

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YENİ TAKRİN-KARBAMAT TÜREVLERİNİN
SENTEZİ VE ANTİKOLİNESTERAZ
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Özge ÖZTEN

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA
Enstitü Bilim Dalı : ORGANİK KİMYA
Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Fatih SÖNMEZ

Aralık 2017

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YENİ TAKRİN-KARBAMAT TÜREVLERİNİN
SENTEZİ VE ANTİKOLİNESTERAZ
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

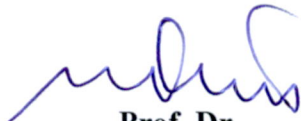
Özge ÖZTEN

Enstitü Anabilim Dalı

:

KİMYA

Bu tez 11.12.2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.



**Prof. Dr.
Mustafa KÜÇÜKİSLAMOĞLU
Jüri Başkanı**



**Doç. Dr.
Aydan DAĞ
Üye**



**Yrd. Doç. Dr.
Fatih SÖNMEZ
Üye**

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Özge ÖZTEN

11.12.2017

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda bilgi ve desteğini almaktan çekinmediğim, araştırmanın planlanmasından yazılmasına kadar tüm aşamalarında yardımlarını esirgemeyen, teşvik eden, aynı titizlikte beni yönlendiren değerli danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Fatih SÖNMEZ'e ve Prof. Dr. Mustafa KÜÇÜKİSLAMOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar olanakları konusunda anlayış ve yardımlarını esirgemeyen Bezmialem Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanı Prof. Dr. Gülaçtı TOPÇU'ya ve bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, aktivite çalışmalarını inceleyen Arş. Gör. Dr. Belma ZENGİN KURT'a teşekkür ederim. Ayrıca laboratuvar çalışmalarım esnasında bana her konuda yardımcı olan arkadaşım Gülşen SÖNMEZ'e teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca beni destekleyen, varlıklarını daima arkamda hissettiğim, maddi manevi desteklerini esirgemeyen aileme, bu zor süreçte her zaman yanımda olan arkadaşım Gamze ÇAMLİK'a ve yine aynı şekilde yıllardır beni destekleyip yanımda olan arkadaşlarım Onur KABADAYI ve Talha AKKUŞ'a teşekkür ederim.

Ayrıca bu çalışmanın maddi açıdan desteklenmesine olanak sağlayan Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyon Başkanlığına (Proje No: 2017-50-01-023) teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ÖZET.....	x
SUMMARY.....	xi
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2.	
KAYNAK ARAŞTIRMALARI.....	3
2.1. Alzheimer Hastalığı.....	3
2.2. Alzheimer Hastalığının Epidemiyolojisi.....	4
2.2.1. Küresel yaygınlık ve etki.....	5
2.2.2. İnsidans ve risk faktörleri.....	6
2.2.3. Genetik hipotez.....	6
2.2.4. Damar hipotezi.....	7
2.2.5. Psikososyal hipotez.....	8
2.2.6. Diğer hipotezler.....	8
2.3. Alzheimer Hastalığının Fizyopatolojisi.....	9
2.3.1. Amiloid plak hipotezi.....	9
2.3.2. Nörofibriler yumak hipotezi.....	10
2.3.3. Kolinergik hipotez.....	11
2.4. Kolinesteraz İnhibisyonu.....	13

2.4.1. Kolinesteraz inhibisyon mekanizması.....	14
2.5. Takrin.....	15
2.5.1. Takrinin kimyasal özellikleri.....	17
2.5.2. Takrinin önemi.....	17
2.5.3. Takrinin etki mekanizması.....	20
2.5.4. Takrinin klinik farmakokinetiği.....	20
2.5.5. Takrin ve türevlerinin sentez metodu.....	20

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM.....	24
3.1. Materyal.....	24
3.1.1. Kullanılan cihazlar.....	24
3.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler.....	24
3.2. Takrin ve Türevlerinin Sentezi.....	24
3.2.1.Yöntem 1: 2-Amino Benzoik Asit (2) sentezi.....	25
3.2.2.Yöntem 2: Spiro[benzo[d][1,3]oksazin-2,1'-sikloheksan]- 4(1 <i>H</i>)-on (3) sentezi.....	25
3.2.3.Yöntem 3: 9-kloro-1,2,3,4-tetrahidroakridin (4) sentezi.....	26
3.2.4.Yöntem 4: 2-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)etanol (5) sentezi.....	26
3.2.5.Yöntem 5: 2-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)etil(R- fenil) (6a-m)-karbamat sentezi.....	26
3.3. Analizler.....	27
3.3.1. Kolinesteraz enzimlerinin aktivite tayini.....	27

BÖLÜM 4.

ARAŞTIRMA BULGULARI.....	28
4.1. Sentezlenen Takrin Türevlerinin Spektral Verileri.....	28
4.2. Karbamat Türevlerinin Spektral Verileri.....	30
4.3. Aktivite Sonuçları.....	37

BÖLÜM 5.	
TARTIŞMA VE SONUÇ.....	40
5.1. Deneysel Sonuçlar.....	40
KAYNAKLAR.....	47
EKLER.....	56
ÖZGEÇMİŞ.....	90



SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

A β	: Beta amiloid
AChE	: Asetilkolinesteraz
AH	: Alzheimer hastalığı
APP	: Amiloid preküsör protein
br	: Geniş
BuChE	: Bütirilkolinesteraz
CAS	: Katalitik anyonik bölge
CDCl ₃	: Dötero-kloroform
cm	: Santimetre
d	: Dublet
dd	: Dubletin dubleti
DBU	: 1,8-Diazobisiklo[5.4.0]undek-7-an
DMF	: N,N-Dimetil formamit
DMSO- <i>d</i> 6	: Dötero-dimetilsülfoksit
dt	: Dubletin tripleti
EN.	: Erime noktası
FDA	: Food and drug administration
g	: Gram
Gln	: Glutamin
Glu	: Glutamik asit
Gly	: Glisin
Hz	: Hertz
IC ₅₀	: Enzim aktivitesini %50 oranında azaltan inhibitör konsantrasyonu
IR	: Kızılötesi
<i>J</i>	: Etkileşme sabiti
m	: Multiplet

MHz	: Megahertz
mL	: Mililitre
mmol	: Milimol
nM	: Nanomolar
PAS	: Periferal anyonik bölge
Pd-C	: Paladyum-karbon
pH	: Asit konsantrasyonu
pKa	: Asitlik derecesi
ppm	: Milyonda bir
s	: Singlet
t	: Triplet
td	: Tripletin dubleti
Trp	: Triptofan
Tyr	: Tirozin
¹ H NMR	: Proton Nükleer Manyetik Rezonans
¹³ C NMR	: Karbon Nükleer Manyetik Rezonans
°C	: Derece santigrad
μM	: Mikromolar

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Alzheimer hastalığının beyindeki etkileri.....	4
Şekil 2.2. Çokça bilinen AChE inhibitörlerinin kimyasal yapısı.....	12
Şekil 2.3. Asetilkolin hidrolizi.....	13
Şekil 2.4. Asetilkolinesteraz enziminin şematik gösterimi.....	15
Şekil 2.5. Takrin yapısı.....	16
Şekil 2.6. Takrin-triazol hibritleri.....	21
Şekil 2.7. Josephine-takrin melezleri.....	21
Şekil 2.8. Takrin-trolox hibritleri.....	22
Şekil 2.9. Tetrasiklik takrin analogları.....	22
Şekil 2.10. Takrin-kumarin hibritleri.....	23
Şekil 2.11. Takrin-multialkoksibenzen hibritleri.....	23
Şekil 3.1. Takrin ve türevlerinin sentez metodu.....	25
Şekil 3.2. Ellman reaksiyonu.....	27
Şekil 4.1. 2 numaralı bileşiğin yapısı.....	28
Şekil 4.2. 3 numaralı bileşiğin yapısı.....	29
Şekil 4.3. 4 numaralı bileşiğin yapısı.....	29
Şekil 4.4. 5 numaralı bileşiğin yapısı.....	30
Şekil 4.5. 6a numaralı bileşiğin yapısı.....	30
Şekil 4.6. 6b numaralı bileşiğin yapısı.....	31
Şekil 4.7. 6c numaralı bileşiğin yapısı.....	31
Şekil 4.8. 6d numaralı bileşiğin yapısı.....	32
Şekil 4.9. 6e numaralı bileşiğin yapısı.....	33
Şekil 4.10. 6f numaralı bileşiğin yapısı.....	33
Şekil 4.11. 6g numaralı bileşiğin yapısı.....	34
Şekil 4.12. 6h numaralı bileşiğin yapısı.....	34
Şekil 4.13. 6i numaralı bileşiğin yapısı.....	35

Şekil 4.14. 6j numaralı bileşiğin yapısı.....	35
Şekil 4.15. 6k numaralı bileşiğin yapısı.....	36
Şekil 4.16. 6l numaralı bileşiğin yapısı.....	37
Şekil 4.17. 6m numaralı bileşiğin yapısı.....	37
Şekil 5.1. 2-aminobenzoik asit (2).....	40
Şekil 5.2. Spiro[benzo[d][1,3]oksazin-2,1'-sikloheksan]-4(1 <i>H</i>)-on (3).....	41
Şekil 5.3. 9-kloro-1,2,3,4-tetrahidroakridin (4).....	42
Şekil 5.4. 2-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)etanol (5).....	42
Şekil 5.5. 2-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)etil(R-fenil)-karbamat (6a-m) türevleri.....	43



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 4.1. 6a-m bileşiklerinin kolinesteraz enzimleri üzerine etkileri.....	38
---	----



ÖZET

Anahtar kelimeler: Asetilkolinesteraz, Bütirilkolinesteraz, Karbamat, Takrin

Bu çalışmada 13 adet karbamat grubu içeren yeni takrin türevleri (6a-m) sentezlenmiş ve bu moleküllerin asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirilkolinesteraz (BuChE) enzimleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Sentezlenen takrin türevleri arasında, 2-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)etil(3-nitrofenil)-karbamat (6k) bileşiği 22.15 nM ve 16.96 nM’lık IC₅₀ değerleri ile sırasıyla AChE ve BuChE enzimlerine karşı en iyi inhibitör özelliği göstermiştir. Ayrıca yapı-aktivite ilişkileri incelendiğinde, inhibisyon sonuçlarının fenil halkasına bağlı sübstituentlerin elektronegatiflik, polarlanabilirlik ve bağlanma pozisyonlarıyla ilişkili oldukları belirlenmiştir. Sentezlenen son ürünlerin yapıları ¹H NMR, ¹³C NMR, ve IR spektrometreleri ile doğrulanmıştır.

SYNTHESIS AND ANTICHOLINESTERASE ACTIVITY OF NEW TACRINE-CARBAMATE DERIVATIVES

SUMMARY

Keywords: Acetylcholinesterase, Butyrylcholinesterase, Carbamate, Tacrine

In this study, 13 new tacrine derivatives (6a-k) containing carbamate groups were synthesized and their effects on acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BuChE) enzymes were evaluated. Among the synthesized tacrine derivatives, ((1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-yl)amino)ethyl(3-nitro phenyl) carbamate (6k) showed the best inhibitor activity against AChE and BuChE with IC₅₀ value of 22.15 nM and 16.96 nM, respectively. In addition, in regard to structure-activity relationship, it can be seen that the inhibitory activity depends on the electronegativity, polarizability and binding position of the substituent on phenyl ring. Structures of the synthesized final products were verified by ¹H NMR, ¹³C NMR, and IR spectrometers.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Takrin (9-amino-1,2,3,4-tetrahidroakridin), Alzheimer hastalığı tedavisinde kullanılan bir ilaçtır [1]. Alzheimer hastalığı (AH), hafıza, dil ve yargı kaybına yol açan ilerleyici nörolojik bir hastalıktır ve nihayetinde sakatlığa ve ölüme neden olur [2]. Bu kolinerjik fonksiyon bozukluğu, amiloid- β ($A\beta$) ve tau (τ) -protein birikintilerinin yanı sıra beyindeki kan tedarikinin azalması gibi çeşitli faktörlerin neden olduğu düşünülen çok yönlü bir hastalıktır [3].

Takrin 1945 yılında Avusturyalı Adrian Albert'in yaralanmış askerleri tedavi etmek için kuvvetli antiseptik bulmak amacıyla doksan tane monoaminoakridin dizisi çalışmaları sırasında ortaya çıkmıştır [4]. Bu araştırmanın bulguları, artan bazikliğın anti-bakteriyel etkinliğı arttıracasını ortaya koyarak en iyi aday olarak 5-aminoakridini vurgulamıştır [5]. Takrin, 5-aminoakridinin yapısını koruyarak hiçbir antiseptik etkinlik göstermemiştir [6]. Bunun yanı sıra takrin çeşitli ilginç eylemler göstermiştir. Bunlardan bir tanesi takrinin aynı anda ağrı kesilmesi üzerinde herhangi bir etkisi olmayan morfin verilen hayvanlarda uyku haline karşı çıkma kabiliyeti göstermesidir [7]. Buna ek olarak takrinin, morfinin neden olduğu mutluluk hissi ve bağımlılık potansiyelini engellediğı bulunmuştur [8]. Takrin ile morfin verilen kişilerde düzenleyici etkisinin yanı sıra, antikolinesteraz aktivitesi sonucu kas gevşemesinin uzamasına neden olmuştur. Bu özelliklerden ötürü, takrin kullanımı anesteziyoloji içerisinde tartışılmıştır. Ayrıca, takrinin ketamin yan etkileri üzerinde yararlı bir etkisi olduğu bildirilmiştir. Ketamin, esas olarak anestezi başlatmak ve sürdürmek için kullanılan bir bileşiktir. Bununla birlikte, kişide dikkat ve hafıza gibi bilişsel işlevler ile davranışlarda bozulma ile sonuçlanan, hızlı ve dalgalı seyirli bir nöropsikiyatrik olayları ve uyku haline geçişte bazı sorunlara neden olmuştur. Takrinin ameliyat sonrası dönemde olumsuz düşünceleri tersine çevirdiğı

ispatlanmıştır. Takrinin bu etkisi, adrenerjik ve kolinerjik reseptörlerle etkileşimi ile açıklanmıştır [9].

Kolinesterazların varlığı ilk kez 1914 yılında Henry Dale tarafından ortaya çıkarılmıştır. 1930'lardan beri üzerinde çalışmalar devam eden serin hidrolaz sınıfı bu enzimlerin, aktif bölgede görev alan reaktif serinin ve aktif bölgenin aminoasit diziliminin belirlenmesi 1959'ların başına kadar sürmüştür [10]. Alzheimer hastalığında kullanılan kolinesteraz inhibitörleri, geri dönüşlü inhibitörler (takrin, donepezil ve galantamin vb.), yarı geri dönüşlü inhibitörler (fizostigmin, eptastigmin ve rivastigmin vb.) ve geri dönüşsüz inhibitörler (metrifonat vb) olmak üzere 3 ana gruba ayrılır. Geri dönüşsüz inhibitörler, geri döndürülebilir inhibitörler ve asilatlayıcı inhibitörler olarak adlandırılır. Bunun nedeni, bu inhibitörlerin enzimleri açile etmesi ve substratla aynı şekilde hareket etmesidir [11]. Deaçilasyon oranları çok yavaş olduğu için enzim uzun süre açillenmiş kalır ve bu süre zarfında substratları hidrolize edemez. Sadece enzim katkılı bir kompleksin tersine, geri dönüşümlü inhibitörlerin herhangi bir ürün oluşumuna neden olmaz. Tersinir önleyicilerin enzimin katalitik bölgesine bağlanması, substrat ve inhibitör arasındaki rekabetin bir sonucu olarak substrat hidrolizi oranını yavaşlattığı bildirilmiştir [12].

Bu çalışmada yeni takrin türevleri sentezlenerek bu bileşiklerin kolinesterazlar üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Sentezi yapılan 13 karbamat bazlı takrin yapıları ^1H NMR, ^{13}C NMR, ve IR spektrometreleri ile aydınlatılmıştır.

BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

2.1. Alzheimer Hastalığı

Alzheimer hastalığı (AH), yaşla ilgili ilerleyici nörodejeneratif bir hastalıktır [13]. Bilişsel bozukluk, çeşitli nöropsikiyatrik belirtiler ve günlük yaşam aktivitelerinde kısıtlamalarla karakterizedir [14]. Alzheimer hastalığı, demansın en yaygın şeklidir ve yaygınlık 65 ile 85 yaş arasında ikiye katlanarak artar. Alzheimer hastalığındaki risk faktörleri yaş, ailede Alzheimer hastalığı, kadın cinsiyeti, düşük eğitim, beyin-damar hastalıkları, beyindeki kan dolaşım bozuklukları riski, önceden geçirilmiş olan kafa travmalarıdır [13].

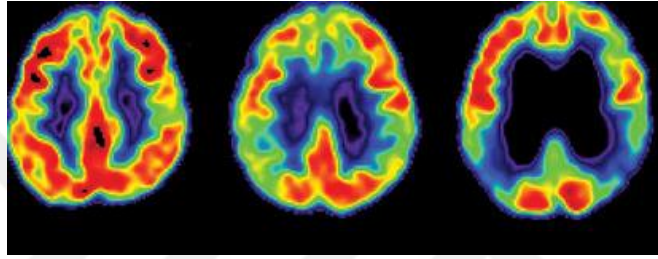
Alzheimer hastalığı yetişkinlik dönemlerinin her evresinde başlayabilmesine rağmen, hastaların çoğunluğu 60 yaş ve üstü kişilerdir. 50 yaşından önce başlayan vakalar nadirdir ve genellikle genetik olup ailede dominant (baskın) yollarla aktarılır [15].

Alzheimer hastalığının belirtilerinin başlangıcı genelde o kadar sinsidir ki, ne ailesi ne de hastanın başlangıcını tarihlemesi mümkün değildir. Bazen, ateşli bir hastalık, bir ameliyat veya yeni ilaçlar ilgili olağandışı bir karışıklığa neden olabilir. Bazı durumlarda, yön duygusu ile ilgili sorunlar belirtilerin zamanla sınırlı olduğu izlenimini verebilir [16]. Diğer hastalar baş dönmesi, baş ağrısı veya belli belirsiz fizik muayene ve laboratuvar incelemeleri ile açıklanamayan birçok bedensel yakınmanın bulunduğu şikayetleri ile başvurabilir [17].

Alzheimer hastalığının en önemli belirtisi, epizodik bellek yani anlayışlar ve diğer kavram tabanlı bilginin işlendiği uzun süreli bellek bölümünün aşamalı bir şekilde kaybedilmesidir. Alzheimer hastalığındaki hafıza eksikliği spesifiktir. Hastalar, öğrenebildikleri yeni bilgileri elde etmekte güçlük çekerler. Küçük günlük olayları

hatırlayamazlar. Buna karşılık, eski hatırlananlar nispeten korunur, en eski hatırlananlar ise uzun süre akılda kalır. Hasta, isimleri (özellikle nadiren kullanılan isimleri) unutabilir ve aynı soruları veya hikayeleri tekrarlayabilir [18].

Hafıza kaybı genellikle ilk ve en belirgin belirti olmasına rağmen, hafızadan başka bilişsel alandaki açıklar hastalığın erken evresinde ortaya çıkabilir. Bu hastalıkta vakaların %10'dan azında beyin bölümleri ve fonksiyonlarındaki açıklar en önemli başlangıç belirtileri olabilmektedir (Şekil 2.1.) [19].



Şekil 2.1. Alzheimer hastalıklığını beyindeki etkileri

Alzheimer hastalarının çoğunda, hastalık seyri sırasında davranışsal bozukluklar oluşur. Bu davranışlar saldırganlık, kışkırtma, sanı, uyku bozuklukları, depresyon, dikkat dağınıklığıdır. Davranışsal belirtilerin varlığı hastaların ve ona bakan ailelerin yaşam kalitesini düşürmektedir [20]. Alzheimer hastalığı ilerleyici bir hastalıktır ve belirtileri zaman içinde giderek kötüleşir. Tanı ile ölüm arasında hastalığın ortalama süresi 4-8 yıl arasındadır [21].

2.2. Alzheimer Hastalığının Epidemiyolojisi

Epidemiyoloji, belirli populasyonlarda sağlıkla ilgili devletlerin veya olayların dağılımı ve belirleyicilerinin yanı sıra sağlık problemlerinin kontrolüne uygulanması üzerine yapılan çalışmaya atıfta bulunmaktadır. Yakın zamandaki AH ile ilgili epidemiyolojik çalışmaların küresel yaygınlık, etki, insidans, risk faktörleri ve müdahale stratejileri ile ilgili temel bulguları alt bölümlerde verilmiştir.

2.2.1. Küresel yaygınlık ve etki

Dünyadaki yaşlıların sayısı (65+yaş), 2000 yılında 420 milyon iken 2030 yılında yaklaşık bir milyara ve yaşlıların oranı %7'den %12'ye çıkması beklenmektedir. Gelişmekte olan ülkeler, yaşlı insanların mutlak sayısındaki en büyük artışı yaşayacaklardır. Sonuç olarak, gelişmekte olan ülkelerin dünya genelinde yaşlanan nüfus içindeki payı %59'dan %71'e yükseleceği düşünülmektedir. AH artan yaşla güçlü bir şekilde ilişkili olduğundan, bu zihinsel bozukluğu dünya genelindeki tüm ülkelerdeki halk sağlığı ve yaşlı bakım sistemlerine karşı artan bir meydan okuma oluşturacaktır [22].

AH yaygınlığı, 65 yaşından sonra her beş yılda neredeyse ikiye katlanmaktadır. Genel olarak yaklaşık 65 yaş üzeri AH'dan etkilenirken, 85 yaşın üzerindeki kişilerin üçte birinde demansla ilgili belirtiler olabilir [22].

AH ve demans belirgin şekilde ilerleyebilir. İlk olarak, nüfus temelli çalışmalar hafif demans vakalarının %50'sinden fazlasının 3 yıllık bir dönem boyunca şiddetli bir aşamaya geldiğini göstermektedir. Bu ilerleme, hem bilişsel hem de fonksiyonel düşüşten kaynaklanmaktadır. Daha hızlı bilişsel bir düşüş öncüsü, ilk yüksek bilişsel işlev, fiziksel engellilik ve beyni besleyen damarların tıkanması veya kanaması ile ortaya çıkan, hasar gören beyin bölgesi ile ilgili belirtiler veren bir hastalıktır [21]. Diğer yandan AH, güçlü işlevsel özür ile ilişkilidir. Sanayileşmiş ülkelerde demans ve bilişsel bozukluk, huzurevlerinde veya kurumlarda yaşlı yetişkinlerde en sık rastlanan hastalıklardır. Bununla birlikte, demans hastalarının kurumsallaşması oranı yaş yapılandırmasına, kentsel veya kırsal konuta ve diğer kültürel yönlelere bağlıdır. Son olarak, epidemiyolojik çalışmalar, AH'ın kötü huylu bir durum olduğunu ortaya koymuştur ki, kötü huylu tümörlere benzer şekilde yaşlı insanlar için ölüm riskini arttırmaktadır. Topluluk temelli çeşitli takip çalışmaları AH'ın ölüm riskinin 2-5 kat arttırdığını göstermiştir. AH tanısı konan kişilerin yaşam süresi, başlangıç yaşına ve diğer yaşam durumlarına bağlı olarak tanıdan sonra 6-8 yıl arasında değişmektedir. Alzheimer hastalığına yakalanma riski yaşlılık, erkek cinsiyeti, düşük eğitim, birden fazla fonksiyonel bozukluk gibi nedenlere göre artmaktadır [23].

2.2.2. İnsidans ve risk faktörleri

AH'nın görülme sıklığı, 85 yaşa doğru neredeyse katlanarak artmaktadır [22]. Ancak, bazı çalışmalarda bulunan yaşlıların yaşları arasında AH sıklığının düşük yanıt oranları, sağ kalım etkileri ve en eski çağın nüfus yapısı vardır. Avrupa'daki bazı çalışmalar, özellikle yaşlı kadınlarda AH daha az görülürken erkeklerde daha sık görülmektedir. Kuzey Amerika'daki çalışmalarda AH görülme sıklığı açısından anlamlı bir cinsiyet farkı bulunmamıştır [24].

Alzheimer hastalığı, yaşlılığın en güçlü risk faktörü olduğu çok faktörlü bir hastalıktır. Bu, yaşlanmaya bağlı biyolojik süreçlerin hastalıkların ilerlemesinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Dahası, kişinin bağışıklık sistemindeki bozukluk sonucu beyin ve omurilikte çok sayıda plakların oluşmasıyla ortaya çıkan hastalık olan MS (multipl skleroz) ile, artan yaş arasındaki güçlü ilişki, kısmen genetik yatkınlığın karmaşık etkileşimlerin, biyolojik faktörlerin ve ömür boyunca yaşanan çevresel maruz kalmaların etkileri de dahil olmak üzere farklı risk faktörlerinin bir ömür boyu birikimli etkisini yansıtabilir [22]. Bu risk faktörleri AH gelişiminde genetik, vasküler ve psikososyal faktörlerin rolünü desteklemektedir. [25].

2.2.3. Genetik hipotez

Genetik yatkınlık AH gelişiminde önemli faktördür. İlk akrabalık derecesinde olan hastada risk artışı gözlemlenmektedir. Amiloid öncü protein (APP), presenilin 1 (PS1), presenilin 2 (PS2), apolipoprotein E (APOE), AH ile ilişkili olarak belirlenen başlıca genlerdir. APP, PS1, PS2 gen mutasyonları, hastaların % 5'inde oluşan erken başlangıçlı AH'da gerçekleşmiştir. APOE4 allelinin AH riskini arttırdığı bildirilmiştir [22,25].

Kromozom 1'de bulunan PS2 geni ve kromozom 21'deki APP geninin bir sonucu olarak, amiloid β 'nin peptid seviyelerini arttırdığı bildirilmiştir. Buna ek olarak, kromozom 14'te bulunan PS1 genindeki mutasyonların MS'de aktif rol alması da

rapor edilmiştir. PS1 genindeki mutasyonlar APP'yi ve amiloid β 'nin zehirli üretimini yanlışlıkla kaldırmak için oluşur. Öte yandan, PS1 gen mutasyonu tau proteininin hiperfosforilasyonuna ve nörofibriller yumruların (NFT) oluşumuna neden olur. APP geninin mutasyonları, erken başlangıçlı ailesel AH'nın sadece % 2-3'ünden sorumludur. Geç başlangıçlı ailesel AH ile bağlantılı bir bölgenin yakınında bulunan 19 numaralı kromozom üzerindeki APOE gen loküsü, geç başlangıçlı AH'nın % 50-80'inde etkilenmiştir.

Değişim iki farklı değişik bölgede, APOE formları olan iki allel (E2, E4) için kodlama yapar. APOE4 taşıyıcılarının artmış AH riski taşıdığı, buna karşılık E2 allelinin hafif koruyucu olduğu gösterilmiştir. APOE4 alleli, beyin içinde ölü sinir hücreleri ve protein birikintilerini içeren alanlarda ve NFT'leri meydana getirir [22].

2.2.4. Damar hipotezi

Son on yılda topluma dayalı epidemiyolojik çalışmaların orta derecede güçlü kanıtları, kan akışının durmasına neden olan bir kan pıhtısı ve beyni besleyen damarların patlayarak beyin hasarı meydana getirmesi durumu AH da dahil olmak üzere demans riskiyle ilişkili olduğu hipotezini destekleyerek ortaya çıkmıştır [26]. Orta yaşta artan tansiyon, özellikle kontrolsüz orta yaşam boyu yüksek tansiyon, çeşitli gözlem çalışmalarında artmış bir yaşam riski ile ilişkilendirilmiştir. Çalışmalar yüksek kan basıncını tedavi etmek için kullanılan ilaçların bilişsel bozulmaya karşı koruyucu bir etkisini defalarca göstermektedir. Yüksek kan basıncı tedavi denemeleri, kalsiyum kanal blokerleri ile hipertansiyon tedavisinin demans riskinde % 50'lik bir düşüş ile ilişkili olduğunu doğrulamıştır. Bununla birlikte, bu koruyucu etki, klinik çalışmalarda bulunmayan, hipertansiyon ilaçları, kalsiyum kanal blokerleri ve diyabet sayısız gözlemsel çalışmada AH riskinde artış ile bağlantılıdır. Kan insülin direncinin de artışı (hiperinsülinemi) AH ile ilişkilidir ve bellek fonksiyonunu düşürür. Beyin damar hastalıkları, yalnızca bunama riski değil AH'nı da önemli ölçüde artırmıştır. Ritim bozuklukları ve kalp yetmezliği gibi şiddetli hastalıklar AH ile de ilişkilidir [27]. AH için risk faktörü olarak sigara kullanımı, alkol kullanımı bunama ile ilişkili olabilmektedir. Düşük serum kolesterolü, kolesterol

düşürücü ilaçlar ve daha fazla balık, daha fazla sebze ve düşük doymuş yağ içeren bir diyetin AH'nın daha düşük riskiyle ilişkili olabileceğine dair kanıtlar da vardır. Vasküler risk faktörlerinin vasküler bunama ile ilişkili olması beklenirken, vasküler faktörlerin Alzheimer tipi demans ile ilişkilendirilmesi için birkaç açıklama önerilmektedir [21]. Bazı çalışmalar, AH'nın beyindeki kan dolaşımı bozuklukları nedeniyle beyindeki hücrelerin öldüğünden kaynaklanan bir bozukluk olabileceğini düşündürmektedir. Alternatif olarak beyin damar hastalıkları beyin yaşlanmasının nörodejeneratif değişiklikleri ile etkileşerek demans (bunaklık) sendromunun gelişimine katkıda bulunabilir [25].

2.2.5. Psikososyal hipotez

Epidemiyolojik araştırmaların sistematik olarak gözden geçirilmesi, psikososyal faktörlerin ve yaşam boyu aktif yaşam tarzının ömür boyunca AH riskini azaltabileceği sonucuna varmaktadır. Bu faktörler, erken yaştaki yüksek eğitime erişme, yetişkin yaşamında yüksek iş karmaşıklığı, geç yaşamda zengin sosyal ağ ve yüksek düzeyde sosyal katılımı içerir ve daha sık zihinsel olarak uyarıcı faaliyete katılmaktadır [28]. Fiziksel egzersiz, beyin damar hasarı, demans riskini azaltmada fiziksel aktivitenin önemi tartışma konusudur, zira çoğu fiziksel aktivite de sosyal ve zihinsel bileşenlerin demansa karşı en iyi etkiye sahip olduğu gösterilmiştir [23].

Psikososyal faktörler, beyinde dejeneratif patolojik değişikliklerle başa çıkabilmek için telafi mekanizmalar sağlayıp sinirsel ve bilişsel rezervi arttırarak AH'na karşı koruyabilir ve bu nedenle bunamanın başlamasını geciktirir [22].

2.2.6. Diğer hipotezler

Enflamatuar hipotezini destekleyen ek kanıt olarak, gözlemsel çalışmaların sistematik olarak gözden geçirilmesi, iki yıldan fazla süredir steroidal olmayan anti-inflamatuar ilaçların uzun süreli kullanılmasının AH'na karşı önemli yararlı etkileri olabileceğini düşündürmektedir. Benzer şekilde, östrojen tedavisi çok sayıda gözlemsel çalışmada daha düşük bir AH riski ile bağlantılı olmasına rağmen

kadınların sağlık girişimi bellek çalışmasının geniş çaplı klinik araştırması, östrojen tedavisinin muhtemel demans ve hafif kognitif bozukluk insidansını azaltmadığını göstermiştir. Ancak bunun yerine, östrojen ve östrojen artı progestin ile yapılan aktif tedavilerin hem demans hem de hafif kognitif bozukluk için iki kat artmış bir risk ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Son olarak, bazı takip çalışmaları, meyve ve sebzelerden zengin bir diyetle bağlantılı AH riskinde azalmanın yanı sıra, antioksidanların (rneğin, E ve C vitamini) alımının artırılması ve beslenme faktörlerinin AH'da rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Oksidatif stres, AH'nın nörolojik ve patolojik değişikliklerinde en erken olaylardan biridir. Oksidatif stres, AH'da geri döndürülemez protein agregasyonu, sonuçta nöronal dejenerasyon ve ölümle sonuçlanır. Geçiş metal iyonları, tipik olarak Cu (I) ve Fe (II), moleküler oksijeni tek elektron transferi yoluyla süperoksit radikal iyonuna indirgeyebilir ve AH patogenezinde rol alır [29].

2.3. Alzheimer Hastalığının Fizyopatolojisi

AH araştırmalarında son yıllarda AH'da pek çok faktörün rol oynadığı bulunmuştur. Hastalığın etiyolojisi ve patogenezi belirsizliğini korumaktadır. Bugüne kadar AH'ın, patogenezinde katkıda bulunan birçok ilgili moleküler lezyona sahip, kompleks, çok faktörlü bir sendrom olduğu düşünülmektedir [30]. Biyometallerin, düşük asetilkolin (ACh), amiloid- β ($A\beta$) birikimleri, oksidatif stres ve diskosomeostaz düzeyleri gibi çeşitli faktörlerin etyolojisinde kesin rol oynadığı dşnlmekte ve bu faktörlere dayanan birçok hipotez mekanizmayı açıklamak için önerilmektedir [12].

2.3.1. Amiloid plak hipotezi

Senil $A\beta$ plakları, transmembran glikoprotein amiloid prekürsör proteininin (APP) ardışık bölünmesiyle üretilen, esasen çözünmeyen 40 veya 42 amino asit uzunluktaki $A\beta$ peptitlerinden oluşur. İnsan APP'sindeki mutasyonların erken başlangıçlı ailesel AH ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. $A\beta$ plaklarının AH'daki oluşum süreçleri tam olarak anlaşılamamıştır ancak $A\beta$ kaskadı, Alzheimer hastalığının gelişimi için en

belirgin hipotezdir ve çözünmeyen A β peptitlerinin aşırı birikiminin nöronal fonksiyon bozukluğuna ve ölümle sonuçlanan bir dizi olaya neden olduğunu önermektedir. Bazal ön beyin kolinerjik sistemin dejenerasyonu Alzheimer hastalığının önemli bir patofizyolojisidir. Kolinerjik nöronlar kortekste asetilkolin (ACh) ana kaynağı sağlarken, ACh'de bir düşüş bilişsel bozuklukla doğrudan ilişkilidir. Kolinerjik nöronların sayısı, ileri evrim teorisinin temel ön beyinlerinde sürekli olarak düşük bulunmuştur ve bununla birlikte kolin asetiltransferaz (ChAT) aktivitesinde azalma görülmüştür [31]. Serebral kortekste ACh eksikliği doğrudan bilişsel gerileme ile ilişkilidir. Bu bulgular Alzheimer hastalığının kolinerjik hipotezine yol açmıştır ve bazal ön beyin kolinerjik nöronlarının kaybı ve bunun kortikal alanların kolinerjik inervasyonundaki düşüşün AH hastalarında bilişsel işlev bozukluğunun nedeni olduğunu önermiştir [32].

