

**T.C.
İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

NANOBİLİM ve NANOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI

**MELANOM TEDAVİSİNE YÖNELİK OLARAK İLAÇLARIN
YENİDEN KONUMLANDIRILMASI VE MOLEKÜLER
KENETLENME ÇALIŞMALARI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
NEVİN BETÜL İMAT**

OCAK-2021

**T.C.
İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

NANOBİLİM ve NANOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI

**MELANOM TEDAVİSİNE YÖNELİK OLARAK İLAÇLARIN
YENİDEN KONUMLANDIRILMASI VE MOLEKÜLER
KENETLENME ÇALIŞMALARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NEVİN BETÜL İMAT

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi SALİHA ECE ACUNER

EŞ DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi BESTE TURANLI

OCAK-2021

ETİK İLKELERE UYGUNLUK BEYANI

İstanbul Medeniyet Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü bünyesinde hazırladığım bu Yüksek Lisans tezinin bizzat tarafımdan ve kendi sözcüklerimle yazılmış orijinal bir çalışma olduğunu ve bu tezde;

1- Çeşitli yazarların çalışmalarından faydalandığımda bu çalışmaların ilgili bölümlerini doğru ve net biçimde göstererek yazarlara açık biçimde atıfta bulunduğumu;

2- Yazdığım metinlerin tamamı ya da sadece bir kısmı, daha önce herhangi bir yerde yayımlanmışsa bunu da açıkça ifade ederek gösterdiğimi;

3- Alıntılanan başkalarına ait tüm verileri (tablo, grafik, şekil vb. de dahil olmak üzere) atıflarla belirttiğimi;

4- Başka yazarların kendi kelimeleriyle alıntıladığım metinlerini kaynak göstererek atıfta bulunduğum gibi, yine başka yazarlara ait olup fakat kendi sözcüklerimle ifade ettiğim hususları da istisnasız olarak kaynak göstererek belirttiğimi,

beyan ve bu etik ilkeleri ihlal etmiş olmam halinde bütün sonuçlarına katlanacağımı kabul ederim.

Nevin Betül İMAT

[İmza]

ONAY

İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü'nde Yüksek Lisans öğrencisi olan Nevin Betül İmat'ın hazırladığı ve jüri önünde savunduğu “Melanom Tedavisine Yönelik Olarak İlaçların Yeniden Konumlandırılması ve Moleküler Kenetlenme Çalışmaları” başlıklı tez başarılı kabul edilmiştir.

JÜRİ ÜYELERİ

İMZA

Tez Danışmanı:

[Dr. Öğr. Üyesi Saliha Ece Acuner]

Kurumu: İstanbul Medeniyet Üniversitesi

Eş Danışmanı:

[Dr. Öğr. Üyesi Beste Turanlı]

Kurumu: Marmara Üniversitesi

Üyeler:

[Prof. Dr. Kazım Yalçın Arğa]

Kurumu: Marmara Üniversitesi

[Doç. Dr. Nagehan Ersoy Tunalı]

Kurumu: İstanbul Medeniyet Üniversitesi

[Dr. Öğr. Üyesi Muhammed Erkan Karabekmez]

Kurumu: İstanbul Medeniyet Üniversitesi

Tez Savunma Tarihi: 05.01.2021

TEŞEKKÜR

Kimya lisans bölümü mezunu olarak girdiğim disiplinler arası Nanobilim ve Nanomühendislik Anabilim Dalı'na adaptasyonumda, çalışmalarımı yönlendirmesinde, araştırmalarımın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyerek akademik ortamda bana verdikleri sonsuz motivasyon ve destekleri için, bana her zaman sonsuz güvendikleri ve beni tez çalışmam boyunca hem çok değerli hissettirip hem insani ilişkiler açısından değer kattıkları hem de bilgime bilgi katarak benim gelişmeme bu kadar katkı sağladıkları için, bu süreçte gece gündüz demeden hiçbir iletişim ağı farketmeksizin benimle daima iletişim içinde oldukları için ve bu süreci büyük bir özveri ve sabırla yönettikleri için sayın Dr. Öğr. Üyesi Saliha Ece ACUNER ve sayın Dr. Öğr. Üyesi Beste TURANLI hocalarıma, tezimi yazarken katıldığımız akademik etkinlik olan HIBIT (The International Symposium on Health Informatics and Bioinformatics) sempozyumunda hazırladığımız poster sunumuna verdikleri destek için Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP)'ne ve yine tez yazımı sürecinde Türkiye Sağlık Enstütüleri Başkanlığı (TÜSEB) tarafından açılan Hesaplamalı Yapısal Biyoloji Stratejik Ar-Ge Proje Çağrısı'na yaptığımız başvuru sonucunda kabul alan projemiz 'Melanom tedavisine yönelik bütünsel bir yaklaşım: hesaplamalı yöntemler olan ilaç yeniden konumlandırma ve moleküler kenetlenme ile *in vitro* validasyon deneylerinin birleştirilmesi' için aldığımız bütçe desteği sebebiyle TÜSEB'e ve bu yoğun çalışma sürecinde bana gösterdikleri üstün sabır, sağladıkları mükemmel çalışma ortamı ve manevi desteklerini esirgemeyen canım ailem Nevin İMAT, Kenan İMAT, Berre Nur İMAT ve Sena Beyza İMAT' a sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

ETİK İLKELERE UYGUNLUK BEYANI.....	i
ONAY	ii
TEŞEKKÜR	iii
KISALTMALAR	vii
TABLO LİSTESİ.....	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
ÖZET VE ANAHTAR KELİMELER	xii
ABSTRACT AND KEYWORDS	xiii
GİRİŞ	1
BÖLÜM I.....	5
1. LİTERATÜR ÖZETİ.....	5
1.1 Melanom.....	5
1.2 İlaçların Yeniden Konumlandırılması	8
1.2.1 İlaçların yeniden konumlandırılmasına yönelik hesaplamalı yaklaşımlar	9
1.3 İlaç Geliştirmede Kullanılan Hesaplamalı Yaklaşımlar	13
1.4 Moleküler Kenetlenme	15
1.4.1 Ligand ve proteinin hazırlanması.....	17
1.4.2 Kenetlenme türünün belirlenmesi	17
1.4.3 Ligand konformasyonlarının uygunlukları için arama stratejisinin belirlenmesi.....	18
1.4.4 Skor fonksiyonu	18
1.4.5 Kenetlenme doğruluğu.....	20
1.4.6 Validasyon (Doğrulama).....	22
1.5 Kenetlenme Örnekleri	23
1.5.1 Protein-ligand kenetlenmesi.....	23
1.5.2 Protein-Protein Kenetlenmesi	24
1.5.3 Kenetlenmede poz ve puanlama	25
1.5.4 Suda çözme ve kenetlenme	26
1.5.5 Kovalent kenetlenme	27
1.5.6 Metal bağlanma kenetlenmesi.....	27

BÖLÜM II	29
2. MATERYAL VE METOT	29
2.1 Melanom İçin Aday İlaç-Gen Çiftlerini Belirleme	29
2.1.1 Transkriptom (gen ekspresyon) veri setinin eldesi	29
2.1.2 mRNA seviyesinde anlatımı farklılık gösteren genlerin (DEG) tespit edilmesi	29
2.1.3 GeneXpharma kullanılarak ilaçların yeniden konumlandırılması	30
2.1.4 Yeniden konumlandırılan aday ilaçlar arasından en anlamlı ilaç-gen çiftlerinin belirlenmesi ve hastalık etkileşim analizi.....	31
2.1.5 İlaçların kanserle ilgilerine göre sınıflandırılması	33
2.2 Yeniden Konumlandırılan Aday İlaç-Protein Çiftlerinin Kenetlenme Çalışmaları	35
2.2.1 SwissDock internet arayüzü kullanılarak yapılan kenetlenme çalışmaları	36
BÖLÜM III.....	41
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	41
3.1 Anlamlı Olarak Belirlenen Genlerin Hastalıklarla Etkileşimlerinin ve Onları Hedefleyen İlaçlarla İlgisinin İncelenmesi	41
3.2 Yeniden Konumlandırılan İlaçları Gruplandırma ve İlaç-Protein Çiftlerinin Kenetlenme Çalışmaları	45
3.3 Detaylı Yapısal Analiz	51
3.3.1 Dabrafenib - BRAF	51
3.3.2 Dasatinib – ABL1	53
3.3.3 Carfilzomib – PSMB7.....	58
3.3.4 Clomipramine – HTR2B.....	59
3.3.5 Bepridil – CALM1	63
3.3.6 Dapsone – CALM1	66
BÖLÜM IV	67
4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	67
EKLER.....	69
EK-1. DAHA ÖNCE YAPILAN ÇALIŞMALARDAN DERLENMİŞ 75 İLAÇ İÇİN YENİDEN KONUMLANDIRMA ÖRNEKLERİ.....	69

EK-2. p-DEĞERİ ÜST SINIRI 0.001 İÇİN YUKARI-REGÜLE VE AŞAĞI- REGÜLE OLARAK BELİRLENEN GEN LİSTESİ	88
KAYNAKÇA	95
ÖZGEÇMİŞ.....	115

KISALTMALAR

FDA	: ABD Gıda ve İlaç İdaresi
IP	: Fikri Mülkiyet Hakkı
PhRMA	: İlaç Araştırmaları ve Amerika Üreticileri
PPI	: Protein Protein Etkileşimi
PDB	: Protein Veri Bankası
PELE	: Protein Enerjisi Peyzajı Keşfi
SMoG2001	: Küçük Molekül Büyümesi
ROC	: Alıcı-Kullanıcı Karakteristiği
RMSD	: Kök Ortalama Kare Sapma
MC	: Monte Carlo
GA	: Genetik Algoritmalar
AUC	: Eğri Altındaki Alan
CAPRI	: Etkileşim Öngörülerinin Kritik Değerlendirmesi
DEG	: mRNA Seviyesinde Anlatımı Farklılık Gösteren Genler
WHOcc-ATC/DDD Index 2019	: WHO İlaç İstatistikleri Metodolojisi İşbirliği Merkezi
THF	: Tetrahidrofolat
DHFR	: Dihidrofolat redüktaz
UniProtKB	: UniProt (Evrensel Protein Kaynağı) Bilgi Bankası
UniRef	: UniProt Referans Kümeleri
UniParc	: UniProt Arşivi
MMFF	: Merck Moleküler Kuvvet Alanından
IKK	: Kinaz Kompleksi
TDZ	: Thioridazinhidroklorür

KEGG	: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes
BM	: Bağlama modu
3B	: Üç boyutlu
TCA	: Trisiklik Antidepresanlar
ALL	: Akut Lenfoblastik Lösemiler
MAPK	: Mitojen - Aktive Protein Kinaz
ERK	: Hücre Dışı Regüle Edilmiş Kinaz
CML	: Kronik miyeloid lösemi
OMIM	: İnsan Genleri ve Genetik Bozuklukların Çevrimiçi Kataloğu
LQT14	: QT sendromu 14 LQT14
NMDA	: N-metil-D-aspartat Glutamat Reseptörleri
MHC	: Majör Histokompatibilite Kompleks
DFG	: Aktivasyon Döngüsünün N-terminal Asp – Phe-Gly Motifi

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Protein-Ligand Kenetlenmesinin Bilgisayar Yazılımları, İnternet Sunucuları ve Algoritmaları	16
Tablo 2.	ConsensusPath Verilerinden Elde Edilen Sonuçlara Göre Zenginleştirilmiş Bazı Kanser Türleriyle Ortak Olan Genler	43
Tablo 3.	ConsensusPath Verilerinden Elde Edilen Sonuçlara Göre Belirlediğimiz Bazı Hastalıklarla Ortak Olan Genler	44
Tablo 4.	ConsensusPath Verilerinden Elde Edilen Sonuçlara Göre Bazı Metabolizma ve Sinyal Yolaklarıyla Ortak Olan Genler	45
Tablo 5.	Grup 1 İçin Belirlenen İlaçlar ve Kenetlenme Skorları.....	46
Tablo 6.	Grup 2 İçin Belirlenen İlaçlar ve Kenetlenme Skorları.....	47
Tablo 7.	Grup 3 İçin Belirlenen İlaçlar ve Kenetlenme Skorları.....	47
Tablo 8.	Grup 4 İçin Belirlenen İlaçlar ve Kenetlenme Skorları.....	48
Tablo 9.	Grup 1 İçin Belirlediğimiz İlaçlar ve Yapılan Çalışmadaki Melanom için Seçilen Ortak İlaçlar	49
Tablo 10.	Grup 2 İçin Belirlediğimiz İlaçlar ve Yapılan Çalışmadaki Melanom için Seçilen Ortak İlaçlar	50
Tablo 11.	Grup 3 İçin Belirlediğimiz İlaçlar ve Yapılan Çalışmadaki Melanom için Seçilen Ortak İlaçlar	50
Tablo 12.	Grup 4 İçin Belirlediğimiz İlaçlar ve Yapılan Çalışmadaki Melanom için Seçilen Ortak İlaçlar	50
Tablo 13.	Dabrafenib İlacının Literatürde Çalışması Bulunan Protein Yapısıyla Kenetlenme Skoru	53
Tablo 14.	Dasatinib İlacının Literatürde Çalışması Bulunan Protein Yapısıyla Kenetlenme Skoru	57
Tablo 15.	Carfilzomib İlacının Literatürde Çalışması Bulunan Protein Yapısıyla Kenetlenme Skoru	59
Tablo 16.	Clomipramine İlacının Literatürde Çalışması Bulunan Protein Yapısıyla Kenetlenme Skoru.....	63
Tablo 17.	Bepridil İçin Belirlenen İlaç-Protein Çiftlerinin Kenetlenme Skorları ...	65
Tablo 18.	Dapsone ve CALM1 Proteinin Kenetlenme Skoru	66

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Vücudun Farklı Bölgelerinde Görülen Farklı Renk ve Boyutlardaki Melanom Tümörleri	6
Şekil 2.	Melanom Hastalığında Uygulanan Tedaviler	7
Şekil 3.	Uluslararası Klinik Araştırmalar Kayıt Platformu (ICTRP) Veri Tabanında 1971’den 2018’e Kadar Melanomda En Sık Kullanılan 20 İlaç	8
Şekil 4.	1995-2015 Yılları Arasında PhRMA Üyesi Şirketler Tarafından İlaç Geliştirmeye Yapılan Yatırım ve FDA Tarafından Onaylanan İlaçların Sayısı	9
Şekil 5.	Moleküler Kenetlenme	15
Şekil 6.	ROC Eğrisinin Gösterimi	23
Şekil 7.	Gen anlatımında farklılık olan genlerin bulunması.....	30
Şekil 8.	Tezde Kullanılan Yöntemlerin Şeması.....	39
Şekil 9.	p-değerine Göre Anlamlı Genlerin, Belirlenen Hedef İlaçların Tedavisinde Kullanıldığı Hastalıklardan Bazılarıyla Olan Etkileşim Entegreleri	42
Şekil 10.	Dabrafenib-BRAF Protein-İlaç Çiftinin Kenetlenme Sonucunda En İyi Enerji Değerindeki 0_1 Olan Artığın Ligandla Aynı Yerden Bağlandığını Gösteren Hizalama Görseli	53
Şekil 11.	A, ABL Kinaz Dasatinib Kompleksinin Yapısı (PDB: 1IEP). B, ATP Bağlanma Bölgelerindeki Kalıntıların ve Dasatinib Kesintilerinin Ayrıntılı Görünümü.....	55
Şekil 12.	ABL1 Geninin 2GQG Yapısının A Zincirinin Dasatinib ile Swissdock Kenetlenme Sonucu.....	57
Şekil 13.	4R67 Yapısının Kendiliğinden Ligand Bağlı Yapısının Görseli	59
Şekil 14.	HTR2B (PDB: 6DRY) Yapısının A Zincirinin Ligandlı Yapısının Görseli	62
Şekil 15.	Clomipramine İlacının HTR2B Genin 6DRY Yapısının A Zinciriyle Hizalanması	63

- Şekil 16.** Bepridil'in 5WC5 ve 1 PK0 Proteinleriyle Hizalanan Yapısının En İyi Enerji Değerine Sahip Kalıntı (4_0) ile Aynı Bölgeden Bağlandığını Gösteren Şekil 65
- Şekil 17.** 5WC5 ve Hedef Proteinin Kenetlenmesi Sonucunda Dapsone İlacının, AJV Ligandıyla Farklı Bölgeden Bağlandığını Gösteren Şekil 66

ÖZET VE ANAHTAR KELİMELELER

Yüksek ölüm oranları olan melanom olayları küresel olarak hızlı bir şekilde artmaktadır ve tedavideki zorluklar etkin ilaç keşif yöntemlerinin geliştirilmesini çok önemli kılmaktadır. İlaçların yeniden konumlandırılması, mevcut ilaçlar için yeni kullanım alanları sağlayan yenilikçi bir yaklaşımdır. Bu tez çalışması ile hesaplamalı yaklaşımlar olan ilaçların yeniden konumlandırılması ve moleküler kenetlenme metotları birleştirilerek melanom tedavisine yönelik ilaç geliştirme çabalarına katkıda bulunmak hedeflenmektedir. Bu doğrultuda ilk olarak gen ekspresyonu rehberli bir arama aracı olan geneXpharma kullanılarak, melanoma yönelik anlamlı ilaç-gen çiftleri tahmin edilmiştir. Tahmin edilen ilaç-gen çiftleri kanserle ilgilerine göre gruplandırılarak (kanser tedavisinde kullanılan; kanser tedavisinde tamamlayıcı olarak kullanılan; henüz kanser tedavisi ile ilişkilendirilmemiş olan ve rastgele seçilen kontrol grubu) her grup için temsili ilaç-gen çiftleri seçilmiştir. Son olarak, bu seçilmiş çiftlerdeki genler tarafından kodlanan proteinler ve ilgili ilaçlar için moleküler kenetlenme (docking) çalışmaları yapılmış ve her gruptan seçilen bazı ilaç-protein çiftlerinin kenetlenmiş yapıları detaylı olarak incelenmiştir. Analizler sonucunda moleküler kenetlenme ile tahmin edilen ilaç-protein yapılarından bazılarının veri olan durumlarda literatüre uyumlu olduğu gösterilmiş, bazı etkileşimler ise yapısal detaylarıyla birlikte ilk defa bu tez çalışmada önerilmiştir. Sonuç olarak, melanom tedavisine yönelik yeniden konumlandırılan aday ilaçlar arasından öne çıkan üç ilaç: astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığında kullanılan Salmeterol, Hepatit ve HIV'ye yönelik kullanılan Tenofovir ve kalp yetmezliği, hipertansiyon gibi hastalıkların endikasyonunda kullanılan Bepridil olarak tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Melanom, moleküler kenetlenme, ilaçların yeniden konumlandırılması.

ABSTRACT AND KEYWORDS

There is a rapid increase in the melanoma incidences globally with high mortality rates. The challenges in the treatment market the development of efficient drug discovery methods are crucial. Drug repositioning is an innovative approach providing new usage areas for existing drugs. This study aims to combine the computational approaches of drug repositioning and molecular docking to contribute to the drug development efforts against melanoma. Towards this aim, a gene expression-guided search tool (geneXpharma) was used to predict the significantly relevant drug-gene pairs in melanoma. The predicted significant drug-gene pairs were then categorized into groups based on their relevance to cancer (antineoplastic; combinatorial therapy; not related to cancer treatment yet and random drug-gene pairs). The representative pairs were selected for each group. Lastly, molecular docking studies were performed for the proteins encoded by the listed significant genes and their ligand drugs. Selected the docking results for the drug-protein pairs in each group were further analyzed structurally. As a result of this study, the predicted drug-protein structures through molecular docking were shown to agree with literature (if data available) and novel drugs, with structural binding details, were suggested for melanoma. In conclusion, among the drugs repositioned for melanoma, the top three drugs are determined as: Salmeterol used in chronic obstructive pulmonary disease, Tenofovir used against Hepatitis and HIV and Bepridil, used in the indication of diseases such as heart failure and hypertension.

Keywords: Melanoma, molecular docking, drug repositioning.

GİRİŞ

Cilt kanserinin en ölümcül türlerinden biri olan melanom günümüzde hızla yayılmaktadır ve önemli bir halk sağlığı sorunudur. Araştırmalar ultraviyole (UV) radyasyonuna maruz kalmanın melanom riskini arttırdığını açıkça ortaya koymuştur. Güneş ışığına maruz kalmanın en aza indirgenmesi gibi önlemler ve erken aşamada teşhis melanom oranlarını ve melanomla ilişkili ölümleri azaltmada önemli bir potansiyele sahiptir (Tripp, Watson, Balk, Swetter, Gershenwald, 2016). Melanom tedavisine yönelik olarak, anti-tümör aktivitesi ve hayatta kalma süresini içeren, yeni hedefe yönelik tedaviler ve immünoterapilerden faydalanılmaktadır. Bununla birlikte, hem çocuklarda hem de yetişkinlerde görülen melanom türündeki kanserler için, son zamanlarda geliştirilen hedefli tedaviler yapılan çalışmalara büyük ölçüde alternatif olmaktadır (Siegel, Miller, Jemal, 2020).

Kanserin diğer türlerine benzer şekilde melanoma yönelik olarak da yeni ilaç geliştirmek oldukça maliyetli olmakla birlikte uzun zaman sürecektir çalışmalar gerektirmektedir. Yeni ilaç geliştirmenin zorluklarından dolayı son yıllarda var olan ilaçların yeniden konumlandırılması yaklaşımına ağırlık verilmiştir. Hesaplamalı olan bu yaklaşım kullanılarak yapılan çalışmalarda ilaçlar yeniden konumlandırılarak uygulama hedefinden farklı hastalıklar için önerilmektedir. Çeşitli hastalıklar için kullanılan mevcut ilaçların yeni endikasyonlarını bulmak amacıyla ilaçların yeniden konumlandırılması, yıllardır araştırma konusu olmuş ve bulunan yeni ilaç endikasyonları tedavilerde başarıyla uygulanmıştır. Sildenafil (Viagra), spesifik fosfodiesteraz tip 5'in (PDE5) bir inhibitörüdür ve 1980'lerde Pfizer tarafından koroner arter hastalığının tedavisi için geliştirilmiştir. Sildenafilin yan etkisi olan, penis ereksiyonu işaretlenmiş indüksiyonu, tesadüfen hipertansiyon ve anjina pectoris hastalarında Faz I klinik çalışmalar sırasında bulunmuştur. Sildenafil, anjina tedavisi için Faz II klinik çalışmalarda başarısız olduktan sonra, erektil disfonksiyonların tedavisine yönlendirilmiştir. Pfizer 1996'da ilacın patentini ve ABD Gıda ve İlaç Dairesi'nin (FDA) onayını alarak dünyada en çok reçete edilen ilaçlardan birinin keşfedilmesine neden olmuştur. İlaçların yeniden konumlandırılmasına bir başka örnek Thalidomide'dir. Thalidomide, 1957'de Alman ilaç şirketi Grünenthal

tarafından bir yatıştırıcı olarak geliştirilmiş ve hamile kadınlarda sabah bulantısını hafifletmek için kullanılmıştır. İlacın piyasaya sürülmesinden kısa bir süre sonra, ciddi doğum kusurlarına neden olduğu bulunmuştur. 46 ülkede 10.000'den fazla çocuğun talidomid kullanımına bağlı olarak uzuvlarında ve diğer vücut ekstremitelerinde malformasyonla doğması ve yaklaşık yarısının doğumdan birkaç ay sonra ölmesi ilacın piyasadan çekilmesine yol açar (McBride WG, 1977). Sonraki yıllarda, birkaç araştırma grubu talidomidin antikanser aktiviteye sahip olduğunu bulmuştur. Robert D'Amato ve Judah Folkman tarafından hayvan modellerinde anjiyogenezi inhibe ettiği bulundu ve daha sonra refrakter multipl miyelom ve metastatik prostat kanseri üzerinde umut verici terapötik etkiye sahip olduğu gösterildi (RJ, MS, E, J., 1994). 2006 yılında talidomid, deksametazon ile kombinasyon halinde multipl miyelom tedavisi için ABD-FDA onayı almıştır (Shim ve Liu, 2014). Bir diğer başarılı ilaç yeniden konumlandırma çalışmasında, Gupta ve diğerleri diyabet için kullanılan Metformin ilacının yeni endikasyonunu bularak meme ve prostat kanserinde uygulanabileceğini göstermişlerdir (Gupta, S.C. ve diğerleri, 2013). Son on yılda geliştirilen hesaplamalı yöntemler başarılı şekilde uygulanan ilaç yeniden konumlandırma çalışmaları hızla artmaktadır.

İlaç yeniden konumlandırma ile hedef hastalığa karşı yüzlerce aday ilaç belirlenmektedir ve aday ilaçların hedef proteinlerine bağlanma mekanizmalarının moleküler kenetlenme (docking) çalışmaları ile yapısal olarak incelenmesi ve elenmesi; daha sonra yapılması gereken deneysel çalışmalara yol gösterici olacaktır.

Moleküler kenetlenme yöntemi ile küçük moleküllerin (ligand) bir hedef proteinin bağlanma bölgesindeki davranışları araştırılmaktadır. Her geçen gün deneysel yöntemler olan x-ışını kristalografisi, nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopisi veya cryo elektron mikroskopisi kullanılarak daha fazla protein yapısı belirlendiğinden, moleküler kenetlenme yöntemi de ilaç keşfedilmesinde bir araç olarak giderek daha fazla kullanılmaktadır. Ayrıca yapıları bilinmeyen proteinler için de homoloji-modellenmiş hedeflere karşı kenetlenme çalışmaları yapmak, mümkün olmaktadır. Kenetlenme stratejileriyle, daha ileri optimizasyon işlemleri için bileşiklerin ilaçlanabilirlik özellikleri ve belirli bir hedefe karşı özgüllükleri hesaplanabilir. Moleküler kenetlenme programları, ligandın konformasyonunun minimum enerjiye yaklaşma sağlamasına kadar tekrarlı bir şekilde değerlendirildiği

bir arama algoritması içermektedir. Son olarak, aday pozları değerlendirmek için elektrostatik ve van der Waals enerjilerinin toplamını hesaba katan bir afinite puanlama fonksiyonu kullanılır (Pagadala, Syed, Tuszynski, 2017).

Bu tez çalışmasında, veri bankalarında var olan ilaçlar gen ekspresyonu rehberli (geneXpharma, Turanli, Gülfidan ve Arga, 2017) bir araç kullanılarak melanom hastalığı için yeniden konumlandırılmış ve önerilen aday ilaçlar ile hedef proteinleri arasında moleküler kenetlenme çalışmaları yapılarak en uygun adaylar seçilmiştir. Seçilen en iyi aday ilaç-protein çiftleri için moleküler kenetlenme ile tahmin edilen yapılar detaylı olarak analiz edilmiş ve veri olan durumlarda literatür ile doğrulama sağlanmıştır. Ayrıca bu çalışmanın devamı olarak uzun vadede *in vitro* deneysel çalışmalarla önerilen ilaçların uygunluğunun gösterilmesi planlanmaktadır.

Tezin amaçları ve bu amaçlar doğrultusunda kullanılacak yöntemlerin bu bölümde (Giriş) tanıtılmasının ardından, takip eden bölümde melanom hastalığı ve tezde kullanılan ilaç yeniden konumlandırma ve moleküler kenetlenme yaklaşımları ile ilgili detaylı literatür özeti verilmiştir (Birinci Bölüm). İkinci Bölüm’de tezde kullanılan Materyal ve Metotlar tanıtılmıştır. Sonuçlar ve Tartışma (Üçüncü Bölüm) kısmında analiz sonuçları verilmiş ve sonuçların biyolojik olarak anlamları tartışılmıştır. Son olarak tez sonuçlandırılmış, temel bulgular özetlenmiş (Sonuçlar) ve geleceğe yönelik bazı deneysel çalışmalar için tavsiyeler verilmiştir (Tartışma ve Öneriler)

BÖLÜM I

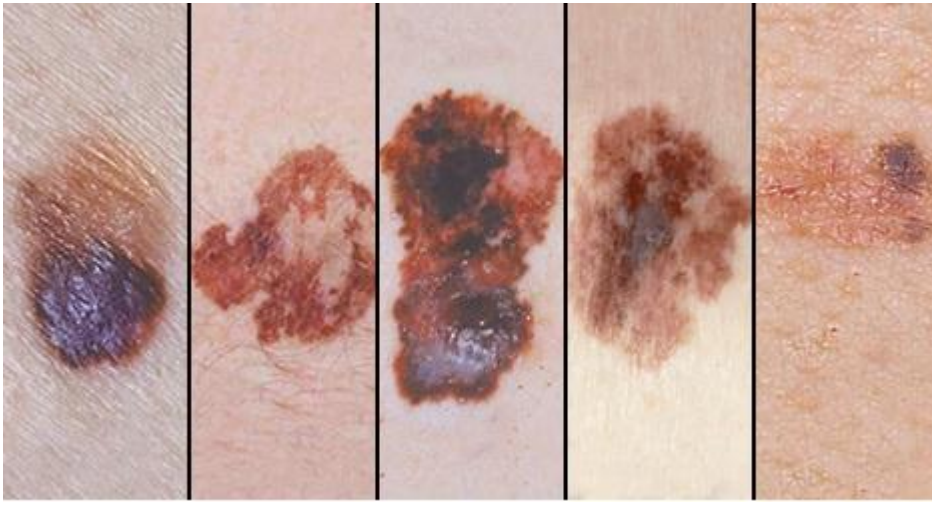
1. LİTERATÜR ÖZETİ

1.1 Melanom

Melanom, vücudun bazı bölgelerinde meydana gelen kötü huylu bir kanser türüdür. Melanom genellikle melanositlerin, kötü huylu (malign) hücreler üretmesiyle meydana gelir (Domingues, Lopes, Soares, Popula, 2018). Melanomun vücutta görülmesi diğer kanser türlerine yakalanma riskini de arttırmaktadır (Perera, Gnaneswaran, Jennens ve Sinclair, 2014). Bu sebeple bu hastalıkta erken teşhis, yaşama şansını arttırmak için çok önemlidir. Melanom ölümcül kanser türlerinden biridir. Örneğin 2016'da İngiltere'de yapılan bir çalışmada 76.380 kişiye melanom teşhisi konulmuş ve hasta bireylerin 10.130 tanesinin hayatını kaybettiği tespit edilmiştir (Amado, Thomas, 2018). Melanomun bireyde ortaya çıkmasına, genetik yatkınlık, güneş ışığına/ultraviyole radyasyona çok maruz kalınması, hassas cilde sahip olunması veya bağışıklık sisteminin zayıflığı gibi nedenler gösterilebilir (Perera ve diğerleri, 2014). Güneşin zararlı UV ışınlarına kronik olarak maruz kalınmasından kaynaklı görülen melanom bazı gen mutasyonlarını içerir ve bunların en yaygın örnekleri NRAS, KIT ve BRAF mutasyonlarıdır (Wrobel, Przybylo ve Stepień, 2019).

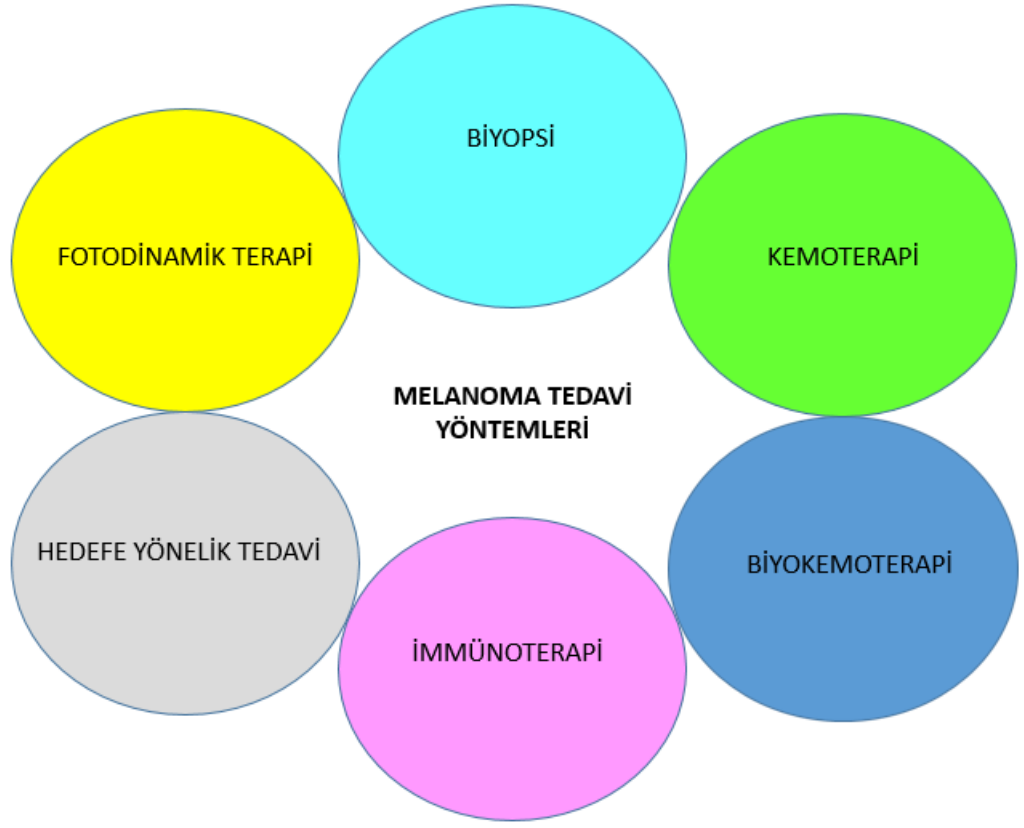
Melanom genellikle bireylerin derisinde meydana gelirken göz, iç kulak, bağırsak gibi vücudun diğer bölgelerinde de rastlanabilir (Domingues ve diğerleri, 2018). Melanom pigmentli veya pigmentsiz görülebilmekle birlikte, hastaların genelinde pigmentli olarak ortaya çıkar. Melanom türlerine göre dört alt sınıfta toplanabilir. Yüzeysel yayılma melanomu, çilli kötü huylu melanom, akral çilli melanom, nodüler melanom (McCourt, Dolan, Gormley, 2014). Bunlardan en sık görülen yüzeysel yayılma melanomu, cilt yüzeyinde büyür vücudun her bölgesinde oluşabilir ve pigmentli olarak

ortaya çıkabilir (McCourt, Dolan, Gormley, 2014). Çilli melanom yüzeysel yayılma melanomuna benzerdir. Akral çilli melanom ise meydana geldiği bölge olarak diğerlerden farklılık gösterir. Tırnakların altında, ayak tabanlarında ve avuç içlerinde pigmentli olarak görülebilir. Melanomun en tehlikeli olan sınıfı nodüler melanomdur ve genellikle siyah renkli olmakla birlikte farklı renklerde de olabilir. Bireyin gövdesinde, bacaklarında, sırtlarında bunun yanı sıra erkeklerin kafa derisinde görülebilir (McCourt, Dolan, Gormley, 2014). Şekil 1’de görüldüğü gibi tümörler genellikle siyah veya kahverengi görülür ancak beyaz, mor, pembe gibi farklı renklerde de olabilirler.



