



**T.C.  
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ  
İLERİ TEKNOLOJİLER ANABİLİM DALI**

**MULTİPLE SKLEROZ HASTALIĞININ TEDAVİSİNE  
YÖNELİK YENİ ÖNDER BİLEŞİKLERİN GELİŞTİRİLMESİ**

**(Yüksek Lisans Tezi)**

**Birsen HUYLU**

**Danışman  
Dr. Öğr. Üyesi Gözde YALÇIN ÖZKAT**

**RİZE  
2022**

## KABUL VE ONAY

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, İleri Teknolojiler Anabilim Dalında, Dr. Öğr. Üyesi Gözde YALÇIN ÖZKAT danışmanlığında, Birsen HUYLU tarafından hazırlanan *Multiple Skleroz Hastalığının Tedavisine Yönelik Yeni Önder Bileşiklerin Geliştirilmesi* adlı bu tez çalışması, 07/07/2022 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda oy birliği/oy çokluğuyla başarılı bulunarak jürimiz tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

### Jüri Üyeleri

### Unvanı, Adı Soyadı

### İmza

Başkan

: Doç. Dr. Derya EFE

Üye

: Dr. Öğr. Üyesi Gözde YALÇIN  
ÖZKAT

Üye

: Doç. Dr. Derya BAL ALTUNTAŞ

## ETİK BEYAN

İleri Teknolojiler Tezli Yüksek Lisans Programından mezun olmak üzere teslim ettiğim “Multiple Skleroz Hastalığının Tedavisine Yönelik Yeni Önder Bileşiklerin Geliştirilmesi” adlı tezim, bilim ve araştırma etiği prensiplerine riayet edilerek tarafımdan yazılmıştır.

Tez çalışmamda, başka kaynaklardan aktarılan bütün bilgi ve alıntılar, Enstitünüz Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak açıkça gösterilmiştir. Kaynağı gösterilenler dışında kalan bütün bilgiler uygun araştırma yöntemi kullanılarak tarafımdan edinilmiş ve esere bu şekilde yansıtılmıştır. Şahsıma ait olmayan hiçbir bilgi, kasıt veya kusurlar, şahsıma aitmiş gibi gösterilmemiştir. İnternet kaynakları dâhil, sahibine/kaynağına atıf yapılmaksızın hiçbir bilgi kullanılmamıştır. Aksinin ortaya çıkması halinde doğacak bütün hukuki, idari, akademik ve etik sorumluluk tarafıma ait olacaktır. Eserin tesliminden sonra herhangi bir zamanda, bilim etiğine aykırılık tespit edilmesi ve / veya eserimle ilgili intihal veya intihal şeklinde anlaşılabilecek bir durumun ortaya çıkması halinde; Üniversiteniz ve eğitim kadronuzun hiçbir şekilde sorumlu tutulmayacağını hür irademle kabul, beyan ve taahhüt ederim.

19 /07/2022

**Birsen HUylU**

## ÖNSÖZ

Ben “Bana bir harf öğretenin kırk yıl kölesi olurum.” diyebilmeme müsaade edebilecek ruh yüceliğine sahip değilim, fakat, bana çok şey katan danışmanım Gözde Hocamın başını çektiği ‘birtakım tatlı ve saygıdeğer hocalarım topluluğu’nu kırk yıl minnetle yad ederim.

Hem bir bilim insanı olmamı isteyip hem de ev kızı olmanın tüm gereklerini yerine getirmemi bekleyen anneme, babama ve kardeşime; yapabileceğimi düşündüğümünden daha fazlasına sahip olduğumu fark etmemi sağladıkları için teşekkür ederim.

Tek sözüyle, davranışıyla hayatıma iyi veya kötü bir şekilde dokunabilen sayılı özel insanlara teşekkür ederim, onların sayesinde ve onlara rağmen ortaya bir tez çıkarabildiğim için de kendimi tebrik ederim.

Birsen HUYYLU  
2022/RİZE

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                        |      |
|----------------------------------------------------------------------------------------|------|
| KABUL VE ONAY .....                                                                    | I    |
| ETİK BEYAN .....                                                                       | II   |
| ÖNSÖZ.....                                                                             | III  |
| İÇİNDEKİLER .....                                                                      | IV   |
| TÜRKÇE ÖZET .....                                                                      | VI   |
| ABSTRACT .....                                                                         | VII  |
| KISALTMALAR .....                                                                      | VIII |
| TABLolar LİSTESİ.....                                                                  | X    |
| ŞEKİLLER LİSTESİ .....                                                                 | XI   |
| GİRİŞ.....                                                                             | 1    |
| 1. GENEL BİLGİLER .....                                                                | 4    |
| 1.1. MS Patolojisi.....                                                                | 4    |
| 1.2. Siklofilin D.....                                                                 | 9    |
| 1.3. Sfingozin-1-Fosfat Reseptörü 1 .....                                              | 11   |
| 1.4. MS için Halihazırda Kullanılan İlaçlar .....                                      | 12   |
| 1.5. MS için Yürütölmüş İlaç Etken Madde Geliştirme Çalışmaları .....                  | 15   |
| 1.6. Çoklu Hedefe Yönelik İlaç Geliştirme.....                                         | 15   |
| 2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....                                                             | 17   |
| 2.1. Materyal .....                                                                    | 17   |
| 2.1.1. Çalışmalarda Kullanılacak Reseptörlerin Belirlenmesi.....                       | 17   |
| 2.1.1.1. Sfingozin-1-Fosfat Reseptörü 1 ve 3V2Y'nin Yapısı.....                        | 17   |
| 2.1.1.2. Reseptör Siklofilin D ve 2Z6W'nin Yapısı.....                                 | 17   |
| 2.1.2. Çalışmalarda Kullanılacak Ligandların Belirlenmesi.....                         | 18   |
| 2.1.2.1. Sfingozin-1-Fosfat Reseptörü 1 Modölatörlerinin Belirlenmesi .....            | 18   |
| 2.1.2.2. Siklofilin D İnhibitörlerinin Belirlenmesi .....                              | 19   |
| 2.2. Yöntem.....                                                                       | 22   |
| 2.2.1. Ligand Temelli İlaç Tasarımı .....                                              | 22   |
| 2.2.1.1. Farmakofor Modelleme.....                                                     | 22   |
| 2.2.1.2. ZINCPharmer Veri tabanı ile Farmakofora Uygun Bileşiklerin Belirlenmesi ..... | 22   |
| 2.2.1.3. ADME-Toksikoloji Tahminleri .....                                             | 22   |

|                                                                           |    |
|---------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.2.2. Hedef Temelli İlaç Tasarımı.....                                   | 22 |
| 2.2.2.1. Moleküler Doking .....                                           | 22 |
| 2.3. Bulgular.....                                                        | 24 |
| 2.3.1. Farmakofor Modelleme Sonuçları.....                                | 24 |
| 2.3.1.1. S1P1 Modulatorleriyle Farmakofor Modelleme Sonuçları ...         | 24 |
| 2.3.1.2. CyPD İnhibitörleriyle Farmakofor Modelleme Sonuçları ....        | 25 |
| 2.3.2. ZINCPharmer Veri tabanından Elde Edilen Bileşiklerin Taranması ..  | 26 |
| 2.3.2.1. S1P1 için Bileşiklerin Taranması.....                            | 26 |
| 2.3.2.2. CyPD için Bileşiklerin Taranması .....                           | 27 |
| 2.3.3. ADME-Toksikoloji Analizi Bulguları.....                            | 28 |
| 2.3.3.1. S1P1 için Ligand Bileşiklerinin ADME-Toksikoloji Sonuçları ..... | 28 |
| 2.3.3.2. CyPD için Ligand Bileşiklerinin ADME-Toksikoloji Sonuçları ..... | 32 |
| 2.3.4. Moleküler Doking Çalışması Bulguları.....                          | 36 |
| 2.3.4.1. S1P1 ile Moleküler Doking Sonuçları .....                        | 42 |
| 2.3.4.2. CyPD ile Moleküler Doking Sonuçları .....                        | 43 |
| 2.3.4.3. Çapraz Doking Sonuçları .....                                    | 47 |
| 3. TARTIŞMA VE SONUÇLAR .....                                             | 49 |
| KAYNAKÇA .....                                                            | 51 |

**Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü**

**Ana Bilim Dalı** : İleri Teknolojiler

**Tez Türü** : Lisans Tezi

**Danışman** : Dr. Öğr. Üyesi Gözde YALÇIN ÖZKAT

**Hazırlayan** : Birsen HUYYLU

**Yıl** : 2022

**Sayfa Sayısı** : 71

## **ÖZET**

### **MULTİPLE SKLEROZ HASTALIĞININ TEDAVİSİNE YÖNELİK YENİ ÖNDER BİLEŞİKLERİN GELİŞTİRİLMESİ**

Bu tez kapsamında, *in silico* ortamda yapılan çalışmalar vasıtasıyla Multiple Skleroz hastalığının tedavisine yönelik yeni bir ilaç önder bileşiğinin geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu doğrultuda; PharmaGist web aracı kullanılarak, sfingozin-1-fosfat reseptörü 1 (S1P1) ve siklofilin D (CyPD) hedef proteinlerinin inhibitörleriyle farmakofor analizi yapıp hipotezler geliştirilmiştir. PharmaGist'ten elde edilen en uygun farmakofor modelleri temel alınarak ZINCPharmer veri tabanı üzerinden 160 adet inhibitör ligand molekül elde edilmiştir. Daha sonra, bu moleküllerin *in silico* ortamda ADME/Tox (Absorbsiyon, Dağılım, Metabolizma, İtira, Toksisite) özellikleri incelenmiş ve ligand sayısı 14'e düşürülmüştür. AutoDock Vina programı vasıtasıyla, S1P1 ve CyPD reseptörleri ile 14 adet ligand molekülün moleküler kenetleme işlemi yapılarak bağlanma afiniteleri ve bağlanma profilleri belirlenmiştir. Tüm analiz sonuçlarının değerlendirilmesiyle ZINC00390492 bileşiği çoklu hedefe yönelik ilaç aday molekülü olarak seçilmiştir. ZINC00390492 bileşiğinin S1P1 ve CyPD reseptörleri üzerindeki inhibitör özelliği sayesinde Multipl Skleroz için yeni bir ilaç önder bileşiği olabileceği hesaplamalı olarak gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Multiple Skleroz, Sfingozin-1-fosfat reseptörü 1, Siklofilin D, Hesaplamalı ilaç geliştirme

**Recep Tayyip Erdogan University Institute of Graduate Studies**

**Department** : Advanced Technologies  
**Thesis Type** : Master Thesis  
**Supervisor** : Prof. Dr. Gözde YALÇIN ÖZKAT  
**Author** : Birsen HUYYLU  
**Year** : 2022  
**Pages** : 71

**ABSTRACT**

**DEVELOPMENT OF NEW LEADER COMPOUNDS FOR THE  
TREATMENT OF MULTIPLE SCLEROSIS**

Within the scope of this thesis, it is aimed to develop a new drug leader compound for the treatment of Multiple Sclerosis through studies carried out *in silico*. In this direction; pharmacophore analysis was performed with inhibitors of sphingosine-1-phosphate receptor 1 (S1P1) and cyclophilin D (CyPD) target proteins and hypotheses were developed by using PharmaGist web tool. Based on optimal pharmacophore models from PharmaGist, 160 inhibitory ligand molecules were obtained from the ZINCPharmer database. Then, The ADME/Tox (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, Toxicology) properties were investigated on *in silico* environment and the number of ligand was decreased to 14. The binding affinities and binding profiles of 14 ligand molecules with S1P1 and CyPD receptors were determined by means of AutoDock Vina program. ZINC00390492 molecule was selected as a multi-target drug candidate molecule by the consideration of the whole analysis results. It has been computationally demonstrated that the compound ZINC00390492 can be a new drug lead compound for the Multiple Sclerosis due to its modulatory property on S1P1 and CyPD receptors.

**Keywords:** Multiple Sclerosis, Sphingosine-1-phosphate receptor 1, Cyclophilin D, Computational drug development

## KISALTMALAR

|       |                                                          |
|-------|----------------------------------------------------------|
| ADME  | : Absorbsiyon, Dağılım, Metabolizma, Ekskresyon          |
| AMPA  | : a-amino-3-hidroksi-5-metil-4- izoksazolpropiyonik asit |
| CADD  | : Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı                      |
| CsA   | : Siklosporin A                                          |
| CyPD  | : Siklofilin D                                           |
| DMF   | : Dimetil Fumarat                                        |
| EAE   | : Deneysel Otoimmün Ensefalomiyelit                      |
| FDA   | : Amerika Birleşik Devletler Gıda ve İlaç Dairesi        |
| GPCR  | : G Protein Bağlı Reseptör                               |
| HMOX1 | : Hem Oksijenaz 1                                        |
| IL-10 | : İnterlökin-10                                          |
| iNOS  | : Uyarılabilir Nitrik Oksit Sentaz                       |
| KBB   | : Kan-Beyin Bariyeri                                     |
| MS    | : Multiple Skleroz                                       |
| mPT   | : Mitokondriyal Geçirgenlik Geçışı                       |
| mPTP  | : Mitokondriyal Geçirgenlik Geçiş Gözeneği               |
| NMDA  | : N-metil-D-aspartat                                     |
| NMR   | : Nükleer Manyetik Rezonans                              |
| NRF2  | : Nükleer Faktör Eritroid 2                              |
| PDB   | : Protein Veri Bankası                                   |
| PPIaz | : Peptidil Prolil İzomeraz                               |
| PPMS  | : Birincil İlerleyici Multiple Skleroz                   |
| PTP   | : Geçirgenlik Geçiş Gözeneği                             |
| RMS   | : Tekrarlayan Multiple Skleroz                           |
| RRMS  | : Tekrarlayan Düzelen Multiple Skleroz                   |
| SPMS  | : İkincil İlerleyici Multiple Skleroz                    |
| S1P   | : Sfingozin-1-fosfat                                     |
| S1P1  | : Sfingozin-1-fosfat reseptörü 1                         |
| Treg  | : Düzenleyici T hücreleri                                |

TRPA1 : Geçici Reseptör Potansiyeli Ankin 1  
3D-QSAR : 3 Boyutlu Kantitatif Yapı-Etki İlişkileri



## TABLÖLAR LİSTESİ

|                                                                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 1.</b> S1P1 için farmakofor geliştirme çalışmalarında kullanılan bazı moleküllerin bileşik kodları ..... | 19 |
| <b>Tablo 2.</b> CyPD için farmakofor geliştirme çalışmalarında kullanılan moleküller ....                         | 19 |
| <b>Tablo 3.</b> Farmakofor modelleme sonucu elde edilen hipotezler ve özellikleri (S1P1) .....                    | 24 |
| <b>Tablo 4.</b> Farmakofor modelleme sonucu elde edilen hipotezler ve özellikleri (CyPD) .....                    | 25 |
| <b>Tablo 5.</b> ZINCPharmer veri tabanından elde edilen moleküllerin özellikleri (S1P1)27                         |    |
| <b>Tablo 6.</b> ZINCPharmer veri tabanından elde edilen moleküllerin özellikleri (CyPD) .....                     | 28 |
| <b>Tablo 7.</b> 80 bileşiğe ait ADME tahminlemesi (S1P1).....                                                     | 29 |
| <b>Tablo 8.</b> Bileşiklerin toksikoloji özellikleri (S1P1) .....                                                 | 31 |
| <b>Tablo 9.</b> 80 bileşiğe ait ADME tahminlemesi (CyPD) .....                                                    | 33 |
| <b>Tablo 10.</b> Bileşiklerin toksikoloji özellikleri (CyPD) .....                                                | 35 |
| <b>Tablo 11.</b> S1P1 için seçilen modölatör moleküller .....                                                     | 37 |
| <b>Tablo 12.</b> CyPD için seçilen inhibitör moleküller .....                                                     | 38 |
| <b>Tablo 13.</b> Reseptörler ve seçili ligandların bağlanma afiniteleri .....                                     | 40 |

## ŞEKİLLER LİSTESİ

|                                                                                                                                                                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 1.</b> Multiple Sklerozda nöroaksonal hasara yol açan kaskadlar.....                                                                                                                                                       | 5  |
| <b>Şekil 2.</b> Sfingozin-1-fosfat reseptörü yapısı içerisindeki ML5 molekülü .....                                                                                                                                                 | 17 |
| <b>Şekil 3.</b> Siklofilin D reseptör yapısı içerisindeki siklosporin A inhibitör molekülü .                                                                                                                                        | 18 |
| <b>Şekil 4.</b> Hipotez 1 (a), Hipotez 2 (b), Hipotez 3 (c ) ve Hipotez 6 (d)’ya ait özellikler .....                                                                                                                               | 25 |
| <b>Şekil 5.</b> Hipotez 1 (a), Hipotez 2 (b), Hipotez 3 (c ) ve Hipotez 4 (d)’e ait özellikler .....                                                                                                                                | 26 |
| <b>Şekil 6.</b> ZINC00390492 (a), ZINC67740009 (b), ZINC19847253 (c ),<br>ZINC19847241 (d) bileşiklerinin S1P1 ile bağlanma profilleri .....                                                                                        | 42 |
| <b>Şekil 7.</b> ZINC72474618 (a), ZINC60353659 (b), ZINC01496377 (c ),<br>ZINC09603787 (d), ZINC32674515 (e), ZINC23228074 (f), ZINC36719024 (g),<br>ZINC44514282 (h), ZINC17322385 (i) bileşiklerinin CyPD ile bağlanma profilleri | 44 |
| <b>Şekil 8.</b> ZINC23228074 (a) ve ZINC44514282 (b) bileşiklerinin S1P1 ile bağlanma<br>profili .....                                                                                                                              | 47 |
| <b>Şekil 9.</b> ZINC00390492 ile CyPD’nin bağlanma profili .....                                                                                                                                                                    | 48 |

## GİRİŞ

Hesaplamalı ilaç tasarımı; ilaç geliştirme sürecini hızlandırması ve bunun yanında, maliyeti de düşürmesi nedeniyle tıp mühendisliğinin önde gelen alanlarından biri haline gelmiştir. Geleneksel olarak ilaç geliştirilme sürecinin, pazara ulaşmaya hazır hale gelene kadar ortalama 10-15 yılı kapsayan, zaman alıcı ve yoğun maliyetli olduğu bilinmektedir (Mullard, 2016). Bunun yanında, tipik bir ilaç keşfi ve geliştirme döngüsünün maliyeti 0,8-1,0 milyar ABD doları aralığındadır (Moses ve diğ., 2005). Ayrıca, yapılan bir araştırmada klinik denemelerin ilk aşamasına ulaşan tüm ilaçlardan sadece %11,83'ünün pazar için onaylandığı gösterilmiştir (DiMasi ve diğ., 2016). Geleneksel ilaç geliştirme çalışmalarının yüksek maliyeti ve yüksek başarısızlık oranı, bilgisayar destekli ilaç tasarımına (CADD) duyulan ihtiyacı ortaya çıkarmıştır.

Bilgisayar destekli ilaç tasarımı (CADD) bu hedeflere ulaşmak için en etkili yöntemlerden biridir. CADD; bileşiklerin depolanması, yönetimi, analizi ve modellenmesi için hesaplama araçlarını ve kaynaklarını temsil eden yaygın olarak kullanılan bir terimdir. Bununla birlikte, ilaç geliştirmenin erken aşamasında ADMET (adsorpsiyon, dağılım, metabolizma, atılım ve toksisite) özelliklerinin taranması, ilaçların ciddi toksisite ile sonuçlanan yan etkilerini azaltmak, başarı oranını arttırmak ve tarama süresini kısaltmak gibi büyük yararlar sağlamaktadır (Ogu ve Maxa, 2000).

Modern ilaç keşif araçları, belirli kimyasal sentez ve biyolojik testler yapılmadan önce milyonlarca bileşiğin bir hedef molekül ile potansiyel ilişkilerini belirleme gücüne sahiptir. Son yıllarda, kimyasal ve farmakolojik veri setlerine sahip olan veri bankalarının genişletilmesi, ilaç keşfi için büyük ölçekli verilerin kullanılabilirliğini önemli ölçüde artırmıştır. Örneğin, on milyonlarca bileşik içeren veri tabanları olan PubChem ve ZINC veri tabanlarında gün geçtikçe daha fazla veri depolanmaktadır (Villoutreix ve diğ., 2007). Bu tür büyük ölçekli veri setlerinin varlığı, ilaç keşif süreci üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Bunun yanında, Binding Database veri tabanı, Ocak 2019 itibarıyla 650.000'den fazla küçük molekülle ilgili 7.000'den fazla protein ile 1,4 milyondan fazla protein-küçük molekül afinitesi oluşturan patentlerden ve bilimsel makalelerden deneysel küçük moleküller etkileşim

verilerini içermektedir (Gilson, 2019).

Yaygın olarak kullanılan hesaplamalı ilaç keşif yaklaşımları, yapı bazlı ilaç tasarımı (SBDD), ligand bazlı ilaç tasarımı (LBDD) ve dizi bazlı yaklaşımlar olarak kategorize edilebilir. Moleküler yerleştirme ve *de novo* ilaç tasarımı gibi yapı bazlı ilaç tasarım yöntemleri, kristal yapılardan, NMR verilerinden ve homoloji modellerinden elde edilen hedef makromolekülün yapısı bilgisine dayanmaktadır (Chen ve diğ., 2012). Potansiyel hedeflerin üç boyutlu yapılarının yokluğunda, nicel yapı-aktivite ilişkisi (QSAR), farmakofor modelleme, moleküler alan analizi ve 2 boyutlu veya 3 boyutlu benzerlik değerlendirmesini içeren ligand bazlı ilaç tasarım araçları, hedef molekülün doğasına ilişkin önemli bilgiler sağlayabilmektedir.

İlaç tasarımı ve geliştirmesinin zorunlu yönlerinden biri, moleküllerin fiziksel ve biyolojik özelliklerini belirleyen küçük moleküllerin biyoaktif konformasyonlarını algılamaktır. Moleküler doking (yerleştirme), farmakofor oluşturma ve eşleştirme, 3D veri tabanı arama, 3D-QSAR ve moleküler benzerlik analizi gibi ilaç keşif yöntemlerinin çoğu, bağlanma cebinde küçük moleküllerin konformasyonlarını oluşturmak için bir konformasyonel örnekleme prosedürünü ve bir puanlama aşamasını içermektedir.

Tedavisi için tamamen etkin ilaçlar bulunamamış birçok hastalık hesaplamalı ilaç etken maddesi geliştirme çalışmalarında hedef haline gelmiştir. Multiple Skleroz da bu hastalıklardan biridir.

Multiple Skleroz (MS), merkezi sinir sistemi üzerinde etkili, demiyelizan ve nörodejeneratif bir hastalıktır. MS, merkezi sinir sisteminin en sık görülen kronik inflamatuvar hastalığıdır. Multiple Skleroz (MS), genç yetişkinlerde en sık görülen nörolojik bozukluklardan biridir. Multipl skleroz (MS), dünya çapında yaklaşık 2 milyon insanı etkilemektedir ve genç yetişkinlerde nörolojik sakatlığın önde gelen nedenidir. Genetik olarak yatkın bireylerin merkezi sinir sisteminde, T hücrelerinin kendi antijenlerini hedeflemesiyle başlayan bir otoimmün hastalık olarak kabul edilmektedir.

Coğrafi konum, etnik köken ve iklim bölgesi gibi faktörler duyarlılığa katkıda bulunmaktadır. MS'nin yayılımı Kuzey Amerika, Kuzey ve Batı Avrupa ve Avustralya'da en yüksektir, ekvator ülkelerinde en düşüktür. RMS'den kadınlar erkeklere oranla 3 kat daha sık etkilenmektedir ve hastalığın ortalama başlangıç yaşı

yaklaşık olarak 30'dur. PPMS'den kadınların ve erkeklerin etkilenme oranı aynıdır ve hastalığın başlangıç yaşı yaklaşık olarak 40'tır (Kamm ve diğ., 2014; Wallin ve diğ., 2019). D vitamini eksikliği ve Epstein-Barr viral enfeksiyonu gibi çevresel faktörlere maruz kaldıktan sonra da genetik olarak duyarlı bireylerde MS gelişebilir. Cinsiyet hormonlarının, hücre kaçakçılığı, sitokin üretimi, lenfosit proliferasyonu, adezyon moleküllerinin ekspresyonu dahil olmak üzere bağışıklık tepkisinde yer alan çok çeşitli mekanizmaları modüle ettiği gösterilmiştir (Lassmann ve Horssen, 2016), bu da MS duyarlılığında etkindir. Yaşam kalitesini büyük oranda düşürmesinin yanında ölümlerle de sonuçlanabilen MS hastalığı ilaç geliştirme alanında halen yoğun olarak çalışmaların yürütüldüğü bir hedeftir.

Tez çalışmasında Multiple Skleroz mekanizmaları üzerinde etkin olan Sfingozin-1-fosfat reseptörü 1 ve siklofilin D proteinleri ele alınmıştır. Sfingosin-1-fosfat reseptörü 1 (S1P1), G protein kapılı bir reseptördür ve MS semptomlarının ortaya çıkmasına ve kötüleşmesine yol açan önemli mekanizmalardan birinde etkindir. Bu reseptörün aktivasyonu için yeni moleküllerin keşfedilmesi hedeflenmiştir. Bununla birlikte, MS hastalığında mitokondriyal fonksiyon bozukluğuna neden olan siklofilin D (CypD) reseptörünün inhibisyonu için yeni moleküllerin geliştirilmesine yönelik hesaplamalı çalışmaların yapılması amaçlanmıştır.

