

ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ (GSBL) ÜRETEN
KLEBSIELLA PNEUMONIAE'DE ANTİBİYOTİK DİRENÇLİ ENZİMLERİNİN
SİLİKO MOLEKÜLER DOCKING ANALİZİ

Ahmed Nouri ALSHARKSI

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2025

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Ahmed Nouri ALSHARKSI tarafından hazırlanan “**Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL) Üreten *Klebsiella pneumoniae*’de Antibiyotik Dirençli Enzimlerin In Siliko Moleküler Docking Analizi**” adlı tez çalışması 06/05/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Serhat SİREKBASAN

Eş Danışman : Doç. Dr. Tuğba GÜRKÖK TAN

Jüri Üyeleri :

Başkan : Doç. Dr. Serhat SİREKBASAN
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Erdal POLAT
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa,

Üye : Doç. Dr. Ayşegül OĞLAKÇI İLHAN
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Harika Öykü DİNÇ
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Üsküdar Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Serdal TARHANE
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Ersoy YILMAZ

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum “**Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL) Üreten *Klebsiella pneumoniae*’de Antibiyotik Dirençli Enzimlerin In Silico Moleküler Docking Analizi**” konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan “Bilimsel İntihal Tespit Programı”yla tarandığını, “intihal içermediğini” beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (21/04/2025).

Ahmed Nouri ALSHARKSI

ÖZET

Doktora Tezi

GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ (GSBL) ÜRETEN *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*'DE ANTİBİYOTİK DİRENÇLİ ENZİMLERİN IN SILICO MOLEKÜLER DOCKING ANALİZİ

Ahmed Nouri ALSHARKSI

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Serhat SİREKBASAN
Eş Danışman: Doç. Dr. Tuğba GÜRKÖK TAN

Antibiyotik direnci, dünya genelinde artan bir halk sağlığı sorunu olup, özellikle hastane kökenli enfeksiyonların tedavisinde büyük zorluklara yol açmaktadır. Bu direncin yayılmasının en önemli nedenlerinden biri, beta-laktam grubu antibiyotiklerin bakteriler tarafından beta-laktamaz enzimleri aracılığıyla etkisiz hale getirilmesidir. *Klebsiella pneumoniae*, GSBL üreten önemli bir patojen olup, özellikle bağışıklık sistemi zayıf bireylerde ve yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda ciddi enfeksiyonlara neden olabilmektedir. SHV, CTX-M ve TEM gibi GSBL enzimleri, bu bakterinin yaygın olarak ürettiği direnç mekanizmaları arasında yer alır ve klinik açıdan büyük öneme sahiptir. Bu çalışmanın amacı, SHV, CTX-M ve TEM enzimlerinin inhibitörleri olarak potansiyel yeni moleküllerin belirlenmesi ve bu sayede antibiyotik direncine karşı alternatif tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlamaktır. Bu amaç doğrultusunda, hesaplamalı yöntemler kullanılarak ZINC veri tabanında yer alan biyolojik olarak aktif olma potansiyeline sahip küçük moleküller taranmıştır. In silico yaklaşımlar, özellikle moleküler docking ve moleküler dinamik simülasyonları, aday moleküllerin SHV, CTX-M ve TEM enzimleri ile etkileşimlerini değerlendirmek için kullanılmıştır. Araştırma bulguları, bazı moleküllerin SHV, CTX-M ve TEM enzimlerine karşı yüksek bağlanma afinitesine sahip olduğunu ve bu enzimlerin aktivitesini potansiyel olarak inhibe edebileceğini göstermektedir. Bu moleküllerin deneysel olarak test edilmesi ve klinik çalışmalar için değerlendirilmesi, GSBL üreten *K. pneumoniae* enfeksiyonlarının tedavisinde yeni ilaçların geliştirilmesine önemli bir katkı sağlayabilir.

2025, 68 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: Antibiyotik direnci, Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz, *Klebsiella pneumoniae*, Moleküler docking

ABSTRACT

PhD Thesis

IN SILICO MOLECULAR DOCKING ANALYSIS OF ANTIBIOTIC-RESISTANT ENZYMES IN EXTENDED-SPECTRUM BETA-LACTAMASE (ESBL)- PRODUCING *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

Ahmed Nouri ALSHARKSI

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Serhat SİREKBASAN
Co-Advisor: Assoc. Prof. Dr. Tuğba GÜRKÖK TAN

Antibiotic resistance is an increasing global public health problem, creating significant challenges in treating hospital-acquired infections. One of the main reasons for the spread of this resistance is the inactivation of beta-lactam antibiotics by bacteria through the production of beta-lactamase enzymes. *Klebsiella pneumoniae* is a major pathogen that produces extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs), leading to severe infections, particularly in immunocompromised individuals and patients in intensive care units. ESBL enzymes such as SHV, CTX-M, and TEM are commonly involved in the resistance mechanisms of this bacterium and hold significant clinical importance. The aim of this study is to identify potential new lead molecules that can act as inhibitors of SHV, CTX-M, and TEM enzymes, thus contributing to the development of alternative therapeutic strategies against antibiotic resistance. To achieve this, computational methods were employed to screen small molecules with potential biological activity from the ZINC database. In silico approaches, particularly molecular docking and molecular dynamics simulations, were used to evaluate the interactions of candidate molecules with SHV, CTX-M, and TEM enzymes. The findings suggest that some molecules exhibit high binding affinity to these enzymes and may potentially inhibit their activity. Experimental testing and clinical evaluation of these molecules could significantly contribute to the development of new drugs for treating infections caused by ESBL-producing *K. pneumoniae*.

2025, 68 pages

Keywords: Antibiotic resistance, Extended-spectrum beta-lactamase, *Klebsiella pneumoniae*, Molecular docking



ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez yolculuğuna başladığım ilk günden itibaren, rehberliği, anlayışı ve sabrıyla bana ılık tutan değerli tez danışmanım Doç. Dr. Serhat SİREKBASAN’a en derin saygı ve şükranlarımı sunmayı bir borç bilirim. Kendisi, tez çalışmam boyunca akademik bakış açımı geliştirmeme büyük katkı sağlamış, her aşamada verdiği geri bildirimler ve önerilerle bu çalışmanın şekillenmesinde önemli bir rol oynamıştır.

Eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, bilimsel düşünceye olan tutkusuyla beni her zaman motive eden eş danışmanım Doç. Dr. Tuğba GÜRKÖK TAN’a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu süreçte, yalnızca akademik değil manevi anlamda da yanımda olan sabırla ve sevgiyle beni destekleyen aileme, dostlarıma ve tüm sevdiklerime teşekkürü bir borç bilirim. Onların varlığı, bu zorlu süreçte en büyük motivasyon kaynağım olmuştur.

Ahmed Nouri ALSHARKSI

Çankırı, Nisan 2025

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER DİZİNİ	vii
KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	4
2.1Antibiyotik Direnci	5
2.1.1 Antibiyotik direncinin tarihçesi.....	6
2.1.2 Antibiyotik direncinin yaygınlığı ve küresel etkileri	8
2.1.3 Antibiyotik direncinin mekanizmaları	11
2.2Beta-laktam Antibiyotikler ve Beta-laktamazlar.....	13
2.2.1 Beta-laktam antibiyotiklerin tanımı ve etki mekanizması.....	14
2.2.2 Beta-laktamaz enzimlerinin sınıflandırılması.....	14
2.2.3 Beta-laktam/beta-laktamaz inhibitör kombinasyonları.....	16
2.3Klebsiella pneumoniae.....	17
2.3.1 Bakteriyel özellikleri ve tanımı.....	17
2.3.2 Enfeksiyonlarda rolü ve klinik önemi.....	18
2.3.3 Antibiyotik direnci ve yaygın gsbl üretimi	18
2.4SHV, CTX-M ve TEM Enzimleri.....	19
2.4.1 Enzimlerin genetik ve biyokimyasal özellikleri	20
2.4.2 Enzimlerin antibiyotik direncindeki rolleri	20
2.4.3 Shv, ctx-m ve tem enzimlerinin küresel dağılımı ve klinik önemi.....	21
2.5In Silico Yaklaşımlar	21
2.5.1 In Silico yaklaşımların temelleri ve önemi	22
2.5.2 Moleküler yerleştirme (molecular docking).....	23
2.5.3 In silico yöntemlerle ilaç keşfi.....	24
2.6Yeni İlaç Geliştirme ve Beta-laktamaz İnhibitörleri	24

2.6.1 Beta-laktamaz inhibitörlerinin geliştirilmesi ve klinik kullanımı	25
2.6.2 Shv, ctx-m ve tem enzimlerine karşı potansiyel inhibitörlerin keşfi.....	26
2.6.3 Gelecekteki tedavi stratejileri ve araştırma yönleri	26
3. MATERYAL VE METOT	28
3.1 Hedef Proteinlerin Kristal Yapısının Hazırlanması	28
3.2 Sanal Tarama ve Fizikokimyasal Karakterizasyon.....	29
3.2.1 Molekül kütüphanesi seçimi ve hazırlığı	30
3.2.2 Fizikokimyasal özelliklerin analizi.....	30
3.2.3 Farmakokinetik özelliklerin değerlendirilmesi.....	30
3.2.4 ADMET analizleri	31
3.3 Moleküler Docking Analizi	31
3.3.1 Docking protokolü ve yazılım seçimi	31
3.3.2 Bağlanma modlarının ve skorlarının analizi.....	32
3.4 En İyi Protein-Ligand Komplekslerinin Moleküler Dinamik Simülasyonu.....	32
3.4.1 Simülasyon protokolü ve yazılım seçimi.....	32
3.4.2 Komplekslerin stabilite ve konformasyonel analizi.....	33
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	34
4.1 Seçilen Bileşiklerin Karakterizasyonu ve Analizi	34
4.2 Tanımlanan Bileşiklerin Farmakokinetik Analizi	39
4.3 Bileşiklerin Moleküler Docking Analizleri.....	40
4.4 En İyi Protein-Ligand Komplekslerinin Moleküler Dinamik Simülasyonu.....	45
5 TARTIŞMA.....	51
6 SONUÇ VE ÖNERİLER	54
KAYNAKLAR	56
EKLER.....	65

SİMGELER DİZİNİ

Å	Angstrom
mV	miliVolt
P-gp	P-glikoprotein



KISALTMALAR DİZİNİ

ADMET	Absorpsiyon, Dağılım, Metabolizma, Eliminasyon ve Toksisite
BBB	Kan-Beyin Bariyeri
CTX-M	Sefotaksim-Münih
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
ESBL	Extended-Spectrum Beta-Lactamase
GI	Gastrointestinal
GSBL	Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz
HBA	Hidrojen Bağ Alıcı Sayısı
HBD	Hidrojen Bağ Donör Sayısı
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> Karbapenemaz
MDR	Çoklu İlaç Direnci
MBL	Metallo-Beta-Laktamaz
MRSA	Metisiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
MW	Moleküler Ağırlık
OXA	Oksasillinaz
PBP	Penisilin Bağlayan Proteinler
PDB	Protein Veri Bankası
RMSD	Kök Ortalama Kare Sapması
RMSF	Kök Ortalama Kare Dalgalanması
RNA	Ribonükleik Asit
SHV	Sulfhydryl Variable
TEM	Temoneira
TPSA	Topolojik Polar Yüzey Alanı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Antibiyotikler ve direncin kısa tarihi	10
Şekil 2.2 Antibiyotik direnç mekanizmaları	11
Şekil 2.3 Beta-laktamaz enzimlerinin sınıflandırılması	15
Şekil 4.1 Moleküler dinamik simülasyonlarının analizi. (a) 8 ve 10 numaralı bileşiklerin 4S2I ile komplekslerinin RMSD grafiği; (b) 8 ve 10 numaralı bileşiklerin 4S2I ile komplekslerinin RMSF grafiği; (c) 8 ve 10 numaralı bileşiklerin 4S2I ile komplekslerinin gyrasyon yarıçapı (ROG); (d) 8 ve 10 numaralı bileşiklerin 4S2I ile komplekslerinin SASA değeri	46
Şekil 4.2 Moleküler dinamik simülasyonlarının analizi. (a) 8 ve 10 numaralı bileşiklerin 4ZAM ile komplekslerinin RMSD grafiği; (b) 8 ve 10 numaralı bileşiklerin 4ZAM ile komplekslerinin RMSF grafiği; (c) 8 ve 10 numaralı bileşiklerin 4ZAM ile komplekslerinin gyrasyon yarıçapı (ROG); (d) 8 ve 10 numaralı bileşiklerin 4ZAM ile komplekslerinin SASA değeri	47
Şekil 4.3 Moleküler dinamik simülasyonlarının analizi. (a) 8 ve 10 numaralı bileşiklerin 1HTZ ile komplekslerinin RMSD grafiği; (b) 8 ve 10 numaralı bileşiklerin 1HTZ ile komplekslerinin RMSF grafiği; (c) 8 ve 10 numaralı bileşiklerin 1HTZ ile komplekslerinin gyrasyon yarıçapı (ROG); (d) 8 ve 10 numaralı bileşiklerin 1HTZ ile komplekslerinin SASA değeri	48
Şekil 4.4 Bileşik 8 ve 10'un 4S2I ile komplekslerinin bağlanma serbest enerjisi. Mavi, bileşik 8'in 4S2I ile kompleksini; kırmızı ise bileşik 10'un 4S2I ile kompleksini gösterir	49
Şekil 4.5 Bileşik 8 ve 10'un 4ZAM ile komplekslerinin bağlanma serbest enerjisi. Mavi, bileşik 8'in 4ZAM ile kompleksini; kırmızı ise bileşik 10'un 4ZAM ile kompleksini gösterir	49
Şekil 4.6 Bileşik 8 ve 10'un 1HTZ ile komplekslerinin bağlanma serbest enerjisi. Mavi, bileşik 8'in 1HTZ ile kompleksini; kırmızı ise bileşik 10'un 1HTZ ile kompleksini gösterir	50

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1 Bileşiklerin Fizikokimyasal Özellikleri, İlaç Benzerliği, Lipofilite ve Çözünürlük Durumları	35
Çizelge 4.2 Bileşiklerin Farmakokinetik Özellikleri ve Çözünürlük Durumları	38
Çizelge 4.3 Bileşiklerin Karşılaştırmalı Serbest Bağlanma Enerjileri	40
Çizelge 4.4 On Seçilmiş Bileşiğin İki Boyutlu (2D) Protein-Ligand Kompleks Yapıları ve Bağlanma Etkileşimleri	42



1. GİRİŞ

Antibiyotik direnci, modern tıbbın karşı karşıya kaldığı en önemli sağlık tehditlerinden biridir ve küresel olarak yaygınlaşan bir sorundur. Bakteriyel patojenlerin antibiyotiklere karşı geliştirdiği direnç mekanizmaları, enfeksiyon hastalıklarının tedavisini önemli ölçüde zorlaştırmaktadır. Bu durum, özellikle hastanelerde yatan hastalar ve bağışıklık sistemi zayıflamış bireyler için ciddi bir risk oluşturmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), antibiyotik direncinin dünya genelinde tıbbi ilerlemeyi tehdit eden ve ciddi önlemler alınması gereken bir halk sağlığı sorunu olduğunu vurgulamaktadır. Antibiyotiklere karşı dirençli bakteriler, her yıl milyonlarca insanın enfeksiyona bağlı komplikasyonlar nedeniyle hayatını kaybetmesine neden olmaktadır. Bu nedenle, yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi ve dirençli enfeksiyonlarla başa çıkmanın alternatif yollarının bulunması hayati önem taşımaktadır (Michael vd., 2014; Ventola 2015).

Antibiyotik direncinin en yaygın sebeplerinden biri olan beta-laktamaz üretimi, bakterilerin beta-laktam grubu antibiyotiklere karşı geliştirdiği savunma mekanizmalarının başında gelmektedir. Beta-laktam antibiyotikler, bakteriyel hücre duvarı sentezini inhibe ederek etkili olur; ancak, bakteriler bu antibiyotikleri hidroliz eden beta-laktamaz enzimleri üreterek bu etkiyi azaltır veya tamamen ortadan kaldırır. Beta-laktamazlar, beta-laktam halkasının parçalanmasını sağlayarak antibiyotiğin etkinliğini ortadan kaldırır. *Klebsiella pneumoniae*, bu tür enzimleri üreten önemli bir patojendir ve sağlık tesislerinde yaygın olarak görülen enfeksiyonların önemli bir sebebidir. Bu bakterinin neden olduğu enfeksiyonlar arasında idrar yolu enfeksiyonları, sepsis, zatürre ve yara enfeksiyonları yer almaktadır (Drawz ve Bonomo, 2010; Bengoechea ve Sa Pessoa, 2019).

K. pneumoniae tarafından üretilen beta-laktamaz enzimlerinin çeşitli tipleri vardır ve bunlar arasında genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL'ler), özellikle klinik açıdan büyük bir öneme sahiptir. SHV (sulfhydryl variable), CTX-M (cefotaximase-Munich) ve TEM (Temoniera) gibi GSBL türleri, antibiyotik direncinin yayılmasında

ve enfeksiyonların tedavisinin zorlaşmasında önemli rol oynar. Bu enzimlerin yaygınlığı ve bulaşıcılığı, dirençli bakterilerin hızla yayılmasına ve hastane enfeksiyonlarının kontrol altına alınmasını zorlaştırmaktadır. Plazmidler aracılığıyla yatay gen transferi ile yayılabilen bu enzimler, birçok farklı antibiyotik türüne karşı direnç geliştirilmesine olanak tanır ve bu durum tedavi seçeneklerinin kısıtlanmasına neden olur (Darabi vd., 2019; Gao vd., 2020; Maclean vd., 2024).

Antibiyotik dirençli enfeksiyonlarla mücadele etmek için yaygın olarak kullanılan stratejilerden biri, beta-laktamaz inhibitörleri geliştirmektir. Beta-laktamaz inhibitörleri, bakteriyel enzimlerin aktivitesini engelleyerek antibiyotiklerin etkinliğini artırır. Günümüzde yaygın olarak kullanılan inhibitörler arasında klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam bulunmaktadır; ancak bu inhibitörler, özellikle genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlara karşı her zaman yeterince etkili olmamaktadır. Bu nedenle, SHV, CTX-M ve TEM gibi GSBL türlerini hedef alan yeni ve daha etkili inhibitörlerin keşfi büyük önem taşımaktadır (Arer ve Kar, 2010; Carcione vd., 2021; Alfei ve Schito, 2022).

Bu tez çalışmasının amacı, SHV, CTX-M ve TEM enzimlerini inhibe edebilecek yeni baş moleküllerin belirlenmesi ve bu sayede antibiyotik direncine karşı yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlamaktır. Bu bağlamda, ZINC veri tabanı kullanılarak hesaplamalı yöntemler ile potansiyel inhibitör adayları taranacak ve bu adayların enzimlerle etkileşimleri değerlendirilecektir. ZINC veri tabanı, biyolojik aktivite gösterebilecek küçük moleküllerin yer aldığı geniş kapsamlı bir veri tabanıdır ve ilaç keşfi çalışmalarında sıkça kullanılmaktadır. Hesaplamalı kimya teknikleri, deneysel çalışmalar öncesinde aday moleküllerin belirlenmesi ve moleküler mekanizmalarının anlaşılması için kritik bir rol oynar. Bu yöntemler arasında moleküler yerleştirme (docking), moleküler dinamik simülasyonları ve sanal tarama (virtual screening) gibi teknikler yer alır (Irwin ve Shoichet, 2005; Tingle vd., 2023; Potlitz vd., 2023).

Moleküler yerleştirme, bir ligandın (küçük molekül) hedef protein üzerindeki bağlanma bölgesine nasıl bağlanabileceğini tahmin etmek için kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntem, inhibitörlerin hedef enzim üzerindeki bağlanma afinitesini ve bağlanma

şekillerini değerlendirmek için kullanılır. Moleküler dinamik simülasyonları ise, bu etkileşimlerin zaman içerisindeki değişimlerini ve sistemin termodinamik özelliklerini incelemek için kullanılan bir diğer önemli hesaplamalı tekniktir (Rahman ve Khan, 2020; Khademi Dehkordi vd., 2024). Bu çalışmada, SHV, CTX-M ve TEM enzimleri ile etkileşim kurabilecek moleküllerin belirlenmesi amacıyla, ZINC veri tabanından elde edilen moleküller üzerinde bu teknikler uygulanacaktır.

Çalışmanın önemi, antibiyotik direncinin klinik ve toplumsal boyutlarını göz önünde bulundurarak, mevcut tedavi seçeneklerine ek olarak yeni inhibitörlerin geliştirilmesine katkı sağlamaktır. Özellikle SHV, CTX-M ve TEM enzimleri gibi yaygın olarak bulunan GSBL türlerinin inhibitörlerinin keşfi, dirençli enfeksiyonlarla mücadelede yeni bir yol sunabilir. Ayrıca, bu tez çalışması, hesaplamalı kimya yöntemlerinin ilaç keşfi süreçlerinde etkin bir şekilde kullanılabileceğini ve laboratuvar çalışmalarını destekleyici nitelikte olabileceğini göstermeyi amaçlamaktadır. Bu sayede, potansiyel inhibitörlerin deneysel olarak doğrulanması ve klinik uygulamaya geçiş süreçleri hızlandırılabilir.

Sonuç olarak, bu tez çalışması, antibiyotik direncinin üstesinden gelmek için yeni yaklaşımlar geliştirmeyi ve SHV, CTX-M ve TEM gibi enzimlere karşı etkili olabilecek yeni inhibitör molekülleri keşfetmeyi amaçlamaktadır. Bu çalışma, sadece akademik literatüre değil, aynı zamanda klinik uygulamalara ve halk sağlığına da önemli bir katkı sunma potansiyeline sahiptir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Antibiyotik direnci, modern tıbbın karşı karşıya olduğu en önemli küresel sağlık sorunlarından biri olarak tanımlanmıştır. Özellikle genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten bakterilerin yaygınlaşması, enfeksiyonların tedavisini giderek daha karmaşık hale getirmektedir. GSBL'lerin, üçüncü nesil sefalosporinler ve aztreonam gibi geniş spektrumlu antibiyotiklere karşı direnç mekanizmaları geliştirmesi, klinik ve halk sağlığı açısından önemli bir tehdit oluşturmıştır. Bu bakteriyel direnç mekanizmalarının anlaşılması, yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi açısından kritik öneme sahiptir (Shah vd., 2004; Christaki vd., 2020).

