



**T.C.
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**Moleküler Biyoloji Ve Genetik ANABİLİM DALI
Moleküler Biyoloji Ve Genetik YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Moleküler Kenetlenme Yöntemi İle HIV-1 Proteaz İçin Yeni Aday
İnhibitörlerin Tasarlanması**

Ayisha İsbandiyyarova

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Vildan ENİSOĞLU ATALAY**

İSTANBUL-2023

T.C.
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Moleküler Biyoloji ve Genetik ANABİLİM DALI
Moleküler Biyoloji ve Genetik YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Moleküler Kenetlenme Yöntemi İle HIV-1 Proteaz İçin Yeni Aday
İnhibitörlerin Tasarlanması

Ayisha İsbندیarova

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Vildan ENİSOĞLU ATALAY

İSTANBUL-2023

ÖZET

Moleküler Kenetlenme Yöntemi İle HIV-1 Proteaz İçin Yeni Aday İnhibitörlerin Tasarlanması

İnsan immün yetmezlik virüsü (HIV), vücudun enfeksiyonla savaşmasına yardımcı olan hücrelere saldırarak kişiyi diğer enfeksiyonlara ve hastalıklara karşı savunmasız bırakan bir virüstür. HIV aynı zamanda, bu hastalığa sahip bir hastanın vücut sıvılarıyla temas ve enfekte ilaç ekipmanının kullanımı yoluyla yayılabilen bir hastalıktır.

Bu çalışmada HIV-1 proteaz inhibitörlerinin tasarımı moleküler kenetlenme yöntemiyle yapılmıştır. Bu yöntem, proteaz enziminin aktif bölgesinin tanımlanmasını ve inhibitörün aktif bölgeye nasıl bağlandığını göstermektedir. İnhibitörlerin tasarımı, HIV-1 proteaz enziminin inhibitor aktivitesini artırarak virusun replikasyonunu önlemeyi amaçlar. Bu yöntem, antiviral tedavilerin geliştirilmesi ve HIV hastalığının tedavisi için etkili bir araç olarak kullanılabilir.

Çalışmada, hastalığın tedavisinde etkili olabileceği düşünülmüş ligand molekülleri 'ZINC15 Docking' veri tabanından seçilmiş ve bazı referans ligand molekülleri ise Spartan'14 V1.1.4 programında bazı grupların eklenmesi yapılarak daha etkili sonuçlar elde edilmiştir. Seçilmiş ligandların ilaç olabilme ihtimalini değerlendirmek için SwissAdme veritabanında seçilen aday ligandlara filtrelemeler yapılmıştır. Protein Data Bank veri tabanından seçilmiş ve HIV-1 virüsü hastalığında rol oynayan HIV-1 proteaz enziminin iki farklı kristal yapıya sahip olan ve X-ışını, Homosapies organizması üzerinde çalışılmış, hastalığın tedavisinde kullanılan ilaçların ve yapıcı benzerlerinin bağlanma afiniteleri araştırılmıştır. Bunun için başta referans moleküller olmak üzere bütün moleküllerin Autodock Vina programıyla bağlanma değerleri ölçülüp, Discovery Studio Visualizer programından faydalanarak ligandın proteinle etkileşimde olduğu amino asitlerin iki boyutlu diyagramı elde edilmiştir. Moleküllerin SwissAdme ve Molinspiration programı ile ulaşılmış çeşitli parametrelerin lineer regresyon analizi ise Microsoft Excel programı yardımıyla yapılmış, parametrelerin afiniteye olan etkisi incelenmiştir. Yapılan hesaplamalar sonucunda elde edilen veriler değerlendirildiğinde 2o4l ve 2xyf pdb kodlu yapıları için sırasıyla ZINC000000869551, ZINC001481451751 ve ZINC001481451826 moleküllerinin HIV-1 proteaz yapısı için aday olarak

değerlendirilebileceği ve devam eden aşamalarda deneysel süreç ile bu verilerin incelenmesi önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Proteaz İnhibitörleri, HIV-1, Hesaplamalı kimya, Moleküler kenetleme.



ABSTRACT

Designing New Candidate Inhibitors for HIV-1 Protease by Molecular Docking

Human Immunodeficiency Virus (HIV) is a virus that makes the body vulnerable against other infections and diseases by attacking the immune system cells that help the body to fight infection. HIV is also a disease that can spread with body fluids of a patient with this virus or through the use of infected drug equipment.

In this study, the design of HIV-1 protease inhibitors was made by molecular docking method. This method defines the active site of the protease enzyme and demonstrates how the inhibitor binds to the active site. The design of inhibitors aims to prevent the replication of the virus by increasing the inhibitor activity of HIV-1 protease enzyme. This process can be used as an effective tool for the development of antiviral therapies and for the treatment of HIV disease.

In the study, ligand groups thought to be effective in the treatment of thought were selected from the 'ZINC15 Docking' database and some reference ligand groups were derived from the Spartan'14 V1.1.4 model, resulting in more effective results. SwissAdme reserves the right to have selected candidate ligands in their collections to limit the possibility of selected ligands to be drugs. The affinity of the HIV-1 protease enzyme, which plays a role in HIV-1 disease, was studied on the X-ray, Homosapies organism, which was selected from the Protein Data Bank database, and the affinities of combining organs using surgery and structural analogs were investigated. For this, the values of all parts, including the basic reference units, were measured with the Autodock Vina program, and a two-dimensional diagram of the amino acids in which the ligand interacts with the protein was obtained by using Discovery Studio Visualizer. The linear regression analysis of the various parameters of the molecules reached with the SwissAdme program, on the other hand, reduces the effect of the parameters on the affinity, which is not available in the Microsoft Excel program. When the sections obtained as a result of the calculations are evaluated, it is seen that ZINC000000869551, ZINC001481451751 and ZINC001481451826 units can be evaluated as candidates for HIV-1 protease

structures for the 2o4l and 2xyf pdb coded structures, and the process is handled in this process in the ongoing stages.

Keywords: Protease Inhibitors, HIV-1, Computational chemistry, Molecular docking.



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmalarım sürecinde çok değerli bilgiler edindiğim, bu sahada uzmanlık tecrübelerini benimle paylaşan, bana yol gösteren, değerli zamanını bana ayıran ve her anlamda bana yardımcı olan çok değerli ve kıymetli hocam, tez danışmanım Sn. Doç. Dr. Vildan ENİSOĞLU ATALAY'a,

Tez yazım sürecinde baştan sona kadar hep yanımda bana destek olan beni motive eden canım arkadaşım Pünar Aliyeva'ya,

Kendisini Üsküdar Üniversitesi sayesinde tanıdığım ve bana tezimde yardımcı olan Beyza Yılmaz'a,

Kendileri çok uzakta olmalarına rağmen, hep varlıklarıyla yanımda olan canım değerli ailem, annem Vefa Quliyeva, babam Elbrus İsbendiyarov, kardeşim Kerem İsbendiyarov ve ablam Aysel Meherremova'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

BEYAN FORMU

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında zgn olduğunu, tarafımdan üretildiğini ve řkdar niversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazıldığını beyan ederim.

28.02.2023

Ayisha İřbandiyarova

İmzası

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR	v
BEYAN FORMU	vi
TABLolar DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. HIV Virüsünün Yapısı	2
2.2. HIV Virüsünün Hücreye Girişi ve Yaşam Döngüsü Mekanizması.....	3
2.3. HIV-1 Proteaz İnhibitörleri.....	4
2.4. HIV Virüsünün Patolojisi ve Bulaşması.....	4
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	6
3.1. Moleküler kenetleme (Docking) yöntemi.....	6
3.2. Hastalığın Proteinlerinin Elde Edilmesi	7
3.3. Ligand ve Benzer Yapılarının Spartan'14 Programında Çalışılması.....	7
3.4. Çalışmada Kullanılan Ligand Moleküllerinin 2D Yapıları.....	11

3.5. XYZ Koordinatlarının Bulunması.....	19
3.6. Kenetleme Dosyalarının Hazırlanması.....	20
3.7. Kenetlenme Çalışmalarının Gerçekleştirilmesi.....	20
4. BULGULAR.....	22
4.1. Swissadme Görüntüleri.....	22
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	54
6. TARTIŞMA.....	67
KAYNAKLAR	75
Özgeçmiş	79

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: Ligand molekülleri ve Benzer yapıları.....	8
Tablo 2. HIV-1 Proteaz İnhibitör Ligand Moleküller.....	12
Tablo 3. Çalışılan aday ligand moleküllerinin SwissAdme görüntüleri.....	22
Tablo 4. Ligand moleküllerinin fizikokimyasal parametre değerleri.....	33
Tablo 5: 2xyf kodlu protein yapısı ile aday ligandların etkileşim haritaları.....	36
Tablo 6: 2o4l kodlu protein yapısı ile aday ligandların etkileşim haritaları.....	45
Hata! Yer işareti tanımlanmamış.	
Tablo 7: 2o4l kodlu yapının ligand molekülleri ile kenetleme sonucu aminoasitlerle etkileşim bağ mesafesi.....	54
Tablo 8: 2xyf kodlu yapının ligand molekülleri ile kenetleme sonucu aminoasitlerle etkileşim bağ mesafesi.....	58
Tablo 9: 2xyf pdb kodlu yapının LR sonucu ortaya çıkan R2 değerleri.....	65
Tablo 10: 2o4l pdb kodlu yapının LR sonucu ortaya çıkan R2 değerleri.....	66
Tablo 11: Yapılan regresyon analizlerinde 2xyf pdb kodlu yapı için yer alan ligandlar.....	68
Tablo 12: Yapılan regresyon analizlerinde 2o4l pdb kodlu yapı için yer alan ligandlar.....	71
Tablo 13: HIV-1 virüs tedavisi için seçilen en iyi aday molekülleri.....	74

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: HIV yapısının diyagramı.....	2
Şekil 2: GP120'nin CD4 reseptörleri ve ko-reseptörleri ile etkileşimini gösteren HIV-gp120/CD4 giriş mekanizması.....	3
Şekil 3: Proteaz inhibitörleri.....	4
Şekil 4: Küçük boyutlu bir molekül ligandının (yeşil) bir protein hedefine (siyah) bağlanmasının şematik diyagramı.....	6
Şekil 5: a. 2xyf pdb id kodlu, b. 2o4l pdb id kodlu, HIV-1 proteaz inhibitörüne bağlı proteinlerin kristal yapıları.....	7
Şekil 6: Protein ve ligandın config dosyası.....	21
Şekil 7: Autodock Vina Programı Vasıtasıyla Komut İsteminin Çalıştırılması.....	21

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

HIV- İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü
AIDS - Edinilmiş İmmün Yetmezlik Sendromu
CD4 - Farklılaşma Kümesi
RNA - Ribonukleik Asit
RT - Ters Transkriptaz
İN - İntegraz
CA- Kapsid Protein
NPC - Nükleer Gözenek Kompleksi
ATZ - Atazanavir
APV - Amprenavir
TMC114 - Darunavir
İDV - İndinavir
RTV- Ritonavir
Lexiva - Fosamprenvir
LPV - Lopinavir
NFV- Nelfinavir
SQV - Sakinavir
TPV - Tiranavir
PDB - Protein Data Bank
Log P - Partisyon Katsayısı
V - Hacim
TPSA- Polarizeilite
MA - Molekül Ağırlığı
LR - Lineer Regresyon
 R^2 - Korelasyon Değeri
PNP - Ribonukleoprotein Kompleksi

1. GİRİŞ

CD4 T+ hücrelerini yok eden bir retrovirüs olan insan immün yetmezlik virüsü (HIV), edinilmiş immün yetmezlik sendromunun (AIDS) etken maddesidir. HIV virüsü vücudun bağışıklık hücrelerine nüfuz ederek bağışıklık sistemini zayıflatır ve tedavi edilmezse AIDS'e yol açabilir (Kimberly A. Workowski ve ark. July 2021).

1983 yılında Paris'teki Pasteur Enstitüsü'nde çalışan Luc Montanier, HIV-1 virüsünü ilk kez tanımladı (Barre-Sinoussi ve ark. 1983). İnsan vücudu HIV'e bulaştıktan birkaç hafta sonra, insanlarda günler ve haftalarca görülebilen grip benzeri semptomlar gözlemlenmiştir. Bu semptomlar ciddi kilo kaybı, ateş, baş ağrısı, yorgunluk olmasıyla beraber boyun ve kasık bölgesinde genişlemiş lenf bezlerini içermektedir. Bu virus genellikle genital sıvılarda, kanda yaygın olarak bulunur ve başka insanlara kolay bir şekilde bulaşmaktadır (What are the common symptoms of HIV? | NICHD - Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development (nih.gov)).

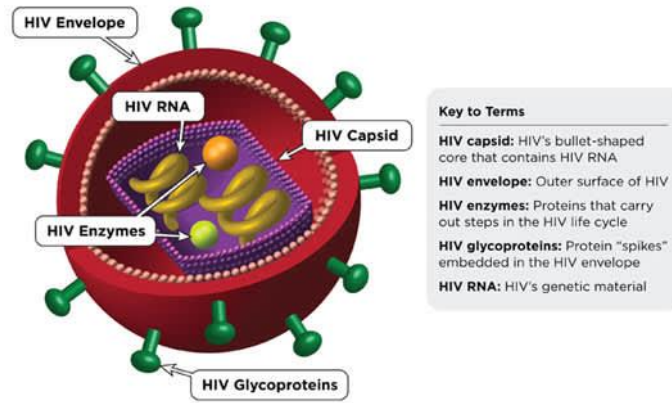
HIV'in ilk reseptörü, T+ lenfositlerde ve miyeloid soylarının hücrelerinde bulunan CD4 reseptörüdür (Dalglish ve ark. 1984). HIV enfeksiyonu CD4 lenfositlerinin tükenmesi nedeniyle edinilmiş bir immün yetmezliğine neden olmuştur (Department of Microbiology & Immunology, 77555, USA. mcloyd@utmb.edu).

Bu tez çalışmasında HIV-1 virüsünün CD4 reseptörünü viral etki eden molekülleri bloke ederek hastalığın tedavisinde etkili olabileceğini düşündüğümüz ilaç moleküllerini kenetleme yöntemi ile tasarlayarak ortaya çıkarmak hedeflenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

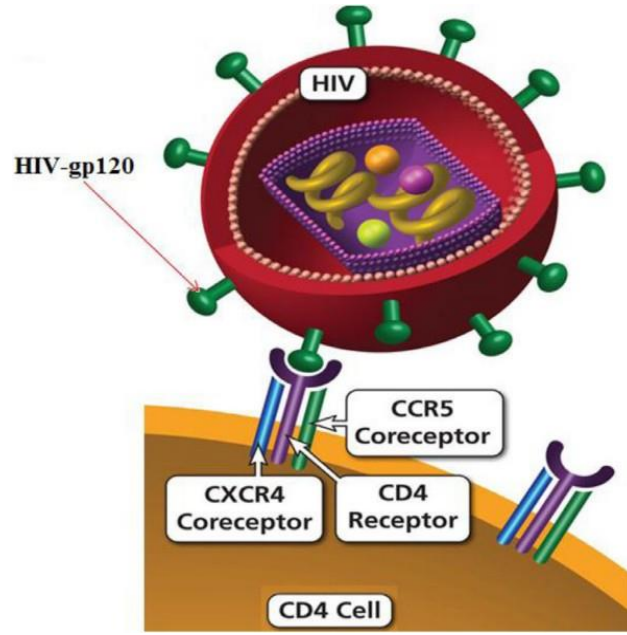
2.1. HIV Virüsünün Yapısı

HIV virüsü enzimatik proteinleri kodlayan yaklaşık 9.2 kilobazdan oluşan tek sarmallı, pozitif duyulu ribonukleik asit (RNA) genomunu içeren bir retrovirüstür. Bir HIV viryonu 100-120 nm ölçüde büyük bir küreseldir ve genomu bir kapsid çekirdeği içerisinde (Şekil 1) (Gelderblom, H. ve ark. 1987).



Şekil 1. HIV yapısının diyagramı (<https://hivinfo.nih.gov/understanding-hiv/factsheets/hiv-life-cycle>)

Bi-lipid hücre zarının içine gömülü halde viral glikoproteinler, gp41 transmembran proteini ve gp120 yüzey glikoproteini olmaktadır. HIV-1 enfeksiyonu için önemli ko-reseptörler iki kemokin reseptörüdür - CCR5 ve CXCR4 (Şekil 2) (Kwong, P.D. ve ark. 1998).



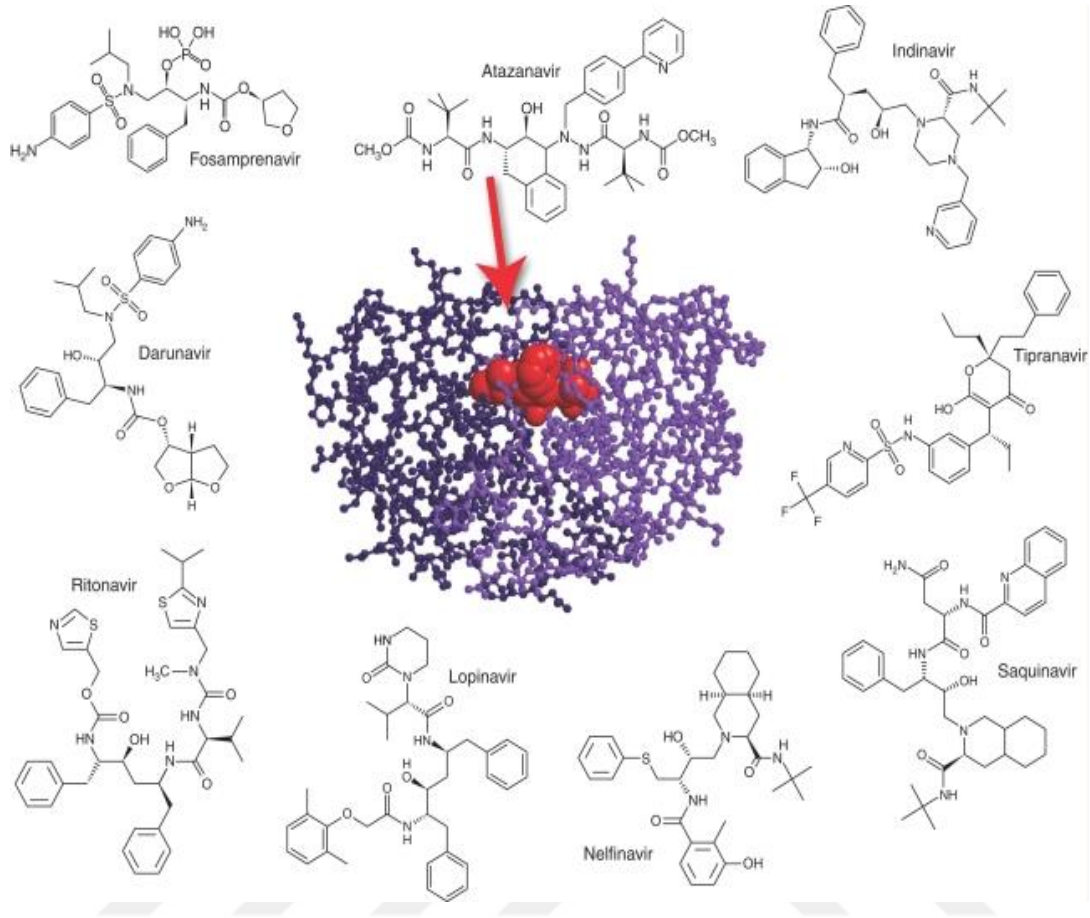
Şekil 2. GP120'nin CD4 reseptörleri ve ko-reseptörleri ile etkileşimini gösteren HIV-gp120/CD4 giriş mekanizması (V. Briz ve ark. (2006))

2.2. HIV Virüsünün Hücreye Girişi ve Yaşam Döngüsü Mekanizması

HIV-1 ribonukleoprotein (PNP) kompleksinin bileşenleri arasında viral DNA ve RNA, ters transkriptaz (RT) ve integraz (İN) bulunur. Hücre zarı ile HIV-1 füzyonunun ardından, çekirdek sitoplazmaya girer ve kapsid protein (CA) konakçı bir faktörle etkileşim oluşturur (Campbell, E. M. ve ark. (2015)). HIV-1 virüsü çekirdeğe nükleer gözenek kompleksi (NPC) vasıtasıyla girer (Matreyek, K. A. ve ark. (2013)).

2.3. HIV-1 Proteaz İnhibitörleri

HIV-1 proteaz, virion olgunlaşma sırasında viral gag ve gag-pol poliprotein öncülerinin bölünmesinden sorumlu olan bir enzimdir (Park J, Morrow CD 1993). On adet proteaz inhibitörü onaylanmıştır: atazanavir (ATZ), amprenavir (APV), darunavir (TMC114), indinavir (İDV), ritonavir (RTV), fosamprenvir (Lexiva) , lopinavir (LPV) , nelfinavir (NFV) , sakinavir (SQV) ve tiranavir (TPV) olarak belirlenmiştir (Şekil 3.) (Protease inhibitors and the crystal structure of HIV-1 protease complexed with atazanavir (CA Schiffer, unpubl.) (3EKY)).



Şekil 3. Proteaz inhibitörleri

Başlangıçta proteaz inhibitörlerinin HIV-1'in yaşam döngüsündeki rolü ve nispeten küçük boyutunun (11kDa) olması nedeniyle, direncinin nadir olması beklenmiştir (Shafer RW ve ark.). Proteaz inhibitörlerinin direncinin ortaya çıkması birincil mutasyonların adım adım birikmesini gerektirmiştir (Molla A. ve ark. 1996).

2.4. HIV Virüsünün Patolojisi ve Bulaşması

HIV-1 her vücut sıvısından izole edilmiştir ve virüsün neredeyse vücudun her yerinde aktif olan CD4⁺ T⁺ hücrelerinde çoğalacağı varsayılmıştır. Viral etkili patogenezi etkileyen bulaşmanın birkaç yönü vardır. Çoğu durumda bu enfeksiyon, cinsel yolla bulaşma, intravenöz ilaç kullanımıyla bulaşma veya dikey yolla bulaşma gibi tek bir genetik varyant tarafından kurulur, ancak tek varyanta karşı ise çoklu varyant enfeksiyonların frekansları yoluna göre değişim sağlamaktadır (Shaw GM. ve ark. 2011).

HIV-1 virüsünün bulaşması, tek bir virüs parçacığından başlayarak yeni bir enfeksiyona neden olmuştur (Coffin L. ve ark. 2011).

