

**SANAL LİGAND TARAMASI YÖNTEMİ İLE NİKOTİNİK  
ASETİLKOLİN ANTAGONİSTLERİNİN TASARIMI**

**DESİGN OF NİCOTİNİC ACETYLCHOLİNE  
ANTAGONİSTS BY VİRTUAL LİGAND SCREENİNG  
METHOD**

**KONUL HAJIYEVA**

**PROF. DR. VİLDAN GÜRİSOY**  
**Tez Danışmanı**

Hacettepe Üniversitesi  
Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin  
Kimya Anabilim Dalı için Öngördüğü  
YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2018

**KONUL HAJIYEVA'nın hazırladığı "SANAL LİGAND TARAMASI YÖNTEMİ İLE NİKOTİNİK ASETİLKOLİN ANTAGONİSTLERİNİN TASARIMI" adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından KİMYA ANABİLİM DALI'ında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.**

Prof. Dr. Fatma Sevin Düz  
Başkan

Prof. Dr. Vildan Gürsoy  
Danışman

Prof. Dr. Fatma Arslan  
Üye

Prof. Dr. Naime Didem Kahya  
Üye

Doç. Dr. Ayşe Uzgören Baran  
Üye

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Menemşe GÜMÜŞDERELİOĞLU  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## YAYINLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanması zorunlu metinlerin yazılı izin alarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

- Tezimin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.**

(Bu seçenkle teziniz arama motorlarında indekslenebilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etmeniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirse bile, tezinin arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir.)

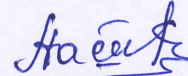
- Tezimin/Raporumun 23/01/2020 tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç Kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum.**

(Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı ve ya tamamının fotokopisi alınabilir)

- Tezimin/Raporumun ..... tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum, ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.**

- Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi**

24/01/2018



(İmza)

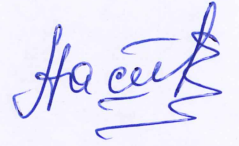
Öğrencinin Adı Soyadı: KONUL HAJIYEVA

## ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı beyan ederim.

18/01/2018



KONUL HAJIYEVA

## ÖZET

# SANAL LİGAND TARAMASI YÖNTEMİ İLE NİKOTİNİK ASETİLKOLİN ANTAGONİSTLERİNİN TASARIMI

KONUL HAJIYEVA

Yüksek Lisans, Kimya Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Vildan Gürsoy

Ocak 2018, 157 sayfa

Türkiye nüfusunun 15 milyona (27,1%) yakını tütün ürünü tüketmektedir. Nikotin bağımlılığı sigara kullanma alışkanlığının devam ettirilmesine ve tedavilerin başarısızlıkla sonuçlanmasına sebep olmaktadır. Akciğerler, ağız, burun, deriden kolay ve hızlı bir şekilde emilen nikotin *Nicotiana tabacum* bitkisinin yapraklarından elde edilen bir alkaloiddir. Sigara bağımlılığının başlıca sebebi Nikotin'dir.

İyon kanal reseptörü olan nikotinik asetilkolin reseptörü (nAChR) asetilkolin ve tütün bağımlılığının ana maddesi olan nikotin tarafından aktive edilir. Bugüne kadar, muskarinik ( $\alpha_1$ ,  $\beta_1$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  ve  $\epsilon$ ) ve nöronal ( $\alpha_2$ - $\alpha_{10}$  and  $\beta_2$ - $\beta_4$ ) olmak üzere 17 tane nACh reseptör altbirimi tespit edilmiştir. Merkezi sinir sisteminde en çok yayılan nAChR altbirimleri  $\alpha_4\beta_2$  (~90%) ve  $\alpha_7$  (~10%) altbirimleridir.  $\alpha_4\beta_2$  altbirimi asetilkolin ve nikotine olan yüksek afinitesi ile karakterize edilir ve sigara bıraktırıcı ilaçların hedef yapısıdır.

Bazı bitkilerin (**çörekotu, karabaş otu, kara biber, lobelya, sarı kantaron ve yulaf**) içindeki bazı fitokimyasalların (kamfor, menton, mentol, karvakrol,

timokinon, flavonoidler v.s.) sigara bıraktırıcı özelliği olduğuna dair deneysel çalışmalar olmasına karşın, Nikotirik Asetilkolin Reseptörü (nAChR) ile bağlanma özelliklerini ve bağlanma enerjisini içeren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Amacımız, bu bitkilerin (**örekotu, karabaş otu, kara biber, lobelya, sarı kantaron ve yulaf**) içindeki bazı fitokimyasalların (kamfor, menton, mentol, karvakrol, timokinon, flavonoidler v.s.) nAChR **antagonisti** olarak etkisinin İlaç Tasarım yöntemlerinden **Doking (kenetleme)** programı olan Autodock Vina kullanılarak araştırılmasıdır.

Çalışmanın ilk kısmında, *AutoDock Vina* programının validasyonu **1UW6** ve **2BYR** kodlu Asetilkolin Bağlanma Proteini (AChBP) için yapılmıştır. Hesaplama sonucunda RMSD değerleri 1.3 ve 1.6 Å olarak bulunmuştur. RMSD değeri 2 Å 'dan küçük olduğundan dolayı *AutoDock Vina* programının seçilen sistem için uygun olduğu belirlenmiştir.

İkinci aşamada, karabaş otu, çörekotu, yulaf, kara biber, lobelya ve sarı kantaron bitkilerindeki fitokimyasalların DFT/B3LYP/6-31G(d,p) temel seti ile geometri optimizasyonu yapılmıştır ve fitokimyasalların AChBP'nin aktif bölgesine bağlanması *AutoDock Vina* programı kullanılarak incelenmiştir. İlk kez yapılan bu çalışma sonucunda, antagonistik özelliği en yüksek bileşik **mikuelianin** olarak saptanmıştır.

Çalışmanın son aşamasında, mikuelianin yapısından yola çıkılıp ZINC15 veri tabanı kullanılarak bulunan 506 bileşik ile sanal ligand taraması yapılmıştır. Hesaplamalar sonucunda en iyi bağlanma afinitesine sahip ilk 20 bileşiğin ümit verici aday olabileceği bulunmuştur.

Bu tezde yapılan araştırmalar sonucunda elde ettiğimiz veriler, nAChR antagonisti olarak etkili olabilecek yeni aday antagonistlerinin tasarlanmasına katkıda bulunacaktır.

**Anahtar kelimeler:** Nikotirik Asetilkolin reseptörü, doking, antagonist, 1UW6, 2BYR

## ABSTRACT

# DESIGN OF NICOTINIC ACETYLCHOLINE ANTAGONISTS BY VIRTUAL LIGAND SCREENING METHOD

KONUL HAJIYEVA

Masters of Degree, Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Vildan Gürsoy

January 2018, 157 pages

A total of 14.8 million people in Turkey (27.1%) use tobacco products. Nicotine dependence is the first cause of continued smoking behavior and overall failure of treatment interventions. Nicotine, an alkaloid derived from the leaves of the *Nicotiana tabacum* plant, is a very easily absorbed substance and is easily and rapidly absorbed by the lungs, mouth, nose, skin. Nicotine is the main cause of cigarette dependence.

The nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) is an ion channel receptor, which is activated by acetylcholine and nicotine which is the main component of tobacco dependence. To date, 17 nACh receptor subunits have been identified, including muscarinic ( $\alpha_1$ ,  $\beta_1$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  and  $\epsilon$ ) and neuronal ( $\alpha_2$ - $\alpha_{10}$  and  $\beta_2$ - $\beta_4$ ). The most widely distributed nAChR subunits in the central nervous system are  $\alpha_4\beta_2$  (~ 90%) and  $\alpha_7$  (~ 10%) subunits. The  $\alpha_4\beta_2$  subunit is the target structure of smoking cessation drugs.

Although there are several experimental studies (*in vivo* and *in vitro*) that some phytochemicals (camphor, menton, menthol, carvacrol, thymoquinone, flavonoids, etc.) in some plants (*avena sativa*, *hypericum perforatum*,

*lavandula stoechas*, *lobelia inflata*, *nigella sativa*, *piper nigrum*) are smoking cessation features, there are no any studies with nAChR (nicotinic acetylcholine receptor) including binding properties and energy.

Our aim is to investigate how some phytochemicals (camphor, menton, menthol, carvacrol, thymoquinone, flavonoids, etc.) in some plants (*avena sativa*, *hypericum perforatum*, *lavandula stoechas*, *lobelia inflata*, *nigella sativa*, *piper nigrum*) interact with nAChR as an **antagonist** by using **Docking** program Autodock Vina.

In the first part of the study, the validation of the AutoDock Vina program was performed for AChBP (acetylcholine binding protein) **1UW6** and **2BYR**. As a result of calculation, RMSD values for 1UW6 and 2BYR were found 1.3 and 1.6 Å respectively. Due to RMSD value is less than 2 Å, AutoDock Vina has been determined to be suitable for the selected system.

In the second step, geometry optimization of phytochemicals in *lavandula stoechas*, *avena sativa*, *piper nigrum*, *lobelia inflata*, *hypericum perforatum* and *nigella sativa* were performed by DFT/B3LYP/6-31G(d,p) and the binding of phytochemicals to the active site of AChBP was analyzed by using the AutoDock Vina program. It was found that miquelianin has the highest antagonist activity.

In the last part of the study, virtual ligand screening study was performed for 506 compounds in ZINC15 database. Our calculation results showed that the first 20 structures showing the best binding affinity would be promising candidates.

As a result of the research carried out in this thesis, the obtained data will contribute to the design of new candidate antagonists which may be effective as nAChR antagonists.

**Key words:** Nicotinic acetylcholine receptor, docking, antagonist, 1UW6, 2BYR



## TEŞEKKÜR

Bu tez alıőmasında kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleriyle beni yönlendiren, kültür farklılıkları nedeniyle çektiğim sıkıntıları anlayışla karşılayıp her zaman bana hoşgörü ve sabırla yaklaşan, bana destek olan, katkılarıyla ufkumu genişleten, değerli danışmanım ve hocam Prof. Dr. Vildan Gürsoy'a teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tez çalışması süresince en zor zamanlarımda yanımda olan, bilgilerini benden esirgemeyen, tezin çalışma ve yazım kısımlarında sabırla bana zaman ayırıp yardımcı olan sevgili dostum Hazal Gürőün'e,

Ve son olarak, maddi ve manevi destekleriyle her zaman yanımda olan, bana inanan, beni her zaman cesaretlendiren canım annem ve babama, biricik kardeőime ve eőime sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim.

**KONUL HAJIYEVA**

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	iii
TEŞEKKÜR .....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
ŞEKİLLER .....	x
ÇİZELGELER.....	xvii
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	xviii
1. Giriş .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Sigara Bağımlılığı .....	3
2.2. Reseptörler: Yapı ve İşlevi .....	6
2.2.1. Ligand-kapılı İyon Reseptörü .....	8
2.3. Nikotinik Asetilkolin Reseptörü (nAChR) ve Asetilkolin Bağlanma Proteini (AChBP).....	8
2.4. nACh Reseptörü ve AChB Proteinin X-ray Yapıları.....	12
2.5. Sigara Bağımlılığının Tedavisi.....	13
2.5.1. nACh Reseptör Agonistleri .....	13
2.5.2. nACh Reseptör Antagonistleri .....	15
2.5.3. Sigara Bağımlılığının Tedavisinde Kullanılan Bitkiler .....	17
2.5.3.1. Sarı Kantaron (Hypericum perforatum) .....	18
2.5.3.2. Yulaf (Avena sativa) .....	19
2.5.3.3. Lobelya, Kızılderili tütünü (Lobelia, Lobelia inflata) .....	20
2.5.3.4. Karabaş otu (Lavandula stoechas) .....	21
2.5.3.5. Karabiber (Black pepper, Piper Nigrum) .....	22
2.5.3.6. Çörekotu (Nigella sativa) .....	22
2.6. Bilgisayar-Destekli İlaç Tasarımı.....	24
2.7. Moleküler Kenetlenme (Doking) .....	24
2.8. Sanal Ligand Taraması .....	25
3.MATERYAL VE METOTLAR .....	26
3.1. KULLANILAN YAZILIMLAR .....	26
3.1.1. ZINC15 veritabanı .....	26
3.1.2. UCSF Chimera .....	26

3.1.3. AutoDock Vina .....	27
3.1.4. Raccoon.....	27
3.1.5. Cygwin .....	28
3.1.6. Gaussian09 .....	28
3.1.7. Chemoffice .....	29
3.2. ÇALIŞMA AŞAMALARI .....	29
3.2.1. Bitkilerdeki Fitokimyasal Yapıların Hazırlanması .....	29
3.2.2. Doking Yönteminin Validasyonu: Agonist ve Antagonist .....	30
3.2.3. Doking Hesaplamaları .....	31
3.2.3.1. Hedef Proteinin Seçilmesi ve Hazırlanması: AChB Proteini .....	31
3.2.3.2. Ligandların Hazırlanması: Fitokimyasallar .....	31
3.2.3.3. AutoDock Vina ile Doking Hesaplamaları .....	31
3.2.4. Sanal Ligand Taraması için Ligand ve AChBP Hazırlanması.....	33
4. SONUÇLAR.....	35
4.1. Fitokimyasalların Geometri Optimizasyonu.....	35
4.2. Validasyon Hesaplaması: AChB Protein kompleksi .....	35
4.3. Doking Hesaplamaları .....	39
4.3.1. Agonist hesaplamaları: 1UW6.....	39
4.3.1.1. Avena sativa, Yulaf. Antranilik asit.....	39
4.3.1.2. Kafeik asit.....	41
4.3.1.3. Piper Nigrum, Black pepper, Kara biber. Kamfor .....	42
4.3.1.4. Limonen.....	44
4.3.1.5. Nigella sativa, Çörekotu. Karvakrol .....	45
4.3.1.6. Karvon .....	46
4.3.1.7. Timol .....	48
4.3.1.8. Timokinon.....	50
4.3.1.9. Lavandula stoechas, Karabaş otu. Kamfor.....	51
4.3.1.10. Karvakrol .....	51
4.3.1.11. Mentol.....	51
4.3.1.12. Menton.....	53
4.3.1.13. Lobelia inflata, Lobelya, Lobelin .....	54
4.3.1.14. Hypericum perforatum, St. John's wort, Sarı kantaron. Astilbin.....	56
4.3.1.15. Katekin.....	58
4.3.1.16. Hiperozid .....	60

4.3.1.17. Izokuersitrin .....	61
4.3.1.18. Kaemferol.....	63
4.3.1.19. Epikatekin .....	64
4.3.1.20. Luteolin.....	66
4.3.1.21. Mikuelianin.....	67
4.3.1.22. Mirisetin .....	69
4.3.1.23. Kuersetin .....	70
4.3.1.24. Kuersitrin .....	72
4.3.1.25. Rutin.....	73
4.3.2. Antagonist hesaplamaları: 2BYR.....	77
4.3.2.1. Avena sativa, Yulaf. Antranilik asit.....	77
4.3.2.2. Kafeik asit.....	78
4.3.2.3. Piper Nigrum, Black pepper, Kara biber. Kamfor .....	80
4.3.2.4. Limonen.....	82
4.3.2.5. Nigella sativa, Çörekotu. Karvakrol.....	83
4.3.2.6. Karvon .....	85
4.3.2.7. Timol .....	86
4.3.2.8. Timokinon.....	88
4.3.2.9. Lavandula stoechas, Karabaş otu. Kamfor .....	89
4.3.2.10. Karvakrol .....	89
4.3.2.11. Mentol.....	89
4.3.2.12. Menton.....	91
4.3.2.13. Lobelia inflata, Lobelya. Lobelin .....	92
4.3.2.14. Hypericum perforatum, St. John's wort, Sarı kantaron. Astilbin.....	94
4.3.2.15. Katekin.....	95
4.3.2.16. Hiperozid .....	97
4.3.2.17. Izokuersitrin .....	98
4.3.2.18. Kaemferol.....	100
4.3.2.19. Epikatekin .....	101
4.3.2.20. Luteolin .....	103
4.3.2.21. Mikuelianin.....	104
4.3.2.22. Mirisetin .....	106
4.3.2.23. Kuersetin .....	107
4.3.2.24. Kuersitrin .....	109

4.3.2.25. Rutin.....	110
4.3.3. Karşılaştırma .....	114
4.4. Sanal Ligand Taraması Sonuçları .....	119
5. YORUMLAR ve ÖNERİLER.....	123
KAYNAKLAR.....	126
EKLER.....	130
EK 1: Doking için hazırlanan konfigürasyon dosyası: 1UW6 .....	130
EK 2: Doking için hazırlanan konfigürasyon dosyası: 2BYR.....	132
ÖZGEÇMİŞ .....	134



## ŞEKİLLER

### Sayfa

Şekil 2.1. Sigara satış sayıları, Türkiye, 1925-2011 [8].....	4
Şekil 2.2. Kişi başına sigara tüketimi, Türkiye, 1925-2011 [8] .....	4
Şekil 2.3. Nicotiana tabacum bitkisi .....	6
Şekil 2.4. Nikotin .....	6
Şekil 2.5. Nörotaşıyıcıların reseptöre bağlanan kimyasal habercileri ve hücre içindeki reaksiyonu tetiklemesi .....	7
Şekil 2.6. Reseptöre kimyasal habercinin bağlanması [12].....	7
Şekil 2.7. Asetilkolin .....	7
Membran-bağlı reseptörler üç farklı yapıdadır [12]:.....	8
Şekil 2.8. Bir iyon kanalının yapısı. Koyu çizgiler kanalın hidrofilik kısmını gösterir [12] .....	8
Şekil 2.9. Nikotik asetilkolin reseptörünün yapısı .....	9
Şekil 2.10. nACh reseptörünün bağlanma kısmı.....	10
Şekil 2.11. nAChR altbirim örnekleri: A) Heteropentamer muskarinik altbirim B) Homopentamer nöronal altbirim C) Heteropentamer nöronal altbirim [14] .....	10
Şekil 2.12. Nikotik Asetilkolin Reseptörü (nAChR) ve Asetilkolin Bağlanma Proteini (AChBP) .....	11
Şekil 2.13. (a) AChB Proteinin homopentamer yapısı, (b) AChB Proteinin bağlanma bölgesi .....	11
Şekil 2.14. Vareniklin yapısı .....	14
Şekil 2.15. Bupropion yapısı.....	14
Şekil 2.16. Sitisin yapısı .....	15
Şekil 2.17. Agonist, rekabetçi ve rekabetçi olmayan antagonist, allosterik modulator bağlanma bölgeleri .....	15
Şekil 2.18. Mekamilamin yapısı .....	16
Şekil 2.19. Sarı Kantaron .....	18
Şekil 2.20. Yulaf (Avena sativa) .....	19
Şekil 2.21. Kızılderili tütünü, Lobelia inflata .....	20
Şekil 2.22. Karabaş otu (Lavandula stoechas) .....	21
Şekil 2.23. Karabiber (Piper nigrum) .....	22
Şekil 2.24. Çörekotu (Nigella sativa) .....	23

Şekil 3.1. ZINC15 veri tabanı anasayfası görüntüsü .....	26
Şekil 3.2. Chimera programı görüntüsü .....	26
Şekil 3.3. Gaussian 5.0 View kullanıcı ara yüzünün kuersetin molekülü ile görünümü.....	28
Şekil 3.4. Limonen için örnek konfigürasyon dosyası.....	32
Şekil 3.5. Komut sistemi ile dosya çağırma aşaması .....	32
Şekil 3.6. Doking hesaplaması başlangıç görüntüsü.....	32
Şekil 3.7. ZINC15 veritabanında mikuelianin subset oluşturma sayfasının görüntüsü.....	33
Şekil 3.8. Cygwin kodları ile çoklu doking için dosya çağırma aşaması.....	34
Şekil 4.1. Nikotin ve MLK yapıları .....	35
Şekil 4.2. Validasyon konfigürasyon dosyası.....	36
Şekil 4.3. Validasyon log dosyaları.....	36
Şekil 4.4. Validasyon Sonucu A) Nikotin RMSD=1.3 Å, B) MLK RMSD =1.6 Å (pembe ligand referans, yeşil ligand en iyi RMSD değerine sahip olan ligand) .	37
Şekil 4.5. Nikotin (agonist) ligandı için bağ etkileşimleri [52].....	37
Şekil 4.6. MLK (antagonist) için bağ etkileşimleri [52] .....	38
Şekil 4.7. (a) Nikotin 2BYR ile, (b) MLK 1UW6 ile .....	39
Şekil 4.8. Antranilik asit log dosyası.....	39
Şekil 4.9. Antranilik asit doking görüntüsü .....	40
Şekil 4.10. 1. Konformasyonun 2D gösterimi .....	40
Şekil 4.11. 1. Konformasyonun 3D gösterimi .....	40
Şekil 4.12. Kafeik asit log dosyası .....	41
Şekil 4.13. Kafeik asit doking görüntüsü.....	41
Şekil 4.14. 1. Konformasyon 2D gösterimi .....	42
Şekil 4.15. 1. Konformasyon 3D gösterimi .....	42
Şekil 4.16. Kamfor log dosyası.....	42
Şekil 4.17. Kamfor doking görüntüsü .....	43
Şekil 4.18. 1. Konformasyon 2D gösterimi .....	43
Şekil 4.19. 1. Konformasyon 3D gösterimi .....	43
Şekil 4.20. Limonen log dosyası .....	44
Şekil 4.21. Limonen doking görüntüsü.....	44
Şekil 4.22. 1. Konformasyonun 2D gösterimi.....	45
Şekil 4.23. 1. Konformasyonun 3D gösterimi.....	45

Şekil 4.24. Karvakrol log dosyası.....	45
Şekil 4.25. Karvakrol doking görüntüsü .....	46
Şekil 4.26. 1. Konformasyonun 2D gösterimi.....	46
Şekil 4.27. 1. Konformasyonun 3D gösterimi.....	46
Şekil 4.28. Karvon log dosyası .....	47
Şekil 4.29. Karvon doking görüntüsü .....	47
Şekil 4.30. 1. Konformasyonun 2D gösterimi.....	48
Şekil 4.31. 1. Konformasyonun 3D gösterimi.....	48
Şekil 4.32. Timol log dosyası .....	48
Şekil 4.33. Timol doking görüntüsü .....	49
Şekil 4.34. 1. Konformasyonun 2D gösterimi.....	49
Şekil 4.35. 1. Konformasyonun 3D gösterimi.....	49
Şekil 4.36. Timokinon log dosyası .....	50
Şekil 4.37. Timokinon doking görüntüsü.....	50
Şekil 4.38. 1. Konformasyon 2D gösterimi .....	51
Şekil 4.39. 1. Konformasyon 3D gösterimi .....	51
Şekil 4.40. Mentol log dosyası .....	51
Şekil 4.41. Mentol doking görüntüsü .....	52
Şekil 4.42. 1. Konformasyon 2D gösterimi .....	52
Şekil 4.43. 1. Konformasyon 3D gösterimi .....	52
Şekil 4.44. Menton log dosyası .....	53
Şekil 4.45. Menton doking görüntüsü.....	53
Şekil 4.46. 1. Konformasyon 2D gösterimi .....	54
Şekil 4.47. 1. Konformasyon 3D gösterimi .....	54
Şekil 4.48. Lobelin log dosyası.....	54
Şekil 4.49. Lobelin doking görüntüsü .....	55
Şekil 4.50. 1. Konformasyon 2D gösterimi .....	55
Şekil 4.51. 1. Konformasyon 3D gösterimi .....	55
Şekil 4.52. 2BYS AChBP-Lobelin kompleksi aminoasit çevresi .....	56
Şekil 4.53. Astilbin log dosyası.....	57
Şekil 4.54. Astilbin doking görüntüsü .....	57
Şekil 4.55. 1. Konformasyon 2D gösterimi .....	58
Şekil 4.56. 1. Konformasyon 3D gösterimi .....	58
Şekil 4.57. Katekin log dosyası .....	58



Şekil 4.58. Katekin doking görüntüsü.....	59
Şekil 4.59. 1. Konformasyon 2D gösterimi .....	59
Şekil 4.60. 1. Konformasyon 3D gösterimi .....	59
Şekil 4.61. Hiperozid log dosyası.....	60
Şekil 4.62. Hiperozid doking görüntüsü .....	60
Şekil 4.63. 1. Konformasyon 2D gösterimi .....	61
Şekil 4.64. 1. Konformasyon 3D gösterimi .....	61
Şekil 4.65. İzokuersitrin log dosyası.....	61
Şekil 4.66. İzokuersitrin doking görüntüsü .....	62
Şekil 4.67. 1. Konformasyon 2D gösterimi .....	62
Şekil 4.68. 1. Konformasyon 3D gösterimi .....	62
Şekil 4.69. Kaemferol log dosyası .....	63
Şekil 4.70. Kaemferol doking görüntüsü.....	63
Şekil 4.71. 1. Konformasyon 2D gösterimi .....	64
Şekil 4.72. 1. Konformasyon 3D gösterimi .....	64
Şekil 4.73. Epikatekin log dosyası .....	64
Şekil 4.74. Epikatekin doking görüntüsü.....	65
Şekil 4.75. 1. Konformasyon 2D gösterimi .....	65
Şekil 4.76. 1. Konformasyon 3D gösterimi .....	65
Şekil 4.77. Luteolin log dosyası .....	66
Şekil 4.78. Luteolin doking görüntüsü.....	66
Şekil 4.79. 1. Konformasyon 2D gösterimi .....	67
Şekil 4.80. 1. Konformasyon 3D gösterimi .....	67
Şekil 4.81. Mikuelianin log dosyası .....	67
Şekil 4.82. Mikuelianin doking görüntüsü.....	68
Şekil 4.83. 1. Konformasyon 2D gösterimi .....	68
Şekil 4.84. 1. Konformasyon 3D gösterimi .....	68
Şekil 4.85. Mirisetin log dosyası.....	69
Şekil 4.86. Mirisetin doking görüntüsü .....	69
Şekil 4.87. 1. Konformasyonun 2D gösterimi.....	70
Şekil 4.88. 1. Konformasyonun 3D gösterimi.....	70
Şekil 4.89. Kuersetin log dosyası.....	70
Şekil 4.90. Kuersetin doking görüntüsü .....	71
Şekil 4.91. 1. Konformasyonun 2D gösterimi.....	71

Şekil 4.92. 1. Konformasyonun 3D gösterimi.....	71
Şekil 4.93. Kuersitrin log dosyası.....	72
Şekil 4.94. Kuersitrin doking görüntüsü .....	72
Şekil 4.95. 1. Konformasyonun 2D gösterimi.....	73
Şekil 4.96. 1. Konformasyonun 3D gösterimi.....	73
Şekil 4.97. Rutin log dosyası .....	73
Şekil 4.98. Rutin doking görüntüsü.....	74
Şekil 4.99. 1. Konformasyonun 2D gösterimi.....	74
Şekil 4.100. 1. Konformasyonun 3D gösterimi .....	74
Şekil 4.101. Antranilik asit log dosyası. ....	77
Şekil 4.102. Doking konformasyonu görüntüsü .....	77
Şekil 4.103. Konformasyonun 2D gösterimi .....	78
Şekil 4.104. Konformasyonun 3D gösterimi .....	78
Şekil.4.105. Kafeik asit log dosyası.....	79
Şekil 4.106. Kafeik asit doking görüntüsü .....	79
Şekil 4.107. 1. Konformasyon 2D gösterimi .....	80
Şekil 4.108. 1. Konformasyon 3D gösterimi .....	80
Şekil 4.109. Kamfor log dosyası .....	80
Şekil 4.110. Kamfor doking görüntüsü .....	81
Şekil 4.111. 1. Konformasyon 2D gösterimi .....	81
Şekil 4.112.1. Konformasyon 3D gösterimi .....	81
Şekil 4.113. Limonen log dosyası.....	82
Şekil 4.114. Limonen doking görüntüsü .....	82
Şekil 4.115. 1. Konformasyonun 2D gösterimi .....	83
Şekil 4.116. 1. Konformasyonun 3D gösterimi .....	83
Şekil 4.117. Karvakrol log dosyası .....	83
Şekil 4.118. Karvakrol doking görüntüsü .....	84
Şekil 4.119. 1. Konformasyonun 2D gösterimi .....	84
Şekil 4.120. 1. Konformasyonun 3D gösterimi .....	84
Şekil 4.121. Karvon log dosyası.....	85
Şekil 4.122. Karvon doking görüntüsü .....	85
Şekil 4.123. 1. Konformasyonun 2D gösterimi .....	86
Şekil 4.124. 1. Konformasyonun 3D gösterimi .....	86
Şekil 4.125. Timol log dosyası .....	86

Şekil 4.126. Timol doking görüntüsü .....	87
Şekil 4.127. 1. Konformasyonun 2D gösterimi .....	87
Şekil 4.128. 1. Konformasyonun 3D gösterimi .....	87
Şekil 4.129. Timokinon log dosyası .....	88
Şekil 4.130. Timokinon doking görüntüsü .....	88
Şekil 4.131. 1. Konformasyon 2D gösterimi .....	89
Şekil 4.132. 1. Konformasyon 3D gösterimi .....	89
Şekil 4.133. Mentol log dosyası .....	89
Şekil 4.134. Mentol doking görüntüsü .....	90
Şekil 4.135. 1. Konformasyon 2D gösterimi .....	90
Şekil 4.136. 1. Konformasyon 3D gösterimi .....	90
Şekil 4.137. Menton log dosyası .....	91
Şekil 4.138. Menton doking görüntüsü .....	91
Şekil 4.139. 1. Konformasyon 2D gösterimi .....	92
Şekil 4.140. 1. Konformasyon 3D gösterimi .....	92
Şekil 4.141. Lobelin log dosyası .....	92
Şekil 4.142. Lobelin doking görüntüsü .....	93
Şekil 4.143. 1. Konformasyon 2D gösterimi .....	93
Şekil 4.144. 1. Konformasyon 3D gösterimi .....	93
Şekil 4.145. Astilbin log dosyası .....	94
Şekil 4.146. Astilbin doking görüntüsü .....	94
Şekil 4.147. 1. Konformasyon 2D gösterimi .....	95
Şekil 4.148. 1. Konformasyon 3D gösterimi .....	95
Şekil 4.149. Katekin log dosyası .....	95
Şekil 4.150. Katekin doking görüntüsü .....	96
Şekil 4.151. 1. Konformasyon 2D gösterimi .....	96
Şekil 4.152. 1. Konformasyon 3D gösterimi .....	96
Şekil 4.153. Hiperozid log dosyası .....	97
Şekil 4.154. Hiperozid doking görüntüsü .....	97
Şekil 4.155. 1. Konformasyon 2D gösterimi .....	98
Şekil 4.156. 1. Konformasyon 3D gösterimi .....	98
Şekil 4.157. İzokuersitrin log dosyası .....	98
Şekil 4.158. İzokuersitrin doking görüntüsü .....	99
Şekil 4.159. 1. Konformasyon 2D gösterimi .....	99

Şekil 4.160. 1. Konformasyon 3D gösterimi .....	99
Şekil 4.161. Kaemferol log dosyası .....	100
Şekil 4.162. Kaemferol doking görüntüsü .....	100
Şekil 4.163. 1. Konformasyon 2D gösterimi .....	101
Şekil 4.164. 1. Konformasyon 3D gösterimi .....	101
Şekil 4.165. Epikatekin log dosyası .....	101
Şekil 4.166. Epikatekin doking görüntüsü .....	102
Şekil 4.167. 1. Konformasyon 2D gösterimi .....	102
Şekil 4.168. 1. Konformasyon 3D gösterimi .....	102
Şekil 4.169. Luteolin log dosyası .....	103
Şekil 4.170. Luteolin doking görüntüsü .....	103
Şekil 4.171. 1. Konformasyon 2D gösterimi .....	104
Şekil 4.172. 1. Konformasyon 3D gösterimi .....	104
Şekil 4.173. Mikuelianin log dosyası .....	104
Şekil 4.174. Mikuelianin doking görüntüsü .....	105
Şekil 4.175. 1. Konformasyon 2D gösterimi .....	105
Şekil 4.176. 1. Konformasyon 3D gösterimi .....	105
Şekil 4.177. Mirisetin log dosyası .....	106
Şekil 4.178. Mirisetin doking görüntüsü .....	106
Şekil 4.179. 1. Konformasyonun 2D gösterimi .....	107
Şekil 4.180. 1. Konformasyonun 3D gösterimi .....	107
Şekil 4.181. Kuersetin log dosyası .....	107
Şekil 4.182. Kuersetin doking görüntüsü .....	108
Şekil 4.183. 1. Konformasyonun 2D gösterimi .....	108
Şekil 4.184. 1. Konformasyonun 3D gösterimi .....	108
Şekil 4.185. Kuersitrin log dosyası .....	109
Şekil 4.186. Kuersitrin doking görüntüsü .....	109
Şekil 4.187. 1. Konformasyonun 2D gösterimi .....	110
Şekil 4.188. 1. Konformasyonun 3D gösterimi .....	110
Şekil 4.189. Rutin log dosyası .....	110
Şekil 4.190. Rutin doking görüntüsü .....	111
Şekil 4.191. 1. Konformasyonun 2D gösterimi .....	111
Şekil 4.192. 1. Konformasyonun 3D gösterimi .....	111
Şekil 4.193. ZINC veritabanı ile bulunan 506 adet bileşiğin bir kısmı .....	119

# ÇİZELGELER

## Sayfa

Çizelge 2.1. Sigara dumanındaki bazı maddeler .....	5
Çizelge 2.2. Sigaranın neden olduğu hastalıklar .....	5
Çizelge 2.3. nACh reseptörü ve AChB proteini için protein veri bankasındaki pdb kodları .....	12
Çizelge 2.4. nACh reseptör agonistleri .....	13
Çizelge 2.5. İlaç olarak kullanılan nACh reseptör agonistleri .....	15
Çizelge 2.6. nACh reseptör antagonistleri .....	16
Çizelge 2.7. İlaç olarak kullanılan nACh reseptör antagonisti .....	16
Çizelge 2.8. Bitkiler ve içerikleri .....	17
Çizelge 2.9. Sarı kantaron flavonoidlerinin molekül yapıları .....	18
Çizelge 2.10. Yulaf bitkisi fitokimyasallarının molekül yapıları .....	20
Çizelge 2.11. Lobelin molekül yapısı .....	20
Çizelge 2.12. Karabaş otu bitkisi fitokimyasallarının molekül yapıları .....	21
Çizelge 2.13. Karabiber bitkisi fitokimyasallarının molekül yapıları .....	22
Çizelge 2.14. Çörekotu bitkisi fitokimyasallarının molekül yapıları .....	23
Çizelge 4.1. Çapraz doking bağlanma enerji sonuçları .....	38
Çizelge 4.2. Aminoasit karşılaştırılması .....	56
Çizelge 4.3. Fitokimyasalların seri halinde 1UW6 sonuçları .....	75
Çizelge 4.4. Fitokimyasalların seri halinde 2BYR sonuçları .....	112
Çizelge 4.5. Yulaf bitkisi 1UW6 ve 2BYR doking sonuçları .....	114
Çizelge 4.6. Karabiber bitkisi 1UW6 ve 2BYR doking sonuçları .....	114
Çizelge 4.7. Çörekotu bitkisi 1UW6 ve 2BYR doking sonuçları .....	115
Çizelge 4.8. Lobelya bitkisi 1UW6 ve 2BYR doking sonuçları .....	115
Çizelge 4.9. Karabaş otu bitkisi 1UW6 ve 2BYR doking sonuçları .....	116
Çizelge 4.10. Sarı kantaron bitkisi 1UW6 ve 2BYR doking sonuçları .....	117
Çizelge 4.11. 23 Fitokimyasalın antagonist ve agonist özelliklerinin karşılaştırılması .....	118
Çizelge 4.12. Antagonist özellikli 13 yapının bağlanma enerji sonuçları sıralaması .....	118
Çizelge 4.13. Sanal ligand taraması sonucu en iyi 20 bileşik .....	119

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Simgeler

$\Delta G_B$	Bağlanma Enerjisi
$\mu M$	Mikromolar
Å	Angstrom
cal	Kalori
IC <sub>50</sub>	Enzim katalizli bir reaksiyonun hızını yarıya indirmek için gerekli olan inhibitör konsantrasyonu
kcal	Kilokalori
K <sub>i</sub>	İnhibasyon Sabiti
mol	Molekül

### Kısaltmalar

3D	Üç boyutlu
ACh	Asetilkolin
AChBP	Asetilkolin Bağlanma Proteini
ADT	AutoDock Tools
ALA	Alanin
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ARG	Arginin
ASN	Asparagin
ASP	Aspartik asit
B3LYP	Becke'nin üç parametrelili değişim fonksiyonu (B3) ile Lee-Yang-Parr Korelasyon Fonksiyonel (LYP)
C	Karbon
CYS	Sistein
DFT	Yoğunluk Fonksiyoneli Kuramı (Density Functional Theory)
GLU	Glutamik asit
GLN	Glutamin
GLY	Glisin
GOL	Gliserol
H	Hidrojen
HIS	Histidin

ILE	İzolösin
K	Kelvin
LBB	Ligand Bağlanma Bölgesi
LEU	Lösin
LYS	Lizin
MET	Metionin
N	Azot
nAChR	Nikotinik Asetilkolin Reseptörü
O	Oksijen
PDB	Protein Veri Bankası
PHE	Fenilalanin
PRO	Prolin
R	Evrensel Gaz Sabiti
RMSD	Orjinal yapıdan sapmanın karekökü (Root Mean Square Deviation)
SER	Serin
T	Sıcaklık
THR	Treonin
TRP	Triptofan
TYR	Tirozin
HO-	Hidroksil grubu
VAL	Valin
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
X-ray	X-ışınları

## 1. Giriş

Günümüzün başlıca ölüm nedenlerinden biri olan sigara dünyada 15 yaşın üzerindeki neredeyse 1 milyar kişi tarafından içilmekte ve bu çoğunluk erkeklerden oluşmaktadır. Bugün dünyada her 10 erkeğin yüzde 31'i, yani üçü ve her 20 kadının yüzde 6'sı, yani biri günlük olarak sigara içmektedir. Dünyada yaklaşık her 5 ölümden 1 tanesinin sebebi sigaradır. Sigara tüketenlerin akciğer kanserine yakalanma tehlikesi erkeklerde 22, kadınlarda 12 kat daha yüksektir. Sigara içen kişilerde solunum yetmezliği ve kalp hastalıkları sık görülen hastalıklar arasında yer almaktadır. Sigara bağımlılığının en önemli sebebi ise nikotindir. İçiciler sigaradan bir nefes çektiğinde nikotin hızlı bir şekilde önce akciğere, sonra ise beyine gitmektedir. İstek ve keyif duygusunun yaranmasına yol açan 'Dopamin' maddesi Nikotin nACh reseptörüne bağlandığında beyinde salgılanmaya başlar ve böylelikle rahatlama, gerginliğin azalması seyredilir. Böylece bağımlılık yaranır. Etken maddesi **vareniklin** olan ve piyasadaki tek ilaç olan **Camphix**, nikotinin nikotinic reseptörlere bağlanmasını engelleyici etkisiyle sigara bıraktırmada kullanılır, fakat mide bulantısı, intihara eğilim ve depresyon gibi yan etkilerinden dolayı kullanımını azaltılmıştır. Bu nedenle bağımlılık ile ilgili nikotinic asetilkolin reseptörünü (nAChR) inhibe edebilecek etken madde araştırmaları devam etmektedir [1].

Bazı bitkilerin (**çörekotu, karabaş otu, karabiber, lobelya, sarı kantaron, yulaf**) içindeki bazı fitokimyasalların (kamfor, menton, mentol, karvakrol, timokinon, flavonoidler v.s.) sigara bıraktırıcı özelliği olduğuna dair deneysel çalışmalar bulunmaktadır. Akdeniz Bölgesinde yetişen **Lavandula stoechas** (karabaş otu) bitkisinin yapraklarından ve çiçeklerinden elde edilen önemli yağlar su ile distilasyon yöntemiyle ekstre edilmiş ve gaz kromatografisi ile analiz edilmiştir. Ana bileşiğin kamfor olduğu gösterilmiştir [2]. Karabaş otunda ve kara biberde bulunan kamfor bileşiğinin, nACh reseptörünü inhibe ettiğine dair deneysel bir çalışma bulunmaktadır. Aktif bileşen olarak borneol ya da kamfor içeren sigara bağımlılığında adjuvan (ilaç etkisini artırmak için yapısına eklenen diğer madde) olarak kullanılan nikotinic asetilkolin reseptörü antagonisti olarak bulunmuştur [3]. Sarı kantaron bitkisinin de sigara bıraktırmada rolü olduğuna dair bazı klinik çalışmaların bulunduğu izlenmiştir [4,5].



Bu tez çalışması 3 aşamadan oluşmaktadır. İlk aşamada, çalışmada kullanılan **AutoDock Vina** programının validasyon testi 1UW6 ve 2BYR kodlu AChBP için yapılmış ve RMSD değeri dikkate alınarak programın çalışılacak protein için uygunluğuna bakılmıştır.

İkinci aşamada, literatürde çörekotu, karabaş otu, kara biber, lobelya, sarı kantaron ve yulaf bitkilerinin içindeki bazı fitokimyasalların (kamfor, menton, mentol, karvakrol, timokinon, flavonoidler v.s.) nACh reseptörünün aktif bölgesi ile nasıl etkileştiği bilinmemesi üzere ilk kez bu tezde moleküler kenetlenme programı kullanılarak nACh reseptörünün aktif bölgesi ile nasıl etkileştiklerine bakılmıştır.

Çalışmanın son aşamasında, sanal ligand taraması yapılmış ve en iyi bağlanmayı gösteren ilk 20 bileşik bağlanma enerjileri, bağlanma modları, aktif bölge ile etkileşimde bulduklarında yaptıkları hidrojen bağları açısından incelenmiştir. Sonuçta, nAChR antagonisti olabilecek ilaç adayı bileşikler belirlenmiştir.

Bu çalışmanın amacı, bağlanma etkileşimlerine bakarak en iyi bağlanmayı gösteren bileşik için sanal ligand taraması yapmak ve yeni nACh antagonistleri tasarlamaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

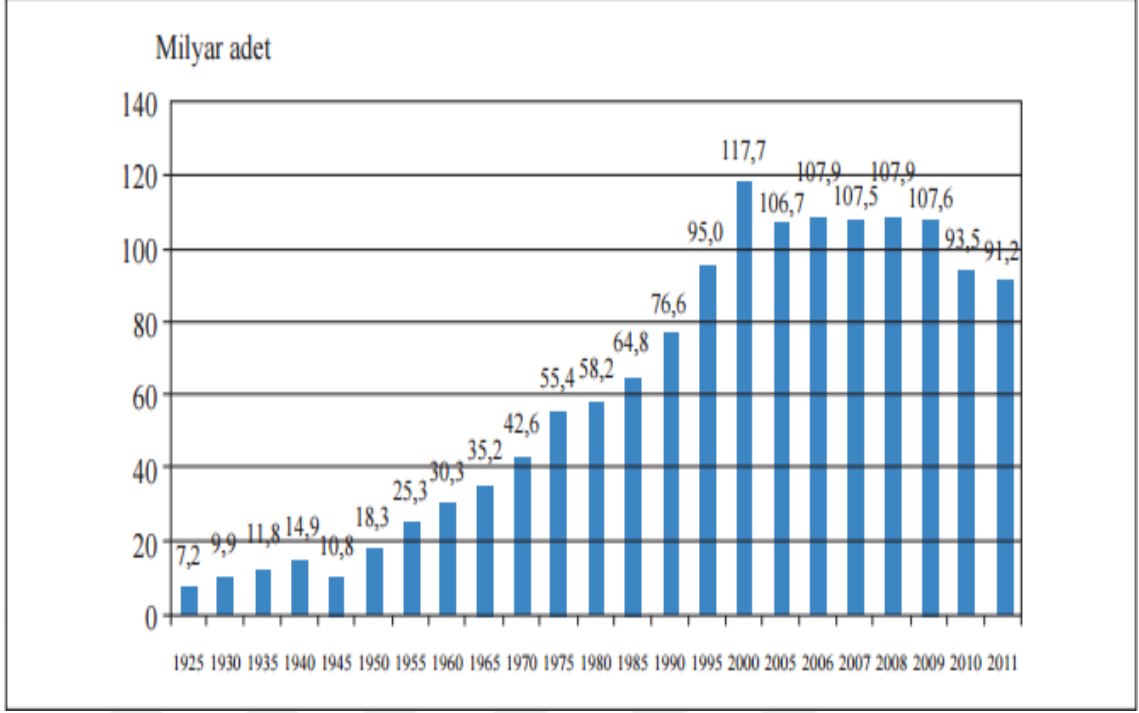
### 2.1. Sigara Bağımlılığı

Sigara içme nedenleri ele alındığında bu durumun insan psikolojisini önemli bir sorunu olduğu görülmektedir. Sigaranın neredeyse %40 oranında 15-19 yaşlarında içilmeye başlaması bu konu ile yapılmış birçok araştırmaların önemli sonuçlarından biridir [6].

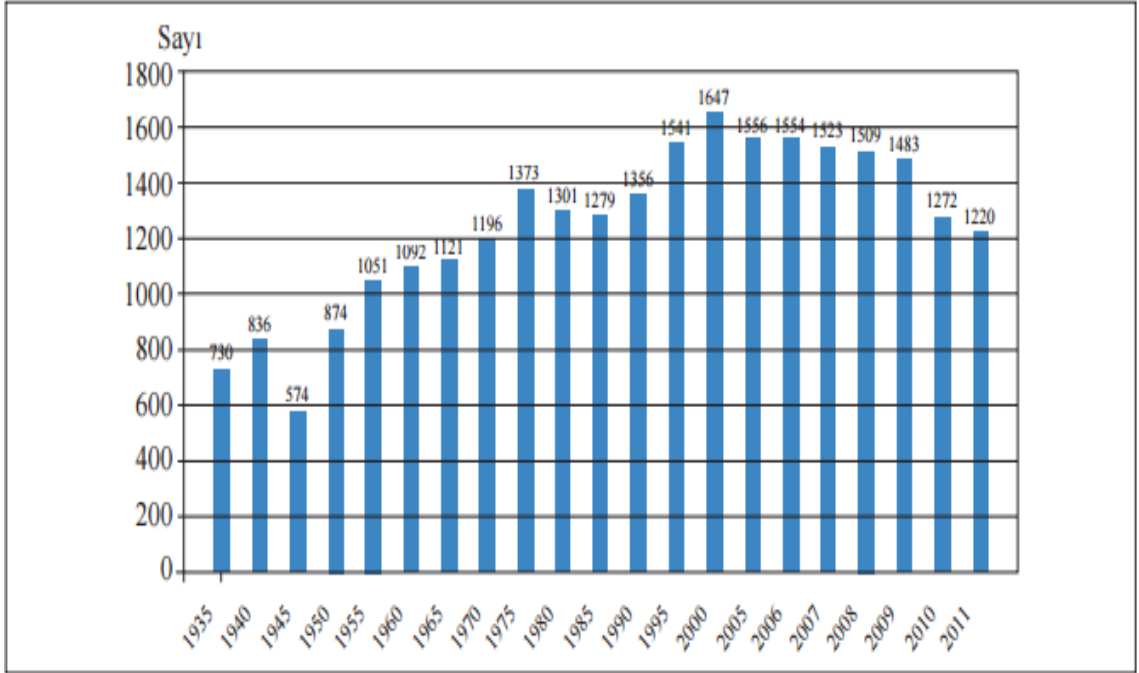
Türkiye nüfusunun %27,1'i (14,8 milyon) tütün ürünü tüketmektedir. Tütün ürünleri erkekler tarafından (%41,5) kadınlarla (%13,1) kıyaslandığında fazla sıklıkla kullanılmaktadır. Sigara kullanma verileri incelendiğinde erkeklerin %37,3'ü, kadınların %10,7'si, toplamda ise %23,8 kişinin hergün tütün tükettiği görülmektedir. Tütün tüketicilerinin çoğunluğu (%94,8) paket sigara, %0,8'lik bir oranı ise nargile içmektedir. Günlük sigara içicilerinin her gün kaç tane sigara içtikleri hesaplandığında ortalama sayı 19,2'dir. İlk sigarasını hemen uyanınca tüketen içicilerin toplam tüketicilerin yaklaşık yarısını (%42,1) oluşturduğu araştırmalar sonucu elde edilmiştir [7].

Sigara maddi açıdan da hem içicileri, hem de toplumu zarara uğratmaktadır. Uzun vadeli araştırmalar devamlı olarak sigara tüketenlerin yarısının alışkanlıkları nedeni ile hayatlarını kaybettiklerini bildirmektedir. İstatistiklere bakıldığında her sene sigaranın sebep olduğu iktisadi hasar 200 milyar dolardır. Amerika Birleşik Devletleri'nin (ABD) 1993 yılında sigaraya ayırdığı tedavi harcamaları 50 milyar dolar belirlenmiştir. Ekonomik zararın ABD'de 157 milyar dolar olduğu saptanmıştır [49,50]. İngiltere'de de sigaranın neden olduğu rahatsızlıklar Ulusal Sağlık Hizmetlerini 1.5 milyar sterlin zarara uğratmaktadır. 2030 yılında sigara içicilerinin 4/5'ni gelişen ülkelerdeki insanların oluşturacağı ve bu durumun neden olduğu rahatsızlıkların ortaya koyduğu iktisadi maliyetlerin tıbbi faaliyetlere önemli derecede hasarlar vereceği de ihtimaller arasındadır. Tütünün ülkemize 8-10 milyar dolar zarar verdiği bildirilmektedir [7].

Tütün kontrolü araştırmalarının yapılması sonucunda tütün satışlarında yükselme izlenmemiş, bir müddet düz devam etmiş, 2009'dan düşüş yaşandığı görülmüştür (Şekil 2.1 ve 2.2).



Şekil 2.1. Sigara satış sayıları, Türkiye, 1925-2011 [8]



Şekil 2.2. Kişi başına sigara tüketimi, Türkiye, 1925-2011 [8]

Sigara dumanında 4.000'e yakın sitotoksik, mutajenik ve karsinojenik madde vardır (Çizelge 2.1). Bunun %92-95'i gaz fazındadır. Ortalama partikül çapı 0.2-0.5 mm.dir, solunabilmektedir [9].

Çizelge 2.1. Sigara dumanındaki bazı maddeler

Partikül fazı	Başlıca etki	Gaz fazı	Başlıca etki
Tar (katran)	Mutajenik/karsinojenik	Karbon monoksit	Oksijenin hemoglobine bağlanmasını bozar.
Nikotin	Doza bağımlı uyarıcı veya parasempatik. N-kolinerjik reseptörler üzerine depresör	Nitrojen oksitler	İrritan, pro-inflamatuar, siliotoksik.
Aromatik hidrokarbonlar	Mutajenik/karsinojenik	Aldehitler	İrritan, pro-inflamatuar, siliotoksik.
Fenol	İrritan, mutajenik/karsinojenik	Hidrosianik asit	İrritan, pro-inflamatuar, siliotoksik
Kresol	İrritan, mutajenik/karsinojenik	Akrolein	İrritan, pro-inflamatuar, siliotoksik
b-naftilamin	Mutajenik/karsinojenik	Amonyak	İrritan, pro-inflamatuar, siliotoksik
Benzo(a)piren	Mutajenik/karsinojenik	Nitrosaminler	Mutajenik/karsinojenik
Katekol	Mutajenik/karsinojenik	Hidrazin	Mutajenik/karsinojenik
İndol	Tümör hazırlanması	Vinil klorid	Mutajenik/karsinojenik

Sekiz hastalıktan altısında rastlanan sigara dünyanın başlıca ölüm sebeplerindedir. Çünkü sigara tüketimi, ister doğrudan isterse de pasif dumana maruz kalma sebebiyle bir çok ölümcül hastalıklara yol açmaktadır (Çizelge 2.2) [10].

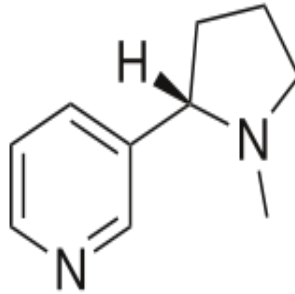
Çizelge 2.2. Sigaranın neden olduğu hastalıklar

Sigaranın neden olduğu hastalıklar		Pasif sigara dumanının neden olduğu hastalıklar	
Kanserler	Kronik hastalıklar	Çocuklar	Yetişkinler
Larinks Orofarinks Ozefagus Akciğer Akut miyeloid lösemi Mide Pankreas Böbrek ve üreter Kolon Serviks Mesane	İnme(felç) Körlük Katarakt Periodontit Aort anevrizması Koroner kalp hastalığı Pnömoni Arteriosklerotik periferik damar hastalığı KOAHAstım Kalça kırığı Reproduktif etkiler	Beyin tümörü Orta kulak hastalığı Lenfoma Akciğer fonksiyon bozukluğu Astım Alt solunum yolu hastalıkları Ani bebek ölüm sendromu Lösemi	İnme(felç) Burun irritasyonu Nazal sinüs kanseri Meme kanseri Koroner kalp hastalığı Akciğer kanseri Arterioskleroz KOAHAstım Reproduktif etkiler

Sigara içme davranışının devam etmesinin ve tedavi girişimlerinin sonuç vermemesinin birinci nedeni Nikotin bağımlılığının olduğu bildirilmektedir. Akciğerler, ağız, burun, deriden kolay ve hızlı bir şekilde emilen nikotin ***Nicotiana tabacum*** bitkisinin yapraklarından elde edilen bir alkaloiddir. Nikotin alışkanlığı sigara tüketiminin sürdürülmesinde başlıca faktördür. Sigara dumanında bulunan nikotinin beyne varması 10-20 saniye içerisinde gerçekleşmektedir [11].



