



**YENİ PİRİDAZİNON TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Tuba ÖNER

FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı

Doç. Dr. İrem BOZBEY MERDE

Yüksek Lisans Tezi- 2026

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YENİ PİRİDAZİNON TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Tuba ÖNER
Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı

Doç. Dr. İrem Bozbey MERDE

Tez Jüri Üyeleri

Doç. Dr. İrem BOZBEY MERDE

Doç. Dr. Zeynep ÖZDEMİR

Doç. Dr. Harun USLU

Bu Araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından TYL-2025-4166
Proje numarası ile desteklenmiştir.

MALATYA

2026

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

ETİK ve YAPAY ZEKÂ KULLANIM BEYANI

17/ 07/ 2026

İnönü Üniversitesi Lisansüstü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak, “Doç. Dr. İrem BOZBEY MERDE” danışmanlığında hazırlayıp sunduğum “Yeni Piridazinon Türevlerinin Sentezi ve Biyolojik Aktivitelerinin Değerlendirilmesi” başlıklı Yüksek Lisans tezimde:

1. ETİK ve BİLİMSEL SORUMLULUKLARIM:

- Tezimde yer alan verileri, bilgileri ve belgeleri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Çalışmada yararlandığım tüm kaynaklara bilimsel kurallara uygun şekilde atıfta bulunduğumu ve kaynakça gösterimde APA 7. baskı kurallarına uyduğumu,
- Tezimin özgün olduğunu, çalışma ve yazım sürecinde patent ve telif haklarını ihlal edici hiçbir davranışta bulunmadığımı,
- Aksi bir durumda doğabilecek tüm hukuki ve akademik sonuçları kabul ettiğimi,

2. YAPAY ZEKÂ KULLANIMINA İLİŞKİN BEYANIM:

() Tez yazım sürecinde yapay zekâ tabanlı araçlardan **faydalanmadım**.

(x) Tez yazım sürecinde yapay zekâ tabanlı araçlardan **faydalandım**.

Bu durumda:

- Yapay zekâ araçlarını yalnızca bilimsel üretim sürecini desteklemek amacıyla kullandığımı,
- Kullanımın hipotez geliştirme, teorik tartışma ve yorumlama gibi üst düzey akademik becerileri içermediğini,
- Kullanımın tezin özgünlüğüne, bilimsel etik kurallarına ve ilgili mevzuata aykırı olmadığını,
- Usulsüz kullanımlara (kaynak göstermeksizin metin üretimi, yanıltıcı kaynak gösterimi, otomatik içeriklerin özgün eser gibi sunulması vb.) kesinlikle başvurmadığımı,
- Kullanılan yapay zekâ araçlarının ve işlevlerinin, danışmanımın bilgisi dâhilinde, ekte verilen tabloda şeffaf biçimde belirtildiğini,
- Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Faaliyetlerinde Üretken Yapay Zekâ Kullanımına Dair Etik Rehber’de belirtilen ilkelere riayet ettiğimi,

kabul ve taahhüt ederim.

Tuba ÖNER

EK: Yapay Zekâ Kullanım Tablosu (varsa)

EK: Yapay Zekâ Kullanım Tablosu

Bu tablo, tez çalışmanızda kullanılan üretken yapay zekâ araçlarının şeffaf biçimde beyan edilmesi amacıyla hazırlanmıştır. Her satırda kullanılan aracın adı, kullanım amacı, hangi bölümde kullanıldığı ve kullanım şekli belirtilmelidir. Tablo, danışman öğretim üyesinin bilgisi dâhilinde doldurulmalı ve gerektiğinde ek belgelerle desteklenmelidir.

No	Üretken Yapay Zekâ Aracı	Kullanım Amacı	Kullanıldığı Bölüm	Kullanım Şekli
1	Chatgpt	Görsel iyileştirme	Genel bilgiler	Şekil düzenleme
2	Gemini	Görsel iyileştirme	Genel bilgiler	Şekil düzenleme
3				
4				
5				

Üretken Yapay Zekâ Aracı: Kullanılan aracın adı (ör. ChatGPT, Grammarly, Zotero AI, Copilot vb.).

Kullanım Amacı: Aracın hangi amaçla kullanıldığı (ör. literatür özeti, dil kontrolü, kaynak önerisi, yazım denetimi vb.).

Kullanıldığı Bölüm: Tezin hangi bölümünde kullanıldığı (ör. Giriş, Literatür Taraması, Bulgular, Sonuç vb.).

Kullanım Şekli: Kullanım biçiminin niteliği (ör. öneri alma, metin taslağı oluşturma, dil ve imla kontrolü, kaynak listesi düzenleme, doğrudan alıntı vb.).

Bu tablo, tezde üretken yapay zekâ kullanımının şeffaf, izlenebilir ve etik kurallara uygun olmasını sağlamak için hazırlanmıştır. Araçların katkısı, tez metninin özgünlüğünü ve bilimsel sorumluluğu ortadan kaldıracak düzeyde olmamalıdır.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	ix
ABSTRACT	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Nörodejeneratif Hastalıklar	3
2.2. Alzheimer Hastalığı	3
2.2.1. Alzheimer Hastalığının Patofizyolojisi	4
2.2.2. Alzheimer Hastalığının Tedavisi	4
2.3. Kolinergik Hipotez	5
2.3.1. Nörotransmitterler	6
2.3.2. Asetilkolin	6
2.3.3. Kolinesterazlar	7
2.4. Piridazin	9
2.5. 3(2H)-Piridazinon	9
3. GEREÇ VE YÖNTEM	11
3.1. Kimyasal Çalışmalar	11
3.1.1. Materyal	11
3.1.2. Sentez Yöntemleri	11
3.1.3. Analitik Yöntemler	13
3.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	14
3.2.1. Kolinesteraz Aktivite Tayini	14
3.2.2. Sitotoksisite	16

4. BULGULAR	18
4.1. Kimyasal Çalışmalar	18
4.1.1. 2-(3-((4-bromofenil)amino)-6-oksopiridazin-1(6 <i>H</i>)-il)- <i>N'</i> -(2,4-dimetoksibenziliden)asetohidrazit (B1)	18
4.1.2. 2-(3-((4-bromofenil)amino)-6-oksopiridazin-1(6 <i>H</i>)-il)- <i>N'</i> -(2,4,6-trimetoksibenziliden)asetohidrazit (B2)	19
4.1.3. 2-(3-((4-bromofenil)amino)-6-oksopiridazin-1(6 <i>H</i>)-il)- <i>N'</i> -(2-metoksibenziliden)asetohidrazit (B3)	19
4.1.4. 2-(3-((4-bromofenil)amino)-6-oksopiridazin-1(6 <i>H</i>)-il)- <i>N'</i> -(3,4-dimetoksibenziliden)asetohidrazit (B4)	20
4.1.5. 2-(3-((4-bromofenil)amino)-6-oksopiridazin-1(6 <i>H</i>)-il)- <i>N'</i> -(furan-2-ilmetilen)asetohidrazit (B5)	21
4.1.6. <i>N'</i> -([1,1'-bifenil]-4-ilmetilen)-2-(3-((4-bromofenil)amino)-6-oksopiridazin-1(6 <i>H</i>)-il)asetohidrazit (B6)	22
4.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	22
4.2.1. Kolinesteraz Aktivite Çalışmaları	22
4.2.2. Sitotoksisite Çalışmaları	23
5. TARTIŞMA	24
5.1. Kimyasal Çalışmalar	24
5.1.1. Sentez Çalışmaları	24
5.1.2. Sentez Edilen Bileşiklerin Yapılarının Aydınlatılması	28
5.2. Biyolojik Aktivite	31
5.2.1. Kolinesteraz Aktivite	31
5.2.2. Sitotoksisite	32
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	33
KAYNAKÇA	34
EKLER	41
EK-1: Etik Kurul Olmadığına Dair Yazı	41

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi, deneyim ve rehberliğiyle akademik gelişimime önemli katkılar sağlayan danışman hocam Doç. Dr. İrem BOZBEY MERDE'ye,

Biyolojik aktivite çalışmalarına katkı sağlayan Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı araştırma görevlisi Sayın Arş. Gör. Okan AYKAÇ' a,

Tez çalışmamı TYL-2025-4166 kodlu projeye destekleyen İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Bu süreç boyunca yanımda olan, destekleri, dostlukları ve güzel anılarıyla bana güç veren, motivasyonumu artıran tüm arkadaşlarıma,

Hayatımın her döneminde sevgileri, anlayışları ve koşulsuz destekleriyle yanımda olan, eğitim hayatım boyunca bana güç veren, sabır ve fedakârlıklarıyla bugünlere ulaşmamda en büyük pay sahibi olan sevgili aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Yeni Piridazinon Türevlerinin Sentezi ve Biyolojik Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

Amaç: Alzheimer hastalığı, dünya genelinde ciddi bir sağlık sorunudur. Yaşlı nüfusta en sık karşılaşılan nörodejeneratif hastalıklardan biridir ve yaşlanan nüfus nedeniyle giderek daha büyük bir halk sağlığı sorun haline gelmektedir. Mevcut tedavi yaklaşımları hastalığı iyileştirme veya ilerlemesini durdurmaya yönelik olmayıp; hastalığın semptomlarını kontrol altında tutmaya yöneliktir. Ayrıca mevcut ilaçların etkisi sınırlı ve çeşitli yan etki profillerine sahiptir. Tüm bu nedenlerden dolayı daha etkili anti-Alzheimer ajanların geliştirilmesine yönelik çalışmalar yoğun bir şekilde sürdürülmektedir. Hastalığın tedavisi için öne sürülen kolinerjik hipotez kapsamında AChE ve BChE enzim inhibisyonu amaçlanmaktadır. Bu tez çalışmasında "3(2H)-piridazinon" yapısına sahip bileşiklerin sentezi ve sitotoksik etkilerinin incelenmesi amaçlanmaktadır.

Materyal ve Metot: Bu tez çalışmasında 6 yeni bileşiğin sentezi, kolinesteraz aktivitesi ve sitotoksikite değerlendirilmesi yapılmıştır. Bileşiklerin yapısı $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ ve kütle spektrumu sonucu elde edilen bilgilerle aydınlatılmıştır. Bileşiklerin Ven endotel hücre hattı (HUVEC) karşı *in vitro* sitotoksik etkileri belirlenmiştir.

Bulgular: Yapılan kolinesteraz aktivite çalışmaları sonucunda sentezlenen bileşiklerin Ven endotel hücre hattı (HUVEC) hücre hattında IC_{50} ve Ki değerleri hesaplanmıştır.

Sonuç: Sentezlenen tüm bileşiklerin referans ilaca göre daha az toksik olduğu bulunmuştur. Tüm moleküller; özellikle B4 bileşiğinin referans ilaçla kıyaslandığında güçlü inhibisyon profili gösterdiği gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: 3(2H)-piridazinon, AChE, Alzheimer hastalığı, BChE

ABSTRACT

Synthesis of Novel Pyridazine Derivatives and Evaluation of Their Biological Activities

Aim: Alzheimer's disease is a serious health problem worldwide. It is one of the most common neurodegenerative diseases in the elderly population and is becoming an increasingly significant public health issue due to the aging population. Current treatment approaches are not aimed at curing the disease or halting its progression; rather, they focus on controlling the symptoms. Furthermore, the effectiveness of currently available medications is limited, and they have varying side effect profiles. For all these reasons, research into developing more effective anti-Alzheimer's agents is being intensively pursued. The cholinergic hypothesis proposed for the treatment of the disease aims at inhibiting the AChE and BChE enzymes. This thesis aims to synthesize compounds with the structure "3(2H)-pyridazinone" and investigate their cytotoxic effects.

Material and method: This thesis study involved the synthesis and cytotoxic evaluation of 6 new compounds. The structures of the compounds were elucidated using information obtained from ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, and mass spectrometry. The *in vitro* cytotoxic effects of the compounds against the venous endothelial cell line (HUVEC) have been determined.

Results: As a result of the cholinesterase activity studies conducted, IC_{50} and K_i values of the synthesized compounds in the vein endothelial cell line (HUVEC) were calculated.

Conclusion: All synthesized compounds were found to be less toxic than the reference drug. All molecules, especially compound B4, were observed to exhibit a strong inhibition profile when compared to the reference drug.

Keywords: 3(2H)-pyridazinone, AChE, Alzheimer's disease, BChE

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACh	: Asetilkolin
AChE	: Asetilkolinesteraz
AChEI	:Asetilkolinesteraz inhibitörü
AH	: Alzheimer Hastalığı
Asetil CoA	: Asetil Koenzim A
Aβ	: Amiloid Beta
BChE	: Butirilkolinesteraz
ChAT	: Kolin asetiltransferaz
ChE	: Kolinesteraz
EBAH	: Erken Başlangıçlı Alzheimer Hastalığı
FDA	: ABD Gıda ve İlaç Dairesi
GBAH	: Geçen Başlangıçlı Alzheimer Hastalığı
mAChR	: Muskarinik asetilkolin reseptörleri
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
nAChR	: Nikotinik asetilkolin reseptörü
NMDA	: N-metil-D-aspartat
NMDAR	: N-metil-D-aspartat reseptörü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 1. AChE'nin nörotransmisyonadaki etki mekanizması.....	7
Şekil 2. 3(2H)-piridazinon ve türevlerinin numaralandırılması	10
Şekil 3. 3(2H)-piridazinon bileşiğinin keto-enol tautomerizmi	10
Şekil 4. Bileşiklerin genel sentez şeması	11
Şekil 5. Sentezlenen bileşik yapıları	12
Şekil 6. AChE inhibisyon çalışması.....	16
Şekil 7. BChE inhibisyon çalışması	16
Şekil 8. HUVEC hücrelerinde MTT çalışması.....	17
Şekil 9. 3-kloro-6-[4-bromoanilin-1-il]piridazin sentezi	24
Şekil 10. 3-kloro-6-[4-bromoanilin-1-il]piridazin sentez mekanizması	24
Şekil 11. 6-[4-bromoanilin-1-il]-3(2H)-piridazinon sentezi	24
Şekil 12. 6-[4-bromoanilin-1-il]-3(2H)-piridazinon sentez mekanizması	25
Şekil 13. Etil 6-[4-bromoanilin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-il asetat sentezi	25
Şekil 14. Etil 6-[4-bromoanilin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-il asetat sentezi mekanizması	26
Şekil 15. 6-[4-bromo anilin -1-il]-3(2H)-piridazinon-2-il asetohidrazit sentezi	26
Şekil 16. 6-[4-bromo anilin -1-il]-3(2H)-piridazinon-2-il asetohidrazit sentez mekanizması ...	27
Şekil 17. Sonuç bileşiklerin sentezi.....	27
Şekil 18. Sonuç bileşiklerin reaksiyon mekanizması.....	28
Şekil 19. B3 bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	29
Şekil 20. B3 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu	30
Şekil 21. B3 bileşiğinin kütle spektrumu.....	31

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 1. 96 kuyucuklu pleytte tasarlanırken kullanılan oranlar	15
Tablo 2. <i>In vitro</i> AChE inhibisyon sonuçları	23
Tablo 3. <i>In vitro</i> BChE inhibisyon sonuçları	23
Tablo 4. Bileşiklerin HUVEC hücre hattındaki IC ₅₀ değerleri.....	23



1.GİRİŞ

Alzheimer hastalığı (AH) demans vakalarının en yaygın şekli olup demans vakalarının %60–80'ini oluşturmaktadır (Jiang et al., 2025). Küresel olarak önemli bir sağlık sorunu olan AH, 2016 yılı itibarıyla dünya genelinde en sık görülen ölüm nedenleri arasında yerini almıştır. Alzheimer's Disease International verileri dünyada her 3 saniyede bir kişinin demans geliştirdiğini göstermektedir. Günümüzde yaklaşık 50 milyon kişinin demansdan muzdarip olduğu tahmin edilmekte olup, Alzheimer hastası sayısının 2030 yılına kadar 82 milyona ve 2050 yılına kadar 152 milyona ulaşacağı düşünülmektedir. (AlSaeed & Omar, 2022; Breijyeh & Karaman, 2020; Silva et al., 2025).

Alzheimer hastalığı bilişsel, işlevsel ve davranışsal bozukluklarla ilişkili, ilerleyici ve geri dönüşümsüz bir nörodejeneratif hastalıktır (de Almeida et al., 2023; Porsteinsson et al., 2021). Hastalık, başta hafıza olmak üzere bilişsel işlevlerde kademeli bir şekilde azalma ile karakterize olup bireyin günlük yaşam aktivitelerini ve sosyal yaşamını önemli ölçüde etkileyebilecek seviyede seyretmektedir (de Almeida et al., 2023). AH'nın patogenezi ve patofizyolojisi henüz tam olarak ortaya konulamamış olmakta ve hastalığa özgü kesin bir önleyici tedavi seçeneği bulunmamaktadır. Bu nedenle mevcut tedavi yaklaşımları; bilişsel işlevlerin sürdürülmesi, hastalık seyrinde gelişebilecek psikiyatrik durumlarla başa çıkılması, hasta ve bakım veren kişilerin bilgilendirilmesi ile hastanın yaşam kalitesinin olabilecek en üst düzeyde tutulması ve artırılmaya çalışılmasına yöneliktir (Ellison, 2002).

Alzheimer hastalığında mevcut farmakolojik tedavi seçenekleri incelendiğinde, AChE inhibitörü çeşitli ilaçlar bulunmaktadır. AChE inhibitörü olan ilaçlardan takrin, hafif ile orta dereceli seyreden AH vakalarında kullanılmak için FDA tarafından kabul almış; ancak ciddi hepatotoksiste göstermesinden kaynaklı ilacın kullanımını sınırlandırılmıştır (Anand & Singh, 2013). Sonraki yıllarda AH tedavisinde kullanılmak üzere onay alan donepezil ise günde 5-10 mg uygulanan oral dozlarla bilişsel performans ve klinik fonksiyonlarda 21-81 haftalık bir sürede iyileşmeler sağladığı gösterilmiştir (Dooley & Lamb, 2000). Bu ilacın da bulantı, kusma ve diyare başta olmak üzere bazı yan etkileri rapor edilmiştir. Rivastigmin ve eptastigminin yanı sıra daha yakın dönemde FDA tarafından diğer bir AChE inhibitörü olarak onay almış olan galantamin de tedavide kullanılmaktadır; ancak bunlar da benzer yan etki profilleri sergilemektedir (Shen et al., 2013). Tüm bu durumlar yan etkileri azaltılmış, kolinerjik agonist ve antagonistlerin kombine halde kullanıldığında daha yüksek terapötik yanıt veren AChE inhibitörlerinin geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır.

