



T.C.

**ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**7,8-dihidroksiflavon ve 4'-dimetilamino-7,8-
dihidroksiflavon'un Farmakokinetik Özellikleri ve Teorik
Kimyasal Aktivitelerinin Araştırılması**

**TEZ TİPİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**MUHAMMED FATİH
KARAKAYA**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. ORHAN TANSEL KORKMAZ**

2020



T.C.

**ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**7,8-dihidroksiflavon ve 4'-dimetilamino-7,8-
dihidroksiflavon'un Farmakokinetik Özellikleri ve Teorik
Kimyasal Aktivitelerinin Araştırılması**

**TEZ TİPİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**MUHAMMED FATİH
KARAKAYA**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. ORHAN TANSEL KORKMAZ**

2020

KABUL VE ONAY SAYFASI

Muhammed Fatih KARAKAYA 'in Yüksek Lisans/Doktora Tezi olarak hazırladığı “7,8-dihidroksiflavon ve 4'-dimetilamino-7,8-dihidroksiflavon'un Farmakokinetik Özellikleri ve Teorik Kimyasal Aktivitelerinin Araştırılması” başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek “**KABUL**” edilmiştir.

Tarih

... / ... / 2020

Üye:

Üye:

Üye:

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ... / ... / ... tarih ve ... / ... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

ÖZET

7,8-dihidroksiflavon ve 4'-dimetilamino-7,8-dihidroksiflavon'un Farmakokinetik Özellikleri ve Teorik Kimyasal Aktivitelerinin Araştırılması

Nörotrofinler merkezi sinir sisteminde çoğalma, farklılaşma, miyelinasyon, sinaptik plastisite, aksonal büyüme, sağkalım gibi farklı işlevlerden sorumlu biyolojik faktörlerdir. Bu büyüme faktörleri işlevlerini tropomiyozin reseptör kinaz ailesine ait TrkA, TrkB ve TrkC olarak bilinen 3 farklı reseptör üzerinden gerçekleştirirler. Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), sinir sisteminde nöronların sağkalımı, sinapsların stabilizasyonunu, sinaptik fonksiyonun sağlanması, nörogenez, öğrenme ve hafıza gibi çok önemli roller üstlenen, p75^{NTR} ve büyük oranda TrkB reseptörü üzerinden fizyolojik işlevlerini gerçekleştiren bir nörotrofindir.

TrkB reseptörünün güçlü ve seçici bir agonisti olarak tanımlanan 7,8-dihidroksiflavon (7,8-DHF) molekülü, BDNF'nin fizyolojik etkilerini taklit edebilen bir molekül olarak tanımlanmış ve kanserden nörodejeneratif hastalıklara kadar bir çok hastalık patolojisine karşı olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir. 4'-dimetilamino-7,8-dihidroksiflavon (4'-DMA-7,8-DHF) molekülü ise 7,8-DHF'e göre daha potent olduğu düşünülen bir flavon türevidir. Her iki molekül de düşük BDNF seviyeleri ile ilişkili fonksiyonel eksiklikleri etkili bir şekilde aşılabilecek potansiyele sahiptirler. Ancak, ne 7,8-DHF için ne de 4'-DMA-7,8-DHF için kan ve beyin omurilik sıvılarında eş zamanlı in vivo farmakokinetik özelliklerinin ve teorik kimyasal aktivitelerinin araştırıldığı mevcut bir çalışmaya ulaşılamamıştır. Bu amaçla planlanan bu tez çalışmasında 7,8-DHF ve 4'-DMA-7,8-DHF maddelerinin sıçanlarda kan ve beyin omurilik sıvısındaki farmakokinetik etkinliklerinin ve teorik kimyasal özelliklerinin araştırılması ve bu verilerin karşılaştırılması amaçlanmaktadır.

Bu bağlamda 7,8-DHF ve 4'-DMA-7,8-DHF maddeleri Wistar albino sıçanlara intraperitoneal olarak uygulanmış ve belirlenen zaman aralıklarında sıçanlardan

plazma örneği ve beyin omurilik sıvılarından mikrodiyalizatlar toplanmıştır. Toplanan mikrodiyalizatlar ve plazmadan elde edilen örnekler LC/MS-MS metodu ile yüksek hassasiyette ölçölmüştür. Teorik kimyasal analizler her iki molekülün de enerji değerlerini hesaplayarak bu moleköllerin kararsız olduklarını, dolayısıyla bağ yapmaya eğilimli olduklarını göstermiştir. Analitik bulgular ise 7,8-DHF molekülünün sistemik uygulandığında 4'-DMA-7,8-DHF molekülüne göre daha iyi bir farmakokinetik profile sahip olduğunu göstermiştir. Analitik bulgular ayrıca 7,8-DHF ve 4'-DMA-7,8-DHF moleköllerinin ilk geçiş etkisinden yüksek oranda etkilendiğini ve enjeksiyondan sonra konsantrasyonlarının hızla düştüğünü de ortaya koymuştur. Sonuç olarak hücre költürü çalışmalarında TrkB aktivasyonunu daha iyi sağladığı için 7,8-DHF'ten daha potent olduğu düşünölen 4'-DMA-7,8-DHF molekülünün, sistemik uygulanmasıyla daha iyi bir farmakokinetik profil sergilemediği görölmüştür.

Anahtar Sözcükler: *Nörotrofin, BDNF, TrkB, 7,8-dihidroksiflavon, 4'-dimetilamino-7,8-dihidroksiflavon*

SUMMARY

Investigation of the Pharmacokinetic Properties and Theoretical Chemical Activities of 7,8-dihydroxyflavone and 4'-dimethylamino-7,8-dihydroxyflavone

Neurotrophins are biological factors responsible for different functions such as proliferation, differentiation, myelination, synaptic plasticity, axonal growth, survival in the central nervous system. Neurotrophins accomplish these functions mainly through three different receptor types of the tyrosine-receptor kinase family known as TrkA, TrkB and TrkC and depending on the alteration of trk receptor function, there may onset or develop common neurodegenerative diseases. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is a neurotrophin which show its physiological effects via p75^{NTR} and its common receptor TrkB, so that plays crucial roles in the nervous system such as survival of neurons, stabilization of synapses, providing synaptic function, neurogenesis, learning and memory.

7,8-dihydroxyflavone (7,8-DHF), a plant-derived secondary metabolite, is a potent and selective agonist of TrkB receptor that mimics these known beneficial effects of BDNF. 7,8-DHF has thought to be shown therapeutic effects against common neurological disorders and cancer. Recently, a methylated derivative of 7,8-DHF, 4'-dimethylamino-7,8-dihydroxyflavone (4'-DMA-7,8-DHF), is a flavone derivate and thought to be more potent than 7,8-DHF. Both of these molecules are potential agents that functional deficiencies associated with low levels of BDNF can effectively be overcome. However, studies investigating in vivo pharmacokinetic properties or the theoretical chemical activities of 7,8-DHF or 4'-DMA-7,8-DHF are yet to be published. The aim in this thesis project is to investigate and compare the pharmacokinetic activities and chemical active properties of 7,8-DHF and 4'-DMA-7,8-DHF in rat plasma and brain fluids.

For these purposes, 7,8-DHF and 4'-DMA-7,8-DHF were intraperitoneally administered to Wistar albino rats in a specific time order and then, blood and cerebrospinal fluid samples were collected from each subject. Collected

microdialysates and blood plasma samples were analyzed via high sensitivity method, LC/MS-MS. Theoretical analysis has shown that both molecules are unstable and tend to bond with high affinity by calculating the energy values of both molecules. According to analytical findings, 7,8-DHF is more potent and has a better pharmacokinetic profile compared to 4'-DMA-7,8-DHF molecule. Additionally, pharmacokinetic analyses showed that these molecules were highly affected by the first pass effect and their concentrations have decreased significantly after injection. As a result, in contrast to the cell culture studies showing that 4'-DMA-7,8-DHF molecule is more potent than 7,8-DHF due to its ability of TrkB activation, these analyses showed that systematic administration of 4'-DMA-7,8-DHF molecule did not provide a more potent pharmacokinetic profile when compared to 7,8-DHF.

Keywords: *Neurotrophin, BDNF, TrkB, 7,8-dihydroxyflavone, 4'-dimethylamino-7,8-dihydroxyflavone*

İçindekiler

Sayfa

Kabul ve onay sayfası.....	ii
Özet.....	iii
Summary.....	v
İçindekiler.....	vii
Tablo dizini.....	ix
Şekil dizini.....	x
Simge ve kısaltmalar dizini.....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Nörotrofik Faktörler	4
2.2. Beyin-Türevli Nörotrofik Faktör (BDNF)	10
2.2.1. BDNF'nin bazı sinir sistemi hastalıklarındaki rolü.....	11
2.2.2. BDNF'nin terapötik etkinliği	11
2.3. Flavonoidler.....	12
2.3.1. 7,8-dihidroksiflavon	13
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	18
3.1. Kullanılan Materyaller.....	18
3.2. Kullanılan Cihazlar	19
3.3. Teorik Kimyasal Analizler	20
3.4. Deney Hayvanları	20
3.4.1. Deney grupları	20
3.4.2. Anestezi işlemi	20
3.4.3. Unilateral karotis arter kateterizasyonu	21
3.4.4. Mikrodializ probunun yerleştirilmesi.....	21
3.5. Uygulanacak Maddelerin Enjeksiyonu	23
3.5.1. Enjekte edilecek maddenin hazırlanması	23
3.5.2. Enjeksiyonun yapılması ve örneklerin toplanması	23
3.6. Örneklerin Analizi	25
3.6.1. Sıvı kromatografisi.....	25
3.6.2. Kütle spektrometrisi (MS).....	26
3.7. İstatistiksel Değerlendirme.....	29
4. BULGULAR	30
4.1. Teorik Kimyasal Bulgular	30

4.2. Analitik bulgular.....	31
4.3. Farmakokinetik Bulgular.....	33
5. TARTIŞMA.....	36
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	42
Kaynaklar dizini.....	44



Tablo Dizini

	Sayfa
Tablo 2.1. Nörotrofik faktörlerin sınıflandırılması.....	5
Tablo 2.2. 7,8-DHF ve 4'-DMA-7,8-DHF'nin bazı deneysel hayvan..... modellerindeki hastalık ve hastalık patolojilerine karşı terapötik etkinliği	16
Tablo 4.1. 7,8-DHF ve 4'-DMA moleküllerinin kimyasal özellikleri.....	31
Tablo 4.2. Sıçanlara enjekte edilen 7,8-DHF ve 4'-DMA-7,8-DHF..... moleküllerinin sıçan plazmalarında sergilediği in vivo farmakokinetik parametrelerinin karşılaştırılması.	35

Şekil Dizini

Sayfa

Şekil2.1: Nörotrofinler ve reseptörleri.....	6
Şekil 2.2: Sinyal endozom modelinin şematik gösterimi.....	8
Şekil 2.3: Flavonoidlerin omurga yapısı.....	12
Şekil 2.4: 7,8-Dihidroksiflavon molekülünün kimyasal yapısı.....	13
Şekil 3.1: Karotis arter kateterizasyonu ve mikrodiyaliz probu yerleştirme işlemi yapılmış hayvanın anestezi altındaki görüntüsü.....	22
Şekil 3.2: Mikrodiyaliz sistem ünitesi.....	24
Şekil 3.3: Mikrodiyaliz sistem ünitesinin ve probun beyine yerleştirilmesinin şematik gösterimi.....	25
Şekil 3.4: Kalibrasyon için kullanılan plazmalara ait standart kromatogram.....	26
Şekil 3.5 : 7,8-DHF ve 4'-DMA-7,8-DHF için standart kromatogramlar.....	27

Şekil 3.6: 7,8-DHF'nin fragmentasyon öncesi ve sonrası elde edilen kütle spektrumları.....	28
Şekil 3.7: 4'-DMA-7,8-DHF molekülünün fragmentasyon öncesi ve sonrası elde edilen kütle spektrumları.....	28
Şekil 4.1: Sıvı kromatografisinde plazma örneklerinin analizi ile elde edilen 7,8-DHF molekülüne ait kromatogram.....	32
Şekil 4.2: Sıvı kromatografisinde, plazma örneklerinin analizi ile elde 4'-DMA-7,8-DHF molekülüne ait kromatogram.....	32
Şekil 4.3: LC/MS metoduyla farklı zaman aralıklarında toplanan plazma sıvılarında, miktarları belirlenen 7,8-DHF ve 4'-DMA-7,8-DHF moleküllerinin zamana bağlı oluşturduğu karşılaştırmalı farmakokinetik profil.....	34

Simge ve Kısaltmalar Dizini

4'DMA-7,8-DHF	: 4'-dimetilamino-7,8-dihidroksiflavon
7,8-DHF	: 7,8-dihidroksiflavon
AUC	: Konsantrasyon-zaman eğrisi altında kalan alan
BDNF	: Beyin türevli nörotrofik faktör
BOS	: Beyin-omurilik sıvısı
DMSO	: Dimetil sülfoksit
GDNF	: Gliyal-hücre türevli nörotrofik faktör
HOMO	: En yüksek dolu moleküler orbital
İ.p.	: İntraperitonel
LC/MS	: Sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi
LUMO	: En düşük dolu olmayan moleküler orbital
NGF	: Sinir büyüme faktörü
p75 ^{NTR}	: Pan75 nörotrofik reseptör
Trk	: Tirozin reseptör kinaz
TrkA	: Tirozin reseptör kinaz A
TrkB	: Tirozin reseptör kinaz B
TrkC	: Tirozin reseptör kinaz C

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Büyüme faktörleri hücrelerin yaşamsal faaliyetleri için gerekli faktörler olup büyük çoğunluğu peptid yapılı moleküllerdir. Bu faktörler çeşitli hücre yolakları doğrudan ya da dolaylı olarak uyararak hücre dinamiğine etki eder. Nörotrofik faktörler ise, büyüme faktörleri ailesinden olup baskın olarak sinir sistemi hücreleri tarafından sentezlenirler. Nörotrofik faktörlerin ilk keşfedilen ve en çok çalışılan grubu, nörotrofinlerdir.

Nörotrofinler sinir hücrelerinin sağkalımı, çoğalması, farklılaşması, stres koşullarına karşı dayanıklılığın artırılması ve sinaptik bağlantının korunması gibi bir çok sinirsel faaliyette görev alırlar (Skaper, 2017). İnsanlarda en iyi bilinen nörotrofin molekülleri; sinir büyüme faktörü (NGF), beyin-türevli nörotrofik faktör (BDNF), nörotrofin-3 (NT-3) ve nörotrofin 4/5'tir (Eric J Huang & Reichardt, 2001). Nörotrofinler, tümör nekroz faktör ailesinden olan p75^{NTR} ve tirozin reseptör kinazlar (Trk) olmak üzere 2 farklı reseptör grubu üzerinden etkilerini gösterirler (Uren & Turnley, 2014). Bu reseptörlerin uyarılmasıyla çeşitli sinyal yolları aktif hale getirilir ve böylece nörotrofinler fizyolojik etkilerini gösterirler. Nörotrofinler üzerinde yapılan çalışmalar nörotrofinlerin ya da nörotrofin reseptörlerinin sentez, ifade, taşınım ya da salınımlarında ortaya çıkan bozuklukların, nörodejeneratif hastalıkların patogeneğinde rol oynayabildiğini ortaya koymaktadır (Lima Giacobbo vd., 2019; Sampaio, Savall, Gutierrez, & Pinton, 2017). Bu nedenle geçmişten günümüze nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde nörotrofinler ve nörotrofin reseptörleri potansiyel birer terapötik hedef olarak düşünülmüştür.

BDNF, sinir büyüme faktöründen sonra nörotrofin ailesinin en iyi bilinen üyesidir. BDNF peptid yapılı bir moleküldür ve etkisini TrkB üzerinden göstererek sinir hücrelerinin fizyolojik faaliyetlerinin yürütülmesine aracılık eder (Lipsky & Marini, 2007). BDNF transkripsiyonu veya gen ifadesinin azalması, aksonal taşınımının bozulması ya da TrkB reseptör aktivasyonunun yetersiz olması nöronal atrofiye aracılık eden çeşitli hastalık patolojileriyle ilişkilendirilmiştir

(Montroull, Danelon, Cragolini, & Mascó, 2019a; Park vd., 2017). Bu nedenle nörodejeneratif hastalıkların tedavisine yönelik araştırmalarda; BDNF ifadesinin artırılması, rekombinant BDNF uygulaması ya da TrkB aktivasyonunu sağlayacak mimetiklerin kullanımı gibi yaklaşımlara başvurulmaktadır (Katsu-Jiménez, Loría, Corona, & Díaz-Nido, 2016).

Flavonoidler bitkisel kaynaklı ürünlerde bulunan ikincil (sekonder) metabolitlerdir. Flavonoidler sahip olduğu antioksidan, antikanser ve nöroprotektif özellikleri sebebiyle, çeşitli hastalıklara karşı olumlu etkileri bilinmektedir. Flavonoid ailesinden olan 7,8-dihidroksiflavon (7,8-DHF), TrkB reseptörüne güçlü ve seçici olarak bağlanan bir moleküldür. Sanal tarama (virtual screening) çalışmaları sonucu TrkB agonisti olarak seçilen 7,8-DHF ile in vivo ve in vitro çalışmalar yapılmış, ve bu çalışmalarda 7,8-DHF'nin TrkB'ye bağlanabildiği ve aktive edebildiği gösterilmiştir (Liu vd., 2010). 7,8-DHF'nin, TrkB agonisti olarak bildirilmesinden sonra çeşitli hastalık patolojilerine karşı etkileri araştırılmış ve günümüzde hala araştırmaya devam edilmektedir. Özellikle nörodejeneratif hastalık patolojilerine karşı 7,8-DHF uygulamasının tedavi edici etkileri olduğu, farklı araştırmacı gruplar tarafından gösterilmiştir (Devi & Ohno, 2012b; Zeng vd., 2012). 7,8-DHF'nin hücre kültürü çalışmalarında olumlu etkileri bildirilmiş olsa da sistemik uygulanmasında uğradığı metabolik faaliyetler sonucu biyoyararlanımı oldukça düşmektedir (Y. Chen vd., 2020). Bu gibi nedenlerle araştırmacılar yeni sentetik flavon türevleri üretmiş ve aktivite karşılaştırmaları yapmışlardır (C. Chen vd., 2018b). 7,8-DHF'nin metillenmiş ve sentetik bir türevi olan 4'-DMA-7,8-DHF'nin, TrkB reseptörünü 7,8-DHF'den daha potent bir şekilde aktive edebildiği düşünülmektedir. Ancak bu konudaki literatür bilgisi oldukça sınırlıdır (Liu vd., 2010).

Tedavi edici etkileri olduğu düşünülen bu moleküllerin, dozlama ve biyoyararlanımlarının doğru hesaplanması, deneysel çalışmalardan daha doğru bulguların elde edilebilmesine aracılık edeceği için, bu moleküllere yönelik çalışmaların genişletilmesi gerekmektedir. Bu doğrultuda planlanan bu tez

çalışması, TrkB reseptörünün güçlü ve seçici agonisti olduğu ortaya konulan 7,8-DHF ve 4'-DMA-7,8-DHF moleküllerinin kimyasal özellikleri ile , in vivo kan ve beyin omurilik sıvılarında farmakokinetik profillerini ortaya koyup, daha sonra elde edilecek verileri karşılaştırmayı amaçlamaktadır.



