



T.C.
BATMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**EPSTEIN-BARR EBNA1 RESEPTÖRÜNÜN
DNA BAĞLANMA BÖLGESİNE
MOLEKÜLER YERLEŞTİRME İLE YENİ
İNİHİTÖR GELİŞTİRİLMESİ**

Yusuf ŞENSES

YÜKSEK LİSANS

Fen Bilimleri Anabilim Dalını

Ağustos-2019
BATMAN
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Yusuf ŞENES tarafından hazırlanan “Epstein-Barr Ebnal Reseptörünün DNA Bağlanma Bölgesine Moleküler Yerleştirme ile Yeni İnhibitör Geliştirilmesi” adlı tez çalışması 06/08/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS/DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri**İmza****Başkan**

Prof. Dr. Necmettin PİRİNÇÇİOĞLU

**Danışman**

Dr. Öğr. Üyesi Selami ERCAN

**Üye**

Dr. Öğr. Üyesi Ercan ÇINAR

Yukarıdaki sonucu onaylarım.



Prof. Dr. Şahnaz TİGREK
FBE Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.


Yusuf ŞENSES

06/08/2019

ÖZET

EPSTEIN-BARR EBNA1 RESEPTÖRÜNÜN DNA BAĞLANMA BÖLGESİNE MOLEKÜLER YERLEŞTİRME İLE YENİ İNHİBİTÖR GELİŞTİRİLMESİ

Yusuf ŞENSES

**Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı**

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Selami ERCAN

2019, 87 Sayfa

Jüri

Dr. Öğr. Üyesi Selami ERCAN
Prof. Dr. Necmettin PİRİNÇÇİOĞLU
Dr. Öğr. Üyesi Ercan ÇINAR

Herpesvirüs ailesine üye virüslerden biri olan Epstein-Barr virüsü (EBV) infeksiyöz mononükleaz, Burkitt lenfoması, Hodgkin lenfoması, nazofarınjiyel karsinoma ve gastrik karsinoma gibi hastalıklara yol açmaktadır. Epstein-Barr Nükleer Antijeni 1 (EBNA1) 641 amino asitten oluşan ve EBV tarafından kodlanan antijenlerden biridir. EBNA1 latent dönemde DNA replikasyonu, viral ve hücresel genlerin transkripsiyonu ve B-lenfositlerde önemli rol aldığından DNA ile etkileşiminin önlenmesi önemli bir ilaç geliştirme basamağı oluşturmaktadır. Bu çalışmada, ZINC15 ligand veritabanından 1600, literatürlerden seçilen 58 ve Schrodinger paket programında yer alan Breed programı ile tasarlanan 410 tane ligand, ilaç olma özellikleri bakımından filtrelelere tabi tutularak, ilaç olma özelliği olan toplam 1635 ligand Autodock4 programı ile EBNA1 proteinin DNA bağlanma bölgesine yerleştirildi. Çalışma sonucunda tasarlanmış olan ligandlardan B288 kodlu ligandın en iyi skoru (-10.74 kcal/mol) elde ettiği belirlendi. Ligand-protein etkileşimleri incelendiğinde ligandların DNA bağlanma bölgesinde yer alan kalıntılarla önemli etkileşimlerde bulunduğu gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı, Epstein-Barr Virüsü, Epstein-Barr Nükleer Antijeni 1, Moleküler Yerleştirme

ABSTRACT**DEVELOPMENT OF NEW INHIBITORS FOR EPSTEIN-BARR EBNA1
RECEPTOR DNA-BINDING DOMAIN BY MOLECULAR DOCKING****Yusuf ŞENSES****THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
BATMAN UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE / DOCTOR OF PHILOSOPHY
IN MECHANICAL ENGINEERING****Advisor: Title Unvanı Adı SOYADI****2019, 87 Pages****Jury****Asst. Prof. Selami ERCAN****Prof. Dr. Necmettin PİRİNÇÇİOĞLU****Asst. Prof. Ercan ÇINAR**

Epstein-Barr virus (EBV), a member of human herpesvirus, causes infectious mononucleosis, Burkitt's lymphoma, nasopharyngeal carcinoma, gastric carcinoma, and Hodgkin lymphomas. Epstein-Barr Nuclear Antigen 1 (EBNA1), one of antigens encoded by EBV, comprises of 641 amino acid residues. Among the latent infection EBNA1 acts in DNA replication, transcription of viral and cellular genes, and in immortalization of B-lymphocytes. These special roles of EBNA1 makes it an important drug target. In this study, we create a ligand set consist of totally 2068 ligands. 58 ligands were selected from literatures, while 1600 ligands downloaded from ZINC15 ligand database and 410 ligands designed by Breed, a software included in Schrodinger software suite. Autodock4 docking software was used for molecular docking process. By filtering ligands according to their druggabilities totally 1635 ligands successfully docked to EBNA1 crystal structure. Analyzes of docking results showed that B288 is the best scored ligand for DNA binding site of EBNA1. Totally 6 ligands scored less than -10.00 kcal/mol, where four of them were designed by Breed and 2 of them were from ZINC15 ligand database. It also has determined that residues located in DNA binding sites were involved in interactions with ligands.

Keywords: Computer Aided Drug Design Epstein-Barr Virus (EBV), Epstein-Barr Nuclear Antigen 1 (EBNA1), Molecular Docking

ÖNSÖZ

Bilimle uğraşmak çok meşakkatli ve fedakârca çalışma gerektirmektedir. Bunun en bariz örneği danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Selami ERCAN'ın mesai dışında da çalışmalarımızda göstermiş olduğu özveridir. Danışman hocama ve çoğu zaman ihmal ettiğim aileme desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Yusuf ŞENSES
BATMAN-2019

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	Error! Bookmark not defined.
TEZ BİLDİRİMİ	Error! Bookmark not defined.
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
1. GİRİŞ	1
1.1. Ebstein-Barr Virüsü	1
1.2. Ebstein-Barr Virüsünün Tarihi	1
1.3. Ebstein-Barr Virüsü Ailesi.....	3
1.4. Epstein-Barr Virüsünün Yapısı.....	5
1.5. EBV nin Enfeksiyon Mekanizması.....	7
1.6. Ebstein-Barr Virüsünün Antijenik Yapısı.....	8
1.7. EBV Latent Proteinlerinin Fonksiyonları	10
1.7.1. EBNA 1 (Epstein Barr Virüs Nüclear Antigen 1)	11
1.7.2. EBNA 2 (Epstein Barr Virüs Nüclear Antigen 2)	12
1.7.3.EBNA 3 (Epstein Barr Virüs Nüclear Antigen 3)	13
1.7.4.EBNA-LP (EBNA- Lider Proteini)	13
1.7.5.LMP1 (Latent Membran Protein 1)	13
1.7.6.LMP2 (Latent Membran Protein 2)	14
1.8. Virüsün Yol Açtığı Hastalıklar	14
1.9. Tedavi İçin Mevcut Kullanılan ilaçlar	14
2.BİLGİSAYAR DESTEKLİ İLAÇ TASARIM.....	15
2.1.Ligand Yerleştirme	16
3.KAYNAK ARAŞTIRMASI	17
4.MATERYAL VE YÖNTEM.....	24
4.1.Materyal	24
4.2.Yöntem.....	24
4.2.1.Ligand Kütüphanesinin Oluşturulması	24
4.2.2.Reseptör ve Ligandların Yerleştirme İşlemi için Hazırlanması.....	26
4.2.3.Yerleştirme İşlemleri	27
5.ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	28
6.SONUÇLAR VE ÖNERİLER	60
ÖZGEÇMİŞ	79

SİMGELER VE KISALTMALAR

SİMGELER

Π :Pi

σ :Sigma

KISALTMALAR

BL: Burkitt's Lenfoma

CMV: Csito Megola Virüs

CTAR1: C-Terminali Aktive Eden Bölgeler 1

CTAR2: C-Terminali Aktive Eden Bölgeler 2

CTL: Sitotostik Sitotostik T Lenfosit

EBNA1: Epstein-Barr Virüs Nülear Antigen 1

EBNA-LP: EBNA Lider Protein

EBV: Epstein – Barr Virüsü

HD: Hodgkin Hastalığı

IgA: İmmunglobülin A

IgG: İmmunglobülin G

IgM: İmmunglobülin M

IM: İnfeksiyöz Mononükleoz

JAK/STAT: Janus Kinas/ Sinyal Transdüserleri ve Transkripsiyon Aktivatörleri

JNK/AP1: C-Jun Terminal Kinazı

LMP: Latent Membran Proteinler

MHC: Majör Histo Compatibilityirilmiş Protein Kinazlar

P38 MAPK: p38 Mitojenle Aktifleş

PDB: Protein Veri Bankası

OriP: Origin of Replication

VZV: Varisella Zoster Virüs

1. GİRİŞ

Yaygın görülen hastalıklara neden olması bakımından Herpes virüsler önemli virüs aileleri arasında yer alırlar. Epstein-Barr Virüsü (EBV); birçok onkolojik hastalığın patogeneğinde rol oynayan, Herpes virüsler ailesinin bir üyesidir. Birçok hastalığın yanında insanlarda kansere neden olan bu virüs, moleküler yapısı bakımından da ilginçtir. Geçmişte anlaşılması imkansız olduğu düşünülen birçok hastalığın tanısı teknoloji gelişmesine paralel olarak günümüzde mümkün olmaktadır (Tamer, 2006).

Epstein-Barr Virüsü (EBV) ile dünya popülasyonunun % 95'i yetişkinlik dönemine kadar karşılaştığı için yaygın ve önemli bir virüstür. Epstein-Barr Virus, kan ve eşyalarla, tükürük ve boğaz salgıları ile yakın etkileşimle bulaşan, gama herpes grubundan olan bir virüstür. EBV, çift sarmallı DNA virüsü olup, virüs genomunu içeren hücre devamlı üreme özelliği kazanmasına rağmen, ürettiği hücreye sitopatik etki yapmaz. EBV serokonversiyonu popülasyonun % 50'sinde ABD ve İngiltere'de beş yaşından önce oluşmaktadır. Yaşamın ikinci dekadında bu oran artmaktadır. Sosyal ve ekonomik düzeyi yüksek olan toplumlarda EBV antikör prevalansı daha düşüktür. Sosyal ve ekonomik durumu iyi olan toplumlarda adolesan dönemde hastalığın insidansı 45.2/100000/1 yıldır. Hafif bulaşıcı bir enfeksiyon olduğu kabul edilir ve epidemiler yapmaz.

1.1. Epstein-Barr Virüsü

Hemen her yaştaki insanları infekte etme potansiyeline sahip, EBV enfeksiyöz mononükleoz (İM) hastalığının etkenidir. Genellikle asemptomatik enfeksiyonlara yol açan ve tüm dünyada yaygın olarak görülen bir virüstür.

EBV genel olarak, organ nakli, kan ve tükürük yoluyla bulaşmaktadır. Sık kan aktarımı yapılan kişiler ve immün sistemi baskılayıcı tedavi gören kişiler, EBV yönünden risk grubu oluşturlar (Aslan, 2004).

1.2. Epstein-Barr Virüsünün Tarihi

Bazı virüslerin deneysel veya doğal koşullar altında hayvanlarda tümör oluşturma kabiliyeti 70 yıldan uzun bir süredir bilinmektedir (Henle, 1979).

İnfeksiyöz mononükleozun klinik tanısının olarak 1889'a kadar uzanmasına, ateş, boğaz ağrısı, nadiren hepatosplenomegalinin de olduğu karakteristik bulgularını, EBV son zamanlarda keşfedilmiş olmasına rağmen Emil Pfeiffer, 1889 yılında Drüsenfieberi (Glandular Fever) bildirmiştir (Akan,1994). 1908 gibi erken bir tarihte löseminin kümes hayvanlarında bir virüs tarafından bulaşabileceğini V. Ellerman ve Danimarka'daki Bang gösterdi ve Sarkomun tavuklarda da benzer şekilde bulaşabileceğini 1911'de Rockefeller Tıp Araştırmaları Enstitüsü'nden Peyton Rous gösterdi. O zamandan beri fare, kurbağa, köpek, tavşan, kobay, inek, kedi ve hatta bazı insan olmayan primatlarda tümör oluşturan virüslerin birçok örneği bulunduğu görülmüştür. Bu bulgular, insanın diğer hayvanları rahatsız eden doğal belalardan muaf olmayacağı varsayımına dayanarak, insanda benzer ajanların varlığı için yoğun bir araştırma yapılmasına neden olmuştur. İnsan kanserinde bir virüsün birincil adayı, Epstein-Barr virüsüdür (Henle, 1979). Sprunt ve Evans karakteristik mononükleer lökositleri tarif ederek hastalığı 1920 yılında adlandırmışlardır (Akan, 1994). İnfeksiyöz mononükleoz ile heterofil antikorların birlikteliğine, 1932 yılında Paul ve Bunnell dikkat çektiler (Miller,1992, Fleisher, 1991). Henle, EBV keşfinden 4 yıl sonra infeksiyöz mononükleozlu hastaların normal lenfositlere benzemeyen lenfositlerinin seri halinde kültürlerini yapmış, bu hücrelerin çok az bir kısmında EBV'un bulunduğunu tespit etmişlerdir (Aslan, 2004).

Bu virüsün hikayesi 1950'lerin sonlarında başlar, İngiliz bir cerrah olan Denis Burkitt Uganda'daki Makerere Üniversitesi'nde çalışan, daha sonra adını alacak olan sıradışı bir tümörle ilgili ilk vakasını görür. Hasta, lenfoma olduğunu kanıtlayan büyük çene tümöründen muzdarip olan genç bir çocuktur. Burkitt, tümörün, oldukça hızlı bir şekilde artış gösterdiğini, her 24 ila 48 saatte bir iki katına çıktığını gözlemler. Grotesk şekil bozukluğuna ve sonrasında vücudun diğer bölgelerine metastaz ile ölüme neden olur. Burkitt'e şaşırtıcı derecede kısa bir sürede çok sayıda genç hasta getirilir. Çenenin lenfoması en sık altı ila sekiz yaş arası çocuklarda görülür; 14 yaşından büyük çocuklarda nadir, bir yaşından küçüklerde ise bilinmemektedir. Tümörün dağılımı, aşıların kullanılmasından önce poliomyelit gibi çocukluktaki viral enfeksiyonları andırmaktadır. Burkitt, lenfoma hakkında epidemiyolojik kanıtlar toplamak için yalnızca Uganda'da değil Afrika'da da çalışır. Burkitt, hastaları, ikametleri, aileleri ve diğer hastalıkları hakkında veri topladı. Daha önce tarif edilmemiş olan bu kanserin etkileyici bir resmini, bu delillerden bir araya getirildi. Burkitt lenfoması, hala yılda 10.000 çocuk başına bir vaka oranı ile görülmekte ve Afrika'da en sık görülen çocukluk kanserlerinden biridir.

Sadece yıllık 60 santimetre³ daha fazla yağış ve 1.800 metreden daha az, 16 dereceden fazla ortalama sıcaklığa sahip bölgelerde görülür. Sıtma ve ve sarı humma gibi sivrisinekle ile bulaşan enfeksiyonların endemik olduğu bu bölgelere ek olarak yayılmıştır. Burkitt ayrıca, lenfomanın mevsimsel değişimlerden etkilendiğine ve bir bölgeden komşu bölgelere yayılabileceğine dair kanıtlar bulur. Bu bulgular 1958'de en azından böyle bir ajanın hastalıkta çöktürücü bir faktör olduğunu veya tümörün nedeninin sivrisinekle bulaşan bulaşıcı bir ajan olduğunu önermesini sağlamıştır (Henle, 1979).

Burkitt 1958 yılında ilk defa özellikle Orta ve Batı Afrika'da özellikle de çocuklarda görülen malign bir lenfomatöz hastalığı tarif etmiştir. Daha sonra “Burkitt Lenfoması” olarak bu hastalık adlandırılmıştır. Bu tümörlerin oranı Afrika'lı çocuklarda bulunan tümörlerin yaklaşık %50'sini oluşturmaktadır. Neoplazma çoğunlukla karın ve çenede lokalize olup patoloğlar tarafından yıldızlı gök görünüşü diye isimlendirilen karakteristik bir sitopatolojiye sahiptir. Bu hücreler büyük, olgunlaşmamış, primitif, az farklılaşmış, lenfoblastik hücrelerdir. Epidemiyolojik özellikler bulaşıcı bir etkenin bu hastalığa sebep olduğu düşündürmektedir (Akan, 1994).

Epstein, Achong ve Barr, Burkitt lenfomasından hazırlanan kültür hücrelerinin elektron mikroskopunda tetkikinde hücreleri bir kısmında herpes virusuna benzer bir virus bulunduğunu 1964 yılında bildirmişlerdir. Bu virüs sonradan “Epstein-Barr virus” olarak adlandırılmıştır (Akan, 1994).

1968 yılında; EBV'nin EM'nin etiyolojik ajanı olduğu, 1970 yılında; nazofarenks kanserli hastaların dokularında, 1980'lerde ise EBV-DNA'sının varlığı EBV'nin AIDS'li hastalarda oral saçlı hücreli lökoplaki ve non-Hodgkin lenfoma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Moleküler çalışmalar ve seroepidemiyolojik EBV'nin aynı zamanda oral skuamöz hücreli kanserler, gastrik karsinom, diğer lenfoid ve epitelyal tümörlerle de ilişkili olduğunu göstermiştir (Karadağ Geçgel, 2011).

1.3. Epstein-Barr Virüsü Ailesi

EBV, Gammaherpesvirinae ailesinin bir üyesi olan Herpesvirinae ailesindendir. Onkojenik virüsler sadece hastalık ve kanser etkeni olarak değil, model sistemler olarak da kanser araştırmalarında büyük önem taşıyan hücrede transformasyona eşlik eden

moleküler ve hücresel değişikliklerin anlaşılmasını sağlamaktadır. İnsan kanserleri ile ilişkili virüsler 4 ana grup altında incelenmektedir. Bu virüsler; Papova virüsler, Herpes virüsler, Hepadna virüsler ve Retrovirüsler'dir. Neoplazide hücresel onkogenlerin önemini RNA tümör virüsleri ile ilgili çalışmalar ortaya çıkarmıştır. DNA tümör virüslerinin hücresel tümör supresör genler için de önemli olduğu gösterilmiştir. Önemli virüs aileleri arasında yer alırlar Herpes virüsler, yaygın görülen hastalıklara neden olmaktadır. Herpes virüsler kapsidli, çekirdekte replike olan, zarflı DNA virüsleridir. Bu virüsler tüm omurgalıları enfekte edebilme yeteneğine sahiptir (Brooks G.F. ve ark., 1989).

Herpes virüsler; patojenite, doku tropizmi ve kültür koşullarındaki davranışlarına göre üç alt aileye ayrılırlar:

EBV (Epstein-Barr Virüs) bu gruba ait örnekler olarak gösterilebilir (Tablo 1.1.) (Tamer, 2006)

Tablo 1.1 Herpes virüslerin sınıflandırılması

ALT FAMİLYA	BİYOLOJİK ÖZELLİKLER			GENUS	ÖRNEKLER	
	Gelişim	Sitopatoloji	Latent Enfeksiyonlar		Resmi İsim	Genel İsim
Alphaherpesvirinae	Kısa	Sitolitik	Nöronlar	Simpleksvirüs	HHV-1 HHV-2	HHV-1 HHV-2
				Varisellavirüs	HHV-3	VZV
Betaherpesvirinae	Uzun	Sitomegalik	Böbrekler	Sitomegalovirüs	HHV-5	CMV
		Lenfo-proliferatif	Lenfoid Doku	Roseolavirüs	HHV-6 HHV-7	HHV-6 HHV-7
Gammaherpesvirinae	Değişken	Lenfo-proliferatif	Lenfoid Doku	Lenfokriptovirüs	HHV-4	EBV
				Radinovirüs	HHV-8	KS

Alfaherpesvirüsler (sitolitik): Replikasyon döngüsü hızlı, nörotropik, yaygın konak ve hücre yelpazesi olan virüslerdir. Kliniği genital Herpes olan HSV-2, kliniği oral Herpes

olan HSV-1, ve kliniği suçiçeği ve zona olan VZV (Varisella Zoster Virüs) bu grup altında yer almaktadır.

Betaherpesvirüsler (sitomegalik): Genom büyüklüğü ve yapısı farklı, glandüler hücreler ve/veya lenfoid doku hücrelerinden oluşan ve daha yavaş replike olan, hücre tutulum aralığı daha kısıtlı olan virüslerdir. Kliniği *Exanthema subitum* olan Roseola virüs, kliniği retinit olan CMV (sito megalovirüs) bu grubun üyeleridir.

Gammaherpesvirüsler(lenfoproliferatif): Alfaherpesvirüslere göre daha yavaş replike olan, lenfoid doku hücrelerinden oluşan ve hücre tutulum aralığı kısıtlı olan virüslerdir. Kliniği Kaposi's Sarkoma olan HHV-8 ve kliniği Lenfoma ve Mononükleoz olan EBV (Epstein-Barr Virüs) bu gruba ait örnekler olarak gösterilebilir (Tamer, 2006).

1.4. Epstein-Barr Virüsünün Yapısı

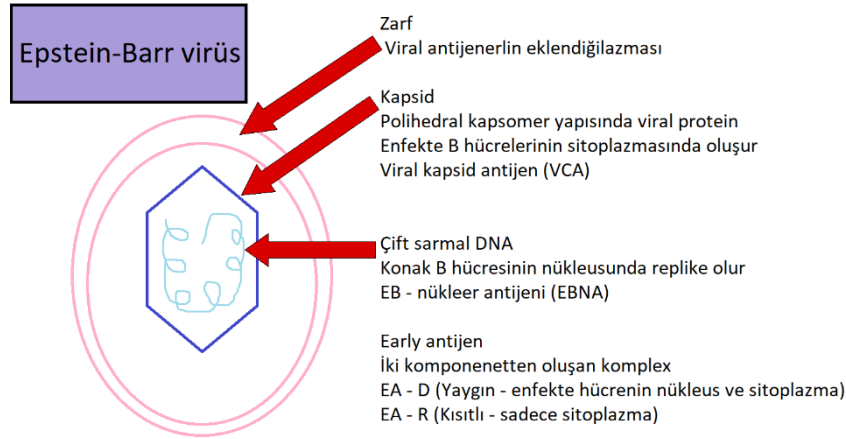
Herpes virüs grubuna ait olan Epstein-Barr virüsünün yapısı, genetik bilgiyi çift sicimli DNA formunda saklamaktadır. İnfeksiyöz virüs parçacığı üç bileşenden oluşur: yoğun şekilli viral DNA içeren bir çörek şeklinde merkezi çekirdek veya nükleoid; Şekli icosahedral olan ve kapsomer olarak adlandırılan oyuk, boru şeklindeki protein alt birimlerinden oluşan bir kapsid ve konakçı hücrenin nükleon zarından veya dış zarından türetilmiş bir koruyucu zarftır. Zarf, virüs parçacıklarının toplanması başlamadan önce, ana hücre zarında üretilen ve takılan bir dizi viral protein (antijen) içeriyor. Enfeksiyondan sonra, viral zarf duyarlı bir konakçı hücrenin dış zarıyla kaynaşır ve nükleokapsid (kapsid ve içindeki viral DNA) hücreye girer. Viral DNA ya baskı altında bir durumda kalır ya da yeni virüs parçacıklarının manevrasına ev sahibi enzimatik mekanizmaları yönlendirir (Henle, 1979).

EBV, Lympocryptovirüs genusunun bir üyesidir. Bu virüsler, Gammaherpesvirüs ailesiyle yakın ilişkili üyelerdir. Gen organizasyonu ve genomik yapı bakımından birbirleriyle aynı yapıdadır. EBV genomu yaklaşık 172 kb uzunluğunda çizgisel çift iplikçili DNA'dan oluşur ve EBV genom bölgeleri, genomun BamHI restriksiyon endonükleaz haritasındaki pozisyonuna bağlı olarak açıklanır (Tamer, 2006).

Virion yaklaşık 110 nm çapında geniş bir zarfa sahip ve ikosahedral simetride olup 162 kapsomerli bir kapsidi vardır. Kapsomerler yapı olarak Herpes virüslerinkine benzemektedir. Virüsün DNA'sı çift sarmallı olup 172.000 baz çiftine sahip olup, moleküler ağırlığı 1×10^8 dalton'dur. Virionun G+C oranı %59'dur. EBV Herpes simplex virusu (HSV)'nda olduğu gibi aynı sayı ve büyüklükte proteine sahiptir. Epstein-Barr virüsünün lenfoblastoid hücrelerine özel bir afinitesi vardır (Akan, 1994). Bazı hücrelerde EBV-DNA, konak hücreye ait kromozoma integre olur (Miller, 1992). Normal lenfoid hücrelerin kültürasyonunda uzun süre yaşayamamakta olup, epitel ve fibroblast hücrelerinde EBV'u üretme çabaları başarılı olamamıştır (Aslan, 2004).

Lenfoblastoid hücre serilerindeki her hücre, dairesel ekstrakromozomal viral DNA'nın birçok kopyası mevcuttur. Bu hücreler, 6 nükleer antijen içeren birçok latent protein taşımaktadır. Bunlar; EBNA 1, 2, 3a, 3b, 3c ve EBNA-LP proteinleridir. Ayrıca LMP 1, 2a ve 2b olmak üzere 3 adet latent membran protein içermektedir. Aynı zamanda viral genomun BamHI-A bölgesinden transkriptler tayin edilmiştir. Latent proteinlere ek olarak, LCL'ler bol miktarda kodlama yapmayan RNA'ların ekspresyonunu gerçekleştirirler. Bu transkriptlerin fonksiyonları tam olarak belli olmamakla birlikte, tüm latent EBV enfeksiyonlarında eksprese olduğuna ve tümörlerdeki EBV tayininde mükemmel rol oynadığına inanılmaktadır. Farklı EBNA'lar mRNA'lar tarafından kodlanarak, mRNA'lar aynı uzunluktaki primer transkriplerin farklı şekilde bölünmelerini oluşturur. Bu transkriptler, genomun BamHI-C ve W bölgelerinde birbirine yakın lokalize olan 2 promotorun (Cp veya Wp) birinden eksprese olurlar. B-hücre enfeksiyonunda Wp'den Cp'ye bir değişiklik oluşur. EBV genomunun BamHI-N bölgesinde sol yöne doğru LMP1, sağ yöne doğru LMP2B olmak üzere farklı promotorlardan LMP transkriptleri eksprese olur. Latent EBV gen ekspresyonunun bu paterni EBV enfeksiyonunun "Latency III (Lat III)" formu olarak adlandırılır. Bu lenfoblastoid hücre serileri ve birçok post-transplant lenfomalar için karakteristiktir (Murray ve Young, 2001). EBV latentliğinin en az iki başka formu daha gözlenmektedir. Lat I, Burkitt's Lenfoma (BL) için karakteristiktir. Bunda EBNA1, EBER'ler ve BamA transkriptleri görülmüştür. Lat II, EBV'ye bağlı Hodgkin Hastalığında (HD) ve farklılaşmamış Nazofarengeal Karsinoma'da (UNPC) gözlenir. EBER'ler, EBNA1 ve BamA transkriptleri LMP1 ve LMP2 ile birlikte eksprese olmaktadır. Lat I ve Lat II'de

EBNA1, Wp yada Cp yerine Qp promotorundan transkribe olmaktadır (Murray ve Young, 2001).

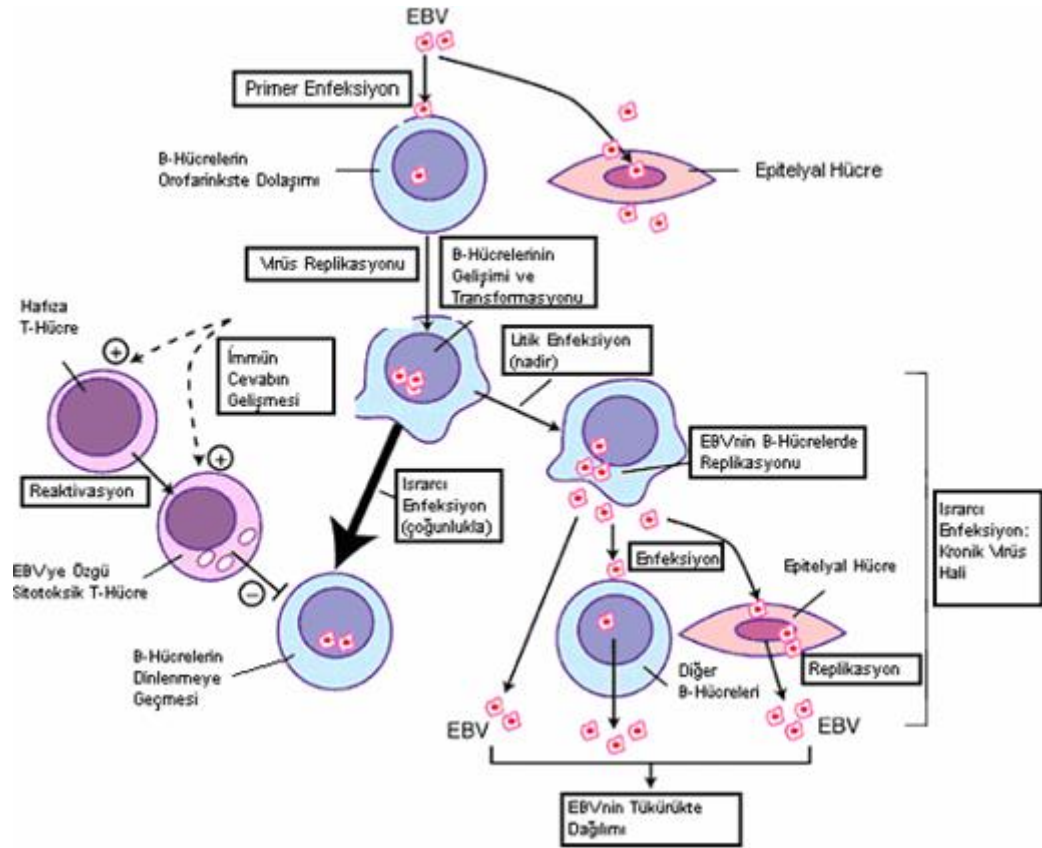


Şekil 1.1. Epstein-Barr Virüsünün yapısı (Murray ve Young, 2001).

1.5. EBV nin Enfeksiyon Mekanizması

Epstein Barr virüs, sağlıklı kişilere genellikle yakın temas; nadiren kan veya kontamine eşyalar, tükürük, boğaz salgısı ile bulaşır. Virüs olgularının, sağlıklı EBV seropozitif bireylerin ve immün sistemi baskılanmış hastaların oral sekresyonlarında bulunabilir (Karadağ Geçgel, 2011).

EBV önce virüsün replikasyonu, hücrenin lizisi ve viryon salımı burada gerçekleşere orofarinksin epitel hücrelerini enfekte eder,. Daha sonra nazofarenks ve tükürük bezleri ile hedef hücre olan larenksin lenfoid dokularında bulunan duyarlı B lenfositleri enfekte eder. Virüs genomu içeren hücre, devamlı üreme özelliği kazanmasına rağmen virüs ürettiği hücreye sitopatik etki yapmaz. B lenfositler için otokrin büyüme faktörünü stimüle eden ve apoptozisi engelleyen, konakçı hücrelerden sentezlenen yapılardır. Enfeksiyonla birlikte B lenfositler proliferasyon, stimülasyon ve sonrasında immünglobülin üretimi için aktive olmaktadır. Aynı zamanda IgM (İmmünglobülin M) başta olmak üzere IgA (İmmünglobülin G) ve IgG (İmmünglobülin G) sınıfı antikorlar sentezlenir. Hücresel immün ve humoral yanıt gelişmesine rağmen virüs konaktan elimine edilemez ve aynı zamanda enfekte B lenfositlerin içinde latent olarak kalır (Şekil 1.2) (Brady ve Ark., 2007).



Sekil 1.2 Sağlıklı Virüs Taşıyıcılarında Epstein-Barr (EBV) Enfeksiyonu (Murry and Young, 2001)

1.6. Epstein-Barr Virüsünün Antijenik Yapısı

Birçok antijeni bulunan EBV'nin, antijenlerinin hiç birisi diğer insan herpes virüs antijenleri ile cross-reaksiyon vermemektedir (Akan, 1994).

Üreme dönemlerine göre EBV antijenlerinin virüsleri başlıca 3 gruba ayırılır (Tablo 1.2) (Koç, 1997).

1. Latent Dönem Antijenleri: Virüsün latent olarak infekte ettiği hücrelerden sentezlenen antijenler, Epstein-Barr nükleer antijeni (EBNA) ve latent membran proteinleri (LMP)'dir. Bu antijenler infekte hücrenin membranlarında bulunarak, hücre membranının sitotoksik T-hücreleri için hedef olmasına neden olurlar.

2. Erken Dönem Antijenleri: Yapıları viral DNA replikasyonuna bağımlı olmayan ve yapısal olmayan proteinlerdir. Erken dönem antijenlerine kısaca (EA) da denilebilir. Bu virüslerin hücrede saptanmaları viral replikasyonun başlama aşamasında olduğunu göstermektedir (Koç, 1997). Viral kapsid antijene karşı oluşan IgG sınıfı antikorlarda

hızlı yükselerek birkaç haftada 1/160–1/2560 gibi yüksek titrelere ulaşır; akut enfeksiyon sonrası titresi azalarak ömür boyu devam etmektedir. Diffuz (D) veya restriktif (R) tip olarak tanımlanan EA karşı gelişen antikorlar immunfloresan boyalı preparatta antijen dağılım özelliği gösterir. Anti EA-D akut enfeksiyon başladıktan kısa süre sonra %70 – %80 hastada saptanabilir. Bu antikorlar kaybolurken bazı hastalarda yerini 1 - 4 yıl sürebilecek anti EA-R'ye bırakır. Anti-EA antikorlar immünyetmezlikli hastalarda reaktivasyon sırasında yeniden belirir; EBV ile ilişkili malign proseslerde ve kronik enfeksiyonda çok yüksek titrelerde bulunabilir (Arman, 2002).