Dünya nüfusunun yaşlanması ile görülme sıklığı giderek artan Alzheimer hastalığının tedavisi için bilim insanları yeni ilaç molekülleri geliştirmek için çalışmalarını sürdürmektedirler. Bu sebeple, kolinesteraz (ChE) inhibitörlerine duyulan ihtiyaç nedeniyle yeni inhibitör moleküllerin sentezlenmesi ve inhibisyon profillerinin ele alınmasının gerekliliği literatürde açık bir şekilde belirtilmektedir. Bu da bu konunun araştırmaya ne denli açık olduğunu göstermekte ve tezin özgünlüğünü artırmaktadır. Bu tez kapsamında, literatürde kayıtlı olmayan, yeni piridazinon halka sistemine sahip bileşikler sentezlenmiştir. Tez kapsamındaki hedef bileşikler özgün bileşiklerdir. Sentezlenen bileşiklerin sitotoksik aktivitelerinin incelenmesi, özellikle yaşlı popülasyonda artan hızda sağlık problemleri haline gelen nörodejeneratif hastalıklar ile ilişkili asetilkolin/butirilkolinesterazların inhibisyonlarının çalışılması hedeflenmiştir. Bu tezin literatüre önemli katkısının planlanan çok sayıda özgün molekül olması ve sitotoksite/AChE/BChE aktivite sonuçlarıdır. Sitotoksik olmayan ve antikolinesteraz etkili bileşikler günümüzde çok ihtiyaç duyulan bileşiklerdir ve bu alanda sürekli yeni bileşiklerin literatüre kazandırılması büyük önem taşımaktadır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Nörodejeneratif Hastalıklar

Nörodejenerasyon, nöronların yapısal veya işlevsel olarak belirli beyin bölgelerinde ilerleyici kaybı olarak tanımlanır (Tian et al., 2020; Yildirim et al., 2023). Merkezi sinir sistemine (MSS) etkileyen nörodejeneratif hastalıklar nöronların kaybı ve yanlış katlanmış proteinlerin oluşumu ile karakterize kronik ve ilerleyici patoloji gösteren yaşa bağlı hastalıklardır (Teixeira et al., 2020; Tian et al., 2020).

Nörodejeneratif bozukluklar insan sağlığı için yüksek yaygınlıkları ve kötü prognozları nedeniyle giderek artan büyük bir risk oluşturmaktadır. Son yıllarda yaşlı nüfusun artışına bağlı olarak, nörodejeneratif hastalıklar gibi yaşa bağlı hastalıkların dünya çapında yaygınlıklarını artırmaktadır (Barahona-López et al., 2025; Teixeira et al., 2020). Dünya çapında, kanser ve kardiyovasküler hastalıklardan sonra önde gelen ölüm nedenleri arasında yer almaktadır. Yeni tedaviler geliştirilmediği takdirde nörodejeneratif hastalıkların başlıca ölüm sebebi olması beklenmektedir (Singh et al., 2024; Yildirim et al., 2023). Alzheimer hastalığı (AH), Parkinson hastalığı, multipl skleroz, Lewy cisimcikli demans, çoklu sistem atrofisi, ilerleyici supranükleer palsi, amiotrofik lateral skleroz, Huntington hastalığı vb. hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklardır (Tian et al., 2020; Yildirim et al., 2023).

2.2. Alzheimer Hastalığı

65 yaş ve üzeri bireylerde Alzheimer hastalığının prevalansı, yaklaşık iki katına 5 yılda çıkmakta olup; 85 yaş ve üzerindeki bireylerin ise yaklaşık üçte birinin hastalığa yakalanma riski taşıdığı bildirilmektedir (Adeowo et al., 2022). Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, bunama prevalansının düşük veya orta gelirli ülkelerde %60 gibi yüksek bir oranda olduğunu ve bu bölgeden yaşayan nüfus oranının 2050 yılına kadar artarak %71'e çıkacağını göstermektedir (Adeowo et al., 2022; Cummings et al., 2025; Guo et al., 2020). Birçok çalışma, kadınların kısmen daha uzun yaşam süresiyle ilişkili olabileceği düşünülerek demansın kadınlarda erkeklere kıyasla daha sık görüldüğünü göstermiştir. Ancak cinsiyet ve toplumsal cinsiyet faktörlerinin katkısı henüz tam olarak netlik kazanmamıştır (Armstrong, 2020; Frisoni, Hansson, et al., 2025; Hou et al., 2019). AH, başlangıç gösterdiği yaşa göre iki kategoride sınıflandırılır: erken başlangıçlı Alzheimer hastalığı (EBAH) ve geç başlangıçlı Alzheimer hastalığı (GBAH). EBAH, tüm AH vakalarının yaklaşık %1–6'sını oluşturan, ailesel AH ile ilişkili daha seyrek görülen bir alt tiptir. GBAH ise daha ileri yaş kategorisinde olan 65 yaş ve sonrasında başlayan, daha sık olarak karşılaşılan formdur (Breijyeh & Karaman, 2020).

2.2.1. Alzheimer Hastalığının Patofizyolojisi

Alzheimer hastalığının patogenezi, klinik semptomların ortaya çıkmasından yaklaşık 20 yıl önce başlamaktadır. Bu durum amiloid beta (A β) üretimindeki artış veya temizlenmesindeki azalma sonucu A β plaklarının beyinde birikimi ile gerçekleşmekte ve söz konusu birikim bilişsel bozuklukların başlangıcından yıllar önce ortaya çıkmaktadır (Andrade-Guerrero et al., 2023; Porsteinsson et al., 2021).

AH, yaşlanma ve nöronların seçici kaybı ile ilişkili, öğrenme ve hafıza bozukluklarına yol açar (Gajendra et al., 2024). AH'nin etiyojisi karmaşık ve çok faktörlüdür (de Almeida et al., 2023). Hastalığın temel nöropatolojik özellikleri arasında, A β peptit birikimi ile karakterize senil plaklar, tau proteinlerinin oluşturduğu nörofibriler yumaklar ve reaktif glial hücre değişiklikleri yer almaktadır. Özellikle A β birikimi; laminin, apolipoprotein E ve asetilkolinesteraz (AChE) ile ilişkili olup, serebral dokuda ve damar yapılarında gözlemlenmektedir (de Almeida et al., 2023; Gajendra et al., 2024). Alzheimer hastalığının patogenezinde bunların yanı sıra nöron kaybı, gliyoz, genetik mutasyonlar, serebrovasküler amiloidoz ve nörotransmitter düzeylerindeki azalma gibi ek faktörler de rol oynamaktadır (Beshir et al., 2022).

2.2.2. Alzheimer Hastalığının Tedavisi

Alzheimer hastalığının fizyopatolojisi tam olarak aydınlatılamamış ve hastalığın patogenezinde rol oynayan pek çok faktör söz konusu olduğundan dolayı tamamen ortadan kaldırılmasından ziyade semptomların kontrol altına alınmasına yönelik tedaviler mevcuttur (Beshir et al., 2022; Çöl et al., 2022). Alzheimer hastalığının patogenezinin açıklamaya yönelik çeşitli hipotezler geliştirilmiştir. Bu kapsamda, bilinen AH mekanizmaları arasında tau hipotezi, amiloid kaskad hipotezi, eksitotoksisite ve kolinerjik hipotez gibi yaklaşımlar yer almakta olup, bunlara ek olarak farklı patofizyolojik süreçleri ele alan diğer kavramlar da literatürde tanımlanmaktadır (Asim et al., 2025).

2.2.2.1. Tedavi Yaklaşımları

Klinik uygulamada Alzheimer hastalığı için asetilkolin (ACh) düzeyini artırmayı hedefleyen ChE inhibitörleri (galantamin, rivastigmin, donepezil) ile N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör antagonisti memantin tek başına veya kombinasyon halinde kullanılmaktadır (Beshir et al., 2022).

1993 yılında Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılmak üzere ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanan ilk asetilkolinesteraz inhibitörü (AChEI) olarak Takrin üretildi (Arora et al., 2025; Frisoni, Aho, et al., 2025). Etkisini AChE aktif bölgesine geri dönüşümlü olarak bağlanıp asetilkolinin parçalanmasını önleyerek gösterir. Böylece nörotransmisyonu güçlendirerek bilişsel semptomları geçici

olarak rahatlatır (Arora et al., 2025). Klinik faydaların rağmen hepatotoksisite de dahil pek çok yan etki profiline sebep olması sebebiyle AH için kullanımı durduruldu (Dawood & Anwar, 2025; Frisoni, Aho, et al., 2025). Etki mekanizması ve yapısal çerçevesi sayesinde diğer AChEI'lerin tasarımı için öncü bir bileşik olmuştur ve 1996 yılından sonra klinik kullanımda donepezil, rivastigmin ve galantamin ile 2002 yılında onaylanan kısmi NMDA reseptör antagonisti memantin yerini aldı (Arora et al., 2025; Frisoni, Aho, et al., 2025). Donepezil periferik anyonik bölgeye bağlanarak semptomatik etkisini gösterir. Bu etkinin yanı sıra amiloid plak birikimini geciktiren etkisi de vardır (Colović et al., 2013). AChE'ye yüksek seçicilik, uzun yarı ömür ve kan-beyin bariyerini kolay aşabilmesi avantajları arasındadır (Arora et al., 2025; Colović et al., 2013). Donepezilin yaygın yan etkileri arasında bulantı, ishal, iştahsızlık, karın ağrısı ve bradikardi yer almaktadır (Colović et al., 2013). Rivastigmin karbamat türevi bir yavaş geri dönüşümlü kolinesteraz inhibitörüdür. Enzimin aktif bölgesinin esteratik kısmına bağlanarak kolinesteraz aktivitesini inhibe eder. Rivastigminin en önemli avantajı hem AChE hem de BChE'yi inhibe ederek daha kapsamlı bir kolinerjik etki sağlar. Dezavantajları arasında kısa yarı ömrü, bulantı, kusma, ishal, iştahsızlık, baş ağrısı, sık dozlama gerektirmesi yer almaktadır (Arora et al., 2025; Colović et al., 2013). Galantamin, hem anyonik alt bölgeye hem de aromatik bölgeye bağlanan yarışmalı ve geri dönüşümlü bir AChEI'dir (Ago et al., 2011; Arora et al., 2025; Marucci et al., 2021). Kolinerjik nörotransmisyonu artıran nikotinik reseptörlerin allosterik olarak güçlendirici bir modülatörüdür (Ago et al., 2011; Arora et al., 2025). Bu durum AH'deki bilişsel bozukluğun şiddetinin nikotinik reseptörlerin kaybıyla ilişkili olmasından dolayı klinik etkinliğine katkıda bulunur (Marucci et al., 2021). Memantin, bir N-metil-D-aspartat reseptörü (NMDAR) antagonisti olup, orta ve ileri evre AH'nin tedavisinde kullanılmaktadır. Memantin iyonotropik NMDAR inhibe eden bir glutamat antagonisti olarak etki göstermektedir. Glutamat, öğrenme ve bellek mekanizmalarında görev alan başlıca uyarıcı nörotransmitterlerden biridir (van Marum, 2009). Memantinin terapötik etkisini, düşük-orta düzeyde afinite gösteren, voltaja bağımlı ve yarışmalı olmayan NMDAR antagonisti olarak ortaya koyduğu bildirilmektedir. İlacın, tercihen NMDA reseptörüne bağlı kalsiyum kanallarına seçici olarak bağlanarak etkisini gösterdiği öne sürülmüştür (Kishi et al., 2017; Matsunaga et al., 2018).

2.3. Kolinerjik Hipotez

Kolinerjik hipotez, Alzheimer hastalığının patogenezi açıklamaya yönelik geliştirilen ilk ve en kapsamlı hipotezdir. Klinik araştırmalar; AH tanılı hastaların özellikle hipokampus gibi beyin dokularında kolinerjik nöronlarda dramatik bir gerileme, asetilkolin seviyelerinde belirgin bir azalma ve kolin asetiltransferaz (ChAT) enzim aktivitesinde spesifik bir azalmayla karakterize bir seyir izlediğini göstermiştir. Bu nörokimyasal değişimler, hastalığın bilişsel semptomları ile doğrudan ilişkilendirilmektedir (Atta et al., 2025; Huang et al., 2022). Hipokampus nikotinik (iyonotropik)

asetilkolin reseptörleri açısından; serebral korteks muskarinik (metabotropik) reseptörler açısında zengin dağılım gösteren beyin bölgeleridir. Alzheimer hastalarında her zaman erken dönemde ve ilerleyici dönemde bazal ön beyin kolinerjik nöronlarının dejenerasyon söz konusudur. Hem nikotinik hem muskarinik asetilkolin reseptörlerinin Alzheimer hastalarında belirgin şekilde etkilendiği görülmüştür (Atta et al., 2025; Chen et al., 2022; Hampel et al., 2018). Tüm bu nedenlerden dolayı kolinerjik hipoteze göre Alzheimer hastalığını tedavi etmenin bir yolu olarak asetilkolinesterazı geri dönüşümlü ve seçici inhibitörlerle inhibe ederek asetilkolin seviyesini geri kazanmak gerekmektedir (da Silva et al., 2011).

2.3.1. Nörotransmitterler

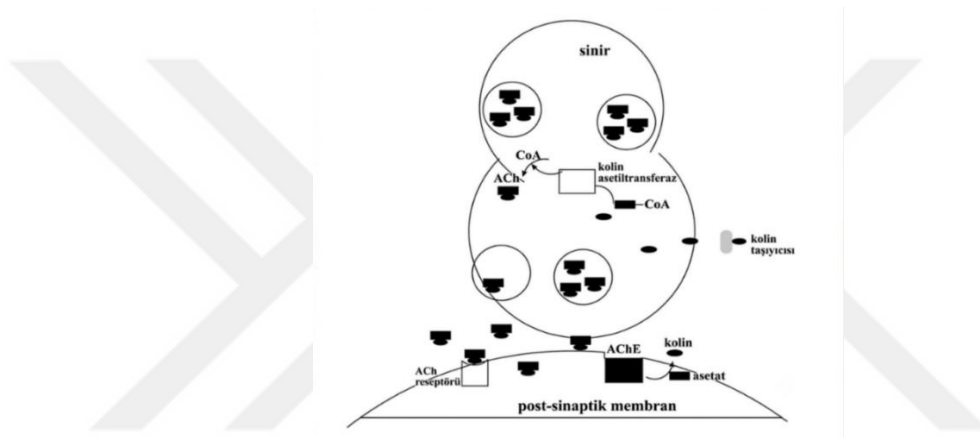
Sinir sisteminin normal ve rutin işleyişi için nöronlar arasında etkili bir iletişim olması gerekmektedir (Valenzuela et al., 2011). Nörotransmitterler, nöronlar arasındaki sinaptik boşluklara presinaptik nörondan postsinaptik nörona olacak şekilde iletim aracılığıyla ya da nöronlardan efektör hücrelere (kas ve bez hücreleri gibi) sinyal iletimini sağlayan endojen kimyasal haberciler olarak görev alır (Rizo, 2022; Südhof, 2008; Świt et al., 2023). Nörotransmitterler; algı, duyum, düşünme, motor kontrol ve bilişsel işlevler gibi çok sayıda fizyolojik ve nörolojik süreçte kritik rol oynamaktadır (Świt et al., 2023). Nöronal iletişim, temel olarak presinaptik terminallerdeki veziküllerde depolanan nörotransmitterlerin, kalsiyum (Ca^{2+}) bağımlı ekzositoz yoluyla salınmasıyla sağlanır. Bu karmaşık süreç; sinaptik veziküllerin plazma zarındaki aktif bölgeler olarak adlandırılan özelleşmiş alanlara kenetlenmesini, salınım öncesi veziküllerin hazır hale getirilmesini ve bir aksiyon potansiyelinin terminalde neden olduğu Ca^{2+} akışına neden olarak vezikül ve plazma zarlarının kaynaşmasını kapsamaktadır. Ekzositoz süreci genelde, kalsiyum girişini takiben tipik olarak senkronize ve <1 ms gibi oldukça hızlı bir şekilde tetiklenmektedir (Rizo, 2022). En yaygın nörotransmitterler arasında glutamat, γ-aminobütirik asit, asetilkolin, noradrenalin, dopamin ve serotonin vardır (Świt et al., 2023).

2.3.2. Asetilkolin

Asetilkolin; korteks, bazal gangliyonlar ve bazal ön beyinde yaygın olarak bulunan ve 1921'de, Otto Loewi tarafından keşfedilen ilk nörotransmitterdir (Hampel et al., 2018; Świt et al., 2023). Asetilkolin (ACh), öğrenme, hafıza ve diğer üst düzey bilişsel işlevlerde rol oynayan önemli bir uyarıcı nörotransmitterdir. ACh düzeyleri, sentez ve salınım süreçlerinin merkezi kolinerjik sinir sistemi tarafından düzenlenmesi yoluyla etkilenirler (Chen et al., 2022). ACh; kolin ve asetil koenzim A (asetil CoA)'dan, ChAT enziminin katalizörlüğü ile sentezlenmektedir. Asetilkolin sentezlendikten sonra, presinaptik veziküllerde depolanmaktadır ve bu veziküllere ise veziküler asetilkolin taşıyıcısı tarafından gerçekleştirilmektedir. Sinaptik aralığa salındığında nikotinik asetilkolin reseptörleri (nAChR) ve muskarinik

asetilkolin reseptörlerine (mAChR) bağlanarak hücre üzerindeki etkilerini düzenler (Abreu-Villaça et al., 2011). NACHR, iyon kanalı ile ilişkili yapıları sayesinde asetilkolinin hızlı ve uyarıcı etkilerini aracılık eder (Patočka et al., 2004). ACh'nin, kolin ve asetik aside hidrolizi kolinesteraz enzimleri tarafından katalize edilmekte ve böylece nörotransmisyonun sonlandırılmaktadır (Atta et al., 2025; Luque & Muñoz-Torrero, 2024).

