



T.C.
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
BİYOTEKNOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MANTAR TEDAVİSİNDE KATRAN ETKEN MOLEKÜLLERİNİN
KENETLENME METODU İLE İNCELENMESİ**

BUSE HÜR BEN

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

İSTANBUL-2023

T.C.
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
BİYOTEKNOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MANTAR TEDAVİSİNDE KATRAN ETKEN MOLEKÜLLERİNİN
KENETLENME METODU İLE İNCELENMESİ**

BUSE HÜR BEN

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Vildan ENİSOĞLU ATALAY

İSTANBUL-2023

ÖZET

MANTAR TEDAVİSİNDE KATRAN ETKEN MOLEKÜLLERİNİN KENETLENME METODU İLE İNCELENMESİ

Mantarlar, fotosentez yapmayan, saprofit olarak toprakta veya bitkilerde yaşayan canlılardır. Mantar enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan antifungal ilaçların etki mekanizması hastalığın yeni dokulara yayılmasını önlemektir.

Bu çalışmada mantar oluşum sürecinde etkin olduğu literatürde yer alan mikrozomal P450 ve N-miristoyiltransferaz proteinlerinin pdb id:1Z10 ve 3JTK kodlu kristal yapıları ile katran içeriğinde bulunan tüm aktif moleküller ile kenetlenme çalışmaları yapılarak piyasadaki antifungal ilaçlardan daha etkili ilaçlar yapılabilir mi sorusu araştırılmıştır. Bunun için önce referans moleküller olmak üzere bütün ligand molekülleri Spartan'14 yazılımı kullanılarak öncesinde konformer taramaları yapılmış olup sonrasında geometri optimizasyonları gerçekleştirilmiştir. Ardından AutodockVina programı yardımıyla kenetlenme işlemleri gerçekleştirilerek bağlanma değerleri hesaplanmış ve BIOVIA DiscoveryStudio programında ligand-protein etkileşim haritaları çıkartılmıştır. Bağlanma afinitelerine karşı fizikokimyasal parametrelerin lineer korelasyonları hesaplanmıştır. Elde edilen veriler doğrultusunda katran moleküllerinden birkaçının ticari olarak kullanılan ilaç etken moleküllerinden daha iyi bir afinite değeri verdiği gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antifungal Proteinler, Antifungal Tedavi, Katran Aktif Maddeleri, Moleküler Kenetlenme

ABSTRACT

INVESTIGATION OF TAR ACTIVE MOLECULES IN FUNGAL TREATMENT USING THE DOCHING METHOD

Fungi are creatures that do not perform photosynthesis and live in soil or plants as saprophytes. The mechanism of action of antifungal drugs used in the treatment of fungal infections is to prevent the disease from spreading to new tissues.

In this study, the question of whether more effective drugs can be made than the antifungal drugs on the market was investigated by performing coupling studies with the pdb id: 1Z10 and 3JTK coded crystal structures of microsomal P450 and N-myristoyltransferase proteins, which are reported in the literature to be effective in the fungal formation process, and all the active molecules contained in the tar structure. For this purpose, all ligand molecules, including reference molecules, were first conformer scanned using Spartan'14 software, and then geometry optimizations were carried out. Then, docking processes were performed with the help of the AutodockVina program, binding values were calculated, and ligand-protein interaction maps were created in the BIOVIA DiscoveryStudio program. Linear correlations of physicochemical parameters versus binding affinities were calculated. In line with the data obtained, it was observed that some of the tar molecules gave better affinity values than commercially used drug active molecules.

Keywords: Antifungal Proteins, Antifungal Treatment, Molecular Docking, Tar Active Agent

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmaları sürecinde çok değerli bilgiler edindiğim, 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 yardımcı olan Remziye Azra KARTOP' a ve Beyza YILMAZ' a,

Çalışmalarım sırasında her türlü desteği sağlayan kıymetli aileme teşekkür ederim.



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 Üsküdar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazıldığını beyan ederim.



Tarih
Buse HURBEN
İmzası

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR	iii
BEYAN FORMU	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Mantar Nedir.....	2
2.2. Mantar Hastalıklarının Sınıflandırılması	3
2.3. Etki Mekanizmaları.....	4
2.3.1. Antifungal İlaçların Etki Mekanizmaları	4
2.3.2. Mantar Enfeksiyonlarında Rol Oynayan Enzim Mekanizmaları.....	6
2.3.2.1. Mikrozomal P450	6
2.3.2.2. N-miristoriltransferaz.....	7
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	8
3.1. Moleküler Kenetleme Yöntemi	8
3.2. Hastalığın Proteinlerinin Kristal Yapısının Elde Edilmesi	8
3.3. Etken Moleküllerinin Hazırlanması.....	9
3.4. Makromoleküllerin Kenetlenme İçin Hazırlanması	12
3.4.1. XYZ Koordinatlarının Elde Edilmesi	12
3.5. Kenetlenme Dosyalarının Hazırlanması	13
3.6. Kenetlenme Çalışmalarının Gerçekleştirilmesi	13
3.7. Komut İstemi Yardımıyla Bağlanma Enerjilerinin Bulunması	14
3.8 Discovery Studio Programı İle Ligand-Enzim Görüntülemelerinin İncelenmesi	14

4. BULGULAR.....	34
5. TARTIŞMA.....	31
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	34
KAYNAKLAR	35
EKLER	37
Ek 1.....	37
Ek 2. Özgeçmiş	38



TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1: Mantarların sınıflandırılması	2
Tablo 2: Antifungal ilaçların etki mekanizmalarına göre sınıflanması	5
Tablo 3: Katran moleküllerinin isimleri ve iki boyutlu gösterimi	9
Tablo 4: 1Z10 ve 3JTK pdb kodlu yapıların aktif bölge koordinatları.....	13
Tablo 5: Flusizotin ve flukonazol, 1Z10 ve 3JTK pdb kodlu kristal yapıların hesaplanan değerleri	15
Tablo 6: Katran moleküllerinin SwissAdme görüntüsü ve 1Z10 ve 3JTK pdb kodlu kristal yapıların aminoasitleri ile katran moleküllerinin etkileşimi	17
Tablo 7:a) 1Z10 pdb kodlu kristal yapının ligandlarla etkileşiminin mesafe değerleri..	26
Tablo 7:b) 3JTK pdb kodlu kristal yapının ligandlarla etkileşiminin mesafe değerleri	28
Tablo 8: R ² değerleri	30
Tablo 9:a) 1Z10 pdb kodlu kristal yapının afinite fark tablosu	32
Tablo 9:b) 3JTK pdb kodlu kristal yapının afinite fark tablosu.....	32

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1: Antifungal tedavide hedefler.....	5
Şekil 2: Antifungal tedavide hedefler.....	5
Şekil 3: Eş-Translasyonel N-Miristilasyon	7
Şekil 4:a) 1Z10 pdb id kodlu	
Şekil 4:b) 3JTK pdb id kodlu proteinlerin üç boyutlu yapıları	8
Şekil 5:a) 1Z10 pdb kodlu kristal yapıya ait korelasyon grafikleri	29
Şekil 5:b) 3JTK pdb kodlu kristal yapıya ait korelasyon grafikleri	29



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

NMT : N-miristoyiltransferaz

logP : Lipofilisite

μ : Dipol Moment



1. GİRİŞ

İlaçlar kullanıldığında organizmanın fiziksel veya psikolojik açıdan etki eden, başka bir deyişle hastalıkların tedavisi veya önlenmesi amacıyla kullanılan preparatlardır. Piyasaya yeni ilaçlar sürmek; maliyet, bilgi birikimi ve başarısızlıkla sonuçlanma ihtimalinden dolayı uzun ve zor bir süreçtir. (Çelik ve ark. 2021) Bu yüzden piyasaya daha düşük maliyetlerle daha fazla ürün geliştirebilmek için yeni fikirlere, ayrıca yeni ve gözden geçirilmiş ilaç keşif sürecine ihtiyaç vardır. Böylece, bilgisayar destekli küçük moleküllü ilaç tasarımı konusunda birçok çalışma yapılmıştır ve yapılmaya devam etmektedirler. Bilgisayar destekli küçük ilaç molekülleri geliştirmekteki amaç, mevcut moleküllerden daha güçlü, daha az toksik ve daha düşük yan etkili, biyoyararlanımı daha yüksek olan moleküllerin klasik ilaç keşfinde yaşanan zahmet ve maliyetlerini azaltarak terapötik bileşiklere ulaşmaktır.

Tasarım yaparken ilk aşama hastalığın kaynağı ve gelişmesinde rol alan enzimler, reseptörler veya başka bir birim olabilecek hedef yapıların belirlenmesidir. Molekülü tanımak tasarım yaparken büyük avantaj sağlamaktadır. İkinci aşama ise ligandı seçmektir. Ligand seçilirken 2 farklı yol vardır. İlki literatürdeki veri tabanlarından faydalanarak hazır bileşikleri kullanmak, ikincisi ise hedef molekülle uyumlu bir şekilde etkileşebilen molekülleri tasarlamaktır.

Bu tez çalışmasında literatürdeki bileşiklerimiz 1Z10 ve 3JTK pbd kodlu kristal yapılar, hedef molekülle uyumlu etkileşebilen tespit edilen moleküller ise çam ağacından elde edilen katran molekülleridir. Amacımız kenetleme yöntemini kullanarak piyasadaki muadillerinden daha etkili antifungal ilaçlar ortaya çıkarmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mantar Nedir

Mantarlar diğer adıyla funguslar fotosentez yapmayan, saprofit olarak toprakta veya bitkilerde tek hücreli koloniler yani maya halinde veya çok hücreli agregatlar yani küf halinde yaşayan canlılardır. Aşağıdaki Tablo 1' de mantarların sınıflandırılması gösterilmiştir.

Tablo 1: Mantarların sınıflandırılması

Mayalar	Küf
<i>Candida</i>	<i>Aspergillus</i>
<i>Cryptococcus</i>	<i>Fusarium</i>
<i>Trichosporon</i>	<i>Pseudallescheria(Scedosporium)</i>
Dimorfik Mayalar	<i>Zygomycetes</i>
<i>Blastomyces</i>	<i>Rhizopus</i>
<i>Coccidioides</i>	<i>Mucor</i>
<i>Histoplasma</i>	<i>Absidia</i>
<i>Sporothrix</i>	

Vücutta mantar görülmesine neden olan faktörler şu şekilde sıralanabilir:

- Bağışıklık sisteminin zayıf olması
- Uzun süreli antibiyotik kullanımı
- Obezite
- Diyabet
- Uzun süreli ayakkabı giyilmesi
- Cilt bakım ürünleri
- Dar kıyafet seçimi
- Hamilelik dönemi
- Uzun süre nemli çoraba maruz kalmak

2.2. Mantar Hastalıklarının Sınıflandırılması

Antifungal ilaçlar mantar enfeksiyonlarının yeni dokulara yayılmasını önlemekte kullanılan ilaçlardır. Mikoze hastalığı olarak adlandırılan mantar tedavi süreleri oldukça uzundur.

Mantarların vücutta tutunduğu yere göre 5 farklı grupta incelenir.

- Yüzeysel Mikoze; *tineanigra*, *kara piedra*, *ak piedra*, *teneversicolor* (*putriazisversicolor*) gibi türlerin neden olduğu saç ve derinin dış tabakasında görülen hastalık tipidir.
- Kutanöz Mikoze; insandan insana, hayvandan insana veya topraktan insana bulaşan deri, saç ve tırnakta gözlenen hastalık türüdür. *Tinea pedis* (ayak mantarı), *Tinea capitis* (saç mantarı), *Tinea barba* (sakal mantarı), *Tinea unguium* (tırnak mantarı) şeklinde örnek verilebilir. Hastalık belirtiler kaşıntı, kızarıklık, bölgesel renk geçişleridir.
- Subkutan (Deri Altı) Mikoze; tropikal ve subtropikal bölgelerde görülen, dermisi ve subkutan dokuyu etkileyen hastalık türüdür. Sporotrikoz toprakta bulunur ve çoğunlukla bahçe işleriyle ilgilenen kişilerde görünür. Kromoblastomikoz topraktan bulaşan ayakta ve bacaklarda kabuk şeklinde gözlenen hastalıktır. Miçetom deri ve deri altında görünen bazen ise kas, fascia ve kemiğe kadar ilerleyebilen hastalıktır.
- Sistemik Mikoze; hastalığın etkenine göre sınıflandırılır. Blastomikoz mantar sporlarının solunması sonucunda oluşarak akciğerlerde başlar ve sıklıkla subklinik olarak seyreder. Yayılım sonucunda daha çok deri, kemik ve genitoüriner sistemde enfeksiyon oluşturur. Koksidiodomikoz, *Coccidioides immitis* ve *Coccidioides posadasii* mantarları tarafından oluşur. Histoplazmoz insan ve hayvanda mantara bağlı olarak görülen akciğer hastalıklarının en önemli nedenlerindedir. Aspergilloz dünyada invaziv küf mantarları ile gelişen enfeksiyonlar içinde en yaygın olanıdır. Hem sağlıklı hem de bağışıklık sistemi baskılanmış insanlarda hastalık yapabilmektedir.