## 1. GENEL BİLGİLER

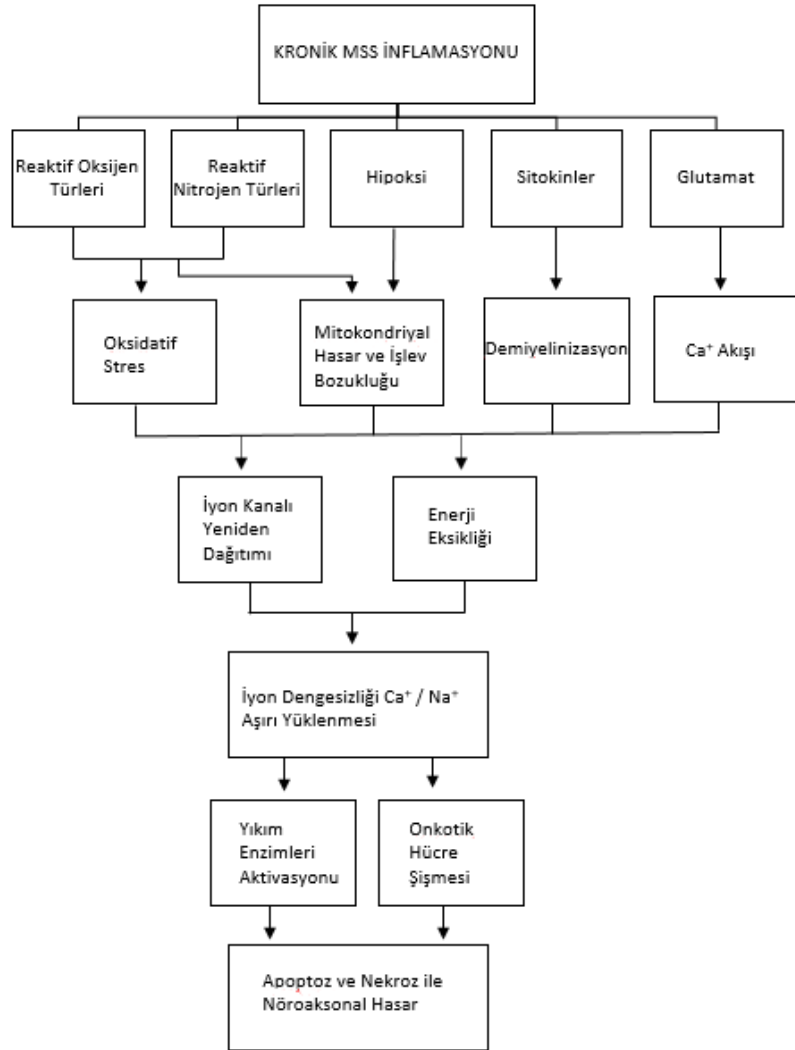
### 1.1. MS Patolojisi

MS klinik olarak tekrarlayan MS ve ilerleyici MS olmak üzere 2 yol izleyebilir. Yaygın olarak başlangıçta remisyonun görülmediği veya kısmi remisyonun görüldüğü nörolojik disfonksiyon epizodları olarak kendini gösterir, bu, MS'nin tekrarlayan bir formudur (RMS). Zamanla nökslerin sıklığı azalarak kademeli bir kötüleşme meydana gelir ve hastalık ilerler, bu ikincil ilerleyici MS (SPMS) olarak adlandırılmaktadır (Lublin ve diğ., 2013). MS genellikle kendiliğinden gelişen nörolojik semptomların tekrarlayan-düzelen seyri (RRMS) ile başlar, 15-25 yıl içerisinde SPMS olarak adlandırılan ilerleyici ve nörodejeneratif forma döner (Scalfari ve diğ., 2014). MS'li hastaların yaklaşık %10'unda başlangıçtan itibaren ilerleme görülür, hastalığın bu formu da birincil ilerleyici MS (PPMS) olarak adlandırılmaktadır.

MS'in klinik semptomları arasında yorgunluk, motor fonksiyon bozukluğu, nistagmus, koordinasyon veya denge kaybı, akut felç, uyuşukluk, titreme, konuşma ve görme bozuklukları ve bilişsel bozulma bulunmaktadır (Ortiz ve diğ., 2013). MS semptomları, merkezi sinir sisteminde meydana gelen lezyonların konumuna ve şiddetine göre değişmektedir. RMS'nin klinik özellikleri saatler veya günler içinde akut veya subakut olarak ortaya çıkabilmektedir, haftalar ile ifade edilebilecek sürelerde kendiliğinden düzelebilmektedir. PPMS, başlangıcından itibaren yavaş ilerleyen semptomlar göstermektedir.

MS patolojisinin karakteristik özellikleri arasında miyelin kılıfın ve oligodendrositlerin kaybı, demiyelinize kortikal plaklar, yaygın aksonal hasar, nöronların apoptozisi ve nöronal yoğunluğun atrofi ile azalması, yaygınlaşmış gri madde patolojisi ve nörodejenerasyondur (Hauser ve Cree, 2020; Friesse ve diğ., 2014). Beyaz maddedeki fokal demiyelinizasyon alanları olan plaklar hastalığın ilk lezyonlarıdır. Bu plaklar genellikle kan-beyin bariyerini aşan immün hücrelerin istilasından kaynaklanmaktadır, burada birincil hedefler miyelin kılıfı ve miyelinli hücreler, oligodendrositlerdir. Periferde aktive olan lenfositler merkezi sinir sistemine sızarak, immün hücre istilası devamında makrofajların ve mikroglianin sürekli aktivasyonuna, ardından demiyelinizasyona ve nörodejenerasyona yol açmaktadır (Compston ve Coles, 2008; Weiner, 2008). Bu sürecin ana efektörleri

mikroglia, makrofajlar ve bunların toksik ürünleridir (Weiner, 2009). Aktive mikroglia ve makrofajlarda inflamasyonla ilişkili oksidatif patlama, MS patogenezinde demiyelinizasyon ve serbest radikal aracılı doku hasarında önemli bir rol oynamaktadır. Demiyelinizan lezyonlardaki inflamatuvar ortam, oksijen ve nitrojen serbest radikallerinin yanı sıra proinflamatuvar sitokinlerin oluşumuna yol açabilir ve bu da inflamatuvar yanıtı şiddetlendirebilmektedir. İnflamasyon oksidatif strese yol açabilir veya oksidatif stres inflamasyona yol açabilir. Bu nedenle, oksidatif stres ve inflamasyon, kendi kendine devam eden bir döngüde yer almaktadır. Multiple Sklerozda nöroaksonal hasara yol açan kaskadlar Şekil 1’de (Frieese ve diğ., 2014) verilmiştir.



**Şekil 1.** Multiple Sklerozda nöroaksonal hasara yol açan kaskadlar

Hastalığın özelliklerini taklit eden deneysel otoimmün ensefalomyelit (EAE) model hayvanları kullanılarak MS patogenezi aydınlatmak üzere çalışmalar yapılmaktadır. Yapılan çalışmalar MS'nin inflamatuvar bir fazdan başlayıp daha sonra farklı bir nörodejeneratif faza giren iki aşamalı bir hastalık olduğu hipotezine yol açmıştır. Oksidatif stres, mitokondriyal hasar ve kronik inflamasyon nöronlar üzerinde sürekli bir etkiye sahiptir, bunlar ilerleyici MS sırasında hücre ölümüne yol açmaktadır.

Yapılan çalışmalar sonucunda T hücrelerinin EAE hayvan modelinde kritik bir rol oynadığını gösterilmiştir (Steinman ve Zamvil, 2006) fakat aynı zamanda tamamen T hücre temeline dayanan tedavi yaklaşımlarıyla yapılan klinik deneyler RMS üzerinde etkisiz kalmıştır. Bunun yanında, primer lenfoid organlarda adezyonu bloke ederek veya lenfositleri sekestre ederek merkezi sinir sistemine lenfosit erişimini inhibe eden stratejilerin hem MS hem de deneysel otoimmün ensefalomyelitte etkili olduğu bulunmuştur. B hücreleriyle yapılan çalışmalar sonucunda; Anti-CD20 aracılı B hücresi tükenmesinin, RMS'de yeni tekrarları ve sessiz ilerlemeyi sınırlamada ve PPMS'de sakatlık ilerlemesini azaltmada yüksek düzeyde bir başarı gösterdiği bulunmuştur (Montalban ve diğ., 2017).

Merkezi sinir sistemindeki inflamasyon birçok moleküler değişikliğe yol açmaktadır. Bağışıklık hücreleri; reaktif oksijen türleri, glutamat, sitokinler, kimokinler gibi çeşitli nörotoksik ürünler salgılar. Bu ürünlerin kısa vadeli etkileri dokular için önemlidir fakat uzun vadede içsel stres tepkilerini uyandırır ve homeostatik süreçleri harekete geçirirler. Reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin oluşumuna sebebiyet veren kronik inflamasyon, mitokondriyal hasara yol açmaktadır. Reaktif oksijen ve reaktif nitrojen türlerinin oluşumu ile, mitokondriyal solunum zincirinin fonksiyonu bozulmakta, elektron sızıntısı ve oksidatif hasar yayılmaktadır (Murphy, 2009). Oksidatif stres, beyin yaşlanmasında ve merkezi sinir sisteminin kronik inflamatuvar, vasküler ve nörodejeneratif bozukluklarında doku hasarı için önemli bir itici güçtür (Radi ve diğ., 2014). Nöronlar gibi postmitotik hücreler, tüm yaşam boyunca oksidatif hasar görmüş ürünleri biriktirir.

İç ve dış oksidanlar, hücre fizyolojisindeki başlıca stres unsurlarıdır. Buna karşın, oksidanların uzun vadeli zararlı etkilerini hafifletmek için dinamik hücresel programlar gelişmiştir. Hem oksijenaz 1 (HMOX1) gibi antioksidan enzimleri

indükleyen bir transkripsiyon faktörü olan nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2 (NRF2) tarafından yönetilen bir program sayesinde serbest radikaller temizlenir ve hasarlı proteinleri giderilir (Kensler ve diğ., 2007). HMOX1 seviyelerinin, MS lezyonlarında (van Horssen ve diğ., 2008) ve EAE farelerinin merkezi sinir sisteminde (Chora ve diğ., 2007) arttığı belirlenmiştir. Hem NRF2 hem de HMOX1 enzimi inhibe edilmiş farelerde hastalığın alevlendiği görülmüştür.

Düzenleyici T hücrelerinin (Treg) işlev bozukluğu, periferik sinir sisteminde Thücrelerinin aktiflenmesine yol açar. Aktiflenmiş T hücreleri, endotel hücrelerinde inflamasyon tarafından indüklenen Vasküler Hücre Yapışma Molekülü-1'e (VCAM-1) bağlanarak kan-beyin bariyerini geçmeye katkı sağlayan  $\alpha 4\beta 1$  integrini eksprese eder. Ardından TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8, MIP-2 ve CXC kemokinleri dahil olmak üzere çeşitli proinflamatuvar sitokinlerin salgılanması başlar (Kolls ve Lindén, 2004), bunun sonucunda inflamasyon daha da yaygınlaşır. Th17 hücreleri, IL-17 ve IL-22 kan-beyin bariyeri üzerinde kırılmalara neden olur ve T hücreleri KBB'yi geçer (Kebir ve diğ., 2007; Skarica ve diğ., 2009). T hücrelerinin miyelin kılıflara saldırısı ve inflamasyon yoğunlaşır, bunun sonucunda miyelin kılıfta parçalanmalar ve çökmeler (plaklar) oluşur, bu süreç demiyelinizasyon olarak adlandırılmaktadır. Kronik MSS inflamasyonu sırasında meydana gelen enerji dengesizliği ve demiyelinizasyon, farklı iyon kanallarında hiperaktivasyona, işlev bozukluğuna ve yanlış dağılımına yol açmaktadır. İnflamatuvar sürecin başlamasından ve demiyelinizasyondan sonra, miyelin kılıfının altındaki sodyum kanalları aktive olur, bu da sodyum girişine ve hücreye kalsiyum girişi ile sodyum-kalsiyum değişiricinin aktivasyonuna yol açar. AMPA reseptöründe önemli bir artışla birleşen bu süreç, hücre içi  $Ca^{2+}$  ve  $Na^{2+}$  miktarında bir artışa yol açmaktadır (Koda-Kimble ve Young, 2016).

Glutamat, MSS'deki ana uyarıcı nörotransmitterdir. Aşırı sinaptik uyarılmaya neden olan artmış hücre dışı glutamat konsantrasyonu,  $Ca^{2+}$  aracılı glutamat toksisitesine neden olur ve bu durum çeşitli nörodejeneratif hastalıkların patogenezinde rol almaktadır. İn vivo gözlemler, dengesiz glutamat homeostazının MS'de nöronal ve oligodendroglial patolojiye katkıda bulunduğunu ve glutamat reseptörlerinin bloke edilmesinin MS klinik seyrini iyileştirdiğini göstermiştir (Werner ve diğ., 2001; Pitt ve diğ., 2003; Srinivasan ve diğ., 2005; Centonze ve diğ.,

2009). NMDA reseptörleri; sinaptik bölgede artan kalsiyum girişi, oksidatif stres ve mitokondriyal disfonksiyon gibi glutamat aşırı yüklenmesinin neden olduğu hücre içi etkilerin ana araçlarından biridir (Rosenstock ve diğ., 2010). Glutamat ve anormal NMDA reseptör işlevi, EAE'de mitokondriyal aktivitenin bozulmasına katkıda bulunmaktadır (Grasselli ve diğ., 2013).

İyon kanallarının nöronlardaki inflamatuvar uyanlara yanıt olarak oluşturduğu değişiklikler, nöroaksonal hasarı devam ettiren bir süreçtir. İyon kanalı düzensizliğinin MS sırasında nöronal ve aksonal ölüm sürecinin merkezi olduğu düşünülmektedir. Bu düzensizlikler çoğunlukla  $Ca^{2+}$  aşırı yüklenmesiyle yıkıcı enzimleri aktive eder, mitokondriyal işlevi tehlikeye atarak ve aksonal taşınmayı bozarak bir kısır döngüyü başlatır, bu durum nörotoksisitenin temel tetikleyicisidir. Bunların tümü  $Ca^{2+}$  seviyelerinde daha da fazla artışa neden olmaktadır. Bununla birlikte, Multipl Skleroz'daki aksonal hasar kan-beyin bariyeri içinde lokalize olan sodyum kanallarının anormal ekspresyonunun artmasına da neden olmaktadır (Bechtold ve diğ., 2004). Normal iletimi yeniden kurma girişiminde, sodyum girişi artar, sinir iletimi yavaşlar. Bu süreçleri, sodyum-kalsiyum akışının tersine çevrilmesi izler, bu da hücre içi kalsiyum aracılı yaralanma basamaklarını tetikleyebilir ve sonuçta nöronal dejenerasyona yol açar. Flekainid ve fenitoin gibi sodyum kanalı blokerlerinin deneysel otoimmün ensefalomiyelitli farelerde aksonları koruduğuna ve böylece tedavi edilmeyen hayvanlara kıyasla fizyolojik fonksiyonu koruduğuna dair son kanıtlarla bu hipotez desteklenmiştir (Lo ve diğ., 2003).

Aksonal dejenerasyon kalıcı sakatlık için kritik öneme sahiptir fakat bu patolojik süreçten sorumlu mekanizmalar hakkında az şey bilinmektedir. MS'de progresif akson kaybı, inflamasyon tarafından başlatılan, mitokondriyal disfonksiyona ve  $Ca^{2+}$  aşırı yüklenmesine neden olan enerjetik eksikliklere yol açan bir dizi iyonik dengesizlikten kaynaklanabilir (Smith ve Lassmann, 2002). Normal koşullarda,  $Ca^{2+}$ 'nin mitokondride birikmesi oksidatif metabolizmayı uyarır. Mitokondriden  $Ca^{2+}$  akışına çeşitli taşıyıcılar aracılık eder,  $Ca^{2+}$  akışı da geçirgenlik geçiş gözenağı (PTP) adı verilen bir protein kompleksinin aktivasyonu ile yönlendirilir. Mitokondrinin  $Ca^{2+}$  ile aşırı yüklenmesi PTP'nin uygunsuz aktivasyonuna neden olur, bunun sonucunda mitokondriyal fonksiyonlarda bozukluklar ve hücre ölümü meydana gelebilir. Mitokondriyal geçirgenlik geçişi

(mPT), 1500 Da'dan küçük moleküllere seçici olmayan geçirgen hale gelen iç mitokondriyal zarın geçirgenliğinde ani bir artıştır.

Siklofilin D (CypD), mitokondriyal matrikste bulunan ve mitokondriyal membran geçirgenlik geçişi sırasında mitokondri iç membranı ile ilişkili olan bir peptidil prolil izomerazdır. CypD, mitokondriyal membran geçirgenliği geçiş gözeneklerinin (mPTP) açılmasında merkezi bir rol oynamaktadır (Tanveer ve diğ., 1996). CypD PTP'ye bağlandığında geçirgenlik geçişinin oluşumu daha kolaydır (Basso ve diğ., 2005). CypD'nin blokajı, oksidatif stres kaynaklı mitokondriyal ve sinaptik dejenerasyona karşı korur, mitokondriyal ve bilişsel işlevi iyileştirir.

## 1.2. Siklofilin D

CyPD, MS hayvan modelinde, inflamatuvar tepkiler üzerinde etkili olan kanıtlanmış nöroprotektif özelliklere sahip birkaç moleküler hedeften biridir. Bir hipoteze göre, mitokondri hasarı MS'teki doku hasarının ana nedenidir (Trapp ve Stys, 2009). Kronik inflamasyon, yerel seviyelerde reaktif nitrojen ve reaktif oksijen türlerine yol açması sonucu mitokondriyal hasara neden olmaktadır. Mitokondriyal hasar veya ölüm, matris proteini siklofilin D'ye (CyPD) bağlı olan mitokondriyal geçirgenlik geçişi (mPT) tarafından tetiklenebilmektedir.

PTP, hücre ölümünde anahtar bir rol oynar ve çeşitli hastalıklarda, özellikle de kalp ve beyin iskemi-reperfüzyon hasarında, kas distrofilerinde, nörodejenerasyonda ve kanserde terapötik müdahale için uygun bir hedef olduğu kanıtlanmıştır (Forte ve Bernardi, 2005). Mitokondriyal geçirgenlik geçişi (mPT), hasara bağlı hücre ölümünde önemli bir rol oynar. mPT'yi inhibe eden ajanlar, iskemi/reperfüzyon hasarı, travma ve nörodejeneratif hastalıklar gibi durumları tedavi etmek için terapötik bir potansiyele sahip olabilir.

mPTP'nin bileşenlerinden biri olan CypD'nin, mPTP'nin anahtar modülatörü olduğu düşünülmektedir. Peptidilprolil cis-trans izomerazlar (PPIazlar) ailesinin bir üyesi olan CyPD, mitokondriyal geçirgenlik geçiş gözeneklerinin (mPTP) modülasyonunda görevlidir ve mitokondriyal işlev üzerinde etkilidir. Siklofilin D'nin, mPTP'yi kalsiyuma, inorganik fosfata ve reaktif oksijen türlerine karşı duyarlı hale getirerek PTP'nin açılmasını kontrol ettiği düşünülmektedir. mPTP'nin açılması, mitokondriyal matrikse hızlı bir sitozolik içerik akışına neden olur ve böylece mitokondriyal solunumu bozar. CyPD eksikliği,  $Ca^{+2}$  fazlalığıyla indüklenen mPTP

açılmasını inhibe eder ve böylece çeşitli hastalık modellerinde hücreleri oksidatif stres kaynaklı hücre ölümünden korur (Park ve diğ., 2017). CyPD'nin bloke edilmesi, adenin nükleotidleri, membran depolarizasyonu, ubikinonlar, pH gibi diğer PTP uyarılarına verilen yanıtları değiştirmemiştir (Baines ve diğ., 2005; Basso ve diğ., 2008). Siklofilinler; memelilerde, bitkilerde, bakterilerde ve daha birçok canlı organizmada bulunan bir protein ailesidir.

Siklofilinlerin, protein katlanması (Ivery, 2000), reseptör sinyali, hücresel yanıt (Nath ve diğ., 2014) gibi çeşitli süreçlerde yer aldığı bilinir. Bunun yanı sıra, siklofilinler; inflamasyonlar (Yurchenko ve diğ., 2010), viral enfeksiyonlar (Lin ve Gallay, 2013), vasküler disfonksiyon (Damsker ve diğ., 2007), yara iyileşmesi (Kong ve diğ., 2007) ve kanser ilerlemesindeki (Lee ve Kim, 2010) kritik rolleri nedeniyle terapötik hedefler haline gelmiştir. Siklofilinler, peptidil-prolil cis-trans izomerazın (PPIaz, CyP) ligand proteinleri üzerindeki reaksiyonunu katalize eder. Protein katlanmasında çok önemli bir rol oynarlar (Fischer ve diğ., 1989). Siklofilin ailesindeki proteinler, insanlar da dahil olmak üzere prokaryotlardan ökaryotlara kadar çeşitli organizmalarda bulunur (Trandinh ve diğ., 1992). Yüksek oranda benzer olan 19 farklı siklofilin izoformu bulunur (Galat, 2004). İnsan siklofilinleri arasında 5 izoform bilinmektedir (Galat ve Metcalfe, 1995; Roydon Price ve diğ., 1991; Spik ve diğ., 1991). Bu izoformlardan biri olan siklofilin D (CypD), mitokondriye özgü bir siklofilindir, mitokondriyal matriste bulunur (Galat ve Metcalfe, 1995). Bir immünosupresif bileşik olan siklosporin A'nın (CsA), CyP ailesinin proteinlerine bağlandığı ve siklofilinlerin ve mPT'nin PPIaz aktivitesini inhibe ettiği bilinmektedir.

Yapılan bir çalışmada siklofilin D'den (CypD) yoksun MS'li deneysel otoimmün ensefalomileyit (EAE) fareleri geliştirilmiş; bu farelerin, CypD bulunan farelerin aksine, kısmen iyileştiği görülmüştür. Her iki grup farenin omurilikleri incelendiğinde benzer bir inflamasyon derecesi olmasına rağmen CypD'den yoksun farelerin aksonlarının korunduğu ortaya çıkmıştır. Bunun yanında, CypD'den yoksun farelerin nöronlarının reaktif oksijen ve reaktif nitrojen türlerine karşı dirençli olduğu belirlendi. Ayrıca, CypD'den yoksun beyin mitokondrilerinin yüksek  $Ca^{+2}$  seviyelerini sekestre ettiği görülmüştür (Forte ve diğ., 2007). Başka bir çalışmada CypD'nin yokluğunun enerji korunmasını ve ATP sentezini etkilemediğini gösterilmiştir (Nicolli ve diğ., 1996). EAE, CypD eksikliği olan farelerde daha

hafiftir. Ayrıca, CyPD'den yoksun nöronlar, reaktif oksijen ve reaktif nitrojen türlerinin aracılık ettiği hasara karşı daha dirençlidir.

CyPD inhibisyonunun mitokondriyal fonksiyon ve PTP aktivitesi üzerindeki etkileri değerlendirilirken dikkatli olunmalıdır. CyPD'nin kronik inhibisyonu, normal hücrel fizyolojiyi bozan telafi edici mekanizmaları aktive edebilir. Örneğin, CyPD'den yoksun fareler, kalsiyuma bağımlı mitokondriyal dehidrojenazları aktive eden ve kalpteki glikoz ile yağ asidi oksidasyonu arasındaki dengeyi değiştiren (Elrod ve diğ., 2010) ve hayvandaki glikoz metabolizmasını artıran (Tavecchio ve diğ., 2015) mitokondriyal kalsiyum seviyelerini değiştirmiştir.

CyPD, mitokondriyal geçirgenliği teşvik eden bir protein değildir, mitokondriyal hasara karşı koruyan bir mekanizmanın parçasıdır. CyPD'nin koruyucu bir protein olarak rolü, CyPD eksikliği olan hücrelerin oksidatif strese ve mitokondriyal disfonksiyona karşı daha duyarlı olduğuna dair son gözlemlerle tutarlıdır.

### **1.3. Sfingozin-1-Fosfat Reseptörü 1**

Lipid sfingozin-1-fosfat, sfingolipid homeostazında bir ara maddedir. Endotelial farklılaşma geni (EDG) olarak adlandırılan sfingosin-1-fosfat reseptörü (S1PR) sınıfı GPCR'ler, aktivasyon için fosforlanmış sfingoid baz olan sfingosin-1-fosfata (S1P) ihtiyaç duyar. S1P reseptör ailesi, ligand bağlama bölgesi içinde yüksek sekans özdeşliğine sahip beş üye (S1P1-5) içermektedir. Sfingosin-1-fosfat reseptörü 1, sfingosin-1'e bağlanarak sfingosin-1 ile aktive olan 5 adet G protein bağlı reseptörden (GPCR) biridir.

G protein-bağlı reseptörler (GPCR'ler), tüm ökaryotik organizmalarda eksprese edilen en büyük 7-transmembran (7TM) alan reseptörleri ailesini oluşturur. Hücreler arası sinyal ağ geçitleri olarak görev yaparlar ve çok sayıda biyolojik süreçten sorumludurlar (Pierce ve diğ., 2002; Fredriksson ve diğ., 2003). G proteinine bağlı reseptörler (GPCR'ler), çeşitli hücre içi sinyalleme kaskadlarını başlatarak eksojen sinyalleri hücrel bir yanıtla dönüştürür. Hücre bütünlüğünü, çoğalmayı, farklılaşmayı, hücre göçünü, anjiyogenezi ve bağışıklığı düzenlediği için çok sayıda patofizyolojik süreçte yer almaktadır (Garcia ve diğ., 2001; Matloubian ve diğ., 2004; Spiegel ve Weinstein, 2004; Heng ve diğ., 2013; Bigaud ve diğ., 2014; Camp ve diğ., 2020). Çeşitli hastalıklarla ve sendromlarla ilişkili olması, GPCR'leri

önemli bir tıbbi ilaç hedefi haline getirmiştir (Hauser ve diğ., 2017; Santos ve diğ., 2017).

S1P1, immün sistem modülasyonu için önemli bir tıbbi hedeftir. Otoimmün hastalıklar, semptomların ekspresyonu ve ilerlemesi için S1P1 agonizmi veya antagonizmi kullanılmaktadır (Brinkmann, 2007; Toman ve Spiegel, 2002; Lee ve diğ., 1998;). T hücrelerinin EAE modelinde ensefalomiyelitte kritik bir rol oynadığını bilinmektedir. Sfingosin-1-fosfat (S1P) reseptör modülatörleri, birincil lenfoid organlarda adezyonu bloke edip merkezi sinir sistemine lenfosit erişimini engelleyerek etki göstermektedir (Massacesi ve diğ., 1995). S1P1 reseptörünün fizyolojik ve farmakolojik eksojen ligandlar yoluyla inhibisyonu, lenfosit resirkülasyonunun inhibisyonuna neden olmaktadır. Bu fizyolojik etki, yakın zamanda tekrarlayan-düzelen Multipl Skleroz'un klinik tedavisi için onaylanan ve selektif olmayan, S1P antagonisti, FTY720'nin geliştirilmesinde kullanılmıştır. 1992'de geliştirilen ve 2010'da FDA tarafından onaylanan FTY720'nin (Fingolimod, Gilenya) akut klinik ortamda vasküler koruyucu olduğu gösterilmiştir (Peng ve diğ., 2004; Camp ve diğ., 2009; Wang ve diğ., 2011) ve RRMS'i tedavi etmek amacıyla oral uygulama için benimsenmiştir.

