

**İLAÇ YENİDEN KONUMLANDIRMA TABANLI
ANTİ - ALZHEIMER İLAÇ KEŞFİ ve *in vitro*
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Bilge ÇİFTÇİ

Eskişehir 2025

**İLAÇ YENİDEN KONUMLANDIRMA TABANLI ANTİ - ALZHEIMER İLAÇ
KEŞFİ ve *in vitro* DEĞERLENDİRİLMESİ**

Bilge ÇİFTÇİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyokimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Şükrü BEYDEMİR

Anadolu Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Haziran 2025

Eskişehir

Bu tez çalışması Anadolu Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Koordinatörlüğü tarafından TYL-2024-2572 proje numarası ile desteklenmiştir.

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Bilge ÇİFTÇİ'nin “İLAÇ YENİDEN KONUMLANDIRMA TABANLI ANTİ-ALZHEIMER İLAÇ KEŞFİ ve *in vitro* DEĞERLENDİRİLMESİ” başlıklı tezi 04/06/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek “Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca, Biyokimya Anabilim dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı)	: Prof. Dr. Şükrü BEYDEMİR	
Üye	: Doç. Dr. Mesut IŞIK	
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Yüksel Öğünç KEÇECİ	

Prof. Dr. Nafiz Öncü CAN

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ÖZET

İLAÇ YENİDEN KONUMLANDIRMA TABANLI ANTİ - ALZHEIMER İLAÇ

KEŞFİ ve *in vitro* DEĞERLENDİRİLMESİ

Bilge ÇİFTÇİ

Biyokimya Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Haziran 2025

Danışman: Prof. Dr. Şükrü BEYDEMİR

Geleneksel ilaç geliştirme yöntemlerinin uzun zaman alması ve yüksek maliyetler, zaman-maliyet açısından daha verimli yöntemlerin kullanımını gerekli kılmaktadır. Alzheimer hastalığı (AH), günümüzde halen daha etkin ilaçlara ihtiyaç duyulan ve semptomatik tedavi uygulanan nörodejeneratif bir hastalıktır. İlaç yeniden konumlandırma, mevcut ilaçların asıl tasarlandıkları terapötik amaçlarının ötesinde, yeni endikasyonlarda kullanılması prensibine dayanan bir ilaç keşif yöntemidir. Bu bakış açısı; farmakokinetik, toksikolojik ve güvenlik verileri daha önce bilinen mevcut ilaçların yeniden değerlendirilmesini içerdiğinden daha güvenli bir profil oluşturmaktadır. Bu bağlamda, tezin temel hedefi, AH için ilaç yeniden konumlandırma stratejisini kullanarak potansiyel ilaç adaylarını belirlemektir. İlk aşamada, NCBI GEO veritabanı kullanılarak AH'ye ait gen ekspresyon profilleri elde edilip cMAP platformu aracılığıyla aday ilaçlar belirlenmiştir. Bu aşamanın sonunda, dehidroizoadosteron, moricizine, SKF-96365, KU-0063794, ouabain, proscillaridin A, digoxin, WYE-354, MK-212, parbendazole, cinobufagin aday moleküller olarak seçilmiştir. İkinci aşamada ise belirlenen potansiyel ilaçların asetilkolinesteraz (AChE) enzim inhibisyonu çalışması gerçekleştirilerek *in vitro* değerlendirme yapılmıştır. Yapılan değerlendirme sonucunda; araştırılan bileşikler 31,181 nM-113,134 nM (standart bileşik takrin: 33,052 nM) arasında IC_{50} değerleri ve $8,065 \pm 4,700$ nM- $123,164 \pm 92,915$ nM (standart bileşik takrin: $7,177 \pm 4,429$) arasında K_I değerleri ile inhibitör potansiyel göstermiştir. Bu tez çalışması, AH tedavisi için alternatif potansiyel ilaç seçeneklerini genişletmek amacıyla *in silico* yöntemlerle potansiyel ilaçların tespiti ve *in vitro* yöntem ile de bu bulguların desteklenmesi açısından yenilikçi bir yaklaşım sunmuştur.

Anahtar Sözcükler: İlaç yeniden konumlandırma, Alzheimer hastalığı, Cmap, İlaç keşfi, Asetilkolinesteraz

ABSTRACT

DRUG REPOSITIONING BASED ANTI-ALZHEIMER DRUG DISCOVERY and *in vitro* EVALUATION

Bilge ÇİFTÇİ

Department of Biochemistry

Anadolu University, Graduate School, June 2025

Supervisor: Prof. Dr. Şükrü BEYDEMİR

Due to the high time and cost involved of conventional drug development methods, there is a need for more efficient methods in terms of time and cost. Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disease for which effective drugs are still needed and which is treated symptomatically. Drug repositioning is a method of drug discovery based on the principle of using existing drugs beyond their original therapeutic purpose for the treatment of other diseases or for new indications. This perspective creates a safer profile as it involves the re-evaluation of existing drugs with already known pharmacokinetic, toxicological and safety data. In this context, the main objective of this work is to identify potential drug candidates for Alzheimer's disease using the drug repositioning strategy. In the first phase, gene expression profiles of Alzheimer's disease were generated using the NCBI GEO database and drug candidates were identified using the cMAP platform. At the end of this phase, dehydroisoadosterone, moricizine, SKF-96365, KU-0063794, ouabain, proscillaridin A, digoxin, WYE-354, MK-212, parbendazole and cinobufagin were selected as candidate molecules. In the second phase, an *in vitro* evaluation was performed by conducting an acetylcholinesterase enzyme inhibition study for the identified potential drugs. The compounds tested showed IC₅₀ values between 31.181 nM-113.134 nM (standard compound tacrine: 33.052 nM) and K_i values between 8.065±4.700 nM-123.164±92.915 nM (standard compound tacrine: 7.177±4.429). This dissertation study presented an innovative approach to expand the available treatment options for Alzheimer's disease.

Keywords: Drug repositioning, Alzheimer's disease, CMAP, Drug discovery, Acetylcholinesterase

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Bilge ÇİFTÇİ

TEŞEKKÜR

Tez sürecim boyunca her aşamada bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösteren, yalnızca akademik bilgi birikimiyle değil, aynı zamanda sabrı ve motivasyon verici yaklaşımıyla da bu süreci daha verimli hale getiren değerli danışmanım Sayın Prof. Dr. Şükrü BEYDEMİR'e teşekkürlerimi sunuyorum.

Tez çalışmalarım süresince her soruma sabırla cevap veren Sayın Doç. Dr. Mesut IŞIK'a destekleri için teşekkür ederim.

Dostlukları, hoş sohbetleri, kıymetli fikirleriyle tez sürecim boyunca desteklerini benden esirgemeyen, umutsuz ve yorgun zamanlarda yüreklendiren değerli hocalarım Araş. Gör. Kevser Kübra KIRBOĞA ve Dr. Öğr. Üyesi Ümmühan KANDEMİR'e teşekkürü borç bilirim. Kıymetli arkadaşım Ecz. Fatıma SARICA'ya arkadaşlığı ve beni motive eden neşesi için teşekkür ederim.

Lisans yıllarımdan bu yana yoluma ışık olan, vizyonu, bilgi birikimi ve insani yaklaşımıyla bana ilham veren, üzerimde akademik ve manevi emeği büyük olan, anlayışı ve güveniyle akademik hayatımın şekillenmesinde çok önemli bir yer edinen kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. Ümit Muhammet KOÇYİĞİT'e en derin şükranlarımı sunarım.

Tez çalışmamı maddi yönden destekleyen Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na teşekkür ederim.

Hayatımın her döneminde desteklerini ve sevgilerini hep hissettiğim, hayallerimi ve kendimi gerçekleştirmeme hep fırsat veren, gösterdiğim ve göstereceğim tüm hayat mücadelesinin ilham kaynakları canım annem Ayşegül ÇİFTÇİ ve canım babam Hacı ÇİFTÇİ'ye, enerjimi her an yüksek tutan, tüm kalbimle desteğini ve sevgisini hissettiğim değerli abim Ömer ÇİFTÇİ'ye, her an bana sabır gösteren, bu hayattaki yoldaşım, sırdaşım, en yakın arkadaşım ablam Fatma ÇİFTÇİ'ye, koşulsuz sevgi, neşe ve enerji kaynağım canım kardeşim Elife Sena ÇİFTÇİ'ye teşekkürlerimi sunarım. Evdeki en sadık ve sessiz dinleyicim kedim Casper'a bu süreçte hep klavyemin yanı başında bana destek olduğu için teşekkür ederim.

Ülkesine olan sevgisini kısıtlı imkanlarda bile özveriyle çalışarak gösteren, vazgeçmeyen genç akademisyenlere..



ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ KULLANIM BEYANI

Bu tezi hazırlarken (örneğin ChatGPT, Gemini, DALL-E vb.) üretken yapay zekâ programlarından destek almadığımı beyan ederim. Tezin hazırlığı aşamasında üretken yapay zekâ programlarından (örneğin çeviri, bilimsel makale vb.) desteği aldım. Üretken yapay zekâ programlarından aldığım bilgilerin doğruluğunu kontrol ettiğimi bildiririm. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Bilge ÇİFTÇİ

İÇİNDEKİLER

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET	iii
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
1.1. AH	1
1.2. Hastalığın Patogenezi	3
1.2.1. Amiloid kaskad hipotezi	3
1.2.2. Kolinerjik hipotez	5
1.2.3. Tau hiperfosforilasyonu hipotezi	6
1.2.4. Nöroinflamasyonun rolü	7
1.3. Patogeneze Katkıda Bulunan Diğer Bağlantılar.....	8
1.3.1. Sodyum, kalsiyum ve klor kanallarının patogeneze etkisi	8
1.3.2. mTOR'un patogeneze etkisi	10
1.3.3. ATPase'ın patogeneze etkisi.....	10
1.3.4. Serotonin reseptörünün patogeneze etkisi	11
1.3.5. Tübülünin patogeneze etkisi	12
1.4. Enzim Kinetiği	13
1.5. Enzim İnhibisyonu.....	15
1.5.1. Kompetitif inhibisyon	16
1.5.2. Unkompetitif inhibisyon	17
1.5.3. Non-kompetitif inhibisyon.....	18
1.6. AChE Enzimi	18
1.7. Tedavi Stratejileri.....	19
1.7.1. Aβ birikiminin önlenmesi yoluyla	19
1.7.2. Kolinerjik sistemin hedeflenmesi yoluyla	20
1.7.3. NFY oluşmasının önlenmesi yoluyla.....	21
1.7.4. Nöroinflamasyonun engellenmesi yoluyla	21
1.7.5. Diğer stratejiler	22

1.7.5.1.	GABA modülasyonu	22
1.7.5.2.	mTOR inhibisyonu	23
1.7.5.3.	Sodyum kanal blokajı	24
1.7.5.4.	Kalsiyum kanal blokajı	25
1.7.5.5.	ATPase inhibisyonu	26
1.7.5.6.	Serotonin reseptör agonizması	26
1.7.5.7.	Tübülün inhibisyonu	27
1.7.5.8.	Klor kanal aktivasyonu	28
1.8.	Mevcut İlaçlar ve Etki Mekanizmaları	29
1.8.1.	AChEI	29
1.8.2.	NMDA reseptör inhibitörü	30
1.8.3.	Monoklonal antikolar	30
1.8.4.	Tau ve amiloid hedefli tedaviler	31
1.8.5.	Anti-nöroinflamatuvar tedavi	31
1.8.6.	Anti-inflamatuar ajanların faz II denemeleri	31
1.8.7.	Daha önce araştırılan veya üzerinde çalışılan diğer ilaçlar	31
1.9.	İlaç Yeniden Konumlandırma	31
1.9.1.	Yeniden konumlandırma stratejileri	35
1.10.	Araştırılan Aday Moleküller	37
1.10.1.	Dehidroizoadosteron (DHEA)	37
1.10.2.	Moracizine	37
1.10.3.	SKF-96365	38
1.10.4.	KU-0063794 ve WYE-354	38
1.10.5.	Proscillaridin, Ouabain ve Digoxin	38
1.10.6.	MK-212	39
1.10.7.	Parbendazole	39
1.10.8.	Cinobufagin	39
1.11.	AH Tedavisinde Gen Ekspresyonunun Düzenlenmesine Yönelik Yaklaşımların Değerlendirilmesi	40
2.	MATERYAL VE YÖNTEM	41
2.1.	Materyal	41
2.1.1.	Kullanılan kimyasal maddeler	41

2.1.2. Yararlanılan alet ve cihazlar	41
2.1.3. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanması	42
2.2. Yöntem.....	42
2.2.1. Hesaplamalı yöntemler	42
2.2.2. Spektroskopik Yöntemler	45
3. BULGU VE SONUÇLAR	47
3.1. AChE enziminin aktiviteleri üzerine aday bileşiklerin inhibisyon etkilerinin belirlenmesiyle ilgili yapılan kinetik çalışmalara ait sonuçlar.....	47
4. TARTIŞMA.....	60
KAYNAKÇA	66

TABLÖLAR/ÇİZELGELER DİZİNİ

Tablo 1.1 Yeniden konumlandırılmış ilaç örnekleri	34
Tablo 2.1 Tez çalışması kapsamında araştırılan aday bileşikler	45
Tablo 2.2 Küvet içeriği	46
Tablo 3.1 Aday bileşiklerin IC_{50} ve K_I değerleri ile inhibisyon türleri.....	60



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Amiloid plak oluşumu	3
Şekil 1.2 Kolinergik hipotez.....	6
Şekil 1.3 Tau protein hiperfosforilasyonu	7
Şekil 1.4 Michaelis-Menten reaksiyon modeli	14
Şekil 1.5 İnhibisyon tipleri ve Lineveawer-Burkgrafikleri.....	16
Şekil 1.6 Kompetitif inhibisyon	17
Şekil 1.7 Unkompetitif inhibisyon	17
Şekil 1.8 Non-kompetitif inhibisyon	18
Şekil 1.9 <i>de novo</i> ilaç keşfi ve ilaç yeniden konumlandırma stratejisi.....	33
Şekil 1.10 İlaç yeniden konumlandırma stratejileri.....	36
Şekil 2.1 Asetilkolinesteraz yönteminin prensibi	46
Şekil 2.2 Tez çalışmasının iş akışı.....	47
Şekil 3.1 AChE enziminin Asetilkolinesteraz yöntemiyle ile çalışılan beş farklı Moricizine konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[Moricizine] grafiği.....	48
Şekil 3.2 AChE enzimi kullanılarak beş farklı substrat konsantrasyonu ve üç farklı Moricizine konsantrasyonunda çizilen Lineweaver-Burk grafiği.....	48
Şekil 3.3 AChE enziminin Asetilkolinesteraz yöntemiyle ile çalışılan beş farklı Parbendazole konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[Parbendazole] grafiği.....	49
Şekil 3.4 AChE enzimi kullanılarak beş farklı substrat konsantrasyonu ve üç farklı Parbendazole konsantrasyonunda çizilen Lineweaver-Burk grafiği.....	49
Şekil 3.5 AChE enziminin Asetilkolinesteraz yöntemiyle ile çalışılan beş farklı Ouabain konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[Ouabain] grafiği.....	50
Şekil 3.6 AChE enzimi kullanılarak beş farklı substrat konsantrasyonu ve üç farklı Ouabain konsantrasyonunda çizilen Lineweaver-Burk grafiği	50
Şekil 3.7 AChE enziminin Asetilkolinesteraz yöntemiyle ile çalışılan beş farklı Cinobufagin konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[Cinobufagin] grafiği	51
Şekil 3.8 AChE enzimi kullanılarak beş farklı substrat konsantrasyonu ve üç farklı Cinobufagin konsantrasyonunda çizilen Lineweaver-Burk grafiği	51

Şekil 3.9 AChE enziminin Asetilkolinesteraz yöntemiyle ile çalışılan beş farklı WYE-354 konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[WYE-354] grafiği.....	52
Şekil 3.10 AChE enzimi kullanılarak beş farklı substrat konsantrasyonu ve üç farklı WYE-354 konsantrasyonunda çizilen Lineweaver-Burk grafiği.....	52
Şekil 3.11 AChE enziminin Asetilkolinesteraz yöntemiyle ile çalışılan beş farklı SKF-96365 konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[SKF-96365] grafiği	53
Şekil 3.12 AChE enzimi kullanılarak beş farklı substrat konsantrasyonu ve üç farklı SKF-96365 konsantrasyonunda çizilen Lineweaver-Burk grafiği	53
Şekil 3.13 AChE enziminin Asetilkolinesteraz yöntemiyle ile çalışılan beş farklı SKF-96365 konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[Proscillaridin A] grafiği.....	54
Şekil 3.14 AChE enzimi kullanılarak beş farklı substrat konsantrasyonu ve üç farklı Proscillaridin A konsantrasyonunda çizilen Lineweaver-Burk grafiği.....	54
Şekil 3.15 AChE enziminin Asetilkolinesteraz yöntemiyle ile çalışılan beş farklı Digoxin konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[Digoxin] grafiği	55
Şekil 3.16 AChE enzimi kullanılarak beş farklı substrat konsantrasyonu ve üç farklı Digoxin konsantrasyonunda çizilen Lineweaver-Burk grafiği.....	55
Şekil 3.17 AChE enziminin Asetilkolinesteraz yöntemiyle ile çalışılan beş farklı MK-212 konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[MK-212] grafiği	56
Şekil 3.18 AChE enzimi kullanılarak beş farklı substrat konsantrasyonu ve üç farklı MK-212 konsantrasyonunda çizilen Lineweaver-Burk grafiği	56
Şekil 3.19 AChE enziminin Asetilkolinesteraz yöntemiyle ile çalışılan beş farklı DHEA konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[DHEA] grafiği	57
Şekil 3.20 AChE enzimi kullanılarak beş farklı substrat konsantrasyonu ve üç farklı DHEA konsantrasyonunda çizilen Lineweaver-Burk grafiği.....	57
Şekil 3.21 AChE enziminin Asetilkolinesteraz yöntemiyle ile çalışılan beş farklı KU-0063794 konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[KU-0063794] grafiği.....	58
Şekil 3.22 AChE enzimi kullanılarak beş farklı substrat konsantrasyonu ve üç farklı KU-0063794 konsantrasyonunda çizilen Lineweaver-Burk grafiği	58
Şekil 3.23 AChE enziminin Asetilkolinesteraz yöntemiyle ile çalışılan beş farklı Takrin konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[Takrin] grafiği	59
Şekil 3.24 AChE enzimi kullanılarak beş farklı substrat konsantrasyonu ve üç farklı Takrin konsantrasyonunda çizilen Lineweaver-Burk grafiği	59

SİMGELER VE KISALTMALAR

A β : Amiloid-beta

α 2-NKA: α 2-Na⁺/K⁺ ATPaz

A β 42: 42 amino asitlik amiloid-beta peptidi

ACh: Asetilkolin

AChE: Asetilkolinesteraz

AChEI: Asetilkolinesteraz inhibitörleri

AH: Alzheimer hastalığı

APP: Amiloid öncü protein

ARIA: Amiloidle ilişkili görüntüleme anormallikleri

ARIA-E: Ödem

ARIA-H: Mikrohemoraji

BACE1: β -sekretaz

BFCN: Temel ön beyin kolinerjik nöronları

ChAT: Kolin asetiltransferaz

cMAP: Connectivity Map

DHEA: Dehidroizoadosteron

ENL: Eritema nodozum leprozum

EpoD: Epothilone D

ER: Endoplazmik retikulum

ES: Enzim-substrat kompleksi

FDA: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi

GABA: Gama-aminobütirik asit

GSM: γ -sekretaz modülatörleri

KBB: Kan beyin bariyeri

K_m: Michaelis sabiti

KMA: Kombine metabolik aktivatör

MMDS: Mini-Mental Durum Sınavı

NCBI GEO: National Center for Biotechnology Information Gene Expression Omnibus

NMDAR: *N-metil-D-aspartat* reseptörleri

mTOR: Rapamisin protein kompleksinin memeli hedefi

NFY: Nörofibriler yumaklar

NGF: Sinir büyüme faktörü

PAS: Periferik anyonik bölge

PS1: Presenilin 1

PS2: Presenilin 2

V_{max}: Maksimum reaksiyon hızı

5-HT: 5-hidroksitriptamin

5HT2A-R: Serotonin 2A resept

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Alzheimer hastalığı (AH), dünya genelinde en sık teşhis edilen demans türü olup; kognitif, fonksiyonel ve davranışsal bozukluklarla karakterize edilen, ilerleyici bir nörodejeneratif hastalıktır (Kumar vd., 2024; Porsteinsson vd., 2021). 2016 yılında dünya genelinde demans hastası sayısının 43.8 milyon olduğu ve 1990 yılındaki 20.3 milyona kıyasla %117 arttığı göz önüne alındığında, 2050 yılına kadar AH ve diğer demans türlerine sahip 152 milyon kişi olacağı tahmin edilmektedir (Li vd., 2022). Şu an dünya çapında yaklaşık 24 milyon Alzheimer hastası bulunmaktadır (Xiao ve Zhang, 2024).

Beslenme, fiziksel egzersiz, vasküler risk faktörlerinin önlenmesi, stres yönetimi ve yaşam şartlarının değiştirilmesi gibi önleme stratejileri bulunsa da, AH prevelansı artış göstermektedir (Rakesh vd., 2017). AH'nin nedenini, erken teşhis amacıyla biyobelirteçlerini, patojenik mekanizmalarını ve tedavisini keşfetmek için geçmişten günümüze önemli çabalar gösterilmiştir. İmmünoterapi ilaçları aducanemab ve lecanemab, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanana kadar kullanılan kolinerjik ilaçlar yalnızca semptomatik rahatlama sağlamıştır. Aducanemab ve lecanemab, AH'nin erken evreleri için amiloid-beta ($A\beta$) proteinini hedef alarak hastalığın ilerlemesini yavaşlatmaktadır (Cummings vd., 2024; Xiao ve Zhang, 2024).

Günümüzde hala farmakokinetik ve farmakodinamik açıdan daha etkin ve aynı zamanda yan etki profili daha düşük olan anti-Alzheimer ajanlara ihtiyaç duyulmaktadır. Ancak ilaç geliştirme sürecinin uzunluğu ve maliyeti göz önüne alındığında ilaç geliştirme yörüngesiyle ilişkili yeni metodolojiler önem kazanmıştır (Miculas vd., 2023). Bu yöntemlerden biri olan ilaç yeniden konumlandırma stratejisi, onaylı ilaçlar için orijinal ilaç endikasyonunun kapsamının ötesinde yeni endikasyonlarda kullanımlar keşfetme tekniğidir. Bir endikasyon için yeni ilaç geliştirme sürecine kıyasla çeşitli avantajlar sunmaktadır (Verma vd., 2024).

Bu tez çalışması, AH'nin tedavisi için ilaç yeniden konumlandırma stratejisi kullanarak potansiyel ilaç adaylarının belirlenmesi ve bu aday ilaçların asetilkolinesteraz (AChE) enzimi üzerindeki inhibitör etkilerinin *in vitro* yöntemle değerlendirilmesini kapsamaktadır.

1.1. AH

AH; daha çok yaşlı popülasyonu etkileyen, bilişsel ve fonksiyonel kayıplarla karakterize edilmiş ilerleyici nörodejeneratif bir hastalıktır. Hastalığın patogenezi, nöronal

dejenerasyona sebep olan A β proteini birikimi ve nörofibriler yumakları (NFY) oluşturan tau agregasyonu gibi kompleks mekanizmalarla ilişkilidir (Strofs, 2024).

AH'nin semptomları hastalığın evrelerine göre değişmektedir. Bilişsel bozulmanın derecesine bağlı olarak prelinik, hafif ve demans evresi olmak üzere üç evreye ayrılır. Birincil ve en sık görülen semptom geçici hafıza kaybıdır. Çoğu hastada mevcut olmasa bile önemli ölçüde uzun süreli hafıza kaybı da ortaya çıkabilir (Hohenfeld vd., 2020). Orta ila geç evrelerde, uyuşukluk, gezinme, sosyal kopukluk, psikoz ve anksiyete gibi sinir sistemiyle ilişkili psikiyatrik belirtiler yaygındır. Uykusuzluk, koku alma bozukluğu, dispraksi ve akatizi, distoni ve Parkinson semptomları gibi ekstrapiramidal motor belirtileri hastalığın geç dönemlerinde ortaya çıkar (Brookmeyer vd., 2007). AH'den muzdarip herhangi bir birey için ortalama yaşam beklentisinin, tanı konulduktan sonra 3.6 ila 8.0 yıl arasında değiştiği, ancak bu sürenin hastanın bireysel özelliklerine göre önemli ölçüde değişkenlik gösterebileceği bulunmuştur. Hipertansiyon gibi vasküler risk koşulları mevcut olduğunda AH'nin daha hızlı kötüleştiği rapor edilmiştir (Stallard vd., 2017).

Hastalığın ilk risk faktörü çoğu vakada görüldüğü üzere ileri yaştır. Yapılan çalışmalarda AH yaygınlığının yaşla birlikte arttığı; 65-75 yaş arasındakilerin %3'ünün, 75-84 yaş arasındakilerin %17'sinin ve 84 yaş üstündekilerin %32'sinin hastalıktan etkilendiği rapor edilmiştir (Uddin vd., 2024). Diğer bir risk faktörü olan cinsiyetin, önemli ölçüde bir etkisinin olmadığı söylenebilir. Bununla birlikte, genetik faktörler ve daha uzun yaşam beklentisi nedeniyle hasta popülasyonunun yaklaşık üçte ikisini kadınlar oluşturmaktadır (Lynch, 2024). Aile hikayesi ve genetik özellikler de AH riskini artırabilir. Bu açıdan AH, ailevi vakalar ve sporadik vakalar olarak ikiye ayrılmıştır. Ailevi AH, bazı baskın patojenik genler ve erken başlangıçla ilişkilendirilirken, sporadik AH geç başlangıçla ilişkilendirilebilir. Geç ve erken başlangıçlı AH'nin farklı bilişsel bozukluk kalıpları bulunmaktadır. Geç başlangıçlı birçok hasta hafıza bozukluğundan muzdaripken; erken başlangıçlı hastalar görsel, dil ve yönetici işlev gibi hafıza dışı yönlerin bozukluğundan muzdariptir (Zhang, Yan vd., 2023). Ek olarak eğitim, sosyal katılım, egzersiz ve beslenme gibi yaşam tarzı müdahalelerinin bilişsel sağlığı geliştirerek AH'ye yakalanma riskini önemli ölçüde azalttığı kaydedilmiştir (Ko ve Chye, 2020). Ayrıca hipertansiyon, koroner arter hastalığı ve diyabet gibi kronik hastalıklar AH ile güçlü bir şekilde bağlantılıdır. Bilişsel gerileme, artan inflamasyon ve bozulmuş otonomik düzenleme

yoluyla kardiyovasküler riskleri kötüleştirme potansiyeli bulunmaktadır (Huang vd., 2024).

1.2. Hastalığın Patogenezi

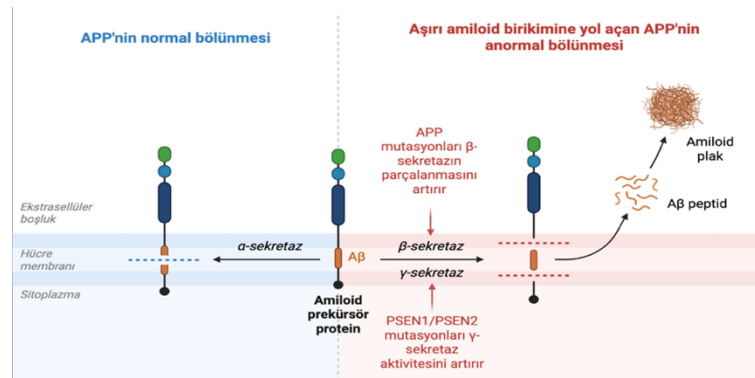
AH, sinaps kaybına ve nöronal atrofiye çoğunlukla serebral korteks ve hipokampüste sebep olmaktadır. Beyin boyunca amiloid plaklar ve NFY'ler, yanlış katlanmış proteinlerin kümeleri ile karakterizedir. Tau proteini ve A β proteini AH'nin iki ayırt edici proteinidir (Thal ve Tomé, 2022). AH'nin patogeneziyi incelemek aynı zamanda hastalığın tedavisi için en etkin ilaç hedefinin değerlendirilmesi açısından önem taşımaktadır (Sheppard ve Coleman, 2020). Hastalığın patogeneziyle ilgili çeşitli hipotezler bulunmaktadır (Nasb vd., 2024).

1.2.1. Amiloid kaskad hipotezi

A β plak, AH'nin başlıca patolojik özelliklerinden biridir. A β proteini, AH'nin başlatıcılarından biri olarak kabul edilir. A β plağın kaynağı olan Amiloid öncü protein (APP), sinir sistemi ve vücuttaki çok çeşitli hücrelerin hücre zarında veya hücre içi veziküllerinde bulunan transmembran bir proteindir. Normalde α -sekretaz ve γ -sekretaz tarafından kesilerek koruyucu bir çözünür APP parçası üretir. Ancak APP, β -sekretaz ve γ -sekretaz tarafından kesilirse, A β üretilir (O'Brien ve Wong, 2011). **Şekil 1.1**'de bu süreç özetlenmiştir

Şekil 1.1

Amiloid plak oluşumu



Kaynak: (Patterson vd., 2008).

Bu süreç, β -sekretaz (BACE1) tarafından gerçekleştirilen bir kesim ile başlar. Açığa çıkan β -C-terminal fragmanı, γ -sekretaz kompleksi içinde yer alan presenilin 1 (PS-1) veya presenilin 2 (PS-2) tarafından daha küçük peptidlere bölünerek amiloid- β peptidini

oluşturur. Özellikle 42 amino asitlik amiloid- β ($A\beta_{42}$) peptidi, AH'de demansa neden olduğu düşünölen temel patolojik molekül olarak kabul edilmektedir. $A\beta_{42}$, diğör özdeş moleküllerle etkileşime girerek oligomerler, fibriller ve lifler oluşturma eğilimindedir. Bu yapılar, nöronların hücre zarlarına ve dendritlerine zarar verebilen sert fibriller halinde birikir. Süreç sonunda nöronal hasara yol açan amiloid plaklar oluşur. Yapılan çalışmalar, çözünür $A\beta$ oligomerlerinin çözünmeyen formlarına kıyasla daha nörotoksik olduğunu göstermiştir. Ancak, AH'de kullanılan aducanumab gibi $A\beta$ 'yi hedef alan antikor bazlı terapötik ajanların, çözünür oligomerlere karşı daha düşük bağlanma gösterdiği belirlenmiştir (Ashrafian vd., 2021; Guo vd., 2020; Heneka vd., 2015; Khan vd., 2020; Söderberg vd., 2023).

$A\beta$ birikimi, AH'nin patogeneze bir den fazla mekanizma aracılığıyla katkıda bulunmaktadır. İlk mekanizma, $A\beta$ 'nin siklin bağımlı kinaz 5 ve diğör kinazları aktive ederek tau proteininin hiperfosforilasyonuna neden olmasıyla ilgilidir. Tau hiperfosforilasyonu, AH'nin karakteristik patolojik özelliklerinden biridir (Singh vd., 2024). İkinci olarak, $A\beta$ birikimi, mikrogliya ve astrositler gibi glial hücreleri aktive ederek nöroinflamasyona ve bunun sonucunda nöronal hasara yol açarak patogeneze katkıda bulunmaktadır (Scipioni vd., 2023). Üçüncü olarak, $A\beta$, kolinerjik sistemin işlev bozukluğuna neden olabilir. Asetilkolin, bilişsel işlevlerde kritik bir rol oynayan bir nörotransmitter olduğundan, Meynert'in bazal çekirdeğinde yer alan kolinerjik nöronların dejenerasyonu, hafıza ve öğrenme süreçlerinde bozulmalara neden olabilmektedir (Petrova vd., 2020). Dördüncü olarak, $A\beta$, N-metil-D-aspartat reseptörü aracılı eksitotoksisiteyi tetikleyerek AH'nin ilerlemesine katkıda bulunmaktadır. $A\beta$, ekstrasinaptik glutamat seviyelerini artırarak hipokampal uzun vadeli potansiyasyonu baskılar. Bunun sonucunda postsinaptik depresyon, sinaptik inhibisyon ve dendritik omurga kaybı meydana gelir (Zhang, H. vd., 2022). Beşinci olarak, $A\beta$ 'nin apoptosin, amiloid bağlayıcı alkol dehidrojenaz ve siklofilin D gibi mitokondriyal proteinlerle etkileşime girerek mitokondriyal disfonksiyon ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir. Son olarak, $A\beta$ 'nin nöronal sinyal iletimini bozması ve kan damarlarının dışına birikerek serebrovasküler patolojilere (vaskülopati) yol açması, AH'nin diğör olası mekanizmaları arasında yer almaktadır (Zhang, 2023).

Ek olarak AH'de $A\beta$ üretimini artıran ve klirensini engelleyen çeşitli faktörler de hastalığın patogenezinde önemli rol oynamaktadır. Enfeksiyonlar, AChE aktivitesi, APP,

PS-1, PS-2 ve APOE gen mutasyonları, A β üretimini artırabilen faktörler arasında yer almaktadır. Özellikle APOE4 allelinin varlığı ve kolinerjik hasar, A β 'nin birikimine ve toksik etkilerinin artmasına neden olmaktadır (Khan, 2020).

Bunun yanı sıra, nöronlarda ekstraselüler A β birikimi gerçekleşmeden önce otofajik lizozomların anormal asitlenme sürecine girerek A β klirens mekanizmasını bozduğu ve hücrel hasara yol açtığı gösterilmiştir. Lizozomal disfonksiyonun, AH'de A β 'nin birikmesine katkıda bulunan önemli bir patolojik süreç olduğu düşünülmektedir (Lee vd., 2022; Zhang, 2023).

1.2.2. Kolinerjik hipotez

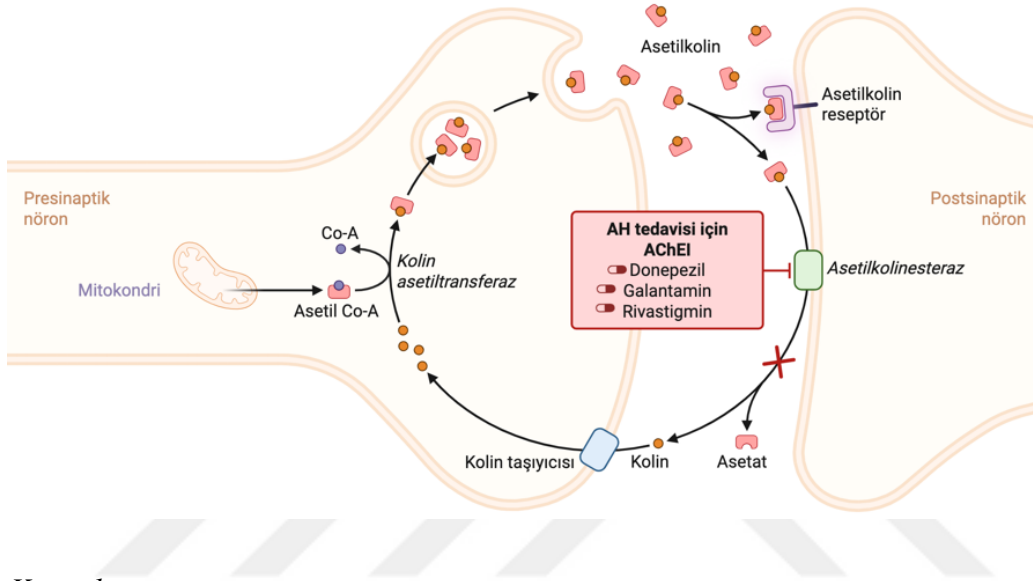
AH'nin patogenezeine ilişkin en eski teorilerden biri olan kolinerjik hipotez, hastalığın temelinde kolinerjik sistemdeki dejenerasyonun yattığını öne sürmektedir (Bekdash, 2021). Özellikle, temel ön beyin kolinerjik nöronları (BFCN), öğrenme, hafıza ve bilişsel işlevlerde kilit rol oynar ve bu nöronların hayatta kalması sinir büyüme faktörüne (NGF) bağlıdır. BFCN'ler, kortikal ve hipokampal bölgelere yayılım göstererek bilişsel süreçleri düzenler (Hu vd., 2016; Latina vd., 2018). Hipokampus, nikotinik asetilkolin reseptörleri açısından zengin bir bölge olup, asetilkolinerjik sinyalleşmenin merkezi bileşenlerinden biridir (Café-Mendes vd., 2017). Alzheimer hastalarında, genellikle hastalığın erken evrelerinden itibaren BFCN dejenerasyonu meydana gelmekte ve bazal ön beyin ile hipokampus ve korteks arasındaki sinaptik kayıplarla ilişkili olarak bilişsel fonksiyonlarda belirgin bir azalma gözlemlenmektedir. Klinik çalışmalar, Alzheimer hastalarının beyinlerinde belirgin nörodejenerasyon, kolinerjik nöron kaybı ve ACh eksikliği olduğunu ortaya koymuştur. ACh, kolinerjik nöronlar tarafından salgılanan ve öğrenme ile bellek süreçlerinde kritik işlev gören bir nörotransmitterdir. Buna ek olarak, ACh sentezini katalize eden kolin asetiltransferaz (ChAT) aktivitesinde anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. Demans derecesinin, bazal ön beyindeki kolinerjik nöron kaybı ve hipokampal / kortikal bölgelerdeki sinaptik dejenerasyon ile doğrudan ilişkili olduğu bildirilmiştir (Fahnestock ve Shekari, 2019). Bu bulgular, AH patogenezinde kolinerjik sistemin zarar görmesinin kritik bir rol oynadığını göstermektedir. Bu nedenle kolinerjik sistemi hedefleyen tedavi yaklaşımları klinik uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır.

AChE, ACh'nin yıkımında rol oynayan temel bir enzim olmasının yanı sıra, PS-1'e doğrudan bağlanarak ekspresyonunu artırır. PS-1 ekspresyonunun artışı, A β seviyelerinin

yükselmesine ve dolayısıyla bilişsel işlev bozukluğunun hızlanmasına neden olmaktadır (Campanari vd., 2014; Ramos-Rodriguez vd., 2013). Bu nedenle, AChE inhibitörleri (AChEI), AH tedavisinde kullanılan önemli farmakolojik ajanlar arasında yer almaktadır (Chen vd., 2022). Kolinerjik hipotez **Şekil 1.2**'de özetlenmiştir.