Asetilkolinin hidrolizi sonrasında kolin molekülü ortamdan uzaklaştırılmaktadır ve enzim katalitik serin kalıntısı geçici olarak asetillenmektedir. Ardından, asetillenmiş AChE bir su molekülü tarafından hidrolize uğrayarak asetik asit açığa çıkar ve enzim yeniden aktif formuna dönüşür (Şekil 1) (Luque & Muñoz-Torrero, 2024).



Şekil 1. AChE'nin nörotransmisyondaki etki mekanizması (Colović et al., 2013)

2.3.3. Kolinesterazlar

ChE, optimal koşullar altında kolin esterlerini diğer ester substratlardan daha hızlı bir şekilde hidrolize eden enzim ailesinin genel adıdır. ChE'ler, esteraz ailesine ait serin hidrolazlar olup çeşitli karboksilik esterlerin hidrolizini katalizlemektedir (Patočka et al., 2004). Gelişmiş organizmalarda iki ana kolinesteraz vardır: asetilkoline karşı oldukça spesifik olan AChE ve daha spesifik olmayan bir aktivite gösteren ve diğer kolin esterlerini hidrolize edebilen butirilkolinesteraz (BChE) (Reynoso-García et al., 2025). AChE ve BChE'lar homolog glikoproteinler olup yaklaşık %50 sekans özdeşliği göstermelerine rağmen, dokulardaki dağılımları, kinetik özellikleri ve substrat özgüllükleri açısından farklılık göstermektedir (de Almeida et al., 2023). Çalışmalar, AH gelişimi sırasında serebral korteks ve hipokampus gibi beyin en çok etkilenen bölgelerinde AChE aktivitesinde belirgin azalma görünürken BChE aktivitesinde artış olduğunu göstermiştir (Anand & Singh, 2013; Marucci et al., 2021).

2.3.3.1. Asetilkolinesteraz

AChE, karboksil esteraz enzim ailesine aittir ve vücutta nörotransmitterlerin parçalanmasını katalize eden birincil kolinesterazdır (Dar et al., 2020). Gerçek kolinesteraz olarak da adlandırılan AChE, sinir, kas ve hematopoetik hücrelerde sentezlenen, yüksek katalitik etkinliğe sahip olmasından dolayı en verimli enzimlerden biridir (De Boer et al., 2021). Sentezlendikten sonra sinaptik iletimin sonlandırıcısı olarak işlev gördüğü nöromusküler kavşağa/sinaptik yarığa salınan önemli bir enzimdir (Dar et al., 2020). Serin esteraz ailesine dahil edilmesinin nedeni, etki mekanizması için hayati önem taşıyan Ser–His–Glu katalitik üçlüsü ile karakterize edilen bir katalitik bölgenin varlığıdır. AChE üzerinde substrat hidrolizinin gerçekleştiği kısım katalitik bölge ve asetilkolin girişini düzenleyen kısım periferik anyonik bölge (PAB) olarak bilinmektedir (Dar et al., 2020; Reynoso-García et al., 2025). İnsan asetilkolinesterazının yapısı, 14 α -heliks tarafından çevrelenen merkezi bir 12 iplikçikli karma β -tabakadan oluşmaktadır (Son et al., 2019). Enzimin aktif bölgesi, yüksek oranda aromatik yapıda olup yaklaşık 20 Å derinliğinde ve 5 Å genişliğinde olup silindirik dar bir oluğun daha geniş tabanına yakın konumlanmıştır. (Chaudhaery et al., 2010; Hung et al., 2025; Son et al., 2019).

AChE, merkezi kolinerjik sistemdeki anormal değişikliklerin yanı sıra A β 'nin patogenezinde yer alan çeşitli moleküler ve hücresel süreçlere etki edebilir. AChE'nin, A β üretiminde rol oynayan önemli bir enzim olan presenilin-1'e doğrudan bağlanarak bu proteinin ekspresyonunu artırır ve buna bağlı olarak A β düzeylerinde artışa yol açarak bilişsel işlevlerde bozulma hızlanır. Tau proteininin aşırı bir şekilde artışı, nöron iltihabına, hücre apoptozuna, nörotransmitter ve nörohormon sistemi dengesizliğine gibi olaylara da neden olmaktadır (Chen et al., 2022).

2.3.3.2. Butirilkolinesteraz

Asetilkolinesterazın plazmada analogu olan butirilkolinesteraz, geçmişte psödokolinesteraz olarak da adlandırılmıştır ve karaciğerde sentezlenir. Biyolojik işlevi uzun süre tam olarak açıklanamamış olsa da plazmada AChE'ye kıyasla daha yüksek düzeylerde bulunmaktadır (De Boer et al., 2021). Butirilkolinesteraz bir serin hidrolazdır. Asetilkolinesteraza benzer üç boyutlu yapıya sahiptir. Katalitik mekanizmaları asetilkolinesterazla benzer olsa da farklı substrat seçiciliğinin farklılığı ve inhibitörlere verdikleri yanıt bakımından ayrılırlar (Masson et al., 2009). BChE, AChE'ye kıyasla asetilkoline karşı daha düşük substrat özgüllüğüne sahiptir (Giacobini, 2003). BChE, asetilkolin ve diğer kolin esterlerini hidrolize edebilmesine rağmen, günümüze kadar bu enzime özgü fizyolojik bir endojen substrat kesin olarak tanımlanamamıştır. Ancak çok sayıda ester içeren bileşiği parçalayabildiğinden, önemli farmakolojik ve toksikolojik rollere sahiptir (Nicolet et al., 2003).

2.4. Piridazin

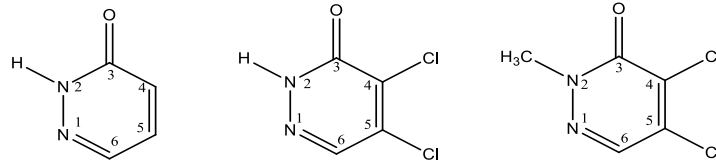
Medisinal kimyada, biyoizosterizm yaklaşımı ilaç tasarımı yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biridir. Piridazin (1,2-diazin) de ilaç tasarımı belirli durumlarda biyoizosterik bir yapı olarak kullanılabilmektedir (Zerroug et al., 2019). Knorr, 1,2 diazin halka sistemi için "piridazin" terimini ortaya atmıştır (Jakhmola et al.). Piridazin türevleri ilk olarak 1886 yılında Emil Fischer tarafından elde edilmiştir. Piridazin, üç izomerik diazin yapısından biri olup siklik bir hidrazon olarak değerlendirilmektedir. Halkadaki iki azot atomunun birbirine yakın şekilde konumlanması, pirimidin ve pirazine kıyasla farklı kimyasal özellikler göstermesine neden olmaktadır (Tişler & Stanovnik, 1968). Piridazinler, altı üyeli azotlu heterosiklik bileşiklerdir ve biyolojik aktiviteleri nedeniyle büyük ilgi gören en önemli heterosiklik bileşikler arasında yer almaktadırlar. Bunlara nispeten piridazinler doğada nadiren bulunur ve bu nedenle uzun süre araştırmacıların ilgisini çekmemişlerdir. 1970'lerden itibaren piridazinlerin popülaritesi artmaya başlamış ve piridazin bazlı bazı ilaçlar tıpta aktif olarak kullanılmaya zamanla başlamıştır (Sergeev & Nenajdenko, 2020).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, piridazin türevlerinin oldukça geniş ve çeşitli bir biyolojik aktivite profiline sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Bu bileşiklerin; analjezik, antiinflamatuvar, antipiretik, ülser önleyici, antimikrobiyal, antiviral, antikanser, antileishmanial, tüberküloz karşıtı, antihipertansif, sedatif-hipnotik, anksiyolitik, antidepresan, antikonvülsan, immünosupresif ve anti-Alzheimer aktiviteler gösterebildiği bildirilmiştir (Alghamdi & Asif, 2021; Butnariu & Mangalagiu, 2009; Daoui et al., 2023).

2.5. 3(2H)-Piridazinon

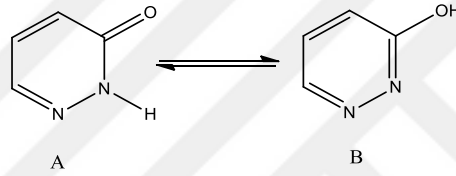
Piridazin yapısı içeren bazı moleküllerin anti-Alzheimer etkinliği gösterdiği literatürde rapor edilmiştir. Bu bileşikler arasında özellikle piridazinon türevleri hem kolay sentezlenebilmeleri hem de halka sisteminin çeşitli pozisyonlarından fonksiyonelleştirilebilmeleri nedeniyle araştırmacıların ilgisini çekmiştir. Bu nedenle piridazinonlar, Alzheimer hastalığına yönelik yeni terapötik ajanların geliştirilmesinde önemli bir araştırma odağı haline gelmiştir (Alghamdi & Asif, 2021).

Piridazinon türevleri doğada genellikle bulunmaz ve bu nedenle tamamen sentetik moleküllerdir. Piridazinon çekirdeği, dört karbon atomu ve iki azot atomundan oluşan altı üyeli bir halkadır ve azot atomlarından birine bitişik karbonlardan birinde bir keton grubu bulunur (Şekil 2) (El Bouamri et al., 2025). 3(2H)-Piridazinon ve türevlerinin isimlendirilmesi aşağıdaki şekilde numaralandırılarak yapılmaktadır (Matrai, 1997)



Şekil 2. 3(2*H*)-piridazinon ve türevlerinin numaralandırılması (Matrai, 1997)

Tautomeri olarak da bilinen tautomerizasyon, bir molekül içerisindeki hidrojen atomunun ya da protonun formal yer değiştirmesi sonucu ortaya çıkmaktadır. Bu harekete paralel olarak, moleküldeki tek bağlar ile komşu çift bağlar da yer değiştirmektedir (Boukharsa et al., 2014). 2. konumunda herhangi bir sübstitüent bulundurmeyen 3(2*H*)-piridazinon türevlerinde, halkadaki azot atomuna bağlı protonun varlığından dolayı bileşiklerin tautomerik denge gösterebildiği literatürde belirtilmektedir (Şekil 3). 3(2*H*)-piridazinon (A), 3-hidroksil piridazinden (B) daha kararlı bir okso formudur (Asproni et al., 2025; Boukharsa et al., 2014).



Şekil 3. 3(2*H*)-piridazinon bileşiğinin keto-enol tautomerizmi (Asproni et al., 2025)

Piridazinon halka yapısının aromatik olduğu düşünülmüş ve bu özelliğini kanıtlamak için spektroskopik ve kimyasal verilerden yararlanılmıştır (Graff & Dobrowolski, 2013). Halka azotunda herhangi bir sübstitüent bulundurmeyen türevlerde zayıf asidik özellik gösterdiğinden dolayı kuvvetli bazlar, aminler ve amonyak ile tuz oluşturmaya yatkındır (Özdemir et al., 2022).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kimyasal Çalışmalar

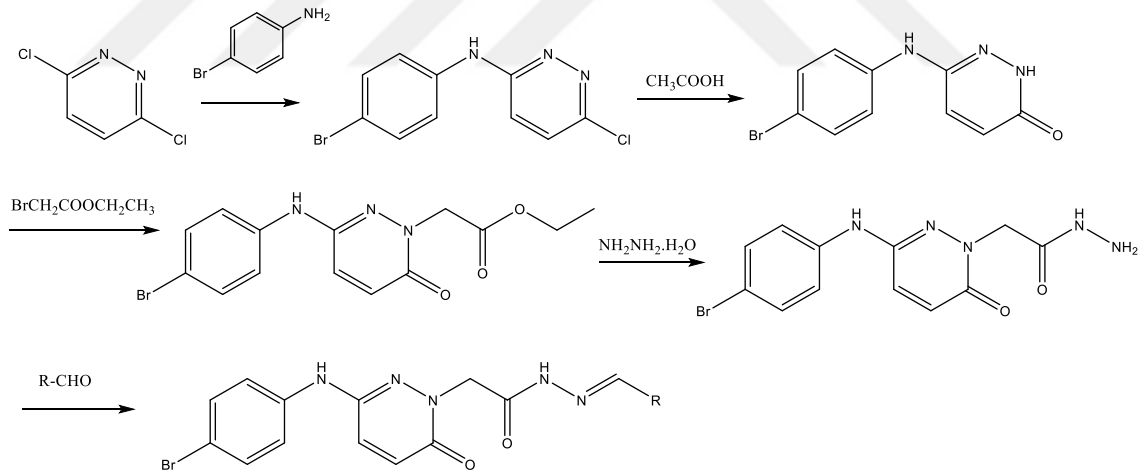
3.1.1. Materyal

Tez kapsamında yapılan sentez çalışmalarında; 3,6-dikloropiridazin, 4-bromoanilin, etil bromoasetat, hidrazin hidrat (%99), 2,4 dimetoksibenzaldehit, 3,4,5-trimetoksibenzaldehit, 2-metoksibenzaldehit, *p*-anisidin, furfural ve 4-bifenil karboksaldehit ve farklı çözücüler kullanıldı.

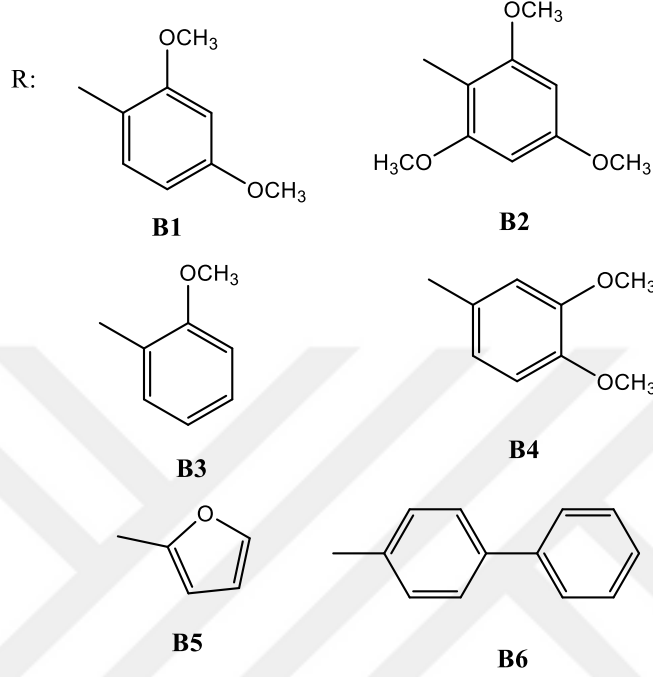
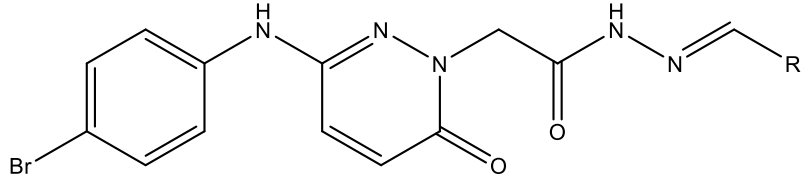
Sentez çalışmalarımızda kullanılan tüm kimyasal maddeler Macklin, BLDpharm, Sigma-Aldrich, ABCR, Acros Organics, Isolab ve Merck firmalarına ait ürünlerdir.

3.1.2. Sentez Yöntemleri

Tez çalışmasında kapsamında tasarlanan ve sentezlenen bileşiklere ait sentez şeması Şekil 4 'de ve bileşiklerin yapıları Şekil 5'te gösterilmiştir.



Şekil 4. Bileşiklerin genel sentez şeması



Şekil 5. Sentezlenen bileşik yapıları

3.1.2.1. Başlangıç Maddelerinin Sentezleri

3-kloro-6-[4-bromoanilin-1-il]piridazin Sentezi (a)

0.01 mol 1.48 gram 3,6-dikloropiridazin ve 0.01 mol 1.72 gram 4-bromoanilin, çözücü olarak 10-15 ml etanol içerisinde, geri çeviren soğutucu altında yaklaşık 8 saat ısıtılarak karıştırıldı. Reaksiyon bitiminde karışım soğuk suya döküldü; elde edilen çökelek daha sonrasında metanol ile saflaştırıldı (Gursoy et al., 2024).

6-[4-bromoanilin-1-il]-3(2H)-piridazinon Sentezi (b)

0.05 mol 3-kloro-6-[4-bromoanilin-1-il]piridazin geri çeviren soğutucuda yaklaşık 30 ml glasiyel asetik asit ile birlikte, yaklaşık 8 saat karıştırılarak ısıtıldı. Reaksiyon bitiminde evaporatörde solvan uçuruldu, kalan artık suda çözüldü ve sonrasında kloroform ile 3 kere ekstre edildi. Organik faz susuz Na_2SO_4 ile kurutulduktan sonra kloroform uçuruldu. Kalan artık uygun çözücüler kullanılarak kristallendirme işlemi ile saflaştırıldı (Merde et al., 2022)

Etil 6-[4-bromoanilin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-il asetat Sentezi (c)

0.01 mol 6-[4-bromo anilin-1-il]-3(2H)-piridazinon, 0.02 mol etil bromoasetat ve 0.02 mol potasyum karbonat 40 ml aseton içerisinde, yaklaşık 30 saat geri çeviren soğutucu altında karıştırılarak ısıtıldı. Karışım soğutuldu, çöken tuz süzüldü ve çözücü uçuruldu. Kalan artık uygun çözücülerden kristallendirilerek saflaştırıldı (Merde et al., 2022).