Şekil 2.3. Nicotiana tabacum bitkisi

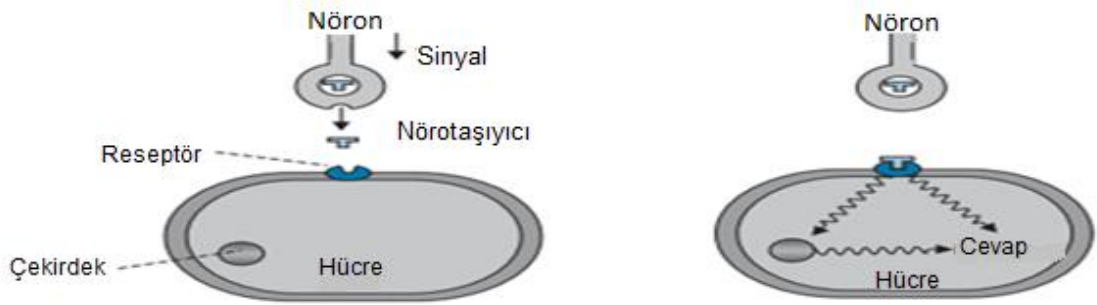


Şekil 2.4. Nikotin

## 2.2. Reseptörler: Yapı ve İşlevi

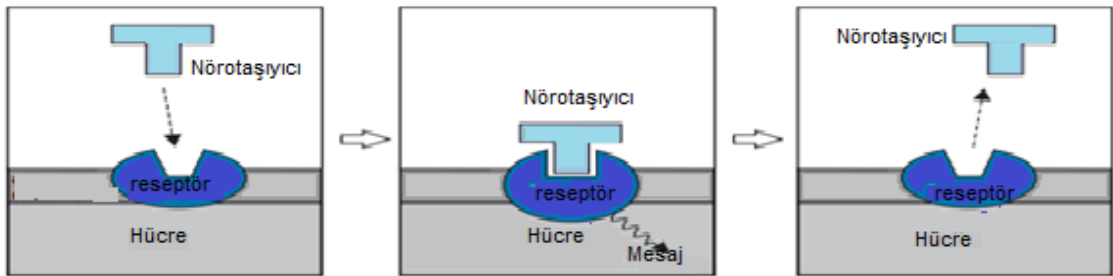
Kontrol ve iletişim, geniş bir sinir ağı yolu ile mesajların alınıp verilmesini sağlayan beyin ve omurgadan (merkezi sinir sistemi) gelir. Mesajın sinir hücreleri (nöron) boyunca bir hücre kası veya bir başka sinir ile hedefe doğru ilerlemesi önemli noktadır. Nöronlar hedef hücreleri ile doğrudan bağlantılı değildir. Hücre yüzeyine yakın bir yerde dururlar. Mesafe azdır, fakat elektrik akımının atlayamayacağı bir uzaklıktadır. Bu nedenle, sinir uçları ve hedef hücre arasındaki boşluğu geçerek mesajı taşıyacak bir yöntem olmak zorundadır. Sorun sinir hücresinden bir nörotaşıyıcı adı verilen bir kimyasal

haberci (postacı molekül) salınmasıyla çözülür (Şekil 2.5). Kimyasal mesaj birkez salınıncı hedef hücreye giden boşluğu aşarak diffüzelir, özel bir protein (reseptör) ile etkileşir ve oraya bağlanır [12].



Şekil 2.5. Nörotarıyıcıların reseptöre bağlanan kimyasal habercileri ve hücre içindeki reaksiyonu tetikleme

Reseptörler tedavide en önemli ilaç hedeflerinden olan protein yapılarıdır. Genellikle hücre membranının içine gömülmüş ve yapısının bir kısmı hücrenin dışına yönelmiş şekilde olur. Protein yüzeyi oyuk, derin ve tepe gibi şekilleri içeren karmaşık bir yapıdır ve bu karmaşık coğrafyaya sahip yerde gelen mesajın taşıyıcıyı kabul edecek doğru bir şeklin olduğu bir alan vardır. Bu alan bağlanma bölgesi olarak bilinir. Kimyasal mesaj taşıyıcı bu bölgeye yerleştiğinde bir mesaj alınır ve kimyasal mesaj taşıyıcı reaksiyona katılmaz (Şekil 2.6) [12].



Şekil 2.6. Reseptöre kimyasal habercinin bağlanması [12]

Reseptörler onları aktive eden nörotarıyıcılara göre adlandırılır. Yani, asetilkolin tarafından aktive edilen reseptöre kolinerjik reseptör deniliyor (Şekil 2.7).



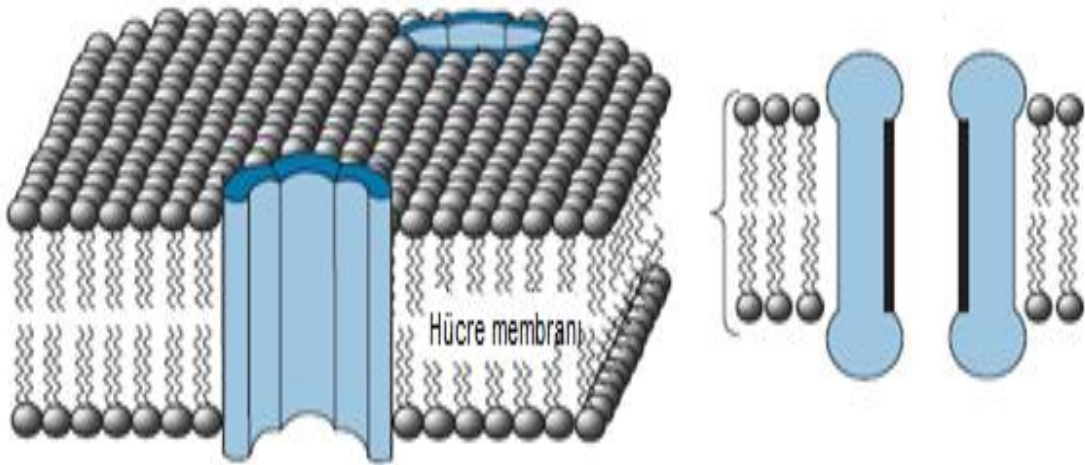
Şekil 2.7. Asetilkolin

Membran-bağlı reseptörler üç farklı yapıdadır [12]:

- ✚ Ligand-kapılı iyon reseptörleri
- ✚ G-protein bağlı reseptörler
- ✚ Kinaz bağlı reseptörler

### 2.2.1. Ligand-kapılı İyon Reseptörü

Makromoleküler protein kompleksleri olan iyon kanalları membranın lipid çift tabakasını kesmekte ve bu tabaka boyunca iyonların hareketini kolaylaştırmaktadır. İyon kanalları, membranda 3-5 Å çapında delikler açar ve iyonların hareketliliği delikler vasıtasıyla hayata geçer. Bu kompleksin merkezi oyuktur ve bir hidrofilik tünel veya boşluk oluşturan polar aminoasitler ile kaplıdır (Şekil 2.8). İyon kanallarının oluşturduğu alt birimler farklı genler tarafından kodlanmaktadır. Ligand ve voltaj kapılı 2 önemli alt sınıfı bulunmaktadır [13].



Şekil 2.8. Bir iyon kanalının yapısı. Koyu çizgiler kanalın hidrofilik kısmını gösterir [12]

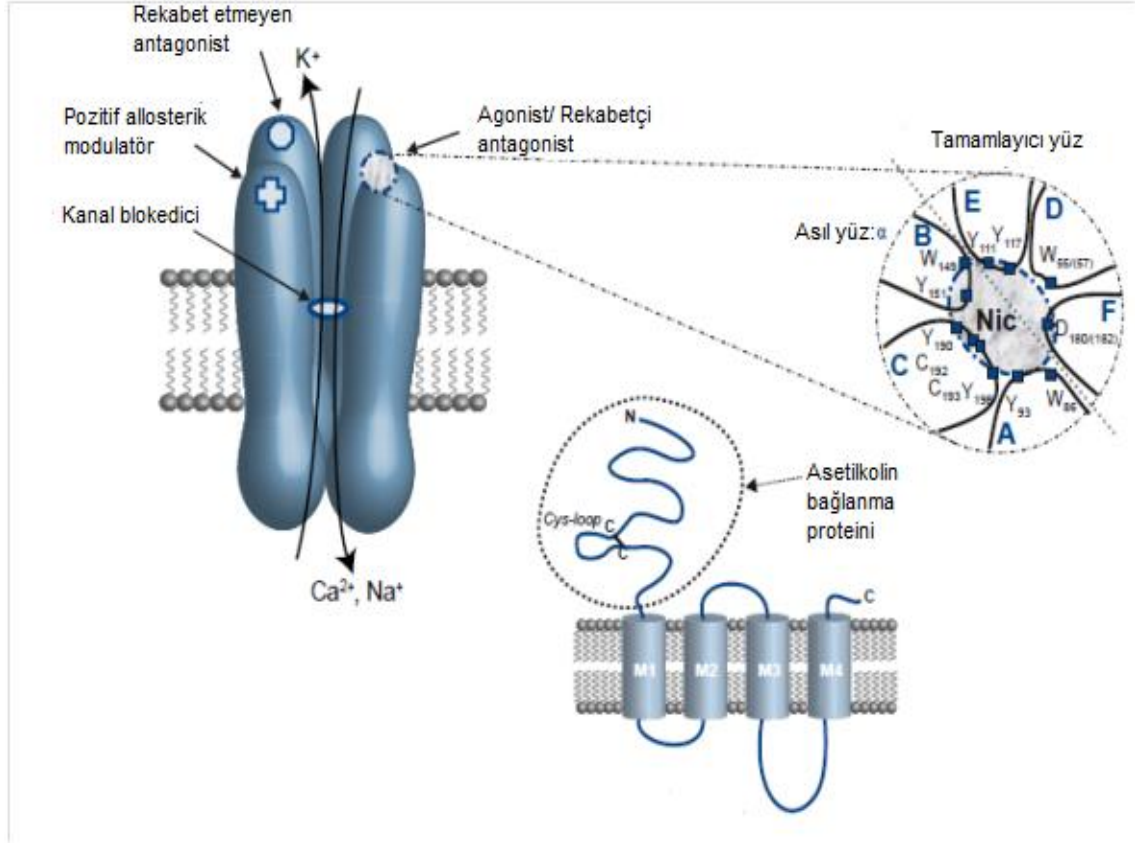
Nikotinik asetilkolin reseptörü, sigara bıraktırıcı ilaç tasarımı için oldukça önemli olan bir ligand-kapılı iyon kanalı yapısına sahip bir hedef yapıdır.

### 2.3. Nikotinik Asetilkolin Reseptörü (nAChR) ve Asetilkolin Bağlanma Proteini (AChBP)

İyon kanal reseptörü olan nAChR, **asetilkolin** ve tütün bağımlılığının ana maddesi olan **nikotin** tarafından aktive edilmektedir.

Nikotinik Asetilkolin Reseptörü (nAChR), membrana dik bir eksen etrafında düzenlenmiş **pentamerik** proteinler içerir. Her bir birim (1) 210 amino asit içeren N-terminal hücre dışı katmandan; (2) üç transmembran (M1-M3) katmandan;

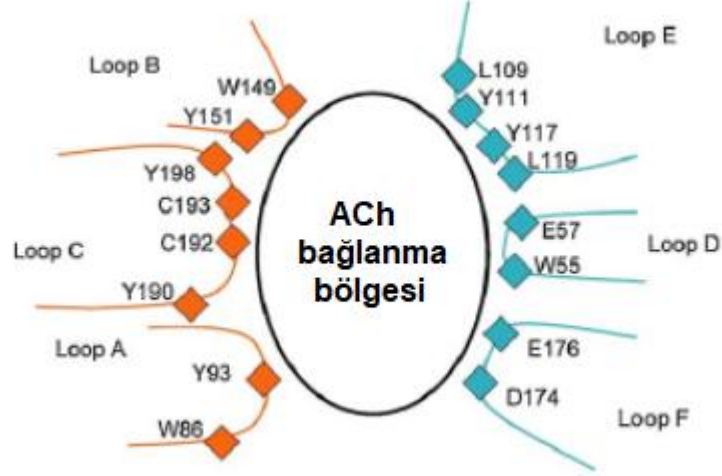
(3) dördüncü transmembran ve çeşitli hücre dışı COOH-terminal kısım içerir (Şekil 2.9.). Hücre dışı kısım, agonistler (asetilkolin ve nikotin) ve antagonistler (rekabetçi antagonistler (metililkakonitin (MLK)) için bağlanma kısmını (ortosterik kısım) içerir.



Şekil 2.9. Nikotinik asetilkolin reseptörünün yapısı (Şekil Tocris Bioscience Scientific Review serisinden tocris.com'dan alınmıştır)

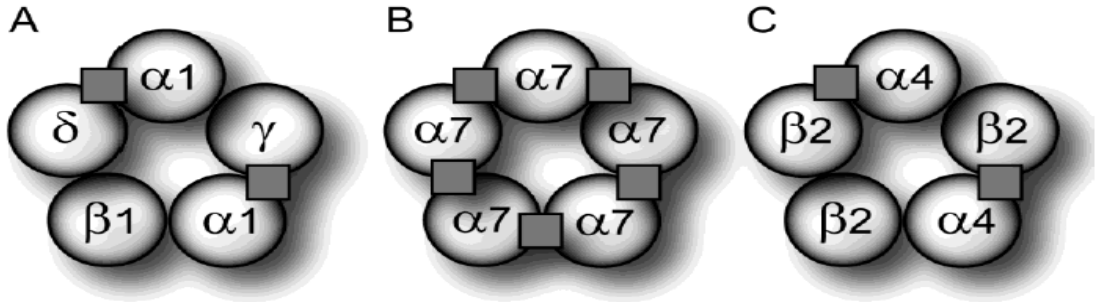
nACh reseptöründe ligand bağlanma bölgesi (LBB) iki bitişik protomer arasındaki arayüzde oluşur. Altbirimlerden biri ligand bağlanma bölgesinin asıl (principal) yüzüne, diğeri ise tamamlayıcı (complementary) yüze katkı sağlar. nACh reseptöründe asıl yüz her zaman  $\alpha$  altbirimden oluşurken, tamamlayıcı yüz ise ya  $\alpha$  ya da  $\alpha$  olmayan altbirimlerden oluşabilmektedir. Ligandlar asıl yüzeyde bulunan nikotinik reseptörlerde  $\alpha$  altbirimlerine ait olan A, B ve C loop kısımları ile iletişim kurarlar. Bağlanma bölgesinin tamamlayıcı yüzü ise loop D, E ve F loop kısımlarını içermektedir (Şekil 2.10.).





Şekil 2.10. nACh reseptörünün bağlanma kısmı

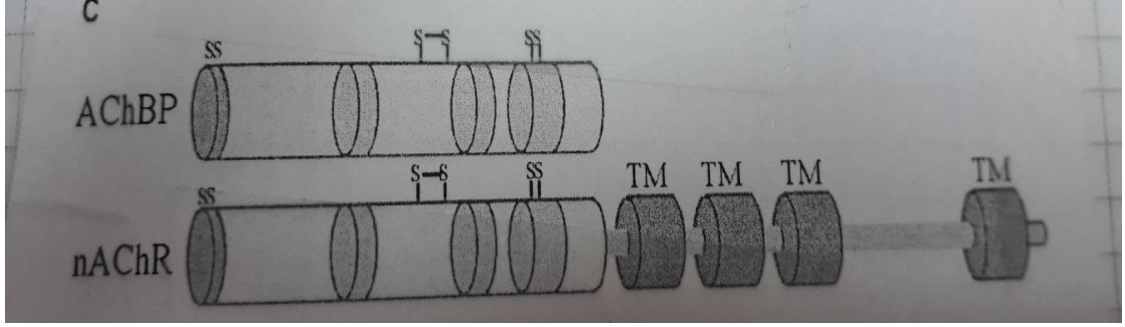
Bugüne kadar, muskarinik ( $\alpha_1$ ,  $\beta_1$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  ve  $\epsilon$ ) ve nöronal ( $\alpha_2$ - $\alpha_{10}$  and  $\beta_2$ - $\beta_4$ ) olmak üzere 17 tane nACh reseptör altbirimi tespit edilmiştir. nAChR'leri **pentamerik** proteinlerdir. Alt üniteleri  $\alpha$  (2 adet)  $\beta$   $\gamma$  ve  $\delta$  zincirleri içerir. ACh'nin bağlanma bölgeleri  $\alpha$  zincirlerde lokalizedir. 12 nöronal nAChR altbirimi **homo** ve **heteropentamer** olmak üzere farklı yapılar oluşturmaktadır (Şekil 2.11) [14].



Şekil 2.11. nAChR altbirim örnekleri: A) Heteropentamer muskarinik altbirim B) Homopentamer nöronal altbirim C) Heteropentamer nöronal altbirim [14]

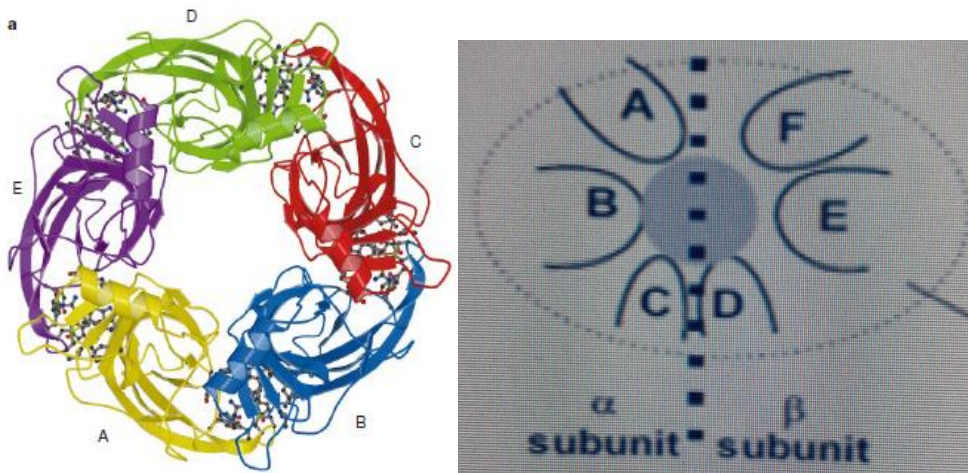
Merkezi sinir sisteminde en çok yayılan nAChR altbirimleri  $\alpha_4\beta_2$  (~90%) ve  $\alpha_7$  (~10%) altbirimleridir.  $\alpha_4\beta_2$  altbirimi asetilkolin ve nikotine olan yüksek afinitesi ile karakterize edilmektedir [14].

nACh reseptörleri, membran-bağlı proteinler oldukları ve bu nedenle kristallendirilemedikleri için yapıları konusunda ayrıntılı bilgi elde etmek zordur. Bu nedenle, AChB Proteininin yapıları çözülmüştür [15]. AChB Proteinini, nACh reseptörünün hücre dışı kısmıdır (Şekil 2.12) [16].



Şekil 2.12. Nikotinik Asetilkolin Reseptörü (nAChR) ve Asetilkolin Bağlanma Proteini (AChBP)

AChBP 210 birim uzunluğunda olup kararlı bir homopentamer oluşturmaktadır (Şekil 2.13 (a)). AChBP, nACh reseptörünün  $\alpha$  altbirimleri ile daha çok ilişkilidir. nACh reseptöründe bulunan ligand bağlanma bölgesi dahil neredeyse bütün birimler AChBP'de bulunmaktadır. Ayrıca proteine asetilkolin, nikotin, d-tüboküarin ve  $\alpha$ -bungarotoxin gibi agonist ve antagonistler bağlanabilmektedir. Bu nedenle, AChBP, nAChR altbirimlerinin bağlanma bölgesini de içeren  $\text{NH}_2$  dış uç zincirine örnek olabilir. Her bir ligand bağlanma bölgesi bir altbirimin asıl yüzünden ve ona bitişik diğer altbirimin tamamlayıcı yüzünden oluşan aralıklarda bulunmaktadır. Asıl yüz, loop A (Tyr 89), loop B (Trp 143, 145) and loop C (Tyr 185, sistein çifti Cys187-188 ve Tyr 192) birimlerinden oluşmaktadır. Bağlanma bölgesinin tamamlayıcı yüzü ise loop D (Trp 53, Gln 55), loop E (Arg 104, Val 106, Leu 112 ve Met 114) and loop F (Tyr 164) birimlerini içermektedir (Şekil 2.13 (b)) [17].



Şekil 2.13. (a) AChB Proteinin homopentamer yapısı, (b) AChB Proteinin bağlanma bölgesi

## 2.4. nACh Reseptörü ve AChB Proteinin X-ray Yapıları

nACh reseptörü membran-bağlı protein olması nedeniyle, izole edilip kristallendirilme zorlukları nedeniyle x-ray çalışmaları oldukça az sayıdadır. İnsan nACh reseptör yapısı ise henüz çözülememiştir. nACh reseptörü ile ilgili x-ray çalışmalar ise sadece elektrik balığı *Torpedo marmorata* için yapılmıştır [18,19].

Reseptörün ligandsız (pdb kod: 2BG9; R=4.0 Angstrom) ve ligand (asetilkolin) (pdb kod: 4AQ5 ve 4AQ9; R=6.2 Angstrom her ikisi için) içeren yapıların R değeri oldukça yüksektir. Yapı-temelli ilaç tasarım yöntemlerinde, atomların yerini daha doğru olarak verdiği için, R değeri 2'nin altındaki yapılar tercih edilir.

Çizelge 2.3. nACh reseptörü ve AChB proteini için protein veri bankasındaki pdb kodları

Asetilkolin bağlanma proteini					
Pdb code	Ligand		R (Å)	Tür	Yıl
	Agonist	Antagonist			
1I9B	HEPES	-	2,7	Lymnea stagnalis	2001
1OLE	Epibatidin	-	2,7	Rat	2002
1UX2	HEPES	-	2,1	Lymnea stagnalis	2009
1UW6	Nikotin	-	2,2	Lymnea stagnalis	2004
1UV6	Karbamilkolin	-	2,5	Lymnea stagsnalis	2004
2BYQ	Epibatidin	-	3,4	Aplysia californica	2005
2BYP	-	$\alpha$ -konotoksin ImI	2,07	Aplysia californica	2005
2BYR	-	Metillikakonitin (MLK)	2,45	Aplysia californica	2005
2BYN	-	-	2,02	Aplysia californica	2005
2BYS	Lobelin	-	2,05	Aplysia californica	2005
2W8F	Karbamilkolin Nikotin HEPES	-	2,5 2,2 2,1	Aplysia californica	2009
3C79	Neonikotinoidler İmidakloprid Tiyakloprid	-	2,48 1,94	Aplysia californica	2008
4AFO	Sitisin	-	2,88	Aplysia californica	2012
4AFT	Vareniklin (kısmi)	-	3,2	Aplysia californica	2012
4ALX	-	Dihidro-beta-eritroidin DH $\beta$ E	2,3	Lymnea stagnalis	2012
Nikotinik asetilkolin reseptörü					
2BG9	Ligandsız		4,0	Torpedo marmorata	2004
4AQ5	Asetilkolin		6.2	Torpedo marmorata	2012
4AQ9	Asetilkolin		6.2	Torpedo marmorata	2012

AChB Proteini, ACh reseptörünün agonist/antagonist bağlanma bölgesi olan hücre dışı kısmını içermektedir. Bu nedenle ilaç araştırmaları, bu protein yapısı kullanılarak yapılmaktadır. *Lymnaea stagnalis* (LS-AChBP), *Aplysia californica* (Ac-ChBP) ve *Bulinus truncatus* (Bt-AChBP) gibi üç farklı türden otuzdan fazla X-ray yapısı çözülmüştür (Çizelge 2.3.). Tez kapsamındaki çalışmalar agonist için 1UW6 kodlu yapı, antagonist için ise 2BYR kodlu yapı ile yapılmıştır.

## 2.5. Sigara Bağımlılığının Tedavisi

Ülke nüfusumuzun 17 milyonu sigara kullanmakta olup, her sene 100 bin insanımız sigaranın sebep olduğu hastalıklar sebebiyle yaşamını yitirmektedir. Bu nedenle sigara bıraktırma girişimleri ulusal sağlık programları arasında çok büyük önem taşımaktadır. Sigara bırakma tedavisinde önemli basamak uygun farmakolojik tedavinin planlanmasıdır. Sigaranın bırakılması için çeşitli farmakolojik agonist ve antagonist ilaç tedavileri uygun bulunmuştur. Özellikle son yıllarda antagonist ilaç tasarımı çalışmalarının arttığını belirtmek gerekir.

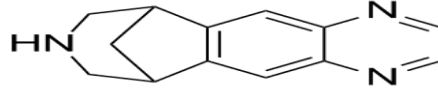
### 2.5.1. nACh Reseptör Agonistleri

Nikotik agonistler bir allosterik değişime sebep olarak nACh reseptörünün agonist bağlanma bölgesi ile etkileşime girerler. Genel olarak, agonistler yüksek afinite ile  $\alpha 4\beta 2$  nAChR altbirimine bağlanmaktadır. Yapısal olarak çeşitli doğal kaynaklardan elde edilen nikotik agonistler nikotin, sitisin, epibatidin, anatoksin A, anabasin ve anabasein içermektedir (Çizelge 2.4.) [20, 21].

Çizelge 2.4. nACh reseptör agonistleri

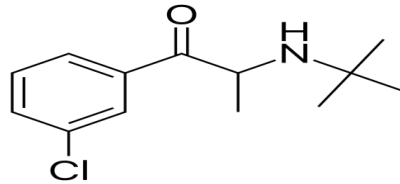
Bitki ve ya hayvan	Aktif madde	K <sub>i</sub> (nM)
<b>Tütün</b> ( <i>Nicotiana tabacum</i> )	Nikotin	0.6-10
<b>Sarı salkım</b> ( <i>Cytisus laborinum</i> )	Sitisin	0.012-1.5
<b>Deniz yosun türü</b> ( <i>Anabaena flos aquae</i> )	(±)Anatoksin A	1.9-3.5
<b>Amazon kurbağası (deri ekstratı)</b> ( <i>Epidobates Tricolor</i> )	(±)Epibatidin	0.042-0.15
<b>Deniz solucanı ve aphaenogaster karıncası</b> ( <i>Nemertines ve Aphaenogaster ants</i> )	Anabasein	32
<b>Yabani tütün</b> ( <i>Nicotiana glauca</i> )	Anabasin	260-520
<b>Lobelya, hint tütünü</b> ( <i>Lobelia inflata</i> )	Lobelin	1.5-16

**Vareniklin (Champix)** Pfizer, Inc. tarafından geliştirilmiş ve FDA tarafından 2006 yılında bir sigara bırakma ilacı olarak onaylanmıştır (Şekil 2.14.) [22]. Vareniklin sitisinin bir sentetik analogudur. Sitisin ise **Cytisus laborinum** bitkisinden izole edilmektedir. Vareniklin sadece nACh reseptörü  $\alpha_4\beta_2$  altbiriminin kısmi agonisti olarak görev yapmakla kalmayıp, aynı zamanda  $\alpha_3\beta_2$ ,  $\alpha_6\beta_2$  altbirimleri ile zayıf etkileşime girmektedir ve  $\alpha_7$  altbiriminin tam bir agonistidir. 2008 yılında FDA tarafından, vareniklin kullanan hastaların depresif ruh hali, intihar düşüncesi ve intihara teşebbüs gibi ciddi nöropsikiyatrik semptomlar yaşadıklarını gösteren bir halk sağlığı tavsiyesi bildirisi yayınlanmıştır.



Şekil 2.14. Vareniklin yapısı

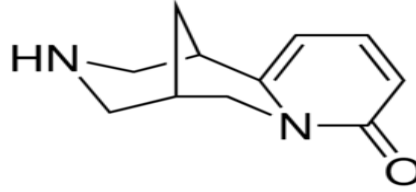
**Bupropion (Zyban)**, depresyon tedavisinde etkili olan ve özellikle benzeri bulguların bulunduğu sigara hastalarında sıklıkla kullanılmaktadır (Şekil 2.15.). En yaygın yan etkileri arasında baş ağrısı, uykusuzluk, bulantı ve ağız kuruluğu bulunmaktadır. İlk olarak antidepresan ajan olarak pazarlanan bupropionun nikotin replasman tedavisine kıyasla daha fazla, ancak varenikline göre daha az etkili olduğu görülmüştür. Fakat 2009 yılında, FDA bildirisinde bupropion ve vareniklinin ciddi nöropsikiyatrik bulgulara (davranış değişiklikleri, depresif duygudurum, intihar düşüncesi ve intihar girişimi) sebep olabilme tehlikesinden dolayı kara kutu listesine alınmasını bildirmiştir.



Şekil 2.15. Bupropion yapısı

**Sitisin (Tabex), Cytisus laborinum** bitkisinden izole edilen Avrupa'da **Tabex** ticari adı altında sigarayı bırakma ajanı olarak satılan doğal bileşendir (Şekil 2.16.). Vareniklin sitisinin bir sentetik analogudur. Sitisin, 2006 yılında doğu Avrupa'da sigara bıraktırma ilacı olarak onaylanmış ancak şu anda

Amerika Birleşik Devletleri'nde kullanılmamaktadır. Sitisin, Avrupa'da nikotin bağımlılığı tedavisinde uzun süredir bir etkinliğe sahiptir ve varenikline benzer şekilde, nACh reseptörü  $\alpha 4\beta 2$  altbiriminin kısmi agonistidir [23].



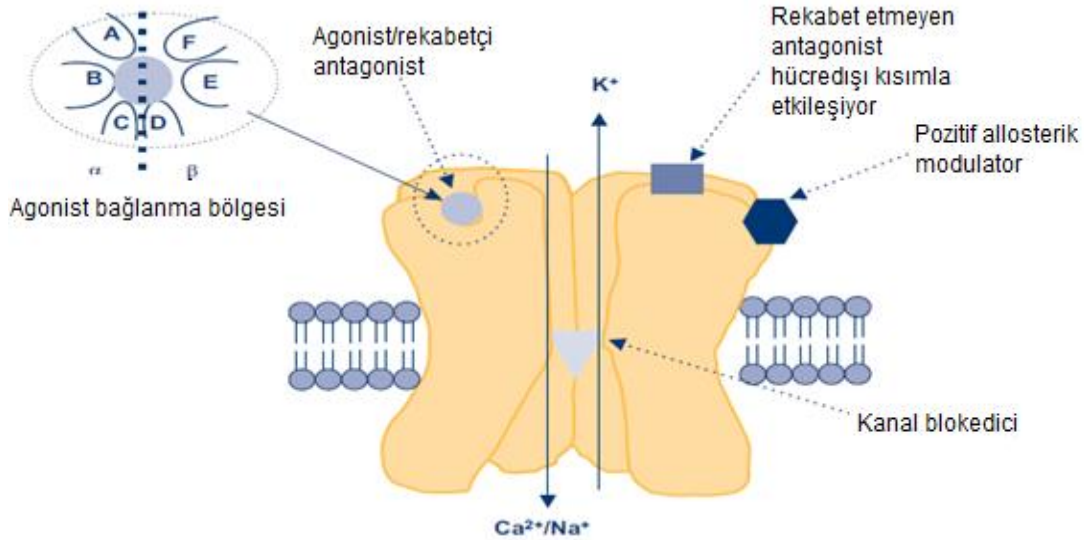
Şekil 2.16. Sitisin yapısı

Çizelge 2.5. İlaç olarak kullanılan nACh reseptör agonistleri

Onay Yılı	2006	2006	1997
İlaç* (Ticari adı)	Vareniklin (Champix)	Citisin (Tabex)	Burpropion (Zyban)
Bitki	Sentetik	Cytisus laborinum (Sarı salkım)	Sentetik

### 2.5.2. nACh Reseptör Antagonistleri

Kısmi agonist Vareniklin'in kullanımındaki ciddi yan etkiler nedeniyle, sigara-bıraktıracı ilaç araştırmalarında ilgi son yıllarda nikotinic reseptör antagonistlerine yönelmiştir [24].



Şekil 2.17. Agonist, rekabetçi ve rekabetçi olmayan antagonist, allosterik modulator bağlanma bölgeleri

nACh reseptörü ligandların bağlanabileceği birkaç bağlanma bölgesi içermektedir. Agonistler ve rekabetçi antagonistler dış zincirdeki agonist bağlanma yeri için rekabet ederler. Rekabet etmeyen antagonistler ve allosterik

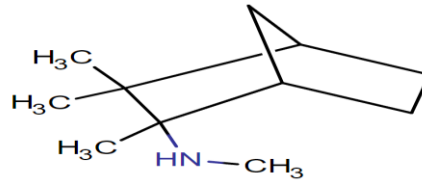
modulatorlar ise agonist bağlanma bölgesinden farklı bir yere bağlanmaktadır (Şekil 2.17.) [20].

Agonistler gibi, rekabetçi antagonistler de doğal kaynaklardan elde edilmektedir [21]. Antagonistler Çizelge 2.6. gösterilmiştir.

Çizelge 2.6. nACh reseptör antagonistleri

Bitki ve ya hayvan	Aktif madde	K <sub>i</sub> (nM)
<b>Rekabetçi antagonistler</b>		
<b>Kürar</b> ( <i>Chondrodendron tomentosum</i> )	d-tubokürarin (d-TC)	1000-25000
<b>Mercan ağacı tohumları</b> ( <i>Erythrina seeds</i> )	Dihidro-beta-eritroidin (DHβE)	13,9-1900
<b>Tayvan yılanının zehiri</b> ( <i>Bungarus multicinctus</i> )	α-Bgt	>1000
<b>Hezaren veya saray çiçeği</b> ( <i>Delphinium species, Ranunculaceae</i> )	Metillikakonitin (MLK)	3700-6100
<b>Conus yılan zehri</b>	α-conotoxin İmı	-
<b>Rekabet etmeyen antagonistler</b>		
Sentetik yolla elde edilirler	Hexametonium	28000- >1000000
	Dekametonium	460-120000
	<b>Mekamilamin</b>	822000- >1000000
	Klorisondamin	686000

**Mekamilamin (Inversine)**, ilk ağızdan alınabilen antihipertansif ilaçtır, fakat son zamanlarda antihipertansif dozlarda yaygın yan etkileri olduğundan hipertansiyon için çok az kullanılmaktadır (Şekil 2.18.). Bununla beraber, yeni klinik çalışmalarda mekamilaminin nikotinin merkezi ve çevresel tesirini engellemek için çok daha düşük dozlarda etkili olduğu gösterilmektedir [25].



Şekil 2.18. Mekamilamin yapısı

Çizelge 2.7. İlaç olarak kullanılan nACh reseptör antagonisti

Onay Yılı	İlaç (Ticari adı)	Etkileşim	Bitki
1950	Mecamylamine (Inversine)	Tersinir (rekabet- etmeyen)	Sentetik

### 2.5.3. Sigara Bağımlılığı Tedavisinde Kullanılan Bitkiler

Sigara, tüm dünyada bir çok hastalıkların ve erken ölüm vakalarının temel nedenlerinden biridir. Tüm bireylere sigara bıraktırmayı kolaylaştırmak için, bazı araştırmacılar çeşitli bitkilerin potansiyel kullanımına bakmaktadır. Bunun sonucunda sarı kantaron, yulaf, karabaş otu, karabiber, çörekotu ve lobelya bitkilerinin içerdikleri bazı fitokimyasalların sigara bağımlılığında etkili olabileceği düşünülmektedir (Çizelge 2.8.) [26].

Çizelge 2.8. Bitkiler ve içerikleri

Bitki	Aktif maddeler
<b>Sarı kantaron</b> (St.John's Wort, <i>Hypericum perforatum</i> )	Flavonoidler: Kuersetin, Kuersitrin (kuersetin-3-L-ramnoz), İzokuersitrin (kuersetin-3-O-glukoz), Hiperozid (kuersetin-3-O-galaktoz), Rutin (kuersetin-3-O-rutinoz), Mikuelianin (kuersetin-3-glukoronid), Mirisetin, Kaemferol, Luteolin, Astilbin (taksifolin-3-O-ramnoz), Katekin (D-katekin), Epikatekin (L-katekin)
<b>Yulaf</b> ( <i>Avena sativa</i> )	Antranilik asit, kafeik asit
<b>Lobelya, Kızılderili tütünü</b> ( <i>Lobelia inflata</i> )	Lobelin
<b>Karabaş otu</b> ( <i>Lavandula stoechas</i> )	Kamfor, karvakrol, menton, mentol
<b>Kara biber</b> (Black pepper, <i>Piper nigrum</i> )	Kamfor, limonen
<b>Çörekotu</b> ( <i>Nigella sativa</i> )	Karvakrol, karvon, timol, timokinon



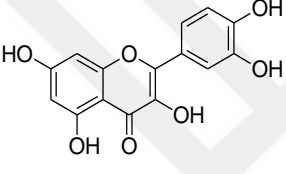
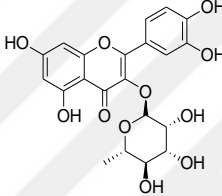
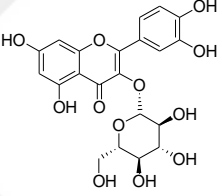
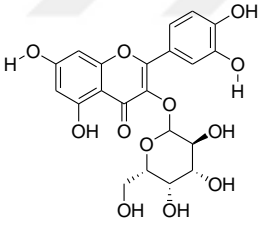
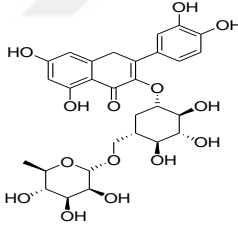
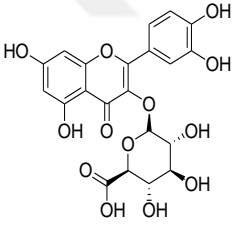
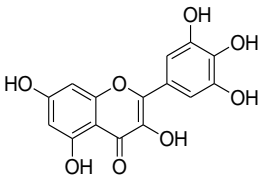
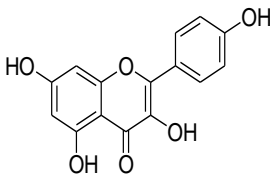
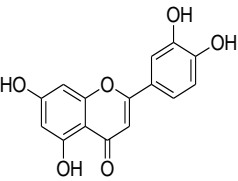
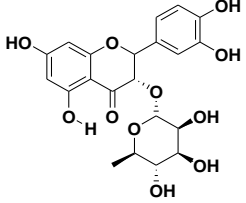
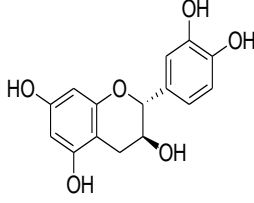
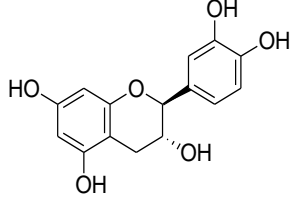
### 2.5.3.1. Sarı Kantaron (*Hypericum perforatum*)

Sarı kantaron (*Hypericum perforatum*; St. John's Wort), *Hypericaceae* ailesinin Avrupa ve Asyaya özgü, Amerikada da bilinen yıllık otsu bir üyesidir (Şekil 2.19.).



Şekil 2.19. Sarı Kantaron

Çizelge 2.9. Sarı kantaron flavonoidlerinin molekül yapıları

 <p><b>Kuersetin</b></p>	 <p><b>Kuersitrin</b> (kuersetin-3-L-ramnoz)</p>	 <p><b>İzokuersitrin</b> (kuersetin-3-O-glukoz)</p>
 <p><b>Hiperozid</b> (kuersetin-3-O-galaktoz)</p>	 <p><b>Rutin</b> (kuersetin-3-O-rutinoz)</p>	 <p><b>Mikuelianin</b> (kuersetin-3-glukoronid)</p>
 <p><b>Mirisetin</b></p>	 <p><b>Kaemferol</b></p>	 <p><b>Luteolin</b></p>
 <p><b>Astilbin(taksifolin-3-O-ramnoz)</b></p>	 <p><b>Katekin (D-katekin)</b></p>	 <p><b>Epikatekin (L-katekin)</b></p>

Sarı kantaron, anksiyete, sigara bağımlılığı, hafif ve orta şiddetli depresyon tedavilerinde geleneksel olarak kullanılmaktadır. Bitkinin içerisinde flavonoidler de dahil olmak üzere 10'dan fazla bileşen grubu bulunmaktadır [27].

Flavonoid grubu içerisindeki bileşenler; **astilbin**, **epikatekin (L-katekin)**, **hiperozid**, **izokuersitrin**, **kaemferol**, **katekin (D-katekin)**, **kuersetin kuersitrin**, **luteolin**, **mikuelianin**, **mirisetin** ve **rutin**'dir (Çizelge 2.9.) [28].

Sarı kantaron bitkisi flavonoid kaynağı açısından zengin bir bitkidir [29]. Kantaron bitkisinin sigara bağımlılığı tedavisi için potansiyel ilaç olma özelliği klinik çalışmalar ile araştırılmaktadır [5].

### 2.5.3.2. Yulaf (*Avena sativa*)

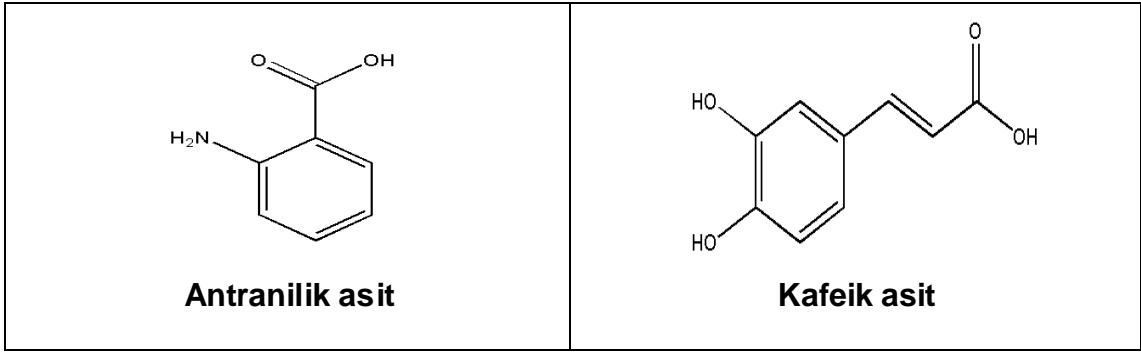
Yulaf binlerce yıldır kuzey yarımkürede yetiştirilen bir tahıldır (Şekil 2.20). Besin ve yem olarak kullanımının öneminden başka geleneksel halk tıbbında çeşitli hastalıklara karşı bir ilaç olarak da kullanılmaktadır. Yulafın genel olarak romatizma, gut, karaciğer ve deri hastalıklarının tedavisinde etkili olduğu düşünülmektedir [30]. Literatürde yulafın aynı zamanda sigara bağımlılığında etkisinin olduğunu gösteren bir çalışma vardır. Günde ortalama 20 sigara tüketen yüz hastaneye yatırılmamış sigara içicisi, *Avena sativa*'nın alkollü ekstraktı ile tedavi edilmiştir. Çalışma iki taraflı yürütülmüştür [31].



Şekil 2.20. Yulaf (*Avena sativa*)

Yulaf avenantramitler, **antranilik asit**, 5-hidroksiantranilik asit, 5-hidroksi-4-metoksiantranilik asit, **kafeik asit**, ferulik asit, hidroksisinnamik asit, truksinik asit ve flavonoidleri içermektedir (Çizelge 2.10.) [32].

Çizelge 2.10. Yulaf bitkisi fitokimyasallarının molekül yapıları



### 2.5.3.3. Lobelya, Kızılderili tütünü (*Lobelia*, *Lobelia inflata*)

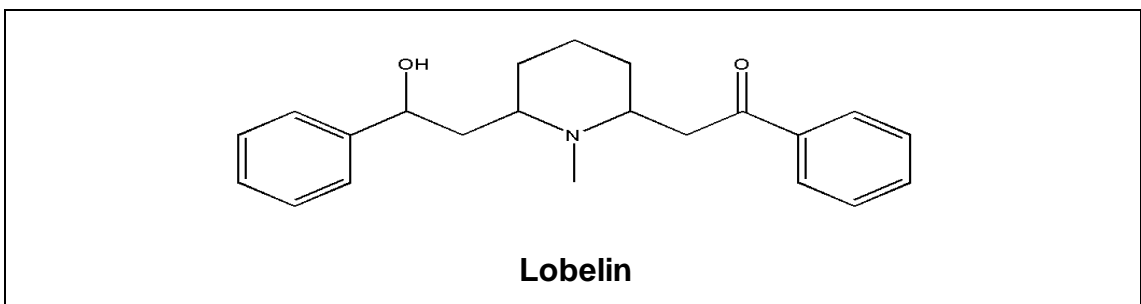
*Lobelia inflata* zengin bir geçmişe sahiptir (Şekil 2.20.). Çayırarda, atıklarda, tarlalarda ve açık ormanlarda yetişen Kuzey Amerika'ya özgü bir bitkidir. *Lobelia inflata* tıbbi olarak önem taşıyan 50'den fazla türe sahip *Lobelia* ailesinin en önemli türlerinden biridir. *Lobelia inflata* 20'den fazla piperidin alkaloidi içermektedir [33].



Şekil 2.21. Kızılderili tütünü, *Lobelia inflata*

**Lobelin**, bu bitkinin biyolojik olarak en aktif alkaloididir (Çizelge 2.11.). 1900'lerin başında sentezlenmiştir ve nAChR'in kısmi agonisti olarak sınıflandırılmıştır. 1930'lu yıllarda ilk defa sigara bırakımına yardımcı olmak için kullanılmıştır, o zamandan beri çeşitli dozlarda ve formülasyonlarda test edilerek sigara bağımlılığı tedavisinde kullanılmaktadır [34].

Çizelge 2.11. Lobelin molekül yapısı



#### 2.5.3.4. Karabaş otu (*Lavandula stoechas*)

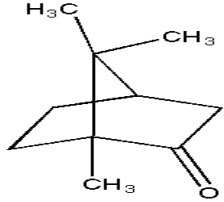
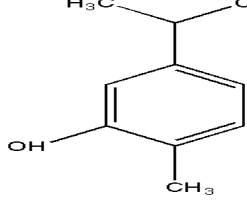
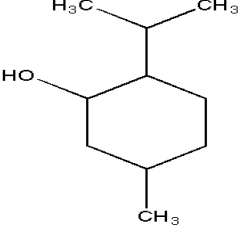
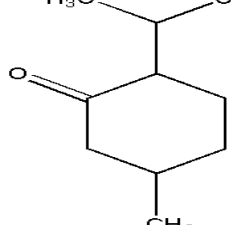
Karabaş otu (*Lavandula stoechas*) Akdeniz bölgesinde yaygın bir şekilde yetişen bitkidir (Şekil 2.21.). Geleneksel tıp, bu bitkiyi balgam söktürücü, antispazmodik, yağ salgılayıcı, yara iyileştirici özelliklerinden dolayı kullanmaktadır. Ayrıca bitkiden elde edilen yağların göğüs hastalıklarına, baş ağrılarına karşı etkili olduğu ileri sürülmektedir [35].



Şekil 2.22. Karabaş otu (*Lavandula stoechas*)

Karabaş otunda bulunan kamfor bileşiğinin, nACh reseptörünü inhibe ettiğine dair deneysel bir çalışma bulunmaktadır. Aktif bileşen olarak borneol ya da kamfor içeren sigara bağımlılığında adjuvan (ilaç etkisini artırmak için yapısına eklenen diğer madde) olarak kullanılan nikotinic asetilkolin reseptörü antagonisti olarak bulunmuştur [3]. Karabaş otu, **kamfor, karvakrol, mentol, menton** v.b. bileşenler içermektedir (Çizelge 2.12.).

Çizelge 2.12. Karabaş otu bitkisi fitokimyasallarının molekül yapıları

 <p><b>Kamfor</b></p>	 <p><b>Karvakrol</b></p>
 <p><b>Mentol</b></p>	 <p><b>Menton</b></p>

### 2.5.3.5. Karabiber (Black pepper, *Piper Nigrum*)

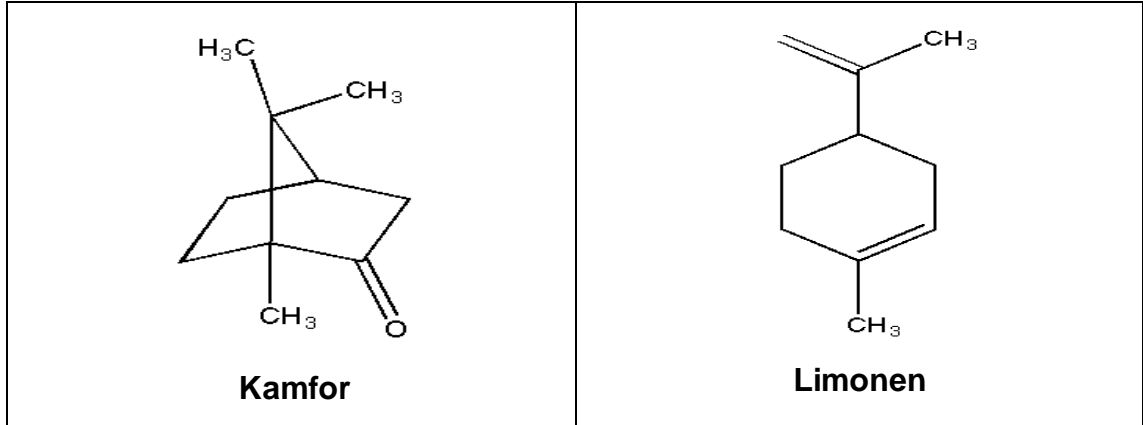
Karabiber (*Piper nigrum*) keskin kokusundan dolayı baharatların kralı olarak bilinmektedir (Şekil 2.22.). *Piperaceae* ailesinin en yaygın türlerinden olan karabiber Hindistanın tropikal ve subtropikal bölgelerine özgü bir bitkidir. Aktif bileşeni piperin olan karabiber birçok farklı amaç için kullanılmaktadır [36].



Şekil 2.23. Karabiber (*Piper nigrum*)

Rose ve ark., mentol ürünlerine ve plaseboya kıyasla, sigara bağımlılığında karabiber buharının daha fazla yararlı olabileceğini araştırmışlardır. Karabiber buharı ile teneffüs ettikten üç saat sonra sigara isteğinin belirgin bir şekilde azaldığını gözlemlemişler (Çizelge 2.13.) [37].

Çizelge 2.13. Karabiber bitkisi fitokimyasallarının molekül yapıları



### 2.5.3.6. Çörekotu (*Nigella sativa*)

Zengin tarihsel ve dini geçmişe sahip olan mucizevî Çörekotu (*Nigella sativa*) bitkisinin birçok araştırmanın sonucunda geniş farmakolojik etkisinin bulunduğu ve çeşitli tıbbi bitkiler arasında yer aldığı belirtilmektedir (Şekil 2.23.). *Nigella sativa*, Güney Avrupa, Kuzey Afrika ve Güneybatı Asya'ya özgü olup, Orta

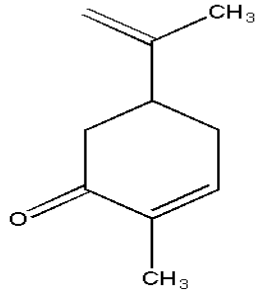
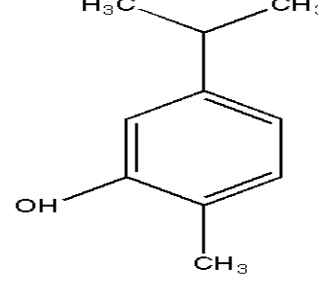
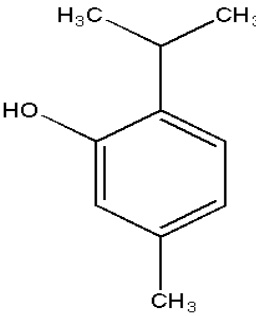
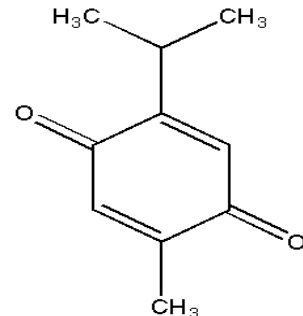
Doğu Akdeniz bölgesi, Güney Avrupa, Hindistan, Pakistan, Suriye, Türkiye, Suudi Arabistan gibi dünyanın pek çok ülkesinde yetiştirilmektedir [38].



Şekil 2.24. Çörekotu (*Nigella sativa*)

Literatürde bağımlılık tedavisi için çörekotu bitkisi *in vivo* çalışmalarında kullanılmıştır, sigara bağımlılığının tedavisinde de etkisi araştırılmaktadır (Çizelge 2.14.) [39].