- Fırsatçı mikoz, bağışıklık sistemi baskılanmış kemoterapi alan hastalarda, nötropenik konaklarda, organ nakli alıcılarında ve hematolojik malignitesi olanlarda gelişen mikozlara verilen ortak isimdir. Kandidiyazis (kandidoz), Kriptokokkozis, Aspergillozis, Zigomikozis, Trikosporozis, fusaryozis, penisillozis hastalık yapan türlerdir.

2.3. Etki Mekanizmaları

2.3.1. Antifungal ilaçların etki mekanizmaları

Sterol adı verilen lipid partikülleri, memeli hücrelerinde kolesterol, mantarlarda ergosterol içererek hücre membran ağırlığının %25'ini oluşturmaktadır.

Mantar sitoplazmik membranını bozan poliyen antifungallar mantar hücresindeki ergosterole bağlanmasıyla membranı depolarize ederek por şekillenmesini artırır ve proteinlere, çift ve tek değerli iyonlara geçirgenlik artırır. Bunun sonucunda hücre ölümü meydana gelir. Azol antifungallar mantarda bulunan CYP-3A enzimini (14- α demetilaz) inhibe ederek ergosterol sentezinin bozulmasını sağlamaktadır. Bu enzimin inhibisyonu, ergosterol yetmezliğine yol açar ve bu yetmezlik ile membran geçirgenliği artırarak mantar hücresinin büyümesini engeller.

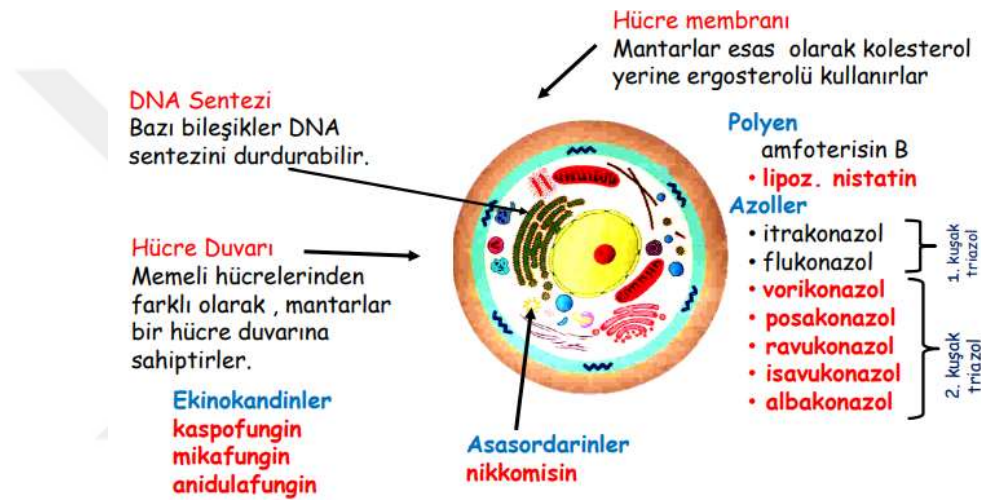
Mantar duvar sentezini bozan ilaçlar 1,3- β -glukan sentaz enzimini inhibe ederler. Mantar hücresinde glukan polimer yetmezliğini, mantar hücresinde çok zayıf bir hücre duvarı oluşmasına neden olur ve mantar hücresi ozmotik strese dayanamayıp ölür.

Mantar DNA sentezini bozan flusitozin mantar hücresindeki DNA, RNA ve protein sentezini engelleyerek etki gösterir. Mantar ve memeli hücrelerindeki DNA-RNA sentezi çok benzer olmasına rağmen memeli hücresini etkilemeden fungusidal etki gösterir. Aşağıdaki Tablo 2'de kullanılan etken maddelerinin hangi etki mekanizması ile hastalıkları tedavi ettiğini göstermektedir.

Tablo 2: Antifungal ilaçların etki mekanizmalarına göre sınıflandırılması

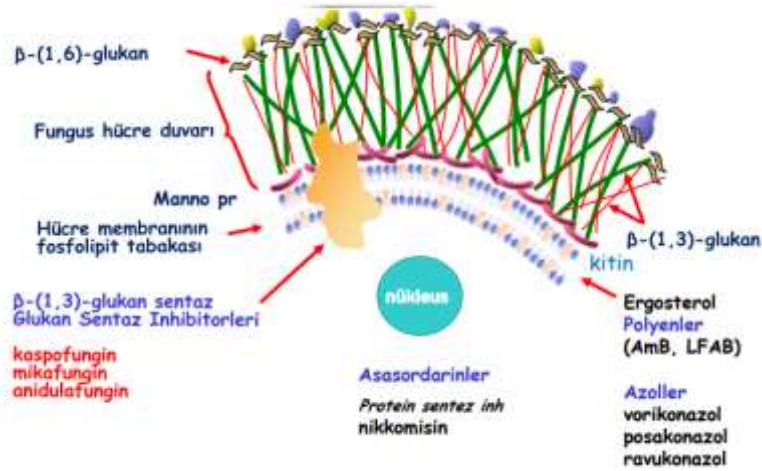
Mantar Duvar Sentezini Bozanlar	Mantar Sitoplazmik Membranını Bozanlar	Mantar DNA Sentezini Bozanlar
Ekinokandinler Kasofungin Micafungin Anidulafungin	Polienler Amfoterisin B Am B lipit Kompleks Am B Kolestiril Sülfat Lipozomal Am B	Azoller Ketokonazol Flukonazol İtrakonazol Vorikonazol Posakonazol
		Pirimidin Analoğu Flusitozin

Şekil 1 ve Şekil 2’te antifungal tedavide hedefler şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 1: Antifungal tedavide hedefler

(<https://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2012/02/88201117131-foAu6JEoDVlK.pdf>)



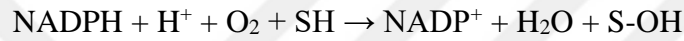
Şekil 2: Antifungal tedavide hedefler

(<https://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2012/02/88201117131-foAu6JEoDVlK.pdf>)

2.3.2. Mantar enfeksiyonlarında rol oynayan enzim mekanizmaları

2.3.2.1. Mikrozomal P450

Mikrozomal enzimler, ilgili oldukları organı oluşturan hücrelerin düz endoplazmik retikulumunda (ER) yerleşmişlerdir. En önemli enzim sistemi sitokrom P450 enzim sistemidir. Sitokrom P450 enzimleri ilaçların biyotransformasyonundan sorumludurlar, CYP3A4 ana yetişkin enzimidir. Bu sistemin karaciğer dışında, insan vücudunda yüzlerce tip izozimi mevcuttur. Sitokrom P450 monooksijenaz enzim sistemi steroid, yağ asidi, prostoglandin, lökotrien ve birçok bileşiklerin metabolizmasında görev alan hemtiyolat yapılı enzimdir. Sitokrom P450 enzimlerinin katalizlediği reaksiyon aşağıdaki gibi özetlenebilir.

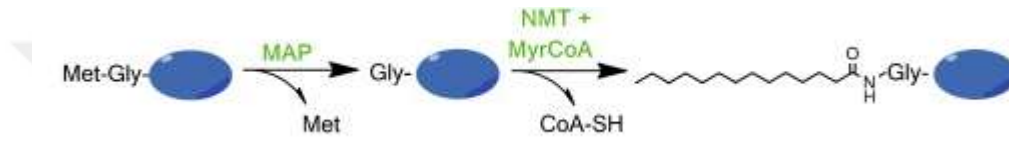


Substrat (S) ile gösterilen madde steroid, yağ asidi, ilaç veya herhangi bir madde olabilir. Substrata tek bir oksijen atomu bağlandığı için monooksijenaz adını almaktadır. Sitokrom P450 proteinlerinin aktif bölgesi bir hem grubu içerir. Bu bölgede oksijen molekülünün veya substratların bağlanabileceği bölgeler bulunmaktadır. Endoplazmik retikulumda meydana gelen karbondioksit gazı geçirildikten sonra sodyum ditiyonat gibi indirgeyici bir ajan eklenince indirgenmiş hem proteinine CO₂ bağlanarak 450 nm'de absorbans gösterdiği için P450 adını almıştır.

Azol içeren bileşiklerin ilaç oksidasyonunu engellemek için sıklıkla sitokrom P450 enzimleri ile etkileşime girdiği iyi bilinmektedir. Azollerdeki yalnız nitrojen çifti, inhibisyonu sağlamak için P450 enzimlerindeki hem demirini doğrudan koordine edebilir. Bu nedenle azol içeren ilaçlar, birlikte uygulanan farmasötiklerin metabolizması üzerinde büyük etkilere sahip olabilir. (Özerol 1996; Godamudunage ve ark. 2018) Antifungal ve antikanser özelliğinin olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalar gelecek vaat etmektedir.

2.3.2.2. N-miristoyiltransferaz

N-miristoyiltransferaz enzimleri (NMT'ler), 14 karbonlu doymuş bir yağ asidi olan miristik asidin spesifik hücresele proteinlerin veya peptit substratlarının N terminal glisine amid bağı yoluyla kovalent bağlanmasını katalize eden hücresele bir enzimdir. NMT'ler, tek hücreli protozoan ve metazoan organizmalar dahil tüm ökaryotik türlerde mevcuttur, ancak prokaryotik hücrelerde yoktur. Enzimin işlevi birçok ökaryotik organizmanın ve birkaç rotavirüsün büyümesi ve gelişmesi için çok önemlidir. NMT'ler, miristik asidi protein substratlarına aktarmak için kofaktör olarak miristoil Koenzim A'yı (Myr-CoA) kullanır. Bu reaksiyonun bir yan ürünü olarak koenzim A (CoA) açığa çıkar. Bu reaksiyon Şekil 3'de gösterilmiştir.



Şekil 3: Eş-Translasyonel N-Miristilasyon

<https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/protein-n-miristoyltransferase>

NMT'nin biri Myr-CoA'ya bağlanmak için, diğeri substrat protein/peptide bağlanmak için (peptit bağlanma cebi olarak bilinmektedir) olmak üzere aktif bölgesi iki bitişik cep içerir. Bu konfigürasyonda, peptit substratının N-terminal amino grubu, Myr-CoA'nın tiyoester bağına yaklaşarak, katalitik prosesin ilk adımlarından biri olan nükleofilik saldırıya izin verir.

İnsan genomu, NMT1 ve NMT2 adı verilen farklı NMT formunu kodlayan iki gen içerir. Bu iki yapının ortak özellikleri korunmuş bir katalitik alanı paylaşıyor olmalarıdır fakat N-terminal bölgeleri oldukça farklıdır. (Selvakumar ve ark. 2011; Spassov ve ark. 2022)

Gelişim, bağışıklık, onkogenез ve enfeksiyonlar gibi çeşitli biyolojik olaylarda yer alan ve bir modifikasyon olan protein miristoilasyonu son çalışmalarla gelecek vaat etmektedir.

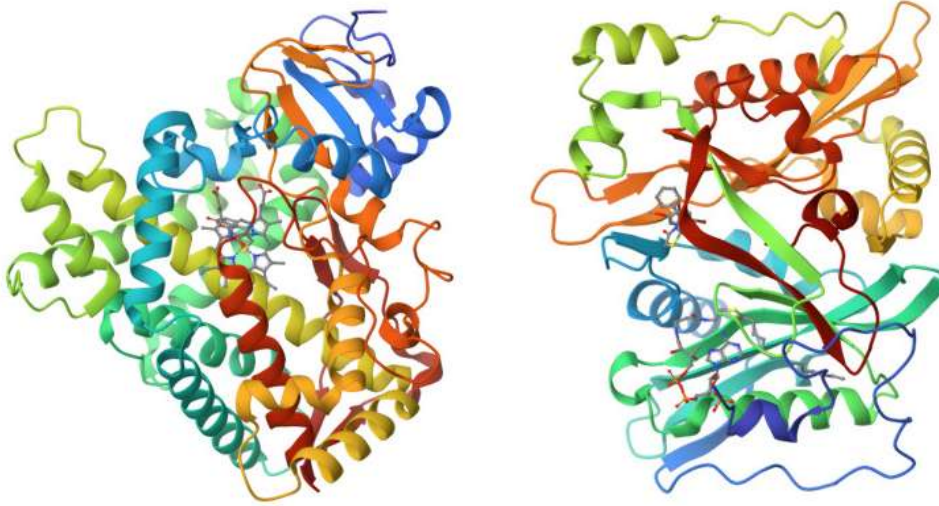
3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Moleküler Kenetleme Yöntemi

Moleküler kenetleme ilaç tasarımında yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biri olup protein hedefinin üç boyutlu yapısı mevcut olduğunda tercih edilen bir araçtır. Moleküler kenetlemenin temel amacı, hem yapısal olarak hem de enerji olarak molekülü tanımayı, anlamayı ve de tahmin etmeyi kolaylaştırmaktadır. Moleküler kenetleme küçük molekül (ligand) ve hedef makromolekül (protein) arasında gerçekleştirilmek üzere tasarlanmıştır ancak son yıllarda protein-protein, nükleik asit-ligand moleküler kenetleme çalışmaları da yapılmaktadır.