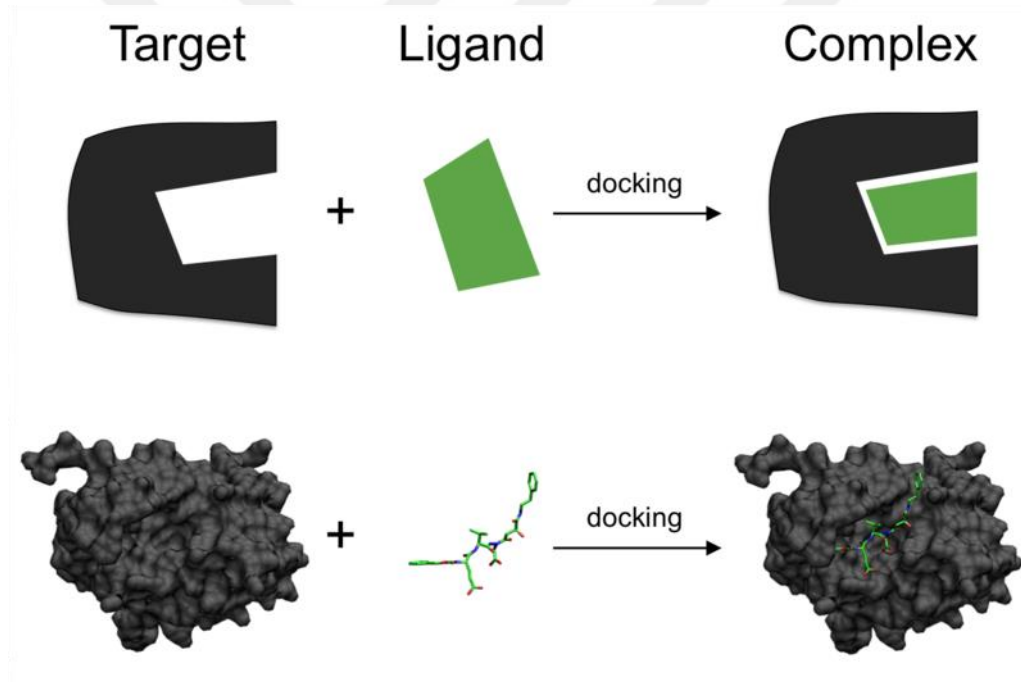
Genel olarak, HIV-1 virüsünün bulaşma oranları düşüktür ve e yüksek oranları bu virüse maruz kalma kişi başına %10 ile % 0.1 arasında olduğu öne sürülmüştür (Powers KA. ve ark. 2008).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Moleküler Kenetleme (Docking) Yöntemi

Moleküler kenetleme, ilaç araştırmalarında özellikle son dönemde artan bir şekilde kullanılan, aday ilaçlar ile hastalıktaki etkin protein arasındaki etkileşimleri hesaplayan in-siliko olarak tanımlanan yöntemdir (Song C.M. ve ark. 2009). İlaç tasarımı da kenetleme yöntemi, kristal yapılara yönelik yapılır. Docking yöntemi günümüzde ligandların aktivitesini hedefe doğru etkileşimine yardımcı olan bir yöntemdir. Aynı zamanda bu yöntem her hangi bir hastalığa neden olan farklı moleküler hedefler arasında ilişkilerin olmasını sağlar ki, bu da modern ilaç tasarımı da büyük bir öneme sahiptir. Moleküler Kenetleme mekanizminin şematik diyagramı Şekil 4’te gösterilmiştir.

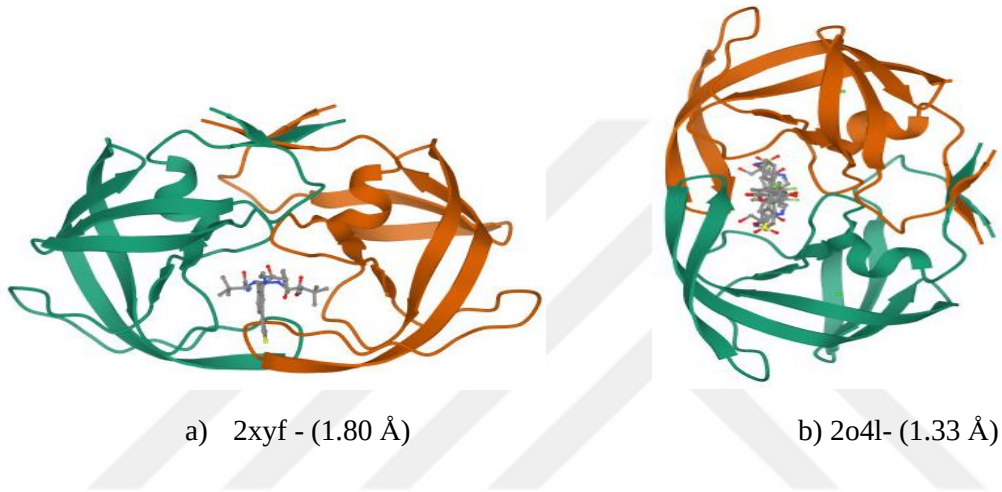


Şekil 4. Küçük boyutlu bir molekül ligandının (yeşil) bir protein hedefine (siyah) bağlanmasının şematik diyagramı (Lengauer T. ve ark. (Jun 1996))

Bu çalışmada, seçilmiş protein yapıları ile aday ligand molekülleri arasında Docking yöntemi Discovery Studio Visualizer, Autodock Vina ve Spartan’14 V1.1.4 programlarını kullanarak gerçekleştirilmiştir (Morris G.M. ve ark. 2009), (Trott O. ve ark. 2010).

3.2. Hastalığın Proteinlerinin Elde Edilmesi

Protein Data Bank (*Nature New Biology* (1971)) (Open-access data: A cornerstone for artificial intelligence approaches to protein structure prediction *Structure* 29: (2021)) sitesinden hastalığa ait proteinler X-ray kristal yapıda, Homo Sapiense organizması üzerinde çalışılmış ve çözünürlüğü <2.0 Å olan toplamda 2 adet, çözünürlüğü sırasıyla 1.80 Å ve 1.33 Å olan 2xyf ve 2o4l pdb id kodlu kristal yapıları ile çalışılmıştır (Şekil 5) (Berman H.M. ve ark. 2000).



Şekil 5. a. 2xyf pdb id kodlu, b. 2o4l pdb id kodlu, HIV-1 proteaz inhibitörüne bağlı proteinlerin kristal yapıları (<https://www.rcsb.org/>)

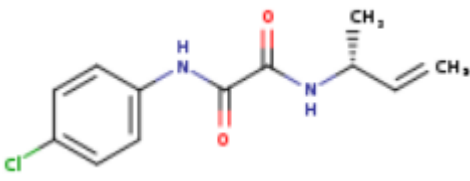
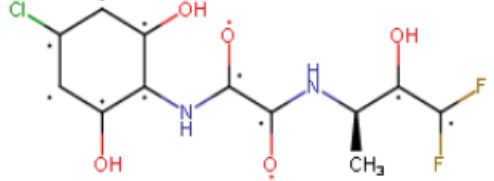
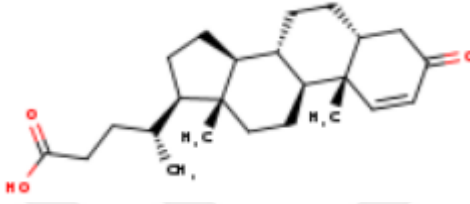
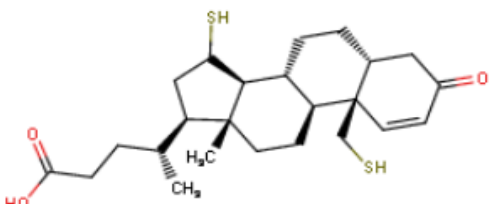
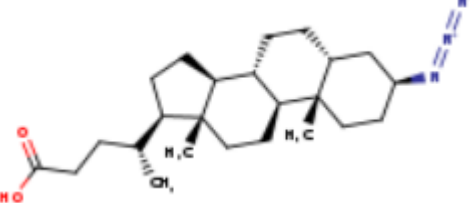
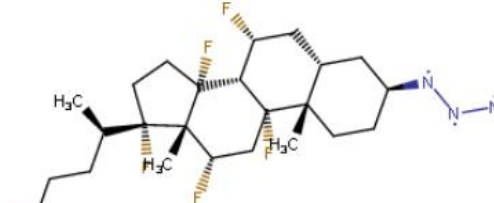
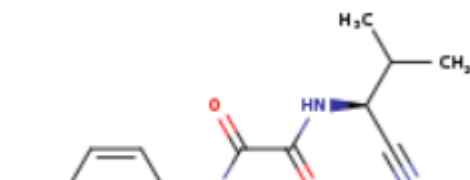
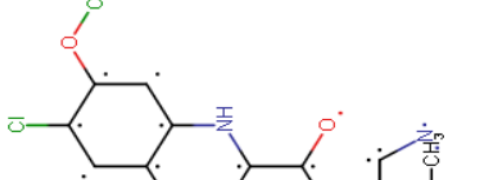
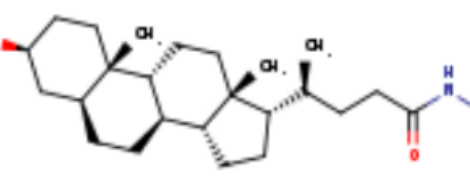
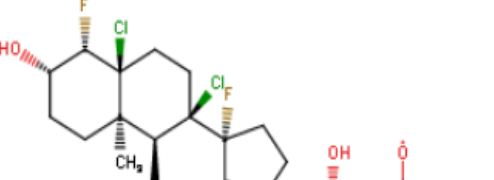
3.3. Ligand ve Benzer Yapılarının Spartan'14 V1.1.4 Programında Çalışılması

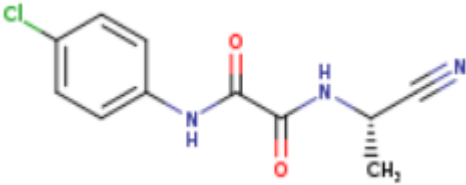
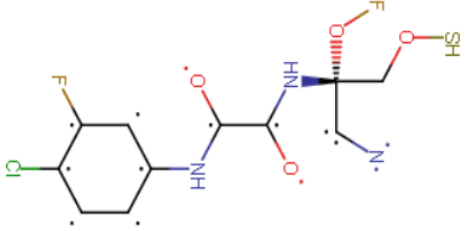
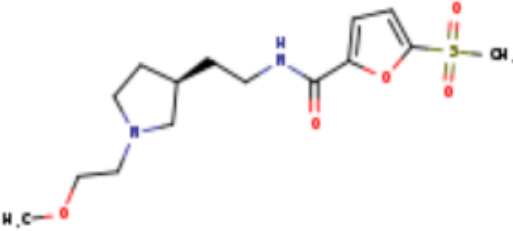
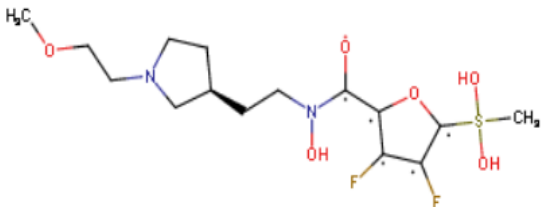
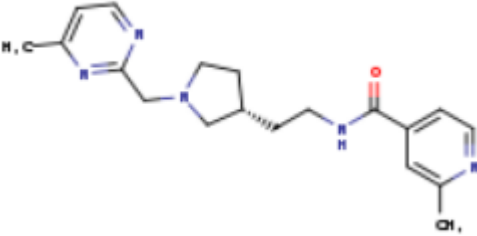
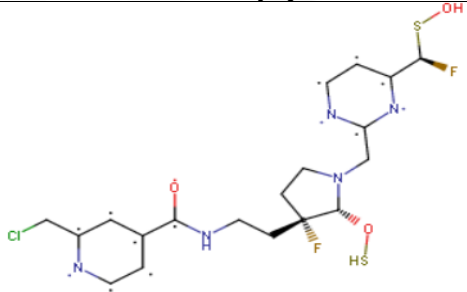
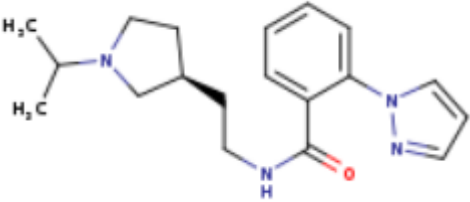
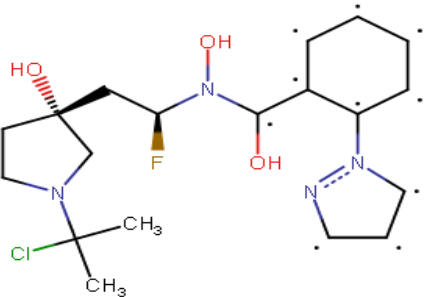
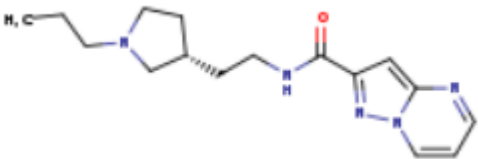
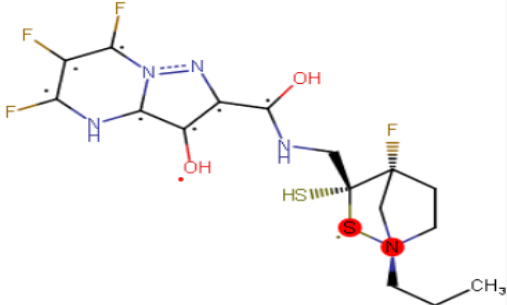
Spartan'14 V1.1.4, konformasyonel tarama, yapının, enerjilerin ve özelliklerin hesaplanması gibi çok çeşitli hesaplamalı kimya işlemleri yapmaktadır (Computational Chemistry, 2001).

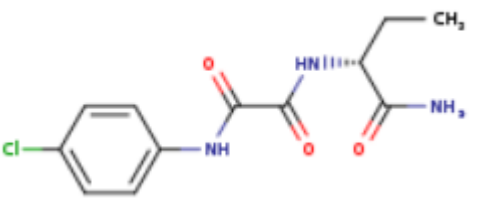
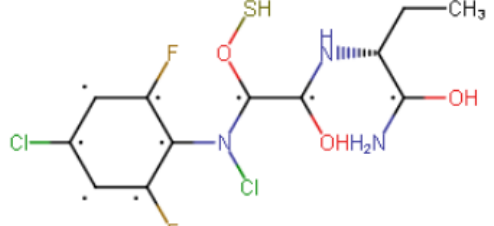
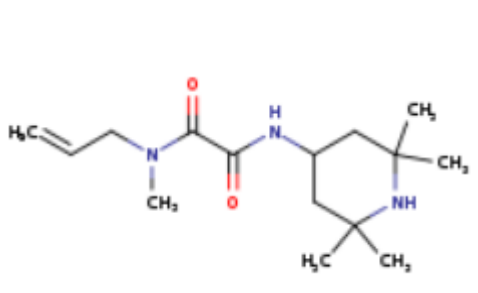
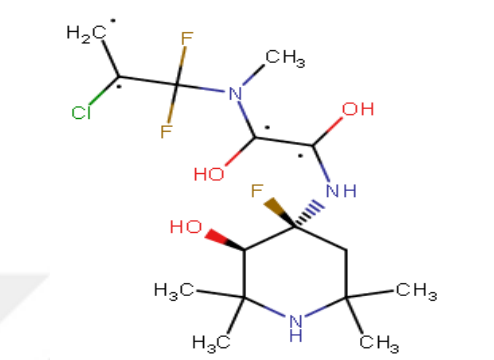
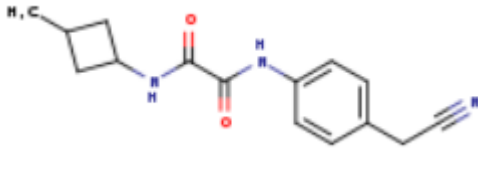
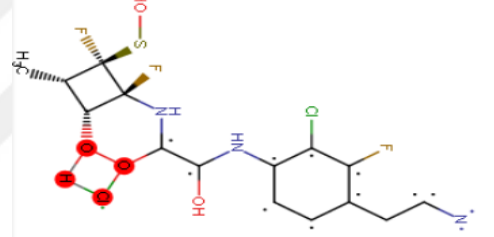
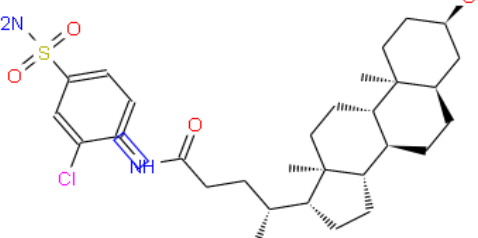
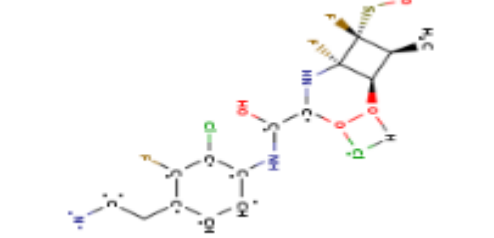
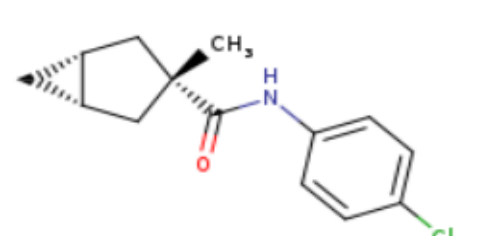
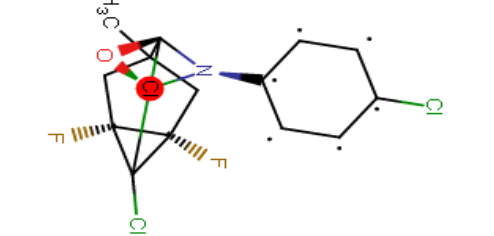
Spartan'14 V1.1.4, aynı zamanda hesaplamalı kimya yazılımında kullanılan modern bir moleküler modelleme programıdır (Aman Bhutani 1999).

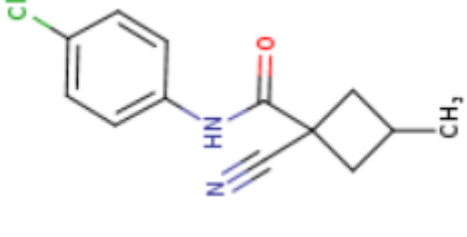
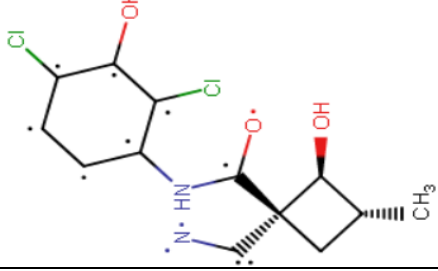
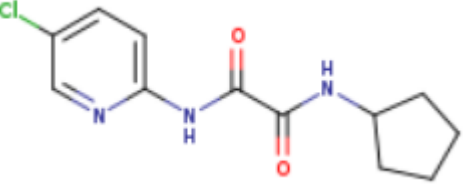
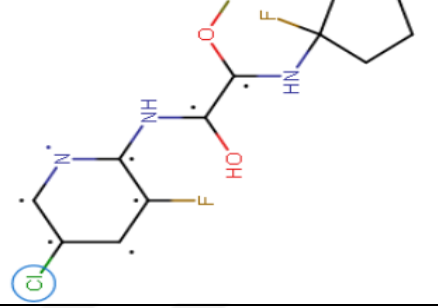
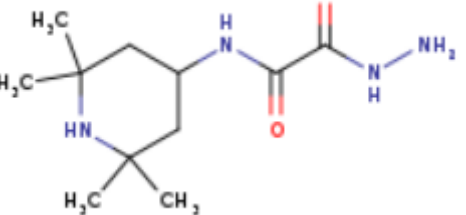
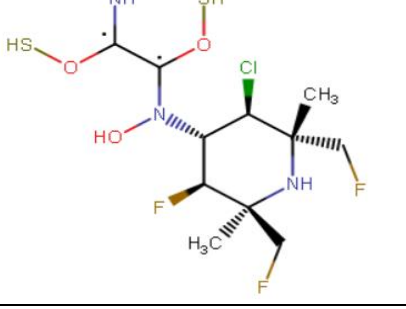
Zinc15 Database veri tabanından alınmış ligandların bazılarının proteinle daha iyi etkileşim sağlaması için ligandlara Spartan'14 V1.1.4 programında özel grupların (Br, I, F, Cl, S, SO₄ ve s.) eklenmesi yapılarak benzer yapılar elde edilmiş ve Tablo 1'de gösterilmiştir:

Tablo 1. Ligand molekülleri ve Benzer yapıların iki boyutlu yapısı

	
1.ZINC000362616121	Benzer yapısı
	
2.ZINC000033820845	Benzer yapısı
	
3.ZINC000118921350	Benzer yapısı
	
4.ZINC000546717723	Benzer yapısı
	
5.ZINC000253673033	Benzer yapısı

	
6.ZINC000570350809	Benzer yapısı
	
7.ZINC001481451733	Benzer yapısı
	
8.ZINC001481452123	Benzer yapısı
	
9.ZINC001481452566	Benzer yapısı
	
10.ZINC001481452652	Benzer yapısı

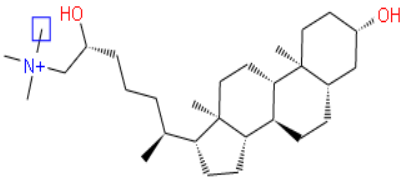
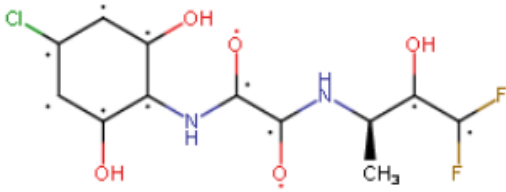
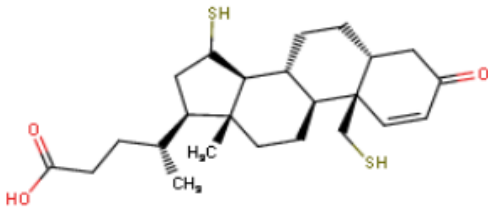
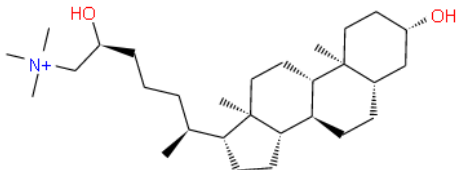
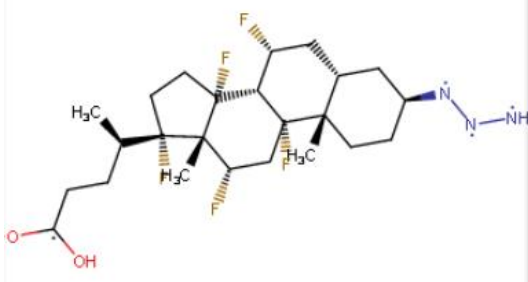
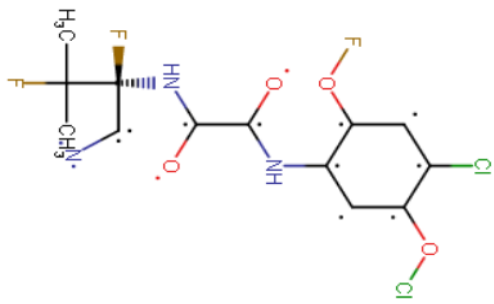
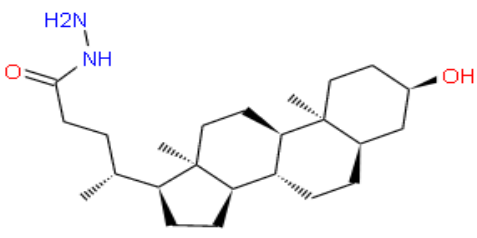
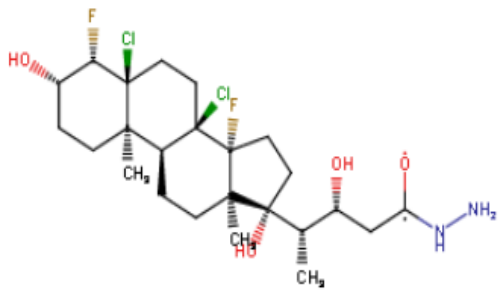
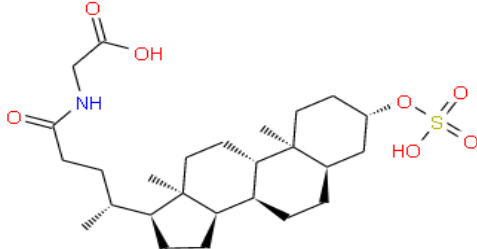
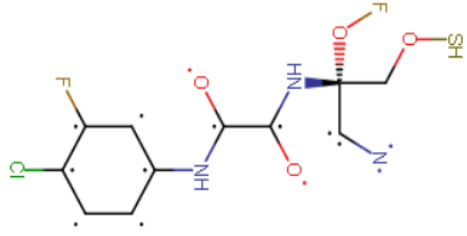
	
