

**T.C.**  
**GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YENİ ANTI-İNFLAMATUAR İLAÇLARIN TASARIMINA**  
**YÖNELİK, COX-1/COX-2 SELEKTİF VE COX-2/5-LOX DUAL**  
**İNHİBİTÖRLERİNİN HESAPLAMALI YÖNTEMLERLE**  
**İNCELENMESİ**

**FATMA AKSAKAL**  
**DOKTORA TEZİ**  
**KİMYA ANABİLİM DALI**

**GEBZE**  
**2015**



## DOKTORA JÜRİ ONAY FORMU

GTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 24/06/2015 tarih ve 2015/39 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından 22/07/2015 tarihinde tez savunma sınavı yapılan Fatma AKSAKAL'ın tez çalışması Kimya Anabilim Dalında DOKTORA tezi olarak kabul edilmiştir.

### JÜRİ

ÜYE

(TEZ DANIŞMANI) : Prof. Dr. Anatoli DİMOGLO

ÜYE

: Prof. Dr. Aziz TANRISEVEN

ÜYE

: Prof. Dr. Elşen VELİ

ÜYE

: Doç. Dr. Savaş BERBER

ÜYE

: Doç. Dr. Taner ARSLAN

### ONAY

Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun

...../...../..... tarih ve ...../..... sayılı kararı.

İMZA/MÜHÜR

## ÖZET

Siklooksijenaz-2/5-lipoksijenaz (COX-2/5-LOX) dual inhibisyonu ve COX-2 selektif inhibisyonu üzerine etki eden yapısal ve elektronik faktörler; sinir ağları ile birleştirilmiş elektronik-topolojik metot (ETM-NN), moleküler kenetlenme ve yoğunluk fonksiyoneli teorisi (DFT) ile incelenmiştir. COX-1/COX-2 inhibitör modellemelerini içeren ilk bölümde, farklı moleküler yapıya sahip 209 bileşik COX-2 inhibisyon selektivitelerine göre sınıflandırılmıştır. İkinci bölümde ise COX-2/5-LOX dual inhibitörlerini içeren 160 bileşik, dual inhibisyon aktivitelerine göre gruplara ayrılmıştır. Literatüre dayalı olarak oluşturulan bu steroidal olmayan anti-inflamatuar (NSAİ) bileşik serileri için, üç aşamalı bir çalışma planı yürütülmüştür. İlk aşamada, ETM ile bileşiklerin yapısındaki farmakofor ve anti-farmakoforlar tespit edilmiş ve ETM-NN yaklaşımına dayalı olarak aktivite tahmin modelleri geliştirilmiştir. İkinci aşamada, moleküler kenetlenme yöntemiyle inhibitörlerin enzimlere bağlanma afiniteleri ve konformasyonları elde edilmiş; bağlanmada etkili olan kovalent olmayan etkileşimler incelenmiştir. Son aşamada, bu etkileşimler Sınır Moleküler Orbital (FMO) analizleriyle elektron yoğunluğu dağılımı üzerinden ve Doğal Bağ Orbital (NBO) analizleriyle stabilizasyon enerjileri üzerinden tartışılmıştır.

ETM-NN yaklaşımının uygulanması sonucunda, ilk bölümde incelenen bileşiklerin COX-2 selektivitesini %95; ikinci bölümdeki bileşiklerin COX-2/5-LOX dual inhibisyon aktivitesini ise %93 doğrulukla tespit eden iki prognoz sistemi geliştirilmiştir. Bu sistemlere dayalı olarak, 15 yeni hedef molekül tasarlanmıştır. Enzim-inhibitör bağlanma karakteristikleri, moleküler kenetlenme ve DFT yöntemleriyle elde edilen enerji parametreleri ve moleküler etkileşimler üzerinden incelenmiştir. Geliştirilen prognoz sistemleri, farklı moleküler yapıya sahip çok sayıda potansiyel COX-1,-2/5-LOX inhibitörlerinin hem sentez öncesi tarama, hem de *in silico* tasarım çalışmalarında başarılı bir şekilde kullanılabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Steroidal Olmayan Anti-inflamatuar İlaçlar (NSAIDs), Siklooksijenaz-1 (COX-1)/Siklooksijenaz-2 (COX-2), 5-Lipoksijenaz (5-LOX), Elektronik-Topolojik Metot, Moleküler Kenetlenme, Yoğunluk Fonksiyoneli Teorisi (DFT).

## SUMMARY

Structural and electronic factors influencing dual inhibition of cyclooxygenase-2/5-lipoxygenase (COX-2/5-LOX) and selective inhibition of COX-2 were investigated by using electronic-topological method combined with neural networks (ETM-NN), molecular docking and density functional theory (DFT). In the first part including COX-1/COX-2 inhibitory modelings, structurally diverse set of 209 compounds were classified in accordance with their selectivity for COX-2 inhibition. In the second part, 160 compounds including COX-2/5-LOX dual inhibitors were divided into groups according to their dual inhibitory activity. A three-stage plan of work was carried out for the series of these nonsteroidal anti-inflammatory (NSAI) compounds formed based on the literature. In the first step, pharmacophores and anti-pharmacophores have been determined with the ETM and activity prediction models have been developed with the ETM-NN approach. In the second step, inhibitory binding conformations and affinities to enzymes were obtained and non-covalent interactions which affect binding were investigated with the molecular docking method. Finally, these interactions were discussed with the Frontier Molecular Orbital (FMO) analysis of the electron density distribution and Natural Bond Orbital (NBO) analysis through the stabilization energies.

Two activity prediction systems were developed as the result of the ETM-NN study recognizing COX-2 selectivity of compounds in the first part with 95% accuracy and COX-2/5-LOX dual inhibition activity of compounds in the second part with 93% accuracy. 15 new compounds were designed based on the developed prediction systems. Characteristics of the enzyme-inhibitor binding were investigated over the energy parameters and molecular interactions obtained with the molecular docking and DFT. Thus, these systems can be successfully used for carrying out both *in silico* design of potent COX-1,-2/5-LOX inhibitors and screening of large number of compounds with diverse molecular skeletons before chemical synthesis.

**Key Words: Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAIDs), Cyclooxygenase-1 (COX-1)/Cyclooxygenase-2 (COX-2), 5-Lipoxygenase (5-LOX), Electronic-Topological Method, Molecular Docking, Density Functional Theory (DFT).**

## TEŞEKKÜR

Birlikte alıŐma onuruna eriŐtiĐim, derin bilgi birikimi, hoŐĐörü anlayıŐı ve akademik tecrübeleri ile doktora tezimi yönlendiren saygıdeğer hocam Prof. Dr. Anatoli DİMOGLO'ya;

Tez içerisinde yer alan alıŐmaları 214Z144 No.lu hızlı destek projesi kapsamında destekleyen TÜBİTAK'a;

Tez jürisinde bulunan Sayın Prof. Dr. Aziz TANRISEVEN, Prof. Dr. Elşen VELİ, Doç. Dr. Savaş BERBER ve Doç. Dr. Taner ARSLAN'a, değerli katkılarından ötürü en içten teŐekkürlerimi sunarım.

# İÇİNDEKİLER

	<b><u>Sayfa</u></b>
ÖZET	v
SUMMARY	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
TABLolar DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ	1
1.1. Tezin Amacı, Katkısı ve İçeriği	4
2. KURAMSAL TEMELLER	5
2.1. Enzimlerin Genel Özellikleri ve Sınıflandırılması	5
2.2. Araşidonik Asit Metabolizması	8
2.2.1. Siklooksijenaz Yolağı	9
2.2.2. 5-Lipoksijenaz Yolağı	13
2.3. COX-2/5-LOX Dual İnhibitörler	15
3. KONU ile İLGİLİ ÇALIŞMALAR	21
4. MATERYAL ve YÖNTEM	23
4.1. Materyaller	23
4.1.1. Donanım Kaynakları	23
4.1.2. Kullanılan Yazılımlar	23
4.1.3. Enzimlerin Kristal Yapıları	24
4.2. Yöntemler	27
4.2.1. Elektronik-Topolojik Metot (ETM)	28
4.2.1.1. Sinir Ağlarıyla Birleştirilmiş ETM (ETM/NN)	30
4.2.2. Moleküler Kenetlenme	32
4.2.3. Yoğunluk Fonksiyoneli Teorisi (DFT)	33
4.2.3.1. Hohenberg-Kohn Teoremi	35
4.2.3.2. Yerel Yoğunluk Yaklaşımı	36
4.2.3.3. Yerel Spin Yoğunluk Yaklaşımı	38

4.2.3.4. Polarize Spinli Yoğunluk Fonksiyoneli Teorisi	39
5. BULGULAR ve TARTIŞMA	40
5.1. COX-1/COX-2 İnhibitör Modellemeleri	40
5.1.1. Bileşik Serilerinin Oluşturulması	40
5.1.2. ETM ile Farmakofor ve Anti-farmakofor Analizleri	46
5.1.3. ETM-NN Yaklaşımıyla Geliştirilen Aktivite Tahmin Modelleri	48
5.1.4. Moleküler Kenetlenme Bulguları	50
5.1.5. DFT Yöntemiyle Elektronik Yapı Hesaplamaları	54
5.1.6. Yeni COX-1/COX-2 İnhibitör Tasarımları	57
5.2. COX-2/5-LOX Dual İnhibitör Modellemeleri	58
5.2.1. Bileşik Serilerinin Oluşturulması	58
5.2.2. ETM ile Farmakofor ve Anti-farmakofor Analizleri	63
5.2.3. ETM-NN Yaklaşımıyla Geliştirilen Aktivite Tahmin Modelleri	65
5.2.4. Moleküler Kenetlenme Bulguları	67
5.2.5. DFT Yöntemiyle Elektronik Yapı Hesaplamaları	71
5.2.6. Yeni COX-2/5-LOX Dual İnhibitör Tasarımları	74
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	76
KAYNAKLAR	79
ÖZGEÇMİŞ	97
EKLER	98

# SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler ve</u>	<u>Açıklamalar</u>
<u>Kısaltmalar</u>	
$\alpha_a$	: Yule katsayısı
$\bar{e}$	: Elektron
$E_o$	: Temel hal elektronik enerjisi
$E_c$	: Ortalama tahmin hatası
$E_q$	: İzdüşüm hatası
$F$	: Kuvvet
$\hat{H}$	: Toplam enerji operatörü ( <i>Hamiltonian</i> )
$n$	: Molekülün elektron sayısı
$\rho_o$	: Temel hal elektron yoğunluğu
$P_a$	: İhtimaliyet katsayısı
$\Psi$	: Dalga fonksiyonu
$R$	: Enzimin kristal yapısının çözünürlüğü (resolution)
$R_{ij}$	: $i$ ve $j$ atomları arasındaki mesafe
$S_{ETMC}$	: En büyük moleküler matrisin boyutu
$S_i$	: Aktivite özelliği
$v$	: Potansiyel enerji
$q_i$	: Atomik yük
$W_{ij}$	: Wiberg indisi
2D	: İki Boyutlu
3D-ETM	: Üç Boyutlu Elektronik-Topolojik Metot
5-LOX	: 5-Lipoksijenaz
AA	: Araşidonik Asit
<i>ab initio</i>	: Temel İlkelere Dayalı
Aph	: Anti-farmakofor
ASNN	: İlişkili Sinir Ağları (Associative Neural Network)
B3LYP	: Becke-3-Lee-Yang-Parr
CADD	: Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı (Computer Aided Drug Design)
CoMFA	: Karşılaştırmalı Moleküler Alan Analizi (Comparative Molecular Field Analysis)



COX-1	: Siklooksijenaz-1
COX-2	: Siklooksijenaz-2
CRC	: Kolorektal Kanser
CysLTs	: Sisteinil Lökotrienler
DFT	: Yoğunluk Fonksiyoneli Teorisi (Density Functional Theory)
EC	: Enzim Komisyon Numarası
EET	: Epoksieikosatrienoik Asit
ETM	: Elektronik-Topolojik Metot
ETMC	: Uygunluk Elektronik-Topolojik Matrisi
ETSC	: ETMC Alt Matrisleri
FMO	: Sınır (Frontier) Moleküler Orbital
GB	: GigaByte
GBVI	: Generalized Born Volume Integration
HETE	: Hidroksieikosatetraenoik asit
HF	: Hartree-Fock
HOMO	: En Yüksek Enerjili Dolu Moleküler Orbital (Highest Occupied Molecular Orbital)
HPETE	: Hidroperoksieikosatetraenoik asit
IC <sub>50</sub>	: Yarı inhibisyon konsantrasyonu
KS	: Kohn-Sham
LDA	: Yerel Yoğunluk Yaklaşımı (Local Density Approximation)
LSDA	: Yerel Spin Yoğunluk Yaklaşımı (Local Spin Density Approximation)
LT	: Lökotrien
LUMO	: En Düşük Enerjili Boş Moleküler Orbital (Lowest Unoccupied Molecular Orbital)
LXs	: Lipoksinler
MM	: Moleküler Mekanikler
MOE	: Molecular Operating Environment
NAD <sup>+</sup>	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NN	: Sinir Ağları (Neural Networks)
NBO	: Doğal Bağ Orbitali (Natural Bond Orbital)
NSAID	: Steroidal Olmayan Anti-inflamatuar İlaç (Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug)

PASS	: Maddelerin Aktivite Spektrumlarının Tahmini (Prediction of Activity Spectra for Substances)
PDB	: Protein Data Bankası
PG	: Prostaglandin
PGI <sub>2</sub>	: Prostasiklin
Ph	: Farmakofor
PL	: Fosfolipaz
PTGS	: Prostaglandin Endoperoksit Sentaz
QSAR	: Kantitatif Yapı-Aktivite İlişkileri (Quantitative Structure-Activity Relationships)
RAM	Rastgele Erişimli Bellek (Random Access Memory)
RMSD	: Standart Sapmanın Kare Kökü (Root Mean Square Deviation)
SAR	: Yapı-Aktivite İlişkisi (Structure-Activity Relationship)
SI	: Selektivite İndeksi
SOM	: Kendiliğinden Organize Olan Ağlar (Self-Organizing Maps)
TXA <sub>2</sub>	: Tromboksan A2
VWN	: Vosko, Wilk ve Nusair
WD	: Ağırlık Tanımlayıcısı (Weight Descriptor)
XC	: Değiş-tokuş-Korelasyon (Exchange-Correlation)

# ŞEKİLLER DİZİNİ

<b><u>Sekil No:</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
1.1: Yeni ilaç tasarımı ve geliştirilmesini içeren işlem basamakları.	2
2.1: Enzimin substrata bağlanma modelleri.	6
2.2: Araşidonik asitten eikosanoidlerin biyosentezi.	8
2.3: Siklooksijenaz enzimi tarafından katalizlenen reaksiyon.	10
2.4: Siklooksijenaz yolağından sentezlenen eikosanoidler.	10
2.5: COX-1 ve COX-2 homodimerlerinin yapısal bölgeleri ve katalitik siklooksijenaz bölgesinde bulunan amino asitler.	12
2.6: Lipoksijenaz yolağından sentezlenen lökotrienler.	14
2.7: İnsan 5-LOX enziminin aktif bölgesinin şematik gösterimi.	15
2.8: İndometazinden türetilen dual inhibitörler.	16
2.9: Fenamat türevi dual inhibitörler.	17
2.10: Di-tert-bütülfenoller sınıfına ait dual inhibitörlerin genel yapıları.	17
2.11: Pirazol türevi dual inhibitörler.	18
2.12: Pirolimidazol türevi dual inhibitörler.	18
2.13: Tiyofen türevi dual inhibitörler.	19
2.14: Pirolizin türevi dual inhibitörler.	19
2.15: Pirazolinik türevi dual inhibitörler.	19
2.16: Hidrazon türevi dual inhibitörler.	20
2.17: Güçlü COX-2/5-LOX inhibitör etkinliği sağlayan iki farmakofor grubun birleşimi.	20
4.1: MOE yazılımı ile görüntülenen moleküller arası etkileşim türleri.	23
4.2: COX-1 ve COX-2 enzimlerinin kristal yapısında bulunan inhibitörler ve aktif bölge amino asitleri.	24
4.3: COX-1 ve COX-2 enzimlerinin dizi hizalaması.	25
4.4: Üst üste çakıştırılmış olan COX-1 (3N8X) ve COX-2 (1CX2) enzimlerinin sekonder yapılarının gösterimi.	26
4.5: COX-2 ve 5-LOX enzimlerinin kristal yapısında bulunan ligandlar ve aktif bölge amino asitleri.	26
4.6: ETM-NN, kenetlenme ve DFT yöntemleri ile veri analiz şeması.	27
4.7: Örnek bir ETMC.	28

4.8:	ETM-NN data oluşumu ve ASNN hesaplamaları.	31
4.9:	ETM-NN veri analizinin işlem basamakları.	32
5.1:	İncelenen COX-1/COX-2 inhibitörlerinin yapı iskeletleri.	41
5.2:	Selektif bileşiklerde bulunan Ph1 ve Ph2 farmakoforlarının sırasıyla a) 6, b) 7 No.lu kontrol bileşikleri üzerinde gösterimi.	46
5.3:	Non-selektif bileşiklerde bulunan APh1 ve APh2 anti-farmakoforlarının sırasıyla a) 80, b) 38 No.lu kontrol bileşikleri üzerinde gösterimi.	47
5.4:	Kontrol bileşikleriyle COX-1 ve COX-2 amino asit rezidüleri arasındaki etkileşimlerin iki boyutlu gösterimi.	51
5.5:	Kontrol bileşiklerinin COX-1 enzimine kenetlenme pozları.	52
5.6:	Kontrol bileşiklerinin COX-2 enzimine kenetlenme pozları.	53
5.7:	COX-1 aktif bölgesiyle kontrol bileşikleri için elde edilen HOMO/LUMO sınır orbitalleri üzerindeki elektron yoğunluğu dağılımları.	55
5.8:	COX-2 aktif bölgesiyle kontrol bileşikleri için elde edilen HOMO/LUMO sınır orbitalleri üzerindeki elektron yoğunluğu dağılımları.	56
5.9:	İncelenen COX-2/5-LOX inhibitörlerinin yapı iskeletleri.	59
5.10:	Aktif bileşiklerde bulunan Ph1 ve Ph2 farmakoforlarının sırasıyla a) 44, b) 16 No.lu kontrol bileşikleri üzerinde gösterimi.	63
5.11:	İnaktif bileşiklerde bulunan APh1 ve APh2 anti-farmakoforlarının sırasıyla a) 69, b) 77 No.lu kontrol bileşikleri üzerinde gösterimi.	64
5.12:	Kontrol bileşikleriyle COX-2 ve 5-LOX amino asit rezidüleri arasındaki etkileşimlerin iki boyutlu gösterimi.	68
5.13:	Kontrol bileşiklerinin COX-2 enzimine kenetlenme pozları.	69
5.14:	Kontrol bileşiklerinin 5-LOX enzimine kenetlenme pozları.	70
5.15:	COX-2 aktif bölgesiyle kontrol bileşikleri için elde edilen HOMO/LUMO sınır orbitalleri üzerindeki elektron yoğunluğu dağılımları.	72
5.16:	5-LOX/inhibitör kompleksleri için elde edilen HOMO/LUMO sınır orbitalleri üzerindeki elektron yoğunluğu dağılımları.	73
5.17:	Tasarlanan potansiyel COX-2/5-LOX dual inhibitörlerinin 2D yapıları ve enerji değerleri.	75

# TABLolar DİZİNİ

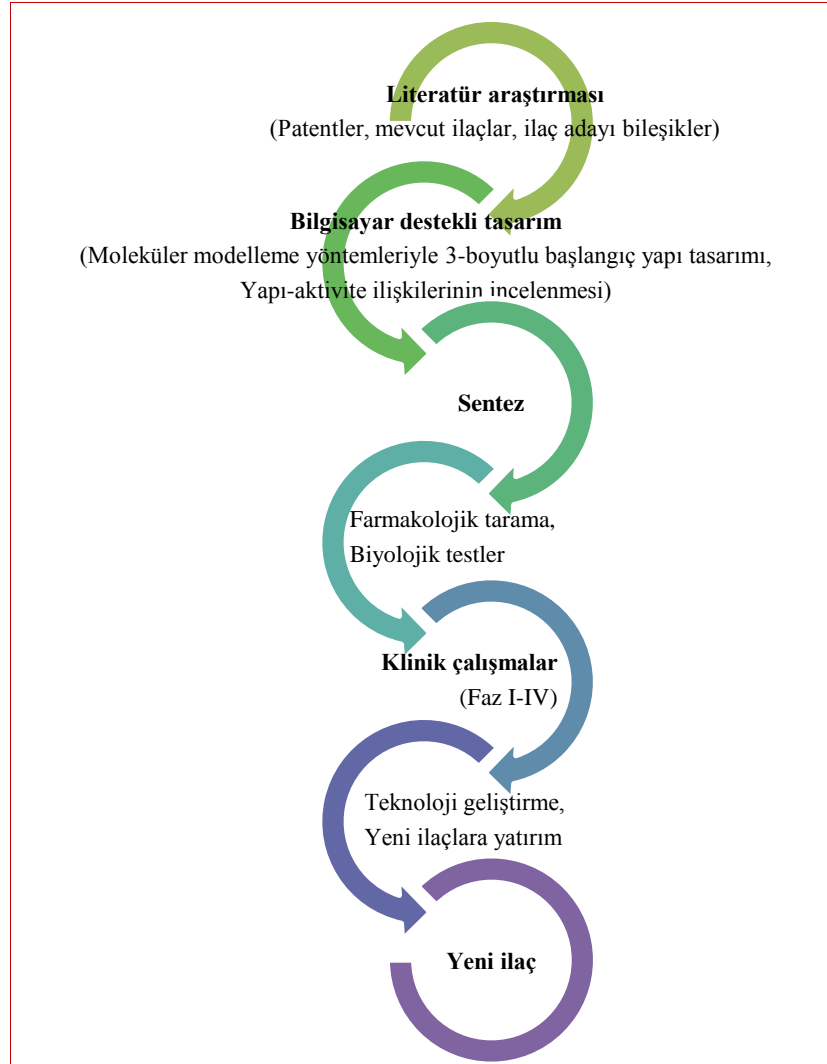
<b><u>Tablo No:</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
2.1: Bazı yaygın koenzimler, bunların vitamin öncülleri ve yetersiz alınmaları sonucu ortaya çıkabilen hastalıklar.	6
2.2: Uluslararası enzim sınıflandırılması.	7
5.1: Sınıflandırılan bileşiklerin sübstitüentleri ( $R_i$ ) ve selektiviteleri.	42
5.2: ETM ile hesaplanan bazı farmakofor ( $Ph_i$ ) ve anti-farmakoforlara ( $APh_i$ ) ait istatistiksel parametreler.	48
5.3: COX-1/COX-2 inhibitörleri için çapraz onaylama ( <i>cross-validation</i> ) ile hesaplanan $q^2$ katsayıları.	49
5.4: COX-1/COX-2 inhibitörlerinin fragment veri setlerine dayalı olarak çapraz onaylama ( <i>cross-validation</i> ) ile hesaplanan $q^2$ katsayıları.	49
5.5: Kontrol bileşikleri için elde edilen skorlama (S) ve hidrasyon serbest enerji (MM/GBVI) değerleri.	53
5.6: Enzim-inhibitör kompleksleri için elde edilen $E(2)$ stabilizasyon enerjileri.	57
5.7: COX-2 selektivitelerine göre tasarlanan yeni bileşikler.	58
5.8: Sınıflandırılan bileşiklerin sübstitüentleri ( $R_i$ ) ve aktiflikleri.	60
5.9: ETM ile hesaplanan bazı farmakofor ( $Ph_i$ ) ve anti-farmakoforlara ( $APh_i$ ) ait istatistiksel parametreler.	65
5.10: COX-2/5-LOX inhibitörleri için çapraz onaylama ( <i>cross-validation</i> ) ile hesaplanan $q^2$ katsayıları.	66
5.11: COX-2/5-LOX inhibitörlerinin fragment veri setlerine dayalı olarak çapraz onaylama ( <i>cross-validation</i> ) ile hesaplanan $q^2$ katsayıları.	66
5.12: Kontrol bileşikleri için elde edilen skorlama (S) ve hidrasyon serbest enerji (MM/GBVI) değerleri.	71
5.13: Enzim-inhibitör kompleksleri için elde edilen $E(2)$ stabilizasyon enerjileri.	74

# 1. GİRİŞ

Hekimler uzun yıllardır hastalarını farklı farmakoterapötik etkileri olan ilaçları birbirleri ile kombine ederek tedavi etmektedirler. İlaç kombinasyonlarına kıyasla, çoklu hedeflere etki eden ligandlar, daha üstün terapötik etki ve tercih edilebilir yan etki profili sağlamaktadır. İkili (dual) inhibisyon etkili moleküller üzerine yapılan araştırmalar, bir dizi farmakoforun rasyonel tasarımı ya da bilinen ilaçların bileşik kütüphanelerinin taranması ile başlamıştır. Bu tarama hem laboratuvarında (*in vitro*) hem de bilgisayar ortamında (*in silico*) gerçekleştirilebilir. Bu nedenle hesaplamalı kimya kapsamında, kimyasal bileşiklerin yorumu ve ihtiyaç duyulan özellikteki yeni bileşiklerin tasarımını yapmak amacıyla bilgisayar destekli tasarım ortaya çıkmıştır [1], [2].

İlaç keşfi ve geliştirilmesi konusuna ABD, Japonya, Almanya, Fransa, İngiltere, İsviçre, İtalya ve İsveç gibi gelişmiş ülkeler çok fazla önem vermekte ve bu alana yönelik büyük ölçekli yatırımlar yapmaktadırlar. Az gelişmiş/gelişmekte olan ülkelerin bu alandaki çalışmalarına katkıları yok denecek kadar azdır. Zira bir ilacın sentezlenip, eczanede satışa sunulabilmesi için harcanan maliyet her geçen gün artmaktadır. Bu maliyeti azaltmak için, sentezden önce ilaç tasarımlarının yapılması gerekmektedir. Şekil 1.1’de görüldüğü gibi yeni ilaç tasarımında ilk olarak, mevcut ilaçları ve ilaç adaylarını kapsayan geniş bir literatür araştırması yapılır. İkinci basamakta moleküler modelleme ve yapı-aktivite ilişkisi (SAR) yöntemleri ile bilgisayar destekli ilaç tasarımı (CADD) yapılır [3]-[5]. Üçüncü basamak ise sentez aşamasıdır. Sentezlenen bu ilaç serilerinin farmakolojik tarama (screening) ve biyolojik test aşaması, dördüncü basamağı oluşturmaktadır. Bundan sonraki aşamalar, klinik denemeler ve yeni ilaçların gelişimi için yapılan teknolojik çalışmalardır. Yeni ilaçların geliştirilmesi bir çevrimden ibarettir. Bu çevrimin herhangi bir basamağında beklenen sonuç elde edilememesi durumunda, ilaç tasarımının ilk basamağına dönülerek yeni verilerle çevrime devam edilir. Herbir basamakta, bir önceki adımda elde edilen veriler kullanılır. Bu şekilde kademeli yaklaşım ile yapılan ilaç tasarımı, farmakoforların daha detaylı bir şekilde analiz edilmesini sağlar. Bu analizle elde edilen verilerden hareketle, hedefin veya hedefle etkileşen etken maddenin sahip olması gereken moleküler nitelikler tanımlanmaya ve hastalık-hedef-efektör üçgenindeki ilişkilerle ilgili bilgiler açığa çıkarılmaya çalışılır.

Ayrıca teorik olarak ortaya konulan bir prognoz (tahmin) modeli, yeni aktif bileşiklerin tarama işlemini kolaylaştırarak, bir ilacın üretim sürecindeki işlemleri kısaltır. Dolayısıyla bu strateji, ortalama 10 yıl süren yeni ilaç geliştirme çalışmalarını 5 yıl veya daha kısa bir süreye indirgeyebilir ki, bu da zaman ve maliyet açısından ciddi bir tasarruf sağlamaktadır.



Şekil 1.1: Yeni ilaç tasarımı ve geliştirilmesini içeren işlem basamakları.

Steroid yapıda olmayan (non-steroidal) anti-inflamatuar ilaçlar (NSAIDs) analjezik, antipiretik ve antiinflamatuar etkili (ağrı, ateş ve inflamasyonu gideren) ilaçlardır. Benzer etki gösteren steroid yapılı bileşiklerden ayırmak amacıyla, bu bileşikler için non-steroidal kavramı kullanılmaktadır. Kimyasal yapılarına göre çeşitli sınıflara ayrılan bu ilaçlardan aynı grup içinde yer alanlar, benzer özellik ve tolerabilite gösterirler [6].

NSAI ilaçlar, genellikle hem akut hem de kronik ağrı ve inflamasyonun tedavisinde endikedir. Kolorektal kanseri (CRC) ya da kardiyovasküler hastalıkları önleme potansiyelleri ile ilgili çalışmalar ise devam etmektedir. Bu ilaçlar romatoid artrit, osteoartrit, inflamatuvar artropatiler (spondilit, psöriyatik artrit, Reiter's sendromu gibi), akut gut, dismenore, metaztatik kemik ağrısı, baş ağrısı ve migren, ameliyat sonrası ağrı, iltihaplanma ve doku zedelenmesi yüzünden oluşan hafiften orta dereceye kadar ağrılar, ateş, böbrek sancısı gibi çok sayıda hastalık için kullanım alanına sahiptir. NSAI ilaçlar ilk olarak salisilik asitin izolasyonu ile birlikte, ağrı ve inflamasyonun ilaçla tedavisinde önemli bir rol oynamaya başlamıştır. Bu bileşiklerin en iyi bilinen üyeleri aspirin ve ibuprofen, tüm dünyada reçetesiz olarak satılmaktadır. Bu ilaçların yapısındaki aktif grupların özellikleri birleştirilerek dual-etkili potansiyel hedefler keşfedilebilir [7]-[12].

NSAI ilaçlarla yapılan uzun süreli tedavilerde, Alzheimer hastalığının görülme sıklığında azalma meydana geldiği gösterilmiştir. Herbir siklooksijenaz (COX) izoformunun bu hastalığa katkı dereceleri iyi bilinmemekle birlikte, Alzheimer hastalığı bulunan neokortekste COX mRNA'sının çok bol bulunduğu [13] ve hippocampal oluşumda COX-2 ekspresyonu [14] tespit edilmiştir.

Bununla birlikte, NSAI ilaçların gastrointestinal sistem ve böbrekler üzerindeki bazı yan etkileri, onların kullanım alanlarını sınırlamaktadır. Bu nedenle, araşidonik asit (AA) yolağının başlamasında anahtar rol oynayan hem siklooksijenaz-2 (COX-2) hem de 5-lipoksijenaz (5-LOX) enzimini eşdeğer şekilde bloke edebilen ikili (dual) inhibitörler geliştirilmektedir.

Bu tez çalışması kapsamında, COX-1/COX-2 ve COX-2/5-LOX NSAI inhibitörlerinden oluşan farklı bileşik serilerinin, sırasıyla COX-2 selektivitesi (seçiciliği) ve COX-2/5-LOX dual inhibisyon aktivitesi, hesaplamalı yöntemler kullanılarak incelenmiş; elde edilen sonuçlara göre selektivite/aktivite prognoz modelleri geliştirilmiş ve bu modellere dayalı olarak yeni hedef bileşikler tasarlanmıştır.



## 1.1. Tezin Amacı, Katkısı ve İçeriği

Bu tezin amacı, literatürde yapıları ve biyolojik aktiviteleri bilinen COX-1/COX-2 ve COX-2/5-LOX inhibitörlerinden oluşan farklı bileşik serilerinin sırasıyla COX-2 enzimine karşı selektiviteleri ve COX-2/5-LOX dual inhibisyon aktiviteleri üzerine etki eden elektronik ve topolojik faktörlerin moleküler modelleme yöntemleriyle incelenmesidir. Bu amaçla:

- Elektronik-Topolojik Metot (ETM) ile oluşturulan matrislerle, aktiviteye neden olan ve aktiviteyi azaltan moleküler fragmentler (farmakoforlar ve anti-farmakoforlar) belirlenmiş,
- Sinir ağlarıyla (neural networks, NN) birleştirilen ETM-NN yaklaşımıyla aktivite tahmin modelleri geliştirilmiş,
- Bileşiklerin COX-1/COX-2 ve COX-2/5-LOX enzimleriyle etkileşim mekanizmaları moleküler kenetlenme ve elektronik yapı hesaplamalarıyla incelenmiş,
- Elde edilen bütün bilgiler ışığında, yeni potansiyel COX-1/COX-2 ve COX-2/5-LOX inhibitörleri tasarlanmıştır.

ETM-NN yöntemi ile geliştirilen ve moleküler kenetlenme ve elektronik yapı hesaplamalarıyla desteklenen prognoz modelleri, hem biyolojik aktivitesi bilinmeyen benzer iskelete sahip bileşiklerin aktivitelerini tahmin etmede ve yeni bileşiklerin tasarlanmasında kullanılabilir, hem de sentez çalışmalarına yol gösterecektir.

## 2. KURAMSAL TEMELLER

### 2.1. Enzimlerin Genel Özellikleri ve Sınıflandırılması

Enzimler, kendileri değişime uğramadan kimyasal bir tepkimenin hızını artıran biyolojik katalizörlerdir. Enzim katalizli tepkimeler benzer kimyasal tepkimelerle karşılaştırıldığında nispeten hafif koşullar altında (100 °C sıcaklığın oldukça altında, atmosfer basıncında ve nötral pH'da) gerçekleşmektedir.

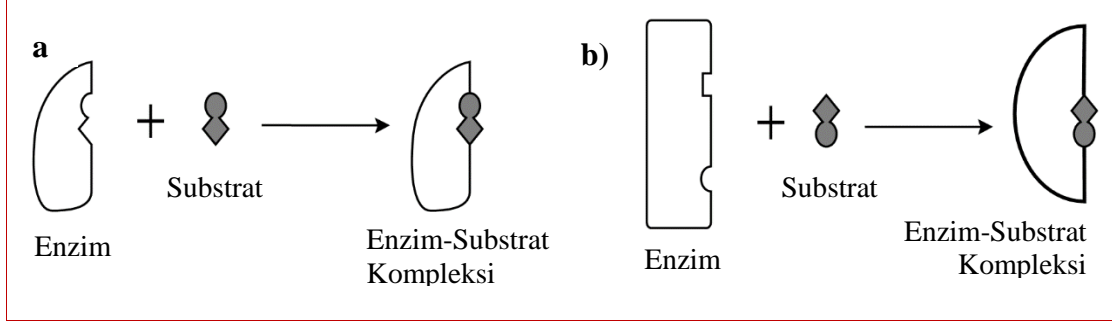
Katalitik olarak aktif birkaç RNA molekülü dışında, hemen hemen bütün enzimler protein yapısındadır.

Enzimler, etki ettikleri substratlara ve oluşturdukları ürünlere karşı son derece özgüdürlü. Bir enzimin substrat özgülüğü, aktif bölgeyi oluşturan amino asitlerin özellikleri ve uzaysal dağılımlarıyla belirlenir.

Bir enzimin aktif bölgesi, substrata bağlanan ve bunu ürüne dönüştüren bölgedir. Bu bölge genellikle bütün enzim molekülünün nispeten küçük bir parçasıdır ve doğrusal polipeptid zincirinde birbirinden uzakta olabilen amino asitlerden meydana gelen üç boyutlu bir yapıdır. Aktif bölge, substratın bağlanmasını artıran genellikle polar olmayan bir çevreyi oluşturan, enzim yüzeyindeki bir oyuktur. Substrat(lar) aktif bölgeye çoklu zayıf kuvvetlerle (hidrojen bağları, van der Waals etkileşimleri, elektrostatik ve hidrofobik etkileşimler), bazı durumlarda da tersinir kovalent bağlarla bağlanır.

Substrat molekülü bağlanıp bir enzim-substrat kompleksi oluşunca, enzimin aktif bölgesindeki katalitik olarak etkin amino asitler substrat molekülünü ilk önce geçiş hali kompleksine, sonra çözültüye salınan ürüne dönüştürürler. Enzim diğer bir substrata bağlanmak üzere serbest kalır ve tekrar katalitik döngüsüne başlar.

Bir enzimin substratına nasıl bağlandığını açıklamak üzere iki model önerilmiştir. 1984 yılında Emil Fischer tarafından önerilen anahtar-kilit modelinde, enzimin aktif bölgesi ve substratın, kilit içindeki bir anahtar gibi birbirine geçtiği düşünülmüştür (Şekil 2.1.a). İki şekil doğru hizalanıp bir araya getirildiğinde katı, sabit ve birbirini kusursuz bir şekilde tamamlayıcı olduğu düşünülür. 1958'de Daniel E. Koshland Jr. tarafından önerilen indüklenmiş-uyum modeline göre, substrat bağlanması enzimin aktif bölgesinde konformasyonel bir değişimi indükler (Şekil 2.1.b).



Şekil 2.1: Enzimin substrata bağlanma modelleri. a) Anahtar-kilit modeli, b) İndüklenmiş-uyum modeli.

Çoğu enzim özgün tepkimesini gerçekleştirmek üzere küçük, protein yapıda olmayan birimlere veya kofaktörlere gereksinim duyar. Kofaktörler  $Zn^{+2}$  veya  $Fe^{+2}$  gibi bir veya daha fazla inorganik iyon veya koenzim denilen kompleks bir organik molekül olabilir. Enzime kovalent olarak bağlanmış metal veya koenzime prostetik grup denir. Enzimin koenzimi veya metal iyonu ile birlikte katalitik olarak aktif olan bütününe holoenzim; kofaktörü olmaksızın kendi üzerindeki protein kısmına ise apoenzim denir. Nikotinamid adenin dinükleotid ( $NAD^+$ ) gibi bazı koenzimler enzimin katalitik döngüsünde enzim tarafından bağlanıp salınıp kosubstrat olarak davranır. Tablo 2.1’de görüldüğü üzere, çoğu koenzim vitamin öncüllerinden türemiştir, bunlar organizmanın besininde önemli unsurlardır ve bu yüzden yetersiz alındıklarında çeşitli hastalıklara neden olurlar.

Tablo 2.1: Bazı yaygın koenzimler, bunların vitamin öncülleri ve yetersiz alınmaları sonucu ortaya çıkabilen hastalıklar.

Koenzim	Öncül	Eksikliğinde Görülen Hastalık
Koenzim A	Pantotenik asit	Deri iltihabı
FAD, FMN	Riboflavin ( $B_2$ vitamini)	Büyüme (gelişim) gecikmesi
$NAD^+$ , $NADP^+$	Niasin (nikotinik asit)	Pellagra
Tiamin pirofosfat	Tiamin ( $B_1$ vitamini)	Beriberi
Tetrahidrofolat	Folik asit	Anemi (kansızlık)
Deoksiadenozil kobalamin	Kobalamin ( $B_{12}$ vitamini)	Pernisyöz (kötücül) anemi
Kollajende prolin hidrosillenmesindeki kosubstrat	C vitamini (askorbik asit)	İskorbüt
Pridoksal fosfat	Piridoksin ( $B_6$ vitamini)	Deri iltihabı

Enzim isimlerini mantıklı kılmak üzere uluslararası bir enzim adlandırma sistemi kabul edilmiştir. Bu sistem, enzimleri katalizledikleri tepkimenin tipine göre Tablo 2.2’de verilen altı ana sınıftan birine yerleştirmektedir. Daha sonra her bir

enzim, Enzim Komisyon (EC) Numarası olarak adlandırılan, dört haneli bir sınıflandırma numarasıyla tanımlanır.

Tablo 2.2: Uluslararası enzim sınıflandırılması.

İsim	Katalizlenen tepkime tipi	Örnek
Oksidoredüktazlar	Elektron transferi $A + B \rightarrow A + B$	Alkol dehidrojenaz
Transferazlar	Fonksiyonel grupların transferi $A-B + C \rightarrow A + B-C$	Hekzokinaz
Hidrolazlar	Hidroliz tepkimeleri $A-B + H_2O \rightarrow A-H + B-OH$	Tripsin
Liyazlar	C-C, C-O, C-N ve diğer bağları kırar, çoğu zaman bir çift bağ oluştururlar	Pirüvat Dekarboksilaz
İzomerazlar	Bir moleküldeki grupların transferi	Maleat izomeraz
Ligazlar	ATP hidrolizi ile eşlenen bağ oluşumu $A + B \rightarrow A-B$	Pirüvat karboksilaz

Oksidoredüktazlar, iki substrat arasında redoks (indirgenme/yükseltgenme) reaksiyonlarını katalizleyen enzimler olup; oksidazlar, redüktazlar, dehidrojenazlar ve oksijenazlar olmak üzere dört alt sınıftan oluşmaktadır. Bu tez çalışması kapsamında kullanılan enzimler, oksidoredüktazların oksijenazlar alt sınıfına aittir.

Transferazlar, iki substrat arasında hidrojen dışındaki grupların transferini katalizleyen enzimlerdir. Fosforil grubu transferini sağlayan kinaz enzimleri bu grupta bulunmaktadır.

Hidrolazlar, ester, eter, peptit, glikozid, anhidrit, C-halojenür veya P-N bağlarının hidrolizini katalizleyen enzimlerdir. Bütün proteolitik enzimler ve lipaz, esteraz, fosfataz, glikozidaz ve nükleaz gibi enzimler de bu gruba aittir.

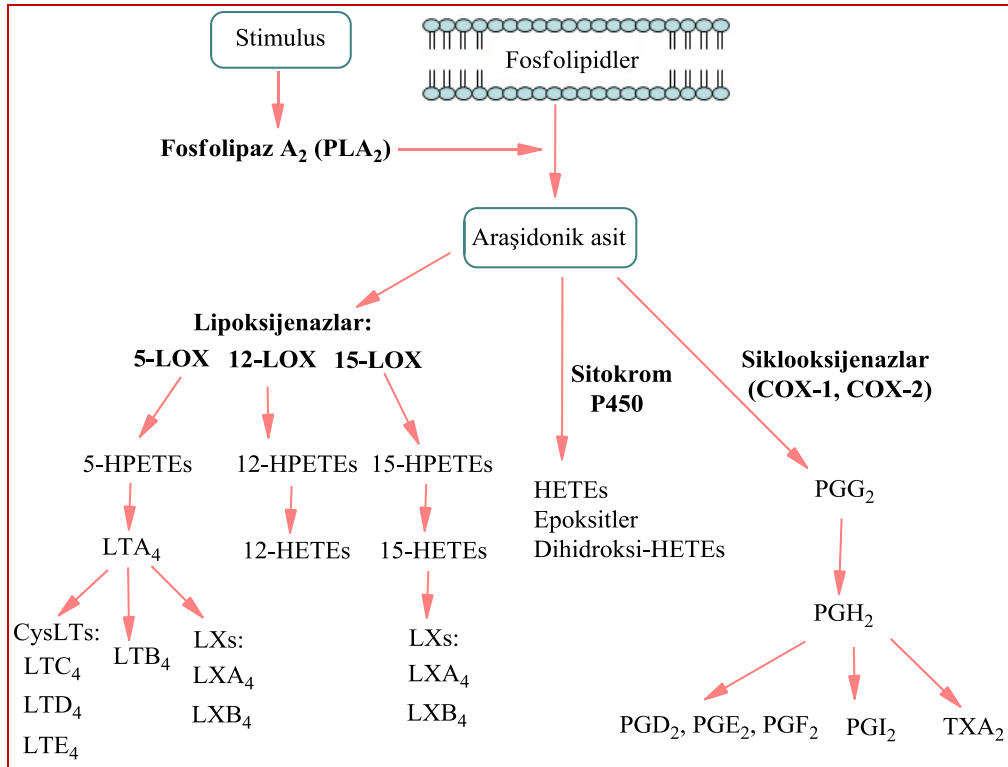
Liyazlar, hidrolizden farklı bir mekanizma ile substratlardan grupların uzaklaştırılıp, çift bağların oluşturulduğu reaksiyonları katalizleyen enzimlerdir. Hidratasyon ve dehidratasyon reaksiyonlarını katalizleyen enzimler bu gruba dâhildir.

İzomerazlar, geometrik, optik veya yapısal izomerlerin birbirine dönüştürülmesini katalizleyen enzimlerdir. Mutaz, rasemaz ve epimeraz özel adlarıyla anılan enzimler bu grupta bulunmaktadır.

Ligazlar, ATP ve GTP gibi yüksek enerjili fosfat bileşiklerinden fosfat bağının kopması sonucu ortaya çıkan enerji yardımıyla iki molekülün bağlanması reaksiyonlarını katalizleyen enzimlerdir [15], [16].

## 2.2. Araşidonik Asit Metabolizması

Eikosanoid biyosentezinin öncü bileşiği olan araşidonik asit (AA), fosfolipid hücre membranlarında en fazla bulunan çoklu doymamış yağ asitidir. Fosfolipaz A2 enziminin aktivasyonu ile fosfolipidlerden salınan araşidonik asit, yapısında bulunan çift bağlardan ötürü oksijen molekülü ile reaksiyon vermeye oldukça yatkındır. Araşidonik asitten, eikosanoidlerin biyosentezi için üç yolak vardır. Bunlar; siklooksijenaz (COX, ya da prostaglandin endoperoksit sentaz; PTGS), lipoksijenaz (LOX) ve sitokrom P450 epoksijenaz yolaklarıdır. COX yolağı ile prostaglandinler ve tromboksanlar; LOX yolağı ile lökotrienler, lipoksinler, hidroksieikosatetraenoik asitler (HETE) ve hepoksinler; sitokrom P450 epoksijenaz yolağıyla ise epoksieikosatrienoik asitler (EET) oluşur (Şekil 2.2). COX ve LOX yolakları ile oluşan eikosanoidler, biyolojik fonksiyonlarının yanı sıra inflamasyon, ateş, artrit ve bazı kanser hastalıklarda da rol oynamaktadır [17].



Şekil 2.2: Araşidonik asitten eikosanoidlerin biyosentezi.

