



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

PEDODONTİ ANABİLİM DALI

**FARKLI ANTİMİKROBİYAL AJANLARIN
ENTEROCOCCUS FAECALIS ÜZERİNE
İNHİBİTÖR ETKİLERİNİN *İN SİLİKO*
MODELLEME YÖNTEMLERİ İLE
İNCELENMESİ**

İpek Nur BERBEROĞLU

UZMANLIK TEZİ

Prof. Dr. Tamer TÜZÜNER

TRABZON-2024



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

PEDODONTİ ANABİLİM DALI

**FARKLI ANTİMİKROBİYAL AJANLARIN
ENTEROCOCCUS FAECALIS ÜZERİNE
İNHİBİTÖR ETKİLERİNİN *İN SİLİKO*
MODELLEME YÖNTEMLERİ İLE
İNCELENMESİ**

İpek Nur BERBEROĞLU
ORCID: 0000-0001-7754-9104

UZMANLIK TEZİ

Prof. Dr. Tamer TÜZÜNER
ORCID: 0000-0001-5817-5928

TRABZON-2024

ONAY SAYFASI

Bu Tez Uzmanlık Tezi Standartlarına Uygun Bulunmuştur.

Prof. Dr. Tamer Tüzüner
Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı Başkanı

Karadeniz Teknik Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı Uzmanlık öğrencisi Arş. Gör. Dt. İpek Nur BERBEROĞLU'nun hazırladığı "Farklı Antimikrobiyal Ajanların *Enterococcus Faecalis* Üzerine İnhibitör Etkilerinin *In Siliko* Modelleme Yöntemleri İle İncelenmesi" başlıklı tez Tıpta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek oy birliği ile Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 19.07.2024
Danışman Prof. Dr. Tamer TÜZÜNER :
Jüri Üyesi Doç. Dr. Nagehan YILMAZ :
Jüri Üyesi Dr. Öğr. Üyesi Ömer Faruk GÜDÜK :

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Tamer TAŞDEMİR
Dekan V.

Temmuz – 2024
TRABZON

BEYAN

Bu tez çalışmasının Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak yapıldığını ve yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kullanılan kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tarih
İpek Nur BERBEROĞLU
(İmza)

İthaf

Bu uzmanlık tezimi, benim bu günlere gelmem için hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan, her koşulda yanımda olan, sevgisini esirgemeyen aileme ve her zaman yanımda olan yol arkadaşşıma ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca büyük bir özveri ile bana her zaman destek olan, akademik deneyimi ve tecrübesi ile her daim yol gösteren, öğrencisi olmaktan gurur duyduğum danışman hocam Sayın Prof. Dr. Tamer Tüzüner'e,

Tez dönemim boyunca değerli bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, tez çalışmamızın deneysel aşamalarında katkı sağlayan, meslek hayatıma kattığı yeni bir bakış açısıyla yol gösterici olan, desteğini ve sevgisini her zaman hissettiğim hocam Sayın Doç. Dr. Gizem Tatar Yılmaz'a,

Uzmanlık sürecimde değerli bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan Sayın Prof. Dr. Özgül Baygın, Sayın Doç. Dr. Üyesi Nagehan Yılmaz'a, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ömer Faruk Güdük'e,

Bu şehirdeki ailem Merve ile Kübra'ya, yoğun çalışma hayatında bize yol gösteren ve destek olan canım kıdemlilerim Gizem, Yakup ve Cansu'ya

Çocukluğumdan beri yanımda olan ve uzun yıllar da olmaya devam edecek kız kardeşim ve arkadaşım Yasemen'e, diş hekimliğini kazanma sürecinde yanımda olan birlikte büyüdüğümüz canım lise arkadaşlarım Nisa, Başak, Melike, Melike ve Cansu'ya, üniversite yıllarımızda zorlu eğitim sürecine birlikte göğüs gerdiğimiz ve sabahlara kadar hem ödev yapıp hem de eğlendiğimiz canım arkadaşlarım Hazal ve Ayça'ya,

Bu noktaya gelmemde en büyük payı olan beni sonsuz sevgi ve şefkatleri ile her zaman destekleyen, sevgi dolu annem Jale Berberoğlu ve canım babam Mustafa Berberoğlu'na, halam, teyzelerim ve canım kuzenlerime

Ve bu mesleği seçmemde en önemli neden olan hastalarım çocuklara

Çok teşekkür ederim...

İÇİNDEKİLER

Sayfa

İÇ KAPAK SAYFASI

ONAY

BEYAN

İTHAF

TEŞEKKÜR

İÇİNDEKİLER

viii

TABLolar DİZİNİ

x

ŞEKİLLER DİZİNİ

xi

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

xii

ÖZET

xv

1. GİRİŞ ve AMAÇ

1

2. GENEL BİLGİLER

3

2.1 Süt Dentisyonun Önemi

3

2.2 Süt Dişlerinde Pulpa Hastalıkları

3

2.2.1 Sağlıklı Pulpa

3

2.2.2 İltihaplı Pulpa (Pulpitis)

4

2.3 Süt Dişi Kök Kanal Mikrobiyolojisi

5

2.3.1 *Enterococcus Faecalis* (*E. Faecalis*)

6

2.3.2 *Enterococcus Faecalis* ve Süt Dişi İlişkisi

8

2.4 Süt Dişlerinde Pulpa Tedavileri

8

2.4.1 Lezyon Sterilizasyonu ve Doku Tamiri

9

2.5 *Enterococcus Faecalis*'in Enzimlerine Yönelik İnhibitörlerin Geliştirilmesi

11

2.6 Antibiyotik Pat Kombinasyonları (Amoksisilin trihidrat, Siprofloksasin, Doksisiklin, Metronidazol)

13

2.7 Klorheksidin (Chlorhexidine, CHX)

14

2.8 Kalkonlar

15

2.9 Flavonoidler

15

2.10 Dihidrofolat Redüktaz (DHFR)

15

2.11 β -Ketoasil-Açıl Taşıyıcı Protein Sentaz III (β -Ketoacyl-Acyl Carrier Protein Synthase III, KASIII)

16

2.12 Agmatin Deiminaz

17

2.13 Alanin Rasemaz	17
2.14 Enterokokal Yüzey Proteini (Enterococcal Surface Protein, Esp)	18
3. GEREÇ ve YÖNTEM	19
3.1. Moleküler Modelleme	19
3.1.1 Moleküler Kenetlenme (Docking)	19
3.2 Absorpsiyon, Dağılım, Metabolizma, Eliminasyon ve Toksisite Analizi (ADMET)	20
3.3 Moleküler Kenetlenme Çalışmaları	20
3.3.1 Moleküler Kenetlenme Çalışmaları Aşamaları	21
4. BULGULAR	28
4.1 Ligand Olarak Seçilen Bileşiklerin ADMET Analizi Sonuçları	28
4.2. Moleküler Kenetlenme Analizi ve Sonuçları	29
4.2.1. Dihidrofolat Redüktaz Enziminin Moleküler Kenetlenme Analizi ve Sonuçları	29
4.2.2 β -Ketoasil-Açıl Taşıyıcı Protein Sentaz III Enziminin Moleküler Kenetlenme Analizi ve Sonuçları	32
4.2.3 Agmatin Deiminaz Enziminin Moleküler Kenetlenme Analizi ve Sonuçları	37
4.2.4 Alanin Rasemaz Enziminin Moleküler Kenetlenme Analizi ve Sonuçları	40
4.2.5. Enterokokal Yüzey Proteini Enziminin Moleküler Kenetlenme Analizi ve Sonuçları	44
5. TARTIŞMA	48
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	55
7. KAYNAKLAR	57

ÖZGEÇMİŞ

Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa
Tablo 3.1. Seçilen ligand bileşiklerin 2 boyutlu şematik çizimi (138)	26
Tablo 4.1. Kontrol grubu bileşikleri ADMET analizi	28
Tablo 4.2. Dihidrofolat redüktaz enzimi ile 20 adet ligand bileşiklerinin moleküler kenetlenme sonucunda hesaplanan bağlanma enerjileri	29
Tablo 4.3. Dihidrofolat redüktaz enzimi ile kristal yapıdaki referans bileşik, kontrol grubu ve 9 numaralı ligand bileşiğinin moleküler kenetlenme sonucunda hesaplanan bağlanma enerjileri	30
Tablo 4.4. β -ketoaçıl-açıl taşıyıcı protein sentaz III enzimi ile 20 adet ligand bileşiklerinin moleküler kenetlenme sonucunda hesaplanan bağlanma enerjileri	33
Tablo 4.5. β -ketoaçıl-açıl taşıyıcı protein sentaz III enzimi ile kristal yapıdaki referans bileşik, kontrol grubu ve 2 numaralı ligand bileşiğinin moleküler kenetlenme sonucunda hesaplanan bağlanma enerjileri	34
Tablo 4.6. Agmatin deiminaz enzimi ile 20 adet ligand bileşiklerinin moleküler kenetlenme sonucunda hesaplanan bağlanma enerjileri	37
Tablo 4.7. Agmatin deiminaz enzimi ile kontrol grubu ve 20 numaralı ligand bileşiğinin moleküler kenetlenme sonucunda hesaplanan bağlanma enerjileri	38
Tablo 4.8. Alanin rasemaz enzimi ile 20 adet ligand bileşiklerinin moleküler kenetlenme sonucunda hesaplanan bağlanma enerjileri	41
Tablo 4.9. Alanin rasemaz enzimi kristal yapıdaki referans bileşik, kontrol grubu ve 9 numaralı ligand bileşiğinin moleküler kenetlenme sonucunda hesaplanan bağlanma enerjileri	41
Tablo 4.10. Enterokokal yüzey proteini enzimi ile 20 adet ligand bileşiklerinin moleküler kenetlenme sonucunda hesaplanan bağlanma enerjileri	44
Tablo 4.11. Enterokokal yüzey proteini enzimi ile kontrol grubu ve 20 numaralı ligand bileşiğinin moleküler kenetlenme sonucunda hesaplanan bağlanma enerjileri	45

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa
Şekil 2.1. Enfekte olmuş kök kanal tedavili dişlerdeki saptanan mikroorganizmaların dağılımı. (Cohen 'den 20	7
Şekil 2.2. Lezyon sterilizasyonu ve doku tamiri tedavisi yapılmış olan dişin şematik çizimi. (1) Rezin modifiye cam iyonomer siman. (2) Üçlü antibiyotik patı. (3) Paslanmaz çelik kron. (Arangannal'dan 57)	10
Şekil 2.3. Klorheksidin molekülünün yapısal formülü (Gomes'den 78)	14
Şekil 3.1. Moleküler modelleme yöntemi şeması (Stanzione'den 135)	21
Şekil 3.2. Enzim DHFR için seçilen 3B kristal yapı (4M7U) (Bourne'den 136)	22
Şekil 3.3. Enzim KASIII için seçilen kristal yapı (3IL5) (Gajiwala'dan 102)	23
Şekil 3.4. Enzim agmatin deiminaz için seçilen kristal yapı (2JER) (Llácer'den 104)	24
Şekil 3.5. Enzim alanin rasemaz için seçilen kristal yapı (3E6E) (Priyadarshi'den 108)	24
Şekil 3.6. Enzim Esp için seçilen kristal yapı. (6ORI) (Berman'dan 138)	25
Şekil 4.1. Moleküler kenetlenme sonucu en etkin CHX bileşiği ile DHFR enzimi moleküler kenetlenme etkileşiminin 2 boyutlu gösterimi	31
Şekil 4.2. Moleküler kenetlenme sonucu en etkin 9 numaralı ligand bileşiği ile DHFR enzimi moleküler kenetlenme etkileşiminin 2 boyutlu gösterimi	32
Şekil 4.3. Moleküler kenetlenme sonucu en etkin enzimin yapısındaki referans bileşiği ile KASIII enzimi moleküler kenetlenme etkileşiminin 2 boyutlu gösterimi	35
Şekil 4.4. Moleküler kenetlenme sonucu en etkin 2 numaralı ligand bileşiği ile KASIII enzimi moleküler kenetlenme etkileşiminin 2 boyutlu gösterimi	36
Şekil 4.5. Moleküler kenetlenme sonucu en etkin CHX bileşiğini ile agmatin deiminaz enzimi moleküler kenetlenme etkileşiminin 2 boyutlu gösterimi	39
Şekil 4.6. Moleküler kenetlenme sonucu en etkin 20 numaralı ligand bileşiği ile agmatin deiminaz enzimi moleküler kenetlenme etkileşiminin 2 boyutlu gösterimi	40
Şekil 4.7. Moleküler kenetlenme sonucu en etkin amoksisilin trihidrat ile alanin rasemaz enzimi moleküler kenetlenme etkileşiminin 2 boyutlu gösterimi	42
Şekil 4.8. Moleküler kenetlenme sonucu en etkin 9 numaralı ligand bileşiği ile alanin rasemaz enzimi moleküler kenetlenme etkileşiminin 2 boyutlu gösterimi	43
Şekil 4.9. Moleküler kenetlenme sonucu en etkin CHX bileşiği ile Esp enzimi moleküler kenetlenme etkileşiminin 2 boyutlu gösterimi	46

Şekil 4.10. Moleküler kenetlenme sonucu en etkin 20 numaralı ligand bileşği ile Esp enzimi moleküler kenetlenme etkileşiminin 2 boyutlu gösterimi

47



KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

AAE	Amerikan endodontistler birliği
ADI	Arjinin deiminaz
ADMET	Emilim, dağılım, metabolizma, eliminasyon ve toksisite
AgDI	Agmatin deiminaz
BDİT	Bilgisayar destekli ilaç tasarımı
B82	2-([4-bromo-3-(dietilsülfamoil)fenil] karbonil} amino) benzoik asit
<i>C. Albicans</i>	<i>Candida Albicans</i>
CHX	Klorheksidin
DCS	D-[3-hidroksi-2-metil-5-fosfonoksimetil-piridin-4-ilmetil]-N, O-sikloserilamid
DNA	Deoksiriboz nükleik asit
DHFR	Dihidrofolat redüktaz
<i>E. Faecalis</i>	<i>Enterococcus Faecalis</i>
EfDapF	<i>Enterococcus Faecalis</i> diaminopimelat epimerazı
EfHSK	<i>Enterococcus Faecalis</i> homoserin kinaz
Esp	Enterokokal yüzey proteini
KASIII	β -ketoaçıl-açıl taşıyıcı protein sentaz III
LSTR	Lezyon sterilizasyonu ve doku tamiri
MIC	Minimum inhibitör dozları
Nadp	Nikotinamid-adenin-dinukleotid fosfat
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
PDB	Protein data bank
PLP	Piridoksal-5'-fosfat
2B	İki boyutlu
3B	Üç boyutlu

Simgeler

Ala	Alanin
Å²	Angstrom kare
Arg	Arjinin
Asn	Asparajin
Asp	Aspartik Asit
C	Karboksi
Cys	Sistein
ΔG	Serbest bağlanma enerjisi
ΔS	Konformasyonel entropinin
Gly	Glisin
Glu	Glutamin
His	Histidin
Ile	İzolösın
Kcal/mol	Kilokalori/mol
Lys	Lisin
Leu	Lösın
Met	Metiyonin
μg	Mikrogram
μg/ml	Mikrogram/mililitre
Mg	Miligram
Mm	Milimetre
N	Amino
Phe	Fenilalanin
Pro	Prolin
Ser	Serin
Thr	Treonin
Trp	Triptofan
Tyr	Tirozin
Val	Valin

ÖZET

Farklı Antimikrobiyal Ajanların *Enterococcus Faecalis* Üzerine İnhibitör Etkilerinin İn Siliko Modelleme Yöntemleri ile İncelenmesi

Çocuk hastaların süt dişlerinde meydana gelen pulpal enfeksiyonlar, süt dişlerinin erken yaşta kaybına neden olmaktadır. Süt dişi pulpal enfeksiyonlarının tedavisinde başta *Enterococcus Faecalis* olmak üzere patojen bakterilerin elimine edilmesi gerekmektedir. Süt dişlerinin erken yaşta kaybını önlemek için lezyon sterilizasyonu ve doku tamiri tedavisi antibiyotik pat kombinasyonları ile uygulanmaktadır. Kullanılan antibiyotik pat kombinasyonları metronidazol, siprofloksasin, minosiklin ve amoksisilin trihidrat gibi antibiyotiklerden oluşmaktadır. Antibiyotikli patların dişlerde renklenme, alerjik reaksiyon ve direnç gelişimi gibi dezavantajları bulunmaktadır. Bu dezavantajlardan dolayı güvenilir, gelişmiş etkinliğe sahip ve yan etkileri azaltılmış doğal kaynaklı antimikrobiyal ilaçların tasarımına ihtiyaç duyulmaktadır. Bundan dolayı bu çalışmada, *Enterococcus Faecalis* enzimlerine (dihidrofolat redüktaz, β -ketoaçıl-açıl taşıyıcı protein sentaz III, agmatin deiminaz, alanin rasemaz ve enterokokal yüzey proteini) karşı inhibitör etkili flavonoid ve kalkon türevli bileşiklerin inhibisyon mekanizmalarının ve yapısal özelliklerinin moleküler düzeyde belirlenmesi için moleküler modelleme yönteminden faydalanılmıştır. Bu sayede bu çalışmanın ileride yapılacak olan deneysel çalışmalara rehber olması amaçlanmıştır. Çalışmanın 1. safhasında; hedef enzimlerin 3 boyutlu yapısı ve inhibitör bileşiklerin bağlanma bölgeleri belirlenmiştir ve flavonoid ve kalkon türevli ligand bileşiklerin 3 boyutlu yapıları hazırlanmıştır. İkinci safhada; kontrol grubu bileşikleri (metronidazol, amoksisilin trihidrat, doksisisiklin, klorheksidin ve siprofloksasin) ile flavonoid ve kalkon türevli bileşikler, hedef enzimler ile moleküler kenetlenme yöntemi kullanılarak serbest bağlanma enerjileri hesaplanmıştır. Üçüncü safhada; kontrol grubu bileşiklerinin farmakokinetik özellikleri değerlendirilmiştir. Son safhada ise, enzim-ligand yapılarının bağlanmasında rol oynayan aminoasitler moleküler seviyede analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda dihidrofolat redüktaz enzimi için 9 numaralı ligand bileşiği ($C_{15}H_{11}NO_4$) -8.45 kcal/mol bağlanma enerjisi ile en iyi bağlanma afinitesi gösteren bileşik olarak belirlenmiştir. Ayrıca dihidrofolat redüktaz enziminin bağlanma bölgesinde bulunan ve inhibisyon mekanizmasında oldukça önemli rol oynayan olan Val102 amino asidi ile hidrojen bağı oluşturmuştur. β -ketoaçıl-açıl taşıyıcı protein sentaz III enzimi 2 numaralı ligand bileşiği ($C_{15}H_{11}BrO_2$) moleküler kenetlenmesi sonucu -8.41 kcal/mol bağlanma enerjisi en iyi

bağlanma afinitesi gösteren bileşik olarak bulunmuştur. 2 numaralı bileşik β -ketoaçıl-açıl taşıyıcı protein sentaz III enziminin bağlanma bölgesinde bulunan ve inhibisyon mekanizmasında oldukça önemli rol oynayan olan Asn280 amino asidi ile hidrojen bağı oluşturmuştur. Flavonoid ve kalkon türevli bileşikler ile yapılan kenetlenme çalışmaları sonucunda ise 20 numaralı ligand bileşiği ($C_{16}H_{13}BrO_3$) -8.82 kcal/mol bağlanma enerjisi ile hedef enzim agmatin deiminaza karşı en iyi bağlanma afinitesi gösteren bileşik olarak belirlenmiştir. Flavonoid ve kalkon türevli bileşikler ile yapılan kenetlenme çalışmaları sonucunda ligand seçilen 20 bileşik de hem kontrol grubu bileşiklerinden hem de referans bileşikten daha etkin bağlanma göstermiş, bu bileşikler içerisinde 9 numaralı ligand bileşiği -8.94 kcal/mol bağlanma enerjisi ile hedef enzim alanin rasemaza karşı en iyi bağlanma afinitesi gösteren bileşik olarak bulunmuştur. Bağlanma bölgesinde bulunan ve inhibisyon mekanizmasında oldukça önemli rol oynayan Arg139, His169, Ser207 amino asitlerine bağlanma göstermektedir. Moleküler kenetlenme analizi sonucunda enterokokal yüzey proteini enzimi ile flavonoid ve kalkon türevli bileşikler arasından da -9.81 kcal/mol bağlanma enerjisi ile en yüksek bağlanma enerjisine sahip 20 numaralı ligand bileşiği olarak saptanmıştır. Bu çalışma sonucunda, süt dişi pulpal enfeksiyonlarının önlenmesine yönelik *Enterococcus Faecalis* enzimlerine etki eden ve spesifik bağlanma gösteren doğal kaynaklı kimyasal bileşiklerin *in siliko* yöntemi ile kısa sürede test edilerek geliştirilmesine katkıda bulunulmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Enterococcus Faecalis*, *In siliko*, Lezyon sterilizasyonu ve doku tamiri, Moleküler kenetlenme, Süt dişi pulpal enfeksiyonu

ABSTRACT

Investigation of the Inhibitory Effects of Different Antimicrobial Agents on *Enterococcus Faecalis* Using *In Silico* Modelling Methods

Pulpal infections in the deciduous teeth of paediatric patients lead to the loss of deciduous teeth at an early age. In the treatment of pulpal infections in deciduous teeth, it is necessary to eliminate pathogenic bacteria, especially *Enterococcus Faecalis*. In order to prevent the premature loss of deciduous teeth, lesion sterilization and tissue repair treatment have been applied with antibiotic paste combinations. The antibiotic paste combinations used consist of antibiotics such as metronidazole, ciprofloxacin, minocycline and amoxicillin trihydrate. The antibiotic pastes have disadvantages such as causing discoloration of the teeth, resistance and the development of allergic reactions. Because of these disadvantages, there is a need for the design of reliable, highly effective, and side-effect reduced antimicrobial drugs derived from natural sources. Therefore, in this study, molecular modelling methods were utilized to determine the inhibition mechanisms and structural properties of flavonoid and chalcone derived compounds with inhibitory effects against *Enterococcus Faecalis* enzymes (dihydrofolate reductase, β -ketoacyl-acyl carrier protein synthase III, agmatine deiminase, alanine racemase, and enterococcal surface protein) at the molecular level. In this way, this study is intended to guide future experimental studies. In the first phase of the study, the three dimensional structures of the target enzymes and the binding sites of the inhibitor compounds were determined; three dimensional structures of flavonoid and chalcone derived ligand compounds were prepared. In the second phase, free binding energies of control group compounds (metronidazole, amoxicillin trihydrate, doxycycline, chlorhexidine and ciprofloxacin) along with flavonoid and chalcone derived compounds were calculated using molecular docking method with target enzymes. In the third phase, the pharmacokinetic properties of the control group compounds were evaluated. In the final stage, the amino acids involved in the binding of enzyme-ligand structures were analysed at the molecular level. As a result of the study, compound number 9 (C₁₅H₁₁NO₄) has been identified as the compound showing the highest binding affinity with the dihydrofolate reductase enzyme, with a binding energy of -8.45 kcal/mol. Additionally, compound number 9 has been formed a hydrogen bond with Val102 amino acid, which is located in the binding region of the dihydrofolate reductase enzyme and plays a significant role in the inhibition mechanism. The molecular docking of β -ketoacyl-acyl carrier protein synthase

III enzyme with ligand compound number 2 ($C_{15}H_{11}BrO_2$) has been resulted in a binding energy of -8.41 kcal/mol, exhibiting the best binding affinity. Compound number 2 has been formed a hydrogen bond with Asn280 amino acid, a residue located in the binding site of β -ketoacyl-acyl carrier protein synthase III enzyme, playing a crucial role in its inhibition mechanism. As a result of docking studies with flavonoid and chalcone derived compounds, compound number 20 ($C_{16}H_{13}BrO_3$) has been determined as the compound with the best binding affinity against the target enzyme agmatine deaminase with a binding energy of -8.82 kcal/mol. For alanine racemase enzyme all selected ligand compounds have been found to be more effective than both control group compounds and the reference compound, among these ligand compound number 9, with a binding energy of -8.94 kcal/mol, has been identified as the compound exhibiting the best binding affinity against the target enzyme alanine racemase. Ligand compound number 9 has been bound to the amino acids Arg139, His169, and Ser207 located in the binding site, playing a significant role in the inhibition mechanism. Based on the results of molecular docking analysis, the ligand compound number 20 has been identified as having the highest binding affinity with a binding energy of -9.81 kcal/mol among the flavonoid and chalcone-derived compounds, when interacting with the enterococcal surface protein enzyme. As a result of this study, we have contributed to the development of inhibitors of natural chemical compounds that act on *Enterococcus Faecalis* enzymes and show specific binding by testing them *in silico* method in a short time for the prevention of primary tooth pulpal infections.

