



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK
LİSANS
TEZİ

**BAZI 3(2H)-PİRİDAZİNON TÜREVLERİNİN
SENTEZİ VE ASETİLKOLİNESTERAZ
VE BUTİRİLKOLİNESTERAZ İNHİBİTÖRÜ
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

ALP GİRAY AKDEMİR

FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

OCAK 2020



**BAZI 3(2H)-PİRİDAZİNON TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE
ASETİLKOLİNESTERAZ VE BUTİRİLKOLİNESTERAZ İNHİBİTÖRÜ
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Alp Giray AKDEMİR

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

OCAK 2020

ETİK BEYAN

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

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,

Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Alp Giray AKDEMİR

09.01.2020

BAZI 3(2H)-PİRİDAZİNON TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE ASETİLKOLİNESTERAZ
VE BUTİRİLKOLİNESTERAZ İNHİBİTÖRÜ AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI
(Yüksek Lisans Tezi)

Alp Giray AKDEMİR

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Ocak 2020

ÖZET

Alzheimer Hastalığı (AH) ilk olarak Alman patolog Alois Alzheimer tarafından 1906 yılında tanımlanmıştır. AH 21. Yüzyılın başından beri yaşlı bireylerde en yaygın demans formu olarak kabul edilmektedir. 2016 yılında Dünya çapında 47,5 milyondan fazla insanın demansla yaşadığı tahmin edilmektedir. 2030'a kadar bu sayının 75,6 milyona kadar çıkacağı tahmin edilmektedir. AH genelde genç yetişkinliğin ortalarında ortaya çıkan nörodejeneratif bir bozukluktur. AH'nın konvansiyonel farmakoterapisinde ACh esterazı inhibe edecek ilaçlar kullanılmaktadır ve böylelikle de beyindeki ACh seviyeleri artar. Bu çalışmada, antikolinesteraz ve antimikrobiyal aktivite göstermesini beklediğimiz 3(2H)-piridazinon türevi yeni 8 bileşiğin sentezi yapılmıştır. Bileşikler glioksalik asit ve asetofenon türevlerinden hareketle sentezlenmiştir. İlk basamakta elde edilen 6-sübstiüefenil-3(2H)-piridazon ile etil bromoasetat ile bazik ortamdaki reaksiyonu sonucu ester türevi oluşturulmuştur. Ester yapısındaki piridazinon bileşiğinin hidrazin hidrat ile reaksiyonundan ise asetohidrazit türevi elde edilmiş, elde edilen bu bileşik ile çeşitli sübstiüe ve nonsübstiüe benzaldehitlerin reaksiyonu sonucunda da benzalhidrazon türevi sonuç bileşiklerine ulaşılmıştır. Bileşiklerin antikolinesteraz aktiviteleri Ellman yöntemine göre yapılmış; Bileşik IVg 200 µg/ml dozda %81.89 enzim inhibisyonu yaparak en yüksek AChE inhibitörü aktivite göstermiştir. Sentezlenen bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteleri de tayin edilmiştir. Bileşiklerin hepsi ılımlı antimikrobiyal aktivite göstermişlerdir. Bileşiklerin antifungal aktivitesi antibakteriyal aktivitelerinden daha yüksek bulunmuştur.

Bilim Kodu : 1019
Anahtar Kelimeler : Alzheimer, Antimikrobiyal, Benzalhidrazon, Piridazinon
Sayfa Adedi : 145
Danışman : Prof. Dr. Mehtap UYSAL

SYNTHESIS OF SOME 3(2*H*)-PYRIDAZINONE DERIVATIVES AND
INVESTIGATION OF THEIR ACETYLCHOLINESTERASE AND
BUTYRYLCHOLINESTERASE ACTIVITY

(M. Sc. Thesis)

Alp Giray AKDEMİR

GAZI UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

January 2020

ABSTRACT

Alzheimer's Disease (AD) was first described by German pathologist Alois Alzheimer in 1906. AD has been accepted as the most common form of dementia in elderly individuals since the beginning of the 21st century. In 2016, it is estimated that more than 47.5 million people worldwide live with dementia. AD is usually a neurodegenerative disorder that occurs in mid-adult adulthood. In conventional pharmacotherapy of AD, drugs that inhibit ACh esterase are used, thereby increasing ACh levels in the brain. In this study, 8 new 3(2*H*)-pyridazinone derivatives which are expected to show anticholinesterase and antimicrobial activities have been synthesized. Compounds have been synthesized starting from glyoxalic acid and acetophenone derivatives. Ester derivative was obtained from the reaction of the resulting lactam compound with ethyl bromoacetate. After that acetohydrazide derivative was constituted by reaction of this ester derivative compound with hydrazine hydrate and the acetohydrazide were changed to title compounds which have benzalhydrazone structure by using substituted/nonsubstituted benzaldehydes. Yields, melting points, physical properties, values in thin-layer chromatography were determined. Their structures have been confirmed by IR, ¹H-NMR, ¹ and Mass spectral data. Anticholinesterase activity of the compounds was determined according to the Ellman's method in Gazi University Faculty of Pharmacy Department of Pharmacognosy. Compound IVg showed the highest AChE inhibitory activity by inhibiting 81.89 % enzyme at dose of 200 µg / ml. Antimicrobial activities of the compounds were also determined. All of the synthesized compounds showed moderate antimicrobial activity. Antifungal activity of compounds were found more active than antibacterial activity.

Science Code : 1019

Key Words : Alzheimer, Antimicrobial, Benzalhydrazone, Pyridazinone

Page Number : 145

Supervisor : Prof. Dr. Mehtap UYSAL

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans Eğitimim boyunca ilminden faydalandığım, insani ve ahlaki değerleri ile de örnek edindiğim, yanında çalışmaktan onur duyduğum çok değerli hocam Prof. Dr. Mehtap UYSAL'a tez çalışmalarımda yol gösterici ve özverili yardımlarından ve tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı teşekkür ederim.

Çalışmalarımda tecrübelerini ve bilgilerini benimle paylaşan yakın ilgi, büyüklük ve desteğini esirgemeyen Farmasötik Kimya Ana Bilim Dalı Başkanı değerli hocam Prof. Dr. Erden BANOĞLU'na, güleryüzlü, anlayışlı Hocam Doç. Dr. Azime Berna ÖZÇELİK'e ve anabilim dalımızın çok değerli hocalarına, asistan kardeşlerime, bugünlere gelmemde emeklerini asla ödeyemeyeceğim annem ve babama, sevgili eşim Ülkü ve canım kızlarıma teşekkür eder, şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	11
2.1. Piridazinon Halkasının Farmakolojik Olarak Değerlendirilmesi.....	11
2.1.1. Piridazinon türevlerinin Antienflamatuar ve Analjezik aktivitesi	13
2.1.2. Piridazinon türevlerinin Antikanser aktivitesi	20
2.1.3. Piridazinon türevlerinin Antiviral aktivitesi	29
2.1.4. Piridazinon türevlerinin Antimikrobiyal aktivitesi	33
2.1.5. Piridazinon türevlerinin kardiyovasküler aktivitesi	36
2.1.6. Piridazinon türevlerinin Antitüberküler aktivitesi	41
2.1.7. Piridazinon türevlerinin Antiobezite aktivitesi	42
2.1.8. Piridazinon türevlerinin Antidiyabetik aktivitesi	44
2.1.9. Piridazinon türevlerinin Nöroprotektif aktivite.....	44
2.1.10. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri	46
2.2. Alzheimer Hastalığının Tedavisinde Kullanılan İlaçlar ve Yeni Gelişmeler.....	57
2.2.1. Asetilkolin.....	63
2.2.2. Kolinesteraz enzimleri	66
2.2.3. Kolinesteraz enzim inhibitörü ilaçlar	69

	Sayfa
2.2.4.Yeni geliştirilen kolinesteraz inhibitörleri	74
3. GEREÇ VE YÖNTEM	87
3.1. Kimyasal Çalışmalar	87
3.1.1. Kimyasal bileşikler	87
3.1.2. Sentez yöntemleri.....	87
3.1.3. Analitik yöntemler	88
3.2. Antikolinesteraz Aktivite Tayini.....	90
3.2.1. Materyal	90
3.2.2. Yöntem.....	90
3.3. Antifungal ve Antibakteriyel Aktivite Tayin Yöntemleri	91
3.3.1. Dilüsyon yöntemi	92
3.3.2. Difüzyon yöntemi.....	93
4. BULGULAR	95
4.1. Kimyasal Çalışmalar	95
4.1.1. 6-(4-Klorofenil) -3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2-(triflorometilfenilbenzal) hidrazon IVa.....	95
4.1.2. 6-(4-Klorofenil) -3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2-(2,4-diklorofenilbenzal) hidrazon IVb.....	96
4.1.3. 6-(4-Klorofenil) -3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2-(p-izopropilfenilbenzal) hidrazon IVc.....	97
4.1.4. 6-(4-Klorofenil) -3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2-(p-benziloksifenilbenzal) hidrazon IVd.....	98
4.1.5. 6-(4-Bromofenil) -3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil- 2-(p-triflorometilfenilbenzal) hidrazon IVe	99
4.1.6. 6-(4-Bromofenil) -3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil- 2-(2,4-diklorofenilbenzal) hidrazon IVf	100
4.1.7. 6-(4-Bromofenil) -3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil- 2-(4-izopropilfenillbenzal) hidrazon IVg.....	101
4.1.8. 6-(4-Bromofenil) -3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil- 2-(4-benziloksifenilbenzal) hidrazon IVh.....	102

	Sayfa
4.2. Antikolinesteraz Aktivite	103
5. SONUÇ VE TARTIŞMA.....	105
5.1. Kimyasal Çalışmalar	107
5.2. Sentezi Yapılan Bileşiklerin Yapılarının Aydınlatılması.....	112
5.2.1. IR spektrumları	112
5.2.2. ¹ H-NMR Spektrumları	113
5.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	113
5.3.1. AChE/BChE inhibitör aktivite	113
5.3.2. Antifungal-antibakteriyel aktivite	114
KAYNAKLAR	115
ÖZGEÇMİŞ	145

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 1.1. Sentezi yapılan bileşiklerin yapıları.....	10
Çizelge 4.1. 6-Süstitüe-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2- (süstitüe benzal) hidrazon (IVa-h) Bileşiklerin AChE ve BChE inhibisyon yüzdeleri	103
Çizelge 5.1. Sentezi yapılan 6-Süstitüe-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2- (süstitüe benzal) hidrazon (IVa-h) türevleri	107

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Asetilkolin esteraz inhibitörü olarak kullanılan ilaçlar.....	2
Şekil 1.2. Asetilkolin esteraz inhibitörü ilaçların genel yapısı	3
Şekil 1.3. Linezolid yapısı	7
Şekil 1.4. Florokinon türevi antibiyotiklerin genel yapısı	7
Şekil 1.5. Benzofuran türevleri antibiyotikler.....	8
Şekil 1.6. Eperozolid yapısı	8
Şekil 1.7. Florokinon türevi antibiyotikler.....	9
Şekil 1.8. 1-[Bis(4-florofenil) metil] piperazin türevi antibakteriyal bileşikler.....	9
Şekil 1.9. Oksazolidinon türevi antibakteriyel ilaçlar.....	9
Şekil 2.1. Piridazinon halkası taşıyan Farmakolojik ajanlar.....	12
Şekil 2.2. Antiinflamatuvar ve Analjezik etkili piridazinon türevleri	15
Şekil 2.3. Antiinflamatuvar ve Analjezik etkili piridazinon türevleri	17
Şekil 2.4. Antiinflamatuvar ve Analjezik etkili piridazinon türevleri	18
Şekil 2.5. Antiinflamatuvar ve Analjezik etkili piridazinon türevleri	19
Şekil 2.6. Antiinflamatuvar ve Analjezik etkili piridazinon türevler.....	20
Şekil 2.7. Antikanser etkili piridazinon türevleri.....	22
Şekil 2.8. Antikanser etkili piridazinon türevleri.....	24
Şekil 2.9. Antikanser etkili piridazinon türevleri.....	26
Şekil 2.10. Antikanser etkili piridazinon türevleri.....	27
Şekil 2.11. Antikanser etkili piridazinon türevleri.....	28
Şekil 2.12. Antikanser etkili piridazinon türevleri.....	29
Şekil 2.13. Antiviral etkili piridazinon türevleri.....	31
Şekil 2.14. Antiviral etkili piridazinon türevleri.....	32
Şekil 2.15. Antimikrobiyal etkili piridazinon türevleri.....	34
Şekil 2.16. Antimikrobiyal etkili piridazinon türevleri.....	35

Şekil	Sayfa
Şekil 2.17. Kardiyovasküler etkili piridazinon türevleri.....	37
Şekil 2.18. Kardiyovasküler etkili piridazinon türevleri.....	39
Şekil 2.19. Kardiyovasküler etkili piridazinon türevleri.....	40
Şekil 2.20. Kardiyovasküler etkili piridazinon türevleri.....	41
Şekil 2.21. Antitüberküler, Antiobesite ve Antidiyabetik etkili pridazinon türevleri.....	43
Şekil 2.22. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri.....	45
Şekil 2.23. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri.....	47
Şekil 2.24. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri.....	50
Şekil 2.25. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri.....	51
Şekil 2.26. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri.....	53
Şekil 2.27. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri.....	54
Şekil 2.28. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri.....	55
Şekil 2.29. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri.....	56
Şekil 2.30. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri.....	57
Şekil 2.31. Sağlıklı bir beyin ile Alzheimer hastalığı olan bir beyinin kıyaslanması.....	58
Şekil 2.32. Asetilkolinin biyosentezi	63
Şekil 2.33. Asetilkolinin biyosentez, depolama, salınım ve hidrolizi.....	64
Şekil 2.34. AChE	66
Şekil 2.35. BuChE.....	67
Şekil 2.36. AChE İnhibitörleri için yapısal hipotez	68
Şekil 2.37. Donazepilin AChE enziminin aktif bölgesi ile etkileşiminin moleküler modelleme çalışması ile gösterimi	69
Şekil 2.38. Takrinin yapısı	71
Şekil 2.39. Fizostigminin yapısı.....	72
Şekil 2.40. Rivastigminin yapısı	72
Şekil 2.41. Donezepilin yapısı	73
Şekil 2.42. Galantaminin yapısı	73

Şekil	Sayfa
Şekil 2.43. Hüperzine A'nın yapısı.....	74
Şekil 2.44. Metrifonatın yapısı.....	74
Şekil 2.45. Etil 6-[(sübstitüe-fenilpiperazin]-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-il propiyonat.....	75
Şekil 2.46. N'-[(4-triflorometilfenil) sülfonil]-2-[4-(2-florofenil)-piperazin]-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-il asetohidrazit bileşiklerinin en aktif olduğu, N'-[(4-triflorometilfenil) sülfonil]-2-[4-(2-florofenil)-piperazin]-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-il asetohidrazit.....	76
Şekil 2.47. 6-(2-metilfenil) amino-2-(4- <i>N</i> -etil- <i>N</i> -izopropil asetamit piperidin) aminobenzil-3(2 <i>H</i>)-piridazinon	76
Şekil 2.48. 6-[4-(3,4-diklorofenil) piperazin-1-il]-3(2 <i>H</i>) piridazinon -2-asetil-2-(3-metillbenzal) hidrazon.....	77
Şekil 2.49. (±) p-metoksiakripirin.....	78
Şekil 2.50. Memoquinin yapısı	79
Şekil 2.51. AP2238 yapısal formülü	79
Şekil 2.52. 4-Benzil piperidin/piperazin türevleri.....	80
Şekil 2.53. Benzo[e] [1,2,4] triazin-7(1 <i>H</i>)-on türevi ve [1,2,4]-triazino [5,6,1 <i>j</i> , <i>k</i>]-carbazol-6-on yapısı.....	81
Şekil 2.54. Arillenmiş indenokinolin bazlı türevlerin yapısı	81
Şekil 2.55. Donazepil-Takrin hibritinin yapısı	82
Şekil 2.56. Takrin-8-hidroksikinolin hibritleri.....	83
Şekil 2.57. Takrin-sinnamik asit hibritlerinin yapısı	83
Şekil 2.58. Galantamin-Memantin dual bağlanma hibritinin yapısı	84
Şekil 2.59. Kalkon kumarin hibritlerinin yapısı.....	85
Şekil 2.60. Lipokrinin yapısı.....	86
Şekil 4.1. 6-(4-Klorofenil) -3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2-(triflorometilfenilbenzal) hidrazon IVa	95
Şekil 4.2. 6-(4-Klorofenil) -3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2-(2,4-diklorofenilbenzal) hidrazon IVb	96
Şekil 4.3. 6-(4-Klorofenil) -3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2-(p-izopropilfenilbenzal) hidrazon IVc	97

Şekil	Sayfa
Şekil 4.4. 6-(4-Klorofenil) -3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2-(<i>p</i> -benziloksifenilbenzal) hidrazon IVd	98
Şekil 4.5. 6-(4-Bromofenil) -3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2-(<i>p</i> -triflorometilfenilbenzal) hidrazon IVe	99
Şekil 4.6. 6-(4-Bromofenil) -3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2-(2,4-diklorofenilbenzal) hidrazon IVf.....	100
Şekil 4.7. 6-(4-Bromofenil) -3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2-(4-izopropilfenilbenzal) hidrazon IVg	101
Şekil 4.8. 6-(4-Bromofenil) -3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2-(4-benziloksifenilbenzal) hidrazon IVh	102
Şekil 5.1. 6-Süstitüe-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2- (süstitüe benzal) hidrazon (IVa-h) türevlerinin sentezi	108
Şekil 5.2. 6-Süstitüe-3(2 <i>H</i>)-piridazinon sentezinin reaksiyon mekanizması.....	109
Şekil 5.3. 6-Süstitüefenil-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-il asetat sentezinin reaksiyon mekanizması	110
Şekil 5.4. 6-Süstitüefenil-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-il asetohidrazit sentezinin reaksiyon mekanizması.....	111
Şekil 5.5. Süstitüe-3(2 <i>H</i>)-piridazinon-2-asetil-2- (süstitüe benzal) hidrazon (IVa-h) türevlerinin sentezinin reaksiyon mekanizması.....	111
Şekil 5.6. Bileşik IVa'nın ATR tekniği ile alınan IR spektrumu.....	112
Şekil 5.7. Bileşik IVa'nın ¹ H-NMR spektrumu	113

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simge kısaltmalar. Açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

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

Kısaltmalar	Açıklamalar
ACh	Asetilkolin
AChE	Asetilkolinesteraz
AD	Alzheimer Hastalığı
Anti-TMV	Anti-Tütün Mozaik Virüsü
APP	Amiloid Prekürsör Protein
Aβ	Amiloid Beta Plak
BACE	Alzheimer Hastalığında β -Sekretaz Enzimi
BChE	Butirilkolinesteraz
CAS	Katyonik Anyonik Bölge
ChAT	Kolin Asetiltransferaz
ChEI	Kolinesteraz İnhibitör
COX	Siklooksijenaz
CT	Bilgisayar Tomografi
DMT	Hastalık Modifiye Edici Tedaviler
DSS colitis	Dekstran Sodyum Sülfat Kolit
ED₅₀	Etkin doz ₅₀
FDA	Gıda ve İlaç İdaresi (Food Drug Administration)
HBV	Hepatit B Virüs
HCMV	İnsan Sitomegalovirüsü

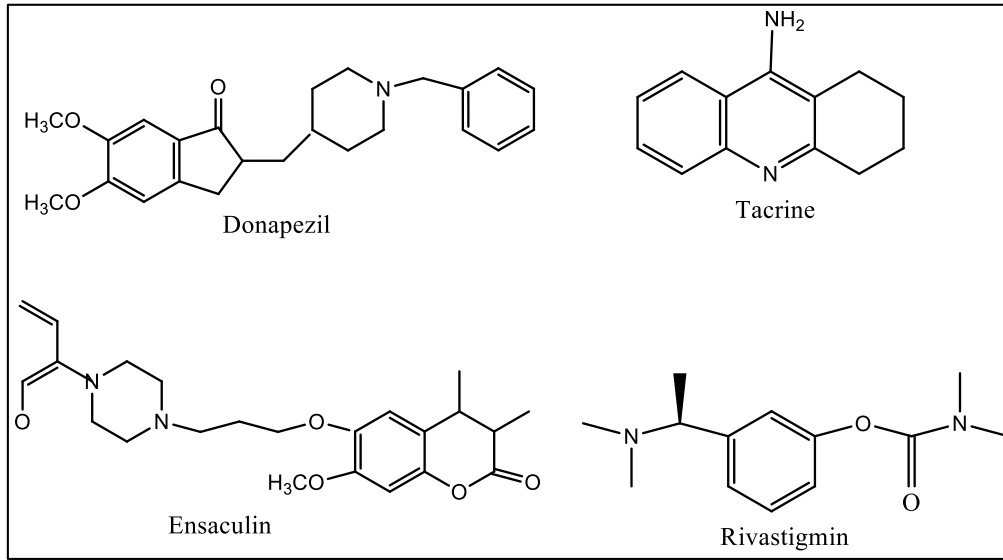
Kısaltmalar	Açıklamalar
HCV	Hepatit C Virüs
HIV	İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü
HSV	Herpes Simpleks Virüsü
IL-1B	İnterlökin 1 Beta
LOX	Lipoksijenaz
MAP	Maksimum Arter Basıncı
MCH-R1	Melanin-Konsantre Hormone Reseptör 1
MCI	Hafif Bilişsel Bozukluk
MDTL	Çoklu Hedefe Yönlendirilmiş Ligantlar
MRI	Magnetik Resonans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

1. GİRİŞ

Alzheimer, hafıza, konuşma, yön bulma, insanları tanıma, problem çözme gibi günlük yaşamda birçok kez gerçekleştirilen pratiklerin, çeşitli zihinsel işlevlerin zamanla zayıfladığı, günlük işleri yerine getirme yeteneğinin azaldığı ve davranış bozukluklarının görülebildiği ilerleyici bir beyin hastalığıdır. Alzheimer hastalığının ana mekanizması, beyin hücrelerinde meydana gelen kaybolmanın nedeni henüz bilinmemekle beraber, hastalığın ortaya çıkmasındaki temel etkenlerin genetik faktörler, anormal proteinlerin rolü, otoimmünreaksiyonlar, toksik reaksiyonlar, kafa travmaları ve virüsler olduğu düşünülmektedir. Bu arada hastalığın diğer etkenleri arasında esansiyel elementlerin ve serebral kan damarlarının rolü de önemli bulunmuştur. Giderek artmakta olan Alzheimer hastalığı ile ilgili 2005 yılında yapılan epidemiyolojik çalışmalar dünya çapındaki Alzheimer hastası sayısının tahmini 24 milyon olduğunu bildirmiştir. Tahminler bu sayının her 20 yılda iki katına çıkarak 2020’de 42 milyona, 2040’da ise 81 milyona ulaşacağı yönündedir [1]. Alzheimer hastalığında kesin tedavi yoktur günümüzde uygulanan tüm tedaviler hastalığın ilerlemesinin yavaşlatılması hedefine yöneliktir.

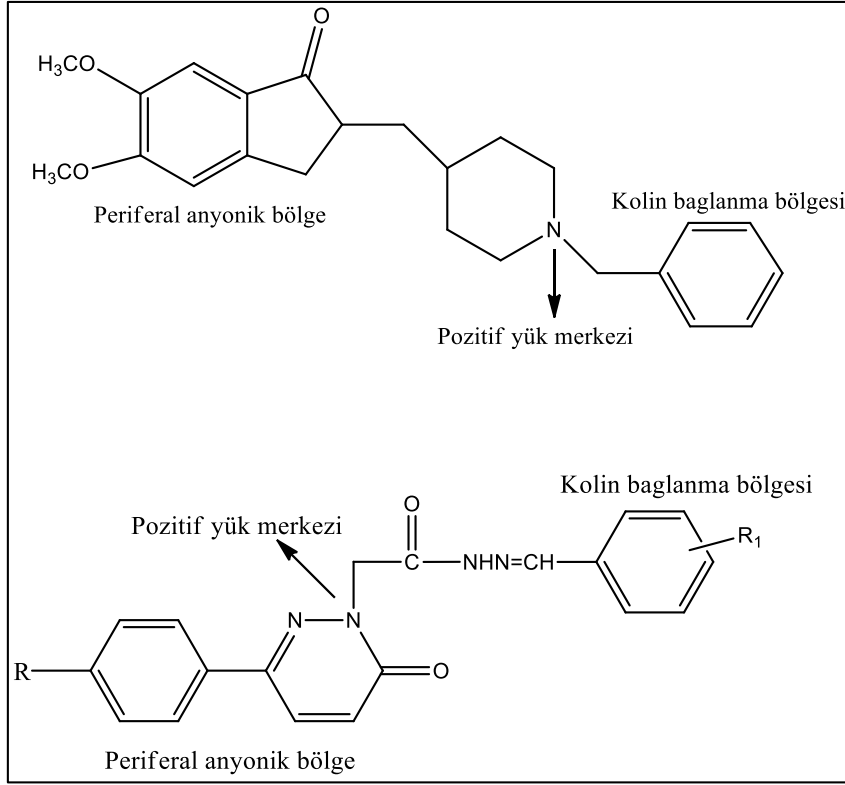
Alzheimer hastalığı ile birçok nörotransmitter sistem (kolinerjik, nonkolinerjik, serotonerjik, dopaminerjik, aminoasiderjik ve nöropeptiderjik) değişim göstermekle birlikte en çarpıcı olanı kolinerjik sistemde gözlenen değişimdir. Kolinerjik hipoteze göre, Alzheimer hastalığı asetilkolinesteraz ve kolin asetil transferaz gibi kolinerjik belirleyicilerin azalmasıyla ilişkilidir. Asetilkolinesteraz inhibitörleri, nörotransmitterlerin sinapta yüksek konsantrasyonda kalmasını temin etmek için asetilkolini yıkan enzimin inhibisyonuna neden olurlar. Asetilkolin düzeyini artırmak için uygulanacak yöntemlerden biri asetilkolini yıkan asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirilkolinesteraz (BChE) enziminin baskılanmasıdır. AChE’nin kolinerjik iletimdeki rolü oldukça iyi bilinmekle birlikte BChE’nin rolü yeterince aydınlatılamamıştır. Sağlıklı beyin hücrelerinde sinaptik asetilkolin hidrolizi esas olarak AChE tarafından gerçekleştirilmekte, BChE’nin bu hidrolize katkısının çok az olduğu kabul edilmekte; fakat hem AChE’nin hem de BChE’nin nöron gelişimi ve kolinerjik iletimde birlikte aktif rol oynadığı bilinmektedir [2,3]. Çalışmalar, asetilkolin esteraz inhibisyonuna bağlı asetilkolin düzeyi artışlarının, Alzheimer hastalığının erken evrelerindeki kognitif yetmezliği iyileştirebileceğini göstermektedir.

Asetilkolinesteraz inhibitörü olan takrin, bazı Alzheimerli hastalarda klinik çalışmalar sonucu kavramayla ilgili fonksiyonlarda gelişmeler sağlamış ve Alzheimer tedavisi için Food Drug Administration (FDA) tarafından önerilmiştir. Ancak, takrinin kullanımı karaciğer harabiyetine neden olması bakımından sınırlıdır [2]. Takrinin Alzheimerli hastalarda etkili olması, yeni asetilkolinesteraz inhibitörü bileşiklerin geliştirilmesine neden olmuştur. Asetilkolin esteraz inhibitörü olarak kullanıma giren diğer bileşikler arasında ensaculin, rivastigmin ve donepezil (Şekil 1.1) vardır ve bunlar arasında tedavide en başarılı olanı donepezil olmuştur. Donepezilin 5-10 mg günlük oral dozlarda algılamayı ve klinik fonksiyonları 21-81 hafta arasında iyileştirdiği belirlenmiştir [4].



Şekil 1.1. Asetilkolin esteraz inhibitörü olarak kullanılan ilaçlar

Asetilkolin esteraz inhibitörü, ilaçların genel yapısında (Şekil 1.2) bir periferik anyonik bölge, bir pozitif yük merkezi ve bir de aromatik halka (kolin bağlama bölgesi) bulunmaktadır ve bileşiklerin bu şekilde asetil kolin esteraz enziminin reseptöre bağlanma bölgesini bloke ederek inhibisyon gösterdikleri düşünülmektedir [5].



Şekil 1.2. Asetilkolin esteraz inhibitörü ilaçların genel yapısı

Sunduğumuz tez çalışmasında sentezlediğimiz 6-süstitüefenil-3(2H)-piridazinon-2-asetil-2-(süstitüe/nonsüstitüe) benzalhidrazon türevleri de asetilkolin esteraz türevi bileşiklerinin yapılarına benzer şekilde bir periferel anyonik bölge, bir pozitif yük merkezi ve bir de aromatik halka (kolin bağlama bölgesi) bulunmaktadır. Literatürde 3(2H)-piridazinon yapısında antikolinesteraz aktivite gösterdiği bildirilen bileşikler bulunmaktadır ve bu çalışmaların bir kısmı da çalışma grubumuz tarafından yapılmıştır [6-10].

Günümüzde antibiyotik tedavisinde en önemli sorun direnç oluşumudur. Penisilinin pratikte kullanılmaya başlandığı 1941 den bir sene sonra, dirençlilik bildirimleri gelmeye başlamıştır. Direnç, beş yıl sonra 1946'da İngiltere'de artık istatistiksel bir veri olarak kabul edilmiştir. Barber-Whitehead adlı doktorlar iki sene sonra 1948 de, bu sayıyı %53 olarak ölçünce, antibiyotik direnci artık çözülmesi öncelikli bir sorun olmaya başlamıştır [11]. Antibiyotiğin uygun olmayan biçimde kullanımı, bakterinin yok olmamak ve güçlenmek için direnç geliştirmesine yol açmaktadır. Direnç geliştirmiş ve güçlenmiş bakteriyi daha sonra aynı antibiyotikle yok etme girişimi başarısızlıkla sonuçlanacak bir girişimdir. Son yıllarda tüm dünyada bakterilerin antibiyotiklere karşı gösterdiği direnç, tedavide sorun yaratmaya başlamıştır. Tüberküloz, gonore, pnömoni ve menenjit gibi

giderek artan sayıda enfeksiyonda, daha önce bu hastalıklarla mücadelede yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere karşı dirençli bakteriler çoktan gelişmiştir ve tedavide yeni yollar aranmaya başlanmıştır [12].

Antibiyotik direncini mikroorganizmalar çok çeşitli şekilde geliştirebilir. Bakteriler, antibiyotiğin saldırısına karşı koyabilmek için hücre yapılarını değiştirebilir; Duvarlarını antibiyotiğin geçemeyeceği şekle değiştirerek, antibiyotiği parçalayacak enzimler üreterek, antibiyotiğin etki ettiği kısmını değiştirerek ilacın etkisini kırar. Bir bakteri ilaca karşı direnç kazandıktan sonra, o ilaç artık hastalığın tedavisinde etkili olamaz. Kimi direnç yetenekleri diğer bakterilere de geçebilir. Bu, antibiyotiklerle tedavi edilemeyen hastalık sayısının giderek artması anlamına gelir. Enfeksiyona yol açan mikroorganizmaların yeni çevrelere uyum sağlaması, mikroplara vücudun gösterdiği direnci görece etkisiz bırakır. Aynı hastalık çok fazla kişiyi etkileyebilir, dünya çapına çok kısa sürede yayılıp, toplu ve çabucak ölümlere yol açabilir [12].

Bakterilerin neden olduğu hastalıklar sadece sınırlı sayıda antibiyotikle tedavi edilebilir. Dirençli bakterilerin yol açtığı bir enfeksiyon söz konusuysa, tedavide daha toksik ve pahalı ilaçların kullanılması gerekebilir. Bazı vakalarda, hastalığa neden olan dirençli bakterileri yok edecek kadar etkili antibiyotik bulunmadığından, hastalık tedavi edilemez duruma gelebilir. Bunların yanı sıra, antibiyotik direnci diğer bakteriyel enfeksiyonlara da yayılabilir. Bütün bu sebepler giderek daha çok insanı, hastanede daha uzun süre kalmak ve yüksek maliyetler ödemek zorunda bırakmaktadır. Türkiye'nin yıllık ilaç tüketim giderinin yaklaşık 12 milyar dolar olduğu tahmin edilmektedir. Bu sayının, yaklaşık yüzde 20 – 25'ini antibiyotikler oluşturmaktadır. Antibiyotik tüketiminde ülkemiz kimi seneler dünya birincisi lmaktadır. Türkiye'de yazılan her 10 reçeteden 7'sinde antibiyotik bulunduğu, birçok bakteride antibiyotiklere karşı direncin ülke genelinde çok yüksek olduğu bilinen bir gerçektir [12].

Dünyada, temel olarak 20 çeşit antibiyotik kullanılmaktadır. Antibiyotik çeşitlerinin birbirlerinden hareketle, vücudun ve mikropların yapısına göre arttırılması mümkündür. Bu artış kuşak numaralarıyla seviyelendirilmektedir. Kuşak numarasının artması, geliştirilen antibiyotiklerin daha geniş etki aralıklı ve daha pahalı olması anlamına gelmektedir. Avrupa ülkelerinde 2. Kuşak antibiyotik kullanılırken, ülkemizde 4. Kuşak antibiyotikler

kullanılmaktadır. Bu tür antibiyotiklerin yan etkisi, diğerlerine oranla çok yüksek. Daha etkili ve daha pahalı bu ilaçların, az gelişmiş ülkelerde tüketildiği kabul edilmektedir. Bu durumdan canı en çok yananlarsa yeni doğanlar, çocuklar ve yaşlılar olmaktadır. Karaciğer ve böbrek fonksiyonlarının henüz olgunlaşmaması sebebiyle yeni doğanlar, yine ileri yaşlarda bu organların fonksiyonlarının azalması nedeniyle yaşlılar daha fazla zarar görmektedir [12].

Bulunduğumuz çevre sürekli olarak bakteri üretebilir. Direnci düşmüş vücut için bu bakteriler hastalık demektir. Bu nedenle, antibiyotiklerin sadece enfeksiyonun tedavisinde, gerekli olduğu zaman kullanılması gerekmektedir. Araştırmacılara göre sık rastlanan bir enfeksiyona neden olan bir bakteride olduğu bilinen antibiyotik direncini önlemek birkaç şekilde mümkün; Virüslerin neden olduğu soğuk algınlığı ya da diğer birçok enfeksiyonda antibiyotik kullanmamak en yaygın önlemdir. Soğuk algınlığı gibi virüs hastalıkları antibiyotiğe yanıt vermez ve soğuk algınlığı şikayetlerin, ancak yüzde 10 ila yüzde 15'i bakteriler nedeniyle oluşmaktadır; ancak sinüzit, faranjit, orta kulak iltihabı gibi üst solunum yolu enfeksiyonlarında antibiyotik kullanıldığında yanıt almak mümkündür [11].

Güçlü antibiyotiklere direnç kazanmış bakteriler tarafından oluşturulan enfeksiyonlar hastane enfeksiyonu olarak isimlendirilir. Başka bir açılımla; Hastaneye yattıktan en erken 48-72 saat sonra gelişen veya kuluçka döneminde iken taburcu olup da sonradan ortaya çıkan enfeksiyonlara hastane enfeksiyonları adı verilir. Hastane enfeksiyonlarına sebep olan mikroorganizmaların büyük bir kısmı hastane ortamında yoğun antibiyotik kullanımına bağlı olarak antibiyotiklerin çoğuna dirençlidir. Bu sebeple hastane enfeksiyonları bir taraftan tedavideki güçlük sebebi ile hastanedeki kalış süresinin uzamasına, tedavi giderlerinin artmasına ve işgücü kaybı ile ekonomik problemlere yol açarken, diğer taraftan yüksek ölüm oranı ve sekonder sebeplerle ölüme yol açabilirler [12].

Hastane enfeksiyonlarının oluşmasında rol oynayan en önemli faktör, hastanede kalma süresidir. Bu süre enfeksiyonun tipine göre genellikle 4-10 gündür. Halen Türkiye'de ve dünyada hastane enfeksiyonu oluşturabilen mikroorganizmalar arasında metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve metisiline dirençli *Staphylococcus epidermidis* adlı bakterilerin önemli bir yeri vardır. Hastane enfeksiyonu etkeni olan *S. Aureus* suşlarının en

önemli kaynağı hastane personeli, aile bireyleri ya da bu suşlarla enfekte veya kolonize olan hastalardır [12].

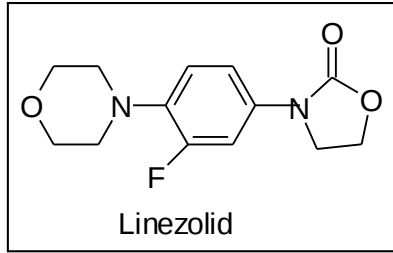
Hastane enfeksiyonları oluşturan patojenler arasında öneminin giderek artması, salgınlara sebep olabilmesi ve tedavi seçeneklerinin kısıtlı olması sebebiyle MRSA enfeksiyonlarının epidemiyolojisi ayrıntılı olarak incelenmiş, risk faktörleri araştırılmış ve epidemilerin kontrol altına alınabilmesi ya da önlenmesi için çeşitli stratejiler belirlenmiştir. Modern tıbbın sahip olduğu bütün imkânlarla rağmen günümüzde hâlâ hastanede yatan insanlar için en önemli risklerden birisi hastanede yatış süresi içerisinde kazanılan hastane enfeksiyonlarıdır. Yapılan araştırmalarda, hastane enfeksiyonlarında sık karşılaşılan etken mikroorganizmalar arasında *S. aureus*'un önemli yer tuttuğu tespit edilmiştir. *S. Aureus* insanlarda lokal ve yaygın enfeksiyonlar yanında, toksinlerinin sebep olduğu toksik şok sendromuna ve gıda zehirlenmelerine de yol açmaktadır [12].

S.aureus ve diğer stafilokoklara oldukça etkili olan penisilinaza dirençli metisilin 1960'lı yılların hemen başında kullanılmaya başlanmıştır. Ancak, birkaç yıl içerisinde önce İngiltere sonra Türkiye'den metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşları bildirilmiştir. Başlangıçta MRSA suşları ile seyrek olarak karşılaşılmasına rağmen, 1968 yılından itibaren MRSA suşları ile hastane enfeksiyonlarının ve ciddi can kayıplarının meydana geldiği kaydedilmiştir [13].

Hastane enfeksiyonları oluşturan patojenler arasında öneminin giderek artması, salgınlara sebep olabilmesi ve tedavi seçeneklerinin kısıtlı olması sebebiyle MRSA enfeksiyonlarının epidemiyolojisi ayrıntılı olarak incelenmiş, risk faktörleri araştırılmış ve epidemilerin kontrol altına alınabilmesi ya da önlenmesi için çeşitli stratejiler belirlenmiştir. MRSA'ların sebep olduğu hastane enfeksiyonlarına dünyanın tüm ülkelerinde sıklıkla rastlanmaktadır. Antibakteriyel tedavi alanındaki hızlı gelişmelere rağmen bu bakterilerin etken olduğu enfeksiyonların tedavisinde karşılaşılan güçlükler, enfeksiyonun önemini artırmaktadır. MRSA suşları dağılım açısından farklılıklar göstermesine rağmen tüm ülkelerde dirençlilik özellikleri bakımından benzerlikler görülmektedir ve metisiline dirençli suşlarla oluşan enfeksiyonların tedavisinde β -laktam antibiyotiklerinin tedaviye cevap vermediği belirtilmektedir [12-13].

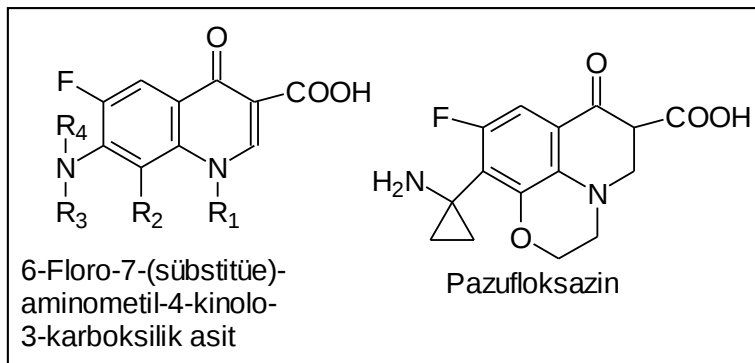
Antimikrobiyal ajanlara karşı hızlı direnç gelişimi, araştırmacıları yeni ve etkili antimikrobiyal ilaç geliştirme konusunda yoğun çalışmalar yapmaya yöneltmiştir. Araştırmacılar özellikle, direnç gelişimini önlemenin, mevcut ilaçlardan farklı yapıdaki yeni moleküllerin geliştirilmesiyle mümkün olabileceği konusunda fikir birliği içerisindeyler. Bu nedenle farklı yapı taşıyan çok sayıda bileşik üzerinde araştırmalar yapılmaktadır [14-24].

Bunlar arasında ilk göze çarpanlar oksazolidinon türevleridir. Linezolid isimli oksazolidinon türevi (Şekil 1.3) metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* (VRE) tedavisi için onay almış bir bileşiktir [25].



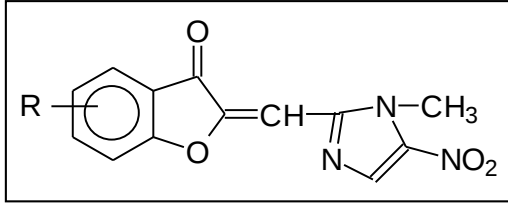
Şekil 1.3. Linezolid yapısı

Bundan başka küçük molekülü sentetik antibiyotiklerden olan florokinon türevlerin (Şekil 1.4) dirençli bakteriler üzerinde oldukça etkin oldukları bildirilmektedir. Örneğin 2007 Yılında yapılan bir çalışmada 7. Konumda monoarilaminometil grubu taşıyan türevlerin standart bileşikler vankomisin ve pazufloksazin'den daha yüksek aktivite gösterdikleri bildirilmiştir [26].



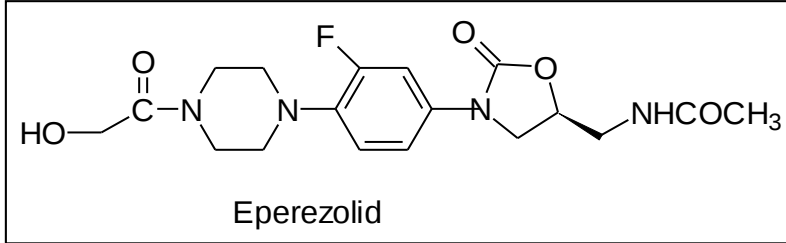
Şekil 1.4.Florokinon türevi antibiyotiklerin genel yapısı

Özellikle 3 büyük grup Gram pozitif bakteri türü; Stafilokoklar, Enterokoklar ve Streptokoklar bakteriyel dirençte rol oynamaktadır. Son yıllarda yapılan başka bir çalışmada özellikle bu mikroorganizmalar üzerinde etkili olması beklenen 3(2H)-benzofuran türevi bileşikler (Şekil 1.5) sentezlenmiştir [27]. Serinin bazı üyelerinin Staphylococcus Aureus, Staphylococcus Epidermis ve Bacillus subtilis üzerinde standart bileşik amoksisilin'den çok daha etkin oldukları tespit edilmiştir.



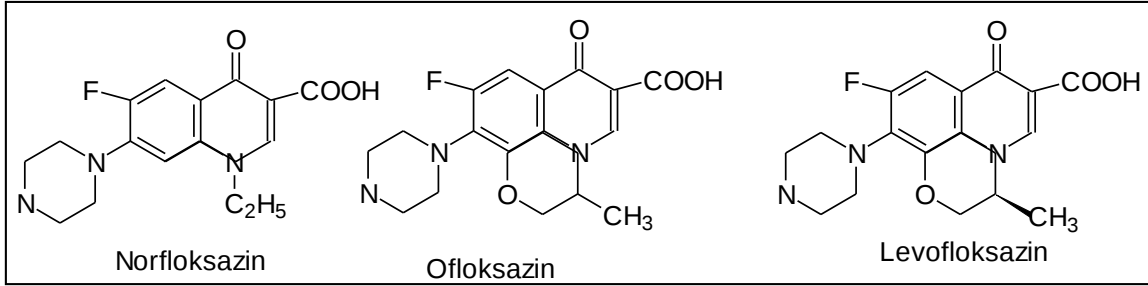
Şekil 1.5. Benzofuran türevleri antibiyotikler

Literatürde, direnç geliştirmiş mikroorganizmalar üzerinde etkili sentetik küçük moleküllü antibiyotiklere bakıldığında piperazin grubu taşıyan bileşiklerin oldukça fazla yer tuttuğu gözlenmektedir. Üstelik bu bileşiklerin aktiviteleri diğer türevlere göre daha fazladır. Örneğin; İngiltere'de faz I çalışmalarını başarı ile geçmiş bir bileşik olan eperezolid bir piperazin kalıntısı taşımaktadır [28].



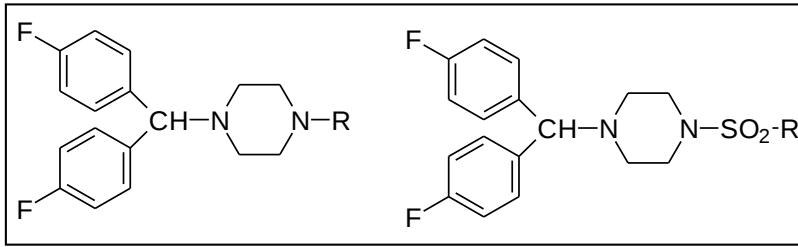
Şekil 1.6. Eperozolid yapısı

Florokinolon türevi ve yapısında piperazin grubu taşıyan 3 antibiyotik; norfloksazin, ofloksazin, levofloksazin (Şekil 1.7.) Gram pozitif ve Gram negatif mikroorganizmalar üzerinde geniş spektruma sahip bileşiklerdir. Özellikle levofloksazin'in Gram pozitif koklar üzerindeki aktivitesi önceki kuşakta yer alan siprofloksazinden daha yüksektir [29].



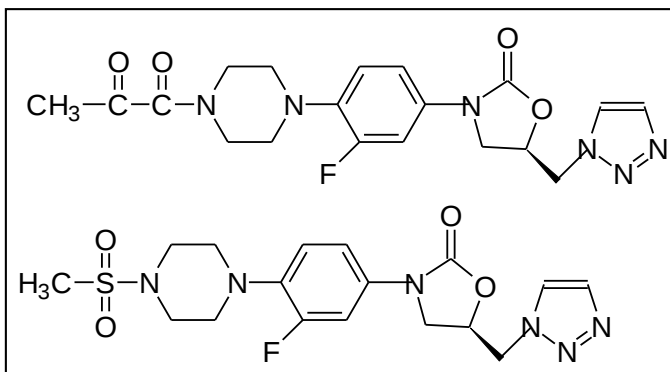
Şekil 1.7. Florokinon türevi antibiyotikler

2006 Yılında iki seri 1-[bis(4-florofenil) metil] piperazin türevi (Şekil 1.8) antibakteriyal bileşiğin sentezi bildirilmiştir [30]. Bileşiklerin aktivite testlerinde referans bileşik streptomisinden daha fazla antibakteriyal etki gösterdikleri bildirilmiştir.



Şekil 1.8. 1-[Bis(4-florofenil) metil] piperazin türevi antibakteriyal bileşikler

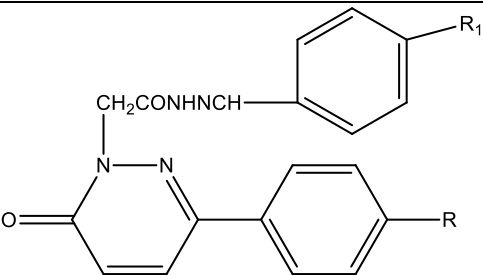
Oksazolidinon türevi antibakteriyel ilaçların (Şekil 1.9) çoklu ilaca dirençli Gram pozitif mikroorganizmalar (örneğin; metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* (VRE), penisile dirençli *Streptococcus pneumoniae*) üzerinde yüksek aktiviteler gösterdikleri bilinmektedir [28-37]. Son yıllarda oksazolidinon türevi antibiyotiklerin yapısında piperazin kalıntısına da rastlanmaktadır. Bu çalışmalardan birinde 5-triazolilmetil oksazolidinon türevlerinin sentezi yapılmıştır. Sentezlenen türevlerin dirençli Gram pozitif mikroorganizmalar üzerinde çok yüksek antibakteriyel etkiler gösterdikleri bildirilmiştir.



Şekil 1.9. Oksazolidinon türevi antibakteriyel ilaçlar

Yukarıdaki literatür verilerinden hareketle bu master tezi kapsamında, 3(2*H*)-piridazinon türevi yeni benzalhidrazon türevi bileşiklerin sentezlerinin yapılması; bu bileşiklerin antikolinesteraz ve antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılması amaçlanmıştır. Değişik benzaldehit türevleri kullanılarak hazırlanan bileşik serisinde fenil halkası üzerindeki farklı sübstütüentlerin aktiviteye katkısı araştırılmış ve aktivite için öncü molekülün bulunması amaçlanmıştır. Sentezi yapılan bileşiklerin yapıları Çizelge 1.1’de gösterilmektedir. Sentezlenen hedef bileşiklerin tamamı bu tez kapsamında ilk defa sentezlenmiştir.

Çizelge 1.1. Sentezi yapılan bileşiklerin yapıları

		
Bileşik	R	R ₁
IVa	Cl	4-OCH ₂ -C ₆ H ₅
IVb	Cl	2,4-Cl
IVc	Cl	4-CH-(CH ₃)
IVd	Cl	4-CF ₃
IVe	Br	4-OCH ₂ -C ₆ H ₅
IVf	Br	2,4-Cl
IVg	Br	4-CH-(CH ₃)
IVh	Br	4-CF ₃

2. GENEL BİLGİLER

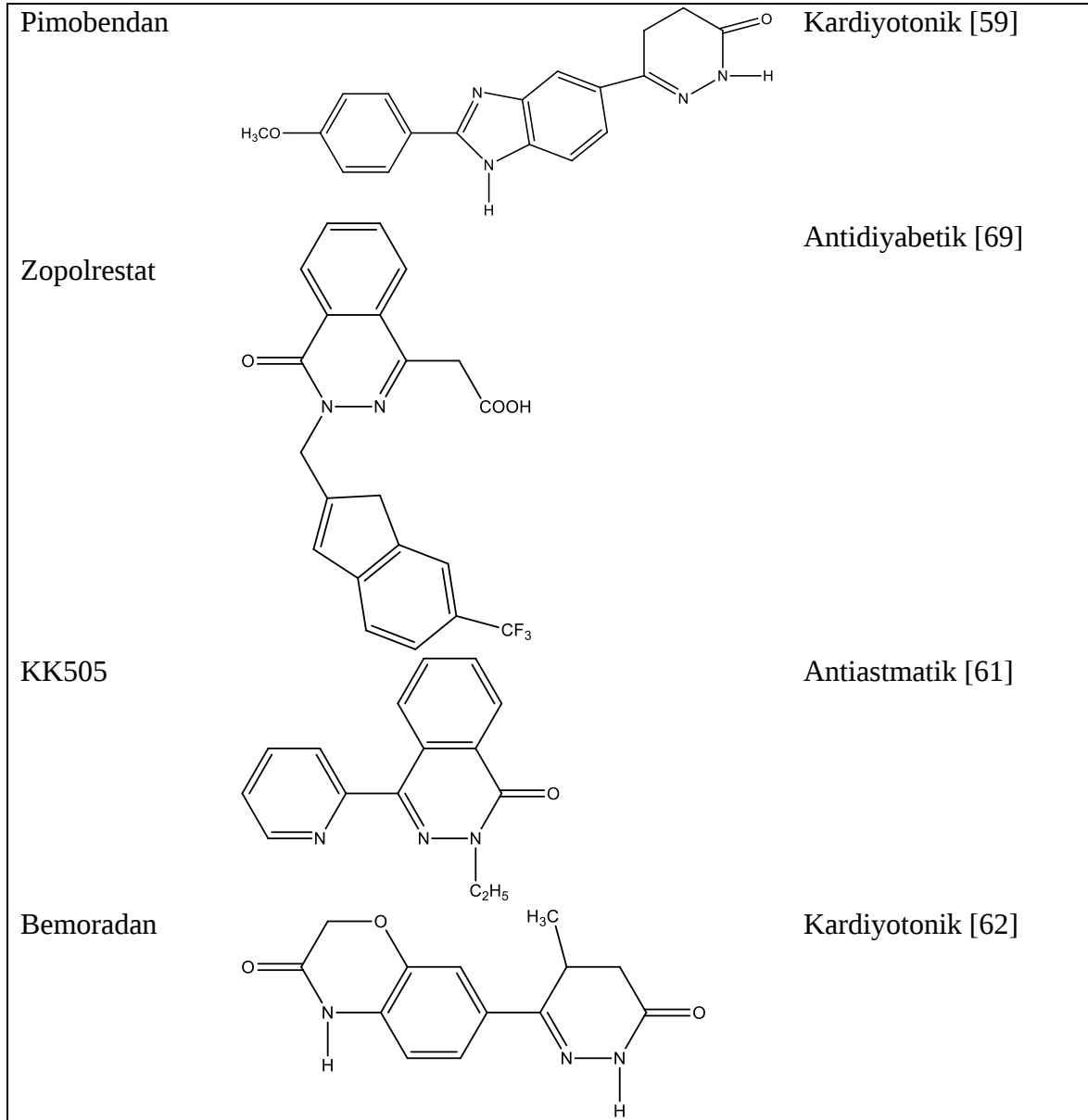
2.1. Piridazinon Halkasının Farmakolojik Olarak Değerlendirilmesi

Son yıllarda 3(2*H*)-piridazinon yapısı taşıyan bileşiklerde çok sayıda farmakolojik aktivite çalışmaları yapılmış ve yapılan çalışmalarda bu iskeleti taşıyan bileşiklerin; analjezik, antienflamatuvar, antipiretik, antihipertansif, antiülser, antioksidan, antiallerjik, bronkospazmolitik, kardiyotonik, aldoz redüktaz inhibitörü, antiplatelet, antikolinesteraz, antibakteriyel, antifungal, antitümoral ve antihelminetik etki gibi çok sayıda biyolojik aktivite gösterdikleri bildirilmiştir

Piridazinonların en iyi bilinen etkisi kardiyovasküler etkileri olmuştur [38-40]. Bu alanda, zardaverin veya imazodan gibi birkaç bileşik, yeni antitrombosit veya kardiyotik ajanların araştırılmasında PDE III inhibitörleri olarak geliştirilmiştir [41-42]. Sübstitüe piridazinonların antidepresan [43], antihipertansif [44], antikonvülzan [45], kardiyotik [46], antibakteriyel [47], diüretik [48], anti-HIV [49] ve anti-kanser [50] aktiviteleri ile ilgili son 10 yılda çok sayıda çalışma yapılmıştır. Piridazinon türevi kardiyovasküler ilaçlar otonom sinir sistemini etkilemeden, arteryal tonu azaltarak arterioler düz kasın doğrudan rahatlamasını sağlar. Bu eylemi gerçekleştiren moleküler mekanizmalar net değildir, ancak sonuç olarak hücre içi kalsiyum konsantrasyonlarında bir düşüşe yol açması muhtemeldir. Hücresel sinyal yollarındaki çeşitli değişiklikler hidralazin gibi arteriolar vazodilatörler tarafından etkilenirken arterleri genişletme kapasitesini açıklayan tam moleküler hedefler belirsizliğini korumaktadır. Bu altı üyeli halka, çeşitli terapötik aktivitelerle farklı kategorilere ait olan iyi üretilmiş ilaçların bir üyesi olarak tasarlanabilir. Bu tür ilaçlar Şekil 2.1. listelenmiştir.

