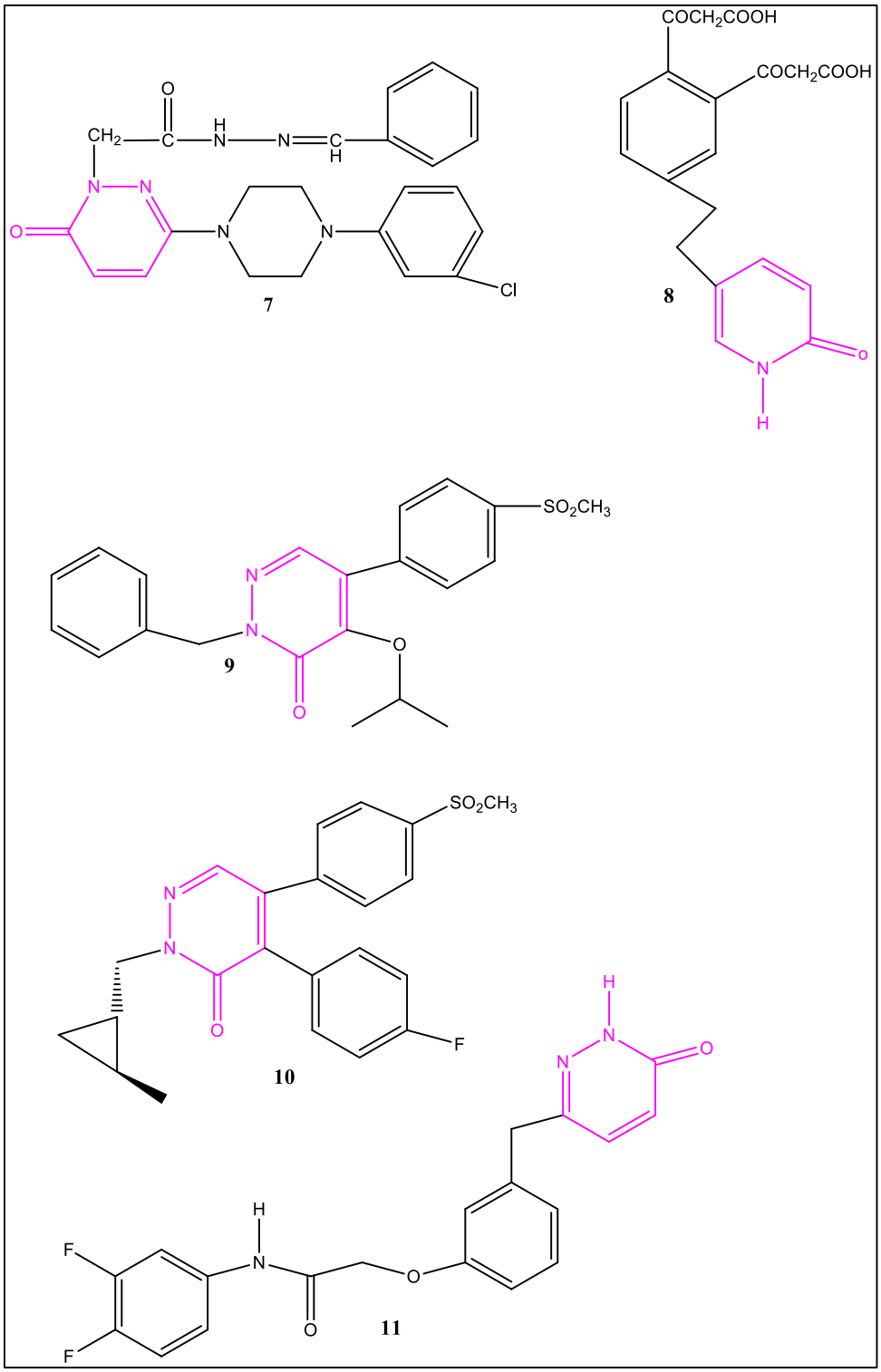
Şekil 2.1. Antiinflamatuar ve Analjezik etkili piridazinon türevleri

Gokce ve arkadaşları tarafından sentezlenen piridazinon türevleri arasında bileşik 7, kuvvetli bir antiinflamatuar ajan olarak ortaya çıkmıştır [59]. Abouzid ve arkadaşları tarafından piridazinon taşıyan analoglar sentezlenmiş ve "Karragen ile indüklenen sıçan pençe ödemi modeli" kullanılarak antiinflamatif aktiviteleri açısından değerlendirilmiştir. Bileşik 8, 17 μm'lik etkin doz (ED_{50}) miktarı ile en yüksek in vivo anti-inflamatuar aktivite göstermiştir [60]. Li ve arkadaşları tarafından tasarlanan ve sentezlenen piridazinonlar arasından bileşik 9 ve 10'un, sırasıyla 0,3 mg/kg ve 1,1 mg/kg'dan düşük ED_{50} değerleri ile en etkili anti-inflamatuar aktiviteye sahip oldukları bulunmuştur [61].

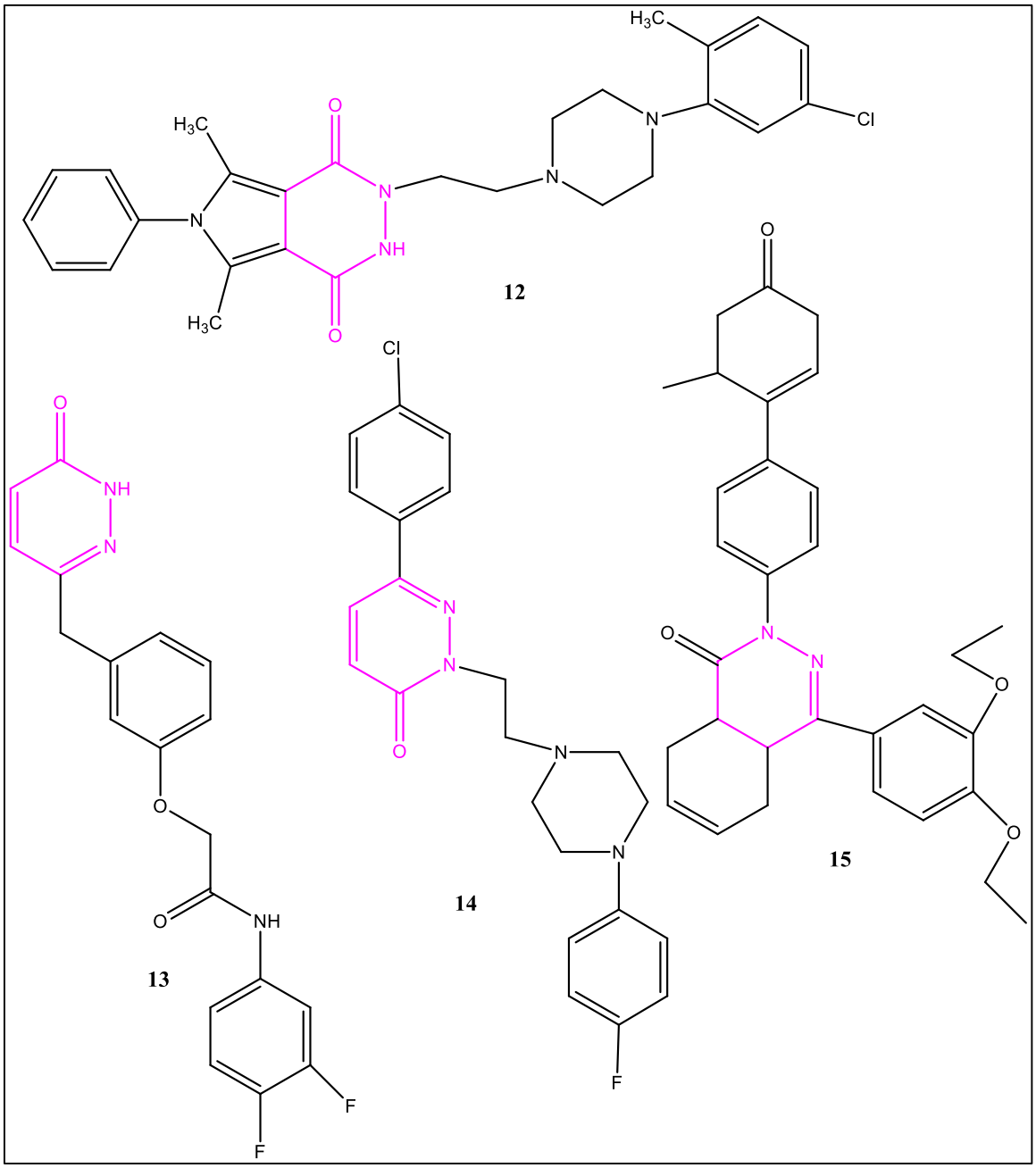
Chintakunta ve arkadaşları tarafından geliştirilen bir başka piridazinon serisinde, bileşik 11, en aktif antiinflamatuar madde olarak bulunmuştur [62]. Malinka ve arkadaşları piridazinon türevlerini sentezlemiş ve analjezik etkinliklerini saptamıştır. Buna göre bileşik 12, Tramadol'ünkine benzer bir m-opioid reseptör afinitesi göstermiştir [63]. Banoğlu ve arkadaşları tarafından 6. konumda pirazol halkası taşıyan piridazinon asetik asit amit türevleri sentezlenmiş buna göre bileşik 13'ün, en aktif anti-inflamatuar ajan olduğu bulunmuştur [64].

Tiryaki ve arkadaşları piridazinon temelli bileşikler sentezlemiş ve analjezik ve anti-inflamatuar potansiyellerini saptamışlardır. Buna göre bileşik 14'ün en aktif olduğu bulunmuştur [65]. Mey ve arkadaşları tarafından sentezlenen piridazinon türevleri, anti-infamasyon etkileri açısından incelenmiştir. Buna göre bileşik 15'in en aktif olduğu bulunmuştur [66]. Ochiai ve arkadaşları bir dizi piridazinon türevi sentezlemiş ve antienflamatuar aktivitesini değerlendirmiştir. Bileşik 16'nın umut verici bir anti-inflamatuar ajan olduğu bulunmuştur [67].

Saeed ve arkadaşlarının sentezlediği bileşiklerden olan bileşik 17 önemli bir anti-inflamatuar aktivite göstermiştir [68]. Abouzid ve arkadaşları piridazinon türevleri sentezlemiş ve onları potansiyel anti-inflamatuar aktiviteleri açısından test etmiştir. Bunagöre bileşik 18 ve 19, serinin en aktif bileşikleri olarak bildirilmiştir [69]. Sharma ve arkadaşlarının sentezlediği piridazinon temelli moleküllerden bileşik 20, en etkin anti-inflamatuar ajan olarak bulunmuştur [70].

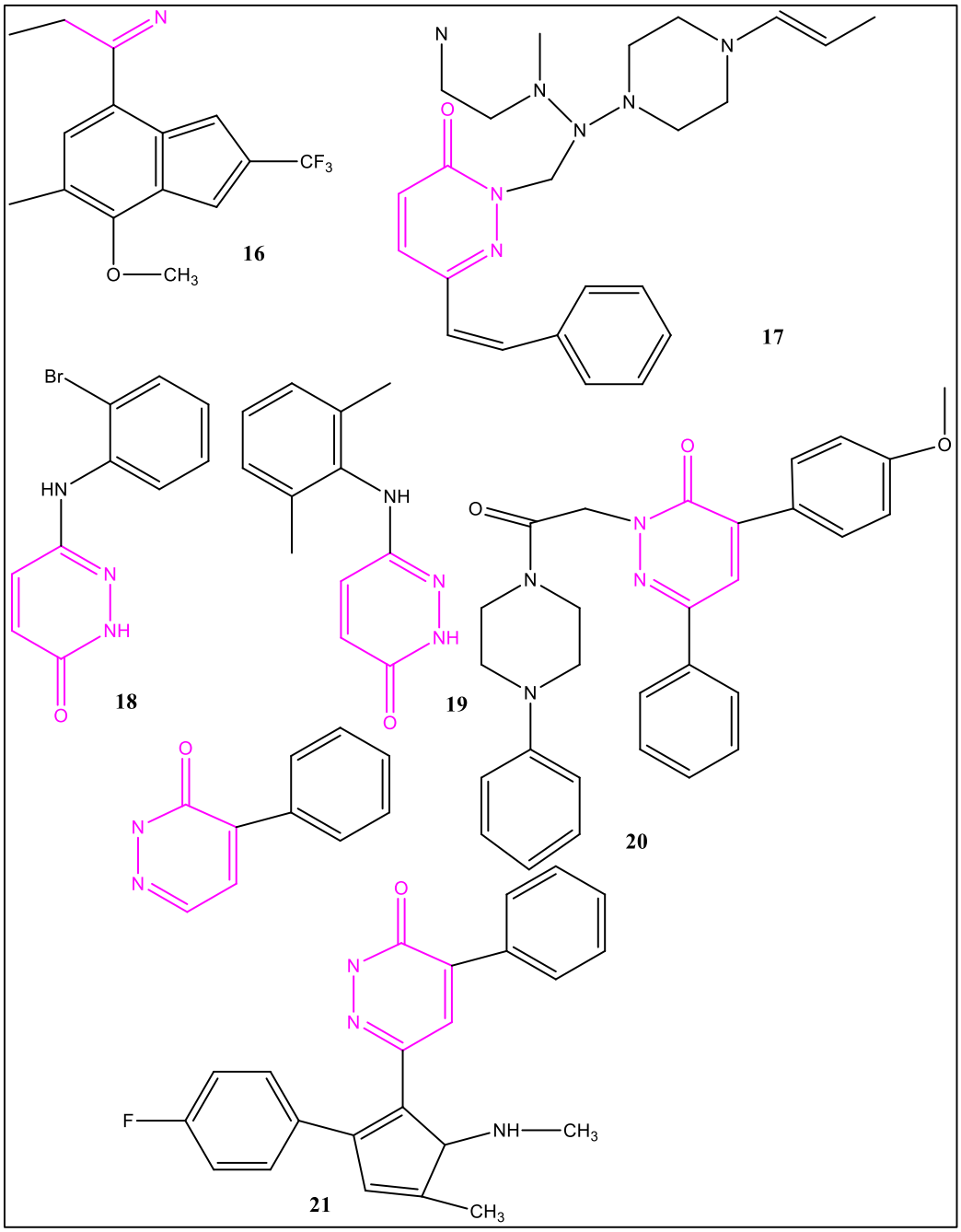


Şekil 2.2. Antiinflamatuar ve Analjezik etkili piridazinon türevleri



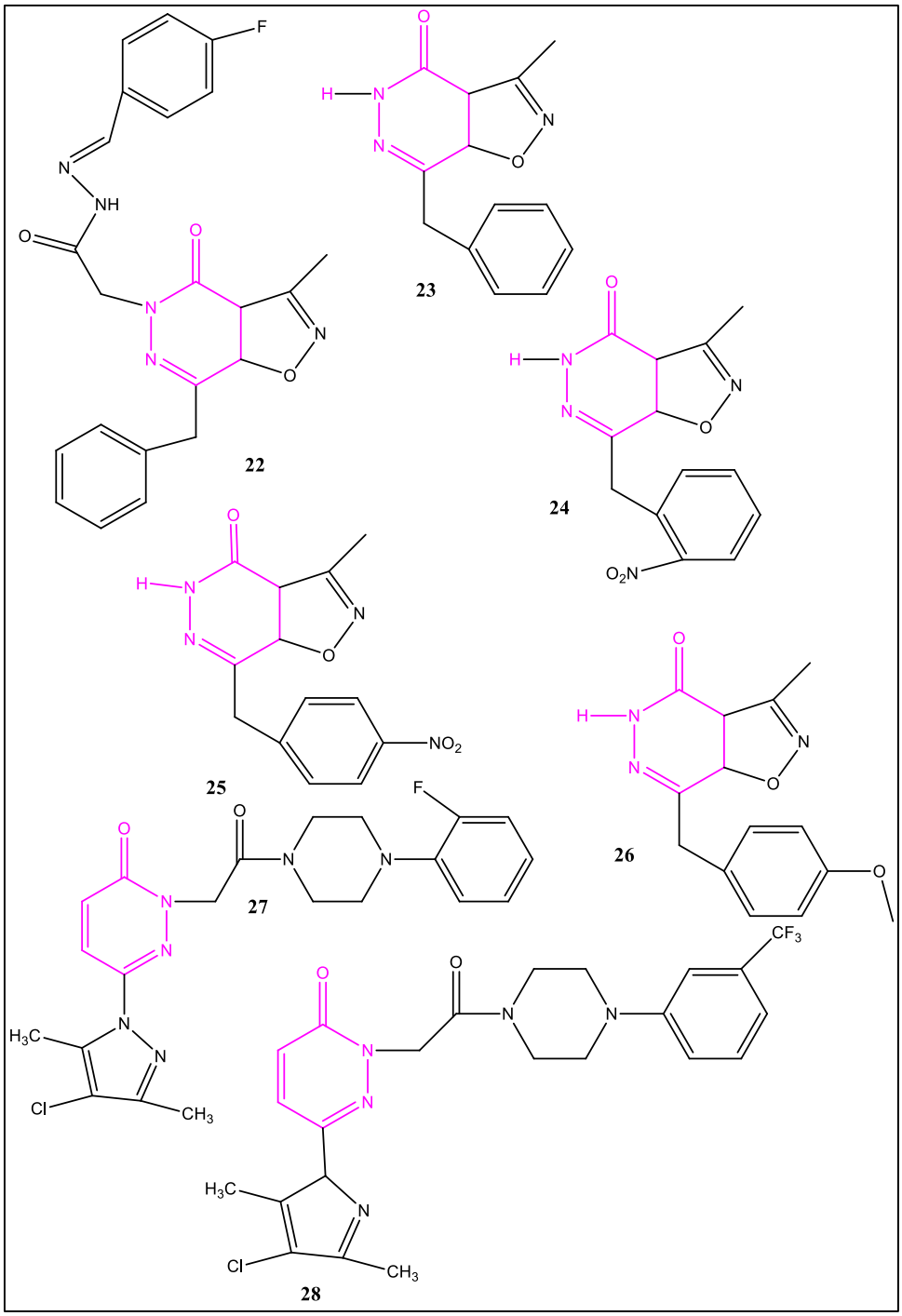
Şekil 2.3. Antiinflamatuar ve Analjezik etkili piridazinon türevleri

Asano ve arkadaşları tarafından bir dizi yeni 6-[(6*R*)-2-(4-fluorofenil)-6- (hidroksimetil)-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-α] pirimidin-3-il]-2-(2-metilfenil) piridazin-3(2*H*)-on tasarlanmış ve sentezlenmiştir [71]. Bu bileşikler, güçlü p38 MAP Kinaz inhibisyonu açısından test edilmiştir. Bileşik 21, in vitro olarak güçlü bir TNF-α inhibitörü olarak tespit edilmiştir.



Şekil 2.4. Antiinflamatuar ve Analjezik etkili piridazinon türevleri

Tan ve arkadaşları tarafından sentezlenen bir dizi piridazinon türevi sentezlemiş ve onları COX inhibisyonu açısından test etmiştir. Bu sentezlenen moleküllerden bileşik 22 en aktif bileşik olarak bulunmuştur [72]. Tan ve arkadaşları daha sonraki çaışmalarında farklı bir seri piridazinon türevlerini sentezlemiş ve analjezik aktivitelerini değerlendirmiştir. Buna göre bileşik 23-26 maksimum analjezik aktivite göstermiştir [73]. Sukoroğlu ve arkadaşları tarafından geliştirilen bir [6-(3,5-dimetil-4-kloropirazol-l-il)-3(2*H*) -piridazinon-2-il] asetamid serisi, antiinflamatuar aktivite açısından değerlendirilmiş ve buna göre bileşik 27 ve 28 önemli antiiflamatuar aktivite göstermiştir [74].



Şekil 2.5. Antiinflamatuar ve Analjezik etkili piridazinon türevleri

2.1.2. Piridazinon türevlerinin antikanser aktivitesi

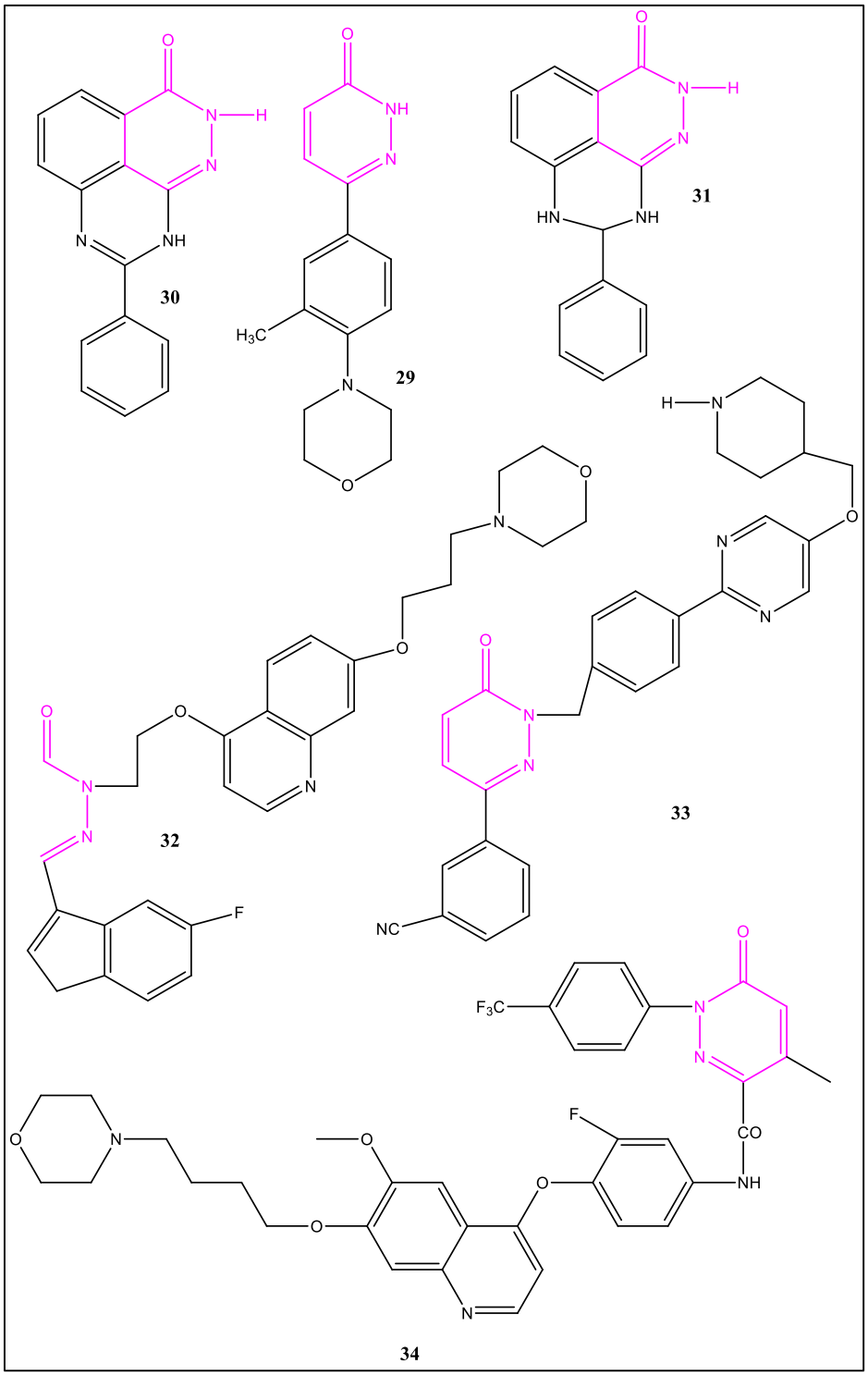
Dünya sağlık örgütüne göre (WHO) göre kanser dünya nüfusunun büyük bir bölümünü etkileyen tehlikeli sağlık risklerinden biridir [75]. Çok sayıda kanser tedavisinde çeşitli antikanser ajanlar aynı zamanda antitümör antineoplastik ve antiproliferatif olarak da anılmaktadır. Bu ajanlar farklı mekanizmalar üzerinden etki ederler. Bununla birlikte, bu

ilaçlarla ilişkili en büyük advers etki, ilaçların kanser hücrelerine yeterli selektitivite gösteremeyip normal hücrelere karşı da sitotoksik etki göstermesidir [76, 77]. Hastalık komplikasyonları dışında, geçtiğimiz on yılda kanser terapisinde önemli ilerlemeler meydana gelmiştir [78]. Piridazinon taşıyan antitümör ajanlar sentezlenmiştir. Sonuç olarak, araştırmacılar tarafından birçok piridazinon halkası taşıyan antiproliferatif ajan geliştirilmiştir.

Yue ve arkadaşları tarafından geliştirilen sübstitüe piridazinon türevleri antihepatosellüler karsinom aktivitesi açısından değerlendirilmiştir. Bileşik 29, SMMC-7721, BEL-7402 and QGY-7703 hücre hatlarına karşı sırasıyla 28,7 ve 30,2 nm konsantrasyonlarda önemli ölçüde büyüme inhibisyonu (GI_{50}) göstermiştir [79].

Wang ve arkadaşları. bir seri piridazino[3,4,5-d,e]kinazolin-3(2*H*)-on türevi sentezlemiştir. Sentezlenen bileşikler, Poli ADP-Riboz Polimeraz (PARP-1) inhibitörleri olarak değerlendirilmiştir. Sonraki değerlendirmelerde, bileşik 30 ve 31'in H_2O_2 ile hasar oluşturulan PC12 hücre modelinde nöroprotektif etki gösteren serinin en aktif bileşikleri olduğu ve her iki bileşik 0,148 μm and 0,152 μm IC_{50} değerlerinde çok iyi aktivite gösterdiği bildirilmiştir [80].

Xing ve arkadaşları sentezledikleri bir seri Piridazinon'un antiproliferatif aktivitesini değerlendirmiştir. Bileşik 32, 4,2 μm konsantrasyonda selektif c-Met inhibisyonu yaparak en aktif bileşik olarak bulunmuştur [81].



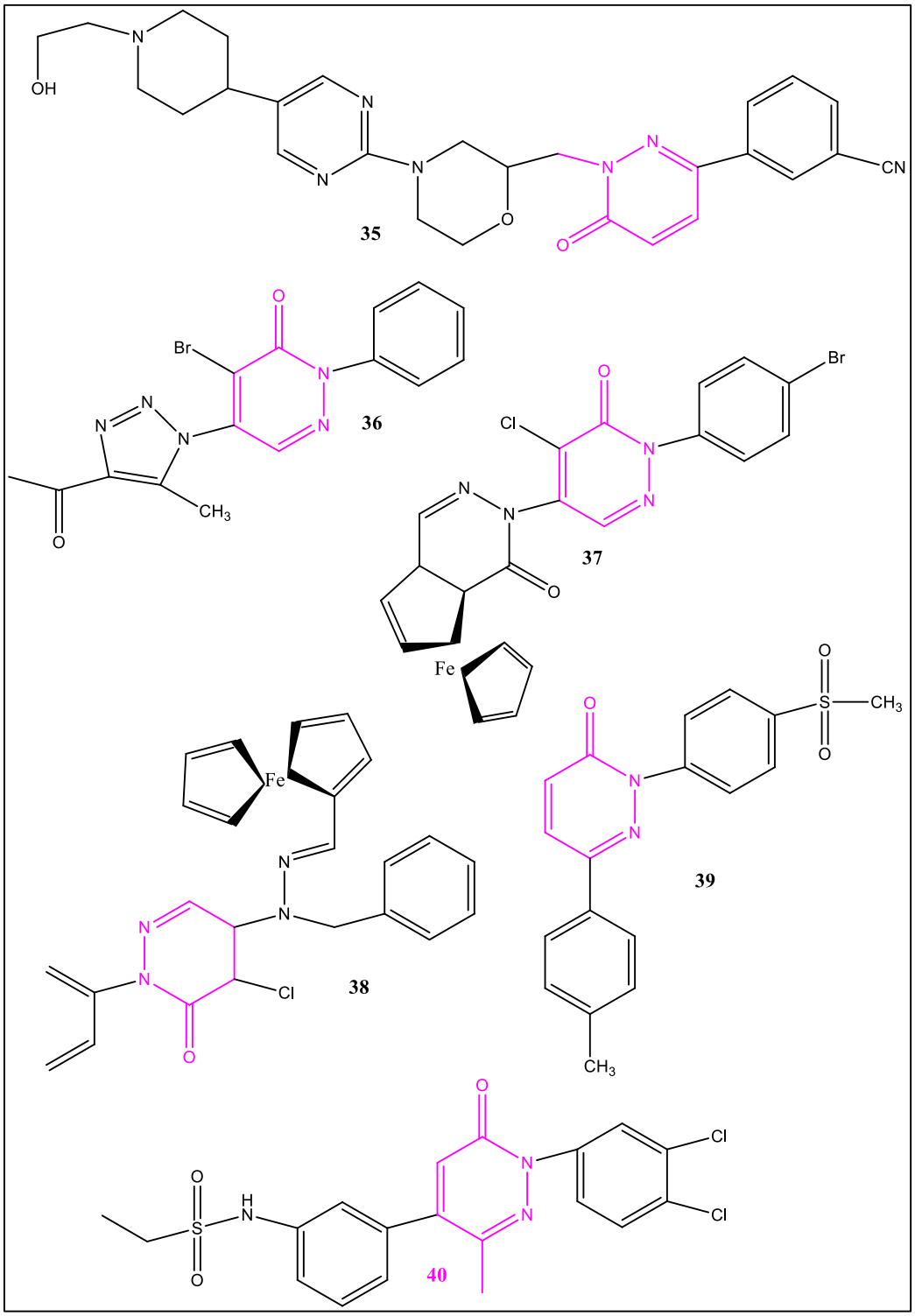
Şekil 2.6. Antikanser etkili piridazinon türevleri

Dorsch ve arkadaşları yeni piridazinon türevlerini geliştirmiş ve sentezlenmiştir. Bu bileşikler düşük dozlarda in vivo anti-tümör etkinliği açısından değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşikler arasında, Bileşik 33'ün, 12 nm IC_{50} değerinde c-Met hücresine karşı oldukça potent olduğu bulunmuştur [82]. Zhou ve arkadaşları piridazinon halkası içeren birkaç 4-fenoksikuinolin türevi sentezleyerek, beş kanser hücresi hattına karşı (HT-29,

H460, A549, MKN-45, ve U87MG) in vitro sitotoksik aktivitesi açısından değerlendirmiştir. Bileşik 34, sırasıyla 0,10 Mm, 0,13 μm ve 0,05 μm IC_{50} değerlerinde, HT-29, H460 ve A549 hücre hatlarına karşı önemli derecede sitotoksisite göstermiştir [83].

Kang ve arkadaşları bir dizi fenil sübstitüe piridazin-3(2H)-on sentezleyerek antitümör etkinliğini belirlemiştir. Bileşik 35'in 0,002 μm IC_{50} değerinde en etkili in vivo ksenograft antitümör ajan olduğu bildirilmiştir [84]. Brooke ve arkadaşları bir dizi triazolofenilpiridazinon sentezlenmiş ve bileşik 36'nın, IC_{50} değeri 7,4 ± 4,8 μm olan önemli bir $PFKFB_3$ enzim inhibitörü olduğunu bildirmiştir [85]. Bir seri N-benzil sübstitüe ve Kloropiridazinil sübstitüeferroseno[d]piridazinon türevleri Csokas ve arkadaşları tarafından geliştirilerek, over kanseri hücre proliferasyonu inhibisyonu için değerlendirilmiştir. Bileşik 37 ve 38'in, A2780 over karsinoma hücre hattına karşı sırasıyla %27,62 ± 1,94 ve 22,53 ± 2,18 değerinde önemli inhibisyon aktiviteleri olduğu bildirilmiştir [86]. Ovais ve arkadaşları 6-aril-2- (p-(metansülfonil)fenil)-4,5-dihidropiridazin-3(2*H*)-on türevlerini sentezlenmiş ve bu bileşikleri 36 insan tümör hücre hattına karşı antikanser aktiviteleri açısından değerlendirmiştir. Bileşik 39 1 Mm'den daha düşük GI_{50}'ye sahip en aktif bileşik olarak bildirilmiştir [87].

Ryu ve arkadaşları bir dizi piridazinon bazlı bileşik sentezleyerek, insan prostat LNCap hücreleri tedavisi ve androjen reseptörü aktivitesi açısından değerledirmiştir. IC_{50} değeri 11,57 Mm olan Bileşik 40 en aktif bileşik olarak bulunmuştur [88]. Zhu ve arkadaşları, yeni bir tetrahidropiridopiridazinon serisi geliştirerek PARP-1 enzimine karşı test etmiştir. Bileşik 41 ve 42'nin, B16 mürin ksenograft modelinde önemli etkinlik gösterdiği bildirilmiştir [89]. Rathish ve arkadaşları tarafından sentezlenen bileşikler arasında, bileşik 43, SR (lösemi) ve NCIH522 (Küçük hücre dışı akciğer)'ye karşı, 0,1 Mm'den daha düşük GI_{50} değerinde çok önemli bir aktivite göstermiştir [90].



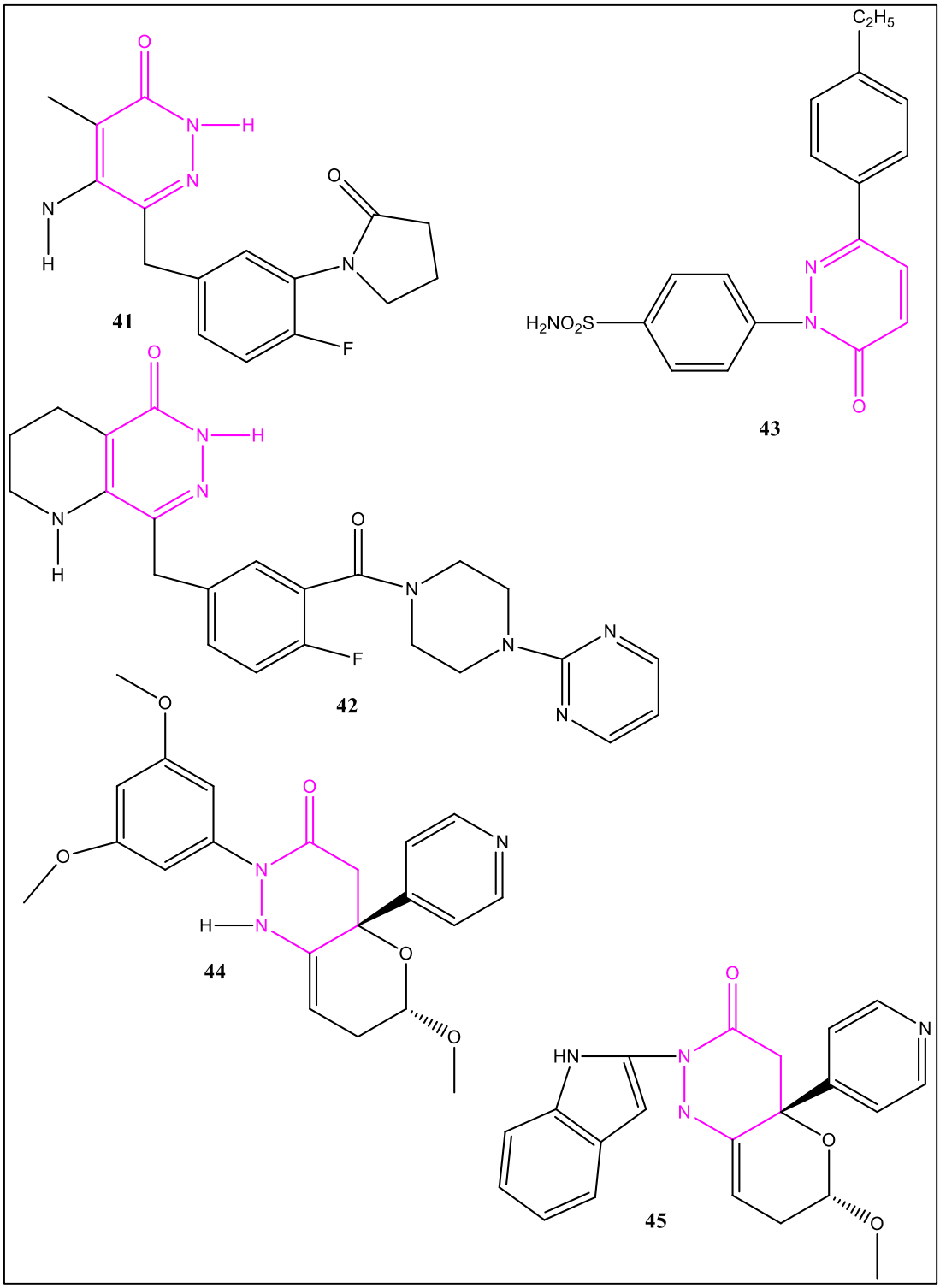
Şekil 2.7. Antikanser etkili piridazinon türevleri

Taleb ve arkadaşları bir dizi piridazinon türevi sentezleyerek SK-BR-3 meme kanseri hücre hattına karşı anti-proliferatif etkinliklerini test etmiştir. Bileşik 44 ve 45'i 0,21 ve 0,15 Mm aralığındaki IC_{50} değerleri ile en aktif moleküller olarak bildirilmiştir [91]. Jerome ve arkadaşları tarafından geliştirilen 5-sübstitüe-N-arilpiridazinonlar p38a inhibitör aktivitesi

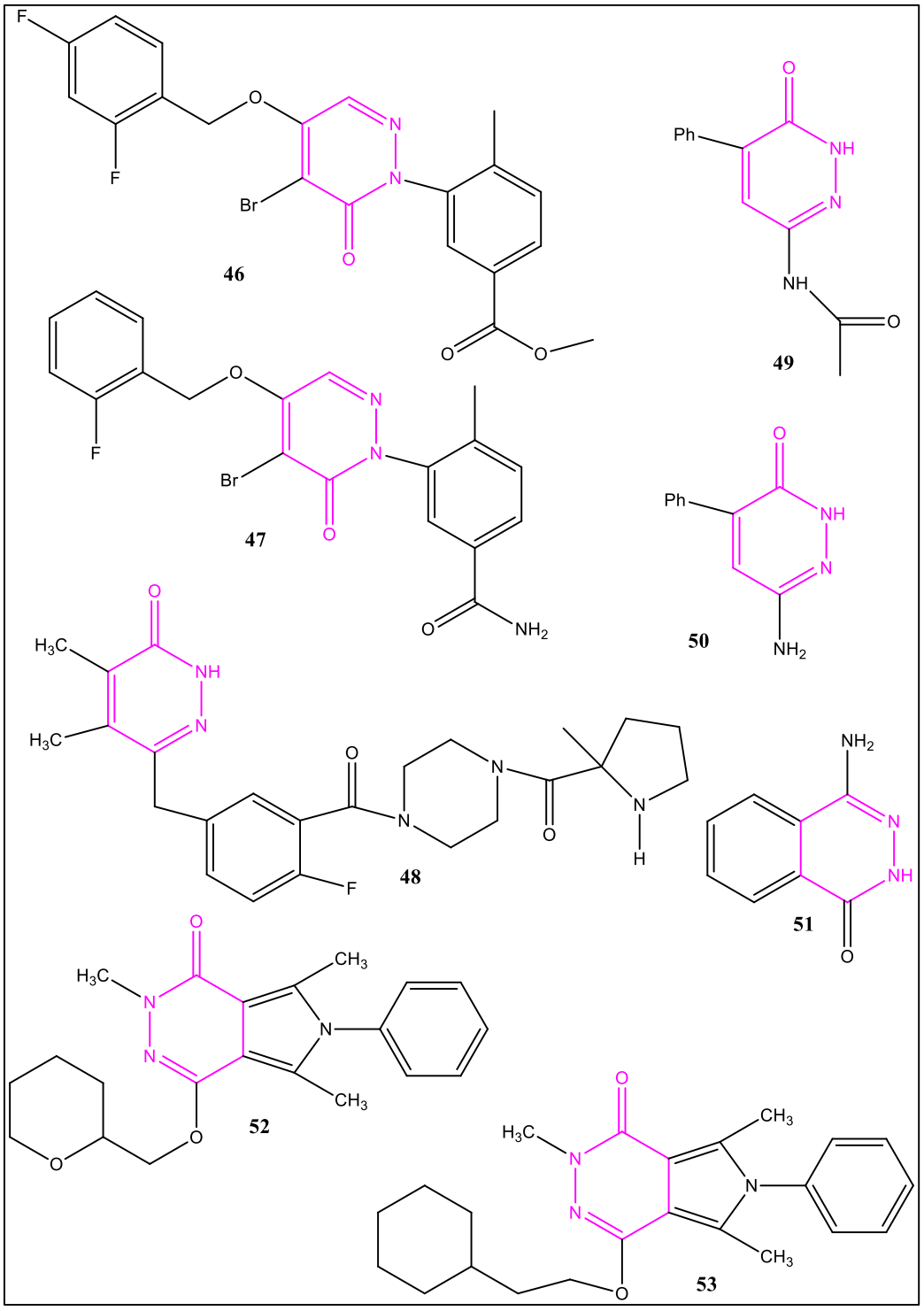
açısından değerlendirilmiştir. Bileşikler 46 ve 47'nin sırasıyla 0,015 m ve 0,10 Mm IC_{50} ile p38a'ya karşı aktif olduğu bulunmuştur [92].

Ferrigno ve arkadaşları piridazinon bazlı bileşikler geliştirerek, antikanser aktivitesini değerlendirmiştir. Bileşik 48, 2,8 Nm IC_{50} değeri ile serisinin en aktif antikanser ajanı olarak bulunmuştur [93]. Elagawany ve arkadaşları tarafından sentezlenen piridazinon molekülleri arasında, IC_{50} değeri 15 Mm'den düşük olan bileşik 49-51, dört tümör hücre hattına karşı en çok serinin güçlü bileşikleri olarak bulunmuştur [94]. Malinka ve arkadaşları tarafından sentezlenen piridazinon ana yapısına sahip olan bileşiklerden bileşik 52 ve 53, anti kanser taramasında 10^{-5} M 'ın altındaki konsantrasyonlarda en aktif bileşikler olarak bulunmuştur. Bunlar arasında bileşik 54 En potent olarak bulunmuştur [95].

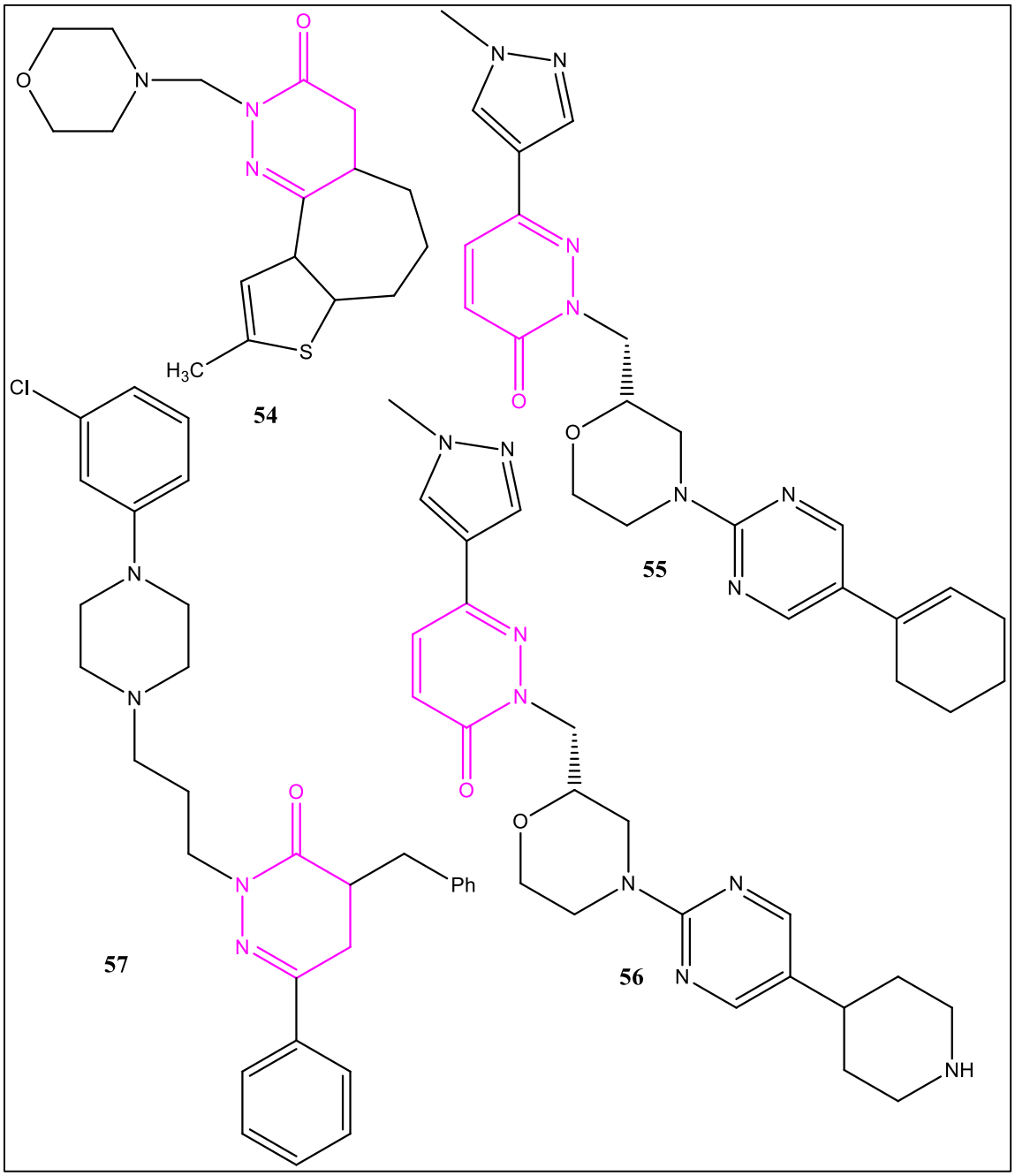
Kim ve arkadaşları bir seri sübstitüe pirazol-4-il piridazinon türevi sentezleyerek, c-Met enzimine karşı tirozin kinaz inhibitörleri olarak ve Hs746T insan gastrik kanser hücre hattına karşı antiproliferatif etkinliği açısından değerlendirilmiştir. Bileşik 55 ve 56 en potent bileşikler olarak bulunmuştur [96]. Murty ve arkadaşları. Bir dizi 4- (aril/heteroaril-2-ilmetil)-6-fenil-2- [3- (4-sübstitüe piperazin-1-il) propil]piridazin-3(2*H*)-on türevleri geliştirerek, anti kanser aktivitesini değerlendirmiştir. Bileşikler 57-60, antiproliferatif aktivitesi güçlü olan moleküller olarak bulunmuştur [97]. Panathur ve arkadaşları IC_{50} değeri 0,04 µm olan Bileşik 61'in, en aktif antikanser ajan olduğunu bildirmiştir [98].



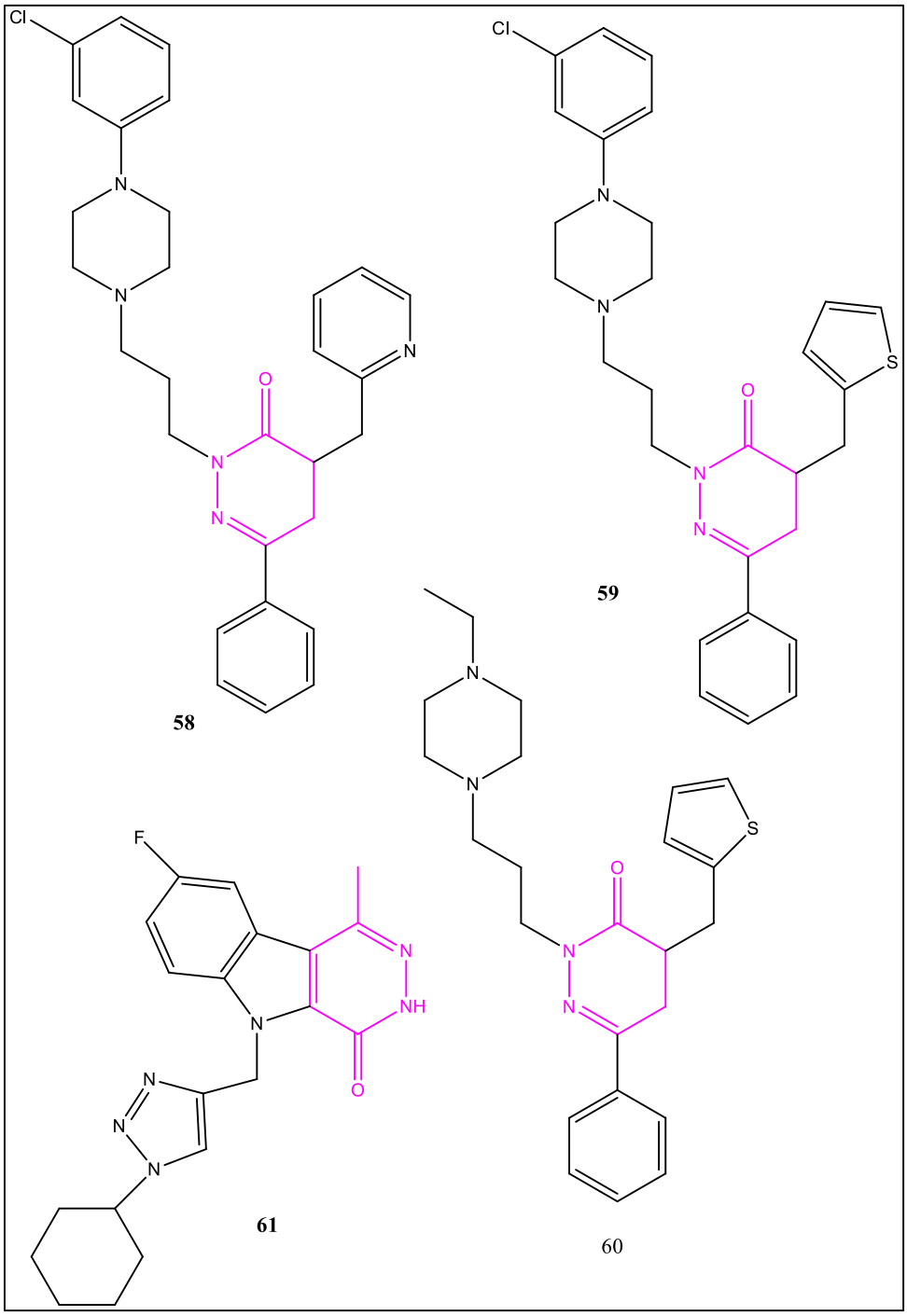
Şekil 2.8. Antikanser etkili piridazinon türevleri



Şekil 2.9. Antikanser etkili piridazinon türevleri



Şekil 2.10. Antikanser etkili piridazinon türevleri



Şekil 2.11. Antikanser etkili piridazinon türevleri

2.1.3. Piridazinon türevlerinin antiviral aktivitesi

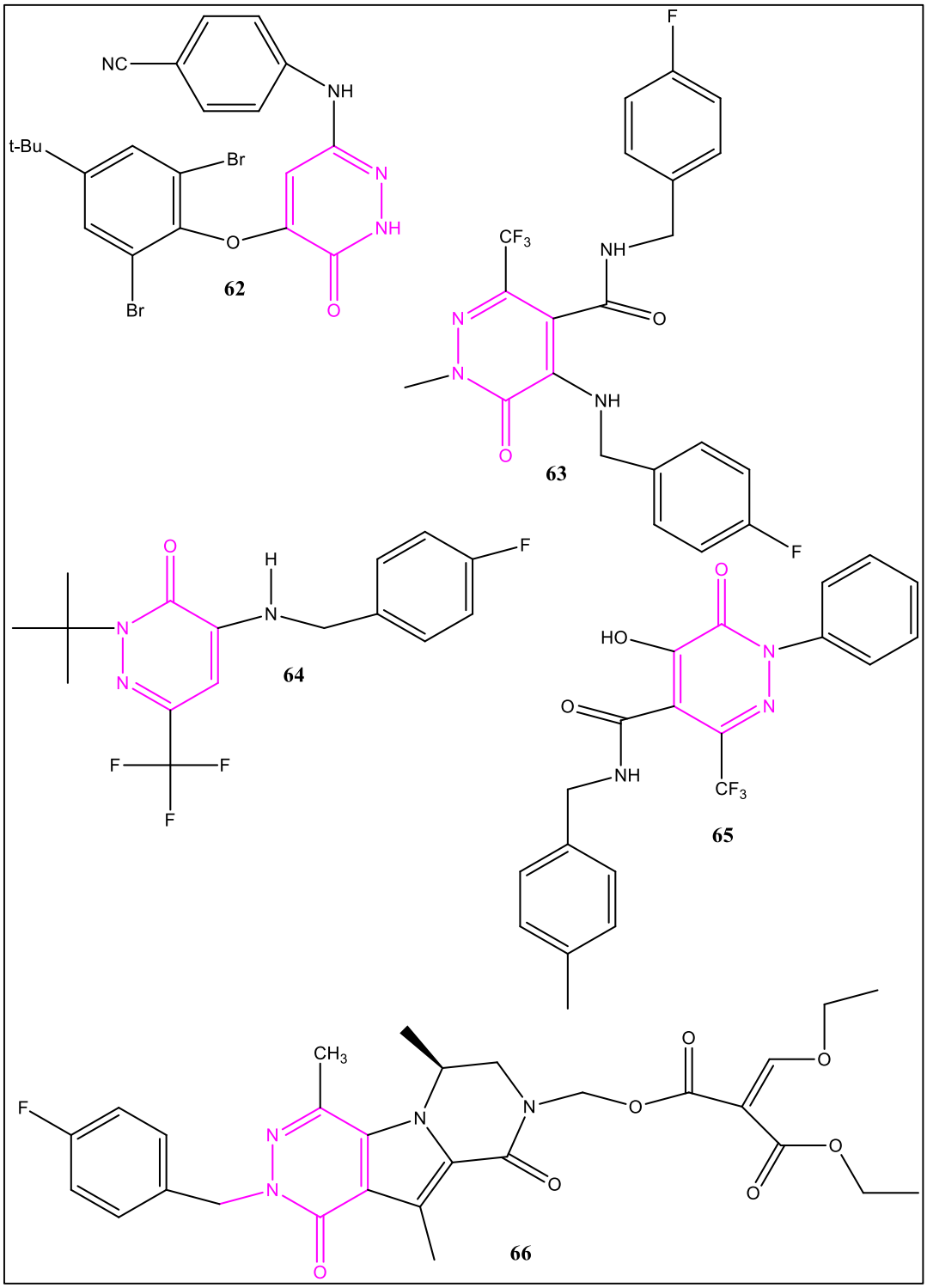
Virüsler, dünya çapındaki hastalıkların başlıca nedenlerinden biridir. Son yıllarda çeşitli antiviral ajanlar üretilmiş olmasına rağmen yeni ve güvenli anitiviral ilaç üretimine ihtiyaç vardır. Çeşitli piridazinon türevlerinin antiviral özellikleri, insan Herpes simpleks virüsü (HSV-1), İnsan sitomegalovirüsü (HCMV), Hepatit B ve C virüsü (HBV ve HCV) ve İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü (HIV) gibi farklı virüs suşları kullanılarak değerlendirilmiştir [99].

Piridazinon taşıyan antiviral ajanlar Şekil 2.12'de gösterilmiştir. Li ve arkadaşları piridazinon bazlı moleküller sentezlemiş ve düşük konsantrasyonlarda inatçı tip HIV-1'e karşı inhibitör aktivite açısından incelemiştir [100]. Buna göre bileşik 62, 0,21±0,3 μm EC_{50} değeri ile en güçlü bileşik olarak kaydedilmiştir. Wangve arkadaşları piridazinon analogları sentezlemiş ve antiviral aktivitelerini saptamıştır [101]. Bileşik 63 ve 64, HIV inhibisyon etkisi göstermiştir. Bu seriden bileşik 65, aynı zamanda in vivo anti-tütün mozaik Virüsü (Anti-TMV) aktivitesi göstermiştir.