Keywords: *Enterococcus Faecalis*, *In silico*, Deciduous tooth pulpal infection, Lesion sterilization and tissue repair, Molecular docking

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Çocuk hastaların süt dişlerinin, fizyolojik düşme zamanı gelene kadar sağlıklı ve fonksiyonunu sürdürebilir bir şekilde, diş arkında doğru pozisyonunun sağlanması oldukça önemlidir. Erken yaşta dişlerin kaybedilmesine bağlı oluşabilecek problemlerin önüne geçilebilmesi için çürük, travma gibi nedenlerden dolayı canlılığını kaybetmiş veya pulpa dokusu geri dönüşümsüz hasar görmüş süt dişlerine kök kanal tedavilerinin uygulanması gerekmektedir (1). Süt dişlerinde rutin olarak uygulanan kanal tedavileri geri dönüşümsüz inflamasyon veya enfekte pulpa dokusunun tedavisinde etkilidir (2).

Son zamanlarda yapılan çalışmalar, “Lezyon Sterilizasyonu ve Doku Tamiri” (Lesion Sterilisation and Tissue Repair, LSTR) konseptli kanal tedavisi alternatifi, farklı kombinasyonlu antibiyotikli patların kök kanallarında bulunan bakterilerin eliminasyonunu sağladığı bildirilmiştir. Bu sayede amaçlanan konağın immün sistemi ve doku onarımı oluşumu ile dişin kaybı önlenebilmektedir (3). Pulpal ve periapikal dokulardaki patojenik mikroorganizmaların tümüyle ortadan kaldırılması için çeşitli antibiyotiklerden oluşan pat kombinasyonları kullanılmaktadır. Süt dişi kök kanal tedavisinin; dişin düşmesine 12 ay veya daha az zaman kaldığı durumlarda, kök kanal sisteminin karmaşık morfolojisi, fizyolojik kök rezorpsiyonu varlığı, kooperasyon eksikliğinden dolayı kemomekanik enstrümantasyonun yeterli yapılamaması nedenleri ile olanaklı olmadığı durumlarda pulpa odası steril çelik rond frez ile temizlenir ardından antibiyotik pat kanal girişinden 1-2 mm derinliğe ve pulpa odasının tabanına uygulanır, sonrasında ise dişe daimi restorasyon yapılır (4–6). Lezyon sterilizasyonu ve doku tamiri ile kanal tedavisi gibi endodontik tedaviler uygulanarak periradiküler dokuların korunması veya iyileştirilmesinin sağlanması ile erken yaşta süt dişlerinin kaybedilmesi nedeniyle oluşabilecek problemlerin önüne geçilebilmektedir (7).

Enterococcus Faecalis (*E. Faecalis*) gram pozitif anaerobik kok, zorlu çevre koşullarına karşı dayanıklı, başarısız kök kanal tedavisi görmüş dişlerin kanallarında ve periradiküler enfeksiyonlarda en sık izole edilen bakteriyel türdür. *Enterococcus Faecalis*'in dentin tübüllerine nüfuz etmesi nedeniyle, irrigasyon solüsyonları ve endodontik enstrümantasyonla tamamen uzaklaştırılması sınırlanmaktadır. Ayrıca kök kanallarında biyofilm oluşturma yeteneği sayesinde ise antimikrobiyal ajanlara karşı direnç gelişimi meydana gelmektedir (8–10). Bu nedenle, *E. Faecalis*'in kök kanallarından eliminasyonunu

sağlamak için özel tedavi seçeneklerine ihtiyaç vardır ancak mevcut antibiyotik pat kombinasyonlarının birçoğunun ısrarcı enfeksiyon ana patojeni olan *E. Faecalis*'in enzimlerine yönelik etkinlikleri incelenmemiştir. Ayrıca, bu bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteleri bilinse bile, virölansı önleme üzerindeki etkileri hala belirsizdir.

Teknolojinin hızla gelişimi ile bilgisayar destekli incelemelerin önemi günden güne artmaktadır. Analizi uzun süreç alan ve maliyet gerektiren eski yöntemlerin aksine dijital ortamda yeni ilaç tasarımları ile moleküllerin yapılarının, etki ve etkileşimlerinin incelenmesi yeni ve etkili ilaç tasarımlarının geliştirilmesine yönelik süreçte olumlu yönde katkı sağlayabilmektedir. Bilgisayar destekli ilaç tasarımı ile biyomoleküler etkileşimlerin moleküler seviyede analizinin ve yeni kimyasal moleküllerin tasarımının (türevlendirme veya yeniden tasarım) bilgisayar ortamında yapılmasını olanaklı hale getirmektedir. Bilgisayar destekli tasarımlar sayesinde deneysel aşamalarda *in vitro* ya da *in vivo* olarak yapılacak testler ile sonuca ulaşmada daha hızla ilerlemeye imkan sağlanmaktadır (11, 12).

Yapılan bu çalışmada, *E. Faecalis*'in farklı enzimlerinin (dihidrofolat redüktaz, β - ketoaçıl-açıl taşıyıcı protein sentaz III, agmatin deiminaz, alanin rasemaz, enterokokal yüzey proteini) inhibisyon etkilerinin daha iyi anlaşılması ve temel yapısal özelliklerinin ortaya çıkarılması için çeşitli antimikrobiyal ajanlar bilgisayar destekli moleküler modelleme yöntemleri ile incelenmiştir. Bu sayede patojen bakterilerin neden olduğu hastalıkların tedavisine yönelik önemli katkıların sağlanması hedeflenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Süt Dentisyonun Önemi

Çocuklarda süt dişlerinin çiğneme, fonasyon, estetik ve kalıcı dişlerin yerlerinin muhafaza edilmesi gibi önemli görevleri bulunmaktadır (13). Diş çürükleri, travmatik dişsel yaralanmalar, periodontal hastalıklar ve benzeri gibi birçok nedenden dolayı, çocuklarda erken süt dişi kayıplarına sıklıkla rastlanmaktadır. Süt dişlerinin erken kayıpları; dişlerin rotasyonu, karşıt dişlerin ekstrüzyonu, ektopik erüpsiyon, yer kaybı, kalıcı dişlerin gömülü kalması, dişsel çapraşıklıkların oluşması, ark uzunluğunun azalması, zararlı alışkanlıkların gelişmesi, konuşma problemleri, kraniofasiyal büyüme bozukluklarının oluşması gibi problemlere neden olabilmektedir (14). Bazı çocuklar ise estetik kaygılardan dolayı psikolojik problemler sonucunda sosyal ve akademik olarak olumsuz etkiler görebilmektedir (15, 16). Patolojik süreç çözülebilirse süt dişlerinin çene arkındaki yerlerinin idamesi ile yerine gelecek kalıcı diş için en iyi yer tutucu olduğu ifade edilmektedir (17). Bundan dolayı pulpal hastalıkların neden olduğu, süt dişlerinin erken kayıplarının önlenmesi için uygulanan endodontik tedavi işlemleri ile bu problemlerin aşılması hedeflenmektedir (13).

2.2 Süt Dişlerinde Pulpa Hastalıkları

Pulpa ve periradiküler dokuların birçok nedenden dolayı irritasyonu, dişlerde enfeksiyon gelişmesine neden olabilmektedir. Pulpa ve periapikal hastalıkların sınıflandırılmalarını geliştirebilmek için yıllardan beri girişimde bulunmaktadır (18). 2016 yılında Amerikan Endodontistler Birliği (American Association of Endodontics, AAE) pulpa ve periapikal hastalıkların terminolojilerini ve klinik sınıflandırmalarını geliştirmiştir (19).

2.2.1 Sağlıklı Pulpa

Pulpanın semptomsuz olduğu ve pulpa testlerine pozitif yanıt verebildiği bir klinik tanıdır. Sağlıklı pulpası olan dişler, genellikle kendiliğinden oluşan semptom sergilemezler. Pulpa testlerinden alınan yanıt, hastada herhangi bir rahatsızlığa neden olmamakta veya saniyeler içerisinde geçen geçici bir ağrı ile sonuçlanmaktadır. Sağlıklı pulpası olan dişlerde radyografik olarak, değişen oranlarda pulpa kalsifikasyonları olabilir ancak rezorpsiyon, çürük veya pulpa ekspozu gibi pulpa iltihabı ile ilişkili bulgular görülmez. Bu dişler için, endodontik tedavi endike değildir (19, 20).

2.2.2 İltihaplı Pulpa (Pulpitis)

Pulpa iltihabı (pulpitis), klinik ve histolojik olarak tanımlanmaktadır. Klinik olarak geri dönüşümlü veya dönüşümsüz (semptomatik ve asemptomatik), histolojik olarak akut, kronik veya hiperplastik ifadeleri kullanılmaktadır. (20).

2.2.2.1 Geri Dönüşümlü Pulpa İltihabı

Subjektif ve objektif bulgulara dayanan, pulpa iltihaplanmasını gösteren klinik bir tanıdır (20). Bu safhada, pulpa bir uyarıcı tarafından irrite olmakta, ancak uyarıcı ortadan kalktığı zaman hızlı bir şekilde normale dönebilmektedir. Periodontal ligament ve lamina dura sağlıklı olup, diş genellikle perküsyona cevap vermemektedir. Geri dönüşümlü pulpitisin sebep olan nedenler: diş çürükleri, dentinin açığa çıkması, diş tedavileri ve hatalı yapılmış olan restorasyonlar olarak gösterilebilir (21). Geri dönüşümlü pulpitis, pulpada hafif derecede bir enflamasyonun olduğu iyileşme kapasitesi olan klinik bir durumdur (22).

2.2.2.2 Geri Dönüşümsüz Pulpa İltihabı

Pulpanın irritasyona sebep olan uyarıcı veya uyarıcılar var olmaya devam ettiği sürece, pulpanın enflamatuvar durumu, geri dönüşümsüz pulpitis tablosunun oluşmasına zemin hazırlamaktadır. Geri dönüşümsüz pulpitis histolojik olarak çürüğe yakın bölgede şiddetli enflamasyon varlığı ve pulpada parsiyel nekroz ile kendini göstermektedir. Geriye kalan pulpa dokusunda hafif enflamasyon vardır veya hiç yoktur bundan dolayı pulpa vitalite testlerine yanıt vermektedir (23). Klinik olarak kendiliğinden oluşan ağrılar ile başlayan, uzun süreli ve zonklama tarzında ağrılar ile karakterizedir. Bu aşamada, mevcut enflamasyonu ortadan kaldırmak için dişe pulpal tedavi uygulanması gerekmektedir. Geri dönüşümsüz pulpitis, semptomatik ve asemptomatik olarak iki alt kategoriye ayrılmaktadır (20).

2.2.2.2.1 Semptomatik Geri Dönüşümsüz Pulpa İltihabı

İltihaplı pulpanın uyarıcı ortadan kalksa bile normale dönmediği, subjektif ve objektif bulgulara dayanan klinik bir tanıdır. Bu dişlerde, aralıklı veya kendiliğinden oluşan ağrılar görülebilmektedir. Ağrılar, ani sıcaklık değişikliklerinde (özellikle soğuk uyarıcılardan) uyarıcı ortadan kalktığında bile geçmeyen ve oldukça şiddetli olarak ortaya çıkmaktadır. Ağrılar, keskin veya künt ve lokalize veya yaygın olabilmektedir (20). Radyografik olarak değerlendirildiğinde, periradiküler kemikteki patolojik değişiklikler çok

az veya hiç yoktur. Semptomatik geri dönüşümsüz pulpitisli dişler tedavi edilmediğinde, pulpanın nekrotik hale gelmesine neden olabilmektedir (24).

2.2.2.2.2 Asemptomatik Geri Dönüşümsüz Pulpa İltihabı

Semptomatik geri dönüşümsüz pulpa iltihabı gibi pulpanın iyileşmediğini gösteren, subjektif ve objektif bulgulara dayanan klinik bir tanıdır. Klinik veya radyografik olarak incelendiğinde, pulpaya çok yakın görülen derin çürük varlığında bile, dişlerde herhangi bir semptom görülmeyebilir. Bu aşamada, dişe gerekli tedavi uygulanmazsa, semptomatik veya daha ileri bir tablo olan dişin pulpa dokusunun nekrozu meydana gelebilmektedir (24).

2.2.2.3 Pulpa Nekrozu

Dişin pulpasının canlılığını kaybettiğini gösteren klinik tanıdır. Nekroz parsiyel veya total olarak pulpa dokusunda yayılma durumuna göre ikiye ayrılmaktadır. Pulpada kan akışı ve sinir iletimi yoktur bundan dolayı pulpa vitalite testlerine negatif yanıt vermektedir. Pulpa total olarak nekrotik hale geldikten sonra, periradiküler dokularda enfeksiyonun yayılması sonucu etkileri görülmeye başlayana kadar diş asemptomatiktir. Pulpa dokusu, soğuk uyarılara yanıt vermez ancak uzun süre sıcak uyarılara maruz kaldığında yanıt oluşabilmektedir. Bunun nedeni ise, kanal boşluğunda genişleyen ve periapikal dokulara uzanan sıvı veya gazların varlığıyla ilişkilendirilmektedir (20).

2.2.2.4 Gangrenli Pulpa

Gangrenli pulpa histopatolojik incelemelerde, bağ dokusunun düzenini tamamen kaybettiği ve çok sayıda mikroorganizmanın izlendiği durum olarak görülmektedir. Bakteriler tarafından pulpa dokusu tamamen harap olmuştur. Kök kanalı içerisinde mikroorganizmalar tarafından proteinlerin, yağların ve karbonhidratların bütünü ile parçalanması ve kullanılması sonucu tipik kötü bir koku ortaya çıkmaktadır. Periapikal bölgeye yayılım olmadığı takdirde radyografik olarak herhangi bir değişiklik görülmemektedir (25).

2.3 Süt Dişi Kök Kanal Mikrobiyolojisi

Bakteriler kök kanalına ulaşarak hastalık yapabilen mikroorganizmaların büyük çoğunluğunu oluşturmaktadır (26). Bakteriler pulpaya çeşitli yollardan, çoğunlukla çürük kavitesinden, periodontal ligament veya sulkustan, dentin tübüllerinden, daha az sıklıkla da mine ve dentindeki çatlaklardan ulaşabilmektedir (27). Ağız florasında 700'den fazla çeşit

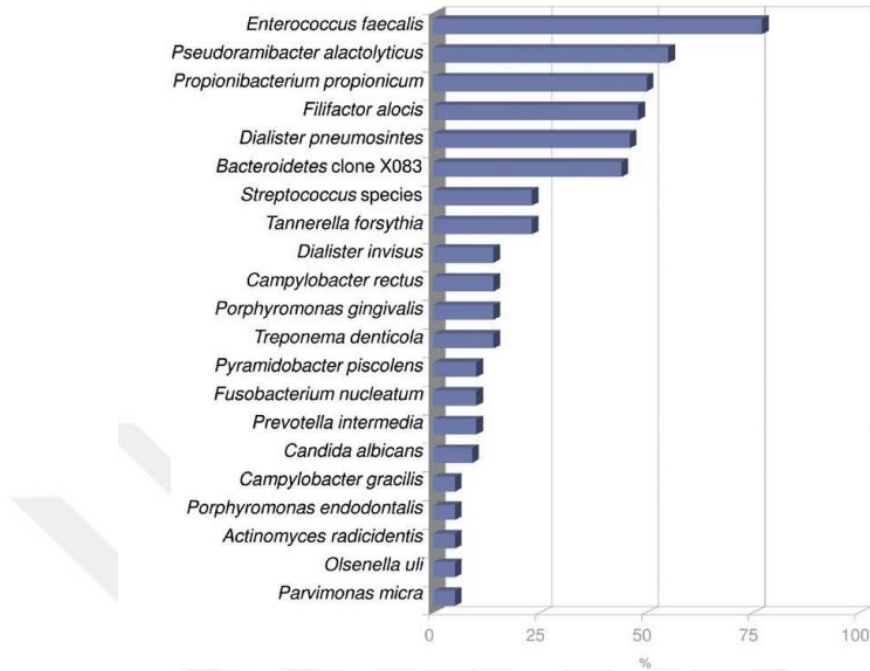
bakteri bulunmakta, bu bakteri türleri arasında da küçük bir kısmı pulpal enfeksiyondan sorumlu tutulmaktadır. Kök kanal enfeksiyonu polimikrobiyal özelliktedir. (28).

Çalışmalar, nekrotik pulpalı süt dişlerinin kök kanallarında, kalıcı dişlerin mikrobiyal florasına benzer şekilde anaerobik mikroorganizmaların baskın olduğunu göstermektedir. Kök kanallarındaki enfeksiyon dinamik bir seyir izlemekte ve enfeksiyonun farklı evrelerinde çeşitli baskın türler görülmektedir. Enfeksiyonun başlangıç aşamasında fakültatif bakteriler etkin rol oynamaktadır. Pulpanın nekroz olması durumunda, kök kanal sisteminde oksijen kaynaklarının azalmasına bağlı olarak anaerobik bakteriler ortama hâkim olmaktadır. Enfekte pulpa dokusundan alınan örneklerde zorunlu anaerobların baskın olduğu, fakültatif anaerobların daha az görüldüğü ve nadir olarak da aerobik bakterilerin varlığı belirtilmektedir (29).

Kök kanallarında en çok görülen mikroorganizmalar *laktobasiller*, gram pozitif fakültatif *streptokoklar*, gram pozitif fakültatif anaerobik rodler, gram pozitif anaerobik koklar, gram negatif anaerobik rodler ve mantarlardır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, başarısız kök kanal tedavisi sonrası yeniden kanal tedavisi uygulaması gerektiren olgularda ve inatçı kök kanal enfeksiyonlarında *E. Faecalis* ve *Candida Albicans* (*C. Albicans*) izole edilen bakteriler arasında gösterilmektedir (30).