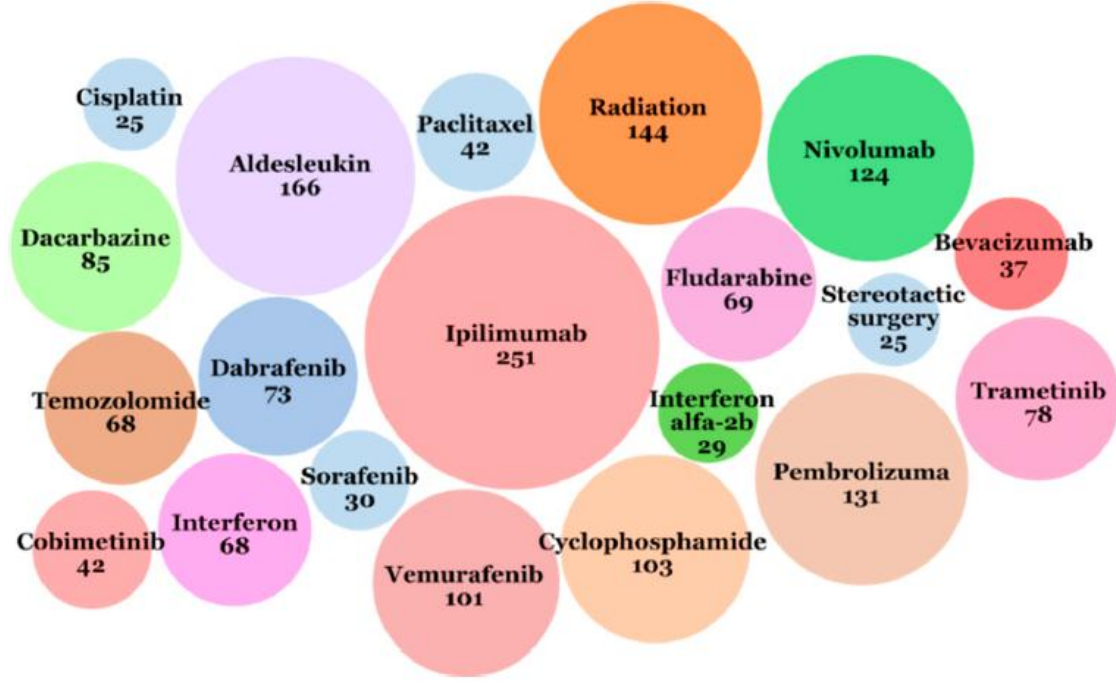
Şekil 1. Vücudun Farklı Bölgelerinde Görülen Farklı Renk ve Boyutlardaki Melanom Tümörleri (WEB1)

Melanomun mevcut tedavi yönteminden başlıcaları: cerrahi müdahale, kemoterapi, fotodinamik tedavi, immünoterapi, biyokemoterapi ve hedefe yönelik tedavilerdir. Şekil 2’de melanom tedavi yöntemleri gösterilmiştir (Wrobel ve diğerleri, 2019). Kemoterapi yöntemine alternatif birçok tedavi olmasına rağmen hâlâ kullanılan en yaygın yöntemdir (Şekil 2).



Şekil 2. Melanom Hastalığında Uygulanan Tedaviler (Wrobel ve diğerleri, 2019 kaynağından adapte edilmiştir.)

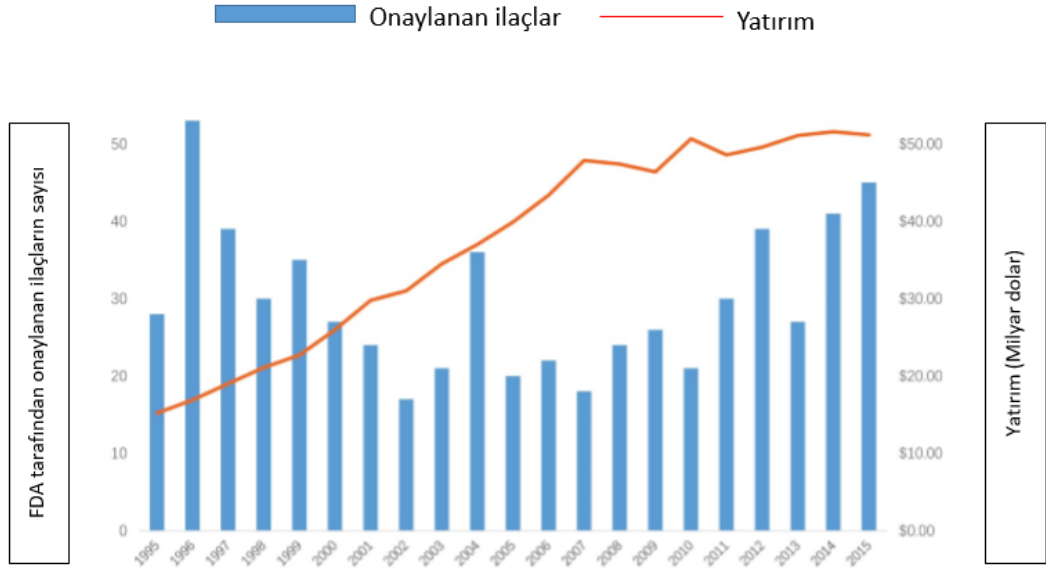
Çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçların yeniden konumlandırılma çalışmaları 1971’de başlamış ve halen ilaç geliştirme çalışmaları devam etmektedir. 1975’te ilk olarak “Dacarbazine” geliştirilmiş ve ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanmıştır. O zamandan beri melanom için geliştirilen ilaçlar farklı tedavi yöntemlerinde kullanılmıştır. Tedavi yöntemleri ardışık ya da birlikte uygulanabildiği gibi, tedavi süresine ilaçlar da tek başlarına ya da ilaç kombinasyonu şeklinde uygulanmaktadır. Melanom tedavisinde sıklıkla kullanılan kemoteröpatik ilaçlara örnek olarak, Cyclophosphamide ve Temozolomide ilaçları örnek verilebilir (Wrobel ve diğerleri, 2019). Ayrıca, Pembrolizumab, Nivolumab, Ipilimumab ve Atezolizumab ise son yıllarda immünterapide yaygın olarak kullanılan ilaçlardır (Wrobel ve diğerleri, 2019). Hedefe yönelik tedavilerde en çok kullanılan ilaçlar ise Trametinib, Dabrafenib, Cobimetinib ve Vemurafenib’tir (Wrobel ve diğerleri, 2019) (Şekil 3).



Şekil 3. Uluslararası Klinik Araştırmalar Kayıt Platformu (ICTRP) Veri Tabanında 1971’den 2018’e Kadar Melanomda En Sık Kullanılan 20 İlaç (İlacın altındaki numaralar kullanıldığı klinik tedavi sayısı çalışması anlamına gelmektedir.) (Wrobel ve diğerleri, 2019)

1.2 İlaçların Yeniden Konumlandırılması

Yeni bir ilaç keşfetmek meşakkatli, 10-15 yıl kadar zaman alan, maliyeti milyonlarca doları bulan ve risk faktörü yüksek bir süreçtir. (Sertkaya, Birkenbach, Berlind ve Eyraud, 2014). ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA)’ne göre 1995’ten bu yana yeni ilaç keşifleri sayısında azalma olduğu belirtilmiştir (WEB2). Öte yandan, Şekil 4’teki grafikte görüldüğü gibi, İlaç Araştırmaları ve Amerika Üreticileri (PhRMA) tarafından ilaç geliştirmeye yönelik yapılan yatırımların giderek arttırıldığı bildirilmiştir (WEB3). İlaçların yeni endikasyonlarını bulmak amacıyla son yıllarda artan bir şekilde ilaçların yeniden konumlandırılması yöntemi uygulanmaktadır (Xue, Li, Xie, Wang, 2018). Bu yöntem oldukça etkili, ucuz ve daha az risklidir. Ayrıca daha kısa zamanda ve güvenilir sonuç vermesi geleneksel yöntemlere karşı üstünlüğünü gösterir. (Xue ve diğerleri, 2018).



Şekil 4. 1995-2015 Yılları Arasında PhRMA Üyesi Şirketler Tarafından İlaç Geliştirmeye Yapılan Yatırım ve FDA Tarafından Onaylanan İlaçların Sayısı (Xue ve diğerleri, 2018)

1.2.1 İlaçların yeniden konumlandırılmasına yönelik hesaplamalı yaklaşımlar

İlaçları yeniden konumlandırmak için ilk olarak yeni ilaç-hastalık ilişkilerini keşfetmek gerekir. Bu aşamada, kullanılan veriler araştırmacılara yol göstericidir. DrugBank (Wishart, Knox, Guo ve diğerleri, 2006), ChemBank (Seiler, George, Happ ve diğerleri, 2008), OMIM (Hamosh, Scott, Amberger, Bocchini, McKusick, 2005), KEGG (Ogata, Goto Sato, Fujibuchi, Bono, Kanehisa, 1999) ve Pubmed (WEB4) gibi veritabanları ilaçlar ve tedavisinde kullanıldığı hastalıklar hakkında bilgi verir. MIPS (Mewes, Hani, Pfeiffer, Frishman, 1998), PDB (Bernstein, Koetzle, Williams, 1977), GEO (Barrett, Wilhite, Ledoux, 2013) ve GenBank (Benson, Cavanaugh, Clark, Karsch-Mizrachi, Lipman, Ostell ve diğerleri, 2012) gibi genomik veritabanları sayesinde ise genler hakkında birçok yapısal bilgiye ulaşabilir ve hesaplama yapılabilir. Biyolojik deneysel yaklaşımların aksine; veri güdümlü hesapsal çalışmalarla zaman ve maliyetten kazanarak uygun ilaç-gen çiftleri belirlenebilir. İlaçların yeniden konumlandırılmasına yönelik hesapsal yaklaşımları genel olarak üç alt başlıkta toplayabiliriz (Xue, Li, Xie, Wang, 2018):

- 1) Ağ tabanlı yaklaşımlar
- 2) Metin incelemesi temelli yaklaşımlar
- 3) Anlambilim temelli yaklaşımlar

1.2.1.1 Ağ tabanlı yaklaşımlar

Bu tezde kullanılan ağ tabanlı yaklaşımları kendi arasında iki alt başlıkta inceleyebiliriz (Xue ve diğerleri, 2018):

- 1) Ağ tabanlı küme yaklaşımları
- 2) Ağ tabanlı çoğalma yaklaşımlar

1.2.1.1.1 Ağ tabanlı küme yaklaşımları

Bu yaklaşım; protein, ilaç, gen gibi yapıların biyolojik ağlardaki topolojik yapılarına bakılarak ve kümeleme algoritmaları kullanarak ilaç-hastalık, ilaç-hedef veya ilaç-ilaç gibi yaklaşımları önerebilmeyi amaçlar. Örneğin, Yu ve arkadaşları (Yu, Huang, Ma, Zhang, Zou, Gao, 2015), simetrik bağlanabilme olasılığını da içeren ClusterONE algoritması kullanarak, hastalık-protein-ilaç ağlarının oluşturulması için yeni bir yaklaşım önermiştir. Bu çalışmanın sonucunda olası hastalık-ilaç etkileşimleri bulunmuştur. Örneğin, İloperidonun hipertansiyon tedavisinde kullanılabileceğini göstermişlerdir. Wu ve arkadaşları (Wu, Gudivada, Aronow, Jegga, 2013) ClusterONE ve Louvain (Subelj ve Bajec, 2011) yöntemlerinin birleştirilmesi yoluyla yeni bir yaklaşım geliştirmişlerdir. 98 kalıntı ve 1160 hastalık-ilaç etkileşimi bulmuşlardır. Luo ve arkadaşları (Luo, Wang, Li ve diğerleri, 2016), MBiRW yaklaşımının çalışmalarını üç adımda belirtmişlerdir: (i) benzerliği fazla olan ilaçlar ve hastalıklar arasındaki hesaplama; (ii) ilaç-ilaç alt ağları, hastalık-hasta alt ağları ve ilaç-hasta alt ağları elde etmek ve (iii) iki rastgele yol algoritması kullanarak ilaç-hastalık ilişkilerini bulmak.

1.2.1.1.2 Ağ temelli çoğalma yaklaşımı

Bu yaklaşım iki türde olabilir: Lokal ve global (Emig, Ivliev, Pustovalova ve diğerleri, 2013). Lokal yaklaşımlar ağdaki sınırlı bilgileri kullanır ve her zaman doğru sonuç vermeyebilir. Global yaklaşımlar ağdaki bütün bilgileri içerir ve bu sebeple daha çok tercih edilir (Köhler ve diğerleri, 2008). Vanunu ve arkadaşlarının (Vanunu ve diğerleri, 2010) önerdikleri PRINCE yaklaşımında gen düğümleri önceki bilgileri veri girişi olarak kabul eder ve bu bilgiyi komşu düğümler yakınsak olana kadar iletir. Yöntem, hastalık-gen ağı temeliyle ilgili skor fonksiyonunu formüle etme kısıtlamalarına dayanmaktadır. Skor fonksiyonu, öngörülen her hastalık-gen çifti için bir güvenilirlik seviyesi verir. PRINCE, OMIM'den gelen 1369 hastalık veri noktası üzerinde değerlendirilmiş ve tip 2 diyabet, Alzheimer hastalığı ve prostat kanserine neden olan bilinmeyen genleri tahmin edilmiştir. Bu yöntemle Methotrexate, Gabapentin, Cisplatin, Donepezil ve Risperidone ilaçlarının endikasyonları bulunmuştur. Emig ve arkadaşları (Emig ve diğerleri, 2013) biçimsel bir bağlanım modeli ile dört lokal ve global ağ yaklaşımını birleştiren bir yaklaşım öne sürmüşlerdir. Yaklaşım, ilaç hedefleri bilinen 30 farklı hastalık üzerinde değerlendirilmiş ve yüzde seksenin üzerinde bir AUC (eğri altındaki alan) vermiştir. Ayrıca, melanomun ilaç hedefi olan c-Myc geni de başarılı bir şekilde tahmin edilmiş ve bu bulgu deneysel çalışmalar ile de doğrulanmıştır (Ai, Wood ve Welsh, 2015). Bu yaklaşımlarda kullanılan ağlar iki sınıfa ayrılır: homojen ve heterojen. Bir hastalığın tedavi yolunu oluşturmak için öncelikle protein-protein etkileşimi (PPI) ağ analizlerinden incelenir (Ai ve diğerleri, 2015). Protein-protein etkileşimlerini incelediğimiz ağ yaklaşımları homojen ağlar olarak sınıflandırabilir ve bu tip ağlar veri tabanları oluşturularak deneylerle güncelleştirilmiştir. İlaçların yeniden konumlandırılmasıyla ilgili olarak homojen ağlar zamanla yetersiz kalmışlardır. Bu sebeple heterojen ağlar ortaya çıkmıştır. Heterojen ağlar farklı yapıların birbirleriyle etkileşimlerini incelememizi sağlar. Örneğin, ilaç-gen veya ilaç-gen-hastalık gibi yapılar arasındaki etkileşimleri gibi. Bu yaklaşım mevcut yöntemlerin iyileştirilmesini ve aynı zamanda daha kararlı ve verimli yapılar oluşturmayı hedefler. Bu tezde kullanılan geneXpharma yöntemi de ilaç-gen-hastalık arasında ilişki kuran heterojen ağ yaklaşımını içermektedir.

1.2.1.2 Metin incelemesi temelli yaklaşımlar

İlaçların yeniden konumlandırılmasıyla ilgili literatürde yapılmış birçok çalışma vardır. Bu bağlamda, literatürden bilgi edinerek biyolojik yapılar arasındaki ilişkileri tanımlama yaklaşımı günden güne artmıştır (Papanikolaou, Pavlopoulos, Theodosiou, Vizirianakis, Iliopoulos, 2016). Metin incelemesi yaklaşımında kullanılan araçların girdileri genellikle literatürden alınan biyolojik terimlerdir ve buna uyan çıktılar biyolojik terimlerin ilişkilerinin listeleridir. İlişkilerin güven seviyeleri genellikle hesaplamalı yaklaşımlar veya biyolojik deneyler kullanılarak değerlendirilir. Bu araçlar iki kategoriye ayrılabilir: Statik ve dinamik araçlar. Statik araçlar veritabanları veya büyük boyutlu belgeler üzerine inşa edilmiştir. Veri büyüklüğü sebebiyle bu araçların zaman açısından performansı zayıftır. Bu sorunu çözmek için, statik araçlarda sorgu işlemini hızlandırmak için belgeler veya kayıtlar için dizinler oluşturulmuştur. Örneğin, DrugQuest (Papanikolaou ve diğerleri, 2016), ilaç-ilaç ilişkilerini tahmin etmek amacıyla kullanılan umut verici bir sorgu aracıdır. Fakat DrugQuest yalnızca ilaç veri bankası olan Drugbank veritabanını desteklemektedir, bu da sorgulama sonuçlarının sınırlandırılmasına neden olur. Statik araçların genellikle yalnızca eski sonuçlara ulaşabilmesi bazı sorunlara neden olabilir. Bu yüzden dokümanlarını günlük olarak güncelleyen birçok dinamik araç geliştirilmiştir (Xue ve diğerleri, 2018). Bu araçların maliyetini azaltmak için önbellek ve indeks tekniklerini kullanmıştır. Örneğin, PolySearch2 (Xue ve diğerleri, 2018) yanıt süresini azaltmak için bir önbellek tekniği kullanmış, BEST (Lee, Kim, Lee, Choi, Kim, Jeon, 2016) ise hesaplama süresini azaltmak için bir indeksleme tekniği kullanmıştır. BEST; genler, hastalıklar, ilaçlar, hedefler, transkripsiyon faktörleri, miRNAlar ve mutasyonlar dahil olmak üzere birçok biyolojik yapıyı sorgulayabildiğimiz bir araçtır. Güncel olmayan sonuç sorununu önlemek için, araç PubMed sisteminden yeni indekslenen özetleri otomatik olarak indirir ve doküman endekslerini her gün günceller. Bununla birlikte BEST önemli biyomedikal varlıkların, mutasyonların, hedefler ve ilaçlar gibi yapıların ilişkilerini sınırlar. Metin incelemesi araçları, ilacın yeniden konumlandırılmasının zaman karmaşıklığını azaltır ve araştırmacıların deneysel sonuçlarını doğrulamalarına yardımcı olur.

1.2.1.3 Anlambilim temelli (semantik) yaklaşımlar

Anlambilim temelli yaklaşımlar temel olarak üç adım içerir. İlk olarak, biyolojik varlık ilişkileri tıbbi veritabanlarından alınır. Ardından, mevcut ontoloji ağlarına dayanan semantik ağlar, önceki adımdan elde edilen bilgilere eklenerek oluşturulur. Son olarak, semantik ağdaki yeni ilişkileri tahmin etmek için veri madenciliği algoritmaları tasarlanmıştır. Chen ve diğerleri tarafından yapılan bir çalışmada, ilaçlar, hedefler, proteinler ve hastalık yolları verilerine sahip 290.000'den fazla düğüm ve 720.000 kenardan oluşan bir anlamsal bağlı ağ kurulmuştur (Chen, Ding, Wild, 2012). Daha sonra, yazarlar ilaç-hedef ilişkilerini tahmin etmek için istatistiksel bir model uygulamışlardır. Örneğin, migren tedavisinde kullanılan bir ilaç olan Barbitüratın, uykusuzluğu tedavi etmek için kullanılması literatür desteğiyle öngörülmüştür (Chen ve diğerleri, 2012). Bir başka örnekte ise yazarlar meme kanserinin tedavisinde kullanılan bir ilaç olan Tamoksifenin, literatürde yapılan taramayla doğrulayarak yumurtalık kanserini tedavi edebileceğini bildirmişlerdir (Lee, Shin, Kim, 2012). Anlambilime dayalı yaklaşımlar, büyük ölçüde literatürde yer alan anlambilim bilgisinden tam olarak faydalanır. Bu tür yaklaşımlar biyolojik varlıkların ilişkilerini öngörme fırsatı sağlamaktadır.

1.3 İlaç Geliştirmede Kullanılan Hesaplamalı Yaklaşımlar

Geleneksel ilaç geliştirme yöntemleri maliyetli, başarısızlığa eğilimli ve pahalı girişimlerdir. Bu nedenle, ilaçların yeniden konumlandırılmasıyla ilgili çalışmalar son dönemlerde önem kazanmıştır ve klinik kullanımlar için ilaçlar tedavi amacıyla daha hızlı sunulmaktadır. Bununla birlikte, ilaçların yeniden konumlandırılması, teknoloji, ticari modeller, patentler, yatırım ve pazar talepleri gibi çok sayıda faktörü içeren karmaşık bir süreçtir. Birçok tıbbi veri tabanı oluşturulmuş olmasına rağmen, büyük miktardaki tıbbi veriden tam anlamıyla faydalanmak için uygun yaklaşımı seçmek zordur. Fikri mülkiyet hakkı (IP) sorunu, çözülmesi gereken diğer bir önemli konudur. İlaçların yeniden konumlandırılması için IP koruması sınırlıdır (Oprea, Bauman, Bologa ve diğerleri, 2011). Örneğin, araştırmacılar, ilacı yeniden konumlandırarak tespit edilen bazı yeni ilaç-hedef-hastalıkları yayınlamıştır veya veritabanları ile doğrulamıştır; bununla birlikte, yasalar nedeniyle bu tür IP koruması istemek zordur. IP sorunu, yeniden konumlandırılan bazı ilaçların piyasaya girmesini önler. Ayrıca,

bazı yeniden konumlandırma projeleri zaman ve para kaybı olduğu için terk edilmek zorunda kalmıştır (Roin, 2008). İlk ilaç yeniden konumlandırma örneği, 1920'lerde tesadüfi bir keşif olarak kayda geçmiştir. Yaklaşık yüzyıllık gelişmeden sonra, ilaçların yeniden konumlandırılması sürecini hızlandırmak için daha fazla yaklaşım önerilmiştir ve günümüzde ilaçların yeniden konumlandırılması başarıyla yapılmaktadır (Xue ve diğerleri, 2018). Ek-1'de verilen tabloda, literatürden toplanan 75 ilaç için yeniden konumlandırma bilgileri listelenmiştir.

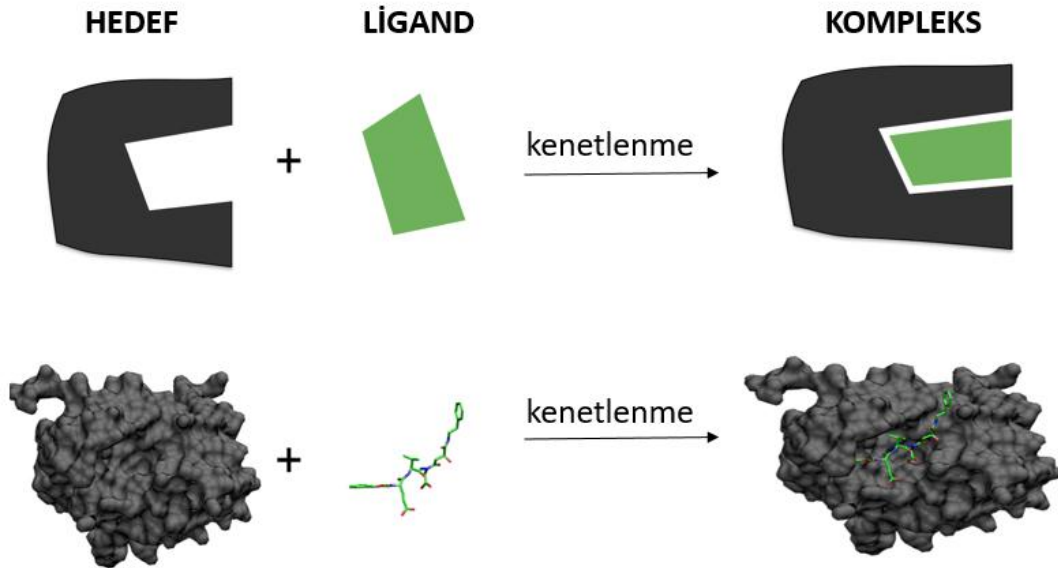
Son yıllarda, ilaçlar için yeni endikasyonlar bulmak amacıyla hesaplamalı ve deneysel yaklaşımlar birleştirilmiş ve kombine yaklaşımlar ortaya çıkmıştır. Burada hesaplamalı yöntemlerinin sonucu, biyolojik deneyler ve klinik testlerle doğrulanmıştır. Hesaplamalı yaklaşımları destekleyici bazı deneysel yaklaşımlar şunlardır: Hedef Tarama Yaklaşımları (Oprea TI, 2011; Roin BN, 2008; Swinney DC, 2011; Fields JD, 2009; Kuter DJ, 2007), Hücre Tahlili Yaklaşımları (Selby P, 1983; Shah ET, 2016; Eriksson A, 2015; Sant'anna R, 2016), Hayvan Modeli Yaklaşımları ve İlaçlar ile Hastalıklar Arasında Doğrudan Bağlantı Sunan Deneysel Yaklaşımlar.

Kombine yaklaşımlar, yeniden konumlandırılan ilacın etkili ve hızlı bir şekilde geliştirilmesinde yeni imkânlar sunmuştur. IP sorunu çözüldüğünde, pek çok ülkede endişe uyandıran birçok yeniden konumlandırma projesi düşük maliyetle sorunsuz bir şekilde yürütülmüştür. Ticari model ile ilgili olarak, paralel stratejiler ilacın yeniden konumlandırılmasında etkin bir gelişme sağlar. Örneğin, bir aday ilaç için, yeniden konumlandırma zamanını ve maliyetini azaltan çok sayıda test veya çalışma yapılmıştır. Nadir görülen hastalıklara bakıldığında, üzerinde çalışılması gereken 6000'den fazla hastalık vardır. Ancak, bunların yalnızca %5'i araştırılmaktadır (Sardana ve diğerleri, 2011). Nadir hastalıklar keşfedilecek büyük ticari bir pazardır.

Tez araştırmalarımız sırasında çıkan güncel bir çalışma (Khosravi, Jayaram, Goliaei, Masoudi-Nejad, 2019) ile ortak sonuçlarımız arasındaki (sonuçlar hakkında detaylı bilgi BÖLÜM III'te) benzerlikler tartışılmıştır.

1.4 Moleküler Kenetlenme

Moleküler Kenetlenme, çalışmaları 1980'lerin başlarında yüzey alanlarının kullanılmasıyla başlamıştır ve günümüzde de bu alandaki çalışmalar devam etmektedir (Prieto-Martínez, Arciniega, Medina-Franco, 2018). Moleküler kenetlenme, iki molekül arasındaki olası etkileşimlerin ve bağlanma modellerinin tahminlerinde kullanılan bir yöntemdir (Prieto-Martínez ve diğerleri, 2018) (Şekil 5). Bu tez çalışması kapsamında, moleküler kenetlenme metodu kullanılarak melanom için yeniden konumlandırılması yapılan aday ilaçların ve hedef proteinlerinin bağlanma potansiyelleri ve tahmin edilen yapılar için bağlanma bölgeleriyle ilgili detaylar elde edilmiştir.



Şekil 5. Moleküler Kenetlenme (WEB5)

Moleküler kenetlenme çeşitli bilgisayar yazılımları aracılığıyla ilaç-protein, enzim-substrat, ilaç-nükleit asit, protein-nükleit asit, protein-protein etkileşimlerinin bağlanma modunu hesaplamayı ve moleküler tanımayı sağlayan hesaplama yöntemidir (Tablo 1). Deneysel yöntemlerden daha ekonomik ve metot olarak daha kolay olması sebebiyle moleküllerin kompleks halindeki yapılarının tanımlanmasında daha avantajlıdır. Moleküler tanımlamada veri bankalarından ilaç ve proteinlerin üç boyutlu yapıları seçilerek birçok modelleme yapılabilir. Birçok olası konumlandırma

tahminleri yapılır ve bunların arasından birbiriyle en iyi eşleşme yapan yapılar seçilebilir. Bu çalışmaların sonucunda kenetlenme metoduyla uygun bulunan ilaçların, bilinen endikasyonları dışında yeni endikasyonlar önerilebilir (Huang, S.-Y, Grinter, Z., Zou, X, 2010).

Tablo 1. Protein-Ligand Kenetlenmesinin Bilgisayar Yazılımları, İnternet Sunucuları ve Algoritmaları

İSİM	ARAŞTIRMA ALGORİTMASI	TÜR	REFERANS
AUTODOCK4	Lamarckian genetik algoritması	Akademik	Morris ve diğerleri, 2009
DOCK	Şekil eşleştirme	Akademik	Allen ve diğerleri, 2015
OEDOCKING	Şekil eşleştirme	Akademik	Kelley, Brown, Warren & Muchmore, 2015; Mcgann, 2011
FLEKSY	Küme-temelli	Ticari	Nabuurs, Wagener & De Vlieg, 2007; Wagener, De Vlieg & Nabuurs, 2012
SWISSDOCK	Evrimsel optimizasyon	Akademik	A. Grosdidier, Zoete & Michielin, 2011
GOLD	Genetik algoritma	Ticari	Jones, Willett, Glen, Leach & Taylor, 1997
GLIDE	Hibrit	Ticari	Friesner ve diğerleri, 2004
VINA	Bölgesel optimizasyon	Akademik	Trott & Olson, 2009
RDOCK	Hibrit	Akademik	Ruiz-Carmona ve diğerleri, 2014
LEDock	Benzetimli-tavlama	Akademik	Unzue ve diğerleri, 2016
PLANTS	Karınca koloni optimizasyonu	Akademik	Korb, Stützle & Exner, 2009
HADDOCK	Hibrit	Akademik	Dominguez, Boelens & Bonvin, 2003
SURFLEX-DOCK	Şekil eşleştirme	Ticari	Spitzer & Jain, 2012
MOE	Hibrit	Ticari	Vilar, Cozza & Moro, 2008
FLEXX	Şekil eşleştirme	Ticari	Kramer, Rarey & Lengauer, 1999
FITTED	Hibrit	Ticari	Corbeil & Moitessier, 2009; De Cesco, Kurian, Dufresne, Mittermaier & Moitessier, 2017; Englebienne & Moitessier, 2009; Moitessier ve diğerleri, 2016
LIGANDFIT	Şekil eşleştirme	Ticari	Venkatachalam, Jiang, Oldfield & Waldman, 2003
ICM	Hibrit	Ticari	Neves, Totrov & Abagyan, 2012
IGEMDOCK	Evrimsel optimizasyon	Akademik	Yang & Chen, 2004

Kenetlenme temel olarak altı işleme dayanır:

- 1) Ligand ve proteinin (makromolekül) hazırlanması (Halperin, Ma, Wolfson, Nussinov, 2002)

- 2) Kenetlenme türünün belirlenmesi (esnek veya sert) (Agarwal, Mehrotra, 2016)
- 3) Ligand konformasyonlarının uygunlukları için arama stratejisinin belirlenmesi (Prieto-Martínez ve diğerleri, 2018)
- 4) Skor fonksiyonu (Prieto-Martínez ve diğerleri, 2018)
- 5) Kenetlenme Doğruluğu (Prieto-Martínez ve diğerleri, 2018)
- 6) Validasyon (Prieto-Martínez ve diğerleri, 2018)

1.4.1 Ligand ve proteinin hazırlanması

Hesaplamaya başlamadan önce (eğer varsa) protein ve ligandın birbirine bağlı olduğu yapı tercih edilmelidir. Genellikle yüksek çözünürlüklü üç boyutlu, birbiriyle ilgili, kristalize edilmiş veya doğal substratlar seçilmelidir. Her proteinde bu özellikler geçerli olmayabilir ve bu durumda daha önce kenetlenme veya yapısal çalışma raporları bulunan yapılar tercih edilir. Üç boyutlu yapılar genellikle Protein Veri Bankası'ndan (PDB) elde edilir. PDB'deki dosyaların bazen (Tablo 5'deki bazı programların hazırlık modülü kullanılarak) düzeltilmesi gerekebilir (Warren, Do, Kelley, Nicholls ve Warren, 2012).

Yazılımların parametreleme yöntemleri farklı olduğu için, kenetlenme sonuçlarının karşılaştırılması ve hesaplanması amacıyla yapılan tüm çalışmaların aynı yazılım kullanılarak yapılması ve sonlandırılması önerilir. Örnek olarak Autodock ve SwissDock bir iç kuvvet alanı kullanırken, MOE, LeDock, AMBER ve CHARMM atom türlerini kullanırlar (Feher, Williams, 2012). Ligand ve protein verilerinin hazırlığının ardından bağlanma yerlerinin belirlenmesi ve sınırlandırılması gerekir. Bağlı bir ligandın koordinatlarını kullanarak veya koordinatları oluşturarak bağlanma yerine karar verilir. Bazı programlar ise tahmini bağlanma yerlerini gösterir ve tahmini bağlanma yerlerinin hesaplanmasına olanak sağlar (Marzaro ve diğerleri, 2013).

1.4.2 Kenetlenme türünün belirlenmesi

Protein ve ligandın hazırlanmasının ardından kenetlenmenin türünü belirlemek gerekir. Esnek kenetlenme enerji değerleri için kalıntıların (rezidü) yan zincirlerinin

farklı konformasyonları kullanılır ve kalıntı-ligand etkileşimi için bu “yumuşatılmış potansiyel” anlamına gelir (Dastmalchi, 2016).

1.4.3 Ligand konformasyonlarının uygunlukları için arama stratejisinin belirlenmesi

Ligand konformasyonları ve yerleri kenetlenme algoritmasının seçimine bağlıdır. Bu konformasyonları belirlemek rastgele veya sistematik bir şekilde yapılabilir. Sistematik arama bu konformasyonların kombine edilmiş yapısal analizlerini ve uyumlu eşleşen yapıların örneklerini kapsar. Bu arama için çok fazla kaynak taramak gerekir ve bu da uzun zaman alabilir. Bu sebeple ligandı parçalamak, parçaları için arama yapılarak birini ana yapı belirlemek ve kalan parçaların kombinasyonlarını buna eklemek gerekir (Ferreira, G., Dos Santos, N., Oliva, G., Andricopulo, D., 2015). Rastgele seçimlerde ise Monte Carlo (MC) veya Genetik Algoritmalar (GA) kullanılabilir. Bu algoritmalar bağ rotasyonlarına dayanan farklı açılar geliştirir (Meng, X.-Y., Zhang, H.-X., Mezei, M., Cui, M., 2011).

Bu konformasyon çalışmaları birçok sayıda yapıyı oluşturur. Tabii ki bunların küçük bir kısmı biyolojik olarak birbiriyle ilgilidir. Moleküller arası etkileşimler, ayrışma, elektrostatik ve entropik etkilere bakılarak en iyi sonuç diğerlerinden ayrılır (Ferreira ve diğerleri, 2015).

1.4.4 Skor fonksiyonu

Puanlama işlevleri kuvvet alanına dayalı, deneysel (ampirik) ve bilgi temelli olarak sınıflandırılabilir.

1.4.4.1 Kuvvet alanına dayalı skor fonksiyonları

Bu yaklaşım; bağ germe, elektrostatik, bağlanmayan etkileşimleri hesaba katan bir “ana işlev” oluşturmak için bazı parametreleri kullanmaktadır ve aşağıda varsayımsal kuvvet alanına dayalı bir puanlama fonksiyonu örneği verilmiştir (Denklem 1). Bu yaklaşım uzun süren hesaplamalar gerektirir (Kitchen, Decornez, Furr, Bajorath, 2004).

Denklem 1. Varsayımsal Kuvvet Alanına Dayalı Bir Puanlama Fonksiyonu

$$E = Wvdw \sum_{ij} \left(\frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} \right) + WHbond \sum_{ij} E(t) \left(\frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} \right) + Welec \sum_{ij} \frac{q_i q_j}{r_{ij}(r_{ij})}$$

1.4.4.2 Deneysel skor fonksiyonları

Bu puanlama skorları daha çok deneysel değerlerin çoğaltılmasını içerir (Denklem 2).