#### **1.4. MS için Halihazırda Kullanılan İlaçlar**

Hastalığı yönetim stratejilerinde, akut atakları tedavi etmeye, semptomları iyileştirmeye ve hastalığı modifiye edici tedaviler yoluyla biyolojik aktiviteyi azaltmaya odaklanılmıştır. Hastalığı modifiye edici tedaviler, MS'in seyrini bağışıklık fonksiyonunun düzenlenmesi veya baskılanması yoluyla değiştirmektedir ve böylece otoreaktif bağışıklık hücreleri nöronların miyelin kılıflarına saldıramamaktadır. Modifiye edici tedaviler, MS'nin nükseden fazında antiinflamatuvar etki sağlar, tekrar oranını ve lezyonların birikmesini azaltır, sakatlığı stabilize eder ve geciktirir, bazen de orta derecede iyileştirebilir. Bu alandaki ilk onaylanmış tedaviler; interferonlar ve glatiramer asetattır. Glatiramer asetatin, proinflamatuvar sitokinler ve düzenleyici sitokinler arasındaki dengeyi düzenleyici etkisi olduğu düşünülmektedir. Bu ilaçlar iyi bir şekilde tolere edilmektedir ve MS nükslerinin sıklığını azaltmaktadır (Galetta ve diğ., 2002). Bunun yanında diğer bazı ilaçların MS tedavisi için yararlı olduğu bulunmuştur. Birinci basamak, ikinci basamak ve üçüncü basamak tedaviler olarak ayrılan bu ilaçların MS tedavisinde

etkinliği gösterilmiştir. MS hastaları için en sık kullanılan ilaç interferon-beta'dır (Minagar, 2013).

Beta interferonlar, MS tedavisinde birinci basamak tedaviler olarak kabul edilmektedir. Bu ilaçlar FDA tarafından onaylanmıştır; MS ve klinik olarak izole sendromun (CIS) tedavisinde yaygın olarak kullanılan, iyi bilinen, birinci basamak, hastalık modifiye edici tedavidir. Beta interferonların kan-beyin bariyerinin endotel hücreleri üzerinde etkisi ve antiinflamatuvar özellikleri vardır. MS hastalarına beta interferonların uygulanması; önemli bir antiinflamatuvar sitokin olan IL-10 ekspresyonunun artmasını, proinflamatuvar durumun antiinflamatuvar ortama kaymasını, Th1 ve mikroglia proliferasyonunun azalmasını, antijen sunumunun azalmasını sağlamaktadır. MS'de nksleri azaltıp sakatlık birikimini yavaşlatmaktadır (Kieseier, 2011). Yaygın yan etkileri arasında grip benzeri semptomlar ve rutin laboratuvar değerlendirmesinde hafif anormallikler bulunmaktadır.

Mitoksantron, MS tedavisinde kullanılan hem immünosupresif hem de immünomodülatör etkileri olan bir antineoplastik ilaçtır. Bu ilaç, MS tedavisinde ikinci basamak ilaç olarak kabul edilmektedir. Mitoksantronun önemli yan etkileri; kardiyotoksisite, malignite, hepatotoksisite, lökopeni, anemi, enfeksiyon ve alopesidir (Seiter, 2005; Martinelli Boneschi ve diğ., 2013). Natalizumab, lenfositler üzerinde eksprese edilen yapışma moleküllerinin inhibitörü olan insanlaştırılmış bir monoklonal antikordur. Natalizumab'ın etki mekanizması,  $\alpha4\beta1$  integrin'in  $\alpha4$  zincirini hedef almasıdır, bu da kan-beyin bariyeri yoluyla merkezi sinir sistemine lenfosit göçünün inhibisyonu ile sonuçlanır (Engelhardt ve Kappos, 2008). Natalizumab tedavisi ikinci basamak tedavi olarak kabul edilmektedir. Nksleri azaltmada ve hastalığın ilerleyişini yavaşlatmakta oldukça etkili olduğu görülmüştür (Rudick ve diğ., 2006). Natalizumab genellikle iyi tolere edilmektedir fakat uzun süreli tedavileri ilerleyici multifokal lökoensefalopati riski taşımaktadır (Ho ve diğ., 2017). Bunun yanında, baş ağrısı, yorgunluk, idrar yolu enfeksiyonu, alt solunum yolu enfeksiyonu, artralji, gastroenterit, vajinit, ishal ve aşırı duyarlılık reaksiyonları gibi yan etkileri bulunmaktadır.

Fingolimod olarak da bilinen FTY720, FDA tarafından tekrarlayan-düzelen MS hastaları için onaylanan ilk oral tedavidir ve ikinci basamak bir ilaçtır (Minagar,

2013; La Mantia, 2016). Fingolimod, lenfositler üzerindeki S1P reseptörlerine bağlanarak etki gösteren bir sfingosin 1-fosfat (S1P) reseptör modülatörüdür. Sekonder lenfoid organlardan lenfositlerin çıkışını önlemek ve otoreaktif lenfositlerin merkezi sinir sistemine geçişini engellemek suretiyle aktivite göstermektedir. Fingolimod iyi tolere edilen bir ilaçtır, fakat; karaciğer fonksiyon testlerinde yükselme, lenfopeni, bradikardi, maküler ödem gibi yan etkileri ortaya çıkabilmektedir (Calabresi ve diğ., 2014; Kappos ve diğ., 2014). Ozanimod da onaylanmış bir seçici S1P reseptör modülatörüdür, RMS'de etkili olduğu gösterilmiştir (Comi ve diğ., 2019). Bunun yanında siponimod da aktif SPMS de dahil olmak üzere tekrarlayan MS türleri için onaylı bir S1P modülatörüdür (Kappos ve diğ., 2018).

Okrelizumab, olgun B hücrelerinin yüzeyinde bulunan CD20 molekülüne karşı geliştirilmiş monoklonal antikordur. Bu ilaç 2017 yılında onaylanmıştır ve yaygın kullanıma sahiptir (Sorensen ve Blinkenberg, 2016). Okrelizumab, B hücrelerini seçici olarak yok eder. B hücrelerinin tükenmesi sonucunda; periferden merkezi sinir sistemine B hücresi kaçığının kesilmesi, T hücrelerine B hücresi antijen sunumunun azalması, proinflamatuvar sitokin salgılanmasının modülasyonu, immünoglobülin salgılayan plazmaplastların modülasyonu olayları gerçekleşmektedir (Li ve diğ., 2018; Sabatino ve diğ., 2018).

Rituximab, RMS ve PPMS'ye karşı etkili olan bir anti-CD20 monoklonal antikordur, herhangi bir kurumdan onay almamıştır fakat yaygın olarak kullanılmaktadır. Teriflunomid, otoreaktif olduğu varsayılan aktive lenfositlerin proliferasyonunu inhibe etmek suretiyle MS tedavisinde etkindir (O'Connor ve diğ., 2011). Yaygın yan etkiler arasında baş ağrısı, ishal, bulantı, saç dökülmesi ve hepatik alanin transferaz artışı yer almaktadır.

Dimetil Fumarat (DMF), NRF2'nin indüklenmesi yoluyla antioksidan enzim üretimini artıran bir etki göstermektedir. Ayrıca, DMF, lenfositler ve mikrogliya üzerindeki etkileriyle immünmodülatör özelliğe sahiptir (Bomprezzi, 2015). Dimetil fumarat MS tedavisinde antiinflamatuvar ve sitoprotektif etkiler göstermektedir. Dimetil fumarat genellikle iyi tolere edilen bir ilaçtır fakat tedavi sırasında ilerleyici multifokal lökoensefalopati riski bulunmaktadır (Mills ve Mao-Draayer, 2018).

### 1.5. MS için Yürütülmüş İlaç Etken Madde Geliştirme Çalışmaları

Moleküler docking çalışmalarıyla; Desvenlafaksin, Paliperidon ve Febuksostat'ın TRPA1 kanal inhibisyonunu indüklediği gösterilmiştir (Mihai ve diğ., 2019). Zararlı uyarılar ve sıcaklıklar için bir sensör görevi gören Geçici Reseptör Potansiyeli (TRP) iyon kanalları ailesinin bir üyesi olan TRPA1, kimyasal olarak aktive edilmiş reseptörü potansiyalize eden veya inaktive eden,  $Ca^{2+}$  için yüksek geçirgenliğe sahip, seçici olmayan bir katyon kanalıdır (Wang ve diğ., 2008). İnhibisyonunun nöroglial hücreler üzerinde faydalı etkilere sahip olduğu, demiyelinizasyona karşı koruma sağladığı ve oligodendrosit apoptozisini azalttığı gösterilmiştir.

Amilorid, hipertansiyon ve kalp yetmezliği için onaylı bir potasyum tutucu diüretiktir. Bu ilaç molekülünün,  $Na^{+2}$  ve  $Ca^{+2}$ 'nin hücre içinde aşırı birikimine katkıda bulunan ve akut MS lezyonlarında aşırı eksprese edilen Asit Algılayıcı İyon Kanalı 1 (ASIC1)'i bloke ederek deneysel Multipl Skleroz hayvan modellerinde nöroprotektif ve miyeloprotektif etkiler gösterdiği belirlenmiştir, insanlar üzerinde denenmemiştir (Arun ve diğ., 2013).

Multiple Skleroz için yürütülen diğer bir ilaç etken madde geliştirme çalışmasında (Bibi ve diğ., 2022), NRF2'nin aktivasyonu, iNOS ve kaspaz-3 proteinlerinin inhibisyonu hedeflenmiştir. Yürütülen çalışmada Magnolol molekülünün ilaç adayı olarak etkili olabileceği tespit edilmiştir. Moleküler docking çalışmaları sonucunda Magnolol'un NRF2, iNOS ve Kaspaz-3 proteinleriyle iyi bir bağlanma afinitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Magnolol'un NRF2'yi indükleyerek antioksidan enzimlerin ekspresyonunun artmasını sağladığı, iNOS'i inhibe ederek nitrik oksit üretilmesini engellediği ve Kaspaz-3'ü inhibe ederek hücrenin apoptotik yola gitmesini engellediği tespit edilmiştir.

### 1.6. Çoklu Hedefe Yönelik İlaç Geliştirme

Geleneksel olarak ilaçlar tek bir biyolojik molekül, genellikle bir proteini hedeflemek amacıyla tasarlanmaktadır. Bu şekilde diğer biyolojik moleküllerin yanlış hedeflenmesinden kaynaklanan istenmeyen etkilerden kaçınarak yüksek seçicilik sağlanmaktadır. Bu temelde, birden fazla hedefle etkileşime giren ilaçlar, doğası gereği olumsuz yan etkilerle ilişkilendirildiği için uzun süre istenmemiştir. Bununla birlikte, mevcut hastalık patolojilerinin karmaşıklığı, tek hedefli ilaçların

terapötik bir etki elde etmek için yetersiz olduğunu göstermiştir (Bolognesi, 2013; Bolognesi ve Cavalli, 2016).

Çok hedefli ilaç kavramı, 2000 yılının başında (Morphy ve diğ., 2004) ilk kez dile getirilmiştir, 2017'de ilaç keşfindeki en dikkat çekici konulardan biri olarak hızlı bir ilerleme kaydetmiştir. Buna paralel olarak şu an piyasada çok sayıda çok hedefli ilaç mevcuttur. Biyoteknolojik ilaçlar, yeni ilaç moleküllerinin %31'ini oluşturmaktadır ve neredeyse tek hedefli ilaçların sayısına (%34) yaklaşmaktadır. Tek hedefli küçük moleküllerin sayısı (%34) hala çok hedefli ilaçlardan (%21) daha fazla olmasına rağmen, çok hedefli ilaçların sayısı önceki yıllara göre (%16) artmaya devam etmektedir (Lin ve diğ., 2017; Lu ve diğ., 2012).



## 2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

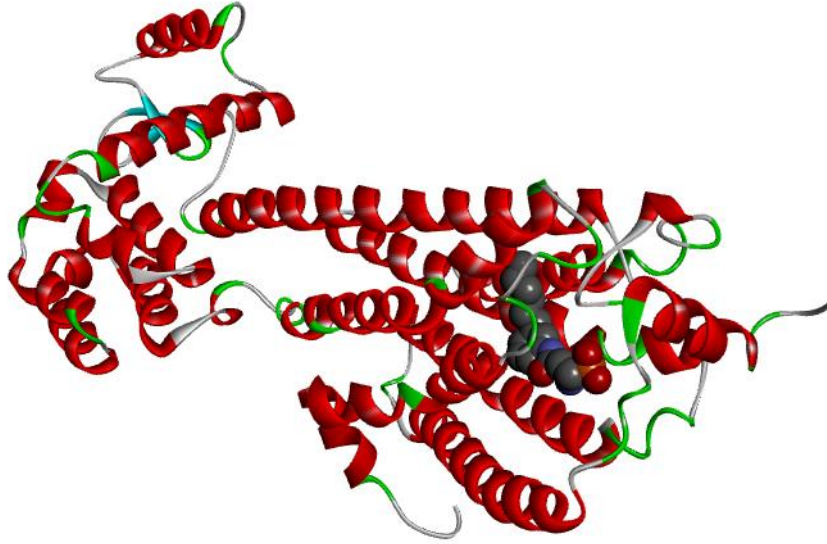
### 2.1. Materyal

#### 2.1.1. Çalışmalarda Kullanılacak Reseptörlerin Belirlenmesi

Reseptörlerin belirlenmesi için RCSB protein veri tabanı ([www.rcsb.org](http://www.rcsb.org)) kullanılmıştır. Reseptörlerin aktif bölgeleri, X-RAY çözünürlükleri ve içerdikleri inhibitör moleküller incelenerek en uygun 3 boyutlu protein yapıları seçilmiştir.

##### 2.1.1.1. Sfingozin-1-Fosfat Reseptörü 1 ve 3V2Y'nin Yapısı

Sfingozin 1-fosfat reseptörüne ait 3 boyutlu (3D) yapılar incelenerek PDB ID: 3V2Y (Hanson ve diğ., 2012) çalışma için en uygun 3D yapı olarak belirlenmiştir. *Escherichia Virus T4* ve *Homo sapiens*'ten izole edilmiş olan 3D yapıdaki reseptör proteini, *Spodoptera frugiperda* ekspresyon sisteminde eksprese edilmiştir. Kristal yapının belirlenmesinde, X-RAY Kırınım Kristalografi Metodu kullanılmıştır, çözünürlük değeri 2.80 Å'dur. Şekil 2'de verilen, RCSB Protein Veri Bankası'ndan indirilen reseptör protein monomer formdadır.

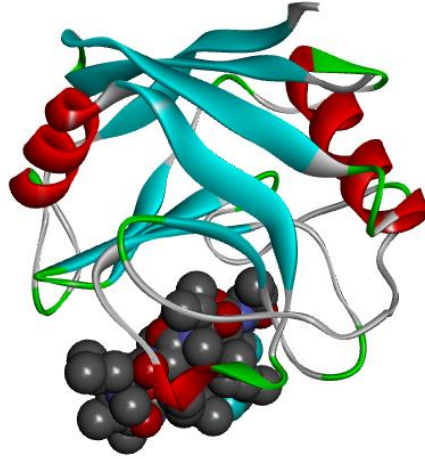


Şekil 2. Sfingozin-1-fosfat reseptörü yapısı içerisindeki ML5 molekülü

##### 2.1.1.2. Reseptör Siklofilin D ve 2Z6W'nin Yapısı

RCSB PDB Protein veri bankasında siklofilin D (CyPD) proteininin siklosporin A (CsA) ile kompleks haldeki 3 boyutlu yapısı PDB ID: 2Z6W (Şekil 3)

seçilmiştir. *Homo sapiens* ve *Tolypocladium inflatum*'dan izole edilen 3 boyutlu yapıdaki reseptör protein, *Escherichia coli* BL21(DE3)'nin sisteminde eksprese edilmiştir. 0.96 Å değerinde çözünürlüğe sahip olan proteinin kristal yapısı X-RAY Kırınım Kristalografi Metodu ile belirlenmiştir. Protein Veri Bankası'ndan indirilen protein dimer formdadır. Çalışmalarda kullanılmak üzere monomer formda kaydedilmiştir.



**Şekil 3.** Siklofilin D reseptör yapısı içerisindeki siklosporin A inhibitör molekülü

### **2.1.2. Çalışmalarda Kullanılacak Ligandların Belirlenmesi**

#### **2.1.2.1. Sfingozin-1-Fosfat Reseptörü 1 Modülatörlerinin Belirlenmesi**

BindingDB (Chen ve diğ., 2001) veri tabanı vasıtasıyla çalışmada kullanılacak ligandlar belirlenmiştir. BindingDB veri tabanında S1P1'i modüle eden 5512 adet molekül tespit edilmiştir, bu moleküllerden IC50 değerleri bilinmeyenler silinmiş ve 408 adet molekül kalmıştır. Kalan moleküller (Tablo 1) ile farmakofor geliştirme çalışmaları yürütülmüştür.

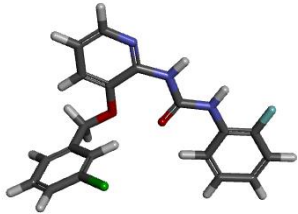
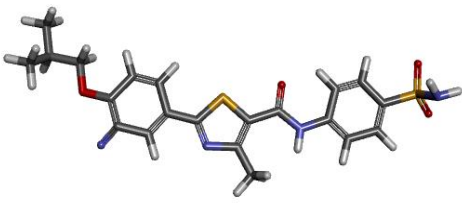
**Tablo 1.** S1P1 için farmakofor geliştirme çalışmalarında kullanılan bazı moleküllerin bileşik kodları

|              |              |              |              |               |
|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------|
| CHEMBL114584 | CHEMBL363008 | CHEMBL225575 | ZINC28873648 | CHEMBL1090829 |
| CHEMBL114606 | CHEMBL474688 | CHEMBL224853 | ZINC08694145 | CHEMBL2018467 |
| CHEMBL515921 | CHEMBL359762 | CHEMBL117723 | ZINC36178394 | CHEMBL2018457 |
| CHEMBL181597 | CHEMBL207580 | CHEMBL516035 | ZINC95596631 | CHEMBL2018476 |
| CHEMBL473156 | CHEMBL209076 | CHEMBL187692 | ZINC95607769 | CHEMBL2315816 |
| CHEMBL378300 | ZINC02141886 | CHEMBL425602 | ZINC71331761 | CHEMBL2315817 |
| CHEMBL119256 | ZINC28873611 | ZINC13123372 | ZINC08860500 | CHEMBL218446  |
| ZINC36178421 | ZINC95593944 | ZINC49784144 | ZINC44430637 | CHEMBL119354  |
| ZINC36178309 | ZINC84634507 | ZINC84596902 | ZINC36178138 | CHEMBL119382  |
| CHEMBL184349 | ZINC84634904 | ZINC13673890 | ZINC40915511 | CHEMBL3403631 |
| CHEMBL224623 | ZINC36178259 | ZINC84596656 | ZINC35802910 | CHEMBL1093429 |
| ZINC08687901 | ZINC36178349 | ZINC36178530 | ZINC13497527 | CHEMBL2018458 |
| ZINC36178119 | ZINC95593140 | ZINC49070262 | ZINC49942333 | CHEMBL2018456 |
| ZINC36178099 | ZINC95594894 | ZINC13586603 | ZINC44087032 | CHEMBL2018463 |
| ZINC13673878 | ZINC84635660 | ZINC04107320 | ZINC84634503 | CHEMBL1090673 |
| CHEMBL119110 | ZINC28873686 | ZINC36178584 | ZINC36178578 | CHEMBL2018483 |
| CHEMBL277377 | CHEMBL396365 | ZINC84596566 | ZINC64734958 | CHEMBL3806205 |
| CHEMBL186921 | CHEMBL239867 | ZINC36178154 | ZINC84633152 | CHEMBL1092190 |
| CHEMBL115131 | CHEMBL334213 | ZINC84633152 | ZINC43587302 | CHEMBL2018571 |
| ZINC00092298 | CHEMBL239650 | ZINC84616352 | ZINC43574766 | CHEMBL2018486 |
| ZINC03819497 | CHEMBL117569 | ZINC84616358 | ZINC28873621 | CHEMBL2018477 |
| ZINC40899937 | CHEMBL515603 | ZINC01542002 | ZINC00667111 | CHEMBL2018464 |
| CHEMBL326346 | CHEMBL239659 | ZINC84616255 | ZINC13673904 | CHEMBL2018465 |
| CHEMBL224720 | CHEMBL187061 | ZINC36178606 | ZINC36178480 | CHEMBL2018479 |
| CHEMBL424254 | CHEMBL473237 | ZINC95572692 | ZINC40898626 | CHEMBL2018465 |
| CHEMBL119516 | CHEMBL187645 | ZINC13586606 | ZINC34631598 | CHEMBL2018482 |
| CHEMBL201848 | CHEMBL118265 | ZINC13673886 | ZINC13673882 | CHEMBL2018461 |
| CHEMBL118860 | CHEMBL239873 | ZINC13586608 | ZINC08860500 | CHEMBL2018469 |
| CHEMBL184237 | CHEMBL224571 | ZINC13673880 | ZINC36178321 | CHEMBL2315818 |
| CHEMBL325193 | CHEMBL475253 | ZINC36178254 | ZINC95578186 | CHEMBL1090828 |
| CHEMBL426191 | CHEMBL325247 | ZINC36178489 | ZINC35968414 | CHEMBL2178811 |

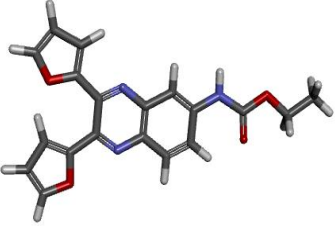
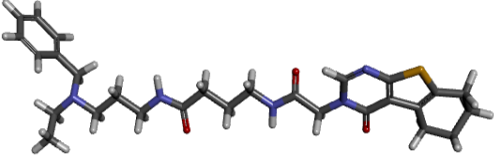
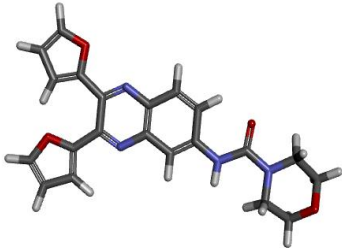
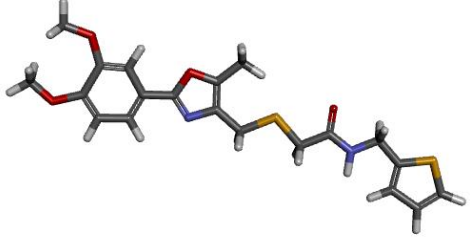
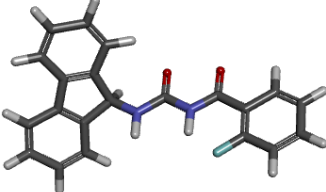
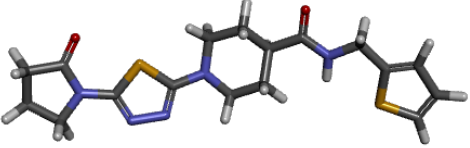
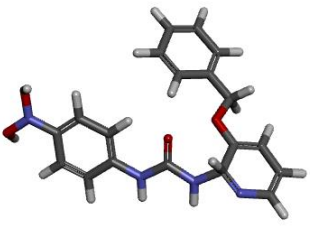
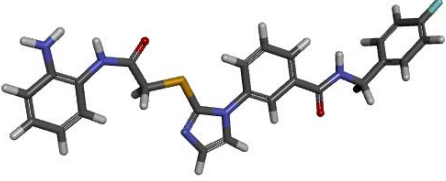
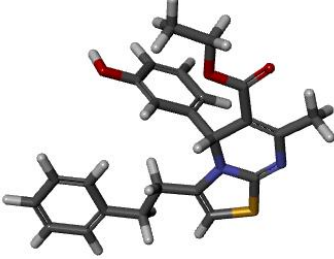
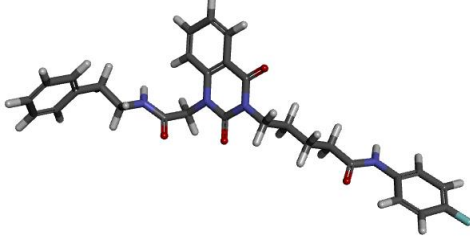
### 2.1.2.2. Siklofilin D İnhibitörlerinin Belirlenmesi

Literatür taraması yapılarak siklofilin D için inhibitör moleküller (Tablo 2) belirlenmiştir. Bu moleküller ile farmakofor geliştirme çalışmaları yürütülmüştür.

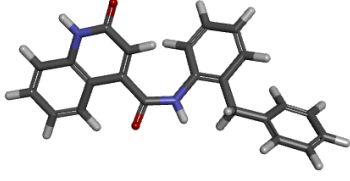
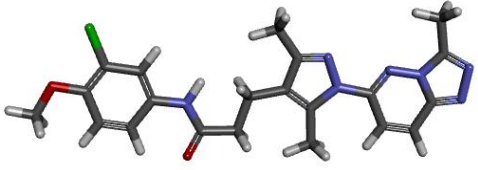
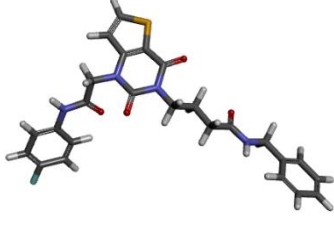
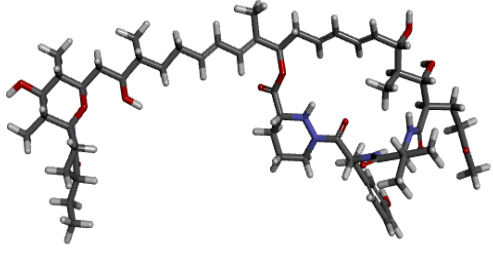
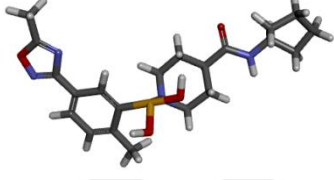
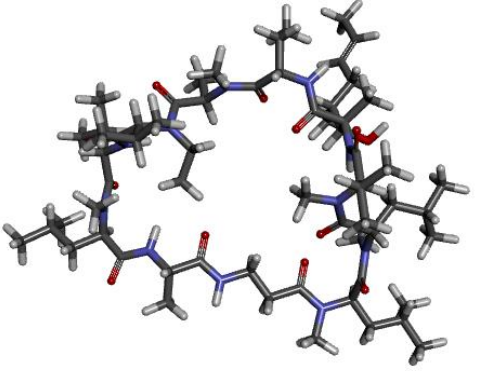
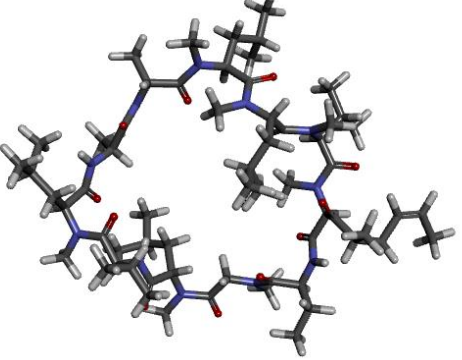
**Tablo 2.** CyPD için farmakofor geliştirme çalışmalarında kullanılan moleküller

| Bileşik | 3 Boyutlu Yapısı                                                                    | Bileşik | 3 Boyutlu Yapısı                                                                     |
|---------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| 7fb     |  | F9      |  |

**Tablo 2 (Devam).** CyPD için farmakofor geliştirme çalışmalarında kullanılan moleküller

|     |                                                                                     |           |                                                                                      |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| GW1 |    | C046-0256 |    |
| GW6 |    | C523-0610 |    |
| F22 |  | E017-0165 |  |
| F23 |  | F985-0666 |  |
| 6O  |  | F142-0449 |  |

**Tablo 2 (Devam).** CyPD için farmakofor geliştirme çalışmalarında kullanılan moleküller

|           |                                                                                    |                |                                                                                      |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------|----------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| ER-00044  |   | G827-0216      |    |
| C241-2098 |   | Sanglif ehrin  |    |
| G948-3972 |  | Alispor ivir   |   |
|           |                                                                                    | Siklo sporin A |  |

## **2.2. Yöntem**

### **2.2.1. Ligand Temelli İlaç Tasarımı**

#### **2.2.1.1. Farmakofor Modelleme**

Elde edilen inhibitör ligandlar PharmaGist (Dror ve diğ., 2009) web aracına yüklenerek moleküllerin ortak özelliklerinden oluşan hipotezler elde edilmiştir.