Eikosanoidlerin alt sınıfını oluşturan prostanoidler, yapılarına ve merkez halkalarının süstitüentlerine göre prostaglandin (PG), prostasiklin (PGI<sub>2</sub>) ve

tromboksan (TX) olmak üzere üç gruba ayrılırlar. Prostanoidlerin kardiyovasküler sistem üzerine biyolojik etkileri, prostaglandinlerin (PG) ve prostasiklinin güçlü vazodilatörler özellikleri ile [18]-[20], tromboksan ise damarları kasıcı niteliği ile tanımlanır. TXA<sub>2</sub> trombosit agregasyonunu indüklerken, PGI<sub>2</sub> anti-agregan niteliktedir. PG'ler ve TXA<sub>2</sub> vasküler geçirgenliği artırarak ödeme neden olurlar. Diğer dokular üzerine etkileri de gözlenmiştir. Gastrointestinal kanalın longitudinal düz kasları PG'ler tarafından kasılırken, sirküler kasları gevşetir. Uterin düz kaslar prostaglandinler tarafından güçlü bir şekilde kasılır [21]. Sonuç olarak PG'ler böbrek kan akışını ve diürezisi artırarak önemli bir rol üstlenirler [22], [23].

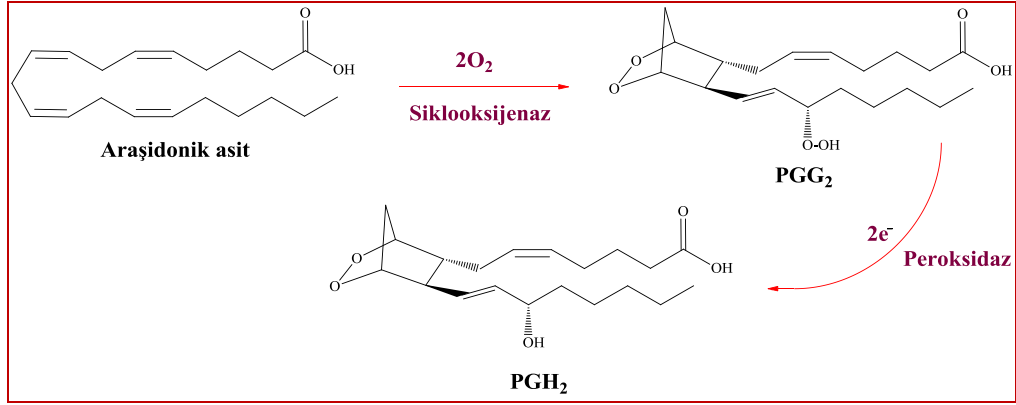
### **2.2.1. Siklooksijenaz Yolağı**

Prostaglandinler, inflamasyon oluşum sürecinde diğer görevli maddelerle birlikte iletim molekülü olarak rol oynarlar. İnflamasyonun farmakolojik kontrolüne yönelik literatürde çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Prostanoid biyosentezinde araşidonik asidi substrat olarak kullanan [24] ve bu reaksiyonda anahtar rol oynayan COX enziminin inhibitörü olan aspirinin keşfinden beri birçok COX inhibitörü sentezlenmiştir. Bunlar analjezik, antipiretik ve anti-inflamatuar ajan olarak kullanılmış olmalarına rağmen, kronik dönemde sıklıkla gastrointestinal iritasyona, kimi zaman da hemoraji ve ülserasyona neden olmuştur [25].

Prostaglandinler mitogenezisi [26], hücrel adhezyonu ve apoptozisi [27] etkilediklerinden, kanserin birçok tipinin patojenezinde rol oynayabilirler. Baş ve boyun [28], meme [29], akciğer [30], [31], kolon [32], [33] ve pankreas [34] kanserlerinde PG'lerin aşırı üretimi gözlenmiştir. Bu bölgelerde COX-2 üretiminde de anormal artışlar saptanmıştır. Bu saptamalar, kanser gelişiminde COX-2 enziminin rolü olduğunu ve selektif COX-2 inhibitörlerinin kanser gelişiminin önlenmesinde etkili olabileceklerini ortaya koymaktadır.

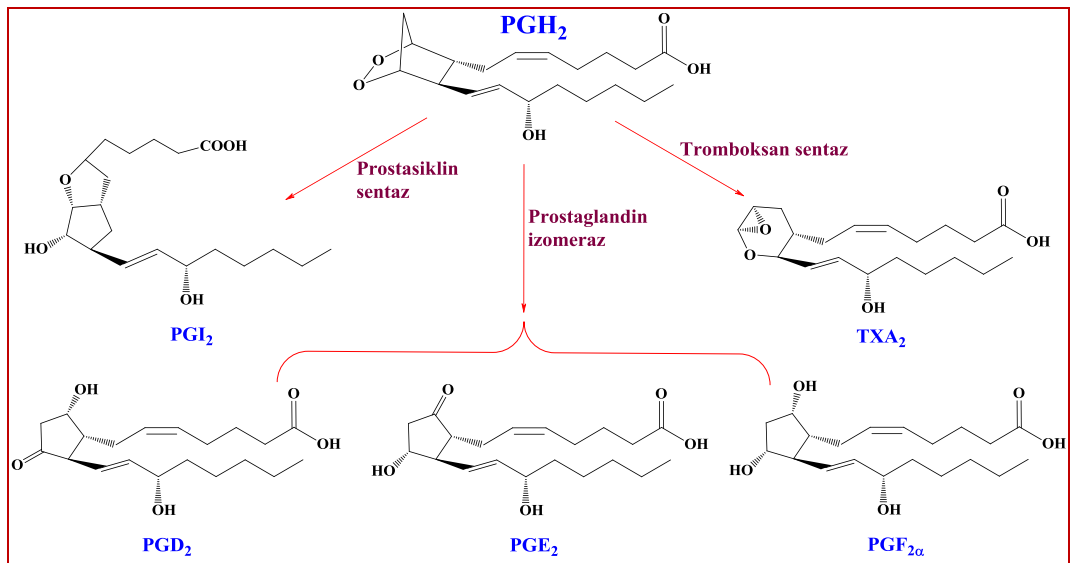
Siklooksijenaz (EC 1.14.99.1), prostanoidlerin biyosentezinin ilk basamağında, araşidonik asidin prostaglandin H<sub>2</sub>'ye (PGH<sub>2</sub>) ve ilgili metabolitlere dönüşümünü katalizler. COX enzimleri Şekil 2.3 ile gösterilmiş olan iki farklı katalitik aktiviteye sahiptir. Bunlar:

- Siklooksijenaz aktivitesi: AA'in iki mol oksijen molekülü ile reaksiyona girerek PGG<sub>2</sub> ye dönüşümünden,
- Peroksidaz aktivitesi: 15S-hidroperoksid PGG<sub>2</sub>'nin, 15S-alkol PGH<sub>2</sub>'ye indirgenmesinden sorumludur [35]-[37].



Şekil 2.3: Siklooksijenaz enzimi tarafından katalizlenen reaksiyon.

Bu iki enzimatik aktivite “heme” molekülünün varlığını gerektirir. Herbir izoenzim alt biriminde “heme” molekülü bulunmaktadır. İkinci adımda, birçok izomeraz enzimi PGH<sub>2</sub>'nin farklı diğer prostaglandinlere (PGD<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2α</sub>), transformasyonunu katalizler. Prostasiklin sentaz enzimi PGH<sub>2</sub> nin prostasikline (PGI<sub>2</sub>), tromboksan sentaz ise PGH<sub>2</sub>'nin tromboksan A<sub>2</sub>'ye (TXA<sub>2</sub>) transformasyonunu katalizler (Şekil 2.4).

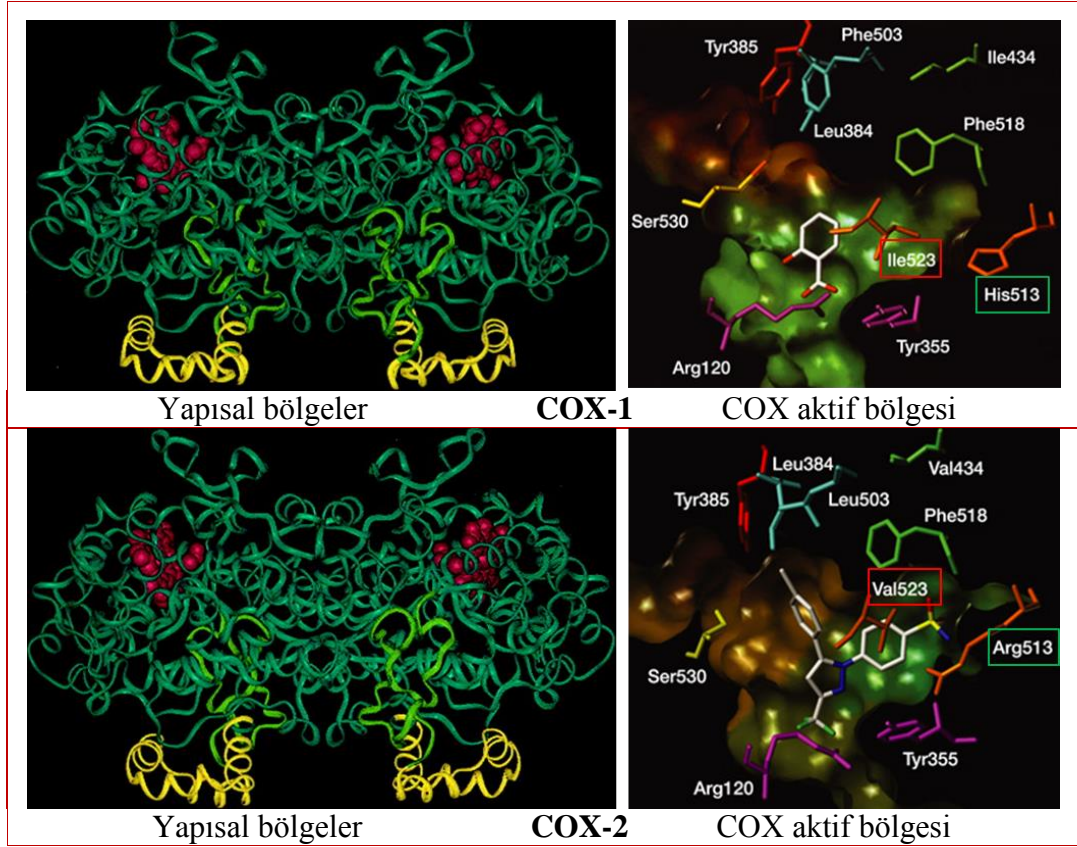


Şekil 2.4: Siklooksijenaz yolağından sentezlenen eikosanoidler.

Önceleri COX'un hem prostaglandinlerin (PG) fizyolojik üretiminden hem de inflamasyon durumundaki art üretiminden sorumlu olduğu düşünülüyordu. 1991 yılında indüklenebilen COX'un, yapısal COX'un farklı bir izoformu olduğu anlaşılmış ve yapısal form COX-1'e göre COX-2 olarak adlandırılmıştır [38]. COX-1 yapısal form olarak homeostatik mekanizmalarda görev alırken, indüklenebilen form olan COX-2, inflamasyon gibi patolojik durumlarda rol oynamaktadır. COX-1 enzimi ile aynı gen tarafından kodlanan COX-3 enzimi ise insanlarda işlevsel değildir [39].

Siklooksijenazlar homodimer olarak bulunmakta olup, herbir monomer amino-terminal (N-terminal) sinyal peptidi, dimerleşme bölgesi, membran bağlanma bölgesi ve katalitik bölge olmak üzere dört yapısal bölge (domain) içermektedir. Şekil 2.5'de enzimlerin katalitik bölgesi koyu yeşil, "heme" grubu kırmızı, dimerleşme bölgesi açık yeşil ve membran bağlanma bölgesi sarı renkle gösterilmiştir. Katalitik bölgeyi oluşturan peroksidaz aktif bölgesi "heme" grubunun bağlı olduğu yüzeye yakın bir yerde bulunurken, siklooksijenaz aktif bölgesi ise enzim içinde hidrofobik bir kanalda bulunmaktadır. NSAİ ilaçlar bu hidrofobik kanala bağlanır. Siklooksijenaz aktif bölgesi, polar yapıda olan serin ve arjinin amino asitleri dışında hidrofobik yapıdadır. COX-1 ve COX-2 izoenzimleri arasındaki en kritik yapısal farklılık, 523. pozisyonda COX-2'de bulunan valin (Val) rezidüsünün yerine, COX-1'de izolösin (Ile) rezidüsünün yer almasıdır. COX-1'de bulunan büyük hacimli Ile rezidüsü, COX-2 selektif ilaçların aromatik sübstitüentlerinin, sol tarafta bulunan cepten içeri girişine engel olmaktadır. COX-2'de bulunan nispeten küçük hacimli Val rezidüsü sayesinde aktif bölge, bu sübstitüentlerin cepten içeri girişine uygun bir hale gelmektedir. Ayrıca COX-1'deki 513 nolu histidin yerine COX-2'de yer alan arjinin, cebin yapısını değiştirerek polar gruplarla etkileşimi arttırmaktadır (Şekil 2.5) [40], [41].





Şekil 2.5: COX-1 ve COX-2 homodimerlerinin yapısal bölgeleri ve katalitik siklooksijenaz bölgesinde bulunan amino asitler.

COX enzim inhibisyonundaki önemli gelişmeler, selektif COX-2 inhibitörlerinin geliştirilmesinin önünü açmıştır. Bu inhibitörlerden beklenen, etkili ve güvenilir NSAİ ilaçlar olmalarıdır. COX-2 selektif inhibitörler, etkili anti-inflamatuar özelliklere ve klasik NSAİ ilaçlara göre daha iyi tolere edilebilir özelliklerine rağmen, bu bileşiklerin tam olarak güvenilir olmadıkları anlaşılmıştır [42], [43]. Ayrıca COX-2 enzimi renal (böbrek) homeostasisi gibi birçok fizyolojik fonksiyonda rol oynasa da, COX-2 inhibitörlerinden terapötik etkinlik göstermeleri beklenmiştir [44].

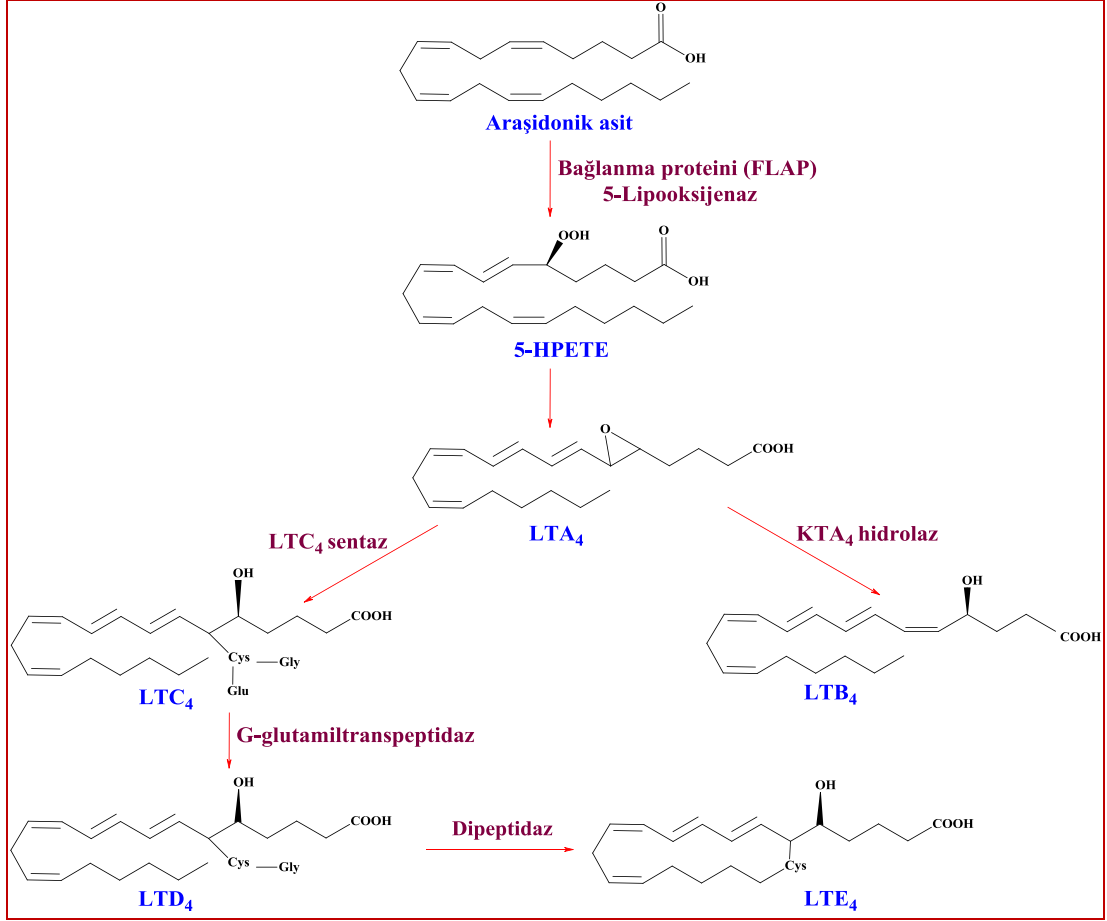
Genel olarak COX-1 enzimi hemen her yerde mevcut iken, COX-2 sadece inflamasyon bölgelerinde ya da belirli bazı patolojik durumlarda ortamda bulunmaktadır. Yine de bir çok gözlem COX-1 ve COX-2 arasında çok kompleks bir ilişkinin var olabileceğini göstermiştir. COX-2 mRNA'sı ve enzim beyin, mide, böbrekler ve vasküler endotelyum gibi normal dokularda da bulunabilir [45]. Sıçan midesinde COX-1 ve COX-2'nin mevcut olduğu gösterilmiştir. COX enzimlerinin hücresel dağılımı araştırıldığında COX-2'nin gastrik sitoprotektif etkisinin

olabileceği öngörülmüştür [46]. COX-2 mRNA'sı böbreklerde bulunur ve sodyum kısıtlamasında ekspresyonunda artış olması, COX-2 enziminin böbreklerde homeostatik rol oynayabileceğini düşündürmektedir [47]. Ayrıca, spesifik COX-2 inhibitörleri hayvan ve insan modellerinde anti-inflamatuar, antipiretik ve analjezik özelliklere sahiptir [48].

### **2.2.2. 5-Lipoksijenaz Yolağı**

Diğer AA türevleri olan lökotrienler, inflamasyonun oluşumunda ve sürdürülmesinde rol alan inflamasyon araçları olarak kabul edilmektedir [44]. Lökotrienler, spesifik reseptörleri ile etkilerini oluşturan güçlü araçlardır. Bu araçların temel biyolojik etkileri; vasküler endotelyum, kardiyovasküler dokular, solunum fonksiyonları, gastrointestinal sistem ve alerjik hastalıklar üzerinedir. Lökotrienler biyolojik etkilerini spesifik reseptörlerine bağlanarak meydana getirirler. Lökotrien B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) için sadece iki reseptör mevcuttur: BLT<sub>1</sub> ve BLT<sub>2</sub>. Bunlar genetik olarak kodlanabilmiş 7-transmembran bölgesi bulunan reseptörlerdir [49], [50]. Sisteinil lökotrienler olan CysLT<sub>1</sub> ve CysLT<sub>2</sub> için en az iki reseptör mevcuttur. Bu reseptörler farmakolojik olarak karakterize edilmiş ancak yapıları henüz tam olarak aydınlatılmamıştır [51].

Şekil 2.6'da gösterildiği gibi, lökotrienlerin biyosentezinde birçok enzim rol oynamaktadır. Bu enzimler arasında "5-lipoksijenaz", "LTA<sub>4</sub> hidrolaz" ve "LTC<sub>4</sub> sentaz" en önemlileridir. Lipoksijenazlar (LOX), sikloksijenazlara benzer şekilde AA metabolizmasında oksijenin AA molekülünde değişik pozisyonlara girişini katalize eder. 5-LOX (EC 1.13.11.34), lökotrienlerin oluşumunda başlangıç enzimidir.

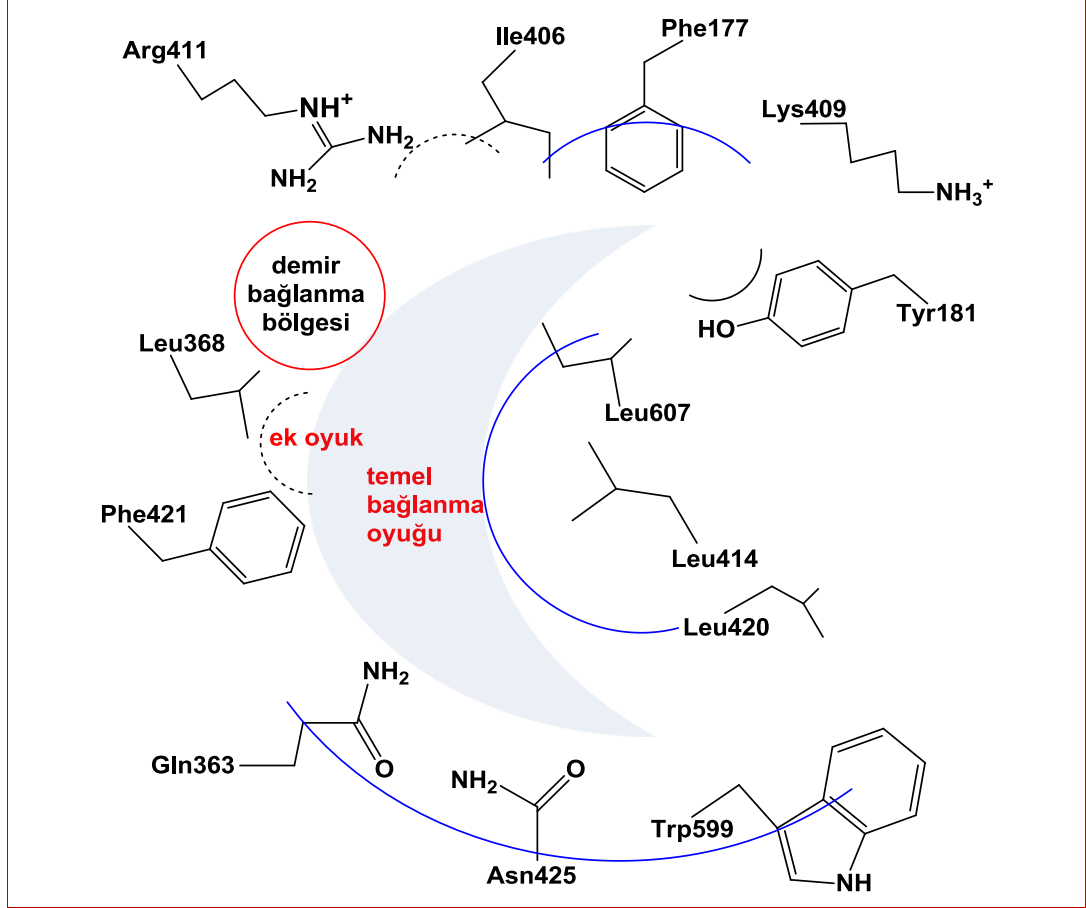


Şekil 2.6: Lipooksijenaz yolağında sentezlenen lökotrienler.

5-LOX enziminin aktif bölgesinde yer alan aminoasitler Şekil 2.7 ile gösterilmiştir. Temel bağlanma oyuğu, fenilalanin (Phe177) ve tirozinden (Tyr181), triptofan (Trp 599) ve lösin (Leu420) kadar uzanır. Aktif bölgede yer alan fenilalanin (Phe421) ile lösinin (Leu368) oluşturduğu ek oyuk ve izolösin (Ile406) ile lösin (Leu607) arasındaki bölge, hidrofobik etkileşim bölgeleridir. Tirozin (Tyr181) ile asparajin (Asn425), hidrojen bağı akseptör bölgeleridir. Asidik gruplarla etkileşen bazik yapıdaki arjinin (Arg411) de aktif bölgede yer almaktadır [52].

LOX yolağını bloke eden 5-LOX inhibitörleri ya da lökotrien reseptör antagonistleri, astımın etkili tedavisinde kullanılmalarına rağmen [53]-[55], inflamasyonun terapötik yaklaşımında tek başına etkili olamamaktadırlar. Bu nedenle hem COX hem de LOX yolağını bloke eden dual inhibitörler geliştirilmiş ve bu inhibitörlerin farmakolojik özellikleri birçok *in vitro* ve *in vivo* çalışmada araştırılmıştır. Pro-inflamatuar özellikleri dikkate alındığında, hem COX hem de LOX yolağının inhibisyonunun, inflamasyon tedavisinde önemli bir aşama

olabileceği düşünülmüştür. Kanser proliferasyonu gibi diğer patolojilerde hem lökotrienler hem de prostanoidler rol oynadıkları için dual inhibitörlerin bu alanlarda da kullanımı mümkün görülmektedir [56].



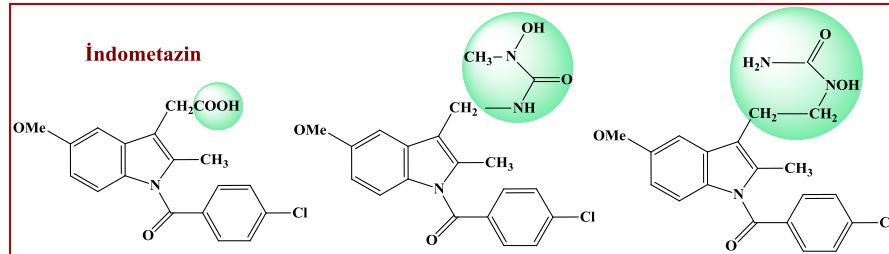
Şekil 2.7: İnsan 5-LOX enziminin aktif bölgesinin şematik gösterimi.

### 2.3. COX-2/5-LOX Dual İnhibitörler

Dual inhibitörler hem COX hem de 5-LOX metabolizma yollarını eşdeğer şekilde bloke edebilen ilaçlardır. Böylece prostanoidler ve lökotrienlerin oluşumu inhibe edilir. Dual inhibisyon, akut ve kronik hastalıklarda tercih edilen bir uygulama şeklidir. Örneğin farelerde kollajen indüklü artritte oluşan patoloji COX ya da 5-LOX inhibitörleri ile inhibe edilemezken, COX ve 5-LOX inhibitörlerinin birlikte uygulanması sonucu anlamlı derecede inhibe edilmektedir. Diğer taraftan *in vivo* hayvan modellerinde, dual COX/5-LOX inhibitörlerinin anti-astmatik, antipiretik, analjezik ve anti-inflamatuar etkilerinin olduğu, buna karşılık klasik NSAİ ilaçlarda

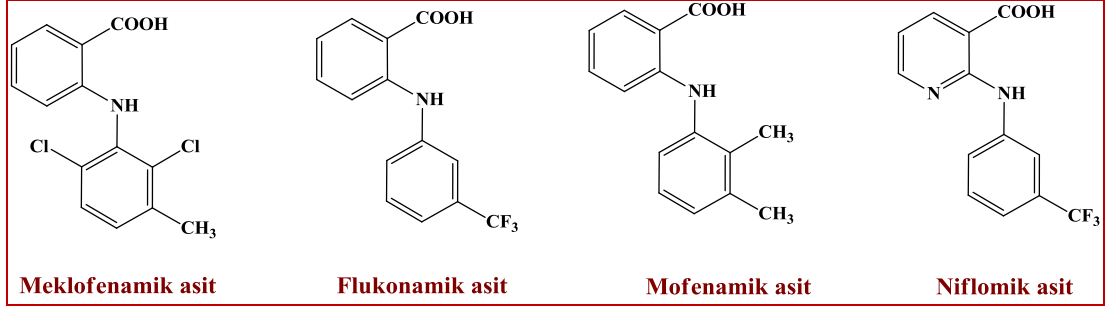
olduğu gibi önemli ülserojenik risklerinin olmadığı gösterilmiştir. Bu türden ilaçların geliştirilmesi, önemli yan etkiler olmadan inflamasyonun bulunduğu artritlerin tedavisini mümkün kılmaktadır. Günümüze kadar, dual inhibitörlerin farklı yapısal grupları tasarlanmış olup, umut vaat eden yeni birçok COX-2 selektif inhibitörün klinik öncesi (pre-klinik) ve klinik çalışmaları devam etmektedir. Elde edilen veriler dual inhibitörlerin kanserlerin (özellikle prostat ve kolon kanseri) ve nörodejeneratif hastalıkların (alzheimer, parkinson, amyotropik lateral skleroz, multiple skleroz gibi) önlenmesi ve tedavisinde potansiyel kullanım alanları bulabileceğini göstermiştir. Bu inhibitörler trombozun önlenmesi ve ateroskleroz tedavisinde de etkili ve güvenilir ilaç adaylarıdır. Aşağıda literatürde mevcut olan dual COX-2/5-LOX inhibisyon etkisi gösteren NSAİ bileşiklerine örnekler verilmiştir.

İndometazin, flufenamik asit gibi birçok iyi bilinen NSAİ ilaçların yapısal modifikasyonu sonucu, hem COX hem de 5-LOX enzimlerine karşı inhibitör etkinlik kazanan bileşikler elde edilmiştir. İndometazin, oral yoldan biyo-yararlanımı iyi olan dual COX/5-LOX inhibitörlerinin tasarımı için yapı iskeleti olarak kullanılmaktadır (Şekil 2.8) [57].



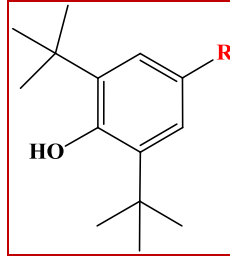
Şekil 2.8: İndometazinden türetilen dual inhibitörler.

1990'lı yıllarda birçok fenamat türevleri sentezlenmiş ve Parke-Davis Farmakolojik Araştırma Bölümü'nde değerlendirilmiştir [58], [59]. Boschelli ve grubu meklofenamik asit, flufenamik asit, mefenamik asit ya da niflumik asit gibi birçok fenamatın karboksilik parçasını 1,3,4-oksadiazol-2-tiyon'larla değiştirerek selektif COX inhibitörlerini, dual COX/5-LOX inhibitörlere dönüştürmüşlerdir (Şekil 2.9).



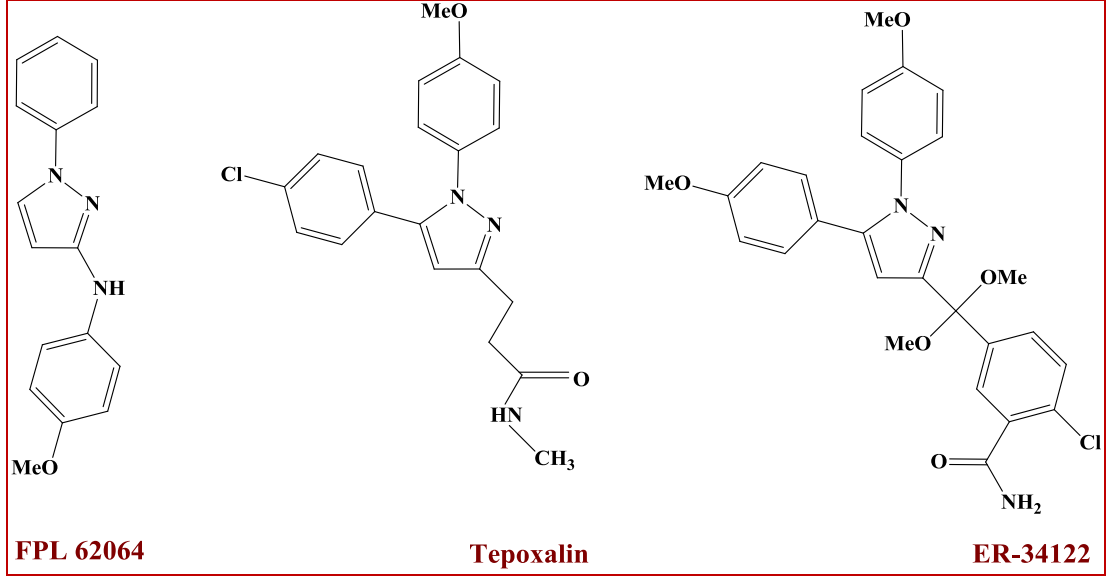
Şekil 2.9: Fenamat türevi dual inhibitörler.

Anti-inflamatuar ajanların “di-tert-butilfenol” sınıfı, dual COX/5-LOX inhibitörlerin en önemli kaynağıdır [60]. Bu ilaçların antioksidan ve radikal temizleyici özelliklerinden sorumlu olan fenolik parçaları anti-inflamatuar etkinlik ve düşük ülserojenik etki sağlar [61]. Dual COX/5-LOX inhibitörlerin elde edilmesi için en ideal yol, benzen halkasının 2,6-di-tert-bütill-1-hidroksi süstitüsyonudur. Di-tert-bütillfenol yapısında benzen halkasının 4 No.lu konumuna alkil zinciri bağlanır. Bu alkil zinciri çoğunlukla 5- ya da 6-üyel heterosiklik bir yapıdır. Bu süstitüentler benzen halkasına doğrudan veya bir alkildien grubu şeklinde ya da karbonil grubuyla bağlanırlar. Anti-inflamatuar ajan olarak çok sayıda di-tert-butillfenol (Şekil 2.10) ve pirazol türevleri (Şekil 2.11) sentezlenmiş ve farmakolojik olarak değerlendirilmiştir.



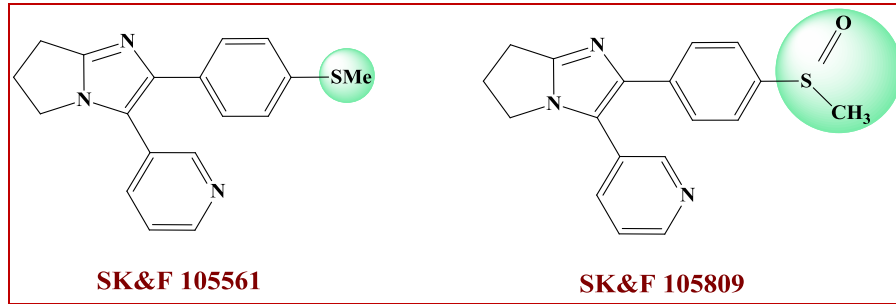
Şekil 2.10: Di-tert-bütillfenoller sınıfına ait dual inhibitörlerin genel yapıları.

Pirazol türevlerine ait dual inhibitörlerin en iyi bilinenlerinden bazıları Şekil 2.11’de gösterilmiştir [62]-[64].



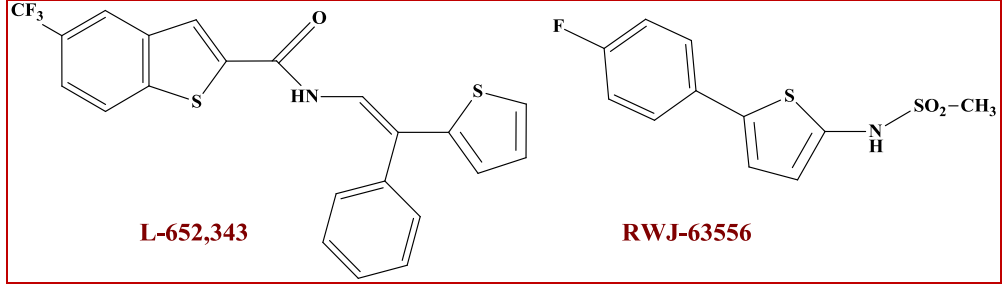
Şekil 2.11: Pirazol türevi dual inhibitörler.

Pirazol ile ilgili bileşiklerden olan piridinil pirol-imidazollere ait seriler, SmithKline Beecham tarafından tasarlanıp sentezlenmiştir. Bu seriler arasında birçok bileşik dual COX/5-LOX inhibitör özelliği göstermektedir. Bu bileşiklerden en aktif olanları Şekil 2.12’de gösterilmiştir [65], [66].



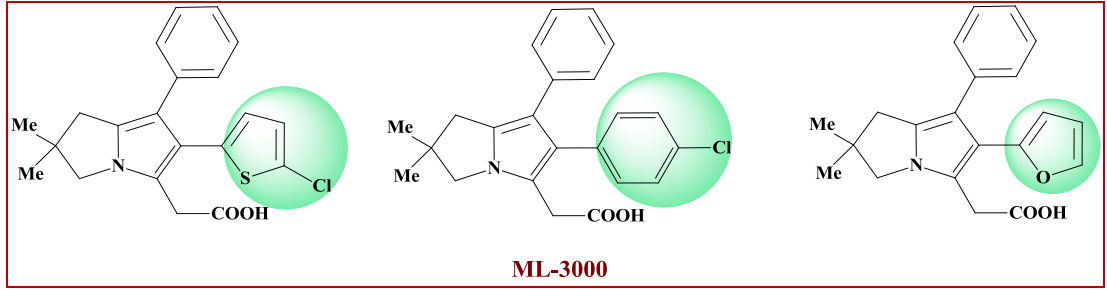
Şekil 2.12: Pirolimidazol türevi dual inhibitörler.

Tiyofen türevi olan birçok bileşiğin güçlü dual COX/5-LOX inhibitör etkinliğe sahip oldukları gösterilmiştir (Şekil 2.13) [67], [68].



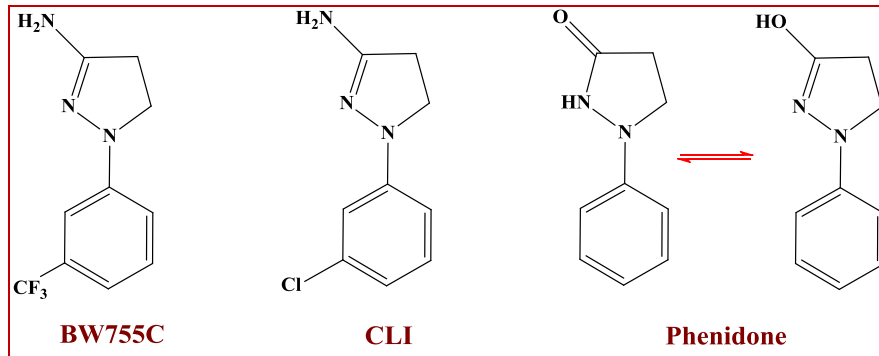
Şekil 2.13: Tiyofen türevi dual inhibitörler.

Birçok pirolizin türevinin de dual inhibitör etkinliğe sahip oldukları bulunmuştur [69]. Bu sınıfın güçlü dual inhibitörleri Şekil 2.14’de gösterilmiştir. Bu inhibitörlerin yapısında, güçlü dual inhibitörlerin elde edilmesi için gerekli olan pirolizin halkasının 6,7-diaril süstitüsüyonu ve 8-pozisyonunda karboksimetil grubu bulunmaktadır.



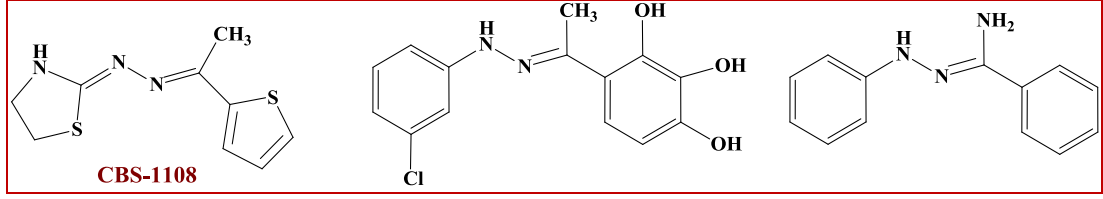
Şekil 2.14: Pirolizin türevi dual inhibitörler.

Dual COX/5-LOX inhibitörü olarak birçok pirazolinik [70], [71] ve hidrazon türevleri [72], [73] tanımlanmıştır (Şekil 2.16).



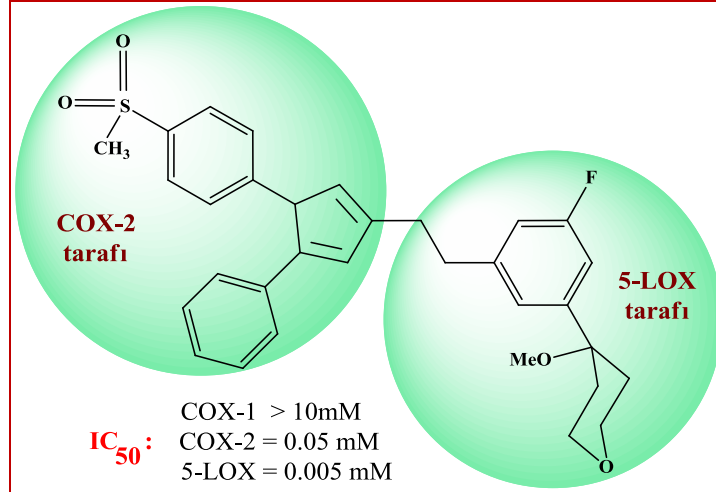
Şekil 2.15: Pirazolinik türevi dual inhibitörler.





Şekil 2.16: Hidrazon türevi dual inhibitörler.

Trisiklik sülfonamid grubu (celecoxib benzeri) ile ZD-2138 bileşiğinin 4-metoksi-tetrahidropiran süstituentinden oluşan COX-2 ve 5-LOX yapısal karakteristiklerin kombinasyonu (Şekil 2.17), güçlü dual COX-2/5-LOX inhibitör özellik kazanılmasını sağlarken, redoks ve demir ligand bağlayıcı özelliklerden yoksundur [74].



Şekil 2.17: Güçlü COX-2/5-LOX inhibitör etkinliği sağlayan iki farmakofor grubun birleşimi.

### 3. KONU ile İLGİLİ ÇALIŞMALAR

Geronikaki ve grubu tarafından, dual siklooksijenaz/lipoksijenaz (COX/LOX) inhibisyonu yapan yeni 573 anti-inflamatuar ajanın bilgisayar destekli tasarımı yapılmıştır. Biyolojik aktivite tahmini PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) programı ile gerçekleştirilmiş ve sonuçlar PharmaExpert yazılımı ile analiz edilmiştir. Fenil grubunun süstitüsüyonu ile farklılaşmış 2-(tiazol-2-ylamino)-5-phenylidene-4-thiazolidinone türevi dokuz bileşik sentez için seçilmiş ve COX/LOX inhibitör etkinlikleri test edilmiştir. En yüksek anti-inflamatuar aktiviteye sahip olan bileşikler için moleküler kenetlenme çalışmaları yapılmış, sonuç olarak bileşiklerin COX-1 ve COX-2 enzimlerine bağlanma bölgelerinin genel olarak benzer olduğu tespit edilmiştir [75].

Bağlanma bölgesindeki bu küçük farklılık, COX-2'de primer bağlanma bölgesinin dışında sekonder bağlanma bölgesinin oluşmasını sağlar. Bu bölge COX-1'de bulunmamaktadır. COX-2'deki primer ve sekonder bağlanma bölgesinin hacmi ( $394 \text{ \AA}^3$ ), COX-1 bağlanma bölgesinin hacminden ( $316 \text{ \AA}^3$ ) %25 oranında daha geniştir [76]. LOX'un değişik izoformları, farklı hacimlerdeki bağlanma bölgelerine sahiptir; 5-LOX bağlanma bölgesi hacmi ( $470 \text{ \AA}^3$ ), 15-LOX bağlanma bölgesi hacmine göre ( $390 \text{ \AA}^3$ ) daha geniştir [77].

Yeni celecoxib türevlerinin sentezlendiği ve COX/LOX anti-inflamatuar aktivitesinin incelendiği bir çalışmada, *n*-diflorometil-1,2-dihidropirid-2-on farmakofor gruplarının bu aktivitede etkili olduğu ortaya koyulmuştur [78].

Scholz ve grubu tarafından diaril-ditiyolan ve izotioazol türevi COX-1, COX-2 ve 5-LOX inhibitörlerin sentezlenmiş ve bu inhibitörlerin anti-inflamatuar aktiviteleri incelenmiş; sonuç olarak bu inhibitörlerin yüksek terapötik etki potansiyeline sahip olduğu açıklanmıştır [79].

Mohammed ve grubu tarafından likofelon türevi yeni bir COX-2/5-LOX dual inhibitörü sentezlenmiş ve kolon kanserinin oluşumunu büyük ölçüde önlediği ortaya koyulmuştur [80].

Anti-inflamatuar etkili COX-2/5-LOX dual inhibitörü olan flavokoksidin, hem pankreas iritasyonuna karşı etkili olduğu, hem de antiseptik özellik gösterdiği yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir [81], [82].

Eleftheriou ve grubu tarafından benzotiazol, benzizotiazol ve tiazol türevi COX/LOX inhibitörlerinin sentezi, fragment bazlı tasarımı, kenetlenme ve yapı-aktivite çalışmaları yapılmış, sonuç olarak molekülün benzotiazolil kısmının yüksek inhibisyon etki gösterdiği gözlenmiştir [83].

COX-2 ve 5-LOX dual inhibitörleri olarak di-ter-bütül fenol sınıfı bileşikler sentezlenmiş ve bu bileşiklerin COX/LOX inhibisyonu incelenmiştir. Yapılan moleküler kenetlenme çalışmaları sonucu, bu bileşiklerin her iki enzim üzerinde kayda değer bir inhibisyon etki gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca bu bileşiklerin bazı kolon kanser hücrelerinde de etkili inhibitörler olduğu yapılan çalışma ile ortaya koyulmuş ve COX/LOX dual inhibisyonu için yeni aktif bileşikler elde etmede bu bileşik türevlerinin iyi bir başlangıç noktası olabileceği vurgulanmıştır [84], [85].

Shang ve grubu tarafından yapılan bir çalışmada ise, çok-hedefli dual inhibitörlerin *de novo* tasarımı ve optimizasyonu için fragment geliştirme yöntemi kullanılmıştır. Literatürden alınan dual etkili inhibitörlerin fragmentlerinden yola çıkılarak, yeni aktif bileşiklerin tasarımı yapılmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir [86].

## 4. MATERİYAL ve YÖNTEM

### 4.1. Materyaller

#### 4.1.1. Donanım Kaynakları

Tez kapsamında yapılan hesaplamalar için donanım kaynağı olarak toplam RAM kapasitesi 48 GB olan, Intel Xeon E5 işlemcili bir iş istasyonu ile 2 adet Intel core i7 işlemcili bilgisayar kullanılmıştır.