11.ZINC000295811947	Benzer yapısı
	
12.ZINC000283574773	Benzer yapısı
	
13.ZINC000267706037	Benzer yapısı
	
14.ZINC000029324320	Benzer yapısı
	
15.ZINC000549258741	Benzer yapısı

	
16.ZINC000122306137	Benzer yapısı
	
17.ZINC000009304881	Benzer yapısı
	
18.ZINC000004892423	Benzer yapısı

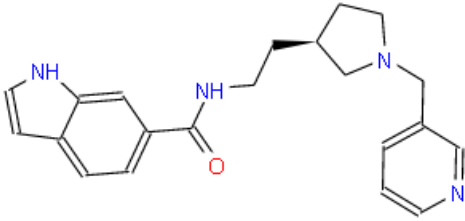
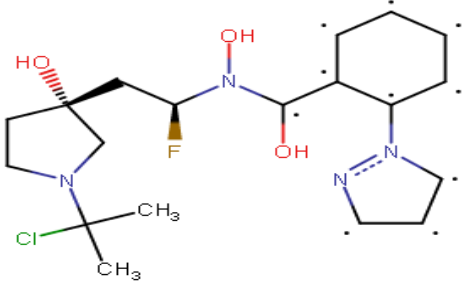
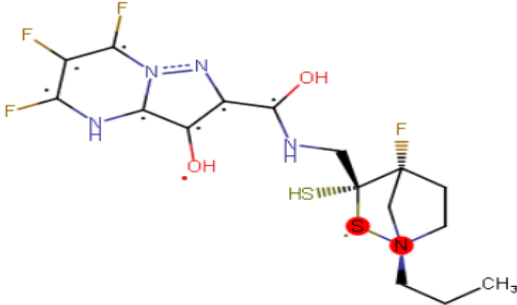
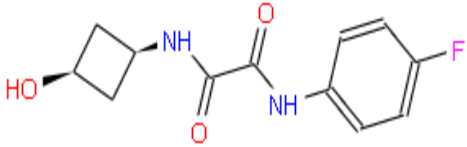
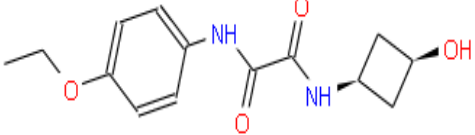
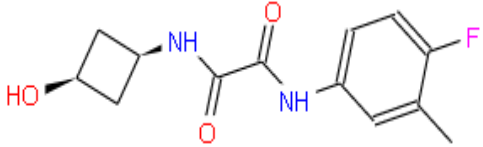
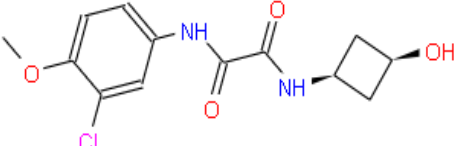
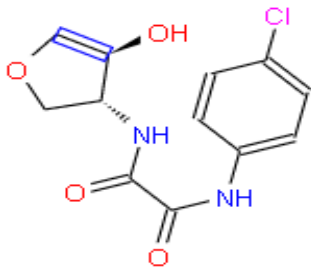
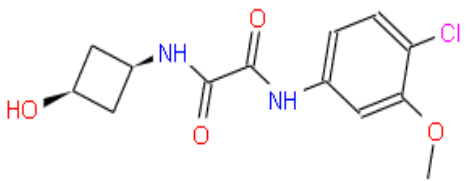
3.4. Çalışmada Kullanılan Ligand Moleküllerinin 2D Yapıları

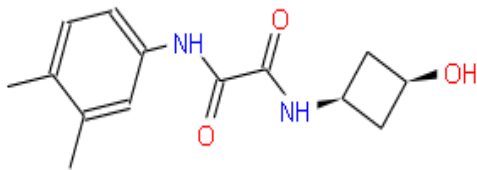
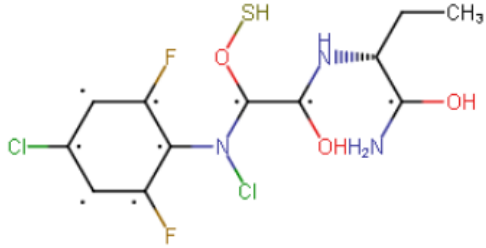
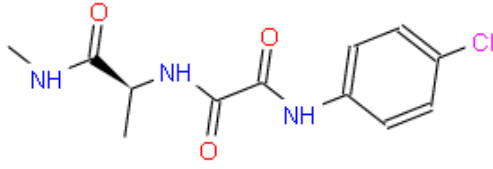
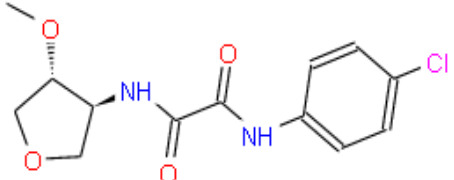
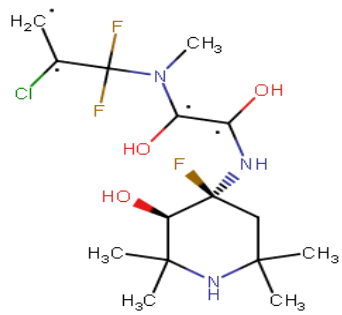
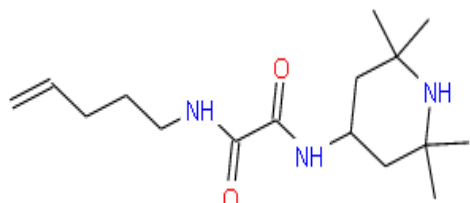
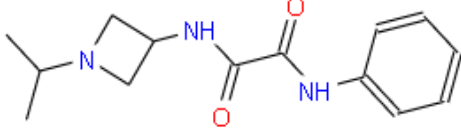
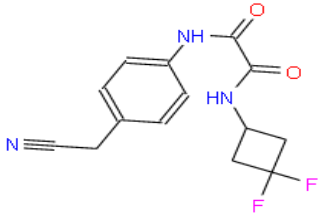
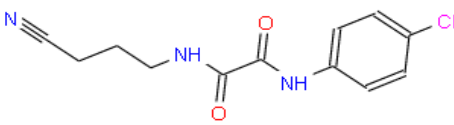
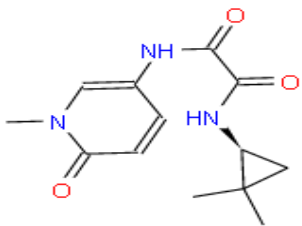
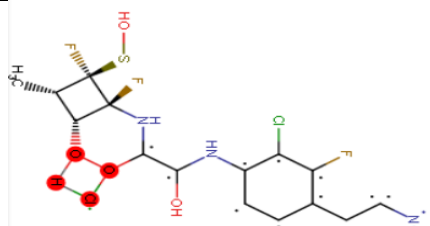
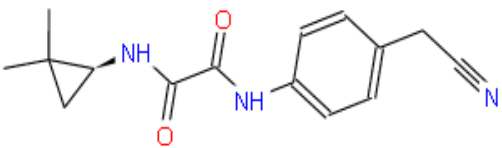
HIV-1 proteaz inhibitörleri olarak düşünülen FDA onaylı ligand moleküllerini sdf formatında indirdikten sonra, Spartan 14 programında açarak hidrojen bağları, tek ve çift bağlar ekleyerek pdb formatında kaydedilmiştir. Bu ligand moleküllerinin 2 boyutlu yapılarının görüntüsü Zinc15 Database veri tabanından alınmıştır ve Tablo 2’de gösterilmiştir (Sterlinİrwin, J. ve ark. 2015).

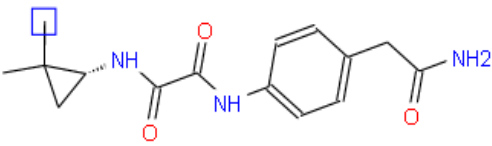
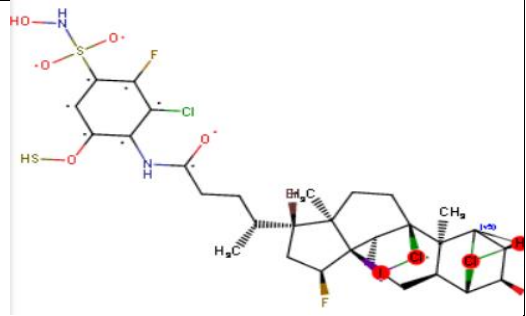
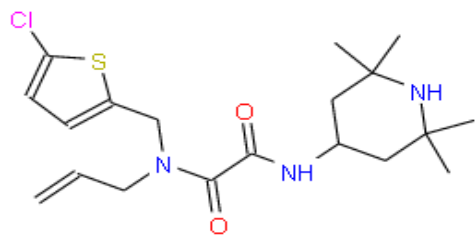
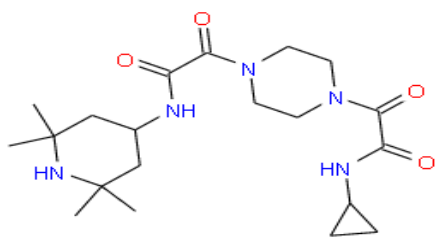
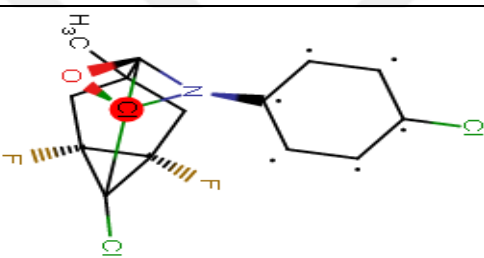
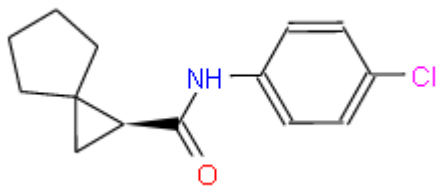
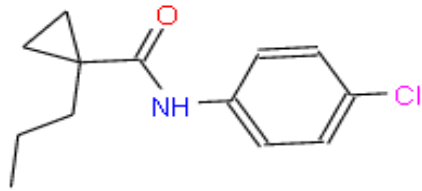
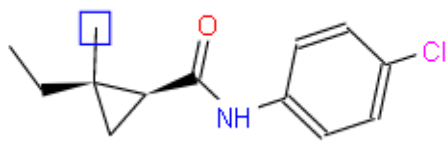
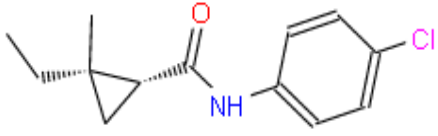
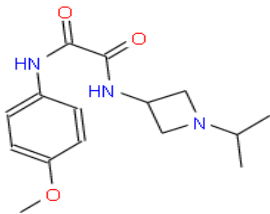
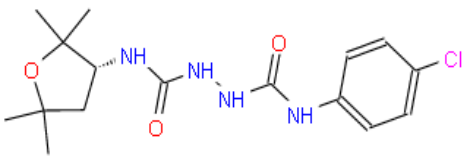
Tablo 2. HIV-1 Proteaz İnhibitör Ligand Molekülleri

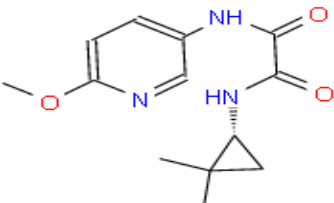
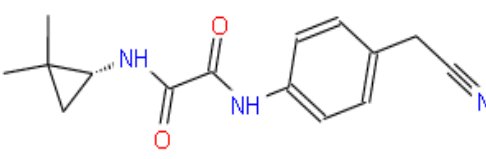
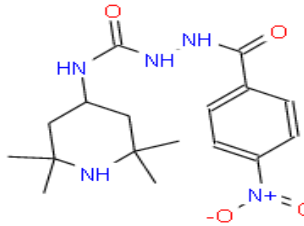
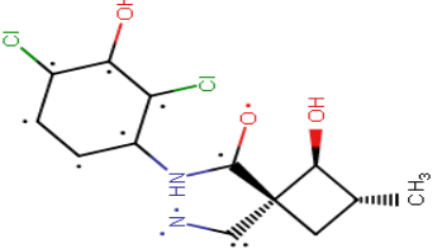
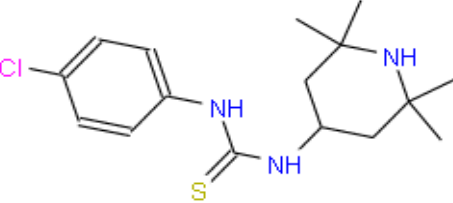
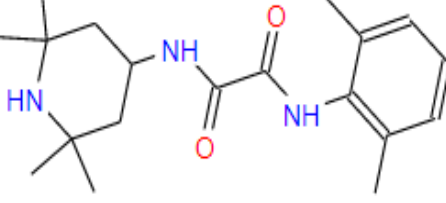
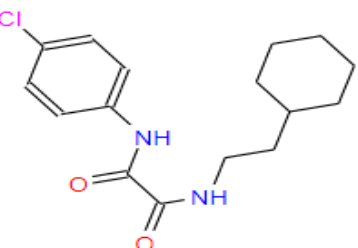
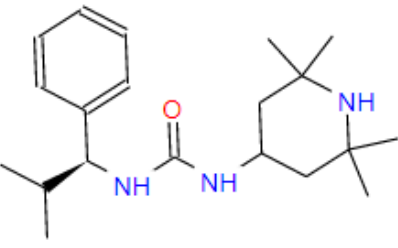
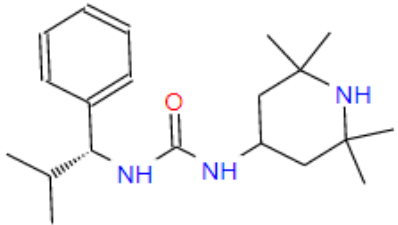
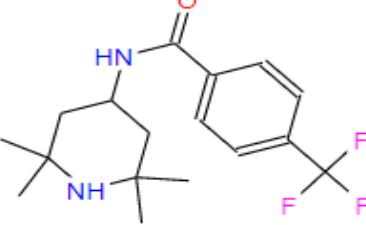
	
1. ZINC000100056916	2. ZINC000362616121-B
	
3. ZINC000033820845-B	4. ZINC000118914028
	
5. ZINC000118921350-B	6. ZINC000546717723-B
	
7. ZINC000252430649	8. ZINC000253673033-B
	
9. ZINC000261495061	10. ZINC000570350809-B

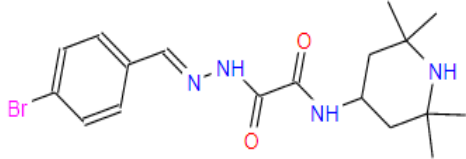
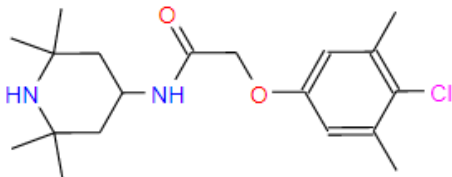
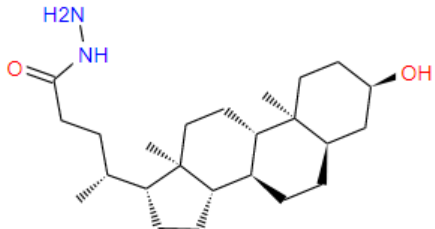
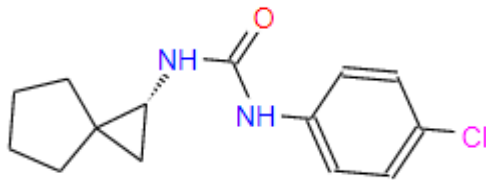
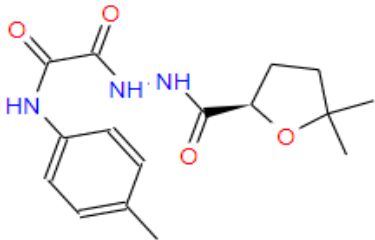
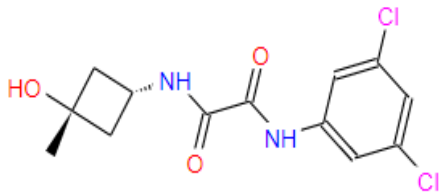
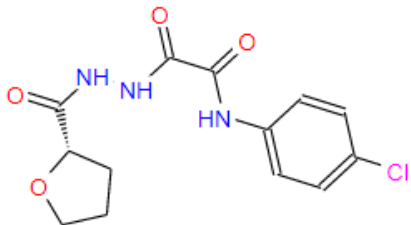
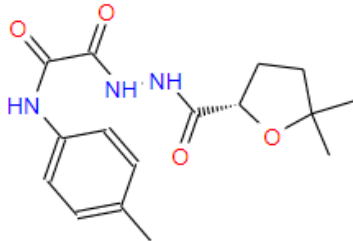
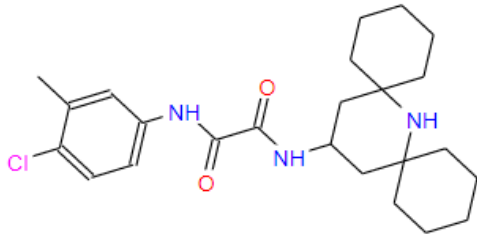
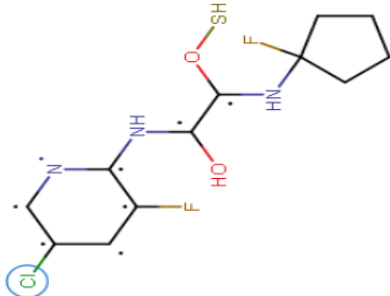
11. ZINC001481451733-B	12. ZINC001481451751
13. ZINC001481451754	14. ZINC001481451805
15. ZINC001481451826	16. ZINC001481452123-B
17. ZINC001481452390	18. ZINC001481452432
19. ZINC001481452441	20. ZINC001481452505

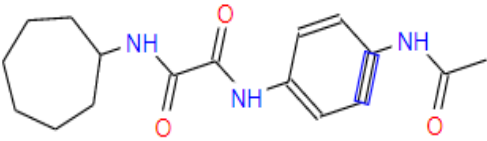
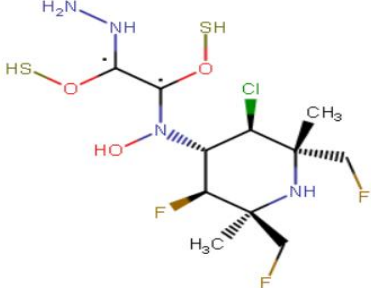
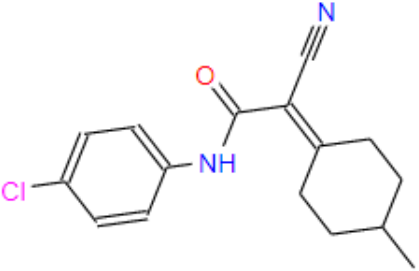
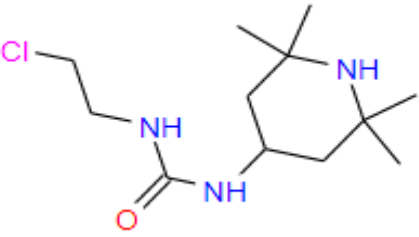
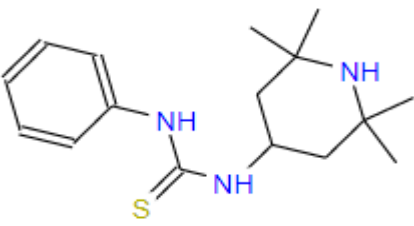
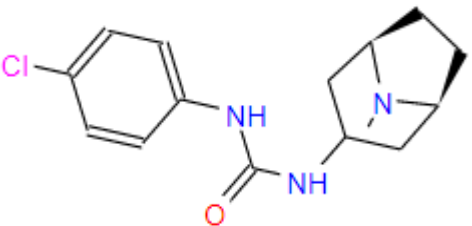
	
21. ZINC001481452525	22. ZINC001481452566-B
	
23. ZINC001481452652-B	24. ZINC000296239564
	
25. ZINC000296181431	26. ZINC000296176900
	
27. ZINC000296145406	28. ZINC000296323625
	
29. ZINC000296103580	30. ZINC000296047866

	
31. ZINC000296043713	32. ZINC000295811947-B
	
33. ZINC000293526081	34. ZINC000290391098
	
35. ZINC000283574773-B	36. ZINC000283462728
	
37. ZINC000275232206	38. ZINC000277179753
	
39. ZINC000273132401	40. ZINC000272980395
	
41. ZINC000267706037-B	42. ZINC000299042744

	
43. ZINC000299066678	44. ZINC000029324320-B
	
45. ZINC000559327718	46. ZINC000549874200
	
47. ZINC000549258741-B	48. ZINC000474214338
	
49. ZINC000471094132	50. ZINC000466397770
	
51. ZINC000466397769	52. ZINC000297074779
	
53. ZINC000335089524	54. ZINC000296830848

	
55. ZINC000299032122	56. ZINC000299042742
	
57. ZINC000124092551	58. ZINC000122306137-B
	
59. ZINC000000173685	60. ZINC000042646460
	
61. ZINC000041852939	62. ZINC000026179829
	
63. ZINC000026179824	64. ZINC000010814879

	
65. ZINC000003668557	66. ZINC000000869551
	
67. ZINC000004805108	68. ZINC000428689781
	
69. ZINC000282672526	70. ZINC000419787780
	
71. ZINC000293334884	72. ZINC000282672528
	
73. ZINC000096915532	74. ZINC000009304881-B

	
75. ZINC000005250916	76. ZINC000004892423-T
	
77. ZINC000004150911	78. ZINC000001669337
	
79. ZINC000000173688	80. ZINC000000135946

3.5. XYZ Koordinatlarının Bulunması

Kenetlemede kullanılan X, Y, Z koordinatları, Protein Data Bank üzerinden 2xyf ve 2o4l pdb kodlu yapıların Discovery Studio Visualizer programı ile incelenmesi sonucunda elde edilmiştir (Jason Benedict CEO, BIOVIA brand of Dassault Systèmes and Vice President of R&D).