Denklem 2. Deneysel Skor Fonksiyonları

$$E_{PLANTS} = f_{PLP} + f_{clash} + f_{tors} + c_{site} - 20$$

Atom tiplerine göre şekil tamamlayıcılığının değerlendirilmesi (f_{PLP}), ligandların kesişmesi potansiyeli (f_{clash}), torsiyonel kuvvet alanı (f_{tors}) tarafından uygulanan ligand potansiyeli ve ligand etkileşimlerini (c_{site}) güçlendirmek amacıyla bağlanma noktası katkıları ifade edilmiştir (Korb, Stützle, Exner T, 2009). Burada -20 değeri skor değişimi için belirtilmiştir ve bu enerji parametrelerinin yeterince güçlü olmadığı iddia edilmiştir (Ferreira ve diğerleri, 2015; Meng ve diğerleri, 2011). Deneysel skorların çoğu, birbirine özgü protein-ligand komplekslerinden ve heterojen verilerden elde edilmiştir bu yüzden bazı kısıtlamaları vardır (Pason ve Sottriffer, 2016). Ama yine de deneysel puanlama fonksiyonları, kuvvet alanına dayalı fonksiyonlardan daha hızlı hesaplanır ve bağlayıcılık anlamında daha muhtemel tahminleri sağlar (Murray, Auton, Eldridge, 1998).

1.4.4.3 Bilgi temelli skor fonksiyonları

Bu fonksiyonlar, enerji değerlerini değil yapıları yeniden oluşturmak için tasarlanmıştır. Yapılar, bilinen reseptör-ligand komplekslerinden türetilmiş ikili potansiyeller kullanılarak oluşturulmuştur (Ferreira ve diğerleri, 2015; Kitchen ve diğerleri, 2004). Örneğin, Denklem 3 Küçük Molekül Büyümesi (SMoG2001) tarafından hesaplanan puanlamayı gösterir (Prieto-Martinez, 2018). İlk terim, protein ve ligand arasındaki temas olasılığının normalleşmesini içerir, F^{rotX} , ligandların

konformasyonel entropilerini azaltan "donmuş" esnek bağların katkısını gösterir ve N^{rotX} , tip I ve II'deki esnek bağların sayısını belirtir (Ishchenko ve Shakhnovich, 2002).

Denklem 3. SMOG Kenetlenme Hesaplaması

$$F_{SMoG2001} = \sum r \sum p \sum l F(r, \sigma_p, \sigma_l) \Delta F^{rot1} + N^{rot1} + F^{rot2} + N^{rot2}$$

Bilgi tabanlı fonksiyonların, performans ve hesaplama süresi arasındaki denge, diğer yöntemlere göre daha avantajlıdır. Bunlara ek olarak, sülfür-aromatik gibi nadir görülen etkileşimleri dikkate alabilir (Meng ve diğerleri, 2011). Bir referans durumun tanımlanması gerekir, bu durum çift potansiyellerin sıfır olduğu bir durumdur ve sonuçları önemli ölçüde etkileyebilir (Muegge, 2000). Tahmini enerjiyi artırma çalışmaları “hibrit” yaklaşımlarla sonuçlanmıştır. Daha geliştirilmiş sürüm olarak SMOG2016, deneysel verileri ve bilgi temelli potansiyelleri birleştirerek sonuçları daha verimli kılmıştır (Debroise, Shakhnovich, Cheron, 2017).

1.4.5 Kenetlenme doğruluğu

Bugüne kadar, farklı kenetlenme programlarını karşılaştıran çalışmalar yapılmıştır. (Cross ve diğerleri, 2009; Elokely & Doerksen, 2013; Perola, Walters ve Charifson, 2004; Tuccinardi ve diğerleri, 2014; Wang ve diğerleri, 2016). Kenetlenme yöntemlerinin molekül etkileşimleriyle oluşan kompleks yapıların doğru bir şekilde belirlenmesinde ortalama olarak yaklaşık %60-75 lerce bir başarı oranına sahip olduğu gösterilmiştir (Cole ve diğerleri, 2017; Wang ve diğerleri, 2016). Her zaman mutlak değeri en yüksek olan enerji değerindeki pozun en iyi poz olduğu söylenemez (Waszkowycz, Clark ve Gancia, 2011). Referans ligandların, aynı proteinin doğal olmayan yapılarına yerleştirilmesi, genellikle bağlanma modunun yanlış tahmin edilmesine neden olur (Corbeil ve Moitessier, 2009). Kenetlenme enerji değerlerini arttırmak için topluluk ve konsensüs kenetlenme yöntemleri uygulanabilir.

1.4.5.1 Topluluk kenetlenme

Topluluk kenetlenme, farklı protein yapılarında çoklu kenetlenme simülasyonları gerçekleştirilerek yapılır. Bu yaklaşım, protein esnekliğini kısmen açıklar. Topluluk kenetlenme dört boyutlu (4D) kenetlenme olarak kabul edilebilir ve yapılan kenetlenme çalışmalarının yüzde yetmiş sekizinin doğru olduğu gösterilmiştir. (Bottegoni, Kufareva, Totrov, Abagyan, 2009). Hedef molekülün uygun konformasyonları kristalografik verilerden, NMR'den veya hesaplama modellemesinden elde edilebilir. Topluluk kenetlenme skorunu ve performansını etkileyebilecek etkiler; toplama reseptörlerinin yapısı (Craig, Essex, Spiegel, 2010), ligand esnekliği (Huang ve Zou, 2007), moleküler benzerliklerdir (Ellingson, Miao, Baudry, Smith, 2015; Korb ve diğerleri, 2012).

Topluluk kenetlenme karmaşık simülasyonlar için geçit tekniği olarak da işlev görür. Üç boyutlu (3B) verilerin kullanılması, QSAR gibi diğer metotlara entegre edilebilir ve yapıların uyumunu daha ayrıntılı bir yaklaşımla gerçekleştirmeyi mümkün kılabilir (Lill, 2007). Topluluk kenetlenmesinin, protein-protein etkileşimi, GPCR modellemesi (Vilar, Costanzi, 2013), apo ve holo yapılarının modellenmesi ve toksisite alanlarında (Evangelista ve diğerleri, 2016) başarılı olduğu kanıtlanmıştır.

1.4.5.2 Konsensüs kenetlenme

Konsensüs kenetlenme ile poz seçimi ve bağlanma kuvvetini geliştirmeye yönelik çalışılmıştır (Plewczynski, Łazniewski, Grotthuss, Rychlewski ve Ginalska, 2011). Konsensüs kenetlenmeye alternatif yaklaşımlar, bağlayıcı pozları değerlendirmek amacıyla istatistiksel kriterleri kullanan sıralama-temelli ve kesişim yöntemleridir (Feher, 2006). Bu yöntemler pozun zenginleştirilmesine ve daha iyi skorlu sıralama sonuçlarına izin verir (Du, Bleylevens, Bitorina, Wichapong, Nicolaes, 2014; Kukol, 2011). Bu kenetlenme türü, başka girdi veya hesaplamalar gerektirmez (Samanta, Das, 2017).

1.4.6 Validasyon (Doğrulama)

Kenetlenme sonuçlarının çeşitli işlemlerle doğrulanması gerekir (Verdonk, Taylor, Chessari, Murray, 2007). Bu işlem ilk olarak proteinin seçilmesi ve herhangi bir simülasyondan seçilen proteinin modellenmesiyle başlar. Kenetlenmenin doğrulamasını yapabilmek için birçok veri bankası kullanılabilir ve bunlardan en yaygın olanı Protein Veri Bankası (PDB)'dir. PDB içeriğinde 100.000'den fazla yapı içerir (Berman ve diğerleri, 2000) fakat tekrar etme, eksik atomlar, eksik kalıntılar ve belirsizlik gibi sebeplerle yeterli olmayabilir.

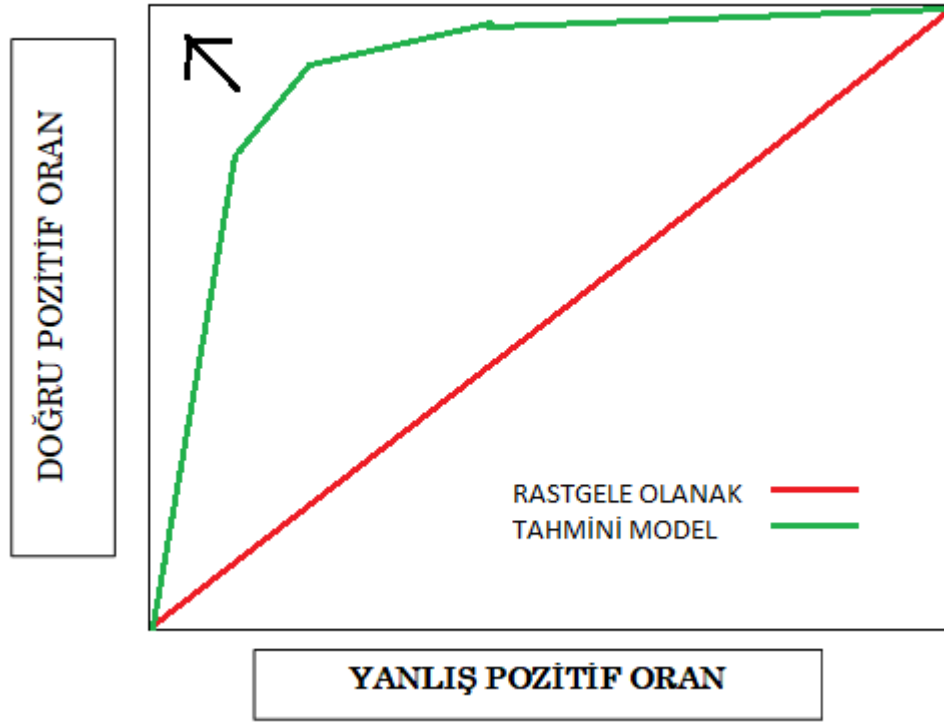
Validasyon aşamasında kenetlenme algoritmasının ürettiği pozun, en iyi poz olup olmadığı deneysel yapı ile karşılaştırılarak test edilir. Yapıların karşılaştırılmasında yaygın olarak kök ortalama kare sapma (RMSD) kullanılır (Denklem 4).

Denklem 4. Kök Ortalama Kare Sapma denklemi

$$RMSD = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_{ci} - x_{di})^2 + (y_{ci} - y_{di})^2 + (z_{ci} - z_{di})^2}$$

Bu denklem deneysel yapıdaki atomların başlangıç koordinatları ile tahmin edilen kenetlenmenin koordinatlarını karşılaştırır (Dias, R., & de Azevedo Jr., W., 2008). Bu değer 2Å düşük olmalıdır çünkü sapmanın büyük olması kenetlenme tahmininin pozunun uygun olmadığını gösterir. RMSD hesaplamaları basittir ve doğrudan tahmin ettiğimiz kenetlenme pozunu ve referans aldığımız başlangıç pozunu karşılaştırmamıza yardımcı olur. Fakat bu metrik sezgiseldir ve mutlak olarak kabul edilmemelidir (Waszkowycz, Clark, Gancia, 2011). Yeniden eşleştirmeyi en az 50 kez tekrarlamak, kalıntı ve referansların pozlarını belirli bir eşik değerine göre karşılaştırmasını oluşturmak gerekmektedir (Morris, Lim-Wilby, 2008). RMSD'ye ek olarak, doğru bağlanma pozunun değerlendirilmesi, etkileşimin iyileştirilmesini temel almalı yani protein-ligand etkileşimleri referans alınan ve tahmin edilenler için eşleşmelidir. Sanal tarama için, kenetlenme performansının bir başka nicel değerlendirmesi, Alıcı-Kullanıcı Karakteristiği (ROC) eğrisinin analizidir (Zou, O'Malley ve Mauri, 2007) (Şekil 6). ROC eğrileri 1 değerinde özgüllüğe karşı

hassasiyet gösterir. İdeal bir eğri, sol üst köşeden geçmelidir, buna karşın eksenlerin üzerindeki bir diyagonal rastgele olanağı temsil eder (Brown ve Davis, 2006). Eğri altındaki alan (AUC), rastgele aktif bileşiklerin, rastgele aktif olmayan bileşiklerden daha yüksek derecelendirilme olasılığını temsil edecektir ((Prieto-Martínez ve diğerleri, 2018).



Şekil 6. ROC Eğrisinin Gösterimi. İdeal Model (bir okla işaretlenmiştir); Varsayımsal Eğri (yeşil) ve Rastgele Şans (çapraz çizgi (kırmızı))

1.5 Kenetlenme Örnekleri

1.5.1 Protein-ligand kenetlenmesi

Muhtemel protein-ligand kompleksinin davranışını test edebilmek için, eğer varsa, deneysel yöntemlerle belirlenmiş üç boyutlu yapılarından faydalanırız (Berman ve diğerleri, 2000). Protein Veri Bankası'na (Protein Data Bank, PDB) yüklenen deneysel yapılar ligandın (mesela ilaç molekülü) proteine bağladığı yer ile ilgili bilgi verir. Protein-ligand kenetlenmesinde, sadece komşu kalıntılar esnek olarak kabul edildiği için ve allosterik etkiler göz önüne alınmadığı için örnekleme alanı dardır.

Esnekliği rneklemenin bir yöntemi, Protein Enerjisi Peyzajı Keşfi'dir (PELE). Bu, protein ve ligand yapılarını birleştiren bir Monte Carlo yaklaşımıdır. Temel olarak, üç ana yaklaşım içerir: 1) ligand ve protein pertürbasyonu (rotamer kütüphanesi kullanarak); 2) yan zincir rneklemesi (algoritmalar yoluyla) ve 3) metropolis kriterlerini kullanarak en aza indirme ve kabul etme. Bu işlem hesaplama açısından daha pahalı olabilir, ancak özellikle bir proteinin bağlanma bölgesi bilinmediğinde faydalı bir eleme yapılmasını sağlar. Son zamanlarda yapılan bir alışma, PELE'nin çok esnek proteinler için bağlanma bölgelerinin ve pozlarının doğru değerlendirilmesinde başarılı bir şekilde uygulandığını göstermiştir (Grebner ve diğerleri, 2016).

PELE'ye benzer şekilde, güvenilir sonuçlara ulaşabilmek için başka Monte Carlo yöntemleri de uygulanmıştır. Örneğin, serbest enerjiyi hesaplamak için Monte Carlo Entegrasyonunu kullanan MTflex uygulaması bulunmaktadır. Sonuçları iyileştirmek için referans atom konumları kullanılabilir. Bu yöntemle daha verimli topluluklar üretilmiş ve özellikle RMSD azaltılmıştır (Bansal, Zheng, Merz, 2016).

1.5.2 Protein-Protein Kenetlenmesi

Protein-protein kenetlenmesi önemli modellemelerden biridir. Proteinler arasındaki etkileşimler, yapılan küçük değişikliklerle bile oldukça karmaşık hale gelirler (Bonvin, 2006). Kavramsal olarak, protein-protein kenetlenmesi, her bir proteini kaba modelleri ile minimize eden ve bağlanma bölgeleri için bölgesel arama kullanan bütün kompleksin öngörüsü olarak ele alınabilir. Bununla birlikte, kenetlenmenin bölgesel minimize edilmiş kısımları çok boyutlu bir hesaplamayı içerir, oysa algoritmalar problemi fiziksel olarak doğru zmeyebilir (Vakser, 2014). Bu nedenle, protein-protein kenetlenmesi için asıl zor olan omurganın esnekliğidir. Bu amaçla, Rossetta tarafından Monte Carlo teknikleri protein-protein kenetlenmesinde başarıyla uygulanmıştır (Wang, Bradley, Baker, 2007). Gerçekçi kompleks yapıları, tahmini yapılardan ayırmak için ayrıntılı ve kapsamlı hesaplama çalışmalarının yapılması gerekir (Vreven ve diğerleri, 2015). Bir kompleksin iki bileşeninin ayrı ayrı üç boyutlu yapısını biliyor ve bir kenetlenme modeli oluşturuyorsak, bu modelin ne kadar güvenilir ve doğru olduğunu prestijli bir tahmin yarışması olan CAPRI (Etkileşim

Öngörülerinin Kritik Değerlendirmesi) ile değerlendirebiliriz. CAPRI gizli bir tahmin deneyidir. Protein-protein etkileşimleri ve makromoleküller arasındaki diğer etkileşimleri değerlendirmek için tasarlanmış yapıya dayalı bir yöntemdir. Yayınlanmamış deneysel kristal veya NMR kompleks yapıları CAPRI yönetimine gizlice iletilir ve katılımcılar bu kompleks yapısını oluşturan yapıları hedef olarak alıp deneye en yakın şekilde modellemeye çalışırlar. CAPRI web sitesinde değerlendirme için on model set sunulur. Tahmin turu tamamlandıktan sonra, CAPRI değerlendiricileri deneysel yapılarla yapılan tahminleri karşılaştırır ve modelleri öngörülen etkileşimlerin geometrisine ve biyolojik ilgi düzeyine bağlı olan kriterler üzerinde değerlendirir.

1.5.3 Kenetlenmede poz ve puanlama

Yapıların kenetlenme öncesinde doğru hazırlanmasına yönelik önemli gelişmeler olmuştur (Alonso, Bliznyuk ve Gready, 2006; Uehara, Tanaka, 2017). Ligand hazırlamak için, kullanılabilecek yöntemler şu şekildedir: semiempirik yükler kullanarak optimizasyon (Adeniyi ve Soliman, 2017; Marzaro ve diğerleri, 2013; Oferkin ve diğerleri, 2015; Xu ve Lill, 2013), COSMO çözülmesi (Oferkin ve diğerleri, 2015), moleküler mekaniği Poison-Boltzmann/yüzey alanı (Halperin, Wolfson ve Nussinov, 2002) ve kuvvet alanı optimizasyonu (Zoete, Cuendet, Grosdidier & Michielin, 2011). Bunun dışında kuvvet alanı optimizasyonunun, yarı deneysel yöntemlerle (örneğin CHARMM-GBSW gibi) karşılaştırılabilir olduğu ve komplekslerin daha iyi enerji tahminine olanak sağladığı gösterilmiştir (Sulimov, Kutov, Katkova, Ilin ve Sulimov, 2017). Ayrıca, yeni modellerin sunulmasıyla ve geliştirilmesiyle bağlanmanın daha iyi tahmin edilebileceği öne sürülmüştür. Bu amaçla, bağlanma tahminlerinin daha iyi sonuçları için ilave modeller oluşturulmuştur (Ballester, Schreyer ve Blundell, 2014). Kenetlenme skorları bir test setinden türetildiği için sınırlıdır ve bir referansla karşılaştırılmadıkça tam olarak doğruluğu iddia edilemez. Özel durumlarda, yani simetrik ligandlar (Huang, Grinter ve Zou, 2010) ve enantiyomer çiftleri kullanılan kenetlenme çalışmalarında sonuçlar belirsiz olabilir (Ramirez & Caballero, 2016).

1.5.4 Suda çözme ve kenetlenme

Çözücünün (özellikle su molekülleri) uzaklaştırılması, kenetlenme çalışmalarındaki önemli bir sorundur (Fischer, Merlitz ve Wenzel, 2008). Bu değerlendirmeler puanlama fonksiyonu yaklaşımlarına ve verilen sistemin serbestlik derecelerini sınırlamak için hesaplanan zamana dayanır. Bununla birlikte, bu kenetlenme hesaplamalarındaki sorun su moleküllerinin dahil edilmesi ile sınırlı kalmamakta, aynı zamanda bağlanmaya ve bağlanmanın etkilerine su katkısını doğru değerlendirmek önem arz etmektedir (Fischer ve diğerleri, 2008; Parikh ve Kellogg, 2014). Kenetlenme hesaplamaları sırasında su moleküllerini dahil etmeye yönelik ilk çalışmalar, skorlamada önemli bir iyileşme elde edilmediğini göstermiştir (Roberts ve Mancera, 2008).

Günümüzde çoğu kenetlenme programı hesaplamalar sırasında su moleküllerinin varlığını değerlendirebilir. Bununla birlikte, farklı etkileşimli suları içeren karşılaştırmalar yapma ve yer değiştirebilen değiştiremeyen suları doğru şekilde ayırt etme gibi bazı zorlukları devam etmektedir (Waszkowycz ve diğerleri, 2011). Dolayısıyla, buradaki ilk adım, kilit su moleküllerinin tanımlanması ve bu moleküllerin kenetlenmeye katkılarını belirlemektir (Kumar ve Zhang, 2013). Su moleküllerinin doğru temsilini geliştiren yöntemler şunları içerir: serbest enerji pertürbasyon yöntemleri (Jorgensen ve Thomas, 2008), Monte Carlo olasılığı (Parikh ve Kellogg, 2014), bağlanma bölgesinde suyun moleküler dinamiği (Schrödinger tarafından uygulandığı gibi) (Kumar ve Zhang, 2013; Waszkowycz, Clark ve Gancia, 2011), PLANTS tarafından uygulanan suyun yer değiştirmesi (Korb ve diğerleri, 2009), su moleküllerinin ek torsiyonlar olarak ligandlara bağlanması (Lie, Thomsen, Pedersen, Schiott & Christensen, 2011), QM / MM hibrit yöntemleri (Xu & Lill, 2013) ve COSMO çözülmesi ve ligandlar için yarı deneysel yükler (Oferkin ve diğerleri, 2015). Ayrıca ek yöntemler, Autodock (Forli ve diğerleri, 2016), Rossetta (Lemmon ve Meiler, 2013), Vina (Ross, Morris ve Biggin, 2012) tarafından uygulanan protein merkezli ve ligand merkezli hidrasyon için “hidrat kenetlenme” senaryolarıdır (Sridhar ve diğerleri, 2017).

1.5.5 Kovalent kenetlenme

Kovalent inhibitörleri veya değıştiricileri, genellikle toksisite sebebiyle ilaç adayı olarak pek önemsenmez. Kovalent değıştiriciler bulaşıcı hastalıklar için daha seçici ve etkili olabilirler (Schröder ve diğerleri, 2013). Kayda değer örnekler, asetil-kolinesteraz modülatörleridir (King ve Aaron, 2015). Kovalent kenetlenme için mevcut programlar arasında Autodock, CovDock / Glide, DOCK, FITTED, FlexX, GOLD, ICM ve MOE bulunur. Bununla birlikte, kovalent etkileşimler ve reaksiyonlar çoğu programda açıkça dikkate alınmamaktadır (Brás, Cerqueira, Sousa, Fernandes, Ramos, 2014). Kovalent bir etkileşimin olasılığını tanımlamak için, bir “link atomu” tanımlanmalı ve manuel olarak seçilmelidir, kenetlenme algoritması her iki parçayı da kovalent bağ ile simüle etmek için aynı hacmi işgal etmeye zorlar (Awoonor-Williams, Walsh ve Rowley, 2017). Kovalent etkileşimler için mevcut modellerin ana dezavantajı, bilinen durumlar arasında sadece bir bağ oluşumunu taklit etmeleridir, ancak bir kovalent bağ oluşumu süreci, kuantum mekaniği tarafından doğru bir şekilde değerlendirilmelidir. Yaygın programlara ek olarak kovalent kenetlenme yaklaşımları, CovalentDock'u (Autodock skorlamasını) kullanır ve yeni bir enerji katkısı olarak bağ oluşumunu içeren ızgara tabanlı bir algoritmayı içerir (Kumalo, Bhakat ve Soliman, 2015). Kovalent kenetlenmede kullanılan diğer önemli bir yaklaşım ise Reseptörü Azaltan Sterik Çatışmalardır (SCAR). Bu strateji, reaktif kalıntıları uzaklaştırmak ve kovalent olmayan etkileşimi desteklemek için protein mutagenезine dayanmaktadır (Ai, Yu, Tan, Chai ve Liu, 2016).

Bu kenetlenmede kullanılan mevcut yaklaşımlar; kovalent sanal tarama (Toledo Warshaviak, Golan, Borrelli, Zhu ve Kalid, 2014) Cathepsin K, EGFR ve XPO1, TAK1 inhibitörlerinin tanımlanması (Fakhouri ve diğerleri, 2015), ubiquitin-proteasome yolu inhibitörleri (Li ve diğerleri, 2014) ve enzimatik substratların tanımlanmasıdır (London ve diğerleri, 2015).

1.5.6 Metal bağlanma kenetlenmesi

Metal kofaktörlerinin birçok protein ailesi üzerindeki yüksek önemi iyi bilinmektedir. Kovalent kenetlenmeye benzer şekilde, ligand-metal etkileşimlerinin modellenmesi de daha gelişmiş yöntemler gerektirir. Özellikle çinko, kalsiyum ve magnezyum (ilaç

keşfedilmesinde belirgin metal iyonları) ile etkileşimlerin modellenmesi son derece önemlidir. Çinkonun doğru parametrelendirilmesi, alınabilir hedeflerde bulunması ve geometrisinin çoğunlukla tetrahedral olması nedeniyle büyük ilgi görmektedir (Prieto-Martínez ve diğerleri, 2018). Ligand-çinko etkileşimi yarı kovalent olabileceğinden, modellenmesi farklı metotlar gerektirir, yani asidik davranışı etkileşimin “özel” hidrojen bağına izin verir (Prieto-Martínez ve diğerleri, 2018). Autodock diğer programlarla karşılaştırıldığında, metal iyonlarını içeren kenetlenmelerin pozlama ve puanlamaları için daha doğru çözümler üretmiştir (Prieto-Martínez ve diğerleri, 2018). Metal tanıma özelliğine sahip ve kenetlenme çalışmalarının yapıldığı programlar: Autodock, DOCK, FITTED, FlexX, Glide, LigandFit, MOE ve MpSDock olarak sıralanabilir.

BÖLÜM II

2. MATERYAL VE METOT

2.1 Melanom İçin Aday İlaç-Gen Çiftlerini Belirleme

2.1.1 Transkriptom (gen ekspresyon) veri setinin eldesi

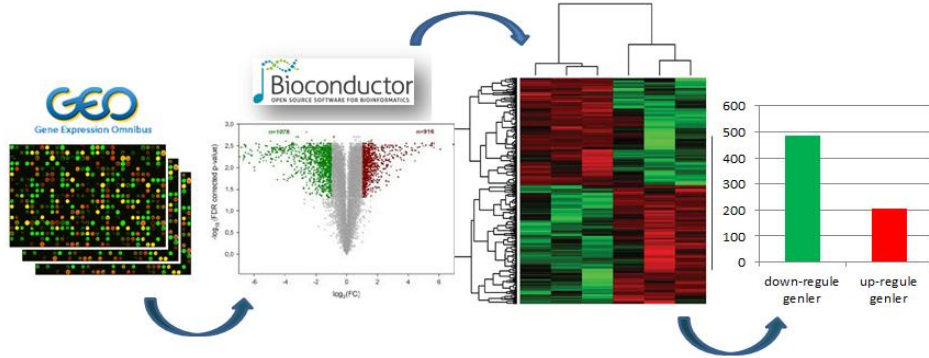
Çalışmanın amacına uygun olarak seçilen transkriptom veri setinde, hastalıklı örneklerle karşılık sağlıklı bireylere ait gen ekspresyon verileri olmasına dikkat edilmiştir. Hastalıkla ilişkili gen ekspresyon veri setlerini belirlerken: veri setinin hastalıklı ve sağlıklı numuneler içermesine, bu numunelerin herhangi bir manipülasyon veya tedaviye (ilaç, mutasyon, siRNA) tabi tutulmamış olmamasına ve her grupta numune sayısının en az üç olmasına dikkat edilmiştir (Kolesnikov, Hastings ve Keays, 2015). Bu koşullarla belirlenen veri setinde toplam 10 hasta ve 4 sağlıklı numuneden oluşan örneklem vardır ve Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array platformu kullanılmıştır (Barrett ve Edgar, 2006).

2.1.2 mRNA seviyesinde anlatımı farklılık gösteren genlerin (DEG) tespit edilmesi

Sağlık ve hastalık koşulları karşılaştırıldığında, anlatımı farklılık gösteren genlerin bulunması için her veri seti bağımsız olarak R/Bioconductor (WEB6) yazılım platformu altında istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Analiz süresince, RMA normalizasyonu (Irizarry ve diğerleri, 2003) ve mikrodizin verileri için linear modeller (LIMMA) (Smyth, 2005) metodu kullanılmıştır.

Genlerin isimlendirmeleri (gene symbol, Entrez Gene ID, Affy ID vs.) ile ilgili değişiklik yapılması gerektiğinde bioDBnet platformu kullanılmıştır (U., A., M., ve

R.M, 2009). Anlatımı farklılık gösteren genlerin tespit edilmesine yönelik sunulan bu yöntem (Şekil 7), farklı hastalıklarla ilgili çalışmalarda da kullanılmış olup önem arz eden sonuçlar vermiştir (Kori ve diğerleri, 2016; Gov ve Arga, 2016; Calimlioglu ve diğerleri., 2015; Sevimoglu ve diğerleri, 2015; Karagoz ve diğerleri, 2015).



Şekil 7. Gen Anlatımında Farklılık Olan Genlerin Bulunması

Çoklu hipotez testleri gereğince p-değerleri FDR yöntemi ile düzeltilerek veri setinin istatistiksel analizi sonrası anlatımda farklılık gösteren genler bulunmuştur. p-değeri üst sınırı 0.001 alınmış ve gen anlatımındaki değişikliğin yönü (gen anlatımı artan/azalan) kat değişim (fold change) 1'in üstü yukarı-regüle ve 1'in altı aşağı-regüle olacak şekilde dikkate alınmıştır. p-değeri üst sınırının altında kalan etkileşimler kenetlenme çalışmaları için aday olarak değerlendirilmiştir.

2.1.3 GeneXpharma kullanılarak ilaçların yeniden konumlandırılması

GeneXpharma (Turanli, Gulfidan ve Arga, 2017), istatistiksel analizlerle desteklenen transkriptomik güdümlü bir ilaç yeniden konumlandırma aracıdır. Bu biyoinformatik araç, 15 farklı veri tabanını birleştiren Drug Gene Interaction Database (DGIdb 2.0) (Wagner, Coffman ve Ainscough, 2016) veri bankasından kapsamlı ilaç-gen etkileşim verisini kullanarak, gen ifadesine dayalı bir ilaç yeniden konumlandırma analiziyle rahim ağzı kanserinin de içinde bulunduğu 48 hastalık için ilaç adayları sunmaktadır. GeneXpharma, 48 hastalık için 118 hastalığa özgü gen ekspresyonu profil veri setini, gen-hastalık ve ilaç-hastalık ilişkileri için istatistiksel değerlendirmeleri içermektedir.

GeneXpharma, mRNA seviyesinde anlatımı farklılık gösteren genler üzerinden ilaçların o veri setindeki ilaç-gen etkileşimi için de p-değeri atamaktadır.

İstatistiksel bağlantı yöntemi (Amelio I., Gostev M., Knight R., Willis E., Melino G. ve Antonov V, 2014), gen ekspresyon verisine uyarlanarak ilaç-veri seti ilişkilerinin öngörülmesinde kullanılmıştır. Bir ilacın hastalık veri seti ile ilişkisinin, hipergeometrik olasılık yoğunluk fonksiyonu kullanılarak yapılan istatistiksel bir test ile olması beklenir.

Denklem 5. Herhangi bir veri kümesinde anlatımı farklılık gösteren genler (DEG)

$$P_{\alpha,\beta} = \frac{\binom{m}{x} \binom{N-m}{n-x}}{\binom{N}{n}}$$

Bu noktada, $p_{\alpha,\beta}$ ilaç α 'nın veri kümesi, β ile ilişkisinin tahmini olasılığını açıklar. N , veri kümesi β 'daki prob sayısıdır; m ise veri kümesi β 'daki toplam anlatım farklılığı gösteren gen sayısıdır. n , bütün ilaç-ilaç etkileşimleri hesaba katıldığında ilaç α ile etkileşime giren genlerin sayısıdır; x ise, veri seti β 'da ilaç α ile etkileşime giren genlerin sayısıdır. Kısaca, m / N insan genomu içerisinde hastalığa bağlı genlerin oranını ve x / n ilaç α ile etkileşime giren, ancak veri seti β ile ilişkili olan genlerin oranını yansıtır. Aynı prosedür, ilacın en az bir etkileşimi de dahil olmak üzere her olası ilaç veri kümesi çifti için tekrar edildi.

2.1.4 Yeniden konumlandırılan aday ilaçlar arasından en anlamlı ilaç-gen çiftlerinin belirlenmesi ve hastalık etkileşim analizi

Çok sayıda gen ve ilaç içeren veri taramasına sahip bir araştırmada p-değeri istatistiksel anlamlılığın varlığını veya bu istatistiksel anlamlılığın farklılığını, ve eğer var ise bu farklılığın düzeyini belirlemek için kullanılan bir değerdir. Yapılan her istatistiksel testin sonucunda, kullanılan test istatistiğine ait bir p-değeri hesaplanır. Bu p-değeri araştırmacıya “ilgili hipotez testi sonucunda anlamlı fark vardır” diyebileceği durumda

hatalı karar verme olasılığının ne olduğunu gösterir. p-değerinin 0.05'ten küçük olması tıp literatüründe “istatistiksel olarak anlamlı” kabul edilse de, araştırmacının isteğine göre ilgilenilen kümeyi daraltmak için daha da düşük p-değeri eşikleri (mesela 0.001) kullanılabilir. p-değeri ne kadar küçük olursa H0 hipotezini reddetmeye o kadar çok imkan sağlar. (Rosner, 2011). Bu bilgiler göz önüne alınarak geneXpharma ile melanom için yeniden konumlandırılan aday ilaç-gen çiftleri arasından ilaç-gen etkileşim p-değeri ve ilacın hedef aldığı gen sayısı (rank) dikkate alınarak sıralanmış ve en anlamlı olanlar seçilmiştir.

Daha sonra, p-değerine göre anlamlı olarak belirlenen genlerin, hedef ilaçlarımızın tedavisinde kullanıldığı hastalıklardan belirgin olanlarla etkileşimlerine ConsensusPathDB arayüz uygulamasında bakılmıştır. ConsensusPathDB, hücresel biyolojinin resmini oluşturmak için hücredeki genler, RNA, proteinler, protein kompleksleri ve metabolitler gibi fiziksel varlıklar arasındaki farklı türlerdeki fonksiyonel etkileşimleri entegre eden bir veritabanıdır (WEB8). Şu anda, ConsensusPathDB insan, fare ve mayadaki metabolik ve sinyal reaksiyonlarını, fiziksel protein etkileşimlerini, genetik etkileşimleri, gen düzenleyici etkileşimleri ve ilaç-hedef etkileşimlerini içerir. Etkileşim bilgileri kaynağından toplanır ve kesintisiz bir ağa entegre edilir. Veriler, literatürdeki 32 (PDB, CORUM, DRUGBANK, KEGG, vb.) farklı kaynaktan elde edilmektedir. Kaynak veritabanlarından gelen fiziksel varlıklar, UniProt ve Entrez erişim numaraları gibi ortak tanımlayıcıların kaynakları sayesinde birbirleriyle eşleştirilir. Etkileşim verileri tamamlayıcı bir şekilde (fazlalıklardan kaçınarak) entegre edilir ve bu da farklı etkileşim türlerini içeren kesintisiz bir etkileşim ağıyla sonuçlanır (WEB8).