#### 4.1.2. Kullanılan Yazılımlar

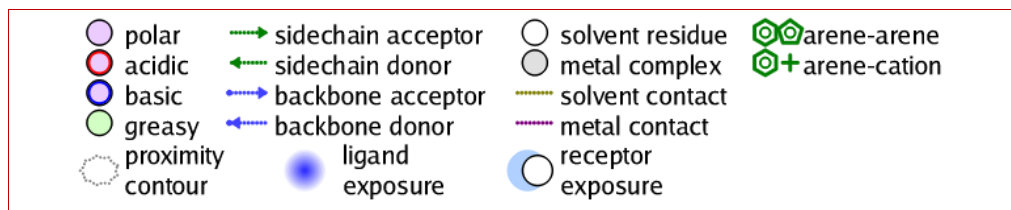
Bu tez çalışması kapsamında kullanılan yöntemleri uygulamak için üç farklı yazılım kullanılmıştır. Aşağıda bu yazılımlardan kısaca bahsedilmiştir.

- ETM [87]-[90]

Anatoli DİMOLO ve grubu tarafından C++ programlama dili ile yazılmış olan bu program, elektronik-topolojik matrislerin oluşturulması ve ETM-NN yaklaşımının uygulanması için kullanılmıştır.

- MOE (Molecular Operating Environment) [91]

Moleküler kenetlenme yönteminin uygulanması için kullanılan bu yazılım, Chemical Computing Group tarafından geliştirilmiştir. Bu yöntemle, inceleme altındaki bileşiklerin enzimlere bağlanma afiniteleri ve konformasyonları elde edilmiş, enzim-inhibitör arasındaki kovalent olmayan etkileşimler analiz edilmiştir. MOE yazılımı ile görüntülenen bu etkileşim türleri Şekil 4.1’de verilmiştir.



Şekil 4.1: MOE yazılımı ile görüntülenen moleküller arası etkileşim türleri.

- Gaussian 09 [92]

Konformasyonel analiz ve elektronik yapı hesaplamaları için kullanılmıştır.

- GaussView 5.0 [93]

Moleküllerin üç boyutlu yapılarının inşa edilmesi ve elde edilen sonuçların görüntülenmesi için kullanılmıştır.

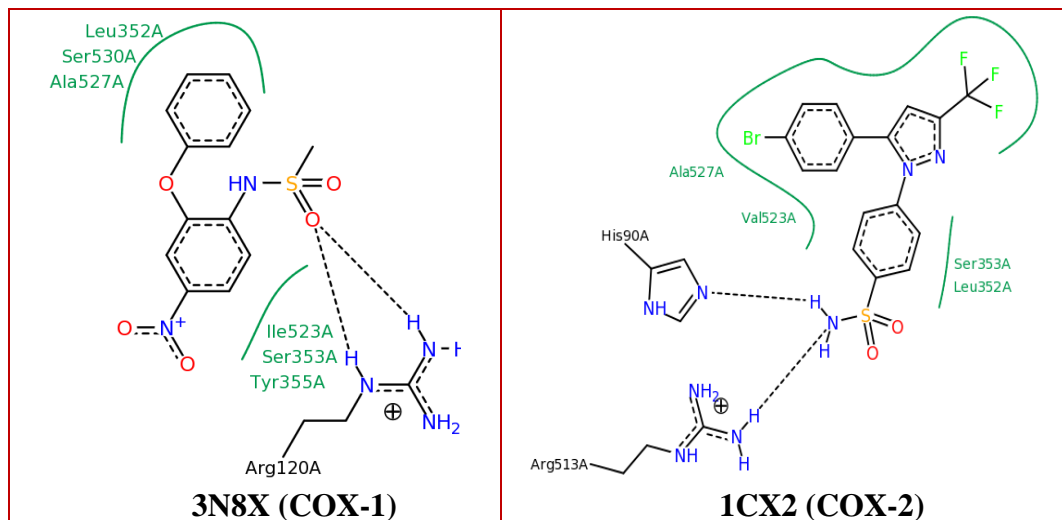
- Chimera-1.10.2 [94]

COX izoformlarının (COX-1 ve COX-2) amino asit dizi hizalamaları ve “standart sapmanın kare kökü” (RMSD) değerini elde etmek amacıyla kullanılmıştır.

### 4.1.3. Enzimlerin Kristal Yapıları

Tez kapsamında kullanılan oksijenaz enzimlerinin kristal yapıları protein data bankasından (PDB) temin edilmiştir [95].

Çalışmanın COX-1/COX-2 inhibitör modellemelerini içeren bölümünde sırasıyla 3N8X (R=2.75 Å) [96] ve 1CX2 (R=3.0 Å) [97] PDB kodlu enzimler kullanılmıştır. 3N8X'in (COX-1) kristal yapısında nimesülid; 1CX2'nin (COX-2) kristal yapısında ise SC-558 (1-fenilsülfonamid-3-triflorometil-5-parabromofenilpirazol) bileşiği bulunmaktadır. Bu bileşikler Şekil 4.2'de, etkileşime girdikleri aktif bölge amino asitleri ile birlikte verilmiştir [98].



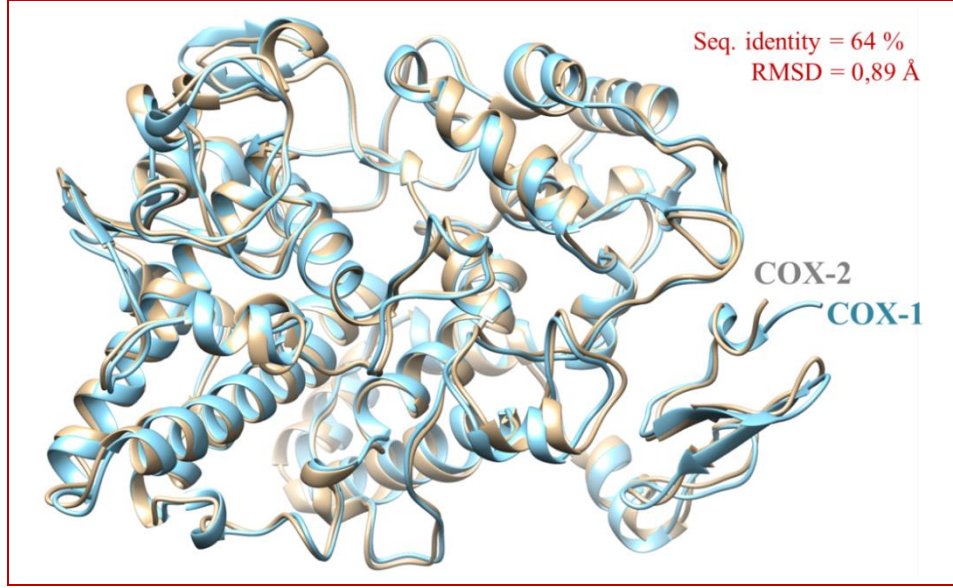
Şekil 4.2: COX-1 ve COX-2 enzimlerini kristal yapısında bulunan inhibitörler ve aktif bölge amino asitleri.

COX-1 ve COX-2 enzimlerinin amino asit dizi hizalaması Şekil 4.3'de verilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi, iki enzimin aktif bölge aminoasitlerinin %57'si ortaktır. Bu enzimlerin amino asit homoloji oranı %64'dür. Üst üste çakıştırılan iki enzimin atomları arasındaki mesafeyi veren RMSD değeri ise 0.89 Å'dur (Şekil 4.4).

COX-1 (3N8X)	P V N P C C Y Y P C Q H Q G I C V R F G L D R Y Q C D C T R T G Y S G P N C T I	71
COX-2 (1CX2)	- A N P C C S N P C Q N R G E C M S T G F D Q Y K C D C T R T G F Y G E N C T T	70
COX-1 (3N8X)	P E I W T W L R T T L R P S P S F I H F L L T H G R W L W D F V N - A T F I R D	110
COX-2 (1CX2)	P E F L T R I K L L L K P T P N T V H Y I L T H F K G V W N I V N N I P F L R S	110
COX-1 (3N8X)	T L M R L V L T V <b>R</b> S N L I P S P P T Y N I A H D Y I S W E S F S N V S Y Y T R	150
COX-2 (1CX2)	L I M K Y V L T S <b>R</b> S Y L I D S P P T Y N V H Y G Y K S W E A F S N L S Y Y T R	150
COX-1 (3N8X)	I L P S V P R D C P T P M G T K G K K Q L P D A E F L S R R F L L R R K F I P D	190
COX-2 (1CX2)	A L P P V A D D C P T P M G V K G N K E L P D S K E V L E K V L L R R E F I P D	190
COX-1 (3N8X)	P Q G T N L M F A F F A Q H F T H Q F F K T S G K M G P G F T K A L G H G V D L	230
COX-2 (1CX2)	P Q G S N M M F A F F A Q H F T H Q F F K T D H K R G P G F T R G L G H G V D L	230
COX-1 (3N8X)	G H I Y G D N L E R Q Y Q L R L F K D G K L K Y Q M L N G E V Y P P S V E E A P	270
COX-2 (1CX2)	N H I Y G E T L D R Q H K L R L F K D G K L K Y Q V I G G E V Y P P T V K D T Q	270
COX-1 (3N8X)	V L M H Y P R G I P P Q S Q M A V G Q E V F G L L P G L M L Y A T I W L R E H N	310
COX-2 (1CX2)	V E M I Y P P H I P E N L Q F A V G Q E V F G L V P G L M M Y A T I W L R E H Q	310
COX-1 (3N8X)	R V C D L L K A E H P T W G D E Q L F Q T A R L I L I G E T I K I V I E E Y V Q	350
COX-2 (1CX2)	R V C D I L K Q E H P E W G D E Q L F Q T S K L I L I G E T I K I V I E D Y V Q	350
COX-1 (3N8X)	Q L S G <b>Y</b> F L Q L K F D P E L L F G A Q F Q Y R N R I A M E F N Q L <b>Y</b> H W H P L	390
COX-2 (1CX2)	H L S G <b>Y</b> H F K L K F D P E L L F N Q Q F Q Y Q N R I A S E F N T L <b>Y</b> H W H P L	390
COX-1 (3N8X)	M P D S F R V G P Q D Y S Y E Q F L F N T S M L V D Y G V E A L V D A F S R Q P	430
COX-2 (1CX2)	L P D T F N I E D Q E Y S F K Q F L Y N N S I L L E H G L T Q F V E S F T R Q I	430
COX-1 (3N8X)	A G R I G G G R N I D H H I L H V A V D V I K E S R V L R L Q P F N E Y R K R F	470
COX-2 (1CX2)	A G R V A G G R N V P I A V Q A V A K A S I D Q S R E M K Y Q S L N E Y R K R F	470
COX-1 (3N8X)	G M K P Y T S F Q E L T G E K E M A A E L E E L Y G D I D A L E <b>F</b> Y P G L L L E	510
COX-2 (1CX2)	S L K P Y T S F E E L T G E K E M A A E L K A L Y S D I D V M E <b>L</b> Y P A L L V E	510
COX-1 (3N8X)	K <b>H</b> P N S I F G E S M <b>I</b> E M G A P F <b>S</b> L K G L L G N P I C S P E Y W K A S T F	550
COX-2 (1CX2)	K P <b>R</b> P D A I F G E T M <b>V</b> E L G A P F <b>S</b> L K G L M G N P I C S P Q Y W K P S T F	550
COX-1 (3N8X)	G G E V G F N L V K T A T L K K L V C L N T K T C P Y V S F H V P D	584
COX-2 (1CX2)	G G E V G F K I I N T A S I Q S L I C N N V K G C P F T S F N V Q D	584

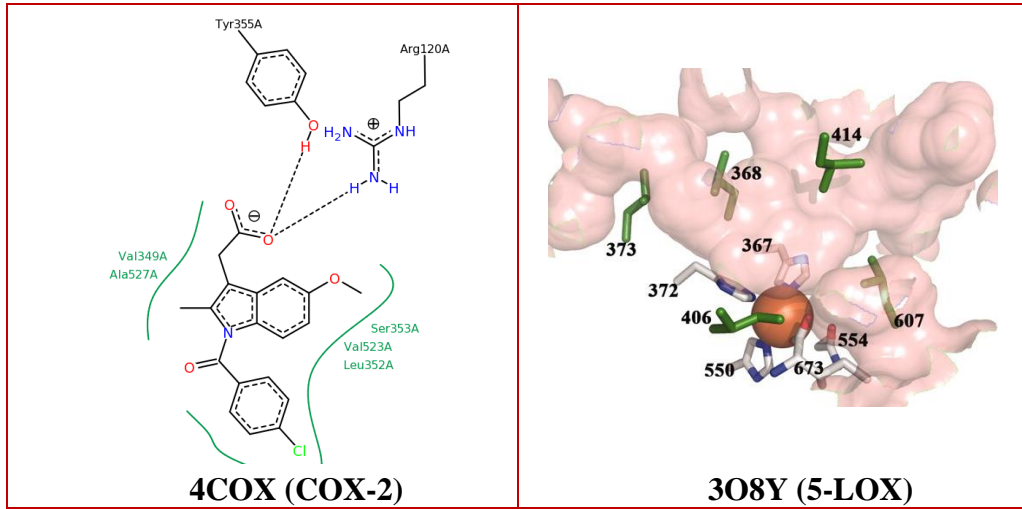
\*: Aktif bölge amino asitleri

Şekil 4.3: COX-1 ve COX-2 enzimlerinin dizi hizalaması.



Şekil 4.4: Üst üste karşılaştırılmış olan COX-1 (3N8X) ve COX-2 (1CX2) enzimlerinin sekonder yapılarının gösterimi.

Çalışmanın COX-2/5-LOX dual inhibitör modellemelerini içeren ikinci bölümünde ise sırasıyla 4COX [97] ve 3O8Y [99] PDB kodlu enzimler kullanılmıştır. 4COX'un (COX-2) kristal yapısı indometazin içerirken; 3O8Y enzimi (5-LOX) inhibitör içermeyip, His367, His372, His550 ve Ile673 amino asitleri üzerinden katalitik demir ile koordine olmaktadır (Şekil 4.5).



Şekil 4.5: COX-2 ve 5-LOX enzimlerinin kristal yapısında bulunan ligandlar ve aktif bölge amino asitleri.

## 4.2. Yöntemler

Tez kapsamında üç yöntem kullanılmıştır. Bunlar:

- Elektronik-topolojik metot (ETM) ve ETM-NN yaklaşımı

ETM ile oluşturulan matrislerle, aktiviteye neden olan ve aktiviteyi düşüren moleküler fragmentler (farmakoforlar ve anti-farmakoforlar) belirlenmiş; ETM-NN yaklaşımı ile de bu fragmentlere dayalı olarak aktivite tahmin modelleri geliştirilmiştir.

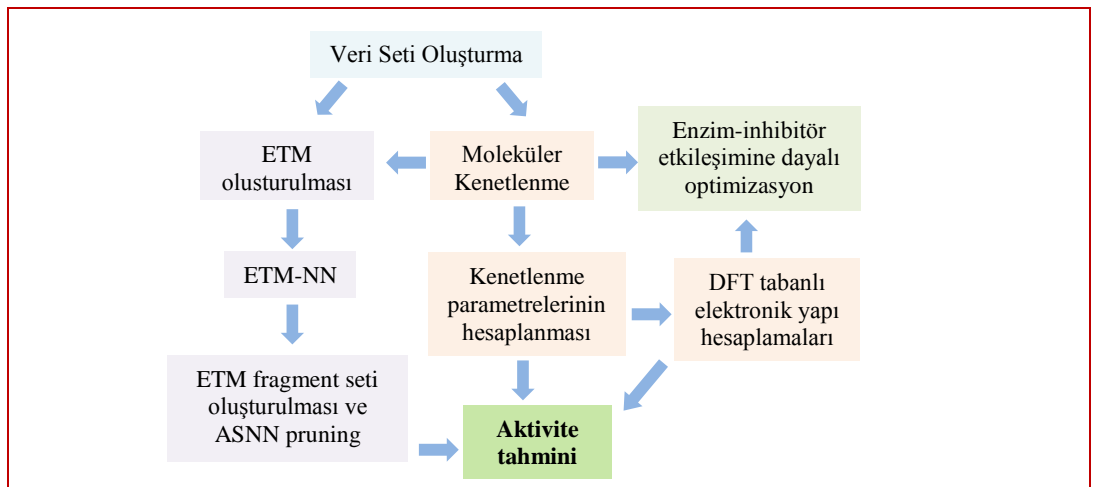
- Moleküler kenetlenme

Bu yöntemle, inhibitörlerin enzimlere bağlanma afiniteleri ve konformasyonları elde edilmiş; bağlanmada etkili olan kovalent olmayan etkileşimler incelenmiştir.

- Yoğunluk fonksiyoneli teorisi (DFT)

DFT yöntemiyle, enzimlerin aktif bölgesine kenetlenmiş olan bileşikler için Frontier Moleküler Orbital (FMO) ve Natural Bond Orbital (NBO) analizleri yapılmıştır.

ETM/ETM-NN, moleküler kenetlenme ve DFT yöntemlerine dayalı veri analiz şeması Şekil 4.6'da verilmiştir.



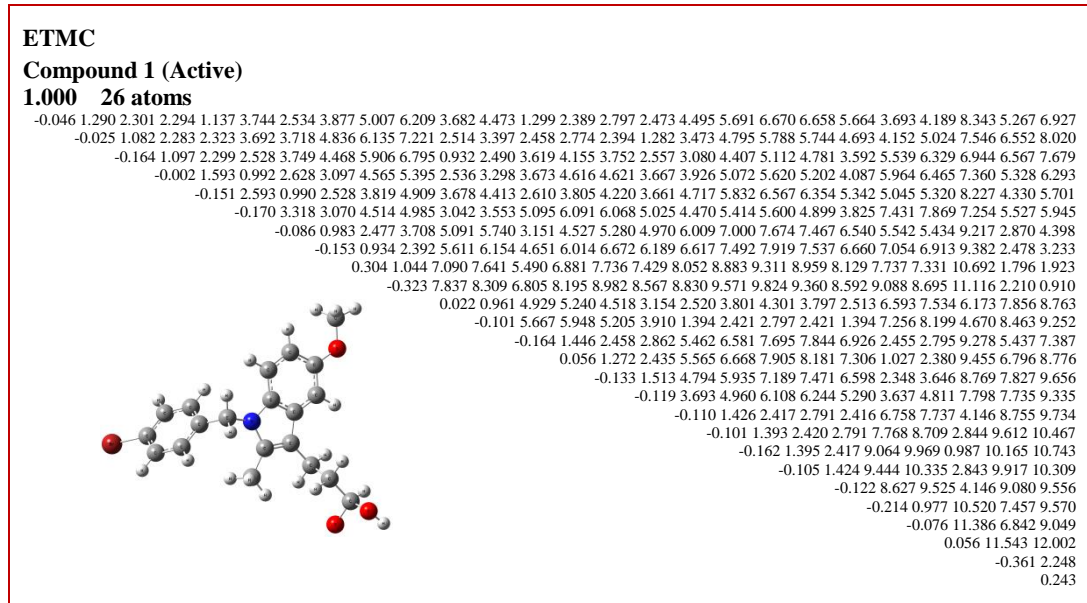
Şekil 4.6: ETM-NN, kenetlenme ve DFT yöntemleri ile veri analiz şeması.



## 4.2.1. Elektronik-Topolojik Metot (ETM)

ETM’de her bir molekül için uygunluk elektronik-topolojik matrisi (electronic-topological matrix of congruity, ETMC) oluşturulur ve verilen bir molekül serisinden biyolojik açıdan aktif veya inaktif olan moleküllerin, konformasyonel ve elektronik yapıları belirlenir.

ETM kullanılarak araştırılmış konuların bir kısmı, inceleme altındaki aktivite üzerinde denenmiş bileşik serileriyle yansıtılmıştır. Bu bileşiklerin aktiflik ya da inaktiflikleri tahmin edilebilir, ya da kantitatif olarak ortaya konulabilir. Her molekülün konformasyonel ve elektronik yapıları belirlenmiş ve  $n$ . dereceden  $m$  matrisinin bir seti olarak düzenlenmiştir. Burada,  $n$  moleküldeki atomların sayısı,  $m$  ise farklı elektronik karakterlerin sayısını göstermektedir.  $m$  değeri, serisi verilmiş bileşiklerin tümü için sabittir ve aynı atom veya bağa verilmiş olabilir. Bu şekilde, herbir kesite tanımlanmış olan, yoğunlaştırılmış bir grafik olan çok boyutlu ETMC matrisi elde edilir. ETMC her bir kesite ve her bir köprüye tanımlanmış olan yoğunlaştırılmış bir grafikdir. Bu çok boyutlu matris, moleküler yapının tarif edilmesinde ve kimyasal maddelerin özelliğinin belirlenmesinde büyük önem taşımaktadır. Şekil 4.7’de aktif bir moleküle ait örnek bir ETMC verilmiştir.



Şekil 4.7: Örnek bir ETMC.

ETMC'nin her biri köşegen elementlere göre simetrik ( $a_{ij}^{(k)}=a_{ji}^{(k)}$ ) olan kare bir matristir. Bu nedenle sadece matrisin üst yarısı gösterilir. Elementlerin toplam sayıları,  $n(n+1)/2$  denklemi ile bulunur. Burada,  $n$  moleküldeki atomların sayısına eşittir. Atom yüklerini gösteren köşegen elementler için,  $a_{ii}^{(k)}$  ;  $i=1, 2, 3, \dots, n$  dir. Köşegen olmayan  $a_{ij}^{(k)}$  elementlerde,  $i$  ve  $j$  birbirine yakın-komşu olan iki atom olarak sınıflandırılırsa, kimyasal bağlanmanın meydana geldiğini göstermektedir. Şayet  $i$  ve  $j$  birbirine bağlı olmayan atomlar olarak sınıflandırılırsa,  $a_{ij}^{(k)}=R_{ji}^{(k)}$  atomlar arası mesafeleri gösterir. Bu metotla bulunan her bir matris hem elektronik ( $a_{ij}$ ), hem de geometrik ( $R_{ij}$ ) özellikleri ihtiva eder.

Düzenli  $n \times n$  bir ETMC oluştuğu zaman, kullanıcı başlangıçtaki çok boyutlu matrisin farklı tabakalarından köşegen ve köşegen olmayanlar için değerler seçebilir. ETMC'nin simetrisinin incelenmesinde, yalnızca onun üst üçgeni bilgisayarın hafızasında tutulur ve işletilir.

Bir kontrol bileşiği ile bütün ETMC'lerin ikili kıyaslanma prosedürü aşağıda sırasıyla verilmiştir.

- Tüm bileşikler için geometrik ve elektronik özellikler hesaplanır.
- Hesaplanan özellikler kullanılarak bütün bileşikler için ETMC'ler oluşturulur (yükler: köşegen elemanlar, bağlar: Wiberg indisleri, bağlı olmayan atomlar: mesafeler).
- Herhangi bir ETMC çiftinin kıyaslanması için hassasiyet ve % olarak aktivite tahmini için bir başlangıç şartları ayarlanır.
- En aktif bileşiklerden birisi kontrol bileşiği olarak alınır ve diğer bileşiklerle kıyaslanır. Kıyaslama bittiğinde, aktif bileşiklerde en fazla ortak bulunan yapısal fragmentler tespit edilerek (bu fragmentler kontrol matrisinin alt matrisleri olarak kullanılır), aktif ve inaktif bileşik setinde bu fragmentlerle karşılaşma ihtimaliyetini ( $P_a$ ) temsil eden şartlar ortaya çıkartılır. Eğer bazı fragmentler yalnızca aktif bileşiklerde bulunup, inaktif olanlarda bulunmazsa; bu fragmentler aktiflik özellikleri olarak değerlendirilir. Başka bir deyişle aktiflikten bu fragmentlerin sorumlu olduğu kabul edilir.  $P_a$  ve  $\alpha_a$  katsayıları, sırasıyla Eşitlik 4.1 ve Eşitlik 4.2'den hesaplanır [100]:

$$P_a = (n_1+1)/(n_1+n_3+2) \quad (4.1)$$

$$\alpha_a = \frac{(n_1 \cdot n_4 - n_2 \cdot n_3)}{\sqrt{N_1 \cdot N_2 \cdot N_3 \cdot N_4}} \quad (4.2)$$

Bu eşitliklerde  $S_i$  aktivite özelliği;  $n_1$  ve  $n_2$  ise sırasıyla bu özelliği gösteren ve göstermeyen aktif bileşik sayıları;  $n_3$  ve  $n_4$  inaktif bileşik sayılarıdır.  $\alpha_a$  serideki bütün bileşikler dikkate alınırken,  $P_a$  ihtimaliyet katsayısı yalnızca ETM ile bulunan bir aktivite özelliğini içeren bileşikler dikkate alınır.

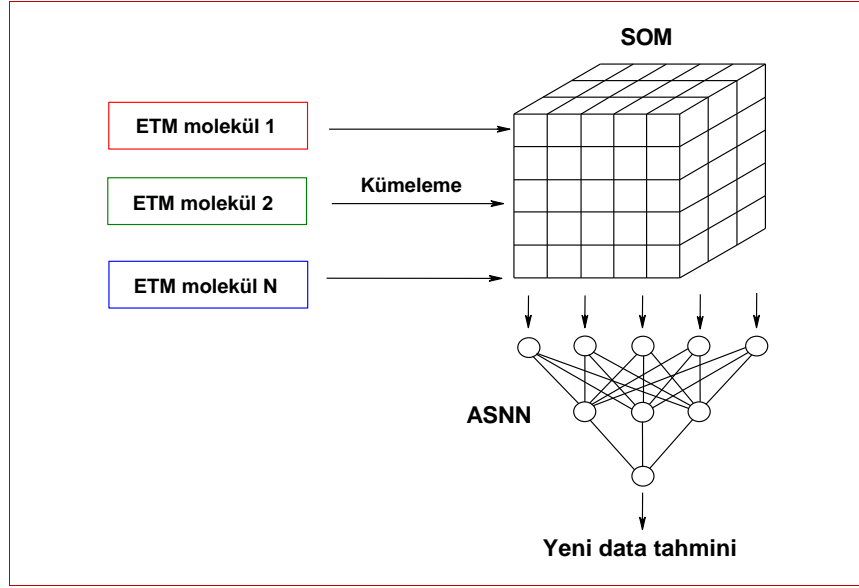
Sonuç olarak elde edilen fragmentler yeterince bilgilendirici değilse, aşağıdaki değişikliklerden birisi yapılarak aynı prosedür tekrarlanır:

- Matris elemanları tüm bileşikler için farklı bir hassasiyetle verilebilir,
- Kontrol bileşiği değiştirilebilir,
- Başlangıç şartlarını oluşturan limitler değiştirilebilir.

Bu değişiklikler, uygun fragment bulununcaya dek sürdürülür. Aktiviteyi azaltan fragmentleri belirlemek için, inaktif bileşiklerden birisi kontrol bileşiği olarak alınarak, aynı yöntem uygulanır. İncelenen bileşikler için elde edilen fragmentler kabul edilebilir seviyeye geldiğinde, herhangi bir yeni bileşiğin bu fragmenti taşıyıp taşımadığına bakılarak, o bileşiğin aktivitesi hakkında tahminde bulunulabilir.

#### **4.2.1.1. Sinir Ağlarıyla Birleştirilmiş ETM (ETM/NN)**

ETM ile elde edilen verileri analiz eden ETM/NN algoritması, karşılaştırmalı moleküler alan analizi (CoMFA) için oluşturulan hacim öğrenme algoritmasına dayalı olarak geliştirilmiştir [101]. Bu yöntem, Kohonen'in kendiliğinden organize olan ağları (SOMs) ve ilişkili sinir ağlarının (ASNNs) iteratif bir uygulamasıdır (Şekil 4.8).

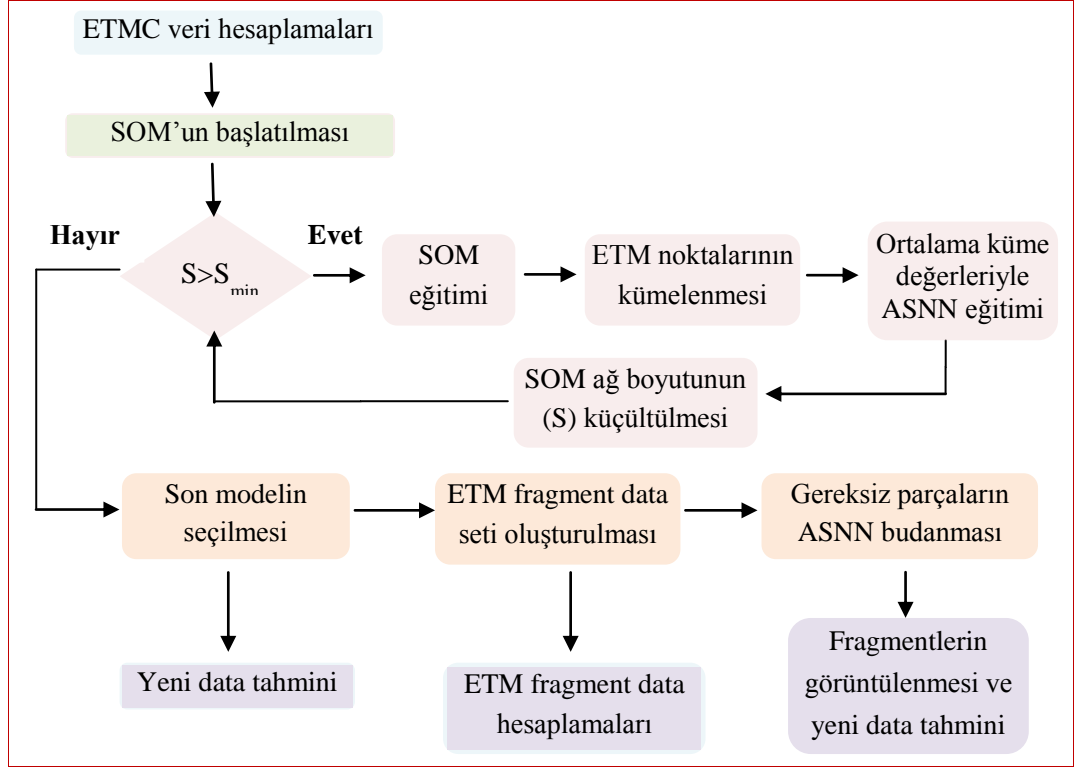


Şekil 4.8: ETM-NN data oluşumu ve ASNN hesaplamaları.

Şekil 4.9’da şematik olarak verilmiş olan ETM-NN veri analiz sürecinde sırasıyla aşağıdaki işlemler uygulanır:

- Başlangıç girdi (input) dosyası olarak ETM ile elde edilen ETMC’ler alınır.
- Kohonen’in ağ parametreleri başlatılır ve herbir molekülün kendi ETMC’sinden gelen kümeler hesaplanır. Kohonen ağına başlangıç boyutu  $S = 2 * S_{ETMC}$  olarak alınır ( $S_{ETMC}$ : en büyük moleküler matrisin boyutu).
- Her moleküler fragment için (farmakofor/anti-farmakofor), Kohonen’in SOM birimleri üzerindeki izdüşümü ve  $E_q$  izdüşüm hatası hesaplanır. Herbir fragmentin ağırlığı  $1/E_q$  olarak hesaplanır ve parametre olarak hesaplanan ağırlıklar kullanılmak suretiyle, yeni bir veri seti oluşturulur.
- Fragmentlerle ilgili ETM dataları (ETSC), ASNNs kullanılarak analiz edilir ve ortalama tahmin hatası ( $E_c$ ) hesaplanır.
- $E_c$  değeri, bir önceki öğrenme aşamasında bulunan  $E_p$  değeriyle kıyaslanır (başlangıçta  $E_p = 10^{-3}$ ).  $E_c < E_p$  ise, fragmentin mevcut ETSC izdüşümü kaydedilir.
- Kohonen ağına boyutu küçültülür. Ağ boyutu minimum oluncaya kadar 2-6 basamakları tekrarlanır ( $S_{min}$  8 ağı eşittir).
- $E_c$ ’nin minimum değerine göre fragment ETMC’lerinin en iyi izdüşümleri seçilir ve yeni bileşiklerin aktiviteleri tahmin edilir.

- ASNN eğitiminden sonra, özel budama (pruning) metotları kullanılarak [102], [103], en fazla bilgi veren ETMC fragmentleri seçilir.
- Yeni bileşiklerin aktiviteleri tahmin edilir. Optimize olmuş ETMC fragmentleri, inceleme altındaki bileşiklerin en önemli aktivite gösteren bölgelerini görüntülemek için kullanılır.



Şekil 4.9: ETM-NN veri analizinin işlem basamakları.

#### 4.2.2. Moleküler Kenetlenme

Moleküler kenetlenme (docking), kararlı bir kompleks oluşturmak üzere bir molekülün diğer bir moleküle bağlanırken tercih ettiği konformasyonları belirleyen bir metottur [104]. Moleküler kenetlenme yöntemi çoğunlukla bir ligandın enzime bağlanırken tercih ettiği konformasyonu ve bağlanma afinitesini elde etmek için kullanılmaktadır. Bu yöntem, ilaç adayı küçük moleküllerin hedef proteinlerine bağlanma pozisyonlarını belirlemek amacıyla yapılan rasyonel ilaç dizaynı çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır [105].

Moleküler kenetlenme yöntemi genelde, reseptörün tamamını ya da büyük bir kısmını rijit kabul eder; seçilen bazı kovalent bağları dönme serbestisinde bırakırken,

bağ uzunluklarını ve açıları sabit tutar. Çünkü enzim gibi makromoleküler bir yapı için tüm konformasyonların teker teker incelenmesi ve bu konformasyonların her biri için hesaplama yapılması, uzun zaman alan bir işlemdir.

Moleküler kenetlenme yönteminde kullanılan iki önemli kavram, tarama algoritması ve skortlama fonksiyonudur (scoring function).

- Tarama Algoritması

Moleküler kenetlenme işlemi, ligandın hedeflenen bağlanma bölgesine pozlanmasıyla başlar. Poz, ligandın enzimin aktif bölgesindeki tahmin edilen konformasyonu ve yönlendiği olarak tarif edilebilir. Bağlanma bölgesine en iyi uyum konformasyonunun elde edilebilmesi için, serbestlik dereceleri yüksek doğrulukta belirlenmeli ve bu işlem binlerce bileşik üzerinde uygulanabilecek kadar da hızlı olmalıdır.

Bir kenetlenme programının algoritması, ligand esnekliğini göz önünde bulundurarak, onu enzimin hedeflenen bölgesine yerleştirir.

- Skortlama Fonksiyonu

Bir moleküler kenetlenme programında skortlama fonksiyonu, ligandın pozlanmasını ve sıralanmasını içerir. Tarama algoritması, skortlama fonksiyonunun minimizasyonu için kullanılır.

### **4.2.3. Yoğunluk Fonksiyoneli Teorisi (DFT)**

Yoğunluk Fonksiyoneli Teorisi (Density Functional Theory, DFT), çok parçacıklı bir sistemin elektronik yapısının incelenmesinde yaygın olarak kullanılan güçlü bir kuantum mekanik tabanlı yöntemdir. DFT hesaplamaları yapısal, enerjetik ve titreşimsel özellikleri saptar. Diğer yandan DFT yöntemiyle katı fazların elektronik, optik ve manyetik özelliklerini tahmin etmek mümkündür. Küçük moleküllerden komplekslere, periyodik ve amorf katılara kadar birçok sistem ve proses üzerinde (yüzeyin tekrar yapılması, moleküllerin soğurulması, kimyasal reaksiyonlar gibi) çalışılmaktadır. DFT ile elde edilen sonuçlar, kullanılan değiş-tokuş (varyasyon) potansiyeline büyük ölçüde bağlıdır. Bu HF tabanlı metodlarla önemli kavramsal bir farktır.

DFT’de karmaşık  $n$ -elektron dalga fonksiyonu ( $\Psi$ ) yerine, daha basit olan elektron yoğunluğu dikkate alındığı için, hesaplama sonuçları diğer *ab initio* yöntemlere göre daha hızlı elde edilebilmektedir. DFT’ye göre bir sistemin toplam enerjisi, elektron yoğunluğunun bir fonksiyoneliidir [106]. Çekirdek ve elektronların nokta kütleler olarak kabul edilmesi durumunda (spin orbital etkileşimi ve diğer rölativistik etkileşimler ihmal edilirse), moleküler Hamiltonian Eşitlik 4.3’deki gibi yazılabilir.

$$\hat{H} = -\frac{\hbar^2}{2} \sum_{\alpha} \frac{1}{m_{\alpha}} \nabla_{\alpha}^2 - \frac{\hbar^2}{2m_e} \sum_i \nabla_i^2 + \sum_{\alpha} \sum_{\beta>0} \frac{Z_{\alpha} Z_{\beta} e'^2}{r_{\alpha\beta}} - \sum_{\alpha} \sum_i \frac{Z_{\alpha} e'^2}{r_{i\alpha}} + \sum_i \sum_{j>i} \frac{e'^2}{r_{ij}} \quad (4.3)$$

Burada  $\alpha$  ve  $\beta$  çekirdeği,  $i$  ve  $j$  ise elektronları ifade eder. İlk terim çekirdeğin kinetik enerji operatörüdür. İkinci terim elektronun kinetik enerji operatörüdür. Üçüncü terim atom numarası  $Z_{\alpha}$  ve  $Z_{\beta}$  olan,  $\alpha$  ve  $\beta$  çekirdeği arasındaki uzaklığı  $r_{\alpha\beta}$  olan, çekirdekler arasındaki itme potansiyel enerjisidir. Dördüncü terim  $i$  elektronu ve  $\alpha$  çekirdeği arasında  $r_{i\alpha}$  uzaklığında olan, çekirdek ve elektronlar arasındaki çekim potansiyel enerjisini gösterir. Son terim  $i$  ve  $j$  elektronları arasında  $r_{ij}$  uzaklığında olan elektronlar arasındaki itmeyi gösterir.

Çok atomlu bir molekül için, rölativistik olmayan, tam elektronik Hamiltonian, Eşitlik 4.4’deki gibi verilir.

$$\hat{H}_{el} = -\frac{\hbar^2}{2m_e} \sum_i \nabla_i^2 - \sum_i \sum_a \frac{Z_a e'^2}{r_{ia}} + \sum_i \sum_{j>i} \frac{e'^2}{r_{ij}} \quad (4.4)$$

ve atomik birimlerle aşağıdaki şekilde yazılır:

$$\hat{H}_{el} = -\frac{1}{2} \sum_i \nabla_i^2 - \sum_i \sum_a \frac{Z_a}{r_{ia}} + \sum_i \sum_{j>i} \frac{1}{r_{ij}} \quad (4.5)$$

$n$  elektronlu molekülün elektronik dalga fonksiyonu,  $3n$  uzay koordinatları ve  $n$  spin koordinatlarına bağlıdır. Hamiltonian operatörü ( $\hat{H}$ ) bir ve iki elektronlu uzaysal terimleri ihtiva ettiği için, moleküler enerji sadece altı tane uzaysal koordinatı içeren terimlerle yazılabilir. Bir anlamda çok elektronlu molekülün dalga fonksiyonu,

ihtiyaç duyulandan daha fazla bilgi ihtiva eder ve fiziksel önemi yoktur. Bu durum, enerji ve diğer özellikleri hesaplamak için, kullanılabilen ve dalga fonksiyonundan daha az değişkenler içeren fonksiyonların araştırılmasına neden olur.

Eşitlik 4.6 ile verilen Kohn-Sham formülüne göre bir sistemin toplam enerjisi; kinetik enerji, sistemdeki bütün yüklü parçacıklar arasındaki klasik elektrostatik etkileşmeden kaynaklanan bir Coulomb enerjisi ve bütün çok parçacıklı etkileşmeleri kapsayan değiş-tokuş korelasyon (XC) enerjisi olarak bilinen bir terimden oluşur [107].

$$E = E_T + E_V + E_J + E_{XC} \quad (4.6)$$

DFT'nin Hartree–Fock (HF) metoduyla ortak yönleri vardır. DFT'de toplam elektron yoğunluğu, bir elektronlu dalga fonksiyonlarından meydana gelen bir elektronlu yoğunluklara ayrıştırılır. Bu bir elektronlu dalga fonksiyonları, HF teorisinin dalga fonksiyonlarına benzerdir. Moleküler sistemler için DFT, HF yaklaşımına kıyasla bir moleküler orbital (MO) tanımlamayı gerektirir [108].

#### 4.2.3.1. Hohenberg-Kohn Teoremi

1964'de Hohenberg ve Kohn, dejenere olmayan temel haldeki moleküllerin, moleküler enerjinin, dalga fonksiyonu ve diğer bütün moleküler elektronik özelliklerin, sadece üç değişkenin fonksiyonu olan, temel hal elektron olasılık yoğunluğu ile  $\rho_o(x,y,z)$  saptanabileceğini kanıtlamışlardır. Temel hal elektronik enerjisi  $E_o$ ,  $\rho_o$ 'ın bir fonksiyonudur. DFT,  $E_o$  ve diğer temel hal moleküler özellikleri elektron yoğunluğundan ( $\rho_o$ ) hesaplamaya çalışır.

Hohenberg-Kohn teoremine göre,  $n$  elektronlu bir molekülün temel hal elektronik dalga fonksiyonu, tam elektronik Hamiltonian'ın bir özfonksiyonudur ve atomik birimler cinsinden aşağıdaki şekilde yazılır.

$$\hat{H}_{el} = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^n \nabla_i^2 + \sum_{i=1}^n v(\mathbf{r}_i) + \sum_i \sum_{j>i} \frac{1}{r_{ij}} \quad (4.7)$$

$$v(\mathbf{r}_i) = \sum_a \frac{Z_a}{r_{ia}} \quad (4.8)$$



$i$  elektronu ve çekirdek arasındaki etkileşimin potansiyel enerjisi olan  $v(\mathbf{r}_i)$  niceliği,  $i$  elektronunun  $x_i, y_i, z_i$  koordinatlarına ve çekirdek koordinatlarına bağlıdır. Elektronik dalga fonksiyonu çekirdeğin sabit durumu için çözüldüğünden çekirdek koordinatları elektronik Schrödinger eşitliğinde değişmez. Bu nedenle, elektronik Schrödinger eşitliğindeki sadece  $v(\mathbf{r}_i)$ , vektör notasyonu kullanılarak, gösterilen  $x_i, y_i, z_i$  nin bir fonksiyonudur. DFT de  $v(\mathbf{r}_i)$  ye,  $i$  elektronuna etkiyen dış potansiyel denir.

#### 4.2.3.2. Yerel Yoğunluk Yaklaşımı

Hohenberg ve Kohn,  $\rho$  nun son derece yavaş bir pozisyonu değiştirilirse  $E_{XC}[\rho]$  nin hassas bir şekilde aşağıdaki eşitlikle verildiğini göstermişlerdir.

$$E_{XC}^{LDA}[\rho] = \int \rho(\mathbf{r}) \varepsilon_{XC}(\rho) d\mathbf{r} \quad (4.9)$$

Burada integral tüm uzay üzerinden alınır.  $d\mathbf{r} = dx dy dz$  dir ve  $\varepsilon_{XC}[\rho]$ , elektron yoğunluğu  $\rho$  olan homojen elektron gazındaki her bir elektron için varyasyon ve korelasyon enerjisinin toplamıdır. Jellium pozitif yükün devamlı ve homojen bir şekilde dağıldığı bir uzayda hareket eden sonlu sayıda etkileşen, elektronlardan oluşan elektriksel olarak hayali, nötr, sonlu hacim sistemidir.

Birim hacimdeki elektronların sayısının sıfır olmadığı sabit  $\rho$  değeri vardır. Jelliumdaki elektronlar homojen elektron gazı oluşturur.  $E_{xc}^{LDA}$  nin fonksiyonel türevi alındığında aşağıdaki eşitlik elde edilir:

$$v_{xc}^{LDA} = \frac{\delta E_{XC}^{LDA}}{\delta \rho} = \varepsilon_{xc}(\rho(\mathbf{r})) + \rho(\mathbf{r}) \frac{\partial \varepsilon_{xc}(\rho)}{\partial \rho} \quad (4.10)$$

$\varepsilon_{XC}$ , varyasyon ve korelasyon kısımlarının toplamı olarak yazılabilir.

$$\varepsilon_{xc}(\rho) = \varepsilon_x(\rho) + \varepsilon_c(\rho) \quad (4.11)$$

Burada;

$$\varepsilon_x(\rho) = -\frac{3}{4} \left( \frac{3}{\pi} \right)^{\frac{1}{3}} (\rho(\mathbf{r}))^{\frac{1}{3}} \quad (4.12)$$

$\varepsilon_c(\rho)$  korelasyon kısmı hesaplanmış ve sonuçlar; Vosko, Wilk ve Nusair (VWN) tarafından  $\rho$  nun komplike fonksiyonu  $\varepsilon_c^{VWN}$  olarak ifade edilmiştir.

$$\varepsilon_c(\rho) = \varepsilon_c^{VWN}(\rho) \quad (4.13)$$

$$v_{xc}^{LDA} = v_x^{LDA} + v_c^{LDA}, \quad v_x^{LDA} = -\left[ \frac{3}{\pi} \rho(\mathbf{r}) \right]^{\frac{1}{3}}, \quad v_c^{LDA} = v_c^{VWN} \quad (4.14)$$

$$E_x^{LDA} \equiv \int \rho \varepsilon_x d\mathbf{r} = -\frac{3}{4} \left( \frac{3}{\pi} \right) \int [\rho(r)]^{\frac{4}{3}} d\mathbf{r} \quad (4.15)$$

KS, DFT'de kullanım için, yaklaşım fonksiyonelleri geliştirilmesine yardım etmek için yardımcı fonksiyonel  $E_{xc}$ ; varyasyon enerji fonksiyoneli  $E_x$ , ve korelasyon enerji fonksiyoneli  $E_c$  nin toplamı olarak yazılır.

$$E_{xc} = E_x + E_c \quad (4.16)$$

$E_x$ , Hartree-Fock teorisinde kullanılan enerji varyasyonu formülü ile aynı şekilde tanımlanır. Sadece Hartree-Fock orbitalleri yerine Kohn-Sham orbitalleri kullanılır. Kapalı kabuk molekülünün Hartree-Fock varyasyon enerjisi:

$$E_{HF} = 2 \sum_{i=1}^{\frac{n}{2}} H_{ii}^{kor} + \sum_{i=1}^{\frac{n}{2}} \sum_{j=1}^{\frac{n}{2}} (2J_{ij} - K_{ij}) + V_{NN} \quad (4.17)$$

ile verilir ve burada  $K_{ij}$  varyasyon integralidir.

$$J_{ij} \equiv \left\langle \phi_i(1)\phi_j(2) \left| \frac{1}{r_{12}} \right| \phi_i(1)\phi_j(2) \right\rangle; \quad K_{ij} \equiv \left\langle \phi_i(1)\phi_j(2) \left| \frac{1}{r_{12}} \right| \phi_j(1)\phi_i(2) \right\rangle \quad (4.18)$$

Bu eşitlikte Hartree-Fock orbitalleri yerine Kohn-Sham orbitalleri yerleştirildiğinde kapalı kabuk molekülü için aşağıdaki eşitlik elde edilir:

$$E_x \equiv -\frac{1}{4} \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n \left\langle \phi_i^{KS}(1) \phi_j^{KS}(2) \left| \frac{1}{r_{12}} \right| \phi_j^{KS}(1) \phi_i^{KS}(2) \right\rangle \quad (4.19)$$

KS orbitalleri pratikte Hartree-Fock orbitallerine benzediği için DFT değişim enerjisi Hartree-Fock değişim enerjisine yakındır.  $E_x$  bir kez tanımlandığı zaman korelasyon enerji fonksiyonel  $E_c$ ,  $E_{xc}$  ile  $E_x$  arasındaki fark olarak tanımlanır.  $E_c = E_{xc} - E_x$  dir.  $E_x$ 'in tanımı kullanılarak ve  $E_c$  mevcut modellerden biri olarak (LDA gibi) değerlendirildiğinde, moleküler özellikler için zayıf sonuçlar elde edilir.