Literatürde, GSBL üreten *K. pneumoniae*'nin neden olduğu dirençli enfeksiyonlarla başa çıkmak için farklı moleküler yöntemlerin kullanıldığı çeşitli çalışmalar yer almaktadır. Özellikle SHV, CTX-M ve TEM gibi GSBL türlerinin genetik ve biyokimyasal özelliklerinin detaylı analizi, bu enzimlerin inhibitör tasarımıındaki rollerini vurgulamaktadır (Papp-Wallace vd., 2018; Malathi vd., 2019; Li vd., 2022). Moleküler docking ve dinamik simülasyon gibi in silico yaklaşımlar, bu enzimlere karşı etkili yeni inhibitörlerin geliştirilmesinde sıkça kullanılmaktadır (Sariyer ve Saral, 2021). ZINC veri tabanı gibi geniş molekül kütüphaneleri üzerinden yapılan taramalar, bu tür çalışmaların kapsamını genişletmiş ve ilaç keşfi süreçlerini hızlandırmıştır (Afzaal vd., 2022).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, GSBL enzimlerinin küresel dağılımını ve klinik önemini daha iyi anlamak için genetik çeşitliliği ve plazmid aracılı yatay gen transfer mekanizmalarını vurgulamaktadır (Denisuik vd., 2013; Ramatla vd., 2023). Bu bağlamda, SHV, CTX-M ve TEM gibi enzimlerin yaygınlığına ilişkin epidemiyolojik analizler, yeni nesil beta-laktamaz inhibitörlerinin geliştirilmesinin yalnızca bilimsel bir ihtiyaç değil, aynı zamanda halk sağlığı açısından da acil bir gereklilik olduğunu göstermektedir. Bu tür çalışmalardan elde edilen veriler, antibiyotik direncine karşı geliştirilecek tedavi stratejilerine ışık tutmaktadır.

2.1 Antibiyotik Direnci

Antibiyotik direnci, enfeksiyonların tedavisi için kullanılan antibiyotiklere karşı bakterilerin hayatta kalabilme ve çoğalma yeteneklerini ifade eder. Bu direnç, antibiyotikleri etkisiz hale getirebilecek çeşitli biyokimyasal, genetik veya fizyolojik değişikliklerle mikroorganizmaların kazandığı bir özellik olup, küresel sağlık için büyük bir tehdit oluşturmaktadır (Davies ve Davies, 2010). Antibiyotik direncinin hızla artması, dünya genelinde bulaşıcı hastalıkların kontrol altına alınmasını zorlaştırmakta ve dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar, tedavisi daha zor ve maliyetli hale gelen sağlık sorunlarına yol açmaktadır (Ventola, 2015).

Antibiyotik direnci, dünya genelinde giderek daha ciddi bir sorun haline gelmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), antibiyotik direncini küresel sağlık için en büyük tehditlerden biri olarak sınıflandırmıştır. DSÖ, özellikle karbapenem ve üçüncü kuşak sefalosporin gibi geniş spektrumlu antibiyotiklere karşı dirençli bakterilerin yaygınlaşmasını, yüksek öncelikli bir halk sağlığı sorunu olarak belirlemiştir (Tacconelli vd., 2018). Yakın zamanda yayınlanan bir rapora göre, her yıl dünya genelinde yaklaşık 700.000 kişi antibiyotik direncine bağlı enfeksiyonlar nedeniyle hayatını kaybetmektedir. Bu sayının 2050 yılına kadar 10 milyon ölüme ulaşabileceği öngörülmektedir (O'Neill, 2016). Antibiyotik direncinin artması, sadece bireylerin tedavisini zorlaştırmakla kalmaz, aynı zamanda toplumda yaygın olarak görülen enfeksiyon hastalıklarının kontrolünü de engeller.

Antibiyotikler, tıbbın en önemli araçlarından biridir ve bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, antibiyotiklerin gereksiz veya yanlış kullanımı, bakterilerin bu ilaçlara karşı direnç geliştirmesine neden olmaktadır (Ventola, 2015). Gereksiz antibiyotik kullanımı sonucunda bakteriler, genetik materyallerini değiştirerek antibiyotiklerin etkisini nötralize edebilirler ve bu da tedavi seçeneklerinin azalmasına neden olur (Laxminarayan vd., 2013).

Antibiyotik direncinin yükselmesi, modern tıbbın en büyük tehditlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Gelişmiş tedavi yöntemleri, ameliyatlar ve organ nakli gibi yüksek

riskli tıbbi müdahaleler antibiyotiklerin etkinliğine bağlıdır. Antibiyotiklerin etkisiz hale gelmesi, bu tür uygulamaların başarısını tehlikeye atar ve komplikasyon riskini artırır. Özellikle immün sistemi zayıflamış hastalar, dirençli bakterilere karşı savunmasız hale gelir ve bu da hastanede yatan hastalar arasında dirençli enfeksiyonların hızla yayılmasına neden olabilir (De Kraker vd., 2011; Ventola, 2015).

2.1.1 Antibiyotik direncinin tarihçesi

Antibiyotik direncinin tarihçesi, antibiyotiklerin keşfi ve kullanımının başlamasıyla birlikte gelişmiştir. Alexander Fleming'in 1928'de penisilini keşfetmesiyle bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde devrim niteliğinde bir dönem başlamıştır (Aminov, 2010). Ancak Fleming, antibiyotiklerin bilinçsiz kullanımı durumunda direncin hızla gelişebileceği konusunda erken uyarılarda bulunmuştur (Fleming, 1999). Penisilin kullanımı yaygınlaştıkça, bu uyarıların gerçek olduğu kısa sürede anlaşılmış ve ilk penisilin dirençli bakteriler 1940'lı yıllarda tespit edilmiştir (Davies ve Davies, 2010).

Penisilin ve diğer beta-laktam antibiyotiklerin 1940'larda tıbbi alanda yaygınlaşması ile birlikte, bakterilerin beta-laktamaz adı verilen enzimler üreterek bu ilaçlara karşı direnç geliştirdikleri keşfedilmiştir (Bush ve Jacoby, 2010). Beta-laktamaz enzimleri, antibiyotik moleküllerini parçalayarak etkisiz hale getirme yeteneğine sahiptir. *Escherichia coli* gibi bakterilerde bulunan ilk beta-laktamazlardan biri olan TEM-1 enzimi, antibiyotik direncinin biyokimyasal mekanizmalarını anlamada önemli bir kilometre taşı olmuştur (Livermore, 1995).

Farklı antibiyotik sınıflarının keşfi ve klinik kullanıma girmesiyle birlikte 1950'li ve 1960'lı yıllarda yeni dirençli bakteri türleri de ortaya çıkmıştır. Örneğin, metisilin adlı antibiyotiğe dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ilk kez 1961'de İngiltere'de saptanmış ve bu durum antibiyotik direncinin klinik anlamda ilk ciddi örneklerinden biri olarak kayıtlara geçmiştir (Hiramatsu vd., 2001). MRSA enfeksiyonları, özellikle hastanelerde yaygınlaşarak hastane kaynaklı (nozokomiyal) enfeksiyonların başlıca nedenlerinden biri haline gelmiştir.

Geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımının arttığı 1970'ler ve 1980'ler, bu antibiyotiklere karşı direnç mekanizmalarının hızla geliştiği bir dönem olmuştur. Bu dönemde, özellikle genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten bakterilerin yaygın hale gelmesi, tedavi süreçlerinde büyük zorluklar yaratmıştır. GSBL'ler, üçüncü kuşak sefalosporinler gibi geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç sağlayan enzimlerdir ve genellikle plazmidler aracılığıyla diğer bakterilere hızla yayılabilmektedir (Paterson ve Bonomo, 2005; Bradford, 2001).

Antibiyotik direncinin 1980'lerin sonlarına doğru küresel ölçekte artması sonucu dirençli bakterilerin tedavi seçeneklerini sınırlayan bir sorun haline geldiğini ortaya koymuştur. Bu dönemde, özellikle karbapenemlere karşı dirençli bakterilerin ortaya çıkışı dikkat çekmiştir. Karbapenemler, genellikle dirençli enfeksiyonların tedavisinde son çare olarak kullanılan antibiyotikler olduğundan, bu ilaçlara karşı direnç gelişmesi tedavi seçeneklerini büyük ölçüde kısıtlamıştır (Nordmann vd., 2011).

Yeni bin yılın başlarında, metallo-beta-laktamaz (MBL) üreten bakteriler gibi yeni direnç mekanizmaları dikkat çekmeye başlamıştır. Bu enzimler, karbapenemler de dahil olmak üzere neredeyse tüm beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç sağlayabilir ve bu durum, özellikle hastane enfeksiyonları ve toplum kökenli enfeksiyonlar açısından ciddi bir tehdit oluşturmıştır (Walsh vd., 2005).

Son yıllarda, antibiyotik direnci ile mücadeleye yönelik birçok strateji geliştirilmiş olmasına rağmen, direnç oranları dünya genelinde hızla artmaya devam etmektedir. Antibiyotiklerin aşırı ve yanlış kullanımı hem insan sağlığı hem de hayvancılık sektöründe yaygın bir sorun olarak direnç gelişimini tetiklemektedir (Laxminarayan vd., 2013). Bu nedenle, antibiyotik direnci, halk sağlığı politikaları ve klinik uygulamalar açısından öncelikli bir konu olmaya devam etmektedir.

Antibiyotik direncinin tarihçesi, antibiyotiklerin keşfi ile başlayan umut verici bir dönemin, bilinçsiz ve aşırı kullanımla birlikte büyük bir halk sağlığı sorununa dönüşümünü gözler önüne sermektedir. Dirençli bakterilerin gelişimi ve yayılımı, geçmişte tedavi edilebilir olan enfeksiyonların tekrar ölümcül hale gelmesine yol

açmıştır. Bu nedenle, antibiyotiklerin akılcı kullanımı ve yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi, dirençle mücadelede kritik öneme sahiptir.

2.1.2 Antibiyotik direncinin yaygınlığı ve küresel etkileri

Antibiyotik direnci, küresel halk sağlığı için ciddi bir tehdit oluşturan yaygın bir sorun haline gelmiştir. Bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılan antibiyotiklerin etkinliğinin azalması, hastalıkların daha uzun sürede iyileşmesine, sağlık hizmetlerinin maliyetinin artmasına ve ölüm oranlarının yükselmesine yol açmaktadır (Ventola, 2015). Dünya genelinde antibiyotik direncinin yaygınlığı hızla artarken, bu durum hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde önemli sağlık sorunları yaratmaktadır (Laxminarayan vd., 2013).

Antibiyotiklere karşı direnç gelişen bakteriler arasında özellikle *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Acinetobacter baumannii* gibi patojenler dikkat çekmektedir. Bu bakteriler hem hastane kaynaklı enfeksiyonlar hem de toplum kökenli enfeksiyonlarda ciddi sorunlara yol açmaktadır (De Kraker vd., 2011).

Dirençli bakterilerin yaygınlığı, ülkeler ve bölgeler arasında farklılık göstermektedir. Gelişmiş ülkelerde antibiyotik direnci genellikle hastane ve sağlık hizmetleriyle ilişkilendirilirken, gelişmekte olan ülkelere antibiyotiklerin reçetesiz ve kontrolsüz kullanımı yaygınlığı artırmaktadır (Okeke vd., 2005). Örneğin, Hindistan ve Çin gibi ülkelere, geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın kullanımı, dirençli bakterilerin hızla yayılmasına neden olmaktadır (Laxminarayan vd., 2016).

Karbapenemlere ve üçüncü kuşak sefalosporinlere karşı dirençli Enterobacteriaceae gibi bakterilerin yaygınlaşması, özellikle kritik enfeksiyonların tedavisinde büyük zorluklar yaratmaktadır. Avrupa'da ve Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan çalışmalarda, bu dirençli suşların yaygınlığının arttığı ve hastane enfeksiyonlarında önemli bir rol oynadığı tespit edilmiştir (CDC, 2019). Gelişmekte olan ülkelere ise direnç oranları

genellikle daha yüksek olup, bu durum antibiyotiklerin reçetesiz kullanımı ve sağlık sistemlerinin yetersizliği ile ilişkilendirilmektedir (O'Neill, 2016).

Antibiyotik direnci, tedavi edilmesi zor enfeksiyonlara yol açarak sağlık sistemleri üzerinde ciddi bir yük oluşturmaktadır. Dirençli enfeksiyonlar nedeniyle tedavi süreçleri uzamakta ve komplikasyon riski artmaktadır. Ayrıca, dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar, genellikle daha yüksek mortalite oranları ile ilişkilendirilmektedir (De Kraker vd., 2011). Özellikle hastane ve yoğun bakım ünitelerinde, dirençli patojenlerin yayılması, sağlık hizmetlerinin etkinliğini olumsuz yönde etkilemektedir.

Antibiyotik direnci aynı zamanda sağlık maliyetlerini de artırmaktadır. Dirençli enfeksiyonların tedavi edilmesi için daha pahalı ve genellikle daha toksik alternatif antibiyotikler kullanılması gerekebilir. Ayrıca, hastanede yatış sürelerinin uzaması ve ek tedavi gereksinimleri de maliyetleri artırmaktadır. Bu durum hem hastalar hem de sağlık hizmeti sağlayıcıları için finansal bir yük oluşturmaktadır (Cosgrove, 2006; Sipahi, 2008).

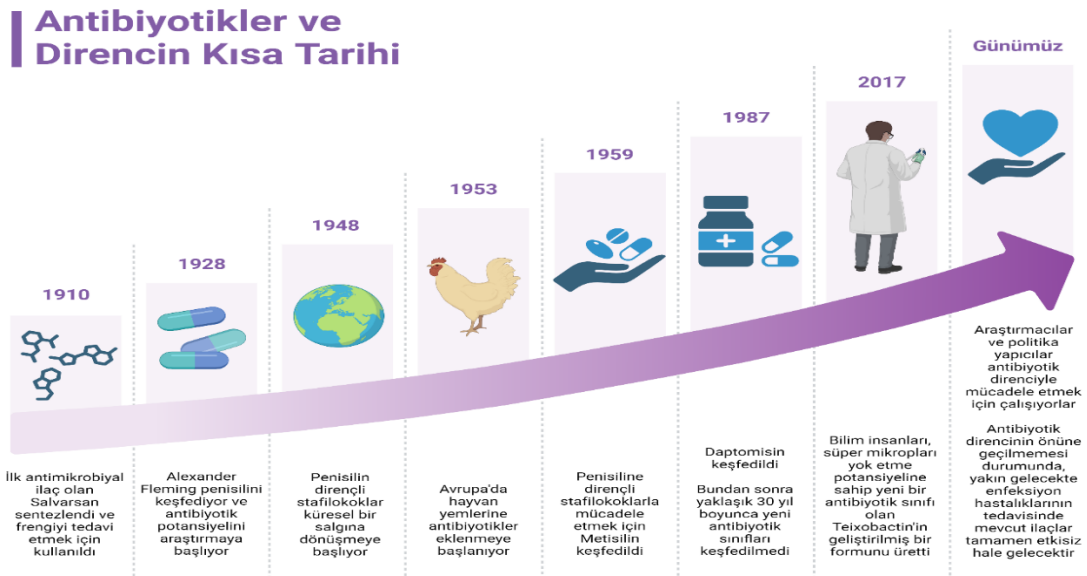
Antibiyotik direncinin sağlık sistemleri üzerindeki etkisi sadece maliyet artışları ile sınırlı değildir. Dirençli enfeksiyonlar nedeniyle iş gücü kaybı ve üretkenlik kaybı gibi ekonomik sorunlar da ortaya çıkmaktadır. Örneğin, enfeksiyon nedeniyle uzun süreli iş göremeyen çalışanlar, iş gücü kaybına ve ekonomik üretkenliğin azalmasına yol açmaktadır (Smith ve Coast, 2013). Dünya genelinde antibiyotik direncinin yıllık maliyetinin milyarlarca doları bulduğu tahmin edilmektedir (Smith vd., 2005).

Antibiyotik direncinin yaygınlaşması, sosyal ve toplumsal etkiler de doğurur. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde, yoksulluk ve sağlık hizmetlerine erişim sorunları nedeniyle dirençli enfeksiyonlar daha ciddi sağlık sorunlarına yol açabilir (Okeke vd., 2005). Antibiyotiklerin kontrolsüz ve aşırı kullanımı, toplum sağlığını olumsuz yönde etkileyerek direnç gelişimini hızlandırır ve bu durum, halk sağlığı için daha büyük bir tehdit oluşturur (Ventola, 2015).

Antibiyotik direncinin önlenmesi ve kontrol altına alınması için çeşitli küresel stratejiler geliştirilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü, antibiyotik direncine karşı küresel eylem planları hazırlamış ve ülkelerin bu plana uygun stratejiler geliştirmelerini teşvik etmiştir (Tacconelli vd., 2018). Bu stratejiler arasında antibiyotiklerin akılcı kullanımı, enfeksiyon kontrol önlemleri ve yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi gibi önlemler yer almaktadır (Laxminarayan vd., 2013).

Ayrıca, antibiyotiklerin tarım ve hayvancılık sektöründeki kullanımının sınırlandırılması da direnç gelişimini azaltmaya yönelik önemli bir adımdır. Gıda üretiminde antibiyotiklerin büyüme promotörü olarak kullanılması, dirençli bakterilerin yayılmasına katkıda bulunur ve bu nedenle, antibiyotiklerin sadece hastalık tedavisi için kullanılması gerektiği vurgulanmaktadır (Marshall ve Levy, 2011).

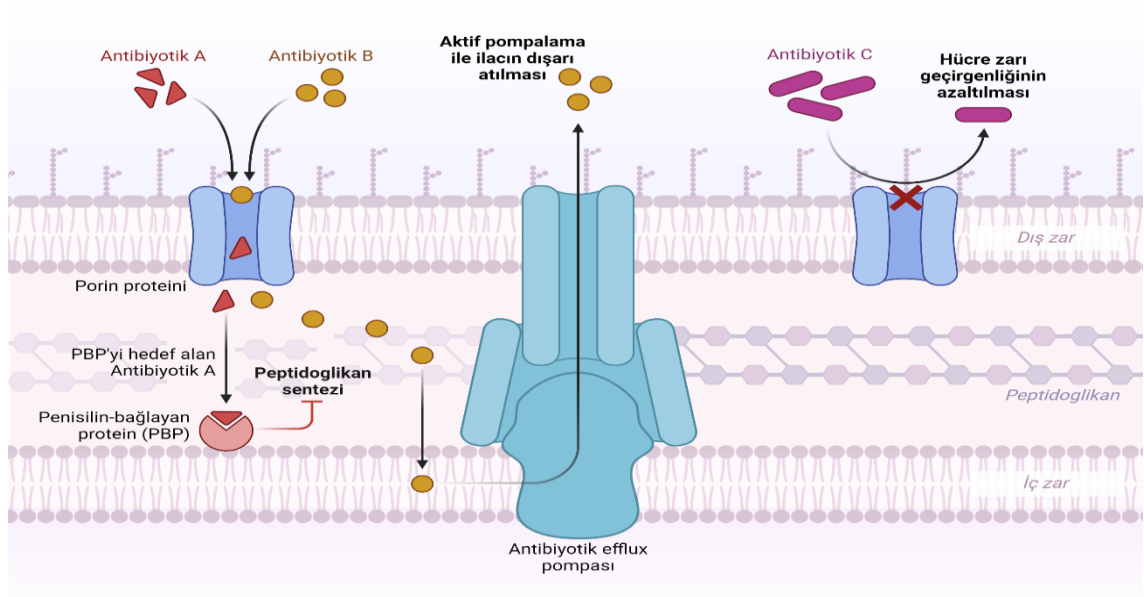
Antibiyotik direnci, yaygınlığı ve küresel etkileri nedeniyle halk sağlığı açısından büyük bir tehdit oluşturmaktadır. Bu sorunun çözümü, antibiyotiklerin akılcı kullanımı, enfeksiyon kontrol önlemlerinin güçlendirilmesi ve yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi gibi çok yönlü bir yaklaşım gerektirmektedir. Direncin yayılmasını önlemek için hem ulusal hem de uluslararası düzeyde etkili politikaların uygulanması şarttır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 Antibiyotikler ve direncin kısa tarihi

2.1.3 Antibiyotik direncinin mekanizmaları

Antibiyotik direnci, bakterilerin çeşitli biyokimyasal ve genetik mekanizmalarla antibiyotiklerin etkisine karşı koyma yeteneği kazanması sonucu ortaya çıkar. Bu mekanizmalar, bakterilerin antibiyotik tedavisine yanıt vermemesi veya ilacın etkisini tamamen ortadan kaldırmasıyla sonuçlanabilir (Nikaido, 2009). Antibiyotik direncinin gelişimi, bakterilerin hayatta kalma ve üreme yeteneklerini korumak için evrimsel olarak kazandıkları çeşitli stratejilerle mümkündür. Direnç mekanizmaları genellikle enzimatik inaktivasyon, hücre zarı geçirgenliğinin azaltılması, hedef bölgenin değişikliği ve aktif dışarı atım (efflux) pompaları olmak üzere dört ana başlıkta incelenir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2 Antibiyotik direnç mekanizmaları

2.1.3.1 Enzimatik inaktivasyon

Bakterilerin antibiyotiklere karşı geliştirdiği en yaygın direnç mekanizmalarından biri, antibiyotiği etkisiz hale getiren enzimler üretmeleridir. Bu enzimler, antibiyotik moleküllerini parçalayarak veya kimyasal yapısını değiştirerek ilacın etkinliğini azaltır. Örneğin, beta-laktamazlar, beta-laktam halkasına sahip antibiyotikleri (penisilinler ve

sefalosporinler gibi) parçalayarak etkisiz hale getirir (Bush ve Jacoby, 2010). Beta-laktamaz enzimleri, geniş spektrumlu ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar gibi farklı tiplerde sınıflandırılabilir ve bu enzimlerin yayılımı, özellikle Enterobacteriaceae gibi bakteriler arasında ciddi bir tedavi sorunu yaratır (Paterson ve Bonomo, 2005).

Aminoglikozid antibiyotiklerine karşı direnç ise, antibiyotiğin yapısını değiştiren enzimlerin (fosfotransferazlar, adeniltransferazlar ve asetiltransferazlar gibi) üretimi ile sağlanır. Bu enzimler, aminoglikozidlerin ribozomlara bağlanmasını önleyerek protein sentezini durdurma yeteneklerini ortadan kaldırır (Shaw vd., 1993).

2.1.3.2 Hücre zarının geçirgenliğinin azaltılması

Bakteriyel hücre zarında meydana gelen değişiklikler, antibiyotiklerin hücre içine girişini engelleyebilir. Gram negatif bakterilerde bulunan dış membran, antibiyotiklerin hücre içine geçişini zorlaştırır ve bu membran üzerindeki porin proteinlerinin değişimi, ilacın hücreye girmesini daha da kısıtlar. Örneğin, *Pseudomonas aeruginosa* gibi bakteriler, porin kanallarının sayısını azaltarak veya yapısını değiştirerek antibiyotiklere karşı direnç kazanabilir (Nikaido, 2003).

Karbapenemlere karşı direnç geliştiren bazı Enterobacteriaceae türleri, dış membran porin proteinlerinin eksikliği veya azalmış ifadesi nedeniyle bu antibiyotiklere karşı direnç gösterebilir (Nordmann vd., 2012). Bu tür mekanizmalar, antibiyotiklerin hücreye ulaşmasını zorlaştırarak ilaçların etkinliğini azaltır.