Bileşimin adı/kodu	Kimyasal yapısı	Farmakolojik etkisi
KF15232		Kongestif kalp hastalıkları tedavisi [51]
Emorfazone		Analjezik [52]
Ag246		Analjezik [53]
İmazodan		Kardiyotonik [54]
Amipizone		Antitrombotik [55]
Cl903		Fosfodiesteraz inhibitörü [56]
Indolidan		Kardiyotonik [57]
Zardaverin		Fosfodiesteraz III/IV inhibitör [58]

Şekil 2.1. Piridazinon halkası taşıyan Farmakolojik ajanlar



Şekil 2.1. (devam) Piridazinon halkası taşıyan Farmakolojik ajanlar

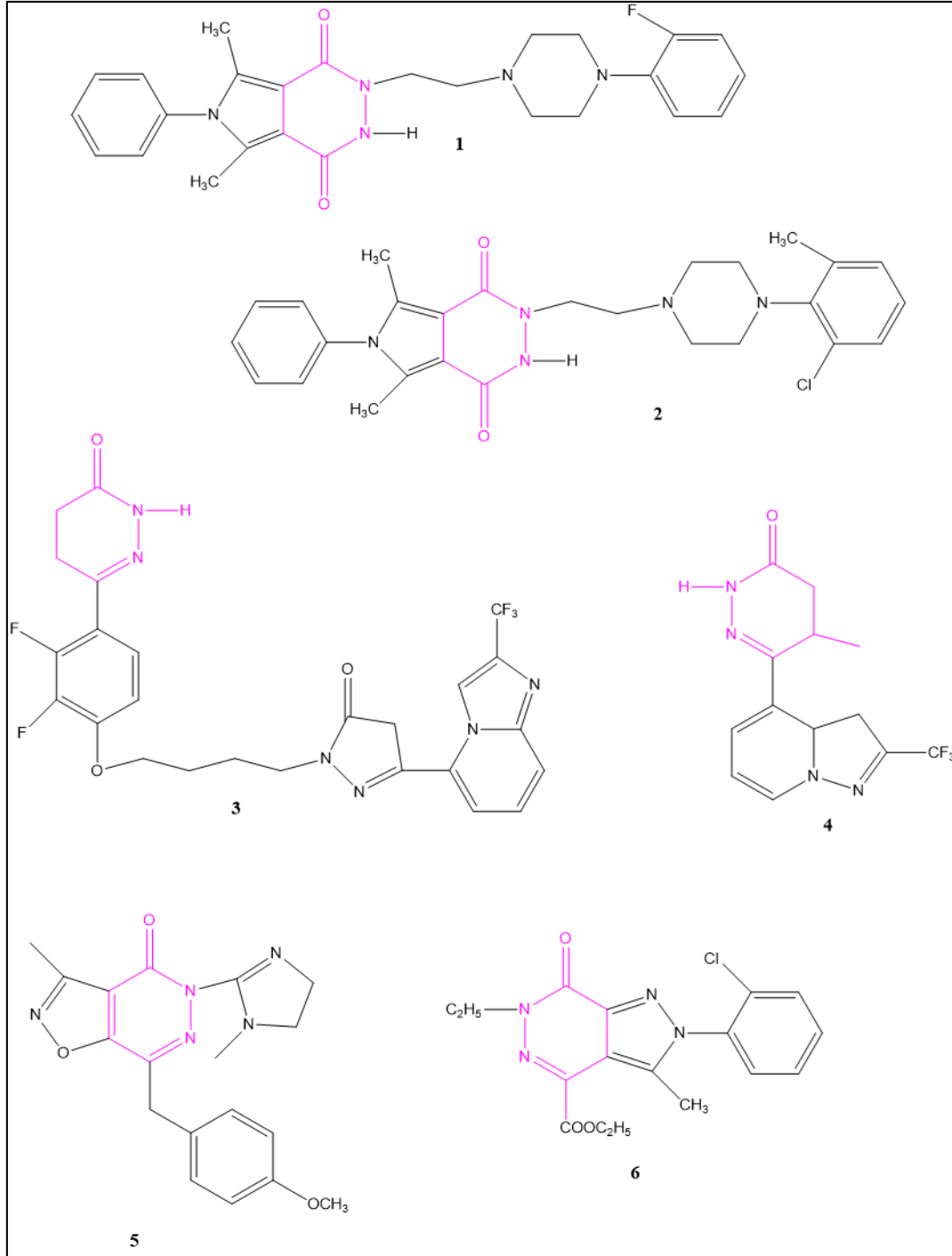
2.1.1. Piridazinon türevlerinin Antienflamatuar ve Analjezik aktivitesi

Enflamasyon kontrolü; astım, ateroskleroz, osteoartrit, Crohn Hastalığı, alzheimer, gut, diyabet, multiple skleroz, romatoid artrit, karsinoma, psöriazis, viral ve bakteriyel enfeksiyonlar vb. çeşitli hastalıklarda hayli öneme sahiptir. Non-steroidal antienflamatuar ilaçların (NSAID) inflamasyon ve acı-ağrı durumlarının tedavisinde geniş bir klinik kullanımı vardır. Siklooksijenaz enziminin (COX) iki izoformu olan COX-1 ve COX-2 çoğu klasik NSAID tarafından yetersiz bir şekilde ayırt edilebilmektedir [63, 64].

Mogilski ve arkadaşlarının sentezledikleri piridazinon türevlerinden bileşik **1** ve **2**, 100 μM /ml konsantrasyonda antienflamatuar ve sitokin (TNF, IL-1B) inhibisyon etkisi göstermiştir [65]. Ödem oluşumu her iki bileşikle de önemli ölçüde azalmıştır.

Ochiai ve arkadaşlarının sentezledikleri piridazinon türevlerinden biri olan bileşik **3**, PDE3A ve PDE4B'ye karşı 5 ve 6.7 μM 'lik yarı maksimum inhibisyon konsantrasyonunda (IC_{50}) en yüksek antienflamatuar etkiyi göstermiştir [66]. Ochiai ve arkadaşları aynı zamanda başka piridazinon türevleri de geliştirmiş ve onlardan biri olan bileşik **4**, 0.042 ve 0.36 μM 'lik IC_{50} değeri ile sırasıyla PDE4B ve PDE3A'ya karşı önemli ölçüde in-vivo antienflamatuar etki göstermiştir [67].

Piridazinon analogları sentezleyen Ozadali ve arkadaşları bileşiklerin antienflamatuar aktivitesini değerlendirmişlerdir. Buna göre, bütün bileşikler güçlü in-vitro (COX-1/COX-2, 5-LOX) ve in-vivo (sıçan pençe ödemi deneyi) antienflamatuar etki göstermiştir. Ancak, bileşik **5**'in hem COX-2 ($\text{IC}_{50}=2.1 \mu\text{M}$) hem de 5-LOX ($\text{IC}_{50}=6.3 \mu\text{M}$) enzimlerinin inhibisyonunda en aktif bileşik olduğu bulunmuştur [68]. Biagini ve arkadaşları tarafından sentezlenen bir dizi pirazol ve pirazolo [3,4-d] piridazinon türevi bileşik PDE4 inhibisyon aktiviteleri açısından değerlendirilmiştir.



Şekil 2.2. Antiinflamatuvar ve Analjezik etkili piridazinon türevleri

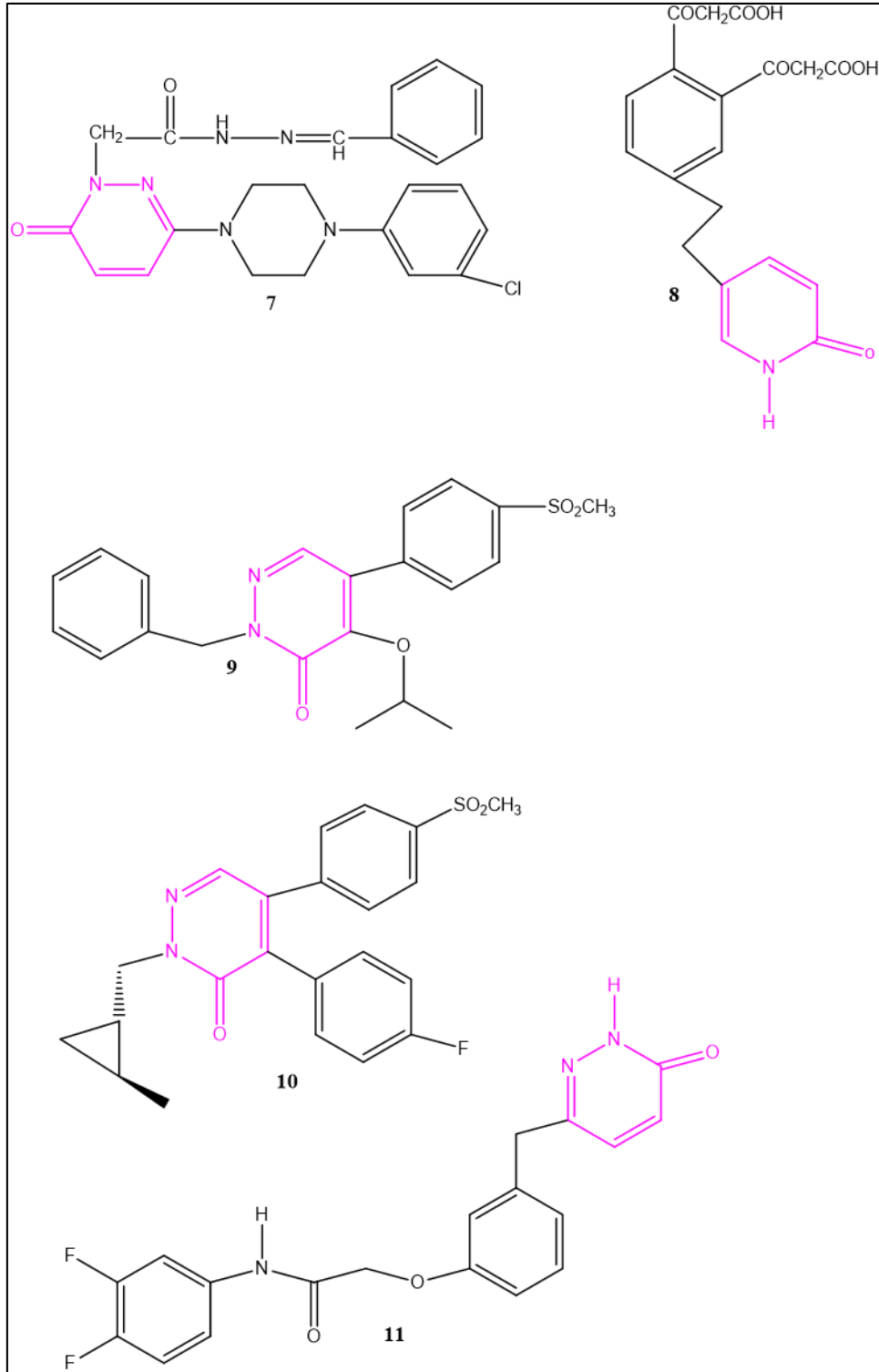
Gokce ve arkadaşları tarafından sentezlenen piridazinon türevleri arasında bileşik 7, kuvvetli bir anti-inflamatuar ajan olarak ortaya çıkmıştır [70]. Abouzid ve arkadaşları tarafından piridazinon taşıyan analoglar sentezlendi ve “Karragen ile indüklenen sıçan pençe ödemi modeli” kullanılarak anti-inflamatif aktiviteleri açısından değerlendirildi ve bileşik 8, 17 Um’lık etkin doz (ED50) miktarı ile en yüksek in vivo anti-inflamatuar aktivite göstermiştir [71]. Li ve arkadaşları tarafından tasarlanan ve sentezlenen

piridazinonlar arasından bileşik 9 ve 10'un, sırasıyla 0,3 mg/kg ve 1,1 mg/kg'dan düşük ED₅₀ değerleri ile en etkili anti-inflamatuar aktiviteye sahip oldukları bulunmuştur [72].

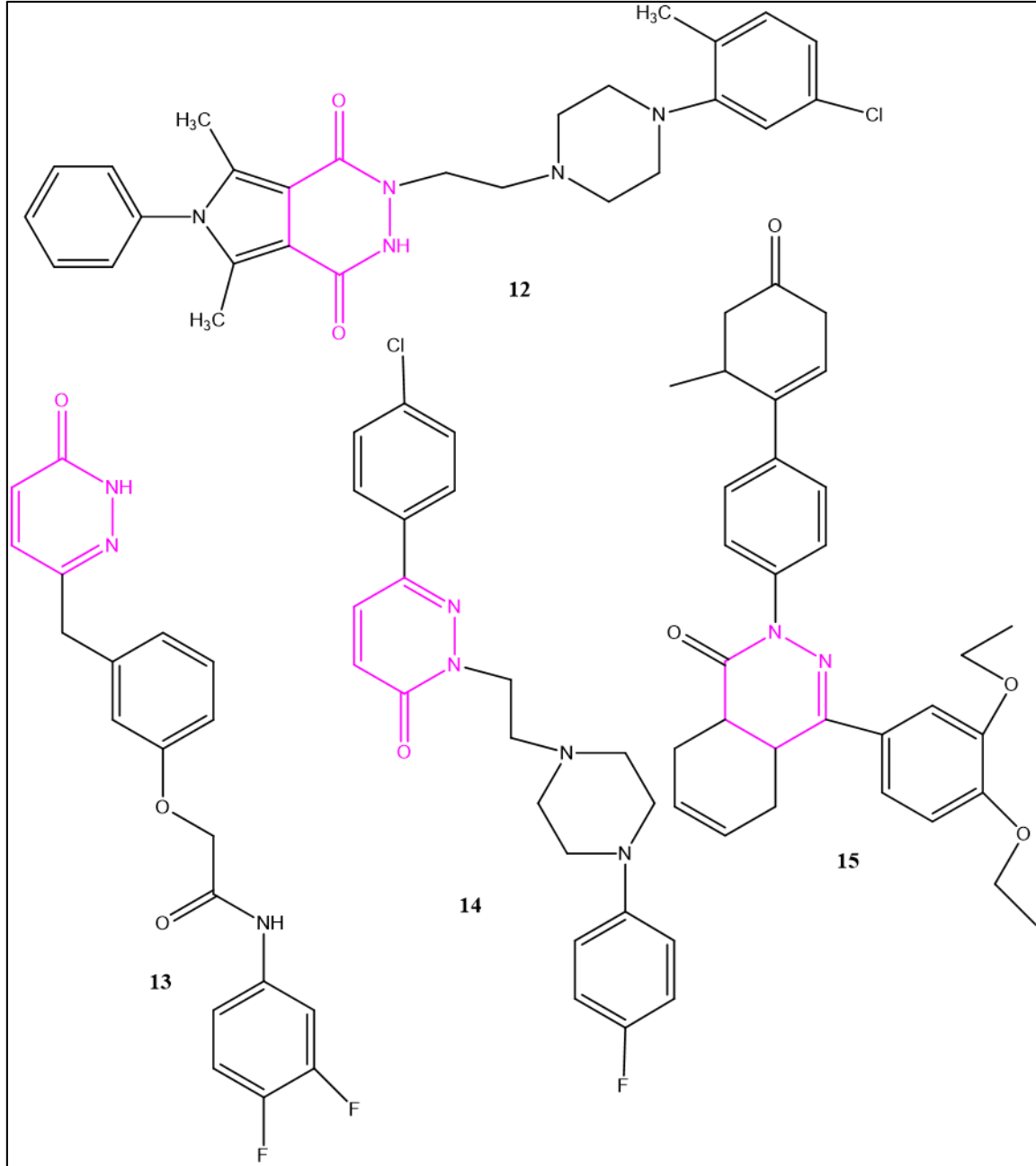
Chintakunta ve arkadaşları tarafından geliştirilen bir başka piridazinon serisinde, bileşik 11, en aktif anti-inflamatuar madde olarak bulunmuştur [73]. Malinka ve arkadaşları piridazinon türevlerini sentezlemiş ve analjezik etkinliklerini saptamıştır. Buna göre bileşik 12, Tramadol'üne benzer bir m-opioid reseptör afinitesi göstermiştir [74]. Chintakunta ve arkadaşları 3-O-süstitüe benzil piridazinon bileşiklerini sentezlemiş ve siklooksijenaz inhibisyon aktivitesi ile COX-2 selektivitesini incelemişlerdir. Buna göre bileşik 13'ün, en aktif anti-inflamatuar ajan olduğu bulunmuştur [75].

Tiryaki ve arkadaşları piridazinon temelli bileşikler sentezlemiş ve analjezik ve anti-inflamatuar potansiyellerini saptamışlardır. Buna göre bileşik 14'ün en aktif olduğu bulunmuştur [76]. Mey ve arkadaşları tarafından sentezlenen piridazinon türevleri, anti-inflamasyon etkileri açısından incelenmiştir. Buna göre bileşik 15'in en aktif olduğu bulunmuştur [77]. Ochiai ve arkadaşları bir dizi piridazinon türevi sentezlemiş ve anti-inflamatuar aktivitesini değerlendirmiştir. Bileşik 16'nın umut verici bir anti-inflamatuar ajan olduğu bulunmuştur [78].

Saeed ve arkadaşlarının sentezlediği bileşiklerden olan bileşik 17 önemli bir anti-inflamatuar aktivite göstermiştir [79]. Abouzid ve arkadaşları piridazinon türevleri sentezlemiş ve onları potansiyel anti-inflamatuar aktiviteleri açısından test etmiştir. Buna göre bileşik 18 ve 19, serinin en aktif bileşikleri olarak bildirilmiştir [80]. Sharma ve arkadaşlarının sentezlediği piridazinon temelli moleküllerden bileşik 20, en etkin anti-inflamatuar ajan olarak bulunmuştur [81].

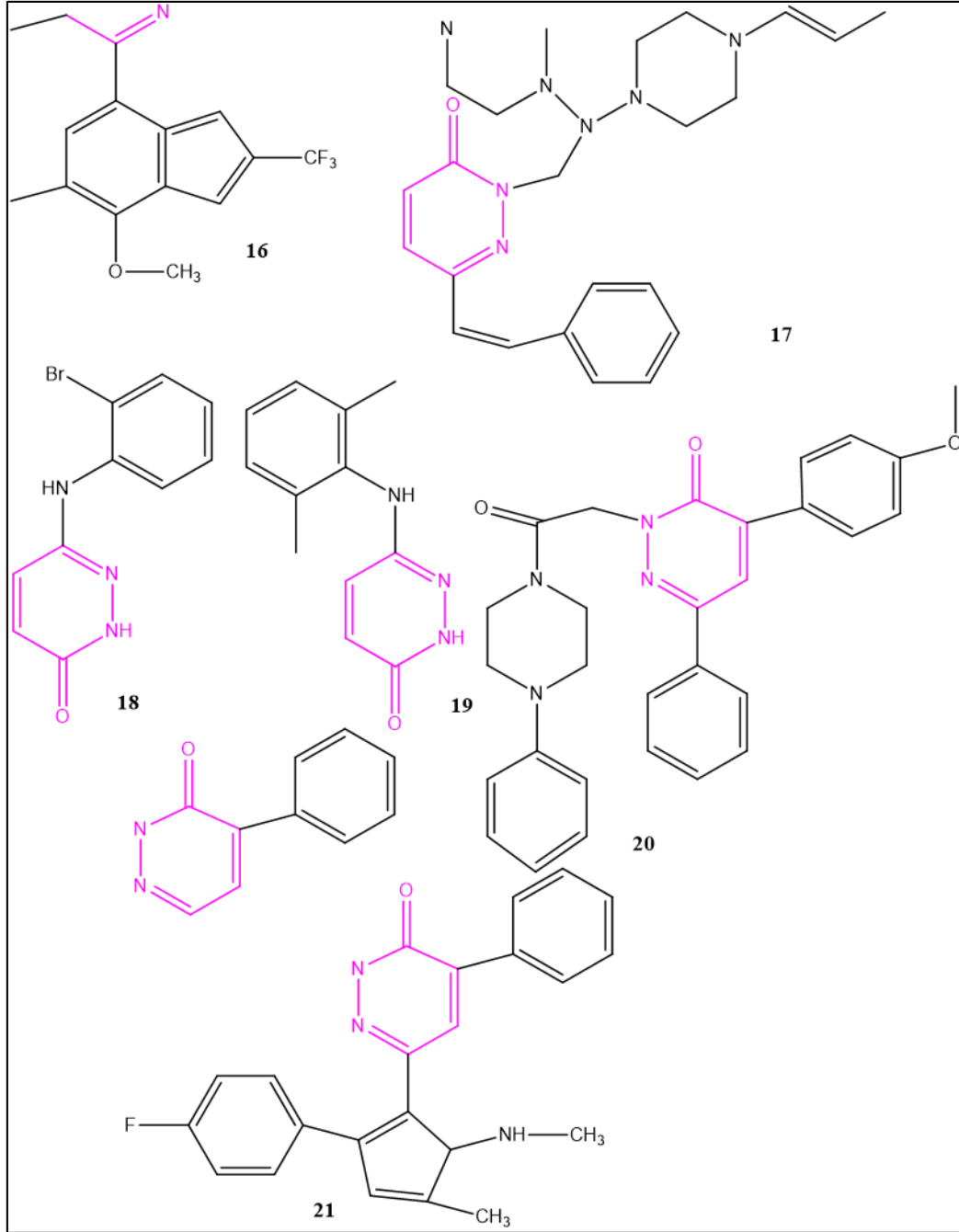


Şekil 2.3. Antiinflatuar ve Analjezik etkili piridazinon türevleri



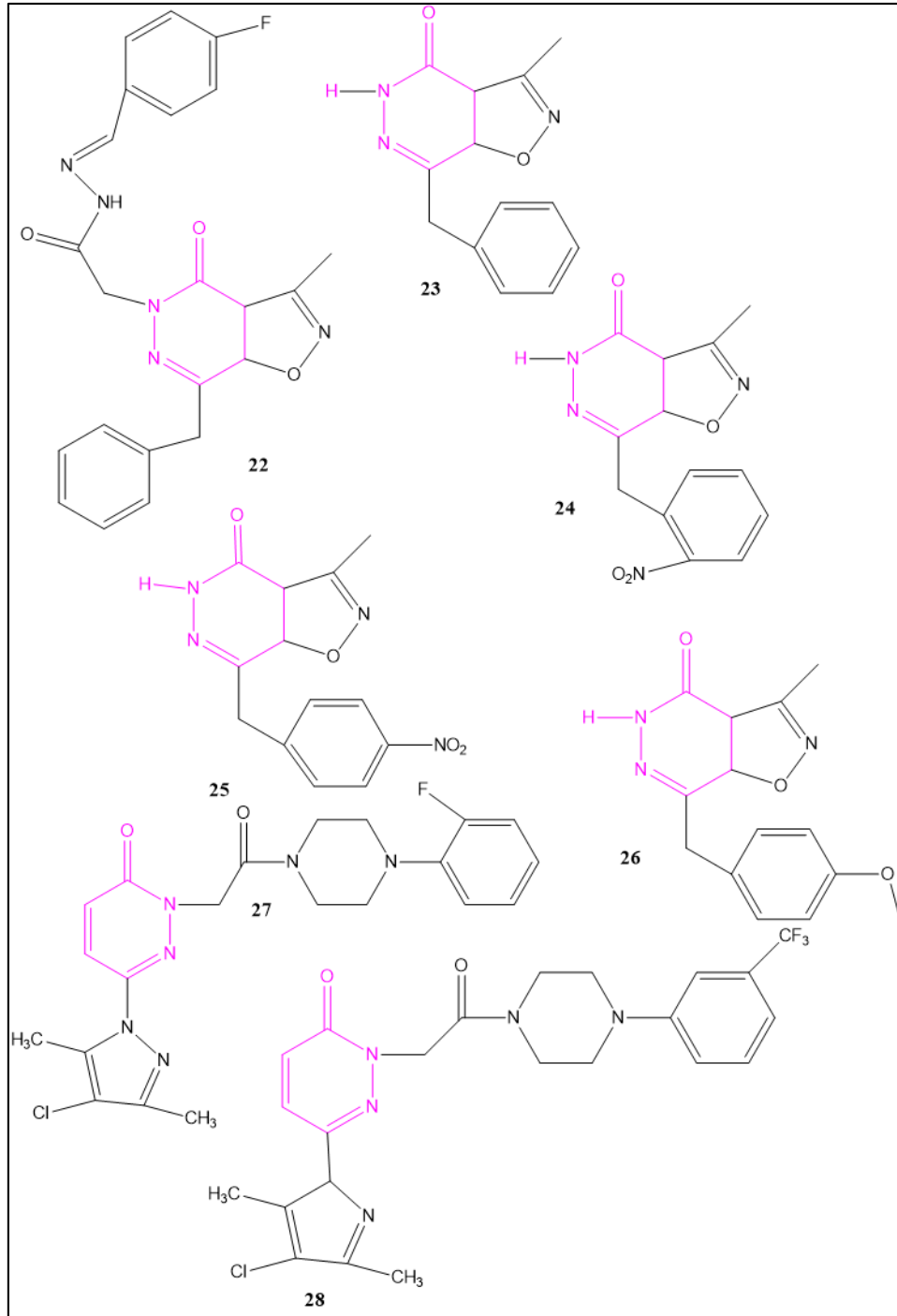
Şekil 2.4. Antiinflamatuvar ve Analjezik etkili piridazinon türevleri

Asano ve arkadaşları tarafından bir dizi yeni 6-[(6R)-2-(4-fluorofenil)-6-(hidroksimetil)-4,5,6,7-tetrahidropirazolo [1,5-a] pirimidin-3-il]-2-(2-metilfenil) piridazin-3 (2H)-on tasarlanmış ve sentezlenmiştir [82]. Bu bileşikler, güçlü p38 MAP Kinaz inhibisyonu açısından test edilmiştir. Bileşik 21, in vitro olarak güçlü bir TNF- α inhibitörü olarak tespit edilmiştir.



Şekil 2.5. Antiinflamatuvar ve Analjezik etkili piridazinon türevleri

Tan ve arkadaşları tarafından sentezlenen bir dizi piridazinon türevi sentezlemiş ve onları COX inhibisyonu açısından test etmiştir. Bu sentezlenen moleküllerden bileşik 22 en aktif bileşik olarak bulunmuştur [83]. Tan ve arkadaşları daha sonraki çalışmalarında farklı bir seri piridazinon türevlerini sentezlemiş ve analjezik aktivitelerini değerlendirmiştir. Buna göre bileşik 23-26 maksimum analjezik aktivite göstermiştir [84]. Sukoroğlu ve arkadaşları tarafından geliştirilen bir [6-(3,5-dimetil-4-kloropirazol-1-il)-3(2H) -piridazinon-2-il] asetamid serisi, antiinflamatuvar aktivite açısından değerlendirilmiş ve buna göre bileşik 27 ve 28 önemli antiinflamatuvar aktivite göstermiştir [85].



Şekil 2.6. Antiinflamatuar ve Analjezik etkili piridazinon türevler

2.1.2. Piridazinon türevlerinin Antikanser aktivitesi

DSÖ'ye (WHO) göre kanser dünya nüfusunun büyük bir bölümünü etkileyen tehlikeli sağlık risklerinden biridir [86]. Çok sayıda kanser tedavisinde çeşitli antikanser ajanlar aynı zamanda anti-tümör anti-neoplastik ve anti-proliferatif olarak da anılmaktadır. Bu ajanlar farklı mekanizmalar üzerinden etki ederler. Bununla birlikte, bu ilaçlarla ilişkili en büyük advers etki, ilaçların kanser hücrelerine yeterli sektitivite gösteremeyip normal

hücrelere karşı sitotoksik etki göstermesidir [87, 88]. Hastalık koplikasyonları dışında, geçtiğimiz on yılda kanser terapisinde önemli ilerlemeler meydana gelmiştir [89]. Piridazinon taşıyan antitümör ajanlar sentezlenmiştir. Sonuç olarak, araştırmacılar tarafından birçok piridazinon halkası taşıyan anti-proliferatif ajan geliştirilmiştir

Yue ve arkadaşları Tarafından geliştirilen süstitüe Piridazinon türevleri anti-hepatoseler karsinom aktivitesi açısından değerlendirilmiştir. Bileşik 29, SMMC-7721, BEL-7402 and QGY-7703 hücre hatlarına karşı sırasıyla 28.7 and 30.2 Nm konsantrasyonlarda önemli ölçüde büyüme inhibisyonu (GI₅₀) göstermiştir [90].

Wang ve arkadaşları Bir seri piridazino [3,4,5-d, e] kinazolin-3(2*H*)-on türevi sentezlemiştir. Sentezlenen bileşikler, Poli ADP-Riboz Polimeraz (PARP-1) inhibitörleri olarak değerlendirilmiştir. Sonraki değerlendirmelerde, bileşik 30 ve 31'in H₂O₂ ile hasar oluşturulan PC12 hücre modelinde nöroprotektif etki gösteren serinin en aktif bileşikleri olduğu ve her iki bileşik 0.148 Mm and 0.152 Mm IC₅₀ değerlerinde çok iyi aktivite gösterdiği bildirilmiştir [91]. Xing ve arkadaşları Sentezledikleri bir seri Piridazinon'un anti-proliferatif aktivitesini değerlendirmiştir. Bileşik 32, 4.2 Nm konsantrasyonda selektif c-Met inhibisyonu yaparak en aktif bileşik olarak bulunmuştur [92].

MKN-45, and U87MG) in vitro sitotoksik aktivitesi açısından değerlendirmiştir. Bileşik 34, sırasıyla 0.10 Mm, 0.13 Mm ve 0.05 Mm IC₅₀ değerlerinde, HT-29, H460 ve A549 hücre hatlarına karşı önemli derecede sitotoksiste göstermiştir [94].

Kang ve arkadaşları bir dizi fenil sübstitüe Piridazin-3-on sentezleyerek anti-tümör etkinliğini belirlemiştir Bileşik 35'in 0.002 Mm IC₅₀ değerinde en etkili in vivo ksenograft antitümör ajan olduğu bildirilmiştir [95]. Brooke ve arkadaşları Bir dizi triazolofenilpiridazinon sentezlenmiş ve Bileşik 36'nın, IC₅₀ değeri 7.4 ± 4.8 Mm olan önemli bir PFKFB3 enzim inhibitörü olduğunu bildirmiştir [96]. Bir takım N-benzil sübstitüsyonlu ve Kloropiridazinil sübstitüsyonlu ferroseno [d] piridazinon türevleri Csokas ve arkadaşları tarafından geliştirilerek, over kanseri hücre proliferasyonu inhibisyonu için değerlendirilmiştir. Bileşik 37 ve 38'in, A2780 over karsinoma hücre hattına karşı sırasıyla $\% 27.62 \pm 1.94$ ve 22.53 ± 2.18 değerinde önemli inhibisyon aktiviteleri olduğu bildirilmiştir [97]. Ovais ve arkadaşları 6-aril-2- (p-(Metansülfonil) fenil) -4,5-dihidropiridaz-3 (2H) -on türevlerini sentezlenmiş ve bu bileşikleri 36 insan tümör hücre hattına karşı antikanser aktiviteleri açısından değerlendirmiş ve Bileşik 39 1 Mm'den daha düşük GI₅₀'ye sahip en aktif bileşik olarak bildirilmiştir [98].

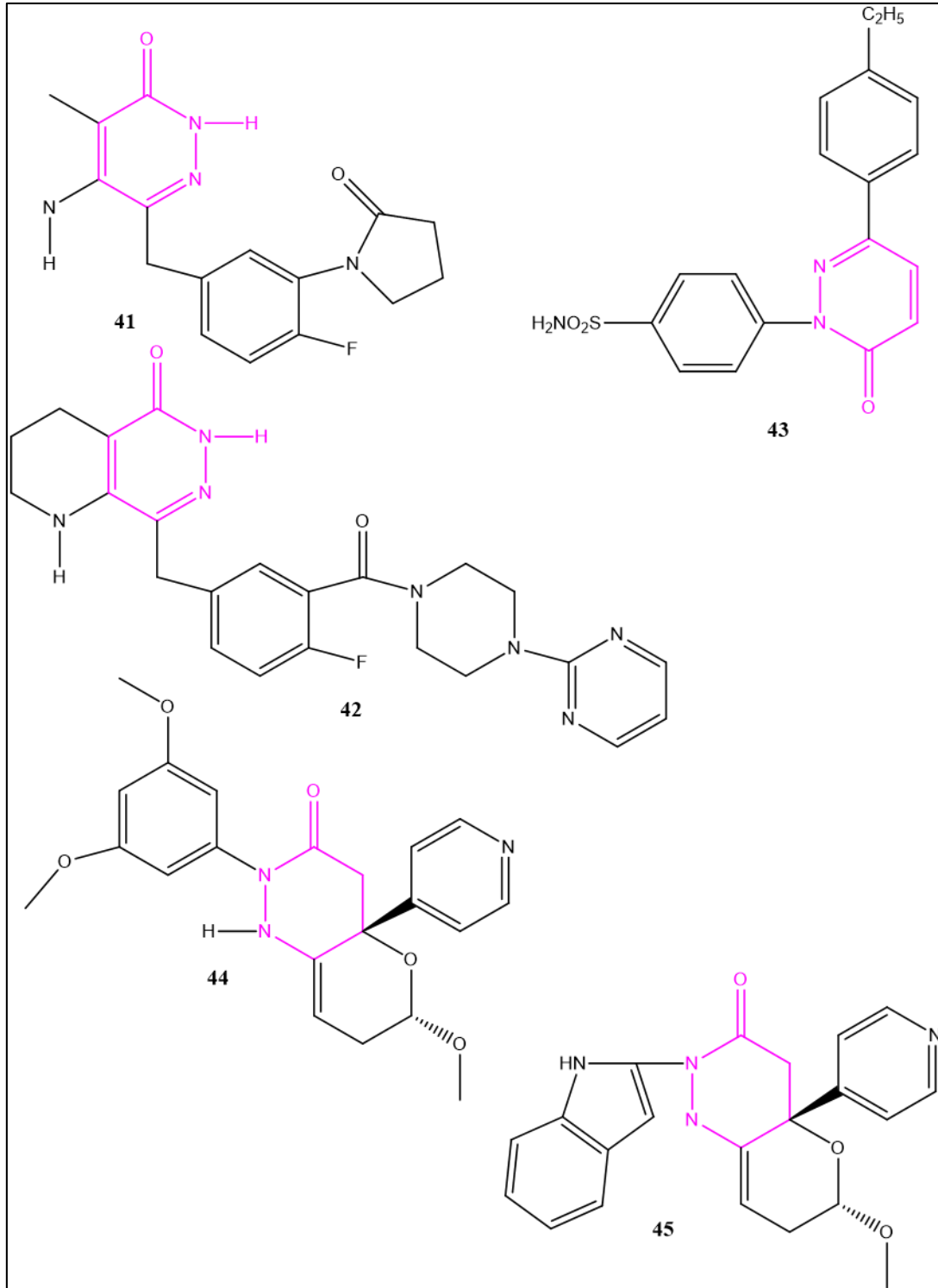
Ryu ve arkadaşları bir dizi piridazinon bazlı bileşik sentezleyerek, insan prostat LNCap hücreleri tedavisi ve androjen reseptörü aktivitesi açısından değerledirmiştir. IC₅₀ değeri 11.57 Mm olan Bileşik 40 en aktif bileşik olarak bulunmuştur [99]. Zhu ve arkadaşları yeni bir tetrahidropiridopiridazinon serisi geliştirerek PARP-1 enzimine karşı test etmiştir. Bileşik 41 ve 42'nin, B16 mürin ksenograft modelinde önemli etkinlik gösterdiği bildirilmiştir [100].

Rathish ve arkadaşları tarafından sentezlenen bileşikler arasında, bileşik 43, SR (lösemi) ve NCIH522 (Küçük hücre dışı akciğer)'ye karşı, 0.1 Mm'den daha düşük GI₅₀ değerinde çok önemli bir aktivite göstermiştir [101].

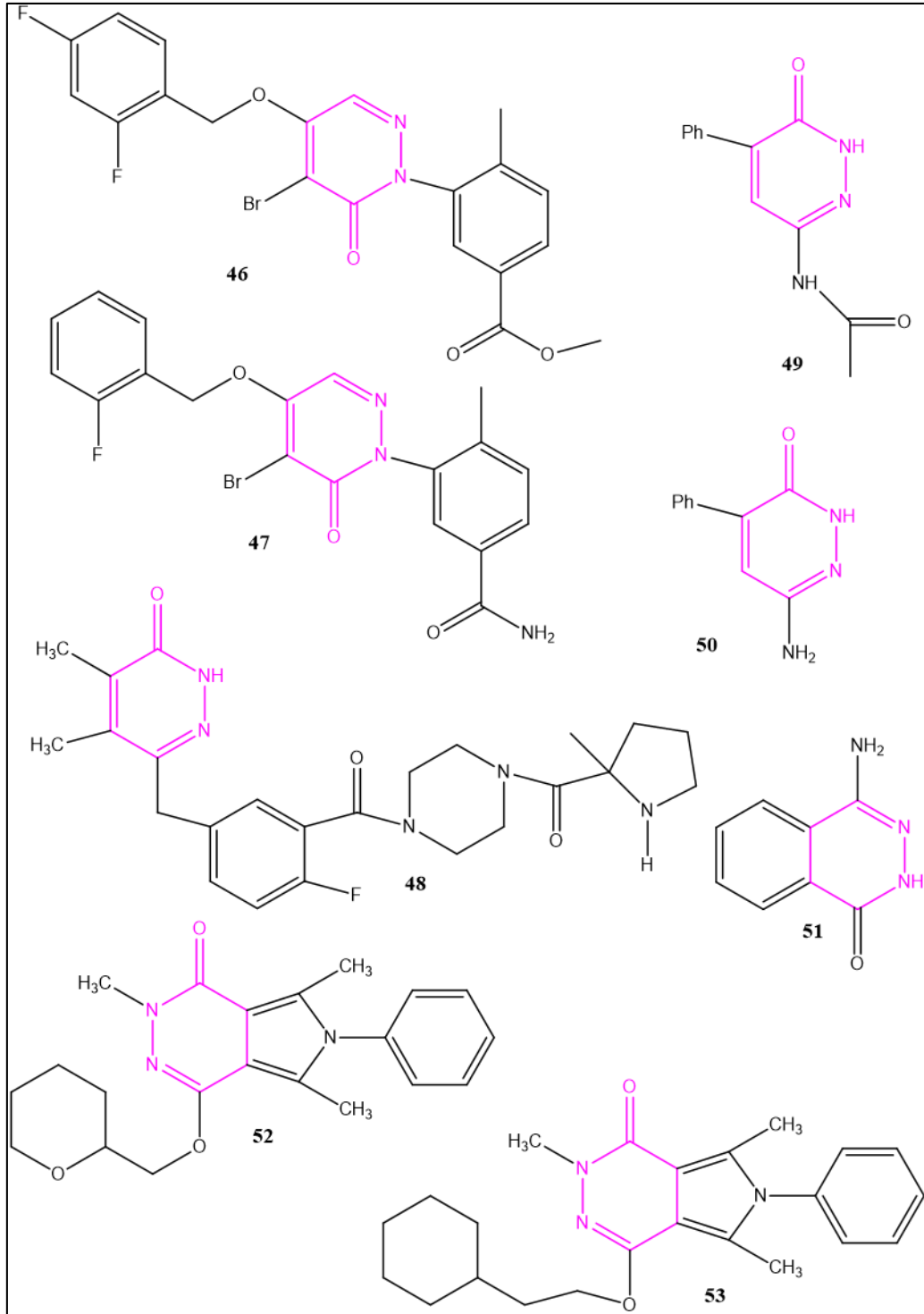
inhibitör aktivitesi açısından değerlendirilmiştir. Bileşikler 46 ve 47'nin sırasıyla 0.015 Mm ve 0.10 Mm IC₅₀ ile p38a'ya karşı aktif olduğu bulunmuştur [103].

Ferrigno ve arkadaşları bir dizi piridazinon bazlı bileşik geliştirerek, anti-kanser aktivitesini değerlendirmiştir. Bileşik 48, 2.8 Nm IC₅₀ değeri ile serisinin en aktif anti-kanser ajanı olarak bulunmuştur [104]. Elagawany ve arkadaşları tarafından sentezlenen piridazinon molekülleri arasında, IC₅₀ değeri 15 Mm'den düşük olan bileşik 49-51, dört tümör hücre hattına karşı en çok serinin güçlü bileşikler olarak bulunmuştur [105]. Malinka ve arkadaşları tarafından sentezlenen Piridazinon ana yapısına sahip olan bileşiklerden bileşik 52 ve 53, anti kanser taramasında 10⁻⁵ M/I ın altındaki konsantrasyonlarda en aktif bileşikler olarak bulunmuştur.

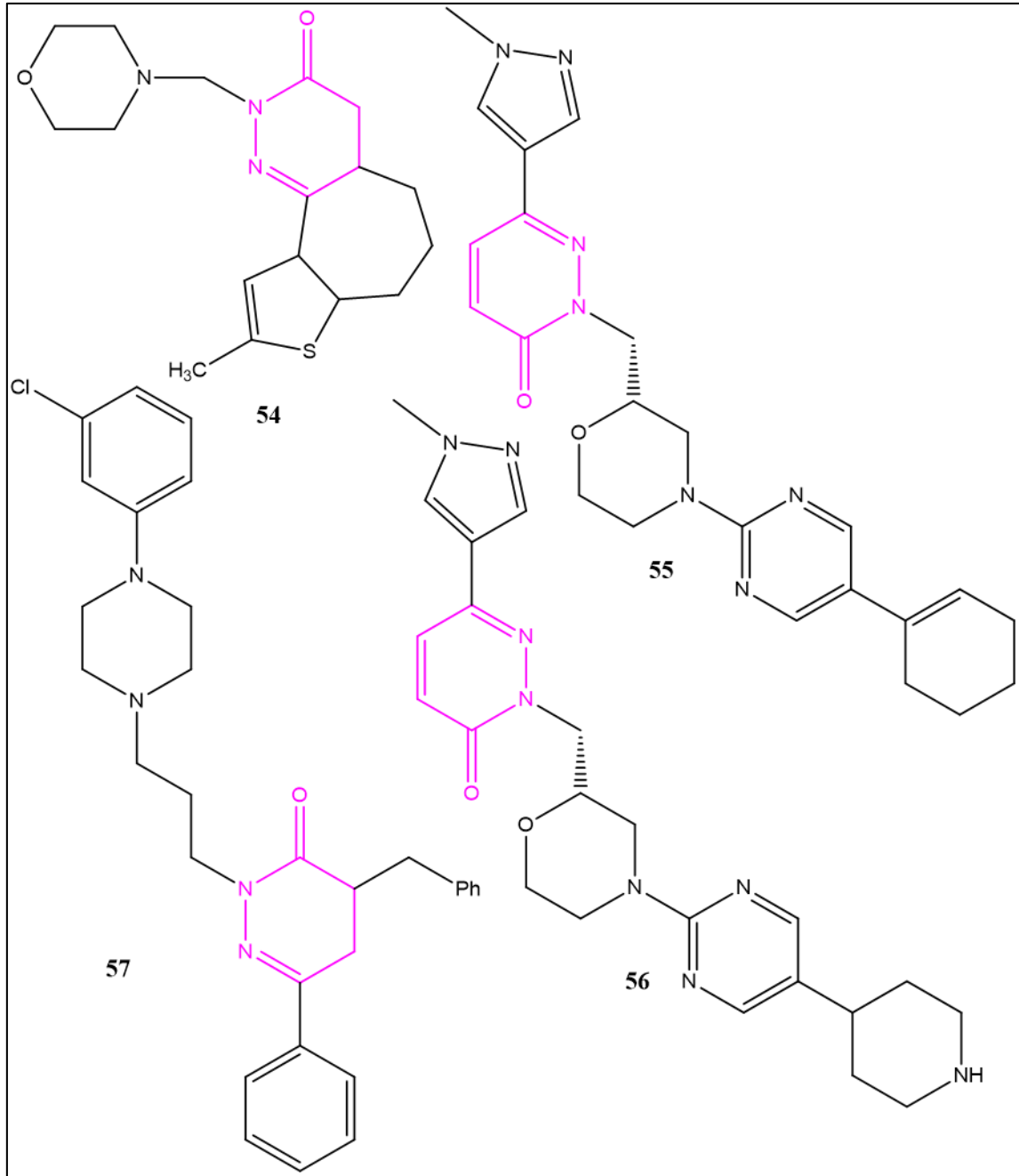
Bileşik 54 En potent olarak bulunmuştur [106]. Kim ve arkadaşları bir seri süstitüe pirazol-4-il piridazinon türevi sentezleyerek, c-Met enzimine karşı tirozin kinaz inhibitörleri olarak ve Hs746T insan gastrik kanser hücre hattına karşı anti-proliferatif etkinliği açısından değerlendirilmiştir. Bileşik 55 ve 56 en potent bileşikler olarak bulunmuştur [107]. Murty ve arkadaşları bir dizi 4- (aril / heteroaril-2-ilmetil) -6-fenil-2-[3- (4-süstitüe piperazin-1-il) propil] Piridazin-3 (2H) -on türevleri geliştirerek, anti kanser aktivitesini değerlendirmiştir. Bileşikler 57-60, antiproliferatif aktivitesi güçlü olan moleküller olarak bulunmuştur [108]. Panathur ve arkadaşları IC₅₀ değeri 0.04 Mm olan Bileşik 61'in, en aktif antikanser ajan olduğunu bildirmiştir [109].



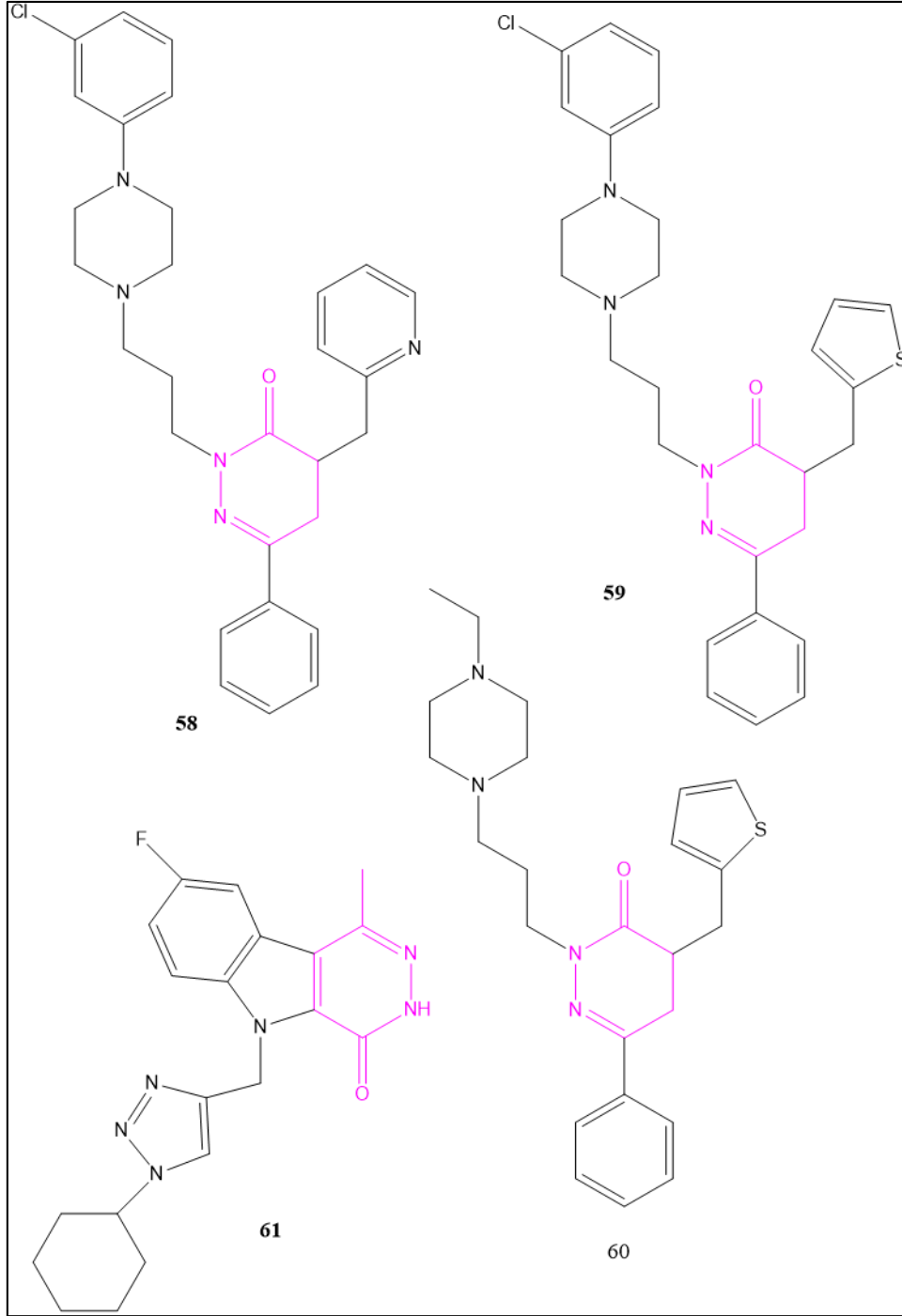
Şekil 2.9. Antikanser etkili piridazinon türevleri



Şekil 2.10. Antikanser etkili piridazinon türevleri



Şekil 2.11. Antikanser etkili piridazinon türevleri



Şekil 2.12. Antikanser etkili piridazinon türevleri

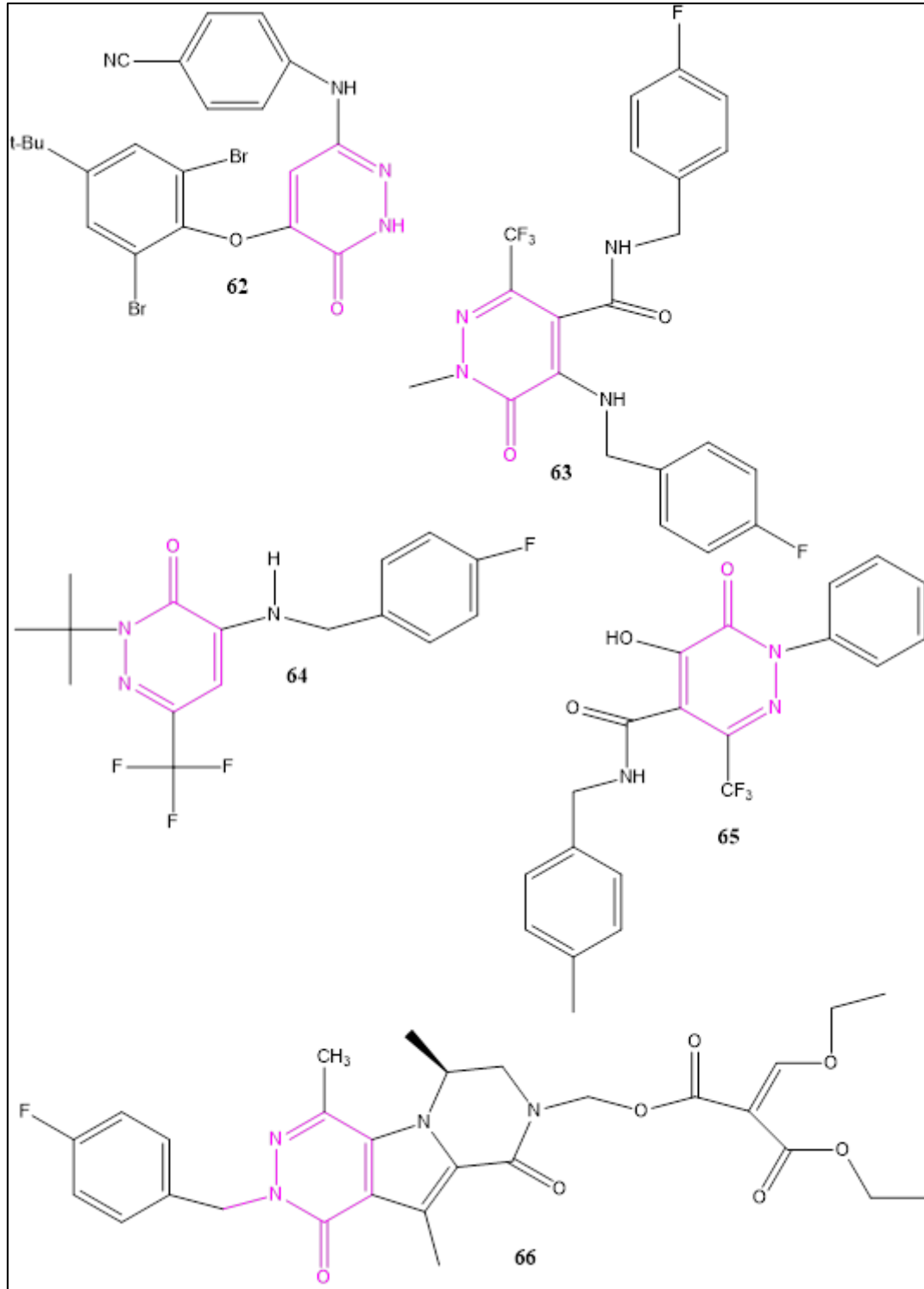
2.1.3. Piridazinon türevlerinin Antiviral aktivitesi

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

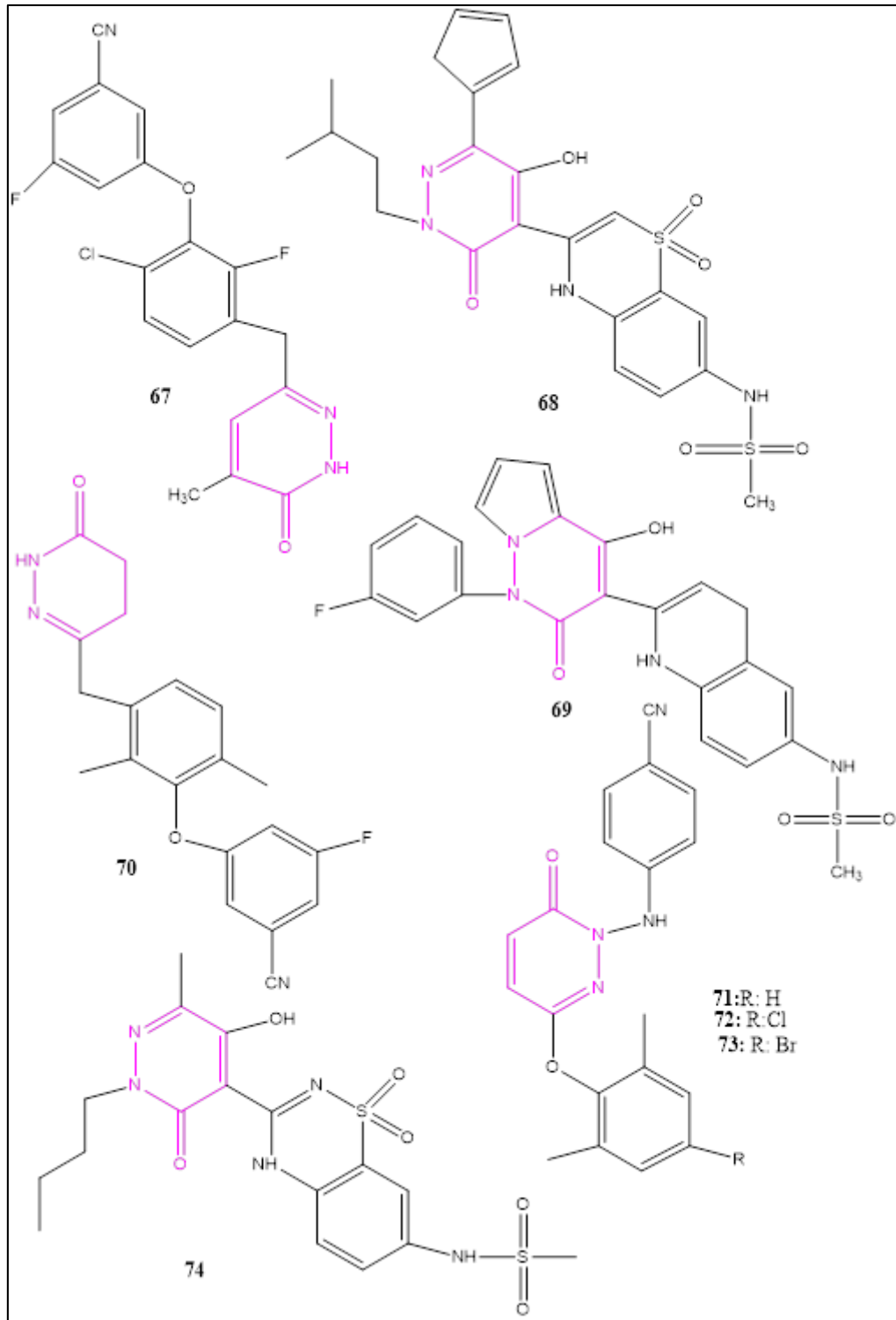
değerlendirilmiştir [110]. Piridazinon taşıyan antiviral ajanlar Şekil 2.13'te gösterilmiştir. Li ve arkadaşları piridazinon bazlı moleküller sentezlemiş ve düşük konsantrasyonlarda inatçı tip HIV-1'e karşı inhibitör aktivite açısından incelemiştir [111]. Buna göre bileşik 62, 0.21 ± 0.3 μ M EC₅₀ değeri ile en güçlü bileşik olarak kaydedilmiştir. Wang ve arkadaşları piridazinon analogları sentezlemiş ve antiviral aktivitelerini saptamıştır [112]. Bileşik 63 ve 64, HIV inhibisyon etkisi göstermiştir. Bu seriden bileşik 65, aynı zamanda in vivo anti-tütün mozaik Virüsü (Anti-TMV) aktivitesi göstermiştir [113].

Wiscount ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, piridazinon taşıyan bileşik 66, 10 Nm'den düşük olan IC₅₀ değeri ile integras iplikçik aktarım aktivitesini ve de 35 Nm'lik bir IC₉₅ değeri ile insan serumu varlığında HIV-1 hücre kültürü replikasyonunu inhibe etmiştir [114]. Sweeney arkadaşları piridazinon türevleri sentezlemiş ve antiviral aktivitelerini saptamıştır. Bileşik 67, HIV-1 non-nükleozid revers transkriptaz inhibitörü olarak belirlenmiştir [115]. Ellis ve arkadaşları piridazinon taşıyan bileşik 68'i 10 Nm'den az IC₅₀ değeri ve 1.1 Nm'den az CE₅₀ değeri ile güçlü bir HCV NS5B enzim inhibitörü olduğunu rapor etmiştir [116]. Ruebsam ve arkadaşları tarafından hazırlanan piridazinon analogları arasında Bileşik 69, genotip 1 HCV NS5B polimeraza karşı mükemmel bir etki göstermiştir [117]. Li ve arkadaşları, bir makalede piridazinonun fiziksel özellikleri ve farmakokinetik parametrelerini optimize etmişlerdir. Buna göre Bileşik 70'in, WT HIV-1'e ve ana mutant virüslere karşı yüksek bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur [118].

Venkatraj tarafından geliştirilen başka bir piridazinon türevleri serisinde Bileşik 71-73'in, inatçı tip HIV-1'e karşı mükemmel bir etki gösterdiği rapor edilmiştir [119]. Li ve arkadaşları tarafından sentezlenen piridazinon türevleri HCV NS5B polimeraz inhibisyonu açısından incelenmiş ve biyokimyasal analizlerde Bileşik 74'ün 10 Nm'den düşük IC₅₀ değeri ile güçlü inhibisyon etkisine sahip olduğu bulunmuştur [120].