Şekil 1.2

Kolinerjik hipotez



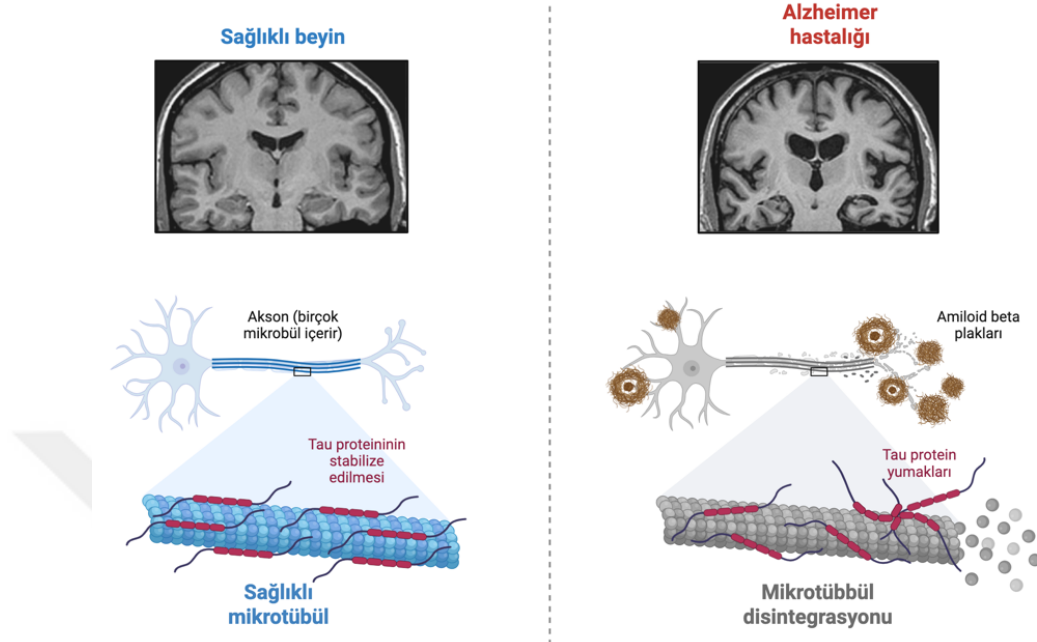
Kaynak: (Nazam vd., 2021)

1.2.3. Tau hiperfosforilasyonu hipotezi

NFY'ler, AH'nin karakteristik bir nöropatolojik lezyonudur. Mikrotübül ilişkili tau proteininin hiperfosforile formundan oluşurlar. Tau hiperfosforilasyonunun hücresel sinyalleme bozulmasından ve esas olarak farklı protein kinazları ve fosfatazların aktivitelerindeki dengesizlikten kaynaklandığı birçok çalışmayla gösterilmiştir (Medeiros vd., 2011). **Şekil 1.3**'te tau protein hiperfosforilasyonu sonucu oluşan tau protein yumakları gösterilmiştir.

Şekil 1.3

Tau protein hiperfosforilasyonu



Kaynak: (Barron vd., 2017)

1.2.4. Nöroinflamasyonun rolü

AH patogenezi, yalnızca nöronal mekanizmalarla sınırlı olmayıp, beyindeki immünolojik süreçlerle de güçlü bir şekilde ilişkilidir (Heneka, 2015). Bu bağlamda, mikroglia hücreleri, merkezi sinir sisteminin yerleşik bağışıklık hücreleri olarak önemli bir rol oynamaktadır. Mikroglia hücreleri, beyin dokusunda yaygın olarak bulunur ve bulundukları bölgeleri hareketli uzantılarıyla sürekli tarayarak patojenleri veya hücre kalıntıları tespit eder. Ayrıca, dokuların korunmasını destekleyen faktörlerin sağlanması, sinapsların korunması ve yeniden şekillendirilmesi gibi fonksiyonları aracılığıyla nöronal devrelerin sağlıklı kalmasına ve sinaptik plastisitenin sürdürülmesine katkı sağlarlar (Ji vd., 2013; Kettenmann vd., 2011).

A β birikimi gibi patolojik bir tetikleyici, mikroglia hücrelerini aktivasyona geçirerek bağışıklık yanıtını başlatır. Bu süreçte mikroglia, uzantılarını hasarlı bölgeye yönlendirerek bölgeye göç eder ve doğuştan gelen bağışıklık tepkisini başlatır. Mikroglia, DAMP/PAMP olarak bilinen reseptörler aracılığıyla bu uyarıcıları algılar. AH'de mikroglia, çözünebilen A β oligomerleri ve A β fibrillerini tanıyabilir. Bu tanıma işlemi;

CD36, CD14, $\alpha\beta 1$ integrini, CD47, Toll-benzeri reseptörler (TLR2, TLR4, TLR6, TLR9) aracılığıyla gerçekleşmektedir.

AH patogenezinde; A β peptidlerinin beyinde birikimi ile başlayan süreç, tau proteinlerinin anormal hiperfosforilasyonu ile devam eder. Bu olayları takiben nöronal hasarı tetikleyen yaygın bir nöroinflamatuvar yanıt gelişir. Artan inflamasyon, sinaptik iletimi ve plastisiteyi bozan sinaptik disfonksiyona yol açar. Süreç, nöron içi iyon dengesinin bozulması, mitokondriyal disfonksiyon, ATP üretiminde azalma ve nihayetinde apoptoz ile sonlanır.

1.3. Patogeneze Katkıda Bulunan Diğer Bağlantılar

1.3.1. Sodyum, kalsiyum ve klor kanallarının patogeneze etkisi

Sodyum, kalsiyum ve klorür kanalları AH patogenezinin önemli ölçüde etkilemektedir. Bu iyon kanallarının düzensizliği nöronal disfonksiyona, sinaptik defisite ve A β plaklarının birikmesine katkıda bulunmaktadır. Bu mekanizmaları anlamak, yeni tedavi stratejileri geliştirmek için önemlidir.

Sodyum iyonları (Na^+), nöronal hücreler içindeki elektriksel uyarılabilirliği ve nörotransmitter iletimini modüle eden kritik bileşenlerdir. AH'de, Na^+/K^+ ATPaz pompasındaki bozulmaların hücre içi Na^+ birikimine neden olduğu, bunun sonucunda ise nöronal membran potansiyelini bozduğu ve sinaptik iletimde anomalilere yol açtığı gözlemlenmiştir. Ayrıca, A β oligomerlerinin nöronal hipereksitabilitiyi şiddetlendirdiği ve voltaj kapılı sodyum kanallarıyla etkileşimleri yoluyla hücre hasarı tetiklediği gösterilmiştir (Benarroch, 2011; Catterall, 2009). Ek olarak, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ değiştiriciler gibi iyon taşıyıcılarının işlev bozukluğu, hücre içi Ca^{2+} birikimini teşvik ederek mitokondriyal strese, oksidatif hasara ve nörodejenerasyona önemli ölçüde katkıda bulunur (Johnson vd., 2023). Bu bağlamda sodyum kanallarının işlev bozukluğunun AH'nin ilk aşamalarında sinaptik kaybı ve nöronal bozulmayı hızlandırabileceği düşünülmektedir (Barbieri vd., 2023). Ayrıca sodyum kanalları, özellikle de Nav1.6, A β oligomerleri tarafından up-regüle edilmekte ve bilişsel gerilemeye ve nöronal gelişim sorunlarına yol açmaktadır (Baumgartner vd., 2023). Dolayısıyla sodyum düzensizliğini hedeflemek AH tedavisi için yeni bir terapötik yol sunabilir.

Kalsiyum iyonlarının (Ca^{2+}) hücre içi dinamikleri ise mitokondriyal fonksiyon, oksidatif stres ve nöroinflamasyon süreçlerini doğrudan etkileyerek AH'de belirleyici bir rol oynamaktadır (Baracaldo-Santamaría vd., 2023; Tong vd., 2018). Ca^{2+} , hücrelerel sinyal

iletimi, nörotransmitter salınımı ve stres yanıtlarının düzenlenmesinde merkezi bir bileşen olarak işlev görmektedir. AH ile ilişkilendirilen lizozomal disfonksiyonlarla doğrudan bağlantılı olan ve lizozomal kalsiyum homeostazını düzenleyen TRPML1 (Transient Receptor Potential Mucolipin 1) ve TPCN2 (Two-Pore Channel 2) gibi iyon kanallarındaki işlev bozuklukları (aşırı aktivasyonu), lizozomal kalsiyumun sitoplazmaya sızmasına ve lizozomal pH'nın yükselmesine neden olarak otofaji ve endolizosomal süreçlerin aksamasına yol açmaktadır. Ca^{2+} 'nin aşırı yüklenmesi, AH patogenezinin önemli bir belirleyicisi olup sinaptik plastisite ve bilişsel süreçlerde kritik işlevi bulunan N-metil-D-aspartat reseptörleri (NMDAR) ile de doğrudan ilişkilidir (Chakroborty ve Stutzmann, 2014). Yapılan çalışmalar, T tipi Ca^{2+} kanallarını hedef alan modülatörlerin, AH model organizmalarında bilişsel fonksiyonları desteklediğini ve β -amiloid birikimini engelleyerek hastalık seyrini yavaşlatabileceğini göstermiştir (Sharma vd., 2023). Ca^{2+} kanal modülatörlerinin hipokampüste ACh salınımını ve nörogenezisi teşvik ederek kolinerjik sistemin işlevselliğini iyileştirebileceği düşünülmektedir (Fukunaga vd., 2019). Bu bağlamda, AH tedavisine yönelik potansiyel terapötik yaklaşımlar geliştirilirken, kalsiyum kanallarının düzenlenmesi ve Ca^{2+} homeostazının korunması hedeflenebilir.

Klorür (Cl^-) kanallarının AH patogenezindeki rolü daha az araştırılmış olmasına rağmen, nöronal uyarılabilirlik ve hücrel homeostaz üzerindeki etkileri göz ardı edilmemelidir. Cl^- iyonları, hücrel pH dengesinin korunmasında ve lizozomal asidifikasyonun düzenlenmesinde kritik işlevlere sahiptir (Yamamura, 2024). AH'de lizozomal Cl^- kanallarının disfonksiyonu, vakuolar ATPaz aracılığıyla sağlanan asidifikasyon sürecini bozarak lizozomal pH'nın yükselmesine ve lizozomal fonksiyonların aksamasına yol açmaktadır. Bu durum, otofaji-lizozomal yolakların bozulmasına neden olarak hücre içinde atık proteinlerin ve hasarlı organellerin birikimine sebep olmakta ve nörodejeneratif süreçleri hızlandırmaktadır (Bose vd., 2021; Zhou vd., 2024). Bununla birlikte, Cl^- iyon kanallarının nörotransmisyon süreçlerindeki rolü de önemlidir. GABAerjik sinyallemede görev alan Cl^- iyon kanallarındaki işlev bozukluklarının, AH'de sinaptik plastisiteyi olumsuz etkileyerek bilişsel fonksiyon kaybına katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Wang ve Choi, 2023). Bu bağlamda, Cl^- iyon kanallarındaki düzensizlik, AH patofizyolojisinde potansiyel bir terapötik hedef olarak düşünülebilir.

İyon kanallarını hedef alan tedavi stratejileri umut vaat etse de, AH'nin çok faktörlü doğası göz önünde bulundurulduğunda, yalnızca iyon kanalı düzensizliğine odaklanan yaklaşımlar yetersiz kalabilir. Bu nedenle, AH tedavisinde kapsamlı ve çok yönlü bir strateji benimsenmesi gerekmektedir.

1.3.2. mTOR'un patogeneze etkisi

mTOR (rapamisin protein kompleksinin memeli hedefi), fosfatidilinositol kinazla ilişkili kinaz ailesine ait olup, temel hücresel fonksiyonların düzenlenmesinde kritik bir role sahiptir. mTOR sinyal yolunun aktivasyonu, otofaji başta olmak üzere hücresel büyüme, protein sentezi ve ribozom biyogenezi gibi süreçleri kontrol etmektedir. Ayrıca hem A β hem de tau patolojilerinde kritik bir rol oynar. Yapılan araştırmalar, mTOR aktivasyonunun otofaji-lizozomal sistemi doğrudan inhibe ederek A β üretimini ve agregasyonunu teşvik ettiğini ortaya koymuştur (Mueed vd., 2019). Postmortem insan AH beyinlerinden elde edilen veriler, yaşa eşleştirilmiş kontrol vakalarına kıyasla AH beyinlerinde daha yüksek mTOR aktivitesi olduğunu göstermektedir (Oddo, 2012). Bu sinyal yolunun düzensizliği; kanser, nörolojik hastalıklar ve metabolik sendromlar dahil olmak üzere birçok patolojik durumda yaygın olarak gözlemlenmektedir. Yapılan çalışmalar, hem insan beyin dokularında hem de hayvan modellerinde AH'li beyinlerin mTOR aktivitesinin değiştiğini ortaya koymuştur. Bu bulgular, anormal mTOR sinyallemesinin AH'nin başlangıcı ve ilerleyişine katkıda bulunan temel mekanizmalardan biri olabileceğini desteklemektedir (Rapaka vd., 2022).

1.3.3. ATPase'nin patogeneze etkisi

Na/K-ATPaz pompası, tüm hayvan hücrelerinde hayati öneme sahip olan ve Na⁺ ile K⁺ iyonlarının hücre zarındaki gradyanlarını koruyan temel bir transmembran iyon pompasıdır. Aynı zamanda kardiyotonik steroidler için bir reseptör olarak işlev görür, hücre proliferasyonu ve apoptoz süreçlerinin düzenlenmesine katkıda bulunur. Na/K-ATPaz, özellikle nöronlarda yalnızca iyon dengesini sürdürmekle kalmaz, aynı zamanda aksiyon potansiyeli üretimini destekleyerek hücresel elektrotonik özelliklerin korunmasında kritik bir rol oynar (Boutillier, 2001).

İyon homeostazı ve ozmotik denge bozulduğunda, hücre içi sinyal iletimi sekteye uğrayabilir ve dendritlerin normal elektrotonik özellikleri kaybolabilir. Bu tür bozulmalar, nöronal dejenerasyona zemin hazırlayarak AH, iskemik doku hasarı ve bazı kanser türleri gibi patolojik durumların gelişimine katkıda bulunabilir (Dickey vd., 2005).

Yapılan çalışmalar, monomerik A β (1-42) peptidinin, Na/K-ATPaz'ın α 1 β 1 alt birimi ile yüksek afiniteye sahip bir kompleks oluşturduğunu ortaya koymuştur. Bu etkileşim, enzimin hidrolitik aktivitesinin doza bağlı olarak inhibe edilmesine neden olur. Postmortem AH beyin dokularında yapılan analizlerde, Na/K-ATPaz aktivitesinin yaşa eşleştirilmiş sağlıklı kontrol vakalarına kıyasla azaldığı gözlemlenmiştir (Kairane vd., 2014). Aynı şekilde, AH'ye özgü bilişsel bozukluklar sergileyen transgenik fare ve sıçan modellerinde de hipokampus ve beyin dokusunun mikrozomal fraksiyonlarında benzer bir aktivite kaybı tespit edilmiştir (Kreutz vd., 2013). Özellikle, bu enzim aktivitesindeki azalma yalnızca amiloid plakların yoğun olarak biriktiği beyin bölgelerinde (örneğin hipokampüste) görülmüş, ancak plak içermeyen serebellumda böyle bir değişiklik gözlenmemiştir. Bu bulgular, Na/K-ATPaz'ın A β tarafından doğrudan düzenlenebileceği olasılığını desteklemektedir. Sonuç olarak, bu veriler A β 'nin Na/K-ATPaz'ı fizyolojik bir düzenleyici olarak hedef aldığını göstermektedir. Ancak, AH patogenezinde Na/K-ATPaz aktivitesindeki azalmanın hastalığın nedeni mi yoksa bir sonucu mu olduğu sorusu henüz kesin olarak yanıtlanmamıştır (Petrushanko vd., 2016).

1.3.4. Serotonin reseptörünün patogeneze etkisi

Serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT) sistemi, beyinde, serotonin nöron göçü, çoğalması, farklılaşması, olgunlaşması ve programlanmış hücre ölümü gibi süreçleri düzenleyerek nöroenez gibi çeşitli fizyolojik işlevlerin ve davranışların düzenlenmesinde kritik bir rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalar, 5-HT nörotransmisyonunun AH'nin başlıca histopatolojik belirteçleri olan çözünmeyen A β ve hiperfosforile tau protein agregatlarının oluşumunda rol oynadığını göstermiştir (Eremin vd., 2023). Ayrıca monoaminerjik sistemlerdeki kusurlar, AH dahil primer tauopatilerin patolojik gelişiminde ve klinik semptomatolojisinde de rol oynamaktadır. Bu bağlamda nörotransmitterlerin anabolizması ve katabolizmasında görev alan enzimler, proteinler ve reseptörlerin, AH ve çeşitli tauopatilerde terapötik hedefler olabileceği düşünülmektedir (Huey vd., 2006; Mufson vd., 2021; Murley ve Rowe, 2018). Çeşitli 5-HT reseptör alt tipleri ve bunlara bağlı hücre içi sinyal mekanizmalarının, AH'nin gelişimine yol açan patolojik süreçlerde etkili olduğu gösterilmiştir. Bazı 5-HT reseptörleri veya bunlarla ilişkili hücre içi sinyal medyatörlerinin fonksiyonundaki değişikliklerin, A β plakları ve tau protein nörofibriler yumaklarının birikimini engelleyebileceği düşünülmektedir. Dolayısıyla, 5-HT reseptörlerinin farmakolojik olarak hedeflenmesi, AH'ye bağlı bilişsel işlev bozukluklarını iyileştirebileceği gibi hastalığa eşlik eden nörodejeneratif süreçlerin

ilerlemesini yavaşlatabilecek potansiyel bir tedavi stratejisi olarak değerlendirilebilir (Morgese ve Trabace, 2019; Šimić vd., 2017).

Serotonin sistemindeki bozulmaların AH gelişimi ile ilişkili olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Jankowska vd., 2018; Tajeddinn, Persson, vd., 2016). Özellikle dorsal raphe çekirdeklerinde yer alan 5-HT nöronlarının sayısında belirgin bir azalma olduğu, 5-HT ve metaboliti olan 5-hidroksiindolasetik asit düzeylerinin düştüğü ve 5-HT taşıyıcısı bağlanma afinitesinin korteks ve hipokampüste azaldığı tespit edilmiştir (Palmer vd., 1987; Thomas vd., 2006). Ayrıca, Alzheimer hastalarının frontal ve temporal loblarındaki serotonerjik innervasyonun bozulduğu ve trombositlerindeki 5-HT konsantrasyonunun kontrol gruplarına kıyasla daha düşük olduğu bildirilmiştir (Prokšelj vd., 2014; Tajeddinn, Fereshtehnejad, vd., 2016). Seçici serotonin geri alım inhibitörleri olan esitalopram, sitalopram ve fluoksetinin, Alzheimer hastalarında hem psikiyatrik semptomları hem de bilişsel işlevleri iyileştirdiği gösterilmiştir (Eremin, 2023).

1.3.5. Tübülün patogeneze etkisi

AH'de, hücresel iskeletin temel bileşenlerinden biri olan tübülün fonksiyonunda meydana gelen bozulmalar, hastalığın ilerleyişinde kritik bir rol oynamaktadır. Mikrotübüllerin destabilizasyonu, özellikle tau proteinlerinin hiperfosforilasyonu sonucu mikrotübül sisteminden ayrılması ile belirgin hale gelir. Bu durum, mikrotübül organizasyonunun bozulmasına ve aksonal taşıma sistemlerinin çökmesine yol açarak sinaptik bütünlüğü zayıflatır. Ayrıca tübülün dinamiklerinin bozulması, enerji yetersizliği, nörotrofik faktör eksikliği ve mitokondriyal disfonksiyon gibi bir dizi patolojik olayı tetikleyerek nöronal ölümü kolaylaştırır. Bu bağlamda, tübülün modülasyonunun farmakolojik olarak hedeflenmesi, AH'de hem patogeneze yer alan mekanizmaların düzeltilmesi hem de nöroprotektif etkinin sağlanması açısından dikkat çekici bir tedavi stratejisi olarak değerlendirilmektedir. Mikrotübül stabilitesini artıran veya tau-tübülün etkileşimini düzenleyen ajanlar, nöronal taşımanın yeniden sağlanmasına katkıda bulunabilir. Bununla birlikte, mikrotübül sisteminin fizyolojik işlevleri birçok hücre tipinde temel olduğu için, bu hedefin terapötik potansiyeli doku seçiciliği, doz duyarlılığı ve yan etki profili göz önünde bulundurularak dikkatle değerlendirilmelidir. Bu bağlamda, tübülün yapısını doğrudan modüle eden bileşiklerin Alzheimer tedavisinde kullanımı, gelecekte hem hastalık modülasyonuna yönelik hem de semptomatik iyileşme sağlayabilecek bir yaklaşım sunmaktadır (Ahmed vd., 2022; Medina ve Avila, 2016).

1.4. Enzim Kinetiği

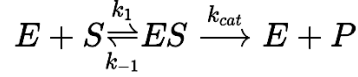
Enzimler, peptit bağları aracılığıyla birbirine bağlanan amino asitlerden oluşmaktadır. Canlı organizmalardaki biyolojik süreçlerin büyük bir kısmı enzimlerin varlığına ve işlevine bağlıdır. Reaksiyonları başlatmak için gereken aktivasyon enerjisini düşürerek, reaksiyon hızını önemli ölçüde artırmakta ve dengeye daha hızlı ulaşılmasını sağlamaktadır. Enzimler reaksiyon boyunca kimyasal olarak harcanmadan kalır ve katalize ettikleri reaksiyonların denge pozisyonunu değiştirmezler. Diğer katalizörlerle karşılaştırıldığında, enzimlerin önemli ölçüde daha yüksek özgülük gösterdiği görülür. Her enzim tipik olarak yalnızca belirli bir substrat veya yapısal olarak ilişkili belirli bir substrat grubu üzerinde etki etmektedir (Stauffer, 1994).

Enzim kinetiği, enzimlerin substratlarına ne kadar etkili bir şekilde bağlandığını ve bu substratları ürünlere ne kadar etkili bir şekilde dönüştürdüğünü araştıran konuları ele almaktadır. Temel enzim kinetiğini açıklamak için en yaygın kullanılan teorik model Michaelis-Menten modelidir. Bu modelde, substrat enzime geri dönüşümlü bir şekilde bağlanarak enzim-substrat kompleksini (ES) oluşturur; bu kompleks literatürde bazen Michaelis kompleksi olarak anılır. Enzim daha sonra substratın kimyasal dönüşümünü katalize eder, ürün serbestleşir ve reaksiyon tamamlandığında orijinal formuna geri döner (Kornbrust vd., 2012).

Michaelis-Menten modeli, substrat dönüşüm hızının substrat konsantrasyonuna bağlı olduğunu göstermektedir. Substrat konsantrasyonu arttıkça enzimatik aktivite de artar; ancak belirli bir noktada tüm enzim aktif bölgeleri doymuş hale gelir ve reaksiyon maksimum hızına (V_{max}) ulaşır. Bu modelin temel parametrelerinden biri olan Michaelis-Menten sabiti (K_m), reaksiyon hızının maksimum değerinin yarısına ulaştığı substrat konsantrasyonunu temsil eder. K_m değeri deneysel olarak ölçülebilir ve belirli bir enzim-substrat çifti için karakteristik bir kinetik parametre görevi görür. Michaelis-Menten, 1913 yılında geliştirdikleri bu modelle, enzimatik reaksiyonların hızını substrat konsantrasyonuna bağlı olarak değerlendirmişlerdir. Bu modellemeye göre enzim (E) ve substrat (S), geri dönüşümlü bir şekilde enzim-substrat kompleksini (ES) oluşturur. Bu kompleks, daha sonra ürüne (P) dönüşür. **Şekil 1.4**'te bu reaksiyon modeli gösterilmiştir (Arrhenius, 1889; Briggs ve Haldane, 1925; Michaelis ve Menten, 1913).

Şekil 1.4

Michaelis-Menten reaksiyon modeli: (k_1 : Enzimin substratla birleşerek enzim-substrat (ES) kompleksini oluşturduğu hız sabiti, k_{-1} : Enzim-substrat kompleksinin tekrar ayrılarak serbest enzim ve substrata dönüşme hız sabiti, k_{cat} (turnover number): enzim-substrat kompleksinden ürün oluşumunu ve enzimin serbest kalmasını sağlayan hız sabiti.)



Bu reaksiyon modeli, (1.1)'de gösterilen Michaelis-Menten denklemi ile ifade edilir:

$$v = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]} \quad (1.1)$$

v : Reaksiyon hızı, V_{max} : Maksimum reaksiyon hızı, $[S]$: Substrat konsantrasyonu, K_m : Michaelis sabitini ifade etmektedir.

K_m (mol.l^{-1}), enzimin substratına bağlanma gücünün bir göstergesi olarak işlev görmektedir. Kararlı bir pH, sıcaklık ve redoks durumunda belirli bir enzim için K_m değeri sabittir. Düşük K_m değeri, enzimin substratına yüksek afinite gösterdiğini; yüksek K_m değeri ise düşük afiniteyi gösterir. V_{max} ise bir enzimin ulaşabileceği maksimum hızı göstermektedir. Bu kavram teoriktir, çünkü bu değere ulaşılması, reaksiyon sisteminde bulunan tüm enzim moleküllerinin substratlarına sıkıca bağlanmasını gerektirir. Dolayısıyla V_{max} 'a yüksek substrat konsantrasyonunda yaklaşılr ancak asla ulaşılmaz (Murzin ve Salmi, 2016).

Michaelis-Menten kinetiğine göre, kinetik parametrelerin belirlenmesi, çeşitli substrat konsantrasyonlarında ölçülen reaksiyon hızlarının değerlendirilmesiyle gerçekleştirilir. Bu bağlamda en sık kullanılan grafiksel analiz yöntemlerinden biri Lineweaver-Burk grafiğidir (Johnson, 2013). Michaelis-Menten kinetiğinin lineer hale getirilmiş bir türevi olan Lineweaver-Burk grafiği, enzim kinetiği parametrelerinin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan bir analiz yöntemidir. (1.2)'de gösterilen denklemle ifade edilir (Bhagavan, 2002).

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}} \quad (1.2)$$

Bu denklem doğrusal bir formda olup, $\frac{1}{v}$ ile $\frac{1}{[S]}$ arasındaki ilişkiyi tanımlar. Elde edilen grafik üzerinde y-eksenini kesme noktası $\frac{1}{V_{\max}}$, x-eksenini kesme noktası ise $-\frac{1}{K_m}$ olarak yorumlanır. Bu özellikleri sebebiyle Lineweaver-Burk grafiği, enzim inhibitörlerinin türünü belirlemede de kullanılmaktadır. Özellikle kompetitif, non-kompetitif ve unkompetitif inhibitörlerin ayırt edilmesinde sağladığı kolaylık nedeniyle literatürde sıklıkla tercih edilmektedir.

1.5. Enzim İnhibisyonu

Enzim inhibisyonu, bir inhibitörün enzimin katalitik veya allosterik bölgesine veya - unkompetitif inhibisyon durumunda- enzim-substrat kompleksine bağlanması sonucu enzim aktivitesinde meydana gelen azalma olarak tanımlanır. Enzimlerin; inflamasyon, diyabet, mikrobiyal enfeksiyonlar, HIV gibi birçok patolojik sürecin gelişiminde rol aldığı bilinmektedir. Bu doğrultuda enzim inhibisyonu, sözkonusu hastalıkların tedavisinde etkili bir strateji olarak kabul edilmektedir (Geronikaki, 2020). Enzim inhibitörlerinin farmakolojik bir tedavi olarak uygulanabilmesi için uygun geçirgenlik, çözünürlük, metabolik stabilite, protein bağlanması, seçicilik ve olumlu bir toksisite profili gibi ek özelliklerinin olması gerekmektedir (Singh vd., 2023).

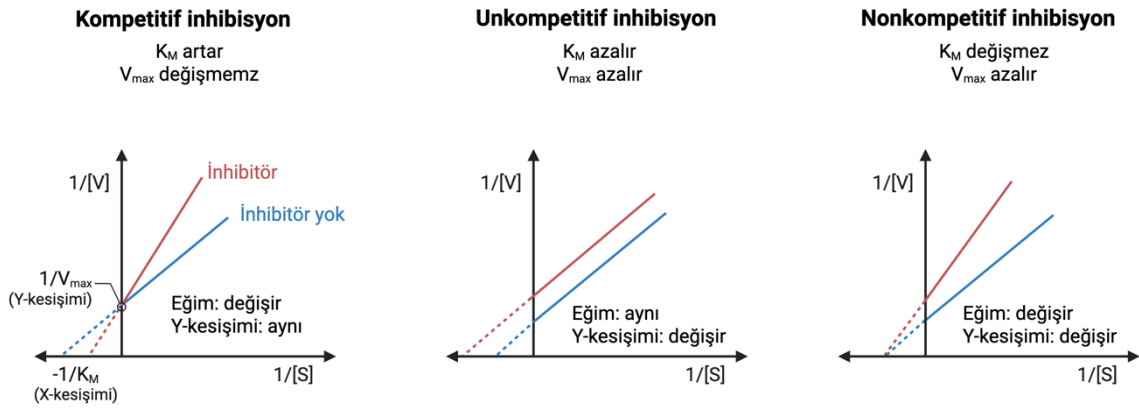
Enzim inhibitörleri birçok hastalığı tedavi etmek amacıyla kullanılan bir ilaç grubudur. Örneğin, ACE inhibitörleri hipertansiyonu tedavi etmek için kullanılırken, HIV proteaz inhibitörleri HIV'i tedavi etmek için kullanılır. Ek olarak, enzim inhibitörleri kanser hücrelerini hedeflemek ve büyümelerini azaltmak için de kullanılmıştır (Fear vd., 2007; Kuddus, 2019). Örneğin, tirozin kinaz inhibitörleri, kanser hücrelerinin büyümesinde ve çoğalmasında rol oynayan tirozin kinazın aktivitesini engellemek için kullanılır. Ayrıca, enzim inhibitörleri bakteriyel ve fungal enfeksiyonları tedavi etmek için de kullanılmıştır. Örneğin, β -laktamaz inhibitörleri belirli bakteri suşlarının neden olduğu bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılmaktadır (Paul ve Mukhopadhyay, 2004).

İnhibisyon, temel olarak geri dönüşümlü (reversibl) veya geri dönüşümsüz (irreversibl) olabilir. Irreversibl inhibisyon, bileşiğin enzime kovalent bağlanması durumunu ifade eder ve bu da kalıcı inaktivasyona yol açar. Buna karşılık, reversibl inhibisyon, bir

inhibitörün enzime kovalent olmayan şekilde bağlanmasını içerir ve bu da enzim aktivitesinde geçici bir azalmaya yol açar. Reversibl inhibisyon, enzim aktivitesinin dinamik ve düzenlenebilir biçimde modülasyonuna olanak tanımaktadır. İnhibitörler, enzimatik işlevi azalttıkları mekanizmalarda farklılık gösterir. Kompetitif, non-kompetitif ve unkompetitif inhibisyon olmak üzere üç temel reversibl inhibisyon mekanizması türü vardır. **Şekil 1.5**'te bu inhibisyon tiplerini gösteren Lineweaver-Burk grafikleri verilmiştir. (Bisswanger, 2008; Cornish-Bowden, 2013).

Şekil 1.5

Inhibisyon tipleri ve Lineveawer-Burk grafikleri

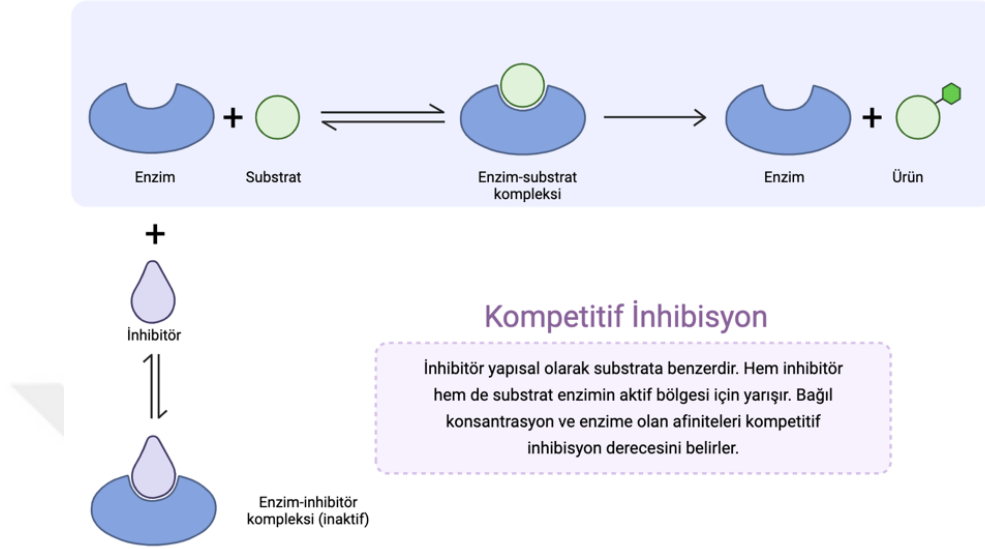


1.5.1. Kompetitif inhibisyon

Kompetitif inhibitör tipik olarak substratın yapısal bir analogudur. Enzimin katalitik bölgesine bağlanır ancak katalize uğramaz. Bu inhibitör aktif bölgeyi işgal ederek substratın enzime bağlanmasını ve katalitik dönüşümünü engeller. Böylece enzimin katalitik potansiyeli etkili bir şekilde kullanılamaz hale gelir. Başka bir ifadeyle, kompetitif bir inhibitörün varlığı enzimin substratına bağlanma yeteneğini azaltır. **Şekil 1.6**'de kompetitif inhibisyonu gösteren şekil verilmiştir (Bisswanger, 2008).

Şekil 1.6

Kompetitif inhibisyon

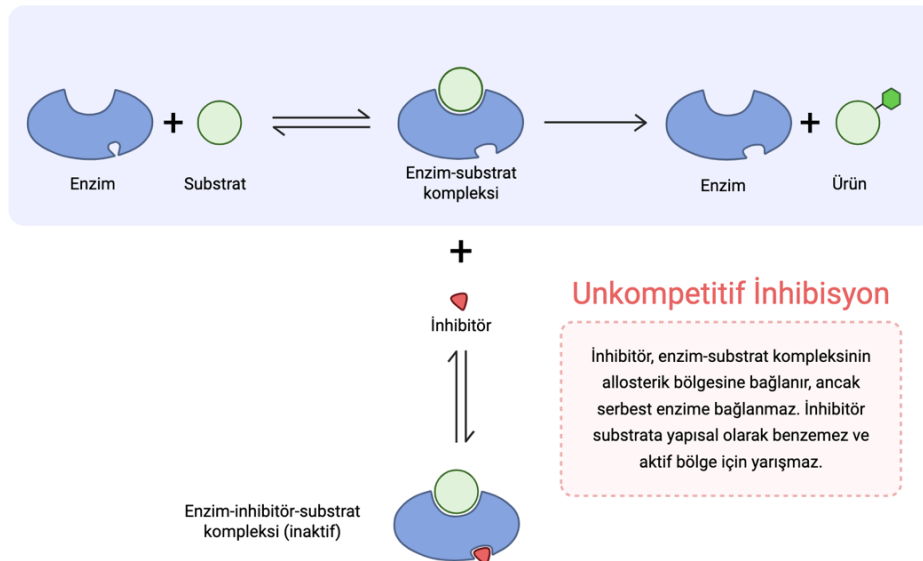


1.5.2. Unkompetitif inhibisyon

Unkompetitif inhibitörler, serbest enzime değil, yalnızca ES kompleksine bağlanarak etki gösterirler. Bu bağlanma, enzimin katalitik aktivitesini doğrudan engelleyerek ürün oluşumunu durdurur. Katalitik adımın gerçekleşmesini engelleyerek reaksiyonun tamamlanmasını önler. Şekil 1.7’da unkompetitif inhibisyonu gösteren şekil verilmiştir (Bisswanger, 2008).

Şekil 1.7

Unkompetitif inhibisyon

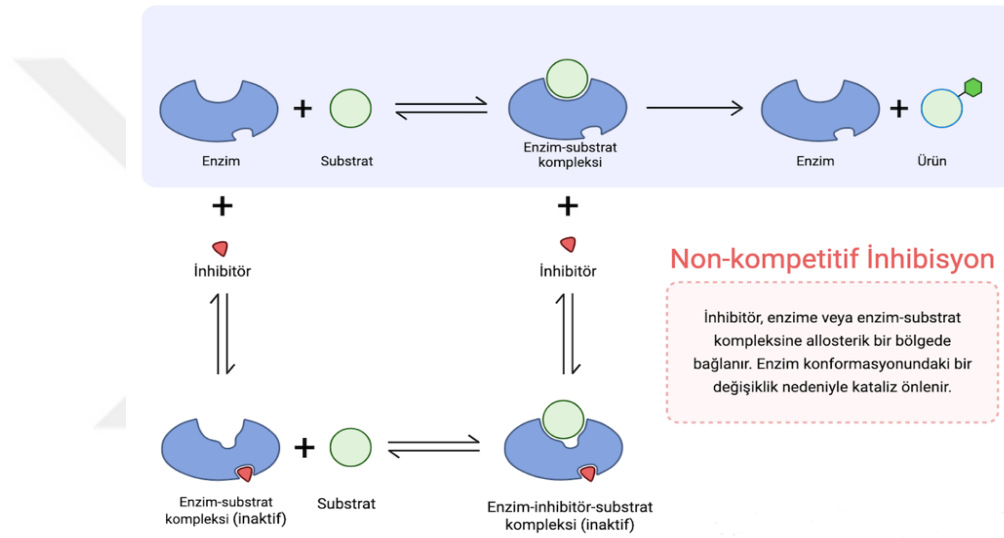


1.5.3. Non-kompetitif inhibisyon

Non-kompetitif inhibisyonda, inhibitör enzimin katalitik bölgesine bağlanmaz, bunun yerine enzimin başka bir yerinde bulunan belirgin bir allosterik bölgeyle etkileşime girer. Bu bağlanma, substrat bağlanmasını doğrudan engellemeden reaksiyonun katalitik devir hızını azaltır. Bu durumda inhibitör ile substratın bağlanması tamamen bağımsızdır ve inhibitörün bağlanması katalitik adımın tam inhibisyonu ile sonuçlanır (Rogers ve Gibon, 2009). **Şekil 1.8**'de non-kompetitif inhibisyonu gösteren şekil verilmiştir.