2.1.3.3 Aktif dışarı atım (efflux) pompaları

Bazı bakteriler, antibiyotikleri hücre dışına atan aktif dışarı atım pompaları geliştirebilirler. Bu pompalar, ilacın hücre içindeki konsantrasyonunu azaltarak etkisini ortadan kaldırır. Çoklu ilaç direnci (MDR) taşıyan bakterilerde yaygın olan bu mekanizma, antibiyotiklerin yanı sıra diğer antimikrobiyal ajanlara karşı da direnç sağlar (Poole, 2005).

Aktif dışarı atım pompaları, bakterilerde bulunan birçok farklı gen ailesi tarafından kodlanabilir. Örneğin, AcrAB-TolC sistemi gibi RND (rezistans-nodülasyon-hücre bölünmesi) ailesine ait dışarı atım pompaları, gram negatif bakterilerde geniş bir antimikrobiyal ajan spektrumuna karşı direnç sağlar (Nikaido, 2009). Bu pompalar, antibiyotiği hücre dışına taşıyarak bakterinin hayatta kalmasını destekler.

2.1.3.4 Hedef bölgenin değişmesi

Bakteriler, antibiyotiklerin etki ettiği moleküler hedeflerde değişiklik yaparak direnç geliştirebilirler. Bu mekanizma, antibiyotiğin hedeflediği bölgenin yapısının değişmesiyle ilacın bağlanmasını engeller veya azaltır. Örneğin, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), penisilin bağlayıcı proteinlerde (PBP'ler) mutasyonlar yaparak beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç kazanır. Bu mutasyonlar, antibiyotiklerin bağlanmasını zorlaştırır ve ilacın etkisini ortadan kaldırır (Hiramatsu vd., 2001).

Benzer şekilde, makrolid ve lincosamid antibiyotiklerine karşı direnç, ribozomal RNA'da meydana gelen metilasyonlar ile sağlanabilir. Bu değişiklikler, antibiyotiğin ribozomun 50S alt birimine bağlanmasını engelleyerek protein sentezini durdurma yeteneğini azaltır (Roberts, 2008).

2.2 Beta-laktam Antibiyotikler ve Beta-laktamazlar

Beta-laktam antibiyotikler, bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılan ve kimyasal yapılarında beta-laktam halkası içeren ilaçlardır. Penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar ve karbapenemler gibi çeşitli sınıfları vardır. Bu antibiyotikler, bakterilerin hücre duvarı sentezini inhibe ederek etkili olurlar. Bakteriyel hücre duvarının sentezi, özellikle gram pozitif ve gram negatif bakterilerin hayatta kalması için kritik öneme sahiptir, bu nedenle beta-laktam antibiyotikler geniş bir antibakteriyel etki spektrumuna sahiptir (Kong vd., 2010).

Beta-laktam antibiyotiklerin yaygın kullanımı, zamanla bakterilerin bu ilaçlara karşı direnç geliştirmesine yol açmıştır. Bakteriler, beta-laktam antibiyotiklerin etkisini ortadan kaldıran beta-laktamaz enzimlerini üreterek direnç kazanabilirler. Bu enzimler, antibiyotiğin kimyasal yapısını değiştirerek onun hücre duvarı sentezini inhibe etme yeteneğini azaltır veya tamamen ortadan kaldırır (Bush ve Fisher, 2011). Beta-laktamazlar, beta-laktam halkasını hidrolize ederek antibiyotiği etkisiz hale getirir ve bu durum özellikle hastane kaynaklı enfeksiyonların tedavisini zorlaştırır.

Son yıllarda, beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç gösteren bakterilerin sayısında önemli bir artış görülmüştür. Bu direnç, özellikle genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten bakterilerin yaygınlaşması ile daha da kritik hale gelmiştir. Bu nedenle, beta-laktam antibiyotiklerin etkinliğini artırmak için beta-laktamaz inhibitörleri ile kombine edilen tedavi yaklaşımları geliştirilmiştir (Drawz ve Bonomo, 2010).

2.2.1 Beta-laktam antibiyotiklerin tanımı ve etki mekanizması

Beta-laktam antibiyotikler, bakteriyel hücre duvarının temel bileşenlerinden biri olan peptidoglikan sentezini inhibe ederek etki gösterir. Bu ilaçlar, penisilin bağlayıcı proteinler (PBP'ler) olarak bilinen enzimlere bağlanarak hücre duvarı sentezini durdurur. PBP'ler, peptidoglikan zincirlerinin çapraz bağlanmasından sorumlu enzimlerdir ve bu enzimlerin inhibisyonu, hücre duvarının zayıflamasına ve bakterinin lizis olmasına yol açar (Tomasz, 2004). Beta-laktam antibiyotiklerin geniş kullanım alanı, gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı etkili olmalarından kaynaklanmaktadır. Ancak, bazı bakteriler beta-laktamaz enzimleri üreterek bu antibiyotiklere karşı direnç geliştirebilir.

2.2.2 Beta-laktamaz enzimlerinin sınıflandırılması

Beta-laktamazlar, bakterilerin beta-laktam antibiyotiklere karşı geliştirdiği en yaygın direnç mekanizmalarından biridir. Bu enzimler, antibiyotiğin beta-laktam halkasını hidrolize ederek antibakteriyel etkisini ortadan kaldırır (Bush ve Jacoby, 2010). Beta-

laktamaz enzimleri, moleküler yapıları ve substrat özgüllüklerine göre sınıflandırılır ve dört temel sınıfa ayrılır: A, B, C ve D (Ambler sınıflandırması) (Şekil 2.3).

Beta laktamazların sınıflandırılması

Ambler sınıflandırması	Özellikler	Enzim örnekleri	Örnek bakteriler
Sınıf A (serin β -laktamaz)	Sefalosporinazlar GSBL'ler KPC hariç genellikle klavulanik aside duyarlıdır	TEM SHV GSBL, KPC	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>
Sınıf B (metallo- β -laktamaz, MBL)	Karbapenemazlar Çinko metal iyonu içerirler Klavulanik asit tarafından inhibe edilmez aztreonam tarafından inhibe edilir	MBL NDM, IMP, VIM	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
Sınıf C (serin β -laktamaz)	Klavulanik aside dirençlidir, ancak sefoksitin ve seftazidim gibi sefamisinlere duyarlıdır	<i>ampC</i> CMY FOX	<i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Sınıf D (serin β -laktamaz)	Bu β -laktamazlar, kloksasilin ve oksasilin hidrolize edici aktivite gösterir	OXA	<i>Acinetobacter baumannii</i>

Şekil 2.3 Beta-laktamaz enzimlerinin sınıflandırılması

2.2.2.1 A, B, C ve D sınıfı beta-laktamazlar

- **A sınıfı beta-laktamazlar:** Genellikle penisilin ve geniş spektrumlu sefalosporinler gibi antibiyotiklere karşı etkilidir. Bu sınıfa ait en yaygın enzimlerden biri, TEM ve SHV tipi beta-laktamazlardır. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz tipleri de bu sınıfa dahildir.
- **B sınıfı beta-laktamazlar:** Metallo-beta-laktamaz (MBL) olarak bilinen bu enzimler, çinko iyonlarına bağımlıdır ve karbapenemler dahil olmak üzere birçok beta-laktam antibiyotiği hidrolize edebilir.

- **C sınıfı beta-laktamazlar:** AmpC tipi enzimlerdir ve özellikle geniş spektrumlu sefalosporinlere karşı etkilidir. Bu enzimler genellikle kromozomal olarak kodlanır ve bazı gram negatif bakterilerde yaygındır.
- **D sınıfı beta-laktamazlar:** OXA tipi enzimler olarak bilinir ve oksasilin gibi beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç sağlar. Özellikle *Acinetobacter* türlerinde sıkça bulunur (Poirel vd., 2010).

2.2.2.2 Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar, üçüncü kuşak sefalosporinler ve monobaktamlar gibi geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç sağlayan enzimlerdir. Bu enzimler, genellikle plazmidler aracılığıyla taşınır ve hızla yayılabilir. GSBL üreten bakterilerin yaygınlığı, özellikle hastanelerde nozokomiyal enfeksiyonların kontrolünü zorlaştırır ve tedavi seçeneklerini sınırlar (Paterson ve Bonomo, 2005). Bu dirençli bakteriler, genellikle alternatif tedavi gerektiren daha güçlü antibiyotiklerle tedavi edilmek zorundadır.

2.2.3 Beta-laktam/beta-laktamaz inhibitör kombinasyonları

Beta-laktam/beta-laktamaz inhibitör kombinasyonları, beta-laktam antibiyotiklerin etkinliğini artırmak için kullanılan bir tedavi stratejisidir. Bu kombinasyonlar, beta-laktam antibiyotiklerin yanı sıra, beta-laktamaz enzimlerini inhibe eden bir madde içerir. Klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam gibi inhibitörler, beta-laktamazın aktif bölgesine bağlanarak antibiyotiğin hidrolize edilmesini önler ve böylece antibiyotiğin etkinliğini geri kazandırır (Drawz ve Bonomo, 2010). Bu kombinasyonlar, özellikle GSBL üreten bakterilere karşı tedavi seçeneklerinin genişletilmesinde önemli bir rol oynar.

2.3 *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae, Enterobacteriaceae familyasına ait gram negatif çomak şeklinde bir bakteridir. Bu patojen, özellikle bağışıklık sistemi zayıf olan kişilerde ciddi enfeksiyonlara neden olabilen fırsatçı bir mikroorganizmadır. Doğal olarak insan bağırsak florasında ve çevresel alanlarda (toprak, su gibi) bulunabilir. Ancak, hastane ortamlarında yaygın olarak görülen ve hastane kaynaklı (nozokomiyal) enfeksiyonlarda önemli bir etken olarak kabul edilir (Podschun ve Ullmann, 1998).

K. pneumoniae, kapsülü sayesinde fagositoza karşı direnç gösterir ve bu da onun patojenik potansiyelini artırır. Kapsül, bakterinin konakçı bağışıklık sistemi tarafından tanınmasını zorlaştırır ve bu nedenle enfeksiyonlar genellikle daha şiddetli seyreder. Ayrıca, çeşitli virülans faktörleri üretir ve bu faktörler bakterinin konakçı dokulara tutunma ve invazyon yeteneğini artırır (Bagley, 1985).

Son yıllarda, *K. pneumoniae*'nin antibiyotiklere karşı direncinin yaygınlaşması, özellikle genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten suşlarının yaygınlaşması ile birlikte, klinik açıdan ciddi bir sorun haline gelmiştir. Bu direnç mekanizmaları, bakterinin birçok yaygın antibiyotiğe karşı dirençli olmasına neden olarak tedavi seçeneklerini sınırlamakta ve hastalık yükünü artırmaktadır (Nordmann vd., 2012).

2.3.1 Bakteriyel özellikleri ve tanımı

K. pneumoniae, gram negatif ve fakültatif anaerobik bir bakteri olup hareket yeteneği olmayan bir yapıya sahiptir. Kapsül yapısı, bakteriye belirgin bir mukoid görünüm kazandırır ve çevresel faktörlere karşı direnç sağlar. *K. pneumoniae*'nin kapsülü, polisakkaritlerden oluşur ve bu yapı, bakterinin konakçı bağışıklık sistemi tarafından tanınmasını zorlaştırarak enfeksiyonun şiddetini artırır (Podschun ve Ullmann, 1998). Bakteri, genellikle glikoz ve laktoz gibi karbon kaynaklarını fermente eder, bu da laboratuvar tanısında kullanılan bir ayırt edici özellik olarak önemlidir.

Laboratuvar tanısında *K. pneumoniae*'nin ürettiği tipik mukoid koloniler ve biyokimyasal testlerle belirlenen laktoz fermentasyonu, bu bakteriyi tanımada yardımcı olur. Kapsüllü suşlar, özellikle virulans faktörleri açısından zengin olup klinik açıdan daha tehlikeli kabul edilir (Bagley, 1985).

2.3.2 Enfeksiyonlarda rolü ve klinik önemi

K. pneumoniae solunum yolu, idrar yolu ve yara enfeksiyonları gibi çeşitli enfeksiyonlara neden olabilir. Bu bakteri, özellikle yoğun bakım ünitelerinde ve bağışıklık sistemi zayıf olan hastalarda nozokomiyal enfeksiyonların önemli bir nedenidir (Nordmann vd., 2012). *K. pneumoniae*'nin neden olduğu enfeksiyonlar genellikle daha ciddi seyreder ve tedavi edilmesi zor olabilir. Toplum kökenli pnömonilerde de etkili olabilen bu bakteri, sıklıkla karaciğer apseleri ve sepsisemiler ile ilişkilendirilir (Keynan ve Rubinstein, 2007).

Hastane ortamlarında *K. pneumoniae*'nin neden olduğu enfeksiyonlar arasında ventilatörle ilişkili pnömoni, idrar yolu enfeksiyonları, bakteriyemi ve cerrahi alan enfeksiyonları yaygındır. Bu enfeksiyonlar, özellikle invaziv tıbbi cihazların kullanıldığı hastalarda daha sık görülür ve yüksek mortalite oranlarına sahip olabilir (Bengoechea ve Sa Pessoa, 2019).

2.3.3 Antibiyotik direnci ve yaygın GSBL üretimi

K. pneumoniae, son yıllarda yaygın antibiyotik direnci ile dikkat çekmektedir. Bu direnç, özellikle genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten suşların yaygınlaşması ile daha da belirgin hale gelmiştir. GSBL üreten *K. pneumoniae* suşları, üçüncü kuşak sefalosporinler ve aztreonam gibi antibiyotiklere karşı dirençlidir ve bu durum tedavi seçeneklerini önemli ölçüde sınırlamaktadır (Paterson ve Bonomo, 2005). GSBL üretimi, genellikle plazmidler üzerinde kodlanır ve bu direnç genleri bakteriler arasında hızla yayılabilir bu da direncin kontrol altına alınmasını zorlaştırır.

Ayrıca *K. pneumoniae* karbapenemaz (KPC) ve metallo-beta-laktamaz (MBL) gibi enzimler üreterek karbapenemlere karşı da direnç kazanabilir. Bu direnç, tedaviye yönelik son seçenek antibiyotiklerin de etkisiz hale gelmesine neden olarak enfeksiyonların yönetimini daha karmaşık bir hale getirir (Nordmann vd., 2012). Dirençli *K. pneumoniae* enfeksiyonları, hastane kaynaklı salgınlar ve yüksek mortalite oranları ile ilişkilendirilir ve bu nedenle halk sağlığı açısından önemli bir tehdit oluşturur.

2.4 SHV, CTX-M ve TEM Enzimleri

SHV, CTX-M ve TEM enzimleri, genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar arasında yer alan ve beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç geliştiren önemli enzimlerdir. Bu enzimler, beta-laktam halkasına sahip antibiyotiklerin yapısını hidrolize ederek antibakteriyel etkisini ortadan kaldırır. Özellikle hastane kaynaklı (nozokomiyal) enfeksiyonların yaygın olduğu ortamlarda bu enzimler, bakterilerin direnç kazanma yetenekleri nedeniyle önemli bir klinik sorun haline gelmiştir (Paterson ve Bonomo, 2005).

SHV, CTX-M ve TEM enzimleri genellikle plazmidler üzerinde kodlanır ve bu nedenle bakteriler arasında yatay gen transferi yoluyla hızla yayılabilir. Bu durum, antibiyotik direncinin hızla yayılmasına ve tedavi seçeneklerinin sınırlandırılmasına yol açar. Enzimlerin genetik çeşitliliği ve moleküler özellikleri, farklı bakteriyel suşlar arasında değişiklik gösterebilir ve bu da direnç mekanizmalarının karmaşıklığını artırır (Bush ve Jacoby, 2010).

Bu enzimler arasında CTX-M tipi beta-laktamazlar, özellikle son yıllarda dünya genelinde en yaygın GSBL türlerinden biri haline gelmiştir. SHV ve TEM enzimleri ise daha eski ve yaygın olarak bilinen GSBL'lerdir. Her üç enzim tipi de gram negatif bakterilerde, özellikle *K. pneumoniae* ve *E. coli* gibi önemli patojenlerde direnç oluşturur ve bu bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde zorluklara yol açar (Livermore, 2008).

2.4.1 Enzimlerin genetik ve biyokimyasal özellikleri

SHV, CTX-M ve TEM enzimleri, genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar olarak bilinen bir grup enzim içinde yer alır ve beta-laktam antibiyotiklerin beta-laktam halkasını hidrolize ederek bu ilaçlara karşı direnç sağlar. Bu enzimler, genellikle bakterilerde plazmidler üzerinde kodlanır, bu da onların yatay gen transferi yoluyla diğer bakterilere yayılmasını kolaylaştırır (Bush ve Jacoby, 2010).

- **SHV enzimleri:** Başlangıçta sulbaktam, klavulanik asit gibi beta-laktamaz inhibitörleri ile etkisiz hale getirilebilen SHV enzimleri, zamanla inhibitörlere karşı direnç kazanmış varyantları ile yaygın hale gelmiştir.
- **CTX-M enzimleri:** Aminoasit dizilimlerinde belirgin farklılıklar gösterirler ve genellikle enterik bakterilerde bulunur. CTX-M enzimleri, üçüncü nesil sefalosporinlere karşı özellikle etkili direnç mekanizmaları sunar (Bonnet, 2004).
- **TEM enzimleri:** İlk olarak *E. coli*'de tanımlanan bu enzimler, beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç sağlayan en yaygın enzimlerden biridir ve zaman içinde birçok farklı varyant geliştirmiştir.

2.4.2 Enzimlerin antibiyotik direncindeki rolleri

Bakterilerin beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç kazanmasında SHV, CTX-M ve TEM enzimleri önemli bir rol oynar. Bu enzimler, beta-laktam antibiyotiklerin beta-laktam halkasını hidrolize ederek antibakteriyel etkisini ortadan kaldırır, böylece bakterilerin bu ilaçlara maruz kaldığında hayatta kalmalarını sağlar (Paterson ve Bonomo, 2005).

CTX-M enzimleri, özellikle üçüncü kuşak sefalosporinlere karşı yüksek direnç sağlama kapasiteleri nedeniyle dikkat çeker. SHV ve TEM enzimleri ise daha yaygın ve eski

GSBL türleridir; ancak bu enzimlerin geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç sağlayan mutant varyantları da bulunmaktadır (Livermore, 2008). Bu direnç mekanizmaları, genellikle klavulanik asit gibi beta-laktamaz inhibitörlerine de direnç gösterir, bu da tedavi seçeneklerini daha da sınırlar.

2.4.3 SHV, CTX-M ve TEM enzimlerinin küresel dağılımı ve klinik önemi

SHV, CTX-M ve TEM enzimleri, dünya genelinde geniş bir coğrafi yayılıma sahiptir ve özellikle hastane kaynaklı enfeksiyonlarda yaygın olarak görülmektedir. CTX-M tipi beta-laktamazlar, son yıllarda dünya genelinde en yaygın GSBL türlerinden biri haline gelmiş ve özellikle Avrupa, Asya ve Amerika'da salgınlara yol açmıştır (Bonnet, 2004). SHV ve TEM enzimleri de dünya genelinde yaygın olmakla birlikte, özellikle *K. pneumoniae* ve *E. coli* gibi gram negatif bakterilerde klinik öneme sahiptir.

SHV ve TEM enzimlerinin farklı varyantları, dünyanın çeşitli bölgelerinde farklı prevalans oranlarına sahiptir. Örneğin, TEM-1 ve SHV-1 gibi enzimler başlangıçta daha yaygınken, günümüzde bu enzimlerin GSBL türleri yaygınlaşmıştır (Bush ve Jacoby, 2010). SHV, CTX-M ve TEM enzimlerinin küresel yayılımı, antibiyotik direncinin kontrolünü zorlaştıran önemli bir halk sağlığı sorunu olarak kabul edilmektedir.

2.5 In Silico Yaklaşımlar

In silico yaklaşımlar, bilgisayar destekli yöntemler kullanarak biyolojik süreçlerin simülasyonlarını ve analizlerini yapmayı amaçlar. Bu yaklaşımlar, özellikle ilaç keşfi ve geliştirme süreçlerinde giderek daha fazla önem kazanmış ve deneysel yöntemlere ek olarak kullanılan temel araçlardan biri haline gelmiştir. In silico yöntemler, biyolojik sistemlerin ve moleküler yapıların simülasyonları sayesinde hem zamandan hem de maliyetten tasarruf sağlayarak araştırmacılara kapsamlı veriler sunar (Kitchen vd., 2004).

Bu yöntemler, ilaç hedeflerinin belirlenmesi, moleküler etkileşimlerin analiz edilmesi ve potansiyel ilaç adaylarının taranması gibi birçok farklı alanda kullanılabilir. Moleküler yerleştirme (molecular docking), moleküler dinamik simülasyonları ve sanal tarama gibi in silico teknikler, ilaç geliştirme süreçlerinin hızlandırılmasına katkıda bulunur ve biyomoleküler etkileşimlerin daha iyi anlaşılmasını sağlar (Ferreira vd., 2015). Özellikle büyük veri tabanlarında potansiyel ilaç adaylarının taranması ve uygun adayların öncelikli olarak seçilmesi, in silico yöntemlerin avantajlarını ortaya koyar.

Son yıllarda, in silico yaklaşımlar, antibiyotik direnci ile mücadelede de yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemler, dirençli bakterilerin enzimlerine karşı etkili yeni ilaç adaylarının keşfinde önemli rol oynar. Bu tür yaklaşımlar, özellikle antibiyotik direnciyle başa çıkmak için yeni beta-laktamaz inhibitörlerinin geliştirilmesinde kritik öneme sahiptir (Schaduangrat vd., 2020).

2.5.1 In silico yaklaşımların temelleri ve önemi

In silico yaklaşımlar, bilgisayar ve bilgi teknolojileri kullanarak biyolojik ve kimyasal süreçlerin simülasyonlarını yapma esasına dayanır. Bu yöntemler, deneysel süreçlerin maliyet ve zaman açısından sınırlandırıldığı durumlarda alternatif bir çözüm sunar. Bilgisayar destekli simülasyonlar, biyolojik sistemlerin ve ilaç etkileşimlerinin daha iyi anlaşılmasını sağlar ve bu sayede deneysel çalışmaların daha etkili bir şekilde planlanmasına olanak tanır (Kitchen vd., 2004).

İlaç geliştirme süreçlerinde in silico yöntemler, potansiyel ilaç adaylarının belirlenmesinde ve optimizasyonunda önemli rol oynar. Özellikle sanal tarama teknikleri, büyük veri tabanlarındaki kimyasal bileşiklerin taranmasını ve belirli biyolojik hedeflerle etkileşime girme olasılığı yüksek olan moleküllerin seçilmesini sağlar. Bu yaklaşımlar, moleküler dinamik simülasyonları ve moleküler yerleştirme yöntemleriyle birlikte, ilaç geliştirme sürecinin hızlandırılmasına ve daha maliyet etkin hale getirilmesine yardımcı olur (Ferreira vd., 2015).