Çalışmada kullanılan 2xyf pdb kodlu yapı ligandının koordinatları: x=15.325, y=23.692, z=6.587 olarak, 2o4l pdb kodlu yapı ligandının koordinatları ise: x=-22.028, y=16.948, z=15.405 olarak tanımlanmıştır.

3.6. Kenetleme Dosyalarının Hazırlanması

Pdb formatına getirilen temizlenmiş protein AutoDock programında hidrojen atomları eklendikten sonra docking yapılacak protein olarak seçilir. Kenetlenme işlemi için çok önemli bir parametre olarak tanımlanan gridbox, $40 \times 40 \times 40 \text{ Å}^3$ lük bir hacim ile ligandın protein içerisinde dolaşabileceği bir boşluk tanımlanmıştır (Moult J. ve ark. 2005). Gridbox, protein ile ligand arasında beklenen bağlanma bölgelerinin tayin edildiği sınır değerlerinin içermektedir. Bu hesaplamada, hedef protein yapısı karelere bölünerek 3 boyutlu bir sisteme (grid) konumlandırılır (Zhang Y. ve ark. 2009).

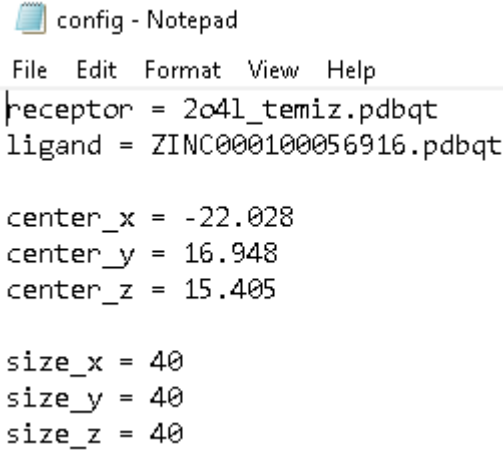
Gridbox koordinatları ligandın hedef proteinin aktif bölgesinin içerisinde tutacak şekilde sınırlandırılmıştır. Böylece ligand, hedef proteinin aktif bölgesi içinde, gridbox parametreleriyle oluşturulan sınırlı alanda hareket edebilmektedir (Brylinski M. ve ark. 2012). Gridbox doğru oluşturulmazsa ligand hedef proteinin gereksiz amino asitleriyle etkileşime girebilir ya da fazla küçük olursa hedeflenmiş aktif bölgelere ulaşamayabilir (Roy A. ve ark. 2010).

3.7. Kenetlenme Çalışmalarının Gerçekleştirilmesi

Kenetleme çalışmaları gerçekleştirilirken öncelikle protein id kodları 2xyf ve 2o4l olan X-ray kristal yapıları Protein Data Bank veri tabanından pdb formatında kaydedilmiştir. Elde edilmiş bu yapıların içeriğindeki su molekülleri ve hetero atomları Discovery Studio Visualizer programı kullanılarak temizlenip yeniden .pdb formatında kaydedilmiştir. (Chen Z. ve ark. (1994)).

Autodock Vina programı ligand ve proteinleri .pdbqt formatında kullandığı için kenetlemeyi gerçekleştirmek için uygulanan işlemlerin sonunda protein ve ligandlar .pdbqt uzantısı ile kaydedilmelidir. Bu işlemler aşağıdaki sıralama ile gerçekleştirilmiştir:

1. Protein ve ligand moleküllerinin .pdb uzantılı dosyaları config dosyası adında bir klasörde yerleştirilmiştir. Şekil 6' da gösterilmiştir.



```
config - Notepad
File Edit Format View Help
receptor = 2o4l_temiz.pdbqt
ligand = ZINC000100056916.pdbqt

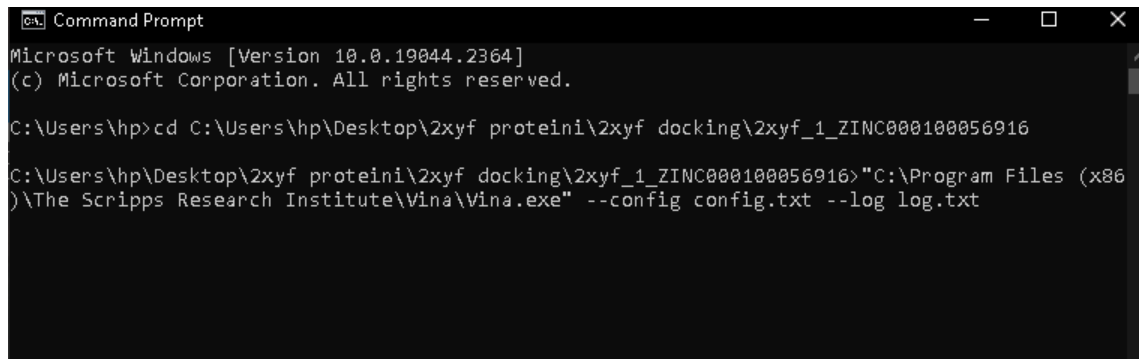
center_x = -22.028
center_y = 16.948
center_z = 15.405

size_x = 40
size_y = 40
size_z = 40
```

Şekil 6: Protein ve ligandın config dosyası

2. Autodock programında proteinin temizlenmiş pdb uzantılı dosyasını açıp hidrojenleri ekleyerek yeniden pdbqt formatında kayd edilmiştir.
3. Grid Options penceresinden Grid box boyutu ve x, y, z ölçülerinin girişi yapılmıştır.
4. Bu işlemlerin ardından ligdanın pdb dosyasında düzenlenlemeler yapılarak pdbqt format klasörün içine kayd edilmiştir.

Bu çalışma sonucunda protein ligand arasında etkileşim kuvvetinin kenetleme değerlendirmesi yani bağlanma affinitesi hesaplanmıştır (Şekil 7) (Kroemer RT. ve ark. 2007). Etkileşim ne kadar güçlü olursa ligand, hedef proteinlerin fizyolojik işlevini o kadar çok etkiler ve bu nedenle hedef proteine güçlü bir şekilde bağlanan ligandlar, ilaç adayı olarak seçilir (Li S. ve ark. 2009).



```
Command Prompt
Microsoft Windows [Version 10.0.19044.2364]
(c) Microsoft Corporation. All rights reserved.

C:\Users\hp>cd C:\Users\hp\Desktop\2xyf proteini\2xyf docking\2xyf_1_ZINC000100056916

C:\Users\hp\Desktop\2xyf proteini\2xyf docking\2xyf_1_ZINC000100056916>"C:\Program Files (x86)
)\The Scripps Research Institute\Vina\Vina.exe" --config config.txt --log log.txt
```

Şekil 7: Autodock Vina Programı Vasıtasıyla Komut İsteminin Çalıştırılması

5. BULGULAR

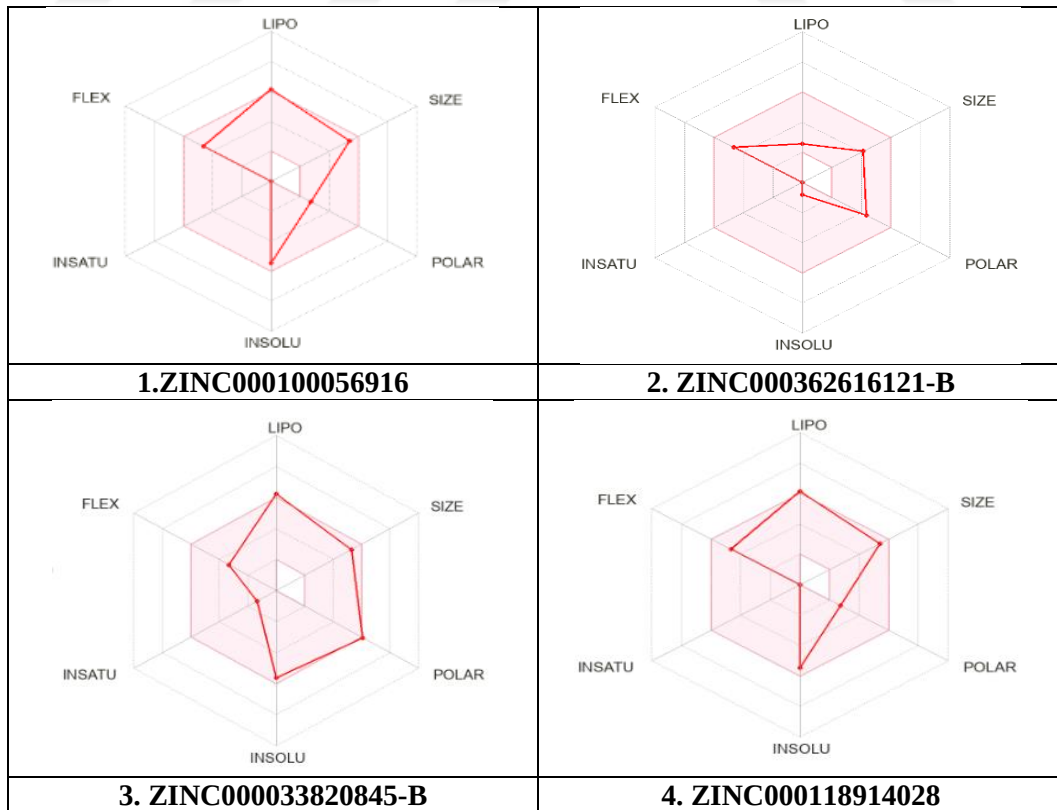
4.1. Swissadme Görüntüleri

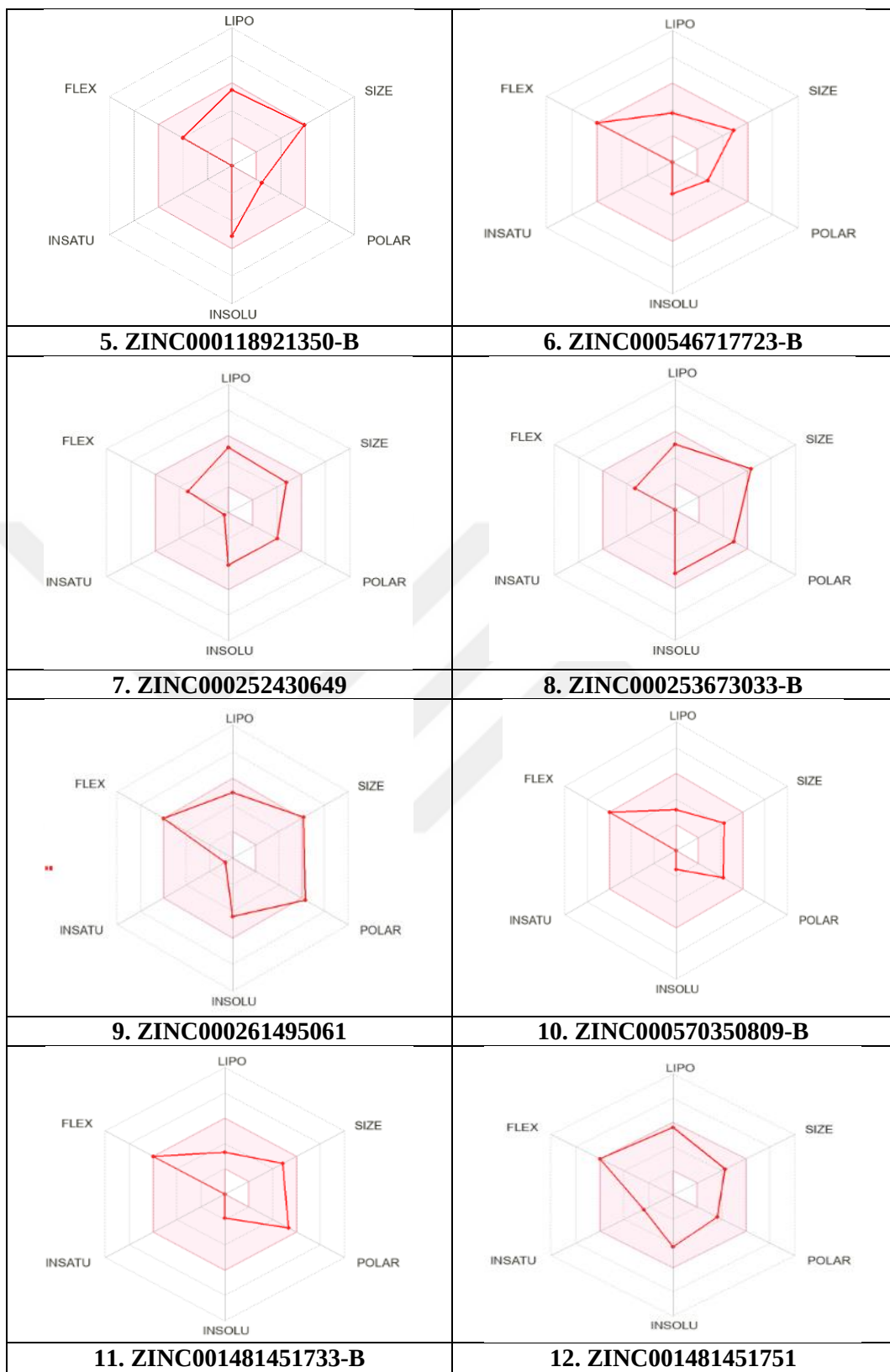
Çalışmada kullanılan ligand moleküllerinin Swissadme görüntüleri Zinc15 Database veri tabanından bu ligand moleküllerinin smileslerinin kopyalanarak Swissadme web aracında çalıştırılarak hesaplanmış sonuçlarından elde edilmiştir. Bu çalışmada bir çok fizikokimyasal özellikler dikkate alınmıştır: lipofilisite (LogP), ağırlık (MW g/mol), polarizebilite (TPSA Å) (Ritchie T. J. ve ark. (2011)). Swissadme de ligand moleküllerinin Lipinski'den onay alması bu ligandın ilaç olabilme olasılığının yüksek olmasını tanımlamıştır (Lipinski C. A. ve ark. (2001)).

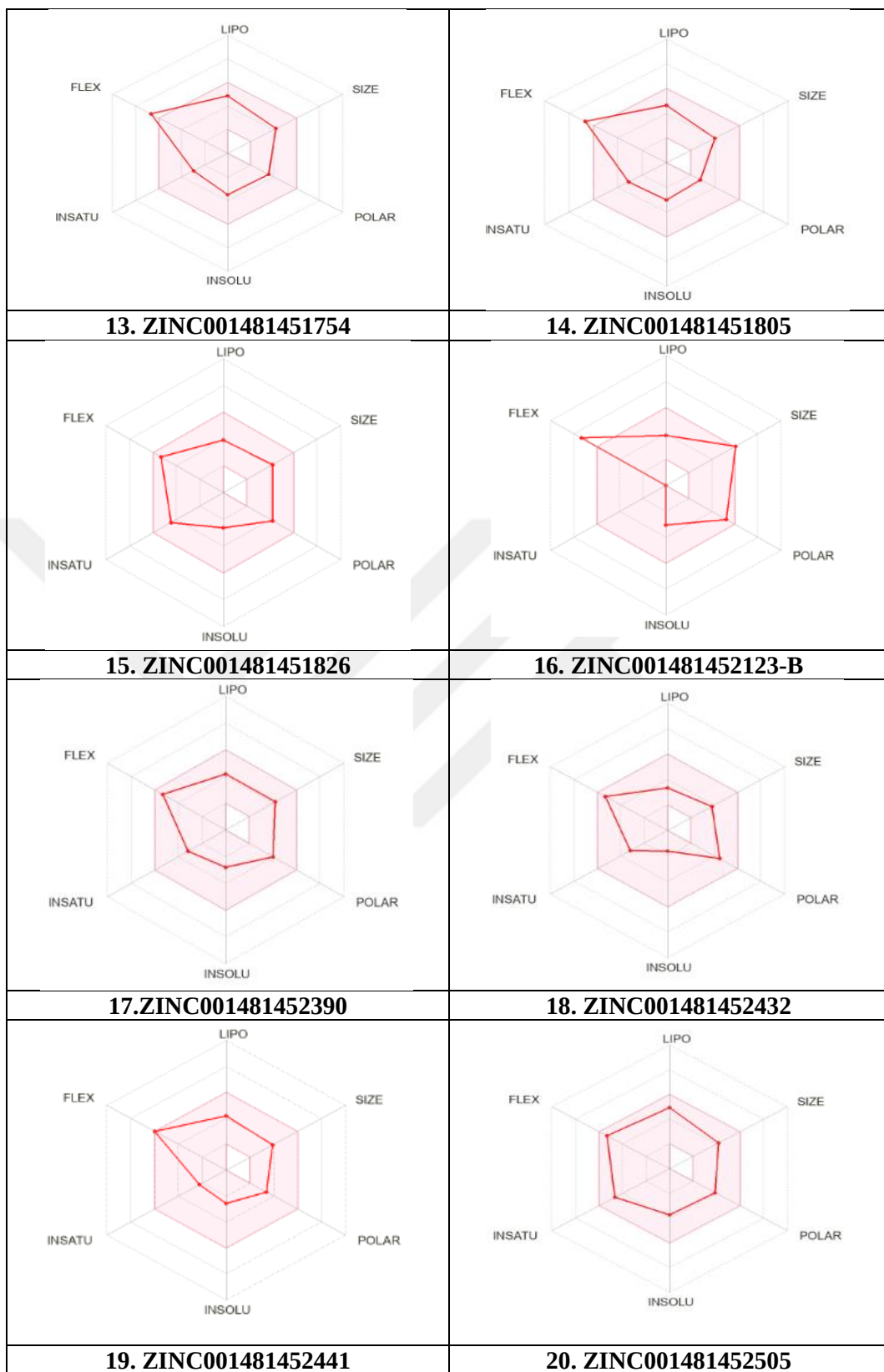
Kenetleme yapılacak proteinle etkileşiminin daha kuvvetli olması için ligand molekülünün pembe alandan kenara çıkmaması gerekmektedir. Pembe alan, yukarıda belirtilmiş özellikler için en uygun olan aralığı temsil eder (Lovering F. ve ark. (2009)).

Çalışma sonucunda elde edilmiş görüntüler aşağıdaki Tablo 3' te gösterilmiştir.