Şekil 1.8

Non-kompetitif inhibisyon



1.6. AChE Enzimi

AChE, kolinesteraz enzim ailesinin önemli bir üyesidir ve sinaptik aralıktaki nörotransmitter ACh'nin hızlı hidrolizi yoluyla sinaptik iletimi düzenlemede kritik bir rol oynamaktadır. Aktif bölgesinde aromatik kalıntılarla çevrili hidrofobik bir geçit ve pozitif yüklü substratların elektrostatik çekimini kolaylaştıran negatif yüklü bir yüzey potansiyeline sahiptir. Moleküler dinamik, Monte Carlo ve kuantum mekaniği/moleküler mekanik gibi hesaplamalı modelleme yöntemleri; enzimin yapısı, inhibitörlere tepkisi ve katalitik mekanizmaları hakkında değerli bilgiler sağlamıştır. Özellikle AH tedavisinde, geri dönüşümlü AChE inhibitörleri enzimin aktif bölgesine bağlanır ve bu bağlanma kinetik olarak K_I veya IC_{50} gibi parametrelerle karakterize edilir. Bu bağlamda, kompetitif, non-kompetitif ve unkompetitif inhibisyon modelleri, AChE'yi farmakolojik bir hedef olarak anlamak için temel bir çerçeve sunar.

AChE'nin yapısal analizleri; periferik anyonik bölge (PAS), katalitik aktif bölge, açıl ve kolin bağlanma bölgeleri dahil olmak üzere enzim içinde birkaç işlevsel alt bölge ortaya çıkarmıştır. Özellikle PAS bölgesinin, pozitif yüklü kolin türevlerini aktif bölgeye yönlendirmeye yardımcı olduğu ve ayrıca β -amiloid gibi yapılarla etkileşime girebildiği bilinmektedir. Bu özellik, AChE'yi yalnızca terapötik bir hedef olarak değil, aynı zamanda AH patogenezinde potansiyel bir biyobelirteç olarak da vurgular (De Boer vd., 2021).

1.7. Tedavi Stratejileri

1.7.1. A β birikiminin önlenmesi yoluyla

AH tedavisine yönelik A β hedefli stratejiler; A β üretiminin azaltılması, A β temizlenmesinin artırılması, A β toksisitesinin nötralize edilmesi, A β agregasyonunun engellenmesi yoluyla gerçekleştirilebilir. A β üretiminin azaltılmasına yönelik olarak BACE1 İnhibitörleri ve γ -Sekretaz inhibitörleri/modülatörleri araştırılmıştır. BACE1, A β üretimi için gerekli bir enzim olarak tanımlanmış ve inhibisyonu amiloid kaskadını durdurmanın temel yollarından biri olarak değerlendirilmiştir. İlk BACE1 inhibitörü olan LY2886721, Faz 2 klinik denemelere ulaşmış ve önceki bileşiklere kıyasla beyin penetransının daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Faz 1 çalışmalarında A β 40 ve A β 42 seviyelerinde düşüşe sebep olurken, sAPP α seviyelerinde artış gözlenmiştir. Ancak Faz 2 aşamasında anormal karaciğer biyokimyası nedeniyle geliştirme süreci durdurulmuştur (May vd., 2015).

LY2886721 dışında atabecestat, elenbecestat, lanabecestat ve umibecestat gibi BACE1 inhibitörleri ileri klinik aşamalara ulaşmış ancak hiçbirisi onay alamamıştır (May, 2015). BACE1 inhibitörlerinin geliştirilmesinde; BACE1'in BACE2, pepsin ve renin gibi diğer aspartil proteazlarla yapısal benzerliği nedeniyle hedef seçiciliğinin sağlanamaması ve küçük moleküllerin enzimin aktif bölgesinin büyüklüğü sebebiyle tam olarak blokaj oluşturmaması gibi zorlukları bulunmaktadır. Ek olarak kan-beyin bariyeri (KBB) geçiş zorlukları sebebiyle beyne yeterli penetrasyonun sağlanamaması BACE1 inhibitörlerinin geliştirilmesindeki temel zorluklardan biridir (Yuan vd., 2013).

γ -Sekretaz inhibitörleri, A β üretimini engelleme potansiyelleri nedeniyle AH tedavisinde önemli bir hedef olarak incelenmiştir. Ancak, mevcut GSI'ler Notch gibi diğer proteinlerin işlenmesini de etkileyerek hücrel farklılaşma mekanizmalarına zarar vermektedir. Bu durum, ciddi yan etkilere yol açtığından GSI'lerin klinik kullanımı

kısıtlanmıştır. Avagacestat, Notch'a kıyasla APP'ye daha yüksek seçiciliğe sahip arilsülfonamid sınıfında bir γ -sekretaz inhibitörüdür. Faz 2 klinik çalışmalarında gastrointestinal ve dermatolojik yan etkiler nedeniyle geliştirme süreci sonlandırılmıştır. Bu tür yan etkiler, γ -sekretaz inhibitörlerine alternatif olarak γ -sekretaz modülatörlerinin (GSM) geliştirilmesini gündeme getirmiştir. GSM'ler, enzimin aktivitesini tamamen engellemek yerine düzenleyerek yan etkileri en aza indirmeyi amaçlamaktadır. Son yapılan bir çalışmada, SGSM-36 adlı GSM bileşiğinin Notch'un proteolitik işlenmesini veya APP'nin α - ve β -sekretaz tarafından işlenmesini değiştirmeden toksik A β 42 seviyelerini azalttığı gösterilmiştir (Raven vd., 2017). Bir diğer GSM olan EVP-0962, Notch sinyalini etkilemeden A β 42 seviyelerini düşürmüş, A β 38 seviyelerini artırmış ve AH model farelerde hafıza eksikliklerini iyileştirmiştir. Ancak, her iki bileşik de klinik çalışmalarda başarısız olmuştur (Rogers vd., 2012). Sonuç olarak, BACE1 inhibitörleri ve γ -sekretaz modülatörleri üzerine yapılan çalışmalar, A β üretimini azaltmaya yönelik ilaçların geliştirilmesinde önemli kaynak sağlasa da, bu yaklaşımların klinik etkinliği ve güvenliği halen tartışmalıdır. Yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi için, hedef seçiciliğini artıran, toksisiteyi en aza indiren ve beyin penetransını iyileştiren moleküllerin keşfi büyük önem taşımaktadır. A β temizlenmesinin artırılması stratejisine dayanan ve FDA tarafından onaylanmış iki antikör bazlı ilaç Aducanumab ve Lecanemab bulunmaktadır (Zhang, Yun vd., 2023).

1.7.2. Kolinerjik sistemin hedeflenmesi yoluyla

Kolinerjik nöronlar, beyin çeşitli bölgelerine yayılmış olup bilişsel işlevler açısından kritik bir role sahiptir. Öğrenme ve hafızaya ilişkin normal kolinerjik sinyal iletimi, ACh varlığına bağlıdır. BFCN'ler; öğrenme, hafıza ve bilişsel süreçlerde önemli bir görev üstlenmekte olup, bu nöronların hayatta kalması ve farklılaşması NGF tarafından düzenlenmektedir. Kolinerjik innervasyon, hafıza ve öğrenme mekanizmalarında etkili olan kortikal ve hipokampal bölgelerde büyük öneme sahiptir. Kolinerjik sistemde meydana gelen bozukluklar, kolinerjik nöronların sayısında azalmaya neden olmakta; ChAT aktivitesindeki kayıplar ve ACh reseptörlerindeki bozulmalar çeşitli hafıza ve bilişsel işlev bozuklukları ile ilişkilendirilmektedir (Gritton vd., 2024).

Günümüzde, dünya genelinde en yaygın kullanılan terapötik hedeflerden biri AChE olup, AH tedavisine yönelik olarak bu enzimi hedef alan çeşitli farmakolojik yaklaşımlar bulunmaktadır. AH, bireylerde ciddi ACh eksikliği gelişmesine sebep olabilir

(Akıncıoğlu ve Gülçin, 2020). AChE ve BChE, AH tedavisinde potansiyel hedef enzimler olarak değerlendirilmiştir. AChE ve BChE inhibisyonu, kolinerjik nörotransmisyon süresini uzatarak kolinerjik sinyalleme artırılabılır. Bu bilgiler doğrultusunda, kolinesteraz inhibitörleri AH tedavisinde terapötik ajanlar olarak önerilmektedir. AChEI'ler, halen Alzheimer hastalarının tedavisinde onaylanmış olan tek klinik ilaç grubunu oluşturmaktadır. Bu ajanlar, ACh'nin yıkımını inhibe ederek Alzheimer hastalarında bilişsel işlev bozukluklarını gidermeye yardımcı olmaktadır. İlk nesil AChEI'lerden biri olan takrin, ciddi yan etkileri nedeniyle büyük ölçüde klinik kullanımdan kaldırılmıştır. Günümüzde, en yaygın kullanılan AChEI'ler arasında donepezil, rivastigmin ve galantamin gibi ikinci nesil ilaçlar yer almaktadır (Colović vd., 2013).

1.7.3. NFY oluşmasının önlenmesi yoluyla

Tau proteini, AH'nin iki ana patolojik özelliğinden biri olan NFY'nin temel bileşenidir. Normalde mikrotübülleri stabilize ederek hücre içi taşımayı düzenleyen tau, AH'de post-translasyonel modifikasyonlarla anormal hale gelir. Oligomerik yapılar, yumaklar ve agregatlar oluşturarak hücre iskelet ve protein yıkım yollarını bozar. İnsan beyinde altı tau izoformu bulunur ve AH'de bu izoformların dengesizliği görülür. Tau seviyeleri, nörodejenerasyon ve bilişsel bozukluklarla yakından ilişkilidir ve patoloji önce öğrenme ve hafızadan sorumlu bölgelerde başlar. Ardından diğer bilişsel işlevlerle ilgili kortikal alanlara yayılır. Anti-tau ilaçlar; tau ekspresyonu, agregasyon, modifikasyon, mikrotübül stabilizasyonu ve hücreler arası tau yayılımını hedef alır. Klinik deneylerde, tau hedefli ilaçlar arasında küçük moleküller ve biyolojik ajanlar bulunmakta olup, bazı şirketler bu alanda çalışmalar yürütmektedir (ClinicalTrials, 2017, 2024; Gauthier vd., 2020).

1.7.4. Nöroinflamasyonun engellenmesi yoluyla

AH'de nöroinflamasyon, sadece mikrogliyal hücrelerle sınırlı kalmayıp, astrositlerin de önemli katkı sağladığı kompleks bir süreçtir. Normal koşullarda sinaptik destek, iyon dengesi ve kan-beyin bariyeri bütünlüğünün korunmasında görev alan astrositler, Alzheimer patolojisi ilerledikçe reaktif fenotipe dönüşerek proinflamatuvar sitokinler (IL-1 β , TNF- α , IL-6 vb.) salgılar ve nöronal hasarı artıran çevresel bir mikro ortam oluştururlar. Bu süreç, glutamat geri alımındaki azalma ile sinaptik bölgede ekstrasellüler glutamat birikimine, dolayısıyla NMDAR'nin aşırı aktivasyonuna yol açar.

NMDAR, öğrenme ve hafıza için hayati rol oynayan glutamat reseptörleridir; ancak aşırı aktivasyonu kalsiyum akışının artmasına, mitokondriyal disfonksiyona ve nihayetinde nöronal ölüme sebep olur. Bu bağlamda, NMDAR'nin patolojik düzeyde aktivasyonunun engellenmesi (örneğin memantin gibi NMDA antagonistleri ile) ve astrositlerin reaktif fenotipten geri döndürülmesi, AH'de nöroinflamasyonun baskılanmasına yönelik önemli terapötik yaklaşımlar arasında yer almaktadır.

Sonuç olarak, astrositlerin immün regülasyonu ve glutamat homeostazındaki rolleri, NMDA aracılı eksitotoksisiteyle birleştiğinde, Alzheimer patogenezinin hem mekanik hem de terapötik açıdan bütüncül olarak değerlendirilmesini gerektirir (Farooqui, 2017).

1.7.5. Diğer stratejiler

1.7.5.1. GABA modülasyonu

AH patogenezinde kolinerjik sisteme ek olarak GABAerjik sistemin disfonksiyonu da önemlidir. GABA (gama-aminobütirik asit), merkezi sinir sisteminde başlıca inhibitör nörotransmitter olup, nöronal aşırı uyarılabilirliğin dengelenmesinde kritik rol oynamaktadır. AH'de, hem GABA düzeylerinde azalma hem de GABA reseptör ekspresyonlarında bozulma bildirilmiştir. Bu durum, kortikal ağların hiperaktivitesine, sinaptik plastisitenin bozulmasına ve bilişsel işlevlerde gerilemeye neden olabilmektedir (Govindpani vd., 2020).

GABAA reseptörlerinin pozitif allosterik modülatörleri veya doğrudan GABA agonistleri, eksitotoksisiteyi azaltarak nöronal dengeyi yeniden kurma potansiyeli taşımaktadır. Bu bağlamda, nörosteroid kökenli bazı moleküllerin GABAA reseptörleri üzerinden modülasyon gösterdiği, aynı zamanda antiinflamatuvar ve antiapoptotik etkilerle Alzheimer sürecinde koruyucu olabileceği düşünülmektedir. GABA sisteminin hedeflenmesi, özellikle ileri evre Alzheimer hastalarında görülen anksiyete, ajitasyon ve epileptiform aktivite gibi nöropsikiyatrik belirtilerin kontrol altına alınması açısından da klinik değer taşımaktadır.

Sonuç olarak, GABA modülasyonu AH'de yalnızca semptomatik değil, aynı zamanda hastalığın ilerleyişini yavaşlatabilecek mekanizmaları düzenleme potansiyeline sahiptir ve bu yönüyle terapötik stratejilere entegre edilebilecek önemli bir hedef olarak değerlendirilmektedir (Calvo-Flores Guzmán vd., 2018).

1.7.5.2. mTOR inhibisyonu

mTOR sinyal yolu, sinaptik plastisite ve uzun süreli hafıza oluşumu için kritik bir role sahiptir. Aşırı aktif mTOR sinyali yaşlanma ve AH patogenezi ile ilişkilendirilirken, kronik ve tam inhibisyon sinaptik plastisiteyi bozabilir (Giovannini ve Lana, 2016). Hastalığın erken evrelerinde düşük mTORC1 aktivitesinin faydalı olduğu gösterilmiş olsa da, ilerleyen evrelerde mikrogial homeostaz ve sinaptik bütünlük için mTOR'un belirli bir düzeyde aktif olması gereklidir. Bu durum, AH tedavisinde mTOR inhibitörlerinin uygulanmasında bir denge gerekliliğini düşündürmektedir. mTOR inhibitörleri, mTORC1'in aktivitesini engelleyerek otofajiyi artırmakta ve protein translasyonunu sınırlamaktadır. Bu mekanizma, A β plakları ve NFT birikimini önleyerek AH patogenezi hafifletebilir (Xie vd., 2024).

Rapamisin gibi mTOR inhibitörü ilaçların, AH ilerlemesini düşürmeye, AH'nin bilişsel bozukluklarını iyileştirmeye ve nörodejenerasyonu azaltmaya yardımcı olabileceği hayvan çalışmalarında gösterilmiştir. Örneğin, 3xTg-AD farelerinde rapamisin tedavisi, erken evrede plak ve düğüm oluşumunu engelleyerek sinaptik plastisiteyi ve bilişsel performansı artırmıştır (Cai vd., 2024). Ancak mTOR inhibitörleri ile yapılan hayvan çalışmaları, AH patogenezi üzerindeki etkilerinin modelden modele değişebileceğini göstermiştir. Örneğin, APP/PS1 fare modelinde rapamisinin A β klirensini artırdığı ve bilişsel işlevleri iyileştirdiği rapor edilmiştir (Cai, 2024). Ancak farklı modellerde, özellikle hastalığın ileri evrelerinde, rapamisin tedavisi plak oluşumunda azalma göstermemiştir. Bu farklılıklar, AH'nin karmaşıklığını ve hayvan modellerinin sınırlamalarını yansıtmaktadır (Davoody vd., 2024). Ek olarak clinicaltrials.gov'dan alınan verilere göre, rapamisinin AH ilerlemesini geciktirme üzerindeki etkilerini açıklayan sonlandırılmış bir klinik çalışma bulunmamaktadır. “Biliş, Yaş ve RaPamisin Etkinliği - mTOR Yolunun Aşağı Düzenlenmesi” NCT numarası: NCT04200911 adlı klinik çalışma aktif aşamadadır. “Rapamycin—Effects on Alzheimer's and Cognitive Health” NCT numarası: NCT04200911 başlıklı bir klinik çalışma ise katılım aşamasındadır. Sonuç olarak, mTOR'un AH başlangıcı ve patogeneziindeki spesifik rolü ve rapamisinin AH'nin ilerlemesini geciktirmedeki rolü belirsizliğini korumaktadır ve bu konuda ek çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (Davoody, 2024).

1.7.5.3. *Sodyum kanal blokajı*

AH'li beyinlerinde gözlemlenen en erken nörofizyolojik değişikliklerden biri amiloid plak birikiminden önce meydana gelen hipokampal hiperaktivitedir. Hafif bilişsel bozukluğun ve erken evre AH' nin potansiyel bir biyobelirteci olarak ortaya çıkmıştır. Hipokampal hiperaktivitenin kısmen, nöronal uyarılabilirliğin merkezi araçları olan voltaj kapılı Nav kanallarının işlev bozukluğundan kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Bu nedenle, AH patofizyolojisi üzerindeki akut ve uzun vadeli etkileri göz önüne alındığında, hipokampal aktivitenin azaltılmasının AH tedavisi için umut verici bir strateji olabileceği düşünülmüştür (Baumgartner, 2023; Lee-Liu ve Gonzalez-Billault, 2021; Setti vd., 2017). Levetiracetam gibi antiepileptikler kullanılarak hipokampal hiperaktivitenin iyileştirilmesinin, kemirgen modellerinde erken evre AH'li hastalarda bilişsel ve bellek performansını iyileştirdiği gösterilmiştir (Sanchez vd., 2012; Tse, 2012).

Nav kanalları, nöral uyarılabilirliğin moleküler belirleyicileridir. Farklı hücre tipleri arasında değişen ekspresyon profillerine sahip dokuz ayrı izoformdan (Nav1.1–Nav1.9) oluşur (de Lera Ruiz ve Kraus, 2015). Nav1.1 ve Nav1.6, sırasıyla hipokampal internöronlarda ve ana nöronlarda belirgin ekspresyon gösterdikleri ve bu hücre tiplerinde aksiyon potansiyellerinin başlatılmasını ve yayılmasını sağladıkları için daha fazla araştırılmıştır (Cheah vd., 2012; Zyburu vd., 2021). Erken evre AH'de Nav1.1 ve Nav1.6'nın internöronların ve ana hücrelerin anormal uyarılmasına ve hipokampal hiperaktiviteye neden olduğu gösterilmiştir (Martinez-Losa vd., 2018). Bu kanallar, hipokampal hiperaktivitede farklı rollere sahiptir ve erken evre AH için potansiyel terapötik hedeflerdir (Hu vd., 2017). Ancak, mevcut Nav kanal modülatörleri, izoform seçiciliğinin olmaması nedeniyle hedef dışı etkilere sahip olma potansiyeline sahiptir. Yüksek çözünürlüklü Nav kanal yapılarının geliştirilmesi ve izoform-spesifik aksesuar proteinlerin ve sinyal yollarının biyolojisinin daha iyi anlaşılmasıyla, belirli izoformlar için seçici olan hedefli terapilerin geliştirilmesine doğru ilerleme kaydedilmiştir (Dvorak vd., 2021).

Nav1.1'in aksine, Nav1.6 öncelikli olarak uyarıcı nöronlarda eksprese edilir. AH'li kemirgenlerde Nav1.6 kanalının devre dışı bırakılmasının, AH modellerinde hipokampal hiperaktiviteyi hafiflettiği ve hafızayla ilişkili beta, gama, delta ve teta dalgalarını normal seviyelere geri döndürdüğü gözlemlenmiştir. Ek olarak, Nav1.6'nın devre dışı bırakılmasının, bu hayvanlardaki Aβ plaklarının hem sayısını hem de boyutunu azaltması

Nav1.6 modülasyonunun hastalığın seyrini değiştirme potansiyeline dair kanıt sağlamaktadır (Yuan vd., 2022). Bu nedenle, özellikle Nav1.6'nın modülasyonu yoluyla hipokampal hiperaktiviteyi azaltmak, hem hafızada ve bilişte akut iyileştirmeler sağlayabilir hem de aynı anda AH patofizyolojisini azaltabilir. Nav1.6 inhibisyonu, sinaptik disfonksiyonu düzelterek, A β plak birikimini azaltarak ve bilişsel işlevi iyileştirerek AH'nin klinik öncesi modellerinde umut verici sonuçlar göstermiştir (Yuan, 2022). Tüm bu sebeplerden dolayı, Nav1.6 aşırı ekspresyonunun ve hiperaktivitesinin seçici blokajının, AH'nin erken evrelerinde erken hipokampal hipereksitabilite ve buna bağlı bilişsel eksiklikleri etkisiz hale getirmek için yeni bir potansiyel terapötik yaklaşım olabileceği gündeme gelmiştir (Ciccone vd., 2019).

1.7.5.4. Kalsiyum kanal blokajı

Kalsiyum kanalı, kalsiyum konsantrasyonunu düzenler ve fosfolipid çift tabakasındaki kapılar aracılığıyla fizyolojik işlevlere katkıda bulunur. Tip N ve Q voltaj kapılı kalsiyum kanalları, hipokampal CA1 ve CA3 bölgeleri arasındaki nöronal sinaptik iletimi destekler. Kalsiyum homeostazisi insan yaşlanmasında bozulabilir (Wheeler vd., 1994). A β nörotoksitesi hücre içi kalsiyum akışına yol açmaktadır. Hücre içi kalsiyum akışı Cav1.2 kanalları aracılığıyla gerçekleşir ve hiperfosfrile tau ve otofaji disfonksiyonunda artışa yol açar. Kontrolsüz Ca²⁺ artışı, AH'li beyinlerin hipokampusunda Cav1.2'nin aşırı ekspresyonunu tetikleyebilir ve patojenik Ca²⁺ akışını daha da kötüleştirebilir (Willis vd., 2010). Cav1.2, hücre gövdelerinde ve dendritlerde, akson terminallerinde ve nöronların aksonlarında ve hipokampusun glial süreçlerinde bulunur (Tippens vd., 2008). L tipi voltaj kapılı kalsiyum kanal blokerleri hücre içi A β ve kalsiyumla ilişkili nörotoksiteyi önler (Mattson, 2007). Birçok kalsiyum kanal blokerinin AH'nin çok sayıda hücre kültürü ve hayvan modelinde etkili olduğu kanıtlanmıştır. Bu ilaçlar, tedavilerin çoğu reseptörle çalışan kalsiyum kanallarını ve voltaj kapılı kalsiyum kanallarını hedef almaktadır. Kalsiyum kanalları temel olarak voltaj kapılı kalsiyum kanalları ve glutamat reseptörleri kalsiyum kanalları, örneğin NMDAR kanalları ve α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropiyonik asit olarak ayrılabilir. NMDAR kanalları glutamat reseptör kanalları ve voltaj kapılı kanalları içerir ve kalsiyum için yüksek geçirgenliğe sahiptir. NMDA reseptör kanalları serebral korteks ve hipokampüste en yoğundur (LaFerla, 2002).

AH'de Ca²⁺ disfonksiyonu, A β ve APP kesilmesi ile ilişkilidir. APP'nin β ve γ -sekretaz enzimleriyle parçalanması, A β oligomerlerinin oluşmasına yol açar. Bu oligomerler,

hücre membranı ile birleşerek kalsiyum geçirgen kanallar oluşturur ve hücre içine fazla kalsiyum girişine neden olur (Reddy ve Beal, 2008). A β , reaktif oksijen türleri üretmek için Fe $^{2+}$ ve Cu $^{2+}$ ile etkileşime girerek oksidatif strese yol açar ve bu da lipid peroksidasyonu ile hücre membranlarını ve kalsiyum kanallarını bozabilen 4-hidroksinonenal gibi toksik ürünlerin üretimini tetikler. Bu süreç mitokondriyal fonksiyonları bozarak ATP üretimini düşürür ve hücrede enerji dengesizliği yaratır (Zhu vd., 2006). Membran depolarizasyonu, NMDA reseptörleri ve voltaj kapılı kalsiyum kanallarının aktivasyonunu artırarak Ca $^{2+}$ akışını artırır. Ayrıca, presenilin proteinleri endoplazmik retikulumdan (ER) kalsiyum kaçağını kontrol eder ve mutasyonlar bu kaçağı bozarak ER'de aşırı Ca $^{2+}$ birikimine yol açabilir. Sonuç olarak, kalsiyum disfonksiyonu AH patogenezinde merkezi bir rol oynamaktadır (Tan vd., 2012).

1.7.5.5. *ATPase inhibisyonu*

Ekstraselüler A β plakların ve intraselüler NFY'lerin birikmesiyle karakterize AH'yi bu patolojilere ek olarak etkilediği keşfedilen diğer patofizyolojik mekanizma nöroinflamasyondur. Astrositler, nöroinflamasyona katkıda bulunan hayati bir glial hücre türüdür ve reaktif astrositler veya astrositozis, AH'nin bilinen bir patolojik özelliğidir. Dolayısıyla nöroinflamasyon ve nörodejenerasyonla ilişkili reaktif astrositlerin varlığı AH ve diğer tauopatilerin hücresel ayırt edici özelliklerinden biri haline gelmiştir (Zhang vd., 2024). Ancak, astrositlerin bu bozuklukların patofizyolojisine nasıl katkıda bulunduğu henüz tam olarak açıklığa kavuşturulmamış ve AH'deki nörodejeneratif süreçte katkıda bulunduğu mekanizmalar tam olarak aydınlatılmamıştır (Al-Ghraiyyah vd., 2022). Mann ve ark., insan dokusunda *in vitro* deneyler ve bir fare modelinde *in vivo* çalışmalar gerçekleştirmiş ve tauopatili hastaların beyin dokusunda astrositik $\alpha 2$ -Na $^{+}$ /K $^{+}$ ATPaz'ın ($\alpha 2$ -NKA) artan ekspresyonunu bildirmişlerdir. Farelerde, farmakolojik veya genetik $\alpha 2$ -NKA blokajı, astrositozisi baskılayarak ve tau alımını sınırlayan Lcn-2 dahil olmak üzere proinflamatuvar proteinleri azaltarak nörodejenerasyonu azaltmıştır. Sonuçta, astrosit aktivasyonunu hedeflemenin veya $\alpha 2$ -NKA aktivitesini inhibe etmenin, tauopatilerde meydana gelen nörodejenerasyonu ve nöroinflamasyonu azaltmada etkili olabileceğini görülmüştür (Mann vd., 2022).

1.7.5.6. *Serotonin reseptör agonizması*

Serotonin 2A reseptörü (5HT $_{2A}$ -R), merkezi sinir sisteminde yaygın olarak bulunur. Bilişsel süreçlerde önemli rol oynayan bir G-protein bağlı reseptördür. Literatürde bu

reseptörün modülasyonunun, AH gibi nörodejeneratif hastalıkların seyrini etkileyebileceği yönünde çalışmalar bulunmaktadır. Afshar ve ark., yaptıkları çalışmada 5HT2A reseptörüne yönelik agonist modülasyonun, nöroprotektif etkiler sağlayabileceğini göstermiştir. TCB-2 gibi selektif bir 5HT2A agonistinin, streptozotosin ile indüklenen Alzheimer modelinde oksidatif stresi azalttığını, AChE aktivitesini düzenlediğini ve hipokampal nöron kaybını önlediğini rapor etmişlerdir (Afshar vd., 2018). Bu bulgular, 5HT2A agonistlerinin sinaptik plastisiteyi destekleyerek bilişsel işlevleri koruyabileceğini ortaya koymuştur. Ayrıca, 5HT2A aktivasyonu ile ilişkili sinyal yollarının (örneğin fosfolipaz C–PKC–MAPK/ERK) sinaptik bütünlüğü ve hücre hayatta kalımını desteklediği bilinmektedir (Berg vd., 1994).

Bununla birlikte, bazı çalışmalar 5HT2A reseptörünün ters agonistlerle inhibisyonunun da Alzheimer patofizyolojisinde olumlu sonuçlar doğurabileceğini göstermektedir. Pimavanserin gibi selektif 5HT2A ters agonisti, APP/PS1 transgenik fare modelinde uygulanmış; bu tedavi sonucunda beyin interstisyel sıvısındaki A β seviyelerinde hızlı bir azalma ve bilişsel performansta belirgin bir iyileşme gözlenmiştir. Ayrıca uzun dönem kullanımda, beyin omurilik sıvısı A β düzeylerinde ve plak birikiminde anlamlı azalma rapor edilmiştir (Yuede vd., 2021).

Bu iki yaklaşımın birlikte değerlendirilmesi, 5HT2A reseptörünün AH'deki etkisinin karmaşık olduğunu göstermektedir. Agonistlerin sinaptik plastisiteyi artırıcı etkileri ön plana çıkarken, ters agonistlerin A β patolojisi üzerine doğrudan etkileri olduğu görülmektedir. Bu bağlamda, reseptörün hangi sinyal yolları üzerinden etkili olduğunun anlaşılması, hedefe yönelik tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesinde kritik öneme sahiptir.

1.7.5.7. Tübülün inhibisyonu

AH'de nöronal dejenerasyonun temel patolojik özelliklerinden biri, mikrotübül sisteminin bozulmasıdır. Mikrotübüllerin temel yapı taşı olan tübülün, nöron içi taşımanın sürekliliğinde rol oynamaktadır. AH'de tau proteinlerinin hiperfosforilasyonu, mikrotübül stabilitesini bozarak tübülün fonksiyonunu önlemektedir. Bu durum, nöronlar arasında sinaptik iletimin bozulmasına, hücre içi taşımanın aksamasına ve sonuç olarak nöron ölümüne yol açmaktadır. Bu nedenle tübülün dinamiklerini modüle eden ya da stabilize eden bileşiklerin, Alzheimer tedavisinde potansiyel taşıdığı düşünülmektedir. Fernandez-Valenzuela ve ark., yaptıkları çalışmada mikrotübül stabilize edici bir ajan

olan Epothilone D'nin, transgenik Alzheimer farelerinde nöronal hasarı azalttığı ve kognitif performansı iyileştirdiğini göstermiştir (Fernandez-Valenzuela vd., 2020). Bu bulgular, AH tedavisinde tübülün dinamiklerinin modülasyonuna yönelik farmakolojik stratejilerin değerlendirilebileceğini göstermektedir. Dolayısıyla tübülün, sadece hücresel yapı taşlarından biri olarak değil, aynı zamanda terapötik hedef olarak da dikkate alınmalıdır.

1.7.5.8. Klor kanal aktivasyonu

Klorür hücre içi kanal (ClC) protein ailesi; plazma zarlarında, hücre içi organellerde ve veziküllerde eksprese edilen ve bu bölgelerde çeşitli hücresel işlevler için klorür gradyanlarını düzenleyen iyon kanallarıdır. Yalnızca nöronların polarizasyonunu düzenlemekle kalmayıp, aynı zamanda nöronal sağkalım için de önemli etkilere sahiptir. AH'yi etkileyen ve hastalıkta önemli bir rol oynayan ana iyon kanalları K^+ ve Ca^{2+} 'ye ek olarak, Cl^- iyon kanalları da hastalıkta ikincil bir rol oynamaktadır (Chen vd., 2024).

Bu kanallar, özellikle nöronal hücrelerde iyon dengesinin korunması ve elektriksel uyarılabilirliğin düzenlenmesi açısından kritik bir role sahiptir. Örneğin, ClC-2 kanalı, klorür ekstrüzyonu yoluyla hipokampal piramidal nöronlarda hücre içi klorür konsantrasyonunu düzenler (Rahmati vd., 2018). Bu özellik, nöronların uyarılabilirliği ve GABAerjik inhibisyonun etkinliği açısından oldukça önemlidir. Yapılan araştırmalarla bu kanalların fizyolojik işlevleri ve nörodejeneratif hastalıklardaki olası rolleri ele alınmıştır. Özellikle ClC-1 ve ClC-2'nin, nöronal hiperaktivite, epileptik potansiyel ve hücre ölümü gibi nöropatolojik süreçlerde görev alabilecekleri yönünde araştırmalar yapılmaktadır. Bu bağlamda, ClC kanal ailesi üyeleri, Alzheimer ve diğer nörodejeneratif hastalıklarda potansiyel terapötik hedefler arasında değerlendirilmektedir. Hem iyon dengesinin bozulması hem de buna bağlı gelişen sinaptik disfonksiyon, ClC'lerin modülasyonunun hastalık progresyonunu yavaşlatıcı etkiler gösterebileceğini düşündürmektedir (Pressey vd., 2023). ClC-2, özellikle hipokampal nöronlarda GABAerjik inhibisyonu destekleyen bir kanaldır. Bu kanal sayesinde hücre içi klorür seviyesi dengelenir, böylece GABA'nın inhibitör etkisi korunur. Alzheimer'da GABAerjik dengenin bozulması sinaptik disfonksiyona yol açtığı için, ClC-2'nin aktivasyonu potansiyel olarak koruyucu etki gösterebilir (Mindell ve Maduke, 2001).

1.8. Mevcut İlaçlar ve Etki Mekanizmaları

1.8.1. AChEI

AH'de görülen kolinerjik disfonksiyonu düzeltmeye yönelik geliştirilmiş AChEI, sinaptik aralıkta ACh düzeylerini artırarak nörotransmisyonu modüle etmeyi amaçlar. AChEI'ler, AChE'nin ACh'yi asetat ve kolin bileşenlerine hidrolize etmesini engelleyerek etkisini gösterir. Böylece ACh'nin nöromüsküler kavşaklarda miktarını ve etki süresini artırır (Oliveira vd., 2019). Bu durum; bradikardi, diyare, hipotansiyon ve idrar inkontinansı gibi parasempatik sinir sisteminin aşırı uyarılmasına benzer istenmeyen etkiler ile sonuçlanabilir (Ohbe vd., 2018). Ayrıca mevcut kardiyovasküler risk faktörleri, özellikle hipotansiyon veya atriyoventriküler ileti bozukluğu gibi durumlar, AChEI kullanımı sırasında senkop riskini artırabilir. AH hastalarının yaşlı ve kırılgan bireyler olması göz önüne alındığında, senkop sonucu gelişebilecek düşme, kırık veya beyin sarsıntısı gibi komplikasyonlar ciddi sonuçlar doğurabilir. Bununla birlikte, AChEI kullanımı anjina, miyokard enfarktüsü ve inme gibi majör kardiyovasküler olay riskini artırabileceği yönünde bulgular da mevcuttur (Al-Hamed vd., 2021).

Donepezil, AChE enzimi üzerinde yüksek afiniteye sahip, geri dönüşümlü bir AChEI olarak etki eden oral yolla kullanılan bir ilaçtır. AH'de görülen kolinerjik yetersizliği hedef alarak, sinaptik aralıkta ACh düzeyini artırmak suretiyle bilişsel işlevlerde iyileşme sağlamayı amaçlar. Zhang ve ark., toplam 2847 hafif bilişsel bozukluklu hastayı değerlendirildiği randomize kontrollü çalışmalar ve eşzamanlı randomize olmayan klinik çalışmalarında, donepezil tedavisinin Mini-Mental Durum Sınavı (MMDS) ve Montreal Bilişsel Değerlendirme skorlarını anlamlı düzeyde artırdığı gösterilmiştir (Zhang, X. vd., 2022). Bu sonuçlar, donepezilin bilişsel işlevleri destekleyici etkisini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, donepezil kullanımına bağlı olarak bulantı, kusma, ishal, yorgunluk, baş ağrısı ve baş dönmesi gibi çeşitli advers etkiler de istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha sık bildirilmiştir. Bu nedenle tedavi sürecinde hasta yanıtı ve tolerabilitesi yakından izlenmelidir (Thangwaritorn vd., 2024).

Rivastigmin, psödo-geri dönüşümsüz bir AChE inhibitörüdür ve AH'de yaygın olarak kullanılmaktadır. Rivastigmin tedavisinin, bilişsel ve genel klinik işlevlerde düzelme sağladığı gösterilmiştir (Hansen vd., 2008). Ayrıca Karaman ve ark., yaptıkları çalışmada çoklu hedef mekanizması sayesinde rivastigminin donepezile göre daha etkili olabileceğini rapor etmiştir (Karaman vd., 2004). Oral formülasyonlara bağlı görülen

bulantı ve kusma gibi yan etkileri azaltmak amacıyla rivastigminin transdermal formu geliştirilmiştir. Oral uygulamaya kıyasla daha iyi tolere edilse de, bazı cilt reaksiyonlarına yol açma potansiyeli bulunmaktadır (Han vd., 2011).

Galantamin, hafif ila orta şiddette AH tedavisinde kullanılan oral bir AChEI'dir. Yapılan çalışmalarda, galantaminin kısa vadede etkili olduğunu ancak uzun vadede sınırlı fayda sağladığı gösterilmiştir (Richarz vd., 2014; Wilcock vd., 2000).

1.8.2. NMDA reseptör inhibitörü

Memantin, FDA onaylı bir NMDAR antagonisti olup, orta şiddetli AH semptomlarının tedavisinde kullanılmaktadır. Glutamat aracılı aşırı NMDAR uyarımının nöronal hasara yol açtığı hipotezine dayanarak geliştirilmiştir. Reisberg ve ark., yaptıkları çalışmada, memantin bilişsel ve fonksiyonel gerilemeyi yavaşlattığını çeşitli ölçeklerle göstermişlerdir (Reisberg vd., 2003).

1.8.3. Monoklonal antikolar

Monoklonal antikolar, özellikle β -amiloid plaklarının ve tau proteinlerinin birikimini azaltarak nörodejenerasyonu önlemeyi hedefler. Amiloid kaskad hipotezi temelinde geliştirilen bu tedaviler, hastalığın seyrini değiştirme potansiyeline sahiptir. Ancak, bu ajanların kullanımıyla ödem (ARIA-E) ve mikrohemorajiler (ARIA-H) gibi amiloidle ilişkili görüntüleme anormallikleri (ARIA) bildirilmiştir. Aducanumab ve lecanemab FDA onayı alan monoklonal antikolardır. **Aducanumab**, Haziran 2021'de hafif AH için hızlandırılmış onay almıştır. Klinik çalışmalar, yüksek dozda aducanumabın bilişsel gerilemeyi önemli ölçüde geciktirdiğini ve amiloid plaklarında anlamlı bir azalma sağladığını göstermiştir. Ancak, bu tedavi ARIA-E ve ARIA-H gibi ciddi yan etkilere sebep olmaktadır. Ayrıca konfüzyon, deliryum, nöbet ve hafıza bozukluğuna sebep olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, düzenli manyetik rezonans görüntüleme ile izleme gereklidir ve hastaların tedavi sırasında dikkatli klinik değerlendirilmesi önemlidir (Budd Haeberlein vd., 2022). **Lecanemab**, 2023 yılında FDA tarafından onaylanmıştır. AH'de bilişsel ve fonksiyonel düşüşü yavaşlatmaya yardımcı olur. Klinik çalışmalar, lecanemabın amiloid yükünü plaseboya kıyasla anlamlı şekilde azalttığını ve bilişsel gerilemeyi önemli ölçüde geciktirdiğini ortaya koymuştur. Ancak, infüzyonla ilişkili reaksiyonlar, ARIA-H, baş ağrıları ve düşmeler gibi yan etkilere sebep olmaktadır (Dyck vd., 2023). **Donanemab** ve **semorinemab** ise klinik araştırmalar aşamasındadır (Cho, 2024; Wu vd., 2023).

