

OCAK 2022

Yüksek Lisans Tezi - Biyoloji

NİDA NUR DERELİ ÇALIŞKAN

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ALZHEIMER HASTALIĞINA KARŞI MOLEKÜLER
MODELLEME YÖNTEMİ KULLANILARAK YENİ
İNHİBİTÖRLERİN DİZAYN EDİLMESİ VE FARKLI *in silico*
YÖNTEMLER KULLANILARAK BU İNHİBİTÖRLERİN İLAÇ
BENZERLİK VE ADMET PROFİLLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

BİYOLOJİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

NİDA NUR DERELİ ÇALIŞKAN
OCAK 2022

**ALZHEIMER HASTALIĞINA KARŞI MOLEKÜLER
MODELLEME YÖNTEMİ KULLANILARAK YENİ
İNHİBİTÖRLERİN DİZAYN EDİLMESİ VE FARKLI *in silico*
YÖNTEMLER KULLANILARAK BU İNHİBİTÖRLERİN İLAÇ
BENZERLİK VE ADMET PROFİLLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Gaziantep Üniversitesi

Biyoloji

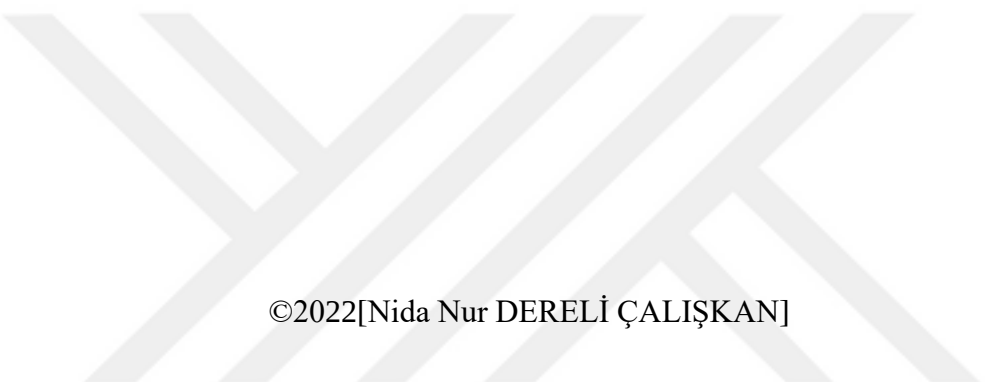
Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Doç. Dr. Işık Didem KARAGÖZ

Nida Nur DERELİ ÇALIŞKAN

Ocak 2022



©2022[Nida Nur DERELİ ÇALIŞKAN]

İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilmek suretiyle tezde yer aldığını beyan ederim.

Nida Nur DERELİ ÇALIŞKAN

ABSTRACT

DESIGN OF NEW INHIBITORS AGAINST ALZHEIMER'S DISEASE USING MOLECULAR MODELING AND EVALUATION OF THE DRUG SIMILARITY AND ADMET PROFILES OF THESE INHIBITORS USING DIFFERENT *in silico* METHODS

DERELİ CALISKAN Nida Nur

M.Sc. in Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Işık Didem KARAGÖZ

January, 2022

121 pages

Alzheimer's disease is a multifactorial disease characterized by amyloid beta deposition, hyperphosphorylation and decreased cholinergic transmission. From this point of view, in this study, the inhibitory effects of cinnamaldehyde and vanillin Schiff bases and amine derivatives on acetylcholinesterase (AChE), butyrylcholinesterase (BChE), beta secretase (BACE1), glycogen synthase kinase 3 beta (GSK3 β), histone deacetylase 2 and 6 enzymes were evaluated. First of all, by using the "Swiss Target Prediction and Similarity Ensembl Approach" tools, which enzymes were determined by the active substances, molecular docking and drug similarity-toxicology analyzes were performed with the "Autodock 4.2.2" software. As a result of the analysis, it was observed that all compounds had inhibitory effects on at least two target enzymes. In addition, it was determined that all compounds comply with Lipinski's 5 rule and are within toxicological limits. As a result, it is thought that the compounds can be evaluated in a multi-drug strategy and used as a neuroprotective anti-Alzheimer's agent.

Key Words: Alzheimer, Molecular Docking, ADMET, Vanillin, Schiff Bases, Amines

ÖZET

ALZHEIMER HASTALIĞINA KARŞI MOLEKÜLER MODELLEME YÖNTEMİ KULLANILARAK YENİ İNHİBİTÖRLERİN DİZAYN EDİLMESİ VE FARKLI *in silico* YÖNTEMLER KULLANILARAK BU İNHİBİTÖRLERİN İLAÇ BENZERLİK VE ADMET PROFİLLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

DERELİ ÇALIŞKAN Nida Nur
Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji

Danışman: Doç. Dr. Işık Didem KARAGÖZ

Ocak 2022

121 sayfa

Alzheimer hastalığı amiloid beta birikimi, tau hiperfosforilasyonu ve kolinerjik iletimin azalmasıyla karakterize multifaktöriyel bir hastalıktır. Buradan hareketle bu tez çalışmasında sinnnamaldehit ve vanilinin Schiff bazları ve amin türevlerinin asetilkolinesteraz (AChE), bütirilkolinesteraz (BChE), beta sekteraz (BACE1), glikojensentazkinaz 3 beta (GSK3 β), histondeasetilaz 2 ve 6 enzimleri üzerindeki inhibitör etkisi değerlendirilmiştir. Öncelikle “Swiss Target Prediction ve Similarity Ensembl Approach” araçlarıyla etken maddelerin belirlenen enzimlerin hangilerini hedefledikleri belirlenerek “Autodock 4.2.2” yazılımı ile moleküler docking ve ilaç benzerlik-toksoloji analizleri yapılmıştır. Analizler sonucunda tüm bileşiklerin en az iki hedef enzim üzerinde inhibitör etki yaptığı görülmüştür. Ayrıca tüm bileşiklerin Lipinski’nin 5 kuralına uyduğu ve toksikolojik sınırlarda olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak bileşiklerin çoklu ilaç stratejisinde değerlendirilebileceği ve nöroprotektif olarak anti-Alzheimer ajanı olarak kullanabilecek düzeyde olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Alzheimer, Moleküler Docking, ADMET, Schiff Bazları, Aminler



“gelecekteki bebeğimize”

TEŞEKKÜR

Bu çalışma süresince tüm bilgilerini benimle paylaşmaktan kaçınmayan, her türlü konuda desteğini benden esirgemeyen, çalışma esnasında yoluma ışık olan ve tezimde büyük emeği olan, Gaziantep Üniversitesi öğretim üyelerinden danışman hocam, Sayın Doç. Dr. Işık Didem KARAGÖZ'e sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım. Tez kapsamında kullanılan fitokimyasalların kimyasal formüllerinin temininde yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Ahmet ÇAKIR'a, moleküler docking yönteminin uygulanmasında deneyimleri ile katkılarından ötürü Sayın Prof. Dr. Hasan Basri İLA ve Arş. gör. Mehmet Tahir HÜSUNET'e teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca çalışma alanlarımız çok farklı olsa dahi her zaman yardımcı olmaya çalışan ve mesleki deneyimlerini benden esirgemeyen ayrıca Gaziantep'e alışma sürecimde de her zaman desteğini hissettiğim değerli meslektaşım Uzm. Biyolog Başak SİMİTÇİOĞLU'na çok teşekkür ederim.

Bütün eğitim hayatım boyunca yanımda olan, desteklerini esirgemeyen ve akademik kariyerime en az benim kadar önem veren, her zaman daha iyisini yapabilmem adına bana güç veren en kıymetlilerim annem ve babama çok teşekkür ederim. En büyük teşekkürümü üniversite hazırlık sürecim dahil her anımda yanımda olan, bu kadar strese ve zorluğa rağmen desteği ve sevgisiyle hep güç veren, ruhumun diğer yarısı çok değerli eşim Kemal ÇALIŞKAN'a sunuyorum, sen olmasan da elbet olurdu ama eksik olurdu.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ABSTRACT	v
ÖZET.....	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
TABLolar LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xiii
KISALTMALAR LİSTESİ.....	xvi
BÖLÜM I:GİRİŞ	1
BÖLÜM II:GENEL BİLGİLER	5
2.1 Alzheimer Hastalığı.....	5
2.2 Alzheimer Hastalığı'nın Oluşumu ile İlgili Hipotezler ve Sinyal Yolakları	6
2.2.1 Amiloid Kaskad Hipotezi	6
2.2.2 Tau Hipotezi.....	7
2.2.3 Oksidatif Stres Hipotezi.....	8
2.2.4 Epigenetik Mekanizmalar ve Histon Asetilasyonu.....	9
2.2.5 Kolinergik Hipotez	11
2.3 Tedavi.....	12
2.4 Asetilkolinesteraz Enzimi (AChE).....	14
2.4.1 Katalitik Aktif Yöre (CAS).....	14
2.4.2 Periferik Anyonik Yöre (PAS).....	15
2.5 Bütirikolinesteraz Enzimi (BChE)	15
2.6 Beta-Sekretaz-1 Enzimi (β -Bölgesi APP Parçalama Enzimi, BACE1)	17
2.7 Glikojen Sentazkinaz 3-Beta (GSK3 β)	19
2.8 Histon Deasetilaz-2 (HDAC2)	20
2.9 Histon Deasetilaz-6 (HDAC6)	21
2.10 Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı	23

2.10.1 Moleküler Kenetlenme (Docking)	24
2.10.2 İlaç Benzerlik ve ADME Tahminleri.....	25
2.11 Fizikokimyasal Parametreler ve Bunların <i>in silico</i> Olarak Belirlenmeleri ...	26
2.11.1 Moleküler Ağırlık	26
2.11.2 Lipofilisite.....	26
2.11.3 Topolojik Polar Yüzey Alanı (TPSA).....	27
2.11.4 Hidrojen Bağı.....	27
2.11.5 Dönebilen (Rotatable) Bağ Sayısı.....	28
2.11.6 Molar Kırılabilirlik (Refractory) (MR)	28
2.11.7 Çözünürlük.....	29
2.11.8 Geçirgenlik/Permeabilite	29
2.11.9 Biyoyararlanım	30
2.12 ADME Özellikleri ve <i>in silico</i> Olarak Belirlenmeleri.....	30
2.12.1 Absorbsiyon/Emilim	30
2.12.2 Dağılım	30
2.13 Metabolizma.....	32
2.14 Atılım/Eliminasyon	33
2.15 Toksisite	33
2.16 Tarçın ve Sinnamaldehit.....	34
2.17 Vanilya ve Vanilin.....	37
2.18 Histamin ve Dopamin.....	40
2.19 Schiff (İmin) Bazları	42
2.20 LİTERATÜR ÖZETİ	42
BÖLÜM III: MATERYAL-METOT	46
3.1 Kullanılan Programlar ve Veritabanları	46
3.1.1 Swiss Target Prediction (STP) ve Similarity Ensembl Approach (SEA).....	46
3.1.2 Autodock 4.2.6.....	46
3.1.3 Discovery Studio 2021.....	46
3.1.4 SwissADME	47
3.1.5 ADMETlab 2.0	47
3.1.6 Protox-II.....	47
3.2 Etken Maddelerin STP ve SEA Araçları Kullanılarak Yapılan Biyoaktivite Analizleri	47

3.3 Moleküler Kenetleme(Dockig) İçin Hazırlık İşlemleri	48
3.3.1 Enzimler ve Etken Maddelerin Discovery Studio Visualer Programı ile Hazırlanması.....	48
3.3.2 Autodocks Tools Arayüzü Kullanılarak Docking Hesaplamalarının Yapılması.....	51
3.3.3 Enzim-Ligand Etkileşimlerinin Görüntülemelerinin İncelenmesi.....	52
3.4 Moleküllerin İlaç Benzerlik, ADME Çalışmaları	52
3.5 Protox-II Kullanılarak Toksikolojik Özelliklerinin Değerlendirilmesi.....	52
BÖLÜM IV:BULGULAR	53
4.1 STP ve SEA Araçları Kullanılarak Yapılan Biyoaktivite Analizi'nin Sonuçları.....	53
4.2 Moleküler Docking Analizi Bulguları.....	53
4.3 Moleküllerin İlaç Benzerlik, ADME ve Toksikoloji Bulguları	64
BÖLÜM V:TARTIŞMA.....	70
BÖLÜM VI:SONUÇ ve ÖNERİLER.....	79
KAYNAKLAR	81
ÖZGEÇMİŞ.....	122

TABLÖLAR LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 2.1	FDA Tarafından Onaylanmış AH ilaçları.....12
Tablo 2.2	İlaç Benzerlik Özellikleri.....28
Tablo 3.1	Alzheimer Hastalığı için Hedeflenen Enzimler Hakkında Bilgiler.....48
Tablo 3.2	Kullanılan Sınnamilaldehit Türevi Moleküllerin Adlandırılması ve 2B’lu Kimyasal Yapıları.....49
Tablo 3.3	Kullanılan Vanilin Türevi Moleküllerin Adlandırılması ve 2B’lu Kimyasal Yapıları.....50
Tablo 4.1	FDA Tarafından Onaylı İlaçlar ve Hedef Enzimlerinin Moleküler Docking Sonuçları.....54
Tablo 4.2	Sınnamalaldehit Türevi Sentezlenen Moleküllerin Biyoaktivite Analizi Sonucu Hedeflenen Enzimleri ve Moleküllerin Docking Sonuçları..... 54
Tablo 4.3	Vanilin Türevi Sentezlenen Moleküllerin Biyoaktivite Analizi Sonucu Hedeflenen Enzimleri ve Molekülün Docking Sonuçları.....54
Tablo 4.4	Moleküllerin hedef enzimleriyle oluşturdıkları komplekslerde H-bağı kurarak etkileştiği aminoasit kalıntıları.....55
Tablo 4.5	Moleküllerin Farmakokinetik Özelliklerinin Admetlab 2.0 ile Analizi.....55
Tablo 4.6	Moleküllerin ADME Özelliklerinin Admetlab 2.0 Üzerinden Analizi.....65
Tablo 4.7	Moleküllerin Protox-II Analiz Bulguları.....68

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa*

Şekil 2.1	APP Kesim Yolakları.....	7
Şekil 2.2	Tau Hiperfosforilasyonu Sonucu Oluşan Nörofibriler Yumaklar.....	8
Şekil 2.3	AChE Enzim Çukuru	15
Şekil 2.4	BChE Enziminin Aktif Bölgesi.....	17
Şekil 2.5	BACE1'in 3B yapısı.....	19
Şekil 2.6	GSK-3β'nin 3B yapısının gösterimi.....	20
Şekil 2.7	HDAC2 yapısı ve bölgeleri.....	21
Şekil 2.8	HDAC6 Enzimi'nin yapısı.....	23
Şekil 2.9	A. CADD proseslerinin temel adımları. B. Zaman ve maliyet yatırımları açısından geleneksel ve CADD'nin karşılaştırılması.....	24
Şekil 2.10	A. Tarçın. B. Sinnamaldehit 2B yapısı.....	37
Şekil 2.11	A. Vanilya baklası. B. Vanilinin 2B yapısı.....	40
Şekil 2.12	A. Histamin 2B yapısı. B. Dopamin 2B yapısı.....	42
Şekil 4.1	Donezepil, Galantamin ve Vorinostat'ın hedeflenen enzimler ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları.....	57
Şekil 4.2	CA2-AFL'nin hedeflenen enzimler ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları.....	57
Şekil 4.3	CA3-AFL'nin hedeflenen enzimler ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları.....	58
Şekil 4.4	CA4-AFL'nin hedeflenen enzimler ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları.....	58
Şekil 4.5	CADOPL'nin hedeflenen enzimler ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları.....	59
Şekil 4.6	CAVAL, CAHİSL ve CA3-AFA'nın hedeflenen enzimler ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları.....	59

Şekil 4.7	CA2-AFA'nın hedeflenen enzimler oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları.....	59
Şekil 4.8	CADOPA'nın hedeflenen enzimler ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları.....	60
Şekil 4.9	CAVAA'nın hedeflenen enzimler ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları.....	60
Şekil 4.10	CAHİSA'nın hedeflenen enzimler ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları.....	60
Şekil 4.11	VA2-AFL'nin hedeflenen enzimler ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları.....	61
Şekil 4.12	VA4-AFL'nin hedeflenen enzimler ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları.....	61
Şekil 4.13	VDOPL'nin hedeflenen enzimler ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları.....	61
Şekil 4.14	VAML'nin hedeflenen enzimler ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları.....	62
Şekil 4.15	VHİSL'in hedeflenen enzimler ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları.....	62
Şekil 4.16	V2-AFA'nın hedeflenen enzimler ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları.....	62
Şekil 4.17	V4-AFA'nın hedeflenen enzimler ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları.....	63
Şekil 4.18	VDOPA'nın hedeflenen enzimler ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları.....	63
Şekil 4.19	VAMA'nın hedeflenen enzimler ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları.....	63
Şekil 4.20	VHİSA'nın hedeflenen enzimler ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları.....	64
Şekil 4.21	Moleküllerin SwissADME Radar Görüntüleri.....	68

SEMBOLLER LİSTESİ

α	Alfa
β	Beta
ϵ	Epsilon
γ	Gama



KISALTMALAR LİSTESİ

AH	Alzheimer Hastalığı
APOE	Apolipoprotein E
Aβ	Amyloid- β
APP	Amiloid Prekürsör Protein
PSEN	Presenilin
TREM	Tetikleyici Reseptör
ACh	Asetilkolin
NFT	Nörofibriler Yumaklar
AChE	Asetilkolinesteraz
BChE	Bütirilkolinesteraz
NMDA	N-metil-D-aspartat
ADME	Absorbsiyon, Dağılım, Metabolizma, Eliminasyon
BACE1	Beta Sekretaz-1
GSK3β	Glikojen sentaz kinaz 3beta
HDAC	Histondeasetilaz
PET	Pozitron Emisyon Tomografisi
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
RNS	Reaktif Nitrojen Türleri
MAPK	Mikrotübül İlişkili Protein Kinaz
Bcl-2	B-hücreci lenfoma-2
HAT	Histon Asetil Transferaz
HDAC	Histon Deasetil Transferaz
DNA	Deoksiribonükleik Asit
RNA	Ribonükleik Asit
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
SSS	Santral Sinir Sistemi
MAPK	Mitojenle Etkinleşen Protein Kinaz
ADP	Adenozindifosfat
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi

Ca⁺⁺	Kalsiyum
GİS	Gastrointestinal
KBB	Kan-Beyin Bariyeri
kDa	Kilo dalton
LogP	Lipofilisitenin algoritması
TPSA	Topolojik Polar Yüzey Alanı
Caco-2	İnsan kolorektal adenokarsinom hücre hattı
MDCK	Madin-Darby köpek böbreği hücre hattı
PK	Farmakokinetik
HAS	İnsan Serum Albumini
P-gp	P-gikoprotein
CYP-450	Sitokrom P-450
LogS	Suda Çözünürlüğün Logaritması
LogD	Dağılım Katsayısı
CADD	Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı
ADT	Autodock Araçları
QSAR	Kantitatif Yapı İlişkileri
QSPR	Nicel Yapı-Özellik İlişkisi
MTD	Çok Hedefli İlaç
PBB	Plazma Protein Bağlanması
VD	Dağılım Hacmi

BÖLÜM I

GİRİŞ

Günümüzde gelişen teknoloji beraberinde tıp alanında yenilikleri ve sağlık hizmetlerine ulaşımın kolaylaşmasını getirmiş ve bu da insan ömrünün uzamaya başlayarak yaşlı nüfusun artışına yol açmıştır. Bu artışla birlikte demans gibi mental hastalıkların meydana gelme olasılığı da artmaya başlamıştır (Altomare vd., 2021). Tüm demans vakalarının %50-70'ini oluşturan Alzheimer hastalığı (AH) (Srivastava vd., 2021), gelişmiş ülkelerde yaşlı popülasyonda ölüme neden olan hastalıklar arasında dördüncü sıradadır (Dünya Alzheimer Raporu, 2021). AH'nın, şu an dünya çapında yaklaşık 35 milyon kişiyi etkilediği ve 2050 yılına gelindiğinde bunun 115 milyona ulaşması beklenmektedir (Dünya Alzheimer Raporu, 2021). Bu rakamların ciddiyeti etkili bir tedavi geliştirmenin ne kadar acil olduğunu göstermektedir.

AH'nın patogenezi yapılan kapsamlı araştırmalara rağmen henüz tam olarak anlaşılamamış olsa da hastalığın gelişmesine yol açan belirli risk faktörleri tanımlanmıştır (Birks, 2006; Altomare vd., 2021). Genel olarak 65 yaş üstü olmakla birlikte AH için en önemli risk faktörleri ileri yaş bireyin en az bir Apolipoprotein E (APOE) ε4 aleli taşımasıdır (van der Lee vd., 2018; Knaopman vd., 2021). Ayrıca, özellikle 80 yaşından sonra, benzer bir amiloid-β (Aβ) yüküne sahip olsalar bile, kadınların daha yüksek tau yüküne sahip olma olasılığı olduğu için kadınların AH'na yakalanma olasılığı erkeklere göre daha fazladır (Scheltens vd., 2021). Bunlara ek olarak, aile hikayesi, diyabet, kardiyovasküler bozukluklar, obezite, travmatik beyin hasarı ve düşük eğitim düzeyi de diğer risk faktörleridir (Cummings vd., 2019; Altomare vd., 2021; Knaopman vd., 2021). AH'nın iki temel formu bulunmaktadır: 1) vakaların %90'dan fazlasında görülen sporadik (geç başlangıçlı) formu 2) vakaların %5'inden daha azında görülen ailevi (erken başlangıçlı) formu. Otozomal dominant olan erken başlangıçlı AH, 21. kromozom üzerinde yer alan amiloid prekürsör protein (APP) ve APP sürecinde rolü olan Presenilin 1 (PSEN1) ve Presenilin 2 (PSEN2)'nin

de dahil olduğu Aβ kodlayan genlerde meydana gelen mutasyonla ilişkili olarak ortaya çıkmaktadır. Geç-başlangıçlı olan AH'da ise hastalıkla ilişkili olarak 20'den fazla risk faktörü tanımlanmış olup, bu faktörlerden APO ε4'ün ve miyeloid hücreler tarafından eksprese edilen tetikleyici reseptör 2 (TREM2) varyantları hastalıkla en çok ilişkili olanlardır (Cheignon vd., 2018; Götz vd., 2018; Knaopman vd., 2021).

AH, protein birikimi, sinaps kaybı, nöronal kayıp, metal iyon birikimi ve bununla bağlantılı olarak oluşan oksidatif stres ve inflamasyon ile ilişkili; hafıza ve kognitif süreçlerde meydana gelen bozukluklarla karakterize olmakla birlikte yaşam kalitesinde önemli düzeyde düşüşe neden olan, ilerleyici nörodejeneratif bir hastalıktır (Knaopman vd., 2021). Hastalığın şiddeti arttıkça, AH hastalarının, kendi kendine bakım yeteneğini zamanla kaybetmesine neden olan bozulmuş dil, oryantasyon ve yürütücü işlevler dahil olmak üzere çeşitli semptomlar görülmektedir. Bu semptomların sebeplerinden biri kognitif fonksiyonlarla ilişkili olan asetilkolin (ACh) nörotransmitterinin azalmasıyla ortaya çıkan bozukluklardır. Yapılan çalışmalar AH'nın multifaktöriyel bir hastalık olarak oluştuğunu göstermekle birlikte, AH'nın Aβ birikimi ve hiperfosforile tau içeren nörofibriler yumaklar (NFT'ler) olmak üzere iki ayırt edici patolojisi bulunmaktadır (Jack vd., 2018; Knaopman vd., 2021). Ayrıca klinik semptomların başlamasından 10-20 yıl öncesinde beyin dokusunda amiloid birikiminin görülebildiği bildirilmiştir (Pluta vd., 2020).

Farklı dokularda yaşlanmayla birlikte genetik mekanizmaların yanında farklı epigenetik mekanizmaların da değiştiği bildirilmektedir. Değişen bu mekanizmalardaki bozukluklar yaşa bağlı gelişen kanser ve nörodejenerasyon gibi hastalıkların oluşumuna katkı sağlamaktadır (Cacabelos ve Torrellas, 2015). Bu açıdan bakıldığında, epigenetik mekanizmaları hedefleyen tedavi stratejilerinin, AH dahil pek çok nörodejeneratif hastalık için kullanılabileceği görülmektedir. Son zamanlarda yapılan araştırmaların da AH'nın patofizyolojisinde rol alan epigenetik mekanizmalar üzerine yoğunlaşmış olması bu fikri destekler niteliktedir (Liu vd., 2018).

Günümüzde AH'nın tedavisinde kullanılan ve FDA tarafından onaylı olan altı ilacın dördü hastalığın klinik semptomları ile de ilişkili olan ACh seviyesindeki azalmanın arttırılmasına yöneliktir (Zagórska ve Jaromin, 2020). Bu süreçte ACh'i parçalayan kolinesteraz enzimlerinin inhibisyonu üzerine kurulan mekanizmalar kullanılmıştır. İlk onaylanan ilaç "takrin" güçlü bir asetilkolinesteraz (AChE) inhibitörü olmakla

birlikte bütirilkolinesteraz (BChE) inhibisyonu da yapabilmektedir. Ancak yüksek seviyede hepatotoksik etki gösterdiği için kullanımı durdurulmuştur (Watkins vd., 1994). Aynı mekanizma ile hareket eden ilaçlar “galantamin ve rivastigmin” tedavide aktif olarak kullanılmaktadır. “Donezepil” ise sadece AChE inhibitörü olarak kullanılmaktadır. Ayrıca “memantin” glutamatın eksitotoksik etkisini azaltmaktadır (Zagórska ve Jaromin, 2020). 2021 yılında hızlı onay alarak piyasa sürülen ve oldukça spekülasyonlara açık olan “aducanumab” insan immünoglobulin gama 1 (IgG1) monoklonal antikoru olup çözülebilen ya da çözilemeyen A β agregatları üzerinde pasif immunizasyon sağlayarak A β temizlenmesini arttırmaktadır (Dhillon, 2021).

Kolinesteraz inhibitörleri orta-şiddetli AH’nın semptomatik tedavilerinde kullanılmasının yanı sıra ciddi yan etkilere de sahiptir (Zagórska ve Jaromin, 2020; Miziak vd., 2021). Bu yüzden Absorbsiyon, Dağılım, Metabolizma, Eliminasyon (ADME) ve toksikoloji özellikleri ilaç olma potansiyeline sahip yeni kolinesteraz inhibitörlerinin geliştirilmesi gerektiği görülmektedir. Ayrıca son zamanlarda AH ile ilişkili moleküler sinyal yolları aydınlatılmaya başlanmış ve buradan yola çıkarak öncelikle A β ve tau mekanizmaları olmakla beraber mitokondriyal yollar ve epigenetik mekanizmaları da baz alan yeni terapötik ajan arayışları ortaya çıkmıştır (Rivieccio vd., 2009; Salau vd., 2020).

İlaç dizaynı ve geliştirme sürecinde bilgisayar tekniklerini kullanmak giderek önem kazanmıştır. Bu tekniklerden biri olan ve genellikle ilaç adaylarının, ilacın afinitesini ve aktivitesini tahmin etmek amacıyla hedef proteinlere karşı bağlanma oryantasyonlarını öngörmek için kullanılan moleküler docking, kullanım kolaylığı sağlamasından ötürü daha çok tercih edilmekte olup gün geçtikçe geliştirilmektedir. Bir çok başarı hikayesi bulunan moleküler docking tekniği şu ana kadar çeşitli ilaçların keşfinde kullanılmıştır.

Bu tezde gıda endüstrisinde yaygın kullanımlarının yanı sıra bir çok farklı farmakolojik özelliğe sahip olan vanillin ve sinnamaldehit moleküllerinden yola çıkılarak tasarlanmış olan sekonder amin ve imin bazları (Schiff bazları) türevi moleküllerin Alzheimer tedavisindeki rolleri araştırılmıştır. Bu moleküllerin *in silico* araçlar kullanılarak ADME ve toksikoloji profilleri hem de AH tedavi stratejileri arasında yer alan AChE, BChE, beta sekretaz-1 (BACE1), glikojen sentazkinaz 3 β

(GSK3 β), Histondeasetilaz-2 (HDAC2) ve HDAC6 enzimleri üzerindeki inhibitor etkileri moleküler docking yöntemi kullanılarak belirlenmiştir.



BÖLÜM II

GENEL BİLGİLER

2.1 Alzheimer Hastalığı

Alzheimer hastalığı, tipik olarak 65 yaşından sonra başlayan, bilişsel ve zihinsel işlevlerde yavaş, kademeli ve geri dönüşümsüz bir bozulma ile karakterize ve yaşlı popülasyonda görülen en yaygın nörodejeneratif hastalıklardan biridir. Ayrıca hastalık göz ardı edilemeyecek düzeyde hafıza kaybına, yeni hatıralar oluşturmamaya ve davranış bozukluklarına yol açmaktadır (Vecchio vd., 2021).

Hastalığın kesin teşhisi için beyin dokularının otopsi gerekliliği olsa da günümüzde giderek artan çalışmalar klinik kriterlerle birleştirilmiş beyin omurilik sıvısında (BOS) bulunan $A\beta_{40}$, $A\beta_{42}$ veya bunların oranının ve toplam tau veya hiperfosforile tau'nun ve amiloid ve tau-pozitron emisyon tomografisinin (PET) hastalığın canlı insanlarda teşhis edilmesinde biyobelirteç olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Jack vd., 2018; Knaopman vd., 2021). PET verilerine göre, $A\beta$ öncelikle asosiyasyon korteksleri gibi yüksek enerji ihtiyacı olan beyin bölgelerinde birikmekte ve daha sonra neokorteksten allokortekse buradan beyin sapına geçerek serebelluma ulaşmaktadır (Grothe vd., 2017). Tau patolojisinin ise ilk olarak, tau birikimilokus coeruleus'tan başladığını öneren araştırmaların yanında (Braak vd., 2011), (trans)entorhinal kortekste belirginleştiği, buradan limbik alanlara ve oradan neokortekse yayıldığı belirtilmektedir (Johnson vd., 2016).

AH'nın oluşumunun ve ilerlemesinin kesin nedenleri henüz tam olarak anlaşılmamış olmasına rağmen, şimdiye kadar elde edilen bilgiler AH'nın hem genetik hem de çevresel faktörlerin bir kombinasyonuna bağlı olan multifaktöriyel bir patoloji olduğunu göstermektedir (Prince vd., 2013). Bu bilgiler ışığında, AH'nın başlangıcı ile ilgili çeşitli hipotezler ortaya atılmıştır. Ayrıca bu hipotezler ile ilişkili farklı sinyal yolları belirlenmiştir.

2.2 Alzheimer Hastalığı'nın Oluşumu ile İlgili Hipotezler ve Sinyal Yolakları

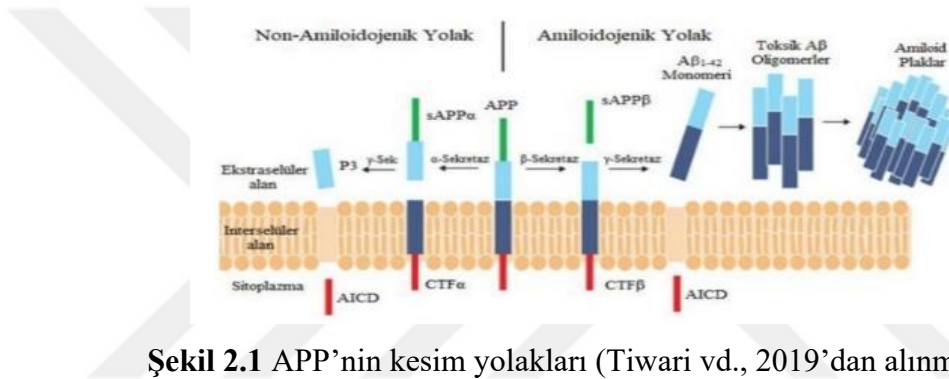
2.2.1 Amiloid Kaskad Hipotezi

Hastalığın patogenezi en iyi açıklayan bu hipotez, beynin değişik alanlarındaki A β plaklarının anormal birikiminin hastalık sürecinde oluşan nörodejenerasyonu tetiklediğini varsaymaktadır (Hardy ve Higgins, 1992). AH ile ilişkili genetik çalışmalar, monomerik, oligomerik, protofibriler ve fibriler yapılarda bulunabilen ve kendi kendine agregatlar oluşturabilen (Tyan vd., 2012) A β 'nin üretimi ve yıkımı arasında oluşan dengesizliğin nörodejenerasyona neden olduğunu göstermektedir (Barage ve Sonawane, 2015). A β peptidi, 4 kDa boyutunda, 39-43 aminoasit uzunluğunda olup (Tyan vd., 2012) çoğunlukla nöronal ve glial hücrelerde bulunan ve yüksek oranda korunmuş bir transmembran proteini olan APP'nin bir parçasıdır (Knaopman vd., 2021). APP'nin temel fonksiyonu tam anlamıyla anlaşılmamakla birlikte, nöronal plastisite ve sinaptik oluşumda kritik bir rol oynadığı düşünülmektedir (Nhan vd., 2015). APP üzerinde pro ya da anti-amiloid olması fark etmeksizin birincil proteolitik olaylar, α , β ve γ alt gruplarına ayrılan bir grup sekretaz enzimi tarafından transmembran bölgesinde veya çevresinde meydana gelmektedir (Nhan vd., 2015). APP'nin kesimi bu enzimler kullanılarak non-amiloidojenik ve amiloidojenik olmak üzere iki yolak üzerinden gerçekleşmektedir (Şekil 2.1) (Reedy ve Beal, 2008; Knaopman vd., 2021).

Non-amiloidojenik yolda oluşan ürünler toksik etki göstermemektedir (Reedy ve Beal, 2008). Bu yolda APP öncelikle α -sekretaz ile membrana bağlı olduğu alana 12 amino asit uzaklıktaki bir noktadan kesilmekte ve bu kesim sonucu çözünebilir ve toksik olmayan APP α (sAPP α) ile 83 aminoasitlik membrana bağlı C-terminal parçası- α (CTF- α , C83) oluşmaktadır. Daha sonra oluşan CTF- α γ -sekretaz tarafından kesilmekte ve p3 parçası ile membrana bağlı bölüm olan amiloid öncül protein hücre içi bölgesi (AICD) meydana gelmektedir (Tiwari vd., 2019; Knaopman vd., 2021).

Amiloidojenik yolda, BACE-1, APP'yi çözülebilir APP β (sAPP β) ve 99 aminoasit uzunluğundaki membrana bağlı C-terminal parçası- β (CTF- β , 99) üretimi ile sonuçlanan N terminal ucunun 671. aminosidinden kesmektedir. Daha sonra γ -sekretaz CTF- β 'yi transmembran bölgesinden kesmekte ve bu kesim sonucunda membrana bağlı bir AICD bölgesi ve 39-43 aminoasit uzunluğundaki A β parçaları

oluşmaktadır (Zhao ve Zhao, 2013). Farklı uzunlukta A β parçalarının oluşmasının nedeni ise γ -sekretazların APP'yi farklı aminoasit lokasyonlarından kesebilmesidir (Reedy ve Beal, 2008; Zhao ve Zhao, 2013). Plak oluşumunda ve nörotoksitede doğrudan rolü olan A β_{40} ve A β_{42} denilen iki ana A β peptit türü bulunmaktadır. Yaklaşık olarak %80-90 oranında oluşan A β_{40} , ciddi oranda nörotoksik olan ve agregat oluşturma eğilimi daha fazla olan ve yaklaşık %5-10 oranında oluşan A β_{42} 'den daha az nörotoksiktir (Tiiman vd., 2013; Tiwari vd., 2019). A β_{40} /A β_{42} agregasyonu, iyon kanalların bloke olması, değişmiş kalsiyum homeostazı, artan mitokondriyal oksidatif stres ve azalmış enerji metabolizması ile sonuçlanmaktadır. Bu da nöronal sağlığın bozulmasına ve son olarak nöronal hücre ölümüne yol açmaktadır (Tiwari vd., 2019).

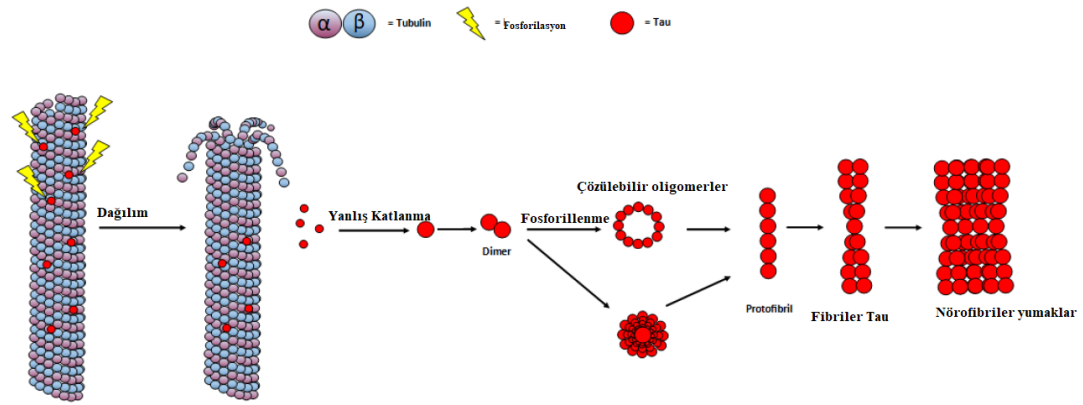


Şekil 2.1 APP'nin kesim yolları (Tiwari vd., 2019'dan alınmıştır).

2.2.2 Tau Hipotezi

Tau, Mikrotübül İlişkili Protein Tau (MAPT) geni tarafından kodlanmaktadır. Fizyolojik koşullar altında tau, hidrofilik ve doğal olarak katlanmamış ve N-terminal alan (1-186 rezidüleri) ve C-terminal alan (187-430 rezidüleri) olmak üzere iki alandan oluşan bir proteindir (Wang ve Mandelkow, 2016). Tau başlıca Santral Sinir Sistemi (SSS) nöronlarının aksonlarında eksprese edilirken ayrıca nöronların, oligodendrositlerin ve nöronal olmayan dokuların somatodendritik bölmesinde de bulunabilmektedir (Jameson vd., 1980). Fizyolojik koşullarda, tau proteininin temel işlevi, mikrotübüllerle ilişkili diğer proteinlerle birlikte mikrotübüllerin stabilitesini arttırmaktır. Nörodejenerasyon gibi patolojik koşullarda ise çözünür Tau monomerleri hücrede birikmekte ve agregatlar halinde kendi kendine birleşen oligomerler oluşturmaya başlamaktadır. Sağlıklı beyindeki normal tau ile patolojik tauyu birbirinden fosforilasyon, glikosilasyon, asetilasyon ve kesilmeyi içeren post-translasyonel modifikasyonlar ayırmaktadır (Lourdes vd., 2019). Fizyolojik şartlarda tanımlanan fosforilasyon bölgeleri N-terminal bölgesinde Ser46, Thr123, Ser198,

Ser199, Ser202, Ser208, Ser210, Thr212, Ser214, Thr217, Thr231 ve Ser235 ve C-terminal bölgesinde Ser396, Ser400, Thr403, Ser404, Ser409, Ser412, 2182 2182 Ser413 ve Ser422 bölgeleridir. Tau'yu fosforile eden ve en iyi çalışılmış kinazlar arasında GSK3 β , siklin bağımlı kinaz 5 (Cdk5), kazein kinaz 1 (CK1) ve protein kinaz A (PKA) bulunmaktadır. Patolojik koşullarda hiperfosforilasyon en çok görülen post-translasyonel modifikasyon olup hiperfosforilasyonun anahtar enzimi GSK3 β 'dır (Zhang vd., 2021). Hiperfosforile tau mikrotübüllere bağlanma yeteneğini kaybetmekte ve NFY'ları oluşturmaktadır (Şekil 2.2). Ayrıca tau hiperfosforilasyonu tau'nun oligomerleşmesine ve oligomerizasyon sonucu oluşan NFY'lar nöronların mikrotübül ağlarının parçalanmasına yol açmaktadır. Bu durum hücre içinde ve hücre dışında herhangi bir biyokimyasal iletişimin inhibisyonuna ve hücre iskeletinin tahrip olmasına neden olmaktadır (Srivastava vd., 2021).



Şekil 2.2 Tau Hiperfosforilasyonu Sonucu Oluşan Nörofibriler Yumaklar (Aggdis, 2019'dan Türkçe'ye uyarlanmıştır)

2.2.3 Oksidatif Stres Hipotezi

Enzimatik ya da enzimatik olmayan tepkimeler sonucu oluşan serbest radikaller, bir veya daha fazla eşlenmemiş elektrona sahip atom veya moleküllerdir. Yapılarında oksijen türevleri olanlar ($O_2^{\bullet-}$, $OH^{\bullet}$, $RO^{\bullet}$, 1O_2) reaktif oksijen türlerini (ROS), nitrojen türevleri olanlar ($ONOO^{\bullet}$, $NO^{\bullet}$) ise reaktif nitrojen türlerini (RNS) oluşturmaktadır (Cobb ve Cole, 2015; Huang vd., 2016). Kararsız, reaktif ve kısa ömürlü olan bu serbest radikallerin üretimi ve serbest radikallerin toksik etkilerini elimine eden antioksidan kapasite arasındaki dengenin serbest radikallerin artışı yönüne bozulan

dengesi sonucunda oksidatif stres oluşmaktadır (Cobb ve Cole, 2015). Fizyolojik koşullar altında oldukça sert bir şekilde korunan oksidatif denge, patolojik koşullar altında bozulmaktadır (Huang vd., 2016).

ROS tarafından gerçekleştirilen oksidatif hasar AH'da çok belirgindir ve hasara maruz kalan nöronlarda, diğer bulgu ve semptomlar ortaya çıkmadan önce, nitrasyon, beyinde demir, alüminyum ve cıva yoğunluğunun artması, artmış lipid peroksidasyonu, nükleik asit oksidasyonu ve reaktif karbonillerin oluşumu artmaktadır. Ayrıca oksidatif stresin Alzheimer hastalarının orta frontal girusunda kolesterol metabolizmasının bozulması ve artan kolesterol seviyeleri ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Cutler vd., 2004). Bunun yanı sıra, Alzheimer'lı hastaların plazma antioksidan seviyelerinde azalma olduğu ve frontal ve temporal kortekslerindeyse antioksidan enzim aktivitelerinde belirgin olarak bir azalma olduğu rapor edilmiştir (Venkateshappa vd., 2012). Ayrıca ROS biriktiği zaman inflamatuvar sinyal yolları aktive olmakta ve bu da oksidatif stresi indüklemektedir. Bunun sonucunda ise mikroglialar aktifleşmektedir. Bu aktivasyon sonucunda, TNF- α gibi sitokinler ve ROS serbestlenmektedir. ROS ise, mitokondriyal disfonksiyona, mikrogliyal ölüme, nöral patogeneze ve inflamatuvar süreçlere katkı sağlamaktadır (Block vd., 2007; Bazan vd., 2012; Cheignon vd., 2018). AH'nın karakteristik bulgularının oluşumuna öncülük eden oksidatif stresin belirtleçleri A β birikimi başlamadan önce AH'lı beyinde saptanmıştır (Nunomura vd. 2001). AH patofizyolojisinde ilk ortaya çıkan bulgulardan biri olan oksidatif stres, A β plaklarının birikimi ile ilişkilidir (Liu vd., 2017). Buna ek olarak, MAPK aktivasyonu aracılığıyla tau proteinlerinin hiperfosforilasyonuna, Bcl-2 aktivasyonu ile mitokondri aracılı apoptozun uyarılmasına, eksitoksisiteye ve redoks iyon dengesinin bozulmasına yol açmaktadır (Liu vd., 2017).