Çizelge 2.14. Çörekotu bitkisi fitokimyasallarının molekül yapıları

 <p><b>Karvon</b></p>	 <p><b>Karvakrol</b></p>
 <p><b>Timol</b></p>	 <p><b>Timokinon</b></p>

## 2.6. Bilgisayar-Destekli İlaç Tasarımı

İlaç tasarımı, biyolojik yapılar ve hedef moleküller temel alınarak yeni ilaç geliştirilmesi için izlenen adımlardır. İlaç tasarımı kapsamında değişik ilaç moleküllerinin tasarımı, bu moleküller biyolojik yapılara bağlanarak ve onlarla etkileşerek farmakolojik etkilerin oluşmasını sağlar. Bu tasarımın modern uygulaması ise bilgisayar yardımıyla gerçekleşir ve bilgisayar-destekli ilaç tasarımı olarak bilinir. Bu yöntemi kullanarak, ilaçlarla ilgili biyolojik aktifiğe sahip molekülleri ve aktif molekül parçalarını araştırır. Amaç, belirlenen küçük molekülün hedefe bağlanıp bağlanmadığını kontrol etmek ve farmakolojik etkiye neden olup olmadığını araştırmaktır. Bu çalışmalar için birçok program bulunmaktadır [40].

## 2.7. Moleküler Kenetlenme (Doking)

Moleküler kenetlenme programı tahminde bulunan protein aktif bölgesine ligandın bağlanma konformasyonunu ve bağlanma anındaki yönelme şeklini tahmin etmeyi içerir. Bir başka ifadeyle, moleküler kenetlenme (doking) işlemi ligand yapısı ile protein yapısı arasındaki bağlanma anındaki etkileşimleri ve hareketleri inceleyen bir programdır. Kenetlenme işlemi için ligand ve proteinlere ihtiyaç duyulur. Kenetlenme programı 3 boyutlu yapılardan yola çıkarak ligandı proteinin hedeflenen bölgesine yerleştirir. Yerleşme sonucunda meydana gelen enerji terimlerini sıralar.

Günümüzde kenetlenme araştırmaları yönünde birçok program bulunmaktadır. Bu programların farklılık göstermesi kenetlenme pozunu belirlemede kullanılan algoritma ve skorlama fonksiyonlarının farklılığından kaynaklanmaktadır. Kenetlenmede esneklik önemli bir terim olup, incelenen kimyasal yapının bütün konformasyonlarını içeren hesaplamaları gerçekleştirmektedir.

Günümüzdeki kenetlenme programlarının çoğunluğu ligand yapısını esnek, protein yapısını ise esnek olmayan yapı şeklinde ele almaktadır [41].

Deneysel değerlerle karşılaştırmak ve aktiviteyi öngörmek için doking programları  $\Delta G_B$  (bağlanma enerjisi) değerini belirlemektedir. Bu bağlanma enerjisinden yola çıkılarak aşağıdaki denklemler ile  $K_i$  sabitine ulaşılabilmektedir.

Bağlanma ve inhibasyon zıt yönlerde meydana gelmektedir. Bu yüzden denklemdaki negatif işareti kaldırılır:

$$\Delta G_B = RT \ln K_i \text{ olur.}$$

$$\Delta G_B / (RT) = \ln K_i$$

$K_i = \exp(\Delta G_B / (RT))$  formülünden  $K_i$  değeri elde edilir [42].

## 2.8. Sanal Ligand Taraması

Sanal Ligand taraması ilaç keşif araştırmalarında günümüzde sıklıkla kullanılmakta olan, *in silico* bir tekniktir. Geniş kimyasal yapılar içeren kütüphanelerin ve veri tabanlarının taranması ile hedef yapı olan reseptöre en uygun inhibitör olabilecek yapıyı tanımlar. Çok uzun süreli çalışmalar ve oldukça büyük bütçeler gerektiren yüksek çıktılı tarama gibi kimyasal metodlarla karşılaştırıldığında oldukça avantajlı bir yöntemdir. Walters ve arkadaşları sanal ligand taramasını “çok büyük miktarda bileşik içeren kimyasal kütüphaneleri bilgisayar programları kullanarak otomatik olarak taramak” olarak tanımlamıştır [43]. Tanımın da belirttiği gibi, sanal ligand taraması metodları oldukça büyük kimyasal uzaydan hedef yapıya uygun sentezlenebilir ve test edilebilir bileşiklerin nasıl fitrelenebileceği üzerine yoğunlaşır. Bütün kimyasal evreni taramak çok zor bir işlem olduğundan sanal ligand taraması için bir takım tarama kriterleri gerekmektedir.

Sanal taramada, hedef proteinin detaylı kristalografik yapıya sahip olması çok önemlidir. Eğer proteinde yüksek ayırıcılığa sahip bağlanma bölgesi bulunmuyorsa, kenetlenme ya da skor sonuçları doğru olmayacak ve yanlış sonuçlar açığa çıkacaktır. Genellikle 1.5 Å'nun altındaki değerler yüksek ayırıcılığı ifade eder [44].

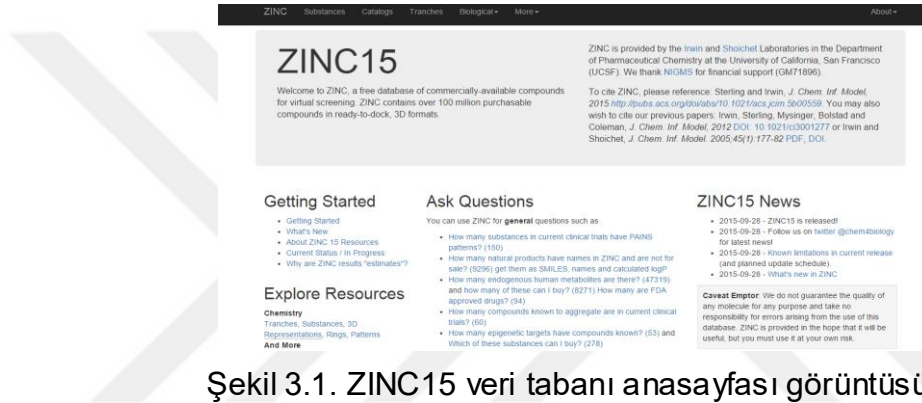


## 3.MATERYAL VE METOTLAR

### 3.1. KULLANILAN YAZILIMLAR

#### 3.1.1. ZINC15 veritabanı

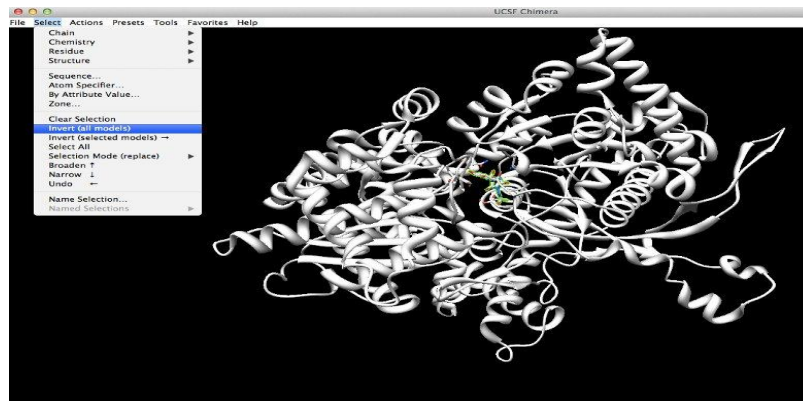
ZINC15 veritabanı 100 milyonun üzerinde satın alınabilir ve moleküler kenetlenme işlemine hazır bileşik içermektedir (Şekil 3.1.). Veritabanı üzerinden ücretsiz olarak indirilebilen yapılar ticari olarak da satın alınabilmektedir. Irwin ve Shoichet laboratuvarları tarafından geliştirilen veritabanı kullanılırken çeşitli parametrelere göre indirme işlemleri yapılabilmektedir. Bunun yanında referans bir bileşik varsa bu bileşiği siteye yükleyerek benzer karakterdeki yapılar tespit edilebilmektedir. <http://zinc15.docking.org/> adresinden siteye ulaşılabilir.



Şekil 3.1. ZINC15 veri tabanı anasayfası görüntüsü

#### 3.1.2. UCSF Chimera

Moleküler görüntüleme ve modelleme programı olan UCSF Chimera, "UCSF Computer Graphics Laboratory" tarafından hazırlanmıştır. Bu program görsel bilgi kaynağı ve biyohesaplama bilgilerini WHO tarafından geliştirmektedir [45]. Bu çalışmada protein veri bankasından elde edilen birleşik halde bulunan ligand ve protein yapılarını ayırmak kısmında program kullanılmıştır (Şekil 3.2.).



Şekil 3.2. Chimera programı görüntüsü

### 3.1.3. AutoDock Vina

*AutoDock Vina*, AutoDock ile aynı laboratuvar tarafından 2010 yılında geliştirilmiş bir doking programıdır. *AutoDock Vina*'nın algoritması birçok yerel ve global optimizasyon yaklaşımının bir kombinasyonudur. *AutoDock Vina*, AutoDock'a göre iki kat daha hızlı doking yapabilmektedir. Ancak programın grafiksel kullanıcı ara yüzünün bulunmaması ve programın temel olarak Linux platformu için tasarlanmış olması doking prosedürünün parametrizasyonunu karmaşık hale getirmektedir.

Bunun yanı sıra, *AutoDock Vina* ile doking hesaplaması için bir konfigürasyon dosyası hazırlanmalıdır. Bu konfigürasyon dosyası, ligand ve hedef molekül bilgileri ile birlikte doking yapılacak alan merkezinin kartezyen koordinatlarının ve skorlama fonksiyonu parametrelerinin bilgilerini içeren dosyadır.

Tüm doking programlarının genelinde kullanıldığı gibi sistemin standart kimya potansiyellerinin yaklaştığı bir girişim olarak kabul edilen bir skorlama fonksiyonu kullanılır. *AutoDock Vina*'nın kullandığı skorlama fonksiyonu ise Xscore fonksiyonunun geliştirilmiş halidir. Xscore lineer regrasyona dayanan ve sadece moleküliçi etkileşimleri göz önünde bulunduran bir fonksiyon iken Vina bu fonksiyonun bazı terimlerini ve parametrizasyonlarını geliştirerek deneysel verilere daha yakın sonuçlar elde edilebilen, moleküliçi etkileşimlerin yanı sıra molekül dışı etkileşimleri de hesaba katan bir skorlama fonksiyonu kullanmaktadır.

6-12 van der Waals etkileşimleri ve Coulomb enerjileri gibi fizik tabanlı terimler skorlama fonksiyonlarında kullanıldığında, deneysel enerji ve serbest enerji arasındaki farkları açıklamak için önemli ölçüde skorlama fonksiyonunda değişiklik yapmaya ihtiyaç duyarlar. Bu nedenlerden dolayı kullanılan skorlama fonksiyonunda, hidrofobik atomlar arasındaki hidrofobik etkileşimler ve hidrojen bağlarındaki tüm atom çiftleri için sterik etkileşimlerin toplam etkisi göz önünde bulundurularak programın konfigürasyon dosyasına skorlama fonksiyonuna ait bu parametrelerinde eklenmesi gerekebilir [46].

### 3.1.4. Raccoon

Raccoon yazılımı, AutoDock Vina görsel taraması için grafik arayüz hazırlığının yapılmasını sağlar. Çalışmada ZINC15 veritabanından indirilen ilaç adayı olabilecek .pdbqt ve .mol2 formatlarındaki dosyalardan ligandların hepsinin

ayrılması ve doking çalışmasına hazır hale getirilmesi için kullanılmıştır. <http://autodock.scripps.edu/resources/raccoon> adresinden ücretsiz olarak bu yazılım elde edilebilir.

### 3.1.5. Cygwin

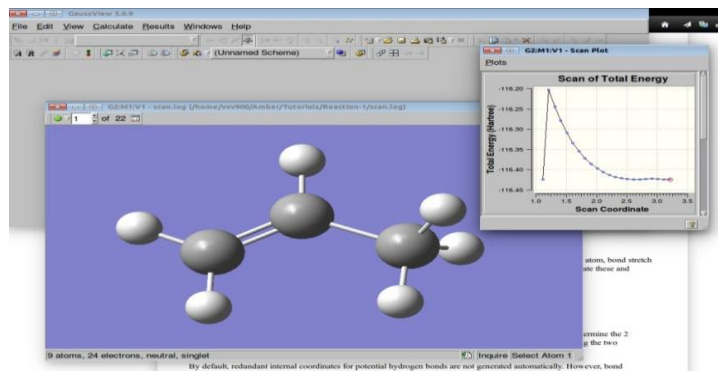
Microsoft Windows işletim sistemi üzerinde çalışan bir UNIX simülatörüdür ve asıl hedefi UNIX, Linux, BSD veya benzeri POSIX tabanlı sistemlerde bulunan yazılımların Windows işletim sisteminde çalışmasına olanak sağlamaktır. Bash ise işletim sistemi için komut dili yorumlayıcısıdır.

Cygwin, <http://www.cygwin.com/> adresinden temin edilebilir. Çalışmada *AutoDock Vina* programının Windows temelli bilgisayarda çalıştırılması ve sanal ligand taramasının gerçekleştirilmesinde kullanılmıştır.

### 3.1.6. Gaussian09

Gaussian09, Gaussian elektronik yapı programlarının en sonucusudur. Çok farklı şartlar altında yer alan ve geniş bir yelpaze oluşturan moleküler sistemleri modellemek için tasarlanmış olan, kuantum mekaniğinin temel yasalarını kullanarak hesaplamalar yapan bir yazılımdır. Gaussian kimya ile ilgili gelişmiş ve yeni gelişmekte olan farklı dallarda araştırma yapmak, moleküller üzerinde ve deneysel olarak incelenmesi imkansız veya çok zor olan bileşikler de içeren kesin veya potansiyel reaksiyonlar üzerinde işlemler yapmak için kullanılmaktadır [47].

Ayrıca kullanıcı arayüzü olarak Gaussian 5.0 View kullanılmaktadır (Şekil 3. 4.). Bu ara yüz sayesinde molekül çizimleri yapılabilir. Tez çalışmasında altı bitkide bulunan 23 fitokimyasalın optimize edilerek doking işlemine hazırlanması aşamasında kullanılmıştır.



Şekil 3.3. Gaussian 5.0 View kullanıcı ara yüzünün kuersetin molekülü ile görünümü

### 3.1.7. Chemoffice

Cambridgesoft tarafından geliştirilen Chemoffice yazılımı özellikle kimya akademisyenlerine hitap eden bir yazılımdır. İçerdiği Chemdraw yazılımı ile kimyasal moleküllerin şekilleri kolayca çizilebilir. Chem3D yazılımıyla da bu moleküller 3 boyutlu olarak kaydedilebilir ve moleküllerin enerji minimizasyonu yapılabilir. Ayrıca Gaussian yazılımı için giriş dosyaları da Chem3D yazılımıyla hazırlanabilir. Chemoffice ücretli yazılım olup lisans bilgilerine <http://www.cambridgesoft.com/software/chemoffice> internet adresinden ulaşılabilmektedir [48].

### 3.2. ÇALIŞMA AŞAMALARI

Bu tez çalışması 3 aşamada gerçekleştirilmiştir:

1. *AutoDock Vina* Programının **1UW6** ve **2BYR** kodlu AChBP için validasyonu.
2. *AutoDock Vina* kullanılarak seçilen **1UW6** ve **2BYR** kodlu AChBP ile çörekotu, karabaş otu, kara biber, lobelya, sarı kantaron ve yulaf bitkilerindeki 23 fitokimyasalın tam seri halinde ilk kez doking hesaplamalarının yapılması.
3. Sanal ligand taraması ile AChBP antagonisti olabilecek ilaç adaylarının bulunması.

#### 3.2.1. Bitkilerdeki Fitokimyasal Yapıların Hazırlanması

Çörekotu, karabaş otu, kara biber, lobelya, sarı kantaron ve yulaf bitkilerinin içerisinde bulunan yapılar PUBCHEM sitesinden .sdf formatı ile indirilmiştir [49]. Bu dosyalar Gaussian09 programında açılarak .gjf dosyasına çevrilmiş ve optimize edilmiştir. Optimize işleminde DFT/B3LYP/6-31G(d,p) temel seti kullanılmıştır.

Optimizasyon işleminin amacı, en kararlı hal (minimum enerjili) konformasyonu bulmaktır. Fakat burada bilinmesi gereken önemli nokta, en kararlı hal konformasyonun doking sonucunda bulunacak en uygun konformasyon ile aynı olması gerekmediğidir. Doking için konformasyonda önemli olan, aktif bölge cebine girebilecek en uygun konformasyon olmasıdır.

Doking için ligand hazırlanmasında optimizasyon işlemi yapılan fitokimyasallar Gaussian09 programı kullanılarak NewZmat yoluyla .pdb formatına çevrilmiştir [50]. Dosya formatı değiştirilen fitokimyasallar AutoDock Tools (ADT) kullanıcı ara yüzü ile açılır hale getirilmiştir. Öncelikle torsiyon kökü ve ligand molekülündeki torsiyon sayısı belirlenmiştir. Son olarak elde edilen bileşiklerin molekülüleri .pdbqt formatında kaydedilmiş ve doking işlemi için hazır hale getirilmiştir.

Tüm hesaplamalar, Dell Precision T3600 iş istasyonunda 2 dual core Intel Xeon E5-1620 sistem gereksinimleri ile gerçekleştirilmiştir.

### **3.2.2. Doking Yönteminin Validasyonu: Agonist ve Antagonist**

Doking yönteminin validasyonu, bir veri seti içerisindeki ligandların proteine farklı doking programları kullanılarak yerleştirilmesi ve elde edilen konformasyonların orijinal X-ray yapısındaki konformasyonundan sapmasının incelenmesi ile gerçekleştirilmiştir. Ligandın orijinal yapıdan sapması (RMSD) değerleri, incelenen programların birbirinden farklılıklarına veya protein ve ligand molekülün yapısı gibi çeşitli parametrelere bağlıdır.

Validasyon için seçilecek ACh bağlanma proteininin üç-boyutlu yapısı için Protein veri bankası incelenmiştir [51]. Yapılan taramada AChB proteini için sonuçlar elde edilmiştir (Çizelge 2.3). **1UW6** ve **2BYR** kodlu yapıları R değerinin düşük olması nedeniyle doking hesaplamaları için seçilmiştir.

**1UW6** ve **2BYR** kodlu yapılar seçildikten sonra, öncelikle *Chimera* programı yardımıyla yapı içindeki ligandlar belirlenmiştir. Nikotin ve MLK ligandları yapıdan ayrılmış ve yapıdaki sular silinmiştir. Tüm işlemlerden sonra oluşturulan AChBP yapısı .pdb formatında kaydedilmiştir.

Ligandı olmayan protein yapısına ADT kullanıcı ara yüzü kullanılarak polar hidrojenler eklenmiş ve .pdbqt formatında kaydedilmiştir. Böylelikle AChBP doking için hazırlanmıştır.

Hesaplama sonuçlarının analizi, deneysel değer (X-ray) ile hesaplanan değer arasındaki sapmayı gösteren RMSD değeri karşılaştırılarak yapılmıştır. RMSD değeri ne kadar düşükse, seçilen yöntem o kadar iyi demektir. Doking metodunun doğruluğunu belirlemek amacıyla hesaplanan ve deneysel ligand

konformerleri arasındaki RMSD değeri karşılaştırılır. RMSD değeri 2 Å 'dan küçük olanlar doking işleminde anlamlı sonuçlardır.

### **3.2.3. Doking Hesaplamaları**

Tüm hesaplamalar, Dell Precision T3600 iş istasyonunda 2 dual core Intel Xeon E5-1620 sistem gereksinimleri ile gerçekleştirilmiştir.

#### **3.2.3.1. Hedef Proteinin Seçilmesi ve Hazırlanması: AChB Proteini**

AChB protein yapıları arasından **1UW6** ve **2BYR** kodlu AChBP yapıları seçildikten sonra doking hesaplamaları için yapı içindeki ligand çıkarılmıştır. Bu hazırlanan yapı optimize edildikten sonra doking hesaplamalarında kullanılmak için .pdb formatında kaydedilmiştir. Bahsi geçen formatta hazırlanan yapı ADT yardımıyla açılmış ve aktif bölgedeki tüm sular silinmiştir. Son olarak, polar hidrojenler yapıya eklenmiştir ve .pdbqt formatında kaydedilmiştir. Hazırlama işleminin en sonunda grid parametreleri seçilerek *AutoDock Vina* programının kullanması üzere aktif bölge koordinatları belirlenmiştir.

#### **3.2.3.2. Ligandların Hazırlanması: Fitokimyasallar**

Ligand olarak kullanılacak fitokimyasallar öncelikle optimize edilmiş ve .log dosyası olarak kaydedilmiştir. Bu yapılar daha sonra Gaussian09 NewZMat yardımı ile .pdb formatına çevrilmiş ve ADT kullanıcı arayüzü yardımıyla doking için hazırlanmıştır. Bu programda hazırlanma işleminde öncelikle torsiyon kökü belirlendikten sonra dönebilen bağ sayısı belirlenmiş ve dosya .pdbqt formatında kaydedilmiştir.

#### **3.2.3.3. AutoDock Vina ile Doking Hesaplamaları**

Protein ve ligandın ADT ile hazırlanan .pdbqt dosyalarını içeren, *AutoDock Vina* ile doking için öncelikle protein ve hesaplama yapılacak ligand dosyası bilgileri, hedef alınan ve doking yapılacak alanın kartezyen koordinatları ve doking bölgesinin genişliği şeklinde tanımlanan parametrelerden oluşan bir konfigürasyon dosyası hazırlanmıştır. Grid haritasından elde edilen kartezyen koordinatları doking için hazırlanan ve .txt formatında bulunan "conf" adında, içerisinde doking işlemine girecek ligand ve makromolekülün dosya adının ve formatının yazıldığı, grid harita kartezyen koordinatlarını ve grid kutusunun boyut değerlerinin bulunduğu konfigürasyon dosyası *Vina* hesaplamaları için tek girdi dosyasıdır. Bu dosyanın limonen için hazırlanan örneği Şekil 3.4.'de görülmektedir.

```

conf - Not Deferi
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
receptor = pro1.pdbqt
ligand = limsonn.pdbqt

out = out.pdbqt

center_x = 83.663
center_y = 69.688
center_z = -10.165

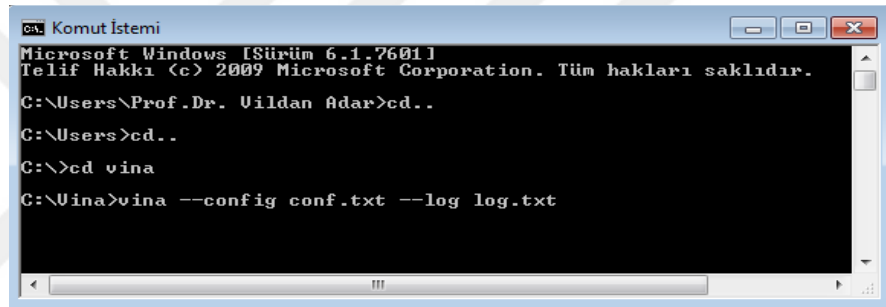
size_x = 15
size_y = 15
size_z = 15

exhaustiveness = 1000
num_modes = 60
weight_repulsion = 0.16

```

Şekil 3.4. Limonen için örnek konfigürasyon dosyası

*AutoDock Vina* ile doking aşamasında ADT kullanıcı arayüzü yardımıyla hazırlanmış olan AChB proteininin grid haritasında bulunan değerler her bir fitokimyasal için aynı tutulmuştur. *AutoDock Vina* doking aşamasının komut sistemi üzerinden dosya çağırma komutu Şekil 3. 5.' de gösterilmektedir.



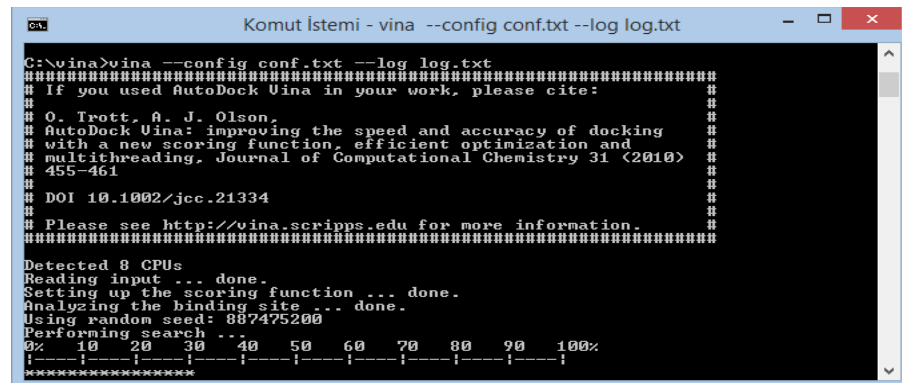
```

Komut İstemi
Microsoft Windows [Sürüm 6.1.7601]
Telif Hakkı (c) 2009 Microsoft Corporation. Tüm hakları saklıdır.
C:\Users\Prof.Dr. Uildan Adar>cd..
C:\Users>cd..
C:\>cd vina
C:\Vina>vina --config conf.txt --log log.txt

```

Şekil 3.5. Komut sistemi ile dosya çağırma aşaması

Doking aşaması başlamadan önce *Vina* programının çalışmasını sağlayan *The Scripps Research Institute* tarafından hazırlanmış olan *vina.exe* dosyası komut sistemi üzerinden çağrılır bunu yapmak için önce doking aşamasından kullanılacak olan *conf.txt* dosyasının bulunduğu klasör çağrılır. Daha sonra program çalışmaya başlar ve log dosyası kaydedilir. Doking hesaplamasının başlangıç görüntüsü ise Şekil 3.6.'da görülmektedir.



```

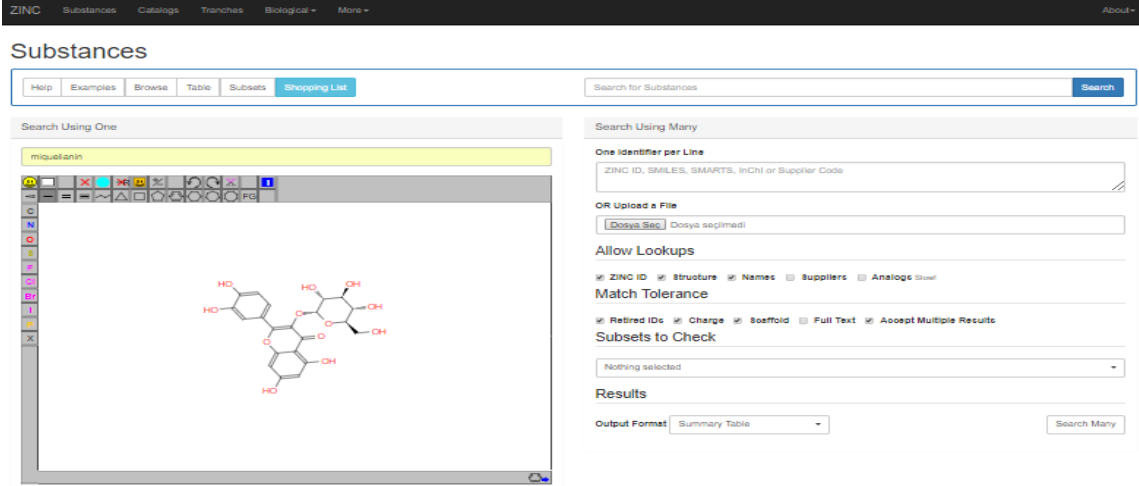
Komut İstemi - vina --config conf.txt --log log.txt
C:\vina>vina --config conf.txt --log log.txt
#####
# If you used AutoDock Vina in your work, please cite: #
# #
# O. Trott, A. J. Olson, #
# AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking #
# with a new scoring function, efficient optimization and #
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010) #
# 455-461 #
# DOI 10.1002/jcc.21334 #
# Please see http://vina.scripps.edu for more information. #
#####
Detected 8 CPUs
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: 887475200
Performing search ...
0% 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100%
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

```

Şekil 3.6. Doking hesaplaması başlangıç görüntüsü

### 3.2.4. Sanal Ligand Taraması için Ligand ve AChBP Hazırlanması

Fitokimyasallar ile AChBP'nin moleküler kenetlenme çalışmaları gerçekleştirildikten sonra **mikuelianin** ligandından yola çıkarak yeni küçük moleküllerin üç boyutlu yapıları *ZINC15* veritabanından alınmıştır. *ZINC15* veritabanında araştırma yapılırken moleküller çeşitli alt kümeler (subset) oluşturularak incelenebilir. Şekil 3.7.'de görüldüğü gibi istenen kimyasal özellikteki yapı çizilerek seçim yapılmıştır.



Şekil 3.7. *ZINC15* veritabanında mikuelianin subset oluşturma sayfasının görüntüsü

Bunun yanında araştırılmak istenen moleküller için referans yapı ya da referans yapının diğer moleküllerle ortak kimyasal grupların çizilmesi seçenekleri arasındadır. Çizim işlemi Şekil 3.7.'nin sol tarafındaki kısımda gerçekleştirilmiştir. Eğer çizilen moleküle benzer bir molekül isteniyorsa benzerlik yüzdesi (similarity value) kullanılarak yeni moleküller görüntülenebilir.

*ZINC15* veritabanında bulunan bütün moleküller sekiz basamaklı bir rakamla kodlanır ve bu kodlarla istenen bir molekülün yapısı görüntülenebilir. *ZINC15* veritabanının web sayfasına Draw Search Structure editor üzerine **mikuelianin** yapısı çizilmiş ve arama yapılmıştır (Şekil 3.7.).

Yapılan araştırma sonucunda **506 adet mikuelianin** yapısına benzer bileşik yapısı tespit edilmiştir. Bu yapılar toplu olarak *.mol2* formatında indirildiğinden yapıları ayırma ve *.pdbqt* formatına dönüştürme işlemi *AutoDock Raccoon* programı yardımıyla tamamlanmıştır ve bütün ligandlar tek bir dosya içine alınmıştır. Ardından indirilen tüm yapılar kenetlenme için hazırlanmıştır. *AutoDock Vina* programını çalıştırmak için ihtiyaç duyulan konfigürasyon



dosyası da tüm fitokimyasallar için kullanılan konfigürasyon dosyası ile aynıdır (Şekil 3.4.). Birden fazla ligandı tek bir moleküle kenetleme işlemini uygulamak için *Cygwin* programında kullanılan komutlar ise Şekil 3.8.'de gösterildiği biçimdedir. Bu komutlarla her bir ligandın kenetlenme işleminin tamamlanmasıyla oluşan ve kenetlenme sonuçlarını belirten *out.pdbqt* ve *log.txt* dosyalarının arşivlenmesi, ayrıca bir ligandın kenetlenme işlemi tamamlandığında programın kendiliğinden yeni ligandın kenetlenme işlemine başlaması sağlanmaktadır. Tüm doking taramaları sonucunda da en iyi bağlanmayı gösteren ilk 20 yapı belirlenmiştir.

```
$ for f in ligand_*.pdbqt; do
b=`basename $f .pdbqt`;
echo Processing ligand $b;
mkdir -p $b;
"C:/Program Files/The Scripps Research Institute/Vina/vina.exe" --config conf.txt
--ligand $f --out ${b}/out.pdbqt --log ${b}/log.txt;
done;
```

Şekil 3.8. Cygwin kodları ile çoklu doking için dosya çağırma aşaması

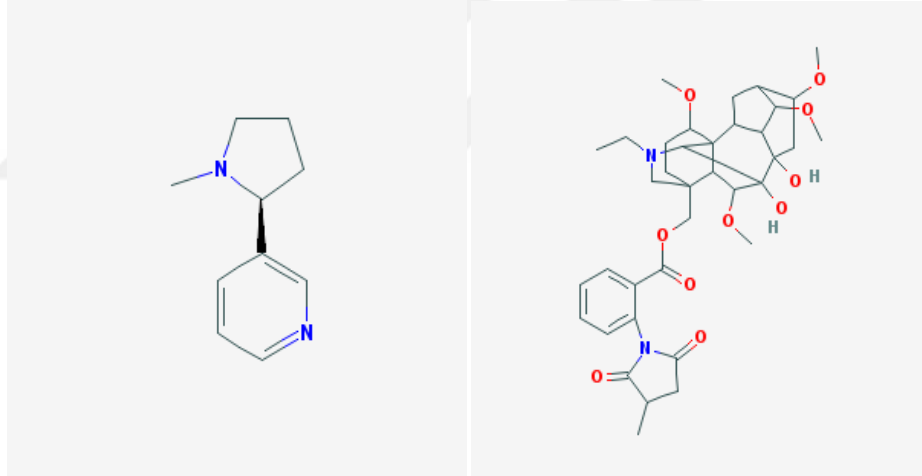
## 4. SONUÇLAR

### 4.1. Fitokimyasalların Geometri Optimizasyonu

Bitkilerdeki 23 fitokimyasal yapının geometri optimizasyonu *DFT/B3LYP/6-31G(d,p)* temel seti ile yapılmıştır. Tüm hesaplamalar, Dell Precision T3600 iş istasyonunda 2 dual core Intel Xeon E5-1620 sistem gereksinimleri ile gerçekleştirilmiştir.

### 4.2. Validasyon Hesaplaması: AChB Protein kompleksi

Doking metodunun validasyonu, X-ray yapısında 1UW6 ve 2BYR kodlu proteinlerin içinde bulunan ligandlar (agonist: nikotin; antagonist: metillikakonitin (MLK)) yapıdan çıkarılarak protein yapısına doking programı yardımıyla yeniden yerleştirilmesi ve elde edilen konformasyonların referans yapıdaki konformasyondan sapmasının incelenmesi ile gerçekleştirilir. Bizim çalışmamızda validasyon için, kullanılan 1UW6 VE 2BYR yapılarının içindeki **Nikotin** ve **MLK** ligandları kullanıldı (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. Nikotin ve MLK yapıları

Proteinden çıkarılan **Nikotin** ve **MLK** ligandı *AutoDock Vina* kullanılarak tekrar insan AChB proteini ile doking yapılmıştır. Tüm hesaplamalar, Dell Precision T3600 iş istasyonunda 2 dual core Intel Xeon E5-1620 sistem gereksinimleri ile gerçekleştirilmiştir. Doking için oluşturulan konfigürasyon dosyası Şekil 4. 1.'de gösterilmiştir.

```

conf - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
receptor = 1uw6.pdbqt
ligand = nikotin.pdbqt

out = out.pdbqt

center_x = 83.663
center_y = 69.688
center_z = -10.165

size_x = 15
size_y = 15
size_z = 15

exhaustiveness = 1000

num_modes = 60

weight_repulsion = 0.10

conf - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
receptor = pro2.pdbqt
ligand = mlk2.pdbqt

out = out.pdbqt

center_x = 13.893
center_y = -28.402
center_z = -50.972

size_x = 15
size_y = 15
size_z = 15

exhaustiveness = 1000

num_modes = 60

weight_repulsion = 0.10

```

Şekil 4.2. Validasyon konfigürasyon dosyası

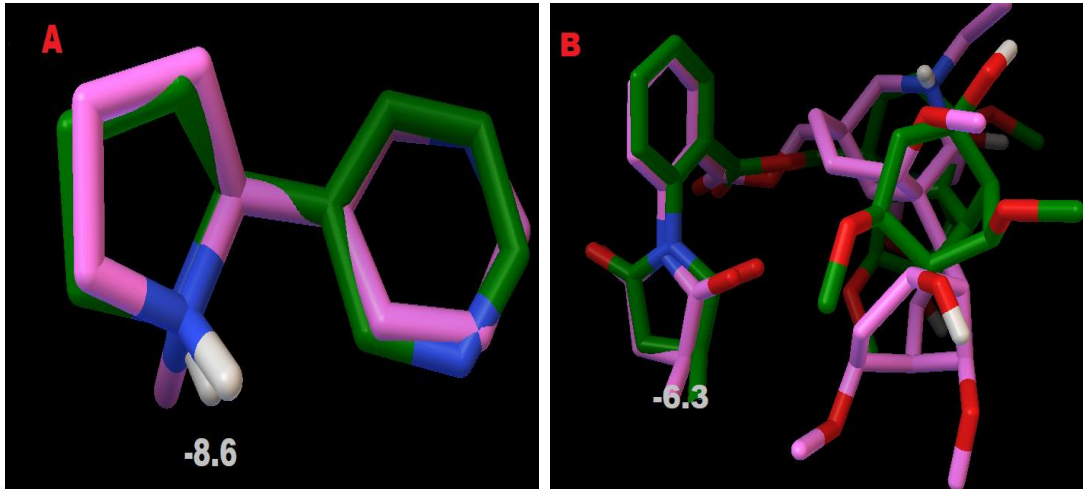
Validasyon işlemi sonucunda olabilecek konformasyonlar hesaplandı. Bu konformasyonların bağlanma afiniteleri ve RMSD değerleri program tarafından oluşturulan log dosyasında en yüksekten en düşüğe doğru sıralandı. Validasyon işleminden sonra oluşturulan log dosyaları ise Şekil 4.3.'de görülmektedir.

Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım				Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım			
Refining results ... done.				Performing search ... done.			
Refining results ... done.				Refining results ... done.			
mode	affinity (kcal/mol)	dist from best mode rmsd l.b.	rmsd u.b.	mode	affinity (kcal/mol)	dist from best mode rmsd l.b.	rmsd u.b.
1	-8.6	0.000	0.000	1	-6.3	0.000	0.000
2	-8.6	3.771	1.317	2	-6.3	1.087	1.619
3	-8.5	3.866	1.888	3	-6.2	1.881	1.786
4	-8.2	5.155	2.306	4	-5.1	2.140	2.869
5	-8.0	4.728	3.002	5	-5.7	1.657	2.735
6	-8.0	3.502	4.282	6	-5.7	1.970	4.972
7	-8.0	3.651	4.915	7	-5.6	2.143	5.394
8	-7.9	3.622	5.016	8	-5.6	2.186	3.778
9	-7.9	1.379	1.806	9	-5.5	2.165	4.504
10	-7.9	5.219	7.261	10	-5.5	1.591	2.590
11	-7.9	5.016	7.665	11	-5.4	1.937	3.256
12	-7.9	3.554	5.430	12	-5.4	1.802	3.140
13	-7.9	3.749	4.837	13	-5.3	1.690	3.007
14	-7.9	3.985	5.890	14	-5.3	2.322	4.146
15	-7.7	2.051	4.924	15	-5.3	1.854	5.732
16	-7.7	3.986	4.788	16	-5.3	2.058	5.196
17	-7.7	7.673	8.943				
18	-7.7	2.138	4.984				
Writing output ... done.				Writing output ... done.			

Şekil 4.3. Validasyon log dosyaları

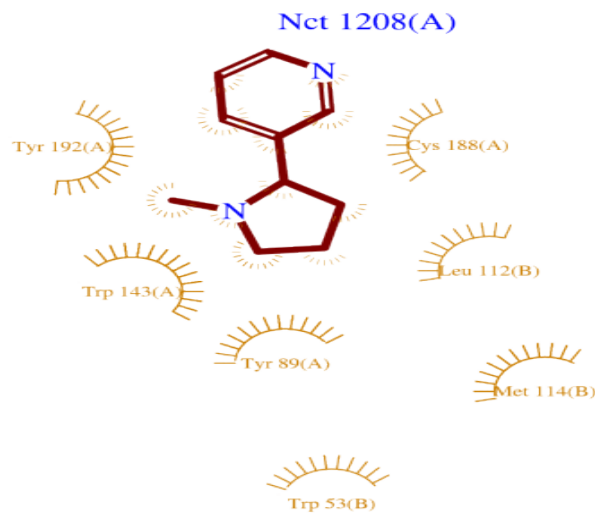
Validasyon sonucu bulunan tüm konformasyonlar aynı zamanda ADT kullanıcı ara yüz programı kullanılarak incelendi. Tüm konformasyonlarda oluşabilecek elektrostatik etkileşimler ve hidrojen bağları program sayesinde gözlemlendi. Mümkün konformasyonlardan anlamlı sonuç veren ve RMSD değeri en uygun olan 1. Konformasyondur. Hesaplama sonucunda RMSD değerleri nikotin için **1.3 Å**, MLK için ise **1.6 Å** olarak bulunmuştur. Her iki pdb kod için bulunan ilk iki

en iyi konformasyonun ve referans olarak alınan ligandın üst üste çakışmış şekli ise Şekil 4.4.'de görülmektedir.



Şekil 4.4. Validasyon Sonucu A) Nikotin RMSD=1.3 Å, B) MLK RMSD =1.6 Å (pembe ligand referans, yeşil ligand en iyi RMSD değerine sahip olan ligand)

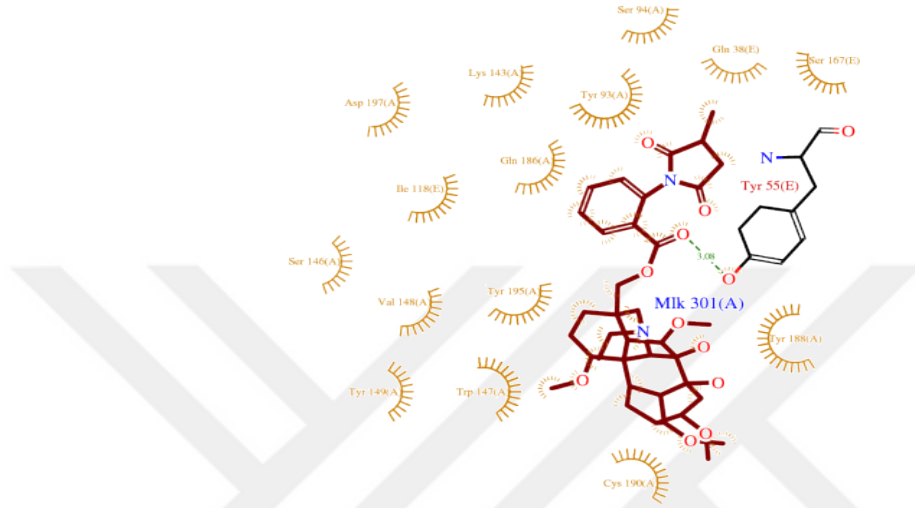
Sonuç olarak Vina tarafından oluşturulan log dosyaları ve ADT kullanılarak oluşturulan sanal grafikler incelenerek validasyon testinin güvenilirliği incelenmiştir. İlk olarak görsel veriler incelendiğinde aktif bölgeye yerleşen en iyi konformasyonun 1. konformasyon olduğu görülmüştür. 1UW6 pdb kodu için doking sonucunda bulunan aktif bölgedeki amino asitler; **TRP143**, **TYR89**, **TRP53**, **MET114**, **SER186**, **CYS188**, **LYS34**, **TYR185**'dir. X-ray verilerine göre belirlenen aktif bölge aminoasitleri ise; **TYR192**, **CYS188**, **TRP143**, **TYR89**, **LEU112**, **MET114**, **TRP53**'dür (Şekil 4.5.).



Şekil 4.5. Nikotin (agonist) ligandı için bağ etkileşimleri [52]

2BYR pdb kodu için doking sonucunda bulunan aktif bölgedeki aminoasitler; **TRP147**, **SER146**, **VAL148**, **TYR93**, **ASP197**, **TYR268**, **ILE118**, **TYR195**,

**TYR188, GLN186, SER167, THR249**'dur. X-ray verilerine göre belirlenen aktif bölge aminoasitleri ise; **TRP147, CYS190, SER146, VAL148, TYR93, ASP197, ILE118, TYR195, TYR149, TYR188, GLN186, SER167, SER94, LYS143, GLN38**'dir (Şekil 4.6.). Bu verilere göre nikotin ve MLK ligandları validasyon işleminden sonra tekrar aynı bölgeye yerleşmiştir ve programın çalışma için uygunluğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.6. MLK (antagonist) için bağ etkileşimleri [52]

Aynı zamanda programın agonist/antagonist ayırımını ne kadar iyi yapabildiğini anlayabilmek için nikotin ve MLK ligandlarının **çapraz dokingi** gerçekleştirilmiştir (Çizelge 4.1.). Nikotin ligandının 2BYR, MLK ligandının ise 1UW6 pdb kodu ile validasyonu yapılmış, oluşan log dosyaları aşağıdaki sonuçları içermektedir (Şekil 4.7. ve Şekil 4.8.).

Çizelge 4.1. Çapraz doking bağlanma enerji sonuçları

Yapı	PDB	
	1UW6 B.E. (kcal/mol)	2BYR B.E. (kcal/mol)
Nikotin	-8.6	-7.2
MLK	-5.8	-6.3

log - Not Defteri				log - Not Defteri					
Dosya	Düzen	Biçim	Görünüm	Yardım	Dosya	Düzen	Biçim	Görünüm	Yardım
mode	affinity	dist from best mode			mode	affinity	dist from best mode		
	(kcal/mol)	rmsd l.b.	rmsd u.b.			(kcal/mol)	rmsd l.b.	rmsd u.b.	
1	-7.2	0.000	0.000		1	-5.8	0.000	0.000	
2	-7.2	0.878	1.410		2	-5.8	1.333	1.816	
3	-7.1	1.342	1.724		3	-5.6	1.162	1.665	
4	-7.1	5.728	7.326		4	-5.1	1.583	3.070	
5	-7.0	2.539	3.620		5	-5.0	3.957	8.243	
6	-6.9	1.524	2.261		6	-5.0	1.817	2.748	
7	-6.8	3.308	4.069		7	-4.9	4.055	8.269	
8	-6.7	1.726	3.619		8	-4.8	2.223	7.938	
9	-6.7	3.098	4.476		9	-4.8	1.961	3.785	
10	-6.7	1.859	4.365		10	-4.8	1.644	2.479	
11	-6.7	2.074	4.176		11	-4.8	1.581	3.112	
12	-6.7	2.198	4.811		12	-4.7	1.956	7.537	
13	-6.7	2.416	3.783		13	-4.6	2.382	5.597	
14	-6.7	1.887	2.113		14	-4.6	1.929	7.537	
15	-6.6	2.554	3.607		15	-4.6	2.217	8.294	
16	-6.6	1.760	2.586		16	-4.5	3.398	6.785	
17	-6.6	2.700	4.966		17	-4.5	1.628	3.006	
18	-6.5	2.048	4.060		18	-4.5	1.985	7.560	
19	-6.5	1.814	4.124		19	-4.4	1.304	2.388	

Writing output ... done.

Şekil 4.7. (a) Nikotin 2BYR ile, (b) MLK 1UW6 ile

### 4.3. Doking Hesaplamaları

Doking hesaplamaları fitokimyasalların agonist ve antagonist özelliklerini belirlemek için 2 ayrı pdb kod için yapılmıştır. 1UW6 kodu agonist hesaplamaları için, 2BYR ise antagonist hesaplamaları için kullanılmıştır. Tüm hesaplamalar, Dell Precision T3600 iş istasyonunda 2 dual core Intel Xeon E5-1620 sistem gereksinimleri ile gerçekleştirilmiştir.

#### 4.3.1. Agonist hesaplamaları: 1UW6

##### 4.3.1.1. Avena sativa, Yulaf. Antranilik asit

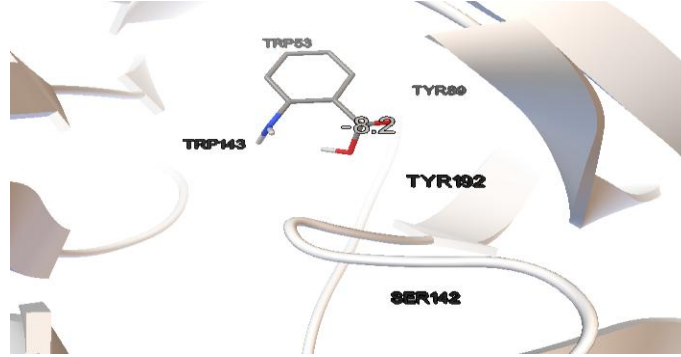
Doking işlemi için *Vina* programı kullanılarak Yulaf bitkisindeki antranilik asit ligandı ile AchBP doking hesaplaması yapılmıştır. Yukarıda belirttiğimiz dosyalar oluşturularak doking işlemi yapıldı, mümkün olabilecek konformasyonlar *AutoDock Vina* programı tarafından belirlendi ve log dosyası oluşturuldu (Şekil 4.8.).

log - Not Defteri				
Dosya	Düzen	Biçim	Görünüm	Yardım
mode	affinity	dist from best mode		
	(kcal/mol)	rmsd l.b.	rmsd u.b.	
1	-8.2	0.000	0.000	
2	-8.0	2.253	2.646	
3	-8.0	1.460	1.733	
4	-7.9	2.211	3.032	
5	-7.9	6.390	7.202	
6	-7.8	1.495	2.161	
7	-7.8	2.542	3.322	
8	-7.7	7.701	8.417	
9	-7.6	1.914	2.281	
10	-7.5	5.509	6.738	
11	-7.5	5.341	6.488	
12	-7.5	5.561	6.596	
13	-7.5	5.440	6.315	
14	-7.4	6.387	7.271	
15	-7.3	2.141	2.301	
16	-7.3	7.643	8.260	
17	-7.3	5.413	6.257	
18	-7.2	4.824	5.787	
19	-7.1	2.787	3.482	

Writing output ... done.

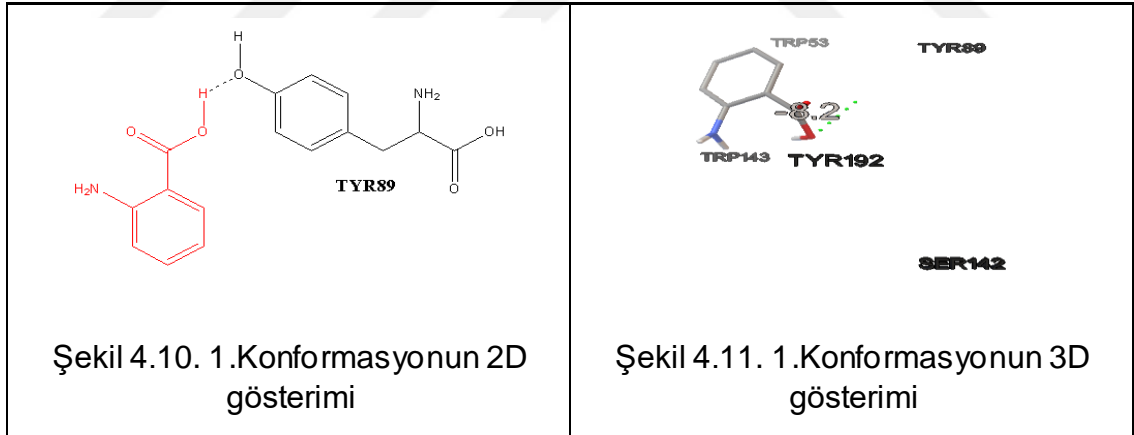
Şekil 4.8. Antranilik asit log dosyası

Bulunan 19 konformasyon ADT kullanıcı ara yüzü kullanılarak görsel olarak incelendi. Bu program ile aktif bölgedeki antranilik asit ligandı ile oluşabilecek tüm etkileşimler ve hidrojen bağları gözlemlendi (Şekil 4.9.).



Şekil 4.9. Antranilik asit doking görüntüsü

*AutoDock Vina* programı sonuçlarına göre anlamlı docking konformasyonun aktif bölge aminoasitleri; TRP143, SER142, TYR89, TYR192 ve TRP53'dür. Konformasyonun, aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Bu konformasyon incelendiğinde hidrojen bağından sorumlu aminoasit ise TYR89'dur (Şekil 4.10. ve Şekil 4.11.). Bağlanma afinitesi ise, -8.2 kcal/mol'dür.



Ayrıca tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri **1.053  $\mu\text{M}$**  bulunmuştur.

#### 4.3.1.2. Kafeik asit

Doking için hazırlanan konfigürasyon dosyası kafeik asit için hazırlanan dosya ile aynıdır. Tüm fitokimyasallar için anlamlı sonuçlar elde edilmesi amacıyla aynı konfigürasyon dosyası kullanılmıştır.

Program tarafından mümkün olabilecek tüm konformasyonların bağlanma enerjileri dikkate alınarak sıralandığı log dosyası oluşturulmuştur (Şekil 4.12.).

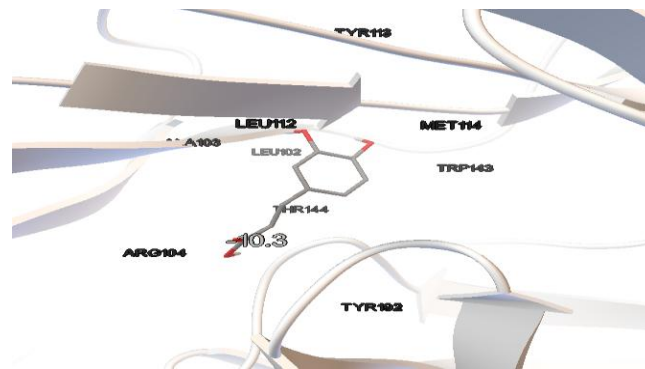
```
log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
Performing search ... done.
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----+-----+-----+-----
1     | -10.3    | 0.000    | 0.000
2     | -9.9     | 0.889    | 1.808
3     | -9.8     | 6.722    | 7.888
4     | -9.6     | 6.681    | 7.967
5     | -9.5     | 6.622    | 8.035
6     | -9.5     | 1.126    | 1.333
7     | -9.4     | 6.507    | 6.875
8     | -9.4     | 4.326    | 6.450
9     | -9.2     | 6.727    | 8.116
10    | -9.2     | 3.038    | 3.844
11    | -9.1     | 3.313    | 4.434
12    | -9.0     | 1.093    | 6.125
13    | -9.0     | 3.922    | 6.321
14    | -8.8     | 1.673    | 2.207
15    | -8.7     | 1.252    | 6.088
16    | -8.5     | 3.214    | 4.173

Writing output ... done.
```

Şekil.4.12. Kafeik asit log dosyası

Bu konformasyonların bağlanma enerjileri ve görsel incelemeleri yapılmıştır. Mümkün olacak 16 konformasyon sıralanmıştır. Bu konformasyonların bağlanma enerjileri ve görsel incelemeleri yapıldığında 1. Konformasyonun en anlamlı olan konformasyon olduğu belirlenmiştir. Bu konformasyonun aktif bölgedeki görüntüsü Şekil 4.13.'de görüldüğü gibidir.