2.5.2 Moleküler yerleştirme (molecular docking)

Moleküler yerleştirme, küçük moleküllerin (örneğin ilaç adaylarının) hedef proteinlerin aktif bölgelerine nasıl bağlandığını tahmin etmeye çalışan bir *in silico* yöntemidir. Bu teknik, biyolojik etkileşimlerin moleküler düzeyde anlaşılmasına olanak tanır ve ilaç adaylarının etkinliklerinin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılır (Meng vd., 2011). Moleküler yerleştirme, ilaç keşfi sürecinde önemli bir araç haline gelmiştir ve özellikle hedef proteinlerin yapısal bilgisine dayalı olarak potansiyel ilaç adaylarının etkinliğinin hızlı bir şekilde taranmasını sağlar.

2.5.2.1 Moleküler yerleştirmenin prensipleri ve uygulama alanları

Moleküler yerleştirme, genellikle iki ana aşamadan oluşur: ligand ve protein arasındaki bağlanma bölgesinin belirlenmesi ve ligandın bu bölgeye nasıl yerleştiğinin tahmin edilmesi. Bu süreç, kimyasal bağlanma enerjileri ve moleküler şekil uyumu gibi çeşitli faktörler dikkate alınarak gerçekleştirilir. Moleküler yerleştirme, enzim inhibitörlerinin tasarımıyla protein-protein etkileşimlerinin analizine kadar geniş bir uygulama alanına sahiptir (Meng vd., 2011).

2.5.2.2 Moleküler dinamik simülasyonları

Moleküler dinamik simülasyonları, biyomoleküler sistemlerin zaman içinde nasıl davrandığını simüle eden *in silico* bir tekniktir. Bu simülasyonlar, proteinlerin yapısal dinamiklerini anlamak, ligandların bağlanma yerlerini incelemek ve ilaç adaylarının etkinliklerini değerlendirmek için kullanılır (Karplus ve Kuriyan, 2005). Moleküler yerleştirme çalışmaları sonrasında yapılan dinamik simülasyonlar, yerleştirmenin doğruluğunu ve sistemin kararlılığını değerlendirmek için önemlidir.

2.5.3 In silico yöntemlerle ilaç keşfi

In silico yöntemler, ilaç keşfi sürecinde potansiyel ilaç adaylarının belirlenmesi ve mevcut ilaçların optimize edilmesi için yaygın olarak kullanılır. Sanal tarama teknikleri, büyük kimyasal bileşik veri tabanlarından belirli biyolojik hedeflerle etkileşime girebilecek moleküllerin seçilmesini sağlar. Bu yöntemler, araştırmacıların laboratuvar çalışmalarında daha etkili ve verimli bir şekilde ilerlemelerine olanak tanır (Schaduangrat vd., 2020).

2.5.3.1 ZINC veri tabanı ve kullanım alanları

ZINC veri tabanı, sanal tarama ve moleküler yerleştirme çalışmaları için geniş bir kimyasal bileşik koleksiyonu sunan ücretsiz çevrimiçi bir kaynaktır. Bu veri tabanı, potansiyel ilaç adaylarının taranması ve kimyasal bileşiklerin biyolojik hedeflerle etkileşimlerinin değerlendirilmesi için sıklıkla kullanılır (Irwin vd., 2020). ZINC, çeşitli kimyasal bileşiklerin yapısal bilgilerini içeren geniş bir veri tabanı sunarak, araştırmacıların in silico yöntemlerle ilaç keşfi çalışmalarını destekler.

2.6 Yeni İlaç Geliştirme ve Beta-laktamaz İnhibitörleri

Beta-laktam antibiyotikler, bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde önemli bir rol oynamaktadır; ancak, beta-laktamaz üreten bakteriler bu ilaçlara karşı direnç geliştirmiştir. Bu nedenle, beta-laktam antibiyotiklerin etkinliğini artırmak ve dirençli enfeksiyonlarla başa çıkmak için beta-laktamaz inhibitörleri geliştirilmiştir. Bu inhibitörler, beta-laktamaz enzimlerine bağlanarak onların beta-laktam antibiyotiklerin yapısını parçalama yeteneklerini engeller ve böylece antibiyotiklerin etkinliğini geri kazandırır (Drawz ve Bonomo, 2010).

Geleneksel beta-laktamaz inhibitörleri arasında klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam yer almaktadır. Bu inhibitörler, genellikle beta-laktam antibiyotiklerle kombine edilerek kullanılır ve özellikle SHV, TEM ve bazı CTX-M türleri gibi yaygın beta-laktamazlara karşı etkilidir. Ancak, yeni direnç mekanizmalarının ortaya çıkmasıyla birlikte, bu klasik inhibitörlerin etkinliği bazı geniş spektrumlu beta-laktamazlar ve karbapenemazlar gibi daha dirençli enzimlere karşı sınırlı kalmaktadır (Livermore ve Brown, 2001).

Son yıllarda, yeni beta-laktamaz inhibitörleri geliştirilmeye başlanmış ve bu alanda önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Relebaktam, avibaktam ve vaborbaktam gibi yeni nesil inhibitörler, daha geniş bir beta-laktamaz yelpazesine karşı etkili olup, özellikle karbapenemaz üreten bakterilere karşı önemli bir tedavi seçeneği sunmaktadır (Ehmann vd., 2013). Bu gelişmeler, antibiyotik direnci ile mücadelede yeni stratejilerin geliştirilmesi için umut verici adımlar olarak değerlendirilmektedir.

2.6.1 Beta-laktamaz inhibitörlerinin geliştirilmesi ve klinik kullanımı

Beta-laktamaz inhibitörleri, beta-laktam antibiyotiklerin etkinliğini artırmak için geliştirilmiş moleküllerdir. Bu inhibitörler, beta-laktamaz enzimlerine bağlanarak antibiyotiklerin hidrolize edilmesini önler ve böylece bakterilerin direnç kazanmasını engeller. İlk nesil beta-laktamaz inhibitörleri olan klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam, geniş spektrumlu beta-laktamazlara karşı etkili olmakla birlikte, bazı dirençli enzimlere karşı sınırlı etkiye sahiptir (Drawz ve Bonomo, 2010).

Yeni nesil beta-laktamaz inhibitörleri ise daha geniş bir etki spektrumuna sahiptir ve özellikle karbapenemaz gibi daha dirençli beta-laktamaz türlerine karşı etkili olabilir. Örneğin, avibaktam, relebaktam ve vaborbaktam gibi yeni inhibitörler, klasik inhibitörlerin yetersiz kaldığı dirençli bakterilere karşı umut verici tedavi seçenekleri sunar. Bu yeni inhibitörlerin klinik kullanımı, antibiyotik tedavilerinin başarısını artırmakta ve dirençli enfeksiyonların yönetiminde önemli bir ilerleme sağlamaktadır (Ehmann vd., 2013).

2.6.2 SHV, CTX-M ve TEM enzimlerine karşı potansiyel inhibitörlerin keşfi

SHV, CTX-M ve TEM beta-laktamazlarına karşı yeni inhibitörlerin geliştirilmesi, antibiyotik direnciyle mücadelede kritik bir öneme sahiptir. Bu enzimler, yaygın olarak GSBL üreticisi bakterilerde bulunur ve geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç sağlar. Yeni inhibitörlerin keşfinde, moleküler yerleştirme (molecular docking) ve yapısal biyoloji gibi in silico yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır (Fisher vd., 2017).

Yeni nesil beta-laktamaz inhibitörlerinin geliştirilmesi sırasında, inhibitörlerin enzim aktif bölgeleri ile etkileşimini optimize etmek amacıyla çeşitli kimyasal modifikasyonlar yapılmaktadır. Örneğin, avibaktam, SHV ve TEM türlerine karşı etkinliğini artırmak için kimyasal yapısında modifikasyonlar içermektedir. Bu tür çalışmalar, geniş spektrumlu ve dirençli beta-laktamazlara karşı daha etkili inhibitörlerin keşfedilmesini sağlamaktadır (Fisher vd., 2017).

2.6.3 Gelecekteki tedavi stratejileri ve araştırma yönleri

Gelecekteki tedavi stratejileri, yeni beta-laktamaz inhibitörlerinin geliştirilmesi ve kombinasyon tedavilerinin optimize edilmesi üzerine odaklanacaktır. Beta-laktamaz inhibitörlerinin antibiyotiklerle kombinasyonu, dirençli bakterilere karşı tedavi seçeneklerini genişletirken, hastaların tedavi süreçlerinde daha etkili sonuçlar elde edilmesini sağlar. Ayrıca, karbapenemazlar gibi daha dirençli enzimler için özel olarak tasarlanmış yeni inhibitörlerin geliştirilmesi de büyük önem taşımaktadır (Ehmann vd., 2013).

Araştırma yönleri, aynı zamanda in silico yöntemlerin daha fazla entegrasyonunu ve yeni kimyasal yapıların tasarımını içermektedir. Yapısal biyoloji ve moleküler dinamik simülasyonları gibi ileri in silico teknikler, yeni inhibitörlerin etkinliğini tahmin etmek ve optimize etmek için kullanılabilir. Ayrıca, genetik mühendislik ve sentetik biyoloji teknikleri, bakterilerin direnç mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasına ve bu mekanizmaların etkisiz hale getirilmesine yönelik yeni stratejilerin geliştirilmesine olanak tanır (Fisher vd., 2017).



3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada, GSBL üreten *K. pneumoniae* bakterisinde antibiyotik direnç mekanizmalarını incelemek ve potansiyel inhibitör bileşikleri belirlemek amacıyla çeşitli hesaplamalı analiz yöntemleri kullanılmıştır. Bu bölüm; hedef proteinlerin kristal yapılarının hazırlanması, sanal tarama ve fizikokimyasal karakterizasyon işlemleri, farmakokinetik analizler, moleküler docking analizi ve moleküler dinamik simülasyonlarını kapsamaktadır.

3.1 Hedef Proteinlerin Kristal Yapısının Hazırlanması

Çalışmada kullanılan CTX-M (PDB ID: 4s2i), SHV (PDB ID: 4zam) ve TEM (PDB ID: 1htz) proteinlerinin üç boyutlu kristal yapıları, Protein Veri Bankası'ndan (PDB) indirilmiştir (Berman ve ark., 2000). Bu protein yapıları, moleküler docking analizlerinde doğru ve stabil sonuçlar elde edilebilmesi için kapsamlı bir şekilde optimize edilmiştir.

İlk olarak, indirilen kristal yapılarda kristalize olmuş ligandlar, su molekülleri ve diğer heteroatomlar yapılar içerisinden çıkarılmıştır. Bu adımlar, özellikle proteinlerin aktif bölgelerinde istenmeyen etkileşimlerin önlenmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir. Böylece hesaplamalı analizlerde hedef proteinlerin biyolojik işlevleri üzerinde istenmeyen etkilerin ortaya çıkması engellenmiş ve analizlerin doğruluğu artırılmıştır.

Kristal yapılar üzerinde gerçekleştirilen ikinci adımda, proteinlerin üç boyutlu yapılarına eksik hidrojen atomları ve yükler eklenerek yapısal bütünlük sağlanmıştır. Aynı zamanda eksik atom veya kalıntılar tamamlanarak proteinlerin bütünlüğü sağlanmıştır. Bu işlemler protein yapılarının hesaplamalı analizlerde doğal biyolojik ortamlarına en yakın şekilde temsil edilmesi adına büyük önem taşımaktadır. Ek olarak, proteinlerin stabil bir yapı sergilemesi gerçekleştirilecek olan moleküler docking işlemlerinin doğruluğu açısından kritik rol oynamaktadır.

Protein yapıların enerji açısından optimize edilmesi amacıyla Chimera yazılımı kullanılmıştır (Pettersen ve ark., 2004). Bu yazılım aracılığıyla, protein yapılarında bulunan protein dışı kalıntılar enerji minimizasyonu ve yapı optimizasyonuna tabi tutulmuştur. Bu işlem, proteinlerin aktif bölgelerinde potansiyel enerji dengesizliklerini gidermek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Enerji minimizasyonu sayesinde protein yapıları enerji açısından daha stabil bir hale getirilmiş ve böylece moleküler docking çalışmalarına uygun hale getirilmiştir.

Son olarak, optimize edilen ve enerji açısından dengelenmiş hedef protein yapıları, moleküler docking analizlerinde kullanılmak üzere hazırlık sürecinin tamamlanması adına tekrar gözden geçirilmiştir. Bu adımların her biri, çalışmanın sonuçlarının biyolojik olarak güvenilir ve geçerli olmasını sağlamak amacıyla dikkatlice uygulanmıştır.

Bu hazırlık süreci sonunda elde edilen yapıların doğruluğu, proteinlerin doğal ortamlarındaki biyolojik işlevleri yansıtabilmesi açısından yüksek önem arz etmekte ve çalışmanın genel sonuçlarının bilimsel güvenilirliğini sağlamaktadır.

3.2 Sanal Tarama ve Fizikokimyasal Karakterizasyon

Çalışmamızda, GSBL üreten *K. pneumoniae*'de antibiyotik dirençli enzimleri hedef alabilecek potansiyel inhibitörlerin keşfi amacıyla sanal tarama (virtual screening) yöntemi uygulanmıştır. CTX-M, TEM ve SHV proteinlerinin kristal yapıları, bu proteinlerin aktif bölgeleriyle etkileşim sağlayabilecek bileşiklerin belirlenmesi amacıyla Zinc veritabanında tarama yapmak için kullanılmıştır. Tanimoto-10 tabanlı benzerlik taraması ile Avibactam gibi beta-laktamaz inhibitörleriyle yapısal benzerliğe sahip bileşikler tespit edilmiştir. Bu işlem, potansiyel inhibitörlerin seçiminde referans bir inhibitörün özelliklerini dikkate alarak daha etkin bileşiklerin belirlenmesini sağlamıştır.

3.2.1 Molekül kütüphanesi seçimi ve hazırlığı

Sanal tarama sürecinde geniş kapsamlı bir molekül kütüphanesi oluşturulmuş ve hedef proteinlerle güçlü etkileşim gösterebilecek bileşikler taranmıştır. ZINC veritabanından elde edilen otuz bileşik, Tanimoto-10 benzerlik skoru kullanılarak Avibactam'a benzeyen yapılar arasından seçilmiştir. Bu bileşikler üç boyutlu modellere dönüştürülmüş, pH 7.4'e göre protonasyon durumları ayarlanmış ve hesaplamalı analizlerde kullanılmaya hazır hale getirilmiştir.

3.2.2 Fizikokimyasal özelliklerin analizi

Belirlenen otuz bileşiğin fizikokimyasal özellikleri in silico ortamda analiz edilmiştir. Bu analizde, ilaç benzerliği (drug-likeness), lipofilite ve çözünürlük gibi özellikler Lipinski'nin Beşli Kuralı, Ghose Kuralı, Veber Kuralı ve Egan Kuralı'na göre değerlendirilmiştir. SwissADME yazılımı kullanılarak yapılan bu analizlerde, molekül ağırlığı, logP değeri ve hidrojen bağı donör/alıcı sayısı gibi özellikler göz önünde bulundurulmuştur. Biyoyararlanımı yüksek bileşikler ileri analizler için uygun kabul edilmiştir.

3.2.3 Farmakokinetik özelliklerin değerlendirilmesi

Belirlenen bileşiklerin farmakokinetik özellikleri, gastrointestinal (GI) emilim seviyeleri, kan-beyin bariyerini (BBB) aşabilme potansiyelleri, P-glikoprotein (P-gp) substratı olarak görev yapabilme özellikleri, önemli sitokrom P450 enzimlerinden CYP1A2 ve CYP2D6'yı inhibe etme potansiyelleri ve cilt geçirgenlik katsayıları gibi kriterlere göre değerlendirilmiştir. Bu analizler, bileşiklerin farmasötik etkinliklerini ve biyolojik sistemlerdeki davranışlarını daha iyi anlamak için SwissADME yazılımı ile yapılmıştır. GI emilim seviyeleri yüksek olan ve BBB'yi geçme potansiyeline sahip

bileşikler, özellikle sinir sistemi ve sistemik enfeksiyonların tedavisi açısından potansiyel taşımaktadır.

3.2.4 ADMET analizleri

Seçilen bileşiklerin biyoyararlanım, toksisite, karaciğer metabolizması ve böbrek eliminasyonu gibi özellikleri, ADMET (Absorpsiyon, Dağılım, Metabolizma, Eliminasyon ve Toksisite) analizleri ile değerlendirilmiştir. ADMET analizlerinde bileşiklerin P-gp substratlığı ve CYP450 enzimleri ile uyumlu metabolik profil göstermesi gibi özellikler de göz önünde bulundurulmuştur. Bu analizler sonucunda, güvenilir farmakokinetik ve farmakodinamik özelliklere sahip bileşikler moleküler docking analizine uygun olarak seçilmiştir.

Bu sanal tarama ve fizikokimyasal karakterizasyon işlemlerinin sonucunda, hedef proteinlerin aktif bölgeleriyle yüksek afiniteli etkileşim gösterebilecek, fizikokimyasal ve farmakokinetik olarak uyumlu potansiyel inhibitörler belirlenmiştir. Belirlenen bu bileşikler, ileri analizlerde protein-ligand etkileşimlerinin dinamik yapısını daha detaylı incelemek amacıyla moleküler docking analizine ve en iyi komplekslerin moleküler dinamik simülasyonuna tabi tutulacaktır.

3.3 Moleküler Docking Analizi

Bu bölümde, farmakokinetik analizden geçen aday bileşiklerin hedef proteinlerle etkileşimlerini analiz etmek amacıyla moleküler docking işlemleri yapılmıştır. Moleküler docking, bileşiklerin hedef proteinlerin aktif bölgeleriyle olası bağlanma modlarını ve afinitelerini değerlendirmek için kullanılan hesaplamalı bir yaklaşımdır. Bu çalışma kapsamında, docking işlemleri ile bileşiklerin proteinlerle yüksek afiniteli bağlanma kapasiteleri değerlendirilmiştir.

3.3.1 Docking protokolü ve yazılım seçimi

Docking işlemleri, AutoDock Vina yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. AutoDock Vina, ligand-protein etkileşimlerini hesaplayarak bağlanma skorları ve enerji değerleri sunar. Bu çalışmada, hedef proteinlerin aktif bölgelerine düşük enerji ile bağlanan bileşiklerin seçimi, yüksek afiniteli etkileşimlerin belirlenmesi açısından kritik öneme sahiptir.

3.3.2 Bağlanma modlarının ve skorlarının analizi

Her bir bileşik için yapılan docking işlemleri sonucunda, bağlanma modları ve enerji skorları analiz edilmiştir. En düşük bağlanma enerjisi değerine sahip bileşikler, hedef proteinlerin aktif bölgeleri ile en güçlü etkileşimi gösteren moleküller olarak belirlenmiştir. Bu bileşiklerin bağlanma modları analiz edilerek, protein aktif bölgesi ile hidrojen bağları, hidrofobik etkileşimler ve iyonik bağlar gibi anahtar etkileşimler detaylandırılmıştır.

Docking analizleri sonucunda, yüksek afiniteli ve uygun bağlanma modlarına sahip bileşikler, protein-ligand komplekslerinin dinamik yapısının daha ayrıntılı incelenmesi için moleküler dinamik simülasyonlarına alınmıştır.

3.4 En İyi Protein-Ligand Komplekslerinin Moleküler Dinamik Simülasyonu

Moleküler docking analizleri sonucunda yüksek afiniteli olarak belirlenen protein-ligand kompleksleri, dinamik davranışlarının daha iyi anlaşılabilmesi için moleküler dinamik simülasyonlarına tabi tutulmuştur. Bu simülasyonlar, komplekslerin biyolojik ortamda sergileyebileceği olası konformasyonel değişiklikleri ve stabilitelerini incelemek amacıyla yapılmaktadır.

3.4.1 Simülasyon protokolü ve yazılım seçimi

Moleküler dinamik simülasyonları, GROMACS yazılımı kullanılarak yürütülmüştür. GROMACS, protein-ligand komplekslerinin su ortamında simülasyonlarını

gerçekleştirmek için geniş kapsamlı araçlar sunan bir simülasyon yazılımıdır. Bu çalışmada, simülasyon süresi 100 ns olarak belirlenmiş olup, protein ve ligandların uzun süreli etkileşim dinamikleri değerlendirilmiştir.

3.4.2 Komplekslerin stabilite ve konformasyonel analizi

Simülasyon sürecinde, komplekslerin RMSD (kök ortalama kare hatası) ve RMSF (kök ortalama kare sapması) değerleri analiz edilmiştir. Bu değerler, komplekslerin stabilitesini ve esnekliklerini belirlemek için kullanılmaktadır. Ayrıca, hidrojen bağları, hidrofobik etkileşimler ve iyonik bağların süresi ve sayısı analiz edilerek, komplekslerin dinamik stabiliteleri değerlendirilmiştir. Simülasyonlar sonucunda, stabilite ve bağlanma sürekliliği açısından uygun özellikler gösteren kompleksler, potansiyel inhibitör adayları olarak belirlenmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Seçilen Bileşiklerin Karakterizasyonu ve Analizi

Sanal tarama sonucunda belirlenen otuz bileşik, fizikokimyasal özellikleri, ilaç benzerliği (drug-likeness), lipofilite ve çözünürlük açısından değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmeler, bileşiklerin biyolojik sistemlerde potansiyel bir farmakolojik etki gösterebilme kapasitesini belirlemeye yöneliktir. Fizikokimyasal analizler; molekül ağırlığı (MW), lipofilite (logP), topolojik polar yüzey alanı (TPSA), hidrojen bağı donör (HBD) ve alıcı (HBA) sayıları, dönebilen bağı sayısı (RB) ve tahmini su çözünürlüğü (Log S) gibi parametreleri kapsamaktadır. Elde edilen veriler Çizelge 4.1’de sunulmaktadır.