2.3.2. Nörofibriler yumak hipotezi

AH'nın makroskopik patolojik belirtileri beyinde atrofi, girus daralması, sulkus ve ventriküllerdeki uzantıdır. AH'nın en önemli mikroskopik belirtileri nörofibril sinir hücreleri, yaşlılık plakları ve nöronların kaybıdır. Nörofibril sinir hücrelerinin patolojisi beyin klinik semptomlarına paralel bir ilerleme gösterirken, senil plaklar doğrudan AH'daki klinik semptomlarla ilişkili değildir.

Nörofibriler yumaklar (NFT), hiperforillenmiş mikrotübüle bağlı protein tau içerirken, yaşlılık plakası, öncülünden türemiş bir amiloid peptit çekirdeği içerir. Tau, Alzheimer hastalarının beyinlerinde yaşlılık plaklarına sahip nöropatolojik bir özellik olan nörofibril sinir hücrelerini oluşturmak için hiperfosforilasyona uğramış oldukça tanınmış bir fosfoproteindir. Protein kinazların ve fosfatazların aktivitelerinin AH'daki fosforilasyon olaylarının olduğu şekilde değiştirildiği moleküler mekanizmalar, anormal fosforilasyonun AH patogenezindeki rolüne dair yeni anlayışları potansiyel olarak ortaya çıkarabilir ve protein fosforilasyonunun potansiyel bir tedavi stratejisi olarak desteklenmesini sağlayabilir. Mikrotübüller ile etkileşim, hiperfosforile tau proteini ile azaltılabilir ve hücre işlevlerinde bozulmalara neden olabilmektedir [31].

2.3.3. Kolinerjik hipotez

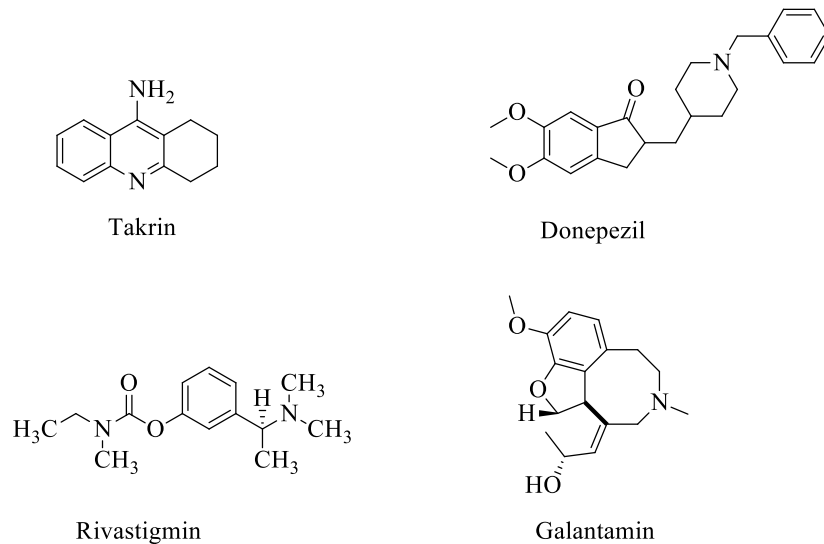
Kolinerjik hipotez, fonksiyon bozukluğuna dayanan en eski hipotezdir [33]. Alzheimer hastasından alınan beyin sistemik biyokimyasal incelemesinde, normal beyin ile serebral kortekste asetiltransferaz, asetilkolinesteraz ve diğer tüm alanlar normal seviyenin altında olduğu görölür [34]. Bowen ve arkadaşları 1976'da beyin dokularının serebral korteksinde kolin asetiltransferaz aktivitesinin azaldığını bildirmişlerdir [35]. 19. yüzyıl'da yapılan bir çalışmada, amiloid beta peptidin kolinerjik sinir iletimini inhibe ettiğini göstermiştir [36]. Diğer çalışmalar, presinaptik kolinerjik terminallerde bulunan nikotinik ve muskarinik asetil kolin reseptör sayısındaki azalmanın, bilişsel fonksiyonu düşürdüğünü göstermiştir [37].

Bu dikkate değeri gözlemler, kolinerjik nöronların dejenerasyonunun ve serebral korteks ve diğer alanlardaki kolinerjik bulaşma kaybının Alzheimer hastalığında bilişsel işlevlerin bozulmasına önemli ölçüde katkıda bulunduğunu ortaya koymaktadır [38]. Kolinerjik nörotransmisyonu iyileştirmek için, Alzheimer hastalığında semptomatik tedavi için potansiyel olarak yararlı ilaçları geliştirmek üzere kullanılan farklı tedavi yaklaşımları son yirmi yılda, farklı stratejilerin geliştirilmesine sebep olmuştur [39].

Kolinesteraz inhibitörlerinin, beyin ve kas sisteminde muskarinik ve nikotinik alıcıları etkileyip etkilemediği araştırılmıştır [40]. Nikotinik reseptörler kas sistemini uyarırlar. Uyarı olduğuunda sinirlerden ACh salgılanır ve nikotinik alıcılara gider. Muskarinik reseptörler ise çizgisiz kaslar, kalp kası ve salgı bezlerini uyarır. Uyarı olduğuunda sinirlerden asetilkolin salgılanır ve muskarinik alıcılara gider [40]. Klinik çalışmalarda, bu reseptörlerin hücrelerde etkili olmadığı gözlenmiştir [41]. Fakat diğer çalışmalar, kolinesteraz inhibitörlerinin AH'daki kognitif, fonksiyonel ve davranışsal semptomlar üzerindeki yararlı etkilerini ortaya çıkarmıştır [42]. Takrin, donepezil, rivastigmin ve galantaminin AH tedavisinde kullanılan Amerika Birleşik Devletleri Sağlık Bakanlığı (FDA) tarafından onaylanmış dört kolinesteraz inhibitörüdür. Takrin yaygın olarak kullanılan ilk inhibitördür ancak kısa yarılanma ömrü, hepatotoksisite ve kolinerjik yan etkiler nedeniyle daha sonra kullanımından

vazgeçilmiştir [43]. Donepezil, rivastigmin ve galantamin'in yan etkileri daha az, yarı ömrü daha uzun ve etkinliği daha fazladır [44]. Donepezilin, rekabet edilemez ve geri dönüşümlü olarak asetilkolinesterazı inhibe edebilen bir piperidin türevi olduğu bildirilmiştir [45]. Galantamin, üçüncül bir alkaloid ajan olup, kolesterol fonksiyonunu iyileştirmek için allosteremik olarak nikotinik reseptörlere bağlanmaktadır [46]. Rivastigmin, asetilkolinesteraz ve bütirikolinesterazı inhibe eden bir karbamat türevidir [47]. Demanslı hastalara kolinesteraz inhibitörlerinin uzun süreli uygulanmasına dayanan klinik araştırmalar, Alzheimer hastalığının başlamasını geciktirmek veya riski azaltmada başarısız olmuştur [48]. Ayrıca, bu inhibitörlere bağlı gastrointestinal, kardiyovasküler, nöromusküler riskler gibi advers etkiler önemsiz değildir [39].

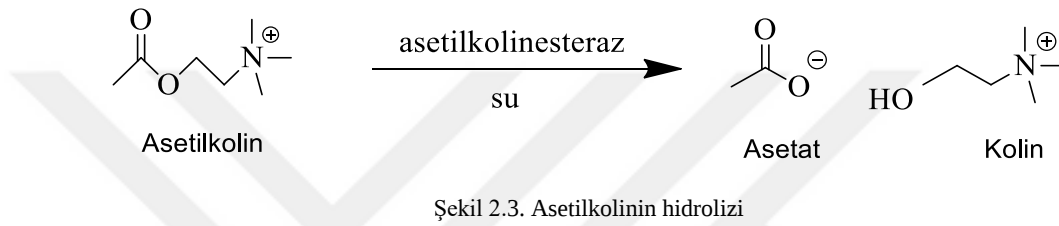
AH'nın çok yönlü niteliğinden dolayı, AH tedavisi farmasötik topluluk için devam eden bir güçlüktür ve halen etkili bir ilaç yoktur [32]. Potansiyel terapilere birçok yaklaşım vardır ve çoğu tedavi stratejisi kolinerjik nörotransmisyon β -amiloid peptidini hedef almıştır [34]. Bununla birlikte, kolinesteraz inhibitörleri, AH tedavisinde bazı sonuçlar veren (takrin, donepezil, rivastigmin ve galantamin gibi) (Şekil 2.2.) pazardaki ilk ve bugüne kadarki tek ilaç sınıfı olmaktadır.



Şekil 2.2. Çokça bilinen AChE inhibitörlerinin kimyasal yapısı

2.4. Kolinesteraz İnhibisyonu

Kolinesterazlar (ChEs), bir nörotransmitterin hidrolizini katalizleyen lipaz enzim ailesine aittir. Asetilkolin (ACh) 'i kolin ve asetata hidroliz eder (Şekil 2.3.) ve böylece kolinerjik sinir iletimini sona erdirir [49]. Bu katalitik reaksiyon, bir kolinerjik nöronun aktivasyon sonrasında dinlenme durumuna geri dönmesine izin vermek için önemli bir rol oynamaktadır. Çoğunlukla kolinerjik ve kolinerjik olmayan dokularda ve plazma dahil diğer vücut sıvılarında bulunur [50].



Alzheimer hastaları üzerinde yapılan çalışmalarda, hastaların korteksinde ve hipokampusünde presinaptik kolinerjik nöronların seçici bir kaybı ortaya çıktığından merkezi sinir sisteminde kolinerjik aktifliğini kontrol etmek için tedavi geliştirilmiştir [51]. Çeşitli kolinomimetik ajanlar arasında en çok kullanılan kolinesteraz inhibitörleridir. Kolinesteraz inhibitörleri nöronal sinaptik yarıktaki asetilkolin miktarını, bozulmasından sorumlu olan enzimi inhibe ederek artırırlar ve böylece nöronal transmisyonu geliştirirler.

Kolinesteraz inhibitörü ile yapılan terapi Alzheimer hastalığı tedavisinde ilk gelişmeyi temsil ederken, mevcut ilaçlar klinik açıdan ılımlı bir fayda sağlamış ve hastalığın doğal seyrini etkilediği ispatlanmıştır [52]. Bununla birlikte, Alzheimer hastalığı için onaylanmış tek tedavi edici müdahale olarak bu bileşikler, nöropsikiyatrik ve davranış bozukluklarını iyileştirerek hastalara ve bakım verenlere rahatlama ölçütü sağlamıştır [53].

Deneysel çalışmalar, sinaptik asetilkolin üzerindeki etkilere ek olarak, kolinesteraz inhibitörlerinin Alzheimer hastalarında tedavi edici etkinliklerinde rol oynayabilecek birtakım biyokimyasal ve farmakolojik aktivitelere sahip olduğunu göstermiştir. Bu

etkiler nikotimik reseptörlerde allosterik aktivatör alanine bağlanma, kolinerjik olmayan nörotransmitter salınımı artırma, β -amiloid toksisitesini inhibe etme, çözünür amyloid öncü protein salınımını artırma ve östrojenlerin etkilerini module etmektedir [54]. Kolinesteraz inhibitörlerinin bu hidrolitik olmayan etkilerinin klinik önemi, özellikle de β -amiloid ile muhtemel etkileşim Alzheimer hastalarında değerlendirilmeye devam edilmelidir.

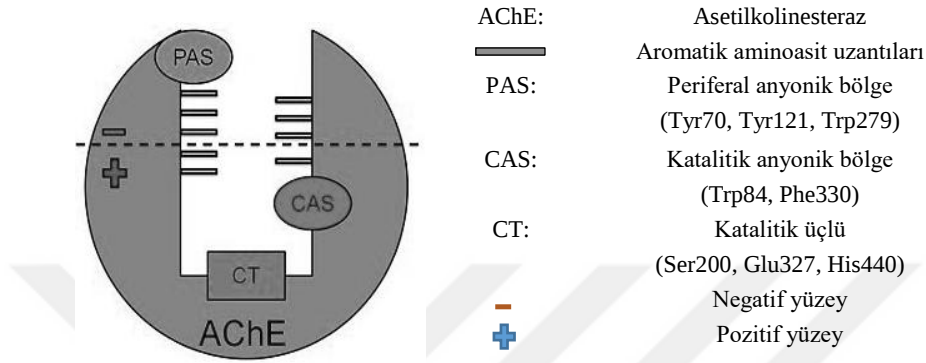
Kolinesteraz inhibitörleri, genellikle kolinerjik sistemin fazla uyarılması (mide bulantısı, ishal, kusma, baş dönmesi vb.) nedeniyle birtakım istenmeyen etkiler ile ilişkilendirilir. Aynı kolinesteraz inhibitörleri için tedavi edici dozlarda gözlemlenen olumsuz etkilerin görülme sıklığı oldukça yüksektir. Örneğin, 6 aylık klinik çalışmalarda yeralan fizostigminin en düşük etkili dozu günde 30 mg'dır [55]. Bu dozaj arttırıldığında bulantı, kusma ve ishale neden olur [56]. Bu nedenle, kolinesteraz inhibitörleri için, pozitif bilişsel etkileri maksimize eden ve istenmeyen etkilerin en aza indirgeyen bir tedavi edici pencere oluşturmak önemlidir. Kolinesteraz inhibitörlerine yanıt vermenin öncülleri olarak, birtakım demografik (yaş, eşlik eden ilaçlar), klinik (hastalık şiddeti) ve biyolojik (plazma ilaç konsantrasyonları, asetilkolinesteraz inhibisyonu) değişkenler olduğu öne sürülmüştür [57]. Uygun dozajın kullanımı ve yeterli seviyede AChE inhibisyonu elde edilmesi etkinlik ve tolere edilebilirlik arasında iyi bir denge elde etmek için çok önemlidir.

2.4.1. Kolinesteraz inhibisyon mekanizması

Takrin, AChE üzerinde anyonik bölgenin amino asitleri ile iyonik bağlar oluşturur [49]. Yapılan bir çalışmada takrin, BuChE üzerindeki etkisiyle AChE'den yaklaşık 4 kat daha güçlüdür. AChE'nin takrin tarafından inhibisyonu, kuluçka zamanından bağımsızdır. Seyreltme ve artan substrat konsantrasyonu ile kısmen tersine çevrilir [58].

Donepezil, AChE molekülündeki aktif bölge haznesinin altındaki hem anyonik hem de aktif bölgenin girişindeki periferik anyonik bölgede etkileşir. Donepezil, BuChE

üzerinde olduğundan daha fazla ağrı tedavisinde 1000 kat daha güçlüdür. Donepezilin ağrı kesici seçiciliği, BuChE'de bulunmayan aromatik amino asit kalıntıları Trp-279 ve Phe-330 ile etkileşimlerinden kaynaklanmaktadır (Şekil 2.4.) [59].



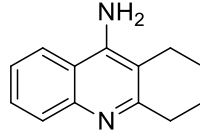
Şekil 2.4. Asetilkolinesteraz enziminin şematik gösterimi

Galantamin, hem kolin bağlanma bölgesi (Trp-84) hem de açıl bağlama cebi (Phe-288, Phe-290) ile etkileşen, AChE molekülü üzerindeki aktif bölge haznesinin tabanında bağlanır. Galantaminin üçüncül amin grubu, konvensiyonel olmayan Asp-72 ile ilişkili görünmektedir. İnhibitörün hidroksil grubu güçlü bir hidrojen bağı vasıtasıyla Glu-199 ile bağlanır. Galantamin, AChE üzerindeki eyleminde BuChE'den yaklaşık 5 kat daha etkilidir [60].

Fizostigmin, eptastigmin ve rivastigmin gibi karbamat türevleri, geçidin dibindeki esterik ve anyonik alanlarla etkileşime girer. *In vitro* ortamda hepsi BuChE üzerindeki alandan daha aktiftir [61,62].

2.5. Takrin

Takrin (9-amino-1,2,3,4-tetrahidroakridin) (Şekil 2.5.), Alzheimer hastalığı olan hastaları tedavi etmek için kullanılan bir ilaçtır.



Şekil 2.5. Takrin yapısı

1960 yılında Gershon, takrinin ditranın neden olduğu belirtilerin çoğuna etkili bir panzehir olduğunu bildirmiştir. Ditran, aciz hale getirici ajan olan 3-kinuklidinil benzilata (QNB) bağlı merkezi etkili bir antikolinergik ilaçtır. Muskarinik reseptörleri bloke ederek psikoz benzeri deliryum durumuna neden olmaktadır. Bu çalışmada takrinin ditran antagonistik özelliklerinin antikolinesteraz aktivitesi ile tek başına benzer reseptör alanlarına bağlanarak açıklanamayacağı sonucuna varmışlardır [63].

1964 yılında Bell ve Gershon trisiklik antidepresanlar, antiparkinson ilaçlar ve antipsikotik ilaçlarla ilişkili geri dönüşümlü antikolinergik beyin sendromlarının bir asetilkolinesteraz inhibitörü fizostigmin ile tersine çevrilebileceğini gösteren bir makaleyi yayınlamıştır [64]. Giacoboni yaptığı fizik muayenehanesinde, fizostigmin yerine yukarıda belirtilen durumları tedavi etmek üzere takrin ile yer değiştirmiştir. Bu çalışmada takrinin, fizostigminden daha az yan etki ve daha uzun bir etki ile aynı tedavi edici etkiyi sağladığını tespit etmiştir [65].

Takrin, AChE'den butirilkolinesteraza (BChE, E.C.3.1.1.8) hafif seçicilik gösteren, merkezi olarak aktif, rekabetçi olmayan, geri dönüşümlü kolinesteraz inhibitörüdür [66]. Bununla birlikte, kolinesteraz inhibisyonunun yanı sıra kolinerjik sistem üzerinde çeşitli diğer etkileri vardır. Asetilkolin sentezinde ve salınmasında (ACh) büyük öneme sahiptir [67]. Takrin aynı zamanda diğer biyolojik hedefleri düzenler. Nöromusküler kavşaklardaki siklik AMP fosfodiesterazı inhibe eder, potasyum kanallarını bloke eder, sodyum kanalı inaktivasyonunu inhibe eder, proteinlerin fosforilasyonunu değiştirir, glikoz metabolizmasını ve insulin salınımını uyarır [68]. Ayrıca yüksek konsantrasyonlarda takrin, inhibe ettiği 5-hidroksitriptamin, noradrenalin, dopamin ve GABA (gamma-aminobütirik asit) salınımını arttırmaktadır. Aynı zamanda hem monoamin oksidaz alt tipleri (MAO-A ve MAO-B) hem de beyin hintman-N-metil transferazı inhibe eder [1]. Yüksek

konsantrasyonlarda takrin, adenosin reseptörleri ile etkişime girerek uyarılabilir aminoasitlerin potasyum uyarılmış salınımını engeller ve nöronal kalsiyum iyon kanallarını bloke eder [69].

Takrin, uzun süreli kullanılan ilaçlarda ilave olarak ve birçok nöropsikiyatrik hastalıkların nedeninin öğrenilmesinde önemli bir rol oynayan N-metil-D-aspartat resöptörlerinin (NMDAR'lar) bir inhibitörü olarak da tanımlanmıştır [70].

2.5.1. Takrinin kimyasal özellikleri

Takrin, Alzheimer hastalığının tedavisi için ruhsatlanan ilk asetilkolinesteraz inhibitörüdür [71]. Takrinin kimyasal adı 9-amino-1,2,3,4-tetrahidroakridin'dir. Takrin hidroklorit, iğne şekilli kristallerle sarı renktedir. Acı bir tadı vardır ve suda çözünürdür. %1.5 (ağırlık / hacim) solüsyonun pH değeri 4.5-6.0'dır. 9.85 pKa değerine sahiptir. Takrinin mekanizması kesin olarak bilinmemekle birlikte, kolinerjik fonksiyonları arttırarak terapötik etkisini gösterdiği öngörülmektedir [72]. Takrinin birincil etkisi, bütirilkolinesterazın asetilkolinesterazdan daha fazla reversibl inhibisyonudur. Bu inhibisyonun merkezi sinir sisteminde bulunan asetilkolin seviyesini arttırdığı düşünülmektedir. Ayrıca takrin, potasyum kanallarını bloke ederek aksiyon potansiyelinin süresini arttırır ve kolinerjik nöronlardan asetilkolinin salınmasını arttırır [73]. Ayrıca, takrin, monoamin oksidaz, monoamin oksidaz A'yı monoamin oksidaz B'den daha büyük ölçüde inhibe eder [74]. Takrin kolaylıkla emilir. Mutlak biyolojik kullanılabilirliği yaklaşık $17 \pm 13\%$ 'dir ve bu muhtemelen ilk geçiş metabolizmasından kaynaklanmaktadır [75].

2.5.2. Takrinin önemi

Alzheimer hastalığı gibi nörolojik rahatsızlıklarda 9-amino-1,2,3,4-tetrahidroakridin etkinliği artık iyi bilinmektedir. Birçok çalışma, ilacın asetilkolinesterazın etkili bir inhibitörü olduğunu doğrulamıştır ve memeli hücrelerinde klastojenik olmadığı bildirilmiştir [76].

AH tedavisinde onaylanan ilk AChE inhibitörü olan takrin, AChE'yi yüksek oranda inhibe edebildiği ve modifikasyona uygun düşük bir molekül ağırlığına sahip olabileceği için, son yıllarda çok fonksiyonlu moleküllerin tasarımında popüler bir yapı ortaya çıkmaktadır [77]. Takrini ek aktivitelere sahip bir başka parçayla birleştirerek birçok işlevli molekül tasarlanmış ve sentezlenmiştir [78]. Bununla birlikte takrinin ileri derece kullanımı karaciğer hasarına neden olduğundan kullanımı sınırlı olmuştur [79]. Bugüne kadar, takrin ile uyarılan karaciğer hasarı tam mekanizması büyük oranda bilinmemektedir [80]. Bununla birlikte, kanıtlar oksidatif stresin rol oynadığını göstermiştir. Takrin, insan karaciğer hücresinde reaktif oksijen türleri (ROS) ve yağların yükseltgenmesi sonucu bozulması yani yağların peroksidasyonuna yol açan intraselüler glutatyon konsantrasyonunu azaltabilir [81]. Bu arada bazı çalışmalar takrin kaynaklı karaciğer hasarının antioksidanlar tarafından önlenemediğini kanıtlamıştır [82].

Aslında antioksidanların, takrinin karaciğer hasarını azaltma yeteneğinin yanı sıra Alzheimer hastalığı tedavisi içinde yararlı olduğu düşünülmüştür [83]. Diğer dokularla karşılaştırıldığında, beyin serbest radikal hasarına karşı daha hassastır [84]. Beyindeki antioksidan sistem yaşlanma sırasında giderek bozulur. Özellikle Alzheimer hastalığı beyinde, normalden hızlı bir şekilde gerilemektedir. Artan kanıtlar oksidatif hasarın Alzheimer hastalığı patojenezinin en erken evresinde ortaya çıktığını ve aβ plaklar ve nörofibriler, yumaksılar gibi hastalığın diğer patolojik özelliklerinin oluşumunu teşvik ettiğini göstermektedir [85]. Bu nedenle tüm bu gerçekler göz önüne alındığında, takrinin bir antioksidan parçayla birleştirilmesinin sadece AChE'yi inhibe edemediğini ve takrinin karaciğer hasarını düşürmekle kalmayıp aynı zamanda beyindeki oksidan hasarı azaltarak nöroprotektif etki gösterebilen daha etkili çok işlevli molekülleri karşılayabileceği önerilmektedir [86].

Alzheimer hastalarının beyni yanlışlıkla katlanmış amyloid- β (A β) metal iyonu (Zn, Cu, Fe) ile dengesizlik problemi ve oksidatif stress birikimi gibi birkaç tipik patolojik özellik gösterir [87]. Ayrıca Cu ve Zn gibi metal A β peptidlerine bağlanarak bir araya gelmesi sağlanırken, düzensiz redoks aktif metal iyonları Cu (I/II) ve Fe (II/III) reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretilmesini teşvik etmektedir. Alzheimer

hastalığının doğası ve patogenezinde çeşitli faktörlerin olası bağlantılarına bağlı olarak, Alzheimer hastalığı tedavisi için bir ilaç bulunamamaktadır [88]. Takrin, Alzheimer hastalığının palyatif tedavisi için ABD tarafından onaylanmıştır. Kolinerjik sistemde gelişme kaydedilmiştir ve asetilkolinesteraz (AChE) inhibisyonuna bağlı olarak bilişsel performans düşüşünde ılımlı bir azalma olmuştur. Ancak karaciğer hasarına bağlı olarak bazı sınırlamaları olmuştur ve bu nedenle günümüzde klinik uygulamada nadiren kullanılmaktadır [89].

Takrinin dezavantajlarının üstesinden gelmek için, bu bileşik çok hedefli analogların geliştirilmesinde bir ilham kaynağı olarak kullanılmış AChE inhibisyonunun antioksidan özelliklere, metal bağlama kapasitesine ve/veya A β toplanımının inhibisyonunun birleştirmek için melatonin, hidrokinolin veya tiyoflavin gibi doğal motiflerle konjuge olması gerekmektedir. Alzheimer hastalığında potansiyel bir uygulama ile çok fonksiyonlu heterosiklik bileşiklerin geliştirilmesine yönelik araştırmaları devam ettirmek ve bazı doğal ürünlerin nöro koruyucu rolü hakkındaki son ilgi de dikkate alınarak, takrin ve ayrıca S-alil-sistein veya S-propargil-kstein geliştirilmiştir [90].

Alzheimer hastalarının organizmanın herhangi bir yerinde oluşan hastalığın başka bir yere yayılması hipotezine dayanarak, metal şelatörlerin metal kaynaklı A β toplanmasına ve metallerden kaynaklı zehirli maddelerin sinir sisteminin normal çalışmasını olumsuz yönde etkilemesine müdahale edilebileceği yaygın olarak kabul edilmiştir. Bu hipotezde daha çok organlarda demir, bakır, çinko aktarımı üzerine yoğunlaşmıştır ve bu metal iyonlarının kazanılmış davranışların sonradan kaybedilmesi üzerindeki hastalıkların rolünde araştırmalar A β hedefli ilaçlara dayalı geniş ölçekli klinik araştırmalardaki başarısızlıklardan sonra özellikle dikkat çekmektedir [91]. Aslında Alzheimer hastalığının kaynağı ve gelişiminde meydana gelen değişikliklerin metal yoğunluğunda patolojik, biyokimyasal, farmakolojik ve genetik birçok rolü olduğu kanıtlanmıştır [92].

2.5.3. Takrinin etki mekanizması

Takrin, merkezi olarak aktif, rekabetçi olmayan tersinir asetilkolinesteraz inhibitörüdür. Asetilkolinin etkisi, asetilkolinesteraz ile kolin ve asetata hızlı hidrolizi ile sona erer. Takrin, enzim aktivitesini engellemek ve böylece kolinerjik aktiviteyi uzatmak için asetilkolinesteraz molekülünün katalitik olarak aktif sahasının yakınına bağlandığı görülmektedir.

AH'daki derin kolinerjik eksikliklerin ışığı altında, kolinerjik aktivitenin artırılması, takrinin ve benzer asetilkolinesteraz inhibitörlerinin ana mekanizması olmaya çalışılmıştır. Yüksek konsantrasyonlarda takrin, sodyum ve potasyum kanallarının blokajı, muskarinik reseptörlerde doğrudan aktivite ve monoamin metabolizması ve alımı alt düzeyleri de dahil olmak üzere diğer etkileri vardır [93]. Tüm bu nörotransmitterlerin işlevi Alzheimer hastalığında anormal olarak rapor edilmiştir. Bununla birlikte, bu kolinerjik olmayan etkiler, klinik olarak elde edilen konsantrasyonları aşan konsantrasyonlarda ortaya çıkar. Kolinerjik reseptör antagonistleri veya monoaminergik iletimin artırılmasını (örneğin, monoamin oksidaz inhibitörü, 1-deprenilin kullanımı) içeren stratejiler çoğunlukla negatif olmuştur [94].

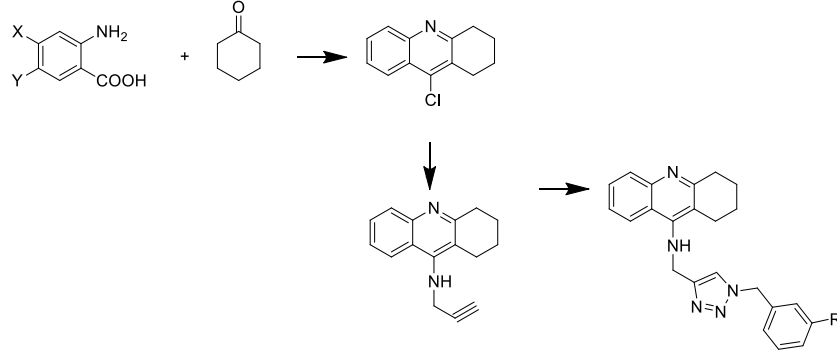
2.5.4. Takrinin klinik farmakokinetiği

Takrin, %10 ile %30 biyoyararlanımı ile çabucak emilir; bir yemeğin yakınında yutulması emilimini %40 kadar azaltabilir [86]. Düşük dozlarda (10-30 mg) düzenli kullanımı, daha iyi sonuç alınımını sağlamaktadır [95].

2.5.5. Takrin ve türevlerinin sentez metodu

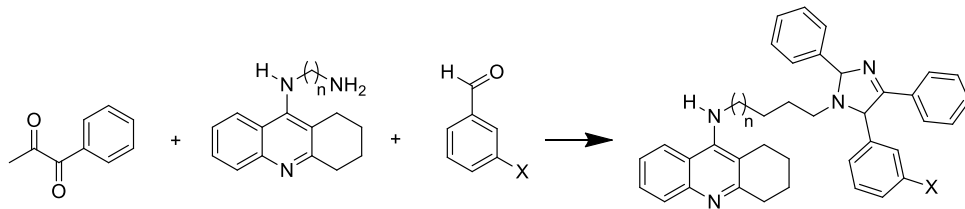
Zahra Najafi ve arkadaşları 2017 yılında yeni takrin-1,2,3-triazol melezleri elde etmişlerdir. *İn vitro* antikolinesteraz aktiviteleri ve *in vivo* evülasyon için yeni bir dizi takrin-1,2,3-triazol hibritleri rapor edilip sentezlenmiştir. Tüm sonuçlar, yeni ikili

bağlanma bölgesinin AChE inhibitörlerinin, AH tedavisinde terapötik bir potansiyele sahip olduğunu göstermiştir (Şekil 2.6.) [96].



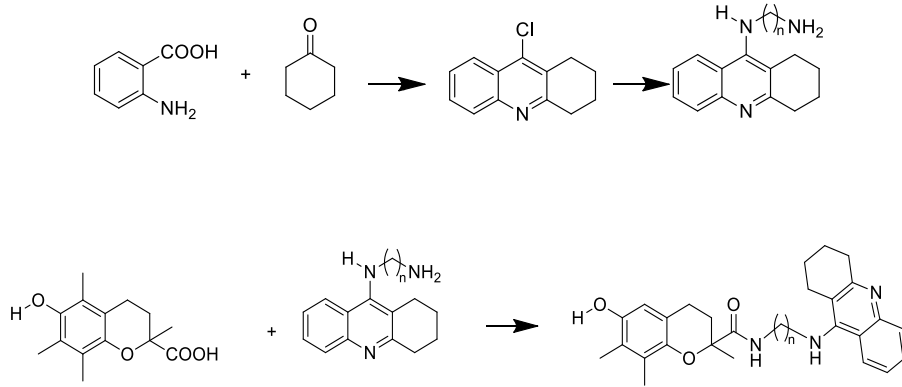
Şekil 2.6. Takrin-triazol hibritleri

Bilqees Sammem ve arkadaşları 2016 yılında Alzheimer hastalığı için çok hedefli ilaçlar (MTDLs'ler) olarak görülen takrin bazlı sistemler üzerine çalışmışlar ve Josephine-takrin melezleri elde etmişlerdir. Araştırmalar, katalitik bir alanda etkileşen molekül analogları olan takrinin diğer periferik bağlanma parçasını, bir çift uzunluktaki bir aralayıcı ile ikili bağlanma takrin analogları olarak güçlü AChE inhibitör aktivitesi sergilemiştir (Şekil 2.7.) [97].



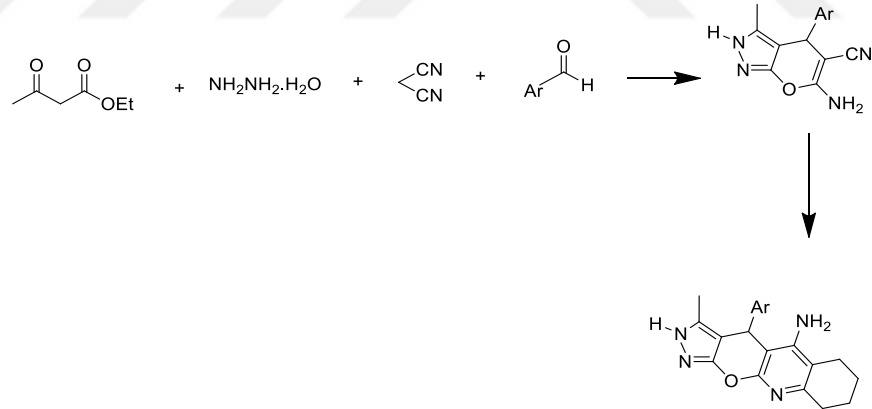
Şekil 2.7. Josephine-takrin melezleri

Zhikun Liu ve arkadaşları 2017 yılında Alzheimer hastalığının kolinerjik antioksidan, nöroprotektif ve hepatoprotektif özellikli tedavisi üzerine çalışmışlar ve çok fonksiyonlu takrin-trolox melezleri (Şekil 2.8.) elde etmişlerdir. Sonuç olarak, bir dizi yeni takrin-trolox hibrid dizayn ve AH tedavisinde çok işlevli ajanlar olarak sentezlenmiştir. Biyolojik tarama sonuçları, hepsinin güçlü ChE engelleyici aktivite değeri gösterdiği belirtilmiştir [98].