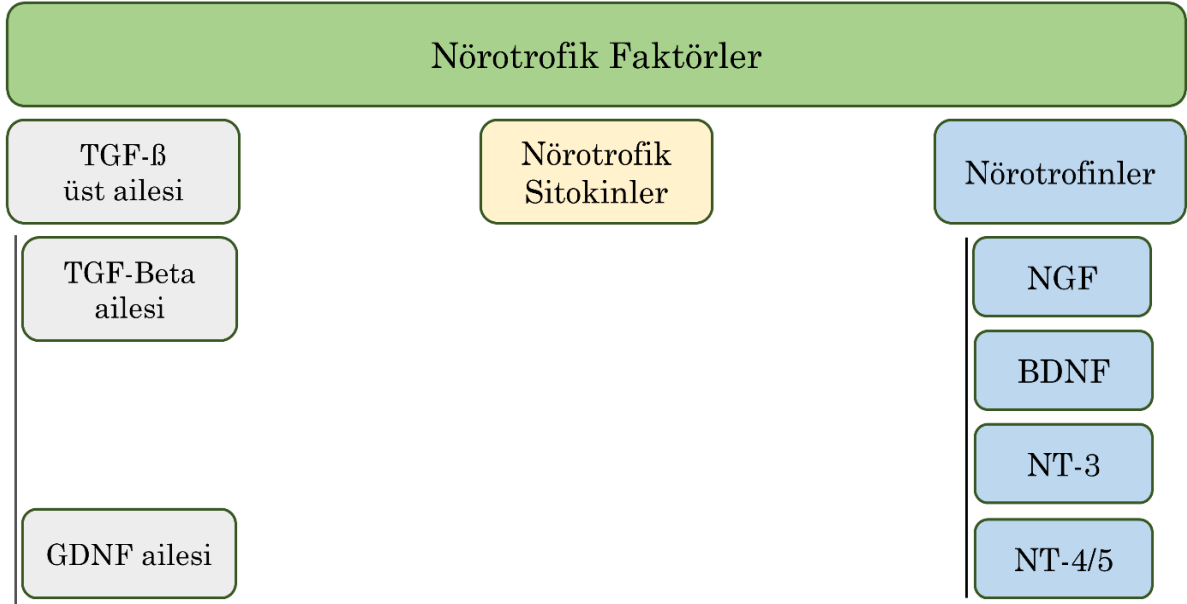
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Nörotrofik Faktörler

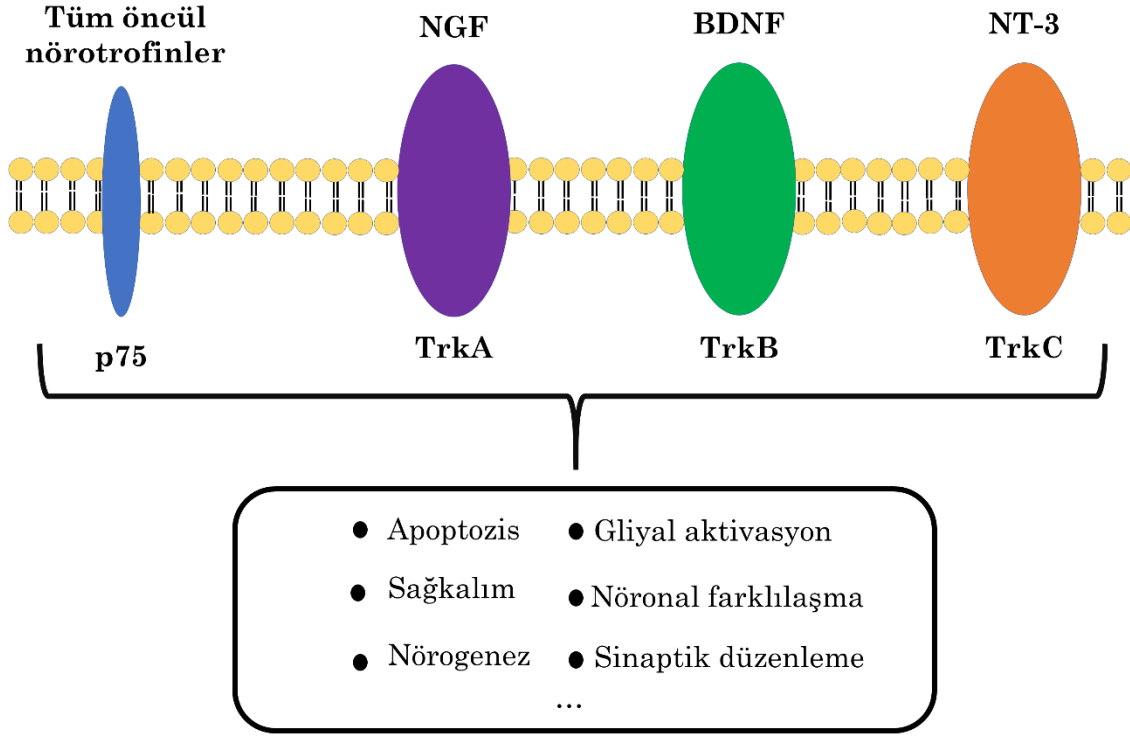
Büyüme faktörleri hücre bölünmesi, büyümesi ve farklılaşması gibi önemli fizyolojik fonksiyonları düzenleyen steroid ya da peptid yapıdaki biyomoleküllerdir. Büyüme faktörü ailesinden olan nörotrofik faktörler, sinir sisteminde nöronal yaşamı destekleyen faktörler olarak bilinir ve "nörotrofinler, GDNF ailesi ve nörotrofik sitokinler" şeklinde sınıflandırılırlar (Tablo 2.1) (Deister & Schmidt, 2006; Popova, Ilchibaeva, & Naumenko, 2017; Siegel & Chauhan, 2000). Nörotrofin ailesi, merkezi sinir sistemi ve periferik sinir sistemi nöronları tarafından, ayrıca nöronal olmayan dokularda dahi bir çok hücre tipinden sentezlenen büyüme faktörleridir (Deister & Schmidt, 2006; Ernsberger, 2008; Henderson, 1996). Nörotrofinlerin varlığı ilk olarak 1950'li yılların başlarında Montalcini ve Cohen tarafından ortaya çıkarılmış ve bu keşif çalışmayı yapan bilim insanlarına nobel ödülü kazandırmıştır (Raju, 2000).

Nörotrofinlerin memelilerde bilinen yaygın üyelerini NGF, BDNF, NT-3 ve nörotrofin-4 oluşturmaktadır (Tablo 2.1). Nörotrofinler; sinirsel rejenerasyon, nöronal atrofi, sinaps oluşumu, sinaptik aktivite, sinaptik plastisite (Bonhoeffer, 1996, p. 3; E. Castrén & Antila, 2017; Deister & Schmidt, 2006), sinaps stabilizasyonu, aksonal ve dendritik büyüme (McAllister, Lo, & Katz, 1995; Patel, Jackman, Rice, Kucera, & Snider, 2000) ve nörotransmitter sentezi gibi hemen hemen tüm sinirsel faaliyetlerde rol almaktadırlar (Tyler, Perrett, & Pozzo-Miller, 2002).

Tablo 2.1 Nörotrofik faktörlerin sınıflandırılması: Nörotrofik faktörler üç gruba ayrılır: TGF-beta super ailesi, nörotrofik sitokinler ve nörotrofinler. TGF; dönüştürücü büyüme faktörü, GDNF; gliyal-hücre türevli nörotrofik faktör, NGF; sinir büyüme faktörü, BDNF; beyin-türevli nörotrofik faktör.



Bilinen nörotrofinlerin tamamı öncül-nörotrofin olarak sentezlenirler ve görevlerini yerine getirebilmek üzere kesilerek aktif hale getirilirler. Öncül olarak sentezlenen nörotrofinler inaktif olarak düşünülmektedir ancak bunların p75^{NTR} üzerinden etkileri vardır (Koshimizu vd., 2009; Marchetti vd., 2019). Pro- halinde salınan nörotrofinler ya intraselüler ya da ekstraselüler olarak özel proteazlar ile aktif hale getirilirler (Allen & Dawbarn, 2006; Nagahara & Tuszynski, 2011). Nörotrofinler sağkalım, çoğalma, farklılaşma, aksonal büyüme ve nörotransmitter salınımının kontrolü gibi bilinen etkilerini; olgun hale getirilmiş formda, Trk reseptörlerine bağlanarak ya da p75^{NTR} reseptörüne bağlanarak gösterirler (Şekil 2.1) (Koshimizu vd., 2009; Marchetti vd., 2019; Nykjaer, Willnow, & Petersen, 2005).

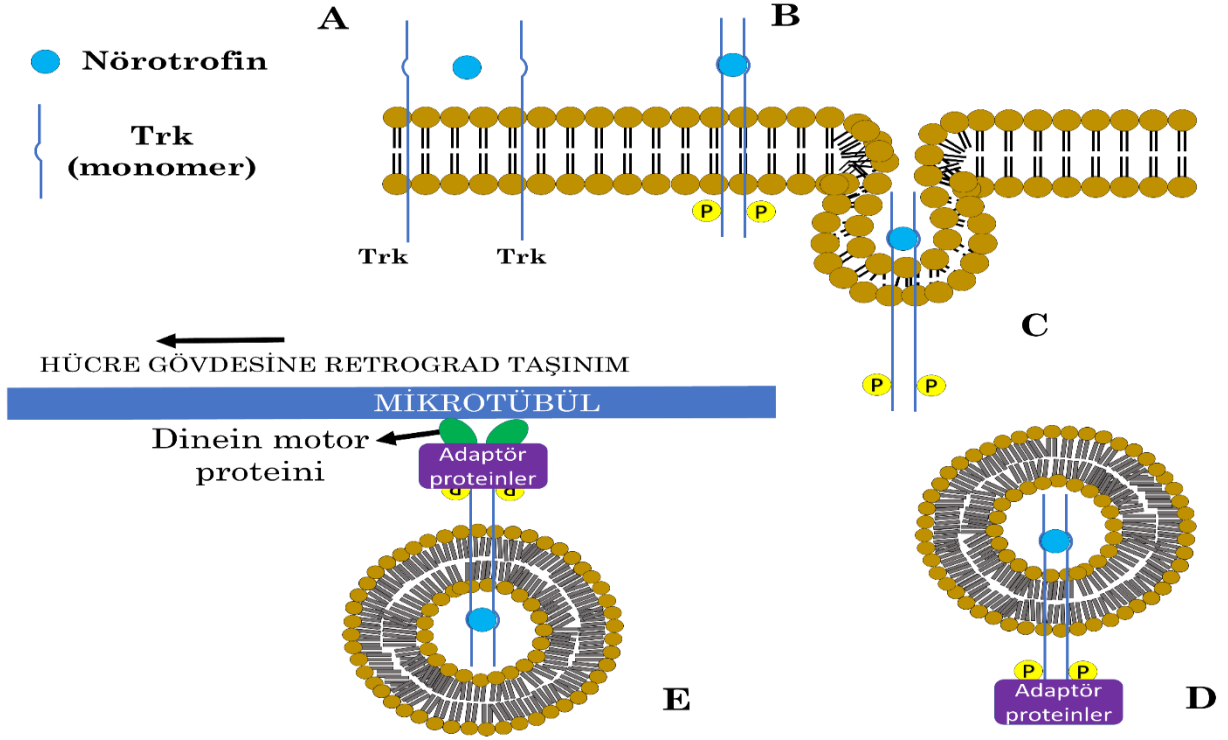


Şekil 2.1 Nörotrofinler ve reseptörleri: Olgun nörotrofin reseptörleri TrkA, TrkB ve TrkC olmak üzere üç çeşittir. Öncül nörotrofinlerin tamamı p75 reseptörüne yüksek ve aynı düzeyde bağlanma eğilimi gösterir. Ayrıca pro-nörotrofinlerin yokluğunda olgun nörotrofinler de p75NTR reseptörüne etki edebilir. p75: Pan-nörotrofik reseptör, Trk: tirozin reseptör kinaz, BDNF: Beyin-türevli nörotrofik faktör, NT-3: Nörotrofin-3.

Trk reseptörleri, tirozin kinaz aktivasyonu gösteren büyüme faktörü reseptörleridir ve TrkA, TrkB ve TrkC olmak üzere 3 tiptir (Eric J. Huang & Reichardt, 2003; Stoleru vd., 2013). Bu reseptörler destekleyici fonksiyonlarını, çoğunlukla fosfotidilinositol-3-kinaz (PI3K)/Akt, mitojen-aktive edici protein kinaz (MAPK)/ekstraselüler sinyal-düzenleyici kinaz (ERK), ve fosfolipaz C-gama (PLCg)/protein kinaz C (PKC) yollarının aktivasyonu ile gösterirler.

Nörotrofinler ve etki ettiği reseptörlerden; TrkA/NGF sinyal kompleksi, bazal ön beyin kolinerjik nöronlarında nöronal fonksiyonun düzenlenmesi ve ayrıca miyelinasyona aracılık ederken (Stoleru vd., 2013; Villoslada vd., 2000), BDNF/TrkB kompleksi sinaptik plastisite ve uzun süreli potensiyalizasyona (Long-term potentiation, LTP), TrkC/NT-3 ise mikroglial aktivasyona aracılık ettiği bildirilmiştir (Sanchez-Ortiz vd., 2012; Yamada & Nabeshima, 2003; Zhou & Rush, 1996).

Trk reseptörlerine ligand bağlanması sonucu sinyal iletiminin nasıl gerçekleştiğine dair iki hipotez mevcuttur ancak günümüzde kabul gören model sinyal-endozom modelidir. Bu modelde reseptöre ligand bağlanması monomer haldeki reseptörlerin dimerizasyonunu teşvik eder (Shen & Maruyama, 2011). Reseptörün dimerizasyonu, reseptörün tirozin kalıntıları üzerinden fosforillenmesine aracılık eder (Eric J. Huang & Reichardt, 2003; Patapoutian & Reichardt, 2001). Bu esnada klatrin aracılı endozom oluşumu tetiklenerek reseptör/ligand kompleksi vezikül içerisine alınır ve akson somasına doğru dinein proteini aracılığıyla retrograd olarak taşınır (Şekil 2.2) (Howe, 2005; Howe, Valletta, Rusnak, & Mobley, 2001; Ito & Enomoto, 2016).



Şekil 2.2 Sinyal endozom modelinin şematik gösterimi: Akson terminalinde monomer haldeki reseptör ve nörotrofin (A). Ligandın reseptöre bağlanması reseptörün dimerizasyonuna aracılık eder (B). Aktifleşen reseptör ve ligand vezikül içerisine alındıktan sonra adaptör proteinler reseptör vezikül kompleksine bağlanır (C-D). Adaptör proteinler yardımıyla motor proteine bağlanan vezikül içerisindeki kompleks akson somasına doğru taşınır ve bu esnada hücresel yolakları aktive edecek faktörlerin aktivasyonunu uyardırmaya devam eder (E). Trk: Tirozin reseptör kinaz.

TrkB reseptörü, NTRK2 geninden sentezlenen ve insan beyinde iki farklı uzunlukta (9,5 kb ve 8,0 kb) mRNA'sı transkripte edilen bir reseptördür. Uzun transkript tam uzunlukta TrkB kodlarken, kısa transkript budanmış-TrkB (truncated-TrkB) kodlamaktadır (Nakagawara vd., 1995). Budanmış TrkB beyinde bir çok yerde ifade edilmesine karşın katalitik bir kinaz domaini barındırmaz, bu yüzden BDNF üzerine dominant inhibitör etki gösterir (Eide vd., 1996; Fenner,

2012). TrkB reseptörü hem kanser fizyolojisinde hem de merkezi sinir sisteminde hücrel sağkalıma aracılık etmesinden dolayı bir çok araştırmaya konu olmuştur (Brodeur vd., 2009; Nakamura vd., 2014). TrkB reseptör ifadesindeki düşüşler BDNF aracılı trofik desteğin azalmasına neden olacağından, bu düşüşler çeşitli hastalık patolojileriyle ilişkilendirilmiştir (Nguyen, Rymar, & Sadikot, 2016). TrkB aracılı trofik desteğin bozulması, dendritik dikenlerin (spine) atrofisine ve sinaptik plastisitenin bozulmasına aracılık etmesi bu görüşü desteklemektedir (Hashimoto vd., 2005; Marshall vd., 2018; Z.-H. Wang vd., 2019).

TrkB nakavt deneysel hayvan modelleri, bu reseptörün merkezi sinir sistemindeki fonksiyonunu daha iyi belirleme açısından çeşitli araştırmalarda kullanılmıştır. Bu bağlamda Zörner ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, ön-beyin hücrelerinde TrkB reseptörlerinin nakavt edilmesi; bu farelerde hiperaktiviteye ve bilişsel bozukluklara eşlik etmiştir. Bu fareler daha hareketli olduklarından daha fazla yeri gözlemlemiş ancak öğrenme ve hafızada tutma anlamında yetersiz kalmışlardır (Zörner vd., 2003). TrkB nakavt farelerin mekansal öğrenme ve yüzme testlerinde başarısız olmasından dolayı, bu reseptör aktivasyonunun hipokampal öğrenme için elzem olduğu da öne sürülmüştür (Minichiello vd., 1999). TrkB ifadesinin hipokampüste artırılması, Morris yüzme testinde (Morris maze water test) hareketsizliğe geçiş sürecini önemli derecede artırması yine önceki çalışmalarla tutarlı olup TrkB'nin hipokampal öğrenme için önemli bir rol üstlendiğini desteklemektedir (De Vry vd., 2016). Literatürdeki çoğu çalışmada, TrkB'nin özellikle sinaptik plastisite ve öğrenme ile ilişkili olduğu ve sinaptik bağlantının korunmasıyla nöronal atrofisinin önleniği gösterilmiştir (Numakawa, Odaka, & Adachi, 2018). TrkB^(+/-) farelerin sinir kas kavşaklarında görülen morfolojik bozukluklar ve sinyal taşınımlarındaki bozukluklar, bu reseptörün özellikle ALS gibi nörodejeneratif hastalıklarda önemli bir hedef olabileceğini düşündürmektedir (Just-Borràs vd., 2019; Mantilla vd., 2014; Santafé vd., 2014). Tüm bu araştırmalar TrkB reseptörünün merkezi sinir sistemindeki

fonksiyonunu daha iyi öğrenmeye ve TrkB fonksiyon bozukluklarının organizmada oluşturabileceği patolojiyi açıklamaya çalışmaktadır.

2.2. Beyin-Türevli Nörotrofik Faktör (BDNF)

BDNF, 1982 yılında domuz beyninden Yves Barde ve Hans Thoenen tarafından saflaştırılmasıyla tanımlanan peptid yapılı bir moleküldür (Barde, Edgar, & Thoenen, 1982). BDNF geninin hem transkripti hem de proteini olfaktör bulb, korteks, ventral tegmental alan (VTA), bazal önbeyin, hipokampus, striatum, beyin sapı ve medulla spinalis gibi bir çok merkezi sinir sistemi bölgelerinde ve fibroblastlar gibi çeşitli periferik hücre ve dokularda eksprese edilmektedir (Greisen, Altar, Bolwig, Whitehead, & Wörtwein, 2005; Lippmann, Bress, Nemeroff, Plotsky, & Monteggia, 2007; Roceri vd., 2004). Endoplazmik retikulumda yaklaşık 27 kDa büyüklüğünde ifade edilen BDNF, sentezlendiği halinde 129 amino asitlik bir öncül-bölge ile 118 amino asitlik esas bölge içerir ve daha sonra çeşitli proteazlarla olgun formuna dönüştürülür (Bathina & Das, 2015; Mowla vd., 2001).

BDNF'nin her iki formu da (öncül-BDNF ve olgun-BDNF) aktif olup farklı işlevlere aracılık etmektedir. Örneğin in vitro deneyler öncül-BDNF'nin sempatik nöronlarda ve bazal ön-beyin nöronlarında hücre ölümünü artırdığı, uzun-süreli depresyona (long-term depression, LTD) ve dendritik spine'ların kaybına aracılık ettiğini göstermiştir (Kenchappa vd., 2006; Koshimizu vd., 2009; Teng vd., 2005; Volosin vd., 2006). Aksine egzersiz ve antidepresanlar aracılığıyla olgun BDNF'nin ifadesinin artırılması; hücresel sağkalım, LTP ve spine morfolojisine yönelik olumlu etkiler sağladığı gösterilmiştir (Miranda, Morici, Zanoni, & Bekinschtein, 2019; Radahmadi, Hosseini, Alaei, & Sharifi, 2016).

BDNF nörogenez, nöronal gelişim, sinaptik iletim, sinapsların stabilizasyonu, sinaptik fonksiyon, akson ve dendrit dallanmalarını düzenlerken, motor nöronların ve dorsal kök gangliyonlarının sağkalımını da destekler (L. Y. Chen, Rex, Pham, Lynch, & Gall, 2010; Hansen vd., 2007; Louhivuori vd., 2011; Waterhouse vd.,

2012). Korteks, serebellum, amigdala ve hipokampüsteki dağılımıyla hipokampal, kortikal ve kolinerjik nöronların sağkalımını desteklemektedir (Acheson vd., 1995; da Penha Berzaghi vd., 1993; Laricchiuta vd., 2018; Sakata vd., 2013). Aynı zamanda serebral iskemi ve glutamat toksisitesine karşı koruma (Almeida vd., 2005), nöroenez (Benraiss, Chmielnicki, Lerner, Roh, & Goldman, 2001), görsel korteksin gelişimi (Z. J. Huang vd., 1999; Pizzorusso, Ratto, Putignano, & Maffei, 2000), öğrenme ve hafızanın geliştirilmesinde de rol alır (Cunha, Brambilla, & Thomas, 2010). BDNF'nin yukarıda bahsedilen farklı fizyolojik faaliyetlerde rol aldığı belirtilse de, en önemli etkisinin sinaptik plastisite üzerine olduğu düşünülmektedir (Z. J. Huang vd., 1999).

2.2.1. BDNF'nin bazı sinir sistemi hastalıklarındaki rolü

BDNF seviyeleri, sağlıklı bireylerin plazmasında ortalama 92,5 pg/ml olarak bildirilmiştir. Bu düzey cinsiyet ve yaşa göre değişiklik göstermektedir ve depresyon, ALS, Alzheimer, Parkinson, Huntington, gibi sinir sistemini etkileyen hastalıklara sahip bireylerde daha düşük oranlardadır (Ai vd., 2019; Bocchio-Chiavetto vd., 2010; Budni, Bellettini-Santos, Mina, Garcez, & Zugno, 2015; Eero Castrén, 2004; Cattaneo, Cattane, Begni, Pariante, & Riva, 2016; Dwivedi vd., 2003; Jiao vd., 2016; Karege vd., 2002; Mughal vd., 2011; Numakawa vd., 2010; Pandey vd., 2008; Scalzo, Kümmer, Bretas, Cardoso, & Teixeira, 2010; Sen, Duman, & Sanacora, 2008; Sohrabji & Lewis, 2006; Tapia-Arancibia, Aliaga, Silhol, & Arancibia, 2008; Yasutake, Kuroda, Yanagawa, Okamura, & Yoneda, 2006).