#### **2.2.1.2. ZINCPharmer Veri tabanı ile Farmakofora Uygun Bileşiklerin Belirlenmesi**

Hipotezler ZINCPharmer (Koes ve Camacho, 2012) web aracı kullanılarak hipotezler ile yüksek çakışma sağlayan moleküller belirlenmiştir. İkinci basamakta moleküller düşük Kök Ortalama Kare Hatası (RMSD) değeri, düşük moleküler ağırlık ve yüksek döndürülebilir bağ sayısı (Rbnds) özelliklerine göre taranarak hedef ligandlar seçilmiştir. Seçilen moleküller ADME-Toksikoloji tahminlemesine alınmıştır.

#### **2.2.1.3. ADME-Toksikoloji Tahminleri**

ADME (Absorbsiyon, Dağılım, Metabolizma, Atılım) özellikleri klinik açıdan çok önemlidir. İlaç özelliği gösterebilmesi için molekülün Lipinski kurallarını sağlaması gerekir. Lipinski kurallarına göre; molekülün ağırlığı 500 Da'dan küçük, hidrojen bağı donörü sayısı 5'ten küçük, hidrojen bağı akseptörü sayısı 10'dan küçük, MLogP değeri 4.15'ten küçük değerlerde olmalıdır. Çalışma kapsamında SwissADME (Diana ve diğ., 2017) veri tabanından yararlanılarak ADME-Toksikoloji analizi yapılmıştır. Moleküllerin logP değerleri, moleküler ağırlık, H-bağı akseptör ve donör sayıları, biyoyararlanım skoru, moleküler polar yüzey alanı, plazma proteinlerine tutunma, CYP2D6 inhibisyonu, insan intestinal sisteminde emilim ve kan beyin bariyerinden geçiş özellikleri araştırılmıştır.

### **2.2.2. Hedef Temelli İlaç Tasarımı**

#### **2.2.2.1. Moleküler Doking**

Moleküler doking (kenetleme), reseptör ve ligand arasındaki etkileşimi hesaplamalı şekilde analiz eden bir yöntemdir. Moleküllerin bağlanma afinitesinin ve bağlanma konformasyonunun tespit edilmesi amaçlanmaktadır. Moleküler kenetleme

çalışmaları, ADME-Toksikoloji tahminlemesi sonucunda en başarılı bulunan ligandlar ile, Autodock Vina (Trott ve Olson, 2010) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Reseptör olarak 3V2Y (sfingozin-1-fosfat 1) ve 2Z6W (siklofilin D) RCSB PDB kodlu yapılar kullanılmıştır.

Discovery Studio Visualizer (Dassault Systèmes, 2019) programı vasıtasıyla reseptörler hazırlanmıştır. 3 boyutlu 3V2Y ve 2Z6W yapılarının içerisindeki heteroatomlar (su molekülleri, ligandlar vb.) çıkarılmıştır, protein molekülleri kaydedilmiştir. Her iki yapı içerisindeki antagonist ligand moleküller ve ADME-Toksikoloji tahminlemesi sonucunda en başarılı bulunan ligandlar, Discovery Studio Visualizer 2020 programı vasıtasıyla çizilip “clean geometry” seçeneğiyle düzeltilmiştir, moleküller “pdb” formatında kaydedilmiştir. 3V2Y yapısı içerisindeki S1P1’in agonisti ML5 ( $\{(3R)-3\text{-amino-4-}[(3\text{-hexylphenyl})\text{ amino}]\text{-4-oxobutyl}\}$  phosphonic acid); 2Z6W yapısı içerisindeki CyPD’nin antagonisti CsA (siklosporin A) dır.

Reseptör proteinler, orijinal ligand moleküller ve tüm ligand moleküller Autodock Tools (Morris ve diğ., 2009) paketi kullanılarak doking için uygun hale getirilmiştir. Proteinlere polar hidrojenler ve Gasteiger yükleri eklenip “pdbqt” formatında kaydedilmiştir. ML5, CsA ve diğer ligandlar da “pdbqt” formatında düzenlenmiştir.

Reseptörler ile ligandların bağlanma bölgeleri için Autodock Tools ile Grid kutusu oluşturulmuştur. Sfingozin-1-fosfat 1 (3V2Y) için Grid kutusu oluşturulurken, antagonisti ML5 molekülü referans olarak kullanılmıştır. S1P1 için Grid kutusunun x, y, z değerleri sırasıyla 38, 32, 36 olarak; Grid kutusunun x, y, z merkezleri sırasıyla 7.466, 18.421, -9.774 olarak belirlenmiştir. Siklofilin D (2Z6W) için referans olarak CsA kullanılmıştır. Grid kutusunun x, y, z değerleri sırasıyla 30, 46, 56 olarak; Grid kutusunun x, y, z merkezleri sırasıyla -13.812, -5.25, -30.799 olarak belirlenmiştir. Ardından, reseptörler ile ligandların moleküler doking işlemi gerçekleştirilmiştir. Moleküler doking ile elde edilen sonuçlar AutoDock Tools’da ve Discovery Studio Visualizer programında incelenmiştir.

## 2.3. Bulgular

### 2.3.1. Farmakofor Modelleme Sonuçları

Farmakofor analizi sonucunda, yüksek skor sayısı ve fazla özellik eşleşmesi (aromatiklik, hidrofobiklik, hidrojen bağı akseptörü, hidrojen bağı donörü, negatif iyonize olma) özelliklerinden yola çıkılarak hipotezler belirlenmiştir.

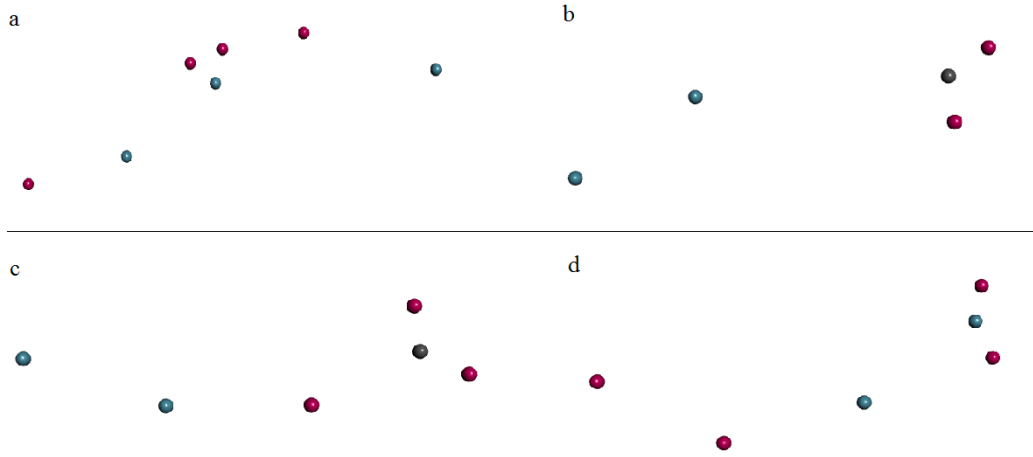
#### 2.3.1.1. S1P1 Modülatörleriyle Farmakofor Modelleme Sonuçları

Hipotezler arasından 6 tanesi seçilmiştir. Seçilen hipotezlerin özellikleri Tablo 3'te verilmiştir. Skorları en yüksek olan hipotezler içerisinde 1. hipotez 6 molekül ile çakışmıştır. 2. hipotez 8 molekül ile, 3. hipotez ise 10 molekül ile çakışmıştır.

**Tablo 3.** Farmakofor modelleme sonucu elde edilen hipotezler ve özellikleri (S1P1)

| Hipotez | Skor   | Molekül Sayısı | Özellikler | Aromatik | Hidrofobik | H-donörü | H-akseptörü | Negatif iyonize |
|---------|--------|----------------|------------|----------|------------|----------|-------------|-----------------|
| 1       | 45.000 | 6              | 7          | 3        | 0          | 0        | 4           | 0               |
| 2       | 36.056 | 10             | 5          | 2        | 0          | 0        | 2           | 1               |
| 3       | 38.141 | 8              | 6          | 2        | 0          | 0        | 3           | 1               |
| 4       | 34.857 | 13             | 4          | 2        | 0          | 0        | 2           | 0               |
| 5       | 33.675 | 15             | 4          | 2        | 0          | 0        | 2           | 0               |
| 6       | 36.000 | 7              | 6          | 2        | 0          | 0        | 4           | 0               |

Hipotezlerin sahip olduğu özellikler Şekil 4'te gösterilmiştir. Hidrojen bağı alıcısı özellik pembe rengi ile, negatif iyonize olma gri rengi ile, halkalı aromatik yapıya sahip olma özelliği mavi rengi ile şekilde belirtilmektedir.



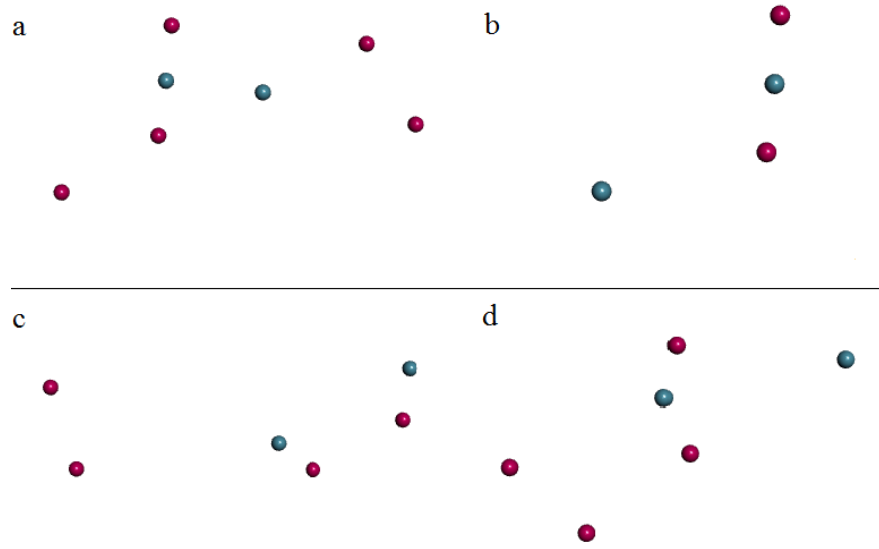
**Şekil 4.** Hipotez 1 (a), Hipotez 2 (b), Hipotez 3 (c ) ve Hipotez 6 (d)’ya ait özellikler

### 2.3.1.2. CyPD İnhibitörleriyle Farmakofofor Modelleme Sonuçları

4 farklı hipotez seçilmiştir. Seçilen hipotezlerin özellikleri Tablo 4’te ve Şekil 5’te verilmiştir. Skoru en yüksek olan hipotezler içerisinde 2. hipotez 14 molekül ile çakışmıştır. 3. ve 4. hipotezler dörder molekül ile, 1. hipotez 3 molekül ile çakışmıştır.

**Tablo 4.** Farmakofofor modelleme sonucu elde edilen hipotezler ve özellikleri (CyPD)

| Hipotez | Skor   | Molekül Sayısı | Özellikler | Aromatik | Hidrofofobik | H-donör | H-akseptör |
|---------|--------|----------------|------------|----------|--------------|---------|------------|
| 1       | 33.068 | 3              | 7          | 2        | 0            | 1       | 4          |
| 2       | 31.177 | 14             | 4          | 2        | 0            | 0       | 2          |
| 3       | 31.749 | 4              | 6          | 2        | 0            | 1       | 3          |
| 4       | 31.749 | 4              | 6          | 2        | 0            | 1       | 3          |



Şekil 5. Hipotez 1 (a), Hipotez 2 (b), Hipotez 3 (c ) ve Hipotez 4 (d)'e ait özellikler

### 2.3.2. ZINCPharmer Veri tabanından Elde Edilen Bileşiklerin Taranması

#### 2.3.2.1. S1P1 için Bileşiklerin Taranması

Farmakofor modelleme sonucu elde edilen en yüksek skor ve özellik sayısına sahip 6 farmakofor ZINCPharmer veri tabanında yürütülecek çalışma için seçilmiştir. ZINCPharmer veri tabanında Hipotez 4 ve Hipotez 5 ile çakışan hiçbir liganda rastlanmamıştır. Diğer 4 hipotez ile örtüşen moleküller arasından RMSD, moleküler ağırlık ve Rbnds değerleri gözetilerek 20'şer molekül seçilip kaydedilmiştir. Moleküllerin özellikleri Tablo 5'te verilmiştir. İlgili moleküller arasında ADME-Toksikoloji özelliklerine göre eleme gerçekleştirilmiştir.

**Tablo 5.** ZINCPharmer veri tabanından elde edilen moleküllerin özellikleri (S1P1)

| Farmakofor | RMSD  | Moleküler Ağırlık | RBnds | Zinc No  | RMSD  | Moleküler Ağırlık | RBnds | Zinc No  |
|------------|-------|-------------------|-------|----------|-------|-------------------|-------|----------|
| Hipotez 1  | 0,217 | 417               | 9     | 36693346 | 0,268 | 416               | 9     | 36693376 |
|            | 0,217 | 431               | 10    | 36694044 | 0,415 | 367               | 11    | 22835402 |
|            | 0,217 | 403               | 8     | 36693219 | 0,415 | 369               | 11    | 22835395 |
|            | 0,268 | 387               | 7     | 36693370 | 0,251 | 403               | 8     | 36693225 |
|            | 0,270 | 373               | 6     | 05240658 | 0,218 | 432               | 10    | 36693222 |
|            | 0,271 | 401               | 8     | 36694045 | 0,251 | 417               | 9     | 36693842 |
|            | 0,214 | 444               | 11    | 38746706 | 0,251 | 436               | 8     | 09813947 |
|            | 0,251 | 415               | 9     | 38746745 | 0,270 | 387               | 7     | 36693940 |
|            | 0,255 | 432               | 10    | 36693228 | 0,415 | 395               | 13    | 12898424 |
|            | 0,268 | 401               | 8     | 36694046 | 0,270 | 401               | 8     | 09814150 |
| Hipotez 2  | 0,320 | 320               | 8     | 00060919 | 0,271 | 396               | 12    | 12639489 |
|            | 0,294 | 331               | 8     | 00146845 | 0,234 | 340               | 6     | 13467135 |
|            | 0,235 | 334               | 7     | 00152541 | 0,267 | 354               | 8     | 16481292 |
|            | 0,299 | 303               | 6     | 00390492 | 0,292 | 283               | 8     | 34595015 |
|            | 0,233 | 281               | 7     | 02378750 | 0,289 | 283               | 8     | 34595016 |
|            | 0,247 | 391               | 11    | 02581761 | 0,308 | 267               | 7     | 35323954 |
|            | 0,225 | 348               | 8     | 02661424 | 0,287 | 283               | 8     | 35324248 |
|            | 0,291 | 367               | 9     | 04025769 | 0,285 | 294               | 6     | 37464811 |
|            | 0,251 | 391               | 8     | 04728963 | 0,381 | 320               | 9     | 49453302 |
|            | 0,352 | 324               | 9     | 08378891 | 0,317 | 284               | 7     | 67740009 |
| Hipotez 3  | 0,388 | 331               | 8     | 00146845 | 0,429 | 332               | 7     | 00205156 |
|            | 0,387 | 350               | 7     | 12581920 | 0,429 | 346               | 8     | 00078986 |
|            | 0,390 | 350               | 7     | 12632234 | 0,429 | 422               | 9     | 02255531 |
|            | 0,391 | 356               | 7     | 16482016 | 0,430 | 373               | 10    | 17076623 |
|            | 0,399 | 309               | 5     | 04663261 | 0,443 | 324               | 6     | 03115825 |
|            | 0,417 | 390               | 8     | 20029604 | 0,459 | 393               | 8     | 05297708 |
|            | 0,424 | 374               | 10    | 06189797 | 0,468 | 340               | 9     | 00313207 |
|            | 0,427 | 360               | 9     | 04103652 | 0,468 | 312               | 7     | 04593173 |
|            | 0,429 | 341               | 7     | 17071532 | 0,468 | 298               | 6     | 00482174 |
|            | 0,429 | 355               | 8     | 12794884 | 0,469 | 340               | 9     | 04525765 |
| Hipotez 6  | 0,173 | 275               | 6     | 45961059 | 0,239 | 341               | 8     | 71285848 |
|            | 0,282 | 280               | 6     | 19847253 | 0,238 | 314               | 6     | 61721800 |
|            | 0,204 | 291               | 7     | 45961095 | 0,239 | 330               | 7     | 71286870 |
|            | 0,254 | 309               | 6     | 53502192 | 0,240 | 344               | 7     | 69529194 |
|            | 0,153 | 375               | 6     | 21715994 | 0,243 | 314               | 6     | 71285827 |
|            | 0,168 | 375               | 6     | 55308676 | 0,259 | 332               | 9     | 58245261 |
|            | 0,199 | 346               | 11    | 58429218 | 0,260 | 343               | 7     | 72098338 |
|            | 0,202 | 364               | 6     | 46793950 | 0,292 | 346               | 9     | 69537291 |
|            | 0,211 | 406               | 7     | 19715383 | 0,301 | 260               | 6     | 19847241 |
|            | 0,237 | 323               | 6     | 33082316 | 0,403 | 327               | 8     | 40508516 |

### 2.3.2.2. CyPD için Bileşiklerin Taranması

Farmakofor modelleme sonucu elde edilen en uygun özelliklere sahip 4 farmakofor ZINCPharmer veri tabanında yürütülecek çalışma için seçilmiştir. Hipotezler ZINCPharmer veri tabanına yüklenerek hipotezler ile eşleşen çok sayıda molekül arasından 20'ser molekül seçilerek kaydedilmiştir. Moleküllerin özellikleri Tablo 6'da verilmiştir. ADME-Toksikoloji özelliklerine göre ilgili moleküller arasından seçim yapılmıştır.

**Tablo 6.** ZINCPharmer veri tabanından elde edilen moleküllerin özellikleri (CyPD)

| Farmakofor | RMSD  | Moleküler Ağırlık | RBnds | ZINC No  | RMSD  | Moleküler Ağırlık | RBnds | ZINC No  |
|------------|-------|-------------------|-------|----------|-------|-------------------|-------|----------|
| Hipotez 1  | 0.309 | 411               | 6     | 05260168 | 0.132 | 369               | 8     | 06818708 |
|            | 0.137 | 381               | 8     | 06733121 | 0.124 | 383               | 9     | 06818722 |
|            | 0.146 | 341               | 6     | 06733126 | 0.139 | 409               | 7     | 09027329 |
|            | 0.137 | 397               | 10    | 06733127 | 0.147 | 327               | 5     | 09066439 |
|            | 0.138 | 355               | 7     | 06733131 | 0.136 | 431               | 8     | 09599121 |
|            | 0.136 | 369               | 8     | 06733132 | 0.136 | 446               | 9     | 09599123 |
|            | 0.148 | 381               | 5     | 09166421 | 0.147 | 343               | 6     | 13552014 |
|            | 0.128 | 417               | 7     | 06733134 | 0.145 | 448               | 7     | 17046011 |
|            | 0.137 | 424               | 7     | 06733137 | 0.146 | 357               | 6     | 20151896 |
| Hipotez 2  | 0.138 | 341               | 6     | 06818697 | 0.131 | 356               | 5     | 01228678 |
|            | 0.024 | 383               | 7     | 05333824 | 0.071 | 354               | 10    | 16000765 |
|            | 0.073 | 389               | 8     | 07979410 | 0.361 | 308               | 8     | 01496377 |
|            | 0.038 | 361               | 10    | 32675907 | 0.162 | 344               | 8     | 02488877 |
|            | 0.460 | 359               | 15    | 72474618 | 0.118 | 391               | 7     | 04979909 |
|            | 0.059 | 303               | 9     | 60353659 | 0.402 | 354               | 9     | 13207213 |
|            | 0.059 | 311               | 9     | 58180599 | 0.385 | 377               | 7     | 31766509 |
|            | 0.037 | 385               | 11    | 48401200 | 0.400 | 323               | 9     | 37868558 |
|            | 0.055 | 350               | 9     | 34865485 | 0.038 | 335               | 8     | 15778627 |
| Hipotez 3  | 0.030 | 415               | 8     | 32682599 | 0.075 | 375               | 7     | 15317824 |
|            | 0.049 | 337               | 10    | 30007860 | 0.038 | 317               | 7     | 08339390 |
|            | 0.500 | 323               | 6     | 02157976 | 0.447 | 314               | 6     | 72229631 |
|            | 0.279 | 480               | 9     | 02701874 | 0.336 | 388               | 7     | 08670100 |
|            | 0.428 | 351               | 7     | 04906283 | 0.336 | 414               | 10    | 27756652 |
|            | 0.428 | 409               | 11    | 04906311 | 0.332 | 297               | 6     | 32541243 |
|            | 0.336 | 413               | 10    | 08584529 | 0.428 | 405               | 6     | 04906324 |
|            | 0.382 | 346               | 5     | 69776578 | 0.279 | 442               | 11    | 34932032 |
|            | 0.450 | 325               | 5     | 78619622 | 0.382 | 404               | 8     | 71281426 |
| Hipotez 4  | 0.279 | 474               | 9     | 15229604 | 0.382 | 374               | 6     | 71283848 |
|            | 0.455 | 364               | 5     | 00801224 | 0.445 | 314               | 6     | 72229628 |
|            | 0.336 | 370               | 7     | 27756603 | 0.382 | 374               | 6     | 71287695 |
|            | 0.378 | 235               | 7     | 01686721 | 0.239 | 346               | 12    | 31820955 |
|            | 0.248 | 319               | 10    | 04721581 | 0.415 | 371               | 13    | 32931677 |
|            | 0.419 | 244               | 5     | 09603787 | 0.284 | 316               | 10    | 40162051 |
|            | 0.278 | 244               | 5     | 32674515 | 0.417 | 272               | 7     | 36719024 |
|            | 0.234 | 247               | 7     | 12406819 | 0.280 | 258               | 6     | 44514282 |
|            | 0.418 | 359               | 13    | 09950012 | 0.221 | 402               | 8     | 45946126 |
| Hipotez 5  | 0.383 | 274               | 7     | 20729515 | 0.278 | 258               | 6     | 17322385 |
|            | 0.239 | 318               | 10    | 20736887 | 0.241 | 319               | 10    | 20737156 |
|            | 0.239 | 272               | 6     | 20745632 | 0.280 | 357               | 10    | 65010034 |
|            | 0.279 | 300               | 9     | 23228074 | 0.285 | 394               | 11    | 71812077 |
|            |       |                   |       |          |       |                   |       |          |

### 2.3.3. ADME-Toksikoloji Analizi Bulguları

#### 2.3.3.1. S1P1 için Ligand Bileşiklerinin ADME-Toksikoloji Sonuçları

Hipotez 1, 2, 3 ve 6 ile çakışan 80 molekülün ADME/toksikoloji sonuçları Tablo 7’de ve Tablo 8’de verilmiştir.