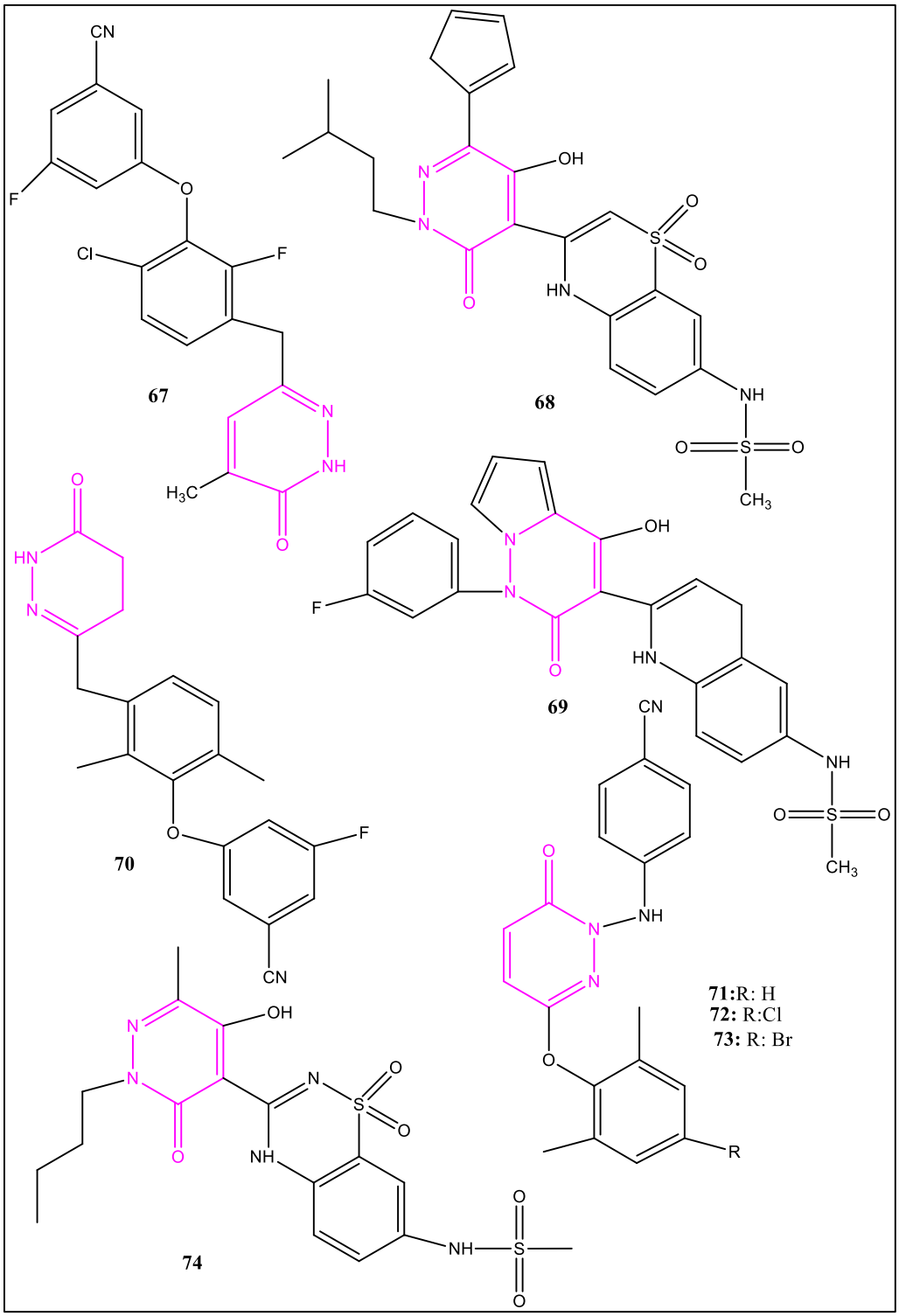
Wiscount ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, piridazinon taşıyan bileşik 66, 10 nanomolardan düşük olan IC_{50} değeri ile integraz iplikçik aktarım aktivitesini ve de 35 nanomolarlık bir IC_{95} değeri ile insan serumu varlığında HIV-1 hücre kültürü replikasyonunu inhibe etmiştir [102]. Sweeney ve arkadaşları piridazinon türevleri sentezlemiş ve antiviral aktivitelerini saptamıştır. Bileşik 67, HIV-1 non-nükleozid revers transkriptaz inhibitörü olarak belirlenmiştir [103].

Ellis ve arkadaşları piridazinon taşıyan bileşik 68'in 10 nanomolardan az IC_{50} değeri ve 1,1 nanomolardan az CE_{50} değeri ile güçlü bir HCV NS5B enzim inhibitörü olduğunu rapor etmiştir [104]. Ruebsam ve arkadaşları tarafından hazırlanan piridazinon analogları arasında Bileşik 69, genotip 1 HCV NS5B polimeraza karşı mükemmel bir etki göstermiştir [105]. Li ve arkadaşları, bir makalede piridazinonun fiziksel özellikleri ve farmakokinetik parametrelerini optimize etmişlerdir. Buna göre Bileşik 70'in, HIV-1'e ve ana mutant virüslere karşı yüksek bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur [106].

Venkatraj tarafından geliştirilen başka bir piridazinon serisinde Bileşik 71-73'in, inatçı tip HIV-1'e karşı mükemmel bir etki gösterdiği rapor edilmiştir [107]. Li ve arkadaşları tarafından sentezlenen piridazinon türevleri HCV NS5B polimeraz inhibisyonu açısından incelenmiş ve biyokimyasal analizlerde Bileşik 74'ün 10 Nm'den düşük IC_{50} değeri ile güçlü inhibisyon etkisine sahip olduğu bulunmuştur [108].



Şekil 2.12. Antiviral etkili piridazinon türevleri



Şekil 2.13. Antiviral etkili piridazinon türevleri

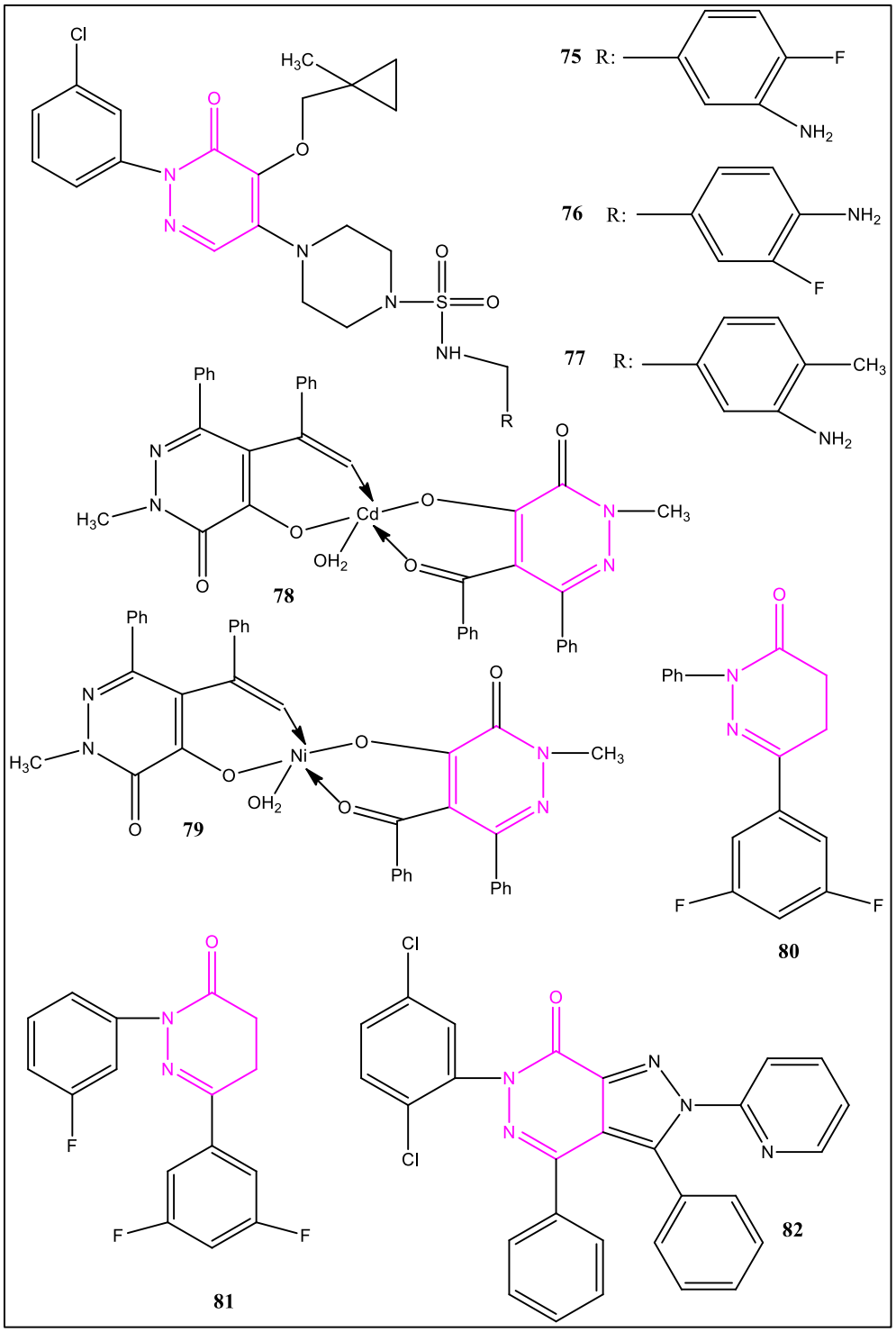
2.1.4. Piridazinon türevlerinin antimikrobiyal aktivitesi

Antimikrobik enfeksiyonlar, dünyadaki tropik ülkelerde mortalite ve morbiditenin en önemli nedenlerinden biridir [109, 110]. Antibiyotikler genellikle şiddetli ve hayatı tehdit eden bakteriyel enfeksiyonlardan kaçınmak için reçete edilir.

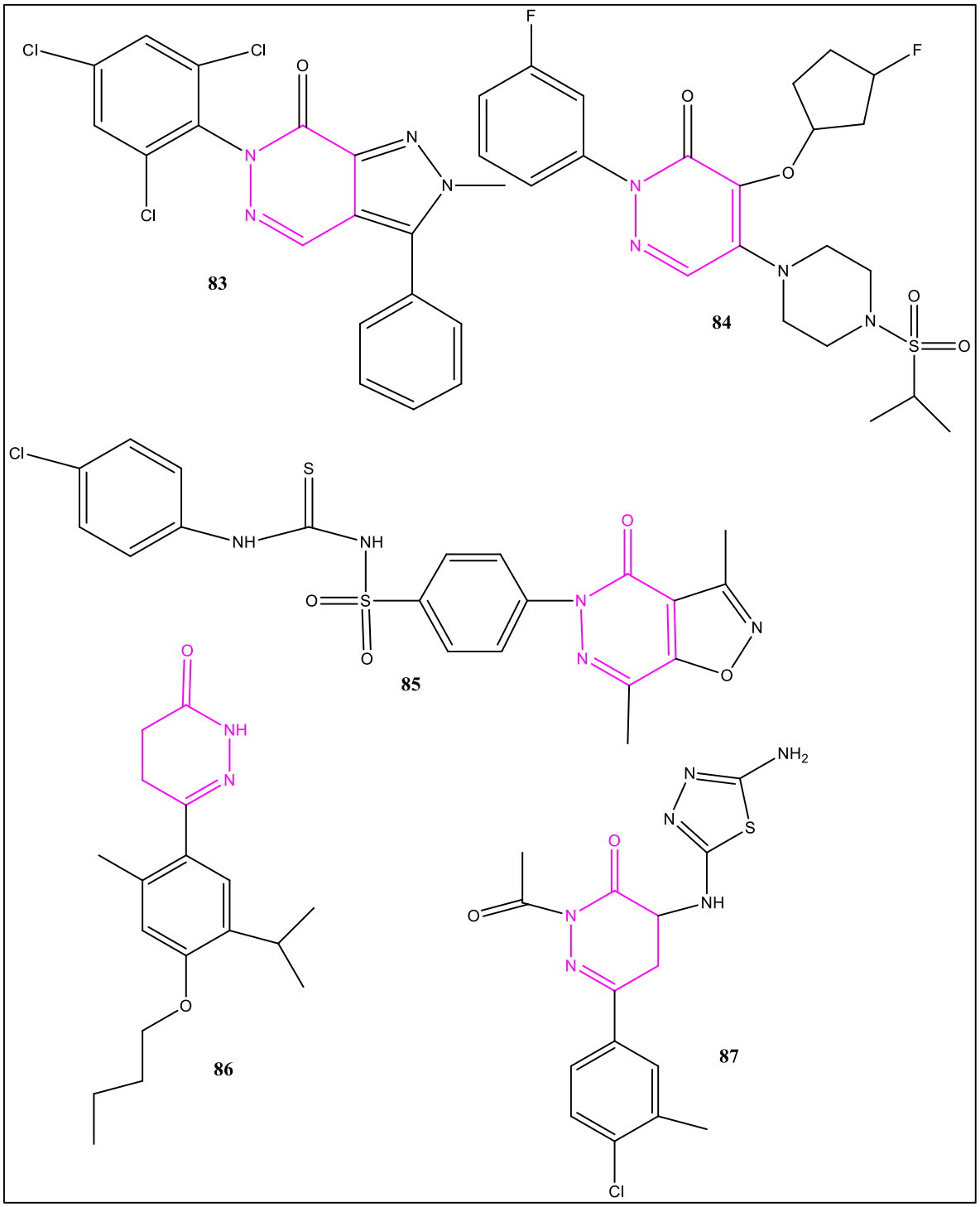
Zych ve arkadaşları tarafından bir dizi sübstitüe piridazinon sentezlenmiş ve antifungal aktivite saptanmıştır [111]. Buna göre Bileşik 75 ve 76'nın önemli ölçüde antifungal aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Değerlendirme, Aspergillus fumigatus küfüne ve yanısıra *Candida albicans*'ın (*C. Albicans*) izole edilmiş patojenik klinik suşlarına karşı yapılmıştır. Kuang ve arkadaşları tarafından bir dizi piridazinon türevi sentezlenmiş ve antifungal aktivitelerine bakılmıştır. Buna göre Bileşik 77, 0,13 ug/Ml MIC_{100} değeri ile *C.albicans* C697'ye karşı güçlü aktivite göstermiştir [112].

Sönmez ve arkadaşları tarafından birkaç piridazinon türevi sentezlenmiştir. Antifungal değerlendirme sonucu Kompleks 78 ve 79'un iki maya suşu olan *C. albicans* ATCC 27541 ve *C. tropicalis* 1828'e karşı çok aktif olduğu bulunmuştur [113]. Sowmya ve arkadaşları tarafından hazırlanan farklı piridazinon türevlerinden Bileşik 80 ve 81, çok aktif antibakteriyel ajanlar olarak rapor edilmiştir [114]. Akbaş ve arkadaşları bir seri piridazinon sentezlemiş ve antibakteriyel aktivite açısından incelemiştir. Bileşik 82 ve 83 Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilere karşı önemli ölçüde aktivite göstermiştir [115]. MIC değeri 0,31-0,0024 mg/Ml aralığında bulunmuştur.

Ting ve arkadaşları çeşitli piridazinon bileşikleri sentezlemiş ve glukan sentez inhibisyonu açısından test etmiştir. Çalışmanın sonucunda, Bileşik 84, *C. glabrata* enfeksiyonlu bir farede in vivo olarak kayda değer ölçüde etki meydana getirmiştir [116]. Faidallah ve arkadaşları bir seri piridazinon temelli bileşik sentezlemiş ve antimikrobiyal aktiviteye sahip olduklarını saptamışlardır. Bileşik 85, çok etkili bir antibakteriyel ajan olarak kaydedilmiştir [117]. Nagle ve arkadaşları tarafından geliştirilen Bileşik 86'nın umut verici ölçüde bakterisidal etkili olduğu ortaya çıkmıştır [118]. Sallam ve arkadaşları tarafından sentezlenen sübstitüe piridazinon-3(2*H*)-on türevlerinden bileşik 87'nin, *S.racemosum*'a karşı en iyi antibakteriyel aktivite gösteren bileşik olduğu ortaya çıkmıştır [119].



Şekil 2.14. Antimikrobiyal etkili piridazinon türevleri



Şekil 2.15. Antimikrobiyal etkili piridazinon türevleri

2.1.5. Piridazinon türevlerinin kardiyovasküler aktivitesi

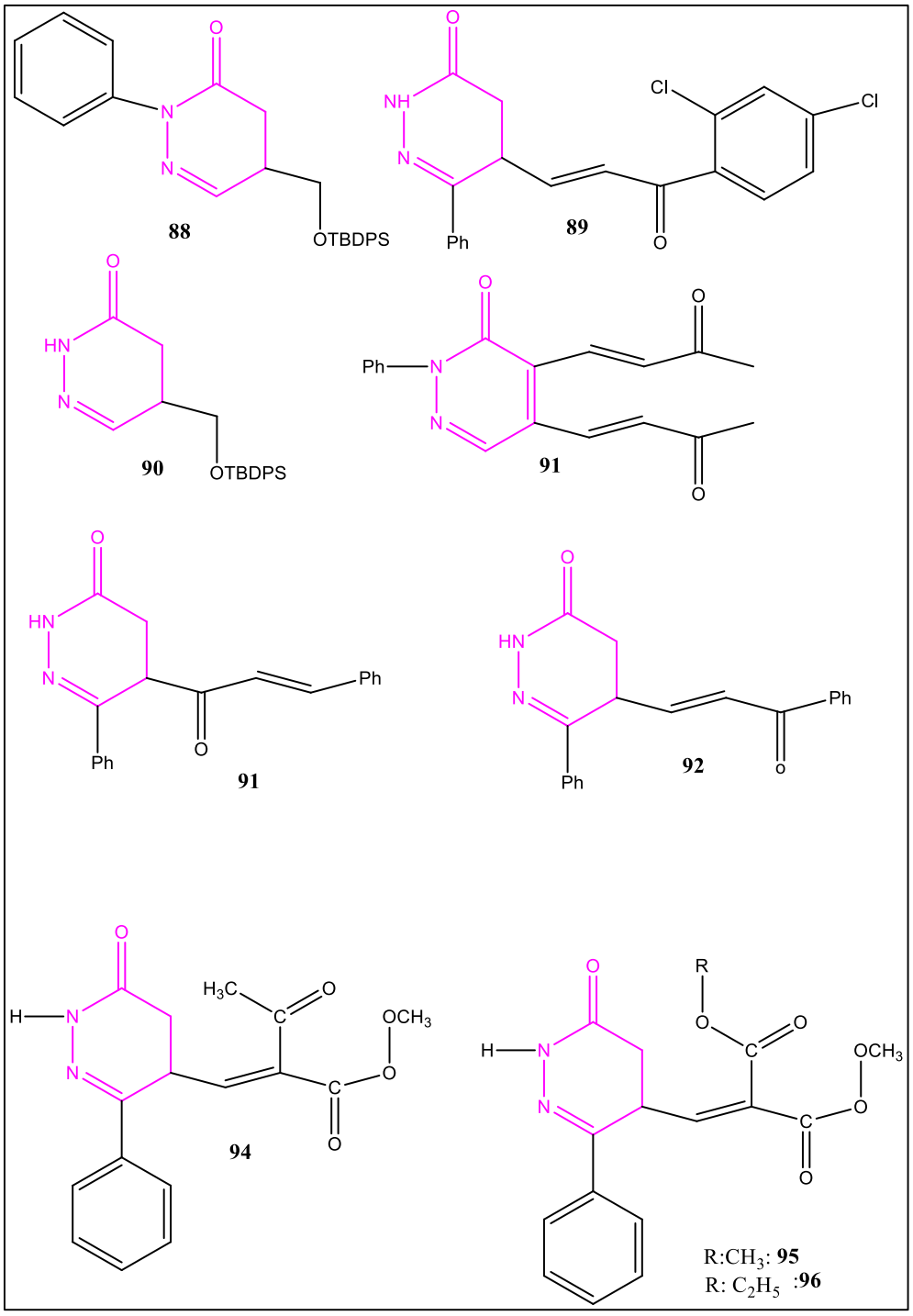
Gelişmiş ülkelerde önde gelen kardiyovasküler hastalıklar, özellikle koroner kalp hastalığı ve inme, başlıca mortalite nedenleridir [120, 121]. Dünya Sağlık Örgütü'negöre, dünya çapında her yıl ölümlerin yaklaşık üçte birini KVH'den ölen 17 milyon insan oluşturmaktadır. Kardiyovasküler hastalıklardan ötürü dünya çapında yılda ölüm oranı çok

yüksek seyretmektedir. Arteriyel hipertansiyon veya yüksek tansiyon olarak da bilinen hipertansiyon, arterdeki kan basıncının sürekli olarak yükseldiği kronik bir tıbbi durumdur. Piridazinon türevlerinin çeşitli biyolojik aktiviteler sergilediği bildirilmiştir. Çeşitli piridazinon molekülleri vazodilatör aktivite nedeniyle antihipertansif etkiye sahiptir.

Costas ve arkadaşları tarafından sentez edilen bileşikler arasında, bileşik 88'in, 0,55 ± 0,08 μm olan IC_{50} değeri ile çok güçlü ve umut verici anti-platelet ajan olduğu bulunmuştur [122]. Maatougui ve arkadaşları tarafından Bileşik 89'un, 3,44 ± 0,04 μm olan IC_{50} değeri ile etkili bir antiplatelet ajan olduğu tekrar rapor edilmiştir [123]. Costas ve arkadaşları tarafından tasarlanmış ve sentezlenmiş başka bir seride bileşik 90, 1,80 ± 0,11 μm olan IC_{50} değeri ile trombosit anti-agregasyon ve vazodilatör aktivitesi nedeniyle en kuvvetli bileşik olarak bildirilmiştir [124].

Meyers ve arkadaşları bazı piridazinon türevlerini sentezlemiş ve trombosit agregasyon inhibisyonu için değerlendirmişlerdir. Buna göre Bileşik 91, 1.98 ± 0.66 μm olan IC50 değeri ile yüksek trombosit agregasyon inhibitörü olarak bulunmuştur [125]. Crespo ve arkadaşları tarafından sentezlenen piridazin-3(2H)-on serisinde, Bileşik 92'nin, 4.2 μm olan IC_{50} değeri ile anti-platelet olarak en güçlü bileşik olduğu rapor edilmiştir [126].

Coelho ve arkadaşları bir dizi piridazinon türevi sentezlemiş ve trombosit agregasyon inhibisyonu etkileri için araştırmıştır. Bileşik 93, seride 25 μm IC_{50} değeri ile en kuvvetli bileşik olmuştur [127]. Sotelo ve arkadaşları tarafından sentezlenen piridazinon türevleri antiplatelet agregasyon aktivitesi açısından değerlendirilmiştir. Bileşik 94, 95 ve 96 sırasıyla 25, 45 ve 20 μm konsantrasyonlarda yüksek etkili olarak bulunmuştur [128].



Şekil 2.16. Kardiyovasküler etkili piridazinon türevleri

Sotelo ve arkadaşları tarafından sentezlenen bir başka piridazinon serisindeki Bileşik 97, 15 μm IC_{50} değeri ile çok güçlü platelet agregasyon inhibitörü olarak rapor edilmiştir [129].

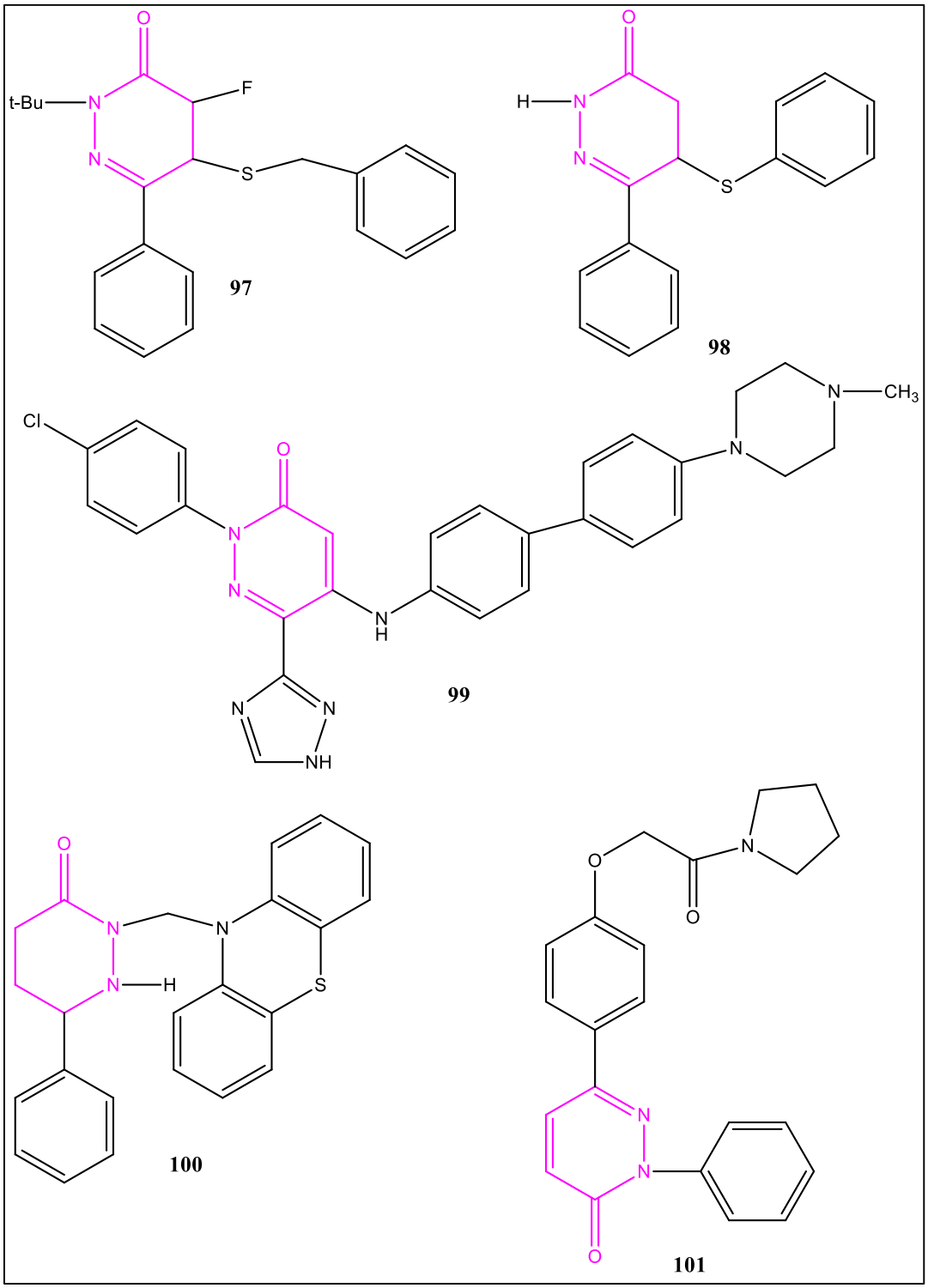
Linden ve arkadaşları birkaç piridazinon türevi geliştirmiş ve onları Vaskülar Adhezyon Protein-1 (VAP-1) aktivitesi için değerlendirilmiştir. Bileşik 98, 20 μm olan IC_{50} değeri ile en aktif insan VAP-1 inhibitörü olarak bulunmuştur [130].

Purohit ve arkadaşları tarafından geliştirilen bileşikler arasından bileşik 99'un çok etkin bir kardiyak Pozitron Emisyon Tomografi işaretleyici ajanı olduğu bulunmuştur [131]. Siddiqui ve arkadaşları tarafından geliştirilen piridazinon türevleri antihipertansif etkinlik açısından taranmıştır. Bileşik 100, ortalama 93,5 ± 3,09 mm Hg olan Arter Basıncı (MAP) için çok etkin bir antihipertansif ajan olarak saptanmıştır [132].

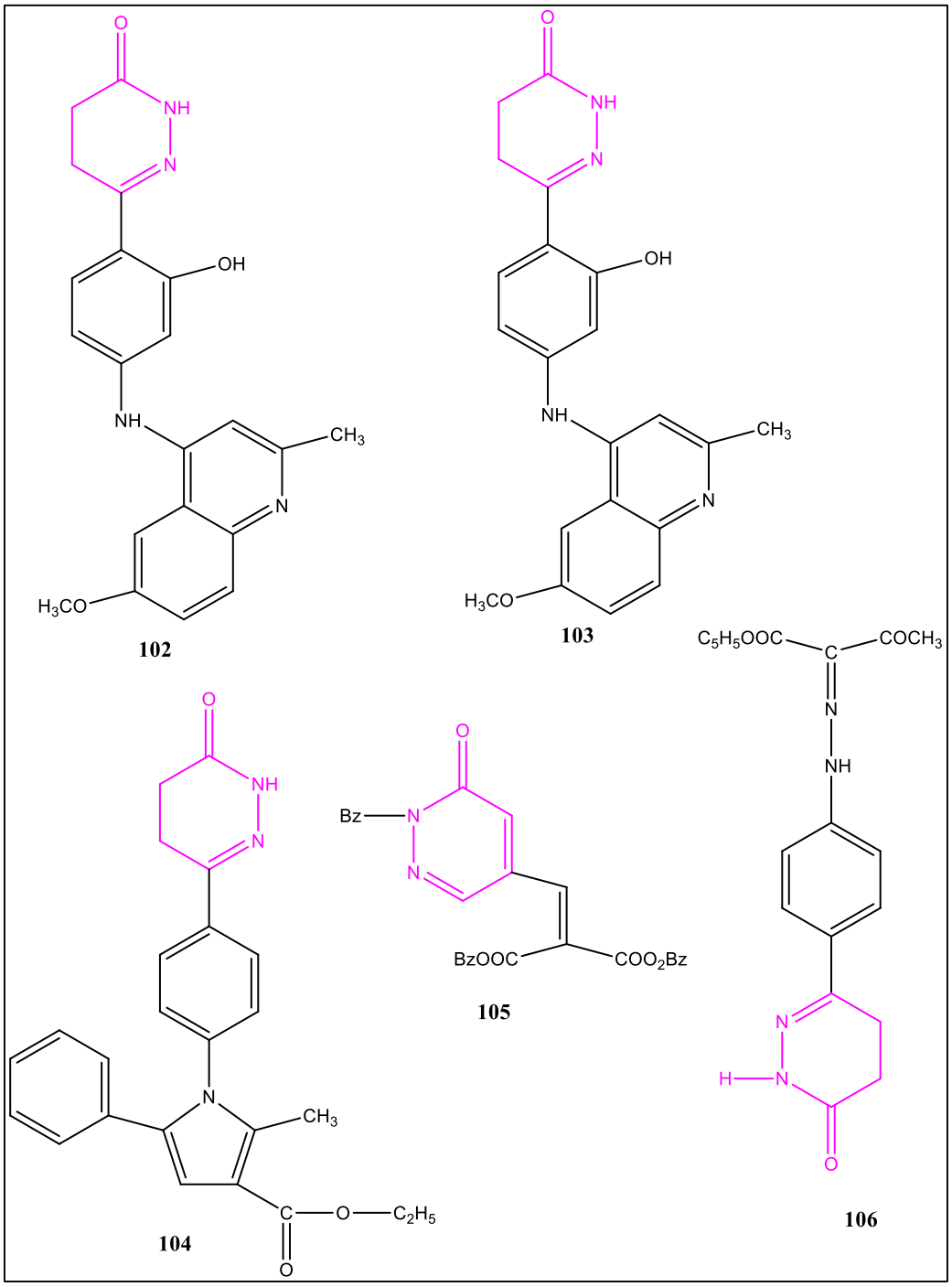
Bansal ve arkadaşları bir dizi sübstitüe piridazinon türevi sentezlemiş ve bunların vazodilatör etkinliğini test etmiştir. Değerlendirmenin sonucunda, Bileşik 101, 0,051 μM olan IC_{50} değeri ile etkili bulunmuştur [133]. Abouzid ve arkadaşları tarafından sentezlenen bir dizi piridazinon türevi içinde, bileşik 102 ve 103 maksimum in vitro vasodilatör aktivite göstermiştir [134]. Demirayak ve arkadaşları piridazinon türevlerini incelemiş ve bunları in vitro ve in vivo antihipertansif etkinlik açısından değerlendirmiştir [7]. Bileşik 104, serinin en aktif bileşiği olarak rapor edilmiştir. Munin ve arkadaşları tarafından sentezlenen piridazinon türevlerinin yapısal modifiye hali olan Bileşik 105 antihipertansif ve kardiyotonik özellikleri kadar iyi olan platelet agregasyon inhibisyonu etkisinden dolayı kardiyovasküler sistemde ilgi çekici ilaç olarak bilinmektedir [7].

Amin ve arkadaşları en aktif trombosit agregasyon inhibitör ajanı olarak 0,6 μm / 20 Ml konsantrasyonda bileşik 106'yı rapor etmişlerdir [135]. Coelho ve arkadaşları yeni bir dizi piridazinon bileşiği sentezlemiş ve bunları trombosit agregasyon inhibitörleri olarak değerlendirmişlerdir. Bileşik 107, en etkili türev olarak tespit edilmiştir [136].

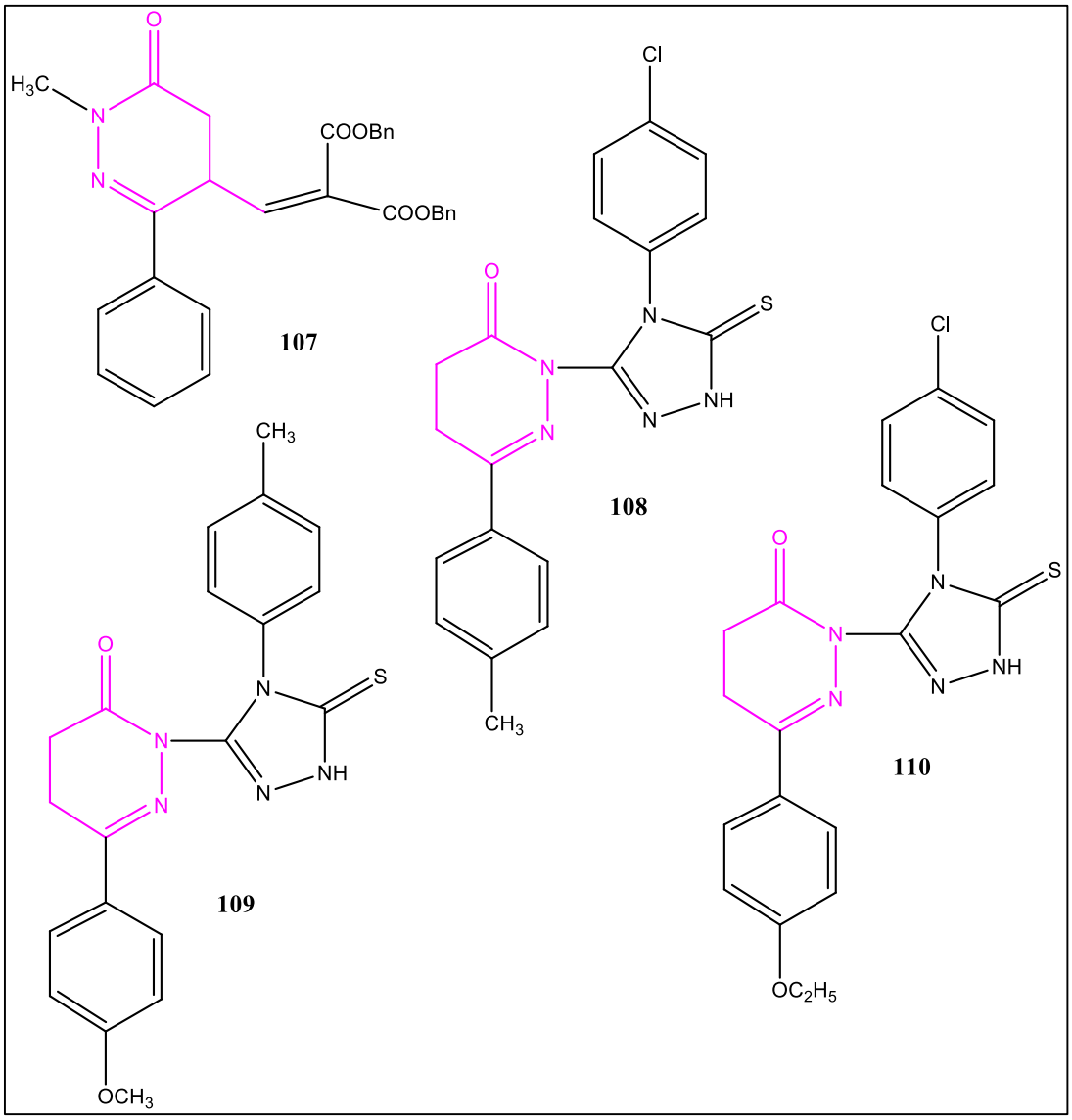
Bir seri 6-(sübstitüefenil)-2-(4-sübstitüe fenil-5-tiyokso-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-3-il) -4,5-dihidropiridazin-3(2*H*)-on türevi Siddiqui ve arkadaşları tarafından sentezlenmiştir [137]. Sentezlenen bileşikler arasından bileşik 108-110 güçlü antihipertansif aktiviteler göstermişdir.



Şekil 2.17. Kardiyovasküler etkili piridazinon türevleri



Şekil 2.18. Kardiyovasküler etkili piridazinon türevleri



Şekil 2.19. Kardiyovasküler etkili piridazinon türevleri

2.1.6. Piridazinon türevlerinin antitüberküler aktivitesi

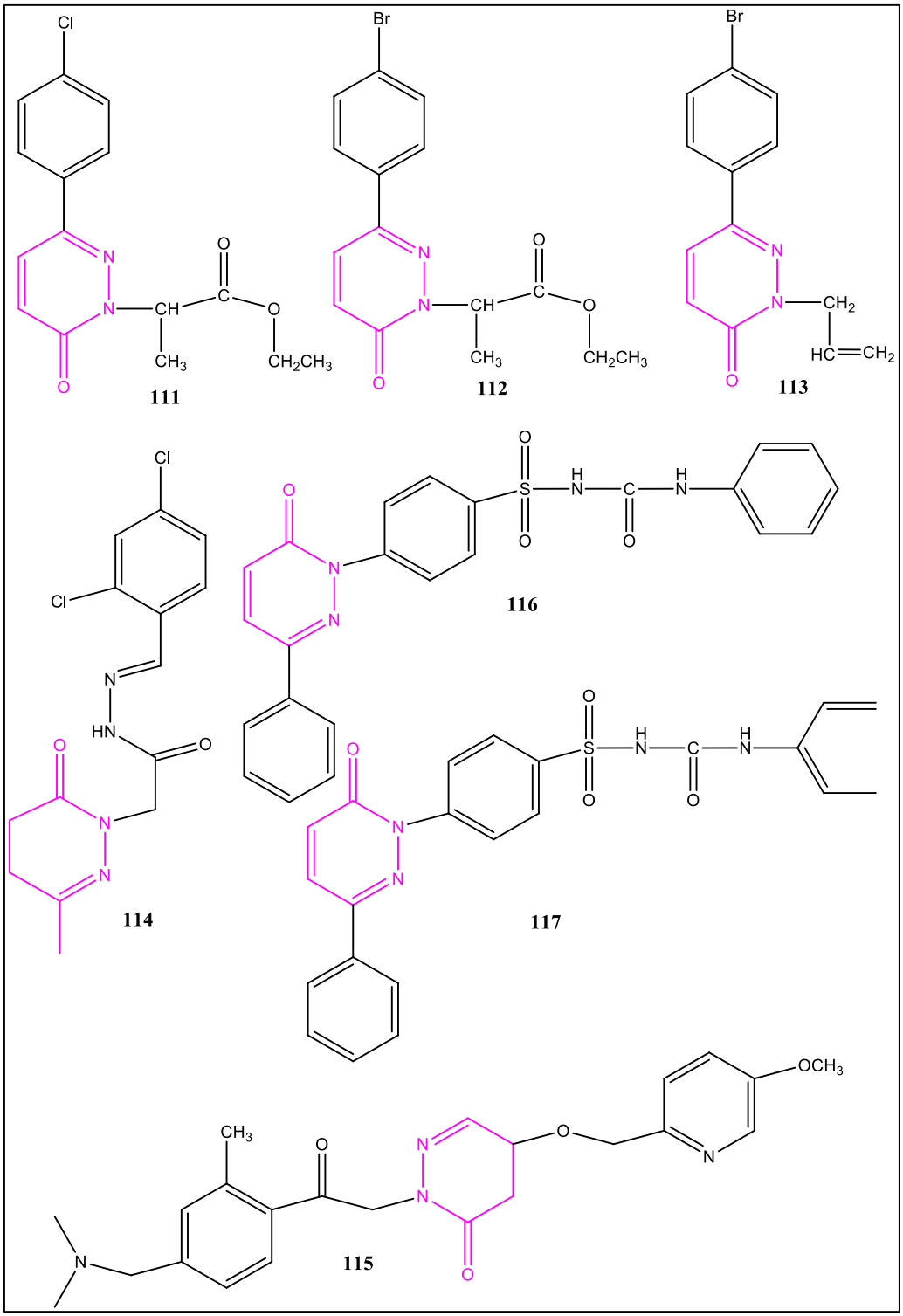
Binlerce yıldır insanlığı etkileyen ve bazen ölümcül olabilen bir hastalık olan tüberküloz *Mycobacterium tuberycosis*'ten kaynaklanmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü, dünya nüfusunun üçte birinin bakteri ile enfekte olduğunu tahmin etmektedir. 2014 yılında, 9,6 milyondan fazla insanda aktif tüberküloz gelişmiş ve 3,9 milyon insanın ölümüyle sonuçlanmıştır [138].

Tüberküloz kemoterapisi, bu hastalıkla ilişkili yüksek mortalite oranlarına yol açan dirençli tüberküloz suşlarının ortaya çıkması nedeniyle yoğun bir araştırma alanı olmaya devam etmektedir [139, 140]. Li ve arkadaşları mevcut ilaçlara direnç gösteren tüberküloz suşlarına karşı yeni moleküllerin tasarımını yapmışlardır [141]. Mantu ve arkadaşları bir seri antituberküler piridazinon türevi sentezlemişleridir. Sentezlenen bileşikler arasında bileşik

111, 112 ve 113 ‘ün sırasıyla 28,58, 26,85 ve 37,80 mg / mL IC_{50} değerleri ile en güçlü türevler olduğu tespit edilmiştir [142]. Tan ve arkadaşları tarafından geliştirilen 6-metil-4,5-dihidropiridazin-3(2*H*)-on türevleri antimikobakteriyel aktivite açısından değerlendirilmiştir. Bileşik 114'ün, 0,78 μm minimum inhibitör konsantrasyon ile en aktif türev olduğu bildirilmiştir [143].

2.1.7. Piridazinon türevlerinin antiobezite aktivitesi

Metabolik sendroma yol açabilen obezite, son zamanlarda arteriosklerotik hastalık riskini önemli ölçüde artıran bir faktör olarak dikkat çekmiştir. Japon diagnostik kriterlerine göre, obezite ve metabolik sendrom, viseral yağ birikimine bağlı olarak, hiperglisemi, hiperlipemi ve hipertansiyon gibi yüksek komplikasyon riski nedeniyle önleme ve / veya tedavi gerektiren koşullar olarak kabul edilir [144]. Piridazinon halkası taşıyan bir seri anti-obezite ajanı rapor edilmiştir. Oost ve arkadaşları tarafından piridazinon türevleri sentezlenmiş ve obesite tedavisi için MCH-R1 antagonistik aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Bileşik 115, 22 nM IC_{50} ile serinin en aktif bileşiği olarak rapor edilmiştir [145].



Şekil 2.20. Antitüberküler, Antiobesite ve Antidiyabetik etkili pridazinon türevleri

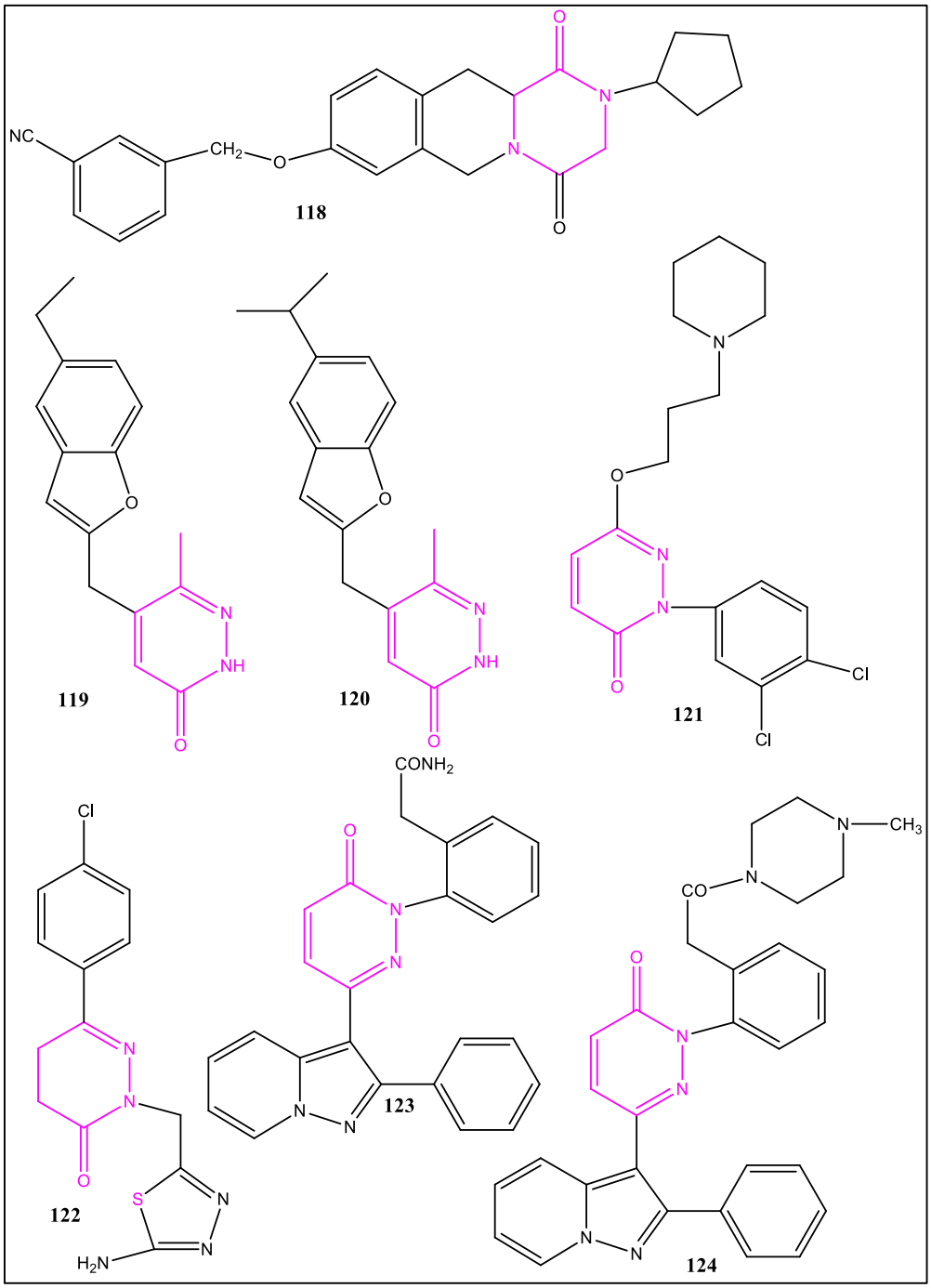
2.1.8. Piridazinon türevlerinin antidiyabetik aktivitesi

Dünyada diyabet prevalansı her geçen yıl ciddi artış göstermektedir [146]. Piyasada mevcut olan birçok oral tedavinin yanı sıra, mevcut tedavilerin de yan etkilerinin üstesinden gelmek için uygun tedaviyi yönlendirmek için hala acil bir gereksinim vardır. Sülfonil üre türevi

ilaçlar bilinenlerin en eskileridir ve halen potansiyel oral Antidiyabetik ajanlar olarak kullanılmaktadırlar. Glibenclamid, glimepirid, gliklazid vs. gibi sülfonilürelerin, bilinen PPAR-gamma agonistleri, rosiglitazon ve pioglitazondan daha güçlü bir şekilde PPAR-gamma'nın transkripsiyonel aktivitesini indüklediği rapor edilmiştir [147-151] Rathish ve arkadaşları bir seri piridazinon türevini sentezlemiş ve antidiyabetik aktivitelerini değerlendirdirmişlerdir. 116 ve 117 numaralı bileşiklerin, kan şekeri seviyesinin yükselmesinde %50'den fazla azalma ile en güçlü antidiyabetik ajanlar olduğu bildirilmiştir [152].

2.1.9. Piridazinon türevlerinin nöroprotektif aktivitesi

Asetilkolinesteraz, nörotransmiterler olarak işlev gören asetilkolinin parçalanmasını katalize eden bir enzimdir. Alzheimer hastalığı (AH), merkezi sinir sisteminin kompleks bir nörodejeneratif hastalığıdır. Dünyada yaklaşık 36 milyon insanın şu anda alzheimer hastalığından muzdarip olduğu ve hiçbir yeni gelişme olmadığı takdirde rakamın 2030 yılına kadar 66 milyona çıkarılacağı tahmin ediliyor. Bir serin proteaz olan asetilkolinesteraz (AChE) asetilkolinin hidrolizinden sorumludur ve kolinerjik sendromlarda ve nöromüsküler kavşakta nörotransmiter asetilkolinin etkisini durdurarak impuls aktarımında temel bir rol oynar [153]. Özellikle son 20 yılda piridazinon halkası taşıyan çok sayıda nöroprotektif ajan rapor edilmiştir. Lin ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada piridazinon halkası içeren bileşik 118'in insan sinir progenitör hücreleri üzerinde anlamlı nörojenik etki gösterdiği bildirilmiştir [154]. Boukharsa ve arkadaşları piridazinon halkası içeren bir seri türevler sentezlemiş ve antidepresan aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Bileşik 119 ve 120 en aktif türevler olarak tespit edilmişlerdir [155]. Bileşik 121 nöropatik ağrıların tedavisinde aday ilaç olarak bulunmuştur [156].



Şekil 2.21. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri

Sharma ve arkadaşları tarafından sentezlenen yeni bir seri bileşik antikonvülsan etki yönünden araştırılmıştır. Bileşik 122 arka bacak kasılmaları üzerinde koruyucu etki yaparak ümit verici antikonvülsan bileşik olarak rapor edilmiştir [157].

Kuroda ve arkadaşları tarafından sentezlenen bir dizi piridazinon analoğunun, bileşik 123-125, A1 antagonistleri olarak aktif olduğu bulunmuştur [158].

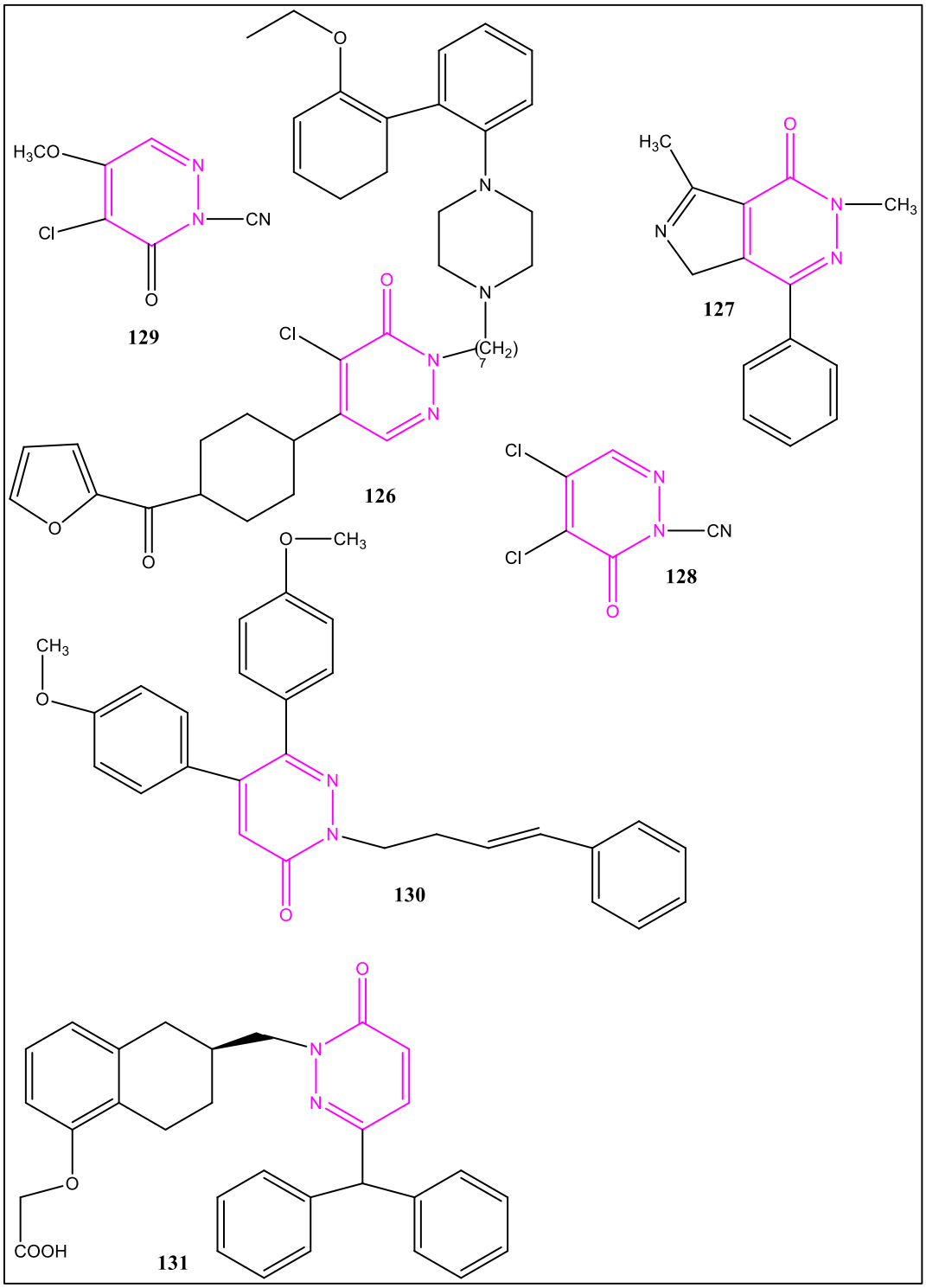
2.1.10. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri

Betti ve arkadaşları çeşitli piridazinon türevleri geliştirmiş ve onların adrenoseptör antagonisti aktivitelerini test etmişlerdir. Bileşik 126 prazosinden daha güçlü bir aktivite ortaya çıkarmıştır [159]. Piaz ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen 3(2*H*)-piridazinon türevleri Leishmania Meksicana PDE intibitör olarak değerlendirilmiştir. Değerlendirmenin ardından bileşik 127 en güçlü bileşik olarak bildirilmiştir [160].

Kim ve arkadaşları halka üzerinde siyano grubu taşıyan piridazinon türevleri türevleri sentezlemiş ve bunların siyanasyon etkilerini test emişlerdir. Bileşik 128 ve 129 serinin en güçlü bileşiği olarak değerlendirilmiştir [161]. Matsuda ve arkadaşları sentezledikleri piridazinon türevinin ve interlökin-1b inhibe edici potansiyellerini değerlendirmişlerdir. Değerlendirmeden sonuçlarına göre, bileşik 130, 0,10 μM konsantrasyonda en yüksek inhibitör etkiyi göstermiştir [162].