2.2.4 Epigenetik Mekanizmalar ve Histon Asetilasyonu

İlk olarak 1940'lerde İngiliz embriyolog Conrad Waddington tarafından ortaya atılan epigenetik alanı şuan AH'nın da içerisinde bulunduğu pek çok hastalık patogeneziyle ilişkilendirilmektedir. AH'nın patogenezi ile ilişkili epigenetik mekanizmalar genel olarak DNA metilasyonu, histonların post-translasyonel modifikasyonları ve kodlamayan RNA'ların düzenlenmesini içermektedir (Nikolac Perkovic vd., 2021).

Kromatinlerin temel birimleri olan, lizin ve arjinin kalıntılarınca zengin ve bazik yapıdaki histon proteinleri (H1, H2A, H2B, H3 ve H4), DNA ile birleşerek

n kleozomları oluşturmaktadır. Bu mekanizma ökaryotik transkripsiyon düzenlemesinin önemli bir bölümünü temsil etmektedir (Strahl ve Allis, 2000). Gen ifadesinin baskılanması ya da aktivasyonunda yer alan ve histonların N-terminal ucunda oluşan histon modifikasyonlarının en önemlileri metilasyon, asetilasyon, fosforilasyon, ubikutinasyon, sumoylasyon ve ADP ribosilasyonudur (Strahl ve Allis, 2000; Nikolac Perkovic vd., 2021). Bu modifikasyon mekanizmalarından en fazla çalışılan histon asetilasyonudur (Nikolac Perkovic vd., 2021).

Histon asetilasyon mekanizmaları reversibl olarak meydana gelen bir olaydır. Histon proteinlerinin amino uçlarına negatif yüklü olan asetil grupları eklendiğinde pozitif yüklü olan lizin amino asidinin yükünü kısmen kaybetmesine yol açmaktadır. Bu durum sonucunda kromatin yapısı gevşemekte ve transkripsiyon başlatılmaktadır (B rtov  vd., 2008). Transkripsiyonun aktivasyonu ve kromatinlerin “açık” olarak şekil değiştirmeleri lizin kalıntılarınındaki asetilasyon sonucu gerçekleşmekte ve bu reaksiyon Histon asetiltransferazlar (HAT'ler) tarafından katalize edilmektedir. Buna karşın, transkripsiyonun baskılanması ve “kapalı” konformasyondaki histonlarla ilişkili olan histon deasetilasyonu Histon deasetilazlar (HDAC'ler) tarafından düzenlenmektedir (Wang vd., 2013). Fizyolojik şartlar altında bir hücrede HAT ve HDAC enzimlerinin aktiviteleri dengeli olmalıdır, bu denge bozulursa patolojik koşullar oluşmakta ve Alzheimer hastalığı ve kanser gibi çeşitli hastalıklar ortaya çıkmaktadır (Marsoni vd., 2008; Ding vd., 2008; Falkenberg ve Johnstone, 2014).

Histon deasetilaz (HDAC) Enzim Ailesi: şu ana kadar homolojik dizi benzerliği ve etkileştikleri kofaktörlere göre 4 sınıf altında 18 adet insan HDAC enzimi tanımlanmıştır. Sınıf I HDAC'lar 1, 2, 3 ve 8; sınıf IIa HDAC'lar 4, 5 ve 7 ve sınıf IIb HDAC'lar 6 ve 10; sirtuin 1-7 olarak da adlandırılan sınıf III HDAC'lar ve sınıf IV HDAC'lar HDAC11'den oluşmaktadır (Pulya vd., 2021).

Alzheimer hastalarında, bilişsel ve sinaptik işlevlerde bozuklukların olduğu; öğrenme, bellek ve n roplastisiteden sorumlu belirli beyin bölgelerinde, özellikle HDAC2 ve HDAC3' n diğer HDAC'lara kıyasla daha yüksek seviyelerde eksprese edildikleri saptanmıştır (McQuown vd., 2011; Gr ff vd., 2012). Alzheimer'lı hastalarda ve hayvan modellerinde gerçekleştirilen bir çalışmada, HDAC6 seviyelerinde artış olduğu gözlemlenmiştir (Ding vd., 2008). Beyinde HDAC4' n aşırı aktivasyonun apoptoza neden olduğu ve inaktivasyonun nöronal ölümü baskıladığı bulunmuştur

(Bolger ve Yao, 2005). Bunlara ek olarak, Sirtuinler bellek ve plastisite oluşumunda önemli olup AH patogenezinde bazı proteinleri deasetile etmektedirler (Gao vd., 2010).

2.2.5 Kolinergic Hipotez

1976'da Peter Davies ve A. J. F. Maloney tarafından önerilen ve şuan için en fazla kabul gören hipotezdir. Hipotez, beyinde kolinergic iletimde oluşan eksikliklerin AH'nın semptomlarına yol açtığını ve kolinergic iletim eksikliği giderildiğinde semptomların ortadan kalkacağını öne sürmektedir (Davies ve Maloney, 1976). Fizyolojik koşullarda, hippocampus, frontal korteks, amigdala, nükleus bazalis ve medial septumda lokalize olan kolinergic nöronlar, dikkat, öğrenme, bellek ve farklı kognitif işlevlerde önemli rol oynamaktadırlar. AH'nın başlangıcında kolinergic nöronların hasarıyla başlayan nöronal kayıp, hastalığın ilerleyen evrelerinde %90'lara kadar çıkmaktadır (Mufson vd., 2016). Bu durum SSS'de kolinergic iletim üzerinde ciddi eksikliklerin oluşmasına neden olmaktadır. Ayrıca kolinergic iletim eksikliklerinin yanı sıra, asetilkolin sentezinde ve asetilkolinin presinaptik nikotinik ve muskarinik reseptörlerinin sayılarında azalma olduğu gözlemlenmiştir (Ferreira-Vieira vd., 2016). AH'da ortaya çıkan bu patolojiler ise kognitif bozukluklara yol açmaktadır (Singh, 2020). Bunlara ek olarak, Alzheimer'lı beyinlerde asetilkolin sentezinde anahtar enzim olan kolin asetiltransferazın aktivitesi ve miktarının azaldığı ve bunun sonucunda amigdala, hippocampus ve kortekste sinapslarda asetilkolin konsantrasyonlarının büyük ölçüde azaldığı bildirilmiştir (Mesulam vd., 1983; Ferreira-Vieira vd., 2016). Kolinergic sistemdeki fonksiyon bozukluklarıyla birlikte dopaminergic ve serotoninergic iletimde de eksiklikler ve nöronal kayıplar oluşmakta bu da hastalarda depresyon, anksiyete gibi psikiyatrik semptomlara neden olmaktadır (Whitehouse vd., 1988; Grossberg, 2002).

SSS'de nöronal iletimde değişimler olduğunda kolinergic sistem aynı zamanda glutamergic sistemle de etkileşime girmektedir (Singh, 2020). Glutamat öğrenme ve bellek süreçlerinde etkili olan ana uyarıcı nörotransmitterdir (Dong vd., 2009). Fizyolojik koşullarda, hippocampusteki glutamergic nöroiletim plastisite için önemli olan uzun süreli güçlendirme (LTP) gibi öğrenme ve bellek arasındaki konsolidasyonu (pekiştirme) indükleyen kalsiyum sinyalizasyonuna yol açmaktadır. Ancak glutamatın aşırı aktivitesi sonucunda NMDA reseptörlerinin hiperaktivasyonu, kalsiyum, sodyum ve klorür iyonlarında sürekli bir artışa yol açmaktadır. Bu da, postsinaptik membranda

aşırı depolarizasyon, nörodejeneratif süreçlerin başlamasına, hücre ölümüne ve serebellumda unutmaya da ilişkili olan uzun süreli depresyona (LTD) neden olmaktadır (Teaktong vd., 2004; Singh, 2020).

2.3 Tedavi

Şu ana kadar hala AH için kesin bir tedavi bulunamamakla birlikte, güncel tedavi stratejileri hastalığın gidişatını yavaşlatmayı ve semptomları kontrol altında tutmayı hedeflemektedir (Guzior vd., 2015). Hastalığın semptomatik tedavisi için kolinesteraz inhibitörleri (takrin, donepezil, rivastigmin ve galantamin), NMDA-reseptör antagonistleri (memantin) ve bunların kombinasyon tedavisi FDA tarafından onaylanmış stratejilerdir. Sadece geçici ve semptomatik tedavi imkanı sağlayan bu ilaçlar şiddetli yan etkiler göstermektedir (Tablo 2.1) (Guzior vd., 2015; Husain vd., 2021; Miziak vd., 2021). Nörotransmitter temelli tedavilerin yanında, hastalığın oluşum mekanizmalarından biri olan A β birikiminin azaltılmasına ya da yok edilmesine yönelik stratejiler de bulunmaktadır. Yaklaşık 20 yıl sonra FDA tarafından hızlı onay kapsamında onaylanan aducanumab bu stratejiyi hedeflemektedir. Bir insan IgG1 monoklonal antikoru olan bu ilaç çözülebilen ya da çözilemeyen A β agregatları üzerinde pasif immunizasyon sağlayarak beyinde doz bağımlı olarak A β temizlenmesini arttırmaktadır (Athar vd., 2021; Dhillon, 2021). Bu stratejilere ek, nöroinflamasyon, oksidatif stres, hipoglisemi ve vasküler bozukluk, metal dengesinin bozulması, protein yanlış katlanması gibi hastalığın gelişimine katkı sağlayan diğer patolojilerin de hedeflendiği tedavi stratejileri geliştirilmiştir (Husain vd., 2021). Bu açıdan bakıldığında, büyüme faktörlerinin kullanımı, antioksidanların kullanımı, antiinflamatuvar ilaç kullanımı ve östrojen kullanılması gibi ek yöntemler bulunmaktadır (Athar vd., 2021).

Tablo 2.1. FDA tarafından onaylanmış AH ilaçları (Zagórska ve Jaromin, 2020; Miziak vd., 2021; Dhillon, 2021)

İlaç adı	Etkisi	Yan Etkisi	Metabolizma
Donepezil	Hafif ve orta seviye AH için onaylanmıştır. AChE'İ inhibe edebilmektedir. Ayrıca BACE1 ve A β birikimini üzerinde inhibisyon yapabilmektedir. Kognitif gerilemeyi yavaşlatır.	Atriyoventriküler blokaj, iştahsızlık, ishal, baş dönmesi, baş ağrısı, hipertansiyon, bulantı, bayılma, kilo kaybı	CYP2D6, CYP3A4
Galantamin	AChE'ı kompetatif ve geri dönüşümlü olarak inhibe eder.	Atriyoventriküler blokaj, iştahsızlık,	CYP2D6, CYP3A4

Tablo 2.1 (devamı)

Rivastigmin	Hafif ve orta seviye AH için onaylanmıştır. Kolinesteraz inhibitörüdür Oral kullanımda yarılanma ömrü kısa olduğu için 2007'den beri transdermal formda kullanılmaktadır.	Karın ağrısı, atriyal fibrilasyon, atriyoventriküler blokaj, iştahsızlık, ishal, baş dönmesi, baş ağrısı, miyokard enfarktüsü, bulantı, kusma	Karaciğer aracılığıyla metabolize olmaz
Memantin	NMDAR yarışmasız antagonistidir. Glutamat kaynaklı NMDA akvivasyonunun yol açtığı Ca^{+2} akışını engeller.	Kafa karışıklığı, kabızlık, ishal, baş dönmesi, kusma;	Karaciğer aracılığıyla metabolize olmaz
Aducanumab	Erken evre AH için önerilmekte; beyinde A β agregatlarını temizlemektedir.	Baş ağrısı,, mental durum değişikliği, diyare	Karaciğer aracılığıyla metabolize olmaz

Günümüzde onaylanmış ilaçların hedefledikleri mekanizmalara bakıldığında tek bir yolağı hedefledikleri görülmektedir (Athar vd., 2021; Husain vd., 2021). Oysa AH multifaktöriyel bir hastalıktır ve son zamanlarda, birden fazla mekanizmayı hedefleyebilen ilaçlar tasarlamak ve geliştirmek amacıyla birden fazla hedef mekanizmaya yönelinmesi önem kazanmıştır. Çok hedefli ilaçlar (MTD'ler), farklı hedef mekanizmalar üzerinde etkili olan biyoaktif ajanların iki ya da daha fazla farmakoforik yapısal özelliğinin tek bir molekülde birleştirilmesiyle tasarlanmaktadır (Athar vd., 2021). Şu anda piyasada MTD yaklaşımları ile geliştirilmiş onaylı bir ilaç bulunmamaktadır. Ancak 2021'de yapılan bir araştırmada, AH için farklı etki mekanizmalarına sahip 140'tan fazla ajanın klinik faz çalışmalarında olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmalardaki potansiyel ajanların çoğu, AChE ve BACE inhibitörleri üzerinden A β birikimini, tau proteinlerini, mitokondriyal bozuklukları, oksidatif stresi, metal dengesindeki düzensizliği, nöroinflamasyonu ve AH'nin ilerlemesini durdurmak amacıyla çeşitli moleküler yolları hedeflemektedir (Athar vd., 2021).

Bununla birlikte, yeni küçük molekül inhibitörler, AH için yeni terapötik stratejiler geliştirilmesi açısından önem arz etmektedir (Mouchlis vd., 2020). Ancak AH için küçük moleküllu potansiyel inhibitörlerin geliştirilmesi, hem hastalığın ilerlemesinde etkili olan moleküler yolların karmaşık olması hem de hastalığın multifaktöriyel kaynaklı olmasından dolayı zor ve uzun bir süreçtir (Cummings vd., 2019; Mouchlis vd., 2020). Bu süreçleri hızlandırmak için kullanılan Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı (CADD), potansiyel hedefleri olan küçük molekül inhibitörlerinin bağlanma pozunu

ve enerjisini tahmin etmek için bilgisayar yazılımlarını kullanmaktadır. Hedef yolak ve potansiyel ajanların seçimine yardımcı olmak için kullanılan en yaygın CADD teknikleri, genel olarak moleküler docking ve dinamik simülasyonları gibi yöntemleri kapsamaktadır (Mouchlis vd., 2020). AH'na karşı potansiyel ajanların geliştirilmesinde kullanılan temel moleküler hedefler, β -sekretaz, asetilkolinesteraz, glikojen sentaz kinaz enzimleriyle birlikte hastalığın diğer patogeneziyle ilişkili olan histon modifikasyonları ve otofaji gibi yolak ve enzimleri içermektedir (Mouchlis vd., 2020; Yiannopoulou ve Papageorgiou, 2020; Athar vd., 2021; Miziak vd., 2021).

2.4 Asetilkolinesteraz Enzimi (AChE)

AChE, α/β hidrolaz katlanmış süper protein ailesi grubunda olup (Johnson ve Moore, 2006) hem periferik hem de merkezi sinir sistemlerinde kolinerjik sinir sisteminde yer almaktadır (Thapa vd., 2017). Buna ek olarak kanda da bulunabilen AChE'nin temel işlevi asetilkolinin kolin ve asetat iyonlarına hidrolizini katalizlemektir (Vecchio vd., 2021). AChE'nin 3 boyutlu yapısı 1991'de elektrikli yılan balığı olan *Torpedo californica* kullanılarak açığa çıkartılmıştır (Sussman vd., 1991). Yapılan araştırmalar sonucunda AChE'nin aktif bölge cebinin 20 Å derinliğinde dar bir oluğa ve yaklaşık 4.5 Å genişliğe sahip olduğu ve katalitik ve periferik anyonik yöre olmak üzere iki önemli yöre içerdiği belirlenmiştir (Şekil 2.3) (Dvir vd., 2010).

2.4.1 Katalitik Aktif Yöre (CAS)

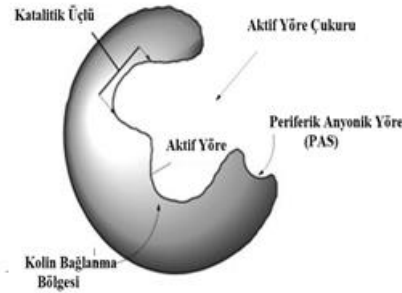
Esteratik bölge olarak da adlandırılmakta olan bu yöre ACh hidrolizini katalizlemektedir (Quinn, 1987; Sussman vd., 1993; Dvir vd., 2010). Yapısında oksianyon çukuru, kolin bağlanma bölgesi ve açıl cebi bölgelerini ihtiva etmektedir. Ayrıca dar ve ince olan aktif cebin dip kısmında dizili ve katalitik aktive için temel olan Ser200, His440 ve Glu327 olmak üzere üç amino asitten oluşmaktadır (Quinn, 1987; Sussman vd., 1993). His440 ve Glu327 Ser200 hidroksil grubunun aktivasyonunda rol oynamaktadır (Dvir vd., 2010; Atanasova vd., 2015).

Aktif bölgede bunlara ek olarak kolin bağlanma bölgesi de denilen anyonik alt bölge bulunmaktadır (Dvir vd., 2010; Singh vd., 2013; Atanasova vd., 2015). Bu alan Trp84, Tyr130, Glu199, Phe330, Tyr442 aromatik kalıntılarını içermektedir (Dvir vd., 2010; Singh vd., 2013; Atanasova vd., 2015). Oksianyon bölgesi Gly118, Gly119 ve Ala201 kalıntılarını içermektedir. Bu kalıntılar serbest amin gruplarıyla ligandları stabilize ederek katalitik aktiviteye katkı sağlamaktadırlar. Açıl cebi Trp233, Phe288, Phe290

ve Phe331 aromatik kalıntıları içerir ve ligand seçiciliğinde işlev göstermektedir (Dvir vd., 2010; Singh vd., 2013; Atanasova vd., 2015).

2.4.2 Periferik Anyonik Yöre (PAS)

Bu yöre Tyr70, Asp72, Tyr121, Trp279 ve Tyr334 aromatik kalıntılar içerir ve aktif bölge cebinin ağız kısmında yer almaktadır (Schaffer vd., 1973). Ligand bu bölgeye bağlandığı zaman enzimin aktif cebinde konformasyonel değişiklik meydana gelmektedir. Substrat ya da ligand kompleks oluşumunun ilk adımında PAS'a bağlanmaktadır. Bu etkileşim ligandın CAS'a doğru ilerlemesini kolaylaştırarak enzimatik etkiyi pekiştirmektedir (Dvir vd., 2010; Singh vd., 2013; Atanasova vd., 2015). PAS ayrıca AChE'a kolinerjik işlevinin yanında yapısındaki kalıntılar aracılığıyla Aβ'ya bağlanma işlevi de sağlamaktadır. Aβ-PAS etkileşiminin kurulması, amiloid plakların oluşumuna ve kolinerjik nöronların harabiyetine yol açmaktadır (Inestrosa vd., 2008). Bu açıdan bakıldığında, AChE'in hem CAS hem PAS alanlarıyla etkileşim kurabilen yeni inhibitörlerin tasarlanması yaklaşımları oluşmaya başlamıştır. Bu yaklaşımlar kullanılarak, AChE'in PAS alanının bloke edilmesi ile Aβ birikimini engelleyen yeni kolinesteraz inhibitörleri geliştirilmektedir. Buradan yola çıkılarak yapılan çalışmalarda, PAS inhibisyonunu sağlayan ajanların nöron koruyucu etki gösterdiği ortaya çıkarılmıştır (Dvir vd., 2010; Singh vd., 2013; Atanasova vd., 2015).



Şekil 2.3 AChE Enzim Çukuru (Sayar-Gümüş, 2017).

2.5 Bütirilkolinesteraz Enzimi (BChE)

Plazma kolinesteraz (ChE) ve psödokolinesteraz olarak da adlandırılmakta olan bütirilkolinesteraz (BChE), kolinlerin yanında alifatik esterlerin de hidrolizini katalizlemektedir (Xing vd., 2021). Karaciğerde sentezlenen BChE, beyin, deri, plazma ve bacak kası gibi birçok insan merkezi ve periferik dokusunda

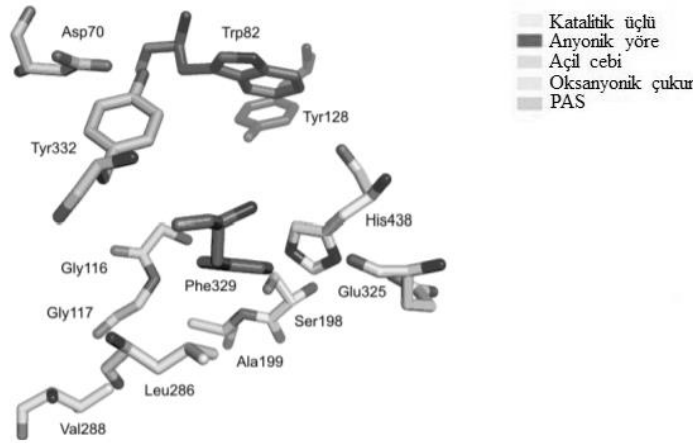
bulunabilmektedir (Andersson vd., 2019). Ayrıca açlık hormonu olan giberin ile insulin ve glukoz hormonlarının metabolizmalarının düzenlenmesinde etkili olduğu saptanmıştır (Chen vd., 2017).

İnsan BChE enziminin kristal yapısı ilk olarak 2003'te açığa çıkarılmıştır (Nicolet vd., 2003). BChE, AChE ile yapısal benzerlik göstermelerine rağmen (%65 aminoasit benzerliği), substrat spesifikliğinde ve ACh'yi hidrolize etme yeteneğinde farklılıklar göstermektedirler (Nicolet vd., 2003; Xing vd., 2021). ACh fizyolojik şartlar altında daha yüksek oranda AChE tarafından metabolize edilmekte ve BChE'nin ACh'ı metabolizma hızının daha yavaş olduğu bildirilmektedir. Buna ek olarak, BChE genel olarak AChE yokluğunda ACh'i hidroliz etmektedir (Xing vd., 2021). AChE enzimine benzer olarak ~20 Å derin bir oluğun dibine gömülü olarak bulunmaktadır (Brus vd., 2014). İnsan BChE enzimindeki katalitik üçlü evrimsel olarak korunmuştur ve Ser198, His438, Glu325 kalıntılarından oluşmaktadır (de Andrade vd., 2019). İki enzimin moleküler seviyedeki temel farkları, hidroliz esnasında substratların açıl bölgesinin bulunduğu oluğun alt birim bölgelerinden biri olan açıl bağlama cebidir (Schopfer vd., 2015). İnsan AChE'nin açıl bağlama cebinde bulunan Tyr 124, Phe 297 ve Tyr338 kalıntıları, insan BChE'da Gln119, Val288 ve Ala328 ile değiştirilmektedir. Bu durum BChE aktif cebinin AChE'nin aktif cebiyle kıyaslandığında yaklaşık 300 Å³ daha geniş olmasına yol açmaktadır (Franjesevic vd., 2019). Bunlara ek olarak, BChE enziminin aktif bölgesi, katalitik bölge, oksianyon çukuru, kolin bağlanma bölgesi ve açıl cebinin dahil olduğu CAS ile PAS alt birimlerinden oluşmaktadır (Şekil 2.4). Bu bölgelerin enzimin katalitik görevindeki roller AChE enzimi ile genel olarak benzerlik göstermektedir (Nicolet vd., 2003; Brus vd., 2014).

PAS, pozitif yüke sahip ligandların ve inhibitörlerin ilk karşılaştığı bağlanma bölgesi olup Asn68, Asp70, Ala277, Phe329, Tyr332 kalıntılarını içermektedir (Nicolet vd., 2003; Brus vd., 2014). Bu yöredeki 2 adet H bağı kuran Asp70 ve Tyr332 kalıntıları enzimde bu pozitif yüklü substratlar için ilk bağlanma yöresi oluşturmakta ve substratı kataliz için hazır olarak enzim cebine iletmektedir. Ancak yapılan çalışmalarda, BChE enziminin, AChE'nin PAS yöresine bağlanan ligandlara karşı daha düşük afinite ile bağlandığı belirtilmiştir (Masson vd., 2009).

Yapılan son araştırmalar AH'nın ana patolojik nedenlerinden biri olan Aβ ile BChE arasındaki ilişkiyi ortaya koymuştur (Diamant vd., 2006; Reid ve Darvesh, 2015).

BChE'nin senil plaklarda birikmesinin ilerleyici A β birikimi ile paralellik gösterdiği ve böylece A β plaklarının oluşumunda BChE'nin etkin bir işlevi olabileceği yapılan histokimyasal çalışmalarla gösterilmiştir (Gómez-Ramos ve Morán, 1997). BChE-KO farelerin beyinlerinde, fibriller A β plak birikiminin azaldığı saptanmıştır. Ayrıca aynı çalışmanın devamında, bu farelere ve yabanıl tip farelere toksik A β_{25-35} enjekte edildiğinde, BChE-KO farelerin kognitif fonksiyonlarında bozulma olmazken yabanıl tip farelerde kognitif bozukluklar görülmüştür (Maurice vd., 2016). Ayrıca Alzheimer'lı bireylerin hippokampuslarında (Tasker vd., 2005) ve hastalığın ilerleyen evrelerinde BChE seviyelerinde artış olduğu gözlemlenmiştir (Xing vd., 2021). BChE ve AH ilişkisi hakkında yapılan araştırmalar ve hastalığın ilerleyen evrelerinde AChE düzeylerinin de azaldığı düşünüldüğünde, BChE'ı inhibe edici ajanlar yeni tedavi hedefleri arasında yer almaktadır (Li vd., 2017; Xing vd., 2021).



Şekil 2.4 BChE Enziminin Aktif Bölgesi (Bajda vd., 2013'ten Türkçe'ye uyarlanmıştır).

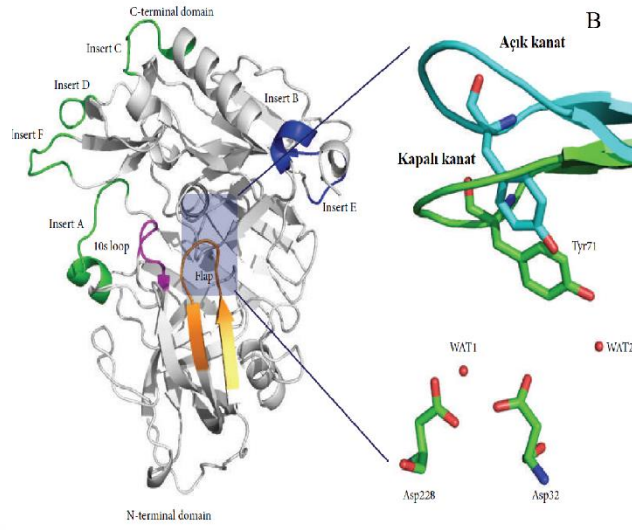
2.6 Beta-Sekretaz-1 Enzimi (β -Bölgesi APP Parçalama Enzimi, BACE1)

1996'da klonlanan BACE1, çok sayıda (~80) proteinin hidrolitik parçalanmasını katalizleyen, birçok hücreyel yolakta işlev gören, aspartil proteaz ailesine ait bir transmembran enzimidir (Vassar vd., 1999; Hemming vd., 2009; Mouchlis vd., 2020). Optimum enzimatik aktivitesini asidik pH'da gösteren BACE1, hücre dışı boşlukta APP'yi Met671-Asp672 amid bağına keserek A β peptit(ler)inin oluşumunu başlatmaktadır (Vassar vd., 1999; Dislich ve Lichtenthaler, 2012; Mouchlis vd., 2020). BACE1, beyinde birçok nöronal hücre grubunda olmakla birlikte özellikle nöronlarda, oligodendrositlerde ve astrositlerde çok fazla ifade edilmektedir (Vassar vd., 1999; Hampel vd., 2021).

BACE1'in ektodomain yapısı, substratın aktif bölgeye girişini ve buradan diğer alanlara yönlendirilmesini kontrol eden alt bölgeler içermektedir. Enzimin aktif bölgesi, katalitik ikiliyi oluşturan iki korunmuş Asp32/Asp228 kalıntılarını ihtiva etmektedir (Hong vd., 2000). Enzimin doğal yapısı N- ve C- domainlerinden oluşmaktadır (Hong vd., 2000; Barman ve Prabhakar, 2014). Substratın bağlanma bölgesi olan aktif cep kısmı, Asp32/Asp228'in katalitik ikilisi ile N- ve C-terminal domainleri arasında konumlanmaktadır (Hong vd., 2000; Xu vd., 2012). Aktif cep kısmı, N-terminal domainde bulunan ve "kanat" olarak da adlandırılan Val67-Glu75 aminoasit kalıntılarında bulunan bir β -saç tokası halkası ile sarılıdır (Hong vd., 2000; Xu vd., 2012; Mouchlis vd., 2020). Kanat kısmında, inhibitörlerin varlığına ve yokluğuna göre konformasyon değişikliği gösteren korunmuş bir Tyr71 kalıntısı bulunmaktadır. Ayrıca Lys9-Tyr14 kalıntılarında 10s halkası, Lys107-Gly 117 kalıntılarında üçüncü iplik ve Gly 158-Leu 167 kalıntılarında ise A girişi gibi enzim aktivitesinde kilit rol oynayan birkaç fonksiyonel bölge N-terminal domainde konumlanmıştır (Hong vd., 2000; Xu vd., 2012; Barman ve Prabhakar, 2014). Aktiviteleriyle farklı inhibitörlerin aktif bölgeye girişine ve bağlanmasına yardım eden uç B (Lys218-Asn221), uç C (Ala251-Pro258), uç D (Trp270- Thr274), uç E (Glu290-Ser295) ve uç F (Asp311-Asp317) bölgeleri enzimin C- domaininde yer almaktadır (Şekil 2.6A). BACE1 aktif bölgesinde ayrıca WAT1 ve WAT2 olmak üzere korunmuş iki adet su molekülleri bulunmaktadır (Hong vd., 2000; Barman ve Prabhakar, 2014). Katalitik Asp ikilisinin yakınında bulunan WAT1, peptit bağının hidrolitik olarak parçalanmasında işlev görmektedir. WAT2 ise, kanat kısmını stabilize etmekte ve devamlı olarak H-bağı oluşumuna katılmaktadır (Şekil 2.5) (Hong vd., 2000; Barman vd., 2014).

APP'yi β - sekretaz bölgesinden keserek A β peptitlerinin üretimine yol açan BACE1'in artmış aktivitesi sporadik AH'da görülmektedir (Barage ve Sonawane, 2015). A β seviyerindeki artış amiloid plakların oluşumuna yol açarak nörotoksisiteye ve patolojik tau üretimine neden olarak hücre ölümü ve nörodejenerasyonu tetiklemektedir (Kametani ve Hasegawa, 2018). Buradan yola çıkarak BACE1 nakavt fareler, aynı zamanda β -sekretaz'ın inhibi edilmesi ile A β 'nın azalması arasında doğrudan bir bağlantı olduğunu göstermiştir (Awasthi vd., 2016). Bu durum araştırmacılara β -sekretazın terapötik ajan olarak hedeflenmesinin güvenilir bir strateji

olabileceği fikrini vermiştir (Awasthi vd., 2016). Böylece β -sekretaz AH için ilgi çekici bir hedef haline gelmiştir.



Şekil 2.5 BACE1'in 3B yapısı (Xu vd., 2001'den Türkçe'ye uyarlanmıştır).

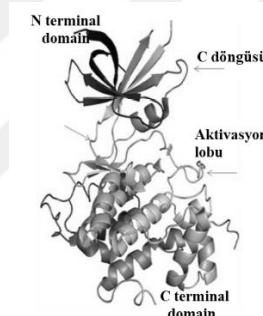
2.7 Glikojen Sentazkinaz 3-Beta (GSK3 β)

Glikojen sentaz kinaz-3 (GSK3), 1970'lerin sonlarından beri tanınan, fosfotransferaz enzim ailesinde bulunan bir serin/treonin protein kinazdır. Evrim boyunca yüksek oranda korunmuş olan bu enzim ailesi, farklı genler tarafından kodlanan, α (51 kDa) ve β (47 kDa) olmak üzere iki izoform içermektedir. Bu iki izoform kinaz domainlerinde %98 sekans homolojisi gösterirken karboksil uçlarında %36 benzerlik göstermektedir. İki izoform arasındaki temel fark α izoformunun amino ucunda 63 aminoasit kalıntı daha uzun olan ekstra glisin içermesidir (Arfeen ve Bharatam, 2013; Xu vd., 2019). GSK3, embriyogenesis, glikojen metabolizması, nöroplastisite, kanser, tip-2 diyabet ve Alzheimer gibi çeşitli hastalıklarda kilit işlev göstermektedir (Xu vd., 2019). Tau hiperfosforilasyonunda kilit enzim olan GSK3 β , en fazla beyinde bulunmakta ve SSS nöronlarında çok miktarda ifade edilmektedir (Xu vd., 2019).

Homodimer yapısındaki GSK3 β bağlanma bölgesi, ligandları ortada tutan ve genellikle β -tabakalar içeren küçük bir N-terminal lobu ile sadece α -heliksler içeren büyük bir C-terminal lobundan oluşmaktadır (Şekil 2.6) (Noble vd., 2004). Ayrıca bu bağlanma bölgesi, ön cep, kapı alanı ve arka cep olarak da ifade edilebilmektedir (El Kerdawy vd., 2019). Ön cepte, menteşe domaininde bulunan ve ATP nükleotidine ya da hidrojen bağı aracılığıyla GSK-3 β inhibitörlerine bağlanmada kilit rol oynayan Asp133 ve Val135 amino asitleri bulunmaktadır. Kapı alanı, Cys 99, Leu 32 ile

Asp200, Phe201 ve Gly202 amino asitlerinden oluşmaktadır. Katalitik domainin (ATP bağlanma bölgesi) altında yer alan hidrofobik cep Val70, Lys85 amino asitlerini içermektedir (Bertrand vd., 2003; El Kerdawy vd., 2019).

GSK3 β aktivitesinin araştırıldığı çalışmalarda, enzim aktivitesindeki artışın, tau hiperfosforilasyonu arttırmakla kalmayıp aynı zamanda A β patogeneze ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğuna yol açtığı bildirilmektedir (Reddy, 2013). GSK3 β 'nin inhibe edilmesi, tau proteininin hiperfosforilasyonunu önlemekte ve taunun birikimini önleyerek NFT oluşumunu engellemektedir (El Kerdawy vd., 2019; Xu vd., 2019). Ayrıca yapılan diğer çalışmalar, GSK3 β inhibisyonunun apoptotik sinyalizasyonu azalttığı ve böylece nöronal ölümü önlediğini bildirmektedir (Hernández vd., 2002; El Kerdawy vd., 2019; Xu vd., 2019). Buradan yola çıkarak, GSK3 β inhibitörlerinin AH için yeni umut verici tedavi stratejileri arasında yer alabileceği düşünülmektedir (Xu vd., 2019).



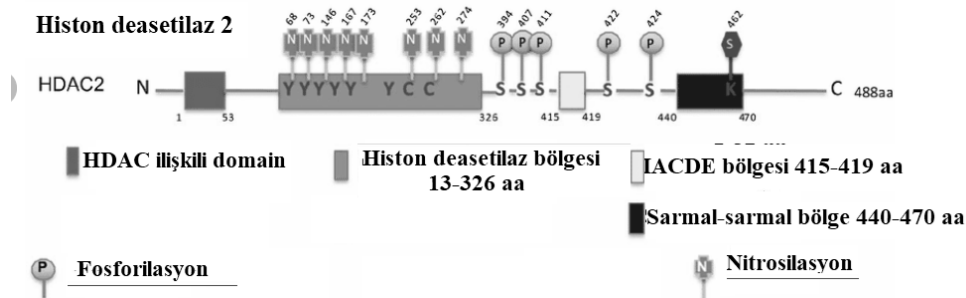
Şekil 2.6 GSK-3 β 'nin 3B yapısının gösterimi (Arfeen ve Bharatam, 2013'ten Türkçe'ye uyarlanmıştır).

2.8 Histon Deasetilaz-2 (HDAC2)

1996 yılında ilk defa tanımlanan HDAC enzim ailesinin Sınıf I izoformu olan HDAC2, 448 aminoasit kalıntısı içermektedir (Shetty vd., 2021). HDAC2, N ve C terminal uzantıları olan evrimsel olarak korunmuş deasetilaz bölgelerine sahiptir (Haberland vd., 2009). HDAC2 enziminin aktif bölgesi, katalitik bir araç, yüzeyden bu araca uzanan lipofilik bir tüp ve bu aracın yanında bulunan bir ayak cebi ihtiva etmektedir. Enzimin kofaktörü olan Zn⁺² atomu Asp181, His183 ve Asp269 aminoasit kalıntıları aracılığıyla tutulmaktadır (Bressi vd., 2010). Ayrıca C-terminalde, protein-protein etkileşimi için sarmal-sarmal bölge ve cep proteinleri ile etkileşimde rol alan IACDE bölgesi içermektedir (Ma ve Schultz, 2016) (Şekil 2.7). HDAC2, Yin Yang-1 (YY1), Mothers Against Decapentaplegic(MAD), nükleozom remodeling deasetilasyon

(NuRD), kofaktör-baskılayıcı eleman-1 susturma transkripsiyon faktörü (CoREST), mitotik deasetilaz kompleks (MiDAC) gibi transkripsiyon faktörleriyle bağlantılı olarak çeşitli ana çoklu protein ortak baskılayıcı kompleksleri aracılığıyla aktivitesini göstermektedir (Bondarev vd., 2021).

Nöronal plastisitenin HDAC2'nin asetilasyon mekanizmalarıyla kontrolü, hafızanın oluşumu ve korunmasında büyük önem arz etmektedir (Alcalà-Vida vd., 2021). 2012'de hem AH fare beyinlerinin hem de AH insan beyinlerinin post-mortem analizi ile yapılan kapsamlı bir çalışmada, HDAC2 enzim miktarının nöronal plastisite genlerinde artmış olduğu saptanmıştır (Gräff vd., 2012). Erken evredeki AH'larında yapılan bir araştırmada, hippocampüste HDAC2'nin upregüle olduğu ve bu durumun AH'daki sinaptik kayıp ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir (Yamakawa vd., 2017). Yapılan bir çalışmada, HDAC2'nin yetişkinlerin yaşamları boyunca periventriküler beyaz cevherde yaklaşık %30 oranında arttığı bildirilmiştir (Wang vd., 2018). Ayrıca yaşlandıkça HDAC2'nin beyin beyaz maddesinde de artış gösterdiği saptanmıştır (Gilbert vd., 2019). Ayrıca HDAC2'nin, nöronal sağkalımı destekleyen ancak seviyesinin AH'da azaldığı belirlenen endofilin-B1'i baskılayarak, mitokondriyal bozukluklar aracılı AH patogenezinin neden olduğu bildirilmiştir (Wang vd., 2019). Bu çalışmaların yanında, HDAC2'nin Alzheimer'lı beyinlerin frontal kortekslerinde, entorinal kortekslerinde ve bazal ön beyinlerinde HDAC2 seviyesinin azaldığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (Mahady vd., 2019; Schueller vd., 2020).



Şekil 2.7 HDAC2 yapısı ve bölgeleri (Ma ve Schultz, 2016'den Türkçe'ye uyarlanmıştır).

2.9 Histon Deasetilaz-6 (HDAC6)

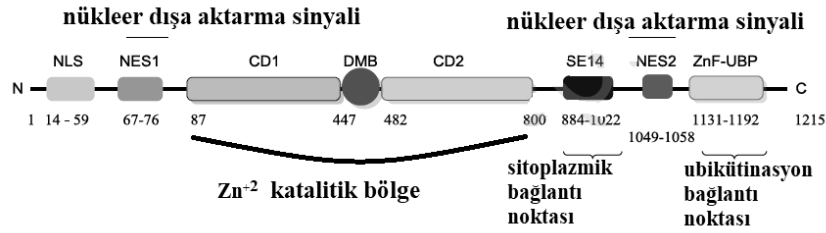
HDAC sınıf IIB izoformu olan HDAC6 1999'da keşfedilmiştir (Grozingier vd., 1999). HDAC6 ısı şoku proteini (Hsp90), tau proteini, kortaktin ve en ilk bildirilen HDAC6 substratı olan α -tubulin gibi spesifik sitozolik histon olmayan substratları deasetile

eden sitoplazmik bir deasetilazdır (Pulya vd., 2021). Bu substratlardan Hsp90 ve tau proteini, HDAC6 ve AH patogenezi arasındaki ilişkiyi göstermektedir (Cohen vd., 2011). HDAC6, hücre motilitesi, immün sinaps oluşumu, yanlış katlanan proteinlerin temizlenmesi gibi çeşitli hücreyel olaylarla birlikte çeşitli kanser türleri, AH, Parkinson hastalığı, Rett Sendromu ve viral enfeksiyonlar gibi hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (Hubbert vd., 2002; Kawaguchi vd., 2003; Serrador vd., 2004; Pulya vd., 2021).

Yüksek oranda korunmuş iki katalitik domain içeren HDAC6, çekirdekte olmakla birlikte çoğunlukla sitoplazmada yer almaktadır (Pulya vd., 2021). En fazla kalp, karaciğer, gibi dokularda ifade edilen HDAC6 doku spesifik bir enzimdir (Cohen vd., 2011). HDAC6, maya Hda1 protein modeliyle sadece katalitik domainlerinde sekans benzerliği göstermektedir (Zou vd., 2006). 1215 aminoasit kalıntısı içeren enzim, yüksek oranda korunmuş iki katalitik domain (CD1, CD2) içermesi açısından yapısal olarak benzersizdir (Zou vd., 2006). Yapısal olarak bakıldığında, N-terminal ucu (1-87 kalıntıları), CD1 (88-447 kalıntıları), CD2 (482-800 kalıntıları), sitoplazmik SE14 olarak bilinen tutma sinyali (884-1022 kalıntıları) ve bir çinko parmak ubikuitin bağlama bölgesi (ZnF-UBP, 1131-1192 kalıntıları) olmak üzere beş bölgeden oluşmaktadır. N-terminal alanı, 14- 59 kalıntılarında arjinin ve lizin aminoasitlerince zengin nükleer lokalize sinyal (NLS) ve birlikte HDAC6'nın çekirdekten sitoplazmaya geçişini kontrol eden 67-76 kalıntılarında lösince zengin nükleer dışı aktarma sinyalinden (NES1) meydana gelmektedir (Pulya vd., 2021). Her iki katalitik domain (CD1, CD2) arasında bir dynein motor bağlanma bölgesi bulunmakta ve Ser-Glu tetrapeptid sekansı (SE14), HDAC6 ve tau proteinin arasındaki etkileşimde rol oynamaktadır (Bertos vd., 2004). C-terminal ucundaki ZnF-UBP bölgesi üzerinden poliübikitinlenmiş protein birikintilerini toplayarak yanlış katlanmış proteinlerin lizozoma taşınması için dyneine aktarmaktadır (Şekil 2.8) (Kawaguchi vd., 2003).

Alzheimer'lı hastaların korteks ve hipokampusleri incelendiğinde HDAC6'nın bu bölgelerde %52 ve %91 oranlarında arttığı bildirilmiştir. Ayrıca HDAC6'nın AH'lı hipokampuste tau ile birlikte bulunduğu ve HDAC6 seviyelerinin azaltılmasının tau fosforilasyonunu azaltabileceği belirtilmiştir (Ding vd., 2008). Govindarajan ve ekibi tarafından fare modellemesi ile yapılan bir AH çalışmasında HDAC6'nın azaltılmasının kognitif iyileşmeye katkı sağladığı gözlemlenmiştir. HDAC6'nın aşırı ifade edilmesi α -tubulin asetilasyonun azalmasına yol açarak hem mikrotübül

dengecinin bozulmasına hem de mitokondriyal iletimin bozulmasına neden olmaktadır. HDAC6 seviyelerinin azaltılmasının tau birikimlerini hem azaltarak hem de temizlenmesine katkı sağlayarak nöronal sağ kalımı arttırabileceği saptanmıştır (Nikolac Perkovic vd., 2021). Ayrıca, HDAC6'nın seçici olarak inhibe edilmesi oksidatif stres kaynaklı bozukluklara karşı koruma sağlarken aynı zamanda kortikal nöronlarda nörit büyümesini arttırmaktadır (Rivieccio vd., 2009). Bu bilgiler ışığında, artmış HDAC6 seviyelerinin inhibe edilmesinin AH için yeni tedavi yaklaşımları olabileceği düşünülmektedir.