2.3.1 *Enterococcus Faecalis* (*E. Faecalis*)

En çok tartışılan bakterilerden olan *E. Faecalis*, insan oral kavite ve genitoüriner sistem florasında doğal olarak bulunan, spor oluşturmayan, fermentatif, fakültatif anaerob, gram pozitif kok grubuna ait ve oluşturduğu biyofilm yapısı nedeniyle ısrarcı enfeksiyonların ve periradiküler lezyonların gelişiminde rol oynadığı bilinen bir mikroorganizmadır. Pulpanın primer enfeksiyonunda 1. evreden sonra sayısı hızla azalan *E. Faecalis*, daha çok sekonder enfeksiyonlarda sayısının arttığı gösterilmektedir. Yapılan çalışmalarda kök kanal tedavisi görmüş dişlerde %90 oranında izole edildiği bildirilmektedir (31, 32). Birçok çalışmada hem enstrümantasyon sonrası hem de medikamasyon sonrası yüksek oranda gram pozitif bakteri ortaya çıktığı görülmektedir (33). Enfekte olmuş kök kanal tedavili dişlerdeki saptanan mikroorganizmaların dağılımı grafikte gösterilmektedir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Enfekte olmuş kök kanal tedavili dişlerdeki saptanan mikroorganizmaların dağılımı. (Cohen 'den 20)

Enterococcus Faecalis konak hücrelerine adezyonu ile konak cevabını değiştirebilmekte, bu özelliği sayesinde diğer bakteriler ile rekabet edebilmektedir. Virülans faktörleri arasında; litik enzimler, sitolizin, agregasyon maddesi ve lipoteikoik asit bulunmaktadır (33, 34). *Enterococcus Faecalis* serin proteaz, jelatinaz ve kollajen bağlayıcı proteinler ile kanallarda dentinine bağlanabilmekte ve dentin tübüllerine penetre olarak orada varlığını sürdürebilmektedir (34, 35). Biyofilm oluşumu sayesinde *E. Faecalis*, kök kanallarındaki değişen koşullara adaptasyonu kolaylaşmaktadır ve yüksek doz antimikrobiyal ajanlara direnç geliştirebilmektedir (34, 36). Yeterli besin kaynağının olmadığı ortamlara uyum sağlayabilmektedir. Dentin tübüllerine yerleşerek kemik ve periodontal ligament gibi dokularından gelen serumu besin kaynağı olarak kullanabilmektedir. Yüzde elli serum varlığında 4 ay kadar kök kanallarında yaşamını sürdürebilen bakteri; serum varlığı %1 olduğunda dahi kök kanallarında yaşamını devam ettirebilmektedir. Tübüler sıvıları metabolize etmesi aynı zamanda kolajene adezyon sağlamasına da yardımcı olmaktadır. (34).

Dentin tübüllerinde yaşamını sürdürebilen *E. Faecalis*'in, on günden fazla süre ile kalsiyum hidroksit (en sık kullanılan ara seans medikamanı) uygulamalarına direnç

geliştirdiği görülmektedir (37, 38). *Enterococcus Faecalis* hücre dışı protonları hücre içine pompalayıp sitoplazmanın asidik hale gelmesini sağlamakta ve alkali pH'a sahip ortamlardan etkilenmeden çoğalabilmektedir. Bundan dolayı *E. Faecalis*'in yüksek pH'a sahip kalsiyum hidroksitli patlar ile ortamdan uzaklaştırılmasının etkisiz olduğu bildirilmektedir (39–42).

2.3.2 *Enterococcus Faecalis* ve Süt Dişi İlişkisi

Hem kalıcı dişlerde hem de süt dişlerinde kök kanal tedavilerinin başarısızlık ile sonuçlanmasında *E. Faecalis* sorumlu görülen en yaygın bakteridir (43). Çoğulu ve ark. (44) tarafından 2007 yılında nekrotik süt ve kalıcı dişlerde yapılan çalışmada; hem kültür hem de polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction, PCR) yöntemi ile *E. Faecalis*'in varlığı kanıtlanmıştır. Süt dişlerinde *E. Faecalis*; kültür yöntemleri sonucunda 45 nekrotik süt dişinin 8'inde (%18) ve 38 nekrotik kalıcı dişin 10'unda (%26), PCR tespiti ile sırasıyla nekrotik süt ve kalıcı dişlerinde 10 (%22) ve 12 (%32)'sinde tanımlanmaktadır. Çoğulu ve ark. (45) yaptıkları bir diğer çalışmada da *E. Faecalis*'in periapikal bölgede radyolusent alan ve ağrı ile hem süt hem de kalıcı dişlerde önemli ölçüde ilişkili olduğunu göstermiştir.

Yakın zamanda yapılan *in vivo* çalışmada, *E. Faecalis*'in rolü primer enfeksiyonu olan süt dişlerinde araştırılmıştır. Bu çalışmaya dahil edilen 25 dişten 10 tanesinin enterokokal sıvı besiyerinde pozitif olduğu belirlenmiştir. Beş pozitif vakada türe özgü 16S rRNA genine dayalı PCR kullanılarak *E. Faecalis* tespit edilmiştir (46).

Farklı antimikrobiyal ajanların *E. Faecalis* üzerindeki etkilerinin *in vivo* olarak inceleyen farklı bir çalışmada, dirençli bir mikroorganizma olması nedeniyle *E. Faecalis* varlığı PCR kullanılarak erken çocukluk çağı çürüklerine bağlı nekrotik süt ön dişleri açısından değerlendirilmiştir. Çalışmada toplam kök kanal enfeksiyonlarının %55'inde *E. Faecalis* tespit edilmiştir (47).

2.4 Süt Dişlerinde Pulpa Tedavileri

İndirekt kuafaj, direkt kuafaj, amputasyon, kök kanal tedavisi (pulpektomi) ve LSTR süt dişlerinde uygulanan pulpa tedavi prosedürlerini oluşturmaktadır. Bu tedaviler ile hedeflenen etkilenmiş pulpaya müdahale edilerek; çürük, travma, enfeksiyon gibi nedenlerle kaybedilmiş olan diş yapısı ve dental arktaki yeri korunmaktadır (48).

Süt dişi kök kanal tedavisi ve LSTR geri dönüşümsüz iltihaplı veya nekrotik pulpa dokusuna sahip olan dişlerde uygulanan tedavilerdir (2). Kök kanal tedavisi, çürüğün

temizlenmesi ardından, kuron ve kök pulpasının uzaklaştırılması, kök kanallarının kemomekanik olarak şekillendirilmesi ve temizlenmesi, kök kanallarının biyolojik özelliklere sahip materyaller ile tamamen doldurulması işlemidir (49). Süt dişlerinde aşırı kök rezorpsiyonu, yetersiz kemik ve periodontal doku desteği nedeni ile yapılan kök kanal tedavilerinin prognozu olumsuz etkilenebilmektedir (15, 50). Bunun yanı sıra çocuk hastalarda tedavi süresinin uzunluğu nedeniyle oluşabilecek kooperasyon zorluklarına, süt dişi kök kanallarının kompleks morfolojik yapısı; kıvrımlı kök kanalları, çoklu aksesuar kanalların varlığı, dallanmalar ve enfeksiyonun yayılmasını kolaylaştıran geniş medüller kemik boşlukları nedeniyle kemomekanik temizlik ve şekillendirme başarısızlıklarına, süt dişinde fizyolojik kök rezorpsiyonundan dolayı apikal kapanmanın olmaması nedeniyle hatalı kök kanal boyu uzunluğu tayinine, irrigasyon sırasında ve dolum aşamasında kök kanal dolgu materyallerinin kalıcı diş germine zarar verme riskine ve kök kanal tedavisi ile yetersiz hermetik sızdırmazlık oluşumuna neden olabilmektedir (2).

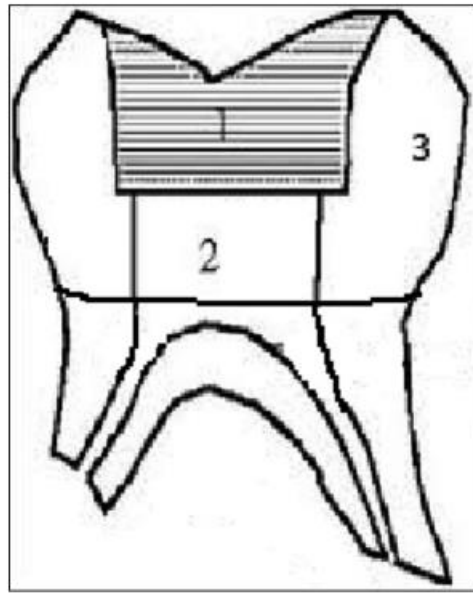
2.4.1 Lezyon Sterilizasyonu ve Doku Tamiri

Süt dişlerinin kök kanallarının karmaşık anatomisinden dolayı, patojen bakterilerin sadece mekanik preparasyon ile uzaklaştırılması olanaklı değildir (51). Antibakteriyel medikamanların kullanımı özellikle enfekte durumdaki kök dentininin derin tabakalarının sterilizasyonunda gerekli olmaktadır (51, 52). Bundan dolayı antibakteriyel medikamanların lokal olarak uygulanması, kök kanal tedavisinde rezidüel mikroorganizmaların elimine edilmesini sağlayarak tedavinin başarısını artırmaktadır (53). Kök-kanal sistemindeki enfekte ortamın polimikrobiyal yapısından dolayı, antimikrobiyal ilaç kombinasyonlarının endodontik enfeksiyonların tedavisinde faydalı olduğu düşünülmektedir (54).

Yeni bir tedavi yaklaşımı olan daha az invaziv ve daha az zaman gerektiren LSTR; 1990 yılında, Niigata Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Kariyoloji Araştırma Biriminde Hoshino ve arkadaşları tarafından ağız enfeksiyonlarının dezenfeksiyonu için antibakteriyel ilaç karışımı (metronidazol 500 mg, siprofloksasin 200 mg, minosiklin 100 mg gibi antibiyotiklerin 1:1:1 oranındaki kombinasyonu) olarak geliştirilmiştir sonrasında ise 2004 yılında Takushige ve arkadaşları tarafından metronidazol, siprofloksasin ve minosiklin içeren 1:3:3 oranındaki ilaç kombinasyonu ile taşıyıcı olarak makrogol ve propilen glikol kullanarak süt dişlerinin endodontik tedavisi ile ilgili bir çalışma gerçekleştirilmiştir (50). Bu çalışmaların ışığında günümüzde bu teknikle uygulanan tedavilerin başarısını artırmak için yeni ilaç kombinasyonları geliştirilmektedir (55, 56). Bu tedavi yaklaşımında amaç

lezyonları steril ederek, bireyin doğal doku yenilenmesini destekleyip; patojen bakterilerin bireyin bağışıklık sistemi aracılığıyla ortadan kaldırmasını sağlamaktır (50).

Enstrümantasyonsuz veya minimum enstrümantasyon ile uygulanan LSTR; kök kanal sisteminin ve periapikal lezyonların sterilize edilmesi için antibiyotik karışımının bir propilen glikol taşıyıcısı ile pulpa odasına ve kanal ağzlarından 1-2 mm derinliğe yerleştirilmesini içeren endodontik bir tedavi prosedürüdür. Tedavi konsepti temeli "çıkarmayın, dokunmayın ve bırakmayın" şeklinde özetlenmektedir (50) (Şekil 2.2).



Şekil 1.2. Lezyon sterilizasyonu ve doku tamiri tedavisi yapılmış olan dişin şematik çizimi. (1) Rezin modifiye cam iyonomer siman. (2) Üçlü antibiyotik patı. (3) Paslanmaz çelik kron. (Arangannal'dan 57)

Dişin 12 ay veya daha kısa süre dental arkta kalması gerektiği durumlarda, ilerlemiş kök rezorpsiyonu olan ve vital olmayan dişlerde LSTR pulpektomiye tercih edilmektedir (58). Tedavi sonrası ilk yıl, sonrasında ise yıllık klinik muayeneler ve röntgenlerle düzenli olarak takip edilmelidir (59). Diğer endikasyonları ise internal rezorpsiyon, stratejik açıdan önemli dişlerin dental arkta tutulmak istenmesi, mobilite varlığı (evre □ ve □), furkal bölgede radyolusent alan, kooperasyon eksikliği olan hastalar, ebeveynlerin çekime istekli olmaması durumlarıdır (55, 60). Kontrendikasyonları ise enfektif endokardit hikayesi olan çocuklar, kullanılan ilaçlara karşı alerjik reaksiyon geliştiren çocuklar, aşırı harap olmuş

restorasyon imkanı olmayan dişler, aşırı internal ve eksternal rezorpsiyon varlığında, süt dişi düşme zamanı yakın ise ve pulpa tabanının perfore olduğu durumlardır (4).

2.4.1.1 *Enterococcus Faecalis* ve *LSTR* İlişkisi

Enterococcus Faecalis, kök kanallarında ve radiküler dokularda ana endodontik patojen olarak kabul edilen dirençli bir mikroorganizmadır. Bunun nedeni *E. Faecalis*'in bol miktarda irrigasyon yapıldıktan sonra bile kullanılan materyallere direnç gösterip hayatta kalabilmesidir (61). *Enterococcus Faecalis* ile yapılan çalışmalarda siprofloksasin, metronidazol ve minosiklin karışımı sadece irrigasyon ve tek çeşit antibiyotik uygulamalarına göre daha etkin bulunmuştur (62). *Enterococcus Faecalis* ve *Enterococcus Faecium*'a karşı yapılan bir *in vitro* çalışmada Alam ve ark. (61) siprofloksasin ve minosiklinin minimum inhibitör dozlarını (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) 5 ve 20 µg olarak belirlemiş ve tek başına metronidazolün inhibitör etkinliğinin yeterli olmadığı ancak antibiyotiklerin kombinasyonlar şeklinde kullanılması durumunda bakteri suşlarının büyümesini inhibe ettiğini rapor etmişlerdir.

2.5 *Enterococcus Faecalis*'in Enzimlerine Yönelik İnhibitörlerin Geliştirilmesi

Enterococcus Faecalis enfekte olmuş kök kanallarından uzaklaştırılması en zor bakteri türlerinden biri olarak tanımlanmaktadır ve kök kanallarında yaygın olarak bulunan bir mikroorganizmadır (47). Biyofilm oluşturma özelliği ile değişen büyüme koşullarına hızla adapte olmasına, yüksek konsantrasyonlardaki antimikrobiyal ajanların varlığında bile hayatta kalmasına ve antimikrobiyal ajanlara direnç göstermesine neden olmaktadır (63). Antimikrobiyal ajanların aktivitelerinin yetersiz olması nedeniyle, virülans önleme amacıyla inhibitörlerin seçiciliklerinin ve inhibisyon etkilerinin araştırılması ve enzimlerin etkinliğinde önemli role sahip amino asitlerin moleküler seviyede aydınlatılarak maksada yönelik seçici inhibitörlerin incelenmesi hedeflenmektedir (61). Bu nedenle *E. Faecalis*'in neden olduğu enfeksiyonlarını ortadan kaldırmak için inhibitörlerin alternatif yöntemler ile tasarımı gerekmektedir.

Teknolojinin gelişmesi ile alternatif ilaç tasarımı yöntemlerinden birisi olan bilgisayar destekli ilaç tasarımı (BDİT) makromolekül (protein)-ligand (inhibitör) arasındaki etkileşimleri analiz etmek için geliştirilmiş matematiksel modelleme konseptidir. Bilgisayar destekli ilaç tasarımı, protein ve ligand etkileşimlerinin bağlanma enerjisi ve ligandın bağlanma bölgesi bilgilerine göre potansiyel ilaç molekülleri geliştirmek için kullanılmaktadır (64, 65). Moleküler kenetlenme (docking) hedefe yönelik seçici ve etkili

ilaç geliştirmek için BDİT’de kullanılan bir yöntemdir. Ligand-protein kenetlenmesi ile ligandın protein ile bağlanma pozisyonları tahmin edilmektedir. Bu yöntem ile bağlanan protein ve ligand moleküllerinin etkileşimleri puanlanarak ligandların hedef protein yapısındaki etkinliğinin analiz edilmesi sağlanmaktadır (66).

Pulpal enfeksiyonlardaki önemli rolünden dolayı *E. Faecalis* ile çeşitli antimikrobiyaller arasındaki inhibitör etkinin incelenmesi amacıyla moleküler kenetlenme yöntemi kullanılarak çalışmalar yapılmıştır.

Yapılan bir çalışmada (67), *E. Faecalis* diaminopimelat epimerazı (EfDapF) ilaç hedefi olarak seçilip asetaminofen ve deksametazonun EfDapF ile bağlanmaları moleküler kenetlenme kullanılarak incelenmiştir. Asetaminofen ve deksametazonun bağlanma enerjisi sırasıyla -8,3 ve -5,3 kcal/mol olarak bulunmuştur. Kenetlenme çalışmaları, asetaminofenin *Asn72* ve *Asn13* amino asitleri ile hidrojen bağı oluşturduğunu ve deksametazonun bağlanma bölgesi çevresinde *Asn205* ve *Glu223* amino asitleri ile hidrojen bağı oluşturarak etkileşime girdiğini ortaya çıkarmaktadır.

Khan ve ark. (68) tarafından ise seçilen ligandlar klorojenik asit, ellagik asit, gallik asit, hippurik asit, kuersetin ve klavulanik asit; sefalosporin, sefalosporin C, penisilin, sülfametoksazol ve trimetoprim ile *E. Faecalis*’in dihidrofolat redüktaz (DHFR) ve dihidrofolat sentetaz enzimlerine bağlanması incelenmiştir. *Enterococcus Faecalis*’in DHFR enziminin penisilin, sefalosporin, ellagik asit ve kuersetinin diğer ligandlara göre daha yüksek bağlanma enerjisi gösterdiği saptanmıştır. *Enterococcus Faecalis*’in penisilin ve sefalosporine ise dirençli olduğu unutulmamalıdır (69). Bu çalışmada potansiyel antibakteriyel aktivitelere sahip oldukları kanıtlanan ellagik asit ve kuersetin gibi çeşitli inhibitörlerinin *E. Faecalis* enfeksiyonlarının tedavisi amacıyla geliştirilebileceği gösterilmiştir (68).

Metronidazolün *E. Faecalis* homoserin kinaz (EfHSK) üzerine etkisinin incelendiği 2020 yılında yapılan bir çalışmada ise bağlanma bölgeleri analiz edilmiştir. Bağlanma enerjisi -4,6 kcal/mol olarak hesaplanan metronidazol, referans bileşiğin bağlanma enerjisine yakın bulunmuştur ve referans bileşik ile metronidazolün *Asn124*, *Gly83*, *Ser86* ve *Ser87* amino asit rezidülerinin ortak hidrojen bağlarını paylaştığı gözlenmiştir (70).

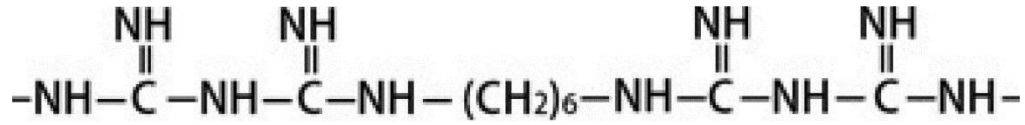
2.6 Antibiyotik Pat Kombinasyonları (Amoksisilin trihidrat, Siprofloksasin, Doksisiklin, Metronidazol)

Antibiyotik pat, nekrotik süt dişlerinin ve genç kalıcı dişlerin rejeneratif tedavilerinde dezenfektan olarak kullanılan, yaygın olarak metronidazol, siprofloksasin ve minosiklin antibiyotikleri içeren ve kök kanalları için kullanılan bir medikamandır (54). Nitroimidazol grubuna ait bakterisit etkili metronidazol, DNA (Deoksiriboz nükleik asit) 'ya etki ederek gram pozitif ve gram negatif anaeroblara etki etmektedir. Siprofloksasin, florokinolon grubunda, DNA giraz enziminin inhibisyonu ile etki gösterir ve gram negatif bakterilerin yok edilmesini sağlayan bakterisit etkili antibiyotiktir. Minosiklin; tetrasiklin grubuna ait, protein sentezini ve matriks metaloproteinaz enzimlerine inhibitör etki gösteren geniş spektrumlu bakteriyostatik bir ajandır. Gram pozitif ile birlikte gram negatif bakteriler ve *Spiroketler* üzerinde etkilidir (71, 72). Zorunlu anaerobik mikroorganizmalar enfekte kök kanallarındaki bakterilerin çoğunluğunu oluşturduğundan, ilk tercih olarak antibiyotikler arasında metronidazol seçilmektedir, ancak metronidazol yüksek konsantrasyonlarda kullanıma rağmen bütün mikroorganizmaları öldürememektedir, bundan dolayı kombine ilaç kullanımına ihtiyaç olduğu saptanmaktadır. Bu nedenle metronidazole ek olarak üçlü antibiyotik patına siprofloksasin ve minosiklin eklenmektedir (73)

Üçlü antibiyotik patında minosiklin mevcudiyeti; dişte renklenme, antianjiyojenik aktivite ve dentin yapısında zayıflamaya neden olan şelasyon gibi dezavantajlarla ilişkili bulunmaktadır (74). Sato ve ark. (75) tarafından siprofloksasin ve metronidazole üçüncü antibiyotik olarak amoksisilin, sefaklor, sefoksadin, fosfomisin veya rokitamisin eklenmiştir. Ruparel ve ark. (76) ise *in vitro* çalışmalarında ikili antibiyotik pat olarak yalnızca siprofloksasin ve metronidazolden oluşan bir kombinasyonu denemişlerdir. Daha sonra Pinky ve ark. (56) ve Nanda ve ark. (77), metronidazol yerine üçlü antibiyotik patta ornidazolü kullanmışlardır. Diğer kullanılan kombinasyon macunları Gross man's poliantibiyotik patı (penisilin, basitrasin ve streptomisin), Ledermix patı (triamsinolon ve demeklosiklin), kalsiyum hidroksit, klorheksidin, neomisin, polimiksin ve nistatindir (78). Amerikan pediatrik diş hekimliği akademisi, süt dişlerinde vital olmayan pulpa tedavilerinin kullanımı rehberinde LSTR' de uygulanan antibiyotik karışımlarının kanıtlanmış başarısına rağmen dezavantajları nedeniyle tetrasiklin içermemesi gerektiğini önermektedir (58).

2.7 Klorheksidin (Chlorhexidine, CHX)

Klorheksidin iki simetrik 4-klorofenil halkasından oluşan merkezi bir heksametilen zinciri ile bağlanan sentetik katyonik bisguanid bir ajandır (79) (Şekil 2.3).