1.8.4. Tau ve amiloid hedefli tedaviler

Metiltiyoninyum, AH tedavisinde tau protein agregatlarını inhibe ederek etki gösteren bir bileşiktir ve löko-metiltiyoninyum bis (LMTM), bu bileşiğin oksitlenmiş formudur. LMTM, 18 aylık bir Faz III denemesinde AH tedavisinde monoterapi olarak kullanılmış ve tedavi, beyin atrofisini önemli ölçüde azaltmıştır (Wilcock vd., 2018; Wischik vd., 2015). **Tramiprosate** ise, A β monomerlerinin toksik agregatlara dönüşümünü engellemektedir (Hey vd., 2018).

1.8.5. Anti-nöroinflamatuvar tedavi

Sodium oligomannate (GV-971), A β agregasyonunun nörotoksisitesini inhibe eden bir oligosakkarittir. Bu ilaç, A β birikimini engelleyerek ve polimerizasyonu azaltarak toksik fibrillerin non-toksik monomerlere dönüşmesini sağlar ve nöroinflamasyonu da azaltır. GV-971, Çin'de onaylanmış ancak FDA tarafından henüz onaylanmamıştır (Xiao vd., 2021).

1.8.6. Anti-inflamatuvar ajanların faz II denemeleri

Atomoxetine, selektif bir norepinefrin geri alım inhibitörüdür ve hafif AH tedavisinde nöroprotektör bir ajan olarak önerilmektedir. Faz II klinik denemeleri, atomoksetinin AH tedavisinde klinik iyileşmeyi potansiyel olarak artırabileceğini göstermektedir (Levey vd., 2022).

1.8.7. Daha önce araştırılan veya üzerinde çalışılan diğer ilaçlar

BACE1 inhibitörleri, AH'nin klinik gerilemesini azaltma potansiyeli için araştırılmıştır, ancak yapılan çalışmalar sınırlı etkinlik göstermiştir (Sur vd., 2020). **Vafidemstat**, histon lizin spesifik demetilaz KDM1A inhibitörü olarak, AH ve yaşlanma üzerine yapılan çalışmalarda araştırılmaktadır. Fare modelleri, ileri yaşlanma ve AH'ı simüle etmek için genetik olarak modifiye edilmiştir ve vafidemstat ile yapılan tedavi, selektif monoamin oksidaz B inhibitörü rasagilin ile birlikte hafıza iyileşmesi sağlamıştır (Antonijon vd., 2021). Kombine metabolik aktivatörler (KMA) üzerine yapılan bir Faz II çalışmasında, AH tedavisinde bilişsel fonksiyon ve bilişsel değerlendirme skorlarındaki iyileşmeler incelenmiştir. Çalışma sonuçları, KMA tedavisinin bilişsel fonksiyonları iyileştirdiğini ve bilişsel değerlendirme skorlarını artırdığını göstermiştir (Yulug vd., 2023).

1.9. İlaç Yeniden Konumlandırma

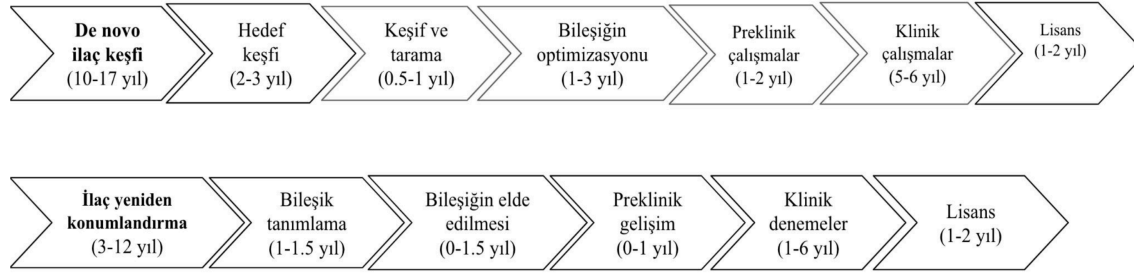
Yeni ilaç geliştirme çalışmaları, mevcut ilaçlara göre daha iyi farmakokinetik özelliklere sahip ilaçların keşfini sağlamasının yanı sıra AH gibi semptomatik tedavi uygulanan

hastalıkların daha etkin tedavisi için de önem arz etmektedir. AH'nin kesin bir tedavisi yoktur, tedavi stratejileri semptomların hafifletilmesi yönündedir (Buccellato vd., 2023). Dolayısıyla hastalığın kesin tedavisi için yeni yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır. Geleneksel ilaç keşfi; uzun süren, maliyetli ve denemelerin büyük çoğunluğunun başarısızlıkla sonuçlandığı bir süreçtir. Yeni yaklaşımlarla az maliyetle ve kısa sürede daha etkili tedaviler bulunabilir (Kulkarni vd., 2023).

Hesaplamalı ilaç yeniden konumlandırma, mevcut ilaçların potansiyel olarak faydalı olabileceği başka hastalıkların tedavisinde kullanılabilirliğini araştıran yeni bir bakış açısı sunmaktadır (Jourdan vd., 2020). Özetle, var olan ilaçların mevcut terapötik amaçlarının ötesinde, farklı hastalıkların tedavisinde veya yeni endikasyonlarda kullanılması anlamına gelmektedir (Krishnamurthy vd., 2022). Bu durum bazı hastalıkların ortak biyolojik hedefleri paylaşması sebebiyle ve aynı zamanda pleiotropik ilaç kavramından dolayı mümkündür. Ayrıca; farmakokinetik, toksikolojik, klinik ve güvenlik verilerinin başlangıçta mevcut olmasından kaynaklanan bir avantaja sahiptir. Yeniden konumlandırılan bir ilaç aynı zamanda yeni dozaj, yeni formülasyon, yeni kullanım yöntemi ve yeni hasta popülasyonunu içerebilir (Subramanian vd., 2017). Bu durum, geleneksel ilaç keşfi yaklaşımına göre; ilaç geliştirme süresinin kısaltılması, maliyetin düşürülmesi, daha kapsamlı bir ilaç güvenliği değerlendirmesi yapılması ve risklerin azaltılması anlamına gelmektedir. *In silico* olarak yeniden konumlandırılan ilaçların FDA ve Avrupa İlaç Ajansı'ndan onay alması süresinin 3 ila 12 yıl arasında olduğu ve maliyetin %50-60 oranında azaldığı rapor edilmiştir (Mithun vd., 2020). **Şekil 1.9**'da *de novo* (baştan) ilaç keşfi ve ilaç yeniden konumlandırma stratejisi kullanılarak geliştirilen ilaçların zaman aralığı gösterilmiştir. İlaç yeniden konumlandırma stratejisinin hesaplamalı uygulamaları, mevcut moleküllerin farklı terapötik alanlarda yeniden değerlendirilmesine olanak tanıyarak ilaç geliştirme sürecinde önemli ölçüde zaman tasarrufu sağladığı görülmektedir.

Şekil 1.9

de novo ilaç keşfi ve ilaç yeniden konumlandırma stratejisi



Kaynak: (Ko, 2020)

Geleneksel ilaç yeniden konumlandırma zaman içerisinde gözlem yoluyla şekillenen bir yaklaşımdır. Örneğin, Antiemetik bir ilaç olan talidomid, 1957'de sabah bulantısını tedavi etmek için onaylanmış, ancak teratojenik etkileri nedeniyle 1962'de çoğu ülkede yasaklanmıştır (Melchert ve List, 2007). 1964 yılında, birkaç yıl cüzzam tedavisi gördükten sonra gelişen sistemik bir durum olan Eritema nodozum leprozum (ENL) ile başvuran bir hastaya, sedatif olarak talidomid reçetesi verilmiş ve 48 saat içinde hastanın tüm cilt lezyonlarının düzeldiği gözlemlenmiştir. Bunu takiben çok sayıda klinik çalışma yapılmış ve talidomidin cilt lezyonlarının %90'ını günler içinde temizlediği ve durumu iki hafta içinde tamamen çözdüğü keşfedilmiştir. Talidomid, 1998 yılında ENL'yi tedavi etmek için FDA tarafından onaylanmıştır (Amare vd., 2021; Sheskin, 1965).

İlaç yeniden konumlandırma yaklaşımıyla keşfedilmiş en başarılı ve en iyi bilinen ilaçlardan bazıları sildenafil, minoksidil, aspirin, valproik asit, metotreksat vb. 'dir. Örneğin, başlangıçta hipertansiyon ve anjina pectoris tedavisi için geliştirilen sildenafil, şu anda erektil disfonksiyon tedavisinde kullanılmaktadır (Mithun, 2020). **Tablo 1.1'de** ilaç yeniden konumlandırma yöntemiyle primer endikasyonu dışında başka bir endikasyonda kullanılan ve FDA tarafından onaylanmış ilaçlara bazı örnekler verilmiştir.

Tablo 1.1*Yeniden konumlandırılmış ilaç örnekleri*

İlaç İsmi	Primer Endikasyon	Yeniden Konumlandırılmış Endikasyon	FDA Onay Tarihi
Minoksidil	Hipertansiyon	Saç Dökülmesi	1998
Talidomid	Mide Bulantısı	Multipl Myelom	1998
Sildenafil	Angina	Eretil Disfonksiyon	1998
Amitriptilin	Antidepresan	Nöropatik Ağrı	2005
Donepezil	Alzheimer Hastalığı	Demans	2006
Raloksifen	Osteoporoz	Meme Kanseri	2007
Naltrekson	Opioid / Alkol Bağımlılığı	Kilo Kaybı	2014
Glikopironyum	Anti-ülser	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı	2015

Literatürde farklı endikasyonlara sahip ilaçların AH tedavisi için yeniden konumlandırma çalışmalarının yapıldığı yayınlar mevcuttur. Grabowska ve ark., yaptıkları çalışmada AH tedavisi için yeniden konumlandırılan ilaç adaylarından reçete edilebilir 573 ilacın 531'ini ATC kodlarıyla eşleştirdikleri farmakolojik sınıflara göre ayırmışlardır. Bu çalışmaya göre AH tedavisi için yeniden konumlandırılan aday ilaçlar yüzde olarak sırasıyla %17, %16 ve %12 olmak üzere sinir sistemi, antineoplastik ve immünomodülatör ilaçlar ve kardiyovasküler sisteme etki eden ilaçlar olarak sınıflandırılmıştır. Bu farmakolojik gruplar önerilen aday ilaçların neredeyse yarısını oluşturmaktadır. Aynı çalışmada literatürde en sık önerilen AH için yeniden konumlandırılan ilaç adayının, 6 çalışmayla desteklenen, ikinci nesil bir antipsikotik olan klozapin olduğu rapor edilmiştir. Çalışmalarla desteklenen diğer ilaçlardan olan ikinci nesil antipsikotik ilaçlar aripiprazol ve risperidon, tirozin kinaz inhibitörleri sunitinib ve vandetanib, histon deasetilaz (HDA) inhibitörü vorinostat, antidiyabetik ilaç pioglitazon, seçici östrojen reseptörü modülatör tamoksifen, kalsiyum kanal blokeri ve antihipertansif ilaç olan verapamil ve adenozinin ise beşer destekleyici çalışması bulunmaktadır (Grabowska vd., 2023).

Ballard ve ark., sistematik bir literatür taraması kullanarak AH tedavisi için ilaç yeniden konumlandırma adayları belirlemişlerdir. Belirlenen ilaçlar vazodilatör olan fenserin ve selektif bir rho kinaz 1 ve 2 inhibitörü olan fasudildir. Fasudil, AH üzerindeki etkilerini değerlendirmek için devam eden bir faz II klinik denemesinde test edilmektedir (Exeter, 2023).

Hesaplamalı ve bilgisayar destekli çalışmalara bakıldığında, Kumar ve ark., moleküler yerleştirmeyi, Prime/MM-GBSA hesaplamalarını ve KBB geçirgenlik filtresini kullanarak sanal bir tarama protokolü geliştirmişlerdir. Bu çalışma sonucunda, AH'de potansiyel olarak yeniden konumlandırılacak altı AChEI belirlenmiştir (Kumar vd., 2022).

Lee ve ark., proteotranskriptomik tabanlı bir hesaplamalı ilaç yeniden kullanım metodolojisi geliştirerek bu yöntemle bupivakain, topiramat, selegilin ve iproniazid gibi ilaçları AH tedavisi için potansiyel adaylar olarak tanımlamışlardır (Lee vd., 2019).

Bu tez çalışmasında farklı olarak gen ekspresyon profilleri üzerinden belirlenmiş aday ilaçlar ilk defa çalışılacaktır. Bu moleküllerin de AH için yeniden konumlandırılan ilaçlar konusunda literatüre katkı yapması hedeflenmektedir.

1.9.1. Yeniden konumlandırma stratejileri

İlaç yeniden konumlandırma stratejileri iki şekilde ilaç odaklı veya hastalık odaklı olabilmektedir (Chen vd., 2015). İlaç odaklı yaklaşımda, süreç kimyasal veya ilaç perspektifinden başlar. İlaçla ilgili geniş veri mevcut olduğunda bu yöntem tercih edilmektedir. Hastalık odaklı yaklaşımda ise hastalığın semptomları, patofizyolojisi veya mekanizması temelinde süreç başlar. Belirli bir hastalığa odaklanıldığında veya ilaca ilişkin verilerin yetersiz olduğu durumlarda bu yöntem tercih edilmektedir. Başarılı bir ilaç yeniden konumlandırma çalışmasında sıklıkla her iki yaklaşım da kullanılmaktadır (Ayyar ve Subramanian, 2022).

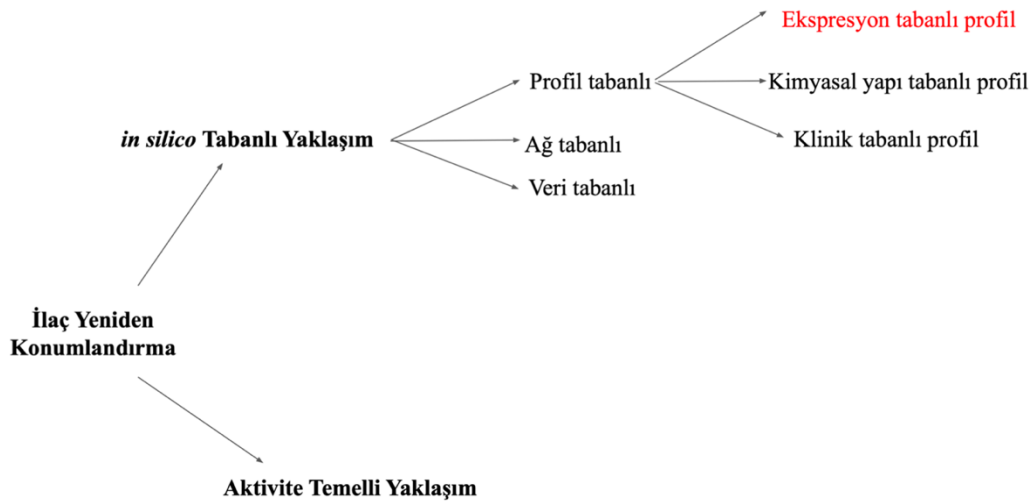
İlaça yönelik yeniden konumlandırma, on-target veya off-target olabilir. On-target, bir ilacın bilinen hedefi, ilacın orijinal endikasyonundan farklı hastalıklarla ilişkilidir (örneğin sildenafil başlangıçta anjina için geliştirildi ve erektil disfonksiyon için yeniden tasarlandı her ikisindeki moleküler hedef fosfodiesteraz-5'tir). Off-target yeniden konumlandırma ise polifarmakolojiye dayanmaktadır. Yani bir ilaç birden fazla hedefe etki edebilir ve ikincil hedefler yeni bir endikasyon için kullanılabilir (örneğin, akciğer kanseri için yeniden tasarlanmış bir peptik ülser ilacı olan simetidin). On-target yaklaşım, hedefe yönelik stratejiye göre önemli ölçüde maliyet ve emek yoğun olsa da, ikincisinden daha yenilikçidir (Mucke, 2010; Tari vd., 2012).

İlaç yeniden konumlandırma yöntemleri genel olarak aktivite temelli ve *in silico* tabanlı yaklaşımlara ayrılabilir. Bazen bu yöntemler hem hesaplamalı yöntemlerden hem de deneysel taramalardan faydalanmak için birleştirilir. Ayrıca, daha başarılı aday ilaçları

bulmaya yönelik çalışmalar, genomik veriler, proteomik veriler, klinik sağlık verileri ve literatür verileri gibi çeşitli veri türlerinin birleştirilmesiyle ilerlemiştir (Ko, 2020). Aktivite temelli yaklaşım orijinal ilaçların deneysel analizlere dayalı olarak yeni farmakolojik endikasyonlar açısından taranmasını ifade eder. Hedef proteinlerin herhangi bir yapısal bilgisine ihtiyaç duymadan *in vitro* ve/veya *in vivo* hastalık modellerinde protein hedef bazlı ve hücre/organizma bazlı taramaları içerir. Deneysel yeniden konumlandırmaya yönelik çeşitli yaklaşımlar; hedef tarama yaklaşımı, hücre tahlili yaklaşımı, hayvan modeli yaklaşımı ve klinik yaklaşımdır (Lionta vd., 2014; Oprea ve Overington, 2015). Buna karşılık, *in silico* yeniden konumlandırma, hesaplamalı biyoloji ve biyoinformatik/keminformatik araçlarını kullanarak büyük ilaç/kimyasal kütüphanelerinin halka açık veritabanlarının sanal olarak taranmasına olanak tanır. Bu yaklaşımda potansiyel biyoaktif moleküllerin tanımlanması, ilaç molekülü ile protein hedefi arasındaki moleküler etkileşime dayalı olarak gerçekleştirilir (Talevi, 2018).

Şekil 1.10

İlaç yeniden konumlandırma stratejileri



Profil tabanlı ilaç yeniden konumlandırma stratejisi, bir ilacın biyoaktif profilini diğer ilaç veya hastalık profilleriyle entegre ederek kullanır. Bu profiller, ekspresyon profilleri, kimyasal yapı profilleri veya klinik profiller olarak kategorize edilebilir. Ekspresyon tabanlı bir profil uygulayarak, ilaçların transkriptomik profilleri ile hastalık profilleri arasındaki ilişkileri inceleyebilir ve ilaçların yeniden konumlandırılması için potansiyel adaylar belirlenebilir. Örneğin, bir ilacın gen ekspresyon profili, belirli bir hastalığın ters

gen ekspresyon profilini işaret edebilir, bu da ilacın hastalık üzerinde potansiyel bir etkisi olduğunu öne sürebilir. Bu strateji, sağlıklı bir duruma benzer uyumlu ifade profillerine sahip ilaçları belirlemede etkili olabilir. İlaç yeniden konumlandırma stratejileri **Şekil 1.10**'te gösterilmiştir. Bu tez çalışmasında gen ekspresyon tabanlı profil uygulanarak aday moleküller belirlenmiştir.

1.10. Araştırılan Aday Moleküller

1.10.1. Dehidroizoadosteron (DHEA)

GABA reseptör modulatörüdür. DHEA seviyelerindeki değişiklikler, γ -aminobutirik-asit-tip-A reseptörlerini allosterik olarak modüle edebilir (Genud vd., 2009). Yapılan çalışmalarda hem *in vitro* hem de *in vivo* DHEA'nın nöroproteksiyon, nörit büyümesi, nörojenez ve nöronal hayatta kalmada rol oynadığı gösterilmiştir. Bazı çalışmalar, DHEA takviyelerinin bilişsel fonksiyonları artırabileceğini öne sürmüştür (Genazzani vd., 2006). Her ne kadar DHEA ile AH arasındaki kesin ilişki ve DHEA'nın AH'ye karşı koruma mekanizması henüz açıklığa kavuşturulmamış olsa da, hayvan çalışmaları DHEA'nın bu hastalığa karşı koruyucu olduğu yönünde sonuç vermiştir (Aly vd., 2011). Koruyucu etki bileşiğin kendine özgü antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklerinden kaynaklanabilir. Ek olarak bunların kısmen GABA reseptörlerine bağlanma yoluyla veya GABAerjik sistemi etkileyen diğer dolaylı mekanizmalar aracılığıyla sağlanıyor olabilir (Calvo-Flores Guzmán, 2018).

1.10.2. Moracizine

Moracizine, sodyum kanal blokörüdür. Na kanalları, nöronal uyarılabilirliğin moleküler belirleyicileridir. Bazı izoformları hipokampal internöronlarda (Catterall vd., 2010; Cheah, 2012) ve ana nöronlarda (Royeck vd., 2008; Zybura, 2021) ayırt edici zenginleştirilmiş ekspresyon sergiledikleri ve bu hücre tiplerinde aksiyon potansiyellerinin başlatılmasını ve yayılmasını mümkün kıldıkları için özellikle ilgi çekicidir. Ayrıca, AH'li beyinlerde gözlemlenen en eski nöronal anormalliklerden biri olan hipokampal hiperaktivitenin azaltılması da, bilişsel eksiklikleri iyileştirmek ve nörotoksik türlerin yayılmasını azaltmak için umut verici bir strateji olarak ortaya çıkmıştır. Bu anormal hiperaktivite, kısmen nöronal uyarılabilirliğin merkezi aracılığıyla olan voltaj kapılı Na^+ kanallarının işlev bozukluğuna atfedilmiştir. Bu nedenle, Nav kanallarını hedeflemek, erken evre AH'de anormal nöronal fenotipleri düzeltebilecek,

hastalığı değiştiren terapötiklerin geliştirilmesi için umut verici bir stratejidir (Baumgartner, 2023).

1.10.3. SKF-96365

SKF-96365, kalsiyum kanal blokörüdür. Kalsiyum düzensizliği beyindeki çok çeşitli patolojik değişikliklerden sorumludur. Genellikle AH ile ilgili çeşitli özellikler, risk faktörleri ve genetik mutasyonlarla ilişkilidir (Tan, 2012). Yapılan bir çalışmada, kalsiyum AH patolojisinde çok önemli bir rol oynadığı ve AH'de yer alan diğer faktörleri hedef alan aktivitelerle güçlendirilmiş kalsiyum kanal blokerleri ile polifarmakolojik bir yaklaşımın ciddi bir seçenek olduğu hipotez edilmiştir (Bernard vd., 2024).

1.10.4. KU-0063794 ve WYE-354

KU-0063794 ve **WYE-354**, mTOR inhibitörüdür. mTOR, bir serin-treonin protein kinazdır. AH patogeneğinde amiloid-beta plaklarının ve tau proteinlerinin agregasyonunun yanı sıra mTOR düzensizliğinin de önemli ölçüde rol oynadığı görölmektedir. Çünkü nörofibriler yumakların ve amiloid-beta plaklarının oluşumu ve toplanmasının mTOR sinyalleme tarafından önemli ölçüde düzenlendiği görölmektedir. Yapılan çalışmalarda, rapamisin gibi mTOR inhibitörü ilaçların uygulanmasının AH'nin ilerlemesinin önlenmesinde faydalı olabileceği, çünkü mTOR sinyalinin, NFY'lerin ve A β plaklarının oluşumu da dahil olmak üzere AH patogeneğinde rol oynadığı belirtilmiştir (Siman vd., 2015; Tramutola vd., 2017). Yapılan hayvan çalışmalarında, mTOR inhibitör ilaçlarının uygulanmasının, Alzheimer hastalarında bilişsel gerilemeyi iyileştirmek için potansiyel bir farmasötik yaklaşım olabileceği rapor edilmiştir (Vartak vd., 2019).

1.10.5. Proscillaridin, Ouabain ve Digoxin

Digoxin, **Proscillaridin** ve **Ouabain** ATPase inhibitörüdür. Kardiyak glikozitler olan bu maddeler nöroprotektif aktivite, hücreleri onarma kapasitesi ve ayrıca antioksidan ve antiinflamatuvar etkilere de sahiptir. Digoxinin *in vivo* deneylerde inflamatuvar semptomları hafiflettiği bulunmuştur (Elmaci vd., 2018; Fürst vd., 2017). Bu etkileri dolayısıyla Digoxin in nöroprotektif bir ajan olarak görev yapabileceği varsayılmış ve hafıza kaybı olan ratlarda kognitif bozukluğu iyileştirdiği rapor edilmiştir (Erdogan vd., 2022).

1.10.6. MK-212

MK-212, serotonin reseptör agonistidir. AH'yi tedavi etmek için aranan yeni hedefler içerisinde beyin serotonerjik devresinin çok umut verici olduğuna inanılmaktadır. Farklı 5-HT reseptörlerinin agonistleri ve antagonistleri, hastalığın davranışsal semptomlarının tedavisi için hem antidepresanlar hem de antipsikotikler olarak (Quiedeville vd., 2015) ve AH' nin nedenlerini, yani β -amiloid ve hiperfosforile tau protein birikimini hedef alan ilaçlar olarak araştırılmıştır (Jahreis vd., 2023; Kucwaj-Brysz vd., 2021). Çok sayıda farmakolojik, biyokimyasal ve moleküler biyoloji verileri, merkezi beyin 5-HT devresinin AH gelişimi ve ilgili bilişsel ve davranışsal patolojilerin mekanizmalarında önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Bir çalışmada ise, AH'den muzdarip hastalarda belirli tipteki 5-HT reseptörlerinin ve ilgili hücre içi sinyal araçlarının ve sinyalleşme basamaklarının modülasyonunun, hastalığın ana histopatolojik belirtileri ve insanlarda beyin hücresi ölümünün bir nedeni olan patolojik protein agregatlarının oluşumunu önleyebildiği gösterilmiştir (Eremin, 2023).

1.10.7. Parbendazole

Parbendazole, tübülün inhibitörüdür. AH'de ve diğer tauopatilerde, mikrotübül dengesizliği aksonal ve sinaptik bütünlüğü tehlikeye atarak nörodejenerasyona katkıda bulunur. Fernandez-Valenzuela ve ark. yaptığı çalışmada, AH'de mikrotübül dengesizliğinin neden olduğu nörodejenerasyona karşı mikrotübül stabilize edici ajan Epothilone D'nin (EpoD) etkisi incelenmiştir. Farelerde yapılan deneyler, EpoD'nin hiperfosforile tau seviyelerini ve A β birikimini azaltarak sinaptik ve nöritik patolojiyi düzelttiğini ve bilişsel iyileşmeye katkı sağladığını göstermiştir. Bu sonuçlar, mikrotübül stabilizatörlerinin hem tau hem de A β patolojisinin ilerlemesini yavaşlatan terapötik ajanlar olabileceğini göstermektedir (Fernandez-Valenzuela, 2020).

1.10.8. Cinobufagin

Cinobufagin, ATPase inhibitörü ve klor kanal aktivatörüdür. Klorür homeostazisi merkezi sinir sisteminin fizyolojik fonksiyonlarında önemli rol oynamaktadır. Klorür kanalları, iyon akışını düzenleyerek nöro-uyarıcı ve nöro-inhibitör fonksiyonlara katkıda bulunur. Düzensiz klorür kanalları, nörolojik bozukluklarla ilişkilendirilmiştir ve klorür kanallarının modülasyonu, bu hastalıklar için potansiyel bir terapötik yaklaşım olarak önerilmiştir (Wang ve Choi, 2023).

Bu tez çalışmasında belirlenen aday ilaçlar, AH patofizyolojisini hedef alan çeşitli mekanizmalara sahiptir. AH'de görülen glutamaterjik ve kolinerjik sistem bozukluklarına yönelik olarak GABAerjik sistemi hedef alan bileşiklerin yanı sıra; protein fosfatazlar, sodyum ve kalsiyum kanalları, mTOR yolu, ATPaz enzimleri, serotonin reseptörleri ve tübülün gibi farklı moleküler hedeflere etki eden diğer ilaç adayları da belirlenmiştir. Bu ilaçların, AH'nin patogenezinde rol oynayan farklı biyolojik yolları modüle ederek terapötik fayda sağlayabilecekleri öngörülmüştür.

1.11. AH Tedavisinde Gen Ekspresyonunun Düzenlenmesine Yönelik Yaklaşımların Değerlendirilmesi

Gen ekspresyon profillerinin analiz edilmesi, AH'ye özgü biyolojik yolların ve disfonksiyonel hücresel süreçlerin ortaya çıkarılmasına olanak sağlamaktadır. Özellikle son yıllarda mikroarray ve RNA-Seq gibi yüksek verimli tekniklerin gelişimiyle, AH'ye ilişkin farklı beyin bölgelerinden elde edilen transkriptomik veriler ışığında, farklı hasta gruplarında farklı gen imzaları tanımlanmıştır. Bu imzalar, hem hastalığın tanısında hem de tedavi hedeflerinin geliştirilmesinde önemli rol oynamaktadır (Govindarajan vd., 2012). Dolayısıyla tez kapsamında araştırılan aday moleküller bu açıdan da değerlendirilmiştir. **DHEA**, hedefi GABA reseptörleri olan bir GABA modülatörüdür. AH'de kognitif bozukluklarla ilişkili GABAergic disfonksiyonu önleme potansiyeli bulunmaktadır (Govindpani, 2020). **Moricizinenin**, SCN5A genine etki ederek hipokampal hiperaktiviteyi baskılayabileceği öngörülmüştür (Shin vd., 2019). **SKF-96365**, TRP kanal ailesine ait olan TRPC1, TRPC3, TRPC4, TRPC5 ve TRPV2 alt tiplerinin inhibitörü olarak bilinmektedir. Bu kanalların regülasyonu, AH'de kalsiyum dengesizliği ve nöronal aşırı uyarılabilirliğin kontrol altına alınması açısından potansiyel bir hedef sunmaktadır (Tan, 2012). **KU-0063794** ve **WYE-354** mTOR kinazının seçici bir inhibitörüdür. mTOR sinyal yolunun inhibisyonu, AH'de nöronal dejenerasyon, protein birikimi ve otofaji bozuklukları gibi patolojik süreçlerin modülasyonu açısından terapötik potansiyel taşımaktadır (Xie, 2024). **Ouabain** ve **cinobufagin**, Na⁺/K⁺ ATPaz enzim kompleksinin alt birimlerini kodlayan ATP1A1, ATP1A2, ATP1A3, ATP1A4, ATP1B1 ve ATP1B2 genlerini hedef alan bir inhibitördür. Bu enzimin inhibisyonu, AH'de iyon dengesizliklerinin düzeltilmesi ve nöronal hiperaktivitenin modülasyonu açısından terapötik potansiyel taşımaktadır. **Proscillaridin A**, ATP1A1 gen ürününü hedef alan bir bileşiktir. Bu proteinin aktivitesi sinaptik bütünlüğün korunmasında önemli

rol oynamaktadır. Bu bağlamda, ATP1A1 üzerinden gerçekleşen düzenleyici etkiler, AH'de sinaptik disfonksiyonun giderilmesine yönelik potansiyel bir hedef olabilir. **Digoxin**, ATP1A1 ve ABCB1 gen ürünlerini hedef alan bir kardiyotonik glikozittir. ATP1A1 üzerinden Na^+/K^+ ATPaz aktivitesini inhibe ederek iyon dengesini etkilerken; ABCB1 üzerinden kan-beyin bariyerinde ilaç geçişini düzenleyici bir role sahiptir. Bu özellikleriyle digoxin, AH'de hem nöronal iyon homeostazının modülasyonu hem de farmakokinetik etkileşimler açısından önemli bir aday moleküldür (Petrushanko, 2016). **MK-212**, serotonin reseptörleri ailesinden HTR2A, HTR2B ve HTR2C alt tiplerine agonist olarak etki eden bir bileşiktir. Bu reseptörlerin aktivasyonu, AH'de görülen nöronal iletişim bozuklukları ve davranışsal semptomların modülasyonu açısından potansiyel terapötik etkiler sunmaktadır. Özellikle HTR2A reseptörüne yönelik agonist etkisi, kognitif işlevlerin desteklenmesinde önemli bir potansiyelle sahiptir (Eremin, 2023). **Parbendazole**, mikrotübül yapısında görev alan TUBB proteinini hedef alan bir antimitotik bileşiktir. Mikrotübül dinamiğinin düzenlenmesi, nöronal taşınım ve hücre iskeleti bütünlüğü açısından kritik öneme sahiptir. Bu doğrultuda, Parbendazole'un TUBB üzerinden etki göstererek AH'de gözlenen nöronal dejenerasyonu ve mikrotübül bozulmalarını önleyici potansiyelle sahip olduğu değerlendirilmektedir (Medina ve Avila, 2016).

2. MATERYAL ve YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Tez kapsamında gerçekleştirilen çalışmada, AChE, Proscillaridin A, Cinobufagin, Moricizine ve standart madde Takrin Sigma-Aldrich GmbH'den (Sternheim, Germany) satın alındı. Asetilkolintiyoiyodat, Parbendazol, BLDpharm'dan; KU-0063794 MedChemExpress'ten; SKF-96365, WYE-354, MK-212 HCl Adooq Bioscience'dan; Ouabain EDQM'den; DHEA ve Digoxin Tokyo Chemical Industry'den satın alındı.

2.1.2. Yararlanılan alet ve cihazlar

UV-VIS Spektrofotometre : Thermo Fisher Scientific

Derin dondurucular (-30 °C) : Vestel

pH metre : Hanna Instruments

Hassas terazi : Radwag

Otomatik pipetler : Eppendorf ve ISOLAB

Vorteks : Isolab

Manyetik karıştırıcı : Daihan Scientific

UV-Spektrofotometre küveti : 1 cm³'lük Kuartz Küvet

2.1.3. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanması

Araştırma süresince asetilkolinesteraz enziminin aktivite ölçümlerinde kullanılan çözeltilerin kullanım yerleri ve hazırlanma şekilleri aşağıda belirtilmiştir.

pH 8 olan ve 1 M'lık Tris-HCl Tamponunun Hazırlanması: 30,27 g Tris ve 0,370 g EDTA 200 mL saf suda çözündü. pH metre kullanılarak pH'sı 8'e ayarlandı ve son hacim saf su ile 250 mL'ye tamamlanarak hazırlandı.

10 mM'lık Asetiltiyokoliniyodat Çözeltisinin Hazırlanması: Alüminyum folyo kaplı bir behere 0,145 g Asetiltiyokoliniyodat alındı ve 50 mL saf suda çözünerek hazırlandı.

10 mM'lık DTNB (5,5'-Ditiyo-bis(2-Nitrobenzoik Asit) Çözeltisinin Hazırlanması: Alüminyum folyo kaplı bir behere 0,01 g DTNB ve 0,5 g sodyum sitrat alındı 50 mL destile suda çözöldü.

Çalışmada değeriendirilen tüm bileşikler, 0.001 mg/mL son konsantrasyonda hazırlanmış ve çözücü olarak Dimetilsülfoksit kullanılmıştır.

2.2. Yöntem

Çalışmanın yöntemi hesaplamalı ve deneysel olarak ikiye ayrılmaktadır.

2.2.1. Hesaplamalı yöntemler

Teknolojideki son gelişmeler, yüksek boyutlu pertürbasyonlu veri setlerinin oluşturulmasına yol açmıştır. Çoklu analizler, hücreler, doz ve tedavi süresi koşulları arasında entegre edilen devasa verilerin ele alınabilmesi için yeterli hesaplama uzmanlığı ile desteklenmesi gerekmektedir. Bu tür ihtiyaçları karşılamak amacıyla cMap (Paull vd., 1989; Shoemaker, 2006; Weinstein vd., 1997), gen ifadesi kullanılarak oluşturulan pertürbasyonel veri kümelerinin analizi için clue.io adı verilen bulut tabanlı bir yazılım geliştirmiştir. cMAP, gen ekspresyonu profillerini kullanarak biyolojik sistemlerin ve hastalıkların anlaşılması için kullanılan bir veritabanı ve analiz aracıdır. Gen ekspresyonu verilerini kullanarak ilaçlar, genetik durumlar ve hastalıklar arasındaki ilişkileri haritalar (Lv vd., 2018). Bu, ilaç geliştirme süreçlerini hızlandırabilir ve hastalık mekanizmalarının

daha iyi anlaşılmasına katkıda bulunabilir. clue.io (<https://CLUE.io/>), cMAP'in devamı olarak geliştirilmiş ve gen ekspresyonu verilerini kullanarak ilaç etkileşimlerini ve biyolojik sistemler arasındaki bağlantıları anlamak amacıyla tasarlanmış bir platformdur (Subramanian, 2017). Gen ekspresyon imzalarını muhtemelen tersine çevirebilecek küçük molekülü ilaçları bulmak için kullanılmaktadır. Bu işlem, öncelikle AH'de yukarı regüle edilmiş ve aşağı regüle edilmiş genlerin ayrılmasıyla gerçekleştirilmektedir. Potansiyel yeniden kullanılabilir bileşikler tespit etmek ve AH genlerinin gen ekspresyon imzası ile cMap'teki tüm imzalar arasındaki pozitif ve negatif bağlantıları bulmak için clue.io platformunun "Query" aracı kullanılmıştır. cMap -100 ila +100 arasında değişen bir skor vererek hastalıkla ilişkili sorgulanan imza ile ilaç pertürbasyonu arasındaki bağlantıyı aydınlatmaktadır.

İlk aşamada hesaplamalı ilaç yeniden konumlandırma çalışmaları için National Center for Biotechnology Information Gene Expression Omnibus (NCBI GEO) veritabanı kullanılarak AH'ye ait gen ekspresyon profilleri elde edildi ve cMAP'e (Connectivity Map) bağlı olarak geliştirilmiş yeniden konumlandırma platformu olan clue.io ile aday ilaçlar (moleküller) belirlendi. NCBI GEO, gen ekspresyonu profilleri ve diğer genomik veri setlerini depolayan bir veritabanıdır (Barrett vd., 2011). GEO'da depolanan veriler, gen ekspresyonu, DNA metilasyonu ve diğer genomik bilgileri içerebilir. Bu veri setleri genellikle farklı hücre tipleri, hastalıklar veya koşullar altında elde edilmiş genomik bilgileri temsil eder (Clough ve Barrett, 2016).