Tablo 3. Çalışılan aday ligand moleküllerinin SwissAdme görüntüleri

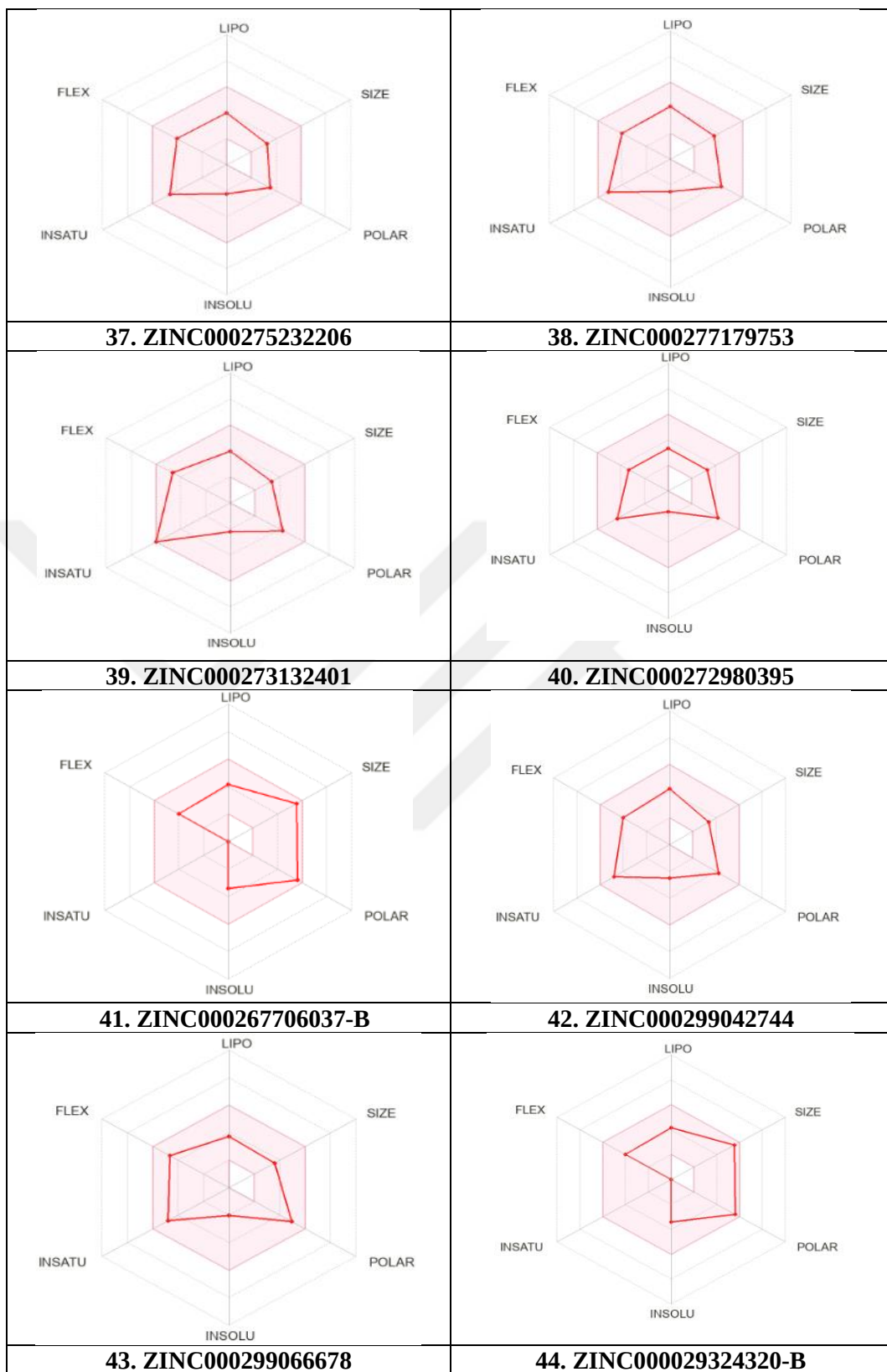


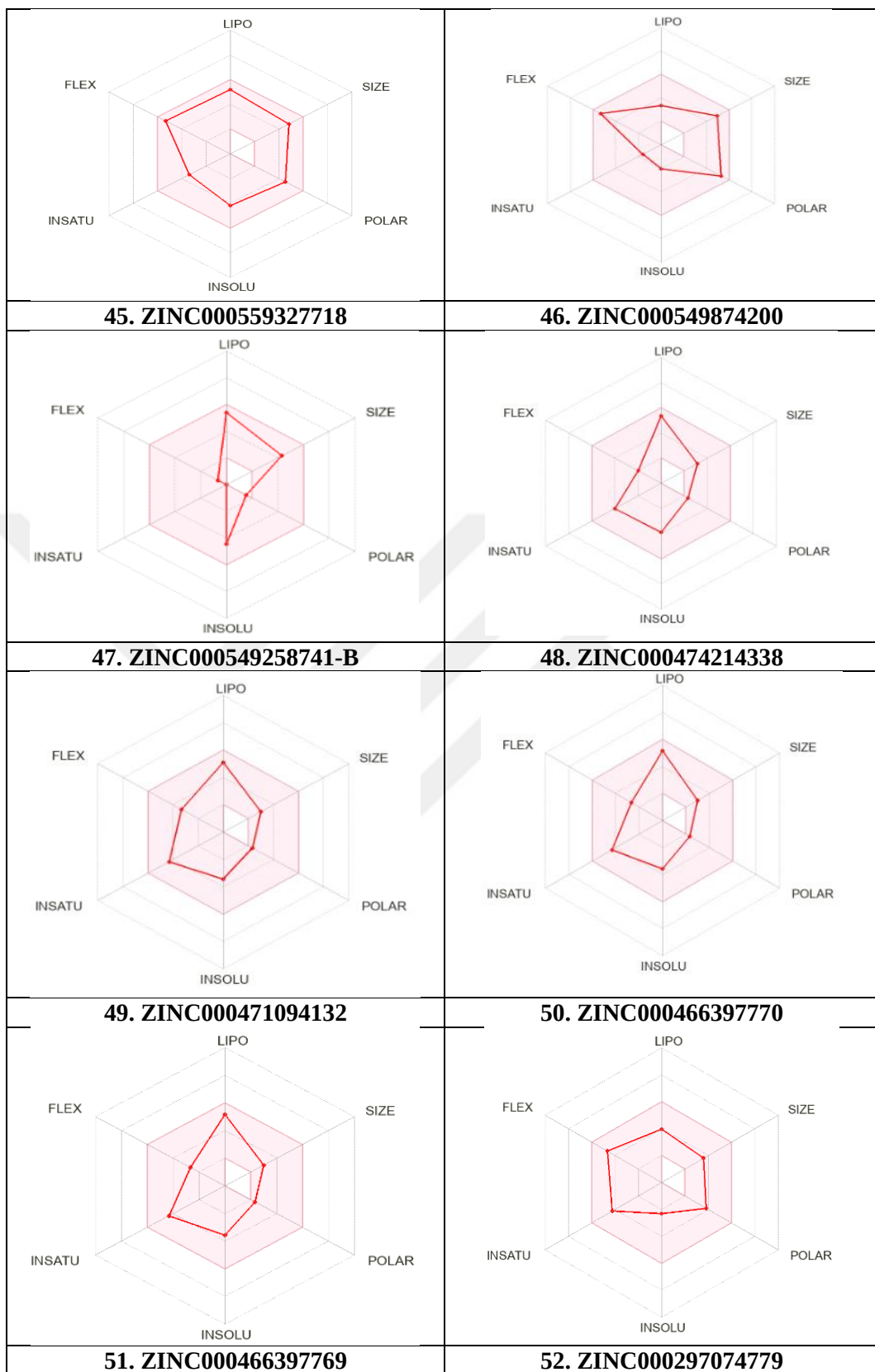


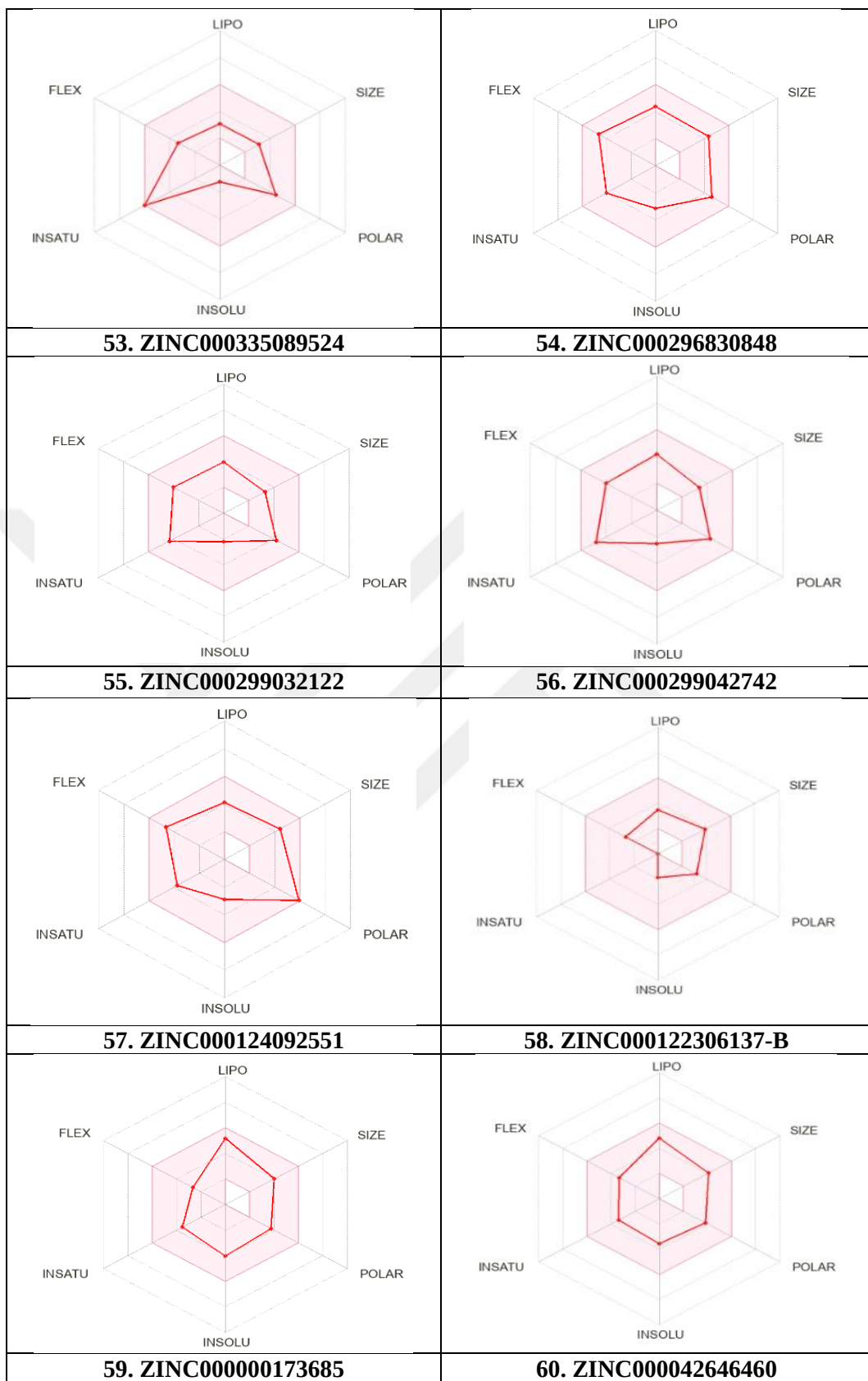


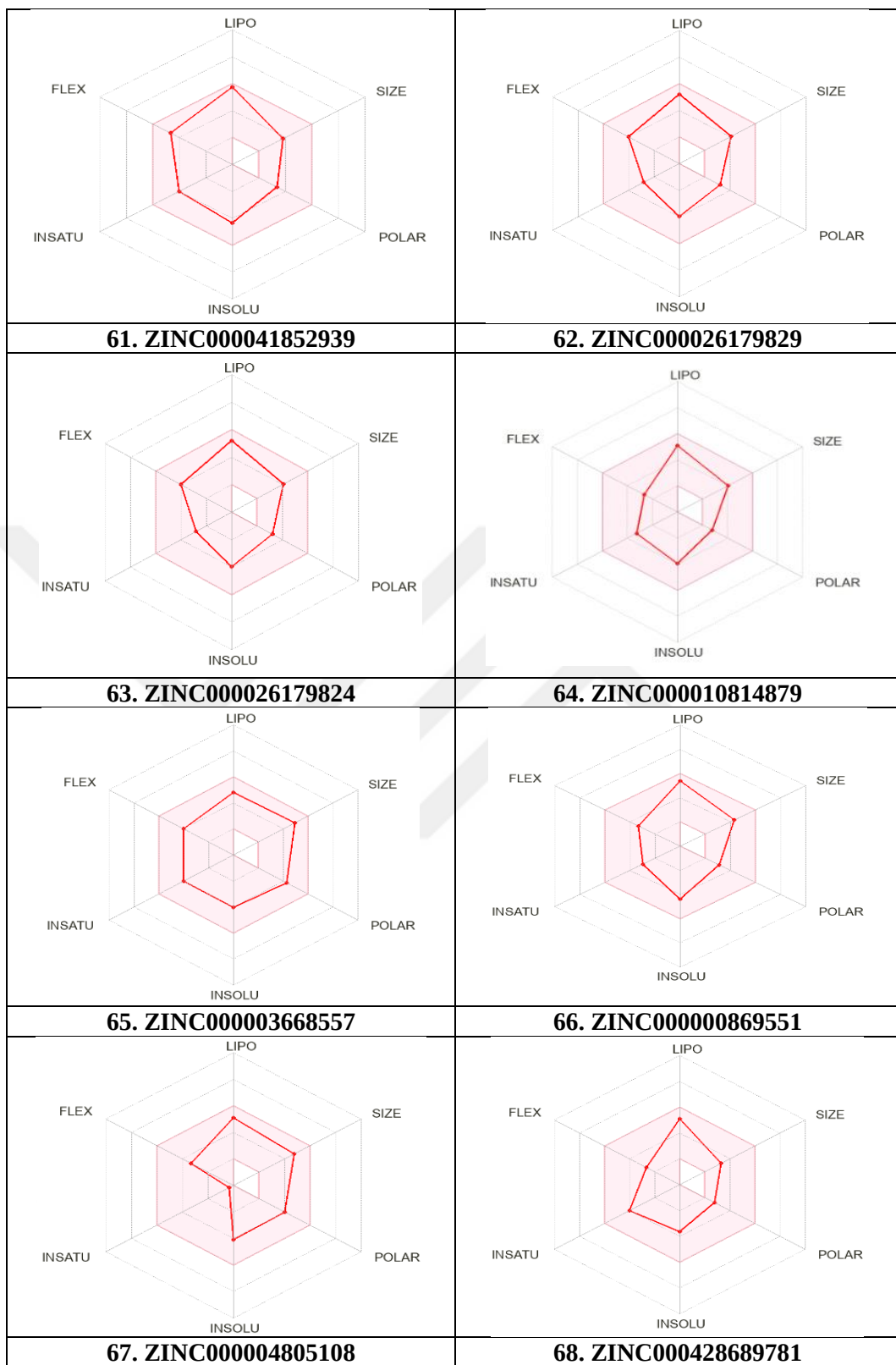


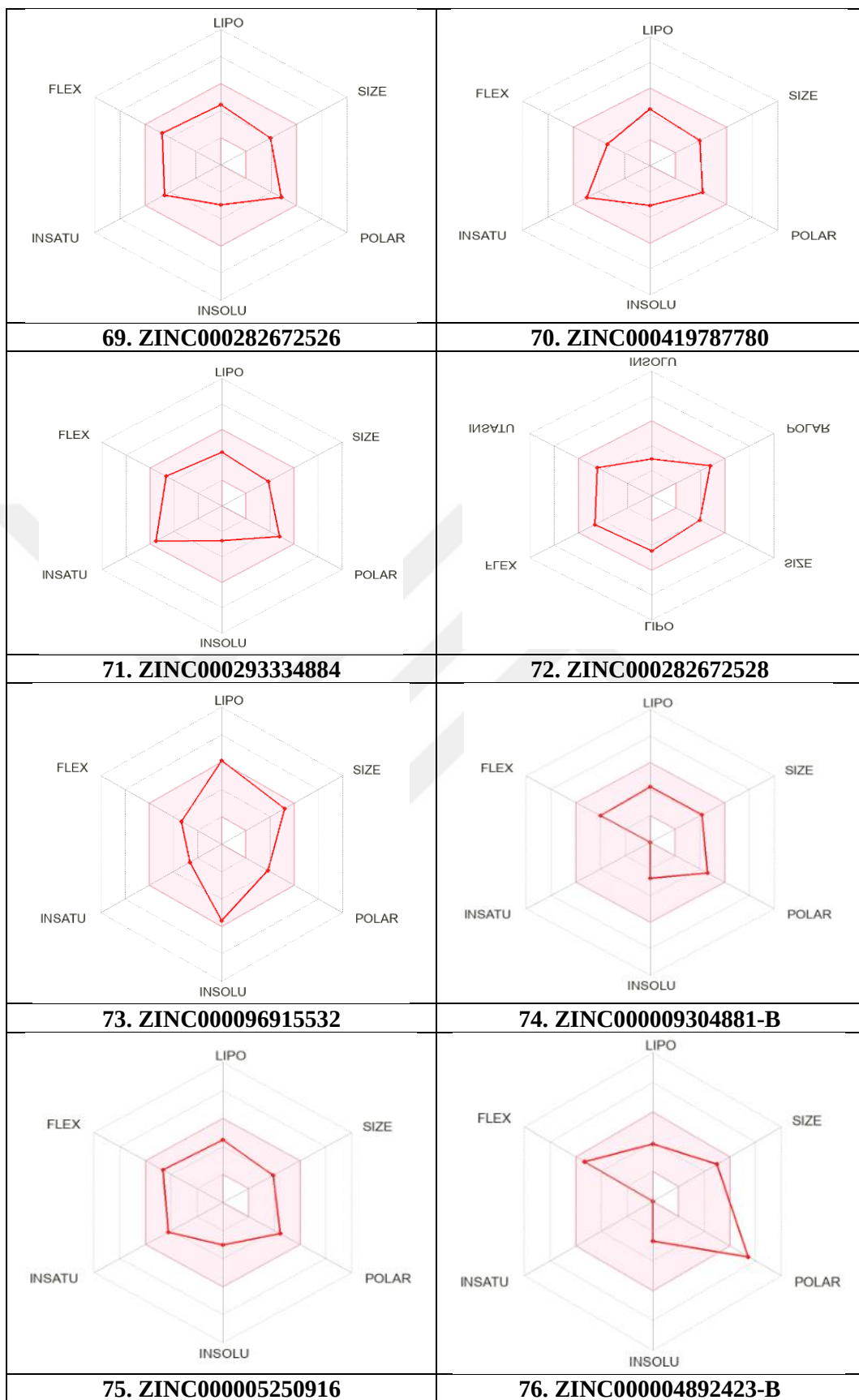


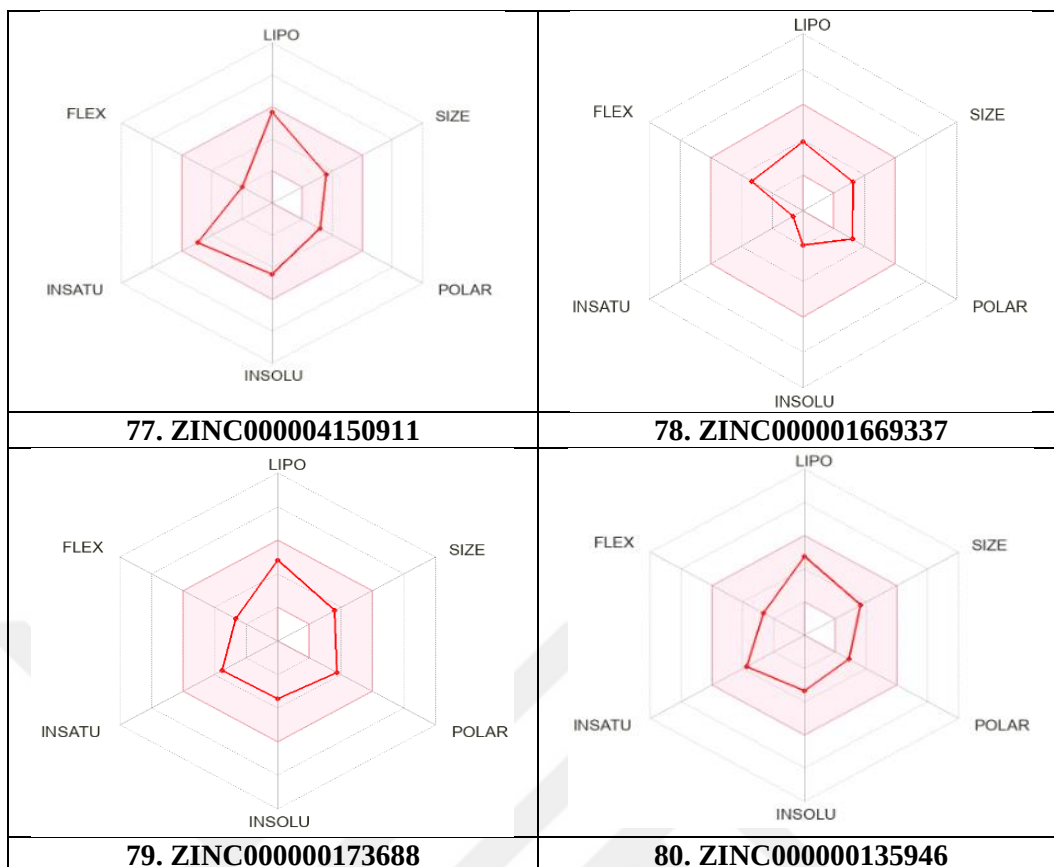












SwissAdme programında çalışılarak hesaplanmış ligandların parametre değerleri gruplanmıştır. Bu değerler ağırlık (M_A g/mol), polarizelile (TPSA Å), lipofilite (Consensus LOGP) olarak tanımlanmıştır (O'Boyle N. M. ve ark. (2011)).

Hacim değerleri www.molinspiration.com sitesinde hesaplanmıştır (41.Molinspiration is a privately owned company focused on development and application of modern cheminformatics techniques, especially in connection with the web. Molinspiration was founded in 1986 as a spin-off of Bratislava University).

Bağlanma enerjisi (BE) ise komut istemi vasıtasıyla AutoDock Vina ile hesaplanmıştır. Bu değerler Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4: Ligand moleküllerinin fizikokimyasal parametre değerleri

Ligandlar	M _A (g/mol)	TPSA(Å ²)	LogP(o/w)	V(Å ³)	BE kkal/mol	
					2o4l	2xyf
1.ZINC000100056916	448.74	40.46	3.12	486.94	-11.7	-9.6
2.ZINC000362616121-B	336.68	84.75	-0.79	255.07	-10.5	-7.8
3.ZINC000033820845-B	436.67	131.97	4.57	387.67	-10.6	-8.7
4.ZINC000118914028	448.74	40.46	3.16	486.94	-11.3	-8.6
5.ZINC000118921350-B	492.55	32.26	-3.78	433.00	-10.3	-9.7
6.ZINC000546717723-B	400.14	42.52	0.59	289.64	-9.4	-7.5
7.ZINC000252430649	390.60	75.35	3.64	405.26	-9.3	-8.7
8.ZINC000253673033-B	527.47	98.74	2.86	456.99	-8.1	-9.5
9.ZINC000261495061	513.68	138.38	3.37	478.19	-9.8	-8.7
10.ZINC000504649637-B	351.71	81.32	-0.26	256.01	-10.1	-8.0
11.ZINC001481451733-B	398.42	110.93	-0.13	330.67	-10.0	-7.6
12.ZINC001481451751	347.49	65.46	3.36	355.22	-10.8	-8.1
13.ZINC001481451754	343.47	62.53	2.76	339.82	-10.2	-8.1
14.ZINC001481451805	322.42	41.47	2.67	315.92	-10.0	-7.5
15.ZINC001481451826	341.41	80.24	1.60	319.50	-10.4	-8.0
16.ZINC001481452123-B	505.99	108.83	0.49	403.47	-10.6	-7.9
17.ZINC001481452390	343.46	75.43	2.19	338.02	-11.5	-8.7
18.ZINC001481452432	305.38	87.22	0.47	291.23	-9.7	-7.1
19.ZINC001481452441	316.44	58.12	2.20	316.69	-9.7	-7.4
20.ZINC001481452505	340.42	71.26	2.80	323.97	-11.1	-8.3
21.ZINC001481452525	348.44	61.02	2.71	331.24	-11.9	-9.1
22.ZINC001481452566-B	412.89	82.44	0.93	320.78	-12.7	-10.9
23.ZINC001481452652-B	456.50	160.63	-0.6	289.42	-11.3	-8.9
24.ZINC000296239564	252.24	78.43	0.86	216.18	-9.3	-7.3
25.ZINC000296181431	278.30	87.66	0.97	253.60	-9.7	-7.2
26.ZINC000296176900	277.32	81.67	0.57	257.16	-9.8	-7.6
27.ZINC000296145406	266.27	78.43	1.43	232.74	-9.8	-7.8
28.ZINC000296323625	298.72	87.66	1.04	250.33	-9.6	-7.2
29.ZINC000296103580	284.70	87.66	0.59	233.77	-9.1	-7.6
30.ZINC000296047866	298.72	87.66	1.16	250.33	-9.9	-7.1
31.ZINC000296043713	262.30	78.43	1.36	244.37	-10.1	-7.7