Şekil 2.2. Klorheksidin molekülünün yapısal formülü (Gomes'den 78)

Klorheksidin, gram negatif ve gram pozitif organizmaların yanı sıra mantarlar, fakültatif anaeroblar ve aeroblar, bakteriyel sporlar, lipofilik virüsler ve dermatofitler gibi birçok patojene karşı oldukça etkilidir (80). Bakterilerin hücre zarındaki lipopolisakkaritler ve fosfolipitlerle etkileşime girerek, hücre içine girebilen lipofilik ve hidrofobik bir bileşiktir (81). Bakteriostatik etkilidir, bu etkisi hücre zarındaki enzimleri inhibe ederek ve membran geçirgenliğini artırarak ortaya çıkar. Bakterisit etkisini ise katyonik yapısından kaynaklanan anyonik maddelere bağlanmasıyla gösterilir. Sitoplazmik organellerin çökmesine yol açarak, hücrenin osmotik dengesini bozar ve hasar görmesine neden olur (82). Antiviral ajanlar üzerine yapılan araştırmalar sırasında geliştirilen CHX, 1953 yılında İngiltere'de antiseptik krem olarak piyasaya sürülmüştür ve 1957 yılından bu yana deri, göz ve boğaz enfeksiyonlarının tedavisinde ve dezenfeksiyon amacıyla kullanılmaktadır (83).

Diş hekimliğinde plak oluşumu, gingivitisin önlenmesi, kök kanal irrigasyonu ve medikamasyonunda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Klorheksidin, likit, jel ve kontrollü salınım sağlayan uygulamalar gibi çeşitli formlarda bulunmaktadır (84). Ağız içi gargara olarak genellikle %0,1 ila %0,2 arasındaki konsantrasyonlardaki solüsyonlar tercih edilirken, endodontik tedavilerde kök kanal irrigasyonu için daha yoğun konsantrasyonlar (%2) kullanılmaktadır (85). Asit baz değeri 5,5 ile 7 arasında bir aralıkta bulunmaktadır (86). Yapılan çalışmada, *in vitro* deneysel modelleri kullanarak CHX'in *E. Faecalis*'e karşı antimikrobiyal etkinliğini doğrulamaktadır (87). Klorheksidin, kök kanallarında bulunan patojenlerin öldürülmesinde etkili olmasına karşın, kök kanal sistemindeki biyofilmlere etkili olamayabilmektedir. Bu direncin CHX'in biyofilme derinlemesine nüfuz edememesinden kaynaklanabileceği rapor edilmektedir (88). Ayrıca CHX organik veya inorganik doku çözme özelliğine sahip değildir, canlı veya nekrotik doku artıklarına etki

edemez. Ayrıca smear tabakasının eliminasyonunda da etkili değildir. Kök kanalında bulunan dentin talaşlarının, iltihabi eksudanın ve ölü mikroorganizmaların CHX'in antimikrobiyal etkinliğini azalttığı bildirilmiştir (82). Bunlarla birlikte CHX uzun süreli (2 haftadan fazla) ve yüksek konsantrasyonda (%0,2'den fazla) kullanımı sonucu dil, dişler, oral mukoza ve restorasyonlarda kahverengi lekelenmelere ve tat duyusunda kayıplara neden olabilmektedir (89). CHX'in potansiyel yan etkilerinden kaçınmak için daha az sitotoksik, biyouyumlu ve kimyasal olmayan doğal ürünlerin keşfine yönelik bir eğilim görülmektedir.

2.8 Kalkonlar

Kalkonlar flavonoid ailesine ait olan hem doğal olarak bulunabilen hem de laboratuvar koşullarında sentezlenebilen bileşiklerdir. Kalkonlar 1,3-diaril-2-propen-1-on yapılı birleşiklerdir. Antikanser aktiviteleri önemli olmakla birlikte, serbest radikal oluşumunu engelleme, metallerle şelasyon oluşturma ve lipid peroksidasyonunu inhibe etme benzeri çeşitli biyolojik özellikleri bildirilmektedir (90). Son zamanlarda literatürde, kalkonların ilaç olarak kullanımı üzerine fazla sayıda çalışmanın yer aldığı gözlemlenmektedir. Bu bileşikler, çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olmaları ve birçok sentez reaksiyonunun başlangıç bileşiği olarak kullanılabilme özelliklerinden dolayı ilaç adayları olarak değerlendirilmektedir (91–93).

2.9 Flavonoidler

Flavonoidler geçmişten günümüze, polifenol ailesinin en büyük grubunu oluşturmaktadır ve yaklaşık 6000 flavonoid bileşiği tanımlanmaktadır (94). Flavonoidler büyük oranda bitkilerin yapraklarında, çiçeklerinde ve tohumlarında bulunmalarının yanında sebze ve meyvelerin yapılarında da bulunmaktadır (95). Bu bileşikler; flavonlar, flavanonlar, izoflavonlar, flavanoller ve antosiyaninler olarak beş alt sınıfa ayrılmaktadır. Kimyasal yapıları, iki fenolik benzen halkası ve bu halkaların bağlandığı üç karbonlu heterosiklik piren zinciri içermektedir (94). Kimyasal yapılarında var olan farklı yan grupları sayesinde antikanser, antiallerjik, antikarsinojenik, antiinflamatuvar ve antioksidan biyolojik aktivitelere sahiplerdir. Yeni ilaçların geliştirilmesinde bu özellikleri sayesinde önemleri vurgulanmaktadır (96).

2.10 Dihidrofolat Redüktaz (DHFR)

Dihidrofolat redüktaz enzimi, hücre çoğalması ve hücre büyümesi için hayati öneme sahiptir. Dihidrofolat redüktaz, dihidrofolik asidi nükleik asitlerin yapı taşı olan folat

sentezinde kullanılmak üzere tetrahidrofolik asite indirgeyerek DNA sentezinde önemli rol oynamaktadır (97). Dihidrofolat redüktazı hedef alan inhibitörler DNA sentezini inhibe edebilir, bu da DHFR'nin bakteriyel enfeksiyonların tedavisi için umut verici bir hedef olduğunu göstermektedir (98). Bakterilerin DHFR enzim inhibisyonu için *in silico* yöntemlerle çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmektedir (97–99).

Dihidrofolat redüktaz enzim yapısı α -helislerden ve çok telli β -tabakadan meydana gelmektedir. Bu protein yapısı iki alt kısımdan oluşmaktadır: substrat ve kofaktör bağlanma alanı. Aktif bölge, substrat bağlanma alanında bulunmaktadır (98). Dihidrofolat redüktaz, iyi korunmuş bir genel yapıya ve asidik bir amino asit ve korunmuş bir arjinin ile çevrelenmiş geniş bir hidrofobik cepten oluşan aktif bölgeye sahiptir (100). Dihidrofolat redüktaz inhibitörleri, aktif cebin rezidüleri ile hidrojen bağları, pi-pi etkileşimleri, hidrofobik etkileşimler ve van der Waals kuvvetleri ile sıkı bir şekilde bağlanmaktadır. Dihidrofolat redüktaz üçlü kompleksi; DHFR, nikotinamid adenin dinükleotit fosfat ve dihidrofolat veya inhibitörlerden oluşur. Küçük molekül inhibitörlerinin tasarımı, DHFR folik asit substratını simüle etmeye böylece substratın DHFR katalitik indirgenmesini önlemeye ve DHFR biyoaktivitesini baskılamaya odaklanmıştır (98).

2.11 β -Ketoasil-Açıl Taşıyıcı Protein Sentaz III (β -Ketoacyl-Acyl Carrier Protein Synthase III, KAS $\square$)

Bakteriyel yağ asidi biyosentezi yolu hücre büyümesi için büyük bir öneme sahiptir ve inhibitör etkili ilaç tasarımında hedef olarak gösterilebilmektedir. β -ketobutiril-açıl taşıyıcı protein oluşturmak için malonil-asil taşıyıcı proteinin asetil-CoA'nın KAS $\square$ tarafından katalize edilmesi, düz zincirli doymuş yağ asidi biyosentezinin başlangıç aşamasıdır (101).

β -ketoasil-açıl taşıyıcı protein sentaz III enziminin yapısı amino (N)-terminal ve karboksi (C)-terminal bölgelere ayrılmaktadır. Fakat, aynı proteinin bu iki bölgesi arasında neredeyse hiç amino asit dizisi benzerliği bulunmamaktadır. Amino (N) ve karboksi (C) terminal bölgeleri arasındaki yapısal farklılık, özellikle ilk (N-terminal bölgenin L1'i ve C-terminal bölgenin L9'u) ve son (N-terminal bölgenin L7'si ve C-terminal bölgenin L15'i) döngülerde belirgindir. Bu bölgeler aynı zamanda enzimin fonksiyonel alanlarını oluşturur. Bağlanma bölgesinin şeklini ve muhtemelen enzimin substrat spesifikliğini belirlemede *Phe312* rezidüsünün önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. *Enterococcus Faecalis*'in KAS $\square$ enzimindeki *Phe226* ve *Val231* pozisyonlarındaki rezidülerin, *Phe312* eşdeğerinin

rotamer konformasyonunu belirleyen ve bundan dolayı bağlanma cebinin boyutunu etkilediğinden enzimin bağlanma bölgesinde önemli rol aldığı belirlenmiştir (102).

2.12 Agmatin Deiminaz

Enterococcus Faecalis, karbonhidratların fermantasyonu yanı sıra arjinin ve onun dekarboksillenmiş türevi olan agmatini büyüme için enerji kaynağı olarak kullanabilmektedir (103). Arjinin deiminaz (ADI) ve agmatin deiminaz sırasıyla arjinin ve agmatini metabolize etmektedir (104). Agmatin deiminaz ve çeşitli enzimler tarafından katalize edilerek üç adımda agmatinden adenozin trifosfat yapılmaktadır (105).

Agmatin deiminaz kristallerinin asimetrik birimi, aynı yapıya sahip iki tetramer halinde düzenlenmiş sekiz alt birim içerir (106). Bu yapıdan dolayı agmatin deiminaz monomeri, beş bıçaklı yelpazeye benzemektedir. Bu yapı, her bir tekrarlayan ögenin üç iplikli karışık bir β - yaprağı ve $\beta\beta\alpha\beta$ düzenindeki bir heliks içerdiği beş katlı bir yarı simetrik düzenlemeye dayanmaktadır. Agmatin deiminaz ADI'ya yakından benzemesi ile; substrat afinitesini, seçiciliğini ve Cys357 aracılı kovalent katalizini açıklamaktadır. Agmatin molekülünün dört karbonlu kısmı aynı zamanda substrat bağlama boşluğunu duvarında Trp93 ve Trp119'un indolik halkaları içerir. Thr215'in metil grubu tarafından çevrelenmiştir. Agmatin molekülünün diğer ucunda, guanidinyum grubunun etrafındaki değişmez rezidüer Asp96, His218 ve Asp220 bağlı substratı çevreler ve katalitik roller oynar (104).

2.13 Alanin Rasemaz

Alanin rasemaz, enantiyomerler arasındaki rasemizasyonu katalize eden enzimdir. Bu enzim, ko-faktör olarak piridoksal-5'-fosfat (PLP) kullanarak L-alanin'den D-alanin'e dönüşümü gerçekleştirir. D-alanin, hem gram pozitif hem de gram negatif mikroorganizmaların hücre duvarında peptidoglikan sentezi için önemli bir öncüdür (107). Peptidoglikan, bakteriyel hücre duvarının temel birleşenidir ve hücre duvarının dayanıklılığını sağlamaktadır. Bu tabaka, bakterinin iç basınç dengesini sabitlerken dış çevreden gelen zararlı maddelerin hücre içine girmesini önlemektedir. Dolayısıyla, D-alanin sentezi ve peptidoglikan tabakasının oluşumu, bakterilerin canlılıklarını sürdürmesi açısından hayati öneme sahiptir. Bu nedenle alanin rasemaz, yeni antibakteriyel ilaçların tasarımı için önemli bir hedef oluşturmaktadır (108).

Alanin rasemazın monomer yapısında, N-terminal alanı dokuz α -sarmaldan ve sekiz β -iplikçikten oluşan bir TIM varil mevcuttur. Monomerin ilk beta zinciri, proteinin N-

terminalinin en ucunda bulunur ve TIM varilinin oluşumuna katkıda bulunmaz. C-terminal alanı çoğunlukla β -ipliklerinden oluşur. Piridoksal-5'-fosfat (PLP) ve asetat, TIM varilinin yakınında bulunur. Dimer arayüzü, birinci monomerin N-terminal alanındaki α -sarmallar ile β -ipliklerini birleştiren çeşitli döngülerde bulunan rezidülerden oluşur. Her bir monomer, TIM varilinin merkezine doğru konumlanmış olan aktif bölgede bir PLP ve asetat molekülüne bağlanır (108). Alanin rasemaz yapısında, iki rezidüel amino asit katalitik asit ve baz olarak işlev görmektedir, *Lys40* rezidüsü L-alaninin α -hidrojenine alarak bir karbanionik ara ürün oluşturmaktadır ve *Tyr267'* karşı taraftan bir proton vererek enantiyomerik ürünü oluşturmaktadır (109).

2.14 Enterokokal Yüzey Proteini (Enterococcal Surface Protein, Esp)

Biyofilmler, canlı veya cansız bir substrata bağlanarak; karbonhidrat, DNA ve protein ve benzerlerinden oluşabilen bir matris içinde bulunan bakteri topluluğudur (110, 111). Biyofilmler enfektif endokardit, enfeksiyöz böbrek taşları ve kistik fibrozis gibi birçok kronik bakteriyel kaynaklı tablonun patogeneğinde önemli bir rol oynarlar (112). *Enterococcus Faecalis*'in virülans faktörlerinden biri olarak tanımlanan Esp, bakterinin yüzey kolonizasyonu sağlayarak biyofilm oluşumunda rol oynayan bir hücre duvarı proteini (113). Enterokokal yüzey proteini 1873 amino asitten oluşan bir proteindir ve N-terminal bölgesi (amino asitler 50 ila 743) bulunmaktadır. Bu proteinin merkezi çekirdek bölgesi (amino asitler 744 ila 1665), benzer DNA dizisi tekrarları tarafından kodlanan iki farklı tandem tekrar biriminden oluşmaktadır. Enterokokal yüzey proteininin N-terminal bölgesi sayesinde konakçı ile etkileşimde bulunabileceği ve merkezi tekrar bölgesi sayesinde ise proteini yüzeyden geri çekebileceği bundan dolayı proteinin bağışıklık sisteminden korunabileceği ile ilişkilendirilmiştir (114).

Bu tez çalışmasının sonuçları ile pulpal enfeksiyonlara neden olan bakterilerin tedavisi amacıyla *E. Faecalis* enzimlerine karşı inhibitör olarak belirlenen CHX, metronidazol, amoksisilin trihidrat, doksisisiklin, siprofloksasin ve 20 adet doğal ligand bileşiklerinin moleküler modelleme yöntemi kullanılarak inhibisyon mekanizmalarının moleküler seviyede anlaşılmasına katkıda bulunulması hedeflenmiştir. Bu sayede mevcut inhibitör özellikli ilaçlardan daha seçici ve daha az yan etkiye sahip inhibitörlerin geliştirilmesine katkı sağlanması ve ileride yapılacak *in vitro* ya da *in vivo* deneysel araştırmaların daha az maliyet ve zaman harcanarak daha etkili şekilde tasarlanabilmesi amaçlanmıştır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Moleküler Modelleme

Moleküler modelleme, deneysel araştırmalara katkı sağlamak amacıyla moleküler yapıların kimyasal ve fiziksel özellikleri arasındaki temel etkileşimleri anlamaya yönelik bir tekniktir. Moleküler modelleme teknikleri, çeşitli yöntemler ve uygulamalar içermektedir (115). Bu teknikler içerisinde en önemlilerinden birisi de bilgisayar destekli ilaç tasarımıdır. İlaç tasarımı ve keşfi, çeşitli disiplinlerin ortak çalışmasını gerektiren karmaşık ve pahalı bir süreçtir. İlaçların etkisi, efektör ve makromolekül arasındaki etkileşim sonucu meydana gelmektedir. Bilgisayar destekli ilaç tasarımı makromolekülün yapısını, topolojisini ve ligand bağlanma bölgeleri ile birlikte bunların anahtar rezidülerini ve ligand bağlanma etkileşimlerini incelemeye bizlere yol göstermektedir (116, 117). Günümüzde, BDİT çeşitli akılcı yöntemler ile geliştirilmektedir. Bilgisayar destekli ilaç tasarımında sanal tarama yaklaşımları, kullanılan verinin türüne göre hedef proteinin üç boyutlu (3B) yapısı mevcut ise yapı temelli (hedef yapı tabanlı) ve ligandın yapı verileri mevcut ise de ligand temelli ilaç tasarımı yöntemleri olarak sınıflandırılabilir. Bunların yanında hem hedef proteinin hem de ligand molekülerinin yapı verilerinin varlığında ise sıklıkla başvuru olan *de novo* tasarım yöntemi kullanılmaktadır (118).

3.1.1 Moleküler Kenetlenme (Docking)

Moleküler kenetlenme, bağlanma yönelimini ve afinitesini tahmin etmek için iki molekül arasında (bir ligand ve bir hedef protein) stabil bir kompleks oluşturmak amacıyla kullanılan *in siliko* tekniktir. Moleküler kenetlenmede, bir ligand-reseptör kompleksi için olası konfigürasyonları öngörölür ve bunlar hesaplanan serbest bağlanma enerjisi (ΔG) tarafından değerlendirilerek sıralandırılır. Serbest bağlanma enerjisi, bir ligandın reseptöre bağlanma afinitesini tahmin etmek için kullanılan bir ölçümdür (119). Bu serbest bağlanma enerjisi iki enerjinin; reseptör-ligand intermoleküler enerji ile ligand ve proteinin bağsız durumdaki intramoleküler enerjileri konformasyonel entropinin (ΔS) toplamı şeklinde hesaplanmaktadır (11). Moleküler kenetlenme atomik seviyede ligand-reseptör etkileşimlerini incelemek; belirli amino asitlerin, kofaktörlerin, metal şelatlarının, hidrojen ve halojen bağlarının, solvasyon etkilerinin ve benzeri faktörlerin önemini anlamak için rutin olarak faydalanılan bir yaklaşım haline gelmektedir (120). Moleküler kenetlenme yöntemi için geliştirilmiş birçok yazılım programları mevcuttur. Bunlar arasından en sık kullanılan

DOCK (121), FlexX (122), GOLD (123), Glide (124), AutoDock (125), ICM-Pro (126) ve MOE(127) yazılım programlarıdır.

3.2 Absorpsiyon, Dağılım, Metabolizma, Eliminasyon ve Toksisite Analizi (ADMET)

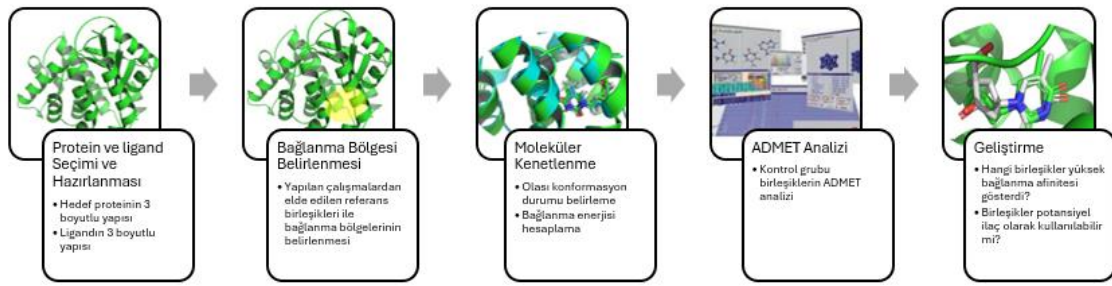
Bir bileşiğin aktif ve seçici olması, o bileşiğin ilaç gelişimi açısından önemli bir aday olması için yeterli olamamaktadır. İlaç gelişimi için potansiyel birçok bileşiğin, zayıf farmakokinetik ve toksikolojik özelliklerinden dolayı yeterli olmadıkları gösterilmektedir. Emilim, dağılım, metabolizma, eliminasyon ve toksisite (ADMET) analizi değerlendiren çalışmaların ilaç keşif sürecinde erken dönemde başlatılması önemli bir unsur olarak kabul edilmektedir. Bu analizin, çalışmaların erken aşamasında yapılması, uygun farmakokinetik ve toksikolojik özelliklere sahip öncü bileşikler tanımlamak için önemli görülmektedir (128, 129). Bileşiklerin insan vücudundaki etkileşimlerini ve farmakokinetik özelliklerini belirleyen molekül ağırlıkları, dağılım katsayıları (LogP), polar yüzey alanları, döndürülebilir bağ sayısı, hidrojen bağı alıcı ve verici sayısı önemli özellikler olarak bilinmektedir (130). Lipinski ve ark. (131) 1997 yılında, bileşiklerin ilaç olarak kullanılabilmesi için oral biyoyararlanımı ve emilimi gibi farmokinetik özellikleri tahmin etmek için kurallar geliştirmişlerdir. Bu kurallar; molekül ağırlık ≤ 500 g/mol, hidrojen bağı alıcı sayısı ≤ 10 , hidrojen bağı verici sayısı ≤ 5 , lipofilite katsayısı (Log P) ≤ 5 olacak şekilde belirlenmişlerdir. Bir molekül Lipinski'nin kurallarına göre, dört kuraldan ikisini veya daha fazlasını karşılayamazsa, ilaç olarak uygun değerlendirilmemektedir. Fakat bu kurallar daha basit ve küçük moleküllerden türetilmiş oldukları için, karmaşık doğal ürünler için her zaman geçerli olamayabilmektedir (132). Absorpsiyon, dağılım, metabolizma, eliminasyon ve toksisite analizi için bir dizi program bulunmaktadır. Bu tez çalışmasında ADMET analizi için SwissADME (133) programı kullanıldı.