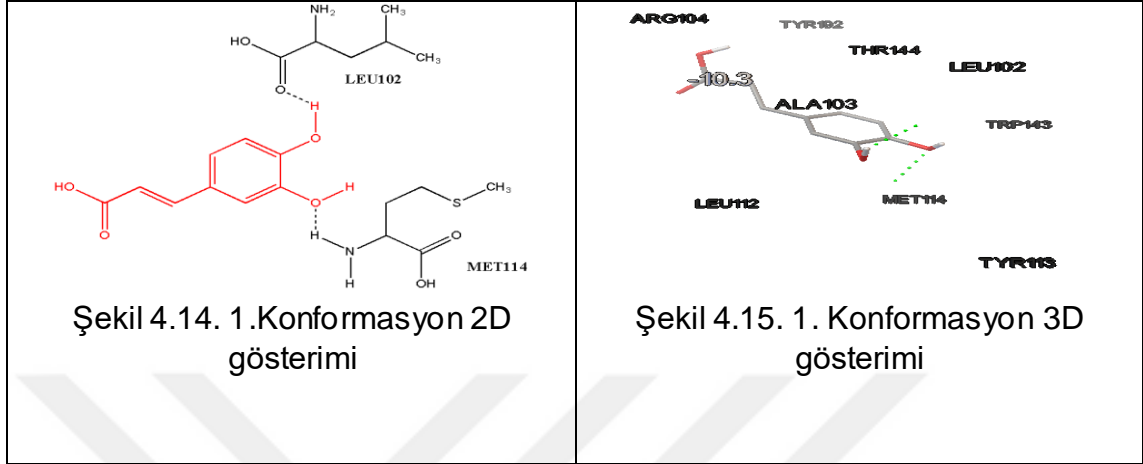


Şekil 4.13. Kafeik asit doking görüntüsü

Konformasyonun yerleştiği aktif bölgede bulunan aminoasitler; TYR113, TRP143, ALA103, LEU102, LEU112, MET114, ARG104, TYR192 ve THR144'dür. Konformasyonun, aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir.



Konformasyon detaylı olarak incelendiğinde mevcut 2 hidrojen bağı gözlemlenmektedir. Hidrojen bağlarından sorumlu aminoasitler ise; LEU102 ve MET114'tür (Şekil 4.14. ve Şekil 4.15.). Bağlanma afinitesi ise, -10.3 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar Ki cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri **0.031  $\mu\text{M}$**  bulunmuştur.

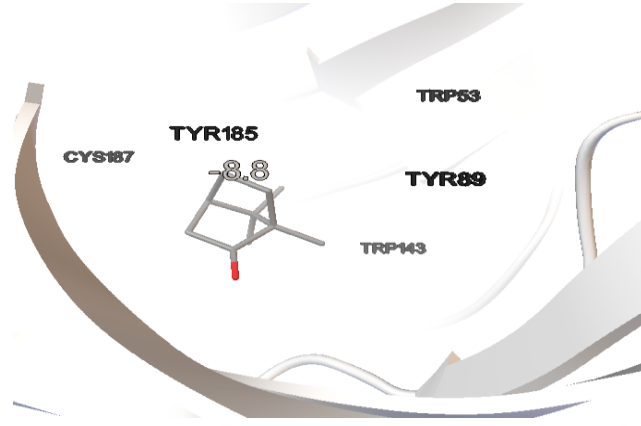
#### 4.3.1.3. Piper Nigrum, Black pepper, Kara biber. Kamfor

Kamfor yapısının doking hesaplaması için hazırlanan konfigürasyon dosyasının parametreleri tüm doking hesaplamalarında olduğu gibidir. *Vina* log dosyasında olması mümkün olan konformasyonlar bağlanma enerjilerine göre sıralanmıştır (Şekil 4.16.).

```
log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
Refining results ... done.
mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1     | -8.8      | 0.000    | 0.000
2     | -8.7      | 1.522    | 2.813
3     | -8.7      | 1.610    | 2.852
4     | -8.7      | 1.182    | 2.274
5     | -8.5      | 0.871    | 2.864
6     | -8.3      | 1.643    | 2.640
7     | -8.3      | 1.771    | 3.173
8     | -8.3      | 1.787    | 2.812
9     | -8.3      | 1.362    | 2.701
10    | -8.2      | 1.254    | 2.932
11    | -8.2      | 1.084    | 2.405
12    | -8.1      | 1.739    | 2.880
13    | -8.1      | 1.870    | 3.219
14    | -8.0      | 1.604    | 2.760
15    | -8.0      | 1.893    | 3.295
16    | -7.9      | 1.501    | 2.510
17    | -7.9      | 1.500    | 3.015
Writing output ... done.
```

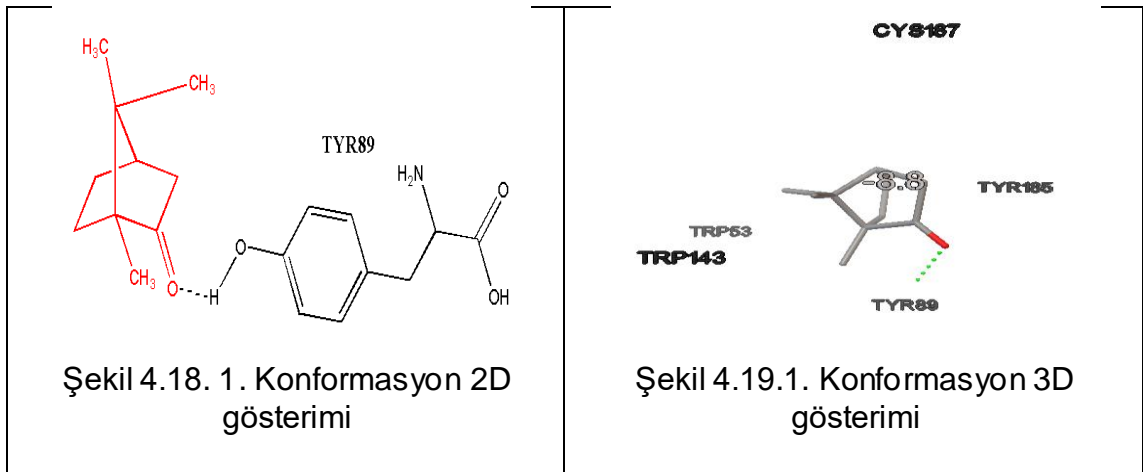
Şekil 4.16. Kamfor log dosyası

log dosyasında olması mümkün olan 17 konformasyon bağlanma enerjilerine göre sıralandığında sadece ilk konformasyonun incelenmesi gerektiğine karar verilmiştir. Konformasyonun doking görüntüsü Şekil 4.17.'da verilmiştir.



Şekil 4.17. Kamfor doking görüntüsü

Konformasyon incelendiğinde yerleştiği aktif bölgedeki aminoasitler; CYS187, TYR185, TYR89, TRP143, TRP53'tür. Konformasyonun, aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Konformasyon bu bölgede TYR89 ile 1 hidrojen bağı yapmaktadır (Şekil 4.18. ve Şekil 4.19.). Bağlanma afinitesi ise, -8.8 kcal/mol'dür.



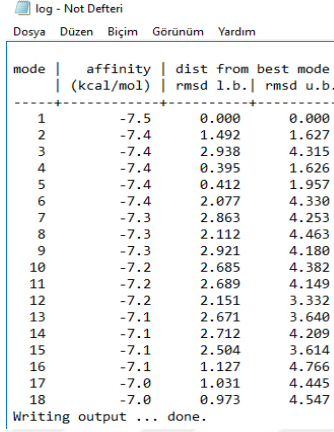
Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K}; T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri **0.385  $\mu\text{M}$**  bulunmuştur.

#### 4.3.1.4. Limonen

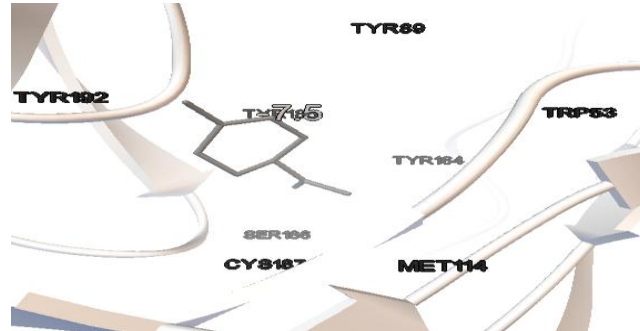
Limonen yapısının dokingi için hazırlanan konfigürasyon dosyasının parametresi diğer dokingler ile aynıdır. Program tarafından oluşturulan bağlanma enerjilerinin bulunduğu log dosyası oluşturulmuştur (Şekil 4.20.).



mode	affinity (kcal/mol)	dist from best mode	
		rmsd l.b.	rmsd u.b.
1	-7.5	0.000	0.000
2	-7.4	1.492	1.627
3	-7.4	2.938	4.315
4	-7.4	0.395	1.626
5	-7.4	0.412	1.957
6	-7.4	2.077	4.330
7	-7.3	2.863	4.253
8	-7.3	2.112	4.463
9	-7.3	2.921	4.180
10	-7.2	2.685	4.382
11	-7.2	2.689	4.149
12	-7.2	2.151	3.332
13	-7.1	2.671	3.640
14	-7.1	2.712	4.209
15	-7.1	2.504	3.614
16	-7.1	1.127	4.766
17	-7.0	1.031	4.445
18	-7.0	0.973	4.547

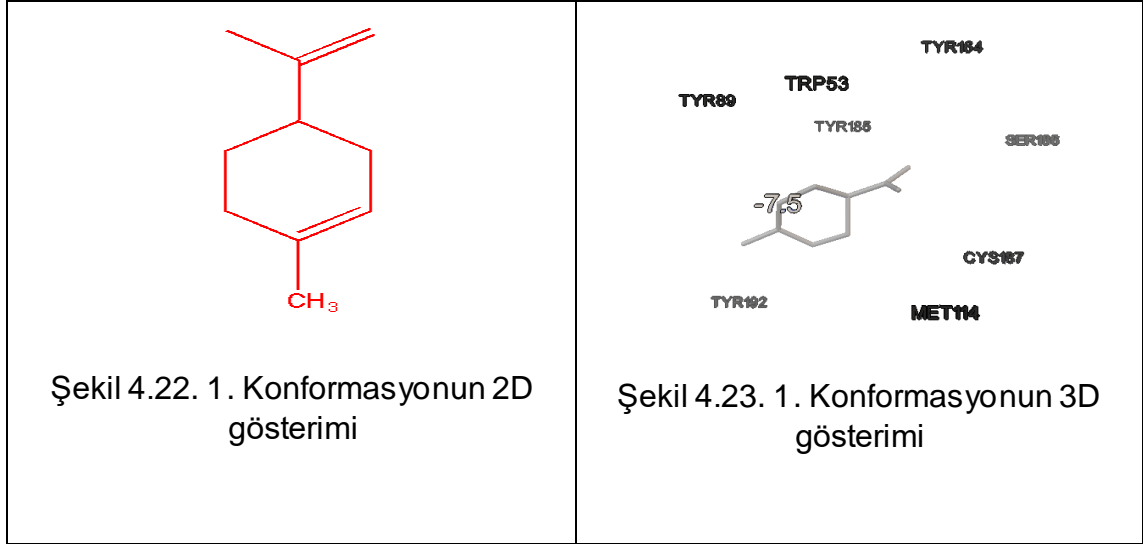
Şekil 4.20. Limonen log dosyası

Log dosyasında mümkün olabilecek 18 konformasyon belirlenmiş ve bağlanma enerjileri dikkate alınarak sıralanmıştır. Bu konformasyonlara görsel olarak da incelendiğinde 1. konformasyonun anlamlı olduğu görülmektedir. Bu konformasyonun aktif bölgeye yerleşmiş 3 boyutlu görüntüsü Şekil 4.21.'de verilmiştir.



Şekil 4.21. Limonen doking görüntüsü

Seçilen konformasyonun yerleştiği aktif bölgede bulunan aminoasitleri; TRP53; TYR89; TYR192; TYR164; CYS187; TYR185; SER186; MET114'tür. Konformasyonun, aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Bahsi geçen konformasyon aktif bölgede herhangi bir hidrojen bağı yapmamaktadır (Şekil 4.22. ve Şekil 4.23.). Bağlanma afinitesi ise, -7.5 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri **3.412  $\mu\text{M}$**  bulunmuştur.

#### 4.3.1.5. *Nigella sativa*, Çörekotu. Karvakrol

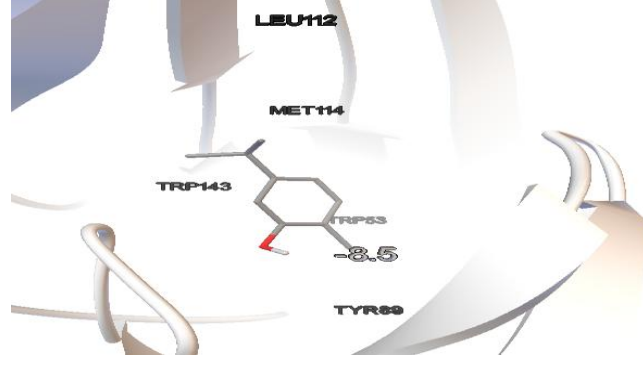
Program tarafından konfigürasyon dosyası hazırlandıktan sonra karvakrol yapısı için doking sonrası hazırlanan log dosyası oluşturulmuştur. Oluşturulan log dosyasında mümkün olabilecek konformasyonlar belirlenmiştir (Şekil 4.24.).

log - Not Defteri			
Dosya	Düzen	Biçim	Görünüm Yardım
mode	affinity (kcal/mol)	dist from best mode rmsd l.b.   rmsd u.b.	
1	-8.5	0.000	0.000
2	-8.3	2.235	3.754
3	-8.2	2.534	3.618
4	-8.2	2.103	4.688
5	-8.2	2.067	4.624
6	-8.1	2.123	4.543
7	-8.1	0.583	1.220
8	-8.0	2.189	4.803
9	-8.0	4.076	5.632
10	-8.0	1.815	2.834
11	-8.0	2.470	3.564
12	-7.9	2.228	4.007
13	-7.8	1.849	4.244
14	-7.7	2.163	4.600
15	-7.7	4.253	5.613
16	-7.6	2.779	5.066
17	-7.6	3.930	5.408
18	-7.6	2.109	2.903
19	-7.5	3.179	4.301

Writing output ... done.

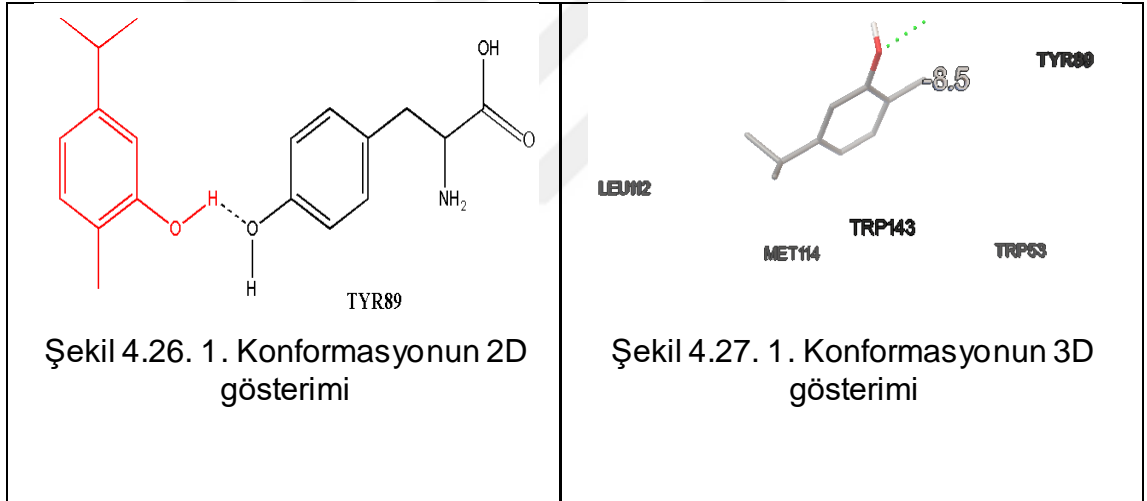
Şekil 4.24. Karvakrol log dosyası

Oluşturulan log dosyasında mümkün olabilecek 19 konformasyon belirlenmiştir. Bu konformasyonlar dikkate alındığında anlamlı olan ilk konformasyon incelenmiştir (Şekil 4.25.).



Şekil 4.25. Karvakrol doking görüntüsü

Konformasyon incelendiğinde yerleştiği aktif bölgedeki aminoasitler; TYR89; TRP143; TRP53; MET114; LEU112'dir. Konformasyonun aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Konformasyonun aktif bölgede yaptığı 1 hidrojen bağı ADT kullanıcı ara yüzü yardımıyla gözlenmiştir. Bu bağ; TYR89 aminoasiti ile yapılmıştır (Şekil 4.26. ve Şekil 4.27.). Bağlanma afinitesi ise, -8.5 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri **0.637  $\mu\text{M}$**  bulunmuştur.

#### 4.3.1.6. Karvon

Program tarafından karvon yapısı için girilen konfigürasyon dosyası ile doking sonrası log dosyası oluşturulmuştur. log dosyasında olması mümkün olan konformasyonlar sıralanmıştır (Şekil 4.28.).

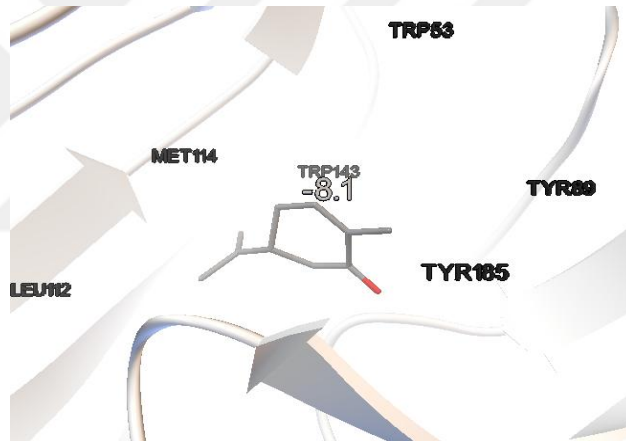
log - Not Defteri

Dosya	Düzen	Biçim	Görünüm	Yardım
mode	affinity	dist from best mode		
	(kcal/mol)	rmsd l.b.	rmsd u.b.	
1	-8.1	0.000	0.000	
2	-8.1	2.146	3.819	
3	-8.0	2.080	4.729	
4	-8.0	0.195	1.071	
5	-8.0	2.074	4.794	
6	-8.0	2.508	4.395	
7	-8.0	2.228	4.651	
8	-7.9	2.249	4.720	
9	-7.9	2.040	4.566	
10	-7.9	4.361	5.623	
11	-7.9	1.898	4.391	
12	-7.9	3.839	5.185	
13	-7.8	1.826	4.475	
14	-7.7	2.977	4.220	
15	-7.7	1.143	1.399	
16	-7.7	1.232	1.664	
17	-7.7	2.363	4.974	
18	-7.6	2.641	3.804	
19	-7.6	3.117	4.370	
20	-7.5	1.498	1.961	

Writing output ... done.

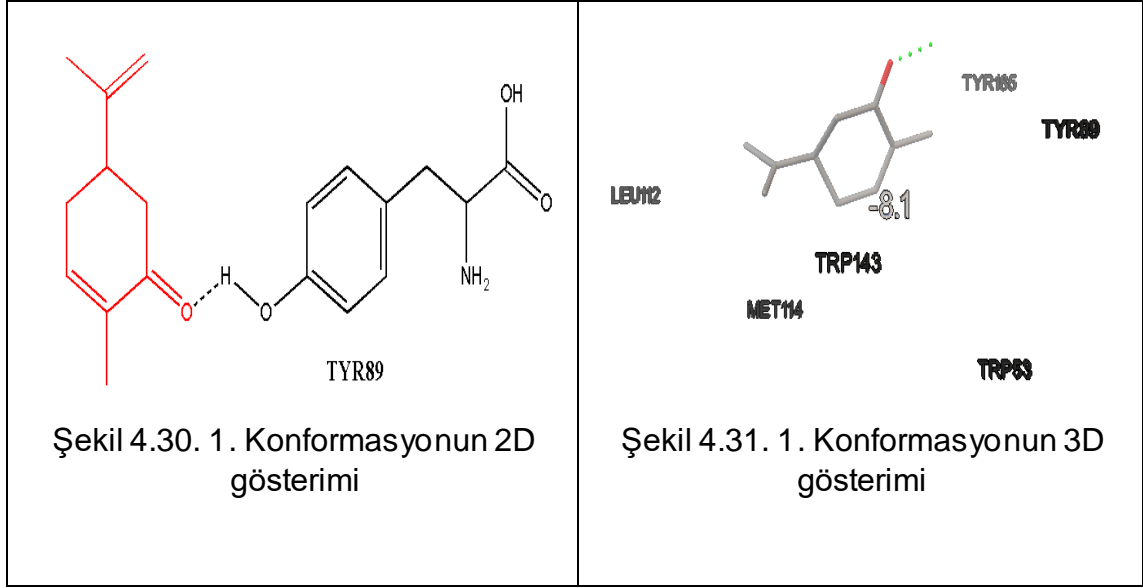
Şekil 4.28. Karvon log dosyası

Bu konformasyonların bağlanma enerjileri ve görsel değerlendirmeleri dikkate alındığında uygun konformasyonun doking sonrası görüntüsü Şekil 4.29.'da gösterilmiştir.



Şekil 4.29. Karvon doking görüntüsü

Konformasyonun aktif bölgeye yerleştiğinde bu bölgede bulunan aminoasitler; TYR89; TRP53; TYR185; MET114; LEU112; TRP143'tür. Konformasyonun, aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Bu bölgede bahsi geçen konformasyonun TYR89 aminoasiti ile 1 hidrojen bağı yaptığı gözlemlenmektedir (Şekil 4.30. ve Şekil 4.31.). Bağlanma afinitesi ise, -8.1 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri **1.250  $\mu\text{M}$**  bulunmuştur.

#### 4.3.1.7. Timol

Doking işlemi için *Vina* programı kullanılarak çörekotu bitkisindeki timol ligandı ile AChBP doking hesaplaması yapılmıştır. Diğer tüm dokinglerde olduğu gibi *AutoDock Vina* ile yapılan doking sonucunda log dosyası elde edilmiştir ve konformasyonların bağlanma afiniteleri en yüksekten en düşüğe olacak şekilde log dosyasında sıralanmıştır (Şekil 4.32.).

```

log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: 1433537788
Performing search ... done.
Refining results ... done.

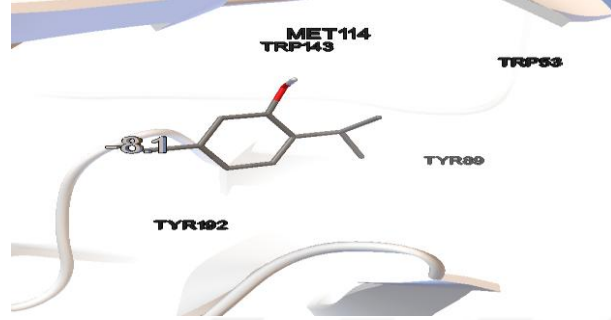
mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----+-----+-----+-----
1     | -8.1      | 0.000     | 0.000
2     | -8.0      | 0.818     | 3.955
3     | -7.9      | 0.453     | 1.169
4     | -7.8      | 1.978     | 3.920
5     | -7.8      | 1.740     | 4.445
6     | -7.8      | 2.171     | 3.988
7     | -7.8      | 1.622     | 4.407
8     | -7.8      | 2.302     | 2.977
9     | -7.8      | 0.882     | 4.073
10    | -7.7      | 2.425     | 4.994
11    | -7.7      | 1.367     | 3.935
12    | -7.6      | 1.873     | 2.821
13    | -7.6      | 1.694     | 4.422
14    | -7.5      | 1.820     | 4.473

Writing output ... done.

```

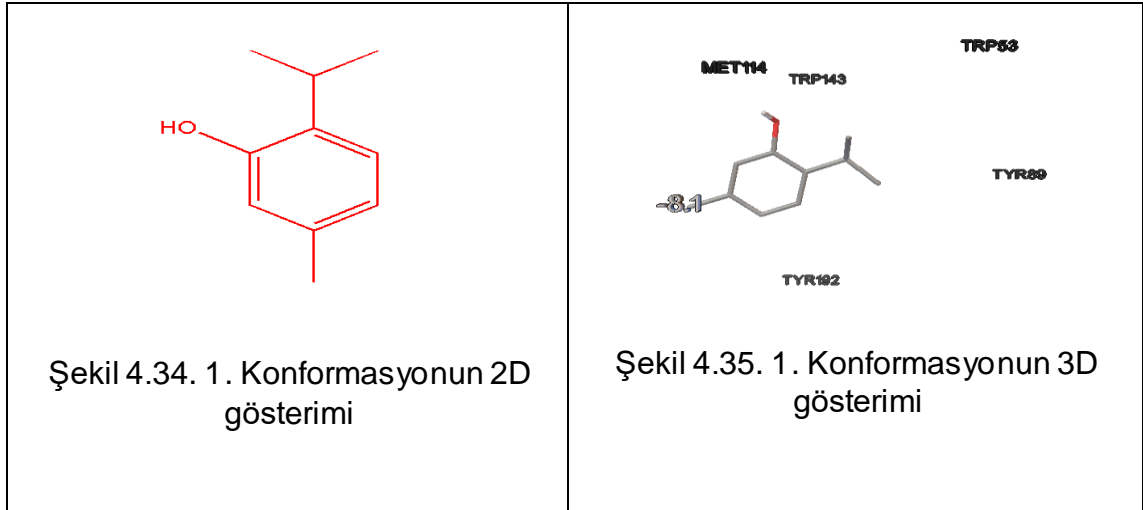
Şekil 4.32. Timol log dosyası

*AutoDock Vina* programı yardımıyla elde edilen log dosyasında 14 konformasyon sonucu olduğu görülmektedir. Log dosyası kontrol edildiğinde ilk konformasyonun anlamlı olduğu görülmektedir. Buna göre bu konformasyonun ADT kullanıcı arayüzü yardımıyla 3 boyutlu doking görüntüsü ve gözlenen tüm etkileşimleri Şekil 4.33.'de verilmiştir.



Şekil 4.33. Timol doking görüntüsü

Konformasyonun aktif cebe tam olarak yerleştiği görülmektedir ve etkileşimde olduğu aminoasitler; TYR89; TRP53; TRP143; TYR192; MET114'tür. Konformasyonun aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Etkileşim içinde bulunduğu bu aminoasitlerle ise hidrojen bağı yapmamaktadır (Şekil 4.34. ve Şekil 4.35.). Bağlanma afinitesi ise, -8.1 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri **1.250  $\mu\text{M}$**  bulunmuştur.



#### 4.3.1.8. Timokinon

Timokinon çörekotu bitkisi içinde bulunan bir başka fitokimyasaldır. Bu çalışma ışığında diğer fitokimyasallarda olduğu gibi timokinonun da AChBP ile dokingi yapılmıştır. *AutoDock Vina* programı ile yapılan doking çalışmasında elde edilen log dosyasında mevcut 14 konformasyon bulunmaktadır. Log dosyası Şekil 4.36.'da görülmektedir.

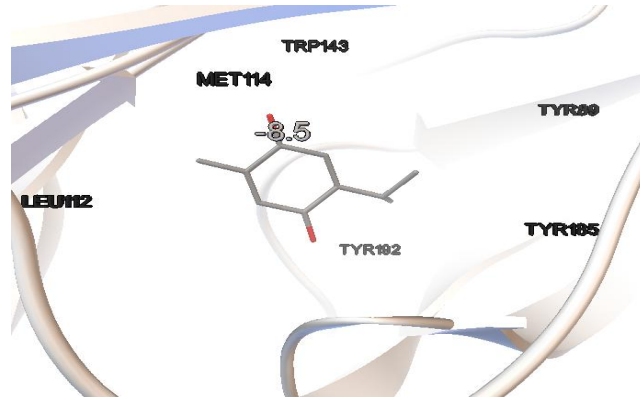
```
log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: -991669904
Performing search ... done.
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1     | -8.5      | 0.000     | 0.000
2     | -8.4      | 1.320     | 2.950
3     | -8.4      | 1.170     | 1.363
4     | -8.3      | 1.224     | 1.668
5     | -8.2      | 1.386     | 2.705
6     | -8.1      | 1.323     | 1.569
7     | -8.0      | 2.153     | 3.171
8     | -8.0      | 1.083     | 4.605
9     | -8.0      | 1.139     | 4.693
10    | -7.9      | 3.897     | 5.422
11    | -7.9      | 1.392     | 4.618
12    | -7.9      | 1.214     | 4.106
13    | -7.9      | 1.238     | 4.042
14    | -7.7      | 1.188     | 4.858

Writing output ... done.
```

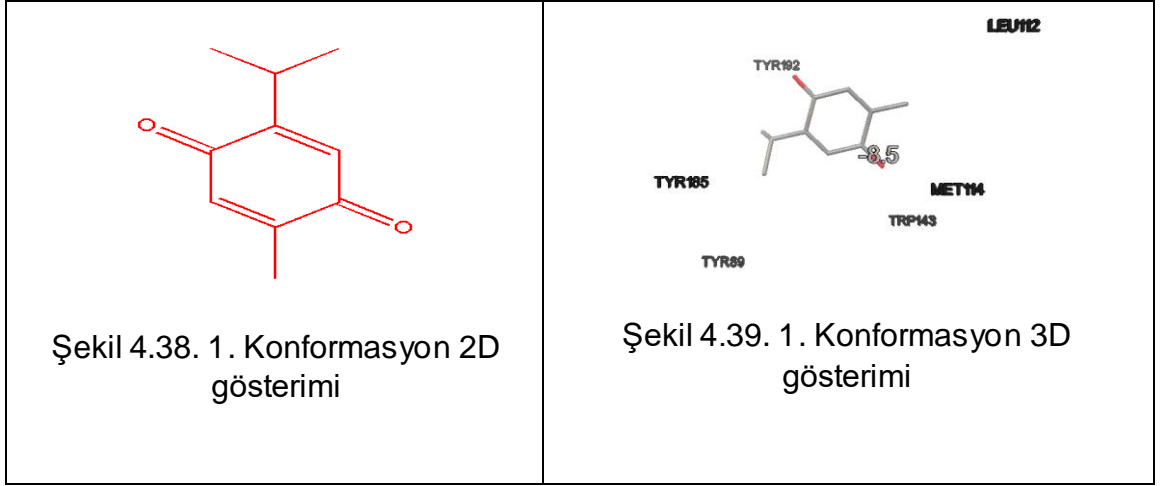
Şekil 4.36. Timokinon log dosyası

Doking sonucunda bulunan konformasyonun aktif bölgedeki aminoasitlerle tüm etkileşimlerinin görüntüsü ADT kullanıcı ara yüzü kullanılarak aşağıda verilmiştir (Şekil 4.37.).



Şekil 4.37. Timokinon doking görüntüsü

Bu konformasyon dikkate alındığında aktif bölgede etkileşilen aminoasitler ve hidrojen bağları incelenmektedir. Konformasyon incelendiğinde hidrojen bağının yapılmadığı görülmektedir. Aktif bölgede ise van der Waals etkileşiminin olduğu aminoasitler; TRP143; TYR89; MET114; TYR185; TYR192; LEU112 (Şekil 4.38. ve Şekil 4.39.). Bağlanma afinitesi ise, -8.5 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri **0.637  $\mu\text{M}$**  bulunmuştur.

#### 4.3.1.9. Lavandula stoechas, Karabaş otu. Kamfor

Karabaş otu bitkisinde bulunan kamfor yapısı kara biber bitkisinde de olduğu için doking sonuçları bölüm 4.3.1.3.'de verilmiştir.

#### 4.3.1.10. Karvakrol

Karabaş otu bitkisinde bulunan karvakrol yapısı çörekotu bitkisinde de olduğu için doking sonuçları bölüm 4.3.1.5.'de verilmiştir.

#### 4.3.1.11. Mentol

Mentol ve AChB proteinin dokingi için diğer ligandlarda hazırlanan aynı parametrelerle konfigürasyon dosyası hazırlanmış ve doking işlemi yapılmıştır. *AutoDock Vina* programı ile yapılan doking sonrası log dosyası hazırlanmıştır (Şekil 4.40.).

```

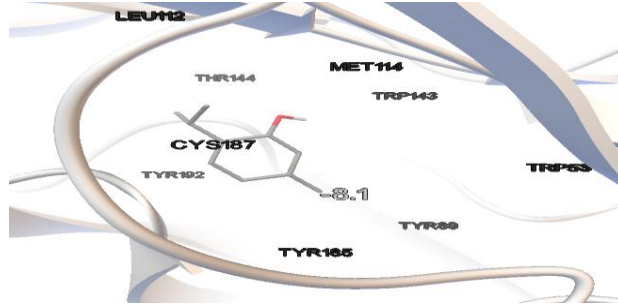
log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: 2067269916
Performing search ... done.
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1     | -8.1      | 0.000     | 0.000
2     | -8.0      | 1.265     | 4.175
3     | -8.0      | 1.852     | 3.395
4     | -8.0      | 1.071     | 1.152
5     | -7.9      | 1.323     | 4.213
6     | -7.8      | 0.997     | 1.495
7     | -7.8      | 1.598     | 2.277
8     | -7.7      | 2.189     | 4.710
9     | -7.7      | 1.511     | 2.137
10    | -7.6      | 1.778     | 2.765
11    | -7.6      | 1.585     | 4.416
12    | -7.6      | 1.970     | 2.760
13    | -7.5      | 1.653     | 4.575
14    | -7.5      | 2.275     | 3.507
Writing output ... done.

```

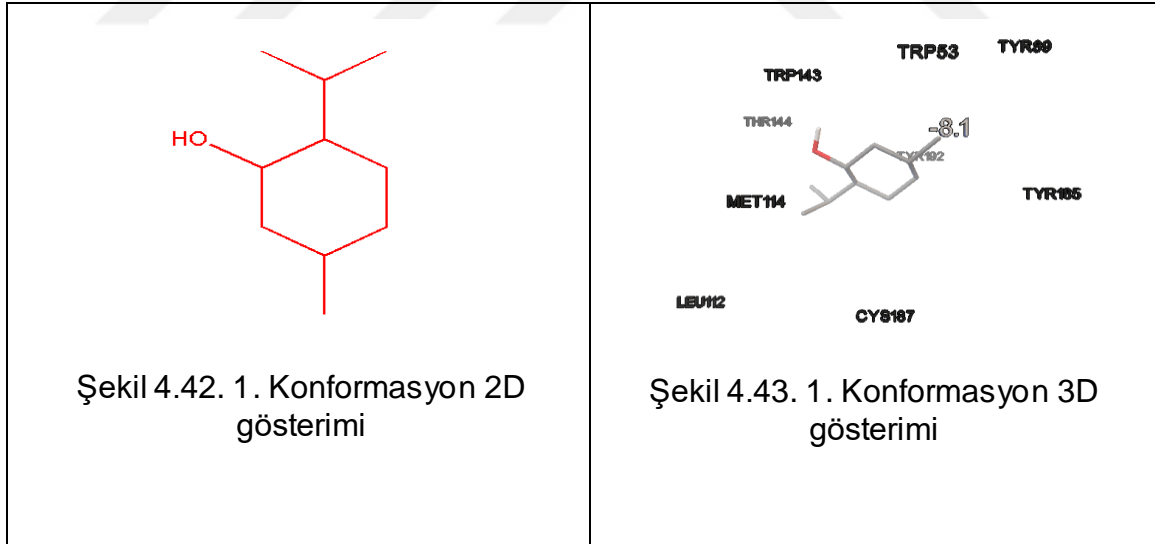
Şekil 4.40. Mentol log dosyası

Program tarafından oluşturulan bu log dosyasında mentolün aktif bölgeye yerleşebilmesi mümkün olan konformasyonları belirlenmiş ve bunlar bağlanma enerjileri dikkate alınarak sıralanmıştır. Burada anlamlı olan konformasyonun aktif bölgedeki 3D görüntüsü aşağıda gösterilmiştir (Şekil 4.41.).



Şekil 4.41. Mentol doking görüntüsü

Konformasyonun yerleştiği aktif bölgede van der Waals etkileşimlerinden sorumlu olan aminoasitler; CYS187; LEU112; MET114; TYR185; TYR89; TRP53; TRP143; THR144'tür. Bu konformasyon aktif bölgede yaptığı hidrojen bağları açısından incelendiğinde aminoasitler ile hidrojen bağı yapmadığı görülmektedir (Şekil 4.42. ve Şekil 4.43.). Bağlanma afinitesi ise, -8.1 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri **1.246  $\mu\text{M}$**  bulunmuştur.

#### 4.3.1.12. Menton

Tüm dokingler için aynı hazırlanan konfigürasyon dosyası ile mentonun doking işlemi yapılmıştır. Program tarafından hazırlanan log dosyasında bağlanma afiniteleri en yüksekten en düşüğe sıralanmıştır (Şekil 4.44.).

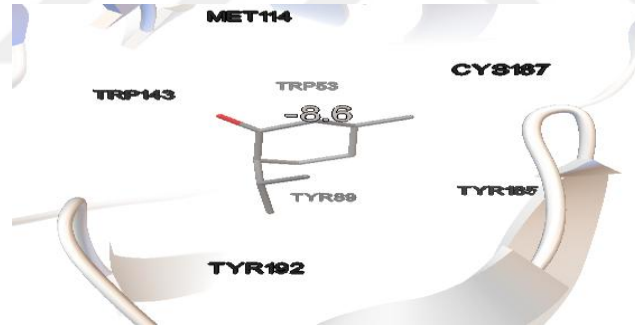
```
log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım

mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1     | -8.6      | 0.000     | 0.000
2     | -8.4      | 1.637     | 3.183
3     | -8.4      | 1.592     | 2.338
4     | -8.2      | 1.710     | 3.501
5     | -8.2      | 1.973     | 3.675
6     | -8.1      | 0.581     | 3.638
7     | -7.9      | 1.927     | 3.750
8     | -7.9      | 1.839     | 3.673
9     | -7.9      | 1.349     | 2.306
10    | -7.8      | 1.364     | 2.984
11    | -7.8      | 1.995     | 3.144
12    | -7.8      | 1.827     | 3.333
13    | -7.7      | 1.832     | 3.318
14    | -7.7      | 1.746     | 3.753
15    | -7.7      | 1.769     | 3.199
16    | -7.7      | 1.332     | 2.062
17    | -7.6      | 1.925     | 3.407
18    | -7.5      | 1.610     | 2.535

Writing output ... done.
```

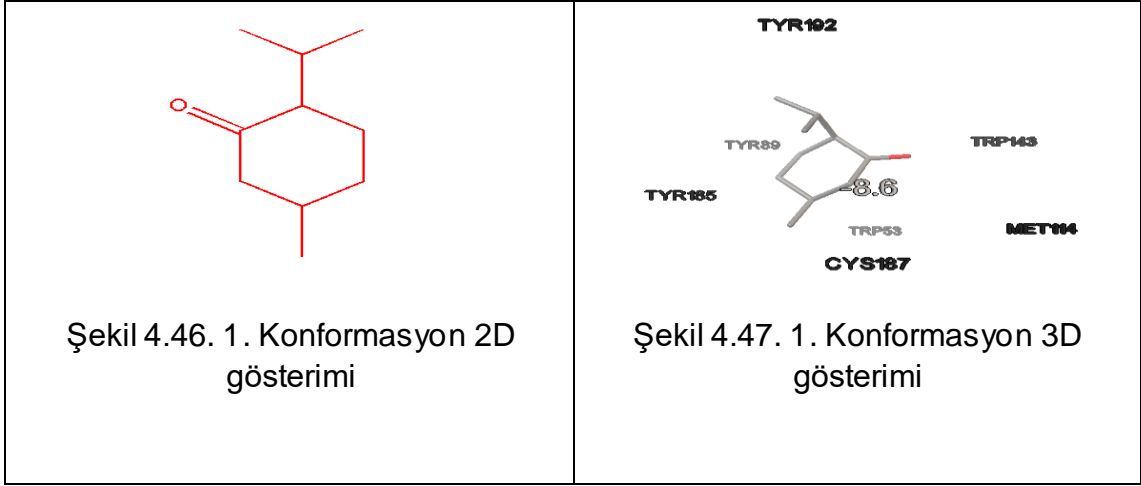
Şekil 4.44. Menton log dosyası

Bu sonuçlara göre anlamlı konformasyon *AutoDock Vina* kullanıcı ara yüzü yardımıyla incelendiğinde aktif bölgeye yerleşmiş 3D gösterimi aşağıdaki şekilde gösterilmiştir (Şekil 4.45.).



Şekil 4.45. Menton doking görüntüsü

Konformasyon aktif bölge cebine yerleşme, etkileşimler ve hidrojen bağı etkileşimleri açısından incelenmiştir. Konformasyon ele alındığı zaman, aktif bölgede etkileştiği aminoasitler; TYR192; TRP143; TYR89; MET114; CYS187; TYR185; TRP53'tür. Konformasyonun aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Hidrojen bağları açısından incelendiğinde ise herhangi bir hidrojen bağı izlenmemiştir (Şekil 4.46. ve Şekil 4.47.). Bağlanma afinitesi ise, -8.6 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri **0.538  $\mu\text{M}$**  bulunmuştur.

#### 4.3.1.13. *Lobelia inflata*, *Lobelya*, *Lobelin*

Tüm dokingler için aynı olarak hazırlanan konfigürasyon dosyası lobelin için de hazırlanmıştır. *AutoDock Vina* programı tarafından log dosyası oluşturulmuştur (Şekil 4.48.).

```

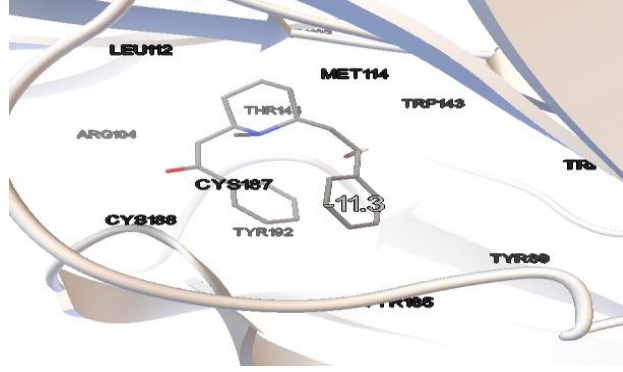
log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım

mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----+-----+-----+-----
1     | -11.3     | 0.000     | 0.000
2     | -11.1     | 2.433     | 5.502
3     | -11.0     | 2.823     | 4.201
4     | -11.0     | 2.627     | 3.794
5     | -11.0     | 2.403     | 5.871
6     | -11.0     | 2.412     | 5.875
7     | -10.9     | 2.622     | 6.126
8     | -10.9     | 2.387     | 5.262
9     | -10.8     | 2.391     | 5.546
10    | -10.7     | 1.540     | 5.803
11    | -10.7     | 2.341     | 5.160
12    | -10.7     | 2.029     | 6.240
13    | -10.6     | 2.737     | 6.609
14    | -10.5     | 2.086     | 4.595
15    | -10.5     | 1.399     | 5.736
16    | -10.5     | 2.832     | 6.375
17    | -10.5     | 2.345     | 6.211
18    | -10.4     | 3.599     | 6.892
19    | -10.4     | 2.792     | 4.144
Writing output ... done.

```

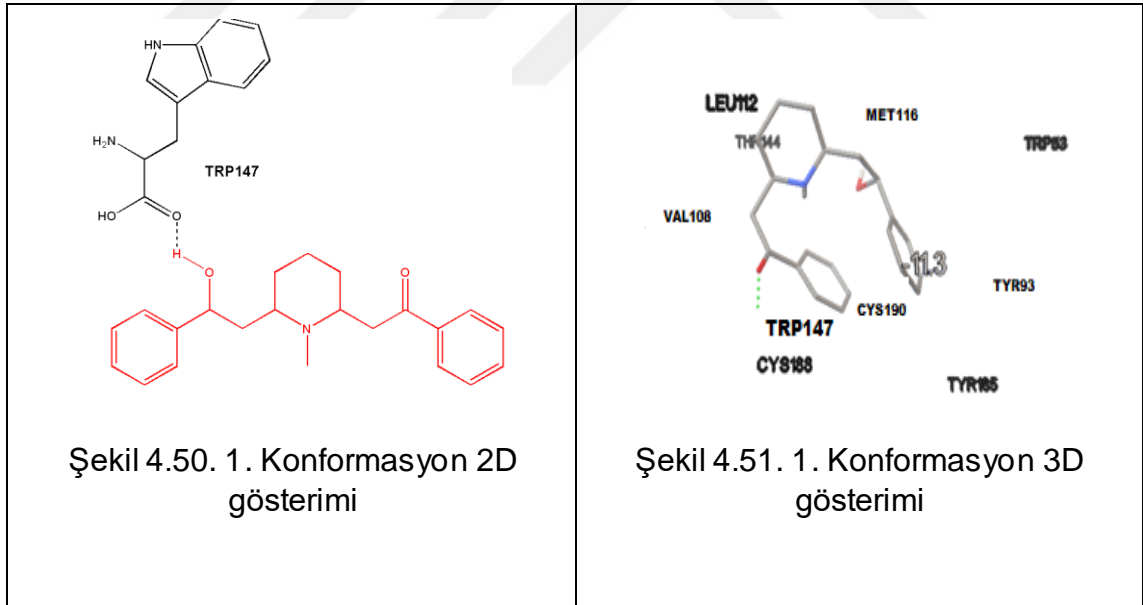
Şekil 4.48. Lobelin log dosyası

Sıralanan 19 konformasyonlarda, bağlanma enerjileri ve görsel değerlendirmeler dikkate alınmıştır. *AutoDock Vina* kullanıcı ara yüzü yardımıyla bu konformasyonun aktif bölgeye yerleşmiş doking görüntüsü aşağıda verilmiştir (Şekil 4.49.).



Şekil 4.49. Lobelin doking görüntüsü

Bu konformasyon aktif bölgeye yerleşip yerleşmediği ve hidrojen bağları açısından incelenmiştir. Konformasyonun yerleştiği aktif bölgedeki aminoasitler; TYR185; TRP53; CYS188; CYS190; MET116; LEU112; TRP147; TYR93; VAL108'dir. Konformasyonun, aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Bu konformasyon aktif bölgeye yerleştiğinde aktif bölgedeki TRP147 aminoasiti ile 1 hidrojen bağı yaptığı görülmektedir (Şekil 4.50. ve Şekil 4.51.). Bağlanma afinitesi ise, -11.3 kcal/mol'dür.

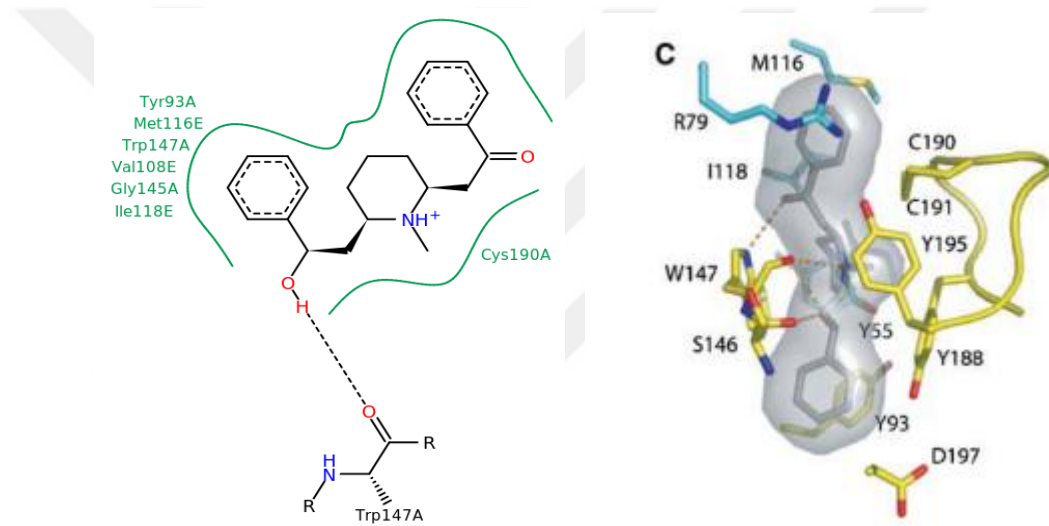


Scott ve ark. [52] tarafından 2BYS pdb kodu kullanılarak Aplysia AChBP kompleksinin lobelin ligandı ile doking işlemi gerçekleştirilmiştir. Konformasyonun yerleştiği aktif bölgedeki aminoasitler; TYR195; TRP147; CYS191; CYS190; MET116; SER146; ARG79; TYR188; TYR93; TYR55; VAL108; ASP197 ve ILE118'dir. TRP147 aminoasiti ile 1 hidrojen bağı yaptığı görülmektedir (Şekil 4.52.).

Çizelge 4.2. Aminoasit karşılaştırılması

Aminoasit	CYS 188	CYS 190	CYS 191	MET 116	ILE 118	TYR 55	TYR 93	TYR 185	TYR 188	TRP 147	TRP 53	LEU 112	SER 146	ASP 197	VAL 108	TYR 195	ARG 79
Yapılan 1UW6	+	+		+			+	+		+	+	+			+		
Referans 2BYS		+	+	+	+	+	+		+	+			+	+	+	+	+

Sonuçların karşılaştırılması aşağıdaki çizelgede görülmektedir (Çizelge 4.2.). Çizelgeden sonuçların uyumlu olduğu söylenebilir.



Şekil 4.52. 2BYS AChBP-Lobelin kompleksi aminoasit çevresi

Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri **0.0058  $\mu\text{M}$**  bulunmuştur. Lobelin için bulunan deneysel  $K_i=0.0015-0.016 \mu\text{M}$ 'dir.

#### 4.3.1.14. *Hypericum perforatum*, St. John's wort, Sarı kantaron. Astilbin

Doking işlemi için *Vina* programı kullanılarak sarı kantaron bitkisindeki astilbin ligandı ile AchBP doking hesaplaması yapılmıştır. Yukarıda belirttiğimiz dosyalar oluşturularak doking işlemi yapıldı, mümkün olabilecek

konformasyonlar *AutoDock Vina* programı tarafından belirlendi ve log dosyası oluşturuldu (Şekil 4.53.).

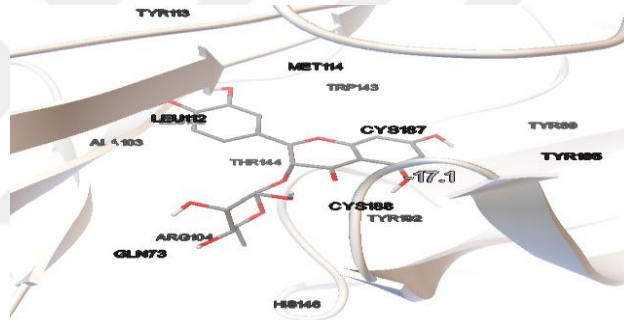
log - Not Defteri

Dosya	Düzen	Birim	Görünüm	Yardım
mode	affinity	dist from best mode		
	(kcal/mol)	rmsd l.b.   rmsd u.b.		
1	-17.1	0.000		0.000
2	-17.0	0.795		1.702
3	-16.8	1.407		6.306
4	-16.7	2.973		7.733
5	-16.7	2.374		7.622
6	-16.6	2.159		7.000
7	-16.5	1.764		6.258
8	-16.4	1.667		6.822
9	-16.4	1.569		6.323
10	-16.3	3.666		8.179
11	-16.2	2.827		6.078
12	-16.2	1.942		7.598
13	-16.2	1.567		5.478
14	-16.2	1.614		5.662
15	-16.0	3.714		8.591
16	-16.0	1.793		6.380
17	-16.0	2.722		6.868
18	-15.9	2.949		4.358
19	-15.9	4.276		7.995
20	-15.7	3.542		7.104

Writing output ... done.