AH için bir ilacın yeniden konumlandırılarak potansiyelini değerlendirmek amacıyla GEO veritabanında 'Alzheimer' keyword olarak girilip data set *Homo sapiens* olarak sınırlandırıldı. Veritabanında bulunan veri seti içinden en fazla örnek ve hastanın bulunduğu set seçilerek hastalığın gen ekspresyon imzaları indirildi (GSE48350). GSE48350 olarak adlandırılan AH ile ilgili gen ekspresyon veri seti GEO'dan indirildi. GSE48350, (Astarita vd., 2010; Berchtold vd., 2008; Cribbs vd., 2012)'te sunulan 80 Alzheimer hastası ve 173 sağlıklı kontrolden (20-99 yaş arası) oluşmaktadır. AH vakaları; hipokampus, entorhinal korteks, üst frontal korteks, post-merkezi girus olmak üzere 4 beyin bölgesinden mikrodizi verilerini içermektedir. Bu AH vakaları, GSE11882'ye dahil edilen kontrol vakalarıyla (genç ve yaşlı) eşzamanlı olarak işlenmiştir (GSE11882 veri seti, yalnızca normal kontrol beyinlerinden verileri içerir). Veri setine kontrol ve AH verilerinin dahili; nöropatolojik tanı (AH için CERAD ve NIA/Reagan Institute kriterleri

baz alındı), hafıza şikayetleri, MMSE ve CDR (Clinical Dementia Rating) kriterleri üzerinden değerlendirilmiştir. Ayrıca veri seti; erkek-kadın sayısı ve ApoE genotipi açısından dengeli data içermektedir. Ortalama ölüm sonrası aralık $5,0 \pm 2,8$ saattir.

Veri setinin gen ekspresyonu analizini gerçekleştirmek için GEO2R (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/geo2r/>) aracı kullanılmıştır. Tüm normal numuneler 'kontrol' olarak, hastalık numuneleri ise 'AH' olarak adlandırıldı. GEO2R'den işlenen dosyalar, Microsoft Excel'de daha ayrıntılı analiz için indirildi. Analizde, düzeltilmiş (adj.) p-değeri 0,05'ten küçük veya eşit olan genler ve ayrıca logFC kat değişim değeri 1'den büyük, eşit veya -1'den küçük veya eşit olan genler seçildi. Bu genler yukarı regüle edilmiş ve aşağı regüle edilmiş olarak ikiye ayrıldı. GEO'da hastalık durumunda yukarı ve aşağı regüle edilmiş gen ekspresyon imzaları elde edildi.

Gen ekspresyonu verilerinde logFC değeri, bir genin ekspresyonunun iki durum arasındaki kat değişimini logaritmik olarak ölçen istatistiksel bir parametredir. logFC değeri pozitifse genin ifadesi artar; negatif ise azalmış demektir. logFC değeri 0 ise genin ifadesi değişmemiştir. logFC değerinin 1'den büyük veya eşit ya da -1'den küçük veya eşit olması, gen ifadesinin en az 2 kez değiştiği anlamına gelir. Bu genin biyolojik olarak önemli olduğunu gösterir. logFC değerleri 1 ile -1 arasında olan genler, ifadede çok az değişiklik gösterdiğinden veya hiç değişiklik göstermediğinden biyolojik olarak önemsiz kabul edilir. Bu nedenle gen ekspresyon analizlerinde logFC değerine göre filtreleme yapılır ve sadece 1'den büyük veya eşit veya -1'den küçük veya eşit genler seçilir. Bu sayede analizdeki gereksiz verilerin elenmesi ve daha anlamlı sonuçların elde edilmesi mümkün olmaktadır (Kırboğa ve Rudrapal, 2024).

Düzeltilmiş (adj.) p-değeri, çoklu karşılaştırmalar yaparken tip I hata olasılığını kontrol etmek için kullanılır. Tip I hata, geçerli bir hipotezin yanlışlıkla reddedilmesi anlamına gelir. Çoklu karşılaştırma yapıldığında I. tip hata olasılığı artar. Bu nedenle p değerlerinin düzeltilmesi için bazı yöntemler kullanılmaktadır. Düzeltilmiş (adj.) p-değeri değerinin 0,05'ten küçük veya ona eşit seçilmesinin nedeni aile içi anlamlılık düzeyini belirlemektir. Aile içi anlamlılık düzeyi, bir ailedeki tüm karşılaştırmalar (hipotez testleri grubu) için tip I hata olasılığını belirler. Düzeltilmiş (adj.) p-değeri 0,05'ten küçük veya ona eşitse karşılaştırma anlamlıdır ve sıfır hipotezi reddedilebilir. Düzeltilmiş p değeri 0,05'ten büyükse ve sıfır hipotezi kabul edilebiliyorsa karşılaştırma anlamsızdır. Düzeltilmiş (adj.)

p-değerinin 0,05'ten küçük veya 0,05'e eşit seçilmesi istatistiksel olarak yaygın bir uygulamadır ve %95'lik bir güven aralığına karşılık gelir (Kırboğa ve Rudrapal, 2024).

Hedeflenen hastalıkta gen ekspresyon imzalarını tersine çevirebilecek potansiyel ilaçlar ilaç yeniden konumlandırma analizi ile clue.io platformu kullanılarak belirlendi. Analiz, tanımlanan önemli genlerin listesi clue.io sorgulama aracına girilerek gerçekleştirildi. İlk veri çıkarma ve veri analizi tamamlandıktan sonra, veritabanı araması gerçekleştirilmiştir. Bu analizle potansiyel ilaçlar tahmin edilmiştir. Özetle yöntemin ilk kısmı sırasıyla, GEO'dan elde edilen gen ekspresyon verilerinin analizi, ardından gen listesine dayalı olarak veri tabanı araştırmasını içermektedir. İlk aşamada hesaplamalı yöntemle yapılan ön çalışma sonucu sırasıyla istatistiksel olarak anlamlı olan aday ilaçlar **Tablo 2.1**'deki gibidir. Bu moleküller çalışma kapsamında AH tedavisi için araştırılmıştır.

Tablo 2.1

Tez çalışması kapsamında araştırılan aday moleküller

Araştırılan Moleküller	
Dehidroizoadosteron (DHEA)	Digoxin
Moracizine	WYE-354
SKF-96365	MK-212
KU-0063794	Parbendazole
Ouabain	Cinobufagin
Proscillaridin	

2.2.2. Spektroskopik Yöntemler

Çalışmanın ikinci aşamasında ilk aşamada belirlenen ilaçlar AChE inhibisyonu yoluyla *in vitro* olarak spektrofotometrik yöntemle değerlendirildi. Enzimlerin aktivitelerinin %50'sini inhibe eden ilaç konsantrasyonları (IC_{50}) hesaplanıp K_I değerleri Lineweaver-Burk grafiklerinden belirlendi. Elde edilen sonuçlar çalışmada standart olarak kullanılan takrin ile karşılaştırıldı. Bu yöntemle göre AChE aktiviteleri üzerine potansiyel ilaçların inhibitör etkileri spektrofotometrik ölçüm yapılarak belirlendi.

Metodun prensibi; AChE'nin parçalanma ürünlerinin DTNB (5,5-dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid) ile sarı renkli bir bileşik oluşturmasına dayanmaktadır. AChE, asetilkolinin hidrolizini katalizleyerek parçalanma ürünleri olan tiyokolin ve asetat oluşturur. İnhibisyon çalışmaları sırasında kullanılan DTNB'nin parçalanma

ürünlerinden olan tiyokolin ile etkileşimi sonucu sarı renkli bir bileşik olan 5-tiyo-2-nitrobenzoik asit oluşur. Oluşan renkli bileşiğin renk şiddeti 412 nm’de ölçülür. Numune ve kör küvetlerinin 412 nm’de, başlangıçta ve 5. dakikadaki absorbansları ölçülür (Ellman, George L. vd., 1961). Yöntemin prensibi **Şekil 2.1**’de gösterilmiştir. Ölçüm için kullanılan 1 mL’lik kuvartz küvetlerin miktarları ortama katılım sırasına göre **Tablo 2.2**’de gösterilmiştir.

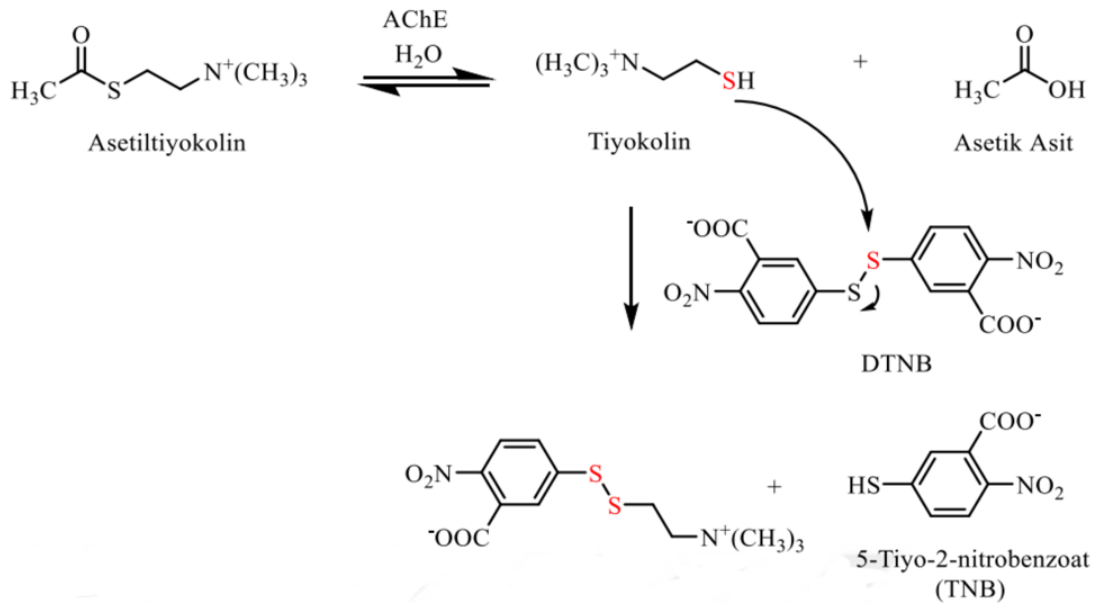
Tablo 2.2

Küvet içeriği

Kullanılan Maddeler	Kontrol tüpü (µL)	Numune Tüpü (µL)
Tris HCl	100	100
Saf su	790	790-x
DTNB	50	50
Asetiltiyokolin iodid	50	50
Numune	0	x
Enzim	10	10
Toplam hacim	1000	1000

Şekil 2.1

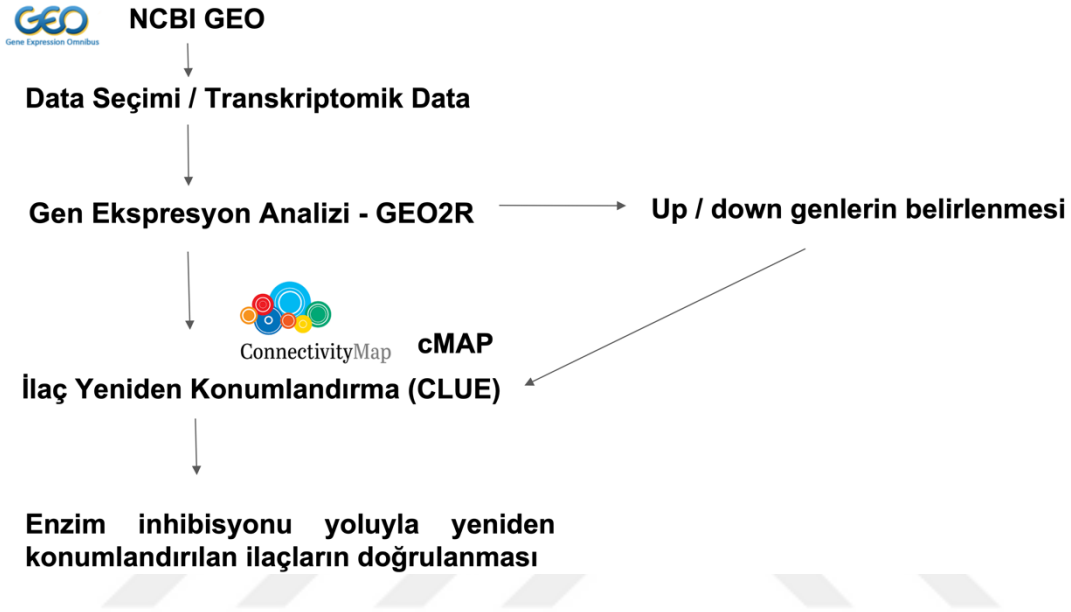
Asetilkolinesteraz yönteminin prensibi



Elde edilen sonuçlardan hesaplanan IC_{50} ve K_I değerleri ile standart AChE inhibitörü reaktifin değerleri karşılaştırılarak, aday moleküllerin AH tedavisi için potansiyeli değerlendirildi. **Şekil 2.2**'de tez çalışmasının iş akışı verilmiştir.

Şekil 2.2

Tez çalışmasının iş akışı



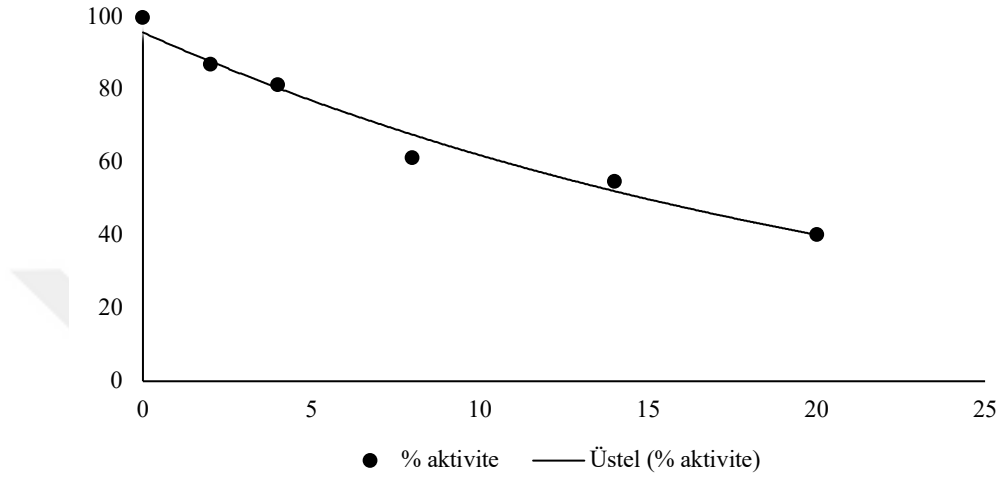
3. BULGU ve SONUÇLAR

3.1. AChE enziminin aktiviteleri üzerine aday bileşiklerin inhibisyon etkilerinin belirlenmesiyle ilgili yapılan kinetik çalışmalara ait sonuçlar

Doygun substrat konsantrasyonlarında AChE enzimi için fenolik bileşiklerin inhibisyon etkileri incelendi. Ölçümler Ellman ve arkadaşları tarafından geliştirilen yönteme göre yapıldı (Ellman, G. L. vd., 1961). İnhibisyon etkisi gösteren her molekül için Aktivite (%) [I] ve K_I grafiği çizildi. Çizilen grafiklerden her molekül için K_I değerleri hesaplandı.

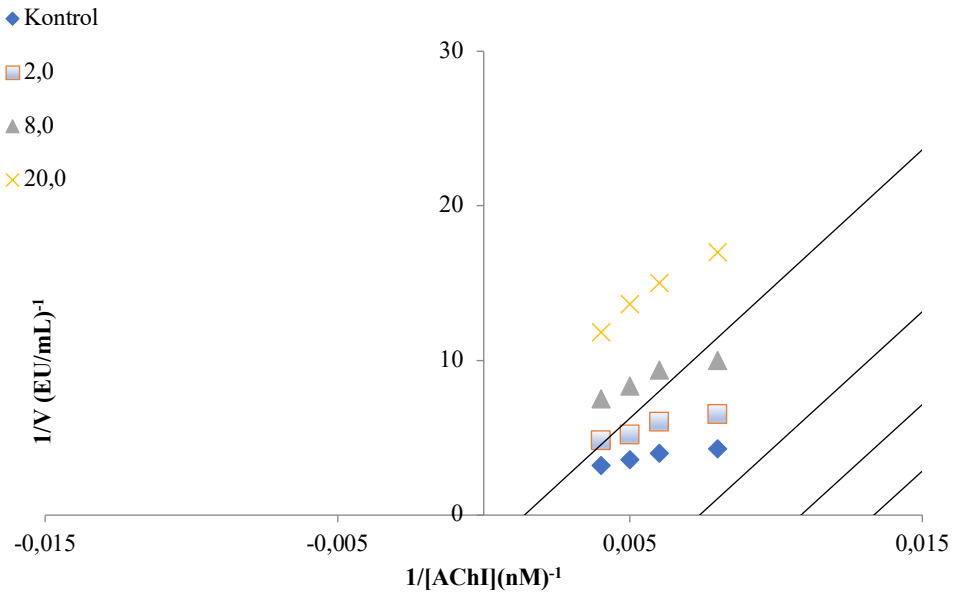
Şekil 3.1

AChE enziminin Asetilkolinesteraz yöntemiyle ile çalışılan beş farklı Moricizine konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%) - [Moricizine] grafiği



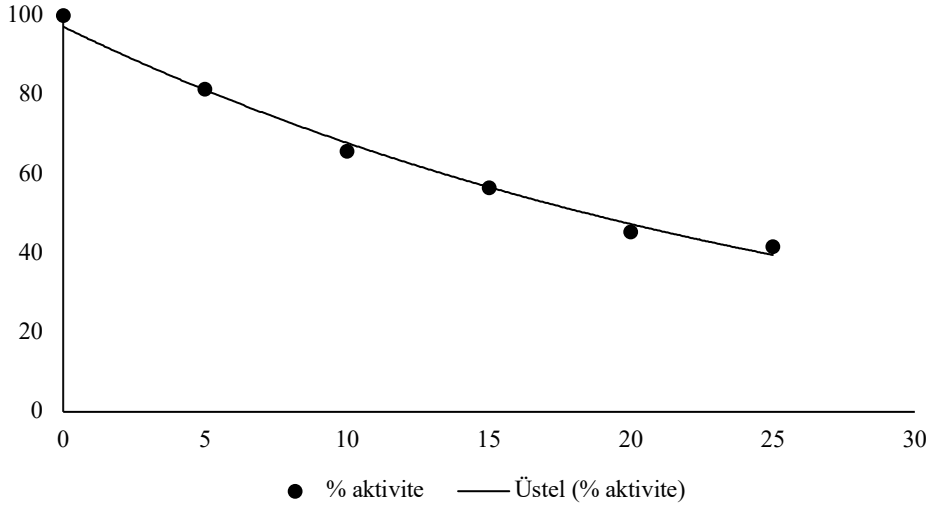
Şekil 3.2

AChE enzimi kullanılarak beş farklı substrat konsantrasyonu ve üç farklı Moricizine konsantrasyonunda çizilen Lineweaver-Burk grafiği



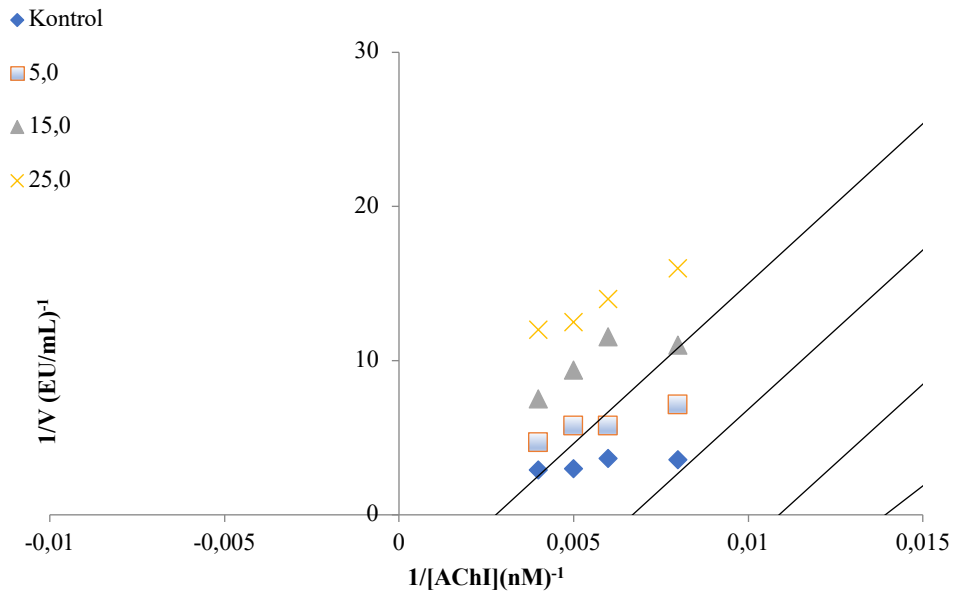
Şekil 3.3

AChE enziminin Asetilkolinesteraz yöntemiyle ile çalışılan beş farklı Parbendazol konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[Parbendazol] grafiği



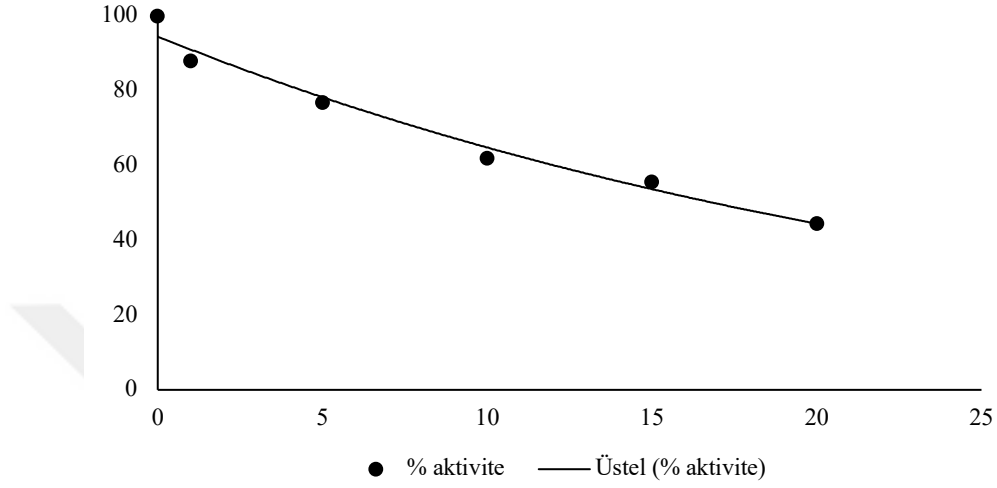
Şekil 3.4

AChE enzimi kullanılarak beş farklı substrat konsantrasyonu ve üç farklı Parbendazol konsantrasyonunda çizilen Lineweaver-Burk grafiği



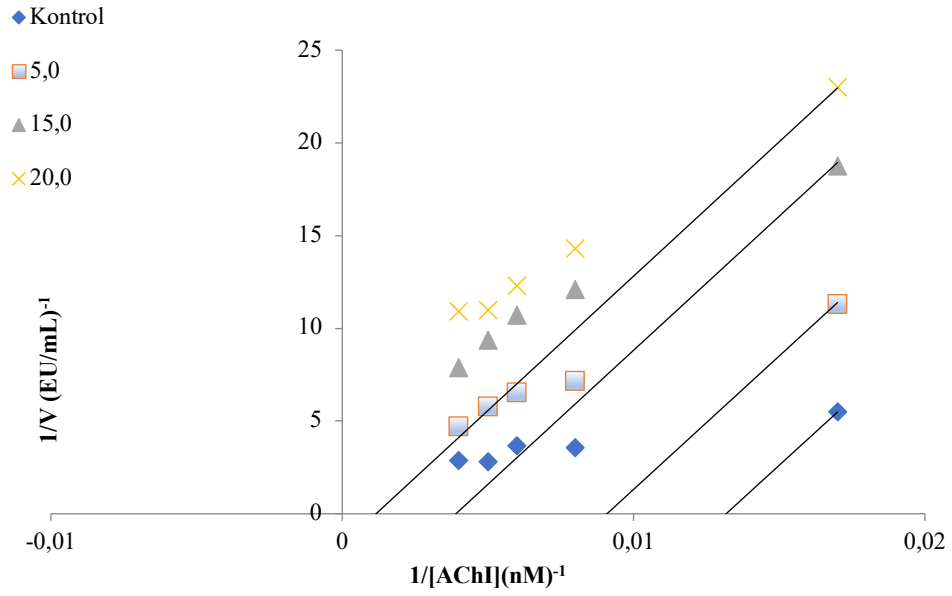
Şekil 3.5

AChE enziminin Asetilkolinesteraz yöntemiyle ile çalışılan beş farklı Ouabain konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%) - [Ouabain] grafiği



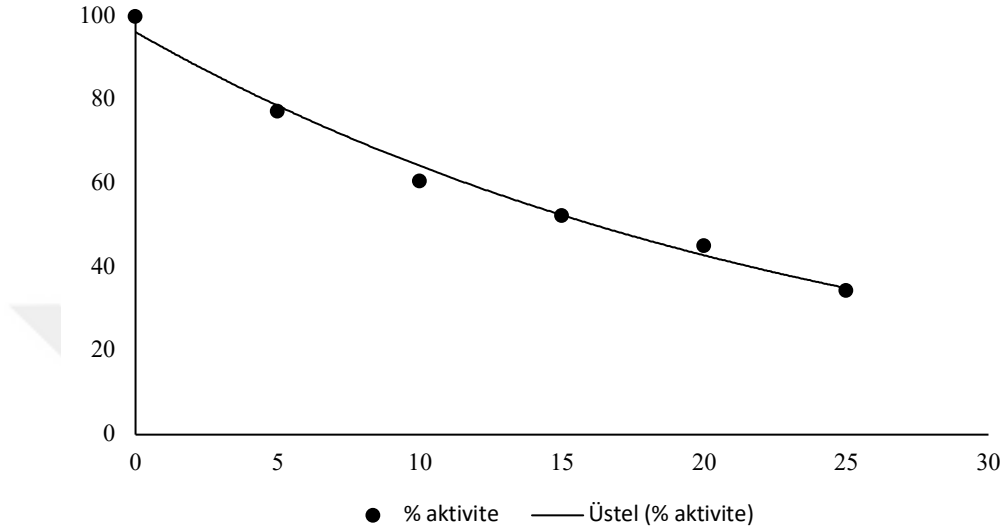
Şekil 3.6

AChE enzimi kullanılarak beş farklı substrat konsantrasyonu ve üç farklı Ouabain konsantrasyonunda çizilen Lineweaver-Burk grafiği



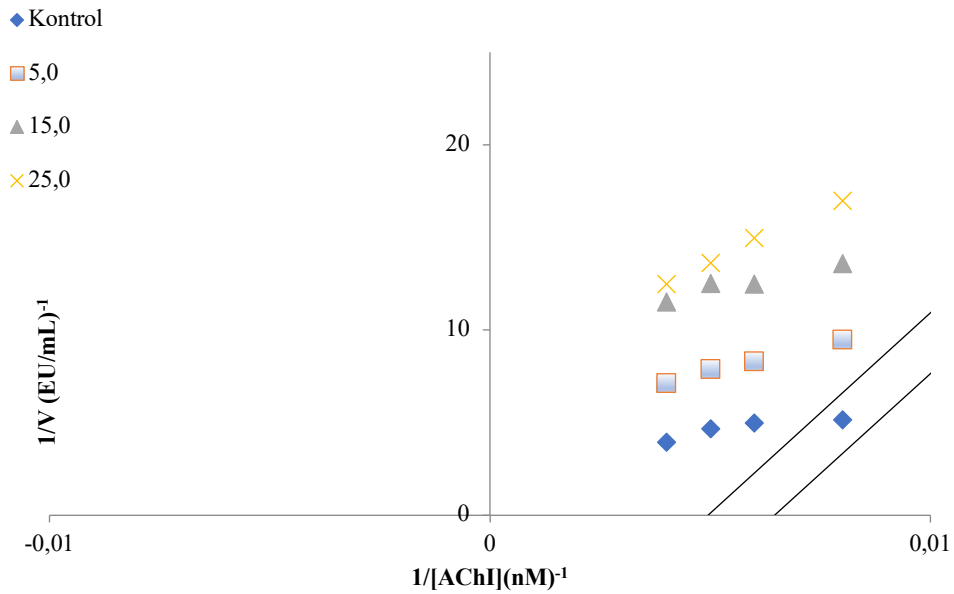
Şekil 3.7

AChE enziminin Asetilkolinesteraz yöntemiyle ile çalışılan beş farklı Cinobufagin konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[Cinobufagin] grafiği



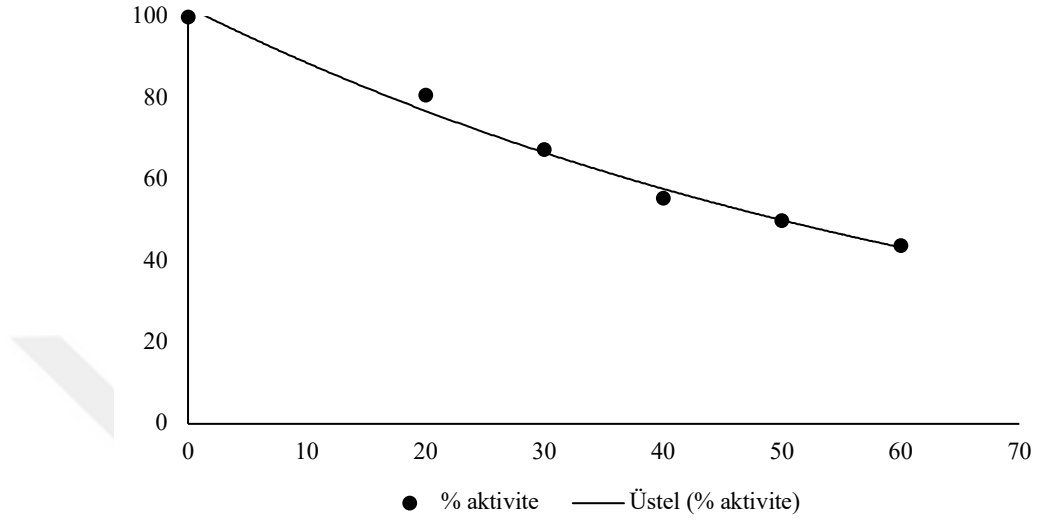
Şekil 3.8

AChE enzimi kullanılarak beş farklı substrat konsantrasyonu ve üç farklı Cinobufagin konsantrasyonunda çizilen Lineweaver-Burk grafiği



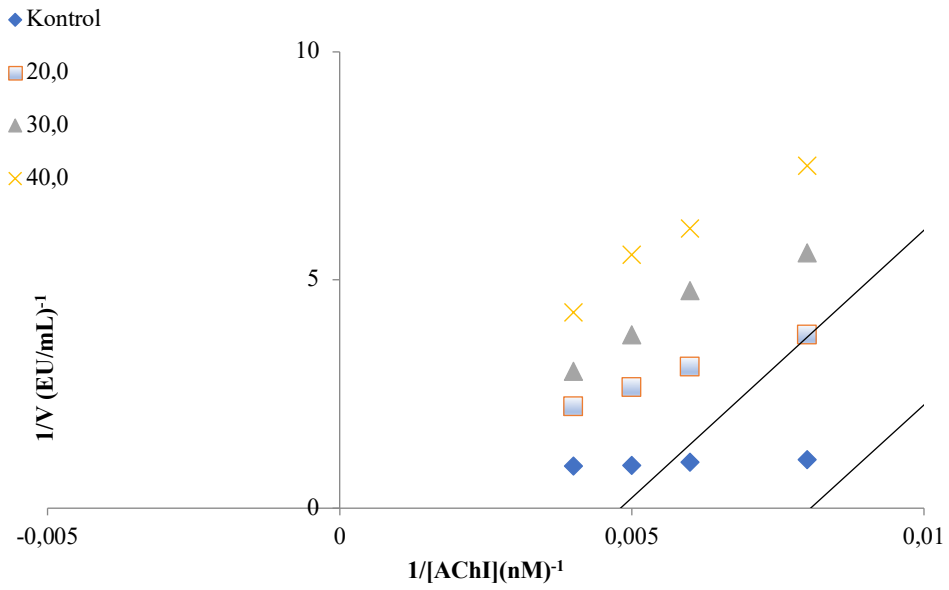
Şekil 3.9

AChE enziminin Asetilkolinesteraz yöntemiyle ile çalışılan beş farklı WYE-354 konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%) - [WYE-354] grafiği



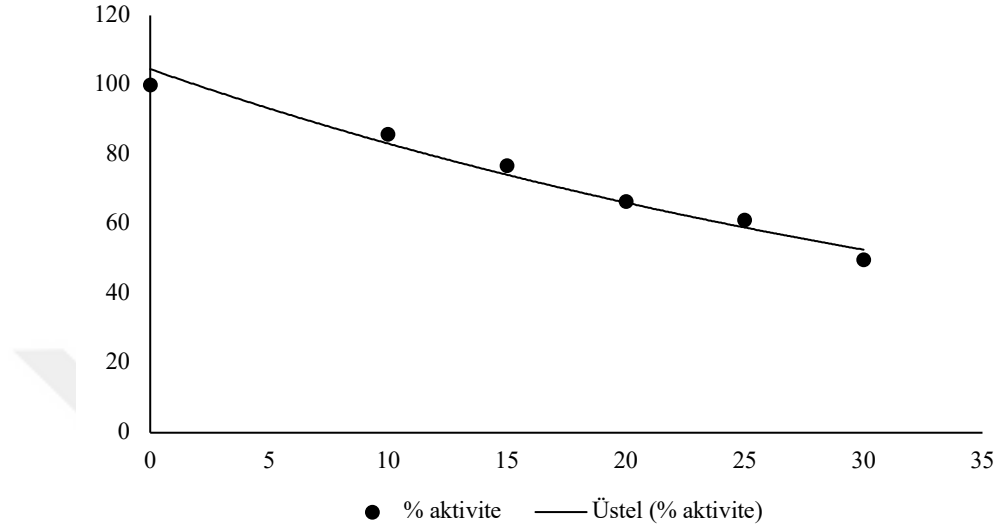
Şekil 3.10

AChE enzimi kullanılarak beş farklı substrat konsantrasyonu ve üç farklı WYE-354 konsantrasyonunda çizilen Lineweaver-Burk grafiği



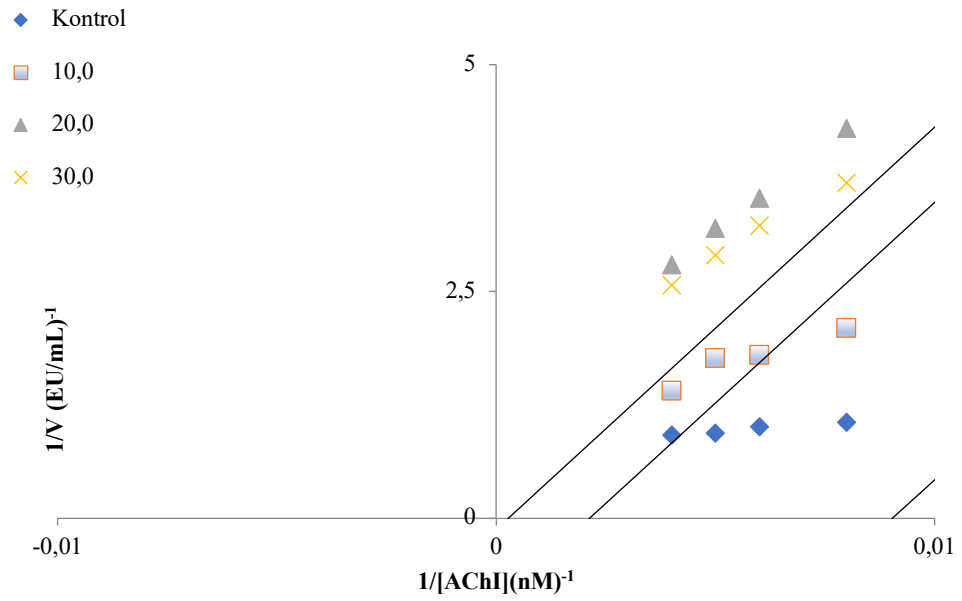
Şekil 3.11

AChE enziminin Asetilkolinesteraz yöntemiyle ile çalışılan beş farklı SKF-96365 konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%) - [SKF-96365] grafiği



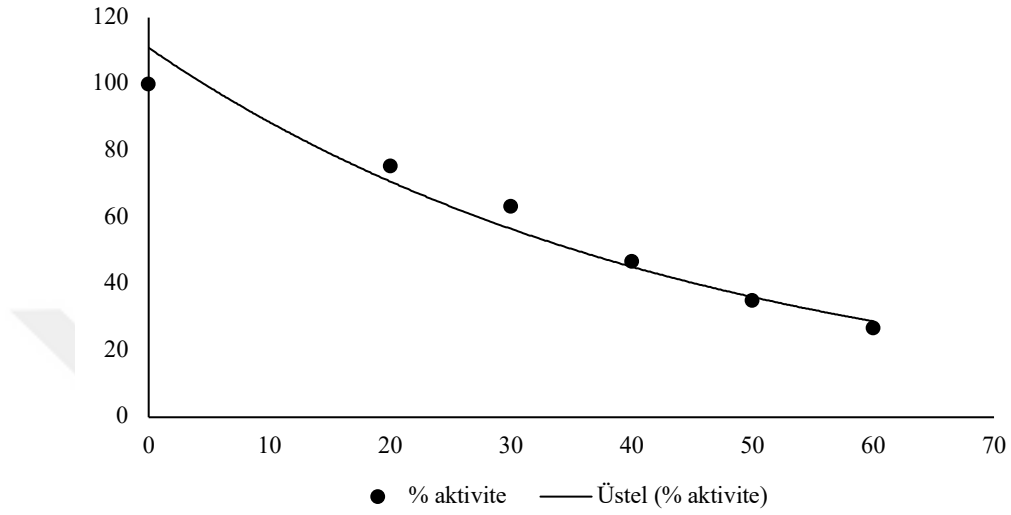
Şekil 3.12

AChE enzimi kullanılarak beş farklı substrat konsantrasyonu ve üç farklı SKF-96365 konsantrasyonunda çizilen Lineweaver-Burk grafiği