3.3 Moleküler Kenetlenme Çalışmaları

Bu tez çalışmasında; yapı temelli ilaç tasarımı yöntemi temel alınarak *E. Faecalis*'in DHFR, KAS $\square$, agmantin deiminaz, alanin rasemaz ve Esp enzimlerine etki eden ilaç potansiyeline sahip antimikrobiyal ajanların inhibisyon mekanizması ve inhibitör etkinlikleri pulpal enfeksiyonların neden olduğu klinik tabloyu tedavi etmek amacıyla incelendi.

Çalışmanın ilk safhasında, hedef enzimlerin amino asit sekans bilgisi temel alınarak 3B yapısı ve inhibitörlerin bağlanma afinitesi gösterebileceği bölgeler belirlendi. Ardından *E. Faecalis* türüne ait enzimlere yönelik Tatar Yılmaz ve ark. (134) tarafından yapılan çalışmada incelenilen kalkon ve flavonoid türevli bileşikler ile birlikte kontrol grubu olarak

metronidazol, amoksisilin trihidrat, doksisisiklin, CHX ve siprofloksasin seçildi. İkinci safhada, uygun olarak incelenen bileşikler ile hedef enzimlerin yapıları arasındaki etkileşim mekanizmasının moleküler seviyede incelenmesi için moleküler kenetlenme yöntemi kullanılarak bağlanma serbest enerjisi hesaplandı. Üçüncü safhada kontrol grubu bileşiklerine ADMET analizi yapıldı. Tez çalışmasının son safhasında, hedef protein-ligand etkileşim mekanizmasında görev alan amino asitler moleküler seviyede irdelenerek bu etkileşimde rol oynayan uzak bağlar analiz edildi. Bu tez çalışmasının aşamaları Şekil 3.1’de şematize edilerek gösterildi.



Şekil 3.1. Moleküler modelleme yöntemi şeması (Stanzione'den 135)

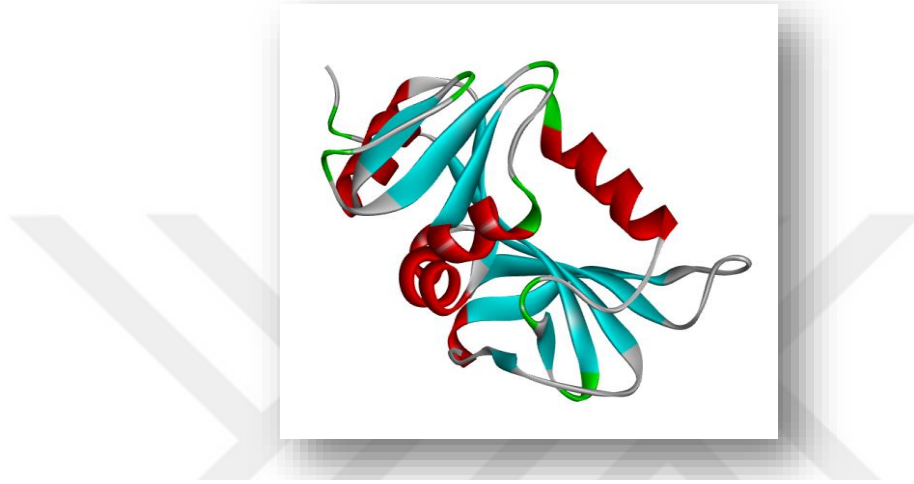
3.3.1 Moleküler Kenetlenme Çalışmaları Aşamaları

1. Safha: *E. Faecalis* Enzimlerinin ve Ligandlarının Yapı Hazırlıkları

Öncelikle *E. Faecalis*'in DHFR, KAS $\square$, agmantin deiminaz, alanin rasemaz ve Esp enzimleri hedef yapılar olarak belirlendi. *Enterococcus Faecalis*'in DHFR enzimi 164, KAS $\square$ enzimi 321, agmatin deiminaz enzimi 365, alanin rasemaz enzimi 371 ve Esp enzimi 1873 amino asit uzunluğundadır (136).

Enterococcus Faecalis DHFR enziminin bağlanma bölgesini belirlemek için referans aldığımız çalışmada, bağlanma bölgesinde Asp27 ve Cys52 rezidüleri bulunduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada *E. Faecalis* DHFR ve referans ligand bileşiği arasındaki bağlanma etkileşimlerinde Pro56, Arg58 ve Lys32 amino asitleri ile hidrojen bağı oluşturulmuştur (137). Yapılan başka bir çalışmada, *Basillus Anthracis* ve *Streptococcus Aureus*'ta trimetoprim dirençli fenotipine aracılık ettiği gösterilen pozisyonlar, *E. Faecalis*

DHFR enzimindeki duyarlı rezidüleri *Ile96* ve *Val102* olarak belirlenmiştir (138). Bu bilgiler doğrultusunda DHFR enzimi katalitik aktivitesinden sorumlu amino asitleri içeren 1-164 amino asit aralığındaki PDB (Protein Data Bank) (139) kodu 4M7U olan 3B yapısı seçildi (Şekil 3.2).



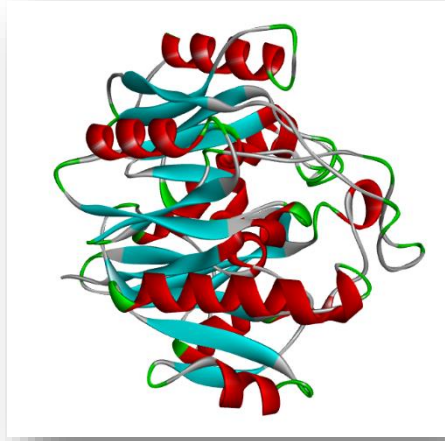
Şekil 3.2. Enzim DHFR için seçilen 3B kristal yapı (4M7U) (Bourne'den 136)

Enterococcus Faecalis'in β -ketoasıl-aıl taşıyıcı protein sentaz III enzimi ile ilgili aktif bölge belirlemek için Gajiwala ve ark. (102) yaptığı çalışma referans alındı. Aktif bölge cebi tabanındaki *Gly313* amino asidi kalsiyum atomu ile van der Waals bağı oluşturmuş ve ligand bileşiği fenil halkasının bağlanma bölgesi şeklini belirlemede görev alan *Phe312* ile bağ oluşturmuştur. Yine aynı çalışmada; ligand bileşiğinin karbonil oksijen atomu *Phe224* ile hidrojen bağı oluşturulmuştur. Ligand bileşiğinin karboksilatı aktif bölgedeki *His250* ve *Asn280* aminoasitleri ile hidrojen bağı yaptığı görülmüştür. Bu çalışmada KASIII enziminin katalitik aktivitesinden sorumlu amino asitleri içeren 1-321 amino asit aralığındaki PDB kodu 3IL5 olan 3B yapısı seçildi (Şekil 3.3).



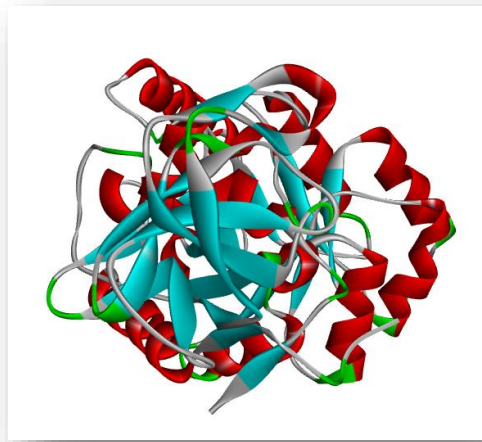
Şekil 3.3. Enzim KAS için seçilen kristal yapı (3IL5) (Gajiwala'dan 102)

Enterococcus Faecalis'e ait agmatin deiminaz enzimi; Ll cer ve ark. (104) yaptığı çalışmada C-terminal ucuna yakın *Cys357* rezidüsü önemli katalitik rol oynamış bununla birlikte ligand bileřiēi    glisin (*Gly351-Gly352-Gly353*) amino asit dizisi ile van der waals baēları oluřturduēu görülmüştür. Ayrıca agmatin deiminaz enziminin imzası olarak kabul edilen (G/A) GGNIHCITQQ(E/Q) P korunmuş amino asit dizisinin ve *Asp96*, *His218* ve *Asp220* rezidülerin enzimin katalitik aktivitesindeki önemi vurgulanmıştır. Bu önemli bilgilerin doērultusunda agmatin deiminaz enziminin katalitik aktivitesinden sorumlu amino asitleri içeren 1-365 amino asit aralıēındaki PDB kodu 2JER olan 3B yapısı seçildi ( ekil 3.4).



Şekil 3.4. Enzim agmatin deiminaz için seçilen kristal yapı (2JER) (Llácer'den 104)

Enterococcus Faecalis'in alanin rasemaz enziminin aktif bağlanma bölgesi korunmuş rezidüler *Lys40* ve *Tyr267*; dimer arayüzünde bulunan *Arg139*, *His169* ve *Tyr267'* rezidülerini içerdiği görülmüştür. Aynı çalışmada ligand bileşiği bu enzimin *Tyr44*, *Arg139*, *Ser207*, *Arg222* ve *Tyr356* amino asitleriyle etkileşime girmiştir. Bu önemli aktif bölge rezidüleri, 1-229 amino asit rezidüleri arasında bir TIM varil yapısı oluşturulmuştur (108). Bu bilgiler doğrultusunda alanin rasemaz enzimi katalitik aktivitesinden sorumlu amino asitleri içeren 1-371 amino asit aralığındaki PDB kodu 3E6E olan 3B yapısı seçildi (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Enzim alanin rasemaz için seçilen kristal yapı (3E6E) (Priyadarshi'den 108)

Enterococcus Faecalis enterokokal yüzey proteini için 48-452 amino asit aralığındaki PDB kodu 6ORI olan 3B yapısı elde edildi (Şekil 3.6). 3 boyutlu yapı bilgisine protein veri bankasından (<http://www.rcsb.org/>) ulaşıldı (139).



Şekil 3.6. Enzim Esp için seçilen kristal yapısı. (6ORI) (Berman'dan 138)

Özetle bu çalışmada hedef alınan enzimlerin yukarıda verilen literatür bilgileri doğrultusunda, DHFR enzimi için 4M7U, KAS $\square$ enzimi için 3IL5, agmatin deiminaz enzimi için 2JER, alanin rasemaz enzimi için 3E6E ve Esp enzimi için 6ORI 3B kristal yapıları seçildi. Bu 3B kristal yapılarındaki su ve iyon molekülleri Discovery Studio 2021 Client (140) programı ile uzaklaştırılıp, PBD2PQR (141) programı ile fizyolojik pH koşullarında protonlanma yapılarak moleküler kenetlenme analizi için hazır hale getirildi.

Kontrol grubu ligand bileşikler hazırlığında ise lezyon sterilizasyonu ve doku tamiri prosedüründe kullanılan metronidazol, amoksisilin trihidrat, doksisiklin ve siprofloksasin yaygın kullanımı (50) ve üstün antibakteriyel özelliğinden dolayı CHX (142) PubChem (143) veri tabanından elde edildi. Ayrıca Tatar Yılmaz ve ark. (132) tarafından daha önce *Streptococcus Mutans* Sortase A enzimine yönelik çalışılmış flavonoid ve kalkon türevli 20 adet potansiyel ligand bileşiği, bu çalışmada belirlenen hedef enzimlere yönelik inhibitör etkilerinin incelenmesi amacıyla seçildi. Seçilen bu bileşiklere BIOVIA Discovery Studio 2021 Client (140) ile hidrojen atomu eklendi sonrasında .pdb dosya formatında kaydedilerek moleküler kenetlenme işlemi için hazır hale getirildi. Seçilen bileşiklerin iki boyutlu (2B) şematik çizimleri tabloda gösterilmektedir (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Seçilen ligand bileşiklerin 2B şematik çizimi (139)

Bileşik no	2B yapısı	Bileşik no	2B yapısı	Bileşik no	2B yapısı	Bileşik no	2B yapısı
1		6		11		16	
2		7		12		17	
3		8		13		18	
4		9		14		19	
5		10		15		20	

2. Safha: Moleküler Kenetlenme (Docking) Analizi

Hedef protein DHFR enziminin kristal yapısındaki nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (Nadp) bileşiği ve bağlanma bölgesi için önemli olan amino asitler: *Asp27*, *Cys52*, *Ile96*, *Val102*, *Pro56*, *Arg58* ve *Lys32* substrat bağlanma bölgesi için referans olacak şekilde AGFR1.2 (144) programı ile x, y, z kartezyen koordinatlarının merkezi 12.770, -20.558, 12.964 ve grid kutusu boyutları 78, 42, 50 olarak; KAS $\square$ enziminin kristal yapısındaki 2-([4-bromo-3-(diethylsulfamoyl)fenil]karbonil)amino benzoik asit (B82) bileşiği ve *Gly313*, *Phe312*, *Phe224*, *His250* ve *Asn280* amino asitleri substrat bağlanma bölgesi için referans olacak şekilde x, y, z kartezyen koordinatlarının merkezi -185.928, 150.740, 32.339 ve grid kutusu boyutları 35, 54, 46 olarak; agmatin deiminaz enzimi için *Cys357*, *Gly351*, *Asp96*, *His280* ve *Asp220* amino asitleri substrat bağlanma bölgesi için referans olacak şekilde x, y, z kartezyen koordinatlarının merkezi 27.674, 0.568, 65.827 ve grid kutusu boyutları 82, 70, 70 olarak; alanin rasemaz enziminin kristal yapısındaki D-[3-hidroksi-2-metil-5-fosfonoksimetil-piridin-4-ilmetil]-N,O-sikloserilamid (DCS) bileşiği ve *Lys40*, *Tyr267*, *Arg139*, *His169*, *Tyr44*, *Ser207*, *Arg222* ve *Tyr356* amino asitleri substrat bağlanma bölgesi için referans olacak şekilde x, y, z kartezyen koordinatlarının merkezi 20.770, -21.394, -23.386 ve grid kutusu boyutları 44, 36, 46 olarak ve Esp enzimi için grid kutusu boyutları

126, 126, 126 olarak ve bu noktalar arası boşluk (grid space) 0.375 Å olacak şekilde belirlendi.

Hazırlanan hedef enzim ve ligand bileşikleri arasındaki bağlanma mekanizmasının belirlenmesi için AutoDock1.5.7 (125) programı ile moleküler kenetlenme yöntemi uygulandı. Moleküler kenetlenme yöntemi 100 çalışma adımında Lamanckian Genetik algoritma ile gerçekleştirildi. Çalışmalar sonucunda tüm olası konformasyon durumları için serbest bağlanma enerjisi ve bağlanma afinitesi hesaplanarak ortaya çıkan sonuçlar değerlendirildi.

3. Safha: ADMET Analizi

Kontrol grubu bileşikleri (metronidazol, amoksisilin trihidrat, doksisisiklin, CHX ve siprofloksasin) (.smiles) formatında veri dosyaları oluşturuldu. Bu dosyalar, SwissADME (133) programına yüklenerek, bileşiklerin fizikokimyasal özelliklerine Lipinski (131) kurallarına göre filtreleme uygulandı. Ayrıca ligand bileşiklerinin moleküler ağırlıkları, döndürülebilir bağ sayısı, hidrojen bağı alıcı ve verici sayısı, lipofilite katsayısı (LogP), kutuplaşmış yüzey alanı ve molar refraktivite gibi özellikleri analiz edildi.

4. Safha: Enzim-Ligand Yapısının Bağlanma Analizi

Kenetlenme yöntemi sonucunda tüm enzim-ligand yapılarının en düşük enerjideki konformasyonlarının 3B yapılarının bağlanma bölgelerindeki etkileşimleri Discovery Studio 2021 Client (140) programı ile değerlendirildi. Analizlerde enzim ile ligand bağlanmasında önemli rol oynayan amino asitler ve yapmış oldukları uzak kimyasal bağ türleri (hidrojen, van der waals, pi-alkil, alkil) incelendi.

4. BULGULAR

4.1 Ligand Olarak Seçilen Bileşiklerin ADMET Analizi Sonuçları

Ligand olarak belirlenen 20 adet flavonoid ve kalkon türevli bileşiğin Tatar Yılmaz ve ark. tarafından yapılan çalışmada ADMET analizi daha önceden gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın sonucunda, flavonoid ve kalkon türevli 20 bileşik de çözünürlük, kan-beyin bariyeri, CYP2D6 bağlanması, hepatotoksisite ve emilim seviyesi açısından CHX bileşiği ile karşılaştırıldığında farmakokinetik açıdan üstün özellikler göstermişlerdir (134).

Kontrol grubu bileşiklerin (metronidazol, amoksisilin trihidrat, doksisisiklin, CHX, siprofloksasin) veri dosyaları (.smiles) formatında oluşturulduktan sonra ADMET analizleri için SwissADME (133) programı kullanıldı. İnhibitörlerin moleküler ağırlıkları absorpsiyon ve kan beyin bariyerinden geçişi için değerlendirildi. Ligand bileşiklerinin stabilitesi için dönerlik bağ sayıları analiz edildi ve inhibitör özellikleri için alıcı ve verici hidrojen bağları sayılarına bakıldı. Bunların yanında membran geçişi için lipofilite kabiliyetleri ve kutuplaşmış yüzey alanları, moleküler refraktiviteleri bakıldı ve Lipinski (131) kurallarına göre uyumluluğu değerlendirildi. (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Kontrol grubu bileşikleri ADMET analizi

Referans aralığı	50-500 g/mol	0-5	0-10	0-5	2-10	0-5	20-130 Å ²	40-130	Evet
Özellikler Bileşikler	Moleküler ağırlık	Döndürülebilir bağ sayısı	H- bağı alıcısı	H- bağı vericisi	iLogP	mLogP	Kutuplaşmış yüzey alanı	Molar reaktiviti	Lipinski kuralı
Metronidazol	171.15	3	4	1	1.16	-0.78	83.87	43.25	Evet
Amoksisilin trihidrat	365.40	5	6	4	1.46	0.23	158.26	94.59	Evet
Doksisisiklin	444.43	2	9	6	1.64	-2.08	181.62	110.91	Evet
Klorheksidin	897.76	23	18	18	3.17	-2.96	454.48	220.50	Hayır
Siprofloksasin	331.34	3	5	2	2.24	1.28	74.57	95.25	Evet

4.2. Moleküler Kenetlenme Analizi ve Sonuçları

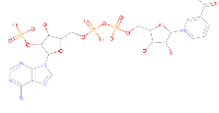
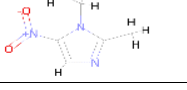
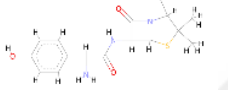
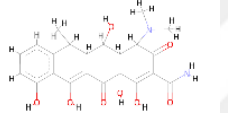
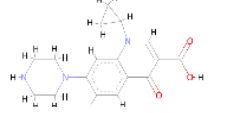
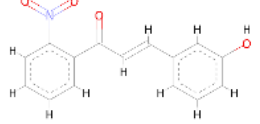
4.2.1. Dihidrofolat Redüktaz Enziminin Moleküler Kenetlenme Analizi ve Sonuçları

Enterococcus Faecalis'in DHFR enziminin inhibisyonunda referans olarak seçilen bileşikler (enzimin kristal yapısındaki referans ligand bileşiği ve kontrol grubu bileşikleri) ve 20 adet ligand olarak belirlenen bileşikler ile moleküler kenetlenme yapıldı (Tablo 4.2). Moleküler kenetlenme sonucunda referans bileşik ile oluşan yapıda -8.61 kcal/mol, metronidazol ile -4.51 kcal/mol, amoksisilin trihidrat ile -8.40 kcal/mol, doksisiklin ile -7.80 kcal/mol, CHX ile -9.78 kcal/mol ve siprofloksasin ile -7.37 kcal/mol bağlanma enerjisi hesaplandı (Tablo 4.3). Bu enzimin belirlenen diğer ligandlar arasından -9.78 kcal/mol bağlanma enerjisi ile en yüksek bağlanma enerjisine sahip bileşik CHX olarak bulundu.