6-[4-bromo anilin -1-il]-3(2H)-piridazinon-2-il asetohidrazit Sentezi (d)

0.01 mol etil 6-[4-bromoanilin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-il asetat 25 ml etanolde çözüldü ve 3 ml hidrazin hidrat eklenen karışım 6 saat geri çeviren soğutucu altında karıştırılarak ısıtıldı. Oluşan çökelek süzüldü, suyla yıkandı, kurutuldu ve etanolla kristallendirilerek saflaştırıldı (Merde et al., 2022).

3.1.2.2. Sonuç Bileşiklerin Sentezi

0.01 mol 6-[4-bromoanilin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-il asetohidrazit ve 0.01 mol süstitüe aldehit türevleri yaklaşık 15 ml etanol içerisinde, değişen sürelerde geri çeviren soğutucu altında, karıştırılarak ısıtıldı. Reaksiyon tamamlandıktan sonra buzlu suya döküldü, çöken madde süzülüp kurutuldu. Bileşikler çeşitli solvanlarla kristallendirilerek saflaştırıldı.

3.1.3. Analitik Yöntemler

3.1.3.1.İnce Tabaka Kromatografisi ile Yapılan Kontroller

Materyal

İnce tabaka kromatografisiyle (İTK) gerçekleştirilen tayinlerde Kieselgel 60 F254 (Merck) markalı plak tercih edildi.

Kloroform-Metanol (90:10), Dikolorometan-Metanol (90:10) ve Etilasetat:Aseton (1:2) solvan sistemleri bileşiklerin kromatografik analizlerinde kullanıldı.

Yöntem

Hazırlanan çözücü karışımları, kromatografi tanklarına aktarıldı ve tankların çözücü buharıyla doymuş hâle gelmesi için 24 saat boyunca oda koşullarında bekletildi. Ticari olarak temin edilen Kieselgel 60 F254 (Merck) alüminyum plakalar üzerine, sentezlenen bileşikler ile bu bileşiklerin eldesinde kullanılan başlangıç maddelerinin uygun çözücüler içerisinde hazırlanmış çözeltilerinden

örnekler uygulandı. Plakalar, doygunluğa ulaşan çözücü sistemi içinde 10 cm oda sıcaklığında yürütüldükten sonra Rf değerleri belirlendi.

Kromatografik yürütme işlemi tamamlanıp plakalar oda sıcaklığında kurutulduktan sonra, maddelere ait lekelerin görünür hale getirilmesi için 254 ve 365 nm dalga boylarında UV ışığı altında inceleme yapıldı.

3.1.3.2. Spektrometrik Kontroller

¹H-NMR spektrumları

¹H-NMR Spektrumları: İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkez Laboratuvarı'nda, Bruker Avance 600 MHz UltrashieldTM NMR Spektrofotometre cihazı kullanıldı. Spektrumlar bileşik B1-B6'nın dimetilsülfoksit-*d*₆ (Merck) içerisinde yaklaşık 10'luk çözeltilerinden kaydedilmiş olup; δ (ppm) skalasında değerlendirilmiştir.

¹³C-NMR Spektrumları

¹³C-NMR Spektrumları: İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkez Laboratuvarı'nda, Bruker Avance 600 MHz UltrashieldTM NMR Spektrofotometre cihazı kullanıldı. Spektrumlar bileşik B1-B6'nın dimetilsülfoksit-*d*₆ (Merck) içerisinde yaklaşık 10'luk çözeltilerinden kaydedilmiş olup; δ (ppm) skalasında değerlendirilmiştir.

Kütle spektrumları

Kütle Spektrumları: İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkez Laboratuvarı'nda, Thermo Scientif Exactive Plus Benchtop Full-Scan Orbitrap Mass Spectrometer LC-HRMS analizler kullanılarak B1-B6'nın kütle spektrumları alınmıştır.

3.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

3.2.1. Kolinesteraz Aktivite Tayini

1 M Tris/HCl-5 mM EDTA (pH:8,0) (tampon) çözeltisi: 30.27 g tris ve 0.370 g EDTA alınarak 200 ml distile suda çözöldü. Çözeltinin pH'sı HCl çözeltisi kullanılarak pH 8'e ayarlandı. Daha sonra elde edilen çözelti 250 ml'ye distile su ile tamamlandı.

10 mM asetil tiyokolin iyodat çözeltisi: 0.145 g asetil tiyokolin iyodat az miktarda distile suda çözöldü. Daha sonra elde edilen çözelti 50 ml'ye distile su ile tamamlandı.

10 mM bütiril tiyokolin iyodat çözeltisi: 0.159 g bütiril tiyokolin iyodat az miktara distile suda çözülüp, daha sonra elde edilen çözelti 50 ml'ye distile su ile tamamlandı.

%1'lik sodyum sitrat-0.5 mM DTNB çözeltisi: 0.5 g sodyum sitrat ve 0.01 g DTNB (5,5'-ditiyobis(2-nitrobenzoik asit)) alındı az miktarda distile suda çözüldü. Daha sonra elde edilen çözelti 50 ml'ye distile su ile tamamlandı.

96 kuyucuklu pleytte tasarlanırken aşağıdaki tablodaki oranlar kullanıldı.

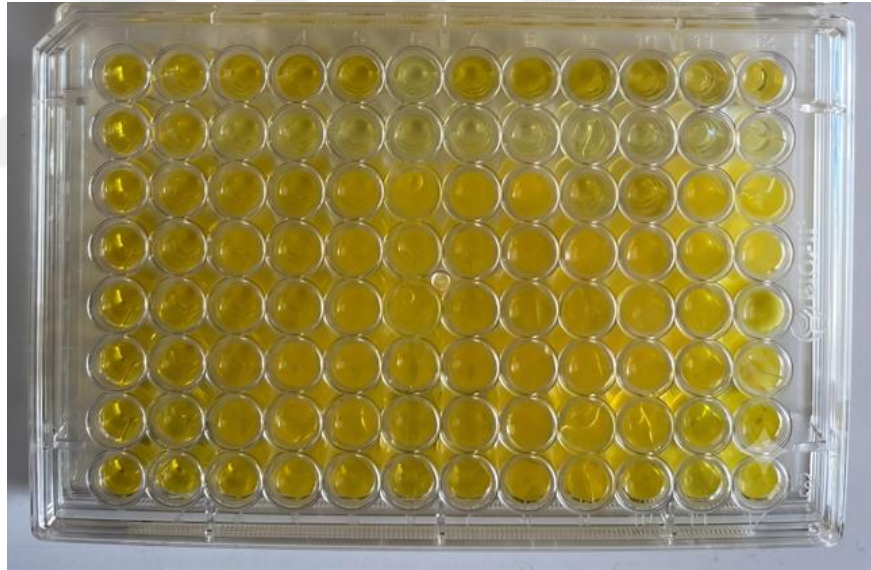
Tablo 1. 96 kuyucuklu pleytte tasarlanırken kullanılan oranlar

Reaktif	Kör	Kontrol (%100 Aktivite)	Test Numunesi	Standart İlaç
Fosfat Tamponu	150 µL	130 µL	130 µL	130 µL
Çözücü	20 µL	20 µL	-	-
Test Numunesi	-	-	20 µL	-
Standart İlaç Çözeltisi	-	-	-	20 µL
DTNB	20 µL	20 µL	20 µL	20 µL
Enzim	-	20 µL	20 µL	20 µL
İnkübasyon (10-15 dk, 37°C)				
Substrat	10 µL	10 µL	10 µL	10 µL
Toplam Hacim	200 µL	200 µL	200 µL	200 µL

Asetilkolinesteraz/bütirilkolinesteraz, asetiltiyokolinin/bütiriltiyokolinin tiyokoline hidrolizini katalizler. Tiyokolinin oluşum oranı, 5-tiyo-2-nitrobenzoik asitin oluşumundan kaynaklanan kolorimetrik farktan oluşan absorbans değerleri 412 nm'de ölçüldü. Absorbans değerlerinden Lambert Beer yasasına göre miktara ve IC₅₀ değerlerine GraphPad Prism 10 programı sayesinde hesaplandı (Ellman et al., 1961).



Şekil 6. AChE inhibisyon çalışması



Şekil 7. BChE inhibisyon çalışması

3.2.2. Sitotoksosite

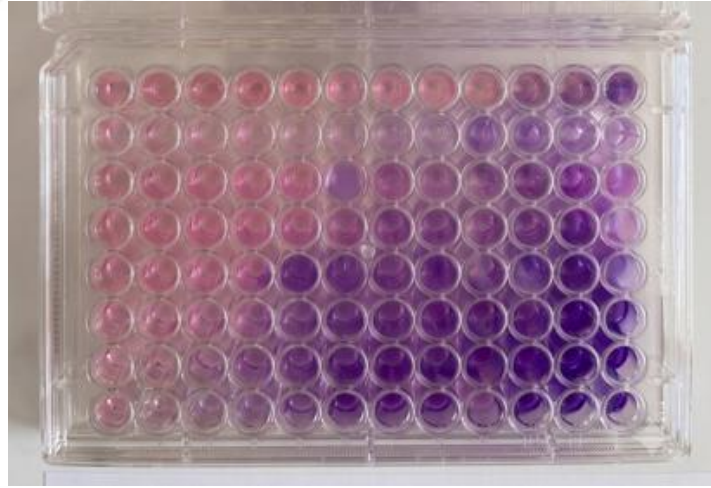
Ven endotel hücre hattı (HUVEC, ATCC CRL-1730) kullanıldı. Hücreler, %1 penisilin/streptomisin ve %10 fetal sığır serumu (FBS) içeren RPMI besiyerinde; 37 °C sıcaklık, %5 CO₂ ve %95 nem içeren inkübatörde üretildi. Hücre ekimi, 250 ml'lik kültür flasklarına flask hacminin %10'u kadar besiyeri içerecek şekilde 105 hücre/ml yoğunluğunda yapıldı. Hücreler flask yüzeyinde tek tabaka halinde konfluent duruma ulaşana dek inkübe edildi; gereksinim duyuldukça besiyeri değişimi yapıldı. Yüzeye

tutunan hücreler 50 ml'lik falkon tüplerine tripsin solüsyonu ile kaldırılarak alındı ve 15 dakika 1500 rpm'de santrifüj edilerek pelletlendi. Hücre sayımı ve canlılık tayini, %0,9'luk NaCl içerisinde hazırlanan %1'lik tripan mavisi boyası kullanılarak ışık mikroskobu altında gerçekleştirildi.

Sentezlenen bileşiklerin hücre canlılığı üzerindeki etkilerini ve HUVEC hücre hattı üzerindeki non-toksik konsantrasyonlarını belirlemek için MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) analizi kullanıldı.

Hücreler, çok kuyucuklu pleytlere kuyucuk başına 105 hücre/ml olacak şekilde ekildi ve hücrelerin yüzeye tutunması için 6 saat inkübe edildi. İnkübasyonun ardından besiyerine sentezlenen bileşiklerin farklı konsantrasyonları (2.5, 5, 10, 25 ve 50 μ M) eklendi ve pleytler 37 °C'de inkübasyona bırakıldı ve pozitif kontrol olarak Sorafenib tosilat kullanıldı. Tüm deneyler tekrarlar halinde gerçekleştirildi.

Kuyucuklara 10 μ l MTT eklenip 4 saat inkübe edildikten sonra 570 nm'de absorbans ölçümü yapıldı; elde edilen değerler negatif kontrole oranlanarak % hücre canlılığı belirlendi ve IC₅₀ değerleri GraphPad Prism 10 yazılımı ile moleküllerin mol ağırlıklarıyla dönüşüm hesaplanarak tablollaştırıldı (Mosmann, 1983).

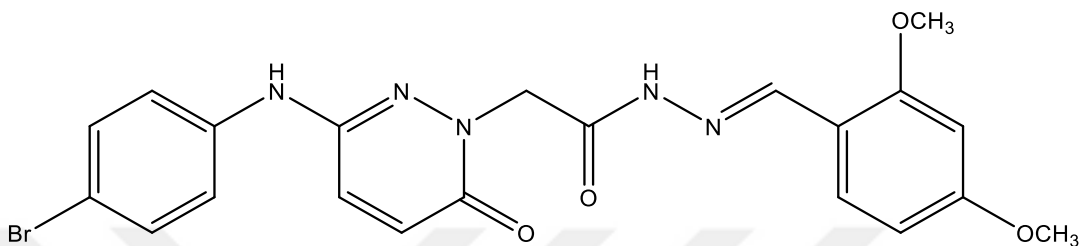


Şekil 8. HUVEC hücrelerinde MTT çalışması

4. BULGULAR

4.1. Kimyasal Çalışmalar

4.1.1. 2-(3-((4-bromofenil)amino)-6-oksopiridazin-1(6H)-il)-N'-(2,4-dimetoksibenziliden)asetohidrazit (B1)



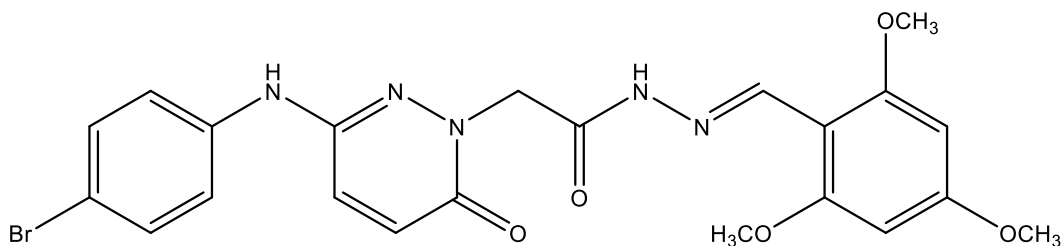
3.38 g (0.01 mol) 6-[4-bromoanilin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-il asetohidrazit ve 1.6617 g (0.01 mol) 2,4-dimetoksibenzaldehitten hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edildi, reaksiyon ortamı buzlu suya döküldü; çöken madde süzüldü, kurutuldu. Metanol ile saflaştırıldı. Açık sarı renkte toz bileşiktir, verim 0.0177 g (% 36.4)'dır.

^1H -NMR spektrumunda (DMSO- d_6 , 600 MHz), δ 3.82 (3H; s; 2-O-CH₃), 3.84 (3H; s; 4-O-CH₃), 4.90 (2H, s, -CH₂-), 6.88-6.90 (2H, d, 2,4-dimetoksifenil 3-H, 5-H), 6.95 (2H; d; 4-bromofenil 2,6 protonları), 7.20 (1H, d, piridazinon 5-H), 7.28 (2H, d, 4-bromofenil 3,5 protonları), 7.51 (1H, d, 2,4-dimetoksifenil 6-H), 7.54 (1H, d, piridazinon 4-H), 7.98 (1H, s, =CH-), 11.45 ppm'de (1H; s; -NH-) pikleri görüldü.

^{13}C -NMR spektrumunda (DMSO- d_6 , 150 MHz) δ 55.08 (1C; 2-O-CH₃), 55.25 (1C; 4-O-CH₃), 55.78 (-CH₂-), 105.46 (1C; 2,4-dimetoksifenil 3C), 107.15 (1C; 2,4-dimetoksifenil 5C), 114.80-115.10 (3C; 4-bromofenil 2-C, 4-C, 6-C), 124.16-130.20 (4C; 4-bromofenil 1-C, piridazinon 5-C, 4-bromofenil 3-C,5-C), 138.24 (1C; piridazinon 4-C), 140.84 (2C; 2,4-dimetoksifenil 2C, 4C), 142.16(1C; =CH-), 164.80 (1C; piridazinon -O-C=O), 171.50 (1C; -O-C=O) ppm'de pikler görüldü.

Kütle spektrumunda (LC-MS/MS): m/e 487.3166 ([M+H]⁺), 242.1538 ve 198.1217'de pikler görüldü.

4.1.2. 2-(3-((4-bromofenil)amino)-6-oksopiridazin-1(6H)-il)-N'-(2,4,6-trimetoksibenziliden)asetohidrazit (B2)



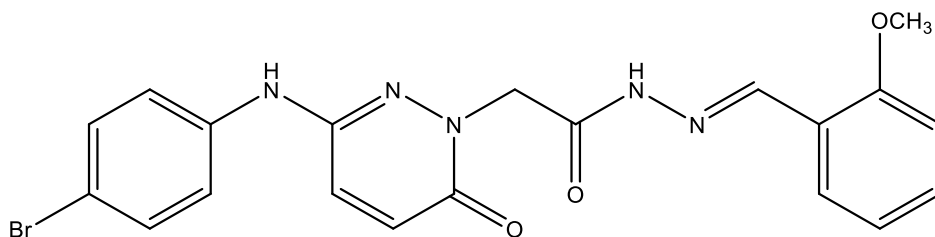
3.38 g (0.0003 mol) 6-[4-bromoanilin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-il asetohidrazit ve 1.962 g (0.01 mol) 2,4,6-trimetoksibenzaldehitten hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edildi, reaksiyon ortamı buzlu suya döküldü; çöken madde süzüldü, kurutuldu. Metanol ile saflaştırıldı. Koyu sarı renkte toz bileşiktir, verim 0.1245 g (% 80.37)'dir.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-*d*₆, 600 MHz), δ 3.80 (3H; s; 4-O-CH₃), 3.88 (6H; s; 2,6-O-CH₃), 4.78 (2H, s, -CH₂-), 6.38 (2H, s, 2,4,6-trimetoksifenil 3-H, 5-H), 6.84 (2H; d; 4-bromofenil 2,6 protonları), 6.98 (1H, d, piridazinon 5-H), 7.27 (2H, d, 4-bromofenil 3,5 protonları), 7.66 (1H, d, piridazinon 4-H), 8.06 (1H, s, =CH-), 11.52 ppm'de (1H; s; -NH-) pikleri görüldü.