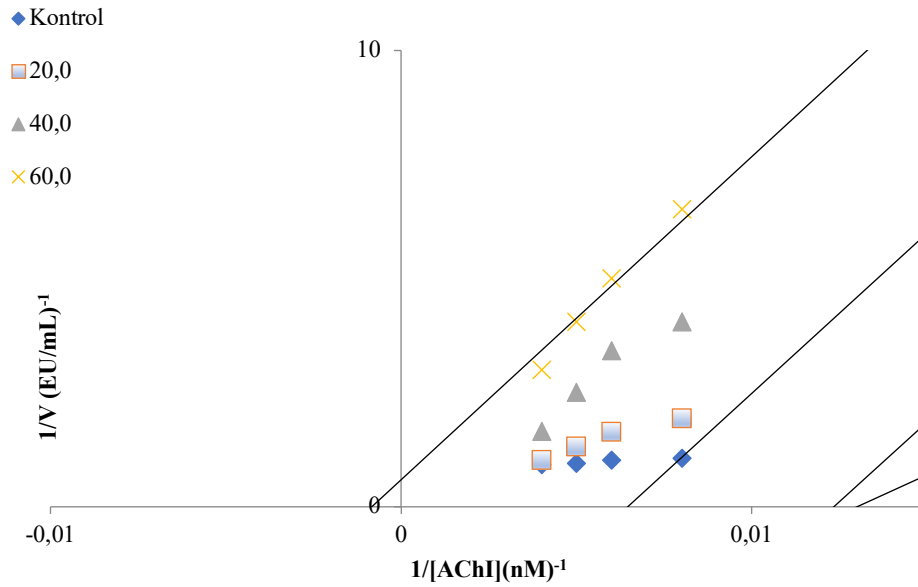
Şekil 3.13

AChE enziminin Asetilkolinesteraz yöntemiyle ile çalışılan beş farklı Proscillaridin A konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[Proscillaridin A] grafiği



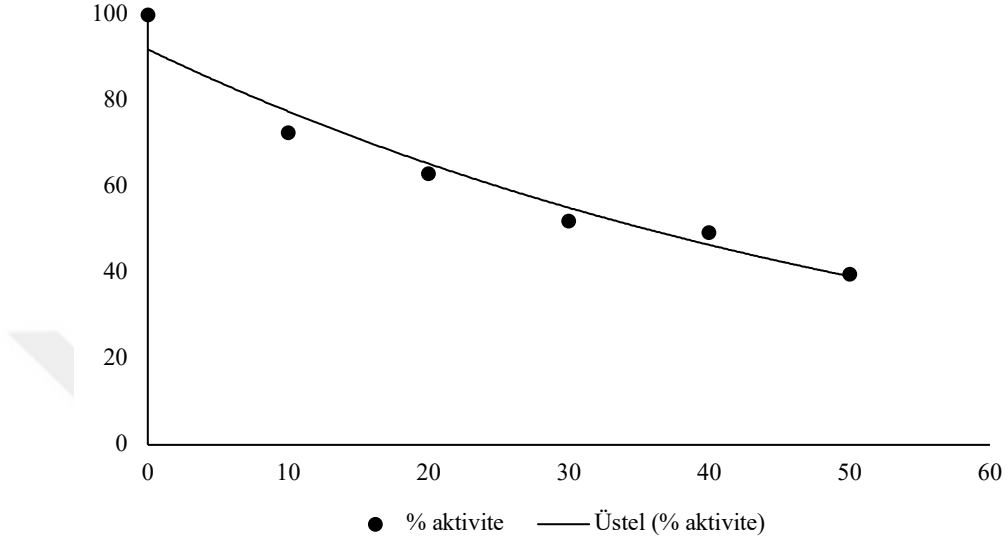
Şekil 3.14

AChE enzimi kullanılarak beş farklı substrat konsantrasyonu ve üç farklı Proscillaridin A konsantrasyonunda çizilen Lineweaver-Burk grafiği



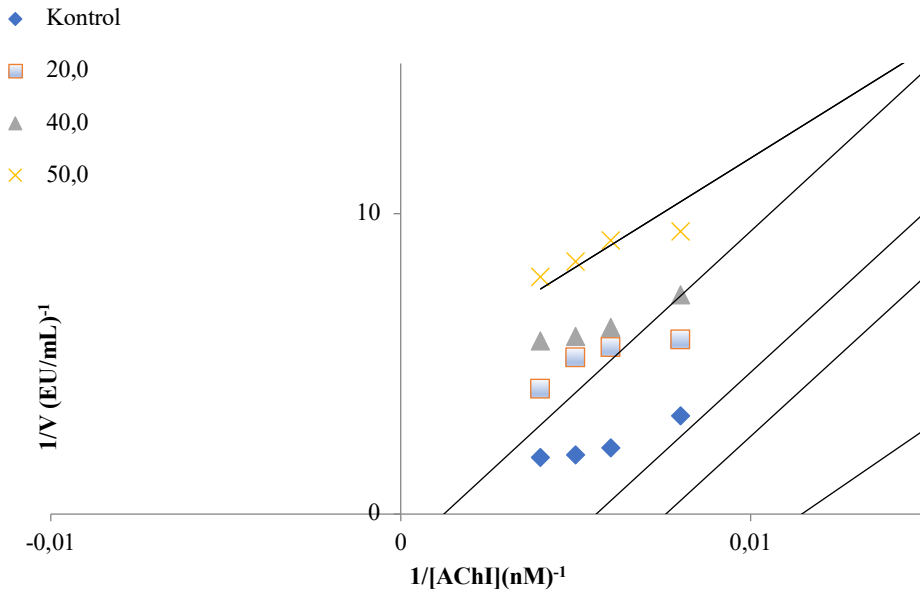
Şekil 3.15

AChE enziminin Asetilkolinesteraz yöntemiyle ile çalışılan beş farklı Digoxin konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%) - [Digoxin] grafiği



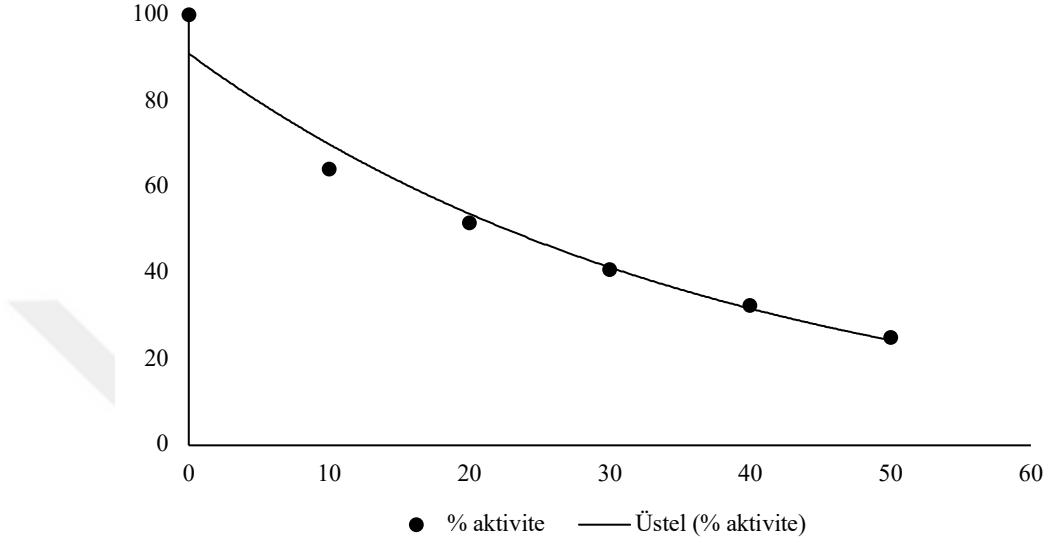
Şekil 3.16

AChE enzimi kullanılarak beş farklı substrat konsantrasyonu ve üç farklı Digoxin konsantrasyonunda çizilen Lineweaver-Burk grafiği



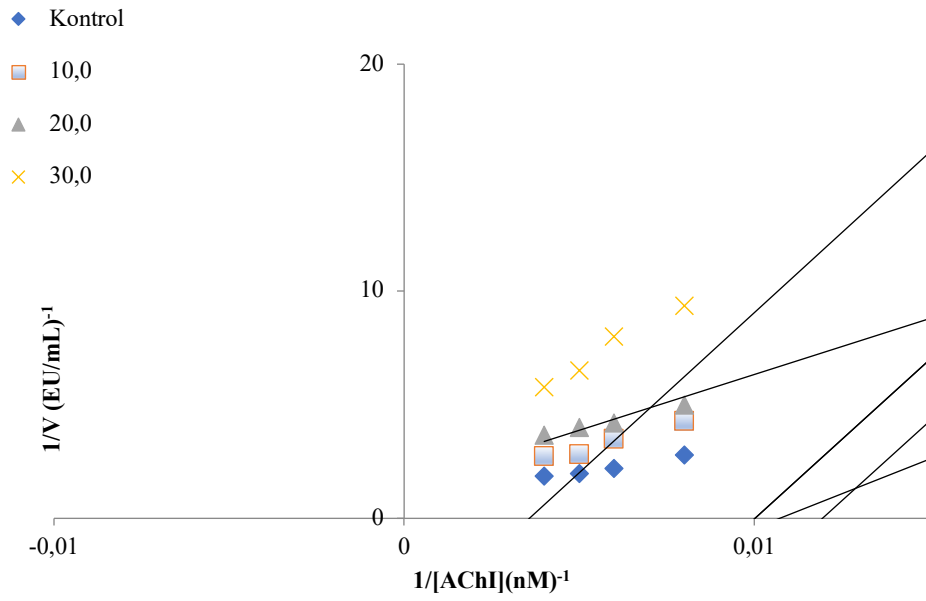
Şekil 3.17

AChE enziminin Asetilkolinesteraz yöntemiyle ile çalışılan beş farklı MK-212 konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[MK-212] grafiği



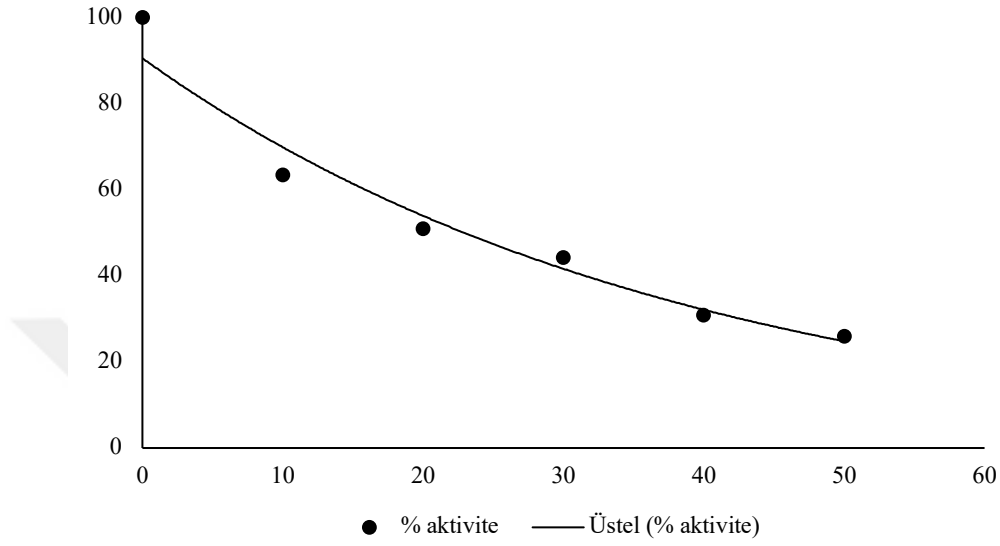
Şekil 3.18

AChE enzimi kullanılarak beş farklı substrat konsantrasyonu ve üç farklı MK-212 konsantrasyonunda çizilen Lineweaver-Burk grafiği



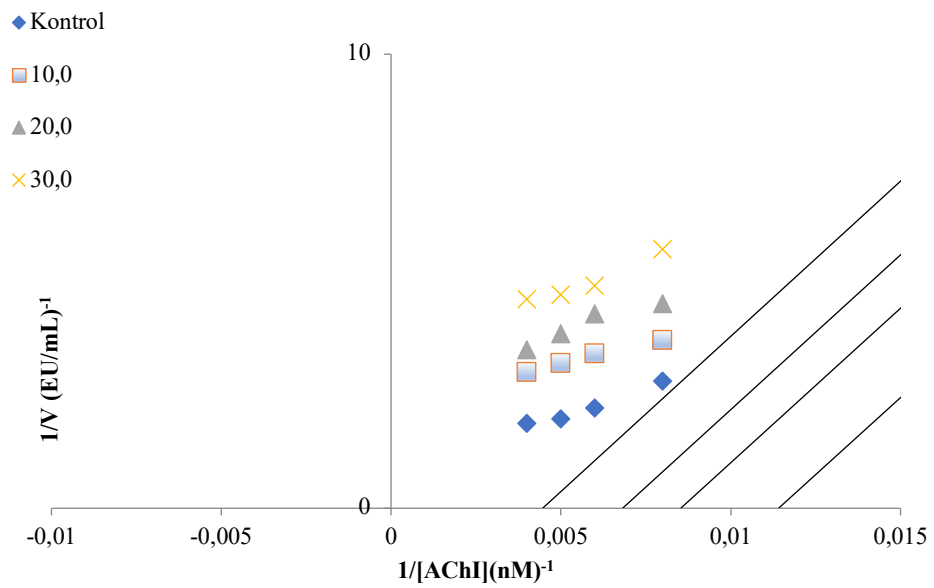
Şekil 3.19

AChE enziminin Asetilkolinesteraz yöntemiyle ile çalışılan beş farklı DHEA konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[DHEA] grafiği



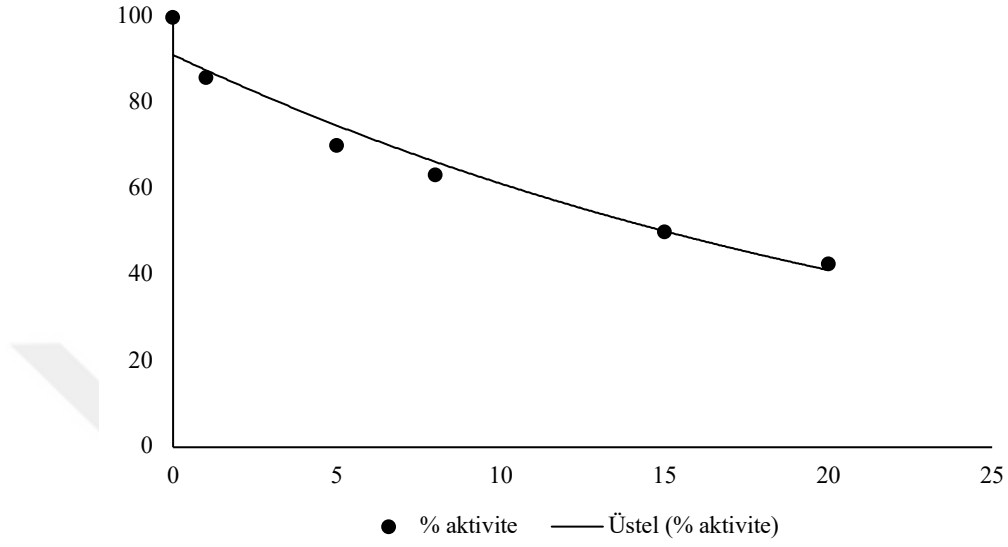
Şekil 3.20

AChE enzimi kullanılarak beş farklı substrat konsantrasyonu ve üç farklı DHEA konsantrasyonunda çizilen Lineweaver-Burk grafiği



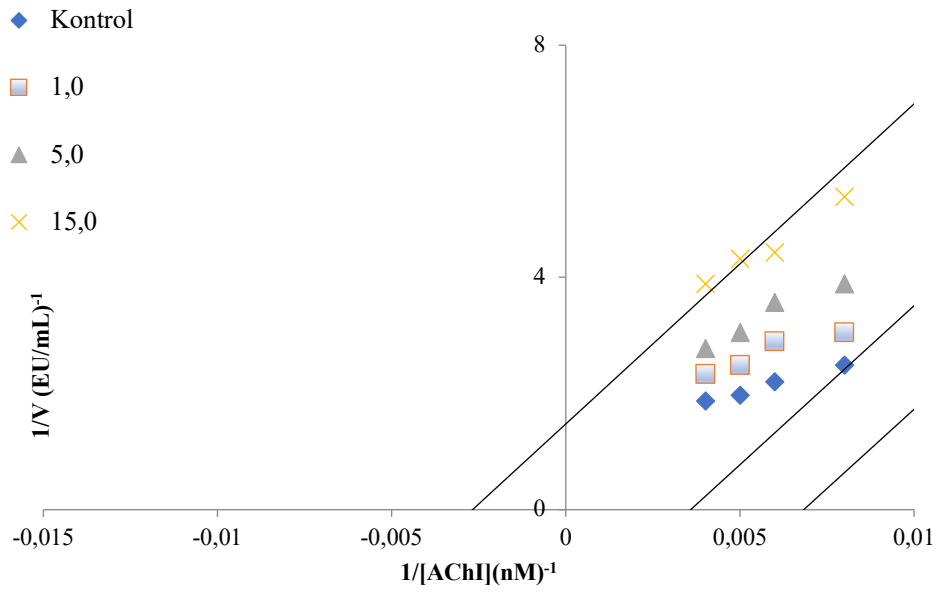
Şekil 3.21

AChE enziminin Asetilkolinesteraz yöntemiyle ile çalışılan beş farklı KU-0063794 konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[KU-0063794] grafiği



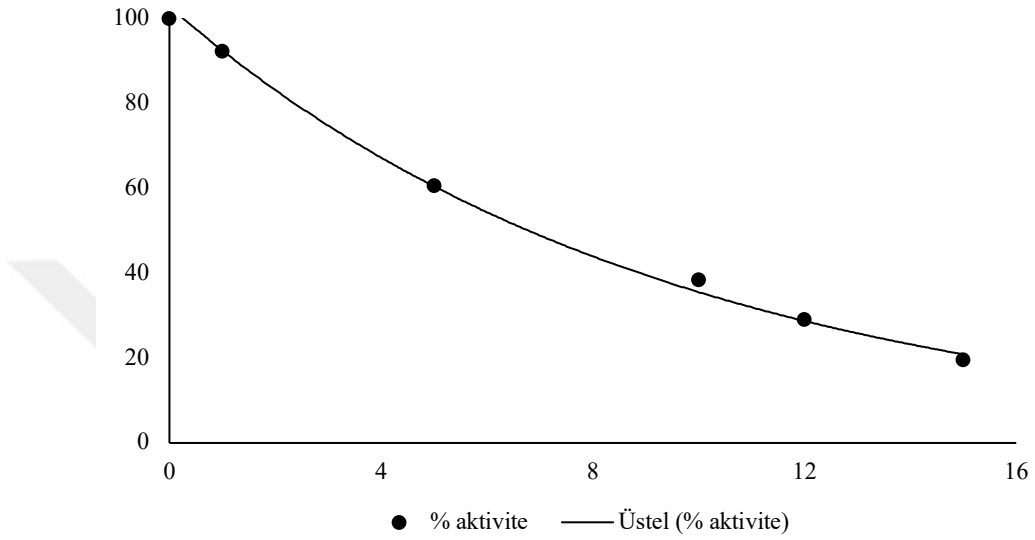
Şekil 3.22

AChE enzimi kullanılarak beş farklı substrat konsantrasyonu ve üç farklı KU-0063794 konsantrasyonunda çizilen Lineweaver-Burk grafiği



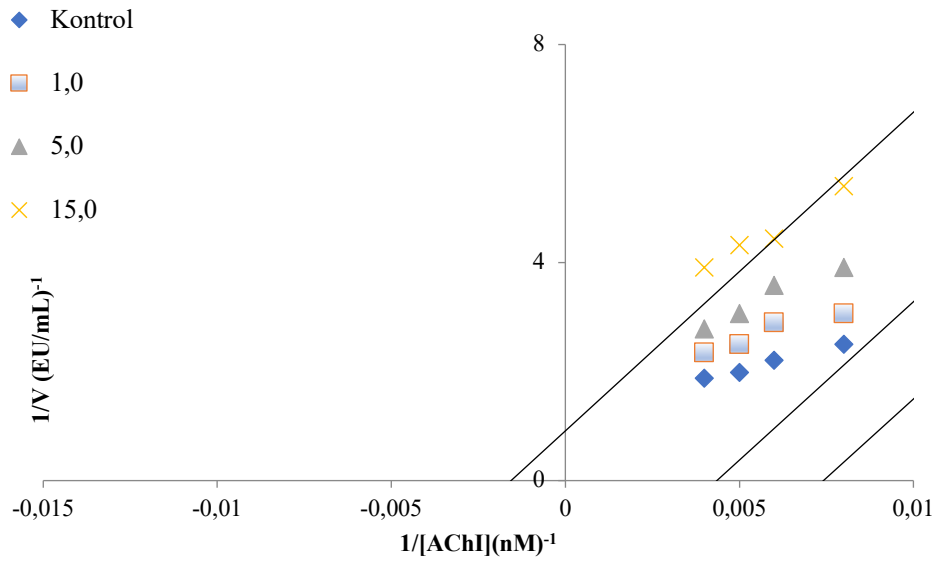
Şekil 3.23

AChE enziminin Asetilkolinesteraz yöntemiyle ile çalışılan beş farklı Takrin konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%) - [Takrin] grafiği



Şekil 3.24

AChE enzimi kullanılarak beş farklı substrat konsantrasyonu ve üç farklı Takrin konsantrasyonunda çizilen Lineweaver-Burk grafiği



Tablo 3.1*Aday bileşiklerin IC₅₀ ve K_I değerleri ile inhibisyon türleri*

Bileşikler	AChE				
	IC ₅₀ (nM)	R ²	K _I (nM)	R ²	<i>Inhibisyon tipi</i>
Moricizine	37,696	0,974	19,508 ± 1,562	0,994	Yarışmasız
Parbendazole	77,844	0,993	123,164 ± 92,915	0,979	Yarışmasız
Ouabain	31,181	0,976	15,473 ± 0,351	0,976	Yarışmasız
Cinobufagin	39,141	0,989	19,278 ± 3,241	0,990	Yarışmasız
WYE-354	99,893	0,988	18,177 ± 3,108	0,987	Yarışmasız
SKF-96365	74,781	0,974	53,340 ± 8,230	0,992	Yarışmasız
Proscillaridin A	59,360	0,961	8,381 ± 0,376	0,978	Yarışmalı
Digoxin	52,194	0,955	22,840 ± 4,329	0,958	Yarışmasız
MK-212	113,134	0,972	32,317 ± 6,747	0,984	Yarışmalı
DHEA	92,225	0,963	74,928 ± 8,499	0,985	Yarışmasız
KU-0063794	37,215	0,955	8,065 ± 4,700	0,979	Yarışmalı
Takrin	33,052	0,998	7,177 ± 4,429	0,992	Yarışmalı

Araştırılan bileşikler 31,181 nM-113,134 nM (Takrin: 33,052 nM) arasında IC₅₀ değerleri ve 8,065±4,700 nM - 123,164±92,915 nM (Takrin: 7,177±4,429) arasında K_I değerleri göstermiştir. Bileşiklerin IC₅₀ ve K_I değerleri **Tablo 3.1**' de verilmiştir. IC₅₀ değerlerine göre değerlendirildiğinde en aktif molekülden başlayarak sıralama şu şekildedir; ouabain, KU-0063794, moricizine, cinobufagin, digoxin, proscillaridin A, SKF-96365, parbendazole, DHEA, WYE-354, MK-212. Molekülün enzime olan afinitesi açısından değerlendirildiğinde (K_I değerleri) ise en yüksekten düşüğe doğru sıralama şekildedir; KU-0063794, proscillaridin A, ouabain, WYE-354, cinobufagin, moricizine, digoxin, MK-212, SKF-96365, DHEA, parbendazole.

4. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında, AH tedavisi için terapötik potansiyel taşıyan bileşiklerin belirlenmesine yönelik hesaplamalı ve deneysel olmak üzere çift aşamalı bir yaklaşım benimsenmiştir. İlk aşamada, NCBI GEO veritabanı ve clue.io platformu kullanılarak hastalıkla ilişkili gen ekspresyon imzalarının tersine çevrilme potansiyeline göre ilaç yeniden konumlandırma çalışması gerçekleştirilmiştir. İkinci aşamada ise, seçilen

bileşiklerin AChE enzimi üzerindeki inhibisyon etkileri Ellman yöntemi ile değerlendirilmiş ve bileşiklerin IC_{50} ile K_I değerleri hesaplanarak inhibitör potansiyelleri karşılaştırılmıştır. Yapılan analizler, AChE enzim inhibisyonu ile birlikte aynı zamanda moleküllerin özgül biyolojik hedeflerine dayalı olarak çoklu etki mekanizmaları üzerinden değerlendirme yapılmasını sağlamıştır.

GSE48350 veri setinden elde edilen gen ekspresyon imzaları, GEO2R aracı ile analiz edilerek AH durumunda anlamlı derecede yukarı ve aşağı regüle edilen genler belirlenmiştir. $\log FC \geq |1|$ ve $\text{adj. } p \leq 0.05$ kriterleri ile filtrelenen genler, clue.io platformunda CLUE query aracı kullanılarak cMap imzalarıyla karşılaştırılmıştır. Bu süreçte, 11 aday molekül belirlenmiştir. Bu bileşiklerin CLUE skorları, AH ile ters korelasyonlu (negatif bağlantılı) olmaları nedeniyle farmakolojik olarak umut vaat edeceği düşünülmüştür.

AChE enzimi, sinaptik boşlukta ACh'ı hidrolize ederek sinyal iletimini azaltmaktadır. AH'de ACh düzeylerinin düşmesiyle bilişsel işlevlerde bozulma oluşur. Bu nedenle AChE inhibisyonu, semptomatik tedavide temel yaklaşımlardan biridir. Ellman yöntemi, AChE aktivitesinin kolorimetrik ölçümüne dayalı güvenilir ve hassas bir spektrofotometrik tekniktir. Bu yöntemle, inhibitör bileşiklerin % aktivite-[I] eğrileri çizilmiş ve IC_{50} değerleri hesaplanmıştır. Lineweaver-Burk grafiklerinden ise inhibisyon türü ve K_I değerleri elde edilmiştir. Bu çalışmada takrin, standart inhibitör olarak referans alınmış ve IC_{50} değeri 33.05 nM, K_I değeri 7.18 nM olarak belirlenmiştir. Diğer bileşiklerin inhibitör potansiyeli bu standartla kıyaslanmıştır.

Çalışmanın bulguları, **takrinin** AChE üzerindeki inhibisyon gücünün ($IC_{50} = 33.05$ nM, $K_I = 7.177$ nM) literatürdeki etkinliğini doğrular niteliktedir (Ceschi vd., 2020). Takrine yakın K_I değeri gösteren bileşiklerden **proscillaridin A** ($K_I = 8.381$ nM) ve **ouabain** ($K_I = 15.473$ nM) gibi bileşikler, güçlü inhibitör adayları olarak öne çıkmaktadır. Özellikle Proscillaridin A'nın glikozit yapısına rağmen enzim ile yüksek bağlanma afinitesi göstermesi, bu yapısal sınıfın nöroprotektif potansiyelini desteklemektedir (Ebrahimi vd., 2023). Ayrıca Ouabain'in mikrogial polarizasyonu düzenleyerek, proinflamatuvar medyatörlerin üretimini baskılayıp PI3K/Akt sinyal yolunu aktive ederek nöroinflamatuvar süreçler üzerinde baskılayıcı etkiler oluşturduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Hem mikrogial polarizasyon hem de nöroinflamasyon üzerinde çift yönlü etkiler göstermesi bakımından Ouabain, AH gibi nöroinflamasyonla karakterize edilen

nörodejeneratif hastalıklar açısından potansiyel bir terapötik ajan olarak değerlendirilmiştir (Wang vd., 2024). Buna karşın, **parbendazole** ($K_I = 123.164$ nM) ve **DHEA** ($K_I = 74.928$ nM) gibi bileşiklerin AChE inhibisyon potansiyeli diğer aday bileşiklere kıyasla zayıf bulunmuştur. Ancak bu durum, DHEA'nın AH'ye karşı potansiyel terapötik etkisini dışlamamaktadır. Literatürde, DHEA'nın hem *in vitro* hem de *in vivo* Alzheimer modellerinde A β toksisitesine karşı belirgin nöroprotektif etkiler sergilediği, bu etkinin özellikle mitokondriyal işlevin korunması, apoptozun önlenmesi ve PI3K/Akt/Bcl-2 sinyal yollarının modülasyonu aracılığıyla gerçekleştiği bildirilmektedir (Vuic vd., 2025). Bu bağlamda, DHEA'nın AChE inhibisyonu yoluyla değil, kolinerjik sistemden bağımsız diğer sinyal yolları üzerinden nöroprotektif etki gösterdiği düşünülmüştür. Bu sonuç, çalışmanın AChE hedefli bir doğrulama modeline dayanması nedeniyle DHEA'nın potansiyel etkisini tam olarak yansıtamamış olabilir. Ancak bu durum, çok mekanizmalı etki profiline sahip bileşiklerin farklı biyolojik hedefler üzerinden gösterdikleri etkilerin değerlendirilmesinin önemini ortaya koymaktadır. Bu nedenle, DHEA gibi bileşiklerin terapötik etkilerinin daha kapsamlı bir şekilde anlaşılması için hücre temelli ve *in vivo* modellerde antiapoptotik ve antiinflamatuvar etkileri de dikkate alan ileri analizlerin yapılması gerektiği düşünülmektedir. mTOR inhibitörleri arasında yer alan **KU-0063794** ($K_I = 8.065$ nM) ve **WYE-354** ($K_I = 18.177$ nM) hücresel büyüme, otofaji ve proteostazda görev alan mTOR yolunun baskılanması yoluyla nöroprotektif etki gösterebilirken, aynı zamanda AChE aktivitesini inhibe ederek kolinerjik sistemi destekleyebilecek bir mekanizma ortaya koymuşlardır. Nitekim literatürde yapılan çalışmalarda, mTOR inhibitörlerinin AH ve vasküler bilişsel bozukluk modellerinde KBB'yi koruyarak nöroprotektif etkiler sağladığı bildirilmiştir. Söz konusu çalışmada, mTOR inhibisyonunun, AH fare modellerinde KBB bütünlüğünü sıkı bağlantı proteinlerinin yukarı regülasyonu ve MMP-9 aktivitesinin baskılanması yoluyla koruduğu gösterilmiştir (Van Skike vd., 2018). Bu veriler, mTOR'un sadece hücre homeostazda değil, aynı zamanda nörovasküler bütünlüğün sürdürülmesinde de kritik bir regülatör olduğunu ortaya koymaktadır. Dolayısıyla KU-0063794 ve WYE-354 gibi bileşiklerin çok yönlü terapötik potansiyellerini desteklemektedir. ATPase inhibitörleri olan **digoxin** ve **cinobufagin**; Na⁺/K⁺-ATPaz enzimi üzerinden hücre içi iyon dengesini ve nörotransmitter homeostazını düzenleyerek sinaptik fonksiyonları koruma potansiyeline sahiptir. Bu bileşiklerden özellikle Digoxin ($K_I = 22.84$ nM), AChE enzimini anlamlı şekilde inhibe etmiş ve bu yönleriyle sinaptik

asetilkolin düzeylerinin artırılmasına katkı sağlayabileceklerini göstermiştir. Literatürde bu bileşiklerin nöroprotektif etkileri olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Deng vd., 2019; Erdogan, 2022). İyon kanal blokörleri olan **SKF-96365** (Ca^{2+} kanal blokeri) ve Moricizine (Na^+ kanal blokeri), nöronlarda eksitotoksisteyi azaltma yoluyla nöron koruyucu etki gösterebilir. Moricizine'in AChE üzerindeki inhibisyon potansiyeli ($K_I = 19.51 \text{ nM}$) anlamlı bulunmuştur. **MK-212**, serotonin 5-HT₂ reseptörlerinin agonistidir ve nörotransmitter salınımını düzenleyerek dolaylı yoldan kolinerjik sistemi etkileyebilir. Orta düzeyde AChE inhibisyonu ($K_I = 32.31 \text{ nM}$) göstermiştir. Son olarak, **cinobufagin**, ATPase inhibitör etkisine ek olarak klor kanal aktivatörü özelliği göstermekte ve bu durum nöronal eksitabilitiyi düzenleyerek dolaylı yoldan nöroprotektif etki yaratabilmektedir. Orta düzeyde bir AChE inhibisyonu ($K_I = 19.27 \text{ nM}$) göstermiştir.

Grafik analizleri; takrin, proscillaridin A ve KU-0063794 gibi bileşiklerin kompetitif inhibisyon gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu durum, bu bileşiklerin AChE'nin aktif bölgesine bağlanma eğiliminde olduğunu göstermektedir. Buna karşılık, Cinobufagin, SKF-96365 ve WYE-354 gibi bileşiklerin karışık veya non-kompetitif inhibisyon profili sergiledikleri görülmüştür. Bu bileşiklerin enzimatik aktiviteyi allosterik bölgelerden etkilediği düşünülmektedir.

Çalışmada değerlendirilen bileşiklerden DHEA, digoxin ve moricizine dışındakilerin soğuk zincir koşullarında saklanması gerektiği göz önünde bulundurulduğunda bu bileşiklerin saha uygulamalarında veya yaygın klinik kullanımda karşılaşılabilecek lojistik zorlukları gündeme getirmektedir. Bu nedenle, bu moleküllerin formülasyonunun stabilite ve taşınabilirlik açısından değerlendirilmesi gerekmektedir.

KBB geçirgenliği açısından değerlendirildiğinde, lipofilik yapılar ve düşük moleküler ağırlıklar genellikle bu bariyeri geçişi kolaylaştırmaktadır (Fong, 2015). Digoxinin daha önce literatürde KBB'yi geçebildiğini bildirilen çalışmalar bulunmaktadır (Hashimoto vd., 2024). Diğer bileşiklerin büyük çoğunluğunun (örneğin cinobufagin, KU-0063794) ise yapısal özellikleri ile potansiyel olarak KBB geçirgenliğinin düşük olabileceği düşünülmektedir. Bu durum, bu moleküller için taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesini ya da kimyasal modifikasyonların yapılmasını gerektirebilir.

Her ne kadar bu çalışmada gen ekspresyon analizleri ile elde edilen aday bileşiklerin doğrulama aşamasında hücre kültürü ya da *in vivo* sistemler kullanılmamış olsa da, AChE inhibisyonuna dayalı *in vitro* enzim aktivite ölçümü, seçilen adayların spesifik bir

biyolojik hedef üzerinden işlevsel etkilerini değerlendirme amacıyla tercih edilmiştir. AChE, AH'nin bilişsel semptomlarına neden olan kolinerjik sistem bozukluğunda merkezi bir rol oynamaktadır. Ayrıca, bu yöntemin seçilmesinde etik, ekonomik ve pratik sınırlılıklar da etkili olmuştur. *In vitro* enzimatik testler, hayvan kullanımı gerektirmeksizin hızlı, tekrarlanabilir ve mekanizmaya özgü sonuçlar sağladığından, ilk basamak ön doğrulama amacıyla tercih edilmiştir. Bu sayede, ileri seviye hücresel ve *in vivo* testler için bilimsel temeli güçlendirilmiş, kaynak kullanımı daha verimli hale getirilmiştir. Hassan ve ark. da çalışmalarında AH'ye karşı yeniden konumlandırılan ilaçların olası terapötik potansiyelini *in vitro* analizle kontrol etmişlerdir. AH'ye karşı FDA onaylı ilaç havuzunu kullanarak ilaç yeniden konumlandırma stratejisine dayalı, hesaplamalı ve enzim inhibisyonuna yönelik bir yaklaşım geliştirmişlerdir. AChE'nin aktif bölgesindeki taranan ilaçların bağlanma etkileşim kalıpları ve konformasyonlarını moleküler yerleştirme profilleri aracılığıyla doğrulamışlardır. Ayrıca seçili ilaçların AH genleriyle olası ilişkilerini farmakogenomik analizle tahmin etmişler ve veri madenciliği yoluyla doğrulamışlardır. Oluşturulan ilaç-AChE komplekslerinin kararlılık davranışını moleküler dinamik simülasyonları ile kontrol etmişlerdir. Yeniden konumlandırılan ilaçların AChE'ye karşı olası terapötik potansiyelini *in vitro* analizle kontrol etmişlerdir (Hassan vd., 2019). Ek olarak literatürde AH tedavisi için ilaç yeniden konumlandırma stratejilerinin kullanıldığı birçok çalışma mevcuttur. Jang ve ark. AH üzerinde gen ekspresyon profillerini analiz ederek ilaç yeniden konumlandırma yöntemiyle aday ilaçlar belirlemişlerdir. Çalışma, ilaç yeniden konumlandırma stratejisinin AH için potansiyel terapötik hedefler ve ilaç adayları belirlemede etkili olabileceğini göstermektedir (Jang vd., 2022).

Bu çalışma, yalnızca klasik inhibitörlerin değil, aynı zamanda literatürde daha az incelenmiş ve nörodejeneratif hastalıkların çoklu mekanizmalarını hedef alan bileşiklerin nöroprotektif etkilerinin sistematik olarak değerlendirilmesini sağlamıştır. AChE inhibisyonu dışında etki gösteren biyolojik yolların da entegre edilmesi, tek yönlü semptomatik tedaviden sistem biyolojisi temelli hastalık modülasyonuna geçişi desteklemektedir. Hesaplamalı biyoloji ve deneysel biyokimya yöntemlerinin entegre edilmesi, hem hedef doğrulama hem de mekanizma çözümlemesi açısından kapsamlı bir analiz sunmuştur.

Ancak her ne kadar ilaç yeniden konumlandırma stratejisi, zaman ve maliyet açısından geleneksel ilaç keşfine kıyasla önemli avantajlar sunsa da, bu yaklaşımın bazı sınırlılıkları bulunmaktadır. Öncelikle, çalışmada kullanılan gen ekspresyon verileri NCBI GEO gibi açık erişimli veri tabanlarından elde edildiği için, bu verilerin tutarlılığı değişkenlik gösterebilmektedir. Farklı laboratuvar koşullarında, değişen platformlar ve örnek işleme protokolleriyle elde edilen verilerin biyolojik olarak karşılaştırılabilir hale getirilmesi, analiz sürecinde bir zorluk teşkil etmektedir. Buna ek olarak, veri setlerinde yer alan bireylerin genetik arka planlarındaki farklılıklar da gen ekspresyon profillerini etkileyebilmektedir. Bu durum, özellikle heterojen yapıya sahip kompleks hastalıklar için yapılan yeniden konumlandırma analizlerinde, aday ilaçların etkinliğini tahmin etmede belirsizliğe sebep olabilmektedir. Ayrıca, ilaç yeniden konumlandırma stratejisi kapsamında değerlendirilen birçok bileşiğin daha dar kapsamlı patentlerle korunuyor olması, farmasötik firmaların bu tür moleküller üzerine yatırım yapma potansiyelini azaltabilmektedir. Tüm bu faktörler, yeniden konumlandırma stratejilerinin uygulanabilirliğini sınırlandırmakta ve elde edilen bulguların klinik uygulamaya geçişini geciktirebilmektedir. Dolayısıyla bu tez çalışması kapsamında her ne kadar *in silico* ve *in vitro* analizlerle, bazı bileşiklerin AChE inhibisyonu yoluyla AH tedavisinde potansiyel taşıdığı görülse de; moleküllerin *in vitro* AChE inhibisyon etkileri *in vivo* biyoyararlanım, KBB geçirgenliği, metabolik stabilite ve toksisite gibi parametrelerle desteklenmedikçe klinik geçerliliği sınırlı kalacaktır. Bu nedenle ilerleyen aşamalarda ADME/Tox profili yüksek olan, multipotent etki gösteren bileşikler hayvan modellerinde test edilerek farmakodinamik doğrulama çalışmalarının da yapılması planlanabilir.