Böylece pratikte, hem  $E_x$  hem de  $E_c$  ile modellemek en iyisidir. Çünkü bu, hataların elimine edilmesine yol açar ve en iyi sonuçları verir. Bu nedenle,  $E_x$  ve  $E_c$  nin her ikisini de bulmak için LDA kullanılır.

#### 4.2.3.3. Yerel Spin Yoğunluk Yaklaşımı

Açık kabuk molekülleri ve moleküler geometrisi, dissosiasyona yakın olanlar için LSDA, LDA'dan daha iyi sonuçlar verir. LDA da çift zıt spinli orbitallerin aynı uzaysal KS orbitali vardır, oysa LSDA elektronların farklı  $\theta_{i\alpha}^{KS}$ ,  $\theta_{i\beta}^{KS}$  KS orbitallerinde olmasına izin verir. Bu nedenle LSDA farklı spinleri olan elektronlar için farklı Hartree-Fock orbitalleri veren UHF metoduna benzerdir. Hohenberg, Kohn, ve Sham teoremleri farklı spinleri olan elektronlar için farklı orbitaller kullanmayı gerektirmez (dış manyetik alan olmadığı sürece) ve tam fonksiyon biliniyorsa böyle yapılmaz. KS DFT hesaplamalarında kullanılan yaklaşık  $E_{xc}$  fonksiyonelleri ile farklı spinleri olan elektronlar için farklı orbitallerin olma olasılığı, geometrisi, dissosiasyona yakın örneklerin ve açık kabuk örneklerinin hesaplamalarını iyileştirmek için bir avantajdır.

Farklı spinleri olan elektronların farklı orbitallerinin olmasını sağlayan DFT nin geliştirilmesine spin yoğunluk fonksiyonel teorisi denir. Spin DFT de,  $\rho^a(\mathbf{r})$  elektronları, spin  $\alpha$  elektronları ve spin  $\beta$  elektronlarının  $\rho^\beta(\mathbf{r})$  yoğunluğu nedeni

ile ayrı bir şekilde değerlendirilir ve  $E_{xc}$  gibi fonksiyoneller bu iki niceliğin fonksiyonelleri olur.  $E_{xc} = E_{xc}[\rho^\alpha, \rho^\beta]$  orbitalleri için ayrı Kohn-Sham özdeğer eşitlikleri ile ilgilenilir. Bu eşitlikler  $v_{xc}^\alpha, v_{xc}^\beta = \delta E_{xc}[\rho^\alpha, \rho^\beta] / \delta \rho^\alpha$  şeklindedir. Benzer şekilde  $v_{xc}^\beta$  içinde yazılır. CH<sub>3</sub> ve O<sub>2</sub> gibi üçlü temel durumu olan elektronlar için  $\alpha$  elektronlarının  $n^\alpha$  sayısı elektron sayısından farklıdır. Bu nedenle burada  $\rho^\alpha \neq \rho^\beta$  dir ve spin DFT farklı spinli elektronlar için farklı orbitaller verecektir.

#### 4.2.3.4. Polarize Spinli Yoğunluk Fonksiyoneli Teorisi

Bu teoride hem elektron yoğunluğu hem de spin yoğunluğu, yukarı spin ve aşağı spin elektronlarının yoğunlukları arasında fark olan net spin yoğunluğunun temel özelliğidir ve aşağıdaki gibi ifade edilir:

$$\sigma(r) = \rho_\uparrow(r) - \rho_\downarrow(r) \quad (4.20)$$

Toplam elektron yoğunluğu sadece elektronların iki türünün yoğunluk toplamıdır. Değiş-tokuş korelasyon fonksiyoneli, polarize olmuş spinli Kohn-Sham eşitliklerinin bir dizisine sebep olan, iki durum için tipik olarak farklıdır.

$$\left[ -\frac{\nabla^2}{2} + V_{ext}(r) + \int \rho(r') \frac{1}{|r-r'|} dr' + V_{xc}(r, \sigma) \right] \psi_m^\sigma(r) = \varepsilon_m^\sigma \psi_m^\sigma(r), \quad \sigma = \uparrow, \downarrow \quad (4.21)$$

Burada  $\rho(r) = \rho_\uparrow(r) + \rho_\downarrow(r)$  dir. Bu her bir spin için sınırsız HF teorisine benzeyen dalga fonksiyonlarının iki dizisine neden olur [108].

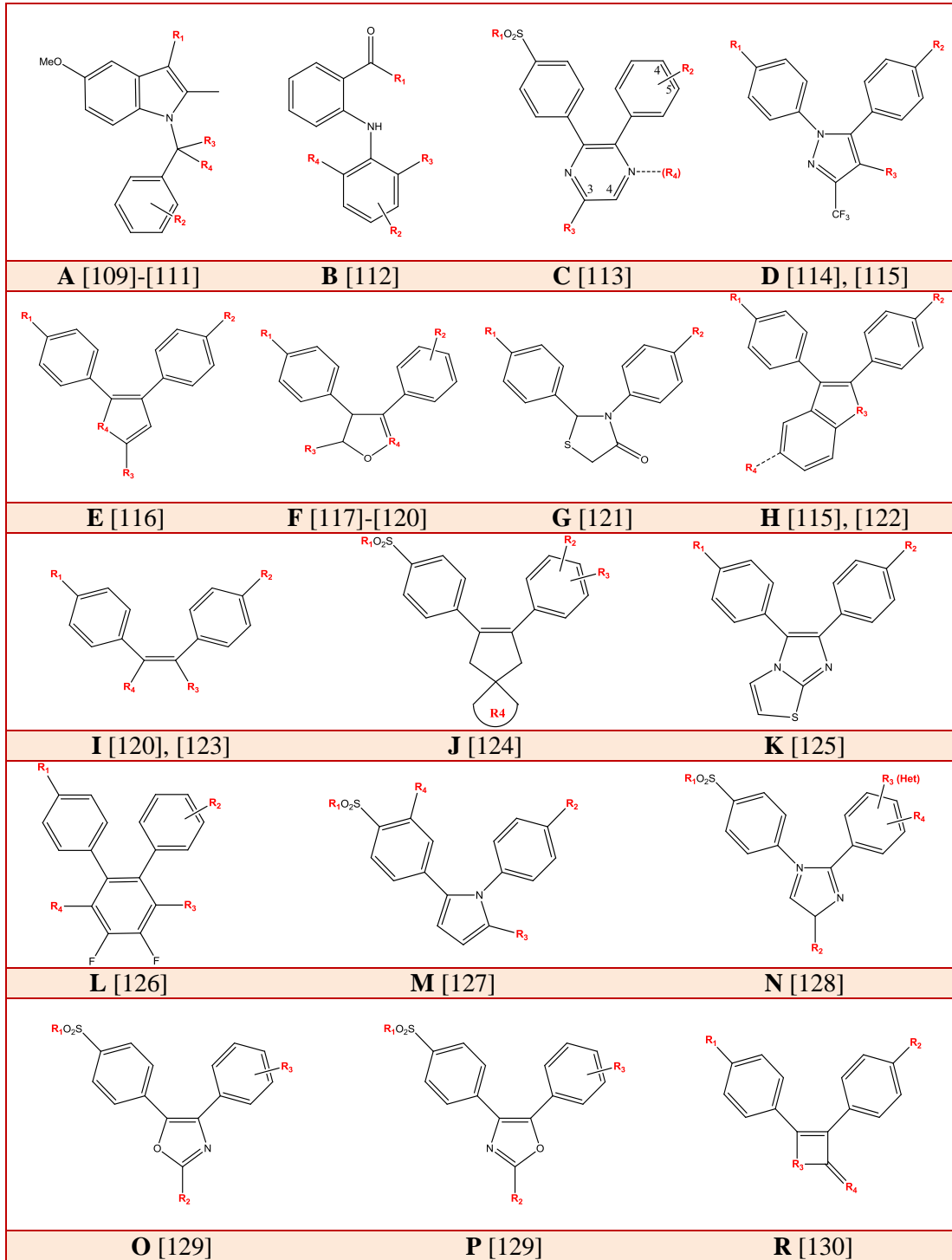
## 5. BULGULAR ve TARTIŞMA

### 5.1. COX-1/COX-2 İnhibitör Modellemeleri

Çalışmanın ilk bölümünde literatüre dayalı olarak, yapı ve aktiviteleri bilinen bir bileşik seti oluşturulup, bu bileşiklerin COX-2 enzimine karşı selektiveleri moleküler modelleme yöntemleriyle incelenmiştir. Bu amaçla ilk olarak ETM ile farmakofor ve anti-farmakofor analizleri yapılmış; daha sonra ETM-NN yaklaşımıyla aktivite tahmini için modeller geliştirilmiştir. Bir sonraki aşamada bileşiklerin COX-1 ve COX-2 enzimleriyle etkileşim mekanizmaları moleküler kenetlenme ve elektronik yapı hesaplamalarıyla incelenmiştir. Elde edilen bilgiler ışığında yeni selektif COX-1/COX-2 inhibitör aday bileşikler tasarlanmıştır.

#### 5.1.1. Bileşik Serilerinin Oluşturulması

Başlangıç verisi olarak, yapı ve aktiviteleri bilinen, farklı iskeletlere sahip 209 molekülden oluşan bir bileşik seti oluşturulmuştur. Bu bileşikler, moleküler yapıları yönünden 17 gruba ayrılmıştır (A-R). Bu inhibitörlerin yapı iskeletleri Şekil 5.1’de, süstituentleri ise Tablo 5.1’de verilmiştir. Bileşikler, COX-2 inhibisyonlarına göre selektif (110 bileşik) ve non-selektif (99 bileşik) olarak sınıflandırılmıştır (Tablo 5.1). Selektivite indeksi ( $SI=IC_{50}(COX-1)/IC_{50}(COX-2)$ ) 100’den büyük olan bileşikler selektif, bu değerin altındakiler ise non-selektif gruba dâhil edilmiştir.



Şekil 5.1: İncelenen COX-1/COX-2 inhibitörlerinin yapı iskeletleri.

Tablo 5.1: Sınıflandırılan bileşiklerin süstitüentleri (R<sub>i</sub>) ve selektivitelele.

No	Grup	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	S/NS**
1*	A	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> COOH	4-Br	-H	-H	S
2	A	-CH <sub>2</sub> CONHC <sub>8</sub> H <sub>17</sub>	4-Cl	=O		S
3	A	-CH <sub>2</sub> COOH	4-Cl	=O		NS
4	A	-CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> )CH <sub>2</sub> COOH	4-Br	-H	-H	S
5	A	-CH(CH <sub>3</sub> )COOH	3-Cl	-H	-H	S
6	A	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> COOH	3-Br	-H	-H	S
7	A	-(CH <sub>2</sub> )COOCH <sub>3</sub>	4-Cl	=O		S
8*	A	-(CH <sub>2</sub> )CONH(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OH	4-Cl	=O		S
9	A	-CONHPh-4'-NHC(O)CH <sub>3</sub>	4-Cl	=O		S
10	A	-(CH <sub>2</sub> )COOPh-4'-OCH <sub>3</sub>	4-Cl	=O		S
11*	A	-(CH <sub>2</sub> )COOPh-2'-SCH <sub>3</sub>	4-Cl	=O		S
12	A	-CONHPh-4'-SCH <sub>3</sub>	4-Cl	=O		S
13*	A	-CONHPh-4'-F	4-Cl	=O		S
14	A	-CONH(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Ph	4-Cl	=O		S
15	A	-CH <sub>2</sub> COO(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Ph	4-Cl	=O		S
16*	A	-CONHCH <sub>3</sub>	4-Cl	=O		S
17	A	-CONHPy****	4-Cl	=O		S
18	A	-(CH <sub>2</sub> )COOH	4-Cl	=O		NS
19	A	-(CH <sub>2</sub> )COOPh-4'-SCH <sub>3</sub>	4-Cl	=O		NS
20*	A	-(CH <sub>2</sub> )COOPh-4'-F	4-Cl	=O		NS
21	A	-CONH <sub>2</sub>	4-Cl	=O		NS
22	A	-CH <sub>2</sub> -Thz†-4'-BrPh	4-Cl	=O		S
23	A	-CH <sub>2</sub> -Thz-4'-FPh	4-Cl	=O		S
24*	A	-CH <sub>2</sub> -Thz-4'-ClPh	4-Cl	=O		S
25	A	-CH <sub>2</sub> -Thz-Bthp††	4-Cl	=O		S
26	A	-CH <sub>2</sub> -Thz-4'-ClPh	4-Cl	-H	-H	S
27	A	-CH <sub>2</sub> -Thz-4'-NO <sub>2</sub> Ph	4-Cl	-H	-H	S
28	B	-NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OPh	3-CH <sub>3</sub>	-Cl	-Cl	S
29	B	-NHOPh-4'-NO <sub>2</sub>	3-CH <sub>3</sub>	-Cl	-Cl	S
30*	B	-NHCH <sub>3</sub>	3-CH <sub>3</sub>	-Cl	-Cl	S
31	B	-NHCH <sub>2</sub> Ph-4'-NO <sub>2</sub>	3-CH <sub>3</sub>	-Cl	-Cl	S
32	B	-NHCH <sub>2</sub> Ph	3-CH <sub>3</sub>	-Cl	-Cl	S
33*	B	-OH	3-CH <sub>3</sub>	-H	-CH <sub>3</sub>	S
34	B	-ONa	3-CH <sub>3</sub>	-Cl	-Cl	NS
35*	B	-OH	4-CF <sub>3</sub>	-H	-H	NS
36	B	-O(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> O(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OH	3-CF <sub>3</sub>	-H	-H	NS
37	B	-OH	3-CH <sub>3</sub>	-Cl	-H	NS
38	B	-OH	3-CH <sub>3</sub>	-Cl	-Cl	NS
39*	B	-NHCH <sub>3</sub>	3-CH <sub>3</sub>	-Cl	-Cl	NS
40	B	-NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Ph	3-CH <sub>3</sub>	-Cl	-Cl	NS
41	B	-NHCH <sub>2</sub> COOH	3-CH <sub>3</sub>	-Cl	-Cl	NS
42*	B	-NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OH	3-CH <sub>3</sub>	-Cl	-Cl	NS
43	B	-NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> Cl	3-CH <sub>3</sub>	-Cl	-Cl	NS
44	B	-NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Br	3-CH <sub>3</sub>	-Cl	-Cl	NS
45	B	-NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	3-CH <sub>3</sub>	-Cl	-Cl	NS
46*	B	-NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> OCH <sub>3</sub>	3-CH <sub>3</sub>	-Cl	-Cl	NS
47	B	-NHO-t-Butyl	3-CH <sub>3</sub>	-Cl	-Cl	NS
48	B	-NH-NHCH <sub>2</sub> Ph	3-CH <sub>3</sub>	-Cl	-Cl	NS
49	B	-NHCH <sub>2</sub> COOCH <sub>3</sub>	3-CH <sub>3</sub>	-Cl	-Cl	NS
50	B	-NHCH <sub>2</sub> COOH	3-CH <sub>3</sub>	-Cl	-Cl	NS
51	B	-NHCH(CH <sub>3</sub> )COOCH <sub>3</sub>	3-CH <sub>3</sub>	-Cl	-Cl	NS
52*	B	-NHCH(CH <sub>3</sub> )COOH	3-CH <sub>3</sub>	-Cl	-Cl	NS
53	B	-OCH <sub>3</sub>	3-CH <sub>3</sub>	-Cl	-Cl	NS

Tablo 5.1: Devam.

No	Grup	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	S/NS**
54	C	-CH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>		NS
55	C	-CH <sub>3</sub>	4-F	-CH <sub>3</sub>		NS
56*	C	-CH <sub>3</sub>	3-F	-CH <sub>3</sub>		NS
57	C	-NH <sub>2</sub>	4-OCH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>		NS
58	C	-NH <sub>2</sub>	4-F	-H		NS
59*	C	-NH <sub>2</sub>	3,4 <i>c</i> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -	-H		NS
60	C	-NH <sub>2</sub>	3,4 <i>c</i> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -		-3,4 <i>c</i> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -	NS
61	C	-CH <sub>3</sub>	-H	-H	-COCH <sub>3</sub>	NS
62	C	-CH <sub>3</sub>	-H	-H	-COCF <sub>3</sub>	NS
63	D	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-F	-H		S
64*	D	-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H		S
65	D	-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-Br	-H		S
66	D	-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-Cl	-H		S
67*	D	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-Cl	-H		S
68	D	-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-F	-H		S
69	D	-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-H	-OCH <sub>3</sub>		S
70	D	-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-Cl	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>		S
71	D	-H	-CH <sub>3</sub>	-H		S
72	D	-N <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H		S
73	D	-SO <sub>2</sub> N <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H		NS
74	D	-OCH <sub>3</sub>	-Cl	-H		NS
75	D	-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	2,5-Cl <sub>2</sub>	-H		NS
76	E	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-F	-Br	S	S
77*	E	-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-F	-H	S	S
78	E	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-F	-H	S	S
79	E	-C(O)CH <sub>3</sub>	-H	-H	S	NS
80	E	-F	-C(O)CH <sub>3</sub>	-H	S	NS
81	E	-F	-C(O)NH <sub>2</sub>	-H	S	NS
82*	E	-H	-CN	-H	S	NS
83	E	-F	-S(O)CH <sub>3</sub>	-H	S	NS
84	E	-H	-COOH	-H	S	NS
85*	E	-F	-CH <sub>2</sub> OH	-H	S	NS
86	E	-H	-COOCH <sub>3</sub>	-H	S	NS
87	E	-H	-C(O)H	-H	S	NS
88	E	-F	-CN	-H	S	NS
89	E	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-F	H	C	S
90	F	-SO <sub>2</sub> NHCOCH <sub>3</sub>	-H	-CH <sub>3</sub>	N	S
91	F	-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-H	-CH <sub>3</sub>	N	S
92	F	-H	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-CF <sub>3</sub>	N	S
93	F	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	3-F	-CH <sub>3</sub>	>C=O	NS
94	F	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-H	-H	>C=O	NS
95*	F	-N <sub>3</sub>	4-CH <sub>3</sub>	-H	>C=O	NS
96	F	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	2-OC(O)CH <sub>3</sub>	-H	>C=O	NS
97	F	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	3-OC(O)CH <sub>3</sub>	-H	>C=O	NS
98	F	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	4-OC(O)CH <sub>3</sub>	-H	>C=O	NS
99	F	-SO <sub>2</sub> NHCOCH <sub>3</sub>	4-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-H	>C=O	S
100*	F	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	4-SO <sub>2</sub> NHCOCH <sub>3</sub>	-H	>C=O	NS
101	F	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	4-OH	-H	>C=O	NS
102	F	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-H	-OH	>C=O	NS
103	F	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	4-F	-H	>C=O	NS
104	F	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-H	>C=O	NS
105	F	-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-H	>C=O	NS



Tablo 5.1: Devam.

No	Grup	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	S/NS**
106	G	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-H			S
107*	G	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-F			S
108	G	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>			S
109	G	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>			S
110	H	-F	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> -	-H	S
111	H	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-H	-NH	-H	S
112	H	-H	-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-NH	-H	S
113*	H	-H	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-NH	-H	S
114	H	-F	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-NH	-H	S
115*	H	-OCH <sub>3</sub>	-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-NH	-H	S
116	H	-OCH <sub>3</sub>	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-NH	-H	S
117	H	-CH <sub>3</sub>	-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-NH	-H	S
118*	H	-CH <sub>3</sub>	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-NH	-H	S
119	H	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-H	-NH	-Cl	S
120	H	-Cl	-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-NH	-Cl	S
121	H	-H	-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-NH	-Cl	S
122	H	-H	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-NH	-Cl	S
123	H	-H	-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-NH	-CH <sub>3</sub>	S
124	H	-H	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-NH	-H	S
125	H	-F	-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -	-H	NS
126*	H	-F	-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-NH	-H	NS
127	H	-Cl	-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-NH	-H	NS
128	H	-Br	-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-NH	-H	NS
129	H	-OH	-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-NH	-H	NS
130*	H	2-Cl ( <i>ortho</i> )	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-NH	-Cl	NS
131	H	2-Cl ( <i>ortho</i> )	-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-NH	-Cl	NS
132	I	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-H	-Ph	-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	S
133	I	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-COOH	-H	NS
134*	I	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-H	-C(O)OCH <sub>2</sub> ONO <sub>2</sub>	-H	NS
135	I	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-H	-Ph	-CH <sub>3</sub>	NS
136	I	-H	-H	-Ph	-C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	NS
137*	I	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-H	-COOH	-H	NS
138	I	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-C(O)OCH <sub>2</sub> ONO <sub>2</sub>	-H	NS
139	I	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-F	-C(O)OCH <sub>2</sub> ONO <sub>2</sub>	-H	NS
140	I	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-H	-Ph	-C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	NS
141	J	-CH <sub>3</sub>	4-F	-H	(-CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub>	S
142*	J	-CH <sub>3</sub>	4-F	-H	-H	S
143	J	-CH <sub>3</sub>	4-F	-H	2 (-CH <sub>3</sub> )	S
144	J	-NH <sub>2</sub>	4-F	-H	(-CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	NS
145	J	-CH <sub>3</sub>	4-F	-H	(-CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub>	NS
146*	J	-CH <sub>3</sub>	4-Cl	-H	(-CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	S
147	J	-CH <sub>3</sub>	4-CH <sub>3</sub>	-H	(-CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -	S
148	J	-CH <sub>3</sub>	3-F	4-OCH <sub>3</sub>	(-CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -	S
149	J	-CH <sub>3</sub>	3-Br	4-OCH <sub>3</sub>	(-CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -	S
150	J	-CH <sub>3</sub>	3,5-Cl <sub>2</sub>	4-OCH <sub>3</sub>	(-CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -	S
151	J	-CH <sub>3</sub>	3-Cl	4-OCH <sub>3</sub>	(-CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -	S
152	J	-CH <sub>3</sub>	4-F	-H	(-CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -	S
153	K	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-H			S
154	K	-H	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>			S

Tablo 5.1: Devam.

No	Grup	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	S/NS**
155	L	3-Cl, 4-F	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-H	-H	S
156	L	3,5-Cl <sub>2</sub> , 4-OCH <sub>3</sub>	-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-H	-H	S
157*	L	3-OCH <sub>3</sub> , 4-OCH <sub>3</sub>	-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-H	-H	S
158	L	4-F	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-H	-H	S
159	L	3,5-Cl <sub>2</sub> , 4-OCH <sub>3</sub>	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-H	-H	S
160	L	4-F	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-F	-F	S
161	M	-CH <sub>3</sub>	-F	-CH <sub>3</sub>	-H	S
162	M	-CH <sub>3</sub>	-F	-H	-H	NS
163	M	-CH <sub>3</sub>	-CF <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	S
164*	M	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	S
165	M	-CH <sub>3</sub>	-C(O)CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	NS
166*	M	-CH <sub>3</sub>	-F	-CH <sub>3</sub>	-H	NS
167	M	-CH <sub>3</sub>	-F	-CF <sub>3</sub>	-H	NS
168	M	-Et	-F	-H	-H	NS
169	M	-Ph	-F	-H	-H	NS
170*	M	-CH <sub>3</sub>	-F	-H	-Cl	NS
171	M	-NH <sub>2</sub>	-F	-H	-H	S
172	M	-NHCH <sub>3</sub>	-F	-H	-H	NS
173	N	-CH <sub>3</sub>	-CF <sub>3</sub>	- <i>m</i> Py	-H	S
174	N	-CH <sub>3</sub>	-CF <sub>3</sub>	- <i>o</i> Py	-H	S
175	N	-CH <sub>3</sub>	-CF <sub>3</sub>	- <i>p</i> Py	-H	NS
176*	N	-CH <sub>3</sub>	-CF <sub>3</sub>	-Ph	-H	S
177	N	-CH <sub>3</sub>	-CF <sub>3</sub>	- <i>m</i> Py	-4CH <sub>3</sub>	NS
178	N	-NH <sub>2</sub>	-CF <sub>3</sub>	- <i>m</i> Py	-H	S
179	N	-NH <sub>2</sub>	-CF <sub>3</sub>	- <i>m</i> Py	-4CH <sub>3</sub>	NS
180	N	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	- <i>m</i> Py	-H	NS
181*	N	-NH <sub>2</sub>	-CF <sub>3</sub>	- <i>m</i> Py	-5CH <sub>3</sub>	S
182	N	-CH <sub>3</sub>	-CO <sub>2</sub> Et	- <i>m</i> Py	-H	NS
183*	N	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> OH	- <i>m</i> Py	-H	NS
184	N	-CH <sub>3</sub>	-CF <sub>3</sub>	- <i>o</i> Py	-4CH <sub>3</sub>	S
185	N	-CH <sub>3</sub>	-CF <sub>3</sub>	ThP#	-3Br	S
186	N	-NH <sub>2</sub>	-CF <sub>3</sub>	Thz	-3CH <sub>3</sub>	S
187	O	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	4-F		NS
188	O	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> OH	-H		S
189	O	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> Ph	4-F		NS
190*	O	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub> Ph	-H		S
191	O	-CH <sub>3</sub>	-CF <sub>3</sub>	3-F,4-OCH <sub>3</sub>		S
192	O	-NH <sub>2</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H		S
193*	O	-NH <sub>2</sub>	H	-H		NS
194	O	-NH <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	-H		S
195	O	-NH <sub>2</sub>	-CH=CH <sub>2</sub>	-H		S
196	O	-NH <sub>2</sub>	-SH	-H		NS
197	P	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	4-F		NS
198	P	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> OH	-H		S
199	P	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> Ph	4-F		NS
200*	P	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub> Ph	-H		S
201	P	-CH <sub>3</sub>	-CF <sub>3</sub>	3-F,4-OCH <sub>3</sub>		S
202*	P	-NH <sub>2</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H		NS
203	P	-NH <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> OH	-H		S
204	P	-NH <sub>2</sub>	-CF <sub>3</sub>	3,4-Cl <sub>2</sub>		S
205	R	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-H	-CH <sub>2</sub> -	=CH <sub>2</sub>	S
206	R	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-H	-C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	=O	S
207	R	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-H	-C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	=NOH	S
208	R	-H	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	=O	NS
209	R	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-H	-C <sub>5</sub> H <sub>8</sub>	=O	NS

\*Test seti; \*\*S/NS Selektif/Non-selektif; \*\*\*Py-Piridin; †-Thz-Tiyazol; ††Bthp-Benzotiyofen, # ThP-Tiyofen

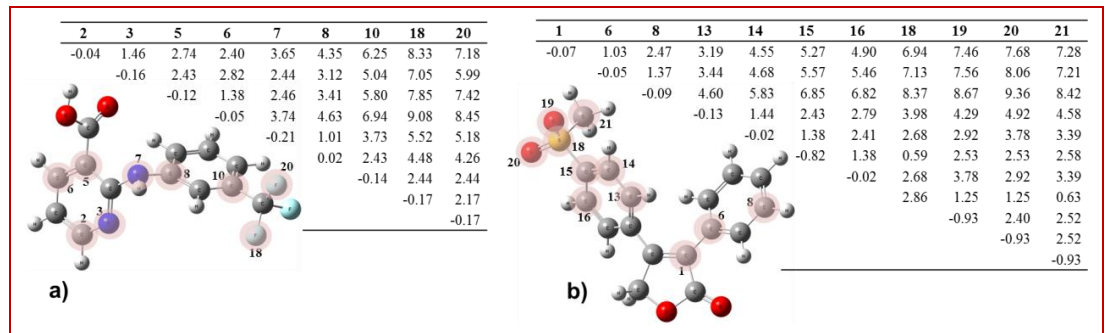
## 5.1.2. ETM ile Farmakofor ve Anti-farmakofor Analizleri

İlk olarak, bütün bileşiklerin konformasyonel ve elektronik yapı özellikleri Gaussian 09 programı ile incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar bileşiklerin ETMC'lerini oluşturmak için kullanılmıştır. Köşegen elemanlar olarak atomik yükler ( $q_i$ ), köşegen olmayan elemanlar olarak da kimyasal bağlı atomlar için Wiberg indisleri ( $W_{ij}$ ), bağlı olmayan atomlar için iki atom arasındaki optimum mesafe ( $R_{ij}$ ) alınmıştır.

Matrisler kıyaslanırken, atom ve bağların eşleştirilmesinde mümkün olan varyasyonların optimum değeri köşegen elemanlar ( $q_i$ ) için  $\Delta_1=\pm 0.06$  ve köşegen olmayan elemanlar ( $W_{ij}$  ve  $R_{ij}$ ) için  $\Delta_2=\pm 0.10$  olarak bulunmuştur. En fazla bilgi veren aktivite özelliklerini belirlemek için,  $\alpha_a$  ve  $P_a$  değerleri sırasıyla 0.5 ve 0.8 olarak belirlenmiştir. Anti-farmakoforlar (A $Ph_i$ ) için, Eşitlik 5.1'de ( $n_1+1$ ) yerine ( $n_2+1$ ) kullanılmıştır.

$$P_a = (n_1+1)/(n_1+n_3+2) \quad (5.1)$$

Selektif ve non-selektif bileşikler için oluşturulan ETMC'lerden beş tane farmakofor (Ph1–Ph5), beş tane de anti-farmakofor (A $Ph_1$ –A $Ph_5$ ) elde edilmiştir. Şekil 5.2'de, selektif bileşiklerde bulunan iki farmakofor (Ph1 ve Ph2) ve bu farmakoforlara ait ETMC alt matrisleri (ETSC), yüksek selektivite indeksine sahip **6** (Ph1) ve **7** (Ph2) No.lu kontrol bileşikleri üzerinde gösterilmiştir.



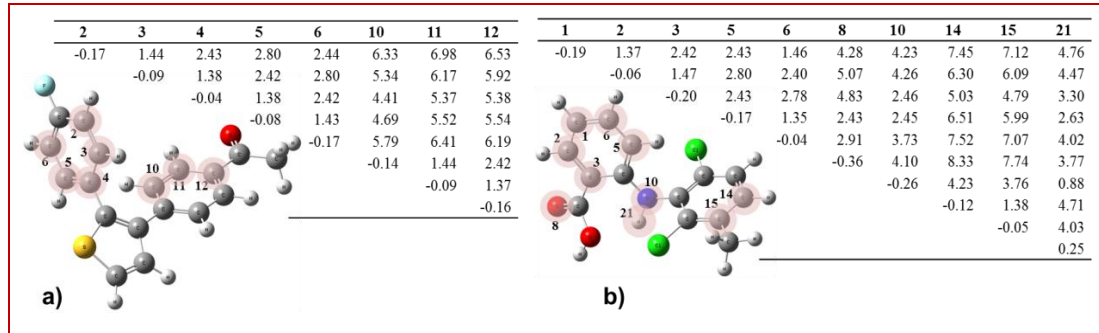
Şekil 5.2: Selektif bileşiklerde bulunan Ph1 ve Ph2 farmakoforlarının sırasıyla a) **6**, b) **7** No.lu kontrol bileşikleri üzerinde gösterimi.

**6** No.lu bileşik üzerinde gösterilmiş olan ve selektif bileşiklerin 21 tanesinde bulunan Ph1'in gerçekleşme ihtimaliyeti ( $P_a$ ) 0.97'dir. Bu farmakofor molekülün

farklı bölgelerinde bulunan 9 atomdan oluşmaktadır (Şekil 5.2.a). Bu atomlar piridin ve fenil halkaları, bu halkalara bağlı –NH grubu ve fenil halkasına bağlı –CF<sub>3</sub> grubu üzerinde bulunmaktadır. En büyük negatif yükler F atomları ( $q_F = -0.17 \bar{e}$ ) ve N atomları ( $q_N = -0.16$  ve  $-0.21 \bar{e}$ ) üzerinde bulunmaktadır. Fonksiyonel gruplara bağlı olan C<sub>5</sub> ve C<sub>10</sub> karbon atomları da yüksek negatif yük değerlerine sahiptir ( $-0.12$  ve  $-0.14 \bar{e}$ ). Diğer atomların yükleri sıfıra yakındır. –COOH fonksiyonel grubu farmakofor yapısına dahil olmamıştır.

7 bileşiği üzerinde gösterilmiş olan Ph2 farmakoforu ise selektif bileşiklerin 40 tanesinde bulunmuş olup, gerçekleşme ihtimaliyeti 0.95'dir (Şekil 5.2.b). Bu farmakofor, fenil halkaları ve metilsülfonil (-SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) grubu üzerinde bulunan 11 atomdan oluşmaktadır. Negatif yükler metilsülfonil grubu üzerindeki O<sub>19</sub>, C<sub>20</sub> ve C<sub>21</sub> atomları üzerinde bulunmaktadır. S<sub>18</sub> atomu ise yüksek pozitif yük değerine sahiptir. Ph3-Ph5 farmakoforları da benzer şekilde elde edilmiş olup, bu farmakoforların gerçekleşme ihtimaliyeti 0.87–0.93 arasındadır.

Selektiviteyi düşüren fragmentleri tayin etmek amacıyla, non-selektif bileşikler için ETMC alt matrisleri oluşturulmuş ve beş tane anti-farmakofor bulunmuştur (APh1-APh5). Şekil 5.3'de, APh1 ve APh2'ye ait matrisler sırasıyla **80** ve **38** non-selektif bileşikleri üzerinde gösterilmiştir.



Şekil 5.3: Non-selektif bileşiklerde bulunan APh1 ve APh2 anti-farmakoforlarının sırasıyla a) **80**, b) **38** No.lu kontrol bileşikleri üzerinde gösterimi.

Şekil 5.3.a'da **80** No.lu bileşik üzerinde gösterilmiş olan, non-selektif bileşiklerin 22 tanesinde ve selektif bileşiklerin 1 tanesinde bulunan APh1'in gerçekleşme ihtimaliyeti 0.89'dur. APh1, iki fenil halkasına bağlı 8 karbon atomundan oluşmaktadır. **38** No.lu bileşik üzerinde gösterilmiş olan APh2 ise 10 atomdan oluşmaktadır ve gerçekleşme ihtimaliyeti 0.88'dir (Şekil 5.3.b).

Aph1 ve Aph2'ye ait alt matrisler farklı kontrol bileşikleri için hesaplanmış olmalarına rağmen, birbiriyle benzerlik taşımaktadır. Prognoz sistemine giren beş farmakofor ( $Ph_i$ ) ve beş anti-farmakofora ( $Aph_i$ ) ait karakteristik istatistiksel parametreler Tablo 5.2'de verilmiştir. Tabloda görüldüğü gibi, ilk iki farmakofor ve anti-farmakoforun gerçekleşme ihtimaliyeti, diğerlerinin gerçekleşme ihtimaliyetinden daha yüksektir. Kontrol bileşikleri için ortalama  $P_a$  değerleri sırasıyla 0.91 ve 0.85'dir.

Tablo 5.2: ETM ile hesaplanan bazı farmakofor ( $Ph_i$ ) ve anti-farmakoforlara ( $Aph_i$ ) ait istatistiksel parametreler.

Farmakofor (kontrol bileşiği)			Anti-farmakofor (kontrol bileşiği)			
	$P_a$	$P_{ia}$		$P_a$	$P_{ia}$	
Ph1 (6)	0.97	0.03	Aph <sub>1</sub> (80)	0.11	0.89	
Ph2 (7)	0.95	0.05	Aph <sub>2</sub> (38)	0.12	0.88	
Ph3 (114)	0.89	0.11	Aph <sub>3</sub> (74)	0.15	0.85	
Ph4 (120)	0.88	0.12	Aph <sub>4</sub> (53)	0.17	0.83	
Ph5 (141)	0.87	0.13	Aph <sub>5</sub> (58)	0.19	0.81	
Ortalama	0.91	0.09	Ortalama	0.15	0.85	

Farmakofor ve anti-farmakoforların yapısı kıyaslandığında, uzaysal ve elektronik özelliklerinin farklı olduğu görülmektedir. Bu özellikler bir bütün olarak ele alındığında, yeni ilaçların tasarımında ve selektivitelerinin tahmininde önemli bir rol oynamaktadır. Sonuç olarak çalışmanın bu bölümünde, yeni bileşiklerin COX-2 selektivitesinin tahmini için geliştirilecek olan sistemin temelini oluşturan selektif/non-selektif fragment setleri elde edilmiştir. Bu fragmentler daha önce yapılmış olan çalışmalarla uyum içerisindedir. Örneğin ETMC ile Ph2 için elde edilen parametreler, literatürle büyük ölçüde benzerlik göstermektedir [131], [132].

### 5.1.3. ETM-NN Yaklaşımıyla Geliştirilen Aktivite Tahmin Modelleri

ETMC'ler oluşturulduktan sonra, ETM-NN yönteminin veri setine uygulanması sonucu, COX-2 enzimine karşı selektif ya da non-selektif olan bileşikler için karakteristik olan farmakoforik ve anti-farmakoforik moleküler fragmentler (aktivite özellikleri) elde edilmiştir. Bu özellikler, selektif COX-2 inhibitörlerini tahmin etmek üzere geliştirilecek model için baz alınacaktır.

ETM-NN yöntemi ile veri analizinin ilk basamağı, veri seti için Tablo 5.3’de verildiği gibi bir küme (*cluster*) dağılım modeli geliştirmektir.

Tablo 5.3: COX-1/COX-2 inhibitörleri için çapraz onaylama (*cross-validation*) ile hesaplanan  $q^2$  katsayıları.

Veri seti	Bütün Farmakoforlar		
	WD* sayısı	Toplam	Molekül Tahmin edilen ( $P_a$ )
Eğitim seti	267	163	150 (0.92)
Test seti	267	46	38 (0.84)
Toplam	267	209	188 (0.91)

\* WD: weight descriptor

Bu aşamada eğitim seti için 267 küme bulunmuştur. ASSN’lerin selektivite tahmin oranı eğitim seti için %92 (163 bileşikten 150’si), test seti için %84 (46 bileşikten 38’i) olarak elde edilmiştir. Toplam set için bu oran %91’dir (209 bileşikten 188’i). Elde edilen bu sonuçlar, küme dağılım modelinin doğruluğunu ve yeni veri setlerine ait farmakoforların analizinde kullanılabilir olduğunu ortaya koymaktadır.

İkinci aşamada eğitim ve test setleri için yalnızca 165 fragment seçilmiştir. ETMC’lerle gösterilen moleküler fragmentler için hesaplanmış olan ağırlıklara dayalı olarak, ilişkili sinir ağlarının (ASNNs) selektiviteyi eğitim seti için %94 (163 bileşikten 153’ü), test seti için %90 (46 bileşikten 41’i) ve toplam set için %93 (209 bileşikten 194’ü) oranında doğrulukla tahmin edebildiği görülmektedir (Tablo 5.4).

Tablo 5.4: COX-1/COX-2 inhibitörlerinin fragment veri setlerine dayalı olarak çapraz onaylama (*cross-validation*) ile hesaplanan  $q^2$  katsayıları.

Veri seti	Bütün farmakoforlar			Pruning metoduyla seçilen farmakoforlar		
	Param. sayısı	Toplam	Molekül Tahmin ( $P_a$ )	Param. sayısı	Toplam	Molekül Tahmin ( $P_a$ )
Eğitim seti	165	163	153 (0.94)	27	163	155 (0.95)
Test seti	165	46	41 (0.90)	27	46	43 (0.94)
Toplam	165	209	194 (0.93)	27	209	198 (0.95)

Pruning (budama) metodlarının uygulanması sonucu, en etkili 27 tane ETMC fragmenti seçilmiştir. ASNN, eğitim seti için 163 bileşikten 155’ini ( $P_a=0.95$ ), test

seti için 46 bileşikten 43'ünü ( $P_a=0.94$ ), toplam set içinse 209 bileşikten 198'ini (0.95) doğru bir şekilde ayırmıştır (Tablo 5.4)

Küme dağılımı ve ETMC fragmentlerine dayalı olarak uygulanan iki model birbiri ile benzer sonuçlar vermiştir. Bununla birlikte küme dağılım modelinin yeterince kararlı olmadığı ve büyük ölçüde eğitim seti için seçilen bileşiklerin yapısına bağlı olduğu görülmektedir.

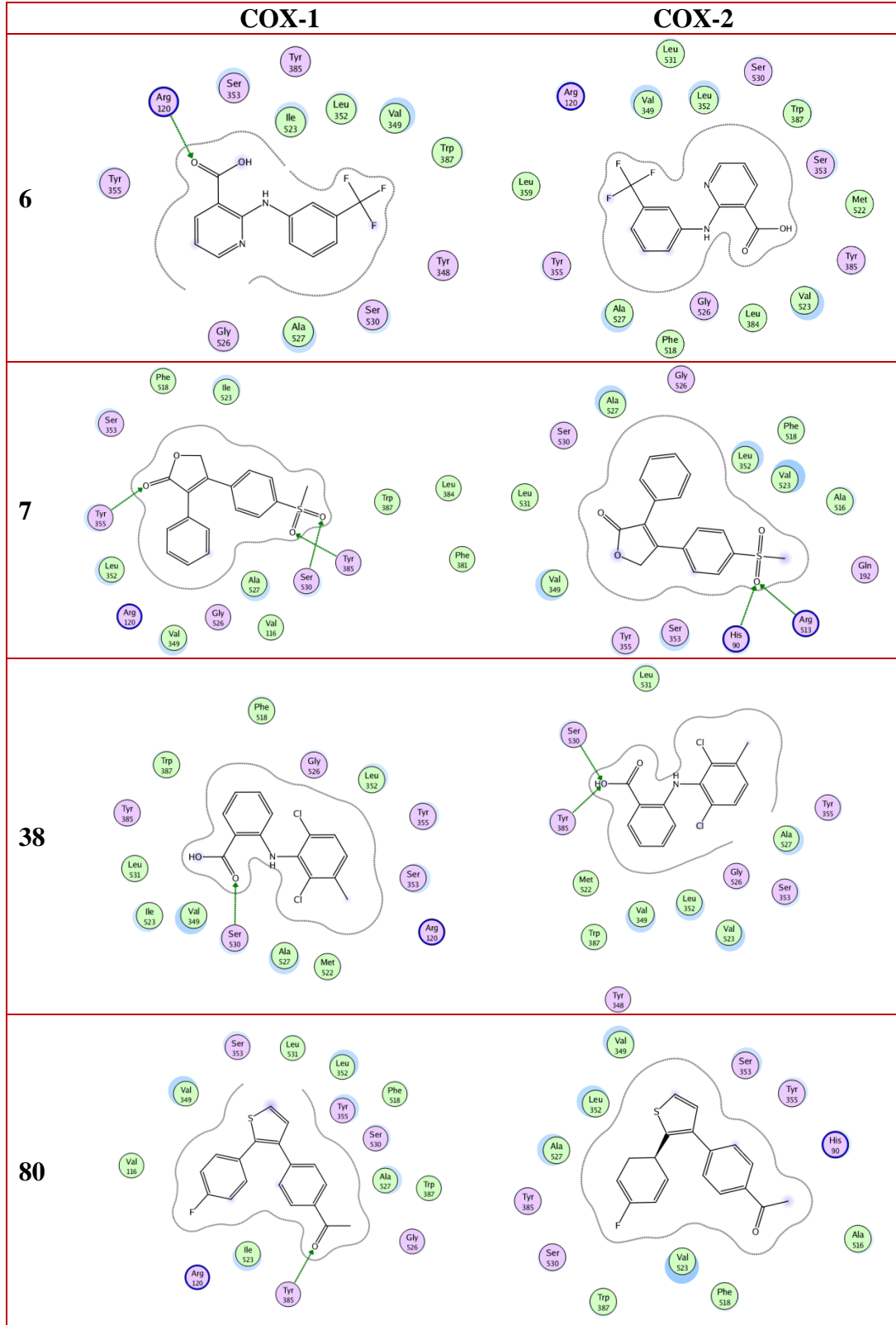
Bu modellere bağlı olarak uygulanan selektivite tahmin sisteminin, bileşiklerin %95'ini selektif olarak teşhis edebilmiş olması, oldukça tatmin edici bir sonuçtur. Bu sonuçlar, her iki modelin de yeni selektif COX-2 inhibitörlerinin tasarımı için uygulanabilir olduğunu ortaya koymaktadır. Dolayısıyla, bu bulgular hem tasarlanan bileşiklerin COX-1/COX-2 selektivitesini tahmin etmek, hem de çeşitli moleküler yapıya sahip potansiyel selektif COX-2 inhibitörler sentezlemek amacıyla kullanılabilir.

#### **5.1.4. Moleküler Kenetlenme Bulguları**

Çalışmanın bu bölümünde, inceleme altındaki bileşiklerin COX-1 ve COX-2 enzimlerinin aktif bölgelerine bağlanma afinitelerini ve konformasyonlarını elde etmek amacıyla moleküler kenetlenme hesaplamaları gerçekleştirilmiştir. Bu sayede, selektivitede önemli bir rol oynayan, enzim-inhibitör arasındaki kovalent olmayan etkileşimler elde edilmiştir.