32.ZINC000295811947-B	389.23	129.78	0.63	291.45	-9.0	-6.9
33.ZINC000293526081	283.71	87.30	1.05	241.69	-8.9	-7.1
34.ZINC000290391098	298.72	76.66	1.12	251.30	-9.3	-7.0
35.ZINC000283574773-B	387.83	87.99	0.91	329.36	-9.0	-7.2
36.ZINC000283462728	295.42	70.23	2.03	304.79	-9.3	-7.2
37.ZINC000275232206	261.32	61.44	1.16	249.14	-9.6	-7.1
38.ZINC000277179753	293.27	81.99	1.66	246.43	-10.7	-8.0
39.ZINC000273132401	265.70	81.99	1.57	227.62	-8.9	-6.9
40.ZINC000272980395	263.29	80.20	0.78	240.14	-9.6	-7.5
41.ZINC000267706037-B	460.26	119.28	0.71	391.64	-11.1	-8.7
42.ZINC000299042744	271.31	81.99	1.69	252.89	-10.8	-8.4
43.ZINC000299066678	289.33	101.29	1.01	266.30	-10.9	-8.2
44.ZINC000029324320-B	460.26	119.28	0.71	372.35	-10.8	-8.1
45.ZINC000559327718	397.96	89.68	3.33	364.02	-9.5	-7.8
46.ZINC000549874200	407.51	110.85	0.29	386.14	-9.8	-8.7
47.ZINC000549258741-B	353.60	15.54	3.31	244.03	-10.0	-8.8
48.ZINC000474214338	249.74	29.10	3.45	224.62	-10.2	-7.3
49.ZINC000471094132	237.73	29.10	3.34	218.40	-9.0	-6.3
50.ZINC000466397770	237.73	29.10	3.30	218.18	-9.2	-7.0
51.ZINC000466397769	237.73	29.10	3.32	218.18	-9.1	-7.1
52.ZINC000297074779	291.35	70.67	1.15	274.68	-9.1	-7.3
53.ZINC000335089524	247.25	87.30	0.08	217.79	-9.8	-7.3
54.ZINC000296830848	354.83	91.49	2.18	316.18	-10.6	-8.9
55.ZINC000299032122	263.29	80.32	1.29	240.62	-9.1	-7.4
56.ZINC000299042742	271.31	81.99	1.60	252.89	-11.1	-6.2
57.ZINC000124092551	363.41	128.08	1.13	333.80	-10.8	-6.3
58.ZINC000122306137-B	315.15	52.49	0.19	248.08	-10.1	-7.9
59.ZINC000000173685	325.90	68.18	3.52	301.49	-10.5	-7.9
60.ZINC000042646460	331.45	70.23	2.65	331.18	-10.1	-8.5
61.ZINC000041852939	308.80	58.20	3.35	283.95	-10.6	-8.7
62.ZINC000026179829	331.50	53.16	2.66	345.85	-10.3	-8.0
63.ZINC000026179824	331.50	53.16	3.38	345.85	-10.1	-8.0
64.ZINC000010814879	328.37	41.13	3.70	297.97	-11.1	-8.8
65.ZINC000003668557	409.32	82.59	2.61	339.20	-10.7	-8.9

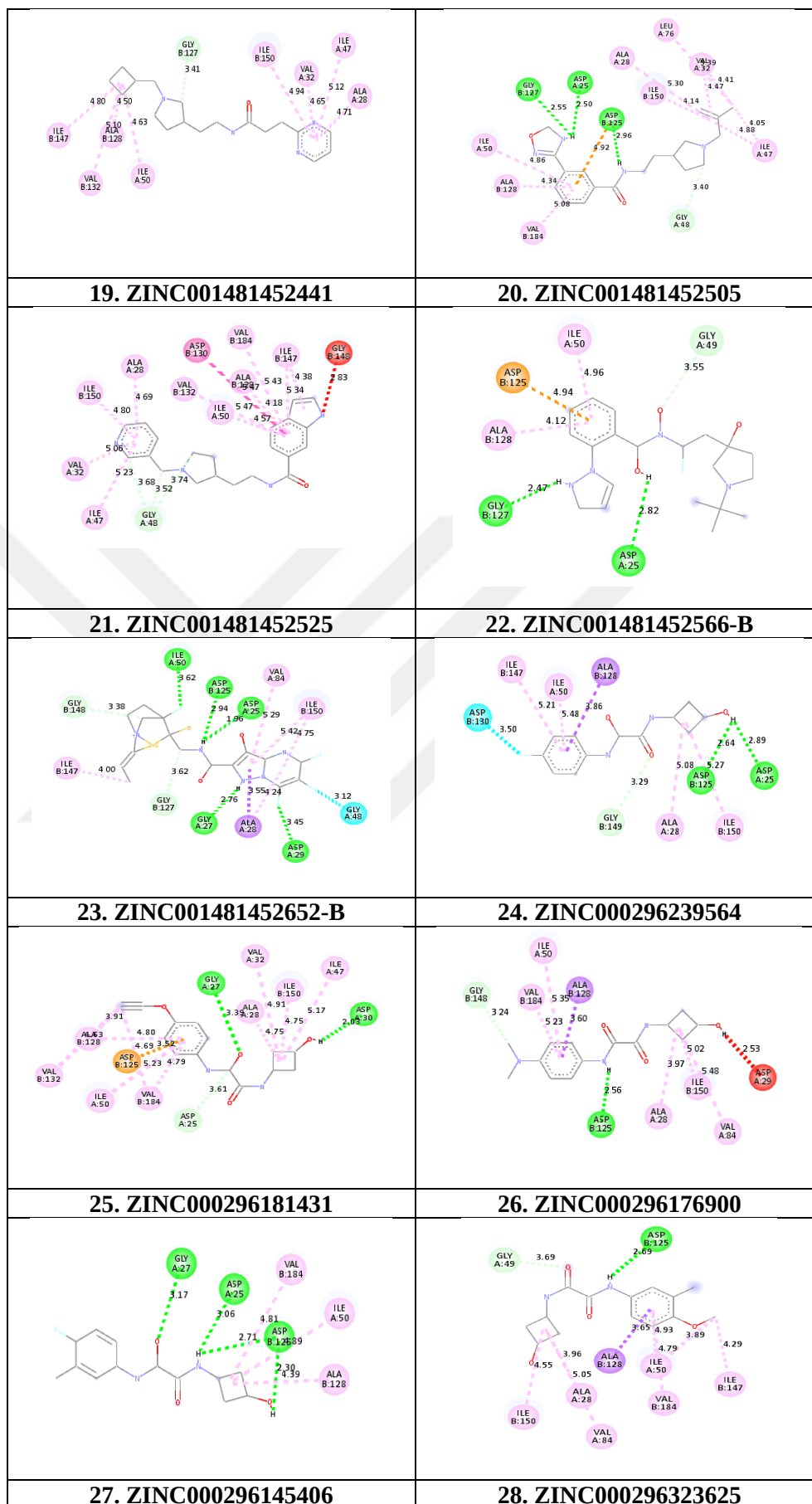
66.ZINC000000869551	352.90	50.36	3.68	339.12	-11.0	-8.5
67.ZINC000004805108	390.60	75.35	3.75	405.26	-11.2	-10.0
68.ZINC000428689781	264.75	41.13	3.15	237.02	-11.0	-7.7
69.ZINC000282672526	319.36	96.53	1.43	292.96	-11.1	-9.3
70.ZINC000419787780	317.17	78.43	2.04	254.56	-10.1	-7.5
71.ZINC000293334884	311.72	96.53	1.07	257.11	-9.9	-8.0
72.ZINC000282672528	319.36	96.53	1.47	292.96	-10.5	-8.9
73.ZINC000096915532	432.00	70.23	4.32	408.25	-13.2	-9.6
74.ZINC000009304881-B	337.77	92.32	0.97	263.04	-9.9	-7.4
75.ZINC000005250916	317.38	87.30	1.94	301.56	-10.7	-9.0
76.ZINC000004892423-B	412.88	169.61	0.63	317.94	-8.9	-7.8
77.ZINC000004150911	288.77	52.89	3.57	263.00	-10.9	-7.9
78.ZINC000001669337	261.79	53.16	1.75	254.81	-8.1	-7.1
79.ZINC000000173688	291.45	68.18	3.00	287.95	-10.1	-7.6
80.ZINC000000135946	293.79	44.37	2.54	266.72	-10.4	-8.1

2xyf id kodlu protein yapısının çalışmada kullanılan ligand molekülleri ile etkileşim sonucu çıkan 2d etkileşim haritalarının diagramı Tablo 5'te gösterilmiştir. Bu etkileşim haritaları Discovery Studio Visualizer programında docking sonrası elde edilmiş ligandın .out modelinden bu sıralama şeklinde yapılmıştır:

1. File > Open diyerek kompleksimizi açıyoruz.
2. 3 boyutlu görüntüde ligandımızı seçiyoruz ve "Receptor-Ligand Interactions" sekmesinden "Define Ligand" seçeneğine tıklıyoruz.
3. Ligandımızı tanımladıktan sonra "2d diyagramı göster"e tıklıyoruz, böylece protein-ligand etkileşim haritalarının 2d diyagramı oluşturulmuş oluyoruz (Vitor Rabelo ve ark. 10 january 2019).

Tablo 5: 2xyf kodlu protein yapısı ile aday ligandların etkileşim haritaları

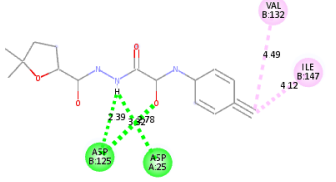
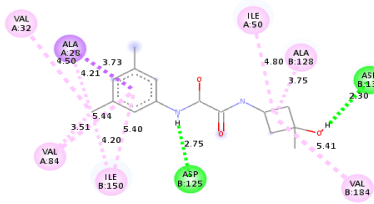
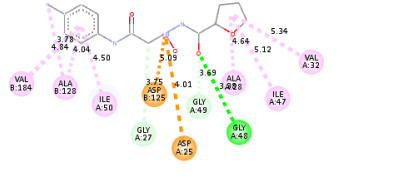
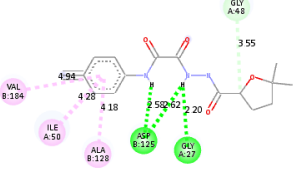
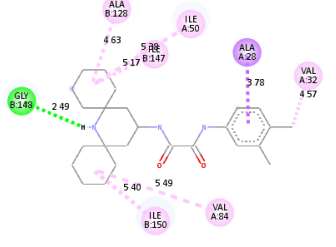
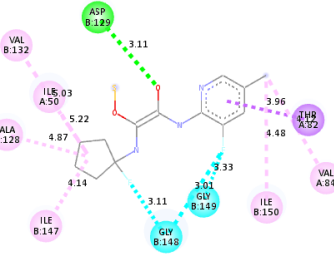
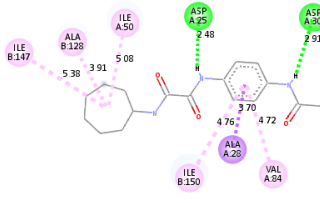
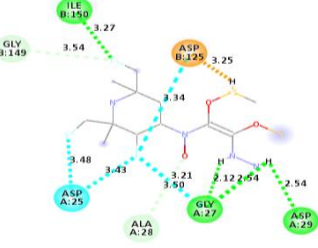
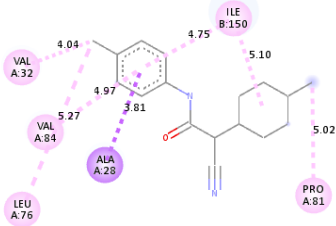
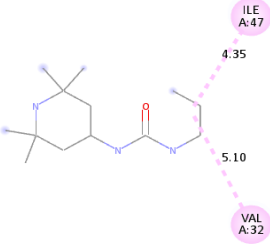
1. ZINC000100056916	2. ZINC000362616121-B
3. ZINC00033820845-B	4. ZINC000118914028
5. ZINC000118921350-B	6. ZINC000546717723-B
7. ZINC000252430649	8. ZINC000253673033-B

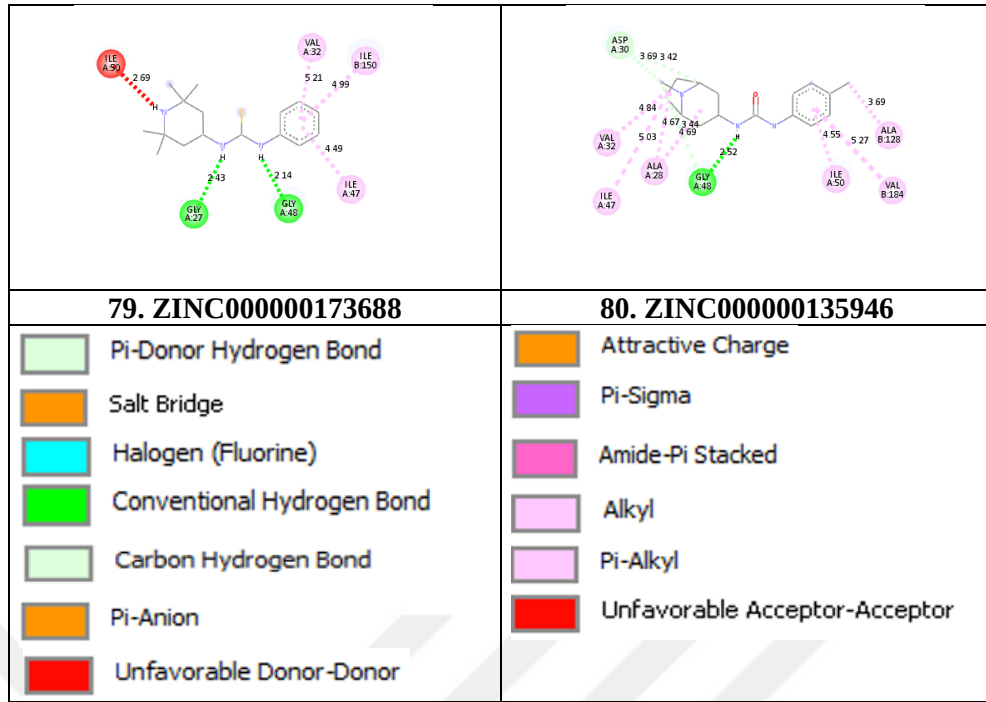


39. ZINC000273132401	40. ZINC000272980395
41. ZINC000267706037-B	42. ZINC000299042744
43. ZINC000299066678	44. ZINC000029324320-B
45. ZINC000559327718	46. ZINC000549874200
47. ZINC000549258741-B	48. ZINC000474214338

49. ZINC000471094132	50. ZINC000466397770
51. ZINC000466397769	52. ZINC000297074779
53. ZINC000335089524	54. ZINC000296830848
55. ZINC000299032122	56. ZINC000299042742
57. ZINC000124092551	58. ZINC000122306137-B

59. ZINC000000173685	60. ZINC000042646460
61. ZINC000041852939	62. ZINC000026179829
63. ZINC000026179824	64. ZINC000010814879
65. ZINC000003668557	66. ZINC00000869551
67. ZINC000004805108	68. ZINC000428689781

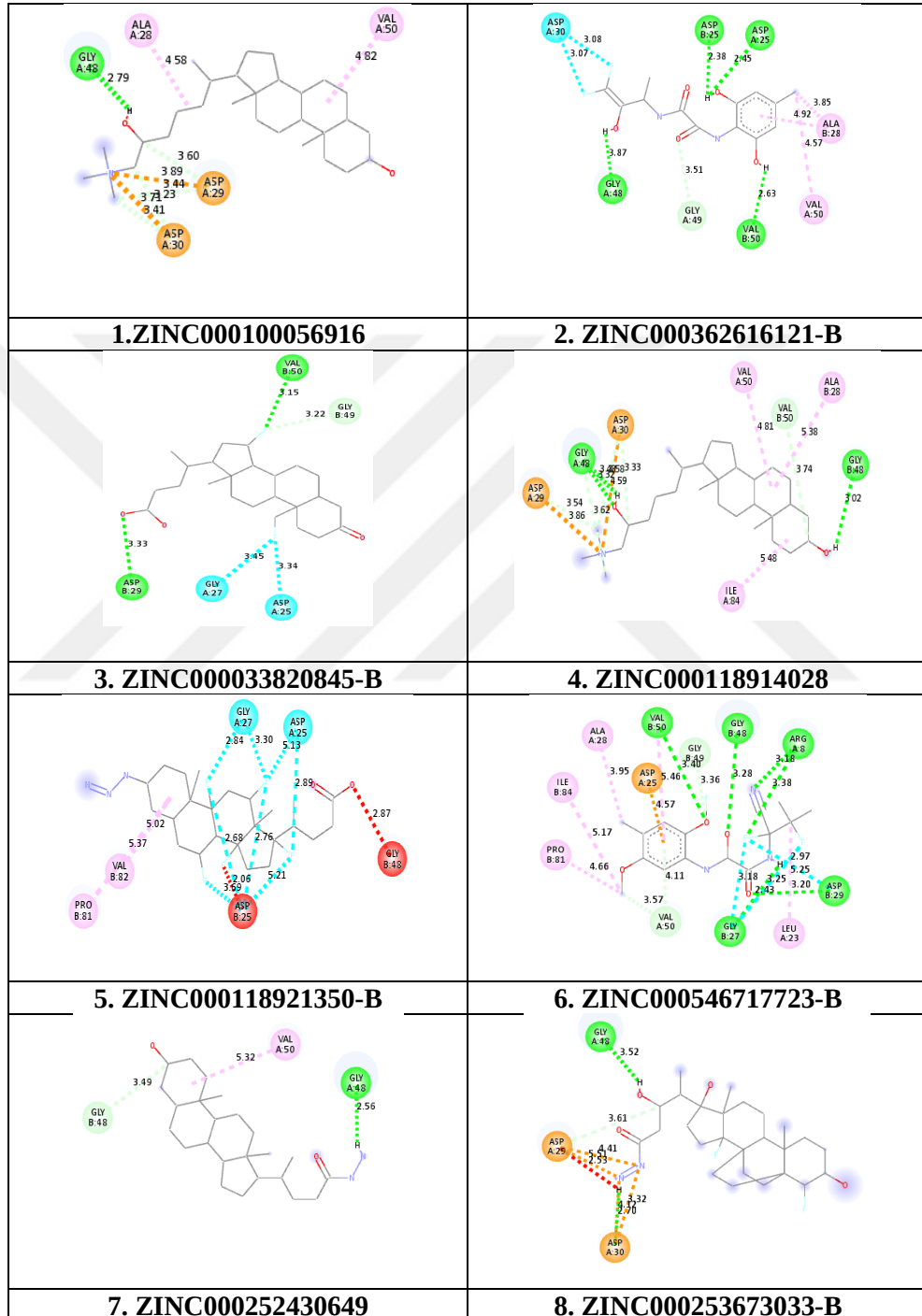
	
69. ZINC000282672526	70. ZINC000419787780
	
71. ZINC000293334884	72. ZINC000282672528
	
73. ZINC000096915532	74. ZINC00009304881-B
	
75. ZINC000005250916	76. ZINC000004892423-B
	
77. ZINC000004150911	78. ZINC000001669337



Discovery Studio Visualizer programı kullanılarak oluşturulmuş 2 boyutlu görüntülerdeki aminoasitlerin proteinle etkileşimlerinin farklı bağlar oluşturduğu görülmüştür. Bu bağlar renk çeşitlerine uygun olarak yukarıdaki tabloda gösterilmiştir (Dallakyan S. ve ark. 2015).

2o4l id kodlu protein yapısının çalışmada kullanılan ligand molekülleri ile etkileşim sonucu çıkan 2 boyutlu etkileşim haritalarının diagramı ise Tablo 6’ da gösterilmiştir.

Tablo 6 : 2o4l kodlu protein yapısı ile aday ligandların etkileşim haritaları

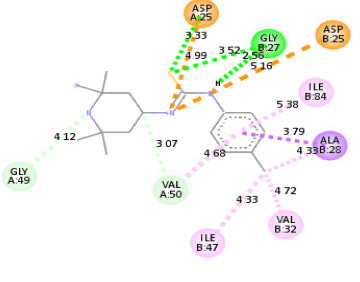
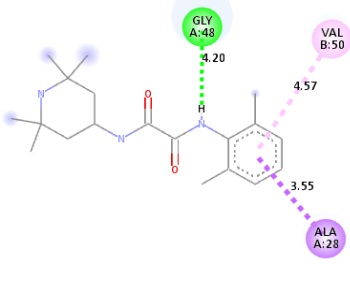
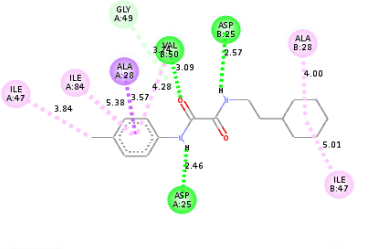
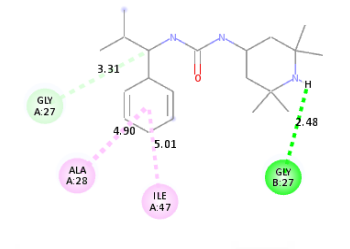
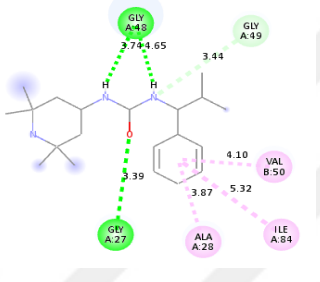
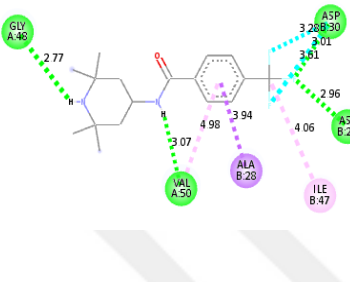
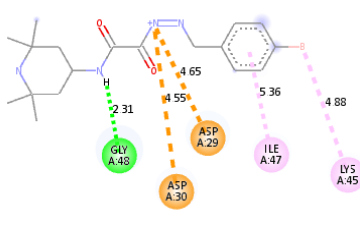
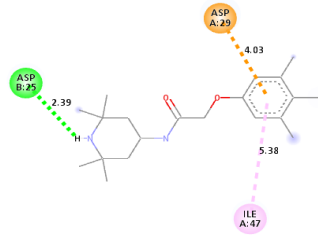
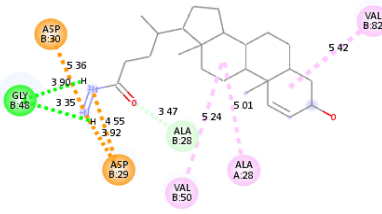
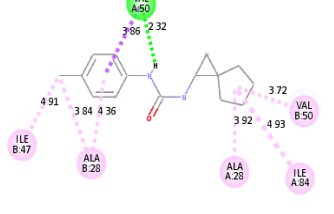


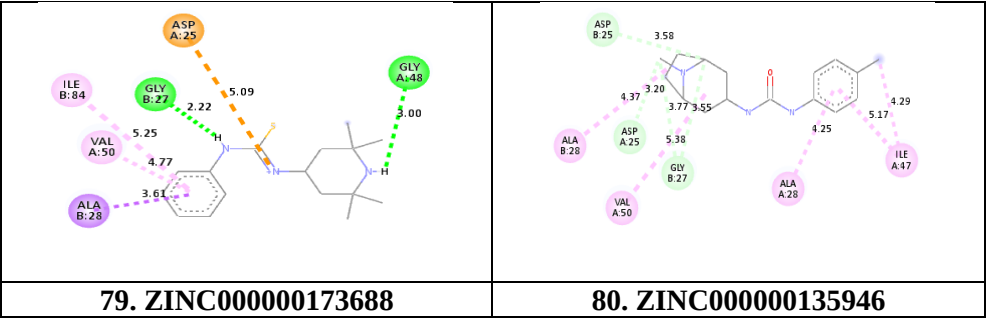
9. ZINC000261495061	10. ZINC000570350809-B
11. ZINC001481451733-B	12. ZINC001481451751
13. ZINC001481451754	14. ZINC001481451805
15. ZINC001481451826	16. ZINC001481452123-B
17. ZINC001481452390	18. ZINC001481452432

29. ZINC000296103580	30. ZINC000296047866
31. ZINC000296043713	32. ZINC000295811947-B
33. ZINC000293526081	34. ZINC000290391098
35. ZINC000283574773-B	36. ZINC000283462728
37. ZINC000275232206	38. ZINC000277179753

39. ZINC000273132401	40. ZINC000272980395
41. ZINC000267706037-B	42. ZINC000299042744
43. ZINC000299066678	44. ZINC000029324320-B
45. ZINC000559327718	46. ZINC000549874200
47. ZINC000549258741-B	48. ZINC000474214338

49. ZINC000471094132	50. ZINC000466397770
51. ZINC000466397769	52. ZINC000297074779
53. ZINC000335089524	54. ZINC000296830848
55. ZINC000299032122	56. ZINC000299042742
57. ZINC000124092551	58. ZINC000122306137-B

	
59. ZINC000000173685	60. ZINC000042646460
	
61. ZINC000041852939	62. ZINC000026179829
	
63. ZINC000026179824	64. ZINC000010814879
	
65. ZINC000003668557	66. ZINC000000869551
	
67. ZINC000004805108	68. ZINC000428689781



6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmada kullanılan 2xyf ve 2o4l pdb kodlu yapıların HIV-1 virüsünün CD4 reseptörünü viral etki eden moleküllerini bloke eden toplamda 160 ligand molekülünün kenetlenmesi gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak ise ortaya çıkan bağlanma enerjileri (-7) - (-10) kkal/mol aralığında değer verdiği görülmüştür. Benzer yapıyı bulma yöntemi yapılan ligand molekülleri ise genellikle daha yüksek affinite değeri (-10) - (-11) kkal/mol göstermiştir. Bu da ligand moleküllerinin orijinal haline kıyasla yapmış olduğumuz benzer yapılar sayesinde elde ettiğimiz moleküllerin daha kararlı yapıya sahip olduğunu, seçilen proteinler ile daha iyi bağlanabileceğini düşündürmektedir.