Tsubaki ve arkadaşları bifenil-3(2*H*)-piridazinon türevleri sentezlemiş ve nonprostanoid PGI2 agonistik aktivitelerini araştırmışlardır. Bileşik 131 0.081 μM IC_{50}ile en aktif bileşik olarak rapor edilmiştit [163]. Vila ve arkadaşları benzo-3(2*H*)-piridazinn türevleri sentezlenmiştir. Sentezlenen türevler içinde bileşik 132 en güçlü antinosiseptif aktivite göstermiştir [164].

Giovannoni ve arkadaşarı tarafından yeni bir seri piridazinon türevi sentezlemiş ve insan A1 adenosin olarak reseptör antagonisti olarak farmakolojik aktivite çalışmaları yapılmıştır. Bileşik 133 denenen bileşikler arasına en aktif türev olarak bulunmuştur [165]. Hudkins ve arkadaşları 3,4-dihidropiridazinon türevleri geliştirmiş ve histamin-3 reseptörü agonistik aktivite için test etmişlerdir. Bileşik 134 en güçlü uyandırmaya teşvik edici bileşik olarak rapor edilmiştir [166].



Şekil 2.22. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri

Baladi ve arkadaşları piridazinon çekirdeğine sahip güçlü ve seçici bir c-Met inhibitörü olarak bileşik 135 hakkında bir derleme yayınlamışlardır [167]. Li ve arkadaşları yayınladıkları bir derlemede potansiyel fosfodiesteraz 4 (PDE4) inhibitörleri olarak geliştirilen pirazolo [3,4-d] piridazinonların (bileşik 136) immün hastalıkların terapötik tedavisinde yaygın olarak kullanıldığını rapor etmişlerdir [168].

Xing ve arkadaşları bazı piridazinon bazlı analog bileşikler sentezlemiş ve bunları asetilkolinesteraz inhibe edici aktivite açısından değerlendirmişlerdir. Sentezlenen bileşikler arasında, 137 numaralı bileşiğinin en etkili olduğu bulunmuştur [169]. Barbaro ve arkadaşları bir dizi yeni piridazin-3(2*H*)-on türevi geliştirmiş ve onların radyo-ligand reseptörü bağlanma deneyleri ile hem α_1 hem de α_2-adrenoseptörlere karşı in vitro afinitesini araştırmışlardır. Bileşik 138 1,9 nM'lik a-AR afinitesi ile çok umut verici bileşik olarak değerlendirilmiştir [170].

Giovannoni ve arkadaşları yeni bir seri 3(2*H*)- piridazinon ve türevlerini sentezlemiş ve bunların antinosiseptif aktiviteleri için değerlendirmişlerdir. Değerlendirmenin ardından, bileşik 139 serinin en etkilitürevi olarak rapor edilmiştir [171]. Hudkins ve arkadaşları selektif histamin H_3 reseptörü ters agonistleri olarak etki göstermesi beklenen 3(2*H*)-piridazinon türevleri sentezlemişlerdir. Sentezlenen bileşikler arasında bileşik 140 sıçanda doza bağlı olarak ($ED_{50:}$ 0,06 mg / kg) agonistler tarafından indüklenen dipsogenia'yı tersine çevirmiştir [172].

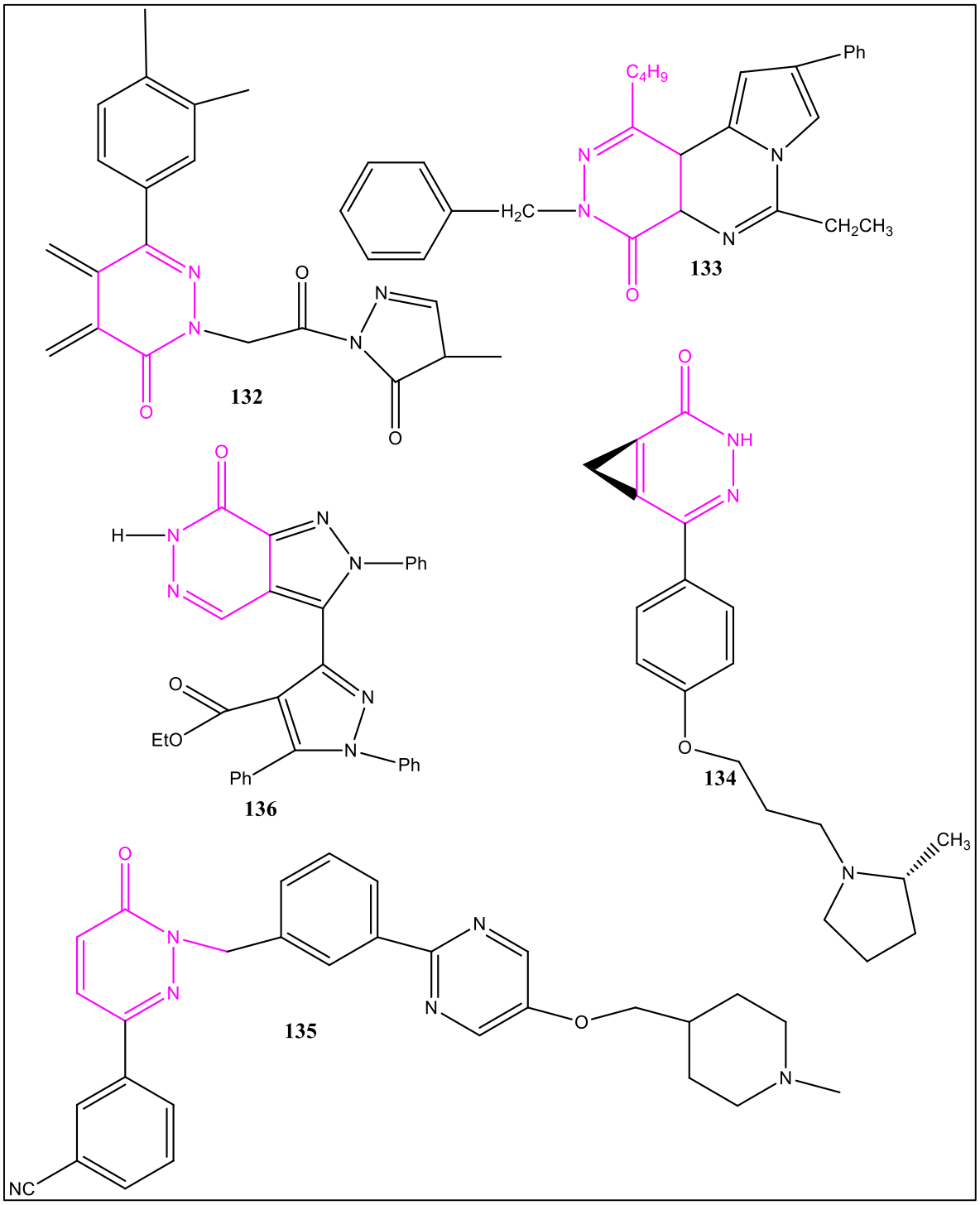
Bashir ve arkadaşları yeni 3(2*H*)-piridazinon analogları sentezlemiş ve bunları kan glukozunu düşürücü aktivite açısından değerlendirmiştir [173]. Bileşik 141'in maksimum azalma gösterdiği rapor edilmiştir (%38,8) Liu ve arkadaşları bir dizi 6-aril-2-(3-(heteroarilalamino)benzil) piridazinon türevi tasarlamış ve bunları c-Met tirozin kinaza karşı güçlü ve seçici inhibe edici aktiviteler için değerlendirmişlerdir. Bileşik 142 en aktif bileşik olarak bulunmuştur [174].

Cesari ve arkadaşları yeni oksazolopiridazinon türevleri sentezlemiş ve antinosiseptif aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Değerlendirme sonucunda Bileşik 143, en kuvvetli antinosiceptif aktiviteyi göstermiştir [175]. Bruel ve arkadaşları 5-benzil-4-okso-3,4-dihidro-5*H*-piridazino[4,5-b] indollerden oluşan yeni bir seri piridazinon türevleri sentezlemişleridir. Bunlar arasında, bileşik 144, PI3Kα'ya karşı IC_{50} 0,091 mM değerinde ümit verici önleyici aktivite sergilemiştir [176]. Giovannoni ve arkadaşları tarafından geliştirilen çeşitli piridazinon asetamit türevleri arasında bileşik 145, 3,0 mM EC_{50} değeri ile ile iyi formil peptit reseptörleri (FPR) agonistik aktivite ortaya çıkarmıştır [177]. Vergelli ve arkadaşları yeni bir seri piridazinon mannich bazı sentezlemiş ve antinosiseptif aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Sentezlenmiş türevler arasında 146 dikkate değer bir antinosiseptif madde olarak rapor edilmiştir [178].

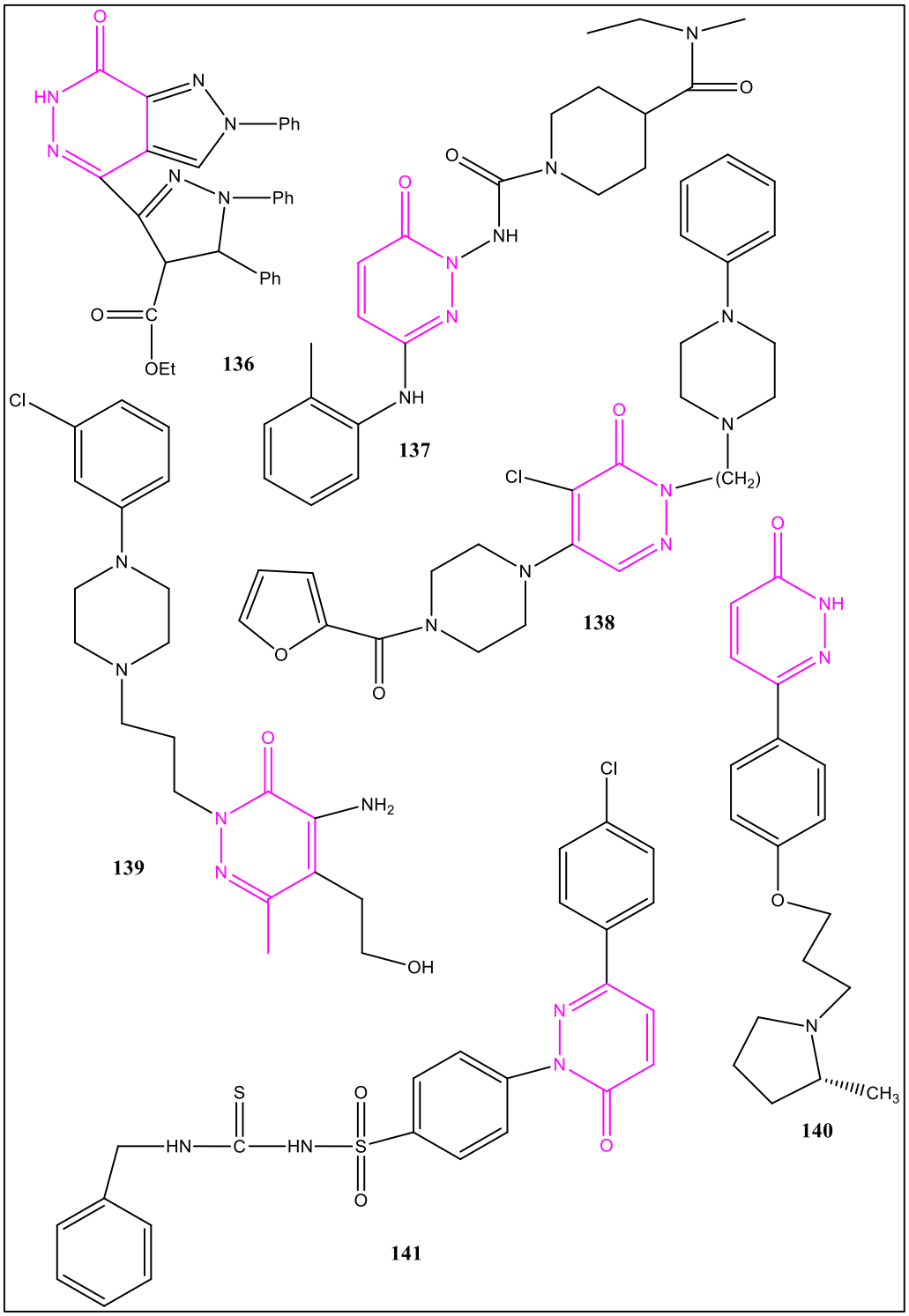
Veerman ve arkadaşları tarafından bir dizi piridazinon bazlı kondanse halkalı türev sentezlenmiş ve insan PDE4 alt tipleri aktivitesi için taranmıştır. Bileşik 147 en aktif olarak bulunmuştur [179]. Hudkins ve arkadaşları tarafından geliştirilen bir başka sınıf piridazinon serisinde, bileşik 148'in in vivo olarak güçlü bir histamin 3 reseptör fonksiyonel antagonisti olduğu bulunmuştur [180].

Biancalani ve arkadaşları bir seri N-alkil-3(2*H*)-piridazinon türevi sentezlemiştir. Sentezlenen türevler arasında bileşik 149 3,5 mg ED_{50}değeri ile en aktif antinosiseptif ajan olarak bildirilmiştir [181]. Hudkins ve arkadaşları piridazinon halkasının 4. konumunda sübstitüent taşıyan bir seri 3(2*H*)-piridazinon türevi sentezlemişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin hisamin H_3 reseptörü ters agonist aktiviteleri test edilmiştir. Bileşik 150'nin sıçan dipsogeni modelinde in vivo fonksiyonel H_3R antagonizmini gösteren güçlü bir aday olduğu bildirilmiştir [182]. Bruel ve arkadaşları trisiklik bir yapıya kondanse piridazinon türevleri sentezlemişler ve farmakolojik aktivitesini test etmişlerdir. Bileşik 151 IC_{50} 0.6 mM değeri ile olan umut verici bir DYRK1A (Dual specificity tyrosine-phosphorylation-regulated kinase 1A) inhibitörü olarak rapor edilmiştir [183].

Becknell ve arkadaşları tarafından 6-sübstitüefenilpiridazinon türevleri geliştirilmiştir. Sentezlenen bileşikler histamin-3 reseptör antagonistleri için değerlendirilmiş ve bileşik 152, mükemmel insan ve sıçan H_3R eğilimleri göstermiştir [184]. Betti ve arkadaşları tarafından geliştirilen 2,4-sübsitüepiperazinpiridazinon türevleri arasında, bileşik 153'ün α1-adrenerjik reseptörlere karşı önemli bir bağlanma afinitesine sahip olduğu rapor edilmiştir [185]. Vergelli ve arkadaşları tarafından sentezlenen bileşikler arasında, bileşik 154, formil peptid reseptör agonisti olarak dikkat çekici aktivite göstermiştir [186]. Gong ve arkadaşları piridazinon halkası içeren integrin reseptör antagonistleri sentezlemişler ve güçlü etkili bileşiklere ulaşmışlardır [187].



Şekil 2.23. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri



Şekil 2.24. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri

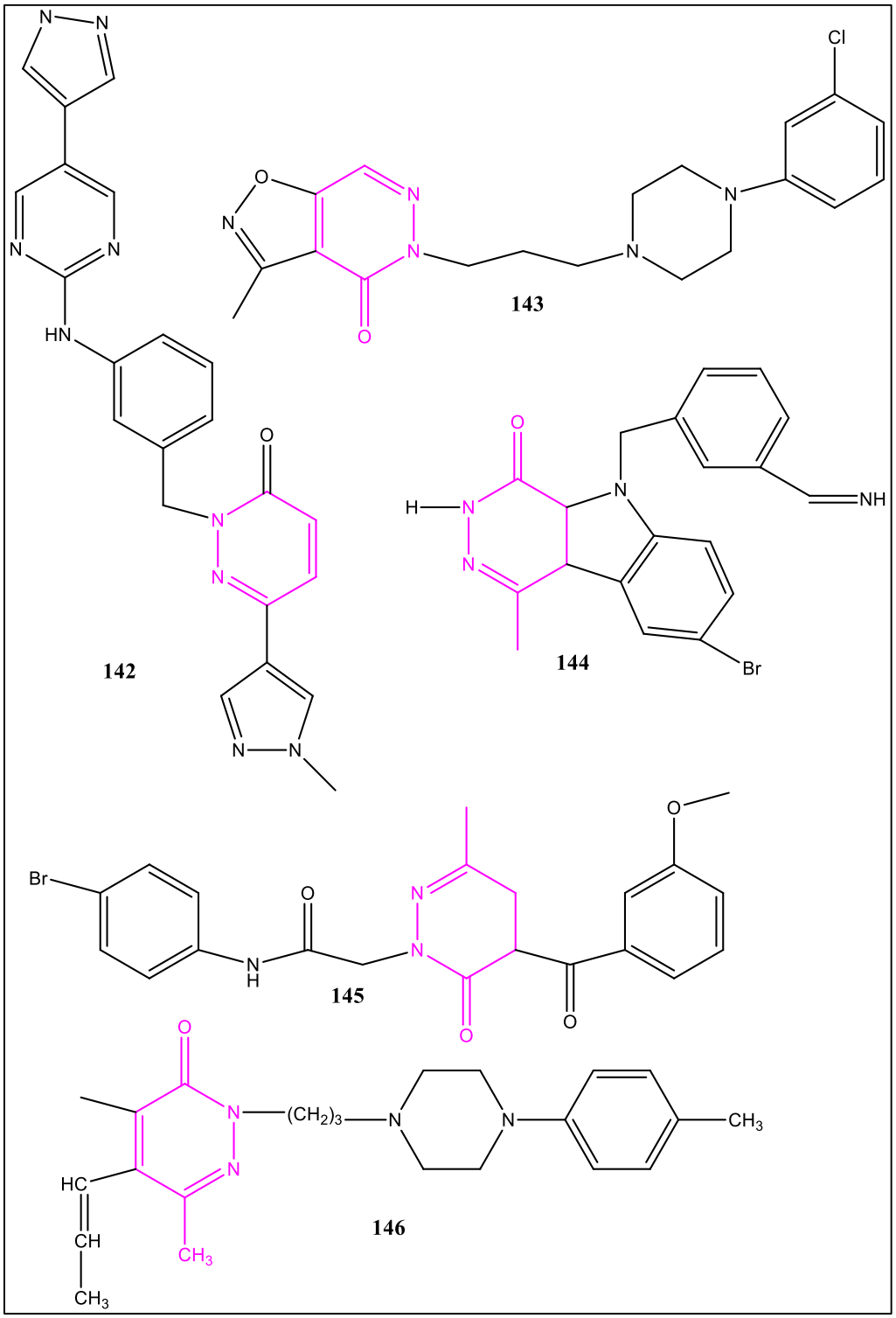
Gong ve arkadaşları bir dizi piridazinon fenilalanin analogu geliştirmiş ve piridazinon halkası ve N-açil fenilalanin iskeleti ile ilgili yapı-aktivite ilişkilerini araştırmışlardır. Bileşik 155 oral uygulamadan sonra, sıçan DSS kolit modelinde maximum in vivo etkinlik göstermiştir [188].

Giovannoni ve arkadaşları tarafından 4-amino-5-sübstitüe-3(2*H*)-piridazinonlardan oluşan bir seri sentezlenmiş ve bileşiklerin antinosiseptif aktivitesi değerlendirilmiştir. Değerlendirmenin ardından bileşik 156'nın en etkili türev olduğu rapor edilmiştir [189]. Tao ve arkadaşları tarafından geliştirilen bileşikler arasında, bileşik 157'nin güçlü Histamin H_3 reseptör antagonist aktivitesi gösterdiği bulunmuştur [190].

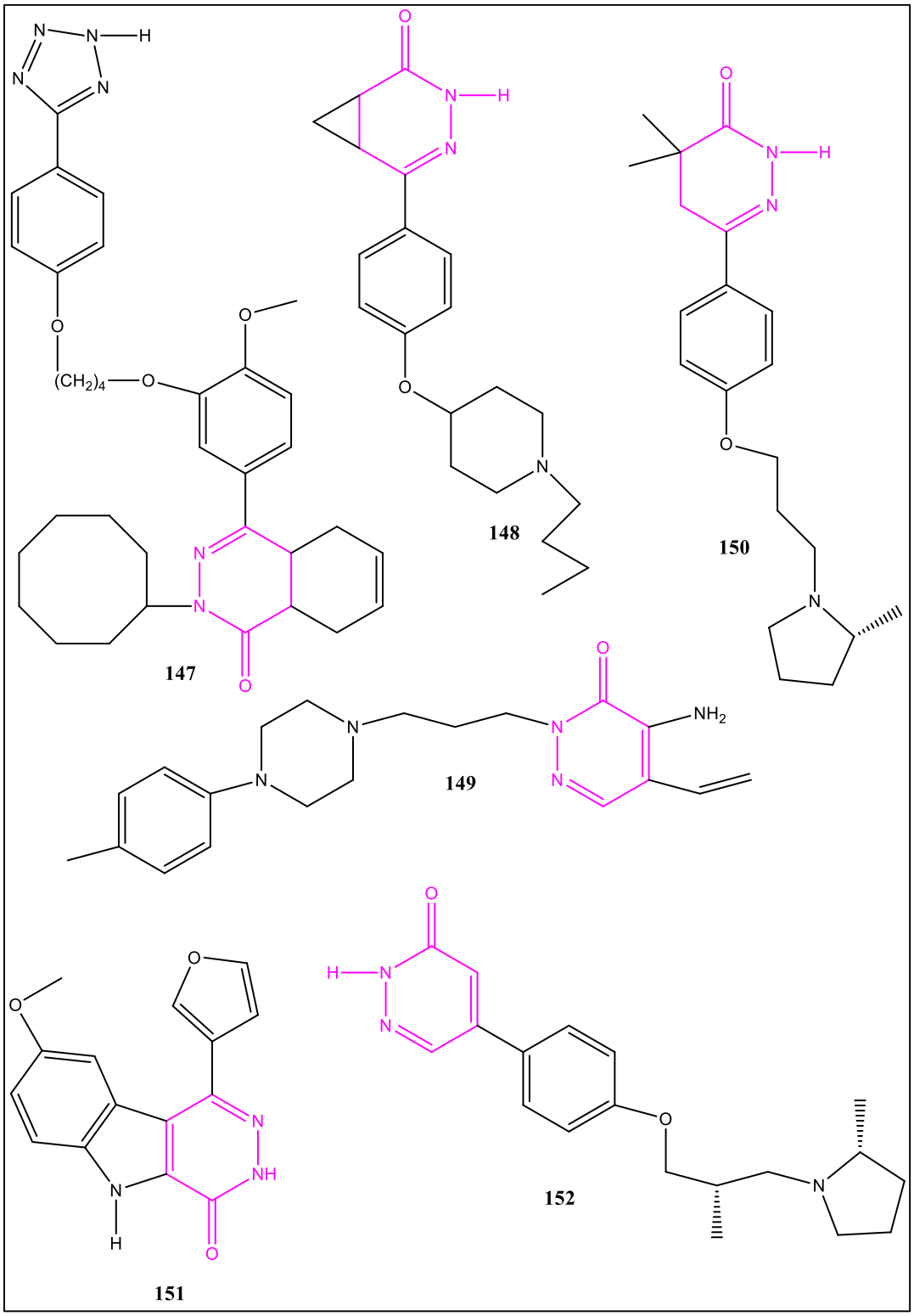
Jiang ve arkadaşları tarafından sentezlenen trisiklik piridazinon analogları piruvat kinazın tümör hücresine özel M_2 izoformu için test edilmiştir. Bileşik 158 serinin en güçlü inhibitör bileşiği olarak rapor edilmiştir [191]. Young ve arkadaşları yeni bir piridazinon serisi tasarlamış ve tirozin kinaz inhibitörü aktivitesini analiz etmişlerdir. Sentezlenen bileşikler arasında, bileşik 159, bu serinin en güçlü inbisyonunu sergilemiştir [192]. Hudkins ve arkadaşları N-metilpiridazinon türevleri sentezlemiş ve selektif histamin H_3 reseptörü etkilerini test etmişlerdir. Bileşik 160 ve 161 güçlü uyandırma aktivitesi olan ters agonistler olarak rapor edilmişlerdir [193].

Allerton ve arkadaşları çeşitli 3(2*H*)-piridazinon türevi bileşikler sentezlemiş ve

5-Hidroksitriptamin agonist aktivitelerini araştırmışlardır. Sentezlenmiş türevler arasında bileşik 162'nin en aktif olduğu bulunmuştur [194]. Kellyve arkadaşları sentezledikleri 3(2*H*)-piridazinon türevi bileşiklerin selektif tiroid hormon reseptörüne karşı agonist aktivitesini araştırmışlardır. Bileşik 163 en etkili türev olarak rapor edilmiştir [195].



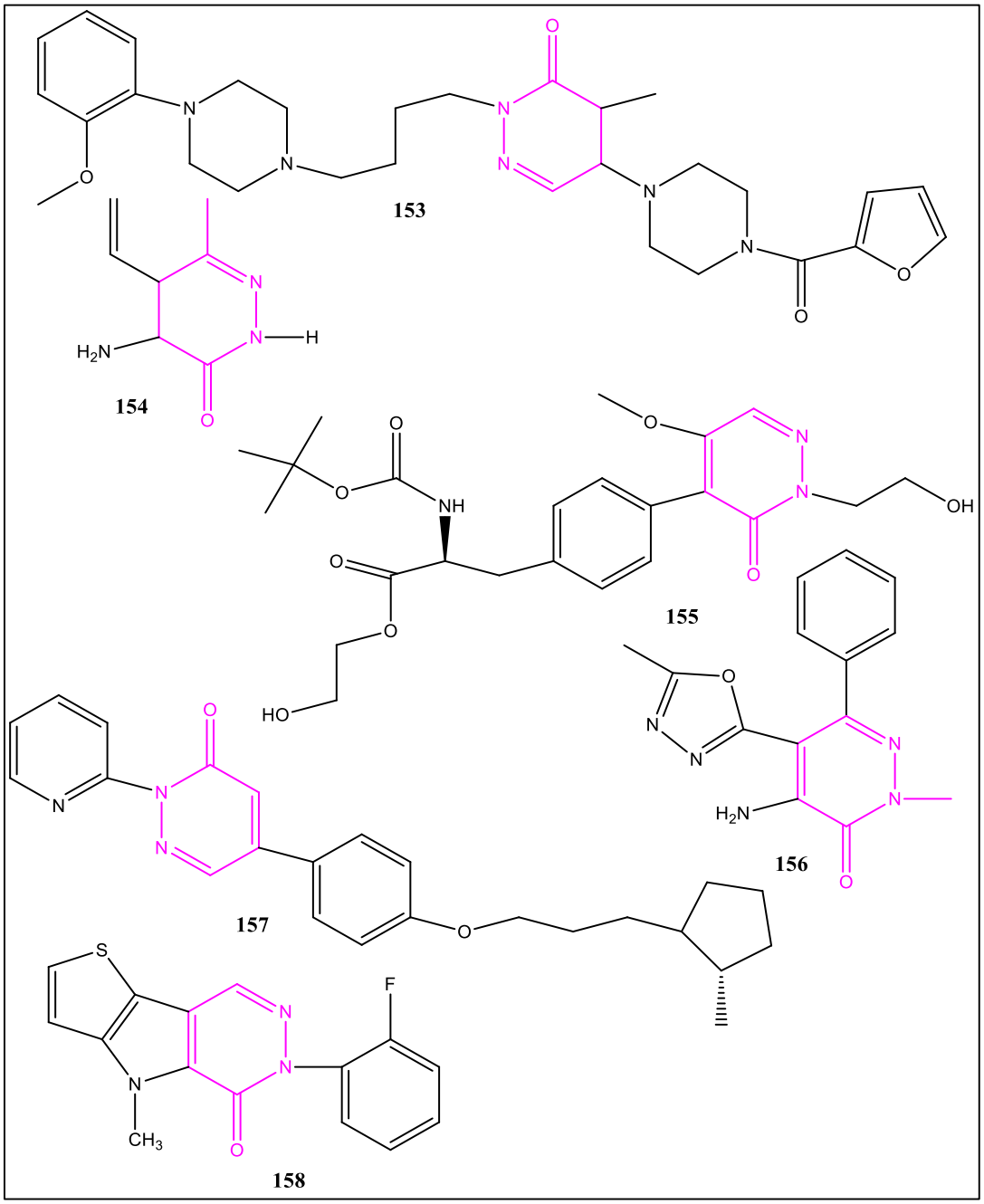
Şekil 2.25. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri



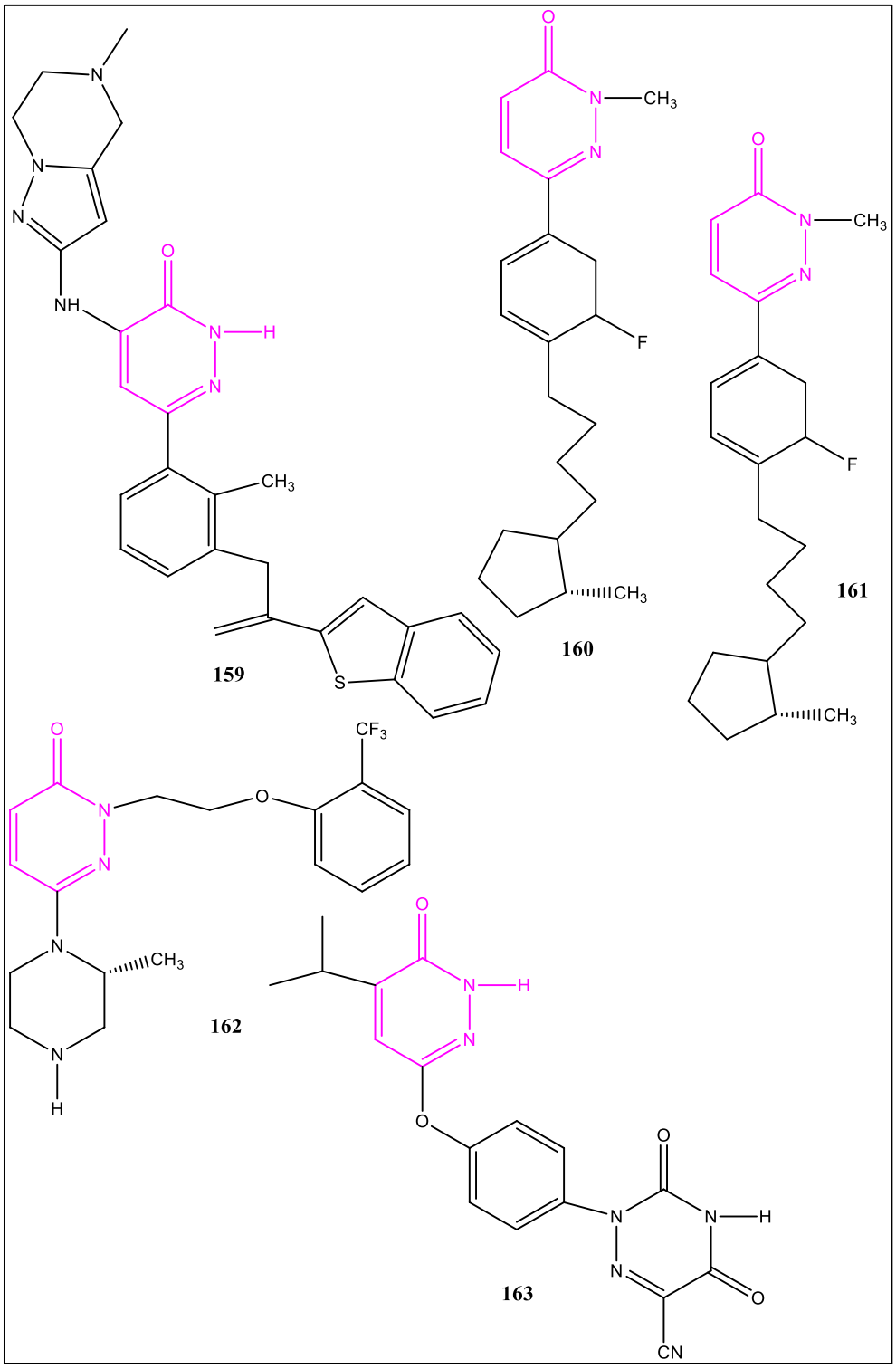
Şekil 2.26. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri

Betti ve arkadaşları bir dizi piridazinon türevi sentezlenmiş ve α_1-adrenoseptör antagonisti aktivitelerini araştırmışlardır. Bileşik 164 0,052 nM affinite ile prazosinden yaklaşık 5 misli daha yüksek aktivite göstermiştir [196].

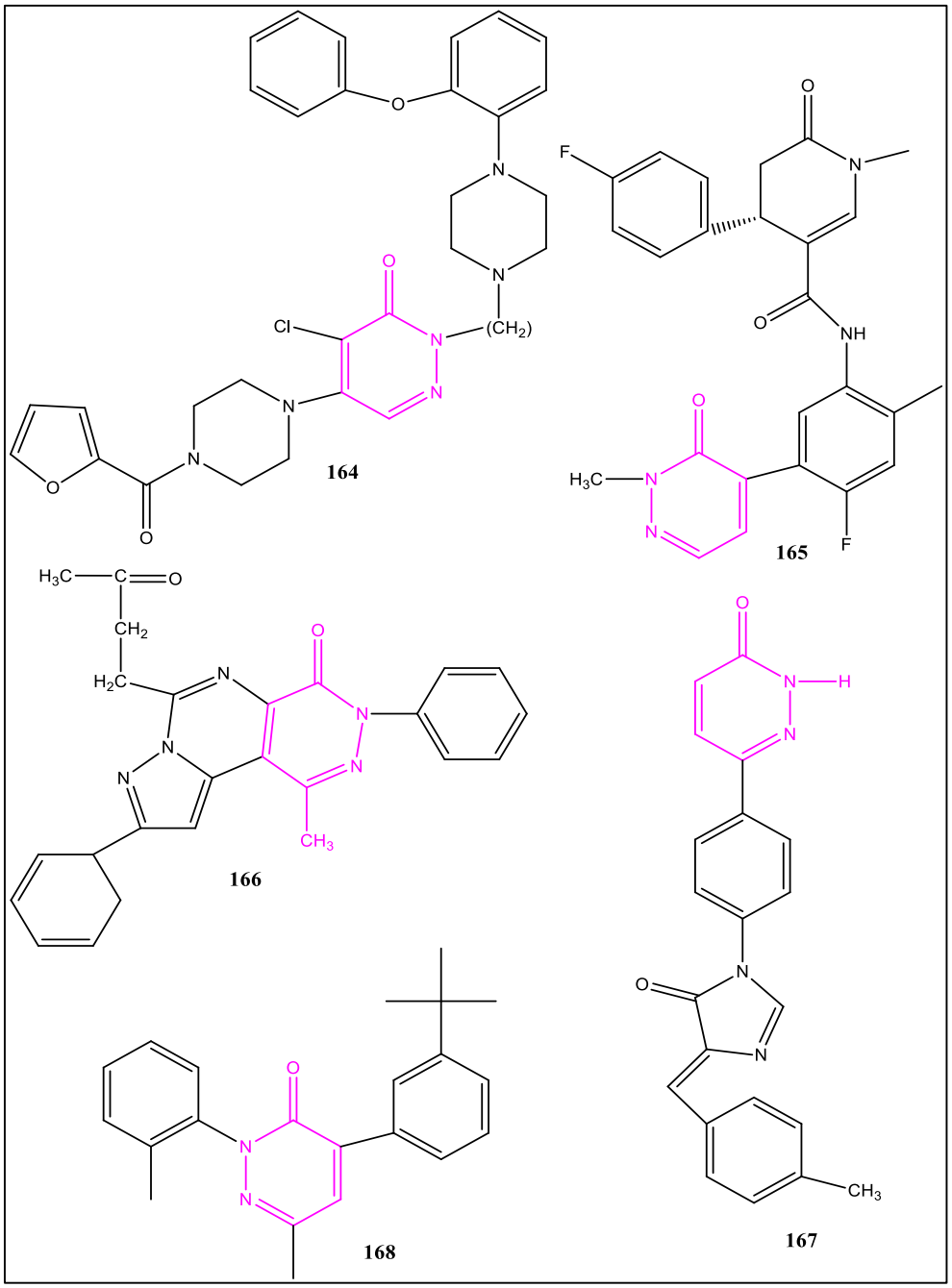
Lopez-Tapia ve arkadaşları tarafından hazırlanan yeni piridazinon analogları serisiP2X7 reseptörü antagonistik aktivitesi için test edildi. Bileşik 165 klinik olarak en aktif türev olarak bulunmuştur [197]. Giovannoni ve arkadaşarı yeni trisiklik piridazinon türevlerisentezemiş ve selektif fosfodiesteraz-5 (PDE_5) inhibitör aktivite için değerlendirmişlerdir. Bileşik 166, 8,3 nM IC_{50} değeri ile PDE5'e karşı yüksek aktivite göstermiştir [198]. Demirayak ve arkadaşları tarafından sentezlenen 6-fenilpridazinon türevleri, vazodilatör aktiviteleri açısından taranmıştır. Bileşik 167'in en aktif olduğu rapor edilmiştir [199]. Han ve arkadaşları tarafından sentezlenen piridazinon türevleri arasında bileşik 168 en yüksek herbisidal aktiviteyi göstermiştir [200].



Şekil 2.27. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri



Şekil 2.28. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri



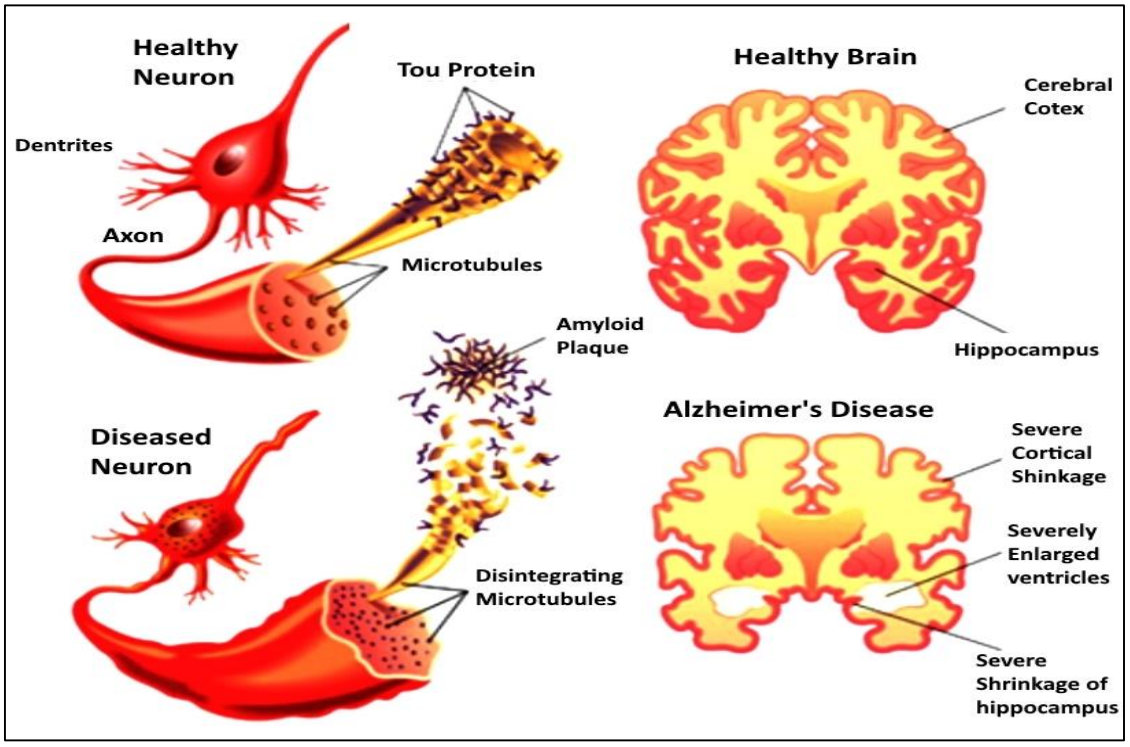
Şekil 2.29. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri

2.2. Alzheimer Hastalığı ve Tedavi Yaklaşımları

Alzheimer hastalığı, kişinin günlük aktivitelerini gerçekleştirme yeteneğinde bozulma ve hastalığın ilerleyen dönemlerinde kognitif fonksiyon bozuklukları ve değişik nöropsikiyatrik semptomlarla karakterize, devamlı ilerleyen ölümcül bir nörodejeneratif hastalıktır [201-203]. Yakın hafızada bozukluk hastalığın ilk klinik belirtisi iken, uzak hafıza hastalık sırasında göreceli olarak korunmaktadır. Hastalık ilerledikçe görsel testler, obje ve eşyaları kullanabilme becerisi ve hesap yapabilme yeteneği azalmaktadır. Uyanıklık seviyesi ve motor kuvveti

hastalığın geç dönemlerine kadar korunmaktadır. Hastalığın ilerlemiş dönemlerinde kas kontraksiyonları sık görülmekle beraber bu evrelerde bile motor kuvvetin bozulması gerçekleşmemektedir [203-204]. Alzheimer hastalarının çoğu hastalığın başlangıcından birkaç yıl sonra sürekli bakıma ihtiyaç duymaktadırlar. Hastalığın başlangıcından itibaren genellikle 6 ila 12 sene sonra ölüm gerçekleşmekte ve ölüm nedeni pnömoni, pulmoner emboli gibi immobilite probleminden kaynaklanan komplikasyonlar olmaktadır [205].

Yaşlılarda görülen demansın en yaygın şekli olan Alzheimer hastalığının görülme yüzdesi her beş yaşta iki katına çıkarak, 60 yaşında %1 iken 85 yaşında %30'a ulaşmaktadır [203-206]. Alzheimer hastalığı ile ilgili yapılan epidemiyolojik çalışmaların sonucuna göre hasta sayısının Amerika Birleşik Devletleri'nde yaklaşık 5 milyon, dünya çapında ise 24 milyon kişi olduğu tahmin edilmektedir. Tahminler bu sayının her 20 yılda iki katına çıkarak 2020'de 42 milyona, 2040'da ise 81 milyona ulaşacağı yönündedir [203-207]. Alzheimer hastalığının kesin tanısı ancak ölüm sonrası beyin incelemeleriyle yapılmakla beraber, hastanın dikkatli klinik değerlendirilmesi ve benzer başka hastalıkların ayırıcı tanısı yapılarak uygun laboratuar testleri ile teşhis konulabilmektedir [203-208].



Şekil 2.30. Sağlıklı bir beyin ile Alzheimer hastalığı olan bir beyinin kıyaslanması

Alzheimer hastalığının fizyopatolojisi henüz tam bilinmemekle beraber, beyin hücrelerinin nedeni belirlenemeyen bir şekilde kaybolmasından kaynaklandığı düşünülmekte ve

hastalığın oluşumu ile ilgili üç ana hipotez öne sürülmektedir. Öne sürülen hipotezlerden en eskisi olan kolinerjik hipoteze göre Alzheimer hastalığının önemli bir nörotransmiter olan asetikolinin azalması nedeniyle ortaya çıktığı düşünülmektedir [209-211]. Alzheimer hastalarında bazal ön beyinde kolinerjik nöronlarda dejenerasyon; serebral kortekste kolinerjik reseptörlerde ve kolin asetiltransferaz (ChAT) düzeylerinde belirgin bir azalma saptanmaktadır. Daha önce sürdürülen tedavi yaklaşımlarının birçoğu bu hipoteze dayandırılmakla birlikte klinik araştırmalar asetilkolin düzeylerini yükseltmeye yönelik tedavi stratejilerinin semptomatik iyileşme sağladığını ortaya çıkarmıştır [212]. Kolinerjik hipotezle ilgili yapılan son çalışmalar, kolinesteraz inhibitörlerinin kullanımının amiloid fibrilasyon oluşumunu etkileyebileceğini göstermektedir [213-215]. Bir diğer hipotez olan Tau Hipotezi ise Alzheimer hastalığında, mikrotübülle ilişkili protein ailesinin bir üyesi olan ve tübül stabilitesini sağlayan Tau proteinlerinin hiperfosforile olması sonucu yapılarının bozularak intranöronal fibriler ağlar meydana getirdiğini öne sürmektedir. Bu oluşumların intraselüler transport sistemine ve sinyal iletimine zarar vererek Alzheimer hastalığının gelişimini hızlandırdığı ve nöronal ölüme yol açtığı bildirilmektedir [216]. Amiloid Hipotezi olarak bilinen üçüncü hipotezde ise Alzheimer hastalarında beynin belli bölgelerinde birikerek çözünmez fibriller meydana getiren β-amiloid peptidlerinin daha sonra senil plaklar oluşturarak sinir hücrelerini hasara uğrattığı ve bu hücrelerin birbirleri ile olan bağlantılarını koparıp nörotransmiter miktarını azalttığı öne sürülmektedir [217].

Alzheimer hastalığının tanısındaki önemli bulgulardan biri, limbik yolağın bellek süreçlerini yöneten bölümündeki nöron kaybıdır [201]. Alzheimerli hastalarda yapılan biyokimyasal çalışmalar ise kortekste bazı nöromediyatörlerin ve özellikle de asetilkolinin azaldığını ortaya koymaktadır [207]. Alzheimer hastalığındaki nörokimyasal karmaşa yoğun olarak araştırılmıştır. Serebral korteksin nörotransmitter içeriği doğrudan ölçüldüğünde, nöron kaybına paralel olarak birçok nörotransmitterin, en çok da asetilkolinin azaldığı görülmüştür. Kolinerjik, nonkolinerjik, seratonerjik, dopaminerjik, aminoasiderjik ve nöropeptiderjik olmak üzere birçok nörotransmitterde oluşan değişim ile Alzheimer hastalığı arasında bir ilişki bulunmaktadır; fakat kolinerjik sistemde gözlenen değişim ile Alzheimer arasındaki ilişki bunlardan en çok bilinenidir. Kolinerjik hipotez olarak açıklanan bu ilişkiye göre, asetilkolin ve kolin asetil transferaz düzeyindeki azalma Alzheimer hastalığı ile ilişkilidir [218]. Atropin benzeri santral etkili kolinerjik antagonistlerin uygulanmasıyla da demansa benzer bozukluklar oluştuğu görülmektedir. Alzheimer hastalığında görülen asetilkolinin seçici eksikliği, hastalığın semptomlarının gelişmesinde asetilkolin eksikliğinin önemini

vurgulayan “kolinerjik hipotez”in ortaya atılmasına neden olmuştur [219-220]. Kolinerjik hipotez ilk olarak yaklaşık 30 yıl kadar önce ortaya atılmış ve beyindeki asetilkolin içeren nöronların işlev bozukluğunun ileri yaşta ve Alzheimer hastalarında gözlenen kognitif düşüşün açıklanmasına önemli ölçüde katkıda bulunmuştur. Bu düşünce, bugüne kadar, AD'nin tedavi stratejilerinin ve ilaç geliştirme yaklaşımlarının çoğunun temelini oluşturmuştur. Kolinerjik eksiklik, tüm serebral kortekse kolinerjik innervasyonu sağlayan bazal önbeyin başta olmak üzere subkortikal kolinerjik nöronlarda atrofi ve dejenerasyonla oluşmaktadır. Kolin asetiltransferaz ve/veya asetilkolinesteraz aktivitesinin etkilenmediği (hatta yukarı regüle edildiği) hafif bilişsel bozukluğu ya da erken evre AD olan hastaların beyinleri ile ilgili yapılan yakın zamanlardaki çalışmalar, kolinerjik hipotezin geçerliliğini ve aynı zamanda özellikle de erken evrelerdeki bozukluğun tedavisinde kolinomimetiklerin kullanılmasının gerekçesini açıklamıştır. Yine bu hipoteze göre Alzheimer hastalarında mediyal ön loptaki kolinerjik nöronların dejenerasyonunu takiben kavrama bozuklukları da görülebilmektedir. Bu nedenle de kolinerjik anormallikler ve Alzheimer arasında direkt bir ilişki olduğu düşünülmektedir. Ölüm sonrası yapılan beyin incelemeleri birçok Alzheimer hastasında tespit edilen neokortikal bölgeleri kontrol eden nöronların dejenerasyonu, serebral kortekste bulunan kolinerjik terminallerin kaybı, azalan kolin asetil transferaz aktivitesi ve asetil kolin sentezi, azalan kolin alınımı ve artan asetilkolinesteraz aktivitesi gibi değişmiş kolinerjik belirtiler bu durumu kanıtlamaktadır [221, 222]. Bu nedenle Alzheimer hastalığının tedavisinde, asetilkolin düzeyinin artırılması ve bunun için de asetilkolini yıkan asetilkolinesteraz enziminin baskılanması sık başvurulan tedavi yöntemlerinden biridir. Kolinerjik anormallikler aynı zamanda bilişsel olmayan davranışsal anormalliklere ve AD'de toksik nöritik plakların birikmesine de neden olabilmektedir. Bu nedenle, kolinerjik temelli stratejiler, AH'nın diğer demans formlarının tedavisinde rasyonel ilaç geliştirilmesine yönelik bir yaklaşım olarak geçerli kalacaktır.

Alzheimer hastalığında verilen kolinesteraz inhibitörleri mortaliteyi etkilememekle beraber hastanın yaşam kalitesinde ve hastalık evresinin stabilizasyonunda etkili olduğundan tedavide kullanılmaktadır [223]. Asetilkolinesteraz inhibisyonuna bağlı asetilkolin düzeyi artışları, Alzheimer hastalığının erken evrelerindeki kognitif yetmezliği iyileştirebilmektedir [218, 224]. Ayrıca bir N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör antagonisti olan memantin ile kombine kolinesteraz inhibitörü (ChEI) tedavisinin de etkiyi güçlendirdiği bulunmuştur [225]. Buna ek olarak Alzheimer hastalığında kolinesteraz inhibitörlerinin kullanılmasının fayda veya risklerini araştırmak için plesebo ile kolinesteraz inhibitörlerinin kıyaslandığı bir

çalışma yapılmıştır. Bu çalışma rastgele seçilmiş 42 grup ve toplamda 16.106 hasta üzerinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın sonuçları kolinesteraz inhibitörlerinin plasebo ile kıyaslandığında semptomları düzelttiğini ve ölüm oranını azalttığını göstermiştir [226].

Aynı zamanda kolinesteraz inhibitörlerinin (ChEI) N-methyl-D-aspartate (NMDA) reseptör antagonisti memantin ile kombine kullanılmasının aktiviteyi artırdığı rapor edilmiştir [227]. Hafif bilişsel bozukluğu (MCI) olanların ya da AH'nın erken evrelerindekilerin beyinlerine odaklanan araştırmalar, bir teşhis metodu olarak giderek önem kazanmaktadır. Bu tür araştırmalar, nöroprotektif stratejilerin geliştirilmesi ve/veya tanımlanmasının yanı sıra daha spesifik hastalıkların tanı ve tedavisinde de yeni yaklaşımlara yardımcı olabilir. Bilişsel gerileme düzeyinin hastalık nöropatolojisi ile korelasyonunu sağlamaya yönelik önceki çalışmaların çoğunda, hastalığın son evresinde olan hastaların beyinleri analiz edilmiştir. Bu durum hastalık çok erken bir aşamada teşhis edilirse hastalığın ilerlemesini değiştirmeye yönelik yeni araştırma çabaları için özellikle yararlı olmayabilir.

Hafif bilişsel bozukluk (MCI) ve/veya hafif AH tanısı alan hastaların beyinlerinin analiz edildiği az sayıdaki yayınlanmış çalışmanın sonuçları, bazılarının kolinerjik hipotezin geçerliliğine meydan okumaya başlamasına neden olmuştur. Örneğin, Davis ve arkadaşları [228], hafif AH tanısı alanların post mortem neokortikal dokularında asetilkolinesteraz (AChE) ve kolin asetiltransferaz (ChAT) aktivitesinin azalmadığını bildirmişlerdir. Sonuç olarak, yazarlar şunu önermektedir: 1) bir kolinerjik belirteçin AH'nın erken bir göstergesi olarak kullanılması olası değildir; 2) hastanın semptomatik hale gelmesinden önce bir kolinerjik eksikliğin tespit edilemeyeceği; ve 3) sadece daha şiddetli hastalığı olan hastalar kolinerjik tedavi için bir hedef olmalıdır. Ayrıca, DeKosky ve meslektaşları [229], MCI veya hafif AH tanısı alan hastalarda çalışılan bir dizi kortikal bölgede ChAT aktivitesinde herhangi bir azalma saptamayı başaramamışlardır ve hatta, aktivite frontal korteks ve hipokampusta gerçekte yukarı doğru düzenlenmiştir. Başka bir çalışmada, MCI ve erken AH bireylerde, nükleus basaliste ChAT ve veziküler asetilkolin taşıyıcı protein içeren nöronlar korunduğunu göstermiştir [230].

Daha iyi in vivo görüntüleme yöntemleri daha yaygın hale geldikçe, Hafif bilişsel bozukluk MCI veya erken AH'dan muzdarip yaşayan hastaların merkezi sinir sistemindeki kolinerjik fonksiyon ile ilgili belirsizlikler muhtemelen daha iyi bir şekilde ortaya çıkacaktır. İlginçtir ki, AH hastalarında bugüne kadar yapılan birkaç in vivo görüntüleme çalışması kolinerjik

hipotezi destekliyor görünmektedir. Örneğin, [11C] N-metilpiperidin-4-il-propiyonat kullanılarak yapılan PET çalışmaları, Alzheimer hastalarında kortikal asetilkolinesteraz aktivitesinin gerçekten azaldığını göstermektedir [231]. [11C] Nikotin bazlı PET çalışmaları, nikotinik reseptör açıklarının aslında AH'da erken bir fenomen olduğunu göstermektedir ve bu raporlar ayrıca kortikal nikotinik reseptör açıklarının bilişsel bozulma düzeyi ile anlamlı derecede ilişkili olduğunu göstermektedir. Seçici olmayan muskarinik ligandlar [123] kinüklidinil benzilat ve [11C] N-metil-4-piperidil benzilat kullanan diğer PET çalışmaları, neokortikal bölgelerde bağlanmada hem yaş hem de AH ile ilişkili düşüşleri göstermektedir [232]. Ayrıca, [123I] benzovesamacol bağlanmasını kullanan tek foton emisyonlu bilgisayarlı tomografi (SPECT) çalışmaları, erken başlangıçlı Alzheimer hastalarında, vesiküler asetilkolin taşıyıcının tüm serebral korteks ve hipokampüs boyunca azaldığını göstermektedir [233]. Yaş şu anda AH için bilinen risk faktörlerinin en güçlüsü olarak görüldüğünden, yaşlılarda santral kolinerjik nöronların işlevinin bozulup bozulmadığını sormak uygun görünmektedir. AD'nin kolinerjik hipotezindeki zorluklar, yaşlanma, kolinerjik bozukluk ve bilişsel gerileme arasındaki ilişkilerin desteklenmesinde kanıtların varlığını göz ardı etmektedir [234].