Moleküler kenetlenmeye başlamadan önce, enzim-inhibitör kompleksine hidrojen atomları eklenmiş ve AMBER99 kuvvet alanı ile enerji minimizasyonu yapılmıştır. Enzimin aktif bölgesi dışında bulunan su molekülleri silinmiş, aktif bölgedeki su molekülleri hesaplamalara dâhil edilmiştir. İnhibitörün en iyi kenetlenme pozunu bulmak için, bütün pozlar London dG fonksiyonu ile skorlanmıştır. Hidrasyon serbest enerjisi, GB/VI (Generalized Born/Volume Integral) çözünme modeli ile hesaplanmıştır [133].

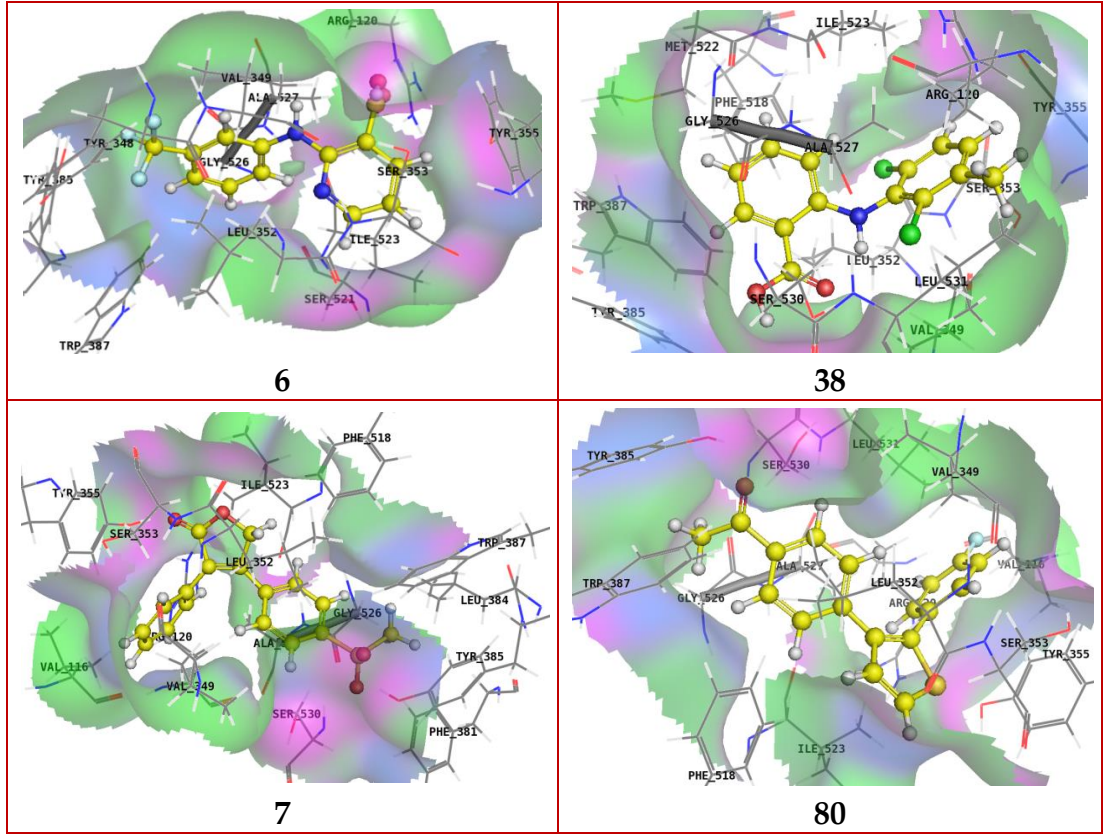
Kontrol bileşiklerinin (**6**, **7**, **38** ve **80**), COX-1/COX-2 aktif bölgelerine kenetlenmeleri sonucu elde edilen etkileşimler Şekil 5.4'de iki boyutlu olarak verilmiştir.



Şekil 5.4: Kontrol bileşikleriyle COX-1 ve COX-2 amino asit rezidüleri arasındaki etkileşimlerin iki boyutlu gösterimi.

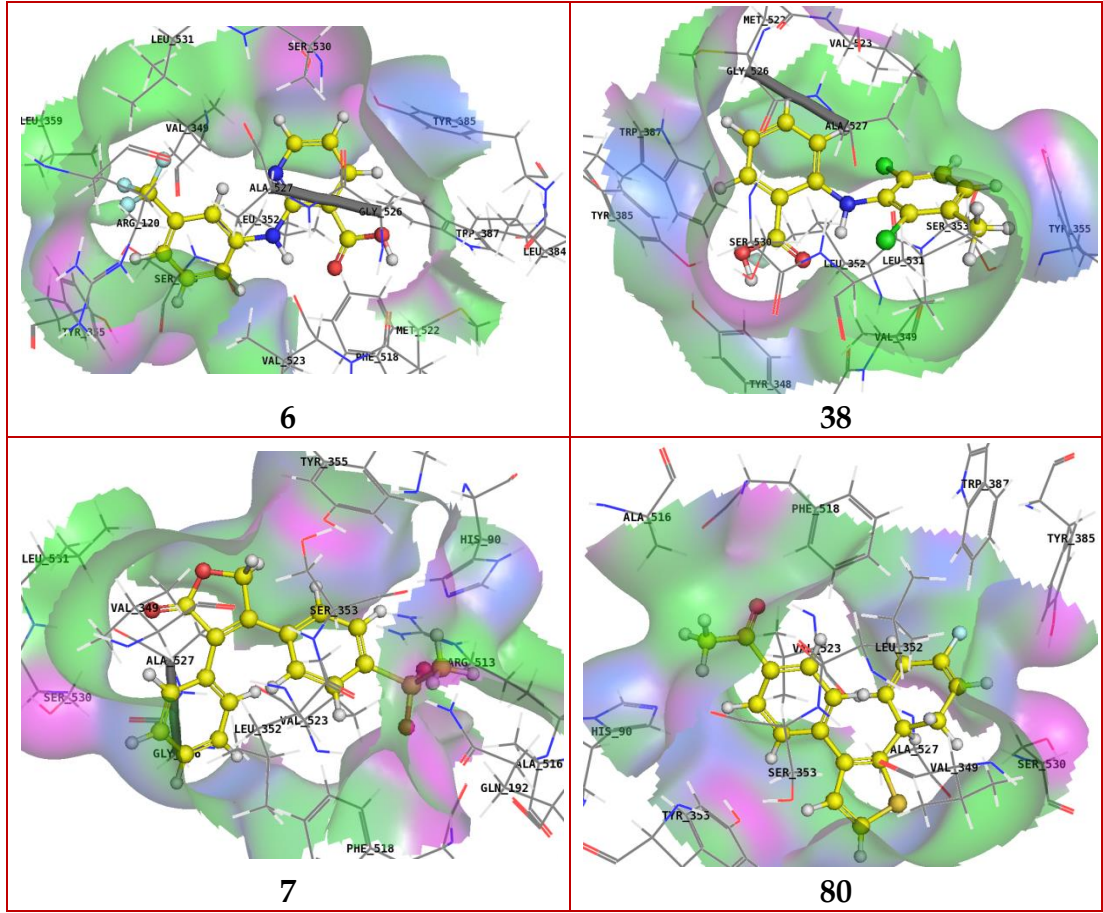


Şekil 5.5’de, kontrol bileşiklerinin COX-1 enzimine kenetlenme pozları üç boyutlu olarak verilmiştir. **7** bileşiğinin metilsülfonil grubuna bağlı oksijenlerle Ser530 ve Tyr385 amino asitleri arasında iki hidrojen bağı ve karboksil grubu ile Tyr355 arasında bir hidrojen bağı oluşmaktadır. **6** No.lu bileşiğin karboksil grubu ile Arg120 arasında hidrojen bağı, yapısal olarak **6**’ya benzeyen **38** ise Ser530 ile hidrojen bağı etkileşimi yapmaktadır. **80** bileşiği Tyr385 ile hidrojen bağı ve fenil halkası üzerinden Phe518’le zayıf  $\pi$ - $\pi$  etkileşimi yapmaktadır.



Şekil 5.5: Kontrol bileşiklerinin COX-1 enzimine kenetlenme pozları.

Şekil 5.6’da, kontrol bileşiklerinin COX-2 enzimine kenetlenme pozları üç boyutlu olarak verilmiştir. Selektif **7** bileşiğinin metilsülfonil grubu, His90 ve Arg513 aminoasitleri üzerinden hidrojen bağı etkileşimi vermektedir. **6** ise triflorometil grubu üzerinden Arg120 ve Tyr355 rezidüleriyle polar etkileşimler yapmaktadır. Bununla birlikte Gly526 ile karboksil grubu arasında uzun mesafe hidrojen bağı bulunmaktadır. **38**’in karboksil grubu ile Ser530 ve Tyr385 amino asitleri arasında iki hidrojen bağı oluşmaktadır. Non-selektif **80** bileşiği ise COX-2 enzimiyle karakteristik bir etkileşimde bulunmamaktadır.



Şekil 5.6: Kontrol bileşiklerinin COX-2 enzimine kenetlenme pozları.

Tablo 5.5’de, kontrol bileşikleri için moleküler kenetlenme ile elde edilen enerji parametreleri verilmiştir. Bu parametreler üzerinden bileşiklerin COX-2 enzimine selektivitesini açıklamak için, deneysel olarak elde edilen  $IC_{50}$ ’ye benzer şekilde enerjilerin oranı alınarak bir indeks elde edilmiştir. Bir bileşik için bu parametrenin sayısal değeri küçüldükçe, bileşiğin COX-2 selektivitesi artmakta; yükseldikçe de selektivitesi azalmaktadır.

Tablo 5.5: Kontrol bileşikleri için elde edilen skorlama (S) ve hidrasyon serbest enerji (MM/GBVI) değerleri.

Bileşik	S (kcal mol <sup>-1</sup> )		MM/GBVI (kcal mol <sup>-1</sup> )		$S_{COX-1/COX-2}$	MM/GBVI <sub>COX-1/COX-2</sub>
	COX-1	COX-2	COX-1	COX-2		
<b>6</b>	-15.11	-19.81	-17.66	-20.28	0.76	0.87
<b>7</b>	-3.86	-15.24	-7.69	-19.73	0.25	0.39
<b>38</b>	-14.30	-17.80	-16.79	-22.69	0.80	0.74
<b>80</b>	-13.24	-14.47	-16.86	-15.75	0.92	1.07

Selektif **6** ve **7** bileşiklerinin skorlama enerjilerinin oranına bakıldığında, non-selektif **38** ve **80** bileşiklerinin enerji oranlarından daha düşük olduğu görülmektedir. Sonuç olarak, moleküler kenetlenme yöntemi ile elde edilen enerji parametreleri, bileşiklerin selektivitelerinde şüphe doğuracak sonuçlar vermemiştir. Bir sonraki bölümde bileşiklerin aktivitesi, üçüncü bir enerji parametresi (stabilizasyon enerjisi) üzerinden tartışılacak ve bu sonuçlar desteklenecektir.

### 5.1.5. DFT Yöntemiyle Elektronik Yapı Hesaplamaları

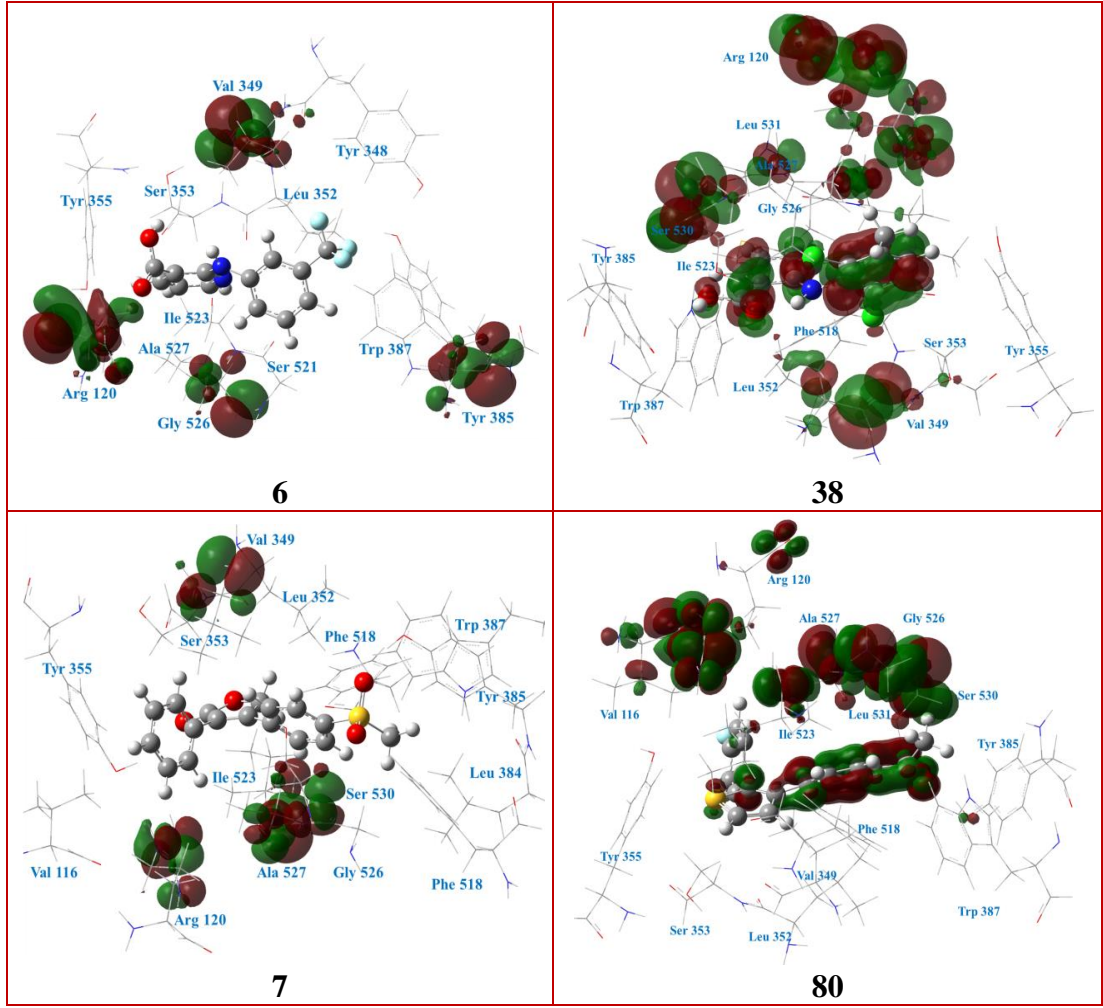
Çalışmanın bu aşamasında, enzim-inhibitör arasındaki etkileşimleri daha kapsamlı incelemek amacıyla, bir önceki bölümde COX-1 ve COX-2 enzimlerinin aktif bölgesine kenetlenmiş olan kontrol bileşikleri için elektronik yapı hesaplamaları yapılmıştır. Bu hesaplamalar Gaussian 09 yazılımı kullanılarak, Becke-3–Lee-Yang-Parr (B3LYP) DFT fonksiyoneli ile 6-31G (d,p) seviyesinde yapılmıştır. Kuantum kimyasal hesaplamalarda yaygın olarak kullanılan B3LYP fonksiyoneli, Becke'nin üç parametrelili hibrit fonksiyonellerinde lokal ve lokal olmayan terimleri içeren LYP (Lee, Yang ve Parr) korelasyon fonksiyonellerini ifade etmektedir.  $E_{xc}^{B3LYP}$  enerjisi;

$$E_{xc}^{B3LYP} = (1 - a_0)E_x^{LSDA} + a_{x\Delta}E^{B88} + a_cE_c^{LYP} + (1 - ac)E_c^{VWN} \quad (5.2)$$

şeklinde yazılır [134], [135].

Enzim-inhibitör kompleksine ait HOMO/LUMO sınır orbitalleri üzerindeki elektron yoğunluğu dağılımları, enzim ve inhibitör arasında meydana gelen etkileşimlerin donör-akseptör karakterini ortaya koymaktadır. Sınır orbitaller üzerindeki elektron yoğunluğu dağılımları, Şekil 5.7'de COX-1/inhibitör kompleksleri için, Şekil 5.8'de ise COX-2/inhibitör kompleksleri için verilmiştir.

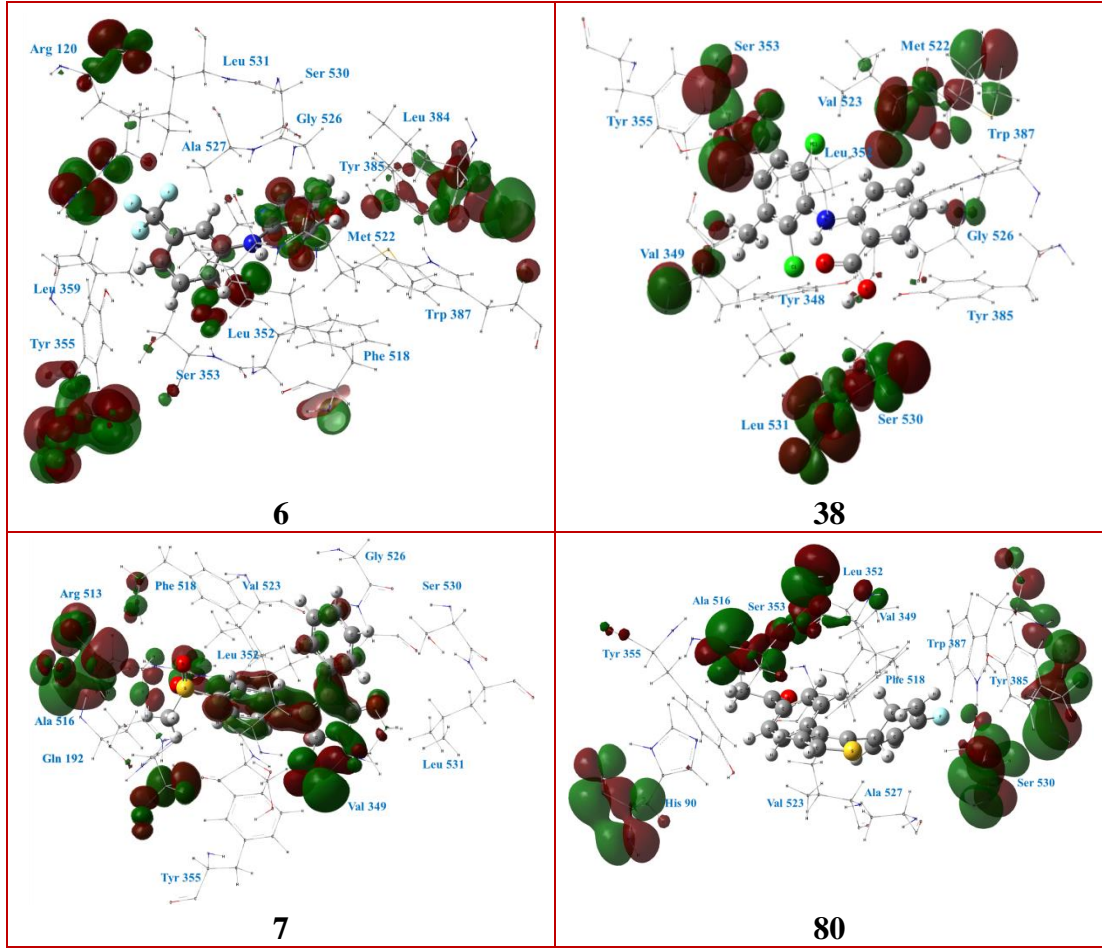
Şekil 5.7'de görüldüğü gibi COX-1'e selektif **6** ve **7** bileşikleri bağlandığında, sınır orbitalleri sadece birkaç amino asit rezidüsü üzerinde oluşmakta; non-selektif **38** ve **80** bağlandığında ise elektron yoğunluğu hem bileşik hem de amino asit rezidüleri üzerinde toplanmaktadır.



Şekil 5.7: COX-1 aktif bölgesiyle kontrol bileşikleri için elde edilen HOMO/LUMO sınır orbitalleri üzerindeki elektron yoğunluğu dağılımları.

Şekil 5.8'ye bakıldığında, COX-2'ye selektif bileşikler bağlandığında elektron yoğunluğunun enzim-inhibitör kompleksi üzerinde toplandığı; non-selektif bileşiklerde ise sadece enzim üzerinde toplandığı dikkati çekmektedir. Dolayısıyla elektron yoğunluğu analizleri, selektif inhibitörlerin COX-2'ye; nonselektif inhibitörlerin ise COX-1'e daha iyi bağlandığını ortaya koymaktadır.





Şekil 5.8: COX-2 aktif bölgesiyle kontrol bileşikleri için elde edilen HOMO/LUMO sınır orbitalleri üzerindeki elektron yoğunluğu dağılımları.

Bütün bu etkileşimleri değerlendirmek için Doğal Bağ Orbital (NBO) analizleriyle enzim-inhibitör komplekslerinin stabilizasyon enerjileri hesaplanmıştır. Doğal bağ orbitallerindeki Fock matrisinin ikinci-mertebeden pertürbasyon teorisine dayalı analizi, Gaussian programının içerisinde bulunan NBO modülü kullanılarak yapılmıştır [136]. Bu analiz, “dolü” (donör) Lewis tipi NBO’lar ve “boş” (akseptör) Lewis tipi olmayan NBO’lar arasındaki tüm olası etkileşimler incelenerek ve ikinci dereceden pertürbasyon teorisi ile enerjetik önemleri tahmin edilerek yürütölmektedir. Herbir donör ( $i$ ) ve akseptör ( $j$ ) NBO için,  $i \rightarrow j$  delokalizasyonu ile ilişkili olan  $E(2)$  stabilizasyon enerjisi Eşitlik 5.3 ile hesaplanır:

$$E = \Delta E_{ij} = q_i \frac{F_{(i,j)}^2}{\epsilon_j - \epsilon_i} \quad (5.3)$$

Bu eşitlikte  $q_i$  donör orbital doluluğu,  $\varepsilon_i$  ve  $\varepsilon_j$  köşegen elemanlar (orbital enerjileri),  $F(i,j)$  ise köşegen olmayan NBO Fock matris elemanıdır [137].

Enzim-inhibitör kompleksleri için elde edilen  $E(2)$  stabilizasyon enerjileri Tablo 5.6’da verilmiştir.

Tablo 5.6: Enzim-inhibitör kompleksleri için elde edilen  $E(2)$  stabilizasyon enerjileri.

Bileşik	$E(2)$ , kcal mol <sup>-1</sup>		
	COX-1	COX-2	$E(2)_{\text{COX-1/COX-2}}$
6	5.44	7.71	0.71
7	8.95	9.94	0.90
38	9.68	4.62	2.10
80	14.09	3.47	4.06

Selektif inhibitörler COX-2’ye bağlandığında, non-selektif inhibitörlere göre daha yüksek stabilizasyon enerjilerine sahipken; COX-1’e bağlandığında bu enerji değerleri daha düşüktür. Ayrıca stabilizasyon enerjilerinin oranından elde edilen selektivite indeksleri de deneysel olarak elde edilen verilerle uyumludur. Enzim-inhibitör kompleksleri için elde edilen elektronik yapı özellikleri, moleküler kenetlenme ve ETM-NN yöntemiyle elde edilen sonuçlarla birlikte değerlendirilerek, yeni selektif COX-2 inhibitörleri tasarlanabilir.

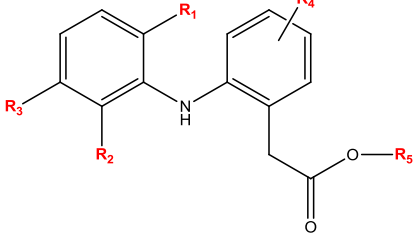
COX-1/COX-2 inhibitörleri için yapılan moleküler kenetlenme ve moleküler orbital analizleri, ETM ile oldukça uyumlu sonuçlar vermiştir. ETM sonuçları, Ph1 ve Ph2 farmakoforlarına ait moleküler fragmentlerin (Şekil 5.2;  $-\text{CF}_3$ , piridin halkası,  $-\text{SO}_2\text{CH}_3$ , fenil halkası), bileşiklerin enzimle etkileşiminde önemli bir rol oynadığını; APh1 ve APh2 anti-farmakoforlarının ise (Şekil 5.3) bu etkileşimlere daha az katkıda bulunduğunu ortaya koymuştur. Bu sonuçlar moleküler orbital analizleriyle desteklenmiştir (Şekil 5.7 ve Şekil 5.8).

### 5.1.6. Yeni COX-1/COX-2 İnhibitör Tasarımları

COX-1/COX-2 inhibitör modellemeleri kapsamında son olarak, selektivite tahmini için ETM-NN yaklaşımıyla geliştirilmiş olan sistem baz alınarak, diklofenak türevi yeni bileşikler tasarlanmıştır. COX-2 selektivitelere göre tasarlanan bu bileşikler, Tablo 5.7’de verilmiştir.

ETM-NN ile elde edilen sonuçlara dayalı olarak modellenen dokuz bileşikten 6 tanesi (**t1-t6**) COX-2 selektif (SI > 100), 3 tanesi de (**t7-t9**) non-selektif (SI < 100) inhibitör olarak tahmin edilmiştir. Bu şekilde, birçok potansiyel COX-2 selektif inhibitörler tasarlanabilir. COX-1/COX-2 inhibitörleri için geliştirilen bu tahmin sistemi, çok sayıda bileşiğin COX-2 selektivitesinin son derece hızlı bir şekilde değerlendirilmesine imkân tanımaktadır.

Tablo 5.7: COX-2 selektivitelere göre tasarlanan yeni bileşikler.



No	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	S/NS*
t1	-Cl	-Cl	-CF <sub>3</sub>	-H	-H	S
t2	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CF <sub>3</sub>	6-Cl	-H	S
t3	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-Cl	-H	-CH <sub>3</sub>	S
t4	-Cl	-CH <sub>3</sub>	-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-H	-CH <sub>3</sub>	S
t5	-Cl	-Cl	-H	5-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-H	S
t6	-Cl	-H	4-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-H	-NHOH	S
t7	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-H	NS
t8	-Cl	-CH <sub>3</sub>	-Cl	6-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	NS
t9	-Cl	-Cl	4-Br	-H	-CH <sub>3</sub>	NS

\*S/NS: Selektif/Non-selektif

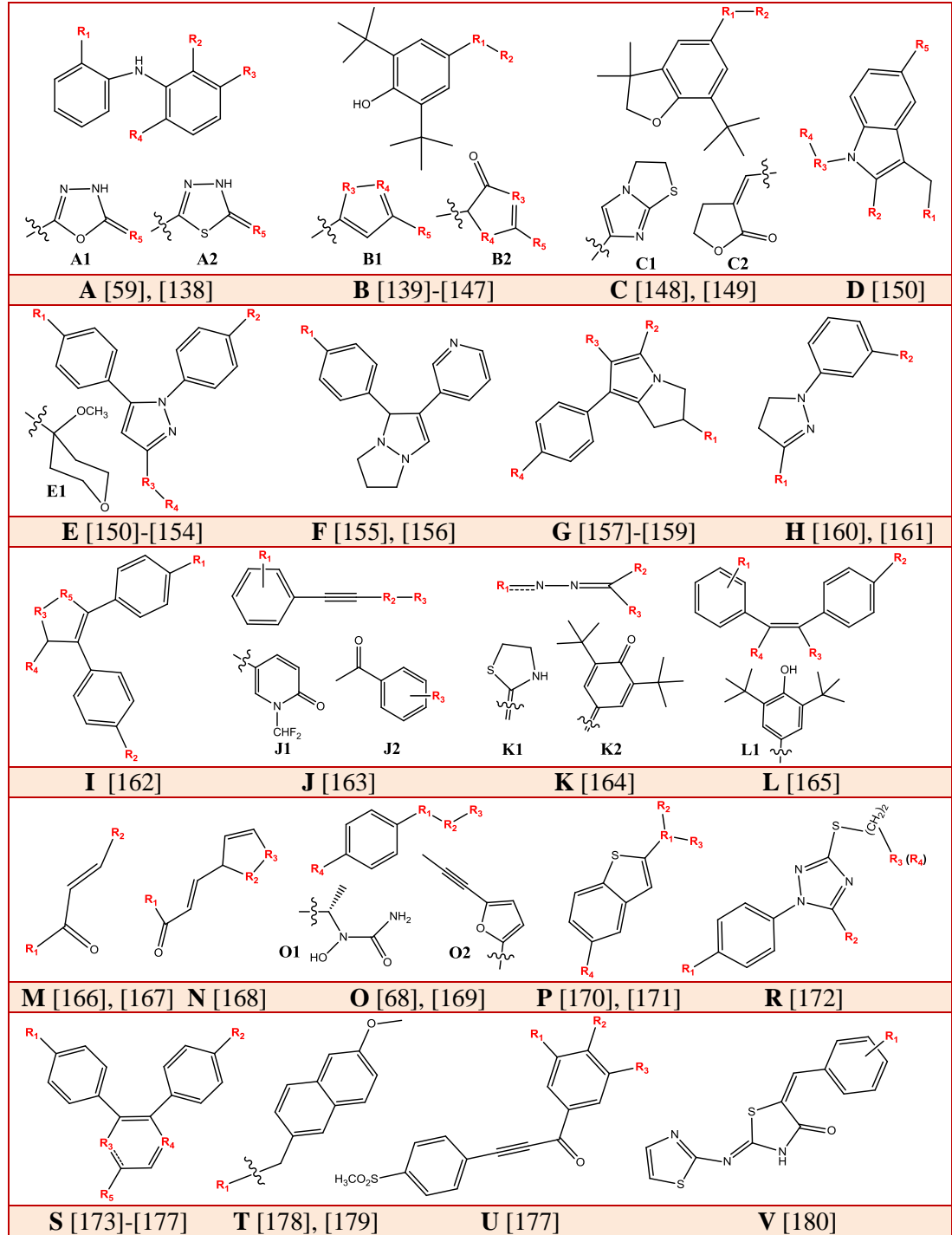
## 5.2. COX-2/5-LOX Dual İnhibitör Modellemeleri

Tez çalışmasının COX-2/5-LOX dual inhibitör modellemelerini içeren ikinci aşamasında, literatüre dayalı olarak geniş bir bileşik seti oluşturulmuş ve bu bileşiklerin dual inhibisyon aktiviteleri, bir önceki bölümle aynı metodoloji üzerinden incelenmiştir.

### 5.2.1. Bileşik Serilerinin Oluşturulması

Bu bölümde ilk olarak, yapı ve aktiviteleri bilinen, farklı iskeletlere sahip 160 bileşikten oluşan bir veri seti oluşturulmuştur. COX-2/5-LOX inhibitörleri olan bu bileşikler, moleküler yapıları yönünden 21 gruba ayrılmıştır (A-V). Bu inhibitörlerin

yapı iskeletleri Şekil 5.9’da, sübstitüentleri ise Tablo 5.8’de verilmiştir. Bileşikler, COX-2/5LOX inhibisyon aktivitelere göre aktif (105 bileşik) ve inaktif (55 bileşik) olarak sınıflandırılmıştır (Tablo 5.8). Her iki enzim için de IC<sub>50</sub> değeri 15 µM’dan küçük olan bileşikler aktif, 15 µM’dan büyük olanlar ise inaktif gruba dâhil edilmiştir.



Şekil 5.9: İncelenen COX-2/5-LOX inhibitörlerinin yapı iskeletleri.



Tablo 5.8: Sınıflandırılan bileşiklerin süstitüentleri (R<sub>i</sub>) ve aktiflikleri.

No	Grup	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	(R <sub>5</sub> )	Aktivite <sup>†</sup>
1	A	-COOH	-Cl	-CH <sub>3</sub>	-Cl		A
2	A	-COOH	-H	-CF <sub>3</sub>	-H		A
3	A	-COOH	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H		A
4	A	-COOH	-H	-CF <sub>3</sub>	-H		A
5	A	-A1	-Cl	-CF <sub>3</sub>	-H	(=S)	A
6	A	-A1	-H	-CF <sub>3</sub>	-H	(=S)	A
7*	A	-A1	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	(=S)	A
8	A	-A1(Py)	-H	-CF <sub>3</sub>	-H	(=S)	A
9	A	-A1	-Cl	-CH <sub>3</sub>	-Cl	(=O)	A
10*	A	-A1	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-H	(=O)	A
11	A	-A1	-Cl	-CH <sub>3</sub>	-Cl	(=S)	A
12	A	-A2	-H	-CF <sub>3</sub>	-H	(=S)	A
13	A	-A1	-H	-CF <sub>3</sub>	-H	(-NH <sub>2</sub> )	A
14*	A	-A2	-H	-CF <sub>3</sub>	-H	(-NH <sub>2</sub> )	A
15	A	-COO(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> O(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OH	-H	-CF <sub>3</sub>	-H		NA
16	B	>C=O	-B1	S	-H	(H)	A
17	B	-CH=	-B2	O	-H	(H)	A
18	B	-CH=	-B2	N-OCH <sub>3</sub>	-H	(H)	A
19	B	-CH=	-B2	N	O	(-OH)	A
20	B	-A2	-	-	-	(=S)	A
21*	B	-CH=	-B1	SO <sub>2</sub>	NC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	(-H)	A
22	B	>C=O	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CCH	-	-		A
23	B	-CH=CH-	-B1	O	N	(-CH <sub>3</sub> )	A
24	B	-CH=CH-	-B1	N	NH	(-CH <sub>3</sub> )	A
25	B	-CH=	-B2	N	S	(-NH <sub>2</sub> )	A
26*	C	>C=O	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CCH	-	-		A
27	C	>C=O	-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	-	-		A
28	C	>C=O	-Cl	-	-		A
29	C	>C=O	-Ph	-	-		A
30	C	>C=O	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> C- <i>c</i> -Pr	-	-		A
31*	C	>C=O	-CH <sub>2</sub> C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl	-	-		A
32	C	>C=O	-NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	-	-		A
33	C	-Thiophene	-	-	-		A
34	C	-CH=	-B2	-	-		A
35	C	-CH=CH-	-Thiophene	-	-		A
36	C	-C2	-	-	-		A
37	C	>C=O	-Thiophene	-	-		A
38	C	-COCH=CH-	-CH <sub>2</sub> - <i>c</i> -Pr	-	-		NA
39*	C	-COCH <sub>2</sub> -	-SO-CH <sub>2</sub> - <i>c</i> -Pr	-	-		NA
40	C	-CO-	-C <sub>5</sub> H <sub>9</sub>	-	-		NA
41	C	-COCH <sub>2</sub> -	-SO <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> - <i>c</i> -Pr	-	-		NA
42	C	-CO-	-NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	-	-		NA
43	C	-CO-	-NH- <i>c</i> -Pr	-	-		NA
44	D	-CH <sub>2</sub> COOH	-CH <sub>3</sub>	>C=O	-4Cl-Ph		A
45	D	-NHC(O)N(CH <sub>3</sub> )OH	-CH <sub>3</sub>	>C=O	-4Cl-Ph		A
46*	D	-CH <sub>2</sub> N(OH)C(O)NH <sub>2</sub>	-CH <sub>3</sub>	>C=O	-4Cl-Ph		A
47	D	-C(O)NHOH	-CH <sub>3</sub>	>C=O	-4Cl-Ph		A
48	D	-CHNNHC(O)NH <sub>2</sub>	-H	-CH <sub>2</sub> CH=	=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	(-H)	NA
49	D	-CHNNHC(S)NH <sub>2</sub>	-H	-CH <sub>2</sub> CH=	=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	(-H)	NA
50	D	-CHNNHC(O)NH <sub>2</sub>	-H	-CH <sub>2</sub> CH=	=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	(-CN)	NA
51	D	-CHNNHC(S)NH <sub>2</sub>	-H	-CH <sub>2</sub> CH=	=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	(-CN)	NA

Tablo 5.8: Devam.

No	Grup	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	(R <sub>5</sub> )	Aktivite <sup>†</sup>
52	E	-Cl	-OCH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> CO-	-NHCH <sub>3</sub>		A
53	E	-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-C(OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> -	-Ph-3-CONH <sub>2</sub> -4-Cl		A
54	E	-Cl	-OCH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> CO-	-N(CH <sub>3</sub> )OH		A
55	E	-CH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-CCCH <sub>2</sub> -	-N(OH)CONH <sub>2</sub>		A
56*	E	-Cl	-OCH <sub>3</sub>	-CCCH <sub>2</sub> -	-N(CH <sub>3</sub> )OH		A
57	E	-H	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> O(3FPh)	5-E1		A
58	E	-H	-H	-CH <sub>2</sub> O(3FPh)	5-E1		A
59	E	-H	-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> O(3FPh)	5-E1		A
60*	F	-SCH <sub>3</sub>	-	-	-		A
61	F	-SOCH <sub>3</sub>	-	-	-		A
62	G	-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> COOH	2-Cl-Thiophene	-		A
63	G	-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> COOH	4-Cl-Ph	-		A
64	G	-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> COOH	2-Furan	-		A
65*	G	-H	-H	4-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> -Ph	-4-CH <sub>3</sub>		A
66	G	-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> COOH	4- <i>t</i> Bu-Ph	-		A
67	G	-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> COOH	-Ph	-		A
68	G	-H	-CO-Ph	-H	-COOH		NA
69	G	-H	-H	-Ph	-H		NA
70	H	-NH <sub>2</sub>	-CF <sub>3</sub>	-	-		A
71	H	-NH <sub>2</sub>	-Cl	-	-		A
72	H	=O	-H	-	-		A
73*	I	-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-N=	-H		NA
74	I	-OCH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-N=	-H		NA
75	I	-Cl	-CH <sub>3</sub>	-N=	-H		NA
76*	I	-OCH <sub>3</sub>	-Cl	-N=	-H		NA
77	I	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-F	-N=	-H		NA
78	I	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-S-	=S		A
79	I	-F	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-N=	CH	(Se)	A
80	I	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-H	-S-	=S		NA
81	I	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-F	-S-	=S		NA
82	I	-Cl	-CH <sub>3</sub>	-S-	=S		NA
83	I	-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-S-	=S		NA
84*	I	-CH <sub>3</sub>	-OH	-S-	=S		NA
85	I	-Cl	-CH <sub>3</sub>	-N=	CH	(S)	NA
86	I	-OH	-OH	-N=	CH	(S)	NA
87	I	-CH <sub>3</sub>	-Cl	-S-	C=S	(S)	NA
88	I	-H	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-S-	C=S	(S)	NA
89*	I	-Cl	-CH <sub>3</sub>	-S-	C=O	(S)	NA
90	I	-CH <sub>3</sub>	-Cl	-S-	C=O	(S)	NA
91	I	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-F	-CH=	-S-	(CH)	NA
92	I	-F	-SO <sub>2</sub> Et	-CH=	-S-	(CH)	NA
93	I	-F	-SO <sub>2</sub> NHCH <sub>3</sub>	-CH=	-S-	(CH)	NA
94	I	-F	-SOCH <sub>3</sub>	-CH=	-S-	(CH)	NA
95	I	-F	-CONH <sub>2</sub>	-CH=	-S-	(CH)	NA
96*	I	-F	-COOH	-CH=	-S-	(CH)	NA
97	I	-F	-COOCH <sub>3</sub>	-CH=	-S-	(CH)	NA
98	I (Py)	-H	-COOCH <sub>3</sub>	-CH=	-S-	(CH)	NA
99	I (Py)	-H	-CH <sub>2</sub> COOH	-CH=	-S-	(CH)	NA
100	I (Py)	-H	-COH	CH	-S-	(CH)	NA
101	I	-F	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	CH	-O-	(N)	NA
102	I	-F	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	(-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub> -	(CH <sub>2</sub> )	NA
103	J	-2-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-J1	-	-		A
104*	J	-3-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-J1	-	-		A
105	J	-4-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-J1	-	-		A
106	J	-4-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-J1	-	-		A
107	J	-4-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-J2	-4-CN	-		A
108*	J	-4-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-J2	-4-OH	-		A
109	J	-4-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-J2	-3-OCH <sub>3</sub>	-		A
110	J	-4-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-J2	-3,4-F <sub>2</sub>	-		A

Tablo 5.8: Devam.

No	Grup	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	(R <sub>5</sub> )	Aktivite <sup>†</sup>
111	K	-K1	-CH <sub>3</sub>	-2-Thiophene	-		A
112	K	-Ph	-NH <sub>2</sub>	-Ph	-		A
113*	K	-3-Cl-Ph	-CH <sub>3</sub>	-2,3,4-(OH) <sub>3</sub>	-		A
114	K	-K2	-CO-	-Ph	-		A
115	K	-K2	-CO-	3-Py	-		A
116	K	-K2	-CO-	4-Py	-		A
117	L	-4-OH	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-COOH	-H		A
118	L	-4-NHAc	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-COOH	-H		A
119	L	-4(2,4-F <sub>2</sub> -Ph)	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-COOH	-H		A
120*	L	-L1	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-Ph		A
121	L	-H	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-COOH	-H		NA
122	L	-3Br	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-COOH	-H		NA
123	L	-3(2,4-F <sub>2</sub> -Ph)	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-COOH	-H		NA
124	M	-Furan	2-Py	-	-		A
125	M	2-Thiophene	2-Thiophene	-	-		A
126	M	-2-Py	2-Thiophene	-	-		A
127	M	-3'-OH-Ph	-3,4-(OH) <sub>2</sub> -Ph	-	-		A
128	M	-4'-OH-Ph	-3,4-(OH) <sub>2</sub> -Ph	-	-		A
129*	M	-2',4'-(OH) <sub>2</sub> -Ph	-3,4-(OH) <sub>2</sub> -Ph	-	-		A
130	N	-2-Py	-S-	-CH-	-		A
131	N	-2-Py	-CH-	-S-	-		A
132	N	-2-Py	-O-	-CH-	-		A
133	N	-Ph	-S-	-CH-	-		A
134	N	-Thiophene	-O-	-CH-	-		A
135	N	-2-Cl-Thiophene	-O-	-CH-	-		A
136	N	-3-Py	-CH-	-O-	-		A
137*	O	-NH-	-Pirazole	-Ph	-CH <sub>3</sub>		A
138	O	-O-	-Thiophene	-NH-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-F		A
139	O	-O-	-Ph-CH=CH-	-CH <sub>2</sub> N(OH)Ac	-H		A
140	O	-O-	-Ph-CH=CH-	-CH(CH <sub>3</sub> )N(OH)Ac	-H		A
141	O	-S-	-O2	-O1	-F		A
142	P	-O1	-	-	-H		A
143	P	-CONH-CH=C<	-Thiophene	-Ph	-CF <sub>3</sub>		A
144	R	-F	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-C(O)N(R <sub>4</sub> )OH	-H		A
145	R	-CF <sub>3</sub>	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-C(O)N(R <sub>4</sub> )OH	-H		A
146	R	-Br	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-C(O)N(R <sub>4</sub> )OH	-H		A
147	R	-Br	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-C(O)N(R <sub>4</sub> )OH	-CH <sub>3</sub>		A
148*	R	-Br	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-N(OH)C(O)NH <sub>2</sub>	-		A
149	R	-CF <sub>3</sub>	-4-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-N(OH)C(O)NH <sub>2</sub>	-		A
150	S	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH-	-N= (Cl)		NA
151	S (Py)	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH-	-N=		NA
152	S (Py)	-H	-COOH	-S-	-CH=		NA
153*	T	-COOH	-	-	-		NA
154	T	-CH <sub>2</sub> COOCH <sub>3</sub>	-	-	-		NA
155	U	-H	-H	-H	-		NA
156*	U	-H	-CH <sub>3</sub>	-H	-		NA
157	U	-H	-CF <sub>3</sub>	-H	-		NA
158	V	-3-NO <sub>2</sub>	-	-	-		NA
159	V	-4-NO <sub>2</sub>	-	-	-		NA
160*	V	-2-Cl	-	-	-		NA

\*Test seti; †A- aktif; NA- inaktif; Py- piridin; Ph- fenil; c-Pr- siklo-propan.

## 5.2.2. ETM ile Farmakofor ve Anti-farmakofor Analizleri

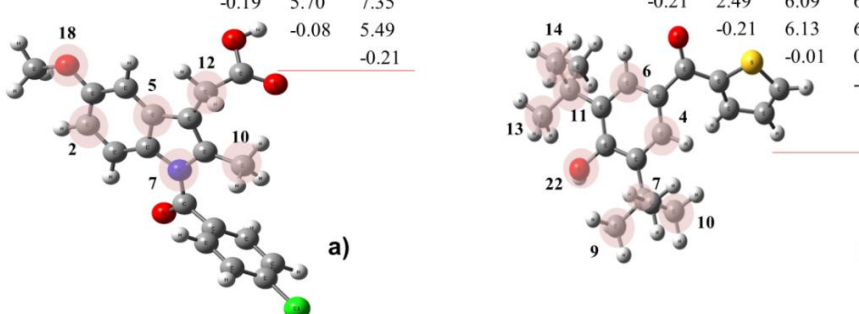
Bütün bileşiklerin konformasyonel ve elektronik yapı özellikleri Gaussian 09 programı ile incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar bileşiklerin ETMC'lerini oluşturmak için kullanılmıştır. Köşegen elemanlar olarak atomik yükler ( $q_i$ ), köşegen olmayan elemanlar olarak da kimyasal bağlı atomlar için Wiberg indisleri ( $W_{ij}$ ), bağlı olmayan atomlar için iki atom arasındaki optimum mesafe ( $R_{ij}$ ) alınmıştır.

Matrisler kıyaslanırken, atom ve bağların eşleştirilmesinde mümkün olan varyasyonların optimum sayısı köşegen elemanlar ( $q_i$ ) için  $\Delta_1=\pm 0.12$  ve köşegen olmayan elemanlar ( $W_{ij}$  ve  $R_{ij}$ ) için  $\Delta_2=\pm 0.20$  olarak bulunmuştur. En fazla bilgi veren aktivite özelliklerini belirlemek için,  $\alpha_a$  ve  $P_a$  değerleri sırasıyla 0.5 ve 0.8 olarak belirlenmiştir.