Çalışma sonucu olarak şimdiye kadar bağlanma enerjisinden elde edilen değerlerin sadece girilen amino asit sayısı ile değerlendirilemeyeceği, moleküller arası bağ mesafesi ve bağ tipi gibi fiziksel ve kimyasal parametrelerin de bağlanma enerjisi üzerinde etkisi olduğu da öğrenildi.

2o4l proteinin referans ligandlarla etkileşim sonucu ortaya çıkmış 2d etkileşim haritalarına uygun olarak aminoasitlerin ligandlarla etkileşiminin mesafe değerleri Tablo 7’de gösterilmiştir.

Tablo 7: 2o4l kodlu yapının ligand molekülleri ile kenetleme sonucu aminoasitlerle etkileşim bağ mesafesi

	R8	L23	D25	G27	A28	D29	D30	V32	İ47	G48	G49	V50	P81	V82	İ84
L-1					4.58	3.44	3.23			2.79		4.82			
L-2			2.38		3.85		3.07			3.87	3.51	2.63			
L-3			3.34	3.45		3.33					3.22	3.15			
L-4					5.38	3.54	3.33			3.02		3.74			5.48
L-5			2.06	2.84						2.87			5.37	5.02	
L-6	3.18	5.25	4.57	2.43		2.97				3.28	3.36	3.40	4.66		5.17
L-7									4.48	2.56		5.32			
L-8	3.11					2.53	2.70			3.52					

L-9			2.71		2.89	3.63			3.02		5.26		5.13
L-10		2.71		4.57	2.94			4.36	2.50	3.28	3.02		
L-11		3.30	2.54	4.02	2.16	2.48			2.87	3.22	4.82		
L-12			3.09	3.64		3.58	5.41	4.41	3.48	4.21	4.91		5.38
L-13		2.18		3.69		3.31		4.19	3.60		3.81		5.31
L-14				3.89		3.44		5.35			3.35		5.10
L-15		3.08	3.27	3.84				4.24	4.37	4.01	4.27		5.38
L-16	5.06		2.35		2.95	3.53			4.32	3.19	3.06	5.24	3.95
L-17		2.14		4.04		3.47		4.22	2.80				
L-18		4.83		3.46				5.39	4.48	4.08	3.47		
L-19		3.40		5.42	3.14			5.04	2.84				4.89
L-20			3.52	3.74	3.22				2.97		3.90	4.52	4.99
L-21		2.52		3.81		3.61		4.39	4.19	3.50	3.86		5.15
L-22	5.48	2.71	3.06	4.03							3.77		
L-23		1.91			3.36	3.24		4.09	2.99	3.42	3.32		
L-24				4.69					3.19		2.53		5.38
L-25		2.49	3.44	3.66						3.68	3.31		5.50
L-26				4.16			4.75	4.63	2.99		2.71		
L-27			3.51	4.09		3.27		5.01	3.30	3.36			
L-28		2.77		3.68		2.56	4.78	5.27	3.45	3.58	3.34		4.79
L-29			1.87	3.92	3.34				3.39	3.42	4.19		4.84
L-30		4.94		4.14				4.46	2.51	3.63	3.63		4.58
L-31		2.13	2.47	3.53		3.05					3.38		
L-32		2.95	2.07		2.09	2.41		3.67	3.37	5.11			
L-33	5.07	4.12	3.64		3.30				2.30		5.44		4.43
L-34				4.48		3.41	5.35	4.57	3.09		4.29		5.28
L-35					2.53	2.70			3.52				

L-36				4.72				3.79	3.74		4.80
L-37				3.92				4.37	3.80	3.30	
L-38				4.12	3.21			5.00	2.42	4.38	4.38
L-39		3.29	3.66			5.31			3.38		4.95
L-40		3.90	3.52	3.96		4.99	4.60		4.04	4.48	
L-41		2.23	2.73	4.44				4.91	3.77	3.29	
L-42				3.50				2.09		4.85	5.49
L-43				4.08		5.18	4.40	3.89	3.96	3.86	5.27
L-44		3.59	2.73	3.96	3.07					3.06	
L-45		3.43		3.62				3.62		2.75	4.91
L-46	3.16	2.80						5.20		5.43	5.39
L-47		2.84	2.37	3.54				3.48	4.56	3.40	3.40
L-48		2.97		3.53				3.89		4.35	5.28
L-49		2.82		3.56		5.24	4.01			3.70	4.52
L-50				3.67			4.03			3.09	5.24
L-51		3.39		4.08						3.73	
L-52		4.81		4.35	3.43	3.21		2.64		3.74	
L-53		2.76		3.68					4.19	4.33	5.44
L-54		3.03	3.03		3.91			4.63	3.71	3.19	
L-55		3.38		4.31				4.45	2.87	3.32	3.33
L-56				4.34				2.48		2.42	5.17
L-57		2.53			2.80			5.32	2.31		
L-58	5.25	2.16	3.67					2.81		5.22	4.64
L-59		3.33	2.56	3.79		4.72	4.33		4.12	3.07	5.38
L-60				3.55				4.20		4.57	
L-61		2.46		3.57			3.84		3.40	3.09	5.38
L-62			2.48	4.90			5.01				

L-63		3.39	3.87			3.74	3.44	4.10		5.32
L-64			3.94	2.96	3.01	4.06	3.07		3.07	
L-65				4.65	4.55	5.36	2.31			
L-66	2.39			4.03		5.38				
L-67			3.47	3.92	5.36		3.35		5.24	5.42
L-68			3.84			4.91			2.32	4.93
L-69	2.56		3.72		3.20	4.89	3.78		4.34	5.20
L-70	2.91		3.68		2.95	4.58		4.07	3.23	4.14
L-71	5.36		3.78			4.96	3.43		2.44	
L-72			3.70		3.60	4.85	4.17		3.57	2.20
L-73	2.38			3.58					5.30	5.31
L-74	2.58	3.66	3.72			5.33	4.09		2.54	4.98
L-75		2.62	4.86				5.14	3.28	3.90	3.03
L-76	3.11	2.21	3.59							
L-77	2.39					4.23		3.71	3.28	4.67
L-78						4.74				
L-79	5.09	2.22	3.61				3.00		4.77	5.25
L-80	3.20	3.55	4.25			4.29			5.38	

2xyf pdb kodlu yapının aday ligand molekülleri ile etkileşim sonucu ortaya çıkmış 2d etkileşim haritalarına uygun olarak aminoasitlerin ligandlarla etkileşim mesafesi değerleri Tablo 8 ve 9’da gösterilmiştir.

Tablo 8: 2xyf kodlu yapının ligand molekülleri ile kenetleme sonucu aminoasitlerle etkileşim bağ mesafesi

	D 25	G 27	A 28	D 29	D 30	V 32	İ 47	G 48	G 49	İ 50	L 76	P 81	T 82	V 84
L-1			4.21			5.03								5.32
L-2				3.32	3.17					3.96				
L-3		3.14												
L-4					2.94			3.62		5.14				
L-5	2.59	2.81	3.64											
L-6								3.49						
L-7								3.47						
L-8		2.61	5.32					2.69						
L-9										4.82		5.34		5.27
L-10			3.76	3.39	2.96			2.31				4.58		
L-11	2.78		3.92		2.37									4.95
L-12						4.48	4.77							
L-13			3.78			5.29				4.84				4.68
L-14	3.26									4.09				
L-15			3.51							5.34				4.69
L-16	3.63	3.00		2.19				3.40	3.66					
L-17				2.35	5.23			3.67		5.22				
L-18	2.69													
L-19			4.71			4.65	5.12			4.63				

L-20	2.50		5.30			4.41	4.05			4.86	5.39	
L-21			4.69			5.06	5.23	3.52		4.57		
L-22	2.82								3.55	4.96		
L-23	1.96	2.76	3.55	3.45				3.12		3.62		5.29
L-24	2.89		5.08							5.48		
L-25	3.61	3.39	4.75		2.03	4.90	5.17			5.23		
L-26			3.97	2.53						5.35		5.48
L-27	3.06	3.17								4.89		
L-28			3.96						3.69	3.89		5.05
L-29	3.39			2.10	2.44					4.35		
L-30		2.56		3.30	3.49	5.24	4.59		3.51			
L-31			3.75							5.09		5.00
L-32	2.69		4.35			3.00	4.19	2.98	2.95		5.46	5.10
L-33			3.90			3.77	3.89					5.10
L-34	3.51		4.17			3.88	3.92		3.43		4.84	
L-35	2.71	3.09		3.64	3.50			3.14				
L-36								1.98		4.00		
L-37			5.06			3.76	4.81					
L-38	3.69		4.27		3.30					5.06		4.82
L-39			3.78			3.88	3.79		3.58	4.65	4.79	5.35
L-40						4.71				4.98		
L-41	5.44											
L-42	2.32									5.14		
L-43						4.45	4.44		3.77	4.86		
L-44	2.62							2.81	3.41			
L-45			4.67			3.69	3.76	3.11			4.61	
L-46				3.13	3.31	3.91	4.19			3.28		

L-47		3.64	3.73		4.35	3.73		2.94	5.12		5.39
L-48			5.05					3.89			
L-49											
L-50	3.36		3.70		4.25			5.31			4.90
L-51		3.28	4.39					4.49			
L-52			3.98		4.75		3.32	4.34			3.61
L-53	2.22		2.45	4.80	5.07	4.52					
L-54								4.78			
L-55	3.53				3.93	4.07		4.40	4.99		
L-56	2.42							3.55			
L-57											
L-58	2.75		3.54	3.20	4.11	4.57					4.65
L-59			4.97		5.32	4.86	2.20				
L-60			4.54		5.38	5.35		3.27			
L-61	2.22		4.74		4.93	5.22		4.16			
L-62								3.54	4.76		
L-63	3.25										
L-64			4.09		2.95	3.95	4.08		5.35		5.12
L-65								5.02			
L-66							2.28	5.26			
L-67			4.40								
L-68			4.74		3.61	3.64		4.70	4.64		
L-69	2.78										
L-70			3.73		4.50			4.80			3.51
L-71	4.01	3.75	4.64		5.34	5.12	3.38	3.69	4.50		
L-72		2.20					3.55	4.28			
L-73			3.78		4.57			5.38			5.49

L-74									5.22		3.96	4.12
L-75	2.48		3.70		2.91				5.08			4.72
L-76	3.43	2.12	3.50	2.54								
L-77			3.81		4.04				5.27	5.02		4.97
L-78					5.10	4.35						
L-79		2.43			5.21	4.49	2.14		2.69			
L-80			3.44		3.42	4.84	5.03	2.52	4.55			

Tablo 8 DVM;

	L123	D125	G127	A128	D129	D130	V132	İ147	G148	G149	İ150	L176	P179	P181	V184
L-1			3.54						3.45		5.00				5.43
L-2				3.66			4.45	4.48							5.43
L-3									2.51	3.55					
L-4				5.44											5.11
L-5		2.40				2.25					4.97				
L-6		3.69		3.97	3.23	3.09			3.01	3.58				4.24	5.46
L-7			2.25		2.22										
L-8			2.60		3.03	2.66									
L-9					2.08				2.48		4.99				
L-10											4.41				
L-11		2.04	3.66	4.87					3.37		4.76				
L-12											4.16				
L-13		2.37		3.59							4.73				5.16

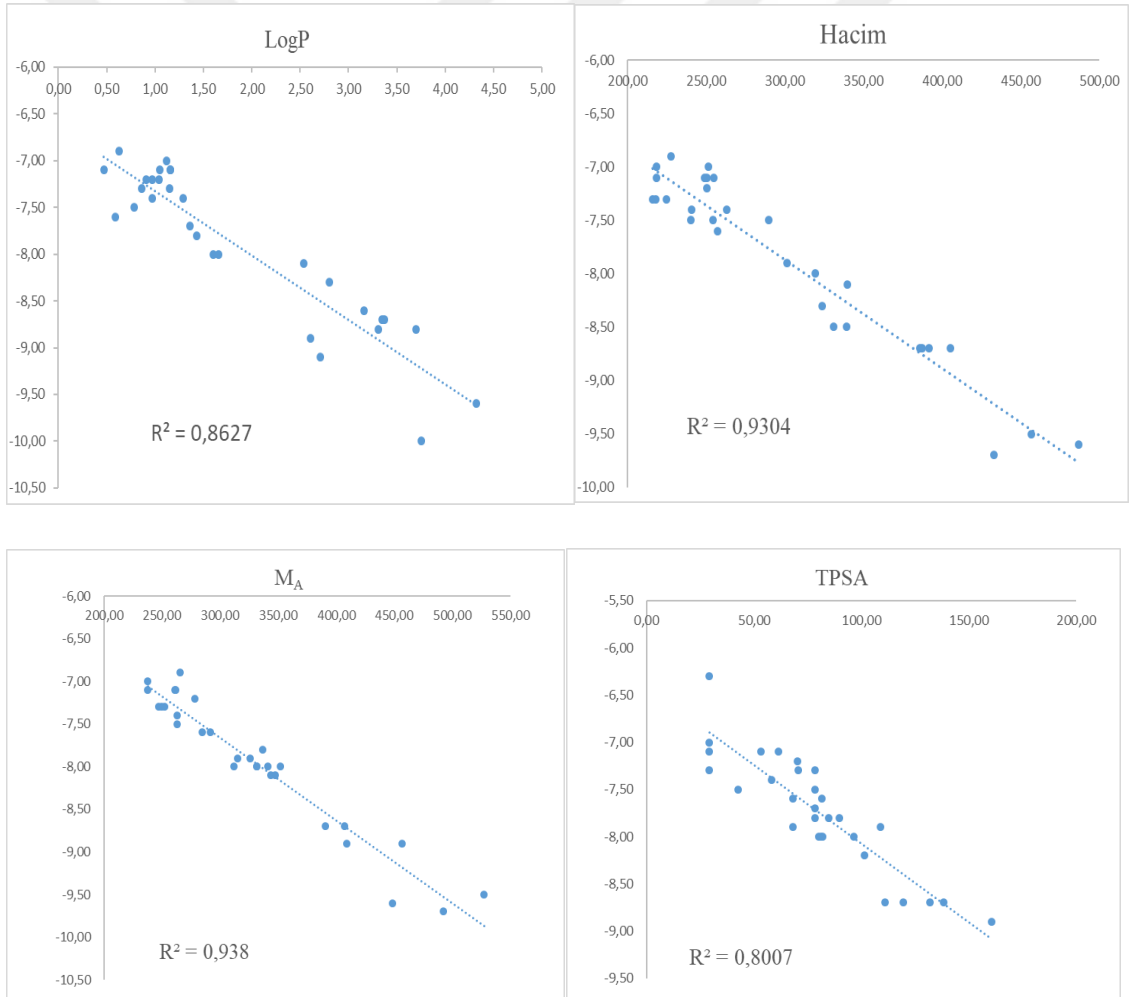
L-14	3.36		4.47			5.49		3.51			5.41
L-15	3.45	2.23	3.84			5.30		4.90			
L-16		2.22	3.92		3.96	3.98		3.67		4.65	
L-17			3.82		5.37						
L-18	4.93		4.13		3.66	5.47	4.87				
L-19		3.41	4.50			5.10	4.80		4.94		
L-20	2.96	2.55	4.34						4.14		5.08
L-21			4.18		5.47	5.47	4.38	2.83	4.80		5.43
L-22	4.94	2.47	4.12								
L-23	2.94	3.62					4.00	3.38	4.75		
L-24	2.64		3.86		3.50		5.21		3.29	5.27	
L-25	3.52		3.91			4.63			4.75		4.69
L-26	2.56		3.60					3.24	5.02		5.23
L-27	2.30		4.39								4.81
L-28	2.69		3.65				4.29		4.55		4.79
L-29	3.47		3.92			5.11					3.93
L-30	3.30	3.32	3.99								5.11
L-31	2.08		3.61						4.79		4.89
L-32	4.26	2.24	3.71						2.15		
L-33	3.33	3.46							3.82		
L-34	2.87										
L-35	5.26										
L-36	2.21		3.96			4.34	4.56				3.85
L-37	3.67								4.83		

L-38		3.28		4.26		4.99	4.86		4.93		
L-39		2.77		3.63					5.30		4.19
L-40		4.78	3.74	4.17							4.99
L-41		4.01					2.53				
L-42		3.06		3.58		3.36					4.94
L-43		4.96		4.03		2.81			4.27		4.92
L-44		2.25								2.64	3.22
L-45							2.88	3.53	4.52		
L-46								3.39	4.37		
L-47	4.75	3.47							5.29		4.92
L-48				5.00			4.47		5.01		
L-49				3.55			4.48			5.22	5.00
L-50		3.23							4.78		4.68
L-51		3.49		3.73					4.68		4.41
L-52		2.66		4.04			3.97		4.34		5.02
L-53		2.48							5.04		
L-54				3.64			4.39				5.20
L-55		3.73		4.26							5.32
L-56			2.02								
L-57		5.14									
L-58									4.81		
L-59		2.54							5.22		
L-60							2.69		5.08		
L-61				4.30		4.35	4.38		4.68		5.30

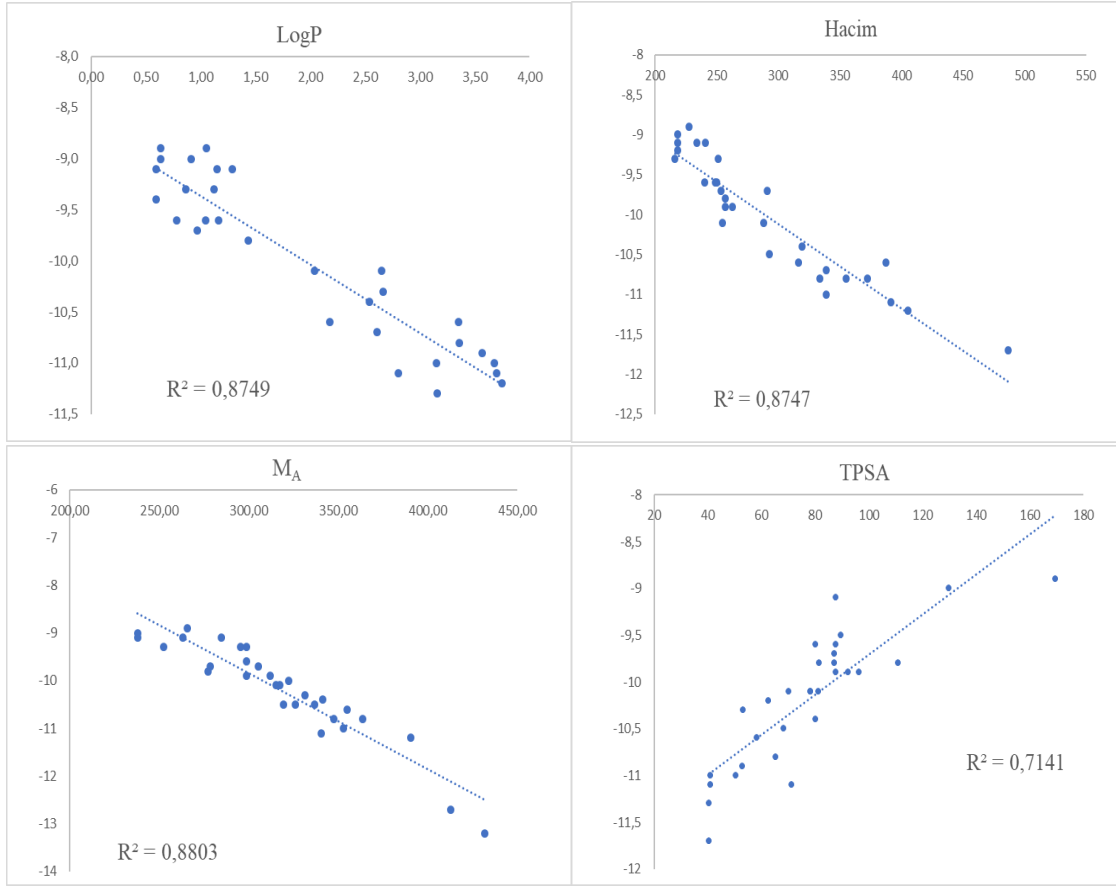
L-62	2.90	4.23					5.22	
L-63								
L-64	2.60						4.59	
L-65		4.96		5.25	3.76		3.64	
L-66		3.81		4.97		5.36		
L-67			2.35	2.76			4.83	
L-68		4.81					5.12	5.05
L-69	2.39							
L-70	2.75	3.75		2.30			4.20	5.41
L-71	5.09	3.78						4.84
L-72	2.58	4.18						4.94
L-73		4.63			5.17	2.49	5.40	
L-74		4.87	3.11	5.03	4.14	3.01	3.33	4.48
L-75		3.91			5.38		4.76	
L-76	3.25						3.54	3.27
L-77							4.75	
L-78								
L-79							4.99	
L-80		3.69						5.27

2xyf ve 2o4l pdb kodlu yapıların aday ligand molekülleri ile etkileşimi sayesinde ortaya çıkmış değerlerin Microsoft Excel programı vasıtasıyla Lineer Regresyon (LR) analizi yapılmış ve son olarak her değere uygun 30 ligand molekülü seçilmiştir. Bu analiz biçimi, eşleştirilmiş veriler için en uygun doğruyu bulmak ve en kararlı yapıyı bulmak için kullanılmıştır. Lineer Regresyon analizi sonucu her bir değer (logP, Hacim, M_A , TPSA) bağlanma afinitesine kıyasla korelasyon değerleri (R^2) elde edilmiştir. Bu korelasyon değerler tablosu aşağıdaki Tablo 9 ve Tablo 10’da gösterilmiştir.