¹³C-NMR spektrumunda (DMSO-*d*₆, 150 MHz) δ 55.24-55.28 (3C; 2-O-CH₃, 4-O-CH₃, 6-O-CH₃), 56.40 (-CH₂-), 101.20 (1C; 2,4,6-trimetoksifenil 1C), 103.58 (2C; 2,4,6-trimetoksifenil 3C,5C), 114.80-114.72 (3C; 4-bromofenil 2-C, 4-C, 6-C), 122.68-132.44 (4C; 4-bromofenil 1-C, piridazinon 5-C, 4-bromofenil 3-C,5-C), 136.62 (1C; piridazinon 4-C), 154.60 (2C; 2,4,6-trimetoksifenil 2C, 6C), 158.44 (1C; 2,4,6-trimetoksifenil 4C), 158.88 (1C; =CH-), 160.24 (1C; piridazinon -O-C=O), 169.96 (1C; -O-C=O) ppm'de pikler görüldü.

Kütle spektrumunda (LC-MS/MS): m/e 517.3448 ([M+H]⁺), 242.1538 ve 198.1217'de pikler görüldü.

4.1.3. 2-(3-((4-bromofenil)amino)-6-oksopiridazin-1(6H)-il)-N'-(2-metoksibenziliden)asetohidrazit (B3)



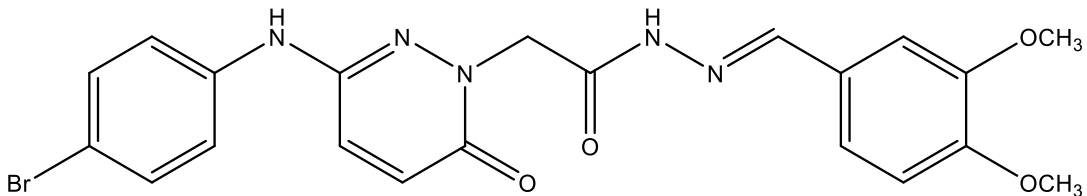
3.38 g (0.01 mol) 6-[4-bromoanilin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-il asetohidrazit ve 122 ml (0.01 mol) 2-metoksibenzaldehitten hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edildi, reaksiyon ortamı buzlu suya döküldü; çöken madde süzüldü, kurutuldu. Metanol ile saflaştırıldı. Açık sarı renkte toz bileşiktir, verim 0.0590 g (% 43.19)'dır.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-*d*₆, 600 MHz), δ 3.81 (3H; s; O-CH₃), 5.11 (2H, s, -CH₂-), 6.91 (2H; d; 4-bromofenil 2,6 protonları), 7.12 (1H, d, 2-metoksifenil 3-H), 7.48 (2H, d, 4-bromofenil 3,5 protonları), 7.50 (1H, d, piridazinon 5-H), 7.52 (1H, t, 2-metoksifenil 4-H), 7.54 (1H, d, piridazinon 4-H), 7.75 (1H, d, 2-metoksifenil 6-H), 8.01 (1H, s, =CH-), 11.70 ppm'de (1H; s; -NH-) pikleri görüldü.

¹³C-NMR spektrumunda (DMSO-*d*₆, 150 MHz) δ 52.88 (1C; -O-CH₃), 55.66 (-CH₂-), 111.19 (1C; 2-metoksifenil 3C), 116.99-120.38 (4C; 2-metoksifenil 1-C, 4-bromofenil 2-C,4-C,6-C), 129.05-131.45 (4C; 2-metoksifenil 5-C, piridazinon 5-C, 4-bromofenil 3-C,5-C), 135.79-143.64 (2C; 4-bromofenil 1-C, piridazinon 4-C), 144.15 (1C; =CH-), 150.02 (2-metoksifenil 2-C), 160.04 (1C; Piridazinon -O-C=O), 168.64 (1C; -O-C=O) ppm'de pikler görüldü.

Kütle spektrumunda (LC-MS/MS): m/e 457.2118 ([M+H]⁺), 360.3232 ve 198.1217'de pikler görüldü.

4.1.4. 2-(3-((4-bromofenil)amino)-6-oksopiridazin-1(6*H*)-il)-*N'*-(3,4-dimetoksibenziliden)asetohidrazit (B4)



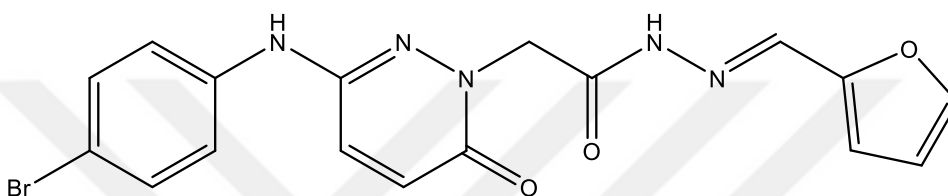
3.38 g (0.01 mol) 6-[4-bromoanilin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-il asetohidrazit ve 1.6617 g (0.01 mol) 3,4-dimetoksibenzaldehitten hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edildi, reaksiyon ortamı buzlu suya döküldü; çöken madde süzüldü, kurutuldu. Etanol ile saflaştırıldı. Sarı renkte toz bileşiktir, verim 0.82 g (% 56.20)'dır.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-*d*₆, 600 MHz), δ 3.83 (3H; s; 4-O-CH₃), 3.85 (3H; s; 3-O-CH₃), 5.05 (2H, s, -CH₂-), 6.86 (2H; d; 4-bromofenil 2,6 protonları), 7.12 (1H, d, 3,4-dimetoksifenil 5-H), 7.35 (2H, d, 4-bromofenil 3,5 protonları), 7.44 (1H, d, piridazinon 5-H), 7.47-7.52 (2H, s, d, 3,4-dimetoksifenil 2-H, 6-H), 7.58 (1H, d, piridazinon 4-H), 8.04 (1H, s, =CH-), 11.65 ppm'de (1H; s; -NH-) pikleri görüldü.

¹³C-NMR spektrumunda (DMSO-*d*₆, 150 MHz) δ 54.45 (2C; 3-O-CH₃, 4-O-CH₃), 56.36 (-CH₂-), 110.08 (1C; 3,4-dimetoksifenil 5C), 113.54-120.38 (4C; 3,4-dimetoksifenil 2-C, 6-C, 4-bromofenil 2-C,4-C, 6-C), 126.59-130.20 (4C; 4-bromofenil 1-C, piridazinon 5-C, 4-bromofenil 3-C,5-C), 133.15 (1C; piridazinon 4-C), 143.62 (1C; =CH-), 164.60 (1C; Piridazinon -O-C=O), 169.10 (1C; -O-C=O) ppm'de pikler görüldü.

Kütle spektrumunda (LC-MS/MS): m/e 487.3162 ([M+H]⁺), 242.1537 ve 198.1217'de pikler görüldü.

4.1.5. 2-(3-((4-bromofenil)amino)-6-okspiridazin-1(6H)-il)-N'-(furan-2-ilmetlen)asetohidrazit (B5)



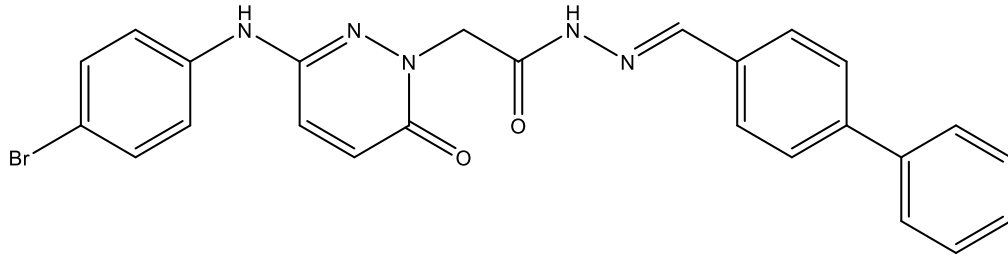
3.38 g (0.01 mol) 6-[4-bromoanilin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-il asetohidrazit ve 83 ml (0.01 mol) furfuraldan hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edildi, reaksiyon ortamı buzlu suya döküldü; çöken madde süzüldü, kurutuldu. Etanol ile saflaştırıldı. Sarı toz bileşiktir, verim 0.0795 g (% 63.67)'dir.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-*d*₆, 600 MHz), δ 4.68 (2H, s, -CH₂-), 6.93 (1H, d, furan 3-H), 6.44 (2H; d; 4-bromofenil 2,6 protonları), 6.81 (1H, d, piridazinon 5-H), 7.23 (1H, d, furan 5-H), 7.28 (2H, d, 4-bromofenil 3,5 protonları), 7.54 (1H, d, furan 2-H), 7.94 (1H, d, piridazinon 4-H), 9.21 (1H, s, =CH-), 11.64 (1H; s; -NH-), 11.65 ppm'de (1H; s; -NH-) pikleri görüldü.

¹³C-NMR spektrumunda (DMSO-*d*₆, 150 MHz) δ 57.24 (-CH₂-), 110.40 (1C; furan 3C), 112.46-113.06 (3C; 4-bromofenil 2-C, 4-C, 6-C), 118.36 (1C; furan 4C), 120.20-131.23 (4C; 4-bromofenil 1-C, piridazinon 5-C, 4-bromofenil 3-C,5-C), 132.57 (1C; piridazinon 4-C), 144.63 (1C; furan 2C), 149.24 (1C; furan 1C), 151.44 (1C; =CH-), 160.48 (1C; piridazinon -O-C=O), 170.11 (1C; -O-C=O) ppm'de pikler görüldü.

Kütle spektrumunda (LC-MS/MS): m/e 438.0171 ([M+Na]⁺), 416.0351 ([M+H]⁺), 360.3232 ve 198.1217'de pikler görüldü.

4.1.6. *N'*-([1,1'-bifenil]-4-ilmetlen)-2-(3-((4-bromofenil)amino)-6-oksopiridazin-1(6*H*)-il)asetohidrazit (B6)



3.38 g (0.01 mol) 6-[4-bromoanilin-1-il]-3(2*H*)-piridazinon-2-il asetohidrazit ve 1.88 g (0.01 mol) 4-bifenilkarboksaldehitten hareketle genel sentez yöntemine göre sentez edildi, reaksiyon ortamı buzlu suya döküldü; çöken madde süzüldü, kurutuldu. Etanol ile saflaştırıldı. Açık sarı toz bileşiktir, verim 0.0295 (% 19.57)'dir.

¹H-NMR spektrumunda (DMSO-*d*₆, 600 MHz), δ 4.79(2H, s, -CH₂-), 6.94 (1H, d, piridazinon 5-H), 6.98 (2H; d; 4-bromofenil 2,6 protonları), 7.27 (2H, d, 4-bromofenil 3,5 protonları), 7.29-8.04 (9H, m, bifenil protonları), 8.15 (1H, d, piridazinon 4-H), 8.44 (1H, s, =CH-), 10.90 (1H; s; -NH-), 11.20 ppm'de (1H; s; -NH-) pikleri görüldü.

¹³C-NMR spektrumunda (DMSO-*d*₆, 150 MHz) δ 57.02 (-CH₂-), 112.44-112.80 (3C; 4-bromofenil 2-C, 4-C, 6-C), 124.50-130.44 (10C; bifenil Clar, piridazinon 4-C), 135.18-136.72 (13C; bifenil Clar, 4-bromofenil 1-C), 140.90 (1C; piridazinon 5-C), 151.44 (1C; =CH-), 164.78 (1C; piridazinon -O-C=O), 169.54 (1C; -O-C=O) ppm'de pikler görüldü.

Kütle spektrumunda (LC-MS/MS): m/e 502.3626 ([M+H]⁺), 242.1538 ve 198.1217'de pikler görüldü.

4.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

4.2.1. Kolinesteraz Aktivite Çalışmaları

B1, B2, B3, B4, B5 ve B6 bileşiklerinin AChE ve BChE inhibitör aktivite sonuçları Tablo 2 ve Tablo 3'te gösterilmiştir. Referans ilaç olarak takrin kullanıldı. Bileşikler inhibisyon mekanizmalarının belirlemek için ayrıntılı olarak incelendi. Kinetik çalışmalarda, Cheng-Prusoff Denklemi baz alınarak AChE için Km: 0.11 mM, BChE için Km: 0.1 mM olarak baz alındı (Fidan et al., 2015).

Tablo 2. *In vitro* AChE inhibisyon sonuçları

Bileşik	IC ₅₀ (μM)	AChE R ²	K _i (μM)
B1	6.2	0.9769	3.28±0.36
B2	4.4	0.9740	2.50±0.21
B3	9.3	0.9951	2.53±0.31
B4	7.6	0.9917	2.33±0.16
B5	5.72	0.9870	4.12±1.42
B6	3.40	0.9693	3.21±0.98
*Takrin	4.12	0.9697	3.42±0.62

Tablo 3. *In vitro* BChE inhibisyon sonuçları

Bileşik	IC ₅₀ (μM)	BChE R ²	K _i (μM)
B1	19.66	0.9542	4.35±0.19
B2	10.81	0.9342	3.6±1.2
B3	31.4	0.8763	4.03±1.9
B4	21.52	0.9234	2.09±0.8
B5	11.67	0.9756	2.48±0.88
B6	12.56	0.9543	2.18±0.23
*Takrin	8.34	0.9435	3.33±0.56

4.2.2. Sitotoksosite Çalışmaları

B1, B2, B3, B4, B5 ve B6 bileşiklerinin AChE ve BChE inhibitör aktivite sonuçları Tablo 4'te gösterilmiştir. Referans ilaç olarak Sorafenib tosilat kullanıldı.

Tablo 4. Bileşiklerin HUVEC hücre hattındaki IC₅₀ değerleri

Bileşik	IC ₅₀ (μg/mL)
B1	103.06±1.32
B2	96.92±0.92
B3	89.03±1.1
B4	94.06±0.88
B5	87.32±1.4
B6	92.4±1.23
*Sorafenib	13.75±0.12

5.TARTIŞMA

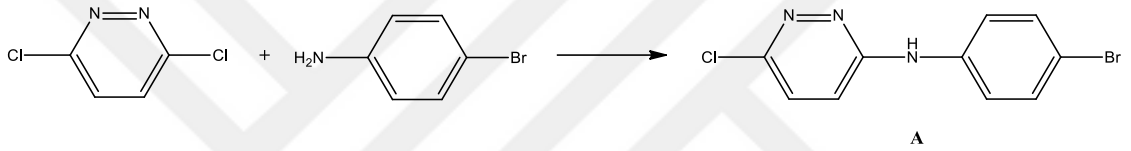
5.1. Kimyasal Çalışmalar

5.1.1. Sentez Çalışmaları

5.1.1.1. Başlangıç Maddelerinin Sentezi

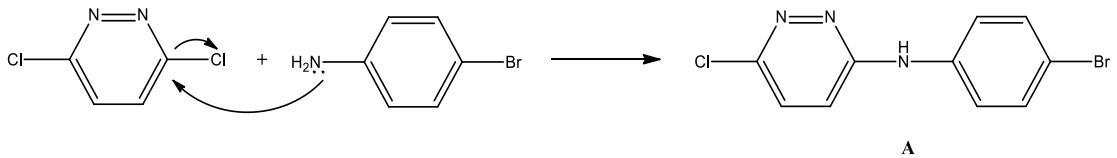
3-kloro-6-[4-bromoanilin-1-il]piridazin Sentezi

3,6-dikloropiridazin ve 4-bromoanilin reaksiyonu sonucu başlangıç maddesi olarak kullanılan 3-kloro-6-[4-bromoanilin-1-il]piridazin etanol içerisinde literatür yöntemine göre hazırlandı. % 82.69 verimle elde edildi. Elde edilen bileşik metanol ile kristallendirilerek saflaştırıldı.



Şekil 9. 3-kloro-6-[4-bromoanilin-1-il]piridazin sentezi

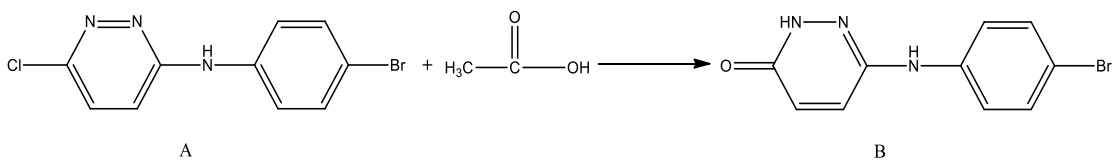
4-Bromoanilin amino grubundaki ortaklanmamış elektron çifti, 3,6-dikloropiridazin halkasının klor taşıyan karbonuna nükleofilik saldırıda bulunur. Nükleofilik katım reaksiyonu sonucu 3-kloro-6-[4-bromoanilin-1-il]piridazin (A) oluşur.