ETM yönteminin bileşik serilerine uygulanması sonucu, COX-2/5-LOX dual inhibisyon aktivitesi üzerinde etkili olan farmakoforik ve anti-farmakoforik moleküler fragmentler elde edilmiştir. Aktiviteyi arttıran ya da aktiviteyi düşüren bu fragmentlerin özellikleri kullanılarak, anti-inflamatuar ilaç adayı yeni bileşiklerin aktivitelerini tahmin etmede baz alınacak bir prognoz modeli oluşturulacaktır.

Şekil 5.10'da, karşılaştırma yapmak üzere aktif bileşikler içerisinde seçilen **44** ve **16** için oluşturulan ETMC alt matrisleri (ETSC) verilmiştir.

C2	C5	N7	C10	C12	O18	C4	C6	C7	C9	C10	C11	C13	C14	O22
-0.19	2.79	3.77	6.09	5.35	2.46	-0.09	2.41	2.48	2.98	2.94	4.32	5.22	5.00	3.67
	-0.03	2.32	3.74	2.59	3.61		-0.08	4.32	4.99	5.00	2.47	3.83	2.92	3.68
		-0.19	2.57	3.73	5.55			-0.01	0.97	0.97	5.21	5.43	6.16	2.96
			-0.19	5.70	7.35				-0.21	2.49	6.09	6.41	7.19	3.98
				-0.08	5.49					-0.21	6.13	6.42	6.80	4.11
					-0.21						-0.01	0.98	0.97	2.98
												-0.20	2.46	2.63
													-0.21	4.16
														-0.28



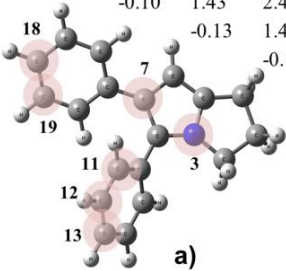
Şekil 5.10: Aktif bileşiklerde bulunan Ph1 ve Ph2 farmakoforlarının sırasıyla a) **44**, b) **16** No.lu kontrol bileşikleri üzerinde gösterimi.

**44** No.lu bileşik üzerinde gösterilmiş olan ve aktif bileşiklerin 41 tanesinde ortak olarak mevcut olan farmakoforlardan biri (Ph1), indol halkasına bağlı 6

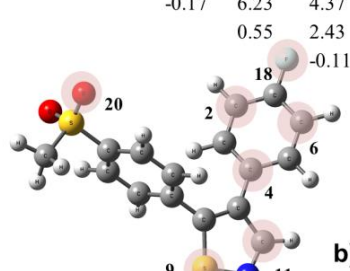
atomdan oluşmaktadır (Şekil 5.10.a). Bu farmakoforun gerçekleşme ihtimaliyeti ( $P_a$ ) 0.96'dır. En büyük negatif yük  $C_2$ ,  $N_7$ ,  $C_{10}$  ( $q_i = -0.19 \bar{e}$ ) ve  $O_{18}$  atomları ( $q_i = -0.21 \bar{e}$ ) üzerinde bulunmaktadır.  $C_5$  ve  $C_{12}$  karbon atomları da küçük negatif yüklere sahiptir (-0.03 ve -0.08  $\bar{e}$ ). **16** bileşiği üzerinde gösterilmiş olan bir diğer farmakofor (Ph2) ise 37 aktif bileşikte ortak olarak bulunmaktadır (Şekil 5.10.b). Aktif bileşiklerde gerçekleşme ihtimaliyeti 0.93 olan Ph2, fenil halkasına bağlı tert-butil ve hidroksil grupları üzerinde bulunan 6 atomdan oluşmaktadır. Negatif yükler tert-butil gruplarına ait  $C_9$ ,  $C_{10}$ ,  $C_{13}$ ,  $C_{14}$  atomları ( $q_i = -0.21 \bar{e}$ ) ile hidroksil grubuna ait  $O_{22}$  atomu ( $q_i = -0.28 \bar{e}$ ) üzerinde toplanmıştır. Ph3-Ph5 farmakoforları da benzer şekilde elde edilmiş olup, gerçekleşme ihtimaliyetleri 0.86–0.90 aralığındadır.

Aktiviteyi düşüren fragmentleri tayin etmek amacıyla, inaktif bileşikler için ETMC alt matrisleri oluşturulmuş ve beş tane anti-farmakofor bulunmuştur (APh1-APh5). Şekil 5.11'de, APh1 ve APh2'ye ait matrisler sırasıyla **69** ve **77** inaktif bileşikleri üzerinde gösterilmiştir.

N3	C7	C11	C12	C13	C18	C19	C2	C4	C6	S9	C11	F18	O20
-0.14	2.26	3.62	4.82	5.15	6.46	5.78	-0.16	2.42	2.44	6.07	4.91	2.39	6.90
	-0.10	3.22	4.56	5.28	4.25	3.78		-0.04	2.43	3.94	2.54	4.16	7.41
		-0.10	1.43	2.42	5.12	4.24			-0.17	6.23	4.37	2.39	8.93
			-0.13	1.41	5.87	4.89				0.55	2.43	8.08	7.64
				-0.13	6.81	5.66					-0.11	6.48	8.76
					-0.14	1.41						-0.10	8.82
						-0.13							-0.94



a)



b)

Şekil 5.11: İnaktif bileşiklerde bulunan APh1 ve APh2 anti-farmakoforlarının sırasıyla a) **69**, b) **77** No.lu kontrol bileşikleri üzerinde gösterimi.

Şekil 5.11.a'da **69** No.lu kontrol bileşiği üzerinde gösterilmiş olan APh1, 7 atomdan oluşmaktadır. 25 inaktif ve 1 aktif bileşikte bulunan bu farmakoforun gerçekleşme ihtimaliyeti 0.93'dür. Şekilde verilen matriste görüldüğü gibi, APh1  $N_3$  atomu ile iki fenil halkası üzerindeki karbon atomlarını içermektedir. Bu atomların hepsi -0.10 ile -0.14  $\bar{e}$  aralığında değişen küçük negatif yük değerlerine sahiptir.

**77** No.lu kontrol bileşiği üzerinde gösterilmiş olan APh2 ise 7 atomdan oluşmaktadır ve gerçekleşme ihtimaliyeti 0.88'dir (Şekil 5.11b). APh1'den farklı olarak bu anti-farmakofor, değişen yükler değerlerine sahiptir. Maksimum pozitif

yük, kükürt atomu üzerinde ( $q_s=0.55 \bar{e}$ ), maksimum negatif yük ise metilsülfonil grubunda ( $-\text{SO}_2\text{CH}_3$ ) bulunan oksijen atomları üzerinde bulunmaktadır.

APh1 ve APh2'ye ait alt matrislerin analizi sonucu, farklı kontrol bileşikleri için hesaplanmış olmalarına rağmen, bu anti-farmakoforların birbiriyle benzerlik taşıdığı görülmektedir. Prognoz sistemine giren beş farmakofor ( $\text{Ph}_i$ ) ve beş anti-farmakofora ( $\text{APh}_i$ ) ait karakteristik istatistiksel parametreler Tablo 5.9'da verilmiştir. Tablo'da görüldüğü gibi, ilk iki farmakofor ve anti-farmakoforun gerçekleşme ihtimaliyeti, diğerlerinin gerçekleşme ihtimaliyetinden daha yüksektir. Kontrol bileşikleri için ortalama  $P_a$  değerleri sırasıyla 0.91 ve 0.86'dır.

Tablo 5.9: ETM ile hesaplanan bazı farmakofor ( $\text{Ph}_i$ ) ve anti-farmakoforlara ( $\text{APh}_i$ ) ait istatistiksel parametreler.

Farmakofor (kontrol bileşiği)	Farmakofor		Anti-farmakofor (kontrol bileşiği)	Anti-farmakofor	
	$P_a$	$P_{ia}$		$P_a$	$P_{ia}$
Ph1 (44)	0.96	0.04	APh1 (69)	0.07	0.93
Ph2 (16)	0.93	0.07	APh2 (77)	0.13	0.87
Ph3 (2)	0.90	0.10	APh3 (82)	0.14	0.86
Ph4 (54)	0.89	0.11	APh4 (140)	0.16	0.84
Ph5 (137)	0.86	0.14	APh5 (152)	0.18	0.82
Ortalama	0.91	0.09	Ortalama	0.14	0.86

Farmakofor ve anti-farmakoforların yapısı kıyaslandığında, uzaysal ve elektronik karakteristiklerinin farklılığı dikkati çekmektedir. Bu nedenle farmakofor ve anti-farmakoforlar bir bütün olarak ele alındığında, yeni ilaçların tasarımında ve aktivitelerinin tahmininde önemli bir rol oynamaktadır. Sonuç olarak çalışmanın bu bölümünde, yeni bileşiklerin anti-inflamatuar aktivitesinin tahmini için geliştirilecek olan sistemin temelini oluşturan bir dizi aktiflik/inaktiflik fragmentleri elde edilmiştir.

### 5.2.3. ETM-NN Yaklaşımıyla Geliştirilen Aktivite Tahmin Modelleri

ETM-NN yöntemi ile veri analizinin ilk basamağı, veri setleri için bir küme (*cluster*) dağılım modeli geliştirmektir (Tablo 5.10).

Bu aşamada eğitim seti için 231 küme bulunmuştur. ASSN'lerin aktivite tahmin oranı eğitim seti için %94 (134 bileşikden 126'sı), test seti için %86 (26 bileşikden 22'si) olarak elde edilmiştir. Toplam set için bu oran %92'dir (160

bileşikten 148'i). Elde edilen bu sonuçlar, küme dağılım modelinin yüksek kalitesini ve farmakoforların incelenmesi gibi yeni veri setlerinin analizine uyumluluğunu ortaya koymaktadır.

Tablo 5.10: COX-2/5-LOX inhibitörleri için çapraz onaylama (*cross-validation*) ile hesaplanan  $q^2$  katsayıları.

Veri seti	Bütün Farmakoforlar			Tahmin edilen ( $P_a$ )
	WD* sayısı	Toplam	Molekül	
Eğitim seti	231	134	126	(0.94)
Test seti	231	26	22	(0.86)
Toplam	231	160	148	(0.92)

\* WD: weight descriptor

İkinci aşamada eğitim ve test setleri için yalnızca 125 fragment seçilmiştir. ETMC'lerle gösterilen moleküler fragmentler için hesaplanmış olan ağırlıklara dayalı olarak, ASNN'lerin aktiviteyi eğitim seti için %95 (134 bileşikden 127'si), test seti için %91 (26 bileşikden 24'ü) ve toplam set için %94 (160 bileşikden 151'i) oranında doğrulukla tahmin edebildiği görülmektedir (Tablo 5.11).

Tablo 5.11: COX-2/5-LOX inhibitörlerinin fragment veri setlerine dayalı olarak çapraz onaylama (*cross-validation*) ile hesaplanan  $q^2$  katsayıları.

Veri seti	Bütün farmakoforlar			Pruning metoduyla seçilen farmakoforlar		
	Param. sayısı	Molekül		Param. sayısı	Molekül	
		Toplam	Tahmin ( $P_a$ )		Toplam	Tahmin ( $P_a$ )
Eğitim seti	125	134	127 (0.95)	23	134	129 (0.96)
Test seti	125	26	24 (0.91)	23	26	24 (0.93)
Toplam	125	160	151 (0.94)	23	160	153 (0.95)

Pruning metotlarının uygulanması sonucu, en etkili 23 tane ETMC fragmenti seçilmiştir. ASNN, eğitim seti için 134 bileşikden 129'unu ( $P_a=0.96$ ), test seti için 26 bileşikden 24'ünü ( $P_a=0.93$ ), toplam set içinse 160 bileşikden 153'ünü (0.95) doğru bir şekilde ayırmıştır (Tablo 5.11).

Küme dağılımı ve ETMC fragmentlerine dayalı olarak uygulanan iki model birbiriyle kıyaslandığında, sonuçların benzerlik taşıdığı dikkati çekmektedir. Bununla

birlikte küme dağılım modelinin yeterince kararlı olmadığı ve büyük ölçüde eğitim seti için seçilen bileşiklerin yapısına bağlı olduğu görülmektedir.

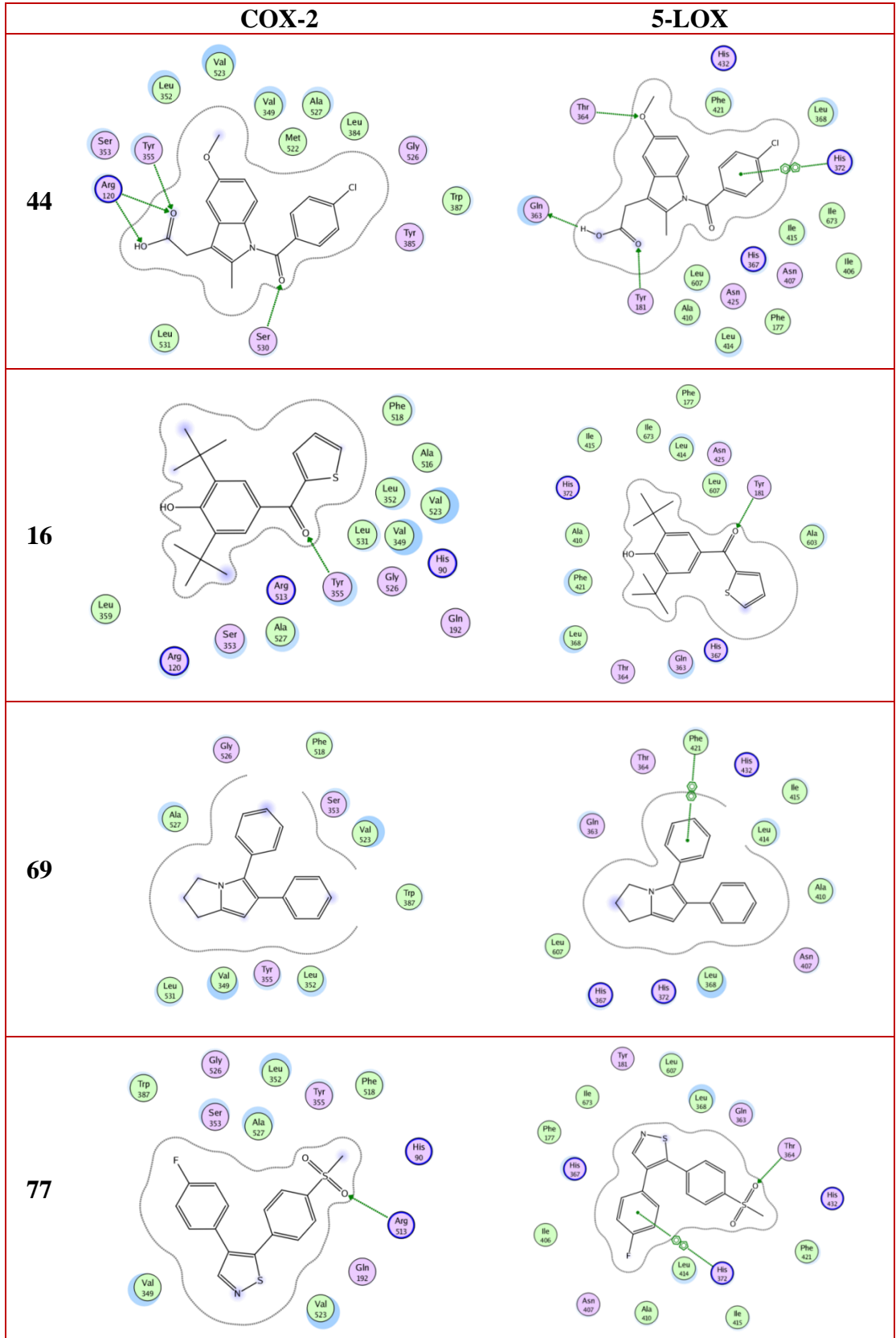
Bu modellere bağlı olarak uygulanan aktivite tahmin sisteminin, bileşiklerin aktifliğini %93 doğrulukla teşhis edebilmiş olması, yaygın olarak kullanılan diğer yöntemlere kıyasla oldukça tatmin edici bir sonuçtur. Elde edilen sonuçlar, her iki modelin de potansiyel COX-2/5-LOX inhibitörlerinin tasarımı için uygulanabilir olduğunu ortaya koymaktadır. Dolayısıyla, bu bulgular hem yeni tasarlanan bileşiklerin COX-2/5-LOX inhibitör aktivitesini tahmin etmek, hem de çeşitli moleküler yapıya sahip potansiyel dual inhibitörler sentezlemek amacıyla kullanılabilir.

#### **5.2.4. Moleküler Kenetlenme Bulguları**

Çalışmanın bu bölümünde, inceleme altındaki bileşiklerin hem COX-2 hem de 5-LOX aktif bölgelerine bağlanma afinitelerini ve konformasyonlarını elde etmek amacıyla moleküler kenetlenme hesaplamaları gerçekleştirilmiştir. Bu sayede, aktivitede önemli bir rol oynayan, enzim-inhibitör arasındaki kovalent olmayan etkileşimler elde edilmiştir.

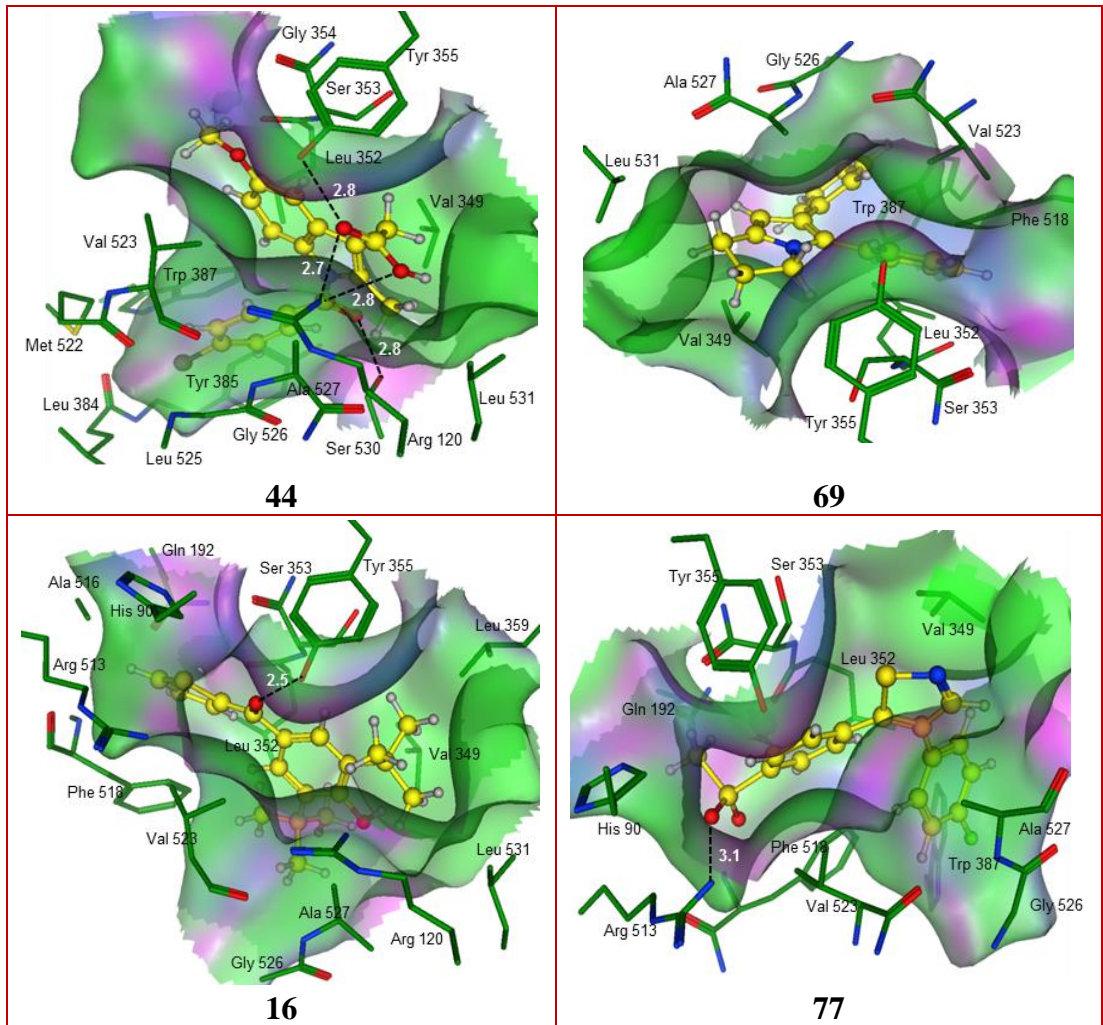
Kontrol bileşiklerinin (**44**, **16**, **69** ve **77**), COX-2 ve 5-LOX aktif bölgelerine kenetlenmeleri sonucu elde edilen etkileşimler Şekil 5.12'de iki boyutlu olarak verilmiştir.





Şekil 5.12: Kontrol bileşikleriyle COX-2 ve 5-LOX amino asit rezidüleri arasındaki etkileşimlerin iki boyutlu gösterimi.

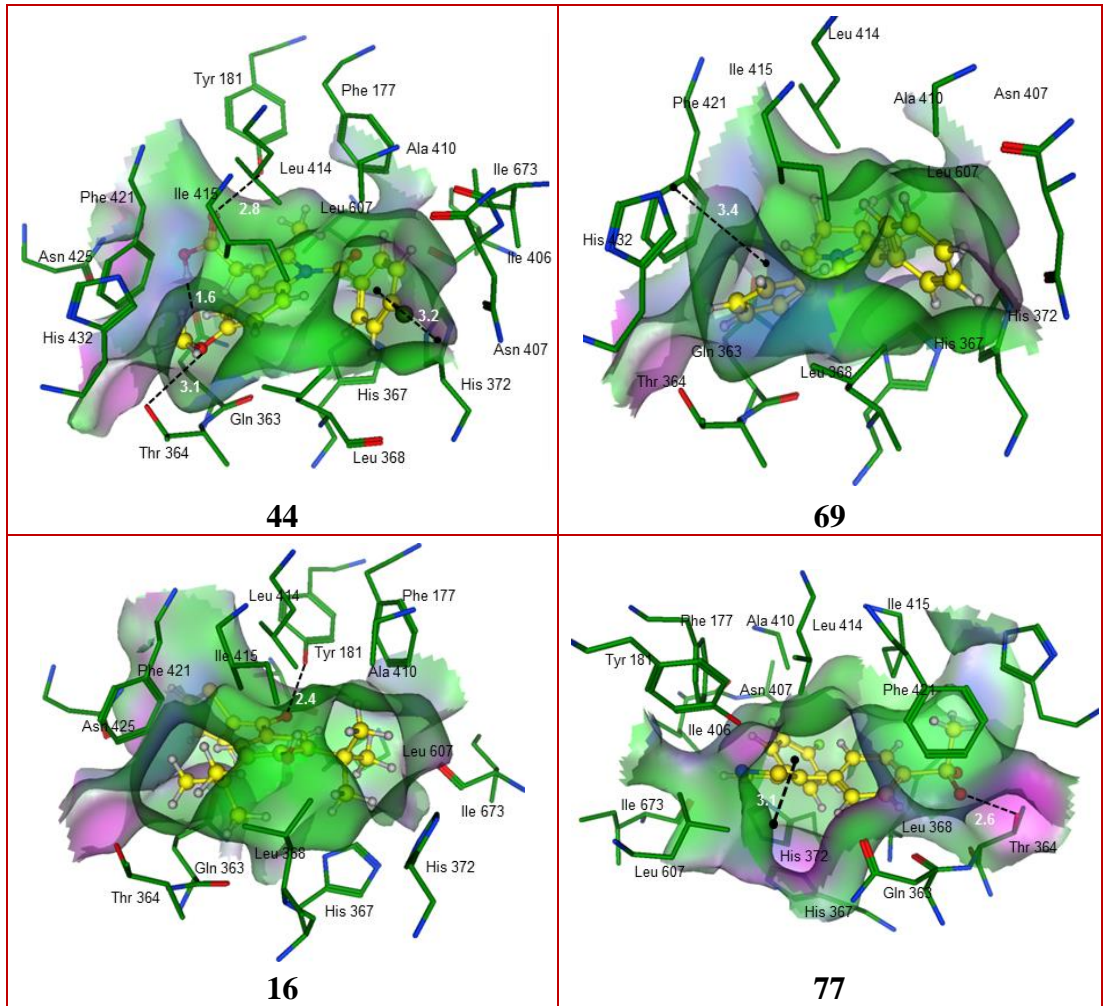
Şekil 5.13’de, kontrol bileşiklerinin COX-2 enzimine kenetlenme pozları üç boyutlu olarak verilmiştir. Genel olarak bütün bileşiklerin Val ve Leu amino asitleri ile zayıf hidrofobik etkileşimler yaptığı, bununla birlikte hidrojen bağının karakteristik etkileşim olduğu dikkati çekmektedir. Aktif bileşiklerden **44**’ün karboksil grupları ile Arg120, Tyr355 ve Ser530 amino asitleri arasında üç tane hidrojen bağı, **16**’nın ise yine karboksil grubu ile Tyr355 rezidüsü arasında bir hidrojen bağı olduğu görülmektedir. İnaktif bileşiklerden **69** ile COX-2 arasında hidrojen bağı etkileşimi bulunmazken, **77**’nin metilsülfonil grubu ile Arg513 arasında bir hidrojen bağı bulunmaktadır.



Şekil 5.13: Kontrol bileşiklerinin COX-2 enzimine kenetlenme pozları.

Şekil 5.14’de ise kontrol bileşiklerinin 5-LOX enzimine kenetlenme pozları üç boyutlu olarak verilmiştir. 5-LOX enzimi ile bileşikler arasındaki etkileşimler, hidrojen bağı ile birlikte COX-2’den farklı olarak aromatik  $\pi$ - $\pi$  etkileşimleri ile

karakterize edilmektedir. **44**'ün karboksil ve metoksi grupları ile Tyr181, Gln363 ve Thr364 amino asitleri arasında üç tane hidrojen bağı; klorfenil grubu ile His372 arasında ise aromatik  $\pi$ - $\pi$  etkileşimi oluşmaktadır. **16**'nın karbonil oksijeni ile Tyr181 arasında hidrojen bağı; **69**'un fenil halkası ile Phe421 arasında ise aromatik  $\pi$ - $\pi$  etkileşimi görülmektedir. Son olarak **77** bileşiğinin metilsülfonyl grubu ile Thr364 arasında hidrojen bağı; floro-fenil halkası ile His372 arasında aromatik  $\pi$ - $\pi$  etkileşimi gerçekleşmektedir.



Şekil 5.14: Kontrol bileşiklerinin 5-LOX enzimine kenetlenme pozları.

Tablo 5.12'de, kontrol bileşikleri için elde edilen moleküler kenetlenme sonuçları verilmiştir. Tabloda görüldüğü gibi, aktif **44** bileşiği yüksek skorlama enerjisi (COX-2 ile  $-26$ , 5-LOX ile  $-21$  kcal mol<sup>-1</sup>) ve hidrasyon serbest enerjisi ( $-27$  kcal mol<sup>-1</sup>) değerlerine sahiptir. **16**'nın skorlama enerjisi ise COX-2 ile  $-10.7$  ve 5-LOX ile  $-18$  kcal mol<sup>-1</sup> olarak elde edilmiştir. **16** için enerji değerlerinin düşük

olması, bu bileşiğin tert-butil grupları ile COX-2/5-LOX aktif bölge amino asitleri arasındaki hidrofobik etkileşimlerden kaynaklanabilir. Bir diğer faktör de, tert-butil gruplarının –OH grubu üzerindeki perdeleme etkisinden ötürü, –OH grubunun amino asitlerle hidrojen bağı yapmasına engel olmasıdır. **69** ve **77** bileşiklerinin enerji değerleri ise, **16**'ya nispeten biraz daha yüksektir. Sonuç olarak, moleküler kenetlenme yöntemi ile elde edilen enerji parametreleri, bileşiklerin aktifliklerinde şüphe doğuracak sonuçlar vermemiştir. Bir sonraki bölümde bileşiklerin aktivitesi, stabilizasyon enerjisi üzerinden tartışılacak ve bu sonuçlar desteklenecektir.

Tablo 5.12: Kontrol bileşikleri için elde edilen skorlama (S) ve hidrasyon serbest enerji (MM/GBVI) değerleri.

Bileşik	S (kcal mol <sup>-1</sup> )		MM/GBVI (kcal mol <sup>-1</sup> )	
	COX-2	5-LOX	COX-2	5-LOX
<b>44</b>	-26.1	-21.1	-26.9	-26.8
<b>16</b>	-10.7	-18.0	-11.1	-20.3
<b>69</b>	-19.8	-19.5	-20.2	-25.3
<b>77</b>	-17.2	-19.2	-18.2	-15.6

### 5.2.5. DFT Yöntemiyle Elektronik Yapı Hesaplamaları

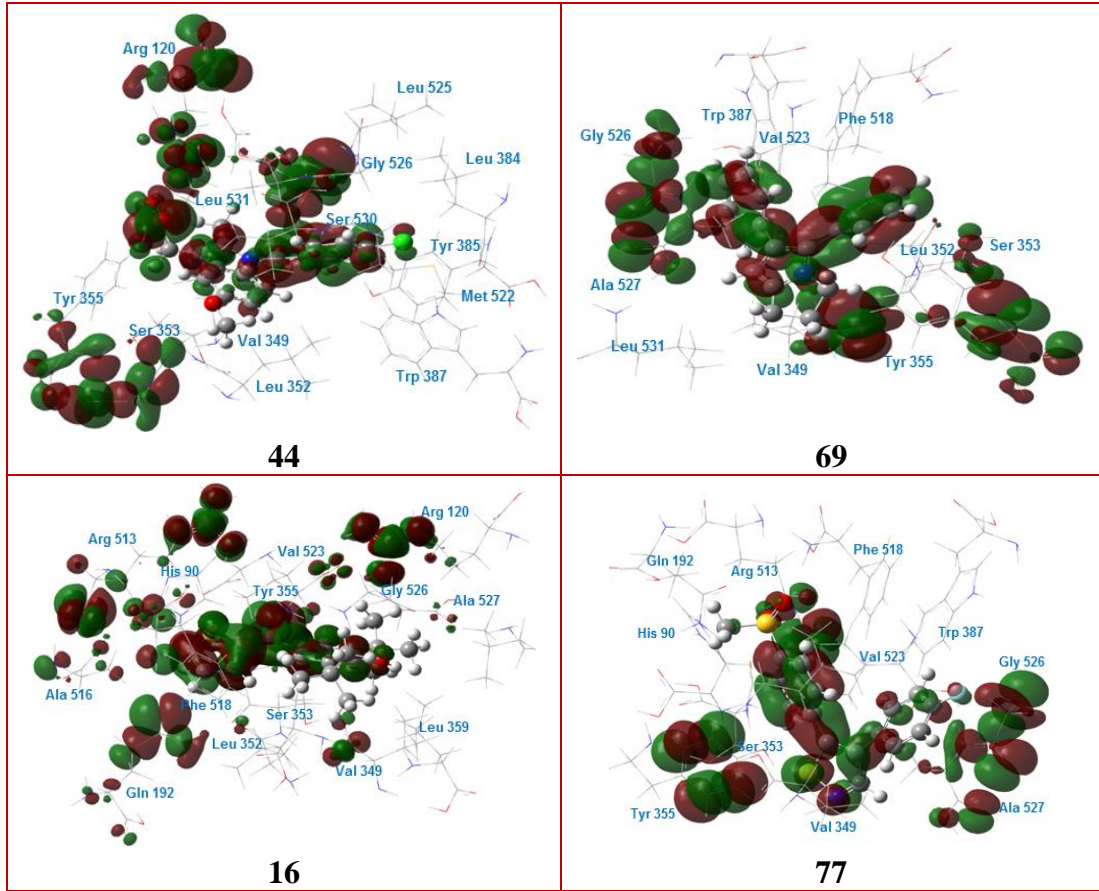
Enzim-inhibitör arasındaki etkileşimleri daha kapsamlı incelemek amacıyla, COX-2 ve 5-LOX enzimlerinin aktif bölgesine kenetlenmiş olan kontrol bileşikleri için elektronik yapı hesaplamaları yapılmıştır. Bu hesaplamalar B3LYP/6-31G (d,p) seviyesinde yapılmıştır.

Enzim-inhibitör kompleksine ait HOMO/LUMO sınır orbitalleri üzerindeki elektron yoğunluğu dağılımları, enzim ve inhibitör arasında meydana gelen etkileşimlerin donör-akseptör karakterini ortaya koymaktadır. Sınır orbitaller üzerindeki elektron yoğunluğu dağılımları, Şekil 5.15'de COX-2/inhibitör kompleksleri için, Şekil 5.16'da ise 5-LOX/inhibitör kompleksleri için verilmiştir.

COX-2 aktif bölgesine bağlanmış olan **44** ve **16** bileşiklerinin elektron yoğunluğu dağılımlarına bakıldığında, sınır orbitallerinin amino asit rezidüleri ile bileşikler üzerinde olduğu görülmektedir. **44** bileşiği hem oksijen içeren fonksiyonel grupları (–COOH, –OCH<sub>3</sub>), hem de aromatik halkası üzerinden Arg120, Tyr355, Gly526, Leu531, Ser530 ve Ser353 amino asitleriyle etkileşmektedir. **69**

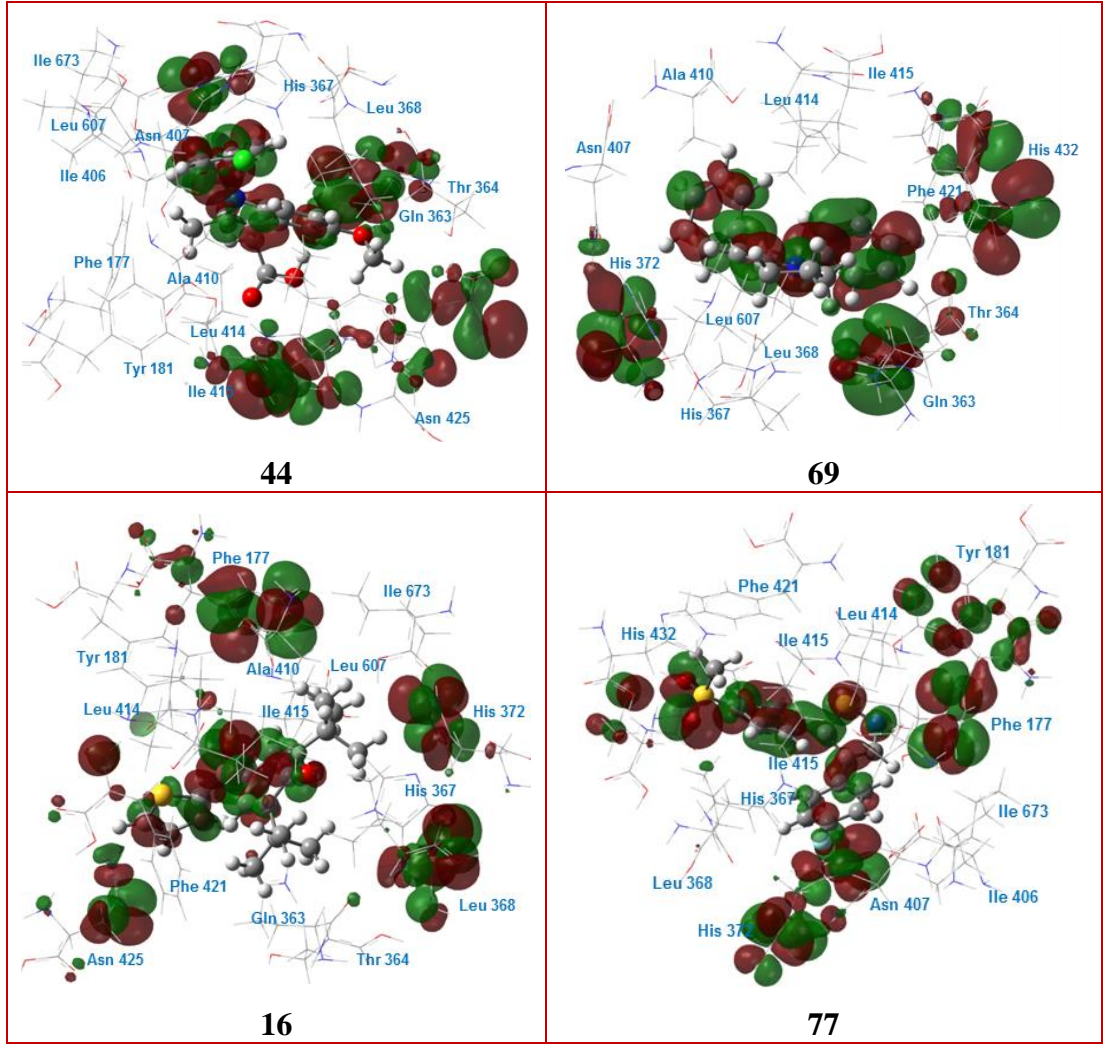


bileşiği ise konjuge  $\pi$ -sistemi üzerinden Gly526, Ser353 ve Val349 amino asitleriyle etkileşmektedir (Şekil 5.15).



Şekil 5.15: COX-2 aktif bölgesiyle kontrol bileşikleri için elde edilen HOMO/LUMO sınır orbitalleri üzerindeki elektron yoğunluğu dağılımları.

5-LOX aktif bölgesine bağlanmış olan **44** bileşiğinin konjuge  $\pi$ -sistemi ile His 372, Thr364, Ile415 ve Asn425 amino asitleri arasında elektron etkileşimleri gerçekleşmektedir. **69** bileşiği ise 5-LOX enziminin sadece His372, Gln363 ve Phe421 rezidüleri ile etkileşmektedir (Şekil 5.16).



Şekil 5.16: 5-LOX/inhibitör kompleksleri için elde edilen HOMO/LUMO sınır orbitalleri üzerindeki elektron yoğunluğu dağılımları.

Bütün bu etkileşimleri değerlendirmek için enzim-inhibitör komplekslerinin stabilizasyon enerjileri hesaplanmıştır. Enzim-inhibitör kompleksleri için elde edilen  $E(2)$  stabilizasyon enerjileri Tablo 5.13’de verilmiştir.

Tablo 5.13: Enzim-inhibitör kompleksleri için elde edilen  $E(2)$  stabilizasyon enerjileri.

Bileşik	$E(2) / \text{kcal mol}^{-1}$	
	COX-2	5-LOX
<b>44</b>	41.2	27.8
<b>16</b>	41.7	21.6
<b>69</b>	16.3	0.4
<b>77</b>	13.5	6.4

Tablo 5.13’de görüldüğü gibi, aktif **44** ve **16** bileşikleri hem COX-2 (**44** için 41.2, **16** için 41.7 kcal mol<sup>-1</sup>) hem de 5-LOX (**44** için 27.8, **16** için 21.6 kcal mol<sup>-1</sup>) ile oldukça yüksek  $E(2)$  değerleri vermektedir. İnaktif **69** ve **77** bileşikleri ise daha düşük stabilizasyon enerjisine sahiptir. **69** için COX-2 ile 16.3, 5-LOX ile 0.4 kcal mol<sup>-1</sup>, **77** için COX-2 ile 13.5, 5-LOX ile 6.4 kcal mol<sup>-1</sup> enerji değerleri elde edilmiştir. Enzim-inhibitör kompleksleri için elde edilen elektronik yapı özellikleri, ETM-NN yöntemiyle elde edilen sonuçlarla birlikte değerlendirilerek, yeni aktif COX-2/5-LOX dual inhibitörleri tasarlanabilir.

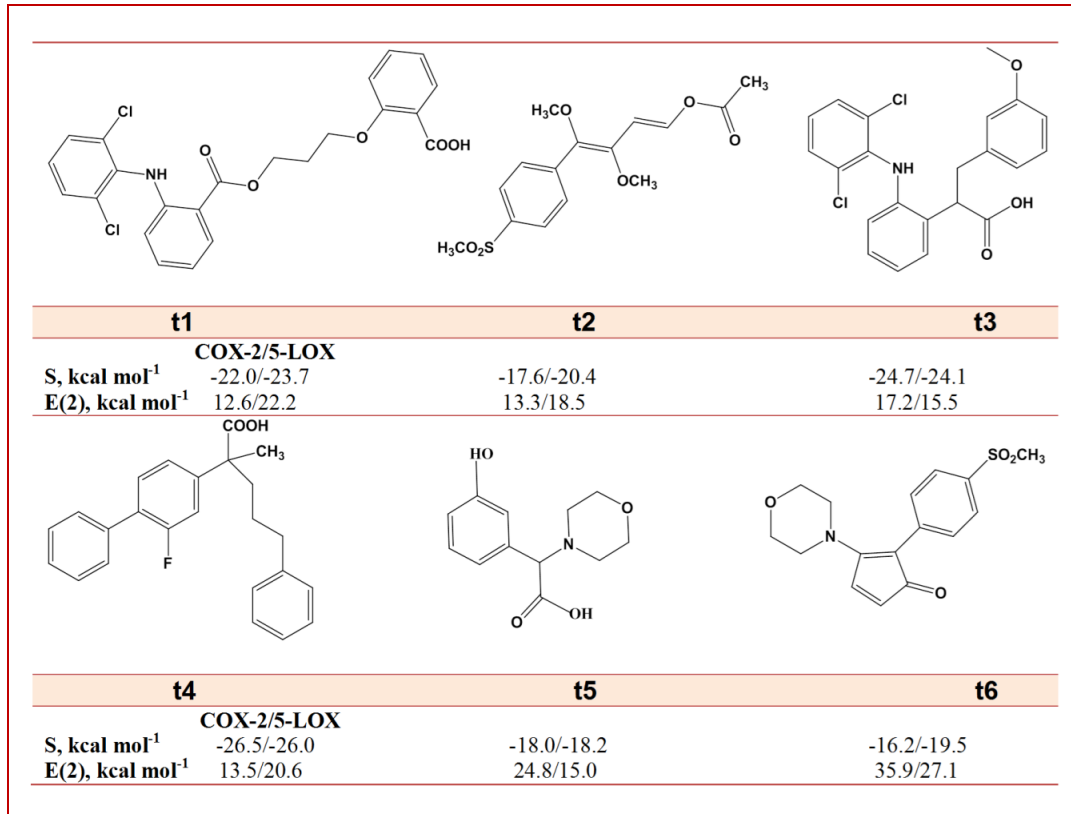
COX-2/5-LOX dual inhibitörleri için yapılan moleküler kenetlenme ve moleküler orbital analizleri, ETM ile oldukça uyumlu sonuçlar vermiştir. Bu analizler, Ph1 ve Ph2 farmakoforlarına ait moleküler fragmentlerin (Şekil 5.10), bileşiklerin enzimle etkileşiminde önemli bir rol oynadığını; APh1 ve APh2 anti-farmakoforlarının ise (Şekil 5.11) bu etkileşimlere daha az katkıda bulunduğunu ortaya koymuştur.

### 5.2.6. Yeni COX-2/5-LOX Dual İnhibitör Tasarımları

Çalışmanın son aşamasında, COX-2/5-LOX dual inhibitörlerinin aktivite tahmini için ETM-NN yaklaşımıyla geliştirilmiş olan sistem kullanılarak, yeni aktif bileşikler tasarlanmıştır. Şekil 5.17’de bu bileşikler, moleküler kenetlenme ve DFT yöntemleriyle hesaplanan enerji değerleriyle birlikte verilmiştir.

ETM-NN ile elde edilen sonuçlara dayalı olarak modellenen bu altı bileşik (**t1-t6**), dual inhibitörlerde bulunan karakteristik farmakoforları içermekte, anti-farmakoforları ise içermemektedir. Bu bileşikler için yapılan moleküler kenetlenme ve DFT hesaplamaları sonucunda yüksek skorlama ve stabilizasyon enerji değerleri elde edilmiştir. Örneğin **t1** bileşiği COX-2 ile -22.0 kcal mol<sup>-1</sup> skorlama enerjisi, 12.6

kcal mol<sup>-1</sup> stabilizasyon enerjisi değerlerine, 5-LOX ile de sırasıyla -23.7 ve 22.2 değerlerine sahiptir. Diğer bileşiklerin skorlama enerjileri COX-2 ile -16.2 ve -26.5 kcal mol<sup>-1</sup> aralığında, 5-LOX ile -18.2 ve -26.0 kcal mol<sup>-1</sup> aralığında değişmektedir. Stabilizasyon enerjileri ise sırasıyla 12.6 – 35.9 kcal mol<sup>-1</sup> ve 15.0 – 27.1 kcal mol<sup>-1</sup> aralıklarında değişen değerlere sahiptir.



Şekil 5.17: Tasarlanan potansiyel COX-2/5-LOX dual inhibitörlerinin 2D yapıları ve enerji değerleri.

Bu bulgular ışığında, tasarlanan **t1-t6** bileşiklerinin, COX-2/5-LOX dual etkili aktif ( $IC_{50} < 15 \mu M$ ) inhibitörler olduğu tahmin edilmektedir. Benzer şekilde, bileşik geometrisi optimize edilip, elektronik yapısı hesaplandıktan sonra ETMC matrisi oluşturulup, aktivite tahmin sistemi için gereken parametreler kontrol edilerek, yeni potansiyel dual inhibitörler tasarlanabilir. Dual COX-2/5-LOX inhibitörleri için geliştirilen bu tahmin sistemi, bileşiklerinin aktifliklerinin oldukça hızlı değerlendirilmesine imkân tanımakta ve çok sayıda bileşiğin taranması için alternatif bir yol teşkil etmektedir.



## 6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu tez çalışması kapsamında, COX-2 selektif inhibisyonu ve COX-2/5-LOX dual inhibisyonu üzerine etki eden yapısal ve elektronik faktörler, hesaplamalı yöntemler kullanılarak incelenmiştir. Bir yapı-aktivite yöntemi olan ETM kullanılarak, inceleme altındaki bileşiklerin yapısında bulunan farmakofor ve anti-farmakoforlar tespit edilmiş ve ETM-NN yaklaşımına dayalı aktivite tahmin modelleri geliştirilmiştir. Çalışmada kullanılan bir diğer hesaplamalı yöntem olan moleküler kenetlenme yöntemiyle, inhibitörlerin enzimlere bağlanma afiniteleri ve konformasyonları elde edilmiş; bağlanmada etkili olan kovalent olmayan etkileşimler incelenmiştir. Son olarak DFT yöntemiyle, enzim-inhibitör etkileşimleri; Sınır Moleküler Orbital (FMO) analizleriyle elektron yoğunluğu dağılımı üzerinden ve Doğal Bağ Orbital (NBO) analizleriyle stabilizasyon enerjileri üzerinden tartışılmıştır.