Tablo 9: 2xyf pdb kodlu yapının LR sonucu ortaya çıkan R^2 değerleri



Tablo 10: 2o4l pdb kodlu yapının LR sonucu ortaya çıkan R² değerleri



4. TARTIŞMA

HIV-1 proteaz, HIV virüsünün replikasyonunda temel bir enzimdir. HIV-1 PR'nin zengin yapısal bilgisi, enzimi bilgisayar destekli ilaç tasarım stratejileri için çekici bir hedef haline getirmektedir. Virüsün hızlı bir şekilde dirençli mutantlar üretme konusundaki güçlü yeteneği, daha iyi etkinlik ve daha düşük toksisiteye sahip yeni HIV-1 PR inhibitörlerine olan sürekli ihtiyaca işaret etmektedir.

Bu çalışmada amaç, HIV'in CD4 reseptörünü bloke ederek hastalığın tedavisinde etkili olabileceğini düşündüğümüz aday ilaç moleküllerini in siliko ortamda kenetleme yöntemi ile tasarlamaktır.

Bu tez çalışmasında, 2xyf ve 2o4l kodlu pdb yapılarının referans ligand molekülleri ile kenetleme sonucu elde edilmiş afinite değerlerinin logP, Hacim, M_A ve TPSA parametrelerine karşı elde edilen lineer regresyon sonuçları yukarıda Tablo 9 ve Tablo 10'da verilmiştir. Lineer regresyon hesaplamaları yapılırken çalışılan 160 ligandın bazıları Tablo dışı bırakılmıştır. Seçilen parametreler için ortak korelasyon gösteren ligandların belirlenmesi hedeflenen hastalık için aday moleküllerin saptanmasında kritik role sahiptir. Yapılan tüm hesaplamalara göre seçilen parametrelere göre en iyi korelasyonları veren ve incelenen V, TPSA, Log P ve M_A parametrelerinde ortak olan ZINC001481451826, ZINC000296239564, ZINC000275232206, ZINC000296323625, ZINC000296103580, ZINC000000869551 ve ZINC000419787780 moleküllerinin 2xyf ve 2o4l proteini için seçilen önemli aday yapılar olduğu düşünülmektedir.

Bu amaçla herbir parametrede ortak olan ligandların belirlenmesi için aşağıdaki 2xyf kodlu yapı için elde edilen sonuçların listelendiği Tablo 11 ve 2o4l kodlu yapı için kenetlenme sonuçlarının listelendiği Tablo 12 oluşturulmuş ve ortak ligandlar tespit edilmiştir. Tablo 11 incelendiğinde ZINC001481451826, ZINC000296239564 ve ZINC000275232206 olarak tanımlanan ligandların Tablo 12 incelendiğinde ise ZINC000296323625, ZINC000296103580, ZINC000000869551, ZINC000419787780 olarak tanımlanan ligandların ortak olduğu görülmektedir.

Her bir yapı tek tek incelendiğinde ve Tablo 7'e baktığımızda, ZINC001481451826, L-ZINC000296239564, ZINC000275232206 ligandlarının Ala28 aminoasidi ile etkileşime girerek aralarında ZINC001481451826 molekülü 3,51 Å uzaklığında Pi-Sigma bağ

mesafelerinde etkileşimler kurarak -8.0 kkal/mol değerinde, ZINC000296239564 ve ZINC000275232206 molekülleri ise 5,08 Å ve 5,06 Å uzaklığında Pi-Alkil bağ mesafesi etkileşimlere girerek sırasıyla -7.3 kkal/mol ve -7.1 kkal/mol değerinde bir afiniteye sahip olduğu görülmüştür. Asp125 aminoasiti ZINC001481451826 ile 3,45 Å ve ZINC000275232206 ile 3,67 Å mesafesinde Karbon- Hidrojen bağı etkileşimi kurarken, ZINC000296239564 ligand molekülü ile ise 2,64 Å uzaklığında daha güçlü Hidrojen bağı oluşturmuştur. ZINC001481451826, ZINC000296239564 ve ZINC000275232206 ligand molekülleri İle150 aminoasiti ile sırasıyla 4,90 Å, 5,27 Å ve 4.83 Å uzaklığında güçlü olmayan Pi-Alkil bağı meydana getirmiştir. Ala128 aminoasiti ZINC001481451826 ve ZINC000296239564 ligandları ile 3,84 Å ve 3,86 Å uzaklığında Pi-Sigma bağı oluştururken ZINC000275232206 ligandı ile hiçbir etkileşime girmemiştir. Benzer şekilde İle50 aminoasiti de ZINC001481451826 ve ZINC000296239564 ligand molekülleri ile 5,34 Å ve 5,48 Å uzaklığında Pi-Alkil etkileşimleri kurmuşken, L-34 molekülü ile herhangi bir bağ kurmamıştır.

Tablo 11: Yapılan regresyon analizlerinde 2xyf pdb kodlu yapı için yer alan ligandlar

Ligandlar	logP	Hacim	MA	TPSA
1.ZINC000100056916		✓	✓	
2.ZINC000362616121-B			✓	✓
3.ZINC000033820845-B		✓		✓
4.ZINC000118914028	✓			
5.ZINC000118921350-B		✓	✓	
6.ZINC000546717723-B		✓		✓
7.ZINC000252430649		✓	✓	
8.ZINC000253673033-B		✓	✓	
9.ZINC000261495061	✓			✓
10.ZINC000504649637-B			✓	✓
12.ZINC001481451751			✓	
13.ZINC001481451754		✓	✓	

15.ZINC001481451826	✓	✓	✓	✓
16.ZINC001481452123-B				✓
18.ZINC001481452432	✓			
19.ZINC001481452441				✓
20.ZINC001481452505	✓	✓		
21.ZINC001481452525	✓			
23.ZINC001481452652-B			✓	✓
24.ZINC000296239564	✓	✓	✓	✓
25.ZINC000296181431	✓		✓	
26.ZINC000296176900		✓		✓
27.ZINC000296145406	✓			✓
28.ZINC000296323625	✓	✓		
29.ZINC000296103580	✓		✓	
30.ZINC000296047866	✓	✓		
31.ZINC000296043713	✓			✓
32.ZINC000295811947-B	✓			
33.ZINC000293526081	✓			
34.ZINC000290391098	✓	✓		
35.ZINC000283574773-B	✓			
36.ZINC000283462728				✓
37.ZINC000275232206	✓	✓	✓	✓
38.ZINC000277179753	✓			✓
39.ZINC000273132401		✓	✓	
40.ZINC000272980395	✓	✓	✓	
41.ZINC000267706037-B		✓		✓
43.ZINC000299066678				✓
45.ZINC000559327718				✓
46.ZINC000549874200		✓	✓	✓
47.ZINC000549258741-B	✓			

48.ZINC000474214338		✓	✓	✓
49.ZINC000471094132				✓
50.ZINC000466397770		✓	✓	✓
51.ZINC000466397769		✓	✓	✓
52.ZINC000297074779	✓			✓
53.ZINC000335089524		✓	✓	
55.ZINC000299032122	✓	✓	✓	
58.ZINC000122306137-B			✓	
59.ZINC000000173685		✓	✓	✓
60.ZINC000042646460		✓		
61.ZINC000041852939	✓			
62.ZINC000026179829			✓	
63.ZINC000026179824			✓	
64.ZINC000010814879	✓			
65.ZINC000003668557	✓		✓	
66.ZINC000000869551		✓		
67.ZINC000004805108	✓			
70.ZINC000419787780		✓		✓
71.ZINC000293334884			✓	✓
73.ZINC000096915532	✓			
74.ZINC000009304881-B	✓	✓		
78.ZINC000001669337		✓	✓	✓
79.ZINC000000173688			✓	✓
80.ZINC000000135946	✓			

Tablo 12’de verilen 2o4l pdb kodlu kristal yapısının aday ligand molekülleri ile kenetleme sonucu elde edilmiş afinite değerlerinin logP, hacim, M_A ve TPSA parametreleri için elde edilen lineer regresyon analizlerinde ZINC000296323625, ZINC000296103580, ZINC000000869551, ZINC001481451751 ve ZINC000419787780 ligandları ortak olarak tespit edilmiştir.

Her bir yapı tek tek incelendiğinde ve Tablo 8'e baktığımızda Ala28 aminoasidinin ZINC000296323625 ligand molekülü ile 4,05 Å, 4,01 Å ve 3,68 Å bağ mesafesinde etkileşimler kurarak -9.6 kkal/mol değerinde, ZINC001481451751 ligand molekülü ile 3,87 Å , 4,29 Å uzaklığında Pi-Alkil, 3.64 Å uzaklığında Pi-sigma bağ mesafelerinde etkileşimler kurarak -10.8 kkal/mol değerinde, ZINC000296103580 ligand molekülü ile ise 3,92 Å ve 4,92 Å uzaklığında sadece Pi-Alkil bağ mesafelerinde etkileşimler kurarak -9.1 kkal/mol değerinde, ZINC000419787780 molekülü ile ise 3,68 Å ve 4,10 Å uzaklığında hem Pi-Alkil hem de 3,90 Å uzaklığında Pi-Sigma bağı oluşturmuş ve -10.0 kkal/mol değerinde bir afiniteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Val50 aminoasidi ise ZINC000296103580 molekülü ile 4,19 Å uzaklığında Alkil bağ mesafesinde etkileşimler kurduğu halde, ZINC001481451751 ligand molekülü ile 4,91 Å ve 4,34 Å uzaklığında Alkil bağı oluşturmuş, ZINC000296323625 molekülü ile 3,34 Å, 3,89 Å, 4,69 Å ve 4,91 Å mesafesinde ve ZINC000419787780 molekülü ile 3,23 Å, 3,34 Å, 3,67 Å ve 4,70 Å mesafesinde C-H etkileşimine girerek güçlü Karbon-Hidrojen bağları kurmuştur. Asp25 aminoasiti ZINC000296323625 molekülü ile 2,77 Å ve 4,31 Å mesafesinde güçlü Hidrojen ve Pi-Anyon bağ mesafelerinde etkileşimler kurduğu halde, ZINC000000869551 ve ZINC000419787780 ligand molekülleri ile 2,39 Å ve 2,91 Å mesafesinde Hidrojen bağı kurmuş ve sırasıyla -11.0 kkal/mol ve -10.0 kkal/mol değerinde bir afiniteler hesaplanmıştır. İle84 aminoasidi ise ZINC000296323625 ligand molekülü ile 4,79 Å ve 5,49 Å olmak üzere iki farklı mesafede etkileşim gerçekleştirirken, ZINC001481451751 ligand molekülü ile 5,38 Å mesafesinde C-H etkileşimine girerek güçlü Karbon-Hidrojen bağları kurmuş, ZINC000296103580 ligand molekülü ile ise 4,19 Å mesafesinde tek etkileşim ve ZINC000419787780 ligandı ile de 4,14 Å mesafesinde zayıf Alkil bağı kurmuştur.

Tablo 12: Yapılan regresyon analizlerinde 2o4lpdb kodlu yapı için yer alan ligandlar

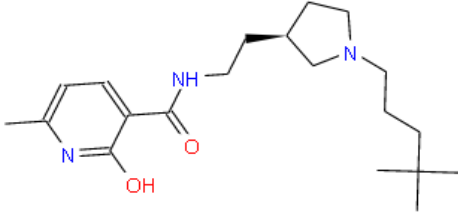
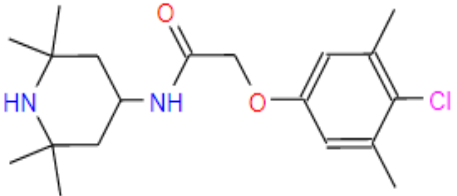
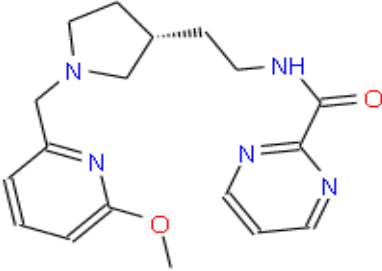
Ligandlar	logP	Hacim	MA	TPSA
1.ZINC000100056916		✓		✓
2.ZINC000362616121-B			✓	
3.ZINC000033820845-B		✓		
4.ZINC000118914028	✓			✓

6.ZINC000546717723-B	✓			
10.ZINC000504649637-B				✓
12.ZINC001481451751	✓	✓	✓	✓
13.ZINC001481451754				✓
14.ZINC001481451805			✓	
15.ZINC001481451826		✓	✓	✓
18.ZINC001481452432		✓	✓	✓
20.ZINC001481452505	✓		✓	✓
22.ZINC001481452566-B			✓	
24.ZINC000296239564	✓	✓	✓	
25.ZINC000296181431	✓	✓	✓	
26.ZINC000296176900		✓	✓	✓
27.ZINC000296145406	✓			
28.ZINC000296323625	✓	✓	✓	✓
29.ZINC000296103580	✓	✓	✓	✓
30.ZINC000296047866			✓	✓
31.ZINC000296043713				✓
32.ZINC000295811947-B	✓			✓
33.ZINC000293526081	✓			
34.ZINC000290391098	✓	✓	✓	
35.ZINC000283574773-B	✓			
36.ZINC000283462728			✓	
37.ZINC000275232206	✓	✓		
39.ZINC000273132401		✓	✓	
40.ZINC000272980395	✓	✓		✓
41.ZINC000267706037-B		✓		
44.ZINC000029324320-B		✓		
45.ZINC000559327718				✓
46.ZINC000549874200				✓

49.ZINC000471094132		✓	✓	
50.ZINC000466397770		✓		
51.ZINC000466397769		✓	✓	
52.ZINC000297074779	✓			
53.ZINC000335089524				✓
54.ZINC000296830848	✓	✓	✓	
55.ZINC000299032122	✓	✓	✓	
57.ZINC000124092551		✓	✓	
58.ZINC000122306137-B			✓	
59.ZINC000000173685			✓	✓
60.ZINC000042646460	✓			✓
61.ZINC000041852939	✓			✓
62.ZINC000026179829	✓		✓	✓
64.ZINC000010814879	✓			✓
65.ZINC000003668557	✓	✓		
66.ZINC000000869551	✓	✓	✓	✓
67.ZINC000004805108	✓	✓	✓	
68.ZINC000428689781	✓			✓
70.ZINC000419787780	✓	✓	✓	✓
71.ZINC000293334884		✓	✓	✓
72.ZINC000282672528		✓	✓	
73.ZINC000096915532			✓	
74.ZINC000009304881-B		✓		✓
76.ZINC000004892423-B	✓			✓
77.ZINC000004150911	✓			✓
79.ZINC000000173688		✓		
80.ZINC000000135946	✓			

Sonuç olarak yukarıda sıralanan bağlanma afinite değerleri, regresyon grafikleri ve etkileşim haritalarının tamamı toplu olarak incelendiğinde, aşağıda Tablo 13'te iki boyutlu yapısı verilen ZINC000000869551 ve ZINC001481451751 ligandının 2o4l pdb id kodlu yapı ile olan ve ZINC001481451826 ligandının ise 2xyf pdb id kodlu yapı ile olan kenetleme çalışmalarından elde edilen sonuçlar bu iki ligandın da bu tezin konusunu teşkil eden HIV-1 virüs tedavisi için en iyi aday moleküller olduğu sonucuna varılmıştır. Yapılan bu in siliko çalışmanın devamı olarak belirtilen ligandlar ile deneysel adımların yapılması önerilmektedir.

Tablo 13: HIV-1 virüs tedavisi için seçilen en iyi aday molekülleri

12. ZINC001481451751	66. ZINC000000869551
 -10.8 kkal/mol	 -11.0 kkal/mol
15. ZINC001481451826	
 -8.0 kkal/mol	

KAYNAKLAR

Aman Bhutani 1999 GoDaddy, <https://www.computational-chemistry.co.uk/spartan/>

Barre-Sinoussi, F., et al., Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science*, 1983. 220(4599): p. 868-71

Berman H.M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T.N., Weissig H., Shindyalov I.N., Bourne P.E. The protein data bank. *Nucleic Acids Res.* 2000;28:235–242. doi: 10.1093/nar/28.1.235

Brylinski M, Lingam D. eThread: a highly optimized machine learning-based approach to meta-threading and the modeling of protein tertiary structures. *PLoS One*. 2012;7(11):e50200. doi: 10.1371/journal.pone.0050200

Campbell, E. M. & Hope, T. J. HIV-1 capsid: the multifaceted key player in HIV-1 infection. *Nat. Rev. Microbiol.* 13, 471–483 (2015)

Chen Z, Li Y, Chen E, Hall DL, Darke PL, Culberson C, Shafer JA, Kuo LC. "Crystal structure at 1.9-Å resolution of human immunodeficiency virus (HIV) II protease complexed with L-735,524, an orally bioavailable inhibitor of the HIV proteases." *J. Biol. Chem.* (1994) 269:26344-26348

Coffin L, Swanstrom R 2011. HIV pathogenesis: Dynamics and genetics of viral populations and infected cells. *Cold Spring Harb Perspect Med* 10.1101/cshperspect.Å12526

Computational Chemistry, David Young, Wiley-Interscience, 2001. Appendix A. A.1.6 pg 330, Spartan

Dagleish, A.G., et al., The CD4 (T4) antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus. *Nature*, 1984. 312(5996): p. 763-7

Dallakyan S, Olson A. Small-molecule library screening by docking with PyRx. *Chem Biol* 2015;19:243–50

Department of Microbiology & Immunology, The University of Texas Medical Branch, Galveston 77555, USA. mcloyd@utmb.edu

Gelderblom, H., et al., MHC-antigens: constituents of the envelopes of human and simian immunodeficiency viruses. *Z Naturforsch C*, 1987. 42(11-12): p.1328-34

<https://hivinfo.nih.gov/understanding-hiv/fact-sheets/hiv-life-cycle>

<https://www.rcsb.org/>

Jason Benedict CEO, BIOVIA brand of Dassault Systèmes and Vice President of R&D

Kimberly A. Workowski. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted infections treatment guidelines, Jul 2021

Kroemer RT. Structure-based drug design: docking and scoring. *Curr Protein Pept Sci*. 2007;8(4):312–28. Return to ref 1 in article

Kwong, P.D., et al., Structure of an HIV gp120 envelope glycoprotein in complex with the CD4 receptor and a neutralizing human antibody. *Nature*, 1998. 393(6686): p. 648-59

Lengauer T, Rarey M (Jun 1996). "Computational methods for biomolecular docking". *Current Opinion in Structural Biology*. 6 (3): 402–6. doi:10.1016/S0959-440X(96)80061-3. PMID 8804827

Li S, Xi L, Wang C, Li J, Lei B, Liu H, Yao X. A novel method for protein-ligand binding affinity prediction and the related descriptors exploration. *J Comput Chem*. 2009;30(6):900–9

Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W. & Feeney, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 46, 3–26 (2001)

Lovering, F., Bikker, J. & Humblet, C. Escape from Flatland: Increasing Saturation as an Approach to Improving Clinical Success. *J. Med. Chem.* 52, 6752–6756 (2009)

Matreyek, K. A. & Engelman, A. Viral and cellular requirements for the nuclear entry of retroviral preintegration nucleoprotein complexes. *Viruses* 5, 2483–2511 (2013)

Molinspiration is a privately owned company focused on development and application of modern cheminformatics techniques, especially in connection with the web. Molinspiration was founded in 1986 as a spin-off of Bratislava University

Molla A, Korneyeva M, Gao Q, Vasavanonda S, Schipper PJ, Mo HM, Markowitz M, Chernyavskiy T, Niu P, Lyons N, et al. 1996a. Ordered accumulation of mutations in HIV protease confers resistance to ritonavir. *Nat Med* 2: 760–766

Morris G.M., Huey R., Lindstrom W., Sanner M.F., Belew R.K., Goodsell D.S., Olson A.J. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *J. Comput. Chem.* 2009;30:2785–2791. doi: 10.1002/jcc.21256.

Moult J. A decade of CASP: progress, bottlenecks and prognosis in protein structure prediction. *Curr Opin Struct Biol.* 2005;15(3):285–9. doi: 10.1016/j.sbi.2005.05.011

Nature New Biology 233:223 doi: 10.1038/newbio233223b0 (1971))

O’Boyle, N. M. et al. OpenBabel: An open chemical toolbox. *J. Cheminform.* 3, 33 (2011)

Open-access data: A cornerstone for artificial intelligence approaches to protein structure prediction *Structure* 29: 515-520 doi: 10.1016/j.str.2021.04.010 (2021)

Park J, Morrow CD 1993. Mutations in the protease gene of human immunodeficiency virus type 1 affect release and stability of virus particles. *Virology* 194: 843–850

Powers KA, Poole C, Pettifor AE, Cohen MS 2008. Rethinking the heterosexual infectivity of HIV-1: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 8: 553–563

Protease inhibitors and the crystal structure of HIV-1 protease complexed with atazanavir (CA Schiffer, unpubl.) (3EKY)

Ritchie, T. J., Ertl, P. & Lewis, R. The graphical representation of ADME-related molecule properties for medicinal chemists. *Drug Discov. Today* 16, 65–72 (2011)

Roy A, Kucukural A, Zhang Y. I-TASSER: a unified platform for automated protein structure and function prediction. *Nat Protoc.* 2010;5(4):725–38. doi: 10.1038/nprot.2010.5

Shafer RW, Dupnik K, Winters MA, Eshleman SH 2000. A guide to HIV-1 reverse transcriptase and protease sequencing for drug resistance studies. In HIV sequence compendium 2000 (ed. Kuiken CL, et al.) Los Alamos National Laboratory, Los Alamos, NM

Shaw GM, Hunter E 2011. HIV transmission. Cold Spring Harb Perspect Med 10.1101/cshperspect.Å06965

Song C.M., Lim S.J., Tong J.C. Recent advances in computer-aided drug design. Brief. Bioinform. 2009;10:579–591. doi: 10.1093/bib/bbp023.

SterlinIrwin, J. Chem. Inf. Model, 2015 <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.jcim.5b00559>

Trott O., Olson A.J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. J. Comput. Chem. 2010;31:455–461. doi: 10.1002/jcc.21334.

V. Briz , E. Poveda , V. Soriano , HIV entry inhibitors: mechanisms of action and resistance pathways, J. Antimicrob. Chemother. 57 (2006) 619–627

Vitor Rabelo 10 january 2019

What are the common symptoms of HIV? | NICHD - Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development (nih.gov)

Zhang Y. I-TASSER: fully automated protein structure prediction in CASP8. Proteins. 2009;77(Suppl 9):100–13. doi: 10.1002/prot.22588