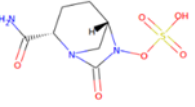
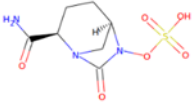
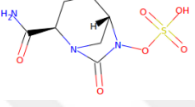
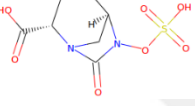
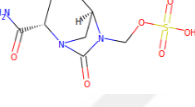
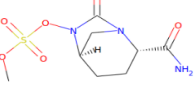
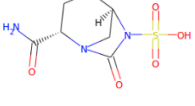
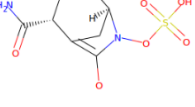
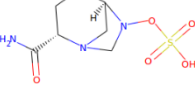
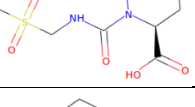
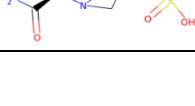
Bileşiklerin farmakokinetik uygunluklarını değerlendirmek için Lipinski’nin Beşli Kuralı, Ghose Kuralı, Veber Kuralı ve Egan Kuralı’na göre analiz yapılmıştır. Bu kurallar, bileşiklerin biyoyararlanım açısından uygunluklarını ve farmakokinetik olarak etkinlik potansiyellerini değerlendirmede önemli bir ölçüt sağlamaktadır. Ayrıca, logP değerleri, bileşiklerin yeterli lipofilite seviyesine sahip olduğunu ve hücre zarından geçiş kabiliyetinin yüksek olabileceğini göstermektedir. Çizelge 4.1’de yer alan analiz sonuçlarına göre, bileşiklerin çoğunluğunun ilaç benzerliği kurallarına uygun olduğu tespit edilmiştir.

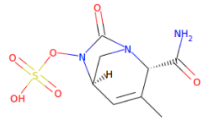
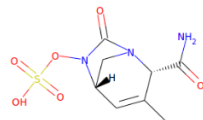
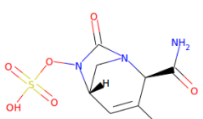
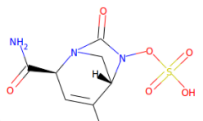
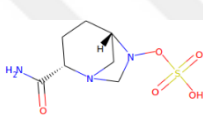
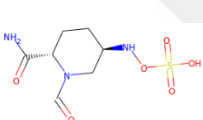
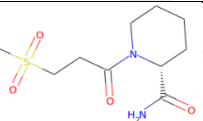
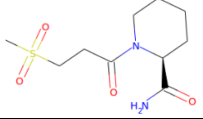
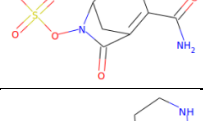
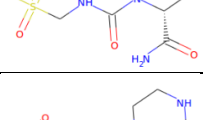
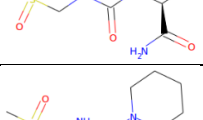
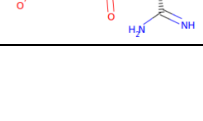
Çözünürlük açısından yapılan değerlendirmelerde, bileşiklerin çoğunun çok çözünebilir ve yüksek çözünebilirlik sınıflarında yer aldığı tespit edilmiştir. Bu durum, bileşiklerin biyoyararlanımını destekleyici bir özellik olup, farmasötik formülasyon açısından önemlidir. Log S değerlerine göre belirlenen çözünürlük sınıfları, bileşiklerin su içinde çözünürlük profillerini yansıtmaktadır ve ilaç geliştirme sürecinde değerlendirilmeleri gereken bir diğer önemli faktördür. Elde edilen karakterizasyon verileri, seçilen bileşiklerin biyolojik sistemlerde etkinlik gösterebilecek potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Bileşiklerin fizikokimyasal profilleri, farmakokinetik analizler ve daha ileri moleküler docking çalışmalarında kullanılmak üzere yeterli nitelikte olup, bu

analizlerin seçilen bileşiklerin potansiyel inhibitör olarak değerlendirilebilmesi için güçlü adaylar oluşturduğunu ortaya koymaktadır.



Çizelge 4.1 Bileşiklerin Fizikokimyasal Özellikleri, İlaç Benzerliği, Lipofilite ve Çözünürlük Durumları

No	Zinc Bileşiği	Yapı	SMILES	MF	MW	WLogP	(Å²)	HBD	HBA	RB	Log S	SC
1	ZINC00000396 6153		<chem>NC(=O)[C@@H]1CC[C@H]2CN1C(=O)N2OS(=O)(=O)O</chem>	C7H11 N3O6S	265.24	-1.21	138.62	2	6	3	-0.13	very soluble
2	ZINC00003397 9726		<chem>NC(=O)[C@H]1CC[C@H]2CN1C(=O)N2OS(=O)(=O)O</chem>	C7H11 N3O6S	265.24	-1.21	138.62	2	6	3	-0.13	very soluble
3	ZINC00000155 1650		<chem>NC(=O)[C@H]1CC[C@H]2CN1C(=O)N2OS(=O)(=O)O</chem>	C7H11 N3O6S	265.24	-1.21	138.62	2	6	3	-0.13	very soluble
4	ZINC00011565 7439		<chem>O=C(O)[C@H]1CC[C@H]2CN1C(=O)N2OS(=O)(=O)O</chem>	C7H10 N2O7S	266.23	-0.61	132.83	2	7	3	-0.55	very soluble
5	ZINC00204853 2234		<chem>NC(=O)[C@H]1CC[C@H]2CN1C(=O)N2COS(=O)(=O)O</chem>	C8H13 N3O6S	279.27	-1.16	138.62	2	6	4	-0.09	very soluble
6	ZINC00204853 2228		<chem>COS(=O)(=O)ON1C(=O)N2C[C@H]1CC[C@H]2C(=O)N</chem>	C8H13 N3O6S	279.27	-1.12	127.62	1	6	4	-0.49	very soluble
7	ZINC00011685 4714		<chem>NC(=O)[C@H]1CC[C@H]2CN1C(=O)N2S(=O)(=O)O</chem>	C7H11 N3O5S	249.24	-1.14	129.39	2	5	2	-0.42	very soluble
8	ZINC00156040 3706		<chem>NC(=O)[C@H]1CC[C@H]2CC1=C([O])N2OS(=O)(=O)O</chem>	C8H11 N2O6S	263.25	0.03	118.31	2	6	3	-0.57	very soluble
9	ZINC00021759 3512		<chem>NC(=O)[C@H]1CC[C@H]2CN1CN2OS(=O)(=O)O</chem>	C7H13 N3O5S	251.26	-1.37	121.55	2	7	3	0.97	highly soluble
10	ZINC00202403 8905		<chem>CS(=O)(=O)CNC(=O)N1CCCC[C@H]1C(=O)O</chem>	C9H16 N2O5S	264.30	0.34	112.16	2	5	5	-0.83	very soluble
11	ZINC00030950 9129		<chem>NC(=O)[C@H]1CC[C@H]2CN1CN2OS(=O)(=O)O</chem>	C7H13 N3O5S	251.26	-1.37	121.55	2	7	3	0.97	highly soluble

12	ZINC00022088 1117		<chem>CC1=C[C@@H]2CN(C(=O)N2OS(=O)(=O)O)[C@@H]1C(N)=O</chem>	C8H11 N3O6S	277.25	-1.04	138.62	2	6	3	-0.08	very soluble
13	ZINC00020530 0596		<chem>CC1=C[C@H]2CN(C(=O)N2OS(=O)(=O)O)[C@@H]1C(N)=O</chem>	C8H11 N3O6S	277.25	-1.04	138.62	2	6	3	-0.08	very soluble
14	ZINC00022091 3786		<chem>CC1=C[C@H]2CN(C(=O)N2OS(=O)(=O)O)[C@H]1C(N)=O</chem>	C8H11 N3O6S	277.25	-1.04	138.62	2	6	3	-0.08	very soluble
15	ZINC00010324 5006		<chem>CC1=C[C@@H](C(N)=O)N2C[C@@H]1N(OS(=O)(=O)O)C2=O</chem>	C8H11 N3O6S	277.25	-1.04	138.62	2	6	3	-0.08	very soluble
16	ZINC00030950 9135		<chem>NC(=O)[C@@H]1CC[C@H]2CN1CN2OS(=O)(=O)O</chem>	C7H13 N3O5S	251.26	-1.37	121.55	2	7	3	0.97	highly soluble
17	ZINC00009820 9247		<chem>NC(=O)[C@@H]1CC[C@@H](NO)S(=O)(=O)O)CN1C=O</chem>	C7H13 N3O6S	267.26	-1.51	147.41	3	7	5	1.55	highly soluble
18	ZINC00134732 1411		<chem>CS(=O)(=O)CCC(=O)N1CCCC[C@@H]1C(N)=O</chem>	C10H18 N2O4S	262.33	-0.01	105.92	1	4	5	-0.08	very soluble
19	ZINC00134732 1412		<chem>CS(=O)(=O)CCC(=O)N1CCCC[C@H]1C(N)=O</chem>	C10H18 N2O4S	262.33	-0.01	105.92	1	4	5	-0.08	very soluble
20	ZINC00156040 6141		<chem>NC(=O)C1=C2C[C](CC1N(OS(=O)(=O)O)C2=O</chem>	C8H9N 2O6S	261.23	-1.52	135.38	2	6	3	-0.30	very soluble
21	ZINC00202406 3548		<chem>CS(=O)(=O)CNC(=O)N1CCNC[C@@H]1C(N)=O</chem>	C8H16 N4O4S	264.30	-2.22	129.98	3	5	5	0.52	highly soluble
22	ZINC00202406 3547		<chem>CS(=O)(=O)CNC(=O)N1CCNC[C@H]1C(N)=O</chem>	C8H16 N4O4S	264.30	-2.22	129.98	3	5	5	0.52	highly soluble
23	ZINC00202404 2186		<chem>CS(=O)(=O)CNC(=O)N1CCCC[C@@H]1C(=N)N</chem>	C9H18 N4O3S	262.33	0.19	124.73	3	4	5	-0.47	very soluble

24	ZINC00202408 2124		<chem>CS(=O)(=O)CNC(=O)N1CCCC[C@H]1C(N)=S</chem>	C9H17 N3O3S2	279.38	0.54	132.97	2	3	5	-0.90	very soluble
25	ZINC00202404 2187		<chem>CS(=O)(=O)CNC(=O)N1CCCC[C@H]1C(=N)N</chem>	C9H18 N4O3S	262.33	0.19	124.73	3	4	5	-0.47	very soluble
26	ZINC00202408 2126		<chem>CS(=O)(=O)CNC(=O)N1CCCC[C@H]1C(N)=S</chem>	C9H17 N3O3S2	279.38	0.54	132.97	2	3	5	-0.90	very soluble
27	ZINC00202403 8904		<chem>CS(=O)(=O)CNC(=O)N1CCCC[C@H]1C(=O)O</chem>	C9H16 N2O5S	264.30	0.34	112.16	2	5	5	-0.83	very soluble
28	ZINC00020496 4427		<chem>N#C[C@@H]1CC[C@H]2CN1C(=O)N2OS(=O)(=O)O</chem>	C7H9N 3O5S	247.23	-0.17	119.32	1	6	2	-0.62	very soluble
29	ZINC00202407 9831		<chem>CC(=O)[C@@H]1CCCCN1C(=O)NCS(C)(=O)=O</chem>	C10H18 N2O4S	262.33	0.84	91.93	1	4	5	-0.92	very soluble
30	ZINC00202407 9830		<chem>CC(=O)[C@H]1CCCCN1C(=O)NCSC(C)(=O)=O</chem>	C10H18 N2O4S	262.33	0.84	91.93	1	4	5	-0.92	very soluble
ZINC00000930223 9 (Avibactam)			<chem>NC(=O)[C@@H]1CC[C@H]2CN1C(=O)N2OS(=O)(=O)O</chem>	C7H11 N3O6S	265.24	-1.121	138.6	2	6	3	-0.13	very soluble

SMILES (Simplified Molecular Input Line Entry System): Basitleştirilmiş Moleküler Girdi Satır Girişi Sistemi; MF: Molekül formülü; MW: Molekül ağırlığı (g/mol); logP: Atomistik yöntemle ölçülen lipofilite; Å²: Topolojik polar yüzey alanı (TPSA); HBD: Hidrojen bağı donör sayısı; HBA: Hidrojen bağı alıcı sayısı; RB: Döneabilen bağı sayısı; Log S: Topolojik yöntemle tahmin edilen su çözünürlüğü değeri; SC: Log S değerine dayalı çözünürlük sınıfı; very soluble: çok çözünebilir; highly soluble: yüksek çözünebilirlik; Lipinski'nin Beşli Kuralı: $MW \leq 500$, $\log P \leq 5$, $H\text{-bond acceptor} \leq 10$, $H\text{-bond donor} \leq 5$; Ghose Kuralı: $160 \leq MW \leq 480$, $40 \leq MR \leq 130$, $0.4 \leq W\log P \leq 5.6$; Veber Kuralı: $\text{Rotatable bonds} \leq 10$, $TPSA \leq 140$; Egan Kuralı: $W\log P \leq 5.88$, $TPSA \leq 131.6$.

4.2 Tanımlanan Bileşiklerin Farmakokinetik Analizi

Otuz bileşiğin farmakokinetik analiz sonuçlarına göre, bileşiklerin 17'sinin yüksek gastrointestinal (GI) emilime sahip olduğu, 13'ünün ise düşük emilim gösterdiği tahmin edilmiştir. Yapılan karakterizasyon analizine göre, bileşiklerin hiçbirinin kan-beyin bariyerini (BBB) geçme potansiyeline sahip olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca, bileşiklerden yalnızca ZINC001560403706, P-glikoprotein (P-gp) substratı olarak tanımlanmıştır; bu durum, bileşiğin hücre zarından dışarı taşınma eğilimi taşıdığını ve biyoyararlanımını etkileyebileceğini göstermektedir. Yapılan tahminlere göre, bileşiklerin hiçbirinin CYP1A2 ve CYP2D6 enzimlerini inhibe etme potansiyeline sahip olmadığı bulunmuştur. Cilt geçirgenlik katsayısı açısından ise bileşiklerin -10.28 ile -8.14 cm/s arasında değişen değerler gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.2).

Bu analizler, bileşiklerin emilim, metabolizma ve hedef dokulara ulaşma potansiyelleri hakkında önemli bilgiler sunmaktadır. Özellikle, GI emilim potansiyeli yüksek olan bileşiklerin oral biyoyararlanım açısından avantaj sağlayabileceği, ancak BBB'yi geçememe durumunun sinir sistemi ile ilişkili tedavi seçeneklerini sınırlayabileceği anlaşılmaktadır. CYP450 enzimleri ile uyumsuzluk göstermeyen bileşiklerin ise potansiyel yan etkiler açısından daha güvenilir olabileceği öngörülmektedir.

Çizelge 4.2 Bileşiklerin Farmakokinetik Özellikleri ve Çözünürlük Durumları

No	Bileşik	GI emilimi	BBB geçişi	P-gp substratı	CYP1A2 inhibitörü	CYP2D6 inhibitörü	Log Kp
1	ZINC000003966153	düşük	hayır	hayır	hayır	hayır	-9.22
2	ZINC000033979726	düşük	hayır	hayır	hayır	hayır	-9.22
3	ZINC000001551650	düşük	hayır	hayır	hayır	hayır	-9.22
4	ZINC000115657439	yüksek	hayır	hayır	hayır	hayır	-8.76
5	ZINC002048532234	düşük	hayır	hayır	hayır	hayır	-9.37
6	ZINC002048532228	yüksek	hayır	hayır	hayır	hayır	-8.92
7	ZINC000116854714	yüksek	hayır	hayır	hayır	hayır	-8.76
8	ZINC001560403706	yüksek	hayır	evet	hayır	hayır	-8.70
9	ZINC000217593512	yüksek	hayır	hayır	hayır	hayır	-10.28
10	ZINC002024038905	yüksek	hayır	hayır	hayır	hayır	-8.27
11	ZINC000309509129	yüksek	hayır	hayır	hayır	hayır	-10.28

12	ZINC000220881117	düşük	hayır	hayır	hayır	hayır	-9.44
13	ZINC000205300596	düşük	hayır	hayır	hayır	hayır	-9.44
14	ZINC000220913786	düşük	hayır	hayır	hayır	hayır	-9.44
15	ZINC000103245006	düşük	hayır	hayır	hayır	hayır	-9.44
16	ZINC000309509135	yüksek	hayır	hayır	hayır	hayır	-10.28
17	ZINC000098209247	düşük	hayır	hayır	hayır	hayır	-10.99
18	ZINC001347321411	düşük	hayır	hayır	hayır	hayır	-9.09
19	ZINC001347321412	düşük	hayır	hayır	hayır	hayır	-9.09
20	ZINC001560406141	yüksek	hayır	hayır	hayır	hayır	-8.97
21	ZINC002024063548	düşük	hayır	hayır	hayır	hayır	-9.79
22	ZINC002024063547	düşük	hayır	hayır	hayır	hayır	-9.79
23	ZINC002024042186	yüksek	hayır	hayır	hayır	hayır	-8.65
24	ZINC002024082124	yüksek	hayır	hayır	hayır	hayır	-8.39
25	ZINC002024042187	yüksek	hayır	hayır	hayır	hayır	-8.65
26	ZINC002024082126	yüksek	hayır	hayır	hayır	hayır	-8.39
27	ZINC002024038904	yüksek	hayır	hayır	hayır	hayır	-8.27
28	ZINC000204964427	yüksek	hayır	hayır	hayır	hayır	-8.51
29	ZINC002024079831	yüksek	hayır	hayır	hayır	hayır	-8.14
30	ZINC002024079830	yüksek	hayır	hayır	hayır	hayır	-8.14
ZINC000009302239 (Avibactam)		düşük	hayır	hayır	hayır	hayır	-9.22

GI: gastrointestinal emilim, BBB: kan-beyin bariyeri, P-gp: P-glikoprotein, Log Kp: cilt geçirgenlik katsayısı (cm/s).

4.3 Bileşiklerin Moleküler Docking Analizleri

CTX-M, SHV ve TEM enzimlerine karşı potansiyel inhibitör olarak belirlenen 30 bileşiğin moleküler docking analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu analizlerle, bileşiklerin bağlanma enerjileri hesaplanarak enzimlere karşı en iyi bağlanma afinitesine sahip bileşikler belirlenmiştir. Moleküler docking çalışmaları, bileşiklerin biyolojik etkinliğini tahmin etmek ve potansiyel inhibitör adaylarını tespit etmek amacıyla yapılmıştır. Docking analizleri, PyRx ortamında AutoDock Vina algoritması kullanılarak yürütülmüştür. CTX-M, SHV ve TEM enzimlerinin üç boyutlu yapıları Protein Data Bank'ten 4s2i (CTX-M), 4zam (SHV) ve 1htz (TEM) tanımlayıcıları ile indirilmiştir. 4s2i ve 4zam yapılarında, Avibactam ile kompleks halinde bulunan protein yapıları, moleküler docking işlemi öncesinde protein hazırlık aşamasında bu ligand çıkarılarak

hazırlanmıştır. En düşük bağlanma enerjisine sahip konformasyon her bir bileşik için belirlenmiş, bağlanma bölgesi tanımlanırken enzimlerin aktif bölgeleri merkez olarak alınmıştır.

Moleküler docking analizleri sonucunda, 30 bileşikten on tanesinin (-7 kcal/mol veya daha düşük bağlanma enerjisiyle) CTX-M, SHV ve TEM enzimlerine yüksek afiniteyle bağlanabileceği tespit edilmiştir (Çizelge 4.3). Bu on bileşik (ZINC000003966153, ZINC000033979726, ZINC000103245006, ZINC000115657439, ZINC000116854714, ZINC000220881117, ZINC001560403706, ZINC001560406141, ZINC002024038905, ZINC002048532234) ile ilgili elde edilen bağlanma enerjileri, bu bileşiklerin enzimlerle yüksek oranda etkileşime girerek potansiyel inhibitör olabileceklerini göstermektedir. Bu bileşikler ile enzimler arasındaki bağlanma etkileşimleri, Discovery Studio Visualizer ile detaylı olarak incelenmiştir. Her bir enzim ve ligand arasındaki hidrojen bağları, van der Waals ve hidrofobik etkileşimler gibi bağ türleri analiz edilmiş ve biyolojik etkinlik açısından kritik kabul edilen amino asit kalıntılarıyla etkileşimler gözlemlenmiştir. Örneğin, ZINC000003966153 bileşiği Thr241 ve Tyr299 kalıntıları ile Pi-Pi yığılması ve hidrojen bağı etkileşimi kurarken; ZINC000033979726 bileşiği Val244 ve Lys315 ile güçlü hidrofobik etkileşimler göstermiştir.

Çizelge 4.3 Bileşiklerin Karşılaştırmalı Serbest Bağlanma Enerjileri

Bileşik	Bağlanma Enerjisi (Kcal/mol)		
	TEM	SHV	CTX-M
ZINC000003966153	-7.4	-7.9	-7.2
ZINC000033979726	-7.7	-7.9	-7.1
ZINC000103245006	-7.8	-7.3	-7.1
ZINC000115657439	-7.6	-7	-7.4
ZINC000116854714	-7.1	-7	-7
ZINC000220881117	-8.1	-7.1	-7.1
ZINC001560403706	-7.7	-7	-7.3
ZINC001560406141	-7.3	-8.2	-7
ZINC002024038905	-7	-7.3	-7
ZINC002048532234	-7.2	-7.1	-7.5
ZINC000001551650	-7	-6.8	-7.6
ZINC000098209247	-6	-6.4	-6.8

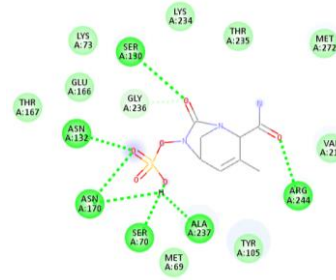
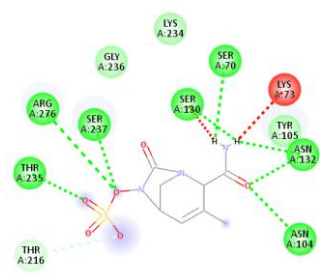
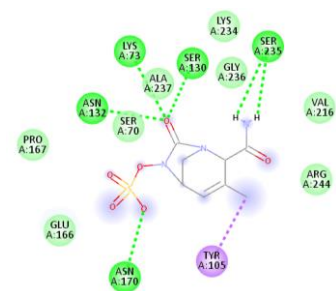
ZINC000204964427	-6.4	-5.9	-6.3
ZINC000205300596	-7	-6.8	-6.6
ZINC000217593512	-7	-6.8	-6.6
ZINC000220913786	-7.4	-6.8	-7.5
ZINC000309509129	-6.7	-6.3	-6.7
ZINC000309509135	-6.9	-7.2	-6.7
ZINC001347321411	-6.9	-6.7	-6
ZINC001347321412	-6.8	-6.8	-6.8
ZINC002024038904	-7	-6.2	-6.7
ZINC002024042186	-6.7	-7.1	-6.1
ZINC002024042187	-6.5	-6.4	-6.4
ZINC002024063547	-6.8	-6.2	-6.6
ZINC002024063548	-6.6	-6.6	-6.4
ZINC002024079830	-6.7	-6.2	-6.2
ZINC002024079831	-6	-7	-6
ZINC002024082124	-6.2	-6.4	-5.6
ZINC002024082126	-6.9	-6.4	-5.7
ZINC002048532228	-7.2	-6.5	-7.2
Avibactam	-7.6	-5.8	-7.6

Elde edilen bağlanma enerjileri ve etkileşim profilleri göz önüne alındığında, özellikle ZINC000003966153 ve ZINC000115657439 bileşiklerinin CTX-M, SHV ve TEM enzimlerinin aktif bölgelerine güçlü bağlanma potansiyeline sahip olduğu anlaşılmaktadır. Yapılan analizlerde, bu iki bileşik için herhangi bir olumsuz donor-donor veya acceptor-acceptor etkileşimi gözlemlenmemiştir (Çizelge 4.4). Bu özelliklerinden dolayı, ZINC000003966153 ve ZINC000115657439 bileşikleri, bu enzimleri inhibe etme potansiyeline sahip en güçlü adaylar olarak değerlendirilmektedir. Diğer bileşiklere kıyasla daha düşük ΔG değerleri gösteren bu bileşikler, inhibitör olarak kullanılabilme potansiyelleri bakımından öne çıkmaktadır.