Şekil 2.13. Antiviral etkili piridazinon türevleri



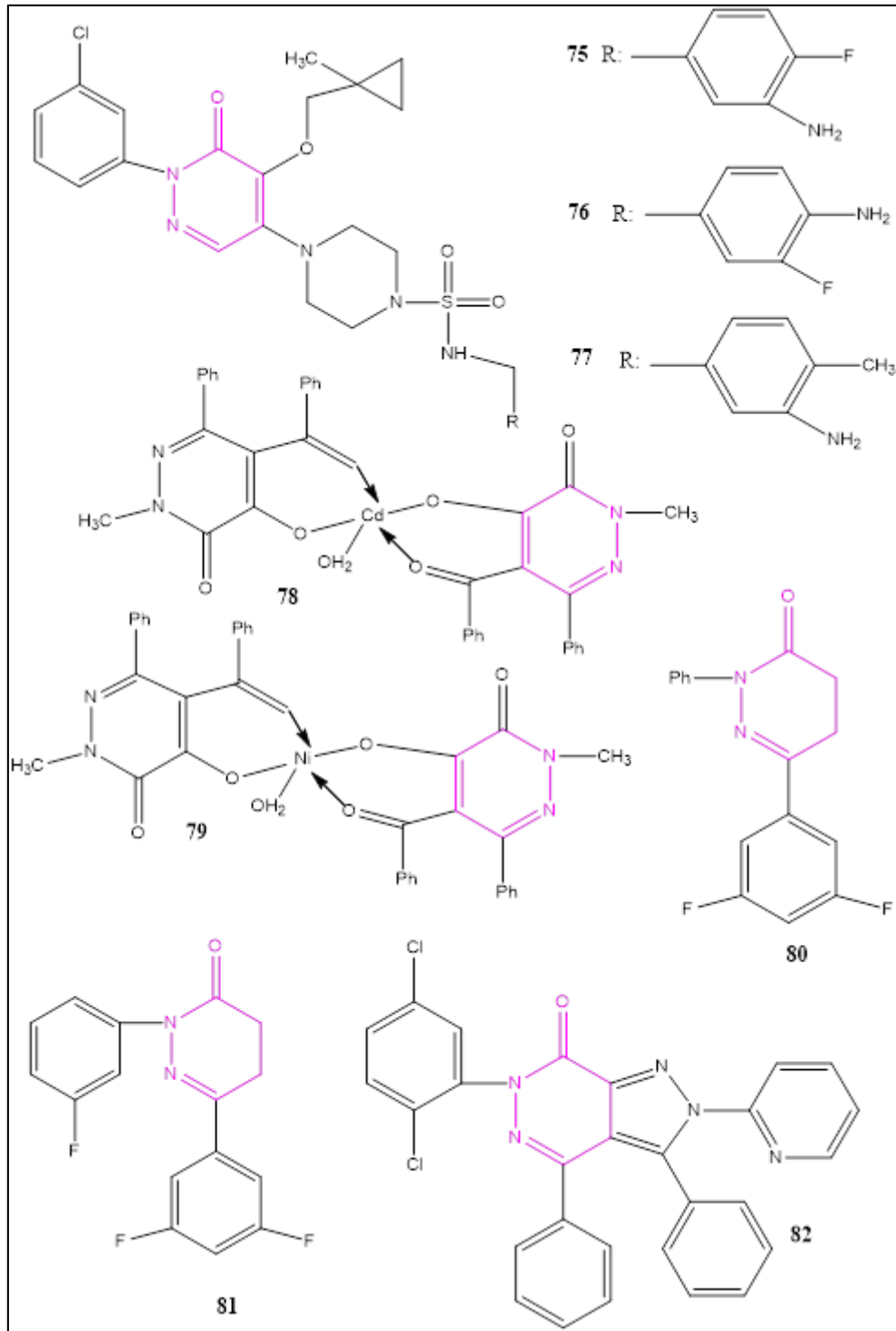
Şekil 2.14. Antiviral etkili piridazinon türevleri

2.1.4. Piridazinon türevlerinin Antimikrobiyal aktivitesi

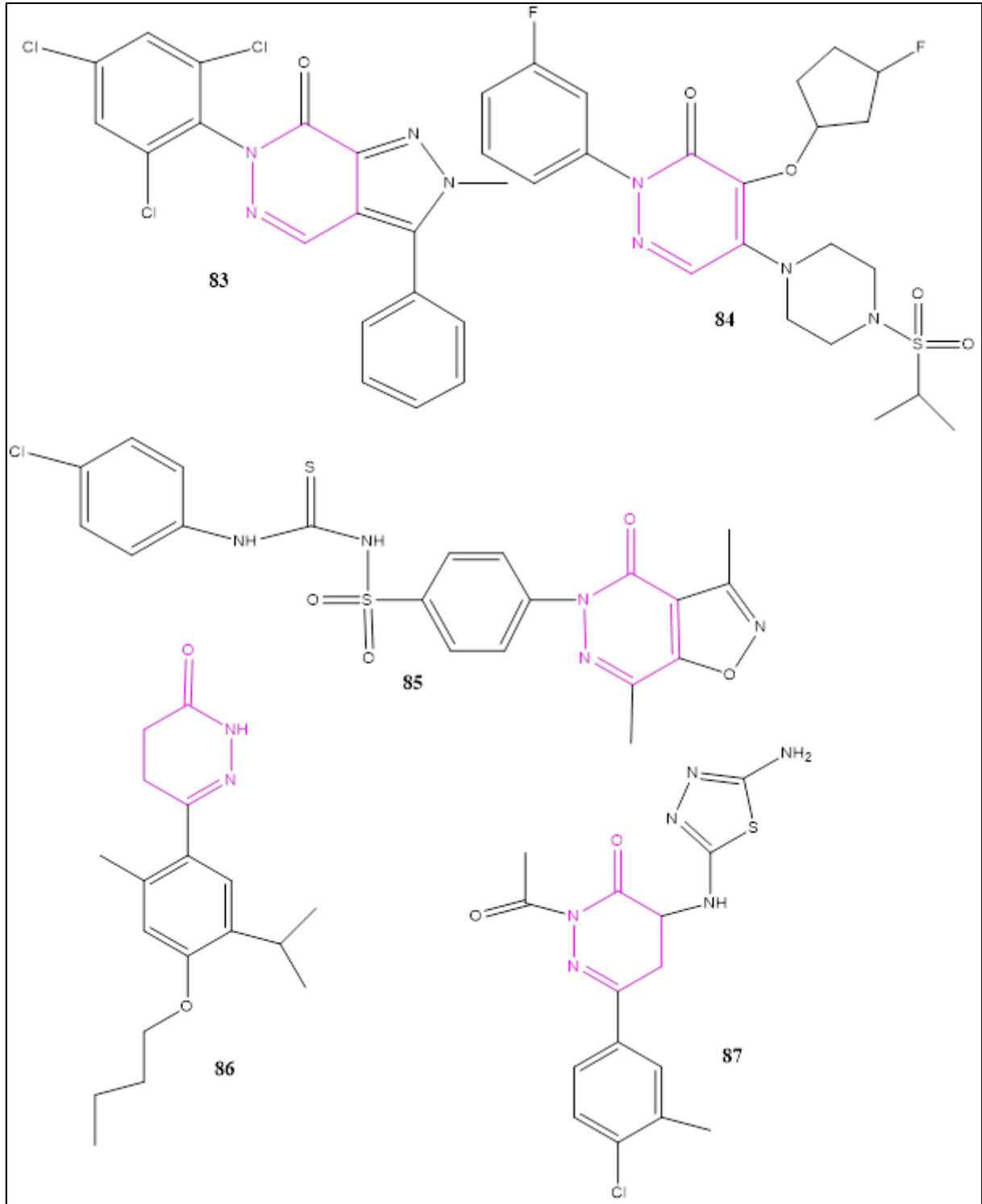
Antimikrobik enfeksiyonlar, dünyadaki tropik ülkelerde mortalite ve morbiditenin en önemli nedenlerinden biridir [121]. Antibiyotikler genellikle şiddetli ve hayatı tehdit eden bakteriyel enfeksiyonlardan kaçınmak için reçete edilir.

Zych ve arkadaşları tarafından bir dizi sübstitüe piridazinon sentezlenmiş ve antifungal aktivite saptanmıştır [122]. Buna göre Bileşik 75 ve 76'nın önemli ölçüde antifungal aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Değerlendirme, *Aspergillus fumigatus* küfüne ve yanısıra *Candida albicans*'ın (*C. Albicans*) izole edilmiş patojenik klinik suşlarına karşı yapılmıştır [123]. Kuang ve arkadaşları tarafından bir dizi piridazinon türevi sentezlenmiş ve antifungal aktivitelerine bakılmıştır. Buna göre Bileşik 77, 0.13 ug/Ml MIC₁₀₀ değeri ile *C.albicans* C697'ye karşı güçlü aktivite göstermiştir [124]. Sönmez ve arkadaşları tarafından birkaç piridazinon türevi sentezlenmiştir. Antifungal değerlendirme sonucu Kompleks 78 ve 79'un iki maya suşu olan *C. Albicans* ATCC 27541 ve *Candida tropicalis* 1828'e karşı çok aktif olduğu bulunmuştur [125]. Sowmya ve arkadaşları tarafından hazırlanan farklı piridazinon türevlerinden Bileşik 80 ve 81, çok aktif antibakteriyel ajanlar olarak rapor edilmiştir [126]. Akbaş ve arkadaşları bir seri piridazinon türevleri sentezlemiş ve antibakteriyel aktivite açısından incelemiştir. Bileşik 82 ve 83 Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilere karşı önemli ölçüde aktivite göstermiştir [127]. MIC değeri 0.31-0.0024 mg/Ml aralığında bulunmuştur.

Ting ve arkadaşları çeşitli piridazinon bileşikleri sentezlenmiş ve glukan sentez inhibisyonu açısından test etmiştir. Çalışmanın sonucunda, Bileşik 84, *Candida glabrata* enfeksiyonlu bir farede in vivo olarak kayda değer ölçüde etki meydana getirmiştir [128]. Faidallah ve arkadaşları bir seri piridazinon temelli bileşik sentezlemiş ve antimikrobiyal aktivitede olduklarını saptamışlardır. Bileşik 85, çok etkili bir antibakteriyel ajan olarak kaydedilmiştir [129]. Nagle ve arkadaşları tarafından geliştirilen Bileşik 86'nın umut verici ölçüde bakterisidal etkili olduğu ortaya çıkmıştır [130]. Sallam ve arkadaşları tarafından sentezlenen sübstitüe piridazinon-3(2*H*)-on dizilerinden Bileşik 87'nin, *S.Racemosum*'a karşı en iyi antibakteriyel aktivite gösteren bileşik olduğu ortaya çıkmıştır [131].



Şekil 2.15. Antimikrobiyal etkili piridazinon türevleri



Şekil 2.16. Antimikrobiyal etkili piridazinon türevleri

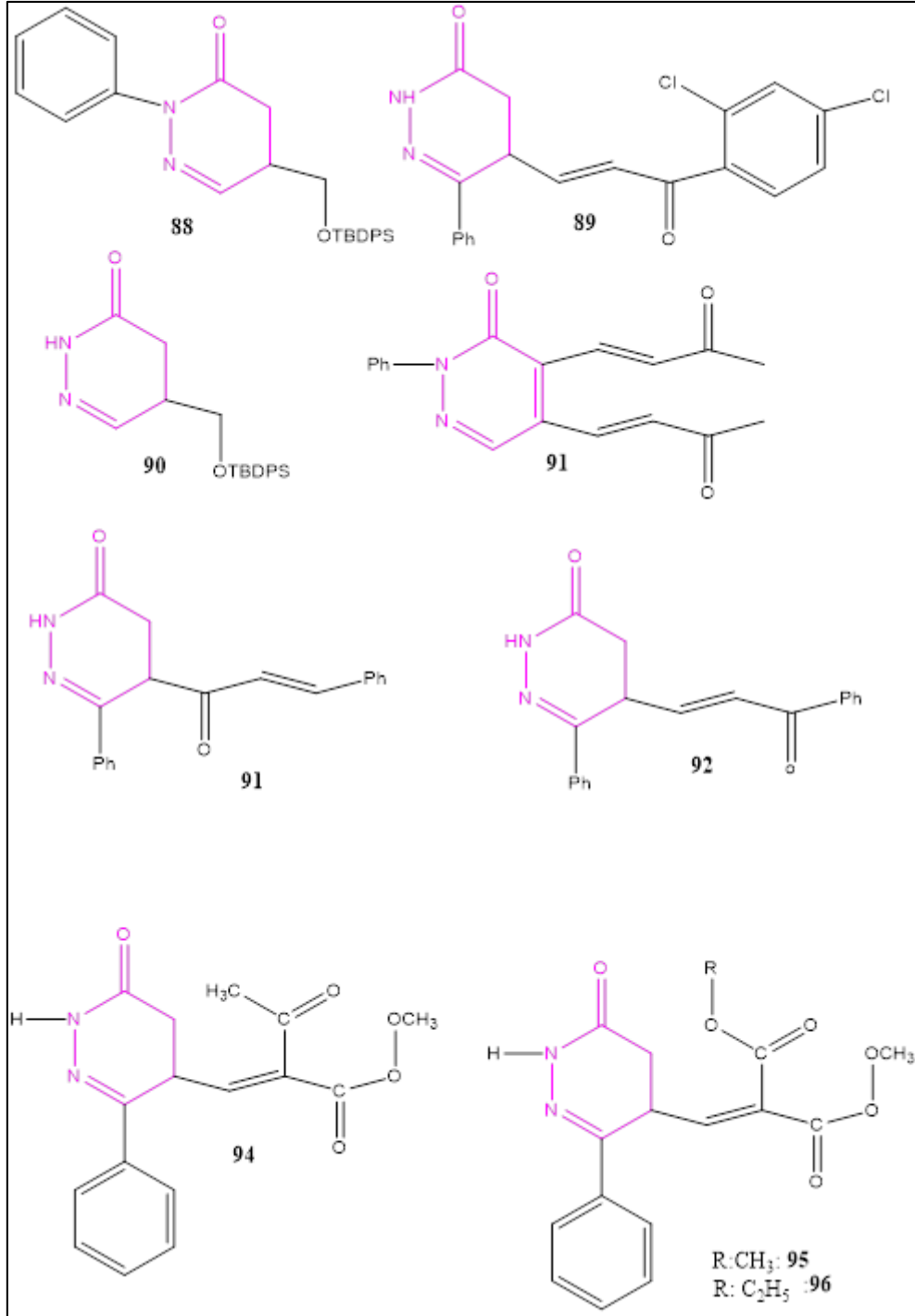
2.1.5. Piridazinon türevlerinin kardiyovasküler aktivitesi

Gelişmiş ülkelerde önde gelen kardiyovasküler hastalıklar, özellikle koroner kalp hastalığı ve inme, başlıca mortalite nedenleridir [132-133]. Dünya Sağlık Örgütü'ne (DSÖ) göre, dünya çapında her yıl ölümlerin yaklaşık üçte birini KVVH'den ölen 17 milyon insan oluşturmaktadır. Kardiyovasküler hastalıklardan ötürü dünya çapında yılda ölüm oranı çok yüksek seyretmektedir. Arteriyel hipertansiyon veya yüksek tansiyon olarak da bilinen hipertansiyon, arterdeki kan basıncının sürekli olarak yükseldiği kronik bir tıbbi durumdur. Piridazinon türevlerinin çeşitli biyolojik aktiviteler sergilediği bildirilmiştir. Çeşitli piridazinon molekülleri vazodilatör aktivite nedeniyle antihipertansif etkiye sahiptir.

Costas ve arkadaşları tarafından sentez edilen bileşikler arasında, bileşik 88'in, 0.55 ± 0.08 Um olan IC₅₀ değeri ile çok güçlü ve umut verici anti-platelet ajan olduğu bulunmuştur [134]. Maatougui ve arkadaşları tarafından Bileşik 89'un, 3.44 ± 0.04 Um olan IC₅₀ değeri ile etkili bir anti-platelet ajan olduğu tekrar rapor edilmiştir [135]. Costas ve arkadaşları tarafından tasarlanmış ve sentezlenmiş başka bir seride bileşik 90, 1.80 ± 0.11 Um olan IC₅₀ değeri ile trombosit anti-agregasyon ve vazodilatör aktivitesi nedeniyle en kuvvetli bileşik olarak yeniden raporlanmıştır [136].

Meyers ve arkadaşları ayrıca birkaç piridazinon türevi sentezlemiş ve trombosit agregasyon inhibisyonu için değerlendirmişlerdir. Buna göre Bileşik 91, 1.98 ± 0.66 Um olan IC₅₀ değeri ile yüksek trombosit agregasyon inhibitörü olarak bulunmuştur [137]. Crespo ve arkadaşları tarafından sentezlenen piridazin-3(2H) -on'ların bir başka serisinde, Bileşik 92'nin, 4.2 Um olan IC₅₀ değeri ile anti-platelet madde olarak en güçlü bileşik olduğu rapor edilmiştir [138].

Coelho ve arkadaşları bir dizi piridazinon türevi sentezlemiş ve trombosit agregasyon inhibisyonu etkileri için araştırmıştır. Bileşik 93, seride 25 Um'lik bir IC₅₀ değeri ile en kuvvetli bileşik olmuştur [139]. Sotelo ve arkadaşları tarafından sentezlenen piridazinon türevleri antiplatelet agregasyon aktivitesi açısından değerlendirilmiştir. Bileşik 94, 95 ve 96 sırasıyla 25,45 ve 20 Um'lik konsantrasyonlarda yüksek etkili olarak bulunmuştur [140].



Şekil 2.17. Kardiyovasküler etkili piridazinon türevleri

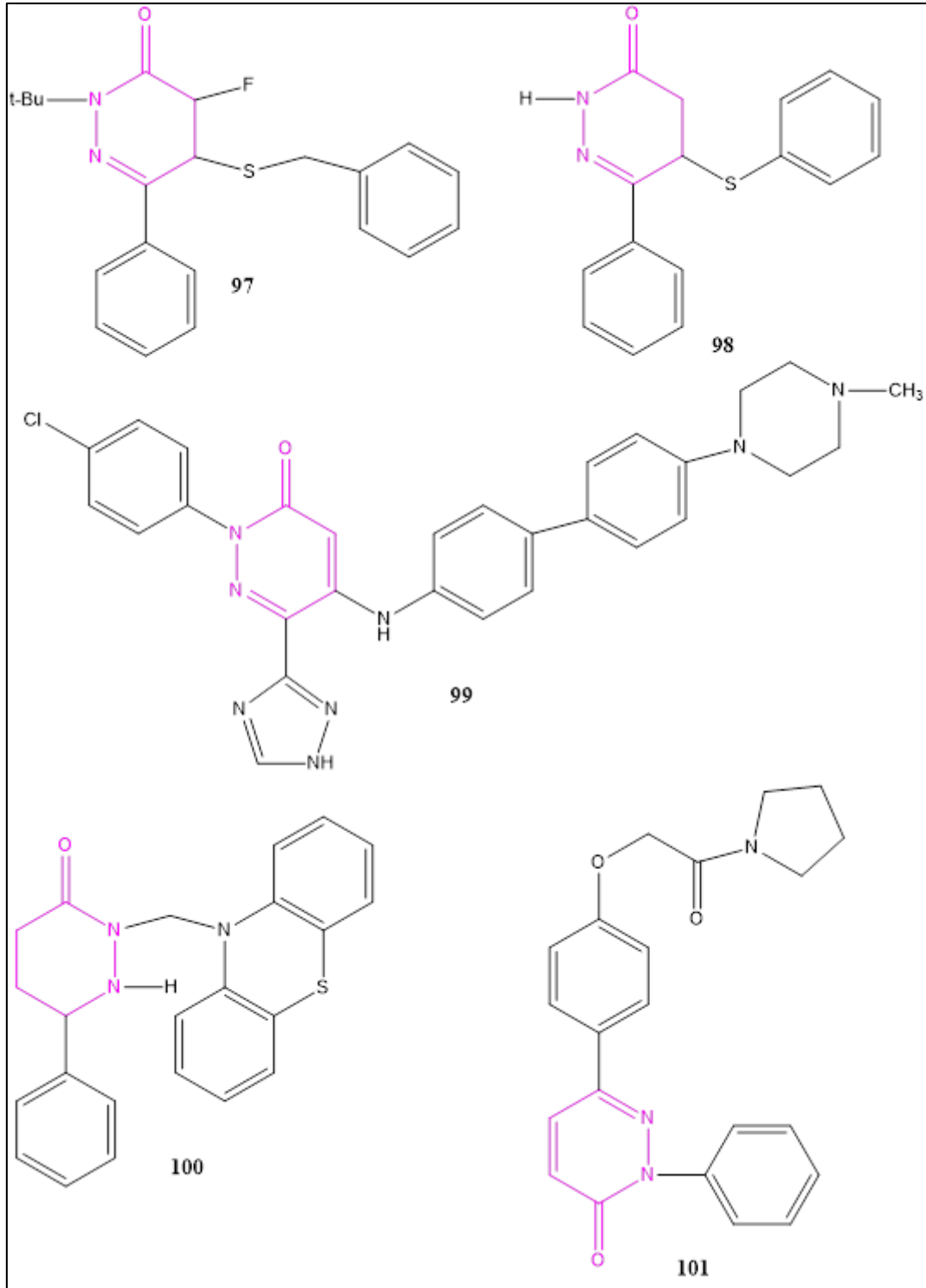
Sotelo ve arkadaşları tarafından sentezlenen bir başka piridazinon serisindeki Bileşik 97, 15 μM 'lik bir IC_{50} değeri ile çok güçlü platelet agregasyon inhibitörü olarak rapor edilmiştir [141]. Linden ve arkadaşları birkaç piridazinone türevi geliştirmiş ve onları Vasküler Adhezyon Protein-1 (VAP-1) aktivitesi için taramıştır. Bileşik 98, 20 Nm olan IC_{50} değeri ile en aktif insan VAP-1 inhibitörü olarak bulunmuştur [142].

Purohit ve arkadaşları tarafından geliştirilen bileşikler arasından bileşik 99'un çok etkin bir kardiyak Pozitron Emisyon Tomografi işaretleyici ajanı olduğu bulunmuştur [143]. Siddiqui ve arkadaşları tarafından geliştirilen piridazinon türevleri antihipertansif etkinlik açısından taranmıştır. Bileşik 100, ortalama 93.5 ± 3.09 mm Hg olan Arter Basıncı (MAP) için çok etkin bir antihipertansif ajan olarak saptanmıştır [144].

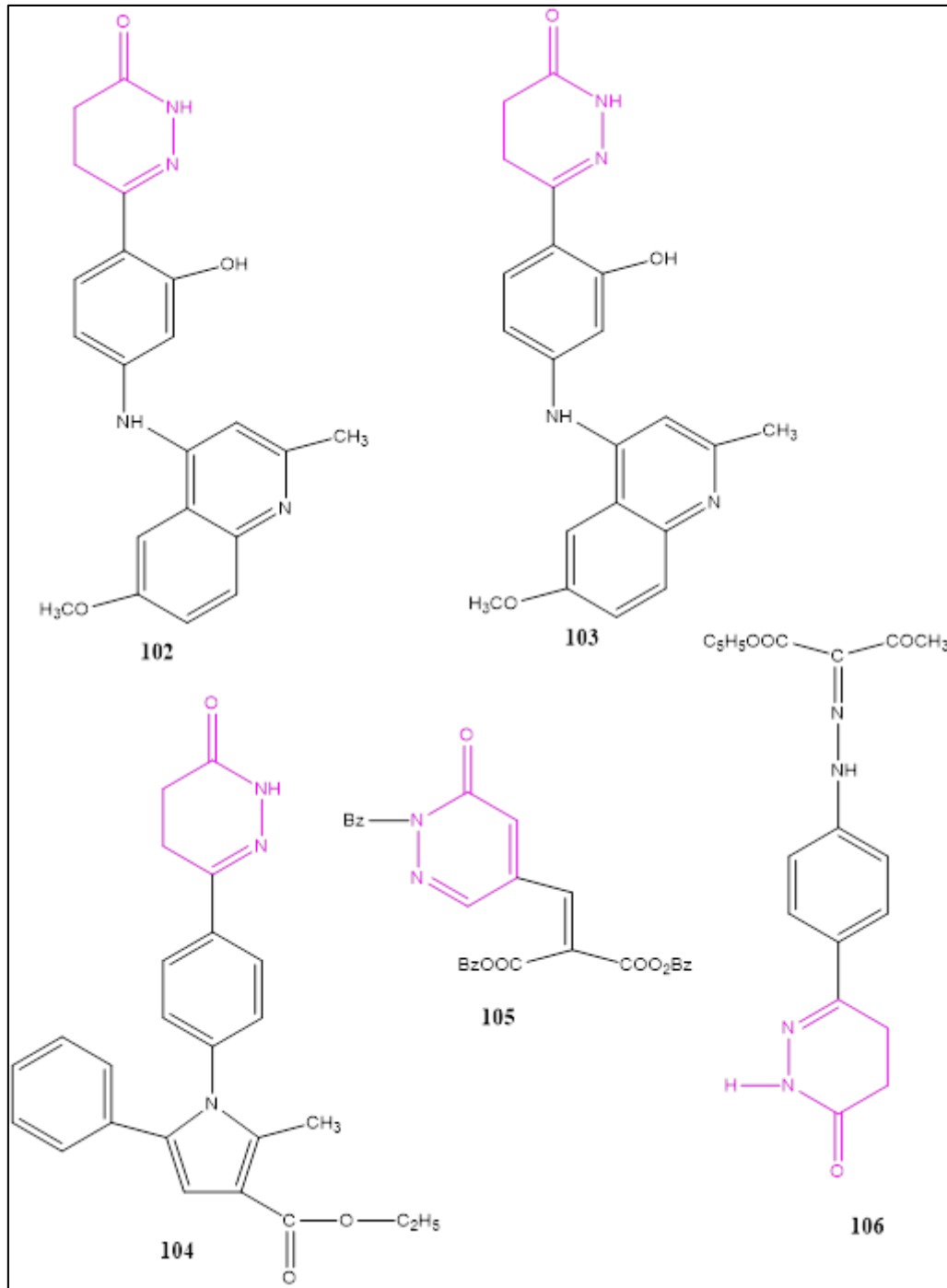
Bansal ve arkadaşları bir dizi süstitüe piridazinon türevi sentezlemiş ve bunların vazodilatör etkinliğini test etmiştir. Değerlendirmenin sonucunda, Bileşik 101, 0.051 μ M olan IC₅₀ değeri ile etkili bulunmuştur [145]. Abouzid ve arkadaşları tarafından sentezlenen bir dizi piridazinon türevi içinde, bileşik 102 ve 103 maksimum in vitro vasodilatör aktivite göstermiştir [146]. Demirayak ve arkadaşları sentezlenmiş piridazinon türevlerini incelemiş ve bunları in vitro ve in vivo antihipertansif etkinlik açısından değerlendirmiştir [7]. Bileşik 104, serinin en aktif bileşiği olarak rapor edilmiştir. Munin ve arkadaşları tarafından sentezlenen piridazinon türevlerinin yapısal modifiye hali olan Bileşik 105'in antihipertansif ve kardiyotonik özellikleri kadar iyi olan platelet agregasyon inhibisyonu etkisinden dolayı kardiyovasküler sistemde ilgi çekici ilaçlar olarak bilinmektedir [125].

Amin ve arkadaşları en aktif trombosit agregasyon inhibitör ajanı olarak 0.6 Mm / 20 Ml konsantrasyonda bileşik 106'yı rapor etmişlerdir [147]. Coelho ve arkadaşları yeni bir dizi piridazinon bileşiği sentezlemiş ve bunları trombosit agregasyon inhibitörleri olarak değerlendirmişlerdir. Bileşik 107, en etkili olduğu türev olarak tespit edilmiştir [148].

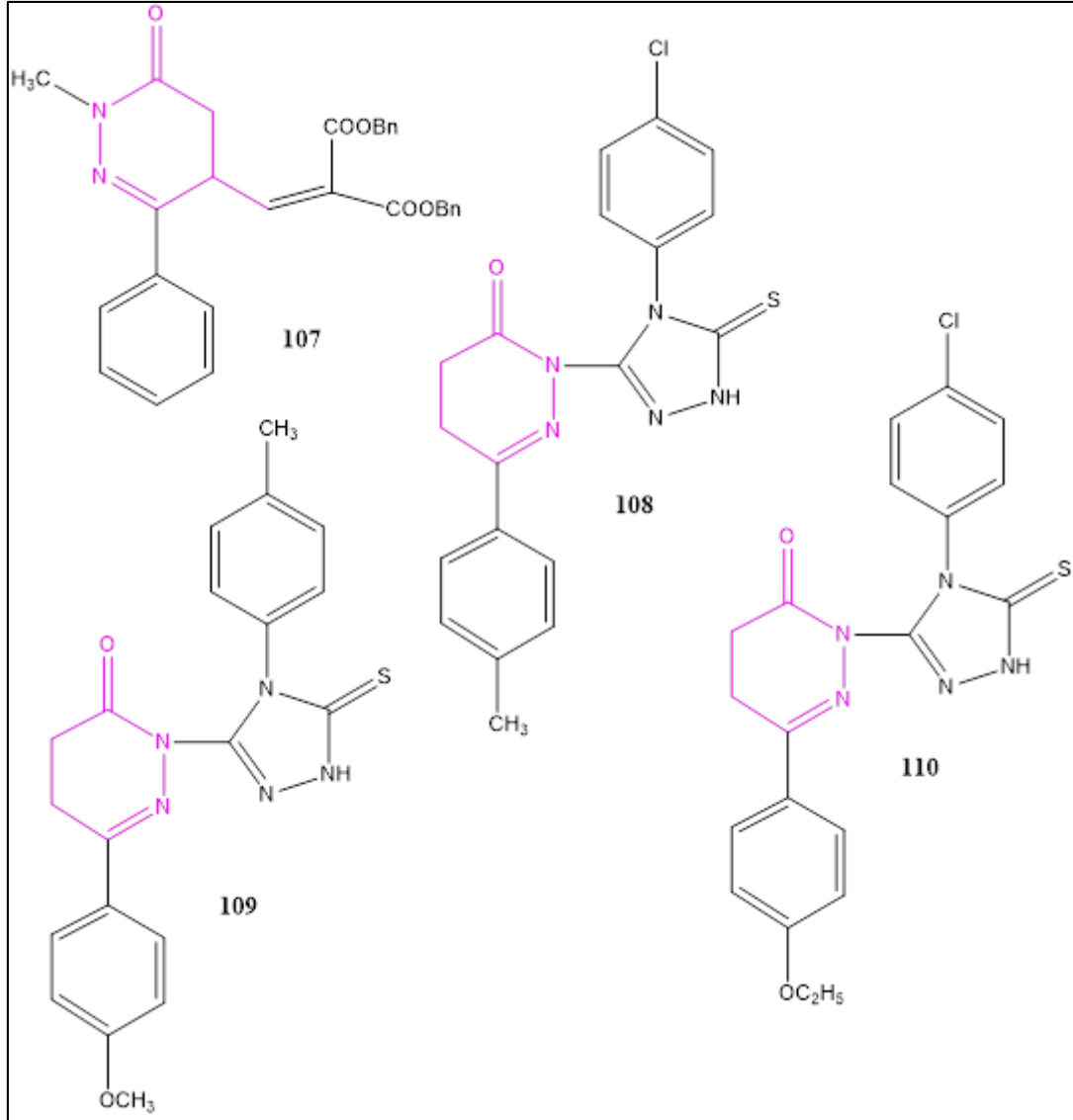
Bir seri 6-(süstitüefenil)-2-(4-süstitüe fenil-5-tiyokso-4,5-dihidro-1 H-1,2,4-triazol-3-il)-4,5-dihidropiridazin-3(2H)-on türevi Siddiqui ve arkadaşları tarafından sentezlenmiştir [149]. Sentezlenen bileşikler arasından bileşik 108-110 güçlü antihipertansif aktiviteler göstermişlerdir.



Şekil 2.18. Kardiyovasküler etkili piridazinon türevleri



Şekil 2.19. Kardiyovasküler etkili piridazinon türevleri



Şekil 2.20. Kardiyovasküler etkili piridazinon türevleri

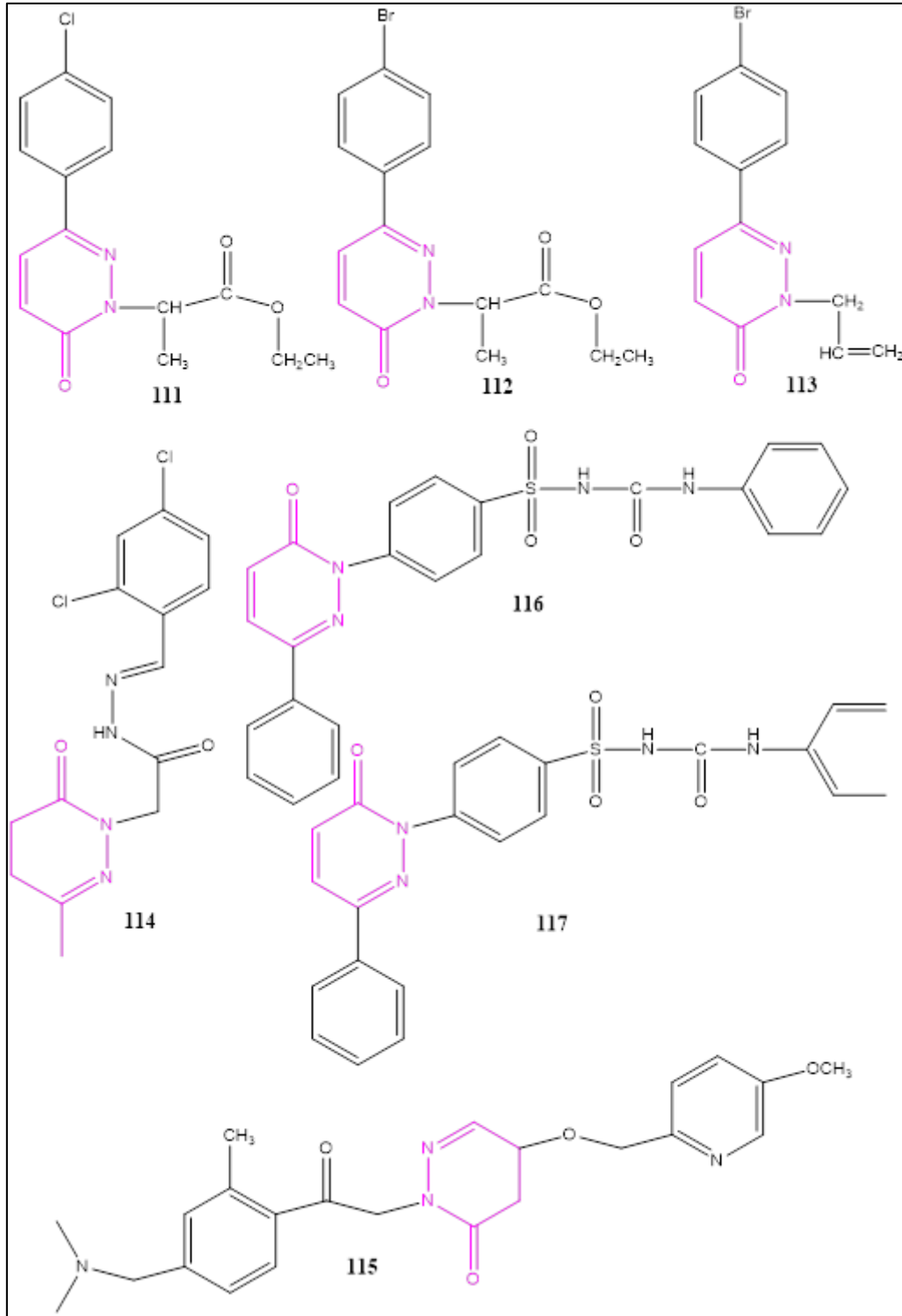
2.1.6. Piridazinon türevlerinin Antitüberküler aktivitesi

Binlerce yıldır insanlığı etkileyen ve bazen ölümcül olabilen bir hastalık olan tüberküloz Mycobacterium tuberculosis'ten kaynaklanmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü, dünya nüfusunun üçte birinin bakteri ile enfekte olduğunu tahmin etmektedir. 2014 yılında, 9,6 milyondan fazla insanda aktif tüberküloz gelişmiş ve yaklaşık 0,39 milyon insanın ölümüyle sonuçlanmıştır [150]. Tüberküloz kemoterapisi, bu hastalıkla ilişkili yüksek mortalite oranlarına yol açan dirençli TB suşlarının ortaya çıkması nedeniyle yoğun bir araştırma alanı olmaya devam etmektedir [151, 152]. Li ve arkadaşları mevcut ilaçlara direnç gösteren tüberküloz suşlarına karşı yen, moleküllerin tasarımı yapmışlardır [153]. Mantu ve arkadaşları bir seri antitüberküler piridazinon türevi sentezlemişleridir.

Sentezlenen bileşikler arasında bileşik 111, 112 ve 113 'ün sırasıyla 28.58, 26.85 ve 37.80 mg / mL IC_{50} değerleri ile en güçlü türevler olduğu tespit edilmiştir [154]. Tan ve arkadaşları tarafından geliştirilen 6-metil-4,5-dihidropiridazin-3(2*H*)-on türevleri anti-mikobakteriyel aktivite açısından değerlendirilmiştir. Bileşik 114'ün, 0.78 mM'lik minimum inhibitör konsantrasyon ile en aktif olduğu türev olduğu bildirilmiştir [155].

2.1.7. Piridazinon türevlerinin Antiobezite aktivitesi

Metabolik sendroma yol açabilen obezite, son zamanlarda arteriosklerotik hastalık riskini önemli ölçüde artıran bir faktör olarak dikkat çekmiştir. Japon diagnostik kriterlerine göre, obezite ve metabolik sendrom, visceral yağ birikimine bağlı olarak, hiperglisemi, hiperlipemi ve hipertansiyon gibi yüksek komplikasyon riski nedeniyle önleme ve / veya tedavi gerektiren koşullar olarak kabul edilir [156]. Piridazinon halkası taşıyan bir seri anti-obezite ajanı rapor edilmiştir. Oost ve arkadaşları tarafından piridazinon türevleri sentezlenmiş ve obezite tedavisi için MCH-R1 antagonistik aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Bileşik 115, 22 nM'lik IC_{50} ile serinin en aktif bileşiği olarak rapor edilmiştir [157].



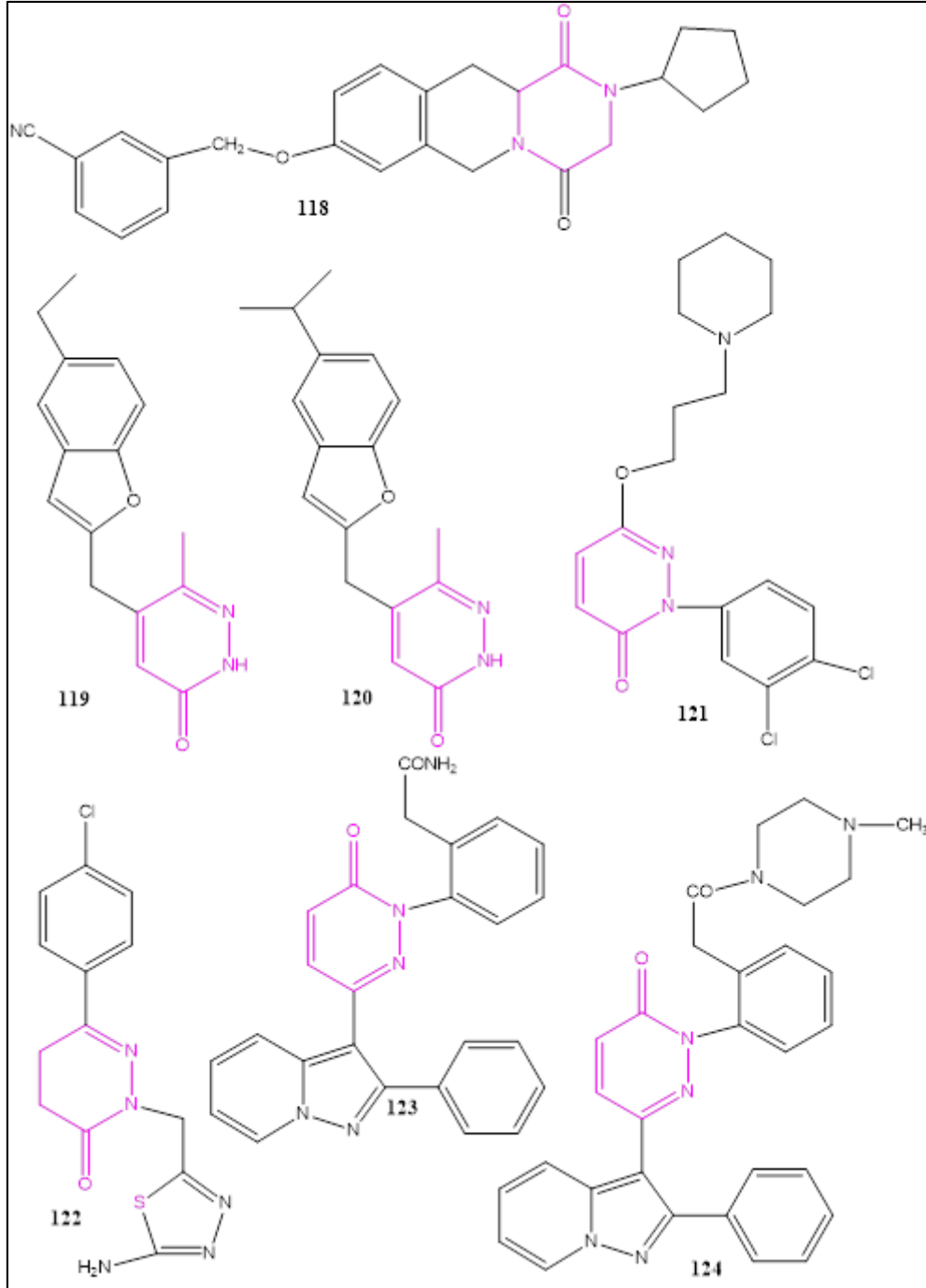
Şekil 2.21. Antitüberküler, Antiobesite ve Antidiyabetik etkili pridazinon türevleri

2.1.8. Piridazinon türevlerinin Antidiyabetik aktivitesi

Dünyada diyabet prevalansı her geçen yıl ciddi artış göstermektedir [158]. Piyasada mevcut olan birçok oral tedavinin yanı sıra, mevcut tedavilerin de yan etkilerinin üstesinden gelmek için uygun tedaviyi yönlendirmek için hala acil bir gereksinim vardır. Sülfonil üre türevi ilaçlar bilinenlerin en eskileridir ve halen potansiyel oral Antidiyabetik ajanlar olarak kullanılmaktadırlar. Glibenclamid, glimepirid, gliklazid vs. gibi sülfonilürelerin, bilinen PPAR-gamma agonistleri, rosiglitazon ve pioglitazondan daha güçlü bir şekilde PPAR-gamma'nın transkripsiyonel aktivitesini indüklediği rapor edilmiştir [159-163] Rathish ve arkadaşları bir seri piridazinon türevini sentezlemiş ve antidiyabetik aktivitelerini değerlendirmişlerdir. 116 ve 117 numaralı bileşiklerin, kan şekeri seviyesinin yükselmesinde %50'den fazla azalma ile en güçlü antidiyabetik ajanlar olduğu bildirilmiştir [164].

2.1.9. Piridazinon türevlerinin Nöroprotektif aktivite

Asetilkolinesteraz, nörotransmitterler olarak işlev gören asetilkolinin parçalanmasını katalize eden bir enzimdir. Alzheimer hastalığı (AD), merkezi sinir sisteminin kompleks bir nörodejeneratif hastalığıdır. Dünyada yaklaşık 36 milyon insanın şu anda alzheimer hastalığından muzdarip olduğu ve hiçbir yeni gelişme olmadığı takdirde rakamın 2030 yılına kadar 66 milyona çıkarılacağı tahmin ediliyor. Bir serin proteaz olan asetilkolinesteraz (AChE) asetilkolinin hidrolizinden sorumludur ve kolinerjik sendromlarda ve nöromusküler kavşakta nörotransmitter asetilkolinin etkisini durdurarak impuls aktarımında temel bir rol oynar [165]. Özellikle son 20 yılda piridazinon halkası taşıyan çok sayıda nöroprotektif ajan rapor edilmiştir. Lin ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada. Piridazinon halkası içeren bileşik 118'in insan sinir progenitör hücreleri üzerinde anlamlı nörojenik etki gösterdiği bildirilmiştir [166]. Boukharsa ve arkadaşları piridazinon halkası içeren bir seri türevler sentezlemiş ve antidepresan aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Bileşik 119 ve 120 en aktif türevler olarak tespit edilmişlerdir [167]. Bileşik 121 nöropatik ağrıların tedavisinde aday ilaç olarak bulunmuştur [168].



Şekil 2.22. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri

Sharma ve arkadaşları tarafından sentezlenen yeni bir seri bileşik antikonvülsan etki yönünden araştırılmıştır. Bileşik 122 arka bacak kasılmaları üzerinde koruyucu etki yaparak ümit verici antikonvülsan bileşik olarak rapor edilmiştir [169]. Kuroda ve arkadaşları tarafından sentezlenen bir dizi piridazinon analogunun, bileşik 123-125, A1 antagonistleri olarak aktif olduğu bulunmuştur [170].

2.1.10. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri

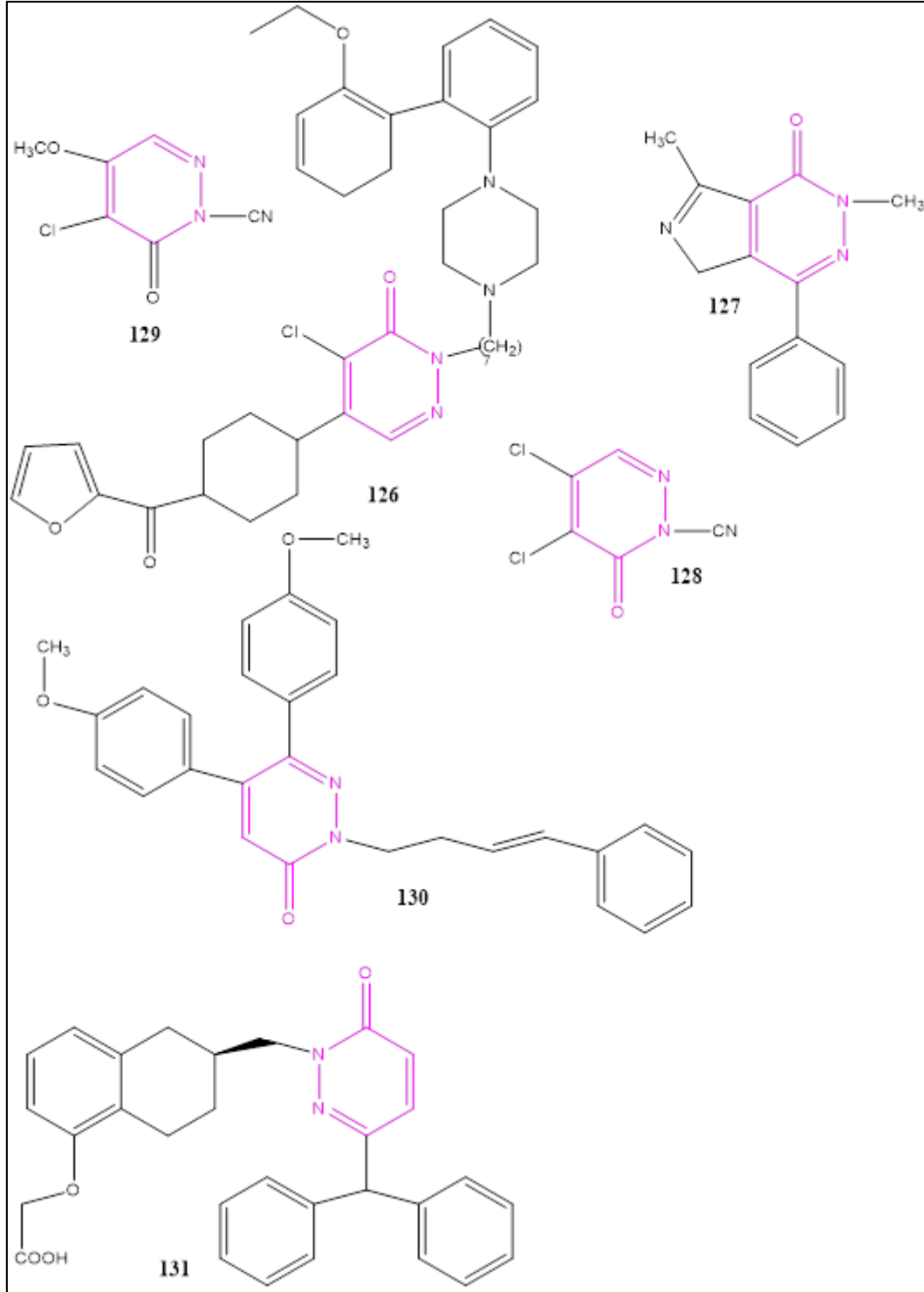
Betti ve arkadaşları çeşitli piridazinon türevleri geliştirmiş ve onların adrenoseptör antagonisti aktivitelerini test etmişlerdir. Bileşik 126 prazosinden daha güçlü bir aktivite ortaya çıkarmıştır [171]. Piaz ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen 3(2*H*)-piridazinon türevleri *Leishmania Meksicana* PDE inhibitör olarak değerlendirilmiştir. Değerlendirmenin ardından bileşik 127 en güçlü bileşik olarak bildirilmiştir [172].

Kim ve arkadaşları halka üzerinde siyano grubu taşıyan piridazinon türevleri türevleri sentezlemiş ve bunların siyanasyon etkilerini test etmişlerdir. Bileşik 128 ve 129 serinin en güçlü bileşiği olarak değerlendirilmiştir [173]. Matsuda ve arkadaşları sentezledikleri piridazinon türevinin ve interleukin-1b inhibe edici potansiyellerini değerlendirmişlerdir. Değerlendirmeden sonuçlarına göre, bileşik 130, 0,10 μ M konsantrasyonda en yüksek inhibitör etkiyi göstermiştir [174].

Tsubaki ve arkadaşları bifenil-3(2*H*)-piridazinon türevleri sentezlemiş ve nonprostanoid PGI₂ agonistik aktivitelerini araştırmışlardır. Bileşik 131 0.081 μ M IC₅₀ ile en aktif bileşik olarak rapor edilmiştir [175]. Vila ve arkadaşları benzo-3(2*H*)-piridazinon türevleri sentezlenmiştir. Sentezlenen türevler içinde bileşik 132 en güçlü antinosiseptif aktivite göstermiştir [176].

Giovannoni ve arkadaşları tarafından yeni bir seri piridazinon türevi sentezlemiş ve test edildi. İnsan A₁ adenosin olarak reseptör antagonisti olarak farmakolojik aktivite çalışmaları yapılmıştır. Bileşik 133 denenilen bileşikler arasına en aktif türev olarak bulunmuştur [177].

Hudkins ve arkadaşları 3,4-dihidropiridazinon türevleri geliştirmiş ve histamin-3 reseptörü agonistik aktivite için test etmişlerdir. Bileşik 134 en güçlü uyandırmaya teşvik edici bileşik olarak rapor edilmiştir [178].



Şekil 2.23. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri

Baladi ve arkadaşları piridazinon çekirdeğine sahip güçlü ve seçici bir c-Met inhibitörü olarak bileşik 135 hakkında bir derleme yayınlamışlardır [179]. Li ve arkadaşları yayınladıkları bir derlemede potansiyel fosfodiesteraz 4 (PDE4) inhibitörleri olarak geliştirilen pirazolo [3,4-d] piridazinonların (bileşik 136) immün hastalıkların terapötik tedavisinde yaygın olarak kullanıldığını rapor etmişlerdir [180].

Xing ve arkadaşları bazı piridazinon bazlı analog bileşikler sentezlemiş ve bunları asetilkolinesteraz inhibe edici aktivite açısından değerlendirmişlerdir. Sentezlenen bileşikler arasında, 137 numaralı bileşiğinin en etkili olduğu bulunmuştur [181]. Barbaro ve arkadaşları bir dizi yeni piridazin-3(2*H*)-on türevi geliştirmiş ve onların radyo-ligand reseptörü bağlanma deneyleri ile hem α_1 hem de α_2 -adrenoseptörlere karşı *in vitro* afinitesini araştırmışlardır. Bileşik 138 1.9 nM'lik α -AR afinitesi ile çok umut verici bileşik olarak değerlendirilmiştir [182].

Giovannoni ve arkadaşları yeni bir seri 3(2*H*)- piridazinon ve türevlerini sentezlemiş ve bunların antinosiseptif aktiviteleri için değerlendirmişlerdir. Değerlendirmenin ardından, bileşik 139 serinin en etkili türevi olarak rapor edilmiştir [183]. Hudkins ve arkadaşları selektif histamin H_3 reseptörü ters agonistleri olarak etki göstermesi beklenen 3(2*H*)-piridazinon türevleri sentezlemişlerdir. Sentezlenen bileşikler arasında bileşik 140 sıçanda doza bağlı olarak (ED_{50} : 0,06 mg / kg) agonistler tarafından indüklenen dipsogenia'yı tersine çevirmiştir [184].

Bashir ve arkadaşları yeni 3(2*H*)-piridazinon analogları sentezlemiş ve bunları kan glukozunu düşürücü aktivite açısından değerlendirmiştir. Bileşik 141'in maksimum azalma gösterdiği rapor edilmiştir (%38,8) [185]. Liu ve arkadaşları bir dizi 6-aril-2-(3-(heteroarilalamino) benzil) piridazinon türevi tasarlamış ve bunları c-Met tirozin kinaza karşı güçlü ve seçici inhibe edici aktiviteler için değerlendirmişlerdir. Bileşik 142 en aktif bileşik olarak bulunmuştur [186].

Cesari ve arkadaşları yeni oksazolopiridazinon türevleri sentezlemiş ve antinosiseptif aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Değerlendirme sonucunda Bileşik 143, en kuvvetli antinociceptif aktiviteyi göstermiştir [187]. Bruel ve arkadaşları 5-benzil-4-okso-3,4-dihidro-5*H*-piridazino [4,5-*b*] indollerden oluşan yeni bir seri piridazinon türevleri sentezlemişleridir. Bunlar arasında, bileşik 144, $PI3K\alpha$ 'ya karşı IC_{50} 0.091 mM değerinde ümit verici önleyici aktivite sergilemiştir [188]. Giovannoni ve arkadaşları tarafından geliştirilen çeşitli piridazinon asetamit türevleri arasında bileşik 145, 3.0 mM EC_{50} değeri ile iyi formil peptit reseptörleri (FPR) agonistik aktivite ortaya çıkarmıştır [189]. Vergelli ve arkadaşları yeni bir seri piridazinon mannich bazı sentezlemiş ve antinosiseptif aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Sentezlenmiş türevler arasında 146 dikkate değer bir anti-nosiseptif madde olarak rapor edilmiştir [190].

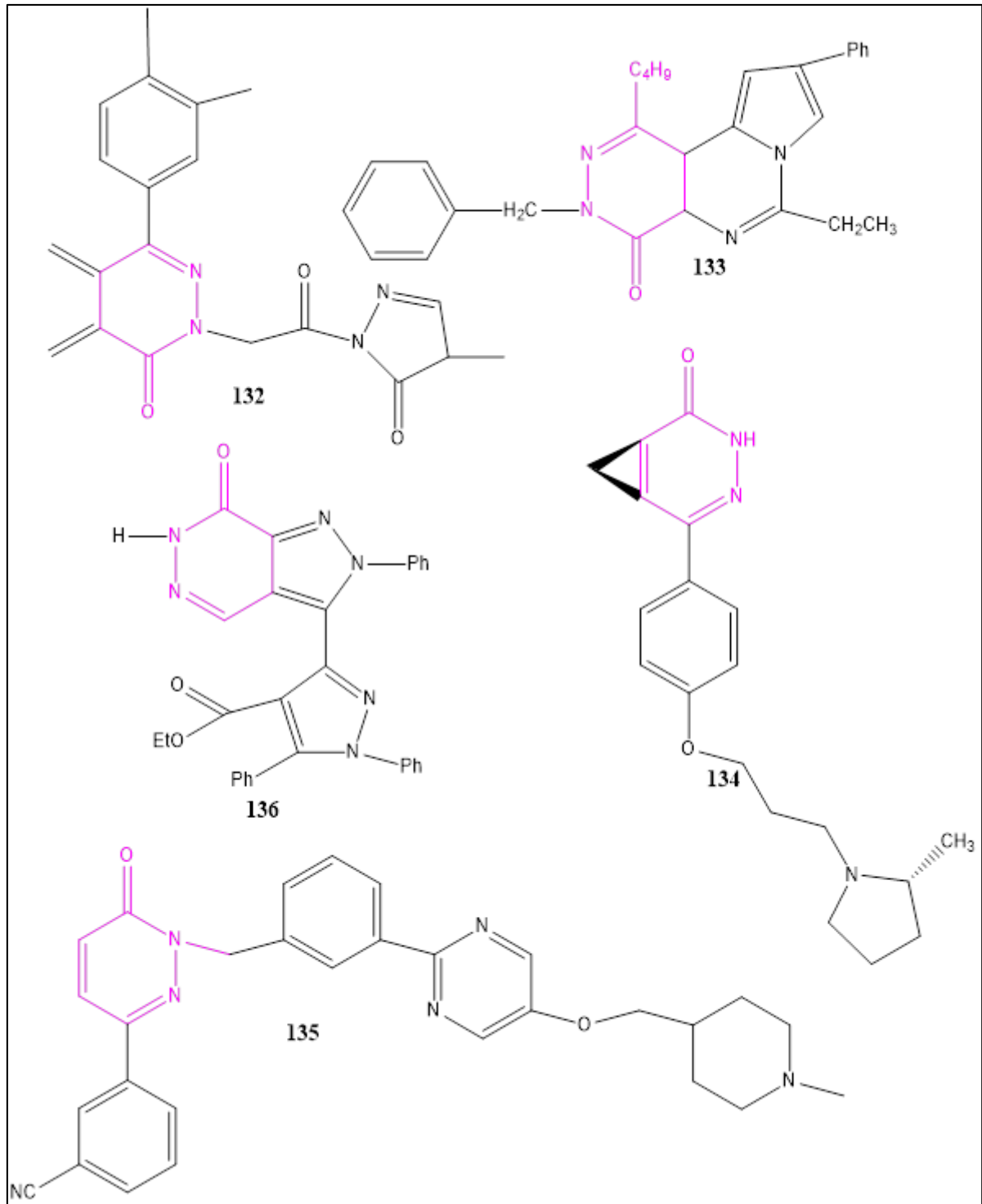
Veerman ve arkadaşları tarafından bir dizi piridazinon bazlı kondanse halkalı türev sentezlenmiş ve insan PDE4 alt tipleri aktivitesi için taranmıştır. Bileşik 147 en aktif olarak bulunmuştur [191].