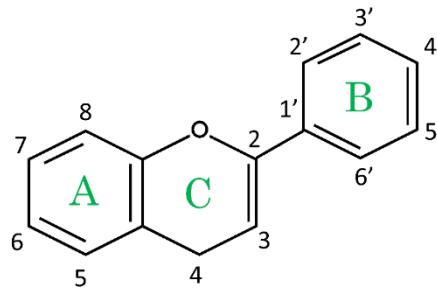
2.2.2. BDNF'nin terapötik etkinliği

BDNF, merkezi sinir sisteminde geniş çaplı yayılımı, hastalıklarla olan ilişkisi ve koruyucu aktiviteye sahip olmasından dolayı nörolojik ve psikiyatrik hastalıklara karşı potansiyel bir terapötik molekül olabileceğini akla getirmiştir. Ancak BDNF'nin büyük moleküler ağırlığa sahip olması, kan beyin bariyerini geçememesi ve zayıf farmakokinetik profile sahip olması bu molekülün terapötik özelliklerini etkileyerek klinik olarak kullanımını

kısıtlamaktadır (Fletcher vd., 2018; Giampa vd., 2013; Tan vd., 2016; Vaghi vd., 2014). Bu nedenle bahsi geçen kısıtlamaların üstesinden gelmek, BDNF/TrkB sinyal yolağını verimli bir şekilde aktive edebilmek ve klinik açıdan kullanıma daha uygun bir hedef bulabilmek için, agonist moleküller araştırılmaya devam etmektedir (Jang vd., 2010; Longo & Massa, 2013).

2.3. Flavonoidler

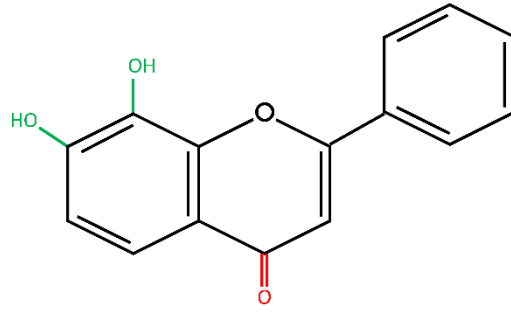
Flavonoidler bitkilerde kök, kabuk, meyve, sebze, çiçek ve tohumlar gibi bitkisel türevli bir çok kaynaktan bulunan sekonder metabolitlerdir. İsimlerini sahip oldukları renklerinden dolayı latince sarı anlamına gelen flavus kelimesinden alırlar. Omurga yapısında bir fenil halkasıyla bir heterosiklik halka bulunduran ve 15 karbon atomundan oluşan bu bileşikler (Şekil 2.3), fizyolojik olarak koruyucu özelliklere sahip moleküllerdir (T.-y. Wang, Li, & Bi, 2018). Flavonoidler sahip oldukları kimyasal özellikleri ile farklı reseptörler üzerinden etki ederek sinyal yollarının aktivasyonunu sağlarlar (Johnston, 2015; X. H. Zhang vd., 2012). Ayrıca sahip oldukları antioksidan, antikanser, antiviral ve nöroprotektif özelliklerinden dolayı farklı hastalıklara karşı kullanım alanı bulmaktadırlar (Ashaari vd., 2018; de Andrade Teles vd., 2018; Izzo, Naponelli, & Bettuzzi, 2020; Kopustinskiene, Jakstas, Savickas, & Bernatoniene, 2020; Lalani & Poh, 2020; Tangney & Rasmussen, 2013).



Şekil 2.3 Flavonoidlerin omurga yapısı: Fragment 1 (A ve C halkaları beraber) ve fragment 2 (B halkası).

2.3.1. 7,8-dihidroksiflavon

7,8-DHF meyve ve sebzelerde bulunan; antioksidan, antiapoptotik ve nöron koruyucu özellikleri dahil olmak üzere çeşitli biyolojik etkilere sahip, flavonoid ailesine mensup bir moleküldür (Şekil 2.4). 7,8-DHF, BDNF'nin fizyolojik özelliklerini taklit eden ilk molekül olarak tanımlanmıştır (Liu vd., 2010). 7,8-DHF'nin, TrkB'ye bağlanarak reseptör fosforilasyonunu sağladığı, böylece BDNF ile benzer sinyal yollarını aktive edebildiği vitro çalışmalar ile gösterilmiştir (Devi & Ohno, 2012a; Wu vd., 2014; Wurzelmann, Romeika, & Sun, 2017).



Şekil 2.4 7,8-Dihidroksiflavon molekülünün kimyasal yapısı

7,8-DHF'nin bir çok hastalık patolojisine karşı olumlu yönde etki ettiği deneysel hayvan modeli çalışmaları ile gösterilmiştir (Nie vd., 2019; Z. Zhang vd., 2014a). Alzheimer modeli 5xFAD farelere 5mg/kg kronik oral DHF uygulanmasıyla, nöronların beta amiloidden kaynaklı toksisiteden korunduğu gösterilmiş, sinaptogenezin ve dendritik dallanmanın ise uyarıldığı bildirilmiştir (Z. Zhang vd., 2014b). Ayrıca Alzheimer modeli farelere intraperitoneal (i.p.) 5mg/kg 7,8-DHF uygulanması, kortekste amiloid plakların azalması sonucu kortikal nöronların korunduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada 7,8-DHF'nin kolin içeren bileşiklerin artmasını sağlayarak glutamat kaybını engellediği, böylece hipokampal nöronların glutamat toksisitesinden ve atrofiden korunduğu bildirilmiştir (Aytan vd., 2018). 7,8-DHF, sinaptik plastisiteseye yönelik gösterdiği

etki sebebiyle hipokampal sinapslardaki atrofi oranını azaltmış ve hafıza kaybının azalmasına aracılık etmiştir. Ayrıca 7,8-DHF uygulamasıyla mekansal hafızada gelişmeler ve dendritik kayıplarda azalmalar sağlandığı da gözlenmiştir (Andero, Daviu, Escorihuela, Nadal, & Armario, 2012; Z. Zhang vd., 2014a).

7,8-DHF'nin farelere i.p. olarak 5 mg/kg ve 20 mg/kg enjeksiyonun yapılması, farelerin zorunlu yüzme testinde (Forced swim test, FST) hareketsizliğe geçiş sürecini doz ile doğru orantılı bir şekilde önemli derecede arttırdığından bu molekülün antidepresan özellik gösterdiği öne sürülmüştür (Chang, Wang, Tung, Yeh, & Liu, 2016).

7,8-DHF uygulamasının ALS hayvan modellerine karşı da pozitif etkileri olduğu bildirilmiştir. 7,8- DHF ile tedavi edilen SOD1-G93A ALS modeli farelerde, ALS grubuna göre motor performanslarda anlamlı derecede iyileşme gözlenmiştir. Bu gruplarda dendritik spine sayısındaki kayıp azalmış, 7,8-DHF uygulanan farelerin motor bozukluklarının düzeldiği görülmüştür. Ayrıca bu çalışmada 7,8-DHF ile tedavi edilen farelerin alt motor nöronlarının atrofiden korunduğu da bildirilmiştir (Korkmaz vd., 2014).

7,8-DHF'nin bazı nörodejeneratif hastalıklara karşı kullanımını Tablo 2.2'de verilmiştir. Ancak 7,8-DHF sadece nörodejeneratif hastalıklara karşı değil kanser ve diğer hastalıklara karşı da sağkalıma aracılık eden, antiproliferatif ve apoptozu uyarıcı özellikler gibi terapötik etkiler göstermektedir. Memelilerde hücresel büyüme ve farklılaşmayı regüle eden SP1 proteini, kanserli hücrelerde daha fazla miktarda ifade edilerek hücre sel metastaza aracılık eder (Kong vd., 2010). HN22 ve HSC4 oral skuamöz hücreli karsinom (OSHK) hücre hatlarında artan dozlarda DHF uygulamasının doz artışıyla doğru orantılı bir şekilde SP1 proteininin ifadesini düzenleyerek apoptozu indüklediği gözlenmiştir (Lee vd., 2015). Bu çalışmada DHF uygulamasıyla SP1 mRNA'sının azaltıcı yönde düzenlenmesinin (down regulation) yanı sıra kaspaz-3 aktivasyonu ile apoptozun uyarıldığı bildirilmiştir. Bir diğer memeli transkripsiyon faktörü melanosit gelişimi

farklılaşması ve melanoma tümörleriyle ilişkili mikroftalmi ile ilişkili transkripsiyon faktörü (MITF)'dür ve sağkalıma aracılık eden proteinlerin ifadesini sağladığından fazla ifadesi ya da aktivasyonu melanoma gelişimine aracılık eder. B16F10 melanoma hücre hattına 7,8-DHF uygulaması melanoma hücrelerinin büyümesini engellemiştir ve uygulanan madde herhangi bir toksik etki göstermemiştir. Aynı zamanda bu hücreler için hem metastatik hem de invazif özelliklerinin doz bağımlı bir şekilde %50'ye kadar azaldığı da bildirilmiştir (Sim, Sohng, & Jung, 2016).

7,8-DHF, hidrojen peroksit (H₂O₂) ile uyarılmış oksitativ stres, hipoksi ve iskemi gibi stres koşullarına karşı da koruyucu etkiler göstererek hücrelölümleri azalttığı bildirilmiştir (Kang vd., 2015; Uluc vd., 2013).

Tablo 2.2 7,8-DHF ve 4'-DMA-7,8-DHF'nin bazı deneysel hayvan modellerindeki hastalık ve hastalık patolojilerine karşı terapötik etkinliği

Hastalık	Doz / Enjeksiyon	Etki	Referans
Alzheimer	DHF 5mg/kg; i.p.	Amiloid-beta birikiminde azalma	(Aytan vd., 2018)
	DHF 5mg/kg; oral	Hipokampal nöronların apoptozdan korunması	(Z. Zhang vd., 2014b)
ALS	DHF 5mg/kg; i.p.	Sinaptogenezin desteklenmesi	(Korkmaz vd., 2014)
		Alt motor nöronların atrofiden korunması	
Depresyon	DHF 5mg/kg; gavaj	Sinaptik plastisitede artış	(Liu vd., 2010)
		Motor performansta iyileşme	
Parkinson	DHF 12-16mg/kg; oral	Hipokampal nörogenezin desteklenmesi	(Luo vd., 2016)
		Striatal nöron kayıplarının azalması	
		Davranışsal bozukluklarda iyileşme	

	DHF 5mg/kg; gavaj	Survival uzama (%20),	(Jiang vd., 2013)
Huntington	4'-DMA 1mg/kg; gavaj		
	5mg/kg; gavaj	Motor performansta iyileşme,	(García- Díaz Barriga vd., 2017)

Bilinen tüm bu olumlu etkilerine karşı 7,8-DHF molekülünün in vivo farmakokinetik profili düşük düzeydedir ve faz reaksiyonları sonucu biyoyararlanımı oldukça azalmaktadır (C. Chen vd., 2018a). Bu nedenle 7,8-DHF'nin biyoyararlanım oranını ve beyne geçiş miktarını arttırmak amacıyla hedef molekülün türevleri elde edilmeye çalışılmış ve çok sayıda moleküller türetilmiştir. 4'-dimetilamino-7,8-dihidroksiflavon (4'-DMA-7,8-DHF), bir 7,8-DHF türevidir ve heterosiklik halkanın 4'üncü karbonu üzerinden metillenmiş formudur (Liu vd., 2013a). 4-DMA-7,8-DHF, 7,8-DHF gibi TrkB aktivasyonunu sağlamaktadır ancak 7,8-DHF'e göre daha potent olduğu ileri sürülmektedir (Liu vd., 2010).

Tüm bu bilgiler ışığında planlanan bu tez çalışması kapsamında öncelikle her iki molekülün teorik kimyasal aktiviteleri Gaussian paket programı yardımıyla belirlenmiş ve karşılaştırılmış, daha sonra 6 aylık Wistar albino sıçanlara 7,8-DHF ve 4'-DMA-7,8-DHF uygulaması yapılarak kan ve BOS örneklerinde LC/MS yöntemi ile zamana göre miktar tayini yapılmış; nihayetinde de teorik ve analitik sonuçlar karşılaştırılmalı olarak değerlendirilmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Kullanılan Materyaller

Ketamin	: Bayer, Almanya
Ksilazin	: Bayer, Almanya
Asetonitril	: Sigma, A.B.D
Ringer	: CMA, Stokholm, İsveç
Dimetil sülfoksit	: Sigma, A.B.D
7,8-Dihidroksiflavon	: Sigma, A.B.D
4'-dimetilamino-7,8-dihidroksiflavon	: TRC, Kanada

3.2. Kullanılan Cihazlar

Stereotaksimetrik tabla	: Kopf 5600, David Kopf Ins., A.B.D.
Isıtıcı ped	: CMA 150, CMA Co., İsveç
Perfüzyon pompası	: KD Scientific, Amerika
Hayvan muhafaza ünitesi	: CMA/120 CMA Co., İsveç
Mikrodiyaliz pompası	: CMA 402, CMA Co., İsveç
Mikrodiyaliz probu	: CMA 12 (PAES Memb.), CMA Co., İsveç
Otomatik toplayıcı	: CMA 170, CMA Co., İsveç
Vorteks	: NM110, Nuvemix, Türkiye
Santrifüj cihazı	: EBA 20, Hettich, Almanya
Derin dondurucu (-80)	: Panasonic, Japonya
Buzdolabı	: Arçelik No-Frost, Türkiye
Stereo mikroskop	: Nikon, Japonya
LC cihazı	: Agilent 1290, A.B.D.
LC/MS	: Agilent 6460, A.B.D.
LC/MS-MS kolonu	: C18-Luna, Phenomenex, A.B.D.
LC/MS-MS pompası	: LCV-10AL, Shimadzu, Japonya

3.3. Teorik Kimyasal Analizler

Teorik kimyasal analizler için Gaussian 09, Revision C.; 01 (2010); DFT (Yoğunluk fonksiyonel teorisi), (RB3LYP) metodu kullanılmıştır (paket programı için, Kırıkkale Üniversitesi BAP-2016/016 projesinden yararlanılmıştır). Elde edilen sonuçlar kontrol olarak katekol grubu barındıran 6-hidroksidopamin ile 7,8-DHF ve 4'-DMA-7,8-DHF arasında karşılaştırılmıştır.

3.4. Deney Hayvanları

Bu çalışmada Wistar albino erkek sıçanlar kullanılmıştır. Ağırlıkları 200-250 gram aralığında değişen 6 aylık sıçanlar 52x32x20 santimetre küp hacimli kafeslerde ve kafes başına 3 hayvan konulacak şekilde barındırılmıştır. Karanlık aydınlık safhalar 12 saat – 12 saat olacak şekilde ayarlanmış, 24 santigrat derece sıcaklık ve %55 nem oranları sağlanmıştır. Temel ihtiyaçlar için içme suyu ve katı gıda olarak pelet yem kullanılmıştır. Bakım süresi boyunca su ve yemlere erişimleri tamamen serbest bırakılmıştır. Tüm deneyler Eskişehir Osmangazi Üniversitesi yerel etik kurulu izni çerçevesinde gerçekleştirilmiştir (Protokol no: 652/2018); Bu tez çalışması Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir (Proje Kodu: 2018-2239).

3.4.1. Deney grupları

Bu çalışmada 7,8-DHF ve 4'-DMA-7,8-DHF enjeksiyonu yapılacak iki farklı grup (n=6) olmak üzere toplam 12 adet Wistar albino sıçan kullanılmıştır.

3.4.2. Anestezi işlemi

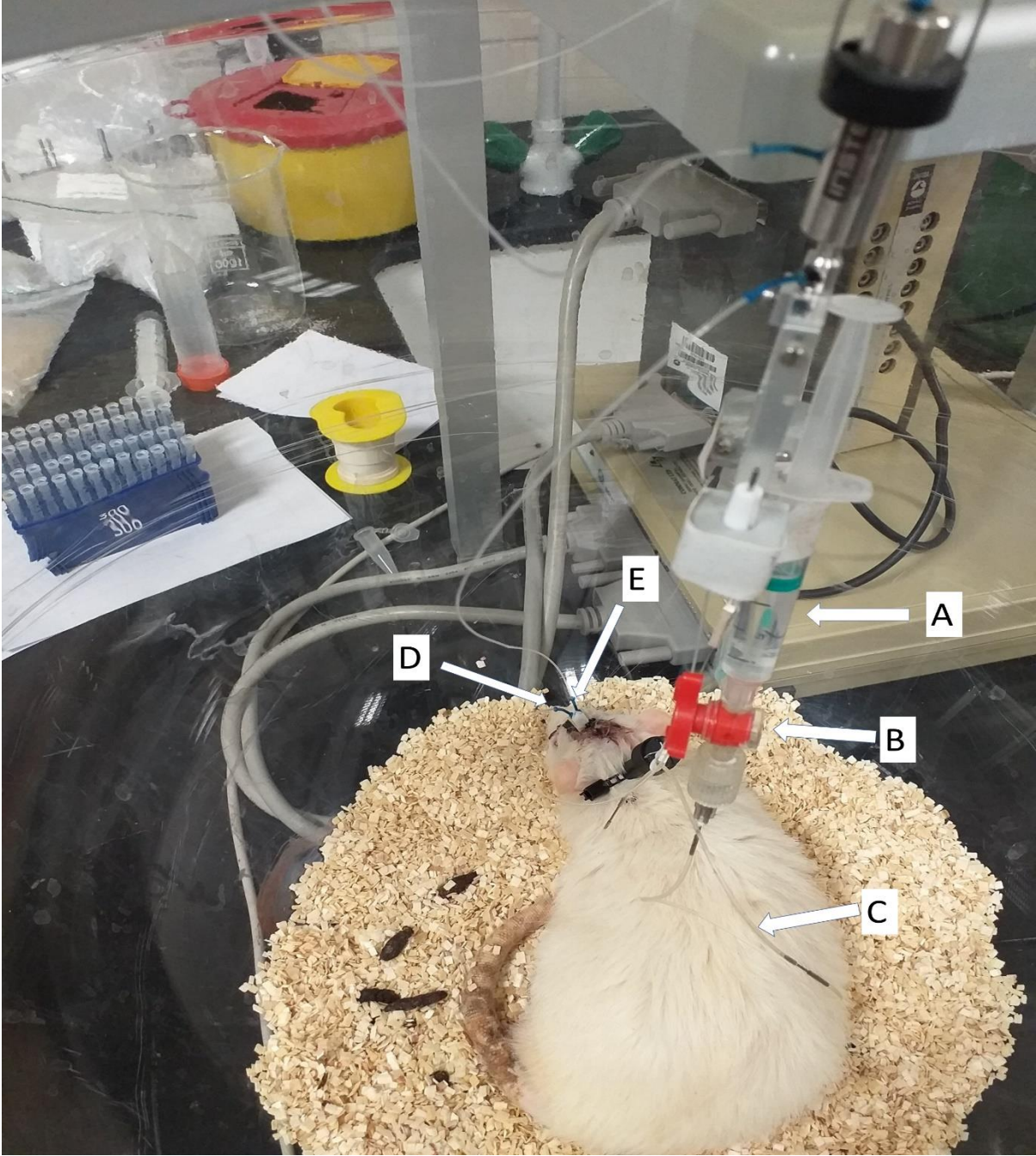
İşlem yapılacak deney hayvanı tekli kafese alınarak stres halinden çıkması beklenmiştir. Daha sonra tartımı yapılan her bir deney hayvanı için mevcut kiloya göre 100 mg/kg olacak şekilde ketamin çözeltisi ve 5 mg/kg olacak şekilde ksilazin çözeltisi intraperitonel olarak enjekte edilmiştir. Anestezi derinliği ayak çekme refleksi ile kontrol edilmiştir. Anesteziye giren sıçanlar için deney prosedürü takip edilmiştir.

3.4.3. Unilateral karotis arter kateterizasyonu

Ketamin-ksilazin anestezisi altına alınan sıçanlar boyun ön yüzden median insizyonla açılarak sağ karotis arteri görünür hale getirilmiş ve PE 50 kateter kullanılarak kateterize edilmiş, kateterin ucu sıkıca kapalı içi anti-koagülanlanmış bir şekilde ense derisinden çıkartılmıştır. Kateterizasyon için açılan doku kapatılıp deri sütüre edilmiştir. Sütür hattına antibiyotik merhem uygulanarak mikrodializ probunun yerleştirilmesi işlemine geçilmiştir.