Şekil 2.8. Takrin-trolox melezleri

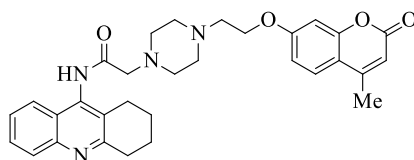
Mehdi Khoobi ve arkadaşları 2016 yılında pirano [2,3-c] pirazolü içeren yeni tetrasiklik takrin analogları (Şekil 2.9.) üzerine çalışmışlardır. Hedef bileşiklerin anti-kolinesteraz aktivitesi, *Electrophus electricus*'tan elde edilen enzim üzerinde referans ilaç olarak takrine kıyasla değerlendirmişlerdir. Sonuç olarak, anti AChE, referans ilaç takrinden daha üstün sonuç vermiştir ve anti-BuChE aktivitesi bakımından sadece önleyici aktivite göstermiştir [99].



Şekil 2.9. Tetrasiklik takrin analogları

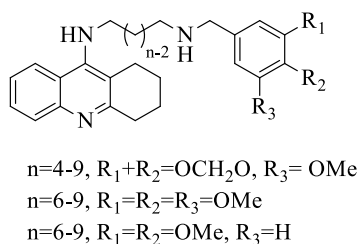
Sai-Sai ve arkadaşları 2013 yılında bir dizi takrin-kumarin hibritleri (Şekil 2.10.) dizayn etmiş ve Alzheimer hastalığına karşı çok fonksiyonlu kolinesteraz (ChE) inhibitörlerini değerlendirmişlerdir. Tarama sonuçlarında, çoğunun kolinesteraz ve kendi kendine indükte β -amiloid (A β) agregasyonunu engellemek ve metal kenetleme maddeleri olarak davranmak için önemli bir yetenek sergilediğini

göstermiştir. Modelleme çalışmaları, AChE'nin aktif, periferik ve orta gorge bölgelerine eşzamanlı olarak bağlanan karışık tip bir inhibitör olduğuna işaret etmiştir. Bu sonuçlar, AH tedavisi için mükemmel çok işlevli bir ajan olabileceğini göstermiştir [100].



Şekil 2.10. Takrin-kumarin hibritleri

Zhang C. ve arkadaşları 2010 yılında takrin-multialkoksibenzen hibritlerinin yeni bir dizisini, kolinesterazların (ChEs) ve kendiliğinden indüklenen β -amiloid ($A\beta$) birikiminin iki inhibitörü olarak sentezlemişlerdir. Tüm sentezlenen bileşiklerin, tek başına takrinden çok daha iyi olan, nanomolar aralıktaki IC_{50} değerleri ile yüksek asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilcholinesteraz (BuChE) önleme aktivitesi gösterdiği gözlemlenmiştir (Şekil 2.11.). Moleküler modelleme çalışması, bu melezlerin hem AChE'nin katalitik aktif bölgesini (CAS) hem de periferik anyonik bölgeyi (PAS) hedeflediğini göstermiştir. [101].



Şekil 2.11. Takrin-multialkoksibenzen hibritleri

Bu çalışmada 2-nitro benzoik asitten yola çıkılarak 3 basamakta 9-klorotakrin bileşiği elde edilmiştir. Bu bileşiğin etanolamin ve sonrasında izosiyanatlar ile tepkimesi sonucu takrin-karbamat türevleri elde edilmiştir

BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan cihazlar

Deneysel çalışmalarda ısı kaynağı olarak IKA Labortechnik marka ısıtıcı karıştırıcılar kullanıldı. Çözücü uzaklaştırma işlemlerinde HEIDOLPH Labaroto 4000 marka döner buharlaştırıcı cihazları kullanıldı. Tartımlar OHAUS Analytical marka hassas terazide yapıldı. Sentezlenen maddelerin erime noktaları Barnstead Electrothermal 9200 marka cihazda belirlendi.

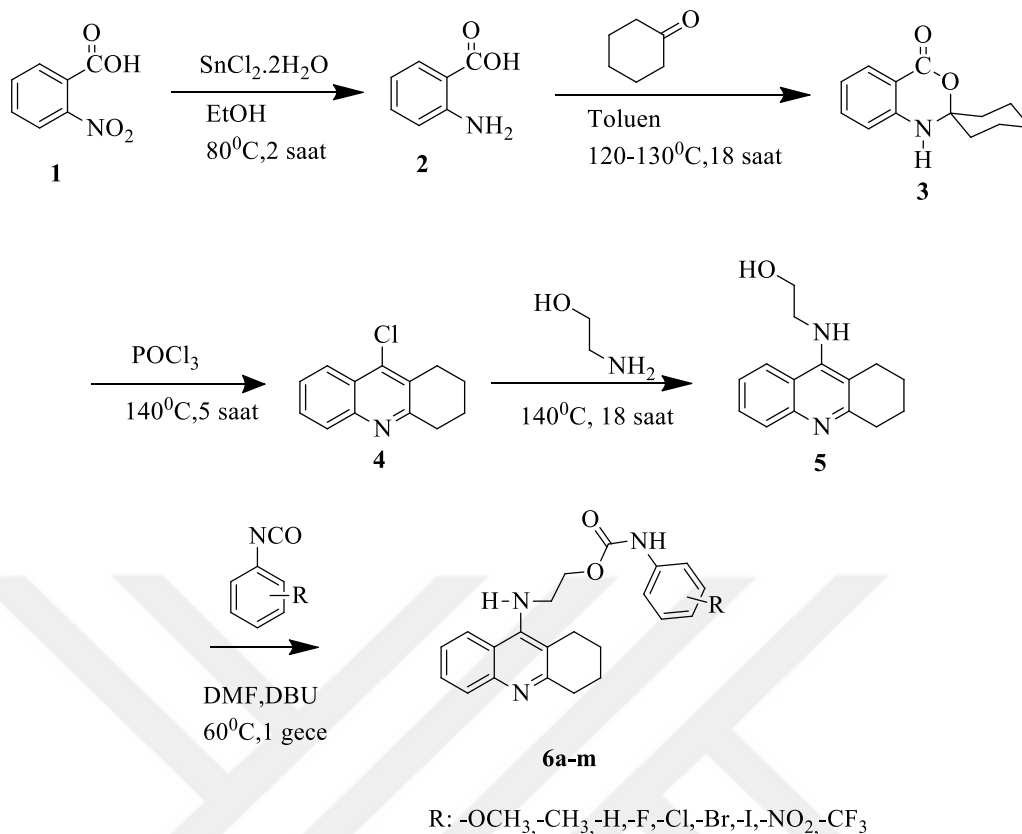
^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları VARIAN marka Mercury Plus model 300 MHz'lik NMR cihazı ile elde edildi. IR spektrumları Bruker Alpha marka spektrometrede ölçüldü.

3.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler

Çalışmada kullanılan çözücü ve kimyasallar Fluka, Merck, Alfa Aesar ve Sigma-Aldrich firmalarından temin edildi. Elektrik balığından elde edilmiş olan asetilkolinesteraz (AChE, Type-VI-S, EC 3.1.1.7, 425.84 U/mg, Sigma) ve at serumundan elde edilmiş olan bütirikolinesteraz (BuChE, EC 3.1.1.8, 11.4 U/mg, Sigma) enzimleri Sigma firmasından satın alındı.

3.2. Takrin ve Türevlerinin Sentezi

Bu çalışmadaki yapılan sentezler şematik olarak (Şekil 3.1.)'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Takrin ve türevlerinin sentez metodu

3.2.1. Yöntem 1: 2-Amino Benzoik Asit (2) sentezi

100 mL'lik reaksiyon balonunda 5.98 mmol 2-nitro benzoik asit (1) 50 mL etanolde çözününceye kadar karıştırıldı. Üzerine 149.58 mmol SnCl₂.2H₂O ilave edildi. Karışım 2 saat, 80°C'de karıştırıldı. Reaksiyon sonunda karışımın çözücüsü evaporatörde uzaklaştırıldı. NaHCO₃ ile nötralize edildi. Sonrasında etil asetat (EA) ile ekstraksiyon yapılarak organik faz ayrıldı. Organik faz Na₂SO₄ ile kurutulup süzüldü ve çözücüsü uzaklaştırıldı. Elde edilen katı eterde kristallendirildi [102].

3.2.2. Yöntem 2: Spiro[benzo[d][1,3]oksazin-2,1'-sikloheksan]-4(1H)-on (3) sentezi

100 mL'lik reaksiyon balonuna 2-amino benzoik asit (145.77 mmol) üzerine 60 ml toluen eklendi. Daha sonra üzerine sikloheksanon (1.81 mL) eklendi. Dean-Stark

Trap yöntemi ile 18 saat, 120°C’de reflux yapıldı. Reaksiyon sonunda toluen uçuruldu [103].

3.2.3. Yöntem 3: 9-kloro-1,2,3,4-tetrahidroakridin (4) Sentezi

100 ml’lik reaksiyon balonuna spiro [benzo[*d*] [1.3] oksazine-2.1'-siklolohekzan]-4(1*H*)-on (5.48 mmol) üzerine buz banyosunda fosforoksiklorür (2.90 mL) ilave edildi. Reaksiyon 5 saat, 140°C’de karıştırıldı. Reaksiyon sonunda karışım 100 g buza dökülerek yarım saat karıştırıldı. Daha sonra organik faz 100 ml CH₂Cl₂ ile ekstraksiyon yapılarak organik faz alındı. Organik faz 2 kez 50 ml NaHCO₃ ile 1 kez 50 ml NaCl ile yıkandı. Sonrasında Na₂SO₄ eklenip süzülerek çözücü uzaklaştırıldı. Elde edilen katı kısım 5:1 Hegzan: Etil asetat çözücü sistemiyle kolon kromatografisi ile saflaştırıldı [104].

3.2.4. Yöntem 4: 2-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)etanol (5) sentezi

100 mL’lik reaksiyon balonuna 9-kloro-1,2,3,4-tetrahidroakridin (9.21 mmol) üzerine 2-amino etanol (3.33 mL) eklenerek 140°C’de 18 saatk karıştırıldı. Reaksiyon sonunda önce CH₂Cl₂ ile ekstraksiyon yapılarak organik faz ayrıldı. Sonrasında organik faz önce NaCl ile sonra su ile yıkandı. Organik faza Na₂SO₄ eklenip süzüldü ve çözücüsü buharlaştırıldı. Elde edilen katı eter ile yıkanarak safsızlıkları uzaklaştırıldı [105].

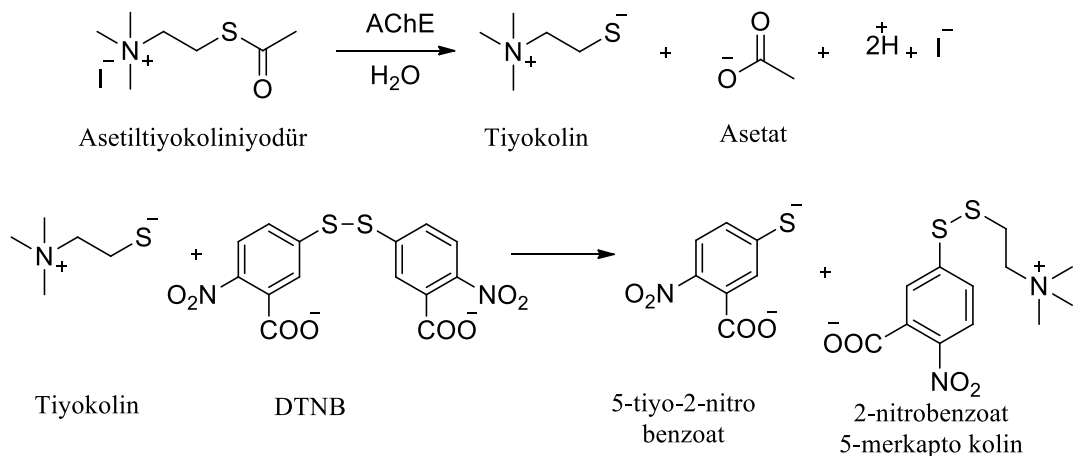
3.2.5. Yöntem 5: 2-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)etil(R-fenil)-karbamat (6a-m) sentezi

50 ml’lik reaksiyon balonuna 2-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)etanol (1.24 mmol) üzerine 5 mL kuru DMF eklenerek çözüldü. Üzerine DBU (0.18 mL) eklendi. Daha sonra izosiyanat (1.8 mmol) türevi eklenerek 60° C’de 1 gece karıştırıldı. Reaksiyon bitiminde çözücü buza döküldü. CH₂Cl₂ ile ekstraksiyon yapılarak organik faz ayrıldı. Organik faz Na₂SO₄ ile kurutulup süzüldü ve çözücüsü uzaklaştırıldı. Elde edilen katı maddeler kolon kromatografisi ile saflaştırıldı.

3.3. Analizler

3.3.1. Kolinesteraz enzimlerinin aktivite tayini

Asetil ve bütirilkolinesteraz inhibitörlerinin etkisi, Ellman tarafından geliştirilmiş olan spektrofotometrik metodun uygulanmasıyla ölçülmüştür [106]. AChE ve BuChE enzimleri ile substratları olarak asetiltiyokolin iyodür ve bütiriltiyokolin klorür kullanılmıştır. DTNB (5,5'-ditiyo-bis(2-nitrobenzoik) asit) kolinesteraz aktivitesinin ölçülmesi için kullanılmıştır. Kontrol ve test bileşiklerini çözmek amacı ile etanol/propanol çözücü olarak kullanılmıştır. 150 µL 100 mM sodyum fosfat tamponu (pH:8) farklı konsantrasyonlarda 10 µL etanolde çözünmüş örnek çözeltisi ve 20 µL AChE (5.32×10^{-3} U) veya BuChE (6.85×10^{-3} U) çözeltileri karıştırılmış ve 25 °C de 15 dakika inkübe edilmiştir. Reaksiyon 10 µL asetiltiyokolin iyodür (0.7 mM) veya bütiriltiyokolin klorür (0.2 mM) eklenmesiyle reaksiyon başlatılmıştır. Bu substratların hidrolizi ile oluşan tiyokolin ve DTNB'nin reaksiyonu sonucu sarı renkli 5-tiyo -2-nitrobenzoat anyonunun oluşumu 412 nm dalga boyunda absorbansın ölçülmesi ile spektrofotometrik olarak gözlenmiştir. Reaksiyon Şekil 3.2'de verilmiştir. Referans bileşiği olarak galantamin kullanılmıştır. Sonuçların doğruluğunu onaylamak için testler üç kez tekrar edilmiştir [106].

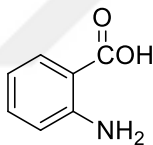


Şekil 3.2. Ellman Reaksiyonu

BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

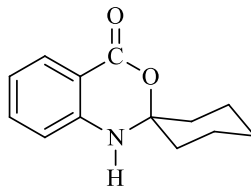
4.1. Sentezlenen Takrin Türevlerinin Spektral Verileri

2-amino benzoik asit (2) (Şekil 4.1.) sarı renkli olup %70 verimle yöntem-1'e göre sentezlendi. IR: 3472, 3370, 1666, 1560, 1239, 749 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 +DMSO- d_6 , 300 MHz) δ /ppm: 6.65-6.70 (2H, m), 7.25-7.34 (1H, m), 7.93 (1H, d, $J= 8.2$ Hz, NH_2); ^{13}C NMR (CDCl_3 +DMSO- d_6 , 75 MHz) δ /ppm: 110.92, 116.19, 116.85, 132.05, 134.34, 151.08, 171.19; ^1H NMR, ^{13}C NMR ve IR spektrumları sırasıyla EK 1'de verilmiştir.



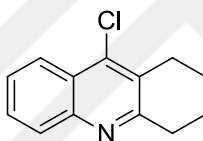
Şekil 4.1. 2 numaralı bileşiğin yapısı

Spiro[benzo[*d*][1,3]oksazin-2,1'-sikloheksan]-4(1*H*)-on (3) (Şekil 4.2.) koyu kahverengi renkli olup %66 verimle yöntem-2'ye göre sentezlendi. IR: 3285, 3011, 1682, 1611, 1509, 1437, 1280, 757 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ /ppm: 1.52-1.55 (4H, m), 1.78-1.81 (4H, m), 2.06-2.12 (2H, m), 4.55 (1H, s, *NH*), 6.74 (1H, d, $J= 8.2$ Hz), 6.88 (1H, t, $J= 8.7$ Hz), 7.39 (1H, td, $J= 0.8, 7.3$ Hz), 7.91 (1H, d, $J= 7.9$ Hz); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ /ppm: 22.27, 25.09, 35.82, 90.51, 113.41, 116.51, 119.97, 130.36, 135.60, 145.71, 164.29; ^1H NMR, ^{13}C NMR ve IR spektrumları sırasıyla EK 2'de verilmiştir.



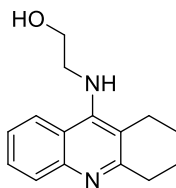
Şekil 4.2. 3 numaralı bileşiğin yapısı

9-kloro-1,2,3,4-tetrahidroakridin (4) (Şekil 4.3.) kahverengi renkli olup %65 verimle yöntem-3'e göre sentezlendi. IR: 2935, 1613, 1521, 1308, 752 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 1.90- 1.99 (4H, m), 3.00-3.04 (2H, m), 3.10-3.14 (2H, m), 7.53 (1H, t, $J= 7.6$ Hz), 7.66 (1H, td, $J= 0.9, 7.9$ Hz), 7.97 (1H, d, $J= 8.2$ Hz), 8.16 (1H, d, $J= 9.1$ Hz); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 22.85, 22.88, 27.72, 34.38, 123.90, 125.62, 126.69, 128.84, 129.09, 129.47, 141.68, 146.89, 159.73; ^1H NMR, ^{13}C NMR ve IR spektrumları sırasıyla EK 3'de verilmiştir.



Şekil 4.3. 4 numaralı bileşiğin yapısı

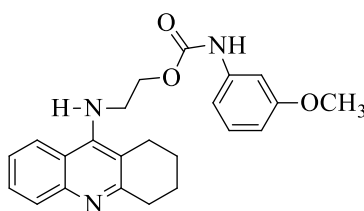
2-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)etanol (5) (Şekil 4.4.) sarı renkli olup %80 verimle yöntem-4'e göre sentezlendi. IR: 3395, 3062, 2928, 1568, 1501, 1434, 1328, 758 cm^{-1} ; ^1H NMR ($\text{CDCl}_3+\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz) δ/ppm : 1.90 (4H, t, $J= 3.2$ Hz), 2.78 (2H, s), 3.02 (2H, d, $J= 5.9$ Hz), 3.57-3.62 (2H, m), 3.74 (2H, t, $J= 5.0$ Hz), 4.84 (1H, s, NH), 7.32 (1H, t, $J= 7.3$ Hz), 7.52 (1H, t, $J= 7.3$ Hz), 7.84 (1H, d, $J= 8.2$ Hz), 8.04 (1H, d, $J= 8.2$ Hz); ^{13}C NMR ($\text{CDCl}_3+\text{DMSO}-d_6$, 75 MHz) δ/ppm : 22.80, 23.03, 24.73, 34.01, 51.29, 61.41, 116.68, 120.50, 123.18, 123.55, 128.18, 128.40, 147.28, 151.05, 158.43; ^1H NMR, ^{13}C NMR ve IR spektrumları sırasıyla EK 4'de verilmiştir.



Şekil 4.4. 5 numaralı bileşiğin yapısı

4.2. Karbamat Türevlerinin Spektral Verileri

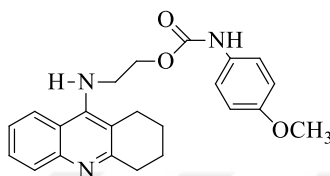
2-((1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-il)amino)etil(3-metoksifenil)-karbammat (6a) (Şekil 4.5.) sarı renkli olup %46 verimle yöntem-5'e göre sentezlendi. E.n: 165.8 °C'; IR: 3402, 2932, 2807, 1716, 1608, 1579, 1495, 1422, 1282, 1218, 1047, 775 cm^{-1} ; ^1H NMR ($\text{CDCl}_3+\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz) δ/ppm : 1.88 (4H, s, br), 2.75 (2H, s, br), 3.09 (2H, s, br), 3.79 (3H, s), 3.94 (2H, t, $J= 5.0$ Hz), 4.42 (2H, t, $J= 5.0$ Hz), 5.67 (1H, s, br, NH), 6.59 (1H, dd, $J= 2.3, 8.2$ Hz), 7.01 (1H, d, $J= 7.6$ Hz), 7.15-7.21 (2H, m), 7.40 (1H, t, $J= 7.3$ Hz), 7.60 (1H, t, $J= 7.3$ Hz), 8.03 (1H, d, $J= 8.4$ Hz), 8.10 (1H, d, $J= 8.4$ Hz), 8.98 (1H, s, NH); ^{13}C NMR ($\text{CDCl}_3+\text{DMSO}-d_6$, 75 MHz) δ/ppm : 22.10, 22.72, 24.74, 32.08, 48.70, 55.33, 64.25, 108.84, 111.38, 115.46, 119.03, 123.39, 124.53, 125.88, 129.72, 129.83, 139.73, 144.34, 152.37, 154.33, 156.25, 160.15; ^1H NMR, ^{13}C NMR ve IR spektrumları sırasıyla EK 5'de verilmiştir.



Şekil 4.5. 6a numaralı bileşiğin yapısı

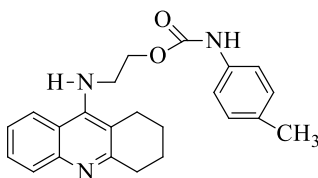
2-((1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-il)amino)etil(4-metoksifenil)-karbammat (6b) (Şekil 4.6.) sarı renkli olup %42 verimle yöntem-5'e göre sentezlendi. E.n: 160.5 °C; IR: 3443, 2945, 1723, 1608, 1551, 1507, 1426, 1319, 1221, 1178, 1068, 1032, 831, 760, 745 cm^{-1} ; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz) δ/ppm : 1.76 (4H, d, $J= 2.4$ Hz), 2.72 (2H, s), 2.87 (2H, d, $J= 5.5$ Hz), 3.64-3.68 (5H, m), 4.21 (2H, t, $J= 5.5$ Hz), 5.41 (1H, t, $J=$

6.2 Hz, *NH*), 6.83 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.30-7.33 (3H, m), 7.51 (1H, t, $J = 7.0$ Hz), 7.71 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 8.09 (1H, d, $J = 8.2$ Hz), 9.44 (1H, s, *NH*); ^{13}C NMR, (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ/ppm : 23.07, 23.35, 25.56, 34.20, 47.93, 55.80, 64.40, 114.61, 117.27, 120.56, 123.72, 124.13, 128.62, 129.04, 133.61, 147.61, 150.66, 154.39, 154.97, 155.46, 158.74; ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları sırasıyla EK 6'da verilmiştir.



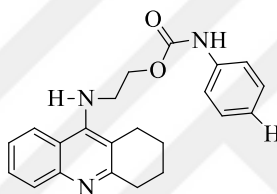
Şekil 4.6. 6b numaralı bileşiğin yapısı

2-((1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-il)amino)etil(p-tolil)-karbammat (6c) (Şekil 4.7.) koyu sarı renkli olup olup %45 verimle yöntem-5'e göre sentezlendi. E.n: 167.9 °C; IR: 3442, 2930, 2861, 1724, 1613, 1552, 1415, 1303, 1226, 1115, 822, 749 cm^{-1} ; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ/ppm : 1.79 (4H, d, $J = 5.0$ Hz), 2.28 (3H, s), 2.74 (2H, s), 2.89 (2H, d, $J = 5.8$ Hz), 3.69 (2H, q, $J = 5.6$ Hz), 4.25 (2H, t, $J = 5.5$ Hz), 5.45 (1H, t, $J = 6.5$ Hz, *NH*), 7.06 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.25-7.36 (3H, m), 7.53 (1H, t, $J = 7.0$ Hz), 7.73 (1H, d, $J = 8.2$ Hz), 8.12 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 9.55 (1H, s, *NH*); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ/ppm : 21.02, 23.07, 23.35, 25.56, 34.20, 47.88, 64.42, 117.27, 119.00, 120.98, 123.73, 124.13, 128.63, 129.04, 129.79, 131.94, 137.14, 147.60, 150.64, 154.25, 158.72; ^1H NMR, ^{13}C NMR ve IR spektrumları sırasıyla EK 7'de verilmiştir.



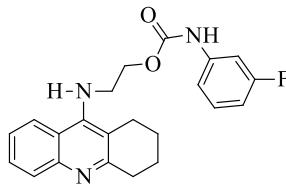
Şekil 4.7. 6c numaralı bileşiğin yapısı

2-((1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-il)amino)etil(fenil)-karbamat (6d) (Şekil 4.8.) koyu sarı renkli olup %50 verimle yöntem-5'e göre sentezlendi. E.n: 170°C; IR: 3443, 2929, 1725, 1662, 1555, 1446, 1365, 1294, 1220, 1159, 753 cm⁻¹; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ/ppm: 1.80 (4H, s), 2.75 (2H, t, *J*=5.5 Hz), 2.89 (2H, t, *J*= 2.3 Hz), 3.69 (2H, q, *J*= 5.6 Hz), 4.26 (2H, t, *J*=5.8 Hz), 5.42 (1H, t, *J*= 6.2 Hz, *NH*), 6.96-7.01 (1H, td, *J*= 1.2, 7.3 Hz), 7.26 (1H, t, *J*= 7.6 Hz), 7.31- 7.37 (1H, td, *J*=1.2, 7.0 Hz), 7.41-7.55 (4H, m), 7.73 (1H, d, *J*= 8.5 Hz), 8.12 (1H, d, *J*= 8.5 Hz), 9.63 (1H, s, *NH*); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ/ppm: 23.08, 23.35, 25.55, 34.22, 47.88, 64.56, 117.33, 119.03, 121.02, 123.14, 123.69, 124.14, 128.61, 129.08, 129.33, 129.55, 135.47, 139.68, 147.64, 150.60, 154.23, 158.79; ¹H NMR, ¹³C NMR ve IR spektrumları sırasıyla EK 8'de verilmiştir.



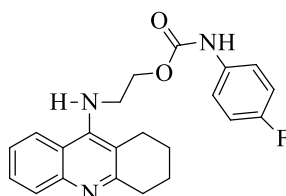
Şekil 4.8. 6d numaralı bileşiğin yapısı

2-((1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-il)amino)etil(3-florofenil)-karbamat (6e) (Şekil 4.9.) beyaz renkli olup %42 verimle yöntem-5'e göre sentezlendi. E.n. 193.9°C; IR: 3444, 2931, 1729, 1618, 1559, 1449, 1323, 1234, 1150, 862, 746 cm⁻¹; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ/ppm: 1.79 (4H, d, *J*= 2.2 Hz), 2.74 (2H, t, *J*= 5.8 Hz), 2.89 (2H, t, *J*= 5.8 Hz), 3.69 (3H, q, *J*=5.8 Hz), 4.28 (2H, t, *J*= 5.8 Hz), 5.45 (1H, t, *J*= 6.4 Hz, *NH*), 6.82 (1H, td, *J*= 2.6 Hz, 8.2 Hz), 7.19 (1H, d, *J*= 8.2 Hz), 7.27 (1H, d, *J*= 7.9 Hz), 7.34 (2H, t, *J*= 7.9 Hz), 7.53 (1H, t, *J*= 7.3 Hz), 7.73 (1H, d, *J*= 8.2 Hz), 8.12 (1H, d, *J*= 8.2 Hz), 9.88 (1H, s, *NH*); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ/ppm: 23.07, 23.35, 25.59, 34.22, 47.73, 64.79, 105.38, 105.74, 109.37, 109.65, 114.72, 117.34, 121.03, 123.68, 124.12, 128.60, 129.09, 130.99, 131.12, 141.53, 141.68, 147.64, 150.57, 154.08, 158.77, 161.37, 164.56; ¹H NMR, ¹³C NMR ve IR spektrumları sırasıyla EK 9'da verilmiştir.



Şekil 4.9. 6e numaralı bileşiğin yapısı

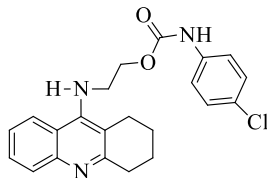
2-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)etil(4-florofenil)-karbamat (6f) (Şekil 4.10.) beyaz renkli olup %50 verimle yöntem-5'e göre sentezlendi. E.n. 183.3°C; IR: 3446, 2932, 1726, 1618, 1581, 1508, 1462, 1354, 1208, 1105, 836, 763 cm^{-1} ; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ/ppm : 1.80 (4H, s), 2.75 (2H, d, $J= 5.3$ Hz), 2.89 (2H, d, $J= 5.9$ Hz), 3.70 (2H, q, $J=5.8$ Hz), 4.26 (2H, t, $J= 5.6$ Hz), 5.45 (1H, t, $J= 7.5$ Hz, *NH*), 7.12 (2H, t, $J= 8.2$ Hz), 7.34 (1H, t, $J= 8.2$ Hz), 7.44 (2H, s), 7.54 (1H, t, $J= 7.8$ Hz), 7.74 (1H, d, $J= 8.5$ Hz), 8.13 (1H, d, $J= 8.5$ Hz), 9.70 (1H, s, *NH*); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ/ppm : 23.07, 23.35, 25.59, 34.21, 47.81, 64.60, 115.82, 116.12, 117.30, 120.61, 121.00, 123.70, 124.13, 128.61, 129.07, 136.06, 147.62, 150.62, 154.30, 156.73, 158.75, 159.90; ^1H NMR, ^{13}C NMR ve IR spektrumları sırasıyla EK 10'da verilmiştir.



Şekil 4.10. 6f numaralı bileşiğin yapısı

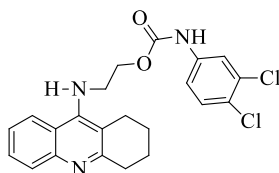
2-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)etil(4-klorofenil)-karbamat (6g) (Şekil 4.11.) sarı renkli olup %43 verimle yöntem-5'e göre sentezlendi. E.n. 192.4°C; IR: 3439, 2935, 1733, 1585, 1542, 1492, 1354, 1225, 1091, 856, 758 cm^{-1} ; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ/ppm : 1.78 (4H, d, $J= 4.9$ Hz), 2.75 (2H, d, $J= 5.5$ Hz), 2.88 (2H, d, $J= 8.1$ Hz), 3.68 (2H, q, $J= 5.9$ Hz), 4.26 (2H, t, $J= 5.9$ Hz), 5.46 (1H, t, $J= 6.1$ Hz, *NH*), 7.30-7.36 (3H, m), 7.43-7.47 (2H, m), 7.53 (1H, t, $J= 7.3$ Hz), 7.72 (1H, d, $J= 8.2$ Hz), 8.11 (1H, d, $J= 8.5$ Hz) 9.79 (1H, s, *NH*) ; ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz)

δ /ppm: 23.06, 23.34, 25.59, 34.17, 47.75, 64.73, 117.28, 120.41, 120.98, 123.71, 124.14, 126.72, 128.65, 129.01, 129.31, 138.72, 147.56, 150.64, 154.12, 158.70; ^1H NMR, ^{13}C NMR ve IR spektrumları sırasıyla EK 11’de verilmiştir.



Şekil 4.11. 6g numaralı bileşiğin yapısı

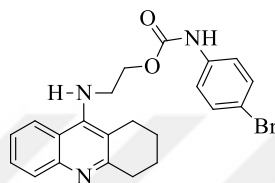
2-((1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-il)amino)etil(3,4-diklorofenil)-karbamat (6h) (Şekil 4.12.) sarı renkli olup %42 verimle yöntem-5’e göre sentezlendi. E.n. 186.6°C; IR: 3526, 3430, 2932, 1712, 1609, 1568, 1540, 1478, 1393, 1310, 1232, 1134, 1069, 873, 815, 755 cm^{-1} ; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ /ppm: 1.80 (4H, s), 2.74 (2H, d, $J=5.5$ Hz), 2.88 (2H, d, $J=6.1$ Hz), 3.69 (2H, q, $J=5.2$ Hz), 4.28 (2H, t, $J=5.2$ Hz), 5.48 (1H, t, $J=5.8$ Hz, *NH*), 7.31-7.36 (2H, m), 7.46-7.55 (2H, m), 7.72 (2H, d, $J=8.4$ Hz), 8.10 (1H, d, $J=8.4$ Hz), 9.97 (1H, s, *NH*) ; ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ /ppm: 23.06, 23.34, 25.61, 34.17, 47.63, 65.03, 117.32, 118.98, 119.98, 121.01, 123.66, 124.14, 124.56, 128.62, 129.02, 131.36, 131.70, 139.96, 147.57, 150.59, 154.01, 158.74; ^1H NMR, ^{13}C NMR ve IR spektrumları sırasıyla EK 12’de verilmiştir.



Şekil 4.12. 6h numaralı bileşiğin yapısı

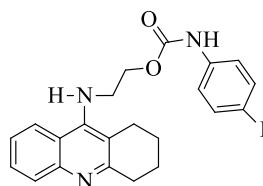
2-((1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-il)amino)etil(4-bromofenil)-karbamat (6i) (Şekil 4.13.) sarı renkli olup %50 verimle yöntem-7’ye göre sentezlendi. E.n. 186.6°C; IR: 3442, 2930, 1728, 1618, 1557, 1489, 1350, 1271, 1224, 1169, 1065, 862, 750 cm^{-1} ;

^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ /ppm: 2.71 (2H, d, J = 4.6 Hz), 2.86 (2H, d, J = 5.5 Hz), 3.67 (2H, t, J = 5.5 Hz), 4.23 (2H, t, J = 5.8 Hz), 5.41 (1H, t, J =6.1 Hz, *NH*), 6.75-6.80 (1H, m), 7.14-7.33 (4H, m), 7.49 (1H, t, J = 8.2 Hz), 7.69 (1H, d, J = 8.2 Hz), 8.07 (1H, d, J = 8.5 Hz), 9.84 (1H, s, *NH*); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ /ppm: 23.05, 23.33, 25.58, 34.18, 47.73, 64.79, 105.78, 109.67, 114.76, 117.35, 121.01, 123.69, 124.19, 128.66, 129.05, 131.12, 141.67, 147.63, 150.65, 154.14, 158.82; ^1H NMR, ^{13}C NMR ve IR spektrumları sırasıyla EK 13’de verilmiştir.