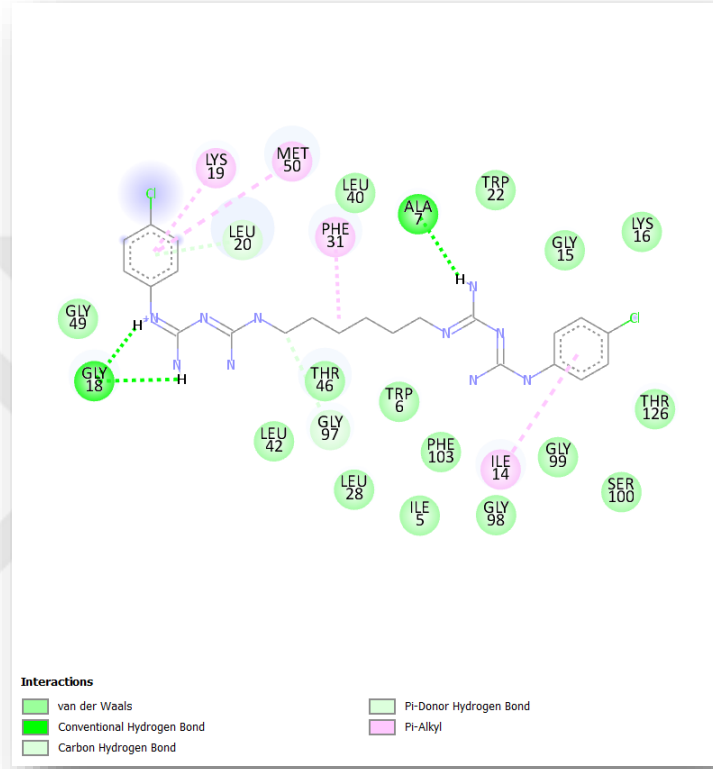
Tablo 4.2. Dihidrofolat redüktaz enzimi ile 20 adet ligand bileşiklerinin moleküler kenetlenme sonucunda hesaplanan bağlanma enerjileri

Bileşik no	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)	Bileşik no	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)	Bileşik no	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)	Bileşik no	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)	Bileşik no	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)
1	-8.07	5	-8.11	9	-8.45	13	-6.13	17	-8.02
2	-8.00	6	-8.04	10	-7.52	14	-7.93	18	-7.75
3	-8.29	7	-7.30	11	-7.34	15	-8.08	19	-8.30
4	-8.09	8	-7.28	12	-8.29	16	-7.54	20	-8.04

Tablo 4.3. Dihidrofolat redüktaz enzimi ile kristal yapıdaki referans bileşik, kontrol grubu ve 9 numaralı ligand bileşiğin moleküler kenetlenme sonucunda hesaplanan bağlanma enerjileri

Bileşik numarası	Ligand Kimyasal Yapısı	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)
Referans bileşik (Nadp)		-8.61
C1 (Metronidazol)		-4.51
C2 (Amoksisilin trihidrat)		-8.40
C3 (Doksisiklin)		-7.80
C4 (Klorheksidin)		-9.78
C5 (Siprofloksasin)		-7.37
9		-8.45

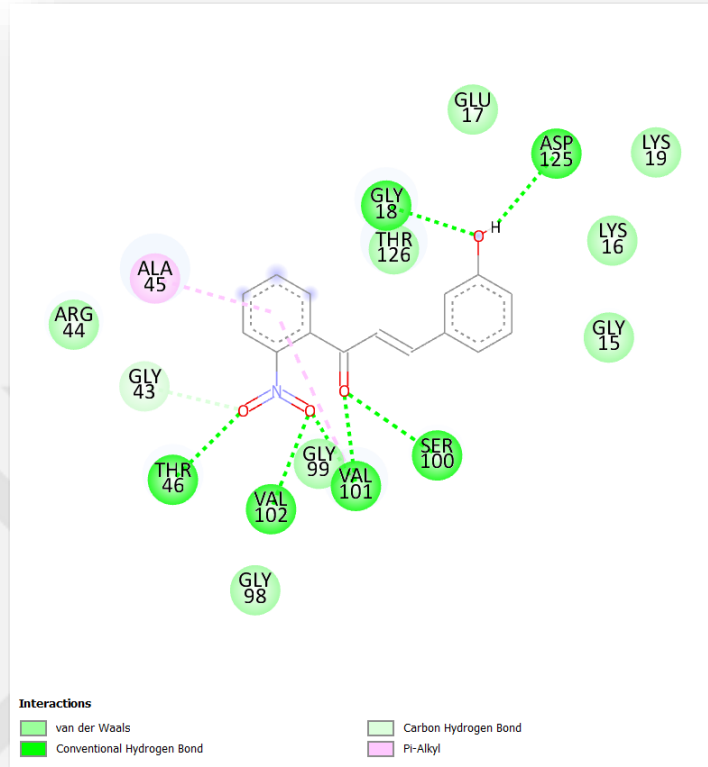
Bu etkin CHX bileşiği ile DHFR arasındaki moleküler etkileşim analizlerine göre, bu bileşiğin DHFR enziminin bağlanma bölgesindeki **Gly18**, **Ala7** ile hidrojen bağı, **Lys19**, **Met50**, **Phe31**, **Ile14** ile pi-alkil bağı, **Leu20** ile pi-donor bağı ve **Gly97** ile karbon hidrojen bağı yaptığı bulundu (Şekil 4.1).



Şekil 3.1. Moleküler kenetlenme sonucu en etkin CHX bileşiği ile DHFR enzimi moleküler kenetlenme etkileşiminin 2 boyutlu gösterimi

Flavonoid ve kalkon türevli bileşikler ile yapılan kenetlenme çalışmaları sonucunda ise 9 numaralı ligand bileşiği -8.45 kcal/mol bağlanma enerjisi ile hedef enzim DHFR'ye karşı en iyi bağlanma afinitesi gösteren bileşik olarak saptandı. Bu bileşik, enzimin **Thr46**, **Val102**, **Val101**, **Ser100**, **Gly18**, **Asp125** ile hidrojen bağı, **Ala45**, **Val101** ile pi-alkil bağı ve **Gly43**, **Ser100** ile karbon hidrojen bağı etkileşimi sergiledi (Şekil 4.2). Ayrıca DHFR enziminin bağlanma bölgesinde bulunan ve inhibisyon mekanizmasında oldukça önemli rol oynayan olan **Val102** ile hidrojen bağı oluşturdu ve referans bileşik ile benzer amino asitlere

bağlanma gösterdi. Bununla birlikte referans ligand ile ortak olarak *Thr46*, *Val102*, *Val101*, *Ser100* ile hidrojen bağı bulunmaktadır (137).



Şekil 4.2. Moleküler kenetlenme sonucu en etkin 9 numaralı ligand bileşiği ile DHFR enzimi moleküler kenetlenme etkileşiminin 2 boyutlu gösterimi

4.2.2 β -Ketoaçıl-Açıl Taşıyıcı Protein Sentaz III Enziminin Moleküler Kenetlenme Analizi ve Sonuçları

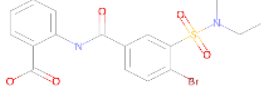
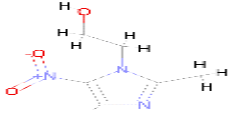
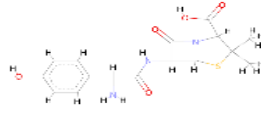
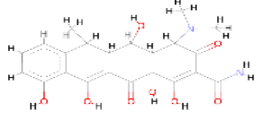
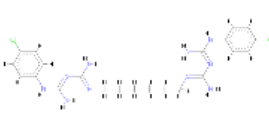
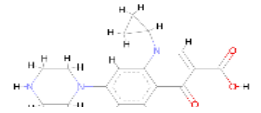
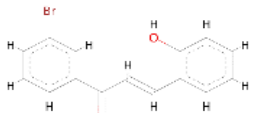
Enterococcus Faecalis'in β -ketoaçıl-açıl taşıyıcı protein sentaz III enziminin inhibisyonunda referans olarak seçilen bileşikler (enzimin kristal yapısındaki referans bileşiği ve kontrol grubu bileşikleri) ve 20 adet ligand olarak belirlenen bileşikler ile moleküler kenetlenme yapıldı (Tablo 4.4). Moleküler kenetlenme sonucunda referans bileşik ile oluşan yapıda -8.68 kcal/mol, metronidazol ile -3.99 kcal/mol, amoksisilin trihidrat ile -6.88 kcal/mol, doksisisiklin ile -6.25 kcal/mol, CHX ile -7.09 kcal/mol ve siprofloksasin ile -6.81 kcal/mol bağlanma enerjisi gözlemlendi (Tablo 4.5). Bu enzimin belirlenen diğer ligandlar

arasından -8.68 kcal/mol bağlanma enerjisi ile en yüksek bağlanma enerjisine sahip referans bileşik (2-([4-bromo-3-(diethylsulfamoyl) fenil] karbonil} amino) benzoik asit (B82))) olarak bulundu.

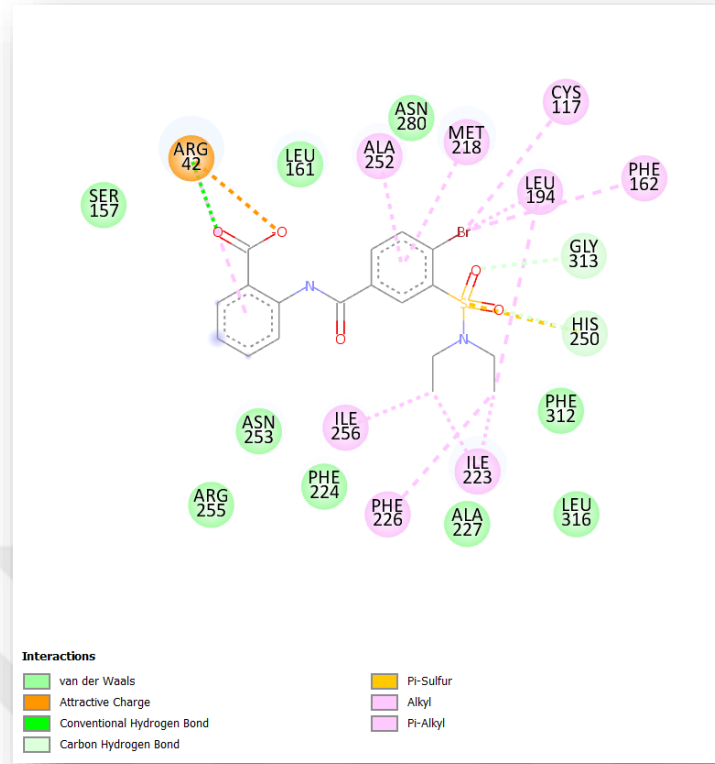
Tablo 4.4. β -ketoasil-asil taşıyıcı protein sentaz III enzimi ile 20 adet ligand bileşiklerinin moleküler kenetlenme sonucunda hesaplanan bağlanma enerjileri

Bileşik no	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)	Bileşik no	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)	Bileşik no	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)	Bileşik no	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)	Bileşik no	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)
1	-8.23	5	-8.11	9	-7.31	13	-7.13	17	-8.09
2	-8.41	6	-7.57	10	-7.40	14	-7.26	18	-7.03
3	-7.83	7	-7.01	11	-7.30	15	-7.14	19	-7.45
4	-7.74	8	-7.32	12	-7.41	16	-7.31	20	-8.23

Tablo 4.5. β -ketoasil-asil taşıyıcı protein sentaz III enzimi ile kristal yapıdaki referans bileşik, kontrol grubu ve 2 numaralı ligand bileşiğinin moleküler kenetlenme sonucunda hesaplanan bağlanma enerjileri

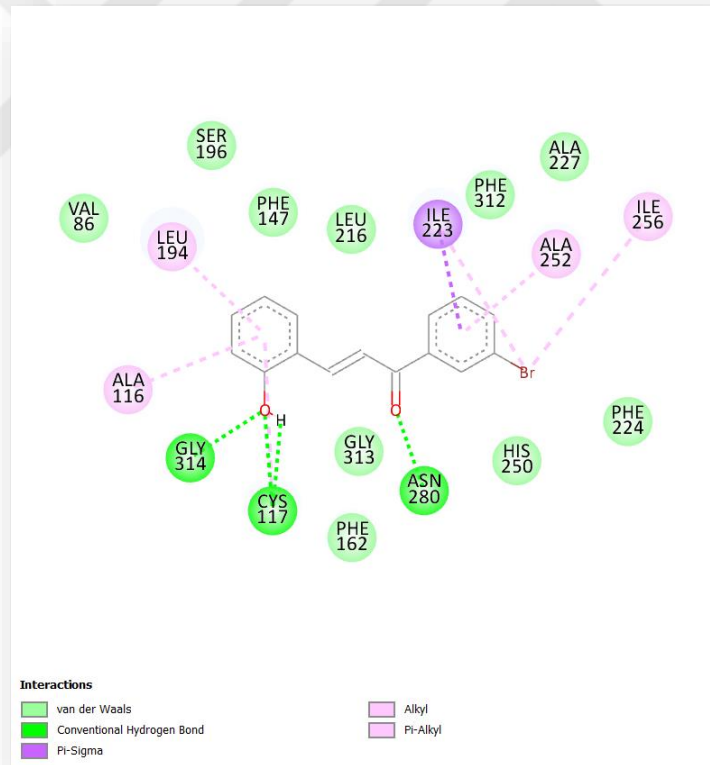
Bileşik numarası	Ligand Kimyasal Yapısı	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)
Referans bileşik (B82)		-8.68
C1 (Metronidazol)		-3.99
C2 (Amoksisilin trihidrat)		-6.88
C3 (Doksisiklin)		-6.25
C4 (Klorheksidin)		-7.09
C5 (Siprofloksasin)		-6.81
2		-8.41

Bu etkin referans bileşiği ile enzim arasındaki moleküler etkileşim analizlerine göre, bu bileşiğin KASIII enziminin bağlanma bölgesindeki **Arg42** ile hidrojen bağı, **His250** ile pi-sülfür bağı, **Ile256**, **Ile223**, **Leu194**, **Cys117** ile alkil bağı, **Arg42**, **Ala252**, **Met218**, **Phe226**, **Phe162** ile pi-alkil bağı ve **Gly313** ile karbon hidrojen bağı yaptığı bulundu (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Moleküler kenetlenme sonucu en etkin enzimin yapısındaki referans bileşiği ile KASIII enzimi moleküler kenetlenme etkileşiminin 2 boyutlu gösterimi

Flavonoid ve kalkon türevli bileşikler ile yapılan kenetlenme çalışmaları sonucunda 7 ve 18 numaralı bileşikler dışında diğer tüm bileşikler kontrol grubu bileşiklerden daha yüksek bağlanma enerjisine sahip olduğu belirlendi. Bu bileşikler arasından en yüksek bağlanma enerjisine sahip 2 numaralı ligand bileşiği ile KASIII enziminin moleküler kenetlenmesi sonucu -8.41 kcal/mol bağlanma enerjisi ile hedef enzim KASIII'e karşı en iyi bağlanma afinitesi gösteren bileşik olarak saptandı. Bu bileşik, enzimin **Gly314**, **Cys117**, **Asn280** ile hidrojen bağı, **Ala116**, **Leu194**, **Ala252**, **Cys117** ile pi-alkil bağı ve **Ile223** ile pi-sigma bağı ve **Ile256**, **Ile223** ile alkil bağı yaptığı bulundu (Şekil 4.4). Ayrıca 2 numaralı bileşik KASIII enziminin bağlanma bölgesinde bulunan ve inhibisyon mekanizmasında oldukça önemli rol oynayan olan **Asn280** ile hidrojen bağı oluşturdu ve referans bileşikte görülen **Ile256**, **Ile223** ile alkil bağı, **Leu194**, **Cys117**, **Ala252** amino asitleri pi-alkil bağı ile benzer şekilde bağlandı (102).



Şekil 4.4. Moleküler kenetlenme sonucu en etkin 2 numaralı ligand bileşiği ile KASIII enzimi moleküler kenetlenme etkileşiminin 2 boyutlu gösterimi

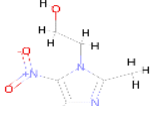
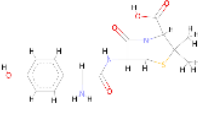
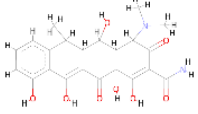
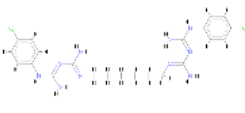
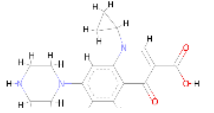
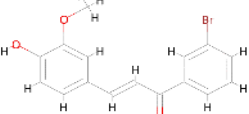
4.2.3 Agmatin Deiminaz Enziminin Moleküler Kenetlenme Analizi ve Sonuçları

Enterococcus Faecalis'in agmatin deiminaz enziminin inhibisyonunda referans olarak seçilen bileşikler (kontrol grubu bileşikleri) ve 20 adet ligand olarak belirlenen bileşikler ile moleküler kenetlenme yapıldı (Tablo 4.6). Moleküler kenetlenme sonucunda metronidazol ile -3.81 kcal/mol, amoksisilin trihidrat ile -7.99 kcal/mol, doksisiklin ile -8.98 kcal/mol, CHX ile -13.53 kcal/mol ve siprofloksasin ile -6.88 kcal/mol bağlanma enerjisi gözlemlendi (Tablo 4.7). Bu enzimin belirlenen diğer ligandlar arasından -13.53 kcal/mol bağlanma enerjisi ile en yüksek bağlanma enerjisine sahip bileşik CHX olarak bulundu.

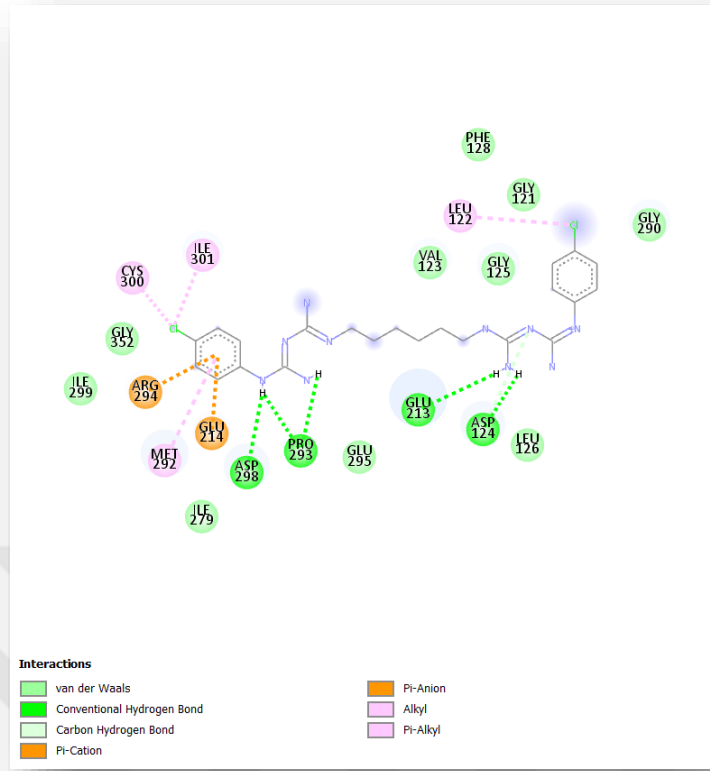
Tablo 4.6. Agmatin deiminaz enzimi ile 20 adet ligand bileşiklerinin moleküler kenetlenme sonucunda hesaplanan bağlanma enerjileri

Bileşik no	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)	Bileşik no	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)	Bileşik no	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)	Bileşik no	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)	Bileşik no	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)
1	-8.03	5	-7.98	9	-6.64	13	-7.65	17	-8.16
2	-8.05	6	-7.38	10	-7.57	14	-7.55	18	-8.02
3	-8.01	7	-7.28	11	-7.80	15	-7.80	19	-8.45
4	-8.19	8	-7.46	12	-7.67	16	-7.79	20	-8.82

Tablo 4.7. Agmatin deiminaz enzimi ile kontrol grubu ve 20 numaralı ligand bileşiğin moleküler kenetlenme sonucunda hesaplanan bağlanma enerjileri

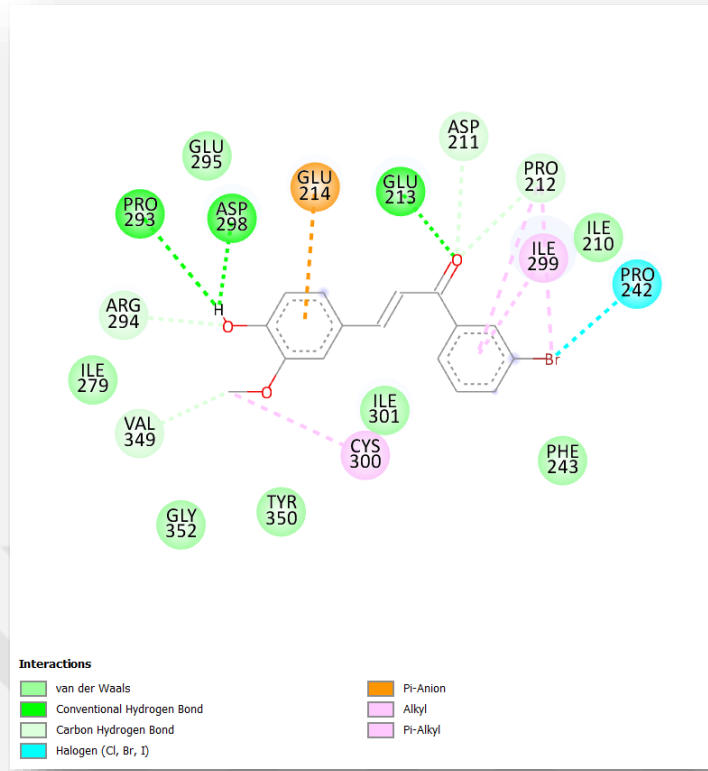
Bileşik numarası	Ligand Kimyasal Yapısı	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)
C1 (metronidazol)		-3.81
C2 (Amoksisilin trihidrat)		-7.99
C3 (Doksisiklin)		-8.98
C4 (Klorheksidin)		-13.53
C5 (Siprofloksasin)		-6.88
20		-8.82

Bu etkin CHX bileşiği ile agmatin deiminaz arasındaki moleküler etkileşim analizlerine göre, bu bileşiğin agmatin deiminaz enziminin bağlanma bölgesindeki *Asp298*, *Pro293*, *Glu213*, *Asp124* amino asitleri ile hidrojen bağı, *Cys300*, *Ile301*, *Leu122* ile alkil bağı, *Met292* ile pi-alkil bağı, *Arg294* ile pi-kasyon bağı, *Glu214* ile pi-anyon bağı ve *Asp124* ile karbon hidrojen bağı yaptığı bulundu (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Moleküler kenetlenme sonucu en etkin CHX bileşiğini ile agmatin deiminaz enzimi moleküler kenetlenme etkileşiminin 2 boyutlu gösterimi

Flavonoid ve kalkon türevli bileşikler ile yapılan kenetlenme çalışmaları sonucunda ise 20 numaralı ligand bileşiği -8.82 kcal/mol bağlanma enerjisi ile hedef enzim agmatin deiminaza karşı en iyi bağlanma afinitesi gösteren bileşik olarak saptandı. Bu bileşik, enzimin **Glu213**, **Pro293**, **Asp298** ile hidrojen bağı, **Asp211**, **Pro212**, **Val349**, **Arg294** ile karbon hidrojen bağı, **Pro242** ile halojen bağı, **Glu214** ile pi-anyon bağı, **Pro212**, **Pro242**, **Cys300** ile alkil bağı ve **Pro212**, **Ile299** ile pi-alkil bağı yaptığı belirlendi (Şekil 4.6.). 20 numaralı bileşik, CHX bileşiği ile ortak olarak **Pro293**, **Asp298**, **Glu213** ile hidrojen bağı ve **Cys300** ile alkil bağı bulundu.