Hudkins ve arkadaşları tarafından geliştirilen bir başka sınıf piridazinon serisinde, Bileşik 148'in in vivo olarak güçlü bir histamin 3 reseptör fonksiyonel antagonisti olduğu bulunmuştur [192].

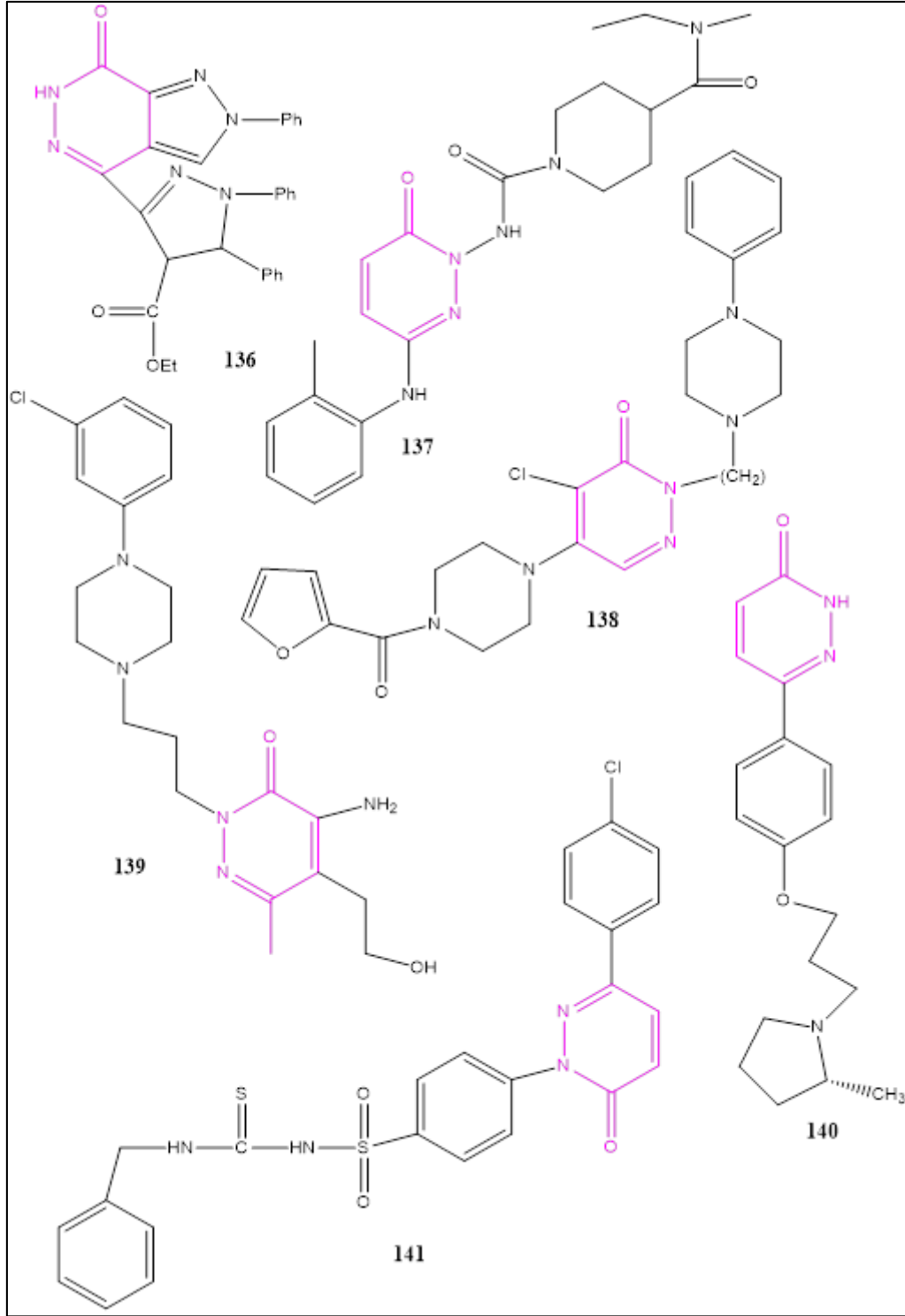
Biancalani ve arkadaşları bir seri N-alkil-3(2*H*)-piridazinon türevi sentezlemiştir. Sentezlenen türevler arasında bileşik 149 3,5 mg ED₅₀ değeri ile en aktif antinosiseptif ajan olarak bildirilmiştir [193]. Hudkins ve arkadaşları piridazinon halkasının 4. konumunda süstitüent taşıyan bir seri 3(2*H*)-piridazinon türev i sentezlemiştir. Sentezlenen bileşiklerin hisamin H₃ reseptörü ters agonist aktiviteleri test edilmiştir. Bileşik 150'nin sıçan dipsogeni modelinde in vivo fonksiyonel H₃R antagonizmini gösteren güçlü bir aday olduğu bildirilmiştir [194]. Bruel ve arkadaşları trisiklik bir yapıya kondanse piridazinon türevleri sentezlemişler ve farmakolojik aktivitesini test etmişlerdir. Bileşik 151 IC₅₀ 0.6 mM değeri ile olan umut verici bir DYRK1A (Dual specificity tyrosine-phosphorylation-regulated kinase 1A) inhibitörü olarak rapor edilmiştir [195].

Becknell ve arkadaşları tarafından 6-süstitüefenilpiridazinon türevleri geliştirilmiştir. Sentezlenen bileşikler histamin-3 reseptör antagonistleri için değerlendirilmiş ve bileşik 152, mükemmel insan ve sıçan H₃R eğilimleri göstermiştir [196]. Betti ve arkadaşları tarafından geliştirilen 2,4-süstitüepiperazindiridazinon türevleri arasında, bileşik 153'ün α 1-adrenerjik reseptörlere karşı önemli bir bağlanma afinitesine sahip olduğu rapor edilmiştir [197].

Vergelli ve arkadaşları tarafından sentezlenen bileşikler arasında, bileşik 154, formil peptid reseptör agonisti olarak dikkat çekici aktivite göstermiştir [198].



Şekil 2.24. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri



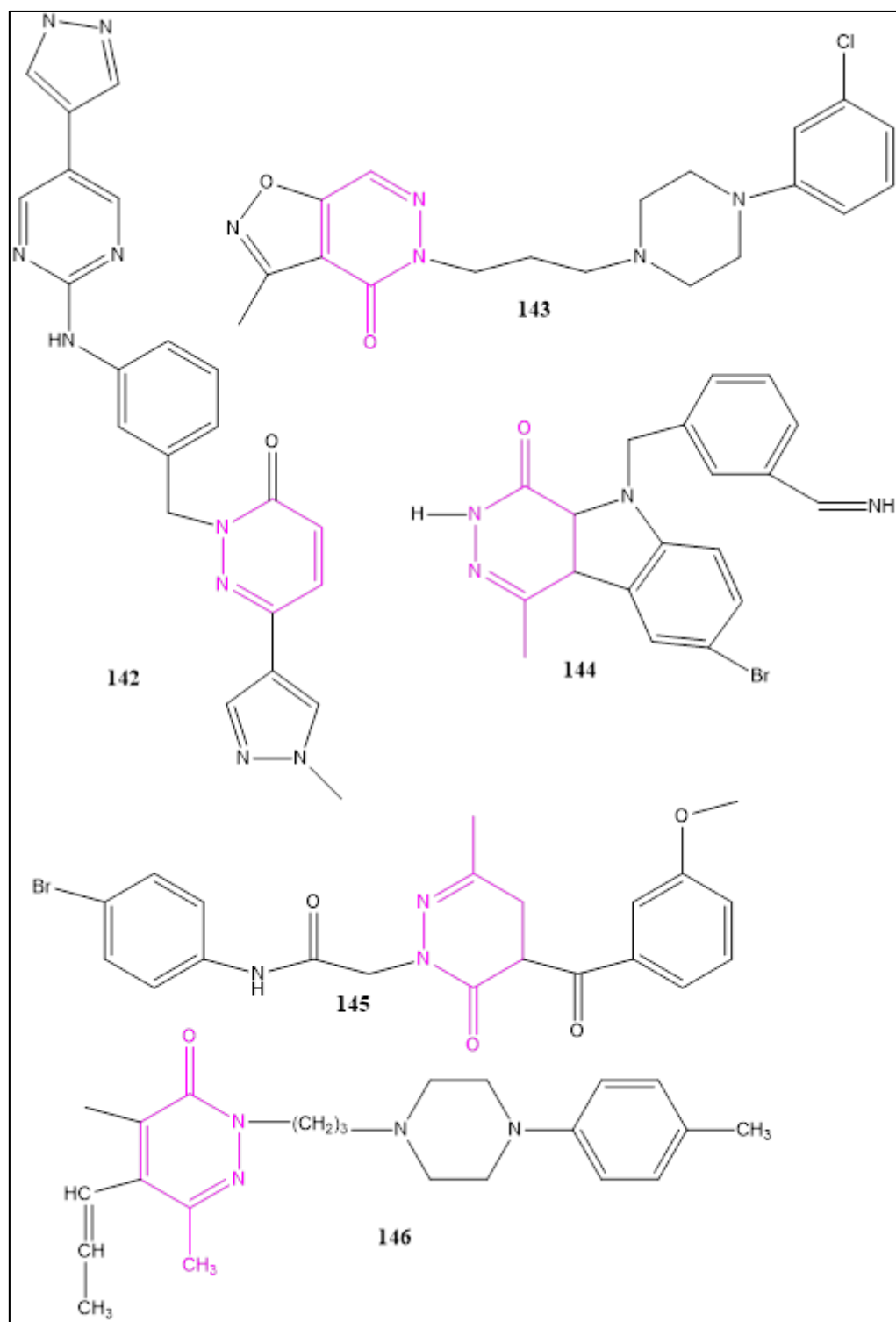
Şekil 2.25. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri

Gong ve arkadaşları bir dizi piridazinon-fonksiyonelleştirilmiş fenilalanin analogu geliştirmiş ve piridazinon halkası ve N-açıl fenilalanin iskeleti ile ilgili yapı-aktivite ilişkilerini araştırmışlardır. Bileşik 155 oral uygulamadan sonra, sıçan DSS kolit modelinde maximum in vivo etkinlik göstermiştir [199].

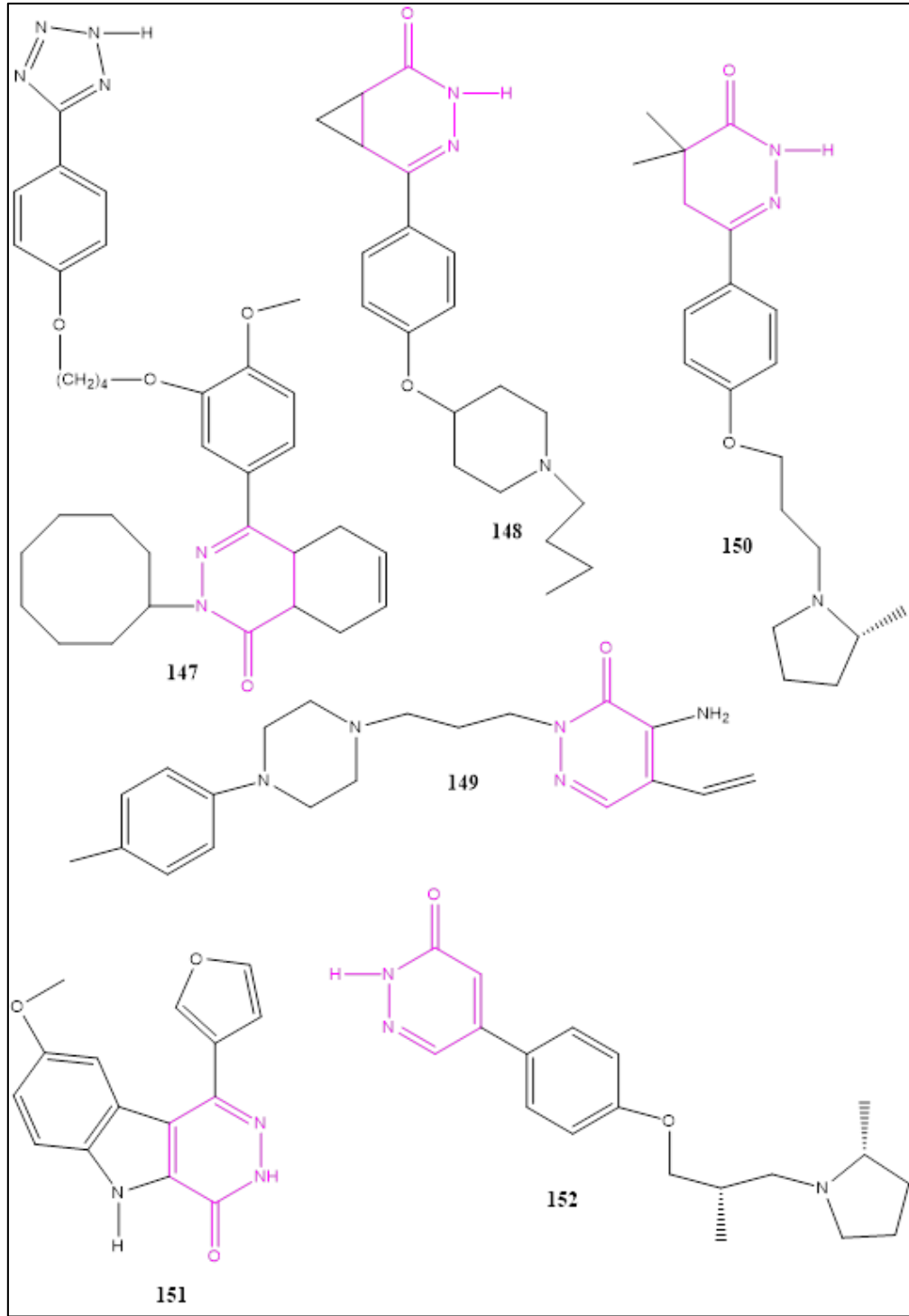
Giovannoni ve arkadaşları tarafından 4-amino-5-sübstitüe-3(2*H*)-piridazinonlardan oluşan bir seri sentezlenmiş ve bileşiklerin antinosiseptif aktivitesi değerlendirilmiştir. Değerlendirmenin ardından bileşik 156'nın en etkili türev olduğu rapor edilmiştir [200]. Tao ve arkadaşları tarafından geliştirilen bileşikler arasında, bileşik 157'nin güçlü Histamin H₃ reseptör antagonist aktivitesi gösterdiği bulunmuştur [201].

Jiang ve arkadaşları tarafından sentezlenen trisiklik piridazinon analogları piruvat kinazın tümör hücresine özel M₂ izoformu için test edildi. Bileşik 158 serinin en güçlü inhibitör bileşiği olarak rapor edilmiştir [202]. Young ve arkadaşları yeni bir piridazinon serisi tasarlamış ve tirozin kinaz inhibitörü aktivitesini analiz etmişlerdir. Sentezlenen bileşikler arasında, bileşik 159, bu serinin en güçlü inhibisyonunu sergilemiştir [203]. Hudkins ve arkadaşları N-metilpiridazinon türevleri sentezlemiş ve selektif histamin H₃ reseptörü etkilerini test etmişlerdir. Bileşik 160 ve 161 güçlü uyandırma aktivitesi olan ters agonistler olarak rapor edilmişlerdir [204].

Allerton ve arkadaşları çeşitli 3(2*H*)-piridazinon türevi bileşikler sentezlemiş ve 5-Hidroksitriptamin 2C agonist aktivitelerini araştırmışlardır. Sentezlenmiş türevler arasında bileşik 162'nin en aktif olduğu bulunmuştur [205]. Kelly ve arkadaşları sentezledikleri 3(2*H*)-piridazinon türevi bileşiklerin selektif tiroid hormon reseptörüne karşı agonist aktivitesini araştırmışlardır Bileşik 163 en etkili türev olarak rapor edilmiştir [206].



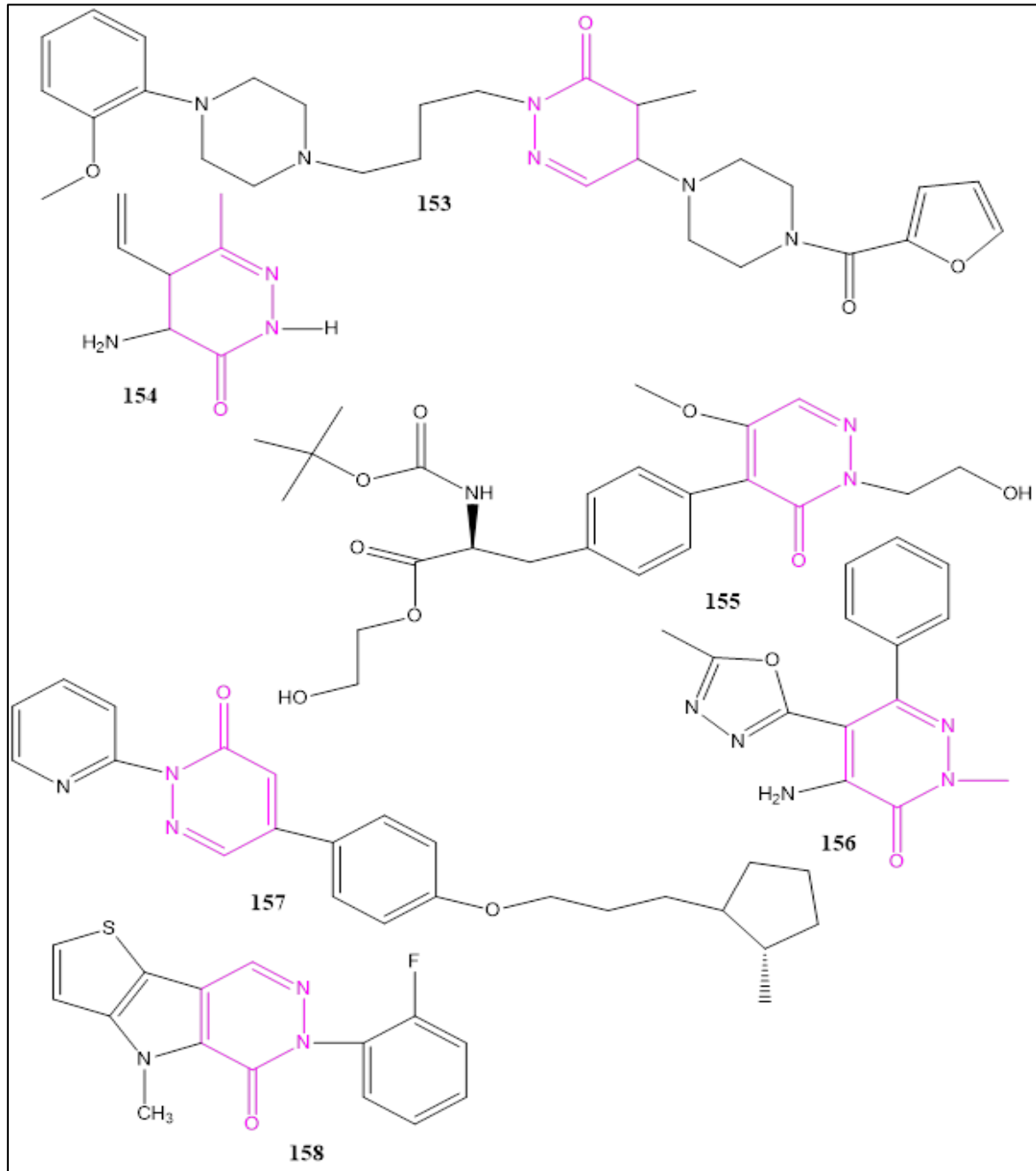
Şekil 2.26. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri



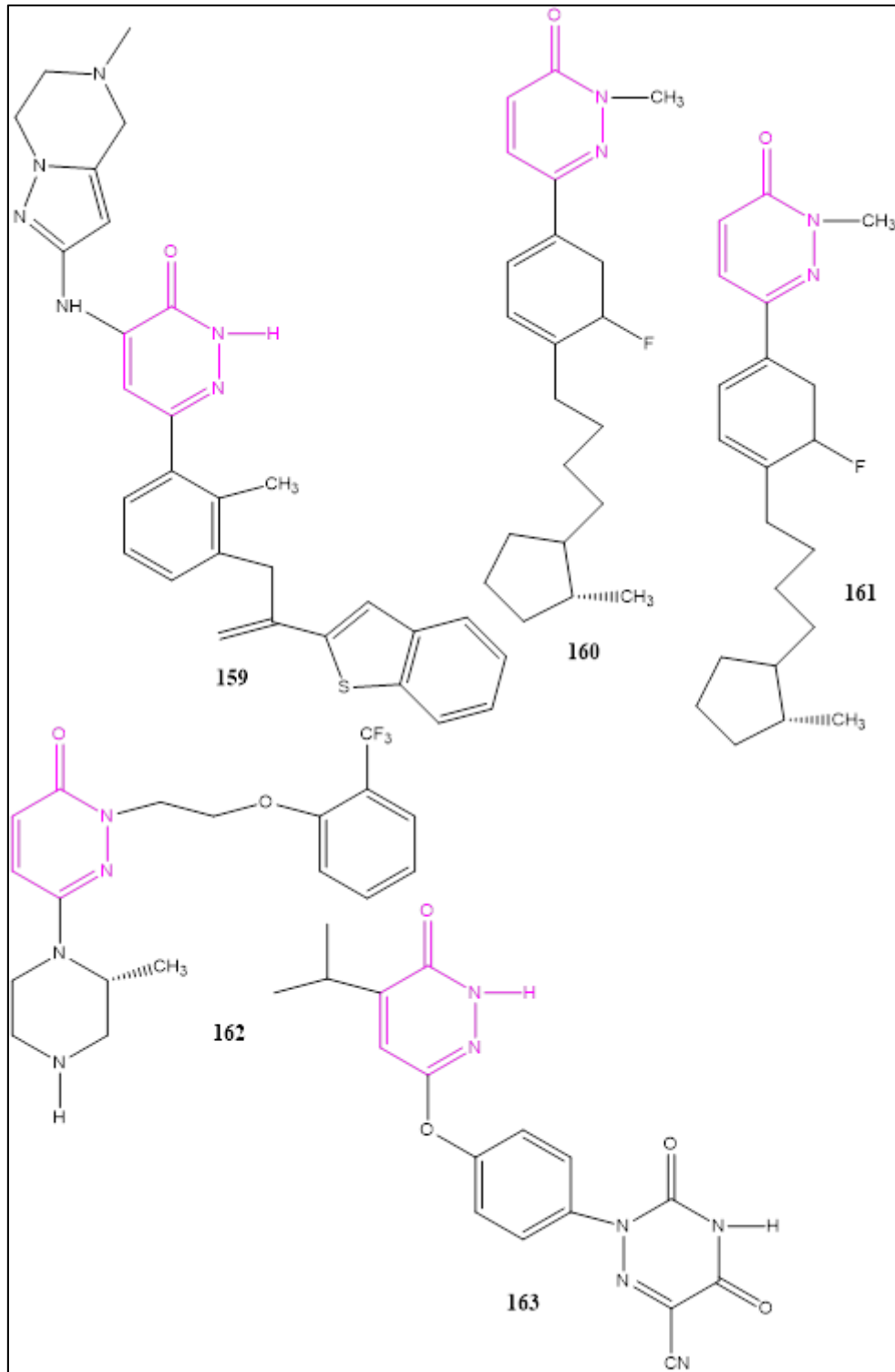
Şekil 2.27. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri

Betti ve arkadaşları bir dizi piridazinon türevi sentezlenmiş ve α_1 -adrenoseptör antagonisti aktivitelerini araştırmışlardır. Bileşik 164 0.052 nM affinite ile prazosinden yaklaşık 5 misli daha yüksek aktivite göstermiştir [207]. Lopez-Tapia ve arkadaşları tarafından hazırlanan yeni piridazinon analogları serisi P2X7 reseptörü antagonistik aktivitesi için test edildi. Bileşik 165 klinik olarak en aktif türev olarak bulunmuştur [208].

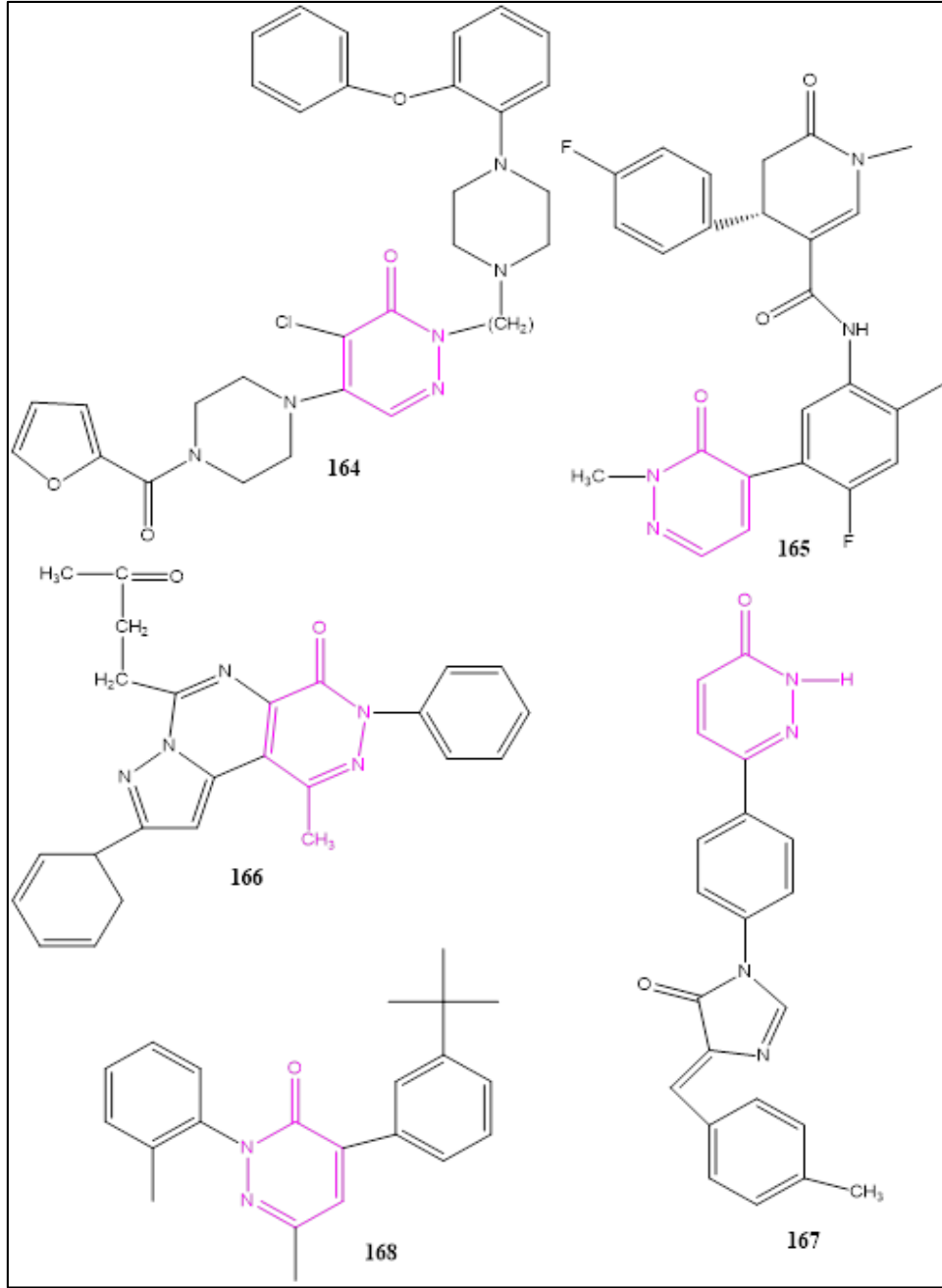
Giovannoni ve arkadaşarı yeni trisiklik piridazinon türevleri sentezemiş ve selektif fosfodiesteraz-5 (PDE₅) inhibitör aktivite için değerlendirmişlerdir. Bileşik 166, 8.3 nM IC₅₀ değeri ile PDE5'e karşı yüksek aktivite göstermiştir [209]. Demirayak ve arkadaşları tarafından sentezlenen 6-fenilpiridazinon türevleri, vazodilatör aktiviteleri açısından taranmıştır. Bileşik 167'in en aktif olduğu rapor edilmiştir [210]. Han ve arkadaşları tarafından sentezlenen piridazinon türevleri arasında bileşik 168 en yüksek herbisidal aktiviteyi göstermiştir [211].



Şekil 2.28. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri



Şekil 2.29. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri



Şekil 2.30. Değişik aktivitelere sahip piridazinon türevleri

2.2. Alzheimer Hastalığının Tedavisinde Kullanılan İlaçlar ve Yeni Gelişmeler

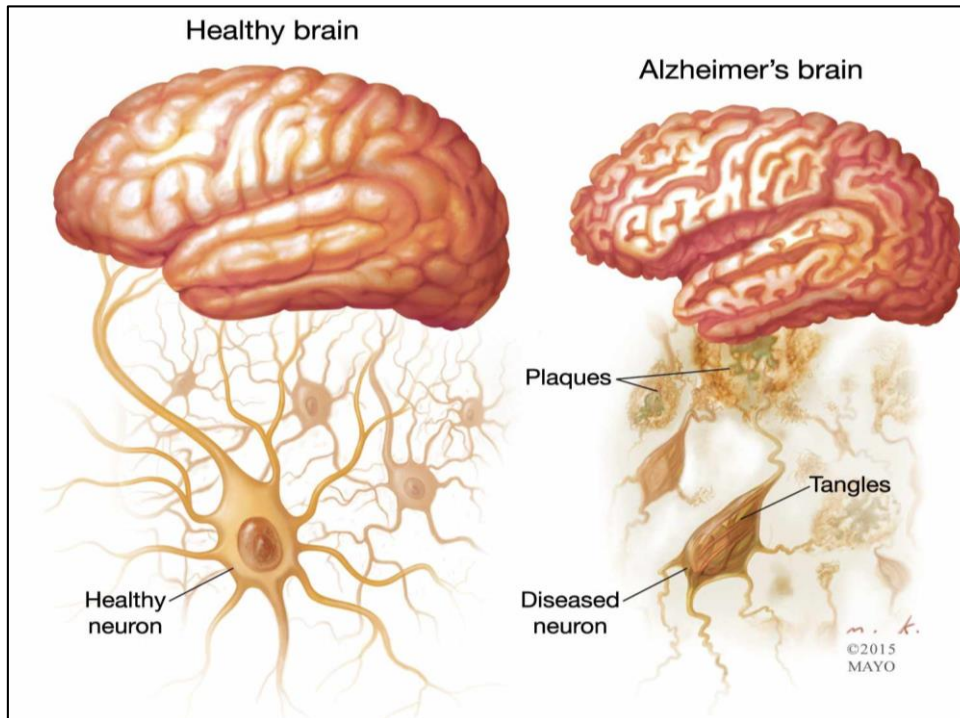
Alzheimer hastalığı, kişinin günlük aktivitelerini gerçekleştirme yeteneğinde bozulma ve hastalığın ilerleyen dönemlerinde kognitif fonksiyon bozuklukları ve değişik nöropsikiyatrik semptomlarla karakterize, devamlı ilerleyen ölümcül bir nörodejeneratif hastalıktır [212-214]. Yakın hafızada bozukluk hastalığın ilk klinik belirtisi iken, uzak hafıza hastalık sırasında göreceli olarak korunmaktadır. Hastalık ilerledikçe görsel testler, obje ve eşyaları kullanabilme becerisi ve hesap yapabilme yeteneği azalmaktadır.

Uyanıklık seviyesi ve motor kuvveti hastalığın geç dönemlerine kadar korunmaktadır. Hastalığın ilerlemiş dönemlerinde kas kontraksiyonları sık görülmekle beraber bu evrelerde bile motor kuvvetin bozulması gerçekleşmemektedir [214, 215]. Alzheimer hastalarının çoğu hastalığın başlangıcından birkaç yıl sonra sürekli bakıma ihtiyaç duymaktadırlar [212]. Hastalığın başlangıcından itibaren genellikle 6 ila 12 sene sonra ölüm gerçekleşmekte ve ölüm nedeni pnömoni, pulmoner emboli gibi immobilité problemlerinden kaynaklanan komplikasyonlar olmaktadır [216].

Yaşlılarda görülen demansın en yaygın şekli olan Alzheimer hastalığının görülme yüzdesi her beş yaşta iki katına çıkarak, 60 yaşında %1 iken 85 yaşında %30'a ulaşmaktadır [217].

Alzheimer hastalığı ile ilgili yapılan epidemiyolojik çalışmaların sonucuna göre hasta sayısının Amerika Birleşik Devletleri'nde yaklaşık 5 milyon, dünya çapında ise 24 milyon kişi olduğu tahmin edilmektedir. Tahminler bu sayının her 20 yılda iki katına çıkarak 2020'de 42 milyona, 2040'da ise 81 milyona ulaşacağı yönündedir [218].

Alzheimer hastalığının kesin tanısı ancak ölüm sonrası beyin incelemeleriyle yapılmakla beraber, hastanın dikkatli klinik değerlendirilmesi ve benzer başka hastalıkların ayırıcı tanısı yapılarak uygun laboratuvar testleri ile teşhis konulabilmektedir [219].



Şekil 2.31. Sağlıklı bir beyin ile Alzheimer hastalığı olan bir beyinin kıyaslanması

Alzheimer hastalığının fizyopatolojisi henüz tam bilinmemekle beraber, beyin hücrelerinin nedeni belirlenemeyen bir şekilde kaybolmasından kaynaklandığı düşünülmekte ve hastalığın oluşumu ile ilgili üç ana hipotez öne sürülmektedir. Öne sürülen hipotezlerden en eskisi olan kolinerjik hipoteze göre Alzheimer hastalığının önemli bir nörotransmitter olan asetikolinin azalması nedeniyle ortaya çıktığı düşünülmektedir [220-222]. Alzheimer hastalarında bazal ön beyinde kolinerjik nöronlarda dejenerasyon; serebral kortekste kolinerjik reseptörlerde ve kolin asetiltransferaz (ChAT) düzeylerinde belirgin bir azalma saptanmaktadır. Daha önce sürdürülen tedavi yaklaşımlarının birçoğu bu hipoteze dayandırılmakla birlikte klinik araştırmalar asetilkolin düzeylerini yükseltmeye yönelik tedavi stratejilerinin semptomatik iyileşme sağladığını ortaya çıkarmıştır [223]. Kolinerjik hipotezle ilgili yapılan son çalışmalar, kolinesteraz inhibitörlerinin kullanımının amiloid fibrilasyon oluşumunu etkileyebileceğini göstermektedir [224-226]. Bir diğer hipotez olan Tau Hipotezi ise Alzheimer hastalığında, mikrotübülle ilişkili protein ailesinin bir üyesi olan ve tübül stabilitesini sağlayan Tau proteinlerinin hiperfosforile olması sonucu yapılarının bozularak intranöronal fibriller ağlar meydana getirdiğini öne sürmektedir. Bu oluşumların intraselüler transport sistemine ve sinyal iletimine zarar vererek Alzheimer hastalığının gelişimini hızlandırdığı ve nöronal ölüme yol açtığı bildirilmektedir [227]. Amiloid Hipotezi olarak bilinen üçüncü hipotezde ise Alzheimer hastalarında beynin belli bölgelerinde birikerek çözünmez fibriller meydana getiren β -amiloid peptidlerinin daha sonra senil plaklar oluşturarak sinir hücrelerini hasara uğrattığı ve bu hücrelerin birbirleri ile olan bağlantılarını koparıp nörotransmitter miktarını azalttığı öne sürülmektedir [228].

Alzheimer hastalığının tanısındaki önemli bulgulardan biri, limbik yolağın bellek süreçlerini yöneten bölümündeki nöron kaybıdır [212]. Alzheimerli hastalarda yapılan biyokimyasal çalışmalar ise kortekste bazı nöromediyatörlerin ve özellikle de asetikolinin azaldığını ortaya koymaktadır [218]. Alzheimer hastalığındaki nörokimyasal karmaşa yoğun olarak araştırılmıştır. Serebral korteksin nörotransmitter içeriği doğrudan ölçüldüğünde, nöron kaybına paralel olarak birçok nörotransmitterin, en çok da asetikolinin azaldığı görülmüştür. Kolinerjik, nonkolinerjik, seratonerjik, dopaminerjik, aminoasiderjik ve nöropeptiderjik olmak üzere birçok nörotransmitterde oluşan değişim ile Alzheimer hastalığı arasında bir ilişki bulunmaktadır; fakat kolinerjik sistemde gözlenen değişim ile Alzheimer arasındaki ilişki bunlardan en çok bilinenidir. Kolinerjik hipotez olarak açıklanan bu ilişkiye göre, asetilkolin ve kolin asetil transferaz düzeyindeki azalma Alzheimer hastalığı ile ilişkilidir [229]. Atropin benzeri santral etkili kolinerjik antagonistlerin uygulanmasıyla da demansa benzer bozukluklar olduğu görülmektedir. Alzheimer hastalığında görülen asetikolinin seçici eksikliği,

hastalığın semptomlarının gelişmesinde asetilkolin eksikliğinin önemini vurgulayan “kolinerjik hipotez”in ortaya atılmasına neden olmuştur [223, 230]. Kolinerjik hipotez ilk olarak yaklaşık 30 yıl kadar önce ortaya atılmış ve beyindeki asetilkolin içeren nöronların işlev bozukluğunun ileri yaşta ve Alzheimer hastalarında gözlenen kognitif düşüşün açıklanmasına önemli ölçüde katkıda bulunmuştur. Bu düşünce, bugüne kadar, AD'nin tedavi stratejilerinin ve ilaç geliştirme yaklaşımlarının çoğunun temelini oluşturmuştur. Kolinerjik eksiklik, tüm serebral kortekse kolinerjik innervasyonu sağlayan bazal önbeyin başta olmak üzere subkortikal kolinerjik nöronlarda atrofi ve dejenerasyonla oluşmaktadır. Kolin asetiltransferaz ve/veya asetilkolinesteraz aktivitesinin etkilenmediği (hatta yukarı regüle edildiği) hafif bilişsel bozukluğu ya da erken evre AD olan hastaların beyinleri ile ilgili yapılan yakın zamanlardaki çalışmalar, kolinerjik hipotezin geçerliliğini ve aynı zamanda özellikle de erken evrelerdeki bozukluğun tedavisinde kolinomimetiklerin kullanılmasının gerekçesini açıklamıştır. Yine bu hipoteze göre Alzheimer hastalarında mediyal ön loptaki kolinerjik nöronların dejenerasyonunu takiben kavrama bozuklukları da görülebilmektedir. Bu nedenle de kolinerjik anormallikler ve Alzheimer arasında direkt bir ilişki olduğu düşünülmektedir. Ölüm sonrası yapılan beyin incelemeleri birçok Alzheimer hastasında tespit edilen neokortikal bölgeleri kontrol eden nöronların dejenerasyonu, serebral kortekste bulunan kolinerjik terminallerin kaybı, azalan kolin asetil transferaz aktivitesi ve asetil kolin sentezi, azalan kolin alınımı ve artan asetilkolinesteraz aktivitesi gibi değişmiş kolinerjik belirtiler bu durumu kanıtlamaktadır [224, 225]. Bu nedenle Alzheimer hastalığının tedavisinde, asetilkolin düzeyinin artırılması ve bunun için de asetilkolini yıkan asetilkolinesteraz enziminin baskılanması sık başvurulan tedavi yöntemlerinden biridir. Kolinerjik anormallikler aynı zamanda bilişsel olmayan davranışsal anormalliklere ve AD'de toksik nöritik plakların birikmesine de neden olabilmektedir. Bu nedenle, kolinerjik temelli stratejiler, AD'nin diğer demans formlarının tedavisinde rasyonel ilaç geliştirilmesine yönelik bir yaklaşım olarak geçerli kalacaktır.

Alzheimer hastalığında verilen kolinesteraz inhibitörleri mortaliteyi etkilememekle beraber hastanın yaşam kalitesinde ve hastalık evresinin stabilizasyonunda etkili olduğundan tedavide kullanılmaktadır [226]. Asetilkolinesteraz inhibisyonuna bağlı asetilkolin düzeyi artışları, Alzheimer hastalığının erken evrelerindeki kognitif yetmezliği iyileştirebilmektedir [214, 229, 227]. Ayrıca bir N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör antagonisti olan memantin ile kombine kolinesteraz inhibitörü (ChEI) tedavisinin de etkiyi güçlendirdiği bulunmuştur [228]. Buna ek olarak Alzheimer hastalığında kolinesteraz inhibitörlerinin kullanılmasının fayda veya risklerini araştırmak için plesebo ile

kolinesteraz inhibitörlerinin kıyaslandığı bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışma rastgele seçilmiş 42 grup ve toplamda 16.106 hasta üzerinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın sonuçları kolinesteraz inhibitörlerinin plasebo ile kıyaslandığında semptomları düzelttiğini ve ölüm oranını azalttığını göstermiştir [229].

Aynı zamanda kolinesteraz inhibitörlerinin (ChEI) N-methyl-D-aspartate (NMDA) reseptör antagonisti memantin ile kombine kullanılmasının aktiviteyi artırdığı rapor edilmiştir [230].

Hafif bilişsel bozukluğu (MCI) olanların ya da AD'nin erken evrelerindekiilerin beyinlerine odaklanan araştırmalar, bir teşhis metodu olarak giderek önem kazanmaktadır. Bu tür araştırmalar, nöroprotektif stratejilerin geliştirilmesi ve/veya tanımlanmasının yanı sıra daha spesifik hastalıkların tanı ve tedavisinde de yeni yaklaşımlara yardımcı olabilir. Bilişsel gerileme düzeyinin hastalık nöropatolojisi ile korelasyonunu sağlamaya yönelik önceki çalışmaların çoğunda, hastalığın son evresinde olan hastaların beyinleri analiz edilmiştir. Bu durum hastalık çok erken bir aşamada teşhis edilirse hastalığın ilerlemesini değiştirmeye yönelik yeni araştırma çabaları için özellikle yararlı olmayabilir.

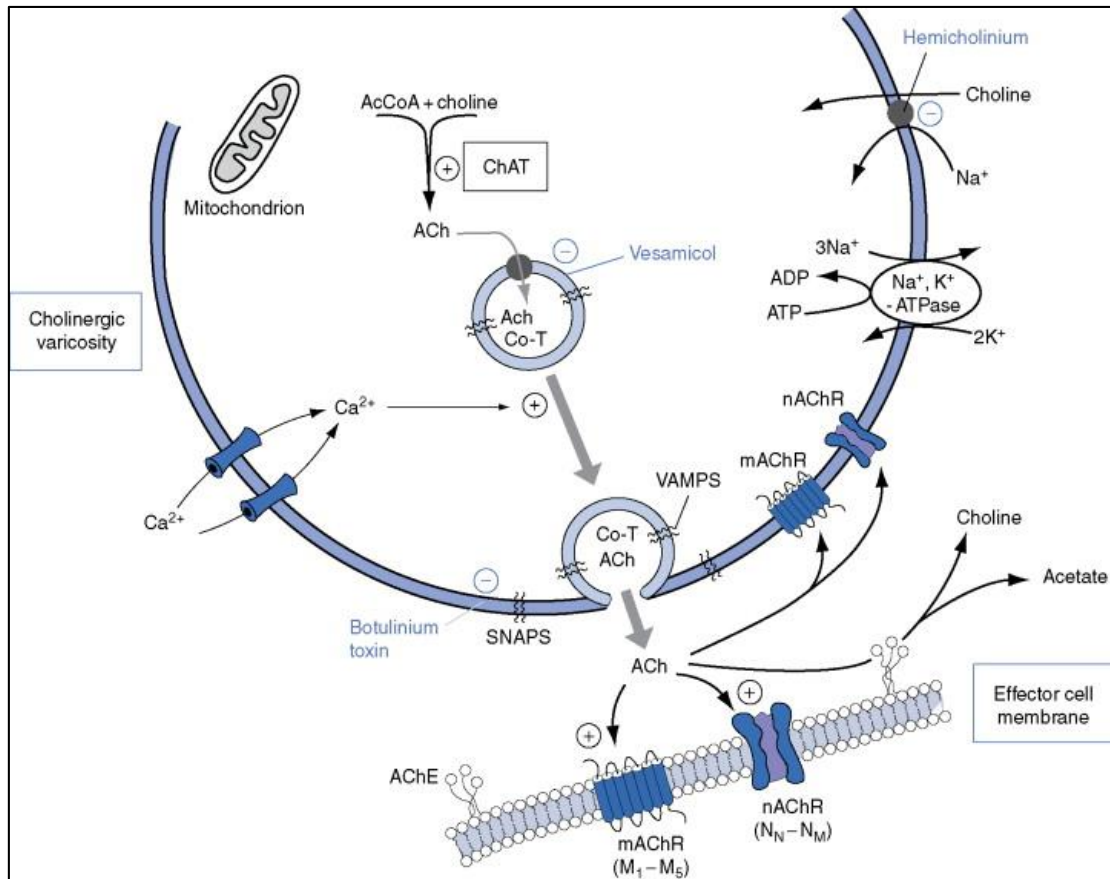
MCI ve/veya hafif AD tanısı alan hastaların beyinlerinin analiz edildiği az sayıdaki yayınlanmış çalışmanın sonuçları, bazılarının kolinerjik hipotezin geçerliliğine meydan okumaya başlamasına neden olmuştur. Örneğin, Davis ve arkadaşları [231], hafif AD tanısı alanların post mortem neokortikal dokularında asetilkolinesteraz (AChE) ve kolin asetiltransferaz (ChAT) aktivitesinin azalmadığını bildirmişlerdir. Sonuç olarak, yazarlar şunu önermektedir: 1) bir kolinerjik belirtecin AD'nin erken bir göstergesi olarak kullanılması olası değildir; 2) hastanın semptomatik hale gelmesinden önce bir kolinerjik eksikliğin tespit edilemeyeceği; 3) sadece daha şiddetli hastalığı olan hastalar kolinerjik tedavi için bir hedef olmalıdır. Ayrıca, DeKosky ve meslektaşları [232], MCI veya hafif AD tanısı alan hastalarda çalışılan bir dizi kortikal bölgede ChAT aktivitesinde herhangi bir azalma saptamayışını başaramamışlardır ve hatta, aktivite frontal korteks ve hipokampusta gerçekte yukarı doğru düzenlenmiştir. MCI olanların. Başka bir çalışmada, MCI ve erken AD bireylerde, nükleus basalistede ChAT ve veziküler asetilkolin taşıyıcı protein içeren nöronlar korunduğunu göstermiştir [233].

Daha iyi in vivo görüntüleme yöntemleri daha yaygın hale geldikçe, MCI veya erken AD'den muzdarip yaşayan hastaların merkezi sinir sistemindeki kolinerjik fonksiyon ile ilgili belirsizlikler muhtemelen daha iyi bir şekilde ortaya çıkacaktır. İlginçtir ki, AD hastalarında bugüne kadar yapılan birkaç in vivo görüntüleme çalışması kolinerjik hipotezi destekliyor görünmektedir. Örneğin, N-metilpiperidin-4-il-propiyonat kullanılarak yapılan PET çalışmaları, AD hastalarında kortikal asetilkolinesteraz aktivitesinin gerçekten azaldığını göstermektedir [234]. Nikotin bazlı PET çalışmaları, nikotinik reseptör açıklarının aslında AD'de erken bir fenomen olduğunu göstermektedir ve bu raporlar ayrıca kortikal nikotinik reseptör açıklarının bilişsel bozulma düzeyi ile anlamlı derecede ilişkili olduğunu göstermektedir. Seçici olmayan muskarinik ligandlar kinüklidinil benzilat ve N-metil-4-piperidil benzilat kullanan diğer PET çalışmaları, neokortikal bölgelerde bağlanmada hem yaş hem de AD ile ilişkili düşüşleri göstermektedir [235]. Ayrıca, benzovesamacol bağlanmasını kullanan tek foton emisyonlu bilgisayarlı tomografi (SPECT) çalışmaları, erken başlangıçlı AD hastalarında, vesiküler asetilkolin taşıyıcının tüm serebral korteks ve hipokampus boyunca azaldığını göstermektedir [236]. Yaş şu anda AD için bilinen risk faktörlerinin en güçlüsü olarak görüldüğünden, yaşlılarda santral kolinerjik nöronların işlevinin bozulup bozulmadığını sormak uygun görünmektedir. AD'nin kolinerjik hipotezindeki zorluklar, yaşlanma (Challenges), kolinerjik bozukluk ve bilişsel gerileme arasındaki ilişkilerin desteklenmesinde kanıtların varlığını göz ardı etmektedir [237]. Nörotransmitter fonksiyonunun dinamik yönlerini ölçmek (measure the dynamic aspects of transmitter function) için seçici ve duyarlı kimyasal enzimatik yöntemlerin geliştirildiği 1980'lerin başında İleri yaşın beyin kolinerjik fonksiyonu üzerindeki etkisine ilişkin bir çalışma başlamıştır. Ayrıca Rutin kullanım için hızlı donma veya odaklanmış mikrodalga ısıması ile beyin asetilkolin ve kolin düzeylerinin hızlı stabilizasyonu için yöntemler de tanıtılmış, 3 ila 30 aylık yaşlı farelerde asetilkolinin beyindeki tüm sentezi incelenmiştir. Asetilkolinin biyosentezinin (radyo-etiketli bir öncünün enjeksiyonu ile ölçülen) 30 aylık hayvanlarda %75'e kadar azaldığını rapor edilmiştir. Hafif hipoksi, asetilkolin sentezini %90 oranında azaltmıştır. Dahası, yaşlı kolinerjik nöronlar, potasyum stimülasyonunu takiben asetilkolin serbest bırakma yeteneklerinde, transmitteri sentezleyebildiklerinden daha fazla bozulmuştur [238]. Sonraki in vivo mikrodializ yöntemleri bu erken bulguları büyük ölçüde doğruladı. Yaşlı beyin kolinerjik nöronların, stresli olana kadar nispeten normal işlev gördüğü, asetilkolin çıkışını arttırmak veya kolinerjik nöronlara zarar vermek için çeşitli yöntemler kullanılan deneylerle desteklenmiştir [239, 240]. Bu nedenle, ön beyin kolinerjik nöronlara verilen herhangi bir sürekli hakaretin, bu hücrelerin normal işlev için yeterli transmitter serbest bırakma kabiliyetine müdahale edebileceği

sonucuna varmak mantıklı görünmektedir. Sarter ve arkadaşları bu olasılığı doğrudan, bazal ön beyin kolinerjik hücrelerinin sınırlı bir şekilde azalması amacıyla genç sıçanlarda bazal ön beyin kolinerjik nöronların kimyasal lezyonlarının oluşturulduğu bir dizi deney üzerinde test etmişlerdir [241]. Yaşlı kemirgenlerde yapılan bu çalışmaların sonuçları, özellikle kolinerjik nöronların dinamik yönleri ile ilgili olarak yaşa bağlı değişikliklerin çoğunun gözlemlendiği tespit edilmiştir.

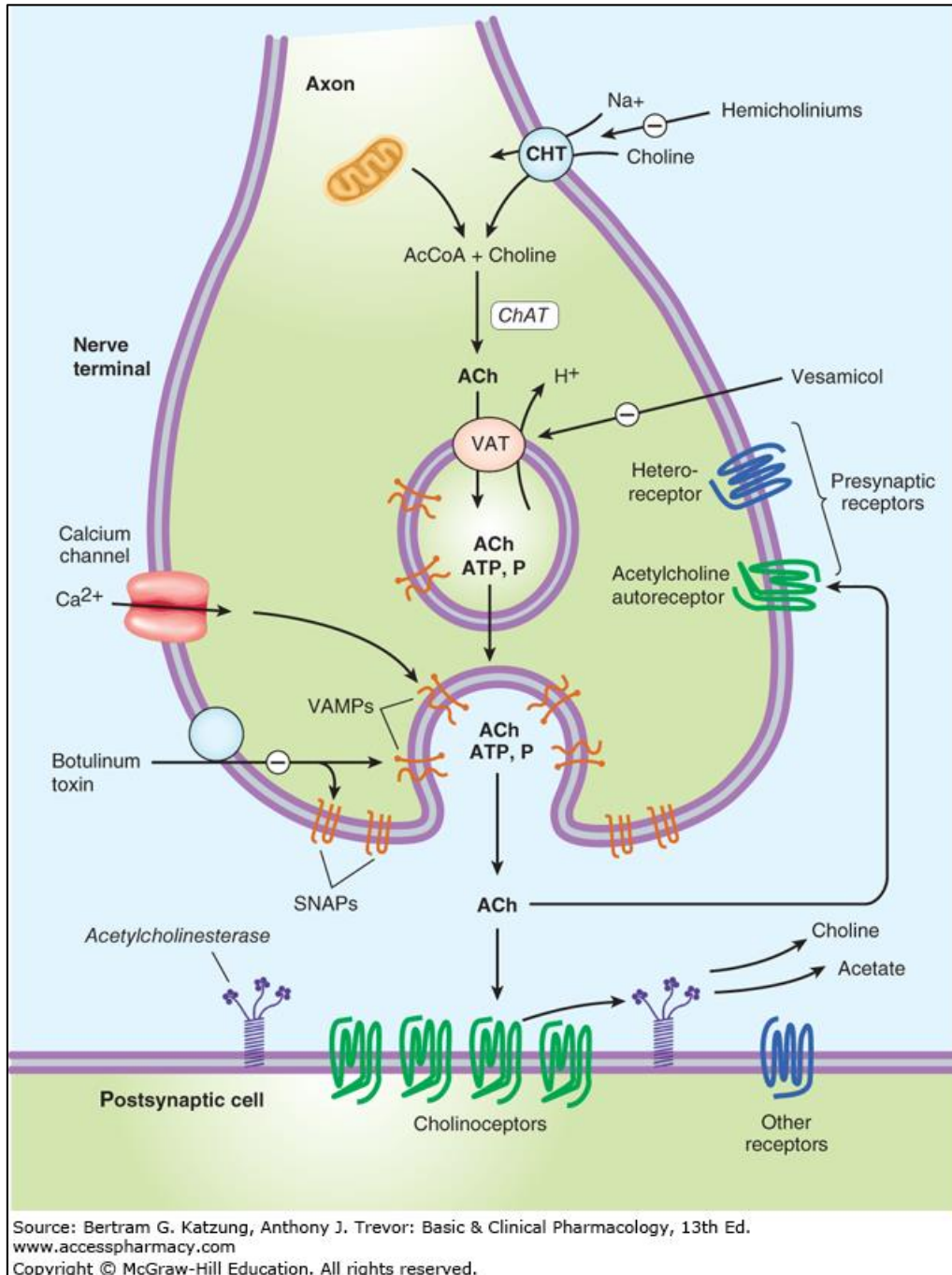
2.2.1. Asetilkolin

Asetilkolin, kolin transferaz enzimi ile katalizlenen bir reaksiyonla, kolin ve asetilkoenzim A dan hareketle sentezlenir. Bu reaksiyonda asetilkoenzim A'dan bir asetil grubunun koline transferi söz konusudur. Oluşan nörotransmitter, daha sonra sinir uçlarındaki veziküllerde depolanır (Şekil 2.33) ve nöronal depolarizasyona bağlı olarak salınır [242]. Salınan nörotransmitter, sinaps boşluğunda asetilkolinesteraz tarafından süratle kolin ve asetik aside parçalanır veya postsinaptik membrandaki reseptörlere bağlanarak etkinin ortaya çıkmasını sağlar [243].



Şekil 2.32. Asetilkolinin biyosentezi

İnsan merkezi sinir sisteminde kolinerjik sinapslar her yerde bulunur. Spesifik kolinesterazlar, presinaptik ve postsinaptik membranlarda lokalize olmuşlardır. Parçalanma sonucu oluşan kolin, asetilkolin molekülleri oluşturmak için aktif transportla akson içine alınır, asetik asit ise kan akımıyla sinaptik bölgeden uzaklaşır. Vücutta spesifik asetilkolin esterazların yanı sıra, psödokolinesteraz ve butirilkolinesteraz gibi spesifik olmayan kolinesterazlar da vardır. Bunlar, genellikle kanda ve karaciğerde bulunurlar; asetilkoline ek olarak diğer kolin esterlerini de hidroliz ederler [242, 243].