**Tablo 7. 80 bileşiğe ait ADME tahminlemesi (S1P1)**

| Bileşik | ZINC No  | Lipinski Kuralları | TPSA (Å²) | Consensus Log P <sub>o/w</sub> | Biyoyararlanım Skoru | Log K <sub>p</sub> (cm/s) | GI Absorbsiyonu |
|---------|----------|--------------------|-----------|--------------------------------|----------------------|---------------------------|-----------------|
| 1       | 36693346 | Uygun              | 125.57    | 1.50                           | 0.55                 | -6.48                     | Yüksek          |
| 2       | 36694044 | Uygun              | 114.80    | 2.37                           | 0.55                 | -7.86                     | Düşük           |
| 3       | 36693219 | Uygun              | 114.80    | 2.50                           | 0.55                 | -6.86                     | Düşük           |
| 4       | 36693370 | Uygun              | 116.15    | 2.18                           | 0.55                 | -7.01                     | Düşük           |
| 5       | 05240658 | Uygun              | 125.38    | 0.75                           | 0.55                 | -8.28                     | Yüksek          |
| 6       | 36694045 | Uygun              | 116.15    | 1.65                           | 0.55                 | -7.27                     | Yüksek          |
| 7       | 38746706 | Uygun              | 127.27    | 1.38                           | 0.55                 | -8.13                     | Düşük           |
| 8       | 38746745 | Uygun              | 124.03    | 1.63                           | 0.55                 | -7.87                     | Yüksek          |
| 9       | 36693228 | Uygun              | 127.27    | 1.38                           | 0.55                 | -8.13                     | Düşük           |
| 10      | 36694046 | Uygun              | 124.03    | 1.63                           | 0.55                 | -7.87                     | Yüksek          |
| 11      | 36693376 | Uygun              | 124.03    | 1.95                           | 0.55                 | -7.71                     | Düşük           |
| 12      | 22835402 | Uygun              | 114.80    | 2.21                           | 0.55                 | -7.02                     | Yüksek          |
| 13      | 22835395 | Uygun              | 118.04    | 1.96                           | 0.55                 | -7.28                     | Düşük           |
| 14      | 36693225 | Uygun              | 124.03    | 1.87                           | 0.55                 | -7.71                     | Düşük           |
| 15      | 36693222 | Uygun              | 114.80    | 2.21                           | 0.55                 | -7.07                     | Yüksek          |
| 16      | 36693842 | Uygun              | 124.03    | 2.28                           | 0.55                 | -7.54                     | Düşük           |
| 17      | 09813947 | Uygun              | 114.80    | 2.45                           | 0.55                 | -6.86                     | Düşük           |
| 18      | 36693940 | Uygun              | 114.80    | 2.45                           | 0.55                 | -6.86                     | Düşük           |
| 19      | 12898424 | Uygun              | 114.14    | 2.58                           | 0.55                 | -6.86                     | Düşük           |
| 20      | 09814150 | Uygun              | 114.80    | 2.72                           | 0.55                 | -6.78                     | Düşük           |
| 21      | 00060919 | Uygun              | 139.06    | 0.60                           | 0.56                 | -8.92                     | Yüksek          |
| 22      | 00146845 | Uygun              | 107.53    | 2.95                           | 0.56                 | -6.33                     | Yüksek          |
| 23      | 00152541 | Uygun              | 118.63    | 0.90                           | 0.56                 | -8.52                     | Yüksek          |
| 24      | 00390492 | Uygun              | 54.37     | 3.82                           | 0.85                 | -5.60                     | Yüksek          |
| 25      | 02378750 | Uygun              | 54.37     | 3.61                           | 0.85                 | -5.39                     | Yüksek          |
| 26      | 02581761 | Uygun              | 146.16    | 1.15                           | 0.56                 | -7.44                     | Düşük           |
| 27      | 02661424 | Uygun              | 118.63    | 1.26                           | 0.56                 | -8.32                     | Yüksek          |
| 28      | 04025769 | Uygun              | 99.77     | 2.20                           | 0.55                 | -7.65                     | Yüksek          |
| 29      | 04728963 | Uygun              | 134.61    | 2.25                           | 0.56                 | -6.92                     | Yüksek          |
| 30      | 08378891 | Uygun              | 80.26     | 3.17                           | 0.86                 | -5.59                     | Yüksek          |
| 31      | 12639489 | Uygun              | 93.83     | 3.78                           | 0.56                 | -5.66                     | Yüksek          |
| 32      | 13467135 | Uygun              | 87.05     | 1.94                           | 0.56                 | -6.92                     | Yüksek          |
| 33      | 16481292 | Uygun              | 91.60     | 2.91                           | 0.56                 | -6.03                     | Yüksek          |
| 34      | 34595015 | Uygun              | 57.53     | 3.31                           | 0.85                 | -5.71                     | Yüksek          |
| 35      | 34595016 | Uygun              | 57.53     | 3.31                           | 0.85                 | -5.71                     | Yüksek          |
| 36      | 35323954 | Uygun              | 37.30     | 4.23                           | 0.85                 | -4.46                     | Yüksek          |
| 37      | 35324248 | Uygun              | 63.32     | 2.79                           | 0.55                 | -6.51                     | Yüksek          |
| 38      | 37464811 | Uygun              | 109.67    | 0.39                           | 0.56                 | -7.82                     | Yüksek          |
| 39      | 49453302 | Uygun              | 99.61     | 2.51                           | 0.56                 | -6.61                     | Yüksek          |
| 40      | 67740009 | Uygun              | 76.49     | 2.23                           | 0.56                 | -6.69                     | Yüksek          |
| 41      | 02157976 | Uygun              | 124.79    | 1.72                           | 0.56                 | -6.98                     | Yüksek          |
| 42      | 02701874 | Uygun              | 110.52    | 1.06                           | 0.56                 | -7.64                     | Yüksek          |
| 43      | 04906283 | Uygun              | 124.79    | 1.39                           | 0.56                 | -7.14                     | Yüksek          |
| 44      | 04906311 | Uygun              | 75.63     | 3.07                           | 0.56                 | -6.34                     | Yüksek          |
| 45      | 08584529 | Uygun              | 75.63     | 2.17                           | 0.56                 | -6.72                     | Yüksek          |
| 46      | 69776578 | Uygun              | 124.79    | 3.20                           | 0.56                 | -5.76                     | Düşük           |
| 47      | 78619622 | Uygun              | 136.27    | 3.43                           | 0.56                 | -5.36                     | Düşük           |
| 48      | 15229604 | Uygun              | 169.74    | -0.19                          | 0.55                 | -8.65                     | Düşük           |
| 49      | 00801224 | Uygun              | 124.79    | 1.93                           | 0.56                 | -7.15                     | Düşük           |
| 50      | 27756603 | Uygun              | 75.63     | 3.06                           | 0.56                 | -6.17                     | Yüksek          |
| 51      | 72229631 | Uygun              | 75.63     | 2.46                           | 0.56                 | -6.38                     | Yüksek          |
| 52      | 08670100 | -                  | -         | -                              | -                    | -                         | -               |

**Tablo 7 (Devam).** 80 bileşiğe ait ADME tahminlemesi (S1P1)

|    |          |       |        |      |      |        |        |
|----|----------|-------|--------|------|------|--------|--------|
| 53 | 27756652 | Uygun | 124.79 | 2.03 | 0.56 | -7.15  | Düşük  |
| 54 | 32541243 | Uygun | 91.12  | 2.57 | 0.55 | -7.38  | Yüksek |
| 55 | 04906324 | Uygun | 69.64  | 1.46 | 0.85 | -8.36  | Yüksek |
| 56 | 34932032 | Uygun | 116.42 | 2.00 | 0.55 | -7.29  | Yüksek |
| 57 | 71281426 | Uygun | 136.27 | 2.47 | 0.56 | -7.37  | Düşük  |
| 58 | 71283848 | Uygun | 141.58 | 2.04 | 0.56 | -6.79  | Düşük  |
| 59 | 72229628 | Uygun | 132.55 | 0.21 | 0.55 | -10.03 | Yüksek |
| 60 | 71287695 | Uygun | 69.64  | 1.46 | 0.55 | -8.50  | Yüksek |
| 61 | 45961059 | Uygun | 99.00  | 0.97 | 0.55 | -7.03  | Yüksek |
| 62 | 19847253 | Uygun | 62.12  | 1.65 | 0.55 | -6.67  | Yüksek |
| 63 | 45961095 | Uygun | 108.23 | 0.60 | 0.55 | -7.41  | Yüksek |
| 64 | 53502192 | Uygun | 115.22 | 0.90 | 0.55 | -7.38  | Yüksek |
| 65 | 21715994 | Uygun | 106.94 | 3.12 | 0.55 | -6.28  | Yüksek |
| 66 | 55308676 | Uygun | 106.94 | 3.10 | 0.55 | -6.56  | Yüksek |
| 67 | 58429218 | Uygun | 102.24 | 1.64 | 0.55 | -7.19  | Yüksek |
| 68 | 46793950 | Uygun | 101.80 | 2.28 | 0.55 | -6.75  | Yüksek |
| 69 | 19715383 | Uygun | 102.24 | 2.19 | 0.55 | -7.45  | Yüksek |
| 70 | 33082316 | Uygun | 81.93  | 2.25 | 0.55 | -6.62  | Yüksek |
| 71 | 71285848 | Uygun | 107.97 | 2.37 | 0.56 | -6.65  | Yüksek |
| 72 | 61721800 | Uygun | 112.83 | 1.07 | 0.56 | -7.32  | Yüksek |
| 73 | 71286870 | Uygun | 119.23 | 0.99 | 0.56 | -7.73  | Yüksek |
| 74 | 69529194 | Uygun | 102.24 | 0.95 | 0.55 | -8.18  | Yüksek |
| 75 | 71285827 | Uygun | 110.00 | 1.35 | 0.56 | -7.22  | Yüksek |
| 76 | 58245261 | Uygun | 104.96 | 1.79 | 0.55 | -7.12  | Yüksek |
| 77 | 72098338 | Uygun | 90.52  | 2.25 | 0.55 | -6.80  | Yüksek |
| 78 | 69537291 | Uygun | 111.03 | 1.79 | 0.55 | -7.06  | Yüksek |
| 79 | 19847241 | Uygun | 62.12  | 1.61 | 0.55 | -6.68  | Yüksek |
| 80 | 40508516 | Uygun | 71.33  | 1.07 | 0.55 | -7.92  | Yüksek |

Bileşiklerin tümü Lipinski kurallarını sağlamaktadır. Hipotez 2’de çıkan ZINC00390492 ve ZINC67740009 molekülleri ve Hipotez 6’da çıkan ZINC19847253 ve ZINC19847241 moleküllerinin uygun ADME/Toksisite özelliklerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Merkezi sinir sistemi hastalığı olan MS’e yönelik çalıştığımızdan bu moleküller kan-beyin bariyerini aşabilmelidir, 4 molekül (ZINC00390492, ZINC67740009, ZINC19847253, ZINC19847241) de bu özelliği sağlamaktadır. Consensus Log Po/w değeri lipofilik davranışı temsil eder ve değer 5’ten küçük olması beklenir. Consensus LogPo/w değeri ZINC00390492 için 3.82, ZINC67740009 için 2.23, ZINC19847253 için 1.65 ve ZINC19847241 için 1.61’dir, bu değerler beklenen aralıktadır. Moleküllerin 0.1’den yüksek biyoyararlanım skoruna sahip olması gerekir, bu dört molekül de 0.55’ten yüksek biyoyararlanım skoruna sahiptir. TPSA değerinin 30’dan küçük olması beklenir. Bu değer ZINC00390492 molekülünde 54.37, ZINC67740009 molekülünde 76.49, ZINC19847253 ve ZINC19847241 moleküllerinde 62.12’dir. Moleküller yüksek gastrointestinal absorpsiyon (GI) özelliğine sahiptir. ZINC19847253 ve

ZINC19847241 P-glikoprotein substrat (P-gp) özelliğine sahiptir, bu, proteinlere tutunarak gastrointestinal sistemde absorpsiyonlarının düşmesine yol açabilmektedir; ZINC00390492 ve ZINC67740009 P-gp özelliğine sahip değildir. Sitokrom P (CYP) enzimleri karaciğer fonksiyonları üzerinde etkilidir, inhibe olmamaları gerekir. CYP2D6, çoğunlukla ilaçların metabolizmasından ve eliminasyonundan sorumludur, seçili dört molekül de CYP2D6 enzimini inhibe etmemektedir.

**Tablo 8.** Bileşiklerin toksikoloji özellikleri (S1P1)

| Bileşik | KBB Geçebilme | P-gp Substrat Özellik | CYP1A2 İnhibitörü | CYP2C19 İnhibitörü | CYP2C9 İnhibitörü | CYP2D6 İnhibitörü | CYP3A4 İnhibitörü |
|---------|---------------|-----------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 1       | Hayır         | Evet                  | Hayır             | Evet               | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 2       | Hayır         | Evet                  | Evet              | Evet               | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 3       | Hayır         | Evet                  | Hayır             | Evet               | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 4       | Hayır         | Evet                  | Hayır             | Hayır              | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 5       | Hayır         | Evet                  | Evet              | Hayır              | Hayır             | Hayır             | Hayır             |
| 6       | Hayır         | Evet                  | Hayır             | Hayır              | Evet              | Hayır             | Hayır             |
| 7       | Hayır         | Evet                  | Hayır             | Evet               | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 8       | Hayır         | Evet                  | Evet              | Evet               | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 9       | Hayır         | Evet                  | Evet              | Evet               | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 10      | Hayır         | Evet                  | Evet              | Evet               | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 11      | Hayır         | Evet                  | Evet              | Evet               | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 12      | Hayır         | Evet                  | Hayır             | Evet               | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 13      | Hayır         | Evet                  | Hayır             | Evet               | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 14      | Hayır         | Evet                  | Evet              | Evet               | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 15      | Hayır         | Evet                  | Evet              | Evet               | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 16      | Hayır         | Evet                  | Evet              | Evet               | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 17      | Hayır         | Evet                  | Hayır             | Evet               | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 18      | Hayır         | Evet                  | Hayır             | Evet               | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 19      | Hayır         | Evet                  | Hayır             | Evet               | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 20      | Hayır         | Evet                  | Hayır             | Evet               | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 21      | Hayır         | Evet                  | Hayır             | Hayır              | Hayır             | Hayır             | Hayır             |
| 22      | Hayır         | Hayır                 | Evet              | Evet               | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 23      | Hayır         | Hayır                 | Hayır             | Hayır              | Hayır             | Hayır             | Hayır             |
| 24      | Evet          | Hayır                 | Evet              | Evet               | Hayır             | Hayır             | Evet              |
| 25      | Evet          | Hayır                 | Evet              | Evet               | Hayır             | Evet              | Hayır             |
| 26      | Hayır         | Evet                  | Hayır             | Evet               | Hayır             | Hayır             | Hayır             |
| 27      | Hayır         | Hayır                 | Hayır             | Hayır              | Hayır             | Hayır             | Hayır             |
| 28      | Hayır         | Evet                  | Hayır             | Hayır              | Hayır             | Hayır             | Hayır             |
| 29      | Hayır         | Hayır                 | Evet              | Hayır              | Hayır             | Hayır             | Hayır             |
| 30      | Hayır         | Hayır                 | Evet              | Evet               | Hayır             | Evet              | Hayır             |
| 31      | Hayır         | Hayır                 | Evet              | Evet               | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 32      | Hayır         | Evet                  | Hayır             | Hayır              | Hayır             | Hayır             | Hayır             |
| 33      | Hayır         | Hayır                 | Evet              | Evet               | Evet              | Evet              | Evet              |
| 34      | Evet          | Hayır                 | Hayır             | Hayır              | Hayır             | Evet              | Hayır             |
| 35      | Evet          | Hayır                 | Hayır             | Hayır              | Hayır             | Evet              | Hayır             |
| 36      | Evet          | Hayır                 | Evet              | Evet               | Hayır             | Evet              | Hayır             |
| 37      | Evet          | Evet                  | Hayır             | Hayır              | Hayır             | Evet              | Evet              |
| 38      | Hayır         | Hayır                 | Hayır             | Hayır              | Hayır             | Hayır             | Hayır             |

**Tablo 8 (Devam).** Bileşiklerin toksikoloji özellikleri (S1P1)

|    |       |       |       |       |       |       |       |
|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 39 | Hayır | Hayır | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır | Evet  |
| 40 | Evet  | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır |
| 41 | Hayır | Evet  | Evet  | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır |
| 42 | Hayır | Evet  | Evet  | Evet  | Evet  | Hayır | Evet  |
| 43 | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır |
| 44 | Evet  | Evet  | Evet  | Evet  | Hayır | Evet  | Evet  |
| 45 | Hayır | Evet  | Evet  | Evet  | Evet  | Hayır | Hayır |
| 46 | Hayır | Evet  | Evet  | Evet  | Evet  | Hayır | Evet  |
| 47 | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır |
| 48 | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır |
| 49 | Hayır | Evet  | Evet  | Evet  | Evet  | Hayır | Hayır |
| 50 | Evet  | Evet  | Evet  | Evet  | Hayır | Evet  | Evet  |
| 51 | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır |
| 52 | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     |
| 53 | Hayır | Evet  | Evet  | Evet  | Evet  | Hayır | Evet  |
| 54 | Hayır | Evet  | Evet  | Hayır | Evet  | Evet  | Hayır |
| 55 | Hayır | Evet  | Hayır | Evet  | Evet  | Evet  | Hayır |
| 56 | Hayır | Evet  | Hayır | Evet  | Evet  | Hayır | Hayır |
| 57 | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır |
| 58 | Hayır | Evet  | Evet  | Evet  | Evet  | Hayır | Evet  |
| 59 | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır |
| 60 | Evet  | Evet  | Evet  | Evet  | Evet  | Evet  | Evet  |
| 61 | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır |
| 62 | Evet  | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır |
| 63 | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır |
| 64 | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır |
| 65 | Hayır | Hayır | Evet  | Evet  | Evet  | Hayır | Evet  |
| 66 | Hayır | Hayır | Evet  | Evet  | Evet  | Hayır | Evet  |
| 67 | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır |
| 68 | Hayır | Hayır | Hayır | Evet  | Evet  | Hayır | Evet  |
| 69 | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır | Evet  | Hayır | Evet  |
| 70 | Hayır | Hayır | Evet  | Evet  | Evet  | Hayır | Hayır |
| 71 | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır |
| 72 | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır |
| 73 | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır |
| 74 | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır |
| 75 | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır |
| 76 | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır |
| 77 | Hayır | Hayır | Evet  | Evet  | Hayır | Hayır | Hayır |
| 78 | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Evet  |
| 79 | Evet  | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır |
| 80 | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır |

Tüm özellikler değerlendirildiğinde ZINC00390492, ZINC67740009, ZINC19847253 ve ZINC19847241 molekülleri moleküler doking çalışmaları için seçilmiştir.

### 2.3.3.2. CyPD için Ligand Bileşiklerinin ADME-Toksikoloji Sonuçları

Hipotez 1, 2, 3 ve 4 ile çıkan 80 molekül için ADME/toksikoloji sonuçları Tablo 9'da ve Tablo 10'da verilmiştir.

**Tablo 9.** 80 bileşiğe ait ADME tahminlemesi (CyPD)

| Bileşik | ZINC No  | Lipinski Kuralları | TPSA (Å <sup>2</sup> ) | Consensus Log (P <sub>o/w</sub> ) | Biyoyararlanım Skoru | Log K <sub>p</sub> (cm/s) | GI Absorbsiyonu |
|---------|----------|--------------------|------------------------|-----------------------------------|----------------------|---------------------------|-----------------|
| 1       | 05260168 | Uygun              | 124.33                 | 1.77                              | 0.55                 | -7.64                     | Yüksek          |
| 2       | 06733121 | Uygun              | 109.74                 | 2.81                              | 0.55                 | -6.60                     | Yüksek          |
| 3       | 06733126 | Uygun              | 109.74                 | 1.94                              | 0.55                 | -7.33                     | Yüksek          |
| 4       | 06733127 | Uygun              | 109.74                 | 3.36                              | 0.55                 | -6.27                     | Yüksek          |
| 5       | 06733131 | Uygun              | 109.74                 | 2.31                              | 0.55                 | -6.98                     | Yüksek          |
| 6       | 06733132 | Uygun              | 109.74                 | 2.65                              | 0.55                 | -6.74                     | Yüksek          |
| 7       | 09166421 | Uygun              | 109.74                 | 2.33                              | 0.55                 | -7.12                     | Yüksek          |
| 8       | 06733134 | Uygun              | 109.74                 | 3.48                              | 0.55                 | -6.18                     | Yüksek          |
| 9       | 06733137 | Uygun              | 109.74                 | 3.71                              | 0.55                 | -6.03                     | Yüksek          |
| 10      | 06818697 | Uygun              | 120.60                 | 2.20                              | 0.55                 | -6.94                     | Yüksek          |
| 11      | 06818708 | Uygun              | 98.88                  | 2.39                              | 0.55                 | -6.86                     | Yüksek          |
| 12      | 06818722 | Uygun              | 98.88                  | 2.76                              | 0.55                 | -6.68                     | Yüksek          |
| 13      | 09027329 | Uygun              | 109.74                 | 3.07                              | 0.55                 | -6.52                     | Yüksek          |
| 14      | 09066439 | Uygun              | 109.74                 | 1.58                              | 0.55                 | -7.58                     | Yüksek          |
| 15      | 09599121 | Uygun              | 109.74                 | 3.58                              | 0.55                 | -6.31                     | Yüksek          |
| 16      | 09599123 | Uygun              | 109.74                 | 3.88                              | 0.55                 | -6.06                     | Yüksek          |
| 17      | 13552014 | Uygun              | 118.97                 | 0.96                              | 0.55                 | -8.42                     | Yüksek          |
| 18      | 17046011 | Uygun              | 135.62                 | 2.96                              | 0.55                 | -6.61                     | Düşük           |
| 19      | 20151896 | Uygun              | 135.62                 | 2.96                              | 0.55                 | -6.61                     | Düşük           |
| 20      | 01228678 | Uygun              | 136.18                 | 0.31                              | 0.56                 | -8.93                     | Yüksek          |
| 21      | 05333824 | Uygun              | 68.85                  | 3.04                              | 0.55                 | -5.73                     | Yüksek          |
| 22      | 07979410 | Uygun              | 64.55                  | 2.95                              | 0.55                 | -6.45                     | Yüksek          |
| 23      | 32675907 | Uygun              | 55.32                  | 3.51                              | 0.55                 | -5.86                     | Yüksek          |
| 24      | 72474618 | Uygun              | 59.31                  | 2.54                              | 0.55                 | -6.51                     | Yüksek          |
| 25      | 60353659 | Uygun              | 55.32                  | 2.60                              | 0.55                 | -6.45                     | Yüksek          |
| 26      | 58180599 | Uygun              | 55.32                  | 2.69                              | 0.55                 | -6.30                     | Yüksek          |
| 27      | 48401200 | Uygun              | 85.53                  | 3.09                              | 0.55                 | -6.93                     | Yüksek          |
| 28      | 34865485 | Uygun              | 98.41                  | 1.69                              | 0.55                 | -7.46                     | Yüksek          |
| 29      | 32682599 | Uygun              | 95.33                  | 3.56                              | 0.55                 | -6.15                     | Yüksek          |
| 30      | 30007860 | Uygun              | 50.28                  | 3.14                              | 0.55                 | -5.90                     | Yüksek          |
| 31      | 16000765 | Uygun              | 87.22                  | 3.96                              | 0.55                 | -5.35                     | Yüksek          |
| 32      | 01496377 | Uygun              | 64.55                  | 2.63                              | 0.55                 | -5.81                     | Yüksek          |
| 33      | 02488877 | Uygun              | 93.51                  | 2.90                              | 0.55                 | -6.33                     | Yüksek          |
| 34      | 04979909 | Uygun              | 84.28                  | 3.75                              | 0.55                 | -6.00                     | Yüksek          |
| 35      | 13207213 | Uygun              | 64.28                  | 3.70                              | 0.55                 | -5.83                     | Yüksek          |
| 36      | 31766509 | Uygun              | 108.86                 | 3.45                              | 0.55                 | -5.78                     | Yüksek          |
| 37      | 37868558 | Uygun              | 71.76                  | 2.55                              | 0.55                 | -5.69                     | Yüksek          |
| 38      | 15778627 | Uygun              | 75.55                  | 2.17                              | 0.55                 | -6.76                     | Yüksek          |
| 39      | 15317824 | Uygun              | 64.55                  | 2.62                              | 0.55                 | -6.64                     | Yüksek          |
| 40      | 08339390 | Uygun              | 46.09                  | 3.26                              | 0.55                 | -5.83                     | Yüksek          |
| 41      | 02157976 | Uygun              | 137.39                 | 1.72                              | 0.55                 | -7.10                     | Yüksek          |
| 42      | 02701874 | Uygun              | 150.27                 | 2.71                              | 0.55                 | -7.26                     | Düşük           |
| 43      | 04906283 | Uygun              | 89.48                  | 2.19                              | 0.55                 | -7.02                     | Yüksek          |
| 44      | 04906311 | Uygun              | 98.71                  | 2.57                              | 0.55                 | -7.23                     | Yüksek          |
| 45      | 08584529 | Uygun              | 133.95                 | 3.16                              | 0.56                 | -6.52                     | Düşük           |
| 46      | 69776578 | Uygun              | 88.49                  | 2.52                              | 0.55                 | -6.78                     | Yüksek          |
| 47      | 78619622 | Uygun              | 71.01                  | 2.08                              | 0.55                 | -6.94                     | Yüksek          |
| 48      | 15229604 | Uygun              | 122.03                 | 2.63                              | 0.55                 | -7.23                     | Yüksek          |
| 49      | 00801224 | Uygun              | 96.12                  | 2.98                              | 0.55                 | -6.39                     | Yüksek          |
| 50      | 27756603 | Uygun              | 133.95                 | 2.21                              | 0.56                 | -7.07                     | Yüksek          |
| 51      | 72229631 | Uygun              | 88.05                  | 3.32                              | 0.55                 | -5.59                     | Yüksek          |
| 52      | 08670100 | Uygun              | 130.86                 | 2.46                              | 0.55                 | -7.22                     | Yüksek          |
| 53      | 27756652 | Uygun              | 140.09                 | 2.48                              | 0.55                 | -7.21                     | Düşük           |
| 54      | 32541243 | Uygun              | 97.56                  | 2.15                              | 0.55                 | -6.67                     | Yüksek          |
| 55      | 04906324 | Uygun              | 89.48                  | 3.07                              | 0.55                 | -6.46                     | Yüksek          |

**Tablo 9 (Devam).** 80 bileşiğe ait ADME tahminlemesi (CyPD)

|    |          |       |        |      |      |       |        |
|----|----------|-------|--------|------|------|-------|--------|
| 56 | 34932032 | Uygun | 133.95 | 2.55 | 0.56 | -6.89 | Yüksek |
| 57 | 71281426 | Uygun | 98.36  | 2.95 | 0.55 | -6.74 | Yüksek |
| 58 | 71283848 | Uygun | 89.13  | 2.97 | 0.55 | -6.53 | Yüksek |
| 59 | 72229628 | Uygun | 88.05  | 3.35 | 0.55 | -5.74 | Yüksek |
| 60 | 71287695 | Uygun | 89.13  | 2.98 | 0.55 | -6.53 | Yüksek |
| 61 | 01686721 | Uygun | 91.40  | 0.12 | 0.55 | -7.89 | Yüksek |
| 62 | 04721581 | Uygun | 80.49  | 2.08 | 0.55 | -6.72 | Yüksek |
| 63 | 09603787 | Uygun | 59.81  | 2.08 | 0.55 | -5.92 | Yüksek |
| 64 | 32674515 | Uygun | 59.81  | 2.14 | 0.55 | -5.77 | Yüksek |
| 65 | 12406819 | Uygun | 91.24  | 1.54 | 0.55 | -6.54 | Yüksek |
| 66 | 09950012 | Uygun | 63.05  | 3.42 | 0.55 | -5.44 | Yüksek |
| 67 | 20729515 | Uygun | 71.26  | 1.95 | 0.55 | -6.31 | Yüksek |
| 68 | 20736887 | Uygun | 75.70  | 0.70 | 0.55 | -6.87 | Yüksek |
| 69 | 20745632 | Uygun | 71.26  | 1.85 | 0.55 | -6.41 | Yüksek |
| 70 | 23228074 | Uygun | 59.81  | 3.29 | 0.55 | -4.92 | Yüksek |
| 71 | 31820955 | Uygun | 75.70  | 1.41 | 0.55 | -6.52 | Yüksek |
| 72 | 32931677 | Uygun | 80.12  | 3.09 | 0.55 | -5.80 | Yüksek |
| 73 | 40162051 | Uygun | 64.25  | 1.46 | 0.55 | -5.99 | Yüksek |
| 74 | 36719024 | Uygun | 59.81  | 2.74 | 0.55 | -5.53 | Yüksek |
| 75 | 44514282 | Uygun | 59.81  | 2.38 | 0.55 | -5.73 | Yüksek |
| 76 | 45946126 | Uygun | 124.91 | 2.12 | 0.55 | -6.90 | Yüksek |
| 77 | 17322385 | Uygun | 59.81  | 2.53 | 0.55 | -5.53 | Yüksek |
| 78 | 20737156 | Uygun | 97.48  | 2.04 | 0.55 | -6.74 | Yüksek |
| 79 | 65010034 | Uygun | 84.40  | 3.04 | 0.55 | -6.10 | Yüksek |
| 80 | 71812077 | Uygun | 72.28  | 3.11 | 0.55 | -6.02 | Yüksek |

Hipotez 2 ile çakışan ZINC72474618, ZINC60353659 ve ZINC01496377 molekülleri ile Hipotez 4 ile çakışan ZINC09603787, ZINC32674515, ZINC09950012, ZINC23228074, ZINC36719024, ZINC44514282 ve ZINC17322385 moleküllerinin uygun ADME/toksisite şartlarını sağladığı belirlenmiştir. Moleküllerin tümü Lipinski kurallarını sağlamaktadır. Bu 10 ligand molekülün hepsi kan beyin bariyerini geçebilmektedir. Consensus LogP<sub>o/w</sub> değerleri ZINC2474618 için 2.54, ZINC60353659 için 2.60, ZINC01496377 için 2.63, ZINC09603787 için 2.08, ZINC32674515 için 2.14, ZINC09950012 için 3.42, ZINC23228074 için 3.29, ZINC36719024 için 2.74, ZINC44514282 için 2.38, ZINC17322385 için 2.53'tür. Bu on molekülün tümünün biyoyararlanım skoru 0.55 değerindedir. Bu moleküllerin TPSA değerleri; ZINC72474618 için 59.31, ZINC60353659 için 55.32, ZINC01496377 için 64.55, ZINC09603787 ve ZINC32674515 için 59.81, ZINC09950012 için 63.05, ZINC23228074, ZINC36719024, ZINC44514282 ve ZINC17322385 molekülleri için 59.81'dir. Tüm moleküllerin gastrointestinal absorpsiyonları (GI) yüksektir. 10 molekülün hiçbiri P-glikoprotein substrat (P-gp) özelliğine sahip değildir. ZINC72474618 ve ZINC09603787 molekülleri birer tane CYP enzimini, ZINC60353659,

ZINC32674515, ZINC09950012, ZINC44514282 molekülleri ikişer tane CYP enzimini, ZINC01496377, ZINC23228074, ZINC36719024, ZINC17322385 molekülleri üçer tane CYP enzimini inhibe etmektedir. Moleküllerin hiçbiri CYP2D6 enzimini inhibe etmemektedir. Bu özellikler dikkate alınarak ZINC72474618, ZINC60353659, ZINC01496377, ZINC09603787, ZINC32674515, ZINC09950012, ZINC23228074, ZINC36719024, ZINC44514282 ve ZINC17322385 molekülleri moleküler doking çalışmaları için seçilmiştir.