Birinci bölümde; yapıları ve biyolojik aktiviteleri bilinen, farklı moleküler yapıya sahip 209 bileşik COX-2 inhibisyon selektivitelerine göre sınıflandırılmıştır. Bu bileşiklerin konformasyonel ve elektronik yapı özellikleri Gaussian 09 programı ile incelenmiş; elde edilen sonuçlar, selektif ve non-selektif bileşiklerin elektronik-topolojik matrislerini oluşturmak için kullanılmıştır. Oluşturulan bu matrislerden prognoz sistemine giren beş farmakofor (Ph1–Ph5), beş tane de anti-farmakofor (APh1–APh5) elde edilmiştir. Farmakoforların selektif bileşiklerde gerçekleşme ihtimaliyeti ortalama 0.91; anti-farmakoforların non-selektif bileşiklerde gerçekleşme ihtimaliyeti ise ortalama 0.85 olarak tespit edilmiştir. Gerçekleşme ihtimaliyetleri en yüksek olan Ph (Ph1-Ph2) ve APh (APh1-APh2) fragmentleri, kontrol bileşiği olarak belirlenen inhibitörler üzerinde 3-boyutlu olarak gösterilmiş; hangi fonksiyonel grupların bu fragmentlere dâhil oldukları, kaç atom içerdikleri ve atomların yükleri incelenmiştir. ETM sonuçları, Ph1 ve Ph2 farmakoforlarına ait moleküler fragmentlerin ( $-CF_3$ , piridin halkası,  $-SO_2CH_3$ , fenil halkası), bileşiklerin enzimle etkileşiminde önemli bir rol oynadığını; APh1 ve APh2 anti-farmakoforlarının ise bu etkileşimlere daha az katkıda bulunduğunu ortaya koymuştur. Farmakofor ve anti-farmakoforların uzaysal ve elektronik özelliklerinin farklı olduğu görülmüştür. Çalışmanın devamında, bileşik serilerine ETM-NN yaklaşımı uygulanarak, iki farklı model üzerinden geliştirilen (küme dağılım modeli ve fragment veri setleri) prognoz

sistemi, incelenen bileşik serilerinin COX-2 selektivitesini %95 doğrulukla tespit etmiştir. Bu sonuçlar, geliştirilen sistemin, COX-2 inhibitörlerinin tasarımı için uygulanabilir olduğunu ortaya koymaktadır. Bir sonraki aşamada, çalışılan bileşiklerin COX-1 ve COX-2 enzimlerinin aktif bölgelerine bağlanma afinitelerini ve konformasyonlarını elde etmek amacıyla moleküler kenetlenme yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemin uygulanması sonucunda, enzim-inhibitör kompleksleri arasındaki karakteristik etkileşimler analiz edilmiş ve bileşiklerin selektiveleri, bu etkileşimler ve skorlama enerjileri üzerinden tartışılmıştır. Son olarak, enzim-inhibitör arasındaki etkileşimleri daha kapsamlı incelemek amacıyla, COX-1 ve COX-2 enzimlerinin aktif bölgesine kenetlenmiş olan kontrol bileşikleri için DFT tabanlı elektronik yapı hesaplamaları yapılmıştır. FMO analizleriyle elde edilen HOMO/LUMO sınır orbitalleri üzerindeki elektron yoğunluğu dağılımları, enzim-inhibitör kompleksleri arasındaki etkileşimlerin donör-akseptör karakterini ortaya koymuş; NBO analizleri ise stabilizasyon enerjilerini vermiştir. Selektif inhibitörler COX-2'ye bağlandığında, non-selektif inhibitörlere göre daha yüksek stabilizasyon enerjilerine sahip olduğu; COX-1'e bağlandığında bu enerji değerlerinin daha düşük olduğu saptanmıştır. Ayrıca stabilizasyon enerjilerinin oranından elde edilen selektivite indeksleri ile deneysel olarak elde edilen veriler arasında bir uyum elde edilmiştir. ETM-NN yaklaşımıyla geliştirilen; moleküler kenetlenme ve DFT yöntemleriyle enzim-inhibitör etkileşimleri üzerinden desteklenen prognoz sistemine dayalı olarak, diklofenak türevi 9 yeni hedef molekül tasarlanmıştır. Bu moleküllerden 6 tanesi (t1-t6) COX-2 enzimine karşı selektif (SI > 100), 3 tanesi ise (t7-t9) non-selektif (SI < 100) inhibitör olarak tahmin edilmiştir.

İkinci bölümde, yapıları ve biyolojik aktiviteleri bilinen ve dual inhibisyon aktivitelerine göre gruplandırılan toplam 160 COX-2/5-LOX dual inhibitörü, bir önceki bölümle aynı metodoloji üzerinden incelenmiştir. Benzer şekilde, bileşik geometrisi optimize edilip, elektronik yapısı hesaplandıktan sonra ETMC matrisleri oluşturulup, bir dizi Ph ve APh elde edilmiştir. Farmakoforların aktif bileşiklerde gerçekleşme ihtimaliyeti ortalama 0.91; anti-farmakoforların inaktif bileşiklerde gerçekleşme ihtimaliyeti ise ortalama 0.86 olarak tespit edilmiştir. ETM-NN yaklaşımı ile elde edilen aktivite tahmin sistemi, bileşiklerin aktifliğini %96 doğrulukla teşhis edebilmiştir. Bu sonuç, yaygın olarak kullanılan diğer yöntemlere kıyasla oldukça tatmin edicidir. Dual COX-2/5-LOX inhibitörleri için geliştirilen bu tahmin sistemi, çok sayıda bileşiğin aktifliğinin oldukça hızlı bir şekilde ve yüksek

doğruluk derecesiyle değerlendirilmesine imkân tanımaktadır. COX-2/5-LOX dual inhibitörleri için yapılan moleküler kenetlenme ve moleküler orbital analizleri, ETM ile oldukça uyumlu sonuçlar vermiştir. Bu analizler, Ph1 ve Ph2 farmakoforlarına ait moleküler fragmentlerin, bileşiklerin enzimle etkileşiminde önemli bir rol oynadığını; APh1 ve APh2 anti-farmakoforlarının ise bu etkileşimlere daha az katkıda bulunduğunu ortaya koymuştur. ETM-NN yaklaşımıyla geliştirilen; moleküler kenetlenme ve DFT yöntemleriyle desteklenen prognoz sistemine dayalı olarak, 6 yeni hedef molekül tasarlanmıştır. Bu bileşikler dual inhibitörlerde bulunan karakteristik farmakoforları içermekte, anti-farmakoforları ise içermemektedir. Ayrıca bu bileşikler için yapılan moleküler kenetlenme ve DFT hesaplamaları sonucunda yüksek skorlama ve stabilizasyon enerji değerleri elde edilmiştir. Bu bulgular ışığında, tasarlanan bileşiklerin tamamı aktif olarak tahmin edilmiştir.

Bu çalışmada, ETM/ETM-NN yöntemiyle elde edilen sonuçlar, enzim-inhibitör kompleksleri için elde edilen moleküler kenetlenme parametreleri ve elektronik yapı özellikleri ile birlikte değerlendirilmiştir. Bu şekilde kademeli bir yaklaşım ile yapılan bilgisayar destekli ilaç tasarımları, aktiviteyi arttıran ve azaltan moleküler fragmentlerin daha detaylı ve doğru bir şekilde analiz edilmesini sağlar. Elde edilen sonuçlardan hareketle, hedefin veya hedefle etkileşen etken maddenin sahip olması gereken moleküler nitelikler tanımlanmaya çalışılarak, hastalık-hedef-efektör üçgenindeki ilişkiler açığa çıkarılır. Ayrıca bu yöntemlerin uygulanması sonucu ortaya konulan prognoz modeli, farklı moleküler yapıya sahip çok sayıda potansiyel bileşiğin; hem sentez öncesi tarama, hem de *in silico* tasarım çalışmalarında başarılı bir şekilde kullanılarak, bir ilacın üretilmesi için geçen işlemleri kısaltır. Dolayısıyla bu strateji, ortalama 10 yıl süren yeni ilaç geliştirme çalışmalarını çok daha kısa bir süreye indirgeyebilir ki, bu da zaman ve maliyet açısından ciddi bir tasarruf sağlamaktadır.

İleriye yönelik olarak; bu çalışma ile elde edilen bulgular ışığında, farklı bileşik serileri için aktivite taraması yapılarak, daha fazla sayıda yeni moleküller tasarlanacak ve imkânlar dâhilinde bu moleküllerin biyolojik aktiviteleri laboratuvar ortamında test edildikten sonra patent alma sürecine girilecektir. Ayrıca, oldukça başarılı sonuçlar veren bu kademeli yaklaşım farklı enzim-inhibitör sistemleri üzerine de uygulanabilir olduğundan, bu sayede deneysel çalışan gruplarla proje tabanlı işbirliğine zemin oluşturmuştur.

## KAYNAKLAR

- [1] Brown H., (1977), "Molecular structure elucidation. III", *SIAM Journal on Applied Mathematics*, 32 (3), 534-551.
- [2] Stuper A. J., Brügger W. E., Jurs P. C., (1979), "Computer assisted studies of chemical structure and biological function", 1st Edition, John Wiley & Sons.
- [3] Cramer III R. D., Redl G., Berkoff C. E., (1974), "Substructural analysis. Novel approach to the problem of drug design", *Journal of Medicinal Chemistry*, 17 (5), 533-535.
- [4] Hodes L., Hazard G. F., Geran R. I., Richman S., (1977), "A statistical-heuristic method for automated selection of drugs for screening", *Journal of Medicinal Chemistry*, 20 (4), 469-475.
- [5] Redl G., tert R. D. C., Berkoff C. E., (1974), "Quantitative drug design", *Chemical Society Reviews*, 3 (3), 273-292.
- [6] Thomas M. C., (2000), "Diuretics, ACE inhibitors and NSAIDs--the triple whammy", *The Medical Journal of Australia*, 172 (4), 184-185.
- [7] Bombardier C., Laine L., Reicin A., Shapiro D., Burgos-Vargas R., Davis B., Day R., Ferraz M. B., Hawkey C. J., Hochberg M. C., (2000), "Comparison of upper gastrointestinal toxicity of rofecoxib and naproxen in patients with rheumatoid arthritis", *New England Journal of Medicine*, 343 (21), 1520-1528.
- [8] Cervera R., Balasch J., (2004), "The management of pregnant patients with antiphospholipid syndrome", *Lupus*, 13 (9), 683-687.
- [9] Green G. A., (2001), "Understanding NSAIDs: from aspirin to COX-2", *Clinical Cornerstone*, 3 (5), 50-59.
- [10] Moore D. E., (2002), "Drug-induced cutaneous photosensitivity", *Drug Safety*, 25 (5), 345-372.
- [11] Østensen M. E., Skomsvoll J. F., (2004), "Anti-inflammatory pharmacotherapy during pregnancy", *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 5 (3), 571-580.
- [12] Graham G. G., Scott K. F., Day R. O., (2005), "Tolerability of paracetamol", *Drug Safety*, 28 (3), 227-240.
- [13] Giovannucci E., (1999), "The prevention of colorectal cancer by aspirin use", *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 53 (7), 303-308.

- [14] Lukiw W. J., Bazan N. G., (1997), "Cyclooxygenase 2 RNA message abundance, stability, and hypervariability in sporadic Alzheimer neocortex", *Journal of Neuroscience Research*, 50 (6), 937-945.
- [15] Keha E. E., Küfrevioğlu Ö. İ., (2010), "Biyokimya", 7. Baskı, Aktif Yayınevi.
- [16] Hames B., Hooper N., (1997), "Instant notes in biochemistry", 2nd Edition, Biochemical Education.
- [17] Claria J., Romano M., (2005), "Pharmacological intervention of cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase pathways. Impact on inflammation and cancer", *Current Pharmaceutical Design*, 11 (26), 3431-3447.
- [18] Douglas W., (1975), "The pharmacological basis of therapeutics", 5th Edition, Macmillan New York.
- [19] Omini C., Moncada S., Vane J., (1977), "The effects of prostacyclin (PGI<sub>2</sub>) on tissues which detect prostaglandins (PG's)", *Prostaglandins*, 14 (4), 625-632.
- [20] Watkins W. D., Peterson M. B., Fletcher J. R., (1989), "Prostaglandins in clinical practice", 1st Edition, Raven Press.
- [21] Carsten M. E., (1974), "Prostaglandins and oxytocin: Their effects on uterine smooth muscle", *Prostaglandins*, 5 (1), 33-40.
- [22] Bernardi P., Ghezzi F., Bastagli L., Grimaldi R., Cavazza M., Minelli C., Fontana F., Clo C., Ventura C., Capelli M., (1986), "Effects of polyunsaturated fatty acids and prostaglandin synthesis on renal function", *Prostaglandins, Leukotrienes and Medicine*, 22 (2), 235-248.
- [23] Weber P., (1979), "Renal prostaglandins, kidney function and essential hypertension", *Contributions to Nephrology*, 23, 83-92.
- [24] Roth G. J., Stanford N., Majerus P. W., (1975), "Acetylation of prostaglandin synthase by aspirin", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 72 (8), 3073-3076.
- [25] Dammann H., (1999), "Preferential COX-2 inhibition: its clinical relevance for gastrointestinal non-steroidal anti-inflammatory rheumatic drug toxicity", *Zeitschrift für Gastroenterologie*, 37 (1), 45-58.
- [26] Coffey R. J., Hawkey C. J., Damstrup L., Graves-Deal R., Daniel V. C., Dempsey P. J., Chinery R., Kirkland S. C., DuBois R. N., Jetton T. L., (1997), "Epidermal growth factor receptor activation induces nuclear targeting of cyclooxygenase-2, basolateral release of prostaglandins, and mitogenesis in polarizing colon cancer cells", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94 (2), 657-662.

- [27] Mitchell J., Evans T., (1998), "Cyclooxygenase-2 as a therapeutic target", *Inflammation Research*, 47 (2), 88-92.
- [28] Chan G., Boyle J. O., Yang E. K., Zhang F., Sacks P. G., Shah J. P., Edelstein D., Soslow R. A., Koki A. T., Woerner B. M., (1999), "Cyclooxygenase-2 expression is up-regulated in squamous cell carcinoma of the head and neck", *Cancer Research*, 59 (5), 991-994.
- [29] Hwang D., Byrne J., Scollard D., Levine E., (1998), "Expression of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in human breast cancer", *Journal of the National Cancer Institute*, 90 (6), 455-460.
- [30] Wolff H., Saukkonen K., Anttila S., Karjalainen A., Vainio H., Ristimäki A., (1998), "Expression of cyclooxygenase-2 in human lung carcinoma", *Cancer Research*, 58 (22), 4997-5001.
- [31] Achiwa H., Yatabe Y., Hida T., Kuroishi T., Kozaki K.-i., Nakamura S., Ogawa M., Sugiura T., Mitsudomi T., Takahashir T., (1999), "Prognostic significance of elevated cyclooxygenase 2 expression in primary, resected lung adenocarcinomas", *Clinical Cancer Research*, 5 (5), 1001-1005.
- [32] Maekawa M., Sugano K., Sano H., Miyazaki S., Ushiana M., Fujita S., Gotoda T., Yokota T., Ohkura H., Kakizoe T., (1998), "Increased expression of cyclooxygenase-2 to-1 in human colorectal cancers and adenomas, but not in hyperplastic polyps", *Japanese Journal of Clinical Oncology*, 28 (7), 421-426.
- [33] Taketo M., (1998), "COX-2 and colon cancer", *Inflammation Research*, 47 (2), 112-116.
- [34] Tucker O. N., Dannenberg A. J., Yang E. K., Zhang F., Teng L., Daly J. M., Soslow R. A., Masferrer J. L., Woerner B. M., Koki A. T., (1999), "Cyclooxygenase-2 expression is up-regulated in human pancreatic cancer", *Cancer Research*, 59 (5), 987-990.
- [35] Miyamoto T., Ogino N., Yamamoto S., Hayaishi O., (1976), "Purification of prostaglandin endoperoxide synthetase from bovine vesicular gland microsomes", *Journal of Biological Chemistry*, 251 (9), 2629-2636.
- [36] Ogino N., Miyamoto T., Yamamoto S., Hayaishi O., (1977), "Prostaglandin endoperoxide E isomerase from bovine vesicular gland microsomes, a glutathione-requiring enzyme", *Journal of Biological Chemistry*, 252 (3), 890-895.
- [37] Needleman P., Jakschik B., Morrison A., Lefkowitz J., (1986), "Arachidonic acid metabolism", *Annual Review of Biochemistry*, 55 (1), 69-102.
- [38] Fletcher B. S., Kujubu D., Perrin D., Herschman H., (1992), "Structure of the mitogen-inducible TIS10 gene and demonstration that the TIS10-encoded

protein is a functional prostaglandin G/H synthase”, *Journal of Biological Chemistry*, 267 (7), 4338-4344.

- [39] Chandrasekharan N., Dai H., Roos K. L. T., Evanson N. K., Tomsik J., Elton T. S., Simmons D. L., (2002), “COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression”, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99 (21), 13926-13931.
- [40] Simmons D. L., Botting R. M., Hla T., (2004), “Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition”, *Pharmacological Reviews*, 56 (3), 387-437.
- [41] FitzGerald G. A., (2003), “COX-2 and beyond: approaches to prostaglandin inhibition in human disease”, *Nature Reviews Drug Discovery*, 2 (11), 879-890.
- [42] Colville-Nash P. R., Gilroy D. W., (2001), “Potential adverse effects of cyclooxygenase-2 inhibition: evidence from animal models of inflammation”, *BioDrugs*, 15 (1), 1-9.
- [43] Vasoo S., Ng S., (2001), “New cyclooxygenase inhibitors”, *Annals of the Academy of Medicine, Singapore*, 30 (2), 164-169.
- [44] Brater D. C., Harris C., Redfern J. S., Gertz B. J., (2001), “Renal effects of COX-2-selective inhibitors”, *American Journal of Nephrology*, 21 (1), 1-15.
- [45] Seibert K., Zhang Y., Leahy K., Hauser S., Masferrer J., Perkins W., Lee L., Isakson P., (1994), “Pharmacological and biochemical demonstration of the role of cyclooxygenase 2 in inflammation and pain”, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91 (25), 12013-12017.
- [46] Iseki S., (1995), “Immunocytochemical localization of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in the rat stomach”, *The Histochemical Journal*, 27 (4), 323-328.
- [47] Harris R. C., McKanna J. A., Akai Y., Jacobson H. R., Dubois R. N., Breyer M. D., (1994), “Cyclooxygenase-2 is associated with the macula densa of rat kidney and increases with salt restriction”, *Journal of Clinical Investigation*, 94 (6), 2504.
- [48] Hawkey C., (2001), “COX-1 and COX-2 inhibitors”, *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 15 (5), 801-820.
- [49] Kato K., Yokomizo T., Izumi T., Shimizu T., (2000), “Cell-specific transcriptional regulation of human leukotriene B4 receptor gene”, *The Journal of Experimental Medicine*, 192 (3), 413-420.

- [50] Yokomizo T., Izumi T., Chang K., Takuwa Y., Shimizu T., (1997), "A G-protein-coupled receptor for leukotriene B<sub>4</sub> that mediates chemotaxis", *Nature*, 387 (6633), 620-624.
- [51] Wood A. J., Drazen J. M., Israel E., O'Byrne P. M., (1999), "Treatment of asthma with drugs modifying the leukotriene pathway", *New England Journal of Medicine*, 340 (3), 197-206.
- [52] Charlier C., Hénichart J.-P., Durant F., Wouters J., (2006), "Structural insights into human 5-lipoxygenase inhibition: combined ligand-based and target-based approach", *Journal of Medicinal Chemistry*, 49 (1), 186-195.
- [53] Drazen J. M., (1999), "Asthma therapy with agents preventing leukotriene synthesis or action", *Proceedings of the Association of American Physicians*, 111 (6), 547-559.
- [54] Henderson W. R., (1994), "The role of leukotrienes in inflammation", *Annals of Internal Medicine*, 121 (9), 684-697.
- [55] Sampson A., Holgate S., (1998), "Leukotriene modifiers in the treatment of asthma: look promising across the board of asthma severity", *BMJ: British Medical Journal*, 316 (7140), 1257-1258.
- [56] Cuendet M., Pezzuto M., (2000), "The role of cyclooxygenase and lipoxygenase in cancer chemoprevention", *Drug metabolism and Drug Interactions*, 17 (1-4), 109-158.
- [57] Kolasa T., Brooks C. D., Rodrigues K. E., Summers J. B., Dellaria J. F., Hulkower K. I., Bouska J., Bell R. L., Carter G. W., (1997), "Nonsteroidal anti-inflammatory drugs as scaffolds for the design of 5-lipoxygenase inhibitors", *Journal of Medicinal Chemistry*, 40 (5), 819-824.
- [58] Boschelli D. H., Connor D. T., Bornemeier D. A., Dyer R. D., Kennedy J. A., Kuipers P. J., Okonkwo G. C., Schrier D. J., Wright C. D., (1993), "1, 3, 4-Oxadiazole, 1, 3, 4-thiadiazole, and 1, 2, 4-triazole analogs of the fenamates: in vitro inhibition of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase activities", *Journal of Medicinal Chemistry*, 36 (13), 1802-1810.
- [59] Boschelli D. H., Connor D. T., Hoefle M., Bornemeier D. A., Dyer R. D., (1992), "Conversion of NSAIDs into balanced dual inhibitors of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2 (1), 69-72.
- [60] Janusz J. M., Young P. A., Ridgeway J. M., Scherz M. W., Enzweiler K., Wu L. I., Gan L., Darolia R., Matthews R. S., Hennes D., (1998), "New cyclooxygenase-2/5-lipoxygenase inhibitors. 1. 7-tert-butyl-2, 3-dihydro-3, 3-dimethylbenzofuran derivatives as gastrointestinal safe antiinflammatory and analgesic agents: discovery and variation of the 5-keto substituent", *Journal of Medicinal Chemistry*, 41 (7), 1112-1123.



- [61] Swingle K., Bell R., Moore G., (1985), "Anti-inflammatory activity of antioxidants", *Anti-inflammatory and Anti-Rheumatic Drugs*, 3, 105-126.
- [62] Argentieri D. C., Ritchie D. M., Ferro M. P., Kirchner T., Wachter M. P., Anderson D. W., Rosenthale M. E., Capetola R. J., (1994), "Tepoxalin: a dual cyclooxygenase/5-lipoxygenase inhibitor of arachidonic acid metabolism with potent anti-inflammatory activity and a favorable gastrointestinal profile", *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 271 (3), 1399-1408.
- [63] Blackham A., Griffiths R., Hallam C., Mann J., Mitchell P., Norris A., Simpson W., (1990), "FPL 62064, a topically active 5-lipoxygenase/cyclooxygenase inhibitor", *Agents and Actions*, 30 (3-4), 432-442.
- [64] Horizoe T., Nagakura N., Chiba K., Shiota H., Shinoda M., Kobayashi N., Numata H., Okamoto Y., Kobayashi S., (1998), "ER-34122, a novel dual 5-lipoxygenase/cyclooxygenase inhibitor with potent anti-inflammatory activity in an arachidonic acid-induced ear inflammation model", *Inflammation Research*, 47 (10), 375-383.
- [65] Marshall P. J., Griswold D. E., Breton J., Webb E. F., Hillegass L. M., Sarau H. M., Newton J., Lee J. C., Bender P. E., Hanna N., (1991), "Pharmacology of the pyrroloimidazole, SK&F 105809—I: Inhibition of inflammatory cytokine production and of 5-lipoxygenase- and cyclooxygenase-mediated metabolism of arachidonic acid", *Biochemical Pharmacology*, 42 (4), 813-824.
- [66] Olivera D., Esser K., Lee J., Greig R., Badger A., (1992), "Beneficial effects of SK&F 105809, a novel cytokine-suppressive agent, in murine models of endotoxin shock", *Circulatory Shock*, 37 (4), 301-306.
- [67] Barr R., Black A. K., Dowd P., Koro O., Mistry K., Isaacs J., Greaves M., (1988), "The in vitro 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase inhibitor L-652,343 does not inhibit 5-lipoxygenase in vivo in human skin", *British Journal of Clinical Pharmacology*, 25 (1), 23-26.
- [68] Kirchner T., Argentieri D., Barbone A., Singer M., Steber M., Ansell J., Beers S., Wachter M., Wu W., Malloy E., (1997), "Evaluation of the antiinflammatory activity of a dual cyclooxygenase-2 selective/5-lipoxygenase inhibitor, RWJ 63556, in a canine model of inflammation", *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 282 (2), 1094-1101.
- [69] Laufer S., Striegel H. G., Neher K., Zechmeister P., Donat C., Stolingwa K., Baur S., Tries S., Kammermeier T., Dannhardt G., (1997), "Synthesis and evaluation of a novel series of pyrrolizine derivatives as dual Cyclooxygenase-1 and 5-Lipoxygenase inhibitors", *Archiv der Pharmazie*, 330 (9-10), 307-312.

- [70] Provost P., Merhi Y., (1996), "BW755C, a dual lipoxygenase /cyclooxygenase inhibitor, reduces mural platelet and neutrophil deposition and vasoconstriction after angioplasty injury in pigs", *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 277 (1), 17-21.
- [71] Bhatia P. A., Brooks C. D. W., Basha A., Ratajczyk J. D., Gunn B. P., Bouska J. B., Lanni C., Young P. R., Bell R. L., Carter G. W., (1996), "5-lipoxygenase inhibitors: Synthesis and structure-activity relationships of a series of 1-Aryl-2H,4H-tetrahydro-1,2,4-triazin-3-ones", *Journal of Medicinal Chemistry*, 39 (20), 3938-3950.
- [72] Ghiglieribertz C., Coquelet C., Alazet A., Bonne C. (1987), "Dual inhibitors of the cyclooxygenase and lipoxygenase pathways-synthesis and activity of hydrazone derivatives", *Editions Scientifiques*, 15, 147-152.
- [73] Wallach D. P., Brown V. R., (1981), "A novel preparation of human platelet lipoxygenase: Characteristics and inhibition by a variety of phenyl hydrazones and comparisons with other lipoxygenases", *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism*, 663 (2), 361-372.
- [74] Barbey S., Goossens L., Taverne T., Cornet J., Choessel V., Rouaud C., Gimeno G., Yannic-Arnoult S., Michaux C., Charlier C., (2002), "Synthesis and activity of a new methoxytetrahydropyran derivative as dual cyclooxygenase-2/5-lipoxygenase inhibitor", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 12 (5), 779-782.
- [75] Geronikaki A. A., Lagunin A. A., Hadjipavlou-Litina D. I., Eleftheriou P. T., Filimonov D. A., Poroikov V. V., Alam I., Saxena A. K., (2008), "Computer-aided discovery of anti-inflammatory thiazolidinones with dual cyclooxygenase/lipoxygenase inhibition", *Journal of Medicinal Chemistry*, 51 (6), 1601-1609.
- [76] Luong C., Miller A., Barnett J., Chow J., Ramesha C., Browner M. F., (1996), "Flexibility of the NSAID binding site in the structure of human cyclooxygenase-2", *Nature Structural & Molecular Biology*, 3 (11), 927-933.
- [77] Gillmor S. A., Villaseñor A., Fletterick R., Sigal E., Browner M. F., (1997), "The structure of mammalian 15-lipoxygenase reveals similarity to the lipases and the determinants of substrate specificity", *Nature Structural & Molecular Biology*, 4 (12), 1003-1009.
- [78] Chowdhury M. A., Abdellatif K. R., Dong Y., Das D., Suresh M. R., Knaus E. E., (2009), "Synthesis of celecoxib analogues possessing a N-difluoromethyl-1, 2-dihydropyrid-2-one 5-lipoxygenase pharmacophore: biological evaluation as dual inhibitors of cyclooxygenases and 5-lipoxygenase with anti-inflammatory activity", *Journal of Medicinal Chemistry*, 52 (6), 1525-1529.
- [79] Scholz M., Ulbrich H. K., Soehnlein O., Lindbom L., Mattern A., Dannhardt G., (2009), "Diaryl-dithiolanes and-isothiazoles: COX-1/COX-2 and 5-LOX-

inhibitory, OH scavenging and anti-adhesive activities”, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17 (2), 558-568.

- [80] Mohammed A., Janakiram N. B., Li Q., Choi C.-I., Zhang Y., Steele V. E., Rao C. V., (2011), “Chemoprevention of colon and small intestinal tumorigenesis in APCMin/+ mice by licofelone, a novel dual 5-LOX/COX inhibitor: potential implications for human colon cancer prevention”, *Cancer Prevention Research*, 4 (12), 2015-2026.
- [81] Bitto A., Minutoli L., David A., Irrera N., Rinaldi M., Venuti F. S., Squadrito F., Altavilla D., (2012), “Flavocoxid, a dual inhibitor of COX-2 and 5-LOX of natural origin, attenuates the inflammatory response and protects mice from sepsis”, *Crit Care*, 16 (1), 1-12.
- [82] Polito F., Bitto A., Irrera N., Squadrito F., Fazzari C., Minutoli L., Altavilla D., (2010), “Flavocoxid, a dual inhibitor of cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase, reduces pancreatic damage in an experimental model of acute pancreatitis”, *British Journal of Pharmacology*, 161 (5), 1002-1011.
- [83] Eleftheriou P., Geronikaki A., Hadjipavlou-Litina D., Vicini P., Filz O., Filimonov D., Poroikov V., Chaudhaery S. S., Roy K. K., Saxena A. K., (2012), “Fragment-based design, docking, synthesis, biological evaluation and structure–activity relationships of 2-benzo/benzisothiazolimino-5-arylidene-4-thiazolidinones as cyclooxygenase/lipoxygenase inhibitors”, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 47, 111-124.
- [84] Ghatak S., Vyas A., Misra S., O’Brien P., Zambre A., Fresco V. M., Markwald R. R., Swamy K. V., Afrasiabi Z., Choudhury A., (2014), “Novel di-tertiary-butyl phenylhydrazones as dual cyclooxygenase-2/5-lipoxygenase inhibitors: Synthesis, COX/LOX inhibition, molecular modeling, and insights into their cytotoxicities”, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 24 (1), 317-324.
- [85] Misra S., Ghatak S., Patil N., Dandawate P., Ambike V., Adsule S., Unni D., Swamy K. V., Padhye S., (2013), “Novel dual cyclooxygenase and lipoxygenase inhibitors targeting hyaluronan–CD44v6 pathway and inducing cytotoxicity in colon cancer cells”, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 21 (9), 2551-2559.
- [86] Shang E., Yuan Y., Chen X., Liu Y., Pei J., Lai L., (2014), “De novo design of multitarget ligands with an iterative fragment-growing strategy”, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 54 (4), 1235-1241.
- [87] Bersuker I. B., Dimoglo A. S., (2007), “The Electron-Topological Approach to the QSAR Problem”. In: K. B. Lipkowitz and D. B. Boyd, Editors, “Reviews in Computational Chemistry”, John Wiley & Sons Inc.
- [88] Dimoglo A. S., (1985), “Compositional approach to electronic structure description of chemical compounds, oriented on computer analysis of

- structure-activity relationships”, *Khimiko-Pharmazevticheskii Zhurnal*, 4, 438-444.
- [89] Dimoglo A. S., (1986), “Coordinational and organic biologically active compounds”, 1st Edition, Stiinta.
- [90] Shvets N., (1993), “Applied program system for the prognosis of biological activity of chemical compounds: development and use”, *Computer Journal of Moldova*, 3, 101-110.
- [91] Molecular Operating Environment (MOE) C.C.G.I., (2015), 1010 Sherbooke St. West, Suite #910, Montreal, QC, Canada, H3A 2R7.
- [92] Frisch M. J., Trucks G. W., Schlegel H. B., Scuseria G. E., Robb M. A., Cheeseman J. R., Scalmani G., Barone V., Mennucci B., Petersson G. A., Nakatsuji H., Caricato M., Li X., Hratchian H. P., Izmaylov A. F., Bloino J., Zheng G., Sonnenberg J. L., Hada M., Ehara M., Toyota K., Fukuda R., Hasegawa J., Ishida M., Nakajima T., Honda Y., Kitao O., Nakai H., Vreven T., Montgomery Jr. J. A., Peralta J. E., Ogliaro F., Bearpark M. J., Heyd J., Brothers E. N., Kudin K. N., Staroverov V. N., Kobayashi R., Normand J., Raghavachari K., Rendell A. P., Burant J. C., Iyengar S. S., Tomasi J., Cossi M., Rega N., Millam N. J., Klene M., Knox J. E., Cross J. B., Bakken V., Adamo C., Jaramillo J., Gomperts R., Stratmann R. E., Yazyev O., Austin A. J., Cammi R., Pomelli C., Ochterski J. W., Martin R. L., Morokuma K., Zakrzewski V. G., Voth G. A., Salvador P., Dannenberg J. J., Dapprich S., Daniels A. D., Farkas Ö., Foresman J. B., Ortiz J. V., Cioslowski J., Fox D. J., (2009), “Gaussian 09”, Gaussian, Inc., Wallingford, CT, USA.
- [93] Dennington R., Keith T., Millam J., (2009), “GaussView, version 5”, Semichem Inc., Shawnee Mission, KS.
- [94] Pettersen E. F., Goddard T. D., Huang C. C., Couch G. S., Greenblatt D. M., Meng E. C., Ferrin T. E., (2004), “UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis”, *Journal of Computational Chemistry*, 25 (13), 1605-1612.
- [95] Berman H., Henrick K., Nakamura H., Markley J. L., (2007), “The worldwide Protein Data Bank (wwPDB): ensuring a single, uniform archive of PDB data”, *Nucleic Acids Research*, 35 (1), 301-303.
- [96] Sidhu R. S., Lee J. Y., Yuan C., Smith W. L., (2010), “Comparison of cyclooxygenase-1 crystal structures: cross-talk between monomers comprising cyclooxygenase-1 homodimers”, *Biochemistry*, 49 (33), 7069-7079.
- [97] Kurumbail R. G., Stevens A. M., Gierse J. K., McDonald J. J., Stegeman R. A., Pak J. Y., Gildehaus D., Miyashiro J. M., Penning T. D., Seibert K., (1996), “Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase-2 by anti-inflammatory agents”, *Nature*, 384 (6610), 644-648.

- [98] Stierand K., Rarey M., (2010), "PoseView--molecular interaction patterns at a glance", *Journal of Cheminformatics*, 2 (1), 1-1.
- [99] Gilbert N. C., Bartlett S. G., Waight M. T., Neau D. B., Boeglin W. E., Brash A. R., Newcomer M. E., (2011), "The structure of human 5-lipoxygenase", *Science*, 331 (6014), 217-219.
- [100] Yule G. U., (1921), "On the time-correlation problem, with especial reference to the variate-difference correlation method", *Journal of the Royal Statistical Society*, 84 (4), 497-537.
- [101] Tetko I. V., Kovalishyn V. V., Livingstone D. J., (2001), "Volume learning algorithm artificial neural networks for 3D QSAR studies", *Journal of Medicinal Chemistry*, 44 (15), 2411-2420.
- [102] Kovalishyn V. V., Tetko I. V., Luik A. I., Kholodovych V. V., Villa A. E. P., Livingstone D. J., (1998), "Neural Network Studies. 3. Variable Selection in the Cascade-Correlation Learning Architecture", *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 38 (4), 651-659.
- [103] Tetko I. V., Villa A. E. P., Livingstone D. J., (1996), "Neural Network Studies. 2. Variable Selection", *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 36 (4), 794-803.
- [104] Lengauer T., Rarey M., (1996), "Computational methods for biomolecular docking", *Current Opinion in Structural Biology*, 6 (3), 402-406.
- [105] Kitchen D. B., Decornez H., Furr J. R., Bajorath J., (2004), "Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications", *Nature Reviews Drug Discovery*, 3 (11), 935-949.
- [106] Hohenberg P., Kohn W., (1964), "Inhomogeneous electron gas", *Physical Review*, 136 (3), 864-871.
- [107] Kohn W., Sham L. J., (1965), "Self-consistent equations including exchange and correlation effects", *Physical Review*, 140 (4), 1133-1138.
- [108] Dimoglo A., Kandemirli F., (2007), "Kuantum Kimyaya Giriş", 1. Baskı, GYTE Basımevi.
- [109] Kalgutkar A. S., Marnett A. B., Crews B. C., Remmel R. P., Marnett L. J., (2000), "Ester and amide derivatives of the nonsteroidal antiinflammatory drug, indomethacin, as selective cyclooxygenase-2 inhibitors", *Journal of Medicinal Chemistry*, 43 (15), 2860-2870.
- [110] Kozak K. R., Prusakiewicz J. J., Rowlinson S. W., Marnett L. J., (2002), "Enantiospecific, selective cyclooxygenase-2 inhibitors", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 12 (9), 1315-1318.

- [111] Woods K. W., McCroskey R. W., Michaelides M. R., Wada C. K., Hulkower K. I., Bell R. L., (2001), "Thiazole analogues of the NSAID indomethacin as selective COX-2 Inhibitors", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 11 (10), 1325-1328.
- [112] Kalgutkar A. S., Rowlinson S. W., Crews B. C., Marnett L. J., (2002), "Amide derivatives of meclofenamic acid as selective cyclooxygenase-2 inhibitors", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 12 (4), 521-524.
- [113] Singh S. K., Saibaba V., Ravikumar V., Rudrawar S. V., Daga P., Rao C. S., Akhila V., Hegde P., Rao Y. K., (2004), "Synthesis and biological evaluation of 2,3-diarylpyrazines and quinoxalines as selective COX-2 inhibitors", *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 12 (8), 1881-1893.
- [114] Penning T. D., Talley J. J., Bertenshaw S. R., Carter J. S., Collins P. W., Docter S., Graneto M. J., Lee L. F., Malecha J. W., Miyashiro J. M., Rogers R. S., Rogier D. J., Yu S. S., Anderson G. D., Burton E. G., Cogburn J. N., Gregory S. A., Koboldt C. M., Perkins W. E., Seibert K., Veenhuizen A. W., Zhang Y. Y., Isakson P. C., (1997), "Synthesis and Biological Evaluation of the 1,5-Diarylpyrazole Class of Cyclooxygenase-2 Inhibitors: Identification of 4-[5-(4-Methylphenyl)-3-(trifluoromethyl)-1H-pyrazol-1-yl] benzenesulfonamide (SC-58635, Celecoxib)", *Journal of Medicinal Chemistry*, 40 (9), 1347-1365.
- [115] Uddin M. J., Rao P. N. P., Knaus E. E., (2003), "Design and synthesis of novel celecoxib analogues as selective cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors: replacement of the sulfonamide pharmacophore by a sulfonylazide bioisostere", *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 11 (23), 5273-5280.
- [116] Leblanc Y., Gauthier J., Ethier D., Guay J., Mancini J., Riendeau D., Tagari P., Vickers P., Wong E., Prasit P., (1995), "Synthesis and biological evaluation of 2, 3-diarylthiophenes as selective COX-2 and COX-1 inhibitors", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 5 (18), 2123-2128.
- [117] Abdur Rahim M., Praveen Rao P. N., Knaus E. E., (2002), "Isomeric acetoxy analogues of rofecoxib: A novel class of highly potent and selective cyclooxygenase-2 inhibitors", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 12 (19), 2753-2756.
- [118] Habeeb A. G., Praveen Rao P. N., Knaus E. E., (2001), "Design and Synthesis of Celecoxib and Rofecoxib Analogues as Selective Cyclooxygenase-2 (COX-2) Inhibitors: Replacement of Sulfonamide and Methylsulfonyl Pharmacophores by an Azido Bioisostere", *Journal of Medicinal Chemistry*, 44 (18), 3039-3042.
- [119] Shahapurkar S., Pandya T., Kawathekar N., Chaturvedi S. C., (2004), "Quantitative structure activity relationship studies of diaryl furanones as selective COX-2 inhibitors", *European Journal of Medicinal Chemistry*, 39 (4), 383-388.

- [120] Uddin M. J., Rao P. N. P., Knaus E. E., (2004), "Design of acyclic triaryl olefins: a new class of potent and selective cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 14 (8), 1953-1956.
- [121] Zarghi A., Najafnia L., Daraee B., Dadrass O. G., Hedayati M., (2007), "Synthesis of 2,3-diaryl-1,3-thiazolidine-4-one derivatives as selective cyclooxygenase (COX-2) inhibitors", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 17 (20), 5634-5637.
- [122] Hu W., Guo Z., Chu F., Bai A., Yi X., Cheng G., Li J., (2003), "Synthesis and biological evaluation of substituted 2-sulfonyl-phenyl-3-phenyl-indoles: a new series of selective COX-2 inhibitors", *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 11 (7), 1153-1160.
- [123] Abdellatif K. R. A., Chowdhury M. A., Dong Y., Chen Q.-H., Knaus E. E., (2008), "Diazen-1-ium-1,2-diolated and nitrooxyethyl nitric oxide donor ester prodrugs of anti-inflammatory (E)-2-(aryl)-3-(4-methanesulfonylphenyl)acrylic acids: Synthesis, cyclooxygenase inhibition, and nitric oxide release studies", *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16 (6), 3302-3308.
- [124] Huang H.-C., Li J. J., Garland D. J., Chamberlain T. S., Reinhard E. J., Manning R. E., Seibert K., Koboldt C. M., Gregory S. A., Anderson G. D., Veenhuizen A. W., Zhang Y., Perkins W. E., Burton E. G., Cogburn J. N., Isakson P. C., Reitz D. B., (1996), "Diarylspiro[2.4]heptenes as Orally Active, Highly Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitors: Synthesis and Structure-Activity Relationships", *Journal of Medicinal Chemistry*, 39 (1), 253-266.
- [125] Thérien M., Brideau C., Chan C. C., Cromlish W. A., Gauthier J. Y., Gordon R., Greig G., Kargman S., Lau C. K., Leblanc Y., (1997), "Synthesis and biological evaluation of 5, 6-diarylimidazo [2.1-b] thiazole as selective COX-2 inhibitors", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 7 (1), 47-52.
- [126] Li J. J., Norton M. B., Reinhard E. J., Anderson G. D., Gregory S. A., Isakson P. C., Koboldt C. M., Masferrer J. L., Perkins W. E., Seibert K., (1996), "Novel terphenyls as selective cyclooxygenase-2 inhibitors and orally active anti-inflammatory agents", *Journal of Medicinal Chemistry*, 39 (9), 1846-1856.
- [127] Khanna I. K., Weier R. M., Yu Y., Collins P. W., Miyashiro J. M., Koboldt C. M., Veenhuizen A. W., Currie J. L., Seibert K., Isakson P. C., (1997), "1,2-Diarylpyrroles as potent and selective inhibitors of cyclooxygenase-2", *Journal of Medicinal Chemistry*, 40 (11), 1619-1633.
- [128] Khanna I. K., Yu Y., Huff R. M., Weier R. M., Xu X., Koszyk F. J., Collins P. W., Cogburn J. N., Isakson P. C., Koboldt C. M., Masferrer J. L., Perkins W. E., Seibert K., Veenhuizen A. W., Yuan J., Yang D.-C., Zhang Y. Y., (2000), "Selective cyclooxygenase-2 inhibitors: Heteroaryl modified 1,2-

diarylimidazoles are potent, orally active antiinflammatory agents”, *Journal of Medicinal Chemistry*, 43 (16), 3168-3185.

- [129] Talley J. J., Bertenshaw S. R., Brown D. L., Carter J. S., Graneto M. J., Koboldt C. M., Masferrer J. L., Norman B. H., Rogier D. J., Zweifel B. S., Seibert K., (1999), “4,5-Diaryloxazole inhibitors of cyclooxygenase-2 (COX-2)”, *Medicinal Research Reviews*, 19 (3), 199-208.
- [130] Friesen R. W., Dubé D., Fortin R., Frenette R., Prescott S., Cromlish W., Greig G. M., Kargman S., Wong E., Chan C. C., (1996), “Novel 1, 2-diarylcyclobutenes: Selective and orally active COX-2 inhibitors”, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 6 (22), 2677-2682.
- [131] Lindner M., Sippl W., Radwan A. A., (2010), “Pharmacophore elucidation and molecular docking studies on 5-phenyl-1-(3-pyridyl)-1H-1, 2, 4-triazole-3-carboxylic acid derivatives as COX-2 inhibitors”, *Scientia Pharmaceutica*, 78 (2), 195.
- [132] Palomer A., Cabré F., Pascual J., Campos J., Trujillo M. A., Entrena A., Gallo M. A., García L., Mauleón D., Espinosa A., (2002), “Identification of novel cyclooxygenase-2 selective inhibitors using pharmacophore models”, *Journal of Medicinal Chemistry*, 45 (7), 1402-1411.
- [133] Labute P., (2008), “The generalized Born/volume integral implicit solvent model: Estimation of the free energy of hydration using London dispersion instead of atomic surface area”, *Journal of Computational Chemistry*, 29 (10), 1693-1698.
- [134] Becke A. D., (1993), “Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange”, *The Journal of Chemical Physics*, 98 (7), 5648-5652.
- [135] Lee C. T., Yang W. T., Parr R. G., (1988), “Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron-density”, *Physical Review B*, 37 (2), 785-789.
- [136] Glendening E., Reed A., Carpenter J., Weinhold F., (2001), “Gaussian NBO, version 3.1”, Gaussian Inc., Pittsburgh PA.
- [137] Reed A. E., Curtiss L. A., Weinhold F., (1988), “Intermolecular interactions from a natural bond orbital, donor-acceptor viewpoint”, *Chemical Reviews*, 88 (6), 899-926.
- [138] Boschelli D. H., Connor D. T., Bornemeier D. A., Dyer R. D., Kennedy J. A., Kuipers P. J., Okonkwo G. C., Schrier D. J., Wright C. D., (1993), “1,3,4-Oxadiazole, 1,3,4-thiadiazole, and 1,2,4-triazole analogs of the fenamates: in vitro inhibition of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase activities”, *Journal of Medicinal Chemistry*, 36 (13), 1802-1810.
- [139] Hidaka T., Hosoe K., Yamashita T., Watanabe K., Hiramatsu Y., Fujimura H., (1986), “Analgesic and anti-inflammatory activities in rats of  $\alpha$ -(3,5-di-t-



butyl-4-hydroxybenzylidene)- $\gamma$ -butyrolactone (KME-4), and its intestinal damage”, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 38 (10), 748-753.