Şekil 4.6. Moleküler kenetlenme sonucu en etkin 20 numaralı ligand bileşiği ile agmatin deiminaz enzimi moleküler kenetlenme etkileşiminin 2 boyutlu gösterimi

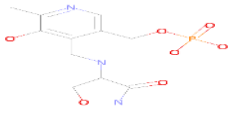
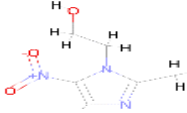
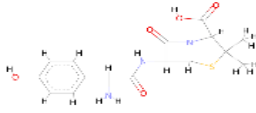
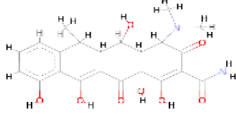
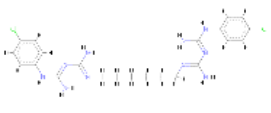
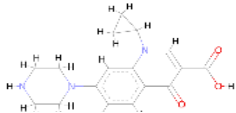
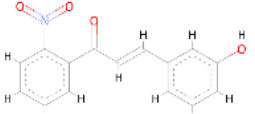
4.2.4 Alanin Rasemaz Enziminin Moleküler Kenetlenme Analizi ve Sonuçları

Enterococcus Faecalis'in alanin rasemaz enziminin inhibisyonunda referans olarak seçilen bileşikler (enzimin kristal yapısındaki referans bileşiği ve kontrol grubu bileşikleri) ve 20 adet ligand olarak belirlenen bileşikler ile moleküler kenetlenme yapıldı (Tablo 4.8). Moleküler kenetlenme sonucunda referans bileşik D-[3-hidroksi-2-metil-5-fosfonoksimetil-piridin-4-ilmetil]-N,O-sikloserilamid (DCS) ile oluşan yapıda -7.00 kcal/mol, metronidazol ile -5.58 kcal/mol, amoksisilin trihidrat ile -7.14 kcal/mol, doksisiklin ile -6.03 kcal/mol, CHX ile -6.42 kcal/mol ve siprofloksasin ile -6.88 kcal/mol bağlanma enerjisi gözlemlendi (Tablo 4.9). Bu enzimin belirlenen diğer ligandlar arasından -7.14 kcal/mol bağlanma enerjisi ile en yüksek bağlanma enerjisine sahip bileşik amoksisilin trihidrat olarak bulundu.

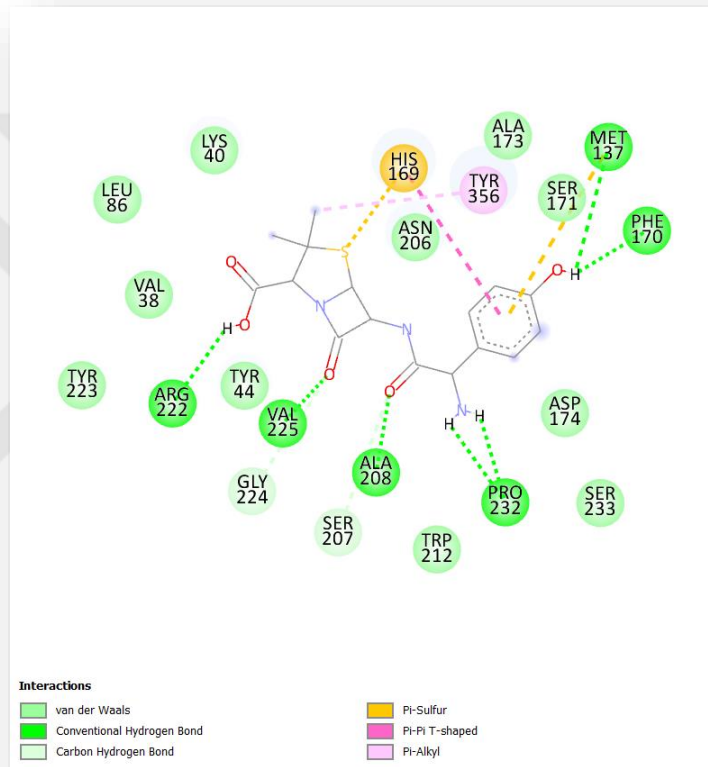
Tablo 4.8. Alanin rasemaz enzimi ile 20 adet ligand bileşiklerinin moleküler kenetlenme sonucunda hesaplanan bağlanma enerjileri

Bileşik no	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)	Bileşik no	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)	Bileşik no	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)	Bileşik no	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)	Bileşik no	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)
1	-7.72	5	-7.49	9	-8.94	13	-8.22	17	-8.00
2	-7.56	6	-7.60	10	-7.34	14	-8.39	18	-7.64
3	-7.86	7	-7.62	11	-7.80	15	-7.97	19	-7.85
4	-7.44	8	-7.35	12	-8.22	16	-7.38	20	-8.22

Tablo 4.9. Alanin rasemaz enzimi kristal yapıdaki referans bileşik, kontrol grubu ve 9 numaralı ligand bileşiğinin moleküler kenetlenme sonucunda hesaplanan bağlanma enerjileri

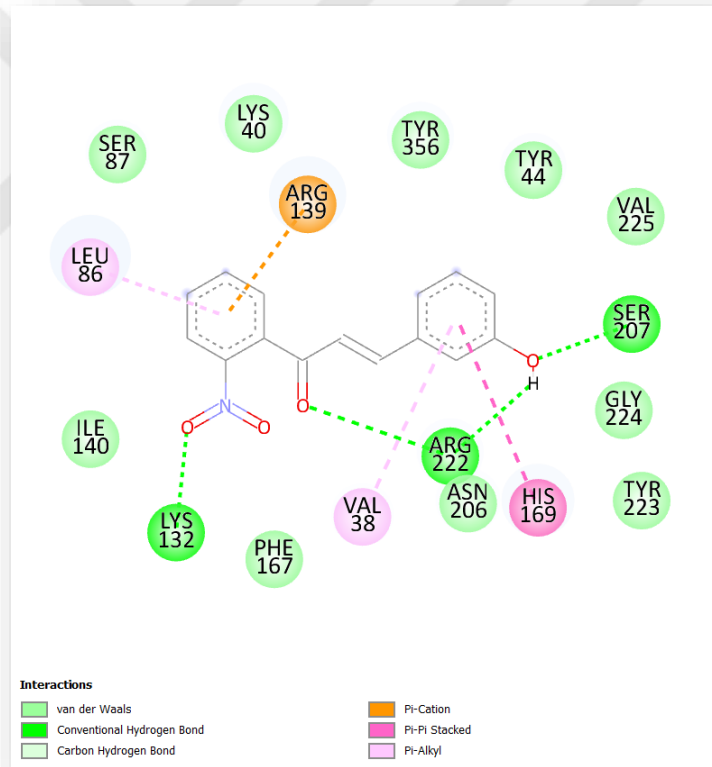
Bileşik numarası	Ligand Kimyasal Yapısı	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)
Referans bileşik (DCS)		-7.00
C1 (Metronidazol)		-5.58
C2 (Amoksisilin trihidrat)		-7.14
C3 (Doksisiklin)		-6.03
C4 (Klorheksidin)		-6.42
C5 (Siprofloksasin)		-6.88
9		-8.94

Bu etkin amoksisilin trihidrat bileşiği ile alanin rasemaz arasındaki moleküler etkileşim analizlerine göre, bu bileşiğin alanin rasemaz enziminin bağlanma bölgesindeki **Arg222, Val225, Ala208, Pro232, Met137, Phe170** ile hidrojen bağı, **His169, Met137** ile pi-sülfür bağı, **His169** ile pi pi bağı, **Tyr356** ile pi-alkil bağı ve **Gly224, Ser207** ile karbon hidrojen bağı yaptığı bulundu (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Moleküler kenetlenme sonucu en etkin amoksisilin trihidrat ile alanin rasemaz enzimi moleküler kenetlenme etkileşiminin 2 boyutlu gösterimi

Flavonoid ve kalkon türevli bileşikler ile yapılan kenetlenme çalışmaları sonucunda bu bileşikler hem kontrol grubu bileşiklerinden hem de referans bileşikten daha yüksek bağlanma enerjileri sergilemişlerdir. Bu bileşikler arasından 9 numaralı ligand bileşiği -8.94 kcal/mol bağlanma enerjisi ile hedef enzim alanin rasemaza karşı en iyi bağlanma afinitesi gösteren bileşik olarak saptandı. Bu bileşik, enzimin **Lys132**, **Arg222**, **Ser207** ile hidrojen bağı, **Arg139** ile pi-kasyon bağı, **His169** ile pi-pi bağı ve **Leu86**, **Val38** ile pi-alkil bağı yaptığı bulundu (Şekil 4.8). Alanin rasemaz enzimi ile ligand bileşikler bağlanması sonucu etkileşimde rol oynayan amino asitler belirlendi. Bu bileşiklerin içerisinde, 9 numaralı ligand bileşiği alanin rasemaz enzimine amoksisilin trihidrat ile benzer olarak **Arg222** ile hidrojen bağı oluşturdu ve bağlanma bölgesinde bulunan ve inhibisyon mekanizmasında oldukça önemli rol oynayan **Arg139**, **His169**, **Ser207** amino asitlerine bağlanma gösterdi.



Şekil 4.8. Moleküler kenetlenme sonucu en etkin 9 numaralı ligand bileşiği ile alanin rasemaz enzimi moleküler kenetlenme etkileşiminin 2 boyutlu gösterimi

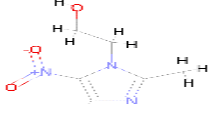
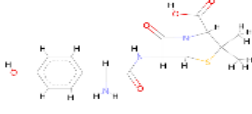
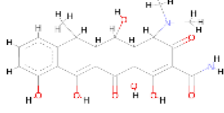
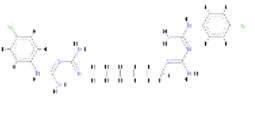
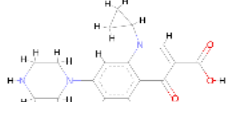
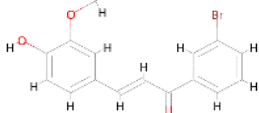
4.2.5. Enterokokal Yüzey Proteini Enziminin Moleküler Kenetlenme Analizi ve Sonuçları

Enterococcus Faecalis'in enterokokal yüzey proteini enziminin inhibisyonunda referans olarak seçilen bileşikler (kontrol grubu bileşikleri) ve 20 adet ligand olarak belirlenen bileşikler ile moleküler kenetlenme yapıldı (Tablo 4.10). Moleküler kenetlenme sonucunda metronidazol ile -5.08 kcal/mol, amoksisilin trihidrat ile -7.80 kcal/mol, doksisisiklin ile -8.82 kcal/mol, CHX ile -12.09 kcal/mol ve siprofloksasin ile -7.18 kcal/mol bağlanma enerjisi hesaplandı (Tablo 4.11). Bu enzimin belirlenen diğer ligandlar arasından -12.09 kcal/mol bağlanma enerjisi ile en yüksek bağlanma enerjisine sahip bileşik CHX olarak bulundu.

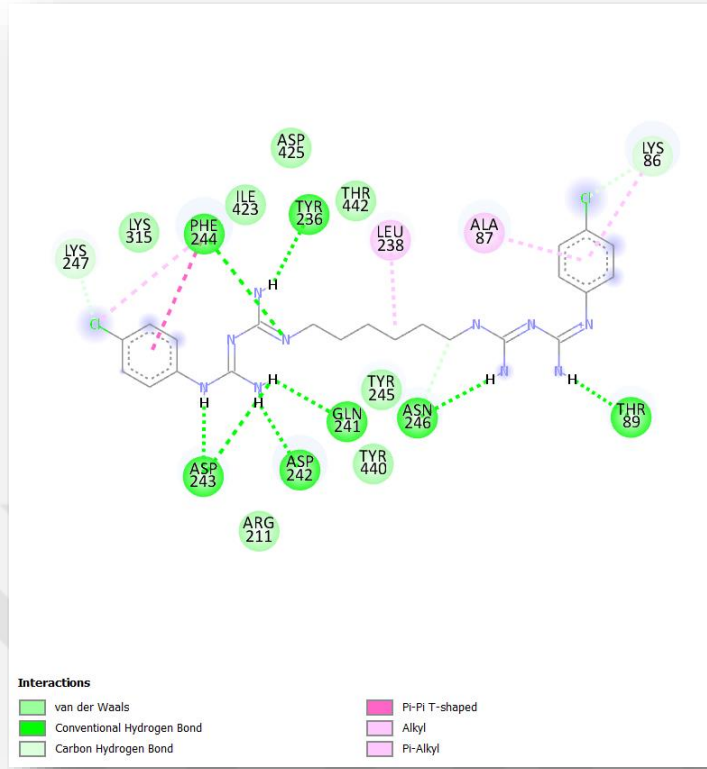
Tablo 4.10. Enterokokal yüzey proteini enzimi ile 20 adet ligand bileşiklerinin moleküler kenetlenme sonucunda hesaplanan bağlanma enerjileri

Bileşik no	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)	Bileşik no	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)	Bileşik no	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)	Bileşik no	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)	Bileşik no	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)
1	-9.04	5	-8.03	9	-7.71	13	-8.43	17	-9.23
2	-8.74	6	-8.43	10	-8.61	14	-8.18	18	-8.29
3	-9.11	7	-7.62	11	-8.44	15	-8.66	19	-8.57
4	-8.74	8	-7.92	12	-8.80	16	-8.23	20	-9.81

Tablo 4.11. Enterokokal yüzey proteini enzimi ile kontrol grubu ve 20 numaralı ligand bileşiğinin moleküler kenetlenme sonucunda hesaplanan bağlanma enerjileri

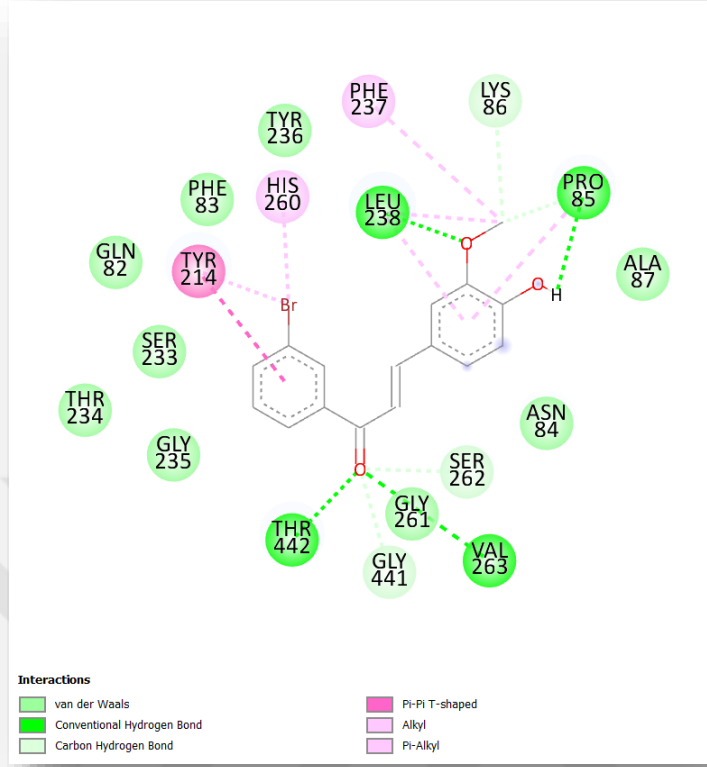
Bileşik numarası	Ligand Kimyasal Yapı	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)
C1 (metronidazol)		-5.08
C2 (Amoksisilin trihidrat)		-7.80
C3 (Doksisiklin)		-8.82
C4 (Klorheksidin)		-12.09
C5 (Siprofloksasin)		-7.18
20		-9.81

Bu etkin CHX bileşiği ile Esp arasındaki moleküler etkileşim analizlerine göre, bu bileşiğin Esp enziminin bağlanma bölgesindeki ***Phe244***, ***Tyr236***, ***Asp243***, ***Asp242***, ***Gln241***, ***Asn246***, ***Thr89***, ***Asp242*** amino asitleri ile hidrojen bağı, ***Phe244*** ile pi-pi bağı, ***Phe244***, ***Ala87***, ***Lys86*** ile pi-alkil bağı, ***Leu238***, ***Lys86*** ile alkil bağı ve ***Lys247***, ***Lys86***, ***Asn246*** ile karbon hidrojen bağı yaptığı bulundu (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Moleküler kenetlenme sonucu en etkin CHX bileşiği ile Esp enzimi moleküler kenetlenme etkileşiminin 2 boyutlu gösterimi

Flavonoid ve kalkon türevli bileşikler ile yapılan kenetlenme çalışmaları sonucunda ise 20 numaralı ligand bileşiği -9.81 kcal/mol bağlanma enerjisi ile hedef enzim Esp'ye karşı en iyi bağlanma afinitesi gösteren bileşik olarak saptandı. Bu bileşik, enzimin **Leu238**, **Val263**, **Thr442**, **Pro85** ile hidrojen bağı, **Tyr214**, **Phe237**, **His260**, **Pro85**, **Leu238** ile pi-alkil bağı ve **Pro85**, **Leu238** ile alkil bağı, **Ser262**, **Gly441**, **Pro85**, **Lys86** ile karbon hidrojen bağı ve **Tyr214** ile pi-pi bağı yaptığı bulundu (Şekil 4.10). Ayrıca bu bileşiklerin içerisinde 20 numaralı ligand bileşiği CHX ile benzer olarak **Leu238** ile alkil bağı ve **Lys86** ile karbon hidrojen bağı oluşturdu.



Şekil 4.10. Moleküler kenetlenme sonucu en etkin 20 numaralı ligand bileşiği ile Esp enzimi moleküler kenetlenme etkileşiminin 2 boyutlu gösterimi

5. TARTIŞMA

Süt dişlerinin fizyolojik düşme zamanı gelene kadar ağız ortamında oldukları süre boyunca sağlıklı bir şekilde idame edilmesi, çocuk diş hekimliğinin en önemli amacı olarak karşımıza çıkmaktadır. Tedavi edilmeyen çürükler sebebiyle erken süt dişi kayıpları; ektopik sürme, dişlerin sırası ile sürememesi, yer kaybı, istenmeyen alışkanlıkların oluşması, çiğnemede güçlük, konuşmada bozukluk ve estetik kaygı benzeri türlü problemler ile çocukların yaşam kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir (145).

Süt dişlerindeki derin çürük lezyonları, tedavi edilmediği takdirde diş pulpasında enfektif değişikliklere neden olmaktadır (146, 147). Rutin olarak çocuk diş hekimleri tarafından pulpal tutulumu olan derin çürüklü süt dişlerinde pulpa tedavileri uygulanmaktadır (148). Süt dişlerinde enfeksiyonun ilerlediği durumlarda görülen periradiküler patoloji gelişimi sonucu pulpektomi gibi pulpal tedavileri gerçekleştirmek güç olabilmektedir (50). Bu güçlüklerin nedenleri arasında; yaygın kök ve kemik rezorpsiyonu, yetersiz periodontal doku varlığı, furkasyon bölgesinde radyolusent alan ve çocuğun kooperasyonundaki zorluk gibi faktörler mevcuttur (20). Bundan dolayı erken süt dişi kaybını önlemek amacıyla uygulanabilecek lezyon sterilizasyonu ve doku tamiri gibi alternatif bir tedaviye ihtiyaç duyulduğu düşünülmektedir.

Süt dişi pulpasında meydana gelen enfeksiyonlar polimikrobiyal karakterde olup aerobik ve anaerobik bakteriler kaynaklıdır. Pulpal tedavilerin prognozu, kök kanal sistemindeki patojen bakterilerin dezenfeksiyonu ile eliminasyonuna bağlıdır (9). Lezyon sterilizasyonu ve doku tamiri tedavisinde amaç patojen bakterilerin kök kanal sisteminden uzaklaştırılması, çeşitli antimikrobiyal ajanların kombine kullanımı ile kök kanal sisteminin sterilize edilmesi ve konağın doğal savunma sistemi sayesinde doku onarımının gerçekleştirilmesidir (149).

Başarısız kök kanal tedavilerinde rezidüel mikroorganizmalar periapikal komplikasyonların tekrarlamasına sebep olabilmektedir. Başarısız kök kanal tedavilerinde *E. Faecalis* en sık izole edilen rezidüel bakteri olarak karşımıza çıkmaktadır. Kök kanal sistemindeki *E. Faecalis* gibi rezidüel bakterilerin sebep olduğu komplikasyonların önüne geçebilmek için çeşitli antimikrobiyaller ile patojen bakterilerin tamamen yok edilmesi gerekmektedir (150). Lezyon sterilizasyonu ve doku tamiri pulpal enfeksiyonun tedavisi için

antibiyotiklerin (metronidazol, siprofloksasin, minosiklin ve amoksisilin trihidrat) kombinasyonunun kullanımını içeren bir tedavidir (151).