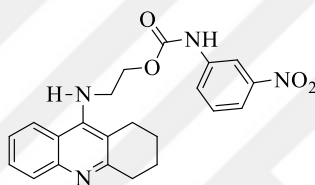
Şekil 4.13. 6i numaralı bileşiğin yapısı

2-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)etil(4-iyodofenil)-karbamat (6j) (Şekil 4.14.) sarı renkli olup %56 verimle yöntem-5’e göre sentezlendi. E.n. 208.9°C; IR: 3436, 2939 1735, 1581, 1536, 1466, 1392, 1304, 1229, 1169, 1070, 821, 752 cm^{-1} ; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ /ppm: 1.78 (4H, d, J = 4.9 Hz), 2.74 (2H, d, J = 5.5 Hz), 2.89 (2H, d, J = 5.8 Hz), 3.70 (2H, q, J = 5.5 Hz), 4.26 (2H, t, J = 5.5 Hz), 5.43 (1H, t, J = 6.1 Hz, *NH*), 7.26 (2H, d, J = 8.2 Hz), 7.34 (1H, t, J = 7.9 Hz), 7.53 (1H, t, J = 7.6 Hz), 7.59 (2H, d, J = 8.2 Hz), 7.73 (1H, d, J = 8.2 Hz), 8.11 (1H, d, J = 8.2 Hz), 9.78 (1H, s, *NH*); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ /ppm: 23.09, 23.36, 25.59, 34.22, 47.77, 64.74, 86.42, 117.32, 121.02, 121.17, 123.68, 124.13, 128.60, 129.08, 138.01, 139.63, 147.63, 150.58, 154.07, 158.77; ^1H NMR, ^{13}C NMR ve IR spektrumları sırasıyla EK 14’de verilmiştir.



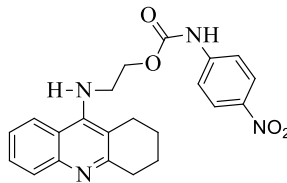
Şekil 4.14. 6j numaralı bileşiğin yapısı

2-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)etil(3-nitrofenil)-karbamat (6k) (Şekil (4.15.) açık sarı renkli olup %43 verimle yöntem-5'e göre sentezlendi. E.n. 201.4°C; IR: 3444, 2941, 1730, 1615, 1578, 1483, 1344, 1173, 166, 857, 803, 761 cm⁻¹; ¹H NMR (DMSO-d₆, 300 MHz) δ/ppm: 2.48 (4H, s,), 2.72 (2H, d, *J*= 5.2 Hz), 2.84 (2H, d, *J*= 6.1 Hz), 3.68 (2H, d, *J*= 5.5 Hz), 4.28 (2H, t, *J*= 5.5 Hz), 5.44 (1H, t, *J*= 6.1 Hz, *NH*), 7.31 (1H, t, *J*= 7.6 Hz), 7.46-7.55 (2H, m), 7.67-7.84 (3H, m), 8.09 (1H, d, *J*= 8.2 Hz), 8.38 (1H, s), 10.13 (1H, s, *NH*); ¹³C NMR (DMSO-d₆, 75 MHz) δ/ppm: 23.07, 23.35, 25.63, 34.19, 47.63, 65.10, 112.83, 117.36, 117.67, 121.03, 123.66, 124.13, 124.93, 128.60, 129.05, 130.85, 141.05, 147.60, 148.73, 150.58, 154.14, 158.75; ¹H NMR, ¹³C NMR ve IR spektrumları sırasıyla EK 15'de verilmiştir.



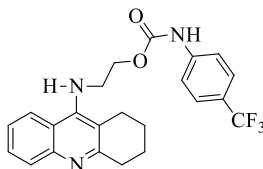
Şekil 4.15. 6k numaralı bileşiğin yapısı

2-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)etil(4-nitrofenil)-karbamat (6l) (Şekil 4.16.) açık sarı renkli olup %43 verimle yöntem-5'e göre sentezlendi. E.n. 183.5°C; IR: 3428, 2931, 1735, 1614, 1560, 1436, 1327, 1301, 1220, 1172, 1064, 849, 758 cm⁻¹; ¹H NMR (DMSO-d₆, 300 MHz) δ/ppm: 1.77 (4H, s), 2.62 (2H, d, *J*= 5.8 Hz), 2.87 (2H, d, *J*= 5.8 Hz), 3.72 (2H, q, *J*= 5.5 Hz), 4.32 (2H, t, *J*= 5.5 Hz), 5.52 (1H, t, *J*= 5.6 Hz, *NH*), 7.34 (1H, t, *J*= 7.3 Hz), 7.53 (1H, t, *J*= 7.0 Hz), 7.64 (2H, d, *J*= 8.8 Hz), 7.71 (1H, d, *J*= 8.4 Hz), 8.13 (1H, d, *J*= 8.4 Hz), 8.18 (2H, d, *J*= 9.0 Hz), 10.38 (1H, s, *NH*); ¹³C NMR (DMSO-d₆, 75 MHz) δ/ppm: 23.03, 23.32, 25.64, 34.07, 47.53, 65.25, 110.00, 117.27, 118.37, 120.94, 123.71, 124.19, 125.76, 128.72, 128.84, 142.31, 146.26, 147.38, 150.70, 153.89, 158.61; ¹H NMR, ¹³C NMR ve IR spektrumları sırasıyla EK 16'da verilmiştir.



Şekil 4.16. 6l numaralı bileşiğin yapısı

2-((1,2,3,4-tetrahydroakridin-9-il)amino)etil(4-triflorofenil)-karbamat (6m) (Şekil 4.17.) beyaz renkli olup %43 verimle yöntem-5'e göre sentezlendi. E.n. 233.2°C; IR: 3349, 2981, 1708, 1641, 1605, 1549, 1437, 1358, 1318, 1227, 1157, 1103, 1011, 836, 761 cm^{-1} ; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ /ppm: 1.79 (4H, s), 2.75 (2H, s), 2.89 (2H, s), 3.70 (2H, d, $J=5.8$ Hz), 4.28 (2H, t, $J=5.2$ Hz), 5.49 (1H, t, $J=5.8$ Hz, *NH*), 7.33 (1H, t, $J=5.9$ Hz), 7.53 (1H, t, $J=7.2$ Hz), 7.63 (4H, s), 7.72 (1H, d, $J=8.2$ Hz), 8.12 (1H, d, $J=8.5$ Hz) 10.19 (1H, s, *NH*); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ /ppm: 23.06, 23.34, 25.58, 34.18, 47.69, 64.98, 117.37, 118.70, 121.03, 122.97, 123.67, 124.15, 126.72, 126.77, 128.62, 129.04, 143.46, 147.60, 150.59, 154.08, 158.77; ^1H NMR, ^{13}C NMR ve IR spektrumları sırasıyla EK 17'de verilmiştir.

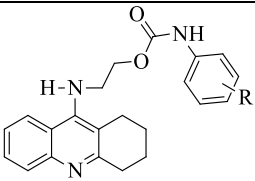


Şekil 4.17. 6m numaralı bileşiğin yapısı

4.3. Aktive Sonuçları

Sentezlenen bileşiklerin asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirikolinesteraz (BuChE) enzimleri üzerine aktive sonuçları Tablo 4.1.'de verilmiştir.

Tablo 4.1. 6a-m bileşiklerinin kolinesteraz enzimleri üzerine etkileri

			
Bileşik	R	AChE (IC ₅₀ , nM) ^a	BuChE (IC ₅₀ , nM) ^a
6a	3-OCH ₃	302.70±0.55	54.07±0.34
6b	4-OCH ₃	510.87±0.47	58.56±0.13
6c	4-Me	87.99±0.47	31.90±0.13
6d	4-H	814.66±0.14	200.09±0.52
6e	3-F	28.66±0.14	26.30±0.52
6f	4-F	1202.64±0.23	280.22±0.36
6g	4-Cl	587.70±0.64	157.40±0.51
6h	3,4 Cl	119.90±0.41	26.67±0.16
6i	4-Br	162.20±0.21	38.69±0.32
6j	4-I	54.10±0.44	20.21±0.87
6k	3-NO ₂	22.15±0.05	16.96±0.49
6l	4-NO ₂	115.10±0.09	187.50±0.56
6m	4-CF ₃	631.50±0.11	485.03±0.66
Takrin	-	168.98±0.62	29.52±0.59
Galantamin ^b	-	2050	18130
Donepezil ^b	-	30	4660
Rivastigmin ^b	-	3010	300

^aIC₅₀ değerleri üç paralel ölçüm sonuçlarına göre verilmiştir.
^bSonuçlar referans [107]'den alınmıştır.

Yapılan kolinesteraz aktivite testi sonuçlarına göre, sentezlenen bütün karbamat grubu içeren takrin türevleri her iki enzimde inhibe etmiştir. AChE için inhibisyon sonuçları IC₅₀= 22.15 nM ile 1202.64 nM arasında gözlenirken, BuChE için de IC₅₀=

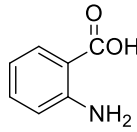
16.96 nM ile 485.03 nM arasında belirlenmiştir. Bu bileşikler arasında, en iyi asetilkolinesteraz inhibisyonunu $IC_{50} = 22.15$ nM konsantrasyon ile 6k bileşiği göstermiştir. Yine en iyi bütirilkolinesteraz inhibisyonunu da $IC_{50} = 16.96$ nM değeri ile aynı bileşik göstermiştir.



BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1. Deneyisel Sonuçlar

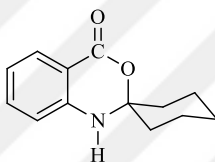
2-nitro benzoik asitin $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ katalizörlüğünde indirgenmesi sonucunda 2-amino benzoik asit (2) bileşiğinin (Şekil 5.1.) sentezi %75 verimle gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon sonucunda oluşan ürünün ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları (EK 1.) incelendiğinde 6.49-6.59 ppm arasında (2H, m); 7.15 ppm'de (1H, td); 7.70 ppm'de (NH_2) piki; 7.78 ppm'de (1H, d) şeklinde sinyal vermektedir. Nitro grubunun indirgenmesi sonucu daha elektron sağlayıcı bir grup olan amino grubundan dolayı aromatik halkanın pikleri 7.5 ppm'den 6.5 ppm'e kadar düşmüştür. 171.19 ppm'de karboksilli asitin karbonu; 151 ppm'de NH_2 'nin bağlı olduğu aromatik karbon; 110 ppm'de karboksilli asitin bağlı olduğu aromatik karbon ve 116.19-134.34 ppm arasında da diğer aromatik karbonlar görülmektedir. Ayrıca IR spekturumu da incelendiğinde amino grubuna ait NH gerilme bantları $3370\text{--}3472\text{ cm}^{-1}$ 'de sinyal vermiştir.



Şekil 5.1. 2-aminobenzoik asit (2)

2-amino benzoik asitin sikloheksanon ile reaksiyonu sonucu spiro[benzo[d][1,3]oksazin-2,1'-sikloheksan]-4(1H)-on (3) (Şekil 5.2.) bileşiği sentezlenmiştir. Elde edilen bileşiğin IR spektrumunda amino grubuna ait NH gerilme bantları kaybolarak reaksiyon sonucu elde edilen ürünün NH gerilme bandı 3285 cm^{-1} 'de sinyal vermiştir. Yine bu bileşiğin ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumlarına (EK 2)

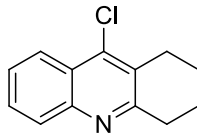
bakıldığında 8 ppm'de karboksilli asitin orto pozisyonundaki aromatik proton (1H, d); 7.4 ppm'de NH grubunun meta pozisyonundaki proton (1H, t); para pozisyonundaki proton 6.9 ppm'de (1H, t) ve orto pozisyonundaki proton 6.7 ppm'de (1H, d) şeklinde sinyal vermiştir. 4.6 ppm'de N-H piki görülmektedir. 1.5-2.2 ppm arasında da siklohegzil halkasındaki protonlar sinyal vermiştir. 22.2-25.0 ve 35.8 ppm'de siklohegzil halkasındaki karbonlar ve 90.51 ppm'de siklohegzil halkasındaki oksijen ve azota bağlı olan karbon gelmiştir. 2 numaralı bileşikte karboksilli asitin karbonu 171 ppm'de görülürken, burada 164.2 ppm'de ester karbonu sinyal vermiştir. 145 ppm'de N-H'ın bağlı olduğu aromatik karbon görülmektedir.



Şekil 5.2. Spiro[benzo[d][1,3]oksazin-2,1'-sikloheksan]-4(1H)-on (3)

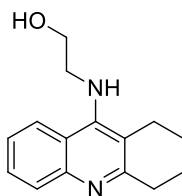
Spiro[benzo[d][1,3]oksazin-2,1'-sikloheksan]-4(1H)-on (3) bileşiğinin POCl₃ ile reaksiyonu sonucunda 9-kloro-1,2,3,4-tetrahidroakridin (4) (Şekil 5.3.) bileşiği elde edilmiştir. Bu bileşiğin IR spektrumunda NH gerilme bandı kaybolarak 3300-3400 cm⁻¹ aralığında sinyal gözlenmemiştir. Takrin halkasındaki C-N ve C=N pikleri 2867-2935 cm⁻¹'de sinyal vermiştir. Ayrıca 3 numaralı (Spiro[benzo[d][1,3] oksazin-2,1'-sikloheksan]-4(1H)-on) bileşikteki 1681 cm⁻¹ görülen karbonil grubu sinyalide 4 numaralı (9-kloro-1,2,3,4-tetrahidroakridin) bileşiğin IR spektrumunda gözlenmemiştir. ¹H NMR spektrumunda (EK 3) da 7.5-8.2 ppm arasında t, t, d, d olmak üzere aromatik protonlar görülmektedir. 3 numaralı bileşikte NH'ın bağlı olduğu proton 6.8 ppm'de gelirken burada N atomu aromatik halkaya katıldığı için 4 numaralı bileşikte 8 ppm'lere kaymıştır. 3 ppm civarında aromatik halkaya komşu sikloheksan halkasındaki protonlar ve 2 ppm'de diğer 4 proton pik vermiştir. Bu bileşiğin ¹³C NMR spektrumuna bakıldığında 3 numaralı bileşikteki 90 ppm'de gelen sikloheksan halkasındaki uç karbonumuzun piki görülmemektedir. Ayrıca aromatik halkanın karbon sayısının 9'a çıkması yapımızı doğrulamaktadır. 141 ppm'de Cl

atomunun bağlı olduğu aromatik karbon, 146 ppm’de aromatik N-C ve 159 ppm’de de N=C karbonları görülmektedir.



Şekil 5.3. 9-kloro-1,2,3,4-tetrahidroakridin (4)

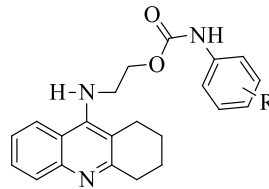
9-kloro-1,2,3,4-tetrahidroakridin (4) bileşiğinin aminoetanol ile reaksiyonu sonucunda 2-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)etanol (5) (Şekil 5.4.) bileşiği elde edilmiştir. Bu bileşiğin ^1H NMR spektrumunda (EK 4) aromatik halka protonları 7.3-8.2 ppm arasında t, t, d, d şeklinde sinyal vermiştir. Ayrıca 4.8 ppm’de N-H protonu görülmektedir. Sırasıyla 3.8 ve 3.6 ppm’de OH ve NH’a bağlı etanolamin grubundaki 2’şer proton görülmüştür. Sikloheksan halkasının protonları da 2 ve 3 ppm’de görülmektedir. Aynı şekilde ^{13}C NMR spektrumuna (EK 4) bakıldığında çok fazla değişiklik olmamıştır. Sadece 4 numaralı bileşikteki 141 ppm’de görülen klorun bağlı olduğu karbona N-H bağlanması ile 151 ppm’e kaymıştır. Ayrıca 61.41 ppm’de etanolamin grubunun oksijene bağlı karbonu, 51.29 ppm’de de azota bağlı karbonu görülmektedir. 5 numaralı (2-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)etanol) bileşiğin IR spektrumunda 3395 cm^{-1} ’de NH ve 3062 cm^{-1} ’de yayvan O-H gerilme pikleri, 1568 cm^{-1} ’de N-H ve 1501 cm^{-1} ’de C-O bükülme sinyalleri belirlenmiştir.



Şekil 5.4. 2-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)etanol (5)

2-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)etanol (5) bileşiğinin izosiyanat türevleri ile reaksiyona sokulması sonucunda 2-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)etil(R-fenil)-karbamat (6a-m) (Şekil 5.5.) bileşikler elde edilmiştir. Karbamat türevlerinin

^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumlarında (EK 5-17) genel olarak yaklaşık 10.2 ppm'de karbamatin N-H'ı ve 5.4 ppm'de etanolaminin N-H'ı (t) olarak görülmektedir. Aromatik protonlar yaklaşık 7-8 ppm arasında gelmiştir. 5 numaralı bileşiğin OH grubunun bağlı olduğu protonlar 3.8 ppm'de iken, burada izosiyanatın bağlanması ile oluşan C=O'den dolayı 4.4 ppm'lere kaymıştır. 158 ppm'de aromatik C=N piki, karbamatin karbon piki 154 ppm'de, 117-140 ppm'de diğer aromatik pikler görülmektedir. Etanolaminin oksijene bağlı karbonu 61 ppm'de iken karbamata dönüştüğü için 65 ppm'lere kaymıştır. Diğer alifatik protonlarda 1.5, 2.5-3 ve 3.6 ppm'de görülmektedir. Genel olarak bu bileşiklerin IR spektrumlarına bakıldığında NH gerilme bandına ait sinyaller yaklaşık 3430-3440 cm^{-1} 'de görülürken karbamat grubuna ait NH gerilme bandına ait sinyaller 3100-3200 cm^{-1} 'de görülmektedir. Karbonil grubuna ait C=O gerilme bantları 1720-1740 cm^{-1} 'de sinyal vermektedirler. Ayrıca NH bükülme pikleri 1610-1580 cm^{-1} 'de görülmektedir. Aromatik halkanın C-C gerilmeleri ve karbamat grubunun C-N gerilmesi 1550 cm^{-1} 'de görülmektedir. Alifatik N-H bükülme pikleri 1450 cm^{-1} 'de görülmektedir. Karbamat grubunun C-N gerilmeleri 1320 cm^{-1} 'de, C-N gerilme pikleri 1220 cm^{-1} 'de ve NH titreşim pikleri 758 cm^{-1} 'de görülmektedir.



Şekil 5.5. 2-((1,2,3,4-tetrahidroakridin-9-il)amino)etil(R-fenil)-karbamat türevleri (6a-m)

Bu sonuçlardan yola çıkarak sentezlenmesi hedeflenen bütün araürün ve ürünlerin sentezinin başarıyla gerçekleştirildiği söylenebilir.

Tez çalışması kapsamında 2-nitro benzoik asitten yola çıkılarak daha önce literatürde olmayan takrinin karbamat türevleri 5 basamakta elde edilmiştir. Sentez basamakları için öncelikli olarak en iyi verim ve sürelerde reaksiyonun gerçekleşebilmesi için farklı reaksiyon koşulları denenmiştir. İlk basamağın indirgenme reaksiyonunda hem Pd/C hem de $\text{SnCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ katalizör olarak kullanılmış Pd/C'lu yöntemle verimin

daha yüksek elde edilmesine rağmen tekrar kullanımlarında verimin yüksek oranda düşmesi nedeniyle $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ katalizörlüğü tercih edilmiştir. 2-amino benzoik asitin sikloheksanon ile reaksiyonu farklı sıcaklık ve sürelerde denenmiş ve en iyi verimin 120°C ve 18 saat sürede Dean-Stark düzeneğinde gerçekleştiği görülmüştür. 9-kloro-1,2,3,4-tetrahidroakridinin eldesi için farklı sıcaklık koşulları ve süreler denenerek 5 saat 140°C 'de reaksiyonun gerçekleştiği görülmüştür. Bu bileşiğin aminoetanol ile reaksiyonu literatürde farklı çözücü sistemlerinde denenmesine rağmen en iyi verimin çözücüsüz ortamda gerçekleştiği görülmüştür.

Elde edilen bileşiklerin saflaştırılmasında kolon kromatografisi yöntemi kullanılmıştır. Özellikle son ürünlerin saflaştırılmasında Hegzan: Etil asetat çözücü sistemi kullanılarak bileşikler elde edilmiştir. Bu yöntemler kullanılarak nihai ürünler %45-%60 verimle sentezlenmiştir.

Sentezlenen moleküllerin yapı-aktivite ilişkisi incelendiğinde;

- (i) Sentezlenen karbamat grubu içeren takrin türevlerinden 6l hariç hepsi, takrine benzer olarak, bütirilkolinestraz enzimini asetilkolinesteraz enzimine göre daha yüksek oranda inhibe etmişlerdir.
- (ii) Fenil halkası üzerindeki metoksi grubu, meta pozisyonundan (6a; AChE için $\text{IC}_{50} = 302.70 \text{ nM}$, BuChE için $\text{IC}_{50} = 54.07 \text{ nM}$) para pozisyonuna geçtiğinde (6b, AChE için $\text{IC}_{50} = 510.87 \text{ nM}$, BuChE için $\text{IC}_{50} = 58.56 \text{ nM}$) her iki enzim için inhibisyon azalmıştır.
- (iii) Fenil halkasının para pozisyonundaki elektron verici sübstitüentlerden metil grubu taşıyan 6c bileşiği (AChE için $\text{IC}_{50} = 87.99 \text{ nM}$, BuChE için $\text{IC}_{50} = 31.90 \text{ nM}$) metoksi grubu taşıyan 6b bileşiğinden (AChE için $\text{IC}_{50} = 510.87 \text{ nM}$, BuChE için $\text{IC}_{50} = 58.56 \text{ nM}$) her iki enzime karşı daha etkili bir inhibitör özelliği göstermiştir.
- (iv) Fenil halkasında sübstitüent taşıyan bileşiklerden 6f hariç hepsi (AChE için $\text{IC}_{50} = 22.15\text{-}631.50 \text{ nM}$) sübstitüenti olmayan 6d ($\text{R}=\text{H}$; AChE için $\text{IC}_{50} = 814.66 \text{ nM}$) bileşiğinden AChE'ye karşı daha iyi bir inhibitör özelliği göstermiştir.

(v) Fenil halkasının para pozisyonundaki halojen serisi göz önüne alındığında artan polarlık ve atom çapları ($I > Br > Cl > F$), her iki enzimin inhibisyonunu arttırmıştır. (6j, R= 4-I, AChE için $IC_{50} = 54.10$ nM, BuChE için $IC_{50} = 20.21$ nM) $>$ (6i, R= 4-Br, AChE için $IC_{50} = 162.20$ nM, BuChE için $IC_{50} = 38.69$ nM) $>$ (6g, R= 4-Cl, AChE için $IC_{50} = 587.70$ nM, BuChE için $IC_{50} = 157.40$ nM) $>$ (6f, R= 4-F, AChE için $IC_{50} = 1202.64$ nM, BuChE için $IC_{50} = 280.22$ nM).

(vi) Fenil halkasındaki flor atomu meta pozisyonundan (6e, AChE için $IC_{50} = 28.66$ nM, BuChE için $IC_{50} = 26.30$ nM) para pozisyonuna (6f, AChE için $IC_{50} = 1202.64$ nM, BuChE için $IC_{50} = 280.22$ nM) geçtiğinde her iki enzimin inhibisyonu etkileyici bir şekilde azalmıştır.

(vii) Fenil halkasındaki nitro grubu meta pozisyonundan (6k, AChE için $IC_{50} = 22.15$ nM, BuChE için $IC_{50} = 16.96$ nM) para pozisyonuna (6l, AChE için $IC_{50} = 115.10$ nM, BuChE için $IC_{50} = 187.50$ nM) geçtiğinde her iki enzimin inhibisyonu büyük oranda azalmıştır.

(viii) 6g ve 6h bileşikleri karşılaştırıldığında, fenil halkasına ikinci bir klor atomunun bağlanması her iki enzim içinde inhibisyonu yaklaşık 5 kat arttırmıştır (6g, R=4-Cl; AChE için $IC_{50} = 587.70$ nM, BuChE için $IC_{50} = 157.40$ nM; 6h, R=3,4-diCl; AChE için $IC_{50} = 119.90$ nM, BuChE için $IC_{50} = 26.67$ nM).

(ix) Fenil halkasının para pozisyonundaki kuvvetli elektronegatif atomlar ve gruplar göz önüne alındığında artan elektronegatifliğin ($F > CF_3 > Cl > NO_2$; sırasıyla $E_{neg.} = 4.0 > 3.3 > 3.2 > 3.04$) AChE için inhibisyonu düşürdüğü gözlenmiştir (6f, R=4-F; AChE için $IC_{50} = 1202.64$ nM $<$ 6m, R=4- CF_3 ; AChE için $IC_{50} = 631.50$ nM $<$ 6g, R=4-Cl; AChE için $IC_{50} = 587.70$ nM $<$ 6l, R=4- NO_2 ; AChE için $IC_{50} = 115.10$ nM). Daha zayıf bir etkide olsada benzer bir ilişki meta pozisyonunda flor ve nitro grubu içeren 6e bileşiği (R=3-F; AChE için $IC_{50} = 28.66$ nM) ile 6k bileşiği (R=3- NO_2 ; AChE için $IC_{50} = 22.15$ nM) arasındada belirlenmiştir.

Referans bileşiğimiz olan takrin molekülü ile sonuçlar karşılaştırıldığında elde edilen bileşiklerin yedi tanesinin takrin molekülünden asetilkolinesteraz enzimi için, dört tanesinde bütirilkolinesteraz enzimi için daha iyi inhibisyon gösterdiği

görülmektedir. Sentezlenen moleküller arasından en iyi inhibitör özelliğine sahip olan 6k molekülü (AChE için IC_{50} = 22.15 nM; BuChE için IC_{50} = 16.96 nM) takrinden (AChE için IC_{50} = 168.98 nM; BuChE için IC_{50} = 29.52 nM) yaklaşık 8 kat daha yüksek asetilkolinesteraz ve yaklaşık 2 kat daha yüksek bütirilkolinesteraz inhibisyonu göstermiştir. Yine aynı molekül Alzheimer tedavisinde kullanılan ve çokça bilinen kolinesteraz inhibitörlerinden galantamin (AChE için IC_{50} = 2050 nM; BuChE için IC_{50} = 18130 nM), donepezil (AChE için IC_{50} = 30 nM; BuChE için IC_{50} = 4660 nM) ve rivastigmin (AChE için IC_{50} = 3010 nM; BuChE için IC_{50} = 300 nM) sırasıyla yaklaşık 93, 1.5 ve 136 kat daha yüksek asetilkolisteraz inhibitör özelliği ve sırasıyla yaklaşık 1070, 275 ve 18 kat daha yüksek bütirilkolisteraz inhibitör özelliği göstermiştir.

Bu çalışmanın sonucunda Alzheimer tedavisinde kullanılan kolinesteraz inhibitörlerinden çok daha yüksek inhibisyon gösteren yeni takrin türevleri sentezlenmiştir.

Bu tez çalışması ile literatüre yeni AChE ve BuChE inhibitör özelliği gösteren takrin karbamat türevleri kazandırılmıştır. Ayrıca yeni yapılacak çalışmalar için önemli bir başlangıç noktası olmuştur. Bu çalışma sonucunda elde edilen verilerin uluslararası indekse giren dergilerde yayınlanması için gerekli olan çalışmalar devam etmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Kaufer, D.I., Cummings, J.L., Christine, D., Effect of tacrine on behavioral symptoms in Alzheimer's disease an open label study. *J. Geriatr. Psychiatry Neurol.*, 9(1), 1–6, 1996.
- [2] Barage, S.H., Sonawane, K.D., Amyloid cascade hypothesis: Pathogenesis and therapeutic strategies in Alzheimer's disease. *Neuropeptides*, 52, 1-18, 2015.
- [3] Nurchi, V.M., Crisponi, G., Pivetta, T., Donatoni, M., Remelli, M., Potentiometric, spectrophotometric and calorimetric study on iron (III) and copper (II) complexes with 1, 2-dimethyl-3-hydroxy-4-pyridinone. *J. Inorg. Biochem.*, 102(4), 684-692, 2008.
- [4] Chand, K., Alsoghier, H.M., Chaves, S., Santos, M.A., Tacrine hydroxybenzoyl pyridone hybrids as potential multifunctional anti Alzheimer's agents, AChE inhibition, antioxidant activity and metal chelating capacity. *J. Inorg. Biochem*, 163, 266–277, 2016.
- [5] Zaib, S., Rizvi, S.U.F., Aslam, S., Ahmad, M., Al-Rashida, M., Iqbal, J., Monoamine oxidase inhibition and molecular modeling studies of piperidyl-thienyl and 2-pyrazoline derivatives of chalcones. *Med. Chem.*, 11(5): 497–505, 2015.
- [6] Janockova, J., Plsikova, J., Jendzelovsky, R., Mikes, J., Kasparkova, J., Brabec, V., Hamulakova, S., Fedorocko, P., Kozurkova, M., Tacrine derivatives as dual topoisomerase I and II catalytic inhibitors. *Bioorg. Chem.*, 59, 168–176, 2015.
- [7] Pinto, T., Lanctot, K.L., Herrmann, N., Revisiting the cholinergic hypothesis of behavioral and psychological symptoms in dementia of the Alzheimer's type. *Ageing Res. Rev.*, 10(4), 404–412, 2011.
- [8] Albin, M.S., Bunegin, L., Massopust, L.C., Jannetta, P.J., Ketamine induced postanesthetic delirium attenuated by tetrahydroaminoacridine. *Exp. Neurol.*, 44(1), 126–129, 1974.
- [9] Aigner, T.G., Pharmacology of memory: cholinergic glutamatergic interactions. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 5(2), 155-160. 1995.
- [10] Massoulie, J., Pezzementi, L., Bon, S., Krejci, E., Vallette, F.M., Molecular and cellular biology of cholinesterases. *Prog. Neurobiol.*, 41(1), 31-91, 1993.

- [11] Reitz, C., Brickman, A.M., Brown, T.R., Manly, J., DeCarli, C., Small, S.A., Mayeux, R., Linking hippocampal structure and function to memory performance in an aging population. *Arch. Neurol*, 66(11), 1385-1392, 2009.
- [12] Kawas, C.H., Corrada, M.M., Alzheimer's and dementia in the oldest-old: a century of challenges. *Curr. Alzheimer Res.*, 3(5), 411-419, 2006.
- [13] DeLa Torre, J., Aliev, G., Perry, G., Finucane, T.E., Meyer, M.A., Cummings, J.L., Drug therapy in Alzheimer's disease. *N. Engl. J. Med.*, 351(18), 1911-1913, 2004.
- [14] McKhann, G.M., Knopman, D.S., Chertkow, H., Hyman, B.T., Jack Jr, C.R., Kawas, C.H., Klunk, W.E., Koroshetz, W.J., Manly, J.J., Mayeux, R., Mohs, R.C., Morris, J.C., Rossor, M.N., Scheltens, P., Carrillo, M.C., Thies, B., Weintraub, S., Phelps, C.H., The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.*, 7(3), 263-269, 2011.
- [15] Bent-Enakhil, N., Coste, F., Xie, L., Aigbogun, M.S., Wang, Y., Kariburyo, F., Hartry, A., Baser, O., Neumann, P., Fillit, H., A Real-world Analysis of Treatment Patterns for Cholinesterase Inhibitors and Memantine among Newly-diagnosed Alzheimer's Disease Patients. *Neurol. Ther.*, 6(1), 131-144, 2017.
- [16] Tabaton, M., Tamagno, E., The molecular link between [beta]-and [gamma]-secretase activity on the amyloid [beta] precursor protein. *Cell. Mol. Life Sci.*, 64(17), 2211-2218, 2007.
- [17] Tariot, P.N., Schneider, L.S., Cummings, J., Thomas, R.G., Raman, R., Jakimovich, L.J., Loy, R., Bartocci, B., Fleisher, A., Ismail, M.S., Porsteinsson, A., Weiner, M., Jack, C.R., Thal, L., Aisen, P.S., Chronic divalproex sodium to attenuate agitation and clinical progression of Alzheimer disease. *Arch. Gen. Psychiatry*, 68(8), 853-861, 2011.
- [18] Knopman, D.S., Dekosky, S.T., Cummings, J.L., Chui, H., Corey-Bloom, J., Relkin, N., Small, G.W., Miller, B., Stevens, J.C., Practice parameter: diagnosis of dementia. *Neurology*, 56(9), 1143-1153, 2001.
- [19] Coma, M., Aloy, P., Pujol, A., Gomis, X., Oliva, B., Lleo, A., Mas, J.M., Combination therapies for treating neurological disorders. U.S. Patent Application No. 13/660, 205, 2012.
- [20] Gauthier, S., Wirth, Y., Möbius, H.J., Effects of memantine on behavioural symptoms in Alzheimer's disease patients: an analysis of the Neuropsychiatric Inventory (NPI) data of two randomised, controlled studies. *Int. J. Geriatr. Psychiatry*, 20(5), 459-464, 2005.
- [21] Fratiglioni, L., Winblad, B., Von Strauss, E., Prevention of Alzheimer's disease and dementia. Major findings from the Kungsholmen Project. *Psychol. Behav.*, 92(1-2), 98-104, 2007.