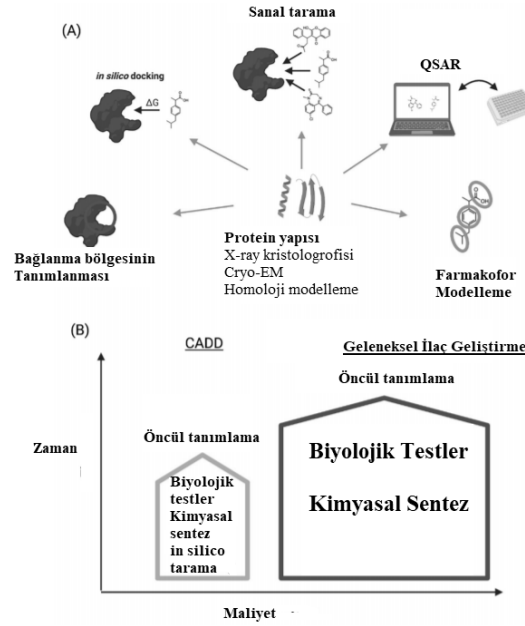


Şekil 2.8 HDAC6 Enzimi'nin yapısı (Pulya vd., 2021'den Türkçe'ye uyarlanmıştır).

2.10 Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı

Klasik ilaç keşfi süreçleri, hedef olarak ifade edilen hastalığın tanımlanması ve doğrulanması, hedefle ilişkili olan reseptörün biyolojik aktivitesini değiştirebilen öncül farmasötiklerin keşfedilmesi ve optimizasyonu ile klinik denemeleri kapsamaktadır (Vohora ve Singh, 2017). İlaç keşfi, yaklaşık 10-15 yıl süren ve tahmini olarak 0,8-2 milyar \$ maliyet gerektiren pahalı ve zaman alıcı bir süreçtir (Şekil 10B) (am Ende ve am Ende, 2019). Bununla birlikte, özellikle bu yüksek maliyetler göz önüne alındığında, bu süreçte ilaç adayı kimyasal bileşiklerin klinik başarı oranı tahmini olarak hala sadece %13 olup yüksek bir başarısızlık riski mevcuttur (Zhong vd., 2018). Bu açıdan bakıldığında, bu sürece rasyonel bir rehber niteliğinde olarak bilgisayar destekli ilaç tasarım teknikleri (CADD) geliştirilmiştir (Hassan Baig vd., 2015). CADD, ilaç keşfine hesaplamalı modelleme yaklaşımlarının uygulanması olarak ifade edilmektedir (Salman vd., 2021). CADD proseslerinde yer alan temel adımlar Şekil 2.10A 'da özetlenmiştir. CADD yöntemlerinin temel amacı aday kimyasal bileşiğin kalitesini düşürmeden, normal ilaç keşif süreçlerindeki zaman ve maliyet kaybını azaltmaktır (Kapetanovic, 2008). Bu nedenle CADD'nin ilaç geliştirme maliyetini %50'ye kadar azaltabileceği tahmin edilmektedir (Macalino vd., 2015). Ayrıca hesaplamalı yöntemler moleküler özelliklerin (örneğin biyoaktivite, seçicilik, yan etkiler, fizikokimyasal özellikler, absorpsiyon, dağılım, metabolizma ve

atılım) sistematik bir değerlendirmesini tahmin edebilmenin yanı sıra *in silico* olarak uygun özelliklere sahip öncül molekülleri de üretmektedir (Zhong vd., 2018).



Şekil 2.9 A. CADD proseslerinin temel adımları. **B.** Zaman ve maliyet yatırımları açısından geleneksel ve CADD'nin karşılaştırılması (Salman vd., 2021'den Türkçe'ye uyarlanmıştır).

2.10.1 Moleküler Kenetlenme (Docking)

İlk olarak Kuntz vd., tarafından ortaya konulan moleküler kenetlenme, belirli bir hedef bağlanma bölgesindeki bir bileşiğin olası bağlanma modlarını tahmin eden ve bağlanma cebinde bulunan özelliklerle uyumluluğuna ve tamamlayıcılığına dayalı olarak afiniteyi tahmin eden en iyi bilinen yapı temelli ilaç dizaynı yöntemlerinden biridir (Kuntz vd., 1982; Hung ve Chen 2014; Stanzione vd., 2021). Yapı temelli küçük molekül kenetlemede, küçük bir ligand molekülü, hedef makromolekülün (protein ya da nükleik asit) bağlanma boşluğu içinde hizalanmakta ve ortaya çıkan yerleştirme pozunu, belirli bir skorumla işlevi ile değerlendirilmektedir (Pantsar ve Poso, 2018; Stanzione vd., 2021). Teorik olarak, docking sürecinde poz oluşturma ve skorumla fonksiyonları olmak üzere iki bağımsız aşama bulunmaktadır. Poz oluşturma, farklı ligand ve protein konformasyonları yaratmak ve farklı ligand konformasyonlarını proteinin bağlanma noktası içinde hizalamak için kullanılan metotlarla ilişkilidir (Pantsar ve Poso, 2018). Skorumla fonksiyonları küçük kimyasal molekülün reseptör olarak nitelendirilen proteinin hedef aktif cebine bağlanma serbest enerjisini tahmin etmek için kullanılan matematiksel fonksiyonlardır (Bortolato vd., 2013). Kenetlenme

işlemi yapılmış bileşiklerin bağlanmasını ve sıralamasını doğru bir şekilde skora, sanal taramada çok önemli bir adımdır (Macalino vd., 2015). Moleküler docking proseslerinde bir diğer önemli adım ise kenetlenme algoritmasıdır. Bu algoritmalar sadece ligand pozunu tahmin ederken aynı zamanda pozun kalitesini doğru olarak değerlendirmeyi amaçlamaktadır (Stanzione vd., 2021).

Yapı-temelli ilaç tasarımı anlamlı sonuçlar alan kenetlenme yazılımları geliştirilmeye devam edilmiş ve son 20 yılda 60'a yakın docking aracı geliştirilmiştir. Bunlar arasında DOCK, FlexX, GOLD, Glide, SwissDock ve Autodock yazılımları yaygın olarak kullanılmaktadır. Moleküler docking analizlerinde yaygın olarak kullanılan Autodock, ligand konformasyonlarını hesaplamak, makromolekül-ligand kompleksinin termodinamik dengesini sağlamak ve skora fonksiyonunu minimize etmek için stokastik yaklaşımlı Lamarckian genetik algoritmasını kullanmaktadır (Morris vd., 2009). Ayrıca elde ettiği sonuçların doğruluk oranının yüksek olmasının yanında, ücretsiz olarak kullanılabilen bir yazılımdır. Yazılımı kurabilmek ve çalıştırabilmek için gerekli olan AutoDockTools (ADT), ligand ve reseptör cebi kompleksinin bağlanma pozunun belirlenmesinin doğruluğunu veren ücretsiz bir arayüzdür (El-Hachem vd., 2017).

2.10.2 İlaç Benzerlik ve ADME Tahminleri

İlaç tasarlama ve geliştirme süreçleri çok fazla zaman ve maliyet kaybına yol açmaktadır. Bu kayıplara ek olarak milyonlarca aktif bileşik olmasına rağmen, son yıllarda onaylanan ilaç sayısının çok fazla olmadığı görülmektedir (Mullard, 2017; Dong vd., 2018). Bunun nedenleri arasında teknik olmayan konuların yanı sıra güvenlik eksiklikleri, büyük ölçüde farmakokinetik ve toksisite sorunları bulunmaktadır. ADME, bir ilaç molekülünün vücuttaki hedef proteine ulaşarak ulaşamayacağını ve kan dolaşımında ne kadar kalacağını belirleyen farmakokinetik özelliklerle ilişkilidir (Dong vd., 2018) (Şekil 2.11). Bir ilacın absorpsiyonunun zayıf olması ve uzun süreli ilk geçiş metabolizması gibi zayıf ADME özellikleri, birçok ilaç adayının ilaç geliştirme sürecinin ilk aşamalarında başarısız olmasına neden olmaktadır (Ghosh vd., 2016). Bu açıdan bakıldığında, ilaç geliştirme süreçlerinin ilk aşamalarında ADME özelliklerinin tahmini, yalnızca iyi ilaç adaylarının seçilmesine yardımcı olmasının yanı sıra uygun dozaj formları ve formülasyonu için temel verileri sağlamaktadır (Alqahtani, 2017).

ADME ve daha sonra bahsedilecek olan toksisite özellikleri insan bağırsak absorpsiyonu veya metabolik stabilite gibi çoklu fizyolojik mekanizmalardan kaynakladığı için modellenmesi ve tahmin edilmesi zor bir işlemdir. Ancak son zamanlarda bu biyolojik karmaşıklığı tahmin etmek amacıyla *in silico* modellemeler kullanılarak çeşitli yaklaşımlar geliştirilmiştir. Bu modeller genel olarak 5 kural olarak belirtilen özelliklerin, kantitatif yapı ilişkileri (QSAR) ve nicel yapı-özellik ilişkisi (QSPR) ve benzerlik aramaları, moleküler modelleme ve fizyolojik temelli farmakokinetik (PBPK) modelleme gibi kantitatif yöntemlerle tahmin edilmesi yaklaşımlarına dayanmaktadır (Yamashita ve Hashida, 2004; Gedeck ve Lewis 2008). Lipinski ve ark., (1997) tarafından ortaya atılan 5 kuralı, farmasötiklerin geçirgenliği, çözünürlüğü ve bunlarla ilişkili olarak ilaç adayı bileşiklerin absorpsiyonu ile alakalı olmakla birlikte başka önerileri içermektedir. Lipinski ve ark. Faz 2 klinik deneylerine girmiş olan, uygun çözünürlüğe ve geçirgenliğe sahip olduklarını varsaydıkları Dünya İlaç İndeksi'nden 2200'den fazla fitokimyasalın fizikokimyasal özelliklerini analiz etmişler ve şu an Lipinski kuralları olarak anılan kuralları saptamışlardır (Lipinski vd., 1997). Bu kurallara ek olarak ise farklı çalışma grupları tarafından, bir fitokimyasalın ilaç olma potansiyelini değerlendirmek için bu kurallara çeşitli eklemeler yapılmıştır (Tablo 3) (Oprea, 2000; Veber vd., 2002; Varma ve Panchagnula, 2005).

2.11 Fizikokimyasal Parametreler ve Bunların *in silico* Olarak Belirlenmeleri

2.11.1 Moleküler Ağırlık

Bir molekülün genel boyutunu tanımlamak için kullanılmaktadır. Belirli bir molekülün insan vücudundaki kan beyin bariyeri (KBB) gibi belirli bariyerlerden penetre olup olamayacağını tahmin edebilmek adına önem arz etmektedir. Çünkü büyük moleküllerin %100'ü yüksek seçicilik gösteren bu bariyerlerden geçememektedir (Alqahtani, 2017).

2.11.2 Lipofilisite

Bir ilacın terapötik bir etki yaratmak için, kan dolaşımına girmesi ve ardından etki edeceği alana ulaşması gerekmektedir. Bundan dolayı, uygun bir ilacın vücut sıvısında çözünmesi ve biyomembrana etkili bir şekilde nüfuz etmesi için genellikle lipofiliklik ve hidrofiliklik arasında bir denge olmalıdır (Testa vd., 2000; Arnott ve Planey, 2012).

Genel olarak LogP (lipofilisitenin logaritması) olarak ifade edilen lipofiliklik, bir yağ ve bir sıvı faz olmak üzere iki faz arasındaki (genel olarak n-oktanol/su olmak üzere)

bir bileşiğin konsantrasyonunun denge ortamındaki oranını ifade etmektedir. LogP, hem membran geçirgenliği hem de hedef reseptör ve bunlara ek olarak, plazma proteinleri, taşıyıcılar ya da metabolize edici enzimler gibi diğer proteinler dahil olmak üzere makromoleküllere hidrofobik bağlanma üzerinde önemli bir etkiye sahiptir (Xiong vd., 2021). Ayrıca absorpsiyon, dağılım ve geçirgenlik gibi fizikokimyasal özelliklerin yanı sıra ilaçların klirens yolları üzerinde de önemli bir etkiye sahip olduğu bilindiği için yeni ilaç molekülleri geliştirilirken dikkate alınması gereken parametrelerden biridir (Dwivedi vd., 2013).

Lipofiliklik içerisinde değerlendirilen bir diğer kavram olan dağılım katsayısı (LogD), iyonlaşabilen ve iyonlaşamayan bir bileşiğin iki faz arasındaki toplam oranıdır (Tsaion ve Kates, 2011). Bu LogD değeri pH bağımlı olduğu için Log D'nin ölçüldüğü pH belirtilmelidir. LogD 7.4 değeri, fizyolojik pH olarak kabul edilen pH=7.4'te n-oktanol/su dağılım katsayılarının logaritmasını ifade etmektedir. Yukarıda da belirtildiği üzere, bir ilacın terapötik bir etki yaratabilmesi için kan dolaşımına girmesi ve ardından etki edeceği alana ulaşması gerektiği için, ilaç keşfinin ilk aşamasında aday farmasötiklerin için fizyolojik pH (logD 7.4) değerlerinde n-oktanol/su dağılım katsayılarını tahmin etmek de önem arz etmektedir (Xiong vd., 2021).

Lipofiliklik parametresinin gözlemlenebilir önemi göz önüne alındığında, lipofilisitenin tahmini için doğru ve kesin *in silico* modellere daimi bir ihtiyaç ortaya çıkmıştır. Daha spesifik olarak ise, ilaç tasarım süreçlerini kolaylaştırmak adına LogP'yi tahmin eden modeller kullanılmıştır (Wenlock ve Barton, 2013).

2.11.3 Topolojik Polar Yüzey Alanı (TPSA)

Hidrojenler, azotlar, oksijenler gibi polar atomlara ait yüzey alanlarıdır. Genel olarak vücuttaki biyolojik bariyerler aracılığıyla moleküler taşınmanın bir göstergesi olarak ifade edilmektedir (Pajouhesh ve Lenz 2005). Ayrıca TPSA, bir molekülün KBB'den penetrasyonunun gerçekleşip SSS'ne etki edip etmeyeceği üzerinde de etkilidir. SSS'ni hedefleyen ilaçlar incelendiğinde, TPSA değerinin 60-70 Å²'den daha az olan moleküllerin KBB yoluyla taşınabildiği saptanmıştır (van de Waterbeemd vd., 1998).

2.11.4 Hidrojen Bağı

Hidrojen bağı, H bağı (HB) alıcısı (O ve N) ile H bağı (HB) verici (OH ve NH) bileşik arasındaki etkileşimi ifade etmektedir (Schwöbel vd., 2011). Biyoaktif moleküllerin

HB yapabilme kapasiteleri bu moleküllerin biyolojik membranlardan geçebilmelerinde rol oynamaktadır. Buna ek olarak, bir fitokimyasalın biyolojik bir membrandan geçebilmesi için söz konusu potansiyel ilacın sulu ortamıyla hidrojen bağlarının kırılması gerekmektedir (van de Waterbeemd ve Gifford, 2003). Çeşitli çalışmalar, HB ile QSAR tabanlı modellerin ilişkili olduğunu ve ilaç tasarımının yapı temelli aşamasında önemli bir adım olarak kabul edilen hidrojen bağlarının gücünün ölçülebildiğini göstermektedir (Schwöbel vd, 2011; Balakumar vd., 2017).

2.11.5 Dönebilen (Rotatable) Bağ Sayısı

Kimyasal olarak dönebilen bağ, halkasal yapıda olmayan, uç noktada olmayan ve hidrojen olmayan bir atoma bağlı olan herhangi bir tekli bağ ifade etmektedir. Dönebilen bağ sayısı, bir fitokimyasalın bağlanma potansiyelini, seçici membranlardan geçirgenliğini ve biyoyararlanımını etkilemektedir (Veber vd., 2002; Wang ve Mandellow, 2016).

2.11.6 Molar Kırılabilirlik (Refractory) (MR)

MR, bir molekülün polarize edilebilirliğinin göstergesi olan karakteristik bir özellik olup ilaç-hedef etkileşimleri üzerinde etkiye sahip fitokimyasalın gerçek hacminin yanında London kuvvetleri olarak ifade edilebilmektedir (Padron vd., 2002).

Tablo 2.2 İlaç-Benzerlik Özellikleri (Muhammad vd., 2020’den alıntılanmıştır)

Kural İsmi	Özellik	Kurallar
Lipinski	Moleküler Ağırlık	≤ 500
	Lipofilisite (logP)	≤ 5
	Hidrojen Bağ Alıcı	≤ 10
	Hidrojen Bağ Verici	≤ 5
Ghose	Lipofilisite (logP)	$-5.6 < \log P < -0.4$
	Moleküler Ağırlık	$160 < MW < 480$
	Molar Kırılabilirlik (Refractory)	$40 < MR < 130$
	Toplam Atom Sayısı	$20 < \text{atom} < 70$
Oprea	Halkasal Yapı Sayısı	≥ 3
	Rijit Bağ Sayısı	≥ 18
	Dönebilen Bağ Sayısı	≥ 6
Veber	Dönebilen bağ sayısı	≥ 10
	TPSA	≤ 140
	Hidrojen Bağ Verici	≤ 12
	Hidrojen Bağ Alıcı	≤ 12
Varma	Moleküler Ağırlık	≤ 500
	TPSA	≤ 125
	Hidrojen Bağ Verici	≤ 9
	Hidrojen Bağ Alıcı	≤ 9

2.11.7 Çözünürlük

İlaç olarak tasarlamak bir molekülün suda çözünürlüğü ilaç geliştirme süreçlerinin hemen hemen her aşamasında bulunmaktadır (Kayat vd., 2011). Eğer bir maddenin suda çözünürlüğü zayıf ise, *in vitro* testler sırasında çökelme ihtimali olduğundan konantrasyonunun normal şartlara göre düşmesine yol açmaktadır. Buna ek olarak, ilaçların etkinliği temel olarak suda çözünürlüklerine bağlı olup çözünürlüğü zayıf veya düşük çözünme oranlarına sahip ilaçlar kan dolaşımına girmeden önce ve bununla ilişkili olarak gerekli farmakolojik aktiviteyi vermeden elimine edilecektir (Soni vd., 2016). Ayrıca bağırsaklarda zayıf çözünürlüğe sahip bir ilacın membranlardan geçirgenliği düşük olacak ve dolayısıyla kötü absorpsiyona sahip olacaktır (Chandrasekaran vd., 2018). Bu açıdan bakıldığında, ilaç tasarlama aşamalarında, suda çözünürlük her zaman bir ADMET parametresi olarak değerlendirilmese de bir ilacın oral absorpsiyonunda anahtar rol oynadığı kanıtlanmıştır (Clark, 2005). Suda çözünürlüğün tahmin edilmesinde bilgisayar destekli modeller genellikle kimyasal bileşiğin molekül kütlesinin yanı sıra hidrofiliklik/hidrofobiklik değerlendirmeleri ve moleküler yüzey alanı hesaplamaları gibi bileşiklerin moleküler özelliklerini baz almaktadır (Lamanna vd., 2008; Chandrasekaran vd., 2018).

2.11.8 Geçirgenlik/Permeabilite

İlaç olarak değerlendirilecek bir maddenin geçirgenliği, hücre zarlarından geçiş, gastrointestinal (GI) absorpsiyon ve KBB'den ve diğer fizyolojik bariyerlerden penetrasyonu için önemli bir faktördür. Transselüler pasif difüzyon, paraselüler pasif taşıma ve aktif/taşıyıcı aracılı ve akış olmak üzere küçük moleküllerin taşınmasında çeşitli mekanizmalar bulunmaktadır (Tsaioun ve Kates, 2011). İlaç absorpsiyonu için transselüler pasif difüzyon ve P-gp veya çoklu ilaca dirençli proteinler tarafından dışa akış taşınması olmak üzere iki önemli yol bulunmaktadır (Hou vd., 2006). İlaç potansiyeli olan molekülün geçirgenliğini tahmin etmek için daha önceleri Caco-2, PAMPA, MDCK gibi *in vitro* modeller kullanılmıştır. Ancak bu modeller maliyetli ve zaman alıcı olduğu için *in silico* tahmin modellerinin tercih edilmesi daha kullanışlıdır (Alqahtani, 2017). *In silico* olarak ilaçların geçirgenliğinin tahmin edilmesinde lipofilisite profilleri, molekül ağırlıkları, H-bağı yapabilme kapasiteleri ve TPSA değerleri baz alınan modeller geliştirilmiştir (Balimane vd., 2000).

2.11.9 Biyoyararlanım

Oral biyoyararlanım, verilen bir ilacın sistemik dolaşıma ve etki edeceği bölgeye ulaşan fraksiyonu olarak tanımlanmaktadır. Ayrıca ilacın emilen fraksiyonunun ve bağırsak ve hepatik metabolizmadan kaçan fraksiyonlarının bir ürünüdür. Bir molekülün oral biyoyararlanımı temelde, absorpsiyon ve klirensi içeren karmaşık bir PK parametresidir (Tsaion ve Kates, 2011). Bunlara ek olarak, fizikokimyasal, biyofarmasötik faktörler dahil olmak üzere çeşitli faktörler oral biyoyararlanımı etkilemektedir (Jamei vd., 2009). Oral biyoyararlanım, ilaç keşfi ve geliştirme sürecinde bir molekülün başarısını belirleyen en önemli faktörlerden biridir. Bu nedenle, klinik deneylere başlamadan önce oral biyoyararlanım tahmini son derece önemlidir (Alqahtani, 2017). Oral biyoyararlanımın *in silico* olarak tahmini için ise dönebilen bağ sayısı, H-bağı yapabilme kapasiteleri ve TPSA değerleri baz alınan modeller geliştirilmiştir (Veber vd., 2002). Ayrıca genellikle, oral biyoyararlanım tahmin modellemeleri QSAR/QSPR analizine dayanmaktadır (Meyar ve Meyer, 1999).

2.12 ADME Özellikleri ve *in silico* Olarak Belirlenmeleri

2.12.1 Absorpsiyon/Emilim

Emilim, bir ilacın uygulandığı yerinden, ağız boşluğu, mide, bağırsak vb. dahil olmak üzere çeşitli epitel hücre membranlarından insan dolaşım sistemine girmesi sürecidir (Dong vd., 2018). Bir ilacın emilimini farklı derecelerde etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bunlar, sindirim sistemi ve dolaşım sistemi faktörleri gibi fizyolojik faktörler; ayrışma derecesi ve lipo-çözünürlük gibi fizikokimyasal faktörler; bir ilacın parçalanması ve çözünmesi gibi dozaj form faktörleri olmak üzere üç kategoride sınıflandırılabilir (Dong vd., 2018). Oral absorpsiyon tahmini için *in vivo* ve *in vitro* tahmin teknolojilerinin modelleriyle birlikte kullanılan çeşitli *in silico* modelleri bulunmaktadır (Chandrasekaran vd., 2018). Bu modeller, log P, log D veya TPSA gibi parametrelerle birlikte, alternatif olarak, farmakofor modelleme, ligand bazlı yaklaşımlar ve biyolojik bir membran boyunca atomik çözünürlükte difüzyon simülasyonunu da içerebilmektedir (Tsaion ve Kates, 2011).

2.12.2 Dağılım

Bir ilacın dağılımı genel olarak kan ve dokular arasındaki bir taşınma sürecidir. Bir ilaç, verildiği yerden kana absorbe olduktan sonra, dolaşım sistemi bu ilacı hedef

organa ve hedef bölgeye ulaştırmak için bir taşıyıcı görevi görmektedir (Dong vd., 2018). İlaçların vücutta dağılımı, molekülün farmakolojik olarak bir yanıt oluşturup oluşturmayacağını belirlediği için önemlidir (Tsaoun ve Kates, 2011). Dağılımı etkileyen çeşitli faktörler bulunmaktadır. Bunlar ilacın yapısal özellikleri ve lipofisitesi gibi ilacın fizikokimyasal özellikleri ve plazma protein bağlanması (PBB), kan akışı ve damar geçirgenliği gibi fizyolojik özelliklerdir (Dong vd., 2018). Dağılımın *in silico* olarak tahmininde incelenen dağılım parametreleri arasında ise KBB, PPB, dağılım hacmi (VD) ve taşıyıcı proteinler (transporterlar) bulunmaktadır (Tsaoun ve Kates, 2011).

2.12.2.1 KBB: Maddeler için seçici geçirgenlik sağlayan beyin mikrovasküler sistemi tarafından oluşturulmaktadır. Beynin kılcal endotelyumu, hücre kenarını çevreleyen sıkı bağlantılar oluşturmakta ve bu da KBB'nin temelde hidrofilik bileşiklere karşı geçirgen olmamasına yol olmaktadır (Eyal vd., 2009). Ancak KBB, daha büyük, hidrofilik veya yüklü bileşiklerin alımı için taşıyıcı sistemler veya taşıyıcılar geliştirmiştir. Bu taşıyıcılar, KBB boyunca amino asitlerin, monokarboksilik asitlerin, peptitlerin ve organik katyonların taşınmasında rol oynamaktadır (Tsaoun ve Kates, 2011). KBB geçirgenliği beyindeki reseptörleri hedefleyen ilaçlar için çok önemlidir (Dong vd., 2018). İlaçların SSS'ne geçebilmesi için KBB geçirgenliğini tahmin edebilen *in silico* metotlar geliştirilmiştir (Tsaoun ve Kates, 2011). Bu metotlar genel olarak, moleküler ağırlık, iyonizasyon durumları, TPSA, toplam N ve O atomlarının sayıları, H- bağı kurabilme kapasiteleri, LogP ve LogD parametreleri baz alınarak geliştirilmiştir (Tsaoun ve Kates, 2011).

2.12.2.2 PPB: İlaçların PPB'si, genel olarak ilacın sadece bağlanmamış (serbest) fraksiyonunun aktif olduğu kabul edildiği için, hem farmakokinetiğini hem de farmakodinamiğini etkileyebilmektedir (Chandrasekaran vd., 2018). İlaçlar, eritrositler, lökositler ve trombositlerin yanı sıra insan serum albüminine (HSA) (özellikle asidik ilaçlar), α -1 asit glikoprotein (AAG) (özellikle bazik ilaçlar), lipoproteinler (nötr ve bazik ilaçlar) dahil olmak üzere kandaki çeşitli partiküllere bağlanabilmektedirler. Bir ilacın ya da potansiyel ilacın özellikle HSA olmakla birlikte PBB ile taşınması, etkinliği gibi ADME/Toksikoloji özelliklerini de etkilemektedir (Tsaoun ve Kates, 2011). PPB'nin ilaç dizaynı ve geliştirilme aşamalarında önemli olduğu görülmektedir. PBB'nin bu aşamalarda tahmin edilmesinde çeşitli *in silico* araçlar geliştirilmiştir. (Li vd., 2011; Chandrasekaran vd., 2018).

2.12.2.3 Taşıyıcı proteinler: Genel olarak organlarda bulunan bu proteinler, ilaçların oral absorpsiyonu, karaciğer ve beyne alımı ve böbrekler yoluyla atılımı gibi çeşitli süreçleri etkileyebilmektedirler (Alqahtani, 2017). İlaçların absorpsiyonu, metabolizması ve beyin penetrasyonunda önemli bir rol oynayan, ABC ailesinde (çoklu ilaç direnci, ATP bağlayıcı kaset) bulunan ve bir transmembran glikoproteini olan P-gp'nin inhibisyonu veya indüksiyonu, ilacın biyoyararlanımını, dağılımını ve güvenliğini önemli ölçüde değiştirebilmektedir (van de Waterbeemd ve Gifford, 2003; Tsaïoun ve Kates, 2011). Buradan hareketle, taşıyıcı etkileşim profillerinin tahmini için *in silico* modelleme, ilaç keşif ve geliştirme sürecinin ilk aşamasında taşıma proteinlerinin yol açtığı farmakokinetik hareketleri tanımak için önemli bir araçtır (Alqahtani, 2017).

2.12.4 Dağılım Hacmi: İlaçların *in vivo* dağılımını tanımlamak için çok önemli bir parametre olan VD, uygulanan dozu dolaşımda mevcut olan gerçek başlangıç konsantrasyonuna bağlayan teorik bir kavramdır. (Xiong vd., 2021).

2.13 Metabolizma

İlaç metabolizması geleneksel olarak Faz-I ve Faz-II reaksiyonları olmak üzere iki kategoride incelenmektedir. Faz I enzimleri sitokrom P450 monooksijenaz (CYP'ler), azo ve nitro grubu redüktaz, monoamin oksidaz gruplarını içerirken, Faz II enzimleri N- ve O-metil transferazlar, D-glukuronik asit transferaz, glutatyon transferaz ve sülfat transferaz gruplarını içermektedir (Tsaïoun ve Kates, 2011). CYP, yapısında hem grubu içeren, izoenzimlerden oluşan ve çeşitli oksidasyon reaksiyonlarını katalize eden bir enzim üst ailesidir. İnsandaki en önemli formlar CYP2D6, CYP2C9, CYP3A4, CYP1A1, CYP2C19 ve CYP2E1 olup piyasadaki tüm ilaçların %90'ından fazlası, CYP enzimlerinden en az biri tarafından metabolik reaksiyonlara uğratılmaktadır (Grossman, 2009). İlaçların beklenmedik bir şekilde metabolize edilmesi, ilk geçiş metabolizmasından kaynaklanan biyoyararlanımın zayıflaması, klirensin artması, ilaç birikiminin yol açtığı toksisite sorunları, enzim inhibisyonu, indüksiyonu ve mekanizmaya kaynaklı inaktivasyon dahil olmak üzere ilaç-ilaç etkileşimleri gibi çeşitli komplikasyonlara yol açabilmektedir. Hem oluşabilecek komplikasyonların önlenmesi hem de potansiyel etken maddelerin bir çoğunun CYP enzimleri ile metabolize edilmeleri, ilaç metabolizmasının, son zamanlarda ilaç adaylarının tasarımı ve geliştirilmesi sırasında tahmin edilmesi gereken ana parametrelerden biri olduğunu göstermektedir. Ancak bazı araştırmalar, metabolizma

sürecinin, farklı genetik faktörler nedeniyle bireyler arasında değişen çeşitli enzimatik aktiviteleri içeren çok karmaşık bir süreç olduğu göstermektedir. Bu yüzden ilaçların metabolizmasının, diğer farmakokinetik parametrelere kıyasla tahmin edilmesinin en zor parametre olduğu belirtilmektedir (Chandrasekaran vd., 2018). Buna rağmen, bazı ilaçların metabolizmasına ilişkin göreceli tahminleri yapmak için genel olarak OSAR tabanlı farklı *in silico* modeller başarıyla uygulanmıştır (Pelkonen vd., 2005; Chandrasekaran vd., 2018).

2.14 Atılım/Eliminasyon

Genel olarak vücudun atık ve toksik ürünlerden kurtulma sürecini ifade etmektedir (Chandrasekaran vd., 2018). İlaç atılım süreci, ilaçların böbrek ve/veya karaciğer tarafından gerçekleştirilebilmekle birlikte bu süreçte akciğerler, deri vb. organlar da rol oynamaktadır (Tsaïoun ve Kates, 2011; Chandrasekaran vd., 2018). İlaçların uygun olarak uzaklaştırılma mekanizmasını belirleyen en önemli faktör, nispeten küçük moleküler ağırlıktaki maddelerin temelde idrar yoluyla atıldığı moleküler ağırlıktır (Lamberti vd., 2016). Atılımın tahmin edilmesinde çok az modelleme olsa da pasif atılımın teorik olarak tahmin edilmesinde, kan akışı, protein bağlanması, lipofiliklik, glomerüler filtrasyon ve moleküler ağırlık gibi fizikokimyasal ve fizyolojik özellikler kullanılabilmektedir (Tsaïoun ve Kates, 2011).

2.14.1 Klirens: Klirens, bir kimyasalın yarı ömrünü ($T_{1/2}$) ve dağılım hacmini ve bunlarla ilişkili olarak bir ilacın doz sıklığını belirleyen önemli bir farmakokinetik parametredir (Alqahtani, 2017).

2.15 Toksisite

İlaçların ve diğer ksenobiyotiklerin, anne karnındaki gelişim sırasında veya doğum sonrasında ergenliğe kadar geçen zamanda, homeostazı, normal büyüme, farklılaşma ve gelişim süreçlerini bozma potansiyeli bulunmaktadır. Bu durum gelişmekte olan organizmada, normal gelişimi bozarak, doğum kusurları, teratojenez ve yapısal anormallikler oluşumuna ve organizmanın ölümüne yol açmaktadır. Gelişimsel toksisite ve akut oral toksisitenin değerlendirilmesi birçok uluslararası düzenleyici kurum tarafından değerlendirilmektedir. Toksisite testleri için çoğunluğu ilaç veya kozmetik endüstrisi olmakla birlikte yılda yaklaşık 100 milyon kemirgen hayvan deneylerde kullanılmaktadır (Drwal vd., 2014). Ancak Değiştir, Azalt, İyileştir (3R) ilkeleri doğrultusunda, *in vitro* testler ve *in silico* tahminler dahil olmak üzere alternatif

yöntemlerin geliştirilmesi ve optimizasyonu, son yıllarda odak haline getirilmiştir (Drwal vd., 2014; Alves vd., 2018). Hayvan deneylerindeki etik kaygıların yanında genel olarak deneysel platformlarda tüm fitokimyasalların toksisitelerini test etmek zaman ve maliyet kaybına neden olmaktadır (Zhang vd., 2020). Bu nedenle *in silico* toksisite modellerinin amacı, kimyasalların toksisite etkilerini tahmin etmek için mevcut *in vitro* toksisite yöntemlerini tamamlamayı, kullanılacak zamanı, hayvan testi ihtiyacını ve bunların yol açacağı maliyeti en aza indirmektir (Banerjee vd., 2018). DSSTox (Dağıtılmış Yapı-Araştırılabilir Toksisite) (Richard ve Williams, 2002), CEBS: toksikolojik verilerin kapsamlı açıklamalarını içeren bir veri tabanı (Lea vd., 2017), LiverTox: DILI (İlaça Bağlı Karaciğer Hasarı) hakkında klinik ve araştırma bilgileri hakkında bir veri tabanı (Thakkar vd., 2018), ve Tox21 (Pilz vd., 2016) gibi veri tabanlarını kullanan *in silico* araçlar bulunmaktadır. Bu veri tabanları baz alınarak, bir kimyasalın toksisitesi, mutajenitesi, kanserojenitesi gibi toksisite son noktaları tahmin edilebilmektedir. Tahminler hem LD50 (ölümcül doz) değerleri gibi nicel olarak hem de belirli hücre tipleri veya sitotoksisite, immünotoksisite ve hepatotoksisite gibi gösterge alanı için aktif veya inaktif olarak niteliksel olarak değerlendirilebilmektedir (Raies vd., 2016).

2.16 Tarçın ve Sinnamaldehit

Tarçın, Lauraceae familyasına ait *Cinnamomum zeylanicum* (*C. verum*, gerçek tarçın ya da Ceylon cinnamon) bitkisinin kabuğundan elde edilen bir baharattır (Hussain vd., 2019). Dünya genelinde yaklaşık 250 türü olan tarçının, ekonomik olarak önem arz eden *C. verum* (Sri Lanka veya Seylan tarçını), *C. cassia* (Çin tarçını), *C. burmannii* (Endonezya tarçını) ve *C. loureiroi* (Vietnam veya Saigon tarçını) olmak üzere dört temel türü bulunmaktadır. Aşçılık tarihinin en eski baharatı olan tarçının tıbbi olarak kullanımının yanında mutfakta da kullanımı yaklaşık 4000 yıl öncesine uzanmaktadır (Rao ve Gan, 2014). Tarçın türlerinin farklı bitkisel bölümleri ve uçucu yağı dünya genelinde baharat olmasının yanında aroma verici olarak da kullanılmaktadır (Pittman, 2011; Singh vd., 2021). Ayrıca çikolata, elmalı turta ve tarçınlı çörek tarzındaki tatlıların yanında, baharatlı şekerlemelerin, çayların, sıcak çikolatanın ve likörlerin içerisinde bulunabildiği gibi sadece tatlıların üzerine de serpilebilmektedir. (Kowalska vd., 2021). Bunlara ek olarak, gıdaların korunması amacıyla çeşnilerin, sosların, şekerlemelerin ve içeceklerin içerisine konulmaktadır (Pittman, 2011; Singh vd., 2021).

Tarçın türü bitkilerin farklı bölümlerinden izole edilen tarçın, Ayurveda tıbbında sindirimsel, solunumsal, kardiyolojik ve jinekolojik hastalıklar dahil çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Ranasinghe vd., 2013; Ribeiro-Santos vd., 2017; Gülçin vd., 2019; Hussain vd., 2019; Kumar vd., 2019; Nascimento vd., 2020). Ayrıca yapılan çalışmalar tarçının amenore, tansiyon, baş ağrısı, diş ağrısı, soğuk algınlığı semptomları gibi rahatsızlıkların kontrolünde etkili olduğunu göstermektedir (Azimi vd., 2016; Singh vd., 2021). Cinnamomum türleri, antiviral, antifungal, antibakteriyel olmak üzere antimikrobiyal, lavrisit, böcek öldürücü, nematsit aktivite göstermektedir (Gopinath vd., 2014; Utcharyakiat vd., 2016; Thomas vd., 2017; Padalia vd., 2017; Momtaz vd., 2018; Hussain vd., 2019; Kumar vd., 2019; Nascimento vd., 2020; Farias vd., 2020; Singh vd., 2021). Bunların yanında tarçının, antioksidan, antiplatelet, antilipidemik, anestezi, antiinflamatuvar, immün modulator, antidiyabetik, antiülser, antidepresan etkilerinin yanında karaciğer, böbrek, anksiyete ve Parkinson rahatsızlıklarında da kullanıldığı görülmektedir (Saranya vd., 2017; Beji vd., 2018; Qadir vd., 2018; Momtaz vd., 2018; Majeed, 2018; Gülçin vd., 2019; He vd., 2019; Hussain vd., 2019; Kumar vd., 2019; Nascimento vd., 2020; Farias vd., 2020; Singh vd., 2021). Tarçın türlerinin bu aktivitelerinin yanında, bilişsel fonksiyonları artırıcı etkisi olduğu, tau birikimi ve filamet oluşumu üzerinde inhibisyon yaptığı, antikolinesteraz aktivitesi dahil pek çok yolak üzerinden anti-Alzheimer etkisi gösterdiği bildirilmiştir (Peterson vd., 2009; Salleh vd., 2016; Momtaz vd., 2018; Gülçin vd., 2019; Hussain vd., 2019; Kumar vd., 2019; Nascimento vd., 2020; Singh vd., 2021; Mahnashi vd., 2021). Tarçın türlerinin bu kadar geniş kullanım alanına ve biyolojik aktiviteye sahip olması içeriğinde bulunan fitokimyasallarla ilişkilidir. Yapılan analitik analizler sonucunda tarçın türlerinin uçucu yağlar, terpen türevleri, hidrokarbon türevleri ve polifenoller gibi birçok kimyasal grubu içerdiği bildirilmiştir. Tarçın uçucu yağlarında bir çok bileşen bulunmasına karşın ana bileşenler başlıca (*E*)-sinnamaldehit, (*E*)-sinnamil alkol, eugenol, etil sinamat, metil sinamat, sinnamil asetat β -karyofillen ve α -humulen molekülleridir (Şekil 2.9) (Azeredo vd., 2014; Cardoso-Ugarte vd., 2016; Hussain vd., 2019; Singh vd., 2021).

1834 yılında Jean-Baptiste Dumas ve Eugène-Melchior Péligot tarafından ilk kez tarçından saflaştırılan sinnamaldehit (CA, 3-fenil-2-propenal; C_9H_8O) (Şekil 2.13), tarçının kokusundan, tadından ve aromasından sorumlu olup tarçın kabuğunun majör

biyoaktif bileşenidir. Bu bileşen doğal olarak bulunabildiği gibi, ilk kez 1854 yılında Luigi Chiozza tarafından laboratuvarda da sentezlenmiştir (Ashakirin vd., 2017; Hajinejad vd., 2020). Doğal tarçın aromasının yerine sentetik olarak üretilen sinamaldehit, içecekler, dondurmalar, tatlılar ve sakızlar gibi gıda maddelerine tarçın aroması vermesi için de katılmaktadır (Roth-Walter vd., 2014). Parfüm ve esans maddelerin de içeriğinde yer almakla birlikte, antimikrobiyal etkisinden dolayı su ve et ürünlerinin mantarlardan korumada da kullanılmaktadır. Daha eski zamanlardan beri, lokal analjezinin sağlanmasında, kan dolaşımı sorunları ve gastrit tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir (Roth-Walter vd., 2014). Tarçın türlerinin en baskın fitokimyasal olan sinamaldehit, antibakteriyel, antifungal, antiviral etki göstermektedir (El-Baroty vd., 2010; Lv vd., 2017; Hussain vd., 2019; Kumar vd., 2019; Wang vd., 2021). Yapılan araştırmalar bu molekülün antimikrobiyal etkisinin yanında; antidiyabetik, antianjiyogenez, antikanser, antiapoptotik, antioksidan, yara iyileştirici, antiinflamatuvar, kardiyoprotektif, anti-obezite, antitrombosit, antilipidemik ve antiglisemik etkiye sahip olduğunu göstermektedir (Pei vd., 2009; Chung vd., 2011; Song vd., 2013; Lv vd., 2017; Patil vd., 2017; Wu vd., 2017; Zuo vd., 2017; Alves vd., 2018; Husain vd., 2018; Ahmadi vd., 2019; Zare vd., 2019; Hussain vd., 2019; Kumar vd., 2019; Ogunyemi vd., 2020). Sinamaldehit bu etkilerinin yanında genel olarak antioksidan, antiinflamatuvar, anti-apoptotik etkilerinden ötürü ya da farklı yollar üzerinden olabilmekle birlikte nörolojik bozuklarda kullanılmaktadır (Hajinejad vd., 2020). Sinamaldehit molekülünün amnezi, depresyon, anksiyete, sistemik iskemi, siyatik sinir hasarı, glutamat toksisitesi ve Parkinson gibi SSS bozukluklarında etkili olduğu bildirilmektedir (Rao ve Gan, 2014; Zhao vd., 2015; Lv vd., 2017; Ball vd., 2019; Jahromi vd., 2020; Hajinejad vd., 2020; Angelopoulou vd., 2021). SSS üzerindeki bu etkilerine ek olarak, sinamaldehitin AH ile ilişkili olan A β plaklar ve NFY'ların oluşumu ve birikimini inhibe ettiği, tau proteinin agregasyonunu azaltarak nöronal ölümü engellediği belirtilmektedir (George vd., 2013). Ayrıca erkek sineklerde yaşam kalitesini arttırırken, sıçanlara sinamaldehit uygulandığında kognitif fonksiyonlarının arttığı bildirilmiştir (Pham vd., 2018; Saeed vd., 2018). Bu aktivitelerine ek olarak sinamaldehitin pek çok farklı yolk üzerinden anti-Alzheimer etkisi gösterdiğini belirten çalışmalar bulunmaktadır (Park vd., 2016; Momtaz vd., 2018; Wang vd., 2019; Hajinejad vd., 2020; Angelopoulou vd., 2021; Mahnashi vd., 2021).



Şekil 2.10 A.Tarçın. B. Sinnamaldehit 2B yapısı (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> 'dan alınmıştır).