Kombine antibiyotik patı kullanımının (siprofloksasin, metronidazol ve minosiklin) *E. Faecalis* ve *Enterococcus Faecium* bakterilerine karşı antibakteriyel özellik gösterdiği belirtilmiştir (152). Alam ve ark (61). yürüttükleri *in vitro* çalışmada *E. Faecalis* ve *Enterococcus Faecium*'a karşı siprofloksasin ve minosiklinin MIC değerleri sırasıyla 5 ve 20 µg olduğu bulunmuştur ve sadece metronidazol kullanımının yeterli olmadığı kanıtlanmıştır. Polimikrobiyal floraya sahip kök kanal sistemi sterilizasyonu için antibiyotikler kombine kullanımları ile mikroorganizmaların büyümesini engellemektedir. Sato ve ark (153). gerçekleştirdiği *in vitro* çalışmada ise siprofloksasin, metronidazol ve minosiklin karışımına rifampisin ilavesi ile elde edilen karışımın süt dişlerindeki patojen bakterilere karşı antibakteriyel özelliği sorgulanmış ve antibiyotik kombinasyonlarının çürük lezyonlarına ve pulpal lezyonlara etkili olduğu rapor edilmiştir. Hoshino ve ark (72). yaptığı başka bir *in vitro* çalışmada ise 25 µg/ml olan siprofloksasin, minosiklin ve metronidazol içeren antibiyotik kombinasyonunun enfekte dişlerin kök kanal sistemindeki bakterilerin sterilizasyonunda antimikrobiyal rol oynadığını belirlemiştir.

Lezyon sterilizasyonu ve doku tamiri tedavisinin prognozunun araştırıldığı çalışmada süt molar dişlerinde pulpal enfeksiyonu olan 7 yaşın altındaki çocukların kök kanallarına enstrümantasyon yapılmamış ve koronal pulpa artıkları uzaklaştırıldıktan sonra antibiyotik patı yerleştirmiştir. Tedavi uygulanan dişlerin 1 yıllık takibinde; dişlerin semptomsuz oldukları, fistül olmadığı, mobilitenin azaldığı ve fizyolojik rezorpsiyonun kabul edilebilir sınırlara döndüğü gözlemlenmiştir. Tedavi uygulanan dişlerde, dişin çevre dokularının da iyileşmesi ile olumlu sonuçlar alındığı belirtilmiştir (154). Jaya ve ark. (155) yaptığı çalışmada ise siprofloksasin, minosiklin, metronidazol kombinasyonu ile siprofloksasin, minosiklin ve tinidazol kombinasyonu 30 enfekte dişe uygulamış, klinik ve radyografik olarak değerlendirmiştir. İki farklı antibiyotik kombinasyonunun karşılaştırıldığı çalışmada 24 aylık takip sonucunda siprofloksasin, minosiklin ve tinidazol antibiyotik kombinasyonun da süt dişlerinin pulpal tedavilerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Grewal ve ark. (156) ise pulpektomi ve LSTR ile tedavi edilen dişleri karşılaştırmış ve 36 aylık takip sonucunda tedavisi tamamlanan dişlerin fizyolojik kök rezorpsiyonlarının LSTR ile tedavi edilen olgulardan daha az fizyolojik rezorpsiyona neden olduğu gözlemlenmiştir. Çalışma sonucunda dişin ağızda kısa süre tutulması planlanıyorsa LSTR'nin etkili bir tedavi

alternatifi olduğunu ancak dişin uzun süre ağızda tutulması hedefleniyorsa tedavide pulpektominin tercih edilmesi gerektiği vurgulanmıştır.

Lezyon sterilizasyonu ve doku tamiri tedavisinin avantajları ve başarılı sonuçları yanında kullanılan kombine antibiyotik patına karşı alerji gelişimi, antibiyotik patının dişlerde renklenmeye neden olması, patın radyolusent yapıda olması nedeniyle radyografik kontrol güçlüğü ve inatçı enfeksiyonlarda bakterinin dirençli hale gelme riski oluşabilmektedir (4, 5, 148, 157, 158). Bu risklerin yanı sıra ilaçların absorpsiyonu, dağılımı, metabolizması, eliminasyonu ve toksisite özelliklerinin de ilaç olarak kullanılan moleküller için kabul gören değerler arasında olması gerekmektedir (159, 160). Rutin olarak kullanılan antimikrobiyal ajanlara alternatif, doğal kaynaklı bileşiklerin ilaç olarak tasarımı ve kullanımı son yıllarda oldukça önemli hale gelmiştir (161).

Sebze ve meyvelerde bulunan flavonoidler ve flavonoid ailesine ait olan kalkonlar; iskelet yapıları farklı moleküler hedeflerle bağlanmakta ve farklı fonksiyonel grupların yapıya eklenmesiyle biyolojik açıdan daha etkili ve geniş bir ilaç tasarım spektrumu göstermektedir (162). Bu geniş spektrum içerisinde yer alan antikanser, antiinflamatuvar, antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinden dolayı flavonoid ve kalkon türevli ilaç olarak tasarlanan potansiyel bileşikler önemli olarak kabul edilmektedirler (163–167).

Bilgisayar destekli ilaç tasarımı ile ilaç potansiyeli olan doğal bileşiklerin biyoaktivitesiyle ilgili bilgi elde edilmesine, bu bileşiklerin sentezlemeden önce kimyasal ve biyolojik yönden güvenilirliklerinin belirlenmesine ve hızlı bir şekilde incelenmelerine olanak sağlanmaktadır (168). İlaçların absorpsiyonu, dağılımı, metabolizması, eliminasyonu ve toksisite özelliklerinin ilaç olarak kullanılan moleküller için kabul gören değerler arasında olması gerekmektedir. Absorpsiyon, dağılım, metabolizma, eliminasyon ve toksisite analizi ile ilaç moleküllerinin ADMET değerlerinin hesaplanması sayesinde daha az yan etki gösteren farmakokinetik özellikleri uygun potansiyel ilaç moleküllerinin geliştirilmesi sağlanmaktadır (159). Salmanlı ve ark. (169) yaptıkları çalışmada moleküler modelleme yöntemi ile *Streptococcus mutans* Sortaz A enzimine karşı flavonoid ve kalkon türevli bileşiklerin inhibitör etkilerini incelemiştir. Çalışmada flavonoid ve kalkon türevli kimyasal bileşiklerin emilim, dağılım, metabolizma, eliminasyon ve toksisite değerleri; fizikokimyasal ve farmakokinetik özellikleri ilaç olabilme potansiyelleri amacıyla değerlendirilmiştir. Bu tez çalışmasında SwissADME (133) programında ADMET analizleri yapılan metronidazol, amoksisilin trihidrat, doksisisiklin, CHX ve siprofloksasin

farmakokinetik olarak uygun özellikleri göstermediği bulunmuştur. Ligand olarak seçilen flavonoid ve kalkon türevli 20 bileşik için Tatar Yılmaz ve ark. ADMET analizini gerçekleştirmiştir. Farmakokinetik açıdan değerlendirilen 20 bileşik de CHX bileşiğine göre çözünürlük, kan beyin bariyeri, CYP2D6 bağlanması, hepatotoksisite ve emilim düzeyi açısından daha uygun değerler göstermiştir. (134)

Yukarda bahsedilen özelliklerden dolayı flavonoid ve kalkon türevli bileşikler dış hekimliğinde ve çeşitli sağlık alanlarında patojen bakteriler üzerindeki inhibitör etkilerini belirlemek için çalışmalar yapılmıştır. Tempone ve ark. (170) yaptığı çalışmada sentetik bir kalkon türevi (r4MB) kullanılmış ve *E. Faecalis* ile birlikte çeşitli bakteriler üzerindeki antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi amaçlanmıştır. Kullanılan r4MB bileşiği, *E. Faecalis*'in dokuz klinik suşunun tamamına karşı 6,4 µg/ml MIC değeri ile etkileşim göstermiştir. Çalışmada kullanılan r4MB bileşiği uygun ADMET özellikleri sergilediği gösterilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada ise 1,2,3-triazol içerip sentezlenen bir grup kalkon bileşikler, dirençli bakterilerde antimikrobiyal ve adjuvan olarak özellik gösterme açısından incelenmiştir. İncelenen bileşikler arasında tek bir bileşik *E. Faecalis*'e karşı antibakteriyel etki gösterebilmiş olsa da altı bileşiğin *Escherichia Coli* ve *E. Faecalis* bakteri suşlarındaki direnci etkisiz hale getirdiği gösterilmiştir (171).

Dış hekimliği alanında yapılan bir başka çalışmada ise kök kanal sistemini dezenfekte etmek için kalkon içerikli endodontik irrigant geliştirilmesi amaçlanmıştır. Hazırlanan aminokalkon (AM-38) içerikli irrigant, *E. Faecalis* 7.8 µg/ml ve *C. Albicans* 15.6 µg/ml üzerinde MIC değerleri ile antimikrobiyal özellik gösterdiği kanıtlanmıştır. Aminokalkon (AM-38) içerikli irrigant ile 156 µg/ml konsantrasyonda biyofilm gelişimi ve bakterinin canlılığı belirgin olarak inhibe edilmiştir. Çalışmanın sonucunda AM-38 içerikli irrigant antibiyofilm özellik sergilemiş ve patojen bakterilerin canlılığını azaltmıştır bu da yeni endodontik irrigant arayışında AM-38 içerikli irrigantı potansiyel alternatif olarak vurgulanmıştır (172).

Yukarıda ifade edilen bilgilerden hareketle tez çalışmamızda, flavonoid ve kalkon türevli doğal kaynaklı bileşiklerden etkili *E. Faecalis* inhibitörleri geliştirmenin yanı sıra, *E. Faecalis* enzimlerinin yapısal özelliklerini belirleyerek inhibisyon mekanizmasını daha iyi kavramak ve ilaç potansiyelli inhibitör bileşiklerin dişlerdeki pulpal enfeksiyonlarının tedavi edici özelliklerini geliştirmek için moleküler modelleme yöntemi kullanılmıştır.

Bu doğrultuda *E. Faecalis* enzimlerini inhibe etmek için antibakteriyel etkinliği kanıtlanmış olan CHX ve LSTR tedavisinde kullanılan metronidazol, amoksisilin trihidrat, doksisiklin, siprofloksasin kontrol grubu olarak kabul edilmiştir (50, 142). Yapılan moleküler kenetlenme analizi sonucunda DHFR için en yüksek bağlanma enerjisine sahip bileşik CHX olarak (-9.78 kcal/mol), flavonoid ve kalkon türevli bileşikler arasından da -8.45 kcal/mol bağlanma enerjisi ile en yüksek bağlanma enerjisi 9 numaralı ligand bileşiğinde tespit edilmiştir. En etkin 9 numaralı bileşik ile *E. Faecalis* DHFR enziminin bağlanma bölgesindeki **Thr46**, **Val102**, **Val101**, **Ser100** amino asitler ile hidrojen bağı etkileşimleri Bourne ve ark. yaptığı çalışma ile uyumlu bulunmuştur (137). Ayrıca Moon ve ark.nın (173) çeşitli ligandlar ile *E. Faecalis* DHFR enzimine yönelik yapmış oldukları *in siliko* moleküler kenetlenme analizlerinde de en etkin doğal bileşikler ellagik asit ve kuarsetinin de bu çalışmada belirtilen **Val101**, **Val102**, **Ser100** amino asitleri ile hidrojen bağı oluşturduğu gösterilmiştir. Böylece yapılan bu tez çalışması literatürde yapılan çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.

β -ketoaçıl-açıl taşıyıcı protein sentaz III enzimi için yapılan moleküler kenetlenme analiz sonuçlarına göre enzimin kristal yapısındaki referans bileşiği -8.68 kcal/mol bağlanma enerjisi ile en yüksek bağlanma afinitesi göstermiştir. Flavonoid ve kalkon türevli bileşikler arasından da -8.41 kcal/mol bağlanma enerjisi ile en yüksek bağlanma enerjisine sahip 2 numaralı ligand bileşiği olarak belirlenmiştir. Bu tez çalışmasında 2 numaralı bileşik KASIII enziminin bağlanma bölgesinde bulunan ve inhibisyon mekanizmasında oldukça önemli rol oynayan olan **Asn280** ile hidrojen bağı oluşturmuş ve referans bileşikte görülen **Ile256**, **Ile223** ile alkil bağı, **Leu194**, **Cys117**, **Ala252** amino asitlerinin pi-alkil bağı ile benzer şekilde bağlanması literatürde bulunan bağlanma bölgesi bilgileri ile uyumlu bulunmuştur (102).

Moleküler kenetlenme analizi sonucunda agmatin deiminaz enzimi için en yüksek bağlanma enerjisi CHX bileşiğinde -13.53 kcal/mol hesaplanmıştır. Flavonoid ve kalkon türevli bileşikler arasından da 20 numaralı bileşiğin bağlanma enerjisi -8.82 kcal/mol olarak hesaplanmıştır. *Enterococcus Faecalis* agmatin deiminaz enzimi bağlanma bölgesi için referans gösterilen **Cys357**, **Gly351**, **Asp96**, **His280**, **Asp220** amino asitleri ile herhangi bir ortak bağ bulunamamıştır (104).

Moleküler kenetlenme analizi sonucunda alanin rasemaz enzimi için kontrol grubu bileşiklerden daha yüksek bağlanma enerjisi ile flavonoid ve kalkon türevli bileşikler arasından 9 numaralı ligand bileşiği bağlanma enerjisi -8.94 kcal/mol olarak hesaplanmıştır. Priyadarshi ve ark. yaptığı *E. Faecalis*'in alanin rasemazın hem apoenziminin hem de DCS bileşiğinin bulunduğu kristal yapılarının rapor edildiği çalışmada, DCS bileşiğinin aktif bölge rezidüleri **Tyr44** ve **Ser207** ile hidrojen bağı yapmakta olduğu belirlenmiş ve aktif bölgede substratın (piridoksal 5'-fosfat) **His169** ve **Ala208** hidrojen bağı oluşturduğu gözlenmiştir. Aynı zamanda enzim yapısındaki substratın **Arg139** ve **Arg222** amino asitleri ile etkileşime girdiği gözlenmiştir (108). Ligand bileşikler arasında 9 numaralı ligand bileşiği bağlanma bölgesinde bulunan ve inhibisyon mekanizmasında oldukça önemli rol oynayan **Arg139**, **His169**, **Ser207** amino asitleri ile bağlanma göstermiştir. Kumari ve ark. (174) da çalışmalarında *E. Faecalis* alanin rasemazı hücre duvarı sentezindeki rolünden dolayı hedef enzim olarak belirlenmiştir. Doğal bileşiklerin inhibitör olarak seçildiği çalışmada, tez çalışmamızın sonuçlarıyla ortak olarak **Ser207** ve **Arg222** ile hidrojen bağı oluşmuştur. Böylece yapılan bu tez çalışması literatürde yapılan çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.

Moleküler kenetlenme analizi sonucunda Esp enzimi için en yüksek bağlanma enerjisine sahip bileşik CHX olup bağlanma enerjisi -12.09 kcal/mol olarak hesaplanmıştır. Flavonoid ve kalkon türevli bileşikler arasından da -9.81 kcal/mol bağlanma enerjisi ile en yüksek bağlanma enerjisine sahip 20 numaralı ligand bileşiği belirlenmiştir. Windaryanti ve ark. (175) yaptığı çalışmada doğal kaynaklı P. Betel L. bileşiğinin (24-propilkolesterol) *E. Faecalis* Esp enzimine karşı *in vitro* antibakteriyel ve *in siliko* antibiyofilm ajanları olarak potansiyelini incelemişlerdir. 24-propilkolesterol bileşiği de tez çalışmamızda 20 numaralı bileşik ile ortak olarak **Thr442** ile hidrojen bağı oluşturmuştur. Kontrol grubu olarak kullanılan kuarsetin bileşiği **Tyr214**, **Leu238** ve **His260** amino asitleri ile oluşturan hidrojen bağları da 20 numaralı bileşiğin yaptığı bağlarla ortak olarak bulunmuştur. Böylece yapılan bu tez çalışması literatürde yapılan çalışma ile uyumlu bulunmuştur.

Bu tez çalışmasında, süt dişlerinin pulpal tedavilerinde kullanılan antimikrobiyallerin kullanımı sonucu gelişen yan etkiler ve dezavantajlardan dolayı alternatif yeni ve doğal içerikli bileşiklerin moleküler modelleme yöntemleri ile daha hızlı ve güvenilir bir şekilde farmakokinetik ve farmakodinamik açıdan incelenmiştir. Bu çalışma ile süt dişi pulpal enfeksiyonlarında önemli rol oynayan *E. Faecalis* hedef enzimleri ile referans ve kontrol

grubu bileşiklere göre daha yüksek bağlanma afinitesi gösteren ve farmakokinetik açıdan uygun bulunan ilaç potansiyeli olan yeni bileşikler deneysel çalışmalara yönlendirilmiştir. Bu sayede, süt dişi pulpal enfeksiyonların tedavisi için güvenilir, etkinliği yüksek ve yan etkileri azaltılmış yeni antimikrobiyal ajanların geliştirilmesine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Farklı antimikrobiyal ajanların *E. Faecalis* enzimi üzerine inhibitör etkilerinin *in siliko* modelleme yöntemi ile incelendiği çalışmamızdaki sonuçlar şu şekildedir:

- Süt dişlerinde *E. Faecalis*'in yaygın olarak bulunduğu pulpal enfeksiyonların tedavisi için kullanılan kombine antibiyotikli patların ve antimikrobiyal ajanların (metronidazol, amoksisilin trihidrat, doksisisiklin, CHX ve siprofloksasin) dişlerde renklenme, kullanılan ilaca karşı direnç ve alerjik reaksiyon gelişimi gibi dezavantajlardan dolayı alternatif kullanılabilecek ilaç potansiyeli olan doğal kaynaklı bileşiklerin; genişletilmiş etki spektrumu, azaltılmış yan etki, hedef enzimlere spesifik bağlanma ve hedef enzimi inhibe etme gibi avantajları sayesinde ilerde antimikrobiyal ajanların tasarımı ve geliştirilmesinde önemli bilimsel fayda sağlayabileceği öngörülmektedir.
- *Enterococcus Faecalis* enzimlerini inhibe eden yeni antimikrobiyal ajanlar geliştirmek amacıyla moleküler modelleme yöntemi olan moleküler kenetlenmeden faydalanılarak enzimlerin temel yapısı ve bağlanma mekanizmaları moleküler düzeyde aydınlatılmaya çalışılmıştır.
- Flavonoid ve kalkon türevli ligand bileşiklerin ADMET analizleri sonucunda dönebilir bağ sayıları, alıcı ve verici hidrojen bağ sayıları, moleküler ağırlıkları, lipofilité kabiliyetleri, kutuplaşmış yüzey alanları, moleküler refraktiviteleri ve Lipinski kurallarına uyumluluğu gibi önemli özellikleri kombine antibiyotikli patlar ve antimikrobiyal ajanlardan (metronidazol, amoksisilin trihidrat, doksisisiklin, CHX, siprofloksasin) daha üstün bulgulanması nedeni ile bu bileşiklerin ilaç olarak tasarımına ve geliştirilmesine katkıda bulunulabileceği düşünülmektedir.
- Moleküler kenetlenme sonuçlarına göre, *E. Faecalis* enzim hedeflerine yönelik taranan flavonoid ve kalkon türevli 20 ligand bileşiği içerisinde en etkin değerlendirilen 2 numaralı ($C_{15}H_{11}BrO_2$), 9 numaralı ($C_{15}H_{11}NO_4$) ve 20 numaralı ($C_{16}H_{13}BrO_3$) ligand bileşikleri (DFHR enzimi için 9, KASIII enzimi için 2, agmatin deiminaz enzimi için 20, alanin rasemaz enzimi için 9 ve Esp enzimi için 20 numaralı ligand bileşiği) ilaç potansiyelli geliştirilebilecek inhibitör bileşikler olarak aday gösterilebilir. (Tablo 4.2, Tablo 4.4, Tablo 4.6, Tablo 4.8, Tablo 4.10)
- Bu tez çalışmasının sınırlılıklarından birincisi, flavonoid ve kalkon türevli bileşiklerin, spesifik bir bakterinin belirli enzimleri üzerindeki inhibisyonunun

değerlendirmesi olarak tasarlanmıştır bu nedenle bu spesifik etkileşimler biyofilmden bulunan patojen mikroorganizmaların eliminasyonunda tek başına yeterli bulunamayabilir. İkinci sınırlılık ise inhibisyon mekanizması bilgisayar destekli ilaç tasarımı ile dijital ortamda gerçekleştirilip değerlendirilmiştir bundan dolayı bu çalışmada geçen flavonoid ve kalkon türevli bileşiklerin *in situ* ve *in vivo* deneyler ile desteklenmesi gerekmektedir.

- İlaç tasarımında ve geliştirilmesinde uzun süreç gerektiren *in vitro* ve *in vivo* incelemelerin öncüsü olarak moleküler modelleme yöntemlerinden faydalanılması hedef enzim için spesifik ve etkili inhibitör bileşiklerin değerlendirilmesi; yeni geliştirilen bilgisayar destekli yöntemler ile çok sayıda inhibitör potansiyelli ligandın hızlı bir şekilde analiz edilmesi ile sürecin kısaltılması ve maliyetin azaltılması kavramları önerilebilir.

7. KAYNAKLAR

1. Rodd HD, Waterhouse PJ, Fuks AB, Fayle SA, Moffat MA (2006). Pulp therapy for primary molars. *International Journal of Paediatric Dentistry* 16: 15–23.
2. Fuks AB (2000). Pulp therapy for the primary and young permanent dentitions. *Dental clinics of North America* 44: 571–596.
3. Şengüler B, Seyedorskuyi V, Akkuş G, Akdağ B, Doğan E, Aslantaş A, Ak AT (2022). Pediatrik diş hekimliğinde lezyon sterilizasyonu ve doku tamiri. *Aydın Dental Journal* 8: 27–41.
4. