

**T.C.**  
**RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HİSTON DEASETİLAZ (HDAC) İNHİBİTÖRÜ OLAN BAZI**  
**HİDROKSAMİK ASİT TÜREVLERİNİN BAĞLANMA**  
**ÖZELLİKLERİNİN MOLEKÜLER KENETLENME YÖNTEMİYLE**  
**TEORİK OLARAK İNCELENMESİ**

**ELİF ÇİÇEK**

**TEZ DANIŞMANI**

**YRD. DOÇ. DR. MUSTAFA EMİRİK**

**TEZ JÜRİLERİ**

**PROF. DR. SEVİL SAVAŞKAN YILMAZ**

**YRD. DOÇ. DR. BARBAROS DİNÇER**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**KİMYA ANABİLİM DALI**




**RİZE-2016**

**Her Hakkı Saklıdır**

T.C.  
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HİSTON DEASETİLİZ (HDAC) İNHİBİTÖRÜ OLAN BAZI HİDROKSAMİK  
ASİT TÜREVLERİNİN BAĞLANMA ÖZELLİKLERİNİN MOLEKÜLER  
KENETLENME YÖNTEMİYLE TEORİK OLARAK İNCELENMESİ**

Yrd. Doç. Dr. Mustafa EMİRİK danışmanlığında, Elif ÇİÇEK tarafından hazırlanan bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla oluşturulan jüri tarafından 13/10/2016 tarihinde Kimya Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	Ünvanı Adı Soyadı	İmzası
Başkan	: Prof. Dr. Sevil SAVAŞKAN YILMAZ	
Üye	: Yrd. Doç. Dr. Mustafa EMİRİK	
Üye	: Yrd. Doç. Dr. Barbaros DİNÇER	

  
Doç. Dr. Ferhat KALAYCI  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ



## ÖNSÖZ

Bu yüksek lisans tez çalışması, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü hesaplamalı kimya laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışma ile akademik hayatıma attığım ilk adımı tamamlarken, zaman zaman zorlandığım bazen oldukça keyif aldığım ve her zaman hayata ve bilime dair bilgi edindiğim iki yılın sonuna geldim.

Bu çalışma boyunca yardımını ve tecrübelerini esirgemeyen ve aynı zamanda gösterdiği anlayışla çalışmalarımı daha rahat bir şekilde sürdürmemi sağlayan danışmam hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Mustafa EMİRİK'e emeklerinden dolayı teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim süresince emeği geçen bütün hocalarıma saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, her koşulda yanımda olup desteğini esirgemeyen, her ihtiyacım olduğunda yanımda olan, her konuda bana güvenen, bugünlere gelmemde büyük payı ve emeği olan aileme göstermiş oldukları sabır ve anlayıştan dolayı annem Emine ÇİÇEK'e ve babam Süleyman ÇİÇEK'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

**Elif ÇİÇEK**

## TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Tarafımdan hazırlanan “Histon Deasetilaz (HDAC) İnhibitörü Olan Bazı Hidroksamik Asit Türevlerinin Bağlanma Özelliklerinin Moleküler Kenetlenme Yöntemiyle Teorik Olarak İncelenmesi” başlıklı bu tezin, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesindeki hususlara uygun olarak hazırladığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal işlemi kabul ettiğimi beyan ederim. 13/10/2016

Elif ÇİÇEK

***Uyarı:** Bu tezde kullanılan özgün ve/veya başka kaynaklardan sunulan içeriğin kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.*

## ÖZET

# HİSTON DEASETİLİZ (HDAC) İNHİBİTÖRÜ OLAN BAZI HİDROKSAMİK ASİT TÜREVLERİNİN BAĞLANMA ÖZELLİKLERİNİN MOLEKÜLER KENETLENME YÖNTEMİYLE TEORİK OLARAK İNCELENMESİ

Elif ÇİÇEK

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Kimya Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi  
Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Mustafa EMİRİK

Bu çalışmada inhibisyon aktiviteleri daha önceden belirlenmiş 59 adet hidroksamik asit bileşiğinin enzimin aktif bölgesine bağlanma özellikleri moleküler kenetlenme (Docking) yöntemiyle teorik olarak incelenmiştir.

Tüm ligant molekülleri Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi (DFT) yöntemiyle B3LYP fonksiyoneli ve 6-311G(d,p) temel seti kullanılarak Gaussian09 programında optimize edilmiştir. Optimize edilen bileşiklerin oluşum (toplam) Enerjisi, HOMO enerjisi, LUMO enerjisi, HOMO-LUMO enerji farkı ( $E_{\text{gap}}$ ), Kimyasal sertlik ( $\eta$ ), Yumuşaklık(S), kimyasal potansiyel ( $\mu$ ), Elektronegativite ( $\chi$ ), İyonlaşma Potansiyeli (IP), Elektrofiliti index ( $\omega$ ), Elektron Afinitesi (EA) gibi kuantum kimyasal parametreleri hesaplanmıştır. Hesaplanmış olan moleküler tanımlayıcılar ile bu moleküllere ait ölçülmüş inhibisyon aktiviteleri arasındaki ilişki incelenmiştir.

Ligand moleküllerinin enzim aktif bölgesindeki bağlanma konformasyonları ve etkileşimleri moleküler kenetlenme yöntemiyle incelenmiştir. Protein Data Bank(PDB)'dan alınan HDAC8'e ait üç boyutlu yapı koordinatlarını içeren 1T64, 1T67, 1T69, 1W22, 4RN0 ve 1VKG PDB kodlu yapılar kullanılarak AutoDock Vina ve Schrödinger Suite programı yardımıyla moleküler kenetlenme çalışması yapılmıştır.

**2016, 95 sayfa**

**Anahtar kelimeler:** Histon Deasetilaz (HDAC), Histon Deasetilaz İnhibitörleri (HDACi), Histon Asetil Transferaz (HAT).

## ABSTRACT

### EXAMINING THE BINDING PROPERTIES OF SOME HYDROXAMIC ACID DERIVATIVES THEORETICALLY AS A HISTONE DEACETYLASE (HDAC) INHIBITOR USING THE MOLECULAR DOCKING METHOD

Elif ÇİÇEK

Recep Tayyip Erdoğan University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Chemistry  
Master Thesis  
Supervisor: Asst. Prof. Dr. Mustafa EMİRİK

In this study, the binding properties to enzyme active region of 59 hydroxamic acid derivatives of which inhibition activities were defined in literature before were investigated theoretically using Molecular Docking Method.

Whole ligand molecules were optimized with DFT method in B3LYP/6-311G(d,p) level using G09 program. Quantum chemical parameters of optimized molecules were calculated such as total Energy, HOMO, LUMO, Egap, hardness ( $\eta$ ), softness (S), Chemical Potential ( $\mu$ ), Electronegativity ( $\chi$ ), electrophilicity index ( $\omega$ ), İyonlaşma Potansiyeli (IP) and Elektron Afinitesi (EA). The relationship between calculated molecular descriptors and their inhibition activities were investigated.

Docking poses and interactions of the ligand molecules at the enzyme active site were investigated using Molecular Docking Method. For this propose, various type of HDAC8 enzyme structure PDB ID: 1T64, 1T67, 1T69, 1W22, 4RN0 and 1WKG were downloaded from protein databank and molecular Docking studies were done using AutoDock Vina and Schrödinger Suite programs.

2016, 95 pages

**Keywords:** Histone Deacetylases (HDAC), Histone Deacetylases Inhibitors (HDACi), Histone Acetyl Transferases (HAT).

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ .....	I
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	II
ÖZET .....	III
ABSTRACT.....	IV
İÇİNDEKİLER .....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	VIII
TABLolar DİZİNİ.....	X
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	XI
1. GENEL BİLGİLER .....	1
1.1. Giriş.....	1
1.1.1. Nükleozom Yapısı ve DNA Paketlenmesi.....	2
1.1.2. Histonların Asetilasyonu.....	5
1.1.3. Histon Deasetilaz Enzimleri .....	5
1.1.4. Histon Deasetilaz 8 Enzimi.....	8
1.1.5. Hidroksamik Asitlerin Histon Deasetilaz (HDAC) İnhibitörleri Olarak Kullanımı .....	10
1.1.6. Histon Deasetilaz İnhibitörlerinin Etki Mekanizmaları.....	13
1.1.7. Histon Deasetilaz ve İnhibitör Etkileşimi .....	14
1.1.8. Histon Deasetilaz İnhibitörlerinin Güncel Kullanım Alanları .....	15
1.2. Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı.....	16
1.2.1. Kantitatif Yapı-Etki İlişkileri (QSAR).....	17
1.2.1.1. 2D-QSAR Analizi.....	19
1.2.1.2. 3D-QSAR Analizi.....	20
1.2.1.3. Hansch Analizi.....	21
1.2.1.4. Tanımlayıcılar .....	21
1.2.1.4.1. Kuantum Kimyasal Tanımlayıcılar .....	22
1.2.1.4.1.1. Elektrostatik Tanımlayıcılar.....	22
1.2.1.4.1.2. Geometrik Tanımlayıcılar .....	23
1.2.1.4.2. Fizikokimyasal Tanımlayıcılar .....	23
1.2.1.5. Regresyon Analizi.....	24
1.2.1.5.1. Lineer (doğrusal) Regresyon Modelleri.....	25

1.2.1.5.2.	Doğrusal Olmayan Regresyon Modeller .....	25
1.2.1.6.	Validasyon .....	25
1.2.1.6.1.	Korelasyon .....	25
1.2.1.6.2.	Varyans ( $\sigma$ ).....	26
1.2.1.6.3.	Standart Sapma (S).....	26
1.2.1.6.4.	Farklar .....	27
1.2.1.6.5.	Fischer Testi (F).....	27
1.2.1.6.6.	Student T Testi .....	27
1.2.1.6.7.	Çapraz Validasyon .....	28
1.2.2.	Moleküler Kenetlenme (Docking) Yöntemi .....	28
1.2.2.1.	Moleküler Docking Mekanizmaları .....	28
1.2.2.2.	Docking Temel Teorisi .....	29
1.2.2.3.	Moleküler Modellemenin Kullanım Alanları .....	31
1.2.2.4.	Moleküler Modelleme.....	31
1.2.2.4.1.	Hartree-Fock (HF) Yöntemi .....	31
1.2.2.4.2.	Yoğunluk Fonksiyoneli Teorisi (DFT) .....	32
1.2.2.4.3.	B3LYP Karma Yoğunluk Fonksiyonu Teorisi .....	33
1.2.2.4.4.	Gaussian 09 ve Gaussian View Programları.....	34
1.2.2.5.	Protein Veri Tabanı.....	35
1.2.2.6.	Hidroksamik Asit Kenetlenme Çalışmaları Literatür Özeti.....	36
2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR .....	37
2.1.	Materyaller ve Metodlar .....	37
2.1.1.	Kullanılan Docking Programları .....	37
2.1.1.1.	Autodock.....	37
2.1.1.2.	Gaussian .....	37
2.1.1.3.	Autodock Vina .....	38
2.1.2.	Çalışma Aşamaları .....	39
2.1.3.	Girdilerin Hazırlanması ve Hesaplamaları.....	39
2.1.3.1.	Ligandın Hazırlanması.....	39
2.1.3.2.	Proteinlerin Hazırlanması .....	40
2.1.3.3.	Grid Parametre Dosyasının Hazırlanması.....	40
2.1.3.4.	HDAC8 Giriş Yapılarının Hazırlanması.....	41
2.1.3.4.1.	1T67 enzim yapısının hazırlanması .....	41



2.1.3.4.2.	1T69 enzim yapısının hazırlanması .....	42
2.1.3.4.3.	4RN0 enzim yapısının hazırlanması .....	43
2.1.3.4.4.	1W22 enzim yapısının hazırlanması .....	44
2.1.3.4.5.	1T64 enzim yapısının hazırlanması .....	45
2.1.3.4.6.	1VKG enzim yapısının hazırlanması .....	46
3.	BULGULAR.....	47
3.1.	AutoDock Vina ile Yapılan Hesaplamalar .....	50
3.2.	Schödinger Programı ile Yapılan Hesaplamalar .....	57
3.2.1.	1T69 Enzim-Ligand Etkileşimleri .....	58
3.2.2.	1W22 Enzim-Ligand Etkileşimleri .....	61
4.	TARTIŞMA VE SONUÇLAR .....	64
5.	ÖNERİLER.....	65
	KAYNAKLAR .....	66
	EKLER.....	74
	ÖZGEÇMİŞ .....	81

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Histon oktameri ve nükleozom yapısı .....	3
Şekil 2.	Histon proteinleri: a) Histon proteinlerin yapısı b) Oktamer oluşumu.....	4
Şekil 3.	Histonların Asetilasyon .....	6
Şekil 4.	HDAC8 monomerinin üç boyutlu yapısı.....	9
Şekil 5.	Kimyasal HDAC inhibitörleri sınıflandırılması ve genel farmakofor yapıları12	
Şekil 6.	HAT, HDAC ve HDACi inhibitörleri arasındaki ilişki .....	13
Şekil 7.	Hidroksamik asitlerin (SAHA TSA) enzimin aktif bölgesiyle etkileşimi .....	14
Şekil 8.	Fizikokimyasal Parametreler .....	24
Şekil 9.	Biyolojik aktivitenin logaritması ( $\log A$ ) ile fizikokimyasal parametrelerin ( $X_i$ ) ilişkilendirildiği Linear, Parabolik ve Bilineer modeller .....	24
Şekil 10.	Ligand ve Proteinin Etkileşme Değişimi .....	30
Şekil 11.	Protein veri tabanı web sitesi görünümü .....	35
Şekil 12.	1T67 enzim yapısının Gaussian programında görünümü .....	41
Şekil 13.	1T69 enzim yapısının Gaussian programında görünümü .....	42
Şekil 14.	4RN0 enzim yapısının Gaussian programında görünümü .....	43
Şekil 15.	1W22 enzim yapısının Gaussian programında görünümü.....	44
Şekil 16.	1T64 enzim yapısının Gaussian programında görünümü .....	45
Şekil 17.	1VKG enzim yapısının Gaussian programında görünümü.....	46
Şekil 18.	pIC50 değerlerine karşı Elektrofilite indeksi değişim .....	50
Şekil 19.	1T69 enzimine ait hesaplanmış pIC50 değerlerine karşı gözlenen bağlanma afinite değerleri arasındaki ilişki grafiği .....	51
Şekil 20.	1 ile 1T69 enzim proteinine docking işlemi sonucunda elde edilen görüntüsü (karbon atomları gri, azot atomları mavi, oksijen atomları kırmızı, kükürt atomları sarı).*Hidrojen bağları kesikli çizgilerle bahsedilmiştir. ....	52
Şekil 21.	1W22 enzimine ait hesaplanmış pIC50 değerlerine karşı gözlenen bağlanma afinite değerleri arasındaki ilişki grafiği .....	53
Şekil 22.	11 ile 1W22 enzim proteinine docking işlemi sonucunda elde edilen görüntüsü (karbon atomları gri, azot atomları mavi, oksijen atomları kırmızı). *Hidrojen bağları kesikli çizgilerle gösterilmiştir. ....	53
Şekil 23.	1W22enzim ait hesaplanmış pIC50 değerlerine karşı gözlenen bağlanma afinite değerleri arasındaki ilişki grafiği .....	54
Şekil 24.	44 ile 1W22 enzim proteinine docking işlemi sonucunda elde edilen görüntüsü (karbon atomları gri, azot atomları mavi, oksijen atomları kırmızı).*Hidrojen bağları kesikli çizgilerle gösterilmiştir. ....	55

<b>Şekil 25.</b> 1T64 enzimine ait hesaplanmış pIC50 değerlerine karşı gözlenen bağlanma afinite değerleri arasındaki ilişki grafiği .....	56
<b>Şekil 26.</b> 52 ile 1T64 enzim proteinine docking işlemi sonucunda elde edilen görüntüsü (karbon atomları gri, azot atomları mavi, oksijen atomları kırmızı). *Hidrojen bağları kesikli çizgilerle gösterilmiştir. ....	56
<b>Şekil 27.</b> 1T69 enzimin aktif bölgesinde ligant 13'ün yerleşimi ve etkileşimleri .....	58
<b>Şekil 28.</b> 1T69 enzimin aktif bölgesinde ligant 10'un yerleşimi ve etkileşimleri .....	59
<b>Şekil 29.</b> 1T69 enzimin aktif bölgesinde ligant 9'un yerleşimi ve etkileşimleri .....	60
<b>Şekil 30.</b> 1W22 enzimin aktif bölgesinde ligant 41'in yerleşimi ve etkileşimleri .....	61
<b>Şekil 31.</b> 1W22 enzimin aktif bölgesinde ligant 40'ın yerleşimi ve etkileşimleri .....	62
<b>Şekil 32.</b> 1W22 enzimin aktif bölgesinde ligant 39'un yerleşimi ve etkileşimleri .....	63



## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> HDAC sınıflandırılmasının şematik gösterimi (Katalitik bölgeler koyu renkle gösterilmiştir).....	7
<b>Tablo 2.</b> Ligant moleküllerinin kuantum kimyasal parametreleri.....	48
<b>Tablo 3.</b> 1, 2, 3, 4, 5, 6 ve 7 ligandının Autodock Vina ile hesaplanan bağlanma afiniteleri ve $R^2$ değeri .....	51
<b>Tablo 4.</b> 9, 10, 11, 12, 15, 18 ve 19 ligandının Autodock Vina ile hesaplanan bağlanma afiniteleri ve $R^2$ değeri .....	52
<b>Tablo 5.</b> 26, 36, 39, 41, 44, 46 ve 47 ligandının Autodock Vina ile hesaplanan bağlanma afiniteleri ve $R^2$ değeri .....	54
<b>Tablo 6.</b> 49, 50, 52, 54, 55 ve 57 ligandının Autodock Vina ile hesaplanan bağlanma afiniteleri ve $R^2$ değeri .....	55
<b>Tablo 7.</b> 1T69 ve 1W22 enzim yapıları için Docking skorları .....	57

## SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ALA	Alanin
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
ARG	Arginin
ASN	Asparagin
ASP	Aspartik Asit
B3LYP	Becke Tipi 3 Parameteli Yoğunluk Fonksiyon Teorisi
BA	Butirat asit
XC	Değiş-tokuş korelasyon
DNA	Deoksirübo Nükleik Asit
$\omega$	Elektrofilisiti indeksi
EA	Elektron İlgisi
$\chi$	Elektronegativite
LUMO	En düşük enerjili boş moleküler orbital enerjisi
PLS	En Küçük Kareler Yöntemi
HOMO	En yüksek enerjili dolu moleküler orbital enerjisi
FBA	Fenil butirat asit
PHE	Fenilalanin
F	Fischer Testi
GLY	Glisin
GLU	Glutamik Asit
GLN	Glutamin
$\hat{H}$	Hamiltonian operatörü
HF	Hartree-Fock Yöntemi
HIS	Histidin
HAT	Histon Asetil Transferaz
HDAC	Histon Deasetilaz
HDACi	Histon Deasetilaz İnhibitörleri
HDLP	Histone Deacetylase-Like Protein
IR	Infrared Spektrum
IP	İyonlaşma Enerjisi
ILE	İzolösin

QSAR	Kantitatif Yapı-Etki İlişkileri
CoMFA	Karşılaştırmalı Moleküler Alan Analizi
CoMSIA	Karşılaştırmalı Moleküler Benzerlik İndisleri Analizi
$\mu$	Kimyasal Potansiyel
$\eta$	Kimyasal Sertlik
LYS	Lizin
LEU	Lösin
IC <sub>50</sub>	Maksimum hızı yarıya düşüren inhibitör konsantrasyonu
MET	Metiyonin
MO	Moleküler orbital
NAD <sup>+</sup>	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
PRO	Prolin
PDB	Protein DataBank
SD	Serbestlik Derecesi
SER	Serin
CDK	Siklin Bağımlı Kinaz
CYS	Sistein
S	Standart Sapma
SAHA	Süberoinalid Hidroksamik asit
PCA	Temel Bileşen Analizi
THR	Threonin
TYR	Tirozin
TSA	Trikostatın A
TRP	Triptofan
VAL	Valin
VPA	Valproik asit
$\sigma$	Varyans
SAR	Yapı-Etki İlişkileri
DFT	Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi
S	Yumuşaklık

# 1. GENEL BİLGİLER

## 1.1. Giriş

Günümüzde kullanılan teorik yöntemler ile moleküllerin birçok özellikleri deney yapmaya gerek kalmadan hesaplanmaya başlanmıştır. Hatta bu hesaplamalar şimdiye kadar elde edilmemiş veya edilememiş bileşikler için kolayca uygulanabilmekte ve istenen sonuçlar alınabilmektedir.

Histon deasetilaz (HDAC) inhibitörleri kanser, inflamasyon(iltihaplanma), paraziter enfeksiyonlar, nörodejeneratif hastalıklar ve nörolojik düzensizliklerin tedavisinde kullanılmak üzere son yıllarda araştırılan önemli bileşikler haline gelmiştir.

Hidroksamat grubu inhibitörlerden Süberoinalid hidroksamit asit (SAHA) ve Trikostatin A (TSA)'nın siklin bağımlı kinaz inhibitörü olan p21 geninin promotörünü aktive ederek tümörlü hücrenin büyümesini durdurduğu, hücre döngüsünü etkilediği, hücrenel ve mitokondriyel yollar (hücre içinde meydana gelen bir dizi kimyasal tepkimedir) üzerinden apoptozu indüklediği bilinmektedir (Frew vd., 2009; Marks ve Xu, 2009).

Antitümoral etkili histon deasetilaz inhibitörü olan SAHA sitokinleri (hayvan ve bitki hücrelerince üretilen, hücrelerin birbirleriyle iletişimini sağlayan protein ve peptidlerin bir grubudur) baskılayarak antienflamatuvar (iltahapla savaşan ilaçlar ya da herhangi bir biyolojik saldırıya karşı dokuların gösterdiği özgül tepkidir) etki gösterirler (Leoni vd., 2002).

İlerlemiş kanserli hastalarda oral yoldan kullanılan bir histon deasetilaz inhibitörü olan SAHA'nın güvenilirliği, farmakokinetiği, doz rejimi ve biyolojik etkileri çalışılmıştır (Kelly vd., 2005).

İlk olarak, 1950'lerde Conrad Waddington tarafından önerilen Epigenetik terimi günümüzde "DNA dizisindeki değişimlerle açıklanamayan, mitoz veya mayoz bölünme ile katılabilen, gen fonksiyonundaki değişiklikler" olarak tanımlanmaktadır. Son on yılda

yapılan araştırmalar sonucu, epigenetik olayların, özellikle yüksek organizasyonlu canlılarda oldukça önemli etkileri olduğu anlaşılmıştır. Epigenetik, özellikle canlıların embriyodan yetişkin bireye doğru ilerleyen gelişim sürecinde gözlemlenen, hücre farklılaşmaları sırasında ortaya çıkan gen ifadesindeki değişikliklerde önemli rol oynamaktadır. Gen ifadesinde görölen bu değişiklikler, DNA'nın seçici olarak, farklı epigenetik durumlarda bulunan farklı kromatin yapılarına paketlenmesiyle ortaya çıkmaktadır. Epigenetik üzerinde en çok çalışma yapılmış olan iki tipi, DNA metillenmesi ve histon modifikasyonları olmuştur. Bu iki olayın birbiriyle bağlı ve geri dönüşümlü olduğu düşünölmektedir. Yapılan araştırmalar sonucunda, gelişim sürecinde çekirdeğin epigenetik özelliklerinde bir dizi değişimin gerçekteştiği ve hücre potansiyelin kaybı ile geri dönüşümsüz genin susturulması arasında önemli bir ilişkinin olduğu saptanmıştır.

Epigenetik süreçleri kansere neden olup ilerlemesinde de rol oynadığı bilinmektedir. Histon deasetilaz (HDAC) inhibisyon aktivitesi, DNA/histon kompleksi sıkıştırılmasına neden olan histonların asetilasyonunu azaltmaktadır.

### **1.1.1. Nökleozom Yapısı ve DNA Paketlenmesi**

Epigenetik, DNA dizilerinde değişiklik olmadığı halde gen ifadesinde meydana gelen değişikliklerdir.

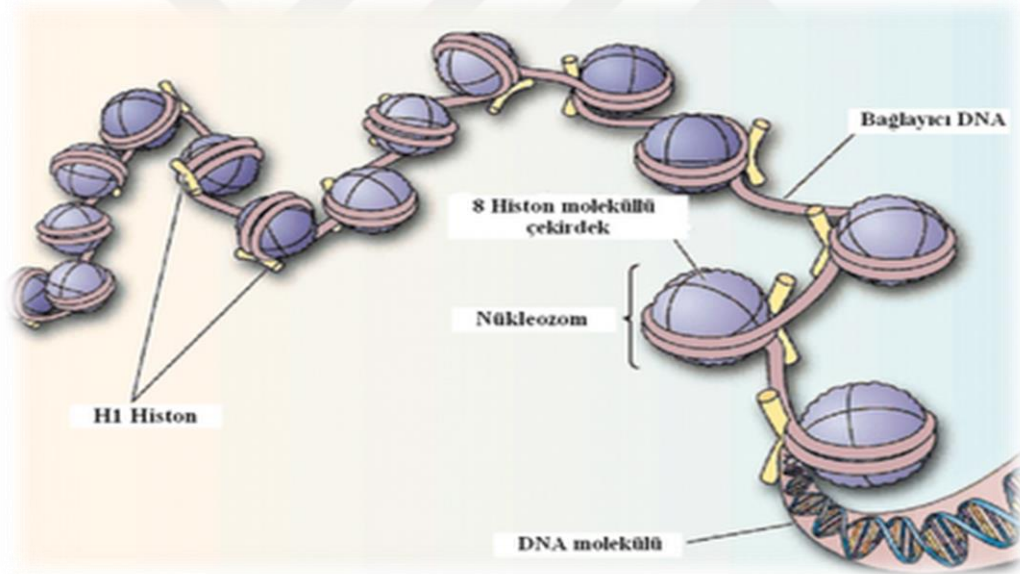
Kanser, epigenetik bir hastalıktır. DNA metilasyonu ve histon deasetilasyonu ile tümör baskılayıcı genlerin susturulması kanser patogeneğinde (bir hastalığın kaynağı ve gelişmesi sırasında organizmada meydana gelen değişiklikler bütünü) önemli yer tutar. Epigenetik anormalliklerin geri döndürülebilir olması, DNA metilasyon ve histon deasetilasyon inhibitörlerinin kanser tedavisi için kullanımını sağlamaktadır.

Ökaryotik hücrelerde DNA, histon ve histon olmayan proteinlerle paketlenmiş halde iken bu yapıya kromatin adı verilmektedir. Kromatinin temel proteinleri histonlardır. Histonlar lizin ve arjinin amino asitlerince zengin, bazık yapıda olan küçük proteindir. Pozitif yükleri sayesinde DNA'nın negatif yüklü olan fosfat grubuna kolayca bağlanmaktadır. H1, H2A, H2B, H3 ve H4 olmak üzere beş tip histon proteini içerir. Bu



proteinler tüm ökaryotik canlılar arasında yapısal benzerlik göstermesine rağmen, türler arasında en çok korunmuş olanlar H3 ve H4, en az korunmuş olan ise H1 proteinidir (Alberts vd., 2002; Cooper ve Hausman, 2004).

Histon proteinleri nükleozom yapısının oluşumundan sorumlu iken nükleozom oktameri olan özdeş histonlar H2A, H2B, H3 ve H4'den birer çift olmak üzere sekiz histon molekülünü içerir. Bunların etrafına sarılmış olan yaklaşık 146 baz çifti uzunluğunda DNA zincirinden oluşmaktadır (Conley vd., 2006) (Şekil 1). Kromatinin yeniden şekillenmesi ve DNA'nın nükleozomal paketlenmesindeki dinamik değişiklikler, gen ekspresyonunun düzenlenmesindeki anahtar basamaklar halinde olması; hücre fonksiyonunun düzgün işleyişini, diferansiyasyonu ve proliferasyonu etkilemektedir (Takai vd., 2004).

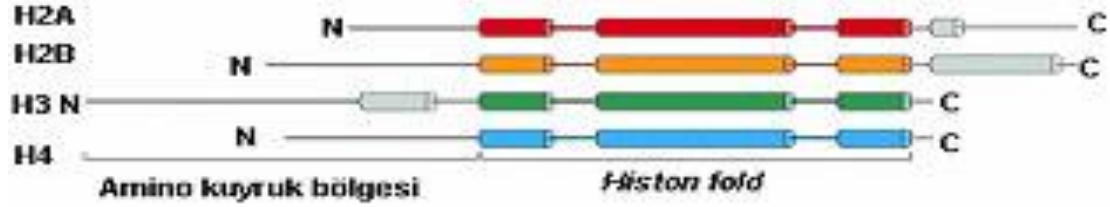


**Şekil 1.** Histon oktameri ve nükleozom yapısı (Conley vd., 2006)

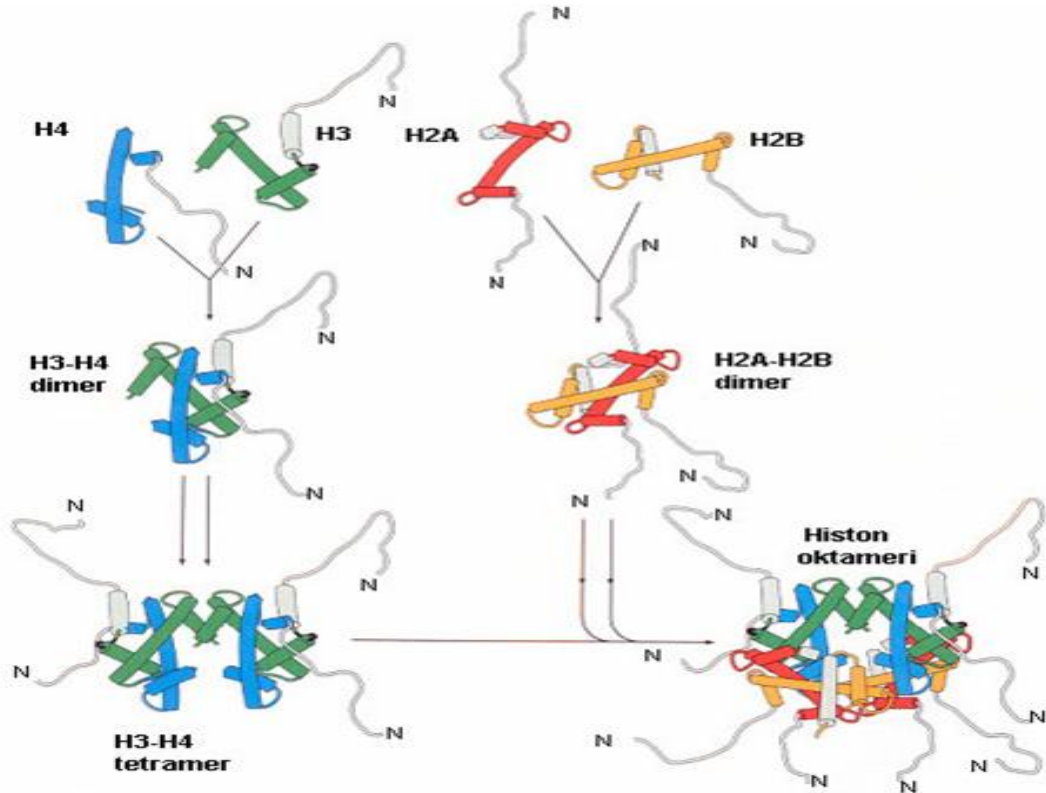
Histon proteinleri, diğer histonlarla ve DNA ile etileşime giren, histone fold motifi içeren globular yapıda olan karboksil ve amino kuyruk bölgelerini içermektedir (Marmorstein ve Roth, 2001; Khorasanizadeh, 2004). Bu motifte 2 ilmek (*loop*) ve 3 tane  $\alpha$ -heliks ile bağlanmış halinde bulunmaktadır (Şekil 2a). Nükleozom oluşumu sırasında ilk olarak H3-H4 ve H2A-H2B proteinleri birbirlerine bağlanarak dimerleri oluşturmaktadır. H3-H4 dimerlerinin tetramer formunu aldıktan sonra H2A-H2B

tetrameri ile birleşerek histon oktamerni oluşturur (Alberts vd., 2002; Khorasanizadeh, 2004) (Şekil 2b).

a)



b)



**Şekil 2.** Histon proteinleri: a) Histon proteinlerin yapısı b) Oktamer oluşumu (Alberts vd., 2002)

Histone fold bölgesi DNA ve diğer histonlarla etkileşime giren kısımdır. DNA ve histon çekirdek kompleksi arasındaki bağlanmada hidrojen bağları rol almaktadır, ayrıca tuz köprüleri ve hidrofobik etkileşimler de DNA ve histonları da bir arada tutar (Alberts vd., 2002). Nükleozomun dışında kalan ve nükleozomu oluşturan histon proteinlerinin amino kuyruk bölgeleri diğer proteinler için etkileşim yüzeyi oluşturmaktadır. Çeşitli

post-translasyonel (Translasyon sonrası değişim) modifikasyonlar geçirerek biyolojik olaylarda yer almaktadır (Strahl ve Allis, 2000).