2.17 Vanilya ve Vanilin

Kökeni Meksika olan vanilya bitkisi Orchidaceae familyasında bulunmaktadır (Childers Vecibes, 1959). Vanilya cinsi farklı tropikal ve alt tropikal alanlarda dağılım gösteren 110'dan fazla tür içermektedir (FAOSTAT, 2018). Vanilya cinsi 118 tür içermesine rağmen, *Vanilla planifolia* (Bourbon (Madagaskar, Meksika, Endonezya, Hindistan vanilyası), *V. tahitensis* (Tahiti ve Papua Yeni Gine vanilyası) ve *V. pompona* (Orta Amerika (Guadeloupa) vanilyası) olmak üzere sadece üç türü yetiştirme ve ekonomik açıdan önem arz etmektedir (Anuradha vd., 2013; Deveci vd., 2016; Karremans vd., 2020; Leyva vd., 2021). *V. planifolia*, kalitesinin beraberinde, temelde vanilyaya sahip olduğu tat ve aromayı veren vanilinin yüksek olmasından dolayı tarımsal olarak ve aşçılıkta çok fazla kullanılmaktadır (Deveci vd., 2016; Leyva vd., 2021). Vanilya tarih boyunca tat ve aroma vermesinden ötürü aşçılık alanında kullanılmıştır. Dondurmaların, kremaların, pudinglerin, kurabiyelerin, sütlü tatlıların, meyveli yoğurtların, pasta ve keklerin, çikolataların, şekerlemelerin, likörlerin ve ilaçların tadını iyileştirmek için ilaçların içerisine katılmaktadır (Anuradha vd., 2013; Castella vd., 2014; Sandheep ve Jisha, 2014; Deveci, vd., 2016). Aşçılığın yanında çok eski zamanlardan beri tıbbi amaçlı da kullanılmaya devam etmektedir. Vanilya 1700-1800' lerde, ateş düşürücü, arındırıcı, idrar söktürücü, melankoli ve histeriye karşı yatıştırıcı etkilerinden ötürü Avrupa farmakopesinde bulunmaktadır (Anuradha vd., 2013). Ayrıca bazı toplumlarda, spazm çözücü, afrodisyak, ateş düşürücü ve kaygı tedavisinde kullanıldığı görülmektedir (Anuradha vd., 2013; Deveci vd., 2016). Bunların yanında, antikanser, antiinflamatuvar, immun stimülatör, antioksidan, antimutajenik ve karaciğer koruyucu etkilerinin olduğu da belirtilmektedir (Ravindran, 2006; Anuradha vd., 2013). Vanilyanın çok farklı terapötik ve biyolojik aktivitelerinden içeriğinde bulunan fitokimyasallar sorumludur. Yapılan analitik

alışmalar sonucunda, vanilyada aroma ve tattan sorumlu, karboniller, uçucu bileşikler (zellikle vanillin (VAN) fenolikler, esterler, eterler, asitler dahil yaklaşık 200'den fazla aktif bileşik tanımlanmıştır (Klimes ve Lamparsky 1976). Aktif bileşiklerin uçucu bileşikler sınıfında yer alan VAN, vanilyaya aromasını veren temel bileşiktir (Anuradha vd., 2013). Son zamanlarda farmakoloji, kimya gibi temel bilimlerin kullandığı tekniklerin gelişmesiyle birlikte de vanilyanın eski zamanlardan beri süregelen tıbbi etkilerinin vanilinle ilişkili olduğu görülmüştür (Anuradha vd., 2013).

İlk defa 1858 yılında Fransa'da *V. planifolia*'nın yeşil bakkalarının etanol ekstratlarından izole edilen VAN hidrofilik yapıda bir biyofenoldr (şekil 2.15) (Deveci vd., 2016; Banerjee vd., 2019; Ciriminna vd., 2019; Leyva vd., 2021; Rakoczy vd., 2021). Doğal olarak elde edilebildiği gibi sentetik olarak çeşitli kimyasal ve biyoteknolojik yöntemlerle de retilabilmektedir (Anuradha vd., 2013; Deveci vd., 2016; Banerjee vd., 2019; Ciriminna vd., 2019). Dünya genelinde tercih edilen tat ve aromalardan biri olan p-vanilin, aşılık, içecek, ilaç ve kozmetik endüstrisinde vanilya meyvesinin aroması yerine geniş çapta bir kullanıma sahiptir (Anuradha vd., 2013; Banerjee vd., 2019; Ciriminna vd., 2019). Aşılıkta keklerin, pastaların, dondurmaların ve alkolsüz içeceklerin dahil olduğu farklı gıdalarda aroma verici olarak kullanılmakta; kozmetikte parfümlerin, kremlerin, duş jellerinin içerisinde bulunabilmektedir (Havkin-Frenkel ve Belanger, 2018; Banerjee vd., 2019). Tatlandırıcı etkisi ve hoş kokusunun yanında, antibakteriyel, antifungal ve antioksidan özelliklerinden dolayı gıda koruyucu olarak da kullanılmaktadır (Banerjee vd., 2019). Ayrıca aldomet (metildopa), L-DOPA ve dopamin gibi ilaçların üretiminde hammadde rolü üstlenen VAN; sahip olduğu antimikrobiyal özelliklerden dolayı da ilaç katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Converti vd., 2010; Banerjee vd., 2019). Ranadive (1992) tarafından yapılan bir araştırmada vanilya meyveleri VAN'ın yanı sıra p-hidroksibenzoik asit, p-hidroksibenzaldehit, vanilik asit ve bu maddelerin glikozit türevlerini içerdiği rapor edilmiştir (şekil 2.14).

Tarih boyunca ateş düşürücü, kardiyak stimülatör, spazm giderici olarak; ayrıca uykusuzluk ve menstrüel döngü kaynaklı rahatsızlıklarda kullanıldığı görülmektedir (Halim, 2017). VAN'ın, sahip olduğu antioksidan kapasiteden dolayı memeli dokularında oluşan oksidatif hasarı ve bu hasardan kaynaklı oluşan hastalıkları (nörodejeneratif hastalıklar gibi) nlemek amacıyla kullanılabileceği belirtilmektedir (Kamat vd., 2000; Banerjee vd., 2019). Antioksidan etkisine ek olarak

antiinflamatuvar, analjezik, antimutajenik, antitümörojenik, antianjiogenez, antikanser, antidepresan, anksiyolitik, ve nosiseptik aktiviteleri vanilyayı ilgi çekici kılmaktadır (Ho vd., 2009; Rakchoy vd., 2009; Tai vd., 2011; Anuradha vd., 2013; Shoeb vd., 2013; Niazi vd., 2014; Gupta vd., 2014; Raffai vd., 2015; Peretti vd., 2017; Naz vd., 2018; Pandey vd., 2019; Ben Saad vd., 2018; Kim vd., 2018; Banerjee vd., 2019; Venkata vd., 2020; Yousuf vd., 2021; Ahammed vd., 2021). Antioksidan etkisinden kaynaklı olarak nöroprotektif etki göstermektedir (Dhanalakshmi vd., 2015 ve 2016; Ben Saad vd., 2018; Lan vd., 2019; Chen vd., 2019; Salau vd., 2020). Bunların yanında, SSS ile ilişkili olarak, allodini (bir ağrı çeşidi), nöropatik ağrı, periferik sinir hasarı, iskemik beyin hasarı, spinal kord hasarı ve ödem tedavisinde kullanıldığına dair araştırmalar mevcuttur (Beaudry vd., 2010; Peretti vd., 2017; Lan vd., 2019; Chen vd., 2019). Sıçanlarda Parkinson modellemesi yapılarak gerçekleştirilen bir diğer çalışmada, vanilin 6-OHDA lezyonuna karşı koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir (Abuthawabeh vd., 2020). VAN'ın, AH'nın FDA tarafından onaylanmış tedavilerden biri olan AChE enzimi üzerinde inhibisyon yaptığı bildirilmiştir (Kundu ve Mitra, 2013; Iannuzzi vd., 2017; Ahammed vd., 2021). Vanilin ve vanilin türevlerinin AH'nın oluşumundaki temel faktörler olan A β birikimi ve oksidatif stres yolları başta olmak üzere çeşitli yollar ile AChE enzim inhibisyonu yolları üzerinden anti-Alzheimer etkisi gösterdiklerini belirten çalışmalar bulunmaktadır (Khan vd., 2017; Lee vd., 2018; Scipioni vd., 2019; Zhong vd., 2019; Blaikie vd., 2020; Prasanna ve Jing, 2021; Anastassova vd., 2020; Salau vd., 2020).

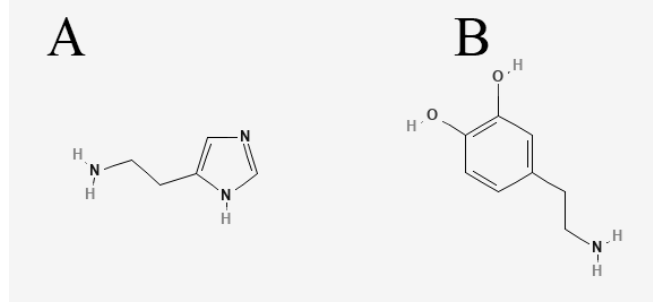


Şekil 2.11 A. Vanilya baklası. B. Vanilin 2B yapısı
(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)

2.18 Histamin ve Dopamin

Hem nöroimmünitede önemli olan hem de biyojenik bir amin olan histamin (2-3H-imidazol-4-yl-etanmin), çeşitli memeli dokularında L-histidin dekarboksilaz tarafından L-histidinden sentezlenmektedir (Şekil 2.16A) (Carthy ve Ellender, 2021). Histamin temel olarak histaminerjik nöronlar, gastrik mukozada bulunan enterokromafin-benzeri hücrelerde ve mast hücreleri, bazofiller gibi immun hücrelerde sentezlenmektedir (Huang vd., 2018). Biyolojik aktivitesini her bir reseptörün farklı sinyal yollarını etkilediği 4 adet G-proteini-kenetli reseptörler (H1-H4) ile etkileşim kurarak göstermektedir (Flores-Clemente vd., 2021). Alerji gibi uyaranlara karşı oluşan yanıtlarda mast hücrelerinden salınarak önemli bir inflamatuvar aracı olarak rol oynamaktadır (Greaves vd., 1996). Midedeki enterokromafin-benzeri hücrelerde hidroklorik asit salgılanmasını düzenlemektedir (Andersson vd., 1998). Vazoaktif etkisini bronş düz kasları ve nosiseptif kaşıntı sinirleri üzerinde göstermektedir (Patel ve Mohiuddin, 2021). Bu etkilerinin yanında, duyuusal ve motor fonksiyonlar, uyku-uyanıklık durumu, sinaptik iletim, öğrenme, bellek, dikkat ve bilişsel süreçlerin düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Flores-Clemente vd., 2021). SSS’de histaminerjik nöronlar hipotalamusta tuberomamiller çekirdekte (TMN) yer almakta olup bazal ön beyin, hippokampus, amigdala dahil çeşitli beyin bölgeleri ile projeksiyon yapmaktadır. Bu beyin bölgeleri AH’da da ciddi şekilde etkilenmektedir (Flores-Clemente vd., 2021). Alzheimer hastalarının hippokampus ve temporal lob gibi beyin alanlarında histamin seviyesinin azaldığı bildirilmiştir (Panula vd., 1998). Histamin seviyesindeki azalmanın ise H1 reseptörünün sinyal iletimindeki azalmadan ve temelde TMN’deki nöronal azalmadan kaynakladığı belirlenmiştir (Oh vd., 2019). TMN’deki nörodejenerasyonun ise NFY hasarla ilişkili olduğu; bunun da AH’daki kognitif bozulmayı açıkladığı önerilmiştir (Flores-Clemente vd., 2021). Ayrıca meydana gelen bu azalmanın kadınların prefrontal kortekslerindeki hem H3 reseptörü hem de histamin-N-metiltransferaz-mesajcı RNA (HNMT-mRNA) ifadesinin artmasıyla ilişkili olduğu saptanmıştır (Shan vd., 2012). Aktif bir nöromodülatör olan histamin nörogelişim süreçlerinde de önemli rol oynamaktadır. Nörogelişim sırasında oluşan histaminerjik fonksiyon bozuklukları Tourette sendromu, şizofreni ve otizm spektrum bozuklukları dahil birçok nörogelişimsel bozukluğa yol açmaktadır (Carthy ve Ellender, 2021).

Homeostazın sağlanmasında da görev alan dopamin (4-(2-aminoethyl)-1,2-benzenediol), ilk defa 1951’de insanın da dahil olduğu birçok hayvan beyinde saptanan bir nörotransmitterdir (Şekil 2.16B) (Raab ve G1gee, 1951; Franco vd., 2021). Daha sonra yapılan araştırmalarda dopaminin sadece beyin değil beyin dışı alanlarda da işlev gösterdiği ve L-DOPA’nın dopamine dönüştürülebilen bir öncül molekül olduğu belirlenmiştir. Memeli sinir sisteminin temel nörotransmitterlerinden biri olan dopamin özellikle substantia nigra olmak üzere beyin farklı alanlarında bulunan dopaminerjik nöronlarda sentezlenmekte ve buralardan salınmaktadır. G-protein-kenetli reseptör süperailesine dahil olan ve D1-D5 olmak üzere 5 adet dopamin reseptörü tanımlanmıştır. Fizyolojik şartlar altında motor fonksiyonlar, öğrenme ve bilişsel süreçlerin de dahil olduğu pek çok süreçte yer almaktadır (Liu vd.,2021; Franco vd., 2021; Stubbendorff ve Stevenson, 2021). Ayrıca bazı reseptör alt tipleri melatonin salgısında rol oynayarak sirkadiyen ritmin düzenlenmesinde etkilidir. Periferal olarak hücre bazda beyin-bağırsak iletişimde de görev aldığını bildiren çalışmalar mevcuttur (Boroto-Escuela vd., 2014). Patolojik koşullarda dopamin eksikliği ile ilişkili olarak en çok araştırılan hastalıklardan biri Parkinson hastalığıdır (Zhang vd., 2019; Akyuz vd., 2021). Buna ek olarak, farklı beyin alanları arasındaki dopamin iletimindeki dengesizliklerin şizofreni ve bağımlılık dahil pek çok nörolojik hastalıkta rol aldığı bildirilmektedir (Franco vd., 2021; Akyuz vd., 2021). Daha önce yapılan çalışmalarda AH’da dopamin hasarı olduğuna dair bulgulara rastlanılmasa da, dopamin taşıyıcılarının görüntülenme çalışmaları strial postsinaptik değişikliklerin AH ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Ceravolo vd., 2004; Patthy vd., 2021). Buna ek olarak, dopamin taşıyıcılarının aslında AH başlamadan 30 yıl öncesinde azaldığı ve NFY’ların ventral tegmental alanda olduğu bildirilmiştir. Transgenik hayvan modelinde aynı alandaki nöronal kaybın Aβ ve NFY birikimi olmadan önce ilerleyici dopamin hasarının ödül mekanizmalarını ve bellek süreçlerini bozduğu saptanmıştır (Volkow vd., 1994). Çeşitli *in vivo* modellemeler ve görüntüleme çalışmaları AH-dopamin ilişkisi gösterilmiş ve son zamanlarda dopaminin AH tedavisinde kullanılması alternatif bir strateji olmuştur (Bozzali vd., 2016; Patthy vd., 2021). Aβ ve tau birikimini önlemek amacıyla nöroinflamasyonun blokajı dahil çeşitli yollar üzerinden etkili olan dopamin türevli moleküller geliştirilmiştir (Ziu vd., 2020; Cataldi vd., 2021; Paul vd., 2021; Patthy vd., 2021).



Şekil 2.12 A. Histamin 2B yapısı. **B.** Dopamin 2B yapısı
(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> ‘dan alınmışlardır).

2.19 Schiff (İmin) Bazları

İlk olarak Alman kimyager Hugo Schiff tarafından sentezlenen Schiff bazları (iminler), aldehit ya da ketonların primer aminler ile nükleofilik katılma reaksiyonu sonucu oluşan, yapısında -CH=N- (azometin grubu) içeren kondenzasyon ürünleridir (Değirmencioğlu, 2010; Çavuşoğlu, 2014; Karaca, 2018). Schiff bazları genel olarak $\text{R}_1\text{CH=NR}_2$ formülüyle gösterilmekte olup formüldeki R_1 ve R_2 alkil ya da aril gruplarıdır (Karaca, 2018). Bu bileşikler iyi bir azot donör ligandı olarak da bilinmektedir (Değirmencioğlu, 2010). Schiff bazları, tepkimeye giren karbonil bileşiğinin aldehit ya da keton olmasına bağlı olarak aldimin (azometin) ya da ketimin (imin) olarak adlandırılabilir (Çavuşoğlu, 2014). Schiff bazları kolay sentezlenebilen, kararlı moleküllerdir. Schiff bazlarının metal kompleksleri renkli bileşikler olduğundan tekstil endüstrisinde pigment boyar maddesi olarak da kullanılmaktadır (Değirmencioğlu, 2010; Serin 1988). Bunun yanı sıra bu bileşikler hastalıkların teşhisi ve tedavisinde, tarımda, roket yakıtı hazırlanmasında ve başka alanlarda aktif olarak kullanılmaktadırlar (Değirmencioğlu, 2010).

2.20 LİTERATÜR ÖZETİ

Sinmaldehit’in (CA) HDAC8 enzimi üzerindeki inhibitör etkisinin araştırıldığı bir moleküler docking çalışmasında, enzim ve ligand arasındaki bağlanma enerjisinin -7.18 kcal/mol olduğu saptanmıştır. Ayrıca ligandın His142 ve His143 kalıntıları ile H-bağı ve enzimin Zn^{+2} iyonu ile Asp178, His180, Asp267 kalıntılarıyla kurduğu bildirilmiştir (Patil vd., 2017).

2019’da Mateen ve ekibi tarafından docking yöntemi kullanılarak, CA’nın TNF- α ve IL-6 üzerindeki antiinflamatuvar etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada, CA’nın, TNF- α ’nın bağlanma cebinin tepesine bağlanarak, Gln61 kalıntısıyla bir H-bağı kurmuş ve

Pro117 kalıntısıyla hidroforik olarak etkileşmiştir. Ayrıca TNF- α -CA kompleksinin serbest bağlanma enerjisi -5.4 kcal/mol olarak bildirilmiştir. IL-6 CA arasında ise Thr43 ve Arg104 kalıntıları arasında H-bağları kurulmuş olup serbest bağlanma enerjilerinin -5 kcal/mol olduğu bulunmuştur (Mateen vd., 2019).

226 tane Afrika bitkilerinin aktif bileşenleri ve SARS-Cov-2 RNA-bağımlı RNA polimeraz enzimi arasındaki etkileşimlerin incelendiği ve CA'nın negatif kontrol olarak kullanıldığı bir çalışmada, enzim-ligand arasındaki serbest bağlanma enerjisi -5.4 kcal/mol olarak bulunmuştur. Ayrıca 2 adet Lys858 kalıntılarıyla H-bağı ve Phe441(2), Ala550, ve Tyr546 kalıntılarıyla da 4 adet hidroforik etkileşim kurduğu bildirilmiştir (Ogunyemi vd., 2020).

da Nóbrega ve ekibi tarafından yapılan bir çalışmada, CA'nın, skualen epoksidaz ve timidilat sentaz enzim yolları başta olmak üzere önemli hücresel yollar üzerinden gerçekleştirdiği antifungal etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada, CA, hedeflenen enzimlerde en iyi serbest bağlanma afinitesini skualen epoksidaz (-70.4951 kcal/mol) ve timidilat sentaz (-66.4852 kcal/mol) enzimleri üzerinde göstermiştir. Ayrıca CA, skualen epoksidaz enzimi ile Gln66 kalıntısı aracılığıyla; timidilat sentaz enzimi ile Arg92 kalıntısı aracılığıyla H- bağı kurmuştur (da Nóbrega vd., 2020).

CA'nın anti-AH potansiyelinin incelendiği bir çalışmada, CA'nın BACE1'i -4.237 kcal/mol bağlanma afinitesiyle inhibe ederken, Trp137 kalıntısı ile H-bağı, Try132 kalıntısıyla π - π ekileşimi kurduğu bildirilmiştir. Buna ek olarak, A β agregasyonu ile ilişkili olan A β ₁₋₄₂ peptidiyle ise Asn21 kalıntısıyla H-bağı kurarak, -1.127 kcal/mol bağlanma enerjisi göstermiştir (Chowdhury ve Kumar, 2020).SARS-Cov-2 virüsünün spike proteini (mutant ve doğal) ve ACE2 enzimi ile CA arasındaki etkileşim moleküler docking yöntemleri ile araştırılmıştır. CA'nın doğal S proteini ile -6.696 kcal/mol bağlanma afinitesi gösterirken, Lys458, Gln474 kalıntılarıyla etkileşim kurduğu; mutant S proteini ile -7.245 kcal/mol bağlanma afinitesi gösterirken, Tyr449, Gly496 kalıntılarıyla etkileştiği; ACE-2 enzimi ile -6.833 kcal/mol bağlanma afinitesi gösterirken, Tyr158, Val491 kalıntılarıyla etkileştiği saptanmıştır. Bunlara ek olarak, ACE2+Doğal S protein kompleksi ile -6.672 kcal/mol bağlanma afinitesi gösterirken, Asp494a, Arg403, Lys417 kalıntılarıyla etkileştiği; ACE2+Mutant S protein kompleksi ile -8.066 kcal/mol bağlanma afinitesi gösterirken, Val132, Trp163, Phe490, Pro494 kalıntılarıyla etkileşim kurduğu bildirilmiştir (Nag vd., 2021).

Amiloid yolakla ilişkili olan tavuk yumurta-beyazı lizozim (HEWL) proteini ve CA arasında yapılan bir diğer docking çalışmasında, protein-ligand kompleksi -1.79 kcal/mol docking skoru ile bağlanırken, Trp108 kalıntısıyla π - π etkileşimi kurduğu belirtilmiştir (Chowdhury ve Kumar, 2021).

2021’de yapılan bir araştırmada, *Saprolegnia parasitica* proteinleri ve CA arasındaki etkileşimler incelenmiştir. Araştırma bulgularına göre, CA, plazma membran ATPaz ile -5 kcal/mol, V-tip proton ATPaz ile -5.7 kcal/mol, tirozin kinaz benzeri (TKL) protein kinaz ile -6 kcal/mol, Host hedef protein-1 ile -4.3 kcal/mol bağlanma afinitesi gösterirken, sırasıyla Gly515 kalıntısıyla, Cys226 kalıntısıyla, Met440 kalıntısıyla H-bağı kurduğu bildirilmiştir. Ek olarak, Host hedef protein-1 ile H-bağı kurmadığı sadece hidrofobik olarak etkileştiği gösterilmiştir (Tandel vd., 2021).

Aldehit oksidaz enzimi ve vanilin arasında yapılan bir *in silico* değerlendirmede, enzimin Phe916 kalıntısı ile vanilin arasında bir π - π etkileşimi olduğu ve Gly1012, Ser1013 ve Gly1081 kalıntıları arasında H-bağı kurulduğu bildirilmiştir (Hamzeh-Mivehroud vd., 2014).

Vanilin’in (VAN) fokal adezyon kinaz (FAK) proteini aracılığıyla antimetastatik potansiyelinin araştırıldığı bir çalışmada, protein-ligand kompleksinin Arg35, His35 ve Try397 kalıntıları üzerinden etkileştiği ve Try397 kalıntısında 2 adet H-bağı kurduğu bildirilmiştir (Jantaree vd., 2017).

VAN’ın antikanser etkisinin araştırıldığı bir diğer çalışmada, Ca^{+2} /kalmodilin bağımlı kinaz (CAMK) IV enzimi ve VAN’ın moleküler docking analizi yapılmıştır. Araştırma bulgularında, enzim-ligand kompleksinin Leu96, Leu93, Leu104, Asp31 ve Asp35 kalıntıları ile H-bağı kurduğu ve -5.68 kcal/mol serbest bağlanma enerjisiyle kararlı bir yapı oluşturduğu bildirilmiştir (Naz vd., 2018).

İnflamatuvar hastalıklarda hayati önem taşıyan Toll-benzeri reseptör-4/miyoloid farklılaşma faktörü-2 (TLR-4/MD-2) homodimerizasyonu ve antiinflamatuvar bir molekül olan VAN arasındaki etkileşimler incelenmiştir. VAN-TLR-4/MD-2 kompleksinin Lys122, Phe126 ve Leu78, Val82 amino asit kalıntıları aracılığıyla H-bağı kurdukları, hidrofobik olarak etkileştikleri ve -3.36 kcal/mol gibi yüksek bir serbest bağlanma enerjisi ile bağlandıkları saptanmıştır (Mai vd., 2018). 2018’de yapılan bir çalışmada, *Leishmania donovani*’nin yol açtığı Viseral leishmaniasis

hastalığına karşı patojenin infektivitesini etkileyen DEAD(Asp–Glu–Ala–Asp) -Box RNA helikaz enzimi hedeflenerek VAN'ın ilaç olma potansiyeli araştırılmıştır. Vanilin hedef enzime -5.692 kcal/mol bağlanma afinitesi ile bağlanmıştır (Pandey vd., 2019).

Birçok kanser ve inflamatuvar hastalık için potansiyel ilaç hedefi olan Sfingosin kinaz 1'in hedeflendiği ve VAN dahil 9 fitokimyasalın ilaç olma potansiyenin incelendiği bir araştırmada, VAN-enzim kompleksinin -5.3 kcal/mol bağlanma afinitesi ile bağlandığı bildirilmiştir (Gupta vd., 2021).

Son zamanlarda yapılan bir araştırmada, VAN'ın *Candida albicans*'ın patojenitesinin inhibisyonunda hedeflenen izositrat liyaz ve malat sentaz enzimlerine karşı inhibitor etkisi incelenmiştir. Buna göre, VAN'ın -8.4 kcal/mol bağlanma afinitesi ile ve Asp477, Phe478 ve Glu498 kalıntıları arasında üç H-bağı kurarak izositrat liyaz ile kararlı bir kompleks oluşturduğu bildirilmiştir. Ayrıca VAN-malat sentaz kompleksinin -7.1 kcal/mol bağlanma afinitesi ile ve Asp125, Arg284 ve Trp285 kalıntıları arasında üç H-bağı oluşturarak kararlı olarak oluştuğu belirtilmiştir (Venkata vd., 2020).

VAN'ın nöroprotektif ve antioksidatif etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, VAN'ın süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile -4.7 kcal/mol, AChE ile -6.1 kcal/mol, ATPaz ile -5.2 kcal/mol ve katalaz enzimi ile -6.5 kcal/mol bağlanma afinitesi gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca O-H ve -O grupları, Ser114, Arg112, Phe334 ve His75 amino asit kalıntıları ile H-bağı kurarken, Ala133 ve Arg112 kalıntılarıyla π - π etkileşimi kurulduğu bildirilmiştir (Salau vd., 2020).

Kan şekeri düzeyini düşürerek Tip-2 diyabete karşı hedef enzim haline gelen α -glukozidaz enzimi ve VAN arasında bir moleküler docking araştırması yapılmıştır. Enzimin-ligand kompleksi oluştuğunda, His80, Tyr82, Trp83, His122, Glu166, Leu173, Glu166, Asp206, Asp297 ve Arg344 kalıntıları ile hidrofobik etkileşimler ile Ser207 ve Glu166 kalıntıları arasında H-bağı kurulduğu bildirilmiştir (Liu vd., 2021b).

Siklin bağımlı kinaz-6 (CDK6) enzim inhibisyonu ve vanilinin potansiyel inhibitor etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, enzim-ligand kompleksinin -4.53 kcal/mol bağlanma afinitesi ile kararlı bir yapı oluşturduğu bildirilmiştir. Ayrıca Lys43 ve Glu99 kalıntıları ile H-bağı kurdukları belirtilmiştir (Yousuf vd., 2021).

BÖLÜM III

MATERYAL-METOT

Bu çalışmada Swiss Target Prediction ve Similarity Ensembl Approach veri tabanları verilerine dayanarak Alzheimer hastalığı ile ilişkili olduğu saptanan enzimlerin ve tasarlanan moleküllerin bileşiklerin bağlanma enerjilerini araştırmak amacıyla Autodock 4.2.6 programı kullanılarak moleküler kenetlenme (docking) çalışmaları ve SwissADME, ADMETlab, Protox-II web sunucuları kullanılarak moleküllerin farmakokinetik (ADME) ve toksikolojik analizleri yapılmıştır.

3.1 Kullanılan Programlar ve Veritabanları

3.1.1 Swiss Target Prediction (STP) ve Similarity Ensembl Approach (SEA)

STP, biyoaktif küçük bir molekülün mevcut olan en olası makromolekül hedeflerini tahmin etmek amacıyla kullanılmaktadır. Biyohedef tahmini *Homo sapiens* L. ssp. sapiens, *Mus musculus* L., ve *Rattus norvegicus* Berk türlerinden gelen 3000'den fazla protein üzerinde 370000 bilinen biyoaktif bileşikten oluşan bir kitaplık kullanılarak yapılmaktadır (Daina vd., 2019). STP ile benzer amaç için kullanılan SEA, hedef proteinlerin ya da enzimlerin ligandları arasındaki küme temelli kimyasal benzerliği baz alarak ilişkilendirme yapmaktadır (Keiser vd., 2007). SEA için kullanıcılar moleküllerinin SMILES bilgilerini kullanarak, STP için hem molekül çizimi yaparak hem de SMILES'i kullanarak tahmin yapabilmektedirler.

3.1.2 Autodock 4.2.6

AD4 ve AutoDockTools (ADT), Scripps Research Institute tarafından geliştirilen ve ücretsiz olarak kullanılabilen otomatik docking yazılım paketleridir (Lohning vd., 2017).

3.1.3 Discovery Studio 2021

Enzim ve ligand etkileşimlerinin görüntülemeleri, etkileşimde bulundukları aminoasit kalıntıları, yaptıkları bağ tipleri ve bağ uzunlukları gözlenmesi dahil çeşitli amaçlar için kullanılmıştır.

3.1.4 SwissADME

Bu web sitesi, ilaç keşfini desteklemek için bir veya daha fazla küçük molekülün ADME parametrelerinin, farmakokinetik özelliklerinin, ilaca benzer doğasının ve tıbbi kimyaya uygunluğunun tahmin edilmesinin yanı sıra fizikokimyasal tanımlayıcıları hesaplanmasına olanak tanımaktadır. Ücretsiz olarak <http://www.swissadme.ch/> web arayüzü aracılığıyla kullanılabilir. Kullanıcılar analiz için tek seferde bir molekül çiziminde ve ardından ADMET'in bir SMILES dönüşümü yaparak tahmini yapılabilir. Buna ek olarak, kullanıcının SMILES bilgisi varsa, moleküllerin SMILES'ini kullanarak da tahmin yapılabilir (Daina vd., 2017).

3.1.5 ADMETlab 2.0

Araştırmacılar tarafından ADMET değerlendirmesini kolaylaştırmak amacıyla, mevcut ADMET ve temel fizikokimyasal parametreler ile ilgili son verileri mümkün olduğunca entegre eden kapsamlı bir şekilde toplanmış bir veri tabanıdır. Bu modüller, ücretsiz olarak erişilebilen bir web arayüzünde (<https://admetmesh.scbdd.com/service/evaluation/index>) bulunmaktadır (Xiong vd., 2021). Kullanıcılar isterlerse molekül çizimi yapabilirler ya da SMILES bilgilerine sahiplerse moleküllerin SMILES'ini kullanarak da tahmin yapılabilir.

3.1.6 Protox-II

ProTox-II web sunucusu, tahmin şemasının oral toksisite, organ toksisitesi (hepatotoksisite), mutajenite, karsinotoksisite, sitotoksisite ve immünotoksisite gibi parametreler, toksikolojik yollar (AOP'ler) gibi farklı toksisite seviyelerinde sınıflandırılmasına olanak vermektedir (Banerjee vd., 2019). Ücretsiz kullanımda olan https://tox-new.charite.de/protox_II/index.php?site=compound_search_similarity web sitesinden ulaşılabilir. Kullanıcılar ya moleküllerinin PubChem'deki (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) isimlerini girerek ya da SMILES bilgisiyle toksikoloji tahminlerini gerçekleştirebilir.

3.2 Etken Maddelerin STP ve SEA Araçları Kullanılarak Yapılan Biyoaktivite Analizleri

CA ve VAN'dan sentezlenen Schiff bazları ve sekonder amin türevi etken maddelerin STP web sitesinde çizimleri yapılarak elde edilen SMILES bilgileri kullanılarak ve organizma filtrelemesi *Homo sapiens* seçilerek tahmin yapılmıştır. SEA web sitesinde

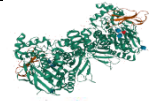
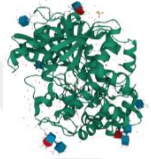
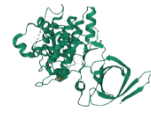
STP'den elde edilen SMILES bilgileri girilerek organizma filtrelemesi yapılmadan tahmin yapılmıştır.

3.3 Moleküler Kenetleme(Dockig) İçin Hazırlık İşlemleri

3.3.1 Enzimler ve Etken Maddelerin Discovery Studio Visualer Programı ile Hazırlanması

Protein Data Bank'tan (<http://www.rcsb.org/pdb>) elde edilen enzimlere ait X-ray kristal yapısı pdb formatında indirilmiştir (Tablo 3.1). Bu elde edilen yapılar Discovery Studio Visualer 2021 programı kullanarak yapılar içerisinde bulunan ligand ve sular çıkarılmıştır. Daha sonra hazırlanan yapı docking hesaplamalarında kullanılmak için .pdb formatında kaydedilmiştir.

Tablo 3.1 Alzheimer Hastalığı için Hedeflenen Enzimler Hakkında Bilgileri

Enzim ve PDB kodu	Organizma	3B'lu yapısı
AchE- 1B41	<i>Homo sapiens</i>	
BchE- 4BDS	<i>Homo sapiens</i>	
BACE1- 4XKX	<i>Homo sapiens</i>	
GSK3β- 1I09	<i>Homo sapiens</i>	
HDAC2-3MAX	<i>Homo sapiens</i>	
HDAC6- 6CEE	<i>Homo sapiens</i>	

Ligand olarak kullanılacak olan moleküllerin yapıları (Tablo 3.2-3.3) SwissADME web sitesi üzerinden manuel olarak çizilmiş ve .pdb formatında kaydedilmiştir.

Tablo 3.2 Kullanılan Sinnamilaldehit Türevi Moleküllerin Adlandırılması ve 2B'lu Kimyasal Yapıları

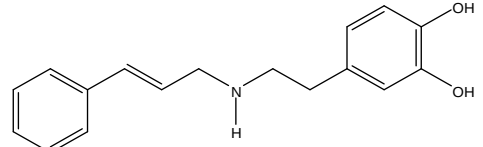
Madde Kodu	Molekül Adlandırması	Moleküllerin 2B'lu kimyasal yapıları
Schiff Bazları		
CA2-AFL	2-((E)-((E)-3-Fenilallildien)amino)fenol	
CA3-AFL	3-((E)-((E)-3-Fenilallildien)amino)fenol	
CA4-AFL	4-((E)-((E)-3-Fenilallildien)amino)fenol	
CADOPL	4-(2-((E)-((E)-3-fenilallildien)amino)etil)benzen-1,2-diol	
CAVAL	2-Metoksi-4-(((E)-((E)-3-fenilallildien)amino)methyl)phenol	
CAAML	(E)-N-((E)-3-fenilallildien)morfolin-4-amin	
CAHİSL	(E)-2-(1H-imidazol-4-yl)-N-((E)-3-fenilallildien)etanamine	

Sekonder Aminler

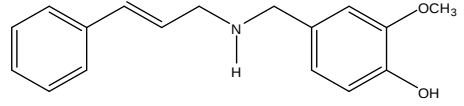
CA2-AFA	2-(Sinamilamino)fenol	
CA3-AFA	3-(Sinamilamino)fenol	
CA4-AFA	4-(Sinamilamino)fenol	

Tablo 3.2 (devamı)

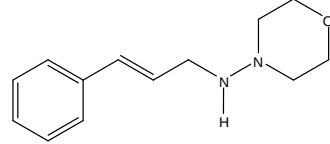
CADOPA (E)-4-(2-(Sinnamilamino)etil)50rogram-1,2-diol



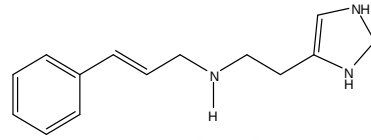
CAVAA (E)-4-((Sinnamilamino)metil)-2-metoksifenol



CAAMA N-Sinnamilmorfolin-4-amin



CAHİSA (E)-N-(2-(2,3-Dihidro-1H-imidazol-4-yl)etil)-3-fenilprop-2-en-1-amin

**Tablo 3.3 Kullanılan Vanilin Türevi Moleküllerin Adlandırılması ve 2B'lu Kimyasal Yapıları**

Madde Kodu	Molekül Adlandırması	Moleküllerin 2B'lu kimyasal yapıları
Schiff Bazları		
V2-AFL	(E)-4-(2-hidroksifenilimino)metil)-2-metoksifenol	
V4-AFL	(E)-4-((4-hidroksifenilimino)metil)-2-metoksifenol	
VDOPL	(E)-4-(2-(4-hidroksi-3-metoksibenzilidenamino)etil)50rogram-1,2-diol	
VAML	(E)-2-Metoksi-4-((morfolinoimino)metil)fenol	
VHİSL	(E)-4-((2-(1H-imidazol-4-yl)etilimino)metil)-2-metoksifenol	

Tablo 3.3 (devamı)**Sekonder Aminler**

V2-AFA	4-((2-Hidroksifenilamino)metil)-2-metoksifenol	
V4-AFA	4-((4-Hidroksifenilamino)metil)-2-metoksifenol	
VDOPA	4-(2-(4-Hidroksi-3-metoksibenzilamino)etil)51rogram-1,2-diol	
VAMA	2-Metoksi-4-((morfolinamino)metil)fenol	
VHİSA	4-((2-(2,3-Dihidro-1H-imidazol-4-yl)etilamino)metil)-2-metoksifenol	

3.3.2 Autodocks Tools Arayüzü Kullanılarak Docking Hesaplamalarının Yapılması

ADT 4.2.2 arayüzü kullanılarak 6 adet enzim ve 24 adet ligandın moleküler docking hesaplamaları için hazırlık işlemleri gerçekleştirilmiştir. Hesaplama akışına başlamadan önce enzimlerin ve ligandların .pdb uzantılı dosya formatları aynı klasöre kaydedilmiştir. AutodockTools 1.5.6 programı açılarak gerçekleştirilen tüm adımlar her enzim ve ligand için ayrı ayrı uygulanmıştır. İlk olarak, ligandın .pdb uzantılı formatı açılmış ve Gasteiger yükü eklenerek polar olmayan H atomları çıkartılarak ligandlar .pdbq dosya formatında kaydedilmiştir. Ardından enzimlerin .pdb formatlı dosyaları çağırılmış ve ilk olarak H atomları eklenerek, Kollman yükleri eklenmiş ve son olarak polar olmayan H atomları çıkartılarak .pdbq formatında kaydedilmiştir. AD4'ün hesaplamaları için kullandığı .pdbqt dosya formatları enzim ve ligandların .pdbq formatlarından dönme (torsion) açıları eklenerek kaydedilmiştir. Enzim ve ligandının .pdqt uzantıları birlikte açıldıktan sonra aralarında oluşacak kompleksin bağlanma bölgelerini gösteren Grid haritalarının oluşturulması için AutoGrid

programı kullanılmıştır. Grid kutuları (gridboxes) açılarak x, y, z kartezyen koordinatları 60x60x60 olarak, koordinatlar arası uzaklık (gridspace) ise 0.307 Å olarak belirlenmiştir. Her etkileşim için bu parametreler kullanılarak grid parametresi dosyası .gpf uzantısıyla kaydedilmiştir. Daha sonra docking hesaplamaları için kullanılacak olan arama algoritması “Lamarkian Genetik Algoritma” seçilerek her hesaplama için program algoritma tekrarlama sayısı (number of GA runs) 750 belirlenmiştir. Ardından docking hesaplamaları için temel olan docking parameter dosyası .dpf olarak kaydedilmiştir (Morris vd., 2009). Hazırlık işlemleri bittikten sonra “komut istemi” kullanılarak “autogrid4.exe -p 1.gpf -l 1.glg& ve autodock4.exe -p 1.dpf -l 1.dlg&” komutları yazılarak docking hesaplamaları başlatılmıştır. Daha sonra analiz edilen sonuçların “complex” dosyaları kaydedilerek, enzim-ligand etkileşimleri Discovery Studio Visualizer programı kullanılarak gözlemlenmiştir.

3.3.3 Enzim-Ligand Etkileşimlerinin Görüntülemelerinin İncelenmesi

Enzim ve ligand etkileşimleri Discovery Studio Visualizer programı kullanılarak enzim ve ligand etkileşimlerinin görüntülemeleri, etkileşimde bulundukları aminoasit kalıntıları, yaptıkları bağ tipleri ve bağ uzunlukları gözlemlenmiştir.

3.4 Moleküllerin İlaç Benzerlik, ADME Çalışmaları

Moleküllerin farmakokinetik, fizikokimyasal özellikleri gibi ADME profillerinin belirlenmesi için kullanılan önemli parametreleri, ilaç benzerlik özelliklerinin değerlendirilmeleri SwissADME, ADMETlab 2.0 web sunucuları kullanılarak yapılmıştır. SwissADME ve ADMETlab 2.0 web siteleri üzerinden SMILES bilgisi kullanılarak tahmin gerçekleştirilmiştir.

3.5 Protox-II Kullanılarak Toksikolojik Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Toksikoloji tahmini için web sitesi üzerinde “Tox Prediction” sekmesi seçilmiş ve daha sonra moleküllerin SMILES bilgileri kullanılarak tahmin yapılmıştır.

BÖLÜM IV

BULGULAR

4.1 STP ve SEA Araçları Kullanılarak Yapılan Biyoaktivite Analizi'nin Sonuçları

STP ve SEA araçları kullanılarak gerçekleştirilen analizler sonucunda etken maddelerin hedefleyebileceği pek çok molekül ya da enzim saptanmıştır. Bunlar arasında literatür araştırmaları sonucunda STP'de organizma sadece *H. sapiens* olarak seçilerek çalışılırken SEA'da organizma filtelemesi yapılmadan çalışılarak elde edilen sonuçlar *R. rattus* (sıçan), *Equus caballus* (at) türleri ile ortolog olan enzimler seçilmiş ve Alzheimer hastalığı ile ilişkili olanlar moleküler docking analizleri sırasında kullanılmıştır. Tablo 4.1'de etken maddeler ve AH ile ilişkili olduğu düşünülen hedef moleküller verilmiştir.

4.2 Moleküler Docking Analizi Bulguları

Toplamda 24 tane molekül ve ilaçlar ile 6 enzim hedeflenerek çalışılmıştır. Tablo 3.2-3.3 'de belirtilen moleküllerin Autodock 4.2.2 programı kullanılarak gerçekleştirilen moleküler docking analizi bulguları Tablo 4.1-4.3'de gösterilmektedir. Araştırma bulgularına göre, AChE enzimi ile en yüksek bağlanma afinitesi -9.96 kcal/mol bağlanma enerjisi ile CADOPA arasında; BChE enzimi ile -9.46 kcal/mol bağlanma enerjisi ile CADOPA arasında; BACE1 enzimi ile en yüksek bağlanma afinitesi -6.91 kcal/mol bağlanma enerjisi ile VA2-AFL arasında; GSK3 β enzimi ile en yüksek bağlanma afinitesi -7.68 kcal/mol bağlanma enerjisi ile CAVAL arasında; HDAC2 enzimi ile en yüksek bağlanma afinitesi -8.36 kcal/mol bağlanma enerjisi ile CA2-AFL arasında; HDAC6 enzimi ile en yüksek bağlanma afinitesi -7.18 kcal/mol bağlanma enerjisi ile VA2-AFL arasında gerçekleşmiştir. Aday etken maddelerin Biyoaktivite Analizi sonucu hedeflenen enzimleri ile aralarında oluşan komplekslerin bağlanma paketleri sonucu oluşan konumları ve etkileştiği aminoasit kalıntıları Şekil 4.2-4.20'lerde gösterilmektedir. Aday etken maddelerin hedef enzimleriyle oluşturdukları

komplekslerde H-bağı kurarak etkileştiği aminoasit kalıntıları Tablo 4.4'te gösterilmektedir.