3.2. Hastalığın Proteinlerinin Kristal Yapısının Elde Edilmesi

Antifungal hastalıklarda önemli olduğu düşünülen proteinlerin kristal yapılarını elde edebilmek için Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>) veri tabanından X-ray kristal yapıda, çözünürlükleri sırasıyla 1.90 Å ve 1.61 Å olan 1Z10 ve 3JTK pdb id kodlu protein yapıları ile çalışılmıştır. Şekil 4'te 1Z10 ve 3JTK pdb id kodlu mikrozomal P450 ve N-miristoyiltransferaz protein yapılarının üç boyutlu yapıları gösterilmiştir.



a) 1Z10

b) 3JTK

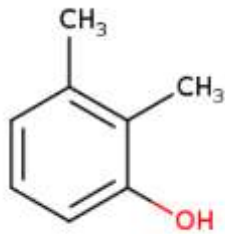
Şekil 4: a) 1Z10 pdb id kodlu, b) 3JTK pdb id kodlu proteinlerin üç boyutlu yapıları

3.3.Etken Moleküllerin Hazırlanması

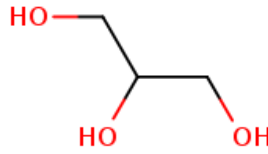
Bu tez çalışmasında katrandan elde edilen moleküllerin antifungal afinitelerinin incelenmesi amacı ile ilgili proteinlerle ilgili kenetlenme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Katranın etken molekülleri J Tintner ve ark. tarafından karakterize edilmiştir. [Pitch oil production – An intangible cultural heritage in Central Europe” makalesinde bahsedilen moleküllerdir (<https://doi.org/10.1016/j.jaap.2021.105309>)].

Katranın gaz kromatografisi ile tespit edilen moleküllerinin Tablo 3’te isimleri ve 2 boyutlu şekilleri verilmiştir. Mevcut moleküllerin konformer taramaları Spartan ’14 V1.1.4 programında AM1 yöntemi ile gerçekleştirilmiş olup, geometri optimizasyonu yarı deneysel PM6 ile yapılmıştır. Moleküllerin enerjileri, E_{HOMO} , E_{LUMO} , lipofilisite (logP), dipol moment, molekül ağırlığı ve molekül alanı gibi parametreler hesaplanmıştır. Belirtilen moleküllerin ilaç olabilme potansiyelleri SwissAdme (<http://www.swissadme.ch/index.php>) açık erişimli veri tabanı ile incelenmiştir.

Tablo 3: Katran moleküllerinin isimleri ve iki boyutlu gösterimi



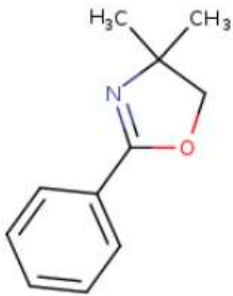
2,3-dimethylphenol



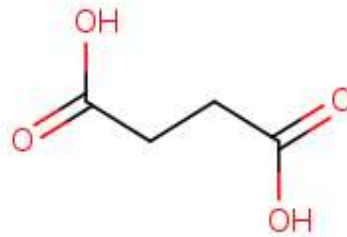
glycerol



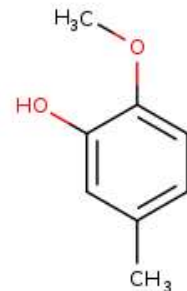
3-hydroxy-2-methylpyran-4-one



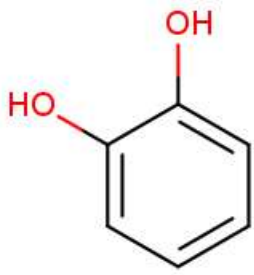
4,4-dimethyl-2-(3-phenyl-2-thienyl)oxazoline