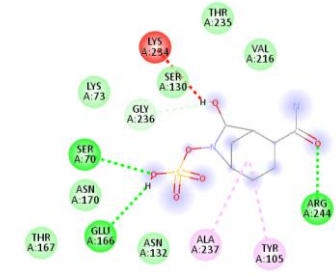
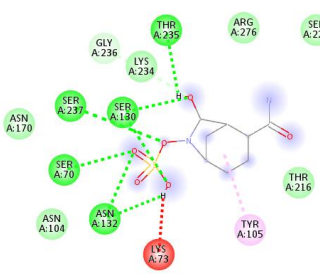
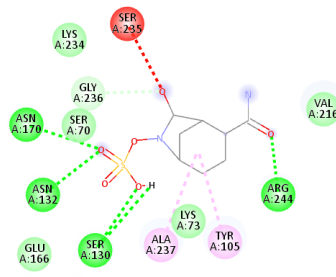
Çizelge 4.4 On Seçilmiş Bileşiğin İki Boyutlu (2D) Protein-Ligand Kompleks Yapıları ve Bağlanma Etkileşimleri

Bileşik	Bağlanma Etkileşimleri		
	TEM	CTX-M	SHV
ZINC000003966153			
ZINC000033979726			
ZINC000103245006			
ZINC000115657439			
ZINC000116854714			

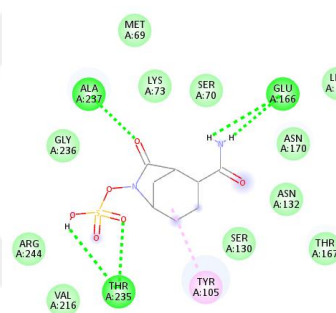
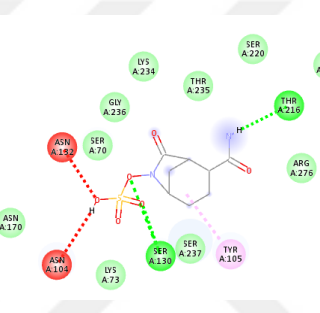
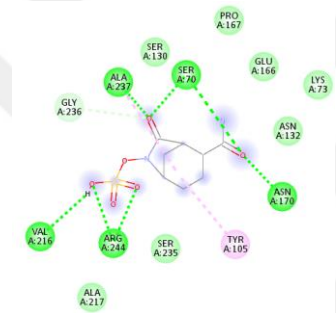
ZINC000220881117



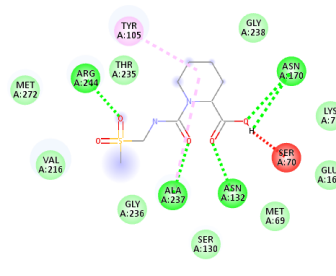
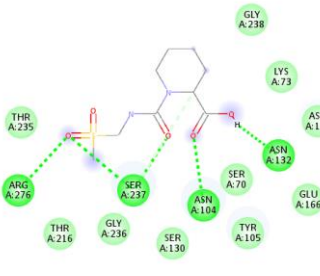
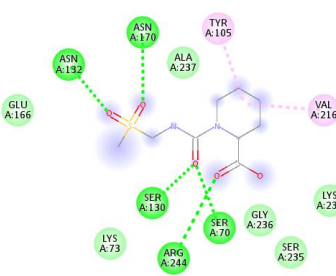
ZINC001560403706



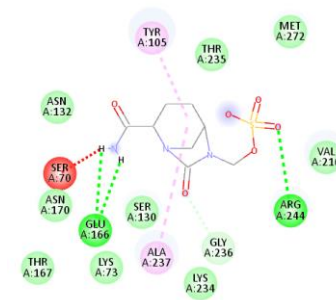
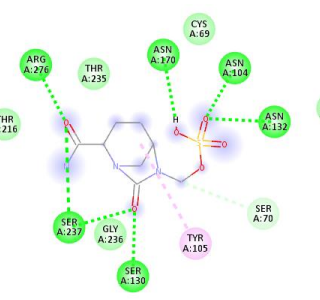
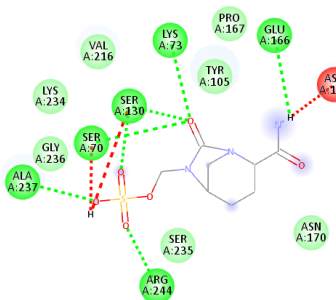
ZINC001560406141



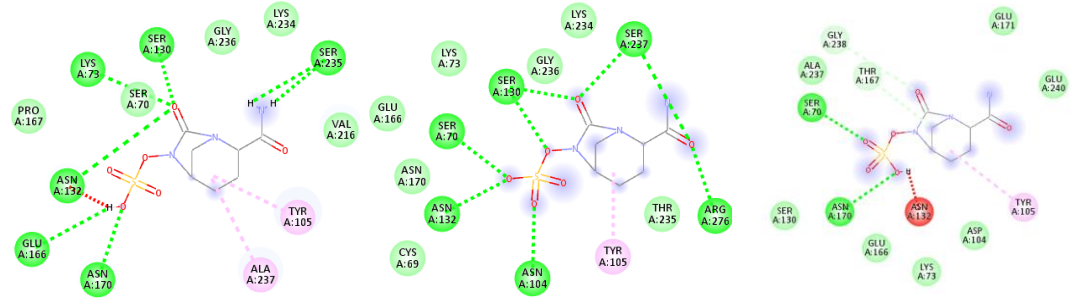
ZINC002024038905



ZINC002048532234



Avibactam

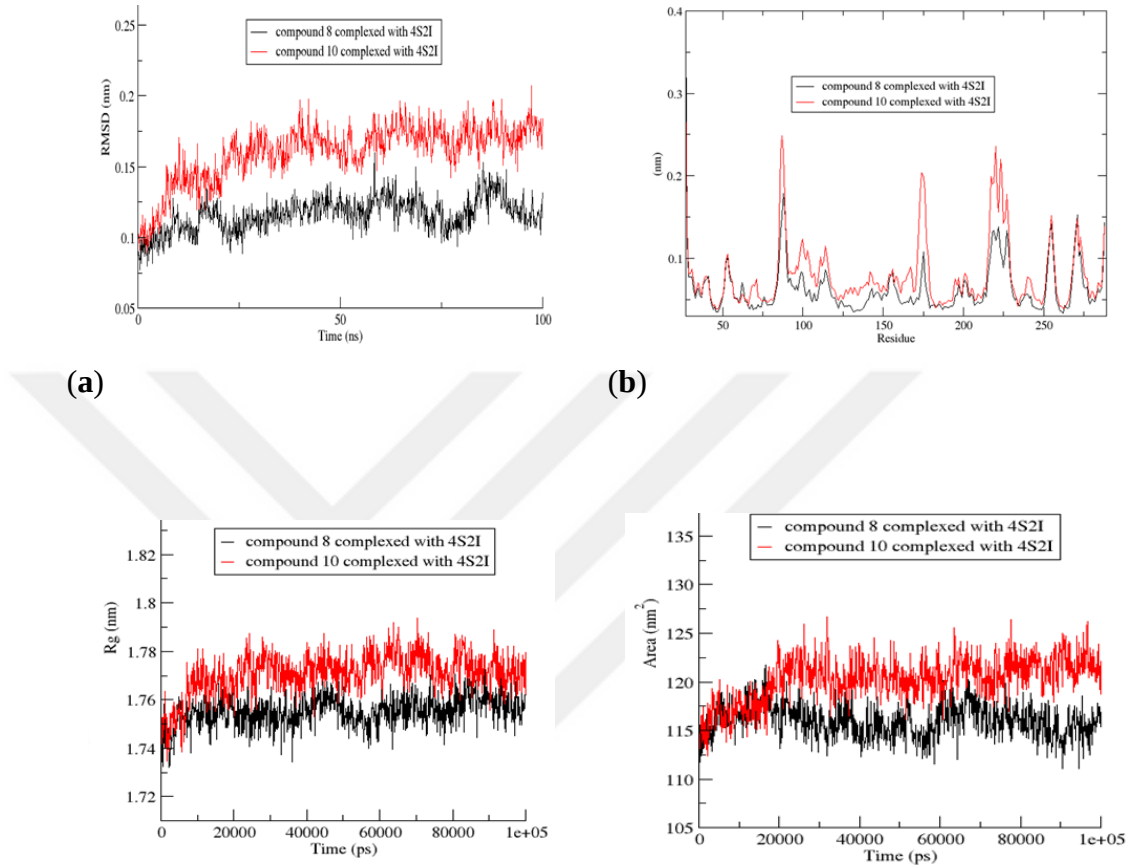


Bu moleküler docking analizleri, seçilen bileşiklerin CTX-M, SHV ve TEM enzimleriyle etkileşim potansiyellerini ve biyolojik etkinliklerini ortaya koymaktadır. Özellikle ZINC000003966153 ve ZINC000115657439 bileşiklerinin, düşük bağlanma enerjileri ve güçlü bağlanma profilleri nedeniyle bu enzimler için potansiyel inhibitör adayları olarak değerlendirilmesi önerilmektedir. Bu bileşiklerin inhibitör etkilerinin doğrulanması için ileri in vitro ve in vivo deneyler yapılması yararlı olacaktır. Gelecek çalışmalarda, bu bileşiklerin yapısal optimizasyonlarının gerçekleştirilmesi, inhibitör etkinliğinin artırılması ve biyoyararlanımının iyileştirilmesi için potansiyel bir yol haritası sunulabilir.

4.4 En İyi Protein-Ligand Komplekslerinin Moleküler Dinamik Simülasyonu

Moleküler docking ve toksisite analizlerine dayanarak, bileşikler arasında SHV, CTX-M ve TEM enzimlerini ortak olarak inhibe etme potansiyeli en yüksek iki bileşik olan bileşik 8 ve bileşik 10 seçilmiştir. Bu nedenle, bileşik 8 ve 10'un 4s2i, 4zam ve 1htz proteinleri ile oluşturduğu komplekslerin stabilitesini doğrulamak için moleküler dinamik (MD) simülasyonları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, hem bileşik 8 hem de bileşik 10'un 4s2i ile oluşturduğu komplekslerde RMSD değerleri, simülasyonun 10. nanosaniyesinden itibaren stabil kalmıştır (Şekil 4.1a). Benzer şekilde, bileşiklerin 4zam ile oluşturduğu komplekslerde de RMSD, başlangıçtan itibaren stabil bir seyir izlemiştir (Şekil 4.2a). 1htz proteini ile oluşturulan komplekslerde ise bileşiklerin RMSD değerleri 20. nanosaniyeden simülasyonun sonuna kadar stabil olup, bileşik 10 için 80-100 ns arasında hafif dalgalanmalar

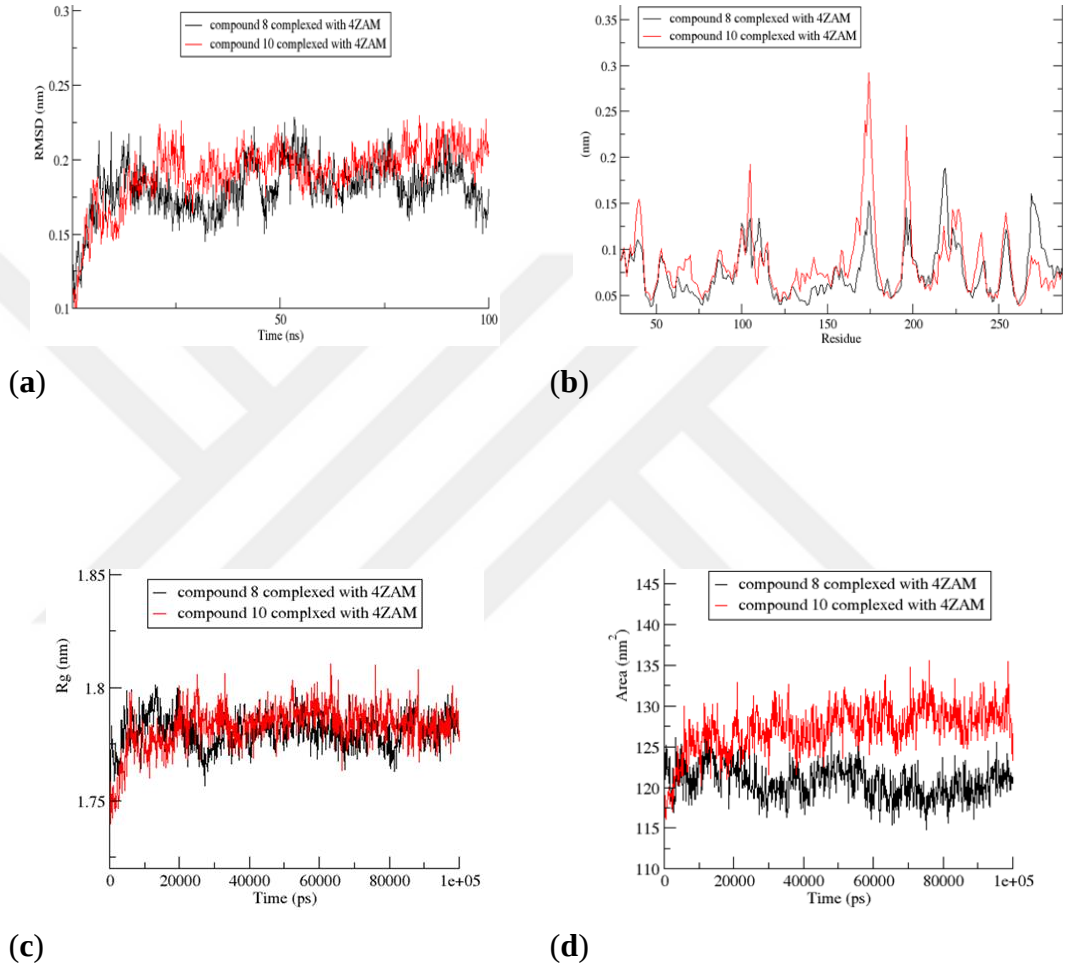
gözlemlenmiştir (Şekil 4.3a). Bu bulgular, bileşik 8 ve 10'un hedef proteinlerin bağlanma ceplerine başarılı bir şekilde bağlanabildiğini göstermektedir.



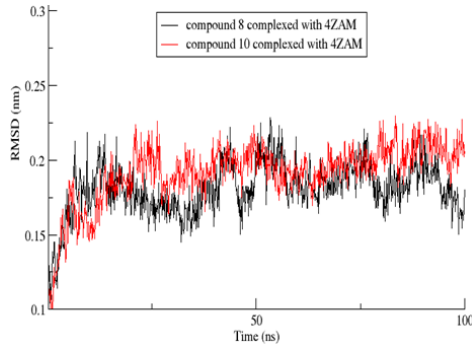
Şekil 4.1 Moleküler dinamik simülasyonlarının analizi. (a) 8 ve 10 numaralı bileşiklerin 4s2i ile komplekslerinin RMSD grafiği; (b) 8 ve 10 numaralı bileşiklerin 4s2i ile komplekslerinin RMSF grafiği; (c) 8 ve 10 numaralı bileşiklerin 4s2i ile komplekslerinin gyrasyon yarıçapı (ROG); (d) 8 ve 10 numaralı bileşiklerin 4s2i ile komplekslerinin SASA değeri

Benzer şekilde, protein-ligand komplekslerinin esnekliğini incelemek için RMSF analizleri yapılmıştır. RMSF grafikleri, bileşik 8 ve 10'un 4s2i, 4zam ve 1htz proteinleri ile güçlü etkileşimler gösterdiğini ve bazı kalıntılarda minimum dalgalanmalara sahip olduğunu ortaya koymuştur (Şekil 4.1b, 4.2b ve 4.3b). Bu dalgalanmaların hiçbirinin 0.3 nm'yi (3 Å) aşmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca, bileşik 8 ve 10'un 4s2i, 4zam ve 1htz proteinleri ile oluşturduğu komplekslerin gyrasyon yarıçapı 1.7-1.8 nm (17-18 Å)

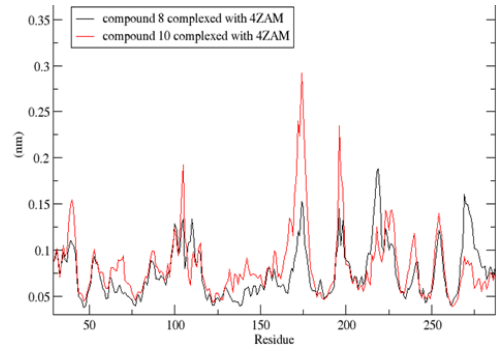
aralığında kalmıştır (Şekil 4.1c, 4.2c ve 4.3c). Gyration yarıçapı değerleri, bu komplekslerin kompakt yapıda olduğunu ve stabilitelerini koruduğunu doğrulamaktadır.



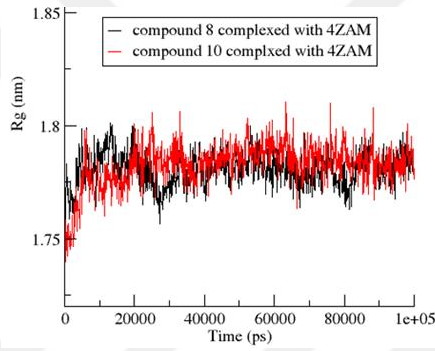
Şekil 4.2 Moleküler dinamik simülasyonlarının analizi. (a) 8 ve 10 numaralı bileşiklerin 4zam ile komplekslerinin RMSD grafiği; (b) 8 ve 10 numaralı bileşiklerin 4zam ile komplekslerinin RMSF grafiği; (c) 8 ve 10 numaralı bileşiklerin 4zam ile komplekslerinin gyration yarıçapı (ROG); (d) 8 ve 10 numaralı bileşiklerin 4zam ile komplekslerinin SASA değeri



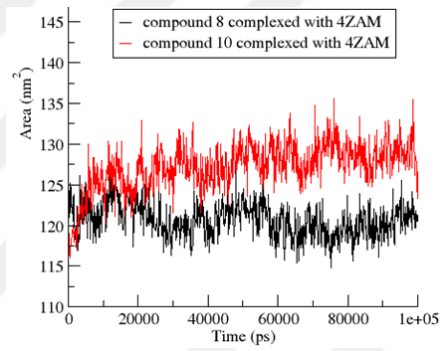
(a)



(b)



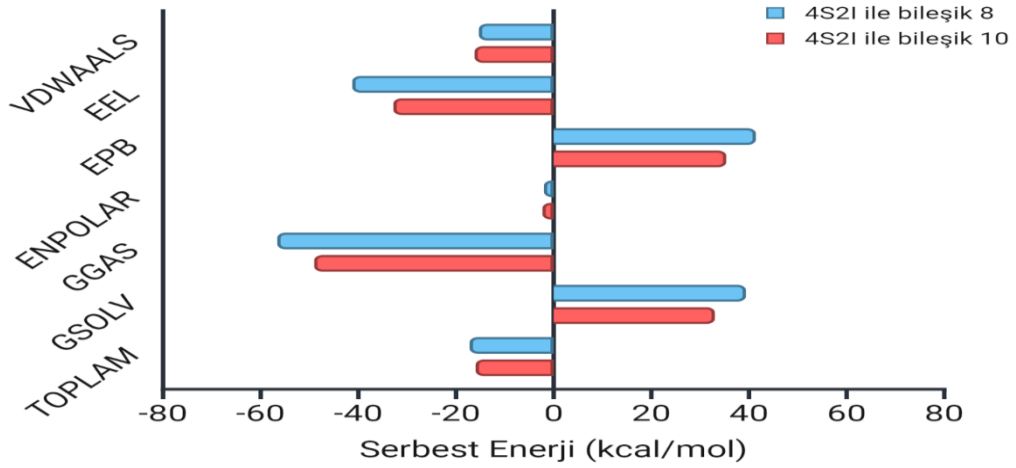
(c)



(d)

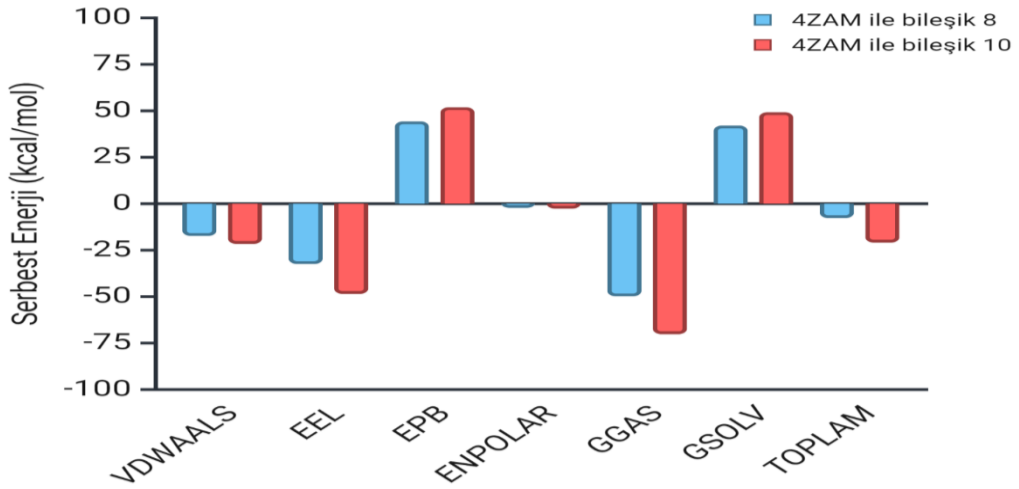
Şekil 4.3 Moleküler dinamik simülasyonlarının analizi. (a) 8 ve 10 numaralı bileşiklerin 1htz ile komplekslerinin RMSD grafiği; (b) 8 ve 10 numaralı bileşiklerin 1htz ile komplekslerinin RMSF grafiği; (c) 8 ve 10 numaralı bileşiklerin 1htz ile komplekslerinin gyrasyon yarıçapı (ROG); (d) 8 ve 10 numaralı bileşiklerin 1htz ile komplekslerinin SASA değeri

Komplekslerin solvante açık yüzey alanı (SASA) analizi, bileşik 8 ve 10'un üç proteinle olan komplekslerinde 110-135 nm² (11,000-13,500 Å²) arasında bir değişim gösterdiğini ortaya koymuştur (Şekil 1d, 2d ve 3d). Komplekslerin stabilitesi, her kompleksin enerji bileşenlerinin analiz edilmesiyle de doğrulanmıştır. Ortalama enerji değerleri tüm kompleksler için yaklaşık -20 kJ/mol olarak bulunmuştur (Şekil 4.4, 4.5 ve 4.6). 4zam ile komplekslenen bileşik 8'in enerji değeri -10 kJ/mol ile en yüksek enerjiye sahipken, aynı proteinle komplekslenen bileşik 10'un enerji değeri -23 kJ/mol ile en düşük enerji değerini göstermiştir (Şekil 4.5).