KAYNAKÇA

- Afshar, S., Shahidi, S., Rohani, A. H., Komaki, A. ve Asl, S. S. (2018). The effect of NAD-299 and TCB-2 on learning and memory, hippocampal BDNF levels and amyloid plaques in Streptozotocin-induced memory deficits in male rats. *Psychopharmacology*, 235(10), 2809-2822. <https://doi.org/10.1007/s00213-018-4973-x>
- Ahmed, S., Lidia, B. ve Roland, B. (2022). Microtubule-modulating Agents in the Fight Against Neurodegeneration: Will it ever Work? *Current Neuropharmacology*, 20(4), 782-798. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.2174/1570159X19666211201101020>
- Akıncioğlu, H. ve Gülçin, İ. (2020). Potent Acetylcholinesterase Inhibitors: Potential Drugs for Alzheimer's Disease. *Mini Rev Med Chem*, 20(8), 703-715. <https://doi.org/10.2174/1389557520666200103100521>
- Al-Ghraiya, N. F., Wang, J., Alkhalifa, A. E., Roberts, A. B., Raj, R., Yang, E. ve Kaddoumi, A. (2022). Glial Cell-Mediated Neuroinflammation in Alzheimer's Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(18), 10572. <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/18/10572>
- Al-Hamed, F. S., Kouniaris, S., Tamimi, I., Lordkipanidzé, M., Madathil, S. A., Kezouh, A., Karp, I., Nicolau, B. ve Tamimi, F. (2021). Acetylcholinesterase inhibitors and risk of bleeding and acute ischemic events in non-hypertensive Alzheimer's patients. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions*, 7(1), e12184. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/trc2.12184>
- Aly, H. F., Metwally, F. M. ve Ahmed, H. H. (2011). Neuroprotective effects of dehydroepiandrosterone (DHEA) in rat model of Alzheimer's disease. *Acta Biochim Pol*, 58(4), 513-520.
- Amare, G. G., Meharie, B. G. ve Belayneh, Y. M. (2021). A drug repositioning success: The repositioned therapeutic applications and mechanisms of action of thalidomide. *J Oncol Pharm Pract*, 27(3), 673-678. <https://doi.org/10.1177/1078155220975825>
- Antonijon, R. M., Ferrero-Cafiero, J. M., Coimbra, J., Puentes, M., Martínez-Colomer, J., Arévalo, M. I., Mascaró, C., Molinero, C., Buesa, C. ve Maes, T. (2021). First-in-Human Randomized Trial to Assess Safety, Tolerability, Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of the KDM1A Inhibitor Vafidemstat. *CNS Drugs*, 35(3), 331-344. <https://doi.org/10.1007/s40263-021-00797-x>
- Arrhenius, S. (1889). Über die Reaktionsgeschwindigkeit bei der Inversion von Rohrzucker durch Säuren. *Zeitschrift für Physikalische Chemie*, 4U(1), 226-248. <https://doi.org/doi:10.1515/zpch-1889-0416>
- Ashrafian, H., Zadeh, E. H. ve Khan, R. H. (2021). Review on Alzheimer's disease: Inhibition of amyloid beta and tau tangle formation. *Int J Biol Macromol*, 167(382-394). <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.11.192>
- Astarita, G., Jung, K. M., Berchtold, N. C., Nguyen, V. Q., Gillen, D. L., Head, E., Cotman, C. W. ve Piomelli, D. (2010). Deficient liver biosynthesis of docosahexaenoic acid correlates with cognitive impairment in Alzheimer's disease. *PLoS ONE*, 5(9), e12538. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012538>
- Ayyar, P. ve Subramanian, U. (2022). Repurposing - second life for drugs. *Pharmacia*, 69(1), 51-59. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.69.e72548>
- Barbieri, R., Nizzari, M., Zanardi, I., Pusch, M. ve Gavazzo, P. (2023). Voltage-Gated Sodium Channel Dysfunctions in Neurological Disorders. *Life*, 13(5), 1191. <https://www.mdpi.com/2075-1729/13/5/1191>

- Barrett, T., Troup, D. B., Wilhite, S. E., Ledoux, P., Evangelista, C., Kim, I. F., Tomashevsky, M., Marshall, K. A., Phillippy, K. H., Sherman, P. M., Muerlter, R. N., Holko, M., Ayanbule, O., Yefanov, A. ve Soboleva, A. (2011). NCBI GEO: archive for functional genomics data sets--10 years on. *Nucleic Acids Res*, 39(Database issue), D1005-1010. <https://doi.org/10.1093/nar/gkq1184>
- Barron, M., Gartlon, J., Dawson, L. A., Atkinson, P. J. ve Pardon, M.-C. (2017). A state of delirium: Deciphering the effect of inflammation on tau pathology in Alzheimer's disease. *Experimental Gerontology*, 94(103-107). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.exger.2016.12.006>
- Baumgartner, T. J., Haghighijoo, Z., Goode, N. A., Dvorak, N. M., Arman, P. ve Laezza, F. (2023). Voltage-Gated Na(+) Channels in Alzheimer's Disease: Physiological Roles and Therapeutic Potential. *Life (Basel)*, 13(8), <https://doi.org/10.3390/life13081655>
- Bekdash, R. A. (2021). The Cholinergic System, the Adrenergic System and the Neuropathology of Alzheimer's Disease. *Int J Mol Sci*, 22(3), <https://doi.org/10.3390/ijms22031273>
- Benarroch, E. E. (2011). Na⁺, K⁺ - ATPase Functions in the nervous system and involvement in neurologic disease. *Neurology*, 76(3), 287-293. <https://doi.org/doi:10.1212/WNL.0b013e3182074c2f>
- Berchtold, N. C., Cribbs, D. H., Coleman, P. D., Rogers, J., Head, E., Kim, R., Beach, T., Miller, C., Troncoso, J., Trojanowski, J. Q., Zielke, H. R. ve Cotman, C. W. (2008). Gene expression changes in the course of normal brain aging are sexually dimorphic. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105(40), 15605-15610. <https://doi.org/10.1073/pnas.0806883105>
- Berg, K. A., Clarke, W. P., Chen, Y., Ebersole, B. J., McKay, R. D. ve Maayani, S. (1994). 5-Hydroxytryptamine type 2A receptors regulate cyclic AMP accumulation in a neuronal cell line by protein kinase C-dependent and calcium/calmodulin-dependent mechanisms. *Mol Pharmacol*, 45(5), 826-836.
- Bernard, P. J., Bellili, D. ve Ismaili, L. (2024). Calcium channel blockers' contribution to overcoming Current drug discovery challenges in Alzheimer's disease. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 19(1), 21-32. <https://doi.org/10.1080/17460441.2023.2266994>
- Bhagavan, N. V. (2002). CHAPTER 6 - Enzymes I: General Properties, Kinetics, and Inhibition. In N. V. Bhagavan (Ed.), *Medical Biochemistry (Fourth Edition)* (pp. 85-108). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-012095440-7/50008-1>
- Bisswanger, H. (2008). Enzyme Kinetics: Section 2.1–2.5. In *Enzyme Kinetics* (pp. 59-124). <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9783527622023.ch2a>
- Bose, S., He, H. ve Stauber, T. (2021). Neurodegeneration Upon Dysfunction of Endosomal/Lysosomal CLC Chloride Transporters. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9(<https://doi.org/10.3389/fcell.2021.639231>)
- Boutillier, R. G. (2001). Mechanisms of cell survival in hypoxia and hypothermia. *J Exp Biol*, 204(Pt 18), 3171-3181. <https://doi.org/10.1242/jeb.204.18.3171>
- Briggs, G. E. ve Haldane, J. B. S. (1925). A note on the kinetics of enzyme action. *Biochemical Journal*, 19(2), 338.
- Brookmeyer, R., Johnson, E., Ziegler-Graham, K. ve Arrighi, H. M. (2007). Forecasting the global burden of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, 3(3), 186-191. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jalz.2007.04.381>

- Buccellato, F. R., D'Anca, M., Tartaglia, G. M., Del Fabbro, M., Scarpini, E. ve Galimberti, D. (2023). Treatment of Alzheimer's Disease: Beyond Symptomatic Therapies. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(18), 13900. <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/18/13900>
- Budd Haeberlein, S., Aisen, P. S., Barkhof, F., Chalkias, S., Chen, T., Cohen, S., Dent, G., Hansson, O., Harrison, K., von Hehn, C., Iwatsubo, T., Mallinckrodt, C., Mummery, C. J., Muralidharan, K. K., Nestorov, I., Nisenbaum, L., Rajagovindan, R., Skordos, L., Tian, Y., . . . Sandroock, A. (2022). Two Randomized Phase 3 Studies of Aducanumab in Early Alzheimer's Disease. *The Journal of Prevention of Alzheimer's Disease*, 9(2), 197-210. <https://doi.org/https://doi.org/10.14283/jpad.2022.30>
- Café-Mendes, C. C., Garay-Malpartida, H. M., Malta, M. B., de Sá Lima, L., Scavone, C., Ferreira, Z. S., Markus, R. P. ve Marcourakis, T. (2017). Chronic nicotine treatment decreases LPS signaling through NF- κ B and TLR-4 modulation in the hippocampus. *Neuroscience Letters*, 636(218-224). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.10.056>
- Cai, J., Xie, D., Kong, F., Zhai, Z., Zhu, Z., Zhao, Y., Xu, Y., Sun, T. ve Liu, Y.-H. (2024). Effect and Mechanism of Rapamycin on Cognitive Deficits in Animal Models of Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-analysis of Preclinical Studies. *Journal of Alzheimer's Disease*, 99(1), 53-84. <https://doi.org/10.3233/jad-231249>
- Calvo-Flores Guzmán, B., Vinnakota, C., Govindpani, K., Waldvogel, H. J., Faull, R. L. M. ve Kwakowsky, A. (2018). The GABAergic system as a therapeutic target for Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry*, 146(6), 649-669. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jnc.14345>
- Campanari, M.-L., García-Ayllón, M.-S., Belbin, O., Galcerán, J., Lleó, A. ve Sáez-Valero, J. (2014). Acetylcholinesterase Modulates Presenilin-1 Levels and γ -Secretase Activity. *Journal of Alzheimer's Disease*, 41(3), 911-924. <https://doi.org/10.3233/JAD-140426>
- Catterall, W. A. (2009). Neuromodulation of Sodium Channels. In L. R. Squire (Ed.), *Encyclopedia of Neuroscience* (pp. 513-519). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-008045046-9.01637-5>
- Catterall, W. A., Kalume, F. ve Oakley, J. C. (2010). NaV1.1 channels and epilepsy. *J Physiol*, 588(Pt 11), 1849-1859. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2010.187484>
- Ceschi, M., M. Pilotti, R., Bizarro Lopes, J., Dapont, H., Rocha, J. B., Obafemi, B., Guedes, I. ve Dardenne, L. (2020). An Expedient Synthesis of Tacrine-Squaric Hybrids as Potent, Selective and Dual-Binding Cholinesterase Inhibitors. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 31(<https://doi.org/10.21577/0103-5053.20200019>)
- Chakroborty, S. ve Stutzmann, G. E. (2014). Calcium channelopathies and Alzheimer's disease: Insight into therapeutic success and failures. *European Journal of Pharmacology*, 739(83-95). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.11.012>
- Cheah, C. S., Yu, F. H., Westenbroek, R. E., Kalume, F. K., Oakley, J. C., Potter, G. B., Rubenstein, J. L. ve Catterall, W. A. (2012). Specific deletion of NaV1.1 sodium channels in inhibitory interneurons causes seizures and premature death in a mouse model of Dravet syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109(36), 14646-14651. <https://doi.org/10.1073/pnas.1211591109>

- Chen, H., Zhang, H., Zhang, Z., Cao, Y. ve Tang, W. (2015). Network-Based Inference Methods for Drug Repositioning. *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, 2015(130620). <https://doi.org/10.1155/2015/130620>
- Chen, R., Pan, C., Mao, X., Zhang, Y., Chen, G., Xu, M., Nivar, J., Tao, Y., Cao, H. ve Li, J. (2024). Chloride intracellular channel 4 blockade improves cognition in mice with Alzheimer's disease: CLIC4 protein expression and tau protein hyperphosphorylation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 278(134972). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.134972>
- Chen, Z. R., Huang, J. B., Yang, S. L. ve Hong, F. F. (2022). Role of Cholinergic Signaling in Alzheimer's Disease. *Molecules*, 27(6), <https://doi.org/10.3390/molecules27061816>
- Cho, E. (2024). Approved and Late Clinical Trial Monoclonal Antibodies for the Treatment of Alzheimer's Disease. *International STEAM Communications*, 5(<https://doi.org/10.37906/isteamc.22024.5>)
- Ciccione, R., Franco, C., Piccialli, I., Boscia, F., Casamassa, A., de Rosa, V., Cepparulo, P., Cataldi, M., Annunziato, L. ve Pannaccione, A. (2019). Amyloid β -Induced Upregulation of Nav1.6 Underlies Neuronal Hyperactivity in Tg2576 Alzheimer's Disease Mouse Model. *Scientific Reports*, 9(1), 13592. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50018-1>
- ClinicalTrials. (2017). *A 2-Part Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blind, Single and Multiple Ascending Dose Study to Investigate Safety and Tolerability, Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of JNJ-63733657 in Healthy Subjects and Subjects With Alzheimer's Disease* <https://clinicaltrials.gov/study/NCT03375697>
- ClinicalTrials. (2024). *A Phase 2, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Parallel Group Study of ASN51 in Adults With Early Alzheimer's Disease* <https://clinicaltrials.gov/study/NCT06677203>
- Clough, E. ve Barrett, T. (2016). The Gene Expression Omnibus Database. *Methods Mol Biol*, 1418(93-110). https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3578-9_5
- Colović, M. B., Krstić, D. Z., Lazarević-Pašti, T. D., Bondžić, A. M. ve Vasić, V. M. (2013). Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology. *Curr Neuropharmacol*, 11(3), 315-335. <https://doi.org/10.2174/1570159x11311030006>
- Cornish-Bowden, A. (2013). *Fundamentals of enzyme kinetics*. John Wiley & Sons.
- Cribbs, D. H., Berchtold, N. C., Perreau, V., Coleman, P. D., Rogers, J., Tenner, A. J. ve Cotman, C. W. (2012). Extensive innate immune gene activation accompanies brain aging, increasing vulnerability to cognitive decline and neurodegeneration: a microarray study. *J Neuroinflammation*, 9(179). <https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-179>
- Cummings, J., Osse, A. M. L., Cammann, D., Powell, J. ve Chen, J. (2024). Anti-Amyloid Monoclonal Antibodies for the Treatment of Alzheimer's Disease. *BioDrugs*, 38(1), 5-22. <https://doi.org/10.1007/s40259-023-00633-2>
- Davoody, S., Asgari Taei, A., Khodabakhsh, P. ve Dargahi, L. (2024). mTOR signaling and Alzheimer's disease: What we know and where we are? *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 30(4), e14463. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/cns.14463>
- De Boer, D., Nguyen, N., Mao, J., Moore, J. ve Sorin, E. J. (2021). A comprehensive review of cholinesterase modeling and simulation. *Biomolecules*, 11(4), 580.

- de Lera Ruiz, M. ve Kraus, R. L. (2015). Voltage-Gated Sodium Channels: Structure, Function, Pharmacology, and Clinical Indications. *J Med Chem*, 58(18), 7093-7118. <https://doi.org/10.1021/jm501981g>
- Deng, X., Sheng, J., Liu, H., Wang, N., Dai, C., Wang, Z., Zhang, J., Zhao, J. ve Dai, E. (2019). Cinobufagin Promotes Cell Cycle Arrest and Apoptosis to Block Human Esophageal Squamous Cell Carcinoma Cells Growth *via* the p73 Signalling Pathway. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 42(9), 1500-1509. <https://doi.org/10.1248/bpb.b19-00174>
- Dickey, C. A., Gordon, M. N., Wilcock, D. M., Herber, D. L., Freeman, M. J. ve Morgan, D. (2005). Dysregulation of Na⁺/K⁺ ATPase by amyloid in APP+PS1 transgenic mice. *BMC Neuroscience*, 6(1), 7. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-6-7>
- Dvorak, N. M., Wadsworth, P. A., Wang, P., Zhou, J. ve Laezza, F. (2021). Development of Allosteric Modulators of Voltage-Gated Na⁽⁺⁾ Channels: A Novel Approach for an Old Target. *Curr Top Med Chem*, 21(10), 841-848. <https://doi.org/10.2174/1568026621666210525105359>
- Dyck, C. H. v., Swanson, C. J., Aisen, P., Bateman, R. J., Chen, C., Gee, M., Kanekiyo, M., Li, D., Reyderman, L., Cohen, S., Froelich, L., Katayama, S., Sabbagh, M., Vellas, B., Watson, D., Dhadda, S., Irizarry, M., Kramer, L. D. ve Iwatsubo, T. (2023). Lecanemab in Early Alzheimer's Disease. *New England Journal of Medicine*, 388(1), 9-21. <https://doi.org/doi:10.1056/NEJMoa2212948>
- Ebrahimi, M. S., Hosseini, Z., Khatami, A., Abbasi-Kolli, M., Sadri Nahand, J., Kouchaki, E. ve Mirzaei, H. (2023). Chapter 7 - Neuroprotective effects of glycosides. In H. Khan, M. Aschner, & H. Mirzaei (Eds.), *Phytonutrients and Neurological Disorders* (pp. 201-226). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824467-8.00008-5>
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V. ve Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(2), 88-95. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V., Jr. ve Feather-Stone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol*, 7(88-95). [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)
- Elmaci, İ., Alturfan, E. E., Cengiz, S., Ozpinar, A. ve Altinoz, M. A. (2018). Neuroprotective and tumoricidal activities of cardiac glycosides. Could oleandrin be a new weapon against stroke and glioblastoma? *Int J Neurosci*, 128(9), 865-877. <https://doi.org/10.1080/00207454.2018.1435540>
- Erdogan, M. A., Kirazlar, M., Yigitturk, G. ve Erbas, O. (2022). Digoxin Exhibits Neuroprotective Properties in a Rat Model of Dementia. *Neurochem Res*, 47(5), 1290-1298. <https://doi.org/10.1007/s11064-022-03528-w>
- Eremin, D., Kondaurova, E., Rodnyy, A., Molobekova, C., Kudlay, D. ve Naumenko, V. (2023). Serotonin Receptors as a Potential Target in the Treatment of Alzheimer's Disease. *Biochemistry (Moscow)*, 88(2023-2042). <https://doi.org/10.1134/S0006297923120064>
- Exeter, U. o. (2023). *Alzheimer's Drug Discovery Foundation*. <https://www.alzdiscovery.org/research-and-grants/portfolio-details/21208491>
- Fahnestock, M. ve Shekari, A. (2019). ProNGF and Neurodegeneration in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Neuroscience*, 13(<https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00129>)
- Farooqui, A. A. (2017). Chapter 6 - Contribution of Neuroinflammation in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. In A. A. Farooqui (Ed.), *Neurochemical*

- Aspects of Alzheimer's Disease* (pp. 201-245). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809937-7.00006-9>
- Fear, G., Komarnytsky, S. ve Raskin, I. (2007). Protease inhibitors and their peptidomimetic derivatives as potential drugs. *Pharmacology & therapeutics*, 113(2), 354-368.
- Fernandez-Valenzuela, J. J., Sanchez-Varo, R., Muñoz-Castro, C., De Castro, V., Sanchez-Mejias, E., Navarro, V., Jimenez, S., Nuñez-Díaz, C., Gomez-Arboledas, A., Moreno-Gonzalez, I., Vizuite, M., Davila, J. C., Vitorica, J. ve Gutierrez, A. (2020). Enhancing microtubule stabilization rescues cognitive deficits and ameliorates pathological phenotype in an amyloidogenic Alzheimer's disease model. *Scientific Reports*, 10(1), 14776. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71767-4>
- Fong, C. W. (2015). Permeability of the Blood–Brain Barrier: Molecular Mechanism of Transport of Drugs and Physiologically Important Compounds. *The Journal of Membrane Biology*, 248(4), 651-669. <https://doi.org/10.1007/s00232-015-9778-9>
- Fukunaga, K., Izumi, H., Yabuki, Y., Shinoda, Y., Shioda, N. ve Han, F. (2019). Alzheimer's disease therapeutic candidate SAK3 is an enhancer of T-type calcium channels. *J Pharmacol Sci*, 139(2), 51-58. <https://doi.org/10.1016/j.jphs.2018.11.014>
- Fürst, R., Zündorf, I. ve Dinger, T. (2017). New Knowledge About Old Drugs: The Anti-Inflammatory Properties of Cardiac Glycosides. *Planta Med*, 83(12-13), 977-984. <https://doi.org/10.1055/s-0043-105390>
- Gauthier, S., Aisen, P. S., Cummings, J., Detke, M. J., Longo, F. M., Raman, R., Sabbagh, M., Schneider, L., Tanzi, R., Tariot, P., Weiner, M., Touchon, J. ve Vellas, B. (2020). Non-Amyloid Approaches to Disease Modification for Alzheimer's Disease: An EU/US CTAD Task Force Report. *J Prev Alzheimers Dis*, 7(3), 152-157. <https://doi.org/10.14283/jpad.2020.18>
- Genazzani, A. R., Pluchino, N., Begliuomini, S., Stomati, M., Bernardi, F., Pieri, M., Casarosa, E., Palumbo, M., Genazzani, A. D. ve Luisi, M. (2006). Long-term low-dose oral administration of dehydroepiandrosterone modulates adrenal response to adrenocorticotrophic hormone in early and late postmenopausal women. *Gynecol Endocrinol*, 22(11), 627-635. <https://doi.org/10.1080/09513590601024681>
- Genud, R., Merenlender, A., Gispan-Herman, I., Maayan, R., Weizman, A. ve Yaidid, G. (2009). DHEA Lessens Depressive-Like Behavior via GABA-ergic Modulation of the Mesolimbic System. *Neuropsychopharmacology*, 34(3), 577-584. <https://doi.org/10.1038/npp.2008.46>
- Geronikaki, A. (2020). Recent trends in enzyme inhibition and activation in drug design. In (Vol. 26, pp. 17): MDPI.
- Giovannini, M. G. ve Lana, D. (2016). Chapter 10 - mTOR Involvement in the Mechanisms of Memory: An Overview of Animal Studies. In K. Maiese (Ed.), *Molecules to Medicine with mTOR* (pp. 169-184). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802733-2.00018-9>
- Govindarajan, R., Duraiyan, J., Kaliyappan, K. ve Palanisamy, M. (2012). Microarray and its applications. *J Pharm Bioallied Sci*, 4(Suppl 2), S310-312. <https://doi.org/10.4103/0975-7406.100283>
- Govindpani, K., Turner, C., Waldvogel, H. J., Faull, R. L. M. ve Kwakowsky, A. (2020). Impaired Expression of GABA Signaling Components in the Alzheimer's Disease

- Middle Temporal Gyrus. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22), 8704. <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/22/8704>
- Grabowska, M. E., Huang, A., Wen, Z., Li, B. ve Wei, W. Q. (2023). Drug repurposing for Alzheimer's disease from 2012-2022-a 10-year literature review. *Front Pharmacol*, 14(1257700). <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1257700>
- Gritton, H. J., Booth, V. ve Howe, W. M. (2024). Special issue on cholinergic signalling. *European Journal of Neuroscience*, 59(9), 2131-2137. <https://doi.org/10.1111/ejn.16369>
- Guo, T., Zhang, D., Zeng, Y., Huang, T. Y., Xu, H. ve Zhao, Y. (2020). Molecular and cellular mechanisms underlying the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener*, 15(1), 40. <https://doi.org/10.1186/s13024-020-00391-7>
- Han, H. J., Lee, J. J., Park, S. A., Park, H. Y., Kim, J. E., Shim, Y. S., Shim, D.-S., Kim, E.-J., Yoon, S. J. ve Choi, S. H. (2011). Efficacy and Safety of Switching from Oral Cholinesterase Inhibitors to the Rivastigmine Transdermal Patch in Patients with Probable Alzheimer's Disease. *J Clin Neurol*, 7(3), 137-142. <https://doi.org/10.3988/jcn.2011.7.3.137>
- Hansen, R. A., Gartlehner, G., Webb, A. P., Morgan, L. C., Moore, C. G. ve Jonas, D. E. (2008). Efficacy and safety of donepezil, galantamine, and rivastigmine for the treatment of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Clin Interv Aging*, 3(2), 211-225.
- Hashimoto, J., Fujita, E., Tanimoto, K., Kondo, S. ve Matsumoto-Miyai, K. (2024). Effects of Cardiac Glycoside Digoxin on Dendritic Spines and Motor Learning Performance in Mice. *Neuroscience*, 541(77-90). <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2024.01.018>
- Hassan, M., Raza, H., Abbasi, M. A., Moustafa, A. A. ve Seo, S. Y. (2019). The exploration of novel Alzheimer's therapeutic agents from the pool of FDA approved medicines using drug repositioning, enzyme inhibition and kinetic mechanism approaches. *Biomed Pharmacother*, 109(2513-2526). <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.11.115>
- Heneka, M. T., Carson, M. J., El Khoury, J., Landreth, G. E., Brosseron, F., Feinstein, D. L., Jacobs, A. H., Wyss-Coray, T., Vitorica, J., Ransohoff, R. M., Herrup, K., Frautschy, S. A., Finsen, B., Brown, G. C., Verkhratsky, A., Yamanaka, K., Koistinaho, J., Latz, E., Halle, A., . . . Kummer, M. P. (2015). Neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol*, 14(4), 388-405. [https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(15\)70016-5](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(15)70016-5)
- Hey, J. A., Yu, J. Y., Versavel, M., Abushakra, S., Kocis, P., Power, A., Kaplan, P. L., Amedio, J. ve Tolar, M. (2018). Clinical Pharmacokinetics and Safety of ALZ-801, a Novel Prodrug of Tramiprosate in Development for the Treatment of Alzheimer's Disease. *Clinical Pharmacokinetics*, 57(3), 315-333. <https://doi.org/10.1007/s40262-017-0608-3>
- Hohenfeld, C., Kuhn, H., Müller, C., Nellessen, N., Ketteler, S., Heinecke, A., Goebel, R., Shah, N. J., Schulz, J. B., Reske, M. ve Reetz, K. (2020). Changes in brain activation related to visuo-spatial memory after real-time fMRI neurofeedback training in healthy elderly and Alzheimer's disease. *Behavioural Brain Research*, 381(112435). <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112435>
- Hu, T., Xiao, Z., Mao, R., Chen, B., Lu, M. N., Tong, J., Mei, R., Li, S. S., Xiao, Z. C., Zhang, L. F. ve Xiyang, Y. B. (2017). Navβ2 knockdown improves cognition in APP/PS1 mice by partially inhibiting seizures and APP amyloid processing. *Oncotarget*, 8(59), 99284-99295. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.21849>

- Hu, Y., Qu, Z. Y., Cao, S. Y., Li, Q., Ma, L., Krencik, R., Xu, M. ve Liu, Y. (2016). Directed differentiation of basal forebrain cholinergic neurons from human pluripotent stem cells. *J Neurosci Methods*, 266(42-49). <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2016.03.017>
- Huang, L., Meir, J., Frishman, W. H. ve Aronow, W. S. (2024). Cardiovascular Disease and Dementia: Exploring Intersections, Risks, and Therapeutic Challenges. *Cardiology in Review*, 10.1097/CRD.0000000000000730. <https://doi.org/10.1097/crd.0000000000000730>
- Huey, E. D., Putnam, K. T. ve Grafman, J. (2006). A systematic review of neurotransmitter deficits and treatments in frontotemporal dementia. *Neurology*, 66(1), 17-22. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000191304.55196.4d>
- Jahreis, K., Brüge, A., Borsdorf, S., Müller, F. E., Sun, W., Jia, S., Kang, D. M., Boesen, N., Shin, S., Lim, S., Koroleva, A., Satała, G., Bojarski, A. J., Rakuša, E., Fink, A., Doblhammer-Reiter, G., Kim, Y. K., Dityatev, A., Ponimaskin, E. ve Labus, J. (2023). Amisulpride as a potential disease-modifying drug in the treatment of tauopathies. *Alzheimers Dement*, 19(12), 5482-5497. <https://doi.org/10.1002/alz.13090>
- Jang, H. Y., Oh, J. M. ve Kim, I.-W. (2022). Drug repurposing using meta-analysis of gene expression in Alzheimer's disease. *Frontiers in Neuroscience*, 16(<https://doi.org/10.3389/fnins.2022.989174>)
- Jankowska, A., Wesolowska, A., Pawlowski, M. ve Chlon-Rzepa, G. (2018). Multi-Target-Directed Ligands Affecting Serotonergic Neurotransmission for Alzheimer's Disease Therapy: Advances in Chemical and Biological Research. *Curr Med Chem*, 25(17), 2045-2067. <https://doi.org/10.2174/0929867324666170529122802>
- Ji, K., Akgul, G., Wollmuth, L. P. ve Tsirka, S. E. (2013). Microglia actively regulate the number of functional synapses. *PLoS ONE*, 8(2), e56293. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056293>
- Johnson, G. A., Krishnamoorthy, R. R. ve Stankowska, D. L. (2023). Modulating mitochondrial calcium channels (TRPM2/MCU/NCX) as a therapeutic strategy for neurodegenerative disorders. *Frontiers in Neuroscience, Volume 17 - 2023*(<https://doi.org/10.3389/fnins.2023.1202167>)
- Johnson, K. A. (2013). A century of enzyme kinetic analysis, 1913 to 2013. *FEBS Letters*, 587(17), 2753-2766. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.febslet.2013.07.012>
- Jourdan, J. P., Bureau, R., Rochais, C. ve Dallemagne, P. (2020). Drug repositioning: a brief overview. *J Pharm Pharmacol*, 72(9), 1145-1151. <https://doi.org/10.1111/jphp.13273>
- Kairane, C., Mahlapuu, R., Ehrlich, K., Zilmer, M. ve Soomets, U. (2014). The effects of different antioxidants on the activity of cerebrocortical MnSOD and Na,K-ATPase from post mortem Alzheimer's disease and age-matched normal brains. *Curr Alzheimer Res*, 11(1), 79-85. <https://doi.org/10.2174/15672050113106660179>
- Karaman, Y., Erdoğan, F., Köseoğlu, E., Turan, T. ve Ersoy, A. Ö. (2004). A 12-Month Study of the Efficacy of Rivastigmine in Patients with Advanced Moderate Alzheimer's Disease. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 19(1), 51-56. <https://doi.org/10.1159/000080972>
- Kettenmann, H., Hanisch, U. K., Noda, M. ve Verkhratsky, A. (2011). Physiology of microglia. *Physiol Rev*, 91(2), 461-553. <https://doi.org/10.1152/physrev.00011.2010>

- Khan, S., Barve, K. H. ve Kumar, M. S. (2020). Recent Advancements in Pathogenesis, Diagnostics and Treatment of Alzheimer's Disease. *Curr Neuroparmacol*, 18(11), 1106-1125. <https://doi.org/10.2174/1570159x18666200528142429>
- Kırboğa, K. K. ve Rudrapal, M. (2024). Feature Engineering-Assisted Drug Repurposing on Disease–Drug Transcriptome Profiles in Gastric Cancer. *ASSAY and Drug Development Technologies*, <https://doi.org/10.1089/adt.2023.141>
- Ko, Y. (2020). Computational Drug Repositioning: Current Progress and Challenges. *Applied Sciences*, 10(15), 5076. <https://www.mdpi.com/2076-3417/10/15/5076>
- Ko, Y. ve Chye, S. M. (2020). Lifestyle intervention to prevent Alzheimer's disease. *Reviews in the Neurosciences*, 31(8), 817-824. <https://doi.org/doi:10.1515/revneuro-2020-0072>
- Kornbrust, B. A., Forman, T. ve Matveeva, I. (2012). Applications of enzymes in breadmaking. *Breadmaking: Improving quality, Second Edition*, 470-498. <https://doi.org/10.1533/9780857095695.2.470>
- Kreutz, F., Scherer, E. B., Ferreira, A. G., Petry Fdos, S., Pereira, C. L., Santana, F., de Souza Wyse, A. T., Salbego, C. G. ve Trindade, V. M. (2013). Alterations on Na⁺,K⁺-ATPase and acetylcholinesterase activities induced by amyloid- β peptide in rat brain and GM1 ganglioside neuroprotective action. *Neurochem Res*, 38(11), 2342-2350. <https://doi.org/10.1007/s11064-013-1145-6>
- Krishnamurthy, N., Grimshaw, A. A., Axson, S. A., Choe, S. H. ve Miller, J. E. (2022). Drug repurposing: a systematic review on root causes, barriers and facilitators. *BMC Health Services Research*, 22(1), 970. <https://doi.org/10.1186/s12913-022-08272-z>
- Kucwaj-Brysz, K., Baltrukevich, H., Czarnota, K. ve Handzlik, J. (2021). Chemical update on the potential for serotonin 5-HT(6) and 5-HT(7) receptor agents in the treatment of Alzheimer's disease. *Bioorg Med Chem Lett*, 49(128275). <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2021.128275>
- Kuddus, M. (2019). Introduction to food enzymes. In *Enzymes in food biotechnology* (pp. 1-18). Elsevier.
- Kulkarni, V. S., Alagarsamy, V., Solomon, V. R., Jose, P. A. ve Murugesan, S. (2023). Drug Repurposing: An Effective Tool in Modern Drug Discovery. *Russ J Bioorg Chem*, 49(2), 157-166. <https://doi.org/10.1134/s1068162023020139>
- Kumar, N., Gahlawat, A., Kumar, R. N., Singh, Y. P., Modi, G. ve Garg, P. (2022). Drug repurposing for Alzheimer's disease: in silico and in vitro investigation of FDA-approved drugs as acetylcholinesterase inhibitors. *J Biomol Struct Dyn*, 40(7), 2878-2892. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1844054>
- Kumar, S., Mahajan, A., Ambatwar, R. ve Khatik, G. L. (2024). Recent Advancements in the Treatment of Alzheimer's Disease: A Multitarget-directed Ligand Approach. *Current Medicinal Chemistry*, 31(37), 6032-6062. <https://doi.org/10.2174/0109298673264076230921065945>
- LaFerla, F. M. (2002). Calcium dyshomeostasis and intracellular signalling in Alzheimer's disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 3(11), 862-872.
- Latina, V., Caioli, S., Zona, C., Ciotti, M. T., Borreca, A., Calissano, P. ve Amadoro, G. (2018). NGF-Dependent Changes in Ubiquitin Homeostasis Trigger Early Cholinergic Degeneration in Cellular and Animal AD-Model. *Front Cell Neurosci*, 12(487). <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00487>
- Lee, J. H., Yang, D. S., Goulbourne, C. N., Im, E., Stavrides, P., Pensalfini, A., Chan, H., Bouchet-Marquis, C., Bleiwas, C., Berg, M. J., Huo, C., Peddy, J., Pawlik, M., Levy, E., Rao, M., Staufenbiel, M. ve Nixon, R. A. (2022). Faulty autolysosome

- acidification in Alzheimer's disease mouse models induces autophagic build-up of A β in neurons, yielding senile plaques. *Nat Neurosci*, 25(6), 688-701. <https://doi.org/10.1038/s41593-022-01084-8>
- Lee, S. Y., Song, M. Y., Kim, D., Park, C., Park, D. K., Kim, D. G., Yoo, J. S. ve Kim, Y. H. (2019). A Proteotranscriptomic-Based Computational Drug-Repositioning Method for Alzheimer's Disease. *Front Pharmacol*, 10(1653). <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01653>
- Lee-Liu, D. ve Gonzalez-Billault, C. (2021). Neuron-intrinsic origin of hyperexcitability during early pathogenesis of Alzheimer's disease: An Editorial Highlight for "Hippocampal hyperactivity in a rat model of Alzheimer's disease" on <https://doi.org/10.1111/jnc.15323>. *J Neurochem*, 158(3), 586-588. <https://doi.org/10.1111/jnc.15248>
- Levey, A. I., Qiu, D., Zhao, L., Hu, W. T., Duong, D. M., Higginbotham, L., Dammer, E. B., Seyfried, N. T., Wingo, T. S., Hales, C. M., Gámez Tansey, M., Goldstein, D. S., Abrol, A., Calhoun, V. D., Goldstein, F. C., Hajjar, I., Fagan, A. M., Galasko, D., Edland, S. D., . . . Weinshenker, D. (2022). A phase II study repurposing atomoxetine for neuroprotection in mild cognitive impairment. *Brain*, 145(6), 1924-1938. <https://doi.org/10.1093/brain/awab452>
- Li, X., Feng, X., Sun, X., Hou, N., Han, F. ve Liu, Y. (2022). Global, regional, and national burden of Alzheimer's disease and other dementias, 1990–2019. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 14(<https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.937486>)
- Lionta, E., Spyrou, G., Vassilatis, D. K. ve Cournia, Z. (2014). Structure-based virtual screening for drug discovery: principles, applications and recent advances. *Curr Top Med Chem*, 14(16), 1923-1938. <https://doi.org/10.2174/1568026614666140929124445>
- Lv, C., Nagle, D. G., Zhou, Y. ve Zhang, W. (2018). Chapter 6 - Application of Connectivity Map (CMAP) Database to Research on Traditional Chinese Medicines (TCMs). In W.-D. Zhang (Ed.), *Systems Biology and its Application in TCM Formulas Research* (pp. 113-119). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812744-5.00006-0>
- Lynch, M. A. (2024). A case for seeking sex-specific treatments in Alzheimer's disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 16(<https://doi.org/10.3389/fnagi.2024.1346621>)
- Mann, C. N., Devi, S. S., Kersting, C. T., Bleem, A. V., Karch, C. M., Holtzman, D. M. ve Gallardo, G. (2022). Astrocytic α 2-Na⁺/K⁺ ATPase inhibition suppresses astrocyte reactivity and reduces neurodegeneration in a tauopathy mouse model. *Science Translational Medicine*, 14(632), eabm4107. <https://doi.org/doi:10.1126/scitranslmed.abm4107>
- Martinez-Losa, M., Tracy, T. E., Ma, K., Verret, L., Clemente-Perez, A., Khan, A. S., Cobos, I., Ho, K., Gan, L., Mucke, L., Alvarez-Dolado, M. ve Palop, J. J. (2018). Nav1.1-Overexpressing Interneuron Transplants Restore Brain Rhythms and Cognition in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Neuron*, 98(1), 75-89.e75. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.02.029>
- Mattson, M. P. (2007). Calcium and neurodegeneration. *Aging Cell*, 6(3), 337-350.
- May, P. C., Willis, B. A., Lowe, S. L., Dean, R. A., Monk, S. A., Cocke, P. J., Audia, J. E., Boggs, L. N., Borders, A. R., Brier, R. A., Calligaro, D. O., Day, T. A., Ereshefsky, L., Erickson, J. A., Gevorkyan, H., Gonzales, C. R., James, D. E., Jhee, S. S., Komjathy, S. F., . . . Mergott, D. J. (2015). The potent BACE1 inhibitor LY2886721 elicits robust central A β pharmacodynamic responses in mice, dogs,