**Tablo 10.** Bileşiklerin toksikoloji özellikleri (CyPD)

| Bileşik | KBB Geçebilme | P-gp Substrat Özellik | CYP1A2 İnhibitörü | CYP2C19 inhibitörü | CYP2C9 inhibitörü | CYP2D6 inhibitörü | CYP3A4 inhibitörü |
|---------|---------------|-----------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 1       | Hayır         | Hayır                 | Hayır             | Hayır              | Evet              | Hayır             | Hayır             |
| 2       | Hayır         | Hayır                 | Evet              | Evet               | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 3       | Hayır         | Hayır                 | Hayır             | Hayır              | Hayır             | Hayır             | Hayır             |
| 4       | Hayır         | Hayır                 | Hayır             | Evet               | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 5       | Hayır         | Hayır                 | Hayır             | Hayır              | Hayır             | Hayır             | Evet              |
| 6       | Hayır         | Hayır                 | Hayır             | Hayır              | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 7       | Hayır         | Hayır                 | Evet              | Hayır              | Hayır             | Hayır             | Hayır             |
| 8       | Hayır         | Hayır                 | Hayır             | Evet               | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 9       | Hayır         | Evet                  | Hayır             | Evet               | Evet              | Evet              | Evet              |
| 10      | Hayır         | Hayır                 | Evet              | Hayır              | Hayır             | Hayır             | Hayır             |
| 11      | Hayır         | Hayır                 | Hayır             | Hayır              | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 12      | Hayır         | Hayır                 | Hayır             | Evet               | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 13      | Hayır         | Evet                  | Evet              | Hayır              | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 14      | Hayır         | Hayır                 | Hayır             | Hayır              | Hayır             | Hayır             | Hayır             |
| 15      | Hayır         | Hayır                 | Hayır             | Evet               | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 16      | Hayır         | Evet                  | Hayır             | Evet               | Evet              | Evet              | Evet              |
| 17      | Hayır         | Hayır                 | Hayır             | Hayır              | Hayır             | Hayır             | Hayır             |
| 18      | Hayır         | Hayır                 | Evet              | Hayır              | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 19      | Hayır         | Hayır                 | Evet              | Hayır              | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 20      | Hayır         | Hayır                 | Hayır             | Hayır              | Hayır             | Hayır             | Hayır             |
| 21      | Evet          | Evet                  | Hayır             | Evet               | Evet              | Hayır             | Hayır             |
| 22      | Evet          | Evet                  | Hayır             | Evet               | Evet              | Evet              | Evet              |
| 23      | Evet          | Hayır                 | Evet              | Evet               | Evet              | Evet              | Evet              |
| 24      | Evet          | Hayır                 | Hayır             | Evet               | Hayır             | Hayır             | Hayır             |
| 25      | Evet          | Hayır                 | Evet              | Evet               | Hayır             | Hayır             | Hayır             |
| 26      | Evet          | Hayır                 | Hayır             | Evet               | Evet              | Evet              | Evet              |
| 27      | Hayır         | Hayır                 | Hayır             | Evet               | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 28      | Hayır         | Evet                  | Hayır             | Hayır              | Evet              | Evet              | Evet              |
| 29      | Hayır         | Hayır                 | Evet              | Evet               | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 30      | Evet          | Hayır                 | Evet              | Evet               | Evet              | Evet              | Evet              |
| 31      | Hayır         | Hayır                 | Evet              | Evet               | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 32      | Evet          | Hayır                 | Evet              | Evet               | Evet              | Hayır             | Hayır             |
| 33      | Hayır         | Hayır                 | Evet              | Evet               | Evet              | Hayır             | Evet              |
| 34      | Hayır         | Hayır                 | Hayır             | Evet               | Evet              | Evet              | Evet              |
| 35      | Evet          | Evet                  | Evet              | Evet               | Evet              | Evet              | Hayır             |
| 36      | Hayır         | Hayır                 | Hayır             | Evet               | Evet              | Evet              | Evet              |
| 37      | Evet          | Hayır                 | Evet              | Evet               | Evet              | Evet              | Evet              |
| 38      | Evet          | Hayır                 | Evet              | Evet               | Evet              | Evet              | Evet              |
| 39      | Evet          | Evet                  | Evet              | Evet               | Evet              | Evet              | Evet              |
| 40      | Evet          | Hayır                 | Evet              | Evet               | Evet              | Evet              | Evet              |

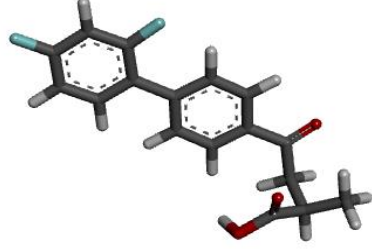
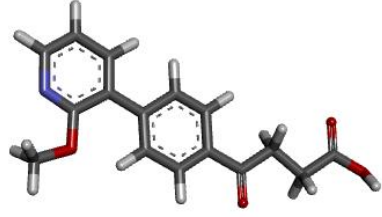
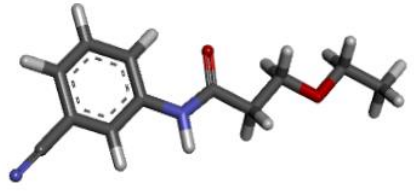
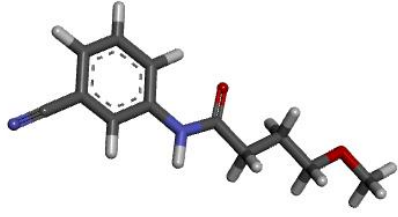
**Tablo 10 (Devam).** Bileşiklerin toksikoloji özellikleri (CyPD)

|    |       |       |       |       |       |       |       |
|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 41 | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır |
| 42 | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Evet  |
| 43 | Hayır | Evet  | Evet  | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır |
| 44 | Hayır | Evet  | Hayır | Evet  | Evet  | Hayır | Evet  |
| 45 | Hayır | Hayır | Hayır | Evet  | Evet  | Hayır | Evet  |
| 46 | Hayır | Evet  | Evet  | Hayır | Evet  | Evet  | Evet  |
| 47 | Evet  | Evet  | Hayır | Hayır | Hayır | Evet  | Evet  |
| 48 | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Evet  |
| 49 | Hayır | Hayır | Evet  | Evet  | Evet  | Evet  | Evet  |
| 50 | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Evet  | Hayır | Evet  |
| 51 | Hayır | Hayır | Evet  | Evet  | Evet  | Hayır | Hayır |
| 52 | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Evet  |
| 53 | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır | Evet  | Hayır | Evet  |
| 54 | Hayır | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır | Hayır | Evet  |
| 55 | Hayır | Evet  | Hayır | Evet  | Evet  | Hayır | Evet  |
| 56 | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Evet  | Hayır | Evet  |
| 57 | Hayır | Evet  | Evet  | Evet  | Evet  | Evet  | Evet  |
| 58 | Hayır | Evet  | Evet  | Evet  | Evet  | Evet  | Evet  |
| 59 | Hayır | Hayır | Evet  | Evet  | Evet  | Hayır | Evet  |
| 60 | Hayır | Evet  | Evet  | Evet  | Evet  | Evet  | Evet  |
| 61 | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır |
| 61 | Hayır | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır |
| 63 | Evet  | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır |
| 64 | Evet  | Hayır | Evet  | Evet  | Hayır | Hayır | Hayır |
| 65 | Hayır | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır |
| 66 | Evet  | Hayır | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır | Evet  |
| 67 | Evet  | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır |
| 68 | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır |
| 69 | Evet  | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır |
| 70 | Evet  | Hayır | Evet  | Evet  | Evet  | Hayır | Hayır |
| 71 | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır |
| 72 | Hayır | Hayır | Hayır | Evet  | Evet  | Hayır | Evet  |
| 73 | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır |
| 74 | Evet  | Hayır | Evet  | Evet  | Evet  | Hayır | Hayır |
| 75 | Evet  | Hayır | Evet  | Evet  | Hayır | Hayır | Hayır |
| 76 | Hayır | Hayır | Evet  | Hayır | Hayır | Hayır | Evet  |
| 77 | Evet  | Hayır | Evet  | Evet  | Evet  | Hayır | Hayır |
| 78 | Hayır | Evet  | Evet  | Hayır | Hayır | Hayır | Hayır |
| 79 | Hayır | Hayır | Evet  | Evet  | Evet  | Evet  | Evet  |
| 80 | Evet  | Hayır | Evet  | Evet  | Evet  | Evet  | Evet  |

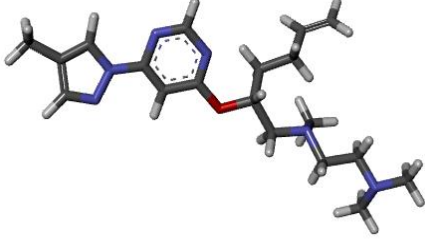
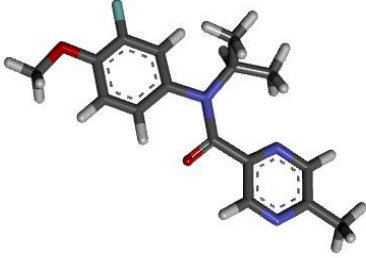
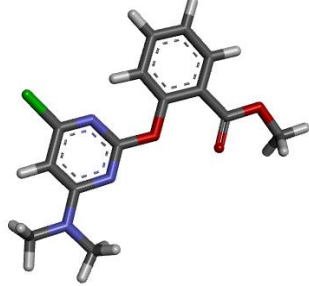
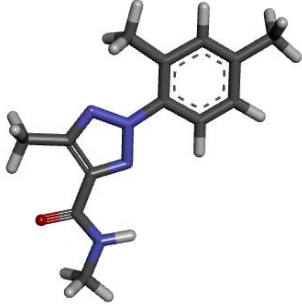
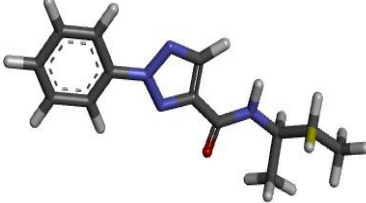
#### 2.3.4. Moleküler Doking Çalışması Bulguları

ADME/ Toksikoloji sonucuna göre seçilen tüm moleküller (Tablo 11 ve Tablo 12) ile 3V2Y ve 2Z6W reseptörlerinin bağlanma afinitesi değerleri Tablo 13'te gösterilmiştir. Tüm ligandların RMSD değerleri ve bağlanma afiniteleri incelenerek Tablo 13'te verilen modlar için bağlanma profillerinin incelenmesine karar verilmiştir.

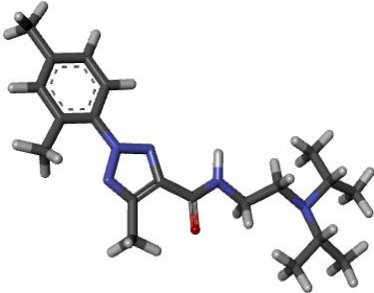
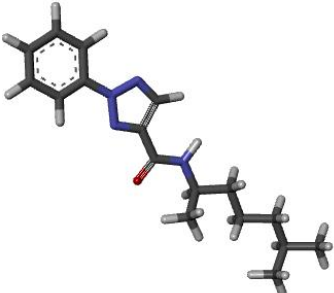
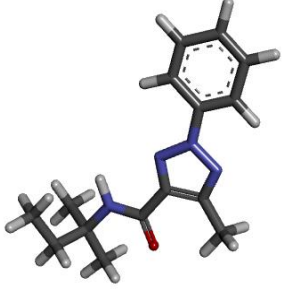
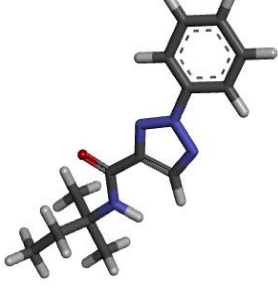
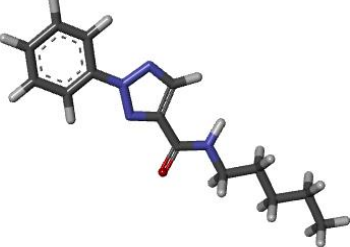
**Tablo 11.** S1P1 için seçilen modölatör moleküller

| Bileşik      | IUPAC Adı                                                                                                 | 3 Boyutlu Yapı                                                                       |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| ZINC00390492 | 3-[(2S)-1-[1-[4-(difluoromethoxy)phenyl]-2,5-dimethylpyrrol-3-yl]-1-oxopropan-2-yl]sulfanylpropanoic acid |    |
| ZINC67740009 | 4-[4-(2-methoxypyridin-3-yl)phenyl]-4-oxobutanoic acid                                                    |    |
| ZINC19847253 | <i>N</i> -(3-cyanophenyl)-3-ethoxypropanamide                                                             |  |
| ZINC19847241 | <i>N</i> -(3-cyanophenyl)-4-methoxybutanamide                                                             |  |

**Tablo 12.** CyPD için seçilen inhibitör moleküller

| Bileşik      | IUPAC Adı                                                                                                        | 3 Boyutlu (3D) Yapı                                                                  |
|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| ZINC72474618 | <i>N,N,N'</i> -trimethyl- <i>N'</i> -[2-[6-(4-methylpyrazol-1-yl)pyrimidin-4-yl]oxyhex-5-enyl]ethane-1,2-diamine |    |
| ZINC60353659 | <i>N</i> -(3-fluoro-4-methoxyphenyl)-5-methyl- <i>N</i> -propan-2-ylpyrazine-2-carboxamide                       |    |
| ZINC01496377 | Methyl 2-[4-chloro-6-(dimethylamino)pyrimidin-2-yl]oxybenzoate                                                   |  |
| ZINC09603787 | 2-(2,4-dimethylphenyl)- <i>N</i> ,5-dimethyltriazole-4-carboxamide                                               |  |
| ZINC32674515 | <i>N</i> -butan-2-yl-2-phenyltriazole-4-carboxamide                                                              |  |

**Tablo 12 (Devam).** CyPD için seçilen inhibitör moleküller

|              |                                                                                                  |                                                                                      |
|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| ZINC09950012 | 2-(2,4-dimethylphenyl)- <i>N</i> -[2-[di(propan-2-yl)amino]ethyl]-5-methyltriazole-4-carboxamide |    |
| ZINC23228074 | <i>N</i> -(6-methylheptan-2-yl)-2-phenyltriazole-4-carboxamide                                   |    |
| ZINC36719024 | 5-methyl- <i>N</i> -(2-methylbutan-2-yl)-2-phenyltriazole-4-carboxamide                          |   |
| ZINC44514282 | <i>N</i> -(2-methylbutan-2-yl)-2-phenyltriazole-4-carboxamide                                    |  |
| ZINC17322385 | <i>N</i> -pentyl-2-phenyltriazole-4-carboxamide                                                  |  |

**Tablo 13.** Reseptörler ve seçili ligandların bağlanma afiniteleri

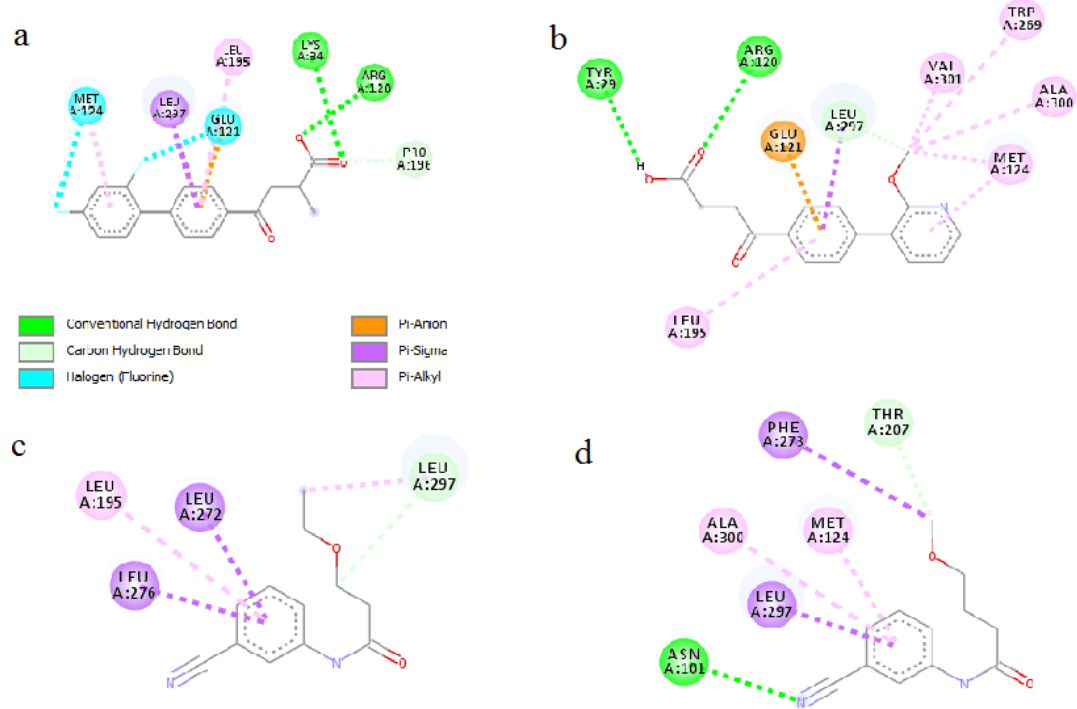
| Bileşik      | S1P1 ile doking |                               |                           |           | CyPD ile doking |                    |                       |           |
|--------------|-----------------|-------------------------------|---------------------------|-----------|-----------------|--------------------|-----------------------|-----------|
|              | Bağlanma Modu   | Bağlanma Afinitesi (kcal/mol) | En iyi moddan uzaklık (Å) |           | Bağlanma Modu   | Bağlanma Afinitesi | En iyi moddan uzaklık |           |
|              |                 |                               | RMSD l.b.                 | RMSD l.b. |                 |                    | RMSD l.b.             | RMSD l.b. |
| ZINC72474618 | 1               | -6.9                          | 0.000                     | 0.000     | 1               | -6.9               | 0.000                 | 0.000     |
|              | 2               | -6.8                          | 3.535                     | 7.466     | 2               | -6.7               | 1.603                 | 2.669     |
|              | 4               | -6.5                          | 1.745                     | 2.175     | 3               | -6.6               | 1.457                 | 1.893     |
| ZINC60353659 | 1               | -7.3                          | 0.000                     | 0.000     | 1               | -7.6               | 0.000                 | 0.000     |
|              | 2               | -7.1                          | 3.932                     | 5.944     | 3               | -7.0               | 2.850                 | 3.828     |
|              | 4               | -6.8                          | 5.126                     | 6.762     | 4               | -7.0               | 3.637                 | 5.222     |
| ZINC01496377 | 1               | -7.5                          | 0.000                     | 0.000     | 1               | -7.2               | 0.000                 | 0.000     |
|              | 2               | -7.2                          | 1.525                     | 2.743     | 2               | -6.8               | 2.980                 | 4.255     |
|              | 9               | -6.1                          | 1.734                     | 3.111     | 5               | -6.6               | 1.552                 | 3.293     |
| ZINC09603787 | 1               | -7.2                          | 0.000                     | 0.000     | 1               | -7.6               | 0.000                 | 0.000     |
|              | 2               | -7.1                          | 3.858                     | 5.753     | 3               | -7.3               | 0.943                 | 1.872     |
|              | 3               | -7.1                          | 2.207                     | 3.942     | 8               | -6.6               | 1.823                 | 2.455     |
| ZINC32674515 | 1               | -7.8                          | 0.000                     | 0.000     | 1               | -7.0               | 0.000                 | 0.000     |
|              | 2               | -7.4                          | 1.453                     | 1.890     | 3               | -7.0               | 1.848                 | 6.906     |
|              | 4               | -7.3                          | 1.395                     | 6.433     | 6               | -6.6               | 1.922                 | 6.578     |
| ZINC09950012 | 1               | -7.3                          | 0.000                     | 0.000     | 1               | -7.4               | 0.000                 | 0.000     |
|              | 3               | -7.2                          | 1.925                     | 2.986     | 2               | -7.3               | 2.430                 | 7.095     |
|              | 4               | -6.9                          | 3.263                     | 5.158     | 3               | -6.8               | 1.405                 | 2.005     |
| ZINC23228074 | 1               | -7.8                          | 0.000                     | 0.000     | 1               | -8.0               | 0.000                 | 0.000     |
|              | 2               | -7.6                          | 1.724                     | 2.344     | 3               | -7.4               | 1.406                 | 8.828     |
|              | 4               | -7.6                          | 1.471                     | 8.111     | 6               | -6.7               | 1.147                 | 2.053     |

**Tablo 13 (Devam).** Reseptörler ve seçili ligandların bağlanma afiniteleri

|             |    |      |       |       |   |      |       |       |
|-------------|----|------|-------|-------|---|------|-------|-------|
|             | 1  | -7.8 | 0.000 | 0.000 | 1 | -7.0 | 0.000 | 0.000 |
| ZINC3671    | 4  | -7.4 | 1.642 | 7.049 | 4 | -6.8 | 1.676 | 7.127 |
| 9024        | 5  | -7.3 | 1.782 | 7.307 | 5 | -6.8 | 0.444 | 1.503 |
|             |    |      |       |       |   |      |       |       |
| ZINC4451    | 1  | -7.8 | 0.000 | 0.000 | 1 | -7.2 | 0.000 | 0.000 |
| 4282        | 6  | -6.8 | 1.826 | 7.149 | 2 | -7.1 | 0.405 | 1.812 |
|             | 9  | -6.7 | 1.532 | 1.972 | 3 | -7.0 | 1.343 | 1.677 |
|             |    |      |       |       |   |      |       |       |
| ZINC1732    | 1  | -7.7 | 0.000 | 0.000 | 1 | -7.4 | 0.000 | 0.000 |
| 2385        | 2  | -7.5 | 0.499 | 1.275 | 2 | -7.4 | 1.320 | 7.812 |
|             | 6  | -6.8 | 1.560 | 7.497 | 6 | -6.7 | 5.198 | 6.783 |
|             |    |      |       |       |   |      |       |       |
| Siklosporin |    |      |       |       | 1 | -7.1 | 0.000 | 0.000 |
| A           |    |      |       |       | 2 | -6.9 | 0.827 | 1.354 |
|             |    |      |       |       | 4 | -6.8 | 2.131 | 3.434 |
|             |    |      |       |       |   |      |       |       |
| ZINC0039    | 1  | -8.6 | 0.000 | 0.000 | 1 | -8.0 | 0.000 | 0.000 |
| 0492        | 8  | -7.6 | 1.598 | 2.219 | 2 | -8.0 | 1.045 | 1.504 |
|             | 12 | -7.1 | 0.942 | 1.440 | 4 | -7.8 | 1.690 | 2.022 |
|             |    |      |       |       |   |      |       |       |
| ZINC6774    | 1  | -7.6 | 0.000 | 0.000 | 1 | -7.7 | 0.000 | 0.000 |
| 0009        | 3  | -6.9 | 3.736 | 8.231 | 2 | -7.4 | 1.326 | 2.119 |
|             | 4  | -6.9 | 1.607 | 2.225 | 3 | -7.2 | 1.841 | 2.390 |
|             |    |      |       |       |   |      |       |       |
| ZINC1984    | 1  | -6.3 | 0.000 | 0.000 | 1 | -7.0 | 0.000 | 0.000 |
| 7253        | 3  | -6.3 | 3.388 | 4.842 | 2 | -6.5 | 1.565 | 2.266 |
|             | 6  | -6.2 | 1.820 | 2.904 | 3 | -6.5 | 2.272 | 3.004 |
|             |    |      |       |       |   |      |       |       |
| ZINC1984    | 1  | -6.8 | 0.000 | 0.000 | 1 | -6.9 | 0.000 | 0.000 |
| 7241        | 5  | -6.4 | 2.963 | 6.766 | 2 | -6.7 | 2.068 | 2.402 |
|             | 6  | -6.2 | 3.046 | 5.224 | 3 | -6.5 | 1.916 | 2.486 |
|             |    |      |       |       |   |      |       |       |
| ML5         | 1  | -8.4 | 0.000 | 0.000 |   |      |       |       |
|             | 2  | -8.2 | 2.203 | 2.657 |   |      |       |       |
|             | 5  | -7.3 | 2.777 | 4.994 |   |      |       |       |

#### 2.3.4.1. S1P1 ile Moleküler Doking Sonuçları

S1P1 (3V2Y) ile ZINC00390492 bileşiğinin ilk bağlanma modunun -8.6 kcal/mol olduğu belirlenmiştir. ZINC67740009, ZINC19847253, ZINC19847241 moleküllerinin en yüksek bağlanma skorları sırasıyla -7.6, -6.3, -6.8 kcal/mol olarak hesaplanmıştır. Bağlanma afiniteleri incelendiğinde özellikle ZINC00390492 bileşiğinin sfingozin 1-fosfat reseptörünün literatürdeki (Hanson ve diğer., 2012) orijinal ligandından (ML5) (-8.4 kcal/mol) daha yüksek bir skor verdiği görülmektedir. Tablo 13'te bağlanma skorları verilen ligandların bağlanma özellikleri Şekil 6'da gösterilmiştir.