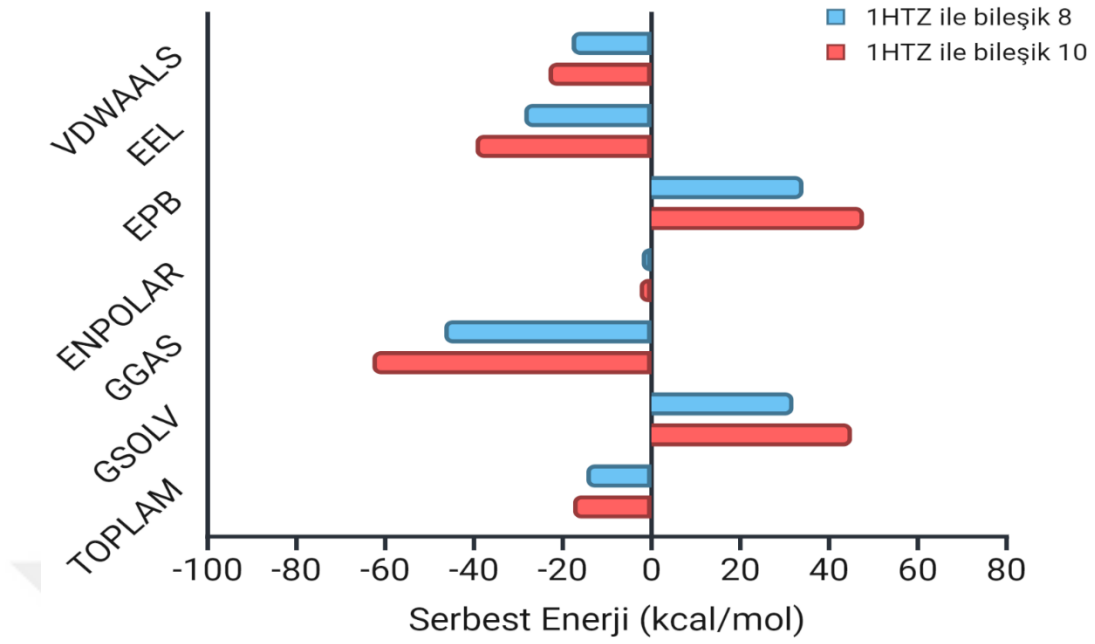
Van der Waals enerjisi (VDWAALS), Elektrostatik enerji (EEL), Polar solvasyon enerjisi (EPB), Polar olmayan solvasyon enerjisi (ENPOLAR), Genel gaz fazı enerjisi (GGAS), Genel solvasyon enerjisi (GSOLV) ve seçilen ligandların toplam serbest enerjisi

Şekil 4.4 Bileşik 8 ve 10'un 4s2i ile komplekslerinin bağlanma serbest enerjisi. Mavi, bileşik 8'in 4s2i ile kompleksini; kırmızı ise bileşik 10'un 4s2i ile kompleksini gösterir



Van der Waals enerjisi (VDWAALS), Elektrostatik enerji (EEL), Polar solvasyon enerjisi (EPB), Polar olmayan solvasyon enerjisi (ENPOLAR), Genel gaz fazı enerjisi (GGAS), Genel solvasyon enerjisi (GSOLV) ve seçilen ligandların toplam serbest enerjisi

Şekil 4.5 Bileşik 8 ve 10'un 4zam ile komplekslerinin bağlanma serbest enerjisi. Mavi, bileşik 8'in 4zam ile kompleksini; kırmızı ise bileşik 10'un 4zam ile kompleksini gösterir



Van der Waals enerjisi (VDWAALS), Elektrostatik enerji (EEL), Polar solvasyon enerjisi (EPB), Polar olmayan solvasyon enerjisi (ENPOLAR), Genel gaz fazı enerjisi (GGAS), Genel solvasyon enerjisi (GSOLV) ve seçilen ligandların toplam serbest enerjisi

Şekil 4.6 Bileşik 8 ve 10'un 1htz ile komplekslerinin bağlanma serbest enerjisi. Mavi, bileşik 8'in 1htz ile kompleksini; kırmızı ise bileşik 10'un 1htz ile kompleksini gösterir

5 TARTIŞMA

Bu çalışma, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *K. pneumoniae*'yi hedef alarak, SHV, CTX-M ve TEM enzimlerine karşı inhibitör potansiyele sahip bileşiklerin in silico yöntemlerle tanımlamayı amaçlamaktadır. Bulgular, sanal tarama teknolojisinin ilaç keşfi sürecinde güvenilir, maliyet-etkin ve hızlı bir yöntem olarak öne çıktığını desteklemektedir (Kim ve ark., 2019; Jain, 2020). Sanal tarama, özellikle yapı-temelli tarama yöntemiyle hedef proteinlerin aktif bölgeleriyle uyumlu yüksek bağlanma afinitesine sahip bileşiklerin tanımlama sürecinde önemli bir rol oynamaktadır. Böylece, literatürde yer alan benzer çalışmalara katkıda bulunulmuş ve bağlanma afiniteleri açısından umut verici başlıca ilaç adayları belirlenmiştir (Sliwoski ve ark., 2014).

Bu çalışmada analiz edilen 30 bileşik, Lipinski'nin Beşli Kuralı, Ghose Kuralı, Veber Kuralı ve Egan Kuralı gibi ilaç benzerliği kriterlerinin çoğunu sağlamıştır. Bu kurallar, aday bileşiklerin biyoyararlanım özelliklerini destekleyen temel ölçütlerdir. Literatürde ilaç benzerliği kriterlerinin geniş bir biyoyararlanım yelpazesi sunduğu ve etkin inhibitörlerin bu kurallar çerçevesinde yüksek başarı gösterdiği belirtilmiştir (Lipinski ve ark., 2001; Ghose ve Crippen, 1987). Bununla birlikte, bazı bileşiklerde Egan'ın önerisinin biraz üzerinde topolojik polar yüzey alanı (TPSA) değerleri gözlenmiştir; bu durum, bileşiklerin biyomembranlarda etkileşim potansiyelini etkileme açısından sınırlayıcı olabilir (Veber ve ark., 2002). Ancak, TPSA değerlerinin belirli terapötik alanlar veya spesifik uygulamalar açısından kabul edilebilir olduğu da literatürde ifade edilmektedir (Leeson ve Springthorpe, 2007).

Bileşiklerin lipofilite profilleri de analiz edilmiş ve bu özelliklerin hücre membranına penetrasyonu destekleyecek düzeyde olduğu belirlenmiştir. Lipofilitenin, ilaç adaylarının biyoyararlanım, dağılım, metabolizma ve atılım (ADME) özelliklerini tahmin etmede kritik bir parametre olduğu bilinmektedir (Dearden, 2003). Düşük lipofilite, yetersiz membran geçişi ve düşük biyoyararlanıma neden olabilirken, aşırı lipofilite ise çözünürlük sorunlarına ve toksisiteye yol açabilir (Baghel ve ark., 2020; Wu ve ark., 2024). Bu çalışmadaki bileşiklerin Wlog P değerlerinin uygun aralıkta olması, literatürde belirlenen güvenilir sınırlarla uyumludur (Benet ve ark., 2019).

Örneğin, ideal lipofilite değerlerinin ilaçların farmakokinetik (örneğin, emilim ve dağılım) ve farmakodinamik (biyolojik hedefler üzerindeki etki) profillerini olumlu yönde etkilediği vurgulanmaktadır (Avdeef, 2003).

Bileşiklerin çözünürlük profillerine ilişkin yapılan analizler, bu bileşiklerin in vitro ve in vivo deneylerde kolaylıkla çözünebileceğini ve biyoyararlanım potansiyellerinin yüksek olduğunu göstermektedir. Delaney (2005) tarafından geliştirilen yöntem, çok çözünebilir ve yüksek çözünebilirlik sınıflarına giren bileşiklerin, ilaç geliştirme sürecinde tercih edilen adaylar olarak değerlendirildiğini ortaya koymaktadır (Delaney, 2005). Literatür, çözünürlüğü düşük olan bileşiklerin biyoyararlanım sorunlarına yol açtığını ve bu bileşiklerin ilaç geliştirme süreçlerinde ek zorluklar yarattığını göstermektedir (Savjani ve ark., 2012).

Farmakokinetik profiller açısından, analiz edilen bileşiklerin çoğunun P-glikoprotein (P-gp) substratı olmaması, bu bileşiklerin biyoyararlanım açısından potansiyel avantaj sunduğunu göstermektedir. P-gp, ilaçların absorpsiyon ve dağılımını etkileyen önemli bir protein olup, substrat özelliği taşımayan bileşikler farmakokinetik olarak daha tutarlı sonuçlar gösterebilir (Fromm, 2003). Literatürde, P-gp substratı olan ilaçların diğer ilaçlarla etkileşim riski taşıdığı belirtilmektedir (Bauer ve ark., 2005). Bu çalışmada sadece ZINC001560403706 bileşiğinin P-gp substratı olarak tanımlanmış olması, bu bileşiğin klinik açıdan ilaç etkileşimleri açısından değerlendirilmesi gerektiğine işaret etmektedir.

Bulgular, CYP2D6 ve CYP1A2 gibi sitokrom P450 enzimlerinin inhibitörleri olmaması bakımından da önemlidir. Bu enzimlerin inhibitörlerinin eksikliği, aday bileşiklerin potansiyel yan etki risklerini azaltabilir ve klinik güvenlik profilini destekleyebilir (Testa ve Krämer, 2006). CYP2D6 ve CYP1A2 enzim inhibitörlerinin diğer ilaçlarla etkileşime girerek advers reaksiyon riskini artırabileceği bilinmektedir (Flockhart ve Oesterheld, 2000; Flockhart, 2007).

Cilt geçirgenliđi açısından deęerlendirildiđinde, analiz edilen bileřiklerin dūřuk cilt geçirgenliđine sahip olduđu ve bu nedenle transdermal uygulamalar için uygun olmadıđı gözlemlenmiřtir. Literatūrde dūřuk cilt geçirgenliđine sahip bileřiklerin özellikle oral veya intravenöz uygulamalarda tercih edildiđi, transdermal formūlasyonlarda ise biyoyararlanım sorunlarına yol açabileceđi belirtilmektedir (Bronaugh ve Maibach, 2002).

Baęlanma enerjisi analizleri, ligand ve reseptör arasındaki etkileřim gūcūnū deęerlendirmede önemli bir kriter sunmuř olup, bu çalıřmada negatif baęlanma enerjisi deęerlerine sahip bileřiklerin gūlū etkileřimler kurduđu grūlmūřtur. Baęlanma enerjisinin dūřuk olması, literatūrde protein-ligand stabilitesinin yūksek olduđu ve biyolojik aktivite gösterme potansiyelinin arttıđı řeklinde yorumlanmaktadır (Kitchen ve ark., 2004). CTX-M, SHV ve TEM enzimleriyle gerçekleřtirilen docking sonuçları, GSBL'lere karřı geniř spektrumlu inhibitör adaylarını belirlemede umut verici bulgular sunmuřtur.

Bu alıřma antibiyotik direncine karřı yeni terapötik yaklařımlar geliřtirme sūrecine katkı saęlayan deęerli veriler sunmaktadır. Sanal tarama ve molekūler dinamik simūlasyonlarının, GSBL inhibitörlerinin belirlenmesinde gūvenilir bir yöntem olarak etkinliđini desteklemektedir. Literatūrde de desteklenen bu yaklařımlar hem ekonomik hem de pratik avantajlarıyla antibiyotik keřfinde gūlū bir rol oynamaktadır (Lavecchia ve Di Giovanni, 2013). Gelecekte yapılacak deneysel doęrulama çalıřmaları, bu bileřiklerin biyolojik etkinliđini doęrulamak ve klinik olarak gūvenilir adaylar olarak geliřtirilmepotansiyellerini ortaya koymak açısından önemlidir.

6 SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışma kapsamında belirlenen bileşiklerin özellikle ZINC000003966153 ve ZINC000115657439 gibi güçlü inhibitör adayları olduğu bulunmuştur. Bu bulgular, literatürde antibiyotik direncine karşı etkili tedavi seçenekleri geliştirme gerekliliği ile uyumlu olup, çalışmanın antibiyotik keşfi sürecine katkı sunduğunu göstermektedir.

Çalışmada elde edilen bu bulgular doğrultusunda, in silico yöntemlerle elde edilen potansiyel inhibitör adaylarının biyolojik etkinliğini doğrulamak için in vitro ve in vivo deneylerin gerçekleştirilmesi önerilmektedir. Bu deneysel doğrulama çalışmaları, bileşiklerin laboratuvar koşullarında ve canlı organizmalarda benzer inhibitör etkiyi gösterip göstermediğini ortaya koyacak, hesaplamalı analizlerin klinik geçerliliğini artıracaktır. Potansiyel inhibitör olarak belirlenen bileşiklerin daha etkili bir inhibitör profil geliştirmesi için yapısal optimizasyon çalışmalarının yapılması da önerilmektedir. Bu tür optimizasyon çalışmaları, bileşiklerin lipofilite, çözünürlük ve biyoyararlanım özelliklerini artırarak terapötik etkinliğini maksimize etmeye yönelik yeni molekül türevlerinin oluşturulmasını sağlayabilir.

Bunun yanı sıra, aday bileşiklerin güvenli ve etkin bir tedavi seçeneği olarak değerlendirilebilmesi için farmakokinetik (ADME) ve toksikolojik profillerinin detaylı analizleri yapılmalıdır. Bu tür farmakokinetik ve toksikolojik değerlendirmeler, bileşiklerin insan vücudunda güvenli kullanımını sağlamaya yönelik bilgilerin elde edilmesinde ve klinik potansiyelinin belirlenmesinde kritik rol oynayacaktır.

Bu çalışma SHV, CTX-M ve TEM enzimlerini hedef almakla birlikte, antibiyotik direncine karşı geniş spektrumlu etkiler sunabilmesi için gelecekte farklı GSBL enzimlerine yönelik benzer inhibitör tarama çalışmaları da yapılmalıdır. Böylece, geniş spektrumlu antibiyotik direnci ile daha kapsamlı bir şekilde mücadele edilebilecektir. Potansiyel inhibitör adaylarının klinik kullanıma sunulabilmesi için, deneysel doğrulama ve farmakokinetik değerlendirmelerin ardından klinik çalışmalarla bu bileşiklerin insanlar üzerindeki etkinliği ve güvenilirliği test edilmelidir. Klinik

alışmalar, bileşiklerin terapötik uygulamalarda kullanılabilirliğini sağlayarak sağlık alanında önemli katkılar sunabilir.

Sonuç olarak, bu çalışma antibiyotik direncine karşı yeni inhibitör bileşiklerin keşfi konusunda önemli bir adım atmakta ve bu alandaki araştırmalara değerli bilgiler sağlamaktadır. Gelecekte yapılacak deneysel ve klinik çalışmalarla birlikte, burada tanımlanan bileşiklerin antibiyotik keşfi sürecine yeni ve etkili özümleer sunma potansiyeli bulunmaktadır.



KAYNAKLAR

- Afzaal, H., Altaf, R., Ilyas, U., Zaman, S. U., Abbas Hamdani, S. D., Khan, S., Zafar, H., Babar, M. M., & Duan, Y. 2022. Virtual screening and drug repositioning of FDA-approved drugs from the ZINC database to identify the potential hTERT inhibitors. *Frontiers in Pharmacology*, 13: 1048691.
- Alfei, S., & Schito, A. M. 2022. β -Lactam Antibiotics and β -Lactamase Enzymes Inhibitors, Part 2: Our Limited Resources. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 15(4): 476.
- Aminov, R. I. 2010. A brief history of the antibiotic era: lessons learned and challenges for the future. *Frontiers in Microbiology*, 1: 134.
- Arer, V., & Kar, D. 2023. Biochemical exploration of β -lactamase inhibitors. *Frontiers in Genetics*, 13: 1060736.
- Avdeef, A. 2003. Absorption and drug development: solubility, permeability, and charge state. In: *Wiley Series in Drug Discovery and Development*. Wiley, pp. 1-341, Hoboken, NJ.
- Baghel, P., Roy, A., Verma, S., Satapathy, T., & Bahadur, S. 2020. Amelioration of lipophilic compounds in regards to bioavailability as self-emulsifying drug delivery system (SEDDS). *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 21(6).
- Bagley, S. T. 1985. Habitat association of *Klebsiella* species. *Infection Control*, 6(2): 52-58.
- Bauer, B., Hartz, A. M., Fricker, G., & Miller, D. S. 2005. Modulation of p-glycoprotein transport function at the blood-brain barrier. *Experimental Biology and Medicine (Maywood, N.J.)*, 230(2): 118–127.
- Benet, L. Z., Broccatelli, F., & Oprea, T. I. 2011. BDDCS applied to over 900 drugs. *The American Association of Pharmaceutical Scientists Journal*, 13(4): 519–547.
- Bengoechea, J. A., & Sa Pessoa, J. 2019. *Klebsiella pneumoniae* infection biology: living to counteract host defences. *FEMS Microbiology Reviews*, 43(2): 123-144.
- Bonnet, R. 2004. Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(1): 1-14.

- Bradford, P. A. 2001. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(4): 933-951.
- Bronaugh, R. L., & Maibach, H. I. 2002. Percutaneous absorption: drugs, cosmetics, mechanisms, methodology. CRC Press, pp. 1-576, Boca Raton, FL.
- Bush, K., & Fisher, J. F. 2011. Epidemiological expansion, structural studies, and clinical challenges of new beta-lactamases from gram-negative bacteria. *Clinical Microbiology Reviews*, 24(1): 1-17.
- Bush, K., & Jacoby, G. A. 2010. Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(3): 969-976.
- Carcione, D., Siracusa, C., Sulejmani, A., Leoni, V., & Intra, J. 2021. Old and New Beta-Lactamase Inhibitors: Molecular Structure, Mechanism of Action, and Clinical Use. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 10(8): 995.
- serotype Typhi, D. R. S., Shigella, D. R., Campylobacter, D. R., & Acinetobacter, C. R. Supporting Files.
- Christaki, E., Marcou, M., & Tofarides, A. 2020. Antimicrobial Resistance in Bacteria: Mechanisms, Evolution, and Persistence. *Journal of Molecular Evolution*, 88(1): 26–40.
- Cosgrove, S. E. 2006. The relationship between antimicrobial resistance and patient outcomes: mortality, length of hospital stay, and health care costs. *Clinical Infectious Diseases*, 42(Supplement_2): S82-S89.
- Darabi, N., Motazakker, M., Khalkhali, H. R., & Yousefi, S. 2019. A multicenter study of β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolated from university teaching hospitals of Urmia, Iran. *Journal of Infection in Developing Countries*, 13(8): 690–697.
- Davies, J., & Davies, D. 2010. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 74(3): 417-433.
- de Kraker, M. E., Davey, P. G., Grundmann, H., & BURDEN study group. 2011. Mortality and hospital stay associated with resistant *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteremia: estimating the burden of antibiotic resistance in Europe. *PLoS Medicine*, 8(10): e1001104.

- Dearden, J. C. 2003. In silico prediction of drug toxicity. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 17(2-4): 119–127.
- Delaney, J. S. 2005. Predicting aqueous solubility from structure. *Drug Discovery Today*, 10(4): 289–295.
- Denisuik, A. J., Lagacé-Wiens, P. R., Pitout, J. D., Mulvey, M. R., Simner, P. J., Taylor, F., Karlowsky, J. A., Hoban, D. J., Adam, H. J., Zhanel, G. G., & Canadian Antimicrobial Resistance Alliance. 2013. Molecular epidemiology of extended-spectrum β -lactamase-, AmpC β -lactamase- and carbapenemase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from Canadian hospitals over a 5 year period: CANWARD 2007-11. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68(1): 57–65.
- Drawz, S. M., & Bonomo, R. A. 2010. Three decades of beta-lactamase inhibitors. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(1): 160-201.
- Drawz, S. M., & Bonomo, R. A. 2010. Three decades of beta-lactamase inhibitors. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(1): 160-201.
- Ehmann, D. E., Jahic, H., Ross, P. L., Gu, R. F., Hu, J., Kern, G., & Walkup, G. K. 2013. Avibactam is a covalent, reversible, non-beta-lactam beta-lactamase inhibitor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(29): 11663-11668.
- Ferreira, L. G., Dos Santos, R. N., Oliva, G., & Andricopulo, A. D. 2015. Molecular docking and structure-based drug design strategies. *Molecules*, 20(7): 13384-13421.
- Fisher, J. F., Meroueh, S. O., & Mobashery, S. 2017. Bacterial resistance to beta-lactam antibiotics: compelling opportunism, compelling opportunity. *Chemical Reviews*, 105(2): 395-424.
- Fleming, A. 1999. Penicillin [Nobel Prize Lecture, December 11, 1945]. Nobel lectures in physiology or medicine, 1942-1962. World Scientific Publishing Company, Singapore.
- Flockhart, D. A., & Oesterheld, J. R. 2000. Cytochrome P450-mediated drug interactions. *Child and Adolescent Psychiatric Clinics of North America*, 9(1): 43–76.

- Flockhart, D. A. (2007). *Drug interactions: Cytochrome P450 Drug Interaction Table. Indiana School of Medicine 2007.*
- Fromm, M. F. 2003. Importance of P-glycoprotein at blood-tissue barriers. *Trends in Pharmacological Sciences*, 25(8): 423–429.
- Gao, H., Liu, Y., Wang, R., Wang, Q., Jin, L., & Wang, H. 2020. The transferability and evolution of NDM-1 and KPC-2 co-producing *Klebsiella pneumoniae* from clinical settings. *EBioMedicine*, 51: 102599.
- Ghose, A. K., & Crippen, G. M. 1987. Atomic physicochemical parameters for three-dimensional-structure-directed quantitative structure-activity relationships. 2. Modeling dispersive and hydrophobic interactions. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 27(1): 21–35.
- Hiramatsu, K., Cui, L., Kuroda, M., & Ito, T. 2001. The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends in Microbiology*, 9(10): 486–493.
- Hiramatsu, K., Cui, L., Kuroda, M., & Ito, T. 2001. The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends in Microbiology*, 9(10): 486–493.
- Irwin, J. J., Tang, K. G., Young, J., Dandarchuluun, C., Wong, B. R., Khurelbaatar, M., Moroz, Y. S., Mayfield, J., & Sayle, R. A. 2020. ZINC20-A Free Ultralarge-Scale Chemical Database for Ligand Discovery. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 60(12), 6065–6073.
- Irwin, J. J., & Shoichet, B. K. 2005. ZINC--a free database of commercially available compounds for virtual screening. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 45(1): 177–182.
- Jain, A. N. 2004. Virtual screening in lead discovery and optimization. *Current Opinion in Drug Discovery & Development*, 7(4), 396-403.
- Karplus, M., & Kuriyan, J. 2005. Molecular dynamics and protein function. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(19): 6679-6685.
- Keynan, Y., & Rubinstein, E. 2007. The changing face of *Klebsiella pneumoniae* infections in the community. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 30(5): 385-389.