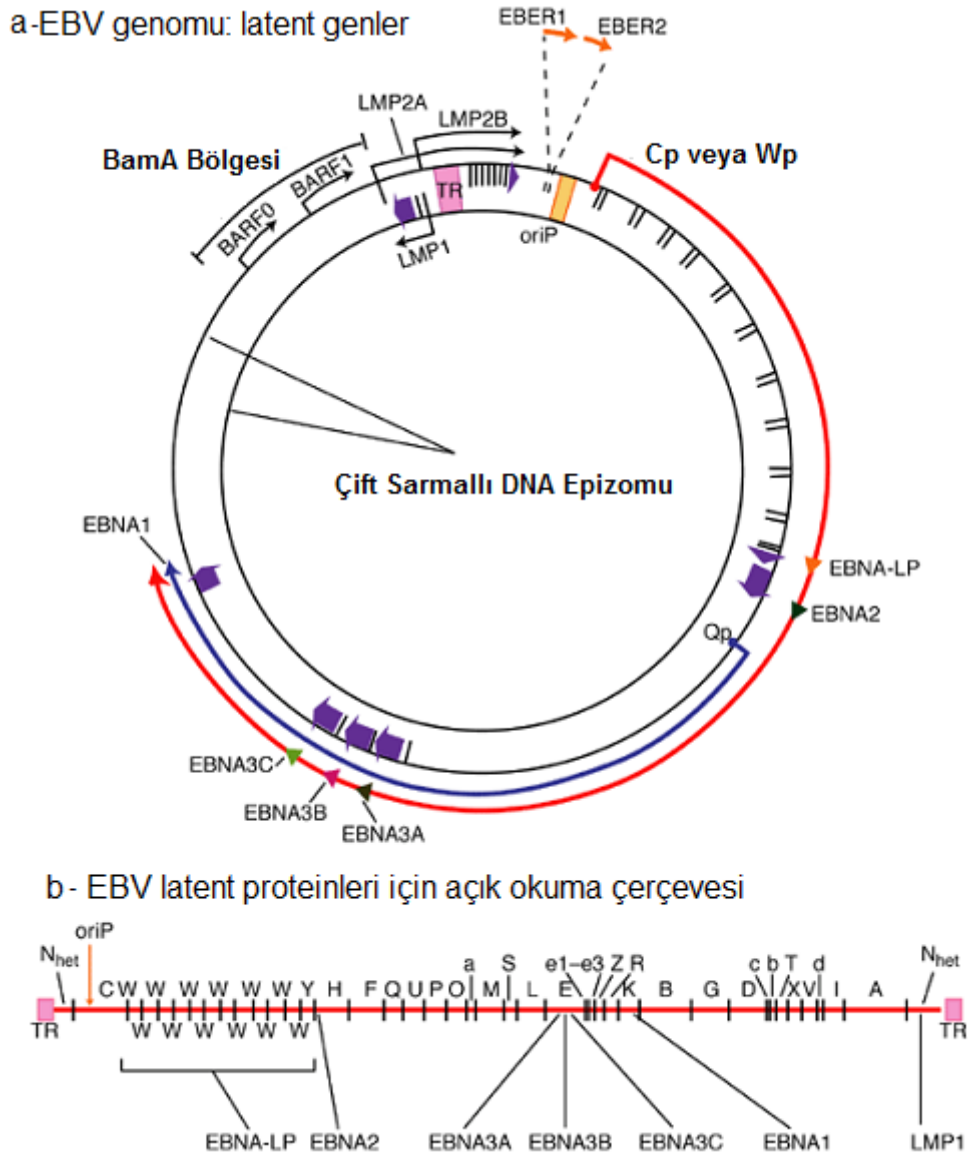
3. Geç Dönem Antijenleri: Viral kapsidin yapısal komponentleri olan bu antijenler, viral kapsid antijeni (VCA) ve membran antijeni (MA) adı verilir (Koç, 1997).

Tablo 1.2. EBV Antijenleri (Aslan, 2004)

İNFEKSİYON TİPİ	ANTİJEN KOMPLEKSİ	HÜCRESEL YERLEŞİMİ
LİTİK	Membran Antijen: MA(gb)	Hücre mebranı ve virus kılıfı
	Erken Antijen: EA-D	Nükleus ve sitoplazma
	Erken Antijen: EA-R	Sitoplazma
	Viral Kapsid Antijen: VCA	Nükleus ve sitoplazma
LATENT	EB nükleer Antijen: EBNA1	Nükleus
	EBNA2	Nükleus
	EBNA3(3a)	Nükleus
	EBNA3(3b)	Nükleus
	EBNA5(LP)	Nükleus
	EBNA6(3c)	Nükleus
	Latent Membran Protein: LMP1	Stoplazma ve membran
	Terminal Proteinler: LMP2A/B	Hücre Membarı

1.7. EBV Latent Proteinlerinin Fonksiyonları

EBV tarafından B-hücrelerinin transformasyonu, çeşitli latent gen ürünlerinin koordine hareketlerini içermektedir. Bu proteinlerin fonksiyonları daha fazla ilgi çekmeye başlaması, tümörlerdeki EBV gen ekspresyonunun sınırlandırılmış modellerinin ispatıyla başlamıştır (Murray ve Young, 2001).



Sekil 1.3. Epstein-Barr Virüs (EBV) genom haritası (Murray ve Young, 2001).

1.7.1. EBNA 1 (Epstein Barr Virüs Nüclear Antigen 1)

EBNA 1, DNA bağlayan, epizomal EBV genomunun korunumu ve replikasyonu için gerekli olan bir proteindir (Tamer, 2006). Bu fonksiyon, EBNA 1'in viral replikasyonun plazmid orijini olan "oriP"ye bağlanmasıyla kazanılmıştır. EBNA 1 aynı zamanda Qp'nin kendi ekspresyonunu ters yönde ayarlamak için aşağı doğru olan iki bölgesi ile etkileşir (Nonkwelo ve Ark., 1996). EBNA 1 transkripsiyonal bir transaktivatör olarak hareket ederek Cp ve LMP 1 (Latent Membran Protein 1) promotorunu regüle eder. EBNA1 proteini, farklı EBV izolatlarında farklı büyüklüğe sahip glisin-glisin-alanin (Gly-Gly-Ala) tekrar dizileri içerir (Sample ve Kieff, 1996). Bu tekrar alanı sınırlandırılmış MHC (Major Histocompatibility Complex) class I'in cis etkili inhibitörüdür ve antijen sürecini ubiquitin-proteozom kaskadı yolu ile inhibe ederek fonksiyonu açığa çıkarır. EBNA 1 oluşturan peptidlerdeki hata hedef hücrelerde eksprese olduğunda ineftif CD8+ T-hücrelerinin EBNA1 cevabı ile sonuçlanır. Yapılan bir çalışmada, transgenik farelerdeki B hücrelerinde EBNA1 ekspresyonu B-hücre proliferasyonu ile sonuçlandığı gösterilmiştir. Bu da onkogeneziste EBNA1'in direkt rolü olabileceğini öne sürmektedir. EBNA1 epizomal replikasyon ve viral genomun devamlılığı için gereklidir. Epstein-Barr Virüs ile enfekte olan tüm hücreler mutlaka EBNA-1 sentezler. Virüsün hücrede persistansı için EBNA-1 gereklidir ve EBNA-1 sentezlemeyen rekombinant virüsler, B lenfositleri ölümsüzleştiremezler. Latent EBV enfeksiyonunda enfekte hücrenin çekirdeğindeki tüm kromozom ile EBNA-1 ilişkilidir ve latent replikasyon orijini (Ori P) ve kromozomal proteinlerin her ikisinde birbirleri ile etkileşmeleri EBV epizomlarının yeni nesil hücrelere geçişini sağlar. Epstein-Barr Virüs nükleer antijen-1'in santral kısmı gly-ala tekrarlarından oluşur. Bu bölgeler immün sistemden kaçışta önemlidir. Bu tekrar bölgeleri, ubiquitin/proteasome antijen işleme yolunu inhibe ederek viral proteinlerin işlenmesini ve MHC Sınıf-1 aracılı sunumunu önler. Böylece EBV sitotoksik T lenfositlere (CTL) sunulamaz ve CTL'lerin cevabı engellenir. EBNA1 EBV latent gen ekspresyonunun düzenlenmesinde anahtar rol oynar ve EBV replikon plazmid replikasyonu için

gerekli olan tek viral bir proteindir. Ancak EBNA1'in proliferasyondan sorumlu transkripsiyon faktörlerini hangi mekanizmalarla artırdığı gizemini korumaktadır (Şen, 2015).

EBNA1, her türlü gecikme süresinde sürekli olarak eksprese edilen ve enfeksiyonlu hücrelerde hayatta kalmayı ve çoğalmayı teşvik eden tek viral proteindir. Özellikle, EBNA1, DNA replikasyonu için başlatma yeri olan plazmid replikasyonunun (OriP) EBV orijininde bulunan 18 baz çiftli (bp) palindromik tanıma bölgesine sekansa spesifik bir şekilde DNA'ya bağlanır. EBNA1 primer B-lenfositlerin ölümsüzleştirilmesi için gereklidir.

EBNA1, 641 amino asitlik bir proteindir ve çözeltide veya DNA'ya bağlı hem de kararlı bir dimer olduğu bildirilmiştir. EBNA1'in DNA bağlama ve dimerizasyon alanları EBNA1'in 459 ila 607 arasındaki kalıntıları içeren C terminal bölgesinde bulunur . EBNA1'in iki kristal yapısı, Protein Veri Bankasında (PDB) mevcuttur. VHI, EBNA1'in apo veya bağlanmamış yapısındadır ve 1B3T, 18 bp palindromik DNA tanıma sekansı ile birlikte kristalize olan EBNA1'e karşılık gelir (GGGAAGCAT ATGCTTCCC) (Gianti, 2017).

1.7.2. EBNA 2 (Epstein Barr Virüs Nüclear Antigen 2)

EBNA2, hem hücresel hem de viral genler için bir transkripsiyonel aktivatördür; LMP1 ve LMP2 kadar iyi bir şekilde CD21 ve CD23 içeren belirli B-hücre antijenlerinin ekspresyonunu regüle eder . EBNA2 aynı zamanda Cp promotorunu transaktive eder. Bunu B-hücre enfeksiyonunda erken dönemde gözlenen Wp'nin Cp'ye dönüşümünü indükleyerek gerçekleştirir. EBNA2, aynı zamanda bir çok yerde bulunan ve DNA bağlayan bir protein olan RBP-Jk ile etkilesir. Ayrıca c-myc onkogeni de EBNA2'nin transkripsiyonel hedefidir. Bu, EBV'nin indüklediği B-hücre proliferasyonunda önemli olan bir etkidir (Tamer, 2006)

1.7.3.EBNA 3 (Epstein Barr Virüs Nüclear Antigen 3)

Rekombinant EBV ile yapılan çalışmalar, in vitro B-hücre transformasyonunda EBNA3A ve EBNA3C gerekliyken, EBNA3B'nin zorunlu olmadığını göstermiştir. EBNA3C hem hücresel (CD 21) hem de viral (LMP1) gen ekspresyonunun regülasyonunu indükleyebilir ve Cp promotorunu baskı altında tutabilir. Transformasyonu desteklemek için retinoblastoma proteini pRb ile etkileşebilir. Transformasyon için zorunlu olmasına rağmen EBNA 3B, vimentin ve CD40'ın ekspresyonunu indüklemektedir. EBNA3 proteinleri RBP-Jk transkripsiyon faktörleriyle ilişkide bulunurlar ve RBPJk, aynı kökten gelen Jk dizileri ve EBNA2'ye bağlanmalarını transaktivasyona arabuluculuk eden EBNA2'yi baskılayarak aksatır.

Bundan dolayı EBNA2 ve EBNA3 proteinleri, RBP-Jk aktivitesini kesin olarak kontrol etmek amacıyla birlikte çalışırlar. Bunu aynı kökten gelen Jk dizileri içeren hücresel ve viral promotorların ekspresyonunu regüle ederek yaparlar. Son zamanlarda EBNA3C'nin, insan histon deasetilaz-1 ile etkileştiği gösterilmiştir. Bu enzim, Cp'nin RBP-Jk tarafından transkripsiyonel olarak baskılanmasına katkıda bulunmaktadır (Tamer, 2006).

1.7.4.EBNA-LP (EBNA- Lider Proteinini)

EBNA-LP, her bir EBNA mRNA'larının öncülleri tarafından kodlanır ve bir miktar EBV izolatu tarafından saklanan BamHIW tekrarlar miktarına dayanan değişik büyüklükte bir protein kodlar. EBNA-LP in vitro B-hücre transformasyonu için kesin olarak gerekli olmamasına rağmen lenfoblastoid hücre serilerinin verimli gelişebilmesi için gereklidir (Tamer, 2006).

1.7.5.LMP1 (Latent Membran Protein 1)

LMP1'in fonksiyonunda en az dört adet kaskad bulunmakta olup, bunlar NF-kB, JNK/AP-1, p38/MAPK ve JAK/STAT'dır. LMP'in C terminalinde en az iki aktive eden bölge bulunur. Bunlar CTAR1 ve CTAR2'dir (C-terminal'i aktive eden bölgeler 1 ve 2) (Tamer,2006).

1.7.6.LMP2 (Latent Membran Protein 2)

LMP'yi kodlayan gen iki farklı proteine sahiptir: LMP2A ve LMP2B. Bu proteinin yapıları aynıdır; her ikisi de 12 transmembran domeyne ve 27 aminoasitlik sitoplazmik C-terminusuna sahiptir. Ek olarak LMP2A 119 aminoasitlik sitoplazmik N-terminal domeynine sahiptir. LMP2A, latent olarak enfekte B-hücrelerinin plazma membranında parçalar halinde toplanır (Tamer, 2006).

1.8.Virüsün Yol Açtığı Hastalıklar

Epstein Barr Virüsünün neden olduğu hastalıklar, - İnfeksiyöz mononükleoz (Öpücük Hastalığı), Burkitt Lenfoması, Nazofarınjiyal Karsinoma, İmmün Yetersizlik Zemininde Lenfoproliferatif Hastalık, Hodgkin Hastalığı (HD) ve T-Hücre Lenfomalarıdır.

1.9.Tedavi İçin Mevcut Kullanılan ilaçlar

Herpes viruslar DNA virüsleridir ve 4 türdür.

- a) Herpes simpleks tip 1 ve tip 2
- b) Varisella zoster virusu
- c) Sitomegalovirus (CMV)
- d) Epstein-Barr virus (EBV)

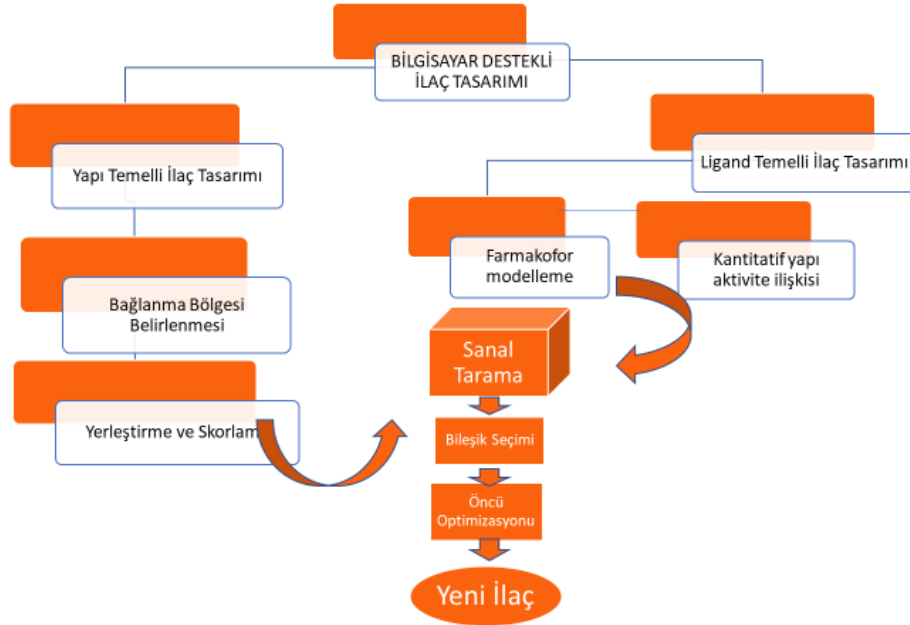
Bu viruslara etkili olan ilaçlar pürin ve pirimidin analoglarıdır. Tedavi için kullanılan ilaçlardan Asiklovir, viral DNA polimerazı inhibe eder, Valasiklovir vücutta asiklovire dönüşür. Herpes virusu ile infekte hücrelerde selektif biçimde fosforileolarak aktif formlarına dönerler. Virüsteki *timidin kinaz* ile önce *siklovirmonofosfat'a*, sonra; konağın hücresel kinazı ile *asiklovirtrifosfat'a* dönerek fosfatlanırlar. Oluşan bu bileşik *virüste DNA polimerazı inhibe eder*. Selektif olarak infekte hücrelere toksik etki gösterir,zira ortamda timidin kinaz bulunmadığı zaman, konakçının kinazı ilacın sadece küçük bir miktarını fosforile edebilir. Sadece aktif olarak replike olan viruslara etkilidir, latent (çoğalmayan) viruslara etki göstermez. Famsiklovir, Aktif şekli pensiklovir olan Famsiklovir, Viral DNA polimeraz inhibitörüdür. Pensiklovir dirençli viral TK, HSV suşları, veya DNA polimerazda mutasyona sahiptir. Vidarabin, Valgansiklovir,

Gansiklovir ve Sidofovir viral DNA sentezini inhibe eder. İdoksuridin ve asiklovir dirençli suşlarda kullanılabilir. Herpes simpleks ensefaliti, kronik EBV infeksiyonunda aktiviteye sahiptir. 1992 yılında ABD’de kullanımdan kaldırılmıştır. Brivudin, viral DNA polimeraz inhibitörü olarak kullanılırken, inorganik pirofosfat analogu olan foskarnet, Herpes virüslerinde DNA polimerazı inhibe eder.

2.BİLGİSAYAR DESTEKLİ İLAÇ TASARIM

İlaç tasarımı, çok basamaklı, multi disiplinli ve uzun yıllar almasına rağmen, tıp, farmakoloji kimya ve benzeri bir çok farklı alandaki bilim adamlarının dikkatini çekmektedir. İlaç tasarımı, keşfi ve geliştirilmesinde hesapsal yaklaşımlar çok hızlı bir şekilde araştırma, uygulama ve beğeni kazanmaktadır. Yeni bir ilacın piyasaya sürülmesi işlemi karmaşık, riskli ve zaman, insan gücü ve para anlamında oldukça pahalıdır. Genel olarak ilaç keşfi ve geliştirme işlemi toplamda 1 milyar dolardan fazla masrafa yol açan ve 10-14 yıllık bir süreci kapsayan uzun ve zahmetli bir iştir. Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı (Computed-Aided Drug Design; CADD) bu zaman ve para masraflarını yarı yarıya düşürme özelliğine sahiptir. Bunun yanında deneylerle oluşabilecek kimyasal atıkların azalmasını sağlayarak çevre dostu bir uygulama alanıdır.

Genel olarak, Şekil 2.1 ile gösterilen akış şeması ile özetlenebilen bilgisayar destekli ilaç tasarımında takip edilen yöntemleri iki başlık altında toplamak mümkündür. Bunlardan ilki hedef yapısının belli olmadığı ancak hedef üzerinde etkisi bilinen bir inhibitörden faydalanarak ilaç geliştirme yöntemi olan Ligand Temelli İlaç Tasarımı’dır. Diğeri ise hedef yapısının belirlendiği ve hedefin özelliklerine göre ilaç tasarlamayı mümkün kılan Yapı Temelli İlaç Tasarımı’dır.



Şekil 2.1. CADD için iş akışının genel gösterimi

Ligand temelli ilaç tasarımı daha çok etkin olduğu bilinen molekülün kimyasal özelliklerine dayanılarak yapılan istatistiksel çalışmalara dayanmaktadır (QSAR, vb). Yapı temelli ilaç tasarımı ise moleküler yerleştirme, moleküler dinamik simülasyonları, bağlanma enerjisi hesaplamaları genellikle uygulanan yöntemlerdir. Yapı temelli ilaç tasarımı öncelikle hedeflenen yapının belirlenmesi gerekmektedir. Bu hedef genellikle protein, enzim veya DNA gibi makromoleküllerdir. Hedef molekülün 3D yapısı X-ray kristalografi ve NMR teknikleriyle belirlenmektedir. Hedef belirlenmesi işleminden sonra potansiyel ligand bağlanma bölgelerinin belirlenmesi için makromolekül yapısının analiz edilmesi gerekmektedir. Bu adımı öncü moleküllerin belirlenmesi ve moleküler yerleştirme, öcünün iyileştirilmesi ve son adım olarak da klinik deneyler takip eder.

2.1.Ligand Yerleştirme

Moleküler yerleştirme küçük molekül veya ligandların hedef protein (reseptör) içindeki aktif bölgelere yerleşimini tahmin eden bilgisayarlı bir metottur. Asıl olarak ligandların reseptörleri ile en istendik bağlanma modu ve biyo-affinite tahminlerini daha doğru belirlemek için kullanılmaktadır. Çeşitli algoritmalar kullanılarak yerleştirme işlemi yapan bir çok program geliştirilmiştir. DOCK6, FlexX, GOLD, Autodock4 bunlardan bazılarıdır. Moleküler yerleştirmede kullanılan bazı programlar ticari olarak

satılırken bazıları ise araştırmacılar için serbest yazılım olarak sunulmaktadır. Autodock4 kullanımı serbest olan yazılımlardan biridir ve bilimsel çalışmalarda sıklıkla tercih edilen programlardan biridir. Sousa ve ark. (2006) yaptıkları araştırmada en çok atıf alan (%27) yerleştirme programının Autodock olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada Autodock4 yerleştirme işlemleri için kullanıldı.

Lamarckian Genetik Algoritması (LGA) yerleştirme işleminde en fazla kullanılan algoritmadır. Bunun yanında Local Search ve Simulated Annealing algoritmaları da programda yer almaktadır. Ligandın tamamı ve makromolekülün bağlanma bölgesindeki kalıntılar hareketli bırakılarak yerleştirme işlemi yapabilen Autodock4 yarı empirik bir kuvvet alanı kullanarak ligandların makromolekülle bağlanma serbest enerjisi tahmini yapmaktadır.

3.KAYNAK ARAŞTIRMASI

Ebstein-Barr virüsü ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Yapılan çalışmaların bir kısmı EBNA1 antijeni üzerinde DNA bağlanma bölgesinde etkiyi azaltma doğrultusunda yapılmıştır. Genel olarak litik dönem üzerinde aktiviteler üzerinde çalışmalar yapılmaktadır.

Gershon ve ark. (2006) EBV asemptomatik enfeksiyondan, semptomatik enfeksiyona ve hatta fatal enfeksiyona kadar değişen bir hastalık spektrumuna sahiptir. Draborg ve ark. primer EBV enfeksiyonu çocukluk çağında daha sık olmakla beraber bu yaş grubunda çoğunlukla asemptomatik seyreder. Carvalho, primer enfeksiyon adölesan dönemde olursa vakaların %30-70'inde B lenfositlerin EBV ile enfekte olması sonucu Enfeksiyöz Mononükleoz (EM) gelişir. Öztürk (1996), EBV enfeksiyonunun sık görülmesinin en önemli nedeni, yakın temas ile çok kolay bulaşabilmesidir. Yakın temas ile bulaşın kaynağı enfekte yassı epitel hücrelerini içeren tükürüktür. Avgil ve Ornoy (2006), EM'nin klasik semptomları; farenjit, ateş ve lenfadenopatidir. EBV'nin neden olduğu EM'nin tanısında, klasik belirti ve bulguların yanı sıra tanıyı destekleyici hematolojik tetkikler, heterofil antikorlar veya tanı koydurucu özgül EBV antikorlarına yönelik laboratuvar tetkikleri kullanılır. Primer EBV enfeksiyonunun transplasental yolla fetusta enfeksiyona yol açabildiği, bununla birlikte intrauterin EBV enfeksiyonunun

genellikle fetusta ciddi bir zarar oluşturmadağı, ancak nadir de olsa kalp, gözler ve karaciğer ile ilgili hastalıklar oluşturabileceğı bildirilmiştir.

Wakiguchi (2002), EBV'nin bir diğerk önemli özelliğı Hodgkin lenfoma, Burkitt lenfoma, nazofarinks kanseri, mide kanseri, primer santral sinir sistemi tümörleri gibi çeşitli tümörler ile ilişkisinin gösterilmiş olmasıdır. Carvalho (1999) ve Draborg (2013) , EBV, dünya popölasyonunun yaklaşık %95'inde görölen yaygın bir enfeksiyöz ajandır. Filatov ve Earle, Primer EBV enfeksiyonu ilk kez 1880 yılında Rus pediatrist Nil Filatov tarafından idiyopatik adenit olarak isimlendirilen bir sendrom olarak tek bir hastalık şeklinde bildirilmiştir. Sprunt ve Evans (1920), tarafından ise 1920 yılında ateş, servikal lenfadenopati (LAP), farenjit ve atipik büyük periferik kan lenfositleri ile karakterize akut bir enfeksiyöz hastalık olarak isimlendirilmiştir. Callan ve ark. (1998), EBV ile enfekte B lenfositlere cevap olarak ortaya çıkaran, Callan ve ark.(1998) aktif CD8 T hücreleri morfolojik açıdan dikkatlice değerkendirilmiş ve bu hastalık için karakteristik olduğı Downey ve McKinley (1923), tarafından bildirilmiştir. Primer EBV enfeksiyonu, akut hastalığın ciddiyeti, süresi hatta bazı kanserler ve otoimmün hastalıklar gibi uzun dönem komplikasyonlar açısından ciddi bir sağık sorundur.

Hoogland'ın klinik araştırmalarında EBV enfeksiyonunun öpmeyle geçtiğı, Svedmyr ve ark. (1984), adolesanlarda ve genç erişkinler arasında yaygın olduğı bildirilmiş Hoagland, (1955) ve bu bilgi sonraki yıllarda üniversite öğrencileri arasında yapılan prospektif çalışmalarla doğrulanmıştır (Balfour ve ark., 2013) . Gerber ve ark. (1969) bunun yanında primer EBV enfeksiyonu, kan transfüzyonu , Hanto ve ark. (1981) solid organ transplantasyonu veya Shapiro ve ark. (1988) hemopoetik kök hücre transplantasyonu ile de geçebilir. Alfieri ve ark. (1996), özel kan donörlerinde EBV'nin BAMHI-K fragmanındaki ve EBV nükleer antijen (EBNA) 1, 2, 3 proteinlerindeki polimorfizmi kullanarak alıcıda EMN geliştiğini göstermiştir.

Kagoya ve ark., (2010); Luzuriaga ve Sullivan (2010), EMN'li hastaların tedavisi esas olarak destek tedavisidir. Özellikle asetaminofen veya Nonsteroid antiinflatuar (NSAİ) ilaçlar genellikle ateşini kontrol etmede, boğaz rahatsızlığını iyileştirmede ve keyifsizliğı gidermede kullanılır. EM ilişkili komplikasyonların altın standart tedavisi ise kortikosteroidler olarak bilinmektedir. Komplike olmamış EM hastalarında ise kortikosteroidlerin rolü tam olarak bilinmemektedir. Candy ve Hotopf (2006), yaptıkları

çalışmalarda ciddi EM'li immünkompetan bireylerde kortikosteroidlerin yararlı olduğunu göstermiştir. Ancak kortikosteroid tedavisi ile ilişkili yan etki ve komplikasyonlara yönelik yeterli veri yoktur. Thompson ve ark. (2005), yeni yapılan bir çalışma sistemik kortikosteroid tedavisinin ateş, iştahsızlık, tonsiller hipertrofi veya semptomların süresi gibi klinik özellikler üzerinde doğrudan bir etkisinin olmadığını göstermiştir. Kortikosteroid tedavisi alan ve almayan hastalar arasında hastalık komplikasyonlarının artışında, hastanede kalış süresinde ve hastaneye yatış sıklığında herhangi bir farklılığa rastlanmamıştır. Epstein ve Achong (1973), asiklovir tedavisinin orofarinksten EBV yayılımını önlediği ancak dolaşımdaki enfekte B lenfositler üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir. EM'i önlemek ve tedavi etmek ile ilgili 1973'de Epstein ve Achong profilaktik EBV aşısının geliştirilmesini  ne sürmüş ve bu konudaki çalışmalara ağırlık verilmiştir. Ancak henüz yeterli bir sonuç elde edilememiştir. Gu ve ark. (1995), o tarihten itibaren profilaktik EBV aşısı için Faz-1  alışması ilk kez 1995'de bildirilmiştir ve Sokal ve ark. (2007), faz-2 çalışmasının sonuçları da 2007'e kadar yayımlanmamıştır. Bu zamana kadar yalnızca iki profilaktik aşı çalışılmış ve insanda gp350 subuniti ile EBNA-3A peptidine karşı oluşturulmuştur.

Romain ve ark. (2010) EM'e karşı geliştirilmiş herhangi bir tedavi henüz yoktur. In vitro pek çok nükleozid analogu mevcuttur ancak hiçbirinin klinik yararı henüz gösterilememiştir. Balfour ve ark. (2007) Valasiklovir'in plaseboya karşı semptomların sayısında ve hastalığın ciddiyetinde azalma yaptığı gösterilmiş ancak destekleyici çalışmalara ihtiyaç olduğu bildirilmiştir.

Li ve ark. Epstein-Barr Virus (EBV) latent enfeksiyonu, birkaç insan malignitesi ile ilişkilidir ve immün baskılama sırasında lenfoproliferatif hastalıkların nedensel bir ajanıdır. Herpesvirüs DNA polimeraz inhibitörleri, gansklovir gibi, EBV litik siklus enfeksiyonunu azaltırken, bu tedaviler gizli enfeksiyonun tedavisinde sınırlı etkinliğe sahiptir. EBNA1 latent enfeksiyon esnasında, viral genom bakımından gerekli bir EBV kodlu DNA bağlayıcı proteindir. EBNA1 DNA bağlanma aktivitesini inhibe eden yeni bir molekül sınıfının tanımlandığını rapor ediyor. Bu bileşikler, EBNA1'in          kristal yapısı ile hesaplamalı yerleştirme programları kullanılarak 90.000 adet düşük molekül kütleli bileşiğin sanal taranmasıyla tanımlamışlardır. Yapısal olarak ilişkili dört bileşiğin, saflaştırılmış EBNA1 proteini ile biyokimyasal analizlerde EBNA1-DNA bağlanmasını inhibe ettiği bulunmuş. Bileşikler, floresans polarizasyon deneylerinde 20-

100 μ M'lik bir EBNA1 inhibisyonuna sahiptir ve elektroforez mobilite kaydırma deneyleri kullanılarak inhibisyonu doğrulanmıştır. Bu bileşikler, ilgisiz bir DNA bağlayıcı proteinin inhibisyonunu sergilememiştir. Bu bileşiklerin üçü, hücre bazlı deneylerde EBNA1 transkripsiyon aktivasyon fonksiyonunu inhibe etmiş ve bir Burkitt lenfoma hücre çizgisi ile inkübe edildiğinde EBV genom kopya sayısını azaltmıştır. EBV latent enfeksiyonunun tedavisi için potansiyele sahip olabilir. Sonuçlanan bu deneyler, EBV gizli enfeksiyonunun tedavisi için potansiyeli olan spesifik inhibitörler için sanal taramanın kullanılabileceğini kanıtlamışlardır (Li ve Ark. 2010).