Tablo 4.1 FDA Tarafından Onaylı İlaçlar ve Hedef Enzimlerinin Moleküllerin Docking Sonuçları

İlaç etken maddeleri	Hedef Enzimler					
	AChE	BChE	BACE1	GSK3β	HDAC2	HDAC6
Donezepil	-8.77	-	-	-	-	-
Galantamin	-9.77	-8.0	-	-	-	-
Vorinostat	-	-	-	-	-8.05	-7.52

Tablo 4.2 Sinnamaldehit türevi sentezlenen moleküllerin Biyoaktivite Analizi Sonucu Hedeflenen Enzimleri ve Moleküllerin Docking Sonuçları

Etken Madde	Bağlanma Enerjisi (kcal/mol)					
	Hedef Enzimler					
	AChE	BChE	BACE1	GSK3β	HDAC2	HDAC6
Schiff bazı türevleri						
CA2-AFL	-8.9	!	-6.52	-7.37	-8.36	-
CA3-AFL	-8.0	-6.77	-4.16	-	-6.5	-
CA4-AFL	-7.18	-7.05	-	-6.26	-	-
CADOPL	-8.21	-8.33	-5.57	-7.5	-7.68	-7.77
CAVAL	-	-	-	-7.68	-	-
CAAML	!	!	!	!	!	!
CAHİSL	-8.59	-	-	-	-	-
Sekonder amin türevleri						
CA2-AFA	-	-	-5.00	-7.40	-	-
CA3-AFA	-	-	-4.00	-	-	-
CA4-AFA	-	-	-	!	-	-
CADOPA	-9.96	-9.46	-	-	-	-
CAVAA	-9.67	-8.18	-	-	-	-
CAAMA	-	-	-	-	-	!
CAHİSA	-8.19	-6.21	-	-	-	-

!.Program çalıştırmadı, - Hedef olarak bulunmadı

Tablo 4.3 Vanilin türevi sentezlenen moleküllerin Biyoaktivite Analizi Sonucu Hedeflenen Enzimleri ve Moleküllerin Docking Sonuçları

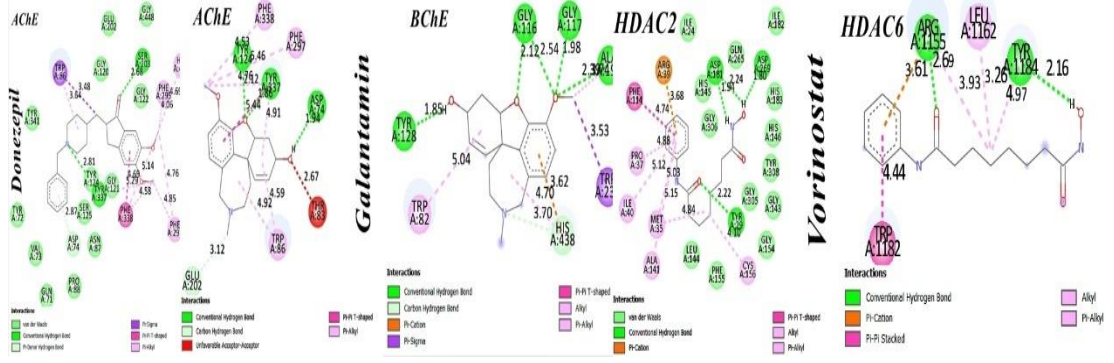
Etken Madde	Hedef Enzimler					
	AChE	BChE	BACE1	GSK3β	HDAC2	HDAC6
Schiff bazı türevleri						
V2-AFL	-7.18 (SEA)	-8.02 (SEA)	-6.91	-	-7.16	-
V4-AFL	-7.93 (SEA)	-6.8 (SEA)	-6.31	-	-6.24	-
VDOPL	-7.14 (SEA)	-8.56 (SEA)	-	-7.13	-	-
VAML	-7.05 (SEA)	-6.71 (SEA)	-	-	-	-
VHİSL	-8.26	-6.36	-7.46	6.72	-	-4.98
Sekonder amin türevleri						
V2-AFA	-7.5 (SEA)	-8.07 (SEA)	-	-7.51	-	-
V4-AFA	-7.71 (SEA)	-8.2 (SEA)	-	-	-	-
VDOPA	-9.46 (SEA)	-8.95 (SEA)	-	-	-	-
VAMA	-7.24	-6.49 (SEA)	-	-6.87	-	-7.06
VHİSA	-8.55 (SEA)	-6.43 (SEA)	-	-	-	-

Tablo 4.4 Moleküllerin hedef enzimleriyle oluşturdıkları komplekslerde H-bağı kurarak etkileştiği aminoasit kalıntıları

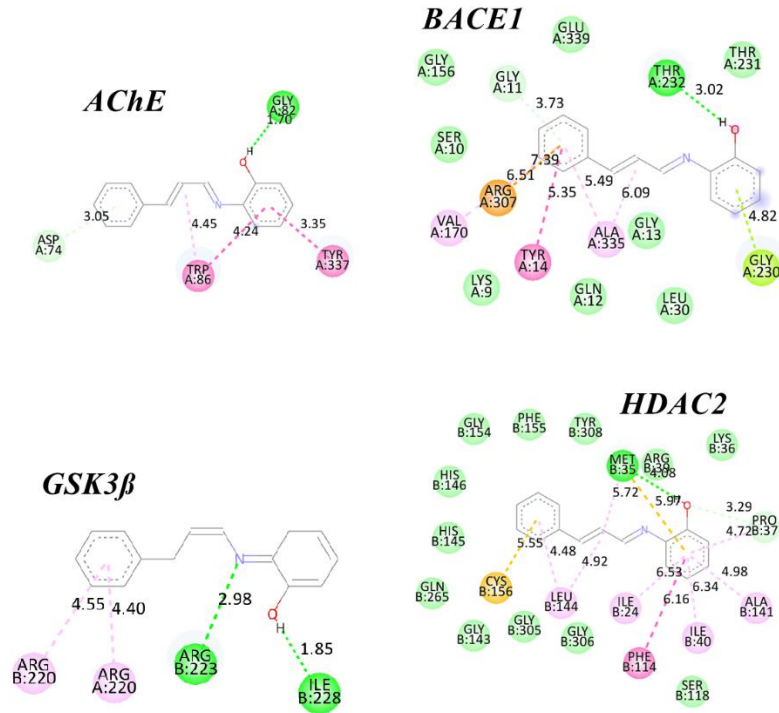
	AChE	BChE	BACE1	GSK3β	HDAC2	HDAC6
Donezepil	Asp74 Ser203 Tyr337	-	-	-	-	-
Galantamin	Asp74 Tyr124 Glu202 Tyr337	Gly116 Gly117 Tyr128 Ala199 His438	-	-	-	-
Vorinostat	-	-	-	-	Tyr29 Asp181 Asp269	Arg1155 Tyr1184
<u>Schiff bazı türevleri</u>						
CA2-AFL	Asp74 Gly82	!	Thr232(2)	Arg223 Ile228	Met35 Pro37	-
CA3-AFL	Glu2020	Gly116 His438 Gly439	-	-	Ala191 Pro344	-
CA4-AFL	Trp86 Ser125 Glu202	Thr122 Tyr122 Tyr128	-	Arg123 Asp260	-	-
CADOPL	-	Gly117 Gly118 Ala199	Tyr14	Gln265 Arg223(2)	Ala119 Lys149	Cys1153 Met1161 Leu1162
CAVAL	-	-	-	Arg220 Asp260 Gln265	-	-
CAAML	!	!	!	!	!	!
CAHİSL	Glu202 His447	-	-	-	-	-
<u>Sekonder amin türevleri</u>						
CA2-AFA	-	-	Gly230 Thr232(2)	Asp260 Gln265	-	-
CA3-AFA	-	-	Gly230 Thr232	-	-	-
CA4-AFA	-	-	-	!	-	-
CADOPA	Gly82 Glu202(2) Tyr337 Trp439	Trp86 Thr122 Tyr128	-	-	-	-
CAVAA	Ser125 Tyr124(2) Glu202(2) Tyr337	-	-	-	-	-
CAAMA	-	-	-	-	-	!
CAHİSA	Glu202 His447(2) Tyr449(3)	Gly115	-	-	-	-
<u>Schiff bazı türevleri</u>						
V2-AFL	Gly120	Gly116(2)	Lys9	-	-	Arg115
	Tyr124	Thr120	Ser10			Trp1182
	Glu202	Thr128	Gly11			Tyr1184
		Ser198	Gly13			Tyr1189
			Thr232 Arg307 Glu339			

Tablo 4.4 (devamı)

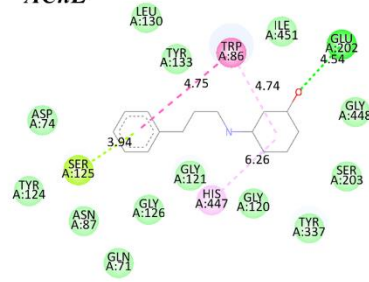
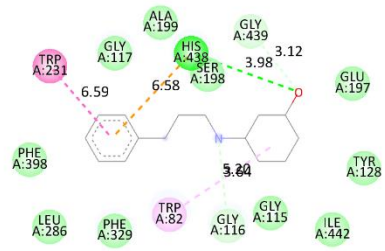
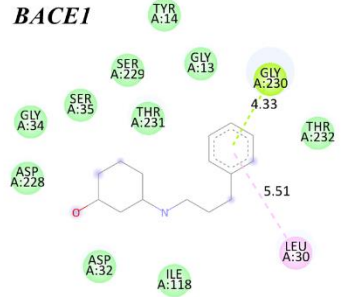
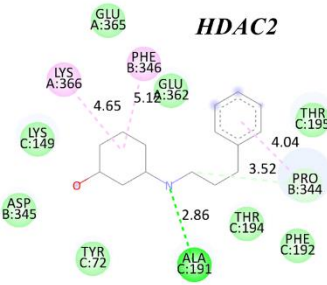
V4-AFL	Tyr72	Gln67				Trp1143
	Asp74	Pro84				Cys1153
	Ser125	Glu197	-	-	-	Arg1155
	Glu202	His438(2)				Met1161
	His447					Tyr1184 Gln1187
VDOPL	Gln71	Asp70		Ser219		
	Tyr72	Gly78	-	Arg220(2)	-	-
	Val73	Ser79		Tyr222		
	Asn87	Trp82		Gly253		
	Pro88	Ser198		Asp260		
	Tyr124	Ala199				
	Glu202	Trp231(2)				
	His447	Trp430 Tyr440				
VAML	Asp74	Asp74				
	Gly121	Tyr124	-	-	-	-
	Gly122	Glu202				
	Tyr124	Ser203 (2)				
	Glu202					
	Ser203 (2) His447					
VHİSL	Tyr124	Gly116	Gly34 Asn37	Ser215	-	Trp1143
	Ser125	Gly117	Ile126 Ala127	Arg220		Gly1154
	Tyr337	Ala199		Arg223 (2)		Gln1187
	His447	His438		Leu227		Tyr1189
	Tyr449			Ile228 Asp60		
<u>Sekonder amin türevleri</u>						
V2-AFA	Gly120(2)	Gly1117		Cys218		
	Gly126	Glu197	-	Gln265	-	-
	Ala127	Ser198				
	Tyr133	His438				
	Glu202	Gly 439				
	Tyr337					
V4-AFA	Tyr72	Gly116	-	-	-	-
	Asp74	Pro285				
	Pro88	His438				
	Ser125					
	Glu202					
	Ser203 His447					
VDOPA	Trp86	Gly116				
	Tyr124	Gly117	-	-	-	-
	Ala127	Gly121				
	Tyr133	Thr122				
	Glu202	Tyr128				
		Glu197 Ala199				
VAMA	Tyr72	Ser198		Asp260		Cys1153
	Asp74	Leu286	-	Cys218(2)	-	Arg1155
	Trp86	Ser287				Leu1162
	Tyr124					Tyr1189
	Ser125					
	Glu202 Ser203					
VHİSA	Gly82	Asn83	-	-	-	-
	Tpr86	Pro84				
	Gly121(2)	Gly115				
	Glu202	Gly121				



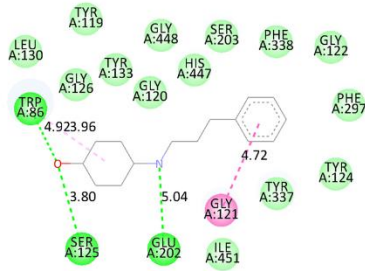
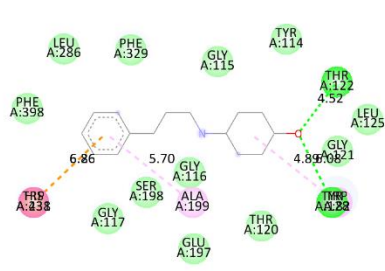
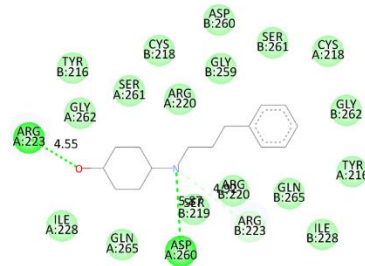
Şekil 4.1 Donepezil, Galantamin ve Vorinostat'ın hedeflenen enzimleri ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları



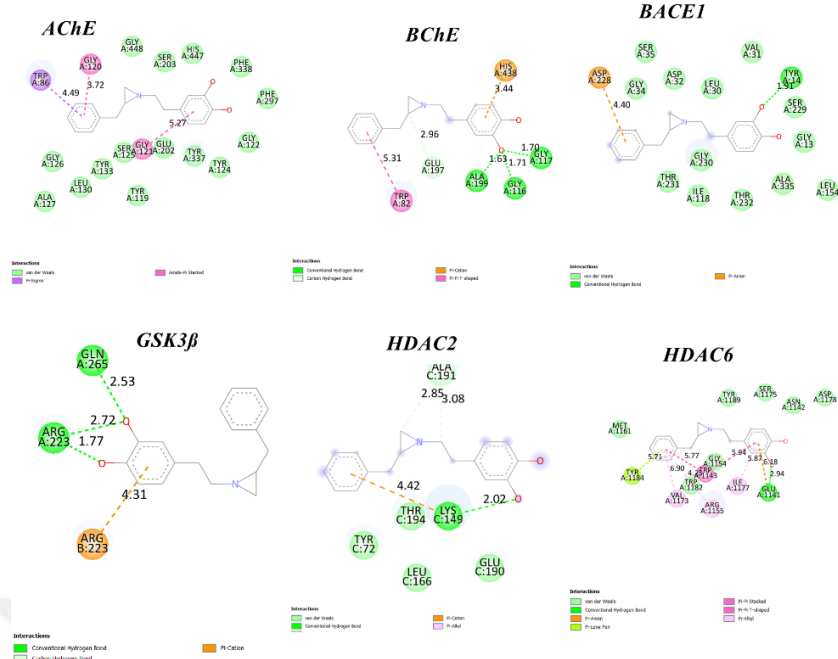
Şekil 4.2 CA2-AFL'nin hedeflenen enzimleri ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları

AChE*BChE**BACE1**HDAC2*

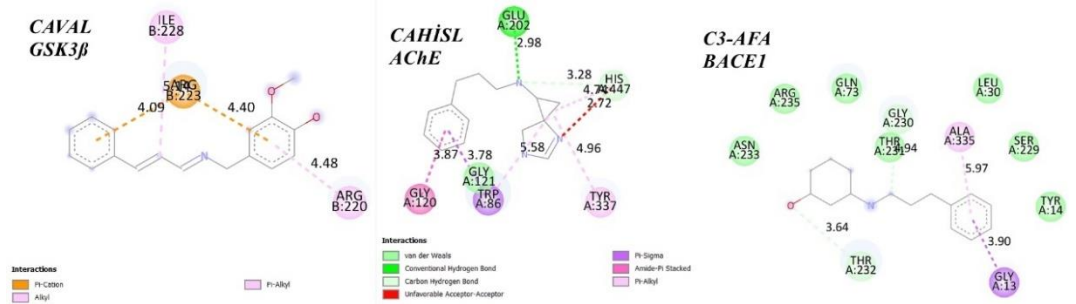
Şekil 4.3 CA3-AFL'nin hedeflenen enzimleri ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları

AChE*BChE**GSK3β*

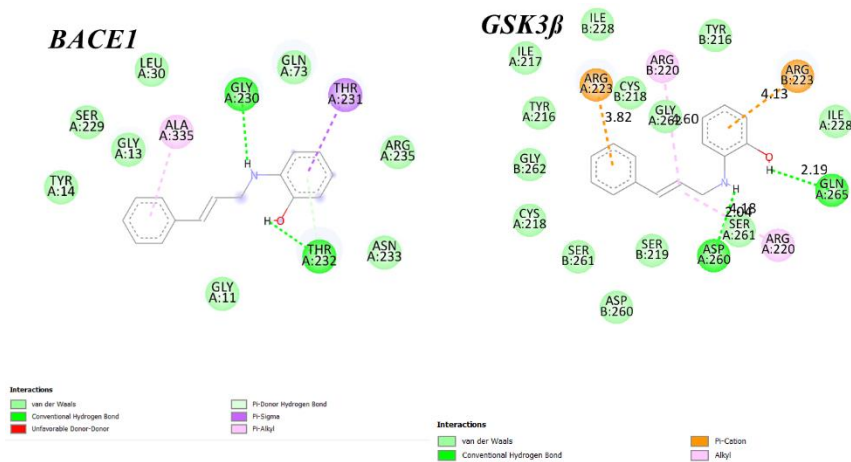
Şekil 4.4 CA4-AFL'nin hedeflenen enzimleri ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları



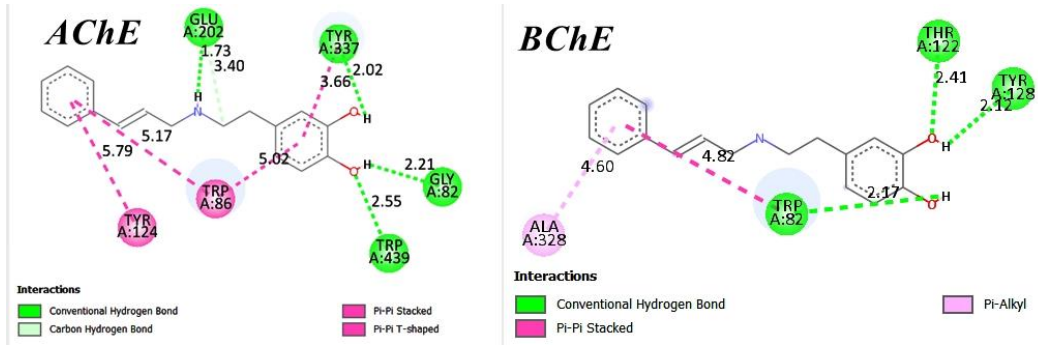
Şekil 4.5 CADOPL 'ın hedeflenen enzimleri ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları



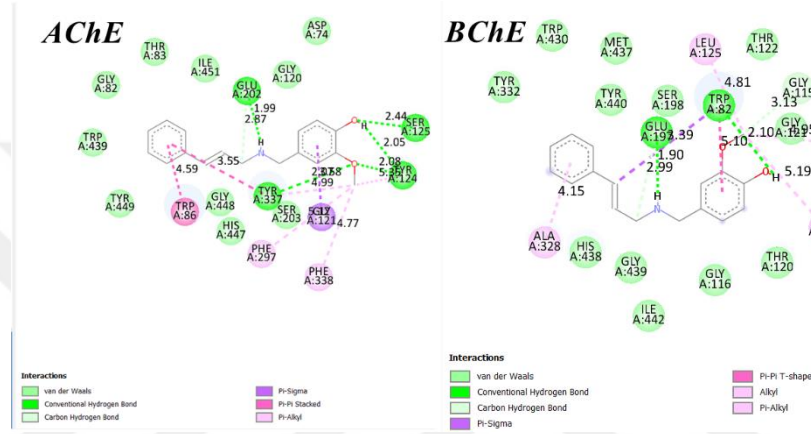
Şekil 4.6 CAVAL, CAHISL ve CA3-AFA'nın hedeflenen enzimleri ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları



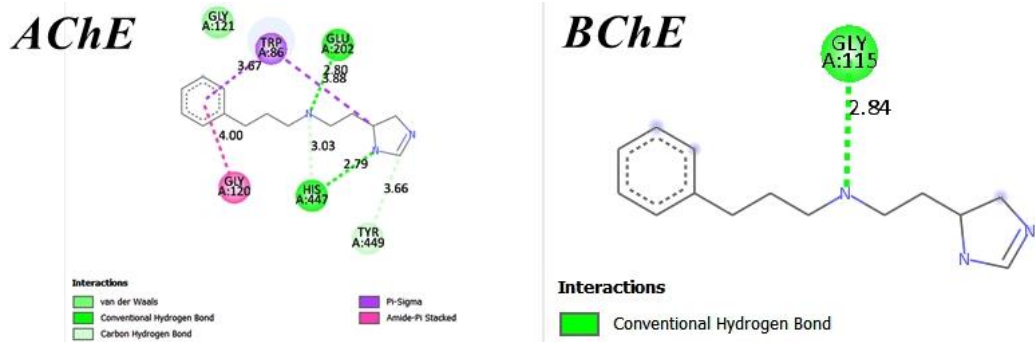
Şekil 4.7 CA2-AFA'nın hedeflenen enzimleri oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları



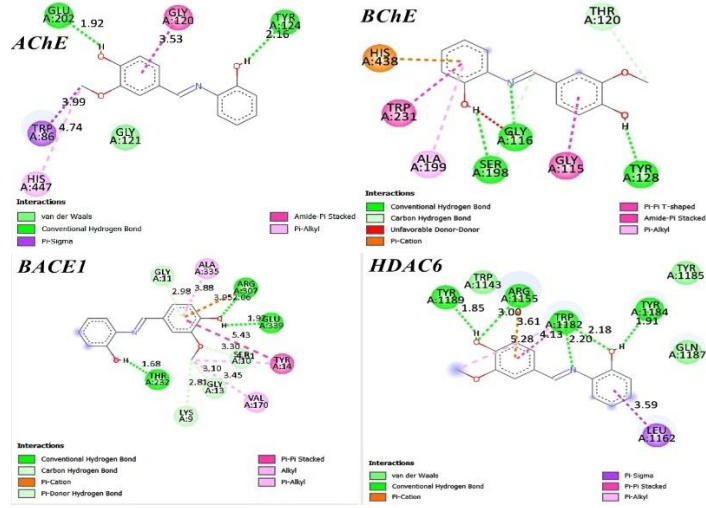
Şekil 4.8 CADOPA'nın hedeflenen enzimleri ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları



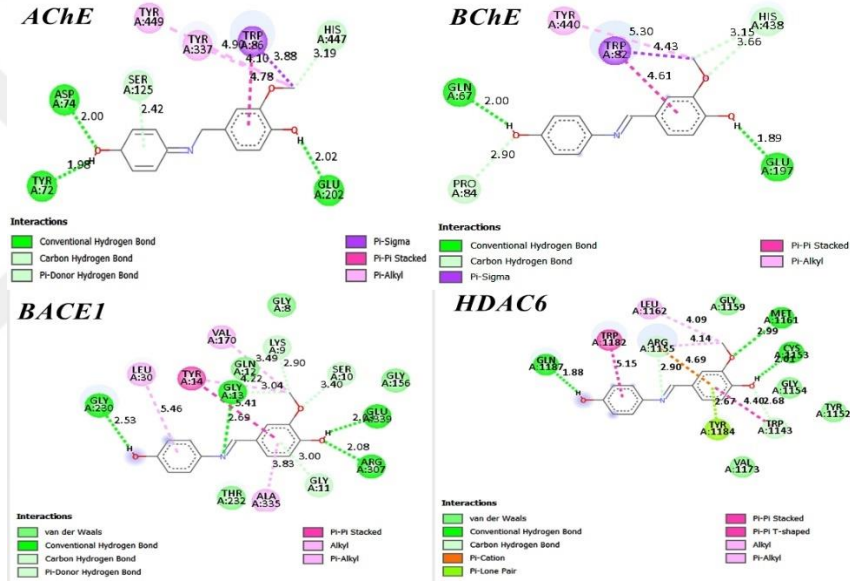
Şekil 4.9 CAVAA'nın hedeflenen enzimleri ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları



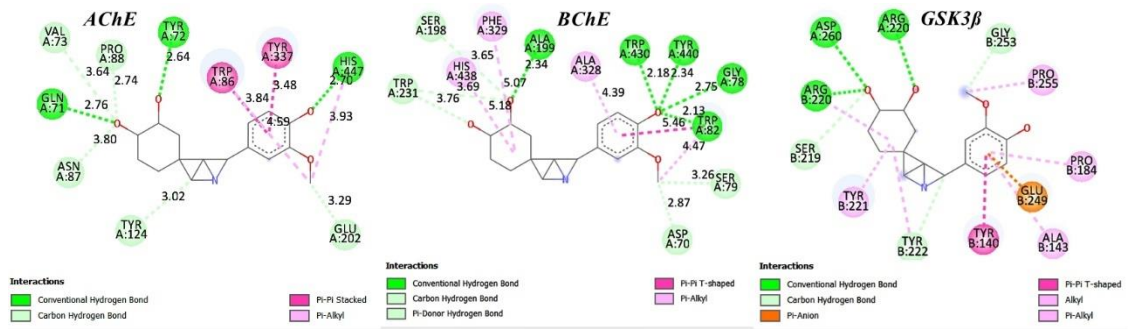
Şekil 4.10 CAHISA'nın hedeflenen enzimleri ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları



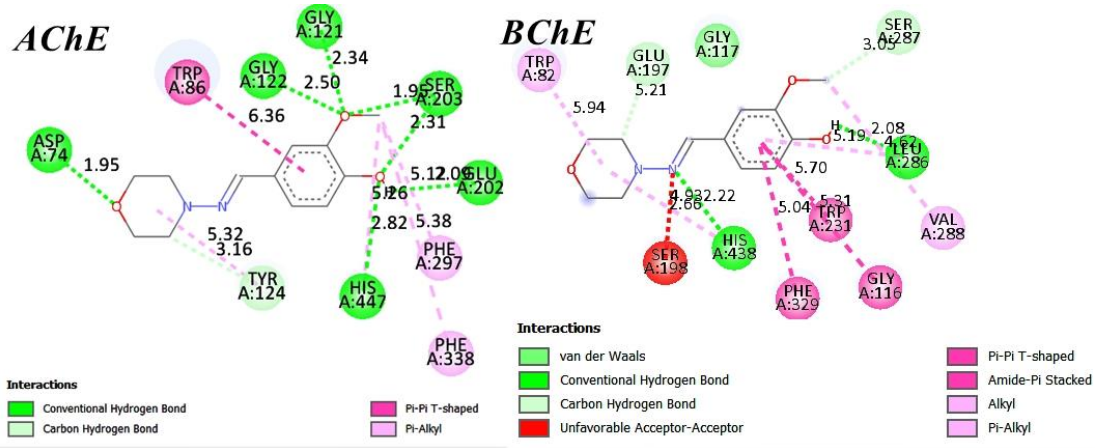
Şekil 4.11 VA2-AFL'nin hedeflenen enzimleri ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları



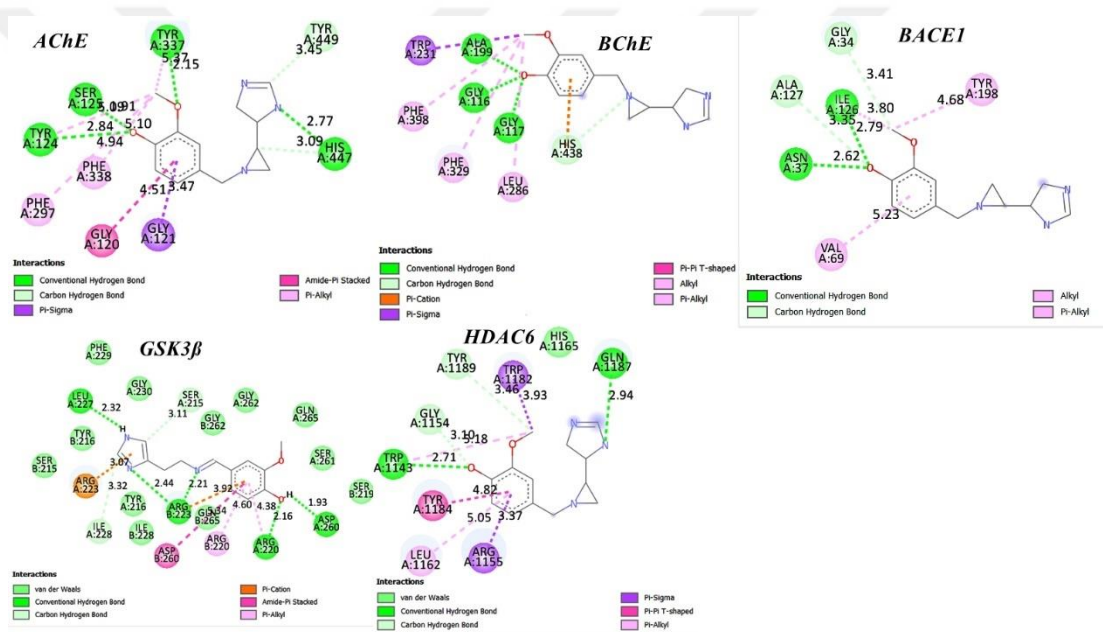
Şekil 4.12 VA4-AFL'nin hedeflenen enzimleri ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları



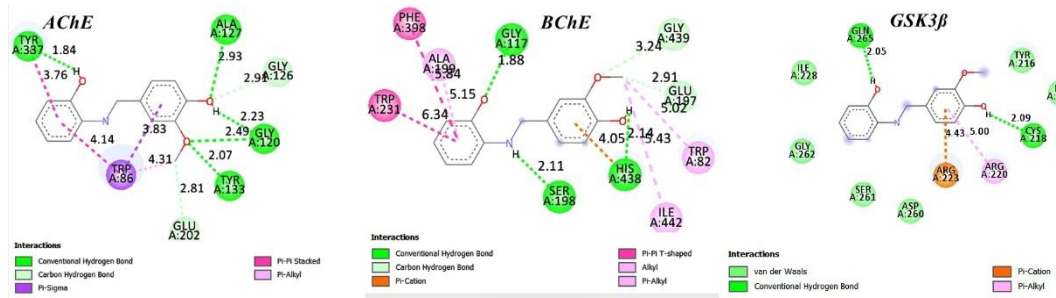
Şekil 4.13 VDOPL'nin hedeflenen enzimleri ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları



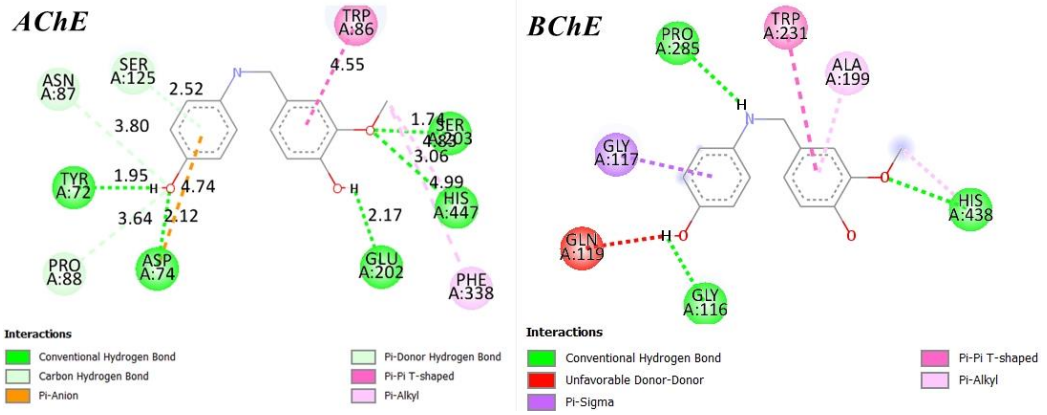
Şekil 4.14 VAML'nin hedeflenen enzimleri ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları



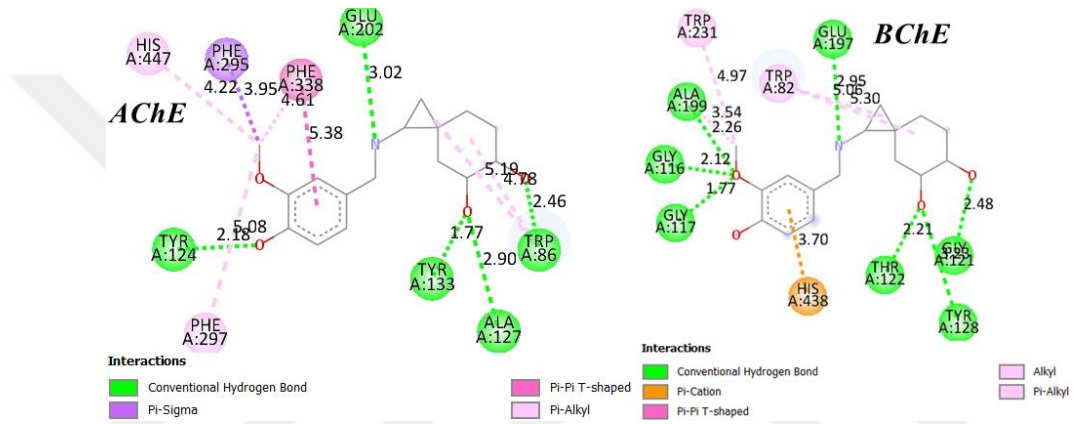
Şekil 4.15 VHSL'nin hedeflenen enzimleri ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları



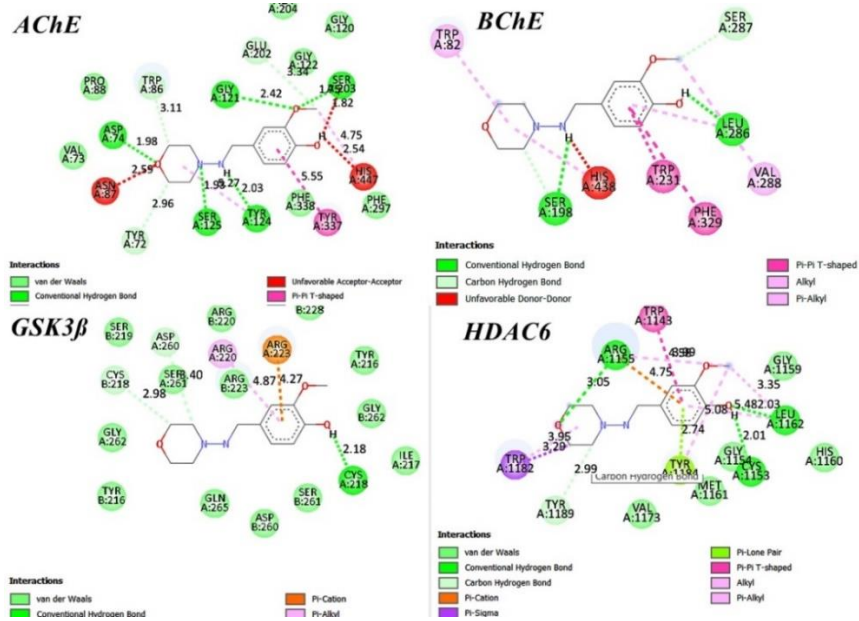
Şekil 4.16 V2-AFA'nın hedeflenen enzimleri ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları



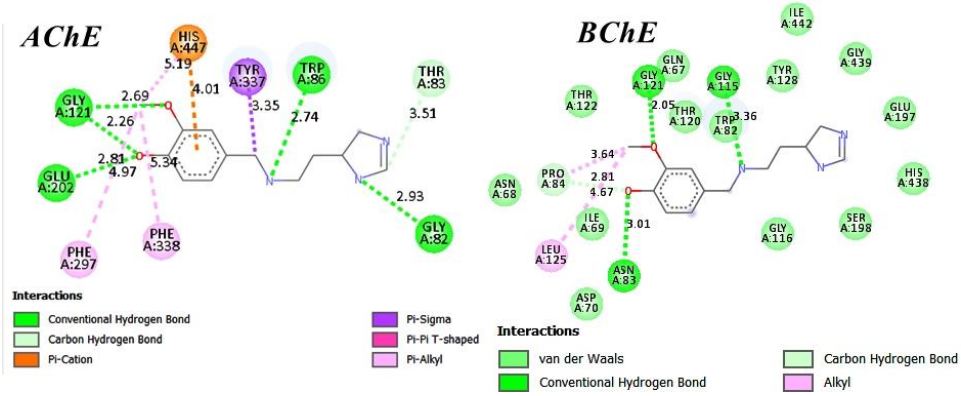
Şekil 4.17 V4-AFA'nın hedeflenen enzimleri ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları



Şekil 4.18 VDOPA'nın hedeflenen enzimleri ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları



Şekil 4.19 VAMA'nın hedeflenen enzimleri ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları



Şekil 4.20 VHİSA'nın hedeflenen enzimleri ile oluşturduğu etkileşimler ve etkileştiği aminoasit kalıntıları

4.3 Moleküllerin İlaç Benzerlik, ADME ve Toksikoloji Bulguları

Etken maddelerin ve AH için FDA tarafından onaylanan ilaçlarının (donezepil, neostigmin, rivastigmin, galantamin) ADMETlab web sitesi üzerinden elde edilen farmakokinetik özellikleri ve ADME bulguları Tablo 4.4-4.5 'lerde gösterilmektedir. Bütün moleküllerin GİS'ten yüksek emilimi olduğu ve VHİSA'nın KBB'den geçişinin zayıf olduğu ama diğer moleküllerin geçebildikleri belirlenmiştir. Bir molekülün ilaç adayı olabilmesi için lipofilisitenin saptanması amacıyla kullanılan LogP, 5'ten küçük olmalı, moleküler ağırlığı <500; H-bağı alıcı sayısı <10; verici sayısı >5 olması beklenirken, TPSA değeri özellikle SSS'den geçmesi hedeflenen ilaçlar için 60-70; suda çözünürlüğün göstergesi olarak LogS (suda çözünürlüğün logaritması) 'in çoğu ilaç için -1 ile -5 arasında değiştiği; plazma proteinlerine bağlanma kapasitesini ifade eden PPB <90; hücre zarından geçirgenlikle ilişkili olan Caco-2 geçirgenliği >-5.15 Log/unit; ilaçlar için önemli bir indeks olan VD 0.04-20L/kg aralığında olması; yarılanma ömrü olan $t_{1/2}$ 3 saatten uzun olmaması gerektiği bildirilmektedir. Tablo 4.4-4.5'te moleküllerin belirtilen sınırlar içerisinde olduğu görülmektedir.

Moleküllerin ADME karakterlerinin değerlendirildiği bir başka platform olan SwissADME web sitesi üzerinden elde edilen radar görüntüleri Şekil 4.21'de yer almaktadır. Fitokimyasallardan sinnemaldehit Schiff bazları olan CAHİSL ve CAAML; sinnemaldehit sekonder amin türevleri olan CADOPA, CAAMA ve CAHİSA; vanillin Schiff bazları olan VDOPL, VAML ve VHİSL; vanillin sekonder amin türevleri olan VDOPA, VAMA ve VHİSA lipofilisite, boyut, esneklik, çözünürlük, polarite ve saturasyon parametlerinin hepsi için uyumlu olup tüm parametreler için pembe alanın içerisinde konumlandığı görülmektedir. Ancak diğer

Schiff baz ve sekonder amin türevi moleküller bu parametrelere uymamakta olup pembe alan dışına taşmışlardır. Bunlara ek olarak kullanılan bütün fitokimyasalların Lipinski'nin 5 kuralına uyduğu görülmektedir (Tablo 2.2).

Hedef moleküllerin ve AH için FDA tarafından onaylanan ilaçlarının (donezepil, neostigmin, rivastigmin, galantamin) ProTox-II web sitesi kullanılarak gerçekleştirilen toksikoloji analiz bulguları Tablo 4.6'da belirtilmektedir. Etken maddelerin LD50 değerleri kullanılarak belirlenen toksikoloji sınıflarının III-V arasında değiştiği belirlenmiştir. CA2-AFL, CA3-AFL, CA4-AFL ve CADOPL'in toksikoloji sınıfları V olarak belirlenmiş olup bu da toksikoloji sınıfları sınıf IV olan donezepil ve rivastigminden, sınıf III olan galantaminden ve sınıf II olan neostigminden daha az toksik olduklarını göstermektedir. Ayrıca CA2-AFL, CA3-AFL, CA4-AFL, CA4-AFA, V2-AFL, V4-AFL, V4-AFA'nın mutajen, CAVAL, CAVAA, VA2-AFL, VA4-AFL, VDOPL, VHISL, V2-AFA, V4-AFA, VHISA'nın immünotoksik, CAAMA, VAML, VDOPA ve VAMA'nın kanserojen olduğu saptanmıştır.