Şekil 10. 3-kloro-6-[4-bromoanilin-1-il]piridazin sentez mekanizması

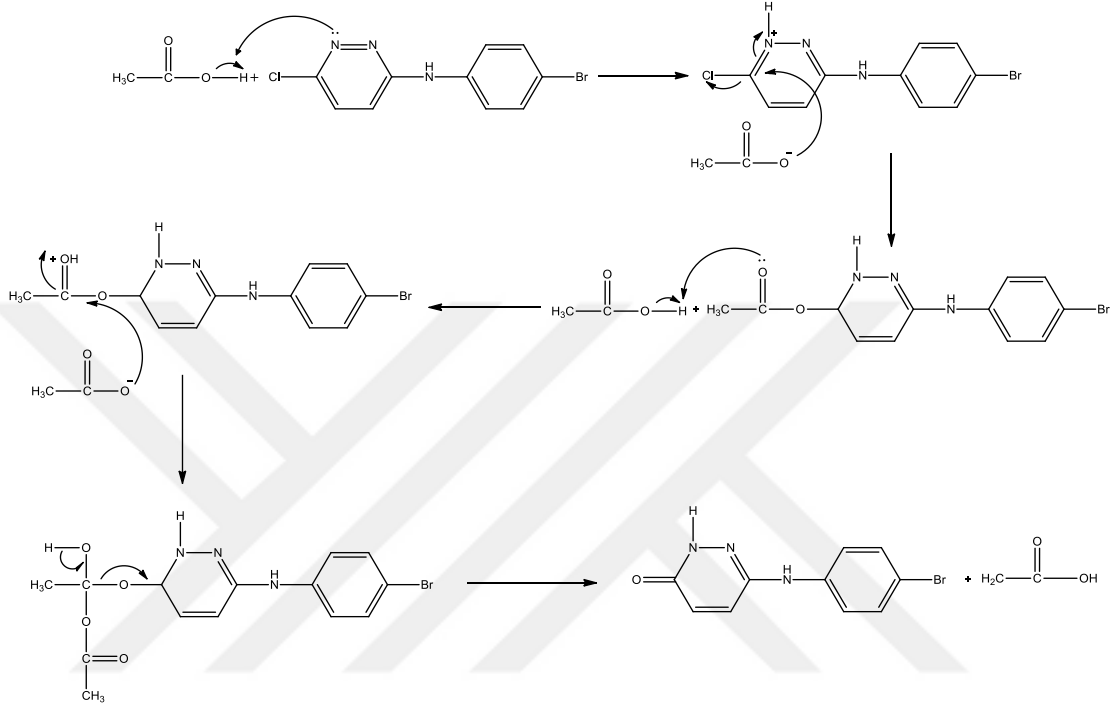
6-[4-bromoanilin-1-il]-3(2H)-piridazinon Sentezi

3-kloro-6-[4-bromoanilin-1-il]piridazin glasiyel asetik asitle hidrolizi sonucu 6-[4-bromoanilin-1-il]-3(2H)-piridazinon literatür yöntemi kullanılarak % 54.80 verimle elde edildi.



Şekil 11. 6-[4-bromoanilin-1-il]-3(2H)-piridazinon sentezi

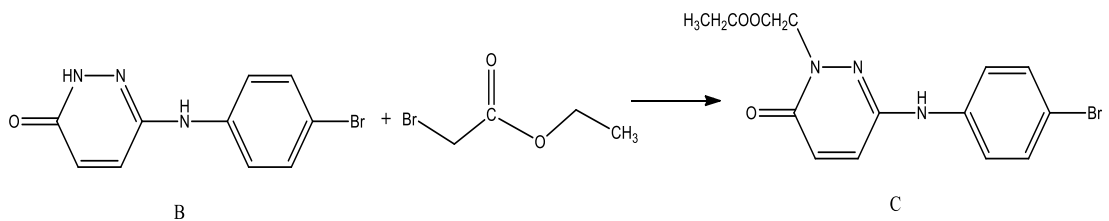
Bu reaksiyon için nükleofilik aromatik yer değiştirme (S_NAr) mekanizması önerilmektedir. Piridazin halkasındaki azot atomlarının elektron çekici etkisiyle elektron yönünden fakirleşen C-3 karbonuna nükleofilik saldırı gerçekleşerek ara kompleks oluşur. Ardından klorür iyonunun ayrılmasıyla aromatiklik yeniden kazanılır ve oluşan ara ürün proton transferleri ile daha kararlı olan 6-(4-bromoanilin-1-il)-3(2H)-piridazinon yapısına dönüşür.



Şekil 12. 6-[4-bromoanilin-1-il]-3(2H)-piridazinon sentez mekanizması

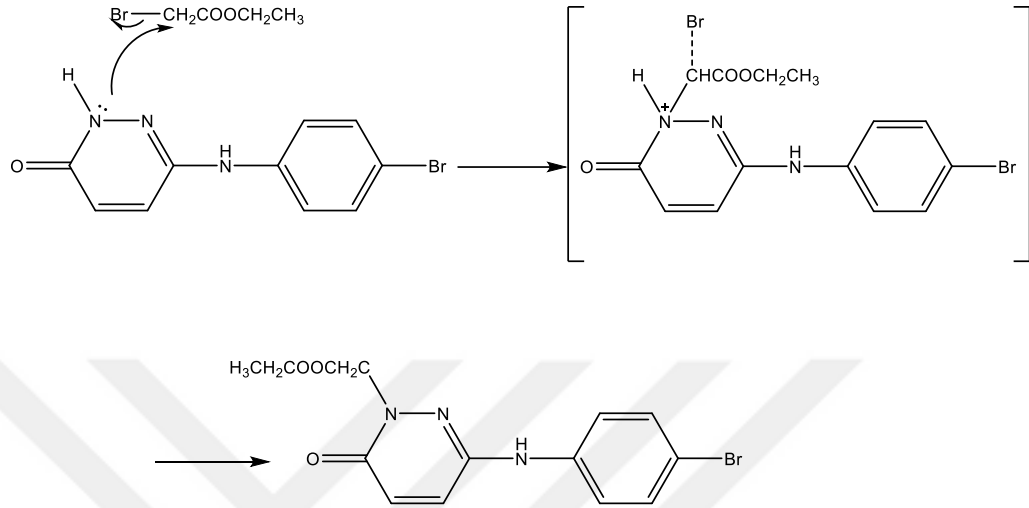
Etil 6-[4-bromoanilin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-il asetat Sentezi

Oluşan 6-[4-bromoanilin-1-il]-3(2H)-piridazinon etil bromoasetat ile reaksiyonu sonucu etil 6-[4-bromoanilin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-il asetat elde edildi. Reaksiyon ince tabaka kromatografisinde 6-[4-bromoanilin-1-il]-3(2H)-piridazinon bileşiğine ait leke tamamen kaybolana kadar devam ettirildi. % 74,70 verimle elde edildi.



Şekil 13. Etil 6-[4-bromoanilin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-il asetat sentezi

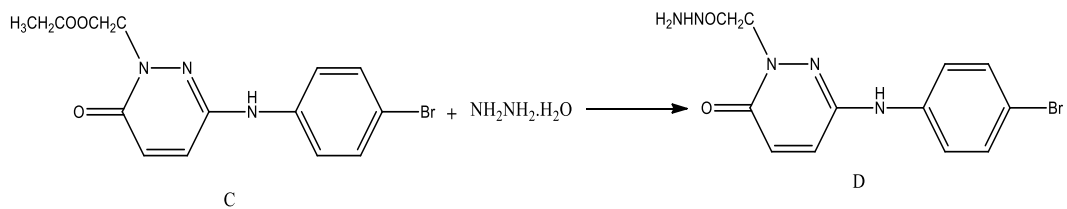
Bu reaksiyonun, SN2 mekanizması üzerinden gerçekleştiği düşünülmektedir. Bazik ortamda nükleofilik özellik kazanan piridazinon halkasına ait halojen ve karbonil gruplarının elektron çekici etkisi nedeniyle elektron yönünden fakirleşerek elektrofilik karakteri artan karbon atomuna arkadan saldırıda bulunmasıyla reaksiyon gerçekleşir.



Şekil 14. Etil 6-[4-bromoanilin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-il asetat sentezi mekanizması

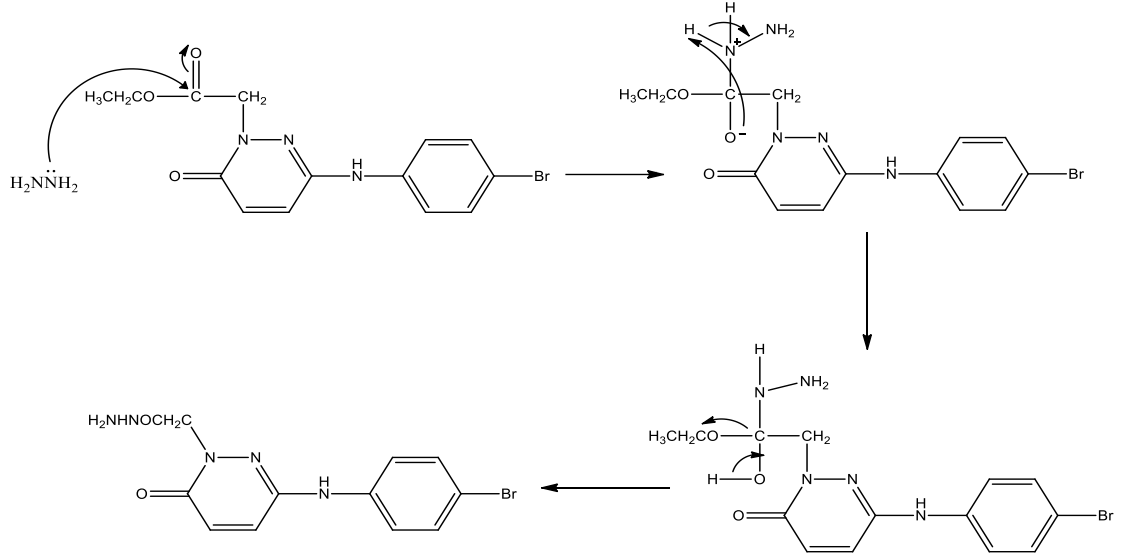
6-[4-bromo anilin -1-il]-3(2H)-piridazinon-2-il asetohidrazit Sentezi

Elde edilen Etil 6-[4-bromoanilin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-il asetat bileşiğinin hidrazin hidrat ile reaksiyonu sonucu 6-[4-bromo anilin -1-il]-3(2H)-piridazinon-2-il asetohidrazit bileşiği elde edildi.



Şekil 15. 6-[4-bromo anilin -1-il]-3(2H)-piridazinon-2-il asetohidrazit sentezi

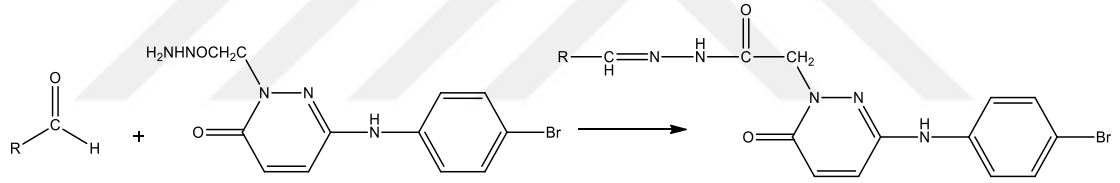
Karbonil karbonuna hidrazin hidrat nükleofilinin hücum etmesiyle katım reaksiyonu gerçekleşir. Katımdan sonra oluşan molekülden alkol çıkışıyla karbon ile oksijen arasında çifte bağ oluşarak eliminasyon reaksiyonu oluşur. İnce tabaka kromatografisinde etil 6-[4-bromoanilin-1-il]-3(2H)-piridazinon-2-il asetat ait lekenin tamamen kaybolması ile reaksiyonun süresi belirlenmiştir. %86.25 verimle bileşik elde edilmiştir.



Şekil 16. 6-[4-bromo anilin -1-il]-3(2H)-piridazinon-2-il asetohidrazit sentez mekanizması

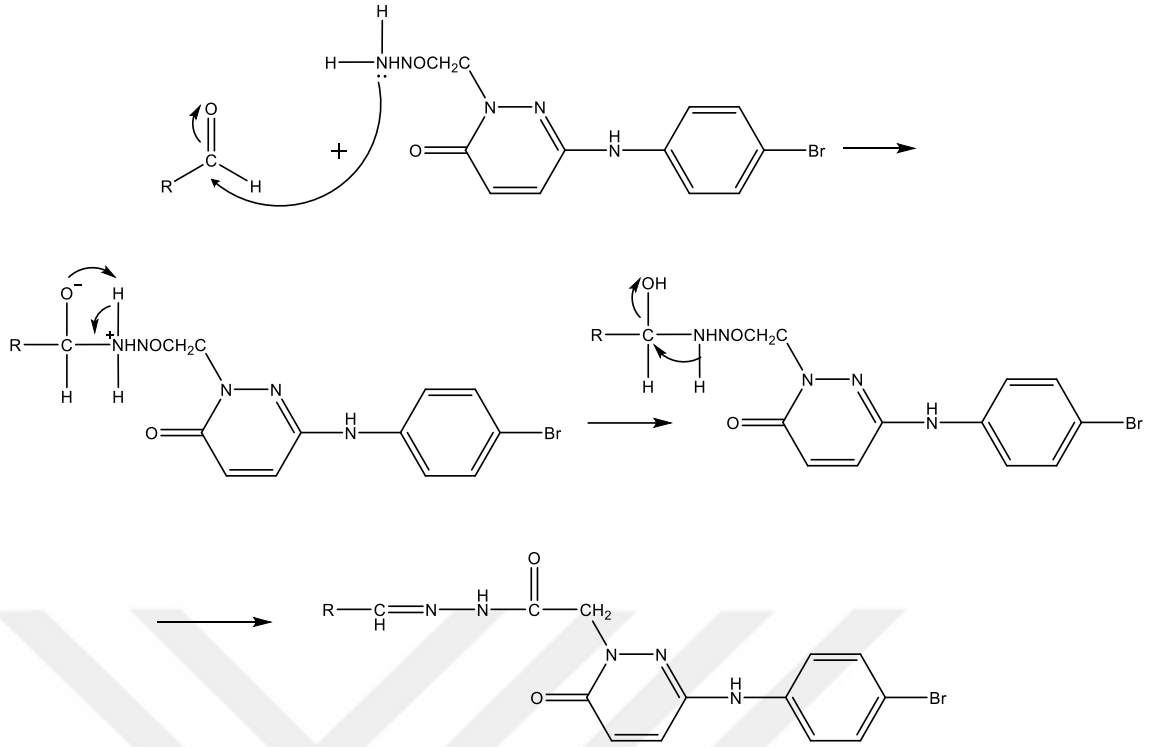
5.1.1.2. Sonuç Bileşiklerin Sentezi

Sonuç bileşikleri (B1-6) 6-[4-bromo anilin -1-il]-3(2H)-piridazinon-2-il asetohidrazitin süstitüe aldehitlerle reaksiyonu sonucu elde edildi.



Şekil 17. Sonuç bileşiklerin sentezi

Hidrazin grubu üzerindeki azot atomu, aldehit molekülündeki karbonil karbonuna nükleofil olarak saldırarak bir katılma reaksiyonu başlatır. Ardından, molekülden bir su molekülü ayrılır ve bu eliminasyon süreci sonucunda karbon ile azot arasında bir çift bağ oluşur.



Şekil 18. Sonuç bileşiklerin reaksiyon mekanizması

5.1.2. Sentez Edilen Bileşiklerin Yapılarının Aydınlatılması

Bileşik B1-6'nın yapıları $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ ve kütle spektroskopisi analizi verileri kullanılarak kanıtlandı.

5.1.2.1. $^1\text{H-NMR}$ Spektrumları

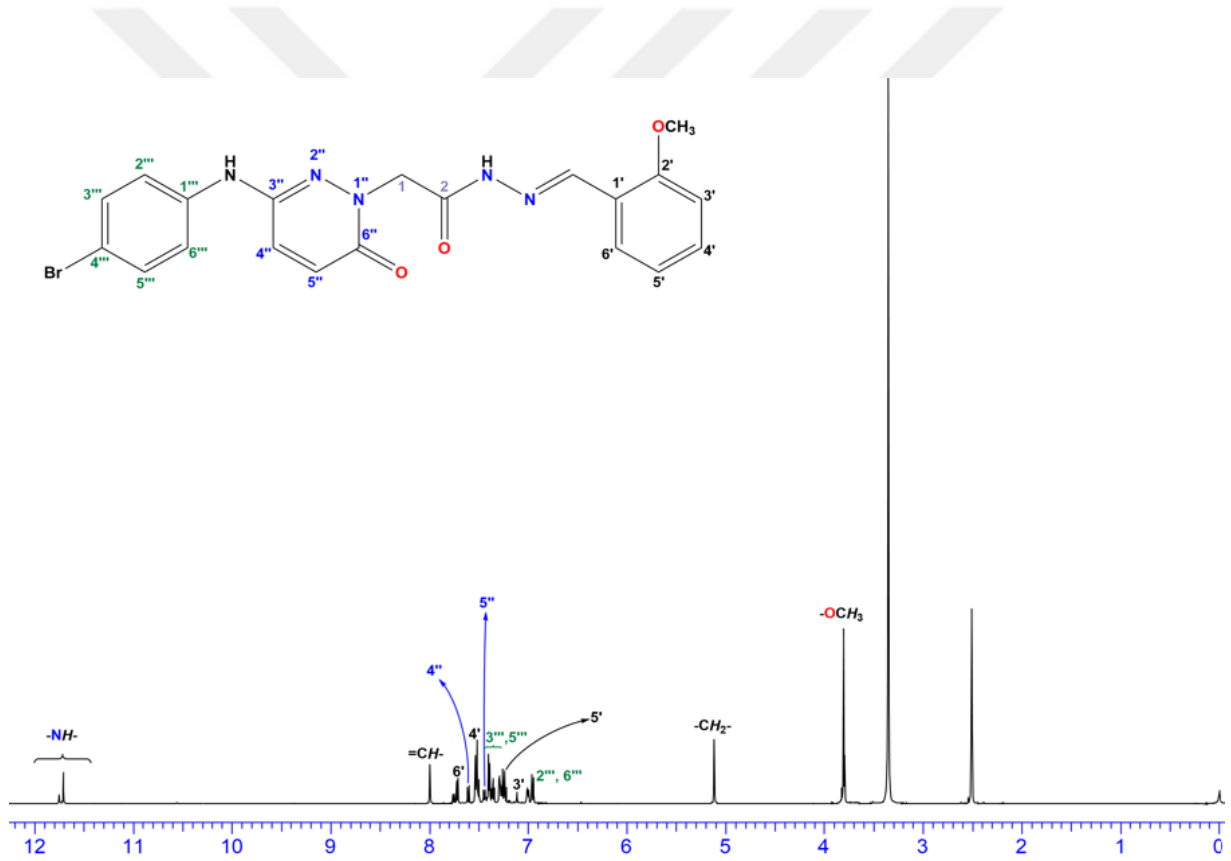
Sentezlenen bileşiklerin hepsi 3(2H)-piridazinon türevidir. Spektrumun 6.80-7.80 ppm aralığında aromatik bölgede bulunan moleküldeki üç farklı halka sistemine (3(2H) piridazinon, 4-bromo-anilin ve 2-metoksifenil) ait protonların sinyalleri görüldü. 3(2H) Piridazinon halkası; $\text{H}^{4''}$ protonuna ait pik 7.60-7.70 ppm civarında dublet olarak gözlenirken, $\text{H}^{5''}$ protonuna ait pik 7.40-7.45 ppm civarında dublet olarak gözlemlendi. 4-bromofenil halkasına ait protonlar; 6.90-7.60 ppm civarında gözlemlendi. Brom atomuna yakın konumdaki elektronca fakir $\text{H}^{3'''}$ ve $\text{H}^{5'''}$ protonları 7.20-7.40 ppm civarında dublet pik verdiği görüldü. Azot atomuna yakın konumda olan $\text{H}^{2''}$ ve $\text{H}^{6'''}$ pikleri 6.90-7.00 ppm civarında $\text{H}^{3'''}$ ve $\text{H}^{5'''}$ protonlarına kıyasla daha yukarı alanda dublet olarak görüldü. 2-metoksifenil halkası protonları; $\text{H}^{3'}$ protonu 7.10-7.20 ppm civarında dublet, $\text{H}^{4'}$ protonu 7.25-7.35 ppm civarında triplet, $\text{H}^{5'}$ protonu 7.50 ppm civarında triplet ve $\text{H}^{6'}$ protonu 7.70-7.80 ppm civarında dublet görüldü.