3.4.4. Mikrodializ probunun yerleştirilmesi

Anestezi altında olan sıçanlar vücut sıcaklığını koruyucu pede sahip sterotaksik tablaya yerleştirilmiştir. Paxinos-Watson sıçan beyin atlasına göre lokalizasyonu belirlenen kafatasında iki adet ankor vida deliği ve bir adet kılavuz kanül deliği açılmış ve bu deliğe kılavuz kanül yerleştirilerek akışkan akrilik dental dolgu ile sabitlenmiştir. Daha sonra bu kanül yardımı ile sol lateral ventriküle giriş sağlanmıştır (Koordinatlar: Lambda 8,2; Bregma -0,8; Lateral 1,6; Derinlik: 5,4; Paxinos-Watson sıçan beyin atlası; Figür 21). Kafa derisi sütüre edilip antibiyotik merhem uygulanmış ve hayvanlar kateter ve prob kanüllerinin düğümlenmesini ya da katlanmasını engelleyecek özel şaftlı awake mikrodializ sistem ünitesine yerleştirilmiş, kılavuz kanül çıkartılarak yerine mikrodializ probu yerleştirilip hayvanların anesteziden çıkması beklenmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Karotis arter kateterizasyonu ve mikrodiyaliz probu yerleştirme işlemi yapılmış hayvanın anestezi altındaki görüntüsü: A; Asılı pozisyonda heparin (100 I.U./kg) içeren enjektör, B; Kateter vanası; C: Kateter, D; Perfüzyon sıvısını içeren mikrodiyaliz tüpünün kanüle giriş yaptığı kısım (inlet); E: Toplanan örnekleri içeren mikrodiyaliz tüpünün kanülü terkettiği kısım (outlet).

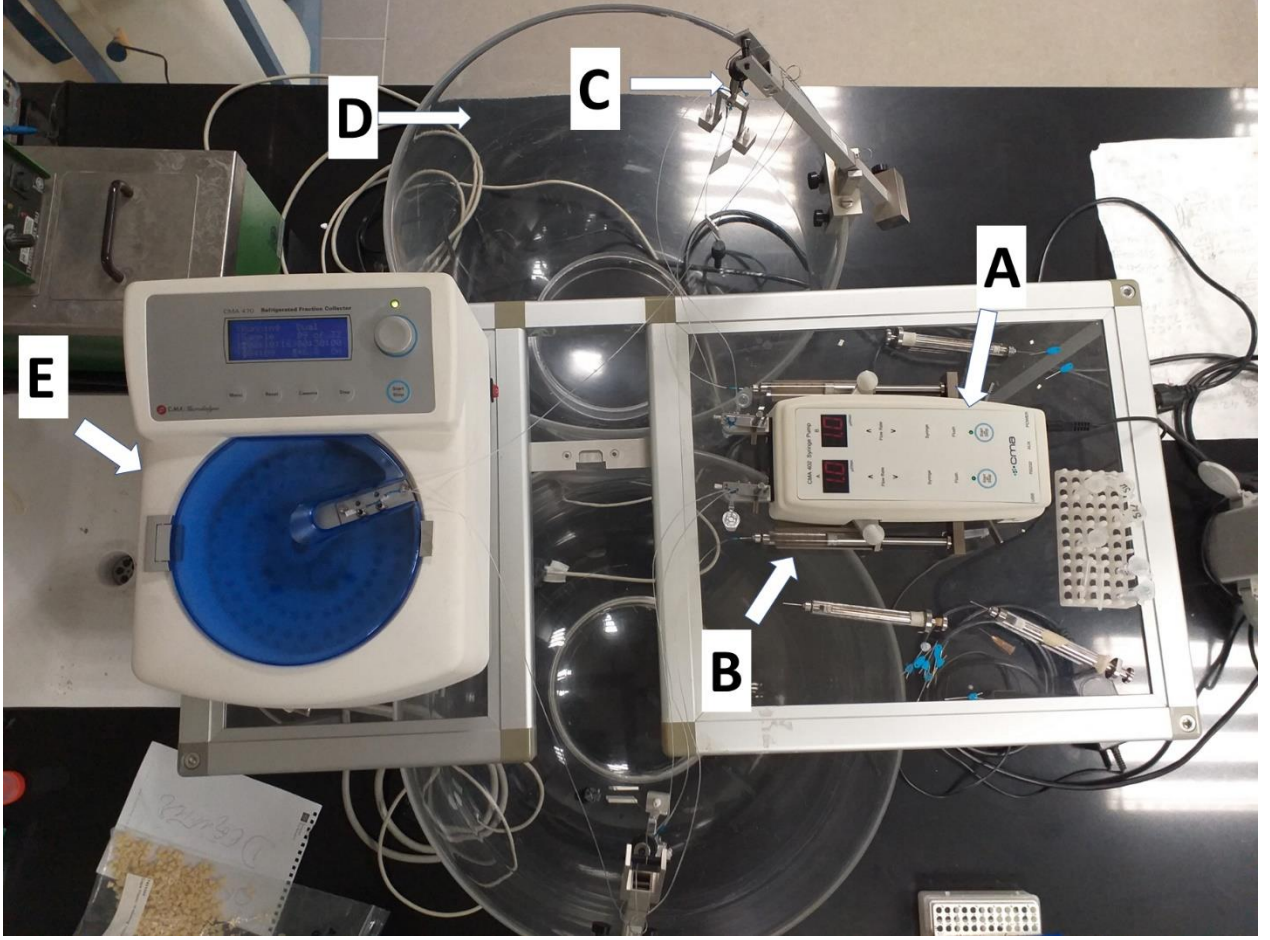
3.5. Uygulanacak Maddelerin Enjeksiyonu

3.5.1. Enjektelerde edilecek maddenin hazırlanması

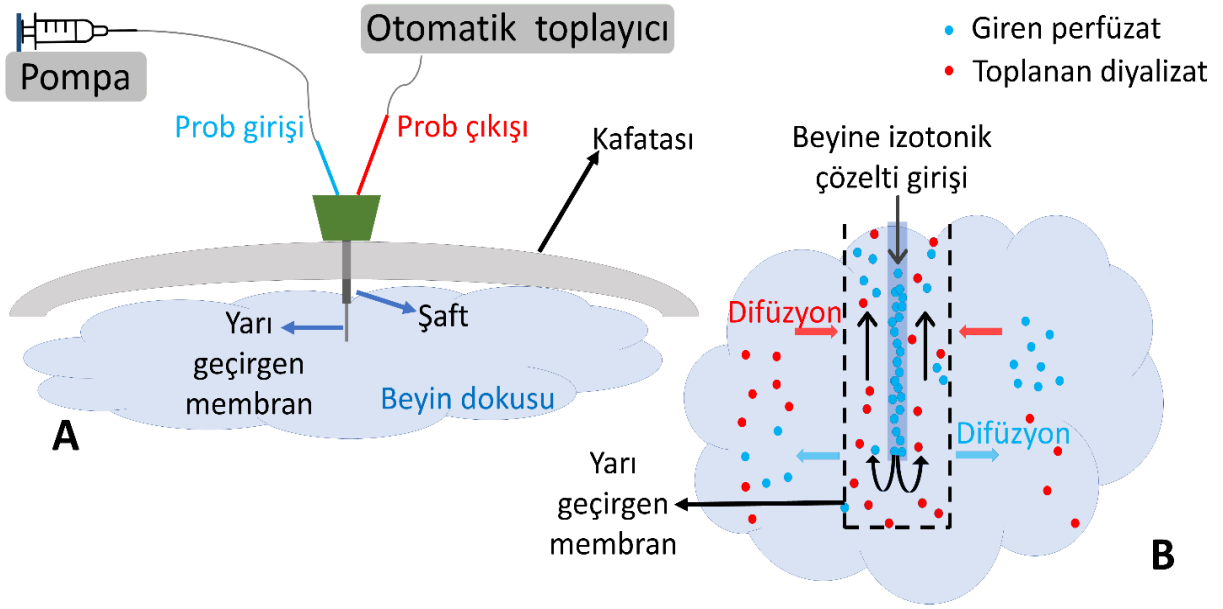
Enjektelerde edilecek madde olan 7,8-DHF ve 4'-DMA-7,8-DHF çözücüsü olarak dimetil sülfoksit (DMSO) kullanılmıştır (25 mg/ml). DMSO ile çözülen maddeler daha sonra 1:10 oranında serum fizyolojik ile seyreltilmiştir.

3.5.2. Enjeksiyonun yapılması ve örneklerin toplanması

Kateterizasyon ve prob yerleştirilmesi ardından deney hayvanı awake sistem içerisine alınmış ve anesteziden çıkması beklenmiştir (En az 8 saat). Anesteziden çıkan hayvandan deney prosedürü kapsamında sırasıyla şu işlemler uygulanmıştır: Enjeksiyon yapılmadan önce 0,3cc ilk kan örneği toplanmıştır. İlk örneğin alınmasını takiben analizi yapılacak madde olan 7,8-DHF'nin 5m/kg olacak şekilde i.p. enjeksiyonu yapılmıştır. Enjeksiyonu takiben sonraki örnekler için 15 dk., 30 dk., 60dk. ve daha sonrasında birer saat arayla örnek toplama işlemleri yapılmıştır. Daha sonra kateter tekrar awake sistemde hayvanın ve sistemin güvencesi açısından uygun bir pozisyonda asılı konumda tutulmuştur. Alınan her bir örnek 6000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda 100 mikrolitre süpernatant yeni bir ependorfa aktarılıp üzerine 1:2 oranında soğukta (+4°C) muhafaza edilmiş asetonitril eklenerek protein presipitasyonu sağlanması için tekrar 6000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda tekrar süpernatant kısımdan 100 mikrolitre alınarak analiz gününe kadar muhafazası sağlanmak üzere -80 santigrat derece soğutucuya konulmuştur. BOS örnekleri ise CMA Marka mikrodializ ünitesi ve soğutuculu otomatik toplayıcı ile her yarım saatte bir otomatik olarak toplanmış (Şekil 3.2 ve Şekil 3.3) ve -80 santigrat derecede analiz gününe kadar muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.2 Mikrodializ sistem ünitesi: A: Akış hızı ve hacmi ayarlanabilir otomatik şırınga pompası; B: Perfüzyon tampon çözeltisini içeren şırınga; C: Sıçanın hareketlerini kısıtlamamak için kullanılan ve sıçanın hareketi esnasında prob kanüllerinin düğümlenmesini ya da sıçana dolanmasını önleyen aparat (swivel); D: Sıçanın serbestçe dolaşabileceği büyük plastik kase; E: Soğutuculu otomatik toplayıcı.



Şekil 3.3 Mikrodializ sistem ünitesinin ve probun beyne yerleştirilmesinin sematik gösterimi: Kılavuz kanül ve probun beyin dokusuna yerleştirilmesi (A) ve beyin dokusundaki maddelerin difüzyon kuvveti yardımıyla sisteme girişi (B). Kafatasının delinmesiyle beyin dokusuna kanül yardımıyla yerleştirilen probdan beyin dokusuna, doku ile izotonik tampon çözeltinin girişi sağlanır ve bu tampon çözelti membran boyunca dolaşır. Bu esnada membran porlarının büyüklüğüne bağlı olarak farklı moleküllerin difüzyonu ile tampon çözeltiye geçiş sağlanır, daha sonra elde edilen diyalizat, probun outlet kısmından sistemi terkederek otomatik toplayıcı yardımıyla toplanır.

3.6. Örneklerin Analizi

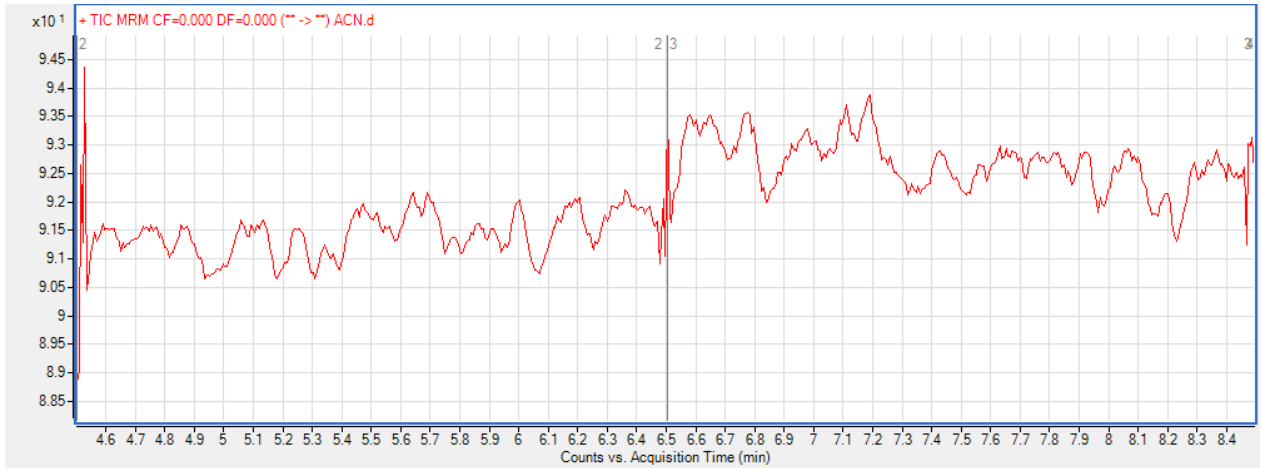
3.6.1. Sıvı kromatografisi

7,8-DHF ve 4'-DMA-7,8-DHF maddelerinin belirlenebilmesi için sıvı kromatografisi yöntemi kullanılmıştır. Bu maddelerin ayrışması ve kütle spektrometrisinde belirlenebilmesi için ters faz sıvı kromatografisi tekniği kullanılmış ve polar bir hareketli faz ile apolar bir durağan faz belirlenmiştir. Hareketli faz için asetonitril, su ve %0,1'lik formik asit, durağan faz için ise C18

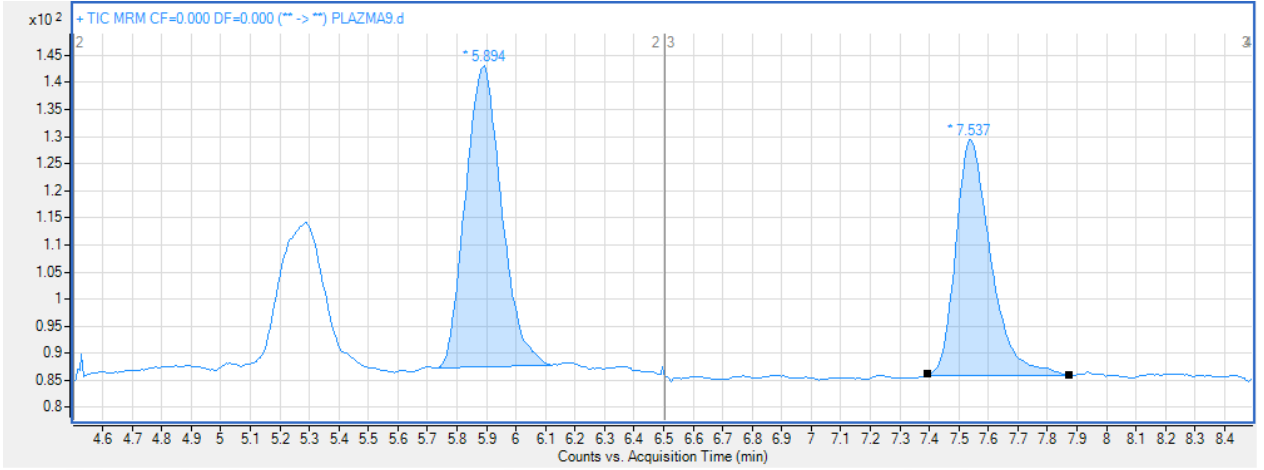
kaplı silika kolon kullanılmıştır ve hareketli faz için gradiyent elüsyon uygulanmıştır. 7,8-DHF ve 4'-DMA-7,8-DHF maddelerinin toplanan örnekler içerisinde belirlenebilmesi için ayrı ayrı yöntem oluşturma ve plazma kalibrasyonu işlemleri yapılmıştır (Şekil 3.4), durağan fazdan 7,8-DHF molekülünün ayrılma süresi 5.89 dakika, 4'-DMA-7,8-DHF molekülünün ayrılma süresinin ise 7.53 dakika olduğu görülmüştür (Şekil 3.5). Uygun analitik yöntem oluşturulduktan sonra her bir molekül için muhafaza edilen örnekler sırasıyla viellere aktarılmıştır. Daha sonra vieller sıvı kromatografi (LC) cihazına numune sırasına göre dizilerek tayin işlemine geçilmiştir. Durağan fazda birbirinden hareketli faz yardımıyla ayrılan maddeler moleküler ağırlıklarının belirlenebilmesi ve miktar tayini yapılabilmesi için kütle spektrometri cihazına iletilmiştir.

3.6.2. Kütle spektrometrisi (MS)

Durağan faz içerisinde hareketli faz yardımı ile ayrılan moleküller ince kapiller yardımı ile MS cihazına aktarılarak maddelerin varlığı ve miktarı ölçülmüştür. Kütle spektrometrisinde molekülleri parçalamak için uygulanan enerji 7,8-DHF için 39 volt, 4'-DMA-7,8-DHF için ise 43 voltur.

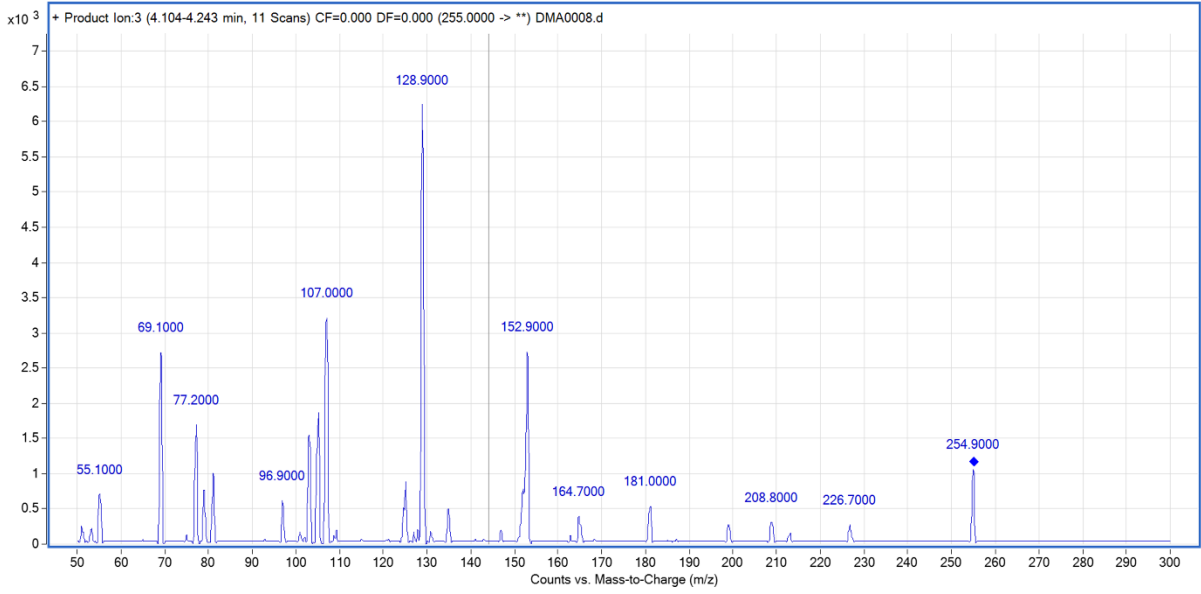


Şekil 3.4 Kalibrasyon için kullanılan plazmalara ait kromatogram.

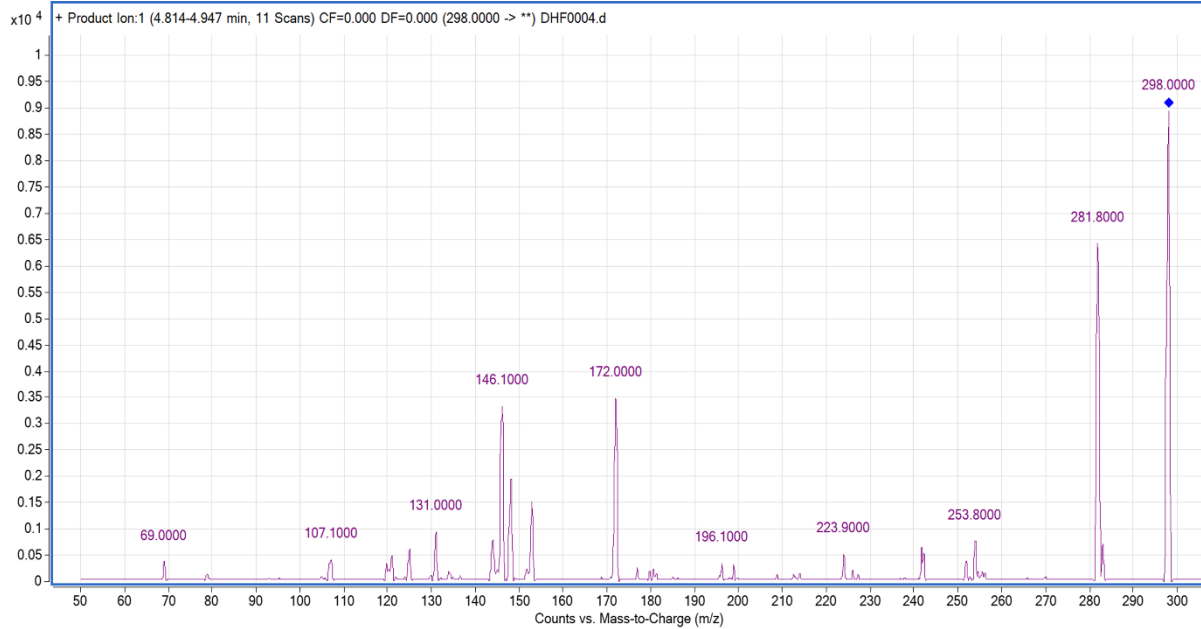


Şekil 3.5 1 ppb 7,8-DHF (solda) ve 1 ppb 4'-DMA-7,8-DHF (sağda) için elde edilen standart kromatogramlar.

Kütle spektrometrisinde 7,8-DHF ve 4'-DMA-7,8-DHF için kütlele büyüklüğü belli eden kütle sinyalleri ve parçalanma sonucu oluşan ürünlerin moleküler büyüklüklerine karşılık gelen kütle sinyalleri şekil 3.6 ve 3.7'de gösterilmiştir. 7,8-DHF'nin fragmentasyon öncesi kütle sinyali 254.900 m/z, fragmentlerden elde edilen kütle sinyalleri ise sırasıyla 107.0 ve 128.0 m/z'dir (Şekil 3.6). 4'-DMA-7,8-DHF için, fragmentasyon öncesi moleküler büyüklüğüne karşılık gelen kütle sinyali 298.0 m/z, fragmentasyon sonrası fragmentlerden en çok elde edilen kütle sinyalleri ise 146.10 m/z ve 172.0 m/z'dir (Şekil 3.7).



Şekil 3.6 7,8-DHF'nin fragmentasyon öncesi ve sonrası elde edilen kütle spektrumları; fragmentasyon öncesi elde edilen spektrum 254,9; fragmentasyon sonrası en çok gözlenen fragmentlerin kütleli büyüklükleri ise 107,0 ve 128,9 (m/z)'dir.



Şekil 3.7 4'-DMA-7,8-DHF molekülünün fragmentasyon öncesi ve sonrası elde edilen kütle spektrumları; fragmentasyon öncesi elde edilen spektrum 298,0;

fragmentasyon sonrası gözlenen fragmentlerin kütleli büyüklükleri ise 146,0;
172,0 (m/z).

Bu tez çalışmasında belirtilmiş olan sıvı kromatografisi ve kütle spektrometrisi çalışmalarının tamamı Anadolu Üniversitesi Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (AÜBİBAM) yürütülmüştür.

3.7. İstatistiksel Değerlendirme

Farmakokinetik veriler, GraphPad prism 6.0 programıyla normal dağılım gösterip göstermediği değerlendirilmiş, sonrasında t-testi ile istatistiksel analizleri yapılmıştır; datalar ortalama (mean) \pm SEM (standart error mean) olarak verilmiş, $p < 0.05$ anlamlı farklılık olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Teorik Kimyasal Bulgular

Kimyasal hesaplamalar sonucu 7,8-DHF molekülünün serbest enerjisinin -878.4 Hartree (Hartree bir atom ya da molekülün en düşük enerji durumundaki bağlanma enerjisinin iki katına eşit bir fizik sabitidir) olduğu görülmüştür (Tablo 4.1). Bu molekülün en yüksek dolu moleküler orbital (HOMO, the highest occupied molecular orbital) değerine bakıldığında iyonizasyon enerjisinin yüksek, yani elektron vermeye yatkın olduğu görülmektedir. 4'-DMA-7,8-DHF molekülünün ise serbest enerji değeri -1012.3 olarak belirlenmiş ve HOMO ile en düşük dolu olmayan moleküler orbital değerleri (LUMO, the lowest un-occupied molecular orbital) (0.12947) aralığına bakıldığında; 7,8-DHF molekülüne göre daha düşük ve daha kararsız olduğu görülmektedir. Bu sonuçlara göre 4'-DMA-7,8-DHF molekülünün, 7,8-DHF molekülüne göre reaksiyon vermeye daha yatkın olduğu söylenebilir. Her iki molekülün dipol momentleri karşılaştırıldığında 4'-DMA-7,8-DHF molekülünün daha büyük dipol momente sahip olduğu, 7,8-DHF molekülünün ise 4'-DMA-7,8-DHF molekülüne göre daha düşük dipol momente sahip olduğu görülmektedir. Bu değerler her iki molekülün polar çözücülerdeki çözünürlüklerinin oldukça iyi olduğu hakkında fikir vermektedir. HOMO ve LUMO değerleri ile HOMO-LUMO enerji değerleri hesaplanmış, dar HOMO-LUMO aralığı her iki molekülün de kararsız ve reaksiyon vermeye yatkın olduğunu göstermiştir (Gökalp, 2018). Aktivite kıyaslamaları yapıldığında büyükten küçüğe 4'-DMA-7,8-DHF, 7,8-DHF, 6-hidroksidopamin olarak sıralanabilir. Burada 6-hidroksidopamin in diğerlerine göre oldukça kararlı olduğu görülmektedir (Tablo 4.1).

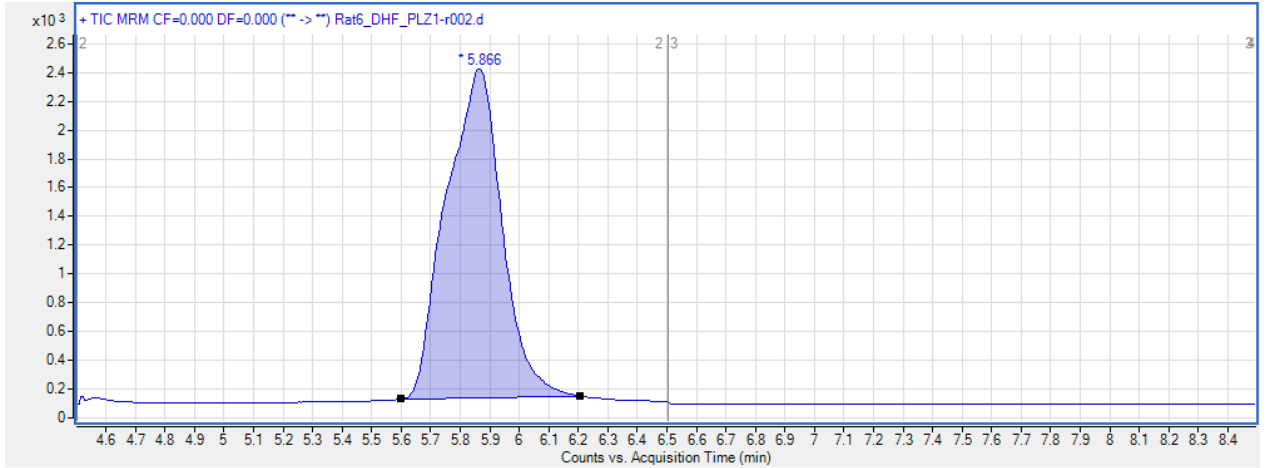
Tablo 4.1 7,8-DHF ve 4'-DMA moleküllerinin kimyasal özellikleri: Serbest enerji birimi Hartree, HOMO,LUMO ve HOMO-LUMO değerlerinin birimleri ise eV'dur (eV: Bir voltluk elektrik potansiyel farkında hareket eden tek bir elektronun yükü ile elde edilen enerji miktarıdır). Bu tabloda 7,8-DHF molekülünün ve 4'-DMA-7,8-DHF molekülünün serbest enerji değerleri karşılaştırılmış ve her iki molekülün kararsız ve reaksiyon vermeye yatkın olduğu, ancak 4'-DMA-7,8-DHF molekülünün 7,8-DHF'e göre daha kararsız olduğunu göstermektedir.

DFT	6-hidroksidopamin	7,8-dihidroksiflavon	4'-dimetilamino-7,8-dihidroksiflavon
Serbest enerji (Birimi Hartree)	-591.94413879	-878.406485	-1012.324563
Dipol moment (Debye)	3.6050	8.4463	13.6491
HOMO (Birimi eV)	-0.20989	-0.23664	-0.20386
LUMO (Birimi eV)	-0.01735	-0.08246	-0.07439
HOMO-LUMO	-0.19254	-0.15418	-0.12947

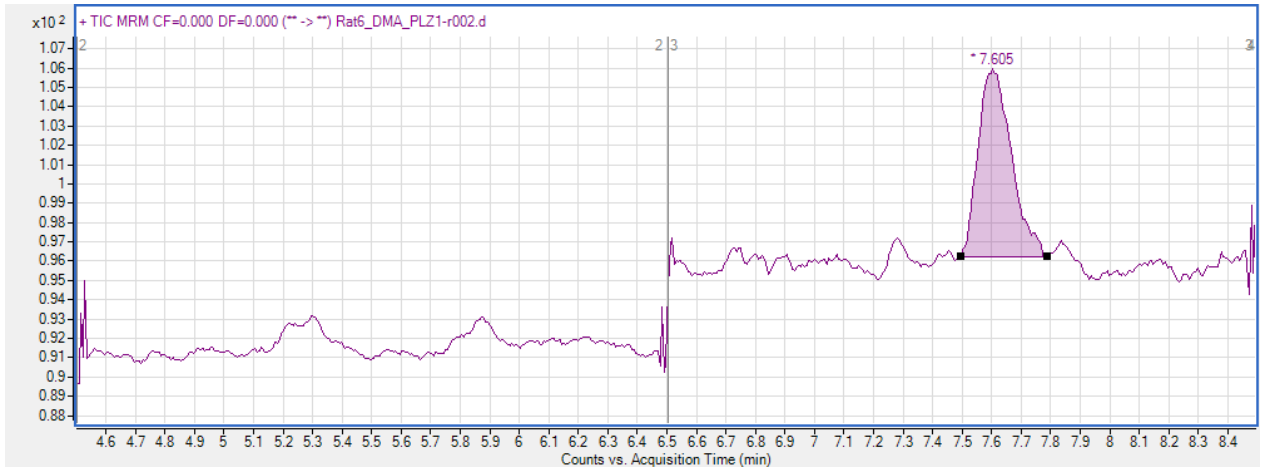
4.2. Analitik bulgular

Standartlar ve blank kromatogramları doğrultusunda hareketli faz yardımı ile ayrılan bileşiklerin durağan faz içerisindeki hareketi ve çıkış süresi şekil 4.1 ve

Şekil 4.2 de gösterilmiştir. 7,8-DHF molekülünün polar hareketli faz aracılığıyla apolar durağan fazı terketme süresi 5.86 dakika, 4'-DMA-7,8-DHF molekülünün durağan fazı terketme süresi ise 7.60 dakikadır. Bu sonuçlara göre polar hareketli faz aracılığı ile apolar durağan fazdan ayrılma süreleri 4'-DMA-7,8-DHF molekülünün, 7,8-DHF molekülüne kıyasla daha apolar olduğu görülmüştür.



Şekil 4.1 Sıvı kromatografisinde plazma örneklerinin analizi ile elde edilen 7,8-DHF molekülüne ait kromatogram: Bu kromatogram 7,8-DHF molekülünün hareketli polar çözücü içerisinde durağan fazdan 5.86 dakikada ayrıldığını göstermektedir.



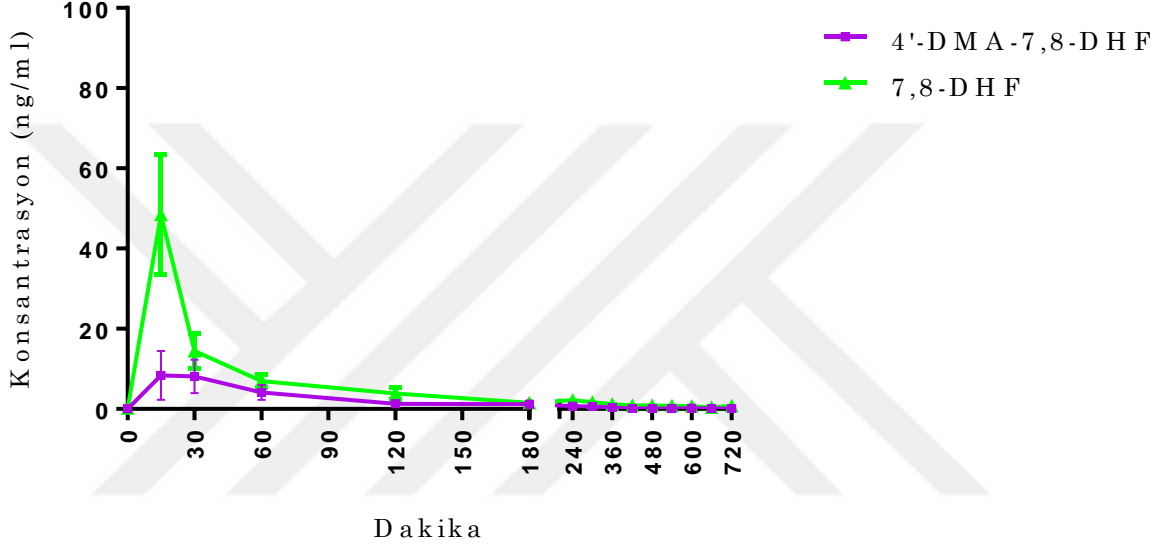
Şekil 4.2 Sıvı kromatografisinde, plazma örneklerinin analizi ile elde 4'-DMA-7,8-DHF molekülüne ait kromatogram: Bu kromatogram 4'-DMA-7,8-DHF

molekölünün hareketli polar çözücü içerisinde durağan fazdan 7.60 dakikada ayrıldığını göstermektedir.

4.3. Farmakokinetik Bulgular

7,8-DHF ve 4'-DMA-7,8-DHF moleküllerinin plazma konsantrasyonları zamana bağlı olarak birbirleri ile karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmaya ve teorik sonuçlardan elde edilen bulgulara göre daha kararlı olduğu görülen 7,8-DHF molekölünün hızla kana geçtiğini ve ilk 15 dakika içerisinde ortalama 50 ng/ml (nanogram/mililitre) konsantrasyonunda seyrettiğini, sonraki 15 dakikaya ulaşana kadar konsantrasyonunda büyük bir düşüş sergileyerek ortalama yaklaşık 15 ng/ml konsantrasyonuna gerilediği görülmektedir. İkinci saate kadar her yarım saatte ortalama %50 civarı konsantrasyon kaybına uğrayarak ikinci saatte yaklaşık 2 ng/ml konsantrasyonuna düşmektedir. 7,8-DHF molekülü 12'nci saate kadar düşük dozlarda varlığını sürdürmüştür. Bu çalışmada plazma örnekleri için ölçülebilir en düşük konsantrasyon 0,1 ng/ml olduğundan molekölün çeşitli zaman aralıklarındaki varlığı yüksek hassasiyette belirlenmiştir. 4'-DMA-7,8-DHF molekülü sistemik uygulamada 7,8-DHF kadar verimli bir farmakokinetik profil gösterememiştir. Başlangıç olarak 15'inci dakikada plazma yaklaşık ortalaması 8,4 ng/ml olarak belirlenen 4'-DMA-7,8-DHF molekölünün sonraki 15 dakika içerisinde konsantrasyonunun çok ciddi bir şekilde düştüğü ve 30'uncu dakikada ortalama 8 ng/ml'nin altına gerilediği görülmüştür. Sonraki yarım saatlik süre zarfında konsantrasyonları stabil ilerleyen 4'-DMA-7,8-DHF molekülü ikinci saate kadar giderek azalma göstererek yaklaşık 0,7 ng/ml konsantrasyonuna düşmüş, ikinci saatten sonra ise yavaş yavaş elimine olmuştur. Beyin mikrodializatlarının değerlendirilmesinde plazma örneklerine benzer bir metodoloji uygulanmış ancak herhangi bir madde varlığı tespit edilememiştir. Ölçüm düzeyi 0,1 ng/ml gibi yüksek hassasiyette ölçülmüş olsa da ne 7,8-DHF ne de 4'-DMA-7,8-DHF

molekülünün beyin mikrodializatlarında varlığı belirlenememiştir. Sonuç olarak teorik bulgularda geniş HOMO-LUMO aralığına sahip olan 7,8-DHF molekülünün, plazma konsantrasyonlarının, 4'-DMA-7,8-DHF molekülüne göre aynı zaman dilimlerinde daha fazla konsantrasyonlarda ve daha uzun sürelerde varlığını koruduğu görülmüştür ($p<0.01$) (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 LC/MS metoduyla farklı zaman aralıklarında toplanan plazma sıvılarında, miktarları belirlenen 7,8-DHF ve 4'-DMA-7,8-DHF moleküllerinin zamana bağlı oluşturduğu karşılaştırmalı farmakokinetik profil: Bu grafikte zaman aralıkları yatay x ekseninde dakika türünden belirtilmiştir İlk 2 saat onbeşer dakikalık zaman aralıklarına bölünmüş, sonraki 10 saat birer saatlik zaman aralıklarına bölünmüştür. Madde konsantrasyonları ise dikey Y ekseninde nanogram/mililitre cinsinden belirtilmiştir. Bu grafiğe göre 7,8-DHF molekülü kanda ilk 15 dakikada maksimum konsantrasyona ulaşmakta (48 ng/ml) ve daha sonraki 15 dakika içerisinde konsantrasyonu hızla düşmektedir (14 ng/ml). İkinci saatteki konsantrasyonu yaklaşık 2 ng/ml olarak belirlenen 7,8-DHF, 720'nci dakikaya kadar plazmada varlığını düşük konsantrasyonlarda göstermeye devam ettirmiştir. 720'nci dakikada belirlenen 7,8-DHF konsantrasyonu ise 0,8

ng/ml'dir. Aynı şekilde 4'-DMA-7,8-DHF'nin de kandaki konsantrasyonu ilk 15 dakika içerisinde 8 ng/ml değerine yükselip sonraki 15 dakika boyunca 8 ng/ml seviyesinde seyretmiş daha sonra ise hızla elimine olmuştur. 4'-DMA-7,8-DHF'nin ikinci saatteki konsantrasyonu 0,7 ng/ml, 720'nci dakikadaki konsantrasyonu ise 0,13 ng/ml'dir ($p<0.01$).

7,8-DHF ve 4'-DMA-7,8-DHF moleküllerinin intraperitonel olarak 5 mg/kg dozda uygulanması sonucu elde edilen bulgulara göre, 7,8-DHF için en yüksek konsantrasyona ulaşma süresi (Tmax) 15 dakika, en yüksek konsantrasyonu (Cmax) ise 48 ng/ml olarak belirlenmiştir (Tablo 4.2). Enjeksiyonu takiben ilk yarım saat içerisindeki konsantrasyon 14 ng/ml değerine kadar gerilemiş, sonraki her saat azalmaya devam etmiştir. 4'-DMA-7,8-DHF için Tmax süresi yine 15 dakika, Cmax değeri ise 8 ng/ml olarak belirlenmiştir (Tablo 4.2).

Tablo 4.2 Sıçanlara enjekte edilen 7,8-DHF ve 4'-DMA-7,8-DHF moleküllerinin sıçan plazmalarında sergilediği in vivo farmakokinetik parametrelerinin karşılaştırılması. İntraperitonel olarak 5mg/kg dozlarda uygulanan her iki molekül için plazmada maksimum konsantrasyona erişme süresi (Tmax) 15 dakika olarak belirlenmiştir. Tmax süresinde eriştiği maksimum konsantrasyon değerleri (Cmax) ise 7,8-DHF molekülü için 48,43 ng/ml, 4'-DMA-7,8-DHF molekülü için 8,40 ng/ml olarak belirlenmiştir. Bu veriler 7,8-DHF'nin 4'-DMA-7,8-DHF'e göre plazmada daha fazla miktarda bulunduğunu göstermektedir. AUC: konsantrasyon-zaman eğrisi altında kalan alan (Area under curve, AUC).

Bileşik adı	Doz	Cmax	Tmax	AUC (min*ng/ml)
7,8-DHF	5 mg/kg	48,43	15	2241
4'-DMA-7,8-DHF	5 mg/kg	8,40	15	797,4

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında 7,8-DHF ve 7,8-DHF'e göre daha potent olduğu düşünülen 4'-DMA-7,8-DHF'nin, Gaussian paket programı kullanılarak kimyasal özellikleri belirlenmiş, ve her iki molekülün sıçan kan ve beyin omurilik sıvılarındaki farmakokinetiği araştırılmıştır. Elde edilen kimyasal özellikler ile in vivo farmakokinetik deney sonuçlarından gelen veriler değerlendirilerek bahsi geçen moleküllerin tedavi edici çalışmalar için uygunluğu ele alınmıştır. Her iki molekül için literatürde kimyasal özelliklerinin, in vivo farmakokinetik özellikleriyle birlikte ele alınarak karşılaştırıldığı bizim bilgilerimiz dahilinde herhangi bir çalışmaya ulaşamadığından dolayı bu çalışma kendi konusunda bir ilki ele almıştır.

Günümüze kadar BDNF eksikliği veya TrkB ifadesinin azalması sonucu ortaya çıkan çeşitli patolojilerinin tedavisine yönelik; rekombinant BDNF uygulaması, BDNF gen replasmanı ya da TrkB ifadesinin replasmanı gibi yöntemlere başvurulmuştur (Maynard vd., 2016; Montroull, Danelon, Cragolini, & Mascó, 2019b). Ancak yüksek genetik düzenlemeler, kan beyin bariyeri engeli ve yüksek konsantrasyonlarda eksojen peptid uygulamalarının toksik etki göstermesinden dolayı istenilen sonuçlar elde edilememiştir (Dittrich vd., 1996). Buna karşılık TrkB reseptörünü BDNF gibi aktive edebilen 7,8-DHF molekülünün kan beyin bariyeri engelini geçebilmesi ve yüksek dozlarda toksik etki göstermemesi, BDNF uygulamalarına alternatif olmuş ve daha verimli sonuçların eldesini sağlamıştır.

BDNF'nin TrkB reseptörüne bağladığı kısım D5 bölgesidir (D5-domain) ve BDNF'nin tanınıp aktivite gösterebilmesi için esas bölgeyi teşkil etmektedir. Bu bölgede bağlanma cebini oluşturan aminoasitlerin çoğunluğu polar yapıdadır ve 7,8-DHF bu bağlanma cebine girerek TrkB aktivasyonu sağlamaktadır. Teorik araştırma sonuçlarımız 7,8-DHF ve 4'-DMA-7,8-DHF molekülünün polaritesinin yüksek olduğunu, ayrıca kararsızlıkları dolayısıyla bağ yapmaya eğilimli

olduklarını gösterdiğinden dolayı, her iki molekülün de D5 domaininde yüksek bir bağ etkileşimi gösterebileceklerini düşündürmektedir. (Chitranshi, Gupta, Kumar, & Graham, 2015). Ayrıca 7,8-DHF molekülü ile TrkB reseptörünün bağlanma cebi arasındaki etkileşimin, esas olarak flavonun A halkası üzerinden gerçekleştiği bilinmektedir. Bu etkileşim moleküler bağlama çalışmaları için üretilen tüm 7-8,DHF türevleri için korunmuş olup pi-alkil, pi-sigma, pi-kasyon ve hidrojen bağı etkileşimlerine aracılık etmektedir. Bu çalışmadan elde edilen teorik kimyasal sonuçlarımız da her iki molekülün enerji seviyelerini ve kararsızlıklarını ortaya koymuş, böylece reseptör-ligand etkileşimlerini verimli bir şekilde sağlayabileceklerini göstermiştir (Chitranshi vd., 2015).

7,8-DHF'nin de dahil olduğu flavonların A halkası üzerinde yapılan fonksiyonel grup modifikasyonlarıyla, 7,8-DHF'den daha yüksek bağlanma skorlarına sahip moleküllerin varlığı gösterilmiştir. Ancak bilgisayar tabanlı elde edilen sonuçlar tek başına yeterli olmadığından, elde edilen teorik sonuçların in vitro ve in vivo özelliklerinin karşılaştırılması gerekmektedir (Benfenati, Gini, Hoffmann, & Luttik, 2010). Gerçekten de 7,8-DHF'nin farklı türevleri in vitro çalışmalarda TrkB reseptörünü, 7,8-DHF'e göre daha güçlü aktive etmiştir. Ancak elde ettiğimiz analitik bulgular 7,8-DHF türevlerinden biri olan 4'-DMA-7,8-DHF'nin sistemik uygulamasında daha düşük farmakokinetik profil sergilediğini göstermiştir. Bu molekülün teorik kimyasal özelliği kararsız bir yapı olarak görüldüğünden, 7,8-DHF'e göre daha potent olabileceğini düşündürse de sistemik uygulama sonrası elde edilen plazmaların farmakokinetik bulguları bu düşüncenin aksini göstermiştir (Liu vd., 2012).

7,8-DHF ve 4'-DMA-7,8-DHF molekülünün kimyasal yapısına bakıldığında, her ikisinin yapısında da TrkB etkileşimi için elzem olduğu düşünülen katekol grubu olduğu görülmektedir. Katekol grubunun katekol-O-metil transferaz (COMT) ile metillenmesiyle 7,8-DHF-TrkB etkileşiminin daha güçlü olduğu düşünülmektedir. COMT inhibitörlerinin kullanımı ise bu olumlu etkiyi azaltmaktadır (Liu vd., 2013a). Ancak literatür bilgileri, katekol grubu içeren

moleküllerin yarılanma ömürlerinin çok düşük olduğunu, dolayısıyla konsantrasyonlarının hızla düştüğünü bildirmektedir (LeWitt, 2004). Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara göre plazma 7,8-DHF miktarı 15'inci dakikada 48 ng/ml konsantrasyonlarında iken sonraki 15 dakika içerisinde yaklaşık 2/3oranında düşerek 14 ng/ml konsantrasyonlarına gerilemiştir. Plazma 4'-DMA-7,8-DHF miktarı ise ilk 15'inci dakikada 8,40 ng/ml olarak hesaplanmış, ikinci 15 dakikadaki konsantrasyonu yine aynı miktarlarda görülmüştür. Dolayısıyla her iki molekülün plazma seviyelerinin ilk 60 dakika arasında görülen ciddi azalmaların; katekol grubu içeren bileşiklerin COMT kaynaklı düşük yarılanma ömrüne sahip olabilmeleri bilgisiyle tutarlılık göstermektedir.

Liu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, 7,8-DHF'nin oral gavaj yoluyla verilmesinden sonra hem 7,8-DHF'nin hem de metillenmiş metabolitleri olan 7-metoksi-8-hidroksiflavon ve 7-hidroksi-8-metoksiflavon'un varlığı plazmada tespit edilmiştir. Bu araştırma bulgularına göre, 7,8-DHF plazmada 10'ncü dakikada Cmax değerine (70 ng/ml) ulaşmış, 7-metoksi-8-hidroksi metabolitinin ise 3'üncü dakikada varlığı tespit edilse de Cmax değerine (1ng/ml) 10'uncü dakikada ulaştığı bildirilmiştir. Aynı çalışmanın beyin örneklerinden elde edilen bulgularına bakılacak olursa; 7,8-DHF'nin beyindeki varlığı 10'uncü dakikada tespit edilmiş ve her 1 gramlık beyin homojenatında yaklaşık 52 ng olduğu bildirilmiştir (52 ng/g). Metillenmiş metabolitlerinin ise beyin örnekleri için ölçülebilir limitin altında kaldığı bildirilmiştir (Liu vd., 2013a). Bizim çalışmamızda ise 5 mg/kg i.p. 7,8-DHF uygulaması sonucu, plazma Cmax değeri 48 ng/ml olarak ölçülmüş; beyin omurilik sıvısı mikrodializatlarında ise 0,1 ng/ml hassasiyette ölçümüyle varlığı tespit edilememiştir. Bunun sebebi Liu ve arkadaşlarının çalışmasında varlığı 3'üncü dakikada tespit edilmiş olan 7-metoksi-8-hidroksi metaboliti ile ilgili olabileceğini düşündürmektedir. Bu bulgu, 7,8-DHF'nin çok hızlı bir şekilde metabolize edildiğini göstermektedir, böylece; hem plazma konsantrasyonlarının hızla düşmesi hem de BOS örneklerinde 7,8-DHF varlığının tespit edilememesi bu metabolizasyon süreci ile ilişkili olabilir. Ayrıca beyin homojenatlarında 7,8-DHF

ve metabolitlerinin varlığının belirlenebilmesi için terapötik dozun 10 katı konsantrasyonda uygulaması yapılmış (Liu vd., 2013a) olduğundan bu molekülün, düşük konsantrasyonlarda uygulandığında BOS mikrodializatlarında varlığının tespit edilemeyeceğine işaret etmektedir. İlaveten yukarıdaki bilgilere bağlı olarak plazma konsantrasyonlarını ve dolayısıyla BOS konsantrasyonlarını arttırmak amacıyla COMT inhibitörleri kullanılabilir. Böylece her iki molekülün BOS mikrodializatlarında tespiti daha da mümkün hale gelebilir.

Maymunlara, oral olarak 30mg/kg uygulaması yapılan, 7,8-DHF ve metabolitlerinin plazmadaki farmakokinetiklerinin araştırıldığı bir çalışmada, Cmax değerinin 800 ng/ml, Tmax değerinin ise 4 saat olduğu bildirmiştir (He vd., 2016). Ayrıca maymunlarda yapılan bir başka farmakokinetik çalışmada (30 mg/kg, oral), Tmax yine 4 saat olarak bildirilmiş, Cmax değerinin ise yaklaşık 1400 ng/ml olduğu bildirilmiştir (Sun vd., 2017). Bizim çalışmamızdan elde edilen bulgularda ise Wistar albino sıçanların plazmasında 7,8-DHF'nin Cmax değeri 48 ng/ml, Tmax değeri ise 15 dakika olduğu görülmüştür. Buna göre, 7,8-DHF molekülü için farklı türe ait hayvanlarda önemli derecede konsantrasyon farkının gözlenmesi, 7,8-DHF'nin metabolik reaksiyonlardan ne derece etkilenebildiğini göstermektedir.

Liu ve arkadaşlarının fareler üzerinde yapmış olduğu bir çalışmada 1 mg/kg kronik oral 4'-DMA-7,8-DHF uygulaması uygulaması fare hipokampusünde nörogenezi arttırmıştır (Liu vd., 2010). Bu bulgu 4'-DMA-7,8-DHF molekülünün merkezi sinir sisteminde TrkB fosforilasyonunu sağladığına işaret etmektedir (Liu vd., 2010). Ancak bizim çalışmamızdaki LC-MS/MS bulgularına göre, i.p. olarak 5 mg/kg uygulanan 4'-DMA-7,8-DHF molekülünün varlığı plazmada tespit edilebilmiş ancak BOS mikrodializatlarında 0,1 ng/ml hassasiyete rağmen tespit edilememiştir. Liu ve arkadaşları çalışmalarında 7,8-DHF molekülünün 4'-pozisyonuna metil grubunun eklenmesiyle, molekülün metabolizasyonunu hızlandırdığı yönünde bir önerme ifade etmişlerdir (Liu vd., 2013a). Bu önerme ve 4'-DMA-7,8-DHF'nin neden düşük bir farmakokinetik profil sergilediğine bir cevap

olabilir ancak hala 4'-DMA-7,8-DHF molekülünün nasıl nörojenezi teşvik ettiği sorusuna cevap verememektedir. Ancak bu etkiyi metabolitleri aracılığıyla gerçekleştirdiği önerilebilir.

7,8-DHF'nin verimli farmakokinetik profiline karşı 4'-DMA-7,8-DHF'nin plazma konsantrasyonunun neden 7,8-DHF kadar verimli olmadığına yönelik farklı bir açıklama daha olabilir. Bu durumun olası bir nedeni dar HOMO-LUMO aralığına sahip, yani daha kararsız olan 4'-DMA-7,8-DHF molekülünün serum albüminle daha fazla bağ yapma isteği içerisinde olması olabilir.

Sonuç olarak literatürde 7,8-DHF ve 4'-DMA-7,8-DHF molekülünün farmakokinetik profilini bildiren veriler ile bizim bulgularımız tutarlılık göstermektedir. Bu bilgilere göre 7,8-DHF ve 4'-DMA-7,8-DHF molekülü sistemik olarak uygulandığında hızla kana geçerek varlığını göstermektedir. 15 dakika gibi çok kısa bir sürede Cmax değerine ulaşan moleküllerin plazma konsantrasyonları hızla düşmektedir. Dolayısıyla her iki molekülün ilk geçiş etkisinden önemli derecede etkilendiğini görmekteyiz (Mehrotra, Gupta, Kovar, & Meibohm, 2007). Ayrıca analitik bulguların standart sapmalarının değişken olması, bu moleküllerin aynı türe ait hayvanlarda bile değişik hızlarda metabolize olduğunu düşündürmektedir. Bu yüzden molekülün doğru farmakokinetik profilini belirlemek için aynı hayvan üzerinden deneyin tamamlanması gerektiğini düşünmekteyiz. 7,8-DHF ve 4'-DMA-7,8-DHF için daha önce yapılan farmakokinetik çalışmada ilgili araştırmacı grup, her bir zaman dilimi için farklı fareleri kurban etmiş, dolayısıyla her fareden farklı zamanlardan madde izolasyonu yapmışlardır (Liu vd., 2013b). Bu tez çalışmasında ise hem plazma örnekleri için aynı sıçan kullanılmış hem de mikrodializ yöntemi ile BOS örnekleri yine aynı hayvandan toplanmıştır. Dolayısıyla her bir molekülün aynı hayvan üzerindeki zamana bağlı konsantrasyonları araştırılmıştır. Terapötik dozda uygulanan maddelerin tespiti beyin örneklerinde yüksek hassasiyete rağmen belirlenememiş olsa da, metabolik reaksiyonları çok iyi bilinmeyen bu moleküllerin plazma ve BOS farmakokinetiklerinin bizim çalışmamızdaki gibi aynı

hayvan üzerinde yapılması daha verimli bir yöntemdir. Kemirgenlerde ve maymunlarda yapılan çalışmalar birlikte göz önünde bulundurulduğunda, her iki molekülün kan ve BOS konsantrasyonlarında metabolik hızın; dolayısıyla hayvan türünün önemli olduğunu göstermektedir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak bu tez çalışmasında 7,8-DHF ve 4'-DMA-7,8-DHF moleküllerinin teorik kimyasal aktivelere ve in vivo farmakokinetik etkinliklerinin gösterilerek karşılaştırıldığı ilk çalışmadır. 4'-DMA-7,8-DHF molekülünü, 7,8-DHF molekülüne göre teorik kimyasal özellikler ve in vitro çalışmalarda daha yüksek aktivite gösterse de 7,8-DHF'den daha iyi bir farmakokinetik profil sergilemediği görülmüştür. Bundan dolayı 7,8-DHF'nin sistemik uygulamasının 4'-DMA-7,8-DHF'den daha verimli olabileceğini düşündürmüştür. Ayrıca farmakokinetik çalışmaları için molekülün teorik kimyasal özelliklerinin yanında fizikokimyasal yapısının da iyi bilinip sistemik uygulamalarda ne tür metabolik reaksiyonlardan geçeceği iyi analiz edilmeli ve bu molekülün metabolitleri de incelenmelidir. 7,8-DHF ve türevi olan 4'-DMA-7,8-DHF molekülü sistemik uygulandığında ilk geçiş etkisinden yüksek oranda etkilenmiştir. Ancak bu moleküllerin metabolize olması aktivasyon kaybına sebep olmamaktadır ve metillenmiş formları daha iyi aktivite göstermektedir. Buna karşılık metillenmiş 7,8-DHF ve 4'-DMA-7,8-DHF'nin metabolizma hızının daha yüksek olduğu da görülmüştür. Dolayısıyla metilasyonunun engellenmesi molekülün aktivitesini azalttığından dolayı, hastalıklarda kullanılan COMT gibi inhibitör moleküllerle uygulandığında aktivite kaybı gösterecek ve Parkinson hastalığı gibi bazı hastalıklarda sistemik uygulamasında yeterli terapötik etki göstermesine engel teşkil edecektir. Diğer yandan bu moleküllerin metillenmesinin engellenmesi ise plazmada daha uzun süre kalmasına aracılık edecek ve serbest radikalleri yakalayarak antioksidan özellik göstermesine yardımcı olacaktır. Ayrıca 7,8-DHF ve 4'-DMA-7,8-DHF'nin metillenmesinin engellenmesi, bu moleküllerin plazmadaki konsantrasyonlarının düşüşünü engelleyeceğinden, BOS mikrodializatlarında her iki molekülün varlığının tespit edilebilmesine yardımcı olabileceği de düşünülebilir. Bu yüzden bu moleküllerin türevlerinin ve metabolitlerinin, sistemik uygulamalarda tedavi edici dozlarının belirlenmesi ve

farmakokinetiklerinin iyi araştırılması, hastalık patolojilerine karşı daha geniş çerçevede kullanım alanı bulması için gereklidir.



KAYNAKLAR DİZİNİ

- Acheson, A., Conover, J. C., Fandl, J. P., DeChiara, T. M., Russell, M., Thadani, A., . . . Lindsay, R. M. (1995). A BDNF autocrine loop in adult sensory neurons prevents cell death. *Nature*, 374(6521), 450-453. doi:10.1038/374450a0
- Ai, M., Wang, J., Chen, J., Wang, W., Xu, X., Gan, Y., . . . Kuang, L. (2019). Plasma brain-derived neurotrophic factor (BDNF) concentration and the BDNF Val66Met polymorphism in suicide: a prospective study in patients with depressive disorder. *Pharmacogenomics and personalized medicine*, 12, 97-106. doi:10.2147/PGPM.S201187
- Allen, Shelley J., & Dawbarn, D. (2006). Clinical relevance of the neurotrophins and their receptors. *Clinical Science*, 110(2), 175-191. doi:10.1042/CS20050161
- Almeida, R. D., Manadas, B. J., Melo, C. V., Gomes, J. R., Mendes, C. S., Grãos, M. M., . . . Duarte, C. B. (2005). Neuroprotection by BDNF against glutamate-induced apoptotic cell death is mediated by ERK and PI3-kinase pathways. *Cell Death & Differentiation*, 12(10), 1329-1343. doi:10.1038/sj.cdd.4401662
- Andero, R., Daviu, N., Escorihuela, R. M., Nadal, R., & Armario, A. (2012). 7,8-dihydroxyflavone, a TrkB receptor agonist, blocks long-term spatial memory impairment caused by immobilization stress in rats. *Hippocampus*, 22(3), 399-408. doi:10.1002/hipo.20906
- Ashaari, Z., Hadjzadeh, M.-A.-R., Hassanzadeh, G., Alizamir, T., Yousefi, B., Keshavarzi, Z., & Mokhtari, T. (2018). The Flavone Luteolin Improves Central Nervous System Disorders by Different Mechanisms: A Review. *Journal of Molecular Neuroscience*, 65(4), 491-506. doi:10.1007/s12031-018-1094-2
- Aytan, N., Choi, J.-K., Carreras, I., Crabtree, L., Nguyen, B., Lehar, M., . . . Dedeoglu, A. (2018). Protective effects of 7,8-dihydroxyflavone on neuropathological and neurochemical changes in a mouse model of

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Alzheimer's disease. *European journal of pharmacology*, 828, 9-17.
doi:10.1016/j.ejphar.2018.02.045
- Barde, Y. A., Edgar, D., & Thoenen, H. (1982). Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain. *1(5)*, 549-553. doi:10.1002/j.1460-2075.1982.tb01207.x
- Bathina, S., & Das, U. N. (2015). Brain-derived neurotrophic factor and its clinical implications. *Archives of medical science : AMS*, 11(6), 1164-1178. doi:10.5114/aoms.2015.56342
- Benfenati, E., Gini, G., Hoffmann, S., & Luttik, R. (2010). Comparing in vivo, in vitro and in silico methods and integrated strategies for chemical assessment: problems and prospects. *Alternatives to Laboratory Animals*, 38(2), 153-166.
- Benraiss, A., Chmielnicki, E., Lerner, K., Roh, D., & Goldman, S. A. (2001). Adenoviral brain-derived neurotrophic factor induces both neostriatal and olfactory neuronal recruitment from endogenous progenitor cells in the adult forebrain. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 21(17), 6718-6731. doi:10.1523/jneurosci.21-17-06718.2001
- Bocchio-Chiavetto, L., Bagnardi, V., Zanardini, R., Molteni, R., Gabriela Nielsen, M., Placentino, A., . . . Gennarelli, M. (2010). Serum and plasma BDNF levels in major depression: A replication study and meta-analyses. *The World Journal of Biological Psychiatry*, 11(6), 763-773. doi:10.3109/15622971003611319
- Bonhoeffer, T. (1996). Neurotrophins and activity-dependent development of the neocortex. *Current Opinion in Neurobiology*, 6(1), 119-126. doi:https://doi.org/10.1016/S0959-4388(96)80017-1
- Brodeur, G. M., Minturn, J. E., Ho, R., Simpson, A. M., Iyer, R., Varela, C. R., . . . Evans, A. E. (2009). Trk receptor expression and inhibition in neuroblastomas. *Clinical cancer research : an official journal of the American*