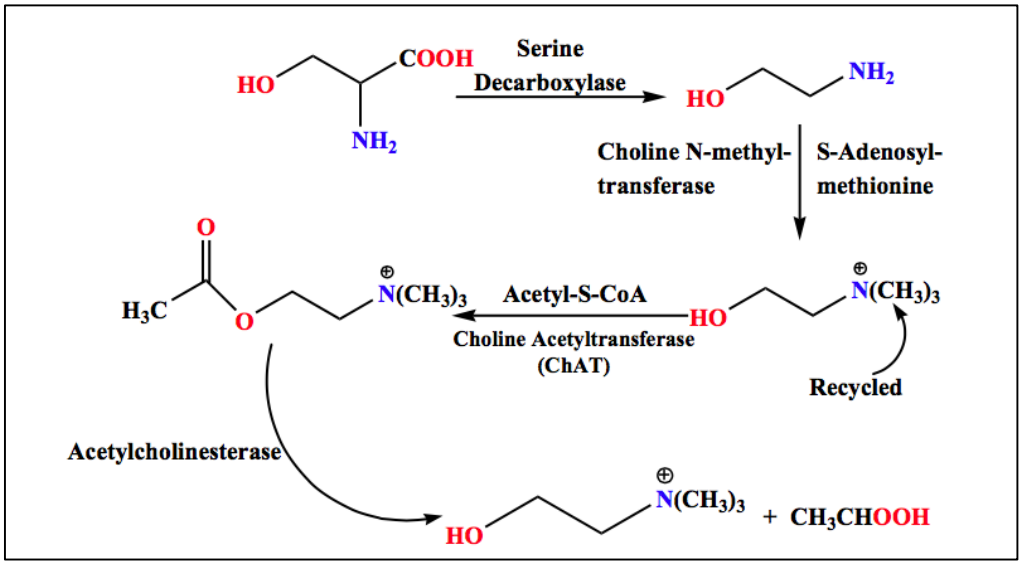
Nörotransmitter fonksiyonunun dinamik yönlerini ölçmek için seçici ve duyarlı kimyasal enzimatik yöntemlerin geliştirildiği 1980'lerin başında İleri yaşın beyin kolinerjik fonksiyonu üzerindeki etkisine ilişkin bir çalışma başlamıştır. Ayrıca Rutin kullanım için hızlı donma veya odaklanmış mikrodalga ışıması ile beyin asetilkolin ve kolin düzeylerinin hızlı stabilizasyonu için yöntemler de tanıtılmıştır. Örneğin, Gibson ve arkadaşları 3 ila 30 aylık yaşlı farelerde asetilkolinin beyindeki tüm sentezini incelemişler ve asetilkolinin biyosentezinin (radyo-etiketli bir öncünün enjeksiyonu ile ölçülen) 30 aylık hayvanlarda %75'e kadar azaldığını bildirmişlerdir. Hafif hipoksi, asetilkolin sentezini %90 oranında azaltmıştır. Dahası, yaşlı kolinerjik nöronlar, potasyum stimülasyonunu takiben asetilkolin serbest bırakma yeteneklerinde, transmitteri sentezleyebildiklerinden daha fazla bozulmuştur [235].

Sonraki in vivo mikrodiyaliz yöntemleri bu erken bulguları büyük ölçüde doğrulamıştır. Yaşlı beyin kolinerjik nöronların, stresli olana kadar nispeten normal işlev gördüğü, asetilkolin çıkışını arttırmak veya kolinerjik nöronlara zarar vermek için çeşitli yöntemler kullanılan deneylerle desteklenmiştir [236, 237]. Bu nedenle, ön beyin kolinerjik nöronlara verilen herhangi bir sürekli hakaretin, bu hücrelerin normal işlev için yeterli transmitter

serbest bırakma kabiliyetine müdahale edebileceği sonucuna varmak mantıklı görünmektedir. Sarter ve arkadaşları bu olasılığı doğrudan, bazal ön beyin kolinerjik hücrelerinin sınırlı bir şekilde azalması amacıyla genç sıçanlarda bazal ön beyin kolinerjik nöronların kimyasal lezyonlarının oluşturulduğu bir dizi deney üzerinde test etmişlerdir [238]. Yaşlı kemirgenlerde yapılan bu çalışmaların sonuçları, özellikle kolinerjik nöronların dinamik yönleri ile ilgili olarak yaşa bağlı değişikliklerin çoğunun gözlemlendiği tespit edilmiştir.

2.2.1. Asetilkolin

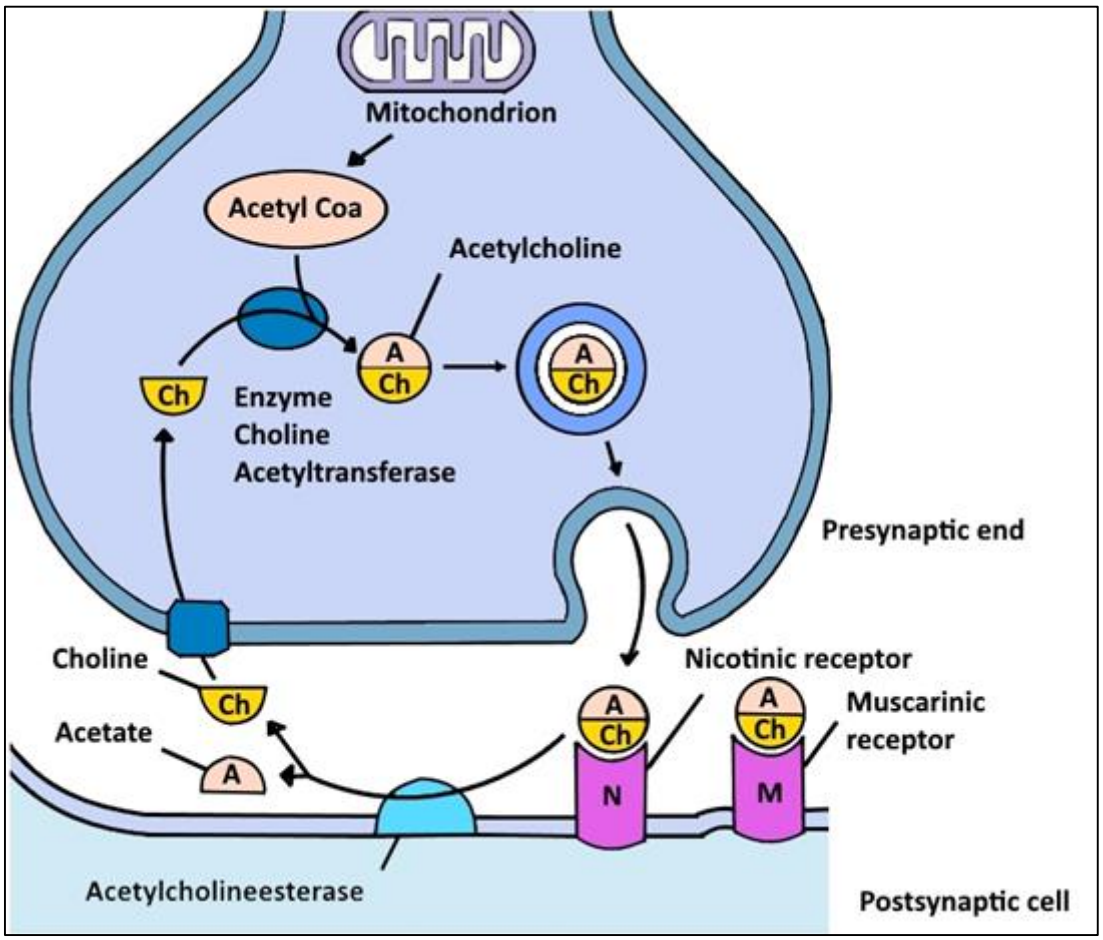
Asetilkolin, kolin transferaz enzimi ile katalizlenen bir reaksiyonla, kolin ve asetilkoenzim A dan hareketle sentezlenir. Bu reaksiyonda asetilkoenzim A'dan bir asetil grubunun koline transferi söz konusudur. Oluşan nörotransmiter, daha sonra sinir uçlarındaki veziküllerde depolanır (Şekil 2.32.) ve nöronal depolarizasyona bağlı olarak salınır [239]. Salınan nörotransmiter, sinaps boşluğunda asetilkolinesteraz tarafından süratle kolin ve asetik aside parçalanır veya postsinaptik membrandaki reseptörlere bağlanarak etkinin ortaya çıkmasını sağlar (Şekil 2.31.) [240].



Şekil 2.31. Asetilkolinin biyosentezi ve biyotransformasyonu

İnsan merkezi sinir sisteminde kolinerjik sinapslar her yerde bulunur. Spesifik kolinesterazlar, presinaptik ve postsinaptik membranlarda lokalize olmuşlardır. Parçalanma sonucu oluşan kolin, asetilkolin molekülleri oluşturmak için aktif transportla akson içine alınır, asetik asit ise kan akımıyla sinaptik bölgeden uzaklaşır. Vücutta spesifik asetilkolin

esterazların yanısıra, psödokolinesteraz ve butirilkolinesteraz gibi spesifik olmayan kolinesterazlar da vardır. Bunlar, genellikle kanda ve karaciğerde bulunurlar; asetilkoline ek olarak diğer kolin esterlerini de hidroliz ederler [239-240].



Şekil 2.32. Asetilkolinin biyosentez, depolama, salınım ve hidrolizi

Birbirlerinden yapı, bulunduğu yer, farmakolojik aktivite yönünden farklı iki asetilkolin reseptörü bulunmaktadır. Spesifik agonist ve antagonistleri olan bu reseptörler, doğal alkaloitler olan nikotin ve muskarine selektif olarak bağlanabilme özellikleri esas alınarak, nikotinik ve muskarinik reseptörler olarak tanımlanırlar. Nöromüsküler motor uçlarda ve gangliyonlarda bulunan nikotinik asetilkolin reseptörleri, aktif formda izole edilmiş ve saflaştırılmış olan ilk nörotransmiter reseptörlerdir [241, 242]. Reseptörün, birbirine bir disülfit bağı ile bağlanmış olan ve beş alt üniteye sahip iki polipeptit zincir monomerinden oluştuğu düşünülmektedir. Asetilkolin, bu reseptörlere bağlandığı zaman membran geçirgenliğinde artışa yol açarak Ca^{++}, Na^{+}, ve K^{+} gibi küçük katyonların geçişine izin verir. Bunun fizyolojik etkisi, motor uçlarda depolarizasyon oluşması ve buna bağlı olarak nöromüsküler kavşakta müsküler kasılma veya sinir uyarısının devam etmesidir. Muskarinik

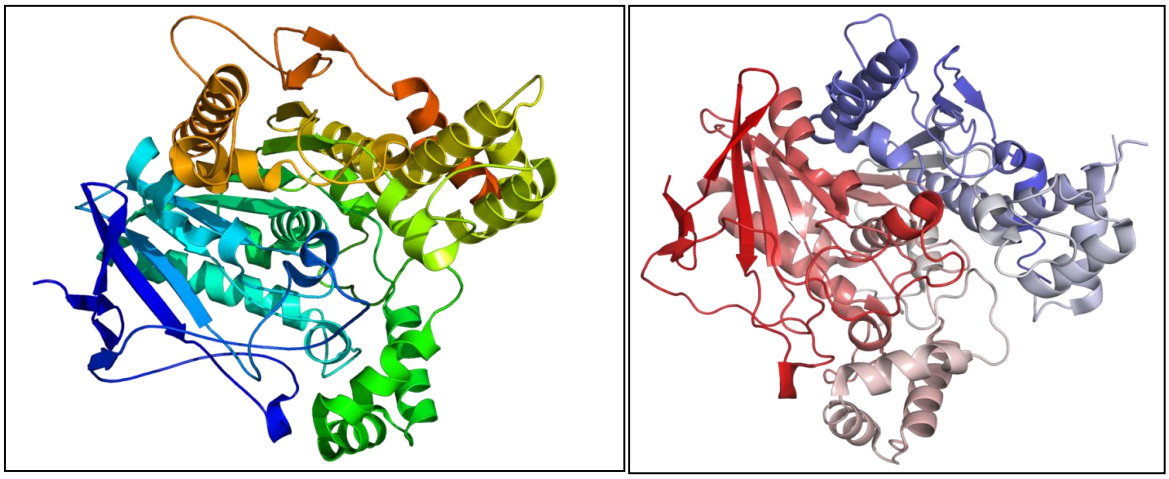
reseptörler ise, otonomik sinir sistemi tarafından uyarılan organların fonksiyonlarının düzenlenmesinde önemli rol oynarlar [243]. Asetilkolinin parasempatetik sinapslarda bulunan bu reseptörler üzerindeki etkisi, uyarıcı veya inhibe edici olabilir. Asetilkolin, salgı ve tükrük bezlerindeki sekresyonu uyarır ve solunum yollarının kasılmasına yol açar. Bileşik ayrıca kalp kasılmalarını inhibe eder, kan damarlarındaki düz kasları gevşetir. Muskarinik reseptörlerin beş alt tipi (M_1, M_2, M_3, M_4 ve M_5) olduğunu gösterilmiştir. M_1 merkezi sinir sistemi ve gangliyonlar gibi nöronal yapılarda, M_2 kalpte, M_3 düz kaslarla salgı bezlerinde, M_4 ise striatum ve akciğerlerde bulunmaktadır [244].

Kolinerjik sinapslar talamus, striatum, limbik sistem ve neokortekste yüksek yoğunlukta bulunmaktadır ve bu durum kolinerjik iletimin hafıza, öğrenme, dikkat ve diğer yüksek beyin fonksiyonları için kritik öneme sahip olduğunu göstermektedir [245].

Çeşitli araştırmalar, genel beyin homeostazı ve plastisitesinde kolinerjik sistemler için ek roller önermektedir. Bu durum, beynin kolinerjik sisteminin, Alzheimer hastalığı gibi demanslar dahil olmak üzere normal biliş ve yaşa bağlı bilişsel gerileme ile ilgili devam eden araştırmalarda merkezi bir rol oynamasına sebep olmaktadır [221]. Alzheimer hastalığında kolinerjik hipotez, ilerleyici limbik ve neokortikal kolinerjik innervasyon kaybı üzerine odaklanır. Bazal önbeyin nörofibriler dejenerasyonunun, ön beyin kolinerjik nöronların disfonksiyonu ve ölümü için birincil neden olduğuna inanılmaktadır, bu da yaygın bir presinaptik kolinerjik denervasyona neden olmaktadır. Kolinesteraz inhibitörleri, beyindeki sinapslarda asetilkolin kullanımını artırır ve Alzheimer hastalığı demansının tedavisinde klinik olarak yararlı olduğu kanıtlanmış birkaç ilaçlı tedaviden biridir ve bu durum kolinerjik sistemin hastalığın önemli bir terapötik hedefi olduğunu doğrular [246].

2.2.2. Kolinesteraz enzimleri

Serin hidrolaz enzim grubunda yer alan asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz enzimleri genellikle kolinesterazlar olarak bilinirler (Şekil 2.33) [247]. İnsan beyninde yer alan bu iki tip kolinesteraz enziminden AChE 7. Kromozom tarafından kodlanırken (AChE, EC), BChE ise 3. kromozom tarafından kodlanmaktadır [248].



Şekil 2.33. AChE ve BChE enziminin yapıları

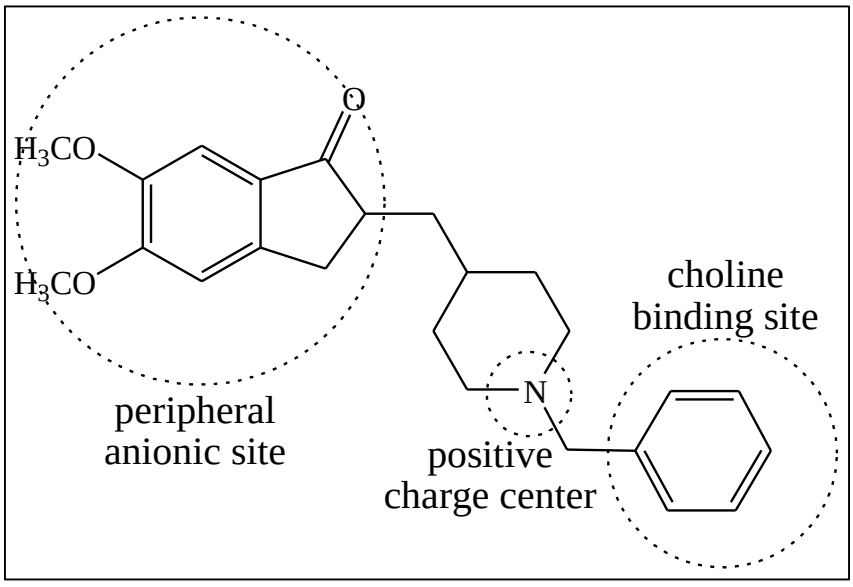
AChE'nin kolinerjik iletimdeki rolü oldukça iyi bilinmekle birlikte BChE'nin rolü yeterince aydınlatılamamıştır [247]. Sağlıklı beyin hücrelerinde sinaptik asetilkolin hidrolizi esas olarakAChE tarafından gerçekleştirilmekte, BChE'nin bu hidrolize katkısının çok az olduğu kabul edilmektedir [249].

Kolinesteraz enzimleri farklı kromozomlarda kodlanmış olmalarına rağmen her iki enzimin aminoasit dizilimleri %65 oranında birbirlerine benzemektedir [247]. Normal erişkin beyninde AChE yaygın olarak bulunurken, BChE sınırlı miktarlarda bulunmakta ve beyindeki kolinesteraz aktivitesinin %80'inden AChE, geriye kalan %20'sinden ise BChE'nin sorumlu olduğu düşünülmektedir [250, 251]. BChE enzim düzeyleri sinir sistemi gelişiminin erken dönemlerinde yüksekken, ilerleyen evrelerde bu düzey düşmektedir. AChE kolinerjik nöronların hücre gövdesinde, aksonlarda ve dentritik uzantıların proksimalinde yer almakta, BChE ise hücre gövdesinde ve dendritlerde bulunmaktadır [248].

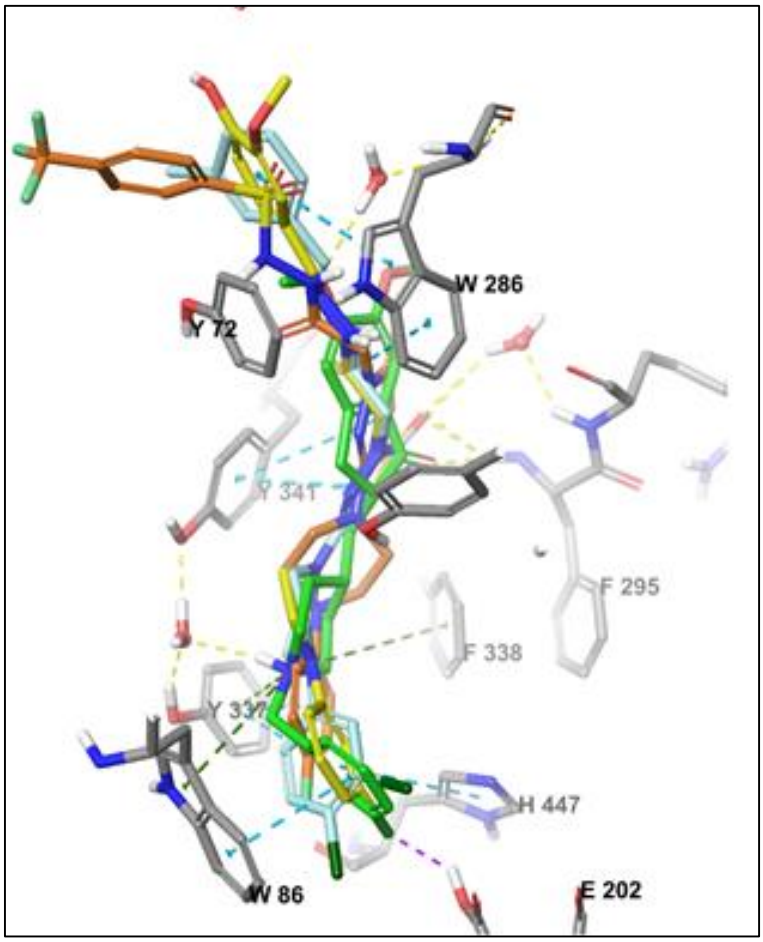
BChE'nin düz kaslarda kolinerjik iletiyi düzenlediği gösterilmiş olmasına rağmen sinir sistemindeki işlevi yeterince bilinmemektedir [252, 253]. BChE işlevlerinin daha iyi anlaşılmasına yönelik yapılan son çalışamalar, AChE geni olmayan farelerde tremor, ileus ve güçsüzlük gibi periferik veya merkezi kolinerjik işlev bozukluğu ile ilgili durumların ortaya çıkmasına karşın bu farelerin erişkin yaşa dek gelişebildiğini; ayrıca farelerin bütirilkolinesteraz inhibisyonu ve organofosfat etkilerine karşı aşırı derecede duyarlıoldukları göstermektedir [254]. Bu da hem AChE'nin hem de BChE'nin nöron gelişimi ve kolinerjik iletimde birlikte aktif rol oynadıklarını ortaya koymaktadır.

AChE inhibitörü aktivitede inhibitör moleküllerin enzime bağlanma bölgeleri için üç hipotez ileri sürülmektedir. Bu hipotezlerden birincisi AChEI bileşiklerin yapısında bulunan heterosiklik halkanın enzimin periferal bağlanma bölgesiyle etkileşebilen periferal anyonik bölge olarak etki gösterdiğidir. İkincisi pek çok güçlü AChE inhibitörünün yapısında yer alan azot atomunun pozitif yük merkezi olarak etki ettiğidir. Bu grubun AChE'nin katalitik merkezi ile etkileşebildiği AChE/donepezil ve AChE/galantamin komplekslerine ait X-ray kristalografisi çalışmalarıyla belirlenmiştir. Üçüncü hipotez ise azot atomuna bağlı fenil halkası gibi hidrofobik grupların kolin bağlanma bölgesi olarak bulunduğudur [255].

Son kristallografik araştırmalarla, AChE ve BChE aktif alanlarının yapısal özellikleri daha açık olmuştur ve takrin, donepezil ve galantamin gibi bilinen inhibitörlerin anahtar bağlama bölgesi kalıntıları ile bağlanma etkileşimleri iyi çalışılmıştır [256-259]. Donepezil, galantamin ve takrinden farklı olarak, katyonik anyonik bölge (CAS) ile birlikte periferik anyonik bölge (PAS) ile de etkileşime girer. Bu bölgenin altında, asetil-kolin bağı, yani katalitik triad olarak da bilinen S203, E334 ve H447'nin bölünmesini katalize eden üç amino asit bulunur. İdeal olarak, bir kolinesteraz inhibitörünün bu bölgelerle etkili bir şekilde etkileşime girmesi beklenir (Şekil 2.34) [260-263].



Şekil 2.34. AChEI'ler için yapısal hipotez (donepezil)



Şekil 2.35. Donazepilin AChE enziminin aktif bölgesi ile etkileşiminin moleküler modelleme çalışması ile gösterimi

BChE ve AChE enzimlerinin aktif bölgeleri yapısal olarak %65 benzerlik gösterse de enzim spesifitesi açısından açil-bağlanma bölgesinin BChE enziminde daha büyük olması gibi bazı farklılıklar vardır.

2.2.3. Kolinesteraz enzim inhibitörü ilaçlar

Asetilkolin gangliyon, postgangliyonik sinir ucu ve motor uçlardan salınır. Daha sonra hızlı bir şekilde asetilkolin esteraz tarafından hidroliz olur. Asetilkolin esterazın inhibisyonu, nörotransmiterin kavşaktaki ömrünü uzatır ve böylece asetilkolin uygulandığında gözlenen etkilere benzer farmakolojik etkiler ortaya çıkar [239-240]. Asetilkolinesteraz, bu ilaçların birincil hedefidir, ancak butirilkolinesteraz da inhibe edilir. Antikolinesterazlar; miyastenia gravis, gastrointestinal kanaldaki atoniler, glokom, Alzheimer gibi hastalıkların tedavisinde kullanılırlar.

Bu bileşikler, aynı zamanda sinir gazları ve insektisit olarak da kullanılmaktadırlar [264-267]. Etki mekanizmalarına göre, anti-AChE ajanları üç gruba ayrılabilir; a) yarışmalı agonistler, b) kısa etkili inhibitörler (karbamatlar), c) uzun etkili inhibitörler (organofosfor). Edrofonyumun örnek olduğu ilk grup, kuaterner alkollerden oluşmaktadır. Bu bileşikler (agents), enzimin aktif bölgesine hem elektrostatik olarak hem de hidrojen bağları ile geri dönüşümlü olarak bağlanabilir, böylece asetilkolinin enzime erişimi engellenir. Enzim-inhibitör kompleksi, bir kovalent bağ içermez ve buna uygun olarak kısa ömürlüdür [240].

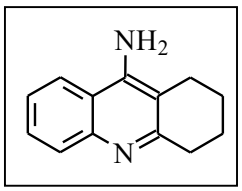
İkinci grup, neostigmin ve fizostigmin gibi karbamat esterlerinden oluşur. Bu bileşikler asetilkolin için tarif edilene benzer iki aşamalı bir hidroliz dizisine maruz kalırlar [240]. Bununla birlikte, karbamoile edilmiş enzimin kovalent bağı, ikinci işleme (hidrasyon) önemli ölçüde daha dirençlidir ve bu adım, buna uygun olarak uzatılmıştır [240].

Üçüncü grup, organofosfatlardan oluşmaktadır. Bu maddeler aynı zamanda enzim tarafından ilk bağlama ve hidroliz işlemine tabi tutulur, bu da fosforile edilmiş bir aktif alana neden olur. Kovalent fosfor enzim bağı oldukça stabildir ve suda çok yavaş bir hızda (yüzlerce saat) hidrolize olur. Organofosfat inhibitörleri bazen “geri dönüşsüz” kolinesteraz inhibitörleri olarak adlandırılır. Pralidoxime gibi güçlü nükleofiller fosfor enzim bağını kırabilir [240].

Takrin, donepezil, rivastigmin, galantamin ve huperzin A gibi bazı kolinesteraz inhibitörlerinin Alzheimer hastalığında hastalık ilerlemesindeki azalmayı yavaşlattığı gösterilmiştir. 20 yıldan uzun bir süre önce (1993'te), bu bileşiklerden ilk ilaç olan ve AH'nın tedavisi için ABD’de FDA tarafından onaylanan takrin (Cognex®), bir asetilkolinesteraz (AChE) inhibitörü olarak, AH'nın kolinerjik hipotezine dayanarak klinik kullanım için sunulmuştur [268]. Hepatotoksisitesi nedeniyle, takrin çok geçmeden ilaç pazarından çekilmiştir ve sonrasında kullanımı sınırlandırılmış, ancak diğer üç AChE inhibitörü rivastigmin, donepezil ve galantamin anti-AH ilaç olarak onaylanmıştır [269-271]. Bu ilaçlar, şu anda önemleri tam bilinmemekle birlikte, ek özelliklere de sahiptir. Rivastigmin, bütirilkolinesterazı bloke edebilir (BuChE), galantamin ise nikotinik asetilkolin reseptörlerini modüle eder [272]. Donepezil αβ sentezi ve αβ sentezinden sorumlu β-sekretaz’ın (BACE1) ılımlı bir inhibitörüdür. Donepezil ayrıca anti-amnesik aktiviteleri ile bilinen sigma-1 reseptörleri ile de etkileşir [273].

Takrin

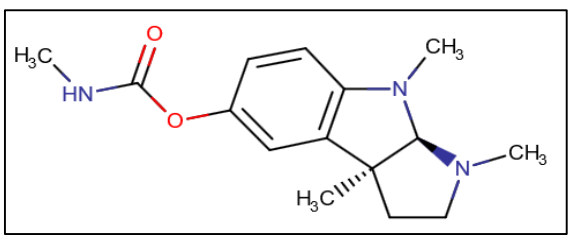
Hem AChE, hem de BChE inhibitörü olan takrin, klinik çalışmalar sonucunda hafıza, dikkat, mantık yürütme, konuşma ve basit görevleri yerine getirme gibi Alzheimer hastalığı ile ilişkili kognitif belirtileri olumlu yönde etki sağlamış ve Alzheimer tedavisi için FDA'dan onay almıştır. Düşük substrat konsantrasyonlarında rekabetçi olmayan bir inhibitör olarak ve daha yüksek substrat konsantrasyonlarında bir rekabetçi inhibitör olarak karışık inhibisyon yoluyla hareket eder. Takrine AChE'ye katalitik triadın yanına bağlanır, bu da ACh'nin aktif bölgeye bağlanmasını engeller. Her ne kadar 2013 yılında hepatoksisite nedeniyle kullanımdan kaldırılmış olsa da, takrin, geliştirilmiş farmakolojik profile sahip yeni çok fonksiyonlu ajanlar geliştirmek için bir başlangıç molekülü olarak kullanılmıştır [274, 275].



Şekil 2.36. Takrinin yapısı

Fizostigmin

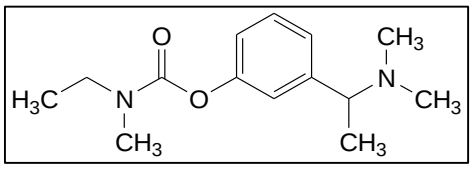
Fizostigmin, AD tedavisi için araştırılan ilk ChEI idi. *Physostigma venenosum* tohumlarından bir parasempatimmimetik bitki alkaloidi olarak izole edilir. Kan-beyin bariyerini (BBB) geçmesine rağmen, kısa bir yarı ömür ve dar bir terapötik indekse sahiptir [276]. Ayrıca bulantı, kusma, baş ağrısı, ishal ve baş dönmesi gibi birçok yan etkiye de sahiptir. Fizostigmin Myastenia Gravis, glokom ve gecikmiş gastrik boşalmada kullanılmaktaydı. Ancak, ilaç onaylanmamış ve yukarıda belirtilen dezavantajlar nedeniyle AD kullanımı için terk edilmiştir. Bunun yerine, enzimatik analizlerde fizostigmin bir referans bileşik olarak kullanılır. Bununla birlikte, fizostigminin bir karbamat analogu olan rivastigmin, AD'li hastaları tedavi etmek için kullanılır [277].



Şekil 2.37. Fizostigminin yapısı

Rivastigmin

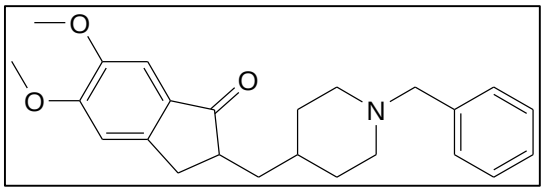
Rivastigmin dahil olmak üzere diğer kolinesteraz inhibitörleri, etkinin özgüllüğü ve daha düşük yan etki riski açısından daha üstün özelliklere sahiptir. Rivastigmine, Avrupa Birliği ve ABD'nin tüm üye ülkeleri dahil olmak üzere 60 ülkede kullanılmak üzere onay almıştır. Rivastigmin küçük bir moleküldür ve kolay BBB geçirgenliğine sahiptir [270-278]. Rivastigmine ayrıca BuChE ve AChE inhibitör özelliklerine sahiptir. Rivastigmine 2000 yılında hafif-orta dereceli AH'nin tedavisi için onaylandı ve o zamandan beri Parkinson'un ilgili demansları için de onay aldı.



Şekil 2.38. Rivastigminin yapısı

Donezepil

1997 yılında kullanım için onay alan Donepezil günümüzde en çok kullanılan AD ilacıdır. Donepezilçok güçlü ve oldukça seçici bir AChE inhibitörüdür. Enzim ile birkaç bağ oluşturur ve aynı zamanda PAS ve enzim boğazının (gorge) aromatik kalıntı halkalarıyla etkileşir [262]. Donepezil de AChE için oldukça seçicidir. BuChE için düşük seçiciliği, BuChE üzerindeki daha büyük vadinin bir sonucudur ve bu da donepezilin eş zamanlı olarak periferik anyonik ve katalitik bölgelere bağlanamamasıyla sonuçlanır [265, 269, 279].

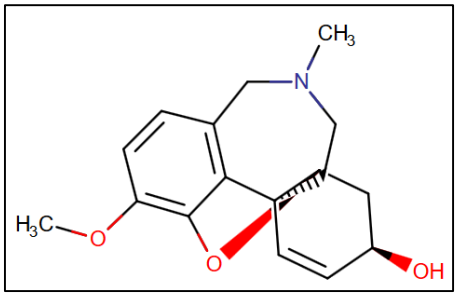


Şekil 2.39. Donazepilin yapısı

Galantamin

Birkaç kolinesteraz inhibitörü, doğal ürünlerden türetilmiştir. Bunlardan biri olan ve üç onaylı kolinesteraz inhibitöründen biri olan galantamin kardelen bitkisinden (*Galanthus spp.*) izole edilmiştir [280, 281]. Galantamin, yarışmalı ve geri dönüşümlü bir kolinesteraz

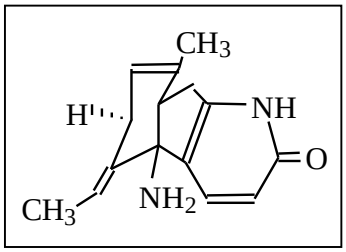
inhibitörüdür. Beyindeki asetilkolin konsantrasyonunu arttırarak kolinerjik fonksiyonu güçlendirdiği düşünülmektedir. Galantamin asetilkolinesteraz kompleksinin üç boyutlu yapısı 1999 yılında X-ışını kristalografisi ile belirlenmiştir (PDB code: 1DX6; see complex). Galantamin'in altta yatan demans sürecinin seyrini değiştirdiğine dair bir kanıt yoktur. Galantamin ayrıca, asetilkolin salınımını arttırmak için nikotinik kolinerjik reseptörlerin modüle edilmesinde aktivite göstermiştir [282].



Şekil 2.40. Galantaminin yapısı

Huperzin A

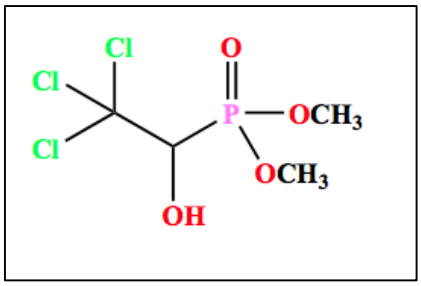
Huperzine A, Huperzia serrata'dan izole edilen ve kan-beyin bariyerini geçebilen bir alkaloittir [283-285] Huperzine A, son derece seçici ve geri dönüşümlü bir AChE inhibitörüdür. AChE'nin huperzine A tarafından inhibisyonu, aktif boğaz (gorge) bölgesindeki kalıntılar ile etkileşimlerin sonucudur. Huperzin A'nın bir faz II çalışmasında, günde iki kez uygulanan ilacın 200 µg'ının hafif ila orta şiddette AH olan hastalarda bilişsel etkinliğe belirgin bir faydası olmadığı gözlenmiş olsa da, yakın zamanda yapılan bir meta analiz, mevcut çalışmaların zayıf metodolojik kalitesinden dolayı etkililiğini tesis etmek için daha ileri çalışmaların gerekli olduğunu belirtmiştir Huperzin A'nın β-amiloid kaynaklı oksidatif hasara ve oksidatif stresi azaltmaya karşı nöroprotektif etkileri gösterdiği de bildirilmiştir .



Şekil 2.41. Huperzin A yapısı

Metrifonat

Metrifonat, şistosomiasis tedavisinde orijinal olarak kullanılan uzun etkili, geri dönüşümsüz bir ChEI'dir. Kısa süreli kullanımda yan etki riski düşük olmakla birlikte uzun süreli kullanım miyastenik krize benzer şekilde solunum felci ve nöromüsküler iletim disfonksiyonuna neden olmuştur [286]. Bu nedenle FDA başvurusu durdurulmuş ve klinik çalışmalar faz III sırasında kesilmiştir. Bununla birlikte, ADAS-cog (Alzheimer's Disease Assessment Scale-cognitive subscale) ve diğer önlemler üzerinde sağlam bir terapötik etki göstermiştir. Ancak, metrifonat ve nöromüsküler disfonksiyon arasındaki ilişki daha fazla araştırılıncaya kadar, metrifonat şu anda AH tedavisi için bir seçenek değildir.

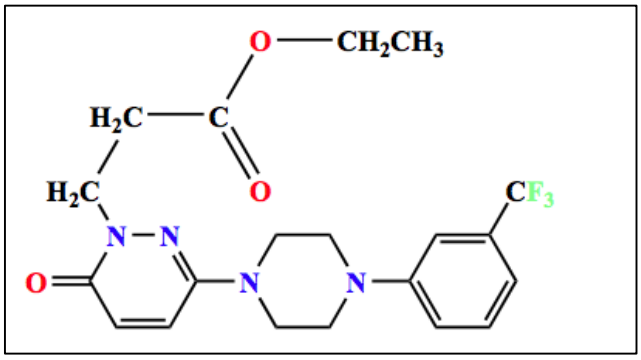


Şekil 2.42. Metrifonatın yapısı

2.2.4. Yeni geliştirilen kolinesteraz inhibitörleri

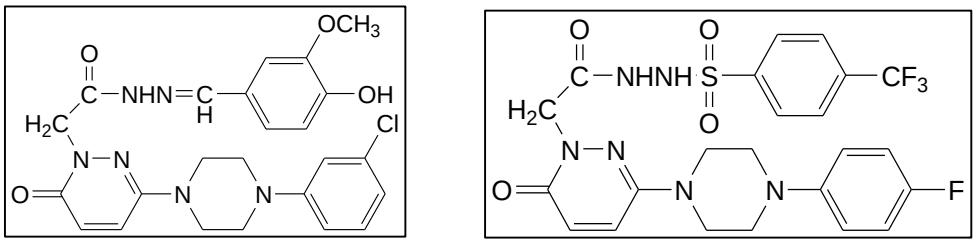
Halihazırda, Alzheimer hastalığı (AH) tedavisi için birkaç tane FDA onaylı ilaç ticari olarak temin edilebilmektedir. Bunların arasında Takrin (Cognex), Donepezil (Aricept), Rivastigmin (Exelon), Galantamin (Reminyl) kolinesteraz inhibitörleridir. Bunlar hastalık için sadece palyatif çözümler sunabilmektedir, ancak bu ilaçların yan etkileri önemli bir endişe kaynağı olmaya devam etmektedir. Açıkçası, AH'nın tedavisi için daha etkili ilaçların araştırılması, en baskın farmakolojik hedeflerden biridir ve daha birçok ilaç ya klinik deneylerde ya da hem akademik alanda hem de endüstride dünya çapında laboratuarlarda test edilmektedir [209-267-275]. Gelişme aşamasında olan sentetik analoglar ile hedeflenen farmakolojik etki oluşturulurken hepatotoksisitenin ve bilinen gastrointestinal yan etkilerin önlenmesi sağlanmaktadır. Sentetik analoglar geliştirmede de, doğal olarak türetilmiş ChEI'ler gibi potent ve kan beyin bariyeri geçirgenliğine sahip olan türevlere ulaşılamama veya beklenmedik farmakolojik özelliklere sahip bileşikler elde etme gibi riskler bulunmaktadır [287-288].

Ana yapı olarak piridazinon halkası içeren bileşik türevlerinde yapılan çalışmalarda da bileşiklerin AChE ve BChE inhibitörü aktivite gösterdikleri bildirilmiştir. Etil 6-[(sübstitüe-fenilpiperazin]-3(*2H*)-piridazinon-2-il propiyonat ve 6-[(sübstitüefenil-piperazin]-3(*2H*)-iridazinon-2-il propiyonohidrazit türevlerinin AChE/BChE inhibitörü olarak sentez edildiği bir çalışmada elde edilen bileşiklerin aktiviteleri günümüzde Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılmakta olan galantamin ile karşılaştırılarak değerlendirilmiş ve 6-[4-(3-triflorometilfenil)-piperazin]-3(*2H*)-piridazinon-2-il propiyonat bileşiğinin hem asetilkolinesteraz hem de bütirilkolinesteraz enziminin inhibisyonunda en aktif bileşik olduğu bulunmuştur [289].



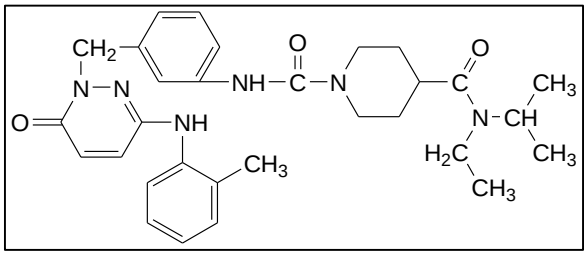
Şekil 2.43. 6-[(sübstitüe-fenilpiperazin]-3(2H)-piridazinon-2-il propiyonat

6-sübstitüe-3(*2H*)-piridazinon-2-asetil-2-(sübstitüe/nonsübstitüebenzal)hidrazon ve N'-[(4-sübstitüefenil)sülfonil]-2-[4-(sübstitüefenil)-piperazin]-3(*2H*)-piridazinon-2-il asetohidrazit türevleriyle yapılan benzer çalışmalarda da Ellman metoduyla bileşiklerin 0,05 mM, 0,1 mM, 0,2 mM, 0,25 mM ve 0,5 mM konsantrasyonlarda antikolinesteraz aktiviteleri değerlendirilmiş ve 6-(3-klorofenil)-3(*2H*)-piridazinon-2-asetil-2-(3-metoksi-4-hidroksi benzal)hidrazon ve N'-[(4-triflorometilfenil)sülfonil]-2-[4-(2-florofenil)-piperazin]-3(*2H*)-piridazinon-2-il asetohidrazit bileşiklerinin en aktif olduğu, N'-[(4-triflorometilfenil)sülfonil]-2-[4-(2-florofenil)-piperazin]-3(*2H*)-piridazinon-2-il aseto-hidrazitin galantaminden daha yüksek aktivite gösterdiği bildirilmiştir [290-291].



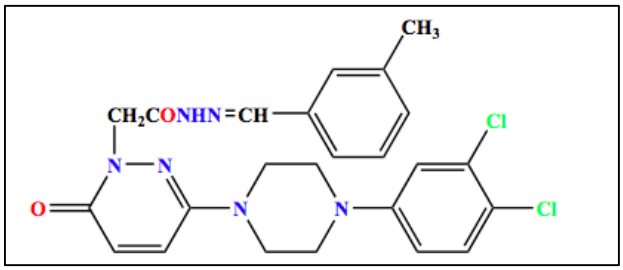
Şekil 2.44. N'-[(4-triflorometilfenil) sülfonil]-2-[4-(2-florofenil)-piperazin]-3(2H)-piridazinon-2-il asetohidrazit bileşiklerinin en aktif olduğu, N'-[(4-triflorometilfenil) sülfonil]-2-[4-(2-florofenil)-piperazin]-3(2H)-piridazinon-2-il asetohidrazit

Xing ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada 2,6-disübstitüe piridazinon türevleri sentez edilmiş ve elde edilen bileşiklerin *in vitro* AChE/BChE inhibitörü etkileri moleküler modelleme çalışmaları da yapılarak araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda 6-orto-tolilamino ve *N*-etil-*N*-izopropilasetamit sübstitüe piperidin gruplarını içeren piridazinon bileşiğinin yüksek asetilkolinesteraz inhibitörü aktivite gösterdiği ve *in vitro* AChE/BChE selektif oldukları bulunmuş, yapılan moleküler modelleme çalışmaları ile de bileşiğin enzimlerin hem katalitik aktif bölgesine (CAS), hem de periferal anyonik bölgesine (PAS) bağlanarak enzim inhibisyonu yaptığı belirlenmiştir [292].



Şekil 2.45. 6-(2-metilfenil) amino-2-(4-N-etil-N izopropil asetamit piperidin) aminobenzil-3(2H)-piridazinon

Başka bir çalışmada 6-sübstitüte-3(2*H*)-piridazinone-2-asetil-2-(p-sübstitüte benzal-hidrazon türevleri sentezlenmiş ve AChE ve BChE enzim inhibitör aktiviteleri test edilmiştir. Sentezlenen türevlerin her iki enzimin dual inhibisyonunda potent etki gösterdiği tespit edilmiştir [265]. En aktif AChE inhibitörü 100 µg/ml konsantrasyonda %75,52 AChE inhibisyon gösterirken aynı zamanda yine aynı konsantrasyonda %67,16 BChE inhibisyonu göstermiştir. Sentezlenen türevler arasında en güçlü dual kolinesteraz inhibitörü 6-[4-(3,4-dikolorofenil) piperazin-1-il]-3(2*H*) piridazinon-2-asetil-2-(3-metil-lbenzal) hidrazon türevidir [265]. Docking çalışmaları ile 6-[4-(3,4-dikolorofenil) piperazin-1-il]-3(2*H*) piridazinon-2-asetil-2-(3-metillbenzal) hidrazon türevinin her iki enzim üzerindeki inhibisyon etki mekanizması önceden rapor edilmiş türevler ile kıyaslanmıştır. Sonuçta en aktif bileşiğn bileşiğin docking pozisyonunun donezepil ile benzer olduğu ve fenilpiperazin yapısı üzerindeki sübstitüentlerin ligand etkinliğini değiştirebileceği tespit edilmiştir.

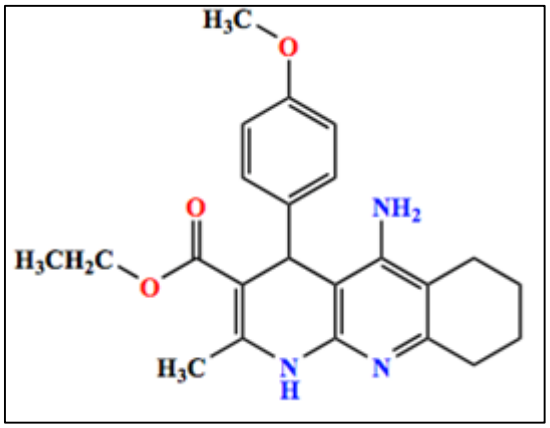


Şekil 2.46. 6-[4-(3,4-dikolorofenil) piperazin-1-il]-3(2H) piridazinon-2-asetil-2-(3-metil-benzal) hidrazon

Takrinin 1993 yılında Alzheimer hastalığının tedavisinde ilk AChE inhibitörü olarak kullanılmasından bugüne kadar hastalık modifiye edici tedaviler (DMTs: Disease Modifiying Therapies) geliştirmek için bazı stratejiler araştırılmıştır. Çok yüksek miktarlarda para harcanmasına ve çok sayıda bileşiğin klinik denemelere girmesine rağmen Alzheimer hastalığının etkin tedavisi henüz bulunamamıştır [9]. Alzheimer hastalığının tedavisindeki klinik başarısızlık tam açıklanamayan değişik faktörlerin çok yönlü etkileşimi içeren bir patolojiye sahip olmasına bağlıdır. Bu araştırma aynı zamanda çoklu hedefe yönlendirilmiş ligandlarda (Multitarget Directed Ligands: MTDLs) son gelişmelerin temel prensipleri ortaya koymuştur [293].

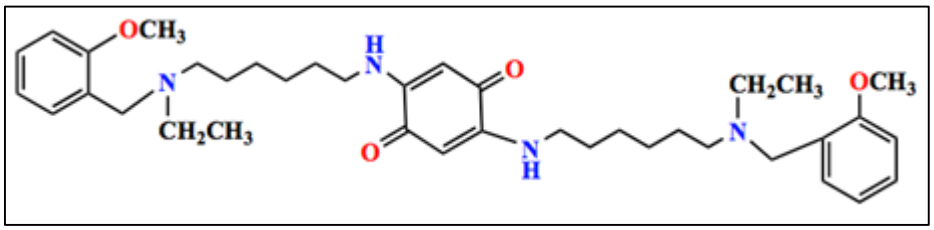
Sonuç olarak, Alzheimer hastalığının çok faktörlü bir hastalık olması gerçeği çok yönlü hedefler için (multiple targets) single-molekül yaklaşımının gerekliliğini ortaya koymuştur. Bu amaçla, kan beyin bariyeri geçirgenliği artırılmış ve birden fazla reseptöre hedeflendirilmiş hibrit moleküllerin tasarımı da yapılmıştır [294-296]. Bu çalışmalar arasında Takrin temelli multitarget türevlerin AH'da birçok tanınmış hedef ile etkileşime girdiği ve hem invivo hem de fayda sağladığı tespit edilmiştir.

Esasında takrin iskelet yapısı yüksek etkili MTDL lar için en iyi başlangıç noktasıdır. Bütün bunların ışığında yeni MTDL sınıfı takripirinler olarak isimlendirilmiştir. Takripirinler için rererans molekül takrin ve nimodipinin hibritleştirilmesi ile sentezlenmiştir. Bu şekilde hem antikolinesteraz hem de kalsiyum antagonisti aktiviteler tek bir hibrit molekülde birleştirilmiş ve Alzheimer hastalığının tedavisinde yeni bir yaklaşım getirmiştir. Takripirin türevleri içinde en yüksek aktivite (±)p-metoksiakripirin bileşiğinde gözlenmiştir, aynı zamanda bu bileşik yüksek selektivite ile astilkolinesterazenzimine bağlanabilmekte ve yüksek kalsiyum antagonisti aktivite sağlamaktadır [297].



Şekil 2.47. (±)p-metoksiakripirin

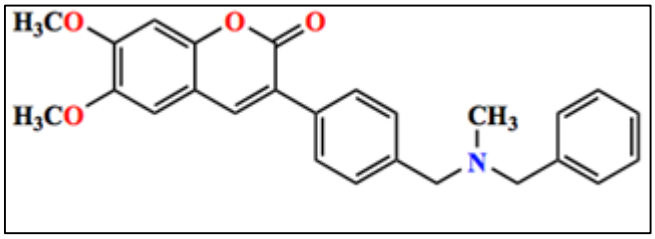
Alzheimer tedavisinde kalsiyum kanal blokerlerine duyulan ilgi kalsiyum düzeylerinin öğrenme, hafıza gibi nöronal canlılık gibi işlevler ile yakın ilişkisi olmasından kaynaklanmaktadır. İntrasellüler kalsiyum dengesi bozukluklarının nöron hasarı ve kayıplarından sorumlu olduğu düşünülmektedir [298]. Memoquin isimli ilaç bahsedilen polifarmakoloji modeline uygun olarak geliştirilmiştir. Çok hedefli bir ilaç olarak geliştirilen memoquin hem antioksidan hem de nöroprotektif etkilere sahiptir ve ümit vaat eden bir ilaç olarak yükselen bir değere sahiptir [299].



Şekil 2.48. Memoquinin yapısı

Double bağlanma bölgelerine sahip bifonksiyonel ligantlar asetilkolinesteraz, monoaminoksidaz ve reaktif oksijen türleri (ROS) inhibitörleri olarak geliştirilmiştir [300-302]. Memoquin kinon halkası taşıyan bir poliamindir ve asetilkolinesteraz enzimi ve β-amiloid agregasyonu inhibisyonu yaparak Alzheimer hastalığında dual etki sağlamaktadır [300]. Memoquin insan asetilkolinesterazının en güçlü inhibitörüdür ve donazepilden 10 kat daha etkilidir. Memoquin asetil koline dual bağlanma, β-amiloid agregasyonu, β-sekretaz inhibisyonu, nöroprotektif etki, antioksidan etki ve tau hiperpolarizasyonunun azaltılması gibi çok çeşitli AH mekanizmalarını modüle eden multifonksiyonel bir bileşiktir [303].

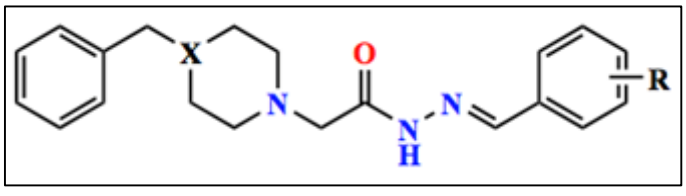
Donazepil FDA tarafından Alzheimer hastalığının semptomlarını hafifletmek için onaylanmış selektif bir asetilkolinesteraz inhibitörüdür [262]. Donazepilin uygun farmakokinetik profili ve potent asetilkolinesteraz inhibisyonu yapması çok sayıda donazepil analoglarının geliştirilmesine neden olmuştur [262-269-279]. AP 2238 bu alanda ilk geliştirilen bileşiktir ve asetilkolinesterazın anyonik bölgesine bağlanmaktadır AP2238'in asetilkolinesteraz aktivitesi donazepil ile aynı olmasına rağmen beta amiloid agregasyon inhibitörü etkisi daha yüksektir [304].



Şekil 2.49. AP2238 yapısal formülü

Rizzo ve arkadaşları donazepil ve AP2238'in bir seri hibrit türevini sentezlemişlerdir. Donazepilden gelen indanon halkası AP2238'in fenil-N-metilamino kısmına bağlanmıştır. Oluşan hibrit bileşiğin yüksek antikolinesteraz aktivite gösterdiği rapor edilmiştir [305].

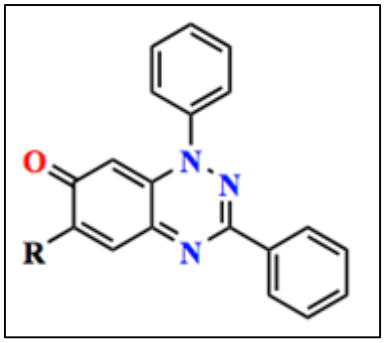
Özer ve arkadaşları [306], hem kolinesteraz hem de amiloid birikimini inhibe etmesi beklenen ve donepezil yapısına dayanan yeni bir dizi bileşik tasarlamıştır. Çift etkili bileşiklerin bu sınıfı 4-benzilpiperidin/piperazin ve bir N-açilhidrazon parçası ile bağlanmış farklı şekilde ikame edilmiş bir benzen halkasının bir kombinasyonudur. Benzen halkası, bir veya iki metoksi/etoksi grubu içerir. Ellman'ın testinin sonuçları, bu bileşiklerin, hem AChE hem de BuChE'nin orta ve seçici olmayan inhibitörleri olduğunu ve mikromolar aralıkta IC_{50} değerlerini AChE için 53,1-88,5 M ve EqBuChE için 48,8-98,8 M olduğunu göstermştir.



Şekil 2.50. 4-Benzil piperidin/piperazin türevleri

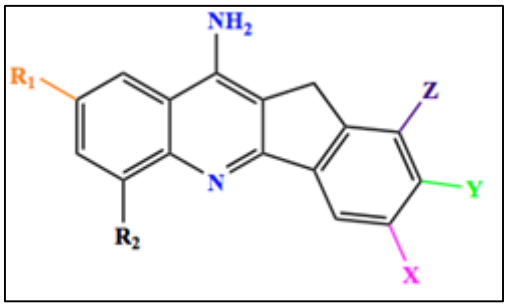
Benzo[e][1,2,4] triazin-7(1*H*)-on türevi ve [1,2,4]-triazino[5,6,1j,k]-carbazol-6-on türevi olmak üzere iki grup türevde yeni bir dizi amiloid birikimi ve AChE/BuChE inhibitörü bileşik tanımlanmıştır [307]. Tasarlanan bu bileşikler triazafluoranthenonun 5. karbonuna ve

benzotriazinonun ve 6. karbonuna bağlı çeşitli alkilamin veya arilalkilamin sübstitüentleri taşımaktadır. Bileşiklerin çoğunluğu, mikro veya submikromolar aralıkta IC_{50} değerleri olan bir $A\beta_{1-40}$anti-agregasyon aktivitesi sergilemiştir (Ap1–40 IC_{50} = 0,37-65 M). Ellman analizinin sonuçları test edilen bileşiklerin EeAChE ve EqBuChE'nin zayıf veya orta düzeyde inhibitörleri olduğunu göstermiştir. Triazafluoranthenon türevi bileşiklerden oktametilen zincirine sahip bileşik, 1,4 M IC_{50} değeri ile $A\beta_{1-40}$ agregasyon inhibisyonu gösterirken; IC_{50} = 25 nM değeri ile seçici, çok güçlü bir EqBuChE inhibitörü etkiye sahip bulunmuş ve potansiyel anti-AH ilaç olarak daha fazla gelişme için umut verici olarak görülmüştür [307].