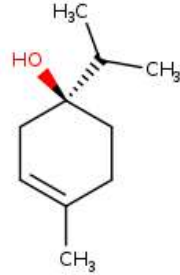
succinic acid



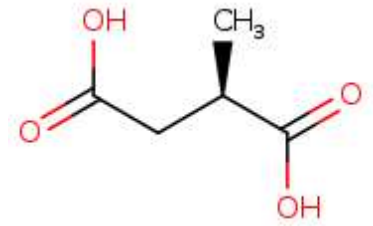
2-methoxy-5-methylphenol



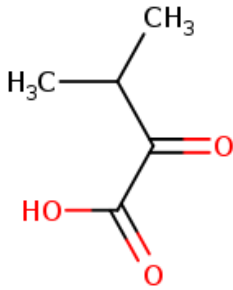
1,2-benzenediol



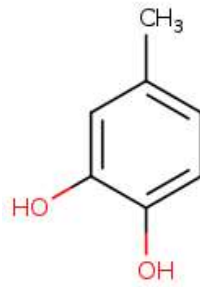
terpineol



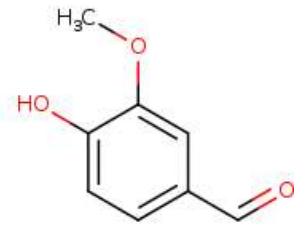
2-methylsuccinic acid



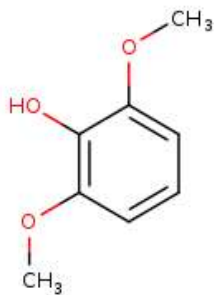
3-methyl-2-oxobutanoic acid



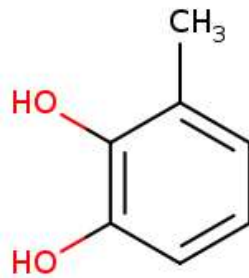
4-methylcatechol



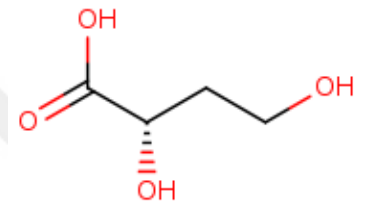
vanillin



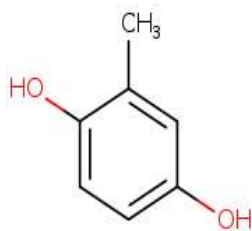
2,6-dimethoxyphenol



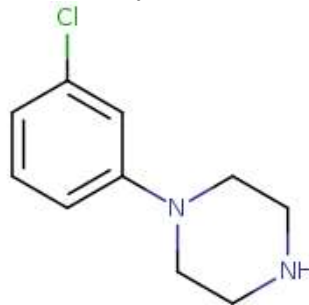
3-methylcatechol



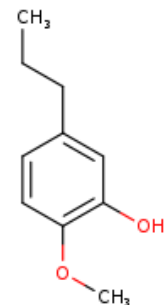
2,4-dihydroxybutanoic acid



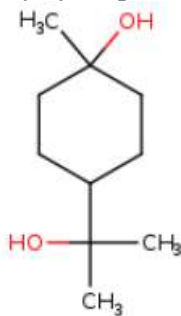
methylhydroquinone



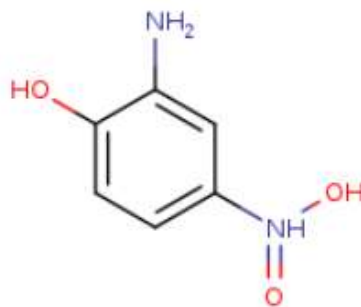
1-(3-chlorophenyl)piperazine



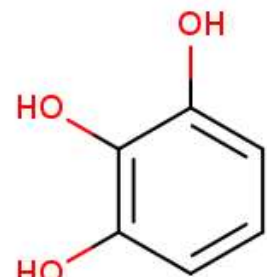
2-methoxy-5-(1-propyl)phenol



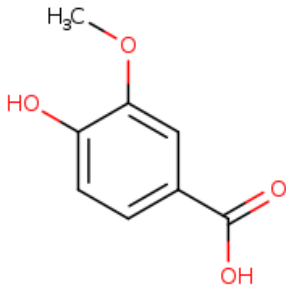
terpinol



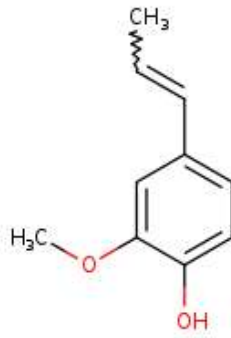
3-amino-4-hydroxynitrobenzene



pyrogallol



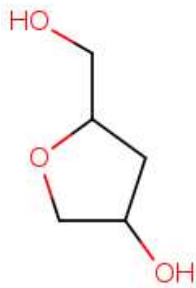
vanillic acid



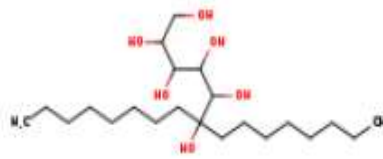
isoeugenol



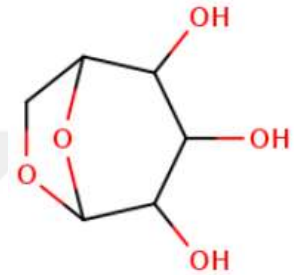
1-ethoxy-4-hexyl-1,4-pentadiene



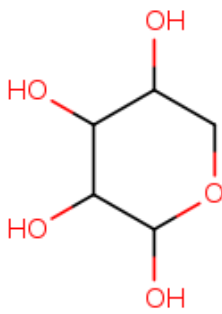
1,4-anhydro-3-deoxy-D-threopentitol



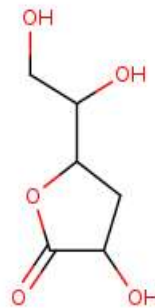
1,1-di-Coctyl-D-glucitol



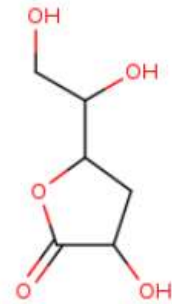
mannosan



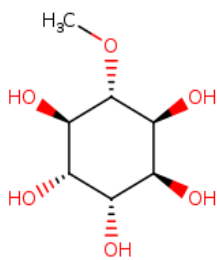
β -L-arabinopyranose



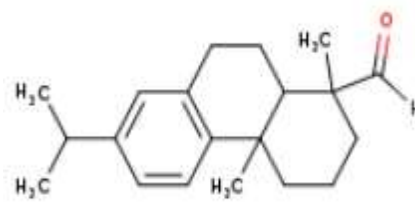
D-ribo-hexonic acid-3-deoxy-lactone



D-arabino-hexonic acid-3-deoxy- γ -lactone



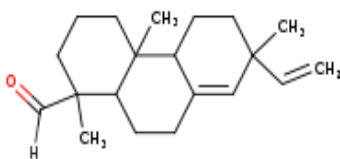
D-pinitol



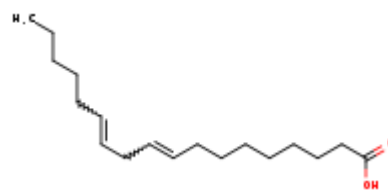
dehydroabietinaldehyde



palmitic acid



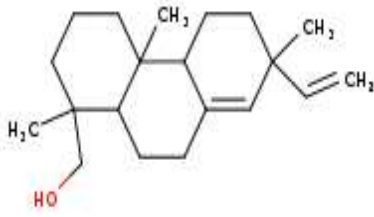
sandaracopimarinal



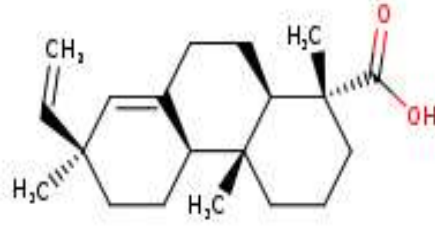
linoleic acid



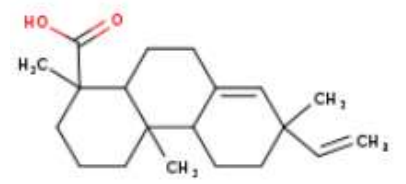
trans-9-octadecenoic acid



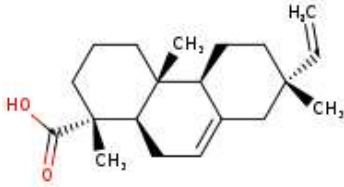
pimarol



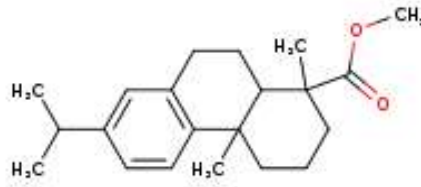
pimaric acid



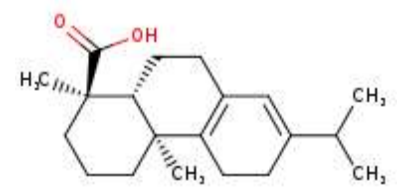
isodextropimaric acid



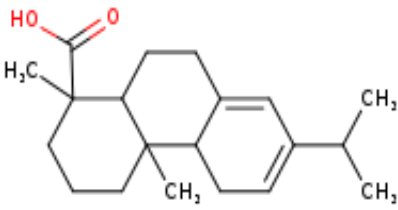
isopimaric acid



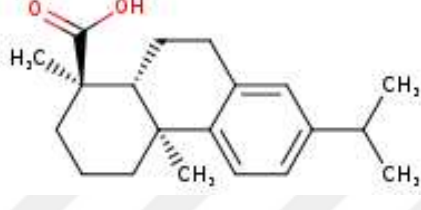
methyl abieta-8,11,13-trien-18-oate



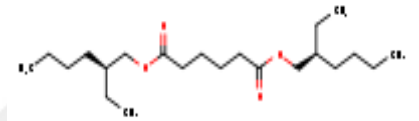
palustric acid



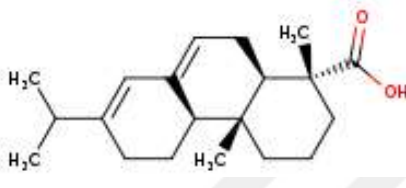
levopimaric acid



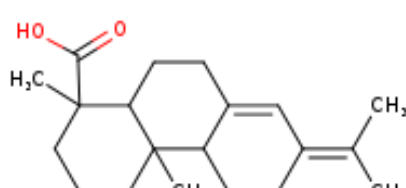
dehydroabietic acid



bis(2-ethylhexyl) adipate



abietic acid



neoabietic acid

3.4. Makromolekülün Kenetlenme için Hazırlanması

1Z10 ve 3JTKpdb kodlu kristal yapılar Discovery Studio (Dassault Syst`emes Biovia, 2021) programı kullanılarak, proteinlerin içindeki ligand, su ve hetero atomlar temizlenmiş ve '.pdb' formatında kaydedilmiştir.

3.4.1. XYZ Koordinatlarının Elde Edilmesi

Protein yapısının referans ligandla etkileşiminin Discovery Studio programında incelenmesi sonucunda elde edilen aşağıda verilmiştir. Çalışmada kullanılan 1Z10 ve 3JTK pdb kodlu yapıların aktif bölge koordinatları aşağıdaki Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4: 1Z10 ve 3JTK pdb kodlu yapıların aktif bölge koordinatları

	1Z10	3JTK
x	53.007	-9.050
y	82.499	20.258
z	58.490	-12.265

3.5. Kenetleme Dosyalarının Hazırlanması

Kenetlenme çalışmaları yapılırken ligandın aktif bölge içinde hareket serbestliği olan hacminin büyüklüğü oldukça önemlidir. Grid kutusu, protein ile ligand arasında beklenen bağlanma bölgelerinin tayin edildiği sınır değerlerinin içermektedir. Kenetlenme işlemi için çok önemli bir parametre olarak tanımlanan Grid kutusu, 40x40x40 Å³'lük bir hacim ile ligandın protein içerisinde dolaşabileceği bir boşluk tanımlanmıştır (Moult ve ark. 2005).

3.6. Kenetlenme Çalışmalarının Gerçekleştirilmesi

Autodock Vina programı ligand ve proteinleri .pdbqt formatında kullandığı için kenetlemeyi gerçekleştirmek için uygulanan işlemlerin sonunda protein ve ligandlar '.pdbqt' uzantısı ile kaydetmektedir.

Bu işlemler aşağıdaki sıralama ile gerçekleştirilmiştir:

1. Protein ve ligand moleküllerinin .pdb uzantılı dosyaları config dosyası adında bir klasörde yerleştirilmiştir.
2. Autodock programında proteinin temizlenmiş pdb uzantılı dosyasını açıp hidrojenleri ekleyerek yeniden pdbqt formatında kaydedilmiştir.
3. Grid Options penceresinden Grid kutusu boyutu ve x, y, z ölçülerinin girişi yapılmıştır.
4. Bu işlemlerin ardından ligandın pdb dosyasında düzenlemeler yapılarak pdbqt formatında kaydedilmiştir.

3.7. Komut İstemi Yardımıyla Bağlanma Enerjilerinin Bulunması

Autodock Vina programı komut sistemi ile çalıştırılarak bağlanma enerjileri yani afinite hesaplandı. Ligand-protein etkileşiminin güçlü olması hedef proteinin tedavi etkisini daha güçlendirir böylece bu ligandın iyi bir ilaç adayı olmasını sağlar. Yazılım hesapladığı bağlanma enerjisini çalışılan klasöre metin belgesi olarak log uzantılı şekilde çıktı vermektedir.

3.8. Discovery Studio Programı ile Ligand-Enzim Görüntülemelerinin İncelenmesi

Afinite değerleri elde edildikten sonra ligandın proteinle etkileşime geçtiği aminoasitleri tanımlamak ve bu aminoasitlerle yaptığı bağların uzunluklarını görüntülemek için Discovery Studio programında üzerinde görüntüleme yapılır.

4. BULGULAR

Bu çalışmada elde edilen bütün veriler antifungal tedavide kullanılmakta olan flusitozin ve flukonazol etken maddesi referans olarak alınmıştır.

Bu çalışmada katran yapısının etken bileşiklerinin Moleküler Ağırlık- M_A , Lipofilisite (LogP), TPSA-Å² (alan) değerleri SwissADME programından ve E_{HOMO} - E_{LUMO} , dipol moment (μ) değerleri Spartan programından alınmış olup, afinite değeri kcal.mol^{-1} parametreleri hesaplanarak bulunmuştur.

Aşağıdaki Tablo 5'te flusitozin ve flukonazol ve antifungal hastalıklarda etkili olabileceği düşünülen ligand aday moleküllerin elde edilen fizikokimyasal parametreleri gösterilmektedir.

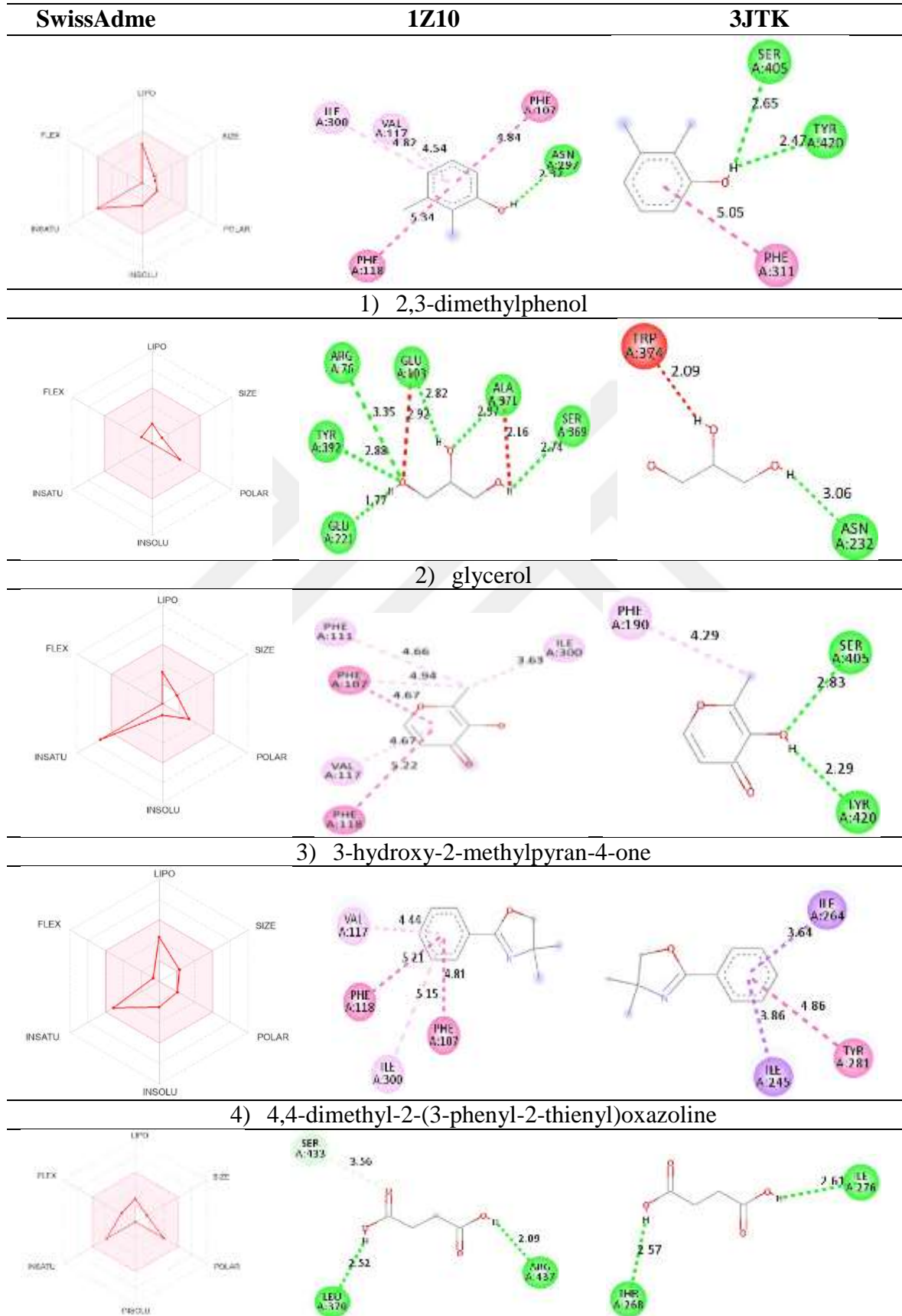
Tablo 5: Flusitozin ve flukonazol, 1Z10 ve 3JTK pdb kodlu kristal yapıların hesaplanan değerleri

Ligandlar	A	M_A	LogP	E_{HOMO}	E_{LUMO}	μ	Afinite	
							1Z10	3JTK
İlaç etken molekülleri								
Flusitozin	71.77	129.09	0.58	-938.66	-73.93	5.07	-4.8	-4.9
Flukonazol	81.65	306.27	0.41	-998.89	-92.66	2.96	-7.7	-7.7
Katran etken molekülleri								
1) 2,3-dimethylphenol	20.23	122.167	1.80	-851.93	35.83	0.44	-6.5	-5.6
2) Glycerol	60.69	92.094	0.45	-990.82	137.01	2.15	-4.6	-4.0
3) 3-hydroxy-2-methylpyran-4-one	50.44	126.11	1.47	-893.27	-64.08	3.83	-5.1	-4.7
4) 4,4-dimethyl-2-(3-phenyl-2-thienyl)oxazoline	21.59	175.23	2.61	-918.48	-34.81	0.98	-7.6	-7.3
5) Succinic acid	74.60	118.09	0.32	-1109.58	13.17	0.00	-4.5	-4.8
6) 2-methoxy-5-methylphenol	29.46	138.16	2.03	-814.89	21.49	2.57	-5.7	-5.3
7) 1,2-benzenediol	40.46	110.11	1.13	-850.87	-3.97	2.36	-5.5	-5.2
8) Terpeneol	20.23	154.25	2.56	-873.16	159.79	1.34	-6.5	-7.4
9) 2-methylsuccinic acid	74.60	132.115	0.54	-1088.16	17.28	1.57	-5.0	-5.0
10) 3-methyl-2-oxobutanoic acid	54.37	116.12	0.77	-1002.09	-109.24	3.31	-4.9	-4.5
11) 4-methylcatechol	40.46	124.14	1.39	-828.52	2.77	2.99	-5.7	-5.9
12) Vanillin	46.53	152.15	1.57	-862.34	-74.16	2.31	-5.7	-5.5
13) 2,6-dimethoxyphenol	38.69	154.16	1.85	-820.28	23.61	2.76	-5.2	-5.2
14) 3-methylcatechol	40.46	124.14	0.98	-840.45	9.85	1.69	-6.1	-5.5
15) 2,4-dihydroxybutanoic acid	77.76	120.10	0.39	-1040.93	23.91	3.04	-4.7	-4.4
16) Methylhydroquinone	40.46	124.14	1.25	-823.0	-5.12	0.78	-5.5	-5.5
17) 1-(3-chlorophenyl)piperazine	15.27	196.68	2.16	-786.99	19.94	3.53	-7.0	-6.5
18) 2-methoxy-5-(1-propyl)phenol	29.46	166.22	2.45	-819.63	19.41	2.64	-6.2	-6.4
19) Terpinol	40.46	172.26	2.22	-980.80	282.36	3.74	-6.8	-6.7
20) 3-amino-4-hydroxynitrobenzene	95.91	154.13	-5.12	-845.30	-118.94	6.39	-5.9	-5.4
21) Pyrogallol	60.69	126.11	0.97	-859.96	-4.99	2.63	-5.4	-5.3
22) Vanillicacid	66.76	168.15	1.40	-897.98	-92.24	3.97	-6.0	-5.4
23) Isoeugenol	29.46	164.20	2.47	-805.29	4.60	1.78	-6.2	-6.7
24) 1-ethoxy-4-hexyl-1,4-pentadiene	9.23	196.33	3.76	-858.24	121.51	2.81	-6.2	-7.2