- and humans. *J Neurosci*, 35(3), 1199-1210. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.4129-14.2015>
- Medeiros, R., Baglietto-Vargas, D. ve LaFerla, F. M. (2011). The role of tau in Alzheimer's disease and related disorders. *CNS Neurosci Ther*, 17(5), 514-524. <https://doi.org/10.1111/j.1755-5949.2010.00177.x>
- Medina, M. ve Avila, J. (2016). Chapter 12 - Tau Phosphorylation as a Therapeutic Target in Alzheimer's Disease. In M. S. Wolfe (Ed.), *Developing Therapeutics for Alzheimer's Disease* (pp. 327-341). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802173-6.00012-5>
- Melchert, M. ve List, A. (2007). The thalidomide saga. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(7), 1489-1499. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biocel.2007.01.022>
- Michaelis, L. ve Menten, M. L. (1913). Die kinetik der invertinwirkung. *Biochem. z*, 49(333-369), 352.
- Miculas, D. C., Negru, P. A., Bungau, S. G., Behl, T., Hassan, S. S. u. ve Tit, D. M. (2023). Pharmacotherapy Evolution in Alzheimer's Disease: Current Framework and Relevant Directions. *Cells*, 12(1), 131. <https://www.mdpi.com/2073-4409/12/1/131>
- Mindell, J. ve Maduke, M. (2001). ClC chloride channels. *Genome Biology*, 2(2), reviews3003.3001. <https://doi.org/10.1186/gb-2001-2-2-reviews3003>
- Mithun, R., Shubham, J. K. ve Anil, G. J. (2020). Drug Repurposing (DR): An Emerging Approach in Drug Discovery. In A. B. Farid (Ed.), *Drug Repurposing* (pp. Ch. 1). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.93193>
- Morgese, M. G. ve Trabace, L. (2019). Monoaminergic System Modulation in Depression and Alzheimer's Disease: A New Standpoint? *Front Pharmacol*, 10(483). <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00483>
- Mucke, H. (2010). Drug Repositioning: Extracting Added Value from Prior R&D Investments.
- Mueed, Z., Tandon, P., Maurya, S. K., Deval, R., Kamal, M. A. ve Poddar, N. K. (2019). Tau and mTOR: The Hotspots for Multifarious Diseases in Alzheimer's Development. *Frontiers in Neuroscience*, 12(<https://doi.org/10.3389/fnins.2018.01017>)
- Mufson, E. J., Kelley, C. ve Perez, S. E. (2021). Chapter 2 - Chronic traumatic encephalopathy and the nucleus basalis of Meynert. In D. F. Swaab, R. M. Buijs, F. Kreier, P. J. Lucassen, & A. Salehi (Eds.), *Handbook of Clinical Neurology* (Vol. 182, pp. 9-29). Elsevier. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819973-2.00002-2>
- Murley, A. G. ve Rowe, J. B. (2018). Neurotransmitter deficits from frontotemporal lobar degeneration. *Brain*, 141(5), 1263-1285. <https://doi.org/10.1093/brain/awx327>
- Murzin, D. Y. ve Salmi, T. (2016). Chapter 6 - Enzymatic Kinetics. In D. Y. Murzin & T. Salmi (Eds.), *Catalytic Kinetics (Second Edition)* (pp. 281-343). Elsevier. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63753-6.00006-3>
- Nasb, M., Tao, W. ve Chen, N. (2024). Alzheimer's Disease Puzzle: Delving into Pathogenesis Hypotheses. *Aging Dis*, 15(1), 43-73. <https://doi.org/10.14336/ad.2023.0608>
- Nazam, N., Farhana, A. ve Shaikh, S. (2021). Recent Advances in Alzheimer's Disease in Relation to Cholinesterase Inhibitors and NMDA Receptor Antagonists. In G. Md Ashraf & A. Alexiou (Eds.), *Autism Spectrum Disorder and Alzheimer's*

- Disease : Advances in Research* (pp. 135-151). Springer Nature Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-16-4558-7_8
- O'Brien, R. J. ve Wong, P. C. (2011). Amyloid precursor protein processing and Alzheimer's disease. *Annu Rev Neurosci*, 34(185-204). <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-061010-113613>
- Oddo, S. (2012). The role of mTOR signaling in Alzheimer disease. *Front Biosci (Schol Ed)*, 4(3), 941-952. <https://doi.org/10.2741/s310>
- Ohbe, H., Jo, T., Matsui, H., Fushimi, K. ve Yasunaga, H. (2018). Cholinergic Crisis Caused by Cholinesterase Inhibitors: a Retrospective Nationwide Database Study. *J Med Toxicol*, 14(3), 237-241. <https://doi.org/10.1007/s13181-018-0669-1>
- Oliveira, C., Bagetta, D., Cagide, F., Teixeira, J., Amorim, R., Silva, T., Garrido, J., Remião, F., Uriarte, E., Oliveira, P. J., Alcaro, S., Ortuso, F. ve Borges, F. (2019). Benzoic acid-derived nitrones: A new class of potential acetylcholinesterase inhibitors and neuroprotective agents. *Eur J Med Chem*, 174(116-129). <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.04.026>
- Oprea, T. I. ve Overington, J. P. (2015). Computational and Practical Aspects of Drug Repositioning. *Assay Drug Dev Technol*, 13(6), 299-306. <https://doi.org/10.1089/adt.2015.29011.tiodrrr>
- Palmer, A. M., Francis, P. T., Bowen, D. M., Benton, J. S., Neary, D., Mann, D. M. ve Snowden, J. S. (1987). Catecholaminergic neurones assessed ante-mortem in Alzheimer's disease. *Brain Res*, 414(2), 365-375. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(87\)90018-7](https://doi.org/10.1016/0006-8993(87)90018-7)
- Patterson, C., Feightner, J. W., Garcia, A., Hsiung, G.-Y. R., MacKnight, C. ve Sadovnick, A. D. (2008). Diagnosis and treatment of dementia: 1. Risk assessment and primary prevention of Alzheimer disease. *Canadian Medical Association Journal*, 178(5), 548-556. <https://doi.org/10.1503/cmaj.070796>
- Paul, M. K. ve Mukhopadhyay, A. K. (2004). Tyrosine kinase–role and significance in cancer. *International journal of medical sciences*, 1(2), 101.
- Paull, K. D., Shoemaker, R. H., Hodes, L., Monks, A., Scudiero, D. A., Rubinstein, L., Plowman, J. ve Boyd, M. R. (1989). Display and Analysis of Patterns of Differential Activity of Drugs Against Human Tumor Cell Lines: Development of Mean Graph and COMPARE Algorithm. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 81(14), 1088-1092. <https://doi.org/10.1093/jnci/81.14.1088>
- Petrova, T., Orellana, C., Jelic, V., Oeksengaard, A.-R., Snaedal, J., Høgh, P., Andersen, B. B., Naik, M., Engedal, K., Wahlund, L.-O. ve Ferreira, D. (2020). Cholinergic dysfunction, neurodegeneration, and amyloid-beta pathology in neurodegenerative diseases. *Psychiatry Research: Neuroimaging*, 302(111099). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.psychresns.2020.111099>
- Petrushanko, I. Y., Mitkevich, V. A., Anashkina, A. A., Adzhubei, A. A., Burnysheva, K. M., Lakunina, V. A., Kamanina, Y. V., Dergousova, E. A., Lopina, O. D., Ogunshola, O. O., Bogdanova, A. Y. ve Makarov, A. A. (2016). Direct interaction of beta-amyloid with Na,K-ATPase as a putative regulator of the enzyme function. *Scientific Reports*, 6(1), 27738. <https://doi.org/10.1038/srep27738>
- Porsteinsson, A. P., Isaacson, R. S., Knox, S., Sabbagh, M. N. ve Rubino, I. (2021). Diagnosis of Early Alzheimer's Disease: Clinical Practice in 2021. *Jpad-Journal of Prevention of Alzheimers Disease*, 8(3), 371-386. <https://doi.org/10.14283/jpad.2021.23>

- Pressey, J. C., de Saint-Rome, M., Raveendran, V. A. ve Woodin, M. A. (2023). Chloride transporters controlling neuronal excitability. *Physiological Reviews*, 103(2), 1095-1135. <https://doi.org/10.1152/physrev.00025.2021>
- Prokšelj, T., Jerin, A., Muck-Seler, D. ve Kogoj, A. (2014). Decreased platelet serotonin concentration in Alzheimer's disease with involuntary emotional expression disorder. *Neurosci Lett*, 578(71-74). <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2014.06.034>
- Quiedeville, A., Boulouard, M., Hamidouche, K., Da Silva Costa-Aze, V., Nee, G., Rochais, C., Dallemagne, P., Fabis, F., Freret, T. ve Bouet, V. (2015). Chronic activation of 5-HT₄ receptors or blockade of 5-HT₆ receptors improve memory performances. *Behav Brain Res*, 293(10-17). <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.07.020>
- Rahmati, N., Hoebeek, F. E., Peter, S. ve De Zeeuw, C. I. (2018). Chloride Homeostasis in Neurons With Special Emphasis on the Olivocerebellar System: Differential Roles for Transporters and Channels. *Front Cell Neurosci*, 12(101). <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00101>
- Rakesh, G., Szabo, S. T., Alexopoulos, G. S. ve Zannas, A. S. (2017). Strategies for dementia prevention: latest evidence and implications. *Ther Adv Chronic Dis*, 8(8-9), 121-136. <https://doi.org/10.1177/2040622317712442>
- Ramos-Rodriguez, J. J., Pacheco-Herrero, M., Thyssen, D., Murillo-Carretero, M. I., Berrocoso, E., Spires-Jones, T. L., Bacsikai, B. J. ve Garcia-Alloza, M. (2013). Rapid β -Amyloid Deposition and Cognitive Impairment After Cholinergic Denervation in APP/PS1 Mice. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 72(4), 272-285. <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e318288a8dd>
- Rapaka, D., Bitra, V. R., Challa, S. R. ve Adiukwu, P. C. (2022). mTOR signaling as a molecular target for the alleviation of Alzheimer's disease pathogenesis. *Neurochemistry International*, 155(105311). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.neuint.2022.105311>
- Raven, F., Ward, J. F., Zoltowska, K. M., Wan, Y., Bylykbashi, E., Miller, S. J., Shen, X., Choi, S. H., Ryneerson, K. D., Berezovska, O., Wagner, S. L., Tanzi, R. E. ve Zhang, C. (2017). Soluble Gamma-secretase Modulators Attenuate Alzheimer's β -amyloid Pathology and Induce Conformational Changes in Presenilin 1. *EBioMedicine*, 24(93-101). <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.08.028>
- Reddy, P. H. ve Beal, M. F. (2008). Amyloid beta, mitochondrial dysfunction and synaptic damage: implications for cognitive decline in aging and Alzheimer's disease. *Trends Mol Med*, 14(2), 45-53. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2007.12.002>
- Reisberg, B., Doody, R., Stöffler, A., Schmitt, F., Ferris, S. ve Möbius, H. J. (2003). Memantine in Moderate-to-Severe Alzheimer's Disease. *New England Journal of Medicine*, 348(14), 1333-1341. <https://doi.org/doi:10.1056/NEJMoa013128>
- Richarz, U., Gaudig, M., Rettig, K. ve Schauble, B. (2014). Galantamine treatment in outpatients with mild Alzheimer's disease. *Acta Neurologica Scandinavica*, 129(6), 382-392. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/ane.12195>
- Rogers, A. ve Gibon, Y. (2009). Enzyme kinetics: theory and practice. *Plant metabolic networks*, 71-103.
- Rogers, K., Felsenstein, K. M., Hrdlicka, L., Tu, Z., Albayya, F., Lee, W., Hopp, S., Miller, M. J., Spaulding, D., Yang, Z., Hodgdon, H., Nolan, S., Wen, M., Costa, D., Blain, J. F., Freeman, E., De Strooper, B., Vulsteke, V., Scrocchi, L., . . . Koenig, G. (2012). Modulation of γ -secretase by EVP-0015962 reduces amyloid

- deposition and behavioral deficits in Tg2576 mice. *Mol Neurodegener*, 7(61). <https://doi.org/10.1186/1750-1326-7-61>
- Royeck, M., Horstmann, M. T., Remy, S., Reitze, M., Yaari, Y. ve Beck, H. (2008). Role of axonal NaV1.6 sodium channels in action potential initiation of CA1 pyramidal neurons. *J Neurophysiol*, 100(4), 2361-2380. <https://doi.org/10.1152/jn.90332.2008>
- Sanchez, P. E., Zhu, L., Verret, L., Vossel, K. A., Orr, A. G., Cirrito, J. R., Devidze, N., Ho, K., Yu, G. Q., Palop, J. J. ve Mucke, L. (2012). Levetiracetam suppresses neuronal network dysfunction and reverses synaptic and cognitive deficits in an Alzheimer's disease model. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109(42), E2895-2903. <https://doi.org/10.1073/pnas.1121081109>
- Scipioni, L., Tortolani, D., Ciaramellano, F., Fanti, F., Gazzì, T., Sergi, M., Nazaré, M., Oddi, S. ve Maccarrone, M. (2023). Aβ Chronic Exposure Promotes an Activation State of Microglia through Endocannabinoid Signalling Imbalance. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(7), 6684. <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/7/6684>
- Setti, S. E., Hunsberger, H. C. ve Reed, M. N. (2017). Alterations in Hippocampal Activity and Alzheimer's Disease. *Transl Issues Psychol Sci*, 3(4), 348-356. <https://doi.org/10.1037/tps0000124>
- Sharma, P., Thapak, P., Chandwani, B., Kharkwal, H., Kulkarni, G. T., Awasthi, R. ve Sharma, B. (2023). Calcium Channels as a Potential Therapeutic Target for Alzheimer's Disease. In D. Kumar, V. M. Patil, D. Wu, & N. Thorat (Eds.), *Deciphering Drug Targets for Alzheimer's Disease* (pp. 125-149). Springer Nature Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-99-2657-2_7
- Sheppard, O. ve Coleman, M. (2020). Alzheimer's Disease: Etiology, Neuropathology and Pathogenesis. In X. Huang (Ed.), *Alzheimer's Disease: Drug Discovery*. Exon Publications
- Copyright: The Authors. <https://doi.org/10.36255/exonpublications.alzheimersdisease.2020.ch1>
- Sheskin, J. (1965). THALIDOMIDE IN THE TREATMENT OF LEPRO REACTIONS. *Clin Pharmacol Ther*, 6(303-306). <https://doi.org/10.1002/cpt196563303>
- Shin, W., Kweon, H., Kang, R., Kim, D., Kim, K., Kang, M., Kim, S. Y., Hwang, S. N., Kim, J. Y., Yang, E., Kim, H. ve Kim, E. (2019). Scn2a Haploinsufficiency in Mice Suppresses Hippocampal Neuronal Excitability, Excitatory Synaptic Drive, and Long-Term Potentiation, and Spatial Learning and Memory. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, Volume 12 - 2019(<https://doi.org/10.3389/fnmol.2019.00145>)
- Shoemaker, R. H. (2006). The NCI60 human tumour cell line anticancer drug screen. *Nat Rev Cancer*, 6(10), 813-823. <https://doi.org/10.1038/nrc1951>
- Siman, R., Cocca, R. ve Dong, Y. (2015). The mTOR Inhibitor Rapamycin Mitigates Perforant Pathway Neurodegeneration and Synapse Loss in a Mouse Model of Early-Stage Alzheimer-Type Tauopathy. *PLoS ONE*, 10(11), e0142340. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142340>
- Šimić, G., Babić Leko, M., Wray, S., Harrington, C. R., Delalle, I., Jovanov-Milošević, N., Bažadona, D., Buée, L., de Silva, R., Di Giovanni, G., Wischik, C. M. ve Hof, P. R. (2017). Monoaminergic neuropathology in Alzheimer's disease. *Progress in Neurobiology*, 151(101-138). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2016.04.001>

- Singh, A., Ansari, V. A., Mahmood, T., Hasan, S. M., Wasim, R., Maheshwari, S., Akhtar, J., Sheikh, S. ve Vishwakarma, V. K. (2024). Targeting Abnormal Tau Phosphorylation for Alzheimer's Therapeutics. *Horm Metab Res*, 56(07), 482-488. <https://doi.org/10.1055/a-2238-1384>
- Singh, K., Gupta, J. K., Pathak, D. ve Kumar, S. (2023). The use of enzyme inhibitors in drug discovery: current strategies and future prospects. *Current Enzyme Inhibition*, 19(3), 157-166.
- Söderberg, L., Johannesson, M., Nygren, P., Laudon, H., Eriksson, F., Osswald, G., Möller, C. ve Lannfelt, L. (2023). Lecanemab, Aducanumab, and Gantenerumab - Binding Profiles to Different Forms of Amyloid-Beta Might Explain Efficacy and Side Effects in Clinical Trials for Alzheimer's Disease. *Neurotherapeutics*, 20(1), 195-206. <https://doi.org/10.1007/s13311-022-01308-6>
- Stallard, E., Kinoshian, B. ve Stern, Y. (2017). Personalized predictive modeling for patients with Alzheimer's disease using an extension of Sullivan's life table model. *Alzheimer's Research & Therapy*, 9(1), 75. <https://doi.org/10.1186/s13195-017-0302-6>
- Stauffer, C. (1994). Enzymes used in bakery products. Fundamentals of enzymes. *AIB Tech Bull*, 16(1-6).
- Strofs, A. (2024). Understanding Alzheimer's Disease: Exploring Neuropsychiatric Symptoms and Treatment Options. *Journal of Student Research*, 13(1), <https://doi.org/10.47611/jsrhs.v13i1.6167>
- Subramanian, A., Narayan, R., Corsello, S. M., Peck, D. D., Natoli, T. E., Lu, X., Gould, J., Davis, J. F., Tubelli, A. A., Asiedu, J. K., Lahr, D. L., Hirschman, J. E., Liu, Z., Donahue, M., Julian, B., Khan, M., Wadden, D., Smith, I. C., Lam, D., . . . Golub, T. R. (2017). A Next Generation Connectivity Map: L1000 Platform and the First 1,000,000 Profiles. *Cell*, 171(6), 1437-1452.e1417. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.10.049>
- Sur, C., Kost, J., Scott, D., Adamczuk, K., Fox, N. C., Cummings, J. L., Tariot, P. N., Aisen, P. S., Vellas, B., Voss, T., Mahoney, E., Mukai, Y., Kennedy, M. E., Lines, C., Michelson, D. ve Egan, M. F. (2020). BACE inhibition causes rapid, regional, and non-progressive volume reduction in Alzheimer's disease brain. *Brain*, 143(12), 3816-3826. <https://doi.org/10.1093/brain/awaa332>
- Tajeddinn, W., Fereshtehnejad, S.-M., Seed Ahmed, M., Yoshitake, T., Kehr, J., Shahnaz, T., Milovanovic, M., Behbahani, H., Höglund, K., Winblad, B., Cedazo-Minguez, A., Jelic, V., Järemo, P. ve Aarsland, D. (2016). Association of Platelet Serotonin Levels in Alzheimer's Disease with Clinical and Cerebrospinal Fluid Markers. *Journal of Alzheimer's Disease*, 53(2), 621-630. <https://doi.org/10.3233/jad-160022>
- Tajeddinn, W., Persson, T., Calvo-Garrido, J., Seed Ahmed, M., Maioli, S., Vijayaraghavan, S., Kazokoglu, M. S., Parrado-Fernández, C., Yoshitake, T., Kehr, J., Francis, P., Winblad, B., Höglund, K., Cedazo-Minguez, A. ve Aarsland, D. (2016). Pharmacological Modulations of the Serotonergic System in a Cell-Model of Familial Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 53(349-361). <https://doi.org/10.3233/JAD-160046>
- Talevi, A. (2018). Drug repositioning: current approaches and their implications in the precision medicine era. *Expert Review of Precision Medicine and Drug Development*, 3(1), 49-61. <https://doi.org/10.1080/23808993.2018.1424535>

- Tan, Y., Deng, Y. ve Qing, H. (2012). Calcium channel blockers and Alzheimer's disease. *Neural Regen Res*, 7(2), 137-140. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1673-5374.2012.02.010>
- Tari, L., Vo, N., Liang, S., Patel, J., Baral, C. ve Cai, J. (2012). Identifying Novel Drug Indications through Automated Reasoning. *PLoS ONE*, 7(7), e40946. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040946>
- Thal, D. R. ve Tomé, S. O. (2022). The central role of tau in Alzheimer's disease: From neurofibrillary tangle maturation to the induction of cell death. *Brain Research Bulletin*, 190(204-217). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2022.10.006>
- Thangwaritorn, S., Lee, C., Metchikoff, E., Razdan, V., Ghafary, S., Rivera, D., Pinto, A., Pemminati, S., Skylynn, T. ve Christopher, L. (2024). A review of recent advances in the management of Alzheimer's disease. *Cureus*, 16(4),
- Thomas, A. J., Hendriksen, M., Piggott, M., Ferrier, I. N., Perry, E., Ince, P. ve O'Brien, J. T. (2006). A study of the serotonin transporter in the prefrontal cortex in late-life depression and Alzheimer's disease with and without depression. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 32(3), 296-303. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2990.2006.00728.x>
- Tippens, A. L., Pare, J. F., Langwieser, N., Moosmang, S., Milner, T. A., Smith, Y. ve Lee, A. (2008). Ultrastructural evidence for pre-and postsynaptic localization of Cav1. 2 L-type Ca²⁺ channels in the rat hippocampus. *Journal of Comparative Neurology*, 506(4), 569-583.
- Tramutola, A., Lanzillotta, C. ve Di Domenico, F. (2017). Targeting mTOR to reduce Alzheimer-related cognitive decline: from current hits to future therapies. *Expert Rev Neurother*, 17(1), 33-45. <https://doi.org/10.1080/14737175.2017.1244482>
- Tse, M. T. (2012). Neurodegenerative diseases: Anti-epileptic drug shows benefit in AD mouse model. *Nat Rev Drug Discov*, 11(10), 748-749. <https://doi.org/10.1038/nrd3850>
- Uddin, J., Fariha, T., Shumi, S. S. ve Khandoker, F. (2024). Factors Contributing to Alzheimer's Disease in Older Adult Populations: A Narrative Review. In *Preprints: Preprints*.
- Van Skike, C. E., Jahrling, J. B., Olson, A. B., Sayre, N. L., Hussong, S. A., Ungvari, Z., Lechleiter, J. D. ve Galvan, V. (2018). Inhibition of mTOR protects the blood-brain barrier in models of Alzheimer's disease and vascular cognitive impairment. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 314(4), H693-h703. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00570.2017>
- Vartak, R. S., Rodin, A. ve Oddo, S. (2019). Differential activation of the mTOR/autophagy pathway predicts cognitive performance in APP/PS1 mice. *Neurobiol Aging*, 83(105-113). <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2019.08.018>
- Verma, S., Nainwal, N., Singh, A., Kukreti, G. ve Dobhal, K. (2024). An Overview of Computational-Based Strategies for Drug Repositioning. In *Integrating Metaheuristics in Computer Vision for Real-World Optimization Problems* (pp. 81-97). <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9781394230952.ch5>
- Vuic, B., Milos, T., Kvak, E., Konjevod, M., Tudor, L., Farkas, S., Nedic Erjavec, G., Nikolac Perkovic, M., Zelena, D. ve Svob Strac, D. (2025). Neuroprotective Effects of Dehydroepiandrosterone Sulphate Against A β Toxicity and Accumulation in Cellular and Animal Model of Alzheimer's Disease. *Biomedicines*, 13(2), 432. <https://www.mdpi.com/2227-9059/13/2/432>

- Wang, D., Liu, J., Zhu, Q., Wei, X., Zhang, X., Chen, Q., Zhao, Y., Tang, H. ve Xu, W. (2024). Ouabain Ameliorates Alzheimer's Disease-Associated Neuropathology and Cognitive Impairment in FAD4T Mice. *Nutrients*, 16(20), 3558. <https://www.mdpi.com/2072-6643/16/20/3558>
- Wang, Z. ve Choi, K. (2023). Pharmacological modulation of chloride channels as a therapeutic strategy for neurological disorders. *Frontiers in Physiology*, 14(<https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1122444>)
- Weinstein, J. N., Myers, T. G., O'Connor, P. M., Friend, S. H., Fornace, A. J., Kohn, K. W., Fojo, T., Bates, S. E., Rubinstein, L. V., Anderson, N. L., Buolamwini, J. K., van Osdol, W. W., Monks, A. P., Scudiero, D. A., Sausville, E. A., Zaharevitz, D. W., Bunow, B., Viswanadhan, V. N., Johnson, G. S., . . . Paull, K. D. (1997). An Information-Intensive Approach to the Molecular Pharmacology of Cancer. *Science*, 275(5298), 343-349. <https://doi.org/doi:10.1126/science.275.5298.343>
- Wheeler, D. B., Randall, A. ve Tsien, R. W. (1994). Roles of N-Type and Q-Type Ca²⁺ Channels in Supporting Hippocampal Synaptic Transmission. *Science*, 264(5155), 107-111. <https://doi.org/doi:10.1126/science.7832825>
- Wilcock, G. K., Gauthier, S., Frisoni, G. B., Jia, J., Hardlund, J. H., Moebius, H. J., Bentham, P., Kook, K. A., Schelter, B. O., Wischik, D. J., Davis, C. S., Staff, R. T., Vuksanovic, V., Ahearn, T., Bracoud, L., Shamsi, K., Marek, K., Seibyl, J., Riedel, G., . . . Wischik, C. M. (2018). Potential of Low Dose Leuco-Methylthioninium Bis(Hydromethanesulphonate) (LMTM) Monotherapy for Treatment of Mild Alzheimer's Disease: Cohort Analysis as Modified Primary Outcome in a Phase III Clinical Trial. *Journal of Alzheimer's Disease*, 61(1), 435-457. <https://doi.org/10.3233/jad-170560>
- Wilcock, G. K., Lilienfeld, S. ve Gaens, E. (2000). Efficacy and safety of galantamine in patients with mild to moderate Alzheimer's disease: multicentre randomised controlled trial. *BMJ*, 321(7274), 1445. <https://doi.org/10.1136/bmj.321.7274.1445>
- Willis, M., Kaufmann, W. A., Wietzorrek, G., Hutter-Paier, B., Moosmang, S., Humpel, C., Hofmann, F., Windisch, M., -Günther Knaus, H. ve Marksteiner, J. (2010). L-type calcium channel CaV 1.2 in transgenic mice overexpressing human A β PP751 with the London (V717I) and Swedish (K670M/N671L) mutations. *Journal of Alzheimer's Disease*, 20(4), 1167-1180.
- Wischik, C. M., Staff, R. T., Wischik, D. J., Bentham, P., Murray, A. D., Storey, J. M. D., Kook, K. A. ve Harrington, C. R. (2015). Tau Aggregation Inhibitor Therapy: An Exploratory Phase 2 Study in Mild or Moderate Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 44(2), 705-720. <https://doi.org/10.3233/jad-142874>
- Wu, W., Ji, Y., Wang, Z., Wu, X., Li, J., Gu, F., Chen, Z. ve Wang, Z. (2023). The FDA-approved anti-amyloid- β monoclonal antibodies for the treatment of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *European Journal of Medical Research*, 28(1), 544. <https://doi.org/10.1186/s40001-023-01512-w>
- Xiao, D. ve Zhang, C. (2024). Current therapeutics for Alzheimer ' s disease and clinical trials. *Exploration of Neuroscience*, 3(3), 255-271. <https://doi.org/10.37349/en.2024.00048>
- Xiao, S., Chan, P., Wang, T., Hong, Z., Wang, S., Kuang, W., He, J., Pan, X., Zhou, Y., Ji, Y., Wang, L., Cheng, Y., Peng, Y., Ye, Q., Wang, X., Wu, Y., Qu, Q., Chen, S., Li, S., . . . Zhang, Z. (2021). A 36-week multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group, phase 3 clinical trial of sodium oligomannate

- for mild-to-moderate Alzheimer's dementia. *Alzheimer's Research & Therapy*, 13(1), 62. <https://doi.org/10.1186/s13195-021-00795-7>
- Xie, P.-L., Zheng, M.-Y., Han, R., Chen, W.-X. ve Mao, J.-H. (2024). Pharmacological mTOR inhibitors in ameliorating Alzheimer's disease: current review and perspectives. *Frontiers in Pharmacology, Volume 15 - 2024*(<https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1366061>)
- Yamamura, H. (2024). Physiological and Pathological Significance of Chloride Channels. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 47(1), 1-13. <https://doi.org/10.1248/bpb.b23-00820>
- Yuan, D. J., Yang, G., Wu, W., Li, Q. F., Xu, D. E., Ntim, M., Jiang, C. Y., Liu, J. C., Zhang, Y., Wang, Y. Z., Zhu, D. D., Kundu, S., Li, A. P., Xiao, Z. C., Ma, Q. H. ve Li, S. (2022). Reducing Nav1.6 expression attenuates the pathogenesis of Alzheimer's disease by suppressing BACE1 transcription. *Aging Cell*, 21(5), e13593. <https://doi.org/10.1111/accel.13593>
- Yuan, J., Venkatraman, S., Zheng, Y., McKeever, B. M., Dillard, L. W. ve Singh, S. B. (2013). Structure-based design of β -site APP cleaving enzyme 1 (BACE1) inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. *J Med Chem*, 56(11), 4156-4180. <https://doi.org/10.1021/jm301659n>
- Yuede, C. M., Wallace, C. E., Davis, T. A., Gardiner, W. D., Hettinger, J. C., Edwards, H. M., Hendrix, R. D., Doherty, B. M., Yuede, K. M., Burstein, E. S. ve Cirrito, J. R. (2021). Pimavanserin, a 5HT(2A) receptor inverse agonist, rapidly suppresses A β production and related pathology in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurochem*, 156(5), 658-673. <https://doi.org/10.1111/jnc.15260>
- Yulug, B., Altay, O., Li, X., Hanoglu, L., Cankaya, S., Lam, S., Velioglu, H. A., Yang, H., Coskun, E., Idil, E., Nogaylar, R., Ozsimsek, A., Bayram, C., Bolat, I., Oner, S., Tozlu, O. O., Arslan, M. E., Hacimuftuoglu, A., Yildirim, S., . . . Mardinoglu, A. (2023). Combined metabolic activators improve cognitive functions in Alzheimer's disease patients: a randomised, double-blinded, placebo-controlled phase-II trial. *Translational Neurodegeneration*, 12(1), 4. <https://doi.org/10.1186/s40035-023-00336-2>
- Zhang, H., Jiang, X., Ma, L., Wei, W., Li, Z., Chang, S., Wen, J., Sun, J. ve Li, H. (2022). Role of A β in Alzheimer's-related synaptic dysfunction. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 10(<https://doi.org/10.3389/fcell.2022.964075>)
- Zhang, S., Gao, Z., Feng, L. ve Li, M. (2024). Prevention and Treatment Strategies for Alzheimer's Disease: Focusing on Microglia and Astrocytes in Neuroinflammation. *Journal of Inflammation Research*, 17(7235—7259). <https://doi.org/https://doi.org/10.2147/JIR.S483412>
- Zhang, X., Lian, S., Zhang, Y. ve Zhao, Q. (2022). Efficacy and safety of donepezil for mild cognitive impairment: A systematic review and meta-analysis. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 213(107134). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2022.107134>
- Zhang, Y., Chen, H., Li, R., Sterling, K. ve Song, W. (2023). Amyloid β -based therapy for Alzheimer's disease: challenges, successes and future. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 8(1), 248. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01484-7>
- Zhang, Y., Zhang, C., Liu, J. ve Shao, H. (2023). Alzheimer's disease: Potential pathogenesis and imaging findings. *VIEW*, 4(5), 20230025. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/VIW.20230025>

- Zhou, X., Xie, Y., Li, X. ve Cao, Y. (2024). Restoring the acidifying function of lysosomes for Alzheimer's disease therapy. *Theoretical and Natural Science*, 45(87-93).
- Zhu, X., Perry, G., Moreira, P. I., Aliev, G., Cash, A. D., Hirai, K. ve Smith, M. A. (2006). Mitochondrial abnormalities and oxidative imbalance in Alzheimer disease. *J Alzheimers Dis*, 9(2), 147-153. <https://doi.org/10.3233/jad-2006-9207>
- Zybura, A., Hudmon, A. ve Cummins, T. R. (2021). Distinctive Properties and Powerful Neuromodulation of Na(v)1.6 Sodium Channels Regulates Neuronal Excitability. *Cells*, 10(7), <https://doi.org/10.3390/cells10071595>



ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı: Bilge ÇİFTCİ

Yabancı Diller: İngilizce, B2

Eğitim Durumu

Lise: Kahramanmaraş Süleyman Demirel Fen Lisesi

Lisans: Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi

Mesleki Deneyim

Kurum: Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi

Birim: Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu

Unvan: Öğretim Görevlisi

Yayınlar

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

1. KAYA BETÜL,TAHTACI HAKAN,ÇİFTCİ BİLGE,DURAN HATİCE ESRA,NECİP ADEM,IŞIK MESUT,BEYDEMİR ŞÜKRÜ (2025). Discovery of Hydrazine Clubbed Thiazoles as Potential Antidiabetic Agents: Synthesis, Biological Evaluation, and Molecular Docking Studies. Drug Development Research, 86, Doi: 10.1002/ddr.70060 (Yayın No: 9547698)
2. KAYA BETÜL,ACAR ÇEVİK ULVİYE,ÇİFTCİ BİLGE,DURAN HATİCE ESRA,TÜRKEŞ CÜNEYT,IŞIK MESUT,BOSTANCI HAYRANİ EREN,KAPLANCIKLİ ZAFER ASİM,BEYDEMİR ŞÜKRÜ (2024). Synthesis, α -Glucosidase, α -Amylase, and Aldol Reductase Inhibitory Activity with Molecular Docking Study of Novel Imidazo[1,2-a]pyridine Derivatives. ACS Omega, Doi: 10.1021/acsomega.4c05619 (Yayın No: 9128357)
3. ÇİFTCİ BİLGE, ÖKTEN SALİH, KOÇYİĞİT ÜMİT MUHAMMET, ENİSOĞLU ATALAY VİLDAN, ATAŞ MEHMET, ÇAKMAK OSMAN (2024). Functionalized methoxy quinoline derivatives: Experimental and in silico evaluation as new antiepileptic, anti-Alzheimer, antibacterial and antifungal drug candidates. European Journal of Medicinal Chemistry Reports, 10(1), Doi: 10.1016/j.ejmcr.2023.100127 (Yayın No: 8680966)

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında (proceedings) basılan bildiriler :

1. KIRBOĞA KEVSER KÜBRA, ÇİFTÇİ BİLGE, IŞIK MESUT (2023). An Overview of Artificial Intelligence and Explainability in Pharmacovigilance . 2ND INTERNATIONAL CONFERENCE ON ENGINEERING, NATURAL AND SOCIAL SCIENCES, 415- 1. 1 422. (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No: 8699410)

Yazılan ulusal/uluslararası kitaplardaki bölümler:

1. Biochemical and Molecular Pharmacology in Drug Discovery , Bölüm adı:(Chapter 5 - Molecular cloning of drug targets) (2024)., KIRBOĞA KEVSER KÜBRA,ÇİFTÇİ BİLGE, Elsevier, Basım sayısı:1, Sayfa Sayısı 565, ISBN:978-0-443-16013-4, İngilizce(Bilimsel Kitap) (Yayın No: 9111489)
2. Kanser Tedavisinde Terapötik Hedefler, Bölüm adı:(Kanser Tedavisi İçin Antikor-Sitokin Füzyon Proteinleri) (2024)., ÇİFTÇİ BİLGE,KOÇYİĞİT ÜMİT MUHAMMET, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Yayınları, Editör:ATASEVEN HİLMİ, SAYIN KORAY, TÜZÜN BURAK, Basım sayısı:1, Sayfa Sayısı 184, ISBN:978-625-6497-18-4, Türkçe(Bilimsel Kitap) (Yayın No: 9161173) 2.
3. Mikrobiyolojiye Güncel Yaklaşımlar, Bölüm adı:(Enfeksiyon Hastalıklarında Oksidatif Stresin Rolü) (2023)., ÇİFTÇİ BİLGE, KIRBOĞA KEVSER KÜBRA, IŞIK MESUT, Bizim Büro Basımevi, Editör:Prof. Dr. Mahmut Baykan, Prof. Dr. Rıza Dünder, Prof. Dr. Alper Karagöz, Basım sayısı:1, Sayfa Sayısı 362, ISBN:978-625-425-237-2, Türkçe(Bilimsel Kitap) (Yayın No: 8699396)

Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler :

1. KAYA BETÜL,ACAR ÇEVİK ULVİYE,ÇİFTÇİ BİLGE,IŞIK MESUT,KAPLANCIKLİ ZAFER ASIM,BEYDEMİR ŞÜKRÜ (2024). Design, Synthesis and Cholinesterase Inhibitory Activity of Novel 1,3,4-Thiadiazole Derivatives. Cumhuriyet Science Journal, 45(3), 503-509., Doi: 10.17776/csj.1449622 (Kontrol No: 9128363)

Projelerde Yaptığı Görevler:

1. İlaç Yeniden Konumlandırma Tabanlı AntiAlzheimer İlaç Keşfi ve in vitro Değerlendirilmesi, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel

araştırma projesi, Yürütücü:ŞÜKRÜ BEYDEMİR, Araştırmacı:BİLGE ÇİFTCİ,
, 23/08/2024 (Devam Ediyor) (ULUSAL)

2. Anti-Nörodejeneratif Potansiyele Sahip Yeni BODIPY Türevlerinin Sentezi ve Karakterizasyonu: In Vitro /In Silico Biyolojik Çalışmalar, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı;Ümit Muhammet KOÇYİĞİT, Araştırmacı;Raşit Fikret YILMAZ, Araştırmacı;Kevser Kübra KIRBOĞA, Yürütücü;Mesut IŞIK, Araştırmacı;Şükrü BEYDEMİR, Araştırmacı;Bilge ÇİFTCİ, Araştırmacı;Ahmet TUTAR, (Tamamlandı) (ULUSAL)