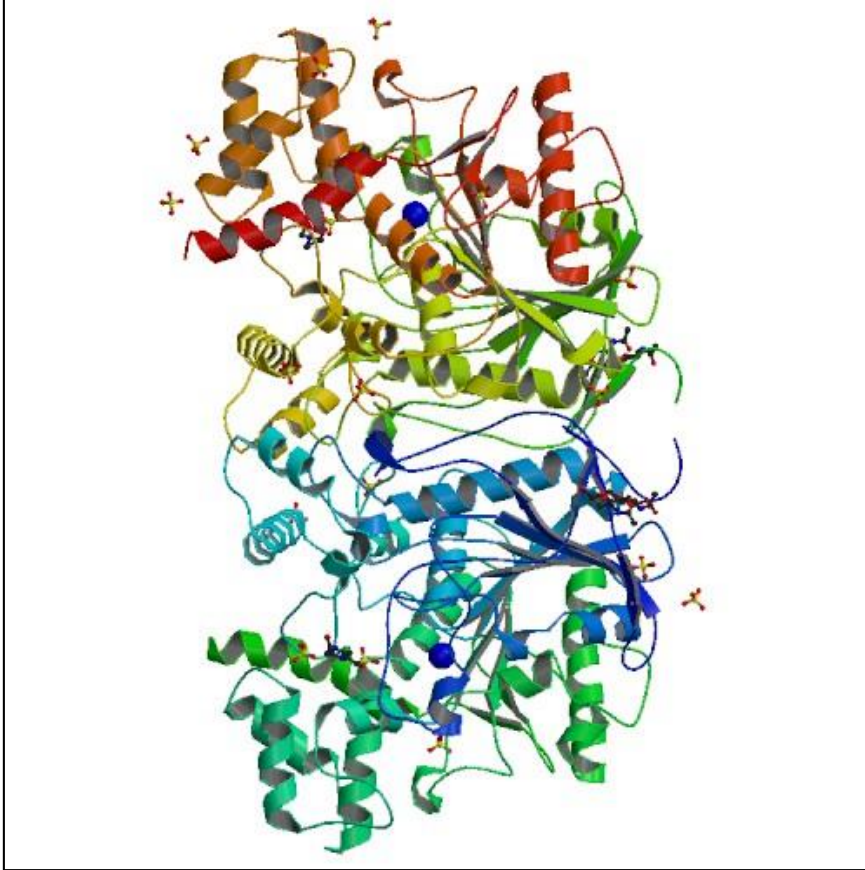
Şekil 2.33. Asetilkolinin biyosentez, depolama, salınım ve hidrolizi

Birbirlerinden yapı, bulunduğu yer, farmakolojik aktivite yönünden farklı iki asetilkolin reseptörü bulunmaktadır. Spesifik agonist ve antagonistleri olan bu reseptörler, doğal alkaloidler olan nikotin ve muskarine selektif olarak bağlanabilme özellikleri esas alınarak, nikotinik ve muskarinik reseptörler olarak tanımlanırlar. Nöromüsküler motor uçlarda ve gangliyonlarda bulunan nikotinik asetilkolin reseptörleri, aktif formda izole edilmiş ve saflaştırılmış olan ilk nörotransmitter reseptörlerdir [244, 245]. Reseptörün, birbirine bir disülfid bağı ile bağlanmış olan ve beş alt üniteye sahip iki polipeptit zincir monomerinden oluştuğu düşünülmektedir. Asetilkolin, bu reseptörlere bağlandığı zaman membran geçirgenliğinde artışa yol açarak Ca^{++} , Na^{+} , ve K^{+} gibi küçük katyonların geçişine izin verir. Bunun fizyolojik etkisi, motor uçlarda depolarizasyon oluşması ve buna bağlı olarak nöromüsküler kavşakta müsküler kasılma veya sinir uyarısının devam etmesidir. Muskarinik reseptörler ise, otonomik sinir sistemi tarafından uyarılan organların fonksiyonlarının düzenlenmesinde önemli rol oynarlar [246]. Asetilkolinin parasempatetik sinapslarda bulunan bu reseptörler üzerindeki etkisi, uyarıcı veya inhibe edici olabilir. Asetilkolin, salgı ve tükürük bezlerindeki sekresyonu uyarır ve solunum yollarının kasılmasına yol açar. Bileşik ayrıca kalp kasılmalarını inhibe eder, kan damarlarındaki düz kasları gevşetir. Muskarinik reseptörlerin beş alt tipi (M_1 , M_2 , M_3 , M_4 ve M_5) olduğunu gösterilmiştir. M_1 merkezi sinir sistemi ve gangliyonlar gibi nöronal yapılarda, M_2 kalpte, M_3 düz kaslarla salgı bezlerinde, M_4 ise striatum ve akciğerlerde bulunmaktadır [247].

Kolinerjik sinapslar talamus, striatum, limbik sistem ve neokortekste yüksek yoğunlukta bulunmaktadır ve bu durum kolinerjik iletimin hafıza, öğrenme, dikkat ve diğer yüksek beyin fonksiyonları için kritik öneme sahip olduğunu göstermektedir [248]. Çeşitli araştırmalar, genel beyin homeostazı ve plastisitesinde kolinerjik sistemler için ek roller önermektedir. Bu durum, beynin kolinerjik sisteminin, Alzheimer hastalığı gibi demanslar dahil olmak üzere normal biliş ve yaşa bağlı bilişsel gerileme ile ilgili devam eden araştırmalarda merkezi bir rol oynamasına sebep olmaktadır [224]. Alzheimer hastalığında kolinerjik hipotez, ilerleyici limbik ve neokortikal kolinerjik innervasyon kaybı üzerine odaklanır. Bazal önbeyin nörofibriler dejenerasyonunun, ön beyin kolinerjik nöronların disfonksiyonu ve ölümü için birincil neden olduğuna inanılmaktadır, bu da yaygın bir presinaptik kolinerjik denervasyona neden olmaktadır. Kolinesteraz inhibitörleri, beyindeki sinapslarda asetilkolin kullanımını artırır ve Alzheimer hastalığı demansının tedavisinde klinik olarak yararlı olduğu kanıtlanmış birkaç ilaçlı tedaviden biridir ve bu durum kolinerjik sistemin hastalığın önemli bir terapötik hedefi olduğunu doğrular [249].

2.2.2. Kolinesteraz enzimleri

Serin hidrolaz enzim grubunda yer alan asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz enzimleri genellikle kolinesterazlar olarak bilinirler (Şekil 2.34, 2.35) [250]. İnsan beyinde yer alan bu iki tip kolinesteraz enziminden AChE 7. kromozom tarafından kodlanırken (AChE, EC 3.1.1.7), BChE ise 3. kromozom tarafından kodlanmaktadır [251].



Şekil 2.34. AChE

AChE'nin kolinerjik iletimdeki rolü oldukça iyi bilinmekle birlikte BChE'nin rolü yeterince aydınlatılamamıştır [47]. Sağlıklı beyin hücrelerinde sinaptik asetilkolin hidrolizi esas olarak AChE tarafından gerçekleştirilmekte, BChE'nin bu hidrolize katkısının çok az olduğu kabul edilmektedir [252].



Şekil 2.35. BuChE

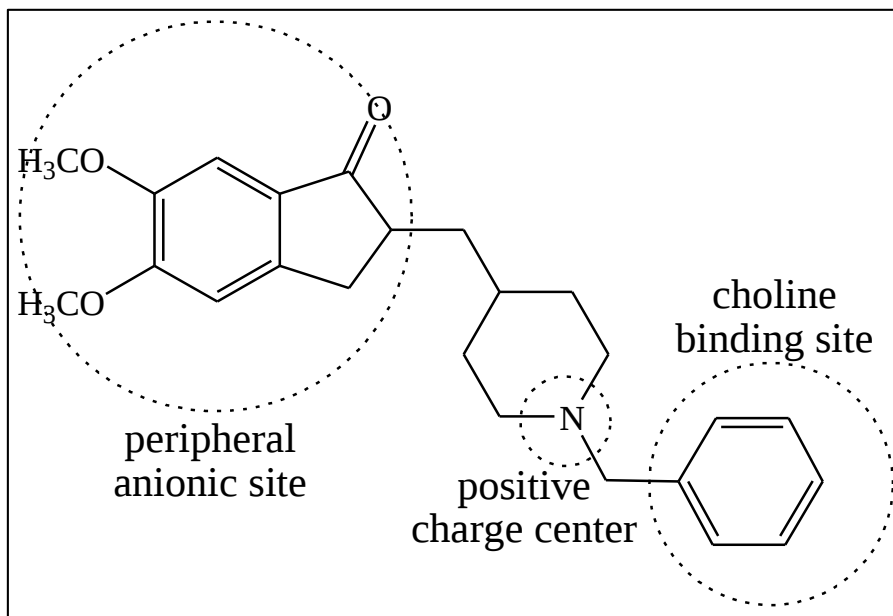
Kolinesteraz enzimleri farklı kromozomlarda kodlanmış olmalarına rağmen her iki enzimin aminoasit dizilimleri %65 oranında birbirlerine benzemektedir [250]. Normal erişkin beyinde AChE yaygın olarak bulunurken, BChE sınırlı miktarlarda bulunmakta ve beyindeki kolinesteraz aktivitesinin %80'inden AChE, geriye kalan %20'sinden ise BChE'nin sorumlu olduğu düşünülmektedir [253, 254] BChE enzim düzeyleri sinir sistemi gelişiminin erken dönemlerinde yüksekken, ilerleyen evrelerde bu düzey düşmektedir. AChE kolinerjik nöronların hücre gövdesinde, aksonlarda ve dentritik uzantıların proksimalinde yer almakta, BChE ise hücre gövdesinde ve dendritlerde bulunmaktadır [251].

BChE'nin düz kaslarda kolinerjik iletiyi düzenlediği gösterilmiş olmasına rağmen sinir sistemindeki işlevi yeterince bilinmemektedir [255, 256]. BChE işlevlerinin daha iyi anlaşılmasına yönelik yapılan son çalışmalar, AChE geni olmayan farelerde tremor, ileus ve güçsüzlük gibi periferik veya merkezi kolinerjik işlev bozukluğu ile ilgili durumların ortaya çıkmasına karşın bu farelerin erişkin yaşa dek gelişebildiğini; ayrıca farelerin bütirilkolinesteraz inhibisyonu ve organofosfat etkilerine karşı aşırı derecede duyarlı

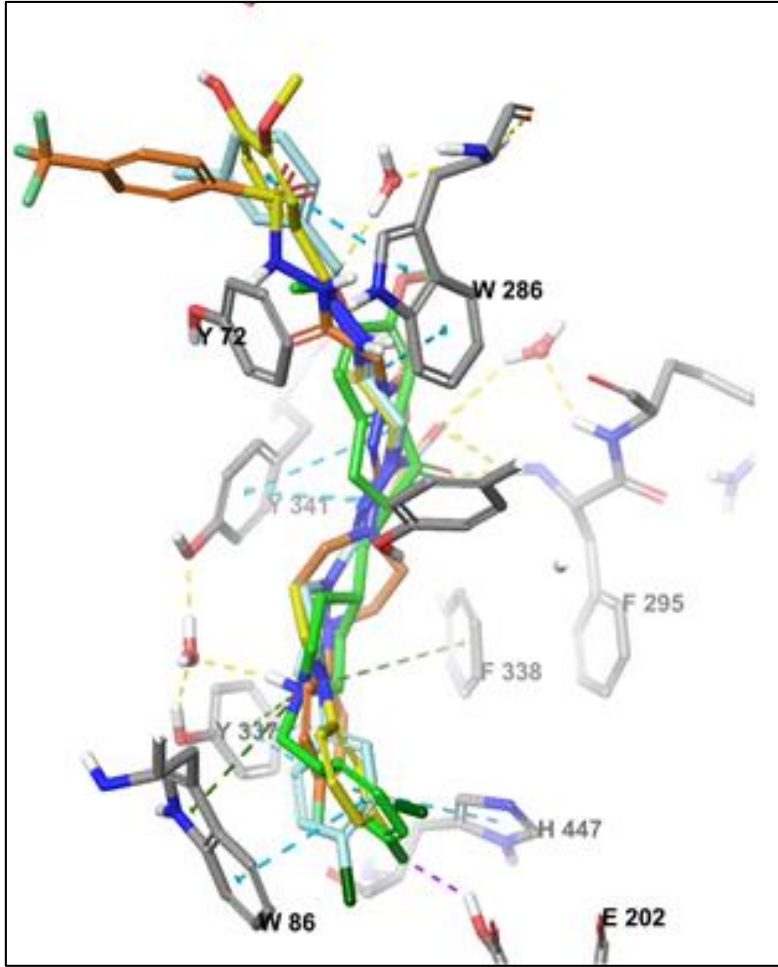
oldukları göstermektedir [257]. Bu da hem AChE'nin hem de BChE'nin nöron gelişimi ve kolinerjik iletimde birlikte aktif rol oynadıklarını ortaya koymaktadır.

AChE inhibitörü aktivitede inhibitör moleküllerin enzime bağlanma bölgeleri için üç hipotez ileri sürülmektedir. Bu hipotezlerden birincisi AChEI bileşiklerin yapısında bulunan heterosiklik halkanın enzimin periferik bağlanma bölgesiyle etkileşebilen periferik anyonik bölge olarak etki gösterdiği'dir. İkincisi pek çok güçlü AChE inhibitörünün yapısında yer alan azot atomunun pozitif yük merkezi olarak etki ettiğidir. Bu grubun AChE'nin katalitik merkezi ile etkileşebildiği AChE/donepezil ve AChE/galantamin komplekslerine ait X-ray kristalografisi çalışmalarıyla belirlenmiştir. Üçüncü hipotez ise azot atomuna bağlı fenil halkası gibi hidrofobik grupların kolin bağlanma bölgesi olarak bulunduğudur [258].

Son kristallografik araştırmalarla, AChE ve BChE aktif alanlarının yapısal özellikleri daha açık olmuştur ve takrin, donepezil ve galantamin gibi bilinen inhibitörlerin anahtar bağlama bölgesi kalıntıları ile bağlanma etkileşimleri iyi çalışılmıştır [259-262]. Donepezil, galantamin ve takrinden farklı olarak, katyonik anyonik bölge (CAS) ile birlikte periferik anyonik bölge (PAS) ile de etkileşime girer. Bu bölgenin altında, asetil-kolin bağı, yani katalitik triad olarak da bilinen S203, E334 ve H447'nin bölünmesini katalize eden üç amino asit bulunur. İdeal olarak, bir kolinesteraz inhibitörünün bu bölgelerle etkili bir şekilde etkileşime girmesi beklenir (Şekil 2.36, 2.37) [263-266].



Şekil 2.36. AChE İnhibitörleri için yapısal hipotez (donepezil)



Şekil 2.37. Donazepilin AChE enziminin aktif bölgesi ile etkileşiminin moleküler modelleme çalışması ile gösterimi

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

2.2.3. Kolinesteraz enzim inhibitörü ilaçlar

Asetilkolin gangliyon, postgangliyonik sinir ucu ve motor uçlardan salınır. Daha sonra hızlı bir şekilde asetilkolin esteraz tarafından hidroliz olur. Asetilkolin esterazın inhibisyonu, nörotransmitterin kavşaktaki ömrünü uzatır ve böylece asetilkolin uygulandığında gözlenen etkilere benzer farmakolojik etkiler ortaya çıkar [267, 268]. Asetilkolinesteraz, bu ilaçların birincil hedefidir, ancak butirilkolinesteraz da inhibe edilir. Antikolinesterazlar; miyastenia gravis, gastrointestinal kanaldaki atoniler, glokom, Alzheimer gibi hastalıkların tedavisinde kullanılırlar.

Bu bileşikler, aynı zamanda sinir gazları ve insektisit olarak da kullanılmaktadırlar [269, 270]. Etki mekanizmalarına göre, anti-AChE ajanları üç gruba ayrılabilir; a) yarışmalı agonistler, b) kısa etkili inhibitörler (karbamatlar), c) uzun etkili inhibitörler (organofosfor). Edrofonyumun örnek olduğu ilk grup, kuaterner alkollerden oluşmaktadır. Bu bileşikler (agents), enzimin aktif bölgesine hem elektrostatik olarak hem de hidrojen bağları ile geri dönüşümlü olarak bağlanabilir, böylece asetilkolinin enzime erişimi engellenir. Enzim-inhibitör kompleksi, bir kovalent bağ içermez ve buna uygun olarak kısa ömürlüdür (2-10 dakika boyunca).

İkinci grup, neostigmin ve fizostigmin gibi karbamat esterlerinden oluşur. Bu bileşikler asetilkolin için tarif edilene benzer iki aşamalı bir hidroliz dizisine maruz kalırlar [243]. Bununla birlikte, karbamoile edilmiş enzimin kovalent bağı, ikinci işleme (hidrasyon) önemli ölçüde daha dirençlidir ve bu adım, buna uygun olarak uzatılmıştır (30 dakika ila 6 saat arasında).

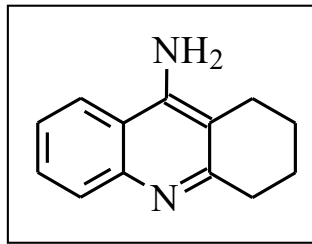
Üçüncü grup, organofosfatlardan oluşmaktadır. Bu maddeler aynı zamanda enzim tarafından ilk bağlama ve hidroliz işlemine tabi tutulur, bu da fosforile edilmiş bir aktif alana neden olur. Kovalent fosfor enzim bağı oldukça stabildir ve suda çok yavaş bir hızda (yüzlerce saat) hidrolize olur. Organofosfat inhibitörleri bazen “geri dönüşsüz” kolinesteraz inhibitörleri olarak adlandırılır. Pralidoxime gibi güçlü nükleofiller fosfor enzim bağını kırabilir [243].

Takrin, donepezil, rivastigmin, galantamin ve huperzin A gibi bazı kolinesteraz inhibitörlerinin Alzheimer hastalığında hastalık ilerlemesindeki azalmayı yavaşlattığı gösterilmiştir. 20 yıldan uzun bir süre önce (1993)'te, bu bileşiklerden ilk ilaç olan ve AD'nin tedavisi için ABD'de FDA tarafından onaylanan takrin (Cognex®), bir asetilkolinesteraz (AChE) inhibitörü olarak, AD'nin kolinerjik hipotezine dayanarak klinik kullanım için sunulmuştur [271]. Hepatotoksitesi nedeniyle, tacrine çok geçmeden ilaç pazarından çekilmiştir ve sonrasında kullanımı sınırlandırılmış, ancak diğer üç AChE inhibitörü rivastigmin, donepezil ve galantamin anti-AD ilaç olarak onaylanmıştır [272-274]. Bu ilaçlar, şu anda önemleri tam bilinmemekle birlikte, ek özelliklere de sahiptir. Rivastigmin, bütirilkolinesterazı bloke edebilir (BuChE), galantamin ise nikotinik asetilkolin reseptörlerini modüle eder [275]. Donepezil $\alpha\beta$ sentezi ve $\alpha\beta$ sentezinden

sorumlu β -sekretaz'ın (BACE1) ılımlı bir inhibitörüdür. Donepezil ayrıca anti-amnesik aktiviteleri ile bilinen sigma-1 reseptörleri ile de etkileşir [276].

Takrin

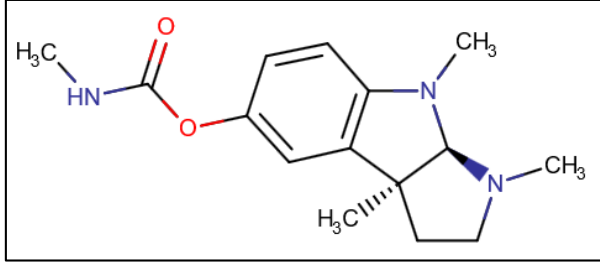
Hem AChE, hem de BChE inhibitörü olan takrin, klinik çalışmalar sonucunda hafıza, dikkat, mantık yürütme, konuşma ve basit görevleri yerine getirme gibi Alzheimer hastalığı ile ilişkili kognitif belirtileri olumlu yönde etki sağlamış ve Alzheimer tedavisi için FDA'dan onay almıştır. Düşük substrat konsantrasyonlarında rekabetçi olmayan bir inhibitör olarak ve daha yüksek substrat konsantrasyonlarında bir rekabetçi inhibitör olarak karışık inhibisyon yoluyla hareket eder. Takrin AChE'ye katalitik triadın yanına bağlanır, bu da ACh'nin aktif bölgeye bağlanmasını engeller. Her ne kadar 2013 yılında hepatoksisite nedeniyle kullanımdan kaldırılmış olsa da takrin, geliştirilmiş farmakolojik profile sahip yeni çok fonksiyonlu ajanlar geliştirmek için bir başlangıç molekülü olarak kullanılmıştır [277, 278].



Şekil 2.38. Takrinin yapısı

Fizostigmin

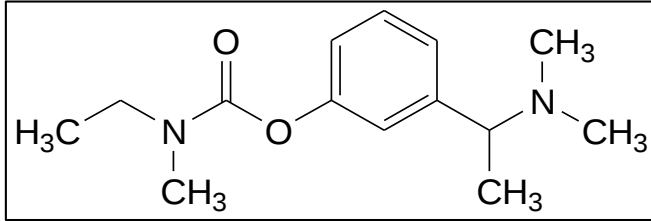
Fizostigmin, AD tedavisi için araştırılan ilk ChEI idi. Physostigma venenosum tohumlarından bir parasempatimmimetik bitki alkaloidi olarak izole edilir. Kan-beyin bariyerini (BBB) geçmesine rağmen, kısa bir yarı ömür ve dar bir terapötik indekse sahiptir [279]. Ayrıca bulantı, kusma, baş ağrısı, ishal ve baş dönmesi gibi birçok yan etkiye de sahiptir. Fizostigmin Myastenia Gravis, glokom ve gecikmiş gastrik boşalmada kullanımda idi. Ancak, ilaç onaylanmamış ve yukarıda belirtilen dezavantajlar nedeniyle AD kullanımı için terk edilmiştir. Bunun yerine, enzimatik analizlerde fizostigmin bir referans bileşik olarak kullanılır. Bununla birlikte, fizostigminin bir karbamat analogu olan rivastigmin, AD'li hastaları tedavi etmek için kullanılır [280].



Şekil 2.39. Fizostigminin yapısı

Rivastigmin

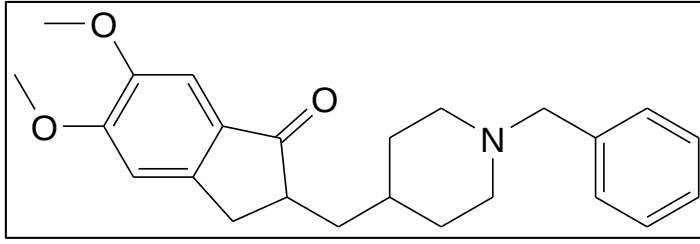
Rivastigmin dahil olmak üzere diğer kolinesteraz inhibitörleri, etkinin özgüllüğü ve daha düşük yan etki riski açısından daha üstün özelliklere sahiptir. Rivastigmine (Şekil 2.40), Avrupa Birliği ve ABD'nin tüm üye ülkeleri dahil olmak üzere 60 ülkede kullanılmak üzere onay almıştır. Rivastigmin küçük bir moleküldür ve kolay BBB geçirgenliğine sahiptir [273, 281]. Rivastigmine ayrıca BuChE ve AChE inhibitör özelliklerine sahiptir. Rivastigmine 2000 yılında hafif-orta dereceli AD'nin tedavisi için onaylandı ve o zamandan beri Parkinson'un ilgili demansları için de onay aldı.



Şekil 2.40. Rivastigminin yapısı

Donepezil

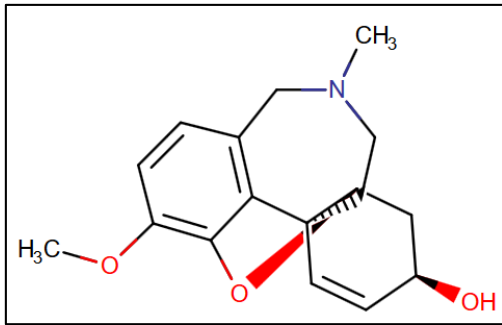
1997 yılında kullanım için onay alan Donepezil günümüzde en çok kullanılan AD ilacıdır. Donepezil (Şekil 2.41) çok güçlü ve oldukça seçici bir AChE inhibitörüdür. Enzim ile birkaç bağ oluşturur ve aynı zamanda PAS ve enzim boğazının (gorge) aromatik kalıntı halkalarıyla etkileşir [265]. Donepezil de AChE için oldukça seçicidir. BuChE için düşük seçiciliği, BuChE üzerindeki daha büyük vadinin bir sonucudur ve bu da donepezilin eşzamanlı olarak periferik anyonik ve katalitik bölgelere bağlanamamasıyla sonuçlanır [267, 272, 282].



Şekil 2.41. Donezepilin yapısı

Galantamin

Bir kaç kolinesteraz inhibitörü, doğal ürünlerden türetilmiştir. Bunlardan biri olan ve üç onaylı kolinesteraz inhibitöründen biri olan galantamin kardelen bitkisinden (*Galanthus spp.*) izole edilmiştir [283-285] Galantamin (Şekil 2.42), yarışmalı ve geri dönüşümlü bir kolinesteraz inhibitörüdür. Beyindeki asetilkolin konsantrasyonunu artırarak kolinerjik fonksiyonu güçlendirdiği düşünülmektedir. Galantamin asetilkolinesteraz kompleksinin üç boyutlu yapısı 1999 yılında X-ışını kristalografisi ile belirlenmiştir. Galantamin'in altta yatan demans sürecinin seyrini değiştirdiğine dair bir kanıt yoktur. Galantamin ayrıca, asetilkolin salınımını arttırmak için nikotinik kolinerjik reseptörlerin modüle edilmesinde aktivite göstermiştir.

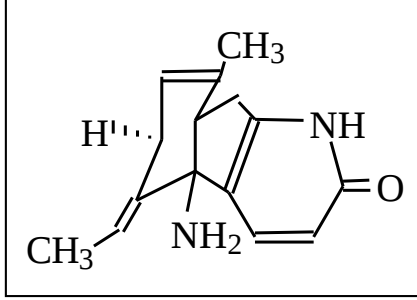


Şekil 2.42. Galantaminin yapısı

Hüperzin A

Hüperzin A (Şekil 2.43), *Huperzia serrata*'dan izole edilen ve kan-beyin bariyerini geçebilen bir alkaloidtir [286, 287] Hüperzin A, son derece seçici ve geri dönüşümlü bir AChE inhibitörüdür. AChE'nin hüperzine A tarafından inhibisyonu, aktif boğaz (gorge) bölgesindeki kalıntılar ile etkileşimlerin sonucudur. Hüperzin A'nın bir faz II çalışmasında, günde iki kez uygulanan ilacın 200 µg'ının hafif ila orta şiddette AD olan hastalarda bilişsel etkinliğe belirgin bir faydası olmadığı gözlenmiş olsa da, yakın zamanda yapılan

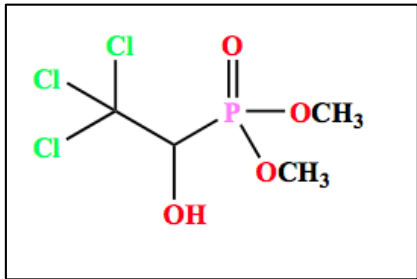
bir meta analiz, mevcut çalışmaların zayıf metodolojik kalitesinden dolayı etkililiğini tesis etmek için daha ileri çalışmaların gerekli olduğunu belirtmiştir Hüperzin A'nın β -amiloid kaynaklı oksidatif hasara ve oksidatif stresi azaltmaya karşı nöroprotektif etkileri gösterdiği de bildirilmiştir .



Şekil 2.43. Hüperzine A'nın yapısı

Metrifonat

Metrifonat (Şekil 2.44), şistosomiasis tedavisinde orijinal olarak kullanılan uzun etkili, geri dönüşümsüz bir ChEI'dir. Kısa süreli kullanımda yan etki riski düşük olmakla birlikte uzun süreli kullanım miyastenik krize benzer şekilde solunum felci ve nöromusküler iletim disfonksiyonuna neden olmuştur [288]. Bu nedenle FDA başvurusu durdurulmuş ve klinik çalışmalar faz III sırasında kesilmiştir. Bununla birlikte, ADAS-cog (Alzheimer's Disease Assessment Scale-cognitive subscale) ve diğer önlemler üzerinde sağlam bir terapötik etki göstermiştir. Ancak, metrifonat ve nöromusküler disfonksiyon arasındaki ilişki daha fazla araştırılncaya kadar, metrifonat şu anda AD tedavisi için bir seçenek değildir.



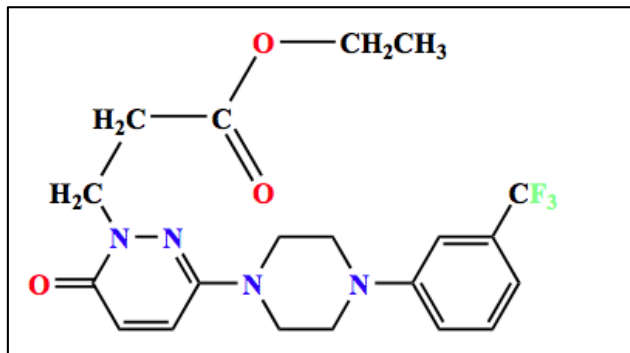
Şekil 2.44. Metrifonatın yapısı

2.2.4.Yeni geliştirilen kolinesteraz inhibitörleri

Halihazırda, Alzheimer hastalığı (AD) tedavisi için birkaç tane FDA onaylı ilaç ticari olarak temin edilebilmektedir. Bunların arasında Tacrine (Cognex), Donepezil (Aricept),

Rivastigmin (Exelon), Galantamine (Reminyl) kolinesteraz inhibitörleridir. Bunlar hastalık için sadece palyatif çözümler sunabilmektedir, ancak bu ilaçların yan etkileri önemli bir endişe kaynağı olmaya devam etmektedir. Açıkçası, AD'nin tedavisi için etkili ve daha etkili ilaçların araştırılması, en baskın farmakolojik hedeflerden biridir ve daha birçok ilaç ya klinik deneylerde ya da hem akademik alanda hem de endüstride dünya çapında laboratuvarlarda test edilmektedir [289]. Gelişme aşamasında olan sentetik analoglar ile hedeflenen farmakolojik etki oluşturulurken hepatotoksitenin ve bilinen gastrointestinal yan etkilerin önlenmesi sağlanmaktadır. Sentetik analoglar geliştirmede de doğal olarak türetilmiş ChEI'leri gibi potent ve kan beyin bariyeri geçirgenliğine sahip olan türevlere ulaşılama veya beklenmedik farmakolojik özelliklere sahip bileşikler elde etme gibi riskler bulunmaktadır [290].

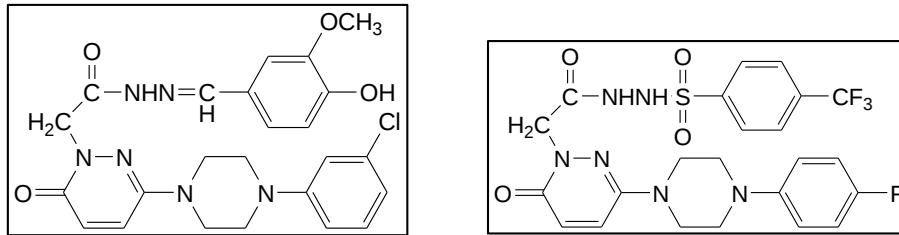
Ana yapı olarak piridazinon halkası içeren bileşik türevlerinde yapılan çalışmalarda da bileşiklerin AChE ve BChE inhibitörü aktivite gösterdikleri bildirilmiştir. Etil 6-[(süstitüe-fenilpiperazin]-3(2*H*)-piridazinon-2-il propiyonat ve 6-[(süstitüe-fenilpiperazin]-3(2*H*)-piridazinon-2-il propiyonohidrazit türevlerinin AChE/BChE inhibitörü olarak sentez edildiği bir çalışmada elde edilen bileşiklerin aktiviteleri günümüzde Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılmakta olan galantamin ile karşılaştırılarak değerlendirilmiş ve 6-[4-(3-triflorometilfenil)-piperazin]-3(2*H*)-piridazinon-2-il propiyonat bileşiğinin hem asetilkolinesteraz hem de bütirilkolinesteraz enziminin inhibisyonunda en aktif bileşik olduğu bulunmuştur [291].



Şekil 2.45. Etil 6-[(süstitüe-fenilpiperazin]-3(2*H*)-piridazinon-2-il propiyonat

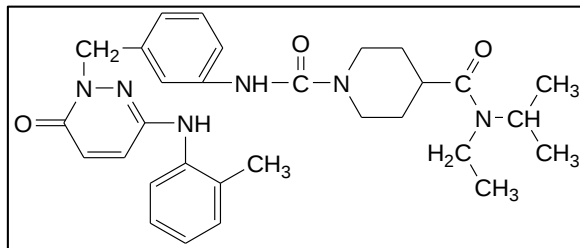
6-süstitüe-3(2*H*)-piridazinon-2-asetil-2-(süstitüe/nonsüstitüebenzal) hidrazon ve N'-[(4-süstitüefenil)sülfonil]-2-[4-(süstitüefenil)-piperazin]-3(2*H*)-piridazinon-2-il asetohidrazit türevleriyle yapılan benzer çalışmalarda da Ellman metoduyla bileşiklerin 0.05 mM, 0.1 mM, 0.2 mM, 0.25 mM ve 0.5 mM konsantrasyonlarda antikolinesteraz aktiviteleri değerlendirilmiş ve 6-

(3-klorofenil)-3(2*H*)-piridazinon-2-asetil-2-(3-metoksi-4-hidroksi benzal)hidrazon ve N'-[(4-triflorometilfenil)sülfonil]-2-[4-(2-florofenil)-piperazin]-3(2*H*)-piridazinon-2-il asetohidrazit bileşiklerinin en aktif olduğu, N'-[(4-triflorometilfenil)sülfonil]-2-[4-(2-florofenil)-piperazin]-3(2*H*)-piridazinon-2-il asetohidrazitin galantaminden daha yüksek aktivite gösterdiği bildirilmiştir [292, 293].



Şekil 2.46. N'-[(4-triflorometilfenil) sülfonil]-2-[4-(2-florofenil)-piperazin]-3(2*H*)-piridazinon-2-il asetohidrazit bileşiklerinin en aktif olduğu, N'-[(4-triflorometilfenil) sülfonil]-2-[4-(2-florofenil)-piperazin]-3(2*H*)-piridazinon-2-il asetohidrazit

Xing ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada 2,6-disüstitüe piridazinon türevleri sentez edilmiş ve elde edilen bileşiklerin *in vitro* AChE/BChE inhibitörü etkileri moleküler modelleme çalışmaları da yapılarak araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda 6-orto-tolilamino ve *N*-etil-*N*-izopropilasetamit süstitüe piperidin gruplarını içeren piridazinon bileşiğinin yüksek asetilkolinesteraz inhibitörü aktivite gösterdiği ve *in vitro* AChE/BChE selektif oldukları bulunmuş, yapılan moleküler modelleme çalışmaları ile de bileşiğin enzimlerin hem katalitik aktif bölgesine (CAS), hem de periferik anyonik bölgesine (PAS) bağlanarak enzim inhibisyonu yaptığı belirlenmiştir [294].

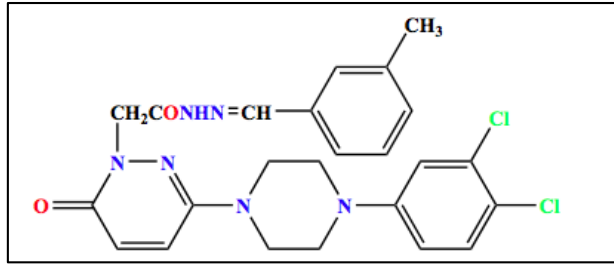


Şekil 2.47. 6-(2-metilfenil) amino-2-(4-*N*-etil-*N*-izopropil asetamit piperidin) aminobenzil-3(2*H*)-piridazinon

Başka bir çalışmada 6-süstitüe-3(2*H*)-piridazinone-2-asetil-2- (p-süstitüe benzalhidrazon türevleri sentezlenmiş ve AChE ve BChE enzim inhibitör aktiviteleri test edilmiştir. Sentezlenen türevlerin her iki enzimin dual inhibisyonunda potent etki

gösterdiği tespit edilmiştir [268]. En aktif AChE inhibitörü 100 µg/ml konsntrasyonda %75,52 AChE inhibisyon gösterirken aynı zamanda yine aynı konsantrasyonda %67,16 BChE inhibisyonu göstermiştir. Sentezlenen türevler arasında en güçlü dual kolinesteraz inhibitörü 6-[4-(3,4-dikolorofenil) piperazin-1-il]-3(2H) piridazinon-2-asetil-2-(3-metillbenzal) hidrazon türevidir [268].

Docking çalışmaları ile 6-[4-(3,4-dikolorofenil) piperazin-1-il]-3(2H) piridazinon -2-asetil-2-(3-metillbenzal) hidrazon türevinin her iki enzim üzerindeki inhibisyon etki mekanizması önceden rapor edilmiş türevler ile kıyaslanmıştır. Sonuçta en aktif bileşiğin bileşiğin docking pozisyonunun donezepil ile benzer olduğu ve fenilpiperazin yapısı üzerindeki süstitüentlerin ligand etkinliğini değiştirebileceği tespit edilmiştir.



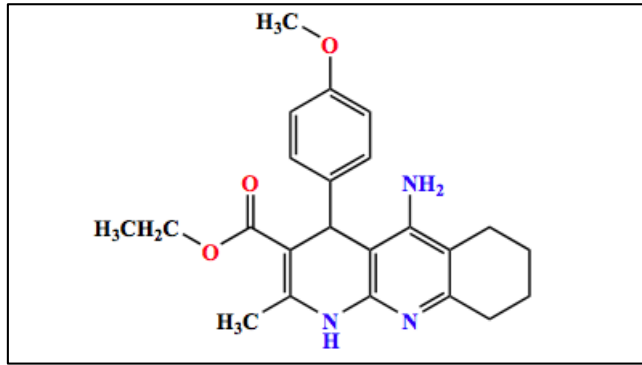
Şekil 2.48. 6-[4-(3,4-dikolorofenil) piperazin-1-il]-3(2H) piridazinon -2-asetil-2-(3-metillbenzal) hidrazon

Takrinin 1993 yılında Alzheimer hastalığının tedavisinde ilk AChE inhibitörü olarak kullanılmasından bugüne kadar hastalık modifiye edici tedaviler (DMTs: Disease Modifying Therapies) geliştirmek için bazı stratejiler araştırılmıştır. Çok yüksek miktarlarda para harcanmasına ve çok sayıda bileşiğin klinik denemelere girmesine rağmen Alzheimer hastalığının etkin tedavisi henüz bulunamamıştır [295]. Alzheimer hastalığının tedavisindeki klinik başarısızlık tam açıklanamayan değişik faktörlerin çok yönlü etkileşimi içeren bir patolojiye sahip olmasına bağlıdır. Bu araştırma aynı zamanda çoklu hedefe yönlendirilmiş ligandlarda (Multitarget Directed Ligands: MTDLs) son gelişmelerin temel prensipleri ortaya koymuştur [296].

Sonuç olarak, Alzheimer hastalığının çok faktörlü bir hastalık olması gerçeği çok yönlü hedefler için (multiple targets) single-molekül yaklaşımının gerekliliğini ortaya koymuştur. Bu amaçla, kan beyin bariyeri geçirgenliği artırılmış ve birden fazla reseptöre hedeflendirilmiş hibrit moleküllerin tasarımı da yapılmıştır [297-299]. Bu çalışmalar

arasında Takrin temelli multitarget türevlerin AD'de birçok tanınmış hedef ile etkileşime girdiği ve hem invivo hem de invitro fayda sağladığı tespit edilmiştir.

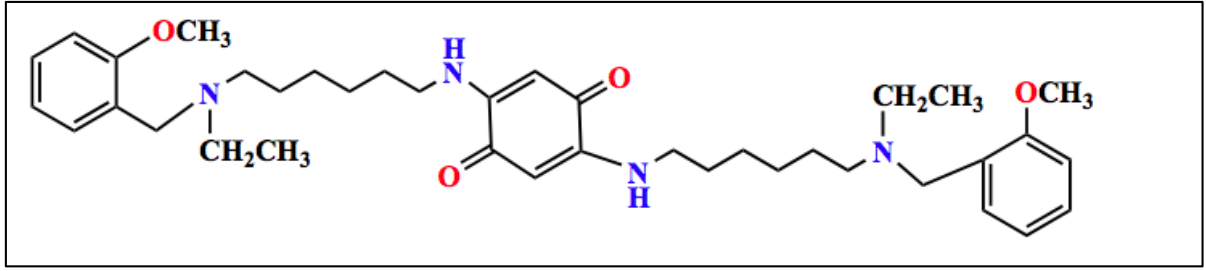
Esasında takrin iskelet yapısı yüksek etkili MTDL lar için en iyi başlangıç noktasıdır. Bütün bunların ışığında yeni MTDL sınıfı takripirinler olarak isimlendirilmiştir. Takripirinler için rorerans molekül takrin ve nimodipinin hibritleştirilmesi ile sentezlenmiştir. Bu şekilde hem antikolinesteraz hem de kalsiyum antagonisti aktiviteler tek bir hibrit molekülde birleştirilmiş ve Alzheimer hastalığının tedavisinde yeni bir yaklaşım getirmiştir. Takripirin türevleri içinde en yüksek aktivite ($\pm$) p-metoksiakripirin (Şekil 2.49) bileşiğinde gözlenmiştir, aynı zamanda bu bileşik yüksek selektivite ile astilkolinesterazenzimine bağlanabilmekte ve yüksek kalsiyum antagonisti aktivite sağlamaktadır [300].



Şekil 2.49. ($\pm$) p-metoksiakripirin

Alzheimer tedavisinde kalsiyum kanal blokerlerine duyulan ilgi kalsiyum düzeylerinin öğrenme, hafıza gibi nöronal canlılık gibi işlevler ile yakın ilişkisi olmasından kaynaklanmaktadır. İntrasellüler kalsiyum dengesi bozukluklarının nöron hasarı ve kayıplarından sorumlu olduğu düşünülmektedir [301].

Memoquin (Şekil 2.50) isimli ilaç bahsedilen polifarmakoloji modeline uygun olarak geliştirilmiştir. Çok hedefli bir ilaç olarak geliştirilen memoquin hem antioksidan hem de nöroprotektif etkilere sahiptir ve ümit vaat eden bir ilaç olarak yükselen bir değere sahiptir [302].

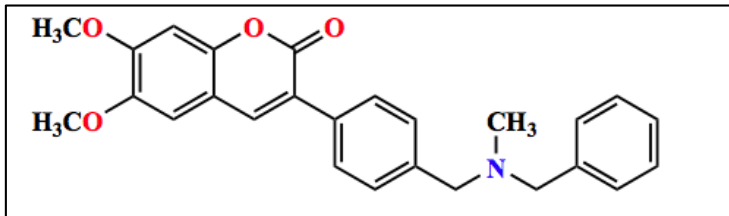


Şekil 2.50. Memoquinin yapısı

Double bağlanma bölgelerine sahip bifonksiyonel ligantlar asetilkolinesteraz, monoaminoksidaz ve reaktif oksijen türleri (ROS) inhibitörleri olarak geliştirilmiştir [303-305].

Memoquin kinon halkası taşıyan bir poliamindir ve asetilkolinesteraz enzimi ve β -amiloid agregasyonu inhibisyonu yaparak Alzheimer hastalığında dual etki sağlamaktadır [100]. Memoquin insan asetilkolinesterazının en güçlü inhibitörüdür ve donazepilden 10 kat daha etkilidir. Memoquin asetil koline dual bağlanma, β -amiloid agregasyonu, β -sekretaz inhibisyonu, nöroprotektif etki, antioksidan etki ve tau hiperpolarizasyonunun azaltılması gibi çok çeşitli AD mekanizmalarını modüle eden multifonksiyonel bir bileşiktir [306].

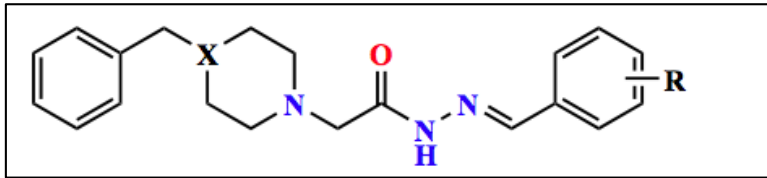
Donazepil FDA tarafından Alzheimer hastalığının semptomlarını hafifletmek için onaylanmış selektif bir asetilkolinesteraz inhibitörüdür [265]. Donazepilin uygun farmakokinetik profili ve potent asetilkolinesteraz inhibisyonu yapması çok sayıda donazepil analoglarının geliştirilmesine neden olmuştur [272, 282]. AP 2238 (Şekil 2.51) bu alanda ilk geliştirilen bileşiktir ve asetilkolinesterazın anyonik bölgesine bağlanmaktadır AP2238'in asetilkolinesteraz aktivitesi donazepil ile aynı olmasına rağmen betaamiloid agregasyon inhibitörü etkisi daha yüksektir.



Şekil 2.51. AP2238 yapısal formülü

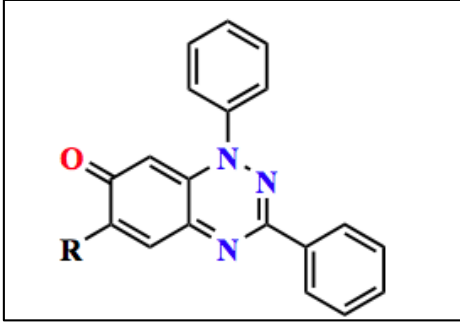
Rizzo ve arkadaşları donazepil ve AP2238'in bir seri hibrit türevini sentezlemişlerdir. Donazepilden gelen indanon halkası AP 2238'in fenil-N-metilamino kısmına bağlanmıştır. Oluşan hibrit bileşiğin yüksek antikolinesteraz aktivite gösterdiği rapor edilmiştir [307].

Özer ve arkadaşları [308], hem kolinesteraz hem de amiloid birikimini inhibe etmesi beklenen ve donepezil yapısına dayanan yeni bir dizi bileşik tasarlamıştır. Çift etkili bileşiklerin bu sınıfı 4-benzilpiperidin/piperazin ve bir N-asçilhidrazon parçası ile bağlanmış farklı şekilde ikame edilmiş bir benzen halkasının bir kombinasyonudur. Benzen halkası, bir veya iki metoksi/etoksi grubu içerir (Şekil 2.52). Ellman'ın testinin sonuçları, bu bileşiklerin hem AChE hem de BuChE'nin orta ve seçici olmayan inhibitörleri olduğunu ve mikromolar aralıkta IC_{50} değerlerini hAChE için 53.1-88.5 M ve EqBuChE için 48.8-98.8 M olduğunu göstermiştir.



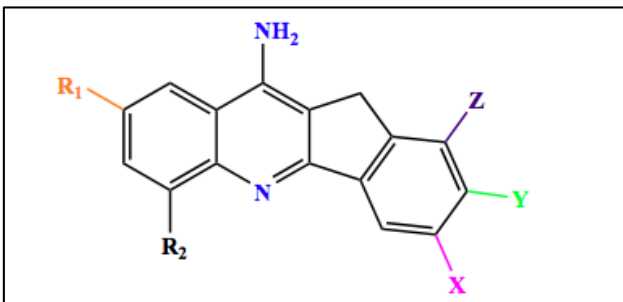
Şekil 2.52. 4-Benzil piperidin/piperazin türevleri

Benzo[e] [1,2,4] triazin-7(1H)-on türevi ve [1,2,4]-triazino [5,6,1j, k]-carbazol-6-on türevi olmak üzere iki grup türev de yeni bir dizi amiloid birikimi ve AChE/BuChE inhibitörü bileşik (Şekil 2.53) tanımlanmıştır [309]. Tasarlanan bu bileşikler triazafluoranthanonun 5. karbonuna ve benzotriazinonun ve 6. karbonuna bağlı çeşitli alkilamin veya arilalkilamin süstituentleri taşımaktadır. Bileşiklerin çoğunluğu, mikro veya submikromolar aralıkta IC_{50} değerleri olan bir $A\beta_{1-40}$ anti-agregasyon aktivitesi sergilemiştir ($A\beta_{1-40}$ IC_{50} = 0.37-65 M). Ellman analizinin sonuçları test edilen bileşiklerin EeAChE ve EqBuChE'nin zayıf veya orta düzeyde inhibitörleri olduğunu göstermiştir. Triazafluoranthanon türevi bileşiklerden oktametilen zincirine sahip bileşik, 1.4 M IC_{50} değeri ile $A\beta_{1-40}$ agregasyon inhibisyonu gösterirken; IC_{50} = 25 nM değeri ile seçici, çok güçlü bir EqBuChE inhibitörü etkiye sahip bulunmuş ve potansiyel anti-AD ilaç olarak daha fazla gelişme için umut verici olarak görülmüştür [309].



Şekil 2.53. Benzo[e][1,2,4] triazin-7(1H)-on türevi ve [1,2,4]-triazino [5,6,1j, k]-carbazol-6-on yapısı

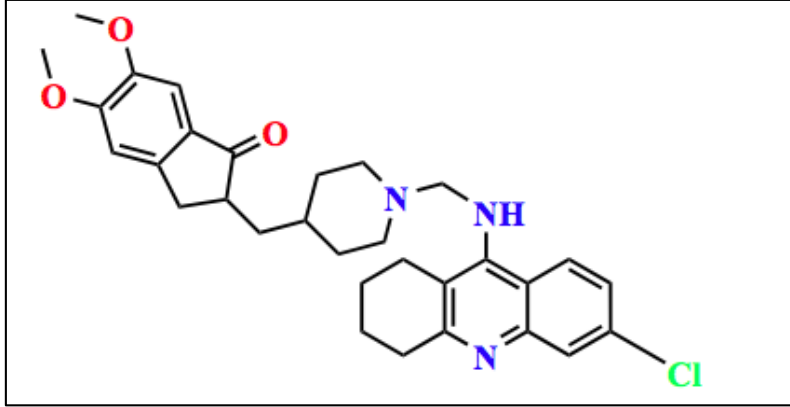
Ekiz ve arkadaşları, bromindenokinolin türevi bileşiklerin sentezini gerçekleştirerek Yapı-aktivite ilişkisini (SAR) araştırmak için asetilkolinesteraz (AChE), bütirilkolinesteraz (BChE) ve insan karbonik anhidraz siktosolik (hCA I ve II) enzimlerini inhibe etme potansiyellerini belirlemiştir. Monofenil indenokinolinler, başlangıç materyalleri ve referans bileşikleri (galantamin ve takrin) ile karşılaştırıldığında, IC_{50} 37-57nM ve 84-93nM aralığındaki değerlerde AChE ve BChE enzimlerini önemli ölçüde inhibe etmiştir. Diğer taraftan, bu yeni arillenmiş indenokinolin bazlı türevler, AChE için 37 ± 2.04 ila 88640 ± 1990 nM aralığında, hCA için 120.94 ± 37.06 ila 1150.95 aralığında hCA II için 267.58 ± 98.05 ila 1568.16 ± 438.67 nM aralığında ve BChE için ise 84 ± 3.86 ila 144120 ± 2910 nM aralığında K_i değerleri ile enzimlerin etkili inhibitörleri olarak bulunmuştur (Şekil 2.54). Sonuç olarak, monofenil indenokinolinlerin ümit verici bir anti-Alzheimer ilaç potansiyeline sahip olabileceği ve 3,8-dibromoenokinolin aminin ise yeni hCA I ve hCA II enzim inhibitörleri olabileceği düşünülmüştür [310].



Şekil 2.54. Arillenmiş indenokinolin bazlı türevlerin yapısı

Camps ve arkadaşları ise AChE'nın periferik, aktif ve orta boğaz (midgorge) bağlama bölgeleriyle aynı anda etkileşime giren yeni bir dizi donepezil-takrin hibrit molekülü (Şekil 2.55) tasarlamışlardır. Bileşikler AChE tarafından indüklenen BuChE, AChE ve beta-amiloid agregasyonunu inhibe etme kabiliyeti açısından test edilmiştir. Bileşikler,

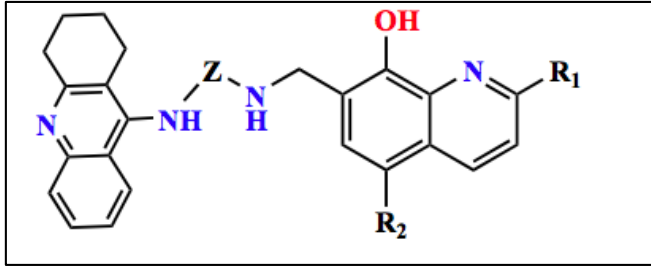
donepezilin 5,6-dimetoksi-2-[(4-piperidinil)metil]-1-idanon kısmı ile 6-klorotakrin grubunun birleşiminden oluşmaktadır. Tüm bu yeni melezlerin oldukça güçlü hAChE inhibitörleri olduğu kanıtlanmıştır. Yeni bileşiklerin hepsi de beta amiloid agregasyonunun belirgin inhibisyonunu göstermiş ve ana bileşiklerden daha güçlü olduğu gösterilmiştir [265].



Şekil 2.55. Donazepil-Takrin hibritinin yapısı

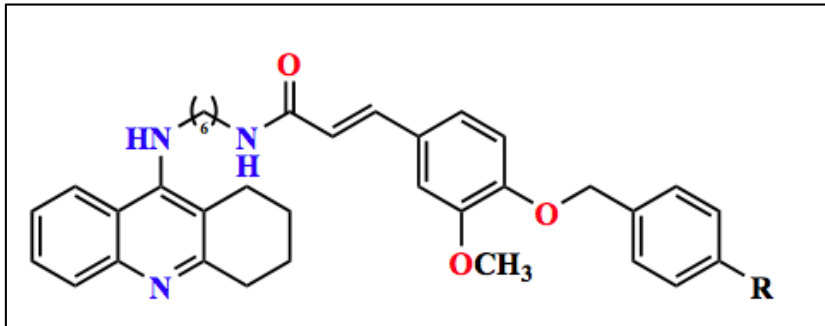
Multipotent yaklaşım, tacrine-melatonin hibridlerini, AChE ve MAO inhibitörlerini veya serotonin taşıyıcılarını, antioksidan ve nöroprotektif özelliklere sahip güçlü kolinesteraz inhibitörlerini, kolinesterazlara ve M2 muskarinik reseptörlere bağlanan galantamin-takrin hibritlerini, NO-donorlerini, hepatoprotektif ilaçlar olarak ADye ya da floresan takrine odaklanan takrin hibritlerini, kumarin hibritlerini içerir [311, 312].

Hem takrin hem de PBT2'nin (bir 8-hidroksikinolin türevi), ChE inhibisyonu yaptığı ve beta-amiloid konsantrasyonlarını azalttığı bilinmektedir. Bu bileşiklerden yola çıkarak Fernandez-Bachiller ve arkadaşları AD tedavisi için olası terapötik ilaçlar olarak yeni takrin-8-hidroksikinolin hibritleri (Şekil 2.56) tasarlamış ve sentezini gerçekleştirerek aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Elde ettikleri bu Hibritlerin AChE ve BuChE'ye karşı takrinden daha etkili olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca bileşiklerin düşük hücre seviyesinde toksisite gösterdikleri ve in vitro BBB modelinde gerçekleştirilen deneylerde CNS'ye nüfuz edebildikleri bildirilmiştir. İlaç ayrıca antioksidan ve bakır kompleksleştirici özellikler göstermiştir. Bütün bu özelliklere sahip hibrit bileşiklerin, in vivo olarak da olası bir terapötik ilaç olabileceği düşünülmüştür [313].



Şekil 2.56. Takrin-8-hidroksikinolin hibritleri

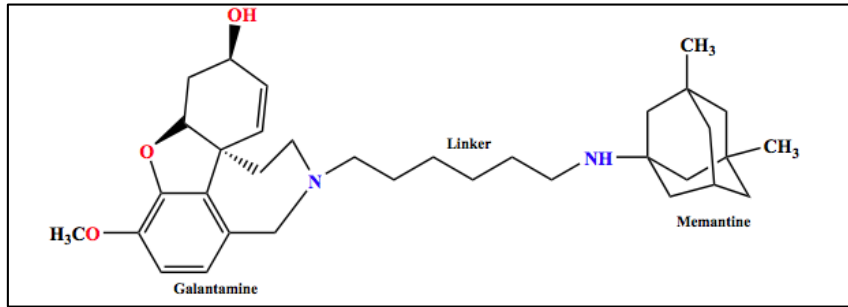
Takrin-sinamik asit hibritleri (Şekil 2.57) de, nanomolar aralıkta IC₅₀'ler ile AChE ve BuChE'nin inhibisyonunu göstermektedir. SAR çalışmaları, molekülde optimum aktivite için bağlayıcı olarak 6-karbonlu bir alkil zincirinin bulunması gerektiğini göstermiştir. Bu bileşikler üzerinde yapılan çalışmalar bu bağlayıcının uzantısı veya benzil grubu gibi bir hacimli grubun eklenmesi, ChE inhibisyonunda bir azalmaya neden olduğunu göstermiştir. Sentezlenen bileşiklerin bazılarının kendiliğinden indüklenen Aβ1-42 agregasyonunu da inhibe ettiği bulunmuştur. İn vivo değerlendirme Morris Water Labe testinde skopolamine bağlı kognitif bozukluğun azaldığını göstermiş ve hepatotoksisite değerlendirmesinde de güvenli oldukları gösterilmiştir [314].



Şekil 2.57. Takrin-sinamik asit hibritlerinin yapısı

Biyokimyasal kanıtlar, glutamaterjik nöronların aktivitesinin AH'da işlevsiz olduğunu ve AH patolojisinde kolinerjik sistem ile bunların ortak işlev bozukluğunun önemli olduğunu göstermektedir [315]. Bu nedenle, kolinerjik ve glutamaterjik sistemleri eş zamanlı olarak hedefleyen ilaç kombinasyonları, AH hastaları için mevcut bakım standardı olarak önerilmektedir. NMDA reseptörü, bellek ve öğrenmede çok önemli bir rol oynar. Reseptör eşzamanlı olarak bağlanması gereken iki agonist, glisin ve (S) -glutamat ile aktive edilir. Klinik olarak, fazla miktarda glutamat ile NMDA reseptörünün aşırı aktivasyonunun, eksitotoksisite ile sonuçlanan nöronun içinde kontrolsüz bir Ca²⁺ + iyonları kontrolüne yol açtığı gösterilmiştir. Galantamin, AChE üzerinde iyi bilinen inhibitör aktivitesine ek olarak, nikotinik

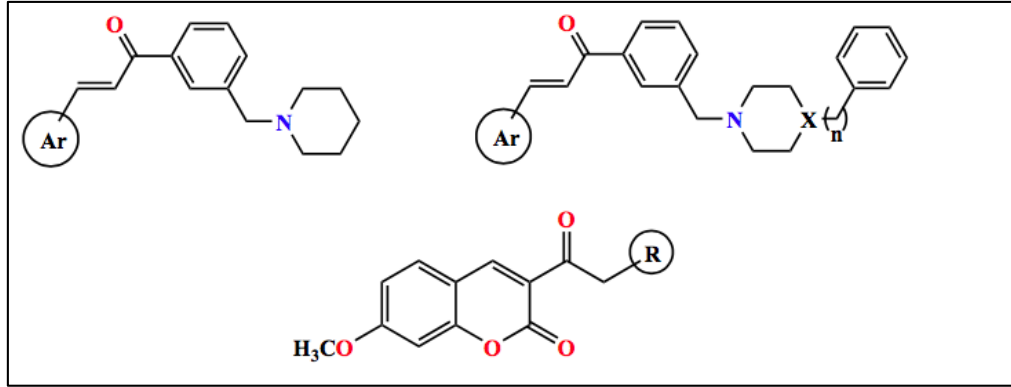
ACh reseptörlerinin aktivasyonu yoluyla glutamat toksisitesine karşı nöroprotektif etki gösterir [166]. Sigara içenlerin, bu nöroprotektif etkiyi veren nikotinik asetilkolin reseptörünün (nAChR) uyarılması nedeniyle Parkinson hastalığına karşı daha az duyarlı oldukları iyi bilinmektedir [316]. Böylece galantamin ve memantin, aynı eksitotoksik kademeli dizi (cascade) üzerinde birlikte çalışarak sinerjik bir nöroprotektif etki sağlar [317]. Lopes ve arkadaşları bu hipotez ile primer kortikal nöronlarda NMDA aracılı nörotoksositeye karşı galantamin nöroprotektif etkisinin esas olarak nikotinik reseptörleri içerdiğini kanıtlamışlardır. Dahası, yaptıkları çalışmada, subaktif galantamin ve memantin konsantrasyonlarının kombine nöroproteksiyona yol açabileceği bildirilmiştir. Bu çalışma, maksimum verimlilikle bir MTDL geliştirmede yeni bir tasarım stratejisi sunmaktadır. Bu stratejiyi izleyerek, piyasada kullanılmakta olan bu iki ilacın, galantamin (AChE inhibitörü) ve memantin (NMDA reseptör antagonisti) farmakolojik aktivitelerini birleştiren yeni bir hibrit bileşik serisi tasarlanmıştır. Yeni hibrid bileşikler, iki ilaç molekülünü değişken uzunlukta bir polimetilen bağlayıcıdan bağlayarak, çift bağlanma yaklaşımından sonra tasarlanmıştır (Şekil 2.58). Bir heksametilen aralayıcı taşıyan bileşikler, serinin en ümit verici özelliklerine sahiptir. Moleküler modelleme çalışmaları ile uyumlu olarak da AChE'de hem PAS hem de CAS ile aynı anda temasa izin vermek için optimal mesafeyi sağlanarak bileşikler tasarlanmıştır [318].