Tablo 4.5 Moleküllerin Farmakokinetik Özelliklerinin Admetlab 2.0 ile Analizi

Etken Madde	Moleküler Ağırlık	nHA	nHD	TPSA(A ²)	LogS	LogP	LogD(pH=7.4)
<u>İlaç etken maddeleri</u>							
Donezepil	379.21	4	0	38.77	-4.307	4.191	3.631
Rivastigmin	250.17	4	0	32.78	-1.999	1.999	1.765
Neostigmin	223.14	4	0	29.54	0.598	-1.85	-1.115
Galantamin	287.15	4	1	41.93	-1.243	1.389	0.952
<u>Sinnamilaldehit Schiff bazı türevleri</u>							
CA2-AFL	223.1	2	1	32.59	-2.906	3.563	3.601
CA3-AFL	223.1	2	1	32.59	-4.145	3.705	3.603
CA4-AFL	223.1	2	1	32.59	-2.512	3.38	3.408
CADOPL	267.13	3	2	52.82	-3.669	3.291	3.468
CAVAL	267.13	3	1	41.82	-4.222	3.368	3.569
CAAML	216.13	3	0	24.83	-3.922	2.613	2.738
CAHİSL	225.13	3	1	41.04	-3.275	2.225	2.551
<u>Sinnamilaldehit sekonder amin türevleri</u>							
CA2AFA	225.12	2	2	32.26	-3.073	3.076	3.43
CA3-AFA	225.12	2	2	32.26	-2.834	3.022	3.272
CA4-AFA	225.12	2	2	32.26	-2.868	3.03	3.229
CADOPA	269.14	3	3	52.49	-2.342	2.145	2.946
CAVAA	269.14	3	2	41.49	-1.844	2.4	3.029
CAAMA	218.14	3	1	24.5	-0.999	1.342	1.86
CAHİSA	229.16	3	2	36.42	-0.987	0.867	1.48
<u>Vanilin Schiff bazı türevleri</u>							
V2-AFL	243.09	4	2	62.05	-2.6	2.469	2.469
V4-AFL	243.09	4	2	62.05	-2.241	2.233	2.535

Tablo 4.5 (devamı)

VDOPL	287.12	5	3	82.28	2.722	2.14	2.544
VAML	236.12	5	1	54.29	-1.632	0.421	0.939
VHİSL	245.12	5	2	70.5	-1.891	0.944	1.024
Vanilin sekonder amin türevleri							
V2-AFA	245.11	4	3	61.72	-2.678	2.198	2.749
V4-AFA	245.11	4	3	61.72	-2.4	1.972	2.461
VDOPA	289.13	5	4	81.95	-2.012	0.828	1.835
VAMA	238.13	5	2	53.96	0.137	0.027	0.824
VHİSA	247.13	5	3	70.17	-0.253	0.275	0.339

nHA:H-bağı alıcısı, nHD:H-bağı donör sayısı, TPSA:Topolojik Polar Yüzey Alanı, LogS:Suda Çözünürlüğün Logaritması, LogP:Lipofilisitenin Logaritması LogD:Dağılım Katsayısının Logaritması

Tablo 4.6 Moleküllerin ADME Özelliklerinin Admetlab 2.0 ile Analizi

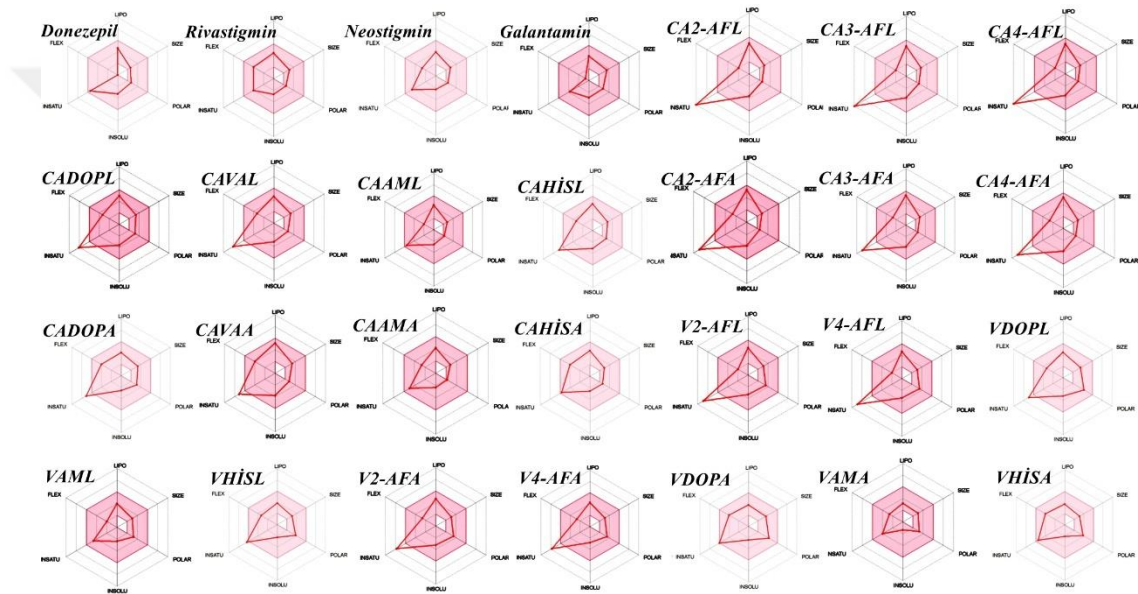
	Absorbsiyon			Dağılım	
	Caco-2 Geçirgenliği	HIA	PPB	VD	KBB
İlaç etken maddeleri					
Donezepil	-4.793	0.003	87.74%	1.589	0.975
Rivastigmin	-4.887	0.035	25.58%	1.166	0.95
Neostigmin	-5.245	0.985	9.033%	1.139	0.417
Galantamin	-4.584	0.008	19.52%	2.767	0.998
Sinnamilaldehit Schiff bazı türevleri					
CA2-AFL	-4.87	0.009	97.70%	0.993	0.629
CA3-AFL	-4.596	0.007	98.50%	0.66	0.52
CA4-AFL	-4.89	0.014	96.84%	1.848	0.52
CADOPL	-4.791	0.018	97.66%	0.656	0.107
CAVAL	-4.681	0.008	98.61%	0.585	0.36
CAAML	-4.486	0.004	89.47%	0.584	0.584
CAHİSL	-4.677	0.014	91.55%	1.329	0.639
Sinnamilaldehit sekonder amin türevleri					
CA2-AFA	-4.69	0.033	97.67%	0.777	0.571
CA3-AFA	-4.843	0.124	96.82%	0.989	0.353
CA4-AFA	-4.816	0.095	96.86%	0.88	0.375
CADOPA	-5.08	0.114	85.42%	1.216	0.238
CAVAA	-4.826	0.008	90.55%	1.009	0.387
CAAMA	-4.442	0.005	62.65%	0.642	0.934
CAHİSA	-5.612	0.021	70.99%	1.369	0.76
İlaç etken maddeleri					
Donezepil	-4.793	0.003	87.74%	1.589	0.975
Rivastigmin	-4.887	0.035	25.58%	1.166	0.95
Neostigmin	-5.245	0.985	9.033%	1.139	0.417
Galantamin	-4.584	0.008	19.52%	2.767	0.998
VAML	-4.581	0.021	69.03%	1.176	0.423
VHİSL	-4.913	0.012	67.47%	1.363	0.396

Tablo 4.6 (devamı)

<u>Vanilin sekonder amin türevleri</u>							
V2-AFA	-4.631	0.01	97.30%	0.557	0.153		
V4-AFA	-4.715	0.022	96.67%	0.66	0.066		
VDOPA	-5.13	0.154	56.80%	1.291	0.036		
VAMA	-4.36	0.006	20.28%	1.036	0.344		
VHİSA	-5.028	0.042	20.29%	1.964	0.706		
Etken Madde	Metabolizma					Atılım	
	CYP1A2 inhibitor	CYP2C19 Inhibitor	CYP2C9 inhibitor	CYP2D6 inhibitor	CYP3A4 inhibitor	CL(klirens)	T1/2(yarılanma ömrü)
<u>İlaç etken maddeleri</u>							
Donezepil	0.14	0.413	0.097	0.986	0.339	10.635	0.164
Rivastigmin	0.258	0.074	0.014	0.447	0.059	13.544	0.794
Neostigmin	0.028	0.024	0.003	0.005	0.005	9.514	0.954
Galantamin	0.09	0.033	0.01	0.906	0.022	4.169	0.54
<u>Sinnamilaldehit Schiff bazı türevleri</u>							
CA2-AFL	0.956	0.368	0.151	0.418	0.047	4.106	0.788
CA3-AFL	0.984	0.885	0.622	0.733	0.408	6.78	0.588
CA4-AFL	0.963	0.457	0.215	0.242	0.128	6.578	0.861
CADOPL	0.921	0.712	0.526	0.928	0.364	13.887	0.768
CAVAL	0.97	0.939	0.666	0.91	0.666	10.316	0.622
CAAML	0.965	0.619	0.229	0.013	0.05	7.878	0.477
CAHİSL	0.98	0.844	0.196	0.899	0.889	12.299	0.88
<u>Sinnamilaldehit sekonder amin türevleri</u>							
CA2-AFA	0.971	0.877	0.682	0.6	0.573	10.728	0.863
CA3-AFA	0.99	0.91	0.585	0.78	0.837	12.31	0.88
CA4-AFA	0.977	0.917	0.66	0.527	0.736	12.505	0.882
CADOPA	0.598	0.276	0.13	0.864	0.221	15.723	0.915
CAVAA	0.927	0.754	0.198	0.945	0.734	12.541	0.885
CAAMA	0.535	0.141	0.027	0.018	0.123	10.348	0.469
CAHİSA	0.027	0.046	0.002	0.044	0.017	8.007	0.395
<u>İlaç etken maddeleri</u>							
Donezepil	0.14	0.413	0.097	0.986	0.339	10.635	0.164
Rivastigmin	0.258	0.074	0.014	0.447	0.059	13.544	0.794
Neostigmin	0.028	0.024	0.003	0.005	0.005	9.514	0.954
Galantamin	0.09	0.033	0.01	0.906	0.022	4.169	0.54
<u>Vanilin Schiff bazı türevleri</u>							
V2-AFL	0.954	0.221	0.546	0.614	0.334	6.99	0.919

Tablo4.6 (devamı)

V4-AFL	0.931	0.199	0.345	0.372	0.586	9.419	0.922
VDOPL	0.687	0.101	0.261	0.396	0.14	15.291	0.915
VAML	0.699	0.053	0.043	0.033	0.118	7.415	0.877
VHİSL	0.795	0.275	0.132	0.834	0.797	12.536	0.928
Vanilin sekonder amin türevleri							
V2-AFA	0.84	0.78	0.614	0.808	0.615	13.447	0.924
V4-AFA	0.814	0.792	0.586	0.592	0.0821	13.689	0.922
VDOPA	0.301	0.216	0.066	0.628	0.096	19.272	0.921
VAMA	0.049	0.086	0.013	0.089	0.121	11.261	0.817
VHİSA	0.13	0.345	0.044	0.904	0.801	12.589	0.935



Şekil 4.21 Moleküllerin SwissADME Radar Görüntüleri. (FLEX: Flexibility (Esneklik), INSOLU: Solubility (Çözünürlük), SIZE: Boyut, POLAR: Polarlık derecesi, LIPO: Lipophilicity (Lipofilisite), INSATU: Saturation (Doygunluk))

Tablo 4.7 Moleküllerin Protox-II Analiz Bulguları

Etkin maddeler	LD ₅₀ mg/kg ve Toksikoloji Sınıfı	Hepatoksisite	Karsinojenite	Immunotoksisite	Mutajenisite	Sitotoksisite
Donezepil	505 mg/kg Sınıf IV	İnaktif	Aktif	Aktif	İnaktif	Aktif
Rivastigmin	1000 mg/kg Sınıf IV	İnaktif	İnaktif	Aktif	İnaktif	İnaktif
Neostigmin	7mg/kg-Sınıf II 85mg/kg-Sınıf III	İnaktif	İnaktif	İnaktif	İnaktif	İnaktif
Galantamin		İnaktif	İnaktif	Aktif	İnaktif	İnaktif
Sinnamilaldehit Schiff bazı türevleri						
CA2-FL	2800mg/kg-Sınıf V	İnaktif	İnaktif	İnaktif	Aktif	İnaktif
CA3-AFL	2800mg/kg-Sınıf V	İnaktif	İnaktif	İnaktif	Aktif	İnaktif

Tablo 4.7 (devamı)

CA4-AFL	2800mg/kg-Sınıf V	İnaktif	İnaktif	İnaktif	Aktif	İnaktif
CADOPL	2859mg/kg-Sınıf V	İnaktif	İnaktif	İnaktif	İnaktif	İnaktif
CAVAL	1560mg/kg-Sınıf IV	İnaktif	İnaktif	Aktif	İnaktif	İnaktif
CAAMA	1012mg/kg-Sınıf IV	İnaktif	Aktif	İnaktif	İnaktif	İnaktif
CAHİSL	270mg/kg-Sınıf III	İnaktif	İnaktif	İnaktif	İnaktif	İnaktif
<u>Sinnamilaldehit sekonder amin türevleri</u>						
CA2-AFA	1450mg/kg-Sınıf IV	İnaktif	İnaktif	İnaktif	İnaktif	İnaktif
CA3-AFA	1450mg/kg-Sınıf IV	İnaktif	İnaktif	İnaktif	İnaktif	İnaktif
CA4-AFA	1450mg/kg-Sınıf IV	İnaktif	İnaktif	İnaktif	Aktif	İnaktif
CADOPA	500 mg/kg-Sınıf IV	İnaktif	İnaktif	İnaktif	İnaktif	İnaktif
CAVAA	841 mg/kg-Sınıf IV	İnaktif	İnaktif	Aktif	İnaktif	İnaktif
CAAMA CAHİSA	450 mg/kg-Sınıf IV	İnaktif	İnaktif	İnaktif	İnaktif	İnaktif
Donezepil	505 mg/kg-Sınıf IV	İnaktif	Aktif	Aktif	İnaktif	Aktif
Rivastigmin	1000 mg/kg-Sınıf IV	İnaktif	İnaktif	Aktif	İnaktif	İnaktif
Neostigmin	7mg/kg-Sınıf II	İnaktif	İnaktif	İnaktif	İnaktif	İnaktif
Galantamin	85mg/kg-Sınıf III	İnaktif	İnaktif	Aktif	İnaktif	İnaktif
<u>Vanilin Schiff bazı türevleri</u>						
V2-AFL	563 mg/kg-Sınıf IV	İnaktif	Aktif	Aktif	Aktif	İnaktif
V4-AFL	500 mg/kg-Sınıf IV	İnaktif	Aktif	Aktif	Aktif	İnaktif
VDOPL	900mg/kg-Sınıf IV	İnaktif	İnaktif	Aktif	İnaktif	İnaktif
VAML	1800mg/kg-Sınıf IV	İnaktif	Aktif	İnaktif	İnaktif	İnaktif
VHİSL	1000mg/kg-Sınıf IV	İnaktif	İnaktif	Aktif	İnaktif	İnaktif
<u>Vanilin sekonder amin türevleri</u>						
V2-AFA	290 mg/kg-Sınıf III	İnaktif	İnaktif	Aktif	İnaktif	İnaktif
V4-AFA	400 mg/kg-Sınıf IV	İnaktif	İnaktif	Aktif	Aktif	İnaktif
VDOPA	400mg/kg-Sınıf IV	İnaktif	Aktif	İnaktif	İnaktif	İnaktif
VAMA	575 mg/kg-Sınıf IV	İnaktif	Aktif	İnaktif	İnaktif	İnaktif
VHİSA	400mg/kg-Sınıf IV	İnaktif	İnaktif	Aktif	İnaktif	İnaktif

BÖLÜM V

TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında ilk olarak sinnalaldehit ve vanilin fitokimyasallarının Schiff bazları ve sekonder amin türevlerinin “Swiss Target Prediction” ve “SEA” veritabanları kullanılarak biyoaktivite analizleri gerçekleştirilmiştir. Biyoaktivite analizleri sonucunda AH ile ilişkili olduğu literatür verilerinden belirlenen enzimler ile ilgili moleküllerin Autodock 4.2.2 yazılımı kullanılarak moleküler docking çalışmaları yapılmış ve enzim-ligand kompleksinin serbest bağlanma afiniteleri ve etkileşime girdiği aminoasit kalıntıları belirlenmiştir. Tez çalışmasının son aşamasında, ligand olarak kullanılan moleküllerin farmakokinetik, ADME ve toksikoloji analizleri SwissADME, ADMETlab ve Protox-II web sitelerinin veritabanları kullanılarak yapılmıştır.

Alzheimer hastalığının ilk teşhis edilmesinin üzerinden 115 yıl geçmiş olmasına ve her yıl yaklaşık 7.7 milyon hastaya AH teşhisi konulmasına rağmen hastalık için hala etkili bir tedavi bulunmamaktadır (Cummings vd., 2018; Yiannopoulou ve Papageorgiou, 2020). AH'nın temel tedavi stratejisinde, kolinerjik hipoteze dayalı olarak geliştirilen kolinerjik ajanlar yer almaktadır (Hampel vd., 2018). Azalan kolinerjik iletimi arttırmak için kullanılan ChE inhibitörleri, asetilkolinin neden olduğu intrasınaptik yıkımı geciktirmek ve etkisini uzatmak için kullanılmaktadır (Dou vd., 2018). Fakat bu inhibitörlerin tesir gösterebilmesi sağlıklı kolinerjik nöron miktarıyla ilişkili olup sadece hastalığın hafif ve orta evrelerinde kullanılabilmektedirler (Francis vd., 1999; Nygaard, 2013). Hastalığın ileri safhalarında kullanılamamaları ve doza bağlı olarak çeşitli yan etkilerinin ortaya çıkması yeni kolinesteraz inhibitörlerine gereksinim olduğunu göstermektedir (Nygaard, 2013). Kolinesteraz inhibitörlerine ek olarak daha önce klinik çalışmaları durdurulan ancak 2021'de FDA tarafından şartlı olarak onaylanan “adacantumab”ın hastalığın erken evrelerinde kullanımının önerilmesi, şu

an için tedavinin ne zaman sonlandırılacağına bilinmemesi ve ilacın amiloid miktarını azaltırken genel faydasının henüz bilinmiyor oluşu gibi bilinmezlikleri bulunmaktadır (Alexander ve Kesselheim, 2021). Hastalığın bir diğer tedavi stratejisi olarak henüz klinik onay alan bir ilaç bulunmasa da amiloid plakların hedeflendiği BACE inhibitörleri ve hiperfosforile taularla ilişkili olarak GSK3 β inhibitörleri kullanılmaktadır (Hernández vd., 2002; Awasthi vd., 2016; El Kerdawy vd., 2019; Xu vd., 2019). Farklı çalışmalarda histon deasetilasyonunun AH patogeneziyle ilişkili olduğu ve HDAC inhibitörlerinin hastalığın bir diğer tedavi stratejisi olabileceği belirtilmektedir (Govindarajan vd., 2013; Choubey ve Jeyakanthan, 2018; Pulya vd., 2021). Hastalığın tedavisi ile ilişkili yeni bulgular göz önüne alınarak, semptomatik tedavilere ek olarak ya da bunlarla birlikte, AH'nın altında yatan sebeplerle korele olarak farmakolojik bir çözüm sunulması gerektiği ortadadır. Buradan yola çıkarak bu tez çalışmasında “STP” ve “SEA” veritabanları kullanılarak belirlenen biyoaktif analizleri sonucunda AChE, BChE, BACE1, GSK3 β , HDAC2 ve HDAC6 enzimleri hedef olarak seçilmiştir.

Klasik ilaç tasarlama ve geliştirme süreçleri çok fazla zaman ve maliyet kaybına yol açmaktadır (Mullard, 2017; Dong vd., 2018). CADD, deneysel platformlardaki çalışmalar için optimal seviyedeki molekülleri daha hızlı belirleyerek ilaç keşif süreçlerinin yol açtığı maliyet ve zaman kaybının önlenmesine önemli derecede katkı sağlamaktadır (Stanzione vd., 2021). Bu kayıplara ek olarak milyonlarca aktif bileşik olmasına rağmen, son yıllarda onaylanan yeni terapötik ajan sayısının %12 oranında azaldığı görülmektedir (DiMasi vd., 2016; Mullard, 2017; Dong vd., 2018). Bunun nedenleri arasında güvenlik eksiklikleri, büyük ölçüde farmakokinetik ve toksisite sorunları bulunmaktadır. Yeni ilaç geliştirmedeki ilaç başarısızlıklarının yaklaşık %20-40'ının toksisite problemleri ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir. Bu yüzden potansiyel ilaç adayına bağlı toksisite problemleri, klinik çalışmalarda başarısızlıkları önleyebilmek için mümkün olduğunca erken tanımlanmalıdır (Alqahtani, 2017). Toksisite testleri için çoğunluğu ilaç veya kozmetik endüstrisinde olmakla birlikte yılda yaklaşık 100 milyon kemirgen hayvan deneylerde kullanılmaktadır (Drwal vd., 2014). Ancak “Değiştir, Azalt, İyileştir (3R)” ilkeleri doğrultusunda, *in vivo* testlere *in vitro* testler ve *in silico* tahminler dahil olmak üzere çeşitli alternatif yöntemlerin geliştirilmesinin ve optimizasyonun önemi son yıllarda giderek artmaktadır (Drwal vd., 2014; Alves vd., 2018). Hayvan deneylerindeki etik kaygıların yanında deneysel

yöntemlerle tüm aday kimyasalların toksisite potansiyellerinin test edilmesi zaman ve maliyet kaybına neden olmaktadır (Zhang vd., 2020). Bu nedenler göz önünde bulundurularak bu tez çalışması kapsamında, tasarlanan schiff bazları ve sekonder amin türevlerinin potansiyel biyoaktivite analizleri, hedefleriyle oluşturdukları komplekslerin bağlanma afiniteleri ve farmakokinetik ve toksisite analizleri *in silico* araçlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Moleküllerimizin hepsinin aday moleküllerin ilaç potansiyellerinin değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılan Lipinski'nin 5 kuralına uyduğu görülmektedir. Moleküllerin ağırlıkları <500 olup bu da farmasötiklerin membranlardan difüzyon yoluyla geçebileceğini göstermektedir. Oral absorpsiyonda kritik bir değer olan LogP değerleri (~3) tüm moleküller için belirtilen aralıktadır (<5). Moleküller için belirlenen LogP'leri çözünürlük ve geçirgenlik arasında iyi bir dengeye sahip olduğunu, oral absorpsiyonun optimal olduğunu ve genel olarak KBB penetrasyonun iyi olduğunu göstermektedir. Zaten yapılan SwissADME ve ADMETlab analizleri de tüm moleküllerin KBB'ni geçebildiklerini ve GİS'ten emilebildiklerini göstermektedir. Ayrıca AH için teröpatik ajan arayışındaki ana parametrelerden biri olan KBB geçişi, M_A 'ların özellikle <300 olması, TPSA değerinin <90 Å² olması ve artan H-bağı sayısı ile ilişkilidir. Tüm bu parametreler hem Lipinski'nin 5 kuralı ile hem de FDA tarafından onaylı AH ilaçları ile paralellik göstermektedir. Bunlara ek olarak, şu an piyasadaki ilaç aktiflerinin en az %90'ı en az bir CYP enzimi aracılığıyla metabolize edilmektedir. İlaç metabolizmasında oldukça önemli olan CYP enzimleri ilaç geliştirmenin erken aşamalarından incelenen bir diğer parametredir (Tsaïoun ve Kates, 2011). Yapılan araştırmalarda ksenobiyotikler dahil birçok molekülün spesifik CYP enzimlerini inhibe ederek ilaç-ilaç etkileşimlerine yol açtığı belirtilmektedir. Bu açıdan bakıldığında ilaç adayı moleküllerin CYP enzimleri üzerindeki olası inhibisyonlarının önceden tahmin edilmesi ilaç-ilaç etkileşimlerini önlemek adına önem arz etmektedir. Moleküllerimizin CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 ve CYP3A4 enzimleri üzerindeki inhibisyon durumları incelenmiştir. VAMA'nın incelenen hiçbir enzimi inhibe etmediği; ancak CAVAA'nın tüm enzimleri inhibe ettiği görülmektedir. Ayrıca VAMA hariç tüm moleküllerin CYP1A2 enzimi üzerinde inhibisyon yaptıkları saptanmıştır. FDA tarafından onaylı bir AH ilacı olan ve tedavide şu an en çok kullanılan donezepilin CYP2D6 inhibitörü olduğu görülmektedir. Ancak bizim

fitokimyasallarımızdan CA2-AFL, CA3-AFL, CA4-AFL, V2-AFL, V4-AFL ve VAMA'nın CYP2D üzerinde inhibisyon etkisi bulunmamaktadır. Atılımın belirleyici faktörlerinden biri olan “klirens (CL)” değeri ADMETlab veritabanına göre ≥ 5 ise uygun değere sahiptir. CA2-AFL (4.106) hariç tüm moleküller bu değeri karşılamaktadır. Ayrıca FDA tarafından daha önce onaylanmış olan takrinden (2.833) daha iyi klirens değerine sahip oldukları görülmektedir. Ek olarak, $M_A \leq 350$ olan moleküllerin temelde %90'dan daha fazlasının ürün olarak atıldığı belirlenmiştir (Hirom vd., 1976). Bizim moleküllerimizin de M_A 'sı ≤ 350 olup bu veriyle örtüşmektedir. Atılımın bir diğer belirleyicisi $T_{1/2}$ değeridir. ADMETlab algoritmasına göre potansiyel bir ilaç olarak değerlendirilecek bir fitokimyasalın $T_{1/2}$ değeri 3 saatten uzun olmamalıdır. Bizim moleküllerimizin hepsi 1 saatten daha kısa sürede metabolize olmaktadır.

Ayrıca biyoaktif analizi sonucu belirlenen hedef enzimler ve ilişkili moleküllerin genel olarak (CA2-AFA-BACE1, CA3-AFA-BACE1 ve VHİSL-HDAC6 komplekleri hariç) moleküler docking analizlerinde referans kabul edilen -6 kcal/mol bağlanma afinitesinden daha düşük bağlanma afinitesi ile bağlandıkları görülmektedir. Bu da ligandlarımızın hedef enzimleriyle stabil bir kompleks oluşturarak bunları inhibe edebildiğini göstermektedir. Ek olarak enzim-ligand stabilitesi için oldukça önem arz eden spesifik etkileşimler olan H-bağlarının oluşan komplekste bir ya da daha fazla sayıda kurulması kompleks arasında sağlam bir etkileşim olduğunu göstermektedir (Shukla vd., 2019). Gerçekleştirilen tüm etkileşimlerde en az 1 adet H-bağı kurulması da bağlanma afinitelerinin yanında genel olarak oluşan komplekslerin stabil olduğunu doğrular niteliktedir. Ayrıca bağlanma afiniteleri referans değerden daha yüksek olsa dahi CA2-AFA-BACE1'de 3 adet; CA3-AFA-BACE1'de 2 adet; VHİSL-HDAC6 kompleksinde 4 adet H-bağı kurulmuştur.

Bir sinnamaldehit Schiff bazı türevi olan CA2-AFL'nin hedef enzimlerinin AChE, BACE1, GSK3 β ve HDAC2 olduğu belirlenmiştir. Autodock 4.2.2 yazılımı ile gerçekleştirilen docking analizi sonucunda, HDAC2 enzimine -8.36 kcal /mol afinite ile en düşük bağlanma enerjisiyle bağlandığı görülmüştür. FDA onaylı AChE inhibitörleri olan “donezepil” ve “galantamin” ile Asp74, Trp86 ve Tyr337 aminoasit kalıntıları ile olmak üzere benzer etkileşimler kurduğu belirlenmiştir. FDA tarafından onaylanarak kutanöz T-hücre lenfomasında kullanılan bir HDAC2 inhibitörü olan “vorinostat” ile Met35, Pro37, Ile40 ve Ala141 kalıntıları ile benzer etkileşimler

kurmuştur. CA2-AFL'in AH için halihazırda onaylanmış ilaçların mekanizmalarında olduğu gibi AChE'ı inhibe edebildiği görülmektedir. Ayrıca AH tedavisinde yeni teröpatik ajan arayışlarında alternatif enzimler olan BACE1, GSK3 β ve HDAC2'yi referans bağlanma enerjisi değerinden daha düşük afinite ile inhibe edebildiği görülmektedir. Buradan yola çıkarak CA2-AFL'in 4 hedef enzimi de inhibe edebildiği görülmekte olduğu için MTD stratejisine de uygun olduğu düşünülmektedir. CA3-AFL'nin hedef enzimlerinin AChE, BChE, BACE1 ve HDAC2 olduğu belirlenmiştir. Docking analizleri sonucunda, -8 kcal/mol bağlanma enerjisiyle, AChE-CA3-AFL kompleksinin birbirilerine diğer hedef enzimlere göre daha düşük bağlanma afinitesi ile bağlandığı saptanmıştır. Donezepil ile Trp86 ve His447 kalıntıları ile benzer etkileşimler kurarken; galantamin ile Trp86 ve Glu202 kalıntıları ile benzer etkileşimler kurduğu saptanmıştır. Aynı zamanda BChE inhibitörü olarak da kullanılan galantamin ile CA3-AFL'nin Gly116, His438 ve Trp231 kalıntılarıyla benzer etkileşimler kurduğu belirlenmiştir. Vorinoastat ile benzer bir etkileşim kurulmadığı görülmektedir. CA3-AFL'in şu anda onaylı olan ilaçlarda olduğu gibi AChE ve BChE'ı inhibe edebildiği görülmektedir. Ayrıca AH tedavisinde yeni ajan arayışlarında alternatif enzimler olan BACE1 ve HDAC2 üzerinde de referans bağlanma enerjisi değerinden daha düşük afinite ile inhibisyon yapabildiği görülmektedir. Bu veriler göz önüne alındığında, CA3-AFL'in 4 hedef enzimi de inhibe edebildiği görülmekte olduğu için MTD stratejisine de uygun olduğu düşünülmektedir. CA4-AFL'nin AChE, BChE ve GSK3 β enzimlerinin hedef enzimi olduğu saptanmıştır. Docking analizleri sonucunda -7.18 bağlanma afinitesi ile AChE-CA4-AFL'nin en iyi bağlanma enerjisi ile kompleks oluşturdıkları belirlenmiştir. AChE'nin CA4-AFL ile karşılaştırıldığında donezepil ile sadece Trp86 kalıntılarıyla benzer etkileşimler kurduğu; galantamin ile ise Trp86 ve Glu202 ile benzer etkileşimler yaptığı belirlenmiştir. BChE inhibitörü olan galantamin ile Trp82, Ala199, Tyr128, His438, Trp231 kalıntılarıyla benzer etkileşimleri bulunmaktadır. CA4-AFL'nin AChE ve BChE ile bağlanma afiniteleri benzer olmakla birlikte FDA onaylı ilaçlarla da benzer etkileşimler kurmuştur. Ayrıca tau hiperfosforilasyonunda anahtar enzim olan GSK3 β üzerinde de inhibitör etkisi göz önüne alındığında AH için MTD stratejisi çerçevesinde kullanılabilecek bir ligand olduğu görülmektedir.

CADOPL'in AChE, BChE, BACE1, GSK3 β , HDAC2 ve HDAC6 enzimlerinin hedef enzimi olduğu belirlenmiştir. Ligandın yapılan docking analizleri sonucunda -8.33

kcal/mol bağlanma afinitesi ile BChE ile kompleks oluşturduğu görülmüştür. Galantamin ile karşılaştırıldığında Trp82, His438, Gly117 ve Ala199 kalıntıları ile benzer etkileşimler kurduğu belirlenmiştir. Donezepil ve galantamin ile karşılaştırıldığında her ikisi ile de Trp86 kalıntısı ile benzer etkileşimler kurmuştur. CADOPL ve vorinostat'ın HDAC2 ile oluşturdukları komplekslerde benzer aminoasit kalıntılarıyla etkileşmedikleri; HDAC6 ile Leu1162 ve Tyr1184 ile benzer etkileşim kurdukları görülmüştür. BACE1 ile referans alınan bağlanma enerjisinden daha yüksek bağlanma enerjisi ile kompleks oluşturmuştur. Ligandımız hem hedeflenen 6 enzimden 5'i üzerinden referans değerden daha düşük bağlanma afinitesi ile kompleks oluştururken; BACE1 ile bu değer üstünde kalsa dahi (-5.57 kcal/mol) etkileşim esnasında H-bağı kurulduğu ve bu da aslında enzim-ligand kompleksinin güçlü bir etkileşim olduğunu göstermektedir. Bunlara ek olarak, anti-AH tedavisinde kullanılan kolinesteraz inhibitörleri ile benzer etkileşimler kurduğu ve bağlanma afinitelerinin belirtilen referans değerden yüksek olduğu ve bunların alternatif tedavi stratejileri için de geçerliği olduğu görülmektedir. Bu veriler CADOPL'in AH tedavisinde en etkili moleküllerden biri olduğunu göstermektedir.

CAHİSL'in AH için hedeflenen enzimi sadece AChE olarak belirlenmiş olup docking analizi sonucunda enzim ve ligand -8.59 kcal/mol affinite bile bağlanmıştır. Bu etkileşimlerden Trp86, Tyr337 ve His447 ile kurulan etkileşimler donezepil ile benzerlik gösterirken; Trp86, Glu202 ve Tyr337 kalıntıları ile kurulanlar galantamin ile benzerlik göstermektedir. Hem bağlanma enerjisinden hem de FDA onaylı ilaçlarla benzer aminoasitlerle benzer etkileşimler verdiği için bir sinnamilaldehit schiff bazı türevi olan CAHİSL'in alternatif bir AChE inhibitörü olabileceği düşünülmektedir.

CA3-AFA'nın AH için hedeflenen hedef enziminin sadece BACE1 olduğu ve docking analizi sonucunda enzim-ligand kompleksinin bağlanma afinitesi -4 kcal/mol olarak belirlenmiş olup bu değer belirtilen referans değer üstündedir. Ancak oluşan kompleksin Gly230, Thr231 ve Thr232 kalıntılarıyla toplam 3 adet H-bağı kurduğu belirlenmiştir. Enzim-ligand arasında kurulan 3 adet H-bağı etkileşimin kuvvetli olduğunu göstermektedir.

STP ve SEA veritabanları kullanılarak gerçekleştirilen biyoaktivite analizinde CADOPA'nın hedef enzimleri arasında AH ile ilişkilendirilerek çalışmada hedeflenen enzimlerin hiçbiri bulunamamıştır. Ancak CADOPA'nın hedef proteinleri ve

enzimleri incelendiğinde protein kinaz C (PKC) enziminin alt birimlerinin 6 tanesinin hedefi olduğu görülmüştür. PKC β enziminin stres kaynaklı asetilkolinesteraz AChE-R varyantı ile bellek oluşum süreçleri dahil farklı süreçlerde etkileşime girdiği çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (Birikh vd., 2003; Sklan vd., 2006; Dori ve Soreq, 2006). Bu çalışmalardan yola çıkarak AChE hedef enzim olarak seçilmiştir. BChE'nin hedef enzim seçilmesinin nedeni ise bu çalışmalara paralel olarak AChE ve BChE enzimleri arasındaki sekans homolojisi. Yapılan docking analizleri sonucunda CADOPA'nın AChE enzime -9.96 kcal/mol, BChE'a -9.46 kcal/mol bağlanma enerjisi ile bağlanarak çalışma kapsamındaki tüm AChE ve BChE ile yapılan etkileşimler arasında en iyi bağlanma afiniteleri gözlemlenmiştir. Buradan yola çıkarak etken maddelerin hedef enzim ya da proteinlerinin belirlenmesinde kullanılan araçların eğer hedefleri direkt mekanizmalar üzerinden gerçekleşiyorsa eşleşme yaptıklarını ve moleküler mekanizmalara karşı çok fazla hassas olmadıkları sonucuna varılabilmektedir. Kurulan bu etkileşimlerde Trp86 ve Tyr337 ile kurulanlar donezepille; Trp86, Tyr124, Glu202 ve Tyr337 kalıntıları ile kurulanlar galantamin ile benzerdir. Sadece Tyr128 ile kurulan etkileşim hem galantamin hem de CADOPA'da benzerdir.

CAVAA'nın AChE ve BChE enzimlerinin hedef enzimi olduğu belirlenmiştir. AChE enzimi ve ligand -9.68 kcal/mol bağlanma afinitesi ile bağlanarak ligandın bir diğer hedef enzimi olan BChE'dan daha iyi bağlanma afinitesi göstermiştir. Kurulan etkileşimler karşılaştırıldığında; donezepil ile Trp86, Tyr337, Phe297, Phe338 kalıntıları ile; galantamin ile Trp86, Tyr124, Phe297, Tyr337, Phe338, Glu202 kalıntılarıyla benzer etkileşimler kurmuştur. CAHİSA'nın AChE ve BChE enzimlerinin hedef enzimi olduğu belirlenmiştir. Docking analizleri sonucunda enzim-ligand kompleksinin -8.19 kcal/mol olmak üzere en iyi bağlanma enerjisi ile AChE bağlandığı belirlenmiştir. Donezepil ile Trp86 ve His447 kalıntılarıyla; galantamin ile Trp86 ve Glu202 kalıntılarıyla benzer etkileşimler kurarken galantamin ile ortak aminoasit etkileşimi bulunmadığı gözlemlenmiştir.

V2-AFL'un hedef enzimlerinin AChE, BChE, BACE1 ve HDAC6 olduğu belirlenmiş olup en iyi bağlanma afinitesi -8.02 kcal/mol bağlanma enerjisi ile VA2-AFL-BChE kompleksi arasında oluşmuştur. Enzimin Tyr128, Gly116, Trp231 ve His438 kalıntıları ile kurduğu etkileşimler galantamin ile benzerlik göstermektedir. AChE'la kurulan kompleks arasında Trp86 ve His447 ile kurulan etkileşimler donezepil ile;

Trp86, Tyr124, Glu202 ile kurulanlar galantamin ile benzerlik göstermektedir. Vorinostat ile tüm kalıntılarda benzer etkileşimler kurulmuştur.

V4-AFL'nin hedef enzimlerinin AChE, BChE, BACE1 ve HDAC6 olduğu belirlenmiş olup en iyi bağlanma afinitesi -7.93 kcal/mol bağlanma enerjisi ile VA4-AFL-AChE kompleksi arasında oluşmuştur. Asp74, Tyr86, Tyr337, His447 kalıntıları donezepil; Asp74, Trp86, Glu202 ve Tyr337 kalıntıları galantaminle benzerdir. Oluşan kompleks sonucu Trp82 ve His438 ile kurulan etkileşimler galantaminle benzerlik göstermektedir. Trp1182, Leu1162, Tyr1184, Arg1155 ile kurulan etkileşimler FDA onaylı bir HDAC6 inhibitörü olan “vorinostat” ile benzerdir.

VDOPL'nin hedef enzimlerinin AChE, BChE ve GSK3 β olduğu belirlenmiştir. Gerçekleştirilen docking analizleri sonucunda -8.56 kcal/mol affinite ile en iyi bağlanma enerjisi BChE-ligand kompleksinde görülmüştür. Bu etkileşimlerden Trp82, Ala199, Trp231 ve His438 kalıntıları galantaminle de benzer etkileşimler kurmuştur. Donezepil ile bu etkileşimlerden Trp86, Tyr337 ve His447 kalıntıları ile; galantamin ile ise Trp86, Tyr124, Glu202, Tyr337 ile yapılan etkileşimler benzerlik göstermektedir. Bu veriler ışığında, VDOPL ligandının AH tedavisi için hem semptomatik ve kognitif sorunlar için kullanılabilecek kolinesteraz inhibitörü olabileceği hem de hastalığın moleküler mekanizmasında yer alan tau hiperfosforilasyonunda anahtar enzim olan GSK3 β inhibitörü olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

VAML'ın hedef enzimleri arasında AChE ve BChE'dir. Gly121-122, Tyr124, Glu202 kalıntıları ile kurulan etkileşim dışındakiler donezepil ile; Gly121-122, Ser203, His447 haricinde kurulan etkileşimler ise galantamin ile benzerdir. VHİSL'nin hedef enzimlerinin AChE, BChE, BACE1, GSK3 β ve HDAC6 olarak analiz edilmiştir. Docking analizleri sonucunda en iyi bağlanma enerjisi -8.26 kcal/mol ile AChE'a bağlanmıştır. Donezepil ile kıyaslandığında Tyr337, Phe297, Phe338 ve His447 kalıntıları ile; galantamin ile Tyr124, Tyr337, Phe297 ve Phe338 ile benzer etkileşimler kurduğu görülmektedir. Bu etkileşimler galantamin ile kurulan etkileşimlerle kıyaslandığında Trp231, Gly116, Gly117, Ala199 ve His438 kalıntıları ile benzerlik göstermektedir. Trp1182 ve Tyr1184 ile kurulan etkileşimler vorinostat ile benzerdir.

V2-AFA AH ile ilişkili olup çalışma kapsamında hedeflenen hedef enzimi AChE, BChE ve GSK3 β olup en stabil olarak -8.07 kcal/mol bağlanma enerjisi ile BChE-ligand kompleksi oluşmuştur. Trp82, Gly117, Ala199, Trp231 ve His438 ile kurulan bu etkileşimler galantaminle kurulan etkileşimlerle benzerdir. Trp86 ve Tyr337 ile kurulan etkileşimler donezepil ile; Trp86, Glu202 ve Tyr337 ile kurulanlar galantaminle benzerlik göstermektedir. V4-AFA'nın AH ile ilişkili hedef enzimleri AChE ve BChE olarak belirlenmiş olup en iyi bağlanma enerjisini (-8.2 kcal/mol) BChE ile oluşturduğu komplekste göstermiştir. Bu etkileşimlerden Gly116, Gly117, Ala199, Trp231 ve His438 kalıntıları ile kurulanlar galantamin ile benzerlik göstermektedir. Kurulan etkileşimler donezepil ile karşılaştırıldığında Asp74, Trp86, Ser203, Phe338 ve His447 kalıntılarıyla; galantamin ile karşılaştırıldığında Asp74, Trp86, Glu202 ve Phe338 ile ortak etkileşimler kurduğu görülmektedir.

VDOPA'nın hedef enzimleri olarak AChE ve BChE belirlenmiş olup ligand en iyi bağlanma afinitesini -9.46 kcal/mol ile AChE ile oluşturduğu komplekste göstermiştir. Bu etkileşimlerden Trp86, Phe295, Phe297, Phe338, His447 kalıntıları ile kurulan etkileşimler donezepille; Trp86, Tyr124, Glu202, Phe295, Phe297 ve Phe338 ile kurulan etkileşimler galantamin ile benzerlik göstermektedir. Gly121, Thr122 ve Glu197 ile kurulan etkileşimler hariç kurulan etkileşimler BChE-galantamin ile kurulanlara benzerdir.

VAMA'nın hedef enzimleri olarak AChE, BChE, GSK3 β ve HDAC6 enzimleri saptanmıştır. Ligandın yapılan docking analizleri sonucunda, -7.24 kcal/mol bağlanma afinitesi ile AChE ile kompleks oluşturduğu görülmüştür. Ligandımızın donezepil ile Asp74, Trp86, Ser203, Tyr337 ve His447 kalıntıları ile; galantamin ile Asp74, Trp86, Tyr124, Glu202, Tyr337 kalıntıları ile benzer etkileşimler kurmuştur. Trp82, Trp231 ve His438 kalıntıları ile kurduğu etkileşimler galantamin ile kurulanlarla benzerdir. Tyr1189 ve Cys1153 kalıntıları dışındaki etkileşimler vorinstat ile benzerdir. VAMA'nın çalışmadaki 6 hedeften 4'ünü inhibe ederek MTD stratejisine aday olduğu düşünülmektedir. VHISA'nın AH ile ilişkili hedef enzimleri AChE ve BChE olarak belirlenmiş olup en iyi bağlanma enerjisi -8.55 kcal/mol ile AChE ile oluşturduğu komplekste vermiştir. Bu etkileşimlerden Trp86, Tyr337, Phe297, Phe338 ve His447 kalıntıları donezepil ile; sadece Gly82 ve Gly121 kalıntıları hariç tüm kalıntılar galantamin ile benzer etkileşimler kurmuştur. Kurulan etkileşimlerden hiçbirisi galantamin ile benzer değildir.

BÖLÜM VI

SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışma kapsamında sinnamaldehit ve vanilinin Schiff bazları ve sekonder amin türevleri çalışılmıştır. Buna göre;

1. Çalışmanın en düşük bağlanma enerjili kompleksi CADOPA-AChE arasındadır. CADOPA aynı zamanda BChE'ı da diğer etken maddelere göre daha düşük bağlanma afinitesi ile inhibe etmiştir. Bu inhibisyon değerleri donezepil ve galantaminin değerlerinden daha düşüktür. Buradan hareketle CADOPA'nın kuvvetli bir kolinesteraz inhibitörü olabileceği görülmekte olup *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarına devam edilmesi hedeflenmektedir.
2. Bağlanma afiniteleri karşılaştırıldığında, CA2-AFL, VDOPA ve CAVAA'nın sadece donezepile; her ne kadar AH için onaylı ilaç olmasa dahi CA2-AFL (HDAC2 ile) ve CADOPL'in (HDAC6 ile) vorinostata alternatif olabileceği düşünülmektedir.
5. CA3-AFL, CA4-AFL, CAVAA, CAHİSA ve tüm vanillin türevlerinin kuvvetli kolinesteraz inhibisyonu yaptığı ve potansiyel bir anti-Alzheimer ajanı olarak değerlendirilebileceği öngörülmüştür.
6. VHİSL, V2-AFA, CA2-AFL, V4-AFL'nin BACE1'i; CAVAL, C2-AFL, CA4-AFL, C2-AFA, VDOPL, VAMA, VHİSL'in GSK3β'yı iyi bir bağlanma enerjisi ile inhibe edebildikleri görülmüştür.
7. Mevcut veriler Schiff bazları türevlerinin sekonder amin türevlerine göre hedef enzimleri ile daha geniş spektrumlu etlilemiştir. Bu veriler Schiff bazlarının bir azometin (-CH=N-) grubunun enzimle etkileşimde önemli olduğunu göstermektedir.
8. Hem bağlanma enerjileri hem de ADMET profilleri ile ilaç olabilecek moleküller saptanmıştır. Kolinesterazlarda inhibisyon yapan CAHİSA, VMAL ve VHİSA'nın

ADMET parametreleri belirtilen seviyeler içerisinde. VMAL ve VHİSA'nın CYP enzimlerinin hiçbirini inhibe etmediği için donezepil ve galantamine alternatif olabilecek potansiyeldedir.