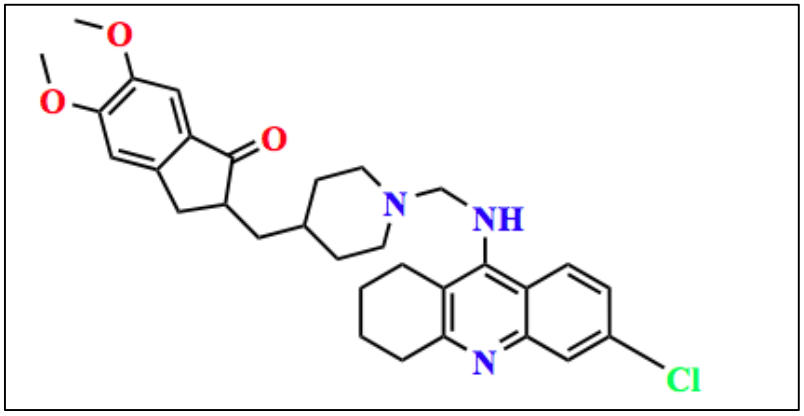
Şekil 2.51. Benzo[e][1,2,4] triazin-7(1H)-on türevi ve [1,2,4]-triazino[5,6,1j,k]-carbazol-6-on yapısı

Ekiz ve arkadaşları bromoindenokinolin türevi bileşiklerin sentezini ve yapı-aktivite ilişkisini (SAR) araştırmak için asetilkolinesteraz (AChE), bütirilkolinesteraz (BChE) ve insan karbonik anhidraz enzimlerini inhibe etme potansiyellerini belirlemiştir. Monofenil indenokinolinler, başlangıç materyalleri ve referans bileşikleri (galantamin ve takrin) ile karşılaştırıldığında, IC_{50} 37-57nM ve 84-93nM aralığındaki değerlerde AChE ve BChE enzimlerini önemli ölçüde inhibe etmiştir. Diğer taraftan, bu yeni arillenmiş indenokinolin bazlı türevler, AChE için 37 ± 2,04 ila 88640 ± 1990nM aralığında, hCA için 120,94 ± 37,06 ila 1150,95 aralığında hCA II için 267,58±98,05 ila 1568,16±438,67 nM aralığında ve BChE için ise 84±3,86 ila 144120±2910nM aralığında K_i değerleri ile enzimlerin etkili inhibitörleri olarak bulunmuştur. Sonuç olarak, monofenil indenokinolinlerin ümit verici bir anti-Alzheimer ilaç potansiyeline sahip olabileceği ve 3,8-dibromoenokinolin aminin ise yeni hCA I ve hCA II enzim inhibitörleri olabileceği düşünülmüştür [308].



Şekil 2.52. Arillenmiş indenokinolin bazlı türevlerin yapısı

Camps ve arkadaşları ise AChE'nin periferik, aktif ve orta boğaz (midgorge) bağlama bölgeleriyle aynı anda etkileşime giren yeni bir dizi donepezil-takrin hibrit molekülü tasarlamışlardır. Bileşikler AChE tarafından indüklenen BuChE, AChE ve beta-amiloid agregasyonunu inhibe etme kabiliyeti açısından test edilmiştir. Bileşikler, donepezilin 5,6-dimetoksi-2-[(4-piperidinil)metil]-1-idanon kısmı ile 6-klorotakrin grubunun birleşiminden oluşmaktadır. Tüm bu yeni melezlerin oldukça güçlü AChE inhibitörleri olduğu kanıtlanmıştır. Yeni bileşiklerin hepsi de beta amiloid agregasyonunun belirgin inhibisyonunu göstermiş ve ana bileşiklerden daha güçlü olduğu gösterilmiştir [262].

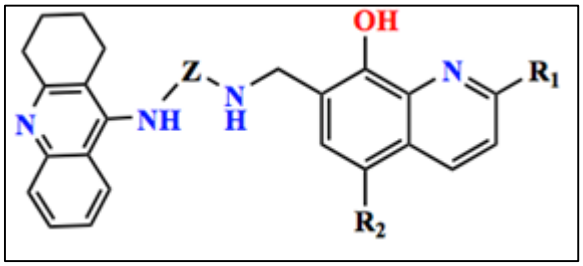


Şekil 2.53. Donazepil-Takrin hibritinin yapısı

Multipotent yaklaşım, takrin-melatonin hibridlerini, AChE ve MAO inhibitörlerini veya serotonin taşıyıcılarını, antioksidan ve nöroprotektif özelliklere sahip güçlü kolinesteraz inhibitörlerini, kolinesterazlara ve M_2 muskarinik reseptörlere bağlanan galantamin-takrin hibritlerini, NO-donörlerini, hepatoprotektif ilaçlar olarak AH'na ya da floresan takrine odaklanan takrin hibritlerini, kumarin hibritlerini içerir [309-310].

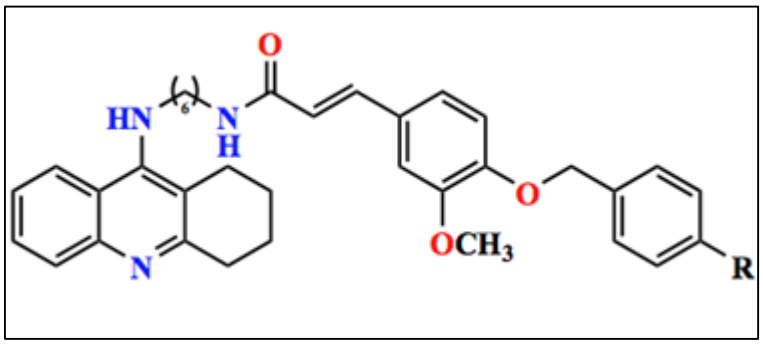
Hem takrin hem de PBT2'nin (bir 8-hidroksikinolin türevi), ChE inhibisyonu yaptığı ve beta-amiloid konsantrasyonlarını azalttığı bilinmektedir. Bu bileşiklerden yola çıkarak

Fernandez-Bachiller ve arkadaşları AH tedavisi için olası terapötik ilaçlar olarak yeni takrin-8-hidroksikinolin hibritleri tasarlamış ve sentezini gerçekleştirerek aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Elde ettikleri bu Hibritlerin AChE ve BuChE'ye karşı takrinden daha etkili olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca bileşiklerin düşük hücre seviyesinde toksisite gösterdikleri ve in vitro kan beyin bariyeri modelinde gerçekleştirilen deneylerde santral sinir sistemine nüfuz edebildikleri bildirilmiştir. İlaç ayrıca antioksidan ve bakır kompleksleştirici özellikler göstermiştir. Bütün bu özelliklere sahip hibrit bileşiklerin, in vivo olarak da olası bir terapötik ilaç olabileceği düşünülmüştür [311].



Şekil 2.54. Takrin-8-hidroksikinolin hibritleri

Takrin-sinnamik asit hibritleride, nanomolar aralıkta IC_{50}'ler ile AChE ve BuChE'nin inhibisyonunu göstermektedir. SAR çalışmaları, molekülde optimum aktivite için bağlayıcı olarak 6-karbonlu bir alkil zincirinin bulunması gerektiğini göstermişitir. Bu bileşikler üzerinde yapılan çalışmalar bu bağlayıcının uzantısı veya benzil grubu gibi bir hacimli grubun eklenmesi, ChE inhibisyonunda bir azalmaya neden olduğunu göstermiştir. Sentezlenen bileşiklerin bazılarının kendiliğinden indüklenen Aβ1-42 agregasyonunu da inhibe ettiği bulunmuştur. İn vivo değerlendirme Morris Water Labe testinde skopolamine bağlı kognitif bozukluğun azaldığını göstermiş ve hepatotoksisite değerlendirmesinde de güvenli oldukları gösterilmiştir [312].

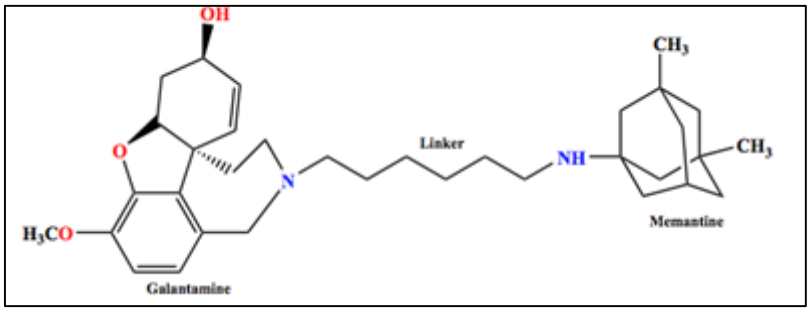


Şekil 2.55. Takrin-sinnamik asit hibritlerinin yapısı

Biyokimyasal kanıtlar, glutamaterjik nöronların aktivitesinin AH 'da da işlevsiz olduğunu ve AH patolojisinde kolinerjik sistem ile bunların ortak işlev bozukluğunun önemli olduğunu göstermektedir [313]. Bu nedenle, kolinerjik ve glutamaterjik sistemleri eş zamanlı olarak hedefleyen ilaç kombinasyonları, Alzheimer hastaları için mevcut bakım standardı olarak önerilmektedir. NMDA reseptörü, bellek ve öğrenmede çok önemli bir rol oynar. Reseptör eşzamanlı olarak bağlanması gereken iki agonist, glisin ve (*S*) -glutamat ile aktive edilir. Klinik olarak, fazla miktarda glutamat ile NMDA reseptörünün aşırı aktivasyonunun, eksitotoksisite ile sonuçlanan nöronun içinde kontrolsüz bir Ca^{2+} iyonları kontrolüne yol açtığı gösterilmiştir. Galantamin, AChE üzerinde iyi bilinen inhibitör aktivitesine ek olarak, nikotinik ACh reseptörlerinin aktivasyonu yoluyla glutamat toksisitesine karşı nöroprotektif etki gösterir [166]. Sigara içenlerin, bu nöroprotektif etkiyi veren nikotinik asetilkolin reseptörünün (nAChR) uyarılması nedeniyle Parkinson hastalığına karşı daha az duyarlı oldukları iyi bilinmektedir [314]. Böylece galantamin ve memantin, aynı eksitotoksik kademeli dizi (cascade) üzerinde birlikte çalışarak sinerjik bir nöroprotektif etki sağlar [315]. Lopes ve arkadaşları bu hipotez ile, primer kortikal nöronlarda NMDA aracılı nörotoksisiteye karşı galantamin nöroprotektif etkisinin esas olarak nikotinik reseptörleri içerdiğini kanıtlamışlardır. Dahası, yaptıkları çalışmada, subaktif galantamin ve memantin konsantrasyonlarının kombine nöroproteksiyona yol açabileceği bildirilmiştir. Bu çalışma, maksimum verimlilikle bir MTDL geliştirmede yeni bir tasarım stratejisi sunmaktadır [316]. Bu stratejiyi izleyerek, piyasada kullanılmakta olan bu iki ilacın, galantamin (AChE inhibitörü) ve memantinin (NMDA reseptör antagonisti) farmakolojik aktivitelerini birleştiren yeni bir hibrit bileşik serisi tasarlanmıştır.

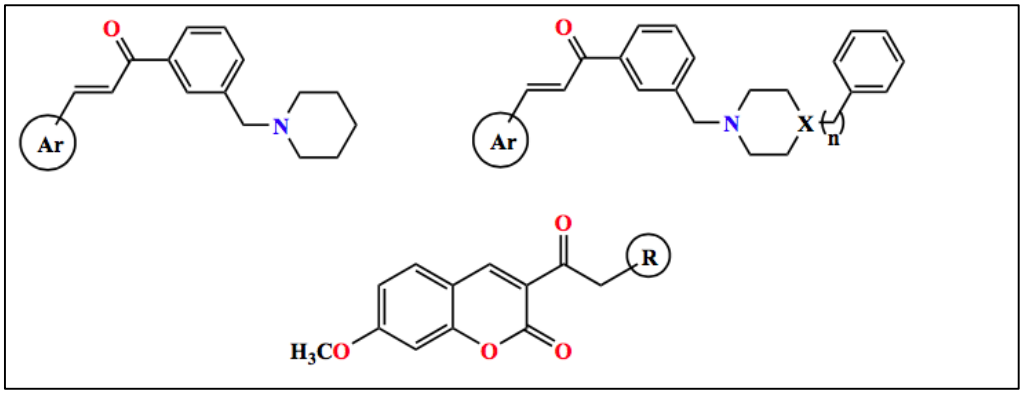
Yeni hibrid bileşikleri, iki ilaç molekülünü değişken uzunlukta bir polimetilen bağlayıcıdan bağlayarak, çift bağlanma yaklaşımından sonra tasarlanmıştır.

Bir heksametilen aralayıcı taşıyan bileşikler, serinin en ümit verici özelliklerine sahiptir. Moleküler modelleme çalışmaları ile uyumlu olarakda, AChE'de hem PAS hem de CAS ile aynı anda temasa izin vermek için optimal mesafeyi sağlanarak bileşikler tasarlanmıştır.



Şekil 2.56. Galantamin-Memantin dual bağlanma hibritinin yapısı

Daha önce bildirilen bir araştırmada, antikolinesteraz aktivitede ve bazı durumlarda da Aβ anti-agregasyon özellik için kalkon ve kumarin fragmanlarının elzem olduğunu göstermiştir [317]. Bu çalışmada kalkon veya kumarin parçası ile yeni bir dizi çok fonksiyonlu bileşikler geliştirilmiştir. Bu amaçla kalkon ve kumarin parçaları, çift etkili bileşikler elde etmek için farklı amin parçaları ile birleştirilmiştir. Test edilen tüm bileşikler, kolinesterazlara karşı, referans bileşik olan galantamin ile karşılaştırılabilir veya daha zayıf aktiviteye sahip bulunmuştur. En güçlü AChE inhibitörü bileşiğin IC_{50} değeri 1,76 M bulunmuştur. Kalkon türevleri, 8,27 M'lik IC_{50} değerine ile BuChE'a karşı kumarininlerin inhibitör aktivitesinden daha yüksek aktivite göstermişlerdir. Tüm bileşikler tioflavin T floresan deneyinde Aβ fibril oluşumunu inhibe etme yetenekleri açısından test edilmiş hem kalkon hem de kumarin türevlerinin, kendiliğinden indüklenen Aβ agregasyonunun orta düzeyde inhibitörleri olduğu bulunmuştur (100 M'de %30-70).

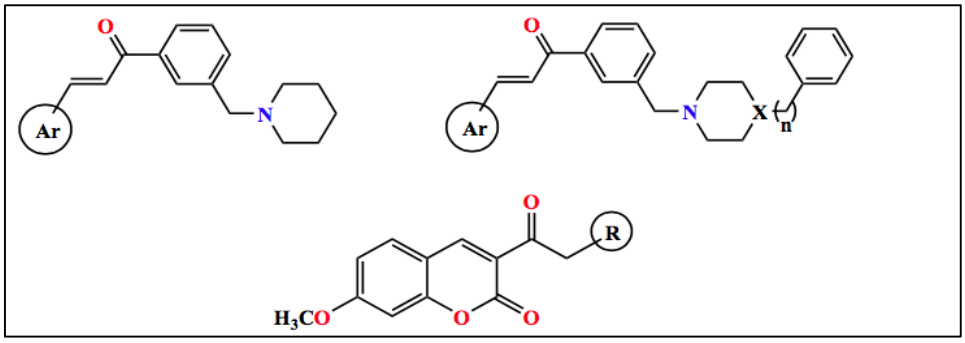


Şekil 2.57. Kalkon kumarin hibritlerinin yapısı

Doğal antioksidanlar, hücrelerin oksidatif hasara karşı korunması yoluyla Alzheimer hastalığının ve hücre yaşlanma süreçlerinin önlenmesine yardımcı olur. Bu nedenle, bazı antioksidanlar AH'nı önlemede ve bilişsel işlevi sürdürmede yararlı olabilir [317-318]. Oksidatif stres, serbest radikaller, biyo-metal toksisitesi ve anormal reaksiyonlar AH patolojisine katkıda bulunur. Bitkilerde bulunan en büyük bileşiklerden biri olan Flavonoidler, çok çeşitli biyolojik aktiviteye sahiptir [319]. Kuvvetli antioksidan aktivitesi olan polifenolik bileşiklerdir ve bu

durum AH tedavisinde bu bileşiklere avantaj sağlar. Oksidatif stres, biyolojik sistemin reaktif oksijen türlerini (ROS) üretme ve detoksifiye etme becerisindeki dengesizliğin bir sonucudur. Vücuttaki ROS düzeylerinin artması daha yüksek bir üretim oranından veya antioksidan enzim aktivitesinde bir azalmadan kaynaklanabilir [319]. AH hastalarında antioksidan enzim aktivitesinde bir azalma tespit edilmiştir [320, 321]. Senil plakların oluşumuna ek olarak, AH beyinlerinde gözlenen yoğun oksidatif stres vardır [322, 323]. Oksidatif stres, AH'nın patojenezinde, hayati hücresel bileşenlerin, yani proteinlerin, lipitlerin ve nükleik asitlerin hasarından dolayı önemli bir role sahiptir [324]. Protein karbonillerin ve 3-nitrotirozin düzeylerini (DNA ve RNA'ya oksidatif hasar belirteçleri) Alzheimer hastalarının beyinlerinde yükseldiği bulunmuştur [325]. Lipid peroksidasyon ürünleri, hafif bilişsel bozukluğu veya AH olan hastaların beyinlerinin birçok bölgesinde daha yüksektir [326, 327]. Serbest radikal hasarının oluşmasına ek olarak, süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerinde azalma, AH'nın ilerlemesiyle de ilişkilidir ve aynı zamanda oksidatif stresin sinaptik kayıpla ilişkili olduğunu gösterir [328]. AH'nın oksidatif stres hipotezi, nöronların hasarı nedeniyle hastalığın başlangıcında ve ilerlemesinde ROS'un önemli bir rol oynadığını düşündürmekte ve antioksidan aktivitesinin, redoks-aktif geçiş metallerini şelatlayarak, indirgenmiş glutatyon düzeylerini artırarak ve inflamatuar süreçleri aşağı regüle ederek (down-regulating inflammatory processes) serbest radikalleri süpürme yeteneğine bağlanmaktadır.

Ayrıca, bu reaktif oksijen türleri kolayca emilmekte ve dağıtılmakta ve beyin dahil çeşitli dokularda dihidrolipoik asite dönüştürülmektedir. Dihidrolipoik asit de ayrıca güçlü bir antioksidandır. Lipoik asidin disülfit siklik kısmı, AChE'ın periferal aktif bölgesine bağlanma ve AChE'ın uyardığı Aβ agregasyonunu inhibe etme potansiyeline sahiptir. Bu özelliklere dayanarak yapılan bir çalışmada lipoik asit, MTDL için yeni bir bileşik olarak lipokrin molekülünü vermek üzere takrin ile birleştirilmiştir [328].



Şekil 2.58. Lipokrinin yapısı

Lipokrin, AChE'ye karşı gösterilen nanomolar afinitesi olan çok güçlü bir inhibitördür. Kinetik çalışmalar da lipokrinin AChE'nin periferal alanı ile etkileşimini doğrulamaktadır. Bileşik AChE ile uyarılan Aβ agregasyonunu inhibe etmede ve ROS formasyonuna karşı hücreleri korumada, tek başına lipoik aside kıyasla oldukça yüksek bulunmuştur. Yine başka bir çalışmada lipoik asidin, rivastigmin ve memoquin ile birleştirilmesiyle bir dizi lipoik asit bileşiği hazırlanmış ve sentezlenen bileşiklerin antioksidan, antikolinesteraz ve anti-agregasyon aktiviteleri değerlendirilerek karşılaştırılmıştır [328]. Lipoik asit ve memoquinin hibriti olan bileşiklerden biri güçlü AChE ve orta derecede BuChE inhibisyonu ile doza bağımlı antioksidan aktivite göstererek en aktif bileşik olarak seçilmiştir. Bununla birlikte, bileşiğin AChE ile indüklenen Aβ anti-agregasyon aktivitesi zayıf bulunmuştur.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kimyasal Çalışmalar

3.1.1. Kimyasal bileşikler

Bu tezin kapsamında kullanılan bütün solvanlar teknik ve analitik niteliktedir. Bileşiklerin sentezinde glioksalik asit monohidrat (Merck), 4-metilasetofenon (Aldrich), 4-metoksiasetofenon (Aldrich), 4-kloroasetofenon (Aldrich), hidrazin hidrat (Merck), etil 3-bromopropiyonat (Merck), benzensülfonilklorür (Aldrich), p-klorobenzensülfonilklorür (Aldrich), p-florobenzensülfonilklorür (Aldrich), p-trifloromet ilbenzensülfonilklorür (Aldrich) reajanlar olarak kullanılmışlardır.

Tez bileşiklerinin başlangıç maddesi olan, 6-sübstitefenil-3(2*H*)-piridazinon türevleri literatür yöntemine göre tarafımızdan hazırlanmıştır [22]. İlk basamaktan sonra elde edilen başlangıç maddeleri olan Etil 6-sübstitüefenil-3(2*H*)-piridazinon-2-il propiyonat ve 6-sübstitüefenil3(2*H*)-piridazinon-2-il propiyonhidrazit literatür yöntemlerinden uyarlanarak ilk defa tarafımızdan sentezlenmiştir [23].

3.1.2. Sentez yöntemleri

<u>Başlangıç maddelerinin sentezleri</u>

6-Sübstite fenil-3(2H)-piridazinon (1a-c)

4,6 gram (0,05 mol) glioksalik asit monohidrat ve 0,1 mol sübstitüe-asetofenon türevi 120 °C'de 4 saat geri çeviren soğutucu altında ısıtıldı. Oda sıcaklığına gelmesi beklendikten sonra üzerine 5 ml amonyum hidroksit (NH_4OH) ve 25 ml su ilave edildi. Daha sonra 4 defa 25 ml diklorometan ile ekstraksiyon yapılır. Sulu-amonyaklı faz ayrılarak üzerine 0,05 mol (2,43 ml) hidrazin hidrat ilave edildi ve reaksiyon ortamı 3 saat geri çeviren soğutucu altında ısıtıldı. Çöken kristaller süzüldü ve etanolden rekristalize edildi. İnce tabaka kromotografisi ile saflık ve temizlik kontrolü yapıldı.

Etil 6-[4-(sübstitüe fenil)]-3(2H)-piridazinon-2-il propiyonat (2a-c)

6-Sübstitefenil-3(2*H*)-piridazinon türevi (0,05 mol), 18,1 gram (0,01 mol) etil 3-bromopropiyonat ve 13,6 gram (0,1 mol) potasyum karbonat 50 ml aseton içinde geri çeviren soğutucu altında 12 saat kaynatıldı. Soğutulduktan ve 1 gece bekletildikten sonra buzlu su içine boşaltıldı. Çöken madde süzüldü kurutuldu ve etanolden rekristalize edildi. İnce tabaka kromotografisi ile saflık ve temizlik kontrolü yapıldı.

6-[4-(Sübstitüe fenil)]-3(2H)-piridazinon-2-il propiyonhidrazit (3a-c)

0,01 mol etil 6-[4-(sübstitüefenil)] -3(2*H*)-piridazinon-2-il propiyonat 25 ml metanolde çözülür ve üzerine 3 ml hidrazin hidrat eklendi. Reaksiyon ortamı 4 saat oda sıcaklığında karıştırıldı. Oluşan çökelek süzülür, suyla yıkanır, kurutulur ve metanolden kristallendirilerek saflaştırıldı. İnce tabaka kromotografisi ile saflık ve temizlik kontrolü yapıldı.

Hedef bileşiklerin sentezi

N'-[(Sübstitüe fenil)sülfonil]-2-(6-sübstitüe-3(2H)-piridazinon-2-il)propiyohidrazit (4a-o)

0,01 mol 6-[4-(sübstitüefenil)] -3(2*H*)-piridazinon-2-il propiyonhidrazittürevi ve 0,01 benzen sülfonil klorür türevi mol 25 ml etanol içerisinde, geri çeviren soğutucu altında, 6 saat ısıtılarak karıştırılır. Reaksiyon ortamı buzlu suya dökülür; çöken madde süzülür, kurutulur. Bileşikler monograflarda belirtilen uygun yöntemlerle saflaştırılır.

3.1.3. Analitik yöntemler

Erime derecesi tayinleri

Bileşiklerin erime derecesi tayinleri Barnstead/Electrothermal (9100) erime derecesi tayin cihazı ile yapılmıştır. Verilen erime dereceleri düzeltilmemiş değerlerdir.

İnce tabaka kromatografisi ile yapılan kontroller

Materyal

Kieselgel 60 F_{254} (Merck) hazır plaklar kullanılmıştır. Çözücü sistemleri ve belirteçlerin hazırlanmasında kullanılan kimyasal maddeler Merck firmasının ürünleridir.

Bileşiklerin kromatografik kontrollerinde Kloroform-Metanol (90:10) çözücü sistemi kullanılmıştır.

Yöntem

Sürüklenme şartları: Kromatografi tanklarına çözücü sistemleri konulduktan sonra 24 saat oda sıcaklığında bekletilerek tankların doygunlukları sağlanmıştır. Kieselgel 60 F_{254} (Merck) hazır alüminyum plaklara sentez ürünleri ile bunların hazırlanmasında kullanılan başlangıç maddelerinin uygun çözücülerdeki çözeltileri tatbik edilmiş, R_f değerleri oda sıcaklığında 10 cm'lik sürüklenme sağlandıktan sonra tayin edilmiştir.

Lekelerin belirlenmesi: Kromatogramlarda sentez ürünlerine ve başlangıç maddelerine ait lekelerin belirlenmesinde UV ışığı (254 ve 365 nm), iyot buharı ve Dragendorff belirtecinden yararlanılmıştır:

Spektrometrik kontroller

IR spektrumları

Bileşiklerin IR spektrumları, ATR tekniği kullanılarak, Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Perkin Elmer Spectrum One FTIR Spektrometre'sinde alınmış ve dalga sayısı (cm^{-1}) cinsinden değerlendirilmiştir.

^{1}H-NMR spektrumları

Bileşiklerin ^{1}H-NMR spektrumları, kloroform (Merck)'deki yaklaşık %10'luk çözeltilerinden, Bilkent Üniversitesi Ulusal Nanoteknoloji Araştırma Merkez

Laboratuvarı'nda, Bruker 400 MHz Ultrashield^{TM} NMR Spektrometre'sinde alınmış; δ skalasında değerlendirilmiştir.

3.2. Antikolinesteraz Aktivite Tayini (AChE-BChE Enzim İnhibisyonu)

3.2.1. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanması

- 1 M Tris/HCl - 5 mM EDTA (pH:8,0) (tampon) çözeltisi: 30,27 g tris ve 0,370 g EDTA alınarak 200 ml destile suda çözülür. HCl çözeltisi ile pH 8'e ayarlanır. Daha sonra toplam hacim destile su ile 250 ml'ye tamamlanır.
- %1'lik sodyum sitrat - 0,5 mM DTNB çözeltisi: 0,5 g sodyum sitrat ve 0,01 g DTNB alınarak bir miktar destile suda çözülür. Daha sonra toplam hacim destile su ile 50 ml'ye tamamlanır.

10 mM asetil tiyokolin iyodat çözeltisi: 0,145 g asetil tiyokolin iyodat bir miktar destile suda çözülür. Daha sonra toplam hacim destile su ile 50 ml'ye tamamlanır.

3.2.2. AChE enzimi aktivite ölçüm metodu

Kolinesteraz aktivite tayini, güçlü antikolinesteraz aktivitesi taşıyan insektisitlerle oluşan akut ve kronik zehirlenme olaylarında tedaviye yön verilmesi bakımından klinik yönden önemlidir. Serum ve eritrosit kolinesteraz aktivite değerleri çeşitli patolojik durumlarda anlamlı bir klinik veri olarak kabul edilmektedir. Asetilkolinesteraz asetilkolinin tiyokoline hidrolizini katalizler. Tiyokolinin oluşum oranı, 5-tiyo-2-nitrobenzoik asitin oluşumundan kaynaklanan bir sarı rengi üreten 5,5'- ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) (DTNB) ile tiyokolinin reaksiyonunun takibi ile sarı renkli anyonun oluşum oranı 412 nm'de ölçüldü [329].

Çizelge 3.1. AChE enziminin aktivite ölçüm küvet içeriği

Stok Aktivite Çözeltileri	Kontrol Küveti (µl)	Numune Küveti (µl)
Tris-HCl	100	100
DTNB	50	50
Destile Su	790	Değişken
Enzim	10	10
İnhibitör	0	Değişken
Karışım 37^{o}C 'de 10 dakika inkübe edilir		
Asetiltiyokolin iyodat	50	50

$$EU/ml = \frac{\Delta OD}{\varepsilon} \times \frac{V_T}{V_E} \times f$$

EU/ml : 1 ml'deki enzim ünitesi

ΔOD : Bir dakikadaki absorbans değişimi

ε : DTNB'nin molar ekstinksiyon katsayısı ($13{,}6\ M^{-1}cm^{-1}$) (Porcelli *et al.* 1999)

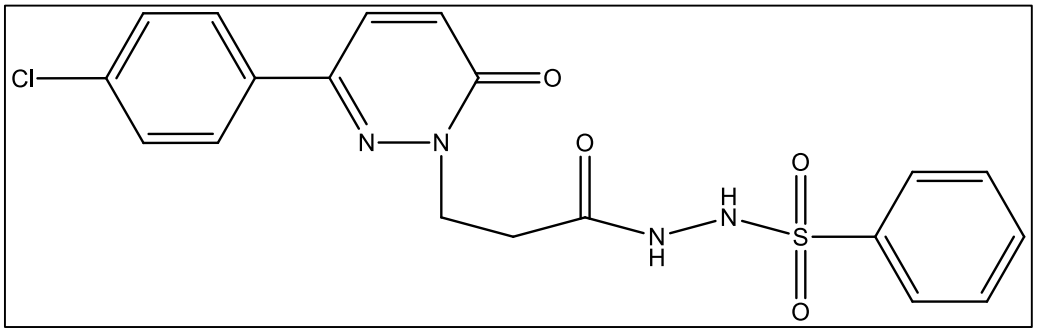
V_T : Toplam küvet hacmi (ml)

V_E : Enzim numunesinin hacmi (ml)

f : Seyreltme katsayısı

4. BULGULAR

4.1. Kimyasal Çalışmalar



Şekil 4.1. N'-[Fenilsülfonil]-3-(6-(4-klorofenil)-3(2H)-piridazinon-2-il)propiyon hidrazit (4a)

2,93 gram (0,01 Mol) 6-[(4-klorofenil)]-3(2*H*)-piridazinon-2-il propiyonhidrazit ve 1,76 gram (0,01 mol) benzensülfonil klorürden hareketle sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim: %82

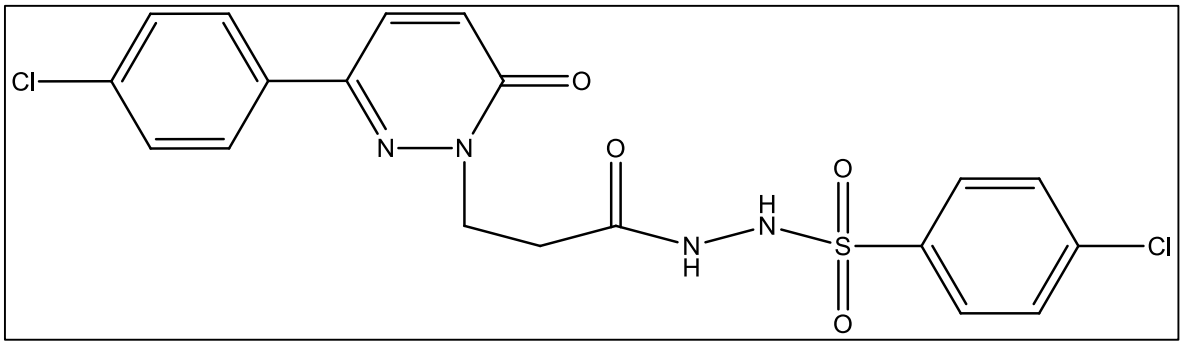
Beyaz renkte, toz bir maddedir. Erime derecesi: 211-214 ºC Eter, petrol eteri, etil asetat, su ve tetrahidrofuranda çözünmez; aseton, kloroform ve metanolde ve etanolde sıcakta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0,65'dir.UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3221 (N-H gerilim), 3040 (aromatik C-H gerilim), 2920, 2848 (alifatik C-H gerilim), 1675 (C=O halka), 1654 (C=O zincir), 1585-1510 (C=N gerilim) 1170 (C-O gerilim) ve 830 cm^{-1}'de (C-Cl gerilim) pikleri görülür.

^{1}H-NMR spektrumunda (DMSO-d_6, 400 MHz), δ 2.62.2.70 (2H, t, N-$\underline{CH_2}$-CH_2-), 4,25 -4,33 (2H, t, N-CH_2-$\underline{CH_2}$-) 6,98-7.05 (1H, d, piridazinon H^5), 7,10-7,85 (9H; m; aromatik protonlar), 8.10-8.21 (1H; d; piridazinon H^4), 9,96 (1H, s, HN=CO), 10,43 (1H, s, NH- SO_2) ppm'de pikler görülür.

MS (ESI+) calculated: 433.0737, Found: *m/e* 433.0736 (M+H; % 100.0).



Şekil 4.2. N'-[(4-Klorofenil) sülfonil]-3-(6-(4-klorofenil) -3(2H)-piridazinon-2-il)propiyon hidrazit (4b)

2,93 g (0,01 Mol) 6-[(4-klorofenil)]-3(2*H*)-piridazinon-2-il propiyonhidrazit ve 2,11 gram (0,01 mol) 4-klorobenzensülfonil klorürden hareketle sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim: %85

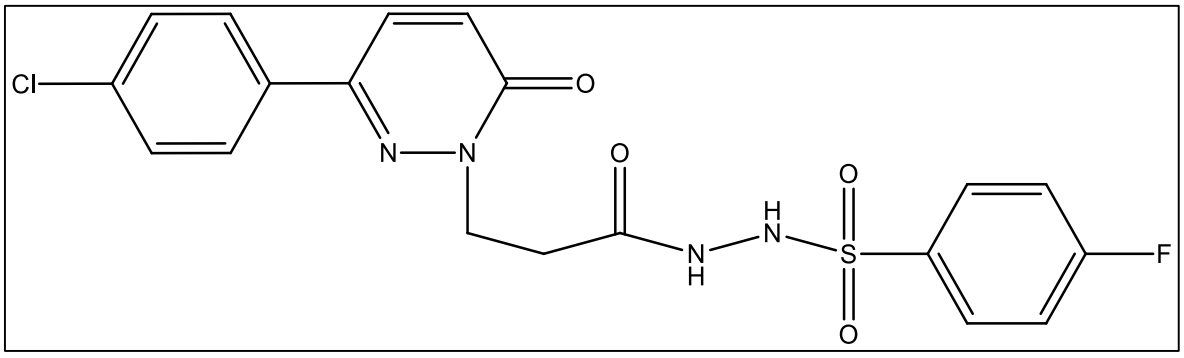
Beyaz renkte, toz bir maddedir. Erime derecesi:187-188 **º**C. Eter, petrol eteri, etil asetat, su ve tetrahidrofuranda çözünmez; aseton, kloroform ve metanolde ve etanolde sıcakta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0,61'dir.UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3207 (N-H gerilim), 3033 (aromatik C-H gerilim), 2924, 2853 (alifatik C-H gerilim), 1673 (C=O gerilim halka), 1660 (C=O gerilim zincir), 1584-1560 (C=N gerilim) 1238 (C-N gerilim) ve 827 cm^{-1}'de (C-Cl gerilim) pikleri görülür.

^{1}H-NMR spektrumunda (DMSO-d_6, 400 MHz), δ 2.55-2.63 (2H, t, N-$\underline{CH_2}$-CH_2-), 4,21-4,81 (2H, t, N-CH_2-$\underline{CH_2}$-) 7.05-7.15 (1H; d; piridazinon H^5), 7.42-7.95 (8H; m; aromatik protonlar), 8.10-8.22 (1H; d; piridazinon H^4), 9,98 (1H, s, HN=CO), 10,45 (1H, s, NH-SO_2) ppm'de pikler görülür.

MS (ESI+) calculated:467.0348, Found: *m/e* 467.0350(M+H; % 100.0).



Şekil 4.3. N'-[(4-Florofenil) sülfonil]-3-(6-(4-klorofenil)-3(2H)-piridazinon-2-il) propiyon hidrazit (4c)

2,93 gram (0,01 Mol) 6-[(4-klorofenil)]-3(2*H*)-piridazinon-2-il propiyonhidrazit ve 1,91 gram (0,01 mol) 4-florobenzensülfonil klorürden hareketle sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim: %78

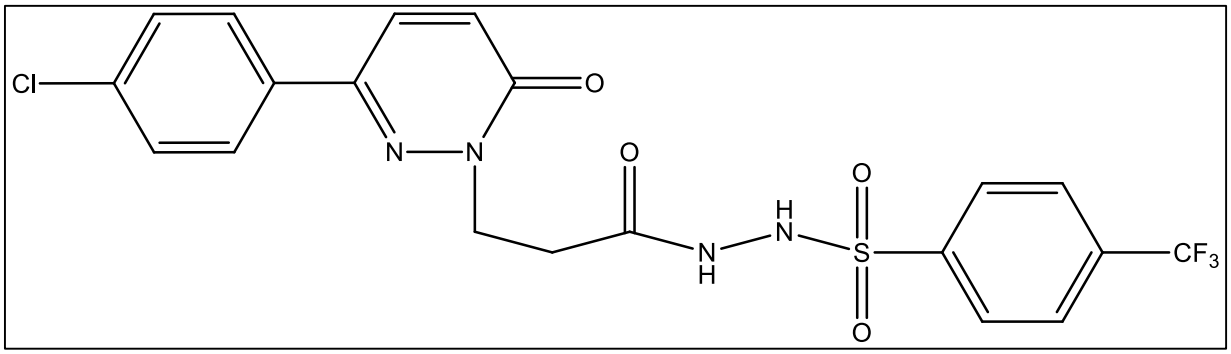
Beyaz renkte, toz bir maddedir. Erime derecesi:210-212 **º**C. Eter, petrol eteri, etil asetat, su ve tetrahidrofuranda çözünmez; aseton, kloroform ve metanolde ve etanolde sıcakta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0,70'dir.UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3214 (N-H gerilim), 3041 (aromatik C-H gerilim), 2923, 2845 (alifatik C-H gerilim), 1670 (C=O gerilim halka), 1651 (C=O gerilim zincir), 1591-1510 (C=N gerilim) 1238 (C-N gerilim) ve 830 cm^{-1}'de (C-Cl gerilim) pikler görülür.

^{1}H-NMR spektrumunda (DMSO-d_6, 400 MHz), δ 2.68-2.79 (2H, t, N-$\underline{CH_2}$-CH_2-), 4,21-4,32 (2H, t, N-CH_2-$\underline{CH_2}$-) 6,99-7.10 (1H; d; piridazinon H^5), 7,18-7,90 (8H; m; aromatik protonlar), 8.03-8.12 (1H; d; piridazinon H^4), 9,86 (1H, s, HN=CO), 10,48 (1H, s, NH SO_2) ppm'de pikler görülür.

MS (ESI+) calculated: 451.0643 Found: *m/e* 451.0641 (M+H; % 100.0).



Şekil 4.4. N'-[(4-Triflorometil) fenilsülfonil]-3-(6-(4-klorofenil)-3(2H)-piridazinon-2-il) propiyonhidrazit (4d)

2,93 gram (0,01 Mol) 6-[(4-klorofenil)]-3(2*H*)-piridazinon-2-il propiyonhidrazit ve 2,44 gram (0,01 mol) 4-triflorometilbenzensülfonil klorürden hareketle sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim: %75.

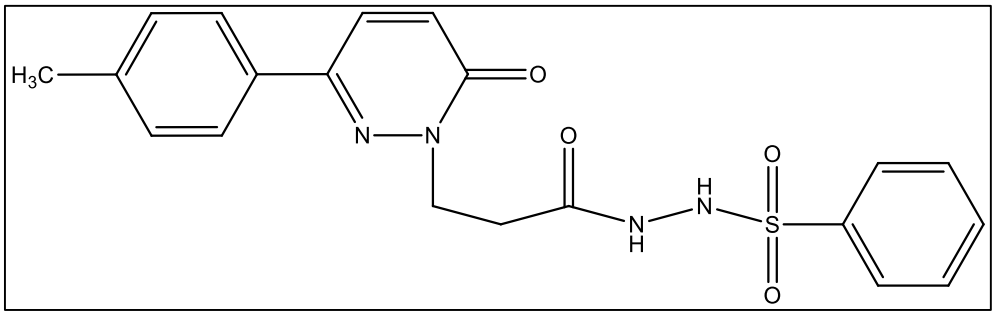
Beyaz renkte, toz bir maddedir. Erime derecesi:213-215 ºC. Eter, petrol eteri, etil asetat, su ve tetrahidrofuranda çözünmez; aseton, kloroform ve metanolde ve etanolde sıcakta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0,68'dir.UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3210 (N-H gerilim), 3035 (aromatik C-H gerilim), 2921, 2854 (alifatik C-H gerilim), 1675 (C=O gerilim halka), 1656 (C=O gerilim zincir), 1598-1515 (C=N gerilim), 1170 (C-O gerilim) ve 845 cm^{-1}'de (C-Cl gerilim) pikleri görülür.

^{1}H-NMR spektrumunda (DMSO-d_6, 400 MHz), δ 2.65-2.74 (2H, t, N-$\underline{CH_2}$-CH_2-), 4,27-4,38 (2H, t, N-CH_2-$\underline{CH_2}$-) 6.90-7.01 (1H; d; piridazinon H^5), 7.40-8.15 (8H; m; aromatik protonlar), 8.15-8.23 (1H; d; piridazinon H^4), 9,88 (1H, s, HN=CO), 10,47 (1H, s, NH SO_2) ppm'de pikleri görülür.

MS (ESI+) calculated: 501.0611 Found:*m/e*501.0608 (M+H; % 100.0).



Şekil 4.5. N'-[(Fenil)sülfonil]-3-(6-(4-metil)fenil-3(2H)-piridazinon-2-il)propiyonhidrazit (4e)

2,72 gram (0,01 Mol) 6-[(4-metilfenil)]-3(2*H*)-piridazinon-2-il propiyonhidrazit ve 1,76 gram (0,01 mol) benzensülfonil klorürden hareketle sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim: %77

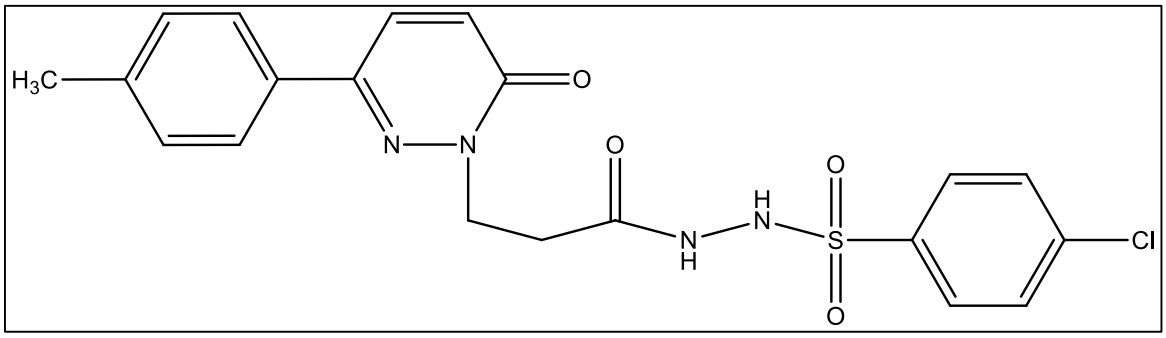
Beyaz renkte, toz bir maddedir. Erime derecesi: 231-232 ºC. Eter, petrol eteri, etil asetat, su ve tetrahidrofuranda çözünmez; aseton, kloroform ve metanolde ve etanolde sıcakta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0,69'dir. UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3220 (N-H gerilim), 3020 (aromatik C-H gerilim), 2924, 2855 (alifatik C-H gerilim), 1679 (C=O gerilim halka), 1655 (C=O gerilim zincir), 1589-1513 (C=N gerilim), 1172 (C-O gerilim) pikleri görülür.

^{1}H-NMR spektrumunda (DMSO-d_6, 400 MHz), δ 2,30 (3H, s, -CH_3), 2.55-2.60 (2H, t, N-$\underline{CH_2}$-CH_2-), 4,10-4,15 (2H, t, N-CH_2-$\underline{CH_2}$-), 6.89-7.01 (1H; d; piridazinon H^5), 7.20-7.82 (9H; m; aromatik protonlar), 8.01-8.15 (1H; d; piridazinon H^4), 9.90 (1H, s, HN=CO), 10,30 (1H, s, NH SO_2) ppm'de pikleri görülür.

MS (ESI+) calculated: 412.46 Found:*m/e* 413,1282 (M+H; % 100.0).



Şekil 4.6. N'-[(4-Klorofenil) sülfonil]-3-(6-(4-metilfenil) -3(2H)-piridazinon-2-il) propiyonhidrazit (4f)

2,72 gram (0,01 Mol) 6-[(4-metilfenil)]-3(2*H*)-piridazinon-2-il propiyonhidrazit ve 2,11 gram (0,01 mol) 4-klorobenzensülfonil klorürden hareketle sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim: %72.

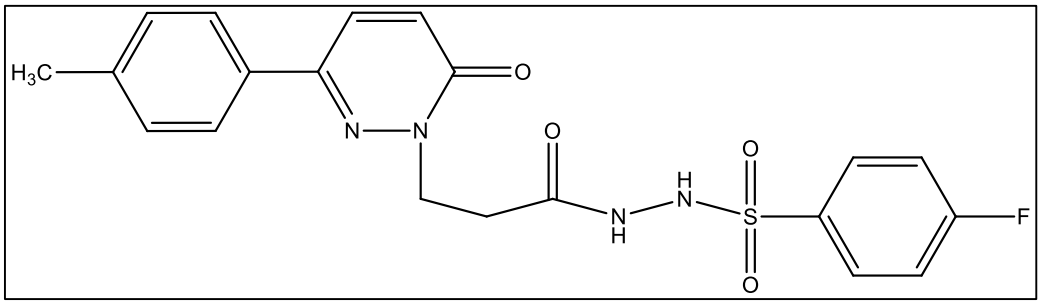
Beyaz renkte, toz bir maddedir. Erime derecesi: 218-219 ºC. Eter, petrol eteri, etil asetat, su ve tetrahidrofuranda çözünmez; aseton, kloroform ve metanolde ve etanolde sıcakta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0,59'dir.UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3228 (N-H gerilim), 3030 (aromatik C-H gerilim), 2924, 2853 (alifatik C-H gerilim), 1679 (C=O gerilim halka), 1659 (C=O gerilim zincir), 1584-1555 (C=N gerilim), 1178 (C-0 gerilim) ve 821 cm^{-1}'de (C-Cl gerilim) pikleri görülür.

^{1}H-NMR spektrumunda (DMSO-d_6, 400 MHz), δ 2,43 (3H, s, -CH_3), 2.72-2.80 (2H, t, N-$\underline{CH_2}$-CH_2-), 4.30-4.38 (2H, t, N-CH_2-$\underline{CH_2}$-), 6,88-7.11 (1H; d; piridazinon H^5), 7,20-7,87 (8H; m; aromatik protonlar), 7.99-8.15 (1H; d; piridazinon H^4), 9,94 (1H, s, HN=CO), 10,47 (1H, s, NH SO_2) ppm'de pikleri görülür.

MS(ESI+) calculated: 447.0894 Found:*m/e* 447.0895 (M+H; % 100.0).



Şekil 4.7. N'-[(4-Florofenil) sülfonil]-3-(6-(4-metilfenil) -3(2H)-piridazinon-2-il) asetohidrazit (4g)

2,72 g (0,01 mol) 6-[(4-metilfenil)]-3(2*H*)-piridazinon-2-il propiyonhidrazit ve 1,91 gram (0,01 mol) 4-florobenzensülfonil klorürden hareketle sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim: %76.

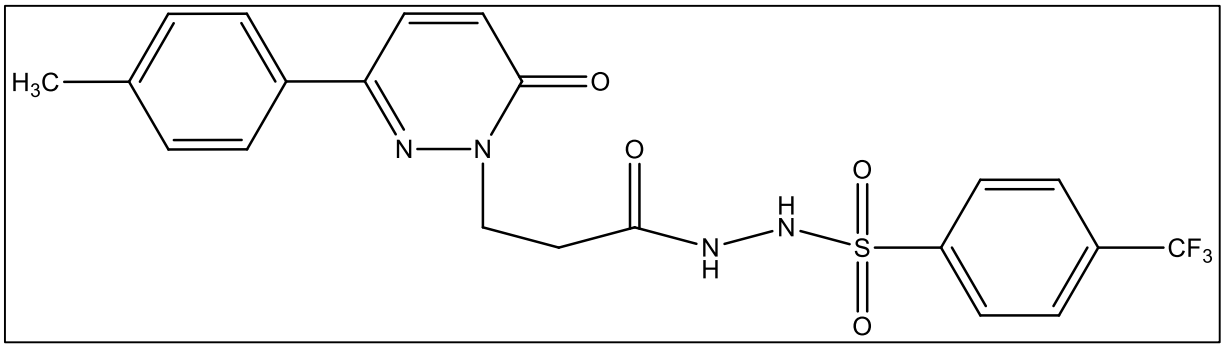
Beyaz renkte,toz bir maddedir. Erime derecesi:202-203 ºC. Eter, petrol eteri, etil asetat, su ve tetrahidrofuranda çözünmez; aseton, kloroform ve metanolde ve etanolde sıcakta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0,65'dir. UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3224 (N-H gerilim), 3024 (aromatik C-H gerilim), 2926, 2854 (alifatik C-H gerilim), 1685 (C=O gerilim halka), 1665 (C=O gerilim zincir), 1586-1517 (C=N gerilim) 1173 (C-O gerilim) pikleri görülür.

^{1}H-NMR spektrumunda (DMSO-d_6, 400 MHz), δ 2,26 (3H, s, -CH_3), 2.64-2.76 (2H, t, N-$\underline{CH_2}$-CH_2-), 4,27-4,37 (2H, t, N-CH_2-$\underline{CH_2}$-), 6,93-7.01 (1H; d; piridazinon H^5), 7,13-7,78 (8H; m; aromatik protonlar), 8.01-8.10 (1H; d; piridazinon H^4), 9,67 (1H, s, HN=CO), 10,42 (1H, s, NH SO_2) ppm'de pikleri görülür

MS (ESI+) calculated: 431.1189 Found:*m/e* 431.1184 (M+H; % 100.0).



Şekil 4.8. N'-[(4-Triflorometilfenil) sülfonil]-3-(6-(4-metilfenil) -3(2H)-piridazinon-2-il) asetohidrazit (4h)

2,72 g (0,01 Mol) 6-[(4-metilfenil)]-3(2*H*)-piridazinon-2-il propiyonhidrazit ve 2,44 g (0,01 mol) 4-triflorometilbenzensülfonil klorürden hareketle sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim: %70.

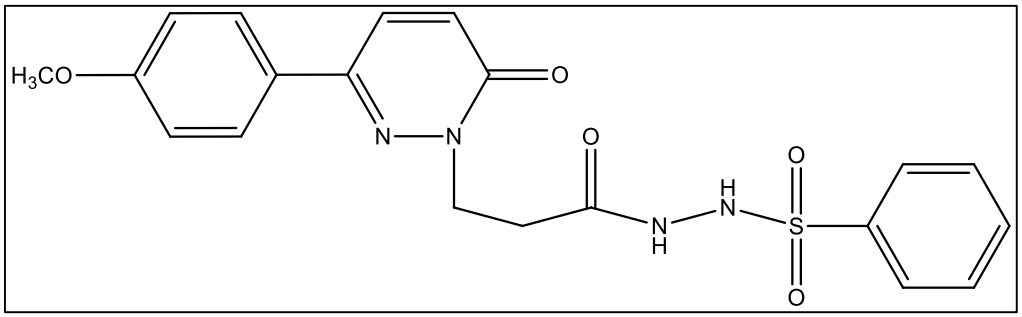
Beyaz renkte,toz bir maddedir. Erime derecesi:218-219ºC. Eter, petrol eteri, etil asetat, su ve tetrahidrofuranda çözünmez; aseton, kloroform ve metanolde ve etanolde sıcakta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0,60'dır.UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3224 (N-H gerilim), 3024 (aromatik C-H gerilim), 2924, 2853 (alifatik C-H gerilim), 1697 (C=O gerilim halka), 1655 (C=O gerilim zincir), 1586-1516 (C=N gerilim) ve 1170 (C-O gerilim) pikleri görülür.

^{1}H-NMR spektrumunda (DMSO-d_6, 400 MHz), δ 2,28 (3H, s, -CH_3), 2.64-2.73 (2H, t, N-$\underline{CH_2}$-CH_2-), 4.25-4.34 (2H, t, N-CH_2-$\underline{CH_2}$-), 6,88-6.99 (1H; d; piridazinon H^5), 7,10-7,85 (8H; m; aromatik protonlar), 7.94-8.05 (1H; d; piridazinon H^4), 9,87 (1H, s, HN=CO), 10,42 (1H, s, NH SO_2) ppm'de pikleri görülür.

MS (ESI+) calculated:481.1157 Found:*m/e* 481.1141 (M+H; % 100.0).



Şekil 4.9. N'-[(4-Fenil) sülfonil]-3-(6-(4-metoksifenil) -3(2H)-piridazinon-2-il) asetohidrazit (4k)

2,88 g (0,01 Mol) 6-[(4-metoksifenil)]-3(2*H*)-piridazinon-2-il propiyonhidrazit ve 1,76 g (0,01 mol) benzensülfonil klorürden hareketle sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim: %83.

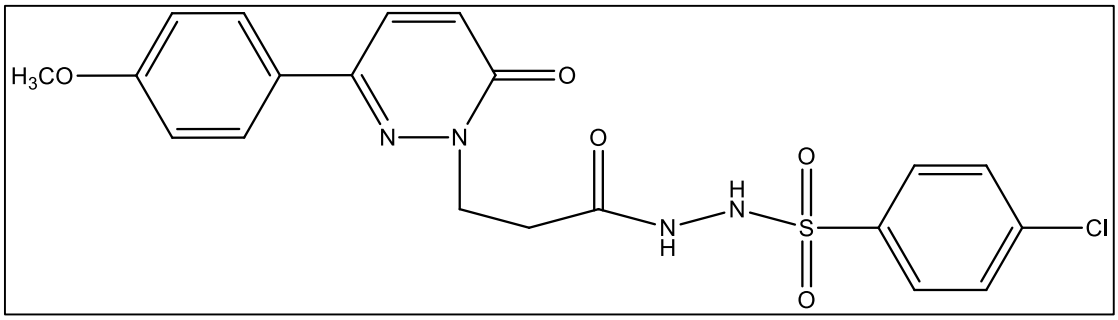
Beyaz renkte, toz bir maddedir. Erime derecesi: 243-244 **º**C. Eter, petrol eteri, etil asetat, su ve tetrahidrofuranda çözünmez; aseton, kloroform ve metanolde ve etanolde sıcakta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0,63'dir.UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3248 (N-H gerilim), 3020 (aromatik C-H gerilim), 2925, 2854 (alifatik C-H gerilim), 1680 (C=O gerilim halka), 1654 (C=O gerilim zincir) ve 1172 (C-N gerilim) pikleri görülür.

^{1}H-NMR spektrumunda (DMSO-d_6, 400 MHz), δ 2.64-2.73 (2H, t, N-$\underline{CH_2}$-CH_2-), 3,86 (3H, s, -OCH_3), 4,20-4,31 (2H, t, N-CH_2-$\underline{CH_2}$-), 6,90-7.01 (1H; d; piridazinon H^5), 7,45-7,98 (9H; m; aromatik protonlar), 8.05-8.17 (1H; d; piridazinon H^4), 9,70 (1H, s, HN=CO), 10,43 (1H, s, NH SO_2) ppm'de pikleri görülür

MS (ESI+) calculated: 429.1233 Found:*m/e* 429.1228 (M+H; % 100.0).