Şekil 2.58. Galantamin-Memantin dual bağlanma hibritinin yapısı

Daha önce bildirilen bir araştırmada, antikolinesteraz aktivitede ve bazı durumlarda da A β anti-agregasyon özellik için chalcone ve kumarin fragmanlarının elzem olduğunu göstermiştir [319]. Bu çalışmada chalcone veya kumarin parçası ile yeni bir dizi çok fonksiyonlu bileşikler geliştirilmiştir [292]. Bu amaçla chalcone ve kumarin parçaları, çift etkili bileşikler elde etmek için farklı amin parçaları ile birleştirilmiştir (Şekil 2.59). Test edilen tüm bileşikler, kolinesterazlara karşı, referans bileşik olan galantamin ile karşılaştırılabilir veya daha zayıf aktiviteye sahip bulunmuştur. En güçlü EeAChE inhibitörü bileşiğin IC₅₀ değeri 1.76 M bulunmuştur.

Kalkon türevleri, 8.27 M'lik IC_{50} değerine sahip en güçlü ile EqBuChE'ye karşı da kumarinin inhibitör aktivitesinden daha yüksek aktivite göstermiştir. Tüm bileşikler tioflavin T floresan deneyinde A β fibril oluşumunu inhibe etme yetenekleri açısından test edilmiş, hem chalcone hem de kumarin türevlerinin, kendiliğinden indüklenen A β agregasyonunun orta düzeyde inhibitörleri olduğu bulunmuştur (100 M'de %30-70).

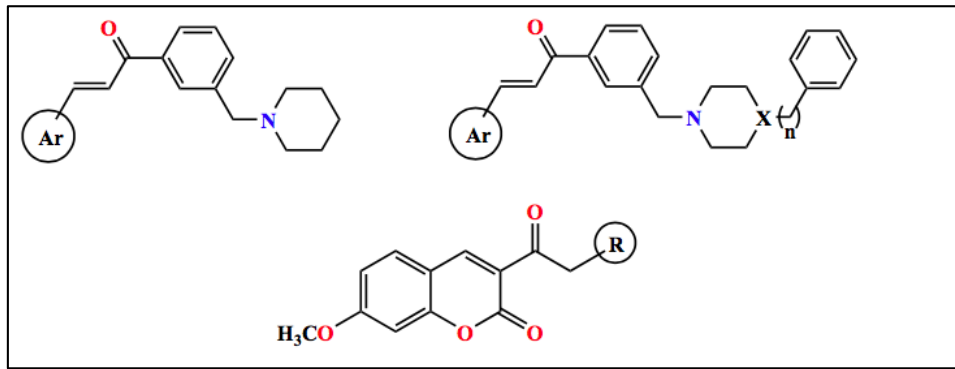


Şekil 2.59. Kalkon kumarin hibritlerinin yapısı

Doğal antioksidanlar, hücrelerin oksidatif hasara karşı korunması yoluyla Alzheimer hastalığının ve hücre yaşlanma süreçlerinin önlenmesine yardımcı olur. Bu nedenle, bazı antioksidanlar AD'yi önlemede ve bilişsel işlevi sürdürmede yararlı olabilir [319,320]. Oksidatif stres, serbest radikaller, biyo-metal toksisitesi ve anormal reaksiyonlar AD patolojisine katkıda bulunur. Bitkilerde bulunan en büyük bileşiklerden biri olan Flavonoidler, çok çeşitli biyolojik aktiviteye sahiptir [321]. Kuvvetli antioksidan aktivitesi olan polifenolik bileşiklerdir ve bu durum AD tedavisinde bu bileşiklere avantaj sağlar. Oksidatif stres, biyolojik sistemin reaktif oksijen türlerini (ROS) üretme ve detoksifiye etme becerisindeki dengesizliğin bir sonucudur. Vücuttaki ROS düzeylerinin artması daha yüksek bir üretim oranından veya antioksidan enzim aktivitesinde bir azalmadan kaynaklanabilir [321]. AH hastalarında antioksidan enzim aktivitesinde bir azalma tespit edilmiştir [322-324]. Senil plakların oluşumuna ek olarak, AD beyinlerinde gözlenen yoğun oksidatif stres vardır [325]. Oksidatif stres, AD'nin patojenezinde, hayati hücresel bileşenlerin, yani proteinlerin, lipidlerin ve nükleik asitlerin hasarından dolayı önemli bir role sahiptir [326]. Protein karbonillerin ve 3-nitrotirozin düzeylerinin (DNA ve RNA'ya oksidatif hasar belirteçleri) AH beyinlerinde yükseldiği bulunmuştur [327]. Lipid peroksidasyon ürünleri, hafif bilişsel bozukluğu veya AH olan hastaların beyinlerinin birçok bölgesinde daha yüksektir [328]. Serbest radikal hasarının oluşmasına ek olarak, süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerinde azalma, AH'nın ilerlemesiyle de ilişkilidir ve aynı zamanda oksidatif stresin

sinaptik kayıpla ilişkili olduğunu gösterir . AH'nın oksidatif stres hipotezi, nöronların hasarı nedeniyle hastalığın başlangıcında ve ilerlemesinde ROS'un önemli bir rol oynadığını düşündürmekte ve antioksidan aktivitesinin, redoks-aktif geçiş metallerini şelatlayarak, indirgenmiş glutatyon düzeylerini artırarak ve inflamatuvar süreçleri aşağı regüle ederek (down-regulating inflammatory processes) serbest radikalleri süpürme yeteneğine bağlanmaktadır.

Ayrıca, bu reaktif oksijen türleri kolayca emilmekte ve dağıtılmakta ve beyin dahil çeşitli dokularda dihidrolipoik asite dönüştürülmektedir. Dihidrolipoik asit de ayrıca güçlü bir antioksidandır. Lipoik asidin disülfid siklik kısmı, AChE'nin periferik aktif bölgesine bağlanma ve AChE'nin uyardığı A β agregasyonunu inhibe etme potansiyeline sahiptir. Bu özelliklere dayanarak yapılan bir çalışmada lipoik asit, MTDL için yeni bir bileşik olarak lipokrin molekülünü vermek üzere takrin ile birleştirilmiştir (Şekil 2.60).



Şekil 2.60. Lipokrinin yapısı

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

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kimyasal Çalışmalar

3.1.1. Kimyasal bileşikler

Bu tezin kapsamında kullanılan bütün çözücüler teknik ve analitik niteliktedir. Bileşiklerin sentezinde glioksalik asit monohidrat (Merck), 4-bromoasetofenon (Aldrich), 4-metoksiasetofenon (Aldrich), 4-kloroasetofenon (Aldrich), hidrazin hidrat (Merck), etil 2-bromoaset (Merck), p-triflorometilbenzaldehit (Merck), 2,4-diklorobenzaldehit (Merck), p-izopropilbenzaldehit (Merck), p-benziloksibenzaldehit (Merck) re ajanlar olarak kullanılmışlardır.

Tez bileşiklerinin başlangıç maddesi olan, 6-sübstite fenil-3(2H)-piridazinon türevleri literatür yöntemine göre tarafımızca hazırlanmıştır. İlk basamaktan sonra elde edilen başlangıç maddeleri olan Etil 6-sübstitüefenil3(2H)-piridazinon-2-il asetat ve 6-sübstitüefenil-3(2H)-piridazinon-2-il asetohidrazit ilk defa tarafımızdan sentezlenmiştir.

3.1.2. Sentez yöntemleri

Başlangıç maddelerinin sentezleri

6-Sübstite fenil-3(2H)-piridazinon (Ia-b)

4,6 gram (0.05 mol) glioksalik asit monohidrat ve 0.1 mol sübstitüe-asetofenon türevi 120 °C'de 4 saat geri çeviren soğutucu altında ısıtıldı. Oda sıcaklığına gelmesi beklendikten sonra üzerine 5 ml amonyum hidroksit (NH₄OH) ve 25 ml su ilave edildi. Daha sonra 4 defa 25 ml diklorometan ile ekstraksiyon yapılır. Sulu-amonyaklı faz ayrılarak üzerine 0.05 mol (2.43 ml) hidrazin hidrat ilave edildi ve reaksiyon ortamı 3 saat geri çeviren soğutucu altında ısıtıldı. Çöken kristaller süzüldü ve etanolden rekristalize edildi. İnce tabaka kromatografisi ile saflık ve temizlik kontrolü yapıldı.

Etil 6-[4-(süstitüe fenil)]-3(2H)-piridazinon-2-il asetat (IIa-b)

6-Süstitüefenil-3(2H)-piridazinon türevi (0.05 mol), 18,1 gram (0.1 mol) etil 2-bromoasetat ve 13,6 gram (0.1 mol) potasyum karbonat 50 ml aseton içinde geri çeviren soğutucu altında 12 saat kaynatıldı. Soğutulduktan ve 1 gece bekletildikten sonra buzlu su içine boşaltıldı. Çöken madde süzüldü kurutuldu ve etanolden rekristalize edildi. İnce tabaka kromatografisi ile saflık ve temizlik kontrolü yapıldı.

6- [4-(Süstitüe fenil)]-3(2H)-piridazinon-2-il asetohidrazit (IIIa-b)

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

6-Süstitüe-3(2H)-piridazinon-2-asetil-2- (süstitüe benzal) hidrazon (IVa-h)

0.01 mol 6-[4-(süstitüefenil)] -3(2H)-piridazinon-2-il asetohidrazit türevi ve 0.01 benzaldehit türevi mol 25 ml etanol içerisinde, geri çeviren soğutucu altında, 6 saat ısıtılarak karıştırılır. Reaksiyon ortamı buzlu suya dökülür; çöken madde süzülür, kurutulur. Bileşikler monograflarda belirtilen uygun yöntemlerle saflaştırılır.

3.1.3. Analitik yöntemler

Erime derecesi tayinleri

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

İnce tabaka kromatografisi ile yapılan kontroller

Materyal

Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck) hazır plaklar kullanılmıştır. Çözücü sistemleri ve belirteçlerin hazırlanmasında kullanılan kimyasal maddeler Merck firmasının ürünleridir.

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

Yöntem

Sürüklenme şartları: Kromatografi tanklarına çözücü sistemleri konulduktan sonra 24 saat oda sıcaklığında bekletilerek tankların doygunlukları sağlanmıştır. Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck) hazır alüminyum plaklara sentez ürünleri ile bunların hazırlanmasında kullanılan başlangıç maddelerinin uygun çözücülerdeki çözeltileri tatbik edilmiş, R_f değerleri oda sıcaklığında 10 cm'lik sürüklenme sağlandıktan sonra tayin edilmiştir.

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

Spektrometrik kontroller

IR spektrumları

Bileşiklerin IR spektrumları, ATR tekniği kullanılarak, İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkez Laboratuvarı'nda, Perkin Elmer Spectrum One FTIR Spektrometre'sinde alınmış ve dalga sayısı (cm⁻¹) cinsinden değerlendirilmiştir.

¹H-NMR spektrumları

Bileşiklerin ¹H-NMR spektrumları, kloroform içindeki (Merck)'deki yaklaşık %10'luk çözeltilerinden, İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkez

Laboratuvarı'nda, Bruker Avance 300 MHz Ultrashield™ NMR Spektrometre'sinde alınmış; δ skalasında değerlendirilmiştir.

Kütle spektrumları

Yüksek çözünürlüklü kütle spektrum verileri (HRMS), ESI (+) yönteminde çalışan bir Waters LCT Premier XE Kütle Spektrometresi) kullanılarak tespit edilmiştir. Ayrıca AQUITY Ultra Performance Sıvı Kromatografi sistemi de bu kütle spektrometresine bağlanmıştır. (Waters Corporation, Milford, MA, ABD).

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

Bileşiklerin antikolinesteraz aktivite tayinleri Dicle Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

3.2.1. Materyal

Enzim inhibisyonu çalışmalarında asetilkolin esteraz enzimi (Electric eel Type-VI-S, EC 3.1.1.7, Sigma, St. Louis, MO, USA), bütirilkolin esteraz enzimi (EC 3.1.1.8, Sigma), asetiltiyokolin iyodür (sigma-aldrich), bütiriltiyokolin klorür (sigma-aldrich), 5,5'-ditiyo-bis(2-nitrobenzoik) asit (Sigma, St. Louis, MO, USA), galantamin hidrobromür (Sigma, St. Louis, MO, USA) kullanılmıştır.

3.2.2. Yöntem

Bileşiklerin *in vitro* AChE ve BChE enzim inhibisyonları Ellman metoduna göre yapılmıştır [329]. Enzim kaynağı olarak *Electric eel* AChE Type-VI-S ve equine serum BChE, substrat olarak asetiltiyokolin iyodür ve bütiriltiyokolin klorür, standart bileşik olarak ise galantamin kullanılmıştır. Anti-kolinesteraz aktivitenin belirlenmesi için de 5,5'-ditiyo-bis(2-nitrobenzoik) asit (DTNB) kullanılmıştır.

140 μ l 0.1 mM sodyum fosfat tamponu (pH 8.0), 20 μ l DTNB, 20 μ l test bileşiğinin çözeltisi ve 20 μ l AChE/BChE çözeltisi çok kanallı mikropipetle 96 kuyucuklu kültür kabına eklenip 25°C'de 15 dakika inkübe edilmiş, sonrasında 10 μ l asetiltiyokolin iyodür/bütiriltiyokolin klorür eklenerek reaksiyon başlatılmıştır. Asetiltiyokolin iyodür ve

bütiriltiyokolin klorürün hidrolizi, enzimlerin kataliziyle oluşan tiyokolinlerin DTNB ile reaksiyonu sonucu oluşan sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoat anyonu oluşumunun Eliza cihazı kullanılarak 412 nm dalga boyunda görüntülenmesiyle belirlenmiştir.

Ölçüm ve değerlendirmeler SoftmaxPro 4.3.2.LS bilgisayar programı kullanılarak değerlendirilmiştir. AChE/BChE enzimlerinin inhibisyon yüzdeleri, kör numune ile kıyaslamalı olarak örneklerin reaksiyon oranlarının karşılaştırılmasıyla, aşağıdaki formül kullanılarak belirlenmiştir.

(E-S)/Ex100

E: Test örneği içermeyen enzimin aktivitesi.

S: Test örneği içeren enzimin aktivitesi.

Deneyler üç paralel halinde çalışılmış ve sonuçlar ortalama standart sapma değerleri ile verilmiştir.

3.3. Antifungal ve Antibakteriyel Aktivite Tayin Yöntemleri

Bileşiklerin antimikrobiyal etkinliklerini belirlemek için çeşitli *in vitro* yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerle bileşiğin antimikrobiyal aktiviteye sahip olup olmadığı, aktif olanlarda üremeyi engelleyen en düşük madde konsantrasyonu (Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu=MİK) ve mikroorganizma spektrumu belirlenir.

Yeni bileşiklerin tarandığı testlerde aktifliği bilinen referans bir bileşiğin denenmesi uygulamadan gelen hataları belirleyebilmek için, ayrıca bakteri ve mikroorganizma suşlarının ve besiyerinin kontrolü açısından gereklidir. Referans olarak kullanılan bileşiklerin etkinliği bilinmeli ve çalışılan suşlara karşı inaktif olmamalıdır. Bir seri bileşik ile çalışılırken, bileşiklerin tümü aynı yöntemle test edilmeli ve mikroorganizmaların kültür koleksiyonlarından sağlanmasına dikkat edilmelidir [330, 331].

Antifungal ve antibakteriyel aktivite tayin yöntemlerinde aynı teknik kullanılır. Ancak besiyerleri, inkübasyon koşulları farklılık göstermektedir. Aktivite tayin yöntemleri genel olarak iki başlık altında incelenir .

1- Dilüsyon Yöntemi; a- Tüp (Sıvı) Dilüsyon

-Makrodilüsyon

-Mikrodilüsyon

b- Agar dilüsyon

2- Difüzyon Yöntemi

3.3.1. Dilüsyon yöntemi

Bu yöntemde bileşiğin iki kat artan konsantrasyonlarda bir seri dilüsyonları hazırlanarak mikroorganizmanın üremesinin engellendiği veya mikroorganizmaları öldüren en düşük konsantrasyon (MİK) tespit edilir. Sonuçlar kantitatif olarak ($\mu\text{g/ml}$), kategori olarak (duyarlı, orta derecede duyarlı veya dirençli) veya her ikisini de içerecek şekilde verilebilir. Katı veya sıvı besiyeri kullanılabilen bu yöntem, buna göre tüp dilüsyon ve agar dilüsyon olmak üzere iki çeşittir.

Tüp (Sıvı) dilüsyon yöntemi

Dilüsyon yapmakta kullanılan besiyeri miktarı ve yerine göre ikiye ayrılır:

Makrodilüsyon yöntemi

13-100 mm'lik deney tüplerinde ≥ 1.0 ml hacimde yapılan testlerdir. İyi standardize edilebilir ve güvenilirdir. Ancak işlemlerin zahmetli olması ve daha uygun başka yöntemler bulunmasından dolayı genellikle tercih edilmez.

Mikrodilüsyon yöntemi

Mikrotitrasyon plakları kullanılarak 0.05-0.1 ml hacimde yapılan testlerdir. Bu yöntemin, birçok mikroorganizmanın kullanılmasına uygun olması nedeniyle uygulama kolaylığı vardır ve materyal kullanım seçeneği fazladır.

Agar dilüsyon yöntemi

Diğer yöntemlerin doğruluğunun değerlendirilmesinde referans olarak kullanılabilen, iyi standartize edilmiş bir yöntemdir. Aynı anda çeşitli mikroorganizmalarla çalışılabilmesi ve mikrobiyal kontaminasyonun diğer dilüsyon yöntemlerine göre daha rahat belirlenebilmesi yöntemin avantajlarından. Hazırlıklarının zor olması ve uzun sürmesi dezavantajlarından.

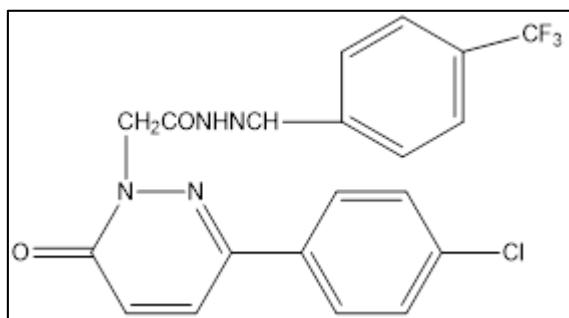
3.3.2. Difüzyon yöntemi

Aktivitesi incelenecek olan bileşiğin, mikroorganizma ekimi yapılmış olan besiyerine difüzyonu esasına dayanan bir yöntemdir. Belirli konsantrasyonda bileşik içeren kağıt diskler mikroorganizma ekili besiyerine tatbik edilerek inkübasyona bırakılır. İnkübasyon süresi sonunda, mikroorganizma üremesinin engellendiği alan çapı ölçülerek, ilacın etkinliği saptanır. Difüzyon testi, hızlı üreyen bakterilerin test edilmesinde güvenilir olarak kullanılabilir.

4. BULGULAR

4.1. Kimyasal Çalışmalar

4.1.1. 6-(4-Klorofenil) -3(2*H*)-piridazinon-2-asetil-2-(triflorometilfenilbenzal)hidrazon IVa



Şekil 4.1. 6-(4-Klorofenil) -3(2*H*)-piridazinon-2-asetil-2-(triflorometilfenilbenzal)hidrazon IVa

0.01 Mol 6-[4-(klorofenil)]-3(2*H*)-piridazinon-2-il asetohidrazit ve 0.01mol p-triflorometilbenzalhit mol 25 ml etanol içerisinde, geri çeviren soğutucu altında, 6 saat ısıtılarak karıştırıldı. Reaksiyon ortamı buzlu suya döküldü ve çöken madde süzülüp kurutuldu. Etanol su karışımından rekristalize edildi. Verim %53.

Beyaz renkte, toz bir maddedir. Erime derecesi: 261 °C. Eter, petrol eteri, etil asetat, su ve tetrahidrofuranda çözünmez; aseton, kloroform ve metanolde ve etanolde sıcakta çözünür. İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0.62'dir. UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

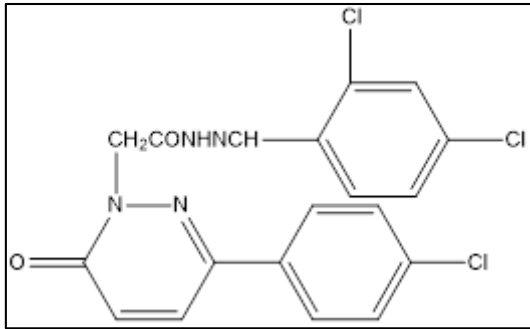
IR spektrumunda (ATR), 3341 (N-H gerilim), 3139 (aromatik C-H gerilim), 2965, (alifatik C-H gerilim), 1673 (C=O gerilim), 1591 (N=N gerilim), 1225 (C-N gerilim) ve 830 cm^{-1} 'de (C-Cl gerilim) pikler görülmüştür.

^1H -NMR spektrumunda (CDCl_3 -d, 300 MHz) δ 5.34 (2H; s; -N-CH₂-C=O), 7.13 (1H; d; piridazinone H⁵), 7.15 (1H; d; piridazinone H⁴), 7.48-8.37 (7H; m; fenil protonları), 8.58 (1H; s; -N=CH-) ve 11.99 (1H; s; -NH-N) pikler görülmüştür.

Kapalı Formül: C₂₀H₁₄ClF₃N₄O₂

Kütle Spektrumu sonuçları: (Hesaplanan: 435.0836; Bulunan: 435.0837)

4.1.2. 6-(4-Klorofenil) -3(2H)-piridazinon-2-asetil-2-(2,4-diklorofenilbenzal) hidrazon IVb



Şekil 4.2. 6-(4-Klorofenil) -3(2H)-piridazinon-2-asetil-2-(2,4-diklorofenilbenzal) hidrazon IVb

0.01 Mol 6-[4-(klorofenil)]-3(2H)-piridazinon-2-il asetohidrazit ve 0.01mol 2,4-diklorobenzaldehit mol 25 ml etanol içerisinde, geri çeviren soğutucu altında, 6 saat ısıtılarak karıştırıldı. Reaksiyon ortamı buzlu suya döküldü ve çöken madde süzülüp kurutuldu. Etanol su karışımından rekristalize edildi. Verim %54.

Beyaz renkte, toz bir maddedir. Erime derecesi: 266 °C. Eter, petrol eteri, etil asetat, su ve tetrahidrofuranda çözünmez; aseton, kloroform ve metanolde ve etanolde sıcakta çözünür. İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0.65'dir. UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

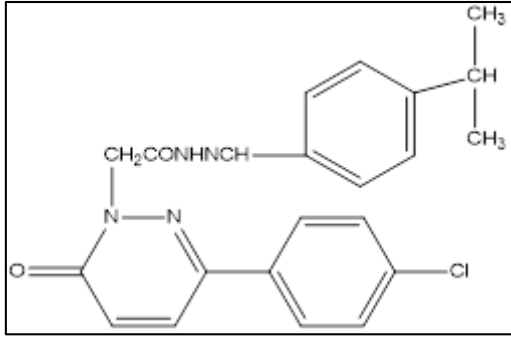
IR spektrumunda (ATR), 3323 (N-H gerilim), 3085 (aromatik C-H gerilim), 2961, (alifatik C-H gerilim), 1677 (C=O gerilim), 1591 (N=N gerilim), 1230 (C-N gerilim) ve 830 cm^{-1} 'de (C-Cl gerilim) pikler görülmüştür

^1H -NMR spektrumunda (CDCl_3 -d, 300 MHz), δ 5.34 (2H; s; -N-CH₂-C=O), 7.13 (1H; d; piridazinone H⁵), 7.15 (1H; d; piridazinone H⁴), 7.48-8.37 (7H; m; fenil protonları), 8.58 (1H; s; -N=CH-) ve 11.99 (1H; s; -NH-N).

Kapalı Formül: $\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_2$

Kütle spektrumu sonuçları: (Hesaplanan: 435.0182; Bulunan: 435.0176)

4.1.3. 6-(4-Klorofenil) -3(2*H*)-piridazinon-2-asetil-2-(p-izopropilfenilbenzal) hidrazon IVc



Şekil 4.3. 6-(4-Klorofenil) -3(2*H*)-piridazinon-2-asetil-2-(p-izopropilfenilbenzal) hidrazon IVc

0.01 Mol 6-[4-(klorofenil)]-3(2*H*)-piridazinon-2-il asetohidrazit ve 0.01mol 4-izopropilbenzaldehit mol 25 ml etanol içerisinde, geri çeviren soğutucu altında, 6 saat ısıtılarak karıştırıldı. Reaksiyon ortamı buzlu suya döküldü ve çöken madde süzülüp kurutuldu. Etanol su karışımından rekristalize edildi. Verim %88.

Beyaz renkte, toz bir maddedir. Erime derecesi: 186 °C. Eter, petrol eteri, etil asetat, su ve tetrahidrofuranda çözünmez; aseton, kloroform ve metanolde ve etanolde sıcakta çözünür. İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0.68'dir. UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

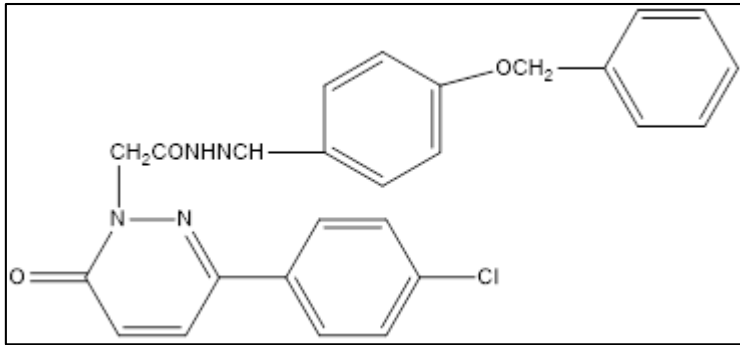
IR spektrumunda (ATR), 3230 (N-H gerilim), 3085 (aromatik C-H gerilim), 2961, (alifatik C-H gerilim), 1679 (C=O gerilim), 1590 (N=N gerilim), 1230 (C-N gerilim) ve 830 cm^{-1} 'de (C-Cl gerilim) pikler görülmüştür.

^1H -NMR spektrumunda (CDCl_3 -d, 300 MHz), δ 1.22 (6H; d; $-\text{CH}_3$), 2.92 (1H; t; $-\text{CH}$), 5.30 (2H; s; $-\text{N}-\text{CH}_2-\text{C}=\text{O}$), 7.12 (1H; d; pyridazinone H^5), 7.14 (1H; d; pyridazinone H^4), 7.30-8.12 (8H; m; fenil protonları), 8.14 (1H; s; $-\text{N}=\text{CH}-$) ve 11.74 (1H; s; $-\text{NH}-\text{N}$) pikler görülmüştür.

Kapalı Formül: $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{ClN}_4\text{O}_2$

Kütle spektrumu sonuçları: (Hesaplanan: 409.1431; Bulunan: 409.1450)

4.1.4. 6-(4-Klorofenil) -3(2H)-piridazinon-2-asetil-2-(p-benziloksifenilbenzal) hidrazon IVd



Şekil 4.4. 6-(4-Klorofenil) -3(2H)-piridazinon-2-asetil-2-(p-benziloksifenilbenzal) hidrazon IVd

0.01 Mol 6-[4-(klorofenil)]-3(2H)-piridazinon-2-il asetohidrazit ve 0.01mol 4-benziloksibenzaldehit mol 25 ml etanol içerisinde, geri çeviren soğutucu altında, 6 saat ısıtılarak karıştırıldı. Reaksiyon ortamı buzlu suya döküldü ve çöken madde süzülüp kurutuldu. Etanol su karışımından rekristalize edildi. Verim %63.

Beyaz renkte, toz bir maddedir. Erime derecesi: 236 °C. Eter, petrol eteri, etil asetat, su ve tetrahidrofuranda çözünmez; aseton, kloroform ve metanolde ve etanolde sıcakta çözünür. İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0.60'dır. UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

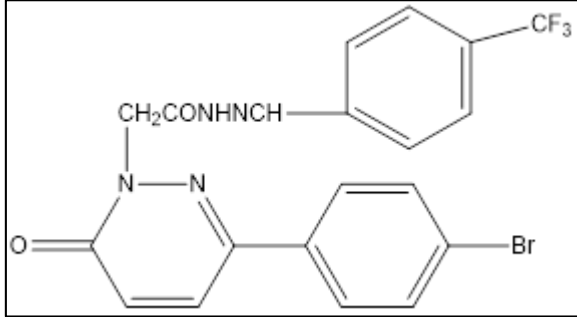
IR spektrumunda (ATR), 3180 (N-H gerilim), 3039 (aromatik C-H gerilim), 2910, (alifatik C-H gerilim), 1677 (C=O gerilim), 1596 (N=N gerilim), 1233 (C-N gerilim) ve 831 cm^{-1} 'de (C-Cl gerilim) pikler görülmüştür.

^1H -NMR spektrumunda (CDCl_3 -d, 300 MHz), δ 5.16 (2H; s; -O-CH₂-phenyl), 5.23 (2H; s; -N-CH₂-C=O), 7.07 (1H; d; pyridazinone H⁵), 7.10 (1H; d; pyridazinone H⁴), 7.11-8.11 (13H; m; fenil protonları, 8.14 (1H; s; -N=CH-) ve 11.65 (1H; s; -NH-N) pikler gözlenmiştir.

Kapalı Formül: $\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{ClN}_4\text{O}_3$

Kütle Spektrumu sonuçları; (Hesaplanan: 473.1380; Bulunan: 473.1384)

4.1.5. 6-(4-Bromofenil) -3(2H)-piridazinon-2-asetil-2-(p-triflorometilfenilbenzal) hidrazon IVe



Şekil 4.5. 6-(4-Bromofenil) -3(2H)-piridazinon-2-asetil-2-(p-triflorometilfenilbenzal) hidrazon IVe

0.01 Mol 6-[4-(bromofenil)]-3(2H)-piridazinon-2-il asetohidrazit ve 0.01mol 4-triflorometilbenzalhit mol 25 ml etanol içerisinde, geri çeviren soğutucu altında, 6 saat ısıtılarak karıştırıldı. Reaksiyon ortamı buzlu suya döküldü ve çöken madde süzülüp kurutuldu. Etanol su karışımından rekristalize edildi. Verim %78.

Beyaz renkte, toz bir maddedir. Erime derecesi: 265 °C. Eter, petrol eteri, etil asetat, su ve tetrahidrofuranda çözünmez; aseton, kloroform ve metanolde ve etanolde sıcakta çözünür. İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0.64'dir. UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

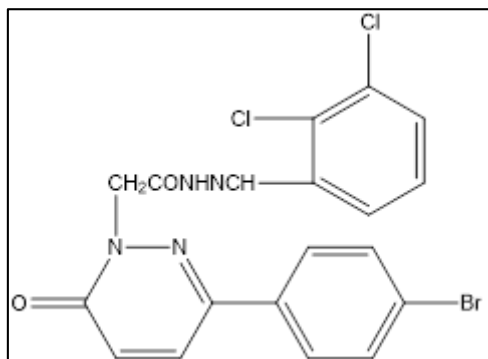
IR spektrumunda (ATR), 3280 (N-H gerilim), 3069 (aromatik C-H gerilim), 2958, (alifatik C-H gerilim), 1651 (C=O gerilim), 1589 (N=N gerilim), 1238 (C-N gerilim) ve 831 cm^{-1} 'de (C-Cl gerilim) pikler görülmüştür.

^1H -NMR spektrumunda (CDCl_3 -d, 300 MHz), δ 5.34 (2H; s; -N-CH₂-C=O), 7.11 (1H; d; piridazinone H⁵), 7.12 (1H; d; piridazinone H⁴), 7.67-8.13 (8H; m; fenil protonları), 8.31 (1H; s; -N=CH-) ve 11.97 (1H; s; -NH-N).

Kapalı Formül: $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{BrF}_3\text{N}_4\text{O}_2$

Kütle Spektrumu: (Hesaplanan: 479.0330; Bulunan: 479.0332)

4.1.6. 6-(4-Bromofenil) -3(2H)-piridazinon-2-asetil-2-(2,4-diklorofenilbenzal) hidrazon IVf



Şekil 4.6. 6-(4-Bromofenil) -3(2H)-piridazinon-2-asetil-2-(2,4-diklorofenilbenzal) hidrazon IVf

0.01 Mol 6-[4-(bromofenil)]-3(2H)-piridazinon-2-il asetohidrazit ve 0.01mol 2,4-diklorobenzaldehit mol 25 ml etanol içerisinde, geri çeviren soğutucu altında, 6 saat ısıtılarak karıştırıldı. Reaksiyon ortamı buzlu suya döküldü ve çöken madde süzülüp kurutuldu. Etanol su karışımından rekristalize edildi. Verim %62.

Beyaz renkte, toz bir maddedir. Erime derecesi: 268 °C. Eter, petrol eteri, etil asetat, su ve tetrahidrofuranda çözünmez; aseton, kloroform ve metanolde ve etanolde sıcakta çözünür. İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0.66'dir. UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

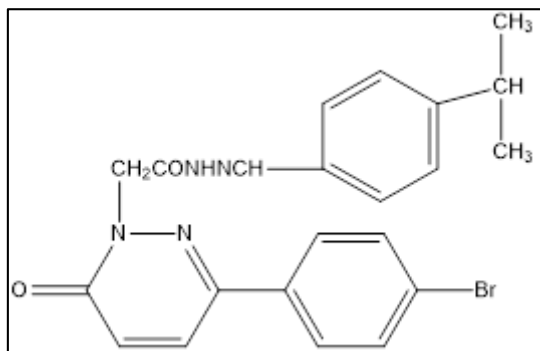
IR spektrumunda (ATR), 3285 (N-H gerilim), 3083 (aromatik C-H gerilim), 2960, (alifatik C-H gerilim), 1677 (C=O gerilim), 1589 (N=N gerilim), 1240 (C-N gerilim) ve 831 cm^{-1} 'de (C-Cl gerilim) pikler görülmüştür.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda (CDCl_3-d , 300 MHz), δ 5.34 (2H; s; -N-CH₂-C=O), 7.12 (1H; d; piridazinone H⁵), 7.15 (1H; d; piridazinone H⁴), 7.49-8.15 (7H; m; phenyl protons), 8.38 (1H; s; -N=CH-) and 11.97 (1H; s; -NH-N).

Kütle Spektrumu verileri: C₁₉H₁₃BrCl₂N₄O₂

(Hesaplanan: 478.9677; Bulunan: 478.9697)

**4.1.7. 6-(4-Bromofenil) -3(2H)-piridazinon-2-asetil-2-(4-izopropilfenillbenzal)
hidrazon IVg**



Şekil 4.7. 6-(4-Bromofenil) -3(2H)-piridazinon-2-asetil-2-(4-izopropilfenillbenzal)
hidrazon IVg

0.01 Mol 6-[4-(bromofenil)]-3(2H)-piridazinon-2-il asetohidrazit ve 0.01mol 4-izopropilbenzaldehit mol 25 ml etanol içerisinde, geri çeviren soğutucu altında, 6 saat ısıtılarak karıştırıldı. Reaksiyon ortamı buzlu suya döküldü ve çöken madde süzülüp kurutuldu. Etanol su karışımından rekristalize edildi. Verim %80. Beyaz renkte, toz bir maddedir. Erime derecesi: 181 °C. Eter, petrol eteri, etil asetat, su ve tetrahidrofuranda çözünmez; aseton, kloroform ve metanolde ve etanolde sıcakta çözünür. İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0.58'dir. UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

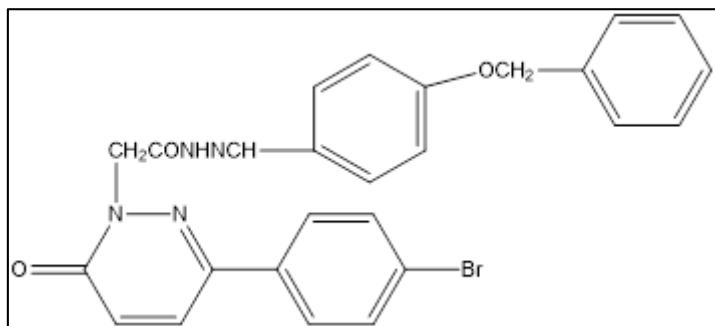
IR spektrumunda (ATR), 3260 (N-H gerilim), 3052 (aromatik C-H gerilim), 2959, (alifatik C-H gerilim), 1677 (C=O gerilim), 1591 (N=N gerilim), 1240 (C-N gerilim) ve 833 cm^{-1} 'de (C-Cl gerilim) pikler görülmüştür.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumunda ($\text{CDCl}_3\text{-d}$, 300 MHz), δ 1.22 (6H; d; $-\text{CH}_3$), 2.92 (1H; t; $-\text{CH}$), 5.30 (2H; s; $-\text{N-CH}_2\text{-C=O}$), 7.11 (1H; d; pyridazinone H^5), 7.14 (1H; d; pyridazinone H^4), 7.30-8.11 (8H; m; fenil protonları), 8.20 (1H; s; $-\text{N=CH-}$) ve 11.74 (1H; s; $-\text{NH-N}$) pikleri gözlenmiştir.

Kapalı Formülü: $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{BrN}_4\text{O}_2$

Kütle Spektrumu verileri: (Hesaplanan: 453.0926; Bulunan: 453.0920)

**4.1.8. 6-(4-Bromofenil) -3(2H)-piridazinon-2-asetil-2-(4-benziloksifenilbenzal)
hidrazon IVh**



Şekil 4.8. 6-(4-Bromofenil) -3(2H)-piridazinon-2-asetil-2-(4-benziloksifenilbenzal)
hidrazon IVh

0.01 Mol 6-[4-(bromofenil)]-3(2H)-piridazinon-2-il asetohidrazit ve 0.01mol 4-benziloksibenzaldehyit mol 25 ml etanol içerisinde, geri çeviren soğutucu altında, 6 saat ısıtılarak karıştırıldı. Reaksiyon ortamı buzlu suya döküldü ve çöken madde süzülüp kurutuldu. Etanol su karışımından rekristalize edildi. Verim %68.

Beyaz renkte, toz bir maddedir. Erime derecesi: 234°C. Eter, petrol eteri, etil asetat, su ve tetrahidrofuranda çözünmez; aseton, kloroform ve metanolde ve etanolde sıcakta çözünür. İnce tabaka kromatografisinde çözücü sisteminde R_f değeri 0.67'dir. UV ışığında 254 nm'de floresan zeminde mor renk verir. İyot buharı ile açık sarı zeminde koyu sarı, Dragendorff belirteci ile sarı zeminde turuncu renk verir.

IR spektrumunda (ATR), 3258 (N-H gerilim), 3098 (aromatik C-H gerilim), 2983, (alifatik C-H gerilim), 1676 (C=O gerilim), 1596 (N=N gerilim), 1239 (C-N gerilim) ve 830 cm^{-1} 'de (C-Cl gerilim) pikler görülmüştür.

^1H -NMR spektrumunda (CDCl_3 -d, 300 MHz), δ 4.90 (2H; s; -O-CH₂-phenyl), 5.30 (2H; s; -N-CH₂-C=O), 7.07 (1H; d; piridazinone H⁵), 7.10 (1H; d; piridazinone H⁴), 7.11-8.11 (13H; m; fenil protonları, 8.14 (1H; s; -N=CH-) and 11.89 (1H; s; -NH-N) pikler gözlenmiştir.

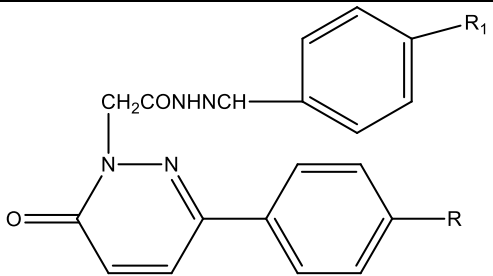
Kapalı Formülü: C₂₆H₂₁BrN₄O₃

Kütle spektrumu verileri: (Hesaplanan 517.0875; Bulunan: 517.0889)

4.2. Antikolinesteraz Aktivite

Sentezi yapılan bileşiklerin AChE ve BChE inhibitör aktivite sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. 6-Sübstitüe-3(2H)-piridazinon-2-asetil-2- (sübstitüe benzal) hidrazon (IVa-h) Bileşiklerin AChE ve BChE inhibisyon yüzdeleri

				
Bileşik	R	R ₁	Asetilkolinesteraz Enzim İnhibisyonu (%İnhibisyon±S.S*) 200 µg/ml	Butirilkolinesteraz Enzim İnhibisyonu (%İnhibisyon±S.S*) 200 µg/ml
IVa	Cl	4-OCH ₂ -C ₆ H ₅	35.19±0.11	40.24±1.86
IVb	Cl	2,4-Cl	AD	AD
IVc	Cl	4-CH ₃ -(CH ₃)	AD	AD
IVd	Cl	4-CF ₃	AD	AD
IVe	Br	4-OCH ₂ -C ₆ H ₅	AD	AD
IVf	Br	2,4-Cl	AD	21.94±1.40
IVg	Br	4-CH ₃ -(CH ₃)	81.89±2.50	47.76±1.29
IVh	Br	4-CF ₃	AD	AD
Galantamin	-	-	85.11±0.37	81.66±0.37

Çizelge 4.2. 6-Sübstitüe-3(2H)-piridazinon-2-asetil-2- (sübstitüe benzal) hidrazon (IVa-h) türevlerinin Antimikrobiyal Aktivite sonuçları

Bileşik	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
IVa	16	16	16	32	32	16	64	64	64	32	32
IVb	16	16	16	32	32	16	16	16	16	8	8
IVc	16	16	16	32	32	16	16	16	16	8	8
IVd	16	16	16	32	32	16	16	16	16	8	8
IVe	16	16	16	32	16	16	8	32	16	8	8
IVf	64	64	64	32	64	16	64	64	64	32	32
IVg	64	64	64	32	16	16	64	64	64	32	32
IVh	64	64	64	32	32	64	64	64	64	32	32
Ampisilin	2	-	>512	-	-	0.5	-	0.5	0.5	-	-
Gentamisin	0.25	-	128	1	64	0.5	64	8	8	-	-
Ofloksasin	0.015	-	128	1	2	0.25	0.5	1	4	-	-
Rifampisin	16	-	128	32	32	0.004	2	0.5	4	-	-
Ampisilin-Sulbaktam	-	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Amoksisilin-Klavulonik asit	-	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Flukonazol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.0625	32
Amfoterisin B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<0.03	0.5

A: *E.coli* ATCC 25922, B: *E.coli* ATCC 35218, C: *E.coli* isolat, D: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, E: *P. aeruginosa* isolat, F: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, G: *S.aureus* isolat, H: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, I: *E.faecalis* isolat, J: *Candida albicans* ATCC 10231, K: *C.krusei* ATCC 625

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

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

Genellikle yaşa bağımlı olarak ortaya çıkan Alzheimer hastalığı yaşlılarda görülen demansın en yaygın şeklidir. Hastalığın karakteristik patolojik bulguları, beyinde ekstraselüler senil plaklar, nöronların içinde nörofibriler yumaklar, sinaps ve nöron kaybıdır. Biyokimyasal çalışmalar kortekste bazı nöromediyatörlerin ve özellikle asetilkolinin azaldığını göstermektedir [7]. Hastalığın başlaması ile birlikte gerçekleşen nöron ve akson kaybı daha düşük düzeylerde asetilkolin salınımına neden olmakta ve düşük konsantrasyondaki nörotransmitter düzeylerinde sinir iletilerinin devamlılığını sağlamak daha güç bir hal almaktadır. Bu durum hastalığın semptomlarının gelişmesinde asetilkolin eksikliğinin önemini vurgulayan “kolinerjik hipotezin ortaya atılmasına neden olmuştur [1].

Asetilkolin düzeyini artırmak için uygulanacak yöntemlerden biri asetilkolinin parçalanmasından sorumlu olan AChE enziminin inhibe edilmesidir. AChE inhibisyonuna bağlı olarak asetilkolin düzeyinin artması, Alzheimer hastalığının erken dönemlerinde oluşan kognitif yetmezliğini iyileştirebilmektedir [3]. Günümüzde Alzheimer hastalığının tedavisinde takrin, donezepil, rivastigmin, eptastigmin ve galantamin gibi AChE inhibitörü ilaçlar kullanılmaktadır; fakat yüksek hepatotoksisite ve aşırı kolinerjik yan etkiler bu ilaçların kullanımını sınırlandırmaktadır [3]. Bu durum yan etkisi azaltılmış, santral ve periferik AChE inhibisyonu yapan ve seçici kolinerjik agonist ve antagonistlerle birlikte

kullanımında maksimum yanıt veren yeni AChE inhibitörü bileşiklerin tasarımı ve sentezini gerekli kılmaktadır.

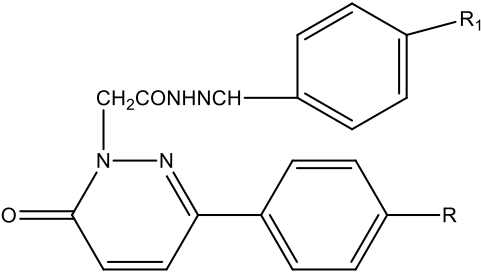
Diğer taraftan, AIDS ve kanser gibi yüksek dozda uzun süreli ilaç tedavisine gereksinim gösteren hastalıklar ve organ nakli gibi immün sistemi zayıflatan durumlar fungal enfeksiyonlarda artışa neden olmaktadır. Antifungal ilaçlar konusunda yoğun çalışmalar vardır ve yeni ilaçlar piyasaya sürülmektedir. Buna rağmen mikroorganizmaların kullanılan bileşiklere direnç geliştirmesi ve tedavide kullanılan bileşiklerin dar spektrumlu, yan etkilerinin fazla olması gibi problemlerin çözülmesi açısından yeni antimikrobiyal ilaç geliştirmek önemlidir .

3(2*H*)-piridazinon halkası taşıyan bileşikler yapılarında taşıdıkları farmakofor gruplara bağlı olarak çok geniş farmakolojik aktivite spektrumuna sahiptirler. Bu bileşiklerin çoğunda 3(2*H*)-piridazinon halkası aktiviteyi modifiye edici veya direkt aktiviteden sorumlu kısım olarak bulunmaktadır. 3(2*H*)-piridazinon yapısı ayrıca, yeni ilaç tasarımında moleküler modifikasyon amacıyla sık başvurulmuş önemli bir gruptur ve bu nedenle analjezik, antienflamatuvar, antipiretik, antihipertansif, antiülser, antioksidan, antiallerjik, bronkospazmolitik, antitümör, antihelmentik etki gösteren pekçok bileşiğin yapısında bulunmaktadır . Aynı zamanda literatürde 3(2*H*)-piridazinon halkası taşıyan bileşiklerde çok geniş farmakolojik etki profili içinde antikolinesteraz [165-168] ve antimikrobiyal [121-131] aktivite gözlemlendiği de bildirilmektedir.

Bu tez kapsamında, yukarıdaki bilgiler ışığında, AChE ve BChE enzim inhibitörü ve antimikrobiyal etki göstermesini beklediğimiz, 6-süstitüe-3(2*H*)-piridazinon-2-asetil-2-(süstitüe benzalhidrazon)türevi yeni 8 bileşiğin sentezi yapılarak antikolinesteraz ve antimikrobiyal etkileri incelenmiştir. Benzalhidrazon türevlerinin sentezinde nonsüstitüe benzaldehitin yanı sıra farklı konumlarında süstitüentler taşıyan benzaldehit türevleri kullanılarak bu grupların aktiviteye katkıları incelenmiştir.

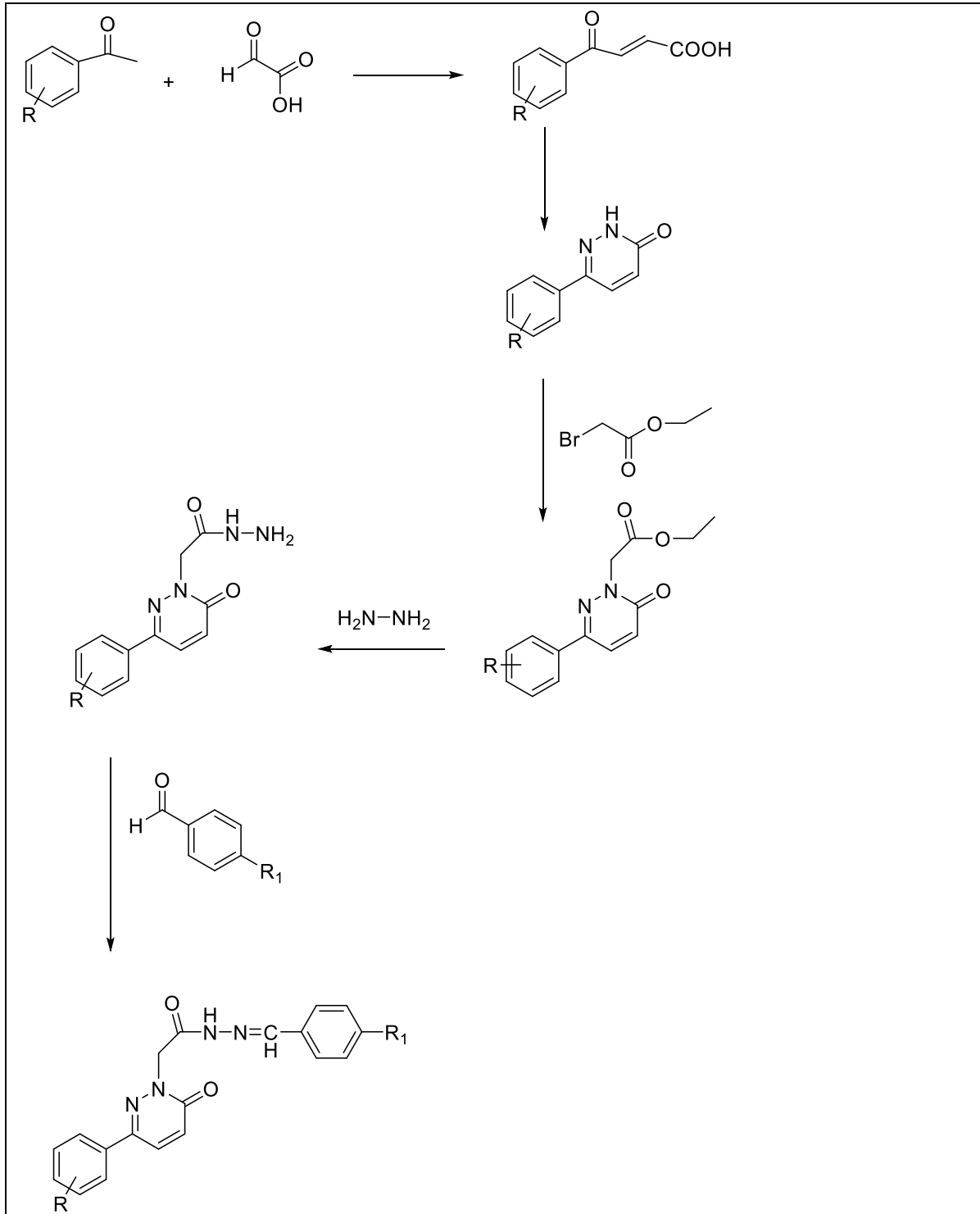
Elde edilen bileşiklerin yapıları, reaksiyon verimleri, erime dereceleri, molekül ağırlıkları ve kapalı formülleri Çizelge 5.1’de verilmektedir.

Çizelge 5.1. Sentezi yapılan 6-Sübstitüe-3(2*H*)-piridazinon-2-asetil-2- (sübstitüe benzal) hidrazon (IVa-h) türevleri

					
Bileşik	R	R ₁	Verim (%)	Erime derecesi (°C)	Moleküler formül
IVa	Cl	4-OCH ₂ -C ₆ H ₅	53	261	C ₂₀ H ₁₄ ClF ₃ N ₄ O ₂ (Calc.: 435.0836; Found: 435.0837)
IVb	Cl	2,4-Cl	54	266	C ₁₉ H ₁₃ Cl ₃ N ₄ O ₂ (Calc.: 435.0182; Found: 435.0176)
IVc	Cl	4-CH-(CH ₃)	88	186	C ₂₂ H ₂₁ ClN ₄ O ₂ (Calc.: 409.1431; Found: 409.1450)
IVd	Cl	4-CF ₃	63	236	C ₂₆ H ₂₁ ClN ₄ O ₃ (Calc.: 473.1380; Found: 473.1384)
IVe	Br	4-OCH ₂ -C ₆ H ₅	78	265	C ₂₀ H ₁₄ BrF ₃ N ₄ O ₂ (Calc.: 479.0330; Found: 479.0332)
IVf	Br	2,4-Cl	62	268	C ₁₉ H ₁₃ BrCl ₂ N ₄ O ₂ (Calc.: 478.9677; Found: 478.9697)
IVg	Br	4-CH-(CH ₃)	83	181	C ₂₂ H ₂₁ BrN ₄ O ₂ (Calc.: 453.0926; Found: 453.0920)
IVh	Br	4-CF ₃	68	234	C ₂₆ H ₂₁ BrN ₄ O ₃ (Calc.: 517.0875; Found: 517.0889)

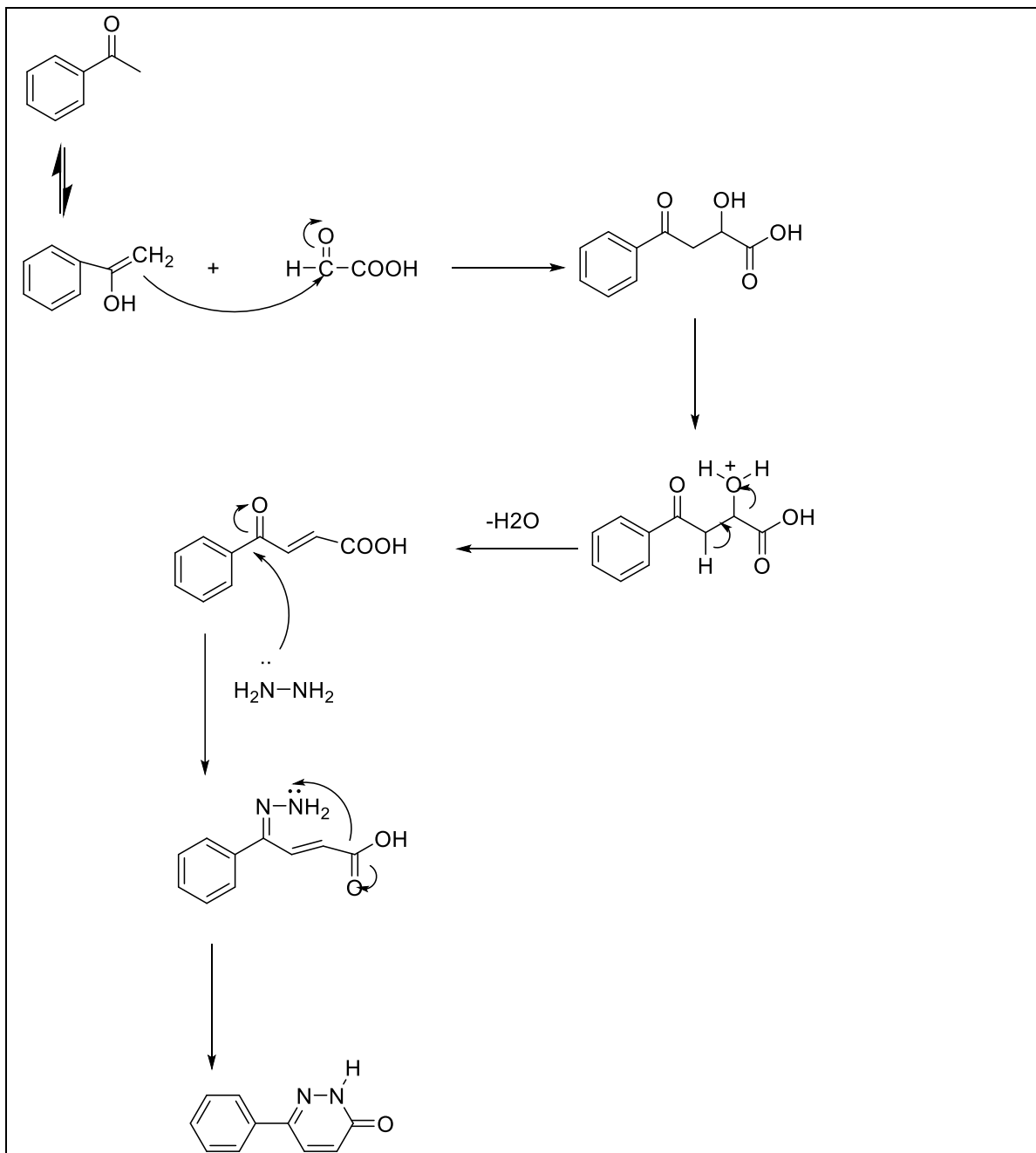
5.1. Kimyasal Çalışmalar

Sentezlenen bileşiklerin toplu reaksiyon şeması aşağıda verilmektedir (Şekil 5.1).