Yukarıda bahsedilen kaynaklardan tez kapsamında üzerinde durduğumuz KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes); genomlar, biyolojik yollar, hastalıklar, ilaçlar ve kimyasal maddeleri içeren bir veritabanıdır. KEGG için kullanılır biyoinformatik veri analizler şunlardır: genomik, metagenomik, metabolomik ve diğer omik çalışmaları, modelleme ve simülasyon sistemleri, ilaç geliştirme. KEGG yolları (KEGG Pathway), metabolizma, hücre ve organizmanın çeşitli diğer işlevleri hakkında deneysel bilgileri temsil eden, elle çizilmiş KEGG yol haritalarının bir koleksiyonudur. Her bir yol haritası, bir moleküler etkileşim ve reaksiyon ağı içerir ve genomdaki genleri, yoldaki gen ürünlerine (çoğunlukla proteinler) bağlamak için

tasarlanmıştır. Bu, genomdaki gen içeriğinin KEGG Pathway veritabanıyla karşılaştırılarak genomda hangi yolların ve ilgili işlevlerin kodlanmasının muhtemel olduğunu incelemek için KEGG yol haritası adı verilen analizi mümkün kılmıştır (WEB 9).

2.1.5 İlaçların kanserle ilgilerine göre sınıflandırılması

Yeniden konumlandırılan aday ilaçlar arasından en anlamlı ilaç-gen çiftlerinin belirlenmesinin ardından bu ilaçların endikasyonları araştırılarak kanserle ilgisinin olup olmadığına bakılmıştır. İlaçların ilişkili olduğu hastalığı belirlemek için kullandığımız birinci kaynak DrugBank veri tabanıdır (Dunkel M, Guñther S, Ahmed J, Wittig B ve Preissner R, 2008). DrugBank veri tabanı herkesin ücretsiz ulaşabileceği, ilaç ve ilacın hedefleri hakkında kapsamlı bilgi içeren erişilebilir bir bilgi tabanıdır. DrugBank ilacın detaylı (yani, kimyasal, farmakolojik ve farmasötik) verilerini kapsamlı bir şekilde hedef (sekans, yapı ve yol) bilgisi ile birleştirir.

Drugbank ilaç endüstrisinde; tıbbi kimyagerler, eczacılar, doktorlar, öğrenciler ve genel halk tarafından yaygın olarak kullanılmaktadır. Kapsamlı ilaç ve ilaç hedefi verileriyle birlikte, nadir görülen ve yeni tanımlanmış hastalıkları tedavi etmek için mevcut bazı ilaçların keşfedilmesini ve yeniden kullanılmasını sağlamıştır. Drugbank, 2.603 onaylı küçük molekül ilacı, 1.289 onaylı biyoteknoloji (protein/peptid) ilacı, 130 nutrasötik ve 6.306'nın üzerinde deneysel ilacı içeren 13.344 ilaç girişi ve ilaçların bilgisini içerir. Ek olarak, 5.208 yedekli olmayan protein (ilaç hedefi / enzim / taşıyıcı / taşıyıcı) dizileri bu ilaç girişleriyle bağlantılıdır (Wishart DS ve diğerleri, 2018).

WHOC-ATC/DDD Index 2019 (WHO İlaç İstatistikleri Metodolojisi İşbirliği Merkezi) ise, ilaçların endikasyonları hakkında bilgi almak için kullanılan bir diğer veri tabanıdır. 1982'de kurulan bu merkez, Norveç Halk Sağlığı Enstitüsünde Oslo'da bulunmaktadır ve Norveç hükümeti tarafından finanse edilmektedir. Bu veri tabanının görevleri şöyle sıralanabilir: ATC sistemine göre ilaçları sınıflandırmak, ATC kodu atanmış ilaçlar için DDD'ler oluşturmak, ATC sınıflandırma sistemini ve DDD'leri gerektiği gibi gözden geçirmek ve revize etmek, ilaç ve ilaç kullanım alanındaki araştırmacılarla işbirliği yaparak ATC sisteminin pratik kullanımını teşvik etmek, ATC / DDD metodolojisinde eğitim kursları düzenlemek ve başkaları tarafından

düzenlenen bu kurs ve seminerleri vermek, ülkelere ulusal ilaç sınıflandırma sistemlerini kurma konusunda teknik destek sağlamak ve ilaç tüketim bilgilerinin kullanımında kapasite geliştirmektir (Marta Terron Cuadrado, 2018).

p-değeri eşiği 0.001'e göre belirlenen ilaçlar için 'Drugbank' ve 'WHOC-ATC/DDD Index 2019' veri bankalarını kullanarak ilgili hastalıkları belirledik. Bu ilaçların içinde kanser dışında depresyon, şizofren, Alzheimer's, HIV, AIDS, diyabet, hipertansiyon, menapoz, diyet, madde bağımlılığı gibi çeşitli birçok hastalıkta tedavi amacıyla kullanılan ilaçlar mevcut idi. İlaçların var olan kullanımı dışında, antineoplastik (kanserele ilgili) sınıfına ait olup olmadığına baktık ve ilaçları kendi arasında dört gruba ayırdık. Aşağıda detayları verilen bu dört grup, aynı zamanda bizim çalışmalarımızın ana hattını oluşturan ve yönlendiren temel gruplardı.

Birinci grup ilaçlar melanom veya çeşitli kanser türlerinin tedavilerinde kullanılmış ve literatürde de kanserdeki uygulamalarıyla ilgili yayınlar bulunan ve yapılan çalışmalarla da sonuçlarımızı desteklediğimiz ilaçlardı. Örneğin Methotrexate ilacı, nükleotid sentezinde önemli bir kofaktör olan tetrahidrofolat (THF) üreten DHFR (dihidrofolat redüktaz) 1 enzimini inhibe eder ve anti kanser ajanı olarak yaygın bir şekilde kullanılır (Naama Kanarek, 2018).

İkinci grup ilaçlar ise, direkt olarak kanser tedavisine yönelik olmayan fakat literatürde kanser tedavisi çalışmalarında ek ilaç olarak uygulanmış ilaçlardı. Örneğin, metformin, Tip II Diyabet tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir ilaçtır ve Griss ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, antineoplastik ajan olarak da uygulanmıştır. Bu çalışmada, mitokondri içermeyen tümör hücrelerinin, karboksilasyon yoluyla metformin varlığında lipid biyosentezini koruduğu ve metforminin hücre büyümesi için gerekli olan mitokondriyal metabolik ara maddelerin üretimini baskılayarak kanser hücresi proliferasyonunu inhibe ettiğini ve tümör hücresine direnç mekanizması sağlayabileceğini gösterilmiştir (Griss ve diğerleri, 2015).

Üçüncü grup ilaçlar, kansere yönelik olmayan ve literatür taramalarında kanserle direkt ilişkisi belirlenemeyen ilaçlar olarak belirlendi. Bu tezin amacına yönelik olarak, bu gruptaki ilaçlar özgün olarak melanoma yönelik yeniden konumlandırılan aday ilaçlar olarak değerlendirilmiştir.

Bunların dışında, kontrol grubu olarak rastgele bir dördüncü grup oluşturulmuştur. Bu grubu hazırlarken ilaç-gen çiftlerinin bulunduğu tablodan, p-değerinin eşliğini 0.001'e düşürdüğümüz listedeki birbirinin hedefi olmayan ilaç ve proteinlerden rastgele seçilen çiftlere kenetlenme uygulanmıştır.

2.2 Yeniden Konumlandırılan Aday İlaç-Protein Çiftlerinin Kenetlenme

Çalışmaları

Belirlenen aday ilaç-gen çiftleri p-değeri eşğine göre elenip sıralandıktan sonra kenetlenme çalışmaları için incelenecek ilaçlar ve karşısındaki genin kodladığı proteinler seçilmiştir. Burada her ilacın hedef aldığı gen sayısı değişkenlik göstermektedir. Biz bu ilaçları hedef aldığı gen sayısına göre (rank) ve karşısındaki genleri de p-değeri en küçük olandan, en büyük değere sahip olana doğru sıraladık. Kenetlenme için her grup ilaçtan en iyi 10 ilaç ve hedefledikleri protein olarak da p-değeri en düşük olan genlerden iki tanesini kullandık. Genlerin kodladığı proteinlerin yapısını incelemek için iki veri tabanı kullandık: PDB (Protein Veri Bankası) ve UNIPROT (Evrensel Protein Kaynağı) veri tabanı.

UNIPROT protein dizileri ve açıklamaları için kapsamlı bir kaynaktır. UniProt veritabanları; UniProt Bilgi Bankası (UniProtKB), UniProt Referans Kümeleri (UniRef) ve UniProt Arşivi'dir (UniParc) (Apweiler ve diğerleri, 2004). PDB ise deneysel olarak belirlenen 3 boyutlu biyomolekül yapılarının evrensel olarak depolandığı veri bankasıdır (Helen M. Berman, 2012). PDB'deki yapılarda, her bir atomun moleküle göre yerini belirlemek için x-ışını kristalografisi, NMR spektroskopisi ve kriyo-elektron mikroskobu gibi yöntemler kullanılmaktadır (Helen M. Berman, 2012). PDB verileri, PDB arşivinde depolanan biyolojik moleküller için koordinat dosyalarından oluşur. Bu dosyalar, her bir proteindeki atomları ve uzaydaki 3B konumlarını listeler. Bu dosyalar çeşitli biçimlerde mevcuttur (Helen M. Berman, 2012). İlgilenilen yapı bulunduktan sonra, yapının görüntülenmesi için PyMol, VMD gibi görselleştirme programları kullanılabilir. Bu programlar ayrıca, mesafeleri ve bağ açılarını ölçmeye ve ilginç yapısal özellikleri tanımlanmasına izin veren analiz araçlarını da içerir.

PyMol; küçük moleküller, proteinler veya makromoleküllerin yüksek kaliteli 3B görüntülerini gösterir (Gaudreault, Morency, Najmanovich, 2015). PyMol yapısal biyoloji alanında kullanılan önemli bir görüntüleme sistemidir ve yazılımın isminde bulunan ‘py’ harfleri, ‘python’ programlama dilinde yazılmış programı ifade eder.

Kenetlenme yapabilmek için her iki molekülün de yapısı gerektiğinden kenetlenme işlemi seçilen ilaç ve proteinlerinin yapılarının bulunabildiği durumlar için yapılmıştır. Kenetlenme işlemi SwissDock internet arayüzü kullanılarak (bir sonraki bölümde detaylarıyla anlatılan şekilde) yapıldıktan sonra, sonuçta tahmin edilen ilaç-protein kompleks yapılarından en iyi enerji değerine sahip olanlar PyMol görselleştirme programında incelenmiştir.

2.2.1 SwissDock internet arayüzü kullanılarak yapılan kenetlenme çalışmaları

Swissdock kenetlenme çalışmaları için kullanılan bir internet arayüzüdür (Grosdidier, Zoete, Michielin, 2011). Hedef proteinler ve ligandların yapılarını ve otomatik olarak kenetlenmeye hazır hale getirerek modelleme yapar. Swissdock internet arayüzü ile birlikte kenetlenme sonuçlarının parametleri ve girilen verilerin dosyalarına kolayca ulaşılabilir ve böylelikle kullanıcı için ekstra hesaplama gücü gerektirmez. Swissdock arayüzünde kenetlenme çalışmalarını başlatmak için üç ana adım gerekmektedir:

- 1)Protein yapısını tanımlamak
- 2)Ligand yapısını tanımlamak
- 3)Kenetlenme parametlerini tanımlamak

Swissdock SOAP sunucusu, python programlama dilinde, soaplib kütüphanesi ile birlikte uygulanır. PHP, Perl veya Python ile yazılmış örnek alıcı kodları web sitesinden indirilebilir. Swissdock kenetlenme yazılımı EADock DSS’ye dayanmaktadır (Grosdidier A., Zoete V. ve Michielin O., 2011). Bu arayüzün algoritmasına bakıldığında ilk olarak, kullanıcı tarafından belirlenen bir kutuda veya tüm protein yüzeyinin hedef boşluklarının yakınında çok sayıda bağlama modu (BM) (5000-15000) üretilir. Aynı zamanda, CHARMM (B. R. Brooks ve diğerleri, 2009) tarafından enerjileri tahmin edilir ve en uygun enerjilere sahip olan BM'ler, FACTS kapalı çözme modeli uygulanarak çözücü etkisine göre sınıflandırılır. Son olarak, en

uygun kalıntılar sonuçta belirtilir, doğru kenetlenme tahminleri yapar ve deneylerin yapılmasına imkan verir (U. Haberthür ve Caflisch A., 2008). Kenetlenme deneyleri CHARMM22/27'de yapıldığı için, tüm hidrojen kuvvetleri alan hedef proteinleri ve ligandları, CHARMM ile biçimlendirilmiş dosyalar olarak yüklenir. Genellikle kenetlenme çalışmaları yapılan uygulamalar, programlar ve internet arayüzlerinde kenetlenme yapabilmek için, proteinlerin ve küçük moleküllerin fiziko-kimyasal özellikleri hakkında bilgi sahibi olmak gerekir ve bu prosedür kullanıcılar tarafından yapılır. Ancak bu adım swissDock web servisi için otomatikleştirilmiştir (B. R. Brooks ve diğerleri, 2009).

2.2.1.1 Hedef proteinin hazırlanması

PDB'den indirilen protein yapısı CHARMM tarafından segmentlerine ayrıştırılır. Bu segmentler, pdb dosyasındaki kalıntıların C ve N atomları arasındaki mesafe hesaplanarak belirlenir. Bir kalıntının, C atomu ile bir sonraki artığın N atomu arasındaki mesafe 1.7 Å 'dan daha büyükse yeni bir zincir tanımlanır. Bu değer, C ve N atomu arasındaki standart peptit bağı değerinden (1.33 Å) önemli derecede daha büyüktür. Bununla birlikte, kovalent olarak bağlı olmayan kalıntıları tanımlamak için yeterince küçüktür ve karşılık gelen mesafe CHARMM kuvveti alanında 3.8 Å'dan küçük olmamalıdır. Benzer şekilde, iki S atomu arasındaki mesafe 2.25 Å eşik değerinden düşük olduğunda, disülfat köprüleri otomatik olarak eklenir. Isoleucinin CD1 atomu, CHARMM isimlendirmesi ile uyum içinde CD olarak yeniden adlandırılmıştır. PDB dosyalarında verilen kalıntı sayıları, kenetlenme sonuçlarının analizini kolaylaştırmak için kurulum sırasında tutulur. Hidrojen atomları ve eksik yan zincirler CHARMM'ın HBUILD ve IC BUILD komutları kullanılarak otomatik olarak eklenir. İlgili CHARMM22/27 standart kuvvetinde mevcutsa, hedefin protein kısmına ait olmayan moleküller PSF dosyasına eklenir. Aksi takdirde, sistemden kaldırılırlar. Bununla birlikte, kullanıcılar kendi PSF/CRD dosyalarını temin ederek bunları da kullanabilir. Su molekülleri uzaklaştırılır. Başlangıçtaki ve küçültülmüş konformasyonlar arasındaki kök ortalama kare sapması (RMSD) genellikle <0.15 Å 'dır (Grosdidier ve diğerleri, 2011).

2.2.1.2 Ligandın hazırlanması

Ligand dosyaları, CHARMM topolojisinden, parametreleri ve koordinatları için bir ZINC AC veya Mol2 dosyası sağlanmışsa, otomatik olarak Merck Moleküler Kuvvet Alanından (MMFF) elde edilir (Grosdidier ve diğerleri, 2011). Van der Waals parametreleri CHARMM22 metodundaki en yakın atom tipinden alınmıştır (B. R. Brooks ve diğerleri, 2009). CHARMM ile tutarlılık için, aynı ada sahip atomlar yeniden adlandırılmıştır. Yüklenen Mol2 dosyaları tüm hidrojenleri ve 3D koordinatları içermelidir.

Swissdock sayfasında kenetlenme sonucu oluşan yapı bizim ilaç ve genimizin 3 boyutlu yapısını göstermektedir. Her docking sonucumuzun 'swissdock clusters' klasörü vardı ve bu klasörü bilgisayarımıza indirip kaydettik. Bu klasörün içinde cluster4.pdb, cluster.dock4 (excel), clusters, complex.crd, complex.psf, eadock.3err, ligand.par, ligand (Word), open (internet uzantısı), params, readme, target.crd, target.pdb, test.inp dosyaları bulunmaktadır. Kenetlenme sonucu çıkan sayfada, gen ve ligandın üç boyutlu moleküler modeli görünmektedir. Bu modelin yanında farklı parametreler bulunmaktadır. Bu parametreler şunlardır: 'show', 'cluster', 'element', 'fullFitness (kcal/mol)', 'estimated ΔG (kcal/mol)'. Kenetlenme sonuçlarında baz aldığımız değer, 'estimated ΔG (kcal/mol)' değeridir. Swissdock, ΔG simgesinin üstüne tıkladığımızda değerleri en küçükten büyüğe doğru otomatik olarak sıralar. Değerleri sıraladıktan sonra en düşük değerın kalıntı konumuna tıkladığımızda, ligandın bu kalıntıdaki bağlanmasını gösterir. Swissdock, diğer kalıntılarında göster ifadesine tıklayarak ligand ve hedefin farklı bağlanma bölgelerini üç boyutlu gözlemleyebilme olanağı sağlar.

2.2.1.3 Kenetlenmede Gibbs serbest enerjisi (ΔG) ve sonuçların karşılaştırılması

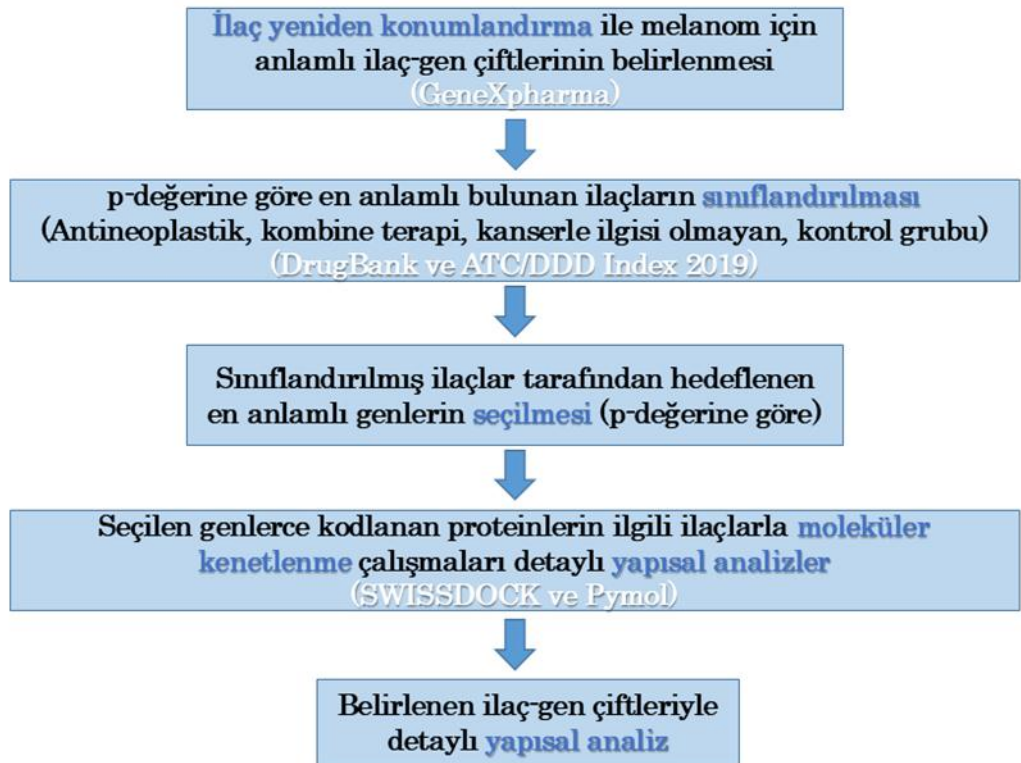
ΔG , entalpi değerinden, entropi ve mutlak sıcaklığın çarpımının çıkarılarak elde edilen termodinamik bir değişkendir ($\Delta G = \Delta H - T\Delta S$). Genel olarak tanımlamak egerekirse, kimyasal bir reaksiyonun enerji potansiyelinin işe dönüştürülebilmesiyle ilgilidir. Doğadaki her şey enerjisini minimum seviyeye indirmek ister. Bu bağlamda bir olayın kendi kendine gerçekleşmesi ΔG ile ifade edilir. ΔG ne kadar düşükse bu olayın kendiliğinden gerçekleşmesi o kadar kolay olur. Bu yüzden ilaç-protein kenetlenme

sonuçlarında çıkan en düşük enerjili sonuçlar alınmıştır. Enerji ne kadar düşüğe kenetlenen iki yapının birbiriyle olan uyumu o kadar fazladır ve ΔG enerjisi düşük kompleksler daha kararlıdır.

2.2.1.4 Gibbs serbest enerjisi (ΔG) değerinden yeni ilaç önerme

Çalışmanın kenetlenme sonuçlarından ΔG enerjisi düşük olanları tablolarımıza not ettikten sonra, melanom için önereceğimiz ilaçları belirledik. Asıl hedefimiz doğrultusunda Grup üçte bulunan yani daha önce bahsettiğimiz gibi kanser dışında kullanılan (antineoplastik sınıfına dahil olmayan) ilaçların ve literatür taramasından elde ettiğimiz verilere göre direkt olarak kanserde tedavi edici olarak kullanılmayan ilaçlardan on adet belirlenmiştir. Her gruptan belirlenen on ilaç için ikişer hedef protein belirleyerek yirmi kenetlenme enerji skorunu kaydettik.

İlaç gruplarının oluşmasında ve yapısal analiz için belirlenen ilaç-protein çiftlerinin belirlenmesinde yukarıda anlatılan yöntemler Şekil 8'deki şemada özetlenmiştir.



Şekil 8. Tezde Kullanılan Yöntemlerin Şeması

BÖLÜM III

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Sağlık ve melanom hastalığı koşulları karşılaştırıldığında, anlatımı farklılık gösteren genlerin bulunması için Materyal ve Metot bölümündeki yöntem izlenmiştir. p-değeri üst sınırı 0.001 alınmış ve gen anlatımındaki değişikliğin yönü (gen anlatımı artan/azalan) kat değişim (fold change) 1'in üstü yukarı-regüle ve 1'in altı aşağı-regüle olacak şekilde dikkate alınmıştır. Sonuç olarak, 312 adet aşağı-regüle, 52 adet yukarı-regüle olan gen tespit edilmiştir (EK-2). Daha sonra, geneXpaharma ile belirlenen ilaç-gen çiftleri ilacın hedef aldığı gen sayısı en fazla olan ilaçtan en aza doğru sıralandı. p-değeri eşiği 0.05 alındığında 837 ilaç, 23.923 ilaç-gen çifti bulunmakta idi. p-değeri eşiği 0.001 olduğunda ise 303 ilaç ve 16.468 ilaç-gen çifti belirlendi. Buradaki 303 ilacın hangi hastalıkların tedavisinde kullanıldığı araştırılarak, kanserle ilgisinin olup olmadığına bakıldı ve gruplandırıldı. İlaçların gruplandırılmasının ardından her grup için seçilen en iyi ilaçlardan 10 tanesi ve hedef proteinleri için moleküler kenetlenme çalışmaları yapıldı ve son olarak kenetlenme skorlarına göre melanoma yönelik olan yeniden konumlandırmak üzere en kuvvetli adaylar bu tez kapsamında önerildi.

3.1 Anlamlı Olarak Belirlenen Genlerin Hastalıklarla Etkileşimlerinin ve Onları Hedefleyen İlaçlarla İlgisinin İncelenmesi

Melanom koşulunda sağlıklı duruma göre tespit edilen 312 adet aşağı-regüle, 52 adet yukarı-regüle olan insan geninin; ikili ve karmaşık protein-protein, genetik, metabolik sinyalleme, gen düzenleyici ve ilaç-hedef etkileşimleri ve ayrıca biyokimyasal yollar dahil olmak üzere etkileşim ağlarını bütünleştiren etkileşimleri ConsensusPathDB arayüz uygulamasında görselleştirilmiştir (Şekil 9). Genler ile hastalıkların kodlarını

veri olarak consensuspath uygulamasına girdiğimizde, bizim elde ettiğimiz sonuçlarla consensusPath'in verisinde çoğunlukla KEGG'den elde edilen verilerle karşılaştırılması benzer sonuçlar vermiştir (Tablo 2-4). Asıl hedef aldığımız melanom hastalığı başta olmak üzere Hepatit B, HIV, Parkinson, Alzheimer, akciğer, tiroit ve kolon kanseri gibi hastalıkların tedavisinde hedef alınan genlerin melanomla oldukça ortaklık gösterdiğini görebiliriz (Şekil 9 ve Tablo 2-4).

Şekil 9. p-değerine Göre Anlamlı Genlerin, Belirlenen Hedef İlaçların Tedavisinde Kullanıldığı Hastalıklardan Bazılarıyla Olan Etkileşim Entegreleri

kavram türleri arasındaki ilişkilere hızlı bir genel bakış sağlar (örneğin, belirli Gen Ontolojibiyolojik işlem kategorileri, yol veri tabanlarında bulunan belirli yollara çok benzer olabilir. Son olarak, kenarların renk kodlaması, farklı biyolojik süreçler arasındaki potansiyel olarak düzensiz karışma hakkında ipuçları sağlayabilir. Örtüşme grafiği görselleştirme ortamı, yalnızca kavramlar arasındaki en yakın ilişkileri vurgulamak için kenarlara uygulanabilen bir filtre içerir (WEB7).

Tablo 2. ConsensusPath Verilerinden Elde Edilen Sonuçlara Göre Zenginleştirilmiş Bazı Kanser Türleriyle Ortak Olan Genler

Hastalık	p-değeri	Gen Sembolü	Kaynak
Melanom	3.72E-07	IGF1; TP53 ; MAP2K2; CCND1; BAD; BAX; AKT1; AKT2; MAPK1; PIK3R2; CDH1; FGFR1	KEGG
Prostat Kanseri	7.44E-13	GSTP1; IGF1; ETV5; TP53; MAP2K2; CCND1; CREB1; AKT2; HSP90B1; GSK3B; CTNNB1; AKT1; BAD; AR; PIK3R2; TCF7L2; MAPK1; CDK2; CREBBP; FGFR1 FZD3; TP53; MAP2K2; CCND1; SP1; TCF7L2; BAX; KIT; CTNNB1; AKT1; AKT2; IGF1; PIK3R2; APC; WNT5B; GSK3B; MAPK1; FGFR1	KEGG
Meme Kanseri	6.66505E-08	TP53; CCND1; CXCL8; MAP2K2; MAPK1; PIK3R2; CDH1	Wikipathways
Mesane Kanseri	7.67232E-05	TP53; MAP2K2; CCND1; BAX; CTNNB1; PPARG; MAPK1; RXRB; TCF7L2; CDH1	KEGG
Tiroid Kanseri	2.81566E-08	RAC1; SP1; PPARG; CXCR4; RXRB; PML; AKT2; AR; MSH6; WNT5B; RHOA; FGFR1; ADCY6; GSTO1; TP53; AKT1; CCND1; MAX; GSTM4; ADCY9; TCF7L2; GSK3B; MAP2K2; CDK2; HSP90B1; CXCL8; APC; CREBBP; CDC42	KEGG
Kanser Yolakları	8.29159E-21		

Tablo 3. ConsensusPath Verilerinden Elde Edilen Sonuçlara Göre Belirlediğimiz Bazı Hastalıklarla Ortak Olan Genler

Hastalık	p-değeri	Gen Sembolü	Kaynak
Parkinson	2.16E-07	PRKACA; NDUFC1; COX5A; UQCR10; PPIF; SNCA; CYCS; SLC25A4; NDUFS1; NDUFA10; NDUFS7; SDHA; NDUFS4; SDHC; UQCRB; APAF1; UQCRC1	KEGG
Alzheimer's	2.28E-11	COX5A; PPP3R1; PLCB1; UQCR10; CYCS; BAD; UQCRB; CALM1; APBB1; MAPK1; NDUFA10; APAF1; NDUFC1; SNCA; BACE1; CASP8; GSK3B; NDUFS1; NDUFS4; MAPT; NDUFS7; SDHA; SDHC; UQCRC1	KEGG
Tüberküloz	2.60743E-07	CREBBP; RAB7A; RAB5A; PPP3R1; CALM1; CTSD; AKT2; CREB1; MAPK14; AKT1; BAD; MAPK1; BAX; CYCS; JAK1; CASP8; RHOA; MAPK9; APAF1	KEGG
HIV 1 LTR' de Transkripsiyon	1.66259E-05	NFATC1; HDAC5; PPP3R1; HDAC8; SP1; CDK9; CREBBP	Wikipathways
Hepatit B	2.01674E-10	CREBBP; NFATC1; CCNA2; STAT2; MAP2K2; CCND1; CXCL8; AKT2; CREB1; AKT1; BAD; MAPK1; BAX; CYCS; JAK1; CASP8; MAPK9; TP53; CDK2; APAF1; PIK3R2	KEGG
İnsan T Hücreli Lösemi Virüsü 1 Enfeksiyonu	7.84866E-13	BCL2L1; NFATC1; PPP3R1; ATM; BAX; AKT1; AKT2; POLB; CANX; XPO1; CCNA2; MAD1L1; MAPK1; PIK3R2; ICAM1; JAK1; MAPK9; CREB1; SLC25A4; ADCY6; TP53; MAP2K2; CCND1; XIAP; ADCY9; RAN; CDK2; PRKACA; CREBBP	KEGG

Tablo 4. ConsensusPath Verilerinden Elde Edilen Sonuçlara Göre Bazı Metabolizma ve Sinyal Yolaklarıyla Ortak Olan Genler

Hastalık	p-değeri	Gen Sembolü	Kaynak
Kanserde kolin metabolizması	6.17E-05	MAPK9; RAC1; SP1; MAP2K2; AKT1; AKT2; CHPT1; PIK3R2; SLC22A3; MAPK1; RHEB	KEGG
Butanoat metabolizması	7.71E-05	HMGCS1; HADH; HADHA; ACAT1; ACAT2; ABAT	KEGG
İlaç metabolizması	0.004937984	GSTO1; UCKL1; GSTM4; MGST3; GSTP1; TK2; RRM1	KEGG
İnsülin sinyal yolakları	6.92319E-07	EIF4E2; PRKAB2; SOCS3; SOCS2; MAPK9; CALM1; BAD; GSK3B; MAP2K2; AKT1; AKT2; MAPK1; PRKACA; PIK3R2; RHEB; FLOT1	KEGG
Prostat Kanseri Sinyal Yolaklarından miRNA düzenlenmesi	2.25298E-06	TP53; CCND1; GSK3B; CTNNB1; MAP2K2; BAD; AR; MAPK1; CREBBP	Wikipathways
Östrojen Sinyal Yolakları	3.19618E-06	PLCB1; ADCY6; CALM1; SP1; CREB1; ADCY9; HSP90B1; MAP2K2; AKT1; AKT2; MAPK1; PRKACA; PIK3R2; CTSD; GRM1	KEGG

3.2 Yeniden Konumlandırılan İlaçları Gruplandırma ve İlaç-Protein Çiftlerinin Kenetlenme Çalışmaları

GeneXpharma ile melanoma yönelik olarak yeniden konumlandırılan ilaç-gen çiftlerinden p-değerine göre sıralanmış en iyi adaylar Materyal ve Metot Bölümü'nde anlatıldığı gibi dört gruba ayrıldıktan sonra, her grubun en iyi 10 ilaç adayı için

hedefledikleri iki proteinle birlikte kenetlenme çalışmaları yapılmıştır (Tablo 5-8). İlaç sınıflandırmasında kontrol grubu olarak kullanılan ve birbirinin hedefi olmayan ilaç ve proteinlerden rastgele seçilen çiftlerden oluşan Grup 4 için kenetlenme skorlarına baktığımızda, beklenildiği gibi diğer gruplara göre daha yüksek enerjiler, yani çiftlerin daha kötü bağlandığı gözlemlenmiştir (Tablo 8).