- [22] Qiu, C., Kivipelto, M., Von Strauss, E., Epidemiology of Alzheimer's disease: occurrence, determinants, and strategies toward intervention. *Dialogues Clin. Neurosci.*, 11(2), 111-128, 2009.
- [23] Fratiglioni, L., Von Strauss, E., Qiu, C., Epidemiology of the dementias of old age. *İçinde: The Oxford Textbook of Old Age Psychiatry*. Oxford University Press, Oxford, 391-406, 2008.
- [24] Fratiglioni, L., De Ronchi, D., Agüero-Torres, H., Worldwide prevalence and incidence of dementia. *Drugs and Aging*, 15(5), 365-375, 1999.
- [25] Jorm, A., Jolley, D., The incidence of dementia a meta analysis. *Neurology*, 51(3), 728-733, 1998.
- [26] Qiu, C., Epidemiological findings of vascular risk factors in Alzheimer's disease implications for therapeutic and preventive intervention. *Expert Rev. Neurother.*, 11(11), 1593-1607, 2011.
- [27] Campion, D., Flaman, J.M., Brice, A., Hannequin, D., Dubois, B., Martin, C., Moreau, V., Charbonnier, F., Didierjean, O., Penet, S.T.C., Puel, M., Pasquier, F., Le Doze, F., Bellis, G., Calenda, A., Heilig, R., Martinez, M., Mallet, J., Bellis, M., Clerget-Darpoux, F., Agid, Y., Frebourg, T., Mutations of the presenilin I gene in families with early onset Alzheimer's disease. *Hum. Mol. Genet.*, 4(12), 2373–2377, 1995.
- [28] Fratiglioni, L., Qiu, C., Prevention of common neurodegenerative disorders in the elderly. *Exp. Gerontol.*, 44 (1-2), 46-50, 2009.
- [29] Solfrizzi, V., Panza, F., Frisardi, V., Seripa, D., Logroscino, G., Imbimbo, B.P., Pilotto, A., Diet and Alzheimer's disease risk factors or prevention, the current evidence. *Expert Rev. Neurother.*, 11(5), 677-708, 2011.
- [30] Teipel, S.J., Meindl, T., Grinberg, L., Grothe, M., Cantero, J.L., Reiser, M.F., Moller, H.J., Heinsen, H., Hampel, H., The cholinergic system in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease an in vivo MRI and DTI study. *Hum. Brain Mapp.*, 32(9), 1349-1362, 2011.
- [31] Larrosa, J.M., Garcia-Martin, E., Bambo, M.P., Pinilla, J., Polo, V., Otin, S., Satue, M., Herrero, R., Pablo, L.E., Potential new diagnostic tool for Alzheimer's disease using a linear discriminant function for fourier domain optical coherence tomography. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 55(5), 3043-3051, 2014.
- [32] McKhann, G., Drachman, D., Folstein, M., Katzman, R., Price, D., Stadlan, E.M., Clinical diagnosis of Alzheimer's disease. *Neurology*, 34(7), 939-944, 1984.
- [33] Contestabile, A., The history of the cholinergic hypothesis. *Behav. Brain Res.*, 221(2), 334–340, 2011.
- [34] Davies, P., Maloney, A.J.F., Selective loss of central cholinergic neurons in Alzheimer's disease. *Lancet*, 308(8000), 1403, 1976.

- [35] Bowen, D., Smith, C.B., White, P., Davison, A.N., Neurotransmitter related enzymes and indices of hypoxia in senile dementia and other abiotrophies. *Brain*, 99(3), 459–496, 1976.
- [36] Kar, S., Issa, A.M., Seto, D., Auld, D.S., Collier, B., Quirion, R., Amyloid- β peptide inhibits high affinity choline uptake and acetylcholine release in rat hippocampal slices. *J. Neurochem.*, 70(5), 2179–2187, 1998.
- [37] Whitehouse, P.J., Martino, A.M., Marcus, K.A., Zweig, R.M., Singer, H.S., Price, D.L., Kellar, K.J., Reductions in acetylcholine and nicotine binding in several degenerative diseases. *Arch. Neurol.*, 45(7), 722–724, 1988.
- [38] Lleo, A., Greenberg, S.M., Growdon, J.H., Current pharmacotherapy for Alzheimer's disease. *Annu. Rev. Med.*, 57, 513–533, 2006.
- [39] Francis, P.T., Sims, N.R., Procter, A.W., Bowen, D.M., Cortical pyramidal neurone loss may cause glutamatergic hypoactivity and cognitive impairment in Alzheimer's disease investigative and therapeutic perspectives. *J. Neurochem.*, 60(5), 1589–1604, 1993.
- [40] Heebert, L.E., Scherr, P.A., Bienias, J.L., Bennett, D.A., Evans, D.A., Alzheimer disease in the US population, prevalence estimates using the 2000 census. *Arch. Neurol.*, 60(8), 1119–1122, 2003.
- [41] Doody, R.S., Thomas, R.G., Farlow, M., Iwatsubo, T., Vellas, B., Joffe, S., Kieburtz, K., Raman, R., Sun, X., Aisen, P.S., Siemer, E., Liu-Seifert, H., Mohs, R., Phase 3 trials of solanezumab for mild to moderate Alzheimer's disease. *N. Engl. J. Med.*, 370, 311–321, 2014.
- [42] Roger, S.L., Farlow, M.R., Doody, R.S., Mohs, R., Friedhoff, L.T., Donepezil Study Group, A 24-week double blind, placebo controlled trial of donepezil in patients with Alzheimer's disease. *Neurology*, 50(1), 136–145, 1998.
- [43] Hong-Qi, Y., Zhi-Kun, S., Sheng-Di, C., Current advances in the treatment of Alzheimer's disease focused on considerations targeting A β and tau. *Transl. Neurodegener.*, 1(21), 1–12, 2012.
- [44] Giacobini, E., Spiegel, R., Enz, A., Veroff, A.E., Cutler, N.R., Inhibition of acetyl- and butyryl-cholinesterase in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease by rivastigmine: correlation with cognitive benefit. *J. Neural Transm.*, 109(7-8), 1053-1065, 2002.
- [45] Seltzer, B., Donepezil: an update. *Exp. Opin. Pharmacother.*, 8(7), 1011-1023, 2007.
- [46] Mohamed, T., Rao, P.P.N., Alzheimer's disease: emerging trends in small molecule therapies. *Curr. Med. Chem.*, 18(28), 4299-4320, 2011.
- [47] Onor, M.L., Trevisiol, M., Aguglia, E., Rivastigmine in the treatment of Alzheimer's disease. *Clin. Interv. Aging.*, 2(1), 17–32, 2007.

- [48] Raschetti, R., Albanese, E., Vanacore, N., Maggini, M., Cholinesterase inhibitors in mild cognitive impairment a systematic review of randomised trials. *Plos Med.*, 4(11), 1818-1828, 2007.
- [49] Whitehouse, P.J., Price, D.L., Clark, A.W., Coyle, J.T., DeLong, M.R., Alzheimer disease evidence for selective loss of cholinergic neurons in the nucleus basalis. *Ann. Neurol.*, 10(2), 122-126, 1981.
- [50] Davies, P., Challenging the cholinergic hypotesis in Alzheimer disease. *Jama*, 281(15), 1433-1434, 1999.
- [51] Cummings, J.L., Cholinesterase inhibitors a new a class of psychotropic compounds. *Am. J. Psychiatry*, 157(1), 4-15, 2000.
- [52] Svensson, A.L., Giacobini, E., Cholinesterase inhibitors do more than inhibit cholinesterase, cholinesterases and cholinesterase inhibitors. London:Martin Dunitz, 227-235, 2000.
- [53] Thai, L.J., Ferguson, J.M., Mintzer, J., Raskin, A., Targum, S.D., A 24 week randomized trial of controlled release physostigmine in patients with Alzheimer's disease. *Neurology*, 52(6), 1146-1152, 1999.
- [54] Eagger, S.A., Harvey, R.J., Clinical heterogeneity responders to cholinergic therapy. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.*, 9, 37, 1995.
- [55] Kerkut, G.A., Acetylcholinesterase (AChE) (EC 3.1.1.7.). *Gen. Pharmacol.*, 15(5), 375-378, 1984.
- [56] Imbimbo, B.P., Pharmacodynamic-Tolerability relationships of cholinesterase inhibitors for alzheimer's disease. *CNS Drugs*, 15(5), 375-390, 2001.
- [57] Massoulie, J., Sussman, J., Bon, S., Silman, I., Structure and functions of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. *Prog. Brain Res.*, 98, 139-46, 1993.
- [58] Al-Jafari, A.A., Kamal, M.A., Alhomida, A.S., Sensivity of bovine retinal acetylcholinesterase (E.C. 3.1.1.7) toward tacrine kinetic characterization. *J. Biochem. Mol. Toxicol.*, 12, 245-51, 1998.
- [59] Kryger, G., Silman, I., Sussman, J.L., There dimensional structure of a complex of E2020 with acetylcholinesterase from torpedo californica. *J. Physiol. Paris*, 92(3-4), 191-194, 1998.
- [60] Greenblatt, H.M., Kryger, G., Lewis, T., Silman, I., Sussman, J.L., Structure of acetylcholinesterase complexed with galantamine at 2.3 a resolution. *Febs. Lett.*, 463(3), 321-326, 1999.
- [61] Thomsen, T., Kaden, B., Fischer, J.P., Bickel, U., Gusztony, G., Cervos-Navarro, J., Kewitz, H., Inhibition of acetylcholinesterase activity in human brain tissue and erythrocytes by galanthamine, pysostigmine and tacrine. *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 29, 487-492, 1991.

- [62] Yu, Q.S., Atack, J.R., Rapoport, S.I., Brossi, A., Carbamate analogues of physostigmine in vitro inhibition of acetyl and butyrylcholinesterase. *Febs Lett.*, 234(1), 127-130, 1988.
- [63] Gershon, S., Blocking effect of tetrahydroaminacrin on a new psychotomimetic agent. *Nature*, 186(4730), 1072–1073, 1960.
- [64] Bell, C., Gershon, S., Experimental anticholinergic psychotomimetics: antagonism of yohimbine and tacrine (THA). *Pharmacol.*, 10(1), 15–21, 1964.
- [65] Giacobini, E., Desarno, P., Clark, B., McIlhenny, M., The cholinergic receptor system of the human brain neurochemical and pharmacological aspects in aging and Alzheimer. *Prog. Brain Res.*, 79, 335–343, 1989.
- [66] Saxena, G., Singh, S.P., Agrawal, R., Nath, C., Effect of donepezil and tacrine on oxidative stress in intracerebral streptozotocin induced model of dementia in mice. *Eur. J. Pharmacol.*, 581(3), 283–289, 2008.
- [67] Dawson, R.M., Tacrine slows the rate of ageing of sarin inhibited acetylcholinesterase. *Neurosci. Lett.*, 100(1-3), 227–230, 1989.
- [68] Dawson, V.L., Dawson, T.M., Bartley, D.A., Uhl, G.R., Snyder, S.H., Mechanisms of nitric oxide mediated neurotoxicity in primary brain cultures. *J. Neurosci.*, 13(6), 2651–2661, 1993.
- [69] Wang, T., Tang, X.C., Reversal of scopolamine-induced deficits in radialmaze performance by (-) huperzine a comparison with E2020 and tacrine. *Eur. J. Pharmacol.*, 349(2-3), 137–142, 1998.
- [70] Albin, M.S., Orr, M.D., Bunegin, L., Henderson, P.A., Tetrahydroaminoacridine antagonism to narcotic addiction. *Exp. Neurol.*, 46(3), 644–648, 1975.
- [71] Horak, M., Petralia, R.S., Kaniakova, M., Sans, N., ER to synapse trafficking of NMDA receptors. *Front. Cell. Neurosci.*, 8, Article No: 394, 1-18, 2014.
- [72] Baranello, L., Kouzino, F., Levens, D., DNA topoisomerases. *Transcription*, 4(5), 232–237, 2013.
- [73] Berger, J.M., Gamblin, S.J., Harrison, S.C., Wang, J.C., Structure and mechanism of DNA topoisomerase II. *Nature*, 379(6562), 225-232, 1996.
- [74] Zhang, S., Li, X., Zhang, F., Yang, P., Gao, X., Song, Q., Preparation of yuanhuacine and relative daphne diterpene esters from *Daphne genkwa* and structure–activity relationship of potent inhibitory activity against DNA topoisomerase I. *Bioorg. Med. Chem.*, 14(11), 3888–3895, 2006.
- [75] Spicer, J.A., Gamage, S.A., Atwell, G.J., Finlay, G.J., Baguley, B.C., Denny, W.A., Structure activity relationships for acridine-substituted analogues of the mixed topoisomerase I/II inhibitor n-[2-(dimethylamino) ethyl] acridine-4-carboxamide. *J. Med. Chem.*, 40(12), 1919-1929, 1997.

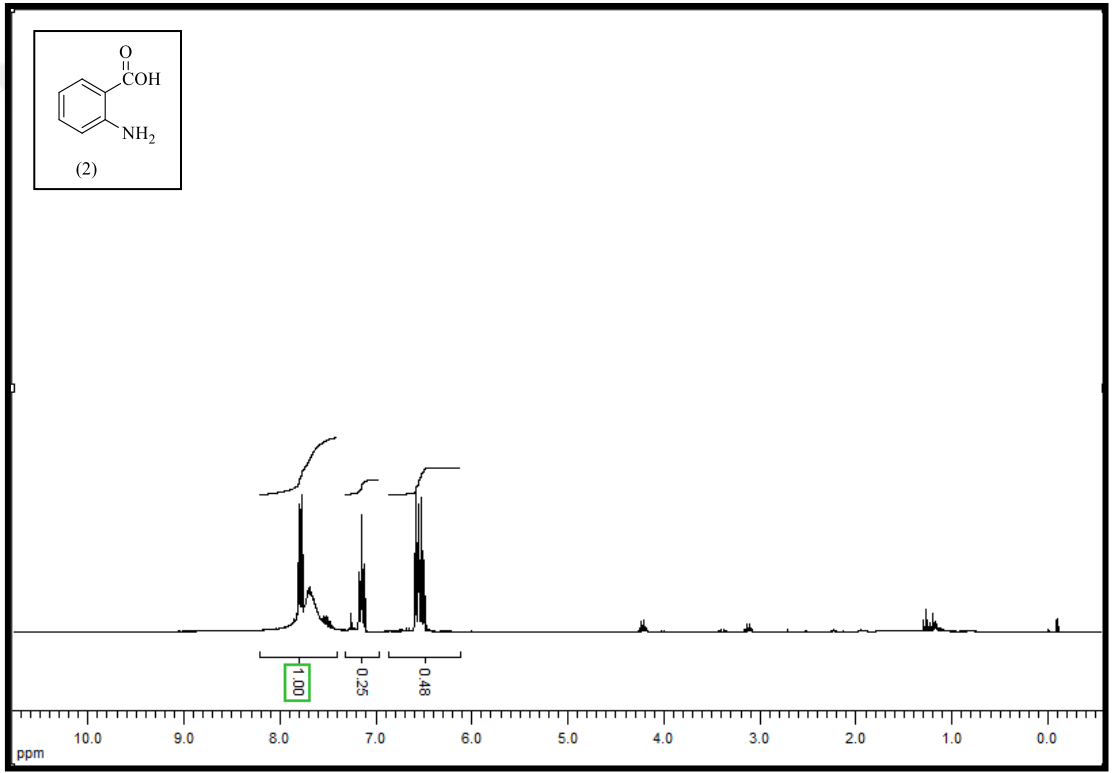
- [76] Reichman, W.E., Current pharmacologic options for patients with Alzheimer's disease. *Ann. Gen. Hosp. Psychiatr.*, 2, 1-14, 2003.
- [77] Kuhl, D.E., Koeppe, R.A., Minoshima, S., Snyder, S.E., Ficaró, E.P., Foster, N.L., Frey, K.A., Kilbourn, M.R., In vivo mapping of cerebral acetylcholinesterase activity in aging and Alzheimer's disease. *Neurology*, 52(4), 691-699, 1999.
- [78] Freeman, S.E, Dawson, R.M., Tacrine: a pharmacological review. *Prog. Neurobiol.*, 36(4), 257-277, 1991.
- [79] Schneider, L.S., Clinical pharmacology of aminoacridines in Alzheimer's disease. *Neurology*, 43(8), 64-79, 1993.
- [80] Adem, A., Mohammed, A.K., Winblad, B., Multiple effects of tetrahydroaminoacridine on the cholinergic system biochemical and behavioral aspects. *J. Neural. Transm.*, 2(2), 113-128, 1990.
- [81] Hartvig, P., Askmark, H., Aquilonius, S.M., Wiklund, L., Lindström, B., Clinical pharmacokinetics of intravenous and oral 9-amino-1.2.3.4 tetrahydroacridine, tacrine. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 38(3), 259-263, 1990.
- [82] Tumiatti, V., Minarini, A., Bolognesi, M.L., Milelli, A., Rosini, M., Melchiorre, C., Tacrine derivatives and Alzheimer's disease. *Curr. Med. Chem.*, 17(17), 1825-1838, 2010.
- [83] Minarini, A., Milelli, A., Simoni, E., Rosini, M., Bolognesi, M.L., Marchetti, C., Tumiatti, V., Multifunctional tacrine derivatives in Alzheimer's disease. *Curr. Top. Med. Chem.*, 13(15), 1771-1786, 2013.
- [84] AN de Aquino, R., Modolo, V.L., Alves, B.R., de Fatima, A., Design of new drugs for the treatment of Alzheimer's disease based on tacrine structure. *Curr. Drug Targets*, 14(3), 378-397, 2013.
- [85] Korabecny, J., Spilovska, K., Benek, O., Musilek, K., Soukup, O., Kuca, K., Tacrine and its derivatives in the therapy of Alzheimers disease. *Ceska Slov. Farm.*, 61(5), 210-221, 2012.
- [86] Xie, S.S., Lan, J.S., Wang, X.B., Jiang, N., Dong, G., Li, Z.R., Wang, K.D.G., Guo, P.P., Kong, L.Y., Multifunctional tacrine-trolox hybrids for the treatment of Alzheimer's disease with cholinergic, antioxidant, neuroprotective and hepatoprotective properties. *Eur. J. Med. Chem.*, 93, 42-50, 2015.
- [87] Wang, L., Esteban, G., Ojima, M., Bautista-Aguilera, O.M., Inokuchi, T., Moraleda, I., Iriepa, I., Samadi, A., Youdim, M.B.H., Romero, A., Soriano, E., Herrero, R., Fernandez, A.P.F., Martinez-Murillo, R., Marco-Contelles, J., Unzeta, M., Donepezil + propargylamine + 8-hydroxyquinoline hybrids as new multifunctional metal-chelators, ChE and MAO inhibitors for the potential treatment of Alzheimer's disease. *Eur. J. Med. Chem.*, 80, 543-561, 2014.

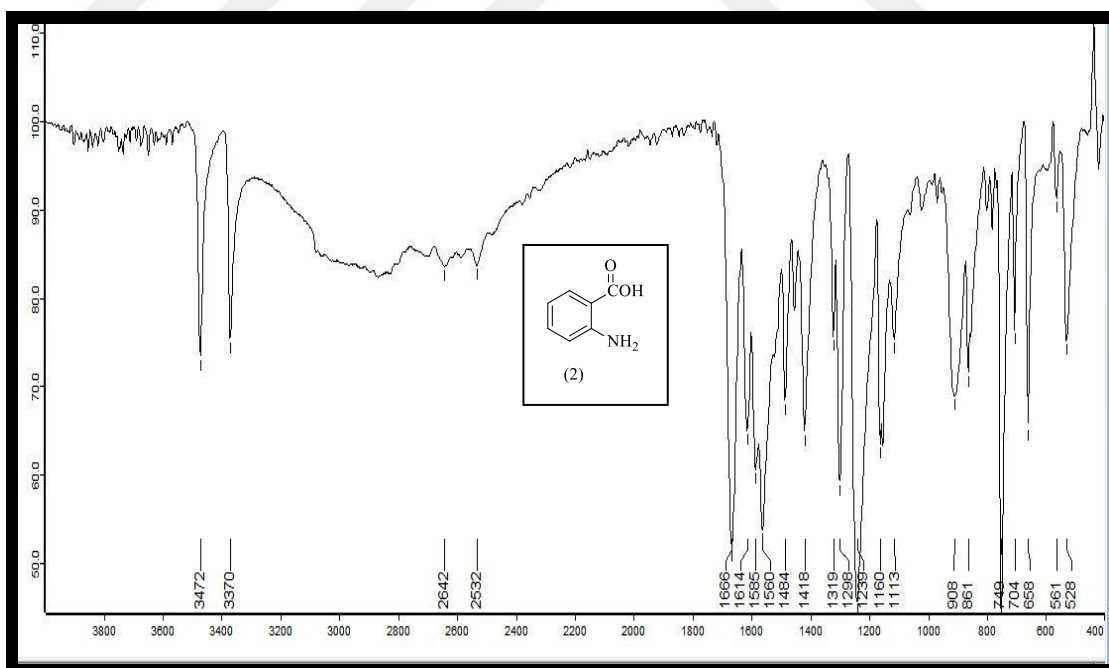
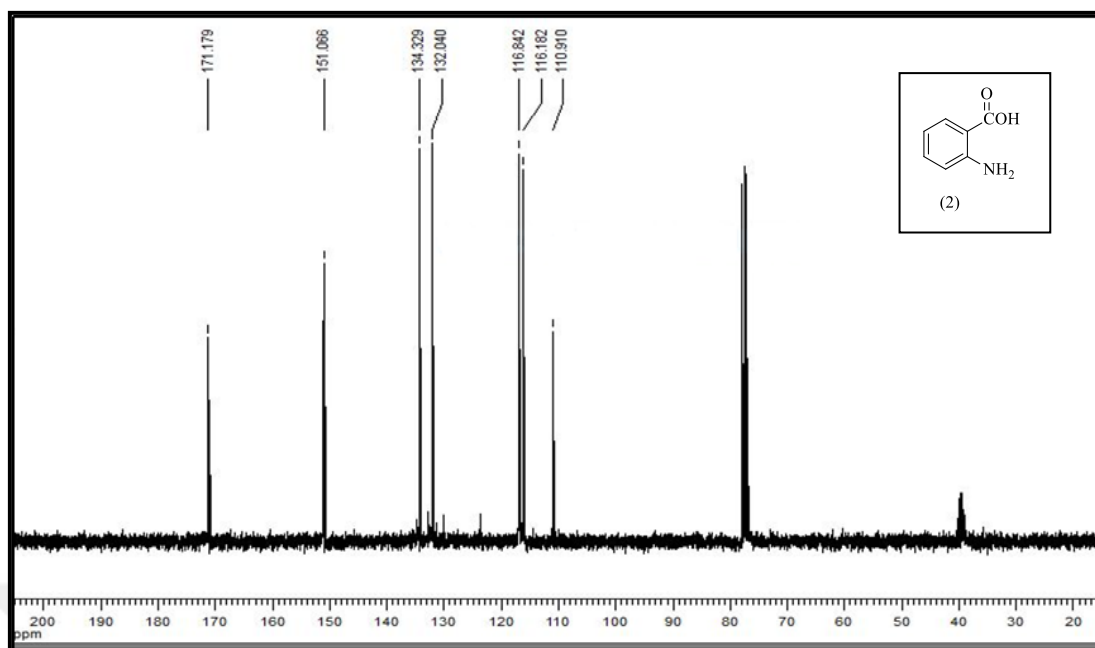
- [88] Luo, W., Li, Y. P., He, Y., Huang, S.L., Tan, J.H., Ou, T.M., Li, D., Gu, L.Q., Huang, Z.S., Design, synthesis and evaluation of novel tacrine-multialkoxybenzene hybrids as dual inhibitors for cholinesterases and amyloid beta aggregation. *Bioorg. Med. Chem.*, 19(2), 763-770, 2011.
- [89] Meng, Q., Ru, J., Zhang, G., Shen, C., Schmitmeier, S., Bader, A., Re-evaluation of tacrine hepatotoxicity using gel entrapped hepatocytes. *Toxicol. Lett.*, 168(2), 140-147, 2007.
- [90] Gao, C., Ding, Y., Zhong, L., Jiang, L., Geng, C., Yao, X., Cao, J., Tacrine induces apoptosis through lysosome-and mitochondria-dependent pathway in HepG2 cells. *Toxicol. in Vitro*, 28(4), 667-674, 2014.
- [91] Galisteo, M., Rissel, M., Sergent, O., Chevanne, M., Cillard, J., Guillouzo, A., Lagadic-Gossman, D., Hepatotoxicity of tacrine: occurrence of membrane fluidity alterations without involvement of lipid peroxidation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 294(1), 160-167, 2000.
- [92] Summers, W.K., Tacrine, and Alzheimer's treatments. *J. Alzheimers Dis.*, 9(3), 439-445, 2006.
- [93] Jann, M.W., Shirley, K.L., Small, G.W., Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of cholinesterase inhibitors. *Clin. Pharmacokinet.*, 41(10), 719-739, 2002.
- [94] Kotrla, K.J., Chacko, R.C., Harper, R.G., Jhingan, S., Doody, R., Spect findings on psychosis in Alzheimer's disease. *Am. J. Psychiatry*, 152(10), 1470-1475, 1995.
- [95] Dominguez, J.L., Fernandez-Nieto, F., Castro, M., Catto, M., Paleo, M.R., Porto, S., Sardina, F.J., Brea, J.M., Carotti, A., Villaverde, M.C., Sussman, F., Computer-aided structure-based design of multitarget leads for alzheimer's disease. *J. Chem. Inf. Model.*, 55(1), 135-148, 2015.
- [96] Najafi, Z., Mahdavi, M., Saeedi, M., Karimpour-Razkenari, E., Asatouri, R., Vafadarnejad, F., Moghadam, F.H., Khanavi, M., Sharifzadeh, M., Akbarzadeh, T., Novel tacrine-1,2,3-triazole hybrids in vitro, in vivo biological evaluation and docking study of cholinesterase inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.*, 125, 1200-1212, 2017.
- [97] Sameem, B., Saeedi, M., Mahdavi, M., Shafiee, A., A review on tacrine based scaffolds as multi target drugs (MTDLs) for Alzheimer's disease. *Eur. J. Med. Chem.*, 128, 332-345, 2017.
- [98] Liu, Z., Fang, L., Zhang, H., Gou, S., Chen, Li., Design synthesis and biological evaluation of multifunctional tacrine-curcumin hybrids as new cholinesterase inhibitors with metal ions chelating and neuroprotective property. *Bioorg. Med. Chem.*, 25(8), 2387-2398, 2017.

- [99] Khoobi, M., Ghanoni, F., Nadri, H., Moradi, A., Hamedani, M.P., Moghadam, F.H., Emami, S., Vosooghi, M., Zadamard, R., Foroumadi, A., Shafiee, A., New tetracyclic tacrine analogs containing pyrano [2,3-c] pyrazole efficient synthesis biological assesment anadocking simulation study. *Eur. J. Med. Chem.*, 89, 296-303, 2015.
- [100] Xie, S.S., Wang, X.B., Li, J.Y., Yang, L., Kong, L.Y., Design, synthesis and evaluation of novel tacrine-coumarin hybrids as multifunctional cholinesterase inhibitors against Alzheimer's disease. *Eur. J. Med. Chem.*, 64, 540-553, 2013.
- [101] Zhang, C., Du, Q.Y., Chen, L.D., Wu, W.H., Liao, S.Y., Yu, L.H., Liang, X.T., Design, synthesis and evaluation of novel tacrine-multialkoxybenzene hybrids as multi-targeted compounds against Alzheimer's disease. *Eur. J. Med. Chem.*, 116, 200-209, 2016.
- [102] Sonmez, F., Sevmezler, S., Atahan, A., Ceylan, M., Demir, D., Gencer, N., Arslan, O., Kucukislamoglu, M., Evaluation of new chalcone derivatives as polyphenol oxidase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Let.*, 21, 7479–7482, 2011.
- [103] Carlier, P.R., Han, Y.F., Chow, E.S.H., Li, C.P.L., Wang, H., Lieu, T.X., Wong, H.S., Pang, Y.P., Evaluation of short-tether bis-THA AChE inhibitors, a further test of the dual binding site hypothesis. *Bioorg. Med. Chem.*, 7, 351-357, 1999.
- [104] Farat, O.K., Markov, V.I., Varenichenko, S.A., Dotsenko, V.V., Mazepa, A.V., The Vilsmeier-Haack formylation of 2,3 dihydro-4H-1,3-benzoxazin-4-ones and isomeric 1,2-dihydro-4h-3,1-benzoxazin-4 ones: an effective approach to functionalized 2H-4H-chromenes and tetrahydroacridines. *Tetrahedron*, 71(34), 5554-5561, 2015.
- [105] Li, S.Y., Wang, X.B., Xie, S.S., Jiang, N., Wang, K.D.G., Yao, H.Q., Sun, H.B., Kong, L.Y., Multifictional tacrine-flavanoid hybrids with cholinergic, β -amyloid-reducing and metal chelating properties fort he Alzheimer's disease. *Eur. J. Med. Chem.*, 69, 632-646, 2013.
- [106] Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andress, V., Featherstone, R.M., A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.*, 7(2), 88-95, 1961.
- [107] Camps, P., Formosa, X., Galdeano, C., Gomez, T., Munoz-Torrero, D., Scarpellini, M., Viayna, E., Badia, A., Clos, M.V., Camins, A., Pallas, M., Bartolini, M., Mancini, F., Andrisano, V., Estelrich, J., Lizondo, M., Bidon-Chanal, A., Luque, F.J., Novel donepezil based inhibitors of acetyl- and burtyrylcholinesterase and acetylcholinesterase induced β -amyloid aggregation. *J. Med. Chem.*, 51(12), 3588-3598, 2008.

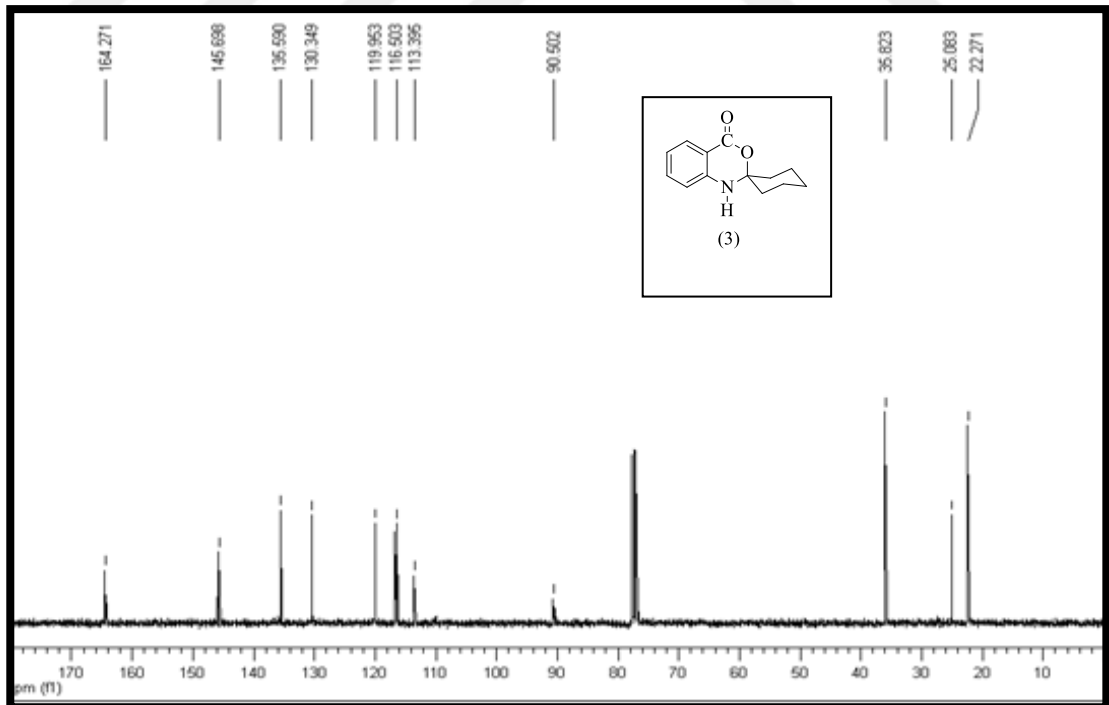
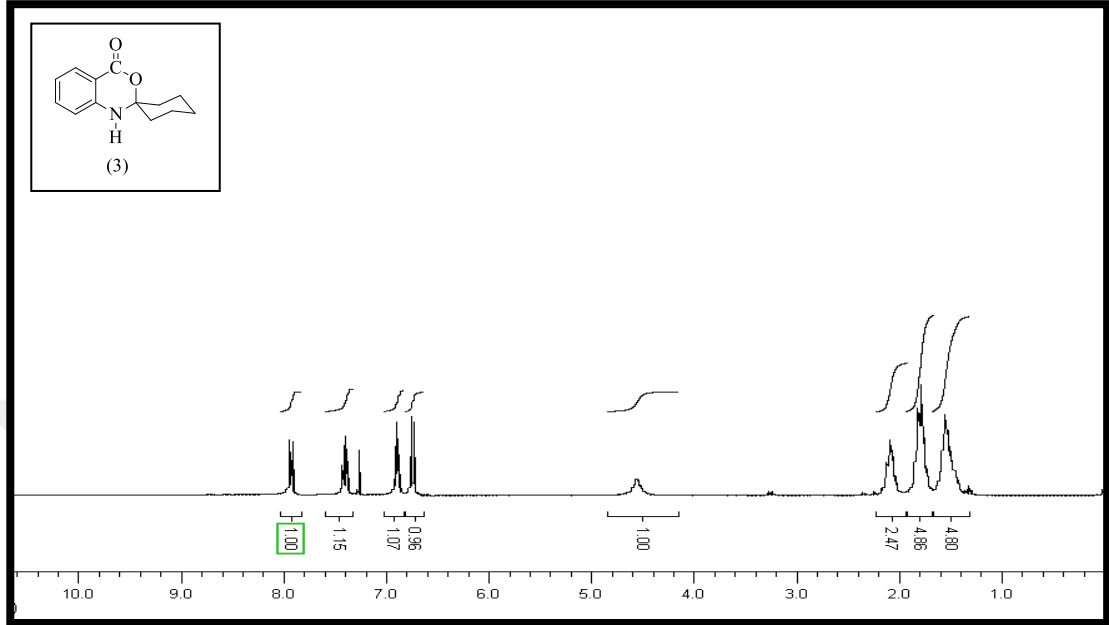
EKLER