Metilen ($-\text{CH}_2-$) protonları 5.10-5.20 ppm civarında singlet olarak pik vermektedir. Elektron çekici azot atomu ve karbonil grubuna yakın konumda olmasından dolayı metilen protonları aşağı

alanda gözlemlendi. Metoksi (-OCH₃) protonları 3,80 ppm civarında singlet pik vermektedir. Alifatik bölgeden daha aşağı alanda pik vermesinin sebebi O atomunun yüksek elektronegatif özelliğinden kaynaklanmaktadır.

Hidrazon (-NH-) protonları spektrumun en solunda 11.60-11.70 ppm civarında singlet pik olarak görüldü. Azometin (-CH=N-) yapısındaki karbona bağlı protonun yaklaşık 8.00 ppm değerinde singlet pik olarak görüldü. Sonuç bileşiklerinin (B1-6) ¹H-NMR spektrumlarında 8.00-8.20 ppm civarında N=CH'a ait singlet pik ve 11.50-11.70 civarında da NH'a ait singlet pik görüldü.

2.50 ppm civarında gözlenen keskin singlet pik ise analizde çözücü olarak kullanılan DMSO-*d*₆'nın kalıntı proton sinyaliydi.

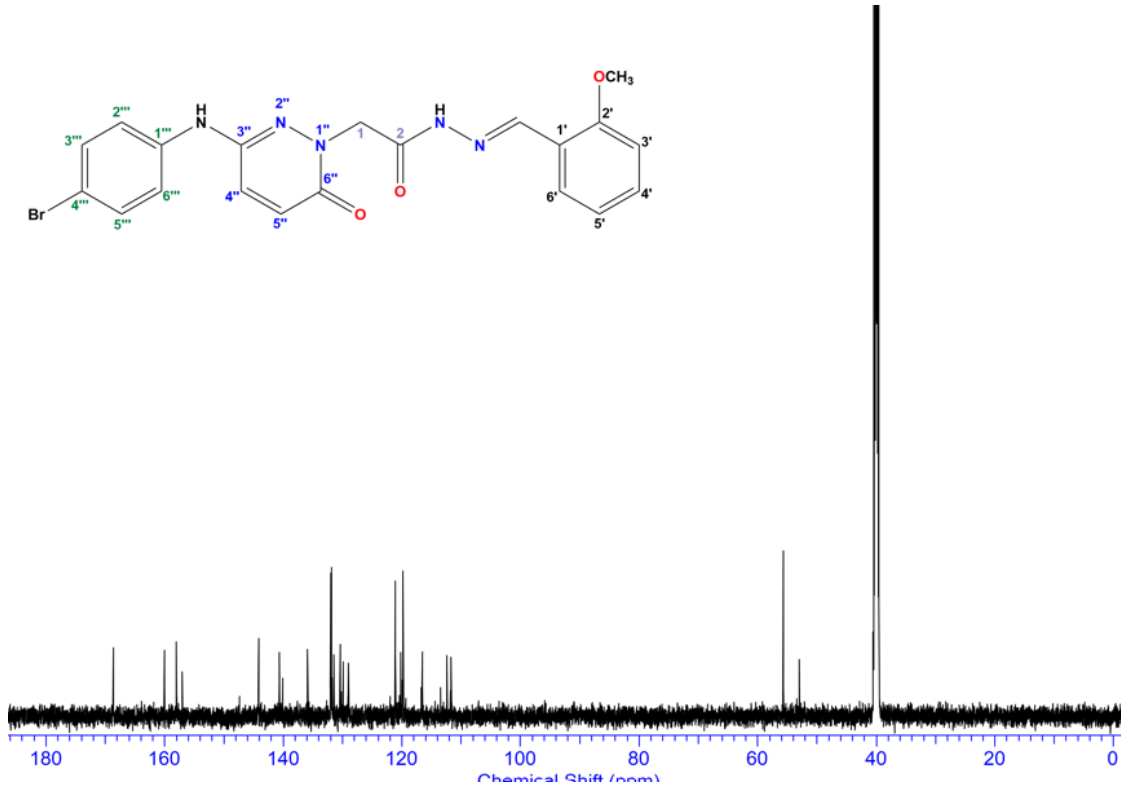


Şekil 19. B3 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu

5.1.2.2. ¹³C-NMR Spektrumları

Bileşiklerin DMSO-*d*₆ içerisinde kaydedilen ¹³C-NMR spektrumlarında değerler literatürdeki değerlerle uyumaktadır. Elde edilen B3 bileşiğinin ¹³C-NMR spektrumu, yapıyı doğrulayıcı nitelikte önemli sinyaller vermiştir. Yapıdaki metilen grubuna (-CH₂-) ait karbon sinyali 52.00-54.00 ppm civarında, metoksi grubuna (-OCH₃) ait karbon sinyali ise 54.00-56.00 ppm civarında görüldü.

Aromatik halka karbonları, piridazinon halkasına ait sp^2 hibritleşmiş karbonlar ve azometin (-N=CH-) karbonu 110.00–160.00 ppm aralığında rezonans vermiştir. Moleküldeki iki karbonil yapısına bağlı karbon (piridazinon halkasındaki karbonil karbonu ve hidrazit türevi karbonil karbonu) en solda aşağı alanda sinyal vermiştir. Molekülün en önemli fonksiyonel grubu olan piridazinon halkasındaki karbonil karbonu 160 ppm civarı sinyal vermiştir. Hidrazit türevi karbonil karbonu, 165.00-170.00 ppm civarında gözlenmiştir. Elde edilen ^{13}C -NMR verileri, sentezlenen bileşiğin yapısıyla uyumludur.

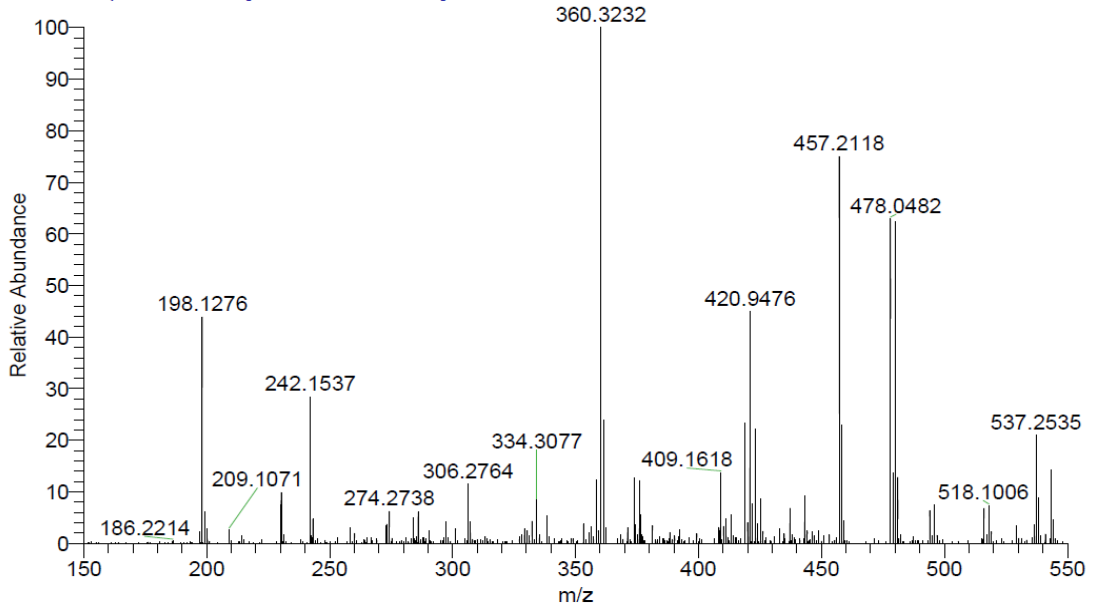


Şekil 20. B3 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu

5.1.2.3. Kütle Spektrumları

Kütle spektrometrik analizler LC-MS sistemi ve ACE 5-C18 kolonu ile elektron sprey iyonizasyon (ESI) yöntemi kullanılarak alınmıştır. Sentezi yapılan bileşiklerin kütle spektrumları incelendiğinde, $[\text{M}+\text{H}]^+$ ve $[\text{M}+\text{Na}]^+$ pikler çoğunlukla görülmüştür.

BRT7 #32 RT: 0.22 AV: 1 NL: 1.53E7
T: FTMS + p ESI Full ms [150.0000-550.0000]



Şekil 21. B3 bileşiğinin kütle spektrumu

5.2. Biyolojik Aktivite

5.2.1. Kolinesteraz Aktivite

Kolinesteraz aktivite tayini, özellikle antikolinesteraz aktivitesi taşıyan ajanların incelenmesinde ve nörolojik mekanizmalar üzerinden ilerleyen patolojik durumların tedavisinde potansiyel ilaç adaylarının belirlenmesinde klinik yönden büyük önem taşımaktadır. Bu bağlamda, sentezlenen yeni bileşiklerin AChE ve BChE enzim inhibitör aktiviteleri modifiye ve kolorimetrik Ellman metodu temel alınarak absorbans değerlerinin ölçülmesiyle değerlendirildi. Elde edilen veriler, farmasötik ilaç tasarımı açısından hem etkinlik hem de güvenlik profili olarak umut verici sonuçlar elde edildi. AChE enzim inhibisyon sonuçları incelendiğinde, moleküllerin referans ilaç olan Takrin (Ki değeri 3.42 ± 0.62) ile rekabet edebilecek düzeyde güçlü bir inhibitör etki gösterdiği tespit edildi. B1 bileşiği 3.28 ± 0.36 μM Ki değeri, B2 bileşiği 2.50 ± 0.21 μM Ki değeri, B3 bileşiği 2.53 ± 0.31 μM Ki değeri, B4 bileşiği 2.33 ± 0.16 μM Ki değeri, B5 bileşiği 4.12 ± 1.42 μM Ki değeri, B6 bileşiği 3.21 ± 0.98 μM Ki değeri AChE inhibitör aktivitesini gösterdi. En güçlü AChE inhibitör aktiviteyi 3,4-dimetoksi sübsitüenti taşıyan B4 bileşiği gösterdi. Furan halkası taşıyan B5 bileşiği hariç, diğer bileşiklerin Ki değeri referans bileşikten daha iyi gözlemlendi. Metoksi gruplarının konumları ve sayısına göre inhibitör aktivitesi farklılık gösterse de genel olarak referans bileşiğe kıyasla metoksi gruplarının varlığının aktiviteyi artırdığı görüldü.

Bileşiklerin BChE enzimi üzerindeki etkileri değerlendirildiğinde, AChE'ye kıyasla nispeten daha düşük bir inhibisyon profili gözlemlendi. Referans ilaç Takrin, 3.33 ± 0.56 μM Ki değeri ile BChE üzerinde etki gösterdi. Sentezlenen türevler arasında BChE enzimine karşı en aktif moleküller sırasıyla B4 (Ki:

2.09±0.8 µM), B6 (Ki: 2.18±0.23 µM) ve B5 (Ki: 2.48±0.88 µM) oldu. Ayrıca AChE üzerinde en yüksek aktiviteyi sergileyen B4 bileşiğinin, BChE üzerinde de en güçlü inhibitör değeri gösterdi.

5.2.2. Sitotoksosite

Yeni ilaç moleküllerinin farmakolojik olarak onaylanabilmesi için sadece hedef enzimde güçlü bir aktivite göstermesi yeterli olmadığı, aynı zamanda sağlıklı dokular üzerinde toksik etkisinin olmaması ideal ilaç özelliklerindendir. Sentezlenen bileşiklerin sağlıklı HUVEC hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkileri MTT analizi ile değerlendirildi. Pozitif kontrol olarak kullanılan referans ilaç Sorafenib tosilat, HUVEC hücrelerinde 13.75 µg/mL gibi düşük bir IC₅₀ değeri göstererek sağlıklı hücreler üzerinde belirgin bir toksisitesi vardır. Buna karşılık, sentezlenen tüm bileşiklerin IC₅₀ değerleri 87.32 µg/mL (B5) ile 103.06 µg/mL (B1) aralığında ölçüldü. Bu veriler, sentezlenen moleküllerin sağlıklı endotel hücrelerine karşı referans ilaca kıyasla toksisitesinin oldukça düşük olduğunu net bir şekilde ortaya koydu.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez kapsamında 3(2H)-piridazinon ana halkası taşıyan, AChE ve BChE enzim inhibitörü olan 6 yeni bileşik hazırlanmıştır. B4 molekülü hem hedef enzim üzerinde standart referans ilaçlarla kıyaslandığında güçlü inhibisyon profili sunması hem de sağlıklı hücrelerde makul toksik seviyede değerlendirilebilecek ölçüde yüksek IC₅₀ değerlerine sahip olması nedeniyle öne çıktı. Bu bulgular, söz konusu bileşiklerin ileriki *in vivo* farmakolojik çalışmalar ve potansiyel ilaç geliştirme fazları için ideal öncü molekül adayları olabileceğini ve ileri klinik araştırmalarla desteklenebileceğini göstermektedir.

Sentez edilen bileşiklerin kimyasal özellikleri ile biyolojik etkinlikleri arasındaki ilişkiler nicel yapı-aktivite ilişki (QSAR) yöntemi ve bilgisayarlı moleküler modelleme tekniklerle ileriki çalışmalarda analiz edilmesi planlanmaktadır. En umut verici adaylar ile daha sonra bu başlıklarla ilişkili yapısal düzenlemeler yapılarak daha potent türevler tasarlanacak ve sentezlenecektir.

Bilgisayar destekli tahminler ve *in vitro* yapılan inhibisyon deneyleri sonucunda karakterize edilen öncü bileşikler, Alzheimer hastalığı modeli patogenezi taklit eden deney hayvan modellerinde ileri biyolojik aktivite araştırmalarına tabi tutulacaktır. Bu *in vivo* çalışmalar, seçilen bileşiklerin canlı sistem içindeki etkililik ve güvenlik profilini değerlendirebilme fırsatı sunacaktır.