- Khademi Dehkordi, M., Hoveida, L., & Fani, N. 2024. Structure-based virtual screening, molecular docking, and molecular dynamics simulation approaches for identification of new potential inhibitors of class a β -lactamase enzymes. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, 42(11): 5631–5641.
- Kim, S., Chen, J., Cheng, T., Gindulyte, A., He, J., He, S., Li, Q., Shoemaker, B. A., Thiessen, P. A., Yu, B., Zaslavsky, L., Zhang, J., & Bolton, E. E. 2019. PubChem 2019 update: improved access to chemical data. *Nucleic Acids Research*, 47(D1): D1102-D1109.
- Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J. R., & Bajorath, J. 2004. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3(11): 935-949.
- Kong, K. F., Schneper, L., & Mathee, K. 2010. Beta-lactam antibiotics: from antibiosis to resistance and bacteriology. *APL Bioengineering*, 4(2): 310-321.
- Lavecchia, A., & Di Giovanni, C. 2013. Virtual screening strategies in drug discovery: a critical review. *Current Medicinal Chemistry*, 20(23), 2839-2860.
- Laxminarayan, R., Duse, A., Wattal, C., Zaidi, A. K., Wertheim, H. F., Sumpradit, N., Vlieghe, E., Hara, G. L., Gould, I. M., Goossens, H., Greko, C., So, A. D., Bigdeli, M., Tomson, G., Woodhouse, W., Ombaka, E., Peralta, A. Q., Qamar, F. N., Mir, F., Kariuki, S., Bhutta, Z. A., Coates, A., Bergstrom, R., Wright, G. D., Brown, E. D., Cars, O. 2013. Antibiotic resistance—the need for global solutions. *The Lancet Infectious Diseases*, 13(12): 1057-1098.
- Laxminarayan, R., Matsoso, P., Pant, S., et al. 2016. Access to effective antimicrobials: a worldwide challenge. *The Lancet*, 387(10014): 168-175.
- Leeson, P. D., & Springthorpe, B. 2007. The influence of drug-like concepts on decision-making in medicinal chemistry. *Nature Reviews Drug Discovery*, 6(11): 881-890.
- Li, S., Shen, S., Ding, L., Han, R., Guo, Y., Yin, D., Guan, M., & Hu, F. 2022. First Report of blaCTX-M-167, blaSHV-1, and blaTEM-1B Carrying *Klebsiella pneumonia* Showing High-Level Resistance to Carbapenems. *Frontiers in Microbiology*, 13: 916304.
- Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. 2001. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug

- discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46(1-3): 3-26.
- Livermore, D. M. 1995. Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 8(4): 557-584.
- Livermore, D. M. 2008. Defining an extended-spectrum beta-lactamase. *Clinical Microbiology and Infection*, 14(s1): 3-10.
- Livermore, D. M., & Brown, D. F. 2001. Detection of beta-lactamase-mediated resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48(S1): 59-64.
- Maclean, A. K. W., Morrow, S., Niu, F., & Hanson, N. D. 2024. What Contributes to the Minimum Inhibitory Concentration? Beyond β -Lactamase Gene Detection in *Klebsiella pneumoniae*. *The Journal of Infectious Diseases*, 230(4): e777–e788.
- Malathi, K., Anbarasu, A., & Ramaiah, S. 2019. Identification of potential inhibitors for *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-3: a molecular docking and dynamics study. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, 37(17): 4601–4613.
- Marshall, B. M., & Levy, S. B. 2011. Food animals and antimicrobials: impacts on human health. *Clinical Microbiology Reviews*, 24(4): 718-733.
- Meng, X. Y., Zhang, H. X., Mezei, M., & Cui, M. 2011. Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. *Current Computer-Aided Drug Design*, 7(2): 146-157.
- Michael, C. A., Dominey-Howes, D., & Labbate, M. 2014. The antimicrobial resistance crisis: causes, consequences, and management. *Frontiers in Public Health*, 2: 145.
- Nikaido, H. 2003. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(4): 593-656.
- Nikaido, H. 2009. Multidrug resistance in bacteria. *Annual Review of Biochemistry*, 78: 119-146.
- Nordmann, P., Cuzon, G., & Naas, T. 2012. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *The Lancet Infectious Diseases*, 12(10): 819-820.
- Nordmann, P., Naas, T., & Poirel, L. 2011. Global spread of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Emerging Infectious Diseases*, 17(10): 1791-1798.

- O'Neill, J. 2016. Tackling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report and Recommendations. Review on Antimicrobial Resistance. Wellcome Trust and HM Government.
- Okeke, I. N., Laxminarayan, R., Bhutta, Z. A., et al. 2005. Antimicrobial resistance in developing countries. Part I: recent trends and current status. *The Lancet Infectious Diseases*, 5(8): 481-493.
- Paterson, D. L., & Bonomo, R. A. 2005. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clinical Microbiology Reviews*, 18(4): 657-686.
- Podschun, R., & Ullmann, U. 1998. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clinical Microbiology Reviews*, 11(4): 589-603.
- Poirel, L., Naas, T., & Nordmann, P. 2010. Diversity, epidemiology, and genetics of class D beta-lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(1): 24-38.
- Poole, K. 2005. Efflux-mediated antimicrobial resistance. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56(1): 20-51.
- Potlitz, F., Link, A., & Schulig, L. 2023. Advances in the discovery of new chemotypes through ultra-large library docking. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 18(3): 303–313.
- Rahman, M., & Khan, M. K. A. 2020. In silico based unraveling of New Delhi metallo- β -lactamase (NDM-1) inhibitors from natural compounds: a molecular docking and molecular dynamics simulation study. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, 38(7): 2093–2103.
- Ramatla, T., Mafokwane, T., Lekota, K., Monyama, M., Khasapane, G., Serage, N., Nkhebenyane, J., Bezuidenhout, C., & Thekisoe, O. 2023. "One Health" perspective on prevalence of co-existing extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: a comprehensive systematic review and meta-analysis. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 22(1): 88.
- Roberts, M. C. 2008. Update on acquired tetracycline resistance genes. *FEMS Microbiology Letters*, 317(2): 195-203.

- Sariyer, E., & Saral, A. 2021. Evaluation of quercetin as a potential β -lactamase CTX-M-15 inhibitor via the molecular docking, dynamics simulations, and MMGBSA. *Turkish Journal of Chemistry*, 45(4): 1045–1056.
- Savjani, K. T., Gajjar, A. K., & Savjani, J. K. 2012. Drug solubility: importance and enhancement techniques. *ISRN Pharmaceutics*, 2012, 195727.
- Schaduengrat, N., Lertlit, J., Aunpad, R., & Nantasenamat, C. 2020. Computational approaches for the discovery of bioactive compounds against infectious diseases. *Journal of Computational Chemistry*, 41(3): 265-290.
- Shah, A. A., Hasan, F., Ahmed, S., & Hameed, A. 2004. Extended-spectrum beta-lactamases (ESbLs): characterization, epidemiology and detection. *Critical Reviews in Microbiology*, 30(1): 25–32.
- Shaw, K. J., Rather, P. N., Hare, R. S., & Miller, G. H. 1993. Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. *Microbiological Reviews*, 57(1): 138-163.
- Sipahi O. R. 2008. Economics of antibiotic resistance. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 6(4): 523–539.
- Sliwoski, G., Kothiwale, S., Meiler, J., & Lowe, E. W. 2013. Computational methods in drug discovery. *Pharmacological Reviews*, 66(1): 334-395.
- Smith, R. D., & Coast, J. 2013. The economic burden of antimicrobial resistance: why it is more serious than current studies suggest. *BMJ*, 346: f1493.
- Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Harbarth, S., Mendelson, M., Monnet, D. L., Pulcini, C., Kahlmeter, G., Kluytmans, J., Carmeli, Y., Ouellette, M., Outterson, K., Patel, J., Cavaleri, M., Cox, E. M., Houchens, C. R., Grayson, M. L., Hansen, P., Singh, N., Theuretzbacher, U., Magrini, N., WHO Pathogens Priority List Working Group. 2018. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *The Lancet. Infectious Diseases*, 18(3): 318–327.
- Testa, B., & Krämer, S. D. 2006. The biochemistry of drug metabolism--an introduction: part 1. Principles and overview. *Chemistry & Biodiversity*, 3(10), 1053–1101.
- Tingle, B. I., Tang, K. G., Castanon, M., Gutierrez, J. J., Khurelbaatar, M., Dandarchuluun, C., Moroz, Y. S., & Irwin, J. J. 2023. ZINC-22—A Free Multi-

- Billion-Scale Database of Tangible Compounds for Ligand Discovery. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 63(4): 1166–1176.
- Tomasz, A. 2004. The mechanism of beta-lactam-induced bacterial cell death: the breaking of a dying wall. *Molecular Microbiology*, 51(2): 539-544.
- Veber, D. F., Johnson, S. R., Cheng, H. Y., Smith, B. R., Ward, K. W., & Kopple, K. D. 2002. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of Medicinal Chemistry*, 45(12): 2615-2623.
- Ventola, C. L. 2015. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *Pharmacy and Therapeutics*, 40(4): 277-283.
- Walsh, T. R., Toleman, M. A., Poirel, L., & Nordmann, P. 2005. Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? *Clinical Microbiology Reviews*, 18(2): 306-325.
- Wu, K., Kwon, S. H., Zhou, X., Fuller, C., Wang, X., Vadgama, J., & Wu, Y. 2024. Overcoming Challenges in Small-Molecule Drug Bioavailability: A Review of Key Factors and Approaches. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(23): 13121.

EKLER

EK 1. Şekil 1 - Yayın ve Lisanslama Haklarının Onaylanması - Açık Erişim

EK 2. Şekil 2 - Yayın ve Lisanslama Haklarının Onaylanması - Açık Erişim



EK 1. Şekil 1 - Yayın ve Lisanslama Haklarının Onaylanması - Açık Erişim



49 Spadina Ave. Suite 200
Toronto ON M5V 2J1 Canada
www.biorender.com

Confirmation of Publication and Licensing Rights - Open Access

October 25th, 2024

Subscription Type: Individual - Academic
Agreement number: BB27GV9CG3
Publisher Name: PhD thesis

Figure Title: Antibiyotikler ve direncin k 6 F ihi

Citation to Use: Created in BioRender. Sirekbasan, S. (2024) [BioRender.com/p57o633](https://www.biorender.com/p57o633)

To whom this may concern,

This document ("Confirmation") hereby confirms that Science Suite Inc. dba BioRender ("BioRender") has granted the following BioRender user: [Serhat Sirekbasan](#) ("User") a BioRender Academic Publication License in accordance with BioRender's [Terms of Service](#) and [Academic License Terms](#) ("License Terms") to permit such User to do the following on the condition that all requirements in this Confirmation are met:

- 1) publish their Completed Graphics created in the BioRender Services containing both User Content and BioRender Content (as both are defined in the License Terms) in publications (journals, textbooks, websites, etc.); and
- 2) sublicense such Completed Graphics under "open access" publication sublicensing models such as CC-BY 4.0 and more restrictive models, so long as the conditions set forth herein are fully met.

Requirements of User:

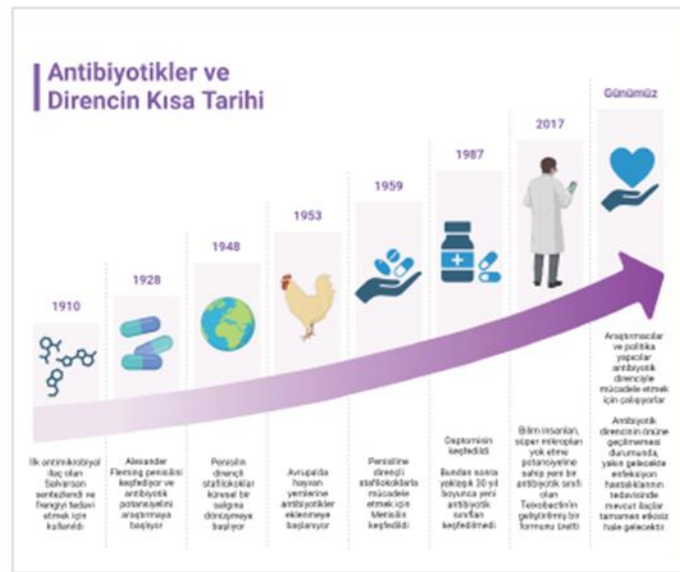
- 1) All Completed Graphics to be published in any publication (journals, textbooks, websites, etc.) must be accompanied by the following citation either as a caption, footnote or reference for each figure that includes a Completed Graphic:
"Created in BioRender. Sirekbasan, S. (2024) [BioRender.com/p57o633](https://www.biorender.com/p57o633)."
- 2) All terms of the License Terms including all Prohibited Uses are fully complied with. E.g. For Academic License Users, no commercial uses (beyond publication in journals, textbooks or websites) are permitted without obtaining or switching to a BioRender Industry Plan.
- 3) A Reader (defined below) may request that the User allow their figure to be a public template for Readers to view, copy, and modify the figure. It is up to the User to determine what level of access to grant.

Open-Access Journal Readers:

Open-Access journal readers ("Reader") who wish to view and/or re-use a particular Completed Graphic in an Open-Access journal subject to CC-BY sublicensing may do so by clicking on the URL link in the applicable citation for the subject Completed Graphic.

The re-use/modification options below are available after the Reader requests the User to adapt their figure as a BioRender template and the User has granted such access.

- 1) **View-Only/Free Plan Use:** A Reader who wishes to only view the Completed Graphic may do so in the BioRender Services as either a BioRender Free Plan user or simply as a viewer. By becoming a BioRender Free Plan user, the Reader may view, modify and re-use the Completed Graphic as permitted under BioRender's [Basic License Terms](#) (e.g. personal use only, no publishing or commercial use permitted).
- 2) **Re-Use/Publish with No Modifications:** For any re-use and re-publication of a Completed Graphic with no modification(s) to the Completed Graphic made by the Reader, a Reader may do so by citing the original author using the citation noted above with the Completed Graphic. The Reader must also comply with the underlying License Terms which apply to the Completed Graphic as noted above (e.g. no commercial use for Academic License).
- 3) **Re-Use/Publish with Modifications:** For any re-use and re-publication of a Completed Graphic with a modification(s) made by the Reader, the Reader may do so by becoming a BioRender user themselves under either an Academic or Industry Plan, citing the original author using the citation noted above with the Completed Graphic and complying with the applicable License Terms.



For any questions regarding this document, or other questions about publishing with BioRender, please refer to our [BioRender Publication Guide](#), or contact BioRender Support at support@biorender.com.

EK 2. Şekil 2 - Yayın ve Lisanslam Haklarının Onaylanması - Açık Erişim



49 Spadina Ave. Suite 200
Toronto ON M5V 2J1 Canada
www.biorender.com

Confirmation of Publication and Licensing Rights - Open Access

October 25th, 2024

Subscription Type: Individual - Academic
Agreement number: IF27GVA7TA
Publisher Name: PhD thesis
Figure Title: Antibiyotik direnç mekanizmalar
Citation to Use: Created in BioRender. Sirekbasan, S. (2024) [BioRender.com/k08a627](https://www.biorender.com/k08a627)

To whom this may concern,

This document ("Confirmation") hereby confirms that Science Suite Inc. dba BioRender ("BioRender") has granted the following BioRender user: [Serhat Sirekbasan](#) ("User") a BioRender Academic Publication License in accordance with BioRender's [Terms of Service](#) and [Academic License Terms](#) ("License Terms") to permit such User to do the following on the condition that all requirements in this Confirmation are met:

- 1) publish their Completed Graphics created in the BioRender Services containing both User Content and BioRender Content (as both are defined in the License Terms) in publications (journals, textbooks, websites, etc.); and
- 2) sublicense such Completed Graphics under "open access" publication sublicensing models such as CC-BY 4.0 and more restrictive models, so long as the conditions set forth herein are fully met.

Requirements of User:

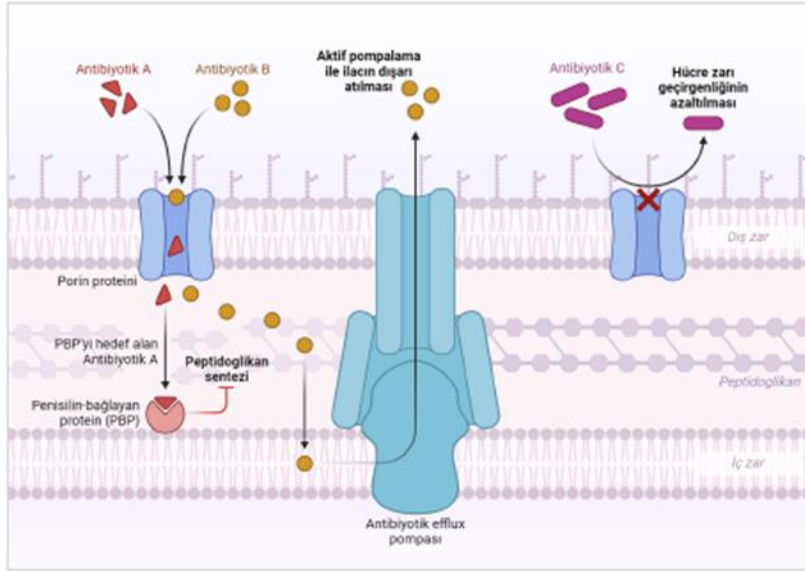
- 1) All Completed Graphics to be published in any publication (journals, textbooks, websites, etc.) must be accompanied by the following citation either as a caption, footnote or reference for each figure that includes a Completed Graphic:
"Created in BioRender. Sirekbasan, S. (2024) [BioRender.com/k08a627](https://www.biorender.com/k08a627)".
- 2) All terms of the License Terms including all Prohibited Uses are fully complied with. E.g. For Academic License Users, no commercial uses (beyond publication in journals, textbooks or websites) are permitted without obtaining or switching to a BioRender Industry Plan.
- 3) A Reader (defined below) may request that the User allow their figure to be a public template for Readers to view, copy, and modify the figure. It is up to the User to determine what level of access to grant.

Open-Access Journal Readers:

Open-Access journal readers ("Reader") who wish to view and/or re-use a particular Completed Graphic in an Open-Access journal subject to CC-BY sublicensing may do so by clicking on the URL link in the applicable citation for the subject Completed Graphic.

The re-use/modification options below are available after the Reader requests the User to adapt their figure as a BioRender template and the User has granted such access.

- 1) **View-Only/Free Plan Use:** A Reader who wishes to only view the Completed Graphic may do so in the BioRender Services as either a BioRender Free Plan user or simply as a viewer. By becoming a BioRender Free Plan user, the Reader may view, modify and re-use the Completed Graphic as permitted under BioRender's [Basic License Terms](#) (e.g. personal use only, no publishing or commercial use permitted).
- 2) **Re-Use/Publish with No Modifications:** For any re-use and re-publication of a Completed Graphic with no modification(s) to the Completed Graphic made by the Reader, a Reader may do so by citing the original author using the citation noted above with the Completed Graphic. The Reader must also comply with the underlying License Terms which apply to the Completed Graphic as noted above (e.g. no commercial use for Academic License).
- 3) **Re-Use/Publish with Modifications:** For any re-use and re-publication of a Completed Graphic with a modification(s) made by the Reader, the Reader may do so by becoming a BioRender user themselves under either an Academic or Industry Plan, citing the original author using the citation noted above with the Completed Graphic and complying with the applicable License Terms.



For any questions regarding this document, or other questions about publishing with BioRender, please refer to our [BioRender Publication Guide](#), or contact BioRender Support at support@biorender.com.

Akademik Aktiviteler

1. Mustapha A, **AlSharksi AN**, Eze UA, Samaila RK, Ukwah BN, Anyiam AF, Samarasinghe S, Ibrahim MA. Phytochemical Composition, In Silico Molecular Docking Analysis and Antibacterial Activity of Lawsonia inermis Linn Leaves Extracts against Extended Spectrum Beta-Lactamases-Producing Strains of Klebsiellapneumoniae. *BioMed*. 2024;4(3):277-292. doi:10.3390/biomed4030022
2. **Alsharksi AN**, Danmaraya YA, Abdullahi HU, Ghali UM, Usman AG. Potential of hybrid adaptive neuro-fuzzy model in simulating Clostridium difficile infection status. *Int J Basic Appl Sci*. 2020;3(1):1-6. doi:10.1234/ijbas.2020.09405.
3. Ghali UM, Alhosen M, Degm A, **Alsharksi AN**, Hoti Q, Usman AG. Development of computational intelligence algorithms for modelling the performance of Humanin and its derivatives in HPLC optimization method development. *Int J Sci Technol Res*. 2020;9(8):45-52.
4. Ghali UM, Usman AG, Degm MA, **Alsharksi AN**, Naibi AM, Abba SI. Applications of artificial intelligence-based models and multilinear regression for the prediction of thyroid stimulating hormone level in the human body. *Int J Adv Sci Technol*. 2020;29(4):3690-3699.
5. Mustapha A, Abushoufa FS, **Alsharksi AN**, Adakole NC, Umar H, Ghali UM. Invitro evaluation of antibacterial activity and in-silico insights of Canarium schwenfurthii against multi-drug resistant Klebsiella pneumoniae. *Afr J Bio Sci*. 2024;6(5):9534-9548. doi: 10.48047/AFJBS.6.5.2024.
6. Mustapha A, **AlSharksi AN**, Eze UA, Samaila RK, Ukwah BN, Anyiam AF, Samarasinghe S, Ibrahim MA. Phytochemical Composition, In Silico Molecular Docking Analysis and Antibacterial Activity of Lawsonia inermis Linn Leaves Extracts against Extended Spectrum Beta-Lactamases-Producing Strains of Klebsiella pneumoniae. *BioMed*. 2024; 4(3):277-292. doi: 10.3390/biomed4030022.
7. **Alsharksi AN**, Sirekbasan S, Gürkök-Tan T, Mustapha A. From Tradition to Innovation: Diverse Molecular Techniques in the Fight Against Infectious Diseases. *Diagnostics*. 2024; 14(24):2876. doi:10.3390/diagnostics14242876.