Tablo 5. Grup 1 İçin Belirlenen İlaçlar ve Kenetlenme Skorları

İLAÇ	GEN	PROTEİN YAPISI PDB KODU / ZİNCİR	ΔG (kJ/mol)
DASATINIB	ABL1	2GQG/A	-9.65
	KIT	1PKG/A	-8.81
CARFILZOMIB	PSMB1	4R3O/1	-10.11
	PSMB7	4R67/W	-9.72
DABRAFENIB	BRAF	5CSW/A	-11.90
	RAC1	1FOE/B	-10.62
AZATHIOPRINE	GSTP1	14GS/A	-7.33
	CALM1	1MAZ/A	-7.15
DOXORUBICIN	GSTP1	14GS/A	-8.40
	NQO1	2F1O/D	-7.61
GEMCITABINE	BTRC	6M94/A	-7.88
	AKT1	3O96/A	-7.87
IRINOTECAN	GSTP1	14GS/B	-8.58
	KIT	1PKG/A	-8.46
METHOTRAXATE	GSTP1	14GS/A	-10.38
	NQO1	2F10/A	-9.78
PACLITAXEL	EPHA5	2R2P/A	-9.28
	GSTP1	14GS/A	-8.12
TAMOXIFEN	SULT1A2	1Z29/A	-8.57
	MECP2	3C2I/A	-8.47
ORTALAMA ΔG (kJ/mol)			-8.79

Tablo 6. Grup 2 İçin Belirlenen İlaçlar ve Kenetlenme Skorları

İLAÇ	GEN	PROTEİN YAPISI PDB KODU / ZİNCİR	ΔG (kJ/mol)
METFORMIN	PPARG	1ZEO/A	-6.84
	FTO	3LFM/A	-7.21
CLOPIDOGREL	PPARA	1I7G/A	-8.38
	ITGB3	1U8C/B	-8.03
CLOMIPRAMINE	KIT	1PKG/A	-8.85
	HTR2B	6DRY/A	-8.32
DESIPRAMINE	SMPD1	5I81/A	-9.19
	KIT	1PKG/A	-8.53
FLUOXETINE	COMT	3A7E/A	-8.42
	PDE8A	3ECM/A	-8.21
LEUCOVORIN	NMT1	5NPQ/A	-22.44
	IGF1	1GZR/B	-9.65
NADH	IDHG3G	5GRE/B	-20.89
	PDHB	3EXI/B	-10.94
NORTRIPTYLINE	KIT	1PKG/A	-9.00
	GSK3B	1H8F/A	-7.76
PRAVASTATIN	ITGB3	1U8C/B	-10.46
	APBB1	3D8E/A	-9.21
RISPERIDONE	EPM2A	4RKK/A	-8.98
	AKT1	1H10/A	-7.54
ORTALAMA ΔG (kJ/mol)			-9.94

Tablo 7. Grup 3 İçin Belirlenen İlaçlar ve Kenetlenme Skorları

İLAÇ	GEN	PROTEİN YAPISI PDB KODU / ZİNCİR	ΔG (kJ/mol)
BEPRIDIL	CALM1	1PK0/D	-10.43
	CALM1	5WC5/R	-7.46
TENOFOVIR	AK2	2C9Y/A	-9.72
	OCRL	2QV2/A	-9.22
KETOTIFEN	PDE8A	3ECN/B	-8.64
	PDE8A	3ECM/A	-8.12
SALMETEROL	STIP1	3ESK/A	-8.06
	PRKACA	6BYS/A	-9.77
GALANTAMINE	BACE1	1XS7/D	-8.54
	POR	3FJO/A	-8.18
ATOMOXETINE	COMT	3BWM/A	-8.79
	KIT	1PKG/A	-7.98
TACRINE	BACE1	1XS7/D	-8.43
	SULT1A1	1Z28/A	-6.73
ABACAVIR	CXCR4	3OE6/A	-7.66
	HFE	1A6Z/A	-7.66
CARBAMAZEPINE	COMT	3A7E/A	-7.20
	PTGIS	2IAG/A	-6.87
STAVUDINE	CXCR4	3OE6/A	-7.34
	HFE	1DE4/A	-6.89
ORTALAMA ΔG (kJ/mol)			-8.20

Tablo 8. Grup 4 İçin Belirlenen İlaçlar ve Kenetlenme Skorları

İLAÇ	GEN	PROTEİN YAPISI PDB KODU / ZİNCİR	ΔG (kJ/mol)
METFORMİN	GSTP1	11GS/A	-6.44
GEMCITABINE	DPP4	ITKR/A	-7.46
SIMVASTATİN	GSK3B	1GNG/A	-8.24
DOXORUBICİN	COMT	3A7E/A	-8.52
ERLOTİNİB	FTO	3LFM/A	-8.51
PAROXETİNE	AKT1	1H10/A	-7.79
THIOGUANİNE	JAK1	3EYG/A	-6.87
NICOTİNE	KIT	1PKG/A	-8.14
VINORELBİNE	GSK3B	2YBX/A	-7.51
ATAZANAVİR	CXCL8	4XDX/A	Başarısız
CYTARABİNE	HFE	1A6Z/A	-7.18
METOCLOPRAMİDE	APOC1	6DVU/A	-7.96
ATENOLOL	RAC1	1FOE/B	-8.09
DOXEPİN	FECH	1HRK/A	-9.40
ASTEMİZOLE	OCRL	2QV2/A	-8.68
BUSULFAN	AR	1E3G/A	-7.77
VENLAFAXİNE	ORC2	5C8H/A	-6.70
DAPSONE	CALM1	5WC5/R	-6.81
PHENYTOİN	NAMPT	2GVG/A	-6.77
DAUNORUBICİN	ASPH	5JQY/A	-8.24
ORTALAMA ΔG (kJ/mol)			-7.38

Bu tez çalışmaları devam ederken yayınlanan bir çalışmada, kutanöz malin melanom (cutaneous malignant melanoma) için ilaçlar yeniden konumlandırılarak 20 hedefe özgün etkileşime giren 35 ilaç bulunmuştur (Khosravi, 2019). Fakat bu tez kapsamında literatürdeki çalışmada yapılanlara ek olarak hem ortak olan hem de ilk defa bu çalışmada melanoma yönelik olarak bulunan özgün ilaç-protein çiftlerinin bir kısmı için moleküler kenetlenme çalışmaları yapılmış; ilaç ve proteinlerin bağlanma potansiyelleri ve tahmin edilen yapılar için bağlanma bölgeleriyle ilgili detaylar elde edilmiştir. Makalede, bulunan ilaçların melanom için tedavi edici potansiyeli gösterilmiştir (Khosravi, 2019). Bu araştırma, çeşitli ilaç bileşiklerinin daha verimli bir şekilde ve daha ekonomik yöntemlerle yeniden konumlandırılarak çeşitli hastalıklara uygulanabilirliğini göstermiştir. Sonuçlar *in vivo* testler ve klinik denemelerle test edilebilir ve uygulanabilir. Yayınlanan bu çalışmada, 1100'den fazla gen ve kutanöz, malin melanomun hedef proteinlerini analiz etmek için çeşitli

veri analizleri kullanılmıştır. Analizler; genom ve fenom çalışmaları (sırasıyla GWAS ve PheWAS), biyomedikal, transkriptomik ve metabolomik veri setlerinden çeşitli araştırma sonuçlarını içermektedir. Bizim çalışmamızda olduğu gibi, seçilen ilaçların hedef genleri ile çalışma yapılacak ilaçların hedefleri arasında olup olmadığına bakmak amacıyla Drugbank kullanılmıştır. İlaçların patojenezinin (hastalık sebebinin) kesin bir analizi yapılmış ve bilinen anti-melanom ilaçları ile yüksek ilişkilere sahip olan genlerin ekspresyon profilleri CMap kullanılarak kontrol edilmiştir (Khosravi, 2019). Yayınlanan bu çalışma ile tez kapsamında elde ettiğimiz sonuçlar karşılaştırılarak Grup 1-4 olarak belirlediğimiz ilaçlarla ortak olanlar tablo halinde gösterilmiştir (Tablo 9-12).

Tablo 9. Grup 1 İçin Belirlediğimiz İlaçlar ve Yapılan Çalışmadaki Melanom için Seçilen Ortak İlaçlar

İLAÇ KOD	İLAÇ	GEN
DB00993	Azathioprine	HPRT1
DB00997	Doxorubicin	NOS2, NOS3
DB00441	Gemcitabine	DCK
DB01254	Dasatinib	CYP1B1
DB08912	Dabrafenib	BRAF, RAF
DB00563	Methotrexate	ABCC11, ABCC3, SLC16A1
DB00675	Tamoxifen	ESR1, PRKCA, PRKCB, PRKCD, PRKCE, PRKCG, PRKCI, PRKCQ, PRKCZ, CYP1B1, CYP2A6, CYP2C8, CYP3A7

Tablo 10. Grup 2 İçin Belirlediğimiz İlaçlar ve Yapılan Çalışmadaki Melanom için Seçilen Ortak İlaçlar

İLAÇ KOD	İLAÇ	GEN
DB00472	Fluoxetine	CHRNA3, CHRNA4
DB00540	Nortriptyline	ADRB1
DB01151	Desipramine	SMPD1, ADRB1, SLC22A5
DB00157	NADH	ADH5, ADH7
DB08912	Pravastatin	HMGCR

Tablo 11. Grup 3 İçin Belirlediğimiz İlaçlar ve Yapılan Çalışmadaki Melanom için Seçilen Ortak İlaçlar

İLAÇ KOD	İLAÇ	GEN
DB01244	Bepiridil	ABCB1, PDE1A, PDE1B, CYP3A4, CYP2D6
DB14126	Tenofovir	ABCB1
DB00289	Atomoxetine	GRIN2B
DB00938	Salmeterol	ADRB1

Tablo 12. Grup 4 İçin Belirlediğimiz İlaçlar ve Yapılan Çalışmadaki Melanom için Seçilen Ortak İlaçlar

İLAÇ KOD	İLAÇ	GEN
DB01008	Busulfan	GSTM1, GSTP1
DB00184	Nicotine	SLC22A5, CYP2A6, CYP2A7
DB00641	Simvastatin	HMGCR, CYP3A7
DB00441	Gemcitabine	CMPT1
DB00997	Doxorubicin	NOS2, NOS3

3.3 Detaylı Yapısal Analiz

Tezde son adım olarak, kenetlenme çalışmaları sonucunda modellenen protein-ilaç kompleks yapıları, literatür ile karşılaştırılarak veri olan durumlarda deneysel yapılarla hizalanmıştır ve bazı protein-ilaç çiftlerinin detaylı yapısal analizleri yapılmıştır. Literatürdeki deneysel sonuçlarla kenetlenmeden gelen sonuçların karşılaştırılması iki şekilde yapıldı:

- 1) PDB’de yapıları bulunan ilaç-protein çiftleri ile kenetlenme sonucunda tahmin edilen yapıların direk karşılaştırılması
- 2) PDB’de ilaca bağlı yapısı bulunmayan proteinlerin başka ligandlarla bağlı yapılarıyla kenetlenme sonucunda tahmin edilen yapıların ilaç bağlanma yerleri bakımından karşılaştırılması

Aşağıda farklı ilaç gruplarından seçilmiş örnek ilaç-protein çiftlerinin detaylı yapısal analizleri anlatılmıştır.

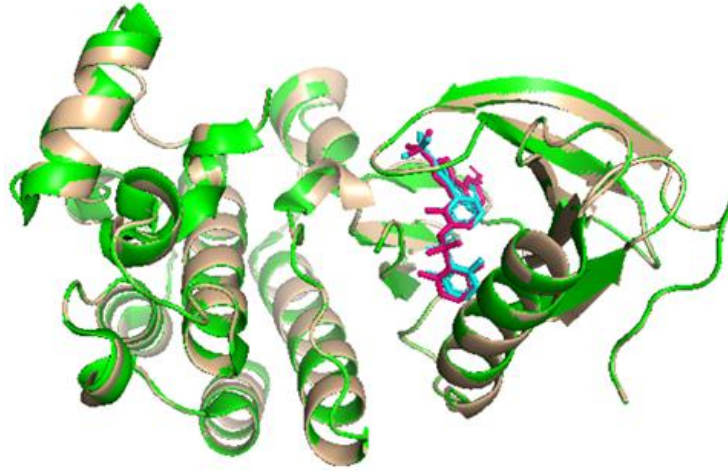
3.3.1 Dabrafenib - BRAF

Grup 1’deki kanserde yaygın olarak kullanılan ilaçlar ve hedef proteinleri arasından belirlediğimiz üç adet ilaç-protein çiftinin kenetlenme analizlerini detaylandırdık. İlk olarak belirlediğimiz ilaç, melanomda yaygın olarak kullanılan dabrafenib (DB08912), bir diğer ismiyle mesilat (Tafinlar); geri dönüşümlü bir ATP rekabetçi kinaz inhibitörüdür ve Mitojen - Aktive Protein Kinaz (MAPK9) yolaklarını hedefler. Melanom tedavisinde kullanım için 29 Mayıs 2013 tarihinde onaylanmıştır. Mayıs 2018’de, Tafinlar (dabrafenib) ve Trametinib kombinasyonu, anormal bir BRAF V600E geninin neden olduğu bir tiroid kanserini tedavi etmek için onaylanmıştır. Tafinlar, metastatik melanomalı hastaların tedavisi için başlangıçta tek bir ajan olarak gösterilen bir kinaz inhibitörüdür. Trametinib ile kombinasyon halinde tafinlar, FDA onaylı bir test ile tespit edilen, reddedilmez veya metastatik melanomalı hastaların BRAF V600E veya V600K mutasyonları ile tedavi edilmesi için endikedir. Kombinasyonda kullanım, dayanıklı tepki oranının gösterilmesine dayanır. Hastalıkla ilişkili semptomlarda iyileşme veya genel sağkalım, tafinlar için trametinib ile birlikte gösterilmemiştir.

Dabrafenib, fosforile edilmiş hücre dışı sinyalle düzenlenmiş kinazın (ERK) inhibisyonuna neden olur. Bu hücre proliferasyonunda bir düşüş olduğunu gösterir. Ayrıca, 24 saat içinde MAPK yolağının akış aşağı araçları engellenmiştir (Waizenegger ve diğerleri, 2016).

BRAF geni mitojenik sinyallerin hücre zarından çekirdeğe iletilmesinde rol alan protein kinazdır. Fosforilatlar MAP2K1'i ve böylece MAP kinaz sinyal iletim yolunu aktive eder. Sakin hücrelerde, protein kinaz ve N-terminal alanları arasındaki intramoleküler bir etkileşim yoluyla aktif olmayan bir durumda tutulur. Mitojen aracılı hücre aktivasyonunun ardından, RGB alanı aracılığıyla iki alan arasındaki inhibitör intramoleküler etkileşimi serbest bırakan aktif HRAS'a (GTP bağlı) bağlanır. Bu, MAP2K1 aracılı Ras 1'in kinaz baskılayıcılarından KSR1 veya KSR2 dimerizasyonuna ve BRAF'ı aktive eden BRAF'a izin verir. Bağlanma bölgesi ise 155 – 227 rbd, 457 – 717 protein kinazdır (McPherson, 1999). BI 882370 inhibitörü, BRAF kinazının DFG çıkışı (aktif olmayan) konformasyonuna bağlanan güçlü ve seçici bir RAF inhibitörüdür (Waizenegger, 2016). Bu çalışmadan yola çıkarak, melanom için belirlediğimiz ilaç-gen çiftlerinin arasında bulunmasından dolayı dabrafenib ve kanserde önemli bir hedef protein olan BRAF örneğini seçtik.

Literatürdeki Dabrafenib-BRAF yapısının (PDB: 5CSW), en iyi kenetlenme enerji değerine sahip tahmin pozuna benzerliğini analiz edebilmek için üç boyutlu yapıları PyMol'de hizaladık (Şekil 10). BRAF proteininin 5CSW yapısında bulunan ligand Dabrafenib, kenetlenmiş yapıdaki hedef proteine bağlı olan ligandla birebir aynı noktadan yeniden konumlandığı gözlemlendi ve bu bizim enerji tablomuzdaki -11.90 enerji değerine sahip olan yapıydı (Şekil 10 ve Tablo 13). RMSD değeri bu proteinler için 0.053 Å olarak hesaplandı.



Şekil 10. Dabrafenib-BRAF Protein-İlaç Çiftinin Kenetlenme Sonucunda En İyi Enerji Değerindeki 0_1 Olan Artığın Ligandla Aynı Yerden Bağlandığını Gösteren Hizalama Görseli. Ligand PO₆- Dabrafenib [N-{3-[5-(2-Aminopirimidin-4-Yl)-2-Tert-Bütıl-1,3-Tiazol-4-Yl]-2-Florofenil}-2,6- Diflorobenzensülfonamid], Formül: C₂₃H₂₀F₃N₅O₂S₂ (Kenetlenmeden Gelen Yapılar Yeşil-Pembe, Deneysel Olan Bej-Mavi)

Tablo 13. Dabrafenib İlacının Literatürde Çalışması Bulunan Protein Yapısıyla Kenetlenme Skoru

İLAÇ	GEN	PROTEİN YAPISI PDB KODU / ZİNCİR	ΔG (kJ/mol)
DABRAFENIB	BRAF	5CSW/A	-11.90

3.3.2 Dasatinib – ABL1

Grup 1 için belirlediğimiz diğer ilaç-gen çifti dasatinib-ABL1'dir. ABL1 geninin PDB: 2GQG kodlu protein yapısında ilaç bulundurması, kendi kenetlenme sonuçlarımızla karşılaştırılması için bize imkan sağlamaktadır. Aynı zamanda ABL1 geninin, dasatinib ilacının drugbank verilerine göre direk hedefleri arasında bulunması ve melanom için geneXpharma kullanılarak belirlenen hedef genleri arasında olması ortak sonuçları karşılaştırmamız açısından büyük önem sağlamıştır.

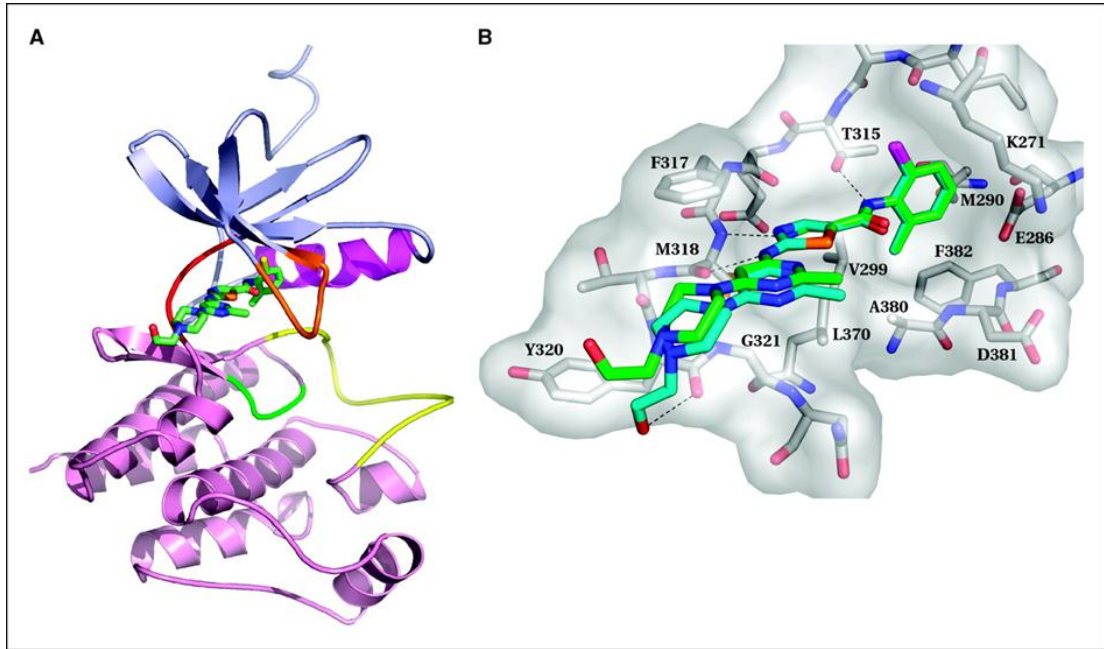
Dasatinib (DB01254); kronik miyeloid lösemili (CML) hastalarda kullanımı onaylanmış, oral bir çift olan BCR / ABL ve SRC ailesinin tirozin kinaz inhibitörüdür.

Dasatinibin ana hedefleri BCRABL, SRC, Ephrins ve GFR'dir. Dasatinib çoğunlukla akut lenfoblastik lösemiler (ALL) ve kronik miyeloid lösemiler (CML) hastalıklarında kullanılan antineoplastik bir ajandır. Dasatinib, nanomolar konsantrasyonlarda, BCR-ABL, SRC ailesi (SRC, LCK, YES, FYN), c-KIT, EPHA2 ve PDGFR β kinazlarını inhibe eder. Modelleme çalışmalarına dayanarak, dasatinibin, ABL kinazın birçok konformasyonlarına bağlandığı tahmin edilmektedir. Analiz koşulları altında, dasatinib, BCR-ABL kinaz mutasyonları, SRC ailesi kinazları (LYN, HCK) içeren alternatif sinyal yollarının aktivasyonunu ve çoklu ilaç direnç geninin ekspresyonundan kaynaklanan imatinib direncinin üstesinden gelebilmiştir (Tokarski ve diğerleri, 2006).

ABL1 geni, protein kinazının üst familyasına aittir (Tyr protein kinaz ailesi-ABL alt ailesi). ABL1 geni hücre büyümesi ve sağkalım ile bağlantılı birçok kilit süreçte rol oynayan ve reseptör olmayan bir tirozin-protein kinazdır. Koordinatları, WASF3, ANXA1, DBN1, DBNL, CTTN, RAPH1 ve ENAH gibi hücre iskeleti canlılıklarını kontrol eden proteinlerin, tirozin fosforilasyonu yoluyla yeniden modellenmesini sağlar (Cobbaut ve diğerleri, 2017). WASF3'ün fosforilasyonu, lamellipodia oluşumu ve hücre göçünün uyarılması için kritik noktadır. BCAR1, CRK, CRKL, DOK1, EFS veya NEDD9 gibi bu işlemlerin anahtar düzenleyicilerinin fosforilasyonu yoluyla hücre adhezyonunu ve kendiliğinden hareketliliğinin düzenlenmesinde de rol oynar (Cobbaut ve diğerleri, 2017). ABL1, oksidatif strese cevaben mitokondriyi hedefler ve böylece mitokondriyal fonksiyon bozukluğu ve hücre ölümüne neden olur. Oksidatif kuvvete cevap olarak, Tyr-717'de serin / treonin kinaz PRKD2'yi fosforile eder. ABL1, DNA bağlama aktivitesine sahip olduğu çekirdeğinde yer değiştirir. ABL1, DNA-hasarı tepkisi ve apoptoz ile ilgilidir. Birçok substratı, DNA onarımının bilinen araçlarıdır: DDB1, DDB2, ERCC3, ERCC6, RAD9A, RAD51, RAD52 veya WRN. Otokatalitik aktivite ile kendi düzenleyicisi olarak ve bunun yanı sıra ABL1'in fosforilasyonu yoluyla inhibitörü olarak işlev görür. ABL1'in bağlanma bölgeleri Uniprottaki bilgilere şöyledir: 1-60, 869-968, 953-1153. Motif konumları ise 381-405, 605-609, 709-715, 762-769, 1090-1100'dür (McPherson, 1999).

John S. Tokarski ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, imatinib-dirençli BCR-ABL mutantlarına karşı dasatinibin aktivitesinin daha iyi olduğu belirtilmiştir (Tokarski S. John ve diğerleri, 2006). Kronik miyeloid lösemi (CML) tedavisi için kullanılan

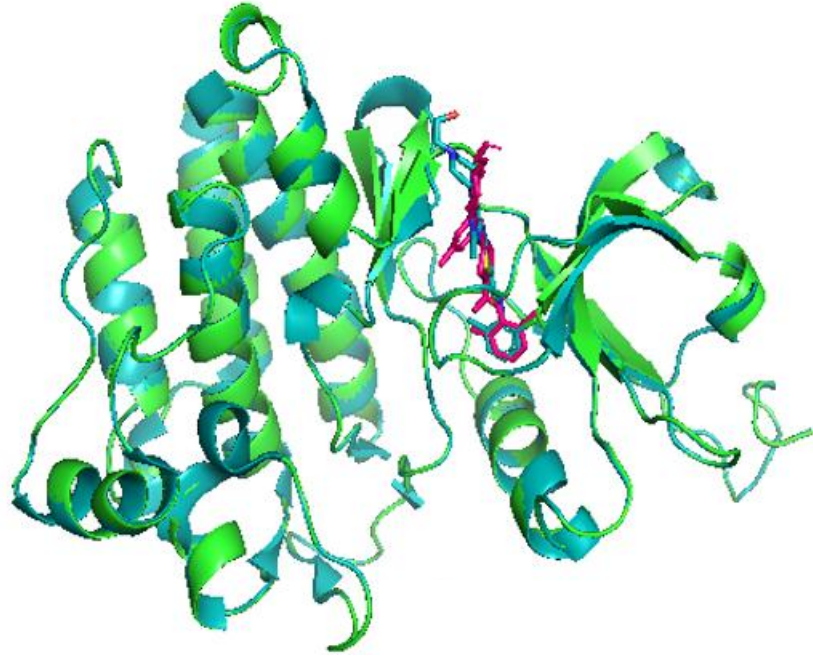
imatinib, BCR-ABL inhibitörüdür. Her ne kadar imatinib hastalığın erken evresinde, yüksek klinik başarı oranına sahip olsada, CML tedavisinde özellikle hastalığın sonraki aşamalarında problemlidir. Dasatinib (BMS-354825), onkojenik yolları hedef alan ve BCR-ABL'ye karşı imatinib'den daha güçlü bir inhibitör olan, çok modelli bir tirozin kinaz inhibitörüdür (Tokarski ve diğerleri, 2006). Yapılan çalışmada ABL-dasatinib kompleksinin yapısı 2.4 Å çözünürlükteki dasatinib ile komplekslenen insan ABL kinaz bölgesinin (kalıntı 225-512) X-ışını kristal yapısını rapor edilmiştir (PDB: 1IEP). Bu kompleks Şekil 11 A'da gösterilmiştir. Bu yapının kristolografik yapısını Uniprot'ta incelendiğimizde ABL1 kinaz geninin 2GQG yapısına karşılık gelmektedir. Bu çalışma, ATP bağlanma bölgesine bağlanan ve muhtemelen ATP'nin yerini alan dasatinib tarafından, ABL kinazın inhibe edilmesinin moleküler mekanizması hakkında bir fikir vermektedir. ABL'nin Tyr393'te aktivasyon (loop) döngüsü fosforilasyonundan bağımsız olarak aynı aktif konformasyonu benimseyebilmesi, bu konformasyonun kararlı olduğunu gösterebilir.



Şekil 11. A, ABL Kinaz Dasatinib Kompleksinin Yapısı (PDB: 1IEP). (Dasatinib Yeşil, ABL Kinaz Mavi). B, ATP Bağlanma Bölgelerindeki Kalıntıların ve Dasatinib Kesintilerinin Ayrıntılı Görünümü. Yeşil ve Mavi, İki Asimetrik Üniteye Bulunan İnhibitör Molekülleri; Gri, Görüntülenen Kalıntı Yüzeyine Sahip Bir Protein Yapısı. Kesikli Çizgiler ise Hidrojen Bağları (Tokarski ve diğerleri, 2006)

İmatinib, dasatinib bağı ABL konformasyonunda bulunan Phe382 (insülin reseptörünün amino asitinin bağımsız mutasyonu) ile çakışma nedeniyle ABL'nin aktif konformasyonuna bağlanamaz. Başka bir deyişle, Dasatinib, imatinib bağı aktivasyon düğümü konformasyonuna bağlanabilecektir. İmatinib bağı formdaki aktivasyon döngüsü, hem P-halkası hem de inhibitör ile etkileşimler oluşturarak, ATP bağlama bölgesine doğru katlanır ve böylece inhibe edici kinaz konformasyonu ile sonuçlanır. Aktivasyon döngüsü konformasyonundaki iki ABL formu arasındaki farklılıklar DFG (aktivasyon döngüsünün N-terminal Asp – Phe-Gly) motifinde başlar. İmatinib bağı formdaki aktivasyon döngüsü, hem P-halkası hem de inhibitör ile etkileşimler oluşturarak, ATP bağlama bölgesine doğru katlanır ve böylece inhibe edici kinaz konformasyonu ile sonuçlanır. Aktivasyon döngüsü konformasyonundaki iki ABL formu arasındaki farklılıklar DFG motifinde başlar. İmatinib bağı formdaki DFG motifinin Phe382'si, ATP bağlama bölgesine doğru, imatinibin pirimidin halkası ile kistiflerine işaret eder ve P halkasının Tyr253 (PHB: Phospho-Tyr253 antikoru)'ü ile kenardan yüze bir etkileşim oluşturur. Buna karşılık, dasatinib bağı formda Phe382, tipik olarak aktive kinazlarla olduğu gibi ATP tarafından erişilmeyen bir hidrofobik cep içine gömülür (Şekil 11 B). Dasatinib ve imatinib'in merkezi çekirdeği üst üste binsede, yapıların geri kalanı protein içinde zıt yönlerde uzanır. Spesifik olarak, imatinib karşılığı bulunmayan N-2 hidroksietilpiperidin grubu dasatinib grubu, çözücüye maruz bırakılan proteine doğru uzanır (Tokarski ve diğerleri, 2006).

ABL1 proteininin 2GQG yapısı seçilerek, dasatinib ile kenetlenme yapıldı. Detaylı hesaplama analizi yapabilmek için hedefimiz 2GQG'nin kendinden ilaçlı yapısı ile kenetlenme sonucundaki hedefimizi hizaladığımızda, bu iki yapının ilaçlı görüntüsünün aynı yerde olduğunu gösterdik (Şekil 12 ve Tablo 14). Bu proteinler için RMSD değeri 0.075 Å olarak hesaplandı.



Şekil 12. ABL1 Geninin 2GQG Yapısının A Zincirinin Dasatinib ile Swissdock Kenetlenme Sonucuna Göre; En İyi Enerji Değerine Sahip Olan Artık ve Bağlanma Sayısının (0_0) Bizim Hedefimizle Hizalanması Sonucu Aynı Bölgeden Bağlandığının Karşılaştırma Sonucu (Kenetlenmeden Gelen Yapılar Yeşil-Pembe, Deneysel Olan Mavi-Turkuaz)

Tablo 14. Dasatinib İlacının Literatürde Çalışması Bulunan Protein Yapısıyla Kenetlenme Skoru

İLAC	GEN	PROTEİN YAPISI PDB KODU / ZİNCİR	ΔG (kJ/mol)
DASATINIB	ABL1	2GQG/A	-9.65

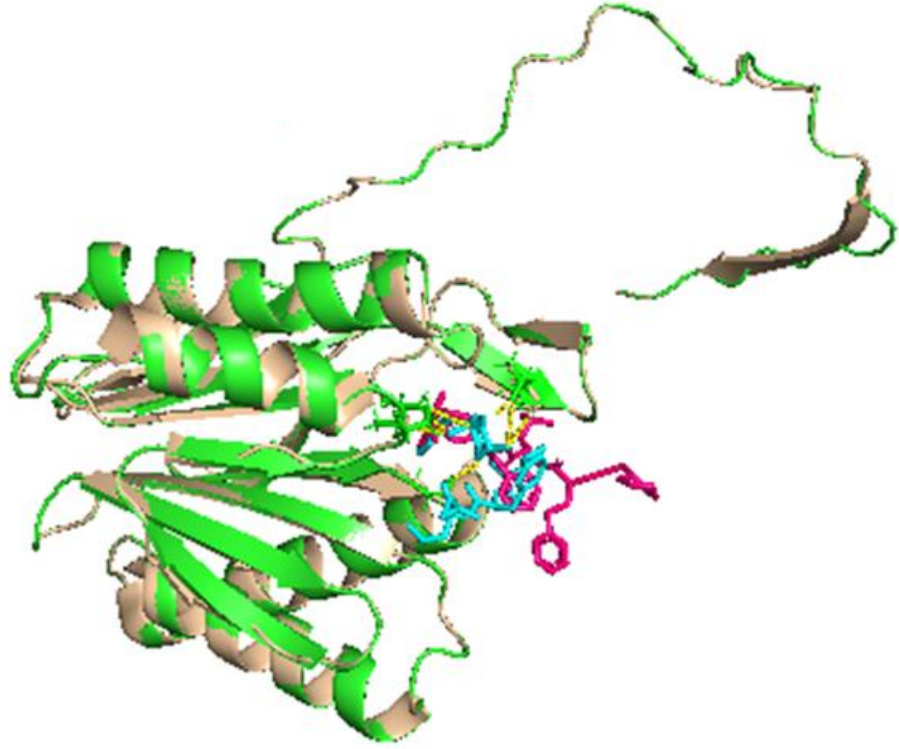
John S. Tokarski ve arkadaşlarının lösemi tedavisi amacıyla yaptığı çalışmada da detaylı analiz sonuçlarımızda da görüldüğü gibi dasatinib ilacını lösemi dışında melanom için belirlediğimiz hedef genlere yeniden konumlandırıldığında, melanom için yeni önerilen bir ilaç olarak tedavide kullanılabileceğini bilgisayar hesaplamaları kullanarak gösterdik.

3.3.3 Carfilzomib – PSMB7

Carfilzomib (DB08889), enjekte edilebilir bir antineoplastik bir ajandır ve bir proteazom inhibitörü olarak görev yapar. Carfilzomib, 20S proteazomunun, N-terminal treonin içeren aktif bölgelerine, 26S proteazomundaki proteolitik çekirdek partikülüne geri dönüşümsüz ve seçici bir şekilde bağlanır. Chymotrypsin benzeri bölgenin, carfilzomib ($\beta 5$ ve $\beta 5'$ 'in alt birimleri) tarafından inhibisyonu, hücresel proliferasyonun azaltılmasında en etkili hedeftir. Sonuçta hücre döngüsü durması ve kanserli hücrelerin apoptozu ile sonuçlanır. Daha yüksek dozlarda, carfilzomib, tripsin benzeri bölgeleri inhibe edecektir (Harshbarger, Miller, Diedrich ve Sacchettini, 2015).

Carfilzomibin hedef geni PSMB7'yi incelediğimizde: Proteazom, nötr veya hafif bazik pH'de ayrılan gruba bitişik olan Arg, Phe, Tyr, Leu ve Glu ile peptidleri yarma kabiliyeti ile karakterize edilen çok katalitik bir proteinaz kompleksidir. Proteazom, ATP'ye bağlı bir proteolitik etkinliğe sahiptir. Çoğu hücre içi proteinin proteolitik bozunumunda yer alan 20S çekirdek proteazom kompleksinin bileşenidir. Bu kompleks, farklı düzenleyici parçacıklarla birleştirilerek hücre içinde önemli rol oynar. İki 19S düzenleyici aktivatörü pkalıntıül ile bağlantılı olarak, 26S proteazomu oluşturur ve böylece ubikile edilmiş proteinlerin ATP'ye bağlı bozulmasına katılır. 26S proteazomu, hücresel fonksiyonları bozabilecek yanlış katlanmış veya hasar görmüş proteinleri çıkararak ve kalıntı işlevleri gerekmeyen proteinleri kaldırarak, protein homeostazının korunmasında kilit bir rol oynar. PA200 veya PA28 gibi α halkasını açan çeşitli düzenleyici parçacıklar ile ilişkili, 20S proteasomu ubikuitin bağımsız protein bozulmasına aracılık eder. Bu tip proteoliz, spermatogenez (20S-PA200 kompleksi) veya MHC (Majör Histokompatibilite Kompleks) sınıf I ile sunulan antijenik peptidlerin (20S-PA28 kompleksi) bir alt kümesinin üretilmesi çeşitli yollarda gereklidir (McPherson, 1999).

Kenetlenme sonuç tablomuza (Tablo 15) baktığımızda carfilzomib-PSMB7 (PDB: 4R67) ilaç-protein çiftinin kenetlenme enerji değerinin -9.72 olduğunu gördük. 4R67 yapısının W zinciri incelendiğinde kendiliğinden ligand bulundurması hedefimizle hizaladığımızda kenetlenme sonucundaki enerji değerleri ile karşılaştırabilmemize imkan sağladı. RMSD değeri 0.000 Å (sıfır) olarak hesaplandı (Şekil 13).



Şekil 13. 4R67 Yapısının Kendiliğinden Ligand Bağlı Yapısının Görseli. Ligand 3BV- N-
 {(2s)-2-[(Morfolin-4-Ylacetyl)amino]-4- Fenilbütanoil}-L-Leucyl-N-[(2r,3s,4s)-1,3-
 Dihidroksi-2,6-Dimetilheptan-4-Yl]-L- Fenilalaninamid, Formül: $C_{40}H_{61}N_5O_7$: Carfilzomib-
 4R3O Çiftinin, 4R67 Yapısıyla Hizalama Sonucu (Kenetlenmeden Gelen Yapılar Yeşil-
 Pembe, Deneyssel Olan Bej-Mavi)

Tablo 15. Carfilzomib İlacının Literatürde Çalışması Bulunan Protein Yapısıyla Kenetlenme
 Skoru

İLAÇ	GEN	PROTEİN YAPISI PDB KODU / ZİNCİR	ΔG (kJ/mol)
CARFILZOMIB	PSMB7	4R67/W	-9.72

3.3.4 Clomipramine – HTR2B

Grup 2 olarak seçilen ilaçları inceledik ve geneXpharma kullanarak belirlediğimiz hedef genler ile ilaçların drugbank veri sayfasındaki hedefleri karşılaştırdık. Bu

karşılaştırmanın sonucunda, clomipramine ilacı için HTR2B geninin her iki değerlendirmede de ortak olduğunu gördük ve ilaç-gen çiftini clomipramine-HTR2B olarak belirledik.