Şekil 4.53. Astilbin log dosyası

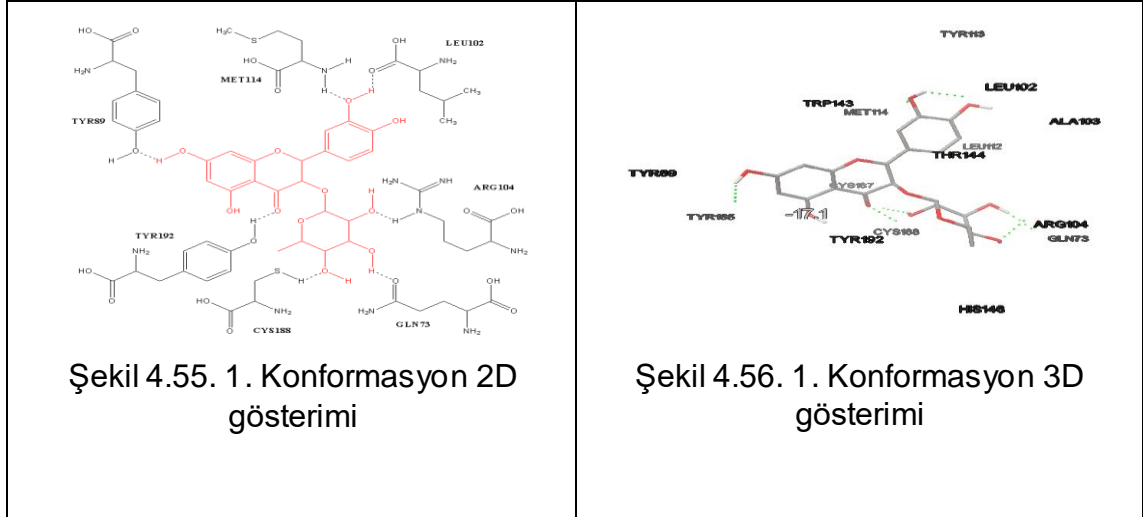
Program yardımı ile aktif bölgedeki astilbin ligandı ile oluşabilecek tüm etkileşimler gözlemlendi (Şekil 4.54.).



Şekil 4.54. Astilbin doking görüntüsü

*AutoDock Vina* programı sonuçlarına göre anlamlı docking konformasyonun aktif bölge aminoasitleri; LEU102, HIS146, ARG104, ALA103, GLN73, THR144, LEU112, TRP143, CYS188, TYR113, CYS187, TYR185, MET114, TYR89 ve TYR192'dir. Konformasyonun, aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Konformasyon detaylı olarak incelendiğinde mevcut 7 hidrojen bağı gözlenmektedir. Hidrojen bağından sorumlu aminoasitler ise TYR89, MET114, ARG104, GLN73, CYS188, TYR192 ve LEU102'dir (Şekil 4.55. ve Şekil 4.56.). Bağlanma afinitesi ise, -17.1 kcal/mol'dür.





Ayrıca tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri  $0.34 \times 10^{-6} \mu M$  bulunmuştur.

#### 4.3.1.15. Katekin

Program tarafından mümkün olabilecek tüm konformasyonların bağlanma enerjileri dikkate alınarak sıralandığı log dosyası oluşturulmuştur (Şekil 4.57.).

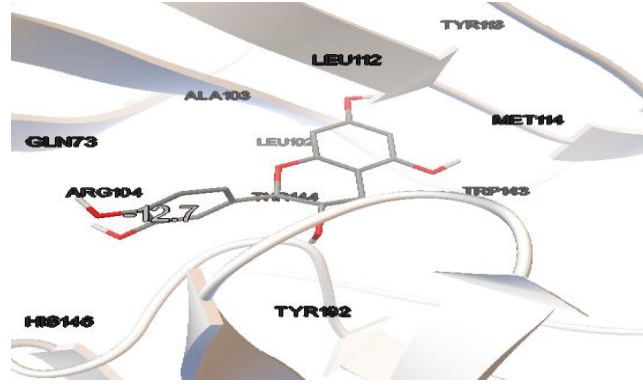
log - Not Defteri

Dosya	Düzen	Biçim	Görünüm	Yardım
mode	affinity	dist from best mode		
	(kcal/mol)	rmsd l.b.   rmsd u.b.		
1	-12.7	0.000	0.000	
2	-12.5	1.690	3.440	
3	-12.4	4.226	5.935	
4	-12.3	1.035	1.379	
5	-12.2	2.938	4.836	
6	-12.1	3.344	5.789	
7	-11.8	1.999	6.817	
8	-11.7	3.182	6.552	
9	-11.6	1.813	3.855	
10	-11.6	3.867	6.792	
11	-11.5	4.073	6.944	
12	-11.4	1.355	6.980	
13	-11.3	2.343	6.896	
14	-11.3	3.277	6.883	
15	-11.2	3.620	6.446	
16	-11.1	6.187	7.904	
17	-11.0	3.183	6.004	
18	-10.9	2.416	7.360	
19	-10.8	3.064	7.905	

Writing output ... done.

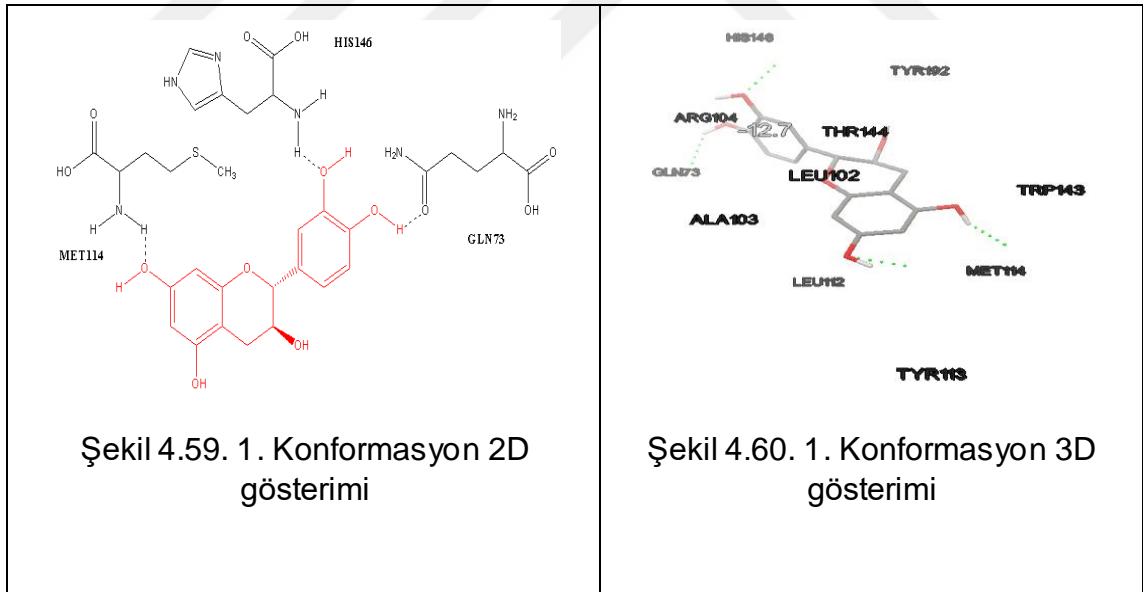
Şekil 4.57. Katekin log dosyası

Mevcut 19 konformasyonun bağlanma enerjileri ve görsel incelemeleri yapılmıştır. Bu konformasyonun aktif bölgedeki görüntüsü ve aminoasit çevresi aşağıda görüldüğü gibidir (Şekil 4.58.).



Şekil 4.58. Katekin doking görüntüsü

Konformasyonun yerleştiği aktif bölgede bulunan aminoasitler; TYR113, TRP143, ALA103, LEU102, LEU112, MET114, ARG104, TYR192, GLN73, HIS146 ve THR144'dür. Konformasyonun, aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Konformasyon detaylı olarak incelendiğinde mevcut 3 hidrojen bağı gözlenmektedir. Hidrojen bağlarından sorumlu aminoasitler ise; HIS146, GLN73 ve MET114'tür (Şekil 4.59. ve Şekil 4.60.). Bağlanma afinitesi ise, -12.7 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri  $6 \times 10^{-4} \mu M$  bulunmuştur.

#### 4.3.1.16. Hiperozid

Hiperozid yapısının doking hesaplaması için hazırlanan konfigürasyon dosyasının parametreleri tüm doking hesaplamalarında olduğu gibidir. *Vina* log dosyasında olması mümkün olan konformasyonlar bağlanma enerjilerine göre sıralanmıştır (Şekil 4.61.).

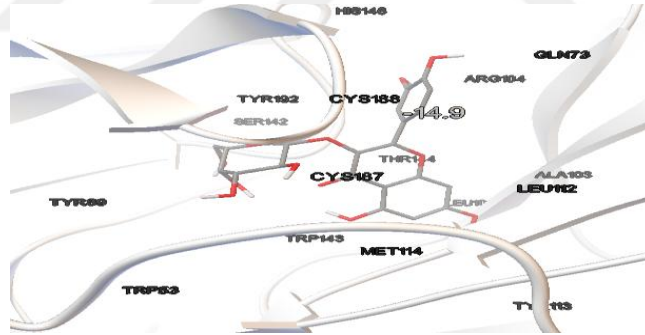
```
log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1     | -14.9     | 0.000     | 0.000
2     | -14.5     | 1.649     | 5.834
3     | -14.4     | 1.663     | 7.021
4     | -14.3     | 1.791     | 5.716
5     | -14.1     | 1.643     | 6.883
6     | -14.0     | 3.085     | 7.451
7     | -13.9     | 1.679     | 5.987
8     | -13.7     | 2.188     | 6.381
9     | -13.5     | 1.500     | 2.440
10    | -13.4     | 2.059     | 5.541
11    | -13.2     | 2.531     | 5.327
12    | -13.0     | 1.248     | 2.286
13    | -12.9     | 2.117     | 5.944
14    | -12.9     | 2.770     | 7.116
15    | -12.8     | 1.747     | 6.717
16    | -12.8     | 3.061     | 7.288
17    | -12.7     | 1.680     | 7.058

Writing output ... done.
```

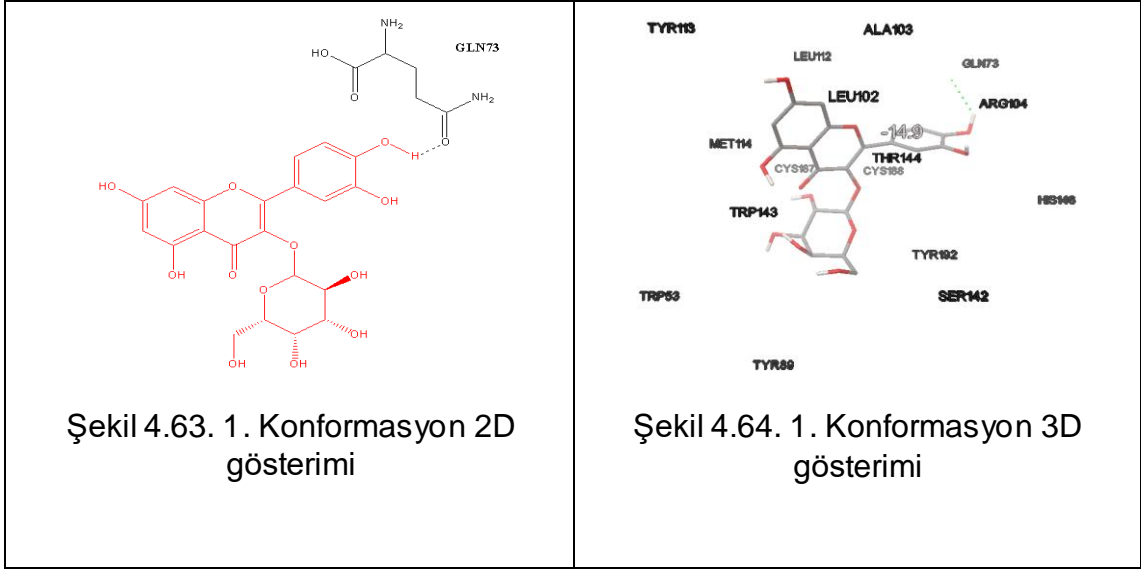
Şekil 4.61. Hiperozid log dosyası

Bunlar dikkate alındığında anlamlı olan konformasyonun doking görüntüsü aşağıda verilmiştir (Şekil 4.62.).



Şekil 4.62. Hiperozid doking görüntüsü

Konformasyon incelendiğinde yerleştiği aktif bölgedeki aminoasitler; HIS146, SER142, CYS187, CYS188, TYR113, TYR89, TRP143, GLN73, TYR192, THR144, LEU102, ARG104, LEU112, ALA103 ve TRP53'tür. Konformasyonun, aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Konformasyon bu bölgede GLN73 ile 1 hidrojen bağı yapmaktadır (Şekil 4.63. ve Şekil 4.64.). Bağlanma afinitesi ise, -14.9 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri  $14 \times 10^{-6} \mu M$  bulunmuştur.

#### 4.3.1.17. İzokuersitrin

İzokuersitrin yapısının dokingi için hazırlanan konfigürasyon dosyasının parametresi diğer dokingler ile aynıdır. Program tarafından oluşturulan bağlanma enerjilerinin bulunduğu log dosyası oluşturulmuştur. Log dosyasında mümkün olabilecek konformasyonlar belirlenmiş ve bağlanma enerjileri dikkate alınarak sıralanmıştır (Şekil 4.65.).

```

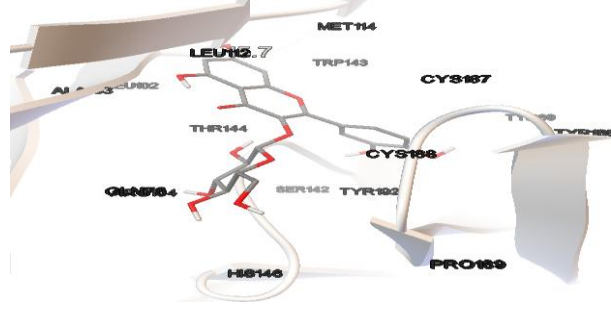
log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: -2077751344
Performing search ... done.
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1     | -15.7     | 0.000     | 0.000
2     | -14.8     | 1.623     | 6.100
3     | -14.6     | 1.417     | 5.713
4     | -14.4     | 1.872     | 6.403
5     | -14.2     | 1.609     | 5.490
6     | -14.1     | 2.018     | 7.236
7     | -13.9     | 1.990     | 7.605
8     | -13.9     | 2.340     | 6.143
9     | -13.8     | 1.683     | 6.249
10    | -13.8     | 2.130     | 4.968
11    | -13.7     | 1.538     | 5.946
12    | -13.4     | 1.052     | 2.084
13    | -13.3     | 1.195     | 1.971
14    | -13.2     | 1.919     | 6.630
Writing output ... done.

```

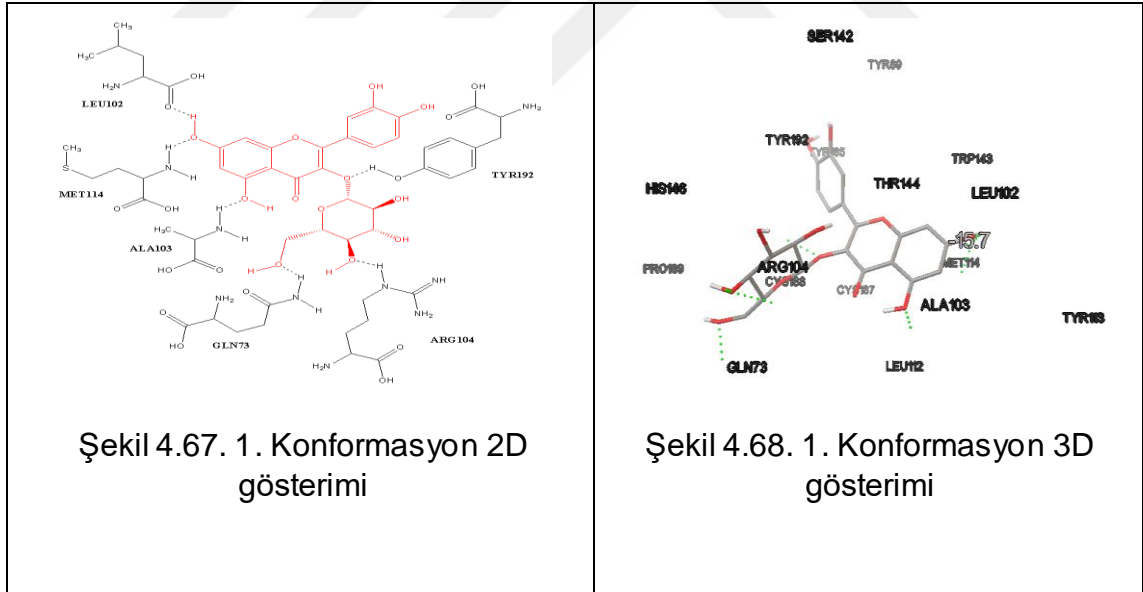
Şekil 4.65. İzokuersitrin log dosyası

Mümkün olacak 14 konformasyon sıralanmıştır. 1. Konformasyonun en anlamlı konformasyon olduğu belirlenmiştir. Bu konformasyonun aktif bölgedeki görüntüsü Şekil 4.66.'da görüldüğü gibidir.



Şekil 4.66. Izokuersitrin doking görüntüsü

Seçilen konformasyonun yerleştiği aktif bölgede bulunan aminoasitleri; TRP143, TYR89, TYR192, TYR113, CYS188, CYS187, TYR185, SER142, LEU102, ALA103, THR144, PRO189, ARG104, HIS146, GLN73, LEU112 ve MET114'tür. Konformasyonun aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Bahsi geçen konformasyon aktif bölgede 6 hidrojen bağı yapmaktadır. Hidrojen bağlarından sorumlu aminoasitler ise; ARG104, GLN73, TYR192, LEU102, ALA103 ve MET114'tür (Şekil 4.67. ve Şekil 4.68.). Bağlanma afinitesi ise, -15.7 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri  $3.5 \times 10^{-6} \mu\text{M}$  bulunmuştur.

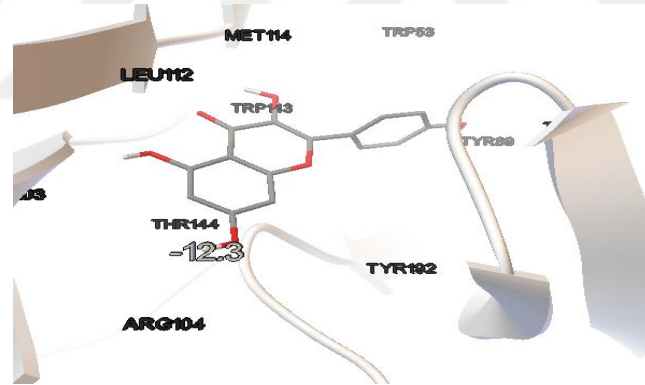
#### 4.3.1.18. Kaemferol

Program tarafından konfigürasyon dosyası hazırlandıktan sonra kaemferol yapısı için doking sonrası hazırlanan log dosyası oluşturulmuştur. Oluşturulan log dosyasında mümkün olabilecek konformasyonlar belirlenmiştir (Şekil 4.69.).

```
log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1     | -12.3     | 0.000     | 0.000
2     | -12.3     | 0.051     | 1.061
3     | -12.3     | 1.593     | 3.342
4     | -12.2     | 1.571     | 3.332
5     | -11.9     | 2.025     | 3.640
6     | -11.8     | 3.027     | 6.454
7     | -11.3     | 1.840     | 6.435
8     | -11.3     | 3.302     | 5.920
9     | -11.3     | 2.122     | 3.631
10    | -11.1     | 2.703     | 5.365
11    | -11.0     | 2.386     | 6.837
12    | -11.0     | 1.871     | 6.885
13    | -10.9     | 2.414     | 6.397
14    | -10.9     | 2.377     | 6.250
15    | -10.9     | 3.475     | 5.830
16    | -10.9     | 3.270     | 6.857
17    | -10.9     | 2.187     | 6.401
18    | -10.6     | 3.065     | 5.157
19    | -10.5     | 3.561     | 6.182
20    | -10.5     | 2.249     | 6.241
Writing output ... done.
```

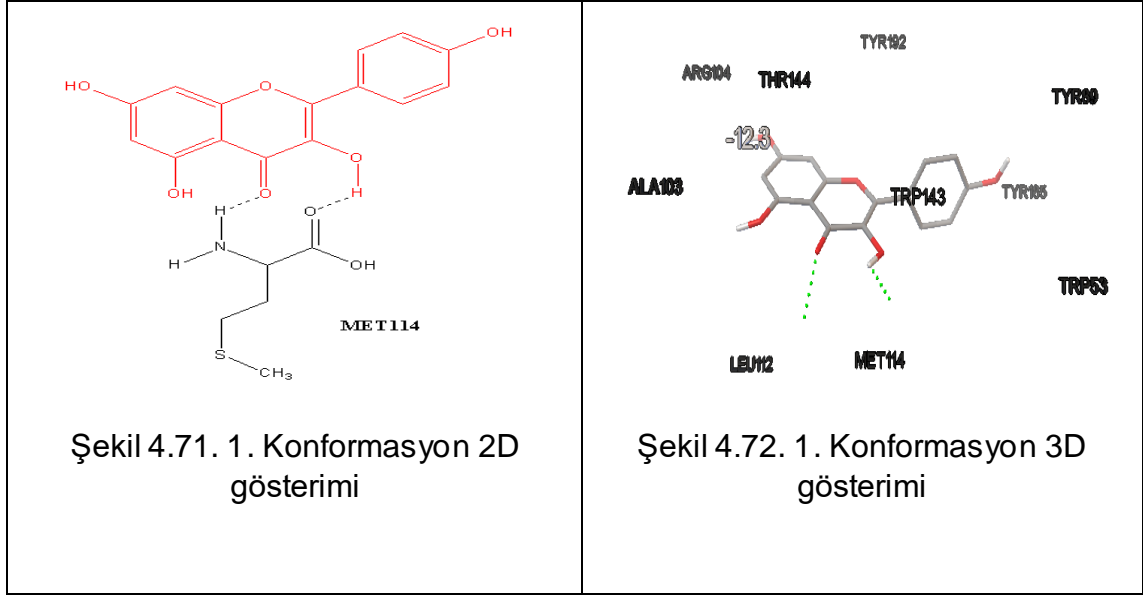
Şekil 4.69. Kaemferol log dosyası

Bu konformasyonlara bakıldığında ligandın aktif bölgeye yerleşmiş doking görüntüsü aşağıda gösterilmiştir (Şekil 4.70.).



Şekil 4.70. Kaemferol doking görüntüsü

Konformasyon incelendiğinde yerleştiği aktif bölgedeki aminoasitler; TYR89, TRP143, TRP53, MET114, ALA103, THR144, ARG104, TYR192, TYR185 VE LEU112'dir. Konformasyonun aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Konformasyonun aktif bölgede yaptığı 2 hidrojen bağı ADT kullanıcı ara yüzü yardımıyla gözlenmiştir. Bu bağlar; MET114 aminoasiti ile yapılmıştır (Şekil 4.71. ve Şekil 4.72.). Bağlanma afinitesi ise, -12.3 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri  $11 \times 10^{-4} \mu M$  bulunmuştur.

#### 4.3.1.19. Epikatekin

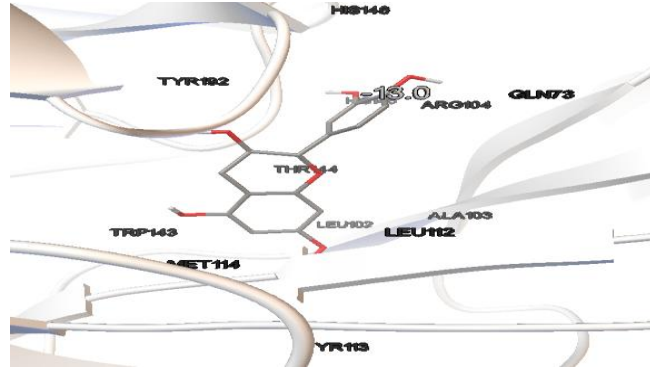
Program tarafından epikatekin yapısı için girilen konfigürasyon dosyası ile doking sonrası log dosyası oluşturulmuştur. log dosyasında olması mümkün olan konformasyonlar sıralanmıştır (Şekil 4.73.).

```
log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----+-----+-----+-----
1     | -13.0     | 0.000     | 0.000
2     | -12.3     | 1.861     | 3.754
3     | -12.2     | 0.661     | 1.510
4     | -12.0     | 3.113     | 6.408
5     | -11.9     | 3.185     | 5.818
6     | -11.8     | 1.282     | 6.980
7     | -11.6     | 3.135     | 5.883
8     | -11.5     | 2.953     | 4.877
9     | -11.5     | 2.011     | 3.923
10    | -11.5     | 6.114     | 8.019
11    | -11.5     | 2.236     | 6.790
12    | -11.4     | 3.090     | 6.698
13    | -11.4     | 2.722     | 7.831
14    | -11.3     | 4.381     | 7.083
15    | -11.2     | 3.837     | 6.732
16    | -11.2     | 1.602     | 6.834
17    | -11.1     | 3.439     | 7.341
18    | -11.0     | 3.777     | 4.930
Writing output ... done.
```

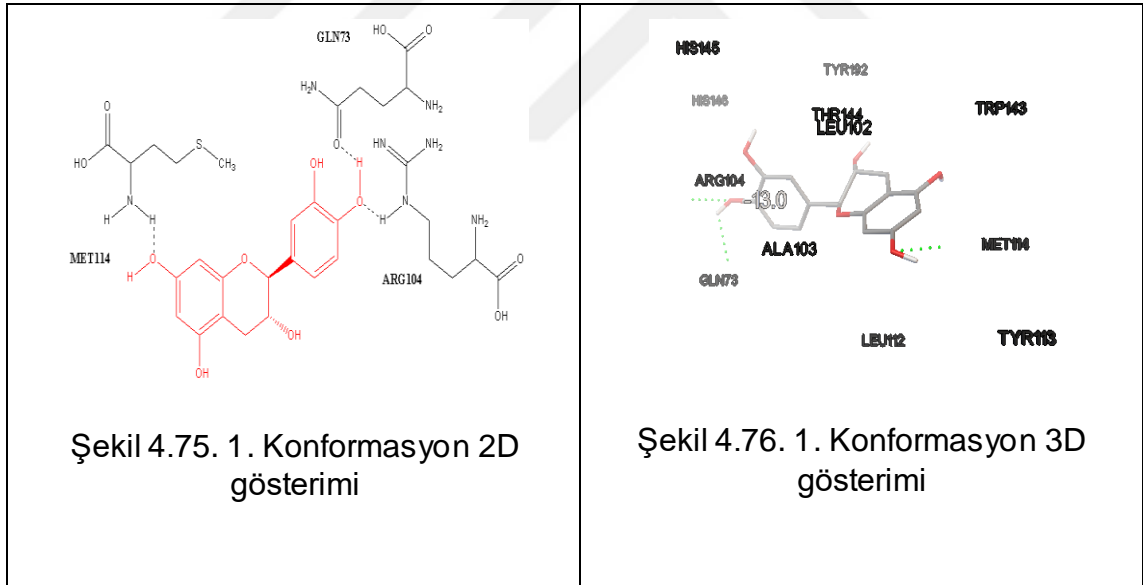
Şekil 4.73. Epikatekin log dosyası

Bu konformasyonların bağlanma enerjileri ve görsel değerlendirmeleri dikkate alındığında uygun konformasyonun doking sonrası görüntüsü ve çevredeki aminoasitleri incelenmiştir (Şekil 4.74.).



Şekil 4.74. Epikatekin doking görüntüsü

Konformasyonun aktif bölgeye yerleştiğinde bu bölgede bulunan aminoasitler; TYR192, THR144, TYR113, MET114, GLN73, ALA103, ARG104, HIS145, HIS146, LEU102, LEU112 ve TRP143'tür. Konformasyonun, aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Bu bölgede bahsi geçen konformasyonun ARG104, MET114, GLN73 aminoasitleri ile 3 hidrojen bağı yaptığı gözlemlenmektedir (Şekil 4.75. ve Şekil 4.76.). Bağlanma afinitesi ise, -13.0 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri  $3 \times 10^{-4} \mu M$  bulunmuştur.



#### 4.3.1.20. Luteolin

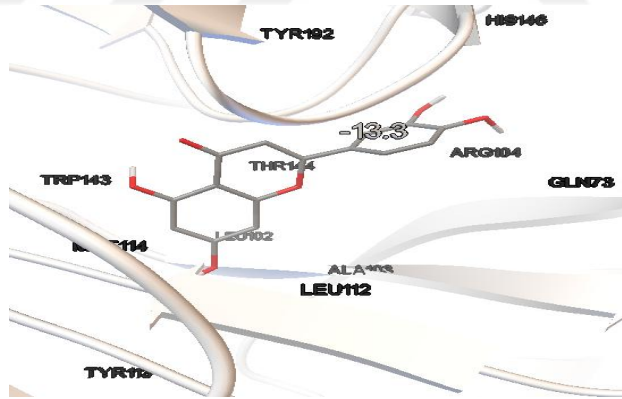
Doking işlemleri için *Vina* programı kullanılarak sarı kantaron bitkisindeki luteolin ligandı ile AChBP doking hesaplaması yapılmıştır. Programı yardımıyla elde edilen log dosyasında konformasyonlar sonucu olduğu görülmektedir (Şekil 4.77.).

```
log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1     | -13.3     | 0.000     | 0.000
2     | -13.1     | 1.552     | 3.281
3     | -13.0     | 1.476     | 7.097
4     | -12.7     | 4.154     | 6.692
5     | -12.4     | 2.083     | 6.979
6     | -12.3     | 4.066     | 6.074
7     | -12.1     | 1.104     | 1.413
8     | -12.0     | 2.111     | 6.954
9     | -12.0     | 3.304     | 5.963
10    | -12.0     | 4.118     | 6.773
11    | -11.9     | 2.839     | 5.106
12    | -11.9     | 3.499     | 6.471
13    | -11.8     | 4.067     | 6.586
14    | -11.8     | 2.851     | 6.554
15    | -11.8     | 3.374     | 7.205
16    | -11.7     | 1.643     | 3.504
17    | -11.5     | 5.142     | 8.383
Writing output ... done.
```

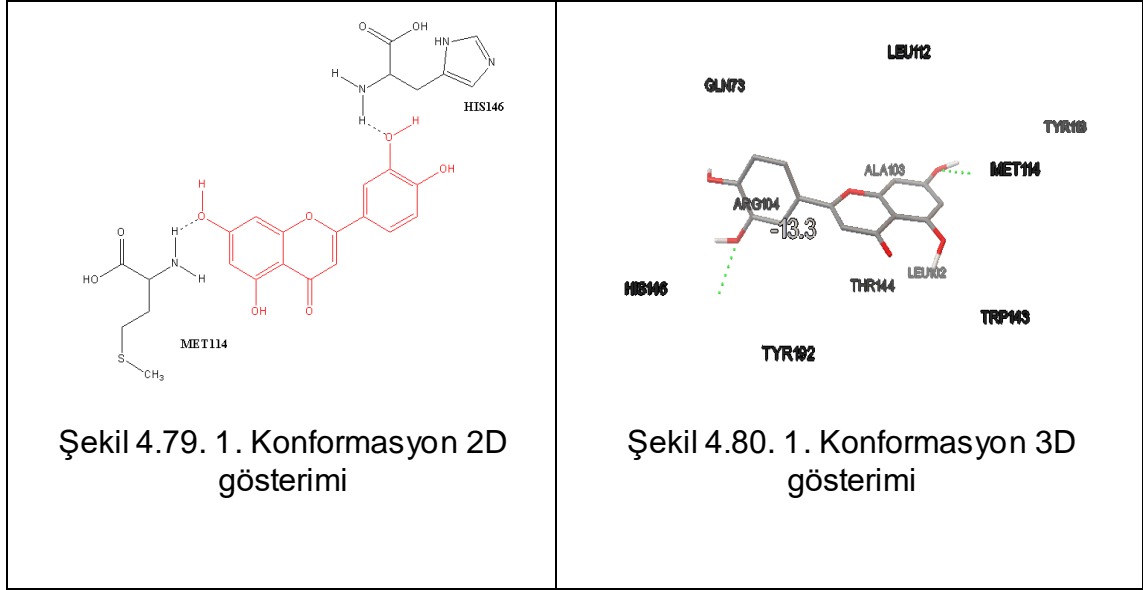
Şekil 4.77. Luteolin log dosyası

Log dosyası kontrol edildiğinde konformasyonun ADT kullanıcı arayüzü yardımıyla 3 boyutlu doking görüntüsü ve gözlenen tüm etkileşimleri aşağıda gösterilmiştir (Şekil 4.78.).



Şekil 4.78. Luteolin doking görüntüsü

Konformasyonun etkileşimde olduğu aminoasitler; LEU102, THR144, ALA103, ARG104, GLN73, LEU112, MET114, TRP143, TYR192, TYR113 ve HIS146'dır. Konformasyonun aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Bu bölgede bahsi geçen konformasyonun HIS146 ve MET114 aminoasitleri ile 2 hidrojen bağı yaptığı gözlemlenmektedir (Şekil 4.79. ve Şekil 4.80.). Bağlanma afinitesi ise, -13.3 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri  $2 \times 10^{-4} \mu M$  bulunmuştur.

#### 4.3.1.21. Mikuelianin

Mikuelianin ligandının AChBP ile dokingi yapılmıştır. *AutoDock Vina* programı ile yapılan doking çalışmasında log dosyası elde edilmiştir (Şekil 4.81.).

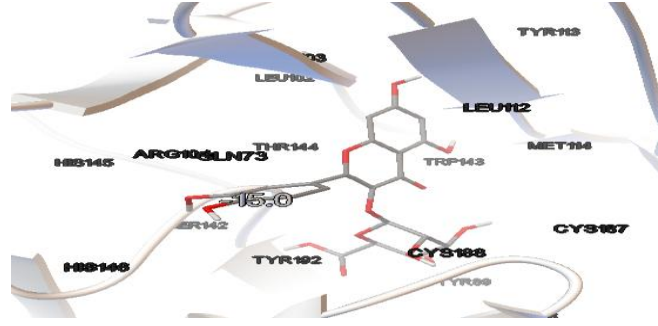
log - Not Defteri

Dosya	Düzen	Biçim	Görünüm	Yardım
mode	affinity	dist from best mode		
	(kcal/mol)	rmsd l.b.	rmsd u.b.	
1	-15.0	0.000	0.000	
2	-14.8	0.977	2.250	
3	-14.8	1.045	2.201	
4	-14.7	1.584	6.116	
5	-14.5	1.521	7.062	
6	-14.5	1.609	6.810	
7	-14.4	1.559	6.988	
8	-14.3	1.458	5.992	
9	-14.3	1.550	5.890	
10	-14.2	3.120	7.546	
11	-14.1	1.794	6.532	
12	-14.0	2.032	5.494	
13	-14.0	2.028	6.361	
14	-13.8	1.547	5.900	
15	-13.8	1.571	2.392	
16	-13.8	1.847	6.313	
17	-13.8	2.328	6.335	
18	-13.7	2.195	6.609	
19	-13.5	1.825	5.773	
20	-13.4	2.522	7.353	

Writing output ... done.

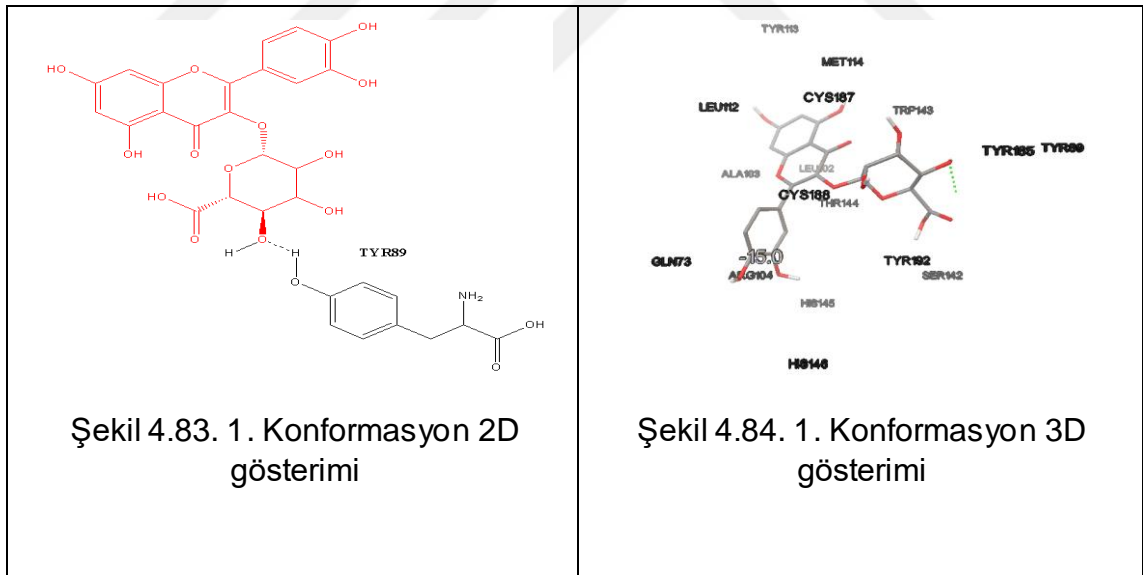
Şekil 4.81. Mikuelianin log dosyası

Doking sonucunda bulunan konformasyonun aktif bölgedeki aminoasitlerle tüm etkileşimlerinin görüntüsü ADT kullanıcı ara yüzü kullanılarak aşağıda verilmiştir (Şekil 4.82.).



Şekil 4.82. Mikuelianin doking görüntüsü

Bu konformasyon dikkate alındığında aktif bölgede etkileşilen aminoasitler ve hidrojen bağları incelenebilir. Konformasyon incelendiğinde hidrojen bağının yapılmadığı görülmektedir. Aktif bölgede ise van der Waals etkileşiminin olduğu aminoasitler; TRP143, TYR89, MET114, TYR185, TYR192, LEU112, HIS145, HIS146, SER142, ARG104, THR144, LEU102, ALA103, GLN73, CYS187, CYS188 ve TYR113'tür. Konformasyonun aktif bölgede yaptığı 1 hidrojen bağı ADT kullanıcı ara yüzü yardımıyla gözlenmiştir. Bu bağı TYR89 aminoasiti ile yapılmıştır (Şekil 4.83. ve Şekil 4.84.). Bağlanma afinitesi ise, -15.0 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri  $11 \times 10^{-6} \mu M$  bulunmuştur.

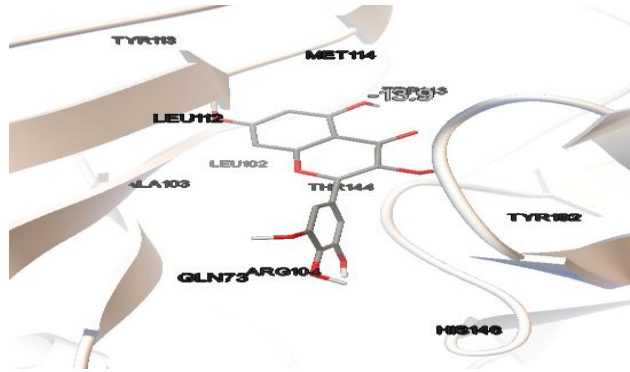
#### 4.3.1.22. Mirisetin

Mirisetin yapısının doking hesaplaması için hazırlanan konfigürasyon dosyasının parametreleri tüm doking hesaplamalarında olduğu gibidir. *Vina* log dosyasında olması mümkün olan konformasyonlar bağlanma enerjilerine göre sıralanmıştır (Şekil 4.85.).

```
log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----+-----+-----+-----
1     | -15.0     | 0.000     | 0.000
2     | -14.8     | 0.977     | 2.250
3     | -14.8     | 1.045     | 2.201
4     | -14.7     | 1.584     | 6.116
5     | -14.5     | 1.521     | 7.062
6     | -14.5     | 1.609     | 6.810
7     | -14.4     | 1.559     | 6.988
8     | -14.3     | 1.458     | 5.992
9     | -14.3     | 1.550     | 5.890
10    | -14.2     | 3.120     | 7.546
11    | -14.1     | 1.794     | 6.532
12    | -14.0     | 2.032     | 5.494
13    | -14.0     | 2.028     | 6.361
14    | -13.8     | 1.547     | 5.900
15    | -13.8     | 1.571     | 2.392
16    | -13.8     | 1.847     | 6.313
17    | -13.8     | 2.328     | 6.335
18    | -13.7     | 2.195     | 6.609
19    | -13.5     | 1.825     | 5.773
20    | -13.4     | 2.522     | 7.353
Writing output ... done.
```

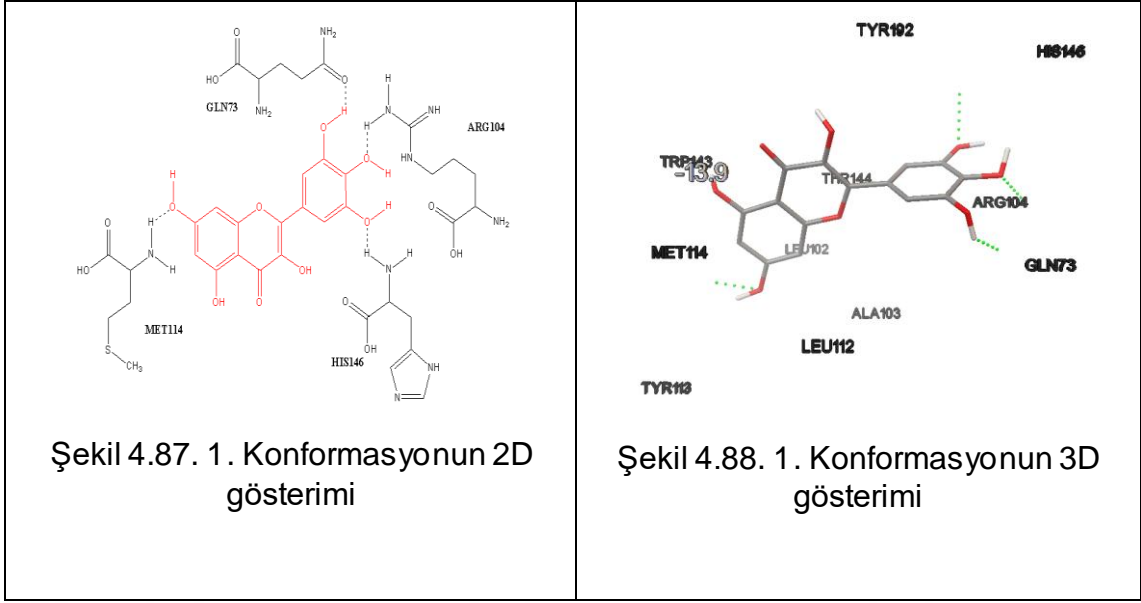
Şekil 4.85. Mirisetin log dosyası

Şekilde gösterilen log dosyasında olması mümkün olan 20 konformasyon sıralanmıştır. Bu konformasyonların bağlanma enerjileri ve görsel değerlendirmeleri dikkate alındığında 1. Konformasyonun anlamlı olduğu görülmüştür (Şekil 4.86.).



Şekil 4.86. Mirisetin doking görüntüsü

Konformasyon incelendiğinde yerleştiği aktif bölgedeki aminoasitler; LEU102, THR144, TYR113, TYR192, ARG104, GLN73, MET114, HIS146 ve LEU112'dir. Konformasyonun, aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Konformasyon bu bölgede GLN73, HIS146, ARG104, MET114 ile 4 hidrojen bağı yapmaktadır (Şekil 4.87. ve Şekil 4.88.). Bağlanma afinitesi ise, -13.9 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri  $74 \times 10^{-6} \mu\text{M}$  bulunmuştur.

#### 4.3.1.23. Kuersetin

Program tarafından konfigürasyon dosyası hazırlandıktan sonra kuersetin yapısı için doking sonrası hazırlanan log dosyası oluşturulmuştur. Oluşturulan log dosyasında mümkün olabilecek konformasyonlar belirlenmiştir (Şekil 4.89.).

```

log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
Refining results ... done.

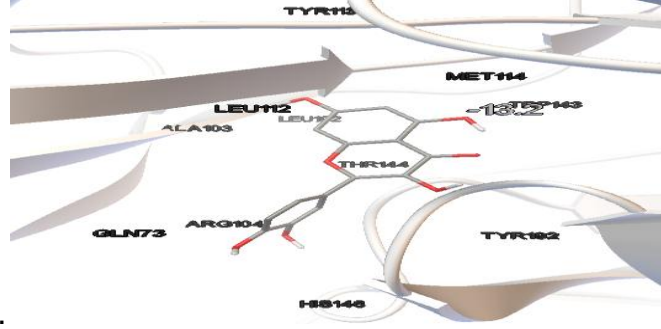
mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1     | -13.2     | 0.000     | 0.000
2     | -12.9     | 1.451     | 3.341
3     | -12.7     | 2.251     | 6.914
4     | -12.3     | 3.067     | 5.723
5     | -12.1     | 3.113     | 6.330
6     | -12.0     | 1.604     | 7.034
7     | -12.0     | 2.946     | 6.758
8     | -11.9     | 2.801     | 6.442
9     | -11.9     | 2.772     | 4.918
10    | -11.8     | 1.652     | 3.383
11    | -11.8     | 4.122     | 6.627
12    | -11.8     | 3.195     | 7.024
13    | -11.8     | 2.996     | 5.860
14    | -11.7     | 1.644     | 6.838
15    | -11.7     | 3.886     | 6.640
16    | -11.5     | 1.859     | 2.394
17    | -11.4     | 2.935     | 7.998

Writing output ... done.

```

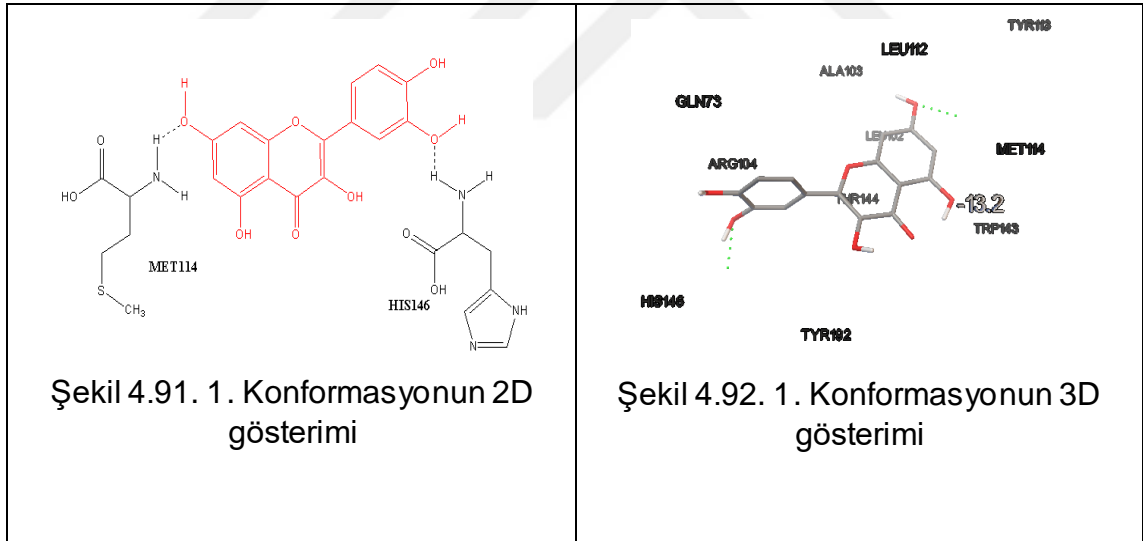
Şekil 4.89. Kuersetin log dosyası

*AutoDock Vina* programı yardımıyla elde edilen log dosyasında 17 konformasyon sonucu olduğu görülmektedir. İlk konformasyonun ADT kullanıcı arayüzü yardımıyla 3 boyutlu doking görüntüsü ve gözlenen tüm etkileşimleri Şekil 4.90.'da verilmiştir.



Şekil 4.90. Kuersetin doking görüntüsü

Konformasyon incelendiğinde yerleştiği aktif bölgedeki aminoasitler; THR144, TRP143, TYR192, MET114, LEU102, ALA103, ARG104, HIS146, GLN73, TYR113 ve LEU112'dir. Konformasyonun aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Konformasyonun aktif bölgede yaptığı 2 hidrojen bağı ADT kullanıcı ara yüzü yardımıyla gözlenmiştir. Bu bağlar; HIS146 ve MET114 aminoasitleri ile yapılmıştır (Şekil 4.91. ve Şekil 4.92.). Bağlanma afinitesi ise, -13.2 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri  $2 \times 10^{-4} \mu M$  bulunmuştur.

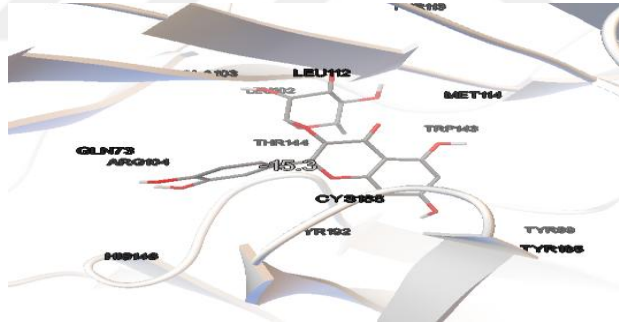
#### 4.3.1.24. Kuersitrin

Kuersitrin ve AChB proteinin dokingi için diğer ligandlarda hazırlanan aynı parametrelerle konfigürasyon dosyası hazırlanmış ve doking işlemi yapılmıştır. *AutoDock Vina* programı ile yapılan doking sonrası log dosyası hazırlanmıştır (Şekil 4.93.).

```
log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1     | -15.3     | 0.000     | 0.000
2     | -14.7     | 1.201     | 5.448
3     | -14.4     | 0.583     | 1.246
4     | -14.2     | 0.956     | 1.540
5     | -13.8     | 1.599     | 6.656
6     | -13.8     | 2.369     | 6.435
7     | -13.8     | 1.295     | 1.492
8     | -13.7     | 1.338     | 4.933
9     | -13.7     | 1.622     | 5.363
10    | -13.6     | 1.596     | 6.483
11    | -13.6     | 1.637     | 5.860
12    | -13.6     | 1.449     | 5.592
13    | -13.4     | 1.996     | 5.420
14    | -13.2     | 1.901     | 7.229
15    | -13.2     | 2.022     | 5.947
16    | -13.1     | 1.810     | 7.023
17    | -13.0     | 2.432     | 5.284
18    | -13.0     | 1.654     | 2.200
19    | -13.0     | 1.733     | 6.336
20    | -12.8     | 1.919     | 5.783
Writing output .... done.
```

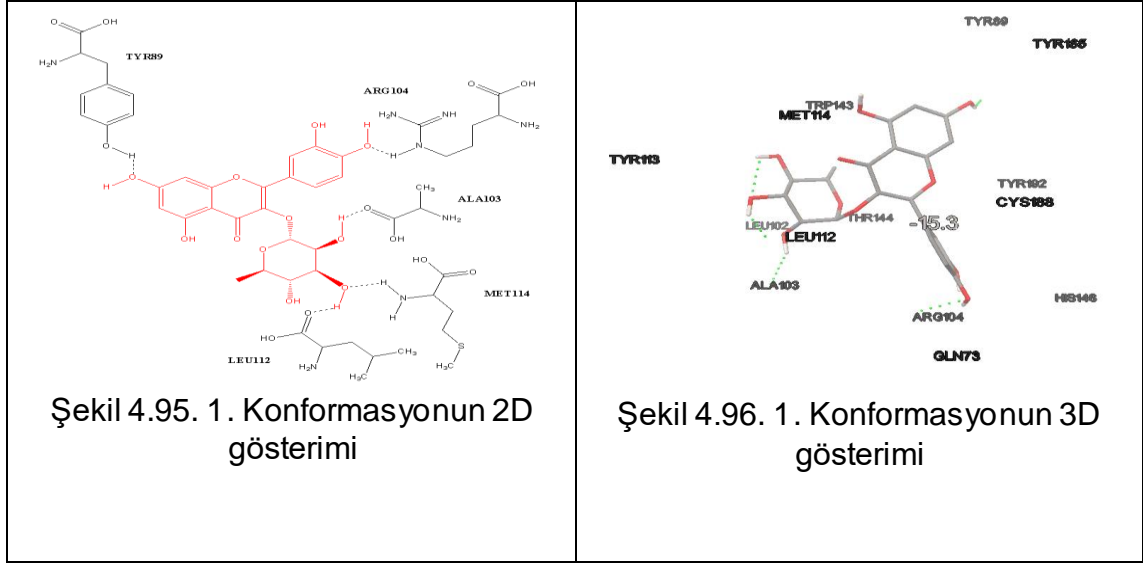
Şekil 4.93. Kuersitrin log dosyası

Program tarafından oluşturulan bu log dosyasında kuersitrinin aktif bölgeye yerleşebilmesi mümkün olan konformasyonları belirlenmiş ve burada anlamlı olan konformasyonun aktif bölgedeki 3D görüntüsü aşağıda gösterilmiştir (Şekil 4.94.).



Şekil 4.94. Kuersitrin doking görüntüsü

Konformasyonun yerleştiği aktif bölgede van der Waals etkileşimlerinden sorumlu olan aminoasitler; CYS188, LEU112, MET114, TYR185, TYR89, TRP143, THR144, LEU102, ALA103, ARG104, HIS146, GLN73, TYR192 ve TYR113'tür. Bu konformasyon aktif bölgede yaptığı hidrojen bağları açısından incelendiğinde aminoasitler ile 5 hidrojen bağı yaptığı görülmektedir. Bu bağlardan sorumlu aminoasitler ise; ARG104, MET114, LEU112, TYR89 ve ALA103'tür (Şekil 4.95. ve Şekil 4.96.). Bağlanma afinitesi ise, -15.3 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri  $7 \times 10^{-6} \mu M$  bulunmuştur.