Şekil 4.10. N'-[(4-Klorometilfenil) sülfonil]-3-(6-(4-metoksifenil) -3(2H)-piridazinon-2-il) asetohidrazit (4m)

2,88 g (0,01 Mol) N'-[(4-klorofenil) sülfonil]-2-(6-(4-metoksifenil) -3(2*H*)-piridazinon-2-il) propiyonhidrazit ve 2,44 (0.01 mol) benzensülfonil klorürden hareketle sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim: %79.

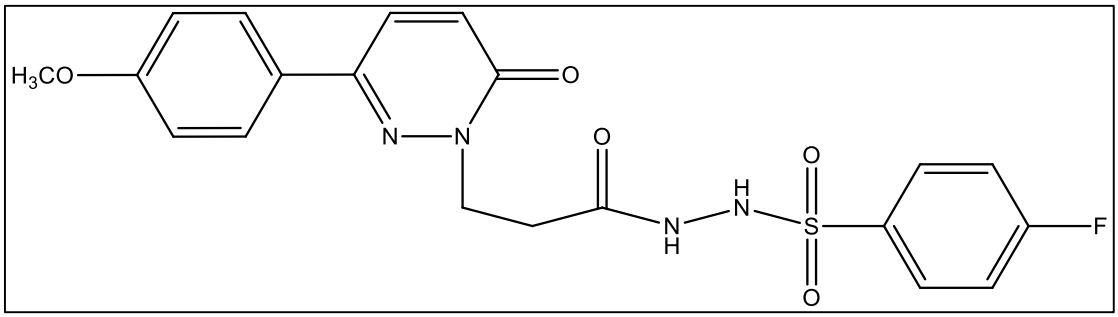
Beyaz renkte, toz bir maddedir. Erime derecesi:238-240 ºC. Eter, petrol eteri, etil asetat, su ve tetrahidrofuranda çözünmez; aseton, kloroform ve metanolde ve etanolde sıcakta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0,74'dür.UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3221 (N-H gerilim), 3040 (aromatik C-H gerilim), 2922, 2850 (alifatik C-H gerilim), 1682 (C=O gerilim halka), 1617 (C=O gerilim zincir) 1171 (C-N gerilim ve 829 cm^{-1}'de (C-Cl gerilim) pikleri görülür.

^{1}H-NMR spektrumunda (DMSO-d_6, 400 MHz), δ 2.63-2.75 (2H, t, N-$\underline{CH_2}$-CH_2-), 3,84 (3H, s, -OCH_3), 4,30-4,42 (2H, t, N-CH_2-$\underline{CH_2}$-), 6,95-7.05 (1H; d; piridazinon H^5), 7,45-7,98 (8H; m; aromatik protonlar), 8.05-8.15 (1H; d; piridazinon H^4), 9,65 (1H, s, HN=CO), 10,45 (1H, s, NH SO_2) ppm'de pikleri görülür

MS (ESI+) calculated: 463.0843 Found:*m/e* 463.0825 (M+H; % 100.0).



Şekil 4.11. N'-[(4-Florometilfenil) sülfonil]-2-(6-(4-metoksifenil) -3(2H)-piridazinon-2il) asetohidrazit (4n)

2,88 g (0,01 Mol) N'-[(4-florofenil) sülfonil]-2-(6-(4-metoksifenil) -3(2*H*)-piridazinon-2-il) propiyonhidrazit ve 1,91 g (0,01 mol) benzensülfonil klorürden hareketle sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim: %68

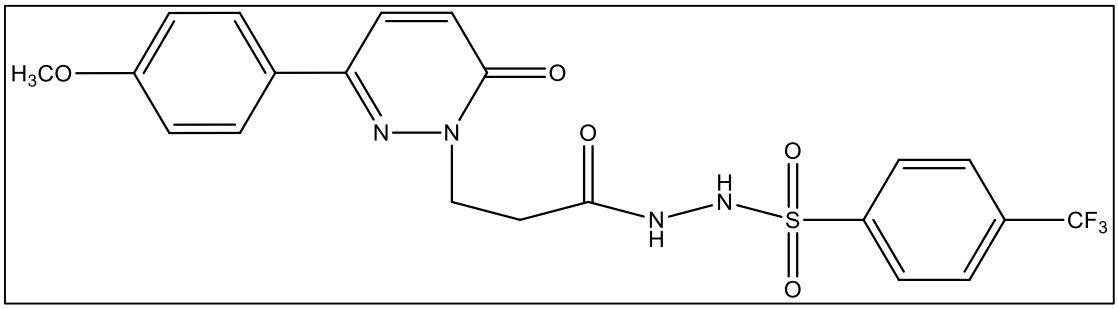
Beyaz renkte, toz bir maddedir. Erime Derecesi: 265-267 **º**C. Eter, petrol eteri, etil asetat, su ve tetrahidrofuranda çözünmez; aseton, kloroform ve metanolde ve etanolde sıcakta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0,75'dür.UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3250 (N-H gerilim), 3020 (aromatik C-H gerilim), 2923, 2851 (alifatik C-H gerilim), 1685 (C=O gerilim halka), 1655 (C=O gerilim zincir), 1586-1515 (C=N gerilim) ve 1172 (C-O gerilim) pikleri görülür.

^{1}H-NMR spektrumunda (DMSO-d_6, 400 MHz), δ 2.60-2.71 (2H, t, N-$\underline{CH_2}$-CH_2-), 3,84 (3H, s, -OCH_3), 4,21-4,32 (2H, t, N-CH_2-$\underline{CH_2}$-), 6,98-7.07 (1H; d; piridazinon H^5), 7,28-7,90 (8H; m; aromatik protonlar), 8.02-8.10 (1H; d; piridazinon H^4), 9,83 (1H, s, HN=CO), 10,40 (1H, s, NH SO_2) ppm'de pikleri görülür.

MS (ESI+) calculated:447.1138 Found:*m/e* 447.1134 (M+H; % 100.0).



Şekil 4.12. N'-[(4-Florometilfenil) sülfonil]-3-(6-(4-metoksifenil) -3(2H)-piridazinon-2-il) asetohidrazit (4o)

2,88 g (0,01 Mol) N'-[(4-florometilfenil) sülfonil]-2-(6-(4-metoksifenil) -3(2*H*) piridazinon-2-il) propiyonhidrazit ve 2,44 (0,01 mol) benzensülfonil klorürden hareketle sentez edilir. Metanol/su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim: %79

Beyaz renkte, toz bir maddedir. Erime derecesi: 261-265 ºC. Eter, petrol eteri, etil asetat, su ve tetrahidrofuranda çözünmez; aseton, kloroform ve metanolde ve etanolde sıcakta çözünür.

İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0,53'dür.UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3246 (N-H gerilim), 3020 (aromatik C-H gerilim), 2923, 2851 (alifatik C-H gerilim), 1674 (C=O gerilim halka), 1654 (C=O gerilim zincir), 1587-1517 (C=N gerilim) ve 1177 (C-O gerilim) pikleri görülür.

^{1}H-NMR spektrumunda (DMSO-d_6, 400 MHz), δ 2.63-2.72 (2H, t, N-$\underline{CH_2}$-CH_{2-}), 3.87 (3H, s, -OCH_3), 4,23-4,32 (2H, t, N-CH_2-$\underline{CH_{2-}}$), 6.89-7.01 (1H; d; piridazinon H^5), 7,15-7,80 (8H; m; aromatik protonlar), 8.15-8.23 (1H; d; piridazinon H^4), 9,62 (1H, s, HN = CO), 10,43 (1H, s, NH SO_2) ppm'de pikleri görülür

MS (ESI+) calculated:447.1107 Found:*m/e* 497.1108 (M+H; % 100.0).

4.2. Antikolinesteraz Aktivite

4.2.1. AChE enzimi aktivitesi üzerine sentezlenen yeni ilaç moleküllerinin etkilerinin incelenmesinin sonuçları

AChE enzimi aktivitesi üzerine sentezlenen yeni ilaç moleküllerinin etkilerini belirlemek amacıyla bu bileşiklerin stok çözeltileri hazırlandı. Yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen bilgiler ışığında [Konsantrasyon]/Aktivite % grafikleri çizildi ve IC_{50} değerleri hesaplandı (Çizelge 4.1).

4.2.2. AChE enzimi üzerine inhibitör etkisi gösteren sentezlenen yeni ilaç molekülleri için K_I sabitlerinin belirlenmesine ait çalışmaların sonuçları

AChE enzimi aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi gösteren sentezlenen yeni ilaç moleküllerinin K_I sabitlerini tespit etmek amacıyla sabit üç uygun inhibitör konsantrasyonu ve beş substrat konsantrasyonu belirlenerek aktiviteleri ölçüldü. Bu değerler yardımıyla Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_I sabitleri hesaplandı (Çizelge 4.1).

4.2.3. Fizikokimyasal ve farmakokinetik parametrelerin tahmin edilmesi

Sentezlenen yeni ilaç moleküllerinin fiziksel olarak önemli tanımlayıcılarını ve farmasötik olarak ilgili özelliklerini (ADME - absorbsiyon, dağılma, metabolizasyon, eliminasyon) tek tek veya gruplar halinde öngörmek için William L. Jorgensen tarafından tasarlanan Schrödinger QikProp programı kulanıldı [330]. Bu program moleküler özelliklerin öngörülmesine ek olarak, belirli bir molekülün özelliklerini bilinen ilaçların %95'inin özellikleriyle karşılaştırmak için aralıklar sağlamaktadır. Sonuçlar Çizelge 4.2 ve 4.3'de verilmiştir.

4.2.4. Moleküler modelleme

Sentezlenen yeni ilaç moleküllerinin etki mekanizmalarının aydınlatılmasında Schrödinger 2019 bilgisayar destekli moleküler modelleme programı kullanıldı [331]. Kenetlenme sonucunda en yüksek inhibitor aktiviteye sahip olan bileşiğin enziminin aktif bölgesindeki amino asitlerle etkileşimi Şekil 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. AChE enzimi aktivitesi üzerine etki eden sentezlenen yeni ilaç moleküllerinin IC_{50} değerleri ve K_I sabitleri

Bileşik	IC_{50} (nM) [a]	R^2	K_I (nM) [a]	R^2
4a	16,40 ± 0,26	0,9971	20,82 ± 1,30	0,9991
4b	14,78 ± 0,57	0,9909	18,60 ± 1,14	0,9992
4c	18,59 ± 0,09	0,9997	18,03 ± 1,13	0,9990
4d	16,96 ± 0,21	0,9987	26,25 ± 2,03	0,9989
4e	16,24 ± 0,55	0,9912	37,80 ± 2,76	0,9993
4f	12,33 ± 0,25	0,9956	17,04 ± 1,26	0,9988
4g	10,36 ± 0,25	0,9947	11,61 ± 0,77	0,9990
4h	20,07 ± 0,38	0,9972	26,49 ± 0,65	0,9988
4n	21,36 ± 0,23	0,9987	20,84 ± 1,24	0,9991
4o	12,66 ± 0,36	0,9962	17,41± 1,16	0,9992
Takrin	430,80 ± 1,71	0,9997	165,01 ± 0,73	0,9999

[a] Mean ± Std. Error

Çizelge 4.2. Sentezlenen yeni ilaç molekülleri için yapılan #Yıldız, #RtfFG, MA, ÇEYA, Hacim, Donör HB, Akseptör HB, QPpolrz, QPlogPo/s ve QPlogS tahmini sonuçları

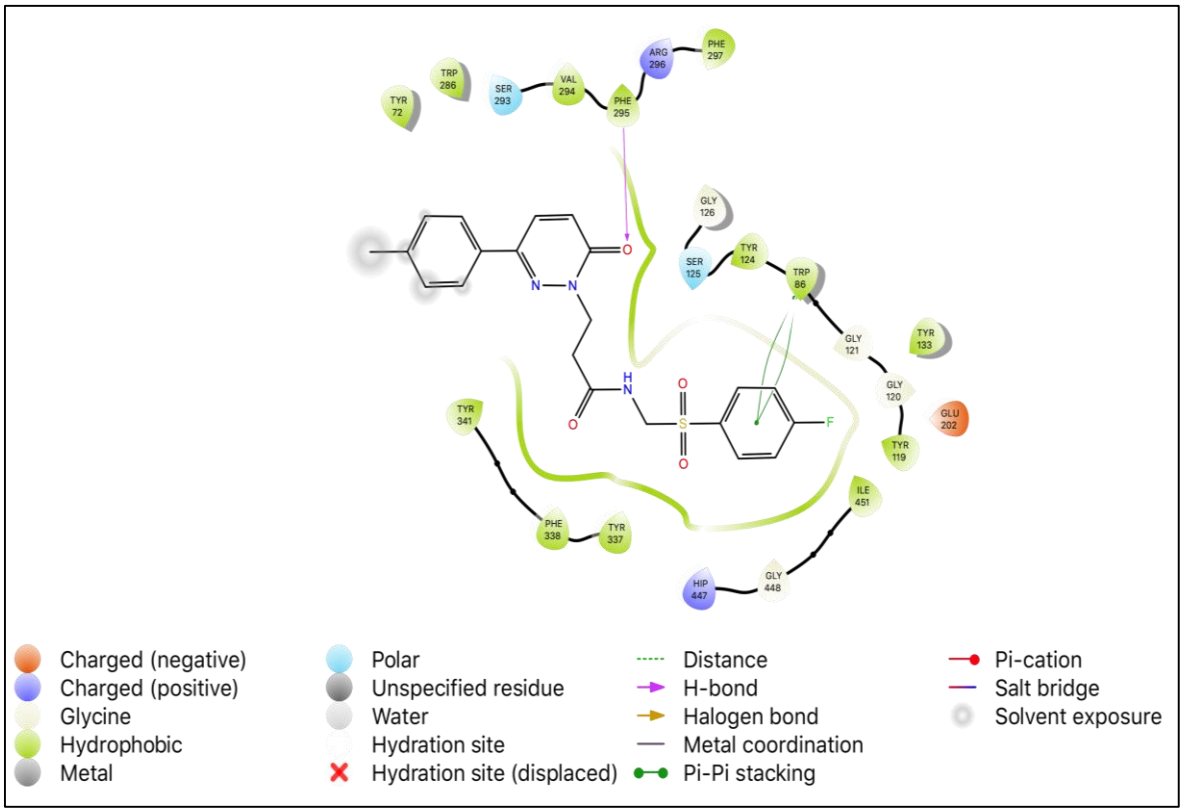
Bileşik	#Yıldız	#RtfFG	MA	ÇEYA	Hacim	Donör HB	Akseptör HB	QPpolrz	QPlogPo/s	QPlogS
4a	0	0	431,89	744,09	1290,87	1	8,50	44,92	2,79	-5,02
4b	0	0	466,34	768,01	1334,88	1	8,50	46,23	3,28	-5,75
4c	0	0	449,88	752,91	1306,76	1	8,50	45,19	3,03	-5,38
4d	1	0	499,89	756,65	1350,31	1	8,50	46,43	3,63	-5,64
4e	1	0	411,48	742,31	1302,33	1	8,50	45,17	2,51	-4,49
4f	0	0	445,92	764,23	1344,27	1	8,50	46,39	3,00	-5,19
4g	0	0	429,47	748,83	1315,83	1	8,50	45,34	2,74	-4,81
4h	0	0	479,47	798,67	1400,44	1	8,50	48,57	3,57	-6,16
4n	0	0	445,46	763,86	1338,77	1	9,25	45,75	2,62	-4,74
4o	0	0	495,47	750,73	1371,80	1	9,25	46,52	3,26	-5,40

#Yıldız: Bilinen ilaçlar için geçerli değerlerin %95'inin dışında kalan özellik değeri sayısı (0-5), #rtfFG: PAINS özelliği gösteren fonksiyonel grup sayısı (0-2), MA: Molekül ağırlığı (130-725), ÇEYA: Toplam çözücü erişir yüzey alanı ($Å^2$) (300-1000), Hacim: Toplam çözücü erişir hacim ($Å^3$) (500-2000), DonörHB: Solüt tarafından su moleküllerine sunulan H bağı (0-6), AkseptörHB: Solüt tarafından su moleküllerinden alınan H bağı sayısı (2-20), QPpolrz: Tahmin edilen polarizabilite ($Å^3$) (13-70), QPlogPo/s: Tahmin edilen oktanol/su partisyon katsayısı (-2,0-6,5), QPlogS: Tahmin edilen konformasyona bağlı sudaki çözünürlük katsayısı (-6,5-0,5).

Çizelge 4.3. Sentezlenen yeni ilaç molekülleri için yapılan QPlogHERG, QPPcaco, QPlogKB, QPPMDCK, #metab, QPlogKisa, % Oral absorpsiyon, 5K ve 3K tahmini sonuçları

Bileşik	QPlog HERG	QPPcaco	QPlogKB	QPPMDCK	#metab	QPlogKisa	% Oral absorpsiyon	5K	3K
4a	-5,82	189,80	-1,50	322,25	1	-0,22	84,08	0	0
4b	-5,71	190,06	-1,36	794,80	1	-0,10	86,95	0	1
4c	-5,69	190,23	-1,40	582,35	1	-0,18	85,46	0	0
4d	-5,22	257,78	-0,98	2129,06	1	-0,52	91,38	0	0
4e	-5,62	141,94	-1,74	107,13	2	-0,18	80,18	0	0
4f	-5,49	146,85	-1,58	273,67	2	-0,75	83,29	0	0
4g	-5,45	146,79	-1,61	200,46	2	-0,15	81,77	0	0
4h	-5,66	194,34	-1,43	594,44	2	0,68	88,80	0	1
4n	-5,62	183,57	-1,63	235,21	2	-0,29	82,81	0	0
4o	-4,92	505,03	-1,01	1186,11	2	-0,19	94,43	0	0

QPlogHERG: hERG kanalı blokajı için tahmin edilen logIC_{50} değeri (<50), QPPcaco: Caco-2 hücreleri için tahmin edilen permeabilite (nmol/sn) (<25 düşük, 500 güçlü>), QPlogKB: Tahmin edilen KBB partisyon katsayısı (oral emilen bileşikler için) (-3,0-1,2), QPPMDCK: MDCK hücreleri için tahmin edilen permeabilite (nmol/sn) (<25 düşük, 500 güçlü>), #metab: Olası metabolit sayısı (1-8), QPlogKisa: Tahmin edilen insan serum albüminine bağlanma (-1,5-1,5), % Oral absorpsiyon: Tahmin edilen insan oral absorpsiyon yüzdesi (<25 düşük, 80 yüksek>), 5K: Lipinski'nin beşler kuralını ihlal sayısı (0-4), 3K: Jorgensen'in üçler kuralını ihlal sayısı (0-3).



Şekil 4.13. Bileşik Vg'nin AChE (PDB iD 4M0E) enziminin aktif bölgesindeki amino asitlerle etkileşiminin 2D gösterimi

4.3. 4D-QSAR (Dört Boyutlu Kantitatif Yapı-Aktivite İlişkisi)

QSAR (Kantitatif Yapı-Aktivite İlişkisi) metotlarına bağlı olarak ilaç adayı moleküllerin hızlı bir şekilde taranması, farmakofor (Pha) grubunun belirlenmesi, ligand-reseptör (L-R) arasındaki etkileşimlerin anlaşılması kolaylaşır. QSAR modelinin niteliği kritik bir şekilde, hedef protein için yapısal bilgilerin yokluğunda tanımlanması neredeyse imkânsız olan ligandların doğru süper pozisyonuna bağlıdır [332]. Bu sorun uzun zamandır tanınmakla birlikte, yalnızca ustalıkla geliştirilen 4D-QSAR teknolojileri, iyi çözümler sunmuş gibi görünmekte [333-337]. Hopfinger 1997 yılında 3D-QSAR (Üç Boyutlu Kantitatif Yapı-Aktivite İlişkisi) modeline dördüncü boyutu kazandırmış ve 4D-QSAR analizi terimini ortaya çıkarmıştır [334]. Bu metodun CoMFA'dan başlıca farkı, konformasyonları eşleştirme işlemi yaparak, biyolojik aktivite bilgileri ile moleküler yapıların bir setinden geliştirilen modelde hem moleküler konformerleri hem de moleküllerin üst üste çakışması incelemelerini birleştirmesidir. 4D-QSAR analizinin dördüncü boyutu eşleştirme ortalamasından kaynaklanır [332]. Bu metoda göre, çoğu 3D-QSAR metotlarından farklı olarak, aktif konformasyon minimum enerjili konformer değildir. Sistematik konformasyonel araştırma yerine, konformasyonel eşleştirme özelliklerini belirlemek için

Moleküler Dinamik Simülasyon kullanır. Minimum enerjili konformerin en kararlı konformer olduğu düşünülür ama diğer konformerlerin etkisi önemli oduğundan bütün konformerlerle çalışılır [332]. Düşük enerjili konformerlerin bu serisi en iyi sonucu veren 3D-QSAR modellerinde ayrı ayrı hesaplanır. Moleküler çakışma problemi benzer örnekleme ve hesaplama tekniği ile çözülmüştür [338]. Her bileşiğin konformerleri, diğer QSAR metodlarında olduğu gibi, en iyi çakışmayı bulmak için daha önceden belirlenmiş dikdörtgen şekilli bir yüzeye yerleştirilir ve 3D parametreleri bilgisayarda hesaplanır, daha sonra en küçük kareler (PLS) yöntemi kullanılarak biyolojik aktivite ile korelasyonu yapılır. 3D-QSAR modelleri PLS yöntemi ile ortaya çıkarılmıştır [332]. Bu metot en iyi çakışmayı sonuçlandırana kadar tekrar edilir. Aktif konformer, aktivite değerini en iyi veren, uygun 3D-QSAR modelinden seçilir. Bu metot 3D-QSAR modellerini geliştirmek için kullanılmıştır [338].

4.3.1. MCET metodu

Prof. Dr. Yahya Güzel tarafından yazılan MCET (Molekül Karşılaştırmalı Elektron Topolojisi (Molecular Comparative Electron Topogical)) programı, ligandlardaki atomların 4D-QSAR yöntemine göre hizalanması ilkesine dayanır. Metodun en önemli özelliği, birden fazla konformer arasında aktif konformasyon seçerek QSAR metodu için dördüncü boyutu kullanılmasıdır [332]. Bir ilaç molekülü, bağları koparmadan uzayda atomları farklı konumlarda tutarak farklı konformerlere sahip olabilir. Konformerler arasında dinamik bir denge olduğu için, bu dönüşüm her an yapılır. Bu konformasyon arasında aktif konformasyonun reseptör ile etkileşimi 4D-QSAR ile sonuçlanır. İlaç tasarımının etkili olabilmesi için, ilaç-reseptör kompleksinin aktif konformasyonunu bilmek son derece yararlı olduğu bildirilmiştir [331]. Bir molekülün Pha, reseptördeki bağlanma bölgesinin aktif konformasyonuyla bağlantılı olarak bir grup atom konfigürasyonuyla tanımlanır. Böyle bir konformasyon her zaman en düşük enerji seviyesinde olmayabilir. Çalışma molekülündeki konformerlerden şablon ile en iyi şekilde örtüşen reseptör ile etkileşime girmek üzere seçilir [332].

Metotta biyolojik etkileşimdeki enerji hesaplamaları pratikte uzun ve zor bir sorun olduğundan moleküler konformerlerin seçilen konformal enerji katkısı ile reseptör-ligand etkileşiminin enerji katkısı birlikte ele alınmaktadır. Aynı molekül içindeki konformerlerin seçilen bir konformerde dönüştürülmesi, enerji alımı veya verilmesi ile sağlanabilir.

Konformerin reseptöre bağlanma enerjisi, konformerler arasında dönüşüm esnasında verilmesi gereken enerjiden daha yüksek olmalıdır. Böylece, bir konformer, moleküldeki diğer konformerleri reseptör ile etkileşime girebilmek için temsil edebilir [332].

MCET yöntemini diğer QSAR yöntemlerinden ayıran en önemli özelliklerden biri, en uygun yapıda tek bir konformerin reseptör ile etkileşime girmesi olduğu belirtilmiştir [331] Metodun diğer bir özelliği, atomik yük, Fukui indeksi, HOMO/LUMO katsayılarının yanı sıra, Yahya Güzel tarafından tanıtılan Klopman indeksi gibi Lokal Reaktif Tanımlayıcılarını (LRT) da kullanabilmesidir. Bunlar, reseptör ile etkileşen moleküllerin elektronik yapıları hakkında bilgi vermektedir [332].

Aktif konformasyonda, deneysel olarak spesifik bir aktivite sergilediği bilinen bileşiklerin aktivitesine neden olan ortak yapıdaki ligand çekirdeği yapısı ve bunun üzerine etki eden yan gruplar aynı anda bulunmuştur. Böylece, molekülün aktif konformasyonuyla ilişkili moleküler aktiviteden sorumlu olan bu üç grubun oluşturduğu aktif yapı, ETM (Elektron Topolojik Matris)'de sağlanan üç boyutlu elektronik özelliklerle belirlenmiştir.

4D-QSAR MCET metodunda işletilen algoritmanın adımları aşağıdaki gibi özetlenmiştir [332]:

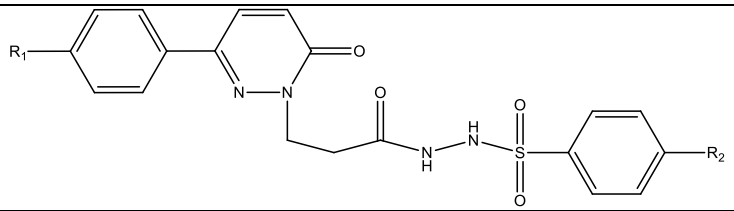
a) Referans konformer ETM'ye bağlı olarak, olası farmakokorlar en az dört atom kombinasyonu ile tanımlanır,
b) ETM'leri kullanarak, tüm konformerlerin analog atom grupları referans molekül konformasyonundan düzenlenir,
c) Farmakofor taşıyan konformerlerin ikame edicileri, Pha atomlarıyla hizalanır ve her konformerin yeni Kartezyen koordinatları oluşturmak üzere üst üste bindirilmesi,
d) LOO-CV yöntemi kullanarak hesaplanır,
e) Pha'nın aktif konformasyonda belirlenmesi ve geçerliliği, tüm istatistiksel hesaplamalarda en anlamlı sonuca varılır.

Sonuç olarak, MCET yönteminde işlenen adımlar; farmakofor yapsının seçimi, moleküllerin hizalanması Genetik Algoritma ile modelin, LOO-CV'de PLS kullanarak q^2 ve r^2 değerlerini belirlenmesidir.

4.3.2. MCET metodu'nun tez bileşiklerine uygulanması

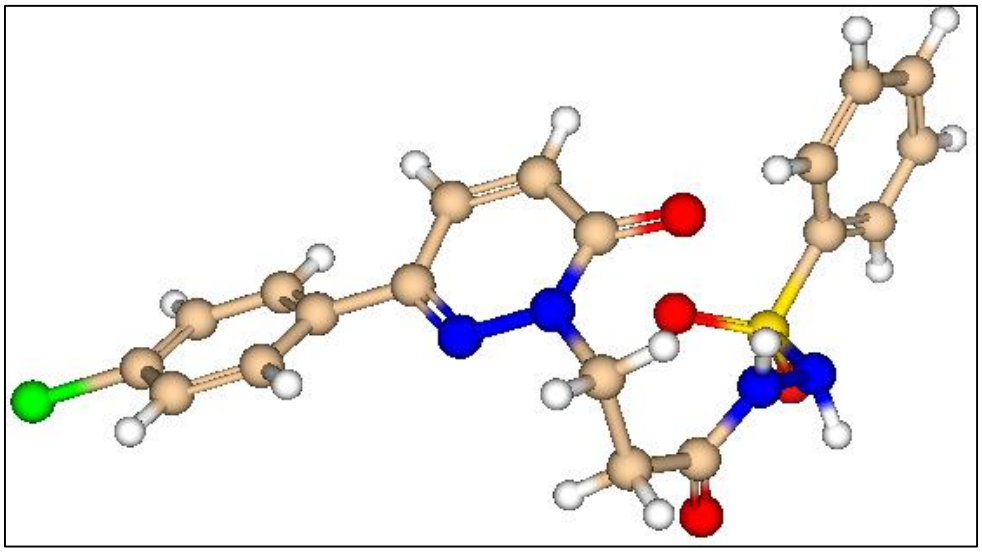
Bu tez çalışmasında N'-[(Sübstitüe fenil)sülfonil]-2-(6-sübstitüe-3(2H)-piridazinon-2-il)propiyohidrazit (4a-o) AChE ve BChE enzimleri üzerindeki inhibitör özelliği üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan yapılar ilk defa sentezlenmiş ve Kantitatif Yapı-Aktivite İlişkisi incelenmiştir. Böylece ilgili bileşik serisi için kuantum kimyasal ve konformasyonel analiz hesaplamaları yapılmıştır. Çizelge 4.2'de bileşik serisine ait temel iskeletler, bağlı sübstitüentler ve deneysel aktivite değerleri yer almaktadır. Hesaplamaların daha rahat yapılması için inhibisyon aktivite değerleri -logKi alınarak yapılmış ve MCET metodundaki işleyiş algoritması takip edilerek gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 4.4. N'-[(Sübstitüefenil) sülfonil]-2-(6-sübstitüe-3(2H)-piridazinon-2-il) propiyo-hidrazit (4a-o) serisine ait temel iskeletler, bağlı sübstitüentler, deneysel aktivite değerleri (pKi)



Bileşik	R_1	R_2	Asetilkolinesteraz İnhibisyonu Deneysel Aktivite Değerleri (pKi)
4a	Cl	H	1,730
4b	Cl	Cl	1,780
4c	Cl	F	1,930
4d	Cl	CF_3	1,960
4e	CH_3	H	1,870
4f	CH_3	Cl	1,900
4g	CH_3	F	1,960
4h	CH_3	CF_3	1,970
4k	OCH_3	H	1,910
4m	OCH_3	Cl	1,910
4n	OCH_3	F	1,970
4o	OCH_3	CF_3	1,960

Çizelge 4.4'de. Piridazinon türevindeki 4a numaralı molekülün Boltzman dağılımına göre en düşük enerjili konformerindeki her bir atomunun Kartezyen koordinatları gösterilmiştir. 12 tane bileşiğin Kartezyen koordinatları .txt dosyası halinde bulunmaktadır. Bu Kartezyen koordinatları, 4D-QSAR'ın MCET metoduna göre yapılan hesaplamalarda baz alınarak Pha yapısının bulunmasında önemli bir rol oynamıştır. 4a molekülünün 3 boyutlu yapısı Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



Şekil 4.14. Molekül 4a'nın 3 boyutlu gösterimi

Çizelge 4.5'de görüldüğü gibi Kartezyen koordinatları x-, y-, z- değerlerini Cart_txt olarak tutulmaktadır. İşte ilk üç atomun koordinatları; (0, 0, 0), (x, 0, 0) ve (0, y, z) "iç koordinatın" koordinat değerlerinin kalan koordinatlarının söylenebileceği belirtilmiştir.

Çizelge 4.5. 4a numaralı molekülün Boltzman dağılımına göre en düşük enerjili konformerindeki atomların Kartezyen koordinatları

Atom	X	Y	Z
O3	0	0	0
O4	2,5006	0	0
N4	1,2877	2,1392	0
O2	1,695	1,8706	-2,625
N1	6,1365	0,893	-1,996
N2	5,5262	1,7424	-1,099
N3	2,4239	2,6634	-0,638
O1	4,6985	2,282	0,9395
S1	1,2514	0,5627	0,4264
Cl1	9,2762	-3,795	-5,581
C7	6,5526	-0,248	-1,583
C6	7,7913	-3,332	-3,359
C5	8,4751	-2,761	-4,409
C8	5,2974	1,4626	0,2035
C9	5,8061	0,1892	0,6515
C10	6,4053	-0,637	-0,202
C11	5,1021	3,0163	-1,707
C12	3,8774	2,8495	-2,607
C13	2,5855	2,3912	-1,966
C1	7,1661	-2,516	-2,435
C3	7,9081	-0,582	-3,636
H12	3,1916	2,8459	-0,014
H11	0,4185	2,6011	-0,191
C4	8,5379	-1,391	-4,559
C2	7,2247	-1,135	-2,561
C14	1,2126	0,6102	2,1698
C15	1,1419	0,6411	4,9233
C16	0,1055	0,1128	2,8309
C17	2,2934	1,1207	2,8745
C18	2,2506	1,1365	4,2533
C19	0,0723	0,1292	4,2141

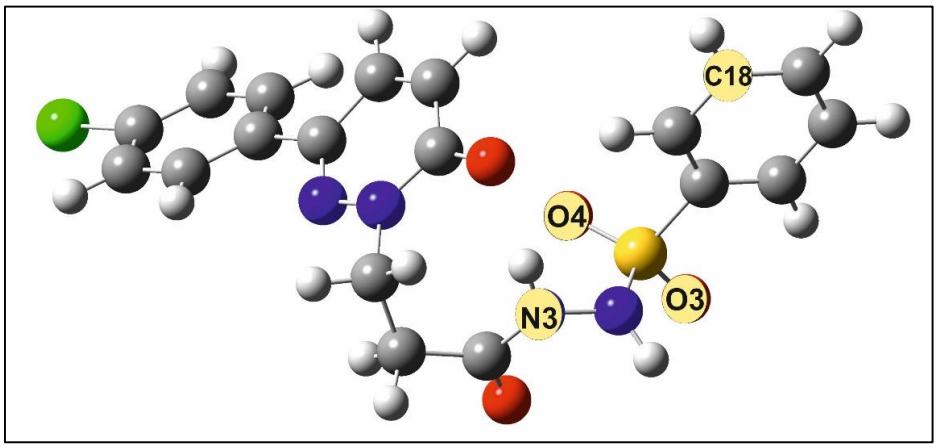
Alzheimer hastalığına karşı inhibitör özelliğine sahip olan Piridazinon bileşikleri ile reseptör arasındaki yapısal etkileşimi anlamak ve moleküllerin aktivitesini tahmin etmek için, reseptör bağlanma bölgesinin farmakofor yapısı yerel reaktif tanımlayıcılarına bağlı olarak ortaya çıkarılmıştır [332].

Reseptörde farmakofor atomlarına karşılık gelen parametreler olan κ ve ξ'nin hesaplanan değerleri Çizelge 4.4'te verilmiştir. Tabloda hangi molekülün hangi konformerinin hangi atomunun etki ettiği pozisyonlara bağlı olarak gösterilmiştir.

Çizelge 4.6. N'-[(Sübstitüe fenil)sülfonil]-2-(6-sübstitüe-3(2H)-piridazinon-2-il) propiyo-hidrazit (4a-o) türevlerinde farmakofor yapısını içeren 4a, 4b, 4e ve 4g bileşiklerinin atomlarının pozisyonları (En etkin atomlar koyu renk ile gösterilmiştir)

Molekül numarası	Atom numarası	x, y, z Kartezyen koordinatları			Pozisyon	Kappa-(κ) değerleri	Ksi-(ξ) değerleri
		x	y	z			
4a	O3	0	0	0	a	36,331	0,500
4a	O4	2,501	0	0	b	-147,679	0,500
4a	C18	2,251	4,403	0	c	-2,574	0,500
4a	O2	1,695	-2,053	-2,485	d	-5,718	127,318
4b	C13	3,608	0,684	1,983	e	-19,066	14,157
4e	C11	5,662	0,918	-3,447	f	-1,5287	18,655
4g	O2	-1,662	0,284	-3,958	g	-1,620	-16,378
4a	N3	2,424	0,071	-2,738	h	-5,442	33,508
4a	O1	4,699	1,497	-1,962	i	9,861	-6,718
4a	C1	7,166	-3,002	1,802	j	6,838	-1,230

Bütün bileşiklerdeki ortak Pha yapısı Şekil 4.15 de gösterilmiştir. İlaç etken maddesi adayı olarak belirlenen serinin Pha yapısındaki atomların O3, O4, C18 ve N3 olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.15. N'-[(Sübstitüe fenil)sülfonil]-2-(6-sübstitüe-3(2H)-piridazinon-2-il) propiyo-hidrazit (4a-o)türev setindeki aktif moleküllerin ortak yapsındaki Pha grubu

Klopman indeksinin LRT (331) kullanılarak 12 molekül için bir model istatistiksel sonuçlar ile doğrulandı (q^2 = 0,996, r^2 = 0,981).

Çizelge 4.7. N'-[(Sübstitüe fenil)sülfonil]-2-(6-sübstitüe-3(2H)-piridazinon-2-il) propiyo-hidrazit (4a-o) türevlerinin deneysel ve hesaplanan aktiviteleri (pKi)

Molekül Numarası	Deneysel Aktivite (pKi)	Hesaplanan Aktivite (pKi)
4a_01	1.730	1.731
4b_03	1.780	1.787
4c_03	1.930	1.936
4d_02*	1.960	1.964
4e_05*	1.870	1.876
4f_02	1.900	1.901
4g_02	1.960	1.959
4h_03	1.970	1.970
4k_01	1.910	1.911
4m_02	1.910	1.898
4n_02	1.970	1.967
4o_02	1.960	1.964

5. TARTIŞMA

Son 30 yılda özellikle özellikle refah düzeyi yüksek ülkelerde görülme sıklığı artan Alzheimer hastalığı yaşlılarda görülen demansın en yaygın şeklidir. 1907 yılında Alois Alzheimer tarafından tanımlanmıştır. Sosyal ve mesleki eylemleri yerine getirme kaybına neden olan, kognitif fonksiyonların azalması ile karakterize edilen bir sendromdur. Anatomik bulgular arasında; Toksik protein yığınlarının oluşması, ekstrasellüler beta-amiloid plaklar, intrasellüler (sinir hücresi içinde) nörofibriller tau düğümleri, dentritler de bozulma, nöron kaybı, hipokampusın büyüklüğünde 47% azalma (normal kişilerde 27% küçülür) gözlennmiştir. Alzheimer hastalarında protein yapımındaki değişiklik Alzheimer'ın nedeni olarak beyin reaktif antikorları arasında otoimmün reaksiyonların varlığını da düşündürmektedir. Alzheimer hastalığının klinik tablosunda; İskemi, hücre deformasyonu ve nekroz görülmektedir [4].

Alzheimer hastalığına yakalanan kişilerin yüzdesi her beş yaşta iki katına çıkmaktadır. 60 yaşındaki hasta oranı %1 iken, 85 yaşta bu oran %30'a ulaşmaktadır [1]. Giderek artmakta olan Alzheimer hastalığı ile ilgili 2005 yılında yapılan epidemiyolojik çalışmalar dünya çapındaki Alzheimer hastası sayısının tahmini 24 milyon olduğunu bildirmiştir. Tahminler bu sayının her 20 yılda iki katına çıkarak 2020'de 42 milyona, 2040'da ise 81 milyona ulaşacağı yönündedir [4].

Her Alzheimerda demans vardır ama her demans Alzheimer hastalığından kaynaklanmayabilir. Alzhemer hastalığının kesin tanısı ancak ölüm gerçekleştikten sonra hastanın beyin hücrelerinin histopatalojik incelenmesi ile konulabilir. Alzheimer hastalığın karakteristik patolojik bulguları, beyinde ekstraselüler senil plaklar, nöronların içinde nörfibriler yumaklar, sinaps ve nöron kaybıdır. Alzheimer hastalığının kesin tedavisi yoktur. Hastalığın ilerlemesini yavaşlatan semptomatik tedavi yaklaşımları vardır. Bu tedavi yaklaşımları genellikle kombine bir tedavi protokolü ile hastalara uygulanmaktadır.

Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılan konvansiyonel semptomatik tedavilerden ilki vazodilatör ilaçlarla tedavidir. Bu ilaçlar arasında kodergokrin, suloktidil, buflomedil, siklandelat, fasudil ve naftidrofuril bulunmaktadır. İkinci konvansiyonel semptomatik tedavi yolu nootropik ilaçlar ile yapılan tedavidir. Nootropik ilaçlar ile yapılan tedavide, beyinde oksijen ve glukoz artışı, laktat piruvat oranının düzenlenmesi, kandan oksijen alımının artırılması, adenilat siklat aktivitesinin artırılması ve fosfolipit dönüşümünün artırılması hedeflenmektedir. Bu grupta kullanılan ilaçlar arasında; Pirasetam, oksirasetam, anirasetam,

vinkonat, ekzifon ve idebenon bulunmaktadır. Konvansiyonel tedavi yollarının sonuncusu nörotransmitter ile yapılan tedavidir.

Biyokimyasal çalışmalar kortekste bazı nöromediyatörlerin ve özellikle asetilkolinin azaldığını göstermektedir [7]. Hastalığın başlaması ile birlikte gerçekleşen nöron ve akson kaybı daha düşük düzeylerde asetilkolin salınımına neden olmakta ve düşük konsantrasyondaki nörotransmiter düzeylerinde sinir iletilerinin devamlılığını sağlamak daha güç bir hal almaktadır. Bu durum hastalığın semptomlarının gelişmesinde asetilkolin eksikliğinin önemini vurgulayan "kolinerjik hipotez"in ortaya atılmasına neden olmuştur [9].

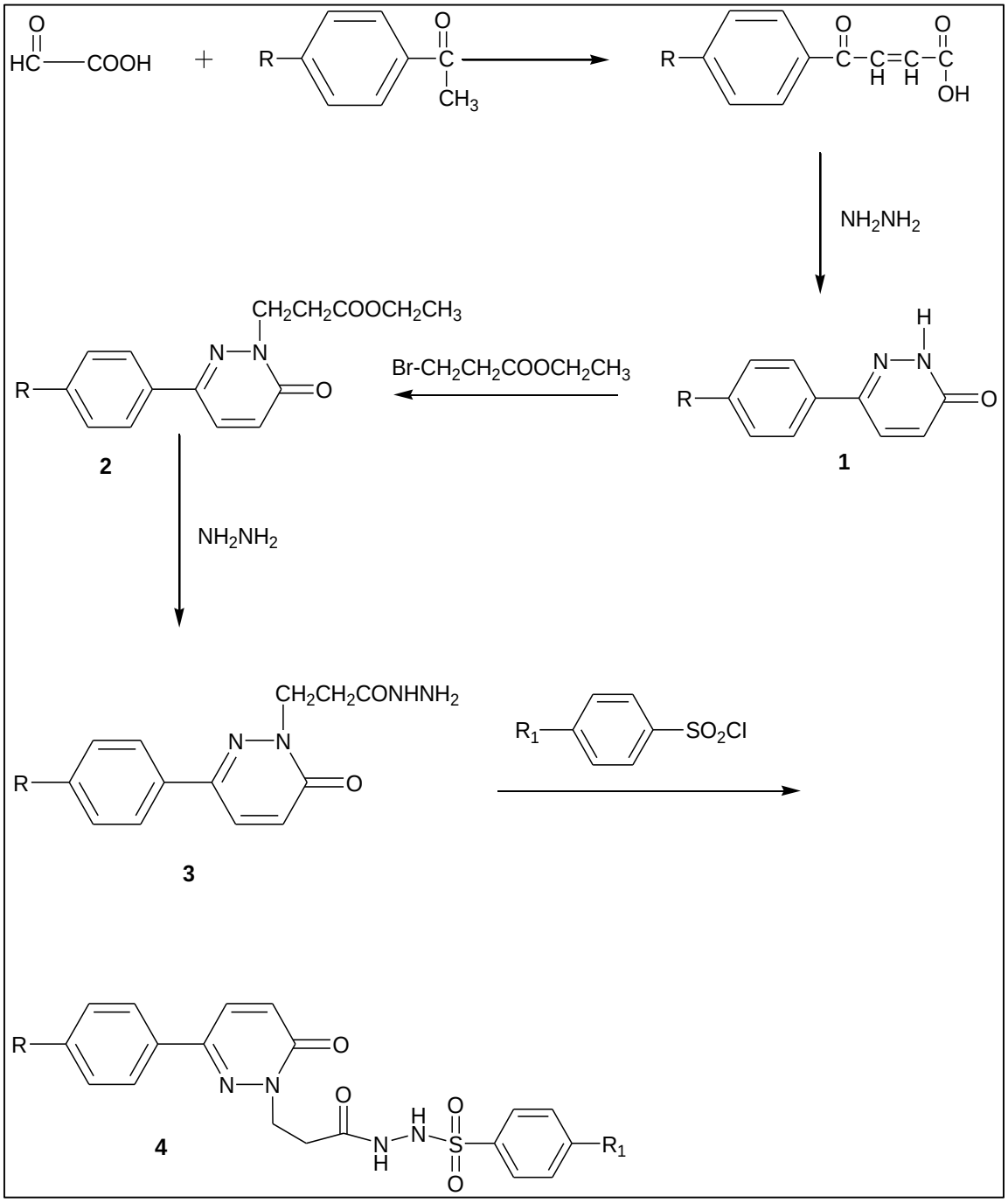
Asetilkolin düzeyini artırmak için uygulanacak yöntemlerden biri asetilkolinin parçalanmasından sorumlu olan AChE enziminin inhibe edilmesidir. AChE inhibisyonuna bağlı olarak asetilkolin düzeyinin artması, Alzheimer hastalığının erken dönemlerinde oluşan kognitif yetmezliğini iyileştirebilmektedir [3,7,8]. Günümüzde Alzheimer hastalığının tedavisinde takrin, donezepil, rivastigmin, eptastigmin ve galantamin gibi AChE inhibitörü ilaçlar kullanılmaktadır; fakat yüksek hepatotoksisite ve aşırı kolinerjik yan etkiler bu ilaçların kullanımını sınırlandırmaktadır [3]. Yeni ve yan etkilerinden arındırılmış asetilkolin esteraz inhibitörü ilaçların sentezi Alzheimer hastalığının seyrinin yavaşlatılması ve semptomlarının azaltılmasını daha mümkün kılacaktır.

5.1. Kimyasal Sentez

Bu tez kapsamında, yukarıdaki bilgiler ışığında, AChE ve BChE enzim inhibitörü yeni 12 bileşiğin sentezi yapılarak antikolinesteraz ve butirilkolinesteraz aktiviteleri invitro ortamda incelenmiştir. Bileşiklerin sentezinde çalışma grubumuzun son 20 yıldır üzerinde çalıştığı 3(2*H*)-piridazinon halkası esas yapı olarak alınmıştır. Öncelikle sübstitüe asetofenon ve glioksalik asit başlangıç bileşiği olarak kullanılarak aldol kodensasyon reaksiyonuyla 6-sübstitüe 3(2*H*)-piridazinon halkasının sentezi yapılmıştır.

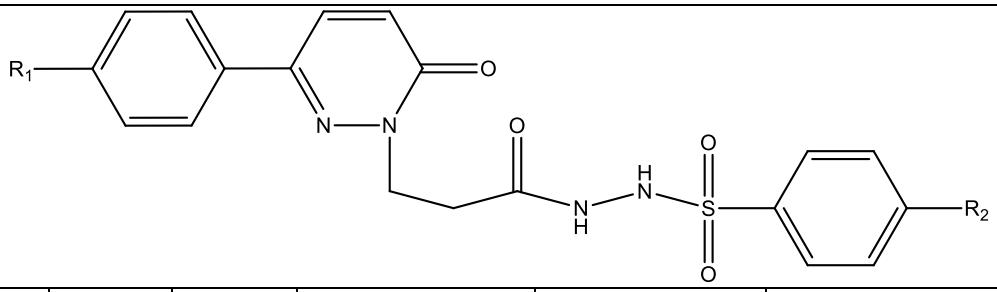
Sentezi yapılan 6-Sübstitefenil-3(2*H*)-piridazinon türevileri etil 3-bromopropiyonat ve potasyum karbonat ile 50 ml aseton içinde ester türevine çevrilmiş ve 6-[4-(Sübstitüe fenil)]-3(2*H*)-piridazinon-2-il propiyonat (2a-c)türevleri elde edilmiştir. Ester türevleri hidrazin hidrat ile reaksiyona sokularak 6[4-(Sübstitüe fenil)]-3(2*H*)-piridazinon-2-il propiyonhidrazit (3a-c) türevleri elde edilmiştir. Reaksiyonların son aşamasında 6-[4-(sübstitüefenil)]-3(2*H*)-piridazinon-

2-il propiyonhidrazit türevleri sübsitütüe sülfonil klorür türevleri ile reaksiyona sokularak tezin title bileşikleri olan N'-[(Sübstitüe fenil)sülfonil]-2-(6-sübstitüe-3(2*H*)-piridazinon-2-il)propiyonhidrazit (4a-o) türevleri sentezlenmiştir. Son basamakta sentezlenen bileşiklerin tümü bu tez kapsamında ilk defa sentezlenmiştir sentez metotu olarak literatür verilerinden ve grubumuzun daha önce yapmış olduğu çalışmalardan yararlanılmıştır [26]. Bileşiklerin genel reaksiyon şeması Şekil 5.1'de verilmiştir. Elde edilen bileşiklerin yapıları, reaksiyon verimleri, erime dereceleri, molekül ağırlıkları ve kapalı formülleri Çizelge 5.1'de verilmektedir.



Şekil 5.1. Tez kapsamında sentezi yapılan özgün bileşiklerin genel reaksiyon şeması

Çizelge 5.1. Tez kapsamında sentezi yapılan özgün bileşiklerin yapıları, erime dereceleri, molekül ağırlıkları ve moleküler formülleri



Bileşik	R_1	R_2	Erime derecesi (^oC)	MA	Moleküler formül
4a	Cl	H	211-214	432,88	$C_{19}H_{17}ClN_4OS$
4b	Cl	CI	187-188	467,33	$C_{19}H_{14}Cl_2N_4OS$
4c	Cl	F	210-212	450,87	$C_{19}H_{16}ClFN_4O_4S$
4d	Cl	CF_3	213-215	500,05	$C_{20}H_{16}ClF_3N_4O_4S$
4e	CH_3	H	231-232	412,46	$C_{20}H_{20}N_4O_4S$
4f	CH_3	CI	218-219	446,91	$C_{20}H_{19}ClN_4O4S$
4g	CH_3	F	202-203	430,45	$C_{20}H_{19}FN_4O4S$
4h	CH_3	CF_3	218-219	480,11	$C_{20}H_{19}FN_4O4S$
4k	OCH_3	H	243-244	428,46	$C_{20}H_{20}N_4O_5S$
4m	OCH_3	CI	238-240	428,46	$C_{20}H_{19}ClN_4O_5S$
4n	OCH_3	F	265-267	446,45	$C_{20}H_{19}FN_4O_5S$
4o	OCH_3	CF_3	261-265	496,46	$C_{21}H_{19}F_3N_4O_5S$

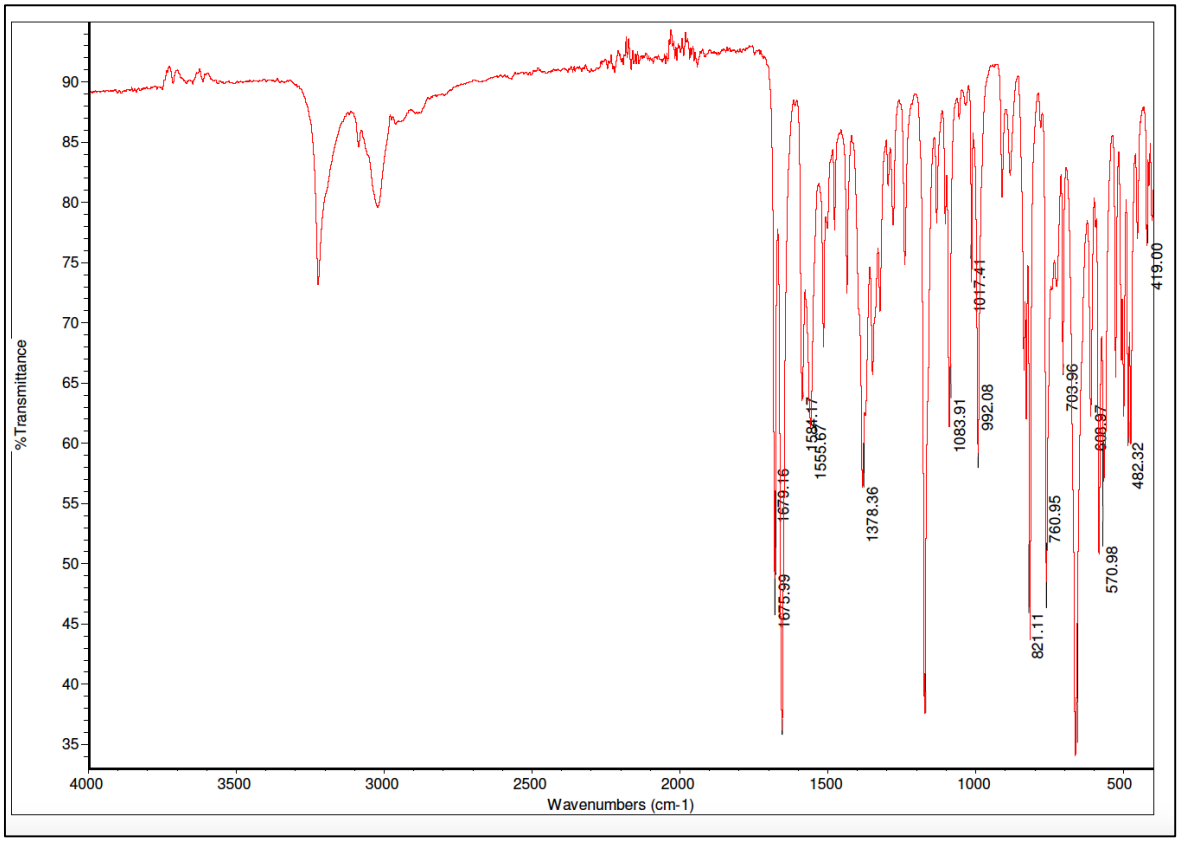
5.2. Yapı Aydınlatma Çalışmaları

Sentezlenen N'-[(Sübstitüe fenil)sülfonil]-2-(6-sübstitüe-3(2H)-piridazinon-2-il) propiyo-hidrazit (4a-o) türevlerinin yapıları kütle spektrumu, infrared spektrumu (IR) ve ^{1}H-Nükleer magnetik rezonans (NMR) spektrumları ile kanıtlanmıştır.

5.2.1. Infrared spektrumlarının yorumlanması

N'[(Sübstitüe fenil)sülfonil]-2-(6-sübstitüe-3(2H)-piridazinon-2-il)propiyohidrazit (4a-o) türevlerinin infrared spektrumlarında genel olarak 3250-3210 cm^{-1} civarında N-H gerilim bandı, 3050-3010 cm^{-1} civarında aromatik C-H gerilim bandı, 2950-2850 cm^{-1} civarında alifatik C-H gerilim bandları gözlenmiştir. Tez bileşiklerinin en karekteristik gerilim bandlarndan olan karbonil bandları ise 2 ayrı band halinde tespit edilmiştir; 1680-1670 cm^{-1} civarında arasında piridazinon halkasına ait C=O piki gözlenirken, 1660-1650 cm^{-1} civarında yan zincire ait C=O piki gözlenmiştir. 1590-1510 cm^{-1} civarında C=N gerilim ve 1180-1170 cm^{-1} civarında aralığında C-O gerilim bandı gözlenmiştir. Tüm pikler bileşiklerin yapısı ile

tam uyum göstermiştir. Aşağıda tez bileşiklerimizden bir tanesinin infrared spektrumu örnek olarak sunulmuştur.