Gianti E, ve Ark. Epstein-Barr Nükleer Antijen 1 (EBNA1), Epstein-Barr Virüsü (EBV) tarafından kodlanan kritik bir proteindir. Gizli enfeksiyon sırasında EBNA1, DNA replikasyonu ve viral hücresel genlerin transkripsiyon başlatılması ve birincil B lenfositlerin ölümsüzleştirilmesi için gereklidir. Bununla birlikte, ilaç hedefi olarak EBNA1 kavramı yenidir. EBNA1 kristal yapısındaki halka açık olup ilk küçük molekül EBNA1 inhibitörleri yakın zamanda keşfedilmiştir. Bununla birlikte, EBNA1 "uyuşturulabilir" bağlayıcı alanların yapısal detayları hakkında hiçbir sistematik çalışma bildirilmemiştir. EBNA1 ligand bağlanma ceplerinin hesaplanması ve yapısal karakterizasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Ardından, önceden EBNA1 inhibisyonu için in vitro olarak test edilen bir dizi bileşiğe karşı tahminlerini doğrulamışlardır (PubChem AID-2381). Son olarak, Moleküler Mekanik Genelleştirilmiş Born Surface Area hesaplamaları tarafından, uyuşturulabilir bağlama bölgelerine ait birtakım isabetler için hesaplanan bağlanma afinite tahminleri ile eşleştirilmiş indüklenmiş fit yerleştirme ve moleküler dinamik simülasyonları gerçekleştirerek cep uyuşturuculuk değerlendirmelerini desteklemişlerdir. Sonuçlarımız, EBNA1'i ilaç keşfi için bir hedef olarak ortaya koyuyor ve aktif AID-2381'in isabet ettiği, bireysel alanlarda etkileşime girdikten sonra DNA'yı bozduğunu hesaplayan kanıtlar sağlamıştır. Son olarak, yeni nesil EBNA1 inhibitörlerinin rasyonel tasarımını desteklemek için en yüksek puanlara ulaşan vuruşların yapısal özellikleri önerilmiştir (Gianti E, 2017)

Tikhmyanova N, ve ark. Epstein – Barr Virus (EBV), Burkitt'in lenfomaları, nazofarengeal karsinomlar ve mide karsinomları dahil olmak üzere birçok lenfoid ve epitelyal malignitede gizli bir enfeksiyon olarak devam eder. EBV-pozitif kanserlerin güncel kemoterapötik tedavileri, tümörlerin EBV-pozitif durumunu görmezden gelen geniş spektrumlu sitotoksik ilaçları içerir. Onkolitik terapi olarak adlandırılan alternatif

bir strateji, özellikle Gansklovir (GCV) gibi mevcut herpes virüsü litik replikasyon inhibitörleriyle kombinasyon halinde, EBV pozitif tümörlerin seçici yok edilmesini arttırmak için gizli EBV'nin reaktivasyonunu uyaran ilaçları kullanır. Halen, histon deasetilaz (HDAC) inhibitörleri dahil küçük bir molekülün, EBV pozitif kanserlerin tedavisi için klinik deneylerde güvenli veya etkili olduğu kanıtlanmamıştır. EBV litik döngüsünü indükleyen yeni kimyasal varlıkları tanımlamayı hedefleyerek, 66.840 küçük molekül bileşimini taramak için sağlam, yüksek verimli bir hücre bazlı analiz geliştirmişlerdir. İkisi 150-170 μ M aralığında EC50 ölçümü olan, yapısal olarak ilgili beş tetrahidrokarbolin türevi tanımlamışlardır. Bu bileşiklerin, gecikme tipinden bağımsız olarak test ettikleri tüm EBV-pozitif hücre hatlarında ZTA ve EA-D EBV litik markerlerini yeniden aktive ettiğini göstermişlerdir. Bileşikler, birçok hücre tipinde HDAC inhibitörlerinden veya forbol esterlerden daha yüksek oranda gecikmiş enfekte olmuş hücrelerin reaktivitesini sağlamıştır. En aktif bileşikler, EBV negatif hücrelere düşük toksisite göstermiştir, ancak GCV ile birleştirildiğinde EBV pozitif hücrelerin seçici hücre öldürülmesinde oldukça etkili olmuştur. Çeşitli hücre tiplerinde latent EBV enfeksiyonunu yeniden aktive etmede oldukça etkili olan ve GCV ile kombinasyon halinde litik tedavi için umut vaat eden bir küçük moleküllu bileşik sınıfı tanımladıkları sonucuna varmışlardır (Tikhmyanova N. ve Ark. 2013).

İbabe ve Ark. Epstein-Barr virüsü (EBV), Burkitt lenfoma, nazofarengeal karsinom ve Hodgkin hastalığı gibi çeşitli malignitelerle ilişkilendirilmiştir. Bu hastalıklarda, Epstein-Barr nükleer antijeni 1 (EBNA-1) yapısal olarak ifade edilmiştir. Burada, homojen bir tahlilde aktif EBNA-1 proteinini tespit etmek için yenilikçi bir sistem rapor edilmiştir. Sistem, trombin aktivitesinin, EBV genomundaki EBNA-1'in palindromik hedef bölgelerini taklit etmek üzere tasarlanan ve sentezlenen kendiliğinden tamamlayıcı tek zincirli bir DNA (scssDNA) tarafından modülasyonuna dayanmıştır. Aktif EBNA-1 protein tespiti ve miktar tayini için bu yeni homojen tahlil, biyomedikal araştırmalarda EBNA-1 blokerlerinin hızlı taranması için çok faydalı bir araç sağlamıştır (İbabe G.G. ve ark. 2012).

Connolly ve ark. Herpes virüsleri, çift sarmallı bir DNA olup konukçu hücrelere, konakçı hücre plazma zarı veya endositik vezikül zarları ile füzyon yoluyla enfekte olan zarflı virüslerdir. Konak hücrelerin herpes virüsleri tarafından etkin bir şekilde enfekte edilmesi, çoklu glikoproteinlerin ortak çaba göstermesini gerektirdiği ve çoklu konak

reseptörlerini içerdiği için, diğer virüslerin enfeksiyonundan çok daha karmaşıktır. Ana viral glikoproteinlerin yapıları ve prototipik herpes virüslerinin, herpes simpleks virüslerinin (HSV'ler) ve Epstein-Barr virüsünün (EBV) girişinde yer alan bir dizi konak reseptörün yapısı bilinmektedir. Bu yapısal çalışmalar, virüs-reseptör bağlanması üzerinde meydana gelen konformasyonel değişiklikleri açığa vurarak, fonksiyonel protein ve lipid etkileşimlerinin potansiyel alanlarını gösteren ve muhtemel viral füzyonu tanımlayarak HSV ve EBV bağlanma ve füzyonu hızlandırmıştır (Connolly S.A, ve Ark. 2011).

Szakonyi ve ark. EBV enfeksiyonu, viral zarf glikoproteininin (gp350) hücre yüzeyi reseptörü CR2'ye bağlanmasıyla başlatılır. Yüksek glikosile edilmiş gp350'nin X-ışını yapısını belirleyip gp350'de CR2 bağlama bölgesini tanımladılar. Poliglikanlar, gp350 polipeptidinin bir yüzeyi hariç hepsini korur ve bu glikan içermeyen yüzeyin reseptör bağlanma bölgesi olduğunu ortaya koyar. Deglycosylated gp350, CR2'yi glikosile edilmiş forma benzer şekilde bağlar, glikosilasyonun reseptör bağlanması için önemli olmadığını gösterir. Glikan içermeyen yüzeyin yapı kılavuzlu mutajenitesi, reseptör bağlanmasını bozmanın yanı sıra, virüs reseptör etkileşimlerinin bilinen bir inhibitörü olan bir gp350 monoklonal antikorunun bağlanmasını bozmuştur. Elde edilen bu sonuçlar, EBV ve ilgili virüslerin neden olduğu enfeksiyonları önlemek için ilaç ve aşı geliştirmek için yapısal bilgi sağlamıştır (Szakonyi G ve Ark. 2006).

Ukiya ve ark. Yeniden düzenlenmiş altı yeni 3,4-eko-tirukallan tipi triterpenoid , ayçiçeği polen tanelerinin dietil eter ekstraktından (*Helianthus annuus*) izole edilmiştir. Bu bileşikler, Raji hücrelerinde tümör promotörü 12-O-tetradekanoilphorbol 13-asetat (TPA) tarafından indüklenen Epstein-Barr virüsü erken antijeninin (EBV-EA) indüksiyonu üzerindeki inhibitör etkileri açısından değerlendirilmiştir. Test edilen bileşiklerin tümü EBV-EA aktivasyonu üzerinde güçlü inhibitör etkiler göstermiştir (1 103 mol oranında / TPA'da % 97-100 inhibisyon) (Ukiya ve Ark. 2003).

Wu ve ark. Biyo-deney güdümlü fraksiyonlama, tüm *Scutellaria barbata* bitkilerinin EtOAc-çözünür özütünde, Epstein – Barr virüsü (EBV) litik replikasyonunun inhibisyonu ile izlenmiştir. Bu çalışma, neo-clerodan diterpenoidlerin EBV litik replikasyonuna karşı önemli inhibisyon gösterdiğini bildiren ilk çalışmadır (Wu T. Ve Ark. 2015).

Tsurumi ve Ark. yaptıkları derlemede latent ve litik enfeksiyonlar sırasında EBV DNA replikasyonunun moleküler temeli ile ilgili son gelişmeleri tarif ederek EBV'nin litik replikasyonunun indüksiyonundan sonraki hücresel koşullara atıfta bulunmuşlardır. EBV yaşam tarzı için moleküler mekanizmaya dayanarak, EBV enfeksiyonunun litik formunun amaçlı olarak uyarılması, günümüzde virüsün son derece enfekte olduğu EBV ile ilişkili malignitelerin spesifik yıkımı için kullanılabilecek stratejilerden biri olduğunu savunmaktadırlar (Tsurumi ve Ark. 2005).

Mordehai ve Ark. herpes simpleks virüs 1 glikoprotein B'yi doğal bir zarda, hücre kaynaklı veziküllerde göstererek ve elektron kromatografi kullanarak karakterize ettiler. Bilinen postfüzyon konformasyonunun yanı sıra, yeni bir tane konformasyon tanımladılar. Yapısı, zar bağlamında, alt hacim ortalaması alınarak belirlenmiş ve postfüzyon konformasyonu gibi trimerik olduğu bulunmuş, ancak daha yoğun görülmüştür. Alanların hiyerarşik kısıtlı yoğunluk-uyumu, beklenmedik bir şekilde, bu konformasyondaki füzyon halkalarının ayrılma ve bağlantı zarından uzağa işaret edildiğini ortaya çıkardı. Bu hayati gözlem, karmaşık herpes virüsü füzyon mekanizmasının anlaşılmasında ileriye doğru atılmış önemli bir adımdır ve herpes virüsü girişinin daha hedefe yönelik müdahalesi için yeni fırsata yol açacaktır (Mordehai ve Ark. 2016).

4.MATERYAL VE YÖNTEM

4.1.Materyal

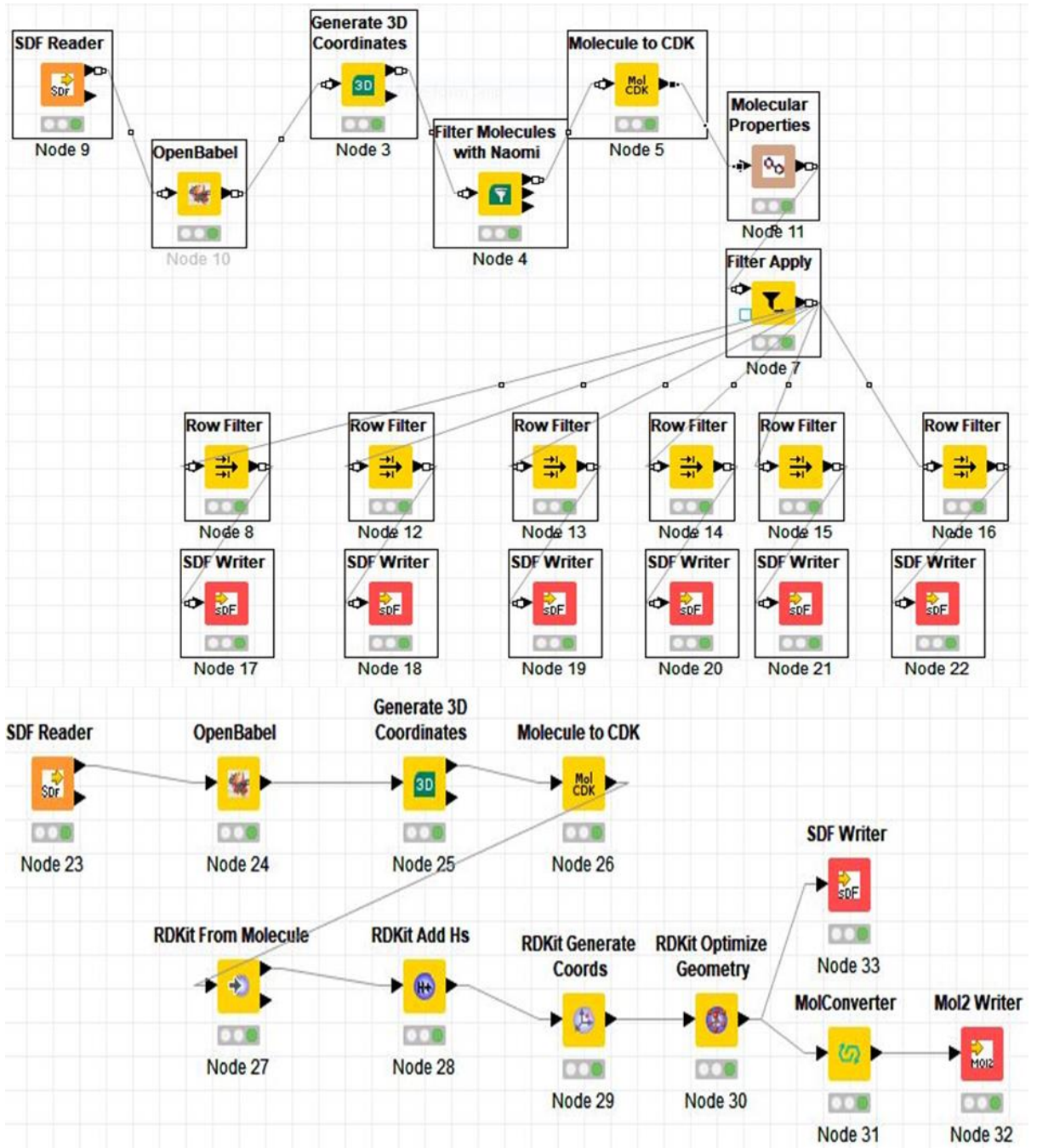
Bu çalışmada moleküllerin 2D çizimleri ve dosya tipi değişiklikleri için Marvin Sketch (versiyon) (Marvinsketch, 2017) ve BIOVA DS Visualizer 2018 (DSV) (Discovery Studio Visualizer, 2019) programları kullanıldı. Ligand taraması swissmilarity (Zoete ve Ark. 2016) sitesi aracılığı ile Zinc Drug-Like özelliği ile ZINC15 (Sterling and Irwin, 2015) molekül veri tabanı kullanılarak indirildi. Ligandların ilaç adaylığı filtreleri için Knime paket programı (Micheal ve Ark., 2007), ligandların görüntülenmesi ve farklı filtrelerle seçilmiş aynı ligandların veri listesinden silinmesi işlemleri Osiris Data Warrior (Thomas ve Ark.,2015) programı ile gerçekleştirildi. Literatürden (Li ve Ark. 2010) seçilen 4 ligandın yapısının kalıp olarak kullanılmasıyla Schrodinger (Small-Molecule Drug Discovery Suite, 2018) paket programında yer alan Breed (Pierce ve Ark., 2004) programı ile yeni ligandların tasarımı gerçekleştirildi. Ligandların optimizasyonu için Gaussian 09 (Frisch ve Ark., 2009) programı, çeşitli dosya dönüşümleri ve görüntüleme için Gausview 5 (Frisch ve Ark, 2016), Chimera 1.13.1rc (Yang ve Ark., 2012) ve Avogadro (Marcus ve Ark., 2012) programları kullanıldı. Reseptör yapısı Protein Data Bank'tan (PDB; www.rcsb.org) indirildi ve yerleştirme (docking) işlemine hazırlanması için Chimera ve MGL Tools (Morris ve Ark., 20019) programları kullanıldı. Ligandların yerleştirme işlemine hazırlanması yine MGL Tools programı ile gerçekleştirildi. Ligandların proteine yerleştirme işleminde Autodock4 (Morris ve Ark., 2009), sonuçların analizi ise MGL Tools ve BIOVIA DS Visualizer programları kullanıldı.

4.2.Yöntem

4.2.1.Ligand Kütüphanesinin Oluşturulması

Ligandların kütüphanesini oluşturmak için ilk olarak literatür taraması (Tikhmyanova ve Ark., 2014; Hu ve Ark., 2016; Gianti ve Ark., 2016; Li ve Ark., 2010; Wu ve Ark., 2015; Ukiya ve Ark., 2003; Akihisa ve Ark., 2004; Cui ve Ark., 2014) gerçekleştirildi. Bunlardan, moleküler yerleştirmede kullanılmış ve aynı zamanda *in vitro* ortamında çalışılmış olan SC07 (Y14), SC11 (Y15), SC19 (Y16) ve SC27 (Y17) molekülleri (Li ve

Ark. 2010) kalıp olarak kullanılarak swissimilarity sitesinde Zinc Drug-Like özelliği olan moleküller, ZINC15 sitesinden cvs formatında indirildi. Bunun yanında yine aynı moleküller kalıp olarak kullanılarak Breed programı ile bu ligandların farklı fonksiyonel yapıları birleştirilerek yeni ligandlar türetildi. ZINC15 sitesinden yukarıda belirtilen ligandların kalıp olarak kullanılması ile 1600 molekül (ZINC kodları ile verilmiştir.) kütüphaneye aktarıldı. Breed programı ile de 410 tane yeni molekül (B001 ile başlanarak kodlanmıştır.) tasarlandı. Bunların yanında yukarıda bahsi geçen ligandlarla birlikte literatürlerde EBV ile ilgili çalışmalarda kullanılmış 58 tane ligand (Y01 ile başlanarak kodlanmıştır.) Marvin Sketch programı ile çizilerek ligand kütüphanesi tamamlandı. ZINC15'ten indirilen moleküllerden aynı olan yapıları silmek için Data Warrior programı kullandı ve bir ilaç adayı olamayacakları ayıklamak için de Knime paket programında çeşitli filtreleme işlemlerinin yer aldığı bir iş akış diyagramı Şekil 4.1.'de tasarlandı. Her bir filtrelemeden elde edilen moleküller tek bir dosyaya aktarılarak yine aynı olanların kaldırılma işlemi Data Warior programında gerçekleştirildikten sonra sdf ve mol2 formatında tüm yapılar tek dosyada kaydedildi. Ligandlara Lipinski kuralı, xlogP (≤ 5), molekül ağırlığı (≤ 500 g/mol), Mannhold LogP (≤ 5), Hidrojen bağı alıcısı (≤ 10) ve Hidrojen bağı vericisi (≤ 5) filtreleri uygulandı. Filtreleme sonucunda ZINC15 veritabanından 1170, Breed programı ile oluşturulan 409 ve literatürden alınan 58 ligand yerleştirme çalışmasında kullanılmak üzere toplam 1637 molekül Gaussian 09 programı ile AM1 seviyesinde optimize edildi.



Şekil 4.1. Filtreleme İşlemlerinin Yer Aldığı İş Akış Diyagramı

4.2.2. Reseptör ve Ligandların Yerleştirme İşlemi için Hazırlanması

Yapılan literatür taraması sonucu, aynı zamanda DNA zinciri içermesi nedeniyle 1B3T kodlu kristal EBNA1 yapısının yerleştirme işlemi için uygun bulunarak www.rcsb.org sitesinden indirildi. Reseptör Chimera programı aracılığı ile su, DNA ve diğer içeriklerden temizlenerek hidrojen eklendi ve pdb olarak kaydedildi. Kristal yapı

aynı zamanda DSV programı ile incelenerek DNA-protein etkileşimleri belirlendi. Böylece ligand bağlanacak bölge belirlendi.

EBNA1 proteini kristal yapısı MGL Tools programında açılarak atom tipi AD4 olarak belirlendikten sonra Kollman ve Gasteiger yükleri ilave edildi ve kalıntılar üzerindeki artık yükler dağıtılarak yapı pdbqt formatında kaydedildi.

Ligandların pdbqt dosyaları MGL Tools altında yer alan bir ligand hazırlama scripti olan prepare_ligand4.py ile oluşturuldu.

4.2.3.Yerleştirme İşlemleri

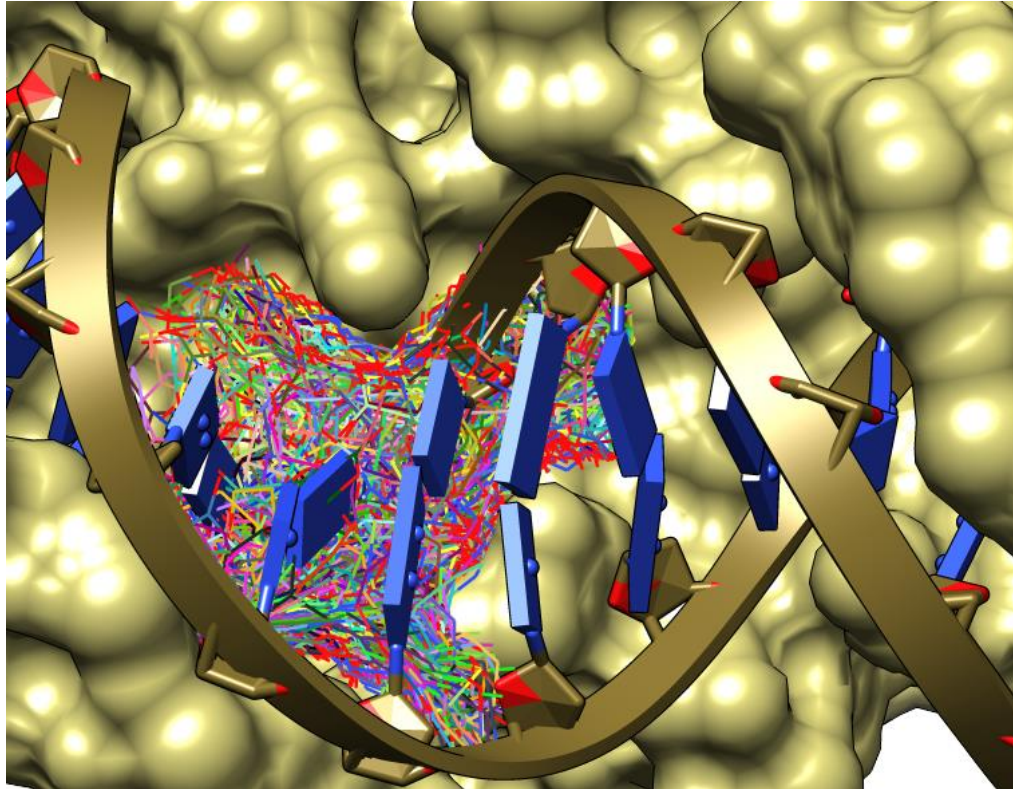
Ligandları Autodock4 ile yerleştirme işlemleri için öncelikle reseptörün yüzey alanının haritasının (grid) çıkarılması gerekmektedir. Bu işlem için daha önce DSV ile belirlenen DNA-protein etkileşimlerinin olduğu ve literatürde yerleştirme işlemlerinin yapıldığı oyuk seçilerek merkezi 18.863, 6.445 ve 6.221 olarak belirlenen 40, 50 ve 40 Å büyüklüğünde bir kutu içinde kalan yüzey için bu bölgede yer alan kalıntıların haritaları çıkarıldı. Bir ligand yerleşimi için manuel olarak hazırlanan grid dosyası referans gösterilerek kalan 1636 ligand yerleşimi için bu işlem prepare_gpf4.py scripti kullanılarak grid dosyaları oluşturuldu. Ligandların yerleştirilmesi için hazırlanması gereken dpf dosyaları; yine önce bir ligand için manuel olarak aşağıda belirtilen Lamarckian Genetik Algoritması (LGA) şartları kullanılarak hazırlanan dosya referans gösterilerek kalan ligandlar için prepare_dpf42.py scripti ile hazırlandı.

Yerleştirme işlemi için LGA kullanılarak maksimum enerji değerlendirmesi 2 500 000 ve türetilen maksimum ürün 54 000 seçilerek rastgele seçilmiş 150 popülasyon kullanılarak her ligand için 100 yerleştirme sonucu elde edildi. Elde edilen yerleştirme sonuçlarından skoru en iyi olan yerleşim için ligand yapıları pdb olarak kaydedildi. Bütün ligandların en iyi yerleştirme skorları bir Excel sayfasında listelenerek skora göre sıralama yapıldı (EK Tablo EK-1). Yerleştirme skorları -8.0 kcal/mol'den küçük olan 363 ligandın proteinle olan etkileşimleri DS Visualizer programı ile incelendi.

5.ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Moleküler yerleştirme, yapı temelli ilaç tasarımı metodunda sıklıkla başvurulacak yöntemlerden biridir. Autodock4 ilaç tasarımı kendini göstermiş ve ligand yerleştirmede doğruluğu çeşitli çalışmalarla belirlenmiştir (Perryman AL ve Ark., 2007)

Yerleştirme işlemi bütün ligandlar için başarılı şekilde gerçekleştirildi. Yerleştirilen ligandların DNA bağlanma bölgesindeki modları Şekil 5.1.'de verilmiştir.



Şekil 5.1.Bütün Ligandların DNA Bağlanma Bölgesindeki Yerleşim Modları.

DNA zinciri içeren 1B3T kristal yapısındaki DNA-protein etkileşimleri DSV programı kullanılarak belirlendi. Buna göre, bağlanma bölgesinde DNA'nın DA110, DT111, DG112 ve DC113 nükleotidleri protein ile etkileşime girmektedir. Proteinin Lys514, Arg521, Arg538 kalıntıları DNA ile elektrostatik tuz köprüleri oluşturmaktadır. Gly470, Gly472, Tyr518, Leu536, Arg538 ve Cys560 kalıntıları DNA bazları ile hidrojen bağları oluştururken, Lys514, Arg521 ve Arg522 ise zıt yüklü atomlar arasında istenen elektrostatik etkileşimler gerçekleştirmektedir. DNA bağlanma bölgesinde yer alan diğer kalıntılar Lys467, His468, Arg469 ve Pro535 amino asitleridir. DNA-protein arasındaki

bu etkileşimler dikkate alınarak yapılan moleküler yerleştirme işleminde ligandların bu kalıntılar ile yaptığı etkileşimler özellikle dikkate alındı.

Fazla zaman ve emek alacağından bütün ligandların etkileşimlerini incelemek yerine, yerleştirme skorları -8.0 kcal/mol ve daha düşük olan ligandların (363 tane) etkileşimleri incelenerek Tablo 5.1.'de verilmiştir. Bunun yanında, Şekil 5.2'de skorları -9 kcal/mol ve altında olan 65 ligandın 2 boyutlu etkileşimleri resmedilmiştir. Skorları ilk 5'te yer alan ligandların ise 3 boyutlu etkileşimleri Şekil 5.3'te verilmiştir. Böylece, bağlanma bölgesine yerleşimleri iyi olmayan ligandlar da elenmiştir.

Tablo 5.1.Yerleştirme Skorları -8.0 kcal/mol ve Daha Düşük Olan Ligandların (363 tane) Etkileşimleri

Mol.	Score	Hydrogen Bonds	Electrostatic	Hydrophobic		Halogen Unfavorable
				π -Hydrophobic/alkyl	Mixed π -alkyl	
B288	-10.74	Salt Bridge: Carbon Hydrogen Bond A:ARG469:HA - :B288:O1 A:GLY470:HA1 - :B288:O2 A:LYS514:HE2 - :B288:O5 :B288:H33 - B:GLU556:OE1 H Bonds: A:LYS514:HZ1 - :B288:O4 A:ARG521:HH11 - :B288:O A:ARG521:HH11 - :B288:O2 A:ARG521:HH21 - :B288:O3 A:ARG521:HH22 - :B288:O2 :B288:H - B:GLU556:OE1	Salt Bridge: Attractive: A:LYS514:HZ1 - :B288:O4 π -cation: π -anion:	$\pi - \pi$ stacked: $\pi - \pi$ T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: A:ARG469 - :B288 :B288:C - A:LEU536	$\pi - \sigma$: π -alkyl:	
ZINC16096067	-10.42	Salt Bridge: Carbon Hydrogen Bond A:ARG469:HA - A:Z067:O5 A:GLY470:HA1 - A:Z067:O4 A:ARG521:HD2 - A:Z067:O2 A:PRO535:HA - A:Z067:O2 H Bonds: A:ARG521:HH11 - A:Z067:O3 A:ARG521:HH22 - A:Z067:O4 A:Z067:H5 - A:LYS467:O	Salt Bridge: Attractive: π -cation: A:ARG521:NH2 - A:Z067 π -anion:	$\pi - \pi$ stacked: $\pi - \pi$ T shaped: A:TRP464 - A:Z067 Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: A:Z067:Cl - A:PRO535	$\pi - \sigma$: Other Pi-Sulfur A:Z067:S1 - A:TYR518 π -alkyl: A:Z067 - A:LYS467 A:Z067 - A:ARG469 A:Z067 - A:PRO535 A:Z067 - A:ARG469	
ZINC16382108	-10.17	Salt Bridge: Carbon Hydrogen Bond A:GLY470:HA1 - A:Z108:O2 A:GLY472:HA1 - A:Z108:O5 A:ARG522:HD2 - A:Z108:O1 H Bonds: A:GLY470:HN - A:Z108:O2 A:GLY473:HN - A:Z108:O5 A:ARG521:HH11 - A:Z108:O1 A:ARG521:HH22 - A:Z108:O2 A:ARG522:HH22 - A:Z108:O5	Salt Bridge: Attractive: π -cation: π -anion:	$\pi - \pi$ stacked: $\pi - \pi$ T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: A:Z108:C11 - A:LYS467	$\pi - \sigma$: Other Pi-Sulfur A:Z108:S1 - A:TYR518 π -alkyl: A:TRP464 - A:Z108:C11 A:Z108 - A:LYS467	
B175	-10.05	Salt Bridge:	Salt Bridge:	$\pi - \pi$ stacked:	$\pi - \sigma$:	

		Carbon Hydrogen Bond A:GLY470:HA1 - :B175:O1 H Bonds: A:LYS514:HZ3 - :B175:O1 A:ARG521:HH11 - :B175:O1 A:ARG521:HH22 - :B175:O1	Attractive: A:LYS514:NZ - :B175:O1 π -cation: π -anion:	π - π T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: :B175:C - A:LYS514 :B175:C - A:ARG469 :B175:C - A:PRO535 :B175:C - A:LYS467	:B175:H8 - A:TYR518 :B175:H12 - A:TYR518 π -alkyl: A:TYR518 - :B175 A:TYR518 - :B175:C	
B183	-10.04	Salt Bridge: Carbon Hydrogen Bond A:HIS468:HA - :B183:N1 A:ARG469:HA - :B183:O1 A:PRO535:HA - :B183:O2 H Bonds: A:ARG469:HN - :B183:N1 A:ARG521:HH11 - :B183:O4 A:LEU536:HN - :B183:O2 :B183:H - A:TYR518:OH :B183:O3 - :B183:O1	Salt Bridge: Attractive: A:ARG469:NH1 - :B183:O A:ARG521:NH2 - :B183:O π -cation: π -anion:	π - π stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: :B183:C - A:LEU536 :B183:C - A:LYS467 :B183:C - A:ARG469	π - σ : π -alkyl: A:HIS468 - :B183:C A:TYR518 - :B183 A:TYR518 - :B183:C :B183 - A:ARG469	Unfavorable Donor-Donor A:ARG522:HH11 - :B183:H
ZINC32848672	-9.86	Salt Bridge: H Bonds: A:ARG521:HH22 - A:Z672:N1 A:LEU536:HN - A:Z672:O1 A:Z672:H4 - A:TYR518:OH Pi-Donor Hydrogen Bond A:GLY470:HN - A:Z672 A:GLY470:HN - A:Z672	Salt Bridge: Attractive: π -cation: π -anion:	π - π stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked: A:HIS468:C,O;ARG469:N - A:Z672 Alkyl-alkyl: A:LYS467 - A:Z672 A:Z672:C1 - A:PRO535	π - σ : A:ARG469:HA - A:Z672 π -alkyl: A:Z672 - A:ARG469 A:Z672 - A:LEU536	Unfavorable Donor-Donor A:ARG522:HH11 - A:Z672:H4
B285	-9.79	Salt Bridge: Carbon Hydrogen Bond A:ARG469:HA - :B285:O1 A:GLY470:HA1 - :B285:O2 A:LYS514:HE2 - :B285:O5 :B285:H27 - :B285:O :B285:H27 - A:TYR518:OH H Bonds: A:GLY470:HN - :B285:O1 A:GLY472:HN - :B285:O2 A:LYS514:HZ1 - :B285:O4 A:ARG521:HH11 - :B285:O	Salt Bridge: Attractive: A:LYS514:NZ - :B285:O π -cation: π -anion:	π - π stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: A:ARG469 - :B285 :B285:C17 - A:LEU536	π - σ : π -alkyl: A:TYR518 - :B285:C17	Unfavorable Acceptor-Acceptor A:TYR518:OH - :B285:O

		A:ARG522:HH12 - :B285:N :B285:H - B:GLU556:OE1				
ZINC24828607	-9.77	Salt Bridge: Carbon Hydrogen Bond A:GLY470:HA1 - A:Z607:O2 A:ARG521:HD2 - A:Z607:O5 H Bonds: A:ARG521:HH11 - A:Z607:O1 A:ARG521:HH22 - A:Z607:O2 A:Z607:H2 - A:LYS467:O	Salt Bridge: Attractive: π -cation: A:ARG521:NH2 - A:Z607 π -anion: sulfur A:Z607:S1 - A:TYR518 A:Z607:S2 - A:TYR518	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: A:Z607:C10 - A:ARG469	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:Z607 - A:LYS467 A:Z607 - A:ARG469 A:Z607 - A:PRO535 A:Z607 - A:ARG469	Unfavorable Acceptor-Acceptor A:TYR518:OH - A:Z607:O1
ZINC09203584	-9.73	Salt Bridge: Carbon Hydrogen Bond A:GLY470:HA1 - A:Z584:O1 H Bonds: A:ARG469:HH12 - A:Z584:O4 A:GLY470:HN - A:Z584:O1 A:ARG521:HH11 - A:Z584:O2 A:ARG521:HH22 - A:Z584:O1 A:Z584:H18 - A:LEU536:O A:Z584:H2 - A:LYS467:O	Salt Bridge: Attractive: π -cation: A:ARG521:NH2 - A:Z584 π -anion:sulfur A:Z584:S1 - A:TYR518	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: A:TRP464 - A:Z584 Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: A:Z584:C10 - A:ARG469	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:HIS468 - A:Z584:C10 A:Z584 - A:ARG469 A:Z584 - A:PRO535 A:Z584 - A:ARG469	Unfavorable Donor-Donor A:GLY470:HN - A:Z584:H1 Unfavorable Acceptor-Acceptor A:TYR518:OH - A:Z584:O2
ZINC40158026	-9.72	Salt Bridge: Carbon Hydrogen Bond A:GLY470:HA1 - A:Z026:O2 H Bonds: A:ARG521:HH11 - A:Z026:O1 A:ARG521:HH22 - A:Z026:O2 A:Z026:H2 - A:LYS467:O	Salt Bridge: Attractive: π -cation: A:ARG521:NH2 - A:Z026 π -anion:sulfur A:Z026:S1 - A:TYR518 A:Z026:S2 - A:TYR518	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: A:TRP464 - A:Z026 Amide- π stacked: Alkyl-alkyl:	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:Z026 - A:ARG469 A:Z026 - A:PRO535 A:Z026 - A:ARG469	Unfavorable Acceptor-Acceptor A:TYR518:OH - A:Z026:O1 Unfavorable Acceptor-Acceptor A:LEU536:O - A:Z026:O4
ZINC24755909	-9.68	Salt Bridge: Carbon Hydrogen Bond A:HIS468:HD2 - A:Z909:F1 A:ARG469:HA - A:Z909:O3 A:GLY470:HA1 - A:Z909:O2 H Bonds:	Salt Bridge: Attractive: π -cation: A:ARG521:NH2 - A:Z909 π -anion:sulfur	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: A:TRP464 - A:Z909 Amide- π stacked:	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:Z909 - A:ARG469 A:Z909 - A:PRO535 A:Z909 - A:ARG469	Unfavorable Acceptor-Acceptor A:TYR518:OH - A:Z909:O1