KAYNAKLAR

- 2021 Alzheimer's disease facts and figures. (2021). *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association*, **17(3)**, 327–406.
- Abuthawabeh, R., Abuirmeileh, A. N., Alzoubi, K. H. (2020). The beneficial effect of vanillin on 6-hydroxydopamine rat model of Parkinson's disease. *Restorative Neurology and Neuroscience*, **38(5)**, 369–373.
- Aggidis, A.G.A. (2019). The development of peptide-based inhibitors for Tau aggregation as a potential therapeutic for Alzheimer's disease. Lancaster University, Phd Thesis.
- Ahammed, S., Afrin, R., Uddin, N., Al-Amin, Y., Hasan, K., Haque, U., Islam, K. M. M., Alam, A. H. M. K., Tanaka, T., Sadik, G. (2021). Acetylcholinesterase Inhibitory and Antioxidant Activity of the Compounds Isolated from *Vanda roxburghii*. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, **2021**, 5569054.
- Ahmadi, S. G. S., Farahpour, M. R., Hamishehkar, H. (2019). Topical application of Cinnamon verum essential oil accelerates infected wound healing process by increasing tissue antioxidant capacity and keratin biosynthesis. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, **35(11)**, 686–694
- Akyuz, E., Polat, A. K., Eroglu, E., Kullu, I., Angelopoulou, E., Paudel, Y. N. (2021). Revisiting the role of neurotransmitters in epilepsy: An updated review. *Life sciences*, **265**, 118826.
- Alcalà-Vida, R., Awada, A., Boutillier, A. L., & Merienne, K. (2021). Epigenetic mechanisms underlying enhancer modulation of neuronal identity,

neuronal activity and neurodegeneration. *Neurobiology of Disease*, **147**, 105155.

Alexander, G. C., Emerson, S., Kesselheim, A. S. (2021). Evaluation of Aducanumab for Alzheimer Disease: Scientific Evidence and Regulatory Review Involving Efficacy, Safety, and Futility. *JAMA*, **325(17)**, 1717–1718.

Alqahtani S. (2017). In silico ADME-Tox modeling: progress and prospects. *Expert Opinion on Drug Metabolism Toxicology*, **13(11)**, 1147–1158.

Altomare, D., Molinuevo, J. L., Ritchie, C., Ribaldi, F., Carrera, E., Dubois, B., Jessen, F., McWhirter, L., Scheltens, P., van der Flier, W. M., Vellas, B., Démonet, J. F., Frisoni, G. B., European Task Force for Brain Health Services (2021). Brain Health Services: organization, structure, and challenges for implementation. A user manual for Brain Health Services-part 1 of 6. *Alzheimer's Research & Therapy*, **13(1)**, 168.

Alves, V. M., Muratov, E. N., Zakharov, A., Muratov, N. N., Andrade, C. H., Tropsha, A. (2018). Chemical toxicity prediction for major classes of industrial chemicals: Is it possible to develop universal models covering cosmetics, drugs, and pesticides? *Food and Chemical Toxicology*, **112**, 526–534.

am Ende, D.J., am Ende, M.T. (2019). Chemical Engineering In The Pharmaceutical Industry. In *Chemical Engineering in the Pharmaceutical Industry*, 2nd edition

Anastassova, N., Yancheva, D., Hristova-Avakumova, N., Hadjimitova, V., Traykov, T., Aluani, D., Tzankova, V., Kondeva-Burdina, M. (2020). New benzimidazole-aldehyde hybrids as neuroprotectors with hypochlorite and superoxide radical-scavenging activity. *Pharmacological Reports*, **72(4)**, 846–856.

Andersson, K., Chen, D., Mattsson, H., Sundler, F., & Håkanson, R. (1998). Physiological significance of ECL-cell histamine. *The Yale journal of Biology and Medicine*, **71(3-4)**, 183–193.

Andersson, M. L., Møller, A. M., Wildgaard, K. (2019). Butyrylcholinesterase deficiency and its clinical importance in anaesthesia: a systematic review. *Anaesthesia*, **74(4)**, 518–528.

- Angelopoulou, E., Nath Paudel, Y., Piperi, C., Mishra, A. (2021). Neuroprotective potential of cinnamon and its metabolites in Parkinson's disease: Mechanistic insights, limitations, and novel therapeutic opportunities. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, **e22711**. Advance online publication.
- Anuradha, K., Shyamala, B. N., Naidu, M. M. (2013). Vanilla--its science of cultivation, curing, chemistry, and nutraceutical properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **53(12)**, 1250–1276.
- Arfeen, M., Bharatam, P. V. (2013). Design of glycogen synthase kinase-3 inhibitors: an overview on recent advancements. *Current Pharmaceutical Design*, **19(26)**, 4755–4775.
- Arnott, J. A., Planey, S. L. (2012). The influence of lipophilicity in drug discovery and design. *Expert Opinion on Drug Discovery*, **7(10)**, 863–875.
- Ashakirin, S.N., Tripathy, M., Patil, U.K., Majeed, A.B. (2017). Chemistry And Bioactivity Of Cinnamaldehyde: A Natural Molecule Of Medicinal Importance. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Research*. 2017, **8**, 2333–2340
- Atanasova, M., Stavrakov, G., Philipova, I., Zheleva, D., Yordanov, N., Doytchinova, I. (2015). Galantamine derivatives with indole moiety: Docking, design, synthesis and acetylcholinesterase inhibitory activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **23(17)**, 5382–5389.
- Athar, T., Al Balushi, K., Khan, S. A. (2021). Recent advances on drug development and emerging therapeutic agents for Alzheimer's disease. *Molecular Biology Reports*, **48(7)**, 5629–5645.
- Awasthi, M., Singh, S., Pandey, V. P., Dwivedi, U. N. (2016). Alzheimer's disease: An overview of amyloid beta dependent pathogenesis and its therapeutic implications along with in silico approaches emphasizing the role of natural products. *Journal of The Neurological Sciences*, **361**, 256–271.
- Azeredo, C. M., Santos, T. G., Maia, B. H., Soares, M. J. (2014). In vitro biological evaluation of eight different essential oils against *Trypanosoma cruzi*, with

- emphasis on Cinnamomum verum essential oil. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **14**, 309.
- Azimi, P., Ghasvand, R., Feizi, A., Hosseinzadeh, J., Bahreynian, M., Hariri, M., Khosravi-Boroujeni, H. (2016). Effect of cinnamon, cardamom, saffron and ginger consumption on blood pressure and a marker of endothelial function in patients with type 2 diabetes mellitus: A randomized controlled clinical trial. *Blood Pressure*, **25**(3), 133–140
- Bajda, M., Wiğckowska, A., Hebda, M., Guzior, N., Sottriffer, C. A., Malawska, B. (2013). Structure-based search for new inhibitors of cholinesterases. *International Journal of Molecular Sciences*, **14** (3), 5608-5632.
- Balakumar, C., Pran Kishore, D., Raghuram Rao, A. (2017). Structure-based design and pharmacological study of fluorinated fused quinazolines as adenosine A2B receptor antagonists. *JSM Chemistry*. **5** (2), 1041.
- Balimane, P. V., Chong, S., Morrison, R. A. (2000). Current methodologies used for evaluation of intestinal permeability and absorption. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, **44**(1), 301–312.
- Ball, N., Teo, W. P., Chandra, S., Chapman, J. (2019). Parkinson's Disease and the Environment. *Frontiers in Neurology*, **10**, 218.
- Banerjee, G., Chattopadhyay, P. (2019). Vanillin biotechnology: the perspectives and future. *Journal Of The Science of Food And Agriculture*, **99**(2), 499–506.
- Barage, S. H., Sonawane, K. D. (2015). Amyloid cascade hypothesis: Pathogenesis and therapeutic strategies in Alzheimer's disease. *Neuropeptides*, **52**, 1–18.
- Barman, A., Prabhakar, R. (2014). Computational Insights into Substrate and Site Specificities, Catalytic Mechanism, and Protonation States of the Catalytic Asp Dyad of β -Secretase. *Scientifica*, **2014**, 598728.
- Bártová, E., Krejčí, J., Harnicarová, A., Galiová, G., Kozubek, S. (2008). Histone modifications and nuclear architecture: a review. The journal of histochemistry and cytochemistry: *Official Journal Of The Histochemistry Society*, **56**(8), 711–721.

- Bazan, N. G., Halabi, A., Ertel, M., Petasis, N. A. (2012). Neuroinflammation. *Basic Neurochemistry*, 610–620.
- Beaudry, F., Ross, A., Lema, P. P., Vachon, P. (2010). Pharmacokinetics of vanillin and its effects on mechanical hypersensitivity in a rat model of neuropathic pain. *Phytotherapy Research: PTR*, **24(4)**, 525–530. <https://doi.org/10.1002/ptr.2975>
- Beji, R. S., Khemir, S., Wannes, W. A., Ayari, K., Ksouri, R. (2018). Antidiabetic, antihyperlipidemic and antioxidant influences of the spice cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) in experimental rats. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **54(2)**, 1–8.
- Ben Saad, H., Driss, D., Jaballi, I., Ghozzi, H., Boudawara, O., Droguet, M., Magné, C., Nasri, M., Zeghal, K. M., Hakim, A., Ben Amara, I. (2018). Potassium Bromate-induced Changes in the Adult Mouse Cerebellum Are Ameliorated by Vanillin. *Biomedical And Environmental Sciences: BES*, **31(2)**, 115–125. <https://doi.org/10.3967/bes2018.014>
- Bertos, N. R., Gilquin, B., Chan, G. K., Yen, T. J., Khochbin, S., Yang, X. J. (2004). Role of the tetradecapeptide repeat domain of human histone deacetylase 6 in cytoplasmic retention. *The Journal of Biological Chemistry*, **279(46)**, 48246–48254.
- Bertrand, J. A., Thieffine, S., Vulpetti, A., Cristiani, C., Valsasina, B., Knapp, S., Kalisz, H. M., Flocco, M. (2003). Structural characterization of the GSK-3beta active site using selective and non-selective ATP-mimetic inhibitors. *Journal of Molecular Biology*, **333(2)**, 393–407.
- Birikh, K. R., Sklan, E. H., Shoham, S., Soreq, H. (2003). Interaction of "readthrough" acetylcholinesterase with RACK1 and PKCbeta II correlates with intensified fear-induced conflict behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **100(1)**, 283–288.
- Birks J. (2006). Cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, **(1)**, CD005593.

- Blaikie, L., Kay, G., Kong Thoo Lin, P. (2020). Synthesis and in vitro evaluation of vanillin derivatives as multi-target therapeutics for the treatment of Alzheimer's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **30(21)**,
- Block, M. L., Zecca, L., Hong, J. S. (2007). Microglia-mediated neurotoxicity: uncovering the molecular mechanisms. *Nature reviews. Neuroscience*, **8(1)**, 57–69.
- Bolger, T. A., Yao, T. P. (2005). Intracellular trafficking of histone deacetylase 4 regulates neuronal cell death. *The Journal of neuroscience : The Official Journal of The Society For Neuroscience*, **25(41)**, 9544–9553.
- Bondarev, A. D., Attwood, M. M., Jonsson, J., Chubarev, V. N., Vadim, |, Tarasov, V., Schiöth, H. B. (2021). Recent developments of HDAC inhibitors: Emerging indications and novel molecules. *British Journal of Clinical Pharmacology*, **87**, 4577–4597
- Borrito-Escuela, D. O., Brito, I., Romero-Fernandez, W., Di Palma, M., Oflijan, J., Skietarska, K., Duchou, J., Van Craenenbroeck, K., Suárez-Boomgaard, D., Rivera, A., Guidolin, D., Agnati, L. F., Fuxe, K. (2014). The G protein-coupled receptor heterodimer network (GPCR-HetNet) and its hub components. *International Journal of Molecular Sciences*, **15(5)**, 8570–8590.
- Bortolato, A., Fanton, M., Mason, J. S., Moro, S. (2013). Molecular docking methodologies. *Methods in Molecular Biology. Clifton, N.J.*, **924**, 339–360.
- Bozzali, M., Serra, L., Cercignani, M. (2016). Quantitative MRI to understand Alzheimer's disease pathophysiology. *Current Opinion in Neurology*, **29(4)**, 437–444.
- Braak, H., Thal, D. R., Ghebremedhin, E., Del Tredici, K. (2011). Stages of the pathologic process in Alzheimer disease: age categories from 1 to 100 years. *Journal of Neuropathology And Experimental Neurology*, **70(11)**, 960–969.
- Bressi, J. C., Jennings, A. J., Skene, R., Wu, Y., Melkus, R., De Jong, R., O'Connell, S., Grimshaw, C. E., Navre, M., Gangloff, A. R. (2010). Exploration of the HDAC2 foot pocket: Synthesis and SAR of substituted N-(2-

aminophenyl)benzamides. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **20(10)**, 3142–3145.

Brus, B., Koşak, U., Turk, S., Pişlar, A., Coquelle, N., Kos, J., Stojan, J., Colletier, J. P., Gobec, S. (2014). Discovery, biological evaluation, and crystal structure of a novel nanomolar selective butyrylcholinesterase inhibitor. *Journal of Medicinal Chemistry*, **57(19)**, 8167–8179.

Cacabelos, R., Torrellas, C. (2015). Epigenetics of Aging and Alzheimer's Disease: Implications for Pharmacogenomics and Drug Response. *International Journal of Molecular Sciences*, **16(12)**, 30483–30543.

Cardoso-Ugarte, G. A., L3pez-Malo, A., Sosa-Morales, M. E. (2016). Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) essential oils. In *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*, **(1)**, 339-347.

Carthy, E., Ellender, T. (2021). Histamine, Neuroinflammation and Neurodevelopment: A Review. *Frontiers in Neuroscience*, **15**, 680214.

Castell3, A.L., Iglesias-Andreu, L.G., Bello-Bello, J.J., Lee-Espinosa, H.E. (2014). Improved propagation of vanilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) using a temporary immersion system. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, **50**, 576-581. Cataldi, R., Chia, S., Pisani, K., Ruggeri, F. S., Xu, C. K., şneideris, T., Perni, M., Sarwat, S., Joshi, P., Kumita, J. R., Linse, S., Habchi, J., Knowles, T., Mannini, B., Dobson, C. M., & Vendruscolo, M. (2021). A dopamine metabolite stabilizes neurotoxic amyloid- β oligomers. *Communications biology*, **4(1)**, 19.

Çavuşoğlu, Mehmet. Vanilinin 4-aminomorfolin Schiff bazı t3revi ve bazı metal komplekslerinin sentezi, karakterizasyonu ve sitotoksik etkilerinin araştırılması. *Y3ksek Lisans Tezi*, Kilis 7 Aralık 3niversitesi, **2014**

Ceravolo, R., Volterrani, D., Gambaccini, G., Bernardini, S., Rossi, C., Logi, C., Tognoni, G., Manca, G., Mariani, G., Bonuccelli, U., Murri, L. (2004). Presynaptic nigro-striatal function in a group of Alzheimer's disease patients with parkinsonism: evidence from a dopamine transporter imaging study. *Journal of Neural Transmission*, **111(8)**, 1065–1073.

- Chandrasekaran, B., Abed, S. N., Al-Attraqchi, O., Kuche, K., Tekade, R. K. (2018). Computer-Aided Prediction of Pharmacokinetic (ADMET) Properties. *Dosage Form Design Parameters*, **2**, 731–755.
- Cheignon, C., Tomas, M., Bonnefont-Rousselot, D., Faller, P., Hureau, C., Collin, F. (2018). Oxidative stress and the amyloid beta peptide in Alzheimer's disease. *Redox Biology*, **14**, 450–464.
- Chen, H., Zheng, J., Ma, J. (2019). Vanillin ameliorates changes in HIF-1 α expression and neuronal apoptosis in a rat model of spinal cord injury. *Restorative Neurology And Neuroscience*, **37(1)**, 21–29.
- Chen, V. P., Gao, Y., Geng, L., Brimijoin, S. (2017). Butyrylcholinesterase regulates central ghrelin signaling and has an impact on food intake and glucose homeostasis. *International Journal of Obesity*, **41(9)**, 1413–1419.
- Childers, N. F., Cibes, H. R. (1959). Vanilla-the orchid of commerce. *A Scientific Survey*, Ronald press Company, New York
- Choubey, S. K., Jeyakanthan, J. (2018). Molecular dynamics and quantum chemistry-based approaches to identify isoform selective HDAC2 inhibitor - a novel target to prevent Alzheimer's disease. *Journal of Receptor And Signal Transduction Research*, **38(3)**, 266–278.
- Chowdhury, S., Kumar, S. (2020). Inhibition of BACE1, MAO-B, cholinesterase enzymes, and anti-amyloidogenic potential of selected natural phytoconstituents: Multi-target-directed ligand approach. *Journal of Food Biochemistry*, **45(1)**, e13571.
- Chowdhury, S., Suresh Kumar, (2021). Bioactive Phytocompounds: Anti-amyloidogenic Effects Against Hen Egg-White Lysozyme Aggregation. *The Protein Journal*, **40**, 78–86.
- Chung, J. W., Kim, J. J., Kim, S. J. (2011). Antioxidative effects of cinnamomi cortex: A potential role of iNOS and COX-II. *Pharmacognosy magazine*, **7(28)**, 314–319.

- Ciriminna, R., Fidalgo, A., Meneguzzo, F., Parrino, F., Ilharco, L. M., Pagliaro, M. (2019). Vanillin: The Case for Greener Production Driven by Sustainability Megatrend. *Chemistry Open*, **8(6)**, 660–667.
- Clark, D. E. (2005). Chapter 10 Computational Prediction of ADMET Properties: Recent Developments and Future Challenges. *Annual Reports in Computational Chemistry*, **1(C)**, 133–151.
- Cobb, C. A., Cole, M. P. (2015). Oxidative and nitrate stress in neurodegeneration. *Neurobiology of Disease*, **84**, 4–21.
- Cohen, T. J., Guo, J. L., Hurtado, D. E., Kwong, L. K., Mills, I. P., Trojanowski, J. Q., Lee, V. M. (2011). The acetylation of tau inhibits its function and promotes pathological tau aggregation. *Nature Communications*, **2**, 252.
- Converti, A., Aliakbarian, B., Domínguez, J. M., Bustos Vázquez, G., Perego, P. (2010). Microbial production of biovanillin. *Brazilian Journal of Microbiology*, **41(3)**, 519–530.
- Cummings, J. L., Tong, G., Ballard, C. (2019). Treatment Combinations for Alzheimer's Disease: *Current and Future Pharmacotherapy Options*, **67(3)**
- Cummings, J., Lee, G., Ritter, A., Zhong, K. (2018). Alzheimer's disease drug development pipeline: 2018. *Alzheimer's & dementia (New York, N. Y.)*, **4**, 195–214.
- Cutler, R. G., Kelly, J., Storie, K., Pedersen, W. A., Tammara, A., Hatanpaa, K., Troncoso, J. C., Mattson, M. P. (2004). Involvement of oxidative stress-induced abnormalities in ceramide and cholesterol metabolism in brain aging and Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **101(7)**, 2070–2075.
- da Nóbrega Alves, D., France Messias Monteiro, A., Nêris Andrade, P., Goldoni Lazarini, J., Maria Freire Abílio, G., Queiroga Sarmiento Guerra, F., Tullius Scotti, M., Scotti, L., Luiz Rosalen, P., Dias de Castro, R., Muñoz-Torrero, D., Grande, R., Carradori, S. (2020). molecules Docking Prediction, Antifungal Activity, Anti-Biofilm Effects on *Candida* spp., and Toxicity against Human Cells of Cinnamaldehyde. *Molecules*, **25**, 5969.

- Daina, A., Michielin, O., Zoete, V. (2017). SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, **7**, 42717.
- Davies, P., Maloney, A. J. (1976). Selective loss of central cholinergic neurons in Alzheimer's disease. *Lancet*, **2(8000)**, 1403.
- de Andrade, P., Mantoani, S. P., Gonçalves Nunes, P. S., Magadán, C. R., Pérez, C., Xavier, D. J., Hojo, E., Campillo, N. E., Martínez, A., Carvalho, I. (2019). Highly potent and selective aryl-1,2,3-triazolyl benzylpiperidine inhibitors toward butyrylcholinesterase in Alzheimer's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **27(6)**, 931–943.
- Değirmencioğlu, Selvi Merve. Bazı Schiff Bazı Metal Komplekslerinin Sentezi ve Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi. *Selçuk Üniversitesi*, 2010
- Deveci, B., Türkmen, S., Avcıkurt, C. (2016). Vanilla spice and investigation on areas of usage<p>Vanilya baharatı ve kullanım alanları üzerine bir araştırma. *Journal of Human Sciences*, **13(3)**, 5340–5350.
- Dhanalakshmi, C., Janakiraman, U., Manivasagam, T., Justin Thenmozhi, A., Essa, M. M., Kalandar, A., Khan, M. A., Guillemin, G. J. (2016). Vanillin Attenuated Behavioural Impairments, Neurochemical Deficits, Oxidative Stress and Apoptosis Against Rotenone Induced Rat Model of Parkinson's Disease. *Neurochemical Research*, **41(8)**, 1899–1910.
- Dhanalakshmi, C., Manivasagam, T., Nataraj, J., Justin Thenmozhi, A., Essa, M. M. (2015). Neurosupportive Role of Vanillin, a Natural Phenolic Compound, on Rotenone Induced Neurotoxicity in SH-SY5Y Neuroblastoma Cells. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine : Ecam*, **2015**, 626028.
- Dhillon S. (2021). Aducanumab: First Approval. *Drugs*, **81(12)**, 1437–1443.
- Diamant, S., Podoly, E., Friedler, A., Ligumsky, H., Livnah, O., Soreq, H. (2006). Butyrylcholinesterase attenuates amyloid fibril formation in vitro. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **103(23)**, 8628–8633.

- DiMasi, J. A., Grabowski, H. G., Hansen, R. W. (2016). Innovation in the pharmaceutical industry: New estimates of R&D costs. *Journal of Health Economics*, **47**, 20–33.
- Ding, H., Dolan, P. J., Johnson, G. V. (2008). Histone deacetylase 6 interacts with the microtubule-associated protein tau. *Journal of Neurochemistry*, **106**(5), 2119–2130.
- Nascimento, L., Moraes, A., Costa, K., Pereira Galúcio, J. M., Taube, P. S., Costa, C., Neves Cruz, J., de Aguiar Andrade, E. H., Faria, L. (2020). Bioactive Natural Compounds and Antioxidant Activity of Essential Oils from Spice Plants: New Findings and Potential Applications. *Biomolecules*, **10**(7), 988.
- Dislich, B., Lichtenthaler, S. F. (2012). The Membrane-Bound Aspartyl Protease BACE1: Molecular and Functional Properties in Alzheimer's Disease and Beyond. *Frontiers in Physiology*, **3**, 8.
- Dong, J., Wang, N. N., Yao, Z. J., Zhang, L., Cheng, Y., Ouyang, D., Lu, A. P., Cao, D. S. (2018). ADMETlab: a platform for systematic ADMET evaluation based on a comprehensively collected ADMET database. *Journal of Cheminformatics*, **10**(1), 29.
- Dong, X. X., Wang, Y., Qin, Z. H. (2009). Molecular mechanisms of excitotoxicity and their relevance to pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Acta pharmacologica Sinica*, **30**(4), 379–
- Dori, A., Soreq, H. (2006). ARP, the cleavable C-terminal peptide of "readthrough" acetylcholinesterase, promotes neuronal development and plasticity. *Journal of Molecular Neuroscience*, **28**(3), 247–255.
- Dou, K. X., Tan, M. S., Tan, C. C., Cao, X. P., Hou, X. H., Guo, Q. H., Tan, L., Mok, V., Yu, J. T. (2018). Comparative safety and effectiveness of cholinesterase inhibitors and memantine for Alzheimer's disease: a network meta-analysis of 41 randomized controlled trials. *Alzheimer's Research Therapy*, **10**(1), 126.
- Drwal, M. N., Banerjee, P., Dunkel, M., Wettig, M. R., Preissner, R. (2014). ProTox: a web server for the in silico prediction of rodent oral toxicity. *Nucleic acids research*, *42*(Web Server issue), **W53–W58**.

- Dvir, H., Silman, I., Harel, M., Rosenberry, T. L., Sussman, J. L. (2010). Acetylcholinesterase: from 3D structure to function. *Chemico-biological Interactions*, **187(1-3)**, 10–22.
- Dwivedi, P., Tekade, R.K., Jain, N.K. (2013). Nanoparticulate carrier mediated intranasal delivery of insulin for the restoration of memory signaling in Alzheimer's disease. *Current Nanoscience*, **9**, 46-55.
- El Kerdawy, A. M., Osman, A. A., Zaater, M. A. (2019). Receptor-based pharmacophore modeling, virtual screening, and molecular docking studies for the discovery of novel GSK-3 β inhibitors. *Journal of Molecular Modeling*, **25(6)**, 171.
- El-Baroty, G.S., El-Baky, H.H., Farag, R.S., Saleh, M.A. (2010). Characterization of antioxidant and antimicrobial Characterization of antioxidant and antimicrobial compounds of cinnamon and ginger essential oils. *African Journal of Biochemistry Research*, **4**.
- El-Hachem, N., Haibe-Kains, B., Khalil, A., Kobeissy, F. H., Nemer, G. (2017). AutoDock and AutoDockTools for Protein-Ligand Docking: Beta-Site Amyloid Precursor Protein Cleaving Enzyme 1(BACE1) as a Case Study. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, **1598**, 391–403.
- Eyal, S., Hsiao, P., Unadkat, J. D. (2009). Drug interactions at the blood-brain barrier: fact or fantasy?. *Pharmacology & Therapeutics*, **123(1)**, 80–104.
- Falkenberg, K. J., Johnstone, R. W. (2014). Histone deacetylases and their inhibitors in cancer, neurological diseases and immune disorders. *Nature reviews. Drug discovery*, **13(9)**, 673–691.
- FAOSTAT (UN Food and Agriculture Organization, Statistics Division). (2018) Vanilla crops production.
- Farias, A., Monteiro, O., da Silva, J., Figueiredo, P., Rodrigues, A., Monteiro, I. N., Maia, J. (2020). Chemical composition and biological activities of two chemotype-oils from *Cinnamomum verum* J. Presl growing in North Brazil. *Journal of Food Science and Technology*, **57(9)**, 3176–3183.

- Ferreira-Vieira, T. H., Guimaraes, I. M., Silva, F. R., Ribeiro, F. M. (2016). Alzheimer's disease: Targeting the Cholinergic System. *Current Neuropharmacology*, **14(1)**, 101–115.
- Flores-Clemente, C., Nicolás-Vázquez, M. I., Mera Jiménez, E., Hernández-Rodríguez, M. (2021). Inhibition of Astrocytic Histamine N-Methyltransferase as a Possible Target for the Treatment of Alzheimer's Disease. *Biomolecules*, **11(10)**, 1408.
- Francis, P. T., Palmer, A. M., Snape, M., Wilcock, G. K. (1999). The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. *Journal Of Neurology, Neurosurgery, And Psychiatry*, **66(2)**, 137–147.
- Franco, R., Reyes-Resina, I., Navarro, G. (2021). Dopamine in Health and Disease: Much More Than a Neurotransmitter. *Biomedicines*, **9(2)**, 109.
- Franjesevic, A. J., Sillart, S. B., Beck, J. M., Vyas, S., Callam, C. S., Hadad, C. M. (2019). Resurrection and Reactivation of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase. *Chemistry*, **25(21)**, 5337–5371.
- Gao, J., Wang, W. Y., Mao, Y. W., Gräff, J., Guan, J. S., Pan, L., Mak, G., Kim, D., Su, S. C., Tsai, L. H. (2010). A novel pathway regulates memory and plasticity via SIRT1 and miR-134. *Nature*, **466(7310)**, 1105–1109.
- Gedeck, P., Lewis, R. A. (2008). Exploiting QSAR models in lead optimization. *Current Opinion in Drug Discovery & Development*, **11(4)**, 569–575.
- George, R. C., Lew, J., Graves, D. J. (2013). Interaction of cinnamaldehyde and epicatechin with tau: implications of beneficial effects in modulating Alzheimer's disease pathogenesis. *Journal of Alzheimer's Disease*, **36(1)**, 21–40.
- Ghosh, J., Lawless, M. S., Waldman, M., Gombar, V., Fraczekiewicz, R. (2016). Modeling ADMET. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, **1425**, 63–83.
- Gilbert, T. M., Zürcher, N. R., Catanese, M. C., Tseng, C. J., Di Biase, M. A., Lyall, A. E., Hightower, B. G., Parmar, A. J., Bhanot, A., Wu, C. J., Hibert, M. L.,

- Kim, M., Mahmood, U., Stufflebeam, S. M., Schroeder, F. A., Wang, C., Roffman, J. L., Holt, D. J., Greve, D. N., Pasternak, O., ... Hooker, J. M. (2019). Neuroepigenetic signatures of age and sex in the living human brain. *Nature Communications*, **10**(1), 2945.
- Gómez-Ramos, P., Morán, M. A. (1997). Ultrastructural localization of butyrylcholinesterase in senile plaques in the brains of aged and Alzheimer disease patients. *Molecular And Chemical Neuropathology*, **30**(3), 161–173.
- Gopinath, S. M., Vidya, G. M., Narasimha Murthy, T. P. (2014). Isolation, characterization and purification of bio-active compounds from *Andrographis paniculata* and *Cinnamomum verum* for anti-HIV activity. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*, **3**(6), 13777–13783.
- Götz, J., Bodea, L. G., Goedert, M. (2018). Rodent models for Alzheimer disease. *Nature reviews. Neuroscience*, **19**(10), 583–598.
- Govindarajan, N., Rao, P., Burkhardt, S., Sananbenesi, F., Schlüter, O. M., Bradke, F., et al. (2013). Reducing HDAC6 ameliorates cognitive deficits in a mouse model for Alzheimer's disease. *EMBO Molecular Medicine*. **5**, 52–63.
- Gräff, J., Rei, D., Guan, J. S., Wang, W. Y., Seo, J., Hennig, K. M., Nieland, T. J., Fass, D. M., Kao, P. F., Kahn, M., Su, S. C., Samiei, A., Joseph, N., Haggarty, S. J., Delalle, I., Tsai, L. H. (2012). An epigenetic blockade of cognitive functions in the neurodegenerating brain. *Nature*, **483**(7388), 222–226.
- Greaves, M. W., Sabroe, R. A. (1996). Histamine: the quintessential mediator. *The Journal of Dermatology*, **23**(11), 735–740.
- Grossberg G. T. (2002). The ABC of Alzheimer's disease: behavioral symptoms and their treatment. *International Psychogeriatrics*, **14**(1), 27–49.
- Grossman I. (2009). ADME pharmacogenetics: current practices and future outlook. *Expert Opinion On Drug Metabolism & Toxicology*, **5**(5), 449–462.

- Grothe, M. J., Barthel, H., Sepulcre, J., Dyrba, M., Sabri, O., Teipel, S. J., Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (2017). In vivo staging of regional amyloid deposition. *Neurology*, **89(20)**, 2031–2038.
- Grozinger, C. M., Hassig, C. A., Schreiber, S. L. (1999). Three proteins define a class of human histone deacetylases related to yeast Hda1p. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **96(9)**, 4868–4873.
- Gülcin, I., Kaya, R., Goren, A. C., Akincioglu, H., Topal, M., Bingol, Z., Cetin Çakmak, K., Ozturk Sarikaya, S. B., Durmaz, L., Alwasel, S. (2019). Anticholinergic, antidiabetic and antioxidant activities of cinnamon (*cinnamomum verum*) bark extracts: polyphenol contents analysis by LC-MS/MS. *International Journal of Food Properties*, **22(1)**, 1511–1526.
- Gupta, preeti, Mohammad, taj, Dahiya, R., Roy, S., Mohammed Ali noman, omar, Alajmi, M., Hussain, A., imtaiyaz Hassan, M. (2021). Evaluation of binding and inhibition mechanism of dietary phytochemicals with sphingosine kinase 1: *Towards Targeted Anticancer Therapy*.
- Gupta, S., Sharma, B. (2014). Pharmacological benefits of agomelatine and vanillin in experimental model of Huntington's disease. *Pharmacology, Biochemistry, And Behavior*, **122**, 122–135.
- Guzior, N., Wieckowska, A., Panek, D., Malawska, B. (2015). Recent development of multifunctional agents as potential drug candidates for the treatment of Alzheimer's disease. *Current Medicinal Chemistry*, **22 (3)**, 373-404.
- Haberland, M., Montgomery, R. L., Olson, E. N. (2009). The many roles of histone deacetylases in development and physiology: implications for disease and therapy. *Nature reviews. Genetics*, **10(1)**, 32–42.
- Hajinejad, M., Ghaddaripouri, M., Dabzadeh, M., Forouzanfar, F., Sahab-Negah, S. (2020). Review Article Natural Cinnamaldehyde and Its Derivatives Ameliorate Neuroinflammatory Pathways in Neurodegenerative Diseases. *Biomed Research International*, **2020**

- Halim, R. (2017). Vanilya (*Vanilla Planifolia* L.) Bitkisinde In Vitro Rejenerasyonların Sağlanması ve Hücre Süspansiyonlarında Metil Jasmonat Elisitörünün Biyokütle Üretimine Etkileri, *Ege Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi*.
- Hampel, H., Mesulam, M. M., Cuello, A. C., Farlow, M. R., Giacobini, E., Grossberg, G. T., Khachaturian, A. S., Vergallo, A., Cavedo, E., Snyder, P. J., Khachaturian, Z. S. (2018). The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. *Brain : A Journal of Neurology*, **141**(7), 1917–1933.
- Hampel, H., Vassar, R., De Strooper, B., Hardy, J., Willem, M., Singh, N., Zhou, J., Yan, R., Vanmechelen, E., De Vos, A., Nisticò, R., Corbo, M., Imbimbo, B. P., Streffer, J., Voytyuk, I., Timmers, M., Tahami Monfared, A. A., Irizarry, M., Albala, B., Koyama, A., ... Vergallo, A. (2021). The β -Secretase BACE1 in Alzheimer's Disease. *Biological Psychiatry*, **89**(8), 745–756.
- Hamzeh-Mivehroud, M., Rahmani, S., Feizi, M. A., Dastmalchi, S., Rashidi, M. R. (2014). In vitro and in silico studies to explore structural features of flavonoids for aldehyde oxidase inhibition. *Archiv der Pharmazie*, **347**(10), 738–747.
- Hardy, J. A., Higgins, G. A. (1992). Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science*, **256**(5054), 184–185.
- Hassan Baig, M., Ahmad, K., Roy, S., Mohammad Ashraf, J., Adil, M., Haris Siddiqui, M., Khan, S., Amjad Kamal, M., Provazník, I., Choi, I. (2015). Computer aided drug design: success and limitations. *Current Pharmaceutical Design*, **22**, 572–581.
- Havkin-Frenkel, D., Belanger, F.C. (2018). Biotechnology of Vanillin: Vanillin from Microbial Sources. In Handbook of Vanilla Science and Technology (pp. 457–488). *John Wiley & Sons, Ltd*.
- He, W., Zhang, W., Zheng, Q., Wei, Z., Wang, Y., Hu, M., Luo, C. (2019). Cinnamaldehyde causes apoptosis of myeloid-derived suppressor cells through the activation of TLR4. *Oncology Letters*, **18**(3), 2420–2426

- Hemming, M. L., Elias, J. E., Gygi, S. P., Selkoe, D. J. (2009). Identification of beta-secretase (BACE1) substrates using quantitative proteomics. *PloS one*, **4**(12), e8477.
- Hernández, F., Borrell, J., Guaza, C., Avila, J., Lucas, J. J. (2002). Spatial learning deficit in transgenic mice that conditionally over-express GSK-3 β in the brain but do not form tau filaments. *Journal of Neurochemistry*, **83**(6), 1529–1533.
- Hirrom, P. C., Millburn, P., Smith, R. L. (1976). Bile and urine as complementary pathways for the excretion of foreign organic compounds. *Xenobiotica; the fate of foreign compounds in biological systems*, **6**(1), 55–64.
- Ho, K., Yazan, L. S., Ismail, N., Ismail, M. (2009). Apoptosis and cell cycle arrest of human colorectal cancer cell line HT-29 induced by vanillin. *Cancer Epidemiology*, **33**(2), 155–160.
- Hong, L., Koelsch, G., Lin, X., Wu, S., Terzyan, S., Ghosh, A. K., Zhang, X. C., Tang, J. (2000). Structure of the protease domain of memapsin 2 (beta-secretase) complexed with inhibitor. *Science*, **290**(5489), 150–153.
- Hou, T., Wang, J., Zhang, W., Wang, W., Xu, X. (2006). Recent advances in computational prediction of drug absorption and permeability in drug discovery. *Current Medicinal Chemistry*, **13**(22), 2653–2667.
- Huang, H., Li, Y., Liang, J., Finkelman, F. D. (2018). Molecular Regulation of Histamine Synthesis. *Frontiers in Immunology*, **9**, 1392.
- Huang, W. J., Zhang, X., Chen, W. W. (2016). Role of oxidative stress in Alzheimer's disease. *Biomedical Reports*, **4**(5), 519–522.
- Hubbert, C., Guardiola, A., Shao, R., Kawaguchi, Y., Ito, A., Nixon, A., Yoshida, M., Wang, X. F., Yao, T. P. (2002). HDAC6 is a microtubule-associated deacetylase. *Nature*, **417**(6887), 455–458.
- Hung, C. L., Chen, C. C. (2014). Computational approaches for drug discovery. *Drug Development Research*, **75**(6), 412–418. <https://doi.org/10.1002/ddr.21222>

- Husain A, Al Balushi K, Akhtar MJ, Khan SA (2021) Cou- marin linked heterocyclic hybrids: a promising approach to develop multi target drugs for Alzheimer's disease. *Journal of Molecular Structure*, **241**,130618
- Husain, I., Ahmad, R., Chandra, A., Raza, S. T., Shukla, Y., Mahdi, F. (2018). Phytochemical characterization and biological activity evaluation of ethanolic extract of *Cinnamomum zeylanicum*. *Journal of Ethnopharmacology*, **219**, 110–116
- Iannuzzi, C., Borriello, M., Irace, G., Cammarota, M., Di Maro, A., Sirangelo, I. (2017). Vanillin Affects Amyloid Aggregation and Non-Enzymatic Glycation in Human Insulin. *Scientific Reports*, **7(1)**, 15086.
- Inestrosa, N. C., Dinamarca, M. C., Alvarez, A. (2008). Amyloid-cholinesterase interactions. Implications for Alzheimer's disease. *The FEBS journal*, **275(4)**, 625–632.
- Jack, C. R., Jr, Bennett, D. A., Blennow, K., Carrillo, M. C., Dunn, B., Haeberlein, S. B., Holtzman, D. M., Jagust, W., Jessen, F., Karlawish, J., Liu, E., Molinuevo, J. L., Montine, T., Phelps, C., Rankin, K. P., Rowe, C. C., Scheltens, P., Siemers, E., Snyder, H. M., Sperling, R., ... Contributors (2018). NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association*, **14(4)**, 535–562.
- Jahromi, Z., Mohammadghasemi, F., Moharrami Kasmaie, F., Zaminy, A. (2020). Cinnamaldehyde Enhanced Functional Recovery after Sciatic Nerve Crush Injury in Rats. *Cells, Tissues, Organs*, **209(1)**, 43–53.
- Jameson, L., Frey, T., Zeeberg, B., Dalldorf, F., Caplow, M. (1980). Inhibition of microtubule assembly by phosphorylation of microtubule-associated proteins. *Biochemistry*, **19(11)**, 2472–2479.
- Jantaree, P., Lirdprapamongkol, K., Kaewsri, W., Thongsornkleeb, C., Choowongkamon, K., Atjanasuppat, K., Ruchirawat, S., Svasti, J. (2017). Homodimers of Vanillin and Apocynin Decrease the Metastatic Potential of

- Human Cancer Cells by Inhibiting the FAK/PI3K/Akt Signaling Pathway. *Journal of Agricultural And Food Chemistry*, **65(11)**, 2299–2306.
- Johnson, G., Moore, S. W. (2006). The peripheral anionic site of acetylcholinesterase: structure, functions and potential role in rational drug design. *Current Pharmaceutical Design*, **12(2)**, 217–225.
- Johnson, K. A., Schultz, A., Betensky, R. A., Becker, J. A., Sepulcre, J., Rentz, D., Mormino, E., Chhatwal, J., Amariglio, R., Papp, K., Marshall, G., Albers, M., Mauro, S., Pepin, L., Alverio, J., Judge, K., Philiossaint, M., Shoup, T., Yokell, D., Dickerson, B., ... Sperling, R. (2016). Tau positron emission tomographic imaging in aging and early Alzheimer disease. *Annals of neurology*, **79(1)**, 110–119.
- Kamat, J. P., Ghosh, A., Devasagayam, T. P. (2000). Vanillin as an antioxidant in rat liver mitochondria: inhibition of protein oxidation and lipid peroxidation induced by photosensitization. *Molecular And Cellular Biochemistry*, **209(1-2)**, 47–53.
- Kametani, F., Hasegawa, M. (2018). Reconsideration of Amyloid Hypothesis and Tau Hypothesis in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Neuroscience*, **12**, 25.
- Kapetanovic I. M. (2008). Computer-aided drug discovery and development (CADD): in silico-chemico-biological approach. *Chemico-biological Interactions*, **171(2)**, 165–176.
- Karaca E. Ö. (2018) Yeni Schiff bazı bileşiklerinin sentezi ve yapılarının aydınlatılması”, *Politeknik Dergisi*, **21(1)**, 245-249
- Karremans, A. P., Chinchilla, I. F., Rojas-Alvarado, G., Cedeño-Fonseca, M., Damián, A., Léotard, G. (2020). A Reappraisal of Neotropical Vanilla. With A Note On Taxonomic Inflation and The Importance of Alpha Taxonomy in Biological Studies. *Lankesteriana*, **20(3)**, 395–497.
- Kawaguchi, Y., Kovacs, J. J., McLaurin, A., Vance, J. M., Ito, A., Yao, T. P. (2003). The deacetylase HDAC6 regulates aggresome formation and cell viability in response to misfolded protein stress. *Cell*, **115(6)**, 727–738.

- Kayat, J., Gajbhiye, V., Tekade, R. K., Jain, N. K. (2011). Pulmonary toxicity of carbon nanotubes: a systematic report. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, And Medicine*, **7(1)**, 40–49.
- Keiser, M. J., Roth, B. L., Armbruster, B. N., Ernsberger, P., Irwin, J. J., & Shoichet, B. K. (2007). *Relating Protein Pharmacology By Ligand Chemistry*. *Nature Biotechnology*, **25(2)**, 197–206. <https://doi.org/10.1038/nbt1284>
- Khan, P., Rahman, S., Queen, A., Manzoor, S., Naz, F., Hasan, G. M., Luqman, S., Kim, J., Islam, A., Ahmad, F., Hassan, M. I. (2017). Elucidation of Dietary Polyphenolics as Potential Inhibitor of Microtubule Affinity Regulating Kinase 4: In silico and In vitro Studies. *Scientific reports*, **7(1)**, 9470.
- Kim, M. E., Na, J. Y., Park, Y. D., Lee, J. S. (2018). Anti-Neuroinflammatory Effects of Vanillin Through the Regulation of Inflammatory Factors and NF- κ B Signaling in LPS-Stimulated Microglia. *Applied Biochemistry And Biotechnology*, **187(3)**, 884–893.
- Klimes, I. Lamparsky, D. (1976). Vanilla volatiles a comprehensive analysis. *International Flavours*, 272–278.
- Kollman, PA. (1993). Free energy calculations: Applications to chemical and biochemical phenomena. *Chemical Reviews*, **93**, 2395–2417.
- Kowalska, J., Tyburski, J., Matysiak, K., Jakubowska, M., Łukaszyk, J., Krzymińska, J. (2021). Cinnamon as a Useful Preventive Substance for the Care of Human and Plant Health. *Molecules*, **26(17)**, 5299.
- Kumar, S., Kumari, R., Mishra, S. (2019). Pharmacological properties and their medicinal uses of Cinnamomum: a review. *The Journal Of Pharmacy And Pharmacology*, **71(12)**, 1735–1761.
- Kundu, A., Mitra, A. (2013). Flavoring extracts of Hemidesmus indicus roots and Vanilla planifolia pods exhibit in vitro acetylcholinesterase inhibitory activities. *Plant Foods For Human Nutrition*, **68(3)**, 247–253.