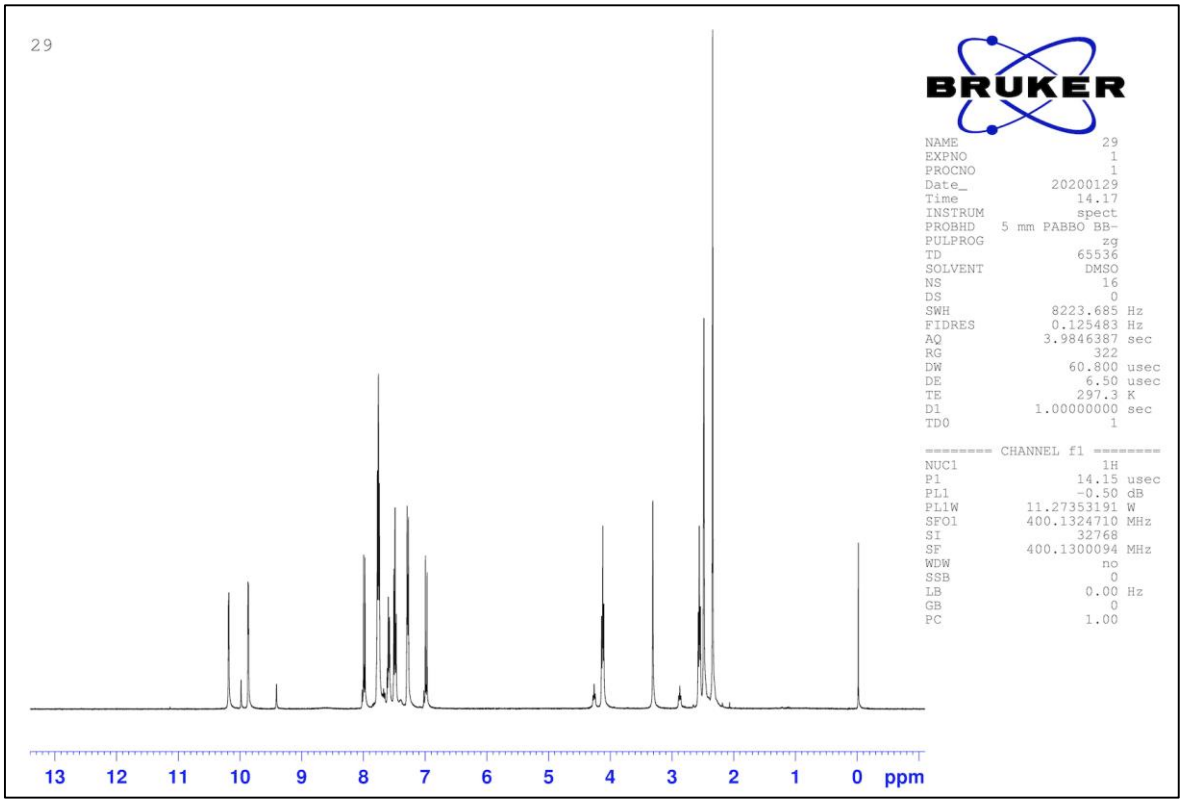


Şekil 5.2. Bileşik 4f 'nin IR Spektrumu

5.2.2. ^{1}H-Nükleer magnetik rezonans spektrumlarının yorumlanması

N' [(Sübstitüe fenil) sülfonil]-2-(6-sübstitüe-3(2H)-piridazinon-2-il) propiyohidrazit (4a-o) türevlerinin ^{1}H-nükleer magnetik rezonans spektrumla spektrumlarında genel olarak 2.60-2.70 ppm de yan zincirin piridazin halkasının azotuna bağlı olan metilen grubunun (N-$\underline{CH_2}CH_2$-C=O) triplet piki gözlenmiştir. 4.20-4.40 ppm de ise hidrazit karboniline bağlı metilen grubu da (N-CH_2-$\underline{CH_2}$=O) triplet olarak gözlenmiştir. 6.95-7.05 ppm civarında piridazinon halkasının 5. konumundaki hidrojen atomu dublet olarak gözlenirken piridazin halkasının 4. konumundaki hidrojen atomu da yine dublet olarak 8.00-8.20 ppm arasında gözlenmiştir. N' [(Sübstitüe fenil) sülfonil]-2-(6-sübstitüe-3(2H)-piridazinon-2-il) propiyohidrazit (4a-o) türevlerindeki 2 fenil halkasına ait 8 hidrojen atomu 7.10-7.90 ppm arasında multiplet olarak gözlenmiştir. Bileşiklerdeki hidrazit azotuna bağlı hidrojen atomuna ($\underline{NH}$-C=O) ait pik singlet olarak 9.60-10.00 ppm aralığında gözlenmiştir. Son olarak spektrumun en alçak alanında sülfonamit azotuna bağlı hidrojen atomu singlet olarak

10.40-10.50 ppm arasında gözlenmiştir. Aşağıda tez bileşiklerimizden bir tanesinin ^{1}H-NMR spektrumu örnek olarak sunulmuştur.



Şekil 5.3. Bileşik 4e 'in ^{1}H-NMR spektrumu

5.3. Antikolinesteraz Aktivite Tayin Çalışmaları

N'[(Sübstitüe fenil)sülfonil]-2-(6-sübstitüe-3(2H)-piridazinon-2-il)propiyohidrazit (4a-o) türevlerinin çok güçlü asetilkolinesteraz (AChE) aktiviteleri olmasına rağmen butirilkolinesteraz (BuChE) aktiviteleri ölçülememiştir. Bileşiklerin AChE aktiviteleri değerlendirildiğinde tamamının IC_{50} değeri standart bileşik takrinden çok daha düşük bulunmuştur. En yüksek aktiviyeye sahip N'-[(4-florofenil) sülfonil]-3-(6-(4-metilfenil) -3(2*H*)-piridazinon-2-il) asetohidrazit (4g) türevinin IC_{50} değeri 10,36 ± 0,25 iken standart bileşik takrinin IC_{50} değeri 430,80 ± 1,71 olarak bulunmuştur. Bu sonuça göre bileşik 4g takrinden 40 kat daha etkili bulunmuştur. Test edilen bileşiklerin tamamında bu belirgin aktivite gözlenmektedir (bakınız Çizelge 4.1). Elde edilen bu sonuçlar üzerine çalışmalarımızın devamında invivo asetilkolinesteraz aktivite tespit edilmesi üzerinde yoğunlaşılacaktır.

5.4. Kantitatif Yapı Etki Çalışmaları

Bu çalışmada, Alzheimer hastalığı inhibitörü olan 12 piridazinon türevi molekülü için 4D-QSAR çalışmaları yapılmıştır. Tez inhibe edici deneysel aktivite değerlerini destelemek için teorik olarak Kantitatif Yapı-Aktivite İlişkisi incelenmiştir. 4D-QSAR modeliyle reseptör tarafındaki etkileşim noktalarının parametrelerinin ligand esaslı olarak belirlenmiştir.

4D-QSAR modelinde farklı tanımlayıcılara göre L-R arasındaki Pha yapısı teorik olarak hesaplanmış ve bunlar arasından en uygun sonuca göre tanımlayıcı tipi belirlenmiştir. Diğer tanımlayıcı LRT tipleri arasında, Klopman indeksi tarafından üretilen Pha ile en iyi sonuç elde edilmiştir. Sonuçlanan modele bakılarak bu türev seti Pha atomlarının bulunması şartıyla kuvvetli bir aday ilaç etken maddesi olabileceği öngörülebilir. Bu nedenle ilerideki çalışmalarımız bileşiklerin etkilerini artıracak türevlerin sentezi üzerinde yoğunlaşacaktır.

KAYNAKLAR

1. Ferri, C.P., Prince, M., Brayne, C., Brodaty, H., Fratiglioni, L., Ganguli, M., Hall, K., Hasegawa, K., Hendrie, H., Huang, Y., Jarm, A., Mathers, C., Menezes, P.R., Rimmer, E. and Scazufca, M. (2005). Global prevalence of dementia: A delphi consensus study. *Lancet*, 366, 2112–2117.

2. Brunton, L.L., Lazo, J.S. and Parker, K.L. (2006). Antikolinesterazlar. Ö. Süzer (P. Taylor/O. Yollar). Santral Sinir Sistemi Dejeneratif Bozuklukların Tedavisi. (D.G., Standaert, A.B., Young/H.R., Yananlı). *Goodman&Gillman Tedavinin Farmakolojik Temeli*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 201-214/527-544.

3. Dooley, M. and Lamb, H.M. (2000). Donezepil: a rewiev of its use in Alzheimer's disease. *Drug &Aging*, 16, 199-226.

4. Perl, D.P. (2010). Neuropathology of Alzheimer's disease. *Mount Sinai Journal of Medicine*,77, 32–42.

5. Dwyer, B.E., Zacharski, L.R., Balestra, D.J., Lerner, A.J., Perry, G., Zhu, X. and Smith, M.A. (2009). Getting the iron out: Phlebotomy for Alzheimer's disease? *Medical Hypotheses*, 72, 504–509.

6. Anand, A., Patience, A. A., Sharma, N. and Khurana, N. (2017). The present and future of pharmacotherapy of Alzheimer's disease: A comprehensive review. *European Journal of Pharmacology*, 815, 364-375.

7. Nisbet, R.M., Polanco, J.C., Ittner, L.M. and Götz, J. (2015). Tau aggregation and its interplaywith amyloid-β. *Acta Neuropathol*, 129, 207–220.

8. Butterfield, D., Castegna, A., Pocernich, C., Drake, J., Scapagnini, G. and Calabrese, V. (2002). Nutritional approaches to combat oxidative stress in Alzheimer's disease. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 444.

9. Swerdlow, R.H., Burns, J.M. and Khan, S.M. (2014). The Alzheimer's disease mitochondrialcascade hypothesis: Progress and perspectives. *Biochimica et Biophysica Acta Molecular Basis of Disease*, 1842, 1219–1231.

10. Francis, P.T. (2005). The interplay of neurotransmitters in Alzheimer's disease. *CNS Spectrums*, 10, 6–9.

11. Maccioni, R.B., González, A., Andrade, V. V., Cortés, N., Tapia, J.P. and Guzmán-Martínez, L. (2018). Alzheimer´ s Disease in the Perspective of Neuroimmunology. *The Open Neurology Journal*, 12, 50–56.

12. McGleenon, B.M., Dynan, K.B. and Passmore, A.P. (1999). Acetylcholinesterase inhibitors inAlzheimer's disease. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 48, 471–480.

13. Tabet, N. (2006). Acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease: Anti-inflammatories in acetylcholine clothing!. *Age and Ageing*, 35, 336–338.

14. Olivares, D., Deshpande, V.K., Shi, Y., Lahiri, D.K., Greig, N.H., Rogers, J.T. and Huang, X. (2012). N-methyl D-aspartate (NMDA) receptor antagonists and memantine treatment for Alzheimer's disease, vascular dementia and Parkinson's disease. *Current Alzheimer Research,* 9, 746–758.

15. Koch, H.J., Szecsey, A. and Haen, E. (2004). NMDA-antagonism (memantine): An alternative pharmacological therapeutic principle in Alzheimer's and vascular dementia. *Current Pharmaceutical Design,* 10, 253–259.

16. Reisberg, B., Doody, R., Stoffler, A., Schmitt, F., Ferris, S. and Mobius, H.J. (2003). Memantine in moderate-to-severe Alzheimer's disease. *The New England Journal of Medicine,* 348, 1333–1341.

17. Molinuevo, J.L., Lladó, A. and Rami, L. (2005). Memantine: Targeting glutamate excitotoxicity in Alzheimer's disease and other dementias. *American Journal of Alzheimer's Disease & Other Dementias,*20, 77–85.

18. Camps, P., Formoso, X. and Goldeano, C. (2008). Novel donazepil-based inhibitors of acetyl and butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase induced β-amiloid aggretion. *Journal of Medicinal Chemistry*, 51(12), 3588-3598.

19. Gülçin, I., Abbasova, M., Taslimi, P., Huyut, Z. and Safarova, L. (2017). Synthesis and biological evaluation aminomethyl and alkokxymethyl derivatives as carbonic anhydrase, acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition And Medicinal Chemistry*, 32(1), 1174-1182.

20. Watkins, P.B., Zimmerman, H. J. and Knapp, M. (1994). Hepatotoxic effects of tacrine administration in patient alzheimer disease. *JAMA*, 271(13), 992-998.

21. Kumar, V., Cotran, R.S. and Robbins, S.L. (2003). Dejeneratif hastalıklar. U. Çevikbaş (Burns, D.K., Kumar, V./M. Keleş). *Temel patoloji.* (7. Baskı). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 841-845.

22. Bozbey, İ., Özdemir, Z., Uslu, H., Özçelik, A. B, Şenol-Deniz, F. S., Erdoğan, O.İ. ve Uysal, M. (2020). A Series of New Hydrazone Derivatives: Synthesis, Molecular Docking and Anticholinesterase Activity Studies. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 20(11), 1042-1060.

23. Özdemir, Z., Utku, S., Mathew, B., Carradori, S., Orlando, G., Di Simone, S., Alagöz, M.A., Özçelik, A.B., Uysal, M. ve Claudio, F. (2020). Synthesis and biological evaluation of new 3(2H)-pyridazinone derivatives as non-toxic anti-proliferative compounds against human colon carcinoma HCT116 cells. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 35(1), 1100-1109.

24. Önkol, T., Gökçe, M., Orhan, I. ve Kaynak, F. (2013). Design, synthesis and evaluation of some novel 3(2H)-pyridazinone-2-yl acetohydrazides as acetylcholinesterase and butyrylcholnesterase inhibitors. *Organic Communications,*6(1), 55-67

25. Özdemir, Z., Başak-Türkmen, N., Ayhan, İ., Çiftçi, O. ve Uysal, M. (2019). Synthesis of New 6-[4-(2-Fluorophenylpiperazine-1-yl)]-3(2H)-Pyridazinone-2-Acethyl-2-(Substitutedbenzal) Hydrazone Derivatives and Evulation of Their Cytotoxic Effects in Liver and Colon Cancer Cell Lines. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 52(11), 923-929.

26. Özdemir, Z., Alagöz, M.A., Akdemir, A.G., Özçelik, A.B., Özçelik, B. ve Uysal, M. (2019). Studies on a novel series of 3(2*H*)-pyridazinones: synthesis, molecular modelling, antimicrobial activity. *Journal of Research in Pharmacy*, 23(5) 960-972.

27. Akhtar, W., Shaquiquzzaman, M., Akhtar, M., Werma, G., Khan, M.F. and Alam, M.M. (2016). The Therapeutic Journey of Pyridazinone. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 123, 256-281.

28. Bansal, R., Kumar, D., Carron, R. and de la Calle, C. (2009). Synthesis and vasodilatory activity of some amide derivatives of 6-(4-carboxymethyloxyphenyl)-4, 5-dihydro-3(2H)-pyridazinone. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44(11), 4441-4447.

29. Thota, S. and Bansal, R. (2009). Synthesis of new pyridazinone derivatives as platelet aggregation inhibitors. *Medicinal Chemistry Research*, 19, 808-816.

30. Curran, V.W. and Ross, A. (1974). 6-Phenyl-4,5-dihydro-3(2*H*)-pyridazinones. A series of hypotensive agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, 17, 273-281.

31. Piaz, D.V., Cianini, G., Turco, G., Giovannoni, P., Mideli, M., Pirisino, R. and Pereeti, M.J. (1991). 5-Acyl-aryl-4-nitro-3(2H) pyridazinones and related 4-amino compounds: synthesis and pharmacological evaluation. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 80, 341-348.

32. Coelho, A., Sotelo, E. and Ravina, E. (2003). Pyridazine derivatives. Part 33: sonogashira approaches in the synthesis of 5-substituted-6-phenyl-3(2*H*)-pyridazinones. *Tetrahedron*,59, 2477-2484.

33. Demirayak, S., Karaburun, A.C. and Beis, R. (2004). Some pyrrole substituted arylpyridazinone and phthalazinone derivatives and their antihypertensive activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 39, 1089-1095.

34. Rubat, C., Coudert, P., Refouvelet, B., Tronche, P. and Bastide, P. (1990). Anticonvulsant activity of 3-oxo-5-sibstituted benzylidene-6-methyl-(4*H*)-2-pyridazinylacetamides and 2-pyridazinylacetylhydrazides. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 38(11), 3009-3013.

35. Sircar-Weishaar, R.E., Kobylarz, D., Moos, W.H. and Bristol, J.A. (1987). Cardiotonic agents-7. Inhibition of separated forms of cyclic nucleotide phosphodiesterase from Guinea pig cardiac muscle by 4,5-dihydro-6-[4-(1*H*-imidazol-lyl) phenyl]-3(2*H*)-pyridazinone and related compounds. Structure-activity relationships and correlation with in vivo positive inotropic activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 30(11),1955-1962.

36. Gil-Longo, J., Laguna, M. D. L. R., Verde, I., Castro, M. E., Orallo, F., Fontenla, J. A. and Teran, C. (1993). Pyridazine derivatives. XI: Antihypertensive activity of 3-hydrazinocycloheptyl [1, 2-c] pyridazine and its hydrazone derivatives. *Journal of Pharmaceutical Sciences,* 82(3), 286-290.

37. Akahane, A., Katayama, H., Mitsunaga, T., Kato, T., Kinoshita, T., Kita, Y. and Shiokawa, Y. (1999). Discovery of 6-Oxo-3-(2-phenylpyrazolo [1, 5-a] pyridin-3-yl)-1 (6 H)-pyridazinebutanoic Acid (FK 838): A novel non-xanthine adenosine a1 receptor antagonist with potent diuretic activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 42(5), 779-783.

38. Livermone, D.G.H., Bethell, R.C. and Cammack, N. (1993). Synthesis and anti-HIV-1 activity of a series of imidazo [1,5-b] pyridazines. *Journal of Medicinal Chemistry,* 36, 3784-3794.

39. Malinka, W., Redzicka, A. and Lozach, O. (2004). New derivatives of pyrrolo [3,4d] pyridazinoneand their anti-cancer effects. *II Farmaco,*59, 457-462.

40. Lim, Y.J., Angela, M. and Buonora, P.T. (2003). Conversion of g-bicyclic lactams to 4,5-dihydro-2*H* pyridazin-3-ones. *Tetrahedron Letters*, 44, 7799-7801.

41. Asif, M. (2015). Overview on emorfazone and other related 3(2*H*) pyridazinone analogues displaying analgesic and anti-Inflammatory activity. *Annual Medicinial Chemistry Research,* 1, 1-9.

42. Baillet, J. and Laborit, H. (1996) A moderator of the paleo-encephalon, the analgesic Ag 246. *Concours Medicine,* 3, 351-361.

43. Goldberg, A. D., Nicklas, J. and Goldstein, S. (1991). Effectiveness of imazodan for treat- ment of chronic congestive heart failure.*American Journal of Cardiology,* 68, 631-636.

44. Avcı, D., Bahçeli, S., Tamer, O. and Atalay, Y. (2015). Comparative study of DFT/B3LYP,B3PW91, and HSEH1PBE methods applied to molecular structures and spectroscopic and electronic properties of flufenpyr and amipizone.*Canadian Journal of Chemistry,* 93, 1147-1156.

45. Chen, X. S., Zeng, H. W., Jiang, Y. Y., Wan, W. Q. and Long, K. (1990). Effects of CI-930, a novel phosphodiesterase III inhibitor, on platelet aggregation and arachidonic acid metabolism. *Zhongguo yao li xue bao= Acta pharmacologica Sinica*, 11(4), 338-343.

46. Kauffman, R.F., Robertson, D.W., Franklin, R.B., Sandusky, G.E., Dies, J.F., McNay, J.L. and Hayes J.S. (1990). Indolidan: a potent, long-acting cardiotonic and in- hibitor of Type IV cyclic AMP phosphodiesterase. *Cardiovascular Drug Reviews*, 8, 303-322.

47. Ukena, D., Rentz, K., Reiber, C. and Sybrecht, G.W. (1995). Effects of the mixed phospho-diesterase III/IV inhibitor, zardaverine, on airway function in patients with chronic airflow obstruction. *Respiratory Medicine,* 89, 441-444.

48. Summerfield, N.J., Boswood, A., Ogrady, M.R., Gordon, S.G., McEwan, J.D., Oyama, M.A., Smith, S., Patteson, M., French, A.T., Culshaw, G.J., Ruivo, L.B., Estrada, A., Osullivan, M.L., Loureiro, J., Willis, R. and Watson, P. (2012). Efficacy of Pimobendan in the prevention of congestive heart failure or sudden death in doberman pinschers with preclinical dilated cardiomyopathy (The Protect Study). *Journal of Veterinary Internal Medicine,* 26, 1337-1349.

49. Inskeep, P.B., Reed, A.E. and Ronfeld, R.A. (1991). Pharmacokinetics of zopolrestat, a carboxylic acid aldose reductase inhibitor, in normal and diabetic rats. *Pharmaceutical Research,*8, 1511-1515.

50. Yamaguchi, M., Kamei, K., Koga, T., Akima, M., Kuroki, T. and Ohi N. (1993). Novel anti- asthmatic agents with dual activities of thromboxane A_2synthetase inhibi- tion and bronchodilation. 1. 2-[2-(1-Imidazolyl) alkyl]-1(2*H*)-phthalazinones. *Concours Medicine,* 25, 4052-4060.

51. Combs, D.W., Rampulla, M.S., Demers, J.P., Falotico, R. and Moore, J.B. (1991). Heteroatom analogues of Bemoradan: Chemistry and cardiotonic activity of l,4-benzothiazinyl-pyridazinones. *Journal of Medicinal Chemistry,* 35, 172-176.

52. Medzhitov, R. (2010). Inflammation 2010, new adventures of an old flame. *Cell,* 140, 771-776.

53. Grivennikov, S.I., Greten, F.R. and Karin, M. (2010). Immunity, inflammation and cancer. *Cell,* 140, 883-899.

54. Mogilski, S., Kubacka, M., Redzicka, A., Kazek, G., Dudek, M., Malinka, W. and Filipek, B. (2015). Antinociceptive, anti-inflammatory and smooth muscle relaxant activities of the pyrrolo[3,4-d] pyridazinone derivatives: Possible mecha- nisms of action. *Pharmacology Biochemistry and Behavior,*133, 99-110.

55. Ochiai, K., Takita, S., Kojima, A., Eiraku, T., Iwase, K., Kishi, T., Ohinata, A., Yageta, Y., Yasue, T., Adams, D.R. and Kohno, Y. (2013). Phosphodiesterase inhibitors. Part 5: hybrid PDE3/4 inhibitors as dual bronchorelaxant/anti-inflammatory agents for inhaled administration. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 23, 375-381.

56. Ochiai, K., Takita, S., Eiraku, T., Kojima, A., Iwase, K., Kishi, T., Fukuchi, K., Yasue, T., Adams, D.R., Allcock, R.W., Jiang, Z. and Kohno, Y. (2012). Phosphodiesterase inhibitors. Part 3: design, synthesis and structure-activity relationships of dual PDE3/4-inhibitory fused bicyclic heteroaromatic-dihydropyridazinones with anti-inflammatory and bronchodilatory activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry,* 20, 1644-1658.

57. Ozadali, K., Ozkanli, F., Jain, S., Rao, P.P. and Velazquez-Martinez, C.A. (2012). Synthesis and biological evaluation of isoxazolo[4,5-d] pyridazin-4-(5H)-one analogues as potent anti-inflammatory agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry,* 20, 2912-2922.

58. Biagini, P., Biancalani, C., Graziano, A., Cesari, N., Giovannoni, M.P., Cilibrizzi, A., Piaz, D.V., Vergelli, C., Crocetti, L., Delcanale, M., Armani, E., Rizzi, A., Puccini, P., Gallo, P.M., Spinabelli, D. and Caruso, P. (2010). Functionalized pyrazoles and pyrazolo [3,4-d] pyridazinones: synthesis and evaluation of their phosphodiesterase 4 inhibitory activity.*Bioorganic & Medicinal Chemistry,* 18, 3506-3517.

59. Gokce, M., Utku, S. ve Kupeli, E. (2009). Synthesis and analgesic and anti-inflammatory activities 6-substituted-3(2*H*)-pyridazinone-2-acetyl-2- (p-substituted /non- substituted benzal) hydrazone derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry,* 44, 3760-3764.

60. Abouzid, K. and Bekhit, S.A. (2008). Novel. anti-inflammatory agents based on pyr-idazinone scaffold; design, synthesis and in vivo activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry,* 16, 5547-5556.

61. Li, C.S., Brideau, C., Chan, C.C., Savoie, C., Claveau, D., Charleson, S., Gordon, R., Greig, G., Gauthier, J.Y., Lau, C.K., Riendeau, D., Therien, M., Wong, E. and Prasit, P. (2003). Pyridazinones as selective Cyclooxygenase-2 inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 13, 597-600.

62. Chintakunta, V.K., Akella, V., Vedula, M.S., Mamnoor, P.K., Mishra, P., Casturi, S.R., Vangoori, A. and Rajagopalan, R. (2002). 3-O-Substituted benzyl pyr- idazinone derivatives as COX Inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry,* 37, 339-347.

63. Malinka, W., Redzicka, A., Jastrze, M., Filipek, B., Dyba, M., Karczmarzyk, Z., Lipkowska, Z.U. and Kalicki, P. (2011). Derivatives of pyrrolo[3,4-d] pyridazinone, a new class of analgesic agents. *European Journal of Medicinal Chemistry,*46, 4992-4999.

64. Banoglu, E., Akoğlu, Ç., Ünlü, S., Küpeli, E., Yeşilada, E. ve Şahin, M. F. (2004). Amide Derivatives of [6(5-methyl-3-phenylpirazol-1-yl)-3(2(H)-pyridazinone-2-yl]acetic acid as Potential Analgesic and Antiinflammatory Drugs. *Archiv Der Pharmazie*, 337(1), 7-14.

65. Tiryaki, D., Sukuroglu, M., Dogruer, D.S., Akko, E., Ozgen, S. ve Sahin, M.F. (2013). Synthesis of some new 2,6-disubstituted-3(2*H*)-pyridazinone derivatives and investigation of their analgesic, anti-inflammatory and anti-microbial activities. *Medicinal ChemistryResearch,* 22, 2553-2560.

66. Mey, M.V., Bommele, K.M., Boss, H., Hatzelmann, A., Slingerland, M.V., Sterk, G.J. and Timmerman, H. (2003). Synthesis and structure-activity relationships of cis-tetra-hydrophthalazinone/pyridazinone hybrids: a novel series of potent dual PDE3/PDE4 inhibitory agents. *Journal of Medicinal Chemistry,* 46, 2008-2016.

67. Ochiai, K., Ando, N., Iwase, K., Kishi, T., Fukuchi, K., Ohinata, K., Zushi, H., Yasue, T., Adams, D.R. and Kohno, Y. (2011). Phosphodiesterase inhibitors. Part 2: design, synthe- sis, and structure-activity relationships of dual PDE3/4-inhibitory pyrazolo [1,5-α] pyridines with anti-inflammatory and bronchodilatory activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*,21, 5451-5456.

68. Saeed, M.M., Khalil, N.A., Ahmed, E.M. and Eissa, K.I. (2012). Synthesis and anti-inflammatory activity of novel pyridazine and pyridazinone derivatives as non-ulcerogenic agents. *Archivesof Pharmacal Research,* 35, 2077-2092.

69. Abouzid, K.A.M., Khalil, N.A., Ahmed, E.M., Esmat, A. and Al-Abd A.M. (2012). Design, synthesis, and evaluation of anti-inflammatory and ulcerogenicity of novel pyridazinone derivatives. *Medicinal Chemistry Research,* 21, 3581-3590.

70. Sharma, D. and Bansal, R. (2016). Synthesis of 2-substituted-4-aryl-6-phenylpyridazin-3 (2H)-ones as potential anti-inflammatory and analgesic agents with cardioprotective and ulcerogenic sparing effects. *Medicinal Chemistry Research,* 25(8), 1574-1589.

71. Asano, T., Yamazaki, H., Kasahara, C., Kubota, H., Kontani, T., Harayama, Y., Ohno, K., Mizuhara, H., Yokomoto, M., Misumi, K., Kinoshita, T., Ohta, M. and Takeuchi, M. (2012). Identification, synthesis and biological evaluation of 6-[(6R)-2- (4-Fluorophenyl)-6-(hydroxymethyl)-4,5,6, 7-tetrahydropyrazolo[1,5-α] pyrimidin-3-yl]-2- (2-methylphenyl) pyridazin-3(2*H*)-one (AS1940477), a Potent p38 MAP Kinase Inhibitor. *Journal of Medicinal Chemistry,*55, 7772-7785.

72. Tan, O.U., Ozden, K., Rauk, A. ve Balkan, A. (2010). Synthesis and cyclooxygenase inhibitory activities of some N-acylhydrazone derivatives of isoxazolo[4,5-d] pyridazin-4(5*H*)-ones. *European Journal of Medicinal Chemistry*,45, 2345-2352.

73. Tan, O.U., Ozadali, K., YesIiyurt, O., Kayir, H., Uzbay, T. ve Balkan, A. (2011). Synthesis and evaluation of the analgesic activity of some new isoxazolo[4,5-d] pyridazin- 4(5*H*)-one derivatives. *Turkish Journal of Chemistry,* 35, 121-130.

74. Sukoroglu, M., Ergun, B.K., Unlu, S., Sahin, M.F., Kupeli, E., Yesilada, E. ve Banoglu, E. (2005). Synthesis, analgesic and anti-inflammatory activities of [6-(3,5- dimethyl-4-chloropyrazole-l-yl)-3(2*H*)-pyridazinon-2yl] acetamides. *Archives of Pharmacal Research,* 28, 509-517.

75. Yuzhalin, A.E. and Kutikhin A.G. (2012). Interleukin-12: clinical usage and molecular markers of cancer susceptibility. *Growth Factors,* 30, 176-191.

76. Schulz, W.G., Islam, I. and Skibo, E.B.J. (1995). Pyrrolo [1,2-α] benzimidazole-based qui- nones and iminoquinones. The role of the 3-substituent on cytotoxicity. *Journal of Medicinal Chemistry,* 38, 109-118.

77. Islam-Skibo, E.B., Dorr, R.T. and Alberts, D.S.J. (1991). Structure-activity studies of antitumor agents based on pyrrolo [1,2-α] benzimidazoles: new reductive alkylating DNA cleaving agents. *Journal of Medicinal Chemistry,* 34, 2954-2961.

78. Yarden, Y. and Caldas C. (2013). Corrigendum to basic cancer research is essential for the success of personalised medicine. *European Journal of Cancer*,49, 2619-2620.

79. Yue, Q., Zhao, Y., Hai, L., Zhang, T., Guo, L. and Wu, Y. (2015). First synthesis of novel $3,3^{0}$- bipyridazine derivatives as new potent antihepatocellular carcinoma agents. *Tetrahedron,* 71, 7670-7675.

80. Wang, J., Tan, H., Sun, Q., Ge, Z., Wang, X., Wang, Y. and Li, R. (2015). Design, synthesis and biological evaluation of pyridazino[3,4,5-de] quinazolin-3(2*H*)-one as a new class of PARP-1 inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,*25, 2340-2344.

81. Xing, W., Ai, J., Jin, S., Shi, Z., Peng, X., Wang, L., Ji, Y., Lu, D., Liu, Y., Geng, M. and Hu, Y. (2015). Enhancing the cellular anti-proliferation activity of pyridazinones as c-Met inhibitors using docking analysis. *European Journal of Medicinal Chemistry,* 95, 302-312.

82. Dorsch, D., Schadt, O., Stieber, F., Meyring, M., Gradler, U., Bladt, F., Friese-Hamim, M., Knuhl, C., Pehl, U. and Blaukat, A. (2015). Identification and optimization of pyridazinones as potent and selective c-Met kinase inhibitors. *Bioorganic &Medicinal Chemistry Letters,*25, 1597-1602.

83. Zhou, S., Liao, H., He, C., Dou, Y., Jiang, M., Ren, L., Zhao, Y. and Gong, P. (2014). Design, synthesis and structure-activity relationships of novel 4-phenoxyquinoline derivatives containing pyridazinone moiety as potential antitumor agents. *European Journal of Medicinal Chemistry,*83, 581-593.

84. Kang, S.T., Kim, E.Y., Archary, R., Jung, H., Park, C.H., Yun, C.S., Hwang, J.Y., Choi, S.U., Chae, C., Lee, C.O., Kim, H.R., Ha, J.D., Ryu, D. and Cho, S.Y. (2014). Discovery of substituted 6-pheny-3H-pyridazin-3-one derivatives as novel c-Met kinase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,*24, 5093-5097.

85. Brooke, D.G., Van Dam, E.M., Watts, C.K., Khoury, A., Dziadek, M.A., Brooks, H., Graham, L.J., Flanagan, J.U. and Denny, W.A. (2014). Targeting the Warburg effect in cancer; relationships for 2-arylpyridazinones as inhibitors of the key glyco- lytic enzyme 6-phosphofructo-2-kinase/2,6-bisphosphatase 3 (PFKFB3). *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,*22, 1029-1039.

86. Csokas, D., Zupko, I., Karolyi, B.I., Drahos, L., Holczbauer, T., Pallo, A., Czugler, M. and Csampai, A. (2013). Synthesis, spectroscopy, X-ray analysis and in vitro anti-proliferative effect of ferrocenylmethylene-hydrazinylpyridazin-3(2*H*)-ones and related ferroceno[d]pyridazin-1(2*H*)-ones. *Journal of Organometallic Chemistry,* 743, 130-138.

87. Ovais, S., Javed, K., Yaseen, S., Bashir, R., Rathore, P., Yaseen, R., Hameed, A.D. and Samim, M. (2013). Synthesis, anti-proliferative and anti-inflammatory activities of some novel 6-aryl-2-(p-(methanesulfonyl) phenyl)-4,5-dihydropyridazi- 3(2*H*)-ones. *European Journal of Medicinal Chemistry,*67, 352-358.

88. Ryu, B.J., Kim, N., Kim, J.T., Koo, T.S., Yoo, S.E., Jeong, S.H., Kim, S.H. and Kang, N.S. (2013). Discovery of non-LBD inhibitor for androgen receptor by structure-guide design. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,*23, 3887-3890.

89. Zhu, G.D., Gong, J., Gandhi, V.B., Liu, X., Shi, Y., Johnson, E.F., Donawho, C.K., Ellis, P.A., Bouska, J.J., Osterling, D.J., Olson, A.M., Park, C., Luo, Y., Shoemaker, A., Giranda, V.L. and Penning, T.D. (2012). Discovery and SAR of orally efficacious tetrahy- dropyridopyridazinone PARP inhibitors for the treatment of cancer. *Bioorganic & Medicinal Chemistry,*20, 4635-4645.

90. Rathish, I.G., Javed, K., Ahmad, S., Bano, S., Alam, M.S., Akhter, M., Pillai, K.K., Ovais, S. and Samim, M. (2012). Synthesis and evaluation of anti-cancer activity of some novel 6-aryl-2-(p-sulfamylphenyl)-pyridazin-3(2*H*)-ones. *European Journal of Medicinal Chemistry,* 49, 304-309.

91. Al-Tel, T.H. (2010). Design and synthesis of novel tetrahydro-2*H*-Pyrano[3,2-c] Pyridazin-3(6*H*)-one derivatives as potential anti-cancer agents. *European Journal of Medicinal Chemistry,* 45(12), 5724-5731.

92. Jerome, K.D., Hepperle, M.E., Walker, M.E., Xing, L., Devraj, R.V., Benson, A.G., Baldus, J.E. and Selness, S.R. (2010). Discovery of 5-substituted-N-arylpyridazinones as inhibitors of p38 MAP kinase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*,20, 3146-3149.

93. Ferrigno, F., Branca, D., Kinzel, O., Lillini, S., Llauger-Bufi, L., Monteagudo, E., Muraglia, E., Rowley, M., Schultz-Fademrecht, C., Toniatti, C., Torrisi, C. and Jones, P. (2010). Development of substituted 6-[4-fluoro-3-(piperazin-1-ylcarbonyl) benzyl]-4,5-dimethylpyridazin-3(2*H*)-ones as potent poly (ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) inhibitors active in BRCA deficient cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20, 1100-1105.

94. Elagawany, M., Ibrahim, M.A., Ali-Ahmed, H.E., El-Etrawy, A., Ghiaty, A., Abdel-Samii, Z.K., El-Feky, S.A. and Bajorath, J. (2013). Design, synthesis and molecular modelling of pyridazinone and phthalazinone derivatives as protein kinases inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 23, 2007-2013.

95. Roman, G. (2015). Mannich bases in medicinal chemistry and drug design. *European Journal of Medicinal Chemistry*,89, 743-816.

96. Kim, E.Y., Kang, S.T., Jung, H., Park, C.H., Yun, C.S., Hwang, J.Y., Byun, B.J., Lee, C.O., Kim, H.R., Ha, J.D., Ryu, D.H. and Cho, S.Y. (2016). Discovery of substituted pyrazol-4-yl pyridazinone derivatives as novel c-Met kinase inhibitors. *Archives of Pharmacal Research*, 39, 453-464.

97. Murty, M.S.R., Rao, B.R., Ram, K.R., Yadav, J.S., Antony, J. and Anto, R.J. (2012). Synthesis and preliminary evaluation activity studies of novel 4-(aryl/heteroaryl-2-ylmethyl)-6 phenyl-2-[3-(4-substitutedpiperazine- 1-yl)propyl]pyridazin- 3(2*H*)-one derivatives as anti-cancer agents. *Medicinal Chemistry Research*, 21, 3161-3169.

98. Panathur, N., Gokhale, N., Dalimba, U., Koushik, P.V., Yogeeswari, P. and Sriram, D. (2016). Synthesis of novel 5-[(1,2,3-triazol-4-yl) methyl]-1-methyl-3*H*-pyridazino [4,5-b] indol-4-one derivatives by click reaction and exploration of their anti-cancer activity. *Medicinal Chemistry Research*,25, 135-148.

99. Marschall, M., Niemann, I., Kosulin, K., Bootz, A., Wagner, S., Dobner, T., Herz, T., Kramer, B., Leban, J., Vitt, D., Stamminger, T., Hutterer, C. and Strobl, S. (2013). Assessment of drug candidates for broad-spectrum anti-viral therapy targeting cellular pyrimidine biosynthesis, *Antiviral Research*, 100, 640-648.

100. Li, D., Zhan, P. X., Liu, P., Pannecouque, C., Balzarini, C., De Clercq, E. and Liu, X. (2013). Syn- thesis and biological evaluation of pyridazine derivatives as novel HIV-1 NNRTIs.*Bioorganic & Medicinal Chemistry,* 21, 2128-2134.

101. Wang, Z., Wang, M., Yao, X., Li, Y., Tan, J., Wang, L., Qiao, W., Geng, Y., Liu, Y. and Wang, Q. (2012). Design, synthesis and anti-viral activity of novel pyridazines. *Journal of Medicinal Chemistry*,54, 33-41.

102. Wiscount, C.M., Williams, P.D., Tran, L.O., Embrey, M.W., Fisher, T.E., Sherman, V., Homnick, C.F., Staas, D.D., Lyle, T.A., Wai, J.S., Vacca, J.P., Wang, Z., Felock, P.J., Stillmock, K.A., Witmer, M.V., Miller, M.D., Hazuda, D.J., Day, A.M., Gabryelski, L.J., Ecto, L.T., Schleif, W.A., DiStefano, D.J., Kochansky, C.J. and Anari, M.R. (2008). 10-Hydroxy-7,8-dihydropyrazino[1',2':1,5]pyrrolo[2,3-d]pyr- idazine-1,9(2*H*, 6*H*)-diones: potent, orally bioavailable HIV-1 integrase strand-transfer inhibitors with activity against integrase mutants. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,*18, 4581-4583.

103. Sweeney, Z.K., Dunn, J.P., Li, Y., Heilek, G., Dunten, P., Elworthy, T.R., Han, X., Harris, S.F., Hirschfeld, D.R., Hogg, J.H., Huber, W., Kaiser, A.C., Kertesz, D.J., Kim, W., Mirzadegan, T., Roepel, M.G., Saito, Y.D., Silva, T.M., Swallow, S., Tracy, J.L., Villasenor, A., Vora, H., Zhou, A.S. and Klumpp, K. (2008). Discovery and optimization of pyridazinone non-nucleoside inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,*18, 4352-4354.

104. Ellis, D.A., Blazel, J.K., Webber, S.E., Tran, C.V., Dragovich, P.S., Sun, Z., Ruebsam, F., McGuire, H.M., Xiang, A.X., Zhao, J., Li, L.S., Zhou, Y., Han, Q., Kissinger, C.R., Showalter, R.E., Lardy, M., Shah, A.M., Tsan, M., Patel, R., LeBrun, L.A., Kamran, R., Bartkowski, D.M., Nolan, T.G., Norris, D.A., Sergeeva, M.V. and Kirkovsky, L. (2008). 4(1,1-Dioxo-1,4-dihydro-1lambda6-benzo[1,4] thiazin-3-yl)-5-hydroxy-2*H*-pyridazin-3 ones as potent inhibitors of HCV NS5B polymerase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,*18, 4628-4632.

105. Ruebsam, F., Webber, S.E., Tran, M.T., Tran, C.V., Murphy, D.E., Zhao, J., Dragovich, P.S., Kim, S.H., Li, L.S., Zhou, Y., Han, Q., Kissinger, C.R., Showalter, R.E., Lardy, M., Shah, A.M., Tsan, M., Patel, R., Lebrun, L.A., Kamran, R., Sergeeva, M.V., Bartkowski, D.M., Nolan, T.G., Norris, D.A. and Kirkovsky, L. (2008). Pyrrolo[1,2-b]pyr- idazin-2-ones as potent inhibitors of HCV NS5B polymerase.*Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 18, 3616-3621.

106. Li, W., Li, X., Clercq, E.D., Zhan, P. and Liu, X. (2015). Discovery of potent HIV-1 non- nucleoside reverse transcriptase inhibitors from arylthioacetanilide struc- tural motif. *European Journal of Medicinal Chemistry,* 102, 167-179.

107. Venkatraj, M., Arien, K.K., Heeres, J., Dirie, B., Joossens, J., Goethem, S.V., Veken, P.V., Michiels, J., Velde, C.M.L.V., Vanham, G., Lewi, P.J. and Augustyns, K. (2011). Novel diarylpyridinones, diarylpyridazinones and diarylphthalazinones as potential HIV-1 nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs). *Bioorganic & Medicinal Chemistry,*19, 5924-5934.

108. Li, L.S., Zhou, Y., Murphy, D.E., Stankovic, N., Zhao, J., Dragovich, P.S., Bertolini, T., Sun, Z., Ayida, B., Tran, C.V., Ruebsam, F., Webber, S.E., Shah, A.M., Tsan, M., Showalter, R.E., Patel, R., Lebrun, L.A., Bartkowski, D.M., Nolan, T.G., Norris, D.A., Kamran, R., Brooks, J., Sergeeva, M.V., Kirkovsky, L., Zhao, Q. and Kissinger, C.R. (2008). Novel HCV NS5B polymerase inhibitors derived from 4-(1',1'-dioxo-1',4'-dihydro-1'L^6-benzo[1',2',4'] thiadiazin-3'-yl)-5-hydroxy-2*H*-pyridazin-3- ones. Part 3: further optimization of the 2-, 6-, and 7'-substituents and initial pharmacokinetic assessments. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,*18, 3446-3455.

109. Agarwal, V. and Aggarwal, A. (2011). Acute and chronic bacterial infections in rheumatology practice. *Indian Journal of Rheumatology,* 6, 69-74.

110. Nuutila, J., Jalava-Karvinen, P., Hohenthal, U., Kotilainen, P., Pelliniemi, T.T., Nikoskelainen, J. and Lilius, E.M. (2014). Bacterial infection (BI)-INDEX: an improved and simplified rapid flow cytometric bacterial infection marker.*Diagnostic Microbiology and Infectious Disease,* 78, 116-126.

111. Zych, A.J., Lam, S.Q., Jenkins, D.M., Herr, R.J., Ting, P.C., Lee, J.F., Kuang, R., Wu, H., Kim, D.W., Aslanian, R.G., Wainhaus, S., Black, T.A., Cacciapuoti, A., McNicholas, P.M., Xu, Y. and Walker, S.S. (2012). Lead optimization of a sulfonylurea-based piperazine pyridazinone series of glucan synthase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 22, 4896-4899.

112. Kuang, R., Wu, H., Ting, P.C., Aslanian, R.G., Cao, J., Kim, D.W., Lee, J.F., Schwerdt, J., Zhou, G., Herr, R.J., Zych, A.J., Yang, J., Lam, S.Q., Jenkins, D.M., Sakwa, S.A., Wainhaus, S., Black, T.A., Cacciapuoti, A., McNicholas, P.M., Xu, Y. and Walker, S.S. (2012). The optimization of pyridazinone series of glucan synthase in- hibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 22, 5268-5271.

113. Sonmez, M., Berber, I. ve Akbas, E. (2006). Synthesis, antibacterial and antifungal activity of some new pyridazinone metal complexes. *European Journal of Medicinal Chemistry,* 41, 101-105.

114. Sowmya, H.B.V., Suresha-Kumara, T.H., Nagendrappa, G., Jasinski, J.P., Millikan, S.P., Jose, G., Sujan, R.D. and Ganapathy, P.S. (2013). Solvent free synthesis, crystal studies, docking studies and antibacterial properties of some novel fluorinated pyridazinone derivatives. *Journal of Molecular Structure,*1054, 179-187.

115. Akbas, E. ve Berber, I. (2005). Antibacterial and antifungal activities of new pyrazolo [3,4-d] pyridazin derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry,* 40, 401-405.

116. Ting, P.C., Kuang, R., Wua, H., Aslanian, R.G., Cao, J., Kim, D.W., Lee, J.F., Schwerdt, J., Zhou, G., Wainhaus, S., Black, T.A., Cacciapuoti, A., McNicholas, P.M., Xu, Y. and Walker, S.S. (2011). The synthesis and structure-activity relationship of pyridazinones as glucan synthase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 21,1819-1822.

117. Faidallah, H.M., Rostom, S.A.F., Basaif, S.A., Makki, M.S.T. and Khan, K.A. (2013). Synthesis and biological evaluation of some novel urea and thiourea derivatives of isoxazolo[4,5-d] pyridazine and structurally related thiazolo[4,5-d] pyridazine as antimicrobial agents. *Archives of Pharmacal Research,* 36, 1354-1368.

118. Nagle, P., Pawar, Y., Sonawane, A., Bhosale, S. and More, D. (2014). Docking simulation, synthesis and biological evaluation of novel pyridazinone containing thymol as potential anti-microbial agents. *Medicinal Chemistry Research*, 23, 918-926.

119. Sallam, M.S., El-Hashash, M.A. and Guirguis, D.B. (2016). Synthesis and antimicrobial activity of some novel substituted pyridazin-3(2*H*)-ones containing 1,3,4-thiadiazole moiety. *Medicinal Chemistry Research,* 25, 369-380.

120. Kennedy, C. (2013). The importance of drug discovery for treatment of cardiovascular diseases. *Future Medicinal Chemistry,* 5, 355-357.

121. Mishra, R., Siddiqui, A.A., Husain, A., Rashid, M., Prakash, A., Tailang, M., Kumar, M. and Srivastava, N. (2011). Synthesis, characterization and antihypertensive activity of some new substituted pyridazine derivatives. *Journal of The Chilean Chemical Society,* 56, 856-859.

122. Costas, T., Costas-Lago, M.C., Vila, N., Besada, P., Cano, E. and Teran, C. (2015). New platelet aggregation inhibitors based on pyridazinone moiety. *European Journal of Medicinal Chemistry,* 94, 113-122.

123. Maatougui, A.E., Azuaje, J., Sotelo, E., Caamano, O. and Coelho, A. (2011). Silica-supported aluminum chloride-assisted solution phase synthesis of pyridazinone-based antiplatelet agents. *ACS Combinatorial Science,*13, 7-12.

124. Costas, T., Besada, P., Piras, A., Acevedo, L., Yanez, M., Orallo, F., Laguna, R. and Teran, C. (2010). New pyridazinone derivatives with vasorelaxant and platelet antiaggregatory activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,*20, 6624-6627.

125. Meyers, C., Yanez, M., Elmaatougi, A., Verhelst, T., Coelho, A., Fraiz, N., Lemiere, G.L., Garcia-Mera, X., Laguna, R., Cano, E., Maes, B.U. and Sotelo, E. (2008). 2-Substituted 4-, 5-, and 6-[(1E)-3-oxo-3-phenylprop-1-en-1-yl]pyridazin- 3(2*H*)-ones and 2-substituted 4,5-bis[(1E)-3-oxo-3-phenylprop-1-en-1-yl] pyridazin-3(2*H*)-ones as potent platelet aggregation inhibitors: design, synthesis and SAR studies. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,*18, 793-797.

126. Crespo, A., Meyers, C., Coelho, A., Yanez, M., Fraiz, N., Sotelo, E., Maes, B.U., Laguna, R., Cano, E., Lemiere, G.L. and Ravina, E. (2006). Pyridazines part 41: Synthesis, antiplatelet activity and SAR of 2,4,6-substituted 5-(3-oxo-3-phenylprop-1-en-1-yl)- or 5-(3-phenylprop-2-enoyl) pyridazin-3(2*H*)-ones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,*16, 1080-1083.

127. Coelho, A., Sotelo, E., Fraiz, N., Yanez, M., Laguna, R., Cano, E. and Ravina, E. (2004). Pyridazines. Part 36: synthesis and antiplatelet activity of 5-substituted-6- phenyl-3(2*H*)-pyridazinones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,*14, 321-324.

128. Sotelo, E., Fraiz, N., Yanez, M., Laguna, R., Cano, E., Breab, J. and Ravina, E. (2002). Pyridazines. Part 28: 5-Alkylidene-6-phenyl-3(2*H*)-pyridazinones, a new family of platelet aggregation inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,*12, 1575-1577.

129. Sotelo, E., Fraiz, N., Yanez, M., Terrades, V., Laguna, R., Canob, E. and Ravina, E. (2002). Pyridazines Part XXIX: synthesis and platelet aggregation inhibition activity of 5-substituted-6-phenyl-3(2*H*)-pyridazinones. Novel aspects of their bio- logical action. *Bioorganic & Medicinal Chemistry,*10, 2873-2882.

130. Linden, E.B., Pihlavisto, M., Szatmaari, I., Otwinowski, Z., Smith, D.J., Lazar, L., Fulop, F. and Salminen, T.A. (2013). Novel pyridazinone inhibitors for Vascular Adhesion Protein-1 (VAP-1): old target-new inhibition mode. *Journal of Medicinal Chemistry,*56, 9837-9848.

131. Purohit, A., Radeke, H., Azure, M., Hanson, K., Benetti, R., Su, F., Yalamanchili, P., Yu, M., Hayes, M., Guaraldi, M., Kagan, M., Robinson, S. and Casebier, D. (2008). Synthesis and biological evaluation of pyridazinone analogues as potential cardiac positron emission tomography tracers. *Journal of Medicinal Chemistry,*51, 2954-2970.

132. Siddiqui, A.A., Mishra, R. and Shaharyar, M. (2010). Synthesis, characterization and antihypertensive activity of pyridazinone derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry,*45, 2283-2290.

133. Abouzid, K., Abdel-Hakeem, M., Khalil, O. and Maklad, Y. (2008). Pyridazinone derivatives: design, synthesis and in vitro vasorelaxant activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 16, 382-389.

134. Munin, J., Quezada, E., Cuinas, A., Toimil, M.C., Uriarte, E., Santana, L. and Vina, D. (2014). Synthesis, biological evaluation and structureeactivity relationships of new phthalazinedione derivatives with vasorelaxant activity. *European Journal of Medicinal Chemistry,*82,407-417.

135. Amin, E.N., Abdel-Alim, A.M., Abdel-Moty, S.G., Shorbagi, A.A.E. and Abdel-Rahman, M. (2010). Synthesis of new 4,5-3(2*H*) pyridazinone derivatives and their cardiotonic, hypotensive and platelet aggregation inhibition activities. *Archives of Pharmacal Research,* 33, 25-46.

136. Coelho, A., Ravina, E., Fraiz, N., Yanez, M., Laguna, R., Cano, E. and Sotelo, E. (2007). Design, synthesis and structure-activity relationships of a novel series of 5-alkylidenepyridazin-3(2*H*)-ones with a non-cAMP based antiplatelet activ- ity. *Journal Medicinal Chemistry*, 6476-6484.

137. Siddiqui, A.A., Mishra, R., Shaharyar, M., Husain, A., Rashid, M. and Pal, P. (2011). Triazole incorporated pyridazinones as a new class of antihypertensive agents: design, synthesis and in vivo screening. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,*21, 1023-1026.

138. Global Tuberculosis Report. (2015). 1-3 published by the World Health Organization.

139. Grenet, K., Guillemot, D., Jarlier, V., Moreau, B., Dubourdieu, S., Ruimy, R., Lefevre, L.A., Brau, P. and Andremont, A. (2004). Antibacterial resistance, wayampis am-erindians, french guyana. *Emerging Infectious Diseases,* 10, 1150-1153.

140. Cohen, J. (2004). New TB drug promises shorter, simpler treatment. *Science* 306, 1872.

141. Li, K., Schurig-Briccio, L.A., Feng, X., Upadhyay, A., Pujari, V., Lechartier, B., Fontes, F.L.,Yang, H., Rao, G., Zhu, W., Gulati, A., No, J.H., Cintra, G., Bogue, S., Liu, Y.L., Molohon, K., Orlean, P., Mitchell, D.A., Freitas-Junior, L., Ren, F., Sun, H., Jiang, T., Li, Y., Guo, R.T., Cole, S.T., Gennis, R.B., Crick, D.C. and Oldfield, E. (2014). Multi-target drug discovery for tuberculosis and other infectious diseases. *Journal of Medicinal Chemistry,* 57, 3126-3139.

142. Mantu, D., Luca, M.C., Moldoveanu, C., Zbancioc, G. and Mangalagiu, I.I. (2010). Synthesis and antituberculosis activity of some new pyridazine derivatives. Part II. *European Journal of Medicinal Chemistry,* 45(11), 5164-5168.

143. Tan, O.U., Ozadali, K., Yogeeswari, P., Sriram, D., Balkan, A. (2012). Synthesis and antimycobacterial activities of some new N-acylhydrazone and thio- semicarbazide derivatives of 6-methyl-4,5-dihydropyridazin-3(2*H*)-one. *Medicinal Chemistry Research,* 21, 2388-2394.

144. Matsuzawa, Y. (2005). Adiponectin: identification, physiology and clinical relevance in metabolic and vascular disease. *Atherosclerosis Supplements,* 6, 7-14.

145. Oost, T., Heckel, A., Kley, J.T., Lehmann, T., Muller, S., Roth, G.J., Rudolf, K., Arndt, K., Budzinski, R., Lenter, M., Lotz, R.R., Maier, G.M., Markert, M., Thomas, L. and Stenkamp, D. (2015). Design, synthesis and evaluation of MCH receptor 1 antagonistsePart III: discovery of pre-clinical development candidate BI 186908. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 25, 3275-3280.

146. Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R. and King, H. (2004). Global prevalence of diabetes. *Diabetes Care,* 27, 1047-1053.

147. Fukuen, S., Iwaki, M., Yasui, A., Makishima, M., Matsuda, M. and Shimomura, I. (2005). Sulfonylurea agents exhibit peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonistic activity. *Journal of Biological Chemistry*, 280, 23653-23659.

148. Scarsi, M., Podvinec, M., Roth, A., Hug, H., Kersten, S., Albrecht, H., Schwede, T., Meyer, U.A. and Rucker, C. (2007). Sulfonylureas and glinides exhibit peroxisome proliferator-activated receptor gamma activity: a combined virtual screening and biological assay approach. *Molecular Pharmaceutics*, 71, 398-406.

149. Arrault, A., Rocchi, S., Picard, F., Maurois, P., Pirotte, B. and Vamecq, J. (2009). A short series of anti-diabetic sulfonylureas exhibit multiple ligand PPAR gamma-binding patterns.*Biomedicine & Pharmacotherapy,* 63, 56-62.

150. Lee, K.W., Ku, Y.H., Kim, M., Ahn, B.Y., Chung, S.S. and Park, K.S. (2011). Effects of sulfo- nylureas on peroxisome proliferator-activated receptor gamma activity and on glucose uptake by thiazolidinediones. *Diabetes & Metabolism Journal,* 35, 340-347.