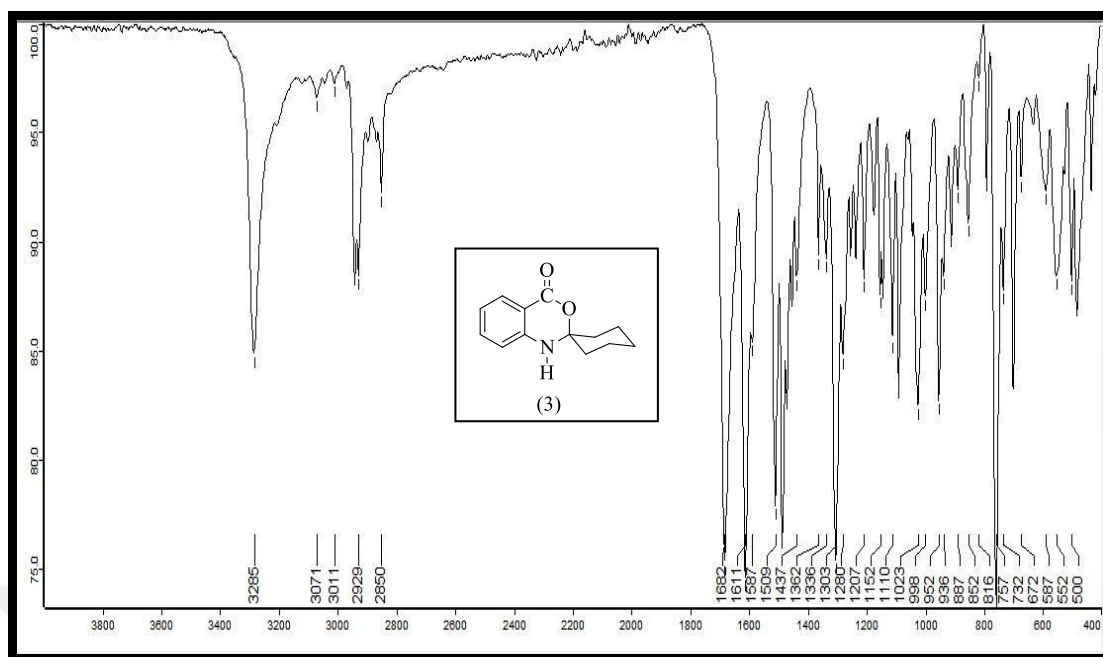
EK 1: 2 Numaralı Bileşiğin ^1H NMR ($\text{CDCl}_3+\text{DMSO}-d_6$), ^{13}C NMR ($\text{CDCl}_3+\text{DMSO}-d_6$) ve IR Spektrumları



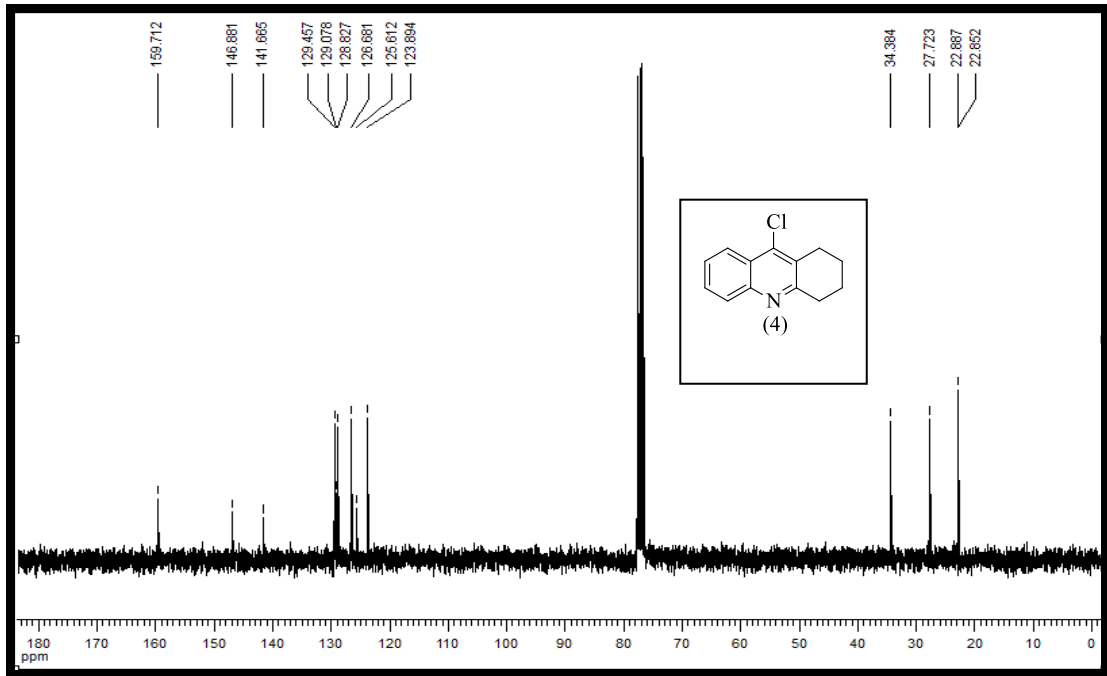
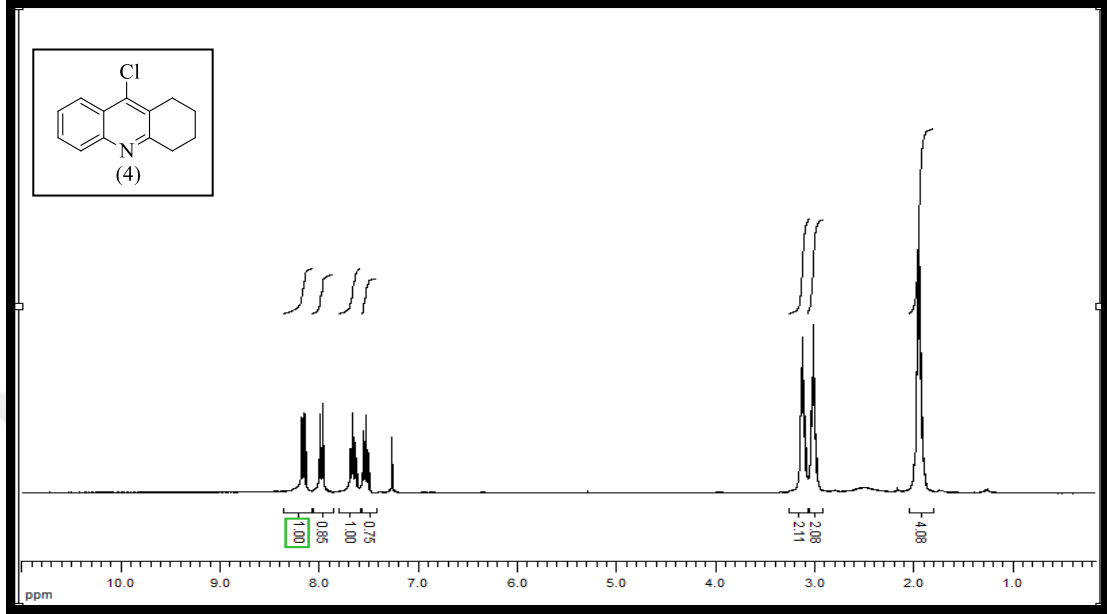


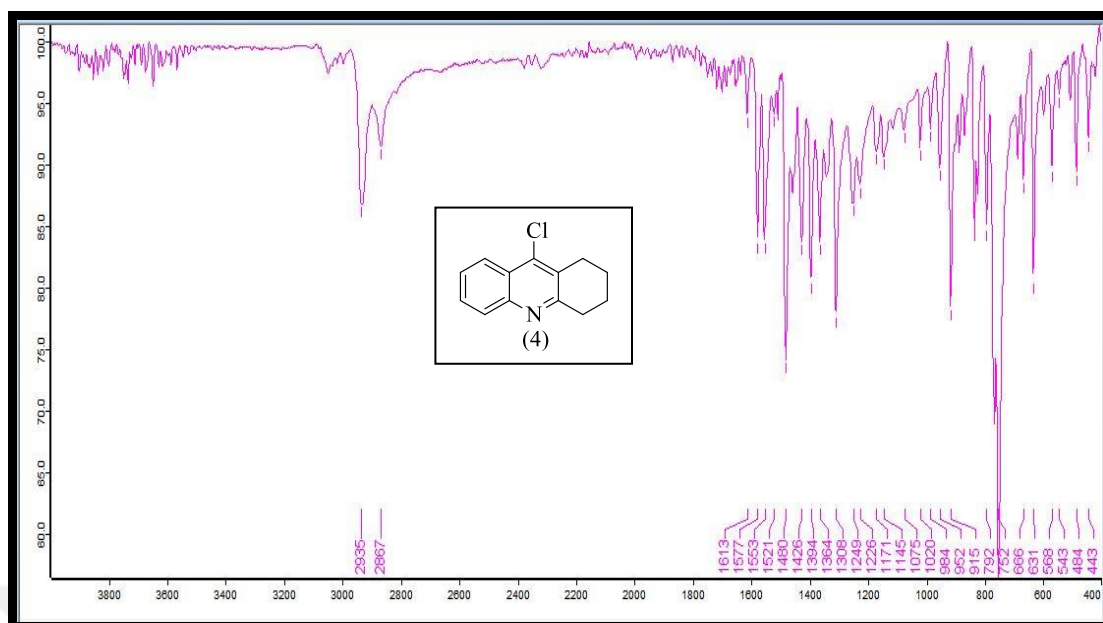
EK 2: 3 Numaralı Bileşiğin ^1H NMR (CDCl_3), ^{13}C NMR (CDCl_3) ve IR Spektrumları



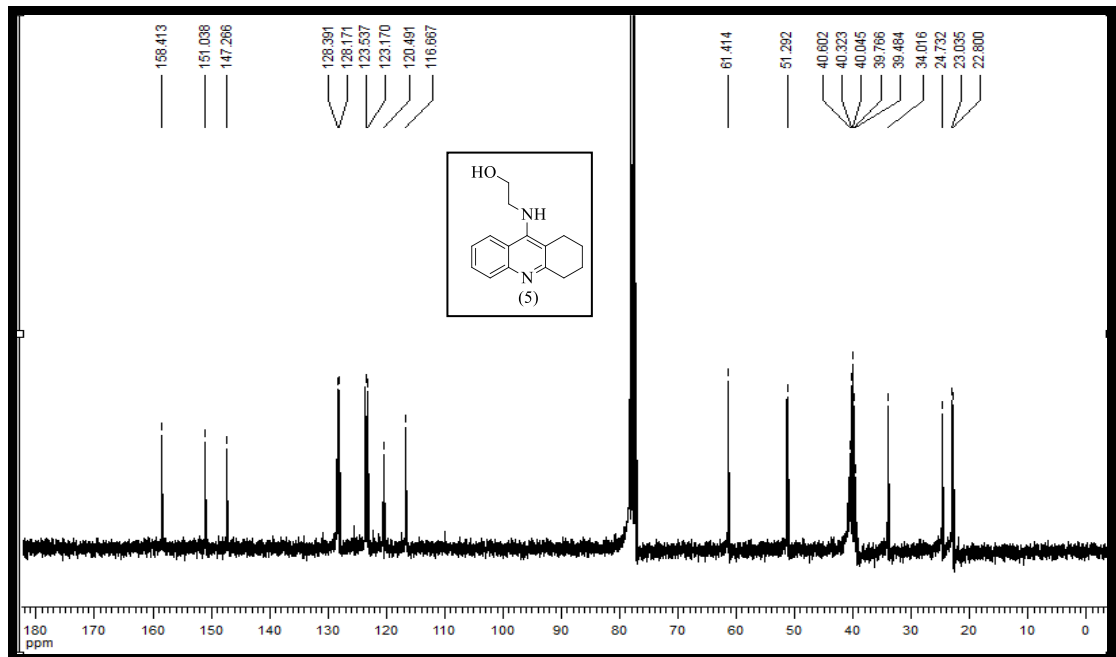
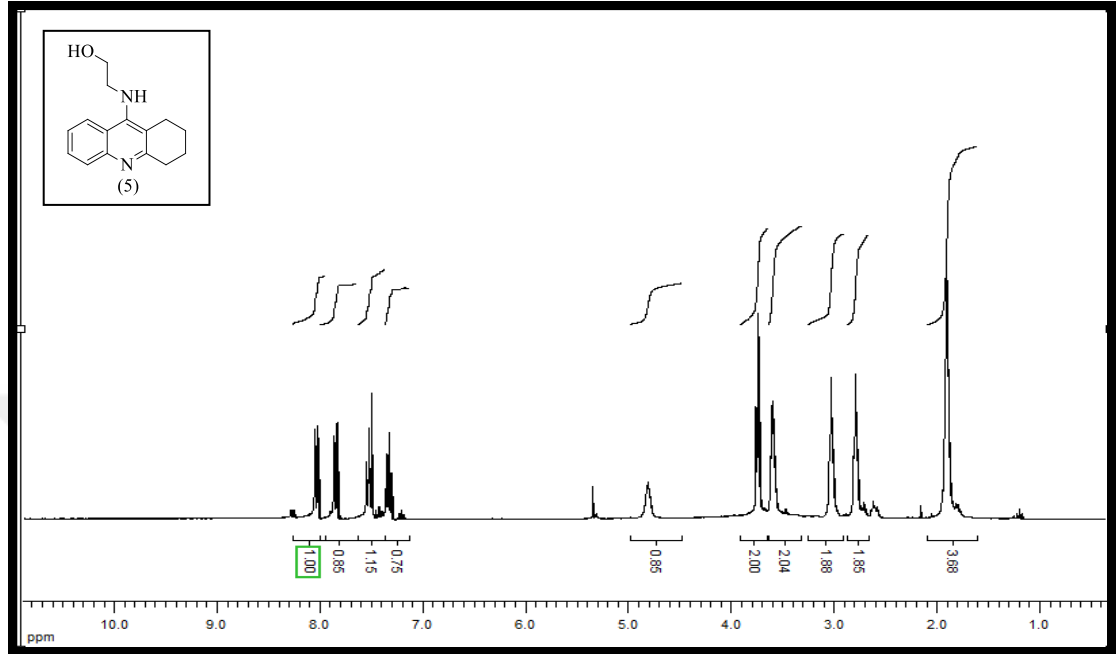


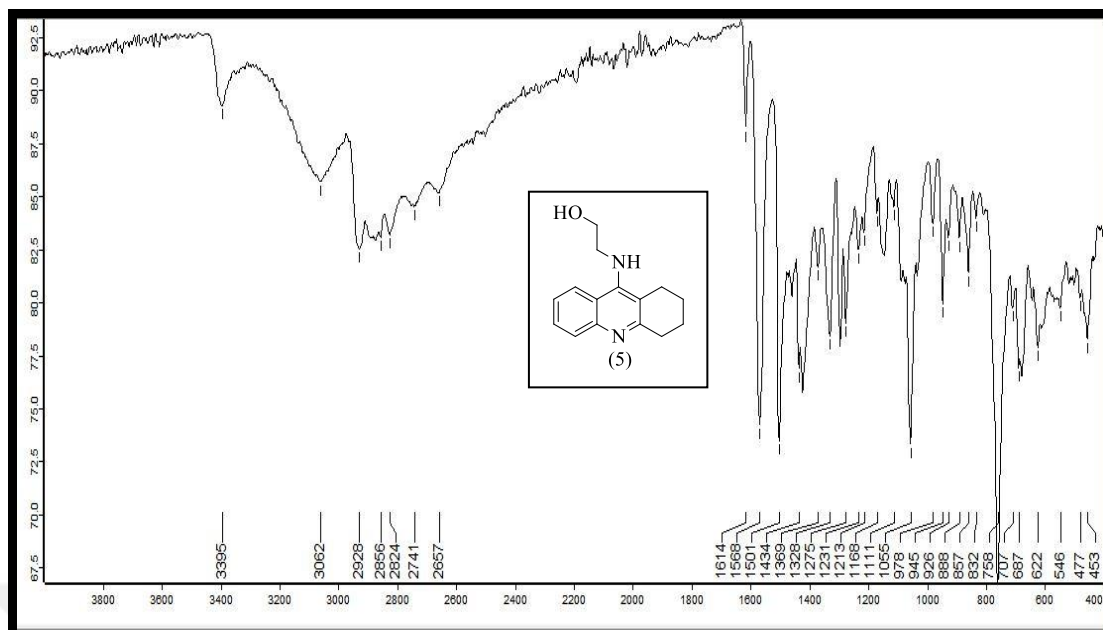
EK 3: 4 Numaralı Bileşiğin ^1H NMR (CDCl_3), ^{13}C NMR (CDCl_3) ve IR Spektrumları



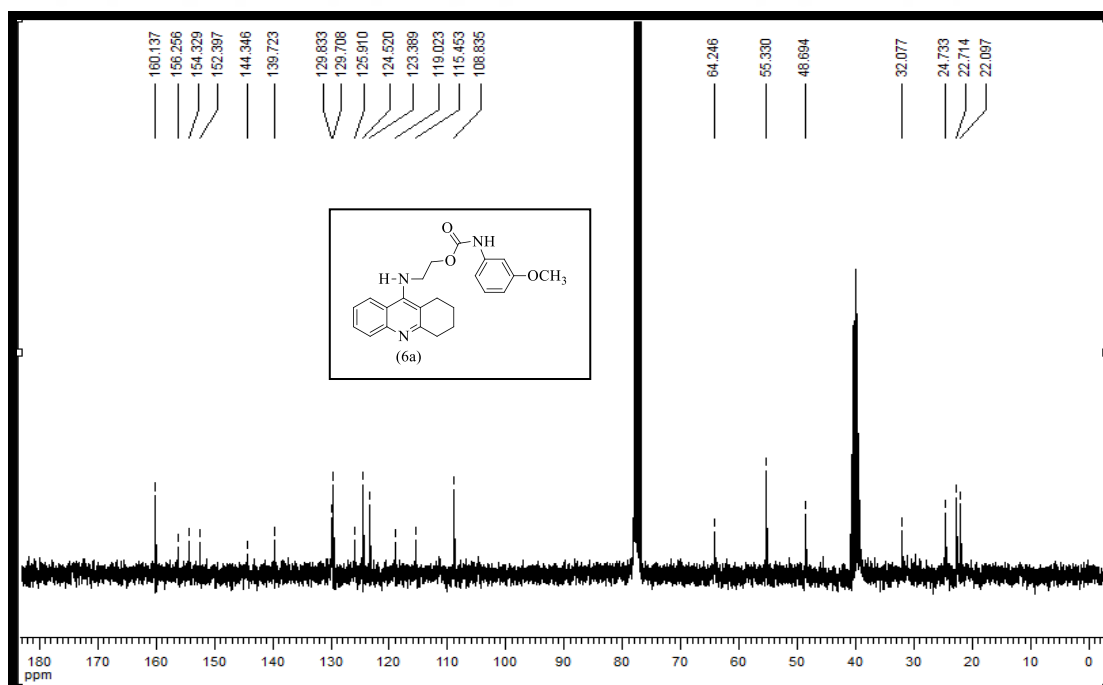
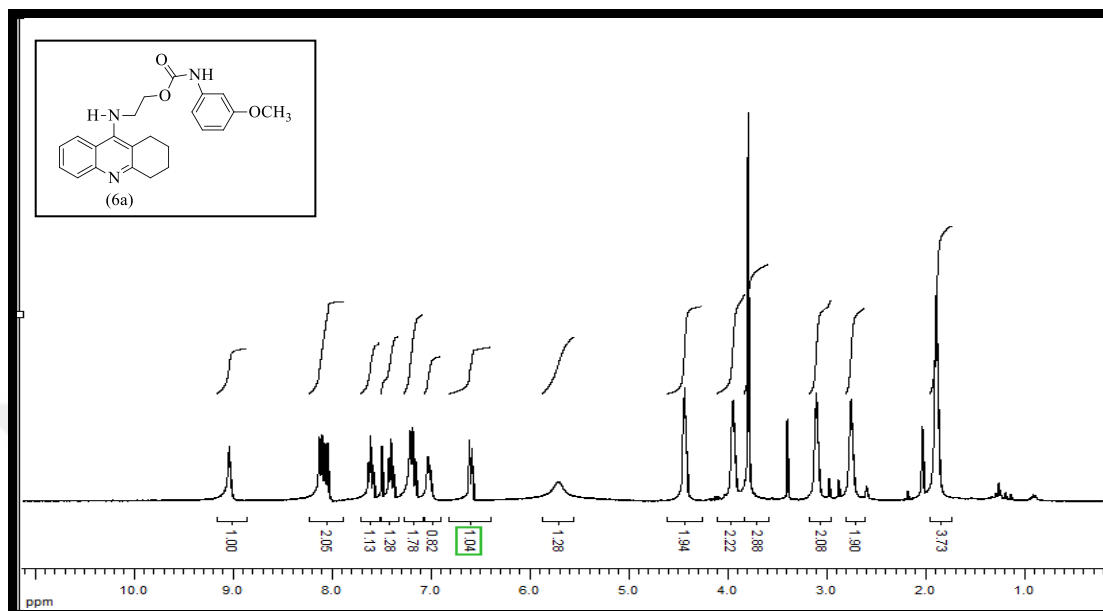


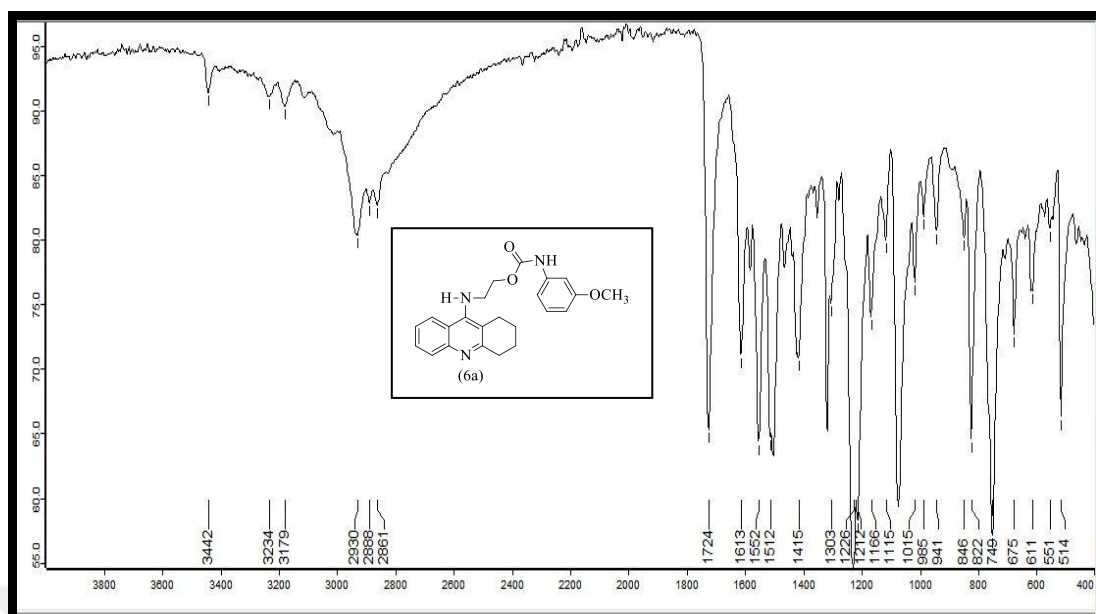
EK 4: 5 Numaralı Bileşiğin ^1H NMR ($\text{CDCl}_3+\text{DMSO}-d_6$), ^{13}C NMR ($\text{CDCl}_3+\text{DMSO}-d_6$) ve IR Spektrumları



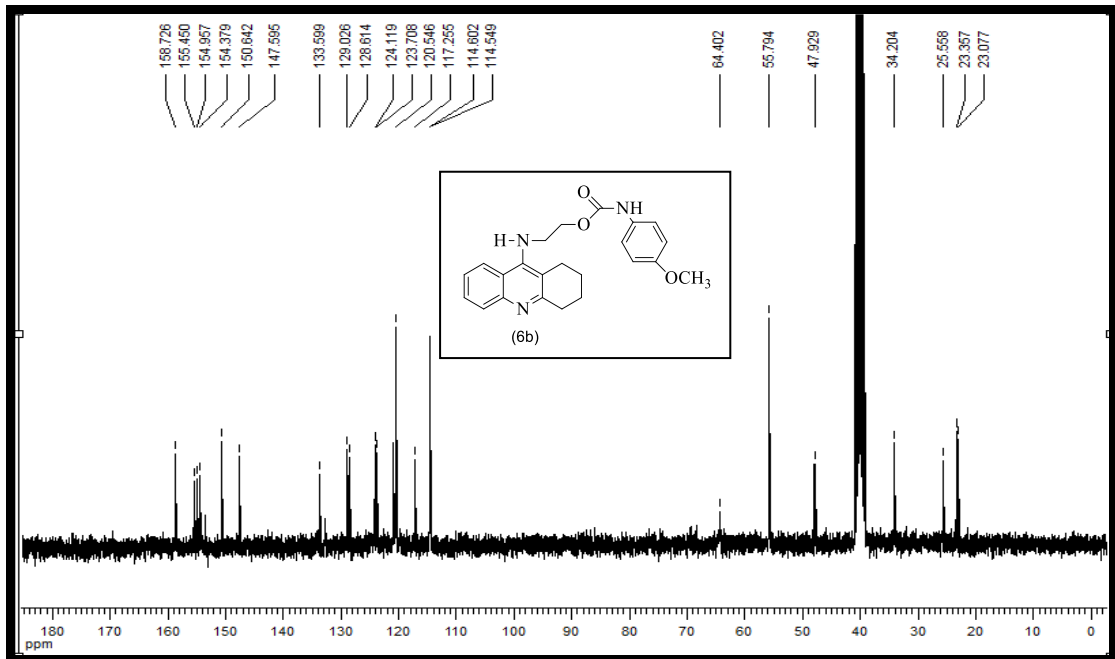
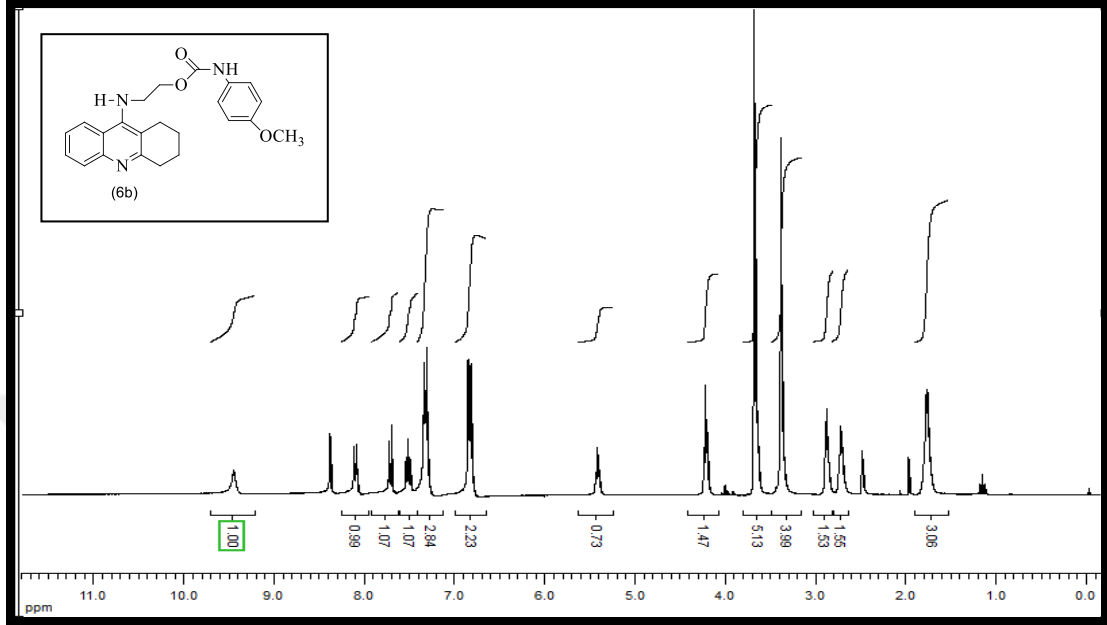


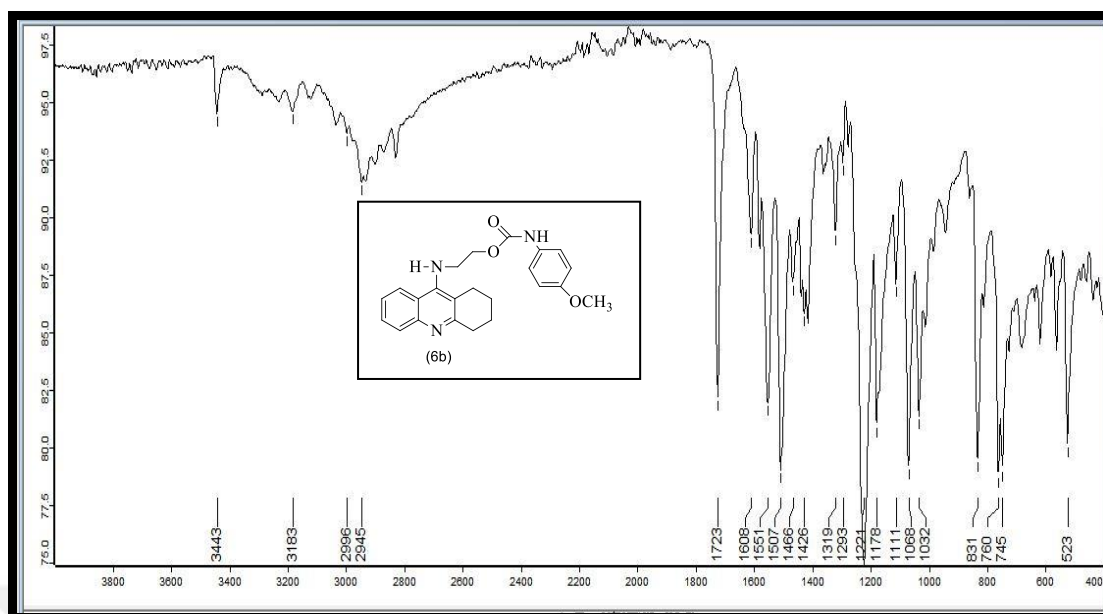
EK 5: 6a Numaralı Bileşiğin ^1H NMR($\text{CDCl}_3+\text{DMSO}-d_6$), ^{13}C NMR ($\text{CDCl}_3+\text{DMSO}-d_6$) ve IR Spektrumları



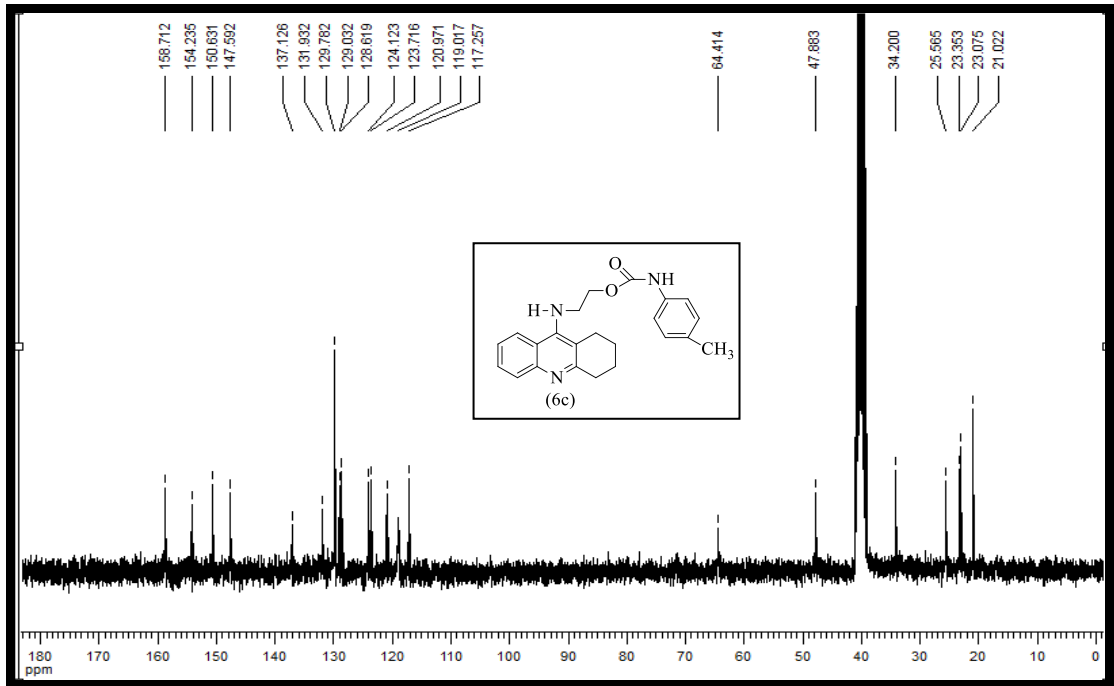
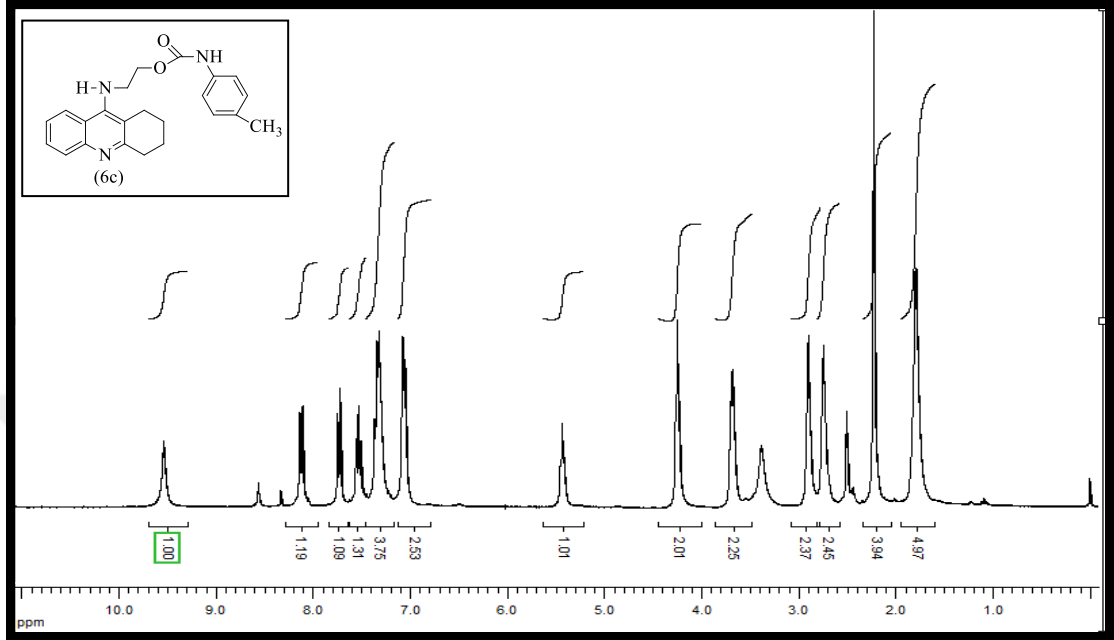