		A:ARG521:HH11 - A:Z909:O1 A:ARG521:HH22 - A:Z909:O2 A:Z909:H2 - A:LYS467:O	A:Z909:S1 - A:TYR518 A:Z909:S2 - A:TYR518	Alkyl-alkyl:		
B386	-9.64	Salt Bridge: H Bonds: A:ARG521:HH11 - :B386:O5 :B386:H - A:LYS467:O :B386:H40 - A:LYS467:O :B386:H41 - A:TYR518:OH	Salt Bridge: Attractive: A:ARG469:NH1 - :B386:O π -cation: π -anion:	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: :B386:C16 - A:PRO535 :B386:C17 - A:LYS467	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:TYR518 - :B386 A:TYR518 - :B386	A:GLY470:HN - :B386:H42
B393	-9.59	Salt Bridge: H Bonds: A:ARG469:HH12 - :B393:O3 A:ARG521:HH11 - :B393:O5 :B393:H - A:LYS467:O :B393:H40 - A:LYS467:O :B393:H41 - A:TYR518:OH	Salt Bridge: Attractive: A:ARG469:NH1 - :B393:O A:ARG521:NH2 - :B393:O π -cation: π -anion:	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: :B393:C16 - A:PRO535 :B393:C17 - A:LYS467	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:TYR518 - :B393	
B081	-9.58	Salt Bridge: Carbon Hydrogen Bond A:GLY470:HA1 - :B081:O A:GLY472:HA1 - :B081:O H Bonds: A:TYR518:HH - :B081:O3 A:TYR518:HH - :B081:O4 A:ARG521:HH22 - :B081:O A:ARG522:HH12 - :B081:O :B081:H - :B081:O4	Salt Bridge: Attractive: A:ARG522:NH1 - :B081:O π -cation: π -anion:	$\pi - \pi$ stacked: A:TYR518 - :B081 π - π T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: A:ARG469 - :B081 :B081:C 14- A:PRO535 :B081:C 17- A:LYS467	$\pi - \sigma$: π -alkyl:	
B321	-9.57	Salt Bridge: A:ARG521:HH22 - :B321:O H Bonds: A:ARG521:HH11 - :B321:O5 :B321:H - A:TYR518:OH C-H A:HIS468:HA - :B321:O1 :B321:H32 - A:LYS467:O	Salt Bridge: Attractive: A:ARG469:NH2 - :B321:O A:ARG521:HH22 - :B321:O π -cation: π -anion:sulfur A:Z570:S2 - A:TYR518 A:Z570:S1 - A:TYR518	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: :B321:C6 - A:PRO535 :B321:C17 - A:LYS467	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:TYR518 - :B321 A:TYR518 - :B321:C6	
ZINC19108167	-9.56	Salt Bridge:	Salt Bridge:	$\pi - \pi$ stacked:	$\pi - \sigma$:	Unfavorable Acceptor- Acceptor

		H Bonds: A:ARG521:HH11 - A:Z167:O1 A:ARG521:HH22 - A:Z167:O2 A:Z167:H2 - A:LYS467:O A:Z167:H8 - A:LEU536:O C-H A:ARG469:HA - A:Z167:O3 A:GLY470:HA1 - A:Z167:O2	Attractive: π -cation: A:ARG521:NH2 - A:Z167 A:ARG521:NH2 - A:Z167 π -anion:	π - π T shaped: A:TRP464 - A:Z167 Amide- π stacked: Alkyl-alkyl:	A:PRO535:HB2 - A:Z167 π -alkyl: A:Z167 - A:ARG469 A:Z167 - A:PRO535 A:Z167 - A:LEU536 A:Z167 - A:ARG469	A:TYR518:OH - A:Z167:O1
B080	-9.54	Salt Bridge: H Bonds: A:ARG521:HH11 - :B080:O5 :B080:H35 - A:TYR518:OH C-H A:HIS468:HA - :B080:O2 A:ARG469:HA - :B080:O1 A:PRO535:HA - :B080:O4 :B080:H32 - A:LYS467:O	Salt Bridge: Attractive: A:ARG469:NH2 - :B080:O A:ARG521:NH2 - :B080:O π -cation: π -anion:	π - π stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: :B080:C16 - A:PRO535 :B080:C16 - A:LEU536 :B080:C 17- A:LYS467	π - σ : π -alkyl: A:TYR518 - :B080 A:TYR518 - :B080:C16 :B080 - A:ARG469	Unfavorable Donor-Donor A:ARG522:HH11 - :B080:H35
B397	-9.51	Salt Bridge: A:LYS514:HZ1 - :B397:O3 H Bonds: A:GLY470:HN - :B397:O1 A:GLY472:HN - :B397:O1 A:LYS514:HZ3 - :B397:O4 :B397:H - A:HIS468:O :B397:H - A:HIS468:O	Salt Bridge: Attractive: A:LYS514:HZ1 - :B397:O π -cation: π -anion:	π - π stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: A:ARG469 - :B397 A:LEU536 - :B397 :B397:C16 - A:LYS514 :B397:C18 - A:PRO535	π - σ : :B397:H18 - A:TYR518 π -alkyl: A:TYR518 - :B397 A:TYR518 - :B397 A:TYR518 - :B397:C16	
ZINC12583256	-9.47	Salt Bridge: H Bonds: A:GLY470:HN - A:Z256:O2 A:ARG521:HH11 - A:Z256:O3 A:ARG521:HH22 - A:Z256:O2 A:Z256:H10 - A:LEU536:O A:Z256:H5 - A:LYS467:O C-H A:GLY470:HA1 - A:Z256:O2	Salt Bridge: Attractive: π -cation: π -anion:sulfur A:Z256:S1 - A:TYR518	π - π stacked: π - π T shaped: A:TRP464 - A:Z256 Amide- π stacked: Alkyl-alkyl:	π - σ : π -alkyl: A:Z256 - A:PRO535 A:Z256 - A:ARG469	Unfavorable Acceptor-Acceptor A:TYR518:OH - A:Z256:O3
ZINC02906998	-9.44	Salt Bridge: H Bonds:	Salt Bridge: Attractive:	π - π stacked: π - π T shaped:	π - σ : π -alkyl:	

		A:GLY470:HN - A:Z998:O1 A:GLY473:HN - A:Z998:O4 A:ARG521:HH22 - A:Z998:O1 A:ARG522:HH11 - A:Z998:O2 A:ARG522:HH12 - A:Z998:O3 A:Z998:H1 - A:HIS468:O C-H A:GLY470:HA1 - A:Z998:O1 A:GLY472:HA1 - A:Z998:O4 A:ARG522:HD2 - A:Z998:O2	π -cation: A:ARG521:NH1 - A:Z998 A:ARG521:NH1 - A:Z998 π -anion:sulfür A:Z998:S1 - A:TYR518	Amide- π stacked: Alkyl-alkyl:	A:TYR518 - A:Z998:C14 A:Z998 - A:LYS467 A:Z998 - A:ARG469 A:Z998 - A:ARG469 A:Z998 - A:PRO535	
B349	-9.43	Salt Bridge: H Bonds: A:ARG521:HH11 - :B349:O5 :B349:H - A:TYR518:OH C-H A:ARG469:HA - :B349:O	Salt Bridge: Attractive: A:ARG469:NH1 - :B349:O A:ARG521:NH2 - :B349:O π -cation: π -anion:	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: :B349:C 16- A:PRO535 :B349:C 17- A:LYS467 :B349:C - A:ARG469	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:TRP464 - :B349:C A:HIS468 - :B349:C A:TYR518 - :B349 A:TYR518 - :B349 :B349 - A:ARG469	
ZINC20509151	-9.42	Salt Bridge: H Bonds: A:PHE465:HN - A:Z151:O1 A:GLY466:HN - A:Z151:O1 A:LYS467:HN - A:Z151:O1 A:GLY470:HN - A:Z151:O3 A:GLY470:HN - A:Z151:O5 A:GLN471:HN - A:Z151:O3 A:GLY472:HN - A:Z151:O3 A:ARG521:HH22 - A:Z151:O5 A:Z151:H6 - A:TYR518:OH C-H A:GLY470:HA1 - A:Z151:O5 A:GLY472:HA2 - A:Z151:O4 A:ARG522:HD2 - A:Z151:O4	Salt Bridge: Attractive: π -cation: π -anion:	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: A:TYR518 - A:Z570 Amide- π stacked: Alkyl-alkyl:	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:Z570 - A:LYS467	
B394	-9.41	Salt Bridge: A:ARG521:HH22 - :B394:O H Bonds: A:ARG521:HH11 - :B394:O :B394:H - A:LYS467:O :B394:H - A:LYS467:O	Salt Bridge: Attractive: A:ARG521:HH22 - :B394:O A:ARG469:NH2 - :B394:O π -cation:	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl:	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:TYR518 - :B394 A:TYR518 - :B394:C17	

		C-H A:ARG469:HA - :B394:O2 A:ARG522:HD2 - :B394:O A:PRO535:HA - :B394:O4	π -anion:	:B394:C14- A:LYS467 :B394:C17 - A:PRO535		
ZINC00647162	-9.39	Salt Bridge: H Bonds: A:ARG469:HH12 - A:Z162:O4 A:GLY470:HN - A:Z162:O2 A:ARG521:HH11 - A:Z162:O1 A:ARG521:HH22 - A:Z570:O2 A:Z570:H16 - A:LEU536:O A:Z570:H2 - A:LYS467:O C-H A:GLY470:HA1 - A:Z570:O2	Salt Bridge: Attractive: π -cation: π -anion:sulfur A:Z570:S1 - A:TYR518	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: A:TRP464 - A:Z570 Amide- π stacked: Alkyl-alkyl:	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:Z570 - A:ARG469 A:Z570 - A:PRO535 A:Z570 - A:ARG469	
ZINC18321908	-9.39	Salt Bridge: H Bonds: A:ARG521:HH22 - A:Z162:N2 A:Z162:H10 - A:TYR518:OH C-H A:ARG521:HD2 - A:Z162:O3 A:PRO535:HA - A:Z162:O1 A:PRO535:HA - A:Z162:O3 Pi-Donor Hydrogen Bond A:GLY470:HN - A:Z570	Salt Bridge: Attractive: π -cation: π -anion:	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked: A:HIS468:C,O;ARG469:N - A:Z162 Alkyl-alkyl: A:LYS467 - A:Z162	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:Z162 - A:ARG469 A:Z162 - A:ARG469 A:Z162 - A:PRO535 A:Z162 - A:LEU536	Unfavorable Donor-Donor A:ARG522:HH11 - A:Z162:H10
B110	-9.37	Salt Bridge: H Bonds: A:ARG469:HH11 - :B110:O4 A:ARG521:HH11 - :B110:O A:ARG521:HH22 - :B110:O C-H A:ARG469:HA - :B110:O2 A:ARG469:HD1 - :B110:O4 A:ARG522:HD2 - :B110:O	Salt Bridge: Attractive: A:ARG469:NH2 - :B110:O A:ARG521:NH2 - :B110:O π -cation: π -anion:	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: :B110:C14 - A:LYS467 :B110:C17 - A:PRO535	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:TYR518 - :B110 A:TYR518 - :B110:C17 :B110 - A:ARG469	
ZINC08778958	-9.37	Salt Bridge: H Bonds: A:ARG521:HH11 - A:Z958:O3 A:ARG521:HH22 - A:Z958:O2	Salt Bridge: Attractive: π -cation:	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: A:TRP464 - A:Z958 Amide- π stacked:	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:Z958 - A:ARG469 A:Z958 - A:PRO535	

		A:Z958:H10 - A:LEU536:O A:Z958:H5 - A:LYS467:O C-H A:ARG469:HA - A:Z958:O1 A:GLY470:HA1 - A:Z958:O2	A:ARG521:NH2 - A:Z958 π -anion:sulfur A:Z958:S1 - A:TYR518	Alkyl-alkyl:	A:Z958 - A:ARG469	
ZINC12523570	-9.37	Salt Bridge: H Bonds: A:THR515:HG1 - A:Z570:O2 A:ARG521:HH22 - A:Z570:N3 A:LEU536:HN - A:Z570:O1 A:Z570:H24 - A:TYR518:OH C-H A:THR515:HA - A:Z570:O2 Pi-Donor Hydrogen Bond A:GLY470:HN - A:Z570	Salt Bridge: Attractive: π -cation: A:LYS514:NZ - A:Z570 π -anion:	$\pi - \pi$ stacked: A:TYR518 - A:Z570 π - π T shaped: Amide- π stacked: A:HIS468:C,O;ARG469:N - A:Z570 Alkyl-alkyl: A:LYS467 - A:Z570 A:Z570:C20 - A:LYS467	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:Z570 - A:ARG469 A:Z570 - A:ARG469 A:Z570 - A:LYS514 A:Z570 - A:LEU536	
B390	-9.36	Salt Bridge: A:ARG522:HH12 - :B390:O3 H Bonds: A:PHE465:HN - :B390:O2 A:GLY473:HN - :B390:O A:ARG522:HH22 - :B390:O :B390:H - A:LYS467:O :B390:H - A:GLY463:O C-H A:GLY472:HA1 - :B390:O :B390:H35 - A:LYS467:O	Salt Bridge: Attractive: A:ARG522:HH12 - :B390:O π -cation: π -anion:	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: A:LYS467 - :B390 :B390:C 16- A:LYS467 :B390:C 17- A:ARG469	$\pi - \sigma$: π -alkyl:	
B349	-9.35	Salt Bridge: H Bonds: A:ARG521:HH11 - :B349:O5 :B349:H - A:TYR518:OH	Salt Bridge: Attractive: π -cation: π -anion:	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: :B349:C16 - A:PRO535 :B349:C17- A:LYS467	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:TYR518 - :B349 :B349 - A:ARG469	
ZINC25049069	-9.35	Salt Bridge: H Bonds: A:ARG521:HH11 - A:Z069:O3 A:ARG521:HH22 - A:Z069:O2	Salt Bridge: Attractive: π -cation:	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: A:TRP464 - A:Z069 Amide- π stacked:	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:Z069 - A:ARG469 A:Z069 - A:ARG469	

		A:Z069:H4 - A:LYS467:O C-H A:HIS468:HD2 - A:Z069:N1 A:GLY470:HA1 - A:Z069:O2 Pi-Donor Hydrogen Bond A:LEU536:HN - A:Z069	A:ARG521:NH2 - A:Z069 π -anion:sulfur A:Z069:S1 - A:TYR518	Alkyl-alkyl:	A:Z069 - A:PRO535 A:Z069 - A:PRO535 A:Z069 - A:LEU536	
ZINC12735384	-9.31	Salt Bridge: H Bonds: A:ARG521:HH11 - A:Z384:O1 A:ARG521:HH22 - A:Z384:O2 A:Z384:H2 - A:LYS467:O C-H A:HIS468:HD2 - A:Z384:F1 A:GLY470:HA1 - A:Z384:O2	Salt Bridge: Attractive: π -cation: A:ARG521:NH2 - A:Z384 π -anion:sulfur A:Z384:S1 - A:TYR518	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: A:TRP464 - A:Z384 Amide- π stacked: Alkyl-alkyl:	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:Z384 - A:ARG469 A:Z384 - A:PRO535 A:Z384 - A:ARG469	Unfavorable Acceptor-Acceptor A:TYR518:OH - A:Z384:O1
B185	-9.30	Salt Bridge: H Bonds: A:GLY473:HN - :B185:O A:ARG522:HH12 - :B185:O1 A:ARG522:HH12 - :B185:O2 A:ARG522:HH22 - :B185:O2 :B185:H - A:LYS467:O C-H A:LYS467:HE1 - :B185:O	Salt Bridge: Attractive: A:LYS467:NZ - :B185:O A:ARG522:NH2 - :B185:O π -cation: A:ARG522:NH1 - :B185 π -anion:sulfur :B185:S - A:PHE478	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: :B185 - A:TYR518 Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: A:LYS467 - :B185 A:LYS467 - :B185 :B185:C6 - A:LYS467 :B185:C 17- A:ARG469	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:TYR518 - :B185:C22	
B322	-9.28	Salt Bridge: A:ARG522:HH22 - :B322:O H Bonds: A:GLY470:HN - :B322:O1 A:GLY473:HN - :B322:O5 A:TYR518:HH - :B322:O3 C-H A:LYS467:HE1 - :B322:O4 A:GLY470:HA1 - :B322:O2 A:GLY472:HA1 - :B322:O	Salt Bridge: Attractive: A:ARG522:HH22 - :B322:O5 A:LYS467:NZ - :B322:O π -cation: π -anion:	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: A:LYS467 - :B322	$\pi - \sigma$: π -alkyl:	
ZINC33048041	-9.28	Salt Bridge: H Bonds: A:ARG521:HH22 - A:Z041:O2 A:Z041:H2 - A:LYS467:O	Salt Bridge: Attractive: π -cation: A:ARG521:NH2 - A:Z041	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: A:TRP464 - A:Z041 Amide- π stacked:	$\pi - \sigma$: A:PRO535:HB2 - A:Z041 π -alkyl: A:Z041 - A:ARG469 A:Z041 - A:PRO535	Unfavorable Acceptor-Acceptor A:TYR518:OH - A:Z041:O1

		C-H A:GLY470:HA1 - A:Z041:O2	π -anion:sulfur A:Z041:S1 - A:TYR518 A:Z041:S2 - A:TYR518	Alkyl-alkyl:	A:Z041 - A:LEU536 A:Z041 - A:ARG469	
B109	-9.27	Salt Bridge: H Bonds: A:ARG521:HH11 - :B109:O6 :B109:H35 - A:TYR518:OH A:HIS468:HA - :B109:O2 :B109:H - :B109:O3 C-H A:ARG469:HA - :B109:O1 A:PRO535:HA - :B109:O5 :B109:H34 - A:LYS467:O	Salt Bridge: Attractive: A:ARG469:NH2 - :B109:O A:ARG521:NH2 - :B109:O π -cation: π -anion:	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: :B109:C16 - A:PRO535 :B109:C16 - A:LEU536 :B109:C17 - A:LYS467	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:TRP464 - :B109:C26 A:TYR518 - :B109 A:TYR518 - :B109:C16 :B109 - A:ARG469	
ZINC06140208	-9.27	Salt Bridge: H Bonds: A:ARG469:HN - A:Z208:N3 A:ARG521:HH11 - A:Z208:O1 A:ARG521:HH22 - A:Z208:O2 A:Z208:H6 - A:LYS467:O C-H A:HIS468:HA - A:Z208:N3 A:ARG469:HA - A:Z208:O3 A:GLY470:HA1 - A:Z208:O2	Salt Bridge: Attractive: π -cation: A:ARG521:NH2 - A:Z208 π -anion:sulfur A:Z208:S1 - A:TYR518	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: A:TRP464 - A:Z208 Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: A:Z208:Br - A:PRO535 A:Z208:C15 - A:ARG469	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:HIS468 - A:Z208:C15 A:Z208 - A:ARG469 A:Z208 - A:PRO535 A:Z208 - A:ARG469	Halogen (Cl, Br, I) A:LEU536:O - A:Z208:Br Unfavorable Acceptor- Acceptor A:TYR518:OH - A:Z208:O1
ZINC17909510	-9.23	Salt Bridge: H Bonds: A:LYS467:HN - A:Z510:S1 A:GLY470:HN - A:Z510:O2 A:ARG521:HH11 - A:Z510:O3 A:ARG521:HH22 - A:Z510:O2 C-H A:LYS467:HE1 - A:Z510:O1 A:GLY470:HA1 - A:Z510:O2 A:GLY472:HA1 - A:Z510:O1 A:ARG522:HD2 - A:Z510:O3	Salt Bridge: Attractive: π -cation: π -anion:sulfur A:Z510:S1 - A:PHE465	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: A:Z510 - A:PHE465 Amide- π stacked: A:GLY470:C,O;GLN471:N - A:Z510 Alkyl-alkyl: A:ARG469 - A:Z510 A:PRO535 - A:Z510	$\pi - \sigma$: π -alkyl:	
B214	-9.22	Salt Bridge: H Bonds: A:PHE465:HN - :B214:O2	Salt Bridge: Attractive:	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped:	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:TRP464 - :B214:C16	

		A:GLY466:HN - :B214:O2 A:LYS467:HN - :B214:O2 A:GLY470:HN - :B214:O A:ARG522:HH12 - :B214:O1 A:ARG522:HH22 - :B214:O1 :B214:H - A:LYS467:O C-H :B214:H11 - A:LYS467:O	π -cation: π -anion: :B214:O - A:TRP464	Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: :B214:C17 - A:ARG469	:B214 - A:LYS467	
Y43	-9.22	Salt Bridge: H Bonds: A:PHE465:HN - :Y43:N A:LYS514:HZ1 - :Y43:O A:LEU536:HN - :Y43:O8 C-H Bond A:LYS514:HE2 - :Y43:N2 A:PRO535:HA - :Y43:O8 :Y43:H30 - A:GLY463:O :Y43:H31 - A:LYS467:O	Salt Bridge: Attractive: π -cation: π -anion:	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: :Y43:C 16- A:ARG469 :Y43:C 19- A:ARG469	$\pi - \sigma$: A:TRP464:HZ3 - :Y43 π -alkyl: A:TYR518 - :Y43 A:TYR518 - :Y43 :Y43 - A:ARG469 :Y43 - A:LEU536	
B323	-9.21	Salt Bridge: H Bonds: A:PHE465:HN - :B323:O5 A:LYS467:HN - :B323:O5 A:GLY473:HN - :B323:O2 A:ARG521:HH11 - :B323:O :B323:H - A:LYS467:O C-H Bond: A:GLY472:HA1 - :B323:O2	Salt Bridge: Attractive: A:ARG521:NH1 - :B323:O A:ARG522:NH1 - :B323:O π -cation: π -anion:	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: :B323:C - A:ARG469	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:TRP464 - :B323:C17 A:TRP464 - :B323:C17	A:ARG521:HH22 - :B323:H36
ZINC03295341	-9.18	Salt Bridge: H Bonds: A:ARG469:HH12 - A:Z341:O2 A:GLY470:HN - A:Z341:S2 A:GLY470:HN - A:Z341:O1 A:GLN471:HN - A:Z341:S2 A:GLY472:HN - A:Z341:S2 A:ARG521:HH22 - A:Z341:O1 A:Z341:H7 - A:LEU536:O C-H Bond:	Salt Bridge: Attractive: π -cation: A:ARG521:NH2 - A:Z341 π -anion:	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked: Pi-Lone Pair A:LYS467:O - A:Z341 Alkyl-alkyl: A:Z341:C13 - A:ARG522 A:Z341:C13 - B:LEU554	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:TRP464 - A:Z341 A:PHE465 - A:Z341 A:PHE465 - A:Z341:C20 A:TYR518 - A:Z341:C13 A:Z341 - A:LYS467 A:Z341 - A:LYS467 A:Z341 - A:PRO535	

		A:GLY470:HA1 - A:Z341:O1 A:GLY472:HA1 - A:Z341:N4				
ZINC12526250	-9.18	Salt Bridge: H Bonds: A:ARG521:HH11 - A:Z250:O2 A:ARG521:HH22 - A:Z250:O1 A:Z250:H18 - A:LEU536:O A:Z250:H2 - A:LYS467:O C-H Bond: A:ARG469:HA - A:Z250:O3 A:GLY470:HA1 - A:Z250:O1 Pi-Donor Hydrogen Bond A:LEU536:HN - A:Z250	Salt Bridge: Attractive: π -cation: A:ARG521:NH2 - A:Z250 π -anion:sulfur A:Z250:S1 - A:TYR518	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: A:TRP464 - A:Z250 Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: A:Z250:C11 - A:ARG469	$\pi - \sigma$: A:TRP464:HZ3 - A:Z250 π -alkyl: A:HIS468 - A:Z250:C11 A:Z250 - A:ARG469 A:Z250 - A:PRO535 A:Z250 - A:PRO535 A:Z250 - A:LEU536 A:Z250 - A:ARG469	A:TYR518:OH - A:Z250:O2
ZINC19108173	-9.18	Salt Bridge: H Bonds: A:ARG521:HH11 - A:Z173:O1 A:ARG521:HH22 - A:Z173:O2 A:Z173:H2 - A:LYS467:O C-H Bond: A:ARG469:HA - A:Z173:O3 A:GLY470:HA1 - A:Z173:O2	Salt Bridge: Attractive: π -cation: A:ARG521:NH2 - A:Z173 A:ARG521:NH2 - A:Z173 π -anion:sulfur A:Z173:S1 - A:TYR518 A:Z173:S2 - A:TYR518 A:Z173:S2 - A:TYR518	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: A:TRP464 - A:Z173 Amide- π stacked: Alkyl-alkyl:	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:Z173 - A:ARG469 A:Z173 - A:PRO535 A:Z173 - A:PRO535 A:Z173 - A:LEU536 A:Z173 - A:ARG469	A:TYR518:OH - A:Z173:O1
B367	-9.17	Salt Bridge: H Bonds: A:ARG521:HH11 - :B367:O5 :B367:H - A:TYR518:OH C-H Bond: A:PRO535:HA - :B367:O4	Salt Bridge: Attractive: A:ARG469:NH2 - :B367:O A:ARG521:NH2 - :B367:O π -cation: π -anion:	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: A:ARG469 - :B367 :B367:C 16- A:PRO535 :B367:C 17- A:LYS467	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:TYR518 - :B367:C16 :B367 - A:ARG469	
ZINC05939375	-9.17	Salt Bridge: H Bonds: A:ARG521:HH22 - A:Z375:N3 A:Z375:H13 - A:TYR518:OH C-H Bond: A:LYS514:HE2 - A:Z375:O1	Salt Bridge: Attractive: π -cation: π -anion:	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked: A:HIS468:C,O;ARG469:N - A:Z375 Alkyl-alkyl:	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:Z375 - A:ARG469 A:Z375 - A:ARG469 A:Z375 - A:PRO535 A:Z375 - A:LEU536	

		Pi-Donor Hydrogen Bond A:GLY470:HN - A:Z375 A:LEU536:HN - A:Z375		A:LYS467 - A:Z375		
ZINC12605332	-9.17	Salt Bridge: H Bonds: A:GLY472:HN - A:Z332:O2 A:ARG522:HH11 - A:Z332:O1 A:LEU536:HN - A:Z332:O4 A:Z332:H1 - A:HIS468:O A:Z332:H2 - A:LYS467:O C-H Bond: A:ARG469:HA - A:Z332:O3 A:GLY470:HA1 - A:Z332:O2 A:GLY472:HA2 - A:Z332:O1	Salt Bridge: Attractive: π -cation: A:ARG521:NH2 - A:Z332 π -anion:	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: A:Z332:C10 - A:ARG469	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:Z332 - A:LYS467 A:Z332 - A:ARG469	A:GLN471:HN - A:Z332:H1
B387	-9.15	Salt Bridge: A:ARG469:HH12 - :B387:O5 H Bonds: A:ARG521:HH22 - :B387:O :B387:H - A:LYS467:O :B387:H38 - A:LYS467:O C-H Bond: A:GLY470:HA1 - :B387:O	Salt Bridge: Attractive: A:ARG469:HH12 - :B387:O π -cation: π -anion:	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: :B387:C 17- A:PRO535	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:TYR518 - :B387 A:TYR518 - :B387	
ZINC19079358	-9.14	Salt Bridge: H Bonds: A:ARG521:HH11 - A:Z358:O2 A:ARG521:HH22 - A:Z358:O1 A:Z358:H1 - A:HIS468:O A:Z358:H3 - A:LYS467:O A:Z358:H8 - A:LEU536:O C-H Bond: A:GLY470:HA1 - A:Z358:O1	Salt Bridge: Attractive: π -cation: A:ARG521:NH2 - A:Z358 A:ARG521:NH2 - A:Z358 π -anion:sulfur A:Z358:S1 - A:TYR518 A:Z358:S2 - A:TYR518	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: A:Z358:C6 - A:LYS467	$\pi - \sigma$: A:PRO535:HB2 - A:Z358 π -alkyl: A:TRP464 - A:Z358:C6 A:TRP464 - A:Z358:C6 A:TRP464 - A:Z358:C8 A:PHE465 - A:Z358:C7 A:Z358 - A:ARG469 A:Z358 - A:PRO535 A:Z358 - A:LEU536	A:GLY470:HN - A:Z358:H1
B108	-9.12	Salt Bridge: H Bonds: A:GLY470:HN - :B108:O A:LYS514:HZ1 - :B108:O C-H Bond: A:GLY470:HA1 - :B108:O A:LYS514:HE1 - :B108:O2	Salt Bridge: Attractive: A:LYS514:NZ - :B108:O π -cation: π -anion:	$\pi - \pi$ stacked: A:TYR518 - :B108 π - π T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: A:ARG469 - :B108 A:ARG469 - :B108	$\pi - \sigma$: π -alkyl:	

		A:LYS514:HE1 - :B108:O4 A:LYS514:HE1 - :B108:O3 A:THR515:HA - :B108:O		A:PRO535 - :B108 :B108:C17 - A:ARG469 :B108:C 17- A:PRO535 :B108:C 26- A:LYS514		
B333	-9.12	Salt Bridge: H Bonds: A:PHE465:HN - :B333:O1 A:GLY470:HN - :B333:O5 A:ARG521:HH11 - :B333:O3 A:ARG521:HH22 - :B333:O5 A:LEU536:HN - :B333:N :B333:H - A:TYR518:OH C-H Bond: A:TRP464:HA - :B333:O1 A:ARG469:HA - :B333:O4 A:GLY470:HA1 - :B333:O5 :B333:H28 - :B333:O5	Salt Bridge: Attractive: π -cation: A:ARG521:NH1 - :B333 π -anion:	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: :B333:C10 - A:ARG469 :B333:C 11- A:ARG469 :B333:C 12- A:LYS467 :B333 - A:LEU536	$\pi - \sigma$: π -alkyl:	
ZINC09753102	-9.12	Salt Bridge: H Bonds: A:GLY472:HN - A:Z102:O1 A:ARG522:HH11 - A:Z102:O2 A:LEU536:HN - A:Z102:O4 A:Z102:H1 - A:HIS468:O A:Z102:H2 - A:LYS467:O C-H Bond: A:ARG469:HA - A:Z102:O3 A:GLY470:HA1 - A:Z102:O1 A:GLY472:HA2 - A:Z102:O2	Salt Bridge: Attractive: π -cation: A:ARG521:NH1 - A:Z102 π -anion:	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: A:Z102:C10 - A:ARG469	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:Z102 - A:LYS467 A:Z102 - A:ARG469	
B200	-9.11	Salt Bridge: H Bonds: A:ARG469:HH12 - :B200:O3 A:GLY470:HN - :B200:O2 A:GLY473:HN - :B200:O4 A:ARG521:HH11 - :B200:O1 A:ARG521:HH22 - :B200:O2 :B200:H - A:LEU536:O :B200:H - A:HIS468:O C-H Bond:	Salt Bridge: Attractive: π -cation: π -anion:sulfur :B200:S - A:TYR518	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl:	$\pi - \sigma$: π -alkyl: :B200 - A:ARG469 :B200 - A:PRO535 :B200 - A:LYS467 :B200 - A:LYS467	