151. Inukai, K., Watanabe, M., Nakashima, Y., Takata, N., Isoyama, A., Sawa, T., Kurihara, S., Awata, T. and Katayama, S. (2005). Glimepiride enhances intrinsic peroxi- some proliferator-activated receptor-gamma activity in 3T3-L1 adipocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications,* 328, 484-490.

152. Rathish, I.G., Javed, K., Bano, S., Ahmad, S., Alam, M.S. and Pillai, K.K. (2009). Synthesis and blood glucose lowering effect of novel pyridazinone substituted benzene-sulfonylurea derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry,* 44, 2673-2678.

153. Zimmerman, G. and Soreq, H. (2006). Termination and beyond: acetylcholinesterase as a modulator of synaptic transmission. *Cell and Tissue Research,*326, 655-669.

154. Lin, H., Fang, H., Wang, J., Meng, Q., Dai, X.,Wu, S., Luo, J., Pu, D., Chen, L., Minick, D., Arai, K., Mandeville, E.T., Lo, E., Holder, J.C., Chuang, T.T. and Zhao, J. (2015). Discovery of a novel 2,3,11,11a-tetrahydro-1H-pyrazino[1,2-b]isoquinoline- 1,4(6*H*)-dione series promoting neurogenesis of human neural progenitor cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 25, 3748-3753.

155. Boukharsa, Y., Meddah, B., Tiendrebeogo, R.Y., Ibrahimi, A., Taoufik, J., Cherrah, Y., Benomar, A., Faouzi, M.E.A. and Ansar, M. (2016). Synthesis and antidepressant activity of 5-(benzo[b]furan-2-ylmethyl)-6-methylpyridazin-3(2*H*)-one derivatives. *Medicinal Chemistry Research,* 25, 494-500.

156. Cao, X., Chen, Y., Zhang, Y., Lan, Y., Zhang, J., Xu, X., Qiu, Y., Zhao, S., Liu, X., Liu, B.F. and Zhang, G. (2016). Synthesis and biological evaluation of novel s1 receptor ligands for treating neuropathic Pain: 6-Hydroxypyridazinones. *Journal of Medicinal Chemistry,* 59, 2942-2961.

157. Sharma, B., Verma, A., Sharma, U.K. and Prajapati, S. (2014). Efficient synthesis, anticonvulsant and muscle relaxant activities of new 2-((5-amino-1,3,4-thiadiazol- 2-yl) methyl)-6-phenyl-4,5- dihydropyridazin-3(2H)-one derivatives. *Medicinal Chemistry Research,* 23,146-157.

158. Kuroda, S., Akahane, A., Itani, H., Nishimura, S., Durkin, K., Tenda, Y. and Sakane K. (2000). Novel adenosine A_1 receptor antagonists. Synthesis and structure-activity relationships of a novel series of 3-(2-cyclohexenyl-3-oxo-2,3 dihydropyridazin- 6-yl)-2-phenylpyrazolo[1,5-a] pyridines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry,* 8, 55-64.

159. Betti, L., Floridi, M., Giannaccini, G., Manetti, F., Strappaghetti, G., Tafic, A. and Bottac, M. (2003). a_1-Adrenoceptor antagonists. 5. Pyridazinone-aryl piperazines. Probing the influence on affinity and selectivity of both ortho-alkoxy Groups at the arylpiperazine moiety and cyclic substituents at the pyridazinone nucleus. *Bioorganic & Medicinal Chemistry,*13,171-173.

160. Piaz, V.D., Rascon, A., Dubra, M.E., Giovannoni, M.P., Vergelli, C. and Castellana, M.C. (2002). Isoxazolo[3,4-d] pyridazinones and analogues as Leishmania mexicana PDE inhibitors. *II Farmaco,* 57, 89-96.

161. Kim, J.J., Kweon, D.H., Cho, S.D., Kim, H.K., Jung, E.Y., Lee, S.G., Falck, J.R. and Yoon, Y.J. (2005). 2-Cyanopyridazin-3(2H)-ones: effective and chemoselective electrophilic cyanating agents. *Tetrahedron.* 61, 5889-5894.

162. Matsuda, T., Aoki, T., Koshi, T., Ohkuchi, M. and Shigyo, H. (2001). Synthesis and bioactivities of novel 5,6-bis(4-methoxyphenyl)- 2H-pyridazin-3-one derivatives: inhibitors of Interleukin-1 Beta (IL-1b) Production. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 11,2373-2375.

163. Tsubaki, K., Taniguchi, K., Tabuchi, S., Okitsu, O., Hattori, K., Seki, J., Sakanea, K. and Tanaka, H. (2000). A novel pyridazinone derivative as a nonprostanoid PGI2 agonist. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 10, 2787-2790.

164. Vila, N., Besada, P., Costas, T., Costas-Lago, M.C. and Teran C. (2015). Phthalazin-1(2*H*)-one as a remarkable scaffold in drug discovery. *European Journal of Medicinal Chemistry,* 97, 462-482.

165. Giovannoni, M.P., Ciciani, G., Cilibrizzi, A., Crocetti, L., Daniele, S., Mannelli, L.D.C., Ghelardini, C., Giacomelli, C., Guerrini, G., Martini, C., Trincavelli, M.L. and Vergelli, C. (2015). Further studies on pyrazolo [1',5':1,6] pyrimido [4,5-d] pyridazin -4(3*H*)-ones as potent and selective human A1 adenosine receptor antagonists. *European Journal of Medicinal Chemistry,* 89, 32-41.

166. Hudkins, R.L., Becknell, N.C., Lyons, J.A., Aimone, L.D., Olsen, M., Haltiwanger, R.C., Mathiasen, J.R., Raddatz, R. and Gruner, J.A. (2015). 3,4-Diaza-bicyclo [4.1.0] hept-4-en-2-one phenoxypropylamine analogs of irdabisant (CEP- 26401) as potent histamine-3 receptor inverse agonists with robust wakepromoting activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 95,349-356.

167. Baladi, T., Abet, V. and Piguel, S. (2015). State-of-the-art of small molecule inhibitors of the TAM family: the point of view of the chemist. *European Journal of Medicinal Chemistry,* 105, 220-237.

168. Li, M. and Zhao, B.X. (2014). Progress of the synthesis of condensed pyrazole derivatives (from2010 to mid-2013). *European Journal of Medicinal Chemistry,* 85, 311-340.

169. Xing, W., Fub, Y., Shi, Z., Lu, D., Zhang, H. and Hu, Y. (2013). Discovery of novel 2,6-disubstituted pyridazinone derivatives as acetylcholinesterase inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 63, 95-103.

170. Barbaro, R., Betti, L., Botta, M., Corelli, F., Giannaccini, G., Maccari, L., Manetti, F., Strappaghetti, G. and Corsano, S. (2001). Synthesis, biological evaluation, and pharmacophore generation of new pyridazinone derivatives with affinity toward a1- and a2-adrenoceptors. *Journal of Medicinal Chemistry,* 44, 2118-2132.

171. Giovannoni, M.P., Vergelli, C., Ghelardini, C., Galeotti, N., Bartolini, A. and Piaz, V.D. (2003). [(3Chlorophenyl) piperazinylpropyl] pyridazinones and analogues as potent antinociceptive agents. *Journal of Medicinal Chemistry,* 46, 1055-1059.

172. Hudkins, R.L., Raddatz, R., Tao, M., Mathiasen, J.R., Aimone, L.D., Becknell, N.C., Prouty, C.P., Knutsen, L.J.S., Yazdanian, M., Moachon, G., Ator, M.A., Mallamo, J.P., Marino, M.J., Bacon, E.R. and Williams, M. (2011). Discovery and characterization of 6- {4- [3-(R)-2-Methylpyrrolidin-1-yl) propoxy] phenyl}-2H-pyridazin-3-one (CEP-26401, Irdabisant): a potent, selective histamine H3 receptor inverse agonist. *Journal of Medicinal Chemistry,* 54, 4781-4792.

173. Bashir, R., Yaseen, S., Ovais, S., Hamid, H., Alam, M.S., Samim, M. and Javed, K. (2012). Synthesis and blood glucose lowering activity of some novel benzenesulfonylthiourea derivatives substituted with 6-aryl-4,5-dihyropyridazin-3(2H)-ones. *Medicinal Chemistry Research,* 21, 428-436.

174. Liu, Y., Jin, S., Peng, X., Lu, D., Zeng, L., Sun, Y., Ai, J., Geng, M. and Hu, Y. (2016). Pyridazinone derivatives displaying highly potent and selective inhibitory activities against c-Met tyrosine kinase. *European Journal of Medicinal Chemistry,* 108, 322-333.

175. Cesari, N., Biancalani, C., Vergelli, C., Piaz, V.D., Graziano, A., Biagini, P., Ghelardini, C., Galeotti, N. and Giovannoni, M.P. (2006). Arylpiperazinylalkylpyridazinones and analogues as potent and orally active antinociceptive agents: synthesis and studies on mechanism of action. *Journal of Medicinal Chemistry,*49, 7826-7835.

176. Bruel, A., Logae, C., Tauzia, M.L., Ravache, M., Guevel, R.L., Guillouzo, C., Lohier, J.F., Santos, J.S.O., Lozach, O., Meijer, L., Ruchaud, S., Benedetti, H. and Robert, J.M. (2012). Synthesis and biological evaluation of new 5-benzylated 4-oxo- 3,4-dihydro-5Hpyridazino[4,5-b] indoles as PI3Ka inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 57 225-233.

177. Giovannoni, M.P., Schepetkin, I.A., Cilibrizzi, A., Crocetti, L., Khlebnikov, A.I., Dahlgren, C., Graziano, A., Piaz, V.D., Kirpotina, L.N., Zerbinati, S., Vergelli, C. and Quinn, M.T. (2013). Further studies on 2-arylacetamide pyridazin-3(2H)-ones: design, synthesis and evaluation of 4,6-disubstituted analogs as formyl peptide receptors (FPRs) agonists. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 64, 512-528.

178. Vergelli, C., Ciciani, G., Cilibrizzi, A., Crocetti, L., Mannelli, L.D.C., Ghelardini, C. and Guerrini, G. (2015). A. Iacovone, M.P. Giovannoni, Synthesis of five and sixmembered heterocycles bearing an arylpiperazinylalkyl side chain as orally active antinociceptive agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 23, 6237-6245.

179. Veerman, J., Bergh, T., Orrling, K.M., Jansen, C., Cos, P., Maes, L., Chatelain, E., Ioset, J.R., Edink, E.E., Tenor, H., Seebeck, T., Esch, I., Leurs, R. and Sterk, G.J. (2016). Synthesis and evaluation of analogs of the phenylpyridazinone NPD-001 as potent trypanosomal TbrPDEB1 phosphodiesterase inhibitors and in vitro trypanocidals.*Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 24, 1573-1581.

180. Hudkins, R.L., Josef, K.A., Becknell, N.C., Aimone, L.D., Lyons, J.A., Joanne, R., Mathiasen, J.A. and Raddatz, R. (2014). Discovery of (1R,6S)-5- [4-(1-cyclobutylpiperidin- 4-yloxy)-phenyl]- 3,4-diaza-bicyclo [4.1.0] hept-4-en-2-one: histamine H_3 receptor inverse agonist demonstrating potent cognitive enhancing and wake promoting activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,*24, 1303-1306.

181. Biancalani, C., Giovannoni, M.P., Pieretti, S., Cesari, N., Graziano, A., Vergelli, C., Cilibrizzi, A., Gianuario, A.D., Colucci, M., Mangano, G., Garrone, B., Polenzani, L. and Piaz, V.D. (2009). Further studies on arylpiperazinyl alkyl pyridazinones: discovery of an exceptionally potent, orally active, antinociceptive agent in thermally induced pain. *Journal of Medicinal Chemistry*, 52, 7397-7409.

182. Hudkins, R.L., Aimone, L.D., Dandu, R.R., Dunn, D., Gruner, J.A., Huang, Z., Josef, K.A., Lyons, J.A., Mathiasen, J.R., Tao, M., Zulli, A.L. and Raddatz, R. (2012). 4,5-Dihydropyridazin-3-one derivatives as histamine H_3 receptor inverse agonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry jnLetters*, 22,194-198.

183. Bruel, A., Beneteau, R., Chabanne, M., Lozach, O., Guevel, R.L., Ravache, M., Benedetti, H., Meijer, L., Loge, C. and Robert, J.M. (2014). Synthesis of new pyridazino[4,5- b]indol-4-ones and pyridazin-3(2H)-one analogs as DYRK1A inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 24, 5037-5040.

184. Becknell, N.C., Lyons, J.A., Aimone, L.D., Huang, Z., Gruner, J.A., Raddatz, R. and Hudkins, R.L. (2012). Synthesis and evaluation of 4- and 5-pyridazin-3-one phenoxypropylamine analogues as histamine-3 receptor antagonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 20, 3880-3886.

185. Betti, L., Zanelli, M., Giannaccini, G., Manetti, F., Schenoned, S. and Strappaghettib, G. (2006). Synthesis of new piperazineepyridazinone derivatives and their binding affinity toward a_1-, a_2-adrenergic and 5-HT1A serotoninergic receptors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14,2828-2836.

186. Vergelli, C., Schepetkin, I.A., Ciciani, G., Cilibrizzi, A., Crocetti, L., Giovannoni, M.P., Guerrini, G., Iacovone, A., Kirpotina, L.N., Khlebnikov, A.I., Ye, R.D. and Quinn M.T. (2016). 2-Arylacetamido-4-phenylamino-5-substituted pyridazinones as formyl peptide receptors agonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 24, 2530-2543.

187. Gong, Y., Barbay, J.K., Dyatkin, A.B., Miskowski, T.A., Kimball, E.S., Prouty, S.M., Fisher, M.C., Santulli, R.J., Schneider, C.R., Wallace, N.H., Ballentine, S.A., Hageman, W.E., Masucci, J.A., Maryanoff, B.E., Damiano, B.P., Gordon, P.A., Hlasta, D.J., Hornby, P.J. and He, W. (2006). Synthesis and biological evaluation of novel pyridazinone-based integrin receptor antagonists. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49, 3402-3411.

188. Giovannoni, M.P., Cesari, N., Vergelli, C., Graziano, A., Biancalani, C., Biagini, P., Ghelardini, C., Vivoli, E. and Piaz, V.D. (2007). 4-Amino-5-substituted-3(2*H*)-pyridazinones as orally active antinociceptive agents: synthesis and studies on the mechanism of action. *Journal of Medicinal Chemistry*, 50, 3945-3953.

189. Tao, M., Aimone, L.D., Huang, Z., Mathiasen, J., Raddatz, R., Lyons, J. and Hudkins, R.L. (2012). Optimization of 5-Pyridazin-3-one Phenoxypropylamines as potent, selective histamine H_3 receptor antagonists with potent cognition enhancing activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 55, 414-423.

190. Jiang, J.K., Boxer, M.B., Heiden, M.G.V., Shen, M., Skoumbourdis, A.P., Southall, N., Veith, H., Leister, W., Austin, C.P., Park, H.W., Inglese, J., Cantley, L.C., Auld, D.S. and Thomas, C.J. (2010). Evaluation of thieno[3,2-b] pyrrole [3,2-d] pyridazinones as activators of the tumor cell specific M_2 isoform of pyruvate kinase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20, 3387-3393.

191. Young, W.B., Barbosa, J., Blomgren, P., Bremer, M.C., Crawford, J.J., Dambach, D., Eigenbrot, C., Gallion, S., Johnson, A.R., Kropf, J.E., Lee, S.H., Liu, L., Lubach, J.W., Macaluso, J., Maciejewski, P., Mitchell, S.A., Ortwine, D.F., Paolo, J.D., Reif, K., Scheerens, H., Schmitt, A., Wang, X., Wonga, H., Xiong, J.M., Xu, J., Yu, C., Zhao, Z. and Currie, K.S. (2016). Discovery of highly potent and selective Bruton's tyrosine kinase inhibitors: pyridazinone analogs with improved metabolic stability. *Bioorganic &Medicinal Chemistry Letters*, 26,575-579.

192. Hudkins, R.L., Aimone, L.D., Bailey, T.R., Bendesky, R.J., Dandu, R.R., Dunn, D., Gruner, J.A., Josef, K.A., Lin, Y.G., Lyons, J., Marcy, V.R., Mathiasen, J.R., Sundar, B.G., Tao, M., Zulli, A.L., Raddatz, R. and Bacon, E.R. (2011). Identification of pyridazin- 3-one derivatives as potent, selective histamine H_3 receptor inverse agonists with robust wake activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 21, 5493-5497.

193. Allerton, C.M.N., Andrews, M.D., Blagg, J., Ellis, D., Evrard, E., Green, M.P., Liu, K.K.C., McMurray, G., Ralph, M., Sanderson, V., Ward, R. and Watson, L. (2009). Design and synthesis of pyridazinone-based 5-HT2C agonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 19, 5791-5795.

194. Kelly, M.J., Cole, S.P., Larigan, J.D., Haynes, N.E., Reynolds, C.H., Scott, N., Vermeulen, J., Dvorozniak, M., Knape, K.C., Huang, K.S., So, S.S., Thakkar, K., Qian, Y., Banner, B., Mennona, F., Danzi, S., Klein, I., Taub, R. and Tilley, J. (2014). Discovery of 2- [3,5-Dichloro-4-(5-isopropyl-6-oxo-1,6- dihydropyridazin-3-yloxy) phenyl]-3,5-dioxo-2,3,4,5- tetrahydro[1,2,4]triazine-6-carbonitrile (MGL- 3196), a highly selective thyroid hormone receptor b agonist in clinical trials for the treatment of dyslipidemia. *Journal of Medicinal Chemistry*, 57, 3912-3923.

195. Betti, L., Corelli, F., Floridi, M., Giannaccini, G., Maccari, L., Manetti, F., Strappaghetti, G. and Botta, M. (2003). r1-Adrenoceptor antagonists. 6.1 structural optimization of pyridazinone-arylpiperazines. study of the influence on affinity and selectivity of cyclic substituents at the pyridazinone ring and alkoxy groups at the arylpiperazine moiety. *Journal of Medicinal Chemistry*, 46, 3555-3558.

196. Tapia, F.L., Walker, K.A.M., Pleiss, C.B., Caroon, J., Nitzan, D., Lowrie, L., Gleason, S., Zhao, S.H., Berger, J., Cockayne, D., Phippard, D., Suttmann, R., Fitch, W.L., Bourdet, D., Rege, P., Huang, X., Broadbent, S., Dvorak, C., Zhu, J., Wagner, P., Padilla, F., Loe, B., Jahangir, A. and Alker, A. (2015). Novel series of dihydropyridinone P2X7 receptor antagonists. *Journal of Medicinal Chemistry*, 58, 8413-8426.

197. Giovannoni, M.P., Vergelli, C., Biancalani, C., Cesari, N., Graziano, A., Biagini, P., Gracia, J., Gavalda, A. and Piaz, V.D. (2006). Novel pyrazolopyrimidopyridazinones with potent and selective phosphodiesterase 5 (PDE5) inhibitory activity as potential agents for treatment of erectile dysfunction. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49, 5363-5371.

198. Demirayak, S., Karaburun, A.C., Kayagil, I., Erol, K. ve Sirmagul, B. (2004). Some pyridazinone and phthalazinone derivatives and their vasodilator activities. *Archives of Pharmacal Research*, 27, 13-18.

199. Han, X., Hong, H.X., Quan, Z.Y., Mao, Z.X., Bin, L., Zhong, H.F. and Zheng, Y.H. (2010). Synthesisand herbicidal activities of novel 4-(3-trifluoromethylphenyl)-2Hpyridazin- 3-one derivatives. *Science China Chemistry*,53, 157-166.

200. Guyton, A.C. and Hall, J.E. (2000). *Medical Physiology*. 10th ed., Philadelphia, Pennsylvania, 753-763.

201. Özdemir, Z., Özçelik, B. ve Uysal, M. (2018). Approaches based on cholinergic hypotesis and cholinesterase inhibitor in the treatment alzheimer disease. *Frontier in Clinical Drug Research- Alzheimer Disorders*, 8, 1-37.

202. Brookmeyer, R., Abdalla, N., Kawas, C.H. and Corrada, M.M. (2018). Forecasting the prevalence of preclinical and clinical Alzheimer's disease in the united states. *Alzheimer's & Dement,*14(2), 121-9.

203. Rashid, U. and Ansari, F. L. (2014). *Challenges in designing therapeutic agents for treating alzheimer's disease-from serendipity to rationality*. In Drug Design and Discovery in Alzheimer's Disease, Elsevier, 40-141.

204. Cummings, J.L., Morstorf, T. and Zhong, K. (2007). Alzheimer's disease drugdevelopment pipeline: Few candidates, frequent failures. *Alzheimer's Research & Therapy*, 6, 1-7.

205. Ballard, C., Gauthier, S., Corbett, A., Brayne, C., Aarsland, D. and Jones, E. (2011). Alzheimer's disease. *The Lancett*, 377, 1019-31.

206. Ferri, C.P., Prince, M., Brayne, C., Brodaty, H., Fratiglioni, L., Ganguli, M. and Jorm, A. (2005). Global prevalence of dementia: A delphi consensus study. *The Lancett*, 366, 2112-2117.

207. Mendiola-Precoma, J., Berumen, L.C., Padilla, K. and Garcia-Alcocer, G. (2016). Therapies for Prevention and Treatment of Alzheimer's Disease. *BioMed Research İnternational*, 1-17.

208. Anand, P. and Singh, P. (2013). A review on cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Archives of Pharmacal Research*, 36, 375-99.

209. Tampi, R.R., Tampi, D.J. and Ghori, A.K. (2016). AChE inhibitors for delirium in older adults. *American Journal of Alzheimer's Disease & Other Dementias*, 31(4),305-10.

210. Geldenhuys, W.J. and Darvesh, A.S. (2015). Pharmacotherapy of Alzheimer's disease: current and future trends. *Expert Review of Neurotherapeutics*,15(1), 3-5.

211. Hampel, H., Mesulam, M.M. and Cuello, A.C., (2018). The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. *Brain*, 141(9),1917-33.

212. Belluti, F., Bartolini, M., Bottegoni, G., Bisi, A., Cavalli, A., Andrisano, V. and Rampa, A. (2011). Benzophenone-based derivatives: A novel series of potent and selective dual inhibitors of (AChE) and AChE-induced betaamyloid aggregation. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46, 1682-93.

213. García-Font, N., Hayour, H., Belfaitah A., Pedraz, J., Moraleda, I., Iriepa, I. and Oset-Gasque, M. J. (2016). Potent anticholinesterasic and neuroprotective pyranotacrines as inhibitors of beta-amyloid aggregation, oxidative stress and tau-phosphorylation for Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 118,178-92.

214. Terry, A.V. (2003). The cholinergic hypothesis of age and Alzheimer's disease-related cognitive deficits: Recent challenges and their ımplications for novel drug development. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic*, 306(3), 821-827.

215. Maccioni, R.B., Farias, G.A., Morales, I. and Navarrete, L.P. (2010). The revitalized tau hypothesis on Alzheimer's disease. *Archives of Medical Research*, 41(3), 226-31.

216. Mullane, K. and Williams, M. (2013). Alzheimer's therapeutics: Continued clinical failures question the validity of the amyloid hypothesis. But what lies beyond? *Biochemical Pharmacology*, 85, 289-305.

217. Cumming, J.L., Tong, G. and Ballard, C. (2019). Treatment combinations for alzheimer disease: current anf future pharmacotheraphy options. *Journal of Alzheimer's Disease*, 67(3), 770-794.

218. Perry, E.K. (1986). The cholinergic hypothesis-ten years on. *British Medical Bulletin*, 42,63-69.

219. Swerdlow, R.H. (2012). Alzheimer's disease pathologic cascades: Who comes first, what drives what. *Neurotoxicity Research,* 22, 182-94.

220. Fotiou, D., Kaltsatou ,A., Tsiptsios, D. and Nakou, M. (2015). Evaluation of the cholinergic hypothesis in Alzheimer's disease with neuropsychological methods. *Aging Clinical and Experimental Research,* 27, 727-733.

221. Farlow, M.R (1998). Pharmacological treatment of cognitionin Alzheimer's disease. *Neurology,* 51, 36-44.

222. Bacalhau, P., San Juan, A. A., Marques, C. S., Peixoto, D., Goth, A., Guarda, C. and Burke, A. J. (2016). New cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease: Structure Activity Studies (SARs) and molecular docking of isoquinolone and azepanone derivatives. *Bioorganic Chemistry,* 67,1-8.

223. Kasa, P., Rakonczay, Z. and Gulya, K. (1997). The cholinergic system in Alzheımer's disease. *Progress in Neurobiology,*52, 511-553.

224. Atri, A., Frölich, L., Ballard, C., Tariot, P. N., Molinuevo, J. L., Boneva, N. and Cummings, J. L. (2018). Cummings. Effect of Idalopirdine as Adjunct to Cholinesterase Inhibitors on Change in Cognition in Patients With Alzheimer Disease Three Randomized Clinical Trials. *JAMA*, 319(2), 130-142.

225. Blanco-Silvente, L., Castells, X., Saez, M., Barceló, M. A., Garre-Olmo, J., Vilalta-Franch, J. and Capellà, D.(2017). Discontinuation, Efficacy, and Safety of Cholinesterase Inhibitors for Alzheimer's Disease: a Meta-Analysis and Meta-Regression of 43 Randomized Clinical Trials Enrolling 16 106 Patients. *The International Journal of Neuropsychopharmacology,* 20(7), 519-528.

226. Posadas, I., López-Hernández, B. and Ceña, V. (2013). Nicotinic receptors in neurodegeneration. *Current Neuropharmacology,*11(3), 298-314.

227. Davis, D.G., Schmitt, F.A., Wekstein, D.R. and Markesbery, W.R. (1999). Alzheimer neuropathological teration sinaged cognitively normal subjects. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 58, 376-388.

228. DeKosky, S. T., Ikonomovic, M. D., Styren, S. D., Beckett, L., Wisniewski, S., Bennett, D. A. and Mufson, E. J. (2002). Upregulation of choline acetyltransferase activity in hippocampus and frontal cortex of elderly subjects with mild cognitive impairment. *Annals of Neurology,*51(2), 145-155.

229. Gilmor, M. L., Erickson, J. D., Varoqui, H., Hersh, L. B., Bennett, D. A., Cochran, E. J. and Levey, A. I. (1999). Preservation of nucleus basalis neurons containing choline acetyltransferase and the vesicular acetylcholine transporter in the elderly with mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *The Journal of Comparative Neurology,* 411, 693-704.

230. Koeppe, R.A., Frey, K.A., Snyder, S.E., Meyer, P., Kilbourn, M.R. and Kuhl, D.E. (1999). Kinetic Modeling of N- [11CJMethylpiperidin-4-yl Propionate: Alternatives for Analysis of an Irreversible Positron Emission Tomography Tracer for Measurement of (AChE) Activity in Human Brain. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism,* 19, 1150-1151.

231. Kadir, A., Darreh-Shori, T., Almkvist, O., Wall, A., Grut, M., Strandberg, B. and Nordberg, A. (2008). PET imaging of the *in vivo* brain (AChE) activity and nicotine binding in galantaminetreated patients with AD. *Neurobiology of Aging*, 29(8),1204-1217.

232. Pietrzak, K., Czarnecka, K., Mikiciuk-Olasik, E. and Szymski, P. (2018). New perspectives of alzheimer disease diagnosis – the most popular and future methods. *Medicinal Chemistry*, 14, 34-43.

233. Kuhl, D. E., Minoshima, S., Fessler, J. A., Ficaro, E. P., Wieland, D. M., Koeppe, R. A. and Foster, N. L. (1996). In vivo mapping of Cholinergic Terminals in Normal aging, Alzheimer's Disease, and Parkinson's Disease. *Annals of Neurology*, 40(3), 3399-3410.

234. Gibson, G.E., Peterson, C. and Jenden, D.J. (1986) Brain acetylcholine synthesis declines with senescence. *American Association For The Advancement of Science*, 213(4508), 674-676.

235. Schliebs, R. and Arendt, T. (2011). The cholinergic system in aging and neuronal degeneration. *Behavioural Brain Research*, 221(2), 555-563.

236. Mattson, M.P. and Magnus, T. (2006). Ageing and neuronal vulnerability. *Nature Reviews Neuroscience*, 7, 278-294.

237. Sarter, M. and Turchi, J. (2002). Age- and dementia-associated ımpairments in divided attention: Psychological constructs, animal models, and underlying neuronal mechanisms. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders,*13, 46-58.

238. Hasselmo, M.E. (2006). The role of acetylcholine in learning and memory. *Current Opinion in Neurobiology*, 16(6), 710-715.

239. Lemke, T., Williams, D.A., Roche, V.F. and Zito, S.W. (2008*). Foye's Principles of Medicinal Chemistry*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 369-381.

240. Toyohara, J. and Hashimoto, K. (2010). α7 nicotinic receptor agonists: Potential therapeutic drugsfor treatment of cognitive ımpairments in schizophrenia and Alzheimer's disease. *The Open Medicinal Chemistry Journal*, 4, 37- 56.

241. Gundisch, D. (2000). Nicotinic acetylcholine receptors and imaging. *Current Pharmaceutical Design*,6(15), 1143-1157.

242. Zenko, D. and Hislop, J.N. (2018). Regulation and trafficking of muscarinic acetylcholine receptors. *Neuropharmacology*, 136, 374-382.

243. Scarr, E. (2012). Muscarinic receptors: Their roles in disorders of the central nervous system and potential as therapeutic targets. *CNS Neuroscience & Therapeutics*,18, 369-379.

244. Bentley, P., Drive, J. and Dolan, R.J. (2011). Cholinergic modulation of cognition: insights from human pharmacological functional neuroimaging. *Progress in Neurobiology*, 94, 360-388.

245. Agatonovic-Kustrin, S., Kettle, C. and Morton, D.W. (2018). A molecular approach in drug development for Alzheimer's disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 106, 553-565.

246. Colovic, M.B., Krstic, D.Z., Lazarevic-Pasti, T.D., Bondzic, A.M and Vasic, V.M. (2013). (AChE) inhibitors: pharmacology and toxicology. *Current Neuropharmacology*, 11(3),315-335.

247. Greig, N. H., Utsuki, T., Yu, Q. S., Zhu, X., Holloway, H. W., Perry, T. and Lahiri, D. K. (2001). A new therapeutic target in Alzheimer's disease treatment: Attention to (BChE). *Current Medical Research and Opinion*,17(3),159-165.

248. Begum, S., Nizami, S.S., Mahmood, U., Masood, S., Iftikhar, S. and Saied, S. (2018). In-vitro evaluation andin-silico studies applied on newly synthesized amide derivatives of N-phthaloylglycine as (BChE) inhibitors. *Computational Biology and Chemistry*, 74, 212-217.

249. Campanella, L., Achilli, M., Sammartino, M.P. and Tomassetti, M. (1991). Butyrylcholine enzyme sensor for determining organophosphorus inhibitors. *Journal of Electroanalytical Chemistry and İnterfacial Electrochemistry,* 3211(2), 237-249.

250. Norel, X., Angrisani, M., Labat, C., Gorenne, I., Dulmet, E., Rossi, F. and Brink, C. (1993). Degradation of acetylcholine in human airways: Role of (BChE). *British Journal of Pharmacology*,108(4), 914-919.

251. Mesulam, M.M., Guillozet, A. and Shaw, P. (2002). Widely spread (BChE) can hydrolyze acetylcholine in the normal and Alzheimer brain. *Neurobiology of Disease*, 9, 88-93.

252. Xie, W., Wilder, P. J., Stribley, J., Chatonnet, A., Rizzino, A., Taylor, P. and Lockridge, O. (1999). Knockout of one AChE allele in the mouse. *Chemico-Biological Interactions*,119-120 (120), 289-299.

253. Chatonnet, A. and Lockridge, O. (1989). Comparison of (BChE) and (AChE). *Biochemical Journal*, 260(3),625-634.

254. Zhou, Y., Wang, S. and Zhang, Y. (2010). Catalytic reaction mechanism of (AChE) determined by born- oppenheimer AB initio QM/MM molecular dynamics simulations. *The Journal of Physical Chemistry B*,114,8817- 25.

255. Dvir, H., Silman, I., Harel, M., Rosenberry, T.L. and Sussmana, J.L. (2010). (AChE): from 3D structure to function. *Chemico-Biological Interactions*,187, 10-22.

256. Simoni, E., Daniele, S., Bottegoni, G., Pizzirani, D., Trincavelli, M. L., Goldoni, L. and Melchiorre, C. (2012). Combining galantamine and memantine in multitargeted, new chemical entities potentially useful in Alzheimer's Disease. *Journal of Medicinal Chemistry,* 55(22), 9708- 9721.

257. Nachon, F., Carletti, E., Ronco, C., Trovaslet, M., Nicolet, Y., Jean, L., and Renard, P. Y. (2013). Crystal structures of human cholinesterases in complex with huprine W and tacrine: elements of specificity for anti-Alzheimer's drugs targeting acetyl- and (BChE). *Biochemical Journal*, 453(3), 393-399.

258. Leon, J. and Marco-Contelles J. (2011). A step further towards multitarget drugs for Alzheimer and neuronal vascular diseases: targeting the cholinergic system, amyloid-β aggregation and Ca^{2+} dyshomeostatis. *Journal Current Medicinal Chemistry*,18, 552.

259. Costanzo, P., Cariati, L., Desiderio, D., Sgammato, R., Lamberti, A., Arcone, R. and Oliverio, M. (2016). Design, synthesis, and evaluation of donepezil-like compounds as AChE and BACE-1 inhibitors. *American Chemical Society Medicinal Chemistry Letters*,7(5), 470-475.

260. Cheung, J., Rudolph, M. J., Burshteyn, F., Cassidy, M. S., Gary, E. N., Love, J. and Height, J. J. (2012). Structures of human (AChE) in complex with pharmacologically important ligands. *Journal of Medicinal Chemistry*, 55(22), 10282-10286.

261. Viayna, E., Camps, P., Formosa, X., Galdeano, C., Gomez, T., Munoz-Torrero, D. and Palias, M. (2009). Novel donepezil-based inhibitors of acetyl- and (BChE) and (AChE) induced β-amyloid aggregation. *Journal of Medicinal Chemistry*, 51(12), 3588-3598.

262. Bourne, Y., Taylor, P., Radić, Z. and Marchot, P. (2003). Structural insights into ligand interactions at the (AChE) peripheral anionic site. *The EMBO Journal*, 22, 1-12.

263. Sugimoto, H.., Limura, Y., Yamanishi, Y. and Yamatsu, K. (1995). Synthesis and Structural Activity Relationship of Acetylcholinesterase Inhibitors:1-Benzyl-4-[(5,6-dimethoxy-1-oxoindan-2-)methyl] piperidine hydrochloride and related compounds, *Journal of Medicinal Chemistry*, 24(38), 4821-4829.

264. Özdemir, Z., Yılmaz, H., Sarı, S., Karakurt, A., Şenol, F.S. ve Uysal, M. (2017). Design, synthesis, and molecular modeling of new 3(2*H*)-pyridazinone derivatives as (AChE)/ BChE inhibitors. *Medicinal Chemistry Research*, 26, 2293-2308.

265. Brus, B., Kosak, U., Turk, S., Pislar, A., Coquelle, N., Kos, J. and Gobec, S. (2014). Discovery, biological evaluation, and crystal structure of a novel nanomolar selective BChE inhibitor. *Journal of Medicinal Chemistry*, 57(19), 8167-8179.

266. Mehta, M., Adem, A. and Sabbagh, M. (2012.). New AChE inhibitors for Alzheimer's disease. *International Journal of Alzheimer's Disease*, doi: 10.1155/2012/728983.

267. Romero, A., Cacabelos, R., Oset-Gasque, M.J., Samadi, A. and Marco-Contelles, J. (2013). Novel tacrine-related drugs as potential candidates for the treatment of Alzheimer's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 23(7), 1916-1922.

268. Chiu, P.Y. and Wei, C.Y. (2017). Donepezil in the one-year treatment of dementia with Lewy bodies and Alzheimer's disease. *Journal of The Neurological Sciences*, 381, 322.

269. Birks, J.S., Chong, L.Y. and Grimley-Evans, J. (2015). Rivastigmine for Alzheimer's disease. *Cochrane Database Systematic Review*, 9, 1465-858.

270. Heinrich, M. and Lee-Teoh, H. (2004). Galanthamine from snowdrop the development of a modern drug against Alzheimer's disease from local Caucasian knowledge. *Journal of Ethnopharmacology*, 92(2–3), 147-162.

271. Caplan, B., Bogner, J., Brenner, L., Malec, J., Östberg, A., Virta, J. and Arponen, E. (2018). Brain cholinergic function and response to rivastigmine in patients with chronic sequels of traumatic brain ınjury: A PET study. *Journal of Head Trauma Rehabilitation,* 33(1), 25-32.

272. Machálková, M., Schejbal, J., Glatz, Z. and Preisler, J. (2018). A label-free MALDI TOF MS-based method for studying the kinetics and inhibitor screening of the Alzheimer's disease drug target β-secretase. *Analytical and Bioanalytical Chemistry,* 410(28), 7441-7448.

273. Mao, F., Huang, L., Luo, Z., Liu, A., Lu, C., Xie, Z. and Li, X. (2012). O-Hydroxyl- or o-amino benzylamine-tacrine hybrids: Multifunctional biometals chelators, antioxidants, and inhibitors of cholinesterase activity and amyloid-Î2 aggregation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 20(19), 5884-5892.

274. Liu, W., Wang, H., Li, X., Xu, Y., Zhang, J., Wang, W. and Zhang, H. (2018). Design, synthesis and evaluation of vilazodone-tacrine hybrids as multitarget-directed ligands against depression with cognitive impairment. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 26(12), 3117-3125.

275. Triggle, D.J., Mitchell, J.M. and Filler, R. (1998). The Pharmacology of Physostigmine. *CNS Drug Reviews,* 4(2), 87-136.

276. Arens, A.M., Shah, K., Al-Abri, S., Olson, K.R. and Kearney T. (2018). Safety and effectiveness of physostigmine: A 10-year retrospective review. *Clinical Toxicology (Phila),* 56(2), 101-107.

277. Işık, A.T., Bozoğlu, E. ve Eker, D. (2012). AChE and BuChE inhibition by rivastigmin have no effect on peripheral insulin resistance in elderly patients with Alzheimer disease. *Journal of Nutrition,* 16(2), 139-141.

278. Gabr, M.T. and Abdel-Raziqc, M.S. (2018). Structure-based design, synthesis, and evaluation of structurally rigid donepezil analogues as dual AChE and BACE-1 inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 28(17) 2910-2913.

279. Naharci, M. I., Ozturk, A., Yasar, H., Cintosun, U., Kocak, N., Bozoglu, E. and Doruk, H. (2015). Galantamine improves sleep quality in patients with dementia. *Acta Neurologica Belgica*, 115(4), 563-568.

280. Hanazawa, T., Kamijo, Y., Yoshizawa, T., Fujita, Y., Usui, K. and Haga, Y. (2018). Acute cholinergic syndrome in a patient with Alzheimer's disease taking the prescribed dose of galantamine. *Psychogeriatrics*, 18(5),434-435.

281. Nakagawa, R., Ohnishi, T., Kobayashi, H., Yamaoka, T., Yajima, T., Tanimura, A. and Yoshizawa, K. (2017). Long-term effect of galantamine on cognitive function in patients with Alzheimer's disease *versus* a simulated disease trajectory: An observational study in the clinical setting. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*,13,1115-1124.

282. Huang, X. T., Qian, Z. M., He, X., Gong, Q., Wu, K. C., Jiang, L. R. and Ke, Y. (2013). Reducing iron in the brain: a novel pharmacologic mechanism of huperzine A in the treatment of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 35(5), 1045-1054.

283. Ding, R., Fu, J.G., Xu, G.Q., Sun, B.F. and Lin, G.Q. (2014). Divergent total synthesis of the Lycopodium alkaloids huperzine A, huperzine B, and huperzine U. *The Journal of Organic Chemistry,*79(1), 240-250.

284. Wang, R., Yan, H. and Tang, X.C. (2006). Progress in studies of huperzine A, a natural cholinesterase inhibitor from Chinese herbal medicine. *Acta Pharmacologica Sinica,* 27(1),1-26.

285. Mele, T. and Jurič, D.M. (2014). Metrifonate, like acetylcholine, up-regulates neurotrophic activity of cultured rat astrocytes. *Pharmacological Reports,* 66(4),618-623.

286. Lao, K., Ji, N., Zhang, X., Qiao, W., Tang, Z. and Gou, X. (2018). Drug development for Alzheimer's disease. *Journal of Drug Targeting Rewiew,*164-173.

287. Anand, A., Patience, A.A., Sharma, N. and Khurana, N. (2017). The present and future of pharmacotherapy of Alzheimer's disease: A comprehensive review. *European Journal of Pharmacology,* 815, 364-375.

288. Özçelik, A.B., Gökçe, M., Orhan, İ., Kaynak, F. ve Şahin, M.F. (2010). Synthesis and antimicrobial, (AChE) and BChE inhibitory avtivities of novel ester and hydrazide derivatives of 3(2*H*)-pyridazinone. *Arzneimittel Forschung,* 60(7), 452-458.

289. Utku S., Gökçe M., Aslan G., Bayram, G., Ülger, M., Emekdaş, G. ve Şahin, M. F. (2011). Synthesis and *in vitro* antimycobacterial activities of novel 6- substituted-3(2*H*)-pyridazinone-2-acetyl-2-(substituted/ nonsubstituted acetophenone)hydrazone. *Turkish Journal of Chemistry*, 35(2), 331-339.

290. Utku, S., Gökçe, M., Orhan, İ. ve Şahin, M.F. (2011). Synthesis of novel 6-substituted-3(2*H*)-pyridazinone-2-a- etyl-2- (substituted/-nonsubstituted benzal) hydrazone derivatives and (AChE) and BChE inhibitory activities *in vitro*. *Arzneimittel Forschung,*61, 1-7.

291. Xing, W., Fu, Y., Shi, Z., Lu, D., Zhang, H. and Hu, Y. (2013). Discovery of novel 2,6-disubstituted pyridazinone derivatives as AChE inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry,* 63, 95-103.

292. Fang, J., Li, Y., Liu, R., Pang, X., Li, C., Yang, R. and Du, G. H. (2015). Discovery of multitarget-directed ligands against alzheimer's disease through systematic prediction of chemical−protein interactions. *Journal of Chemical Information and Modeling,* 55(1), 149−164.

293. Wenzel, T.J. and Klegeris, A. (2018). Novel multi-target directed ligand-based strategies for reducing neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Life Sciences,* 207, 314-322.

294. Guzior, N., Wickowska, A., Panek, D. and Malawska, B. (2015). Recent development of multifunctional agents as potential drug candidates for the treatment of alzheimer's disease. *Current Medicinal Chemistry,* 22, 373-404.

295. Sameem, B., Saeedi, M., Mahdavi, M. and Shafiee A. (2018). A review on tacrine-based scaffolds as multi-target drugs (MTDLs) for Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry,* 128(10), 332-345.

296. Chioua, M., Buzzi, E., Moraleda, I., Iriepa, I., Maj, M., Wnorowski, A. and López-Alvarado, P. (2018). Tacripyrimidines, the first tacrine-dihydropyrimidine hybrids, as multi-target-directed ligands for Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry,* 155, 839-846.

297. Zhang, Y., Li, P., Feng, J. and Wu, M. (2016). Dysfunction of NMDA receptors in Alzheimer's disease. *Neurological Sciences,* 37(7), 1039-1047.

298. Bolognesi, M.L., Cavalli, A. and Melchiorre, C. (2009). Memoquin: A multi-target–directed ligand as an ınnovative therapeutic opportunity for Alzheimer's disease. *Neurotherapeutics,*6, 152-162.

299. Sterling, J., Herzig, Y., Goren, T., Finkelstein, N., Lerner, D., Goldenberg, W. and Toth, G. (2002). Novel dual inhibitors of AChE and MAO derived from hydroxy aminoindan and phenethylamine as potential treatment for Alzheimer's disease. *Journal of Medicinal Chemistry,* 45(24), 5260-5279.

300. Gökhan-Kelekçi, N., Yabanoğlu, S., Küpeli, E., Salgın, U., Özgen, Ö., Uçar, G. ve Bilgin, A. A. (2007). A new therapeutic approach in Alzheimer disease: Some novel pyrazole derivatives as dual MAO-B inhibitors and antiinflammatory analgesics. *Bioorganic & Medicinal Chemistry,* 15(17), 5775-5786.

301. Pan, W., Hu, K., Bai, P., Yu, L., Ma, Q., Li, T. and Sang, Z. (2016). Design, synthesis and evaluation of novel ferulic acid-memoquin hybrids as potential multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 26(10), 2539-2543.

302. Capurro, V., Busquet, P., Lopes, J. P., Bertorelli, R., Tarozzo, G., Bolognesi, M. L. and Cavalli, A. (2013). Pharmacological Characterization of Memoquin, a Multi- Target Compound for the Treatment of Alzheimer's Disease. *Plos One*, 8(2), 56870.

303. Rodrigues-Simões, M.C., Dias-Viegas, F.P., Moreira, M.S., Silva, M.F., Máximo-Riquiel, M., Mattosda-Rosa, P. (2014). Donepezil: An important prototype to the design of new drug candidates for Alzheimer's disease. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry,* 14, 2-19.

304. Rizzo, S., Bartolini, M., Ceccarini, L., Piazzi, L., Gobbi, S., Cavalli, A. and Rampa, A. (2010). Targeting Alzheimer's disease: Novel indanone hybrids bearing a pharmacophoric fragment of AP2238. *Bioorganic & Medicinal Chemistry,* 18(5), 1749-1760.

305. Özturan-Özer, E., Unsal-Tan, O., Ozadali, K., Küçükkılınç, T., Balkan, A. ve Uçar, G. (2013). Synthesis, molecular modeling and evaluation of novel N′-2-(4-benzylpiperidin-/piperazin-1-yl) acylhydrazone derivatives as dual inhibitors for cholinesterases and Aβ aggregation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,*23(2), 440-443.

306. Catto, M., Berezin, A. A., Re, D. L., Loizou, G., Demetriades, M., De Stradis, A. and Carotti, A. (2012). Design, synthesis and biological evaluation of benzo[e] [1,2,4] triazin-7(1*H*)-one and [1,2,4]-triazino[5,6,1-jk] carbazol-6-one derivatives as dual inhibitors of beta-amyloid aggregation and acetyl/butyryl cholinesterase. *European Journal of Medicinal Chemistry,*58, 84-97.

307. Ekiz, M., Tutar, A., Ökten, S., Bütün, B., Koçyiğit, Ü. M., Taslimi, P. ve Topçu, G. (2018). Synthesis, characterization, and SAR of arylated indenoquinoline- based cholinesterase and carbonic anhydrase inhibitors. *Archiv der Pharmazie-Chemistry in Life Sciences*, 351(9), 1800167.

308. Chen, Y., Sun, J., Fang, L., Liu, M., Peng, S., Liao, H. and Zhang, Y. (2012). Tacrineferulic acid-nitric oxide (NO) donor trihybrids as potent, multifunctional acetyl and BChE inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*,55(9), 4309-4432.

309. Messerer, R., Dallanoce, C., Matera, C., Wehle, S., Flammini, L., Chirinda, B. and Decker, M. (2017). Novel bipharmacophoric inhibitors of the cholinesterases with affinity to the muscarinic receptors M_1 and M_2. *MedChemComm*, 8(6), 1346-1359.

310. Fernández-Bachiller, M. I., Pérez, C., González-Munoz, G. C., Conde, S., López, M. G., Villarroya, M. and Rodríguez-Franco, M. I. (2010). Novel Tacrine−8-Hydroxyquinoline Hybrids as Multifunctional Agents for the Treatment of Alzheimer's Disease, with Neuroprotective, Cholinergic, Antioxidant, and Copper-Complexing Properties. *Journal of Medicinal Chemistry*, 53(13), 4927-4937.

311. Chen, Y., Zhu, J., Mo, J., Yang, H., Jiang, X., Lin, H. and Hou, J. (2018). Synthesis and bioevaluation of new tacrine-cinnamic acid hybrids as cholinesterase inhibitors against Alzheimer's disase. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 33(1), 290-302.

312. Parsons, C.G., Danysz, W., Dekundy, A. and Pulte, I. (2013). Memantine and cholinesterase inhibitors: Complementary mechanisms in the treatment of Alzheimer's disease. *Neurotoxicity Research*, 24(3), 58-69.

313. Lei, Z., Xiao'qin, C. and Chunjiu, Z. (2019). Implications of successfully symptomatic treatment in Parkinson's disease for therapeutic strategies of Alzheimer's disease. *ACS Chemical Neuroscience*, 10(2), 922-930.

314. Lopes, J.P., Tarozzo, G., Reggiani, A., Piomelli, D. and Cavalli, A. (2013). Galantamine potentiates the neuroprotective effect of memantine against NMDA-induced excitotoxicity. *Brain and Behavior*, 3(2), 67-74.

315. Peglow, T. J., Schumacher, R. F., Cargnelutti, R., Reis, A. S., Luchese, C., Wilhelm, E. A. and Perin, G. (2017). Preparation of bis (2-pyridyl) diselenide derivatives: Synthesis of selenazolo [5,4-b] pyridines and unsymmetrical diorganyl selenides, and evaluation of antioxidant and anticholinesterasic activities. *Tetrahedron Letters*, 58(38), 3734-378.

316. Bag, S., Ghosh, S., Tulsan, R., Sood, A., Zhou, W. and Schifone, C. (2013). Design, synthesis and biological activity of multifunctional α,β-unsaturated carbonyl scaffolds for Alzheimer's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*,23(9), 2614-2618.

317. Villamizar, M. C. O., Galvis, C. E. P., Méndez, L. Y. V. and Kouznetsov, V. V. (2018). Coumarin-Based Molecules as Suitable Models for Developing New Neuroprotective Agents Through Structural Modification. In *Discovery and Development of Neuroprotective Agents from Natural Products*, Elsevier, 149-235.

318. Basha, S.J., Mohan, P., Yeggoni, D.P., Babu, Z.R., Kumar, P.B. and Rao, A.R. (2018). New Flavone-Cyanoacetamide Hybrids with a Combination of Cholinergic, Antioxidant, Modulation of β-Amyloid Aggregation, and Neuroprotection Properties as Innovative Multifunctional Therapeutic Candidates for Alzheimer's Disease and Unraveling Their Mechanism of Action with (AChE). *Molecular Pharmaceutics*,15(6), 2206-2223.

319. Tu, Y., Huang, J. and Li, Y. (2018). Anticholinesterase, antioxidant, and beta-amyloid aggregation inhibitory constituents from Cremastra appendiculata. *Medicinal Chemistry Research*,27, 857-863.

320. Li, Q., Tu, Y., Zhu, C., Luo, W., Huang, W., Liu, W. and Li, Y. (2017). Cholinesterase, β-amyloid aggregation inhibitory and antioxidant capacities of Chinese medicinal plants. *İndustrial Crops and Products,*108, 512-519.

321. Jalili-Baleh, L., Babaei, E., Abdpour, S., Bukhari, S. N. A., Foroumadi, A., Ramazani, A. and Khoobi, M. (2018).A review on flavonoid-based scaffolds as multi-targe-directed ligands (MTDLs) for Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 152, 570-589.

322. Angelova, P.R. and Abramov, A.Y. *(*2018). Role of mitochondrial ROS in the brain: from physiology to neurodegeneration. *FEBS Letters*, 692-702.

323. Butterfield, D.A. and Boyd-Kimball, D. (2018). Oxidative stress, amyloid-peptide, and altered key molecular pathways in the pathogenesis and progression of Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 62, 1345-1367.

324. Mecocci, P., Boccardi, V., Cecchetti, R., Bastiani, P., Scamosci, M., Ruggiero, C. and Baroni, M. (2018). A Long Journey into Aging, Brain Aging, and Alzheimer's Disease Following the Oxidative Stress Tracks *Journal of Alzheimer's Disease*, 62(3), 1319-1335.

325. Zhao, Y. and Zhao, B. (2013). Oxidative stress and the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 316523.

326. Markesberya, W.R. (1997). Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 23(1), 134-147.

327. Rosini, M., Simoni, E., Milelli, A., Minarini, A. and Melchiorre, C. (2014). Oxidative Stress in Alzheimer's Disease: Are We Connecting the Dots?. *Journal of Medicinal Chemistry,* 204(57), 2821-2831.

328. Bolognesi, M.L., Rossini, M., Andrisono, V., Minarini, A., Tumiatti, V. and Melchiorre, C. (2009). MTDL design strategy in the context of Alzheimer disease; from lipocrine to memoquin and beyond. *Current Pharmaceutical Design*, 15(6), 601-613.

329. Elman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V. and Featherstone, R.M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*,7, 88-95, 196.

330. Duffy, E. M. and Jorgensen, W. L. (2000). Prediction of properties from simulations: free energies of solvation in hexadecane, octanol, and water. *Journal of the American Chemical Society*, 122(12), 2878-2888.

331. Porcelli, F., Delfini, M. and Del-Giudice, M. R. (1999). The kinetic inhibition of acetylcholinesterase from human herytrocyte by tacrine and some tacrine derivatives. *Bioorganic Chemistry*, 27(3), 197-205.

332. Türkmenoğlu, B. (2019). *Tiyazol, 2-hidroksidiarilamit ve pirimidin türevleri üzerinde MCET metodu ve moleküler docking çalışmaları*. Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 163.

333. Hopfinger, A.J., Wang, S., Tokarski, J. S., Jin, B., Albuquerque, M. and Madha, P. J. (1997). Construction of 3D-QSAR models using the 4D-QSAR analysis formalism. *Journal of the American Chemical Society,* 119, 10509–10524.

334. Ekins, S., Bravi, G., Binkley, S., Gillespie, J.S., Ring, B.J., Wikel, J.H. and Wrighton, S.A. (2000). Three-and four-dimensional-quantitative structure activity relationship (3D/4D-QSAR) analyses of CYP2C9 inhibitors. *Drug Metabolism & Disposition,* 28, 994–1002.

335. Vedani, A., Briem, H., Dobler-Dollinger, H. and McMasters, D.R. (2000). Multiple-conformation and protonation-state representation in 4D-QSAR: the neurokinin-1 receptor system. *Journal of Medicinal Chemistry,* 43(23), 4416–4427.

336. Lukacova, V. and Balaz, S. (2003). Multimode ligand binding in receptor site modeling:implementation in CoMFA. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 43(6), 2093–2105.

337. Güzel, Y., Aslan, E., Türkmenoğlu, B. ve Su, E.M. (2018). 4D-QSAR studies Using a new descriptor of the Klopman index: antibacterial activities of sulfone derivatives containing 1, 3, 4-oxadiazole moiety based on MCET model. *Current Computer Aided Drug Design*, 14(3), 207-220.

338. Alp-Tokat, T., Türkmenoğlu, B., Güzel, Y. ve Kizilcan, D.Ş. (2019). Investigation of 3D pharmacophore of N-benzyl benzamide molecules of melanogenesis inhibitors using a new descriptor Klopman index: uncertainties in model. *Journal of Molecular Modeling*, 25, 1-13.

ÖZGEÇMİŞ



Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ÇÖL Ömer Faruk

Uyruğu : T.C.

Doğum Tarihi ve yeri : 10/10/1982 Hacıbektaş

Medeni Hali : Evli

Cep Telefonu : 0 532 782 86 38

e-posta : col_omerfaruk@hotmail.com

Eğitim Derecesi	**Eğitim Birimi**	**Mezuniyet Tarihi**
Doktora	Gazi Üniversitesi/ Farmasötik Kimya Anabilim Dalı	Devam ediyor
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı	2010
Lisans	Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2006

İş Deneyimi, Yıl	**Yer**	**Görev**
2011-devam ediyor	Çöl Eczanesi Kocasinan/Kayseri	Sahibi
2017-devam ediyor	12.Bölge Kayseri Eczacı Odası	Denetleme Kurulu Üyesi

Yabancı Dil

İngilizce



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR