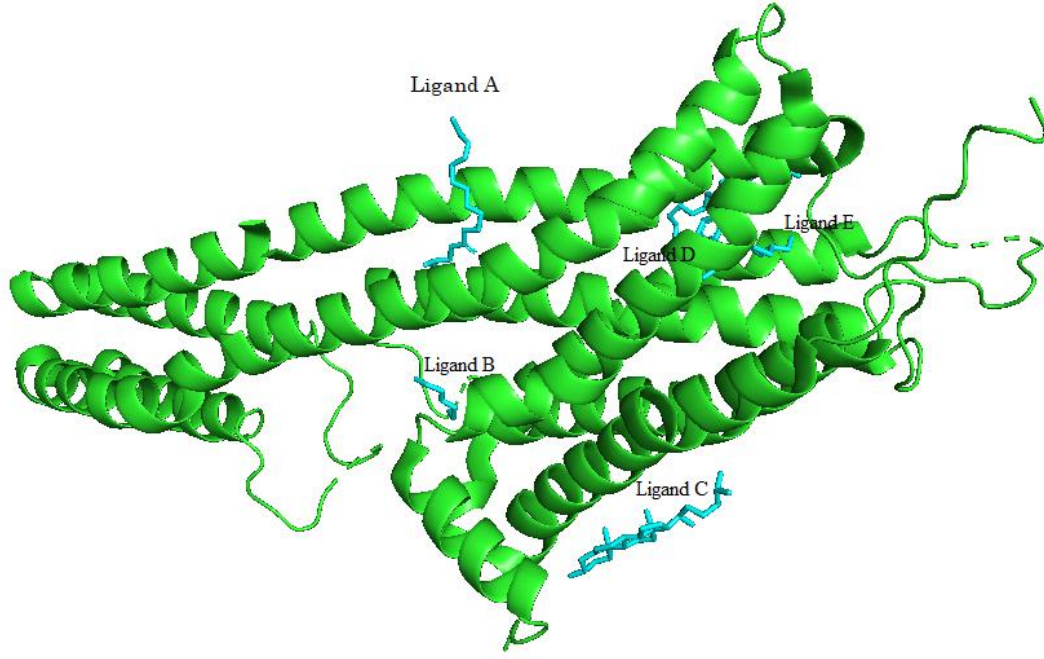
Clomipramine (DB01242), 3-kloro, imipramin analogudur, bir dibenzazepin türevi trisiklik antidepresandır (TCA). TCA'lar, serotonin ve norepinefrin geri alımının güçlü inhibitörleridir. Clomipramine gibi tersiyer amin TCA'lar, nortriptyline ve desipramine gibi sekonder amin TCA'lardan daha güçlü serotonin geri alım inhibitörleridir. TCA'lar ayrıca serebral kortikal β -adrenerjik reseptörleri düzenler ve kronik kullanımla sinaptik sonrası serotonerjik reseptörleri hassaslaştırır. TCA'ların antidepresan etkilerinin, serotonerjik nörotransmisyonadaki genel bir artıştan kaynaklandığı düşünülmektedir. TCA'lar ayrıca sırasıyla sedatif, hipotansif ve antikolinerjik etkilerini (örneğin bulanık görme, kuru ağız, kabızlık, idrar tutma) açıklayan histamin-H1 reseptörleri, α 1-adrenerjik reseptörleri ve muskarinik reseptörleri bloke eder. Clomipramine, obsesif-kompulsif bozukluğu ve obsesif-kompulsif bir bileşeni olan bozuklukları (örneğin depresyon, şizofreni, Tourette bozukluğu) tedavi etmek için kullanılabilir. Sodyum kanallarının ve NMDA (N-metil-D-aspartat) glutamat reseptörlerinin, (hayvanlarda hafıza ve öğrenme süreçlerinde büyük görevler alan, çok sayıda agonist moleküle tepki veren reseptörler) bir blokajı, diğer trisikliklerde olduğu gibi kronik ağrıdaki, özellikle de nöropatik tipteki etkisini açıklayabilir.

HTR2B geni, 5-hidroksitriptamin (serotonin) için G-protein bağlı reseptördür. Çeşitli alkaloid türevleri ve psikoaktif maddeler için bir reseptör olarak da işlev görür. Ligand bağlanması, guanin nükleotidine bağlanan proteinler (G proteinleri) yoluyla sinyalleme tetikleyen ve aşağı akışlı efektörlerin aktivitesini modüle eden bir konformasyon değişikliğine neden olur. Beta-tutuklama familyası üyeleri, G proteinleri yoluyla sinyalleme inhibe eder ve alternatif sinyal yollarının aktivasyonuna aracılık eder. Sinyalleme, fosfatidilinositol 3-kinaz ve aşağı akış sinyalleşme kaskadlarının aktivitesini modüle eden ve hücre içi depolardan Ca (2+) iyonlarının salınmasını teşvik eden bir fosfatidilinositol-kalsiyum ikinci mesajlaşma sistemini aktive eder. Dopamin ve 5-hidroksitriptamin salınımı, 5-hidroksitriptamin alımının düzenlenmesinde ve hücre dışı dopamin ve 5-hidroksitriptamin seviyelerinin düzenlenmesinde rol oynar ve böylece nöral aktiviteyi etkiler. Acı algısında rol

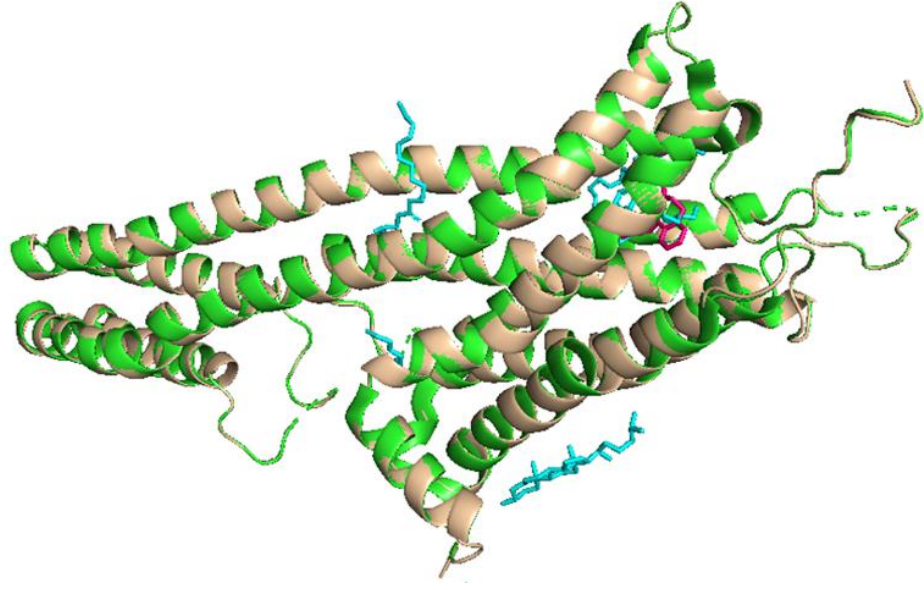
oynayabilir. Dürtüsel davranışlar da dahil olmak üzere davranışın düzenlenmesinde rol oynar. Normal embriyonik kalp miyositlerinin proliferasyonu ve normal kalp gelişimi için gereklidir. Kardiyomiyositleri apoptoza karşı korur. Pulmoner arterlerin kronik hipoksiye adaptasyonunda rol oynar. Vazokonstriksiyonda rol oynar. Normal osteoblast fonksiyonu ve proliferasyonu ve normal kemik yoğunluğunu korumak için gereklidir. Bağırsaktaki Cajal hücrelerinin normal proliferasyonu için gereklidir (McPherson, 1999).

Patolojisine baktığımızda mutajenez konum yerlerinin; 132, 135, 136, 139, 140, 208, 209, 211, 217, 218, 225, 337, 340, 344, 347, 348, 362, 363, 366, 370 olduğunu görmekteyiz. Bağlanma bölgelerine baktığımızda ise 135 – 140, 337 – 341; motif konum bölgelerinin ise 152 -154, 212 – 215, 376 – 380, 479 – 481 olduğunu görmekteyiz (McPherson, 1999).

Clomipramine-HTR2B ilaç protein çiftinin kenetlenme sonuçları ve Şekil 14'te gösterilen mevcut ligandlı yapısı (PDB: 6DRY) karşılaştırıldığında ilacın deneysel yapıdaki H8D ligandı ile aynı bölgeden bağlandığı gözlemlendi (Şekil 15, Tablo 16). Bu artığın kenetlenme skoru ise -8.18 kJ/mol'dür (Tablo 16). RMSD değeri ise 0.033 Å olarak belirlenmiştir. Yapısal analiz sonuçlarımıza dayanarak, kenetlenme sonuçlarındaki en iyi enerji skorlarının, önerilen hedef ile uyumlu olduğunu göstermektedir (Şekil 15).



Şekil 14. HTR2B (PDB: 6DRY) Yapısının A Zincirinin Ligandlı Yapısının Görseli. Ligand A (OLC): (2r)-2,3-Dihidroksipropil (9z)-Octadec-9-Enoate [1-Oleoil-R-Gliserol] Formül: $C_{21}H_{40}O_4$, Ligand B (PEG): Di(hidroksietil) ether Formül: $C_4H_{10}O_3$. Ligand C (CLR) : (8beta)-N-[(2s)-1-Hidroksibütan-2-Yl]-6-Metil-9,10- Didehidroergolin-8-Carboksiamid [Metilergonovin], Formül: $C_{20}H_{25}N_3O_2$. Ligand D (OLA) : Oleik Asit, Formül: $C_{18}H_{34}O_2$. Ligand E (H8D) : (8beta)-N-[(2s)-1-Hidroksibütan-2-Yl]-6-Metil-9,10- Didehidroergolin-8-Carboksiamid [Metilergonovin] Formül: $C_{20}H_{25}N_3O_2$



Şekil 15. Clomipramine İlacının HTR2B Genin 6DRY Yapısının A Zinciriyle (yeşil), Hedefin (bej) Hizalanması. Maviler Gen Yapısının İçinde Bulunan Ligandlar. Deneysel Çalışmaların Sonucunda 26_0 (pembe) Olan Artığın, H8D Ligandıyla Aynı Yerden Hedefe Bağlandığını Gösteren Görsel (Kenetlenmeden Gelen Yapılar Yeşil-Pembe, Deneysel Olan Bej-Mavi)

Tablo 16. Clomipramine İlacının Literatürde Çalışması Bulunan Protein Yapısıyla Kenetlenme Skoru

İLAC	GEN	PROTEİN YAPISI PDB KODU / ZİNCİR	ΔG (kJ/mol)
CLOMIPRAMINE	HTR2B	6DRY/A	-8.32

3.3.5 Bepridil – CALM1

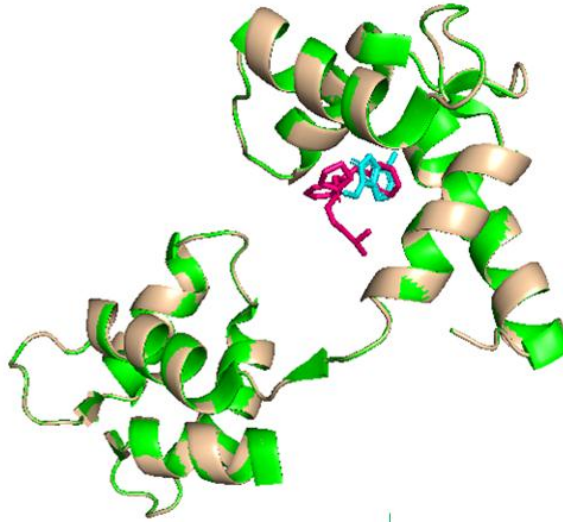
Grup 3 tablosunda belirtilen ilaçlar, bu çalışmanın asıl amacını yansıtmaktadır ve önereceğimiz ilaç melanomda bilinen ilaçlar dışında, yeni bir ilaç önererek farklı bir bakış açısı kazandırmaya yöneliktir.

Bepridil (DB01244), önemli anti-anjinal aktiviteye sahip uzun etkili, seçici olmayan, kalsiyum kanal bloke edici ilaçtır. İlaç önemli koroner vazodilatasyon etkiler üretir.

Antihipertansif ve selektif anti-aritmi aktivitelerine sahiptir ve bir kalmodulin antagonisti olarak görev yapar. Bepridil, hem kalsiyum (L tipi) hem de miyokard ve vasküler düz kastaki hızlı sodyum iç akımları üzerinde inhibe edici etkilere sahiptir, kalmodüline kalsiyum bağlanmasını engeller ve hem voltaj hem de reseptörle çalışan kalsiyum kanallarını bloke eder. Bepridil, kalsiyum iyonlarının transmembran akımını, kalp ve damar düz kaslarına engeller. Bepridilin, hem kalsiyum doz yanıt eğrisinin eğiminin hem de kalsiyum kaynaklı inotropik yanıtının maksimum eğrisini, izole ettiği miyokard ve vasküler düz kas preparatlarında, önemli ölçüde azalttığını göstermiştir. Kardiyak miyositlerin *in vitro* olarak, bepridilin aktinine sıkıca bağlı olduğu gösterilmiştir. Bepridil, kalbin çalıştığı toplam periferik direnci (yükleme sonrası) azaltarak, istirahat ve belirli bir egzersiz seviyesinde kalp atış hızını ve arter basıncını düzenli olarak azaltır. Bepridilin etki alanı konumu: 8 – 43, 44 – 79, 81 – 116, 117 – 149’dur. Bölge pozisyonu ise 77 – 149’dur.

CALM1, yani calmodulin, çok sayıda enzimin, iyon kanalının, aquaporinin ve diğer proteinlerin Ca (2+) tarafından kontrolüne aracılık eder. Calmodulin-Ca (2+) kompleksi tarafından uyarılacak enzimler arasında bir dizi protein kinaz ve fosfataz vardır. CCP110 ve centrin ile birlikte, sentrozom döngüsünü ve sitokinez yoluyla, ilerlemeyi düzenleyen genetik bir yolda bulunur. CALM1'deki mutasyonlar CPVT4 geninin mutasyonunun nedenidir. OMIM (İnsan Genleri ve Genetik Bozuklukların Çevrimiçi Kataloğu) dan elde edilen bilgilere göre pozisyonu (s) 54, 98’dir. QT sendromu 14 (LQT14) hastalığına CALM1'deki mutasyonlar neden olur. OMIM (İnsan Genleri ve Genetik Bozuklukların Çevrimiçi Kataloğu) dan elde edilen bilgilere göre pozisyonu (s) 90, 130, 141, 142 ‘dir (Nam ve diğerleri, 2017).

CALM1 proteininin 1PK0 yapısının D zinciriyle, 5WC5 yapısının R zincirini (Şekil 16) hizalama yaparak ΔG değerlerini Tablo 17’de kaydettik ve bepridilin, 1PK0 yapısının en iyi enerji değerine sahip artığından başlayarak, 5WC5 yapısındaki ligand ile aynı veya en benzeri konumundaki artığı tek tek görselleştirerek taradık. En iyi enerji değerine sahip olan kalıntı 4_0 ile AJV ligandı proteine aynı yerden bağlandı ve RMSD değeri 0.064 Å olarak hesaplandı.



Şekil 16. Bepridil (pembe), 1PK0/D (bej), 5WC5 (yeşil), Ligand AJV (mavi)((- 7-Floro-3-(Hidroksiamino)-2h-Indol-2-One), Formül: $C_8H_5FN_2O_2$), 5WC5 ve 1 PK0 Hizalanan Yapısının En İyi Enerji Değerine Sahip Kalıntı (4_0) ile Aynı Bölgeden Bağlandığını Gösteren Şekil (Kenetlenmeden Gelen Yapılar Yeşil-Pembe, Deneysel Olan Bej-Mavi)

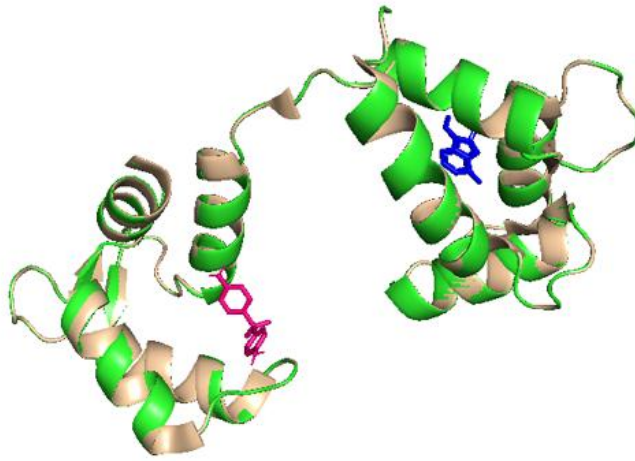
Tablo 17. Bepridil İçin Belirlenen İlaç-Protein Çiftlerinin Kenetlenme Skorları

İLAC	GEN	PROTEİN YAPISI PDB KODU / ZİNCİR	ΔG (kJ/mol)
BEPRIDİL	CALM1	1PK0/D	-10.43
BEPRIDİL	CALM1	5WC5/R	-9.54

Deneysel sonuçlarımızda, swissdock ile yaptığımız kenetlenme çalışmaları sonucunda oluşacak komplekslerin tahmini pozlarının yerleşmesinin gerçeğe en yakın olmasını hedefledik. Bunun için her bir sonucu üç boyutlu olarak yapısal analiz ettik ve melanom için belirlenen hedeflere ilaçları yeniden konumlandırdığımızda hedefi ile uygun olarak bağlandığını gözlemledik. Kalp yetmezliği ve hipertansiyon için tedavilerde uygulanan bepridilin yeniden yönlendirilmesiyle melanomda tedavi amaçlı kullanılabileceğini savunuyoruz.

3.3.6 Dapsone – CALM1

Son olarak kontrol grubundan belirlediğimiz dapsone ilacının rastgele belirlediğimiz ve bepridilin kenetlenme sonuçları için hedef olan CALM1 proteiniyle olan kenetlenme sonuçlarını sonuçlar kısmında bulunan tablomuzda kaydettik. Kenetlenme sonuçlarını analiz ettiğimizde en iyi enerji değerine sahip olan yapıdaki ilaç AJV ligandı ile aynı yerden bağlanmadı (Şekil 17). Dapsone ve CALM1 birbirinin hedef ilaç ve geni olmayan iki yapıydı. Tablo 18’de belirtildiği gibi kenetlenme sonucunun ΔG değeri -6.81 kJ/mol ve RMSD değeri bu ilaç-protein çifti için 0.064 Å olarak hesaplandı.



Şekil 17. 5WC5 (bej) ve Hedef Proteinin (yeşil) Kenetlenmesi Sonucunda Dapsone (pembe) İlacının, AJV (mavi) ((- 7-Floro-3-(Hidroksiamino)-2h-Indol-2-One), Formül: $C_8H_5FN_2O_2$) Ligandıyla Farklı Bölgeden Bağlandığını Gösteren Şekil (Kenetlenmeden Gelen Yapılar Yeşil-Pembe, Deneysel Olan Bej-Mavi)

Tablo 18. Dapsone ve CALM1 Proteinin Kenetlenme Skoru

İLAÇ	GEN	PROTEİN YAPISI PDB KODU / ZİNCİR	ΔG (kJ/mol)
DAPSONE	CALM1	5WC5/R	-6.81

BÖLÜM IV

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Yüksek ölüm oranları olan melanom olayları küresel olarak hızlı bir şekilde artmaktadır ve tedavideki zorluklar etkin ilaç keşif yöntemlerinin geliştirilmesini çok önemli kılmaktadır. İlaçların yeniden konumlandırılması, mevcut ilaçlar için yeni kullanım alanları sağlayan yenilikçi bir yaklaşımdır. Bu tezde ilk olarak literatürden melanom için transkriptom (gen ekspresyon) veri seti eldilerak mRNA seviyesinde anlatımı anlamlı farklılık gösteren genler tespit edildi. Gen ekspresyonu rehberli bir arama aracı kullanılarak melanoma yönelik anlamlı ilaç-gen çiftleri tahmin edildi. Tahmin edilen ilaç-gen çiftleri kanserle ilgilerine göre gruplandırıldı: kanser tedavisinde kullanılan; kanser tedavisinde tamamlayıcı olarak kullanılan; henüz kanser tedavisi ile ilişkilendirilmemiş olan ve rastgele eşleştirilen kontrol grubu. Son olarak, her grup için temsili ilaç-gen çiftleri seçildi ve bu seçilmiş çiftlerdeki genler tarafından kodlanan proteinler ve ilgili ilaçlar için moleküler kenetlenme çalışmaları yapıldı.

Analizler sonucunda tahmin edilen ilaç-protein yapılarının veri olan durumlarda literatüre uyumlu olduğu gösterildi (Dabrafenib-BRAF, Dasatinib-ABL1, Carfilzomib-PSMB7, Clomipramine-HTR2B). Bazı etkileşimlerin (Bepridil-CALM1) ise yapısal detaylarıyla birlikte melanom için uygun olabileceği ilk defa bu tez çalışmasında önerildi. Bepridil ilacı, melanoma yönelik olarak yeniden konumlandırılan ilaç-gen çiftlerinden p-değerine göre sıralanmış en iyi adaylar arasından seçildi ve Bepridil ile hedef proteini CALM1 için tahmin edilen kenetlenmiş kompleks yapıyla deneysel sonuçların uygunluğu hizalama yoluyla gösterildi.

Özet olarak, çalışmamızda melanoma yönelik ve henüz kanser tedavisi ile ilişkilendirilmemiş olan ilaçlardan üç tanesinin, tahmin edilen kenetlenme enerji değerlerinden (ΔG , kJ/mol) yola çıkarak en yüksek potansiyele sahip olduğu öngörülmektedir. Bu ilaçlar: astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığında kullanılan Salmeterol; Hepatit ve HIV'ye yönelik kullanılan Tenofovir ve kalp yetmezliği ile hipertansiyon gibi hastalıkların endikasyonunda kullanılan Bepridil'dir.

Bu çalışmanın devamında; melanom tedavisine yönelik olarak önerilen 'Henüz kanser tedavisi ile ilişkilendirilmemiş' olan 3. gruptan seçilecek en iyi ilaç-protein çiftleri için kenetlenme sonuçlarının detaylı yapısal analizinin ardından *in vitro* kanser hücre hattı deneyleri yapılması önerilmektedir. İlaçların hücre kültüründe denenmesi sonrasında, kanser hücre hattında bütünsel etkisinin incelenebilmesi ve hangi yollarının etkilendiğinin bulunabilmesi için mRNA dizileme yapılması da ilaçların etki mekanizmasının anlaşılması için başka bir önemli adım olacaktır.

Bu tezde melanoma yönelik olarak hesaplamalı yaklaşımlar olan ilaçların yeniden konumlandırılması ve moleküler kenetlenme yöntemleri uygulanmıştır ve çalışmanın devamında sonuçların *in vitro* deneylerle desteklenmesi hedeflenmektedir. Böylece, hesaplamalı ve deneysel çalışmaları kapsayan bütünlük bir yaklaşım kullanılarak melanom tedavisine yönelik ilaç geliştirme çabalarına katkıda bulunulması hedeflenmektedir.

EKLER

EK-1. DAHA ÖNCE YAPILAN ÇALIŞMALARDAN DERLENMİŞ 75 İLAÇ İÇİN YENİDEN KONUMLANDIRMA ÖRNEKLERİ

İlaç	Endikasyon	Yeni Endikasyon	Madencilik Yaklaşımları	Kaynak
Atomoxetine	Parkinson hastalığı	ADHD	Ağ Yaklaşımı	Novac ve Natalia, 2013; Henriksen K., C. Christiansen, M.A. Karsdal, 2011; Gupta S.C. ve diğerleri, 2013; Ashburn, T.T., K.B. Thor, 2004; Deotarse, 2015; Wang, Z.Y., H.Y. Zhang, 2013; Wang Z.Y., Y. Quan, H.Y. Zhang, 2014; Yeu Y, Yoon Y, Park S., 2015
Allopurinol	Tümör lizis sendromu	Gut	Deneysel	Novac ve Natalia, 2013
Amphetamine	Uyarıcı	Çocuklarda Uyarıcı Hiperkinezi, (dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu, DEHB)	Anlamsal Yaklaşım	Novac ve Natalia, 2013; Henriksen, K., C. Christiansen, M.A. Karsdal, 2011; Gupta S.C. ve diğerleri, 2013; Ashburn, T.T., K.B. Thor, 2004; Deotarse, 2015; Wang, Z.Y., H.Y. Zhang, 2013; Wang, Z.Y., Y. Quan, H.Y. Zhang, 2014; Yeu Y, Yoon Y Park S., 2015; Mullen J, Cockell S J, Tipney H ve diğerleri, 2016

Apomorphine	Parkinson hastalığı	Eretil disfonksiyon	Deneysel	Gupta, S.C. ve diğerleri, 2013
Aspirin	Analjezik, antipiretik	Kolorektal kanser	Deneysel	Gupta, S.C. ve diğerleri, 2013
Budesonide	Astım	Kolit, Ülseratif	Hesaplamalı Yaklaşım	Ashburn, T.T., K.B. Thor, 2004; Deotarse, 2015; Wang, Z.Y., H.Y. Zhang, 2013; Wang, Z.Y., Y. Quan, H.Y. Zhang, 2014; Yeu Y, Yoon Y, Park S., 2015; Mullen J, Cockell S J, Tipney H ve diğerleri, 2016; Ross M K, Yoon J, van der Schaar A, 2018
Bupropion	Antidepresan	Sigara bırakma	Deneysel	Novac, Natalia, 2013; Henriksen, K., C. Christiansen, M.A. Karsdal, 2011
Celecoxib	Osteoartrit ve erişkin romatoid artrit	Ailesel adenomatoz polipozis, kolon, kolorektal, akciğer ve meme kanseri	Hesaplamalı Yaklaşım	Ashburn, T.T., K.B. Thor, 2004; Deotarse, 2015; Wang, Z.Y., H.Y. Zhang, 2013; Wang, Z.Y., Y. Quan, H.Y. Zhang, 2014; Yeu Y, Yoon Y, Park S., 2015; Mullen J, Cockell S J, Tipney H ve diğerleri, 2016; Ross M K, Yoon J, van der Schaar A, 2018; Nagaraj A B, Wang Q Q, Joseph P ve diğerleri, 2018
Chlorpromazine	Antiemetik / antihistamin	Sakinleştirici olmayan sakınleştirici	Deneysel	Ashburn, T.T., K.B. Thor, 2004

Crizotinib	Anaplastik büyük hücreli lenfoma için klinik çalışmalar	NSCLC	Deneysel	Deotarse, 2015
Cymbalta	Depresyon	Diyabetik periferik nöropati	Deneysel	Novac, Natalia, 2013
Dapoxetine	Analjezi ve depresyon	Erken boşalma	Deneysel	Novac, Natalia, 2013
Doxepin	Antidepresan	Uykusuzluk antipruritik	Deneysel	Henriksen, K., C. Christiansen, M.A. Karsdal, 2011
Drospirenone	Oral kontraseptif	Hipertansiyon	Deneysel	Wang, Z.Y., H.Y. Zhang, 2013
Duloxetine	Depresyon	Stres idrar kaçırma, fibromiyalji, kronik, kas-iskelet sistemi ağrısı	Hesaplamalı Yaklaşım	Ashburn, T.T., K.B. Thor, 2004

Eflornithine	Anti-enfektif	Kadınlarda istenmeyen yüz kıllarının azaltılması	Deneysel	Ashburn, T.T., K.B. Thor, 2004; Deotarse, 2015; Wang, Z.Y., H.Y. Zhang, 2013; Wang, Z.Y., Y. Quan, H.Y. Zhang, 2014; Yeu Y, Yoon Y, Park S., 2015; Mullen J, Cockell S J, Tipney H ve diğerleri, 2016; Ross M K, Yoon J, van der Schaar A, 2018; Nagaraj A B, Wang Q Q, Joseph P ve diğerleri, 2018; Maciukiewicz M, Marshe V S, Hauschild A C ve diğerleri, 2018; Mimoto MS, Oyler JL, Davis AM, 2018.
Etanercept	Romatoid artrit	Astım	Ağ Yaklaşımı	Zhang, 2013; Wang, Z.Y., Y. Quan, H.Y. Zhang, 2014; Yeu Y, Yoon Y, Park S., 2015; Mullen J, Cockell S J, Tipney H ve diğerleri, 2016; Ross M K, Yoon J, van der Schaar A, 2018; Nagaraj A B, Wang Q Q, Joseph P ve diğerleri, 2018; Maciukiewicz M, Marshe V S, Hauschild A C ve diğerleri, 2018; Mimoto MS, Oyler JL, Davis AM, 2018

Everolimus	İmmünsüpresif	Pankreas nöroendokrin tümörleri	Metin madenciliği yaklaşımı	Deotarse, 2015; Wang, Z.Y., H.Y. Zhang, 2013; Wang, Z.Y., Y. Quan, H.Y. Zhang, 2014; Yeu Y, Yoon Y, Park S., 2015; Mullen J, Cockell S J, Tipney H ve diğerleri, 2016; Ross M K, Yoon J, van der Schaar A, 2018; Nagaraj A B, Wang Q Q, Joseph P ve diğerleri, 2018; Maciukiewicz M, Marshe V S, Hauschild A C ve diğerleri, 2018; Mimoto MS, Oyler JL, Davis AM, 2018; Zhu Q, Tao C, Shen F, ve diğerleri, 2014
Finasteride	Benign prostat hiperplazisi	Saç dökülmesi	Deneysel	Novac, Natalia, 2013; Henriksen, K., C. Christiansen, M.A. Karsdal, 2011; Gupta, 2013; Ashburn, T.T., K.B. Thor, 2004
Fludrocortison e	Serebral tuz kaybı sendromu	Hipertansiyon	Deneysel	Wang, Z.Y., H.Y. Zhang, 2013

Fluoxetine	Depresyon	Regl rahatsızlığı	Ağ Yaklaşımı	Novac, Natalia, 2013; Henriksen K., C. Christiansen, M.A Karsdal, 2011; Gupta, 2013; Ashburn T.T., K.B. Thor, 2004; Deotarse, 2015; Wang, Z.Y., H.Y. Zhang, 2013; Wang, Z.Y., Y. Quan, H.Y. Zhang, 2014; Yeu Y, Yoon Y ve Park S., 2015
------------	-----------	-------------------	--------------	---

Furosemide	Konjestif kalp yetmezliği ile ilişkili ödem	Bartter Sendromu	Deneysel	Wang Z.Y., H.Y. Zhang, 2013.
------------	---	------------------	----------	------------------------------

Galantamine	Çocuk felci, felç ve anestezi	Alzheimer	Ağ Yaklaşımı	Ashburn, T.T., K.B. Thor, 2004; Deotarse, 2015; Wang, Z.Y., H.Y. Zhang, 2013; Wang, Z.Y., Y. Quan, H.Y. Zhang, 2014; Yeu Y, Yoon Y, Park S., 2015; Mullen J, Cockell S J, Tipney H ve diğerleri, 2016; Ross M K, Yoon J, van der Schaar A, 2018; Nagaraj A B, Wang Q Q, Joseph P ve diğerleri, 2018; Maciukiewicz M, Marshe V S, Hauschild A C ve diğerleri, 2018; Mimoto MS, Oyler JL, Davis AM, 2018; Zhu Q, Tao C, Shen F, ve diğerleri, 2014; Cheng F, Liu C, Jiang J ve diğerleri, 2012; Luo H, Zhang P, Huang H ve diğerleri, 2014
-------------	-------------------------------------	-----------	--------------	--

Gemcitabine	Antiviral	Kanser ajanı	Deneysel	Gupta, S.C. ve diğerleri, 2013
Hydroxychloroquine	Antiparazitik	Anti-arthritic sistemik lupus erythematosus	Deneysel	Henriksen, K., C. Christiansen, M.A. Karsdal, 2011
Imatinib	BCR-ABL	GIST	Deneysel	Deotarse ve diğerleri, 2015
Imidapril	Hipertansiyon	Cancer cachexia	Deneysel	Henriksen, K., C. Christiansen, M.A. Karsdal, 2011
Infliximab	Crohn's hastalığı	Alzheimer	Deneysel	Henriksen, K., C. Christiansen, M.A. Karsdal, 2011

Leflunomide		Prostat Kanseri	Ağ Yaklaşımı	Gupta S.C. ve diğerleri, 2013; Ashburn, T.T., K.B. Thor, 2004; Deotarse, 2015; Wang, Z.Y., H.Y. Zhang, 2013; Wang, Z.Y., Y. Quan, H.Y. Zhang, 2014; Yeu Y, Yoon Y, Park S., 2015; Mullen J, Cockell S J, Tipney H ve diğerleri, 2016; Ross M K, Yoon J, van der Schaar A, 2018; Nagaraj A B, Wang Q Q, Joseph P ve diğerleri, 2018; Maciukiewicz M, Marshe V S, Hauschild A C ve diğerleri, 2018; Mimoto MS, Oyler JL, Davis AM, 2018; Zhu Q, Tao C, Shen F, ve diğerleri, 2014; Cheng F, Liu C, Jiang J ve diğerleri, 2012; Luo H, Zhang P, Huang H ve diğerleri, 2014; Lu J, Chen L, Yin J ve diğerleri, 2016
-------------	--	--------------------	--------------	---

Lidocaine	Romatoid artrit Lokal Anestezi	Oral kortikosteroi d bağımlılığı, aritmi	Deneysel	Novac, Natalia, 2011
Lumigan	Glaucoma	Hipotrikoz simpleks	Deneysel	Novac, Natalia, 2011
Mecamylamine	Orta derecede şiddetli ve şiddetli esansiyel hipertansiyon ve komplike olmayan malign vakalar	ADHD	Deneysel	Ashburn, T.T., K.B. Thor, 2004

Metformin	Diabet mellitus	Meme, adenokarsinom, prostat, kolorektal kanser	Deneysel	Gupta, S.C., ve diğeri, 2013.
Methotrexate	Akut lösemi	Osteosarcoma, meme kanseri, Hodgkin lenfoma	Ağ Yaklaşımı	Novac, Natalia, 2011
Methotrexate	Kanser	Romatoid artrit	Deneysel	Gupta, S.C., ve diğeri, 2013
Mifepristone	Gebelik sonlandırma	Psikotik büyük depresyon, Cushing's sendromu	Deneysel	Novac, Natalia, 2011
Milnacipran	Depresyon	Fibromiyalji	Deneysel	Novac, Natalia, 2011
Miltefosine	Akciğer Kanseri	Visceral and cutaneous leishmaniasis	Deneysel	Henriksen, K., C. Christiansen, and M.A. Karsdal, 2011
Minocycline	Akne	Yumurtalık kanseri, glioma	Deneysel	Gupta, S.C., et al., 2013
Monoxide	Hipertansiyon	Saç dökülmesi	Deneysel	Novac and Natalia, 2011
Mycophenolate mofetil	Nakledilen organ reddi	Renal sistemik lupus eritematozus semptomları	Deneysel	Henriksen, K., C. Christiansen, and M.A. Karsdal, 2011
Transplanted Naltrexone	Opioid bağımlılığı	Alkol bırakma	Deneysel	Henriksen, K., C. Christiansen, and M.A. Karsdal, 2011

Nelfinavir	AIDS	Kanser için çoklu klinik denemeler	Ağ Yaklaşımı	Deotarse, 2015; Wang, Z.Y. ve H.Y. Zhang, 2013; Wang, Z.Y., Y. Quan ve H.Y. Zhang, 2014; Yeu Y, Yoon Y ve Park S., 2015; Mullen J, Cockell S J, Tipney H ve diğerleri, 2016; Ross M K, Yoon J, van der Schaar A, 2018; Nagaraj A B, Wang Q Q, Joseph P ve diğerleri, 2018; Maciukiewicz M, Marshe V S, Hauschild A C ve diğerleri, 2018; Mimoto MS, Oyler JL, Davis AM, 2018; Zhu Q, Tao C, Shen F, ve diğerleri, 2014, Cheng F, Liu C, Jiang J ve diğerleri, 2012
------------	------	------------------------------------	--------------	--

Nitroxoline	Antibiyotik	Mesane, meme kanseri	Deneysel	Gupta, S.C. ve diğerleri, 2013
Noscapine	Antitüsif, antimalaryal, analjezik	Çoklu kanser tipleri	Deneysel	Gupta, S.C. ve diğerleri, 2013