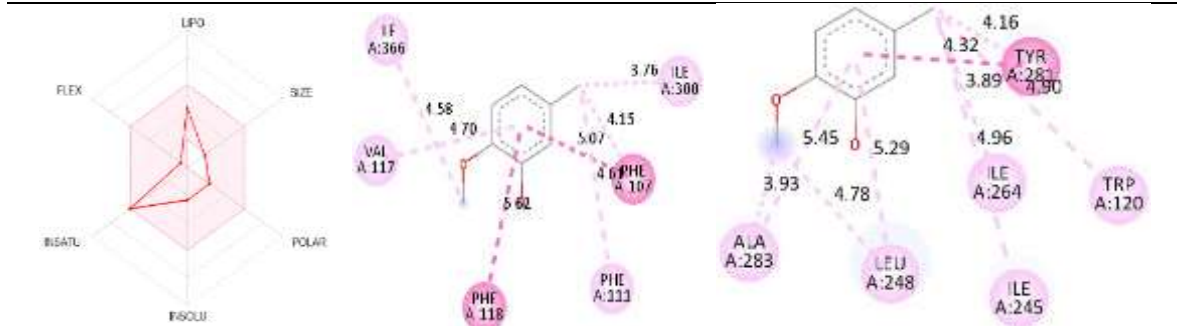
25) 1,4-anhydro-3-desoxy-D-threo-pentitol	49.69	118.13	1.12	-966.20	157.10	0.62	-4.8	-4.2
26) 1,1-di-Coctyl-D-glucitol	121.38	406.60	3.82	-987.37	130.27	2.43	-7.6	-7.1
27) Mannosan	79.15	162.14	1.27	-1008.55	75.18	2.11	-5.1	-5.6
28) β -L-arabinopyranose	90.15	150.13	-0.39	-1007.35	104.65	3.16	-4.9	-5.3
29) D-ribo-hexonic acid-3-deoxy-lactone	86.99	162.14	0.84	-1036.88	3.81	2.64	-5.4	-4.9
30) D-arabino-hexonic acid-3-deoxy- γ -lactone	86.99	162.14	0.84	-1033.51	6.22	3.37	-5.5	-5.5
31) D-pinitol	110.38	194.18	0.55	-995.78	117.69	1.98	-5.3	-5.2
32) Dehydroabietinaldehyde	17.07	284.44	3.30	-858.45	43.43	3.04	-10.0	-9.2
33) Palmitic acid	37.30	256.42	3.85	-1052.8	55.61	5.17	-6.8	-7.4
34) Sandaracopimarinal	17.07	286.46	3.44	-883.65	57.48	3.50	-8.5	-8.7
35) Linoleic acid	37.30	280.45	4.14	-918.52	54.70	5.17	-7.1	-7.9
36) Trans-9-octadecenoic acid	37.30	282.46	4.27	-932.75	54.69	5.15	-7.0	-7.9
37) Pimarol	20.23	288.47	3.59	-884.11	136.05	1.00	-8.5	-8.8
38) Pimaric acid	37.30	302.45	3.07	-912.62	84.63	4.81	-8.3	-8.9
39) Isodextropimaric acid	37.30	302.45	3.07	-895.12	86.57	5.51	-8.1	-8.9
40) Isopimaric acid	37.30	302.45	3.06	-902.94	89.66	5.68	-8.6	-9.2
41) Methyl abieta-8,11,13-trien-18-oate	26.30	314.46	3.85	-855.92	57.43	4.48	-9.0	-8.9
42) Palustric acid	37.30	302.45	3.02	-822.38	54.81	5.56	-9.0	-9.1
43) Levopimaric acid	37.30	302.45	3.03	-830.17	52.14	5.05	-9.0	-9.0
44) Dehydroabietic acid	37.30	300.44	2.76	-863.40	50.58	4.46	-7.9	-9.2
45) Bis(2-ethylhexyl) adipate	52.60	370.57	5.17	-1024.36	56.75	5.77	-7.3	-6.0
46) Abietic acid	37.30	302.45	3.05	-824.82	58.99	5.95	-9.3	-9.3
47) Neoabietic acid	37.30	302.45	3.15	-810.57	68.12	5.03	-8.7	-8.9

Ligand-protein etkileşim diyagramının görüntüsü kenetlenme çalışmaları yapıldıktan sonra Biovia Discovery uygulaması ile elde edilmiştir. Tablo 6'da antifungal hastalıkları inhibe eden aday ligand moleküllerinin 1Z10 ve 3JTK protein kristal yapısı ile etkileşim haritaları ve ligand moleküllerinin SwissADME programı ile elde edilen ilaç olabilme potansiyellerini gösteren kırmızı alan haritaları verilmiştir. Çalışmada kullanılan ligandların SwissADME programında pembe alan dışında yer aldığı gözlenmekle beraber, ligandların büyük çoğunluğu pembe alan içerisinde yer alan ve Lipinski değerleri ile uyumlu olanlar arasından seçilmiştir.

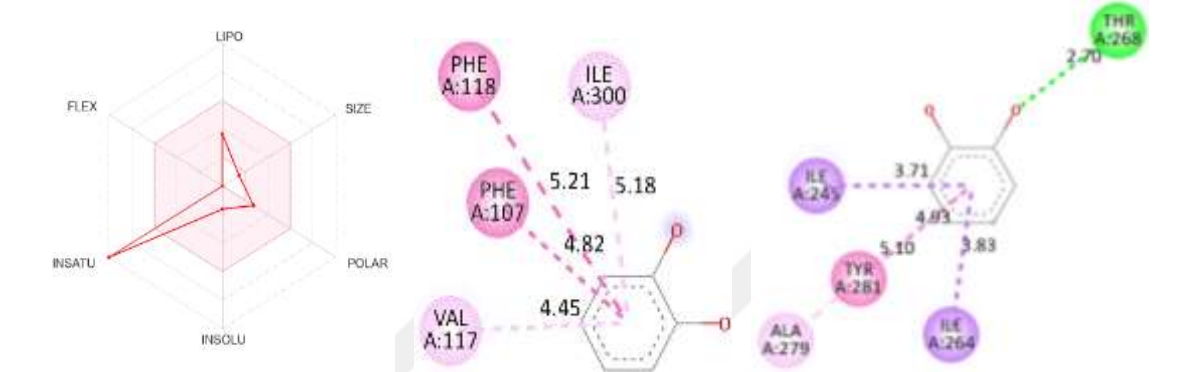
Tablo 6: Katran moleküllerinin SwissAdme görüntüsü ve 1Z10 ve 3JTK pdb kodlu kristal yapıların aminoasitleri ile katran moleküllerinin etkileşimi