- Kuntz, I. D., Blaney, J. M., Oatley, S. J., Langridge, R., Ferrin, T. E. (1982). A geometric approach to macromolecule-ligand interactions. *Journal of Molecular Biology*, **161**(2), 269–288.
- Lamanna, C., Bellini, M., Padova, A., Westerberg, G., Maccari, L. (2008). Straightforward recursive partitioning model for discarding insoluble compounds in the drug discovery process. *Journal of Medicinal Chemistry*, **51**(10), 2891–2897.
- Lamberti, G., Cascone, S., Marra, F., Titomanlio, G., D'amore, M., Barba, A. (2016). Gastrointestinal behavior and ADME phenomena: II. In silico simulation. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, **35**, 165-171.
- Lan, X. B., Wang, Q., Yang, J. M., Ma, L., Zhang, W. J., Zheng, P., Sun, T., Niu, J. G., Liu, N., Yu, J. Q. (2019). Neuroprotective effect of Vanillin on hypoxic-ischemic brain damage in neonatal rats. *Biomedicine & pharmacotherapy*, **118**, 109196.
- Lea, I. A., Gong, H., Paleja, A., Rashid, A., Fostel, J. (2017). CEBS: a comprehensive annotated database of toxicological data. *Nucleic Acids Research*, **45**, D964–D971. ,
- Lee, J. C., Kim, I. H., Cho, J. H., Lee, T. K., Park, J. H., Ahn, J. H., Shin, B. N., Yan, B. C., Kim, J. D., Jeon, Y. H., Lee, Y. J., Won, M. H., Kang, I. J. (2018). Vanillin improves scopolamine-induced memory impairment through restoration of ID1 expression in the mouse hippocampus. *Molecular Medicine Reports*, **17**(3), 4399–4405.
- Leyva, V. E., Lopez, J. M., Zevallos-Ventura, A., Cabrera, R., Cañari-Chumpitaz, C., Toubiana, D., Maruenda, H. (2021). NMR-based leaf metabolic profiling of *V. planifolia* and three endemic *Vanilla* species from the Peruvian Amazon. *Food Chemistry*, **358**, 129365.
- Li, H., Chen, Z., Xu, X., Sui, X., Guo, T., Liu, W., Zhang, J. (2011). Predicting human plasma protein binding of drugs using plasma protein interaction QSAR analysis (PPI-QSAR). *Biopharmaceutics & Drug Disposition*, **32**(6), 333–342.

- Li, Q., Yang, H., Chen, Y., Sun, H. (2017). Recent progress in the identification of selective butyrylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **132**, 294–309.
- Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., Feeney, P. J. (1997). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **23**(1–3), 3–25.
- Liu, P.-P., Xie, Y., Meng, X.-Y., Kang, J.-S. (2019). History and progress of hypotheses and clinical trials for Alzheimer's disease. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, **4**, 29.
- Liu, C., Goel, P., Kaeser, P. S. (2021a). Spatial and temporal scales of dopamine transmission. *Nature reviews. Neuroscience*, **22**(6), 345–358.
- Liu, Y., Zhu, J., Yu, J., Chen, X., Zhang, S., Cai, Y., Li, L. (2021b). A new functionality study of vanillin as the inhibitor for α -glucosidase and its inhibition kinetic mechanism. *Food Chemistry*, **353**, 129448.
- Liu, Z., Zhou, T., Ziegler, A. C., Dimitrion, P., Zuo, L. (2017). Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases: From Molecular Mechanisms to Clinical Applications. *Oxidative Medicine And Cellular Longevity*, **2017**, 2525967.
- Lourdes Sci, M., Sebastian-Perez, A., V., Martinez-Gonzalez, L., Benitez, R., Perez, D. I., Perez, C. P., Campillo, N. E., Martinez, A., Laura Moyano, E. (2019). Computer-aided molecular design of pyrazolotriazines targeting glycogen synthase kinase 3. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, **39**, 87-96.
- Lv, C., Yuan, X., Zeng, H. W., Liu, R. H., Zhang, W. D. (2017). Protective effect of cinnamaldehyde against glutamate-induced oxidative stress and apoptosis in PC12 cells. *European Journal of Pharmacology*, **815**, 487–494.
- Macalino, S. J., Gosu, V., Hong, S., Choi, S. (2015). Role of computer-aided drug design in modern drug discovery. *Archives of Pharmacal Research*, **38**(9), 1686–1701.

- Mahady, L., Nadeem, M., Malek-Ahmadi, M., Chen, K., Perez, S. E., Mufson, E. J. (2019). HDAC2 dysregulation in the nucleus basalis of Meynert during the progression of Alzheimer's disease. *Neuropathology And Applied Neurobiology*, **45(4)**, 380–397.
- Mahnashi, M. H., Alyami, B. A., Alqahtani, Y. S., Alqarni, A. O., Jan, M. S., Ayaz, M., Ullah, F., Shahid, M., Rashid, U., Sadiq, A. (2021). Neuroprotective potentials of selected natural edible oils using enzyme inhibitory, kinetic and simulation approaches. *BMC Complementary Medicine And Therapies*, **21(1)**, 248.
- Mai, C. W., Kang, Y. B., Hamzah, A. S., Pichika, M. R., (2018). Comparative efficacy of vanilloids in inhibiting toll-like receptor-4 (TLR-4)/myeloid differentiation factor (MD-2) homodimerisation. *Food & function*, **9(6)**, 3344–3350.
- Majeed, W. (2018). Polyherbal Formulation Prevents Hyperglycemia by Modulating the Biochemical Parameters and Upregulating the Insulin Signaling Cascade in Alloxan Induced Hyperglycemic Rats. *Pakistan Veterinary Journal*, **38**, 121-126.
- Marsoni, S., Damia, G., Camboni, G. (2008). A work in progress: the clinical development of histone deacetylase inhibitors. *Epigenetics*, **3(3)**, 164–171.
- Masson, P., Carletti, E., Nachon, F. (2009). Structure, activities and biomedical applications of human butyrylcholinesterase. *Protein And Peptide Letters*, **16(10)**, 1215–1224.
- Mateen, S., Rehman, M. T., Shahzad, S., Naeem, S. S., Faizy, A. F., Khan, A. Q., Khan, M. S., Husain, F. M., Moin, S. (2019). Anti-oxidant and anti-inflammatory effects of cinnamaldehyde and eugenol on mononuclear cells of rheumatoid arthritis patients. *European Journal of Pharmacology*, **852**, 14–24.
- Maurice, T., Strehaiano, M., Siméon, N., Bertrand, C., Chatonnet, A. (2016). Learning performances and vulnerability to amyloid toxicity in the butyrylcholinesterase knockout mouse. *Behavioural Brain Research*, **296**, 351–360.

- McQuown, S. C., Barrett, R. M., Matheos, D. P., Post, R. J., Rogge, G. A., Alenghat, T., Mullican, S. E., Jones, S., Rusche, J. R., Lazar, M. A., Wood, M. A. (2011). HDAC3 is a critical negative regulator of long-term memory formation. *The Journal of neuroscience*, **31(2)**, 764–774.
- Mesulam, M. M., Mufson, E. J., Levey, A. I., Wainer, B. H. (1983). Cholinergic innervation of cortex by the basal forebrain: cytochemistry and cortical connections of the septal area, diagonal band nuclei, nucleus basalis (substantia innominata), and hypothalamus in the rhesus monkey. *The Journal Of Comparative Neurology*, **214(2)**, 170–197.
- Miziak, B., Błaszczuk, B., Czuczwar, S. J. (2021). pharmaceuticals Some Candidate Drugs for Pharmacotherapy of Alzheimer's Disease. *Pharmaceuticals*, **14(5)**, 458
- Momtaz, S., Hassani, S., Khan, F., Ziaee, M., Abdollahi, M. (2018). Cinnamon, a promising prospect towards Alzheimer's disease. *Pharmacological Research*, **130**, 241–258.
- Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., Olson, A. J. (2009). AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, **30(16)**, 2785–2791.
- Mouchlis, V. D., Melagraki, G., Zacharia, L. C., Afantitis, A. (2020). Computer-Aided Drug Design of β -Secretase, γ -Secretase and Anti-Tau Inhibitors for the Discovery of Novel Alzheimer's Therapeutics. *International Journal of Molecular Sciences*, **21(3)**, 703.
- Mufson, E. J., Ikonomic, M. D., Counts, S. E., Perez, S. E., Malek-Ahmadi, M., Scheff, S. W., Ginsberg, S. D. (2016). Molecular and cellular pathophysiology of preclinical Alzheimer's disease. *Behavioural Brain Research*, **311**, 54–69.
- Muhammad, A., Katsayal, B. S., Forcados, G. E., Malami, I., Abubakar, I. B., Kandi, A. I., Idris, A. M., Yusuf, S., Musa, S. M., Monday, N., & Umar, Z. S. (2020).

- In silico predictions on the possible mechanism of action of selected bioactive compounds against breast cancer. *In silico Pharmacology*, **8(1)**, 4.
- Mullard A. (2017). 2016 FDA drug approvals. *Nature reviews. Drug discovery*, **16(2)**, 73–76.
- Nag, A., Paul, S., Banerjee, R., Kundu, R. (2021). In silico study of some selective phytochemicals against a hypothetical SARS-CoV-2 spike RBD using molecular docking tools. *Computers in Biology and Medicine*, **137**, 104818.
- Naz, H., Tarique, M., Khan, P., Luqman, S., Ahamad, S., Islam, A., Ahmad, F., Hassan, M. I. (2018). Evidence of vanillin binding to CAMKIV explains the anti-cancer mechanism in human hepatic carcinoma and neuroblastoma cells. *Molecular And Cellular Biochemistry*, **438(1-2)**, 35–45.
- Nhan, H. S., Chiang, K., Koo, E. H. (2015). The multifaceted nature of amyloid precursor protein and its proteolytic fragments: friends and foes. *Acta neuropathologica*, **129(1)**, 1–19.
- Niazi, J., Kaur, N., Sachdeva, R.K., Bansal, Y., Gupta, V. (2014). Anti-inflammatory and antinociceptive activity of vanillin. *Drug Develop Theraput* **5**, 145-147
- Nicolet, Y., Lockridge, O., Masson, P., Fontecilla-Camps, J. C., Nachon, F. (2003). Crystal structure of human butyrylcholinesterase and of its complexes with substrate and products. *The Journal of Biological Chemistry*, **278(42)**, 41141–41147.
- Nikolac Perkovic, M., Videtic Paska, A., Konjevod, M., Kouter, K., Svob Strac, D., Nedic Erjavec, G., Pivac, N. (2021). Epigenetics of Alzheimer's Disease. *Biomolecules*, **11(2)**, 195.
- Noble, M. E., Endicott, J. A., Johnson, L. N. (2004). Protein kinase inhibitors: insights into drug design from structure. *Science*, **303(5665)**, 1800–1805.
- Nunomura, A., Perry, G., Aliev, G., Hirai, K., Takeda, A., Balraj, E. K., Jones, P. K., Ghanbari, H., Wataya, T., Shimohama, S., Chiba, S., Atwood, C. S., Petersen, R. B., Smith, M. A. (2001). Oxidative damage is the earliest event in

- Alzheimer disease. *Journal of Neuropathology And Experimental Neurology*, **60(8)**, 759–767.
- Nygaard H. B. (2013). Current and emerging therapies for Alzheimer's disease. *Clinical Therapeutics*, **35(10)**, 1480–1489.
- Ogunyemi, O. M., Gyebi, G. A., Elfiky, A. A., Afolabi, S. O., Ogunro, O. B., Adegunloye, A. P., Ibrahim, I. M. (2020). Alkaloids and flavonoids from African phytochemicals as potential inhibitors of SARS-Cov-2 RNA-dependent RNA polymerase: an in silico perspective. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, **28**, 1–15
- Oh, J., Eser, R. A., Ehrenberg, A. J., Morales, D., Petersen, C., Kudlacek, J., Dunlop, S. R., Theofilas, P., Resende, E., Cosme, C., Alho, E., Spina, S., Walsh, C. M., Miller, B. L., Seeley, W. W., Bittencourt, J. C., Neylan, T. C., Heinsen, H., Grinberg, L. T. (2019). Profound degeneration of wake-promoting neurons in Alzheimer's disease. *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association*, **15(10)**, 1253–1263.
- Oprea T. I. (2000). Property distribution of drug-related chemical databases. *Journal of computer-aided molecular design*, *Springer*, **14(3)**, 251–264.
- Padalia, H., Rathod, T., Moteriya, P., Chanda, S. (2017). Antimicrobial efficacy of Cinnamomum verum essential oil alone and in combination with antibiotics and other essential oils. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, **6(11)**, 3377–3395.
- Pajouhesh, H., Lenz, G. R. (2005). Medicinal chemical properties of successful central nervous system drugs. *NeuroRx*, **2(4)**, 541-553.
- Pandey, S. C., Jha, A., Kumar, A., Samant, M. (2019). Evaluation of antileishmanial potential of computationally screened compounds targeting DEAD-box RNA helicase of Leishmania donovani. *International Journal of Biological Macromolecules*, **121**, 480–487.
- Pantsar, T., Poso, A. (2018). Binding Affinity via Docking: Fact and Fiction. *Molecules*, **23(8)**, 1899.

- Panula, P., Rinne, J., Kuokkanen, K., Eriksson, K. S., Sallmen, T., Kalimo, H., Relja, M. (1998). Neuronal histamine deficit in Alzheimer's disease. *Neuroscience*, **82(4)**, 993–997.
- Park, H. R., Lee, H., Park, H., Cho, W. K., Ma, J. Y. (2016). Fermented Sipjeondaebotang Alleviates Memory Deficits and Loss of Hippocampal Neurogenesis in Scopolamine-induced Amnesia in Mice. *Scientific Reports*, **6**, 22405.
- Patel, R. H., Mohiuddin, S. S. (2021). Biochemistry, Histamine. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- Patil, M., Choudhari, A. S., Pandita, S., Islam, M. A., Raina, P., Kaul-Ghanekar, R. (2017). Cinnamaldehyde, Cinnamic Acid, and Cinnamyl Alcohol, the Bioactives of Cinnamomum cassia Exhibit HDAC8 Inhibitory Activity: An In vitro and In silico Study. *Pharmacognosy Magazine*, **13**, S645–S651.
- Pathy, Á., Murai, J., Hanics, J., Pintér, A., Zahola, P., Hökfelt, T., Harkany, T., Alpár, A. (2021). Neuropathology of the Brainstem to Mechanistically Understand and to Treat Alzheimer's Disease. *Journal of Clinical Medicine*, **10(8)**, 1555.
- Paul, A., Viswanathan, G. K., Huber, A., Arad, E., Engel, H., Jelinek, R., Gazit, E., Segal, D. (2021). Inhibition of tau amyloid formation and disruption of its preformed fibrils by Naphthoquinone-Dopamine hybrid. *The FEBS journal*, **288(14)**, 4267–4290.
- Pei, R. S., Zhou, F., Ji, B. P., Xu, J. (2009). Evaluation of combined antibacterial effects of eugenol, cinnamaldehyde, thymol, and carvacrol against E. coli with an improved method. *Journal of Food Science*, **74(7)**, M379–M383.
- Pelkonen, O., Turpeinen, M., Uusitalo, J., Rautio, A., Raunio, H. (2005). Prediction of Drug Metabolism and Interactions on the Basis of in vitro Investigations. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, **96**, 167–175.
- Peretti, A. L., Antunes, J. S., Lovison, K., Kunz, R. I., Castor, L., Brancalhão, R., Bertolini, G., Ribeiro, L. (2017). Action of vanillin (Vanilla planifolia) on the morphology of tibialis anterior and soleus muscles after nerve injury. *Einstein*, **15(2)**, 186–191.

- Peterson, D. W., George, R. C., Scaramozzino, F., LaPointe, N. E., Anderson, R. A., Graves, D. J., Lew, J. (2009). Cinnamon extract inhibits tau aggregation associated with Alzheimer's disease in vitro. *Journal of Alzheimer's Disease*, **17(3)**, 585–597.
- Pham, H. M., Xu, A., Schriener, S. E., Sevrioukov, E. A., Jafari, M. (2018). Cinnamaldehyde Improves Lifespan and Healthspan in *Drosophila melanogaster* Models for Alzheimer's Disease. *Biomed Research International*, **2018**, 3570830.
- Pilz, J., Mitsakou, C., Huang, R., D-t, N., Xia, M., Nguyen, D.-T., Zhao, T., Sakamuru, S., Zhao, J., Shahane, S. A., Rossoshek, A., Simeonov, A. (2016). Tox21Challenge to Build Predictive Models of Nuclear Receptor and Stress Response Pathways as Mediated by Exposure to Environmental Chemicals and Drugs. *Frontiers in Environmental Science*, **1**, 85.
- Pittman, S. (2011). Cinnamon: It's not just for making cinnamon rolls. *Ethnobotanical Leaflets*, **2000(2)**, 11.
- Pluta, R., Ułamek-Kozioł, M., Januszewski, S., Czuczwar, S. J. (2020). Gut microbiota and pro/prebiotics in Alzheimer's disease. *Aging*, **12(6)**, 5539–5550.
- Prasanna, G., Jing, P. (2021). Self-assembly of N-terminal Alzheimer's β -amyloid and its inhibition. *Biochemical And Biophysical Research Communications*, **534**, 950–956.
- Prince, M., Guerchet, M., Prina, M. (2013). The Global Impact of Dementia 2013-2050. *Alzheimer's Disease International Report*
- Pulya, S., Amin, S. A., Adhikari, N., Biswas, S., Jha, T., Ghosh, B. (2021). HDAC6 as privileged target in drug discovery: A perspective. *Pharmacological Research*, **163**, 105274.
- Qadir, M. M. F., Bhatti, A., Ashraf, M. U., Sandhu, M. A., Anjum, S., John, P. (2018). Immunomodulatory and therapeutic role of *Cinnamomum verum* extracts in collageninduced arthritic BALB/c mice. *Inflammopharmacology*, **26(1)**, 157–170.

- Quinn, D. (1987). Acetylcholinesterase: enzyme structure, reaction dynamics, and virtual transition states. *Chemical Reviews*, **87**, 955-979.
- Raab, W., Gige, W. (1951). Concentration and distribution of "encephalin" in the brain of humans and animals. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, **76(1)**, 97–100.
- Raffai, G., Khang, G., Vanhoutte, P. M. (2015). Vanillin and vanillin analogs relax porcine coronary and basilar arteries by inhibiting L-type Ca²⁺ channels. *The Journal of Pharmacology And Experimental Therapeutics*, **352(1)**, 14–22.
- Raies, A. B., Bajic, V. B. (2016). In silico toxicology: computational methods for the prediction of chemical toxicity. Wiley interdisciplinary reviews. *Computational Molecular Science*, **6(2)**, 147–172.
- Rakchoy, S., Suppakul, P., Jinkarn, T. (2009). Antimicrobial effects of vanillin coated solution for coating paperboard intended for packaging bakery products. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, **2**, 138-147.
- Rakoczy, K., Szlasa, W., Saczko, J., Kulbacka, J. (2021). Therapeutic role of vanillin receptors in cancer. *Advances in clinical and experimental medicine*, **20**, 1293–1301
- Ranadive, A.S. (1992). Vanillin and related flavor compounds in vanilla extracts made from beans of various global origins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **40**, 1922-1924.
- Ranasinghe, P., Pigera, S., Premakumara, G. A., Galappaththy, P., Constantine, G. R., Katulanda, P. (2013). Medicinal properties of 'true' cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*): a systematic review. *BMC Complementary And Alternative Medicine*, **13**, 275.
- Rao, P. V., Gan, S. H. (2014). Cinnamon: a multifaceted medicinal plant. *Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine : Ecam*, **2014**, 642942.
- Ravindran, P. N. (2006). Medicinal properties of vanilla. *Spice India* 19:8–11
- Reineccius, G. 1994. In: *Source Book of Flavors*, **2nd** edn., pp. 351–361. Chapman and Hall, New York.

- Reddy P. H. (2013). Amyloid beta-induced glycogen synthase kinase 3 β phosphorylated VDAC1 in Alzheimer's disease: implications for synaptic dysfunction and neuronal damage. *Biochimica Et Biophysica Acta*, **1832(12)**, 1913–1921.
- Reid, G. A., Darvesh, S. (2015). Butyrylcholinesterase-knockout reduces brain deposition of fibrillar β -amyloid in an Alzheimer mouse model. *Neuroscience*, **298**, 424–435.
- Ribeiro-Santos, R., Andrade, M., Madella, D., Martinazzo, A. P., de Aquino Garcia Moura, L., de Melo, N. R., Sanches-Silva, A. (2017). Revisiting an ancient spice with medicinal purposes: Cinnamon. *Trends in Food Science & Technology*, **62**, 154–169.
- Richard, A.M. Williams, C.R. (2002) Distributed structure-searchable toxicity (DSSTox) public database network: a proposal. *Mutation Research*, **499**, 27–52.
- Rivieccio, M. A., Brochier, C., Willis, D. E., Walker, B. A., D'Annibale, M. A., McLaughlin, K., Siddiq, A., Kozikowski, A. P., Jaffrey, S. R., Twiss, J. L., Ratan, R. R., Langley, B. (2009). HDAC6 is a target for protection and regeneration following injury in the nervous system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **106(46)**, 19599–19604.
- Roth-Walter, F., Moskovskich, A., Gomez-Casado, C., Diaz-Perales, A., Oida, K., Singer, J., Kinaciyan, T., Fuchs, H. C., Jensen-Jarolim, E. (2014). Immune suppressive effect of cinnamaldehyde due to inhibition of proliferation and induction of apoptosis in immune cells: implications in cancer. *PloS one*, **9(10)**, e108402.
- Saeed, M., Ghadiri, A., Hadizadeh, F., Attaranzadeh, A., Alavi, M. S., Etemad, L. (2018). Cinnamaldehyde improves methamphetamine-induced spatial learning and memory deficits and restores ERK signaling in the rat prefrontal cortex. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, **21(12)**, 1316–1321.

- Salau, V. F., Erukainure, O. L., Ibeji, C. U., Olasehinde, T. A., Koorbanally, N. A., Islam, M. S. (2020). Vanillin and vanillic acid modulate antioxidant defense system via amelioration of metabolic complications linked to Fe²⁺-induced brain tissues damage. *Metabolic Brain Disease*, **35**(5), 727–738.
- Salleh, W. M. N. H. W., Ahmad, F., Yen, K. H. (2016). Evaluation of Antioxidant, Anticholinesterase and Antityrosinase Activities of Malaysian Cinnamomum Species. *Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences*, **14**(2), 125–132.
- Salman, M. M., Al-Obaidi, Z., Kitchen, P., Loreto, A., Bill, R. M., Wade-Martins, R. (2021). Advances in Applying Computer-Aided Drug Design for Neurodegenerative Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**(9), 4688.
- Sandheep, A. R., Jisha, M. S. (2014). Screening and identification of potential trichoderma sp. against soil borne pathogens of vanilla (vanilla planifolia), *Indian Journal Agriculture Research*, **48** (6), 459-464.
- Saranya, B., Sulfikarali, T., Chindhu, S., Muneeb, A. M., Leela, N. K., Zachariah, T. J. (2017). Turmeric and cinnamon dominate in antioxidant potential among four major spices. *Journal of Spices and Aromatic Crops*, **26**(1), 27–32.
- Sayar-Gümüş. (2017). Potansiyel Anti-Alzheimer Heteroaromatik Hidrazit Hidrazon Türevi Bileşikler Üzerinde Sentez ve Biyoaktivite Çalışmaları. *Doktora Tezi*.
- Schaffer, N. K., Michel, H. O., Bridges, A. F. (1973). Amino acid sequence in the region of the reactive serine residue of eel acetylcholinesterase. *Biochemistry*, **12**(15), 2946–2950.
- Scheltens, P., De Strooper, B., Kivipelto, M., Holstege, H., Chételat, G., Teunissen, C. E., Cummings, J., van der Flier, W. M. (2021). Alzheimer's disease. *The Lancet*, **397**(10284), 1577–1590.
- Schopfer, L. M., Lockridge, O., Brimijoin, S. (2015). Pure human butyrylcholinesterase hydrolyzes octanoyl ghrelin to desacyl ghrelin. *General And Comparative Endocrinology*, **224**, 61–68.

- Schueller, E., Paiva, I., Blanc, F., Wang, X. L., Cassel, J. C., Boutillier, A. L., Bousiges, O. (2020). Dysregulation of histone acetylation pathways in hippocampus and frontal cortex of Alzheimer's disease patients. *European Neuropsychopharmacology* **33**, 101–116.
- Schwöbel, J., Ebert, R., Kühne, R., Schüürmann, G. (2011). Prediction models for the Abraham hydrogen bond donor strength: comparison of semi-empirical, ab initio, and DFT methods. *Journal of Physical Organic Chemistry*, **24 (11)**, 1072-1080.
- Scipioni, M., Kay, G., Megson, I. L., Kong Thoo Lin, P. (2019). Synthesis of novel vanillin derivatives: novel multi-targeted scaffold ligands against Alzheimer's disease. *Medicinal Chemistry*, **10(5)**, 764–777.
- Serin, S., Gök, Y. (1988) Hidroksi Schiff Bazı Metal Komplekslerinin Tekstil Boyamacılığında Kullanabilirliğinin İncelenmesi, *T. Kimya D.C.*, **12**, 325-331.
- Serrador, J. M., Cabrero, J. R., Sancho, D., Mittelbrunn, M., Urzainqui, A., Sánchez-Madrid, F. (2004). HDAC6 Deacetylase Activity Links the Tubulin Cytoskeleton with Immune Synapse Organization. *Immunity*, **20(4)**, 417–428.
- Shan, L., Bossers, K., Unmehopa, U., Bao, A. M., Swaab, D. F. (2012). Alterations in the histaminergic system in Alzheimer's disease: a postmortem study. *Neurobiology of Aging*, **33(11)**, 2585–2598.
- Shetty, M. G., Pai, P., Deaver, R. E., Satyamoorthy, K., Babitha, K. S. (2021). Histone deacetylase 2 selective inhibitors: A versatile therapeutic strategy as next generation drug target in cancer therapy. *Pharmacological Research*, **170**, 105695.
- Shoeb, A., Chowta, M., Pallemati, G., Rai, A., Singh, A. (2013). Evaluation of antidepressant activity of vanillin in mice. *Indian Journal of Pharmacology*, **45(2)**, 141–144.
- Singh R. K. (2020). Recent Trends in the Management of Alzheimer's Disease: Current Therapeutic Options and Drug Repurposing Approaches. *Current Neuropsychopharmacology*, **18(9)**, 868–882.

- Singh, M., Kaur, M., Kukreja, H., Chugh, R., Silakari, O., Singh, D. (2013). Acetylcholinesterase inhibitors as Alzheimer therapy: from nerve toxins to neuroprotection. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **70**, 165–188.
- Singh, N., Rao, A. S., Nandal, A., Kumar, S., Yadav, S. S., Ganaie, S. A., Narasimhan, B. (2021). Phytochemical and pharmacological review of *Cinnamomum verum* J. Presl-a versatile spice used in food and nutrition. *Food Chemistry*, **338**, 127773.
- Sklan, E. H., Podoly, E., Soreq, H. (2006). RACK1 has the nerve to act: structure meets function in the nervous system. *Progress in Neurobiology*, **78**(2), 117–134.
- Song, F., Li, H., Sun, J., Wang, S. (2013). Protective effects of cinnamic acid and cinnamic aldehyde on isoproterenol-induced acute myocardial ischemia in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **150**(1), 125–130.
- Soni, N., Soni, N., Pandey, H., Maheshwari, R., Kesharwani, P., & Tekade, R. K. (2016). Augmented delivery of gemcitabine in lung cancer cells exploring mannose anchored solid lipid nanoparticles. *Journal of Colloid And Interface Science*, **481**, 107–116.
- Srivastava, S., Ahmad, R., Khare, S. K. (2021). Alzheimer's disease and its treatment by different approaches: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **216**, 113320.
- Stanzione, F., Giangreco, I., Cole, J. C. (2021). Use of molecular docking computational tools in drug discovery. *Progress in Medicinal Chemistry*, **60**, 273–343.
- Strahl, B. D., Allis, C. D. (2000). The language of covalent histone modifications. *Nature*, **403**(6765), 41–45.
- Stubbendorff, C., Stevenson, C. W. (2021). Dopamine regulation of contextual fear and associated neural circuit function. *The European Journal of Neuroscience*, **54**(8), 6933–6947.

- Sussman, J. L., Harel, M., Silman, I. (1993). Three-dimensional structure of acetylcholinesterase and of its complexes with anticholinesterase drugs. *Chemico-biological Interactions*, **87(1-3)**, 187–197.
- Sussman, J. L., Harel, M., Frolov, F., Oefner, C., Goldman, A., Toker, L., Silman, I. (1991). Atomic structure of acetylcholinesterase from *Torpedo californica*: a prototypic acetylcholine-binding protein. *Science*, **253(5022)**, 872–879.
- Tai, A., Sawano, T., Yazama, F. (2011). Antioxidant properties of ethyl vanillin in vitro and in vivo. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **75(12)**, 2346–2350.
- Tandel, R. S., Dash, P., Hussain Bhat, R. A., Thakuria, D., Sawant, P. B., Pandey, N., Chandra, S., Chadha, N. K. (2021). Anti-oomycetes and immunostimulatory activity of natural plant extract compounds against *Saprolegnia* spp.: Molecular docking and in-vitro studies. *Fish & Shellfish Immunology*, **114**, 65–81.
- Tasker, A., Perry, E. K., Ballard, C. G. (2005). Butyrylcholinesterase: impact on symptoms and progression of cognitive impairment. *Expert Review of Neurotherapeutics*, **5(1)**, 101–106.
- Teaktong, T., Graham, A. J., Court, J. A., Perry, R. H., Jaros, E., Johnson, M., Hall, R., Perry, E. K. (2004). Nicotinic acetylcholine receptor immunohistochemistry in Alzheimer's disease and dementia with Lewy bodies: differential neuronal and astroglial pathology. *Journal of The Neurological Sciences*, **225(1-2)**, 39–49.
- Testa, B., Crivori, P., Reist, M., Carrupt, P. (2000). The influence of lipophilicity on the pharmacokinetic behavior of drugs: Concepts and examples. *Perspectives in Drug Discovery and Design*, **19(1)**, 179-211.
- Thakkar, S., Chen, M., Fang, H., Liu, Z., Roberts, R., Tong, W. (2018). The Liver Toxicity Knowledge Base (LKTb) and drug-induced liver injury (DILI) classification for assessment of human liver injury. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*, **12(1)**, 31–38.

- Thapa, S., Lv, M., Xu, H. (2017). Acetylcholinesterase: A Primary Target for Drugs and Insecticides. Mini reviews in *medicinal chemistry*, **17**(17), 1665–1676.
- Thomas, A., Mazigo, H. D., Manjurano, A., Morona, D., Kweka, E. J. (2017). Evaluation of active ingredients and larvicidal activity of clove and cinnamon essential oils against *Anopheles gambiae* (sensu lato). *Parasites & Vectors*, **10**(1), 411.
- Tiiman, A., Palumaa, P., ve Tougu, V., (2013). ‘The missing link in the amyloid cascade of Alzheimer’s disease-Metal ions’, *Neurochemistry Tiiman International*, **62**, 367-378.
- Tiwari, S., Atluri, V., Kaushik, A., Yndart, A., Nair, M. (2019). Alzheimer’s disease: pathogenesis, diagnostics, and therapeutics. *International Journal of Nanomedicine*, **2019**(14), 5541—5554
- Tsaion, K., Kates, S.A. (2011). *ADMET for Medicinal Chemists: A Practical Guide*. 2nd edition Wiley:USA
- Tyan, S., Shih, A.Y., Walsh, J.J., Maruyama, H., Sarsoza, F., Ku, L., Eggert, S., Hof, P.R., Koo, E.H., Dickstein, D.L., (2012). ‘Amiloid precursor protein (APP) regulates synaptic structure and function’, *Molecular and Cellular Neuroscience*, **51**, 43-52.
- Utchariyakiat, I., Surassmo, S., Jaturanpinyo, M., Khuntayaporn, P., Chomnawang, M.T. (2016). Efficacy of cinnamon bark oil and cinnamaldehyde on anti-multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* and the synergistic effects in combination with other antimicrobial agents. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **16**(1), 15
- van de Waterbeemd, H., Camenisch, G., Folkers, G., Chretien, J. R., Raevsky, O. A. (1998). Estimation of blood-brain barrier crossing of drugs using molecular size and shape, and H-bonding descriptors. *Journal of Drug Targeting*, **6**(2), 151–165.
- van de Waterbeemd, H., Gifford, E. (2003). ADMET in silico modelling: towards prediction paradise?. *Nature Reviews. Drug Discovery*, **2**(3), 192–204.

- van der Lee, S. J., Wolters, F. J., Ikram, M. K., Hofman, A., Ikram, M. A., Amin, N., van Duijn, C. M. (2018). The effect of APOE and other common genetic variants on the onset of Alzheimer's disease and dementia: a community-based cohort study. *The Lancet. Neurology*, **17**(5), 434–444.
- Varma, M. V., Panchagnula, R. (2005). Prediction of in vivo intestinal absorption enhancement on P-glycoprotein inhibition, from rat in situ permeability. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **94**(8), 1694–1704.
- Vassar, R., Bennett, B. D., Babu-Khan, S., Kahn, S., Mendiaz, E. A., Denis, P., Teplow, D. B., Ross, S., Amarante, P., Loeloff, R., Luo, Y., Fisher, S., Fuller, J., Edenson, S., Lile, J., Jarosinski, M. A., Biere, A. L., Curran, E., Burgess, T., Louis, J. C., ... Citron, M. (1999). Beta-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. *Science*, **286**(5440), 735–741.
- Veber, D. F., Johnson, S. R., Cheng, H. Y., Smith, B. R., Ward, K. W., Kopple, K. D. (2002). Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of Medicinal Chemistry*, **45**(12), 2615–2623.
- Vecchio, I., Sorrentino, L., Paoletti, A., Marra, R., Arbitrio, M. (2021). The State of The Art on Acetylcholinesterase Inhibitors in the Treatment of Alzheimer's Disease. *Journal of Central Nervous System Disease*. **13**,1–13
- Venkata, S., Zeeshan, F., Kamal, A., Khan Luqman, A., Saif, H. (2020). Efficiency of vanillin in impeding metabolic adaptability and virulence of *Candida albicans* by inhibiting glyoxylate cycle, morphogenesis, and biofilm formation. *Current Medical Mycology*, **2020**(1), 1–8.
- Venkateshappa, C., Harish, G., Mahadevan, A., Srinivas Bharath, M. M., Shankar, S. K. (2012). Elevated oxidative stress and decreased antioxidant function in the human hippocampus and frontal cortex with increasing age: implications for neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Neurochemical Research*, **37**(8), 1601–1614.
- Vohora, D., Singh, G. (2017). *Pharmaceutical Medicine and Translational Clinical Research* (Academic Press). 1st edition, Elsevier,

- Volkow, N. D., Fowler, J. S., Wang, G. J., Logan, J., Schlyer, D., MacGregor, R., Hitzemann, R., Wolf, A. P. (1994). Decreased dopamine transporters with age in healthy human subjects. *Annals of Neurology*, **36**(2), 237–239.
- Wang, D. B., Kinoshita, C., Kinoshita, Y., Sopher, B. L., Uo, T., Lee, R. J., Kim, J. K., Murphy, S. P., Dirk Keene, C., Garden, G. A., Morrison, R. S. (2019). Neuronal susceptibility to beta-amyloid toxicity and ischemic injury involves histone deacetylase-2 regulation of endophilin-B1. *Brain Pathology*, **29**(2), 164–175.
- Wang, J., Yu, J. T., Tan, M. S., Jiang, T., Tan, L. (2013). Epigenetic mechanisms in Alzheimer's disease: implications for pathogenesis and therapy. *Ageing Research Reviews*, **12**(4), 1024–1041.
- Wang, R., Li, S., Jia, H., Si, X., Lei, Y., Lyu, J., Dai, Z., Wu, Z. (2021). Protective Effects of Cinnamaldehyde on the Inflammatory Response, Oxidative Stress, and Apoptosis in Liver of Salmonella typhimurium-Challenged Mice. *Molecules*, **26**(8), 2309.
- Wang, Y., Mandelkow, E. (2016). Tau in physiology and pathology. *Nature reviews. Neuroscience*, **17**(1), 5–21.
- Wang, Y., Metoki, A., Alm, K. H., Olson, I. R. (2018). White matter pathways and social cognition. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, **90**, 350–370.
- Watkins, P. B., Zimmerman, H. J., Knapp, M. J., Gracon, S. I., Lewis, K. W. (1994). Hepatotoxic effects of tacrine administration in patients with Alzheimer's disease. *JAMA*, **271**(13), 992–998.
- Wenlock, M., Barton, P. (2013). In Silico Physicochemical Parameter Predictions. *Molecular Pharmaceutics*, **10** (4), 1224-1235.
- Whitehouse, P. J., Martino, A. M., Marcus, K. A., Zweig, R. M., Singer, H. S., Price, D. L., Kellar, K. J. (1988). Reductions in acetylcholine and nicotine binding in several degenerative diseases. *Archives of Neurology*, **45**(7), 722–724.
- Wu, C., Zhuang, Y., Jiang, S., Tian, F., Teng, Y., Chen, X., Zheng, P., Liu, S., Zhou, J., Wu, J., Wang, R., Zou, X. (2017). Cinnamaldehyde induces apoptosis and reverses epithelial-mesenchymal transition through inhibition of Wnt/ β -

- catenin pathway in non-small cell lung cancer. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **84**, 58–74.
- Xing, S., Li, Q., Xiong, B., Chen, Y., Feng, F., Liu, W., Sun, H. (2021). Structure and therapeutic uses of butyrylcholinesterase: Application in detoxification, Alzheimer's disease, and fat metabolism. *Medicinal Research Reviews*, **41(2)**, 858–901.
- Xiong, G., Wu, Z., Yi, J., Fu, L., Yang, Z., Hsieh, C., Yin, M., Zeng, X., Wu, C., Lu, A., Chen, X., Hou, T., Cao, D. (2021). ADMETlab 2.0: an integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties. *Nucleic Acids Research*, **49(W1)**, W5–W14.
- Xu, M., Wang, S. L., Zhu, L., Wu, P. Y., Dai, W. B., Rakesh, K. P. (2019). Structure-activity relationship (SAR) studies of synthetic glycogen synthase kinase-3 β inhibitors: A critical review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **164**, 448–470.
- Xu, Y., Li, M. J., Greenblatt, H., Chen, W., Paz, A., Dym, O., Peleg, Y., Chen, T., Shen, X., He, J., Jiang, H., Silman, I., Sussman, J. L. (2012). Flexibility of the flap in the active site of BACE1 as revealed by crystal structures and molecular dynamics simulations. *Acta crystallographica. Section D, Biological crystallography*, **68(1)**, 13–25.
- Yamakawa, H., Cheng, J., Penney, J., Gao, F., Rueda, R., Wang, J., Yamakawa, S., Kritskiy, O., Gjoneska, E., Tsai, L. H. (2017). The Transcription Factor Sp3 Cooperates with HDAC2 to Regulate Synaptic Function and Plasticity in Neurons. *Cell Reports*, **20(6)**, 1319–1334.
- Yamashita, F., Hashida, M. (2004). In silico approaches for predicting ADME properties of drugs. *Drug metabolism and pharmacokinetics*, **19(5)**, 327–338.
- Yiannopoulou, K. G., Papageorgiou, S. G. (2020). Current and Future Treatments in Alzheimer Disease: An Update. *Journal of Central Nervous System Disease*, **12**, 1179573520907397.
- Yousuf, M., Shamsi, A., Queen, A., Shahbaaz, M., Khan, P., Hussain, A., Alajmi, M. F., Rizwanul Haque, Q. M., Imtaiyaz Hassan, M. (2021). Targeting cyclin-

- dependent kinase 6 by vanillin inhibits proliferation of breast and lung cancer cells: Combined computational and biochemical studies. *Journal of Cellular Biochemistry*, **122(8)**, 897–910.
- Zagórska, A., Jaromin, A. (2020). Perspectives for New and More Efficient Multifunctional Ligands for Alzheimer's Disease Therapy. *Molecules*, **25(15)**, 3337.
- Zare, R., Nadjarzadeh, A., Zarshenas, M. M., Shams, M., Heydari, M. (2019). Efficacy of cinnamon in patients with type II diabetes mellitus: A randomized controlled clinical trial. *Clinical Nutrition*, **38(2)**, 549–556.
- Zhang, H., Mao, J., Qi, H. Z., Ding, L. (2020). In silico prediction of drug-induced developmental toxicity by using machine learning approaches. *Molecular diversity*, **24(4)**, 1281–1290.
- Zhang, H., Wei, W., Zhao, M., Ma, L., Jiang, X., Pei, H., Cao, Y., Li, H. (2021). Interaction between A β and Tau in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. *International Journal of Biological Sciences*.
- Zhang, S., Wang, R., Wang, G. (2019). Impact of Dopamine Oxidation on Dopaminergic Neurodegeneration. *ACS Chemical Neuroscience*, **10(2)**, 945–953.
- Zhao, J., Zhang, X., Dong, L., Wen, Y., Zheng, X., Zhang, C., Chen, R., Zhang, Y., Li, Y., He, T., Zhu, X., Li, L. (2015). Cinnamaldehyde inhibits inflammation and brain damage in a mouse model of permanent cerebral ischaemia. *British Journal of Pharmacology*, **172(20)**, 5009–5023.
- Zhao, Y., Zhao, B. (2013). Oxidative stress and the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2013**, 316523.
- Zhao, Y., Deng, H., Li, K., Wang, L., Wu, Y., Dong, X., Wang, X., Chen, Y., Xu, Y. (2019). Trans-cinnamaldehyde improves neuroinflammation-mediated NMDA receptor dysfunction and memory deficits through blocking NF- κ B pathway in presenilin1/2 conditional double knockout mice. *Brain, Behavior, and Immunity*, **82**, 45–62.

- Zhong, F., Xing, J., Li, X., Liu, X., Fu, Z., Xiong, Z., Lu, D., Wu, X., Zhao, J., Tan, X., Li, F., Luo, X., Li, Z., Chen, K., Zheng, M., Jiang, H. (2018). *Artificial Intelligence in Drug Design. Science China. Life sciences*, **61(10)**, 1191–1204.
- Zhong, L., Tong, Y., Chuan, J., Bai, L., Shi, J., Zhu, Y. (2019). Protective effect of ethyl vanillin against A β -induced neurotoxicity in PC12 cells via the reduction of oxidative stress and apoptosis. *Experimental and Therapeutic Medicine*, **17(4)**, 2666–2674.
- Ziu, I., Rettig, I., Luo, D., Dutta, A., McCormick, T. M., Wu, C., Martic, S. (2020). The multifunctional dopamine D2/D3 receptor agonists also possess inhibitory activity against the full-length tau441 protein aggregation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **28(18)**, 115667.
- Zou, H., Wu, Y., Navre, M., Sang, B. C. (2006). Characterization of the two catalytic domains in histone deacetylase 6. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **341(1)**, 45–50.
- Zuo, J., Zhao, D., Yu, N., Fang, X., Mu, Q., Ma, Y., Mo, F., Wu, R., Ma, R., Wang, L., Zhu, R., Liu, H., Zhang, D., Gao, S. (2017). Cinnamaldehyde Ameliorates Diet-Induced Obesity in Mice by Inducing Browning of White Adipose Tissue. *International Journal of Experimental Cellular Physiology, Biochemistry, and Pharmacology*, **42(4)**, 1514–1525.

ÖZGEÇMİŞ

Nida Nur DERELİ ÇALIŞKAN

Gaziantep Üniversitesi Moleküler Biyolo Bilim Dalı Yüksek Lisans 2018-2022

Üsküdar Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Lisans 2014-2018

Cumhuriyet Anadolu Lisesi 2008-2012

YAYINLAR

1. Karagoz, ID., **Dereli-Caliskan**, NN., Ozaslan, M. (2019). Lipase Activity of Yarrowia Lipolytica. International Conference on Veterinary, Agriculture and Life Science (ICVALS). (Tam Bildiri/Sözlü Sunum)
2. **Dereli-Caliskan**, NN., Husunet, M.T., İla, H.B., Karagoz, ID.(2021). Determination of Potential Anti-Alzheimer Activity of Gentiopicroside and Isoorientin Using Molecular Docking Studies. International Conference on Research in Engineering, Technology, and Science (ICRETS). (Tam Bildiri/Sözlü Sunum)