#### 4.3.1.25. Rutin

Tüm dokingler için aynı olarak hazırlanan konfigürasyon dosyası ile rutin doking işlemi yapılmıştır. Program tarafından hazırlanan log dosyasında bağlanma afiniteleri en yüksekte en düşüğe sıralanmıştır (Şekil 4.97.).

```

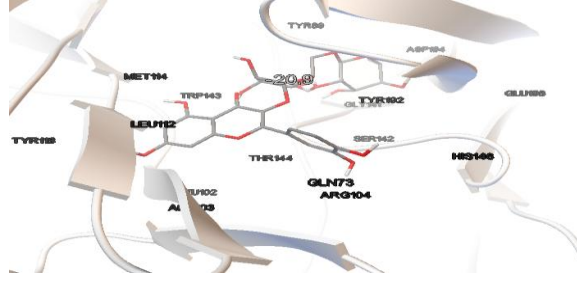
log - Not Defteri
Dosya  Düzen  Biçim  Görünüm  Yardım
mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1     -20.9    0.000    0.000
2     -20.4    2.505    6.729
3     -20.2    2.486    8.183
4     -20.1    2.045    3.677
5     -20.0    2.679    7.149
6     -20.0    2.665    7.243
7     -19.7    2.566    8.275
8     -19.6    2.658    8.171
9     -19.6    2.456    3.760
10    -19.5    2.521    7.055
11    -19.4    2.545    7.136
12    -19.3    2.192    8.120
13    -19.3    3.844    7.448
14    -19.2    2.565    8.219
15    -19.2    3.151    5.415
16    -19.1    3.613    7.460
17    -19.1    2.991    8.165
18    -19.0    2.643    7.382
19    -19.0    2.426    8.499
20    -18.9    2.593    7.665
Writing output ... done.

```

Şekil 4.97. Rutin log dosyası

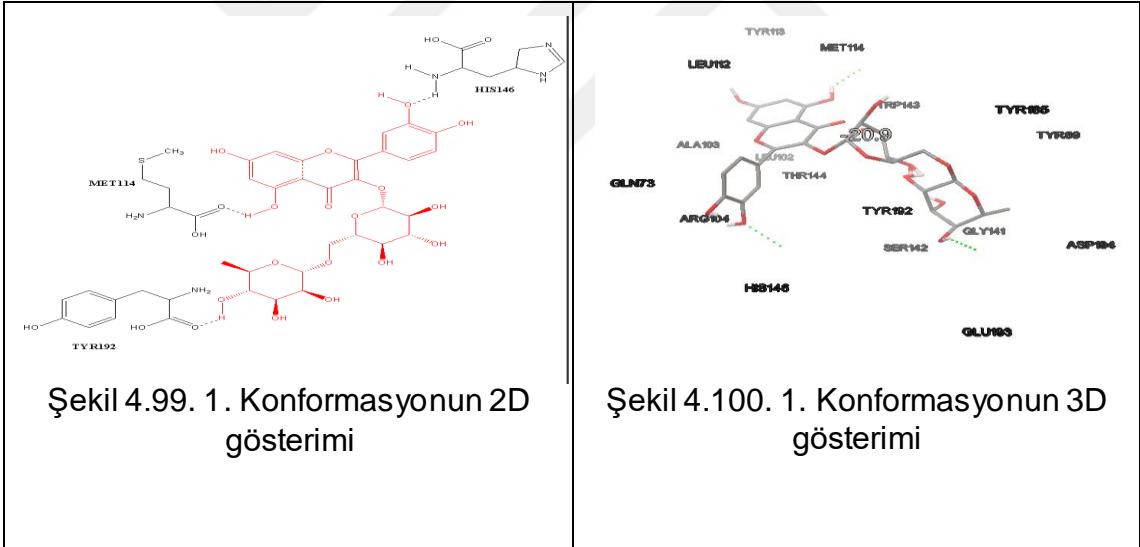
Bu sonuçlara göre anlamlı konformasyon *AutoDock Vina* kullanıcı ara yüzü yardımıyla incelendiğinde aktif bölgeye yerleşmiş 3D gösterimi aşağıdaki şekilde gösterilmiştir (Şekil 4.98.).





Şekil 4.98. Rutin doking görüntüsü

Konformasyon ele alındığı zaman, aktif bölgede etkileştiği aminoasitler; TYR192, TRP143, TYR89, MET114, TYR185, THR144, LEU102, ALA103, ARG104, HIS146, GLN73, LEU112, TYR113, GLU193, GLY141 ve ASP194'dür. Konformasyonun aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Hidrojen bağları açısından incelendiğinde ise TYR192, HIS146, MET114 aminoasitleri ile 3 hidrojen bağı izlenmiştir (Şekil 4.99. ve Şekil 4.100.). Bağlanma afinitesi ise, -20.9 kcal/mol'dür.



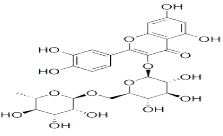
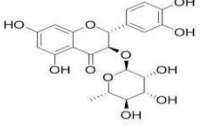
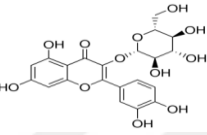
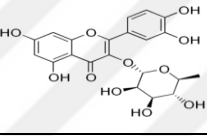
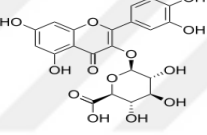
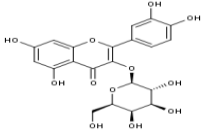
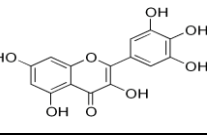
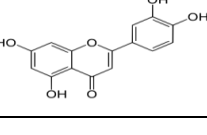
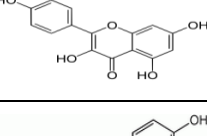
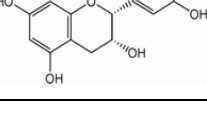
Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

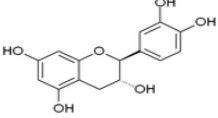
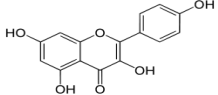
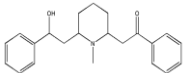
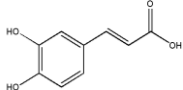
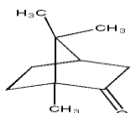
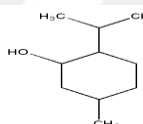
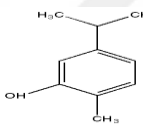
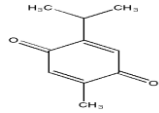
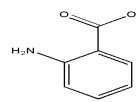
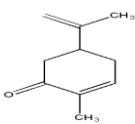
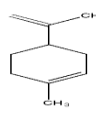
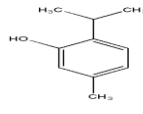
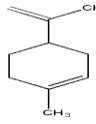
$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri  $5.8 \times 10^{-2} \mu M$  bulunmuştur.

Tam seri halinde bitkilerdeki fitokimyasalların teorik hesaplamalarla bulunan aktivite sıralaması, bağlanma enerjileri ve hidrojen bağı sayıları aşağıdaki çizelgede verilmiştir (Çizelge 4.3.).

Çizelge 4.3. Fitokimyasalların seri halinde 1UW6 sonuçları

Teorik sıra	Bitkideki ligand yapısı	Molekül yapısı	Bağlanma enerjisi kcal/mol	Hidrojen bağ sayısı	Ki (hesaplanan) (μM)
1	Rutin		-20.9	3	$5.8 \times 10^{-10}$
2	Astilbin		-17.1	7	$3.4 \times 10^{-7}$
3	Izokuersitrin		-15.7	6	$3.5 \times 10^{-6}$
4	Kuersitrin		-15.3	5	$7.1 \times 10^{-6}$
5	Mikuelianin		-15.0	1	$11 \times 10^{-6}$
6	Hiperozid		-14.9	1	$14 \times 10^{-6}$
7	Mirisetin		-13.9	4	$74 \times 10^{-6}$
8	Luteolin		-13.3	2	$2 \times 10^{-4}$
9	Kuersetin		-13.2	2	$2 \times 10^{-4}$
10	Epikatekin		-13.0	3	$3 \times 10^{-4}$

11	Katekin		-12.7	3	$6 \times 10^{-4}$
12	Kaemferol		-12.3	2	$1.1 \times 10^{-3}$
13	Lobelin		-11.3	1	$5.8 \times 10^{-3}$
14	Kafeik asit		-10.3	2	0.031
15	Kamfor		-8.8	1	0.385
16	Menton		-8.6	-	0.538
17	Karvakrol		-8.5	1	0.637
18	Timokinon		-8.5	-	0.637
19	Antranilik asit		-8.2	1	1.053
20	Karvon		-8.1	1	1.250
21	Mentol		-8.1	-	1.250
22	Timol		-8.1	-	1.250
23	Limonen		-7.5	-	3.412

## 4.3.2. Antagonist hesaplamaları: 2BYR

### 4.3.2.1. Avena sativa, Yulaf. Antranilik asit

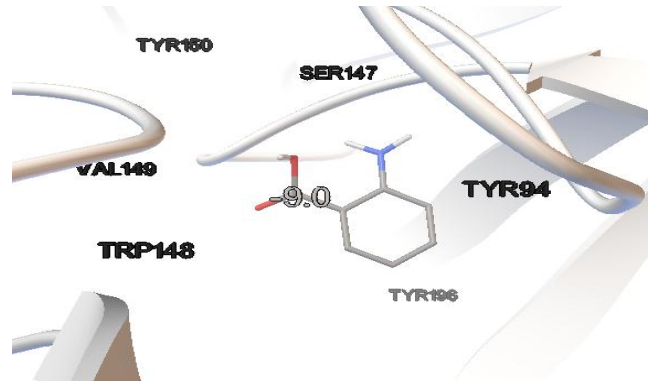
Docking işlemi için *Vina* programı kullanılarak yulaf bitkisindeki antranilik asit ligandı ile AchBP docking hesaplaması yapılmıştır. Yukarıda belirttiğimiz dosyalar oluşturularak docking işlemi yapıldı, mümkün olabilecek konformasyonlar *AutoDock Vina* programı tarafından belirlendi ve log dosyası oluşturuldu (Şekil 4.101.).

```
log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: 1218625024
Performing search ... done.
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1     | -9.0      | 0.000     | 0.000
2     | -8.9      | 0.205     | 1.022
3     | -8.6      | 1.569     | 2.028
4     | -8.5      | 1.812     | 2.658
5     | -8.4      | 2.079     | 2.823
6     | -8.4      | 1.016     | 1.499
7     | -8.2      | 5.859     | 6.939
8     | -8.2      | 2.696     | 3.347
9     | -8.2      | 3.077     | 3.935
10    | -8.2      | 1.512     | 2.276
11    | -8.2      | 2.587     | 2.940
12    | -8.0      | 5.152     | 6.204
13    | -7.8      | 5.047     | 6.038
Writing output ... done.
```

Şekil 4.101. Antranilik asit log dosyası.

Bulunan 13 konformasyon ADT kullanıcı ara yüzü kullanılarak görsel olarak incelendi. Bu program ile aktif bölgedeki antranilik asit ligandı ile oluşabilecek tüm etkileşimler ve hidrojen bağları gözlemlendi. Log dosyası incelendiğinde ilk konformasyon sonucunun anlamlı olduğu görüldü (Şekil 4.102.).



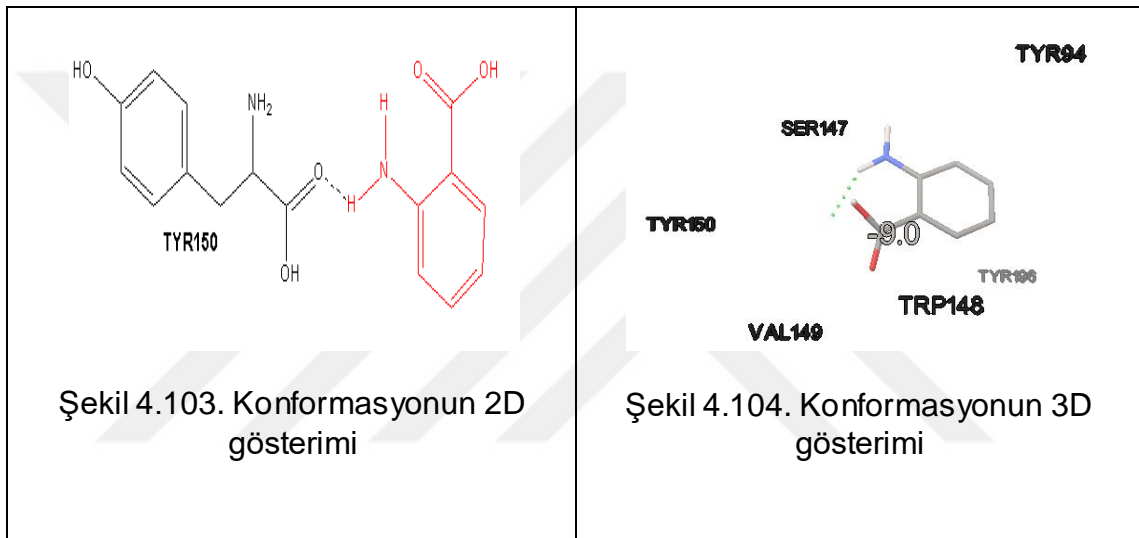
Şekil 4.102. Docking konformasyonu görüntüsü

Mevcut konformasyonun aktif bölgedeki aminoasitlerle yaptığı hidrojen bağları ise ADT kullanıcı ara yüz programı yardımıyla gözlemlenebilir. Bu aktif bölge, özel bir cep veya yuvadır. Ligand proteinin bu aktif bölgesine bağlanır.

Program yardımı ile aktif bölgedeki antranilik asit ligandı ile oluşabilecek tüm etkileşimler ve hidrojen bağları gözlemlendi.

*AutoDock Vina* programı sonuçlarına göre anlamlı docking konformasyonun aktif bölge aminoasitleri; TRP148, TRP150, SER147, TYR94, TYR196 ve VAL149'dur. Konformasyonun, aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir (Şekil 4.103. ve Şekil 4.104.). Bağlanma afinitesi ise, -9,0 kcal/mol'dür.

Bu konformasyon incelendiğinde aynı zamanda mevcut olan hidrojen bağı da görülmektedir. Hidrojen bağından sorumlu aminoasit ise TYR150'dir.



Ayrıca tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri **0.275  $\mu M$**  bulunmuştur.

#### 4.3.2.2. Kafeik asit

Doking için hazırlanan konfigürasyon dosyası kafeik asit için hazırlanan dosya ile aynıdır. Tüm fitokimyasallar için anlamlı sonuçlar elde edilmesi amacıyla aynı konfigürasyon dosyası kullanılmıştır.

Program tarafından mümkün olabilecek tüm konformasyonların bağlanma enerjileri dikkate alınarak sıralandığı log dosyası oluşturulmuştur (Şekil 4.105.).

```
log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım

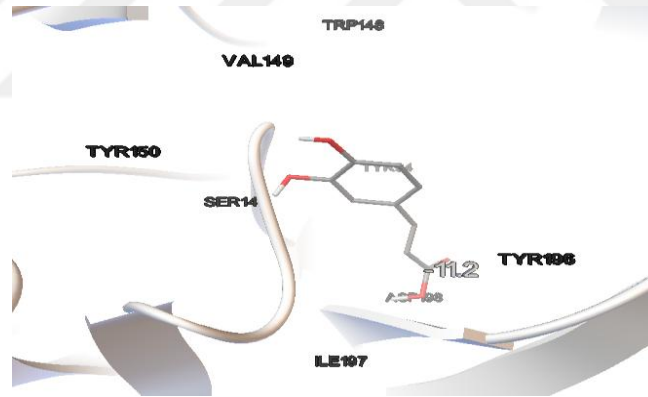
Detected 4 CPUs
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: 189677056
Performing search ... done.
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----+-----+-----+-----
1     | -11.2     | 0.000     | 0.000
2     | -10.9     | 1.214     | 1.605
3     | -10.8     | 1.200     | 5.923
4     | -10.5     | 1.396     | 2.143
5     | -10.5     | 0.713     | 1.040
6     | -10.0     | 1.883     | 2.469
7     | -9.7      | 1.618     | 2.473
8     | -9.7      | 2.710     | 6.678
9     | -9.5      | 1.358     | 6.107
10    | -9.5      | 1.580     | 5.826

Writing output ... done.
```

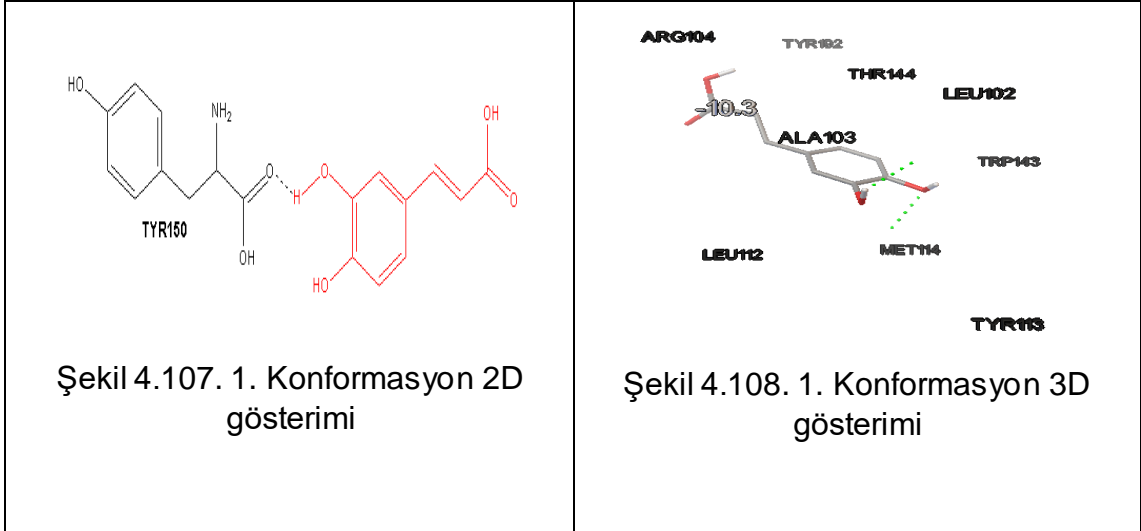
Şekil.4.105. Kafeik asit log dosyası

Bu konformasyonların bağlanma enerjileri ve görsel incelemeleri yapılmıştır. Mümkün olacak 10 konformasyon sıralanmıştır. Bu konformasyonların bağlanma enerjileri ve görsel incelemeleri yapıldığında 1. Konformasyonun en anlamlı olan konformasyon olduğu belirlenmiştir. Bu konformasyonun aktif bölgedeki görüntüsü Şekil 4.106.'da görüldüğü gibidir.



Şekil 4.106. Kafeik asit doking görüntüsü

Konformasyonun yerleştiği aktif bölgede bulunan aminoasitler; TYR150, TRP148, ASP198, VAL149, SER147, TYR94, ILE197 ve TYR196'dır. Konformasyonun, aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Konformasyon detaylı olarak incelendiğinde mevcut 1 hidrojen bağı gözlenmektedir. Hidrojen bağlarından sorumlu aminoasit ise TYR150'dir (Şekil 4.107. ve Şekil 4.108.). Bağlanma afinitesi ise, -11.2 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri **0.031  $\mu\text{M}$**  bulunmuştur.

#### 4.3.2.3. Piper Nigrum, Black pepper, Kara biber. Kamfor

Kamfor yapısının doking hesaplaması için hazırlanan konfigürasyon dosyasının parametreleri tüm doking hesaplamalarında olduğu gibidir. *Vina* log dosyasında olması mümkün olan konformasyonlar bağlanma enerjilerine göre sıralanmıştır (Şekil 4.109.).

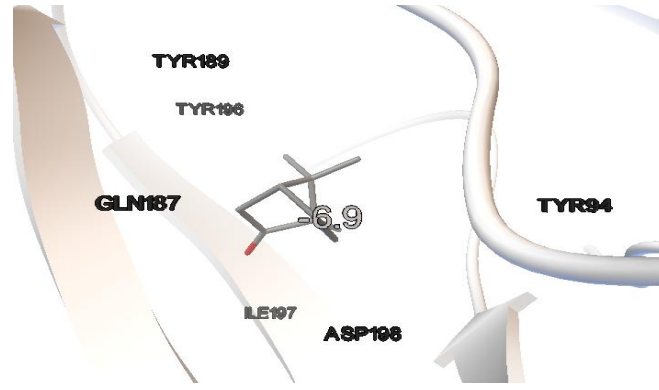
log - Not Defteri

Dosya	Düzen	Biçim	Görünüm	Yardım
mode	affinity (kcal/mol)	dist from best mode rmsd l.b.	rmsd u.b.	
1	-6.9	0.000	0.000	
2	-6.9	1.867	3.292	
3	-6.7	3.933	5.565	
4	-6.7	4.239	6.115	
5	-6.6	4.255	5.495	
6	-6.6	0.934	2.833	
7	-6.6	1.979	3.315	
8	-6.6	1.446	2.547	
9	-6.6	4.462	6.154	
10	-6.5	1.113	1.172	
11	-6.5	1.391	3.083	
12	-6.5	4.599	6.338	
13	-6.5	2.859	4.552	
14	-6.5	1.414	2.442	
15	-6.5	9.857	11.208	
16	-6.4	2.496	4.008	
17	-6.4	2.860	4.422	
18	-6.4	2.426	3.521	
19	-6.4	7.399	9.134	
20	-6.4	4.593	5.915	

Writing output ... done.

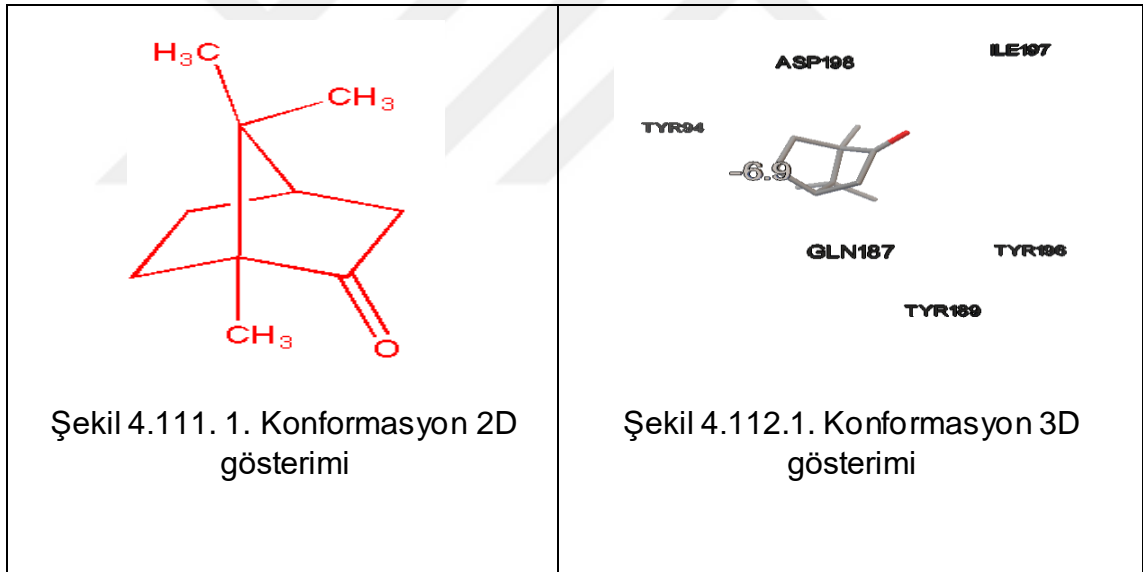
Şekil 4.109. Kamfor log dosyası

log dosyasında olması mümkün olan 20 konformasyon bağlanma enerjilerine göre sıralandığında sadece ilk konformasyonun incelenmesi gerektiğine karar verilmiştir (Şekil 4.110.).



Şekil 4.110. Kamfor doking görüntüsü

Konformasyon incelendiğinde yerleştiği aktif bölgedeki aminoasitler; ASP198, TYR196, TYR94, TYR189, GLN187 ve ILE197'dir. Konformasyonun, aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Konformasyon bu bölgede hidrojen bağı yapmamaktadır (Şekil 4.111. ve Şekil 4.112.). Bağlanma afinitesi ise, -6.9 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri **9.341  $\mu\text{M}$**  bulunmuştur.



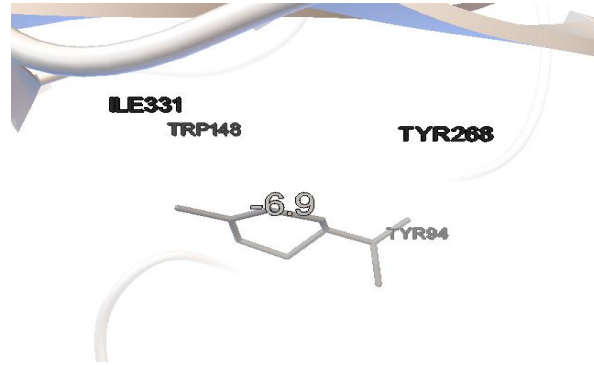
#### 4.3.2.4. Limonen

Limonen yapısının dokingi için hazırlanan konfigürasyon dosyasının parametresi diğer dokingler ile aynıdır. Program tarafından oluşturulan bağlanma enerjilerinin bulunduğu log dosyası oluşturulmuştur (Şekil 4.113.).

```
log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----+-----+-----+-----
1      -6.9    0.000    0.000
2      -6.9    0.396    1.627
3      -6.9    0.112    1.111
4      -6.9    0.399    1.955
5      -6.7    0.710    4.689
6      -6.7    1.584    4.886
7      -6.7    0.998    4.310
8      -6.6    1.544    2.672
9      -6.5    1.342    4.041
10     -6.5    1.407    4.108
11     -6.4    2.659    4.671
12     -6.4    1.466    4.882
13     -6.4    2.824    5.583
14     -6.4    1.252    2.149
15     -6.4    1.552    5.099
16     -6.4    2.654    4.772
17     -6.4    1.696    2.848
18     -6.4    2.885    5.496
19     -6.3    5.095    6.496
Writing output ... done.
```

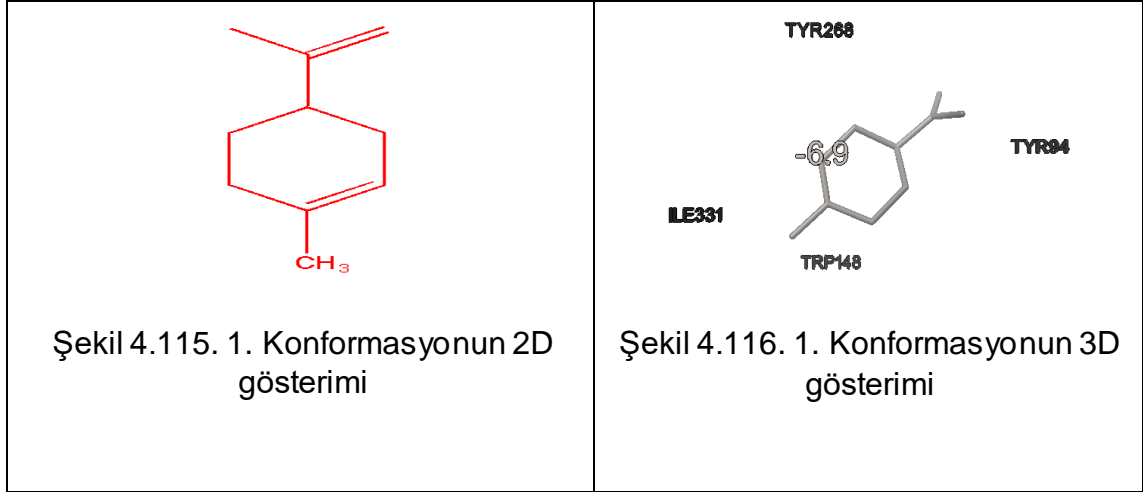
Şekil 4.113. Limonen log dosyası

Log dosyasında mümkün olabilecek 19 konformasyon belirlenmiş ve bağlanma enerjileri dikkate alınarak sıralanmıştır. Bu konformasyonlara görsel olarak da incelendiğinde 1.konformasyonun anlamlı olduğu görülmektedir. Bu konformasyonun aktif bölgeye yerleşmiş 3 boyutlu görüntüsü Şekil 4.114.'de verilmiştir.



Şekil 4.114. Limonen doking görüntüsü

Seçilen konformasyonun yerleştiği aktif bölgede bulunan aminoasitleri; TRP148; TYR94; TYR268 ve ILE331'dir. Konformasyonun, aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Bahsi geçen konformasyon aktif bölgede herhangi bir hidrojen bağı yapmamaktadır (Şekil 4.115. ve Şekil 4.116.). Bağlanma afinitesi ise, -6.9 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri **9.341  $\mu\text{M}$**  bulunmuştur.

#### 4.3.2.5. *Nigella sativa*, Çörekotu. Karvakrol

Program tarafından konfigürasyon dosyası hazırlandıktan sonra karvakrol yapısı için doking sonrası hazırlanan log dosyası oluşturulmuştur. Oluşturulan log dosyasında mümkün olabilecek konformasyonlar belirlenmiştir (Şekil 4.117.).

```

log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: 441216000
Performing search ... done.
Refining results ... done.

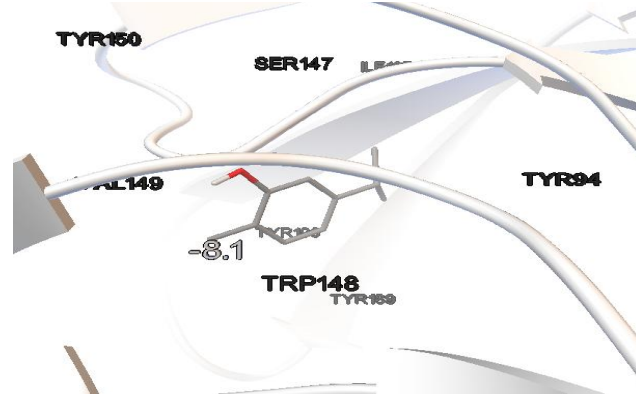
mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1     | -8.1      | 0.000     | 0.000
2     | -8.1      | 1.993     | 2.995
3     | -8.1      | 0.811     | 1.202
4     | -7.9      | 2.078     | 3.245
5     | -7.9      | 2.893     | 5.093
6     | -7.9      | 2.865     | 5.174
7     | -7.8      | 1.462     | 3.383
8     | -7.8      | 3.756     | 5.221
9     | -7.8      | 2.576     | 3.760
10    | -7.7      | 1.438     | 3.726
11    | -7.7      | 5.516     | 6.784
12    | -7.6      | 3.956     | 6.726
13    | -7.5      | 4.557     | 6.330
14    | -7.5      | 3.881     | 4.787

Writing output ... done.

```

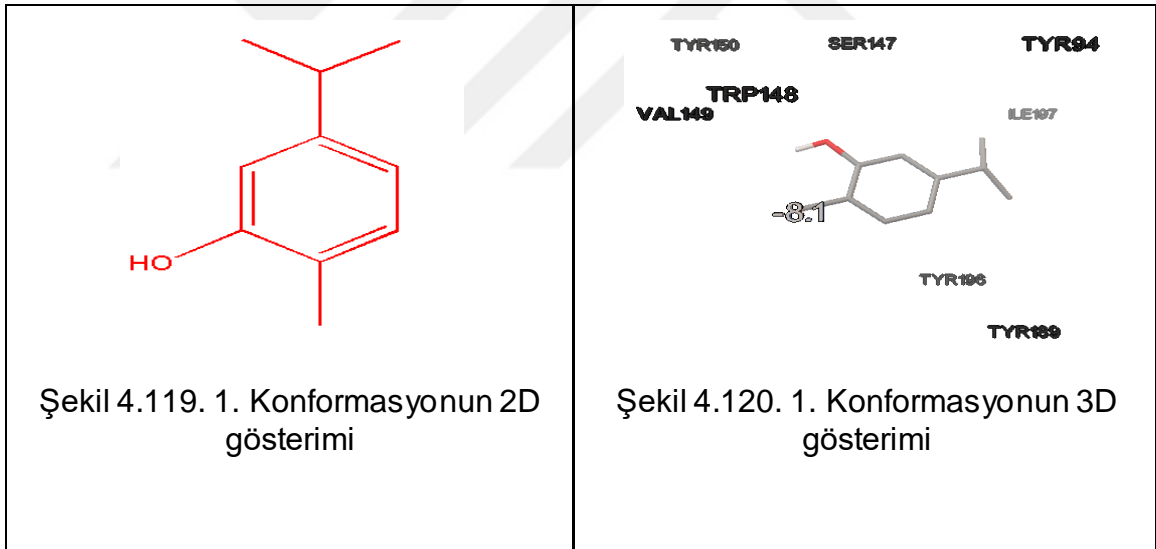
Şekil 4.117. Karvakrol log dosyası

Oluşturulan log dosyasında mümkün olabilecek 14 konformasyon belirlenmiştir. Bu konformasyonlar dikkate alındığında anlamlı olan ilk konformasyon incelenmiştir (Şekil 4.118.).



Şekil 4.118. Karvakrol doking görüntüsü

Konformasyon incelendiğinde yerleştiği aktif bölgedeki aminoasitler; TYR94; TRP148; VAL149; TYR150; SER147; ILE197; TYR196 ve TYR189'dur. Konformasyonun aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Konformasyonun aktif bölgede hidrojen bağı yapmadığı ADT kullanıcı ara yüzü yardımıyla gözlenmiştir (Şekil 4.119. ve Şekil 4.120.). Bağlanma afinitesi ise, -8.1 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri **1.246  $\mu\text{M}$**  bulunmuştur.

#### 4.3.2.6. Karvon

Program tarafından karvon yapısı için girilen konfigürasyon dosyası ile doking sonrası log dosyası oluşturulmuştur. log dosyasında olması mümkün olan konformasyonlar sıralanmıştır (Şekil 4.121.).

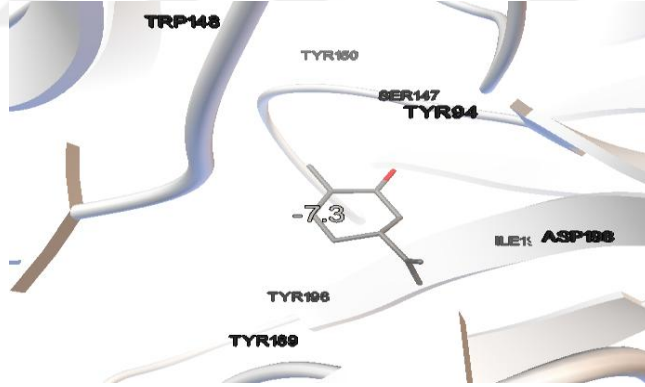
```
log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1     | -7.3      | 0.000     | 0.000
2     | -7.3      | 7.087     | 8.617
3     | -7.2      | 5.385     | 7.020
4     | -7.2      | 2.066     | 2.846
5     | -7.1      | 2.015     | 2.915
6     | -7.1      | 6.253     | 7.121
7     | -7.1      | 5.389     | 7.075
8     | -7.1      | 1.735     | 4.442
9     | -7.1      | 4.679     | 6.623
10    | -7.0      | 4.749     | 6.571
11    | -7.0      | 5.921     | 6.650
12    | -7.0      | 4.828     | 6.736
13    | -7.0      | 3.484     | 4.784
14    | -6.9      | 9.809     | 11.031
15    | -6.9      | 4.135     | 5.002
16    | -6.9      | 6.240     | 8.484
17    | -6.8      | 1.996     | 4.599
18    | -6.8      | 2.272     | 4.149

Writing output ... done.
```

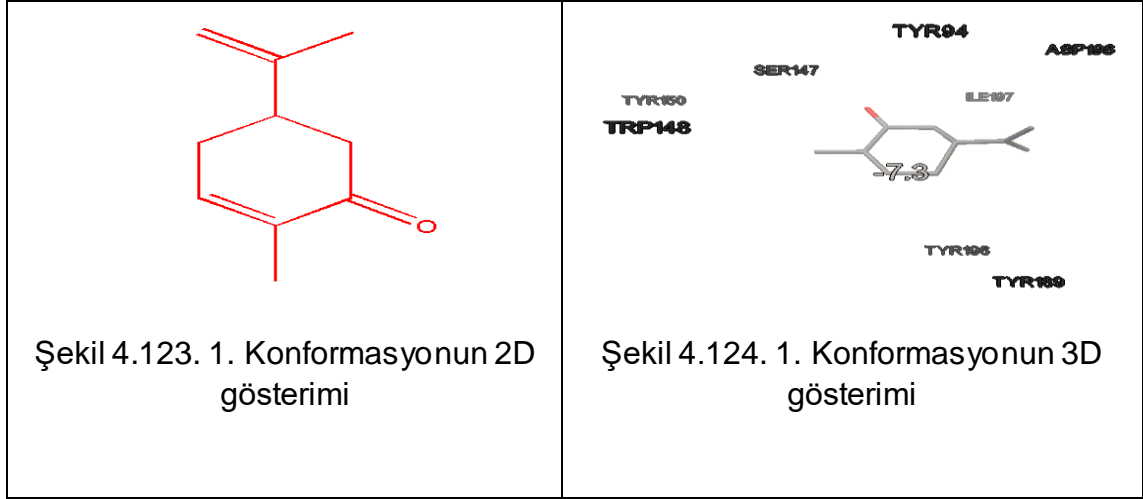
Şekil 4.121. Karvon log dosyası

Bu konformasyonların bağlanma enerjileri ve görsel değerlendirmeleri dikkate alındığında uygun konformasyonun doking sonrası görüntüsü Şekil 4.122.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.122. Karvon doking görüntüsü

Konformasyonun aktif bölgeye yerleştiğinde bu bölgede bulunan aminoasitler; TYR94; TRP148; ASP198; TYR150; SER147; ILE197; TYR196 ve TYR189'dür. Konformasyonun, aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Bu bölgede bahsi geçen konformasyonun hidrojen bağı yapmadığı gözlemlenmektedir (Şekil 4.123. ve Şekil 4.124.). Bağlanma afinitesi ise, -7.3 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. AutoDock Vina programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; Vina hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri **4.775  $\mu\text{M}$**  bulunmuştur.

#### 4.3.2.7. Timol

Docking işlemi için Vina programı kullanılarak çörekotu bitkisindeki timol ligandı ile AChBP docking hesaplaması yapılmıştır. Diğer tüm dokinglerde olduğu gibi *AutoDock Vina* ile yapılan docking sonucunda log dosyası elde edilmiştir ve konformasyonların bağlanma afiniteleri en yüksekte en düşüğe olacak şekilde log dosyasında sıralanmıştır (Şekil 4.125.).

log - Not Defteri

Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım

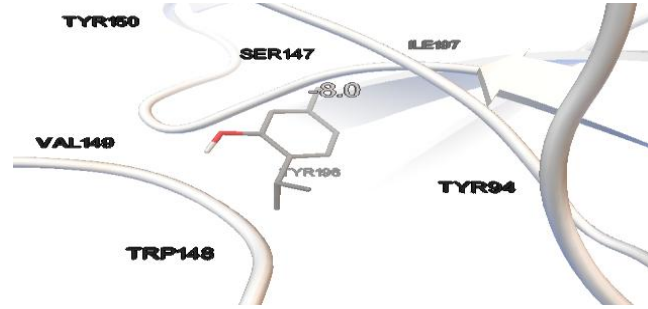
mode	affinity (kcal/mol)	dist from best mode	
		rmsd l.b.	rmsd u.b.
1	-8.0	0.000	0.000
2	-7.8	1.357	4.021
3	-7.8	4.390	6.087
4	-7.7	1.975	2.705
5	-7.7	3.875	5.084
6	-7.7	1.708	3.991
7	-7.7	3.745	5.273
8	-7.6	3.396	4.534
9	-7.6	2.024	3.167
10	-7.6	2.218	3.948
11	-7.5	2.629	5.135
12	-7.5	2.002	4.887
13	-7.4	4.565	5.789
14	-7.4	6.237	7.560
15	-7.3	2.484	3.287
16	-7.3	6.481	8.048
17	-7.3	2.732	4.343
18	-7.2	6.450	7.822

Writing output ... done.

Şekil 4.125. Timol log dosyası

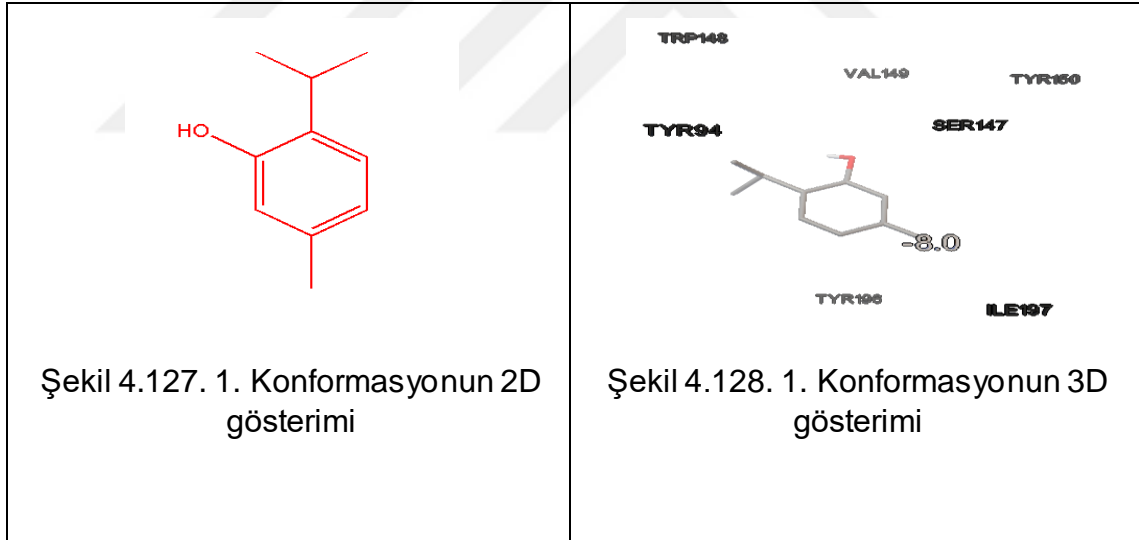
*AutoDock Vina* programı yardımıyla elde edilen log dosyasında 18 konformasyon sonucu olduğu görülmektedir. Log dosyası kontrol edildiğinde ilk konformasyonun anlamlı olduğu görülmektedir. Buna göre bu konformasyonun

ADT kullanıcı arayüzü yardımıyla 3 boyutlu doking görüntüsü ve gözlenen tüm etkileşimleri Şekil 4.126.'da verilmiştir.



Şekil 4.126. Timol doking görüntüsü

Konformasyonun aktif cebe tam olarak yerleştiği görülmektedir ve etkileşimde olduğu aminoasitler; TRP148; VAL149; TYR150; SER147; ILE197; TYR196 ve TYR94'dür. Konformasyonun aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Etkileşim içinde bulunduğu bu aminoasitlerle ise hidrojen bağı yapmamaktadır (Şekil 4.127. ve Şekil 4.128.). Bağlanma afinitesi ise, -8.0 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \text{ (R= 1.986 cal/mol.K; T= 300 K)}$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri **1.475  $\mu M$**  bulunmuştur.

#### 4.3.2.8. Timokinon

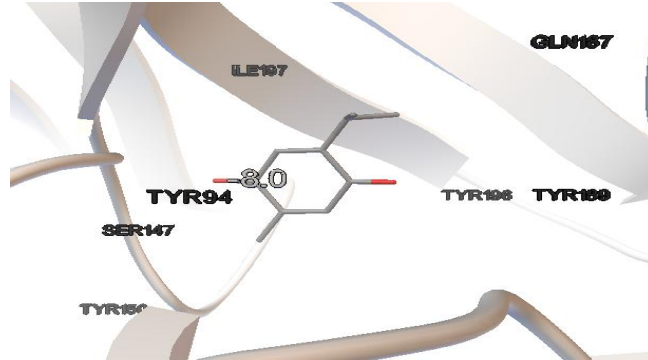
Timokinon çörekotu bitkisi içinde bulunan bir başka fitokimyasaldır. Bu çalışma ışığında diğer fitokimyasallarda olduğu gibi timokinonun da AChBP ile dokingi yapılmıştır. *AutoDock Vina* programı ile yapılan doking çalışmasında elde edilen log dosyasında mevcut 18 konformasyon bulunmaktadır. Log dosyası Şekil 4.129.'da görülmektedir.

```
log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1     | -8.0      | 0.000     | 0.000
2     | -7.6      | 1.836     | 4.343
3     | -7.6      | 2.109     | 3.253
4     | -7.6      | 1.816     | 4.711
5     | -7.5      | 3.060     | 4.852
6     | -7.5      | 4.557     | 6.595
7     | -7.5      | 1.833     | 4.332
8     | -7.4      | 4.160     | 4.921
9     | -7.4      | 5.520     | 6.416
10    | -7.4      | 1.498     | 4.680
11    | -7.4      | 4.545     | 6.627
12    | -7.4      | 4.070     | 5.101
13    | -7.3      | 3.302     | 4.193
14    | -7.3      | 1.887     | 2.509
15    | -7.3      | 1.551     | 4.034
16    | -7.3      | 1.468     | 2.662
17    | -7.3      | 4.035     | 5.222
18    | -7.3      | 2.426     | 4.200
Writing output ... done.
```

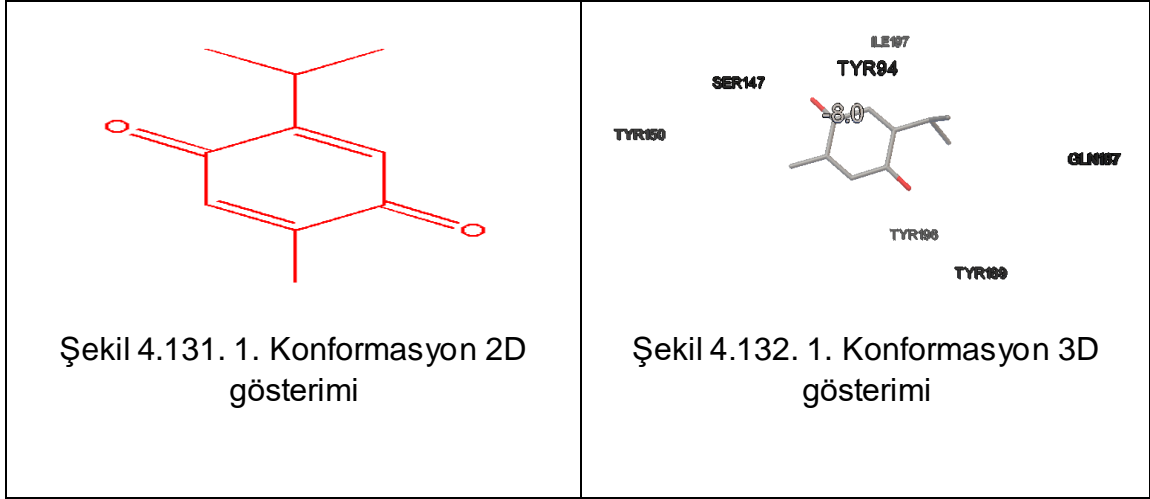
Şekil 4.129. Timokinon log dosyası

Doking sonucunda bulunan konformasyonun aktif bölgedeki aminoasitlerle tüm etkileşimlerinin görüntüsü ADT kullanıcı ara yüzü kullanılarak aşağıda verilmiştir (Şekil 4.130.).



Şekil 4.130. Timokinon doking görüntüsü

Bu konformasyon dikkate alındığında aktif bölgede etkileşilen aminoasitler ve hidrojen bağları incelenmektedir. Konformasyon incelendiğinde hidrojen bağının yapılmadığı görülmektedir. Aktif bölgede ise van der Waals etkileşiminin olduğu aminoasitler; TYR94; GLN187; TYR150; SER147; ILE197; TYR196 ve TYR189'dur (Şekil 4.131. ve Şekil 4.132.). Bağlanma afinitesi ise, -8.0 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri **1.475  $\mu\text{M}$**  bulunmuştur.

#### 4.3.2.9. Lavandula stoechas, Karabaş otu. Kamfor

Karabaş otu bitkisinde bulunan kamfor yapısı kara biber bitkisinde de olduğu için doking sonuçları bölüm 4.3.2.3.'de verilmiştir.

#### 4.3.2.10. Karvakrol

Karabaş otu bitkisinde bulunan karvakrol yapısı çörekotu bitkisinde de olduğu için doking sonuçları bölüm 4.3.2.5.'de verilmiştir.

#### 4.3.2.11. Mentol

Mentol ve AChB proteinin dokingi için diğer ligandlarda hazırlanan aynı parametrelerle konfigürasyon dosyası hazırlanmış ve doking işlemi yapılmıştır. *AutoDock Vina* programı ile yapılan doking sonrası log dosyası hazırlanmıştır (Şekil 4.133.).

```

log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
Using random seed: 1303840000
Performing search ... done.
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1 | -7.8 | 0.000 | 0.000
2 | -7.8 | 1.432 | 4.096
3 | -7.7 | 1.140 | 1.406
4 | -7.6 | 4.546 | 5.646
5 | -7.6 | 2.309 | 4.124
6 | -7.6 | 4.101 | 5.188
7 | -7.6 | 1.404 | 4.085
8 | -7.5 | 2.295 | 3.056
9 | -7.5 | 3.350 | 4.036
10 | -7.5 | 3.516 | 5.084
11 | -7.5 | 3.298 | 4.280
12 | -7.4 | 1.475 | 3.951
13 | -7.3 | 6.393 | 7.663
14 | -7.3 | 4.653 | 6.162
15 | -7.2 | 3.009 | 4.818

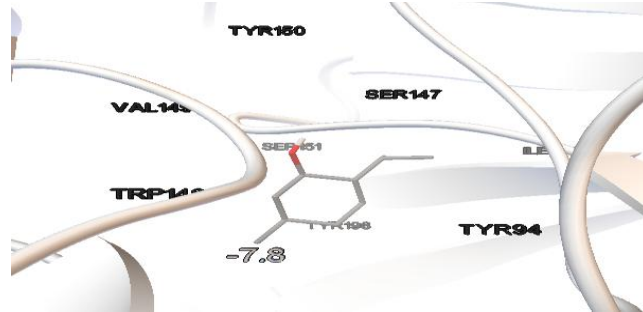
Writing output ... done.

```

Şekil 4.133. Mentol log dosyası

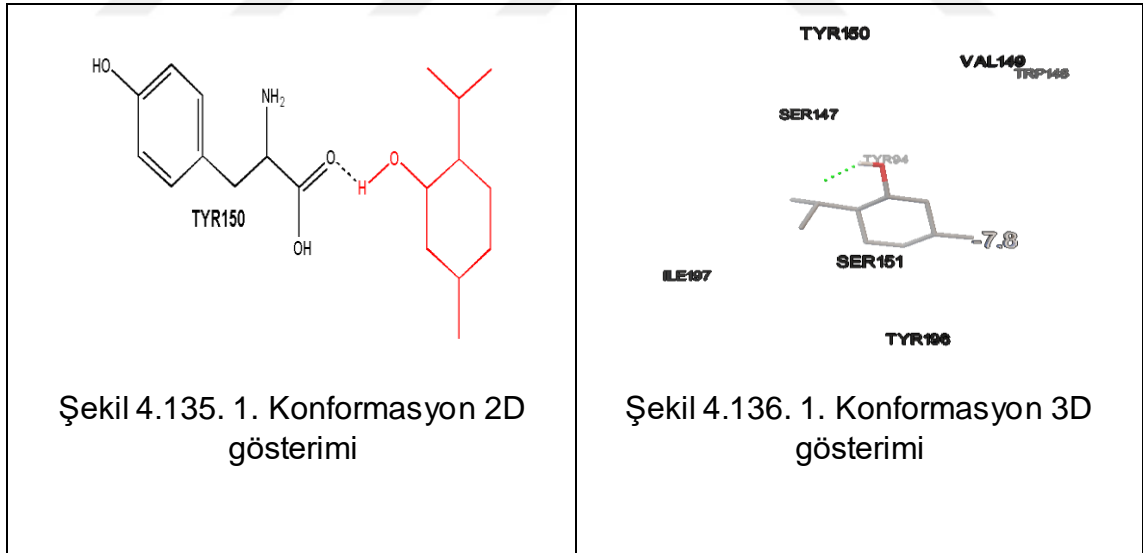


Program tarafından oluşturulan bu log dosyasında mentolün aktif bölgeye yerleşebilmesi mümkün olan konformasyonları belirlenmiş ve bunlar bağlanma enerjileri dikkate alınarak sıralanmıştır. Burada anlamlı olan konformasyonun aktif bölgedeki 3D görüntüsü aşağıda gösterilmiştir (Şekil 4.134.).



Şekil 4.134. Mentol doking görüntüsü

Konformasyonun yerleştiği aktif bölgede van der Waals etkileşimlerinden sorumlu olan aminoasitler; TYR196; SER151; ILE197; TYR150; TYR94; SER147; TRP148; ve VAL149'dur. Bu konformasyon aktif bölgede yaptığı hidrojen bağları açısından incelendiğinde TYR150 aminoasiti ile 1 hidrojen bağı yaptığı görülmektedir (Şekil 4.135. ve Şekil 4.136.). Bağlanma afinitesi ise, -7.8 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri **2.063  $\mu\text{M}$**  bulunmuştur.

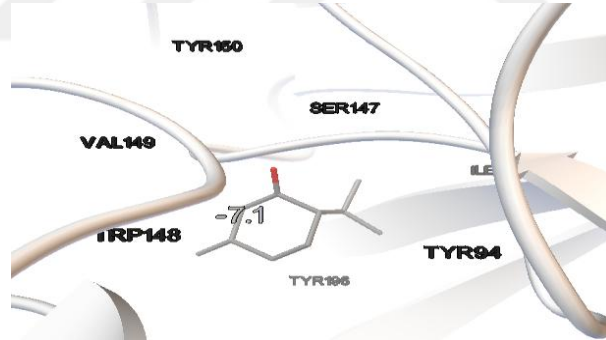
#### 4.3.2.12. Menton

Tüm dokingler için aynı hazırlanan konfigürasyon dosyası ile mentonun doking işlemi yapılmıştır. Program tarafından hazırlanan log dosyasında bağlanma afiniteleri en yüksekten en düşüğe sıralanmıştır (Şekil 4.137.).

```
log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1      | -7.1      | 0.000     | 0.000
2      | -7.0      | 3.132     | 4.952
3      | -7.0      | 5.723     | 7.280
4      | -7.0      | 1.555     | 2.444
5      | -6.9      | 3.137     | 4.635
6      | -6.9      | 4.356     | 6.378
7      | -6.9      | 3.500     | 4.643
8      | -6.8      | 2.822     | 4.198
9      | -6.8      | 4.041     | 4.960
10     | -6.8      | 3.432     | 4.830
11     | -6.8      | 3.154     | 4.313
12     | -6.7      | 3.432     | 5.842
13     | -6.7      | 2.443     | 4.381
14     | -6.6      | 3.048     | 4.886
15     | -6.5      | 3.198     | 5.196
16     | -6.5      | 5.576     | 6.790
17     | -6.5      | 3.818     | 5.560
18     | -6.5      | 4.645     | 5.754
19     | -6.4      | 1.778     | 2.387
Writing output ... done.
```

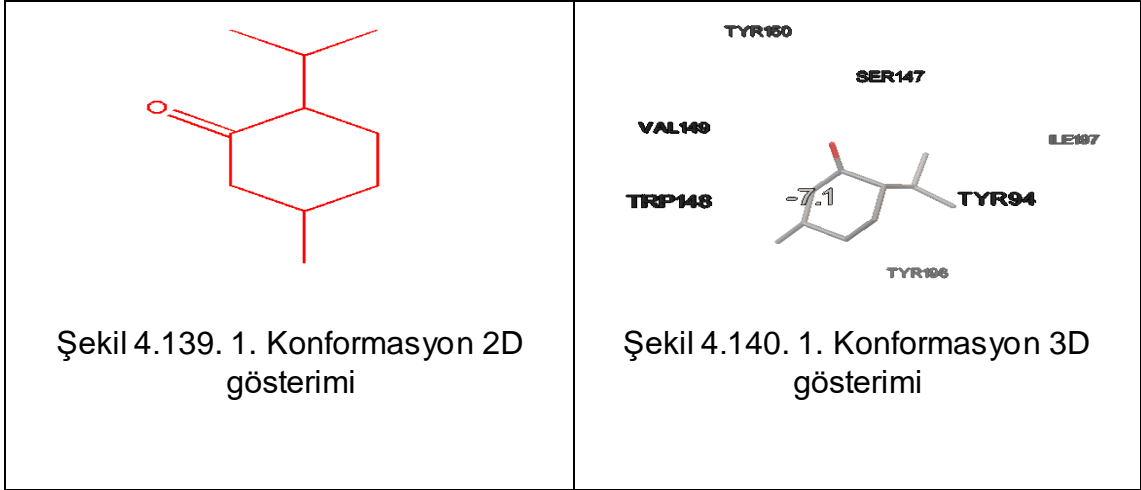
Şekil 4.137. Menton log dosyası

Bu sonuçlara göre anlamlı konformasyon *AutoDock Vina* kullanıcı ara yüzü yardımıyla incelendiğinde aktif bölgeye yerleşmiş 3D gösterimi aşağıdaki şekilde gösterilmiştir (Şekil 4.138.).



Şekil 4.138. Menton doking görüntüsü

Konformasyon aktif bölge cebine yerleşme, etkileşimler ve hidrojen bağı etkileşimleri açısından incelenmiştir. Konformasyon ele alındığı zaman, aktif bölgede etkileştiği aminoasitler; TYR196; ILE197; TYR150; TYR94; SER147; TRP148; ve VAL149'dur Konformasyonun aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Hidrojen bağları açısından incelendiğinde ise herhangi bir hidrojen bağı izlenmemiştir (Şekil 4.139. ve Şekil 4.140.). Bağlanma afinitesi ise, -7.1 kcal/mol'dür.



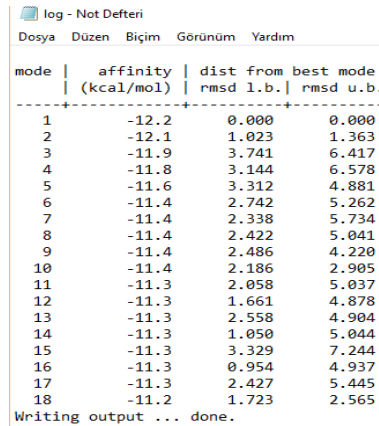
Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri **6.682  $\mu\text{M}$**  bulunmuştur.

#### 4.3.2.13. *Lobelia inflata*, *Lobelya*. *Lobelin*

Tüm dokingler için aynı olarak hazırlanan konfigürasyon dosyası *lobelin* için de hazırlanmıştır. *AutoDock Vina* programı tarafından log dosyası oluşturulmuştur (Şekil 4.141.).

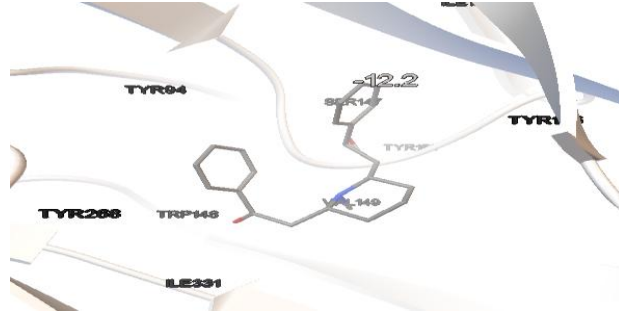


mode	affinity (kcal/mol)	dist from best mode rmsd l.b.	rmsd u.b.
1	-12.2	0.000	0.000
2	-12.1	1.023	1.363
3	-11.9	3.741	6.417
4	-11.8	3.144	6.578
5	-11.6	3.312	4.881
6	-11.4	2.742	5.262
7	-11.4	2.338	5.734
8	-11.4	2.422	5.041
9	-11.4	2.486	4.220
10	-11.4	2.186	2.905
11	-11.3	2.058	5.037
12	-11.3	1.661	4.878
13	-11.3	2.558	4.904
14	-11.3	1.050	5.044
15	-11.3	3.329	7.244
16	-11.3	0.954	4.937
17	-11.3	2.427	5.445
18	-11.2	1.723	2.565

Writing output ... done.

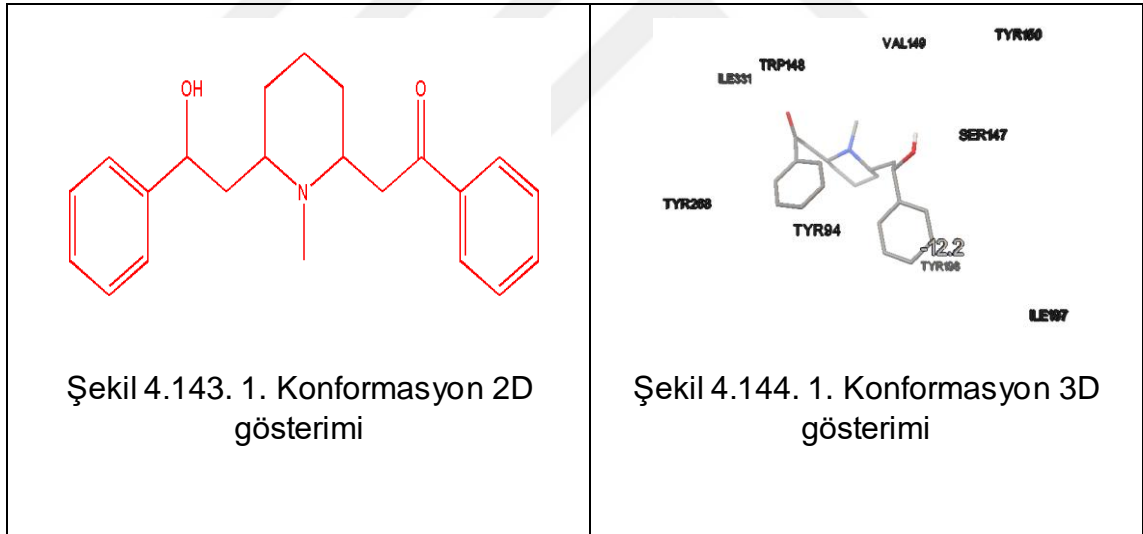
Şekil 4.141. *Lobelin* log dosyası

Sıralanan 18 konformasyonlarda, bağlanma enerjileri ve görsel değerlendirmeler dikkate alınmıştır. *AutoDock Vina* kullanıcı ara yüzü yardımıyla bu konformasyonun aktif bölgeye yerleşmiş doking görüntüsü aşağıda verilmiştir (Şekil 4.142.).



Şekil 4.142. Lobelin doking görüntüsü

Bu konformasyon aktif bölgeye yerleşip yerleşmediği ve hidrojen bağları açısından incelenmiştir. Konformasyonun yerleştiği aktif bölgedeki aminoasitler; TYR196; ILE331; TYR268; ILE197; TYR150; TYR94; SER147; TRP148; ve VAL149'dur Konformasyonun, aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Bu konformasyon aktif bölgeye yerleştiğinde aktif bölgedeki aminoasitler ile herhangi bir hidrojen bağı yapmadığı görülmektedir (Şekil 4.143. ve Şekil 4.144.). Bağlanma afinitesi ise, -12.2 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri  $13 \times 10^{-4} \mu M$  bulunmuştur.

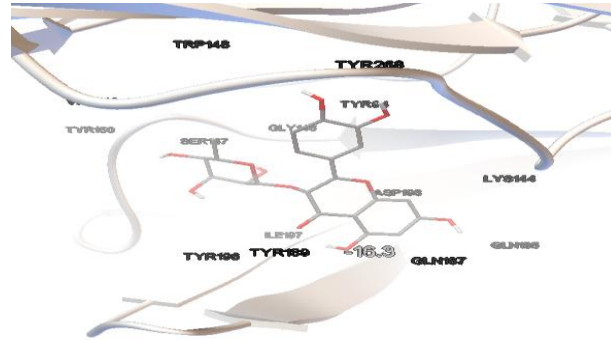
#### 4.3.2.14. Hypericum perforatum, St. John's wort, Sarı kantaron. Astilbin

Doking işlemleri için Vina programı kullanılarak sarı kantaron bitkisindeki astilbin ligandı ile AChBP doking hesaplaması yapılmıştır. Yukarıda belirttiğimiz dosyalar oluşturularak doking işlemi yapıldı, mümkün olabilecek konformasyonlar *AutoDock Vina* programı tarafından belirlendi ve log dosyası oluşturuldu (Şekil 4.145.).

```
log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----+-----+-----+-----
1      -16.3    0.000     0.000
2      -16.1    1.482     6.193
3      -15.8    1.620     6.583
4      -15.7    0.869     1.677
5      -15.7    2.034     5.608
6      -15.7    1.519     6.745
7      -15.6    1.902     5.630
8      -15.6    2.586     5.856
9      -15.6    1.528     2.025
10     -15.6    1.816     2.083
11     -15.5    1.744     5.683
12     -15.5    2.302     6.129
13     -15.4    3.851     6.659
14     -15.2    2.518     6.379
15     -15.2    2.002     5.862
16     -15.0    2.540     6.726
17     -15.0    2.165     6.260
18     -15.0    2.415     5.875
19     -15.0    2.357     6.889
20     -13.3    2.651     5.151
Writing output ... done.
```

Şekil 4.145. Astilbin log dosyası

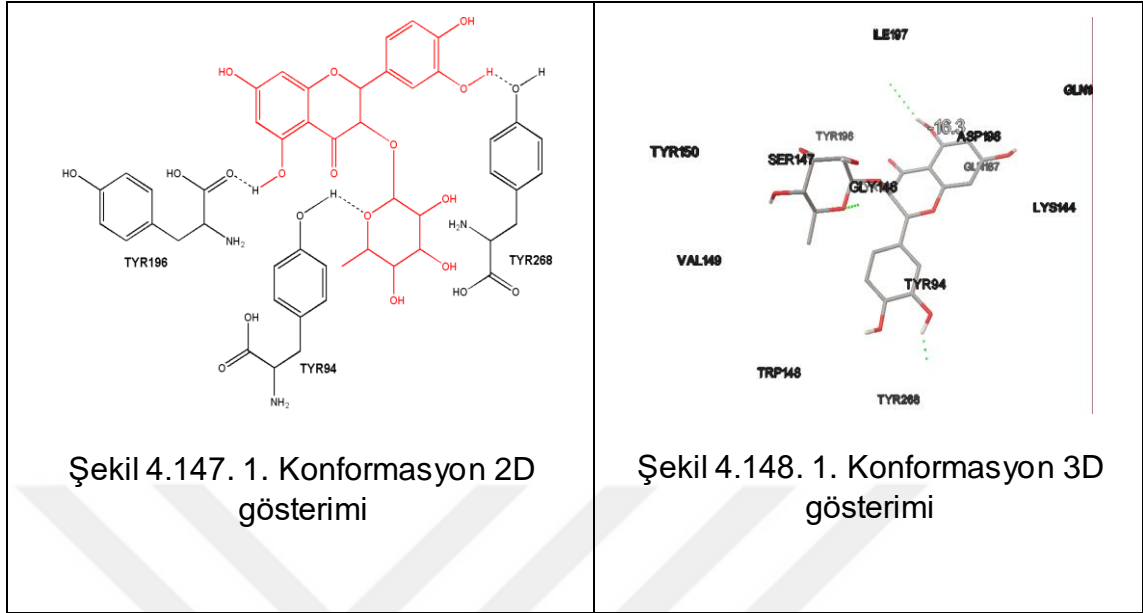
Program yardımı ile aktif bölgedeki astilbin ligandı ile oluşabilecek tüm etkileşimler gözlemlendi (Şekil 4.146.).



Şekil 4.146. Astilbin doking görüntüsü

*AutoDock Vina* programı sonuçlarına göre anlamlı docking konformasyonun aktif bölge aminoasitleri; LYS144, SER147; ASP198; TRP148; VAL149; TYR150; GLY146; TYR94; ILE197; TYR2196; GLN187; GLN185; TYR268 ve TYR189'dur. Konformasyonun, aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Konformasyon detaylı olarak incelendiğinde mevcut 3 hidrojen bağı gözlemlenmektedir. Hidrojen bağından sorumlu aminoasitler ise TYR94; TYR268

ve TYR196'dır (Şekil 4.147. ve Şekil 4.148.). Bağlanma afinitesi ise, -16.3 kcal/mol'dür.



Ayrıca tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \text{ (R= 1.986 cal/mol.K; T= 300 K)}$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri  $1.3 \times 10^{-6} \mu M$  bulunmuştur.

#### 4.3.2.15. Katekin

Program tarafından mümkün olabilecek tüm konformasyonların bağlanma enerjileri dikkate alınarak sıralandığı log dosyası oluşturulmuştur (Şekil 4.149.).

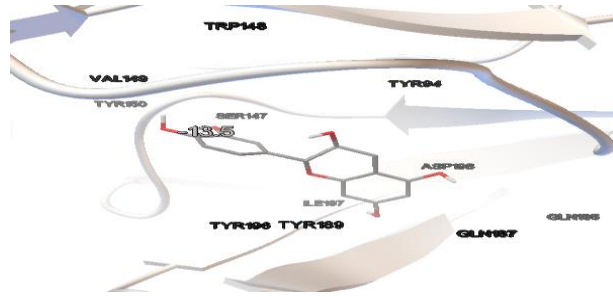
log - Not Defteri

Dosya	Düzen	Biçim	Görünüm	Yardım
mode	affinity	dist from best mode		
	(kcal/mol)	rmsd l.b.	rmsd u.b.	
1	-13.5	0.000	0.000	
2	-13.5	1.435	7.042	
3	-13.2	1.361	2.652	
4	-13.2	1.633	2.252	
5	-13.2	1.788	2.353	
6	-13.0	1.446	3.093	
7	-13.0	1.721	3.253	
8	-13.0	1.655	7.137	
9	-12.9	1.922	6.898	
10	-12.8	2.249	6.922	
11	-12.6	1.483	6.559	
12	-12.6	2.183	6.615	
13	-12.5	2.337	6.497	
14	-12.5	1.646	2.161	
15	-12.4	1.919	6.779	
16	-12.4	2.571	6.337	
17	-12.3	2.216	6.704	
18	-12.3	2.033	3.591	
19	-12.1	2.041	4.019	
20	-11.5	1.158	1.448	

Writing output ... done.

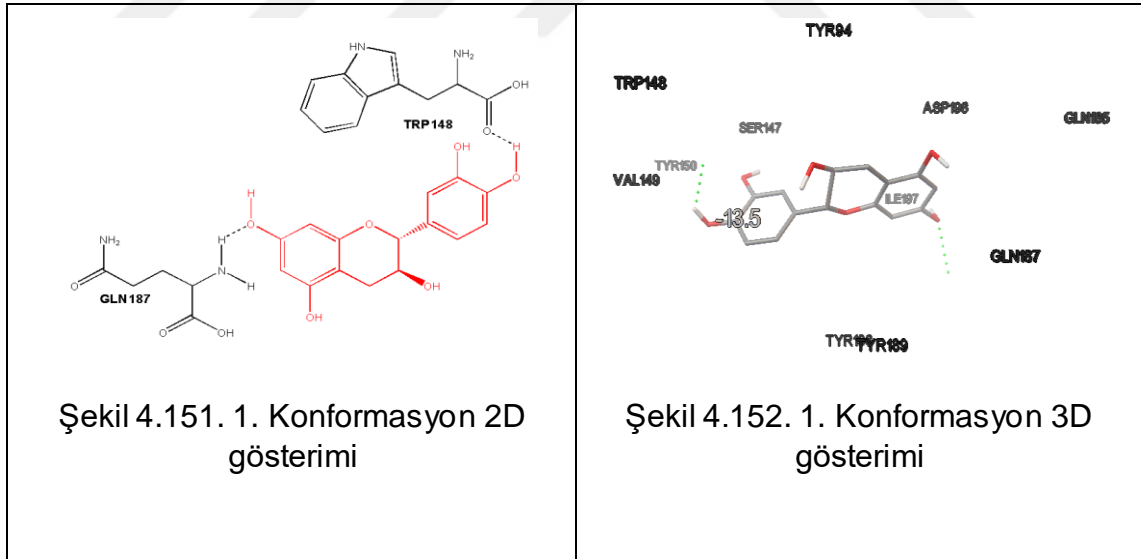
Şekil 4.149. Katekin log dosyası

Mevcut 20 konformasyonun bağlanma enerjileri ve görsel incelemeleri yapılmıştır. Bu konformasyonun aktif bölgedeki görüntüsü ve aminoasit çevresi aşağıda görüldüğü gibidir (Şekil 4.150.).



Şekil 4.150. Katekin doking görüntüsü

Konformasyonun yerleştiği aktif bölgede bulunan aminoasitler; SER147; ASP198; TRP148; VAL149; TYR150; TYR94; ILE197; TYR196; GLN187; GLN185 ve TYR189'dur. Konformasyonun, aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Konformasyon detaylı olarak incelendiğinde hidrojen bağlarından sorumlu aminoasitler ise; GLN187 ve TRP148 olduğu görülmektedir (Şekil 4.151. ve Şekil 4.152.). Bağlanma afinitesi ise, -13.5 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri  $14 \times 10^{-5} \mu\text{M}$  bulunmuştur.

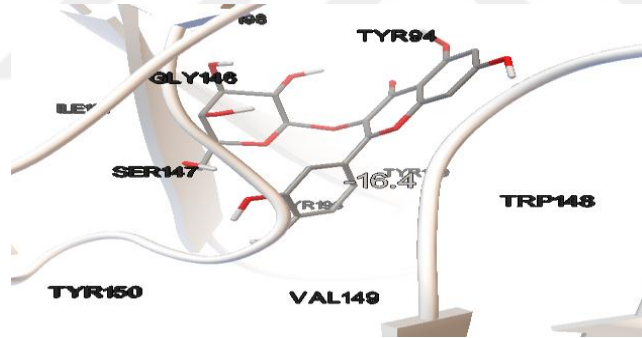
#### 4.3.2.16. Hiperozid

Hiperozid yapısının doking hesaplaması için hazırlanan konfigürasyon dosyasının parametreleri tüm doking hesaplamalarında olduğu gibidir. *Vina* log dosyasında olması mümkün olan konformasyonlar bağlanma enerjilerine göre sıralanmıştır (Şekil 4.153.).

```
log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1     | -16.4    | 0.000    | 0.000
2     | -16.1    | 2.481    | 5.899
3     | -16.1    | 2.114    | 2.975
4     | -16.0    | 2.330    | 5.718
5     | -15.9    | 2.301    | 5.818
6     | -15.8    | 1.990    | 5.189
7     | -15.7    | 1.917    | 4.714
8     | -15.6    | 2.249    | 5.834
9     | -15.5    | 2.460    | 6.120
10    | -15.5    | 2.484    | 6.573
11    | -15.4    | 2.158    | 3.417
12    | -15.3    | 2.902    | 4.241
13    | -15.2    | 2.262    | 5.121
14    | -15.2    | 2.749    | 5.778
15    | -15.2    | 2.166    | 4.638
16    | -15.1    | 2.251    | 3.551
17    | -15.1    | 2.332    | 5.262
18    | -15.0    | 1.934    | 5.901
19    | -14.9    | 1.411    | 2.202
Writing output ... done.
```

Şekil 4.153. Hiperozid log dosyası

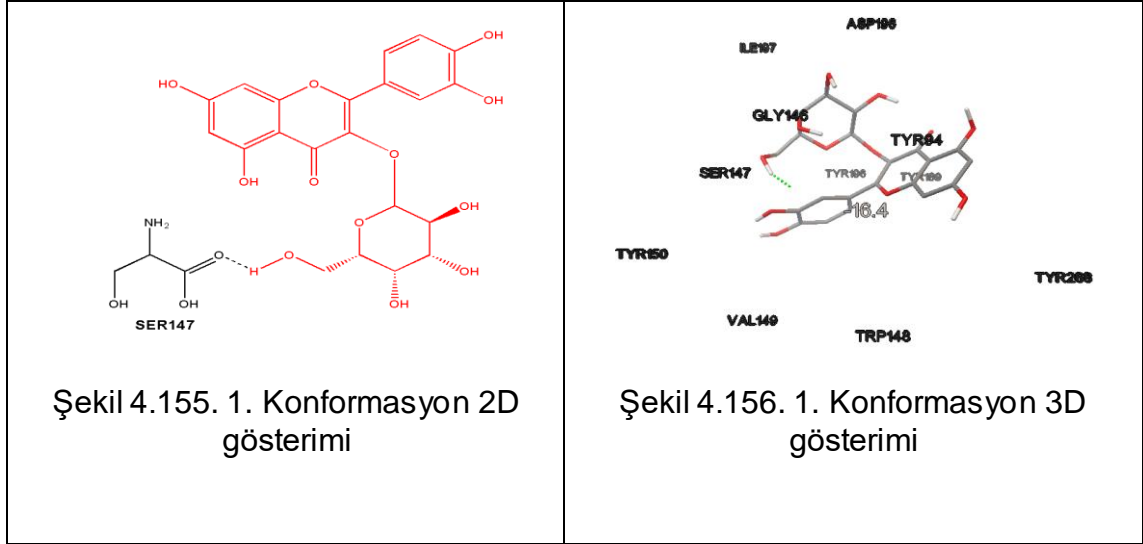
Bunlar dikkate alındığında anlamlı olan konformasyonun doking görüntüsü aşağıda verilmiştir (Şekil 4.154.).



Şekil 4.154. Hiperozid doking görüntüsü

Konformasyon incelendiğinde yerleştiği aktif bölgedeki aminoasitler; SER147; TRP148; TYR268; VAL149; GLY146; ASP198; TYR196; ILE197; TYR150; TYR94 ve TYR189'dur. Konformasyonun, aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Konformasyon bu bölgede TRP148 ile 1 hidrojen bağı yapmaktadır (Şekil 4.155. ve Şekil 4.156.). Bağlanma afinitesi ise, -16.4 kcal/mol'dür.





Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri  $1.1 \times 10^{-6} \mu M$  bulunmuştur.

#### 4.3.2.17. İzokuersitrin

İzokuersitrin yapısının dokingi için hazırlanan konfigürasyon dosyasının parametresi diğer dokingler ile aynıdır. Log dosyasında mümkün olabilecek konformasyonlar belirlenmiş ve bağlanma enerjileri dikkate alınarak sıralanmıştır (Şekil 4.157.).

log - Not Defteri

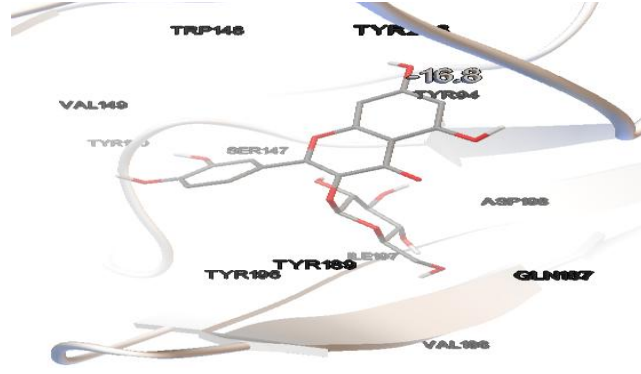
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım

mode	affinity (kcal/mol)	dist from best mode rmsd l.b.   rmsd u.b.
1	-16.8	0.000   0.000
2	-16.6	1.982   6.274
3	-16.6	2.606   5.881
4	-16.4	1.706   5.417
5	-16.4	1.490   4.955
6	-16.3	2.015   5.131
7	-16.3	3.428   6.375
8	-16.2	1.763   5.471
9	-16.1	2.024   6.116
10	-16.1	1.965   6.326
11	-16.1	1.998   5.872
12	-16.0	0.894   2.147
13	-15.9	1.322   1.996
14	-15.8	2.391   4.674
15	-15.8	3.155   6.911
16	-15.7	2.320   5.922
17	-15.7	2.130   5.302
18	-15.7	2.758   4.059

Writing output ... done.

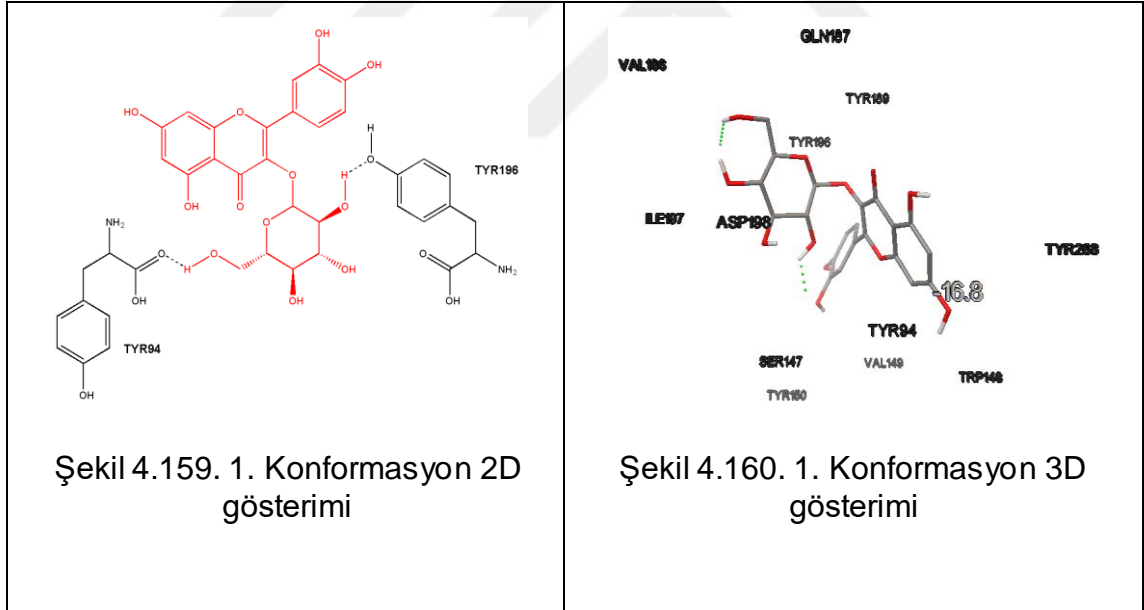
Şekil 4.157. İzokuersitrin log dosyası

Konformasyonların bağlanma enerjileri ve görsel incelemeleri yapıldığında 1. Konformasyonun en anlamlı olan konformasyon olduğu belirlenmiştir. Bu konformasyonun aktif bölgedeki görüntüsü Şekil 4.158.'de görüldüğü gibidir.



Şekil 4.158. Izoquersitrin doking görüntüsü

Seçilen konformasyonun yerleştiği aktif bölgede bulunan aminoasitleri; SER147; TRP148; TYR268; VAL149; VAL186; ASP198; TYR196; ILE197; TYR150; TYR94 ve TYR189'dur. Konformasyonun aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Bahsi geçen konformasyon aktif bölgede 2 hidrojen bağı yapmaktadır. Hidrojen bağlarından sorumlu aminoasitler ise TYR196 ve TYR94'tür (Şekil 4.159. ve Şekil 4.160.). Bağlanma afinitesi ise, -16.8 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri  $0.56 \times 10^{-6} \mu M$  bulunmuştur.

#### 4.3.2.18. Kaemferol

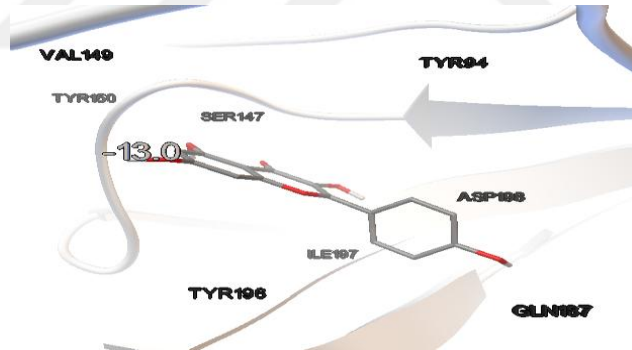
Program tarafından konfigürasyon dosyası hazırlandıktan sonra kaemferol yapısı için doking sonrası hazırlanan log dosyası oluşturulmuştur. Oluşturulan log dosyasında mümkün olabilecek konformasyonlar belirlenmiştir (Şekil 4.161.).

```
log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
Performing search ... done.
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----+-----+-----+-----
1     | -13.0     | 0.000     | 0.000
2     | -13.0     | 3.025     | 4.032
3     | -12.9     | 0.384     | 1.127
4     | -12.9     | 1.727     | 7.066
5     | -12.8     | 3.001     | 4.043
6     | -12.5     | 2.226     | 6.470
7     | -12.4     | 1.780     | 6.747
8     | -12.3     | 2.844     | 6.387
9     | -12.3     | 2.872     | 6.438
10    | -12.2     | 1.746     | 6.904
11    | -12.2     | 1.632     | 1.644
12    | -12.1     | 3.769     | 4.547
13    | -11.9     | 1.530     | 2.511
14    | -11.9     | 2.558     | 5.918
15    | -11.8     | 2.611     | 6.676
16    | -10.4     | 3.159     | 4.908
Writing output ... done.
```

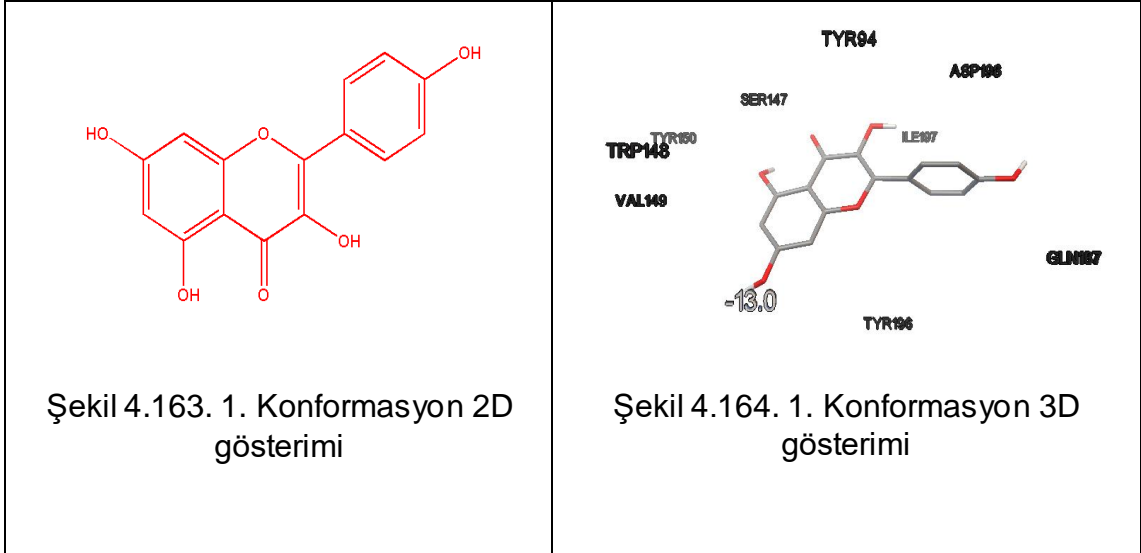
Şekil 4.161. Kaemferol log dosyası

Bu konformasyonlara bakıldığında ligandın aktif bölgeye yerleşmiş doking görüntüsü aşağıda gösterilmiştir (Şekil 4.162.).



Şekil 4.162. Kaemferol doking görüntüsü

Konformasyon incelendiğinde yerleştiği aktif bölgedeki aminoasitler; SER147; TRP148; VAL149; GLN187; ASP198; TYR196; ILE197; TYR150 ve TYR94'tür.. Konformasyonun aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Konformasyonun aktif bölgede hidrojen bağı yapmadığı ADT kullanıcı ara yüzü yardımıyla gözlenmiştir (Şekil 4.163. ve Şekil 4.164.). Bağlanma afinitesi ise, -13.0 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri  $33 \times 10^{-5} \mu M$  bulunmuştur.

#### 4.3.2.19. Epikatekin

Program tarafından epikatekin yapısı için girilen konfigürasyon dosyası ile doking sonrası log dosyası oluşturulmuştur. log dosyasında olması mümkün olan konformasyonlar sıralanmıştır (Şekil 4.165.).

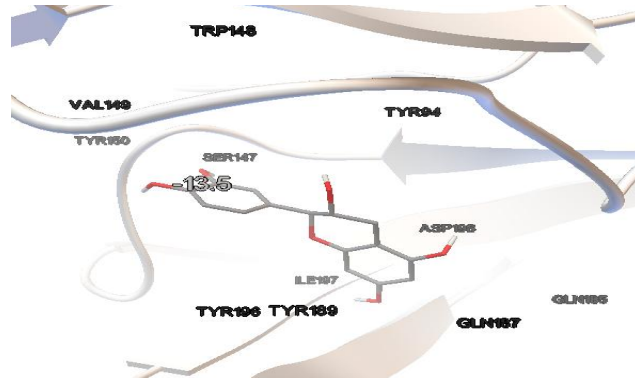
log - Not Defteri

Dosya	Düzen	Birim	Görünüm	Yardım
mode	affinity	dist from best mode		
	(kcal/mol)	rmsd l.b.   rmsd u.b.		
1	-13.5	0.000   0.000		
2	-13.5	1.415   7.052		
3	-13.4	1.489   3.074		
4	-13.2	1.676   7.168		
5	-13.2	1.653   3.277		
6	-13.2	1.847   3.685		
7	-13.0	1.531   2.010		
8	-13.0	1.264   2.683		
9	-13.0	1.373   2.870		
10	-12.9	1.868   6.807		
11	-12.8	1.511   6.497		
12	-12.7	1.680   3.382		
13	-12.7	1.901   6.945		
14	-12.5	2.553   4.610		
15	-12.5	3.129   6.454		
16	-12.3	1.504   7.062		
17	-12.3	2.219   3.333		
18	-12.3	2.621   6.583		
19	-12.1	1.406   1.885		
20	-12.1	2.448   6.676		

Writing output ... done.

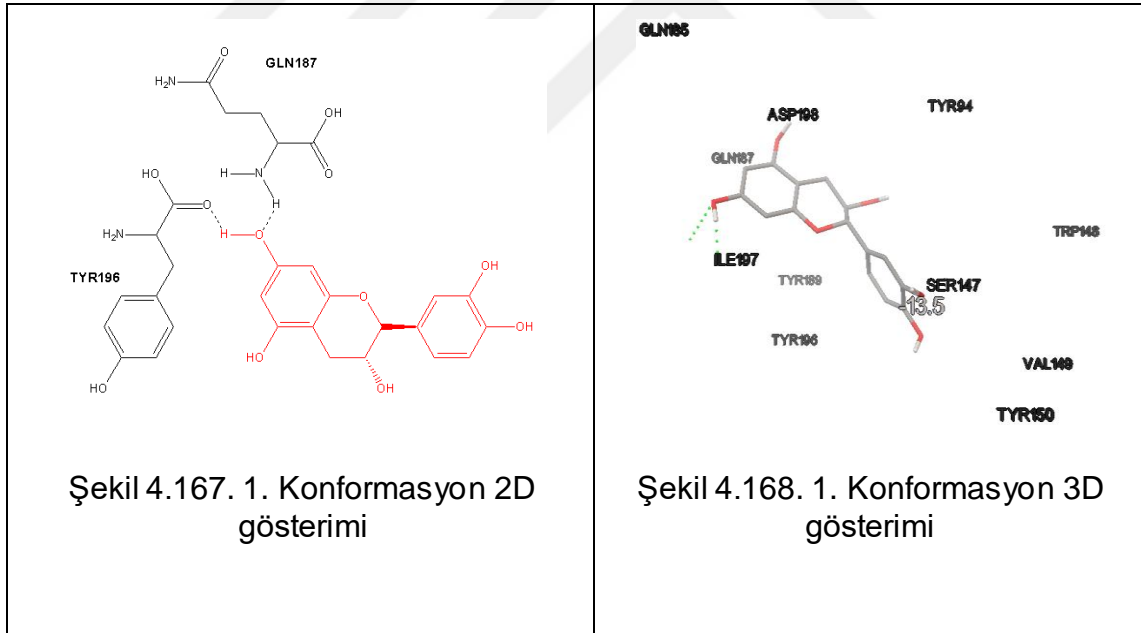
Şekil 4.165. Epikatekin log dosyası

Bu konformasyonların bağlanma enerjileri ve görsel değerlendirmeleri dikkate alındığında uygun konformasyonun doking sonrası görüntüsü ve çevredeki aminoasitleri incelenmiştir (Şekil 4.166.).



Şekil 4.166. Epikatekin doking görüntüsü

Konformasyonun aktif bölgeye yerleştiğinde bu bölgede bulunan aminoasitler; SER147; TRP148; VAL149; GLN185; GLN187; ASP198; TYR196; ILE197; TYR150; TYR94 ve TYR189'dur. Konformasyonun, aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Bu bölgede bahsi geçen konformasyonun TYR196 ve GLN187 aminoasitleri ile 2 hidrojen bağı yaptığı gözlemlenmektedir (Şekil 4.167. ve Şekil 4.168.). Bağlanma afinitesi ise, -13.5 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri  $14 \times 10^{-5} \mu M$  bulunmuştur.

#### 4.3.2.20. Luteolin

Docking işlemi için *Vina* programı kullanılarak sarı kantaron bitkisindeki luteolin ligandı ile AChBP docking hesaplaması yapılmıştır. Programı yardımıyla elde edilen log dosyasında konformasyonlar sonucu olduğu görülmektedir (Şekil 4.169.).

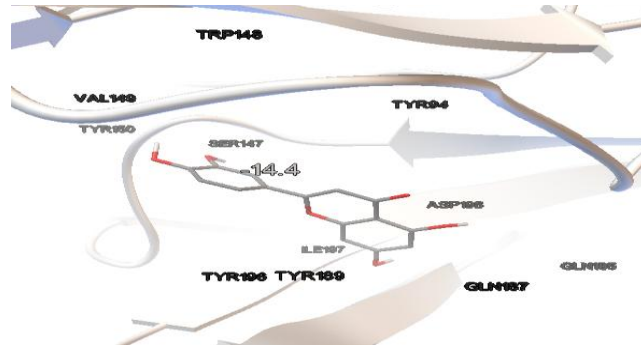
```
log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
Performing search ... done.
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----+-----+-----+-----
  1   | -14.4   | 0.000   | 0.000
  2   | -14.1   | 1.088   | 1.353
  3   | -13.8   | 1.414   | 7.124
  4   | -13.4   | 1.303   | 2.912
  5   | -13.0   | 2.595   | 6.371
  6   | -12.9   | 1.693   | 2.334
  7   | -12.8   | 1.759   | 6.569
  8   | -12.8   | 2.004   | 3.975
  9   | -12.7   | 2.615   | 4.519
 10   | -12.6   | 2.500   | 6.537
 11   | -12.6   | 2.695   | 6.646
 12   | -12.5   | 1.774   | 2.158
 13   | -12.5   | 1.587   | 7.247
 14   | -12.4   | 3.196   | 6.196
 15   | -12.4   | 2.101   | 2.813
 16   | -12.3   | 3.242   | 6.756

Writing output ... done.
```

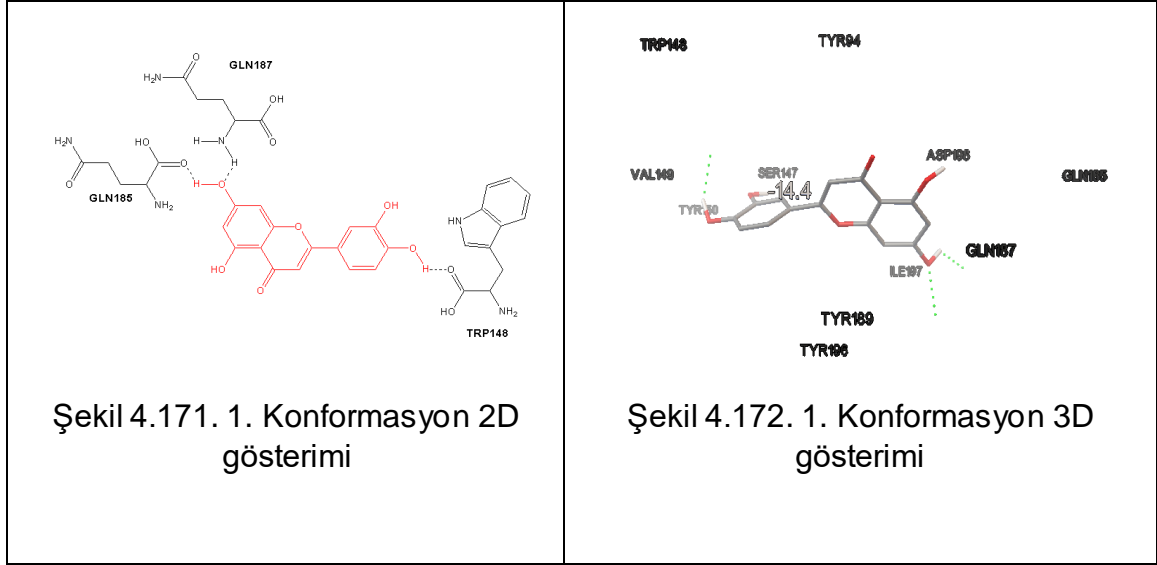
Şekil 4.169. Luteolin log dosyası

Log dosyası kontrol edildiğinde konformasyonun ADT kullanıcı arayüzü yardımıyla 3 boyutlu docking görüntüsü ve gözlenen tüm etkileşimleri aşağıda gösterilmiştir (Şekil 4.170.).



Şekil 4.170. Luteolin docking görüntüsü

Konformasyonun aktif cebe tam olarak yerleştiği görülmektedir ve etkileşimde olduğu aminoasitler; SER147; TRP148; VAL149; GLN185; GLN187; ASP198; TYR196; ILE197; TYR150; TYR94 ve TYR189'dur Konformasyonun aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Bu bölgede bahsi geçen konformasyonun GLN185; GLN187 ve TRP148 aminoasitleri ile 3 hidrojen bağı yaptığı gözlemlenmektedir (Şekil 4.171. ve Şekil 4.172.). Bağlanma afinitesi ise, -14.4 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri  $0.31 \times 10^{-6} \mu M$  bulunmuştur.

#### 4.3.2.21. Mikuelianin

Mikuelianin ligandının AChBP ile dokingi yapılmıştır. *AutoDock Vina* programı ile yapılan doking çalışmasında log dosyası elde edilmiştir (Şekil 4.173.).

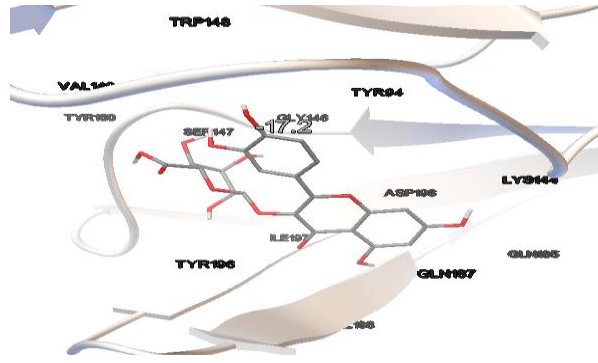
```

log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1      -17.2     0.000     0.000
2      -17.0     2.235     5.708
3      -16.7     1.569     2.170
4      -16.6     2.208     6.230
5      -16.4     1.907     6.854
6      -16.4     2.279     5.823
7      -16.3     2.340     5.269
8      -16.2     1.818     2.486
9      -16.1     1.841     5.675
10     -16.1     2.152     6.223
11     -16.1     1.909     6.993
12     -16.0     2.271     5.008
13     -15.8     1.550     4.186
14     -15.7     2.679     5.482
15     -15.7     2.050     6.601
16     -15.7     2.605     5.950
17     -15.7     1.820     3.194
18     -15.6     2.748     4.254
19     -15.6     1.930     6.397
20     -15.6     3.095     7.318
Writing output ... done.

```

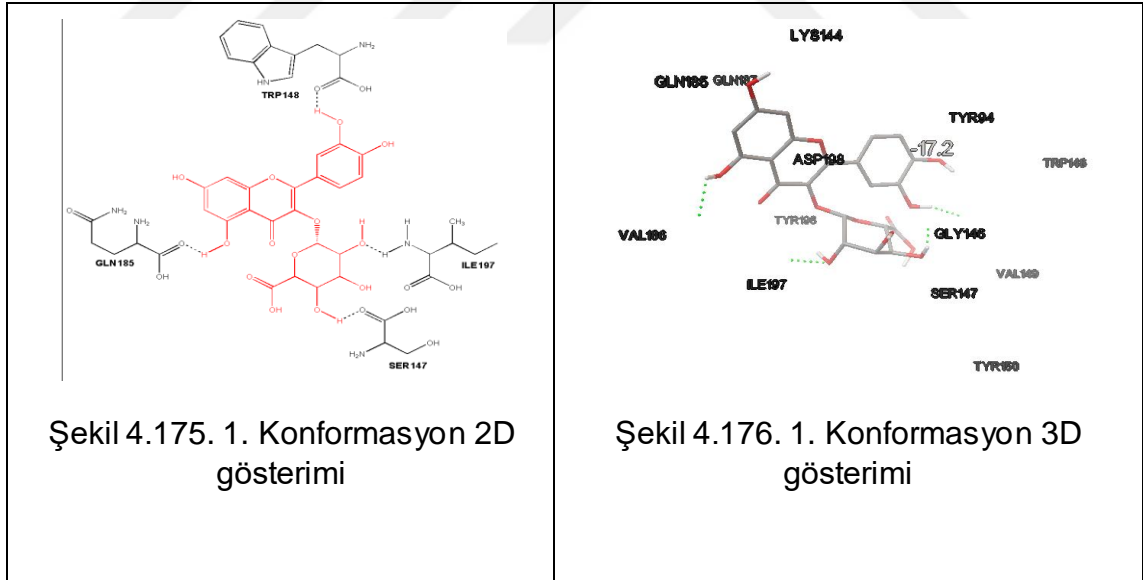
Şekil 4.173. Mikuelianin log dosyası

Doking sonucunda bulunan konformasyonun aktif bölgedeki aminoasitlerle tüm etkileşimlerinin görüntüsü ADT kullanıcı ara yüzü kullanılarak aşağıda verilmiştir (Şekil 4.174.).



Şekil 4.174. Mikuelianin doking görüntüsü

Bu konformasyon dikkate alındığında aktif bölgede etkileşilen aminoasitler ve hidrojen bağları incelenebilir. Konformasyon incelendiğinde hidrojen bağının yapılmadığı görülmektedir. Aktif bölgede ise van der Waals etkileşiminin olduğu aminoasitler; SER147; TRP148; VAL149; GLN185; GLN187; ASP198; TYR196; ILE197; TYR150; GLY146; LYS144; TYR94 ve VAL186'dır. Konformasyonun aktif bölgede yaptığı 4 hidrojen bağı ADT kullanıcı ara yüzü yardımıyla gözlenmiştir. Bu bağlar SER147; GLN185; ILE197 ve TRP148 aminoasitleri ile yapılmıştır (Şekil 4.175. ve Şekil 4.176.). Bağlanma afinitesi ise, -17.2 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri  $0.29 \times 10^{-6} \mu\text{M}$  bulunmuştur.



#### 4.3.2.22. Mirisetin

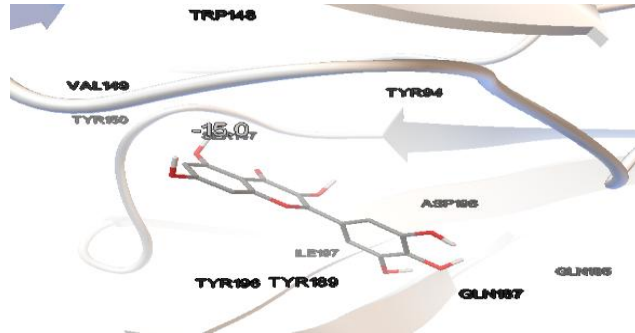
Mirisetin yapısının doking hesaplaması için hazırlanan konfigürasyon dosyasının parametreleri tüm doking hesaplamalarında olduğu gibidir. *Vina* log dosyasında olması mümkün olan konformasyonlar bağlanma enerjilerine göre sıralanmıştır (Şekil 4.177.).

```
log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
Performing search ... done.
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----+-----+-----+-----
1     | -15.0     | 0.000     | 0.000
2     | -14.9     | 0.118     | 1.740
3     | -14.4     | 1.265     | 7.338
4     | -14.3     | 1.270     | 7.169
5     | -13.8     | 2.622     | 3.153
6     | -13.8     | 2.623     | 3.548
7     | -13.8     | 1.753     | 6.972
8     | -13.7     | 1.763     | 6.870
9     | -13.6     | 1.769     | 7.010
10    | -13.6     | 1.759     | 7.207
11    | -13.5     | 1.778     | 3.209
12    | -13.4     | 1.705     | 7.182
13    | -13.3     | 2.538     | 6.617
14    | -13.3     | 2.555     | 6.434
15    | -13.2     | 1.958     | 2.980
16    | -13.1     | 1.962     | 3.361
Writing output ... done.
```

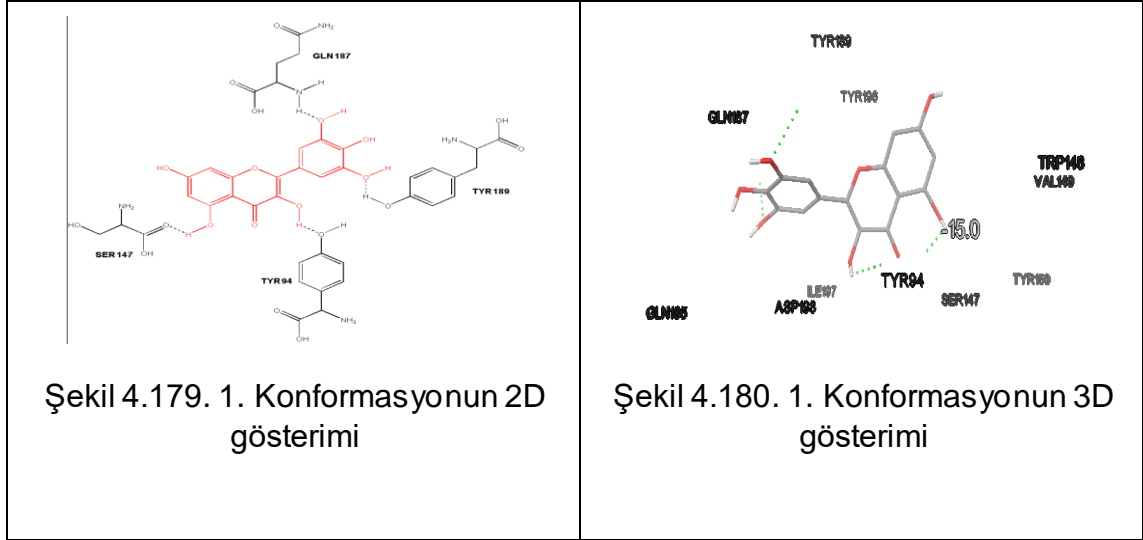
Şekil 4.177. Mirisetin log dosyası

Şekilde gösterilen log dosyasında olması mümkün olan 16 konformasyon sıralanmıştır. Bu konformasyonların bağlanma enerjileri ve görsel değerlendirmeleri dikkate alındığında 1. Konformasyonun anlamlı olduğu görülmüştür (Şekil 4.178.).