- [140] Katayama K., Shirota H., Kobayashi S., Terato K., Ikuta H., Yamatsu I., (1987), “In vitro effect of N-methoxy-3-(3, 5-ditert-butyl-4-hydroxybenzylidene)-2-pyrrolidone (E-5110), a novel nonsteroidal anti-inflammatory agent, on generation of some inflammatory mediators”, *Agents and Actions*, 21 (3-4), 269-271.
- [141] Flynn D. L., Belliotti T. R., Boctor A. M., Connor D. T., Kostlan C. R., Nies D. E., Ortwine D. F., Schrier D. J., Sircar J. C., (1991), “Styrylpyrazoles, styrylisoxazoles, and styrylisothiazoles. Novel 5-lipoxygenase and cyclooxygenase inhibitors”, *Journal of Medicinal Chemistry*, 34 (2), 518-525.
- [142] Bendele A. M., Benslay D., Hom J. T., Spaethe S. M., Ruterbories K. J., Lindstrom T. D., Lee S. J., Naismith R. W., (1992), “Anti-inflammatory activity of BF389, a Di-T-butylphenol, in animal models of arthritis”, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 260 (1), 300-305.
- [143] Mullican M. D., Wilson M. W., Conner D. T., Kostlan C. R., Schrier D. J., Dyer R. D., (1993), “Design of 5-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)-1,3,4-thiadiazoles, -1,3,4-oxadiazoles, and -1,2,4-triazoles as orally active, nonulcerogenic antiinflammatory agents”, *Journal of Medicinal Chemistry*, 36 (8), 1090-1099.
- [144] Unangst P. C., Connor D. T., Cetenko W. A., Sorenson R. J., Kostlan C. R., Sircar J. C., Wright C. D., Schrier D. J., Dyer R. D., (1994), “Synthesis and biological evaluation of 5-[[3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxyphenyl]methylene]oxazoles, -thiazoles, and -imidazoles: novel dual 5-lipoxygenase and cyclooxygenase inhibitors with antiinflammatory activity”, *Journal of Medicinal Chemistry*, 37 (2), 322-328.
- [145] Weisman S. M., Doyle M. J., Wehmeyer K. R., Hynd B. A., Eichhold T. H., Clear R. M., Coggeshall C. W., Kuhlenbeck D. L., (1994), “Effects of tebufelone (NE-11740), a new anti-inflammatory drug, on arachidonic acid metabolism”, *Agents Actions*, 41 (3-4), 156-63.
- [146] Inagaki M., Tsuru T., Jyoyama H., Ono T., Yamada K., Kobayashi M., Hori Y., Arimura A., Yasui K., Ohno K., Kakudo S., Koizumi K., Suzuki R., Kato M., Kawai S., Matsumoto S., (2000), “Novel antiarthritic agents with 1,2-isothiazolidine-1,1-dioxide ( $\gamma$ -sultam) skeleton: Cytokine suppressive dual inhibitors of Cyclooxygenase-2 and 5-Lipoxygenase”, *Journal of Medicinal Chemistry*, 43 (10), 2040-2048.
- [147] Moreau A., Praveen Rao P. N., Knaus E. E., (2006), “Synthesis and biological evaluation of acyclic triaryl (Z)-olefins possessing a 3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl pharmacophore: Dual inhibitors of cyclooxygenases and lipoxygenases”, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14 (15), 5340-5350.

- [148] Janusz J. M., Young P. A., Ridgeway J. M., Scherz M. W., Enzweiler K., Wu L. I., Gan L., Chen J., Kellstein D. E., Green S. A., Tulich J. L., Rosario-Jansen T., Magrisso I. J., Wehmeyer K. R., Kuhlenbeck D. L., Eichhold T. H., Dobson R. L. M., (1998), "New Cyclooxygenase-2/5-Lipoxygenase inhibitors. 3. 7-tert-butyl-2,3-dihydro-3,3-dimethylbenzofuran derivatives as gastrointestinal safe antiinflammatory and analgesic agents: Variations at the 5 Position", *Journal of Medicinal Chemistry*, 41 (18), 3515-3529.
- [149] Janusz J. M., Young P. A., Ridgeway J. M., Scherz M. W., Enzweiler K., Wu L. I., Gan L., Darolia R., Matthews R. S., Hennes D., Kellstein D. E., Green S. A., Tulich J. L., Rosario-Jansen T., Magrisso I. J., Wehmeyer K. R., Kuhlenbeck D. L., Eichhold T. H., Dobson R. L. M., Sirko S. P., Farmer R. W., (1998), "New cyclooxygenase-2/5-lipoxygenase inhibitors. 1. 7-tert-Butyl-2,3-dihydro-3,3-dimethylbenzofuran derivatives as gastrointestinal safe antiinflammatory and analgesic agents: discovery and variation of the 5-keto Substituent", *Journal of Medicinal Chemistry*, 41 (7), 1112-1123.
- [150] Kolasa T., Brooks C. D. W., Rodrigues K. E., Summers J. B., Dellaria J. F., Hulkower K. I., Bouska J., Bell R. L., Carter G. W., (1997), "Nonsteroidal anti-inflammatory drugs as scaffolds for the design of 5-lipoxygenase inhibitors", *Journal of Medicinal Chemistry*, 40 (5), 819-824.
- [151] Blackham A., Griffiths R. J., Hallam C., Mann J., Mitchell P. D., Norris A. A., Simpson W. T., (1990), "FPL 62064, a topically active 5-lipoxygenase/cyclooxygenase inhibitor", *Agents Actions*, 30 (3-4), 432-42.
- [152] Connolly P. J., Wetter S. K., Beers K. N., Hamel S. C., Chen R. H. K., Wachter M. P., Ansell J., Singer M. M., Steber M., Ritchie D. M., Argentieri D. C., (1999), "N-Hydroxyurea and hydroxamic acid inhibitors of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 9 (7), 979-984.
- [153] Barbey S., Goossens L., Taverne T., Cornet J., Choessel V., Rouaud C., Gimeno G., Yannic-Arnoult S., Michaux C., Charlier C., Houssin R., Hénichart J.-P., (2002), "synthesis and activity of a new methoxytetrahydropyran derivative as dual cyclooxygenase-2/5-lipoxygenase inhibitor", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 12 (5), 779-782.
- [154] Pommery N., Taverne T., Telliez A., Goossens L., Charlier C., Pommery J., Goossens J.-F., Houssin R., Durant F., Hénichart J.-P., (2004), "New COX-2/5-LOX inhibitors: apoptosis-inducing agents potentially useful in prostate cancer chemotherapy", *Journal of Medicinal Chemistry*, 47 (25), 6195-6206.
- [155] Hanna N., Marshall P. J., Newton J., Jr., Schwartz L., Kirsh R., Dimartino M. J., Adams J., Bender P., Griswold D. E., (1990), "Pharmacological profile of SK&F 105809, a dual inhibitor of arachidonic acid metabolism", *Drugs Under experimental and clinical research*, 16 (4), 137-47.

- [156] Griswold D. E., Marshall P., Martin L., Webb E. F., Zabko-Potapovich B., (1991), "Analgetic activity of SK&F 105809, a dual inhibitor of arachidonic acid metabolism", *Agents Actions Supplements*, 32, 113-117.
- [157] Laufer S. A., Augustin J., Dannhardt G., Kiefer W., (1994), "(6,7-diaryldihydropyrrolizin-5-yl)acetic acids, a novel class of potent dual inhibitors of both cyclooxygenase and 5-lipoxygenase", *Journal of Medicinal Chemistry*, 37 (12), 1894-1897.
- [158] Laufer S., Striegel H.-G., Neher K., Zechmeister P., Donat C., Stolingwa K., Baur S., Tries S., Kammermeier T., Dannhardt G., Kiefer W., (1997), "synthesis and evaluation of a novel series of pyrrolizine derivatives as dual cyclooxygenase-1 and 5-lipoxygenase inhibitors", *Archiv der Pharmazie*, 330 (9-10), 307-312.
- [159] Ulbrich H., Fiebich B., Dannhardt G., (2002), "Cyclooxygenase-1/2 (COX-1/COX-2) and 5-lipoxygenase (5-LOX) inhibitors of the 6,7-diaryl-2,3-1H-dihydropyrrolizine type", *European Journal of Medicinal Chemistry*, 37 (12), 953-959.
- [160] Rådmark O., Malmsten C., Samuelsson B., (1980), "The inhibitory effects of BW 755C on arachidonic acid metabolism in human polymorphonuclear leukocytes", *FEBS letters*, 110 (2), 213-215.
- [161] Cucurou C., Battioni J., Thang D., Nam N., Mansuy D., (1991), "Mechanisms of inactivation of lipoxygenases by phenidone and BW755C", *Biochemistry*, 30 (37), 8964-8970.
- [162] Scholz M., Ulbrich H. K., Soehnlein O., Lindbom L., Mattern A., Dannhardt G., (2009), "Diaryl-dithiolanes and -isothiazoles: COX-1/COX-2 and 5-LOX-inhibitory, OH scavenging and anti-adhesive activities", *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17 (2), 558-568.
- [163] Chowdhury M. A., Abdellatif K. R. A., Dong Y., Rahman M., Das D., Suresh M. R., Knaus E. E., (2009), "Synthesis of 1-(methanesulfonyl- and aminosulfonylphenyl)acetylenes that possess a 2-(N-difluoromethyl-1,2-dihydropyridin-2-one) pharmacophore: Evaluation as dual inhibitors of cyclooxygenases and 5-lipoxygenase with anti-inflammatory activity", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 19 (3), 584-588.
- [164] Misra S., Ghatak S., Patil N., Dandawate P., Ambike V., Adsule S., Unni D., Venkateswara Swamy K., Padhye S., (2013), "Novel dual cyclooxygenase and lipoxygenase inhibitors targeting hyaluronan-CD44v6 pathway and inducing cytotoxicity in colon cancer cells", *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 21 (9), 2551-2559.
- [165] Moreau A., Chen Q.-H., Praveen Rao P. N., Knaus E. E., (2006), "Design, synthesis, and biological evaluation of (E)-3-(4-methanesulfonylphenyl)-2-(aryl)acrylic acids as dual inhibitors of cyclooxygenases and lipoxygenases", *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14 (23), 7716-7727.

- [166] Arockia Babu M., Shakya N., Prathipati P., Kaskhedikar S. G., Saxena A. K., (2002), "Development of 3D-QSAR models for 5-Lipoxygenase antagonists: chalcones", *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 10 (12), 4035-4041.
- [167] Jahng Y., Zhao L.-X., Moon Y.-S., Basnet A., Kim E.-k., Wook Chang H., Kyung Ju H., Cheon Jeong T., Lee E.-S., (2004), "Simple aromatic compounds containing propenone moiety show considerable dual COX/5-LOX inhibitory activities", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 14 (10), 2559-2562.
- [168] Jahng Y., Zhao L.-X., Moon Y.-S., Basnet A., Kim E.-k., Chang H. W., Ju H. K., Jeong T. C., Lee E.-S., (2004), "Simple aromatic compounds containing propenone moiety show considerable dual COX/5-LOX inhibitory activities", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 14 (10), 2559-2562.
- [169] Lehnigk B., Rabe K. F., Dent G., Herst R. S., Carpentier P. J., Magnussen H., (1998), "Effects of a 5-lipoxygenase inhibitor, ABT-761, on exercise-induced bronchoconstriction and urinary LTE4 in asthmatic patients", *European Respiratory Journal*, 11 (3), 617-23.
- [170] Weiss J. W., Drazen J. M., Coles N., McFadden E. R., Weller P. F., Corey E., Lewis R. A., Austen K. F., (1982), "Bronchoconstrictor effects of leukotriene C in humans", *Science*, 216 (4542), 196-198.
- [171] Bailey P. J., Dallob A. L., Allison D. L., Anderson R. L., Bach T., Durette P. L., Hand K. M., Hopple S. L., Luell S., Meurer R., et al., (1988), "Pharmacology of the dual inhibitor of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase 3-hydroxy-5-trifluoromethyl-N-(2-(2-thienyl)-2-phenyl-ethenyl)-benzo(b)thiophene-2-carboxamide", *Arzneimittelforschung*, 38 (3), 372-8.
- [172] Jiang B., Huang X., Yao H., Jiang J., Wu X., Jiang S., Wang Q., Lu T., Xu J., (2014), "Discovery of potential anti-inflammatory drugs: diaryl-1,2,4-triazoles bearing N-hydroxyurea moiety as dual inhibitors of cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase", *Organic & Biomolecular Chemistry*, 12 (13), 2114-2127.
- [173] Talley J. J., (1999), "Selective inhibitors of cyclooxygenase-2 (COX-2)", *Progress in Medicinal Chemistry*, 36, 201-234.
- [174] Chauret N., Yergey J. A., Brideau C., Friesen R. W., Mancini J., Riendeau D., Silva J., Styhler A., Trimble L. A., Nicoll-Griffith D. A., (2001), "In vitro metabolism considerations, including activity testing of metabolites, in the discovery and selection of the COX-2 inhibitor etoricoxib (MK-0663)", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 11 (8), 1059-1062.
- [175] Hyup Joo Y., Kwan Kim J., Kang S.-H., Noh M.-S., Ha J.-Y., Kyu Choi J., Min Lim K., Hoon Lee C., Chung S., (2003), "2,3-Diarylbenzopyran derivatives as a novel class of selective cyclooxygenase-2 inhibitors", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 13 (3), 413-417.

- [176] Rao P. N. P., Uddin M. J., Knaus E. E., (2004), "Design, synthesis, and structure–activity relationship studies of 3,4,6-triphenylpyran-2-ones as selective cyclooxygenase-2 inhibitors", *Journal of Medicinal Chemistry*, 47 (16), 3972-3990.
- [177] Rao P. N. P., Chen Q.-H., Knaus E. E., (2005), "Synthesis and biological evaluation of 1,3-diphenylprop-2-yn-1-ones as dual inhibitors of cyclooxygenases and lipoxygenases", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 15 (21), 4842-4845.
- [178] Halen P. K., Murumkar P. R., Giridhar R., Yadav M. R., (2009), "Prodrug designing of NSAIDs", *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 9 (1), 124-139.
- [179] Wu Y., He C., Gao Y., He S., Liu Y., Lai L., (2012), "dynamic modeling of human 5-lipoxygenase–inhibitor interactions helps to discover novel inhibitors", *Journal of Medicinal Chemistry*, 55 (6), 2597-2605.
- [180] Eleftheriou P., Geronikaki A., Hadjipavlou-Litina D., Vicini P., Filz O., Filimonov D., Poroikov V., Chaudhaery S. S., Roy K. K., Saxena A. K., (2012), "Fragment-based design, docking, synthesis, biological evaluation and structure–activity relationships of 2-benzo/benzisothiazolimino-5-arylidene-4-thiazolidinones as cyclooxygenase/lipoxygenase inhibitors", *European Journal of Medicinal Chemistry*, 47, 111-124.

## ÖZGEÇMİŞ

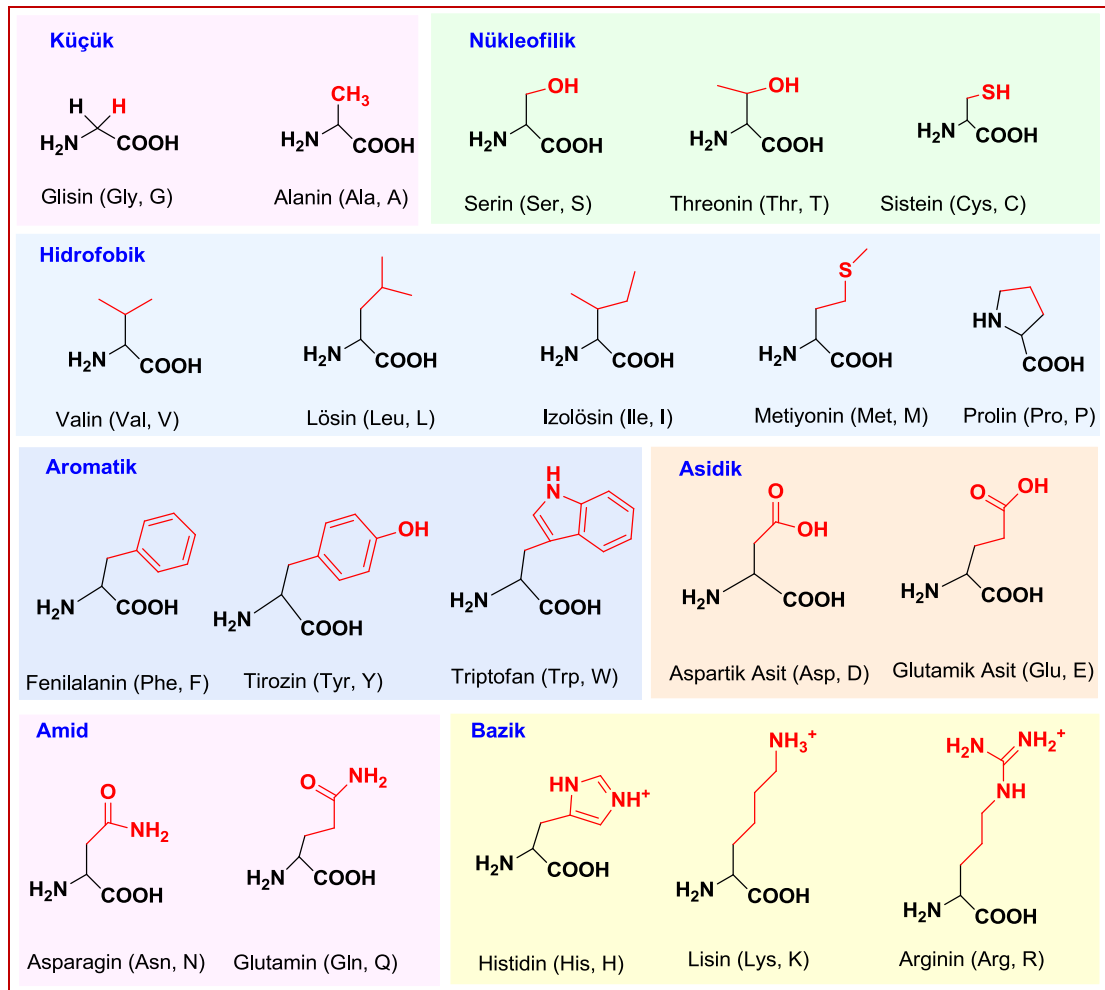
Fatma AKSAKAL, 1983 yılında Erzurum’da doğdu. 2006 yılında, Atatürk Üniversitesi Kâzım Karabekir Eğitim Fakültesi Kimya Öğretmenliği Bölümü’nden mezun oldu. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda başladığı yüksek lisans öğrenimini “CTAB’ın kil/su ara yüzeyine monomerik ve miseler adsorpsiyonu” başlıklı tez ile 2008 yılında tamamladı. 2010 yılında Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda doktora öğrenimine başladı. 2009 yılından bu yana Gebze Teknik Üniversitesi Temel Bilimler Fakültesi Kimya Anabilim Dalı’nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır.

# EKLER

## Ek A: Tez Çalışması Kapsamında Yapılan Yayınlar

Aksakal F., Shvets N., Dimoglo A., (2015), “The study of dual COX-2/5-LOX inhibitors by using electronic-topological approach based on data on the ligand-receptor interactions”, Journal of Molecular Graphics and Modelling, 60, 79-88.

## Ek B: Temel Amino Asitler



Şekil B1.1: Temel amino asitlerin 2-boyutlu yapıları, 3 harf ve tek harf kodları.

## Ek C: Örnek Girdi/Çıktı (Input/Output) Dosya İçerikleri

Tablo C1.1: ETM yazılımı ile elde edilen örnek bir elektronik-topolojik alt matrisi (ETSC) çıktısı.

<b>CONTROL COMPOUND: 5</b> <b>ad= 0.0500 an= 0.1000 in %</b> <b>-sd: alfa=0.2500 Palfa=0.7500</b>	
<p><b># 378</b> s=6 25 0 alfa= 0.2626 Palfa= 0.9630</p> <p>in contr:    1        2        3        4        5        18 diagonal -0.0900 -0.1110 -0.1210 -0.0530 -0.0580 0.0020 1.3870 2.4120 1.4240 2.8030 2.4240 1.3860 2.4260 2.7970 2.4180 1.3690 1.0010 2.6680 3.9640 4.5030 4.0020</p> <p>IN MOLECs: 5- 1.00 9- 1.00 13- 1.00 17- 1.00 18- 1.00 19- 1.00 20- 1.00 23- 1.00 24- 1.00 38- 1.00 45- 1.00 54- 1.00 61- 1.00 62- 1.00 64- 1.00 70- 1.00 75- 1.00 76- 1.00 81- 1.00 82- 1.00 93- 1.00 94- 1.00 99- 1.00 111- 1.00 115- 1.00</p>	<p><b># 1136</b> s=5 31 0 alfa= 0.2988 Palfa= 0.9697</p> <p>in contr:    1        2        3        5        18 diagonal -0.0900 -0.1110 -0.1210 -0.0580 0.0020 1.3870 2.4120 1.4240 2.4260 2.7970 2.4180 1.0010 2.6680 3.9640 4.0020</p> <p>IN MOLECs: 2- 1.00 3- 1.00 4- 1.00 5- 1.00 9- 1.00 13- 1.00 17- 1.00 18- 1.00 19- 1.00 20- 1.00 22- 1.00 23- 1.00 24- 1.00 34- 1.00 38- 1.00 45- 1.00 54- 1.00 56- 1.00 61- 1.00 62- 1.00 64- 1.00 70- 1.00 75- 1.00 76- 1.00 81- 1.00 82- 1.00 93- 1.00 94- 1.00 99- 1.00 111- 1.00 115- 1.00</p>
<p><b># 1126</b> s=5 26 0 alfa= 0.2687 Palfa= 0.9643</p> <p>in contr:        2        3        4        5        18 diagonal -0.1110 -0.1210 -0.0530 -0.0580 0.0020 1.4240 2.4240 1.3860 2.7970 2.4180 1.3690 2.6680 3.9640 4.5030 4.0020</p> <p>IN MOLECs: 5- 1.00 9- 1.00 13- 1.00 17- 1.00 18- 1.00 19- 1.00 20- 1.00 23- 1.00 24- 1.00 38- 1.00 39- 1.00 45- 1.00 54- 1.00 61- 1.00 62- 1.00 64- 1.00 70- 1.00 75- 1.00 76- 1.00 81- 1.00 82- 1.00 93- 1.00 94- 1.00 99- 1.00 111- 1.00 115- 1.00</p>	<p><b># 1142</b> s=5 27 0 alfa= 0.2748 Palfa= 0.9655</p> <p>in contr:    1        3        4        5        18 diagonal -0.0900 -0.1210 -0.0530 -0.0580 0.0020 2.4120 2.8030 1.3860 2.4260 2.4180 1.3690 1.0010 3.9640 4.5030 4.0020</p> <p>IN MOLECs: 5- 1.00 9- 1.00 13- 1.00 17- 1.00 18- 1.00 19- 1.00 20- 1.00 21- 1.00 23- 1.00 24- 1.00 32- 1.00 38- 1.00 45- 1.00 54- 1.00 61- 1.00 62- 1.00 64- 1.00 70- 1.00 75- 1.00 76- 1.00 81- 1.00 82- 1.00 93- 1.00 94- 1.00 99- 1.00 111- 1.00 115- 1.00</p>



Tablo C1.1: Devam.

<b>CONTROL COMPOUND: 5</b> <b>ad= 0.0500 an= 0.1000 in %</b> <b>-sd: alfa=0.2500 Palfa=0.7500</b>	
<p><b># 1167</b> s=5 28 0 alfa= 0.2809 Palfa= 0.9667</p> <p>in contr:     1       2       4       5       18 diagonal -0.0900 -0.1110 -0.0530 -0.0580 0.0020 1.3870 2.8030 2.4240 2.4260 2.7970 1.3690 1.0010 2.6680 4.5030 4.0020</p> <p>IN MOLECs: 5- 1.00 9- 1.00 13- 1.00 17- 1.00 18- 1.00 19- 1.00 20- 1.00 21- 1.00 23- 1.00 24- 1.00 38- 1.00 45- 1.00 54- 1.00 56- 1.00 58- 1.00 61- 1.00 62- 1.00 64- 1.00 70- 1.00 75- 1.00 76- 1.00 81- 1.00 82- 1.00 93- 1.00 94- 1.00 99- 1.00 111- 1.00 115- 1.00</p>	<p><b># 1975</b> s=4 27 0 alfa= 0.2748 Palfa= 0.9655</p> <p>in contr:     4       5       17    18 diagonal -0.0530 -0.0580 0.0160 0.0020 1.3690 2.6810 1.0080 4.5030 4.0020 5.4010</p> <p>IN MOLECs: 5- 1.00 9- 1.00 13- 1.00 17- 1.00 18- 1.00 19- 1.00 20- 1.00 21- 1.00 23- 1.00 24- 1.00 25- 1.00 26- 1.00 27- 1.00 28- 1.00 29- 1.00 30- 1.00 31- 1.00 32- 1.00 38- 1.00 54- 1.00 61- 1.00 62- 1.00 64- 1.00 70- 1.00 75- 1.00 76- 1.00 115- 1.00</p>
<p><b># 1189</b> s=5 23 0 alfa= 0.2501 Palfa= 0.9600</p> <p>in contr:     1       2       4       5       17 diagonal -0.0900 -0.1110 -0.0530 -0.0580 0.0160 1.3870 2.8030 2.4240 2.4260 2.7970 1.3690 3.9970 4.4960 2.6810 1.0080</p> <p>IN MOLECs: 5- 1.00 9- 1.00 13- 1.00 17- 1.00 18- 1.00 19- 1.00 20- 1.00 21- 1.00 23- 1.00 24- 1.00 40- 1.00 41- 1.00 51- 1.00 54- 1.00 56- 1.00 58- 1.00 61- 1.00 65- 1.00 70- 1.00 75- 1.00 79- 1.00 106- 1.00 107- 1.00</p>	<p><b># 2850</b> s=4 36 0 alfa= 0.3281 Palfa= 0.9737</p> <p>in contr:     2       4       5       18 diagonal -0.1110 -0.0530 -0.0580 0.0020 2.4240 2.7970 1.3690 2.6680 4.5030 4.0020</p> <p>IN MOLECs: 5- 1.00 9- 1.00 13- 1.00 17- 1.00 18- 1.00 19- 1.00 20- 1.00 21- 1.00 23- 1.00 24- 1.00 32- 1.00 38- 1.00 39- 1.00 45- 1.00 54- 1.00 56- 1.00 58- 1.00 59- 1.00 61- 1.00 62- 1.00 64- 1.00 70- 1.00 75- 1.00 76- 1.00 81- 1.00 82- 1.00 93- 1.00 94- 1.00 99- 1.00 111- 1.00 114- 1.00 115- 1.00 116- 1.00 117- 1.00 118- 1.00 120- 1.00</p>

Tablo C1.2: ETM yazılımı ile elde edilen, fragmentlerin içerdiği atom sayıları ve istatistiksel parametrelere ait çıktı dosyası.

Reading from file Cox2.frg, Output to file Cox2.tbl Number of good fragments is 127, Template compound = C-24			
<b>1. Reading fragments:</b>			
Fragment	1	----- no_atom=16	----- no_cmpd = 20 ;
Fragment	2	----- no_atom=16	----- no_cmpd = 20 ;
Fragment	3	----- no_atom=16	----- no_cmpd = 20 ;
Fragment	4	----- no_atom=15	----- no_cmpd = 20 ;
Fragment	5	----- no_atom=15	----- no_cmpd = 20 ;
Fragment	6	----- no_atom=15	----- no_cmpd = 20 ;
Fragment	7	----- no_atom=15	----- no_cmpd = 21 ;
Fragment	8	----- no_atom=14	----- no_cmpd = 21 ;
Fragment	9	----- no_atom=14	----- no_cmpd = 21 ;
Fragment	10	----- no_atom=14	----- no_cmpd = 21 ;
Fragment	11	----- no_atom=13	----- no_cmpd = 25 ;
Fragment	12	----- no_atom=13	----- no_cmpd = 28 ;
Fragment	13	----- no_atom=13	----- no_cmpd = 28 ;
Fragment	14	----- no_atom=12	----- no_cmpd = 25 ;
Fragment	15	----- no_atom=12	----- no_cmpd = 28 ;
Fragment	16	----- no_atom=12	----- no_cmpd = 29 ;
Fragment	17	----- no_atom=12	----- no_cmpd = 40 ;
Fragment	18	----- no_atom=12	----- no_cmpd = 40 ;
Fragment	19	----- no_atom=12	----- no_cmpd = 40 ;
Fragment	20	----- no_atom=12	----- no_cmpd = 31 ;
Fragment	21	----- no_atom=12	----- no_cmpd = 25 ;
Fragment	22	----- no_atom=11	----- no_cmpd = 22 ;
Fragment	23	----- no_atom=11	----- no_cmpd = 17 ;
Fragment	24	----- no_atom=11	----- no_cmpd = 40 ;
Fragment	25	----- no_atom=11	----- no_cmpd = 40 ;
Fragment	26	----- no_atom=11	----- no_cmpd = 40 ;
Fragment	27	----- no_atom=11	----- no_cmpd = 12 ;
Fragment	28	----- no_atom=10	----- no_cmpd = 16 ;
Fragment	29	----- no_atom=10	----- no_cmpd = 20 ;
Fragment	30	----- no_atom=10	----- no_cmpd = 22 ;
Fragment	31	----- no_atom=10	----- no_cmpd = 19 ;
Fragment	32	----- no_atom=10	----- no_cmpd = 20 ;
Fragment	33	----- no_atom=10	----- no_cmpd = 20 ;
Fragment	34	----- no_atom=10	----- no_cmpd = 20 ;
Fragment	35	----- no_atom=9	----- no_cmpd = 27 ;
Fragment	36	----- no_atom=9	----- no_cmpd = 22 ;
Fragment	37	----- no_atom=9	----- no_cmpd = 27 ;
Fragment	38	----- no_atom=9	----- no_cmpd = 12 ;
Fragment	39	----- no_atom=9	----- no_cmpd = 12 ;

Tablo C1.2: Devam.

Fragment	40	-----	no_atom=9	-----	no_cmpd = 22 ;
Fragment	41	-----	no_atom=9	-----	no_cmpd = 29 ;
Fragment	42	-----	no_atom=9	-----	no_cmpd = 25 ;
Fragment	43	-----	no_atom=9	-----	no_cmpd = 12 ;
Fragment	44	-----	no_atom=9	-----	no_cmpd = 16 ;
Fragment	45	-----	no_atom=9	-----	no_cmpd = 16 ;
Fragment	46	-----	no_atom=9	-----	no_cmpd = 27 ;
Fragment	47	-----	no_atom=9	-----	no_cmpd = 35 ;
Fragment	48	-----	no_atom=9	-----	no_cmpd = 21 ;
Fragment	49	-----	no_atom=9	-----	no_cmpd = 22 ;
Fragment	50	-----	no_atom=9	-----	no_cmpd = 30 ;
Fragment	51	-----	no_atom=9	-----	no_cmpd = 54 ;
Fragment	52	-----	no_atom=9	-----	no_cmpd = 27 ;
Fragment	53	-----	no_atom=8	-----	no_cmpd = 28 ;
Fragment	54	-----	no_atom=8	-----	no_cmpd = 31 ;
Fragment	55	-----	no_atom=8	-----	no_cmpd = 51 ;
Fragment	56	-----	no_atom=8	-----	no_cmpd = 23 ;
Fragment	57	-----	no_atom=8	-----	no_cmpd = 35 ;
Fragment	58	-----	no_atom=8	-----	no_cmpd = 25 ;
Fragment	59	-----	no_atom=8	-----	no_cmpd = 44 ;
Fragment	60	-----	no_atom=7	-----	no_cmpd = 54 ;
Fragment	61	-----	no_atom=7	-----	no_cmpd = 52 ;
Fragment	62	-----	no_atom=7	-----	no_cmpd = 23 ;
Fragment	63	-----	no_atom=7	-----	no_cmpd = 25 ;
Fragment	64	-----	no_atom=7	-----	no_cmpd = 46 ;
Fragment	65	-----	no_atom=7	-----	no_cmpd = 28 ;
Fragment	66	-----	no_atom=7	-----	no_cmpd = 35 ;
Fragment	67	-----	no_atom=7	-----	no_cmpd = 25 ;
Fragment	68	-----	no_atom=7	-----	no_cmpd = 54 ;
Fragment	69	-----	no_atom=6	-----	no_cmpd = 55 ;
Fragment	70	-----	no_atom=6	-----	no_cmpd = 55 ;
Fragment	71	-----	no_atom=6	-----	no_cmpd = 61 ;
Fragment	72	-----	no_atom=6	-----	no_cmpd = 46 ;
Fragment	73	-----	no_atom=6	-----	no_cmpd = 58 ;
Fragment	74	-----	no_atom=6	-----	no_cmpd = 48 ;
Fragment	75	-----	no_atom=6	-----	no_cmpd = 26 ;
Fragment	76	-----	no_atom=6	-----	no_cmpd = 55 ;
Fragment	77	-----	no_atom=5	-----	no_cmpd = 58 ;
Fragment	78	-----	no_atom=5	-----	no_cmpd = 64 ;
Fragment	79	-----	no_atom=5	-----	no_cmpd = 47 ;
Fragment	80	-----	no_atom=5	-----	no_cmpd = 58 ;
Fragment	81	-----	no_atom=5	-----	no_cmpd = 20 ;
Fragment	82	-----	no_atom=5	-----	no_cmpd = 29 ;
Fragment	83	-----	no_atom=5	-----	no_cmpd = 56 ;

Tablo C1.2: Devam.

Fragment	84	-----	no_atom=5	-----	no_cmpd = 68 ;
Fragment	85	-----	no_atom=5	-----	no_cmpd = 56 ;
Fragment	86	-----	no_atom=5	-----	no_cmpd = 22 ;
Fragment	87	-----	no_atom=5	-----	no_cmpd = 32 ;
Fragment	88	-----	no_atom=5	-----	no_cmpd = 32 ;
Fragment	89	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 65 ;
Fragment	90	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 30 ;
Fragment	91	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 27 ;
Fragment	92	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 26 ;
Fragment	93	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 65 ;
Fragment	94	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 62 ;
Fragment	95	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 26 ;
Fragment	96	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 39 ;
Fragment	97	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 68 ;
Fragment	98	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 68 ;
Fragment	99	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 50 ;
Fragment	100	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 30 ;
Fragment	101	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 57 ;
Fragment	102	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 57 ;
Fragment	103	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 65 ;
Fragment	104	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 47 ;
Fragment	105	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 57 ;
Fragment	106	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 58 ;
Fragment	107	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 58 ;
Fragment	108	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 41 ;
Fragment	109	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 37 ;
Fragment	110	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 33 ;
Fragment	111	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 39 ;
Fragment	112	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 59 ;
Fragment	113	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 16 ;
Fragment	114	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 55 ;
Fragment	115	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 56 ;
Fragment	116	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 23 ;
Fragment	117	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 49 ;
Fragment	118	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 56 ;
Fragment	119	-----	no_atom=4	-----	no_cmpd = 43 ;
Fragment	120	-----	no_atom=3	-----	no_cmpd = 68 ;
Fragment	121	-----	no_atom=3	-----	no_cmpd = 40 ;
Fragment	122	-----	no_atom=3	-----	no_cmpd = 66 ;
Fragment	123	-----	no_atom=3	-----	no_cmpd = 52 ;
Fragment	124	-----	no_atom=3	-----	no_cmpd = 69 ;
Fragment	125	-----	no_atom=3	-----	no_cmpd = 55 ;
Fragment	126	-----	no_atom=3	-----	no_cmpd = 29 ;
Fragment	127	-----	no_atom=3	-----	no_cmpd = 55 ;

Tablo C1.2: Devam.

## 2. Statistical processing:

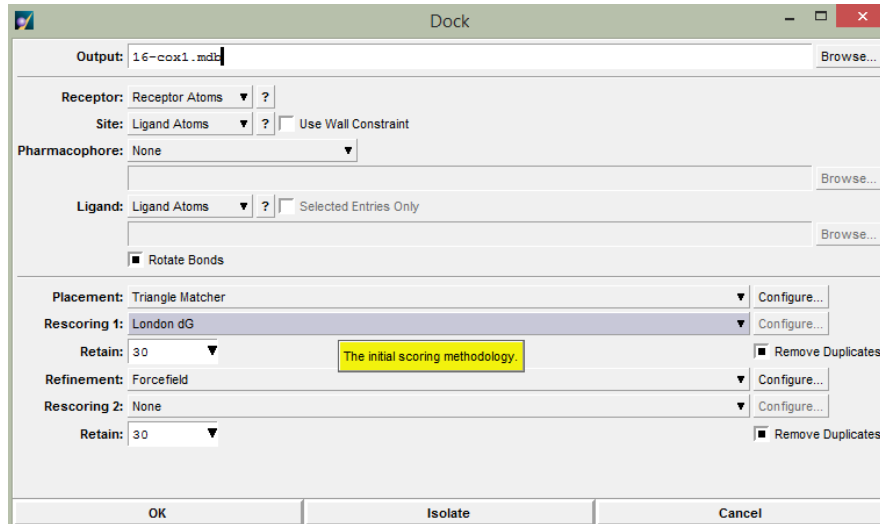
### a) Atom occurrences in the fragments:

atom 1: 46		atom 2: 8		atom 3: 45		atom 4: 30
atom 5: 10		atom 6: 15		atom 7: 17		atom 8: 11
atom 9: 3		atom 10: 13		atom 11: 57		atom 12: 11
atom 13: 61		atom 14: 65		atom 15: 2		atom 16: 25
atom 17: 19		atom 18: 32		atom 19: 67		atom 20: 34
atom 21: 27		atom 22: 27		atom 23: 68		atom 24: 57
atom 25: 69		atom 26: 81		atom 27: 55		atom 28: 3

### b) Compound occurrences in the fragments:

c_1g-1.00: 92		c_1h-1.00: 79		c_1i-1.00: 93
c_1j-0.00: 53		c_1o-1.00: 69		c_1q-1.00: 84
c_1t-1.00:108		c_1u-1.00:101		c_1v-0.00: 94
c_1x-1.00:113		c_1aa-1.00: 95		c_1ac-1.00:114
c_1ae-1.00: 84		c_1an-1.00: 82		c_1ap-1.00: 96
c_1ar-1.00: 98		c_20a-1.00:117		c_24-1.00:127
c_25a-1.00: 89		c_25b-1.00:122		c_1d-1.00: 34
c_1l-0.00: 33		c_1ah-1.00: 63		c_1ai-0.00: 10
c_1am-1.00: 46		c_28b-1.00: 56		c_1a-1.00: 39
c_1f-1.00: 93		c_1k-0.00: 45		c_1y-1.00:106
c_25d-1.00: 26		c_26-0.00: 27		c_28a-1.00: 35
c_1b-1.00: 26		c_1c-0.00: 28		c_1e-1.00: 50
c_1n-1.00: 28		c_1r-1.00: 38		c_1w-0.00: 41
c_1z-0.00: 49		c_1ab-1.00: 57		c_1ad-1.00: 91
c_1af-1.00: 46		c_1ao-0.00: 68		c_1aq-1.00: 50
c_1as-1.00: 34		c_25c-0.00: 16		c_2d-0.00: 13
c_2g-1.00: 68		c_2h-1.00: 43		c_2i-1.00: 70
c_2j-1.00: 61		c_2k-1.00: 40		c_13a-1.00: 47
c_3a-0.00: 39		c_12a-1.00: 17		c_21a-1.00: 18
c_20c-1.00: 64		C-22d-1.00: 47		c_15a-1.00: 63
c_14a-0.00: 49		c_17a-1.00: 54		c_9b-1.00: 51
c_2a-1.00: 55		c_20b-1.00: 11		c_19-0.00: 21
c_1m-0.00: 10		c_2n-1.00: 23		c_16a-1.00: 37
c_20d-1.00: 44		c_20f-1.00: 30		c_21-0.00: 42
c_22e-1.00: 37		c_1at-1.00: 23		c_1ag-0.00: 20
c_2c-0.00: 30		c_2e-0.00: 38		c_2f-0.00: 33
c_22b-0.00: 12		c_1aj-0.00: 3		c_9a-1.00: 17
c_10a-0.00: 33		c_11a-0.00: 34		c_22c-0.00: 6
c_23-0.00: 4		c_8a-0.00: 35		c_1ak-0.00: 14
c_20g-0.00: 19		c_22a-0.00: 5		c_29-0.00: 15
c_1s-0.00: 39		c_2o-1.00: 36		c_2m-0.00: 8
c_2b-1.00: 32		c_30-0.00: 9		c_31-0.00: 2
c_1p-0.00: 10		c_38-0.00: 4		c_37-0.00: 3
c_36-0.00: 4		c_20e-0.00: 7		c_39-1.00: 7
c_32-0.00: 1		c_33-0.00: 1		c_34-0.00: 1
c_22f-0.00: 4				

The total number of compounds possessing the fragments is 106.



Şekil C1.1: Kenetlenme hesaplamaları için oluşturulan \*.mdb uzantılı (MOE Molecular Database) örnek bir MOE girdi dosyası içeriği.

Database Viewer : \$DESKTOP/.../dock.mdb_sel/103_dock.mdb								
File Edit Display Compute Window Help								
	mol	mseq	S	rmsd	E_conf	E_place	E_score1	E_refine
1	1CX2.A	1	-22.2114	0.3695	2.0000	-116.0979	-13.9087	-22.2114
2	1CX2.A	1	-19.3657	0.7876	1.4000	-81.2713	-13.6483	-19.3657
3	1CX2.A	1	-17.9209	0.8131	0.0037	-108.0405	-14.9729	-17.9209
4	1CX2.A	1	-17.4266	0.7497	1.6000	-97.6599	-13.6288	-17.4266
5	1CX2.A	1	-16.9861	0.8032	2.0000	-96.9172	-14.3299	-16.9861
6	1CX2.A	1	-16.0240	0.8428	2.4037	-96.2332	-13.8491	-16.0240
7	1CX2.A	1	-12.2903	0.8545	0.0000	-100.2305	-14.8281	-12.2903

Şekil C1.2: Kenetlenme hesaplamaları ile elde edilen ve inhibitör pozlarına ait kenetlenme parametrelerini içeren örnek bir MOE çıktı dosyası.

Tablo C1.3: Gaussian 09 yazılımı ile yapılan NBO analizine ait örnek bir çıktı dosyasının bir bölümü.

```

%nprocshared=2
Will use up to 2 processors via shared memory.
%mem=200MW
%chk=C:\Users\Fatma\Desktop\1.chk
-----
# b3lyp/6-31g(d,p) pop=nbo
-----
1/38=1,57=2/1;
2/12=2,17=6,18=5,40=1/2;
3/6=3,11=2,16=1,25=1,30=1,74=-5/1,2,3;
4//1;
5/5=2,32=1,38=5/2;
6/7=2,8=2,9=2,10=2,28=1/1,7;
99/5=1,9=1/99;
-----
OXIDOREDUCTASE
-----
Second Order Perturbation Theory Analysis of Fock Matrix in NBO Basis
Threshold for printing: 0.25 kcal/mol
(Intermolecular threshold: 0.03 kcal/mol)

```

Donor NBO (i)	Acceptor NBO (j)	E(2) kcal/mol	E(j)-E(i) a.u.	F(i,j) a.u.
<b>within unit 1</b>				
1. BD ( 1) C 1 - H 2	/629. BD*( 1) N 3 - H 4	0.92	0.90	0.036
1. BD ( 1) C 1 - H 2	/632. BD*( 1) C 6 - H 8	0.37	0.94	0.024
1. BD ( 1) C 1 - H 2	/633. BD*( 1) C 6 - C 9	0.46	0.93	0.026
1. BD ( 1) C 1 - H 2	/638. BD*( 1) C 12 - H 14	0.41	0.90	0.024
1. BD ( 1) C 1 - H 2	/648. BD*( 1) C 24 - O 25	0.79	1.09	0.037
1. BD ( 1) C 1 - H 2	/649. BD*( 2) C 24 - O 25	1.47	0.56	0.037
1. BD ( 1) C 1 - H 2	/650. BD*( 1) C 24 - O 26	0.36	0.91	0.023
2. BD ( 1) C 1 - N 3	/629. BD*( 1) N 3 - H 4	0.51	0.99	0.029
2. BD ( 1) C 1 - N 3	/630. BD*( 1) N 3 - H 5	0.62	0.98	0.031
2. BD ( 1) C 1 - N 3	/631. BD*( 1) C 6 - H 7	0.36	1.04	0.025
2. BD ( 1) C 1 - N 3	/632. BD*( 1) C 6 - H 8	0.51	1.02	0.029
2. BD ( 1) C 1 - N 3	/649. BD*( 2) C 24 - O 25	1.65	0.65	0.043
3. BD ( 1) C 1 - C 6	/626. BD*( 1) C 1 - N 3	0.41	0.91	0.024
3. BD ( 1) C 1 - C 6	/635. BD*( 1) C 9 - H 11	0.89	0.97	0.037
<b>from unit 1 to unit 8</b>				
7. BD ( 1) C 6 - H 7	/897. BD*( 1) O 253 - H 254	0.62	0.82	0.028
11. BD ( 1) C 9 - H 11	/896. BD*( 1) C 251 - O 253	0.05	0.91	0.008
20. BD ( 1) N 18 - H 19	/892. BD*( 1) C 247 - H 249	0.03	1.13	0.008
21. BD ( 1) N 18 - H 20	/892. BD*( 1) C 247 - H 249	0.06	1.12	0.010
533. LP*( 1) C 17	/893. BD*( 1) C 247 - H 250	0.03	0.59	0.009
534. LP ( 1) N 18	/889. BD*( 1) C 245 - C 247	0.03	0.66	0.006
534. LP ( 1) N 18	/892. BD*( 1) C 247 - H 249	0.27	0.69	0.019
534. LP ( 1) N 18	/893. BD*( 1) C 247 - H 250	0.04	0.69	0.007