Şekil 5.1. 6-Süstitüe-3(2H)-piridazinon-2-asetil-2- (süstitüe benzal) hidrazon (IVa-h) türevlerinin sentezi

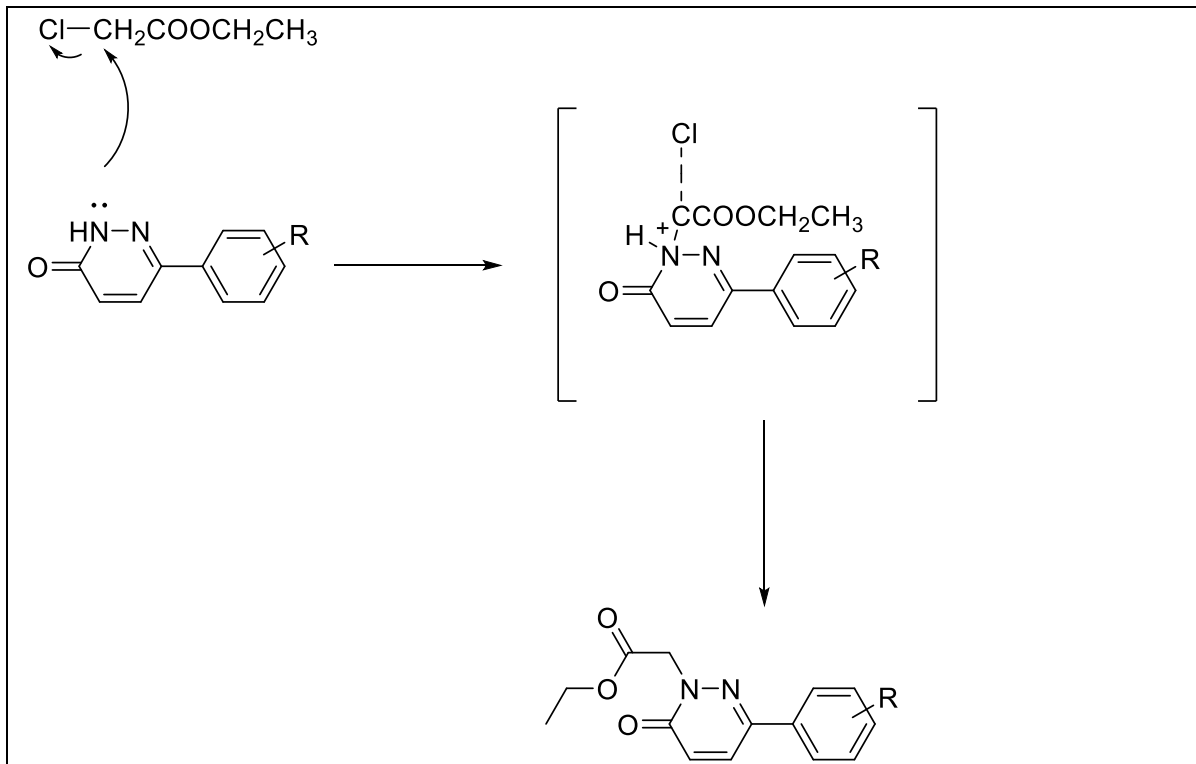
Tez bileşiklerinin sentezine asetofenon türevleri ve glioksalik asitin aldol kondensasyonu reaksiyonuyla başlanmıştır. 1. Basamak olan bu sentezde solvan kullanılmamış asetofenon türevinin aşırısı bu amaçla reaksiyon ortamına ilave edilmiştir (Şekil 5.2).



Şekil 5.2. 6-Süstitüe-3(2H)-piridazinon sentezinin reaksiyon mekanizması

Reaksiyonda ilk anda oluşan 4-okso-4-fenil-2-butenoiik asit ortama su ve amonyum hidroksit ilavesi ile tuz haline getirilmiş daha sonra diklorometan ile ekstraksiyon yapılarak asetofenon türevinin fazlası ortamdandan uzaklaştırılmıştır. 4-Okso-4-fenil-2-butenoiik asit'in sulu çözeltisi üzerine hidrazin hidrat ilave edilerek halka kapanması ile 6-süstitüefenil-3(2H)-piridazinon türevleri elde edilmiştir. Reaksiyon herhangi bir solvan içinde yapıldığında verim çok düşmekte ve ürünler karışımı oluşmaktadır.

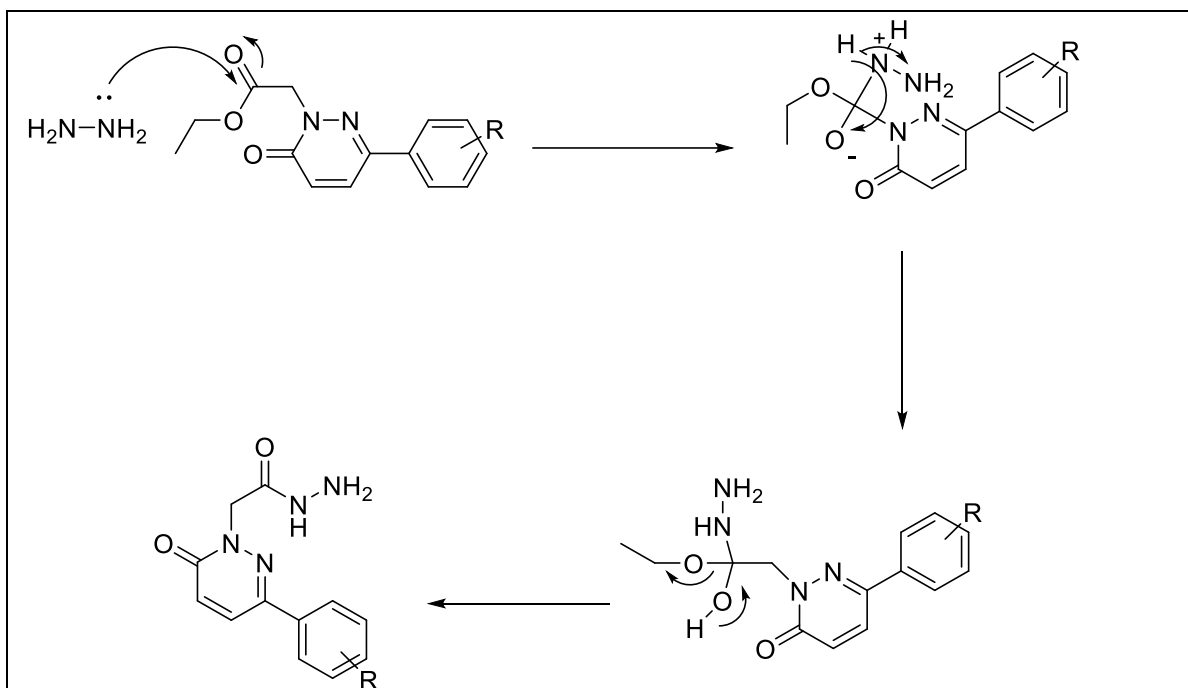
Oluşan 3(2*H*)-piridazinon bileşiğinin etil bromoasetat ile reaksiyonu sonucu etil 6-Süstitüefenil-3(2*H*)-piridazinon-2-il asetat elde edilmiştir. Bu reaksiyon için SN² mekanizması önerilmektedir (Şekil 5.3). Bazik ortamda nükleofil hale geçen piridazinon halkasının halojen ve karbonil elektronegatif gruplarının etkisiyle elektron yönünden fakirleşen karbon atomuna hücum etmesiyle reaksiyon gerçekleşir. Reaksiyon ince tabaka kromatografisinde 3(2*H*)-piridazinon bileşiğine ait leke tamamen kaybolana kadar devam ettirilmiştir.



Şekil 5.3. 6-Süstitüefenil-3(2*H*)-piridazinon-2-il asetat sentezinin reaksiyon mekanizması

Elde edilen ester türevinin hidrazin hidrat ile reaksiyonu sonucu asetohidrazit bileşiğine ulaşılmıştır.

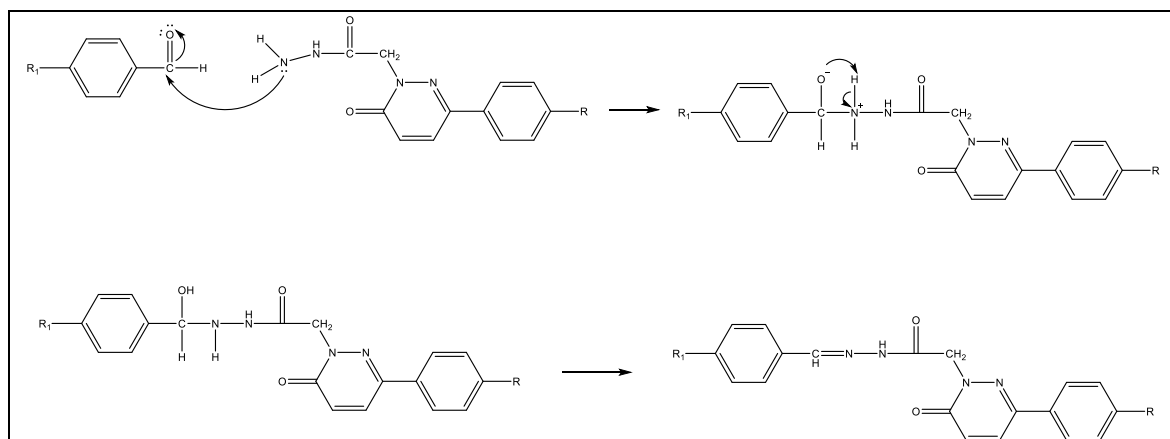
Hidrazinhidrat nükleofilinin karbonil karbonuna hücum etmesiyle katım reaksiyonu gerçekleşir (Şekil 5.4). Sonrasında molekülden alkol çıkışıyla karbon ile oksijen arasında çifte bağ oluşarak eliminasyon reaksiyonu oluşur. Reaksiyonun süresi ince tabaka kromatografisinde estere ait lekenin tamamen kaybolması ile belirlenmiştir.



Şekil 5.4. 6-Süstitüefenil-3(2H)-piridazinon-2-il asetohidrazit sentezinin reaksiyon mekanizması

Sonuç bileşikleri (IVa-h) asetohidrazit (III) türevlerinin süstitüe ve nonsüstitüe benzaldehit türevleriyle reaksiyonu sonucu elde edilmiştir (Şekil 5.5). Hidrazin grubundaki azot atomunun benzaldehit karbonilindeki karbon atomuna nükleofilik saldırısıyla katım reaksiyonu gerçekleşmekte ve ardından molekülden suyun ayrılmasıyla, karbon ile azot atomu arasında çift bağ oluşumuyla eliminasyon reaksiyonu oluşmaktadır.

Reaksiyonun ince tabaka kromatografisi ile bittiği tespit edildikten sonra reaksiyon ortamı buzlu suya dökülerek madde katı halde elde edilmiştir. Maddeler bulgular kısmında verilen uygun kristalizasyon çözücülerini ile kristallendirilerek saflaştırılmışlardır.



Şekil 5.5. Süstitüe-3(2H)-piridazinon-2-asetil-2- (süstitüe benzal) hidrazon (IVa-h) türevlerinin sentezinin reaksiyon mekanizması

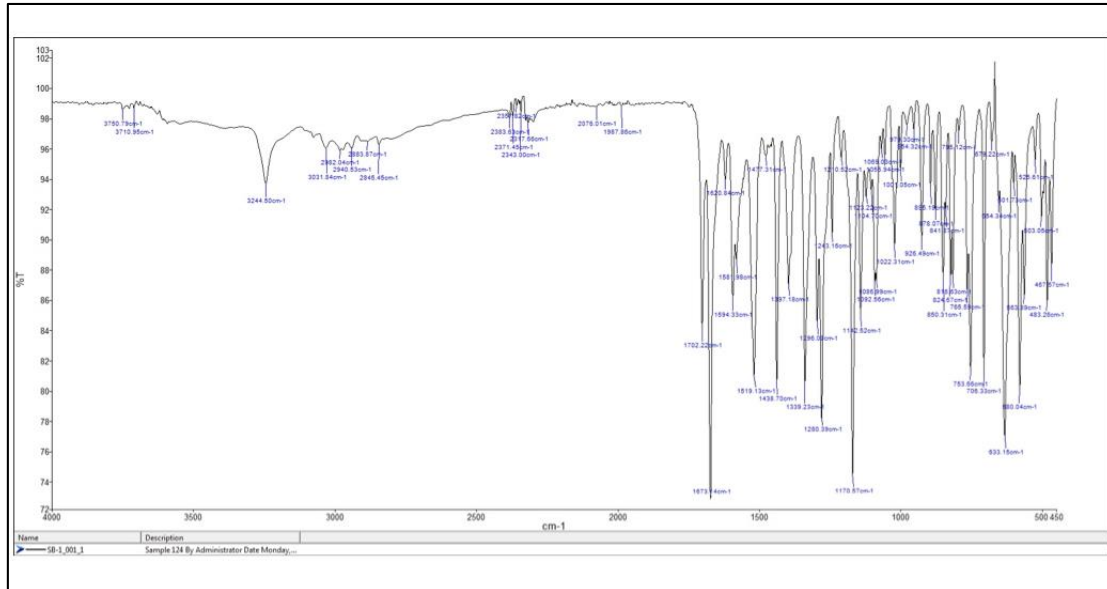
5.2. Sentezi Yapılan Bileşiklerin Yapılarının Aydınlatılması

Sentezi yapılan bileşikler saflaştırıldıktan sonra IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR ve kütle spektroskopisi gibi spektral yöntemler kullanılarak yapıları kanıtlanmıştır.

5.2.1. IR spektrumları

3(2*H*)-piridazinon yapısındaki bileşiklerin IR spektrumları için literatürde 3400-3200 cm^{-1} de NH gerilim, 1690-1700 cm^{-1} 'de C=O gerilim ve 1500-1600 cm^{-1} de C=N gerilim titreşimlerine ait piklerin görüldüğü bildirilmektedir. Sentezi yapılan bileşiklerin spektrumlarında, bu bilgilere uygun olarak 1600-1510 cm^{-1} 'de C=N gerilim, 1665–1695 cm^{-1} 'de laktam halkasına ait C=O gerilim ve 3200–3450 cm^{-1} ' de ise piridazinon halkasının 2. konumundaki N-H gerilim titreşimlerine ait pikler gözlenmiştir. .Ester türevi ve sonrasında sentezlenen bileşiklere ait

IR spektrumlarında 3200–3450 cm^{-1} 'de görülen N-H gerilim titreşimlerine ait bandın gözlenmemesi, piridazinon halkasının 2. konumundaki azot atomu üzerinde bulunan protonun etil bromoasetat ile yer değiştirdiğini kanıtlamaktadır.

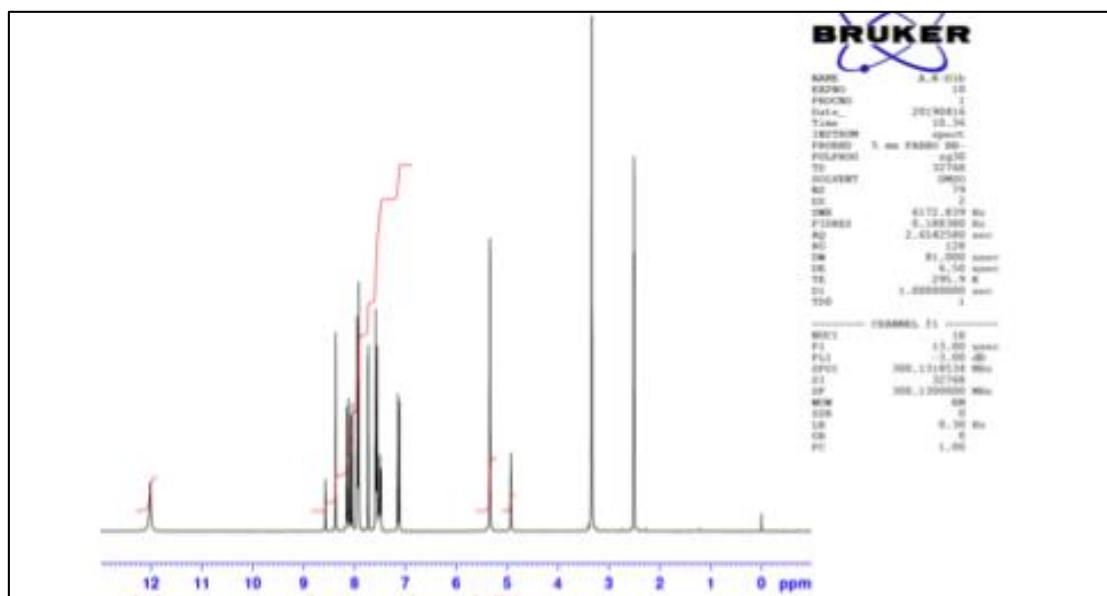


Şekil 5.6. Bileşik IVa'nın ATR tekniği ile alınan IR spektrumu

5.2.2. ^1H -NMR Spektrumları

Sentezi yapılan bileşiklerin tamamı 3(2H)-piridazinon türevidir. 3(2H)-Piridazinon halkasının H^4 protonuna ait pik 7.10 ppm civarında dublet olarak gözlenirken, H^5 protonuna ait pik de 7.15 ppm de literatür verilerine uygun olarak dublet olarak gözlenmiştir .

Sonuç bileşiklerinin (IVa-h) ^1H -NMR spektrumlarında 8.00-8.20 ppm civarında, $\text{N}=\text{CH}$ 'a ait singlet pik ve 11.00-12.00 civarında da NH 'a ait siglet pik görülmüştür. Ayrıca 6.90-7.80 ppm aralığında görülen aromatik protonlara ait pikler de literatürle uyum içerisindedir.



Şekil 5.7. Bileşik IVa'nın ^1H -NMR spektrumu

5.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

5.3.1. AChE/BChE inhibitör aktivite

Sentezi yapılan bileşiklerin in vitro AChE/BChE inhibitör aktiviteleri DÜniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında Ellman yöntemi uygulanarak incelenmiştir. Testler bileşiklerin (IVa-h), 200 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonundaki dozları kullanılarak enzim inhibisyon yüzdeleri belirlenmiştir. Elde edilen test sonuçlarına göre (Çizelge 4.1) bileşik IVg 200 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyon dozda %

81.89 enzim inhibisyonu yaparak en yüksek AChE inhibitörü aktivite göstermiştir. Diğer bileşikler genellikle inaktif bulunmuştur.

5.3.2. Antifungal-antibakteriyel aktivite

Sentezi yapılan bileşiklerin in vitro antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında yapılmıştır. Antimikrobiyal etki çalışmalarında kesin ve çabuk sonuç vermesi, çalışma kolaylığı ve ekonomik olması nedeniyle mikrodilüsyon yöntemi kullanılmış ve NCCSI ilkelerine uyulmuştur. Tarama testleri sırasında standart bileşik olarak antibakteriyel bileşikler olan ampisilin, gentamisin, ofloksasin, rifampisin, tetrasiklin, seftriakson, meropenem, eritromisin, vankomisin, ampisilin sulbaktam ve amoksisilin klavulonik asit ile antifungal bir bileşik olan flukonazol ve amfoterisin B kullanılmıştır. Kullanılan besiyeri ve çözücünün kontrolleri yapılmıştır.

Sentezi yapılan bileşiklerin antimikrobiyal aktivite sonuçlarına göre (Çizelge 4.2); Bileşiklerin antifungal etkileri antibakteriyel etkilerine göre daha yüksek bulunmuştur. Bileşiklerin tamamı Gr (+) ve Gr (-) bakterilere karşı ılımlı aktivite göstermişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Ferri, C.P., Prince, M., Brayne, C., Brodaty, H., Fratiglioni, L., Ganguli, M., Hall, K., Hasegawa, K., Hendrie, H., Huang, Y., Jarm, A., Mathers, C., Menezes, P.R., Rimmer, E., and Scazufca, M. (2005). Global prevalence of dementia: a delphi consensus study. *Lancet*, 366(9503), 2112–2117.
2. Brunton, L.L., Lazo, J.S., and Parker, K.L. (2006). Antikolinesterazlar. Ö. Süzer (Çev.), P. Taylor ve O. Yollar (Edt.), Santral sinir sistemi dejeneratif bozuklukların tedavisi. H.R. Yananlı (Çev.), D.G. Standaert ve A.B. Young (Edt.). İçinde: *Goodman&Gillman Tedavinin Farmakolojik Temeli*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 201-214, 527-544.
3. Kayaalp, O. (2005). *Tıbbi farmakoloji*. Ankara: Hacettepe Taş Kitapçılık, 948-954.
4. Dooley, M., and Lamb, H.M. (2000). Donepezil: a review of its use in Alzheimer's disease. *Drugs Aging*, 16(3), 199-226.
5. Kumar, V., Cotran, R.S., and Robbins, S.L. (2003). Dejeneratif hastalıklar. U. Çevikbaş (Edt.), İçinde: *Temel patoloji* (7. Baskı). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 841-845.
6. Bozbey, İ., Özdemir, Z., Uslu, H., Özçelik, A. B., Şenol-Deniz, F. S., Erdoğan, O.İ. ve Uysal, M. (2020). A Series of New Hydrazone Derivatives: Synthesis, Molecular Docking and Anticholinesterase Activity Studies. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 20(11), 1042-1060.
7. Özçelik, A.B., Gökçe, M., Orhan, İ., Kaynak, F., and Şahin, M.F. (2010). Synthesis and antimicrobial, acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activities of novel ester and hydrazide derivatives of 3(2H)-pyridazinone. *Arzneimittelforschung*, 60(7), 452-458.
8. Özdemir, Z., Utku, S., Mathew, B., Carradori, S., Orlando, G., Di Simone, S., Alagöz, M.A., Özçelik, A.B., Uysal, M. ve Claudio, F. (2020). Synthesis and biological evaluation of new 3(2H)-pyridazinone derivatives as non-toxic anti-proliferative compounds against human colon carcinoma HCT116 cells. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 35(1), 1100-1109.
9. Özdemir Z, Yılmaz H, Sarı S, Karakurt A, Şenol FS, and Uysal M. (2017). Design, synthesis, and molecular modeling of new 3(2H)-pyridazinone derivatives as acetylcholinesterase/butyrylcholinesterase inhibitors. *Medicinal Chemistry Research*, 26(10), 2293-2308.
10. Özdemir Z., Alagöz M.A., Akdemir A.G., Özçelik A.B., Özçelik B. and Uysal M. (2019). Studies on a novel series of 3(2H)-pyridazinones: synthesis, molecular modelling, antimicrobial activity. *Journal of Research in Pharmacy*, 23(5), 960-972.
11. Pfaller M., and Diekema D.J. (2004). Rare and emerging opportunistic fungal pathogens: concern for resistance beyond candida albicans and aspergillus fumigatus. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(10), 4419-4431.

12. Graffunder, E.M., and Venezia, R.A. (2002) Risk factors associated with nosocomial methicillin- resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection including previous use of antimicrobials. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 49(6), 999-1005.
13. Anderson M.E.C., Lefebvre S.L., and Weese S.J. (2008). Evaluation of prevalence and factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in veterinary personnel attending an international equine veterinary conference. *Veterinary Microbiology*, 129(3-4), 410-417.
14. Wang, X.L., Wan, K., and Zhou, C.H. (2010). Synthesis of novel sulfanilamide-derived 1,2,3-triazoles and their evaluation for antibacterial and antifungal activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45(10), 4631-4638.
15. Aher, N.G., Pore, V.S., Mishra, N.N., Kumar, A., Shukla, P.K., Sharma, A., and Bhat, M.K. (2009). Synthesis and antifungal activity of 1,2,3-triazole containing fluconazole analogues. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letter*, 19(3), 759-763.
16. Holla, B.S., Mahalinga, M., Karthikeyan, M.S., Poojary, B., Akberali, P.M., and Kumari, N.S. (2005). Synthesis, characterization and antimicrobial activity of some substituted 1,2,3- triazoles. *European Journal Medicinal Chemistry*, 40(11), 1173-1178.
17. Luo, Y., Lu, Y.H., Gan, L.L., Zhou, C.H., Wu, J., Geng, R.X., and Zhang, Y.Y. (2009) Synthesis, antibacterial and antifungal activities of novel 1,2,4-triazolium derivatives. *Archiv der Pharmazie - Chemistry in Life Sciences*, 342(7), 386-393.
18. Kaplancıklı, Z.A., Turan-Zitouni, G., Özdemir, A., and Revial, G. (2008). New triazole and triazolothiadiazine derivatives as possible antimicrobial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 43(1), 155-159.
19. Mahboobi, S., Eichhorn, E., Winkler, M., Sellmer, A., and Möllmann, U. (2008). Antibacterial activity of a novel series of 3-bromo-4-(1H-3-indolyl)-2,5-dihydro-1H-2,5-pyrroledione derivatives an extended structure-activity relationship study. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 48, 633-656.
20. Shamsuzzaman, M., Shaheen, K., Mahboob, A., Zishan, T., Anis, A., and Asad, U.K. (2010). Synthesis, antibacterial and antifungal activities of 6,5 fused steroidal oxazoles in cholestane series. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45, 1094-1097.
21. Onnis, V., De Logu, A., Cocco, M.T., Fadda, R., Meleddu, R., and Congiu, C. (2009). 2-Acylhydrazino-5-arylpyrrole derivatives: Synthesis and antifungal activity evaluation. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44(3), 1288-1295.
22. Özdemir, A., Turan-Zitouni, G., Kaplancıklı, Z.A., İçsan, G., Khan, S., and Demirci, F. (2010). Synthesis and the selective antifungal activity of 5,6,7,8-tetrahydroimidazo [1,2-a] pyridine derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45(5), 2080-2084.
23. Zhang, F.F., Gan, L.L., and Zhou, C.H. (2010) Synthesis, antibacterial and antifungal activities of some carbazole derivatives. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letter*, 20(6), 1881-1884.

24. Ashford P. A., Bew S.P. Recent Advances in the Synthesis of New Glycopeptide antibiotic, *Chem. Soc. Rev.* 2012, 41, 957-978.
25. Rudra, S., Yadav, A., Rao, A.V.S., Sirinivas, A.S., Pandya, M., Bhateja, P., Mathur, T., Malhotra, S., Rattan, A., Salman, M., Mehta, A., Cliffe, I.A., and Das, B. (2007). Synthesis and antibacterial activity potent heterocyclic oxazolidinones and the identification of RBx8700. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letter*, 17(24), 6714- 6719.
26. Zhang, Z., Yu, A., and Zhou, W. (2007). Synthesis and structure-activity relationship of 7-substitutedaminomethyl-4-quinolone-3-carboxylic acid derivatives. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letter*, 15(23), 7274-7280.
27. Narges, H., Latifeh, N., Hooman, S., Mohsen, A., Samadi, N., Faramarzi, M.A., and Shafie, A. (2007). Synthesis, antibacterial activity and quantitative structure-activity relationships of new (Z)-2 (nitroimidazolylmethylene)-3(2H)-benzofuranone derivatives. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letter*, 17(22), 6354-6363.
28. Fan, H., Chen, Y., Jiang, Z., Zhang, S., Zhong, D., Ji, R., and Yang, Y. (2008). Synthesis and Biological Evaluation of new N-linked 5-triazolylmethyl oxazolidinones. *European Journal of Chemistry*, 43(8), 1706-1714.
29. Foroumadi, A., Emami, S., Mansouri, S., Javidnia, A., Saeid-Adeli, N., Shirazi, F.H., and Shafie, A. (2007). Synthesis and Antibacterial Activity of levofloxacin derivatives with certain bulky residues on piperazine ring. *European Journal of Chemistry*, 4, 985-992.
30. Narendra, J.N., Chandra, S., Sadashiva, C.T., Kavitha, C.V., and Rangappa, K.S. (2006). Synthesis and Antibacterial studies of medicinally important novel N- alkyl and N-sulphonyl derivatives of 1-[bis (4-fluorophenyl)methyl]piperazine. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letter*, 14(19), 6621-6627.
31. Singh, S.B., Occi, J., Jayasuriya, H., Herath, K., Motyl, M., Dorso, K., Gill, C., Hickey, E., Overbye, K.M., Barrett, J.F., and Masurekar, P. (2007). Antibacterial evaluation of thiazomycin a potent thiazolyl peptide antibiotic from *Amycolatopsis fastidiosa*. *Journal of Antibiotics (Tokyo)*, 60(9), 565-571.
32. Rudra, S., Sangita, F., Gujrati, A., Pandya, M., Bhateja, P., Mathur, A., Singhal, S., Rattan, A., Salman, M., and Das, B. (2007). Synthesis and Antibacterial Activity of novel oxazolidinones with methylene oxygen and methylene sulfur-linked substituents at C5-positions. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letter*, 17(17), 4778-4483.
33. Liu, J., He, B., Yu, A., and Zhou, W. (2007). Synthesis and in vitro evaluation of substituted phenylpiperazinylphenyl oxazolidinones against Gram-positive bacteria. *Chemical Biology & Drug Design*, 69(4), 265-268.
34. Sood, R., Bhadauriya, T., Rao, M., Gautam, R., Malhotra, S., Barman, T.K., Upadhyay, D.J, and Rattan, A. (2006). Antimycobacterial activities of oxazolidinones: a review. *Infectious Disorders - Drug Targets*, 6(4), 343-354.

35. Foleno, B.D., Abbanat, D., Goldschmidt, R.M., Flamm, R.K., Paged, S.D., Wedd, G.C., Macielag, M.J., and Bush, K. (2007). Invitro antibacterial activity of the pyrrolopyrazolylsubstituted oxazolidinone RWJ-416457. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(1), 361-365.
36. Vara Prasad, J.V., Boyer, F.E, Chupak, L., Dermeyer, M., Dink, Q., Gavardinas, K., Hagen, S.E., Huband, M.D., Jiao, W., Kaneko, T., Maiti, S.N., Melnick, M., Romero, K., Patterson, M., and Wu, X. (2006). Synthesis and structure activity studies of novel benzocycloheptanone oxazolidine as antibacterial agents. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letter*, 16(2), 5392-5397.
37. Naruganahalli, K.S., Shirumalla, R.K., Bansal, V., Gupta, J.B., Das, B., and Ray, A. (2006). Ranbezolid novel oxazolidinone antibacterial: in vivo characterisation of monoamine oxidase inhibitory potential in concious rats. *European Journal of Pharmacology*, 545(2-3), 167-172.
38. Abouzid, K.A.M., Khalil, N.A., Ahmed, E.M., El-Latif, H.A.A., and El-Araby, M.E. (2009). Structure-based molecular design, synthesis and in vivo anti-inflammatory activity of pyridazinone derivatives as nonclassic COX-2 inhibitors. *Medicinal Chemistry Research*, 19(7), 629-642.
39. Bansal, R., Kumar, D., Carron, R., and de la Calle, C. (2009). Synthesis and vasodilatory activity of some amide derivatives of 6-(4-carboxymethyloxyphenyl)-4, 5-dihydro-3(2H)-pyridazinone. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44(11), 4441-4447.
40. Thota, S., and Bansal, R. (2009). Synthesis of new pyridazinone derivatives as platelet aggregation inhibitors. *Medicinal Chemistry Research*, 19(8), 808-816.
41. Curran, V.W., and Ross, A. (1974). 6-Phenyl-4,5-dihydro-3(2H)-pyridazinones. A series of hypotensive agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, 17(3), 273-281.
42. Piaz, D.V., Cianini, G., Turco, G., Giovannoni, P., Mideli, M., Pirisino, R., and Pereeti, M.J. (1991). 5-Acyl-aryl-4-nitro-3(2H) pyridazinones and related 4-amino compounds: synthesis and pharmacological evaluation. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 80, 341-348.
43. Coelho, A., Sotelo, E., and Ravina, E. (2003). Pyridazine derivatives. Part 33: sonogashira approaches in the synthesis of 5-substituted-6-phenyl-3(2H)-pyridazinones. *Tetrahedron*, 59(14), 2477-2484.
44. Demirayak, S., Karaburun, A.C., and Beis, R. (2004). Some pyrrole substituted arylpyridazinone and phthalazinone derivatives and their antihypertensive activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 39(12), 1089-1095.
45. Rubat, C., Coudert, P., Refouvelet, B., Tronche, P., and Bastide, P. (1990). Anticonvulsant activity of 3-oxo-5-sibstituted benzylidene-6-methyl-(4H)-2-pyridazinylacetamides and 2-pyridazinylacetylhydrazides. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 38(11), 3009.

46. Sircar, I., Weishaar, R.E., Kobylarz, D., Moos, W.H., and Bristol, J.A. (1987). Cardiotonic agents-7. Inhibition of separated forms of cyclic nucleotide phosphodiesterase from Guinea pig cardiac muscle by 4,5-dihydro-6-[4-(1H-imidazol-yl) phenyl]-3(2H)-pyridazinone and related compounds. Structure-activity relationships and correlation with in vivo positive inotropic activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 30(11), 1955-1962.
47. Gil-Longo, J.G., Verde, I., and Castro, M.E. (1993). Pyridazine derivatives. XI: anti hypertensive activity of 3-hydrazinocycloheptyl[1,2-c] pyridazine and its hydrazone derivatives. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 82(3), 286-290.
48. Akahane, A., Katayama, H., and Mitsunaga, T. (1999). Discovery of 6-oxo-3-(2-phenylpyrazolo[1,5-a] pyridin-3-yl)-1(6H)-pyridazinebutanoic acid (FK 838): a novel non-xanthine adenosine A1 receptor antagonist with potent diuretic activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 42(5), 779-783.
49. Livermone, D.G.H., Bethell, R.C., and Cammack, N. (1993). Synthesis and anti-HIV-1 activity of a series of imidazo [1,5-b] pyridazines. *Journal of Medicinal Chemistry*, 36(24), 3784-3794.
50. Malinka, W., Redzicka, A., and Lozach, O. (2004). New derivatives of pyrrolo [3,4d] pyridazinone and their anti-cancer effects. *Farmaco*, 59(6), 457-462.
51. Lim, Y.J., Angela, M., and Buonora, P.T. (2003). Conversion of g-bicyclic lactams to 4,5- dihydro-2H pyridazin-3-ones. *Tetrahedron Letters*, 44, 7799-7801.
52. Asif, M. (2015). Overview on emorfazone and other related 3(2H) pyridazinone analogues displaying analgesic and anti-Inflammatory activity. *Annals of Medicinal Chemistry Research*, 1, 1-9.
53. Baillet, J., and Laborit, H. (1996). A moderator of the paleo-encephalon, the analgesic Ag 246. *Concours Medecine*, 3, 351-361.
54. Goldberg, A.D., Nicklas, J., and Goldstein, S. (1991). Effectiveness of imazodan for treatment of chronic congestive heart failure. *American Journal of Cardiology*, 68, 631-636.
55. Avcı, D., Bahçeli, S., Tamer, O., ve Atalay, Y. (2015). Comparative study of DFT/B3LYP, B3PW91, and HSEH1PBE methods applied to molecular structures and spectroscopic and electronic properties of flufenpyr and amipizone. *Canadian Journal of Chemistry*, 93(10), 1147-1156.
56. Sheng, C.X., Wu, Z.H., Ying, J.Y., Qin, W.W., and Kun, L. (1990). Effects of CI-930, a novel phosphodiesterase III inhibitor, on platelet aggregation and arachidonic acid metabolism. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 11(4), 338-343.
57. Kauffman, R.F., Robertson, D.W., Franklin, R.B., Sandusky, G.E., Dies, J.F., McNay, J.L., and Hayes, J.S. (1990). Indolidan: a potent, long-acting cardiotonic and inhibitor of Type IV cyclic AMP phosphodiesterase. *Cardiovascular Drug Reviews*, 8(4), 303-322.

58. Ukena, D., Rentz, K., C. Reiber, and Sybrecht, G.W. (1995). Effects of the mixed phospho- diesterase III/IV inhibitor, zardaverine, on airway function in patients with chronic airflow obstruction. *Respiratory Medicine*, 89(6), 441-444.
59. Summerfield, N.J., Boswood, A., Ogrady, M.R., Gordon, S.G., McEwan, J.D., Oyama, M.A., Smith, S., Patteson, M., French, A.T., Culshaw, G.J., Ruivo, L.B., Estrada, A., Osullivan, M.L., Loureiro, J., Willis, R., and Watson, P. (2012). Efficacy of Pimo- bendan in the prevention of congestive heart failure or sudden death in doberman pinschers with preclinical dilated cardiomyopathy (The Protect Study). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26, 1337-1349.
60. Inskeep, P.B., Reed, A.E., and Ronfeld, R.A. (1991). Pharmacokinetics of zopolrestat, a carboxylic acid aldose reductase inhibitor, in normal and diabetic rats. *Pharmaceutical Research*, 8(12), 1511-1515.
61. Yamaguchi, M., Kamei, K., Koga, T., Akima, M., Kuroki, T., and Ohi, N. (1993). Novel anti- asthmatic agents with dual activities of thromboxane A₂ synthetase inhibi- tion and bronchodilation. 1. 2-[2-(1-Imidazolyl) alkyl]-1(2*H*)-phthalazinones. *Concours Medecine*, 25, 4052-4060.
62. Combs, D.W., Rampulla, M.S., Demers, J.P., Falotico, R., and Moore, J.B. (1991). Heteroatom analogues of Bemoradan: chemistry and cardiotonic activity of 1,4-benzothiazinyl-pyridazinones. *Journal of Medicinal Chemistry*, 35, 172-176.
63. Medzhitov, R. (2010). Inflammation 2010: new adventures of an old flame. *Cell*, 140(6), 771-776.
64. Grivennikov, S.I., Greten, F.R., and Karin, M. (2010). Immunity, inflammation and cancer. *Cell*, 140(6), 883-899.
65. Mogilski, S., Kubacka, M., Redzicka, A., Kazek, G., Dudek, M., Malinka, W., and Filipek, B. (2015). Antinociceptive, anti-inflammatory and smooth muscle relaxant activities of the pyrrolo[3,4-*d*] pyridazinone derivatives: possible mecha- nisms of action. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 133, 99-110.
66. Ochiai, K., Takita, S., Kojima, A., Eiraku, T., Iwase, K., Kishi, T., Ohinata, A., Yageta, Y., Yasue, T., Adams, D.R., and Kohno, Y. (2013). Phosphodiesterase inhibitors. Part 5: hybrid PDE3/4 inhibitors as dual bronchorelaxant/anti-inflammatory agents for inhaled administration. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 23, 375-381.
67. Ochiai, K., Takita, S., Eiraku, T., Kojima, A., Iwase, K., Kishi, T., Fukuchi, K., Yasue, T., Adams, D.R., Allcock, R.W., Jiang, Z., and Kohno, Y. (2012). Phosphodiesterase inhibitors. Part 3: design, synthesis and structure-activity relationships of dual PDE3/4-inhibitory fused bicyclic heteroaromatic-dihydropyridazinones with anti-inflammatory and bronchodilatory activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 20, 1644-1658.

68. Ozadali, K., Ozkanli, F., Jain, S., Rao, P.P., and Velazquez-Martinez, C.A. (2012). Synthesis and biological evaluation of isoxazolo[4,5-d] pyridazin-4-(5H)-one analogues as potent anti-inflammatory agents. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 20, 2912-2922.
69. Biagini, P., Biancalani, C., Graziano, A., Cesari, N., Giovannoni, M.P., Cilibrizzi, A., Piaz, D.V., Vergelli, C., Crocetti, L., Delcanale, M., Armani, E., Rizzi, A., Puccini, P., Gallo, P.M., Spinabelli, D., and Caruso, P. (2010). Functionalized pyrazoles and pyrazolo [3,4-d] pyridazinones: synthesis and evaluation of their phosphodiesterase 4 inhibitory activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 18, 3506-3517.
70. Gokce, M., Utku, S., and Kupeli, E. (2009). Synthesis and analgesic and anti-inflammatory activities 6-substituted-3(2H)-pyridazinone-2-acetyl-2-(p-substituted/non- substituted benzal) hydrazone derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44(9), 3760-3764.
71. Abouzid, K., and Bekhit, S.A. (2008). Novel anti-inflammatory agents based on pyridazinone scaffold; design, synthesis and in vivo activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16(10), 5547-5556.
72. Li, C.S., Brideau, C., Chan, C.C., Savoie, C., Claveau, D., Charleson, S., Gordon, R., Greig, G., Gauthier, J.Y., Lau, C.K., Riendeau, D., Therien, M., Wong, E., and Prasit, P. (2003). Pyridazinones as selective Cyclooxygenase-2 inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 13, 597-600.
73. Chintakunta, V.K., Akella, V., Vedula, M.S., Mamnoor, P.K., Mishra, P., Casturi, S.R., Vangoori, A., and Rajagopalan, R. (2002). 3-O-Substituted benzyl pyridazinone derivatives as COX Inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 37(4), 339-347.
74. Malinka, W., Redzicka, A., Jastrze, M., Filipek, B., Dyba, M., Karczmarzyk, Z., Lipkowska, Z.U., and Kalicki, P. (2011). Derivatives of pyrrolo[3,4-d] pyridazinone, a new class of analgesic agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46(10), 4992-4999.
75. Banoglu E., Akoglu Ç., Unlu S., Caliskan B., Küpeli E., Yesilada E., Sahin M. F., (2005). Synthesis of Amide Derivatives of [6-(3,5-Dimethylpyrazol-1-yl)-3(2H)-pyridazinone-2-yl]acetic Acid and Their Analgesic and Antiinflammatory Properties, 55(9), 520-527.
76. Tiryaki, D., Sukuroglu, M., Dogruer, D.S., Akko, E., Ozgen, S., and Sahin, M.F. (2013). Synthesis of some new 2,6-disubstituted-3(2H)-pyridazinone derivatives and investigation of their analgesic, anti-inflammatory and anti-microbial activities. *Journal of Medicinal Chemistry*, 22, 2553-2560.
77. Mey, M.V., Bommele, K.M., Boss, H., Hatzelmann, A., Slingerland, M.V., Sterk, G.J., and Timmerman, H. (2003). Synthesis and structure-activity relationships of cis-tetra- hydrophthalazinone/pyridazinone hybrids: a novel series of potent dual PDE3/PDE4 inhibitory agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, 46(10), 2008-2016.

78. Ochiai, K., Ando, N., Iwase, K., Kishi, T., Fukuchi, K., Ohinata, K., Zushi, H., Yasue, T., Adams, D.R., and Kohno, Y. (2011). Phosphodiesterase inhibitors. Part 2: design, synthesis, and structure-activity relationships of dual PDE3/4-inhibitory pyrazolo [1,5-a] pyridines with anti-inflammatory and bronchodilatory activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 21(18), 5451-5456.
79. Saeed, M.M., Khalil, N.A., Ahmed, E.M., and Eissa, K.I. (2012). Synthesis and anti-inflammatory activity of novel pyridazine and pyridazinone derivatives as non-ulcerogenic agents. *Archives of Pharmacal Research*, 35(12), 2077-2092.
80. Abouzid, K.A.M., Khalil, N.A., Ahmed, E.M., Esmat, A., and Al-Abd, A.M. (2012). Design, synthesis, and evaluation of anti-inflammatory and ulcerogenicity of novel pyridazinone derivatives. *Medicinal Chemistry Research*, 21(11), 3581-3590.
81. Sharma, D., and Bansal, R. (2016). Synthesis of 2-substituted-4-aryl-6-phenylpyridazin- 3(2*H*)-ones as potential anti-inflammatory and analgesic agents with cardioprotective and ulcerogenic sparing effects. *Medicinal Chemistry Research*, 25, 1574-1589.
82. Asano, T., Yamazaki, H., Kasahara, C., Kubota, H., Kontani, T., Harayama, Y., Ohno, K., Mizuhara, H., Yokomoto, M., Misumi, K., Kinoshita, T., Ohta, M., and Takeuchi, M. (2012). Identification, synthesis and biological evaluation of 6-[(6*R*)-2-(4-Fluorophenyl)-6-(hydroxymethyl)-4,5,6, 7-tetrahydropyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl]-2-(2-methylphenyl)pyridazin-3(2*H*)-one (AS1940477), a Potent p38 MAP Kinase Inhibitor. *Journal of Medicinal Chemistry*, 55, 7772-7785.
83. Tan, O.U., Ozden, K., Rauk, A., and Balkan, A. (2010). Synthesis and cyclooxygenase inhibitory activities of some N-acylhydrazone derivatives of isoxazolo[4,5-d] pyridazin-4(5*H*)-ones. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45(6), 2345-2352.
84. Tan, O.U., Ozadali, K., Yes Iiyurt, O., Kayir, H., Uzbay, T., and Balkan, A. (2011). Synthesis and evaluation of the analgesic activity of some new isoxazolo[4,5-d] pyridazin- 4(5*H*)-one derivatives. *Turkish Journal of Chemistry*, 35, 121-130.
85. Sukoroglu, M., Ergun, B.K., Unlu, S., Sahin, M.F., Kupeli, E., Yesilada, E., and Banoglu, E. (2005). Synthesis, analgesic and anti-inflammatory activities of [6-(3,5-dimethyl-4-chloropyrazole-1-yl)-3(2*H*)-pyridazinon-2 yl]acetamides. *Archives of Pharmacal Research*, 28, 509-517.
86. Yuzhalin, A.E., and Kutikhin, A.G. (2012). Interleukin-12: clinical usage and molecular markers of cancer susceptibility. *Growth Factors*, 30(3), 176-191.
87. Schulz, W.G., Islam, I., and Skibo, E.B.J. (1995). Pyrrolo [1,2-a] benzimidazole-based quinones and iminoquinones. The role of the 3-substituent on cytotoxicity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 38, 109-118.
88. Islam, I., Skibo, E.B., Dorr, R.T., and Alberts, D.S.J. (1991). Structure-activity studies of antitumor agents based on pyrrolo [1,2-a] benzimidazoles: new reductive alkylating DNA cleaving agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, 34, 2954-2961.

89. Yarden, Y., and Caldas, C. (2013). Corrigendum to basic cancer research is essential for the success of personalised medicine. *European. Journal of Cancer*, 49(12), 2619-2620.
90. Yue, Q., Zhao, Y., Hai, L., Zhang, T., Guo, L., and Wu, Y. (2015). First synthesis of novel 3,30-bipyridazine derivatives as new potent antihepatocellular carcinoma agents. *Tetrahedron*, 71, 7670-7675.
91. Wang, J., Tan, H., Sun, Q., Ge, Z., Wang, X., Wang, Y., and Li, R. (2015). Design, synthesis and biological evaluation of pyridazino[3,4,5-de]quinazolin-3(2H)-one as a new class of PARP-1 inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25, 2340-2344.
92. Xing, W., Ai, J., Jin, S., Shi, Z., Peng, X., Wang, L., Ji, Y., Lu, D., Liu, Y., Geng, M., and Hu, Y. (2015). Enhancing the cellular anti-proliferation activity of pyridazinones as c-Met inhibitors using docking analysis. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 95, 302-312.
93. Dorsch, D., Schadt, O., Stieber, F., Meyring, M., Gradler, U., Bladt, F., Friese-Hamim, M., Knuhl, C., Pehl, U., and Blaukat, A. (2015). Identification and optimization of pyridazinones as potent and selective c-Met kinase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25, 1597-1602.
94. Zhou, S., Liao, H., He, C., Dou, Y., Jiang, M., Ren, L., Zhao, Y., and Gong, P. (2014). Design, synthesis and structure-activity relationships of novel 4-phenoxyquinoline derivatives containing pyridazinone moiety as potential antitumor agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 83, 581-593.
95. Kang, S.T., Kim, E.Y., Archary, R., Jung, H., Park, C.H., Yun, C.S., Hwang, J.Y., Choi, S.U., Chae, C., Lee, C.O., Kim, H.R., Ha, J.D., Ryu, D., and Cho, S.Y. (2014). Discovery of substituted 6-phenyl-3H-pyridazin-3-one derivatives as novel c-Met kinase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 24, 5093-5097.
96. Brooke, D.G., van Dam, E.M., Watts, C.K., Khoury, A., Dziadek, M.A., Brooks, H., Graham, L.J., Flanagan, J.U., and Denny, W.A. (2014). Targeting the Warburg effect in cancer; relationships for 2-arylpyridazinones as inhibitors of the key glycolytic enzyme 6-phosphofructo-2-kinase/2,6-bisphosphatase 3 (PFKFB3). *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 22, 1029-1039.
97. Csokas, D., Zupko, I., Karolyi, B.I., Drahos, L., Holczbauer, T., Pallo, A., Czugler, M., and Csampai, A. (2013). Synthesis, spectroscopy, X-ray analysis and in vitro anti-proliferative effect of ferrocenylmethylene-hydrazinylpyridazin-3(2H)-ones and related ferroceno[d]pyridazin-1(2H)-ones. *Journal of Organometallic Chemistry*, 743, 130-138.
98. Ovais, S., Javed, K., Yaseen, S., Bashir, R., Rathore, P., Yaseen, R., Hameed, A.D., and Samim, M. (2013). Synthesis, anti-proliferative and anti-inflammatory activities of some novel 6-aryl-2-(p-(methanesulfonyl) phenyl)-4,5-dihydropyridazin-3(2H)-ones. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 67, 352-358.

99. Ryu, B.J., Kim, N., Kim, J.T., Koo, T.S., Yoo, S.E., Jeong, S.H., Kim, S.H., and Kang, N.S. (2013). Discovery of non-LBD inhibitor for androgen receptor by structure-guide design. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 23, 3887-3890.
100. Zhu, G.D., Gong, J., Gandhi, V.B., Liu, X., Shi, Y., Johnson, E.F., Donawho, C.K., Ellis, P.A., Bouska, J.J., Osterling, D.J., Olson, A.M., Park, C., Luo, Y., Shoemaker, A., Giranda, V.L., and Penning, T.D. (2012). Discovery and SAR of orally efficacious tetrahydropyridopyridazinone PARP inhibitors for the treatment of cancer. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 20(15), 4635-4645.
101. Rathish, I.G., Javed, K., Ahmad, S., Bano, S., Alam, M. Akhter, M.S., Pillai, K.K., Ovais, S., and Samim, M. (2012). Synthesis and evaluation of anti-cancer activity of some novel 6-aryl-2-(p-sulfamylphenyl)-pyridazin-3(2H)-ones. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 49, 304-309.
102. Al-Tel, T. H. (2010). Design and synthesis of novel tetrahydro-2H-Pyrano[3,2-c]Pyridazin-3(6H)-one derivatives as potential anti-cancer agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45(12), 5724-5731.
103. Jerome, K.D., Hepperle, M.E., Walker, J.K., Xing, L., Devraj, R.V., Benson, A.G., Baldus, J.E., and Selness, S.R. (2010). Discovery of 5-substituted-N-arylpyridazinones as inhibitors of p38 MAP kinase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20, 3146-3149.
104. Ferrigno, F., Branca, D., Kinzel, O., Lillini, S., Llauger Bufi, L., Monteagudo, E., Muraglia, E., Rowley, M., Schultz-Fademrecht, C., Toniatti, C., Torrisi, C., and Jones, P. (2010). Development of substituted 6-[4-fluoro-3-(piperazin-1-ylcarbonyl)benzyl]-4,5-dimethylpyridazin-3(2H)-ones as potent poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) inhibitors active in BRCA deficient cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20, 1100-1105.
105. Elagawany, M., Ibrahim, M.A., Ali Ahmed, H.E., El-Etrawy, A., Ghiaty, A., Abdel-Samii, Z.K., El-Feky, S.A., and Bajorath, J. (2013). Design, synthesis and molecular modelling of pyridazinone and phthalazinone derivatives as protein kinases inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 23, 2007-2013.
106. Roman, G. (2015). Mannich bases in medicinal chemistry and drug design. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 89, 743-816.
107. Kim, E.Y., Kang, S.T., Jung, H., Park, C.H., Yun, C.S., Hwang, J.Y., Byun, B.J., Lee, C.O., Kim, H.R., Ha, J.D., Ryu, D.H., and Cho, S.Y. (2016). Discovery of substituted pyrazol-4-yl pyridazinone derivatives as novel c-Met kinase inhibitors. *Archives of Pharmacal Research*, 39, 453-464.
108. Murty, M.S.R., Rao, B.R., Ram, K.R., Yadav, J.S., Antony, J., and Anto, R.J. (2012). Synthesis and preliminary evaluation activity studies of novel 4-(aryl/heteroaryl-2-ylmethyl)-6 phenyl-2-[3-(4-substitutedpiperazine-1-yl)propyl]pyridazin-3(2H)-one derivatives as anti-cancer agents. *Medicinal Chemistry Research*, 21, 3161-3169.

109. Panathur, N., Gokhale, N., Dalimba, U., Koushik, P.V., Yogeewari, P., and Sriram, D. (2016). Synthesis of novel 5-[(1,2,3-triazol-4-yl)methyl]-1-methyl-3H-pyridazino [4,5-b] indol-4-one derivatives by click reaction and exploration of their anti-cancer activity. *Medicinal Chemistry Research*, 25, 135-148.
110. Marschall, M., Niemann, I., Kosulin, K., Bootz, A., Wagner, S., Dobner, T., and Stamminger, T. (2013). Assessment of drug candidates for broad-spectrum antiviral therapy targeting cellular pyrimidine biosynthesis. *Antiviral Research*, 100(3), 640-648.
111. Rossignol, J. F. (2014). Nitazoxanide: a first-in-class broad-spectrum antiviral agent. *Antiviral Research*, 110, 94-103.
112. Li, D., Zhan, P., Liu, H., Pannecouque, C., Balzarini, J., De Clercq, E., and Liu, X. (2013). Synthesis and biological evaluation of pyridazine derivatives as novel HIV-1 NNRTIs. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 21(7), 2128-2134.
113. Wang, Z., Wang, M., Yao, X., Li, Y., Tan, J., Wang, L., and Wang, Q. (2012). Design, synthesis and antiviral activity of novel pyridazines. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 54, 33-41.
114. Wiscount, C. M., Williams, P. D., Tran, L. O., Embrey, M. W., Fisher, T. E., Sherman, V., and Vacca, J. P. (2008). 10-Hydroxy-7, 8-dihydropyrazino [1', 2': 1, 5] pyrrolo [2, 3-d] pyridazine-1, 9 (2H, 6H)-diones: potent, orally bioavailable HIV-1 integrase strand-transfer inhibitors with activity against integrase mutants. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 18(16), 4581-4583.
115. Sweeney, Z. K., Dunn, J. P., Li, Y., Heilek, G., Dunten, P., Elworthy, T. R., and Huber, W. (2008). Discovery and optimization of pyridazinone non-nucleoside inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 18(15), 4352-4354.
116. Ellis, D. A., Blazel, J. K., Webber, S. E., Tran, C. V., Dragovich, P. S., Sun, Z., and Li, L. S. (2008). 4-(1, 1-Dioxo-1, 4-dihydro-1λ6-benzo [1, 4] thiazin-3-yl)-5-hydroxy-2H-pyridazin-3-ones as potent inhibitors of HCV NS5B polymerase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 18(16), 4628-4632.
117. Ruebsam, F., Webber, S. E., Tran, M. T., Tran, C. V., Murphy, D. E., Zhao, J., and Han, Q. (2008). Pyrrolo [1, 2-b] pyridazin-2-ones as potent inhibitors of HCV NS5B polymerase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 18(12), 3616-3621.
118. Li, W., Li, X., De Clercq, E., Zhan, P., and Liu, X. (2015). Discovery of potent HIV-1 non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors from arylthioacetanilide structural motif. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 102, 167-179.
119. Venkatraj, M., Ariën, K. K., Heeres, J., Dirié, B., Joossens, J., Van Goethem, S., and Lewi, P. J. (2011). Novel diarylpyridinones, diarylpyridazinones and diarylphthalazinones as potential HIV-1 nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs). *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 19(20), 5924-5934.

120. Li, L. S., Zhou, Y., Murphy, D. E., Stankovic, N., Zhao, J., Dragovich, P. S., and Ruebsam, F. (2008). Novel HCV NS5B polymerase inhibitors derived from 4-(1', 1'-dioxo-1', 4'-dihydro-1' λ 6-benzo [1', 2', 4'] thiadiazin-3'-yl)-5-hydroxy-2H-pyridazin-3-ones. Part 3: Further optimization of the 2-, 6-, and 7'-substituents and initial pharmacokinetic assessments. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 18(11), 3446-3455.
121. Agarwal, V., and Aggarwal, A. (2011). Acute and chronic bacterial infections in rheumatology practice. *Indian Journal of Rheumatology*, 6(1), 69-74.
122. Nuutila, J., Jalava-Karvinen, P., Hohenthal, U., Kotilainen, P., Pelliniemi, T. T., Nikoskelainen, J., & Lilius, E. M. (2014). Bacterial infection (BI)-INDEX: an improved and simplified rapid flow cytometric bacterial infection marker. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 78(2), 116-126.
123. Zych, A. J., Lam, S. Q., Jenkins, D. M., Herr, R. J., Ting, P. C., Lee, J. F., and Wainhaus, S. (2012). Lead optimization of a sulfonylurea-based piperazine pyridazinone series of glucan synthase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 22(14), 4896-4899.
124. Kuang, R., Wu, H., Ting, P. C., Aslanian, R. G., Cao, J., Kim, D. W., and Zych, A. J. (2012). The optimization of pyridazinone series of glucan synthase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 22(16), 5268-5271.
125. Sönmez, M., Berber, İ., ve Akbaş, E. (2006). Synthesis, antibacterial and antifungal activity of some new pyridazinone metal complexes. *European journal of Medicinal Chemistry*, 41(1), 101-105.
126. Sowmya, H. B. V., Kumara, T. S., Nagendrappa, G., Jasinski, J. P., Millikan, S. P., Jose, G., and Ganapathy, P. S. (2013). Solvent free synthesis, crystal studies, docking studies and antibacterial properties of some novel fluorinated pyridazinone derivatives. *Journal of Molecular Structure*, 1054, 179-187.
127. Akbas, E., ve Berber, I. (2005). Antibacterial and antifungal activities of new pyrazolo [3, 4-d] pyridazin derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 40(4), 401-405.
128. Ting, P. C., Kuang, R., Wu, H., Aslanian, R. G., Cao, J., Kim, D. W., and Black, T. A. (2011). The synthesis and structure–activity relationship of pyridazinones as glucan synthase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 21(6), 1819-1822.
129. Faidallah, H. M., Rostom, S. A., Basaif, S. A., Makki, M. S., and Khan, K. A. (2013). Synthesis and biological evaluation of some novel urea and thiourea derivatives of isoxazolo [4, 5-d] pyridazine and structurally related thiazolo [4, 5-d] pyridazine as antimicrobial agents. *Archives of Pharmacal Research*, 36(11), 1354-1368.
130. Nagle, P., Pawar, Y., Sonawane, A., Bhosale, S., and More, D. (2014). Docking simulation, synthesis and biological evaluation of novel pyridazinone containing thymol as potential antimicrobial agents. *Medicinal Chemistry Research*, 23(2), 918-926.