KAYNAKÇA

- Abreu-Villaça, Y., Filgueiras, C. C., & Manhães, A. C. (2011). Developmental aspects of the cholinergic system. *Behavioural Brain Research*, 221(2), 367–378. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.12.049>
- Adeowo, F. Y., Elrashedy, A. A., Ejalonibu, M. A., Lawal, I. A., Lawal, M. M., & Kumalo, H. M. (2022). Pharmacophore mapping of the crucial mediators of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase dual inhibition in Alzheimer's disease. *Molecular Diversity*, 26(5), 2761–2774. <https://doi.org/10.1007/s11030-022-10377-w>
- Ago, Y., Koda, K., Takuma, K., & Matsuda, T. (2011). Pharmacological aspects of the acetylcholinesterase inhibitor galantamine. *Journal of Pharmacological Sciences*, 116(1), 6–17. <https://doi.org/10.1254/jphs.11R01CR>
- Alghamdi, S., & Asif, M. (2021). Role of pyridazine analogs as acetylcholinesterase inhibitor: An approach for management of alzheimer's disease. *Eurasian Chem. Commun*, 3, 435–442. doi: 10.22034/ecc.2021.229705.1168
- AlSaeed, D., & Omar, S. F. (2022). Brain MRI analysis for Alzheimer's disease diagnosis using CNN-based feature extraction and machine learning. *Sensors*, 22(8), 2911. <https://doi.org/10.3390/s22082911>
- Anand, P., & Singh, B. (2013). A review on cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Archives of pharmacal research*, 36(4), 375–399. <https://doi.org/10.1007/s12272-013-0036-3>
- Andrade-Guerrero, J., Santiago-Balmaseda, A., Jeronimo-Aguilar, P., Vargas-Rodríguez, I., Cadena-Suárez, A. R., Sánchez-Garibay, C., Pozo-Molina, G., Méndez-Catalá, C. F., Cardenas-Aguayo, M.-d.-C., & Diaz-Cintra, S. (2023). Alzheimer's disease: an updated overview of its genetics. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3754. <https://doi.org/10.3390/ijms24043754>
- Armstrong, R. (2020). What causes neurodegenerative disease? *Folia neuropathologica*, 58(2), 93–112. <https://doi.org/10.5114/fn.2020.96707>
- Arora, P., Swati, Rani, S., Jha, S., Gupta, S., & Kumar, S. (2025). Innovative approaches in acetylcholinesterase inhibition: A pathway to effective Alzheimer's disease treatment. *Molecular Diversity*, 29(6), 5367–5396. <https://doi.org/10.1007/s11030-025-11170-1>
- Asim, A., Jastrzębski, M. K., & Kaczor, A. A. (2025). Dual inhibitors of acetylcholinesterase and monoamine Oxidase-B for the treatment of alzheimer's disease. *Molecules*, 30(14), 2975. <https://doi.org/10.3390/molecules30142975>

- Asproni, B., Pinna, G. A., Corona, P., Coinu, S., Piras, S., Carta, A., & Murineddu, G. (2025). Therapeutic Potential of Tricyclic Pyridazinone-Based Molecules: An Overview. *Int J Mol Sci*, 26(8). <https://doi.org/10.3390/ijms26083806>
- Atta, A., Elkalla, W., Omran, S., & Elgawish, M. (2025). Innovations in acetylcholinesterase inhibitors: emerging strategies for Alzheimer's disease therapy (2019–2024). *Egyptian Pharmaceutical J.* 24, 152–170 (2025). In. doi: 10.21608/epj.2025.407574
- Barahona-López, C., Plans-Beriso, E., Diez-Echave, P., Hernández, O., de Larrea, N. F., Craciun, O., García-Ovejero, E., Petrova, D., Fernández-Martínez, N. F., & Arruabarrena-Blanco, E. (2025). Personalized prevention of neurodegenerative diseases: scoping review and evidence gap map. *Alzheimer's & Dementia*, 21(12), e70980. <https://doi.org/10.1002/alz.70980>
- Beshir, S. A., Aadithsoorya, A., Parveen, A., Goh, S. S. L., Hussain, N., & Menon, V. B. (2022). Aducanumab therapy to treat Alzheimer's disease: a narrative review. *International journal of alzheimer's disease*, 2022(1), 9343514. <https://doi.org/10.1155/2022/9343514>
- Boukharsa, Y., Zaoui, Y., Taoufik, J., & Ansar, M. h. (2014). Pyridazin-3 (2H)-ones: Synthesis, reactivity, applications in pharmacology and agriculture. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 6(12), 297–310.
- Breijyeh, Z., & Karaman, R. (2020). Comprehensive review on Alzheimer's disease: causes and treatment. *Molecules*, 25(24), 5789. doi:10.3390/molecules25245789
- Butnariu, R. M., & Mangalagiu, I. I. (2009). New pyridazine derivatives: Synthesis, chemistry and biological activity. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 17(7), 2823–2829. doi:10.1016/j.bmc.2009.02.028
- Chaudhaery, S. S., Roy, K. K., Shakya, N., Saxena, G., Sammi, S. R., Nazir, A., Nath, C., & Saxena, A. K. (2010). Novel carbamates as orally active acetylcholinesterase inhibitors found to improve scopolamine-induced cognition impairment: pharmacophore-based virtual screening, synthesis, and pharmacology. *Journal of Medicinal Chemistry*, 53(17), 6490–6505. doi: 10.1021/jm100573q
- Chen, Z.-R., Huang, J.-B., Yang, S.-L., & Hong, F.-F. (2022). Role of cholinergic signaling in Alzheimer's disease. *Molecules*, 27(6), 1816. <https://doi.org/10.3390/molecules27061816>
- Colović, M. B., Krstić, D. Z., Lazarević-Pašti, T. D., Bondžić, A. M., & Vasić, V. M. (2013). Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology. *Curr Neuropharmacol*, 11(3), 315–335. <https://doi.org/10.2174/1570159x11311030006>
- Cummings, J. L., Zhou, Y., Van Stone, A., Cammann, D., Tonegawa-Kuji, R., Fonseca, J., & Cheng, F. (2025). Drug repurposing for Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders. *Nature Communications*, 16(1), 1755. <https://doi.org/10.1038/s41467-025-56690-4>

- Çöl, Ö. F., Bozbey, İ., Türkmenoğlu, B., & Uysal, M. (2022). 3 (2H)-pyridazinone derivatives: Synthesis, in-silico studies, structure-activity relationship and in-vitro evaluation for acetylcholinesterase enzyme inhibition. *Journal of Molecular Structure*, 1261, 132970. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.132970>
- da Silva, V. B., de Andrade, P., Kawano, D. F., Morais, P. A. B., de Almeida, J. R., Carvalho, I., Taft, C. A., & da Silva, C. H. T. d. P. (2011). In Silico Design and Search for Acetylcholinesterase Inhibitors in Alzheimer's Disease with a Suitable Pharmacokinetic Profile and Low Toxicity. *Future Medicinal Chemistry*, 3(8), 947–960. <https://doi.org/10.4155/fmc.11.67>
- Daoui, S., Direkel, Ş., Ibrahim, M. M., Tüzün, B., Chelfi, T., Al-Ghorbani, M., Bouatia, M., Karbane, M. E., Doukkali, A., & Benchat, N. (2023). Synthesis, spectroscopic characterization, antibacterial activity, and computational studies of novel pyridazinone derivatives. *Molecules*, 28(2), 678. <https://doi.org/10.3390/molecules28020678>
- Dar, K. B., Bhat, A. H., Amin, S., Reshi, B. A., Zargar, M. A., Masood, A., & Ganie, S. A. (2020). Elucidating critical proteinopathic mechanisms and potential drug targets in neurodegeneration. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 40(3), 313–345. <https://doi.org/10.1007/s10571-019-00741-0>
- Dawood, D. H., & Anwar, M. M. (2025). Recent advances in the therapeutic insights of thiazole scaffolds as acetylcholinesterase inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 287, 117331. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2025.117331>
- de Almeida, R. B., Barbosa, D. B., do Bomfim, M. R., Amparo, J. A., Andrade, B. S., Costa, S. L., Campos, J. M., Cruz, J. N., Santos, C. B., & Leite, F. H. (2023). Identification of a novel dual inhibitor of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase: In vitro and in silico studies. *Pharmaceuticals*, 16(1), 95. <https://doi.org/10.3390/ph16010095>
- De Boer, D., Nguyen, N., Mao, J., Moore, J., & Sorin, E. J. (2021). A comprehensive review of cholinesterase modeling and simulation. *Biomolecules*, 11(4), 580. <https://doi.org/10.3390/biom11040580>
- Dooley, M., & Lamb, H. M. (2000). Donepezil: a review of its use in Alzheimer's disease. *Drugs & aging*, 16(3), 199–226.
- El Bouamri, M., Yafout, M., Bennis, S., & BENMOUSSA, A. (2025). Design, synthesis, and therapeutic potential of pyridazinone-based molecules: An updated comprehensive review. *Current Pharmaceutical Analysis*. <https://doi.org/10.1016/j.cpan.2025.08.001>
- Ellison, N. (2002). Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. *Anesthesia & Analgesia*, 94(5), 1377. DOI: 10.1097/00000539-200205000-00085
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(2), 88–95.

- Fidan, I., Salmas, R. E., Arslan, M., Şentürk, M., Durdagi, S., Ekinci, D., Şentürk, E., Coşgun, S., & Supuran, C. T. (2015). Carbonic anhydrase inhibitors: Design, synthesis, kinetic, docking and molecular dynamics analysis of novel glycine and phenylalanine sulfonamide derivatives. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 23(23), 7353–7358. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2015.10.009>
- Frisoni, G. B., Aho, E., Brayne, C., Ciccarelli, O., Dubois, B., Fox, N. C., Frederiksen, K. S., Gabay, C., Garibotto, V., & Hofmarcher, T. (2025). Alzheimer's disease outlook: controversies and future directions. *The Lancet*, 406(10510), 1424–1442.
- Frisoni, G. B., Hansson, O., Nichols, E., Garibotto, V., Schindler, S. E., van der Flier, W. M., Jessen, F., Villain, N., Arenaza-Urquijo, E. M., & Crivelli, L. (2025). New landscape of the diagnosis of Alzheimer's disease. *The Lancet*, 406(10510), 1389–1407.
- Gajendra, K., Pratap, G., Poornima, D., Shantaram, M., & Ranjita, G. (2024). Natural acetylcholinesterase inhibitors: a multi-targeted therapeutic potential in Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry Reports*, 11, 100154. <https://doi.org/10.1016/j.ejmcr.2024.100154>
- Giacobini, E. (2003). Cholinesterases: new roles in brain function and in Alzheimer's disease. *Neurochemical research*, 28(3), 515–522.
- Graff, M., & Dobrowolski, J. C. (2013). On tautomerism of diazinones. *Computational and Theoretical Chemistry*, 1026, 55–64. <http://dx.doi.org/10.1016/j.comptc.2013.09.028>
- Guo, T., Zhang, D., Zeng, Y., Huang, T. Y., Xu, H., & Zhao, Y. (2020). Molecular and cellular mechanisms underlying the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Molecular neurodegeneration*, 15(1), 40. <https://doi.org/10.1186/s13024-020-00391-7>
- Gursoy, S., Taskor Onel, G., Turkmenoglu, B., Bozbey Merde, I., Dilek, E., Hepokur, C., & Algul, O. (2024). Hydrazide-Bridged Pyridazines for Cholinesterase Inhibitors: Synthesis, Characterizations, In Silico, and In Vitro Evaluation. *ChemistrySelect*, 9(12), e202400085.
- Hampel, H., Mesulam, M.-M., Cuellar, A. C., Farlow, M. R., Giacobini, E., Grossberg, G. T., Khachaturian, A. S., Vergallo, A., Cavado, E., & Snyder, P. J. (2018). The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. *Brain*, 141(7), 1917–1933. doi:10.1093/brain/awy132
- Hou, Y., Dan, X., Babbar, M., Wei, Y., Hasselbalch, S. G., Croteau, D. L., & Bohr, V. A. (2019). Ageing as a risk factor for neurodegenerative disease. *Nature reviews neurology*, 15(10), 565–581. <https://doi.org/10.1038/s41582-019-0244-7>
- Huang, Q., Liao, C., Ge, F., Ao, J., & Liu, T. (2022). Acetylcholine bidirectionally regulates learning and memory. *Journal of Neurorestoratology*, 10(2), 100002. <https://doi.org/10.1016/j.jnrt.2022.100002>

- Hung, L. W., Sanbonmatsu, K. Y., Williams, R. F., & Chen, J. C. H. (2025). Acetylcholinesterase: Structure, dynamics, and interactions with organophosphorus compounds. *Protein Science*, 34(10), e70297. doi:10.1002/pro.70297
- Jakhmola, V., Jawla, S., Tangri, P., & Mishra, R. A Review on Synthetic Protocols of Pyridazine and Pyridazone Analogues.
- Jiang, Q., Liu, J., Huang, S., Wang, X.-Y., Chen, X., Liu, G.-H., Ye, K., Song, W., Masters, C. L., & Wang, J. (2025). Antiageing strategy for neurodegenerative diseases: from mechanisms to clinical advances. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 10(1), 76. <https://doi.org/10.1038/s41392-025-02145-7>
- Kishi, T., Matsunaga, S., Oya, K., Nomura, I., Ikuta, T., & Iwata, N. (2017). Memantine for Alzheimer's disease: an updated systematic review and meta-analysis. *Journal of Alzheimer's Disease*, 60(2), 401–425. doi: 10.3233/JAD-170424
- Luque, F. J., & Muñoz-Torrero, D. (2024). Acetylcholinesterase: a versatile template to coin potent modulators of multiple therapeutic targets. *Accounts of Chemical Research*, 57(4), 450–467. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.3c00617>
- Marucci, G., Buccioni, M., Ben, D. D., Lambertucci, C., Volpini, R., & Amenta, F. (2021). Efficacy of acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease. *Neuropharmacology*, 190, 108352. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2020.108352>
- Masson, P., Carletti, E., & Nachon, F. (2009). Structure, activities and biomedical applications of human butyrylcholinesterase. *Protein and peptide letters*, 16(10), 1215–1224. <https://doi.org/10.2174/092986609789071207>
- Matrai, E. (1997). Infrared spectroscopic studies on polarity and tautomerism of 3 (2H)-pyridazinone derivatives. *Journal of Molecular Structure*, 408, 467–472.
- Matsunaga, S., Kishi, T., Nomura, I., Sakuma, K., Okuya, M., Ikuta, T., & Iwata, N. (2018). The efficacy and safety of memantine for the treatment of Alzheimer's disease. *Expert opinion on drug safety*, 17(10), 1053–1061. doi=10.1080/14740338.2018.1524870
- Merde, İ. B., Önel, G. T., Türkmenoğlu, B., Gürsoy, Ş., & Dilek, E. (2022). Pyridazinones containing the (4-methoxyphenyl) piperazine moiety as AChE/BChE inhibitors: design, synthesis, in silico and biological evaluation. *Medicinal Chemistry Research*, 31(11), 2021–2031. <https://doi.org/10.1007/s00044-022-02968-x>
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of immunological methods*, 65(1-2), 55–63.
- Nicolet, Y., Lockridge, O., Masson, P., Fontecilla-Camps, J. C., & Nachon, F. (2003). Crystal structure of human butyrylcholinesterase and of its complexes with substrate and products. *Journal of Biological Chemistry*, 278(42), 41141–41147. <https://doi.org/10.1074/jbc.M210241200>

- Özdemir, Z., Alagöz, M. A., Arslan, G., & Özçelik, A. B. (2022). Pharmacologically Active Molecules Bearing the Pyridazinone Ring as Main Scaffold. *Journal of Gazi University Health Sciences Institute*, 4(2), 61–79.
- Patočka, J., Kuča, K., & Jun, D. (2004). Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase—important enzymes of human body. *Acta Medica (Hradec Kralove)*, 47(4), 215–228. Doi:10.14712/18059694.2018.95
- Porsteinsson, A. P., Isaacson, R. S., Knox, S., Sabbagh, M. N., & Rubino, I. (2021). Diagnosis of early Alzheimer's disease: clinical practice in 2021. *The journal of prevention of Alzheimer's disease*, 8(3), 371–386. <https://doi.org/10.14283/jpad.2021.23>
- Reynoso-García, M. F., Nicolás-Álvarez, D. E., Tenorio-Barajas, A. Y., & Reyes-Chaparro, A. (2025). Structural bioinformatics applied to acetylcholinesterase enzyme inhibition. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(8), 3781. 3781. <https://doi.org/10.3390/ijms26083781>
- Rizo, J. (2022). Molecular mechanisms underlying neurotransmitter release. *Annual Review of Biophysics*, 51(1), 377–408. <https://doi.org/10.1146/annurev-biophys-111821-104732>
- Sergeev, P. G., & Nenajdenko, V. G. (2020). Recent advances in the chemistry of pyridazine—an important representative of six-membered nitrogen heterocycles. *Russian Chemical Reviews*, 89(4), 393–429. <https://doi.org/10.1070/rcr4922>
- Shen, S.-C., Sun, X.-W., & Lin, G. (2013). A Convenient and Efficient Synthesis of Coumarin-Containing Phthalides and Derivatives. *Synthesis*, 45(09), 1181–1190. Doi: 10.1055/s-0032-1316871
- Silva, C. F., Guerrinha, A. P. d. M., Carvalho, S., Pinto, D. C., & Silva, A. M. (2025). 1, 3, 5-Triazine: A promising molecular scaffold for novel agents for the treatment of Alzheimer's disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(3), 882. <https://doi.org/10.3390/ijms26030882>
- Singh, S. P., Dwivedi, D., Ahsan, R., Srivastava, A., & Shukla, A. K. (2024). A systematic review of neurodegenerative diseases: etiology, clinical symptoms, pathogenesis, and future developments. *Advances in diagnostics and immunotherapeutics for neurodegenerative diseases*, 1–16. <https://doi.org/10.2174/97898152387541240101>
- Son, M., Park, C., Rampogu, S., Zeb, A., & Lee, K. W. (2019). Discovery of novel acetylcholinesterase inhibitors as potential candidates for the treatment of Alzheimer's disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(4), 1000. <https://doi.org/10.3390/ijms20041000>
- Süudhof, T. C. (2008). Neurotransmitter release. *Pharmacology of Neurotransmitter Release*, 1–21. https://doi.org/10.1007/978-3-540-74805-2_1
- Świt, P., Pollap, A., & Orzeł, J. (2023). Spectroscopic determination of acetylcholine (ACh): a representative review. *Topics in Current Chemistry*, 381(4), 16. <https://doi.org/10.1007/s41061-023-00426-9>

- Teixeira, M. I., Lopes, C., Amaral, M. H., & Costa, P. (2020). Current insights on lipid nanocarrier-assisted drug delivery in the treatment of neurodegenerative diseases. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, 149, 192–217. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2020.01.005>
- Tian, Y., Meng, L., & Zhang, Z. (2020). What is strain in neurodegenerative diseases? *Cellular and Molecular Life Sciences*, 77(4), 665–676.
- Tišler, M., & Stanovnik, B. (1968). Pyridazines. In A. R. Katritzky & A. J. Boulton (Eds.), *Advances in Heterocyclic chemistry* (Vol. 9, pp. 211–320). Academic Press. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0065-2725\(08\)60374-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2725(08)60374-8)
- Valenzuela, C. F., Puglia, M. P., & Zucca, S. (2011). Focus on: neurotransmitter systems. *Alcohol Research & Health*, 34(1), 106.
- van Marum, R. J. (2009). Update on the use of memantine in Alzheimer's disease. *Neuropsychiatric disease and treatment*, 237–247. <https://doi.org/10.2147/ndt.s4048>
- Yildirim, I. G., Dogan, F., & Sanlier, N. (2023). Neurodegenerative Diseases and Phytochemicals/Norodejeneratif Hastaliklar ve Fitokimyasallar. *Journal of Nutrition and Dietetics*, 51(2), 111–119. doi: 10.33076/2023.BDD.1738
- Zerroug, A., Belaidi, S., BenBrahim, I., Sinha, L., & Chtita, S. (2019). Virtual screening in drug-likeness and structure/activity relationship of pyridazine derivatives as Anti-Alzheimer drugs. *Journal of King Saud University-Science*, 31(4), 595–601. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.03.024>

EKLER

EK-1: Etik Kurul Olmadığına Dair Yazı