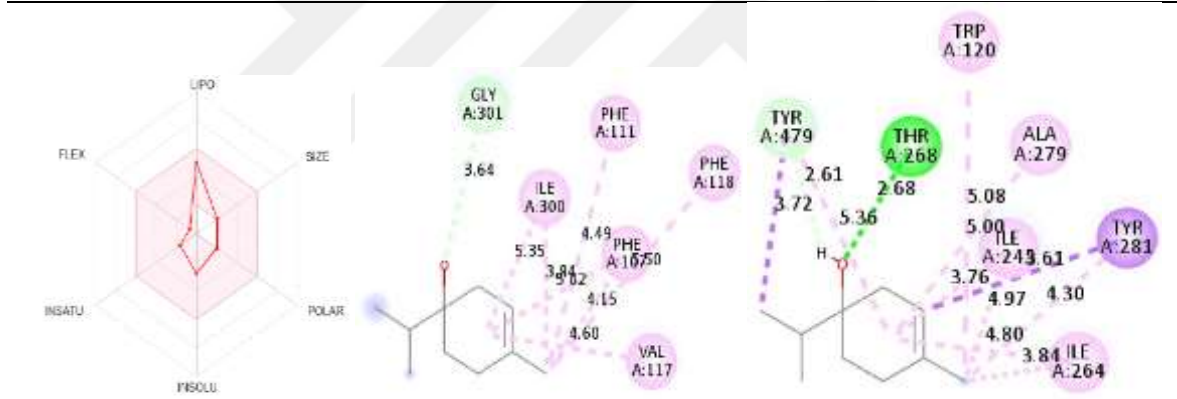
5) succinic acid



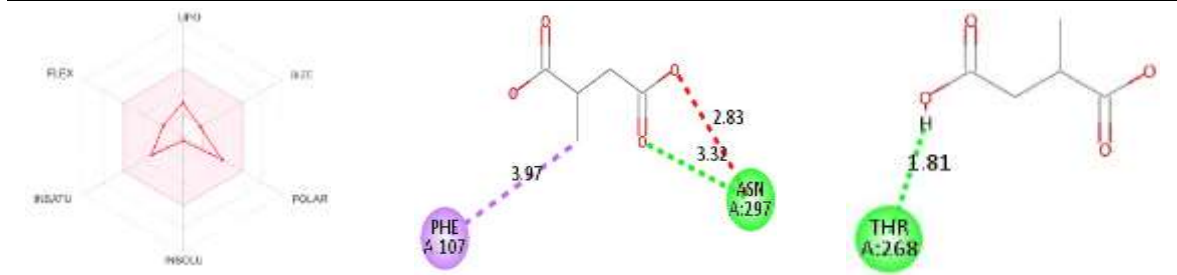
6) 2-methoxy-5-methylphenol



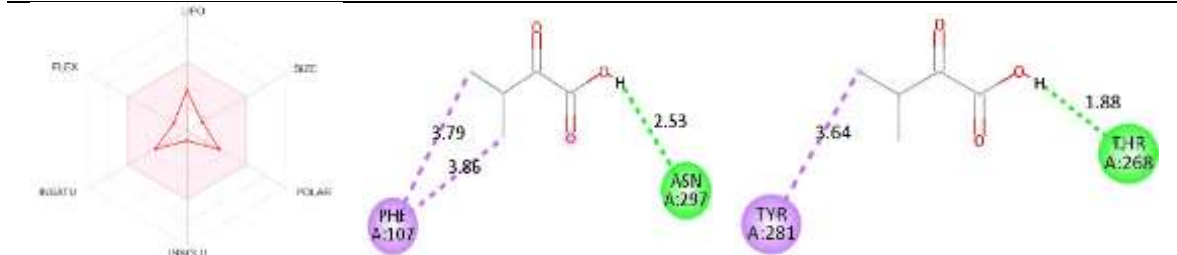
7) 1,2-benzenediol



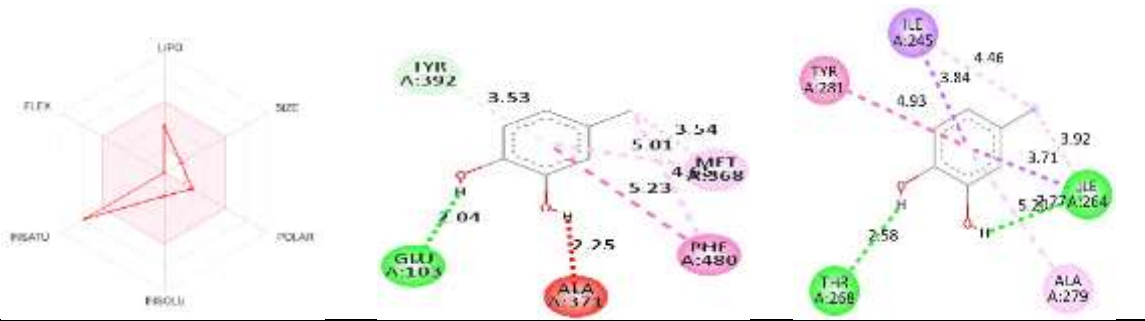
8) terpineol



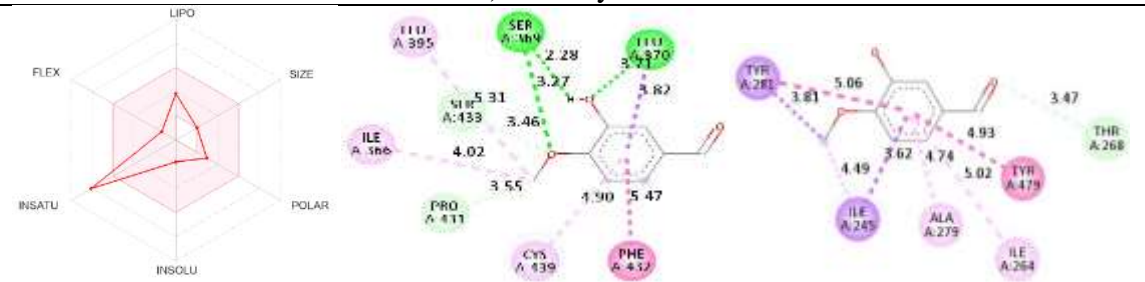
9) 2-methylsuccinic acid



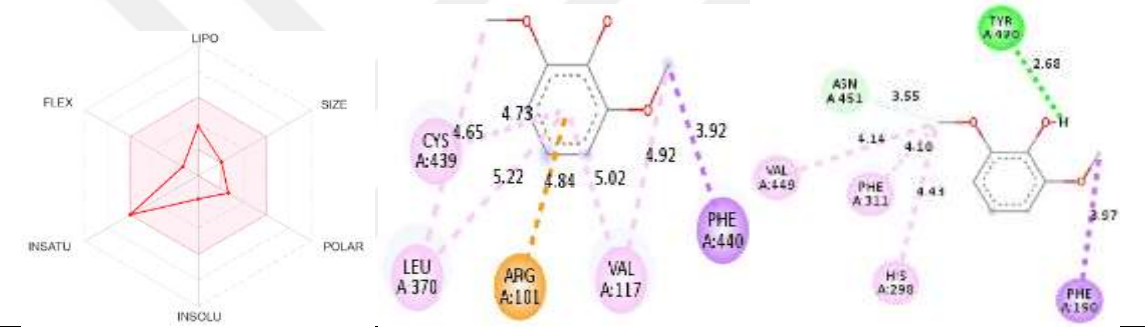
10) 3-methyl-2-oxobutanoic acid



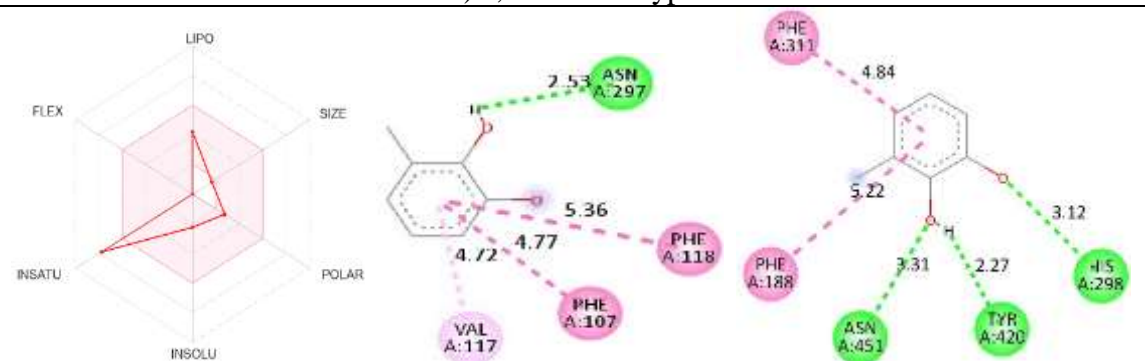
11) 4-methylcatechol



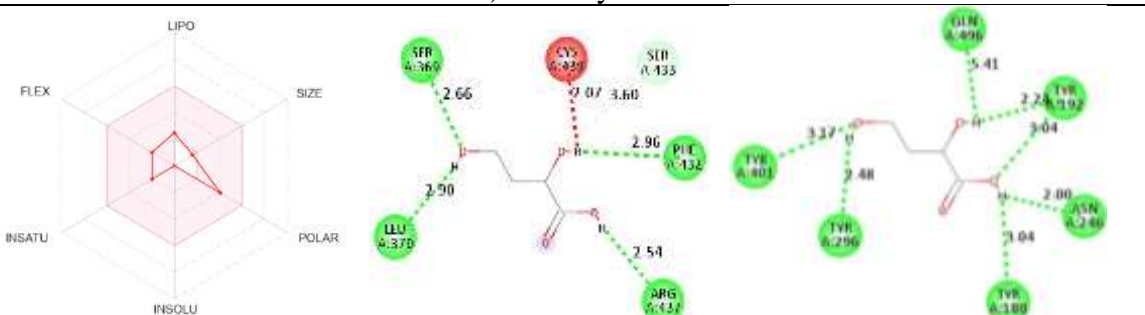
12) vanillin



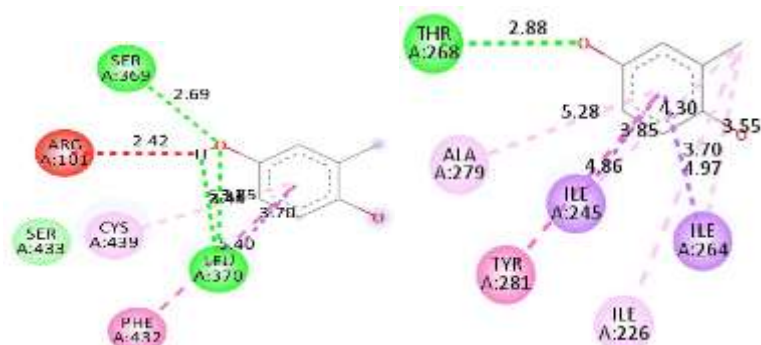
13) 2,6-dimethoxyphenol



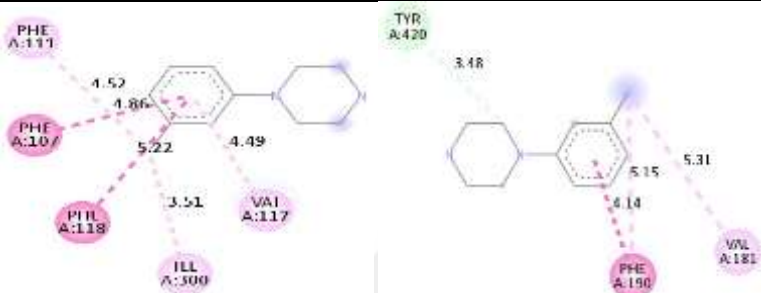
14) 3-methylcatechol



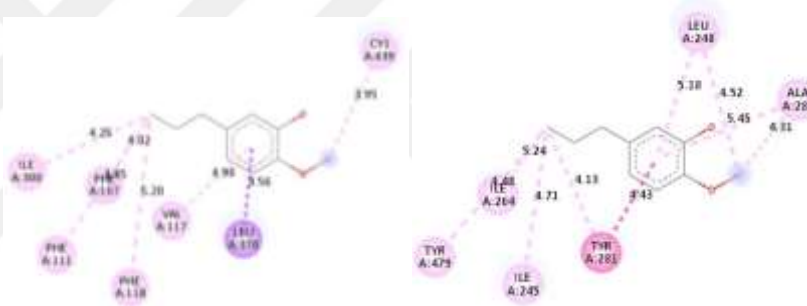
15) 2,4-dihydroxybutanoic acid



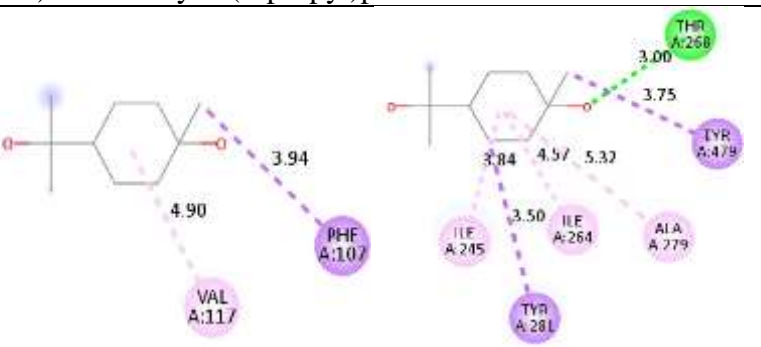
16) methylhydroquinone



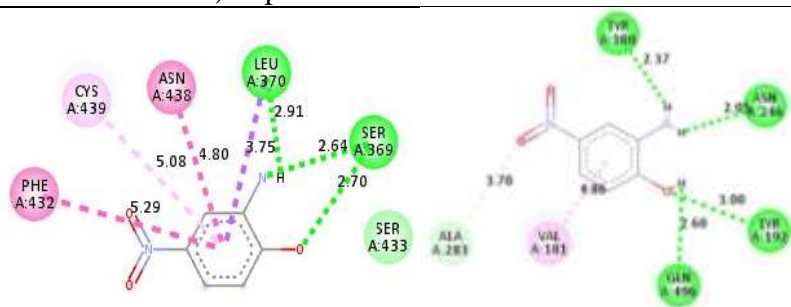
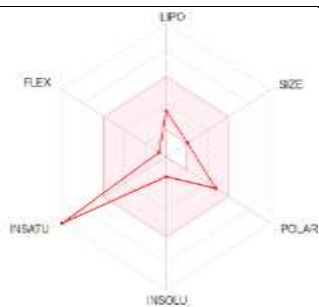
17) 1-(3-chlorophenyl)piperazine