Paclitaxel	Kanser	Restenosis	Ağ Yaklaşımı	Novac, Natalia, 2011; Henriksen, K., C. Christiansen, and M.A. Karsdal, 2011; Gupta, S.C.ve diğerleri, 2013; Ashburn, T.T. ve K.B. Thor, 2004; Deotarse, 2015; Wang, Z.Y. ve H.Y. Zhang, 2013; Wang, Z.Y., Y. Quan ve H.Y. Zhang, 2014; Yeu Y, Yoon Y ve Park S., 2015; Mullen J, Cockell S J, Tipney H ve diğerleri, 2016; Ross M K, Yoon J, van der Schaar A, 2018; Nagaraj A B, Wang Q Q, Joseph P ve diğerleri, 2018; Maciukiewicz M, Marshe V S, Hauschild A C ve diğerleri, 2018; Mimoto MS, Oyler JL, Davis AM, 2018; Zhu Q, Tao C, Shen F, ve diğerleri, 2014, Cheng F, Liu C, Jiang J ve diğerleri, 2012; Luo H, Zhang P, Huang H ve diğerleri, 2014; Lu J, Chen L, Yin J ve diğerleri, 2016; Yu H, Choo S, Park J, et al., 2016
Pegvisomant	Akromegali	Hiperkolesterolemi	Deneysel	Wang, Z.Y. ve H.Y. Zhang, 2013
Perindopril	Hipertansiyon	Alzheimer	Deneysel	Wang, Z.Y. ve H.Y. Zhang, 2013

Phentolamine	Hipertansiyon	Bozulmuş gece görüşü, diş anestezi reversal maddesi	Ağ Yaklaşımı	Novac ve Natalia, 2011; Henriksen, K., C. Christiansen, ve M.A. Karsdal, 2011; Gupta, S.C. ve diğerleri, 2013; Ashburn, T.T. ve K.B. Thor, 2004; Deotarse, 2015; Wang, Z.Y. ve H.Y. Zhang, 2013; Wang, Z.Y., Y. Quan ve H.Y. Zhang, 2014; Yeu Y, Yoon Y ve Park S., 2015; Mullen J, Cockell S J, Tipney H ve diğerleri, 2016; Ross M K, Yoon J, van der Schaar A, 2018; Nagaraj A B, Wang Q Q, Joseph P ve diğerleri, 2018; Maciukiewicz M, Marshe V S, Hauschild A C ve diğerleri, 2018; Mimoto MS, Oyler JL, Davis AM, 2018; Zhu Q, Tao C, Shen F, ve diğerleri, 2014, Cheng F, Liu C, Jiang J ve diğerleri, 2012; Luo H, Zhang P, Huang H ve diğerleri, 2014; Lu J, Chen L, Yin J ve diğerleri, 2016; Yu H, Choo S, Park J ve diğerleri, 2016, Yan X Y, Zhang S W, Zhang S Y., 2016
--------------	---------------	---	--------------	--

Pioglitazone	Tip 2 diabetes mellitus	Alkolsüz steato hepatit	Ağ Yaklaşımı	Wang, Z.Y., Y. Quan ve H.Y. Zhang, 2014; Yeu Y, Yoon Y ve Park S., 2015; Mullen J, Cockell S J, Tipney H ve diğerleri, 2016; Ross M K, Yoon J, van der Schaar A, 2018; Nagaraj A B, Wang Q Q, Joseph P ve diğerleri, 2018; Maciukiewicz M, Marshe V S, Hauschild A C ve diğerleri, 2018; Mimoto MS, Oyler JL, Davis AM, 2018; Zhu Q, Tao C, Shen F, ve diğerleri, 2014, Cheng F, Liu C, Jiang J ve diğerleri, 2012; Luo H, Zhang P, Huang H ve diğerleri, 2014; Lu J, Chen L, Yin J ve diğerleri, 2016; Yu H, Choo S, Park J, et al., 2016, Yan X Y, Zhang S W, Zhang S Y., 2016; Fukuoka Y, Takei D, Ogawa H, 2013
Raloxifene	Meme ve prostat kanseri	Osteoporoz	Deneysel	Henriksen, K., C. Christiansen ve M.A. Karsdal, 2011

Rapamycin	İmmünsüpresan	Kolorektal kanser, lenfoma, lösemi	Hesaplamalı Yaklaşım	Gupta, S.C. ve diğerleri, 2013; Ashburn, T.T. and K.B. Thor, 2004; Deotarse, 2015; Wang, Z.Y. ve H.Y. Zhang, 2013; Wang, Z.Y., Y. Quan ve H.Y. Zhang, 2014; Yeu Y, Yoon Y ve Park S., 2015; Mullen J, Cockell S J, Tipney H ve diğerleri, 2016; Ross M K, Yoon J, van der Schaar A, 2018; Nagaraj A B, Wang Q Q, Joseph P ve diğerleri, 2018; Maciukiewicz M, Marshe V S, Hauschild A C ve diğerleri, 2018; Mimoto MS, Oyler JL, Davis AM, 2018; Zhu Q, Tao C, Shen F, ve diğerleri, 2014, Cheng F, Liu C, Jiang J ve diğerleri, 2012; Luo H, Zhang P, Huang H ve diğerleri, 2014; Lu J, Chen L, Yin J ve diğerleri, 2016; Yu H, Choo S, Park J ve diğerleri, 2016, Yan X Y, Zhang S W, Zhang S Y., 2016 ; Fukuoka Y, Takei D, Ogawa H, 2013; Wei G, Twomey D, Lamb J ve diğerleri, 2006
Requip	Parkinson's	Huysuz bacak sendromu	Deneysel	Novac ve Natalia, 2011
Retinoic acid	Akne	Akut promyelositik lösemi	Deneysel	Henriksen, K., C. Christiansen, ve M.A. Karsdal, 2011
Ropinerole	Hipertansiyon	Parkinson, Huysuz bacak sendromu	Deneysel	Ashburn, T.T. and K.B. Thor, 2004

Sibutramine	Depresyon	Obezite	Deneysel	Novac ve Natalia, 2011; Henriksen, K., C. Christiansen, ve M.A. Karsdal, 2011
Sildenafil citrate	Hipertansiyon, anjina	Erektile disfonksiyon	Deneysel	Novac ve Natalia, 2011; Henriksen, K., C. Christiansen, ve M.A. Karsdal, 2011
Statins	Miyokardiyal enfarktüs	Kanser, lösemi	Ağ Yaklaşımı	Gupta, S.C. ve diğerleri, 2013; Ashburn, T.T. ve K.B. Thor, 2004; Deotarse, 2015; Wang, Z.Y. ve H.Y. Zhang, 2013; Wang, Z.Y., Y. Quan ve H.Y. Zhang, 2014; Yeu Y, Yoon Y ve Park S., 2015; Mullen J, Cockell S J, Tipney H ve diğerleri, 2016; Ross M K, Yoon J, van der Schaar A, 2018; Nagaraj A B, Wang Q Q, Joseph P ve diğerleri, 2018; Maciukiewicz M, Marshe V S, Hauschild A C ve diğerleri, 2018; Mimoto MS, Oyler JL, Davis AM, 2018; Zhu Q, Tao C, Shen F, ve diğerleri, 2014, Cheng F, Liu C, Jiang J ve diğerleri, 2012

Sunitinib	GIST, renal hücreli karsinom	Pankreas tümörleri / Gastrointestinal Tümör	Ağ Yaklaşımı	Deotarse, 2015; Wang, Z.Y. ve H.Y. Zhang, 2013; Wang, Z.Y., Y. Quan ve H.Y. Zhang, 2014; Yeu Y, Yoon Y ve Park S., 2015; Mullen J, Cockell S J, Tipney H ve diğerleri, 2016; Ross M K, Yoon J, van der Schaar A, 2018; Nagaraj A B, Wang Q Q, Joseph P ve diğerleri, 2018; Maciukiewicz M, Marshe V S, Hauschild A C ve diğerleri, 2018; Mimoto MS, Oyler JL, Davis AM, 2018; Zhu Q, Tao C, Shen F, ve diğerleri, 2014, Cheng F, Liu C, Jiang J ve diğerleri, 2012; Luo H, Zhang P, Huang H ve diğerleri, 2014; Lu J, Chen L, Yin J ve diğerleri, 2016; Yu H, Choo S, Park J, et al., 2016, Yan X Y, Zhang S W, Zhang S Y., 2016 ; Fukuoka Y, Takei D, Ogawa H, 2013; Wei G, Twomey D, Lamb J ve diğerleri, 2006; Mullen J, Cockell S J, Woollard P ve diğerleri, 2016
Tadalafil	Enflamasyon ve kardiyovasküler hastalık	Erkek erektil disfonksiyon	Deneysel	Ashburn, T.T. ve K.B. Thor, 2004

Tadalafil	İktidarsızlık	Hipertansiyon, pulmoner, prostat hiperplazisi, prostat kanseri	Ağ Yaklaşımı	Ashburn, T.T. ve K.B. Thor, 2004; Deotarse, 2015; Wang, Z.Y. ve H.Y. Zhang, 2013; Wang, Z.Y., Y. Quan ve H.Y. Zhang, 2014; Yeu Y, Yoon Y ve Park S., 2015; Mullen J, Cockell S J, Tipney H ve diğerleri, 2016; Ross M K, Yoon J, van der Schaar A, 2018; Nagaraj A B, Wang Q Q, Joseph P ve diğerleri, 2018; Maciukiewicz M, Marshe V S, Hauschild A C ve diğerleri, 2018; Mimoto MS, Oyler JL, Davis AM, 2018; Zhu Q, Tao C, Shen F, ve diğerleri, 2014, Cheng F, Liu C, Jiang J ve diğerleri, 2012; Luo H, Zhang P, Huang H ve diğerleri, 2014; Lu J, Chen L, Yin J ve diğerleri, 2016; Yu H, Choo S, Park J, et al., 2016, Yan X Y, Zhang S W, Zhang S Y., 2016 ; Fukuoka Y, Takei D, Ogawa H, 2013; Wei G, Twomey D, Lamb J ve diğerleri, 2006; Mullen J, Cockell S J, Woollard P ve diğerleri, 2016; Chen H R, 2016
Thalidomide	Sedasyon, bulantı ve uykusuzluk	Cüzamda ve multipl miyelomda orta ila şiddetli eritem nodosum leprozumun deri bulguları	Deneysel	Ashburn, T.T. ve K.B. Thor, 2004

Thalidomide	Sabah rahatsızlığı	Leproz, multipl miyelom	Ağ Yaklaşımı	Novac ve Natalia, 2011; Henriksen, K., C. Christiansen, ve M.A. Karsdal, 2011; Gupta, S.C. ve diğerleri, 2013; Ashburn, T.T. ve K.B. Thor, 2004; Deotarse, 2015; Wang, Z.Y. ve H.Y. Zhang, 2013; Wang, Z.Y., Y. Quan ve H.Y. Zhang, 2014; Yeu Y, Yoon Y ve Park S., 2015; Mullen J, Cockell S J, Tipney H ve diğerleri, 2016; Ross M K, Yoon J, van der Schaar A, 2018; Nagaraj A B, Wang Q Q, Joseph P ve diğerleri, 2018; Maciukiewicz M, Marshe V S, Hauschild A C ve diğerleri, 2018; Mimoto MS, Oyler JL, Davis AM, 2018; Zhu Q, Tao C, Shen F, ve diğerleri, 2014, Cheng F, Liu C, Jiang J ve diğerleri, 2012; Luo H, Zhang P, Huang H ve diğerleri, 2014; Lu J, Chen L, Yin J ve diğerleri, 2016; Yu H, Choo S, Park J, et al., 2016, Yan X Y, Zhang S W, Zhang S Y., 2016; Yan X Y, Zhang S W, Zhang S Y., 2016; Fukuoka Y, Takei D, Ogawa H, 2013; Wei G, Twomey D, Lamb J ve diğerleri, 2006, Mullen J, Cockell S J, Woollard P ve diğerleri, 2016; Chen H R, 2016; Dudley J T, Deshpande T, Butte A J, 2011.
Thalidomide	Anti-emetic	Erythema nodosum leprosum	Deneysel	Henriksen, K., C. Christiansen, M.A. Karsdal, 2011.

Thiocolchicoside	Kas gevşetici	Lösemi, çoklu miyelom	Ağ Yaklaşımı	Gupta, S.C.ve diğerleri, 2013
Tofisopam	Anksiyete ile ilgili koşullar	Asabi bağırsak sendromu	Deneysel	Ashburn, T.T. ve K.B. Thor, 2004
Topiramate	Epilepsi	Migren, bulimia	Deneysel	Novac ve Natalia, 2013
Trastuzumab	HER2-pozitif meme kanseri	HER2-pozitif metastatik mide kanseri	Ağ Yaklaşımı	Deotarse, P.P. ve diğerleri, 2015
Valproic acid	Antiepileptik	Lösemi, katı tümörler	Deneysel	Gupta, S.C ve diğerleri, 2013
Vesnarinone	Kalp Koruyucu	Ağız kanseri, lösemi, lenfoma	Deneysel	Gupta, S.C. ve diğerleri, 2013
Wortmannin	Antifungal	Lösemi	Deneysel	Gupta, S.C. ve diğerleri, 2013
Zidovudine	Kanser	HIV/AIDS	Deneysel	Novac ve Natalia, 2013
Zoledronic acid	Anti kemik Emilimi	Çoklu miyelom, prostat kanseri, meme kanseri	Deneysel	Gupta, S.C. ve diğerleri, 2013

EK-2. p-DEĞERİ ÜST SINIRI 0.001 İÇİN YUKARI-REGÜLE VE AŞAĞI-REGÜLE OLARAK BELİRLENEN GEN LİSTESİ

Aşağı-regule			Yukarı-regule		
Gen Sembol	P-değeri	FC	Gen Sembol	P-değeri	FC
SLC16A6	4.3317E-07	0.012074	MGP	0.00091552	89.269313
TYR	7.3597E-05	0.015133	CXCR4	6.1941E-05	43.965138
DPP4	9.7226E-12	0.021018	SERPINA3	0.00050548	15.511110
DKK3	2.0912E-06	0.026976	NR3C1	8.3719E-05	14.955163
ABCB5	2.3903E-10	0.037962	PECAM1	0.00025324	14.686790
SLC39A6	3.0856E-09	0.039287	CXCL8	0.00097675	13.957562
DPP6	9.3904E-06	0.039713	SOCS3	0.00042671	13.376611
CDK2	7.934E-07	0.047053	ITGA9	9.0666E-07	10.836557
CTNNB1	1.1126E-07	0.047521	PER2	1.7554E-07	8.714624
HTR2B	2.5052E-08	0.052091	RGS5	0.00017208	7.682202
ATP6V1A	3.005E-08	0.060732	PLCB1	0.00016646	7.639405
KIT	0.00035426	0.063863	REL	0.00024254	6.615520
NQO1	2.1169E-06	0.064473	SFPQ	0.00029251	6.013961
RAC1	2.4141E-05	0.071355	MDM4	5.6447E-07	6.002045
WNT5B	0.00042423	0.081726	IGF1	0.00093434	5.598956
RHOA	0.00017774	0.083171	NAMPT	0.00010119	5.287290
PIP4K2A	2.0279E-10	0.085291	PTGIS	1.1731E-05	5.194957
PTGR1	6.6528E-09	0.086923	AOC3	0.00095605	4.900887
KCNE4	4.0289E-10	0.092499	DAPP1	0.00033079	4.878454
CTSK	0.00039715	0.095564	NRP2	5.3292E-05	4.861156
CACNA1A	4.5531E-08	0.101659	GATM	0.00083519	4.674275
CYB5R3	1.5888E-06	0.103424	SULT1A1	9.1552E-05	4.545645
CAV1	0.00016269	0.109738	APOC1	0.00010938	4.476309
ITGB1	1.2097E-05	0.111911	XRCC2	0.00024226	4.298504
MOB3B	7.3626E-05	0.114379	SLC22A3	0.00048902	4.292495
GAS6	0.00033964	0.118794	CEBPD	6.7227E-05	3.899377
NT5E	4.6375E-05	0.121281	HSP90B1	2.0287E-05	3.503335
PSPH	0.00035736	0.123737	PGF	0.00077084	3.248811
STIP1	4.2732E-08	0.124484	SPTLC3	0.00023056	3.015965
EPHX1	1.7656E-06	0.127055	MALAT1	0.00061474	2.894695
RPS6KA2	2.421E-07	0.129309	TDG	4.5304E-06	2.864616
GSTO1	8.0013E-05	0.136623	SULT1A2	0.00010783	2.820428
HIBADH	4.2517E-05	0.139573	XPO1	0.00034279	2.743660
LMNA	7.3781E-05	0.141501	WNK1	0.00058272	2.723213
SIGMAR1	0.00015254	0.142757	LUC7L3	0.00034748	2.713635
PPIF	0.0003218	0.143345	POU2F1	0.00017454	2.703905
GSTP1	4.2304E-06	0.145553	TOP1	6.2611E-05	2.664563
MSH6	0.00024929	0.145973	CREBBP	1.257E-05	2.570581
MAP2K2	0.00030834	0.148018	CCNA2	0.00033788	2.541440
VAMP3	3.1132E-06	0.148308	ICAM1	9.8567E-05	2.403942
SOCS2	3.7347E-05	0.148714	NBN	0.0003604	2.394820

QDPR	2.9485E-05	0.148822	BRD4	2.8229E-06	2.315300
FDFT1	3.1552E-05	0.149182	BAZ2B	0.00032342	2.308919
SLC7A8	7.783E-09	0.149644	CASP8	4.6567E-05	2.286732
CCND1	4.6635E-06	0.150426	PSMB1	0.00047709	2.223524
SDHC	0.00029556	0.151159	APAF1	0.00093876	2.219444
RAB8B	2.7536E-05	0.155464	ORC2	0.00024313	2.215733
PROS1	3.8207E-05	0.156796	CEP290	3.9086E-05	2.159834
AR	2.044E-08	0.157758	XIAP	3.9661E-05	2.129746
HADHA	1.775E-05	0.158874	TCF7L2	0.00067122	2.059647
SRD5A1	8.5111E-07	0.159956	EML4	0.00019689	2.019359
GSPT1	7.8189E-11	0.160219	AKAP9	0.00020854	1.994333
PGD	0.00095623	0.162979			
ATM	4.2331E-06	0.163675			
ABCC4	0.0003282	0.164117			
SLC1A1	0.00017715	0.166616			
PIGF	0.00021713	0.170826			
ABAT	0.00036142	0.170845			
COMT	0.00063308	0.176665			
CYB5R1	4.8283E-05	0.177467			
APC	1.828E-05	0.182480			
GRM1	1.6581E-06	0.183799			
BAX	0.00087886	0.186935			
GLUD2	5.2698E-05	0.187441			
NQO2	8.7407E-06	0.190398			
SLC16A7	1.1947E-05	0.190720			
SCD	5.5221E-05	0.192222			
SAR1B	2.9363E-05	0.192505			
SRR	6.9082E-05	0.193750			
APLP2	0.00083468	0.194608			
GM2A	8.5545E-10	0.195299			
SNAP23	2.7439E-06	0.198717			
PPP3R1	0.00074418	0.199390			
GSTM4	0.00021469	0.202918			
ME2	1.9224E-05	0.203769			
CCNG2	7.2258E-06	0.204096			
NAGLU	1.6624E-07	0.204640			
ACAD8	8.5363E-05	0.204716			
PGRMC1	0.00051485	0.208752			
OAT	0.00038854	0.209293			
AK2	2.1131E-07	0.210285			
MDGA2	5.916E-05	0.211537			
FIP1L1	1.857E-05	0.211612			
CPT1A	6.601E-08	0.212086			
PEPD	0.00017675	0.219374			
CHPT1	0.00037058	0.219566			
EBP	5.542E-05	0.219588			

ACAT2	0.0001804	0.219938
NDUFS4	0.00012921	0.220804
GCLM	0.00046546	0.221541
CTSD	2.3897E-05	0.221582
SMPD1	6.43E-08	0.222557
CALU	0.00047899	0.223387
NTAN1	2.5655E-05	0.226411
YAP1	0.00010962	0.226457
RAB5A	1.8317E-07	0.226587
PPARG	1.082E-05	0.226840
HSD17B6	2.6209E-07	0.229363
BAD	0.00012324	0.231340
SCARB1	5.8479E-06	0.232753
ACAT1	0.00042815	0.232966
BLVRA	4.5369E-05	0.235021
FLOT1	8.3402E-09	0.236403
PSAT1	1.3805E-07	0.239018
CDK8	1.0585E-07	0.239657
ATG5	0.00027851	0.242062
EIF2S3	9.5304E-05	0.242490
DDX6	1.2172E-06	0.245185
CYCS	4.3931E-07	0.245988
PDE8A	1.7939E-08	0.252745
PSME3	0.0001313	0.257949
MAD1L1	0.00015581	0.259723
AIFM1	0.00014159	0.264084
INSIG1	0.00011298	0.264789
RXRB	3.407E-07	0.264920
BCL2L1	7.4662E-06	0.266199
ADSSL1	0.00033827	0.266373
APOO	0.00068505	0.267206
AKR1B1	1.937E-05	0.268318
ADCY9	6.0322E-06	0.269752
ATP7B	2.0896E-05	0.270270
HBS1L	3.7322E-05	0.271461
MGST3	0.00031951	0.271497
LPIN1	1.1143E-09	0.272255
ATP1A1	8.0542E-05	0.273048
REEP5	0.00026805	0.274355
SNCA	8.8466E-06	0.275665
DNAJC15	0.00047455	0.277264
VEGFB	5.819E-05	0.278664
GRIA3	1.7834E-08	0.278956
RAN	0.00075359	0.279151
CARS	2.125E-06	0.281481
RGS4	0.00010544	0.281780

PTPN11	4.2676E-05	0.282333
ETV5	5.3069E-05	0.283187
EPHA5	1.7847E-05	0.283260
RRAS2	0.00048222	0.283321
ARRB1	5.408E-07	0.284343
MAPK9	1.8911E-05	0.286202
TMCC1	6.1685E-05	0.288660
CAT	0.00016265	0.289618
NCS1	2.7405E-05	0.291122
UQCR10	0.00026938	0.292091
PPARA	5.6591E-05	0.292360
GLUD1	0.00016027	0.293504
FZD3	0.00066178	0.294585
FTH1	0.00072364	0.298735
HMOX2	0.0002253	0.300174
TRAPPC3	0.00099391	0.301575
ITGB3	5.9799E-07	0.302855
CDC42	1.5896E-05	0.303045
JAK1	5.5523E-06	0.305021
ARF6	0.00074544	0.307745
ASPH	5.6838E-07	0.308219
RALBP1	0.00029362	0.309894
TYRO3	1.1209E-06	0.311290
SPTBN1	2.9846E-05	0.311723
NFS1	8.3914E-06	0.312988
ARL3	0.00080091	0.317104
UGGT2	0.00024389	0.317419
PRKACA	7.6859E-07	0.317521
PRKCH	3.1518E-07	0.318331
PDE6D	9.2372E-06	0.321010
C10orf11	3.2232E-05	0.321998
PIK3C2A	1.3556E-07	0.323556
TAF9B	8.8342E-07	0.323907
KCNK2	0.00044923	0.325002
UQCRB	2.0209E-06	0.325465
IDH3G	1.6887E-06	0.327208
CTSA	8.1052E-05	0.327936
SPATA5	2.2189E-07	0.328903
ADCY6	1.7653E-07	0.329809
ETFDH	8.1E-06	0.329994
NSDHL	0.00016473	0.332301
HDAC8	2.6321E-08	0.333942
FECH	0.0001178	0.335639
AOX1	0.0001272	0.336099
ABHD2	0.00010305	0.337998
POR	0.00057306	0.343664

EPM2A	2.0213E-06	0.344862
GALK1	9.0289E-05	0.345922
ALDH6A1	0.00033689	0.347288
MAX	3.9271E-06	0.349469
CALM1	1.4863E-07	0.352704
CDKN2D	1.4202E-05	0.354281
ACTR2	3.0517E-06	0.355075
SPTLC1	2.252E-06	0.356933
FUS	0.00047015	0.358124
ACADSB	0.00078889	0.358712
TPBG	0.00084377	0.358978
SMARCA4	0.00013021	0.359137
PDK2	2.1393E-06	0.359629
RRM1	5.6021E-07	0.362019
RABGGTB	0.00082801	0.363721
PRKAB2	0.00022888	0.363754
TK2	0.00013099	0.364582
NMT1	1.6407E-07	0.364621
PSMB7	0.00053747	0.366431
UCKL1	1.653E-05	0.366699
SRPK2	0.00027313	0.367123
GSK3B	3.1939E-05	0.369906
SORD	3.0522E-05	0.372752
CASP2	0.0003836	0.373327
MR1	0.00021004	0.374660
SREBF2	2.7195E-06	0.377315
PSMD10	4.9973E-05	0.378146
ILKAP	0.00051094	0.380226
CDH1	1.2513E-05	0.380507
NTF3	1.0196E-06	0.382417
MICA	2.4376E-05	0.382699
UQCRC1	0.0002473	0.383282
LIG4	0.00068782	0.384619
VCP	0.00027637	0.386134
ARPC4	0.00029051	0.386147
PC	1.9447E-05	0.388065
NDUFS7	6.3229E-05	0.393071
CDK9	0.00047494	0.395531
STX3	2.9149E-05	0.396302
STX2	0.00046551	0.398652
POLB	1.0158E-06	0.402410
CDC5L	0.0005936	0.405304
NDUFS1	6.2937E-07	0.405480
FKBP15	5.8074E-05	0.406295
AKAP13	0.00037495	0.407277
C5orf22	3.3308E-05	0.408258

BCL6	1.3395E-07	0.411578
TP53	0.00018072	0.413173
STAT2	0.00014961	0.415011
CYB5A	0.00073732	0.415027
PDHB	0.00057	0.418645
ATP5F1	6.8688E-05	0.419013
NAB2	6.3923E-05	0.420237
FRK	0.00010538	0.420771
ADD1	0.00067882	0.426429
HMGCS1	0.00011113	0.427753
CYSLTR2	3.5828E-05	0.427754
LDLR	0.00032648	0.431311
SLC16A5	9.7259E-05	0.432166
HFE	8.5455E-06	0.433532
TRAPPC5	0.00068546	0.438282
CAMTA1	5.2803E-06	0.439399
DCAF6	1.7078E-05	0.442416
MVK	1.6721E-05	0.445588
SLC16A2	0.00038973	0.451081
THRA	1.4733E-05	0.451255
CANX	0.00091761	0.453989
CFLAR	0.00047914	0.457977
BACE1	4.6672E-05	0.459938
MAPK1	0.00023885	0.462782
MAP4	6.4134E-05	0.463647
FTO	0.00040618	0.463760
TSC22D3	4.9638E-06	0.465684
PLCD3	0.00012912	0.468613
PPP1R15A	0.00097833	0.469291
ERCC6L2	1.1187E-05	0.473610
EIF1	0.00011049	0.474722
RABGGTA	0.00092658	0.475027
ALDH4A1	0.00054446	0.476717
PGGT1B	0.00017379	0.478139
APBB1	9.6895E-06	0.482624
MAPT	0.00019506	0.483343
SIRT4	7.4621E-05	0.483951
CYTH3	0.00018417	0.485369
NF2	3.232E-05	0.489046
PTPRS	2.3995E-05	0.489707
AKT1	1.2477E-05	0.490157
BTRC	1.4013E-05	0.492610
PTGS1	0.00054108	0.497880
MTRR	0.00019806	0.501600
SUCLG1	0.00030044	0.503271
MECP2	6.8826E-07	0.508244

GART	1.3399E-05	0.511813
HNMT	1.9819E-05	0.514748
WVOX	2.2097E-05	0.515660
ARNTL	0.00025244	0.519408
NPEPPS	0.00032993	0.528671
PRKG1	0.00070587	0.530918
HADH	5.4811E-05	0.531738
EIF4E2	0.00035959	0.533884
SP1	2.8042E-05	0.535246
OCRL	5.719E-05	0.539844
FGFR1	2.0922E-05	0.540226
IDH3B	0.00037912	0.540401
IREB2	0.00091792	0.541981
CHM	2.6485E-05	0.544786
PRDX2	0.00024941	0.554309
SDHA	0.0007441	0.558074
GLUL	0.00077401	0.558821
ABL1	0.00095379	0.558968
COX5A	1.9853E-05	0.559830
PIK3R2	3.7811E-05	0.565037
PTGES2	5.8377E-05	0.566066
MAPK14	7.2026E-05	0.566296
ALDH3A2	0.00014161	0.568041
PSMD9	0.00045485	0.579307
RHEB	0.0006168	0.584535
LIMK2	0.00012256	0.584727
PML	0.00019183	0.592756
SLC25A4	0.00015361	0.602756
UST	0.00014732	0.607906
HDAC5	0.00039042	0.609593
IFT22	0.00098849	0.622273
AKT2	3.2643E-05	0.622534
RAB7A	0.00026396	0.628185
CREB1	0.00020448	0.629875
NFATC1	0.00026197	0.638893
NDUFC1	0.00074846	0.640758
ERCC6	0.00090797	0.655043
USF2	0.00033268	0.660201
TNRC6A	0.00076578	0.661088
ABCA2	0.00066215	0.712348
NDUFA10	0.0005339	0.727477

KAYNAKÇA

- Adeniyi, A. A., Soliman, M. E. S, 2017, Implementing QM in Docking Calculations: Is it a waste of computational time?, *Drug Discovery Today*, 22(8), 1216–1223
- Agarwal, S., Mehrotra, R, 2016, An overview of Molecular Docking, *JSM Chemistry*, 4(2), 1024
- Ai N, Wood RD, Welsh WJ, 2015, Identification of Nitazoxanide As a Group I metabotropic Glutamate Receptor Negative Modulator for The Treatment of Neuropathic Pain: An in Silico Drug Repositioning Study, *Pharm Res.*, 32, 2798-807
- Ai, Y., Yu, L., Tan, X., Chai, X., & Liu, S, 2016, Discovery of Covalent Ligands Via Noncovalent Docking by Dissecting Covalent Docking Based on a Steric-Clashes Alleviating Receptor (SCAR) Strategy, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 56(8), 1563–1575
- Ali Khosravi, B. Jayaram, Bahram Goliaei and Ali Masoudi-Nejad, 2019, Active Repurposing of Drug Candidates Formelanoma Based on GWAS, PheWAS and A Wide Range of Omics Data, *Molecular Medicine*, 25:30
- Alonso, H., Bliznyuk, A. A., & Gready, J. E., 2006, Combining Docking and Molecular Dynamic Simulations in Drug Design, *Medicinal Research Reviews*, 26(5), 531–568
- Amelio I., Gostev M., Knight R., Willis E., Melino G., Antonov V., 2014, Drugsurv: A Resource for Repositioning of Approved and Experimental Drugs in Oncology Based on Patient Survival Information, *Cell Death Dis.*, 5
- Angie Amado, Sonia Amin Thomas, 2018, Updates in Pharmacotherapy for Melanoma, *Updates in Pharmacotherapy for Melanoma*, 43, 6
- Ashburn, T.T., K.B. Thor, 2004, Drug Repositioning: Identifying and Developing New Uses for Existing Drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3(8), 673-683
- Aure' Lien Grosdidier, Vincent Zoete, Olivier Michielin, 2011, Fast Docking Using the CHARMM Force Field with EADock DSS, *Journal of Computational Chemistry*, 32, 2149-2159

- Aure' Lien Grosdidier, Vincent Zoete, Olivier Michielin, 2011, SwissDock, A Protein-Small Molecule Docking Web Service Based on EADock DSS, *Nucleic Acids Research*, 39, 270-277
- Awoonor-Williams, E., Walsh, A. G., Rowley, C. N., 2017, Modeling Covalent-Modifier Drugs, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 1865(11), 1664–1675
- Ballester, P. J., Schreyer, A., Blundell, T. L., 2014, Does A More Precise Chemical Description of Protein-Ligand Complexes Lead to More Accurate Prediction of Binding Affinity?, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 54(3), 944–955
- Bansal, N., Zheng, Z., & Merz, K. M., 2016, Incorporation of Side Chain Flexibility into Protein Binding Pockets Using MTflex, *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 24(20), 4978–4987
- Barrett, T., Edgar R., 2006, Gene Expression Omnibus (GEO): Microarray Data Storage, Submission, Retrieval, and Analysis, *Methods in Enzymology*, 411, 352–369
- Barrett T, Wilhite SE, Ledoux P ve diğerleri, 2013, NCBI GEO: Archive for Functional Genomics Data Sets-update, *Nucleic Acids Res.*, 41, 991-995
- Beatriz Domingues, Jose Manuel Lopes, Paula Soares, Helena Populo, 2018, Melanoma Treatment in Review, *Immuno Targets and Therapy*, 7, 35-49
- Benson DA, Cavanaugh M, Clark K, Karsch-Mizrachi I, Lipman DJ, Ostell J ve diğerleri, 2012, GenBank, *Nucleic Acids Res.*, 41, 36-42
- Berman, H. M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T. N., Weissig, H., Shindyalov, I. N., Bourne, P. E., 2000, The Protein Data Bank, *Nucleic Acids Research*, 28(1), 235–242
- Bernstein FC, Koetzle TF, Williams GJ ve diğerleri, 1977, The Protein Data Bank: A Computer-Based Archival File for Macromolecular Structures, *J Mol Biol.*, 112, 535-542
- Bonvin, A. M., 2006, Flexible Protein-Protein Docking, *Current Opinion in Structural Biology*, 16(2), 194–200

- Bottegoni, G., Kufareva, I., Totrov, M., Abagyan, R, 2009, Fourdimensional Docking: A Fast and Accurate Account Of Discrete Receptor Flexibility in Ligand Docking, *Journal of Medicinal Chemistry*, 52(2), 397–406
- Brás, N. F., Cerqueira, N. M. F. S. A., Sousa, S. F., Fernandes, P.A., Ramos, M. J, 2014, Protein Ligand Docking in Drug Discovery, *Protein Modelling*
- Brooks B.R., Brooks C.L., Mackerell A.D. Jr, Nilsson L., Petrella R.J., Roux B., Won Y., Archontis G., Bartels C., Boresch S. ve diğerleri, 2009, CHARMM: The Biomolecular Simulation Program, *Journal of Computational Chemistry*, 30, 1545–1614
- Brown, C. D., Davis, H. T, 2006, Receiver Operating Characteristic Surves and Related Decision Measures: A Tutorial, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 80(1), 24–38
- Calimlioglu B., Karagoz K., Sevimoglu T., Kilic E., Gov E., Arga, K.Y., 2015, Tissue-Specific Molecular Biomarker Signatures of Type 2 Diabetes, *A Journal of Integrative Biology*, 19(9), 563-573
- Chen B, Ding Y, Wild DJ, 2012, Assessing Drug Target Association Using Semantic Linked Data, *PLoS Comput Biol.*, 8, e1002574
- Chen H R., 2016, A Network Based Approach to Drug Repositioning Identifies Candidates for Breast Cancer and Prostate Cancer
- Cheng F, Liu C, Jiang J. ve diğerleri, 2012, Prediction of Drug-target Interactions and Drug Repositioning Via Network-based Inference, *PLoS Computational Biology*, 8(5)
- Cole, J., Davis, E., Jones, G., & Sage, C. R, 2017, Molecular Docking-A Solved Problem?, *In Comprehensive Medicinal Chemistry III*, 297–318
- Collette McCourt, Olivia Dolan, Gerry Gormley, 2014, Malignant Melanoma: A Pictorial Review, *The Ulster Medical Journal*, 83 (2), 103-110
- Corbeil, C. R., & Moitessier, N, 2009, Docking Ligands Into Flexible and Solvated Macromolecules: 3. Impact of Input Ligand Conformation, Protein Flexibility, and

Water Molecules on The Accuracy of Docking Programs, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 49(4), 997–1009