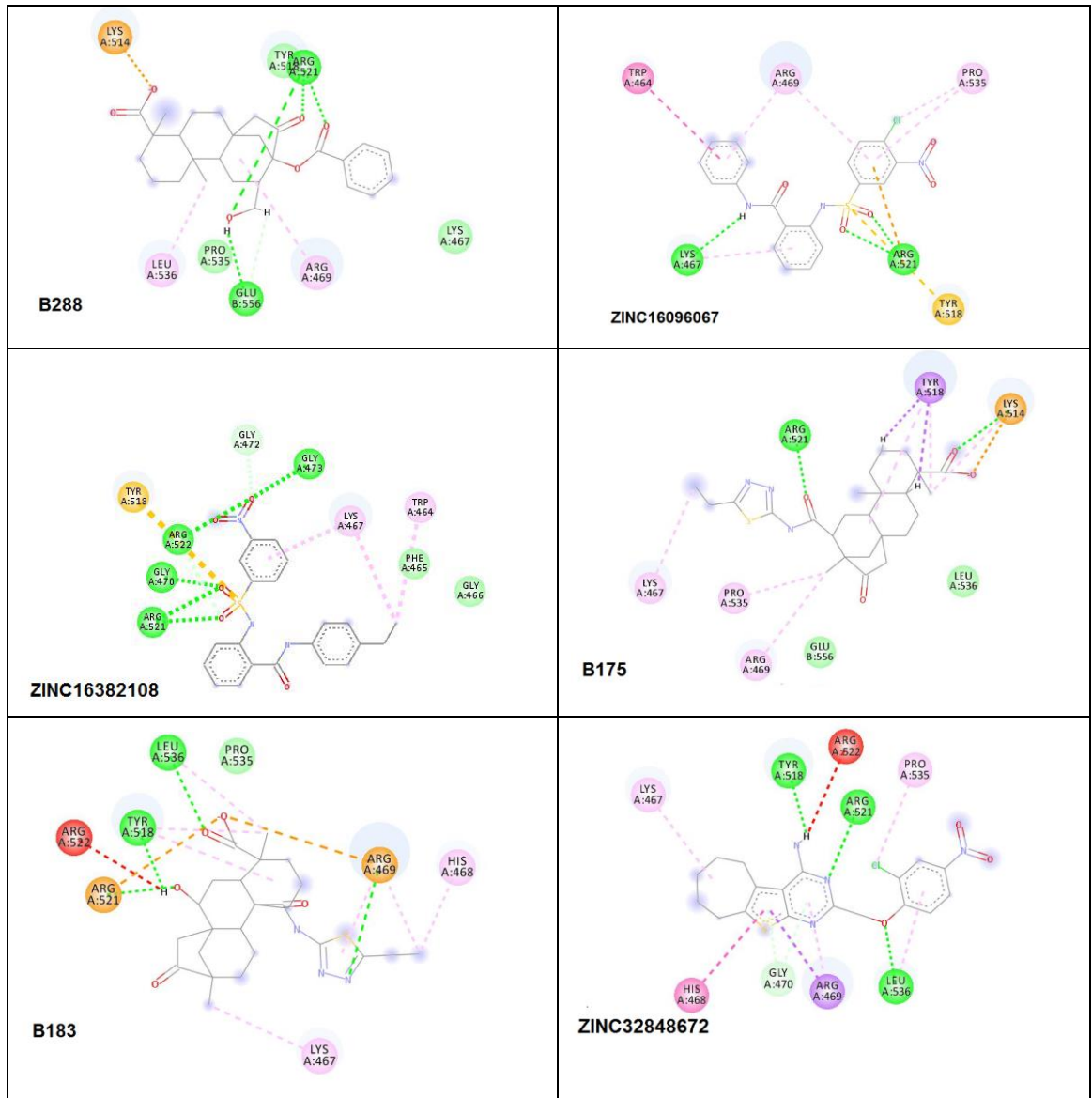
		A:LYS467:HE1 - :B200:O A:ARG469:HA - :B200:N A:GLY470:HA1 - :B200:O A:GLY472:HA1 - :B200:O				
ZINC04756871	-9.10	Salt Bridge: H Bonds: A:ARG521:HH11 - A:Z871:O1 A:ARG469:HN - A:Z871:O4 A:ARG521:HH22 - A:Z871:O2 A:Z871:H2 - A:LYS467:O C-H Bond: A:HIS468:HD2 - A:Z871:O4 A:GLY470:HA1 - A:Z871:O2	Salt Bridge: Attractive: π -cation: A:ARG521:NH2 - A:Z871 π -anion:sulfur A:Z871:S1 - A:TYR518	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: A:TRP464 - A:Z871 Amide- π stacked: Alkyl-alkyl:	$\pi - \sigma$: A:TRP464:HZ3 - A:Z871 π -alkyl: A:Z871 - A:ARG469 A:Z871 - A:ARG469 A:Z871 - A:ARG469 A:Z871 - A:PRO535	
ZINC19079146	-9.09	Salt Bridge: H Bonds: A:LYS467:HN - A:Z146:S3 A:GLY470:HN - A:Z146:O4 A:GLY472:HN - A:Z146:O3 A:ARG521:HH22 - A:Z146:O4 A:ARG521:HH22 - A:Z146:O4 A:Z146:H3 - A:TYR518:OH A:Z146:H4 - A:TYR518:OH A:Z146:H4 - A:LYS467:O A:Z146:H5 - A:GLY463:O C-H Bond: A:GLY470:HA1 - A:Z146:O3	Salt Bridge: Attractive: π -cation: π -anion:sulfur A:Z146:S3 - A:PHE465	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: A:TRP464 - A:Z146 A:Z146 - A:TRP464 Amide- π stacked: Alkyl-alkyl:	$\pi - \sigma$: π -alkyl:	
ZINC12526041	-9.08	Salt Bridge: H Bonds: A:ARG521:HH22 - A:Z041:O2 A:Z041:H2 - A:LYS467:O A:Z041:H14 - A:LEU536:O C-H Bond: A:GLY470:HA1 - A:Z041:O2 Pi-Donor Hydrogen Bond A:LEU536:HN - A:Z041	Salt Bridge: Attractive: π -cation: A:ARG521:NH2 - A:Z041 π -anion:sulfur A:Z041:S1 - A:TYR518	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: A:TRP464 - A:Z041 Amide- π stacked: Alkyl-alkyl:	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:HIS468 - A:Z041:C8 A:Z041 - A:ARG469 A:Z041 - A:ARG469 A:Z041 - A:PRO535 A:Z041 - A:PRO535 A:Z041 - A:LEU536	A:TYR518:OH - A:Z041:O1
ZINC19079928	-9.08	Salt Bridge:	Salt Bridge:	$\pi - \pi$ stacked:	$\pi - \sigma$: A:ARG469:HA - A:Z928	A:GLN471:HN - A:Z928:H1

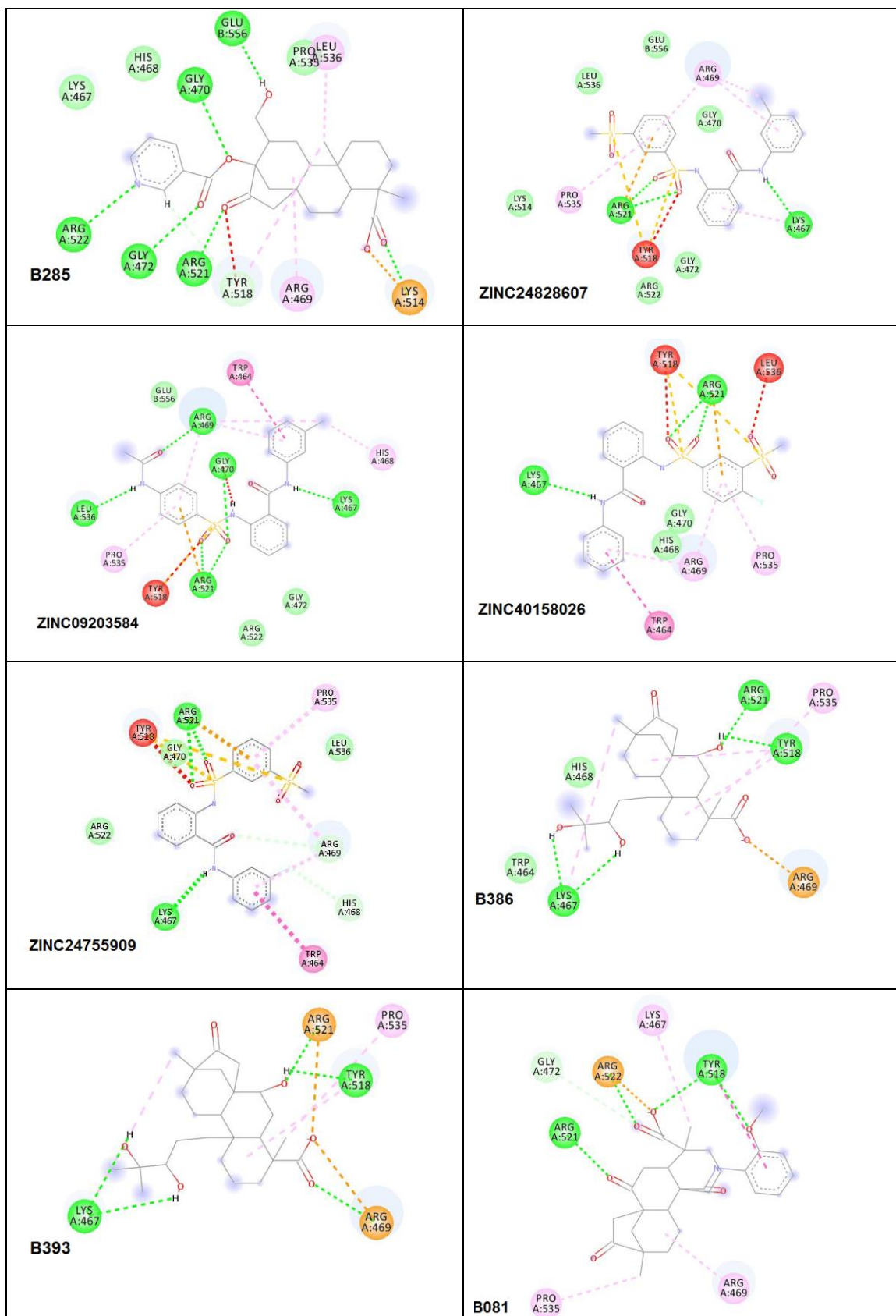
		H Bonds: A:PHE465:HN - A:Z928:O3 A:GLY466:HN - A:Z928:O3 A:LYS467:HN - A:Z928:O4 A:GLY470:HN - A:Z928:O2 A:GLY472:HN - A:Z928:O2 A:ARG522:HH11 - A:Z928:O1 A:Z928:H1 - A:HIS468:O A:Z928:H3 - A:LYS467:O Pi-Donor Hydrogen Bond A:GLY470:HN - A:Z928 C-H Bond: A:GLY470:HA1 - A:Z928:O2	Attractive: π -cation: π -anion:sulfur A:Z928:S2 - A:PHE465	π - π T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl:	π -alkyl: A:Z928 - A:ARG469 A:Z928 - A:LYS467	
B308	-9.07	Salt Bridge: H Bonds: A:ARG521:HH22 - :B308:O5 A:LEU536:HN - :B308:O C-H Bond: A:GLY472:HA2 - :B308:O4	Salt Bridge: Attractive: A:ARG522:NH1 - :B308:O π -cation: π -anion:	π - π stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: A:ARG469 - :B308 :B308:C16 - A:LYS467 :B308:C 17- A:ARG469 :B308:C 17- A:PRO535	π - σ : π -alkyl:	A:GLY472:HN - :B308:H
ZINC12535964	-9.06	Salt Bridge: H Bonds: A:ARG521:HH11 - A:Z964:O1 A:ARG521:HH22 - A:Z964:O2 A:Z964:H2 - A:LYS467:O C-H Bond: A:ARG469:HA - A:Z964:O3 A:GLY470:HA1 - A:Z964:O2 Pi-Donor Hydrogen Bond A:LEU536:HN - A:Z964	Salt Bridge: Attractive: π -cation: A:ARG521:NH2 - A:Z964 π -anion:sulfur A:Z964:S1 - A:TYR518	π - π stacked: π - π T shaped: A:TRP464 - A:Z964 Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: A:Z964:C11 - A:ARG469 A:HIS468 - A:Z964:C11 A:Z964 - A:ARG469	π - σ : π -alkyl: A:Z964 - A:PRO535 A:Z964 - A:PRO535 A:Z964 - A:LEU536 A:Z964 - A:ARG469	A:TYR518:OH - A:Z964:O1
ZINC16194056	-9.04	Salt Bridge: H Bonds: A:ARG469:HN - A:Z056:O2 A:ARG521:HH11 - A:Z056:O5 A:ARG521:HH22 - A:Z056:O4 A:Z056:H7 - A:LYS467:O	Salt Bridge: Attractive: π -cation: A:ARG521:NH2 - A:Z056 π -anion:sulfur A:Z056:S1 - A:TYR518	π - π stacked: π - π T shaped: A:TRP464 - A:Z056 Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: A:Z056:C4 - A:ARG469	π - σ : A:TRP464:HZ3 - A:Z056 π -alkyl: A:TRP464 - A:Z056:Cl A:HIS468 - A:Z056:C4 A:Z056 - A:ARG469 A:Z056 - A:ARG469 A:Z056 - A:PRO535	A:TYR518:OH - A:Z056:O5

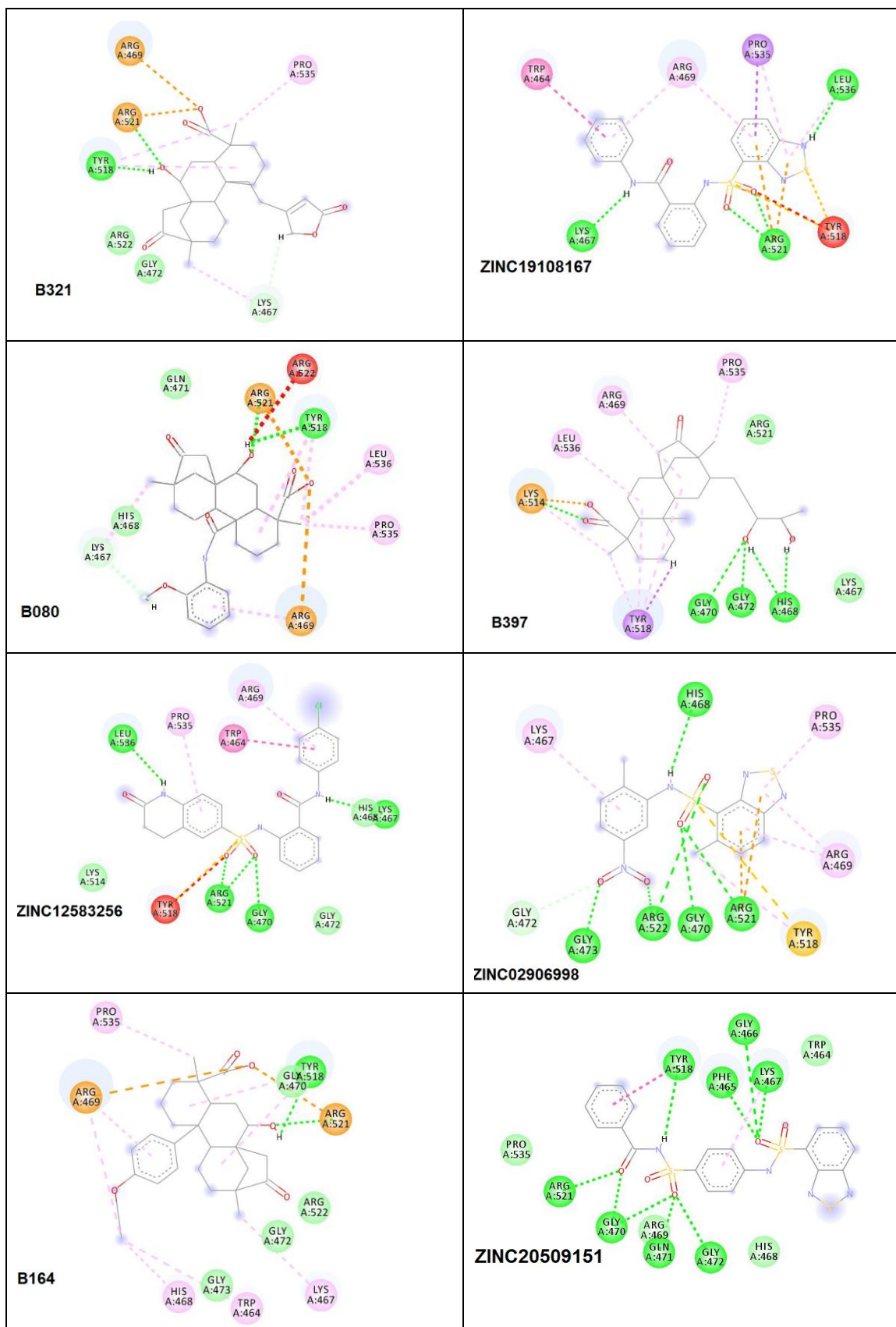
		C-H Bond: A:HIS468:HA - A:Z056:O2 A:ARG469:HA - A:Z056:O3 A:GLY470:HA1 - A:Z056:O4				
ZINC16426525	-9.03	Salt Bridge: H Bonds: A:PHE465:HN - A:Z525:O4 A:GLY466:HN - A:Z525:O4 A:LYS467:HN - A:Z525:O4 A:GLY472:HN - A:Z525:O1 A:TYR518:HH - A:Z525:O3 A:ARG521:HH11 - A:Z525:O2 C-H Bond: A:GLY470:HA1 - A:Z525:O1 A:ARG522:HD2 - A:Z525:O2	Salt Bridge: Attractive: π -cation: π -anion:sulfur A:Z525:S2 - A:PHE465 A:Z525:S1 - A:TYR518	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: A:TYR518 - A:Z525 Amide- π stacked: Alkyl-alkyl:	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:Z525 - A:ARG469	A:TYR518:OH - A:Z525:O2
ZINC12552688	-9.02	Salt Bridge: H Bonds: A:ARG521:HH11 - A:Z688:O2 A:ARG521:HH22 - A:Z688:O1 A:Z688:H2 - A:LYS467:O A:GLY470:HA1 - A:Z688:N3 C-H Bond: A:GLY470:HA1 - A:Z688:O1	Salt Bridge: Attractive: π -cation: A:ARG521:NH1 - A:Z688 π -anion:sulfur A:Z688:S1 - A:TYR518	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: A:TRP464 - A:Z688 Amide- π stacked: Alkyl-alkyl:	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:Z688 - A:PRO535 A:Z688 - A:ARG469	
ZINC72014943	-9.02	Salt Bridge: H Bonds: A:ARG521:HH11 - A:Z943:O2 A:ARG521:HH22 - A:Z943:O1 A:Z943:H2 - A:LYS467:O C-H Bond: A:GLY470:HA1 - A:Z943:O1 A:Z943:H9 - A:LEU536:O Pi-Donor Hydrogen Bond A:LEU536:HN - A:Z943	Salt Bridge: Attractive: π -cation: A:ARG521:NH2 - A:Z943 π -anion:sulfur A:Z943:S1 - A:TYR518	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: A:TRP464 - A:Z943 Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: A:Z943:C10 - A:ARG469	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:HIS468 - A:Z943:C10 A:Z943 - A:ARG469 A:Z943 - A:PRO535 A:Z943 - A:PRO535 A:Z943 - A:LEU536 A:Z943 - A:ARG469	
ZINC21713594	-9.01	Salt Bridge: H Bonds: A:PHE465:HN - A:Z594:O3 A:GLY466:HN - A:Z594:O3	Salt Bridge: Attractive: π -cation:	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked:	$\pi - \sigma$: π -alkyl: A:Z594 - A:ARG469 A:Z594 - A:PRO535	A:TYR518:OH - A:Z594:O2

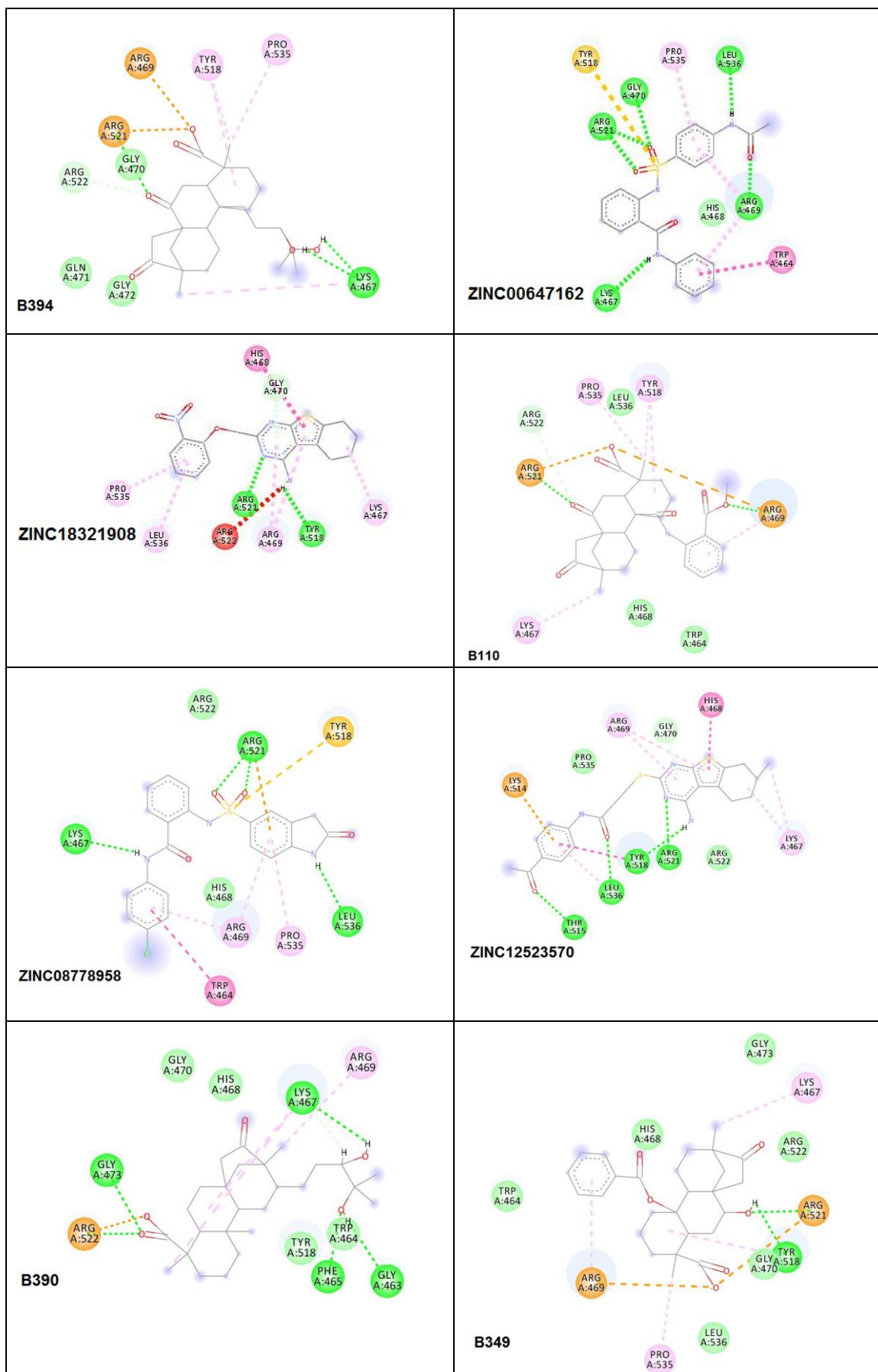
		A:ARG521:HH11 - A:Z594:O2 A:ARG521:HH22 - A:Z594:O1 A:Z594:H9 - A:LYS467:O C-H Bond: A:TRP464:HA - A:Z594:O3 A:GLY470:HA1 - A:Z594:O1	A:ARG521:NH2 - A:Z594 A:ARG521:NH2 - A:Z594 π -anion:sulfur A:Z594:S1 - A:TYR518 A:Z594:S3 - A:TYR518	Alkyl-alkyl:	A:Z594 - A:PRO535 A:Z594 - A:LEU536 A:Z594 - A:LYS467	
ZINC09356079	-9.00	Salt Bridge: H Bonds: A:GLY470:HN - A:Z079:O2 A:ARG521:HH11 - A:Z079:O1 A:ARG521:HH22 - A:Z079:O2 A:Z079:H2 - A:LYS467:O C-H-Bond: A:HIS468:HD2 - A:Z079:N3 A:GLY470:HA1 - A:Z079:O2	Salt Bridge: Attractive: π -cation: A:ARG521:NH2 - A:Z079 π -anion:sulfur A:Z079:S1 - A:TYR518	$\pi - \pi$ stacked: π - π T shaped: Amide- π stacked: Alkyl-alkyl: A:Z079:Cl - A:ARG469 A:Z079:Cl - A:PRO535 A:Z079:Cl - A:LEU536	$\pi - \sigma$: A:ARG469:HG2 - A:Z079 π -alkyl: A:TYR518 - A:Z079:Cl A:Z079 - A:PRO535	B:GLU556:OE1 - A:Z079:Cl A:TYR518:OH - A:Z079:O1

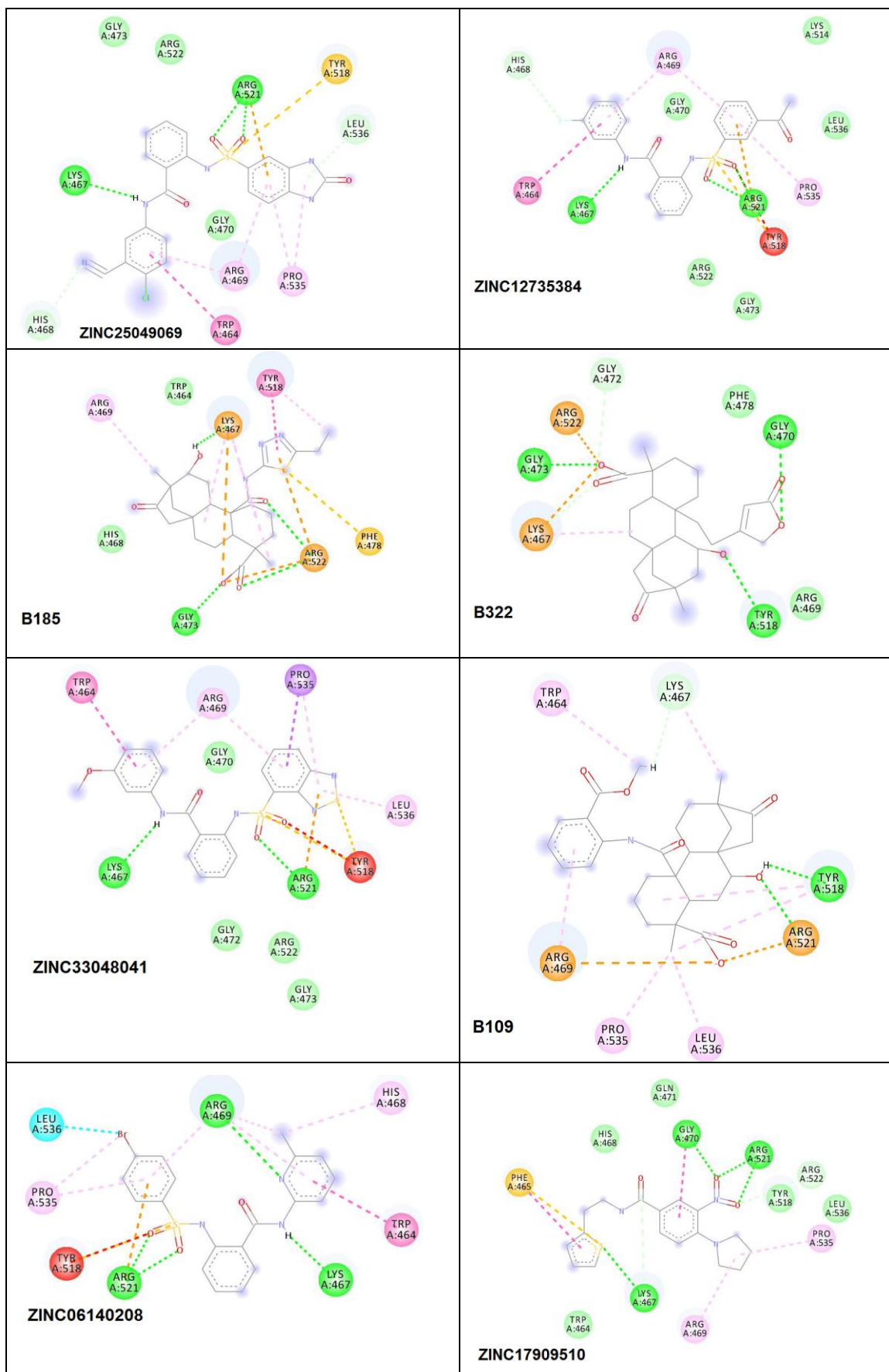
Ligand türleri arasında Breed programı ile tasarlanan ligandlardan 93 (409 tanesinin %23'ü), literatürlerden alınan 22 (58 tanesinin %37'si) ve ZINC15 veri tabanından alınan 248 (1170 ligandın %21'i) ligand -8.0 kcal/mol'ün altında skor elde etmiştir. Breed programı ile tasarlanan B288 kodlu ligand -10.74 kcal/mol enerjilik yerleştirme skoru ile en iyi bağlanan ligand özelliği gösterirken, ZINC16096067 ve ZINC16382108 -10.42 kcal/mol ve -10.17 kcal/mol'lük skor ile takip etmiştir. Literatürlerden alınan ligandlardan en iyi skoru ise Y43 kodlu ligand -9.22 kcal/mol'lük skor elde ederek bütün ligandlar içinde 43. sırada yer almıştır. Ligand tasarımı için kalıp olarak kullanılan kalıp moleküllerden Y14 ve Y16 kodlu ligandlar etkileşimlerini incelemeye değer gördüğümüz -8.00 kcal/mol barajını aşmıştır.