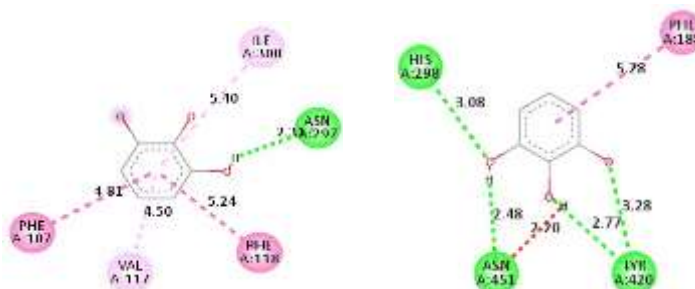
18) 2-methoxy-5-(1-propyl)phenol



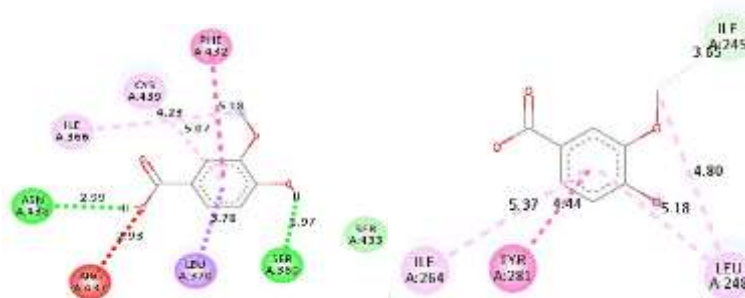
19) terpinol



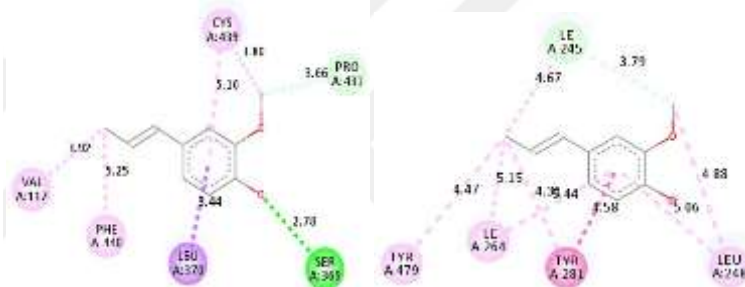
20) 3-amino-4-hydroxynitrobenzene



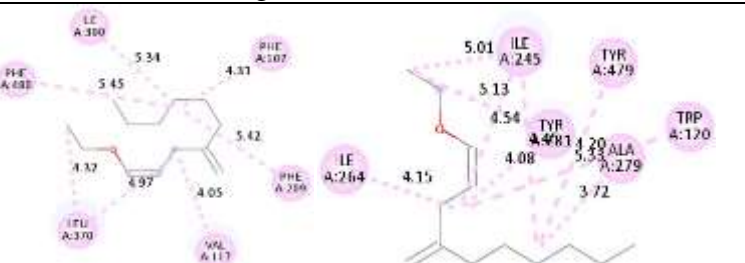
21) pyrogallol



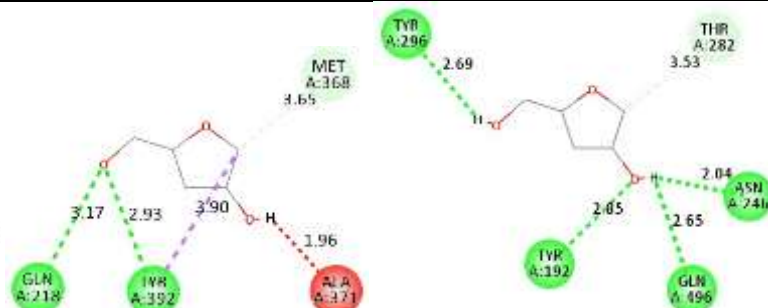
22) vanillic acid



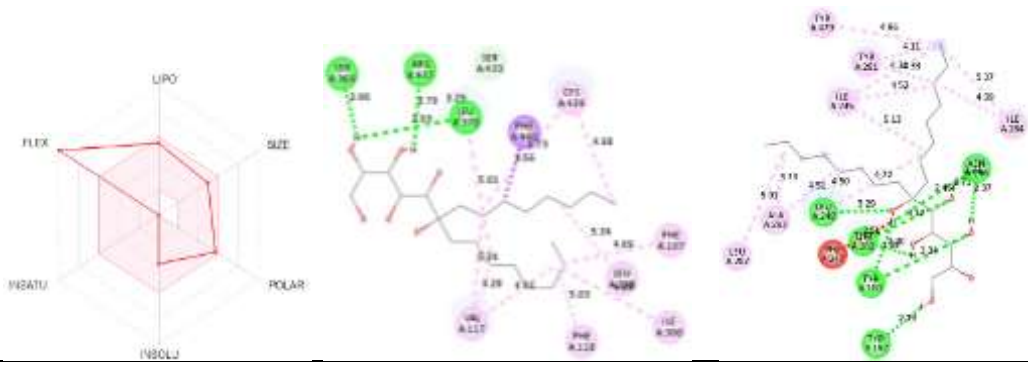
23) isoeugenol



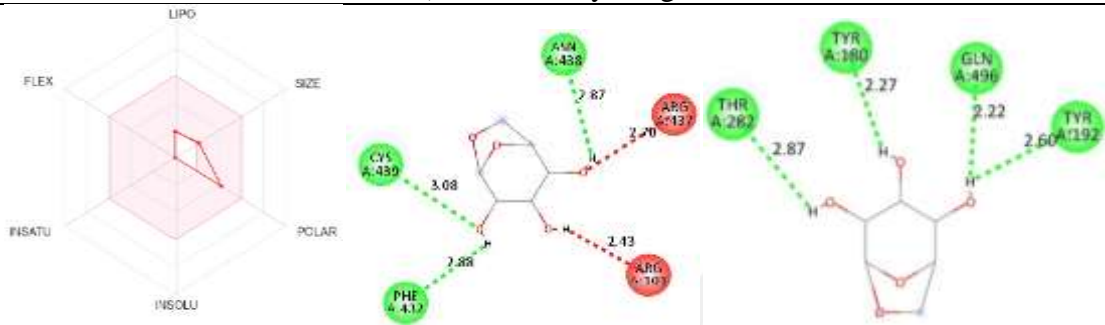
24) 1-ethoxy-4-hexyl-1,4-pentadiene



25) 1,4-anhydro-3-desoxy-D-threo-pentitol



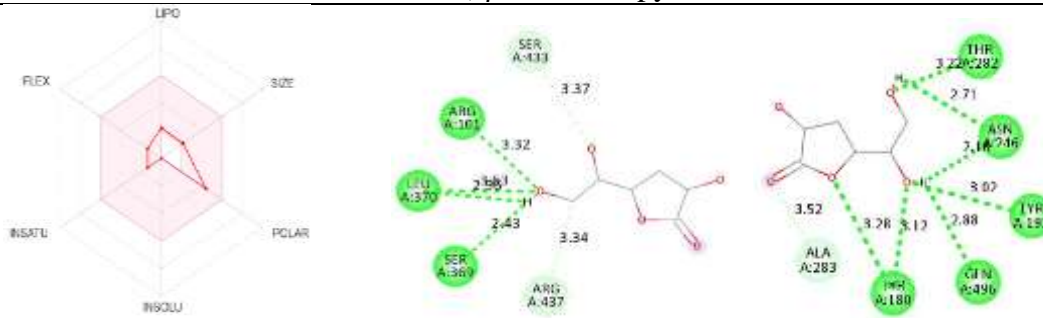
26) 1,1-di-Coctyl-D-glucitol



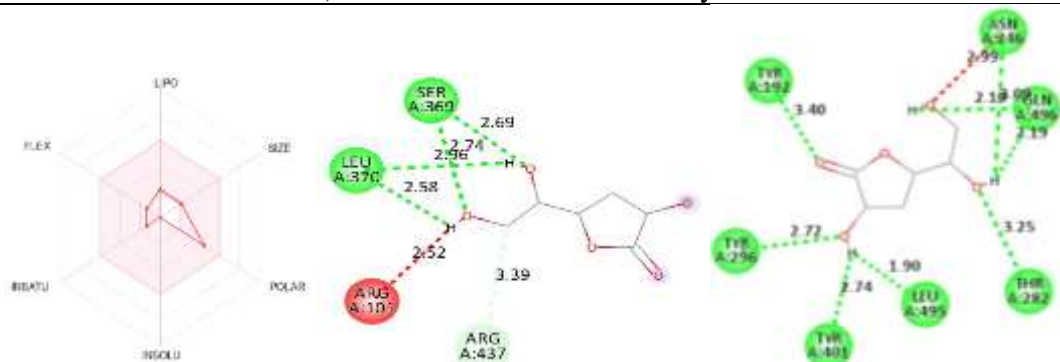
27) mannosan

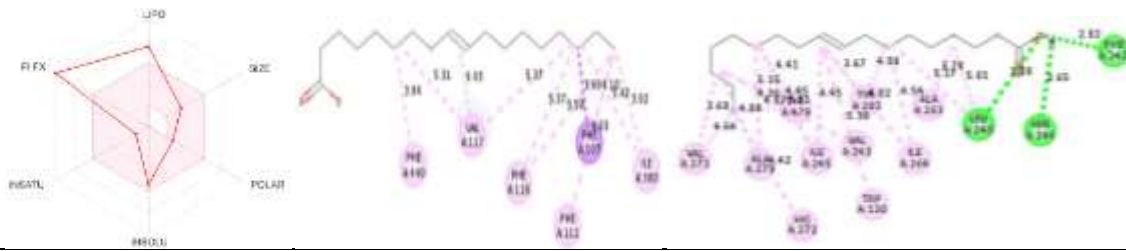


28) β -L-arabinopyranose

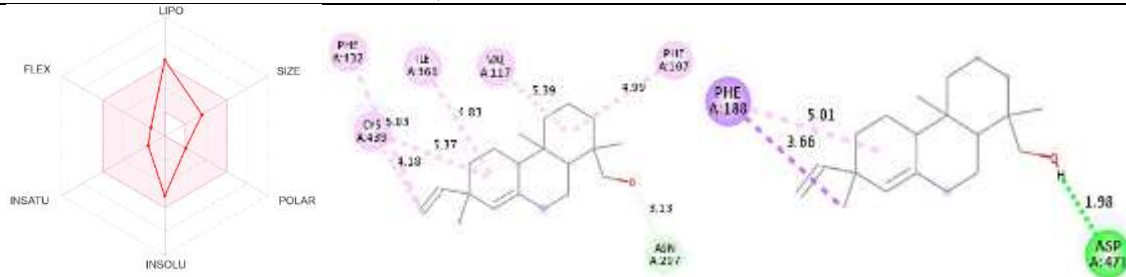


29) D-ribo-hexonic acid-3-deoxy-lactone

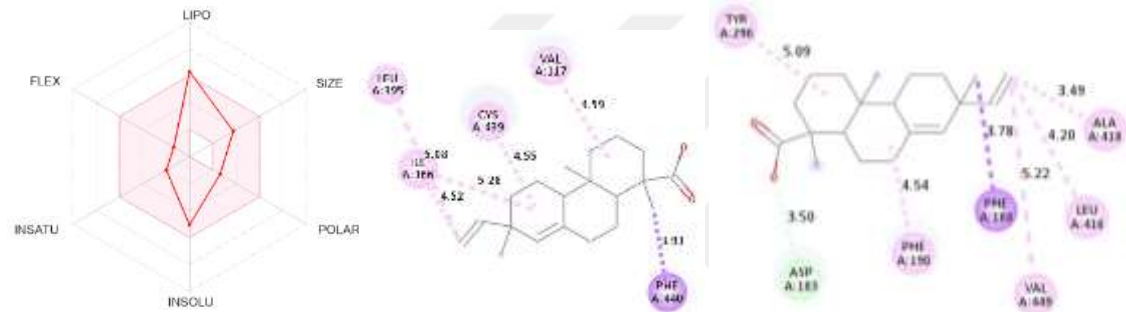




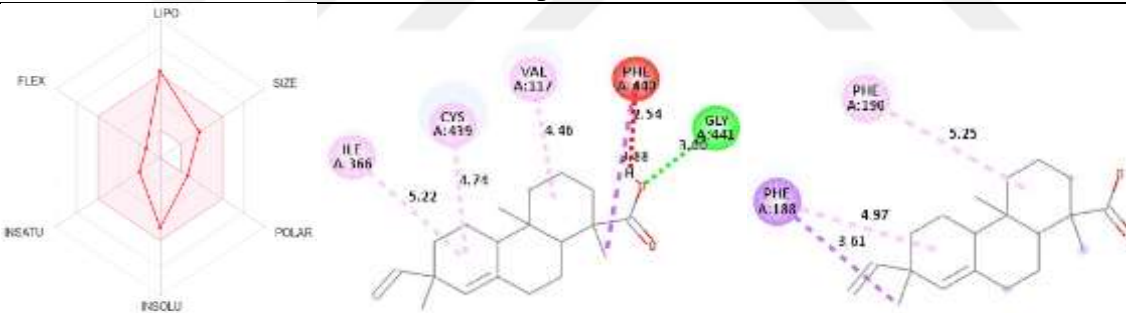
36) trans-9-octadecenoic acid



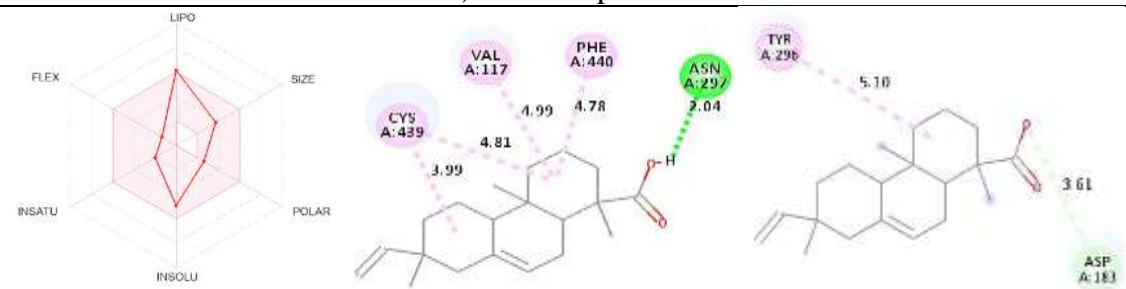
37) pimarol



38) pimaric acid



39) isodextropimaric acid



40) isopimaric acid

Tablo 7.b: 3JTK pdb kodlu kristal yapının ligandlarla etkileşiminin mesafe değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
W120						4.90		5.08							
Y180															3.04
F188														5.22	
F190			4.29										3.97		
Y192															2.24
N232		3.06													
I245				3.86		4.96	3.71	3.76			3.84	3.62			
N246															2.00
L248						4.78									
I264				3.64		3.89	3.83	3.84			2.27	5.02			
T268					2.57		2.70	2.68	1.81	1.88	2.58	3.47			
I276					2.61										
A279							5.10	5.00			5.20	4.74			
Y281				4.86		4.16	4.93	3.61		3.64	4.93	3.81			
A283						3.93									
Y296															2.48
H298													4.43	3.12	
F311	5.05												4.10	4.84	
W374		2.09													
Y401															3.17
S405	2.65		2.83												
Y420	2.47		2.29										2.68	2.27	
V449													4.14		
N451													3.55	3.31	
Y479								2.61				4.93			
Q496															5.41

Tablo 7.b: 3JTK pdb kodlu kristal yapının ligandlarla etkileşiminin mesafe değerleri (dvm)