Şekil 4.178. Mirisetin doking görüntüsü

Konformasyon incelendiğinde yerleştiği aktif bölgedeki aminoasitler; SER147; TRP148; VAL149; GLN185; GLN187; ASP198; TYR196; ILE197; TYR150; TYR94 ve TYR189'dur. Konformasyonun, aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Konformasyon bu bölgede GLN187, SER147; TYR189 ve TYR94 ile 4 hidrojen bağı yapmaktadır (Şekil 4.179. ve Şekil 4.180.). Bağlanma afinitesi ise, -15.0 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri  $11 \times 10^{-6} \mu\text{M}$  bulunmuştur.

#### 4.3.2.23. Kuersetin

Program tarafından konfigürasyon dosyası hazırlandıktan sonra kuersetin yapısı için docking sonrası hazırlanan log dosyası oluşturulmuştur. Oluşturulan log dosyasında mümkün olabilecek konformasyonlar belirlenmiştir (Şekil 4.181.).

log - Not Defteri

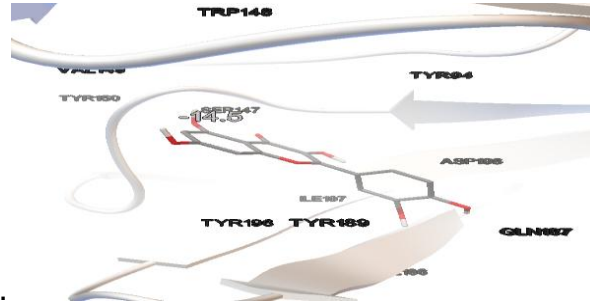
Dosya	Düzen	Biçim	Görünüm	Yardım
mode	affinity	dist from best mode	rmsd l.b.	rmsd u.b.
	(kcal/mol)			
1	-14.5	0.000	0.000	
2	-14.3	1.467	7.074	
3	-14.1	1.469	7.118	
4	-13.9	1.915	6.795	
5	-13.8	1.532	6.696	
6	-13.8	2.039	7.132	
7	-13.3	1.331	2.023	
8	-13.3	1.818	6.818	
9	-13.2	0.614	1.461	
10	-13.1	1.815	2.770	
11	-13.1	2.127	6.637	
12	-13.1	2.580	3.169	
13	-13.0	3.613	6.959	
14	-12.9	1.646	6.668	
15	-12.8	2.082	2.921	
16	-12.8	2.263	6.846	
17	-12.7	3.366	4.824	
18	-12.7	3.017	6.778	
19	-12.7	2.102	6.891	

Writing output ... done.

Şekil 4.181. Kuersetin log dosyası

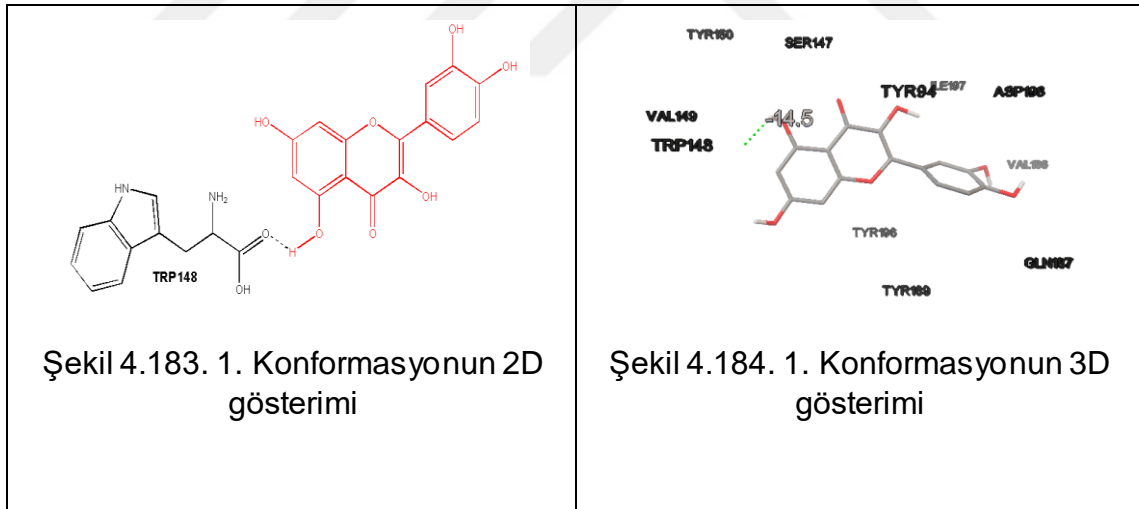
*AutoDock Vina* programı yardımıyla elde edilen log dosyasında 19 konformasyon sonucu olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar bağlanma afinite ve RMSD ddeğerleri dikkate alınarak program tarafından sıralanmıştır. Log dosyası kontrol edildiğinde ilk konformasyonun anlamlı olduğu görülmektedir.

Buna göre bu konformasyonun ADT kullanıcı arayüzü yardımıyla 3 boyutlu doking görüntüsü ve gözlenen tüm etkileşimleri Şekil 4.182.'de verilmiştir.



Şekil 4.182. Kueretin doking görüntüsü

Konformasyon incelendiğinde yerleştiği aktif bölgedeki aminoasitler; SER147; TRP148; VAL149; VAL186; GLN187; ASP198; TYR196; ILE197; TYR150; TYR94 ve TYR189'dur Konformasyonun aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Konformasyonun aktif bölgede yaptığı 1 hidrojen bağı ADT kullanıcı ara yüzü yardımıyla gözlenmiştir (Şekil 4.183. ve Şekil 4.184.). Bu bağı TRP148 aminoasiti ile yapılmıştır. Bağlanma afinitesi ise, -14.5 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \text{ (R= 1.986 cal/mol.K; T= 300 K)}$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri  $27 \times 10^{-6} \mu M$  bulunmuştur.

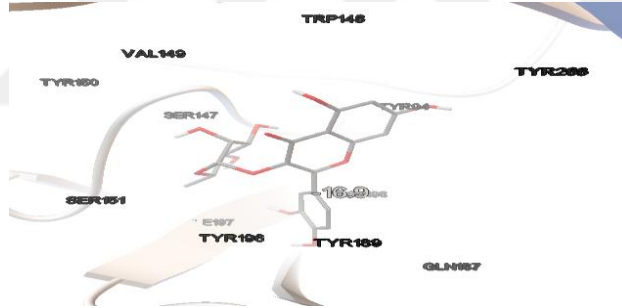
#### 4.3.2.24. Kuersitrin

Kuersitrin ve AChB proteininin dokingi için diğer ligandlarda hazırlanan aynı parametrelerle konfigürasyon dosyası hazırlanmış ve doking işlemi yapılmıştır. *AutoDock Vina* programı ile yapılan doking sonrası log dosyası hazırlanmıştır (Şekil 4.185.).

```
log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1     | -16.9    | 0.000    | 0.000
2     | -16.8    | 2.149    | 6.768
3     | -16.7    | 1.752    | 6.007
4     | -16.5    | 1.852    | 6.483
5     | -16.1    | 1.801    | 6.283
6     | -16.1    | 1.829    | 4.775
7     | -16.0    | 1.149    | 1.643
8     | -15.9    | 1.896    | 4.885
9     | -15.9    | 2.081    | 6.256
10    | -15.9    | 2.033    | 5.583
11    | -15.8    | 1.913    | 3.083
12    | -15.7    | 1.686    | 2.731
13    | -15.7    | 1.941    | 5.970
14    | -15.7    | 1.753    | 5.843
15    | -15.6    | 1.766    | 6.772
16    | -15.6    | 1.638    | 4.973
17    | -15.6    | 2.021    | 2.442
18    | -15.5    | 1.897    | 2.383
19    | -15.5    | 2.358    | 5.074
20    | -15.5    | 2.551    | 5.394
Writing output ... done.
```

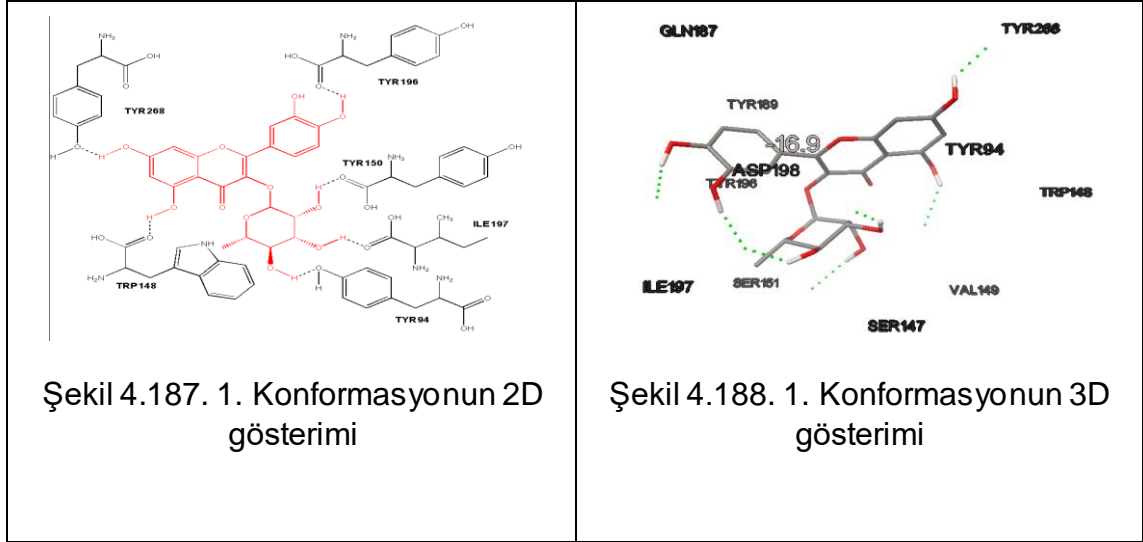
Şekil 4.185. Kuersitrin log dosyası

Anlamli olan konformasyonun aktif bölgedeki 3D görüntüsü aşağıda gösterilmiştir (Şekil 4.186.).



Şekil 4.186. Kuersitrin doking görüntüsü

Konformasyonun yerleştiği aktif bölgede van der Waals etkileşimlerinden sorumlu olan aminoasitler; SER147; TRP148; VAL149; SER151 TYR268; GLN187; ASP198; TYR196; ILE197; TYR150; TYR94 ve TYR189'dur. Bu konformasyon aktif bölgede yaptığı hidrojen bağları açısından incelendiğinde aminoasitler ile 6 hidrojen bağı yaptığı görülmektedir. Bu bağlardan sorumlu aminoasitler ise TRP148; TYR268; TYR94; TYR150; TYR196 ve ILE197'dir (Şekil 4.187. ve Şekil 4.188.). Bağlanma afinitesi ise, -16.9 kcal/mol'dür.



Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \quad (R= 1.986 \text{ cal/mol.K; } T= 300 \text{ K})$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri  $0.48 \times 10^{-6} \mu\text{M}$  bulunmuştur.

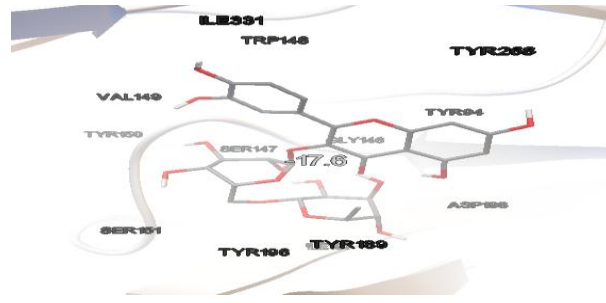
#### 4.3.2.25. Rutin

Tüm dokingler için aynı olarak hazırlanan konfigürasyon dosyası ile rutin doking işlemi yapılmıştır. Program tarafından hazırlanan log dosyasında bağlanma afiniteleri en yüksekten en düşüğe sıralanmıştır (Şekil 4.189.).

```
log - Not Defteri
Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım
mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----+-----+-----+-----
1      -17.6     0.000     0.000
2      -17.5     1.768     4.751
3      -17.4     1.920     5.190
4      -17.4     2.076     5.633
5      -17.3     2.313     6.442
6      -17.3     1.870     6.839
7      -17.2     2.144     5.598
8      -17.1     2.019     6.689
9      -16.9     1.798     3.922
10     -16.9     2.012     5.463
11     -16.9     2.022     6.269
12     -16.9     2.400     6.711
13     -16.8     1.266     4.938
14     -16.8     2.155     6.716
15     -16.8     1.760     5.393
16     -16.8     2.390     4.479
17     -16.8     1.518     5.230
18     -16.7     3.551     8.324
19     -16.7     2.007     7.021
20     -16.6     2.174     5.364
Writing output ... done.
```

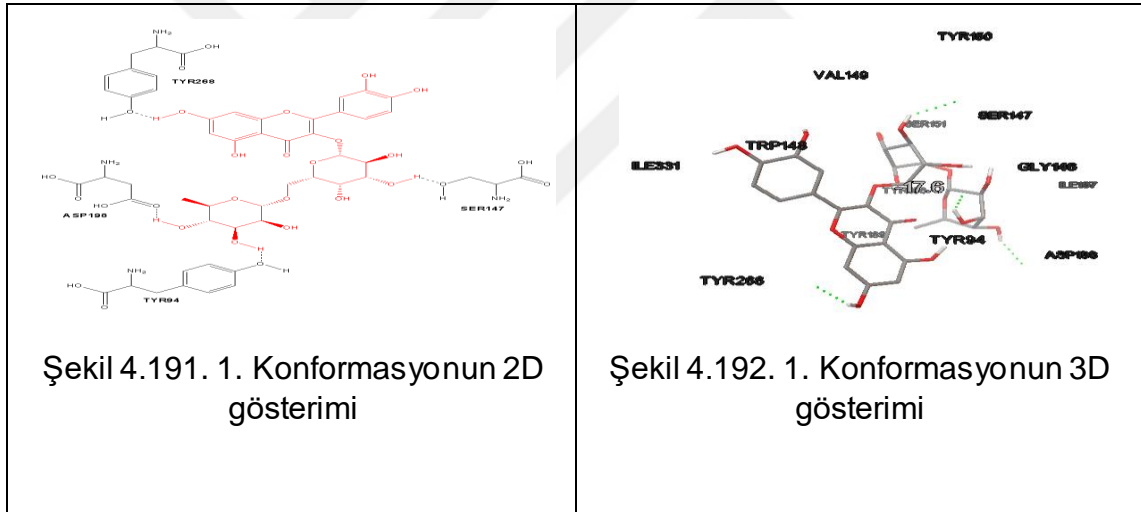
Şekil 4.189. Rutin log dosyası

Bu sonuçlara göre anlamlı konformasyon *AutoDock Vina* kullanıcı ara yüzü yardımıyla incelendiğinde aktif bölgeye yerleşmiş 3D gösterimi aşağıdaki şekilde gösterilmiştir (Şekil 4.190.).



Şekil 4.190. Rutin doking görüntüsü

Konformasyon ele alındığı zaman, aktif bölgede etkileştiği aminoasitler; SER147; TRP148; VAL149; GLN185; GLN187; ASP198; TYR196; ILE197; TYR150; TYR94 ve TYR189'dur Konformasyonun aktif bölge cebine tam olarak yerleştiği ve bu aminoasitler ile van der Waals etkileşiminde bulunduğu görülmektedir. Hidrojen bağları açısından incelendiğinde ise TYR268; ASP198; TYR94 ve SER147 aminoasitleri ile 4 hidrojen bağı izlenmiştir (Şekil 4.191. ve Şekil 4.192.). Bağlanma afinitesi ise, -17.6 kcal/mol'dür.

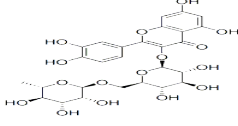
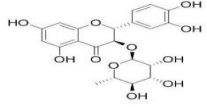
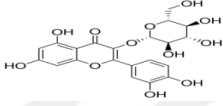
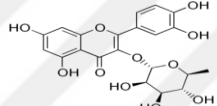
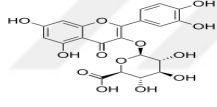
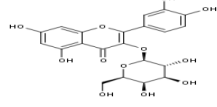
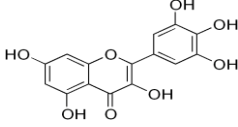
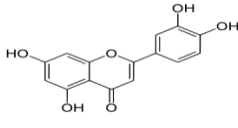
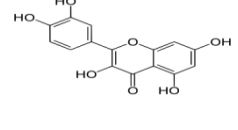
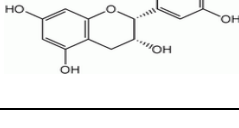


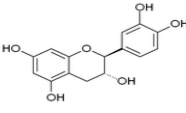
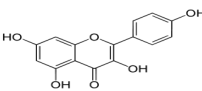
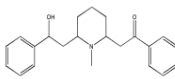
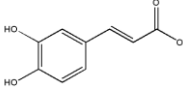
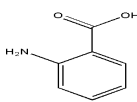
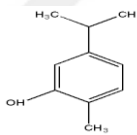
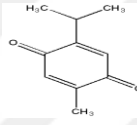
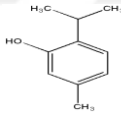
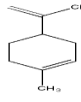
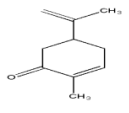
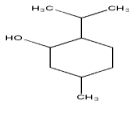
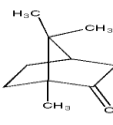
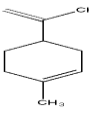
Tüm sonuçlar  $K_i$  cinsinden de analiz edilmiştir. *AutoDock Vina* programı log dosyasında bize  $\Delta GB$  bağlanma enerjisini vermektedir. Hesaplama için dikkate alınacak formül;

$$\Delta GB = R.T.\ln K_i \text{ (R= 1.986 cal/mol.K; T= 300 K)}$$

Buradan; *Vina* hesaplamalarına göre  $K_i$  değeri  $0.15 \times 10^{-6} \mu M$  bulunmuştur. Tam seri halinde bitkilerdeki fitokimyasalların teorik hesaplamalarla bulunan aktivite sıralaması, bağlanma enerjileri ve hidrojen bağı sayıları aşağıdaki çizelgede verilmiştir.

Çizelge 4.4. Fitokimyasalların seri halinde 2BYR sonuçları

Teorik sıra	Bitkideki ligand yapısı	Molekül yapısı	Bağlanma enerjisi kcal/mol	Hidrojen bağ sayısı	Ki (hesaplanan) (μM)
1	Rutin		-17.6	4	$0.15 \times 10^{-6}$
2	Mikuelianin		-17.2	4	$0.29 \times 10^{-6}$
3	Kuersitrin		-16.9	6	$0.48 \times 10^{-6}$
4	Izokuersitrin		-16.8	2	$0.56 \times 10^{-6}$
5	Hiperozid		-16.4	1	$1.1 \times 10^{-7}$
6	Astilbin		-16.3	3	$1.3 \times 10^{-7}$
7	Mirisetin		-15.0	4	$11 \times 10^{-6}$
8	Kuersetin		-14.5	1	$27 \times 10^{-6}$
9	Luteolin		-14.4	3	$31 \times 10^{-6}$
10	Epikatekin		-13.5	2	$14 \times 10^{-5}$

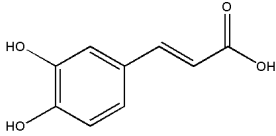
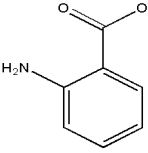
11	Katekin		-13.5	2	$14 \times 10^{-5}$
12	Kaemferol		-13.0	-	$33 \times 10^{-5}$
13	Lobelin		-12.2	-	$13 \times 10^{-4}$
14	Kafeik asit		-11.2	1	0.031
15	Antranilik asit		-9.0	1	0.275
16	Karvakrol		-8.1	-	1.246
17	Timokinon		-8.0	-	1.475
18	Timol		-8.0	-	1.475
19	Mentol		-7.8	1	2.063
20	Karvon		-7.3	-	4.775
21	Menton		-7.1	-	6.682
22	Kamfor		-6.9	-	9.341
23	Limonen		-6.9	-	9.341



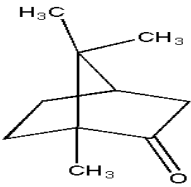
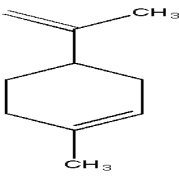
### 4.3.3. Karşılaştırma

Çörekotu, karabaş otu, kara biber, lobelya, sarı kantaron ve yulaf bitkilerinin içindeki fitokimyasalların 1UW6 ve 2BYR pdb kodları ile yapılmış doking sonuçları aşağıdaki tablolarda karşılaştırılmıştır.

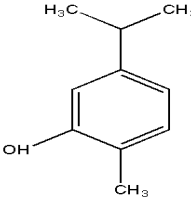
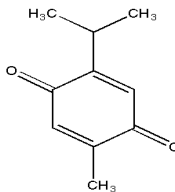
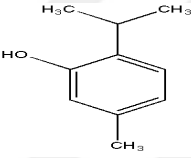
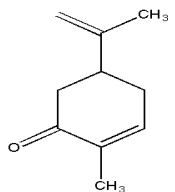
Çizelge 4.5. Yulaf bitkisi 1UW6 ve 2BYR doking sonuçları

Teorik sıra	Bitkideki ligand yapısı	Molekül yapısı	Bağlanma enerjisi kcal/mol		Hidrojen bağ sayısı	
			1UW6	2BYR	1UW6	2BYR
1	Kafeik asit		-10.3	-11.2	2	1
2	Antranilik asit		-8.2	-9.0	1	1

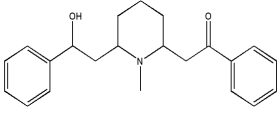
Çizelge 4.6. Karabiber bitkisi 1UW6 ve 2BYR doking sonuçları

Teorik sıra	Bitkideki ligand yapısı	Molekül yapısı	Bağlanma enerjisi kcal/mol		Hidrojen bağ sayısı	
			1UW6	2BYR	1UW6	2BYR
1	Kamfor		-8.8	-6.9	1	-
2	Limonen		-7.5	-6.9	-	-

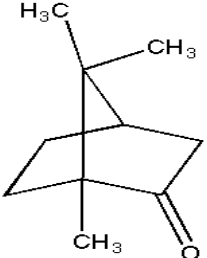
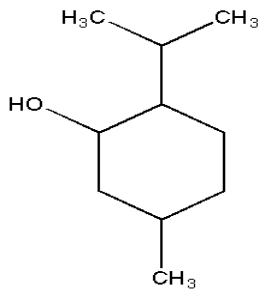
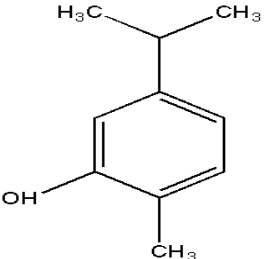
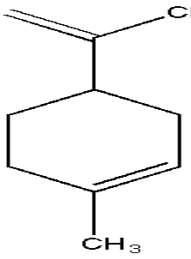
Çizelge 4.7. Çörekotu bitkisi 1UW6 ve 2BYR doking sonuçları

Teorik sıra	Bitkideki ligand yapısı	Molekül yapısı	Bağlanma enerjisi kcal/mol		Hidrojen bağ sayısı	
			1UW6	2BYR	1UW6	2BYR
1	Karvakrol		-8.5	-8.1	1	-
2	Timokinon		-8.5	-8.0	-	-
3	Timol		-8.1	-8.0	-	-
4	Karvon		-8.1	-7.3	1	-

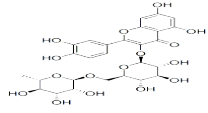
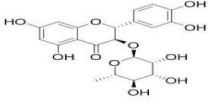
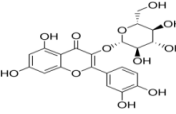
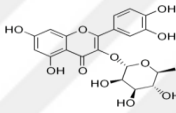
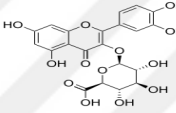
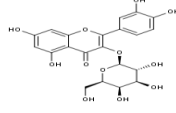
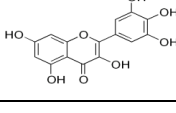
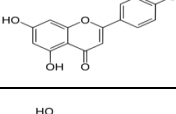
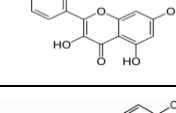
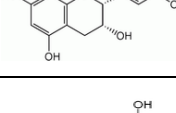
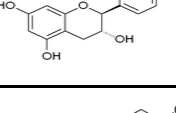
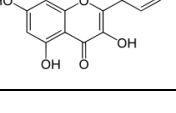
Çizelge 4.8. Lobelya bitkisi 1UW6 ve 2BYR doking sonuçları

Teorik sıra	Bitkideki ligand yapısı	Molekül yapısı	Bağlanma enerjisi kcal/mol		Hidrojen bağ sayısı	
			1UW6	2BYR	1UW6	2BYR
1	Lobelin		-11.3	-12.2	1	-

Çizelge 4.9. Karabaş otu bitkisi 1UW6 ve 2BYR dokimg sonuçları

Teorik sıra	Bitkideki ligand yapısı	Molekül yapısı	Bağlanma enerjisi kcal/mol		Hidrojen bağ sayısı	
			1UW6	2BYR	1UW6	2BYR
1	Kamfor		-8.8	-6.9	1	-
2	Menton		-8.6	-7.1	-	-
3	Karvakrol		-8.5	-8.1	1	-
4	Mentol		-8.1	-7.8	-	1

Çizelge 4.10. Sarı kantaron bitkisi 1UW6 ve 2BYR doking sonuçları

Teorik sıra	Bitkideki ligand yapısı	Molekül yapısı	Bağlanma enerjisi kcal/mol		Hidrojen bağ sayısı	
			1UW6	2BYR	1UW6	2BYR
1	Rutin		-20.9	-17.6	3	4
2	Astilbin		-17.1	-16.3	7	3
3	Izokuersitrin		-15.7	-16.8	7	2
4	Kuersitrin		-15.3	-16.9	5	7
5	Mikuelianin		-15.0	-17.2	1	4
6	Hiperozid		-14.9	-16.4	1	1
7	Mirisetin		-13.9	-15.0	4	4
8	Luteolin		-13.3	-14.4	2	3
9	Kuersetin		-13.2	-14.5	2	1
10	Epikatekin		-13.0	-13.5	3	2
11	Katekin		-12.7	-13.5	4	2
12	Kaemferol		-12.3	-13.0	2	-

Çizelge 4.11. 23 Fitokimyasalın antagonist ve agonist özelliklerinin karşılaştırılması

Teorik sıra	Bitkideki ligand yapısı	Antagonist	Agonist
1	Rutin	-	+
2	Mikuelianin	+	-
3	Kuersitrin	+	-
4	Izokuersitrin	+	-
5	Hiperozid	+	-
6	Astilbin	-	+
7	Mirisetin	+	-
8	Kuersetin	+	-
9	Luteolin	+	-
10	Epikatekin	+	-
11	Katekin	+	-
12	Kaemferol	+	-
13	Lobelin	+	-
14	Kafeik asit	+	-
15	Antranilik asit	+	-
16	Karvakrol	-	+
17	Timokinon	-	+
18	Timol	-	+
19	Mentol	-	+
20	Karvon	-	+
21	Menton	-	+
22	Kamfor	-	+
23	Limonen	-	+

Çizelge 4.12. Antagonist özellikli 13 yapının bağlanma enerji sonuçları sıralaması

Teorik sıra	Bitkideki ligand yapısı (Antagonist) 2BYR	Bağlanma enerjisi kcal/mol
1	Mikuelianin	-17.2
2	Kuersitrin	-16.9
3	Izokuersitrin	-16.8
4	Hiperozid	-16.4
5	Mirisetin	-15.0
6	Kuersetin	-14.4
7	Luteolin	-14.5
8	Epikatekin	-13.5
9	Katekin	-13.5
10	Kaemferol	-13.0
11	Lobelin	-12.2
12	Kafeik asit	-11.2
13	Antranilik asit	-9.0

#### 4.4. Sanal Ligand Taraması Sonuçları

ZINC veritabanında potansiyel ligand olabilecek 506 adet bileşiğin AChB proteinine moleküler kenetlenme işlemi *AutoDock Vina* programı ile yapılmıştır. Bu işlemlerin hepsi otomatik komut sistemi ve Cygwin programı yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Bu işlemin sonucunda *AutoDock Vina*'da kenetlenme işlemi tamamlanan Mikuelianin türevi bileşikler arasından en iyi bağlanma afinitesine sahip olan 20 molekül tarafından tespit edilmiştir. Arama sonuçlarının bir kısmı Şekil 4.192.'de görülmektedir.

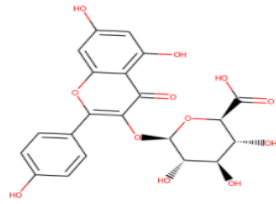
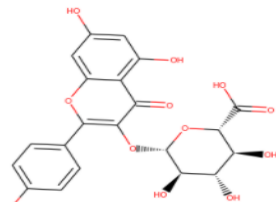
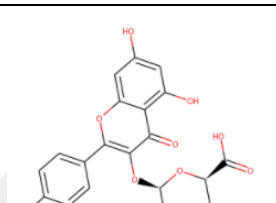
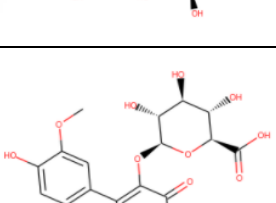
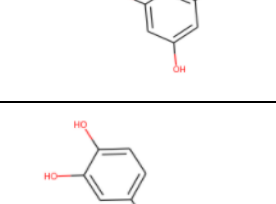
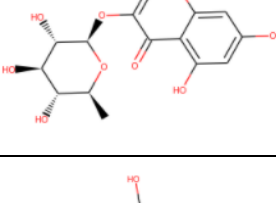


Şekil 4.193. ZINC veritabanı ile bulunan 506 adet bileşiğin bir kısmı

Bağlanma afinitesi değerleri en düşük olan ilk 20 bileşiğin kimyasal yapıları ZINC kodları ile birlikte Çizelge 4.12.'de verilmiştir.

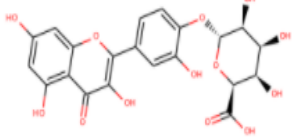
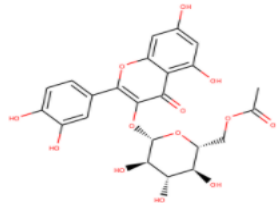
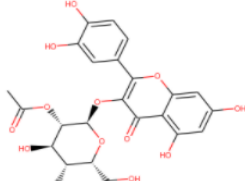
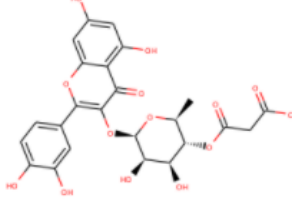
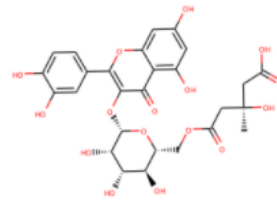
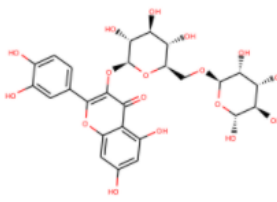
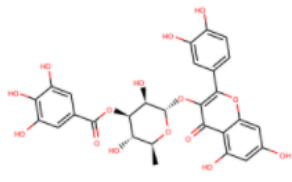
Çizelge 4.13. Sanal ligand taraması sonucu en iyi 20 bileşik

No	ZINC kodu	Bağlanma afinitesi (kcal/mol)	RMSD (Å)	Kimyasal yapı
1	59763271	-13.2	1.447	

2	38401488	-12.8	1.623	
3	31155995	-12.6	1.422	
4	59587936	-12.3	1.134	
5	59765534	-12.3	0.863	
6	85531795	-12.3	1.316	
7	28538752	-12.0	1.035	

8	10082650	-12.0	1.896	
9	33833712	-11.8	1.634	
10	13827646	-11.8	1.127	
11	12153072	-11.7	1.304	
12	12153073	-11.7	1.959	
13	14684626	-11.5	1.787	



14	10082046	-11.5	1.866	
15	43495920	-11.3	1.385	
16	14684651	-11.3	1.276	
17	95914710	-11.3	1.534	
18	10082803	-11.2	1.433	
19	85648581	-11.0	1.721	
20	33861410	-11.0	0.642	

## 5.YORUMLAR ve ÖNERİLER

Bu çalışmanın ilk aşamasında *AutoDock Vina* programının validasyon testi yapılmış, ikinci aşamada ise bitkilerin içerdikleri fitokimyasalların 23 bileşik AChB proteini ile doking çalışmaları yapılmış ve  $K_i$  değerleri bulunmuştur. Son olarak, sanal ligand taraması yapılmış ve ilaç adayı olabilecek ilk 20 bileşik belirlenmiştir.

Çalışmamızın her aşamasında elde edilen sonuçlar analiz edilip özetlenecek olursa;

### VALİDASYON ÇALIŞMASINDA;

1. *AutoDock Vina* programının **1UW6** ve **2BYR** kodlu AChB proteini kullanılarak doking çalışmaları yapılmasında uygun olduğu tespit edilmiştir.
2. Yapılardan **nikotin** ve **MLK** ligandlarının çıkarılması ve tekrar aynı bölgeye doking yapılmasıyla hesaplanan değer (nikotin: 1.3 Å; MLK: 1.6 Å), X-ray verileri ile karşılaştırıldığında 2 Å 'dan daha küçük olması seçilen programın bu protein yapısı için uygun olduğunu göstermektedir.

### DOKİNG ÇALIŞMASINDA;

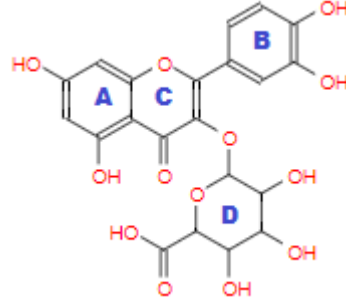
1. Antagonist özelliğe sahip olan bitkilerin lobelya, sarı kantaron ve yulaf olduğu bulunmuştur.
2. Antagonist özelliği en fazla bulunan 13 yapı analiz edildiğinde, bağlanma enerjilerine göre sıralama aşağıdaki gibidir:
  - ❖ mikuelianin>kuersitrin>izokuersitrin>hiperozid>mirisetin>kuerseti n> luteolin>epikatekin>katekin>kaemferol>lobelin>kafeikasit>antranilik asit
3. Sarı kantaron bitkisindeki 12 flavonoidin 10'nun antagonist özelliğinin agonist özelliğinden daha fazla olduğu saptanmıştır.
4. Sarı kantaronda antagonist özelliği fazla olan 10 yapının C halkasında çift bağın olması ve B halkasında –OH grubu sayısının azalması antagonistik özelliğin artmasına sebep olabilir. Şeker grubuna sahip bileşiklerin (mikuelianin>kuersitrin>izokuersitrin>hiperozid) en fazla

antagonist özellik göstermesi bu grubun antagonist özelliği arttırdığı söylenebilir.

5. Antagonist özellikler analiz edildiğinde en iyi bağlanmayı mikuelianinin gösterdiği görülmektedir. Sonuçlara göre, D halkasındaki –OH grubu sayısı arttıkça ve –COOH fonksiyonel grubu eklenince aktifliğin arttığı görülebilir.
6. Yulaf bitkisindeki bileşiklere bakıldığında kafeik ve antranilik asitin antagonist özelliği en fazla bulunmuştur. Antranilik asitte -COOH grubunun direk halkaya bağlanması ve halkaya bağlı –NH<sub>2</sub> grubunun varlığı aktifliği azaltmış olabilir.
7. Karabiber bitkisindeki kamfor ve limonen bileşikleri analiz edildiğinde kamfor yapısındaki keto grubun aktifliği arttırdığı söylenebilir. Her iki yapının daha çok agonist özellik sergilediği görülmüştür.
8. Çörekotu bitkisinde her 4 bileşiğin agonist özelliği antagonist özelliğinden daha fazla bulunmuştur. 4 bileşik arasında ise karvakrol yapısının agonist özelliğinin daha fazla olduğu saptanmıştır. Karvakrol ile timol karşılaştırıldığında enerjinin daha yüksek olması hidroksil grubuna komşu izopropil grubunun daha az sterik etki yaratmasına bağlı olduğu söylenebilir. Karvon ile timokinon karşılaştırıldığında karvonun bağlanma enerjisinin düşük olmasına sebep molekül yapısının düzlemsel olmaması, çift bağ içermesi olabilir.
9. Karabaş otundaki yapılar incelendiğinde bileşiklerin daha çok agonist özellik sergiledikleri izlenmiştir. Kamfor ve menton yapılarında keto grubunun olması aktifliği arttırmış, mentol ve karvakrol yapılarında hidroksil grubunun olması ise aktifliği azaltmış olabilir.
10. Lobelya bitkisindeki lobelin yapısı analiz edildiğinde ise lobelinin antagonist özellik gösterdiği söylenebilir.

## SANAL LİGAND TARAMASINDA;

1. En iyi bağlanmayı gösteren ilk 20 bileşiğe bakıldığında B halkasındaki –OH grubunun sayısı arttıkça bağlanma enerjisinde azalma olduğu görülmüştür.



2. Tüm yapılarda C halkasındaki çift bağın varlığı dikkat çekmektedir. Çift bağın var olmasından dolayı 506 adet bileşik arasında bu 20 bileşiğin bağlanma enerjileri yüksek çıkmış olabilir.
3. Halka ve zincir sayısı arttıkça sterik etkiden dolayı bağlanma enerjisinde azalma olduğu söylenebilir.

## KAYNAKLAR

- [1] Billen, B., Spurny, R., Brams, M., Van, Elk R., Valera-Kummer, S., Yakel, J.L., Voets, T., Bertrand, D., Smit, AB., Ulens, C., Molecular actions of smoking cessation drugs at  $\alpha 4\beta 2$  nicotinic receptors defined in crystal structures of a homologous binding protein, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(23), 9173-9178, **2012**.
- [2] Angioni, A., Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., Cabras, P., Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(12), 4364-4370, **2006**
- [3] Kim Kuk, H., Kim Kyong, T., Nam Hong, G., Park Deok, H., Park Tae, J., Antagonists for nicotinic acetylcholine receptor, which are containing borneol or camphor as an active ingredient, Genomine, Inc., Pohang University Of Science And Technology, Patent NO: WO2001058436 A1, **2001**.
- [4] Silvana, L., Martin, C.M., K.Michael, C., James, L.K., Andrew, H., David D. L., Jill, M.M., A Phase II study of St. John's Wort for smoking cessation, *Complementary Therapies in Medicine*, 14, 175—184, **2006**.
- [5] Amit S., Jon, O.E., Kavita, P., Ivana, T.C., Brent, B., Darrell, R.S., A Randomized Clinical Trial of St. John's Wort for Smoking Cessation, *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 16(7), 761-767, **2010**.
- [6] Yorgancıoğlu, A., Esen A., Sigara bağımlılığı ve hekimler, *Toraks dergisi*, 1, 90-95, **2000**.
- [7] Küresel yetişkin tütün araştırması Türkiye 2012, Sağlık Bakanlığı yayın no:948, Anıl Matbaa, Ankara, 2-4, **2014**.
- [8] Bilir, N. ve ark., Tütün ve Alkol Piyasası Düzenleme Kurulu (TAPDK), <http://www.tapdk.gov.tr/tr/piyasa-duzenlemeleri/tutun-ve-alkol-kontrolu/tutun-mamulleri-ve-saglik.aspx>, (Nisan, **2008**).
- [9] Behr, J., Nowak, D., Tobacco smoke and respiratory disease. In: D'Amato G, Holgate ST; eds. The Impact of Air Pollution on Respiratory Health, ERS Journals Ltd. *European Respiratory Journals*, 21, 161-179, **2002**.
- [10] Elbek, O., Kılınç, O., Aytemur, Z.A., Akyıldız, L., Küçük, Ç.U., Özge, C., Sağlam, L., Bostan, P., Dağlı, E., Türkiye'de Tütün Kontrolü, *Turk Toraks Dergisi*, 1-10, **2014**.
- [11] Karlıkaya, C., Öztuna, F., Solak, Z.A., Özkan M., Örsel O., Tütün kontrolü, *Toraks Dergisi*, 7(1), 51-64, **2006**.
- [12] Patrick, G.L., *An Introduction to Medicinal Chemistry*, 5.Baskı, Oxford University Yayıncılık, 42-56, **2013**.
- [13] Akay, A., N.Ceren, Turanlıgil, S., Uyanıkgil, Y., İyon Kanalları ve Epilepsi Patojenezindeki Rollerini, *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 19, 72, **2010**.

- [14] Edink, E., *Structure-based design of AChBP ligands, new insights and applications*. Doktora Tezi, Vrije University Faculty of Sciences, Amsterdam, **2011**.
- [15] Brejc, K., et al. Crystal structure of an ACh-binding protein reveals the ligand-binding domain of nicotinic receptors, *Nature*, 411, 269-76, **2001**.
- [16] Arias, H.R., Molecular interactions between ligands and nicotinic acetylcholine receptors revealed by studies with acetylcholine binding proteins, *Journal of Thermodynamics & Catalysis*, 3(4), 1-7, **2012**.
- [17] Sharples, C.G.V., Wonnacott, S., Neuronal Nicotinic Receptors, *Toxicology Reviews*, 19, **2001**.
- [18] Unwin, N., Refined Structure of the Nicotinic Acetylcholine Receptor at 4Å Resolution, *Journal of Molecular Biology*, 346(4), 967, **2005**.
- [19] Unwin, N., Fujiyoshi, Y., Gating Movement of Acetylcholine Receptor Caught by Plunge-Freezing, *Journal of Molecular Biology*, 422, 617, **2012**.
- [20] Wonnacott S., Jacques B., Nicotinic ACh Receptors, *Toxicology Reviews*, 28, **2007**.
- [21] Daly, J.W., Nicotinic Agonists, Antagonists, and Modulators From Natural Sources, *Cellular and Molecular Neurobiology*, 25 (3-4), 513-552, **2005**.
- [22] Prakash, R., Claire, A.H., René van Elk, August, B.S., Timothy, G., Titia, K.S., Structural Characterization of Binding Mode of Smoking Cessation Drugs to Nicotinic Acetylcholine Receptors through Study of Ligand Complexes with Acetylcholine-binding Protein, *The Journal of Biological Chemistry*, 287 (28), 23283-23293, **2012**.
- [23] Etter, J.F., Cytisine for smoking cessation: A literature review and a meta-analysis, *Archives of Internal Medicine*, 166, 1553-1559, **2006**.
- [24] Crooks, P.A., Bardo, M.T., Dwoskin, L.P., Nicotinic Receptor Antagonists as Treatments for Nicotine Abuse, *Advances in Pharmacology*, 69, 513-551, **2014**.
- [25] Ingrid, B., Becky, W., Douglas, R.S., Tony, P.G., Mecamylamine – a nicotinic acetylcholine receptor antagonist with potential for the treatment of neuropsychiatric disorders, *Expert opinion on Pharmacotherapy*, 10 (16), 2709-2721, **2009**.
- [26] Kitikannakorn, N., Chaiyakunapruk, N., Nimpitakpong, P., Dilokthornsakul, P., Meepoog, E., Kerdpeng, W., An overview of the evidences of herbals for smoking cessation, *Complementary Therapies in Medicine*, 21, 557-564, **2013**.
- [27] Barnes, J., Anderson, L.A., Phillipson, J.D., St John's wort (*Hypericum perforatum* L.): a review of its chemistry, pharmacology and clinical properties, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 53, 583-600, **2001**.
- [28] Butterweck, V., Schmidt, M., St. John's wort: Role of active compounds for its mechanism of action and efficacy, *Wiener Medizinische Wochenschrift*, 157 (13-14), 356–361, **2007**.

- [29] Zou, Y., Lu, Y., Wei, D., Antioxidant activity of a flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. in vitro, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 5032-5039, **2004**.
- [30] Wenzig, E., Kunert, O., Ferreira, D., Schmid, M., Schuhly, W., Bauer, R., Hiermann, A., Flavonolignans from *Avena sativa*, *Journal of Natural Products*, 68 (2), 289-292, **2005**.
- [31] Schmidt, K., Geckeler, K., Pharmacotherapy with *avena sativa* - a double blind study, *International Journal of Clinical Pharmacology and Biopharmacy*, 14(3), 214-216, **1976**.
- [32] Dimberg, L.H., Gisse'n, C., Nilsson, J., Phenolic Compounds in Oat Grains (*Avena sativa* L.) Grown in Conventional and Organic Systems, *Ambio*, 34 (4-5), 331-337, **2005**.
- [33] Felpin, F.X., Lebreton, J., History, chemistry and biology of alkaloids from *Lobelia inflata*, *Tetrahedron*, 60, 10127-10153, **2004**.
- [34] Stead, L.F., Hughes, J.R., Lobeline for smoking cessation, *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2, Art. No.:CD000124, DOI:10.1002/14651858.CD000124.pub2, **2012**.
- [35] Zuzarte, M., Goncalves, M.J., Cavaleiro, C., Cruz, M.T., Benzarti A., Marongiu, B., Maxia, A., Piras, A., Salgueiro, L., Antifungal and anti-inflammatory potential of *Lavandula stoechas* and *Thymus herba-barona* essential oils, *Industrial Crops and Products*, 44, 97-103, **2013**.
- [36] Ahmad, N., Fazal, H., Abbasi, B.H., Farooq, S., Mohammad Ali, Mubarak, A.K., Biological role of *Piper nigrum* L. (Black pepper): A Review, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1945-1953, **2012**.
- [37] Rose, J.E., Behm, F.M., Inhalation of vapor from black pepper extract reduces smoking withdrawal symptoms, *Drug Alcohol Dependence*, 34 (3), 225-229, **1994**.
- [38] Ahmad, A., Husain, A., Mujeeb, M., Alam Khan, S., Najmi, A.K., Sidduque, N.A., Damanhour, Z.A., Anwar, F., A review of therapeutic potential of *Nagilla sativa*: A miracle herb, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3 (5), 337-352, **2013**.
- [39] Hosseinzadeh, H., Parvardeh, S., Masoudi, A., Moghimi, M., Mahboobifard, F., Attenuation of morphine tolerance and dependence by thymoquinone in mice, *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 6 (1), 55-66, **2016**.
- [40] Alten, O., HIV-1 Glikoprotein 41 Molekülünün Aktif Bölgesinin Substrat-Bağlayıcı Alanının Moleküler Kenetlenme Yöntemiyle Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2011**.
- [41] Ülgen, O., Trombin İnhibitörlerinin Moleküler Modelleme Çalışmaları, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2012**.
- [42] <http://autodock.scripps.edu/faqs-help/faq/how-autodock-4-converts-binding-energy-kcal-mol-into-ki> (Aralık, **2015**).

- [43] Walters, W.P., Stahl, M.T., Murcko, M., Virtual screening-an overview, *Drug Discovery Today*, 3, 160-178, **1998**.
- [44] Davis, A.M., Teague, S.J., Kleywegt, G.J., Application and limitations of x-ray crystallographic data in structure-based ligand and drug design, *Angewandte Chemie International Edition*, 42, 2718-2736, **2003**.
- [45] Yang, Z., Lasker, K., Schneidman-Duhovny, D., Webb, B., Huang, C.C., Pettersen, E.F., Goddard, T.D., Meng E.C., Sali, A., Ferrin, T.E., UCSF Chimera, MODELLER, and IMP: An integrated modeling system, *Journal of Structural Biology* 179 (3), 269–278, **2012**.
- [46] Trott, O., Olson, A.J., AutoDock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading, *Journal of Computational Chemistry*, 31, 445-461, **2010**.
- [47] <https://bidb.metu.edu.tr/380-gaussian-yazilimi> (Mart, **2014**).
- [48] Zhenjiang Li, Honggui Wan, Yuhu Shi, Pingkai Ouyang, Personal Experience with Four Kinds of Chemical Structure Drawing Software: Review on ChemDraw, ChemWindow, ISIS/Draw, and ChemSketch, *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 44, 1886-1890, **2004**.
- [49] <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (Ocak, **2014**).
- [50] [http://www.gaussian.com/g\\_tech/g\\_ur/u\\_newzmat.htm](http://www.gaussian.com/g_tech/g_ur/u_newzmat.htm) (Ocak, **2014**).
- [51] <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do> (Aralık, **2013**).
- [52] <https://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/cgi-bin/pdbsum/GetPage.pl?pdbcode=index.html> (Ocak, **2018**)
- [53] Hansen, S.B., Sulzenbacher, G., Huxford, T., Marchot, P., Taylor, P., Bourne, Y., Structures of Aplysia AChBP complexes with nicotinic agonists and antagonists reveal distinctive binding interfaces and conformations, *The EMBO Journal*, 24, 3635–3646, **2005**.



## EKLER

### **EK 1: Doking için hazırlanan konfigürasyon dosyası: 1UW6**

#### ***Validasyon testi;1UW6***

receptor = 1 uw6.pdbqt

ligand = nikotin.pdbqt

out = out.pdbqt

center\_x = 83.663

center\_y = 69.688

center\_z = -10.165

size\_x = 15

size\_y = 15

size\_z = 15

exhaustiveness = 1000

num\_modes = 60

weight\_repulsion = 0.10

#### ***Fitokimyasallar için;1UW6***

receptor = 1 uw6.pdbqt

ligand = limsonn.pdbqt

out = out.pdbqt

center\_x = 83.663

center\_y = 69.688

center\_z = -10.165

size\_x = 15

size\_y = 15

size\_z = 15

exhaustiveness = 1000

num\_modes = 60

weight\_repulsion = 0.10



## **EK 2: Doking için hazırlanan konfigürasyon dosyası: 2BYR**

### ***Validasyon testi;2BYR***

receptor = pro2.pdbqt

ligand = mlk2.pdbqt

out = out.pdbqt

center\_x = 13.893

center\_y = -28.402

center\_z = -50.972

size\_x = 15

size\_y = 15

size\_z = 15

exhaustiveness = 1000

num\_modes = 60

weight\_repulsion = 0.10

### ***Fitokimyasallar için;2BYR***

receptor = pro2.pdbqt

ligand = limsonn.pdbqt

out = out.pdbqt

center\_x = 13.893

center\_y = -28.402

center\_z = -50.972

size\_x = 15

size\_y = 15

size\_z = 15

exhaustiveness = 1000

num\_modes = 60

weight\_repulsion = 0.10



## ÖZGEÇMİŞ

### Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı : Konul HAJIYEVA

Doğum Yeri : Bakü, Azerbaycan

Medeni Hali : Evli

E-posta : konul.haciyeva@gmail.com

Adresi : Mimar Sinan mah., 8.Cadde 6/14, Çorum, Türkiye.

### Eğitim

Lisans : Lomonosov Moskova Devlet Üniversitesi

Yüksek Lisans: Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı

**Yabancı Dil ve Düzeyi:** Azerbaycanca, Türkçe, Rusça çok iyi, İngilizce iyi

### İş Deneyimi

**Deneyim Alanları:** Teorik Kimya, İlaç Tasarım Programları, Organik Kimya

### Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi

### Tezden Üretilmiş Yayınlar

### Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar



HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
YÜKSEK LİSANS/DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ  
KİMYA ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA

Tarih:23/01/2018

Tez Başlığı / Konusu: Sanal Ligand Taraması Yöntemi ile Nikotik Asetilkolin Antagonistlerinin Tasarımı

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın a) Kapak sayfası, b) Giriş, c) Ana bölümler, d) Sonuç kısımlarından oluşan toplam 134 sayfalık kısmına ilişkin, 22/01/2018 tarihinde ~~şahsım~~/tez danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 8'dir.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- Kaynakça dahil
- 2- Alıntılar hariç/dâhil
- 3- 5 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Çalışması Orjinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

Tarih ve İmza 23.01.2018

Adı Soyadı: Konul HAJIYEVA  
Öğrenci No: N14125953  
Anabilim Dalı: Kimya  
Programı: Tezli Yüksek Lisans  
Statüsü:  Y.Lisans  Doktora  Bütünleşik Dr.

*Konul HAJIYEVA*

**DANIŞMAN ONAYI**

UYGUNDUR.

Prof. Dr. Vildan Gürsoy

(Unvan, Ad Soyad, İmza)