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Association for Cancer Research, 15(10), 3244-3250. doi:10.1158/1078-0432.CCR-08-1815
- Budni, J., Bellettini-Santos, T., Mina, F., Garcez, M. L., & Zugno, A. I. (2015). The involvement of BDNF, NGF and GDNF in aging and Alzheimer's disease. *Aging and disease*, 6(5), 331-341. doi:10.14336/AD.2015.0825
- Castrén, E. (2004). Neurotrophins as mediators of drug effects on mood, addiction, and neuroprotection. *Molecular Neurobiology*, 29(3), 289-301. doi:10.1385/MN:29:3:289
- Castrén, E., & Antila, H. (2017). Neuronal plasticity and neurotrophic factors in drug responses. *Molecular Psychiatry*, 22(8), 1085-1095. doi:10.1038/mp.2017.61
- Cattaneo, A., Cattane, N., Begni, V., Pariante, C. M., & Riva, M. A. (2016). The human BDNF gene: peripheral gene expression and protein levels as biomarkers for psychiatric disorders. *Translational psychiatry*, 6(11), e958-e958. doi:10.1038/tp.2016.214
- Chang, H.-A., Wang, Y.-H., Tung, C.-S., Yeh, C.-B., & Liu, Y.-P. (2016). 7,8-Dihydroxyflavone, a Tropomyosin-Kinase Related Receptor B Agonist, Produces Fast-Onset Antidepressant-Like Effects in Rats Exposed to Chronic Mild Stress. *Psychiatry investigation*, 13(5), 531-540. doi:10.4306/pi.2016.13.5.531
- Chen, C., Wang, Z., Zhang, Z., Liu, X., Kang, S. S., Zhang, Y., & Ye, K. (2018a). The prodrug of 7,8-dihydroxyflavone development and therapeutic efficacy for treating Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(3), 578-583. doi:10.1073/pnas.1718683115
- Chen, C., Wang, Z., Zhang, Z., Liu, X., Kang, S. S., Zhang, Y., & Ye, K. (2018b). The prodrug of 7,8-dihydroxyflavone development and therapeutic efficacy for

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- treating Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(3), 578. doi:10.1073/pnas.1718683115
- Chen, L. Y., Rex, C. S., Pham, D. T., Lynch, G., & Gall, C. M. (2010). BDNF signaling during learning is regionally differentiated within hippocampus. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 30(45), 15097-15101. doi:10.1523/jneurosci.3549-10.2010
- Chen, Y., Xia, G., Zhao, Z., Xue, F., Gu, Y., Chen, C., & Zhang, Y. (2020). 7,8-Dihydroxyflavone nano-liposomes decorated by crosslinked and glycosylated lactoferrin: storage stability, antioxidant activity, in vitro release, gastrointestinal digestion and transport in Caco-2 cell monolayers. *Journal of Functional Foods*, 65, 103742. doi:10.1016/j.jff.2019.103742
- Chitranshi, N., Gupta, V., Kumar, S., & Graham, S. L. (2015). Exploring the Molecular Interactions of 7,8-Dihydroxyflavone and Its Derivatives with TrkB and VEGFR2 Proteins. *International journal of molecular sciences*, 16(9), 21087-21108. doi:10.3390/ijms160921087
- Cunha, C., Brambilla, R., & Thomas, K. L. (2010). A simple role for BDNF in learning and memory? *Frontiers in molecular neuroscience*, 3, 1-1. doi:10.3389/neuro.02.001.2010
- da Penha Berzaghi, M., Cooper, J., Castrén, E., Zafra, F., Sofroniew, M., Thoenen, H., & Lindholm, D. (1993). Cholinergic regulation of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and nerve growth factor (NGF) but not neurotrophin-3 (NT-3) mRNA levels in the developing rat hippocampus. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 13(9), 3818-3826. doi:10.1523/jneurosci.13-09-03818.1993
- de Andrade Teles, R. B., Diniz, T. C., Costa Pinto, T. C., de Oliveira Júnior, R. G., Gama E Silva, M., de Lavor, É. M., . . . da Silva Almeida, J. R. G. (2018). Flavonoids as Therapeutic Agents in Alzheimer's and Parkinson's Diseases:

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- A Systematic Review of Preclinical Evidences. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018, 7043213-7043213. doi:10.1155/2018/7043213
- De Vry, J., Vanmierlo, T., Martínez-Martínez, P., Losen, M., Temel, Y., Boere, J., . . . Prickaerts, J. (2016). TrkB in the hippocampus and nucleus accumbens differentially modulates depression-like behavior in mice. *Behavioural Brain Research*, 296, 15-25. doi:10.1016/j.bbr.2015.08.027
- Deister, C., & Schmidt, C. E. (2006). Optimizing neurotrophic factor combinations for neurite outgrowth. *Journal of neural engineering*, 3(2), 172-179. doi:10.1088/1741-2560/3/2/011
- Devi, L., & Ohno, M. (2012a). 7,8-Dihydroxyflavone, a Small-Molecule TrkB Agonist, Reverses Memory Deficits and BACE1 Elevation in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 37(2), 434-444. doi:10.1038/npp.2011.191
- Devi, L., & Ohno, M. (2012b). 7,8-dihydroxyflavone, a small-molecule TrkB agonist, reverses memory deficits and BACE1 elevation in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 37(2), 434-444. doi:10.1038/npp.2011.191
- Dittrich, F., Ochs, G., Große-Wilde, A., Berweiler, U., Yan, Q., Miller, J. A., . . . Sendtner, M. J. E. n. (1996). Pharmacokinetics of intrathecally applied BDNF and effects on spinal motoneurons. 141(2), 225-239.
- Dwivedi, Y., Rizavi, H. S., Conley, R. R., Roberts, R. C., Tamminga, C. A., & Pandey, G. N. (2003). Altered Gene Expression of Brain-Derived Neurotrophic Factor and Receptor Tyrosine Kinase B in Postmortem Brain of Suicide Subjects. *Archives of General Psychiatry*, 60(8), 804-815.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Eide, F. F., Vining, E. R., Eide, B. L., Zang, K., Wang, X. Y., & Reichardt, L. F. (1996). Naturally occurring truncated trkB receptors have dominant inhibitory effects on brain-derived neurotrophic factor signaling. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 16(10), 3123-3129. doi:10.1523/jneurosci.16-10-03123.1996
- Ernsberger, U. (2008). The role of GDNF family ligand signalling in the differentiation of sympathetic and dorsal root ganglion neurons. *Cell and Tissue Research*, 333(3), 353-371. doi:10.1007/s00441-008-0634-4
- Fenner, B. M. (2012). Truncated TrkB: Beyond a dominant negative receptor. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 23(1), 15-24. doi:https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2012.01.002
- Fletcher, J. L., Wood, R. J., Nguyen, J., Norman, E. M. L., Jun, C. M. K., Prawdiuk, A. R., . . . Murray, S. S. (2018). Targeting TrkB with a Brain-Derived Neurotrophic Factor Mimetic Promotes Myelin Repair in the Brain. *The Journal of Neuroscience*, 38(32), 7088. doi:10.1523/jneurosci.0487-18.2018
- García-Díaz Barriga, G., Giralt, A., Anglada-Huguet, M., Gaja-Capdevila, N., Orlandi, J. G., Soriano, J., . . . Alberch, J. (2017). 7,8-dihydroxyflavone ameliorates cognitive and motor deficits in a Huntington's disease mouse model through specific activation of the PLC γ 1 pathway. *Human molecular genetics*, 26(16), 3144-3160. doi:10.1093/hmg/ddx198
- Giampa, C., Montagna, E., Dato, C., Melone, M. A., Bernardi, G., & Fusco, F. R. J. P. o. (2013). Systemic delivery of recombinant brain derived neurotrophic factor (BDNF) in the R6/2 mouse model of Huntington's disease. 8(5).
- Gökalp, F. (2018). An investigation of the olive phenols activity as a natural medicine. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(2), 657-661. doi:https://doi.org/10.1016/j.jfda.2017.07.003

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Greisen, M. H., Altar, C. A., Bolwig, T. G., Whitehead, R., & Wörtwein, G. (2005). Increased adult hippocampal brain-derived neurotrophic factor and normal levels of neurogenesis in maternal separation rats. *79(6)*, 772-778. doi:10.1002/jnr.20418
- Hansen, K., Wagner, B., Hamel, W., Schweizer, M., Haag, F., Westphal, M., & Lamszus, K. (2007). Autophagic cell death induced by TrkA receptor activation in human glioblastoma cells. *Journal of neurochemistry*, *103(1)*, 259-275. doi:10.1111/j.1471-4159.2007.04753.x
- Hashimoto, T., Bergen, S. E., Nguyen, Q. L., Xu, B., Monteggia, L. M., Pierri, J. N., . . . Lewis, D. A. (2005). Relationship of brain-derived neurotrophic factor and its receptor TrkB to altered inhibitory prefrontal circuitry in schizophrenia. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, *25(2)*, 372-383. doi:10.1523/jneurosci.4035-04.2005
- He, J., Xiang, Z., Zhu, X., Ai, Z., Shen, J., Huang, T., . . . Li, T. (2016). Neuroprotective Effects of 7, 8-dihydroxyflavone on Midbrain Dopaminergic Neurons in MPP(+)-treated Monkeys. *Scientific reports*, *6*, 34339-34339. doi:10.1038/srep34339
- Henderson, C. E. (1996). Role of neurotrophic factors in neuronal development. *Current Opinion in Neurobiology*, *6(1)*, 64-70. doi:10.1016/S0959-4388(96)80010-9
- Howe, C. L. (2005). Modeling the signaling endosome hypothesis: why a drive to the nucleus is better than a (random) walk. *Theoretical biology & medical modelling*, *2*, 43-43. doi:10.1186/1742-4682-2-43
- Howe, C. L., Valletta, J. S., Rusnak, A. S., & Mobley, W. C. (2001). NGF Signaling from Clathrin-Coated Vesicles: Evidence that Signaling Endosomes Serve as a Platform for the Ras-MAPK Pathway. *Neuron*, *32(5)*, 801-814. doi:10.1016/S0896-6273(01)00526-8

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Huang, E. J., & Reichardt, L. F. (2001). Neurotrophins: Roles in Neuronal Development and Function. *24*(1), 677-736. doi:10.1146/annurev.neuro.24.1.677
- Huang, E. J., & Reichardt, L. F. (2003). Trk Receptors: Roles in Neuronal Signal Transduction. *Annual Review of Biochemistry*, *72*(1), 609-642. doi:10.1146/annurev.biochem.72.121801.161629
- Huang, Z. J., Kirkwood, A., Pizzorusso, T., Porciatti, V., Morales, B., Bear, M. F., . . . Tonegawa, S. (1999). BDNF Regulates the Maturation of Inhibition and the Critical Period of Plasticity in Mouse Visual Cortex. *Cell*, *98*(6), 739-755. doi:10.1016/S0092-8674(00)81509-3
- Ito, K., & Enomoto, H. (2016). Retrograde transport of neurotrophic factor signaling: implications in neuronal development and pathogenesis. *The Journal of Biochemistry*, *160*(2), 77-85.
- Izzo, S., Naponelli, V., & Bettuzzi, S. (2020). Flavonoids as Epigenetic Modulators for Prostate Cancer Prevention. *Nutrients*, *12*(4), 1010. doi:10.3390/nu12041010
- Jang, S.-W., Liu, X., Chan, C. B., France, S., Sayeed, I., Tang, W., . . . Ye, K. J. P. O. (2010). Deoxygedunin, a Natural Product with Potent Neurotrophic Activity in Mice. *5*.
- Jiang, M., Peng, Q., Liu, X., Jin, J., Hou, Z., Zhang, J., ... & Duan, W. (2013). Small-molecule TrkB receptor agonists improve motor function and extend survival in a mouse model of Huntington's disease. *Human molecular genetics*, *22*(12), 2462-2470.
- Jiao, S. S., Shen, L. L., Zhu, C., Bu, X. L., Liu, Y. H., Liu, C. H., . . . Wang, Y. J. (2016). Brain-derived neurotrophic factor protects against tau-related neurodegeneration of Alzheimer's disease. *Translational psychiatry*, *6*(10), e907-e907. doi:10.1038/tp.2016.186

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Johnston, G. A. R. (2015). Flavonoid nutraceuticals and ionotropic receptors for the inhibitory neurotransmitter GABA. *Neurochemistry International*, 89, 120-125. doi:10.1016/j.neuint.2015.07.013
- Just-Borràs, L., Hurtado, E., Cilleros-Mañé, V., Biondi, O., Charbonnier, F., Tomàs, M., . . . Lanuza, M. A. (2019). Running and swimming prevent the deregulation of the BDNF/TrkB neurotrophic signalling at the neuromuscular junction in mice with amyotrophic lateral sclerosis. *Cellular and Molecular Life Sciences*. doi:10.1007/s00018-019-03337-5
- Kang, J. S., Choi, I. W., Han, M. H., Kim, G. Y., Hong, S. H., Park, C., ... & Choi, Y. H. (2015). The cytoprotective effects of 7, 8-dihydroxyflavone against oxidative stress are mediated by the upregulation of Nrf2-dependent HO-1 expression through the activation of the PI3K/Akt and ERK pathways in C2C12 myoblasts. *International journal of molecular medicine*, 36(2), 501-510.
- Karege, F., Perret, G., Bondolfi, G., Schwald, M., Bertschy, G., & Aubry, J.-M. (2002). Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels in major depressed patients. *Psychiatry Research*, 109(2), 143-148. doi:10.1016/S0165-1781(02)00005-7
- Katsu-Jiménez, Y., Loria, F., Corona, J. C., & Díaz-Nido, J. J. M. T. (2016). Gene transfer of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) prevents neurodegeneration triggered by FXN deficiency. 24(5), 877-889.
- Kenchappa, R. S., Zampieri, N., Chao, M. V., Barker, P. A., Teng, H. K., Hempstead, B. L., & Carter, B. D. J. N. (2006). Ligand-dependent cleavage of the P75 neurotrophin receptor is necessary for NRIF nuclear translocation and apoptosis in sympathetic neurons. 50(2), 219-232.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Kong, L.-M., Liao, C.-G., Fei, F., Guo, X., Xing, J.-L., & Chen, Z.-N. (2010). Transcription factor Sp1 regulates expression of cancer-associated molecule CD147 in human lung cancer. *101(6)*, 1463-1470. doi:10.1111/j.1349-7006.2010.01554.x
- Kopustinskiene, D. M., Jakstas, V., Savickas, A., & Bernatoniene, J. (2020). Flavonoids as Anticancer Agents. *Nutrients*, *12(2)*, 457. doi:10.3390/nu12020457
- Korkmaz, O. T., Aytan, N., Carreras, I., Choi, J.-K., Kowall, N. W., Jenkins, B. G., & Dedeoglu, A. (2014). 7,8-Dihydroxyflavone improves motor performance and enhances lower motor neuronal survival in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Neuroscience Letters*, *566*, 286-291. doi:https://doi.org/10.1016/j.neulet.2014.02.058
- Koshimizu, H., Kiyosue, K., Hara, T., Hazama, S., Suzuki, S., Uegaki, K., . . . Kojima, M. (2009). Multiple functions of precursor BDNF to CNS neurons: negative regulation of neurite growth, spine formation and cell survival. *Molecular Brain*, *2(1)*, 27. doi:10.1186/1756-6606-2-27
- Lalani, S., & Poh, C. L. (2020). Flavonoids as Antiviral Agents for Enterovirus A71 (EV-A71). *Viruses*, *12(2)*, 184. doi:10.3390/v12020184
- Laricchiuta, D., Andolina, D., Angelucci, F., Gelfo, F., Berretta, E., Puglisi-Allegra, S., & Petrosini, L. (2018). Cerebellar BDNF Promotes Exploration and Seeking for Novelty. *The international journal of neuropsychopharmacology*, *21(5)*, 485-498. doi:10.1093/ijnp/pyy015
- Lee, R. H., Shin, J. C., Kim, K. H., Choi, Y. H., Chae, J. I., & Shim, J. H. (2015). Apoptotic effects of 7, 8-dihydroxyflavone in human oral squamous cancer cells through suppression of Sp1. *Oncology reports*, *33(2)*, 631-638.
- LeWitt, P. A. (2004). Subcutaneously administered apomorphine. *Neurology*, *62(6 suppl 4)*, S8. doi:10.1212/WNL.62.6_suppl_4.S8

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Giacobbo, B. L., Doorduyn, J., Klein, H. C., Dierckx, R. A., Bromberg, E., & de Vries, E. F. (2019). Brain-derived neurotrophic factor in brain disorders: focus on neuroinflammation. *Molecular neurobiology*, *56*(5), 3295-3312.
- Lippmann, M., Bress, A., Nemeroff, C. B., Plotsky, P. M., & Monteggia, L. M. (2007). Long-term behavioural and molecular alterations associated with maternal separation in rats. *25*(10), 3091-3098. doi:10.1111/j.1460-9568.2007.05522.x
- Lipsky, R. H., & Marini, A. M. (2007). Brain-Derived Neurotrophic Factor in Neuronal Survival and Behavior-Related Plasticity. *1122*(1), 130-143. doi:10.1196/annals.1403.009
- Liu, X., Chan, C.-B., Jang, S.-W., Pradoldej, S., Huang, J., He, K., . . . Ye, K. (2010). A synthetic 7,8-dihydroxyflavone derivative promotes neurogenesis and exhibits potent antidepressant effect. *Journal of medicinal chemistry*, *53*(23), 8274-8286. doi:10.1021/jm101206p
- Liu, X., Chan, C.-B., Qi, Q., Xiao, G., Luo, H. R., He, X., & Ye, K. J. J. o. m. c. (2012). Optimization of a small tropomyosin-related kinase B (TrkB) agonist 7, 8-dihydroxyflavone active in mouse models of depression. *55*(19), 8524-8537.
- Liu, X., Qi, Q., Xiao, G., Li, J., Luo, H. R., & Ye, K. (2013a). O-methylated metabolite of 7,8-dihydroxyflavone activates TrkB receptor and displays antidepressant activity. *Pharmacology*, *91*(3-4), 185-200. doi:10.1159/000346920
- Liu, X., Qi, Q., Xiao, G., Li, J., Luo, H. R., & Ye, K. J. P. (2013b). O-methylated metabolite of 7, 8-dihydroxyflavone activates TrkB receptor and displays antidepressant activity. *91*(3-4), 185-200.
- Longo, F. M., & Massa, S. M. (2013). Small-molecule modulation of neurotrophin receptors: a strategy for the treatment of neurological disease. *Nature Reviews Drug Discovery*, *12*(7), 507-525. doi:10.1038/nrd4024

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Louhivuori, V., Vicario, A., Uutela, M., Rantamäki, T., Louhivuori, L. M., Castrén, E., . . . Castrén, M. L. (2011). BDNF and TrkB in neuronal differentiation of Fmr1-knockout mouse. *Neurobiology of Disease*, 41(2), 469-480. doi:10.1016/j.nbd.2010.10.018
- Luo, D., Shi, Y., Wang, J., Lin, Q., Sun, Y., Ye, K., . . . Zhang, H. (2016). 7,8-dihydroxyflavone protects 6-OHDA and MPTP induced dopaminergic neurons degeneration through activation of TrkB in rodents. *Neuroscience Letters*, 620, 43-49. doi:10.1016/j.neulet.2016.03.042
- Mantilla, C. B., Stowe, J. M., Sieck, D. C., Ermilov, L. G., Greising, S. M., Zhang, C., . . . Sieck, G. C. (2014). TrkB kinase activity maintains synaptic function and structural integrity at adult neuromuscular junctions. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 117(8), 910-920. doi:10.1152/jappphysiol.01386.2013
- Marchetti, L., Bonsignore, F., Gobbo, F., Amodeo, R., Calvello, M., Jacob, A., . . . Cattaneo, A. (2019). Fast-diffusing p75^{&sup>}NTR^{&sup>} monomers support apoptosis and growth cone collapse by neurotrophin ligands. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(43), 21563. doi:10.1073/pnas.1902790116
- Marshall, J., Zhou, X.-z., Chen, G., Yang, S.-q., Li, Y., Wang, Y., . . . Cao, C. (2018). Antidepressant action of BDNF requires and is mimicked by Gai1/3 expression in the hippocampus. *115(15)*, E3549-E3558.
- Maynard, K. R., Hill, J. L., Calcaterra, N. E., Palko, M. E., Kardian, A., Paredes, D., . . . Martinowich, K. (2016). Functional Role of BDNF Production from Unique Promoters in Aggression and Serotonin Signaling. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 41(8), 1943-1955. doi:10.1038/npp.2015.349

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- McAllister, A. K., Lo, D. C., & Katz, L. C. (1995). Neurotrophins regulate dendritic growth in developing visual cortex. *Neuron*, 15(4), 791-803. doi:10.1016/0896-6273(95)90171-X
- Mehrotra, N., Gupta, M., Kovar, A., & Meibohm, B. (2007). The role of pharmacokinetics and pharmacodynamics in phosphodiesterase-5 inhibitor therapy. *International Journal of Impotence Research*, 19(3), 253-264. doi:10.1038/sj.ijir.3901522
- Minichiello, L., Korte, M., Wolfer, D., Kühn, R., Unsicker, K., Cestari, V., . . . Klein, R. (1999). Essential Role for TrkB Receptors in Hippocampus-Mediated Learning. *Neuron*, 24(2), 401-414. doi:10.1016/S0896-6273(00)80853-3
- Miranda, M., Morici, J. F., Zanoni, M. B., & Bekinschtein, P. (2019). Brain-Derived Neurotrophic Factor: A Key Molecule for Memory in the Healthy and the Pathological Brain. *Frontiers in cellular neuroscience*, 13, 363-363. doi:10.3389/fncel.2019.00363
- Montroull, L. E., Danelon, V., Cragolini, A. B., & Mascó, D. H. (2019a). Loss of TrkB Signaling Due to Status Epilepticus Induces a proBDNF-Dependent Cell Death. 13(4). doi:10.3389/fncel.2019.00004
- Montroull, L. E., Danelon, V., Cragolini, A. B., & Mascó, D. H. (2019b). Loss of TrkB Signaling Due to Status Epilepticus Induces a proBDNF-Dependent Cell Death. *Frontiers in cellular neuroscience*, 13, 4.
- Mowla, S. J., Farhadi, H. F., Pareek, S., Atwal, J. K., Morris, S. J., Seidah, N. G., & Murphy, R. A. (2001). Biosynthesis and post-translational processing of the precursor to brain-derived neurotrophic factor. *J Biol Chem*, 276(16), 12660-12666. doi:10.1074/jbc.M008104200
- Mughal, M. R., Baharani, A., Chigurupati, S., Son, T. G., Chen, E., Yang, P., . . . Mattson, M. P. (2011). Electroconvulsive shock ameliorates disease processes and extends survival in huntingtin mutant mice. *Human molecular genetics*, 20(4), 659-669. doi:10.1093/hmg/ddq512

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Nagahara, A. H., & Tuszynski, M. H. (2011). Potential therapeutic uses of BDNF in neurological and psychiatric disorders. *Nature Reviews Drug Discovery*, 10(3), 209-219. doi:10.1038/nrd3366
- Nakagawara, A., Liu, X.-G., Ikegaki, N., White, P. S., Yamashiro, D. J., Nycum, L. M., . . . Brodeur, G. M. (1995). Cloning and chromosomal localization of the human TRK-B tyrosine kinase receptor gene (NTRK2). *Genomics*, 25(2), 538-546. doi:https://doi.org/10.1016/0888-7543(95)80055-Q
- Nakamura, Y., Suganami, A., Fukuda, M., Hasan, M. K., Yokochi, T., Takatori, A., . . . Nakagawara, A. (2014). Identification of novel candidate compounds targeting TrkB to induce apoptosis in neuroblastoma. *Cancer medicine*, 3(1), 25-35. doi:10.1002/cam4.175
- Nguyen, K. Q., Rymar, V. V., & Sadikot, A. F. (2016). Impaired TrkB Signaling Underlies Reduced BDNF-Mediated Trophic Support of Striatal Neurons in the R6/2 Mouse Model of Huntington's Disease. 10(37). doi:10.3389/fncel.2016.00037
- Nie, S., Ma, K., Sun, M., Lee, M., Tan, Y., Chen, G., . . . Cao, X. (2019). 7,8-Dihydroxyflavone Protects Nigrostriatal Dopaminergic Neurons from Rotenone-Induced Neurotoxicity in Rodents. *Parkinson's disease*, 2019, 9193534-9193534. doi:10.1155/2019/9193534
- Numakawa, T., Odaka, H., & Adachi, N. (2018). Actions of Brain-Derived Neurotrophin Factor in the Neurogenesis and Neuronal Function, and Its Involvement in the Pathophysiology of Brain Diseases. *International journal of molecular sciences*, 19(11), 3650. doi:10.3390/ijms19113650
- Numakawa, T., Suzuki, S., Kumamaru, E., Adachi, N., Richards, M., Kunugi, H. J. H., & histopathology. (2010). BDNF function and intracellular signaling in neurons.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Nykjaer, A., Willnow, T. E., & Petersen, C. M. (2005). p75NTR – live or let die. *Current Opinion in Neurobiology*, 15(1), 49-57. doi:10.1016/j.conb.2005.01.004
- Pandey, G. N., Ren, X., Rizavi, H. S., Conley, R. R., Roberts, R. C., & Dwivedi, Y. (2008). Brain-derived neurotrophic factor and tyrosine kinase B receptor signalling in post-mortem brain of teenage suicide victims. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 11(8), 1047-1061. doi:10.1017/S1461145708009000
- Park, C.-h., Kim, J., Namgung, E., Lee, D.-W., Kim, G. H., Kim, M., . . . Yoon, S. (2017). The BDNF Val66Met Polymorphism Affects the Vulnerability of the Brain Structural Network. 11(400). doi:10.3389/fnhum.2017.00400
- Patapoutian, A., & Reichardt, L. F. (2001). Trk receptors: mediators of neurotrophin action. *Current Opinion in Neurobiology*, 11(3), 272-280. doi:10.1016/S0959-4388(00)00208-7
- Patel, T. D., Jackman, A., Rice, F. L., Kucera, J., & Snider, W. D. (2000). Development of Sensory Neurons in the Absence of NGF/TrkA Signaling In Vivo. *Neuron*, 25(2), 345-357. doi:10.1016/S0896-6273(00)80899-5
- Paxinos, G., Watson, C. (2005). “The rat brain in stereotaxic coordinates”
- Pizzorusso, T., Ratto, G. M., Putignano, E., & Maffei, L. (2000). Brain-derived neurotrophic factor causes cAMP response element-binding protein phosphorylation in absence of calcium increases in slices and cultured neurons from rat visual cortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 20(8), 2809-2816. doi:10.1523/jneurosci.20-08-02809.2000
- Popova, N. K., Ilchibaeva, T. V., & Naumenko, V. S. (2017). Neurotrophic Factors (BDNF and GDNF) and the Serotonergic System of the Brain. *Biochemistry (Mosc)*, 82(3), 308-317. doi:10.1134/s0006297917030099

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Radahmadi, M., Hosseini, N., Alaei, H., & Sharifi, M. R. (2016). The Effect of Preventive, Therapeutic and Protective Exercises on Hippocampal Memory Mediators in Stressed Rats. *The Malaysian journal of medical sciences : MJMS*, 23(5), 29-37. doi:10.21315/mjms2016.23.5.4
- Raju, T. N. K. (2000). The Nobel Chronicles. *The Lancet*, 355(9202), 506. doi:10.1016/S0140-6736(00)82069-3
- Rampon, V., Brossard, C., Mouhous-Riou, N., Bousseau, B. t., Llamas, G., & Genot, C. (2004). The nature of the apolar phase influences the structure of the protein emulsifier in oil-in-water emulsions stabilized by bovine serum albumin.: A front-surface fluorescence study. *Advances in Colloid and Interface Science*, 108-109, 87-94. doi:https://doi.org/10.1016/j.cis.2003.10.004
- Roceri, M., Cirulli, F., Pessina, C., Peretto, P., Racagni, G., & Riva, M. A. (2004). Postnatal repeated maternal deprivation produces age-dependent changes of brain-derived neurotrophic factor expression in selected rat brain regions. *Biological Psychiatry*, 55(7), 708-714. doi:/10.1016/j.biopsych.2003.12.011
- Sakata, K., Martinowich, K., Woo, N. H., Schloesser, R. J., Jimenez, D. V., Ji, Y., . . . Lu, B. (2013). Role of activity-dependent BDNF expression in hippocampal-prefrontal cortical regulation of behavioral perseverance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(37), 15103-15108. doi:10.1073/pnas.1222872110
- Sampaio, T., Savall, A., Gutierrez, M., & Pinton, S. (2017). Neurotrophic factors in Alzheimer's and Parkinson's diseases: implications for pathogenesis and therapy. *12(4)*, 549-557. doi:10.4103/1673-5374.205084

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Sanchez-Ortiz, E., Yui, D., Song, D., Li, Y., Rubenstein, J. L., Reichardt, L. F., & Parada, L. F. (2012). TrkA gene ablation in basal forebrain results in dysfunction of the cholinergic circuitry. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 32(12), 4065-4079.
- Santafé, M. M., Garcia, N., Tomàs, M., Obis, T., Lanuza, M. A., Besalduch, N., & Tomàs, J. (2014). The interaction between tropomyosin-related kinase B receptors and serine kinases modulates acetylcholine release in adult neuromuscular junctions. *Neuroscience Letters*, 561, 171-175. doi:<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2013.12.073>
- Scalzo, P., Kümmer, A., Bretas, T. L., Cardoso, F., & Teixeira, A. L. (2010). Serum levels of brain-derived neurotrophic factor correlate with motor impairment in Parkinson's disease. *Journal of Neurology*, 257(4), 540-545. doi:10.1007/s00415-009-5357-2
- Sen, S., Duman, R., & Sanacora, G. (2008). Serum brain-derived neurotrophic factor, depression, and antidepressant medications: meta-analyses and implications. *Biological Psychiatry*, 64(6), 527-532. doi:10.1016/j.biopsych.2008.05.005
- Shen, J., & Maruyama, I. N. (2011). Nerve growth factor receptor TrkA exists as a preformed, yet inactive, dimer in living cells. *FEBS Letters*, 585(2), 295-299. doi:<https://doi.org/10.1016/j.febslet.2010.12.031>
- Siegel, G. J., & Chauhan, N. B. (2000). Neurotrophic factors in Alzheimer's and Parkinson's disease brain. *Brain Research Reviews*, 33(2), 199-227. doi:[https://doi.org/10.1016/S0165-0173\(00\)00030-8](https://doi.org/10.1016/S0165-0173(00)00030-8)
- Sim, D. Y., Sohng, J. K., & Jung, H. J. (2016). Anticancer activity of 7, 8-dihydroxyflavone in melanoma cells via downregulation of α -MSH/cAMP/MITF pathway. *Oncology reports*, 36(1), 528-534.
- Skaper, S. D. (2017). Nerve growth factor: a neuroimmune crosstalk mediator for all seasons. *151(1)*, 1-15. doi:10.1111/imm.12717

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Sohrabji, F., & Lewis, D. K. (2006). Estrogen-BDNF interactions: implications for neurodegenerative diseases. *Frontiers in neuroendocrinology*, 27(4), 404-414. doi:10.1016/j.yfrne.2006.09.003
- Stoleru, B., Popescu, A. M., Tache, D. E., Neamtu, O. M., Emami, G., Tataranu, L. G., . . . Purcaru, S. O. (2013). Tropomyosin-receptor-kinases signaling in the nervous system. *Maedica (Buchar)*, 8(1), 43-48.
- Sun, T., Chen, S., Huang, H., Li, T., Yang, W., & Liu, L. (2017). Metabolic profile study of 7, 8-dihydroxyflavone in monkey plasma using high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 1061-1062, 97-102. doi:https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2017.07.001
- Tan, Y., Nie, S., Zhu, W., Liu, F., Guo, H., Chu, J., . . . Li, Y. (2016). 7,8-Dihydroxyflavone Ameliorates Cognitive Impairment by Inhibiting Expression of Tau Pathology in ApoE-Knockout Mice. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 8, 287.
- Tangney, C. C., & Rasmussen, H. E. (2013). Polyphenols, inflammation, and cardiovascular disease. *Current atherosclerosis reports*, 15(5), 324-324. doi:10.1007/s11883-013-0324-x
- Tapia-Arancibia, L., Aliaga, E., Silhol, M., & Arancibia, S. (2008). New insights into brain BDNF function in normal aging and Alzheimer disease. *Brain Research Reviews*, 59(1), 201-220. doi:https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2008.07.007
- Teng, H. K., Teng, K. K., Lee, R., Wright, S., Tevar, S., Almeida, R. D., . . . Lee, F. S. J. J. o. N. (2005). ProBDNF induces neuronal apoptosis via activation of a receptor complex of p75^{NTR} and sortilin. 25(22), 5455-5463.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Tyler, W. J., Perrett, S. P., & Pozzo-Miller, L. D. (2002). The role of neurotrophins in neurotransmitter release. *The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry*, 8(6), 524-531. doi:10.1177/1073858402238511
- Uluc, K., Kendigelen, P., Fidan, E., Zhang, L., Chanana, V., Kintner, D., . . . Cengiz, P. (2013). TrkB receptor agonist 7, 8 dihydroxyflavone triggers profound gender- dependent neuroprotection in mice after perinatal hypoxia and ischemia. *CNS & neurological disorders drug targets*, 12(3), 360-370. doi:10.2174/18715273113129990061
- Uren, R. T., & Turnley, A. M. (2014). Regulation of neurotrophin receptor (Trk) signaling: suppressor of cytokine signaling 2 (SOCS2) is a new player. 7(39). doi:10.3389/fnmol.2014.00039
- Vaghi, V., Polacchini, A., Baj, G., Pinheiro, V. L. M., Vicario, A., & Tongiorgi, E. (2014). Pharmacological profile of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) splice variant translation using a novel drug screening assay: a "quantitative code". *The Journal of biological chemistry*, 289(40), 27702-27713. doi:10.1074/jbc.M114.586719
- Villoslada, P., Hauser, S. L., Bartke, I., Unger, J., Heald, N., Rosenberg, D., . . . Genain, C. P. (2000). Human nerve growth factor protects common marmosets against autoimmune encephalomyelitis by switching the balance of T helper cell type 1 and 2 cytokines within the central nervous system. *The Journal of experimental medicine*, 191(10), 1799-1806. doi:10.1084/jem.191.10.1799
- Volosin, M., Song, W., Almeida, R. D., Kaplan, D. R., Hempstead, B. L., & Friedman, W. J. (2006). Interaction of survival and death signaling in basal forebrain neurons: roles of neurotrophins and proneurotrophins. *Journal of Neuroscience*, 26(29), 7756-7766.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Wang, T.-y., Li, Q., & Bi, K.-s. (2018). Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13(1), 12-23. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ajps.2017.08.004>
- Wang, Z.-H., Xiang, J., Liu, X., Yu, S. P., Manfredsson, F. P., Sandoval, I. M., . . . Ye, K. (2019). Deficiency in BDNF/TrkB Neurotrophic Activity Stimulates δ -Secretase by Upregulating C/EBP β in Alzheimer's Disease. *Cell reports*, 28(3), 655-669.e655. doi:[10.1016/j.celrep.2019.06.054](https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.06.054)
- Waterhouse, E. G., An, J. J., Orefice, L. L., Baydyuk, M., Liao, G.-Y., Zheng, K., . . . Xu, B. (2012). BDNF promotes differentiation and maturation of adult-born neurons through GABAergic transmission. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 32(41), 14318-14330. doi:[10.1523/jneurosci.0709-12.2012](https://doi.org/10.1523/jneurosci.0709-12.2012)
- Wu, C.-H., Hung, T.-H., Chen, C.-C., Ke, C.-H., Lee, C.-Y., Wang, P.-Y., & Chen, S.-F. J. P. o. (2014). Post-injury treatment with 7, 8-dihydroxyflavone, a TrkB receptor agonist, protects against experimental traumatic brain injury via PI3K/Akt signaling. 9(11).
- Wurzelmann, M., Romeika, J., & Sun, D. (2017). Therapeutic potential of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and a small molecular mimics of BDNF for traumatic brain injury. *Neural regeneration research*, 12(1), 7-12. doi:[10.4103/1673-5374.198964](https://doi.org/10.4103/1673-5374.198964)
- Yamada, K., & Nabeshima, T. (2003). Brain-Derived Neurotrophic Factor/TrkB Signaling in Memory Processes. *Journal of Pharmacological Sciences*, 91(4), 267-270. doi:[10.1254/jphs.91.267](https://doi.org/10.1254/jphs.91.267)
- Yasutake, C., Kuroda, K., Yanagawa, T., Okamura, T., & Yoneda, H. (2006). Serum BDNF, TNF- α and IL-1 β levels in dementia patients. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 256(7), 402-406. doi:[10.1007/s00406-006-0652-8](https://doi.org/10.1007/s00406-006-0652-8)

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Zeng, Y., Lv, F., Li, L., Yu, H., Dong, M., & Fu, Q. (2012). 7,8-dihydroxyflavone rescues spatial memory and synaptic plasticity in cognitively impaired aged rats. *Journal of neurochemistry*, 122(4), 800-811. doi:10.1111/j.1471-4159.2012.07830.x
- Zhang, X. H., Ma, Z. G., Rowlands, D. K., Gou, Y. L., Fok, K. L., Wong, H. Y., ... & Yung, W. H. (2012). Flavonoid Myricetin Modulates Receptor Activity through Activation of Channels and CaMK-II Pathway. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012. doi:10.1155/2012/758097
- Zhang, Z., Liu, X., Schroeder, J. P., Chan, C.-B., Song, M., Yu, S. P., . . . Ye, K. (2014a). 7,8-dihydroxyflavone prevents synaptic loss and memory deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 39(3), 638-650. doi:10.1038/npp.2013.243
- Zhang, Z., Liu, X., Schroeder, J. P., Chan, C.-B., Song, M., Yu, S. P., . . . Ye, K. (2014b). 7,8-Dihydroxyflavone Prevents Synaptic Loss and Memory Deficits in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Neuropsychopharmacology*, 39(3), 638-650. doi:10.1038/npp.2013.243
- Zhou, X. F., & Rush, R. A. (1996). Endogenous brain-derived neurotrophic factor is anterogradely transported in primary sensory neurons. *Neuroscience*, 74(4), 945-951. doi:https://doi.org/10.1016/0306-4522(96)00237-0
- Zörner, B., Wolfer, D. P., Brandis, D., Kretz, O., Zacher, C., Madani, R., . . . Gass, P. (2003). Forebrain-specific trkB-receptor knockout mice: behaviorally more hyperactive than “depressive”. *Biological Psychiatry*, 54(10), 972-982. doi:10.1016/S0006-3223(03)00418-9

Ekler Dizini

EK – 1. Etik kurul kararı



EK – 1 . Etik Kurul Kararı



T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU (HADYEK)

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ : 15. 02. 2018
TOPLANTI SAYISI : 120
DOSYA KAYIT NUMARASI : 652
KARAR NUMARASI : 652
ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ : Doç. Dr. Orhan Tansel KORKMAZ
YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR : Doç. Dr. Erol ŞENER
Yrd. Doç. Dr. Faik GÖKALP
Arş. Gör. Dr. Cemile Ceren MERAL EVİŞ
Biyo. Işıl Tan YILMAZ
Biyo. Muhammed Fatih KARAKAYA
HAYVAN TÜRÜ ve SAYISI : Wistar Albino (14 adet erkek)

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi Doç. Dr. Orhan Tansel KORKMAZ'ın araştırma yürütücüsü olduğu 652/2018 kayıt numaralı ve "7,8-Dihidroksiflavon ve 4'Dimetilamino-7,8-Dihidroksiflavon'un Farmakokinetik Özellikleri ve Teorik Kimyasal Aktivitelerinin Araştırılması" konulu çalışma; Deneysel Hayvanları Etik Kurulu Yönergesi'ne göre değerlendirilmiş ve gerekçede belirtildiği şekilde yapılması uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Kevser EROL (Başkan)
Prof. Dr. Kubilay UZUNER (Üye)
Prof. Dr. Emel ULUPINAR (Üye)
Yrd. Doç. Dr. Ünal ÖZELMAS (Üye)
Yrd. Doç. Dr. Vet. Hek. Oya ERALP İNAN (Üye)
Avukat Şükrü KİRDEMİR (Üye)
Prof. Dr. Hasan V. GÜNEŞ (Üye)
Doç. Dr. Engin YILDIRIM (Üye)
Yrd. Doç. Dr. Yürdan KIRIMLIOĞLU (Üye)
Vet. Hek. Refik ARTAN (Üye)
Adres: Meşelik Yerleşkesi
26480 Eskişehir
Tel : 0 222 239 29 79 (4563)
Fax: 0 222 239 10 74

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : Muhammed Fatih KARAKAYA

Doğum tarihi ve yeri : 14/10/1992 - İzmir

Uyruğu : Türk

Medeni durumu : Bekar

İletişim adresleri : edu.mfatih@gmail.com

Eğitim Durumu :

2008 - 2011 Güzelcan Kardeşler Lisesi; Ağırlıklı not ortalaması 54,730/100

2013 - 2017 Anadolu Üniversitesi - Biyoloji; Ağırlıklı not ortalaması 3,030/4

2018 - 2020 Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim dalı Tezli Yüksek Lisans programı - Ağırlıklı not ortalaması 3,17/4

İngilizce (Okuma: İyi, Yazma: Orta, Konuşma: Orta)

Üye Olunan Bilimsel Kuruluşlar :

-TÜBAS (Türkiye Beyin Araştırmaları Ve Sinir Bilimleri Derneği)

Burslar :

Bursiyer: Tropomiyozin reseptör kinaz-B (TrkB) Agonisti 7,8-Dihidroksiflavon'un Glokom Patolojisine Karşı Etkinliğinin Hayvan Modelleri Üzerinde Araştırılması (TUBİTAK-1001)

Ödüller :

-Uluslararası, IBRO-PERC travel award for attendance to FENS-RM 2019 meeting in Serbia, Belgrad, SİRBİSTAN,

Projeler :

Tropomyozin reseptör kinaz-B (TrkB) Agonisti 7,8-Dihidroksiflavon'un Glokom Patolojisine Karşı Etkinliğinin Hayvan Modelleri Üzerinde Araştırılması (TUBİTAK-1001)

7,8-dihidroksiflavon ve 4'-dimetilamino-7,8-dihidroksiflavon'un Farmakokinetik Özellikleri ve Teorik Kimyasal Aktivitelerinin Araştırılması (BAP)

Kurslar ve Eğitim Programları:

Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası (A Kategorisi), ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