Craig, I. R., Essex, J. W., & Spiegel, K, 2010, Ensemble Docking into Multiple

Cross, J. B., Thompson, D. C., Rai, B. K., Baber, J. C., Fan, K. Y., Hu, Y., & Humblet, C, 2009, Comparison of Several Molecular Docking Programs: Pose Prediction and Virtual Screening Accuracy, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 49(6), 1455–1474

Crystallographically Derived Protein Structures: An Evaluation Based on The Statistical Analysis of Enrichments, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 50(4), 511–524

D'Amato RJ, Loughnan MS, Flynn E, Folkman J., 1994, Thalidomide Is An Inhibitor of Angiogenesis, *Proc Natl Acad Sci USA*, 91:4082, 5

Dastmalchi, S, 2016, Methods and Algorithms for Molecular Docking-Based Drug Design and Discovery, (S. Dastmalchi, M. Hamzeh-Mivehroud, & B. Sokouti, Eds.), *IGI Global*

Debroise, T., Shakhnovich, E. I., Chéron, N, 2017, A Hybrid Knowledge-Based and Empirical Scoring Function for Protein-Ligand Interaction: SMOG2016, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 57(3), 584–593

Deotarse, P.P. ve diğerleri, 2015, Drug Repositioning: A Review, *International Journal of Pharma Research & Review*, 4(8), 51-58

Dias, R., de Azevedo Jr., W., 2008, Molecular Docking Algorithms, *Current Drug Targets*, 9(12), 1040–1047

Dima Kozakov, Karl H. Clodfelter, Sandor Vajda, Carlos J. Camacho, 2005, Optimal Clustering for Detecting Near-Native Conformations in Protein Docking, *Biophysical Journal*. 89, 867–875

Dudley J T, Deshpande T, Butte A J., 2011, Exploiting Drug–disease Relationships for Computational Drug Repositioning, *Briefings in Bioinformatics*, 12(4), 303-311

- Dunkel M, Günther S, Ahmed J, Wittig B ve Preissner R, 2008, SuperPred: Drug Classification and Target Prediction, *Nucleic Acids Res* 36, 55–59
- Du, J., Bleyeleens, I. W. M., Bitorina, A. V., Wichapong, K., & Nicolaes, G. A. F, 2014, Optimization of Compound Ranking for Structure-Based Virtual Ligand Screening Using An Established FRED-Surflex Consensus Approach, *Chemical Biology and Drug Design*, 83(1), 37–51
- Ellingson, S. R., Miao, Y., Baudry, J., & Smith, J. C., 2015, Multiconformer Ensemble Docking to Difficult Protein Targets, *Journal of Physical Chemistry B*, 119(3), 1026–1034
- Elokely, K. M., & Doerksen, R. J., 2013, Docking challenge: Proteinnsampling and Molecular Docking Performance, *Journal ofnChemical Information and Modeling*, 53(8), 1934–1945
- Emig D, Ivliev A, Pustovalova O ve diğerleri, 2013, Drug Target Prediction and Repositioning Using an Integrated Network-based Approach, *PLoS ONE*, 8(4), e60618
- Eriksson A, Österroos A, Hassan S ve diğerleri, 2015, Drug Screen in Patient Cells Suggests Quinacrine to be Repositioned for Treatment of Acute Myeloid Leukemia, *Blood Cancer J*, 5:e307
- Eshini Perera, Neiraja Gnaneswaran, Ross Jennens, Rodney Sinclair, 2014, Malignant Melanoma, *Healthcare*, 2, 1-19
- Evangelista, W., Weir, R. L., Ellingson, S. R., Harris, J. B., Kapoor, K., Smith, J. C., Baudry, J, 2016, Ensemble-Based Docking: From Hit Discovery to Metabolism and Toxicity Predictions, *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 24(20), 4928–4935
- Fakhouri, L., El-Elimat, T., Hurst, D. P., Reggio, P. H., Pearce, C. J., Oberlies, N. H., Croatt, M. P., 2015, Isolation, Semisynthesis, Covalent Docking and Transforming Growth Factor Beta-Activated Kinase 1 (TAK1)-Inhibitory Activities of (5Z)-7-oxozeaenol Analogues, *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 23(21), 6993–6999
- Feher, M, 2006, Consensus Scoring for Protein–Ligand Interactions, *Drug Discovery Today*, 11(9)

- Feher, M., Williams, C. I, 2012, Numerical Errors and Chaotic Behavior in Docking Simulations, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 52(3), 724–738
- Fernando D. Prieto-Martínez, Marcelino Arciniega, José L. Medina-Franco, 2018, Molecular Docking: Current Advances and Challenges, *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 21, 65-87
- Ferreira, L. G., Dos Santos, R. N., Oliva, G., Andricopulo, A. D, 2015, Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies, *Molecules*, Vol. 20
- Fields JD, Bhardwaj A, 2009, Non-Peptide Arginine-Vasopressin Antagonists (vaptans) for The Treatment of Hyponatremia in Neurocritical Care: A New Alternative?, *Neurocrit Care*, 11, 1-4
- Fischer, B., Merlitz, H., & Wenzel, W, 2008, Receptor Flexibility for Large-Scale in Silico Ligand Screens: Chances and Challenges, *Methods in Molecular Biology*, 443, 353–364
- Forli, S., Huey, R., Pique, M. E., Sanner, M. F., Goodsell, D. S., & Olson, A. J, 2016, Computational Protein-Ligand Docking and Virtual Drug Screening with The AutoDock Suite, *Nature Protocols*, 11(5), 905–919
- Francis Gaudreault, Louis-Philippe Morency, Rafael J. Najmanovich, 2015, NRGsuite: A PyMOL Plugin to Perform Docking Simulations In Real Time Using FlexAID, *Bioinformatics*, 31(23), 3856–3858
- Fukuoka Y, Takei D, Ogawa H., 2013, A Two-step Drug Repositioning Method Based on A Protein-protein Interaction Network of Genes Shared by Two Diseases and The Similarity of Drugs, *Bioinformation*, 9(2), 89
- Gov E., Arga K.Y., 2016, Interactive Cooperation and Hierarchical Operation of MicroRNA and Transcription Factor Crosstalk in Human Transcriptional Regulatory Network, *IET Systems Biology*, 10 (6), 219-228
- Grebner, C., Iegre, J., Ulander, J., Edman, K., Hogner, A., & Tyrchan, C, 2016, Binding Mode and Induced Fit Predictions for Prospective Computational Drug Design, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 56(4), 774–787

- Gupta, S.C. ve diğerleri, 2013, Cancer Drug Discovery by Repurposing: Teaching New Tricks to Old Dogs, *Trends Pharmacol Sci*, 34(9), 508-17
- Haberthür, U, Caflisch, A., 2008, FACTS: Fast Analytical Continuum Treatment of Solvation, *Journal of Computational Chemistry*, 29, 701–715
- Halperin, I., Ma, B., Wolfson, H., Nussinov, R, 2002, Principles of Docking: An Overview of Search Algorithms and A guide to Scoring Functions, *Proteins: Structure, Function and Genetics*, 47(4), 409–443
- Hamosh A, Scott AF, Amberger JS, Bocchini CA, McKusick VA, 2005, Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), A Knowledgebase of Human Genes and Genetic Disorders, *Nucleic Acids Res.*, 33, 514-517
- Hanqing Xue, Jie Li, Haozhe Xie, Yadong Wang, 2018, Review of Drug Repositioning Approaches and Resources, *International Journal of Biological Sciences*, 14(10), 1232-1244
- Helen M. Berman, 2012, Creating A Community Resource For Protein Science, *The Protein Society*, 21, 1587—1596
- Henriksen, K., C. Christiansen, M.A. Karsdal, 2011, Serological Biochemical Markers of Surrogate Efficacy and Safety as A Novel Approach to Drug Repositioning, *Drug Discov Today*, 16(21-22), 967-75
- Huang, S.-Y, Grinter, S. Z., Zou, X, 2010, Scoring Functions and Their Evaluation Methods for Protein–Ligand Docking: Recent Advances and Future Directions, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 12(40), 12899–12908
- Huang, S. Y., Zou, X, 2007, Ensemble Docking of Multiple Protein Structures: Considering Protein Structural Variations in Molecular Docking, *Proteins: Structure, Function and Genetics*, 66(2), 399–421
- Irene C. Waizenegger, Anke Baum, Steffen Steurer, Heinz Stadtmüller, Gerd Bader, Otmar Schaaf, Pilar Garin-Chesa, Andreas Schlattl, Norbert Schweifer, Christian Haslinger, Florian Colbatzky, Sien Mousa, Arno Kalkuhl, Norbert Kraut, Gunther R. Adolf, 2016, A Novel RAF Kinase Inhibitor with DFG-Out– Binding Mode: High

Efficacy in BRAF-Mutant Tumor Xenograft Models in the Absence of Normal Tissue Hyperproliferation, *Molecular Cancer Therapeutics*, 15(3)

Irizarry, R. A., Hobbs, B., Collin, F., Beazer-Barclay, Y. D., Antonellis, K. J., Scherf, U., Speed T. P., 2003, Exploration, Normalization, and Summaries of High-density Oligonucleotide Array Probe level data, *Biostatistics*, 4(2), 249-264

Ishchenko, A. V, & Shakhnovich, E. I, 2002, Small Molecule Growth 2001 (SMoG2001): An Improved Knowledge-Based Scoring Function for Protein-Ligand Interactions, *Journal of Medicinal Chemistry*, 45(13), 2770–2780

Joel T. Dudley, Tarangini Deshpande, Atul J. Butte, 2011, Exploiting Drug Disease Relationships for Computational Drug Repositioning, *Briefings in Bioinformatics*, 12, 303-311

John S. Tokarski, John A. Newitt, Chieh Ying J. Chang, Janet D. Cheng, Michael Wittekind, Susan E. Kiefer, Kevin Kish, Francis Y.F. Lee, Robert Borzilleri, Louis J. Lombardo, Dianlin Xie, Yaqun Zhang, Herbert E. Klei, 2006, The Structure of Dasatinib (BMS-354825) Bound to Activated ABL Kinase Domain Elucidates Its Inhibitory Activity against Imatinib-Resistant ABL Mutants, *American Association for Cancer Research*, 66 (11)

Joong Sup Shim, Jun O. Liu, 2014, Recent Advances in Drug Repositioning for the Discovery of New Anticancer Drugs, *Int J Biol Sci.*, 10(7), 654–663

Karagoz K., Sinha R., Arga K.Y, 2015, Triple Negative Breast Cancer: A Multi-Omics Network Discovery Strategy for Candidate Targets and Driving Pathways, *Omics: A Journal of Integrative Biology*, 19(2), 115-130

King, A. M., & Aaron, C. K, 2015, Organophosphate and Carbamate Poisoning, *Emergency Medicine Clinics of North America*

Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J. R., & Bajorath, J, 2004, Docking and Scoring in Virtual Screening for Drug Discovery: Methods and Applications, *Nat Rev Drug Discov*, 3(11), 935–949

Kolesnikov N, Hastings E, Keays M ve diğerleri, 2015, Array-Express Update-Simplifying Data Submissions, *Nucleic Acids Res.*, 43, 1113–1116

- Korb, O., Olsson, T. S. G., Bowden, S. J., Hall, R. J., Verdonk, M. L., Liebeschuetz, J. W., & Cole, J. C, 2012, Potential and Limitations of Ensemble Docking, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 52, 1262–1274
- Korb, O., Stützle, T., Exner, T. E, 2009, Empirical Scoring Functions for Advanced Protein-Ligand Docking with PLANTS, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 49(1), 84–96
- Kori M., Gov E., Arga K.Y., 2016, Molecular Signatures of Ovarian Diseases: Insights from Network Medicine Perspective, *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 62(4), 266-282
- Köhler S, Bauer S, Horn D, Robinson PN, 2008, Walking the Interactome for Prioritization of Candidate Disease Genes, *Am J Hum Genet*, 82(4), 949-58
- Kumalo, H. M., Bhakat, S., Soliman, M. E. S, 2015, Theory and Applications of Covalent Docking in Drug Discovery: Merits and Pitfalls, *Molecules*, 20(2), 1984–2000
- Kumar, A., Zhang, K. Y. J, 2013, Investigation on The Effect of Key Water Molecules on Docking Performance in CSARdock Exercise, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(8), 1880–1892
- Kuter DJ, 2007, New Thrombopoietic Growth Factors, *Blood*, 109, 4607-16
- Lee JY, Shin JY, Kim HS ve diğerleri, 2012, Effect of Combined Treatment With Progesterone and Tamoxifen on The Growth and Apoptosis of Human Ovarian Cancer Cells, *Oncol Rep.*, 27, 87-93
- Lee S, Kim D, Lee K, Choi J, Kim S, Jeon M ve diğerleri, 2016, BEST: Next-Generation Biomedical Entity Search Tool for Knowledge Discovery From Biomedical Literature, *PloS one*, 11, e0164680
- Lemmon, G., Meiler, J., 2013, Towards Ligand Docking Including Explicit Interface Water Molecules, *PLoS ONE*, 8(6), e67536
- Li, A., Sun, H., Du, L., Wu, X., Cao, J., You, Q., & Li, Y., 2014, Discovery of Novel Covalent Proteasome Inhibitors Through A Combination of Pharmacophore

Screening, Covalent Docking, and Molecular Dynamics Simulations, *Journal of Molecular Modeling*, 20(11), 2515

Lie, M. A., Thomsen, R., Pedersen, C. N. S., Schiøtt, B., & Christensen, M. H, 2011, Molecular Docking with Ligand Attached Water Molecules, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 51(4), 909–917

Lill, M. A, 2007, Multi-Dimensional QSAR in Drug Discovery, *Drug Discovery Today*

London, N., Farelli, J. D., Brown, S. D., Liu, C., Huang, H., Korczynska, M., Al-Obaidi, N. F., Babbitt, P. C., Almo, S. C., Allen, K. N., Shoichet, B. K, 2015, Covalent Docking Predicts Substrates for Haloalkanoate Dehalogenase Superfamily Phosphatases, *Biochemistry*, 54(2), 528–537

Lu J, Chen L, Yin J ve diğerleri, 2016, Identification of New Candidate Drugs for Lung Cancer Using Chemical–chemical Interactions, Chemical–Protein Interactions and A K-means Clustering Algorithm, *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 34(4), 906-917

Luo H, Wang J, Li M ve diğerleri, 2016, Drug Repositioning Based on Comprehensive Similarity Measures and Bi-Random Walk Algorithm, *Bioinformatics*, 32, 2664-71

Luo H, Zhang P, Huang H ve diğerleri, 2014, DDI-CPI, A Server that Predicts Drug–drug Interactions Through Implementing The Chemical–protein Interactome, *Nucleic Acids Research*, 42, 46-52

Maciukiewicz M, Marshe V S, Hauschild A C. Ve diğerleri, 2018, GWAS-based Machine Learning Approach to Predict Duloxetine Response in Major Depressive Disorder, *Journal of Psychiatric Research*

Marta Terron Cuadrado, 2018, WHO ATC Classification System (Anatomical Therapeutic Chemical Classification)

Mary K. Tripp, Meg Watson, Sophie J. Balk, Susan M. Swetter, Jeffrey E. Gershenwald, 2016, State of the Science on Prevention and Screening to Reduce Melanoma Incidence and Mortality: The Time is Now, *CA Cancer J Clin.*, 66(6), 460–480

- Marzaro, G., Guiotto, A., Borgatti, M., Finotti, A., Gambari, R., Breveglieri, G., Chilin, A, 2013, Psoralen Derivatives Asinhibitors of NF- κ B/DNA Interaction: Synthesis, Molecular modeling, 3D-QSAR, and Biological Evaluation, *Journal of Medicinal Chemistry*, 56(5), 1830–1842
- Mathias Cobbaut, Rita Derua, Heike Döppler, Hua Jane Lou, Sandy Vandoninck, Peter Storz, Benjamin E Turk, Thomas Seufferlein, Etienne Waelkens, Veerle Janssens, Johan Van Lint, 2017, Differential Regulation of PKD Isoforms In Oxidative Stress Conditions Through Phosphorylation of A Conserved Tyr in The P+1 Loop, *Scientific Reports*, 7(1), 887
- McBride WG, 1977, Thalidomide Embryopathy, *Teratology*, 16:79, 82
- McPherson A., 1999, Crystallization of Biological Macromolecules, *Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor, NY*
- Meng, X.-Y., Zhang, H.-X., Mezei, M., Cui, M, 2011, Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-based Drug Discovery, *Current Computer-Aided Drug Design*, 7(2), 146–57
- Mewes HW, Hani J, Pfeiffer F, Frishman D, 1998, MIPS: A Database for Protein Sequences and Complete Genomes, *Nucleic Acids Res.*, 26, 33-37
- Mimoto MS, Oyler JL, Davis AM, 2018, Evaluation and Treatment of Hirsutism in Premenopausal Women, *JAMA Published online*
- Mirza S. Baig, Anjali Roy, Uzma Saqib, Sajjan Rajpoot, Mansi Srivastava, Adnan Naim, Dongfang Liu, Rohit Saluja, Syed M. Faisal, Qiuwei Pan, Kati Turkowski, Gajanan N. Darwekar & Rajkumar Savai, 2018, Repurposing Thioridazine (TDZ) as An anti-Inflammatory Agent, *Scientific Reports*, 8
- Morris, G. M., Lim-Wilby, M., 2008, Molecular Docking, *In Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 443, 365–382
- Mudunuri U., Che A., Yi M., Stephens R.M., 2009, BioDBnet: The Biological Database Network, *Bioinformatics*, 25, 555–556

- Muegge, I, 2000, A Knowledge-Based Scoring Function for Protein Ligand Interactions: Probing The Reference State, *In Perspectives in Drug Discovery and Design*, Vol. 20, 99–114
- Mullen J, Cockell S J, Tipney H ve diğerleri, Mining Integrated Semantic Networks for Drug Repositioning Opportunities, *PeerJ*, 2016, 4, 1558
- Mullen J, Cockell S J, Woollard P ve diğerleri, 2016, An Integrated Data Driven Approach to Drug Repositioning Using Gene-Disease Associations, *PloS One*, 11(5)
- Murray, C. W., Auton, T. R., & Eldridge, M. D, 1998, Empirical Scoring Functions. II. The Testing of An Empirical Scoring Function for The Prediction of Ligand-Receptor Binding Affinities and The Use of Bayesian Regression to Improve The Quality of The Model, *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 12(5), 503–19
- Naama Kanarek, Heather R. Keys, Jason R. Cantor, Caroline A. Lewis, Sze Ham Chan, Tenzin Kunchok, Monther Abu-Remaileh Elizaveta Freinkman, Lawrence D. Schweitzer, David M. Sabatini, 2018, Histidine Catabolism is A Major Determinant of Methotrexate Sensitivity, *Nature*, 559(7715), 632–636
- Nagaraj A B, Wang Q Q, Joseph P. ve diğerleri, 2018, Using A Novel Computational Drug-repositioning Approach (DrugPredict) to Rapidly Identify Potent Drug Candidates for Cancer Treatment, *Oncogene*, 37(3), 403
- Nataraj S. Pagadala, Khajamohiddin Syed, Jack Tuszynski 2017, Software for Molecular Docking: A Review, *Sprinder*, 9(2), 91–102
- Novac, Natalia, 2013, Challenges and Opportunities of Drug Repositioning, *Trends in Pharmacological Sciences*, 34(5), 267-272
- Oferkin, I. V., Katkova, E. V., Sulimov, A. V., Kutov, D. C., Sobolev, S. I., Voevodin, V. V., & Sulimov, V. B, 2015, Evaluation of Docking Target Functions by the Comprehensive Investigation of Protein-Ligand Energy Minima, *Advances in Bioinformatics*, 1–12
- Ogata H, Goto S, Sato K, Fujibuchi W, Bono H, Kanehisa M, 1999, KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, *Nucleic Acids Res.*, 27, 29-34

- Oprea TI, Bauman JE, Bologa CG ve diğerleri, 2011, Drug Repurposing from an Academic Perspective, *Drug Discov Today Ther Strateg*, 8(3-4), 61-69
- Papanikolaou N, Pavlopoulos GA, Theodosiou T, Vizirianakis IS, Iliopoulos I, 2016, DrugQuest - A Text Mining Workflow for Drug Association Discovery, *BMC Bioinformatics*, 17 (5), 182
- Parikh, H. I., Kellogg, G. E., 2014, Intuitive, but not Simple: Including Explicit Water Molecules in Protein-Protein Docking Simulations Improves Model Quality, *Proteins: Structure, Function and Bioinformatics*, 82(6), 916–932
- Pason, L. P., Sotriffer, C. A., 2016, Empirical Scoring Functions for Affinity Prediction of Protein-ligand Complexes, *Molecular Informatics*, 35(11–12), 541–548
- Perola, E., Walters, W. P., Charifson, P. S., 2004, A detailed comparison of Current Docking and Scoring Methods on Systems of Pharmaceutical Relevanc, *Proteins: Structure, Function and Genetics*, 56(2), 235–249
- Plewczynski, D., Łażniewski, M., Grotthuss, M. Von, Rychlewski, ML., Ginalski, K., 2011, VoteDock: Consensus Docking Method for Prediction of Protein-Ligand Interactions, *Journal of Computational Chemistry*, 32(4), 568–581
- Ramírez, D., Caballero, J., 2016, Is it Reliable to Use Common Molecular Docking Methods for Comparing the Binding Affinities of Enantiomer Pairs for Their Protein Target?, *International Journal of Molecular Sciences*, 17(4), 1–15
- Rebecca L. Siegel, Kimberly D. Miller, Ahmedin Jemal, 2020, Cancer Statistics, CA: *A Cancer Journal for Clinicians*, 70, 7-30
- Roberts, B. C., Mancera, R. L., 2008, Ligand-Protein Docking with Water Molecules, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 48(2), 397–408
- Roin BN, 2008, Unpatentable Drugs and The Standards of Patentability, *Tex L Rev.*, 87, 503
- Rolf Apweiler, Amos Bairoch, Cathy H. Wu, Winona C. Barker, Brigitte Boeckmann, Serenella Ferro, Elisabeth Gasteiger, Hongzhan Huang, Rodrigo Lopez, Michele Magrane, Maria J. Martin, Darren A. Natale, Claire O'Donovan, Nicole Redaschi, Lai-

- Su L. Yeh, 2004, UniProt: The Universal Protein Knowledgebase, *Nucleic Acids Research*, 32, 115-119
- Rosner B., 2010, A Review of Fundamentals of Biostatistics, *Journal of Biopharmaceutical Statistics*, 11, 1046-1048
- Ross, G. A., Morris, G. M., & Biggin, P. C, 2012, Rapid and Accurate Prediction and Scoring of Water Molecules in Protein Binding Sites, *PLoS ONE*, 7(3), e32036
- Ross M K, Yoon J, Van Der Schaar A. ve diğerleri, 2018, Discovering Pediatric Asthma Phenotypes on The Basis of Response to Controller Medication Using Machine Learning, *Annals of the American Thoracic Society*, 15(1), 49-58
- Samanta, P. N., Das, K. K, 2017, Inhibition Activities of Catechol Diether Based Non-Nucleoside Inhibitors Against The HIV Reverse Transcriptase Variants: Insights from Molecular Docking and ONIOM Calculations, *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 75, 294–305
- Sant'anna R, Gallego P, Robinson LZ ve diğerleri, 2016, Repositioning Tolcapone as A Potent Inhibitor of Transthyretin Amyloidogenesis and Associated Cellular Toxicity, *Nat Commun*, 7, 10787
- Sardana D, Zhu C, Zhang M, Gudivada RC, Yang L, Jegga AG, 2011, Drug Repositioning for Orphan Diseases, *Brief Bioinformatics*, 12, 346-56
- Schröder, J., Klinger, A., Oellien, F., Marhöfer, R. J., Duszenko, M., & Selzer, P. M., 2013, Docking-Based Virtual Screening of Covalently Binding Ligands: An Orthogonal Lead Discovery Approach, *Journal of Medicinal Chemistry*, 56(4), 1478–1490
- Seiler KP, George GA, Happ MP ve diğerleri, 2008, ChemBank: A Small-Molecule Screening and Cheminformatics Resource Database, *Nucleic Acids Res.*, 6, 351-359
- Selby P, Buick RN, Tannock I, 1983, A Critical Appraisal of The "Human Tumor Stem-Cell Assay", *N Engl J Med*, 308, 129-34
- Sertkaya A., A. Birkenbach, A. Berlind, J. Eyraud, 2014, Examination of Clinical Trial Costs and Barriers for Drug Development, 1, 1-92

Shah ET, Upadhyaya A, Philp LK ve diğerleri, 2016, Repositioning "Old" Drugs for New Causes: Identifying New Inhibitors of Prostate Cancer Cell Migration and Invasion, *Clin Exp Metastasis*, 33, 385-99

Sonia Wrobel, Małgorzata Przybyło, Ewa Stepień, 2019, The Clinical Trial Landscape for Melanoma Therapies, *Journal of Clinical Medicine*, 8, 368

Sridhar, A., Ross, G. A., Biggin, P. C., Ward, S., Pardo, L., & Mortenson, P, 2017, Waterdock 2.0: Water Placement Prediction for Holostructures with A Pymol Plugin, *PLOS ONE*, 12(2), e0172743

Subelj L, Bajec M, 2011, Unfolding Communities in Large Complex Networks: Combining Defensive and Offensive Label Propagation for Core Extraction, *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys*, 83, 036103

Sulimov, A. V., Kutov, D. C., Katkova, E. V., Ilin, I. S., & Sulimov, V. B, 2017, New Generation of Docking Programs: Supercomputer Validation of Force Fields and Quantum-Chemical Methods for Docking, *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 78, 139–147

Swinney DC, Anthony J, 2011, How were new medicines discovered?, *Nat Rev Drug Discov.*, 10, 507-19

Takla Griss, Emma E. Vincent, Robert Egnatchik, Jocelyn Chen, Eric H. Ma, Brandon Faubert, Benoit Viollet, Ralph J. DeBerardinis, Russell G. Jones, 2015, Metformin Antagonizes Cancer Cell Proliferation by Suppressing Mitochondrial-Dependent Biosynthesis, *Plos Biology*, 13(12)

T. N. Bhat, Philip Bourne, Zukang Feng, Gary Gilliland, Shri Jain, Veerasamy Ravichandran, Bohdan Schneider, Kata Schneider, Narmada Thanki, Helge Weissig, John Westbrook, Helen M. Berman, 2001, The PDB Data Uniformity Project, *Nucleic Acids Research*, 29, 214–218

Toledo Warshaviak, D., Golan, G., Borrelli, K. W., Zhu, K., & Kalid, O., 2014, Structure-Based Virtual Screening Approach for Discovery of Covalently Bound Ligands, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 54(7), 1941–1950

- Tuccinardi, T., Poli, G., Romboli, V., Giordano, A., & Martinelli, A, 2014, Extensive Consensus Docking Evaluation for Ligand Pose Prediction and Virtual Screening Studies, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 54(10), 2980–2986
- Turanli B., Gulfidan G., Arga K. Y., 2017, Transcriptomic-Guided Drug Repositioning Supported by A New Bioinformatics Search Tool: GeneXpharma, *Omics: A Journal of Integrative Biology*, 21(10), 584-591
- Uehara, S., & Tanaka, S., 2016, AutoDock-GIST: Incorporating Thermodynamics of Active-Site Water into Scoring Function for Accurate Protein-Ligand Docking, *Molecules*, 21(11)
- Vakser, I. A., 2014, Protein-Protein Docking: From Interaction to Interactome, *Biophysical Journal*, 107(8), 1785–1793
- Vanunu O, Magger O, Ruppin E, Shlomi T, Sharan R, 2010, Associating Genes and Protein Complexes with Disease Via Network Propagation, *PLoS Comput Biol.*, 6(1), 1000641
- Verdonk, M. L., Taylor, R. D., Chessari, G., & Murray, C. W, 2007, Illustration of Current Challenges in Molecular Docking, *In Structure-Based Drug Discovery*, 201–221
- Vilar, S., & Costanzi, S, 2013, Application of Monte Carlo-Based Receptor Ensemble Docking to Virtual Screening for GPCR Ligands, *Methods in Enzymology*, 522, 263–278
- Vreven, T., Moal, I. H., Vangone, A., Pierce, B. G., Kastiris, P. L., Torchala, M., Chaleil, R., Jiménez-García, B., Bates, P. A., Fernandez-Recio, J., Bonvin, A. M. M. J. J., Weng, Z, 2015, Updates to the Integrated Protein-Protein Interaction Benchmarks: Docking Benchmark Version 5 and Affinity Benchmark VersionM2, *Journal of Molecular Biology*, 427(19), 3031–3041
- Wagner A.H., Coffman A.C., Ainscough B.J., 2016, DGIdb 2.0: Mining Clinically Relevant Drug–Gene Interactions, *Nucleic Acids Res.*, 44, 1036–1044
- Wang, C., Bradley, P., Baker, D, 2007, Protein-Protein Docking with Backbone Flexibility, *Journal of Molecular Biology*, 373(2), 503–519

Wang, Z., Sun, H., Yao, X., Li, D., Xu, L., Li, Y., Xu, L., Li, Y., Tian, S., Hou, T, 2016, Comprehensive Evaluation of Ten Docking Programs on A Diverse Set of Protein-Ligand Complexes: The Prediction Accuracy of Sampling Power and Scoring Power, *Physical Chemistry Chemical Physics : PCCP*, 18, 12964–12975

Wang, Z.Y., H.Y., 2013, Zhang, Rational Drug Repositioning by Medical Genetics, *Nat Biotechnol*, 31(12), 1080-2

Wang Z.Y., Y. Quan, H.Y. Zhang, 2014, Medical Genetic Inspirations for Anticancer Drug Repurposing, *Trends Pharmacol Sci*, 35(1), 1-3

Warren, G. L., Do, T. D., Kelley, B. P., Nicholls, A., Warren, S. D, 2012, Essential Considerations for Using Protein-Ligand Structures in Drug Discovery, *Drug Discovery Today*, 17(23–24), 1270–1281

Waszkowycz, B., Clark, D. E., & Gancia, E, 2011, Outstanding challenges in Protein-Ligand Docking and Structurebased Virtual Screening, *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 1(2), 229–259

Wei G, Twomey D, Lamb J ve diğerleri, 2006, Gene Expression-Based Chemical Genomics Identifies Rapamycin As A Modulator of MCL1 and Glucocorticoid Resistance, *Cancer Cell*, 10(4), 331-342

Wishart DS, Feunang YD, Guo AC, Lo EJ, Marcu A, Grant JR, Sajed T, Johnson D, Li C, Sayeeda Z, Assempour N, Iynkkaran I, Liu Y, Maciejewski A, Gale N, Wilson A, Chin L, Cummings R, Le D, Pon A, Knox C, Wilson M, 2018, *Nucleic Acids Research*, 46, 1074–1082

Wishart DS, Knox C, Guo AC ve diğerleri, 2006, DrugBank: A Comprehensive Resource for in Silico Drug Discovery and Exploration, *Nucleic Acids Res.*, 34, 668-672

WEB1, <https://www.skincancer.org/skin-cancer-information/melanoma>

WEB2, Pharmaceutical Research and Manufacturers of America, http://www.phrma.org/sites/default/files/pdf/2015_phrma_profile.pdf.2015

WEB3, Drug development process, <https://www.fda.gov/Drugs/default.htm>

WEB4, PubMed: US National Library of Medicine National Institutes of Health,
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>

WEB 5, en.wikipedia.org

WEB 6, www.bioconductor.org

WEB 7, <http://cpdb.molgen.mpg.de/CPDB/tutorial#pathwaya.visconcepts>

WEB 8, <http://cpdb.molgen.mpg.de/>

WEB9, <https://en.m.wikipedia.org/wiki/KEGG>

Wu C, Gudivada RC, Aronow BJ, Jegga AG, 2013, Computational Drug Repositioning Through Heterogeneous Network Clustering, *BMC Syst Biol.*, 7,6

Xu, M., & Lill, M. A, 2013, Induced Fit Docking, and The Use of QM/ MM Methods in Docking, *Drug Discovery Today: Technologies*

Yan X Y, Zhang S W, Zhang S Y. ve diğerleri, 2016, Prediction of Drug–Target Interaction by Label Propagation with Mutual Interaction Information Derived from Heterogeneous Network, *Molecular BioSystems*, 12(2), 520-531

Yeu Y, Yoon Y, Park S, 2015, Protein Localization Vector Propagation: A Method for Improving the Accuracy of Drug Repositioning, *Molecular BioSystems*, 11(7), 2096-2102

Young-Woo Nam, Razan Orfali, Tingting Liu, Kunqian Yu, Meng Cui, Heike Wulff & Miao Zhang, 2017, Structural Insights Into The Potency of SK Channel Positive Modulators, *A Nature Research Journal*, 7(1), 17178

Yu H, Choo S, Park J ve diğerleri, 2016, Prediction of Drugs Having Opposite Effects on Disease Genes in A Directed Network BMC Systems Biology, *BioMed Central*, 10(1), 2

Yu L, Huang J, Ma Z, Zhang J, Zou Y, Gao L, 2015, Inferring Drug-Disease Associations Based on Known Protein Complexes, *BMC Med Genomics*, 8, 2.

Zhu Q, Tao C, Shen F ve diğerleri, 2014, Exploring The Pharmacogenomics Knowledge Base (pharmgkb) for Repositioning Breast Cancer Drugs by Leveraging

Web Ontology Language (OWL) and Cheminformatics Approaches, *Biocomputing*, 172-182

Zoete, V., Cuendet, M. A., Grosdidier, A., & Michielin, O, 2011, SwissParam: A Fast Force Field Generation Tool for Small Organicmolecules, *Journal of Computational Chemistry*, 32(11), 2359–2368

Zou, K. H., O'Malley, A. J., & Mauri, L, 2007, Receiver-Operating Characteristic Analysis for Evaluating Diagnostic Tests and Predictive Models, *Circulation*, 115(5), 654

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

ADI SOYADI: NEVİN BETÜL İMAT

UYRUĞU: T.C.

DOĞUM TARİHİ VE YERİ: 07 MAYIS 1993, İSTANBUL

Elektronik Posta: imatbetul@gmail.com

GSM: 05394727367

EĞİTİM

DERECE	ÜNİVERSİTE	FAKÜLTE	BÖLÜM	YIL
YÜKSEK LİSANS	İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ	LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ	NANOBİLİM VE NANOMÜHENDİSLİK	2017- 2021
LİSANS	YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ	FEN EDEBİYAT FAKÜLTESİ	KİMYA (%30 İNGİLİZCE)	2011- 2016
LİSE	MEHMET NİYAZİ ALTUĞ ANADOLU LİSESİ	-	FEN BÖLÜMÜ	2007- 2011

İŞ TECRÜBESİ

ERKUL KOZMETİK SAN. VE TİC. A.Ş. (GOLDEN ROSE): ARGE UZMANI,
ARALIK 2020-HALEN

SORA COSMETICS & ALIX AVIEN PARIS: ARGE ve ÜRGE UZMANI, OCAK
2019- ARALIK 2020

KARADENİZ KOZMETİK SAN.ve İNŞ. LTD. ŞTİ.: ARGE VE ÜRGE UZMANI,
KİMYAGER, MAYIS 2018-ARALIK 2019

STAJLAR

ATAKÖY İLERİ BİYOLOJİK ATIK SU ARITMA TESİSİ İSKİ, 2016

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ, 2014

YABANCI DİLLER

İngilizce orta düzeyde

BİLGİSAYAR BİLGİSİ

Microsoft Office paket programları

HOBİLER

Kendimi mutlu etmek için bol bol kitap okumak, tiyatroya gitmek, evde film seyretmek, seyahat etmek, kahve içmek, alışveriş yapmak