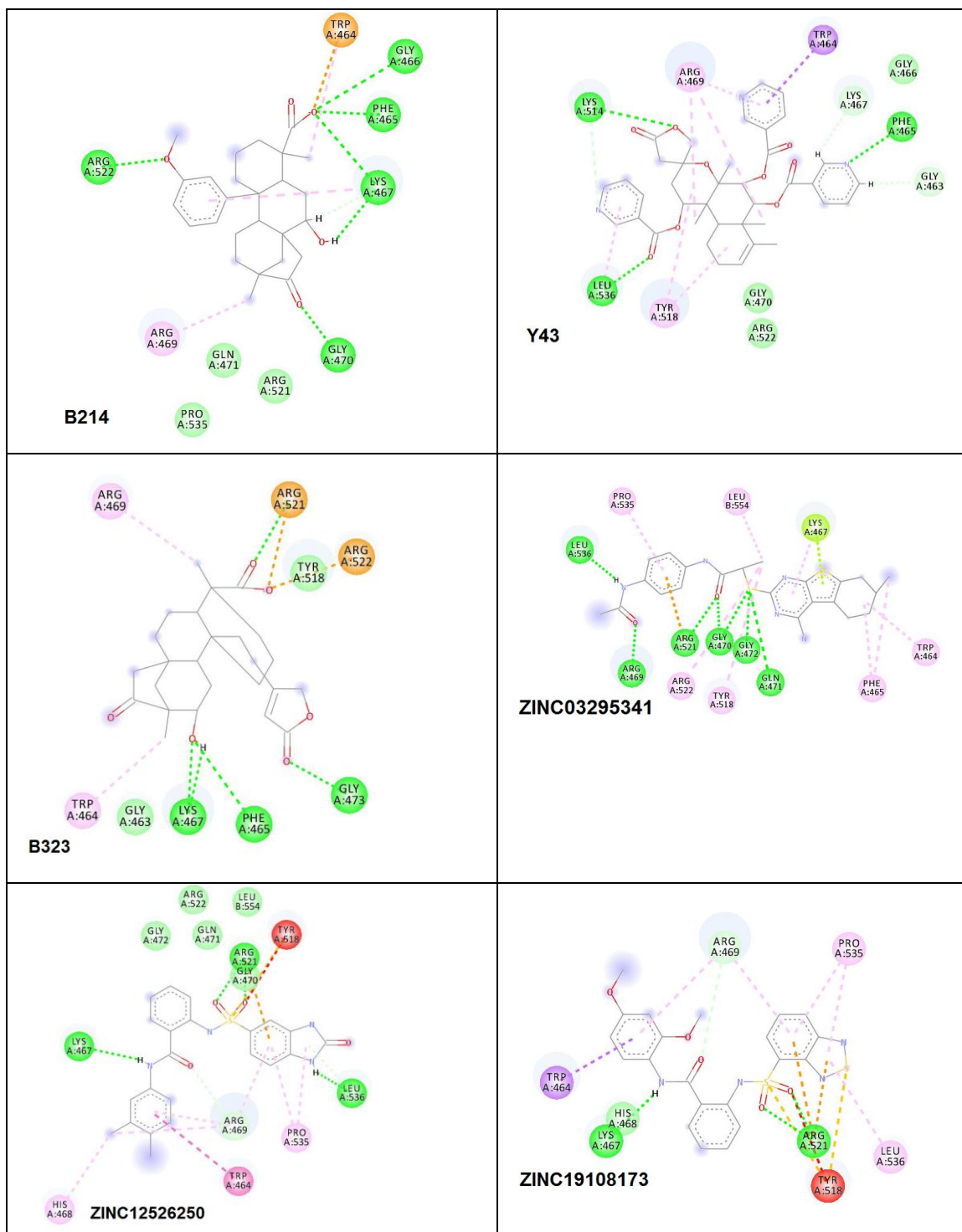


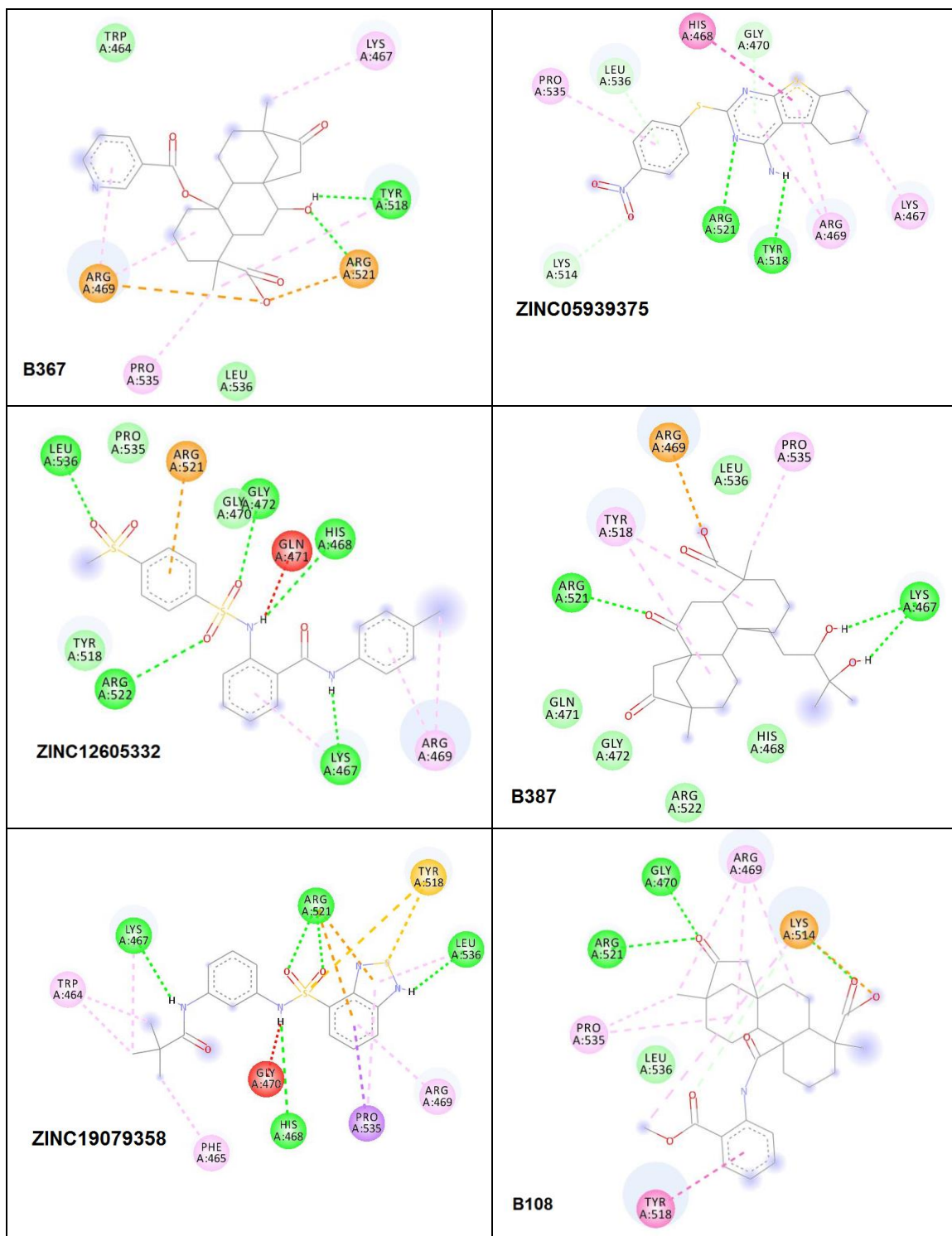


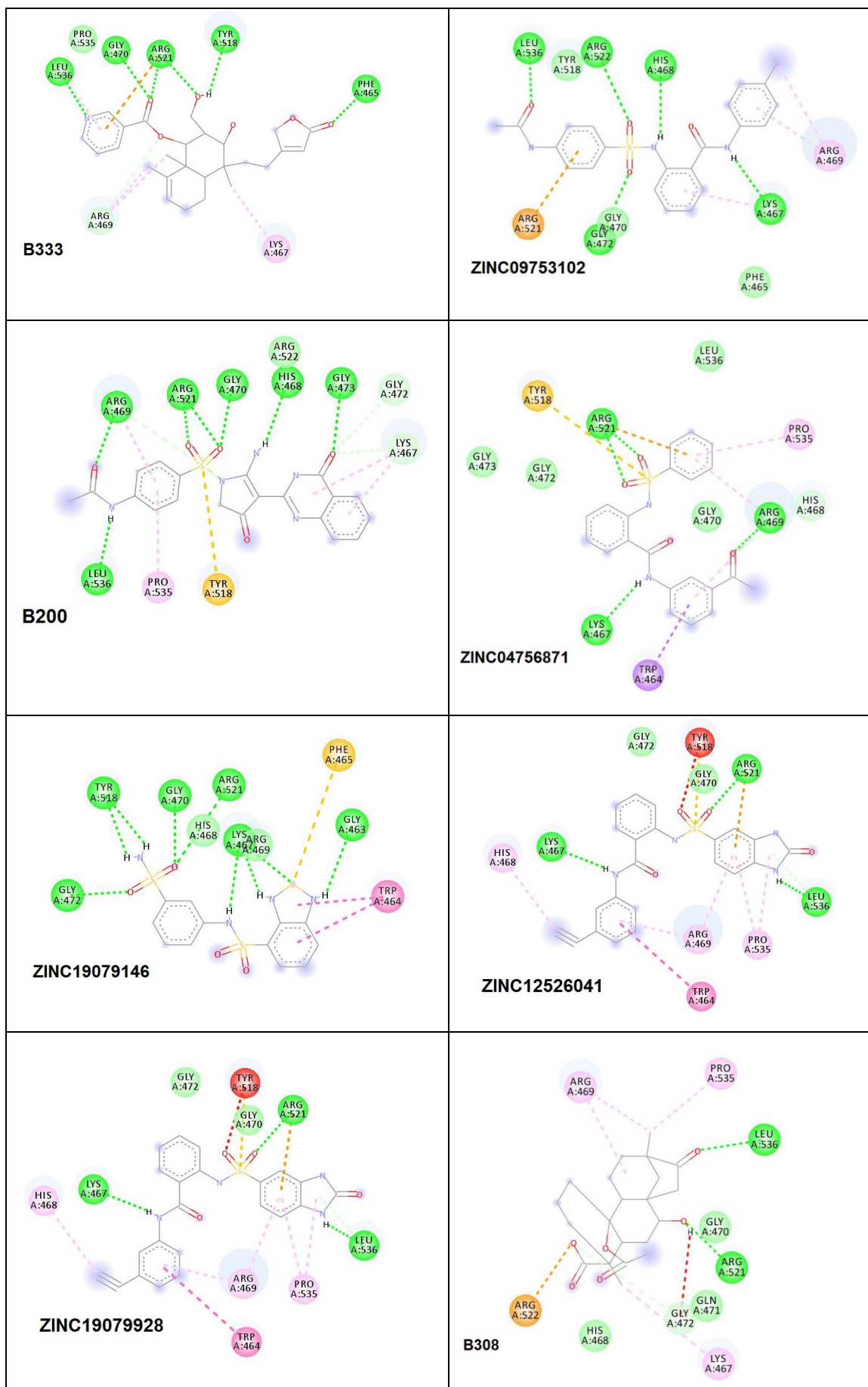


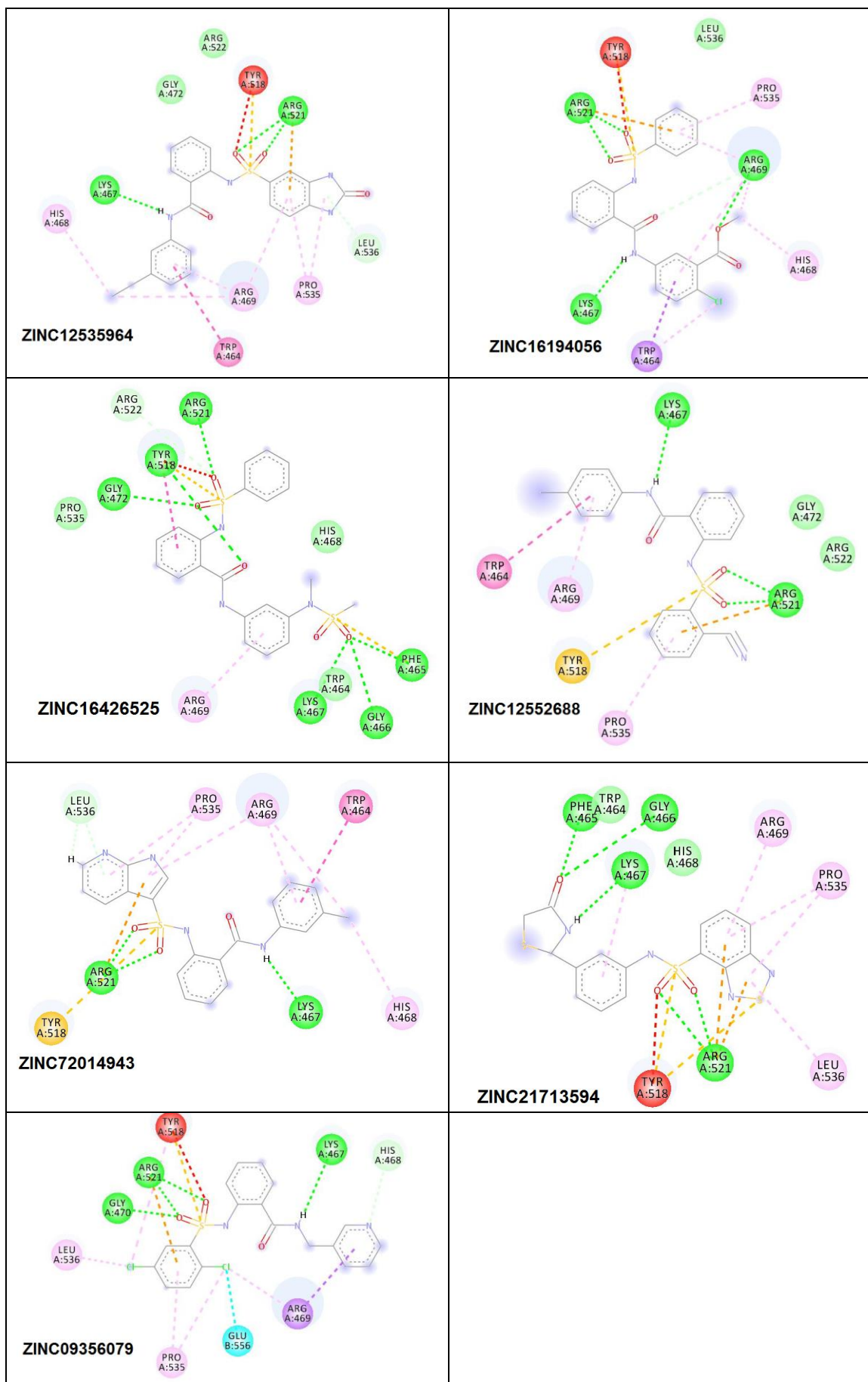






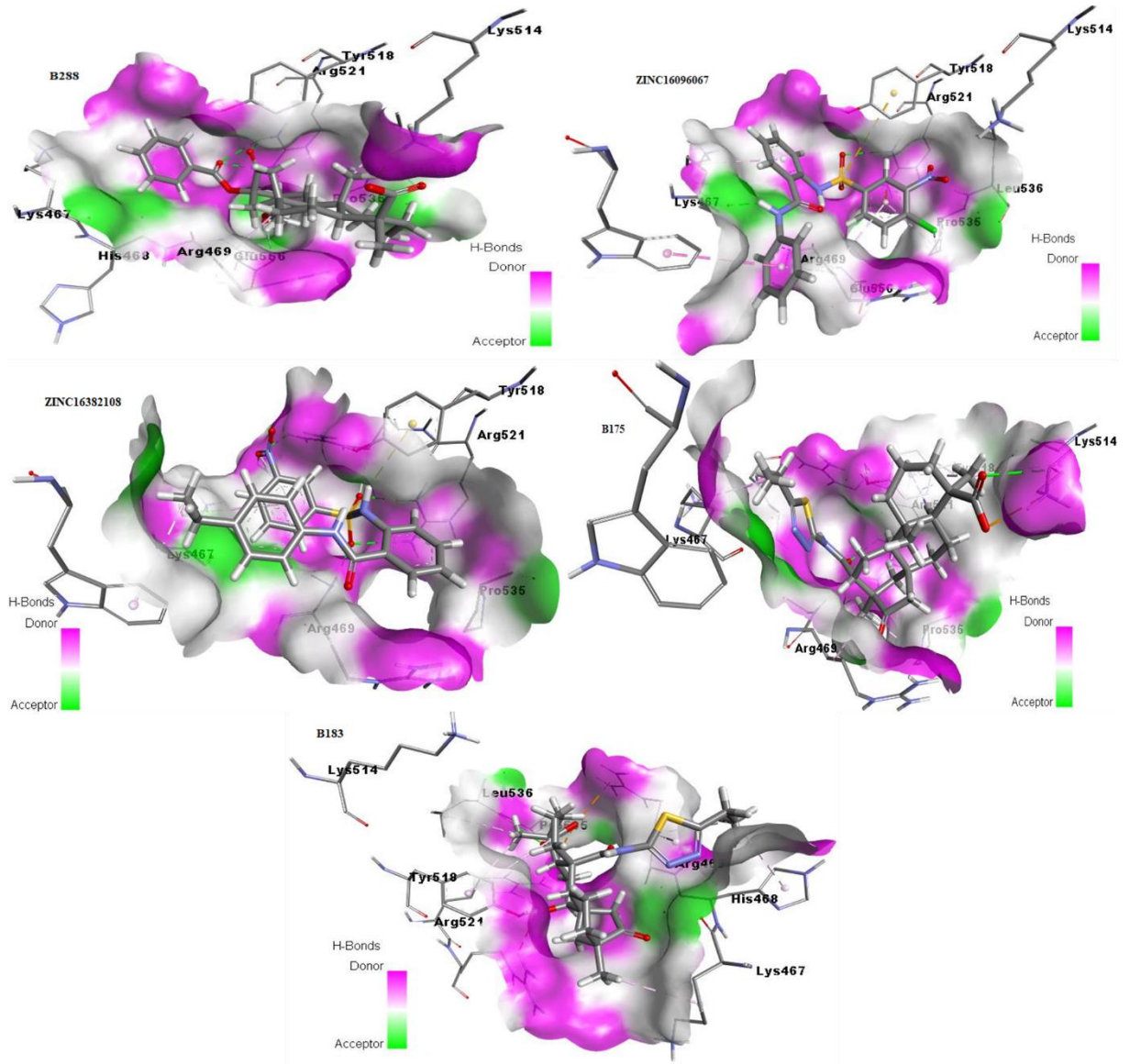






Etkileşimler							
	Salt Bridge		Pi-Pi T-shaped		Unfavorable Acceptor-Acceptor		Alkyl
	Conventional Hydrogen Bond		Unfavorable Donor-Donor		Amide-Pi Stacked		Pi-Alkyl
	Carbon Hydrogen Bond		Pi-Pi Stacked		Pi-Donor Hydrogen Bond		Pi-Sulfur
	Attractive Charge		Pi-Sigma		Halogen (Cl, Br, I)		Pi-Cation
	van der Waals						

Şekil 5.2.Reseptör-Ligand Etkileşimi 2D Görüntüsü



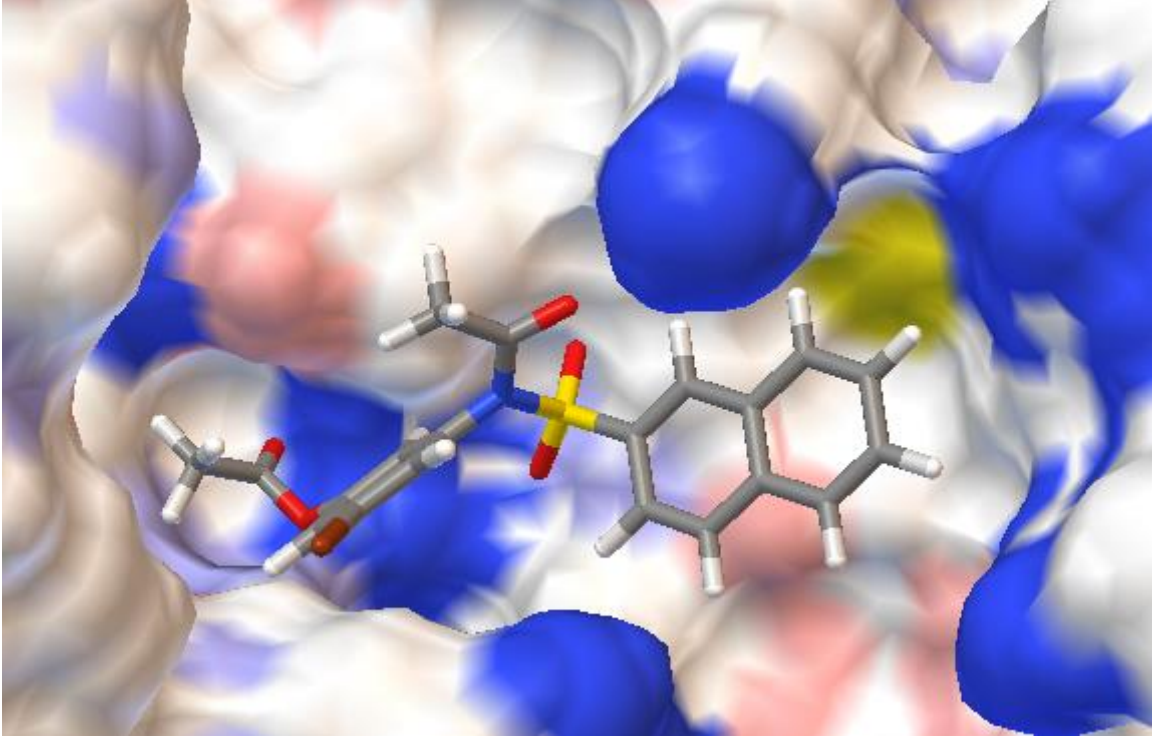
Şekil 5.3.Skorları İlk 5'te Yer Alan Ligandların Protein Kalıntıları ile 3 Boyutlu Etkileşimleri

En iyi skoru (-10.74 kcal/mol) veren B288 molekülü Lys514, Arg521 (4 adet) ve Glu536 kalıntıları ile 6 hidrojen bağı oluştururken, Lys514 kalıntısı ile istendik

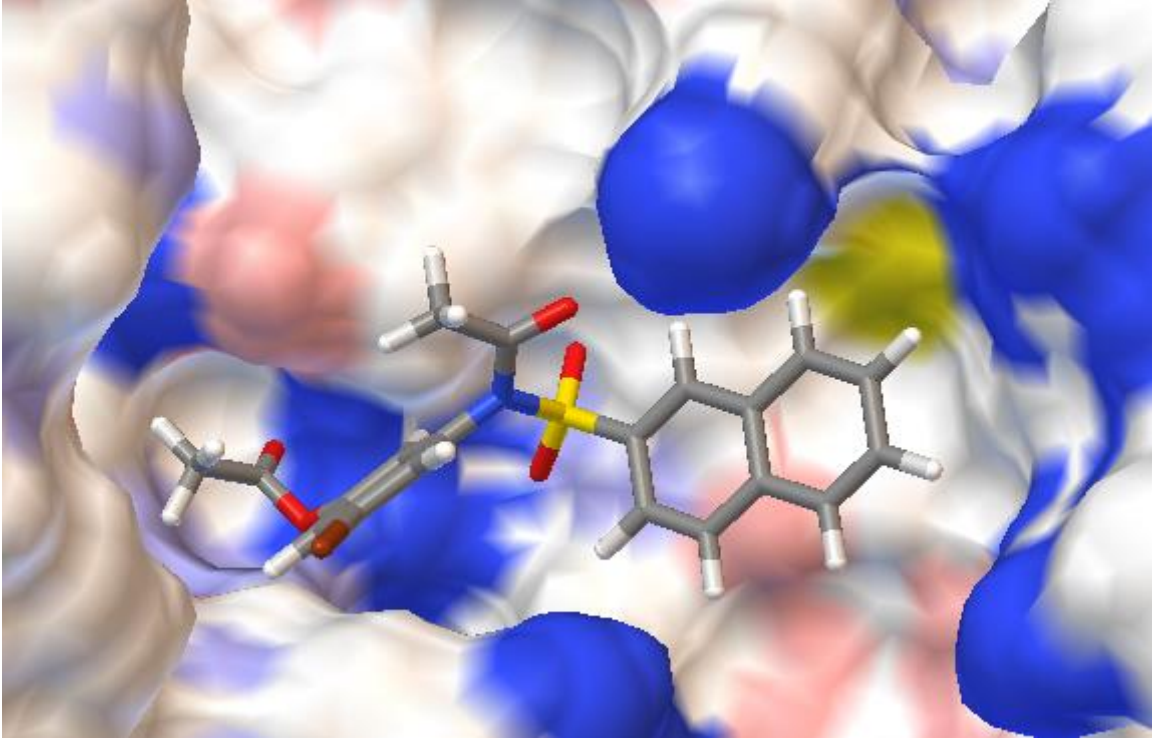
elektrostatik etkileşim ve Arg469 ile Leu536 kalıntıları ile alkil alkil etkileşimlerinde bulunmaktadır. İkinci sıradaki ZINC16096067 kodlu molekül (-10.42 kcal/mol) Arg521 ile 2, Lys467 ile 1 hidrojen bağı, ve Arg469 ile bir π -katyon, Pro535 ile alkil-alkil ve π -alkil, Tyr518 ile π -sülfür ve Arg469 kalıntısı ile π -alkil etkileşimleri yapmaktadır. ZINC16382108 kodlu molekül Gly470, Gly473, Arg521 (2 adet), ve Arg522 ile toplam 5 hidrojen bağı yaparken, Lys467 ile bir alkil-alkil ve π -alkil, Tyr518 ile π -sülfür ve Trp464 ile π -alkil etkileşimlerinde bulunmaktadır. B175 molekülü Lys514, Arg521 (2 adet) ile hidrojen bağları oluşturmakta, Lys514 ile istendik elektrostatik etkileşim, Lys514, Arg469, Pro535 ve Lys467 kalıntıları ile alkil-alkil, Tyr518 ile π - σ etkileşimi ve aynı kalıntıyla π -alkil etkileşimleri sergilemektedir. 5. en iyi skoru (-10.04 kcal/mol) alan B183 molekülü Arg469, Arg521, Leu536, Tyr518 hidrojen bağları oluştururken, Arg469 ve Arg521 kalıntıları ile istendik elektrostatik etkileşim göstermektedir. Ligand ayrıca Leu536, Lys467 ve Arg469 ile alkil alkil, His468, Tyr518 ve Arg469 kalıntıları ile π -alkil etkileşimleri yapmaktadır. Diğer ligandların protein ile etkileşimleri Tablo 5.1’de verilmiştir.

Etkileşimler göz önünde bulundurulduğunda, ligandların DNA bağlanma bölgesinde yer alan kalıntılarla uygun etkileşimler yaptığı gözlenmektedir.

Ligand kütüphanesi oluşturulurken kullanılan ligandlardan Y14 ve Y16 ligandlarının proteine yerleşim skorlarının seçilen aralıkta olduğu, Y15 ve Y17’nin ise bu aralığın dışında kaldığı belirtilmişti. Li ve arkadaşları (2010) yaptıkları çalışmada Y14 ile kodlanan SC7 ligandının EBNA1 inhibisyonu için IC_{50} 23 μ M olduğunu ve inhibisyon etkisinin diğer kullanılan ligandlardan daha iyi olduğunu belirtmişlerdir. SC7 dışındaki ligandlardan ise Y16 ile kodladığımız SC19 kodlu ligandın inhibisyon etkisinin iyi olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmacılar deneysel çalışma yanında bir molekül yerleştirme çalışması da yapmış ve ligandların proteine yerleşme modlarını belirlemeye çalışmışlardır. Moleküler yerleştirme işlemini Autodock3 ile gerçekleştirmişlerdir. Yaptığımız çalışmada aynı ligandlar Autodock4 ile proteine yerleştirildi. Yerleştirme sonucunda, IC_{50} değeri en iyi olan Y14 ligandı çalışmamızda bu grup içindeki ligandlardan en iyi ikinci skoru (-8.22 kcal/mol) elde ederken, Y16 ligandı (-8.49 kcal/mol) ile ilk sırada yer almıştır. Li ve ark. (2010) çalışmalarında dock skorları hakkında bilgi vermediklerinden skor olarak karşılaştırma yapılamamıştır. Yerleşim yerleri aynı olmalarına rağmen her iki ligand da onların çalışmalarındakinden farklı konformasyonlarda proteine yerleşmiştir (Şekil 5.4, Şekil 5.5).



Şekil 5.4.Y14 Ligandının Proteinin DNA Bağlanma Bölgesine Yerleşme Modu



Şekil 5.5.Y16 Ligandının Proteinin DNA Bağlanma Bölgesine Yerleşme Modu

6.SONUÇLAR VE ÖNERİLER

EBNA1 antijeni bir çok enfeksiyona sebep teşkil eden EBV virüsünün hayat döngüsündeki önemli fonksiyonları yerine getirmektedir. Latent dönem enfeksiyonu süresince EBNA1 DNA replikasyonu, viral ve hücrel genlerin transkripsiyonunun başlangıcı ve birincil B-lenfositlerinin ölümsüzleştirilmesinde rol almaktadır. Bu bakımdan EBNA1 antijeninin DNA'ya bağlanmasının engellenmesi önem arz eden bir ilaç hedefi gibi görünmektedir.

Bu çalışmada, literatürlerden (58 adet), ZINC15 veri tabanından (1600 adet) ve Breed programı ile tasarlanan (410 adet) molekül ile bir ligand kütüphanesi oluşturuldu. Bu ligandlar, Knime programında hazırlanan bir iş akış diyagramı ile ilaç olabilir özelliklerini içeren filtrele tabi tutularak ilaç olma özelliği olmayan adaylar devre dışı bırakıldı. Filtrelemeler sonucu ZINC15 veritabanından 1170, Breed programı ile tasarlanan 409 ve literatürlerden alınan 58 ligand Autodock4 kullanılarak protein yapısına yerleştirildi.

Yerleştirme işlemi başarılı bir şekilde gerçekleştirildi ve Breed ile tasarlanan ligandlardan B288 kodlu ligand -10.74 kcal/mol bağlanma enerjisi skoru ile en iyi sonucu verdi. -10.00 kcal/mol değerini aşan 5 ligandın 3'ünü Breed ile tasarlanan ligandlar oluştururken 2 tanesi ise ZINC15 veritabanından indirilen moleküller yer aldı.

DNA bağlanmasında önem arz eden Lys467, His468, Arg469, Gly470, Gly472, Lys514, Tyr518, Arg518, Arg522, Leu536, Arg538 ve Cys560 kalıntılarının ligand etkileşimlerinde yer aldıkları belirlenmiştir.

Böylece, çalışmanın amacı olan EBV-EBNA1 antijeni için yeni inhibitörlerin tasarlanması gerçekleştirilmiş ve tasarlanan ligandların EBNA1 DNA bağlanma bölgesi ile önemli etkileşimler gösterdiği belirlenmiştir. Çalışma binden fazla molekül içerdiğinden daha ileri hesaplamalar (moleküler dinamik, bağlanma serbest enerjisi hesaplamaları ve kuvantum mekanik) yapılması oldukça güç ve çok zaman gerektirdiğinden gerçekleştirilmemiştir ve zaten çalışmanın içeriğinde bulunmamaktadır. Bu çalışma ile öncüller belirlenmiş olup daha detaylı yapılacak hesaplamalara zemin hazırlanmıştır.

KAYNAKLAR

- Arman D. (2002) Epstein-Barr Virus. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Etkenlere göre infeksiyonlar. *Nobel Tıp Kitabevleri*. Cilt:2, 1197.
- Akan E. (1994) Epstein-Barr Virus, Genel ve özel viroloji, 3. baskı. Kanyılmaz Matbaası, *Saray Kitabevi*. İzmir. 229- 238.
- Akihisa T, Hamasaki Y, Tokuda H, Ukiya M, Kimura Y and Nishino H, 2004, Microbial Transformation of Isosteviol and Inhibitory Effects on Epstein-Barr Virus Activation of the Transformation Products, *J. Nat. Prod.*, 67, 407-410
- Alfieri C, Tanner J, Carpentier L, Perpete C, Savoie A, Paradis K, Delage G, Joncas J. Epstein-Barr virus transmission from a blood donor to an organ transplant recipient with recovery of the same virus strain from the recipient's blood and oropharynx. *Blood*. 1996;87:812–817.
- Aslan, S. , 2004, İnfeksiyöz Mononükleoz Şüpheli Olgularda Ebv Ve Cmv'nin serolojik Tanı Yöntemleri, Yüksek Lisans, *Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Afyon, 11-31.
- Avgil M, Ornoy A. Herpes simplex virus and Epstein-Barr virus infections in pregnancy: consequences of neonatal or intrauterine infection. *Reprod Toxicol*. 2006;21:436-445.
- Balfour HH Jr, Hokanson KM, Schacherer RM, Fietzer CM, Schmeling DO, Holman CJ, Vezina HE, Brundage RC. A virologic pilot study of valacyclovir for infectious mononucleosis. *J Clin Virol*. 2007;39:16–21.
- Balfour HH Jr, Odumade OA, Schmeling DO, Mullan BD, Ed JA, Knight JA, Vezina HE, Thomas W, Hoqu Coast KA. Behavioral, virologic, and immunologic factors associated with acquisition and severity of primary Epstein-Barr virus infection in university students. *J Infect Dis*. 2013;207:80–88.
- Brady G, MacArthur G , Farrell P. 2007, Epstein–Barr virus and Burkitt lymphoma. *J Clin Pathol* ;60: 1397–1402.
- Brooks, G.F., Bultel, J.S., Morse, S.A. (1989). *Jawetz, Melnick, And Adelberg's Medical Microbiology*. 21st Ed. Connecticut: Appleton And Lange Chapter 43.
- Callan MF, Tan L, Annels N, Ogg GS, Wilson JD, O'Callaghan CA, Steven N, McMichael AJ, Rickinson AB. Direct visualization of antigen-specific CD8+ T cells during the primary immune response to Epstein-Barr virus In vivo. *J Exp Med*. 1998;187:1395–1402.
- Candy B, Hotopf M. Steroids for symptom control in infectious mononucleosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006;3:CD004402.
- Carvalho LH. Mononucleose infecciosa. *J Pediatr (Rio J)*. 1999;75:115-25.

- Connolly S.A, Jackson J.O, Jardetzky T.S and Longnecker R, 2011, Fusing structure and function: a structural view of the herpesvirus entry machinery, *Department of Microbiology and Immunology, The Feinberg School of Medicine, Northwestern University, Chicago*,360-361
- Cui H, Xu B, Wu T, Xu J, Yuan Y, and Gu Q, 2014, Potential Antiviral Lignans from the Roots of *Saururus chinensis* with Activity against Epstein–Barr Virus Lytic Replication, *Journal Natural Products*, 77, 100–110
- Downey H, McKinlay CA. Acute lymphadenosis compared with acute lymphatic leukemia. *Arch Intern Med.* 1923;32:82–112.
- Draborg AH, Duus K, Houen G. Epstein-Barr virus in systemic autoimmune diseases. *Clin Dev Immunol.* 2013;2013:535738.
- Epstein MA, Achong BG. The EB virus. *Annu Rev Microbiol.* 1973;27:413–436.
- Frisch MJT, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J. L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery, J. A., Jr.; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J. J.; Brothers, E.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, J. M.; Klene, M.; Knox, J. E.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V.G.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Farkas, O.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J. Gaussian 09, Revision E.01 ed: Gaussian, Inc., Wallingford CT,; 2009.
- Frisch and G. W. Trucks and H. B. Schlegel and G. E. Scuseria and M. A. Robb and J. R. Cheeseman and G. Scalmani and V. Barone and G. A. Petersson and H. Nakatsuji and X. Li and M. Caricato and A. V. Marenich and J. Bloino and B. G. Janesko and R. Gomperts and B. Mennucci and H. P. Hratchian and J. V. Ortiz and A. F. Izmaylov and J. L. Sonnenberg and D. Williams-Young and F. Ding and F. Lipparini and F. Egidi and J. Goings and B. Peng and A. Petrone and T. Henderson and D. Ranasinghe and V. G. Zakrzewski and J. Gao and N. Rega and G. Zheng and W. Liang and M. Hada and M. Ehara and K. Toyota and R. Fukuda and J. Hasegawa and M. Ishida and T. Nakajima and Y. Honda and O. Kitao and H. Nakai and T. Vreven and K. Throssell and Montgomery, {Jr.}, J. A. and J. E. Peralta and F. Ogliaro and M. J. Bearpark and J. J. Heyd and E. N. Brothers and K. N. Kudin and V. N. Staroverov and T. A. Keith and R. Kobayashi and J. Normand and K. Raghavachari and A. P. Rendell and J. C. Burant and S. S. Iyengar and J. Tomasi and M. Cossi and J. M. Millam and M. Klene and C. Adamo and R. Cammi and J. W. Ochterski and R. L. Martin and K. Morokuma and O. Farkas and J. B. Foresman and D. J. Fox, 2016, Gaussian Inc. Wallingford CT

- Fleisher GR, (1991) Epstein-Barr virus. In Belske RB ed. *Textbook of human virology*, 2nd ed. pp862–88. USA.
- Gershon AA, Katz BZ, Miller G. Krugman's Infectious Diseases of Children., Hotez PJ, Katz SL(eds). 11. Baskı. Çeviri editörü Kanra G. Güneş Kitabevi Ltd Şti. Epstein-Barr virus enfeksiyonları 2006;143-159.
- Gianti E, Messick T.E, Lieberman P.M, and Zauhar R.J, 2016, Computational analysis of EBNA1 “druggability” suggests novel insights for Epstein-Barr virus inhibitor design, 30(4): 285–303.
- Gianti E, Messick, T.E, Lieberman,P.M., and Zauhar, J.R ,2017, Computational analysis of EBNA1 “druggability” suggests novel insights for Epstein-Barr virus inhibitor design, *Department of Chemistry and Biochemistry*, Philadelphia , 7-32, USA
- Gu SY, Huang TM, Ruan L, Miao YH, Lu H, Chu CM et al. First EBV vaccine trial inhumans using recombinant vaccinia virus expressing the major membrane antigen. *DevBiol Stand*. 1995;84:171–177.
- Hanto DW, Frizzera G, Purtilo DT, Sakamoto K, Sullivan JL, Saemundsen AK, Klein G, Simmons RL, Najarian JS. Clinical spectrum of lymphoproliferative disorders in renal transplant recipients and evidence for the role of Epstein-Barr virus. *Cancer Res*.1981;41:4253–4261.
- Henle, W, Henle, G., and Lennette,E,T, 1979, The Epstein-Barr Virus, *Scientific American, Inc*, 48-59
- Hoagland RJ. The transmission of infectious mononucleosis. *Am J Med Sci*. 1955;229:262–272.
- Hu L, Zhang Y, Zhu H, Liu J, Li H, Li X.N, Sun W, Zeng J,Xue Y, and Zhang, Y Filicinic Acid Based Meroterpenoids with Anti-Epstein–Barr Virus Activities from *Hypericum japonicum*, *Organic Letters*, 18, 2272–2275
- İbabe G.G, Grinyte R, Canaan A and pavlov V, 2012, Homogeneous Assay for Detection of Active Epstein-Barr Nuclear Antigen 1 by Thrombin Activity Modulation, *Biofunctional Nanomaterials Department*, Spain, 5834-5837
- Karadağ Geçgel, S, . 2011, Epstein-Barr Virüs Enfeksiyonlarının Tanısında Polimeraz Zincir Reaksiyonunun Yeri, Uzmanlık, *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,Bursa*, 8-27
- Kagoya Y, Hangaisni A, Takahashi T, Imai Y, Kurokawa M. High-dose dexamethasoneTherapy for severe thrombocytopenia and neutropenia induced by EBV infectious mononucleosis. *Int J Hematol*. 2010;91:326-327.
- Koç S. (1997) Kan donörlerinde ve bazı risk gruplarında Epstein-Barr virus heterofil antikorlarının Paul-Bunnell deneyi ve spesifik IgG antikorlarının ELISA deneyi ile araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi*. Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji A.D. Sivas.

- Li N, Thompson S, Schultz D.C, Zhu W, Jiang H, (2010) Discovery of Selective Inhibitors Against EBNA1 via High Throughput In Silico Virtual Screening, Hannover Medical School, Germany
- Marcus D Hanwell, Donald E Curtis, David C Lonie, Tim Vandermeersch, Eva Zurek and Geoffrey R Hutchison; "Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform" *Journal of Cheminformatics* 2012, 4:17.
- Marvin Sketch program, Chemaxon, <http://www.chemaxon.com>, (accessed 2016).
- Morris GM, Huey R, Lindstrom W, Sanner MF, Belew RK, Goodsell DS, Olson AJ. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *J Comput Chem.* 2009;30(16):2785-91.10.1002/jcc.21256.
- Mordehai T.Z, Vazishtan D, Duran A.H, Vollmer B, White P, Pandurangan A.P, Siebert C. A, Topf M ve Grünewald K, 2016, Two distinct trimeric conformations of natively membrane-anchored full-length herpes simplex virus 1 glycoprotein B, Oxford Particle Imaging Centre, Division of Structural Biology, Wellcome Trust Centre for Human Genetics, University of Oxford, United Kingdom, 4176-4177
- Michael R. Berthold ve Nicolas Cebron ve Fabian Dill ve Thomas R. Gabriel ve Tobias K ve Thorsten Meinl ve Peter Ohl ve Christoph Sieb ve Kilian Thiel ve Bernd Wiswedel, 2007, Springer, [<https://www.knime.com/faq>]
- Miller G, Katz BZ, Niederman JC. (1992) EBV infections. In Krugman S ed. *Infectious disease of children*. ninth edition, pp87–104. USA.
- Murray PG, Young LS.2001 Epstein-Barr virus infection: Basis of malignancy and potential for therapy. *Expert Rev Mol Med* ;3:1-20.
- Luzuriaga K, Sullivan JL. Infectious mononucleosis. *N Engl. J Med.* 2010;362:1993-2000.
- Nonkwelo, C., Skinner, J., Bell, A., Rickinson, A., Sample, J. (1996).Transcription start sites downstream of the Epstein-Barr virus (EBV) Fp promoter in early-passage Burkitt lymphoma cells define a fourth promoter for expression of the EBV EBNA-1 protein. *J. Virol.* 70: 623-627.
- Öztürk B. İmmün yetmezliği olmayan çocuklarda EBV ve CMV antikor prevalansı.İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı *Uzmanlık Tezi* 1996.
- Perryman AL, McCammon JA., AutoDocking dinucleotides to the HIV-1 integrase core domain: exploring possible binding sites for viral and genomic DNA. *J. Med. hem.*200245265624-5627 Publication Date:November 14, 2002 <https://doi.org/10.1021/jm025554m>; Chen, D. , Menche, G., Power, T. D., Sower, L., Peterson, J. W. and Schein, C. H. (2007), Accounting for ligand-bound metal ions in docking small molecules on adenylyl cyclase toxins. *Proteins*, 67: 593-605. doi:10.1002/prot.21249; Wolf A, Zimmermann M, Hofmann-Apitius M.

- Alternative to consensus scoring--a new approach toward the qualitative combination of docking algorithms. *J Chem Inf Model*. 2007 May-Jun;47(3):1036-44. Epub 2007 May 11
- Pierce A.C, Rao G and Bemis G.W, 2004, Generating Novel Inhibitors through Hybridization of Known Ligands. Application to CDK2, P38, and HIV Protease, *J. Med. Chem*, 200447112768-2775
- Romain CA, Balfour HH Jr, Vezina HE, Holman CJ. A method for evaluating antiviral drug susceptibility of Epstein-Barr virus. *Virus Adapt Treat*. 2010;2:1–7.
- Sample J., Kieff E. (1990). Transcription of the Epstein-Barr Virus Genome during Latency in Growth-Transformed Lymphocytes. *J. Virol*. 64(4): 1667-1674.
- Schrodinger: Small-Molecule Drug Discovery Suite 2018-4, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2016.
- Shapiro RS, McClain K, Frizzera G, Gajl-Peczalska KJ, Kersey JH, Blazar BR, Arthur DC, Patton DF, Greenberg JS, Burke B, Ramsay NKC, McGlave P, Filipovich AH. Epstein-Barr virus associated B cell lymphoproliferative disorders following bone marrow transplantation. *Blood*. 1988;71:1234–1243.
- Sokal EM, Hoppenbrouwers K, Vandermeulen C, Moutschen M, Leonard P, Moreels A et al. Recombinant gp350 vaccine for infectious mononucleosis: a phase 2, randomized, double-blind, placebo-controlled trial to evaluate the safety, immunogenicity, and efficacy of an Epstein-Barr virus vaccine in healthy young adults. *J Infect Dis*. 2007;196:1749–1753.
- Sousa SF, Fernandes PA, Ramos MJ. Protein-ligand docking: current status and future challenges, *Proteins*. 2006 Oct 1;65(1):15-26.
- Sprunt TP, Evans FA. Mononuclear leucocytosis in reaction to acute infections ('infectious mononucleosis'). *Johns Hopkins Hosp Bull* 1920;31:410–417.
- Svedmyr E, Ernberg I, Seeley J, Weiland O, Masucci G, Tsukuda K et al. Virologic, immunologic, and clinical observations on a patient during the incubation, acute, and convalescent phases of infectious mononucleosis. *Clin Immunol Immunopathol*. 1984;30:437–450.
- Sterling and Irwin, *J. Chem. Inf. Model*, 2015
<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.jcim.5b00559>.)
- Szakonyi G, Klein M.G, Hannan J.P, Young K.A, Ma R.Z, Asokan R, Holers M ve Chen X, 2006, Structure of the Epstein-Barr virus major envelope glycoprotein, Department of Molecular and Computational Biology, University of Southern California, USA, 996-997
- Şen, M, 2015, Epstein Barr Virüs Rekombinant Proteinleri Ebna1 Ve Lmp1'in Ins1-E (832/13) Beta Hücre Kültüründe Endoplasmik Retikulum (Er) Stres Markırları,

Apoptoz Ve HücreProliferasyonu Üzerine Etkisi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü,Afyon,18-30

- Ukiya M, Akihisa T, Tokuda H, Koika K, Kimura Y, Asano T, Motohashi S, Nikaido T ve Nishino H, 2003, Sunpollenol and Five Other Rearranged 3,4-*seco*-Tirucallane-Type Triterpenoids from Sunflower Pollen and Their Inhibitory Effects on Epstein-Barr Virus Activation, *College of Science and Technology, Nihon University,Japan*, 1476-1477
- Tamer, D. , 2006, “Epstein-Barr Virüs (Ebv)” Genomunun Periferik Kandan Pcr Ve Real-Time Pcr İle Gösterilmesi Ve Tiplendirilmesi, Yüksek Lisans, *Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*,Ankara, 11-36
- Thomas Sander, Joel Freyss, Mütevazı von Korff, Christian Rufener. DataWarrior: Kimya İçin Veri Görselleştirme ve Analizini Destekleyen Açık Kaynaklı Bir Program. *J Chem Inf Model* 2015 , 55 , 460-473,doi 10.1021 / ci500588j
- Thompson SK, Doerr TD, Hengerer AS. Infectious mononucleosis and corticosteroids: management practices and outcomes. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2005;131:900-904.
- Tikhmyanova N, Schultz D.C, Lee T, Salvino J.M ve Lieberman P.M, 2013, Identification of a New Class of Small Molecules That Efficiently Reactivate Latent Epstein–Barr Virus, *The Wistar Institute*, United States s.785-795
- Tikhmyanova N,Schultz D.C, Lee T, Salvino J.M, and Lieberman P.M, 2014, Identification of a New Class of Small Molecules That Efficiently Reactivate Latent Epstein–Barr Virus, *Acs Chemical Biology*, 785–795
- Tsurumi T, Fujita M ve Kudoh A, 2005, Latent and lytic Epstein-Barr virus replication Strategies, Division of Virology, *Aichi Cancer Center Research Institute*, Japan, 3-15
- Wakiguchi H. Overview of Epstein-Barr virus-associated diseases in Japan. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2002;44:193-202.
- Wu T, Wang Q, Jiang C, Natschke S.L, Cui H, Wang Y, Yan Y, Xu J,Lee K.H ve Gu Q, 2015, neo-Clerodane Diterpenoids from *Scutellaria barbata* with Activity against Epstein–Barr Virus Lytic Replication, Research Center for Drug Discovery, School of Pharmaceutical Sciences, *Sun Yat-sen University*, China
- Yang Z, Lasker K, Schneidman-Duhovny D, Webb B, Huang CC, Pettersen EF, Goddard TD, Meng EC, Sali A, Ferrin TE. *J Struct Biol*. 2012 Sep;179(3):269-78.
- Zoete, V., Daina, A., Bovigny, C., & Michielin, O. SwissSimilarity: A Web Tool for Low to Ultra High Throughput Ligand-Based Virtual Screening., *J. Chem. Inf. Model.*, 2016, 56(8), 1399-1404.

EKLER

EK-1 EBNA1 yapısına yerleştirilen moleküllerin kcal/mol cinsinden skorları

EK-1 EBNA1 yapısına yerleştirilen moleküllerin kcal/mol cinsinden skorları																	
	Yapı	Skor		Yapı	Skor		Yapı	Skor		Yapı	Skor		Yapı	Skor		Yapı	Skor
1	B288	-10.74	274	ZINC14869470	-8.23	547	B207	-7.66	820	ZINC00137114	-7.3	1093	ZINC12894070	-6.93	1366	B341	-6.52
2	ZINC16096067	-10.42	275	ZINC22621189	-8.23	548	B223	-7.66	821	ZINC05153523	-7.3	1094	ZINC14001045	-6.93	1367	ZINC00185239	-6.52
3	ZINC16382108	-10.17	276	Y14	-8.22	549	B258	-7.66	822	ZINC27994182	-7.3	1095	ZINC48560571	-6.93	1368	ZINC15948937	-6.52
4	B175	-10.05	277	ZINC23717696	-8.22	550	B286	-7.66	823	ZINC36620294	-7.3	1096	ZINC97094745	-6.93	1369	ZINC31664664	-6.52
5	B183	-10.04	278	ZINC14851731	-8.21	551	ZINC00410903	-7.66	824	B168	-7.29	1097	ZINC00087430	-6.92	1370	B049	-6.51
6	ZINC32848672	-9.86	279	ZINC31666870	-8.21	552	ZINC01100410	-7.66	825	ZINC00947880	-7.29	1098	ZINC00520766	-6.92	1371	ZINC01138696	-6.51
7	B285	-9.79	280	B395	-8.2	553	ZINC13956557	-7.66	826	ZINC01143107	-7.29	1099	ZINC02357440	-6.92	1372	ZINC02661697	-6.51
8	ZINC24828607	-9.77	281	ZINC00881304	-8.2	554	ZINC18335036	-7.66	827	ZINC06727056	-7.29	1100	ZINC06646880	-6.92	1373	ZINC32227654	-6.51
9	ZINC09203584	-9.73	282	ZINC12734600	-8.2	555	ZINC01127448	-7.65	828	ZINC06795472	-7.29	1101	ZINC31817823	-6.92	1374	ZINC91353218	-6.51
10	ZINC40158026	-9.72	283	ZINC20904154	-8.2	556	ZINC12516987	-7.65	829	ZINC59393970	-7.29	1102	ZINC56386630	-6.92	1375	ZINC97655351	-6.51
11	ZINC24755909	-9.68	284	ZINC21698643	-8.2	557	ZINC13008515	-7.65	830	ZINC69520294	-7.29	1103	ZINC66061315	-6.92	1376	B264	-6.5
12	B386	-9.64	285	B103	-8.19	558	ZINC31720122	-7.65	831	B067	-7.28	1104	ZINC69654641	-6.92	1377	ZINC06108893	-6.5
13	B393	-9.59	286	B369	-8.19	559	ZINC42177225	-7.65	832	ZINC00509209	-7.28	1105	ZINC07067589	-6.91	1378	ZINC30678101	-6.5
14	B081	-9.58	287	B404	-8.19	560	ZINC69809958	-7.65	833	ZINC00954172	-7.28	1106	ZINC08146877	-6.91	1379	ZINC31776831	-6.5
15	B321	-9.57	288	ZINC00294962	-8.19	561	B120	-7.64	834	ZINC03018060	-7.28	1107	ZINC12385111	-6.91	1380	ZINC83223069	-6.5
16	ZINC19108167	-9.56	289	ZINC19078259	-8.19	562	B317	-7.64	835	ZINC05518275	-7.28	1108	ZINC15445231	-6.91	1381	B057	-6.49
17	B080	-9.54	290	ZINC31721905	-8.19	563	Y17	-7.64	836	ZINC26371057	-7.28	1109	ZINC24458445	-6.91	1382	B201	-6.49
18	B397	-9.51	291	B388	-8.18	564	ZINC00212959	-7.64	837	ZINC33352797	-7.28	1110	ZINC32903298	-6.91	1383	B242	-6.49
19	ZINC12583256	-9.47	292	Y06	-8.18	565	ZINC19079265	-7.64	838	ZINC67641056	-7.28	1111	ZINC36644085	-6.91	1384	ZINC21796974	-6.49
20	ZINC02906998	-9.44	293	ZINC47251155	-8.18	566	ZINC19079781	-7.64	839	B211	-7.27	1112	ZINC75118602	-6.91	1385	ZINC58343666	-6.49
21	B164	-9.43	294	ZINC00985958	-8.17	567	B032	-7.63	840	B302	-7.27	1113	Y08	-6.9	1386	ZINC79498068	-6.49
22	ZINC20509151	-9.42	295	ZINC69532607	-8.17	568	B138	-7.63	841	ZINC01157199	-7.27	1114	ZINC08025146	-6.9	1387	ZINC13732822	-6.48
23	B394	-9.41	296	B003	-8.16	569	B325	-7.63	842	ZINC04754167	-7.27	1115	ZINC09113811	-6.9	1388	B276	-6.47

24	ZINC00647162	-9.39	297	Y23	-8.16	570	B408	-7.63	843	ZINC05443042	-7.27	1116	ZINC09113812	-6.9	1389	ZINC01115628	-6.47
25	ZINC18321908	-9.39	298	ZINC06147017	-8.16	571	ZINC03907367	-7.63	844	ZINC31722534	-7.27	1117	ZINC12907487	-6.9	1390	ZINC15677264	-6.47
26	B110	-9.37	299	ZINC08107610	-8.16	572	ZINC06510549	-7.63	845	ZINC48258655	-7.27	1118	ZINC14162089	-6.9	1391	ZINC37397414	-6.47
27	ZINC08778958	-9.37	300	ZINC15372527	-8.16	573	ZINC06555376	-7.63	846	ZINC58428175	-7.27	1119	ZINC19079014	-6.9	1392	ZINC78953547	-6.47
28	ZINC12523570	-9.37	301	ZINC19079142	-8.16	574	ZINC06939284	-7.63	847	ZINC78502784	-7.27	1120	ZINC83562320	-6.9	1393	B033	-6.46
29	B390	-9.36	302	ZINC03553443	-8.15	575	ZINC07982760	-7.63	848	B356	-7.26	1121	ZINC00509642	-6.89	1394	B050	-6.46
30	B349	-9.35	303	ZINC05234907	-8.15	576	ZINC12790932	-7.63	849	ZINC00497799	-7.26	1122	ZINC06919772	-6.89	1395	B092	-6.46
31	ZINC25049069	-9.35	304	ZINC53419402	-8.15	577	B018	-7.62	850	ZINC00710415	-7.26	1123	ZINC10063712	-6.89	1396	B105	-6.46
32	ZINC12735384	-9.31	305	ZINC69461349	-8.15	578	B117	-7.62	851	ZINC01155065	-7.26	1124	ZINC32579224	-6.89	1397	B160	-6.46
33	B185	-9.3	306	B181	-8.14	579	B180	-7.62	852	ZINC01823045	-7.26	1125	ZINC36393952	-6.89	1398	ZINC00188582	-6.46
34	B322	-9.28	307	Y40	-8.14	580	ZINC06267713	-7.62	853	ZINC03546054	-7.26	1126	B373	-6.88	1399	ZINC04306915	-6.46
35	ZINC33048041	-9.28	308	ZINC32146895	-8.14	581	ZINC12557560	-7.62	854	ZINC21882420	-7.26	1127	Y35	-6.88	1400	ZINC05255415	-6.46
36	B109	-9.27	309	ZINC32904922	-8.14	582	ZINC32913242	-7.62	855	B136	-7.25	1128	ZINC05237678	-6.88	1401	ZINC12547740	-6.46
37	ZINC06140208	-9.27	310	ZINC07307511	-8.13	583	ZINC07054449	-7.61	856	Y21	-7.25	1129	ZINC05240394	-6.88	1402	ZINC12549396	-6.46
38	ZINC17909510	-9.23	311	ZINC12607054	-8.12	584	ZINC19079253	-7.61	857	ZINC00665940	-7.25	1130	ZINC14869439	-6.88	1403	ZINC35312429	-6.46
39	B214	-9.22	312	ZINC19079205	-8.12	585	B059	-7.6	858	ZINC02635089	-7.25	1131	ZINC16015662	-6.88	1404	ZINC35596778	-6.46
40	Y43	-9.22	313	ZINC20904152	-8.12	586	Y54	-7.6	859	ZINC03558506	-7.25	1132	ZINC27296447	-6.88	1405	ZINC40146662	-6.46
41	B323	-9.21	314	B097	-8.11	587	ZINC00420829	-7.6	860	ZINC08734451	-7.25	1133	ZINC31722546	-6.88	1406	B107	-6.45
42	ZINC03295341	-9.18	315	ZINC00223873	-8.11	588	ZINC04973853	-7.6	861	ZINC14204776	-7.25	1134	ZINC58442122	-6.88	1407	ZINC12575719	-6.45
43	ZINC12526250	-9.18	316	ZINC31693960	-8.11	589	ZINC07404533	-7.6	862	ZINC16902578	-7.25	1135	B119	-6.87	1408	B149	-6.44
44	ZINC19108173	-9.18	317	ZINC07054195	-8.1	590	ZINC14256762	-7.6	863	ZINC23153514	-7.25	1136	B135	-6.87	1409	ZINC00452418	-6.44
45	B367	-9.17	318	ZINC31693456	-8.1	591	ZINC58344611	-7.6	864	ZINC24612344	-7.25	1137	B370	-6.87	1410	ZINC19955866	-6.44
46	ZINC05939375	-9.17	319	ZINC76018096	-8.1	592	B364	-7.59	865	ZINC45940326	-7.25	1138	ZINC00303535	-6.87	1411	ZINC27577843	-6.44
47	ZINC12605332	-9.17	320	B044	-8.09	593	ZINC05332449	-7.59	866	ZINC58245303	-7.25	1139	ZINC06735167	-6.87	1412	B212	-6.43
48	B387	-9.15	321	B046	-8.09	594	ZINC31785537	-7.59	867	ZINC65599433	-7.25	1140	ZINC12551916	-6.87	1413	ZINC03605475	-6.43

49	ZINC19079358	-9.14	322	B289	-8.09	595	B290	-7.58	868	B023	-7.24	1141	ZINC18270554	-6.87	1414	ZINC05577094	-6.43
50	B108	-9.12	323	ZINC04343267	-8.09	596	B312	-7.58	869	B100	-7.24	1142	ZINC01973006	-6.86	1415	ZINC06335701	-6.43
51	B333	-9.12	324	ZINC04750417	-8.09	597	B355	-7.58	870	ZINC01111229	-7.24	1143	ZINC09364908	-6.86	1416	ZINC65501683	-6.43
52	ZINC09753102	-9.12	325	ZINC33929656	-8.09	598	ZINC00085709	-7.58	871	ZINC06720237	-7.24	1144	ZINC12686416	-6.86	1417	B252	-6.42
53	B200	-9.11	326	B353	-8.08	599	ZINC00223863	-7.58	872	ZINC15245342	-7.24	1145	ZINC12915134	-6.86	1418	B054	-6.41
54	ZINC04756871	-9.1	327	ZINC06315379	-8.08	600	ZINC00496314	-7.58	873	ZINC36796668	-7.24	1146	ZINC35289675	-6.86	1419	B330	-6.41
55	ZINC19079146	-9.09	328	ZINC12605363	-8.08	601	ZINC00934420	-7.58	874	ZINC44082746	-7.24	1147	ZINC53466761	-6.86	1420	ZINC00380276	-6.41
56	ZINC12526041	-9.08	329	ZINC33170531	-8.08	602	ZINC05260187	-7.58	875	B227	-7.23	1148	B243	-6.85	1421	ZINC69520126	-6.41
57	ZINC19079928	-9.08	330	ZINC45222139	-8.08	603	ZINC06108706	-7.58	876	B327	-7.23	1149	B247	-6.85	1422	ZINC69812846	-6.41
58	B308	-9.07	331	ZINC55594089	-8.08	604	ZINC07667930	-7.58	877	ZINC00144607	-7.23	1150	ZINC15677244	-6.85	1423	ZINC71804516	-6.41
59	ZINC12535964	-9.06	332	ZINC84280658	-8.08	605	ZINC07667933	-7.58	878	ZINC02423164	-7.23	1151	ZINC21935073	-6.85	1424	B037	-6.4
60	ZINC16194056	-9.04	333	B029	-8.07	606	ZINC16348183	-7.58	879	ZINC04809069	-7.23	1152	ZINC56449331	-6.85	1425	ZINC89400985	-6.4
61	ZINC16426525	-9.03	334	B075	-8.07	607	B071	-7.57	880	B210	-7.22	1153	ZINC71808614	-6.85	1426	ZINC95934756	-6.4
62	ZINC12552688	-9.02	335	B082	-8.07	608	ZINC01096612	-7.57	881	ZINC14232392	-7.22	1154	ZINC72052375	-6.85	1427	B114	-6.39
63	ZINC72014943	-9.02	336	ZINC00942222	-8.07	609	ZINC02845733	-7.57	882	ZINC15677249	-7.22	1155	B337	-6.84	1428	ZINC10241064	-6.39
64	ZINC21713594	-9.01	337	ZINC05193487	-8.07	610	ZINC03342400	-7.57	883	ZINC18151909	-7.22	1156	ZINC03004949	-6.84	1429	ZINC69533006	-6.38
65	ZINC09356079	-9	338	ZINC09220600	-8.07	611	ZINC12631958	-7.57	884	ZINC45718974	-7.22	1157	ZINC03278372	-6.84	1430	ZINC69570937	-6.38
66	Y53	-8.99	339	ZINC13059041	-8.07	612	ZINC13673872	-7.57	885	ZINC65612350	-7.22	1158	ZINC06994849	-6.84	1431	Y57	-6.37
67	ZINC12539438	-8.99	340	B400	-8.06	613	ZINC14242827	-7.57	886	B162	-7.21	1159	ZINC20724697	-6.84	1432	ZINC00299679	-6.37
68	ZINC12602240	-8.99	341	ZINC00781907	-8.06	614	ZINC19080197	-7.57	887	ZINC02636960	-7.21	1160	ZINC27774488	-6.84	1433	ZINC19079609	-6.37
69	ZINC15756080	-8.98	342	ZINC29390631	-8.06	615	ZINC46525633	-7.57	888	ZINC09368580	-7.21	1161	ZINC46120244	-6.84	1434	ZINC35596781	-6.37
70	B184	-8.97	343	B221	-8.05	616	ZINC72306116	-7.57	889	ZINC12909742	-7.21	1162	ZINC48354292	-6.84	1435	ZINC95447741	-6.37
71	ZINC22621067	-8.97	344	Y30	-8.05	617	ZINC79501216	-7.57	890	ZINC14139064	-7.21	1163	ZINC69432575	-6.84	1436	ZINC00212526	-6.36
72	B236	-8.96	345	ZINC12220114	-8.05	618	B026	-7.56	891	ZINC24741605	-7.21	1164	ZINC72287506	-6.84	1437	ZINC00373621	-6.36
73	B225	-8.95	346	ZINC23717700	-8.05	619	B208	-7.56	892	ZINC58172936	-7.21	1165	ZINC77867106	-6.84	1438	ZINC03991757	-6.36

74	Y29	-8.95	347	ZINC60133443	-8.05	620	ZINC03342402	-7.56	893	ZINC65476084	-7.21	1166	ZINC89980282	-6.84	1439	ZINC52429349	-6.36
75	ZINC14121600	-8.95	348	B041	-8.04	621	ZINC04439789	-7.56	894	ZINC68980076	-7.21	1167	B391	-6.83	1440	ZINC78191413	-6.36
76	ZINC10060238	-8.94	349	ZINC00304452	-8.04	622	ZINC08149415	-7.56	895	B257	-7.2	1168	Y20	-6.83	1441	ZINC86299665	-6.36
77	ZINC01111086	-8.93	350	ZINC00912346	-8.04	623	ZINC09479488	-7.56	896	B299	-7.2	1169	ZINC04677841	-6.83	1442	B282	-6.34
78	ZINC07051252	-8.91	351	ZINC71975746	-8.04	624	ZINC12910049	-7.56	897	B329	-7.2	1170	ZINC06326384	-6.83	1443	ZINC04489122	-6.34
79	ZINC19079710	-8.91	352	B170	-8.03	625	B085	-7.55	898	Y02	-7.2	1171	ZINC08314805	-6.83	1444	ZINC07054340	-6.34
80	ZINC28251214	-8.91	353	B284	-8.03	626	B328	-7.55	899	ZINC00934421	-7.2	1172	ZINC17064818	-6.83	1445	ZINC05303747	-6.33
81	ZINC06315297	-8.9	354	ZINC19079480	-8.03	627	B348	-7.55	900	ZINC04140127	-7.2	1173	ZINC24729174	-6.83	1446	ZINC45516860	-6.33
82	B296	-8.88	355	ZINC06362154	-8.02	628	ZINC02205111	-7.55	901	ZINC12534802	-7.2	1174	ZINC80344685	-6.83	1447	ZINC71894214	-6.33
83	ZINC85387792	-8.88	356	B070	-8.01	629	ZINC02306410	-7.55	902	ZINC40514202	-7.2	1175	ZINC89980280	-6.83	1448	ZINC00396033	-6.32
84	Y41	-8.86	357	Y12	-8.01	630	ZINC02886721	-7.55	903	ZINC78733267	-7.2	1176	ZINC96171270	-6.83	1449	ZINC10395742	-6.32
85	ZINC09963632	-8.86	358	ZINC12780170	-8.01	631	ZINC45826050	-7.55	904	B062	-7.19	1177	ZINC07323255	-6.82	1450	ZINC11220329	-6.32
86	ZINC16128697	-8.85	359	ZINC19080092	-8.01	632	ZINC72274144	-7.55	905	B346	-7.19	1178	ZINC19774213	-6.82	1451	ZINC33249691	-6.32
87	B215	-8.84	360	ZINC32932338	-8.01	633	B118	-7.54	906	B363	-7.19	1179	Y09	-6.81	1452	ZINC95394503	-6.32
88	ZINC03620092	-8.83	361	B068	-8	634	B203	-7.54	907	ZINC01427054	-7.19	1180	ZINC06362010	-6.81	1453	ZINC12802942	-6.31
89	B031	-8.82	362	B152	-8	635	ZINC00223860	-7.54	908	ZINC03295348	-7.19	1181	ZINC06652965	-6.8	1454	B028	-6.3
90	ZINC01117667	-8.82	363	ZINC03341684	-8	636	ZINC05159878	-7.54	909	ZINC13716149	-7.19	1182	ZINC07239983	-6.8	1455	B052	-6.3
91	ZINC04032234	-8.82	364	ZINC01465598	-7.99	637	ZINC06146923	-7.54	910	ZINC22650586	-7.19	1183	ZINC09154949	-6.8	1456	B073	-6.3
92	ZINC05184556	-8.82	365	ZINC05234906	-7.99	638	ZINC09588119	-7.54	911	B027	-7.18	1184	ZINC11902945	-6.8	1457	ZINC41393814	-6.3
93	ZINC06581136	-8.82	366	ZINC06044933	-7.99	639	ZINC15960919	-7.54	912	B244	-7.18	1185	ZINC13955200	-6.8	1458	ZINC48280366	-6.3
94	ZINC07051254	-8.82	367	ZINC26316103	-7.99	640	ZINC79105642	-7.54	913	ZINC00132529	-7.18	1186	ZINC84544226	-6.8	1459	ZINC72295482	-6.3
95	ZINC06315304	-8.81	368	ZINC40134997	-7.99	641	B204	-7.53	914	ZINC03429937	-7.18	1187	B064	-6.79	1460	ZINC01155773	-6.29
96	ZINC06108891	-8.79	369	ZINC47251173	-7.99	642	B239	-7.53	915	ZINC06933126	-7.18	1188	ZINC10371364	-6.79	1461	ZINC14093104	-6.29
97	ZINC44769262	-8.79	370	ZINC00928394	-7.98	643	ZINC09827713	-7.53	916	ZINC24566768	-7.18	1189	ZINC12789934	-6.79	1462	ZINC41394371	-6.29
98	Y56	-8.78	371	ZINC04809496	-7.98	644	ZINC29237322	-7.53	917	ZINC26132053	-7.18	1190	ZINC32935029	-6.79	1463	ZINC95415727	-6.29

99	ZINC19079577	-8.78	372	ZINC06295788	-7.98	645	B124	-7.52	918	ZINC00382507	-7.17	1191	ZINC77726571	-6.79	1464	B051	-6.28
100	ZINC78509588	-8.78	373	ZINC23864606	-7.98	646	B169	-7.52	919	ZINC00942221	-7.17	1192	B001	-6.78	1465	ZINC00077042	-6.28
101	B056	-8.77	374	ZINC04334681	-7.97	647	B171	-7.52	920	ZINC00948556	-7.17	1193	B038	-6.78	1466	ZINC00139817	-6.28
102	B279	-8.77	375	ZINC06108897	-7.97	648	B219	-7.52	921	ZINC03907506	-7.17	1194	B130	-6.78	1467	ZINC65399124	-6.28
103	Y05	-8.77	376	ZINC06706639	-7.97	649	B287	-7.52	922	ZINC12907038	-7.17	1195	B365	-6.78	1468	B087	-6.27
104	ZINC72163790	-8.77	377	ZINC09379174	-7.97	650	B335	-7.52	923	ZINC54248396	-7.17	1196	ZINC07915815	-6.78	1469	ZINC18187579	-6.27
105	B406	-8.76	378	ZINC12606128	-7.97	651	Y26	-7.52	924	B036	-7.16	1197	ZINC09134246	-6.78	1470	ZINC19885901	-6.27
106	ZINC05259975	-8.76	379	ZINC71975535	-7.97	652	ZINC00783690	-7.52	925	B163	-7.16	1198	ZINC19774212	-6.78	1471	ZINC31944550	-6.27
107	ZINC58585088	-8.76	380	ZINC78847035	-7.97	653	ZINC01818671	-7.52	926	ZINC00296712	-7.16	1199	ZINC24056988	-6.78	1472	ZINC32906709	-6.27
108	B300	-8.75	381	Y36	-7.96	654	ZINC03851027	-7.52	927	ZINC00826602	-7.16	1200	ZINC39501284	-6.78	1473	ZINC47270997	-6.27
109	ZINC07276129	-8.74	382	Y47	-7.96	655	ZINC21146559	-7.52	928	ZINC00978071	-7.16	1201	ZINC72287500	-6.78	1474	B091	-6.26
110	ZINC12551711	-8.74	383	ZINC12583683	-7.96	656	B102	-7.51	929	ZINC02888958	-7.16	1202	ZINC83843738	-6.78	1475	B150	-6.26
111	ZINC12560611	-8.74	384	ZINC22618968	-7.96	657	Y33	-7.51	930	ZINC03620098	-7.16	1203	B106	-6.77	1476	B347	-6.26
112	ZINC07054315	-8.73	385	B154	-7.95	658	ZINC04690675	-7.51	931	B019	-7.15	1204	B371	-6.77	1477	ZINC00615442	-6.26
113	ZINC36812043	-8.73	386	ZINC44454132	-7.95	659	ZINC04757005	-7.51	932	B039	-7.15	1205	ZINC00506343	-6.77	1478	ZINC03553005	-6.26
114	B295	-8.72	387	B090	-7.94	660	ZINC05985560	-7.51	933	Y11	-7.15	1206	ZINC09230453	-6.77	1479	ZINC44082019	-6.26
115	B351	-8.72	388	B334	-7.94	661	ZINC09322592	-7.51	934	ZINC00087423	-7.15	1207	ZINC69699646	-6.77	1480	ZINC54318997	-6.26
116	ZINC02208298	-8.72	389	ZINC07306025	-7.94	662	ZINC19528378	-7.51	935	ZINC04649495	-7.15	1208	ZINC72235852	-6.77	1481	ZINC22507198	-6.25
117	ZINC06295787	-8.72	390	ZINC08185156	-7.94	663	ZINC29530400	-7.51	936	ZINC06510176	-7.15	1209	B101	-6.76	1482	ZINC69738561	-6.24
118	ZINC07778305	-8.72	391	ZINC16095972	-7.94	664	ZINC69816296	-7.51	937	ZINC07053456	-7.15	1210	B173	-6.76	1483	ZINC97375867	-6.24
119	ZINC32904798	-8.72	392	ZINC19077498	-7.94	665	B042	-7.5	938	ZINC08315749	-7.15	1211	B272	-6.76	1484	ZINC15372542	-6.23
120	ZINC89677907	-8.72	393	ZINC48356331	-7.94	666	B172	-7.5	939	ZINC12417732	-7.15	1212	B362	-6.76	1485	ZINC36084464	-6.23
121	ZINC04732697	-8.71	394	B338	-7.93	667	B269	-7.5	940	B065	-7.14	1213	Y07	-6.76	1486	B086	-6.22
122	ZINC09290416	-8.71	395	ZINC08064129	-7.93	668	ZINC00499806	-7.5	941	B096	-7.14	1214	ZINC05001197	-6.76	1487	ZINC14069739	-6.22
123	ZINC22621100	-8.71	396	ZINC15912318	-7.93	669	ZINC01067750	-7.5	942	Y18	-7.14	1215	ZINC08189959	-6.76	1488	ZINC07866768	-6.21

124	B143	-8.7	397	ZINC19095873	-7.93	670	ZINC09367718	-7.5	943	ZINC05499818	-7.14	1216	ZINC13731975	-6.76	1489	ZINC19885783	-6.21
125	B216	-8.7	398	ZINC60133496	-7.92	671	ZINC13682959	-7.5	944	ZINC15677263	-7.14	1217	ZINC15445248	-6.76	1490	ZINC38511895	-6.21
126	ZINC32904516	-8.7	399	B126	-7.91	672	ZINC00496249	-7.49	945	ZINC22313726	-7.14	1218	ZINC32932959	-6.76	1491	B063	-6.2
127	B129	-8.69	400	ZINC00677453	-7.91	673	ZINC00549643	-7.49	946	ZINC38511899	-7.14	1219	ZINC46900662	-6.76	1492	B314	-6.2
128	ZINC02252389	-8.69	401	ZINC01106706	-7.91	674	ZINC00810550	-7.49	947	ZINC92003951	-7.14	1220	ZINC56449254	-6.76	1493	ZINC50252173	-6.2
129	ZINC06507462	-8.69	402	ZINC01740646	-7.91	675	ZINC01368013	-7.49	948	B205	-7.13	1221	ZINC65998214	-6.76	1494	ZINC00180797	-6.19
130	ZINC78507667	-8.69	403	ZINC13948559	-7.91	676	ZINC03011946	-7.49	949	B261	-7.13	1222	ZINC03378861	-6.75	1495	ZINC08685402	-6.19
131	ZINC01136991	-8.68	404	B104	-7.9	677	ZINC03620103	-7.49	950	B313	-7.13	1223	ZINC08709913	-6.75	1496	ZINC57897312	-6.19
132	ZINC12557555	-8.68	405	Y51	-7.9	678	ZINC03851503	-7.49	951	ZINC06652956	-7.13	1224	ZINC13649404	-6.75	1497	B074	-6.18
133	ZINC12746955	-8.68	406	ZINC24970064	-7.9	679	ZINC04687131	-7.49	952	ZINC12379642	-7.13	1225	ZINC17441121	-6.75	1498	ZINC00610975	-6.18
134	ZINC19108574	-8.68	407	ZINC72071299	-7.9	680	ZINC07667871	-7.49	953	ZINC12767847	-7.13	1226	ZINC41671272	-6.75	1499	ZINC17289077	-6.17
135	ZINC33116565	-8.68	408	B144	-7.89	681	ZINC33012825	-7.49	954	ZINC20394335	-7.13	1227	ZINC64438703	-6.75	1500	ZINC05689322	-6.16
136	ZINC03290694	-8.67	409	ZINC00870343	-7.89	682	B077	-7.48	955	ZINC77099262	-7.13	1228	B125	-6.74	1501	ZINC43653991	-6.16
137	ZINC16097322	-8.67	410	ZINC01000760	-7.89	683	B263	-7.48	956	B229	-7.12	1229	B274	-6.74	1502	B053	-6.15
138	ZINC40161889	-8.67	411	ZINC01034569	-7.89	684	B354	-7.48	957	Y49	-7.12	1230	B298	-6.74	1503	B232	-6.15
139	B350	-8.66	412	ZINC05153511	-7.89	685	ZINC00753850	-7.48	958	ZINC00125764	-7.12	1231	ZINC00493297	-6.74	1504	ZINC00293021	-6.15
140	ZINC00643442	-8.66	413	ZINC09127682	-7.89	686	ZINC03552518	-7.48	959	ZINC13802243	-7.12	1232	ZINC05634927	-6.74	1505	ZINC00420824	-6.14
141	ZINC02206979	-8.66	414	ZINC09382001	-7.89	687	ZINC14230599	-7.48	960	ZINC40777025	-7.12	1233	ZINC06610907	-6.74	1506	ZINC08719041	-6.14
142	ZINC06146665	-8.66	415	ZINC23105172	-7.89	688	ZINC14869423	-7.48	961	ZINC96005411	-7.12	1234	ZINC07595648	-6.74	1507	ZINC32548601	-6.14
143	ZINC12544760	-8.66	416	ZINC32904517	-7.89	689	ZINC32831929	-7.48	962	B116	-7.11	1235	ZINC09135052	-6.74	1508	ZINC69708739	-6.14
144	ZINC13070680	-8.66	417	B024	-7.88	690	ZINC55874691	-7.48	963	B226	-7.11	1236	ZINC48227836	-6.74	1509	B270	-6.13
145	ZINC32904756	-8.66	418	B178	-7.88	691	ZINC69737577	-7.48	964	B262	-7.11	1237	ZINC95441013	-6.74	1510	ZINC03154001	-6.13
146	B083	-8.65	419	B268	-7.88	692	B280	-7.47	965	ZINC00710244	-7.11	1238	B318	-6.73	1511	ZINC95399455	-6.13
147	B281	-8.64	420	ZINC04679969	-7.88	693	B360	-7.47	966	ZINC03335792	-7.11	1239	ZINC00363270	-6.73	1512	ZINC96140844	-6.13
148	B403	-8.63	421	ZINC12738269	-7.88	694	B409	-7.47	967	ZINC12538117	-7.11	1240	ZINC00509352	-6.73	1513	B088	-6.12

149	ZINC02346366	-8.63	422	ZINC20578737	-7.88	695	Y34	-7.47	968	ZINC15800578	-7.11	1241	ZINC06939479	-6.73	1514	B186	-6.12
150	ZINC04734404	-8.62	423	B058	-7.87	696	ZINC04691304	-7.47	969	ZINC95468160	-7.11	1242	ZINC07705462	-6.73	1515	B188	-6.12
151	B166	-8.61	424	B122	-7.87	697	ZINC11999136	-7.47	970	ZINC96149188	-7.11	1243	ZINC41479559	-6.73	1516	ZINC05170752	-6.12
152	ZINC05184548	-8.61	425	ZINC21717693	-7.87	698	ZINC23590888	-7.47	971	B176	-7.1	1244	ZINC44899162	-6.73	1517	ZINC06652107	-6.12
153	ZINC05050472	-8.6	426	ZINC71945488	-7.87	699	ZINC24839994	-7.47	972	Y04	-7.1	1245	ZINC57561395	-6.73	1518	ZINC41394182	-6.12
154	ZINC05764258	-8.59	427	B209	-7.86	700	ZINC41393781	-7.47	973	ZINC00540184	-7.1	1246	ZINC65404097	-6.73	1519	ZINC58395888	-6.12
155	ZINC23177531	-8.59	428	B231	-7.86	701	ZINC58008976	-7.47	974	ZINC01176795	-7.1	1247	B190	-6.72	1520	B017	-6.11
156	ZINC01761447	-8.58	429	B309	-7.86	702	Y44	-7.46	975	ZINC31820944	-7.1	1248	Y13	-6.72	1521	B139	-6.1
157	B326	-8.57	430	ZINC04679966	-7.86	703	ZINC03284216	-7.46	976	ZINC32598212	-7.1	1249	ZINC03625792	-6.72	1522	B159	-6.1
158	ZINC02645098	-8.57	431	ZINC12583675	-7.86	704	ZINC08064124	-7.46	977	ZINC55585833	-7.1	1250	ZINC06750773	-6.72	1523	B161	-6.1
159	B079	-8.56	432	ZINC12768472	-7.86	705	ZINC55585834	-7.46	978	ZINC65027481	-7.1	1251	ZINC18269845	-6.72	1524	ZINC09635322	-6.1
160	ZINC08330636	-8.56	433	ZINC26379262	-7.86	706	B305	-7.45	979	B237	-7.09	1252	ZINC37397410	-6.72	1525	ZINC13513182	-6.1
161	ZINC00843773	-8.55	434	ZINC19077381	-7.85	707	B311	-7.45	980	B345	-7.09	1253	ZINC84490048	-6.72	1526	ZINC31944372	-6.1
162	ZINC06471492	-8.55	435	ZINC28043343	-7.85	708	Y38	-7.45	981	ZINC55551060	-7.09	1254	ZINC97136528	-6.72	1527	ZINC47482455	-6.1
163	ZINC32904763	-8.55	436	Y31	-7.84	709	Y48	-7.45	982	ZINC72331095	-7.09	1255	B127	-6.71	1528	ZINC00219065	-6.09
164	B094	-8.54	437	Y32	-7.84	710	ZINC00466112	-7.45	983	Y24	-7.08	1256	B320	-6.71	1529	ZINC00528705	-6.09
165	ZINC04809282	-8.54	438	ZINC06158810	-7.84	711	ZINC36644098	-7.45	984	ZINC03295504	-7.08	1257	B340	-6.71	1530	ZINC05170744	-6.09
166	ZINC06549596	-8.54	439	ZINC31722505	-7.84	712	B222	-7.44	985	ZINC10515440	-7.08	1258	ZINC09134197	-6.71	1531	ZINC12937514	-6.09
167	ZINC16097327	-8.54	440	B336	-7.83	713	ZINC00753028	-7.44	986	ZINC14256870	-7.08	1259	ZINC09337657	-6.71	1532	B293	-6.08
168	ZINC03453476	-8.53	441	B399	-7.83	714	ZINC07054328	-7.44	987	ZINC14869495	-7.08	1260	ZINC14021718	-6.71	1533	ZINC08745873	-6.08
169	ZINC08600300	-8.53	442	ZINC02269278	-7.83	715	ZINC22340013	-7.44	988	ZINC33246937	-7.08	1261	ZINC36048348	-6.71	1534	ZINC20542442	-6.08
170	ZINC09442720	-8.53	443	ZINC07204125	-7.83	716	ZINC78063471	-7.44	989	ZINC33669055	-7.08	1262	ZINC36620277	-6.71	1535	ZINC78796482	-6.08
171	B385	-8.52	444	ZINC89941903	-7.83	717	ZINC00089450	-7.43	990	ZINC67428586	-7.08	1263	ZINC95473177	-6.71	1536	B128	-6.07
172	ZINC02647168	-8.52	445	ZINC00114145	-7.82	718	ZINC03548288	-7.43	991	ZINC00826604	-7.07	1264	B292	-6.7	1537	B248	-6.07
173	ZINC06108978	-8.52	446	ZINC00157447	-7.82	719	ZINC04938109	-7.43	992	ZINC03221915	-7.07	1265	ZINC08924920	-6.7	1538	ZINC03588541	-6.07

174	ZINC32903689	-8.52	447	ZINC00212933	-7.82	720	ZINC12618499	-7.43	993	ZINC14869454	-7.07	1266	ZINC71800155	-6.7	1539	ZINC71944464	-6.07
175	B304	-8.51	448	ZINC07813902	-7.82	721	ZINC32904192	-7.43	994	ZINC31776903	-7.07	1267	ZINC84414411	-6.7	1540	ZINC00410118	-6.05
176	Y42	-8.51	449	ZINC14256647	-7.82	722	ZINC48326189	-7.43	995	B089	-7.06	1268	ZINC16577271	-6.69	1541	ZINC12543936	-6.04
177	ZINC06140204	-8.51	450	ZINC15171482	-7.82	723	B022	-7.42	996	Y37	-7.06	1269	B084	-6.68	1542	ZINC13151422	-6.04
178	ZINC09442723	-8.51	451	ZINC16553147	-7.82	724	B076	-7.42	997	ZINC01000988	-7.06	1270	B206	-6.68	1543	ZINC45155460	-6.03
179	ZINC04785798	-8.5	452	ZINC21633118	-7.82	725	B241	-7.42	998	ZINC02351992	-7.06	1271	B316	-6.68	1544	ZINC48149066	-6.01
180	B294	-8.49	453	ZINC74830157	-7.82	726	B303	-7.42	999	ZINC07051230	-7.06	1272	B410	-6.68	1545	ZINC05127348	-5.99
181	Y16	-8.49	454	B157	-7.81	727	B374	-7.42	1000	ZINC08346184	-7.06	1273	ZINC03340558	-6.68	1546	ZINC00399665	-5.98
182	ZINC00821812	-8.49	455	B361	-7.81	728	ZINC00954170	-7.42	1001	ZINC08691613	-7.06	1274	ZINC04807486	-6.68	1547	ZINC02292772	-5.98
183	ZINC03333415	-8.49	456	Y25	-7.81	729	ZINC02209034	-7.42	1002	ZINC16598075	-7.06	1275	ZINC08149646	-6.68	1548	ZINC69517344	-5.98
184	ZINC12523526	-8.49	457	ZINC00224259	-7.81	730	ZINC32532517	-7.42	1003	ZINC40267995	-7.06	1276	ZINC35377255	-6.68	1549	ZINC05402457	-5.97
185	ZINC00640040	-8.48	458	ZINC19080011	-7.81	731	ZINC40549499	-7.42	1004	ZINC52434188	-7.06	1277	B021	-6.67	1550	ZINC08291112	-5.96
186	ZINC09316267	-8.48	459	B297	-7.8	732	ZINC44892760	-7.42	1005	ZINC54060936	-7.06	1278	ZINC03516818	-6.67	1551	ZINC20393836	-5.96
187	ZINC22699872	-8.48	460	ZINC03346714	-7.8	733	ZINC54323808	-7.42	1006	ZINC75583829	-7.06	1279	ZINC09156087	-6.67	1552	B020	-5.95
188	B167	-8.47	461	ZINC14257115	-7.8	734	ZINC69773342	-7.42	1007	ZINC83867745	-7.06	1280	ZINC13684475	-6.67	1553	ZINC36620645	-5.95
189	ZINC19079349	-8.47	462	ZINC48813605	-7.8	735	ZINC72284796	-7.42	1008	B256	-7.05	1281	ZINC06706222	-6.66	1554	B366	-5.92
190	B392	-8.46	463	ZINC75824310	-7.8	736	ZINC85874722	-7.42	1009	B405	-7.05	1282	ZINC07595661	-6.66	1555	ZINC71328850	-5.9
191	ZINC12557610	-8.46	464	ZINC02457880	-7.79	737	ZINC00947866	-7.41	1010	ZINC04082955	-7.05	1283	ZINC08185416	-6.66	1556	B141	-5.88
192	B278	-8.45	465	ZINC08720487	-7.79	738	ZINC01895669	-7.41	1011	ZINC24584831	-7.05	1284	ZINC09221062	-6.66	1557	ZINC16291130	-5.87
193	Y03	-8.45	466	ZINC41091011	-7.79	739	ZINC04815269	-7.41	1012	B030	-7.04	1285	ZINC11055846	-6.66	1558	ZINC08992775	-5.85
194	Y45	-8.45	467	B069	-7.78	740	ZINC05443251	-7.41	1013	ZINC20323909	-7.04	1286	ZINC69775643	-6.66	1559	ZINC41457772	-5.85
195	ZINC06551262	-8.45	468	B145	-7.78	741	ZINC09322593	-7.41	1014	ZINC36646529	-7.04	1287	ZINC91364662	-6.66	1560	B382	-5.84
196	ZINC55215634	-8.45	469	B324	-7.78	742	ZINC15866722	-7.41	1015	ZINC40786065	-7.04	1288	B133	-6.65	1561	ZINC48065933	-5.84
197	ZINC96399780	-8.45	470	ZINC00904707	-7.78	743	ZINC67720086	-7.41	1016	ZINC70637045	-7.04	1289	B343	-6.65	1562	ZINC13626792	-5.83
198	ZINC03359231	-8.44	471	ZINC04077241	-7.78	744	B251	-7.4	1017	B195	-7.03	1290	ZINC01146531	-6.65	1563	B012	-5.82

199	ZINC06108852	-8.44	472	ZINC06139032	-7.78	745	ZINC00143981	-7.4	1018	B218	-7.03	1291	ZINC06839314	-6.65	1564	ZINC12554947	-5.82
200	B389	-8.43	473	ZINC22130771	-7.78	746	ZINC00215208	-7.4	1019	B228	-7.03	1292	ZINC07705121	-6.65	1565	B011	-5.81
201	ZINC04450193	-8.43	474	B158	-7.77	747	ZINC02794092	-7.4	1020	Y19	-7.03	1293	ZINC13649683	-6.65	1566	ZINC19940108	-5.81
202	ZINC04757073	-8.43	475	ZINC00212972	-7.77	748	ZINC03620117	-7.4	1021	ZINC00143016	-7.03	1294	B246	-6.64	1567	ZINC00093053	-5.79
203	ZINC06551263	-8.43	476	ZINC00632005	-7.77	749	ZINC06108784	-7.4	1022	ZINC00212945	-7.03	1295	B339	-6.64	1568	B378	-5.78
204	ZINC09739423	-8.43	477	ZINC06108725	-7.77	750	ZINC07777768	-7.4	1023	ZINC14317786	-7.03	1296	ZINC01589304	-6.64	1569	ZINC95955740	-5.78
205	ZINC22699460	-8.43	478	ZINC12545089	-7.77	751	ZINC08907860	-7.4	1024	ZINC16121623	-7.03	1297	B013	-6.63	1570	ZINC75582221	-5.76
206	ZINC00668700	-8.42	479	ZINC18270372	-7.77	752	B315	-7.39	1025	ZINC20760182	-7.03	1298	B202	-6.63	1571	B198	-5.75
207	ZINC03299084	-8.42	480	ZINC68338671	-7.77	753	B357	-7.39	1026	ZINC24962659	-7.03	1299	ZINC00107857	-6.63	1572	ZINC03257435	-5.74
208	ZINC04757025	-8.42	481	B047	-7.76	754	ZINC00212956	-7.39	1027	ZINC33387435	-7.03	1300	ZINC07337508	-6.63	1573	B123	-5.73
209	ZINC15372734	-8.42	482	Y27	-7.76	755	ZINC04513927	-7.39	1028	ZINC72287495	-7.03	1301	ZINC11902877	-6.63	1574	B131	-5.73
210	ZINC71918544	-8.42	483	ZINC01368129	-7.76	756	ZINC09503906	-7.39	1029	ZINC96276550	-7.03	1302	ZINC32843098	-6.63	1575	ZINC53797166	-5.73
211	ZINC12536254	-8.4	484	ZINC06243940	-7.76	757	ZINC41090190	-7.39	1030	B137	-7.02	1303	ZINC40095565	-6.63	1576	ZINC57521279	-5.73
212	ZINC15911993	-8.4	485	ZINC09466283	-7.76	758	ZINC71817666	-7.39	1031	B407	-7.02	1304	ZINC64438716	-6.63	1577	ZINC56723813	-5.72
213	B009	-8.39	486	ZINC19079339	-7.76	759	ZINC72368940	-7.39	1032	ZINC03343587	-7.02	1305	B140	-6.62	1578	ZINC00044092	-5.71
214	B277	-8.39	487	ZINC40497377	-7.76	760	B156	-7.38	1033	ZINC05556578	-7.02	1306	B187	-6.62	1579	ZINC19885948	-5.71
215	Y52	-8.39	488	ZINC71945474	-7.76	761	B332	-7.38	1034	ZINC10386435	-7.02	1307	ZINC40095568	-6.62	1580	ZINC12882998	-5.7
216	ZINC69419825	-8.39	489	B099	-7.75	762	B352	-7.38	1035	ZINC27028626	-7.02	1308	ZINC40488909	-6.62	1581	Y50	-5.67
217	ZINC05229416	-8.38	490	B148	-7.75	763	ZINC00497831	-7.38	1036	ZINC69702954	-7.02	1309	ZINC71944469	-6.62	1582	ZINC38587862	-5.67
218	ZINC06549619	-8.38	491	B153	-7.75	764	ZINC04116678	-7.38	1037	ZINC96138749	-7.02	1310	B034	-6.61	1583	B048	-5.65
219	ZINC16097323	-8.38	492	B358	-7.75	765	ZINC04561535	-7.38	1038	B014	-7.01	1311	B095	-6.61	1584	ZINC56448427	-5.65
220	ZINC33384126	-8.38	493	ZINC06324144	-7.75	766	ZINC04645366	-7.38	1039	B061	-7.01	1312	B331	-6.61	1585	ZINC39126289	-5.64
221	ZINC15372736	-8.37	494	ZINC13959929	-7.75	767	ZINC41090276	-7.38	1040	B121	-7.01	1313	B372	-6.61	1586	B273	-5.63
222	B112	-8.36	495	ZINC36620789	-7.75	768	ZINC75165884	-7.38	1041	ZINC04300931	-7.01	1314	ZINC01269756	-6.61	1587	ZINC39125902	-5.63
223	B310	-8.36	496	B040	-7.74	769	B271	-7.37	1042	ZINC06988060	-7.01	1315	ZINC04836562	-6.61	1588	B377	-5.62

224	B396	-8.36	497	B196	-7.74	770	Y01	-7.37	1043	ZINC21772480	-7.01	1316	ZINC07657770	-6.61	1589	B234	-5.61
225	ZINC07056074	-8.36	498	ZINC04139870	-7.74	771	ZINC09579296	-7.37	1044	ZINC26336383	-7.01	1317	ZINC27110727	-6.61	1590	B224	-5.6
226	ZINC26029125	-8.36	499	ZINC22757440	-7.74	772	ZINC19079139	-7.37	1045	ZINC69666703	-7.01	1318	ZINC00186306	-6.6	1591	B255	-5.6
227	Y28	-8.35	500	ZINC40086710	-7.74	773	ZINC55585831	-7.37	1046	ZINC96137838	-7.01	1319	ZINC02759826	-6.6	1592	B008	-5.59
228	B045	-8.34	501	ZINC55594061	-7.74	774	ZINC69738175	-7.37	1047	ZINC00728982	-7	1320	ZINC03376628	-6.6	1593	ZINC06727118	-5.58
229	ZINC04022995	-8.34	502	B155	-7.73	775	Y22	-7.36	1048	ZINC07598357	-7	1321	ZINC04746839	-6.6	1594	ZINC49338862	-5.58
230	ZINC04916299	-8.34	503	ZINC13499734	-7.73	776	ZINC00090121	-7.36	1049	ZINC09827707	-7	1322	ZINC22421470	-6.6	1595	ZINC00612154	-5.53
231	ZINC06702131	-8.34	504	ZINC59891602	-7.73	777	ZINC00090170	-7.36	1050	ZINC47214694	-7	1323	ZINC38511893	-6.6	1596	ZINC15010683	-5.52
232	ZINC23590637	-8.34	505	ZINC89350932	-7.73	778	ZINC01106298	-7.36	1051	B319	-6.99	1324	ZINC78262480	-6.6	1597	ZINC75462729	-5.52
233	B111	-8.33	506	B230	-7.72	779	ZINC03894252	-7.36	1052	ZINC03190356	-6.99	1325	ZINC78906662	-6.6	1598	ZINC95436756	-5.52
234	B147	-8.33	507	ZINC01368152	-7.72	780	ZINC07377760	-7.36	1053	ZINC06830984	-6.99	1326	ZINC10495725	-6.59	1599	B165	-5.45
235	B402	-8.33	508	ZINC04170432	-7.72	781	ZINC09827729	-7.36	1054	ZINC14092779	-6.99	1327	ZINC35324925	-6.59	1600	B380	-5.43
236	Y39	-8.33	509	ZINC06326381	-7.72	782	ZINC13135286	-7.36	1055	ZINC28447822	-6.99	1328	ZINC44908684	-6.59	1601	ZINC32776421	-5.43
237	ZINC01326211	-8.33	510	ZINC07673541	-7.72	783	ZINC32932337	-7.36	1056	ZINC84081397	-6.99	1329	B134	-6.58	1602	ZINC67850840	-5.37
238	ZINC02259533	-8.33	511	ZINC23436350	-7.72	784	ZINC35682013	-7.36	1057	ZINC05081365	-6.98	1330	B174	-6.58	1603	B235	-5.35
239	ZINC16995393	-8.33	512	ZINC25766802	-7.72	785	ZINC41393996	-7.36	1058	ZINC15435785	-6.98	1331	ZINC06108922	-6.58	1604	B245	-5.35
240	B368	-8.32	513	ZINC69667142	-7.72	786	ZINC52392308	-7.36	1059	ZINC20542419	-6.98	1332	ZINC26335676	-6.58	1605	Y58	-5.34
241	ZINC33170539	-8.32	514	B307	-7.71	787	B220	-7.35	1060	ZINC21529726	-6.98	1333	ZINC95428541	-6.58	1606	B142	-5.33
242	ZINC89845818	-8.32	515	ZINC05659930	-7.71	788	Y15	-7.35	1061	ZINC32841156	-6.98	1334	B006	-6.57	1607	B193	-5.31
243	ZINC22466493	-8.31	516	ZINC60290950	-7.71	789	ZINC00934419	-7.35	1062	ZINC95085877	-6.98	1335	ZINC00318174	-6.57	1608	ZINC03294013	-5.29
244	ZINC32932299	-8.31	517	ZINC64037838	-7.71	790	ZINC02870344	-7.35	1063	B398	-6.97	1336	ZINC04316363	-6.57	1609	ZINC08037336	-5.28
245	Y46	-8.3	518	ZINC15508984	-7.7	791	ZINC07028024	-7.35	1064	ZINC05938292	-6.97	1337	ZINC06141510	-6.57	1610	B078	-5.27
246	ZINC06267827	-8.3	519	ZINC25372488	-7.7	792	ZINC14139703	-7.35	1065	ZINC10546742	-6.97	1338	ZINC08807933	-6.57	1611	B213	-5.26
247	B401	-8.29	520	ZINC36620846	-7.7	793	B177	-7.34	1066	ZINC62216885	-6.97	1339	ZINC12810944	-6.57	1612	B113	-5.2
248	ZINC00719309	-8.29	521	ZINC37108708	-7.7	794	B197	-7.34	1067	ZINC69893484	-6.97	1340	ZINC14240291	-6.57	1613	ZINC01360527	-5.19

249	ZINC20854501	-8.29	522	B025	-7.69	795	B301	-7.34	1068	ZINC95439505	-6.97	1341	ZINC22506638	-6.57	1614	B016	-5.18
250	ZINC55594092	-8.29	523	B238	-7.69	796	ZINC06108739	-7.34	1069	B115	-6.96	1342	B072	-6.56	1615	ZINC08037301	-5.18
251	ZINC02409094	-8.28	524	ZINC01840313	-7.69	797	ZINC06786273	-7.34	1070	B146	-6.96	1343	B093	-6.56	1616	ZINC73101706	-5.12
252	ZINC16121489	-8.28	525	ZINC03496144	-7.69	798	ZINC19590913	-7.34	1071	ZINC17370851	-6.96	1344	B253	-6.56	1617	ZINC09155602	-5.1
253	B005	-8.27	526	ZINC12790934	-7.69	799	ZINC33077142	-7.34	1072	ZINC32027108	-6.96	1345	ZINC06108862	-6.56	1618	B055	-5.09
254	B217	-8.27	527	ZINC14101192	-7.69	800	ZINC96288412	-7.34	1073	ZINC45720523	-6.96	1346	ZINC24368218	-6.56	1619	B306	-5.07
255	ZINC00754609	-8.27	528	ZINC14256265	-7.69	801	B250	-7.33	1074	ZINC69388351	-6.96	1347	ZINC72294507	-6.56	1620	B015	-5.05
256	ZINC06454843	-8.27	529	ZINC36621122	-7.69	802	ZINC03255122	-7.33	1075	B359	-6.95	1348	B002	-6.55	1621	B254	-4.97
257	ZINC09057867	-8.27	530	ZINC71721577	-7.69	803	ZINC15249862	-7.33	1076	ZINC04820157	-6.95	1349	ZINC69699648	-6.55	1622	B376	-4.95
258	ZINC12543396	-8.27	531	B098	-7.68	804	B291	-7.32	1077	ZINC14232401	-6.95	1350	B260	-6.54	1623	ZINC71820127	-4.95
259	ZINC19078916	-8.27	532	ZINC05480090	-7.68	805	ZINC00121240	-7.32	1078	ZINC65027452	-6.95	1351	B267	-6.54	1624	B375	-4.89
260	ZINC32932339	-8.27	533	ZINC08640271	-7.68	806	ZINC00470841	-7.32	1079	B066	-6.94	1352	ZINC00102933	-6.54	1625	B199	-4.84
261	ZINC12787781	-8.26	534	ZINC22514167	-7.68	807	ZINC00948434	-7.32	1080	B182	-6.94	1353	ZINC05700099	-6.54	1626	B379	-4.78
262	ZINC14256785	-8.26	535	ZINC27314915	-7.68	808	ZINC01049150	-7.32	1081	B266	-6.94	1354	ZINC12541959	-6.54	1627	B381	-4.77
263	ZINC19079933	-8.26	536	ZINC27314919	-7.68	809	ZINC14245562	-7.32	1082	ZINC00133965	-6.94	1355	ZINC27660582	-6.54	1628	ZINC05263039	-4.67
264	Y55	-8.25	537	B179	-7.67	810	ZINC64983953	-7.32	1083	ZINC00493285	-6.94	1356	ZINC35506088	-6.54	1629	B383	-4.58
265	ZINC06267423	-8.25	538	B283	-7.67	811	ZINC79977232	-7.32	1084	ZINC03684601	-6.94	1357	B035	-6.53	1630	B384	-4.57
266	ZINC32745209	-8.25	539	B344	-7.67	812	B004	-7.31	1085	ZINC05091591	-6.94	1358	B043	-6.53	1631	B191	-4.48
267	Y10	-8.24	540	ZINC00155291	-7.67	813	B233	-7.31	1086	ZINC05559485	-6.94	1359	B342	-6.53	1632	B007	-4.45
268	ZINC05062256	-8.24	541	ZINC00420827	-7.67	814	B240	-7.31	1087	ZINC12042073	-6.94	1360	ZINC04818018	-6.53	1633	ZINC75462776	-4.44
269	ZINC06146159	-8.24	542	ZINC00752862	-7.67	815	B265	-7.31	1088	ZINC97660602	-6.94	1361	ZINC53534282	-6.53	1634	B151	-4.42
270	ZINC21228499	-8.24	543	ZINC01454990	-7.67	816	B275	-7.31	1089	B060	-6.93	1362	ZINC54991166	-6.53	1635	B192	-4.35
271	ZINC33026611	-8.24	544	ZINC09220939	-7.67	817	ZINC07158282	-7.31	1090	ZINC01034718	-6.93	1363	ZINC65443538	-6.53	1636	B194	-4.21
272	B259	-8.23	545	ZINC09827740	-7.67	818	ZINC08724661	-7.31	1091	ZINC06748873	-6.93	1364	ZINC71835378	-6.53	1637	B010	-4.02
273	ZINC06108920	-8.23	546	ZINC12817976	-7.67	819	B132	-7.3	1092	ZINC08148621	-6.93	1365	B249	-6.52			

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Yusuf ŞENSES
Uyruğu : T.C
Doğum Yeri ve Tarihi : Batman – 01.01.1983
Telefon : 05057557289
Faks :
e-mail : Yusuf_senses@hotmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: BATMAN LİSESİ – BATMAN	2000
Üniversite	: DİCLE ÜNİVERSİTESİ - DİYARBAKIR	2005
Yüksek Lisans	:	
Doktora	:	

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2009-2019	BATMAN MES. VE TEK. AND. LİS.	ÖĞRETMEN

UZMANLIK ALANI

YABANCI DİLLER

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

YAYINLAR