131. Sallam, M. S., El-Hashash, M. A., and Guirguis, D. B. (2016). Synthesis and antimicrobial activity of some novel substituted pyridazin-3 (2H)-ones containing 1, 3, 4-thiadiazole moiety. *Medicinal Chemistry Research*, 25(2), 369-380.
132. Kennedy, C. (2013). The importance of drug discovery for treatment of cardiovascular diseases. *Future Medicinal Chemistry*, 5(4), 355-357.
133. Mishra, R., Siddiqui, A. A., Husain, A., Rashid, M., Prakash, A., Tailang, M., and Srivastava, N. (2011). Synthesis, characterization and antihypertensive activity of some new substituted pyridazine derivatives. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 56(4), 856-859.
134. Costas, T., Costas-Lago, M. C., Vila, N., Besada, P., Cano, E., and Terán, C. (2015). New platelet aggregation inhibitors based on pyridazinone moiety. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 94, 113-122.
135. El Maatougui, A., Azuaje, J., Sotelo, E., Caamano, O., and Coelho, A. (2011). Silica-supported aluminum chloride-assisted solution phase synthesis of pyridazinone-based antiplatelet agents. *ACS Combinatorial Science*, 13(1), 7-12.
136. Costas, T., Besada, P., Piras, A., Acevedo, L., Yáñez, M., Orallo, F., and Terán, C. (2010). New pyridazinone derivatives with vasorelaxant and platelet antiaggregatory activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20(22), 6624-6627.
137. Meyers, C., Yáñez, M., Elmaatougi, A., Verhelst, T., Coelho, A., Fraiz, N., and Maes, B. U. (2008). 2-Substituted 4-, 5-, and 6-[(1E)-3-oxo-3-phenylprop-1-en-1-yl] pyridazin-3 (2H)-ones and 2-substituted 4, 5-bis [(1E)-3-oxo-3-phenylprop-1-en-1-yl] pyridazin-3 (2H)-ones as potent platelet aggregation inhibitors: design, synthesis, and SAR studies. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 18(2), 793-797.
138. Crespo, A., Meyers, C., Coelho, A., Yáñez, M., Fraiz, N., Sotelo, E., and Raviña, E. (2006). Pyridazines part 41: Synthesis, antiplatelet activity and SAR of 2, 4, 6-substituted 5-(3-oxo-3-phenylprop-1-en-1-yl)-or 5-(3-phenylprop-2-enoyl) pyridazin-3 (2H)-ones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 16(4), 1080-1083.
139. Coelho, A., Sotelo, E., Fraiz, N., Yanez, M., Laguna, R., Cano, E., and Raviña, E. (2004). Pyridazines. Part 36: Synthesis and antiplatelet activity of 5-substituted-6-phenyl-3 (2H)-pyridazinones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 14(2), 321-324.
140. Sotelo, E., Fraiz, N., Yanez, M., Laguna, R., Cano, E., Brea, J., and Raviña, E. (2002). Pyridazines. Part 28: 5-alkylidene-6-phenyl-3 (2H)-pyridazinones, a new family of platelet aggregation inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 12(12), 1575-1577.
141. Sotelo, E., Fraiz, N., Yáñez, M., Terrades, V., Laguna, R., Cano, E., and Raviña, E. (2002). Pyridazines. Part XXIX: synthesis and platelet aggregation inhibition activity of 5-substituted-6-phenyl-3 (2H)-pyridazinones. Novel aspects of their biological actions. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 10(9), 2873-2882.

142. Bligt-Lindén, E., Pihlavisto, M., Szatmári, I., Otwinowski, Z., Smith, D. J., Lázár, L., and Salminen, T. A. (2013). Novel pyridazinone inhibitors for vascular adhesion protein-1 (VAP-1): old target–new inhibition mode. *Journal of Medicinal Chemistry*, 56(24), 9837-9848.
143. Purohit, A., Radeke, H., Azure, M., Hanson, K., Benetti, R., Su, F., and Kagan, M. (2008). Synthesis and biological evaluation of pyridazinone analogues as potential cardiac positron emission tomography tracers. *Journal of Medicinal Chemistry*, 51(10), 2954-2970.
144. Siddiqui, A. A., Mishra, R., and Shaharyar, M. (2010). Synthesis, characterization and antihypertensive activity of pyridazinone derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45(6), 2283-2290.
145. Abouzid, K., Hakeem, M. A., Khalil, O., and Maklad, Y. (2008). Pyridazinone derivatives: Design, synthesis, and in vitro vasorelaxant activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16(1), 382-389.
146. Munín, J., Quezada, E., Cuiñas, A., Campos-Toimil, M., Uriarte, E., Santana, L., and Viña, D. (2014). Synthesis, biological evaluation and structure–activity relationships of new phthalazinedione derivatives with vasorelaxant activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 82, 407-417.
147. Amin, E.N., Abdel-Alim, A.M., Abdel-Moty, S.G., Shorbagi, A.A.E., and Abdel-Rahman, M. (2010). Synthesis of new 4,5-3(2H) pyridazinone derivatives and their cardiotoxic, hypotensive and platelet aggregation inhibition activities. *Archives of Pharmacol Research*, 33(12), 25-46.
148. Coelho, A., Raviña, E., Fraiz, N., Yáñez, M., Laguna, R., Cano, E., and Sotelo, E. (2007). Design, Synthesis, and Structure–Activity Relationships of a Novel Series of 5-Alkylidenepyridazin-3 (2 H)-ones with a Non-cAMP-Based Antiplatelet Activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 50(26), 6476-6484.
149. Siddiqui, A. A., Mishra, R., Shaharyar, M., Husain, A., Rashid, M., and Pal, P. (2011). Triazole incorporated pyridazinones as a new class of antihypertensive agents: Design, synthesis and in vivo screening. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 21(3), 1023-1026.
150. World Health Organization (WHO). (2015). *Global Tuberculosis Report-2015*. Geneva: World Health Organization Publications, 1-3.
151. Grenet, K., Guillemot, D., Jarlier, V., Moreau, B., Dubourdieu, S., Ruimy, R., and Andremon, A. (2004). Antibacterial resistance, wayampis amerindians, French Guyana. *Emerging Infectious Diseases*, 10(6), 1150.
152. Cohen, J. (2004). New TB drug promises shorter, simpler treatment. *Science*, 306, 1872.
153. Li, K., Schurig-Briccio, L. A., Feng, X., Upadhyay, A., Pujari, V., Lechartier, B., and Gulati, A. (2014). Multitarget drug discovery for tuberculosis and other infectious diseases. *Journal of Medicinal Chemistry*, 57(7), 3126-3139.

154. Mantu, D., Luca, M. C., Moldoveanu, C., Zbancioc, G., and Mangalagiu, I. I. (2010). Synthesis and antituberculosis activity of some new pyridazine derivatives. Part II. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45(11), 5164-5168.
155. Tan, O. U., Ozadali, K., Yogeewari, P., Sriram, D., and Balkan, A. (2012). Synthesis and antimycobacterial activities of some new N-acylhydrazone and thiosemicarbazide derivatives of 6-methyl-4, 5-dihydropyridazin-3 (2H)-one. *Medicinal Chemistry Research*, 21(9), 2388-2394.
156. Matsuzawa, Y. (2005). Adiponectin: identification, physiology and clinical relevance in metabolic and vascular disease. *Atherosclerosis Supplements*, 6(2), 7-14.
157. Oost, T., Heckel, A., Kley, J. T., Lehmann, T., Müller, S., Roth, G. J., and Lotz, R. R. (2015). Design, synthesis and evaluation of MCH receptor 1 antagonists—Part III: Discovery of pre-clinical development candidate BI 186908. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 25(16), 3275-3280.
158. Sarah, W., Gojka, R., Anders, G., Richard, S., and Hilary, K. (2004). Global prevalence of diabetes. *Diabetes Care*, 27(5), 1047-1053.
159. Fukuen, S., Iwaki, M., Yasui, A., Makishima, M., Matsuda, M., and Shimomura, I. (2005). Sulfonylurea agents exhibit peroxisome proliferator-activated receptor γ agonistic activity. *Journal of Biological Chemistry*, 280(25), 23653-23659.
160. Scarsi, M., Podvinec, M., Roth, A., Hug, H., Kersten, S., Albrecht, H., and Rücker, C. (2007). Sulfonylureas and glinides exhibit peroxisome proliferator-activated receptor γ activity: a combined virtual screening and biological assay approach. *Molecular Pharmacology*, 71(2), 398-406.
161. Arrault, A., Rocchi, S., Picard, F., Maurois, P., Pirotte, B., and Vamecq, J. (2009). A short series of antidiabetic sulfonylureas exhibit multiple ligand PPAR γ -binding patterns. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 63(1), 56-62.
162. Lee, K. W., Ku, Y. H., Kim, M., Ahn, B. Y., Chung, S. S., and Park, K. S. (2011). Effects of sulfonylureas on peroxisome proliferator-activated receptor γ activity and on glucose uptake by thiazolidinediones. *Diabetes & Metabolism Journal*, 35(4), 340-347.
163. Inukai, K., Watanabe, M., Nakashima, Y., Takata, N., Isoyama, A., Sawa, T., and Katayama, S. (2005). Glimepiride enhances intrinsic peroxisome proliferator-activated receptor- γ activity in 3T3-L1 adipocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 328(2), 484-490.
164. Rathish, I. G., Javed, K., Bano, S., Ahmad, S., Alam, M. S., and Pillai, K. K. (2009). Synthesis and blood glucose lowering effect of novel pyridazinone substituted benzenesulfonylurea derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44(6), 2673-2678.
165. Zimmerman, G., and Soreq, H. (2006). Termination and beyond: acetylcholinesterase as a modulator of synaptic transmission. *Cell and Tissue Research*, 326(2), 655-669.

166. Lin, H., Fang, H., Wang, J., Meng, Q., Dai, X., Wu, S., and Arai, K. (2015). Discovery of a novel 2, 3, 11, 11a-tetrahydro-1H-pyrazino [1, 2-b] isoquinoline-1, 4 (6H)-dione series promoting neurogenesis of human neural progenitor cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25(17), 3748-3753.
167. Boukharsa, Y., Meddah, B., Tiendrebeogo, R. Y., Ibrahimi, A., Taoufik, J., Cherrah, Y., and Faouzi, M. E. A. (2016). Synthesis and antidepressant activity of 5-(benzo [b] furan-2-ylmethyl)-6-methylpyridazin-3 (2H)-one derivatives. *Medicinal Chemistry Research*, 25(3), 494-500.
168. Cao, X., Chen, Y., Zhang, Y., Lan, Y., Zhang, J., Xu, X., and Zhang, G. (2016). Synthesis and biological evaluation of novel σ_1 receptor ligands for treating neuropathic pain: 6-hydroxypyridazinones. *Journal of Medicinal Chemistry*, 59(7), 2942-2961.
169. Sharma, B., Verma, A., Sharma, U. K., and Prajapati, S. (2014). Efficient synthesis, anticonvulsant and muscle relaxant activities of new 2-((5-amino-1, 3, 4-thiadiazol-2-yl) methyl)-6-phenyl-4, 5-dihydropyridazin-3 (2H)-one derivatives. *Medicinal Chemistry Research*, 23(1), 146-157.
170. Kuroda, S., Akahane, A., Itani, H., Nishimura, S., Durkin, K., Tenda, Y., & Sakane, K. (2000). Novel adenosine A1 receptor antagonists. Synthesis and structure-activity relationships of a novel series of 3-(2-cyclohexenyl-3-oxo-2, 3-dihydropyridazin-6-yl)-2-phenylpyrazolo [1, 5-a] pyridines. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 8(1), 55-64.
171. Betti, L., Floridi, M., Giannaccini, G., Manetti, F., Strappaghetti, G., Tafi, A., and Botta, M. (2003). α_1 -Adrenoceptor antagonists. 5. Pyridazinone-arylpiperazines. Probing the influence on affinity and selectivity of both ortho-alkoxy groups at the arylpiperazine moiety and cyclic substituents at the pyridazinone nucleus. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 13(2), 171-173.
172. Dal Piaz, V., Rascon, A., Dubra, M. E., Giovannoni, M. P., Vergelli, C., and Castellana, M. C. (2002). Isoxazolo [3, 4-d] pyridazinones and analogues as *Leishmania mexicana* PDE inhibitors. *Il Farmaco*, 57(2), 89-96.
173. Kim, J. J., Kweon, D. H., Cho, S. D., Kim, H. K., Jung, E. Y., Lee, S. G., and Yoon, Y. J. (2005). 2-Cyanopyridazin-3 (2H)-ones: Effective and chemoselective electrophilic cyanating agents. *Tetrahedron*, 61(24), 5889-5894.
174. Matsuda, T., Aoki, T., Koshi, T., Ohkuchi, M., and Shigyo, H. (2001). Synthesis and bioactivities of novel 5, 6-Bis (4-methoxyphenyl)-2H-pyridazin-3-one derivatives: inhibitors of interleukin-1 beta (IL-1 β) production. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 11(17), 2373-2375.
175. Tsubaki, K., Taniguchi, K., Tabuchi, S., Okitsu, O., Hattori, K., Seki, J., and Tanaka, H. (2000). A novel pyridazinone derivative as a nonprostanoid PGI₂ agonist. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 10(24), 2787-2790.
176. Vila, N., Besada, P., Costas, T., Costas-Lago, M. C., and Teran, C. (2015). Phthalazin-1 (2H)-one as a remarkable scaffold in drug discovery. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 462-482.

177. Giovannoni, M. P., Ciciani, G., Cilibrizzi, A., Crocetti, L., Daniele, S., Mannelli, L. D. C., and Trincavelli, M. L. (2015). Further studies on pyrazolo [1', 5': 1, 6] pyrimido [4, 5-d] pyridazin-4 (3H)-ones as potent and selective human A1 adenosine receptor antagonists. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 89, 32-41.
178. Hudkins, R. L., Becknell, N. C., Lyons, J. A., Aimone, L. D., Olsen, M., Haltiwanger, R. C., and Gruner, J. A. (2015). 3, 4-Diaza-bicyclo [4.1. 0] hept-4-en-2-one phenoxypropylamine analogs of irdabisant (CEP-26401) as potent histamine-3 receptor inverse agonists with robust wake-promoting activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 95, 349-356.
179. Baladi, T., Abet, V., and Piguel, S. (2015). State-of-the-art of small molecule inhibitors of the TAM family: The point of view of the chemist. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 105, 220-237.
180. Li, M., and Zhao, B. X. (2014). Progress of the synthesis of condensed pyrazole derivatives (from 2010 to mid-2013). *European Journal of Medicinal Chemistry*, 85, 311-340.
181. Xing, W., Fu, Y., Shi, Z., Lu, D., Zhang, H., and Hu, Y. (2013). Discovery of novel 2, 6-disubstituted pyridazinone derivatives as acetylcholinesterase inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 63, 95-103.
182. Barbaro, R., Betti, L., Botta, M., Corelli, F., Giannaccini, G., Maccari, L., and Corsano, S. (2001). Synthesis, biological evaluation, and pharmacophore generation of new pyridazinone derivatives with affinity toward α 1-and α 2-adrenoceptors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 44(13), 2118-2132.
183. Giovannoni, M. P., Vergelli, C., Ghelardini, C., Galeotti, N., Bartolini, A., and Dal Piaz, V. (2003). [(3-Chlorophenyl) piperazinylpropyl] pyridazinones and analogues as potent antinociceptive agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, 46(6), 1055-1059.
184. Hudkins, R. L., Raddatz, R., Tao, M., Mathiasen, J. R., Aimone, L. D., Becknell, N. C., and Ator, M. A. (2011). Discovery and Characterization of 6-{4-[3-(R)-2-Methylpyrrolidin-1-yl] propoxy} phenyl}-2 H-pyridazin-3-one (CEP-26401, Irdabisant): A Potent, Selective Histamine H3 Receptor Inverse Agonist. *Journal of Medicinal Chemistry*, 54(13), 4781-4792.
185. Bashir, R., Yaseen, S., Ovais, S., Hamid, H., Alam, M. S., Samim, M., and Javed, K. (2012). Synthesis and blood glucose lowering activity of some novel benzenesulfonylthiourea derivatives substituted with 6-aryl-4, 5-dihydropyridazin-3 (2H)-ones. *Medicinal Chemistry Research*, 21(4), 428-436.
186. Liu, Y., Jin, S., Peng, X., Lu, D., Zeng, L., Sun, Y., and Hu, Y. (2016). Pyridazinone derivatives displaying highly potent and selective inhibitory activities against c-Met tyrosine kinase. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 108, 322-333.
187. Cesari, N., Biancalani, C., Vergelli, C., Dal Piaz, V., Graziano, A., Biagini, P., and Giovannoni, M. P. (2006). Arylpiperazinylalkylpyridazinones and analogues as potent and orally active antinociceptive agents: synthesis and studies on mechanism of action. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(26), 7826-7835.

188. Bruel, A., Logé, C., de Tauzia, M. L., Ravache, M., Le Guevel, R., Guillouzo, C., and Ruchaud, S. (2012). Synthesis and biological evaluation of new 5-benzylated 4-oxo-3, 4-dihydro-5H-pyridazino [4, 5-b] indoles as PI3K α inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 57, 225-233.
189. Giovannoni, M. P., Schepetkin, I. A., Cilibrizzi, A., Crocetti, L., Khlebnikov, A. I., Dahlgren, C., and Vergelli, C. (2013). Further studies on 2-arylacetamide pyridazin-3 (2H)-ones: Design, synthesis and evaluation of 4, 6-disubstituted analogs as formyl peptide receptors (FPRs) agonists. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 64, 512-528.
190. Vergelli, C., Ciciani, G., Cilibrizzi, A., Crocetti, L., Mannelli, L. D. C., Ghelardini, C., and Giovannoni, M. P. (2015). Synthesis of five and six-membered heterocycles bearing an arylpiperazinylalkyl side chain as orally active antinociceptive agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 23(19), 6237-6245.
191. Veerman, J., van den Bergh, T., Orrling, K. M., Jansen, C., Cos, P., Maes, L., and Seebeck, T. (2016). Synthesis and evaluation of analogs of the phenylpyridazinone NPD-001 as potent trypanosomal TbrPDEB1 phosphodiesterase inhibitors and in vitro trypanocidals. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 24(7), 1573-1581.
192. Hudkins, R. L., Josef, K. A., Becknell, N. C., Aimone, L. D., Lyons, J. A., Mathiasen, J. R., and Raddatz, R. (2014). Discovery of (1R, 6S)-5-[4-(1-cyclobutyl-piperidin-4-yloxy)-phenyl]-3, 4-diaza-bicyclo [4.1. 0] hept-4-en-2-one (R, S-4a): Histamine H3 receptor inverse agonist demonstrating potent cognitive enhancing and wake promoting activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 24(5), 1303-1306.
193. Biancalani, C., Giovannoni, M. P., Pieretti, S., Cesari, N., Graziano, A., Vergelli, C., and Garrone, B. (2009). Further studies on arylpiperazinyl alkyl pyridazinones: discovery of an exceptionally potent, orally active, antinociceptive agent in thermally induced pain. *Journal of Medicinal Chemistry*, 52(23), 7397-7409.
194. Hudkins, R. L., Gruner, J. A., Raddatz, R., Mathiasen, J. R., Aimone, L. D., Marino, M. J., and Ator, M. A. (2016). 3-(1'-Cyclobutylspiro [4H-1, 3-benzodioxine-2, 4'-piperidine]-6-yl)-5, 5-dimethyl-1, 4-dihydropyridazin-6-one (CEP-32215), a new wake-promoting histamine H3 antagonist/inverse agonist. *Neuropharmacology*, 106, 37-45.
195. Bruel, A., Bénéteau, R., Chabanne, M., Lozach, O., Le Guevel, R., Ravache, M., and Robert, J. M. (2014). Synthesis of new pyridazino [4, 5-b] indol-4-ones and pyridazin-3 (2H)-one analogs as DYRK1A inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 24(21), 5037-5040.
196. Becknell, N. C., Lyons, J. A., Aimone, L. D., Huang, Z., Gruner, J. A., Raddatz, R., and Hudkins, R. L. (2012). Synthesis and evaluation of 4-and 5-pyridazin-3-one phenoxypropylamine analogues as histamine-3 receptor antagonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 20(12), 3880-3886.

197. Betti, L., Zanelli, M., Giannaccini, G., Manetti, F., Schenone, S., and Strappaghetti, G. (2006). Synthesis of new piperazine–pyridazinone derivatives and their binding affinity toward $\alpha 1$ -, $\alpha 2$ -adrenergic and 5-HT_{1A} serotonergic receptors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14(8), 2828-2836.
198. Vergelli, C., Schepetkin, I. A., Ciciani, G., Cilibrizzi, A., Crocetti, L., Giovannoni, M. P., and Richard, D. Y. (2016). 2-Arylacetamido-4-phenylamino-5-substituted pyridazinones as formyl peptide receptors agonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 24(11), 2530-2543.
199. Gong, Y., Barbay, J. K., Dyatkin, A. B., Miskowski, T. A., Kimball, E. S., Prouty, S. M., and Ballentine, S. A. (2006). Synthesis and biological evaluation of novel pyridazinone-based $\alpha 4$ integrin receptor antagonists. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(11), 3402-3411.
200. Giovannoni, M. P., Cesari, N., Vergelli, C., Graziano, A., Biancalani, C., Biagini, P., and Dal Piaz, V. (2007). 4-Amino-5-substituted-3 (2 H)-pyridazinones as orally active antinociceptive agents: synthesis and studies on the mechanism of action. *Journal of Medicinal Chemistry*, 50(16), 3945-3953.
201. Tao, M., Aimone, L. D., Huang, Z., Mathiasen, J., Raddatz, R., Lyons, J., and Hudkins, R. L. (2012). Optimization of 5-pyridazin-3-one phenoxypropylamines as potent, selective histamine H₃ receptor antagonists with potent cognition enhancing activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 55(1), 414-423.
202. Jiang, J. K., Boxer, M. B., Vander Heiden, M. G., Shen, M., Skoumbourdis, A. P., Southall, N., and Inglese, J. (2010). Evaluation of thieno [3, 2-b] pyrrole [3, 2-d] pyridazinones as activators of the tumor cell specific M2 isoform of pyruvate kinase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20(11), 3387-3393.
203. Young, W. B., Barbosa, J., Blomgren, P., Bremer, M. C., Crawford, J. J., Dambach, D., and Lee, S. H. (2016). Discovery of highly potent and selective Bruton's tyrosine kinase inhibitors: Pyridazinone analogs with improved metabolic stability. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 26(2), 575-579..
204. Hudkins, R. L., Aimone, L. D., Bailey, T. R., Bendesky, R. J., reddy Dandu, R., Dunn, D., and Marcy, V. R. (2011). Identification of pyridazin-3-one derivatives as potent, selective histamine H₃ receptor inverse agonists with robust wake activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 21(18), 5493-5497.
205. Allerton, C. M., Andrews, M. D., Blagg, J., Ellis, D., Evrard, E., Green, M. P., and Ward, R. (2009). Design and synthesis of pyridazinone-based 5-HT_{2C} agonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 19(19), 5791-5795.
206. Kelly, M. J., Pietranico-Cole, S., Larigan, J. D., Haynes, N. E., Reynolds, C. H., Scott, N., and So, S. S. (2014). Discovery of 2-[3, 5-dichloro-4-(5-isopropyl-6-oxo-1, 6-dihydropyridazin-3-yl)oxy] phenyl]-3, 5-dioxo-2, 3, 4, 5-tetrahydro [1, 2, 4] triazine-6-carbonitrile (MGL-3196), a highly selective thyroid hormone receptor β agonist in clinical trials for the treatment of dyslipidemia. *Journal Medicinal Chemistry*, 57, 3912-3923.

207. Betti, L., Corelli, F., Floridi, M., Giannaccini, G., Maccari, L., Manetti, F., and Botta, M. (2003). α 1-Adrenoceptor Antagonists. 6. Structural Optimization of Pyridazinone– Arylpiperazines. Study of the Influence on Affinity and Selectivity of Cyclic Substituents at the Pyridazinone Ring and Alkoxy Groups at the Arylpiperazine Moiety. *Journal of Medicinal Chemistry*, 46(16), 3555-3558.
208. Lopez-Tapia, F., Walker, K. A., Brotherton-Pleiss, C., Caroon, J., Nitzan, D., Lowrie, L., and Phippard, D. (2015). Novel series of dihydropyridinone P2X7 receptor antagonists. *Journal of Medicinal Chemistry*, 58(21), 8413-8426.
209. Giovannoni, M. P., Vergelli, C., Biancalani, C., Cesari, N., Graziano, A., Biagini, P., and Dal Piaz, V. (2006). Novel pyrazolopyrimidopyridazinones with potent and selective phosphodiesterase 5 (PDE5) inhibitory activity as potential agents for treatment of erectile dysfunction. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(17), 5363-5371.
210. Demirayak, S., Karaburun, A. C., Kayagil, I., Erol, K., ve Sirmagul, B. (2004). Some pyridazinone and phthalazinone derivatives and their vasodilator activities. *Archives of Pharmacal Research*, 27(1), 13-18.
211. Xu, H., Hu, X., Zhu, Y., Zou, X., Liu, B., Hu, F., and Yang, H. (2010). Synthesis and herbicidal activities of novel 4-(3-trifluoromethylphenyl)-2H-pyridazin-3-one derivatives. *Science China Chemistry*, 53(1), 157-166.
212. Belluti, F., Bartolini, M., Bottegoni, G., Bisi, A., Cavalli, A., Andrisano, V., and Rampa, A. (2011). Benzophenone-based derivatives: a novel series of potent and selective dual inhibitors of acetylcholinesterase and acetylcholinesterase-induced beta-amyloid aggregation. *European journal of medicinal chemistry*, 46(5), 1682-1693.
213. García-Font, N., Hayour, H., Belfaitah, A., Pedraz, J., Moraleda, I., Iriepa, I., and Oset-Gasque, M. J. (2016). Potent anticholinesterasic and neuroprotective pyranotacrine as inhibitors of beta-amyloid aggregation, oxidative stress and tau-phosphorylation for Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 118, 178-192.
214. Terry, A. V., and Buccafusco, J. J. (2003). The cholinergic hypothesis of age and Alzheimer's disease-related cognitive deficits: recent challenges and their implications for novel drug development. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 306(3), 821-827.
215. Maccioni, R. B., Farías, G., Morales, I., and Navarrete, L. (2010). The revitalized tau hypothesis on Alzheimer's disease. *Archives of Medical Research*, 41(3), 226-231.
216. Mullane, K., and Williams, M. (2013). Alzheimer's therapeutics: continued clinical failures question the validity of the amyloid hypothesis—but what lies beyond?. *Biochemical Pharmacology*, 85(3), 289-305.
217. Hampel, H., Prvulovic, D., Teipel, S., Jessen, F., Luckhaus, C., Frölich, L., and Hoffmann, W. (2011). The future of Alzheimer's disease: the next 10 years. *Progress in Neurobiology*, 95(4), 718-728.

218. Perry, E. K. (1986). The cholinergic hypothesis—ten years on. *British Medical Bulletin*, 42(1), 63-69.
219. Swerdlow, R. H. (2012). Alzheimer's disease pathologic cascades: who comes first, what drives what. *Neurotoxicity Research*, 22(3), 182-194
220. Tampi, R. R., Tampi, D. J., and Ghori, A. K. (2016). Acetylcholinesterase inhibitors for delirium in older adults. *American Journal of Alzheimer's Disease & Other Dementias®*, 31(4), 305-310.
221. Geldenhuys, W. J., and Darvesh, A. S. (2015). Pharmacotherapy of Alzheimer's disease: current and future trends. *Expert Review Neurotherapeutics*, 15 (1), 3-5.
222. Hampel, H., Mesulam, M. M., Cuello, A. C., Farlow, M. R., Giacobini, E., Grossberg, G. T., and Khachaturian, Z. S. (2018). The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. *Brain*, 141(7), 1917-1933.
223. Fotiou, D., Kaltsatou, A., Tsiptsios, D., and Nakou, M. (2015). Evaluation of the cholinergic hypothesis in Alzheimer's disease with neuropsychological methods. *Aging Clinical and Experimental Research*, 27, 727-33.
224. Farlow, M.R. (1998). Pharmacological treatment of cognition in Alzheimer's disease. *Neurology*, 51, 36-44.
225. Bacalhau, P., San Juan, A. A., Marques, C. S., Peixoto, D., Goth, A., Guarda, C., and Burke, A. J. (2016). New cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease: Structure Activity Studies (SARs) and molecular docking of isoquinolone and azepanone derivatives. *Bioorganic Chemistry*, 67, 1-8.
226. Kása, P., Rakonczay, Z., and Gulya, K. (1997). The cholinergic system in Alzheimer's disease. *Progress in Neurobiology*, 52(6), 511-535.
227. Atri, A., Frölich, L., Ballard, C., Tariot, P. N., Molinuevo, J. L., Boneva, N., and Cummings, J. L. (2018). Effect of idalopirdine as adjunct to cholinesterase inhibitors on change in cognition in patients with Alzheimer disease: three randomized clinical trials. *Jama*, 319(2), 130-142.
228. Blanco-Silvente, L., Castells, X., Saez, M., Barceló, M. A., Garre-Olmo, J., Vilalta-Franch, J., and Capellà, D. (2017). Discontinuation, efficacy, and safety of cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease: a meta-analysis and meta-regression of 43 randomized clinical trials enrolling 16 106 patients. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 20(7), 519-528.
229. Posadas, I., López-Hernández, B., and Ceña, V. (2013). Nicotinic receptors in neurodegeneration. *Current Neuropharmacology*, 11(3), 298-314.
230. Davis, D. G., Schmitt, F. A., Wekstein, D. R., and Markesbery, W. R. (1999). Alzheimer neuropathologic alterations in aged cognitively normal subjects. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 58(4), 376-388.

231. DeKosky, S. T., Ikonomic, M. D., Styren, S. D., Beckett, L., Wisniewski, S., Bennett, D. A., and Mufson, E. J. (2002). Upregulation of choline acetyltransferase activity in hippocampus and frontal cortex of elderly subjects with mild cognitive impairment. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 51(2), 145-155.
232. Gilmor, M. L., Erickson, J. D., Varoqui, H., Hersh, L. B., Bennett, D. A., Cochran, E. J., and Levey, A. I. (1999). Preservation of nucleus basalis neurons containing choline acetyltransferase and the vesicular acetylcholine transporter in the elderly with mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *Journal of Comparative Neurology*, 411(4), 693-704.
233. Koeppe, R. A., Frey, K. A., Snyder, S. E., Meyer, P., Kilbourn, M. R., and Kuhl, D. E. (1999). Kinetic Modeling of N- [11C]Methylpiperidin-4-yl Propionate: Alternatives for Analysis of an Irreversible Positron Emission Tomography Tracer for Measurement of (AChE) Activity in Human Brain. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 19(10), 1150-1.
234. Kadir, A., Darreh-Shori, T., Almkvist, O., Wall, A., Grut, M., Strandberg, B., and Nordberg, A. (2008). PET imaging of the in vivo brain acetylcholinesterase activity and nicotine binding in galantamine-treated patients with AD. *Neurobiology of Aging*, 29(8), 1204-1217.
235. Pietrzak, K., Czarnecka, K., Mikiciuk-Olasik, E., and Szymiski, P. (2018). New Perspectives of Alzheimer Disease Diagnosis – the Most Popular and Future Methods. *Medicinal Chemistry*, 14,34-43.
236. Kuhl, D. E., Minoshima, S., Fessler, J. A., Ficaro, E. P., Wieland, D. M., Koeppe, R. A., and Foster, N. L. (1996). In vivo mapping of cholinergic terminals in normal aging, Alzheimer's disease, and Parkinson's disease. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 40(3), 399-410.
237. Gibson, G.E., Peterson, C., and Jenden, D.J. (1986) Brain acetylcholine synthesis declines with senescence. *American Association For The Advancement of Science*, 213(4508), 674-6.
238. Schliebs, R., and Arendt, T. (2011). The cholinergic system in aging and neuronal degeneration. *Behavioural Brain Research*, 221(2), 555-63.
239. Mattson, M.P., and Magnus, T. (2006). Ageing and neuronal vulnerability. *Nature Reviews Neuroscience*, 7,278-94.
240. Sarter, M., and Turchi, J. (2002). Age- and dementia-associated impairments in divided attention: psychological constructs, animal models, and underlying neuronal mechanisms. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*,13, 46-58.
241. Hasselmo, M.E. (2006). The role of acetylcholine in learning and memory. *Current Opinion in Neurobiology*, 16(6), 710-5.
242. Lemke, T., Williams, D.A., Roche, V.F., and Zito, S.W. (2008). *Foye's principles of medicinal chemistry*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 596-620.

243. Toyohara, J., and Hashimoto, K. (2010). $\alpha 7$ Nicotinic receptor agonists: potential therapeutic drugs for treatment of cognitive impairments in schizophrenia and Alzheimer's disease. *The Open Medicinal Chemistry Journal*, 4, 37- 56.
244. Gundisch, D., and Gundisch, D. (2000). Nicotinic acetylcholine receptors and imaging. *Current Pharmaceutical Design*, 6(15), 1143-1157.
245. Zenko, D., and Hislop, J.N. (2018). Regulation and trafficking of muscarinic acetylcholine receptors. *Neuropharmacology*, 136, 374-82.
246. Scarr, E. (2012). Muscarinic receptors: Their roles in disorders of the central nervous system and potential as therapeutic targets. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 18, 369-79.
247. Bentley, P., Drive, J., and Dolan, R.J. (2011). Cholinergic modulation of cognition: insights from human pharmacological functional neuroimaging. *Progress in Neurobiology*, 94, 360-88.
248. Agatonovic-Kustrin, S., Kettle, C., and Morton, D.W. (2018). A molecular approach in drug development for Alzheimer's disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 106, 553-65.
249. Colovic, M.B., Krstic, D.Z., Lazarevic-Pasti, T.D., Bondzic, A.M., and Vasic, V.M. (2013). (AChE) inhibitors: pharmacology and toxicology. *Current Neuropharmacology*, 11(3), 315-35.
250. Greig, N. H., Utsuki, T., Yu, Q. S., Zhu, X., Holloway, H. W., Perry, T., and Lahiri, D. K. (2001). A new therapeutic target in Alzheimer's disease treatment: Attention to (BChE). *Current Medical Research and Opinion*, 17(3), 159-65.
251. Begum, S., Nizami, S. S., Mahmood, U., Masood, S., Iftikhar, S., and Saied, S. (2018). In-vitro evaluation and in-silico studies applied on newly synthesized amide derivatives of N-phthaloylglycine as (BChE) inhibitors. *Computational Biology and Chemistry*, 74, 212-7.
252. Campanella, L., Achilli, M., Sammartino, M.P., and Tomassetti, M. (1991). Butyrylcholine enzyme sensor for determining organophosphorus inhibitors. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 321(2), 237-49.
253. Norel, X., Angrisani, M., Labat, C., Gorenne, I., Dulmet, E., Rossi, F., and Brink, C. (1993). Degradation of acetylcholine in human airways: Role of (BChE). *British Journal of Pharmacology*, 108(4), 914-9.
254. Mesulam, M.M., Guillozet, A., and Shaw, P. (2002). Widely spread (BChE) can hydrolyze acetylcholine in the normal and Alzheimer brain. *Neurobiology of Disease*, 9, 88-93.
255. Xie, W., Wilder, P. J., Stribley, J., Chatonnet, A., Rizzino, A., Taylor, P., and Lockridge, O. (1999). Knockout of one AChE allele in the mouse. *Chemico-Biological Interactions*, 119-120(120), 289-99.

256. Chatonnet, A., and Lockridge, O. (1989). Comparison of (BChE) and (AChE). *Biochemical Journal*, 260(3), 625-34.
257. Zhou, Y., Wang, S., and Zhang, Y. (2010). Catalytic reaction mechanism of (AChE) determined by born- oppenheimer AB initio QM/MM molecular dynamics simulations. *The Journal of Physical Chemistry B*, 114, 8817- 25.
258. Dvir, H., Silman, I., Harel, M., Rosenberry, T.L., and Sussmana, J.L. (2010). (AChE): from 3D structure to function. *Chemico-Biological Interactions*, 187, 10-22.
259. Simoni, E., Daniele, S., Bottegoni, G., Pizzirani, D., Trincavelli, M. L., Goldoni, L., and Melchiorre, C. (2012). Combining Galantamine and Memantine in Multitargeted, New Chemical Entities Potentially Useful in Alzheimer's Disease. *Journal of Medicinal Chemistry*, 55(22), 9708- 21.
260. Nachon, F., Carletti, E., Ronco, C., Trovaslet, M., Nicolet, Y., Jean, L., and Renard, P. Y. (2013). Crystal structures of human cholinesterases in complex with huprine W and tacrine: elements of specificity for anti-Alzheimer's drugs targeting acetyl- and (BChE). *Biochemical Journal*, 453(3), 393-399.
261. Leon, J., and Marco-Contelles, J. (2011). A step further towards multitarget drugs for Alzheimer and neuronal vascular diseases: targeting the cholinergic system, amyloid- β aggregation and Ca^{2+} dyshomeostatis. *Journal Current Medicinal Chemistry*, 18, 552.
262. Costanzo, P., Cariati, L., Desiderio, D., Sgammato, R., Lamberti, A., Arcone, R., and Oliverio, M. (2016). Design, synthesis, and evaluation of donepezil-like compounds as AChE and BACE-1 inhibitors. *American Chemical Society Medicinal Chemistry Letters*, 7(5), 470-5.
263. Cheung, J., Rudolph, M. J., Burshteyn, F., Cassidy, M. S., Gary, E. N., Love, J., and Height, J. J. (2012). Structures of human (AChE) in complex with pharmacologically important ligands. *Journal of Medicinal Chemistry*, 55(22), 10282-6.
264. Viayna, E., Camps, P., Formosa, X., Galdeano, C., Gomez, T., Munoz-Torrero, D., and Palias, M. (2009). Novel donepezil-based inhibitors of acetyl- and (BChE) and (AChE) induced β -amyloid aggregation. *Journal of Medicinal Chemistry*, 51(12), 3588-98.
265. Bourne, Y., Taylor, P., Radić, Z., and Marchot, P. (2003). Structural insights into ligand interactions at the (AChE) peripheral anionic site. *The EMBO Journal*, 22(1), 1-12.
266. Özdemir, Z., Yılmaz, H., Sarı, S., Karakurt, A., Şenol, F. S., ve Uysal, M. (2017). Design, synthesis, and molecular modeling of new 3(2*H*)-pyridazinone derivatives as (AChE)/ BChE inhibitors. *Medicinal Chemistry Research*, 26(10), 2293-308.
267. Brus, B., Kosak, U., Turk, S., Pislari, A., Coquelle, N., Kos, J., and Gobec, S. (2014). Discovery, biological evaluation, and crystal structure of a novel nanomolar selective butyrylcholinesterase inhibitor. *Journal of medicinal chemistry*, 57(19), 8167-8179.

268. Mehta, M., Adem, A., ve Sabbagh, M. (2012). New acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *International Journal of Alzheimer's Disease*, Article ID 728883, 8 pages, doi: 10.1155/2012728983.
269. Romero, A., Cacabelos, R., Oset-Gasque, M. J., Samadi, A., and Marco-Contelles, J. (2013). Novel tacrine-related drugs as potential candidates for the treatment of Alzheimer's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 23(7), 1916-1922.
270. Chiu, P. Y., and Hsu, M. H. (2017). Comparison of vascular risk factors and metabolic syndrome among patients with dementia with Lewy bodies, Alzheimer's disease, and normal elderly. *Journal of the Neurological Sciences*, 381, 322.
271. Birks, J.S., Chong, L.Y., and Grimley-Evans, J. (2015). Rivastigmine for Alzheimer's disease. *Cochrane Database Systematic Review*, 9(4), 1465-858.
272. Heinrich, M., and Lee-Teoh, H. (2004). Galanthamine from snowdrop the development of a modern drug against Alzheimer's disease from local Caucasian knowledge. *Journal of Ethnopharmacology*, 92(2-3), 147-62.
273. Caplan, B., Bogner, J., Brenner, L., Malec, J., Östberg, A., Virta, J., and Arponen, E. (2018). Brain Cholinergic Function and Response to Rivastigmine in Patients With Chronic Sequels of Traumatic Brain Injury: A PET Study. *Journal of Head Trauma Rehabilitation*, 33(1), 25-32(8).
274. Machálková, M., Schejbal, J., Glatz, Z., and Preisler, J. (2018). A label-free MALDI TOF MS-based method for studying the kinetics and inhibitor screening of the Alzheimer's disease drug target β -secretase. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410(28), 7441-8.
275. Mao, F., Huang, L., Luo, Z., Liu, A., Lu, C., Xie, Z., and Li, X. (2012). O-Hydroxyl- or o-amino benzylamine-tacrine hybrids: Multifunctional biometals chelators, antioxidants, and inhibitors of cholinesterase activity and amyloid- β aggregation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 20(19), 5884-5892.
276. Liu, W., Wang, H., Li, X., Xu, Y., Zhang, J., Wang, W., and Zhang, H. (2018). Design, synthesis and evaluation of vilazodone-tacrine hybrids as multitarget-directed ligands against depression with cognitive impairment. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 26(12), 3117-25.
277. Triggle, D.J., Mitchell, J.M., and Filler, R. (1998). The Pharmacology of Physostigmine. *CNS Drug Reviews*, 4(2), 87-136.
278. Arens, A.M., Shah, K., Al-Abri, S., Olson, K.R., and Kearney, T. (2018). Safety and effectiveness of physostigmine: a 10-year retrospective review. *Clinical Toxicology (Phila)*, 56(2), 101-7.
279. Işık, A.T., Bozoğlu, E., ve Eker, D. (2012). AChE and BuChE inhibition by rivastigmin have no effect on peripheral insulin resistance in elderly patients with Alzheimer disease. *Journal of Nutrition*, 16(2), 139-41.

280. Gabr, M.T., and Abdel-Raziq, M.S. (2018). Structure-based design, synthesis, and evaluation of structurally rigid donepezil analogues as dual AChE and BACE-1 inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 28(17), 2910-2913.
281. Naharci, M. I., Ozturk, A., Yasar, H., Cintosun, U., Kocak, N., Bozoglu, E., and Doruk, H. (2015). Galantamine improves sleep quality in patients with dementia. *Acta Neurologica Belgica*, 115(4), 563-568.
282. Hanazawa, T., Kamijo, Y., Yoshizawa, T., Fujita, Y., Usui, K., and Haga, Y. (2018). Acute cholinergic syndrome in a patient with Alzheimer's disease taking the prescribed dose of galantamine. *Psychogeriatrics*, 18(5):434-435.
283. Nakagawa, R., Ohnishi, T., Kobayashi, H., Yamaoka, T., Yajima, T., Tanimura, A., and Yoshizawa, K. (2017). Long-term effect of galantamine on cognitive function in patients with Alzheimer's disease *versus* a simulated disease trajectory: an observational study in the clinical setting. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 13, 1115-1124.
284. Huang, X. T., Qian, Z. M., He, X., Gong, Q., Wu, K. C., Jiang, L. R., and Ke, Y. (2014). Reducing iron in the brain: a novel pharmacologic mechanism of huperzine A in the treatment of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 35(5), 1045-1054.
285. Ding, R., Fu, J.G., Xu, G.Q., Sun, B.F., and Lin, G.Q. (2014). Divergent total synthesis of the Lycopodium alkaloids huperzine A, huperzine B, and huperzine U. *The Journal of Organic Chemistry*, 79(1), 240-250.
286. Wang, R., Yan, H., and Tang, X.C. (2006). Progress in studies of huperzine A, a natural cholinesterase inhibitor from Chinese herbal medicine. *Acta Pharmacologica Sinica*, 27(1), 1-26.
287. Mele, T., and Jurič, D.M. (2014). Metrifonate, like acetylcholine, up-regulates neurotrophic activity of cultured rat astrocytes. *Pharmacological Reports*, 66(4), 618-623.
288. Lao, K., Ji, N., Zhang, X., Qiao, W., Tang, Z., and Gou, X. (2018). Drug development for Alzheimer's disease. *Journal of Drug Targeting Review*, 27(2), 164-173.
289. Anand, A., Patience, A. A., Sharma, N., and Khurana, N. (2017). The present and future of pharmacotherapy of Alzheimer's disease: A comprehensive review. *European Journal of Pharmacology*, 815, 364-375.
290. Ozcelik, A. B., Gokce, M., Orhan, I., Kaynak, F., ve Şahin, M. F. (2010). Synthesis and antimicrobial, (AChE) and BChE inhibitory activities of novel ester and hydrazide derivatives of 3(2H)-pyridazinone. *Arzneimittel Forschung*, 60(7), 452-458.
291. Utku, S., Gökçe, M., Aslan, G., Bayram, G., Ülger, M., Emekdaş, G., ve Şahin, M. F. (2011). Synthesis and *in vitro* antimycobacterial activities of novel 6- substituted-3(2H)-pyridazinone-2-acetyl-2-(substituted/ nonsubstituted acetophenone)hydrazones. *Turkish Journal of Chemistry*, 35(2), 331-339.

292. Kılıc, B., Erdogan M., Gulcan O. H., Aksakal F., Oruklu, N., Dogruer D. S. (2019). Design, Synthesis and Investigation of New Pyridazinone Derivatives as Both Cholinesterase and A β -Aggregation Inhibitors, *Home / Medicinal Chemistry*, 15(1), 59-76.
293. Fang, J., Li, Y., Liu, R., Pang, X., Li, C., Yang, R., and Du, G. H. (2015). Discovery of multitarget-directed ligands against alzheimer's disease through systematic prediction of chemical-protein interactions. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 55(1), 149-164.
294. Wenzel, T.J., and Klegeris, A. (2018). Novel multi-target directed ligand-based strategies for reducing neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Life Sciences*, 207, 314-322.
295. Guzior, N., Wickowska, A., Panek, D., and Malawska, B. (2015). Recent development of multifunctional agents as potential drug candidates for the treatment of alzheimer's disease. *Current Medicinal Chemistry*, 22, 373-404.
296. Sameem, B., Saeedi, M., Mahdavi, M., and Shafiee, A. (2018). A review on tacrine-based scaffolds as multi-target drugs (MTDLs) for Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 128(10), 332-345.
297. Chioua, M., Buzzi, E., Moraleda, I., Iriepa, I., Maj, M., Wnorowski, A., and López-Alvarado, P. (2018). Tacripyrimidines, the first tacrine-dihydropyrimidine hybrids, as multi-target-directed ligands for Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 155, 839-846.
298. Zhang, Y., Li, P., Feng, J., and Wu, M. (2016). Dysfunction of NMDA receptors in Alzheimer's disease. *Neurological Sciences*, 37(7), 1039-1047.
299. Bolognesi, M. L., Cavalli, A., and Melchiorre, C. (2009). Memoquin: a multi-target-directed ligand as an innovative therapeutic opportunity for Alzheimer's disease. *Neurotherapeutics*, 6(1), 152-162.
300. Sterling, J., Herzig, Y., Goren, T., Finkelstein, N., Lerner, D., Goldenberg, W., ... & Toth, G. (2002). Novel dual inhibitors of AChE and MAO derived from hydroxy aminoindan and phenethylamine as potential treatment for Alzheimer's disease. *Journal of Medicinal Chemistry*, 45(24), 5260-5279.
301. Gökhan-Kelekçi, N., Yabanoğlu, S., Küpeli, E., Salgın, U., Özgün, Ö., Uçar, G., ve Bilgin, A. A. (2007). A new therapeutic approach in Alzheimer disease: Some novel pyrazole derivatives as dual MAO-B inhibitors and antiinflammatory analgesics. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 15(17), 5775-86.
302. Pan, W., Hu, K., Bai, P., Yu, L., Ma, Q., Li, T., and Sang, Z. (2016). Design, synthesis and evaluation of novel ferulic acid-memoquin hybrids as potential multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 26(10), 2539-2543.
303. Capurro, V., Busquet, P., Lopes, J. P., Bertorelli, R., Tarozzo, G., Bolognesi, M. L., and Cavalli, A. (2013). Pharmacological characterization of memoquin, a multi-target compound for the treatment of alzheimer's disease. *Plos One*, 8(2), 56870.

304. Cecilia Rodrigues Simoes, M., Pereira Dias Viegas, F., Soares Moreira, M., de Freitas Silva, M., Maximo Riquiel, M., Mattos da Rosa, P., and Viegas, C. (2014). Donepezil: an important prototype to the design of new drug candidates for Alzheimer's disease. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 14(1), 2-19.
305. Rizzo, S., Bartolini, M., Ceccarini, L., Piazzzi, L., Gobbi, S., Cavalli, A., and Rampa, A. (2010). Targeting Alzheimer's disease: Novel indanone hybrids bearing a pharmacophoric fragment of AP2238. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 18(5), 1749-60.
306. Özer, E. Ö., Tan, O. U., Ozadali, K., Küçükkılınç, T., Balkan, A., ve Uçar, G. (2013). Synthesis, molecular modeling and evaluation of novel N'-2-(4-benzylpiperidin-/piperazin-1-yl) acylhydrazone derivatives as dual inhibitors for cholinesterases and A β aggregation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 23(2), 440-3.
307. Catto, M., Berezin, A. A., Re, D. L., Loizou, G., Demetriades, M., De Stradis, A., and Carotti, A. (2012). Design, synthesis and biological evaluation of benzo[e] [1,2,4] triazin-7(1*H*)-one and [1,2,4]-triazino[5,6,1-jk] carbazol-6-one derivatives as dual inhibitors of beta-amyloid aggregation and acetyl/butyryl cholinesterase. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 58, 84-97.
308. Ekiz, M., Tutar, A., Ökten, S., Bütün, B., Koçyiğit, Ü. M., Taslimi, P., ve Topçu, G. (2018). Synthesis, characterization, and SAR of arylated indenoquinoline- based cholinesterase and carbonic anhydrase inhibitors. *Archiv der Pharmazie - Chemistry in Life Sciences*, 351(9), 1800167.
309. Chen, Y., Sun, J., Fang, L., Liu, M., Peng, S., Liao, H., and Zhang, Y. (2012). Tacrineferulic acid-nitric oxide (NO) donor trihybrids as potent, multifunctional acetyl and BChE inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 55, 4309-432.
310. Messerer, R., Dallanoce, C., Matera, C., Wehle, S., Flammini, L., Chirinda, B., and Decker, M. (2017). Novel biparmacophoric inhibitors of the cholinesterases with affinity to the muscarinic receptors M 1 and M 2. *MedChemComm*, 8(6), 1346-1359.
311. Fernández-Bachiller, M. I., Pérez, C., González-Munoz, G. C., Conde, S., López, M. G., Villarroya, M., and Rodríguez-Franco, M. I. (2010). Novel Tacrine-8-Hydroxyquinoline Hybrids as Multifunctional Agents for the Treatment of Alzheimer's Disease, with Neuroprotective, Cholinergic, Antioxidant, and Copper-Complexing Properties. *Journal of Medicinal Chemistry*, 53(13), 4927-37.
312. Chen, Y., Zhu, J., Mo, J., Yang, H., Jiang, X., Lin, H., and Hou, J. (2018). Synthesis and bioevaluation of new tacrine-cinnamic acid hybrids as cholinesterase inhibitors against Alzheimer's disease. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 33(1), 290-302.
313. Parsons, C. G., Danysz, W., Dekundy, A., and Pulte, I. (2013). Memantine and cholinesterase inhibitors: complementary mechanisms in the treatment of Alzheimer's disease. *Neurotoxicity Research*, 24(3), 58-69.

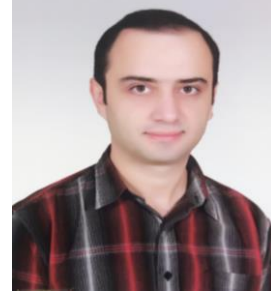
314. Zhao, L., Cheng, X., and Zhong, C. (2018). Implications of Successful Symptomatic Treatment in Parkinson's Disease for Therapeutic Strategies of Alzheimer's Disease. *ACS Chemical Neuroscience*, 10(2), 922-930.
315. Lopes, J. P., Tarozzo, G., Reggiani, A., Piomelli, D., and Cavalli, A. (2013). Galantamine potentiates the neuroprotective effect of memantine against NMDA-induced excitotoxicity. *Brain and Behavior*, 3(2), 67-74.
316. Peglow, T. J., Schumacher, R. F., Cargnelutti, R., Reis, A. S., Luchese, C., Wilhelm, E. A., and Perin, G. (2017). Preparation of bis(2-pyridyl) diselenide derivatives: Synthesis of selenazolo[5,4-b] pyridines and unsymmetrical diorganyl selenides, and evaluation of antioxidant and anticholinesterasic activities. *Tetrahedron Letters*, 58(38), 3734-3738.
317. Bag, S., Ghosh, S., Tulsan, R., Sood, A., Zhou, W., Schifone, C., and Török, M. (2013). Design, synthesis and biological activity of multifunctional α,β -unsaturated carbonyl scaffolds for Alzheimer's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 23(9), 2614-2618.
318. Villamizar, M. C. O., Galvis, C. E. P., Méndez, L. Y. V., and Kouznetsov, V. V. (2018). Coumarin-Based Molecules as Suitable Models for Developing New Neuroprotective Agents Through Structural Modification. In *Discovery and Development of Neuroprotective Agents from Natural Products*. Elsevier, 149-235.
319. Basha, S. J., Mohan, P., Yeggoni, D. P., Babu, Z. R., Kumar, P. B., Rao, A. D., and Damu, A. G. (2018). New Flavone-Cyanoacetamide Hybrids with a Combination of Cholinergic, Antioxidant, Modulation of β -Amyloid Aggregation, and Neuroprotection Properties as Innovative Multifunctional Therapeutic Candidates for Alzheimer's Disease and Unraveling Their Mechanism of Action with Acetylcholinesterase. *Molecular pharmaceuticals*, 15(6), 2206-2223.
320. Tu, Y., Huang, J., and Li, Y. (2018). Anticholinesterase, antioxidant, and beta-amyloid aggregation inhibitory constituents from *Cremastra appendiculata*. *Medicinal Chemistry Research*, 27, 857-863.
321. Li, Q., Tu, Y., Zhu, C., Luo, W., Huang, W., Liu, W., and Li, Y. (2017). Cholinesterase, β -amyloid aggregation inhibitory and antioxidant capacities of Chinese medicinal plants. *Industrial Crops and Products*, 108, 512-519.
322. Jalili-Baleh, L., Babaei, E., Abdpour, S., Bukhari, S. N. A., Foroumadi, A., Ramazani, A., and Khoobi, M. (2018). A review on flavonoid-based scaffolds as multi-target-directed ligands (MTDLs) for Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 152, 570-589.
323. Angelova, P.R., and Abramov, A.Y. (2018). Role of mitochondrial ROS in the brain: from physiology to neurodegeneration. *FEBS Letters*, 692-702.
324. Butterfield, D.A., and Boyd-Kimball, D. (2018). Oxidative stress, amyloid-peptide, and altered key molecular pathways in the pathogenesis and progression of alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 62. 1345-67.

325. Mecocci, P., Boccardi, V., and Cecchetti, R. (2018). A long journey into aging, brain aging, and alzheimer's disease following the oxidative stress tracks. *Journal of Alzheimer's Disease*, 62, 1319-35.
326. Zhao, Y. and Zhao, B. (2013). Oxidative stress and the pathogenesis of alzheimer's disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 316523.
327. Markesbery, W.R. (1997). Oxidative stress hypothesis in alzheimer's disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 23(1), 134-147.
328. Rosini, M., Simoni, E., Milelli, A., Minarini, A., and Melchiorre, C. (2014) Oxidative stress in alzheimer's disease: are we connecting the dots?. *Journal of Medicinal Chemistry*, 204(57), 2821-2831.
329. Elman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., and Featherstone, R.M. (1961) A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7, 88-95, 196.
330. Zdrazilova, P., Stepankova, S., Komers, K., Ventura, K., and Cegan, A. (2004). Half inhibition concentration of new cholinesterase inhibitors. *Z. Naturforsch*, 59, 293 – 296.
331. Abbasoğlu, U. (1996). Antimikrobiyal aktivite araştırma yöntemleri. *FABAD Journal Pharm Science*, 22, 111-8.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : AKDEMİR Alp Giray
Uyruğu : T.C.
Doğum Tarihi ve yeri : 17/09/1982 Altındağ
Medeni Hali : Evli
Cep Telefonu : 0 533 240 24 62
e-posta : alpgirayakdemir@hotmail.com



Eğitim Derecesi

Yüksek Lisans

Lisans

Lise

Eğitim Birimi

Gazi Üniversitesi
Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Elazığ Mehmet Akif Ersoy Lisesi

Mezuniyet Tarihi

Devam Ediyor

2005

2000

İş Deneyimi, Yıl

2006-devam ediyor

Çalıştığı Yer

Akdemir Eczanesi

Görev

Sahibi

Yabancı Dil

İngilizce



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..