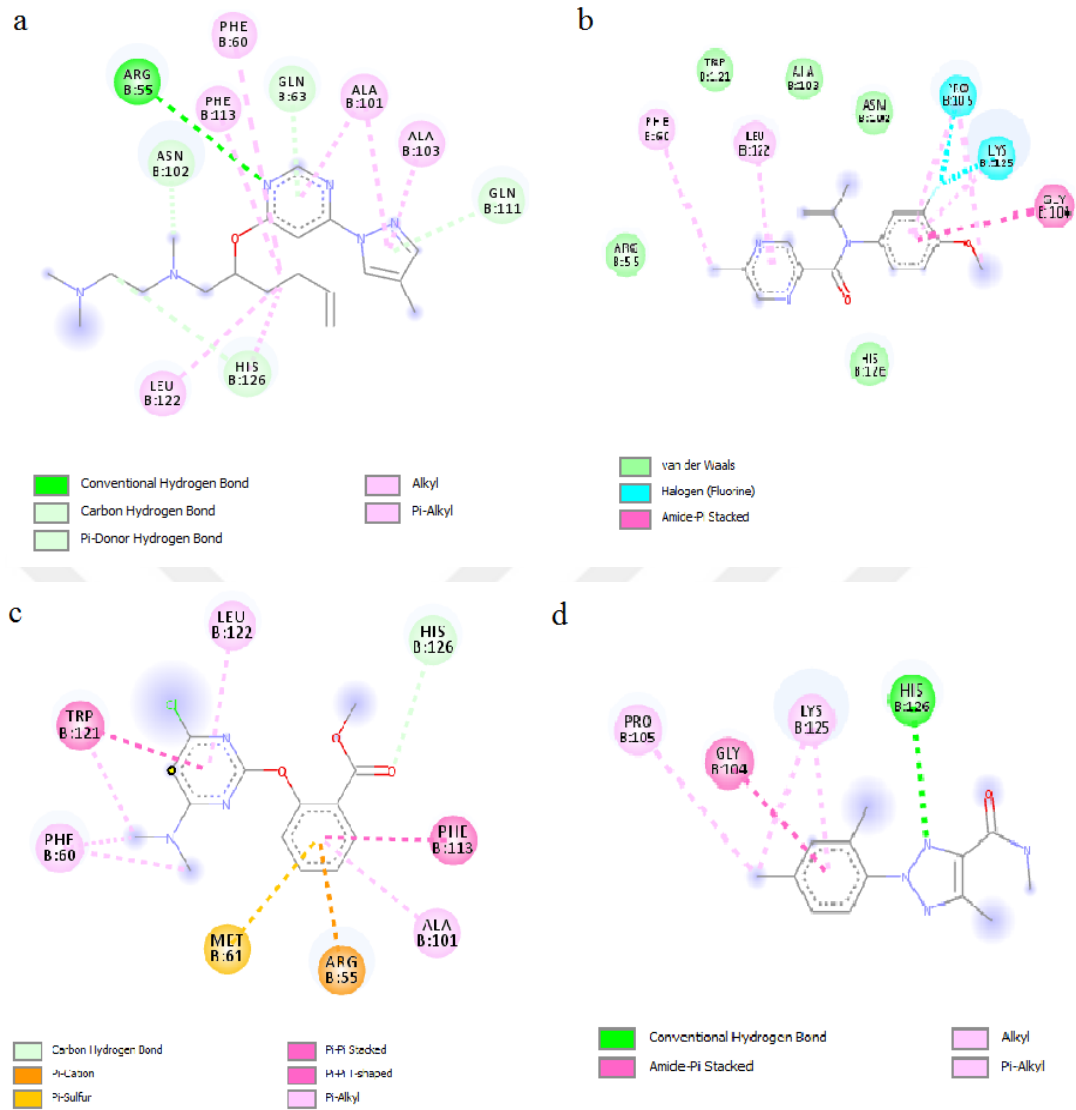
**Şekil 6.** ZINC00390492 (a), ZINC67740009 (b), ZINC19847253 (c), ZINC19847241 (d) bileşiklerinin S1P1 ile bağlanma profilleri

ZINC00390492 molekülünün reseptör ile etkileşimleri Discovery Studio Visualizer programında incelendiğinde; molekülün Lys34 ve Arg120 aminoasit rezidüleriyle konvansiyonel hidrojen bağı, Leu297 ile pi-sigma etkileşimi, Met124 ve Glu121 ile halojen etkileşimi, Leu195 ile pi-anyon etkileşimi, Pro196 ile karbon hidrojen bağı yaptığı görülmektedir (Şekil 6-a). ZINC67740009 molekülü incelendiğinde ise Tyr29 ve Arg120 rezidüleriyle konvansiyonel hidrojen bağı,

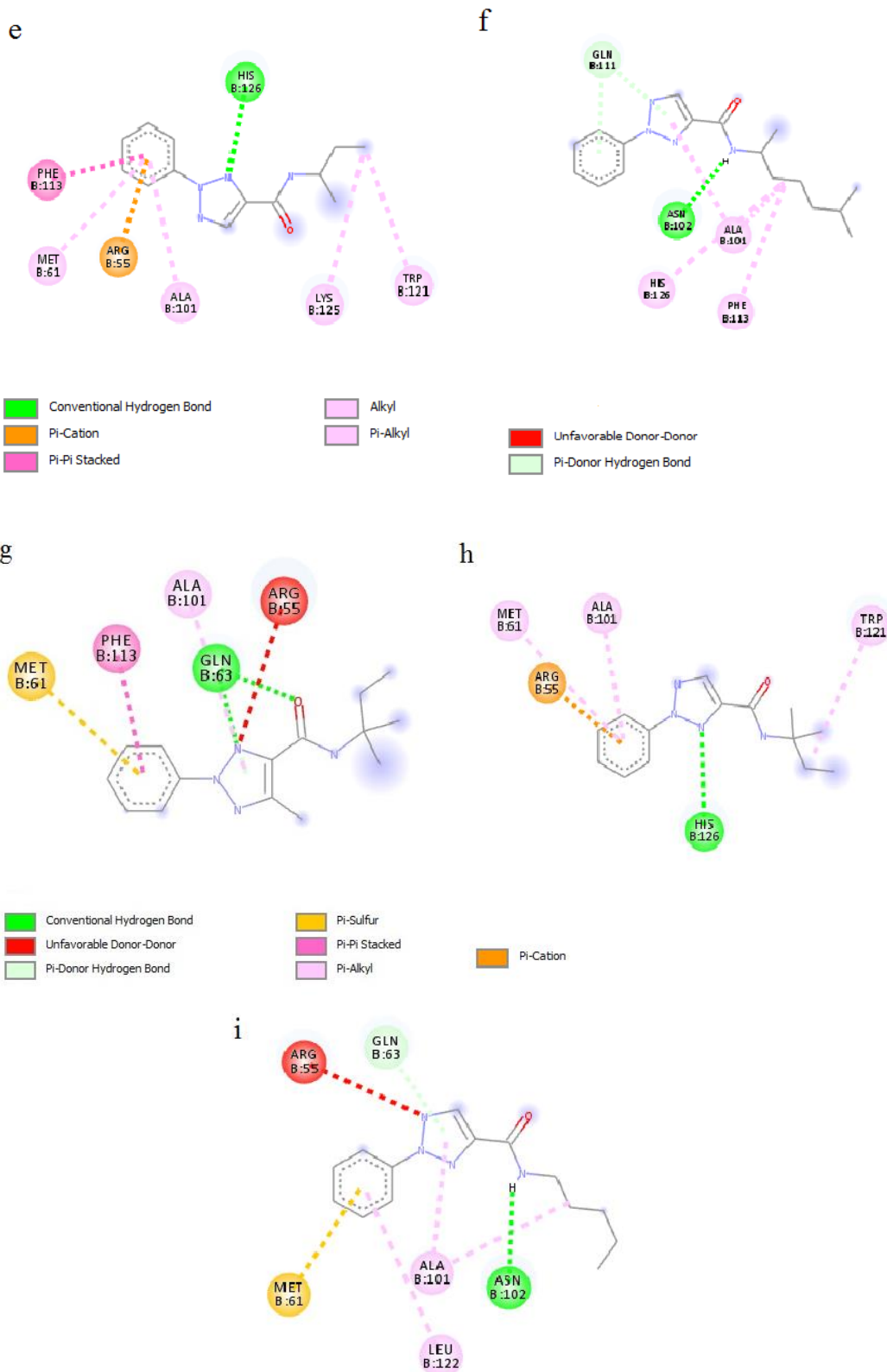
Leu297 ile karbon hidrojen bağı, Leu195 ile pi-alkil etkileşimi, Glu121 ile pi-anyon etkileşimi, Met124, Trp269, Ala300 ve Val301 ile pi-sigma etkileşimi, yaptığı görülmektedir (Şekil 6-b). ZINC19847253 molekülü ise Leu195 ile pi-alkil etkileşimi, Leu297 ile karbon hidrojen bağı, Leu272 ve Leu276 ile pi-sigma etkileşimi yapmaktadır (Şekil 6-c). Son olarak ZINC19847241 molekülünün ise Asn101 ile konvensiyonel hidrojen bağı, Thr207 ile karbon hidrojen bağı, Phe273 ve Leu297 ile pi-sigma etkileşimi Met124 ve Ala300 ile pi-alkil etkileşimi yaptığı görülmektedir (Şekil 6-d).

#### **2.3.4.2. CyPD ile Moleküler Doking Sonuçları**

CyPD (2Z6W) reseptör proteinin orijinal ligandı CsA ile ilk bağlanma modu -7.1 kcal/mol olarak hesaplanmıştır. Ligandların ilk bağlanma modları; ZINC72474618 için -6.9, ZINC60353659 için -7.6, ZINC01496377 için -7.2, ZINC09603787 için -7.6, ZINC32674515 için -7.0, ZINC09950012 için -7.4, ZINC23228074 için -8.0, ZINC36719024 için -7.0, ZINC44514282 için -7.2 ve ZINC17322385 için -7.4 kcal/mol olarak hesaplanmıştır. Bu ligandlardan ZINC60353659, ZINC01496377, ZINC09603787, ZINC09950012, ZINC23228074, ZINC44514282 ve ZINC17322385 moleküllerinin bağlanma afinitelerinin orijinal antagonistten daha iyi olduğu ve ZINC23228074 molekülünün bağlanma afinitesinin -8.0 kcal/mol ile en iyi skor olduğu görülmektedir. Bu ligandların en iyi 3 bağlanma modundaki RMSD değerlerine bakıldığında; ZINC09603787, ZINC36719024, ZINC23228074 ve ZINC44514282 moleküllerinin 2'den küçük RMSD değerlerinin çoğunlukta olduğu görülmektedir. Tablo 13'te bağlanma skorları verilen ligandlara ait bağlanma profilleri Şekil 7'de verilmiştir.



**Şekil 7.** ZINC72474618 (a), ZINC60353659 (b), ZINC01496377 (c ), ZINC09603787 (d), ZINC32674515 (e), ZINC23228074 (f), ZINC36719024 (g), ZINC44514282 (h), ZINC17322385 (i) bileşiklerinin CyPD ile bağlanma profilleri



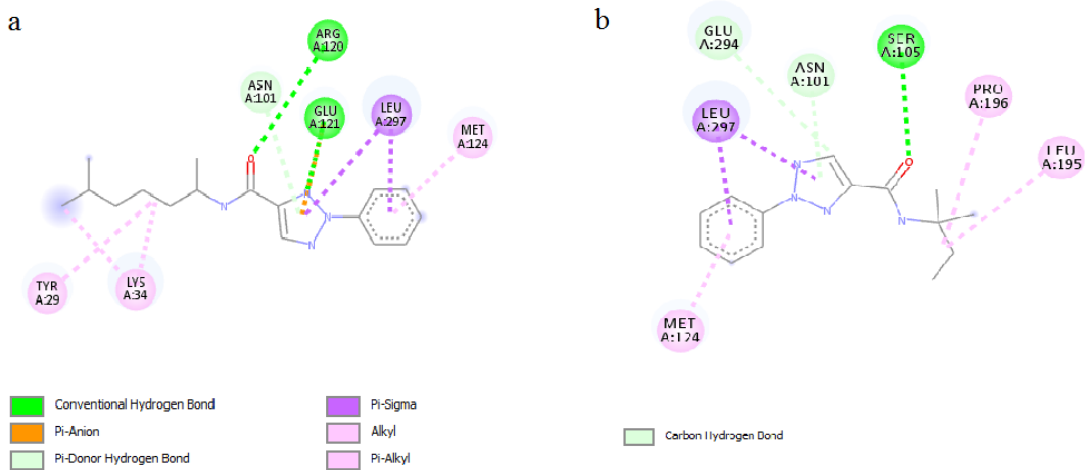
**Şekil 7 (Devam).** ZINC72474618 (a), ZINC60353659 (b), ZINC01496377 (c ), ZINC09603787 (d), ZINC32674515 (e), ZINC23228074 (f), ZINC36719024 (g), ZINC44514282 (h), ZINC17322385 (i) bileşiklerinin CyPD ile bağlanma profilleri

Discovery Studio Visualizer programında reseptör protein CyPD ile ZINC72474618 molekülünün etkileşimleri incelendiğinde molekülün Arg55 ile konvensiyonel hidrojen bağı etkileşimi, Ala101 ve Ala103 ile pi-alkil etkileşimi, Asn102 ve His126 ile karbon hidrojen bağı etkileşimi, Gln63 ve Gln111 ile pi-donör hidrojen bağı etkileşimi, Phe60, Phe113 ve Leu122 ile alkil etkileşimi yaptığı görülmektedir. ZINC60353659 molekülünün etkileşimleri incelendiğinde; Phe60 ile alkil etkileşimi, Leu122 ile pi-alkil etkileşimi, Pro105 ve Lys125 ile halojen etkileşimi, Gln104 ile amid-pi küme etkileşimi, Arg55, Asn102, Ala103, Trp121 ve His126 aminoasit rezidüleriyle Van der Waals etkileşimi yaptığı görülmektedir. ZINC01496377 molekülü ise Phe60, Ala101 ve Leu122 ile pi-alkil etkileşimi, His126 ile karbon hidrojen bağı, Arg55 ile pi-kasyon etkileşimi, Met61 ile pi-sülfür etkileşimi, Phe113 ile pi-pi küme etkileşimi, Trp121 ile pi-pi T-shaped etkileşimi yapmaktadır. ZINC09603787 molekülünün His126 ile konvensiyonel hidrojen bağı etkileşimi, Pro125 ile alkil etkileşimi, Lys125 ile pi-alkil etkileşimi, Gln104 ile amid-pi küme etkileşimi yaptığı görülmektedir. ZINC32674515 molekülü incelendiğinde Met51 ve Ala101 ile alkil etkileşimi, Trp121 ve Lys125 ile pi-alkil etkileşimi, Arg55 ile pi-kasyon etkileşimi, His126 ile konvensiyonel hidrojen bağı etkileşimi, Phe113 ile pi-pi küme etkileşimi yaptığı görülmektedir. ZINC23228074 molekülü Gln111 ile pi-donör hidrojen bağı etkileşimi, Asn102 ile konvensiyonel hidrojen bağı, Ala101 ile pi-alkil etkileşimi, Ala101, Phe113 ve His126 ile alkil etkileşimi yapmaktadır. ZINC36719024 molekülü Met61 ile pi-sülfür etkileşimi, Gln63 ile konvensiyonel hidrojen bağı, Ala101 ile pi-alkil etkileşimi, Phe113 ile pi-pi küme etkileşimi, Arg55 ile unfavorable donör-donör etkileşimi yapmaktadır. ZINC44514282 molekülü Met61, Ala101 ve Trp121 ile pi-alkil etkileşimi, Arg55 ile pi-kasyon etkileşimi, His126 ile konvensiyonel hidrojen bağı etkileşimi yapmaktadır. ZINC17322385 molekülü incelendiğinde ise Ala101 ile alkil etkileşimi, Ala101 ve Leu122 ile pi-alkil etkileşimi, Gln63 ile pi-donör hidrojen bağı etkileşimi, Met61 ile pi-sülfür etkileşimi, Asn102 ile konvensiyonel hidrojen bağı etkileşimi ve Arg55 ile unfavorable donör-donör etkileşimi yaptığı görülmektedir.

### 2.3.4.3. Çapraz Doking Sonuçları

Çalışmamızda çoklu hedefe yönelik bir ilaç molekülünün tespit edilmesi amaçlandığı için S1P1 için belirlenen modülatör moleküllerin CyPD'yi de inhibe etmesi gerekmektedir. Aynı şekilde, CyPD için belirlenen inhibitör moleküllerin S1P1'i aktive etmesi gerekmektedir. Tablo 11'de verilen moleküller ile CyPD'nin ve Tablo 12'de verilen moleküller ile S1P1'in bağlanma afinitesi değerleri Tablo 13'te verilmiştir. Bütün ligand moleküllerin RMSD değerleri ve bağlanma afinitelerinin incelenmesiyle ZINC23228074, ZINC44514282 ve ZINC00390492 moleküllerinin incelenmesine karar verilmiştir.

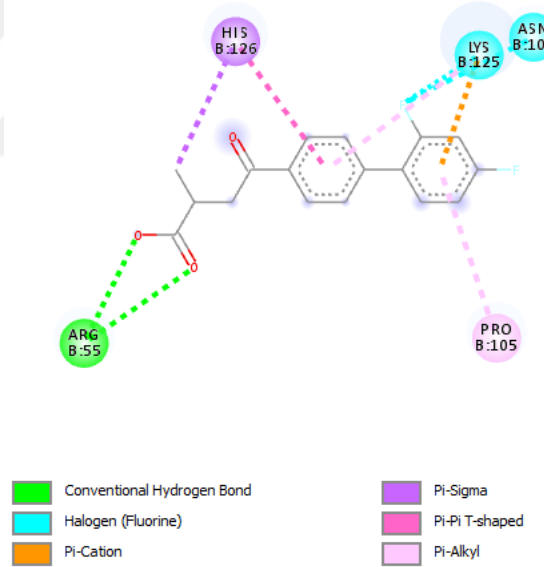
S1P1 reseptör proteini ile ZINC23228074, ZINC36719024 ve ZINC44514282 moleküllerinin ilk bağlanma modlarındaki afinite değerleri -7.8 kcal/mol olarak hesaplanmıştır ve 10 ligand arasındaki en iyi skordur. RMSD değerlerine bakıldığında; ZINC32674515, ZINC23228074, ZINC44514282 ve ZINC17322385 moleküllerinin 2'den küçük RMSD değerlerinin çoğunlukta olduğu görülmektedir. Bu sonuçlara bakıldığında, bu ligandlar arasından ZINC23228074 ve ZINC44514282 ligand moleküllerinin hem CyPD hem de S1P1 reseptör proteinleriyle moleküler dockingi sonucu en iyi afinite skoru ve RMSD değerlerinin elde edildiği görülmektedir. S1P1 ile ligandların bağlanma profilleri Şekil 8'de verilmiştir.



**Şekil 8.** ZINC23228074 (a) ve ZINC44514282 (b) bileşiklerinin S1P1 ile bağlanma profili

ZINC23228074 molekülünün S1P1 (PDB ID:3V2Y) ile etkileşimleri Discovery Studio Visualizer programında incelendiğinde; Tyr29 ve Lys34 ile alkil etkileşimi, Asn101 ile pi-donör hidrojen bağı etkileşimi, Arg120 ve Glu121 ile konvensiyonel hidrojen bağı, Met124 ile pi-alkil, Leu297 ile pi-sigma etkileşimi yaptığı görülmektedir. ZINC44514282 molekülü ise, Leu195 ve Pro196 ile alkil etkileşimi, Ser105 ile konvensiyonel hidrojen bağı etkileşimi, Asn101 ve Glu294 ile karbon hidrojen bağı etkileşimi, Met124 ile pi-alkil ve Leu297 ile pi-sigma etkileşimi yapmaktadır.

Şekil 9'da bağlanma profili verilen CyPD reseptör proteini ile ZINC00390492 molekülünün ilk bağlanma modundaki afinite değeri -8.0 kcal/mol olarak hesaplanmıştır. ZINC00390492 molekülünün S1P1 ile ilk bağlanma modu ise -8.6 kcal/mol olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlara bakıldığında ZINC00390492 molekülünün hem S1P1 hem de CyPD reseptör proteinleriyle uyumlu bir ligand olduğu görülmektedir.



Şekil 9. ZINC00390492 ile CyPD'nin bağlanma profili

ZINC00390492 molekülünün CyPD ile etkileşimleri Discovery Studio Visualizer programında incelendiğinde; Pro105 ve Lys125 ile pi-alkil etkileşimi, Asn102 ve Lys125 ile halojen etkileşimi, His126 ile pi-sigma etkileşimi ve pi-pi T-shaped etkileşimi, Lys125 ile pi-katyon etkileşimi ve Arg55 ile konvensiyonel hidrojen bağı etkileşimi yaptığı görülmektedir.

### 3. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Bu çalışma kapsamında ligand temelli ve hedef temelli yöntemler kullanılarak çoklu hedefe yönelik yeni bir Multiple Skleroz ilaç aday molekülü geliştirilmesi hedeflenmiştir.

Çalışmada S1P1 inhibitörleri ve CyPD inhibitörleriyle 3D QSAR farmakofor geliştirme yöntemiyle hipotezler elde edilmiştir. Yüksek skor sayısı, çakışan molekül sayısı ve özellik sayısı dikkate alınarak, S1P1 inhibitörleri ve CyPD inhibitörleri için dörder adet, toplamda 8 hipotez ile çalışılmıştır. S1P1 çalışma seti için Hipotez 2 ve Hipotez 6, CyPD çalışma seti için Hipotez 2 ve Hipotez 4 öne çıkan farmakofor modeller olmuştur.

ZINCPharmer veri tabanı vasıtasıyla, seçili farmakofor modellere uygun moleküller bulunmuştur. S1P1 molekülü için 80 adet, CyPD molekülü için 80 adet olmak üzere toplamda 160 adet inhibitör molekül bulunmuştur. Daha sonra bu moleküller arasında ADME/Toksikoloji özellikleri üzerinden bir inceleme yürütülmüştür. İnhibitörlerin KBB'yi geçebilmesine ve CYP2D6 enzimini inhibe etmemesine dikkat edilerek S1P1 çalışma seti için inhibitör sayısı 4'e (ZINC00390492, ZINC67740009, ZINC19847253, ZINC19847241), CyPD çalışma seti için inhibitör sayısı 10'a (ZINC72474618, ZINC60353659, ZINC01496377, ZINC09603787, ZINC32674515, ZINC09950012, ZINC23228074, ZINC36719024, ZINC44514282, ZINC17322385) düşürülmüştür.

Kalan inhibitör moleküller ile S1P1 ve CyPD reseptör moleküllerinin moleküler dokingi yapılmıştır. S1P1 (3V2Y) ile ZINC00390492 molekülünün ilk bağlanma modunun (-8.6 kcal/mol), reseptörün literatürdeki ligandıyla bağlanma modundan (ML5) (-8.4 kcal/mol) yüksek bir skor vermiştir. Tüm moleküler doking sonuçlarına bakıldığında ZINC00390492, ZINC23228074 ve ZINC44514282 moleküllerinin hem S1P1 hem de CyPD reseptörleri için uygun bir antagonist olduğu görülmektedir. Bundan dolayı, bu moleküllerin çoklu hedefe yönelik ilaç molekülleri olabileceği düşünülmektedir. Tüm özellikler ve sonuçlar göz önüne alındığında bu 3 ligand molekül arasından ZINC00390492 molekülü öne çıkmaktadır. Sonuç olarak, çalışmalarımız kapsamında ZINC00390492 molekülünün bir çoklu hedefe yönelik ilaç molekülü adayı olabileceği belirlenmiştir.

Tez kapsamında, çoklu hedefe yönelik ilaç molekülü adayı olabileceğini belirlemiş olduğumuz molekülümüzün farklı reseptörler kanalıyla başka pek çok yolağı da bloke edebileceğı düşünöldüğünden molekülün farklı çalışmalarda da başarı göstermesi gerekmektedir. Bu teorimizin moleküler dinamik simölasyonlarıyla ve farklı simölasyon yöntemleriyle desteklenmesi önerilmektedir. Devamında, molekül ile *in vitro* ve *in vivo* deneyler yapılmalı ve başarılı bulunmalıdır.



## KAYNAKÇA

- Arun, T., Tomassini, V., Sbardella, E., De Ruiter, M. B., Matthews, L., Leite, M. I., Palace, J. ve diğer., 2013. Targeting ASIC1 in primary progressive multiple sclerosis: Evidence of neuroprotection with amiloride. *Brain*, 136(1): 106–115. <https://doi.org/10.1093/brain/aws325>.
- Baines, C. P., Kaiser, R. A., Purcell, N. H., Blair, N. S., Osinska, H., Hambleton, M. A., Molkentin, J. D. ve diğer., 2005. Loss of cyclophilin D reveals a critical role for mitochondrial permeability transition in cell death. *Nature*, 434(7033): 658–662. doi:10.1038/nature03434.
- Basso, E., Fante, L., Fowlkes, J., Petronilli, V., Forte, M. A. ve Bernardi, P., 2005. Properties of the permeability transition pore in mitochondria devoid of cyclophilin D. *Journal of Biological Chemistry*, 280(19): 18558–18561. <https://doi.org/10.1074/jbc.C500089200>.
- Basso, E., Petronilli, V., Forte, M. A. ve Bernardi, P., 2008. Phosphate is essential for inhibition of the mitochondrial permeability transition pore by cyclosporin A and by cyclophilin D ablation. *Journal of Biological Chemistry*, 283(39): 26307–26311. <https://doi.org/10.1074/jbc.C800132200>.
- Bechtold, D. A., Kapoor, R. ve Smith, K. J., 2004. Axonal protection using flecainide in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Annals of Neurology*, 55(5): 607–616. <https://doi.org/10.1002/ana.20045>.
- Bibi, T., Khan, A., Khan, A. U., Shal, B., Ali, H., Seo, E. K. ve Khan, S., 2022. Magnolol prevented brain injury through the modulation of Nrf2-dependent oxidative stress and apoptosis in PLP-induced mouse model of multiple sclerosis. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 10.1007/s00210-022-02230-6. Advance online publication. <https://doi.org/10.1007/s00210-022-02230-6>.
- Bigaud, M., Guerini, D., Billich, A., Bassilana, F. ve Brinkmann, V., 2014. Second generation S1P pathway modulators: research strategies and clinical developments. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1841: 745–758. doi: 10.1016/j.bbalip.2013.11.001.
- Bolognesi, M.L., 2013. Polypharmacology in a single drug: multitarget drugs. *Current Medicinal Chemistry*, 20(13): 1639–1645.
- Bolognesi, M.L. ve Cavalli, A., 2016. Multitarget drug discovery and polypharmacology. *ChemMedChem* 11(12): 1190–1192.
- Bomprezzi, R., 2015. Dimethyl fumarate in the treatment of relapsing-remitting multiple sclerosis: An overview. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*. <https://doi.org/10.1177/1756285614564152>.