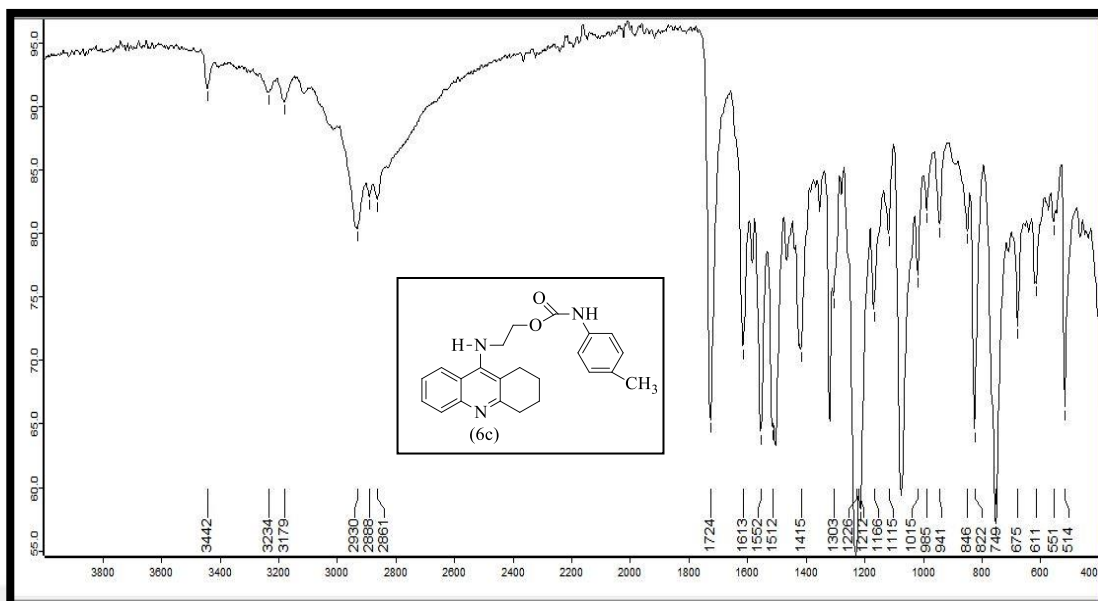
EK 6: 6b Numaralı bileşiğin ^1H NMR (DMSO- d_6), ^{13}C NMR (DMSO- d_6) ve IR Spektrumları

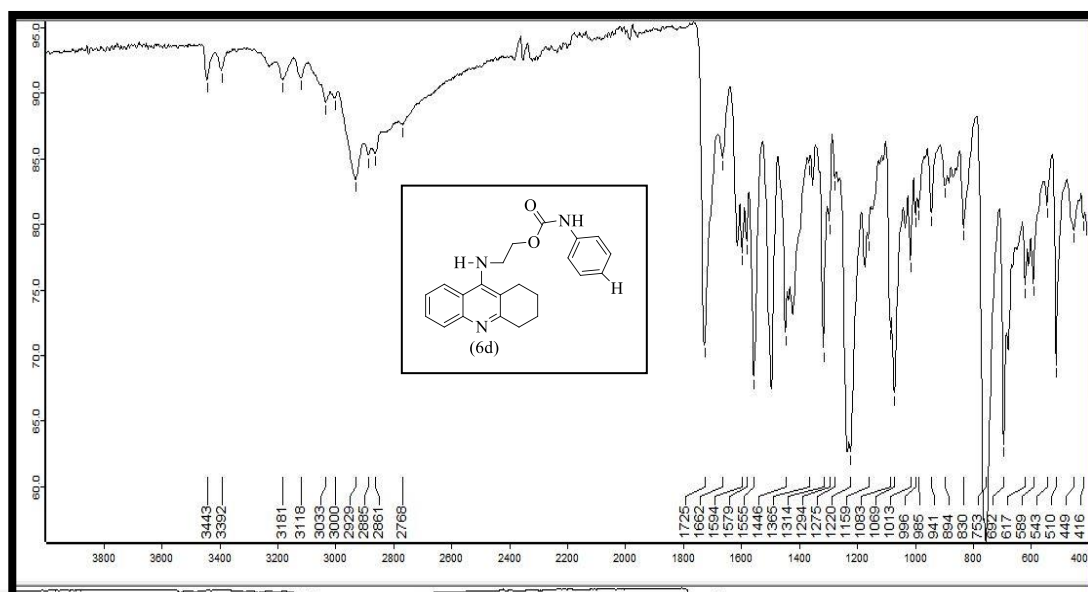




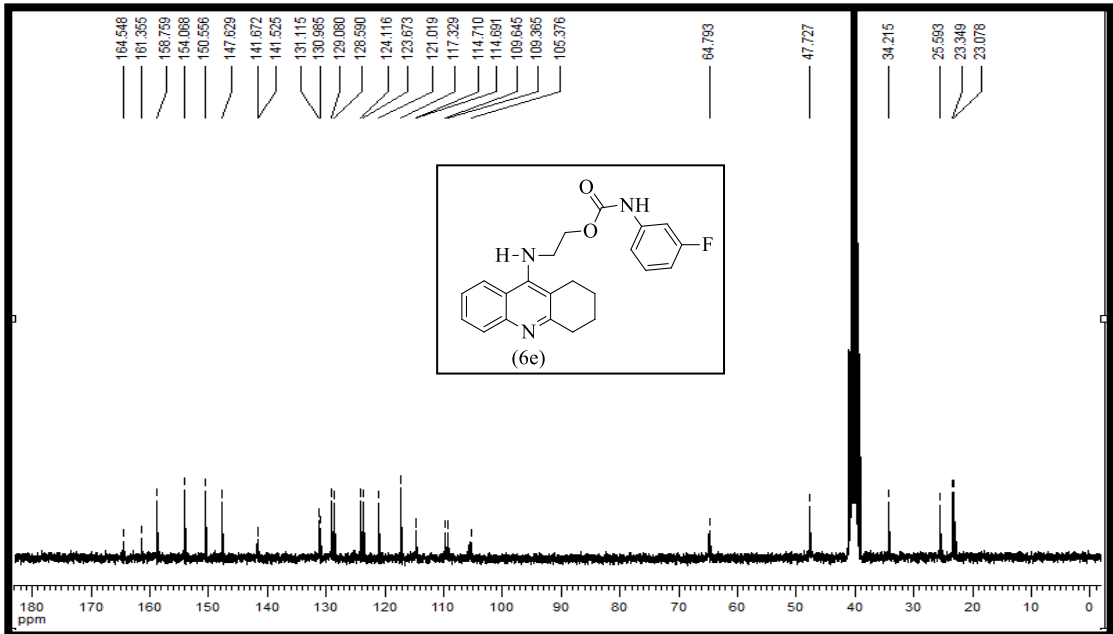
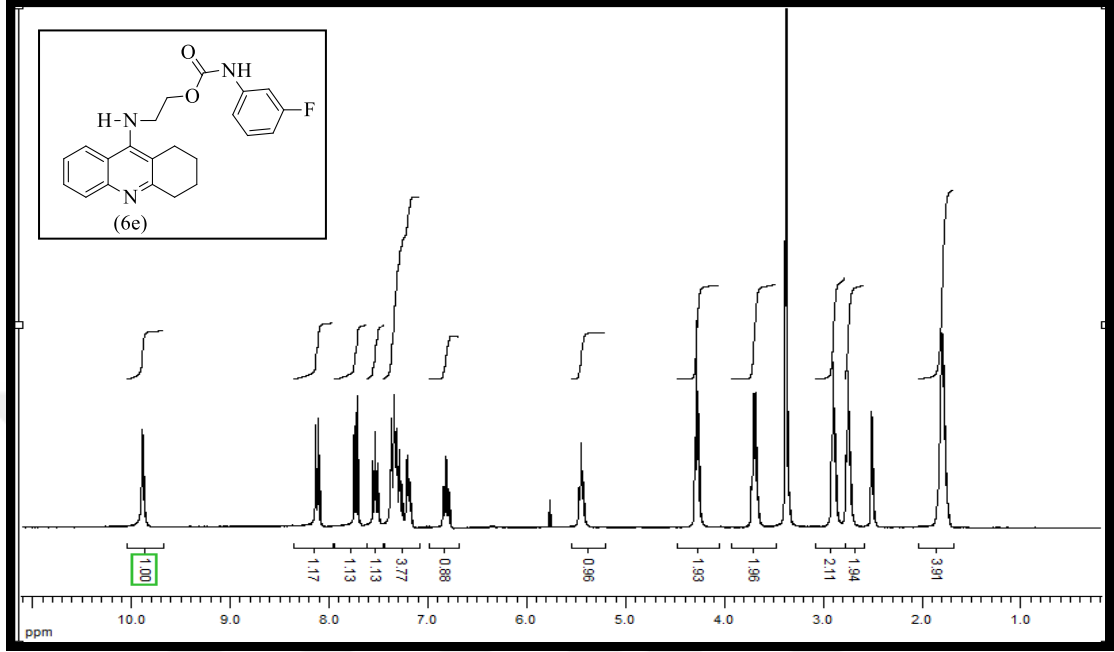
EK 7: 6c Numaralı Bileşiğin ^1H NMR (DMSO- d_6), ^{13}C NMR (DMSO- d_6) ve IR Spektrumları

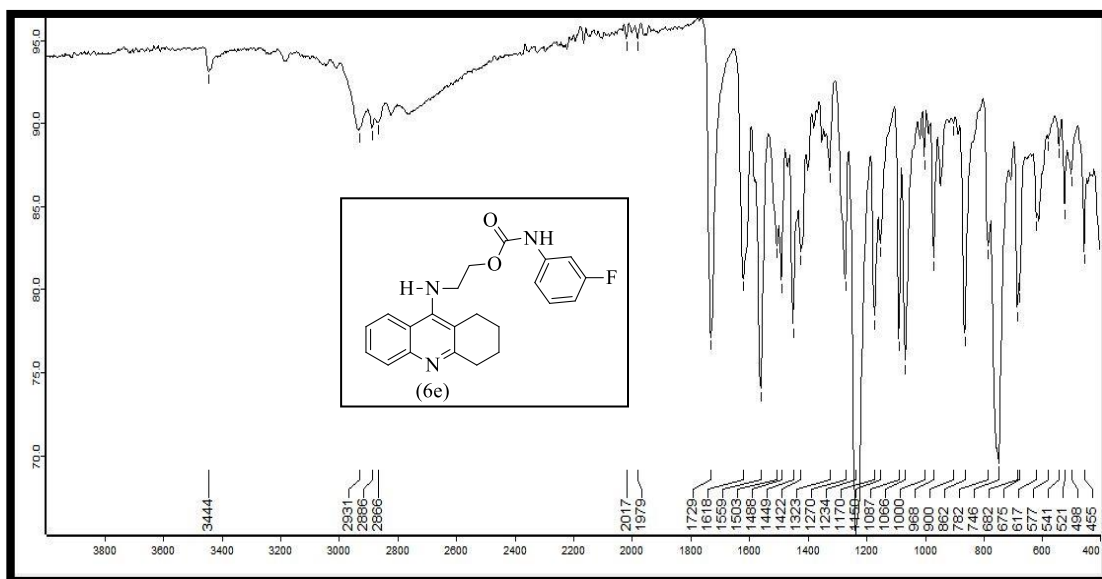




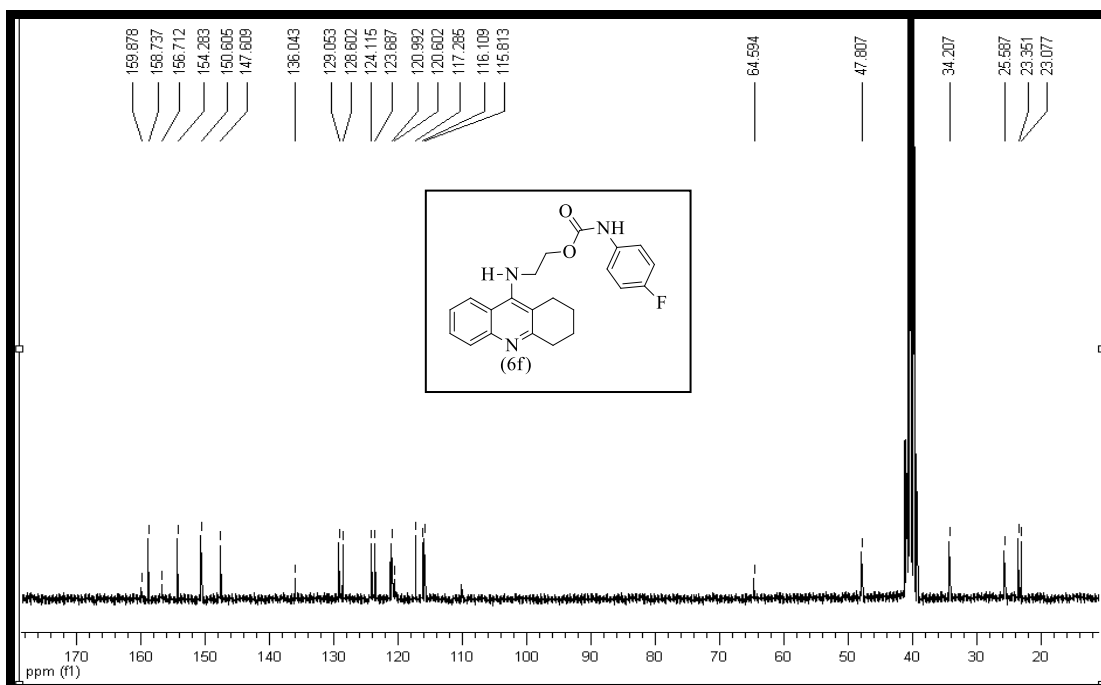
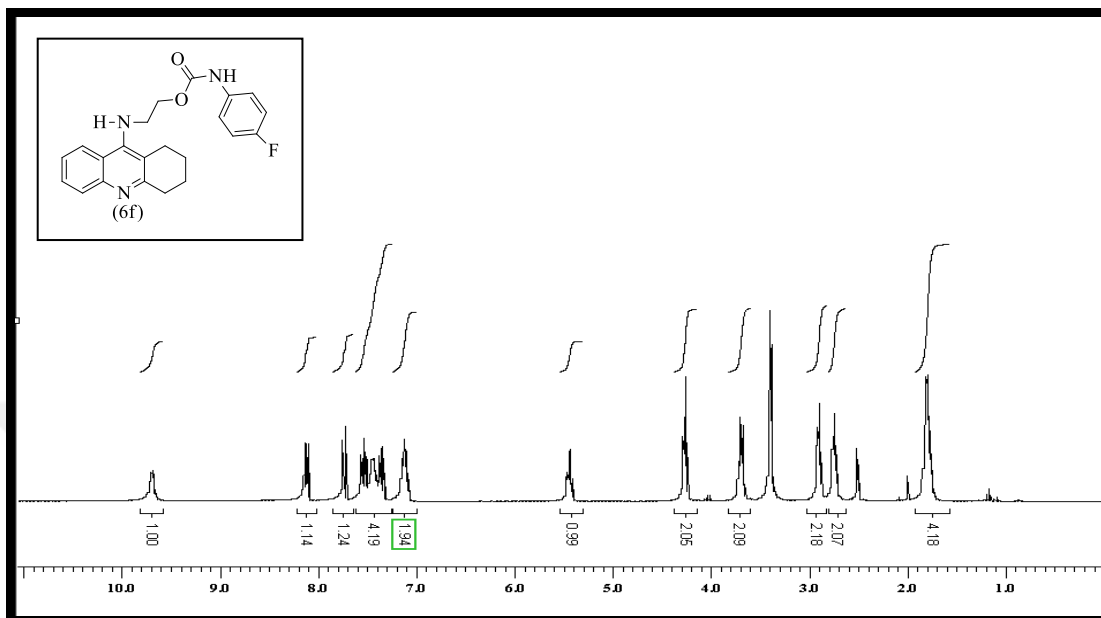


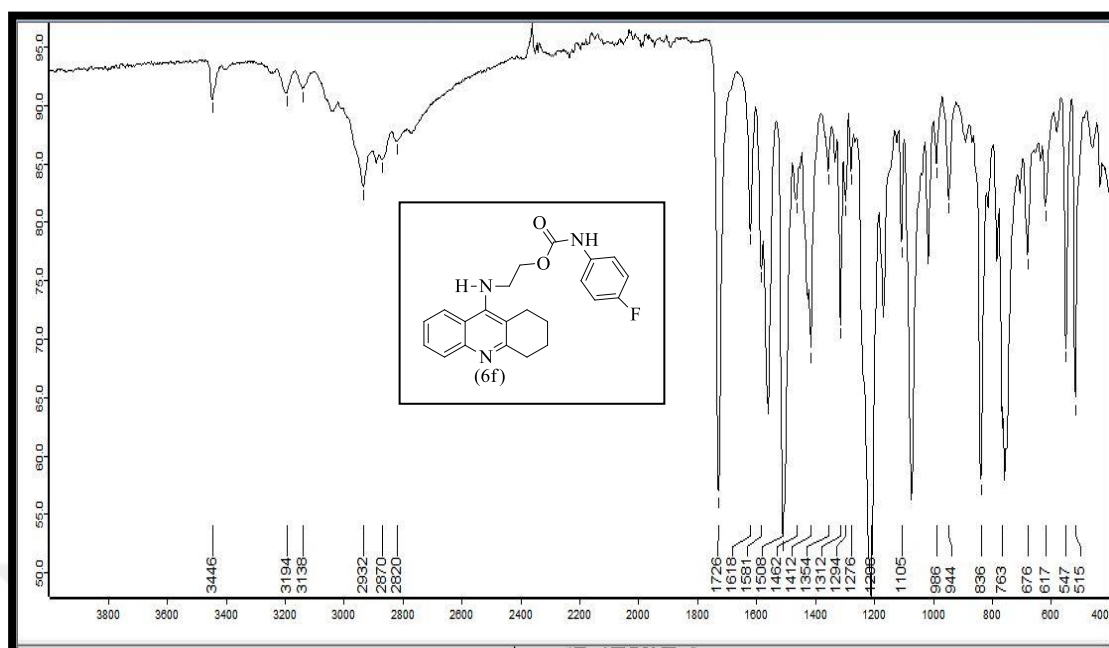
EK 9: 6e Numaralı Bileşiğin ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$), ^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$) ve IR Spektrumları



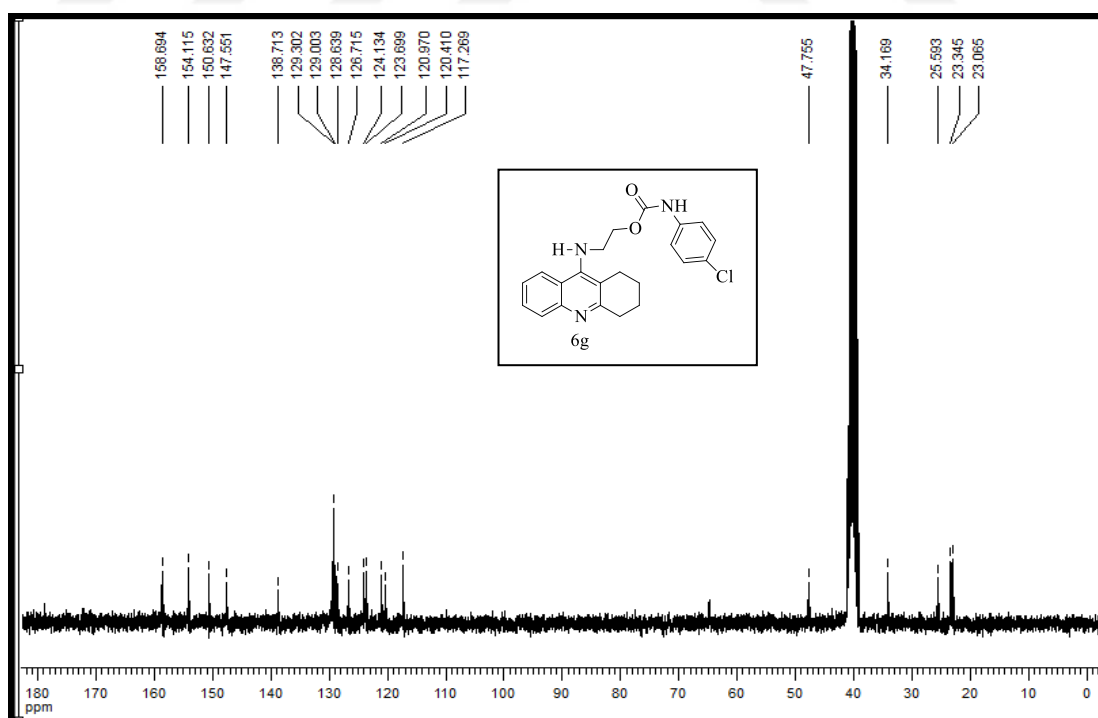
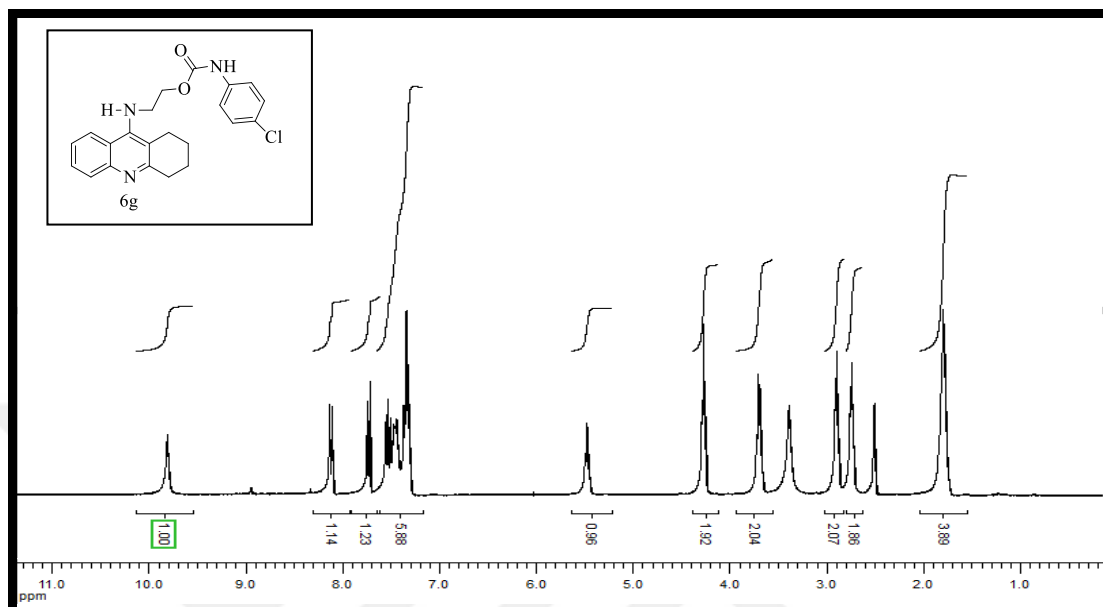


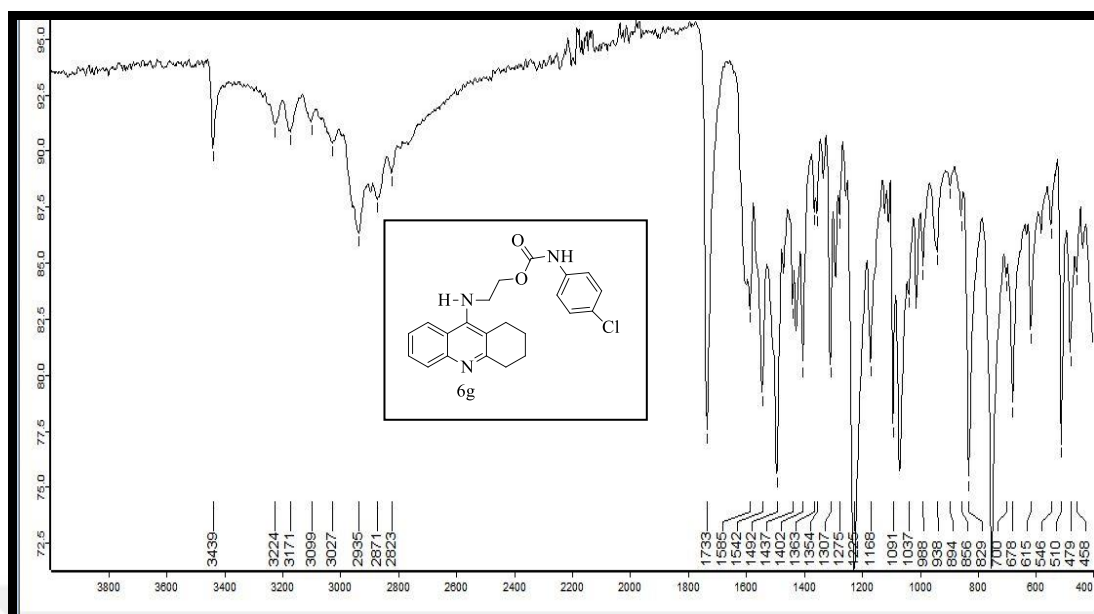
EK 10: 6f Numaralı Bileşiğin ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$), ^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$) ve IR Spektrumları



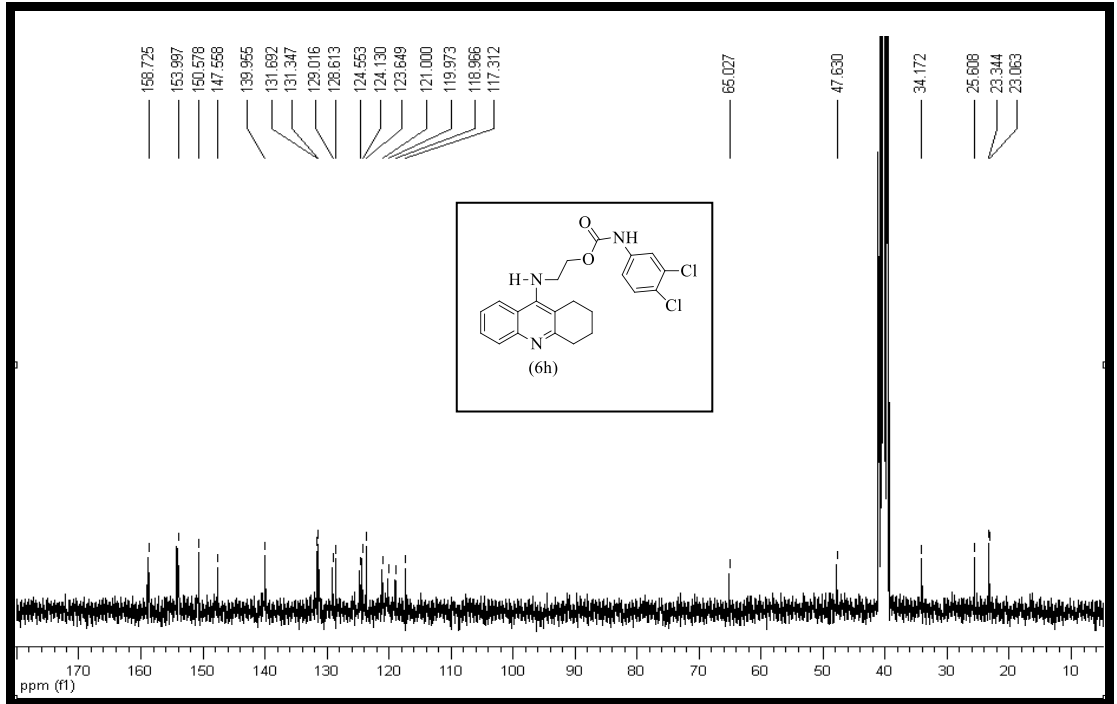
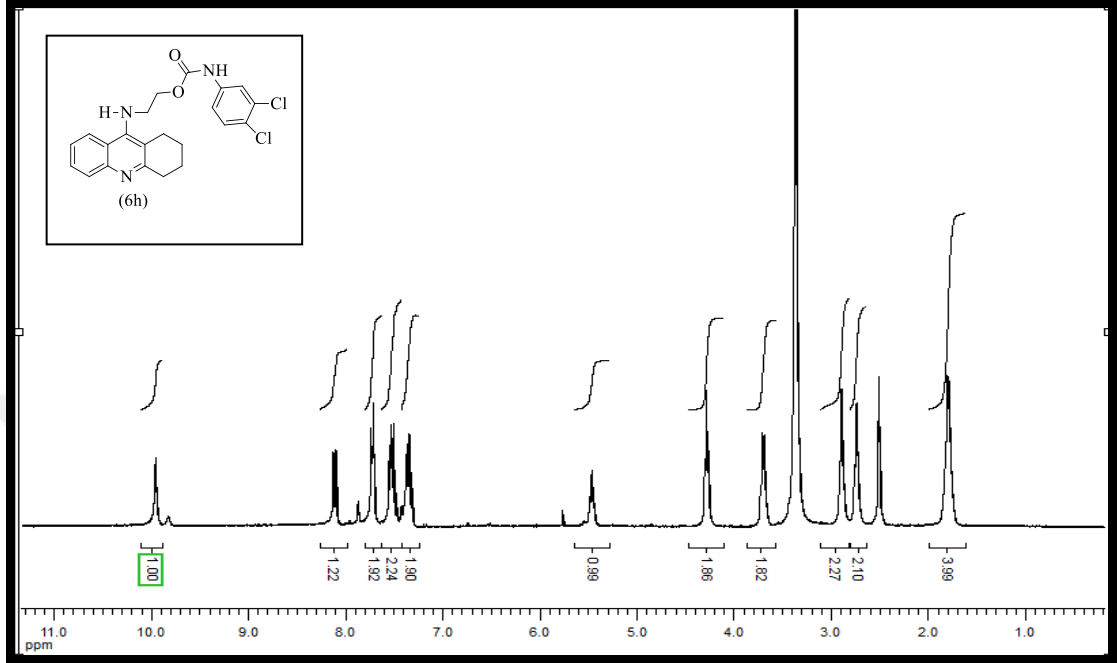


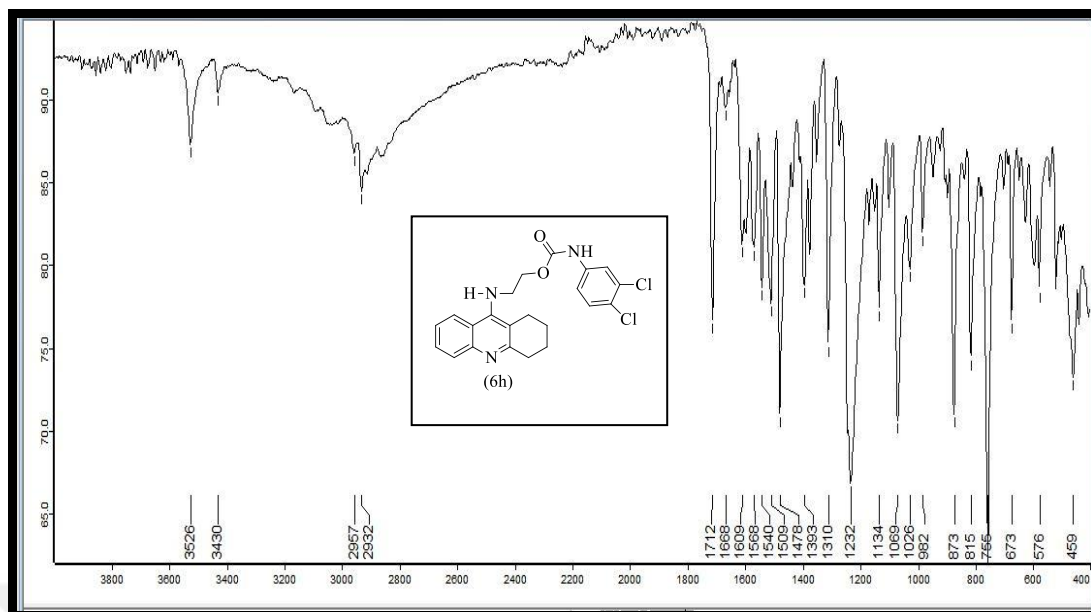
EK 11: 6g Numaralı Bileşiğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$), ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) ve IR Spektrumları



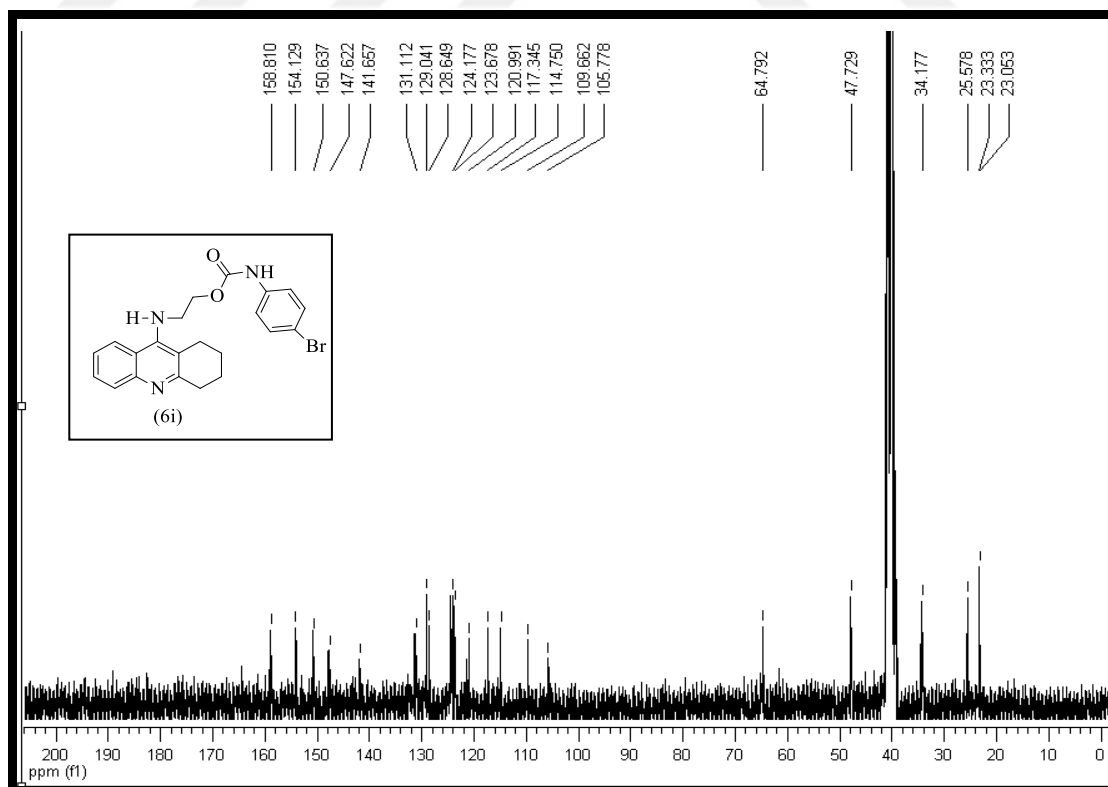
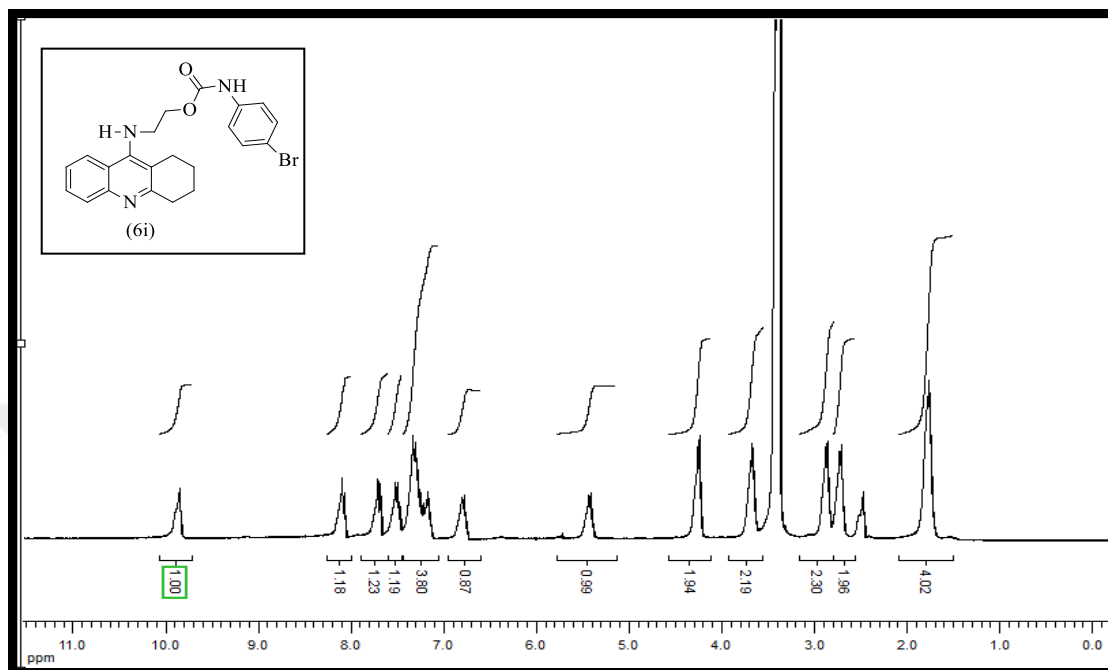