### **1.1.2. Histonların Asetilasyonu**

Histon asetilasyonu dinamik bir süreç olup birbirine zıt fonksiyon gösteren iki büyük enzim ailesi tarafından katalizlenmektedir. Bunlar asetilasyon HAT (histon asetiltransferaz) ve HDAC (histon deasetilaz) enzimleridir (Ogryzko, 2001; Thiagalingam vd., 2003).

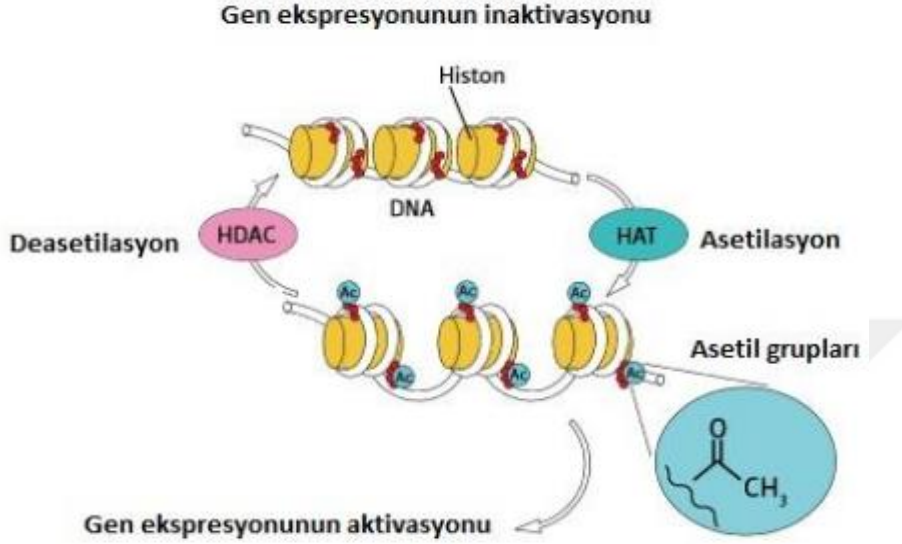
Histon asetilasyonu histon deasetilaz (HDAC) ve histon asetil transferaz (HAT) enzim aileleri tarafından düzenlendiğine için normal bir hücrede HAT ve HDAC inhibisyon aktivitesinin dengeli olması gerekmektedir. Bu dengenin bozulması durumunda başta kanser olmak üzere bazı hastalıkları da beraberinde getirmektedir (Riester vd., 2007a; Marsoni vd., 2008). Bu yüzden HAT asetil koenzim A (acetyl CoA)'daki asetil grubunu, histonun amino ucundaki lizin amino asidine takıp, kromatin gevşemesi ile transkripsiyonel aktivasyonu sağlayan enzimlerdir. Histon deasetilazlar (HDAC) ise bu asetil grubunu lizin amino asitinden uzaklaştırarak transkripsiyonu baskılamaktadırlar (şekil 3) (Vannini vd., 2007). HAT ve HDAC enzimlerinin histon olmayan proteinleri asetilasyon ve deasetilasyon yapmaları sonucunda bazı hücresel olaylar etkilenmektedir (Vannini vd., 2007; Atadja, 2009).

### **1.1.3. Histon Deasetilaz Enzimleri**

Histon deasetilaz enzimleri ile katalizlenen özdeş histonların amino-terminal uçlarının tekrar pozitif yük kazanmaları ise histonlar ile DNA'nın etkileşimini artırmaktadır. Böylece, genlerin transkripsiyonunu başlatan, DNA parçasının üzerindeki bağlantı bölgeleri, bloke edilerek gen transkripsiyonu inhibe etmektedir.

HDAC inhibisyonunun hücre çoğalmasını durdurduğunu ve hücreleri farklılaşmaya veya apoptoza (organizmada görevini tamamlamış ya da hasara uğramış hücrelerin vre hücrelere zarar vermeden ortadan kaldırılmasını sağlayan, genetik olarak kontrol edilen programlanmış bir hücre ölümüdür) ynelttiğinin anlaşılmasından sonra HDAC

inhibisyon aktivitesine sahip olan bileşikler araştırılmıştır. Bazılarında tedavi edici amacıyla klinik faz çalışmalarına geçilebilmiştir (Kramer vd., 2001; Hahnen vd., 2008; Sleiman vd., 2009; Haberland vd., 2009).



**Şekil 3.** Histonların Asetilasyon (Vannini vd., 2007)

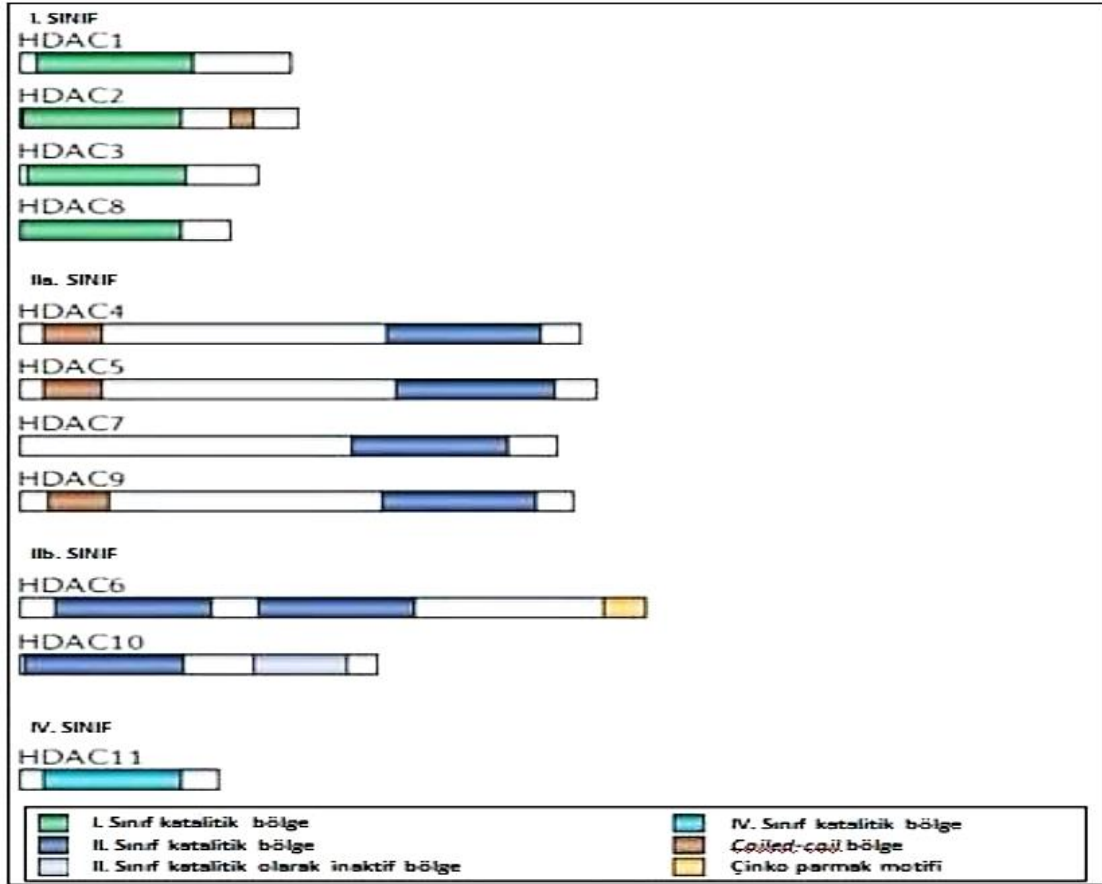
HDAC inhibitörleri global epigenetik değişikliklere neden olmaları nedeniyle kanserler, başta olmak üzere çeşitli hastalıkların tedavisi için popüler ilaç hedefleri haline gelmiştir. Nörodejeneratif hastalıklarda deasetilasyon düzeyinin artmasından dolayı bu hastalık grubunun tedavisinde de HDAC inhibisyonunun etkili olabileceği düşünülmüştür (Hahnen vd., 2008; Sleiman vd., 2009).

Memelilerde histon deasetilazlar *Saccharomyces cerevisiae* mayası'nın HDAC enzimleri (RPD3, HDA1 ve SIR2) gösterdikleri primer homolojiye göre sınıflandırılmaktadır. Bu güne kadar 18 adet insan HDAC enzimi tanımlanmaktadır. Bu enzimler dizi benzerlikleri ve kofaktör bağımlılıklarına göre, I., IIa., IIb., III., IV. olmak üzere 5 sınıf altında incelenmektedir. Bu ailenin 11 üyesini bulunduran Tip I ve Tip II HDAC'ler "klasik" HDAC'ler olarak adlandırılırken; kalan 7 üyeyi içeren Tip III HDAC'ler "sirtuinler" olarak bilinmektedir (Chittur vd., 2008; Witt vd., 2009) (Tablo 1).

HDAC'lar evrimsel olarak korunmuş metallo-enzimler olup, insanlarda dört ana sınıfa ayrılmaktadır. Sınıf I HDAC 1, 2, 3, 8; sınıf II HDAC 4, 5, 6, 7, 9, 10; sınıf III SIRT

enzimlerini, Sınıf IV ise HDAC 11 enzimleri şeklinde nitelendirilmektedir. Histon olmayan proteinlerin de deasetilasyonunu katalizlemeleri nedeniyle son yıllarda bu enzimlerle ilgili pek çok sayıda araştırma yapılmıştır (Gray ve Ekström, 2001; Ruijter vd., 2003; Marks vd., 2003; Glozak vd., 2005).

**Tablo 1.** HDAC sınıflandırılmasının şematik gösterimi (Katalitik bölgeler koyu renkle göstermiştir) (Bolden vd., 2006)



HDAC enzimleri dört sınıf altında incelenmektedir.

**I. Sınıf Deasetilazlar:** HDAC1, HDAC2, HDAC3 ve HDAC8 gruplarını içerirler ve maya transkripsiyon düzenleyici geni olan RPD3 ile katalitik bölgeleri hiçbir dayanağı olmadığını göstermektedir. Bu enzimler genellikle çekirdekte bulunurlar, çoğu hücre tipinde eksprese edilebilirler ve hücre siklusu progresyonunun düzenlenmesine katılırlar.

**II. Sınıf Deasetilazlar:** HDAC4, HDAC5, HDAC6, HDAC7, HDAC9, HDAC10 gruplarını içerirler ve maya HDA1 geninin homologlarıdır. I.Sınıf HDAC enzimlerine

yapısal olarak benzerlik göstermektedir. Bunlar iki ana alt sınıfa ayrılmaktadır ve bunlar IIA ve IIB sınıflarıdır. HDAC4,5,7,9 enzimleri sınıf IIA içerisinde yer almaktadır. II. sınıf HDAC'lar sitoplazma ve nükleus (çekirdek) arasında gidip gelirler ve daha sınırlı bir dağılım içindedir. Hücre çoğalmasının yanı sıra özel olarak hücre farklılaşmasına katılarak ikinci tip deasetilazlar sınıfına girerler (Vigushin ve Coombes, 2002; Papeleu vd., 2005; Dashwood vd., 2006). Yüksek miktarda kalpte, beyinde ve kasda HDAC5 ve HDAC9, beyin ve iskeletin büyüme plağında HDAC4, lenfositler ve endotel hücrelerde ise HDAC7 bulunmaktadır (Haberland vd., 2009).

HDAC6 ve HDAC10 enzimleri IIB Sınıfı içerisinde yer almaktadır. HDAC6 alışılmadık dışında bağımsız fonksiyon göstermesine rağmen iki katalitik bölge ve bir karboksil ucu  $Zn^{+2}$  (çinko) bağlanma bölgesi içermektedir (Kazantsev ve Thompson, 2008).

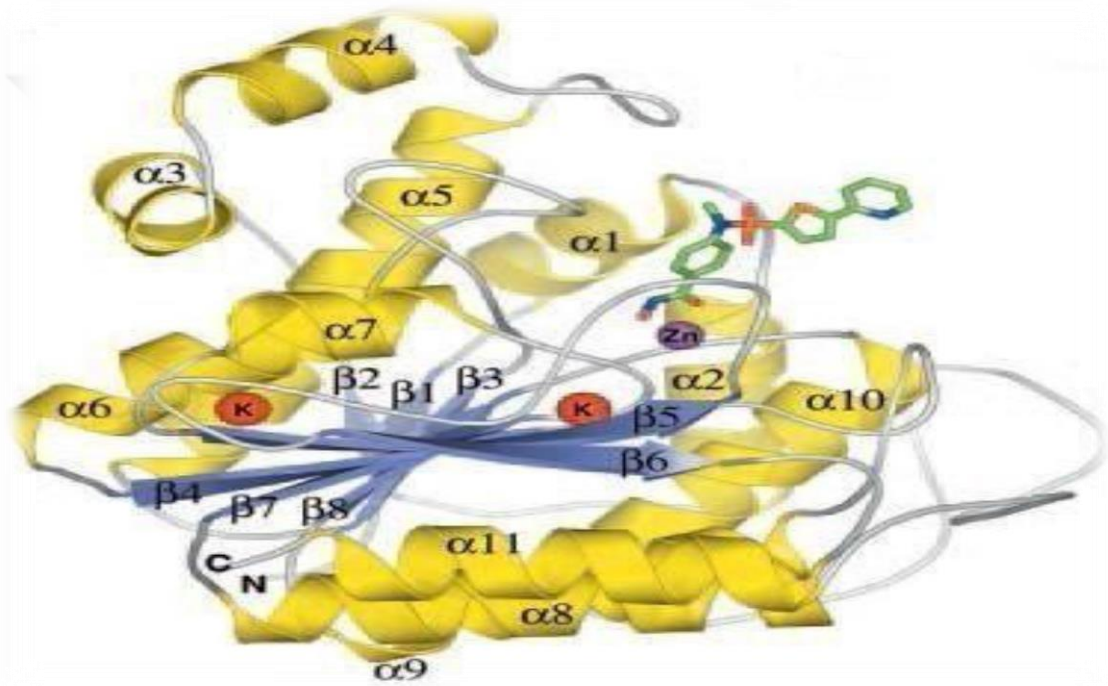
**III. Sınıf Daasetilazlar:** Diğer sınıflardan farklı olarak Nikotinamid Adenin Dinükleotid ( $NAD^+$ ) 'yı kofaktörü kullanırlar.  $NAD^+$  bağımlı sirtuin (SIRT) HDAC ailesi içinde SIRT 1-7 enzimleri bulunmaktadır. Primer substratı histonlar bu ailenin içinde değildir (Kazantsev ve Thompson, 2008, Sleiman vd., 2009).

**IV. Sınıf Deasetilazlar:** HDAC11 tek enzim olarak bu grup içerisinde yer almaktadır. I. ve II. Sınıf HDAC' lardan yapısal olarak farklıdır. Kalp, böbrek, kas, beyin ve testislerde varlığı bilinmesine rağmen fonksiyonu tam olarak açıklanamamıştır (Kazantsev and Thompson, 2008; Haberland vd., 2009).

#### **1.1.4. Histon Deasetilaz 8 Enzimi**

HDAC8 enzimi I. Sınıf HDAC ailesi içinde yer alır. Filogenetik sınıflandırmada I. ve II. sınıf enzimler arasında bir geçiş formu oluşturmaktadır. X kromozomunda kodlanan bu enzim 377 aminoasitten oluşur. HDAC8'i kendi sınıfındaki diğer enzimlerden ayıran en önemli özelliği karboksi ucunda bulunan katalitik bölgesinde 50-111 amino asit C-terminal alanın bulunmamasıdır (Hu vd., 2000; Somoza vd., 2004). Üç boyutlu kristal yapısı aydınlatılan ilk HDAC enzimidir. HDAC' in kristal yapının aydınlatılması I. sınıf HDAC enzimlerinin katalitik inhibisyon aktivitesinin anlaşılmasını sağlarken, bu grupta

yer alan enzimlerin substrata bağlanma mekanizmasına ışık tutulmuştur. HDAC enzimleri çoklu protein kompleksleri, yüksek molekül ağırlıklı olmalarına rağmen HDAC8 sadece tek polipeptid birimden meydana gelmiştir. Yapısının basit olmasından dolayı modelleme için en uygun HDAC tipi olduğu düşünülmüştür. HDAC8’ de 8 tane  $\beta$  tabakası paralel ve bunları destekleyen 11  $\alpha$  sarmalın birlikte bulunduğu bir bölgesi vardır. Bu bölgenin katlanması ile dar tüp şeklinde bir yapı oluşmaktadır. Bu yapının uç kısmında yer alan çinko atomu inhibitör ile etkileşimden sorumludur (Şekil 4) (Waltregny vd., 2004; Vannini vd., 2007; Dowling vd., 2008).



**Şekil 4.** HDAC8 monomerinin üç boyutlu yapısı (Vannini vd., 2004)

HDAC8 yüzeyi kolayca tepkimeye girebilen bir yapıya sahip olduğundan dolayı afinite açısından önemlidir (Somoza vd., 2004; Dokmanovic vd., 2007). Diğer HDAC enzimleri ile karşılaştırıldığı zaman HDAC8 enzimi substratına yüksek afinite göstermektedir. Substrat seçiciliği bakımından sıralamaya konulduğunda HDAC8>HDAC1>HDAC3>HDAC6 şeklinde ifade edilir (Gantt vd., 2006; Dokmanovic vd., 2007). HDAC8’in serin (Ser), metiyonin (Met), prolin (Pro) gibi aminoasitlerle etkileştiği ve fenilalanin (Phe) gibi aromatik amino asitlere afinitesinin yüksek olduğu bildirilmiştir (Riester vd., 2007b). HDAC8’in çekirdekte yerleşim gösterdiğinden dolayı, genetikte etkili bir rolü olabileceği düşünülmektedir (Dokmanovic ve Marks, 2005).

Günümüzde HDAC8'in merkezi ve periferik sinir sisteminde yer almadığı, beyin tümör dokusunda ise varlığı gösterilmiştir. Bu nedenle, tümorogenezde ve nöronal fonksiyonda rol oynayabileceği düşünülmüştür (Morrison vd., 2007). HDAC enzimlerinin sitoplazmada da bulunabilir. Örneğin HDAC8 düz kas farklılaşmasında önemli bir sitoplazmik belirleyici olduğundan, alfa aktin ifadesini değiştirerek hücre şeklini, hareketini ve esnekliğini etkiler (Waltregny vd., 2004; Waltregny vd., 2005).

HDAC8'in üç boyutlu kristal yapısının aydınlatılması sayesinde HDAC enzimleriyle inhibitör bileşikleri arasındaki etkileşimin açıklanması mümkün olmuş, yeni ilaç moleküllerin geliştirilmesi ve yeni inhibitörlerin tanımlanması üzerine yapılan çalışmalar hız kazanmıştır.

### **1.1.5. Hidroksamik Asitlerin Histon Deasetilaz (HDAC) İnhibitörleri Olarak Kullanımı**

Potansiyel ilaç hedefi olmaları nedeniyle, tıbbi açıdan önemli olan HDAC'ları inhibe edebilen birçok molekül geliştirilmiştir. HDAC inhibitörleri (HDACi) yapısal özelliklerine göre hidroksamatlar, siklik tetrapeptidler, benzamidler, elektrofilik ketonlar ve kısa zincirli yağ asitleri olmak üzere beş sınıfa ayrılmaktadır. Bunlar I. ve II. sınıf deasetilazları inhibe etmektedirler. HDAC inhibitörleri nanomolar (nM) konsantrasyondan milimolar (mM) konsantrasyona kadar değişik düzeylere sahiptir (Kramer vd., 2001; Marks vd., 2003; Lindemann ve Johnstone, 2004).

HDAC inhibitörlerinin yapısal farklılıkları nedeniyle bloke edici potansiyelleri birbirinden farklı olmaktadır (Mehnert ve Kelly, 2007). Bu yüzden günümüzde birçok HDAC inhibitörleri tanımlanmaktadır. Bunlar:

**Kısa Zincirli Yağ Asitleri:** Butirat (BA), fenilbutirat (FBA) ve valproik (VPA) asitlerdir. Butiratlar ilk tanımlanan HDAC inhibitörü olduğundan, sadece HDAC'lara değil, DNA/protein metilasyonu ve fosforilasyonu üzerinde de etkilidir. Zayıf inhibitörlerdir ve milimolar (mM) konsantrasyonda etki göstermektedir. Kısa zincirli yağ asitlerinin toksisiteleri az olmakla birlikte yarı ömürleri de kısadır. Valproik asit ve fenil butiratın I.



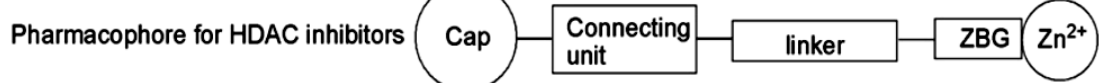
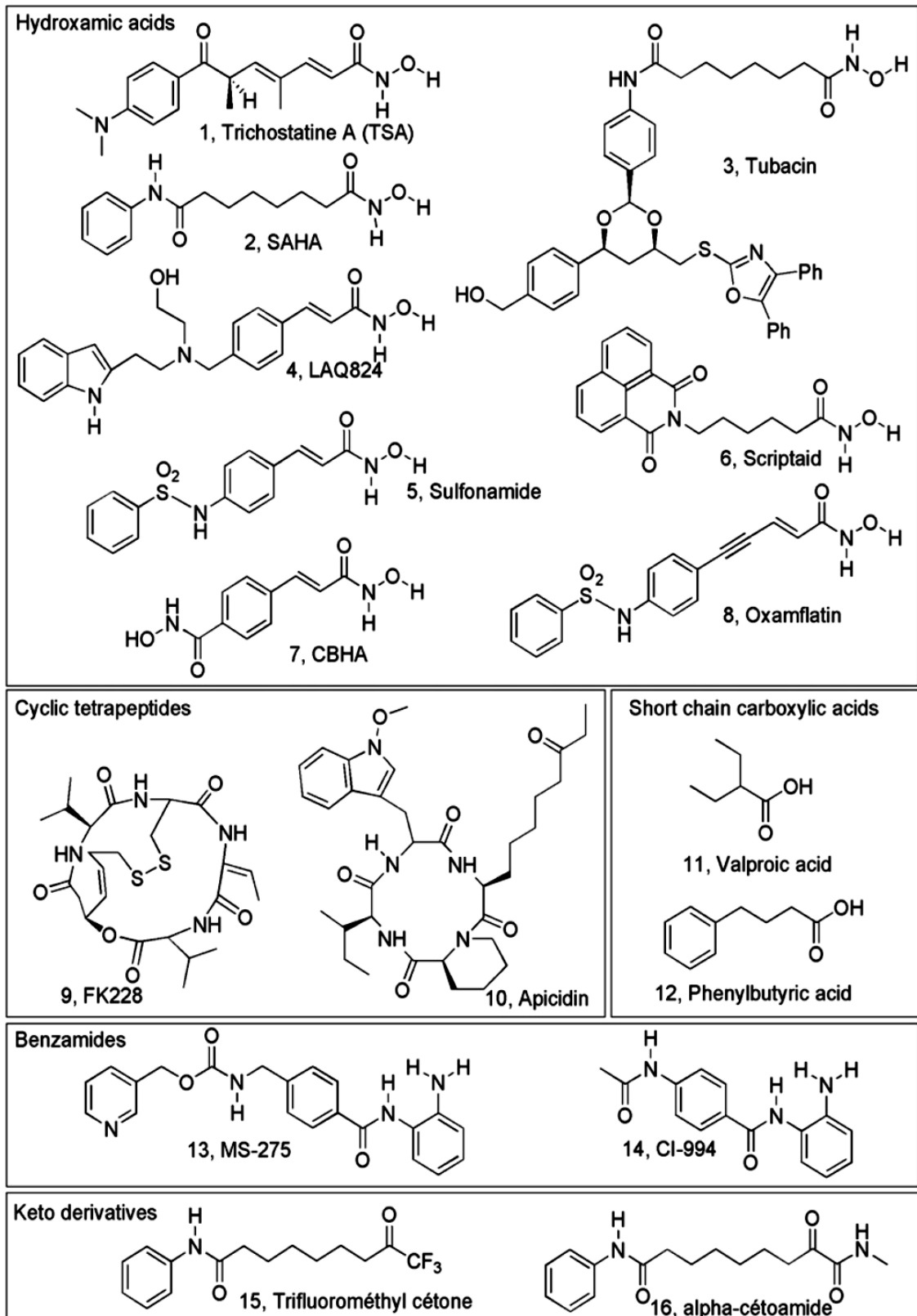
ve II. sınıf HDAC enzimlerini inhibe ettiği bilinmektedir. İlaç çalışmalarında faz I ve faz II çalışmaları yapılmıştır.

**Hidroksamatlar:** TSA, SAHA, Oksamflatin, ABHA, Skriptaid (SB-556629), Piroksiamid, Propenamidler, Aroyl pyrrolyl hidroksiamidlerdir. En kuvvetli inhibitör grubunu hidroksamatlar oluşturmaktadır. Bu grup inhibitörlerin zayıf farmakokinetik özellikleri, özgül aktivite gösterememeleri ve yüksek derecede toksik olmaları nedeniyle kullanımları sırasında problemlere neden olmaktadır. Hidroksamat yapıdaki TSA ise tanımlanan ilk HDAC inhibitörüdür.

**Benzamidler:** MS-275 (MS-27-275), Methyl Gene, CI-994'dir. Benzamidler I.sınıf HDAC enzimleri üzerinde  $\mu\text{M}$  konsantrasyonlarında aktivite göstermektedir. Benzamidler ile in-vitro araştırmalarının yanı sıra faz I ve faz II çalışmaları da yürütölmektedir.

**Siklik Tetrapeptidler:** Bu sınıfta Depsipeptid (FK-228) ve Apisidin bileşikleri yer alırlar. Yapısal olarak en kompleks inhibitör grubunu oluşturur. nM konsantrasyonda etkili ve kuvvetli inhibitördür.

**Elektrofilik Ketonlar:** Bu sınıftaki bileşikler triflorometil keton,  $\alpha$ -ketoamid'dir.  $\mu\text{M}$  konsantrasyonda etki gösterirler ve diğer sınıfalara göre daha az etki gösterirler (URAL-1).

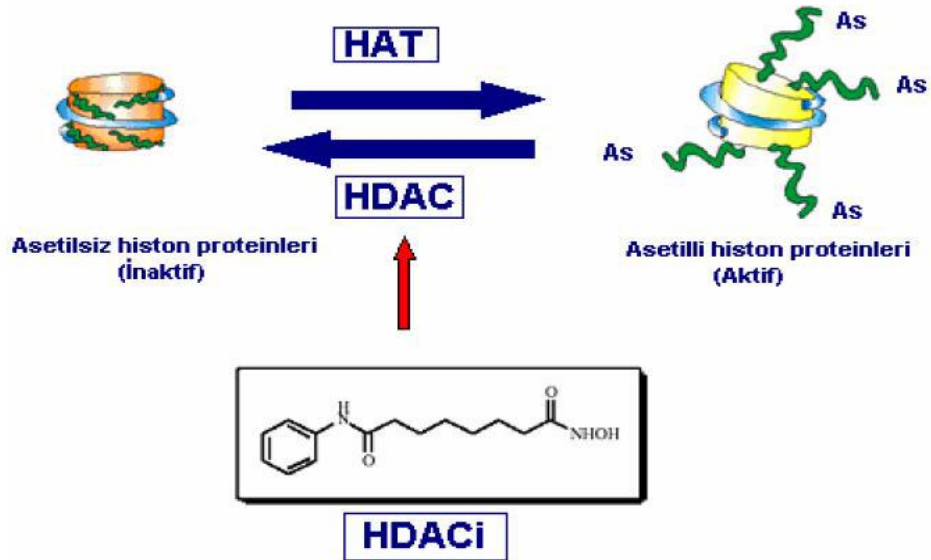


Şekil 5. Kimyasal HDAC inhibitörleri sınıflandırılması ve genel farmakofor yapıları (Bertrand, 2010).

### 1.1.6. Histon Deasetilaz İnhibitörlerinin Etki Mekanizmaları

HDAC inhibitörleri, histon asetilasyonunu sağlayarak bazı genlerin ifadesini değiştirebileceği gibi, transkripsiyon faktörleri ve tümör baskılayıcı gibi histon olmayan bazı proteinlerin asetilasyonunu artırarak inhibisyon aktivitelerini etkilemektedir (Marks vd., 2003; Rosato ve Grant, 2005). HDAC inhibitörleri uygulanarak histonların deasetilasyonu engellenip, histonlar asetilli halde kalmakta ve transkripsiyonun sürekliliği sağlanmaktadır.

Histon, kromozomların yapısıyla ilgili protein olup mitoz ve mayoz bölünme sırasında iğ ipliklerinin tutunmasından sorumludur. Bu protein işlevini yerine getirirken aktif uçlarına asetil grubu bağlanır ve Histon Deasetilaz (HDAC) enzimi asetillenme işleminin oluşumunu engellenir. Dolayısıyla genlerde bozulmalar ve kanserli hücreler meydana gelmektedir. Hidroksamik asitler, HDAC enziminin aktif bölgesinde bulunan çinko iyonuyla kompleks oluşturarak enzimin yapısını bozar ve bu sayede deasetilasyon genlerinde bozulmalar engellenmiş olunur (Şekil 6).



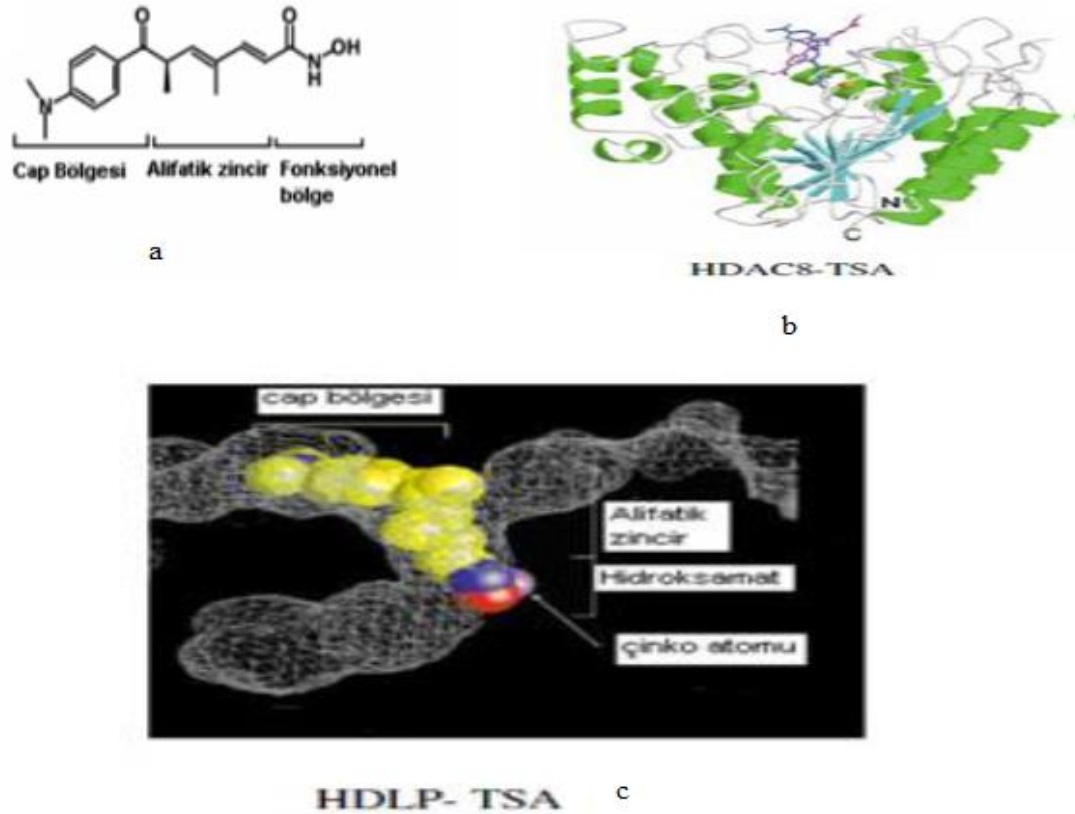
Şekil 6. HAT, HDAC ve HDACi inhibitörleri arasındaki ilişki (Tatar vd., 2010)

HDAC inhibitörleri, transkripsiyonel etkilerinin yanı sıra, kanser hücrelerinde hücre döngüsünün inaktif bölgesi olan G2 kontrol noktasını aktif hale getirerek hücre bölünmesini durdurup ve apoptozu uyarmaktır (Bernhard vd., 1999; Taddei vd., 2005).

Kanser hücrelerinin HDAC inhibitörleri tarafından indüklenen apoptoza karşı daha duyarlı oldukları bildirilmiştir (Nebbio vd., 2005; Rosato ve Grant, 2005). Ayrıca, HDAC inhibitörlerinin, kanser hücre büyümesinin inhibisyonunda görev alan genlerin asetilasyonunu arttırdığı ve bu sayede hücre büyümesini durdurucu etkisinin olduğu düşünülmektedir.

### 1.1.7. Histon Deasetilaz ve İnhibitör Etkileşimi

HDAC ve inhibitörler arasındaki yapısal ilişkisi, bir memeli HDAC homologu olan ve *Aquifex aeolicus* bakterisinden elde edilen HDLP (Histone deacetylase-like protein)'nin kristal yapısının, TSA (Şekil 7a) ve suberoilanilid hidroksamik asit (SAHA) inhibitörleri kullanılarak açığa çıkartılmasıyla elde edilmiştir. HDLP'nin, TSA ve SAHA ile direkt olarak etkileştiği gösterilmiştir (Buggy vd., 2000) (Şekil 7c).



**Şekil 7.** Hidroksamik asitlerin (SAHA TSA) enzimin aktif bölgesiyle etkileşimi (Buggy vd., 2000)

- HDAC inhibitörlerinin temel yapısı
- HDAC8 - TSA etkileşiminin üç boyutlu görüntüsü
- HDLP - TSA etkileşiminin üç boyutlu görüntüsü

HDLP ile yapılan çalışmanın ardından insan HDAC8'i hidroksamat grubu inhibitörleri ile çalışılmış, böylece kristal yapısı ortaya çıkartılarak katalitik bölgenin üç boyutlu yapısı gösterilmiştir (Şekil 7b). Her iki çalışmada da katalitik bölgede bulunan çinko atomu ile inhibitörünün direkt etkileşim içinde olduğu ve inhibisyonun gerçekleşmesi için çinko atomunun gerekliliği gösterilmektedir (Finnin vd., 1999; Somoza vd., 2004; Vannini vd., 2004).

HDLP' nin kristal yapısı olarak aydınlatılan ilk HDAC enzimidir. Protein yapıları 16 tane  $\alpha$ -heliks ve 8 tane paralel dizilmiş  $\beta$  tabakalarından oluşur.  $\alpha$ -heliks ve  $\beta$  tabakaların katlanmaları sonucunda bir ucu kapalı, dar ve tüp şeklinde bir yapı oluşmaktadır. Tüpün en dar kısmı, uç bölgesidir ve çinko atomunun bulunduğu kısımdır.

Yapısal olarak HDAC inhibitörleri üç bölge içermektedir (Şekil 7a). Fonksiyonel bölge metal bağlayıcı kısım olup enzimin aktif bölgesine yani, tüpün uç kısmına bağlanmakta, alifatik zincir enzim yapısındaki tüp boyunca uzanmakta, *cap* bölgesi ise yüzey tanımadan sorumlu olup tüpün giriş kısmı ile etkileşim içindedir. HDLP ile TSA'nın etkileşimi incelenerek, TSA alifatik zincirinin tüp yapısı içerisine doğru uzandığı, hidroksamat grubunun ise aktif bölgedeki çinko ile etkileştiği gösterilmektedir (Finnin vd., 1999; Grozinger ve Schreiber, 2002; Miller vd., 2003).

### **1.1.8. Histon Deasetilaz İnhibitörlerinin Güncel Kullanım Alanları**

Günümüzde çeşitli kalıtsal hastalıklar, kanser, diyabet, parazitsel enfeksiyonlar, nörodejeneratif hastalıklar ve nörolojik düzensizliklerin tedavisinde HDAC inhibitörü kullanılmasına yönelik araştırmalar devam etmektedir.

HDAC inhibitörlerinin anti-kanser etkilerine ek olarak önleyici etkileri de *in vivo* ve *in vitro* olarak çalışılmaktadır. Diyabet, romatizma, sıtma ve astım gibi hastalıkların tedavisi üzerindeki etkileri araştırılmaktadır (Halili vd., 2009). HDAC inhibitörleri ile yapılan *in vivo* çalışmalar tümör büyümesini ve metastazı önemli ölçüde azalttığını göstermiştir. Örneğin, kısa zincirli yağ asitlerinden BA'lar kolon, prostat, endometriyal ve servikal karsinomlarda, VPA meme karsinomlarında, hidroksamat grubu üyesi olan

SAHA prostat, sinnamik asit ve bihidroksamik asit (CBHA) ise nöroblastoma tipi kanserlerde çalışılmıştır (Lindemann ve Johnstone, 2004).

Kalıtısal bir poliglutamin tekrar hastalığı olan Huntington hastalığında ise genetik düzenlenmesinde bozukluğun olabileceği düşünülen fare çalışmalarında SAHA'nın kan beyin bariyerini geçerek beyinde histon asetilasyonunu arttırdığı ve fare beyinde de görülen motor bozukluklarını düzelttiği gösterilmiştir (Hockly vd., 2003).

Gelişmiş ülkelerde nüfusun %2'sinde görülen Alzheimer, nörodejeneratif bir hastalıktır. HDAC inhibitörlerinin histon asetilasyonunu artırarak bellek ve öğrenmede ilerleme kaydedilmiştir. Bu durumda sinaptik esneklik (bir nörondan diğerine veya bir nöronun bir kas hücresine çok fazla sayıda yol olduğu için bunların bazıları işlemese bile işleyen başka yollar ortaya çıkar) kaybı ve bilinç bozukluğu ile seyreden Alzheimer hastalığında da HDAC inhibitörleri ile tedaviyi gündeme getirmiştir (Abel ve Zukin, 2008).

## **1.2. Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı**

Bilgisayarlar, ilaç tasarımı yöntemlerinin önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Yapı analizleri, yapı karşılaştırmaları, öncü bileşik tasarımı, aktif konformasyon ve farmakofor (Pharmacophore, Pha) belirlenmesi, protein ve bağlanma alanı yapısı, ligand bağlama ve QSAR (Quantitative Structure Activity Relationship)' da içeren çok geniş bir uygulama alanına sahiptir. Son 20 yıl boyunca bu alanındaki çalışmalar "yapı-aktivite ilişkisi" (Structure-Activity Relationship, SAR) ve "nicel yapı-aktivite ilişkisi" (Quantitative SAR, QSAR) başlığı altında yayınlanmıştır. Başlangıçta QSAR metodu bileşiklerin fizikokimyasal özelliklerine göre aktiviteyi açıklanmıştır. Fakat son zamanlarda biyomoleküllerün üç boyutlu olarak ele alınarak elektronik özellikleriyle aktivite değerleri bulunmuş ve bu çalışmalar 3D QSAR olarak adlandırılmıştır. QSAR yaklaşımlarındaki tüm gelişmeler hızlı bilgisayarların kullanımı ile artmıştır. Pratik bakımdan oldukça uzun ve zor olan böyle bir problemin çözümü; deneysel olarak belirli bir aktivite gösterdiği bilinen bileşikleri birbiri ile karşılaştırarak aktivitelerine neden olan ortak yapıdaki sorumlu fragmenti bulmakla olur (Bersuker vd., 1987; Hopfinger vd., 1997; Oprea vd., 1997).

İlaç tasarımı, biyolojik yapılar ve hedef moleküller temel alınarak yeni ilaç geliştirilmesi için izlenen adımlar bütünüdür. İlaç tasarımı kapsamında değişik ilaç moleküllerinin tasarımı yer alır, bu moleküller biyolojik yapılara bağlanarak ve onlarla etkileşerek farmakolojik etkilerin oluşmasını sağlamaktadır. İlaç tasarımının modern uygulaması ise bilgisayar yardımıyla gerçekleşir ve bilgisayar destekli ilaç tasarımı olarak adlandırılır. Teorik kimyayı kullanarak ilaçları ve ilaçlarla ilgili biyolojik aktifliğe sahip molekülleri ve aktif molekül parçalarını araştırmaktır. Temel amaç, belirlenen küçük molekülün hedefe bağlanıp bağlanmadığını ve farmakolojik etkiye neden olup olmadığını araştırmaktır. Bu çalışmaları gerçekleştirmek için birçok program bulunmaktadır ( Alten, 2011).

### 1.2.1. Kantitatif Yapı-Etki İlişkileri (QSAR)

Başlattığı çalışmalar sonucunda Corvin Hansch'ın (1964)'te ortaya çıkan ve İngilizce “Quantitative Structure Activity Relationships” olarak isimlendirilen ve tanımdaki kelimelerinin baş harflerinin bir araya getirilmesi ile oluşturulan QSAR terimi, kantitatif yapı-etki ilişkilerini belirlemek üzere dünyanın her yerinde kullanımı benimsenir duruma gelmiştir.

Kantitatif yapı-etki ilişkileri (QSAR) analizleri, kimyasal bileşiklerin moleküler tanımlayıcıları (fizikokimyasal/yapısal özellikleri) ile biyolojik aktiviteleri arasındaki ilişkilerin matematiksel ve istatistiksel yöntemlerle çözümlenme işlemidir. Çözümleme sonucu bir grup molekülün biyolojik etkisine, moleküllerin hangi moleküler tanımlayıcıların katkıda bulunduğu belirlemek amacıyla bir matematiksel denklem ortaya konulmuştur. QSAR analizleri sonucunda elde edilen genel model denklem şöyle ifade edilmiştir;

$$\log\left(\frac{1}{C}\right) = k_1\pi + k_2\sigma + k_3 + \dots \dots \quad (1)$$

Burada C, ( $K_i$ ,  $IC_{50}$ ,  $LD_{50}$ , vb.) moleküller için deneysel olarak ölçülmüş biyolojik aktivite değerleri olarak ifade edilir ve  $k_1$ ,  $k_2$  ve  $k_3$  ise numerik sabitler olup ,  $\pi$  ve  $\sigma$  ise hesaplanmış moleküler tanımlayıcı değerleri olarak nitelendirilmektedir.

Bağımlı Değişken: QSAR modellemede çalışılan modelle ilgili biyolojik aktivite bağımlı değişkendir. Bu değer modeldeki bağımsız değişkenler olan moleküler tanımlayıcılardan etkilendiği kabul edilir.

Bağımsız Değişken: Bağımsız değişkenlerin bağımlı değişken ile istatistiksel bir ilişkiye sahip olduğu varsayılmaktadır. Veri modellemenin amaçlarından biri de bu ilişkiyi matematiksel bir ifade olarak göstermektir.

Biyolojik ortamda, efektör-hedef arasında yürüyen reaksiyonlar veya etkileşimler genellikle ölçülemez ve gözlenemez durumdadır. Kapalı sistemler içerisinde gerçekleştiğinden, biyolojik yanıtın ortaya çıkışında rol oynayan dinamiklere ait nitelik ve niceliklerin belirlenmesi için çözümler üreten bazı analizlere gereksinim duyulmaktadır. Gerçekleştirilen bu analizler, araştırılan kimyasal bileşiklerin moleküler nitelikleri ile gözlenen biyolojik aktiviteleri arasında rol oynayan dinamiklerin nicel olarak doğrudan belirlenmesini, dolaylı olarak da biyolojik etki mekanizmalarının tanımlanması ile ilgili çözümlerin üretilmesini sağlarlar. Genel anlamda değerlendirildiğinde, QSAR analizleri, kimyasal bileşiklerin nicel olarak saptanan moleküler nitelikleri ile gözlenen biyolojik aktivite değerleri arasındaki ilişkilerin çözümlenmesini sağlayarak, yeni önder bileşiklerin rasyonel biçimde tasarlanması veya geliştirilmesine katkı sağlayacak öngörülerini elde etmek için kullanılırlar.

Bu bağlamda, QSAR analizleri;

- ✓ Kimyasal bileşiklerin organizmadaki emilim, dağılım ve transportunda rol oynayan farmakokinetik ilişkilerin tanımlanması,
- ✓ Kimyasal bileşiklerin hedefle (reseptör, enzim, vb.) arasındaki etkileşimlerde rol oynayan dinamiklerin belirlenmesi,
- ✓ Kimyasal bileşiklerin organizmada biyolojik dönüşümünü sağlayan enzimatik ilişkilerin tanımlanması,
- ✓ Kimyasal bileşiklerin istenmeyen veya toksik etkilerinden arındırılmasını içerir.

Bu QSAR eşitlikleri çözümlenmelere ulaşılmasını sağlayarak, ilaç etken maddesi olabilecek yeni önder bileşiklerin tasarımı ve geliştirilmesine ışık tutacak önermelerin açığa çıkarılmasına yardımcı olur (Şener ve Yalçın, 2003a).



Çok boyutlu QSAR teknikleri, protein-ligand etkileşiminin tanımlanmasında son derece önemlidir. Boyutlarına göre QSAR:

**1D QSAR** → pKa, logP, vb. fizikokimyasal parametrelerle ilişkilendirilir.

**2D QSAR** → Yapısal parametrelerle (topolojik, geometrik, elektrostatik, termodinamik) belirlenir.

**3D QSAR** → Molekülleri çevreleyen kovalent olmayan etkileşim alanları ile aktivitesi bağlantılıdır. Yani moleküler bağlanma uzaydaki üç boyutlu elektrostatik, sterik, hidrojen bağı ve hidrofobik özellikleriyle belirlenir.

**4D QSAR** → Ligand veri setini içeren moleküllerin çoklu gösterimine (konformasyonlar, protonlanma hali, stereoisomer) izin verir.

**5D QSAR** → 4D QSAR' dan da farklı olarak Pha' nın (farmakofor) sekiz farklı eş zamanlı, yönlendirilmiş pozisyonların değerlendirilmesine izin verir.

**6D QSAR** → En uygun çözünme modeli tarafsız bir şekilde tanımlanır. Çözünmemenin derecesi, yüzeyden çözücünün uzaklaştırılması ve farklı protonlanma hallerinin katkısı gibi anlık gelişmelere fırsat verir.

Klasik QSAR yöntemleri, 3D-QSAR yaklaşımlarına göre çok daha basit, daha hızlı ve otomasyona daha uygundur (Özdal, 2013).

#### **1.2.1.1. 2D-QSAR Analizi**

2D-QSAR için parametreleri yapısal, topolojik, geometrik, elektrostatik, kuantum kimyasal ve termodinamik parametreler olarak sınıflandırabiliriz. En basit tanımlayıcı, geometrik veya elektronik yapıya bakmadan moleküler yapıyı yansıtan yapısal parametredir ki bu parametreler atom sayısı, moleküler ağırlık, bağ sayısı ve H bağı sayısı ile ilgilendirilir. Topolojik parametreler, moleküldeki iki atom çifti arasındaki bağ bilgilerini kapsar. Geometrik parametre, yapının üç boyutlu koordinatlarını gerektiren, molekül

yüzey alanı, moleküler yoğunluk ve hacim gibi özellikleri içine alır. Kuantum kimyasal parametreler ise moleküllerin elektronik özellikleri hakkında bilgi sağlayan HOMO ve LUMO gibi tanımlayıcılardır. Termodinamik parametreler, ilk olarak Hansch analizinde kullanılan molar refraktivite, oluşum ısısı, hidrofobik özellik, oktanol ve sudaki serbest solvasyon enerjisidir.

2D-QSAR da kullanılan moleküler parametreleri, ya deneysel metotlardan (X-Ray, NMR gibi) ya da moleküler mekanik (MM) hesaplamalarından elde etmek etkili bir yoldur. Ancak, HOMO ve LUMO gibi bazı parametreler kuantum mekaniksel (QM) hesaplamaları gerektirir. Son yıllarda Tong, moleküler parametrelerin aynı seti için, MM de hesaplanan geometri ile QM de hesaplanan geometrileri kullanarak elde ettiği sonuçları QSAR modelinde karşılaştırmıştır. QM parametreleri kullanarak elde edilen QSAR sonuçları, MM parametreleri kullanarak elde edilen QSAR sonuçlarından daha iyi olduğu görülmüştür (Kulak, 2005).

#### **1.2.1.2. 3D-QSAR Analizi**

İlk olarak Cramer 1988 de üç boyutlu moleküler parametrelerle tanımlamıştır. Daha sonra 3D-QSAR metodunu geliştirmiştir. Uzaydaki moleküllerin üç boyutlu yapısını hesaba katan QSAR metotları 3D-QSAR olarak ifade edilmiştir. Karşılaştırmalı moleküler alan analizi (Comparative molecular field analysis, CoMFA), en önemli 3D-QSAR metotlarından biridir. Biyoaktif verilerde 3D-QSAR modellerini incelemek için geliştirilen bu metot genellikle reseptörün üç boyutlu yapısı bilinmediği zaman kullanılır. Bu metotta ligandın 3 boyutlu yapısının ve deneysel aktivitelerinin bilinmesi gerekir. Konformasyonel analiz, bilgisayar destekli ilaç tasarımında genellikle oldukça karışık olarak görülen bir problemdir ve çoğunlukla organik yapılara sahip ilaç moleküllerinin birçok konformeri vardır. CoMFA metodu molekülün geometrik, sterik ve elektrostatik özellikleri ile biyolojik aktiviteleri arasında ilişki kurmak için geliştirilmiş olan bir QSAR metodudur ve genellikle molekülün en düşük enerjili konformasyonu aktif konformasyon olarak düşünülür. Kısmi en küçük kareler (partial least squares, PLS) ve temel bileşen analizi (Principal Component Analysis, PCA) genellikle CoMFA da model geliştirmek için kullanılan metotlardır (Debnath, 2001; Kubinyi, 2002).

3D-QSAR'da diğerk bir önemli metot olan, karşılaştırmalı moleküler benzerlik indisleri analizi (comparative molecular similarity indices analysis, CoMSIA)'dır. Bu metot benzerlik indisleri (similarity indices) ve CoMFA metotlarının birleşimidir. CoMSIA'da hem elektrostatik hem de sterik özellikler, hidrojen bağ donörü, hidrojen bağ akseptörü ve hidrofobik alanlar dikkate alınır. CoMFA da Coulomb elektrostatik etkileşim potansiyeli kullanılırken CoMSIA, hidrojen bağı, hidrofobisite, elektrostatik ve sterik özellikleri tayin etmek için daha çok Gaussian fonksiyonunu kullanılmaktadır (Klebe vd., 1998).

### 1.2.1.3. Hansch Analizi

Mevcut toksikologlar arasında Corwin Hansch 'ın modern QSAR 'ın kurucusu olduğuna dair bir görüş birliği vardır. Robert Muir Pomona Kolejinde bir botanikçi olan, indolasetik asit ve fenoksiasetik asit analogları olan bitki büyüme düzenleyicilerinin biyolojik aktivitesini çalışırken kimya bölümündeki meslektaşı olan Corwin Hansch'a danışarak, bu bileşiklerin yapılarını aktiviteleriyle ilişkilendirmeye çalışmışlardır.

Hansch sübstituentlerin elektronik etkisini incelemek için yapısal tanımlayıcılar olarak Hammett'in sigma parametrelerini kullanmış ama anlamlı bir QSAR eşitliği elde edilememiştir. Hansch, sonra, biyolojik aktivitede lipofilisitenin (oktanol-su dağılma katsayısı) önemli olduğunu öngörmüştür ve bileşiklerin logP değerlerini deneysel olarak belirlemiş ve QSAR analizlerinde bir parametre olarak kullanarak anlamlı QSAR eşitliği elde edebilmiştir (Hansch, 1969).

### 1.2.1.4. Tanımlayıcılar

1937 yılında Hammett'in *meta/para* aromatik sübstitüentlerin elektronik etkilerini tanımlayan sigma ( $\sigma$ ) sübstitüent sabitesi (Hammett, 1937; Hammett, 1940) ile 1956 yılında Taft'ın sübstitüentlerin sterik etkilerini gösteren  $E_s$  sabitesinin (Taft, 1959) oluşturulmasından bu yana pek çok parametre geliştirilmiştir. Günümüzde 5000' e yakın parametre mevcuttur ve çeşitli şekillerde sınıflandırılmaktadır.

### 1.2.1.4.1. Kuantum Kimyasal Tanımlayıcılar

#### 1.2.1.4.1.1. Elektrostatik Tanımlayıcılar

3D parametreleridir, elektronik tanımlayıcılar olarak da kabul edilir. Moleküllerin elektronik çevresi, yük dağılımı ve her bir atom üzerindeki kısmi yükler, HOMO, LUMO, elektronegatiflik, kimyasal sertlik, iyonlaşma enerjisi, elektron ilgisi, dipol moment, yumuşaklık, kimyasal potansiyel, elektrofiliti indeks özellikleri kapsamaktadır (Efil ve Bakdemir, 2015).

**$E_{HOMO}$ :** HOMO, molekül temel durumda yani kararlı haldeyken molekülden koparılması en kolay olan elektronun koparılabilmesi için moleküle verilmesi gereken enerjidir.

**$E_{LUMO}$ :** LUMO, HOMO'daki bir elektron uyarıldığında elektronun yerleşeceği ilk orbitaldir.  $E_{LUMO}$ , LUMO'daki bir elektronun moleküle bağlanma enerjisi olarak tanımlanabilir.

**İyonlaşma Enerjisi (IP):** Molekülden bir elektron koparmak için gereken enerjidir. DFT'ye göre;

$$IP = -E_{HOMO} \quad (2)$$

**Elektron İlgisi (EA):** Molekülü negatif yüklü iyon haline getirebilmek için gerekli enerjidir. DFT'ye göre;

$$EA = -E_{LUMO} \quad (3)$$

**Elektronegativite ( $\chi$ ):** DFT'ye göre elektronegativite, aşağıdaki eşitlikler ile verilir.

$$\chi = \frac{(IP+EA)}{2} \text{ ya da } \chi = \frac{(E_{HOMO}+E_{LUMO})}{2} \quad (4)$$

**Kimyasal Sertlik ( $\eta$ ):** DFT'ye göre kimyasal sertlik, aşağıdaki eşitlikle ifade edilir.

$$\eta = \frac{(IP-EA)}{2} \text{ ya da } \eta = \frac{(E_{LUMO}-E_{HOMO})}{2} \quad (5)$$

**Yumuşaklık (S):** Bir molekülün kimyasal reaktivitesinin ne ölçüde olduğunu gösteren bir ölçüttür.

$$S = \frac{1}{\eta} \quad (6)$$

**Kimyasal potansiyel ( $\mu$ ):**

$$\mu = -\frac{(IP + EA)}{2} \text{ ya da } \mu = -\frac{(E_{HOMO} + E_{LUMO})}{2} \quad (7)$$

**Elektrofilisiti indeks ( $\omega$ ):** QSAR çalışmalarında yaygın olarak kullanılan bir moleküler tanımlayıcıdır. Elektrofilik güç anlamına gelmektedir.

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta} \quad (8)$$

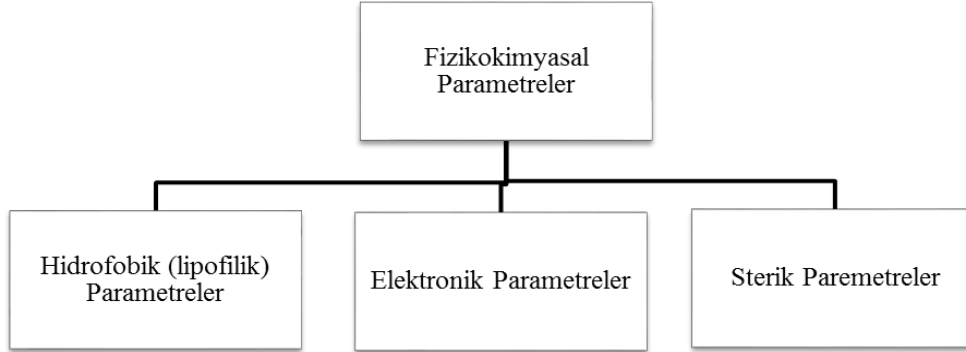
#### 1.2.1.4.1.2. Geometrik Tanımlayıcılar

Bu tanımlayıcılar moleküldeki atomların 3 boyutlu koordinatlarını gerektirir. Bu tanımlayıcılar şunlardır; Eylemsizlik momenti, Shadow indisi, Moleküler hacim, Moleküler yüzey alanı, Kütle çekim indisleri.

#### 1.2.1.4.2. Fizikokimyasal Tanımlayıcılar

Kantitatif yapı-etki ilişkilerinin çözümlenmesi için yürütülen matematiksel denklemlerde bağımsız değişkenler olarak kullanılan fizikokimyasal parametreler, moleküler veya sübstitüent sabiteleri şeklinde yer alırlar. Bu amaçla, gerek efektör-hedef arasındaki etkileşmelerde rol oynayan dinamiklerin, gerekse de ilaç etken maddesi kimyasal bileşiğin organizmadaki transportunu içeren farmakokinetik olayların çözümlenmesinde, hidrofobik (lipofilik), elektronik ve sterik etkinlikleri tanımlayan

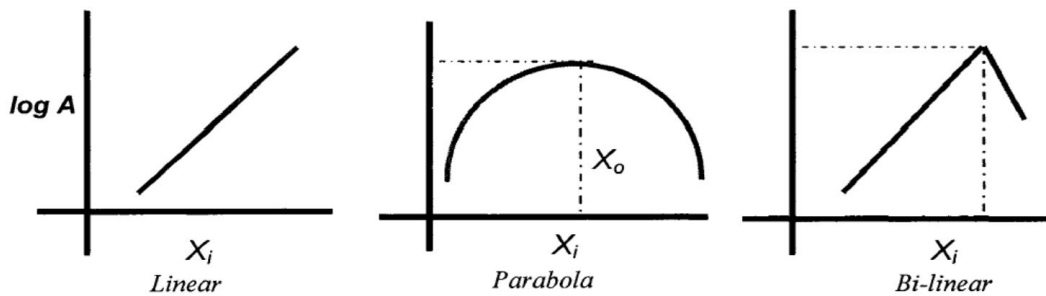
moleküler veya substituent sabiteleri, kantitatif yapı-etki ilişkileri analizlerinde en yaygın olarak kullanılan fizikokimyasal parametreleri oluştururlar (Şener ve Yalçın, 2003b).



Şekil 8. Fizikokimyasal Parametreler

#### 1.2.1.5. Regresyon Analizi

Regresyon analizi bağımlı değişken ile bir veya daha çok bağımsız değişken arasındaki ilişkiyi incelemek amacıyla kullanılan bir analiz yöntemidir. 2D-QSAR modelleri geliştirmek için bazı lineer ve lineer olmayan istatistiksel analiz yöntemleri günümüzdeki çalışmalarda kullanılmaktadır. Lineer modellere örnek olarak Çoklu Lineer Regresyon (MLR), En İyi Çoklu Lineer Regresyon (BMLR), Heuristik Yöntem (HM), En Küçük Medyan Kareler Yöntemi (LMS) verilebilir. Bazı parabolik ve bilinear modeller MLR yöntemi kullanılarak geliştirilmiştir. Lineer olmayan yaklaşım Yapay Sinir Ağları (ANN) kullanılarak uygulanır. Lineer ve lineer olmayan yaklaşımlar, inhibitörler (ligant/ilaç) ve reseptörler (protein/enzim) arasındaki yapı-aktivite ilişkisini açıklayan parametrelerin en iyi kombinasyonunu seçmeye yardımcı olur (Şekil 9).



Şekil 9. Biyolojik aktivitenin logaritması ( $\log A$ ) ile fizikokimyasal parametrelerin ( $X_i$ ) ilişkilendirildiği Lineer, Parabolik ve Bilinear modeller

### 1.2.1.5.1. Lineer (doğrusal) Regresyon Modelleri

Bir bağımlı değişken (Y) ve birden fazla bağımsız değişken (x) arasındaki fonksiyonel ilişkiyi inceleme yöntemidir.  $y = a + bx$  biçiminde ifade edilen modele basit doğrusal regresyon adı verilir.

Basit regresyon modelinde bağımlı değişken ile bağımsız değişken arasındaki fonksiyonel bağıntı matris formu ile aşağıdaki gibi gösterilir.

$$Y = X\epsilon\beta \dots (\text{Özdamar, 1999})$$

### 1.2.1.5.2. Doğrusal Olmayan Regresyon Modeller

#### 1.2.1.6. Validasyon

Validasyon kelime anlamı “geçerlilik” Elde edilen model denklemlerin geçerliliğini doğrulamak için kullanılan bazı parametreler şunlardır (Yakan, 2012).

#### 1.2.1.6.1. Korelasyon

x ve y değişkenleri arasındaki doğrusal ilişkinin yönünün ve büyüklüğünün bir göstergesi olan kovaryanstır. Bununla birlikte kovaryansın büyüklüğünü ölçüm birimleri etkilemektedir. Bu durum korelasyon katsayı olarak adlandırılan başka bir ölçütle ortadan kaldırılabılır. Standart verilerle çalışılırken korelasyon katsayısı türetilmiştir. Korelasyon katsayısı ( $r_{xy}$ ) matematiksel olarak şu şekilde gösterilebilir.

$$r_{xy} = \frac{\sum(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{(n - 1)S_x S_y} \quad (9)$$

Korelasyon katsayısının hesaplanması için aşağıdaki eşitlik önerilir. Bu eşitlik  $S_x$  ve  $S_y$ , X ve Y'nin standart sapmasıdır.

$$r_{xy} = \frac{n \sum x_i y_i - \sum x_i \sum y_i}{\sqrt{n \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2} \sqrt{n \sum y_i^2 - (\sum y_i)^2}} \quad (10)$$

Korelasyon katsayısı, kovaryans gibi iki değişken arasındaki doğrusal bir ilişkinin gücünü ve yönünü gösterir. Eğer x ve y mükemmel bir şekilde ilişkili ise negatif bir ilişki varsa  $r_{xy} = -1$ , pozitif bir ilişki varsa  $r_{xy} = +1$  dir. Eğer  $r_{xy} < 0$  ise x ve y negatif ilişkili ve bu değer -1'e ne kadar yakınsa aradaki ilişki o kadar güçlüdür. Aynı şekilde, eğer  $r_{xy} > 0$  ise x ve y pozitif ilişkili ve bu değer +1 ne kadar yakınsa aradaki ilişki o kadar güçlüdür.

#### 1.2.1.6.2. Varyans ( $\sigma$ )

Bir dağılımın dağılıma veya değişkenliğini tanımlamak için ölçümler hesaplanırken ortalama değerdeki değerlerin 'yayılmasına' ve 'sapmasına' bakarız. Bu 'yayılmayı' ortalamadan ortalama sapma' gibi bir indeksle ifade edebiliriz. Dağılımın yayılması ne olursa olsun ortalamadan sapmaların toplamı '0' ise 'ortalamadan ortalama sapma' değeri '0' çıkar. Bu durum sapma değerlerinin karesini alarak ve bunları toplayarak düzeltilebilir. Böylece N gözlemlerinin varyansı 'sapmalarının karelerinin ortalamasıdır' ve matematiksel olarak şu şekilde gösterilebilir.

$$\sigma^2 = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2 \quad (11)$$

Matematiksel olarak varyans standart sapmanın karesidir ( $S^2$ ). Bununla birlikte varyans yerine standart sapma da kullanılabilir. Çünkü hesaplanan varyans birimleri verinin kendisindeki gibi aynı birimler olmadığı anlamına gelmez.

#### 1.2.1.6.3. Standart Sapma (S)

Standart sapma verilerinin 'yayılmalarının' göstergesidir. Eğer ortalama, dağılımın merkezi eğilim ölçüsü olarak alınırsa, standart sapma her bir değer için ortalama değerden (ortalamadan sapmaların karelerinin ortalamasının karekökü) ne kadar 'uzakta' olduğunu



ifade etmektedir. Böylece standart sapma aşağıdaki gibi matematiksel olarak ifade edilmiştir.

$$S = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2} \quad (12)$$

#### 1.2.1.6.4. Farklar

Farklar basitçe gözlenen değer ile tahmin edilen değer arasındaki farktır.

$$y_{\text{fark}} = y_{\text{gözlenen}} - y_{\text{tahmini}} \quad (13)$$

#### 1.2.1.6.5. Fischer Testi (F)

Korelasyon denklemi aracılığı ile elde edilen modelin, ne derecede geçerli olduğunu bu Fischer testi değeri göstermektedir. Denklemde ait F değeri, F değerleri tablosundaki (hesaplanan serbestlik derecesine göre) değerden daha yüksek olmalıdır. Serbestlik derecesi  $SD = n - k - 1$  formülü ile ifade edilir. Burada,  $n$  = korelasyon denkleminde yer alan kimyasal bileşiklerin sayısı,  $k$  = bu denkleminde bulunan bağımsız değişkenlerin sayısıdır. Bu değer ne kadar büyükse, analiz modeline duyulan güven artar.

#### 1.2.1.6.6. Student T Testi

Regresyon analizi sonunda elde edilen korelasyon denkleminde yer alan parametrelerin regresyon denklemindeki nicel katkılarını gösteren katsayılarının parantez içinde gösterilen  $\pm$  güvenilirlik aralıklarının tespit edilmesinde belirleyici rol oynamaktadır. Geçerli bir denkleminde  $\pm$  güvenilirlik aralıkları hiçbir zaman katsayıdan büyük bir değere sahip olmamalıdır.

### 1.2.1.6.7. Çapraz Validasyon

Korelasyon denklemin doğruluk ve geçerliliğini (validasyon) saptamak için bazı ilave hesaplamalar yapılmalıdır. Modelin bu alanda sağladığı önerme gücünün (predictive power) doğruluk ve geçerliliğinin ölçülmesi için çapraz validasyon (cross-validation) yöntemi uygulanmaktadır. Böylece belirlenen modelin, yeni etkin bileşiklerin tasarlanmasında ne oranda doğru ve geçerli bir önerme gücüne sahip olduğu saptanmış olunur. Çapraz validasyon işleminde, ana dosyadaki tüm bileşikler sırasıyla yalnız bir kere dışarıda kalacak şekilde alt gruplar oluşturulur ve hazırlanan yeni alt gruplar tekrar analiz edilir. Bu alt grup bileşikler aracılığıyla yürütülen regresyon işlemi sonucu korelasyon denkelemi üzerinden analiz dışında tutulan ana dosyadaki bileşiklerin biyolojik etki değerleri hesaplanır.  $R_{CV}^2$  (çapraz validasyon katsayısının karesi) olarak ifade edilir ve değeri 1'e yaklaştıkça modelin önerme gücü artar. Çapraz-validasyon işleminin uygulanması sonucu belirlenen ve modelin önerme gücünü belirten bu değer, regresyon analizi sonucu elde edilen ve modelin uyumunu gösteren korelasyon katsayı ( $R^2$ ) değerinden küçük olmalıdır.

### 1.2.2. Moleküler Kenetlenme (Docking) Yöntemi

Moleküler kenetlenme (docking), kararlı bir kompleks oluşturmak için tercih edilen bir molekülün diğer moleküle bağlanırken tercih ettiği konformasyonları belirleyen bir metottur. Diğer bir ifadeyle, protein ile ligand arasındaki bağlanma sırasındaki etkileşimleri ve hareketleri inceleyen bir yöntemdir (Lengauer ve Rarey, 1996).

#### 1.2.2.1. Moleküler Docking Mekanizmaları

Docking bir molekülün bir başka molekül ile kararlı bir kompleks oluşturması sonucunda atomların uzaydaki tercih edilen pozisyonlarını tahmin etmede kullanılan bir metoddur.

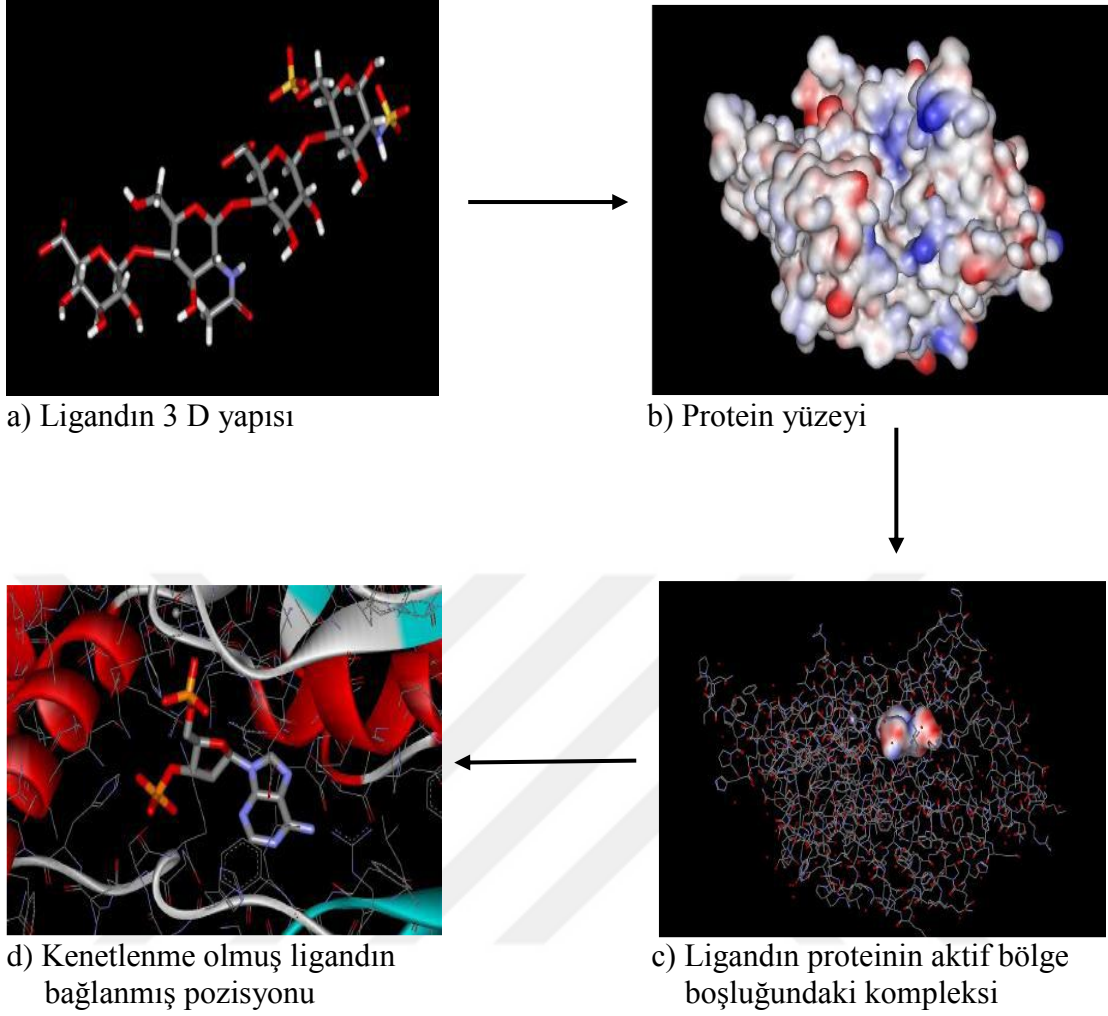
Docking yönteminin kullanıldığı temel alanlardan biri, olası ilaçların hedef moleküllere bağlanmalarının doğasını incelemektir. Küçük molekül-protein ve protein-protein dokingleri olmak üzere iki türde uygulaması olan ve bir moleküler mekanik

yöntemi olan docking; proteinler, nükleik asitler ve yağlar gibi çok büyük ve biyolojik önem sahip moleküllerin birbirleri arasındaki ilişkileri bulmada kullanılır.

Protein-protein dockingi bilgisayar programları tarafından simülasyona tabi tutulmuş iki tane protein molekülünün birbiriyle bağlanmasını/etkileşimini içermektedir. Bu durumlardaki, etkileşimler ligand-protein dockinge kıyasla rigidir. Ligand-protein dockingi; ligandın serbest, proteinin (reseptörün) sabit (rigid) olduğu ve hem ligandın hemde proteinin esnek (flexible) olduğu durumlar göze alınarak incelenilebilmektedir (Şekil 10). Ayrıca docking yöntemiyle günümüzde bazı araştırmacılar tarafından ligand-DNA ve RNA docking çalışmaları da yapılmaktadır, bu alanda ilerleyen çalışmalarla da bu kısmı ligand-DNA/RNA docking şeklinde kategorilendirmek mümkündür (Guner, 2000; Dias vd., 2008; Thiriot ve Monard, 2009).

#### **1.2.2.2. Docking Temel Teorisi**

Docking işlemini anlamak için, proteinlere bağlanan molekülleri anlatmada kullanılan anahtar-kilit analogisi kullanılabilir (Jorgensen, 1991). Burada protein kilit (eldiven) olup bağlanmak istenen ligand anahtar (el) olarak düşünülebilir. Docking işleminde de aynı bu şekilde enzimdeki uygun boşluklara substrat ya da inhibitörün bağlanma olasılıkları incelenir (Şekil 10).



**Şekil 10.** Ligand ve Proteinin Etkileşme Değişimi (Türkkan, 2013)

Kısacası docking metodu, yapılmak istenen bu işlemin bilgisayar ortamında simülasyonudur. Bulunmak istenen ise anahtarın kilidi açmak için durması gerektiği konumdur. Bu konumlar tanımlanırken, bir proteinin bağlanma (veya aktif) bölgesi, ligandın proteine bağlanacağı bölgedir. Bu bölge genellikle protein yüzeyinde yer alan bir boşluktur ve kristal yapısı bilinen proteinlerde inhibitörün bağlı olduğu yerden tanımlanabilir. Fakat protein-ligand dockinginin bağlanma bölgesi tanımlanırken bir bağdan bahsedilmez, tercihen ligandın pozu (pozisyonu) veya bağlanma modu gibi tanımlamalar kullanmak daha doğrudur. Çünkü ligandın bağlanma bölgesi olarak bahsedilen ligandın konformasyonunun, oryantasyonun ve konumun geometrik pozunu ifade eden bir tabirdir.

Sürekli hareket edebilen protein ve ligand, bu hareketlerinin sonucunda durabildikleri en düşük potansiyel enerjili konumlarında duracaklardır. Bunu hesaplamak için, tıpkı doğada olduğu gibi, bir optimizasyon işlemi kullanılır. Ligandın proteine göre konumu değiştirilerek enerjisi hesaplanır ve en düşük enerji bulunana kadar bu işleme devam edilir. Başka bir deyişle amaç protein-ligand sisteminin serbest enerjisinin en düşük olduğu konformasyonu bulmaktır.

### **1.2.2.3. Moleküler Modellemenin Kullanım Alanları**

Moleküler modellemenin birçok olası metotları ve uygulamaları mevcuttur. Yapı oluşturma, yapının görüntülenmesi, konformasyon analizi, biyoaktif konformasyonların türevlendirilmesi, moleküler süperpozisyon ve çakıştırma, farmakoforik kalıpların türevlendirilmesi, reseptör haritalandırımı, inhibisyon aktivitelerin tahmini, moleküler etkileşimler; docking, moleküler özelliklerin hesaplanması, enerji hesapları gibi alanlarda moleküler modellemeden faydaniılmaktadır.

### **1.2.2.4. Moleküler Modelleme**

#### **1.2.2.4.1. Hartree-Fock (HF) Yöntemi**

Hartree-Fock metodu, çok elektronlu atomların hal fonksiyonlarını belirlemek bununla da atomun yapısını incelemek için kullanılan en yaygın ab initio hesabıdır. Bu metod toplam dalga fonksiyonunu yaklaşık olarak belirlemede kullanılan tekrarlı bir değişim yöntemidir. Merkezi alan yaklaşıklığının temel alındığı Hartree-Fock yönteminde elektronların potansiyellerinin sadece çekirdekten uzaklıklarına göre değiştiği varsayılmaktadır. Herhengi bir elektronun çekirdeğinin ve diğer elektronların oluşturacağı ortalama küresel potansiyel alanı içinde hareket edeceği düşünöldüğünden dolayı, Coloumb elektron-elektron itme potansiyeli başlangıçta hesaba katılmaz ve daha sonra elektron korelasyonu olarak hesaba alınır (Brasden vd., 1999).

#### 1.2.2.4.2. Yoğunluk Fonksiyoneli Teorisi (DFT)

Yoğunluk Fonksiyoneli Teorisi (Density Functional Theory, DFT), çok parçacıklı bir sistemin elektronik yapısının incelenmesinde yaygın olarak kullanılan bir kuantum mekanik tabanlı bir yöntemdir. DFT hesaplamaları enerjetik, titreşimsel ve yapısal olarak özellikleri belirlemektir. Diğer yandan DFT yöntemiyle katı fazların elektronik, manyetik ve optik özelliklerini tahmin etmektedir. Küçük moleküllerden komplekslere, periyodik ve amorf katılara kadar bir çok sistem ve proses üzerinde (kimyasal reaksiyonlar, yüzeyin tekrar yapılması, moleküllerin soğurulması gibi) çalışılabilmektedir. DFT ile elde edilen sonuçlar kullanılan varyasyon potansiyeline bağlıdır. Bu HF tabanlı metotla önemli kavramsal bir farkı vardır.

DFT’ de karmaşık  $n$ -elektron dalga fonksiyonu ( $\Psi$ ) yerine, daha basit olan elektron yoğunluğu dikkate alındığı için, hesaplama sonuçları *ab initio* yöntemlere göre daha hızlı sonuçlanmaktadır. DFT’ ye göre bir sistemin toplam enerjisi, elektron yoğunluğunun bir fonksiyoneldir (Hohenberg ve Kohn, 1964). Elektron ve çekirdeklerin nokta kütleler olarak kabul edilmesi durumunda (spin orbital etkileşimi ve diğer rölativistik etkileşimler ihmal edilirse), moleküler Hamiltonian Eşitlik 14’ deki gibi yazılabilir.

$$\hat{H} = -\frac{\hbar^2}{2} \sum_{\alpha} \frac{1}{m_{\alpha}} \nabla_{\alpha}^2 - \frac{\hbar^2}{2m_e} \sum_i \nabla_i^2 + \sum_{\alpha} \sum_{\beta > 0} \frac{Z_{\alpha} Z_{\beta} e^2}{r_{\alpha\beta}} - \sum_{\alpha} \sum_i \frac{Z_{\alpha} e^2}{r_{i\alpha}} + \sum_i \sum_{j > i} \frac{e^2}{r_{ij}} \quad (14)$$

Burada  $i$  ve  $j$  elektronları,  $\alpha$  ve  $\beta$  ise çekirdeği ifade etmektedir. İlk terim olan çekirdeğin kinetik enerji operatörünü göstermektedir. İkinci terim ise elektronun kinetik enerji operatörüdür. Üçüncü terim ise atom numarası  $Z_{\alpha}$  ve  $Z_{\beta}$  olan,  $\alpha$  ve  $\beta$  ise çekirdeği arasındaki uzaklığı  $r_{\alpha\beta}$  olan, çekirdek arasındaki itme potansiyel enerjisi olarak bilinir. Dördüncüsü olan terim ise  $i$  elektronu ve  $\alpha$  çekirdeği arasında uzaklığı olan  $r_{i\alpha}$ , çekirdek ve elektron arasındaki çekim potansiyel enerjisini gösterir. Son terim olan  $i$  ve  $j$  elektronları arasında  $r_{ij}$  uzaklığında olan elektronlar arasındaki itmeyi göstermektedir.

Çok atomlu bir molekül için, rölativistik olmayan tam elektronik olan Hamiltonian, Eşitlik 15’ deki gibi ifade edilir.

$$\hat{H}_{el} = -\frac{\hbar^2}{2m_e} \sum_i \nabla_i^2 - \sum_i \sum_{\alpha} \frac{Z_{\alpha} e'^2}{r_{i\alpha}} + \sum_i \sum_{j>i} \frac{e'^2}{r_{ij}} \quad (15)$$

ve atomik birimlerle aşağıdaki denklem şeklinde yazılır.

$$\hat{H}_{el} = -\frac{1}{2} \sum_i \nabla_i^2 - \sum_i \sum_{\alpha} \frac{Z_{\alpha}}{r_{i\alpha}} + \sum_i \sum_{j>i} \frac{1}{r_{ij}} \quad (16)$$

$n$  elektronlu molekülün elektronik dalga fonksiyonu,  $n$  spin koordinatları ve  $3n$  uzay koordinatlarına bağlıdır. Bir ve iki elektronlu uzaysal terimleri ihtiva eden Hamiltonian operatörü ( $\hat{H}$ ), moleküler enerjisi sadece altı tane uzaysal koordinatı içeren terimlerle yazılabilmektedir. Bir anlamda çok elektronlu molekülün dalga fonksiyonu ( $\Psi$ ), ihtiyaç duyulandan daha fazla bilgi ihtiva ettiğinden dolayı, fiziksel bir önemi yoktur. Bu durum, enerji ve diğer özellikleri hesaplamak için, kullanılabilen ve dalga fonksiyonundan daha az değişkenler içeren fonksiyonların araştırılmasına neden olmaktadır.

Kohn-Sham formülüne göre verilen Eşitlik 17' teki Coulomb enerjisi, bir sitemin toplam enerjisi; kinetik enerjisi, sistemdeki bütün yüklü parçacıklar arasındaki klasik elektrostatik etkileşiminden kaynaklanır. Bütün çok parçalı etkileşimleri olarak bilinen değiş-tokuş korelasyon (XC) enerjisi olarak bilinir.

$$E = E_T + E_V + E_J + E_{XC} \quad (17)$$

DFT' nin Hartree-Fock (HF) metoduyla ortak yönleri mevcuttur. DFT'de toplam elektron yoğunluğu, bir elektronlu dalga fonksiyonlardan meydana gelen bir elektronlu yoğunluklara ayrıştırılmaktadır. Bu bir elektronlu dalga fonksiyonları, HF teorisinin dalga fonksiyonlarına benzer ve moleküler sistemler için DFT, HF yaklaşımına kıyasla bir moleküler orbital (MO) tanımlayıcı gerektirmektedir (Dimoglo ve Kandemirli, 2007).

#### 1.2.2.4.3. B3LYP Karma Yoğunluk Fonksiyonu Teorisi

Dalga mekaniğine dayanan HF teorisi, değiş-tokuş korelasyon için iyi sonuç vermez fakat kinetik enerji için uygundur. İlgileşim ve değiş-tokuş enerjileri DFT

modelleri ile daha iyi hesaplanır. Böylece tam enerji ifadesi için saf DFT ve saf HF modelleri yerine, her ikisinin enerji ifadelerinin, toplam elektronik enerji ifadesinde kullanılmaları sonucu karma modeller oluşmuştur. Bu modeller bağ uzunlukları, iyonizasyon enerjileri ve toplam enerjileri gibi birçok büyüklükleri saf modellerden daha iyi hesaplanmaktadır (Becke, 1993; Cramer, 2004).

#### 1.2.2.4.4. Gaussian 09 ve Gaussian View Programları

Bir moleküler ile ilgili olan kuvvet alanları, moleküler geometri, HOMO, LUMO IR, NMR şiddetleri gibi değerleri kuantum kimyasal olarak hesaplamaya yarayan Gaussian 09 bir paket programıdır. Programda, ampirik, yarı-ampirik ve ab-initio metotlar kullanılarak hesaplamalar yapılır. Herhangi bir molekülün özelliklerinin görsel olarak tanımlanmasına ve bu değerler üzerinde değişiklik yapılabilmesine ve giriş verileri oluşturarak hesapların başlatılmasına imkân veren 'GaussView' programı da bu programla birlikte çalışılmaktadır.

GaussView programı, Gaussian programında çalışılmış bir molekül için hesaplanmış olan sonuçları görselleştirir. Hesaplama sonucunda elde edilen dalga sayıları ve kiplerin görselleşmesinde yararlanılan bir programdır. Program kullanılırken öncelikle bir teori düzeyi belirlemek gerekmektedir. Gaussian 09 programında pek çok teori düzeyi bulunmaktadır. Bunlardan en çok kullanılanları kısaltmaları ile birlikte aşağıda verilmektedir.

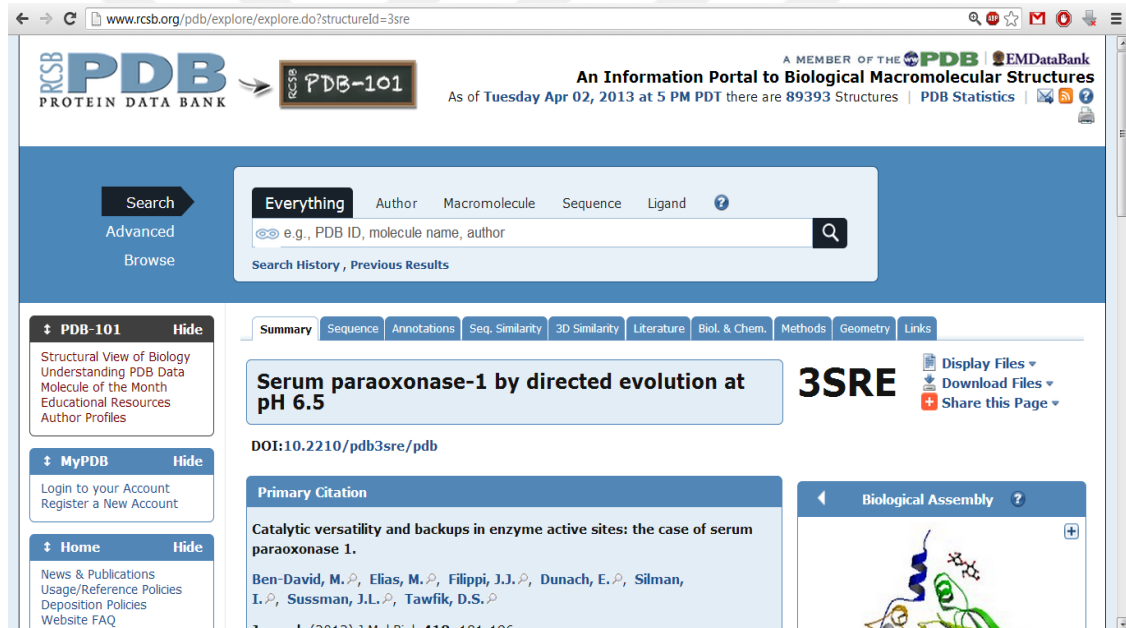
<b>Kısaltma</b>	<b>Metod</b>
HF	Hartree Fock Öz Uyumlu Alan Teorisi
B3LYP	Becke tipi 3 parametrelili Yoğunluk Fonksiyon Teorisi
MP2	2. derece Moller Plesset Pertürbasyon Teorisi
MP4	4. derece Moller Plesset Pertürbasyon Teorisi
QCISD(T)	2. derece Konfigurasyon Etkileşmesi



### 1.2.2.5. Protein Veri Tabanı

Protein veri tabanı (PDB) nükleik asit ve proteinler gibi biyolojik makro moleküllerin 3-boyutlu yapıların bulunduğu zengin bir kaynaktır. PDB yer alan bilgilerin kaynağını NMR (Nükleer Manyetik Rezonans) spektroskopisi veya X-ışını kristalografi sürecinin tüm yönleri ile geliştirilmesini sağlamaktadır. PDB toplamda 8858 NMR karakterli yapı ve 63306 X-ışını içermektedir (URL-3).

Biyologların ve biyokimyacıların sunduğu yapı bilgilerine eğitimciler, araştırmacılar ve öğrenciler dünyanın dört bir yanından (URL-6) adlı web sitesinden erişilebilmektedir. Şekil 11’de protein veri tabanı web sitesinin görünümü yer almaktadır.



Şekil 11. Protein veri tabanı web sitesi görünümü (URL-6)

Protein Data Bank'ta yer alan makromoleküller \*.pdb uzantısına sahip biçimde bulunur ve \*.pdb dosyalarını tanımlamak için dört adet karakter kullanılmaktadır. 1T69, bu tanımlamaya bir örnek olarak tezde kullanmış olup, her molekül için ilk karakter rakamdan meydana gelmektedir. Protein veri tabanındaki yapılar \*.pdb formatında bulunmaktadır. Bu format makromoleküller olan proteinin atomik koordinatları, birincil ve ikincil yapı bilgileri, kristalografik yapı faktörleri ve NMR bilgilerini içermektedir. İlaç tasarımında kullanılan programların birçoğunda \*.pdb formatında tanınmaktadır.

### 1.2.2.6. Hidroksamik Asit Kenetlenme Çalışmaları Literatür Özeti

Histon deasetilaz (HDAC) inhibitörleri, son yıllarda umut verici anti-kanser maddeler haline gelmiştir. Bunlar anjiyogenez (fizyolojik bir süreç olup, mevcut olan damarlardan filizlenme yolu ile yeni damarların oluşması, gelişmesi anlamına gelir) ve hücre bölünmesinin yanı sıra, apoptoz (vücutta ihtiyaç duyulmayan veya anormalleşmiş hücrelerden kurtulmanın normal yoludur) ve farklılaşmayı indükleyici etkilerin olduğu göstermiştir.

Histon deasetilaz (HDAC) inhibisyonunun klinik kutanöz (deri) T hücresi lenfoma tedavisi için FDA (Food and Drug Administration) tarafından onaylı SAHA (suberoilanilid hidroksamik), asit kanser tedavisi için yeni bir tedavi edici stratejisi olarak doğrulanmıştır. Yoğun araştırma faaliyetleri HDAC inhibitörleri farmakokinetik ve tedavi edici indeksleri geliştirilmesine yönelik ilaçlar laboratuvarlarda devam etmektedir. HDAC inhibitörleri için klasik farmakofor yapıları üç ayrı motiften oluşmaktadır (Chen vd., 2008).

## **2. YAPILAN ÇALIŞMALAR**

### **2.1. Materyaller ve Metodlar**

Bu yüksek lisans tezinde literatürden alınan 59 adet hidroksamik asit türevi bileşiklerin HDAC8 proteinine (pdb kodu: 1T64, 1T67, 1T69, 4RN0, 1W22 ve 1VKG) bağlanma özelliklerini araştırmak için, AutoDock Vina-1.5.6 ve Schrödinger Suite programı kullanılarak moleküler kenetleme (docking) çalışmaları yapılmıştır.

#### **2.1.1. Kullanılan Docking Programları**

Moleküler kenetlenme işlemini gerçekleştirebilmek için birçok yazılım bulunmaktadır. Kullanılan yazılımlar aşağıda yer almaktadır.

##### **2.1.1.1. Autodock**

Autodock yazılımı, 3 boyutlu yapıya sahip reseptörlere küçük moleküllerin bağlanması ile ilgili tahminde bulunan bir yazılımdır. Yazılıma (URL-2) Autodock akademik kullanım için ücretsiz bir yazılımdır.

##### **2.1.1.2. Gaussian**

Enerji, moleküler yapı ve moleküler sistemlerin titreşimsel frekanslarını temel hesaplama çeşitlerini baz alarak tahmin edebilen Gaussian yazılımdır. Moleküllerin, reaksiyonların ve deneysel olarak gözlenmesi mümkün olmayan ya da zor olan kısa ömürlü geçiş moleküllerinin anlaşılmasında kullanılabilir. Gaussian akademik kullanım için, ücretli bir yazılımdır. Lisans bilgilerine (URL-5) adresinden ulaşılabilir.

### 2.1.1.3. Autodock Vina

Moleküler kenetlenme, ilaç keşfi ve sanal tarama için kullanılan çoklu çekirdek kapasite seçeneği sunabilen yüksek performans ile geliştirilmiş doğruluğa sahip ve kolay kullanımı olan bir yazılımdır. Autodock Vina Dr.Oleg Trott tarafından tasarlanmış ve geliştirilmiştir. Akademik kullanım için ücretsiz yazılım olup (URL-4) adresinden yazılıma erişilebilir.

Autodock için geliştirilen yardımcı yazılımlar ile kenetlenme yapabilecek bölgeyi belirleme, dosya hazırlama ve sonuçları inceleme açısından vina yazılımında kullanım kolaylığı sağlanmış olur. Ayrıca, grid haritaları için manuel olarak atom tiplerinin seçimi ile grid harita dosyalarının AutoGrid ile hesaplanması ve kenetlenme sonrasında sonuçların küme şeklinde toplanmasına gerek yoktur; çünkü Vina bunları kendisi otomatik olarak kendisi yapar. Kullanıcıyı maruz bırakmadan sonuçlarını da kendisi gruplandırır (Trott ve Olson, 2010).

Windows XP ve sonraki versiyonlarda Autodock Vina kullanılabilir. Fakat Autodock Vina programı Windows ortamında çalıştırabilmek için Cygwin isimli bir simülasyon programı gerekmektedir. Linux ve Mac platformlarında da Autodock Vina kullanılabilir.

AutoDock, protein ve nükleik asitten oluşan biyomoleküllerin x-ray yapılarından temin edilmiş veya bilgisayar destekli programlarla hazırlanmış pdb formatlarıyla inhibitörlerin etkileşimlerini yarı deneysel serbest enerji kuvvet alanlarını kullanarak konformasyonların enerjilerini hesaplayan yani iki molekül arasında birleşme veya bağlanma afinitesi dayanıklılığını tahmin etmek için kullanılan bir moleküler doking programıdır. AutoDock hesaplamalarında sırasıyla;

1. AutoDockTools kullanılarak koordinat dosyaları hazırlanır.
2. AutoGrid kullanılarak küçük molekülün afinitesi ve inhibisyon aktivitesi belirlenmesi için ön hesaplama yapılır.
3. AutoDock ile doking gerçekleştirilir.
4. AutoDockTools ile sonuçların analizleri gerçekleştirilir.

## 2.1.2. Çalışma Aşamaları

Tez çalışması iki aşamada gerçekleştirilmiş olup ilk olarak deneysel inhibisyon aktivitesi belirlenmiş 59 adet molekül literatürden alındı ve bu moleküllerin üç boyutlu yapıları bilgisayar ortamına aktarıldı. Bu moleküllerin optimum geometrileri Gaussian programı vasıtasıyla belirlendi ve bazı kuantum kimyasal parametreleri hesaplandı. Bu parametrelerin inhibisyon aktivite ile ilişkisi incelendi. İkinci kısımda ise HDAC8 ile ilgili mevcut X-ışını kristal yapıları arasından literatürde en çok kullanılanları belirlendi ve bu proteinlere ait üç boyutlu yapılar Protein Databank' tan indirildi. İnhibisyon aktivitesi belirlenmiş ligant moleküllerinin bu proteinlere bağlanma özellikleri moleküler kenetlenme yöntemiyle incelendi.

## 2.1.3. Girdilerin Hazırlanması ve Hesaplamaları

### 2.1.3.1. Ligandın Hazırlanması

4 farklı literatür kaynağından alınan (Thomas vd., 2003; Patrick vd., 2005; Nagaoka vd., 2006; Chen vd., 2008) 59 tane hidraksamik asit türevlerinin Gaussian programları kullanılarak 3-boyutlu yapısı çizildi. DFT (Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi) çoklu bağ sistemlerinin elektronik yapısını incelemek için kullanılan kuantum mekanik modelleme metodları arasında yer alır. Ligand molekülleri, DFT'ye uygulanan hibrid fonksiyonel yaklaşımlardan olan B3LYP fonksiyoneli ve 6-311G(d,p) temel seti kullanılarak Gaussian09 programında optimize edildi. Optimizasyon işlemi tamamlandıktan sonra ligand yapısı Gaussian'da \*.pdb formatında kaydedildi. Ardından ligand yapısı AutoDockTools-1.5.6 kullanılarak açıldı ve sonrasında aromatik karbonları ile dönebilen bağları tanımlandı. Son olarak \*.pdbqt formatında kaydedilmesiyle moleküler kenetlenme işlemine hazırlanma süreci sona erdi.

Benzer şekilde, \*.pdb formatındaki ligand molekülleri Schrödinger programının Maestro arayüzünde açıldı ve Ligand Preparation modülü ile default değerler kullanılarak doking işlemine hazırlandı. Burada herbir molekül için konformasyon sayısı 10 olarak seçilirken, protonasyon düzeyleri için pH 7 olarak belirlendi.

Optimum geometriler üzerinden ligand moleküllerinin kuantum kimyasal parametreleri Eşitlik 2-8' e göre hesaplandı ve M.S. Excel ortamına işlendi. Bu parametreler ile inhibisyon aktivite değerleri arasında doğrusal bir ilişki olup olmadığı araştırıldı.

### **2.1.3.2. Proteinlerin Hazırlanması**

Docking çalışmasında kullanacağımız HDAC8 A, HDAC8 B, HDAC8 C, HDAC8 D, HDAC8 E ve HDAC8 F enzimlerin hazırlanma işlemi, inhibitörlere nazaran daha zor ve bilgisayar hesabı açısından daha uzun bir süreç almıştır. Enzimlerin \*.pdb formatındaki kristal yapıları PDB (Protein Data Bank) protein veri bankasını sitesinden temin edildi. HDAC A enzimi **1T69** (2,91 Angstrom çözünürlüklü), HDAC8 B enzimi **1W22** (2,5 Angstrom çözünürlüklü), HDAC8 C enzimi **1T67** (2,31 Angstrom çözünürlüklü), HDAC8 D enzimi **1WKG** (2,2 Angstrom çözünürlüklü), HDAC8 E enzimi **1T64** (1,9 Angstrom çözünürlüklü), HDAC8 F içinse (1,76 Angstrom çözünürlüklü) **4RN0** pdb kodlu kristal yapıları diğer kristal yapıları arasından çözünürlüklerinin düşüklüklerinden ve bilinen ilaçlarla olan etkileşim yapıları mevcut olduğundan tercih edildi. Ardından protein yapısı AutoDockTools-1.5.6 kullanılarak açıldı, yapıdaki su molekülleri program yardımıyla uzaklaştırıldı ve polar hidrojenler eklendi. Enzim aktif bölgesi için grid dosyası hazırlandı ve son olarak \*.pdbqt formatında kaydedilmesiyle enzimlerin moleküler kenetlenme işlemine hazırlanma süreci sona erdi.

### **2.1.3.3. Grid Parametre Dosyasının Hazırlanması**

Küçük moleküllerinin (ligand) ve makromolekül (protein) yapısı \*.pdbqt formatında hazırlandıktan sonra Autodock Vina programının moleküler kenetlenme işlemine başlayabilmesi için gerekli olan konfigürasyon dosyasında protein, ligand, ligand sonuç konformasyonları, grid kutusundaki nokta sayısı (x, y ve z koordinatlarında) ve merkez grid kutusu (x, y ve z koordinatlarında) tanımlandı.

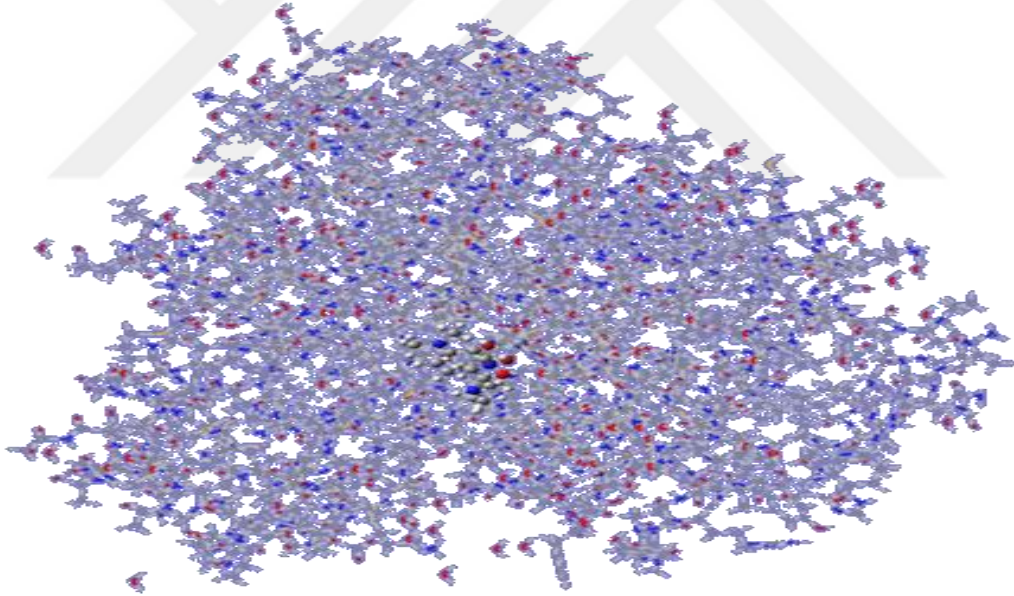
Bu değerlere göre grid kutusu protein ve ligand arasında karakteristik bağlanma olasılıklarının hesaplandığı bölgedir. Bu bölgede en düşük enerjili ve en yüksek afinite olan bağlanmalar gözlenecektir.

#### 2.1.3.4. HDAC8 Giriş Yapılarının Hazırlanması

HDAC8 bölgesinin hedef olarak seçilmiş olan 1T64, 1T67, 1T69, 4RN0, 1WKG ve 1W22 yapılarının moleküler kenetlenme işlemine hazırlık aşamaları birkaç basamakta gerçekleştirildi.

##### 2.1.3.4.1. 1T67 enzim yapısının hazırlanması

HDAC8 yapılarından olan 1T67 enziminin aktif hidrofobik bölgesini açığa çıkarmak için yapıdaki su molekülleri AutoDockTools programı yardımıyla uzaklaştırıldı ve polar olan hidrojenler eklendi ve sonra makromolekül \*.pdbqt formatında kaydedildi (Şekil 12).

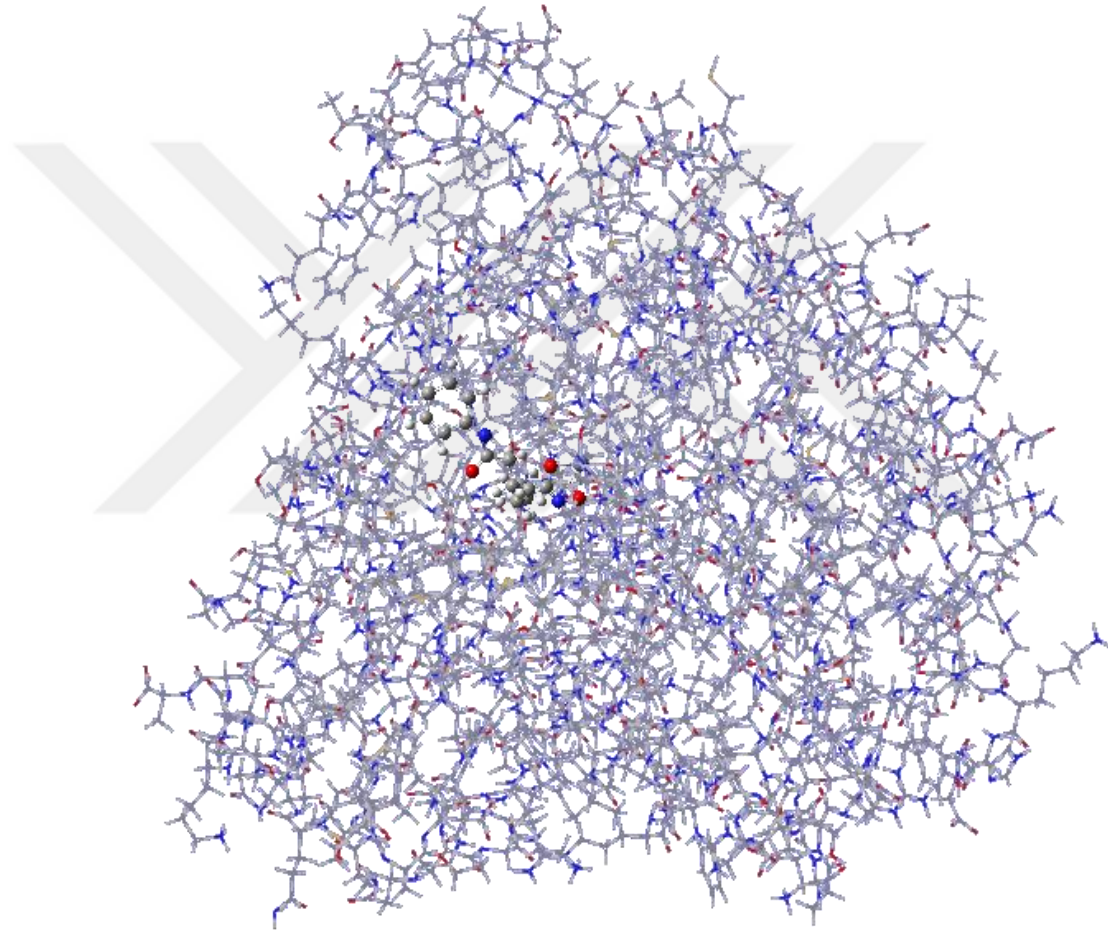


**Şekil 12.** 1T67 enzim yapısının Gaussian programında görünümü

Kenetlenme bölgesini tanımlamak için hedef molekül üzerinde grid kutusu boyutları nokta sayısı 40x40x40 Å (x, y ve z kartezyen koordinatlarında) olarak ve merkez koordinatları enzimle birlikte kristallendirilmiş inhibitör üzerinde bulunan herhangi bir atom seçilerek belirlendi. 1T67 enzimi için, x koordinatları 50,215, y koordinatları -3,139 ve z koordinatları 28,025 olarak belirlendi (Şekil 12).

#### 2.1.3.4.2. 1T69 enzim yapısının hazırlanması

HDAC8 yapılarından olan 1T69 enziminin aktif hidrofobik bölgesini açığa çıkarmak için yapıdaki su molekülleri AutoDockTools programı yardımıyla uzaklaştırıldı ve polar hidrojenler eklendi ve sonra makromolekül \*.pdbqt formatında kaydedildi (Şekil 13).



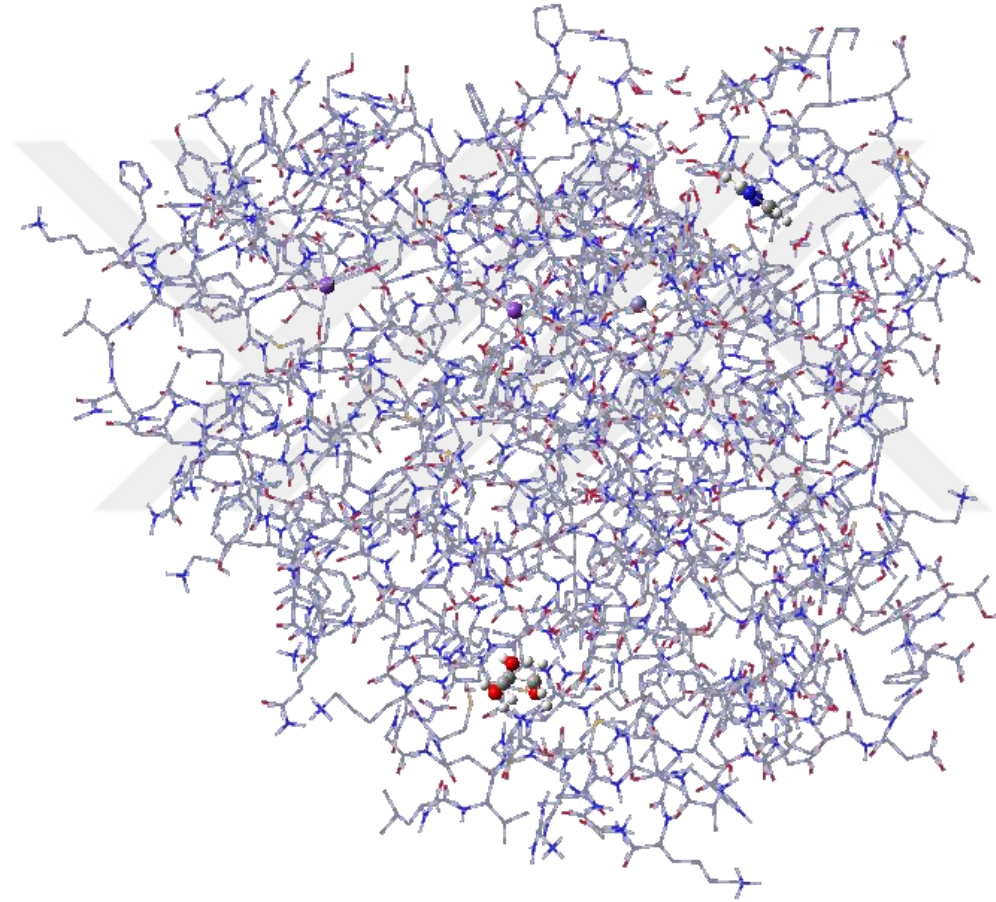
**Şekil 13.** 1T69 enzim yapısının Gaussian programında görünümü

Kenetlenme bölgesini tanımlamak için hedef molekül üzerinde grid kutusu boyutları nokta sayısı 40x40x40 Å (x, y ve z kartezyen koordinatlarında) olarak ve merkez koordinatları enzimle birlikte kristallendirilmiş inhibitör üzerinde bulunan herhangi bir atom seçilerek belirlendi. 1T69 enzimi için x koordinatları 30,712, y koordinatları -1,244 ve z koordinatları -19,373 olarak belirlendi (Şekil 13).



#### 2.1.3.4.3. 4RN0 enzim yapısının hazırlanması

HDAC8 yapılarından olan 4RN0 enziminin aktif bölgesini açığa çıkarmak için yapıdaki su molekülleri AutoDockTools programı yardımıyla uzaklaştırıldı ve polar hidrojenler eklendi ve sonra makromolekül \*.pdbqt formatında kaydedildi (Şekil 14).

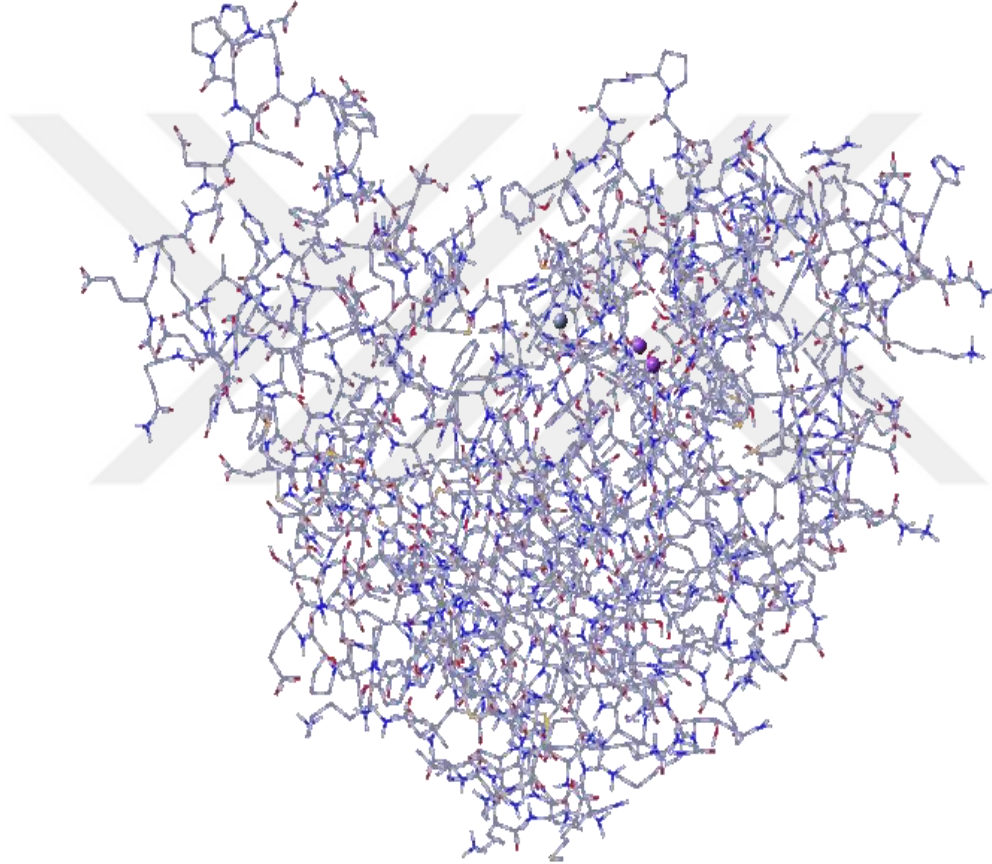


**Şekil 14.** 4RN0 enzim yapısının Gaussian programında görünümü

Kenetlenme bölgesini tanımlamak için hedef molekül üzerinde grid kutusu boyutları nokta sayısı 40x40x40 Å (x, y ve z kartezyen koordinatlarında) olarak ve merkez koordinatları enzimle birlikte kristallendirilmiş inhibitör üzerinde bulunan herhangi bir atom seçilerek belirlendi. 4RN0 enzimi için, x koordinatları -20,896, y koordinatları -8,915 ve z koordinatları -41,826 olarak belirlendi (Şekil 14).

#### 2.1.3.4.4. 1W22 enzim yapısının hazırlanması

HDAC8 yapılarından olan 1W22 enziminin aktif hidrofobik bölgesini açığa çıkarmak için yapıdaki su molekülleri AutoDockTools programı yardımıyla uzaklaştırıldı ve polar olan hidrojenler eklendi ve sonra makromolekül \*.pdbqt formatında kaydedildi (Şekil 15).

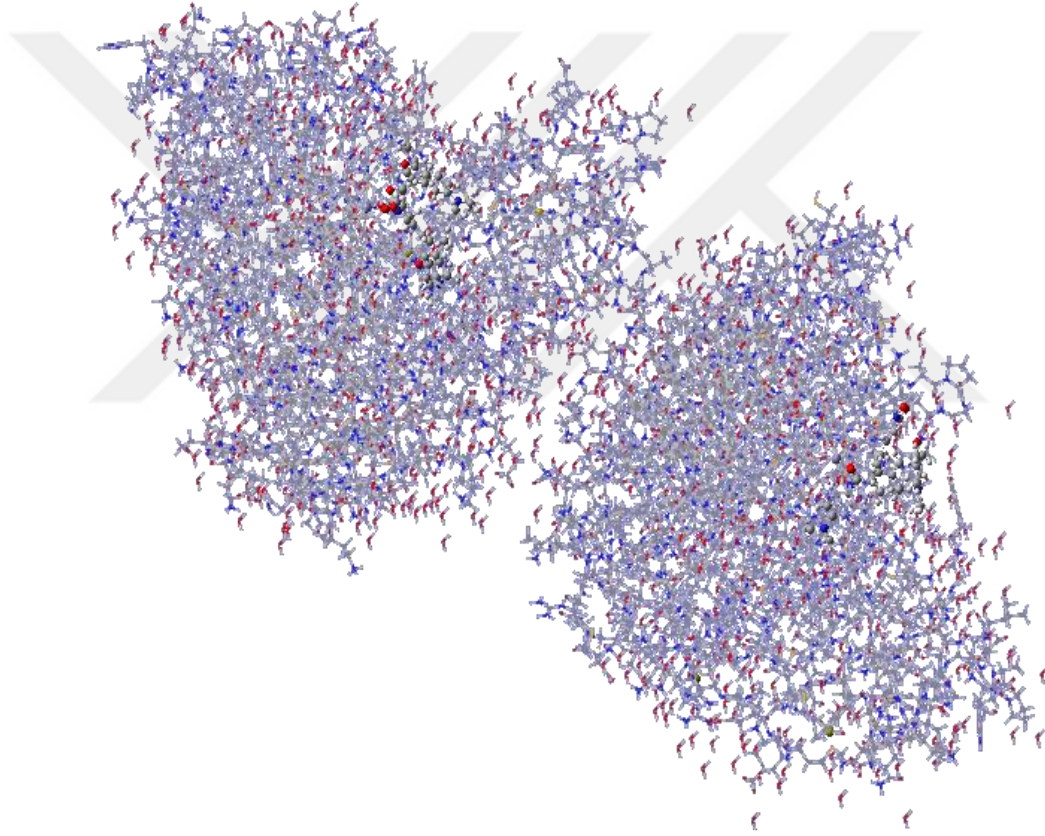


**Şekil 15.** 1W22 enzim yapısının Gaussian programında görünümü

Kenetlenme bölgesini tanımlamak için hedef molekül üzerinde grid kutusu boyutları nokta sayısı 40x40x40 Å (x, y ve z kartezyen koordinatlarında) olarak ve merkez koordinatları enzimle birlikte kristallendirilmiş inhibitör üzerinde bulunan herhangi bir atom seçilerek belirlendi. 1W22 enzimi için, x koordinatları 4,204, y koordinatları 18,650 ve z koordinatları 19,024 olarak belirlendi (Şekil 15).

#### 2.1.3.4.5. 1T64 enzim yapısının hazırlanması

HDAC8 yapılarından olan 1T64 enziminin aktif hidrofobik bölgesini açığa çıkarmak için yapıdaki su molekülleri AutoDockTools programı yardımıyla uzaklaştırıldı ve polar olan hidrojenler eklendi ve sonra makromolekül \*.pdbqt formatında kaydedildi (Şekil 16).

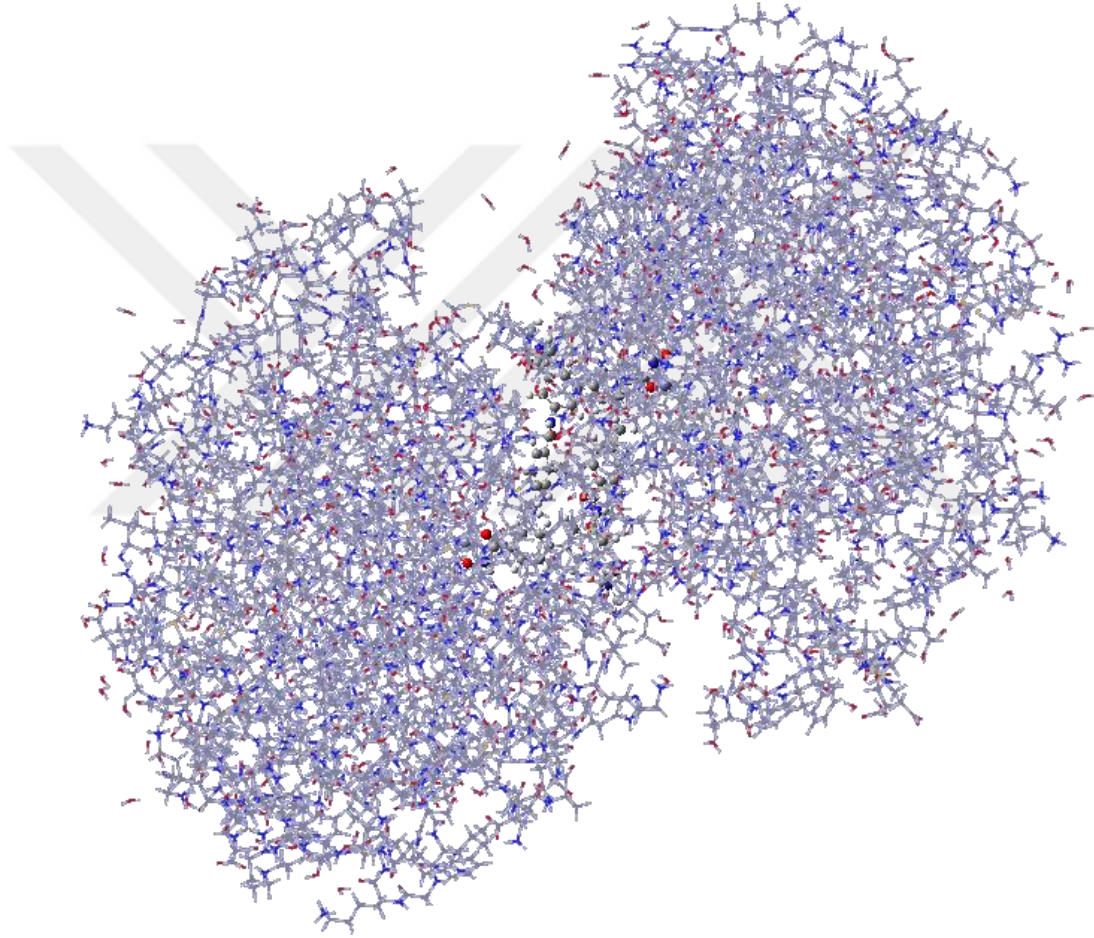


**Şekil 16.** 1T64 enzim yapısının Gaussian programında görünümü

Kenetlenme bölgesini tanımlamak için hedef molekül üzerinde grid kutusu boyutları nokta sayısı 40x40x40 Å (x, y ve z kartezyen koordinatlarında) olarak ve merkez koordinatları enzimle birlikte kristallendirilmiş inhibitör üzerinde bulunan herhangi bir atom seçilerek belirlendi. 1T64 enzimi için, x koordinatları 108,773, y koordinatları 58,020 ve z koordinatları 30,179 olarak belirlendi (Şekil 16).

#### 2.1.3.4.6. 1VKG enzim yapısının hazırlanması

HDAC8 yapılarından olan 1VKG enziminin aktif hidrofobik bölgesini açığa çıkarmak için yapıdaki su molekülleri AutoDockTools programı yardımıyla uzaklaştırıldı ve polar olan hidrojenler eklendi ve sonra makromolekül \*.pdbqt formatında kaydedildi (Şekil 17).



**Şekil 17.** 1VKG enzim yapısının Gaussian programında görünümü

Kenetlenme bölgesini tanımlamak için hedef molekül üzerinde grid kutusu boyutları nokta sayısı 40x40x40 Å (x, y ve z kartezyen koordinatlarında) olarak ve merkez koordinatları enzimle birlikte kristallendirilmiş inhibitör üzerinde bulunan herhangi bir atom seçilerek belirlendi. 1VKG enzimi için, x koordinatları 9,504, y koordinatları 64,405 ve z koordinatları 79,666 olarak belirlendi (Şekil 17).

### 3. BULGULAR

4 farklı literatür kaynağından alınan (Thomas vd., 2003; Patrick vd., 2005; Nagaoka vd., 2006; Chen vd., 2008) 59 tane hidraksamik asit türevlerinin pIC50 değerleri HDAC çalışmasından derlenmiştir.

Bu çalışmada inhibisyon aktiviteleri daha önceden belirlenmiş 59 adet hidroksamik asit türevi bileşiklerin Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi (DFT) olan B3LYP fonksiyoneli ve 6-311G(d,p) temel seti kullanılarak Gaussian09 programında optimize edildi. Optimizasyon işlemi tamamlandıktan sonra, tez çalışması iki aşamada gerçekleştirilecek olup, ilk olarak bu bileşiklere ait kuantum kimyasal tanımlayıcılar hesaplanmış bu parametreler ile deneysel inhibisyon aktiviteler arasında bir ilişki olup olmadığına bakıldı. Hesaplanan kuantum kimyasal tanımlayıcılar **Tablo 2**'de verildi.

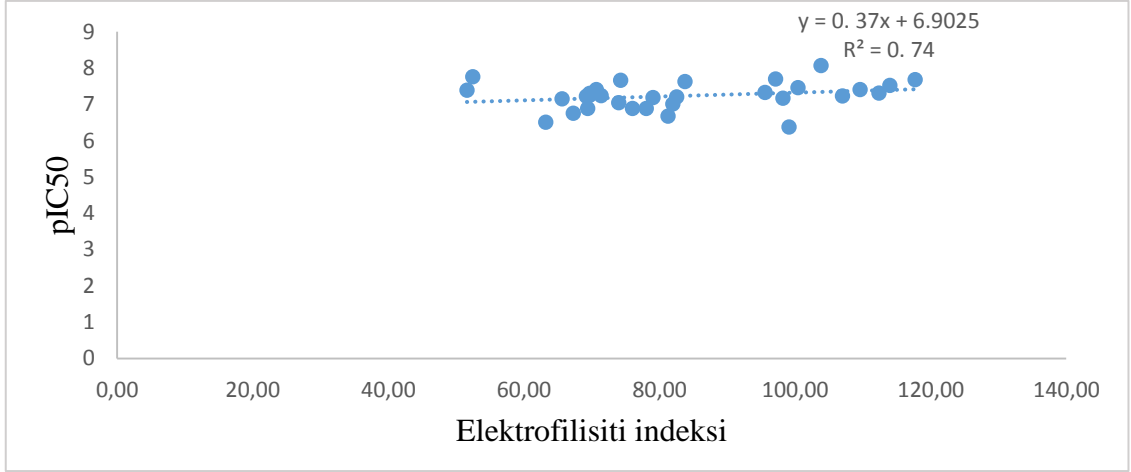
Birçok parametre ile doğrusal bir ilişki olmamasına rağmen Elektrofilisiti indeksi ile pIC50 arasında doğrusal bir ilişki olduğu görülmüş ve pIC50 değerine karşı Elektrofilisiti indeksi **Şekil 18**'de grafiğe geçirilmiştir.

**Tablo 2.** Ligant moleküllerinin kuantum kimyasal parametreleri

No	LUMO(ev)	HOMO(ev)	Etotal(ev)	EA	IP	X	$\eta$	S	$\mu$	$\omega$	Egap	Deneysel(IC50)
1	-2,09	-6,58	-46493,52	0,08	0,24	0,16	0,08	12,11	-4,34	113,88	4,49	8,00
2	-2,09	-6,64	-47563,54	0,08	0,24	0,16	0,08	11,95	-4,37	113,96	4,55	30,00
3	-2,06	-6,60	-48633,49	0,08	0,24	0,16	0,08	11,99	-4,33	112,36	4,54	49,00
4	-1,95	-6,57	-48633,69	0,07	0,24	0,16	0,08	11,78	-4,26	107,00	4,62	59,00
6	-2,00	-6,68	-48633,94	0,07	0,25	0,16	0,09	11,62	-4,34	109,58	4,68	39,00
7	-2,16	-6,28	-47127,00	0,08	0,23	0,16	0,08	13,22	-4,22	117,72	4,12	21,00
9	-1,82	-6,49	-31700,33	0,07	0,24	0,15	0,09	11,65	-4,15	100,40	4,67	35,00
10	-1,79	-6,47	-27518,66	0,07	0,24	0,15	0,09	11,62	-4,13	99,07	4,68	420,00
11	-1,76	-6,13	-31264,06	0,06	0,23	0,15	0,08	12,46	-3,95	97,11	4,37	20,00
12	-1,70	-5,94	-32213,73	0,06	0,22	0,14	0,08	12,85	-3,82	93,73	4,23	110,00
13	-1,46	-5,76	-31733,17	0,05	0,21	0,13	0,08	12,67	-3,61	82,56	4,30	520,00
15	-1,37	-6,12	-32831,66	0,05	0,22	0,14	0,09	11,46	-3,75	80,35	4,75	3700,00
16	-1,21	-5,71	-37482,78	0,04	0,21	0,13	0,08	12,08	-3,46	72,35	4,50	2400,00
17	-1,41	-5,97	-37963,24	0,05	0,22	0,14	0,08	11,94	-3,69	81,39	4,56	1800,00
18	-1,50	-6,19	-38234,00	0,06	0,23	0,14	0,09	11,60	-3,85	85,86	4,69	3132,00
19	-1,34	-6,09	-35948,92	0,05	0,22	0,14	0,09	11,45	-3,71	78,87	4,75	4987,00
21	-1,10	-6,34	-23800,56	0,04	0,23	0,14	0,10	10,38	-3,72	71,79	5,24	445,50
22	-1,09	-6,32	-24870,63	0,04	0,23	0,14	0,10	10,40	-3,71	71,39	5,23	57,51
23	-1,07	-6,31	-25940,73	0,04	0,23	0,14	0,10	10,38	-3,69	70,66	5,24	38,88
24	-0,69	-5,20	-28517,07	0,03	0,19	0,11	0,08	12,07	-2,95	52,42	4,51	17,42
25	-0,67	-5,19	-29587,17	0,02	0,19	0,11	0,08	12,02	-2,93	51,59	4,53	40,91
26	-1,34	-6,64	-25307,12	0,05	0,24	0,15	0,10	10,28	-3,99	81,85	5,29	1163,16
27	-1,58	-6,93	-25307,12	0,06	0,25	0,16	0,10	10,16	-4,26	92,08	5,35	455,63
28	-1,38	-6,57	-25307,26	0,05	0,24	0,15	0,10	10,49	-3,97	82,66	5,19	273,78
29	-1,36	-6,55	-26377,36	0,05	0,24	0,15	0,10	10,49	-3,95	81,97	5,19	96,80
30	-1,00	-6,13	-25940,79	0,04	0,23	0,13	0,09	10,61	-3,56	67,27	5,13	175,77

**Tablo 2 (devam).** Ligant moleküllerinin kuantum kimyasal parametreleri

No	LUMO(ev)	HOMO(ev)	Etotal(ev)	EA	IP	X	$\eta$	S	$\mu$	$\omega$	Egap	Deneysel(IC50)
31	-1,05	-6,22	-25940,79	0,04	0,23	0,13	0,10	10,52	-3,63	69,41	5,17	129,20
32	-0,91	-6,30	-25940,69	0,03	0,23	0,13	0,10	10,11	-3,60	65,60	5,38	70,47
33	-0,91	-5,83	-27987,88	0,03	0,21	0,12	0,09	11,05	-3,37	62,74	4,93	8,46
34	-1,08	-6,07	-27987,87	0,04	0,22	0,13	0,09	10,92	-3,57	69,66	4,99	56,30
35	-0,89	-6,00	-27987,90	0,03	0,22	0,13	0,09	10,65	-3,45	63,21	5,11	307,80
36	-0,56	-6,03	-31104,91	0,02	0,22	0,12	0,10	9,95	-3,29	53,95	5,47	1279,40
37	-1,26	-6,07	-33599,08	0,05	0,22	0,13	0,09	11,33	-3,66	75,99	4,81	128,39
38	-1,40	-6,04	-31159,55	0,05	0,22	0,14	0,09	11,72	-3,72	81,23	4,64	212,22
39	-1,20	-6,26	-31159,54	0,04	0,23	0,14	0,09	10,76	-3,73	74,94	5,06	7,70
40	-1,19	-6,25	-32229,63	0,04	0,23	0,14	0,09	10,75	-3,72	74,24	5,06	21,87
41	-1,01	-6,28	-31159,30	0,04	0,23	0,13	0,10	10,33	-3,64	68,54	5,27	658,53
42	-1,79	-6,37	-31596,00	0,07	0,23	0,15	0,08	11,88	-4,08	98,83	4,58	9,32
43	-1,78	-6,35	-32666,15	0,07	0,23	0,15	0,08	11,89	-4,06	98,19	4,58	67,23
44	-1,49	-5,62	-32169,67	0,05	0,21	0,13	0,08	13,18	-3,55	83,23	4,13	7,29
45	-1,47	-5,61	-33239,76	0,05	0,21	0,13	0,08	13,15	-3,54	82,54	4,14	61,97
46	-1,89	-6,39	-29489,14	0,07	0,23	0,15	0,08	12,10	-4,14	103,81	4,50	8,51
47	-1,91	-6,31	-29489,00	0,07	0,23	0,15	0,08	12,38	-4,11	104,59	4,40	613,58
50	-1,36	-6,97	-23972,12	0,05	0,26	0,15	0,10	9,69	-4,17	84,10	5,62	1609,60
51	-0,80	-6,25	-23371,47	0,03	0,23	0,13	0,10	10,00	-3,53	62,13	5,44	838,40
52	-1,46	-6,06	-27553,46	0,05	0,22	0,14	0,08	11,82	-3,76	83,73	4,60	23,36
54	-1,70	-6,57	-28093,62	0,06	0,24	0,15	0,09	11,17	-4,14	95,54	4,87	47,36
55	-1,07	-6,05	-27553,29	0,04	0,22	0,13	0,09	10,94	-3,56	69,21	4,98	60,00
56	-1,31	-6,11	-27553,22	0,05	0,22	0,14	0,09	11,34	-3,71	78,06	4,80	128,48
57	-1,07	-6,10	-27553,27	0,04	0,22	0,13	0,09	10,82	-3,59	69,67	5,03	50,24
58	-1,21	-6,03	-27553,29	0,04	0,22	0,13	0,09	11,28	-3,62	73,96	4,82	90,40
59	-1,34	-6,07	-27553,22	0,05	0,22	0,14	0,09	11,50	-3,71	79,02	4,73	65,60



Şekil 18. pIC50 değerlerine karşı Elektrofiliti indeksi değişim

### 3.1. AutoDock Vina ile Yapılan Hesaplamalar

HDAC ile ilgili literatürde en çok kullanılan mevcut X-ışını kristal yapıları 1T64, 1T67, 1T69, 4RN0, 1VKG ve 1W22 PDB kodlu enzimlerin ligand moleküllerine kenetlenme özellikleri incelenmiştir. Tüm ligand molekülleri bu enzim yapılarıyla ayrı ayrı kenetlenme işlemine tabi tutulmuştur. Deneysel inhibisyon aktivite değeri ile bağlanma enerjileri karşılaştırılmış ve sonuçları  $R^2$  olarak ifade edilmiştir.

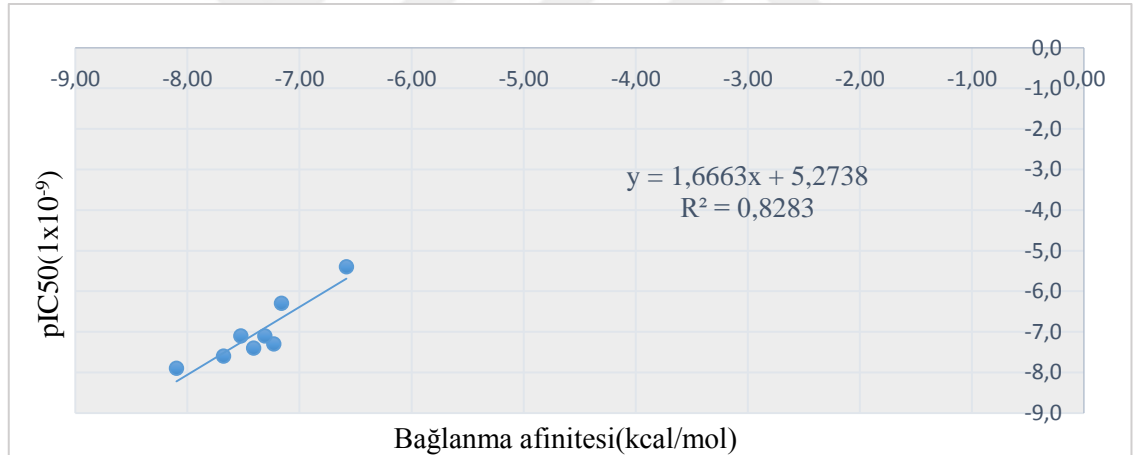
Tüm ligand molekülleri 4 farklı gruba ayrılarak incelenmiş ve herbir grup için deneysel inhibisyon aktivite-bağlanma affinitesi ilişkisi ( $R^2$  değeri) en iyi olan enzim ve ligant ayrıntılı olarak gösterilmiştir.



**Tablo 3.** 1, 2, 3, 4, 5, 6 ve 7 ligandının Autodock Vina ile hesaplanan bağlanma afiniteleri ve R<sup>2</sup> değeri

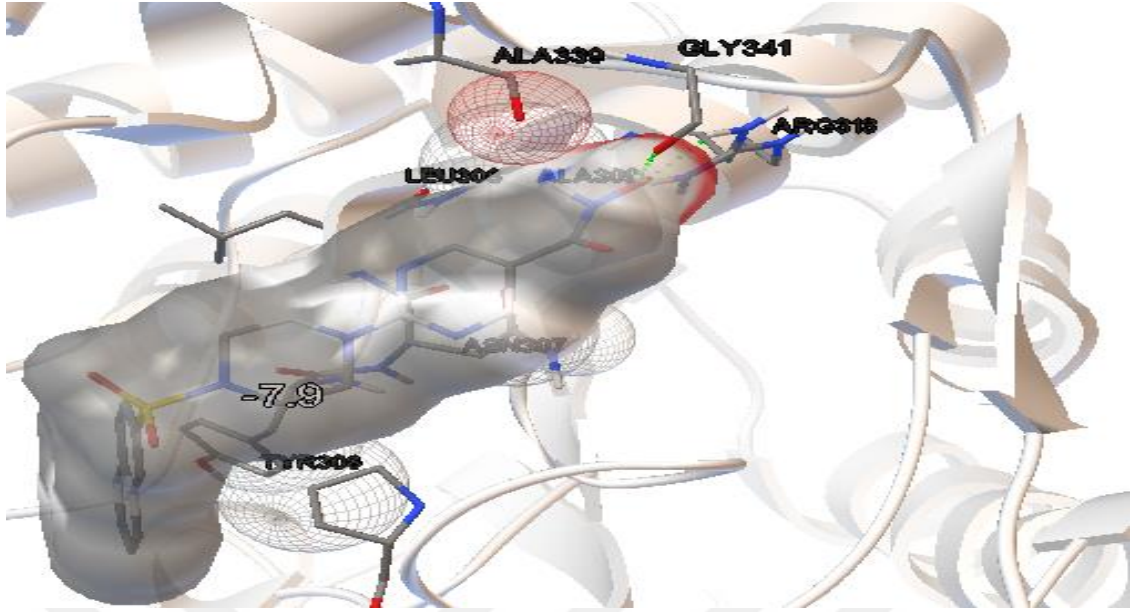
Molekül	pIC50(nM)	1T64	1T69	4RN0	1VKG	1W22	1T67
5	-7,16	-5,8	-6,3	-4,3	-9,1	-6,8	-6,1
4	-7,23	-6,8	-7,3	-5,2	-11,3	-7,9	-7,3
3	-7,31	-6,9	-7,1	-5,2	-11,0	-7,8	-7,2
1	-8,10	-7,3	<b>-7,9</b>	-5,2	-10,5	-8,1	-7,4
7	-7,68	-7,1	-7,6	-5,3	-11,0	-8,7	-7,5
2	-7,52	-6,9	-7,1	-5,1	-10,6	-8,1	-7,2
6	-7,41	-6,9	-7,4	-5,2	-10,9	-8,1	-7,3
SAHA	-6,58	-5,0	-5,4	-3,6	-7,5	-5,7	-5,4
R <sup>2</sup> değeri		0,7791	<b>0,8283</b>	0,6234	0,4684	0,6865	0,6653

1T69 kodlu enzim için pIC50 değerleri bağlanma afinitelerine karşı grafiğe geçirildiğinde elde edilen lineer doğrunun denklemi  $y=1,6663x+5,2738$  regresyon katsayısı  $R^2=0,8283$ 'dir (Şekil 19) (Tablo 3).



**Şekil 19.** 1T69 enzimine ait hesaplanmış pIC50 değerlerine karşı gözlenen bağlanma afinite değerleri arasındaki ilişki grafiği

**1T69** enzim yapısının aktif hidrofobik bölgesi ALA309 ile ASN307 aminoasitleri arasında bulunmaktadır. Bu konformasyon HDAC8' in aktif hidrofobik bölgesinin dışında yer alan THR306, ALA339, ARG313, GLY341, LEU308 ve PRO273 aminoasitleri ile çevrelenmiştir. AutoDock Tools programı ile yapılan incelemelerde **1** ligandının 1T69 enzimi HDAC8 yapısındaki ARG313 de hidrojen bağı tespit edildi. **1** ligandının karboksilik grubundaki oksijen ile ARG313' ün amino grubu arasında hidrojen bağı yapmaktadır. Bu etkileşimler üç boyutlu olarak görülmektedir (Şekil 20).

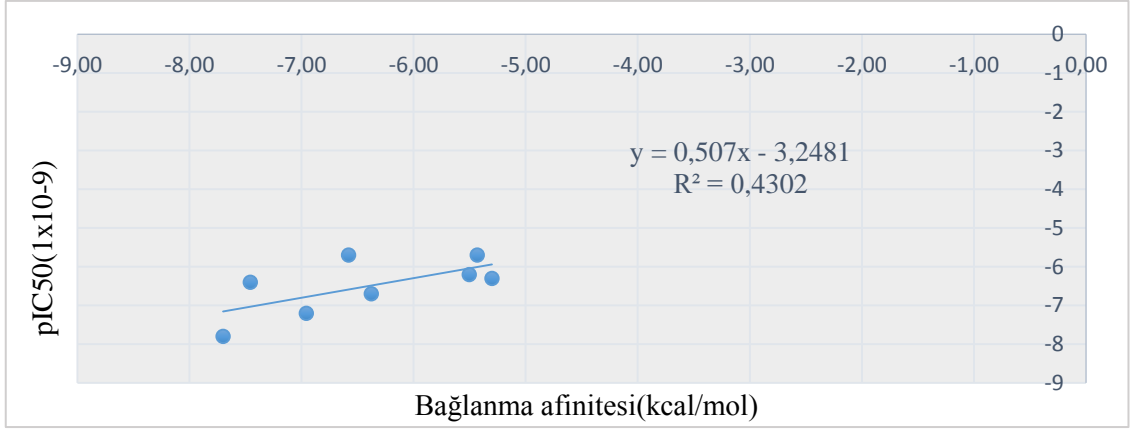


**Şekil 20.** 1 ile 1T69 enzim proteinine docking işlemi sonucunda elde edilen görüntüsü (karbon atomları gri, azot atomları mavi, oksijen atomları kırmızı, kükürt atomları sarı). \*Hidrojen bağları kesikli çizgilerle bahsedilmiştir.

**Tablo 4.** 9, 10, 11, 12, 15, 18 ve 19 ligandının Autodock Vina ile hesaplanan bağlanma afiniteleri ve  $R^2$  değeri

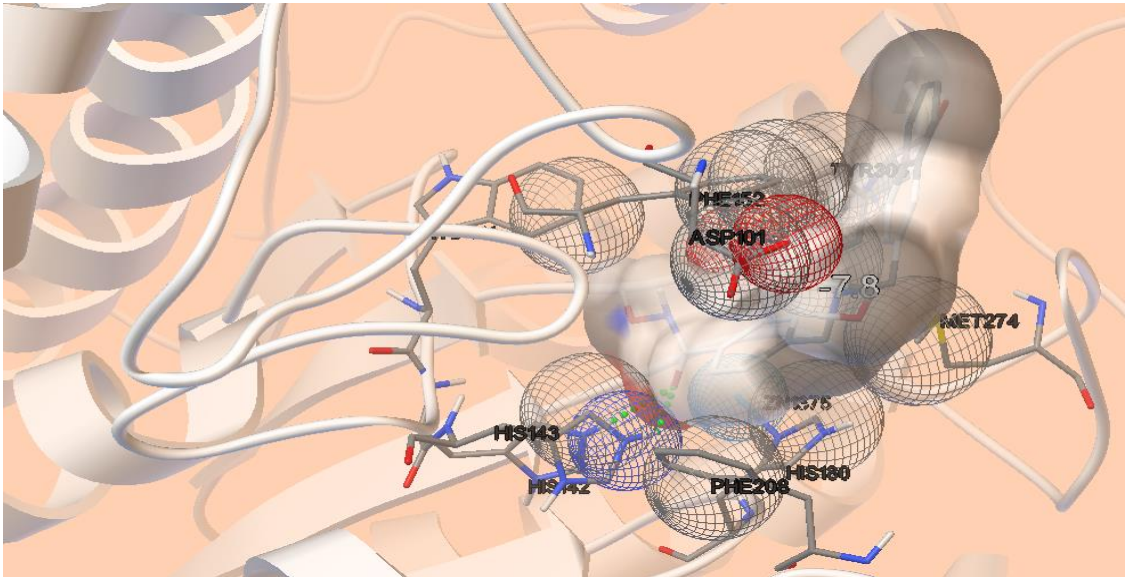
Molekül	pIC50(nM)	1T64	1T69	4RN0	1VKG	1W22	1T67
19	-5,30	-5,6	-5,7	-4,2	-9,0	-6,3	-5,8
15	-5,43	-5,7	-5,7	-4,0	-9,0	-5,7	-5,8
18	-5,50	-5,8	-5,9	-4,4	-9,5	-6,2	-6,1
11	-7,70	-6,7	-6,3	-5,3	-9,8	<b>-7,8</b>	-6,4
9	-7,46	-6,2	-6,1	-4,4	-9,2	-6,4	-6,1
12	-6,96	-5,8	-5,9	-4,7	-8,7	-7,2	-6,0
10	-6,38	-5,6	-5,4	-4,3	-7,8	-6,7	-5,4
SAHA	-6,58	-5,0	-5,4	-3,6	-7,5	-5,7	-5,4
$R^2$ değeri		0,3020	0,2718	0,3079	0,0063	<b>0,4302</b>	0,1448

1W22 kodlu enzimin bu ligant gurubu için pIC50 değerleri bağlanma afinitelerine karşı grafiğe geçirildiğinde elde edilen lineer doğrunun denklemi  $y=0,507x+3,2481$  regresyon katsayısı  $R^2=0,4302$ 'dir (Şekil 21) (Tablo 4).



**Şekil 21.** 1W22 enzimine ait hesaplanmış pIC50 değerlerine karşı gözlenen bağlanma afinite değerleri arasındaki ilişki grafiği

**1W22** enzim yapısının aktif hidrofobik bölge PHE208 ile THR306 amino asitleri arasında bulunmaktadır. Bu konformasyon HDAC8'in aktif hidrofobik bölgesinin dışında yer alan TRP141, ASP101, PHE152, MET274, Zn, HIS180, HIS142 ve HIS143 aminoasitleri ile çevrelenmiştir. Autodock Tools programı ile yapılan incelemelerde **11** ligandının 1W22 enzimin HDAC8 yapısında HIS142 ve HIS143 ile hidrojen bağı yaptığı tespit edildi. **11** ligandının karboksilik grubundaki oksijen ile HIS142'in amino grubu arasında hidrojen bağı bulunmaktadır. Ayrıca, **11** ligandının hidroksil grubundaki oksijen ile HIS143'ün amino grubu arasında da bir hidrojen bağının varlığı tespit edilmiştir. Bu etkileşimler üç boyutlu olarak görülmektedir (Şekil 22).

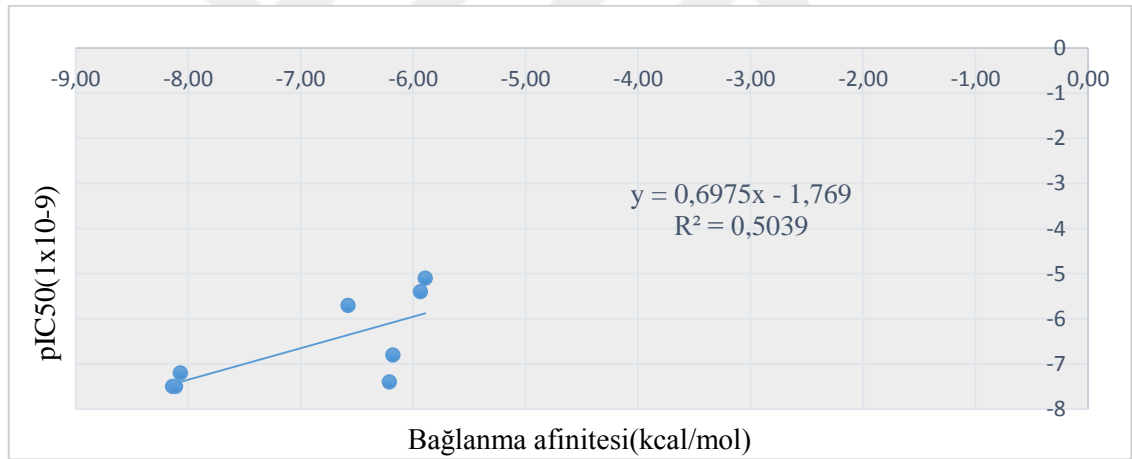


**Şekil 22.** 11 ile 1W22 enzim proteinine docking işlemi sonucunda elde edilen görüntüsü (karbon atomları gri, azot atomları mavi, oksijen atomları kırmızı). \*Hidrojen bağları kesikli çizgilerle gösterilmiştir.

**Tablo 5.** 26, 36, 39, 41, 44, 46 ve 47 ligandının Autodock Vina ile hesaplanan bağlanma afiniteleri ve R<sup>2</sup> değeri

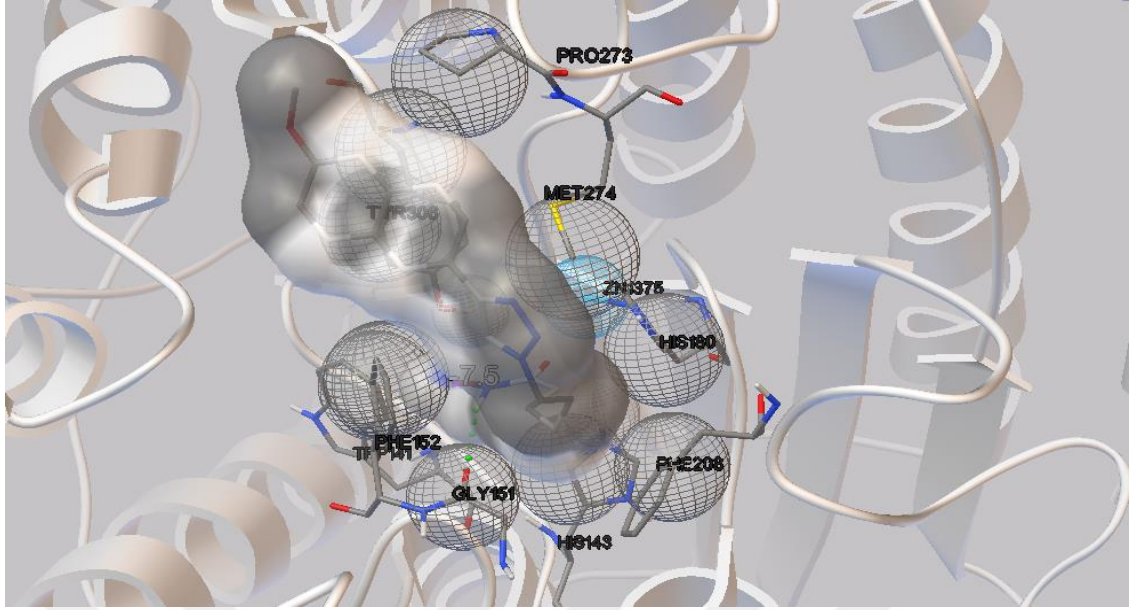
Molekül	pIC50	1T64	1T69	4RN0	1VKG	1W22	1T67
36	-5,89	-4,8	-5,0	-3,8	-7,7	-5,1	-5,1
26	-5,93	-4,5	-5,0	-3,6	-7,4	-5,4	-5,0
41	-6,18	-6,1	-6,1	-4,5	-9,4	-6,8	-6,2
47	-6,21	-6,3	-6,9	-4,7	-9,7	-7,4	-6,4
44	-8,14	-6,4	-6,3	-4,6	-9,6	<b>-7,5</b>	-6,1
39	-8,11	-6,4	-7,0	-4,7	-10,3	-7,5	-7,5
46	-8,07	-6,2	-6,4	-4,7	-9,6	-7,2	-6,5
SAHA	-6,58	-5,0	-5,4	-3,6	-7,5	-5,7	-5,4
R <sup>2</sup> değeri		0,4551	0,3792	0,3915	0,4431	<b>0,5039</b>	0,4828

1W22 kodlu enzimin bu ligant gurubu için pIC50 değerleri bağlanma afinitelerine karşı grafiğe geçirildiğinde elde edilen lineer doğrunun denklemi  $y=0,6975x+1,769$  regresyon katsayısı  $R^2=0,5039$ 'dir (Şekil 23) (Tablo 5).



**Şekil 23.** 1W22enzim ait hesaplanmış pIC50 değerlerine karşı gözlenen bağlanma afinite değerleri arasındaki ilişki grafiği

Autodock Tools programı ile yapılan incelemelerde **44** ligandın 1W22 enzimin HDAC8 yapısındaki GLY151 aminoasidi ile hidrojen bağı yaptığı tespit edilmiştir. Bu konformasyon HDAC8'in aktif hidrofobik bölgesinin dışında yer alan PRO273, MET274, Zn, HIS180, PHE152, TRP141, GLY151 ve HIS143 aminoasitleri ile çevrelenmiştir. Bu etkileşimler üç boyutlu olarak görülmektedir (Şekil 24).

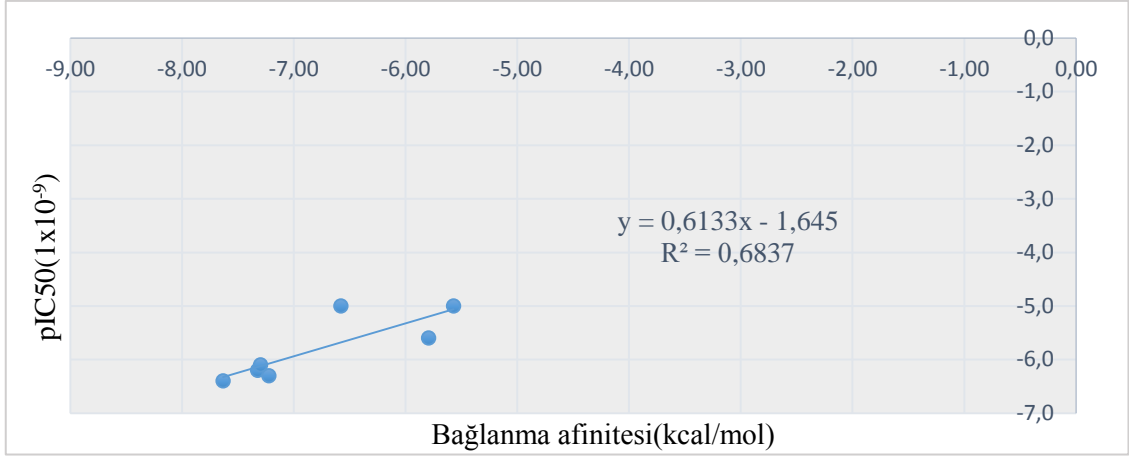


**Şekil 24.** 44 ile 1W22 enzim proteinine docking işlemi sonucunda elde edilen görüntüsü (karbon atomları gri, azot atomları mavi, oksijen atomları kırmızı).\*Hidrojen bağları kesikli çizgilerle gösterilmiştir.

**Tablo 6.** 49, 50, 52, 54, 55 ve 57 ligandının Autodock Vina ile hesaplanan bağlanma afiniteleri ve  $R^2$  değeri

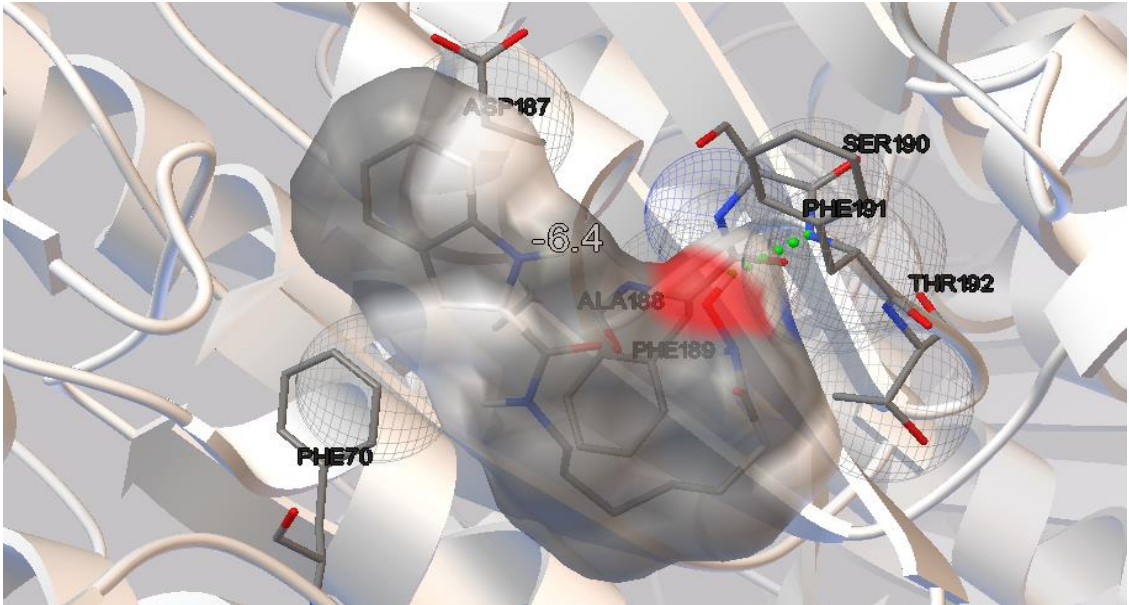
Molekül	pIC50(nM)	1T64	1T69	4RN0	1VKG	1W22	1T67
49	-5,57	-5,0	-5,3	-4,2	-7,4	-5,5	-5,2
50	-5,79	-5,6	-5,7	-4,2	-7,9	-6,3	-6,1
52	-7,63	<b>-6,4</b>	-6,1	-4,7	-9,0	-6,6	-6,5
54	-7,32	-6,2	-5,8	-4,7	-8,9	-6,6	-6,2
57	-7,30	-6,1	-6,2	-4,7	-8,5	-6,9	-6,5
55	-7,22	-6,3	-5,9	-4,8	-8,5	-6,7	-6,4
SAHA	-6,58	-5,0	-5,4	-3,6	-7,5	-5,7	-5,4
$R^2$ değeri		<b>0,6837</b>	0,6223	0,4011	0,6715	0,5932	0,5721

1T64 kodlu enzimin bu ligant gurubu için pIC50 değerleri bağlanma afinitelerine karşı grafiğe geçirildiğinde elde edilen lineer doğrunun denklemi  $y=0,6133x+1,645$  regresyon katsayısı  $R^2=0,6837$ ' dir (Şekil 25) (Tablo 6).



**Şekil 25.** 1T64 enzimine ait hesaplanmış pIC50 değerlerine karşı gözlenen bağlanma afinite değerleri arasındaki ilişki grafiği

**1T64** kodlu enzim yapısının aktif hidrofobik bölgesi PHE189 ile ALA188 amino asitleri arasında bulunmaktadır. Bu konformasyon HDAC8'in aktif hidrofobik bölgesinin dışında yer alan PHE70, THR192, SER190, PHE191, ASP187 aminoasitleri ile çevrelenmiştir. Autodock Tools programı ile yapılan incelemelerde **52** ligandın 1T64 enzimin HDAC8 yapısındaki SER190 aminoasidi ile hidrojen bağı yaptığı tespit edilmiştir. Bu etkileşimler üç boyutlu olarak olarak gösterilmektedir (Şekil 26).



**Şekil 26.** 52 ile 1T64 enzim proteinine docking işlemi sonucunda elde edilen görüntüsü (karbon atomları gri, azot atomları mavi, oksijen atomları kırmızı). \*Hidrojen bağları kesikli çizgilerle gösterilmiştir.

### 3.2. Schödinger Programı ile Yapılan Hesaplamalar

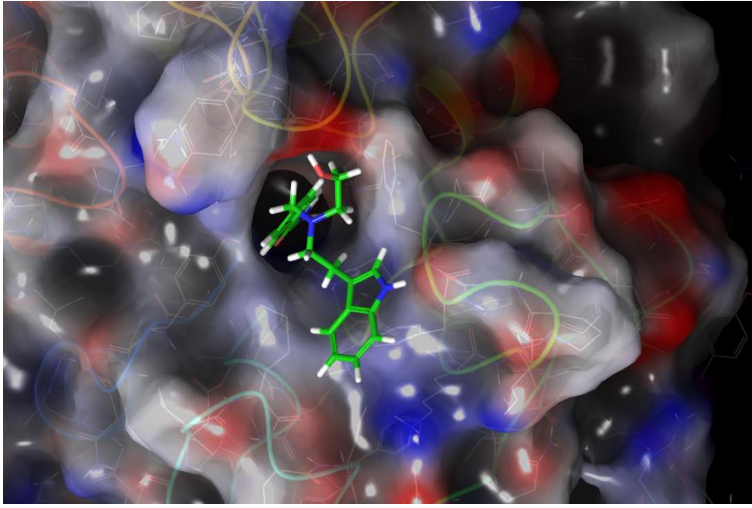
Ligant moleküllerinin tamamı için 2 farklı HDAC8 enzimi (1T69, 1W22) ile kenetlenme çalışması yapılmış ve docking skorları en yüksek olan ilk 3 ligantın bağlanma özellikleri incelenmiştir. Bu enzim yapılarına ait docking skorları **Tablo 7**'de verilmiştir.

**Tablo 7.** 1T69 ve 1W22 enzim yapıları için Docking skorları

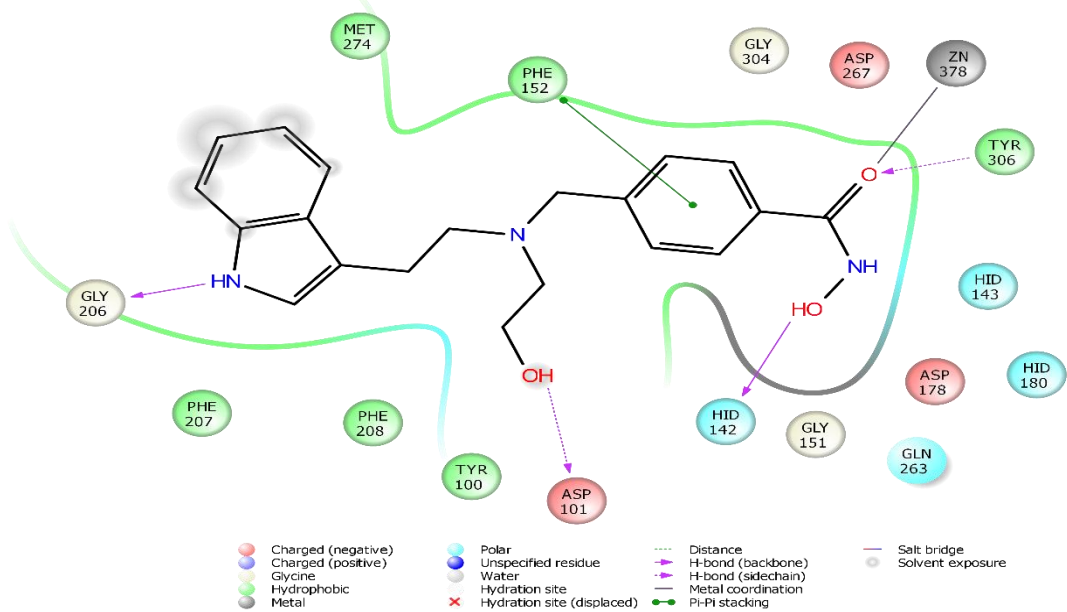
1T69				1W22			
Molekül No	Docking Skore	Molekül No	Docking skore	Molekül No	Docking Skore	Molekül No	Docking Skore
13	-8,632	41	-5,831	41	-7,875	56	-5,349
10	-8,383	47	-5,8	40	-7,616	7	-5,25
9	-7,859	2	-5,79	39	-7,569	54	-5,249
11	-7,839	6	-5,764	35	-7,399	31	-5,205
44	-7,684	35	-5,751	44	-7,175	52	-5,203
15	-7,569	4	-5,543	11	-7,164	30	-4,959
19	-7,471	1	-5,482	26	-7,098	23	-4,935
12	-7,289	29	-5,431	21	-6,866	12	-4,847
14	-7,28	49	-5,357	46	-6,795	1	-4,792
17	-7,245	27	-5,355	20	-6,793	43	-4,722
16	-7,127	32	-5,204	48	-6,747	37	-4,548
7	-6,694	21	-5,178	58	-6,626	27	-4,513
24	-6,627	53	-5,123	51	-6,612	15	-4,411
59	-6,594	51	-5,117	25	-6,509	14	-4,328
42	-6,546	57	-5,082	13	-6,485	50	-4,224
33	-6,464	37	-5,076	16	-6,343	36	-4,15
34	-6,427	31	-5,051	18	-6,213	42	-4,091
45	-6,415	22	-4,951	55	-6,192	2	-4,082
23	-6,382	52	-4,895	33	-6,159	32	-3,981
3	-6,321	28	-4,893	24	-6,134	38	-3,798
46	-6,307	8	-4,862	29	-6,125	19	-3,798
18	-6,226	26	-4,828	59	-6,076	10	-3,796
38	-6,178	50	-4,805	17	-6,043	3	-3,451
56	-6,133	30	-4,699	57	-6,033	22	-3,036
40	-6,063	20	-4,546	4	-5,865	6	-2,816
48	-5,914	36	-4,497	47	-5,662	28	-2,537
39	-5,904	43	-4,37	34	-5,635	49	-2,534
55	-5,9	58	-4,365	45	-5,543	8	-2,393
25	-5,836	54	-3,737	9	-5,397	53	-0,076

### 3.2.1. 1T69 Enzim-Ligand Etkileşimleri

Ligant 13 hidrosamik asitindeki hidrofilik kısmında bulunan karbonil oksijeninin enzimin aktif bölgesinde bulunan Zn atomu ile koordinasyon bağı ve TRY306 amino asiti ile hidrojen bağı oluşturmaktadır. Aynı bölgedeki OH grubu ise enzimin aktif bölgesinde HID142 (Histininin protonlanmış hali) aminoasiti ile hidrojen bağı yapmaktadır. Diğer OH grubu ise ASP101 amino asiti ile hidrojen bağı oluşturmuştur. Bir diğer önemli hidrojen bağı ise benzimidazol halkasındaki NH gurubu üzerinden meydana gelmektedir. Ayrıca benzen halkası PHE152 amino asiti ile pi-pi etkileşimi meydana getirmektedir (Şekil 27).



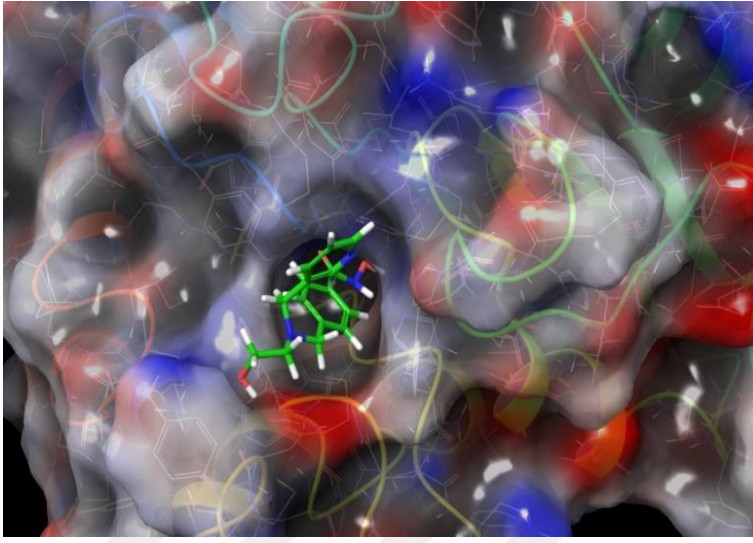
13 - 1T69



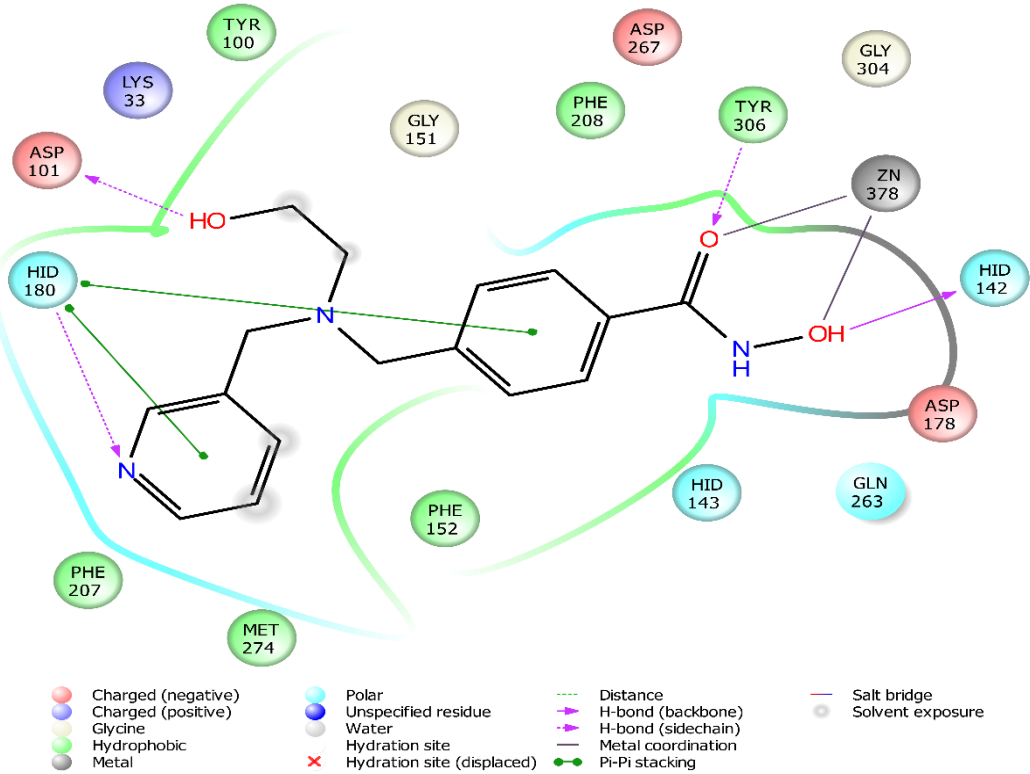
Şekil 27. 1T69 enzimin aktif bölgesinde ligant 13'ün yerleşimi ve etkileşimleri



Ligant 10'da ise hem karbonil oksijeni hemde hidroksil grubu Zn atomu ile metal koordinasyon bağı oluşturmaktadır. Hidrofilik baş bölgesinde bulunan OH aynı zamanda HID142 amino asiti ile hidrojen bağı oluşturmaktadır. Diğer önemli hidrojen bağları ise TRY306 ile karbonil oksijeni, ASP101 ile OH grubu ve HID180 ile benzen halkasındaki azot atomu üzerinden oluşmaktadır. HID180 amino asiti ayrıca iki benzen halkası ile pi-pi etkileşimine girmektedir (Şekil 28).

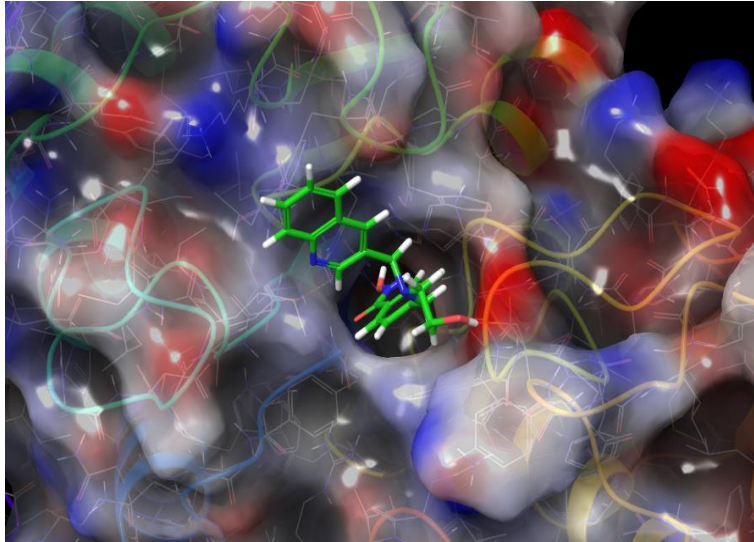


10 - 1T69

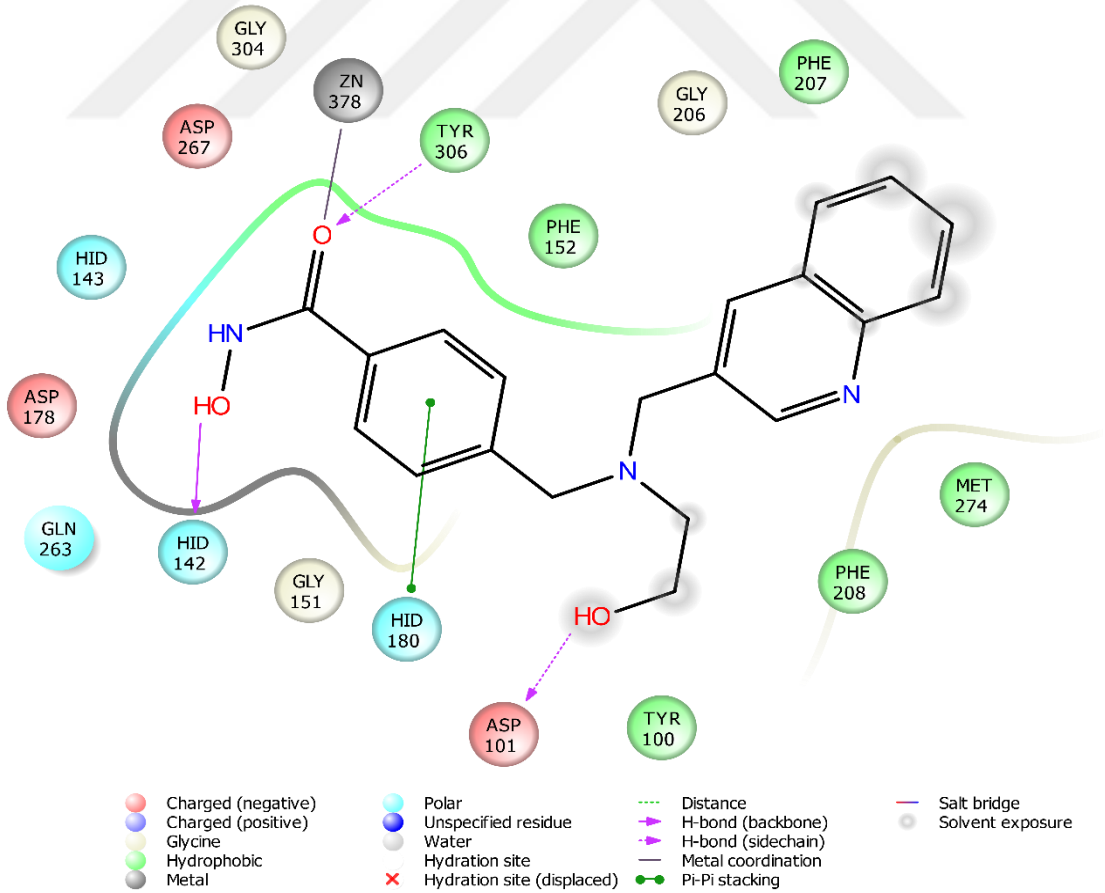


Şekil 28. 1T69 enzimin aktif bölgesinde ligant 10'un yerleşimi ve etkileşimleri

Ligant 9'da önceki ligantlara benzer etkileşimlere sahip olması yanında hacimli hidrofobik kısmının enzimin aktif bölgesi dışında kaldığı ve bağlanmaya bir katkısının olmadığı görülmektedir (Şekil 29).



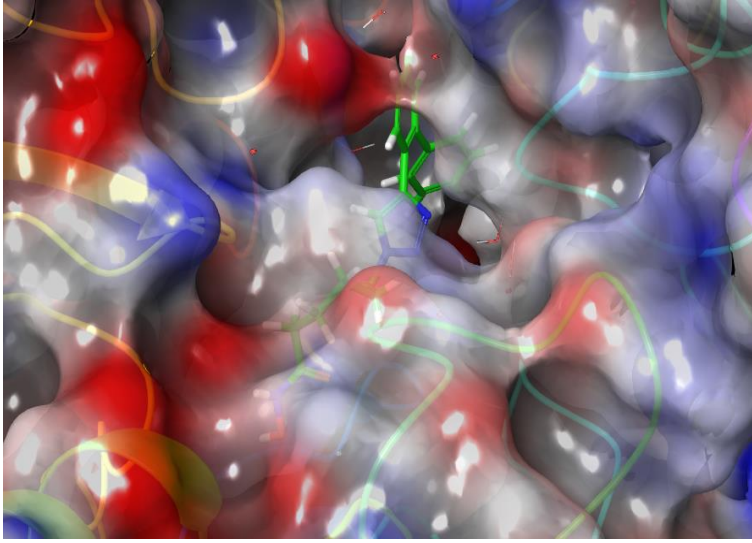
9 - 1T69



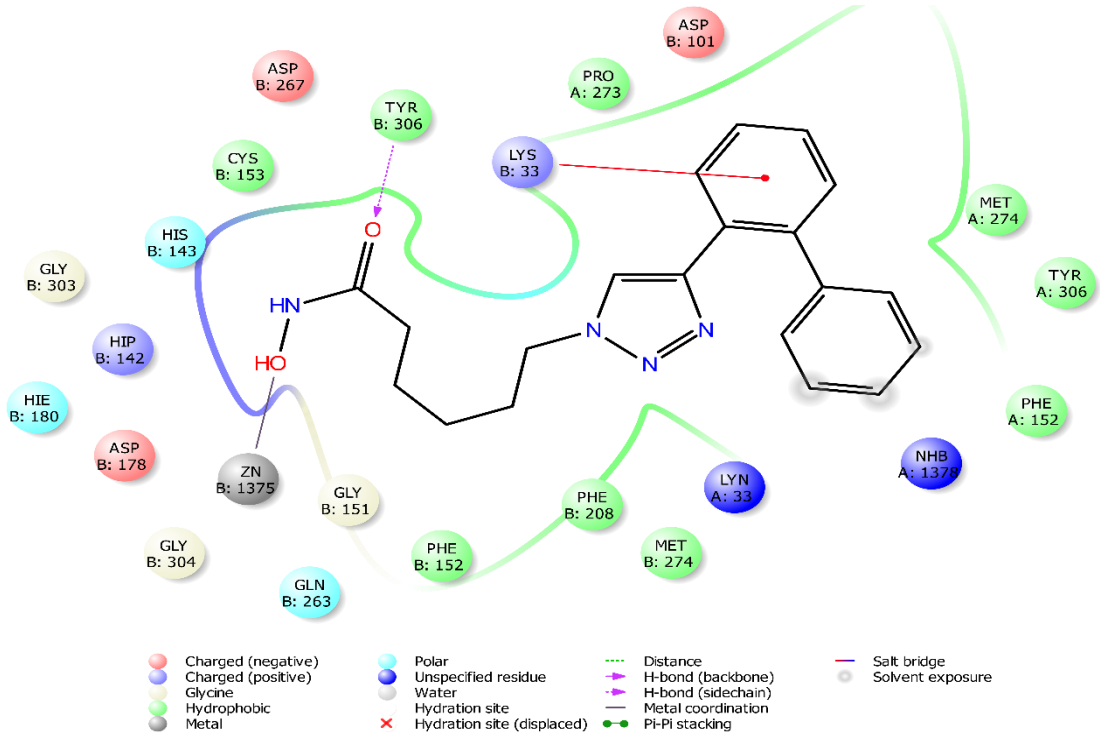
Şekil 29. 1T69 enzimin aktif bölgesinde ligant 9'un yerleşimi ve etkileşimleri

### 3.2.2. 1W22 Enzim-Ligant Etkileşimleri

Benzer şekilde ligant 41 enzimin aktif bölgesindeki Zn atomu ile metal koordinasyonu yapmakta ancak bunu hiksoksil grubu üzerinden gerçekleştirmektedir. Karbonil grubu ise TYR306 amino asiti ile hidrojen bağı yaparak etkileşime katkıda bulunmaktadır. LYS33 ile benzen halkası zayıf pi-pi etkileşimine sahiptir. Burada da hacimli hidrofobik grup etkileşime katkısı düşüktür (Şekil 30).

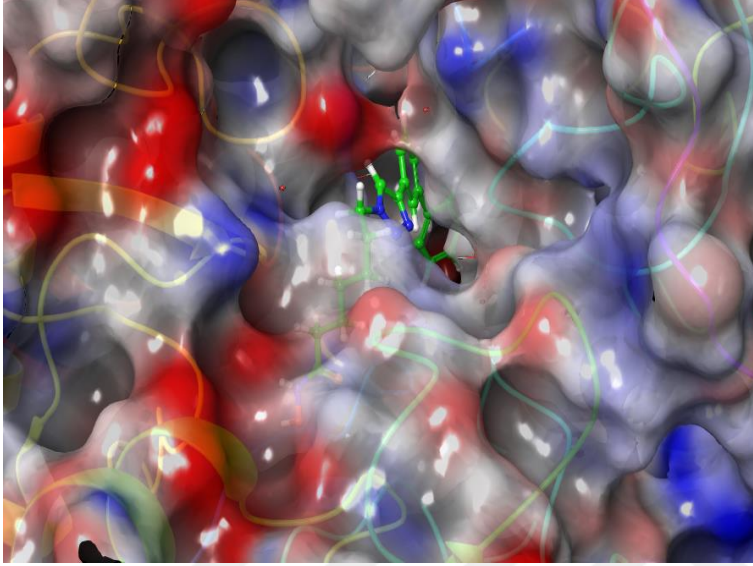


41 - 1W22

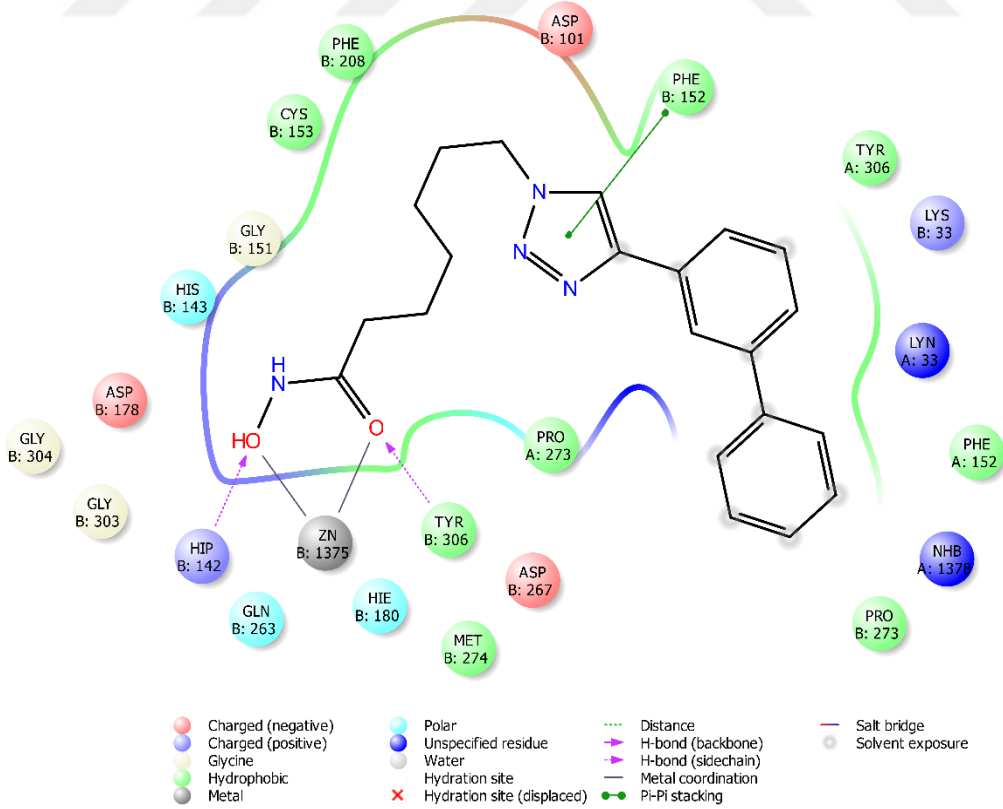


Şekil 30. 1W22 enzimin aktif bölgesinde ligant 41'in yerleşimi ve etkileşimleri

Ligant 40 molekülü Zn atomu ile karbonil ve hidroksil grupları üzerinden metal koordinasyonu ile şelat yapısı oluşturmaktayken aynı zamanda karbonil grubu ile TYR306 amino asiti ve hidroksil grubu ile HIP142 (Histidinin protonlanmış hali) amino asiti üzerinden hidrojen bağı yapmaktadır (Şekil 31).

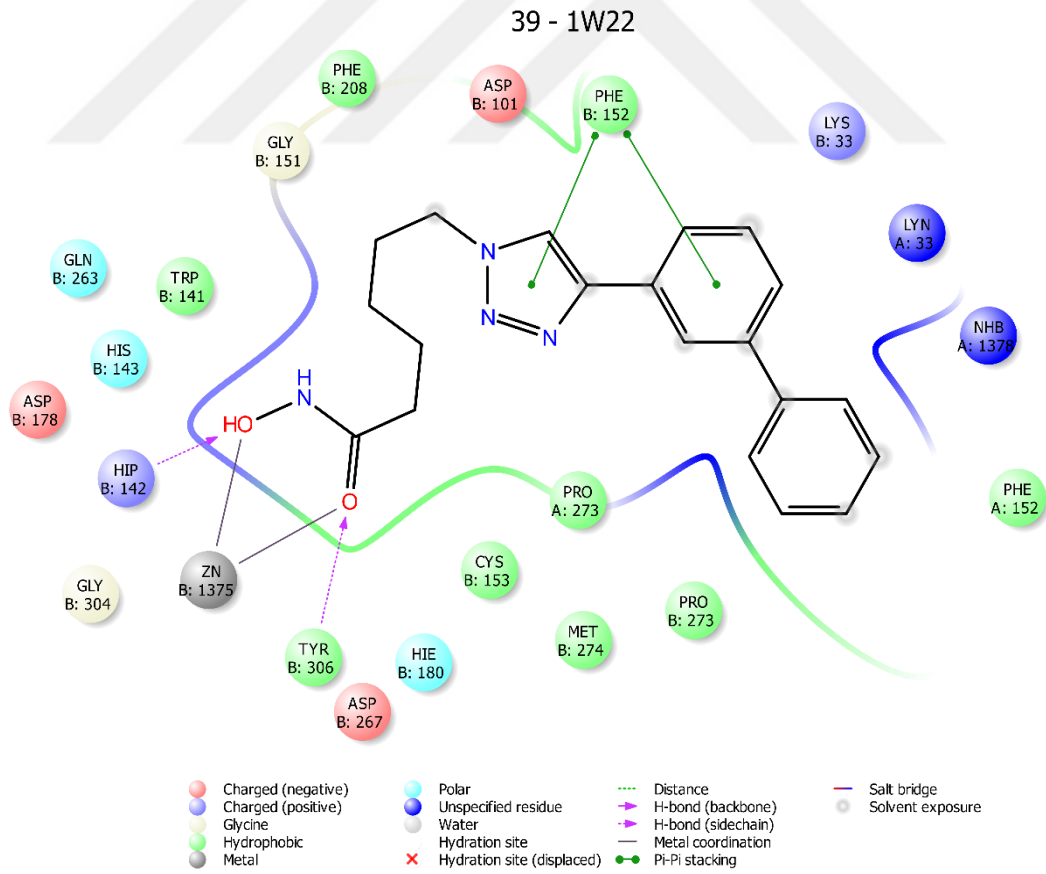
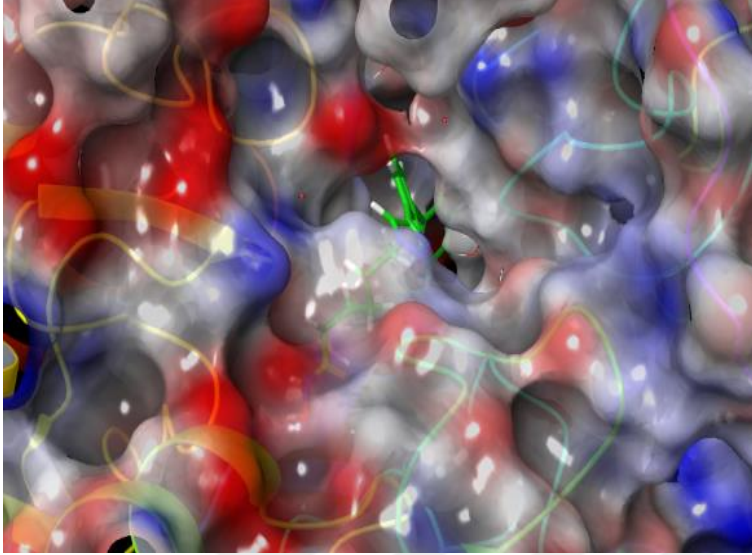


40 - 1W22



Şekil 31.1W22 enzimin aktif bölgesinde ligant 40'ın yerleşimi ve etkileşimleri

Ligant 39 için etkileşimler ligant 40 ile yaklaşık aynı olmakla beraber hidrofobik grubun iki tane pi-pi etkileşimi oluşturduğu görülmektedir. Burada da hacimli hidrofobik grubun bağlanma etkileşimleri katkısı oldukça zayıftır (Şekil 32).



Şekil 32. 1W22 enzimin aktif bölgesinde ligant 39'un yerleşimi ve etkileşimleri

#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Literatürde yayınlanmış ve HDAC8'in inhibisyon aktiviteleri belirlenmiş 4 farklı kaynaktan alınan 59 adet ligant molekülü için yapılan incelemelerde moleküllerin Elektrofilisiti indeksi ile inhibisyon aktiviteleri arasında doğrusal bir ilişki olduğu bulunmuştur. Elektrofilisiti indeksi, moleküllerin deneysel inhibisyon aktiviteleri belirlenmeden veya bu moleküller sentezlenmeden önce inhibisyon aktiviteleri hakkında ön bilgi edinilmesi açısından önemli bir parametre olduğu düşünülmektedir. HDAC8 enzimi için HOMO, LUMO, Kimyasal Potansiyel, Kimyasal Sertlik, Yumuşaklık ve HOMO-LUMO Gap gibi diğer kuantum kimyasal parametreler arasında doğrudan bir ilişki olmadığı tespit edildi.

HDAC8 enzimi için protein data banklarda farklı kaynaklardan elde edilmiş çok sayıda X-ışını yapısı mevcuttur. Literatürde bunlardan en çok kullanılanları HDAC8 enzim yapısı seçilerek moleküler kenetlenme çalışması yapılmış affinitesi iyi olan moleküllerin bağlanma özellikleri ve etkileşimleri incelenmiştir. AutoDock Vina programıyla yapılan bağlanma affiniteleri hesaplamasıyla bu enzim yapılarından deneysel inhibisyon aktiviteyi en iyi tahmin eden yapılar 1T69 ve 1W22 pdb kodlu enzim yapıları olduğu görüldü.

Bu iki enzim yapısı kullanılarak Schödinger programı yardımıyla 59 ligant için docking çalışması yapılmış ve aktif bölgedeki bağlanma özellikleri ve bağlanma konformasyonları görsel olarak gösterildi.

Hidroksamit asitlerin hidrofobik kısımlarının hacmi küçüldükçe enzimin aktif bölgesine daha iyi yerleştiği ve daha yüksek inhibisyon etkisi gösterdiği belirlenmiştir. Her iki enzim yapısı için aktif bölgede bulunan Zn atomu ile ligant moleküllerinin etkileşiminin inhibisyon aktivitede önemli bir rol aldığı görülmüştür. Bu bağlamda, ligant moleküllerinin elektron salıcı gruplar içermesi HDAC'in inhibisyonunun daha etkili olacağı görüşünü ortaya çıkarmaktadır. Bir diğer önemli faktör ise hidrejen bağı oluşumudur. İncelenen ligantlardan karbonil grubu içeren yapıların Zn atomu ile etkileşimi ve hidroksil (OH) grubu içeren yapılarında hidrojjen bağı yaparak aktif bölgede bağlanma gücünü arttırdığı görülmektedir.

## 5. ÖNERİLER

Anti-kanser çalışmalarında önemli bir yeri bulunan HDAC8 enzimini inhibe etmeye yönelik sentez yapacak araştırmacıların molekülleri sentezlemeden önce bilgisayar ortamında çizip elektrofiliti indeksini hesaplayarak ve moleküllerin içerdiği hidroksil ve karbonil grubunu üzerindeki negatif yük artırılarak daha aktif moleküllerin sentezlenmesini sağlayabilirler. Ayrıca molekülün hidrofobik cap grubunun daha küçük moleküller ile dizayn edilmesi durumunda aynı şekilde inhibisyon aktivitenin artacağı öngörülmektedir.



## KAYNAKLAR

- Abel, T. and Zukin, R.S., 2008.** Epigenetic targets of HDAC inhibition in neurodegenerative and psychiatric disorders. *Current Opinion in Pharmacology*, 8(1), 57-64.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. and Walter, P., 2002.** Basic Genetic Mechanisms, "Molecular Biology of the Cell", 4. Baskı, Garland Science, London, New York, s, 208-230.
- Alten, O., 2011.** Exploration of substrate-binding region of the active site of hiv-1 glycoprotein 41 molecule using molecular docking methods. Yüksek Lisans Tezi. Hacettepe Üniversitesi, Kimya Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye, 100s., 28.
- Angibaud, P., Arts, J., Emelen, V.K., Poncelet, V., Pilatte, I., Roux, B., Brandt, V.S., Verdonck, M., Winter, D.H., Holte, T.P., Marien, A., Floren, W., Janssens, B., Dun, V.J., Aerts, A., Gompel, V.J., Gaurrand, S., Queguiner, L., Argouillon, M.J., Hijfte, V.L., Freyne, E. and Janicot, M., 2005.** Discovery of pyrimidyl-5-hydroxamic acids as new potent histone deacetylase inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 40(6), 597-606.
- Atadja, P., 2009.** Development of the pan-DAC inhibitor panobinostat (LBH589): successes and challenges. *Cancer Letters*, 280(2), 233-241.
- Becke, D.A., 1993.** Density functional thermochemistry III. The role of exact exchange, *The Journal of Chemical Physics*, 98, 5648-5652.
- Bernhard, D., Ausserlechner, M.J., Tonko, M., Löffler, M., Hartmann, B.L., Csordas, A. and Kofler, R., 1999.** Apoptosis induced by the histone deacetylase inhibitor sodium butyrate in human leukemic lymphoblasts. *Faseb Journal*, 13, 1991-2001.
- Bersuker, I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu., Hadzi, D. and Blazic, B.J., 1987.** The Electron-Topologic Approach to The QSAR Problem Illustrated by Inhibitor Activity for Thymidine Phosphorylase and  $\alpha$ -Chymo-Trypsin, In *QSAR in Drug Design and Toxicology*. Elsevier, Amsterdam, 10, 43-48.
- Bertrand, P., 2010.** Inside HDAC with HDAC inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45(6), 2095-2116.
- Bolden, J.E., Peart, M.J. and Johnstone, R.W., 2006 .** Anticancer activities of histone deacetylase inhibitors. *Nature Reviews Drug Discovery*, 5 (9), 769-784.
- Brasden, B.H. and Joachain, C.J., 1999.** Atom ve Molekül Fiziği. Bilim Yayınevi, 1.Baskı, ISBN: 9789757636038, 687 s., Köksal, F., Gümü, Ç.H. (Ç. Ed.), 103.



- Buggy, J.J., Sideris, M.L., Mak, P., Lorimer, D.D., McIntosh, B. and Clark, J.M., 2000.** Cloning and characterization of a novel human histone deacetylase, HDAC8. *Biochem Journal*, 350, Pt(1), 199-205.
- Chen, P.C., Patil, V., Guerrant, W., Green, P. and Oyelere, A.K., 2008.** Synthesis and structure–activity relationship of histone deacetylase (HDAC) inhibitors with triazole-linked cap group. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 16(9), 4839–4853.
- Chittur, S.V., Guity, N.S. and McCormick, P.J., 2008.** Histone deacetylase inhibitors: A new mode for inhibition of cholesterol metabolism. *BMC Genomics*, 9, 507.
- Conley, A.B., Wright, J.J. and Kummar, S., 2006.** Targeting epigenetic abnormalities with histone deacetylase inhibitors. *Cancer*, 107(4), 832–840.
- Cooper, M.G. and Hausman, E.R., 2004.** The flow of genetic information, *The Cell a Molecular Approach*. 3. Baskı., ASM press, USA, 150-154.
- Cramer, J.C., 2004.** Essential of computational chemistry: theories and models, Second edition. John Wiley and Sons, 266-267.
- Dashwood, R.H., Myzak, M.C. and Ho, E., 2006.** Dietary HDAC inhibitors: time to rethink weak ligands in cancer chemoprevention. *Carcinogenesis*, 27(2), 344-349.
- Debnath, K.A., 2001.** Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) Paradigm-Hansch Era to New Millennium. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry* 1, 187–195.
- Dias, R., Azevedo J.D. and Walter F., 2008.** Molecular Docking Algorithms. *Current Drug Targets*, 9, 1040-1047.
- Dimoglo, A. ve Kandemirli, F., 2007.** Kuantum Kimyaya Giriş. Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Basımevi, 1.Baskı., 404 s.
- Dokmanovic, M. and Marks, P.A., 2005.** Prospects: histone deacetylase inhibitors. *Journal of Cellular Biochemistry*, 96(2), 293-304.
- Dokmanovic, M., Clarke, C. and Marks, P.A., 2007.** Histone deacetylase inhibitors: overview and perspectives. *Molecular Cancer Research*, 5(10), 981-989.
- Dowling, D.P., Gantt, S.L., Gattis, S.G., Fierke, C.A. and Christianson, D.W., 2008.** Structural studies of human histone deacetylase 8 and its site-specific variants complexed with substrate and inhibitors. *Biochemistry*, 47(51), 13554-13563.
- Efil, K. ve Bakdemir, Y., 2015.** Theoretical Study on Corrosion Inhibitory Action of Some Aromatic Imines with Sulphanilic Acid: A DFT Study. *Canadian Chemical Transactions*, 3(1), 85-93.

- Finnin, S.M., Donigian, R.J., Cohen, A., Richon, M.V., Rifkind, A.R., Marks, A.P., Breslow, R. and Pavletich, P.N., 1999.** Structures of a histone deacetylase homologue bound to the TSA and SAHA inhibitors. *Nature*, 401(6749), 188-193.
- Foreseman, J.B. and Frisch, E.A., 1996.** Exploring Chemistry With Electronic Structure Methods. A Guide to Using Gaussian, Pittsburgh, USA.
- Frew, A.J., Johnstone, R.W. and Bolden, J.E., 2009.** Enhancing the apoptotic and therapeutic effects of HDAC inhibitors. *Cancer Letters*, 280(2), 125-133.
- Gantt, S.L., Gattis, S.G. and Fierke, C.A., 2006.** Catalytic activity and inhibition of human histone deacetylase 8 is dependent on the identity of the active site metal ion. *Biochemistry*, 45(19), 6170-6178.
- Glozak, M.A., Sengupta, N., Zhang, X. and Seto, E., 2005.** Acetylation and deacetylation of non-histone proteins. *Gene*, 363, 15-23.
- Gray, G.S. and Ekström, J.T., 2001.** The Human Histone Deacetylase Family. *Experimental Cell Research*, 262(2), 75-83.
- Grozinger, M.C. and Schreiber, L.S., 2002.** Deacetylase Enzymes: Biological Functions and the Use of Small-Molecule Inhibitors. *Chemistry and Biology*, 9(1), 3-16.
- Guner, O.F., 2000.** Pharmacophore Perception, Development, and use in Drug Design. La Jolla, Calif: International University Line, 5, 987-989.
- Haberland, M., Montgomery, R.L. and Olson E.N., 2009.** The many roles of histone deacetylases in development and physiology: implications for disease and therapy. *Nat Rev Genet*, 10(1), 32-42.
- Hahnen E, Hauke, J., Trankle, C., Eyüpoglu I.Y., Wirth. B. and Blümcke, I., 2008.** Histone deacetylase inhibitors: possible implications for neurodegenerative disorders. *Expert Opin Investig Drugs*, 17, 169-184.
- Halili, M.A., Andrews, M.R., Sweet, M.J. and Fairlie, D.P., 2009.** Histone deacetylase inhibitors in inflammatory disease. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 9(3), 309-319.
- Hammett, L. P., 1937.** The effect of structure upon the reactions of organic compounds. Benzene. *Journal of the American Chemical Society*, 59(1), 96-103.
- Hammett, L. P., 1940.** Physical Organic Chemistry. McGraw-Hill, New York, 452-454.
- Hansch, C., 1969.** A Quantitative Approach to Biochemical Structure-Activity Relationships. *Accounts of Chemical Research*, 2(8), 232-239.

- Hockly, E., Richon, M.V., Woodman, B., Smith, L.D., Zhou, X., Rosa E., Sathasivam, K., Ghazi, S.N., Mahal, A., Lowden, S.A.P., Steffan, S.J., Marsh, L.J., Thompson, M.L., Lewis, M.C., Marks, A.P. and Bates, P.G., 2003.** Suberoylanilide hydroxamic acid, a histone deacetylase inhibitor, ameliorates motor deficits in a mouse model of Huntington's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(4), 2041-2046.
- Hohenberg, P. and Kohn, W., 1964.** Inhomogeneous electron gas. *Physical Review*, 136(3), 864-871.
- Hopfinger, A.J., Tokarski, J.S. and Charifson, P.S., 1997.** Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationships. In *Practical Application of Computer-Aided Drug Design*, New York, USA, Marcel Dekker (Ç.Ed.), 105-164.
- Hu, E., Chen, Z., Fredrickson, T., Zhu, Y., Kirkpatrick, R., Zhang, G.F., Johanson, K., Sung, C.M., Liu, R. and Winkler, J., 2000.** Cloning and characterization of a novel human class I histone deacetylase that functions as a transcription repressor. *The Journal of Biological Chemistry*, 275(20), 15254-15264.
- Jorgensen, W.L., 1991.** Rusting of the lock and key model for protein-ligand binding. *Science*, 254, 954-5.
- Kazantsev, A.G. and Thompson, L.M., 2008.** Therapeutic application of histone deacetylase inhibitors for central nervous system disorders. *Nat Rev Drug Discov*, 7(10), 854-868.
- Kelly, W.K., Connor, O.A., Krug, L.M., Chiao, J.H., Heaney, M., Curley, T., Cortelli, B.M., Tong, W., Secrist, J.P., Schwartz, L., Richardson, S., Chu, E., Olgac, S., Marks, P.A., Scher, H. and Richon, V.M., 2005.** Phase I Study of an Oral Histone Deacetylase Inhibitor, Suberoylanilide Hydroxamic Acid, in Patients With Advanced Cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 23(17), 3923-3931.
- Khorasanizadeh, S., 2004.** The Nucleosome: From Genomic Organization to Genomic Regulation. *Cell*, 116(2), 259-272.
- Klebe, G., Kubinyi, H., Folkers, G. and Martin, Y.C., 1998.** Comparative molecular similarity indices analysis: CoMSIA, 3D QSAR in Drug Design. *Recent Advances*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 3, 87-104.
- Kramer, H.O., Göttlicher, M. and Heinzl, T., 2001.** Histone deacetylase as a therapeutic target. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 12(7), 294-300.
- Kubinyi, H., 2002.** From Narcosis to Hyperspace: The History of QSAR. *Quantitative structure-activity relationships*, 21, 348-356.
- Kulak, L., 2005.** 2-Amino-6-Arilsülfonil Benzonitril Bileşiklerinin Hıv-1 İnhibitörü Olarak Comcet Yöntemi İle Qsar İncelemesi. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, Kimya Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye, 131s., 15.

- Lengauer, T. and Rarey, M., 1996.** Computational methods for biomolecular docking. *Current Opinion in Chemical Biology*, 6(3), 402-406.
- Leoni, F.Z.A., Bertolini, G., Porro, G., Pagani, P., Pozzi, P., Dona, G., Fossati, G., Sozzani, S., Azam, T., Bufler, P., Fantuzzi, G., Goncharov, I., Kim, S.H., Pomerantz, B.J., Reznikov, L.L., Siegmund, B., Dinarello, C.A. and Mascagni, P., 2002.** The Antitumor Histone Deacetylase Inhibitor Suberoylanilide Hydroxamic Acid Exhibits Antiinflammatory Properties Via Suppression of Cytokines. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99, 2995-3000.
- Lindemann, K.R. and Johnstone, W.R., 2004.** Histone deacetylase inhibitors: promising candidates for chemotherapeutic drugs. *Gene Therapy and Molecular Biology*, 8, 61-74.
- Marks, A.P., Miller, T. and Richon, V., 2003.** Histone deacetylases. *Current Opinion in Pharmacology*, 3(4), 344-351.
- Marks, P.A. and Xu, W.S., 2009.** Histone deacetylase inhibitors: Potential in cancer therapy. *Journal of Cellular Biochemistry*, 107(4), 600-608.
- Marmorstein, R. and Roth, Y.S., 2001.** Histone acetyltransferases: function, structure, and catalysis. *Current Opinion in Genetics and Development*, 11(2), 155-161.
- Marsoni, S., Damia, G. and Camboni, G., 2008.** A work in progress: the clinical development of histone deacetylase inhibitors. *Epigenetics*, 3(3), 164-171.
- Mehnert, J.M. and Kelly, W.K., 2007.** Histone deacetylase inhibitors: biology and mechanism of action. *Cancer Journal*, 13(1), 23-29.
- Miller, A.T., Witter, J.D. and Belvedere S., 2003.** Histone Deacetylase Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 46(24), 5097-5116.
- Morrison, B.E., Majdzadeh, N. and Mello, S.R., 2007.** Histone deacetylases: focus on the nervous system. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 64(17), 2258-2269.
- Nagaoka, Y., Maeda T., Kawai, Y., Nakashima, D., Oikawa, T., Shimoke, K., Ikeuchi, T., Kuwajima, H. and Uesato, S., 2006.** Synthesis and cancer antiproliferative activity of new histone deacetylase inhibitors: hydrophilic hydroxamates and 2-aminobenzamide-containing derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 41(6), 697-708.
- Nebbio, A., Clarke, N., Voltz, E., Germain, E., Ambrosino, C., Bontempo, P., Alvarez, R., Schiavone, M.E., Ferrara, F., Bresciani, F., Weisz, A., Lera, R.A., Gronemeyer, H. and Altuccini, L., 2005.** Tumor-selective action of HDAC inhibitors involves TRAIL induction in acute myeloid leukemia cells. *Nature Medicine*, 11, 1.
- Ogryzko, V.V., 2001.** Mammalian histone acetyltransferases and their complexes. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 58, 683-692.

- Oprea, T.I., Waller, C.L., Lipkowitz, K.B. and Boyd, D.B., 1997.** Theoretical and Practical Aspects of Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationships. In *Reviews in Computational Chemistry*, Wiley-VCH, New York, 11, 127-182.
- Özdal E.S., 2013.** Npy Y1 Antagonistleri Olarak Sentezlenmiş Karbazol Türevlerinin Obezite Tedavisi İçin Kantitatif Yapı-Aktivite Çalışmaları. Yüksek lisans tezi. Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gaziantep, Türkiye, 66s., 23-24.
- Özdamar, K., 1999.** Paket Programlar ile İstatistiksel Veri Analizi. Kaan Kitap Evi, Eskişehir, 137–210.
- Papeleu, P., Vanhaecke, T., Elaut, G., Vinken, M., Henkens, T., Snykers, S. and Rogiers, V., 2005.** Differential effects of histone deacetylase inhibitors in tumor and normal cells-what is the toxicological relevance. *Critical Reviews in Toxicology*, 35(4), 363-378.
- Riester, D., Hildmann, C. and Schwienhorst, A., 2007a.** Histone deacetylase inhibitors—turning epigenic mechanisms of gene regulation into tools of therapeutic intervention in malignant and other diseases. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 75(3), 499-514.
- Riester, D., Hildmann, C., Grunewald, S., Beckers, T. and Schwienhorst, A., 2007b.** Factors affecting the substrate specificity of histone deacetylases. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 357(2), 439-445.
- Rosato, R.R. and Grant, S., 2005.** Histone deacetylase inhibitors: insights into mechanisms of lethality. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 9(4), 809-824.
- Ruijter, M. A. J., Gennip, H.A., Caron, N.H., Kemp, S. and Kulenburg, P.B., 2003.** Histone deacetylases (HDACs): characterization of the classical HDAC family. *Biochemical Journal*, 370(3), 737-749.
- Sleiman, S.F., Basso, M., Mahishi, L., Kozikowski, A.P., Donohoe, M.E., Langley, B. and Ratan, R.R., 2009.** Putting the 'HAT' back on survival signalling: the promises and challenges of HDAC inhibition in the treatment of neurological conditions. *Expert Opin Investig Drugs*, 18(5), 573-584.
- Somoza, J.R., Skene, R.J., Katz, B.A., Mol, C., Ho, J.D., Jennings, A.J., Luong, C., Arvai, A., Buggy, J.J., Chi, E., Tang, J., Sang, B.C., Verner, E., Wynands, R., Leahy, E.M., Dougan, D.R., Snell, G., Navre, M., Knuth, M.W., Swanson, R.V., Mccree, D.E. and Tari, L.W., 2004.** Structural snapshots of human HDAC8 provide insights into the class I histone deacetylases. *Structure*, 12(7), 1325-1334.
- Strahl, D.B. and Allis, D., 2000.** The language of covalent histone modifications. *Nature*, 403(6765), 41-45.

- Şener, E.A. ve Yalçın, İ., 2003a.** Farmasötik/Medisinal Kimya'da İlaç Etken Madde Tasarım Yöntemleri-I, Kantitatif Yapı-Etki İlişkileri Analizleri (QSAR). Eczacılık Fakültesi yayınları, Ankara, No:86, ISBN 975-482-585-8, 323 s., 40-53.
- Şener, E.A. ve Yalçın, İ., 2003b.** Farmasötik/Medisinal Kimya'da İlaç Etken Madde Tasarım Yöntemleri-I, Kantitatif Yapı-Etki İlişkileri Analizleri (QSAR). Eczacılık Fakültesi yayınları, Ankara, No:86, ISBN 975-482-585-8, 323 s., 57.
- Taddei, A., Roche, D., Bickmore, W.A. and Almouzni, G., 2005.** The effects of histone deacetylase inhibitors on heterochromation: implications for anti-cancer therapy. EMBO Reports, 6(6), 520-524.
- Taft, R.W., 1956.** Separation of polar, steric and resonance effects reactivity, Steric Effects in Organic Chemistry. Newman, M.S.(Ç.Ed.), Wiley, New York, 556-675.
- Takai, N., Desmond, J.C., Kumagai, T., Gui, D., Said, J.W., Whittaker, S., Miyakawa, I. and Koeffler, H.P., 2004.** Histone deacetylase inhibitors have a profound antigrowth activity in endometrial cancer cells. Clinical Cancer Research, 10(3), 1141–1149.
- Tatar, B.T., Erden, D.D. ve Yurter, E.H., 2010.** Spinal musküler atrofi tedavisinde histon deasetilaz inhibitörlerinin rolü. Derleme review, 41, 90-96.
- Thiagalingam, S., Cheng, H.K., Lee, J.H., Mineva, N., Thiagalingam, A. and Ponte, F.J., 2003.** Histone deacetylases: unique players in shaping the epigenetic histone code. Annals of the New York Academy of Sciences, 983, 84-100.
- Thiriou, E. and Monard, G., 2009.** Combining a Genetic Algorithm With a Linear Scaling Semiempirical Method For Protein-Ligand Docking. Journal of Molecular Structure: Theochem, 898, 31-41.
- Trott, O. and Olson, A.J., 2010.** Software News and Update Autodock Vina Improving the speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient, Optimization and Multithreading. Journal of Computational Chemistry, 31(2), 455-461.
- Türkkan, S., 2013.** Monoamin Oksidaz (Mao) İnhibitör Etkili Yeni Pirazolin Türevleri İle Moleküler Doking.Yüksek lisans tezi. Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, 119s., 32.
- URAL-1, 2009.**  
[https://www.leaddiscovery.co.uk/reports/796/Histone\\_deacetylase\\_inhibitors](https://www.leaddiscovery.co.uk/reports/796/Histone_deacetylase_inhibitors) (11 Ocak 2016).
- URL-2, 2011.** <http://autodock.scripps.edu> (20 Mart 2016).
- URL-3, 2011.** [http://en.wikipedia.org/wiki/Protein\\_Data\\_Bank](http://en.wikipedia.org/wiki/Protein_Data_Bank) (12 Mar 2016).
- URL-4, 2011.** [http://vina.scripps.edu/Autodock\\_vina](http://vina.scripps.edu/Autodock_vina) (21 Mart 2016).

**URL-5, 2011.** <http://www.gaussian.com/Gaussian> ( 20 Mart 2016).

**URL-6, 2011.** <http://www.pdb.org/pdb/home/home.do> (13 Mart 2016).

**Vannini, A., Volpari, C., Filocamo, G., Casavola, C.E., Brunetti, M., Renzoni, D., Chakravarty, P., Paolini, C., Francesco, D.R., Gallinari, P. and Steinkühler, C., 2004.** Crystal structure of a eukaryotic zinc-dependent histone deacetylase, human HDAC 8, complexed with hydroxamic acid inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(42), 15064-15069.

**Vannini, A., Volpari, C., Gallinari, P., Jones, P., Mattu, M., Carfi, A., Francesco, D.R., Steinkuhler, C. and Marco, S.D., 2007.** Substrate binding to histone deacetylases as shown by the crystal structure of the HDAC8-substrate complex. *EMBO Reports*, 8(9), 879-884.

**Vigushin, M.D. and Coombes C.R., 2002.** Histone deacetylase inhibitors in cancer treatment. *Anticancer Drugs*, 13(1), 1-13.

**Waltregny, D., Leval, L.D., Glenisson, W., Tran, S.L., North, B.J., Bellahcene, A., Weidle, U., Verdin, E. and Castronovo, V., 2004.** Expression of histone deacetylase 8, a class I histone deacetylase, is restricted to cells showing smooth muscle differentiation in normal human tissues. *American Journal of Pathology*, 165(2), 553-564.

**Waltregny, D., Glenisson, W., Tran, S.L., North, B.J., Verdin, E., Colige, A. and Castronovo, V., 2005.** Histone deacetylase HDAC8 associates with smooth muscle alphaactin and is essential for smooth muscle cell contractility. *Faseb Journal*, 19 (8), 966-968.

**Witt, O., Deubzer, E.H., Milde, T. and Oehme, I., 2009.** HDAC family: What are the cancer relevant targets. *Cancer Letters*, 277(1), 8-21.

**Yakan, Ç.K., 2012.** Hepatit C Virüsü NS5B Polimeraz İnhibitörü Olan Tiyazolon İçeren Sülfonamit Türevlerinin Qsar Çalışması.Yüksek lisans tezi. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye, 95s., 22-25.

## EKLER

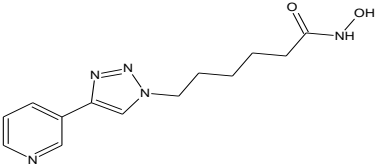
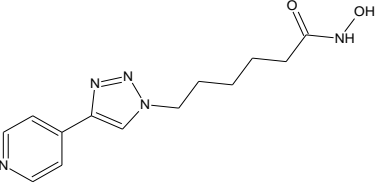
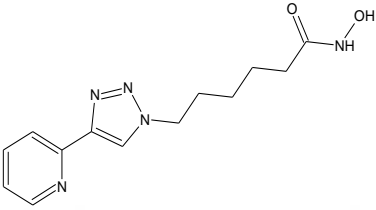
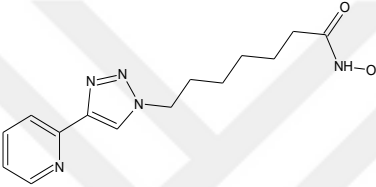
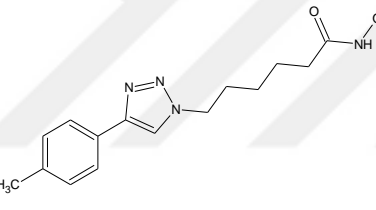
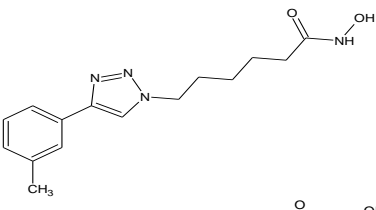
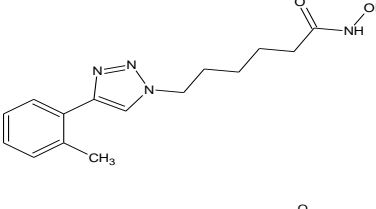
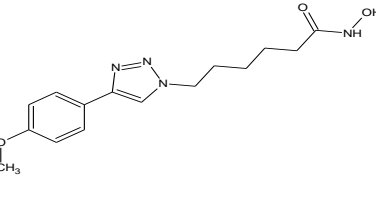
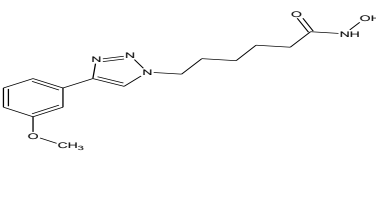
### Ek 1. Modellemede kullanılan bileşikler

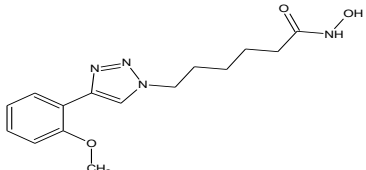
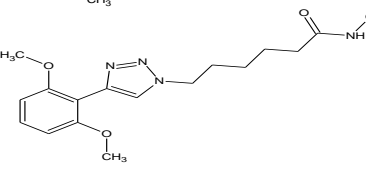
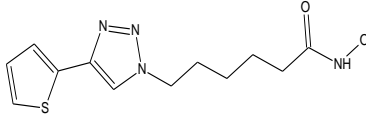
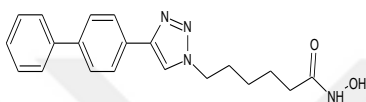
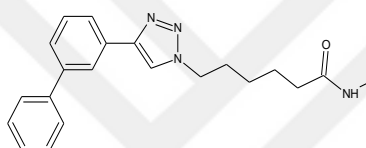
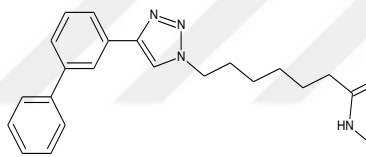
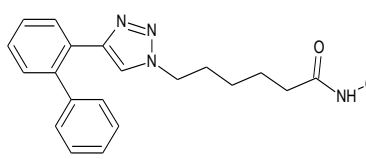
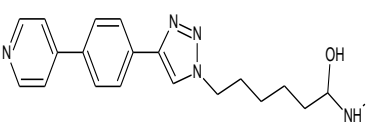
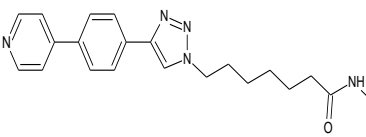
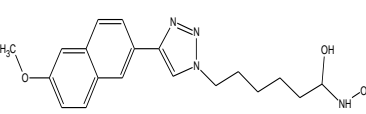
No	Molekül Yapısı	IUPAC İsmi	pIC50
1		N-hydroxy-2-[4-(2-naphthylsulfonyl)piperazin-1-yl]pyrimidine-5-carboxamide	-8,10
2		2-[1-(Naphthalene-2-sulfonyl)-piperidin-4-ylamino]-pyrimidine-5-carboxylic acid hydroxyamide	-7,52
3		2-[1-(Naphthalene-2-sulfonyl)-azepan-4-ylamino]-pyrimidine-5-carboxylic acid hydroxyamide	-7,31
4		2-[[1-(Naphthalene-2-sulfonyl)-piperidin-3-ylmethyl]-amino]-pyrimidine-5-carboxylic acid hydroxyamide	-7,23
5		2-[[4-(Naphthalene-2-sulfonyl)-morpholin-2-ylmethyl]-amino]-pyrimidine-5-carboxylic acid hydroxyamide	-7,16
6		2-[[1-(Naphthalene-2-sulfonyl)-piperidin-4-ylmethyl]-amino]-pyrimidine-5-carboxylic acid hydroxyamide	-7,41
7		N-hydroxy-6-[[1-(2-naphthylsulfonyl)piperidin-4-yl]amino]nicotinamide	-7,68
8		N-hydroxy-6-[1-(naphthalene-2-sulfonyl)-azepan-4-ylamino]-nicotinamide	-6,94

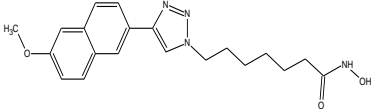
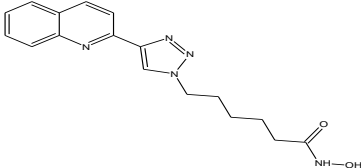
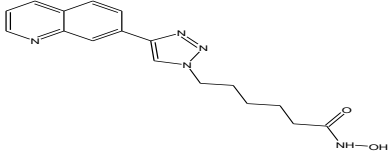
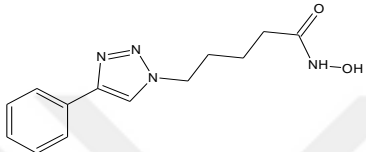
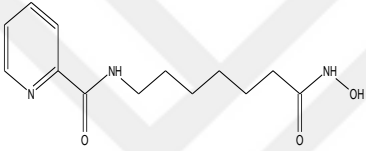
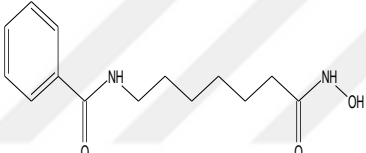
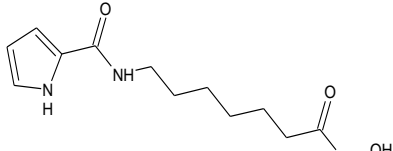
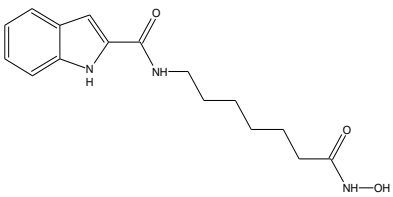
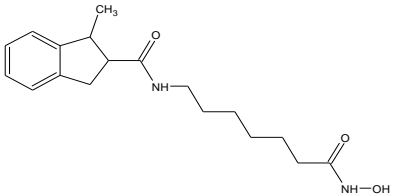
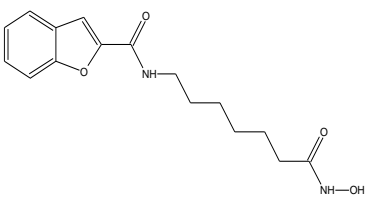


9		N-hydroxy-4-[(2-hydroxyethyl)(3-quinolinylmethyl)amino]methylbenzamide	-7,46
10		N-hydroxy-4-[(2-hydroxyethyl)(3-pyridinylmethyl)amino]methylbenzamide	-6,38
11		N-hydroxy-4-[(2-hydroxyethyl)(2-naphthylmethyl)amino]methylbenzamide	-7,70
12		4-[(1,3-Benzodioxol-5-ylmethyl)(2-hydroxyethyl)amino]methyl-N-hydroxybenzamide	-6,96
13		N-hydroxy-4-[(2-hydroxyethyl)[2-(1H-indole-3-yl)ethyl]amino]methylbenzamide	-6,28
14		N-(2-aminophenyl)-4-[(2-hydroxyethyl)(pyridin-3-ylmethyl)amino]methylbenzamide	-0,00
15		N-(2-aminophenyl)-4-[[benzyl(2-hydroxyethyl)amino]methyl]benzamide	-5,43
16		N-(2-aminophenyl)-4-[(2-hydroxyethyl)[(1-methyl-1H-indol-3-yl)methyl]amino]methylbenzamide	-5,62

17		N-(2-aminophenyl)-4-[(1,3-benzodioxol-5-ylmethyl)(2-hydroxyethyl)amino]methyl}benzamide	-5,75
18		N-(2-aminophenyl)-4-[(3,4-difluorobenzyl)(2-hydroxyethyl)amino]methyl}benzamide	-5,50
19		N-(2-aminophenyl)-4-[(2-hydroxyethyl)(4-methoxybenzyl)amino]methyl}benzamide	-5,30
20		N-hydroxy-4-(4-phenyl-1H-1,2,3-triazol-1-yl)butanamide	-0,00
21		5-(Phenyl)triazolypentahydroxamic acid	-6,35
22		6-(Phenyl)triazolylhexahydroxamic acid	-7,24
23		7-(Phenyl)triazolylheptahydroxamic acid	-7,41
24		6-(4-Anilyl)triazolylhexahydroxamic acid	-7,76
25		7-(4-Anilyl)triazolylheptahydroxamic acid	-7,39

26		6-(3-Pyridyl)triazolylhexahydroxamic acid	-5,93
27		6-(4-Pyridyl)triazolylhexahydroxamic acid	-6,34
28		6-(2-Pyridyl)triazolylhexahydroxamic acid	-6,56
29		7-(2-Pyridyl)triazolylheptahydroxamic acid	-7,01
30		6-(4-Tolyl)triazolylhexahydroxamic acid	-6,76
31		6-(3-Tolyl)triazolylhexahydroxamic acid	-6,89
32		6-(3-Tolyl)triazolylhexahydroxamic acid	-7,15
33		6-(4-Anisyl)triazolylhexahydroxamic acid	-8,07
34		6-(3-Anisyl)triazolylhexahydroxamic acid	-7,25

35		6-(2-Anisoyl)triazolylhexahydroxamic acid	-6,51
36		6-(2,6-Dimethoxyphenyl)triazolylhexahydroxamic acid	-5,89
37		6-(2-Thiophenyl)triazolylhexahydroxamic acid	-6,89
38		6-(4-Biphenyl)triazolylhexahydroxamic acid	-6,67
39		6-(3-Biphenyl)triazolylhexahydroxamic acid	-8,11
40		7-(3-Biphenyl)triazolylheptahydroxamic acid	-7,66
41		6-(2-Biphenyl)triazolylhexahydroxamic acid	-6,18
42		6-(4-Pyridylphenyl)triazolylhexahydroxamic acid	-8,03
43		7-(4-Pyridylphenyl)triazolylheptahydroxamic acid	-7,17
44		6-(6-Methoxynaphthalyl)triazolylhexahydroxamic acid	-8,14

45		7-(6-Methoxynaphthalyl)triazoyleptanamide hydroxamic acid	-7,21
46		6-(2-Quinolyl)triazoyleptanamide hydroxamic acid	-8,07
47		6-(7-Quinolyl)triazoyleptanamide hydroxamic acid	-6,21
48		N-hydroxy-5-(4-phenyl-1H-1,2,3-triazol-1-yl)pentanamide	-0,00
49		N-[7-(hydroxyamino)-7-oxoheptyl]pyridine-2-carboxamide	-5,57
50		N-[7-(hydroxyamino)-7-oxoheptyl]benzamide	-5,79
51		N-[7-(hydroxyamino)-7-oxoheptyl]-1H-pyrrole-2-carboxamide	-6,08
52		N-[7-(hydroxyamino)-7-oxoheptyl]-1H-indole-2-carboxamide	-7,63
53		N-[7-(hydroxyamino)-7-oxoheptyl]-1-methylindane-2-carboxamide	-5,93
54		N-[7-(hydroxyamino)-7-oxoheptyl]-1-benzofuran-2-carboxamide	-7,32

55		N-[7-(hydroxyamino)-7-oxoheptyl]-1H-indole-3-carboxamide	-7,22
56		N-[7-(hydroxyamino)-7-oxoheptyl]-1H-indole-4-carboxamide	-6,89
57		N-[7-(hydroxyamino)-7-oxoheptyl]-1H-indole-5-carboxamide	-7,30
58		N-[7-(hydroxyamino)-7-oxoheptyl]-1H-indole-6-carboxamide	-7,04
59		N-[7-(hydroxyamino)-7-oxoheptyl]-1H-indole-7-carboxamide	-7,18

## ÖZGEÇMİŞ

05.05.1989 tarihinde RİZE-Ardeşen’de doğdu. İlkokulu Ocak köyü İlkokulu, Ortaokulu Veysel Vardal İlköğretim okulu, Liseyi Çayeli Vakıfbank Lisesi’nde okudu. 2008 yılında kazandığı Hitit Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü’nde iki yıl okuduktan sonra 2010 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesine geçiş yaparak 2012 yılında mezun oldu. Karadeniz Teknik Üniversitesi Fatih Eğitim Fakültesinde 2013 yılında Kimya Öğretmenliği’nden (Pedagojik Formasyon) mezun oldu. 2014 yılından itibaren, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Bölümü Fizikokimya Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimini sürdürmektedir.