- Brinkmann, V., 2007. Sphingosine 1-phosphate receptors in health and disease: mechanistic insights from gene deletion studies and reverse pharmacology. *Pharmacology & Therapeutics*, 115: 84–105. doi: 10.1016/j.pharmathera.2007.04.006.
- Calabresi, P. A., Radue, E. W., Goodin, D., Jeffery, D., Rammohan, K. W., Reder, A. T., Vollmer, T., Agius, M. A., Kappos, L., Stites, T., Li, B., Cappiello, L., von Rosenstiel, P. ve Lublin, F. D., 2014. Safety and efficacy of fingolimod in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis (FREEDOMS II): a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *The Lancet. Neurology*, 13(6): 545–556. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70049-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70049-3).
- Camp, S. M., Bittman, R., Chiang, E. T., Moreno-Vinasco, L., Mirzapoiazova, T., Sammani, S. ve diğer., 2009. Synthetic analogs of FTY720 [2-amino-2-(2-[4-octylphenyl]ethyl)-1,3-propanediol] differentially regulate pulmonary vascular permeability in vivo and in vitro. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 331: 54–64. doi:10.1124/jpet.109.153544.
- Camp, S. M., Marciniak, A., Chiang, E. T., Garcia, A. N., Bittman, R., Polt, R. ve diğer., 2020. S1P receptor-independent lung endothelial cell barrier disruption induced by FTY720 regioisomers. *Pulmonary Circulation*, 10: 1–10. doi: 10.1177/2045894020905521.
- Centonze D, Muzio L, Rossi S, Cavasinni F, De Chiara V, Bergami A. ve diğer., 2009. Inflammation triggers synaptic alteration and degeneration in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Neuroscience*, 29: 3442–3452.
- Chen, L., Morrow, J. K., Tran, H. T., Phatak, S. S., Du-Cuny, L. ve Zhang, S., 2012. From laptop to benchtop to bedside: structure-based drug design on protein targets. *Current Pharmaceutical Design*, 1217–39.
- Comi, G., Kappos, L., Selmaj, K. W., Bar-Or, A., Arnold, D. L., Steinman, L., Hartung, H. P., Montalban, X., Kubala Havrdová, E., Cree, B., Sheffield, J. K., Minton, N., Raghupathi, K., Ding, N., Cohen, J. A. ve SUNBEAM Study Investigators, 2019. Safety and efficacy of ozanimod versus interferon beta-1a in relapsing multiple sclerosis (SUNBEAM): a multicentre, randomised, minimum 12-month, phase 3 trial. *The Lancet. Neurology*, 18(11): 1009–1020. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(19\)30239-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(19)30239-X).
- Compston, A. ve Coles, A., 2008. Multiple sclerosis. *Lancet (London, England)*, 372(9648): 1502–1517. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)61620-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)61620-7).
- Daina, A., Olivier, M. ve Zoete, V., 2017. “SwissADME: A Free Web Tool to Evaluate Pharmacokinetics, Drug-Likeness and Medicinal Chemistry Friendliness of Small Molecules.” *Scientific Reports* 7:1–13. doi: 10.1038/srep42717.
- Damsker, J. M., Bukrinsky, M. I. ve Constant, S. L., 2007. Preferential chemotaxis of

activated human CD4 + T cells by extracellular cyclophilin A. *Journal of Leukocyte Biology*, 82(3): 613–618. <https://doi.org/10.1189/jlb.0506317>.

Dassault Systèmes. 2019. “Discovery Studio Visualizer.”

DiMasi, J.A., Grabowski, H.G. ve Hansen, R.W., 2016. Innovation in the pharmaceutical industry: new estimates of R&D costs. *Health Economics*, 47: 20–33. <https://doi.org/10.1016/j.jhealeco.2016.01.012>.

Dror, O., Schneidman-Duhovny, D., Inbar, Y., Nussinov, R. ve Wolfson, H. J., 2009. “Novel Approach for Efficient PharmacophoreBased Virtual Screening: Method and Applications.” *Journal of Chemical Information and Modeling* 49(10): 2333–43. doi: 10.1021/ci900263d.

Elrod, J. W., Wong, R., Mishra, S., Vagnozzi, R. J., Sakthivel, B., Goonasekera, S. A., Molkenstin, J. D. ve diğer., 2010. Cyclophilin D controls mitochondrial pore - Dependent Ca<sup>2+</sup> exchange, metabolic flexibility, and propensity for heart failure in mice. *Journal of Clinical Investigation*, 120(10): 3680–3687. <https://doi.org/10.1172/JCI43171>.

Engelhardt, B. ve Kappos, L., 2008. Natalizumab: targeting  $\alpha$ 4-integrins in multiple sclerosis. *Neurodegeneration*, 5: 16-22.

Fischer, G., Wittmann-Liebold, B., Lang, K., Kiefhaber, T. ve Schmid, F.X., 1989. Cyclophilin and peptidyl-prolyl cis-trans isomerase are probably identical proteins. *Nature*, 337:476–478.

Forte, M., ve Bernardi, P., 2005. Genetic dissection of the permeability transition pore. *Journal of bioenergetics and biomembranes*, 37(3): 121–128. <https://doi.org/10.1007/s10863-005-6565-9>.

Forte, M., Gold, B. G., Marracci, G., Chaudhary, P., Basso, E., Johnsen, D., Bourdette, D. ve diğer., 2007. Cyclophilin D inactivation protects axons in experimental autoimmune encephalomyelitis, an animal model of multiple sclerosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(18): 7558–7563. <https://doi.org/10.1073/pnas.0702228104>.

Fredriksson, R., Lagerstrom, M. C., Lundin, L. G. ve Schioth, H. B., 2003. The G-protein-coupled receptors in the human genome form five main families. Phylogenetic analysis paralogon groups and fingerprints. *Mol. Pharmacology*, 63: 1256–1272. doi: 10.1124/mol.63.6.1256.

Friese, M. A., Schattling, B. ve Fugger, L., 2014, “Mechanisms of neurodegeneration and axonal dysfunction in multiple sclerosis”, *Nature Reviews Neurology*, Nature Publishing Group.

Galat, A., 2004. Function-dependent clustering of orthologues and paralogues of cyclophilins. *Proteins: Structure, Function and Genetics*, 56(4): 808–820. <https://doi.org/10.1002/prot.20156>.

- Galat, A. ve Metcalfe, S. M., 1995. Peptidylproline cis/trans isomerases. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 63(1): 67–118. doi:10.1016/0079-6107(94)00009-x.
- Galetta, S. L., Markowitz, C. ve Lee, A. G., 2002. Immunomodulatory Agents for the Treatment of Relapsing Multiple Sclerosis. *Prevention*, 162: 2161–2169.
- Garcia, J. G., Liu, F., Verin, A. D., Birukova, A., Dechert, M. A., Gerthoffer, W. T. ve diğer., 2001. Sphingosine 1-phosphate promotes endothelial cell barrier integrity by Edg-dependent cytoskeletal rearrangement. *Journal of Clinical Investigation*, 108: 689–701. doi: 10.1172/JCI12450.
- Gilson, M.K., 2019. BindingDB. <https://www.bindingdb.org>. Accessed 9 Jan 2019.
- Grasselli, G. ve diğer., 2013. Abnormal NMDA receptor function exacerbates experimental autoimmune encephalomyelitis. *British Journal of Pharmacology*, 168: 502–517.
- Hanson, M. A., Roth, C. B., Jo, E., Griffith, M. T., Scott, F. L., Reinhart, G. ve diğer., 2012. Crystal structure of a lipid G protein-coupled receptor. *Science*, 335: 851–855.
- Hauser, S. L., Bar-Or, A., Comi, G., Giovannoni, G., Hartung, H.-P., Hemmer, B., Kappos, L. ve diğer., 2017. Ocrelizumab versus Interferon Beta-1a in Relapsing Multiple Sclerosis. *New England Journal of Medicine*, 376(3) 221-234.
- Hauser, S. L. ve Cree, B. A. C., 2020. Treatment of Multiple Sclerosis: A Review. *American Journal of Medicine*. Elsevier Inc.
- Heng, B. C., Aubel, D. ve Fussenegger, M., 2013. An overview of the diverse roles of G-protein coupled receptors (GPCRs) in the pathophysiology of various human diseases. *Biotechnology Advances*, 31: 1676–1694. doi: 10.1016/j.biotechadv.2013.08.017.
- Ho, P. R., Koendgen, H., Campbell, N., Haddock, B., Richman, S. ve Chang, I., 2017. Risk of natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy in patients with multiple sclerosis: a retrospective analysis of data from four clinical studies. *The Lancet. Neurology*, 16(11): 925–933. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30282-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30282-X).
- Ivery, M. T. G., 2000. Immunophilins: Switched on protein binding domains. *Medicinal Research Reviews*, 20(6): 452–484. [https://doi.org/10.1002/1098-1128\(200011\)20:6<452::AID-MED2>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/1098-1128(200011)20:6<452::AID-MED2>3.0.CO;2-6).
- Kamm, C. P., Uitdehaag, B. M. ve Polman, C. H., 2014. Multiple sclerosis: Current knowledge and future outlook. *European Neurology*, 72(3–4): 132–141. <https://doi.org/10.1159/000360528>.
- Kappos, L., Bar-Or, A., Cree, B. A. C. ve diğer., 2018. Siponimod versus placebo in

- secondary progressive multiple sclerosis (EXPAND): a double-blind, randomised, phase 3 study. *Lancet*, 391(10127): 1263–73.
- Kappos, L., Cohen, J., Collins, W., de Vera, A., Zhang-Auberson, L., Ritter, S., von Rosenstiel, P. ve Francis, G., 2014. Fingolimod in relapsing multiple sclerosis: An integrated analysis of safety findings. *Multiple sclerosis and related disorders*, 3(4): 494–504. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2014.03.002>.
- Kebir, H., Kreyborg, K., Ifergan, I., Dodelet-Devillers, A., Cayrol, R., Bernard, M., Prat, A. ve diğer., 2007. Human TH17 lymphocytes promote blood-brain barrier disruption and central nervous system inflammation. *Nature Medicine*, 13(10): 1173–1175.
- Kensler, T. W., Wakabayashi, N. ve Biswal, S., 2007. Cell survival responses to environmental stresses via the Keap1–Nrf2–ARE pathway. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 47: 89–116.
- Kieseier B. C., 2011. The mechanism of action of interferon- $\beta$  in relapsing multiple sclerosis. *CNS drugs*, 25(6): 491–502. <https://doi.org/10.2165/11591110-000000000-00000>.
- Koda-Kimble, M. A. ve Young (Eds.), L. Y. Applied therapeutics: Clinical use of Drugs. Basingstoke, UK: Palgrave Macmillan UK.
- Koes, D. R. ve Carlos J. C., 2012. “ZINCPharmer: Pharmacophore Search of the ZINC Database.” *Nucleic Acids Research* 40(W1): 409–14. doi: 10.1093/nar/gks378.
- Kolls, J. K. ve Lindén, A., 2004. Interleukin-17 family members and inflammation. *Immunity*, 21(4): 467–476.
- Kong, W., Li, S., Longaker, M. T. ve Lorenz, H. P., 2007. Cyclophilin C-associated protein is up-regulated during wound healing. *Journal of Cellular Physiology*, 210(1): 153–160. <https://doi.org/10.1002/jcp.20830>.
- La Mantia, L., Tramacere, I., Firwana, B., Pacchetti, I., Palumbo, R. ve Filippini, G., 2016. Fingolimod for relapsing-remitting multiple sclerosis. *Cochrane Database Systematic Reviews*, 4: CD009371.
- Lassmann, H. ve van Horssen, J., 2016. Oxidative stress and its impact on neurons and glia in multiple sclerosis lesions. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1862(3): 506–510. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2015.09.018>.
- Lee, J. ve Kim, S. S., 2010. An overview of cyclophilins in human cancers. *Journal of International Medical Research*. SAGE Publications Ltd. <https://doi.org/10.1177/147323001003800501>.
- Lee, M. J., van Brockly, J. R., Thangada, S., Liu, C. H., Hand, A. R., Menzeleev, R.

- ve diğer., 1998. Sphingosine-1-phosphate as a ligand for the G protein-coupled receptor EDG-1. *Science*, 279: 1552–1555.
- Lin, H. H., Zhang, L. L., Yan, R., Lu, J. J. ve Hu, Y. J., 2017. Network analysis of drugtarget interactions: a study on FDA-approved new molecular entities between 2000 to 2015. *Scientific Reports*, 7: 12230.
- Lin, K. ve Gallay, P., 2013. Curing a viral infection by targeting the host: The example of cyclophilin inhibitors. *Antiviral Research*. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.03.020>.
- Li, R., Patterson, K. R. ve Bar-Or, A., 2018. Reassessing B cell contributions in multiple sclerosis. *Nature Immunology*. Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41590-018-0135-x>.
- Lo, A. C., Saab, C. Y., Black, J. A. ve Waxman, S. G., 2003. Phenytoin protects spinal cord axons and preserves axonal conduction and neurological function in a model of neuroinflammation in vivo. *Journal of Neurophysiology*, 90(5): 3566–3571. <https://doi.org/10.1152/jn.00434.2003>.
- Lublin, F. D., Reingold, S. C., Cohen, J. A. ve diğer., 2014. Defining the clinical course of multiple sclerosis: the 2013 revisions. *Neurology*, 83(3): 278–86.
- Lu, J. J., Pan, W., Hu, Y. J. ve Wang, Y. T., 2012. Multi-target drugs: the trend of drug research and development. *PLoS ONE*, 7(6): e40262.
- Martinelli Boneschi, F., Vacchi, L., Rovaris, M., Capra, R. ve Comi, G., 2013. Mitoxantrone for multiple sclerosis. *Cochrane Database Systematic Reviews*, CD002127.
- Massacesi, L., Genain, C.P., Lee-Parritz, D., Letvin N.L., Canfield, D. ve Hauser S.L., 1995, “Active and passively induced experimental autoimmune encephalomyelitis in common marmosets: a new model for multiple sclerosis”, *Ann. Neurol.*, Cilt 37, Sayı 4, ss. 519–30.
- Matloubian, M., Lo, C. G., Cinamon, G., Lesneski, M. J., Xu, Y., Brinkmann, V., Allende, M. L., Proia, R. L. ve Cyster, J. G., 2004. Lymphocyte egress from thymus and peripheral lymphoid organs is dependent on S1P receptor 1. *Nature*, 427: 355.
- Mihai, D. P., Nitulescu, G. M., Ion, G. N. D., Ciotu, C. I., Chirita, C. ve Negres, S., 2019. Computational drug repurposing algorithm targeting trpa1 calcium channel as a potential therapeutic solution for multiple sclerosis. *Pharmaceutics*, 11(9). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11090446>.
- Mills, E. A., Ogrodnik, M. A., Plave, A. ve Mao-Draayer, Y., 2018. Emerging understanding of the mechanism of action for dimethyl fumarate in the treatment of multiple sclerosis. *Frontiers in Neurology*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fneur.2018.00005>.

- Minagar, A., 2013. Current and future therapies for multiple sclerosis. *Scientifica*, 249101. <https://doi.org/10.1155/2013/249101>.
- Montalban, X., Hauser, S. L., Kappos, L. ve diğer., 2017. Ocrelizumab versus placebo in primary progressive multiple sclerosis. *New England Journal of Medicine*, 376(3): 209–20.
- Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S. ve Olson, A. J., 2009. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated Docking with Selective Receptor Flexibility. *Journal of Computational Chemistry* 30(16): 2785–91. doi: 10.1002/jcc.21256.
- Morphy, R., Kay, C. ve Rankovic, Z., 2004. From magic bullets to designed multiple ligands. *Drug Discov Today* 9(15): 641–651.
- Moses, H., Dorsey, E. R., Matheson, D. H. ve Thier, S. O., 2005. Financial anatomy of biomedical research. *JAMA*, 294: 1333–42.
- Mullard, A., 2016. Biotech R&D spend jumps by more than 15. *Nature Reviews Drug Discovery*, 15(7): 447. <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.135>.
- Murphy, M. P., 2009. How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochemical Journal*.
- Nath, P. R., Dong, G., Braiman, A. ve Isakov, N., 2014. Immunophilins Control T Lymphocyte Adhesion and Migration by Regulating CrkII Binding to C3G. *The Journal of Immunology*, 193(8): 3966–3977. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1303485>.
- Nicolli, A., Basso, E., Petronilli, V., Wenger, R. M. ve Bernardi, P., 1996. Interactions of cyclophilin with the mitochondrial inner membrane and regulation of the permeability transition pore, a cyclosporin A-sensitive channel. *Journal of Biological Chemistry*, 271(4): 2185–2192. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.4.2185>.
- O'Connor, P., Wolinsky, J. S., Confavreux, C., Comi, G., Kappos, L., Olsson, T. P., Benzerdjeb, H., Truffinet, P., Wang, L., Miller, A., Freedman, M. S. ve TEMSO Trial Group, 2011. Randomized trial of oral teriflunomide for relapsing multiple sclerosis. *The New England Journal of Medicine*, 365(14): 1293–1303. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1014656>.
- Ogu, C. C. ve Maxa, J. L., 2000. Drug interactions due to cytochrome p450. *Baylor Univ Med Center Proc.*, 13(4): 421–423. <https://doi.org/10.1080/08998280.2000.11927719>.
- Ortiz, G. G., Pacheco-Moisés, F. P., Bitzer-Quintero, O. K., Ramírez-Anguiano, A. C., Flores-Alvarado, L. J., Ramírez-Ramírez, V., Torres-Sánchez, E. D. ve diğer., 2013. Immunology and oxidative stress in multiple sclerosis: Clinical and basic approach. *Clinical and Developmental Immunology*. <https://doi.org/10.1155/2013/708659>.

- Park, I., Londhe, A. M., Lim, J. W., Park, B. G., Jung, S. Y., Lee, J. Y., Pae, A. N. ve diğeri., 2017. Discovery of non-peptidic small molecule inhibitors of cyclophilin D as neuroprotective agents in A $\beta$ -induced mitochondrial dysfunction. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 31(10): 929–941. <https://doi.org/10.1007/s10822-017-0067-9>.
- Peng, X., Hassoun, P. M., Sammani, S., McVerry, B. J., Burne, M. J., Rabb, H. ve diğeri., 2004. Protective effects of sphingosine 1-phosphate in murine endotoxin-induced inflammatory lung injury. *American Journal of Respiratory and Clinical Medicine*, 169: 1245–1251. doi: 10.1164/rccm.200309-1258oc.
- Pierce, K. L., Premont, R. T. ve Lefkowitz, R. J., 2002. Seven-transmembrane receptors. *Nature Reviews molecular Cell Biology*, 3: 639–650. doi: 10.1038/nrm908.
- Pitt, D., Nagelmeier, I. E., Wilson, H. C. ve Raine, C. S., 2003. Glutamate uptake by oligodendrocytes: implications for excitotoxicity in multiple sclerosis. *Neurology*, 61: 1113–1120.
- Radi, E., Formichi, P., Battisti, C. ve Federico, A., 2014. Apoptosis and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Journal of Alzheimer's Disease*, 42(3): 125–152.
- Rosenstock, T. R., Bertoncini, C. R., Teles, A. V., Hirata, H., Fernandes, M.J. ve Smali, S. S., 2010. Glutamate-induced alterations in Ca<sup>2+</sup> signaling are modulated by mitochondrial Ca<sup>2+</sup> handling capacity in brain slices of R6/1 transgenic mice. *European Journal of Neuroscience*, 32: 60–70.
- Roydon Price, E., Zydowsky, L. D., Jin, M., Baker, H. C., Mckee, F. D. ve Walsh, C. T., 1991. Human cyclophilin B: A second cyclophilin gene encodes a peptidyl-prolyl isomerase with a signal sequence. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88(5): 1903–1907. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.5.1903>.
- Rudick, R. A., Stuart, W. H., Calabresi, P. A., Confavreux, C., Galetta, S. L., Radue, E. W., Lublin, F. D., Weinstock-Guttman, B., Wynn, D. R., Lynn, F., Panzara, M. A., Sandrock, A. W. ve SENTINEL Investigators, 2006. Natalizumab plus interferon beta-1a for relapsing multiple sclerosis. *The New England journal of medicine*, 354(9): 911–923. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa044396>.
- Sabatino, J. J., Jr, Pröbstel, A. K. ve Zamvil, S. S., 2019. B cells in autoimmune and neurodegenerative central nervous system diseases. *Nature reviews. Neuroscience*, 20(12): 728–745. <https://doi.org/10.1038/s41583-019-0233-2>.
- Santos, R., Ursu, O., Gaulton, A., Bento, A. P., Donadi, R. S., Bologa, C. G. ve diğeri., 2017. A comprehensive map of molecular drug targets. *Nature Reviews Drug Discovery*, 16: 19–34. doi: 10.1038/nrd.2016.230.

- Scalfari, A., Neuhaus, A., Daumer, M., Muraro, P. A. ve Ebers, G. C., 2014. Onset of secondary progressive phase and long-term evolution of multiple sclerosis. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 85(1): 67–75. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2012-304333>.
- Seiter, K., 2005. Toxicity of the topoisomerase II inhibitors. *Expert Opinion on Drug Safety*, 4: 219–34.
- Skarica, M., Wang, T., McCadden, E., Kardian, D., Calabresi, P. A., Small, D. ve Whartenby, K. A., 2009. Signal transduction inhibition of APCs diminishes Th17 and Th1 responses in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Immunology*, 182(7): 4192–4199.
- Smith, K. J. ve Lassmann, H., 2002. The role of nitric oxide in multiple sclerosis. *The Lancet Neurology*, 1(4): 232–241. doi:10.1016/s1474-4422(02)00102-3.
- Sorensen, P. S. ve Blinkenberg, M., 2016. The potential role for ocrelizumab in the treatment of multiple sclerosis: Current evidence and future prospects. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*. <https://doi.org/10.1177/1756285615601933>.
- Spiegel, A. M. ve Weinstein, L. S., 2004. Inherited diseases involving G proteins and G protein-coupled receptors. *Annual Review of Medicine*, 55: 27–39. doi: 10.1146/annurev.med.55.091902.103843.
- Spik, G., Haendler, B., Delmas, O., Mariller, C., Chamoux, M., Maes, P., Movva, N. R. ve diğer., 1991. A novel secreted cyclophilin-like protein (SCYLP). *Journal of Biological Chemistry*, 266(17): 10735–10738. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)99078-2](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)99078-2).
- Srinivasan, R., Sailasuta, N., Hurd, R., Nelson, S. ve Pelletier, D., 2005. Evidence of elevated glutamate in multiple sclerosis using magnetic resonance spectroscopy at 3 T. *Brain*, 128: 1016–1025.
- Steinman, L. ve Zamvil, S. S., 2006. How to successfully apply animal studies in experimental allergic encephalomyelitis to research on multiple sclerosis. *Annals of Neurology*. <https://doi.org/10.1002/ana.20913>.
- Tanveer, A., Virji, S., Andreeva, L., Totty, N. F., Hsuan, J. J., Ward, J. M. ve Crompton, M., 1996. Involvement of cyclophilin D in the activation of a mitochondrial pore by Ca<sup>2+</sup> and oxidant stress. *European Journal of Biochemistry*, 238(1): 166–172. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1996.0166q.x>.
- Tavecchio, M., Lisanti, S., Bennett, M. J., Languino, L. R. ve Altieri, D. C., 2015. Deletion of Cyclophilin D Impairs beta-Oxidation and Promotes Glucose Metabolism. *Scientific Reports*, 5, 15981.
- Toman, R. E. ve Spiegel, S., 2002. Lysophospholipid receptors in the nervous system. *Neurochemical Research*, 27: 619–627.

- Trandinh, C. C., Pao, G. M. ve Saier, M. H. Jr., 1992. Structural and evolutionary relationships among the immunophilins: two ubiquitous families of peptidyl-prolyl cis-trans isomerases. *Faseb Journal*, 6:3410–3420.
- Trapp, B. D. ve Stys, P. K., 2009. Virtual hypoxia and chronic necrosis of demyelinated axons in multiple sclerosis. *Lancet Neurology*, 8: 280–291.
- Trott, O., ve Olson, A. J., 2010. “AutoDock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading.” *Journal of Computational Chemistry* 31(2):455–61. doi: 10.1002/jcc.21334.AutoDock.
- van Horssen, J. ve diğer., 2008. Severe oxidative damage in multiple sclerosis lesions coincides with enhanced antioxidant enzyme expression. *Free Radical Biology and Medicine*, 45: 1729–1737.
- Villoutreix, B. O., Renault, N., Lagorce, D., Sperandio, O., Montes, M. ve Miteva, M. A., 2007. Free resources to assist structure-based virtual ligand screening experiments. *Current Protein & Peptide Science*, 8(4): 381–411.
- Wallin, M. T., Culpepper, W. J., Campbell, J. D., Nelson, L. M., Langer-Gould, A., Marrie, R. A., Larocca, N. G. ve diğer., 2019. The prevalence of MS in the United States: A population-based estimate using health claims data. *Neurology*, 92(10): E1029–E1040. <https://doi.org/10.1212/WNL.00000000000007035>.
- Wang, L., Chiang, E. T., Simmons, J. T., Garcia, J. G. ve Dudek, S. M., 2011. FTY720-induced human pulmonary endothelial barrier enhancement is mediated by c-Abl. *European Respiratory Journal*, 38: 78–88. doi: 10.1183/09031936.00047810.
- Wang, Y. Y., Chang, R. B., Waters, H. N., McKemy, D. D. ve Liman, E. R., 2008. The nociceptor ion channel TRPA1 is potentiated and inactivated by permeating calcium ions. *Journal of Biological Chemistry*, 283: 32691–32703.
- Weiner, H. L., 2008. A shift from adaptive to innate immunity: a potential mechanism of disease progression in multiple sclerosis. *Journal of Neurology*, 255(1): 3–11. <https://doi.org/10.1007/s00415-008-1002-8>.
- Weiner, H. L., 2009. The challenge of multiple sclerosis: how do we cure a chronic heterogeneous disease? *Annals of Neurology*, 65(3): 239–248.
- Werner, P., Pitt, D. ve Raine, C. S., 2001. Multiple sclerosis: altered glutamate homeostasis in lesions correlates with oligodendrocyte and axonal damage. *Ann Neurol*, 2: 169–180.
- Yurchenko, V., Constant, S., Eisenmesser, E. ve Bukrinsky, M., 2010. Cyclophilin-CD147 interactions: A new target for anti-inflammatory therapeutics. *Clinical and Experimental Immunology*.