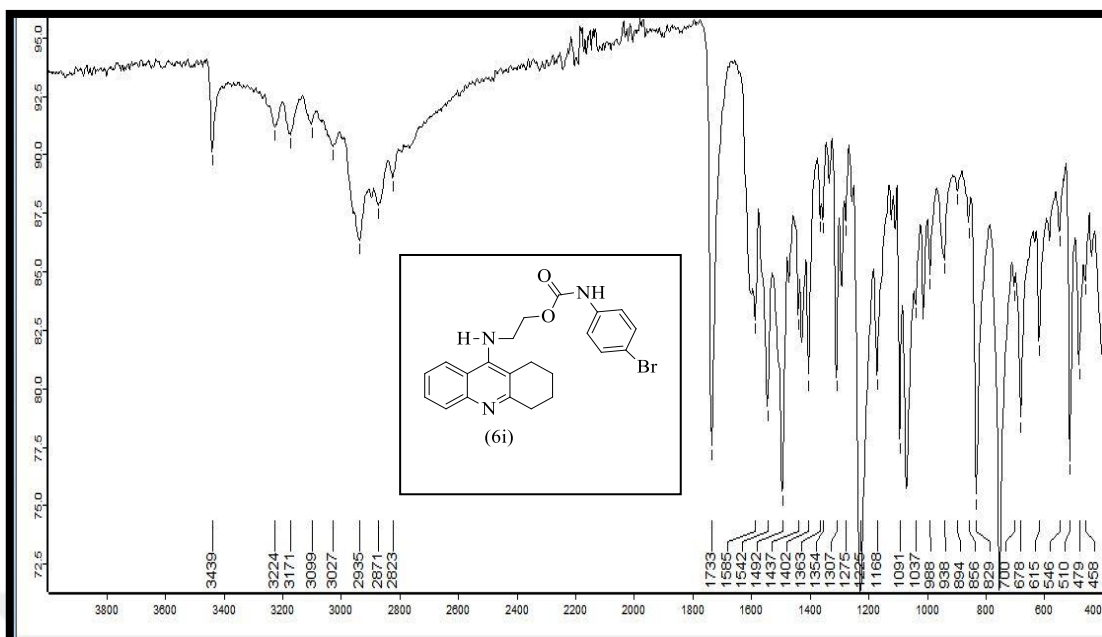
EK 12: 6h Numaralı Bileşiğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$), ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) ve IR Spektrumları



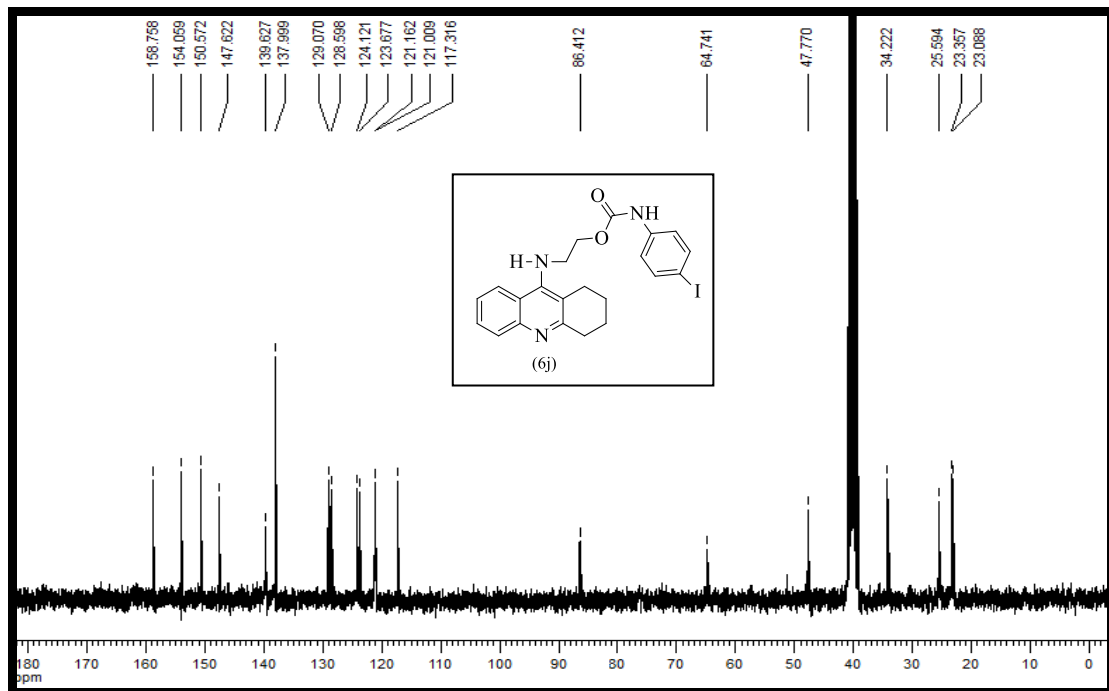
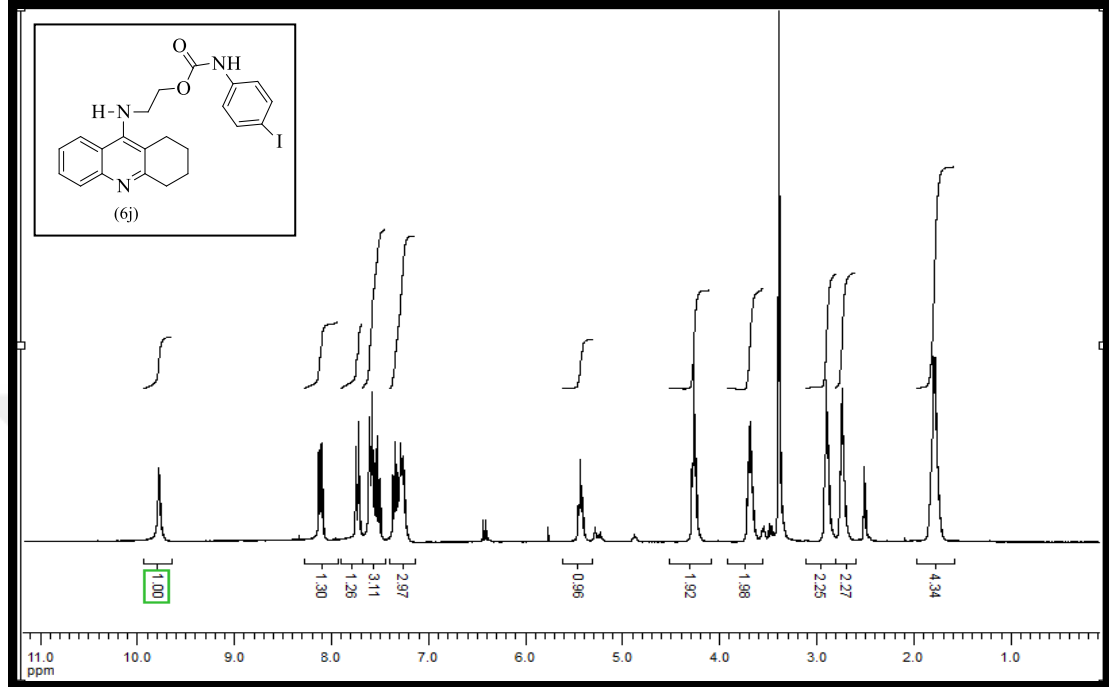


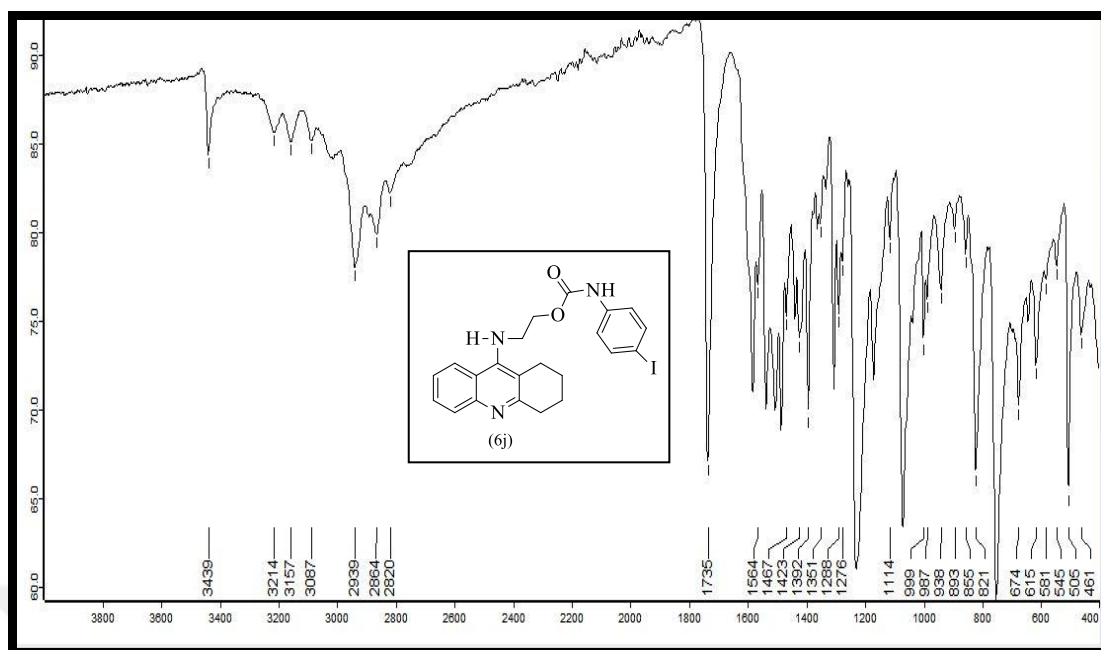
EK 13: 6i Numaralı Bileşiğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$), ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) ve IR Spektrumları



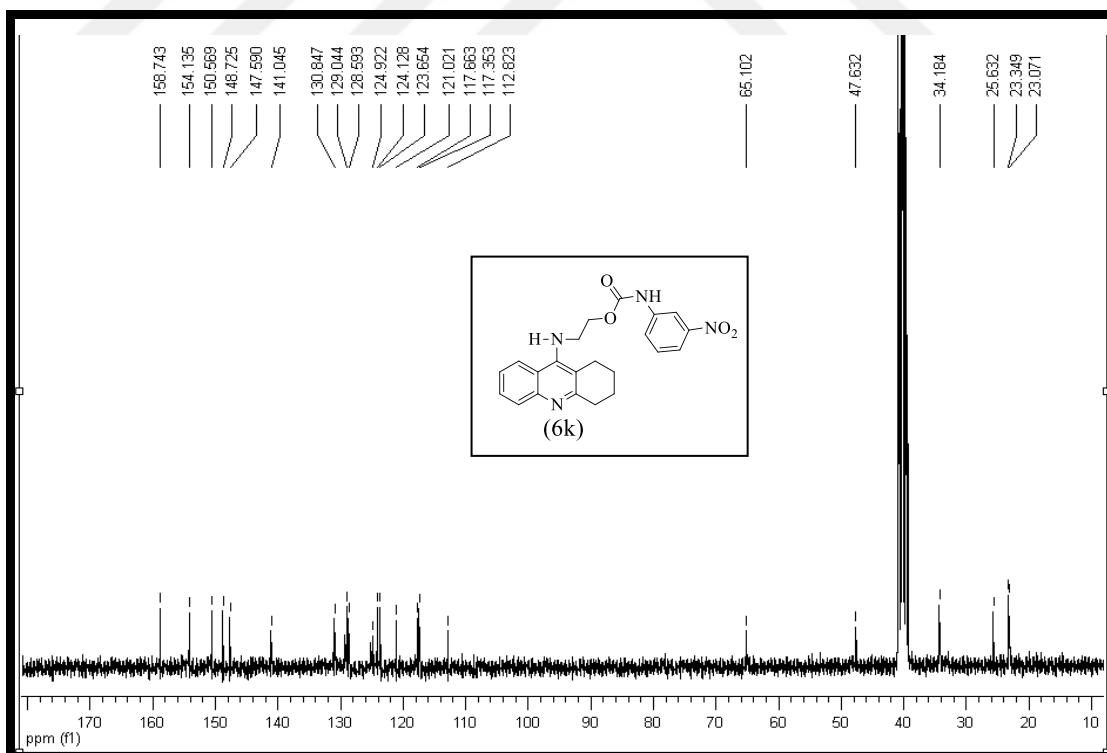
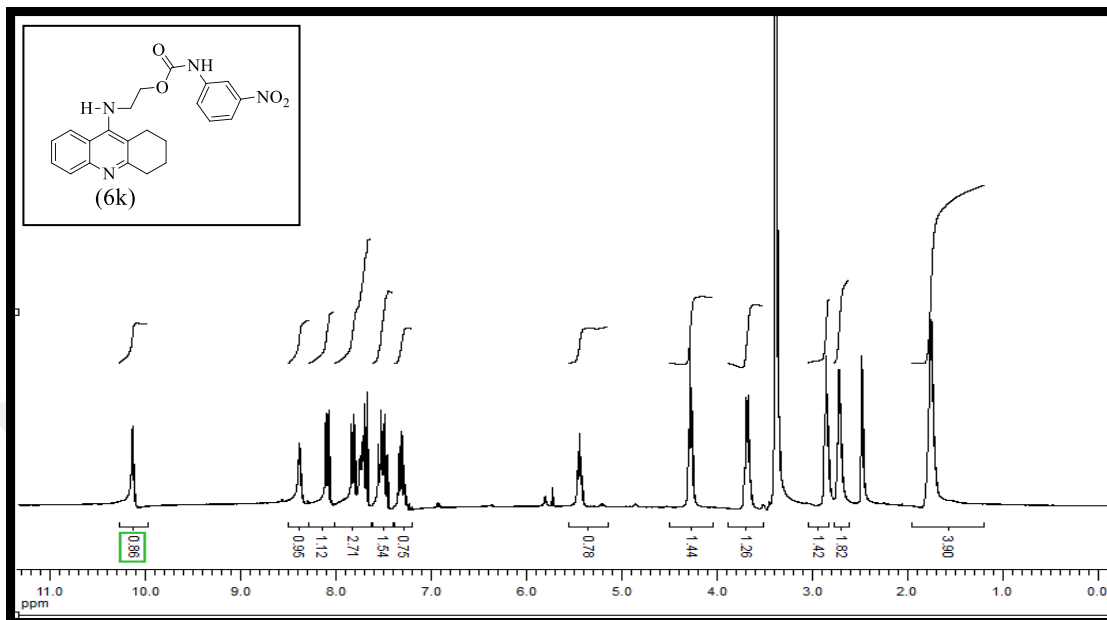


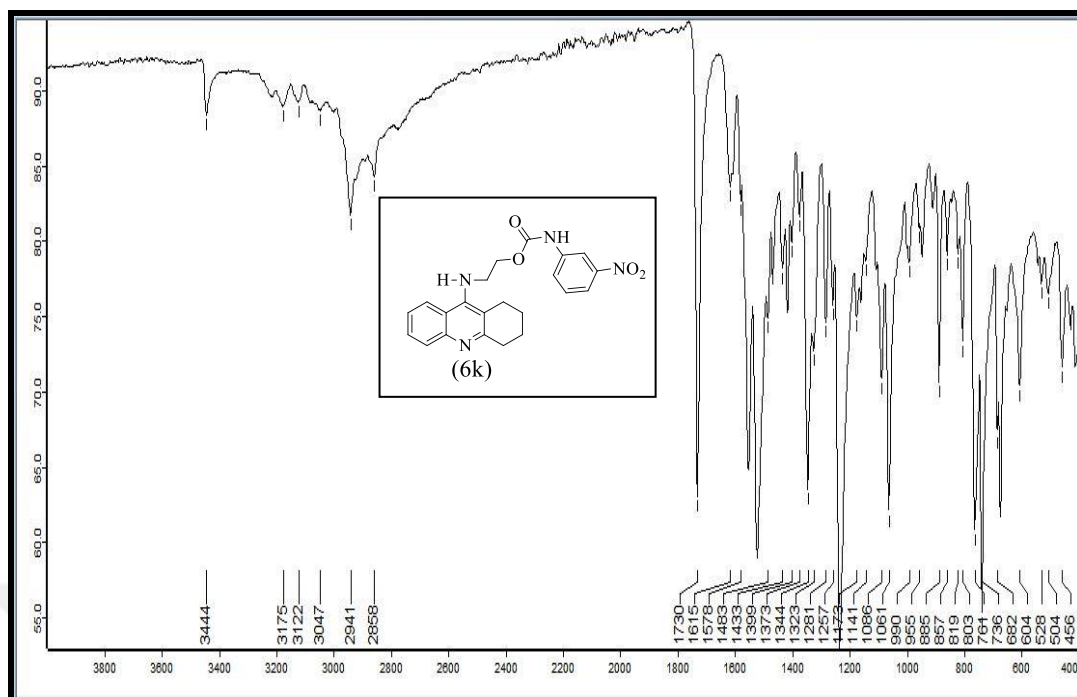
EK 14: 6j Numaralı Bileşiğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$), ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) ve IR Spektrumları



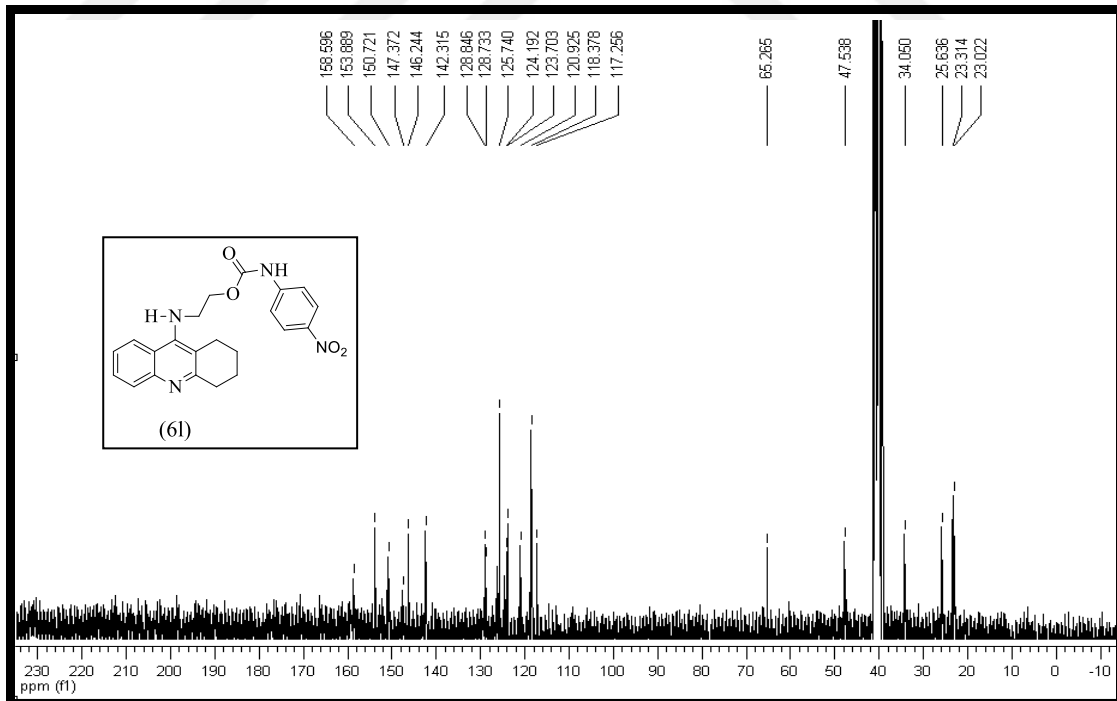
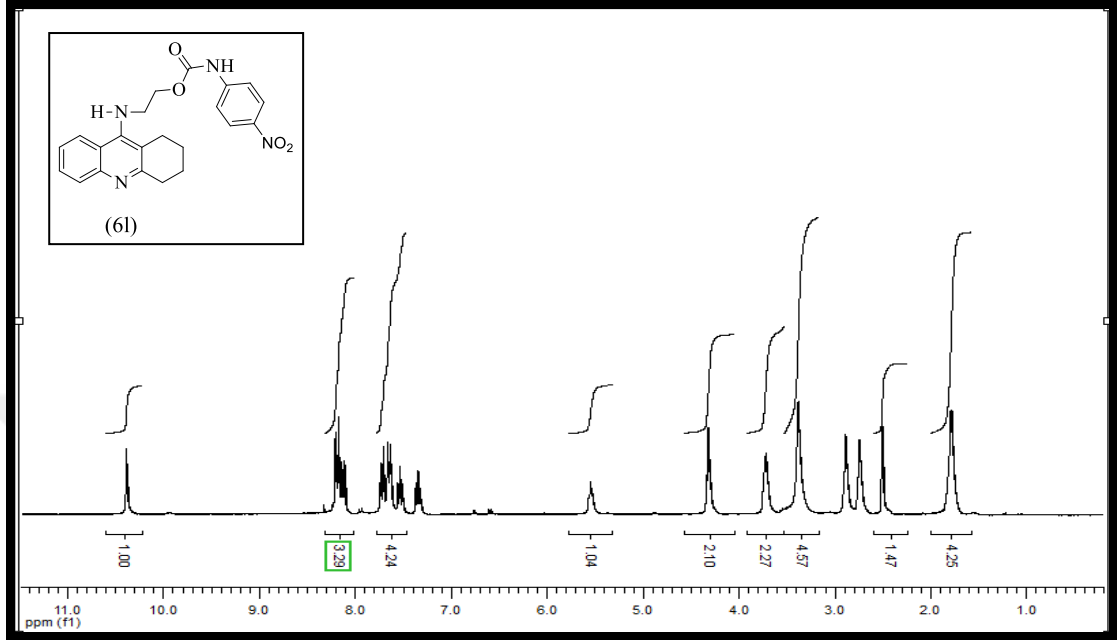


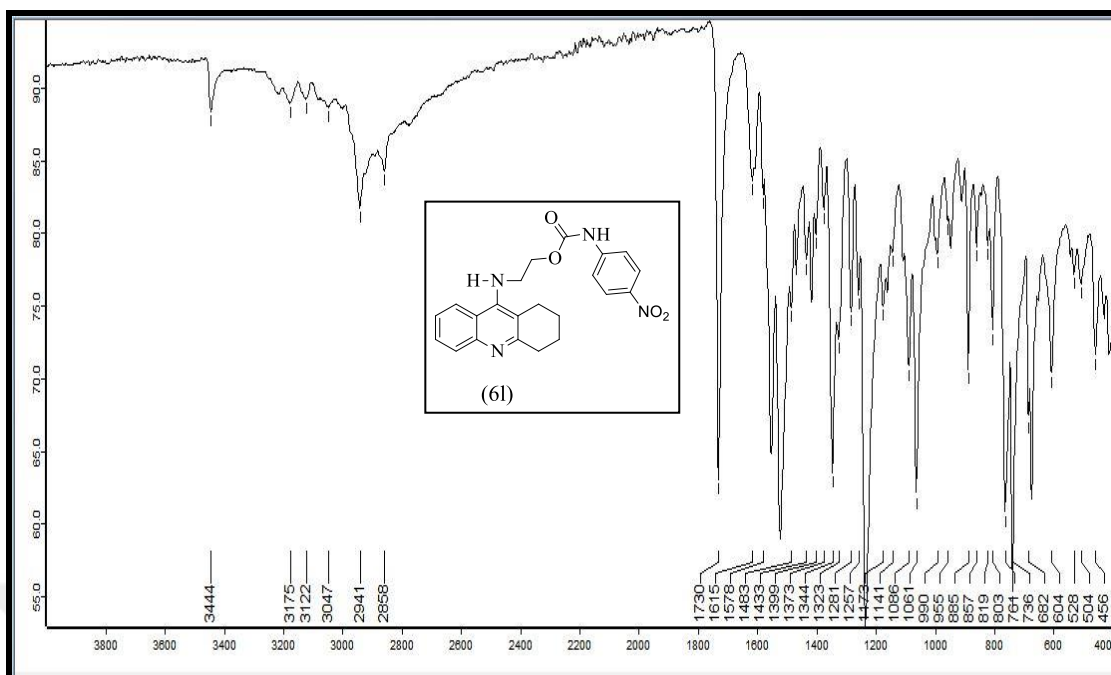
EK 15: 6k Numaralı Bileşiğin ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$), ^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$) ve IR Spektrumları



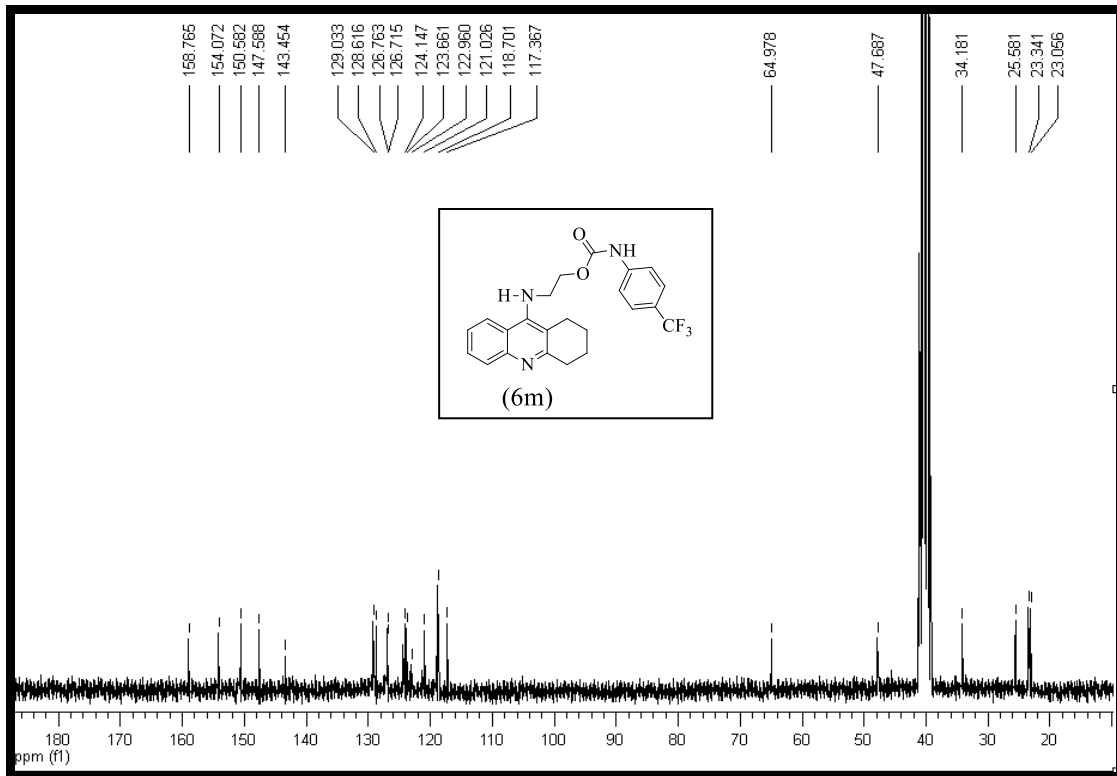
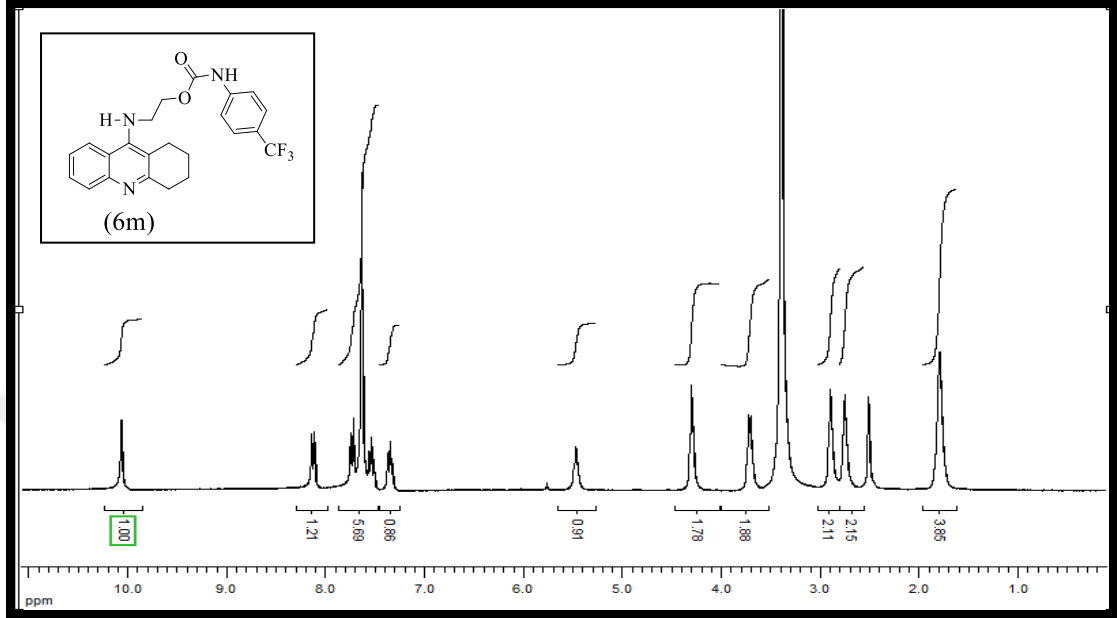


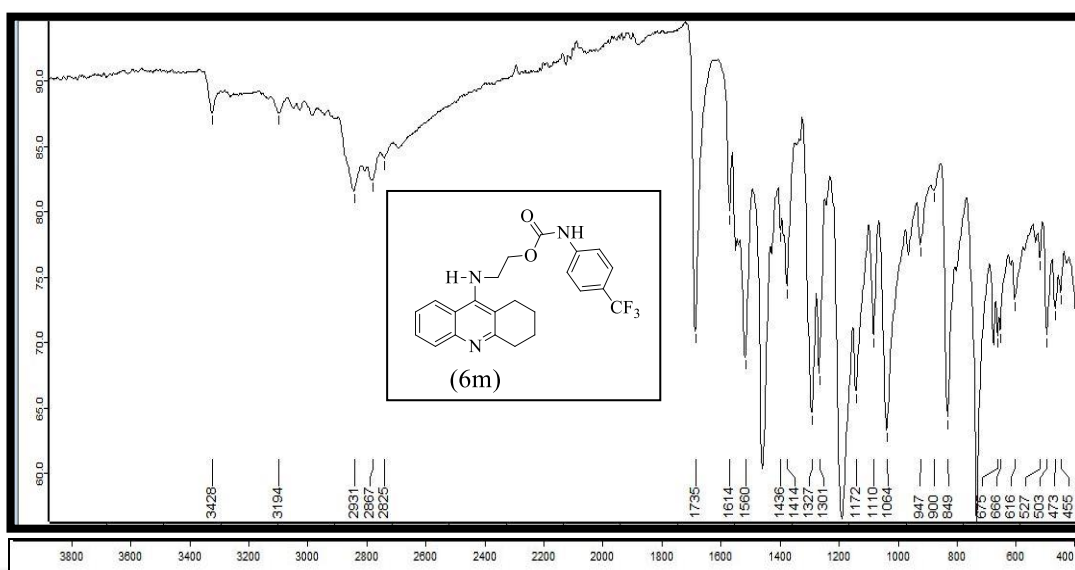
EK 16: 6l Numaralı Bileşiğin ^1H NMR (DMSO- d_6), ^{13}C NMR (DMSO- d_6) ve IR Spektrumları





EK 17: 6m Numaralı Bileşiğin ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$), ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) ve IR Spektrumları





ÖZGEÇMİŞ

Özge Özten, 05.07.1989'da İstanbul'da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini İstanbul'da tamamladı. 2006 yılında Tuzla Lisesi'nden mezun oldu. 2007 yılında başladığı Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Teknolojisi Bölümü'nü 2009 yılında bitirdi. 2010 yılında başladığı Sakarya Üniversitesi Kimya Bölümü'nü 2015 yılında bitirdi. 2015 yılında Sakarya Üniversitesi Kimya Bölümü'nde yüksek lisans eğitimine başladı. Yüksek Lisans Eğitimine Sakarya Üniversitesi Kimya Bölümü'nde devam etmektedir.