	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
W120									5.33							
Y180					2.37						1.89	2.27	2.72	3.12		3.13
V181		5.31			4.86											
F188						5.28										
F190		4.14														
Y192					3.00					2.85	2.19	2.60	1.90	3.02	3.40	3.18
I226	4.97															
I245	3.85		4.71	3.84			3.65	3.79	4.45		4.32					
N246					2.05					2.04	2.37			2.16	2.99	2.60
F247											2.51					
L248			4.52				4.80	4.88			3.29					
I264	3.55		5.24	4.57			5.37	5.15	4.15		4.09					
T268	2.88			3.00												
A279	5.28			5.32					3.72							
Y281	4.86		4.13	3.50			4.44	4.31	4.08		4.11					
T282										3.53	2.20	2.87		3.22	3.25	
A283			4.31		3.70						3.79			3.52		3.43
G284																3.14
L287											5.01					
Y296										2.69					2.72	3.77
H298						3.08										
Y401															2.74	
Y420		3.48				2.77										
N451						2.20										
Y479			4.48	3.75				4.47	4.20		4.96					
L495															1.90	
Q496					2.60					2.65	2.22		2.88	2.19	2.31	

Tablo 7.b: 3JTK pdb kodlu kristal yapının ligandlarla etkileşiminin mesafe değerleri (dvm)

	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47
W120				5.24	5.30											
Y180		1.93		2.92												
V181										5.47				4.03		
E182											2.88					
D183						3.50			3.61							
F188					3.66	3.78	3.61			3.77	3.57	4.78	3.72	4.85		5.43
F190						4.54	5.25						5.71	5.07		

Tablo 8: R² değerleri

Pdb Id	Parametre	R²
1Z10	logP	0.836
	M _a	0.831
3JTK	logP	0.811
	M _a	0.811



5.TARTIŞMA

Bu çalışmada antifungal tedavide enzimlerin aktivitesini inhibe edebilecek katran yapısına ait potansiyel yeni aday moleküllerin hesaplamalı olarak incelemesi yapılmıştır. Elde edilen bağlanma enerjileri ve hesaplanan diğer fizikokimyasal parametreler Tablo 5'te, aminoasitlerle bağlanma bölgelerinin uzunlukları Tablo 7'da ayrıntılı olarak verilmiştir. Hesaplanan fizikokimyasal parametreler ile moleküllerin bağlanma enerjileri arasında korelasyon kurabilmek için lineer regresyon analizleri yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda elde edilen korelasyon değerleri Tablo 8'de verilmiştir. İncelemesi yapılan katran aktiflerinin anlamlı karşılaştırmasını yapabilmek amacıyla piyasada kullanılan flusitozin ve flukonazol ilaç etken maddelerinin fizikokimyasal parametre değerleri ve hesaplamaları da analiz sonuçlarına dahil edilmiştir. Buna bağlı olarak flusitozinin 1Z10 pdb kodlu kristal yapısına bağlanma enerjisi $-4.8 \text{ kkal.mol}^{-1}$, 3JTK pdb kodlu kristal yapısına bağlanma enerjisi $-4.9 \text{ kkal.mol}^{-1}$ bulunmuştur. Flukonazolün 1Z10 pdb kodlu kristal yapısına bağlanma enerjisi $-7.7 \text{ kkal.mol}^{-1}$, 3JTK pdb kodlu kristal yapısına bağlanma enerjisi $-7.7 \text{ kkal.mol}^{-1}$ bulunmuştur. Ligand molekülleri ile kenetleme sonucu elde edilmiş afinite değerlerinin $\log P$ ve M_A parametrelerine karşı elde edilen lineer regresyon sonuçları yukarıda Tablo 8'de verilmiştir. Lineer regresyon hesaplamaları yapılırken çalışılan 47 ligandın bazıları ortak korelasyon göstermediği için tablo dışı bırakılmıştır. Seçilen parametreler için ortak korelasyon gösteren ligandların belirlenmesi hedeflenen protein yapısı için aday moleküllerin saptanmasında kritik role sahiptir. Yapılan regresyon analizleri sonucunda moleküllerin hesaplanan fizikokimyasal parametrelerinin; $-5.12 \leq \log P \leq 5.17$, $0.00 \leq \mu \leq 6.93$, $9.23 \leq A \leq 121.38$, $118 \leq M_A \leq 132.115$ aralığında değiştiği gözlemlenmiştir. Yapılan tüm hesaplamalara göre seçilen parametrelere göre en iyi korelasyonları veren ve incelenen TPSA, $\log P$ ve M_A parametrelerinden Lipinski kurallarına uygun olan ligandlar antifungal aday etken molekülleri olarak belirlenmiştir. Belirlenen katranın aday moleküllerinin antifungal ilaç moleküllerine karşı hazırlanan afinite fark tablosu Tablo 9.a ve Tablo 9.b'e verilmiştir.

Tablo 9.a: 1Z10 pdb kodlu kristal yapının afinite fark tablosu

Katran aday molekülleri	Katran BE(1Z10)	Antifungal İlaç	Antifungalİlaç BE	Afinite Farkı
Dehydroabietinaldehyde	-9.2	Flusitozin	-4.8	30-25000
Sandaracopimarinal	-8.7	Flukonazol	-7.7	10-8000
Linoleic acid	-7.9			1-1250
Trans-9-octadecenoic acid	-7.9			1-1250
Pimarol	-8.8			12-10000
Pimaric acid	-8.9			16-12500
Isodextropimaric acid	-8.9			16-12500
Isopimaric acid	-9.2			30-25000
Methyl abieta-8,11,13-trien-18-oate	-8.9			16-12500
Palustric acid	-9.1			25-20000
Levopimaric acid	-9.0			20-16000
Dehydroabietic acid	-9.2			30-25000
Abietic acid	-9.3			40-31600
Neoabietic acid	-8.9			16-12500

1Z10 yapısının en düşük afinite farkı olan ligandın ticari fungusitlere göre 1-1250 kat, en yüksek afinite gösteren de ise 30-25000 kat daha yüksek bir bağlanma enerjisinin olduğu belirlenmiştir.

Tablo 9.b: 3JTK pdb kodlu kristal yapının afinite fark tablosu

Katran aday molekülleri	Katran BE(3JTK)	Antifungal İlaç	Antifungal İlaç BE	Afinite Farkı
Dehydroabietinaldehyde	-10.0	Flusitozin	-4.8	200-160000
Sandaracopimarinal	-8.5	Flukonazol	-7.7	6-5000
Pimarol	-8.5			6-5000
Pimaric acid	-8.3			5-3150
Isodextropimaric acid	-8.1			2-2000
Isopimaric acid	-8.6			8-6300
Methyl abieta-8,11,13-trien-18-oate	-9.0			20-16000
Palustric acid	-9.0			20-16000
Levopimaric acid	-9.0			20-16000
Dehydroabietic acid	-7.9			1-1250
Abietic acid	-9.3			50-31500
Neoabietic acid	-8.7			10-8000

3JTK yapısının en düşük afinite farkı olan ligandın ticari fungusitlere göre 1-1250 kat, en yüksek afinite gösteren de ise 200-160000 kat daha yüksek bir bağlanma hesaplanmıştır.

Tablo 7a/b'da verilen katran etken moleküllerinin hedef proteinlerinin aktif bölgelerinde bulunan amino asitler ile etkileşim türleri değerlendirildiğinde 1Z10 yapısı için kritik aminoasitlerin Phe107, Val117, Ile366, Leu370, Cys439 olduğu, 3JTK yapısı için ise kritik amino asit Phe188 olarak belirlenmiştir.

Patojenik mantarların antifungal ilaçlara geliştirmiş oldukları direnç mekanizmaları ve kimyasal ilaçların insanların vücudunda neden oldukları yan etkiler sebebiyle yeni antifungal etken moleküllerinin belirlenmesi bir ihtiyaç haline gelmiştir. Yapılan tez çalışmasında, katranın gaz kromatografisi ile tespit edilen etken moleküllerinin antifungal etkisi sitokrom P450 ve N-miristoyiltransferaz enzim inhibisyonu moleküler kenetlenme yöntemi ile analiz edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda ise Lipinski parametrelerinden geçmiş olan ve ilgili enzim mekanizmasında kimyasal ilaç moleküllerinden daha iyi inhibisyon potansiyeline sahip etken moleküllerin tespiti gerçekleştirilmiştir.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmada kullanılan 1Z10 ve 3JTKpdb kodlu yapıların antifungal tedavide mikrozomal P450 ve N-miristoyiltransferaz enzimleri ile çam katranından elde edilen 47 molekülün kenetlenmesi gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak ise ortaya çıkan bağlanma enerjileri -4 ile -10 kkal/mol aralığında değer verdiği görülmüştür. Piyasada kullanılan flusitozinin afinite değeri 1Z10 ve 3JTK kodlu yapıları için sırasıyla -4.8 ve -4.9kkal/mol, flukonazol için elde edilen afinite değerleri ise 1Z10 ve 3JTK için -7.7kkal/mol olarak bulunmuştur. Buda bazı ligand moleküllerinin piyasadaki etken maddelere kıyasla daha kararlı yapıya sahip olduğunu, seçilen proteinler ile daha iyi bağlanabileceğini düşündürmektedir. Hesaplan verilerle hesaplanan korelasyonun değerinin iyi olması yapılan çalışmanın verimliliğini de göstermektedir. P450 inhibisyonu için sandaracopimarinal, pimarol, pimaric acid, isodextropimaric acid, isopimaric acid, methyl abieta-8,11,13-trien-18-oate, palustric acid, levopimaric acid, abietic acid, neoabietic acid; N-miristoyiltransferaz inhibisyonu için ise dehydroabietinaldehyde, sandaracopimarinal, pimarol, pimaric acid, isodextropimaric acid, isopimaric acid, methyl abieta-8,11,13-trien-18-oate, palustric acid, levopimaric acid, dehydroabietic acid, abietic acid, neoabietic acid olduğu bulunmuştur.

KAYNAKLAR

Çelik İ. N., Arslan F. K., Tunç R., Yıldız İ. (2021) İlaç Keşfi ve Geliştirilmesinde Yapay Zekâ. Ankara Ecz. Fak. Derg, 45(2): 400-427.

<https://bilimsanatkurullari.hacettepe.edu.tr/201218/ErhanPalaska.pdf>

https://indico.truba.gov.tr/event/37/contributions/345/attachments/82/198/ilke_ugur_marion.pdf

<https://www.ortaakarsu.net/?p=8430>

<https://avesis.istanbul.edu.tr/resume/downloadfile/capang?key=e360f194-b875-453c-bd9a-a0c4b42cb754>

<https://avesis.istanbul.edu.tr/resume/downloadfile/capang?key=e360f194-b875-453c-bd9a-a0c4b42cb754>

https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/103670/mod_resource/content/0/Antifungal-2019.pdf

<https://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2012/02/88201117131-foAu6JEoDV1K.pdf>

https://megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller/Mantar%20ve%20Parazit%20Hastal%C4%B1klar%C4%B1.pdf

<https://npistanbul.com/mantar-hastaligi-nedir-ve-nasil-gecer>

<https://cdn.istanbul.edu.tr/FileHandler2.ashx?f=hv-antifungal-ilaclar.pdf>

<https://avys.omu.edu.tr/storage/app/public/abirinci/119263/8.%20Ders%20-%20Antifungal%20ila%C3%A7lar.pdf>

Moult J. A decade of CASP: progress, bottle necks and prognosis in protein structure prediction. Curr Opin Struct Biol. 2005;15(3):285–9.

https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/67851/mod_resource/content/0/Biyotransformasyon%20I.pdf

Özerol Elif (1996) Sitokrom P450 Monooksijenaz Enzim Sistemleri. Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi, 3(3).

Spasov D. S., Atanasova M., Doytchinova I. (2022) Novel Hits for N-Myristoyltransferase Inhibition Discovered by Docking-Based Screening. *Molecules* 2022, 27, 5478.

Selvakumar P., Kumar S., Dimmock J. R., Sharma R. K. (2011) NMT1 (N-myristoyltransferase 1). *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol*, 15(7): 570–575.

Tintner J., Leibrecht F., Pfeifer C., Konuk M., Srebotnik E., Woitsch J. (2021) Pitch oil production – An intangible cultural heritage in Central Europe. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 159, 105309.

Godamudunage M. P., Grech A. M., Scott E. E. (2018) Yetişkin Sitokrom P450 3A4 ile Yenidoğan Sitokrom P450 3A7 ile Antifungal Azol Etkileşimlerinin Karşılaştırılması. *Drug Metabolism and Disposition*, 46 (9) 1329-1337.

<https://web.archive.org/web/20161220231247/https://www.drugs.com/monograph/flucytosine.html>

<https://web.archive.org/web/20161220231218/https://www.drugs.com/monograph/fluconazole.html>

EKLER

Ek 1.

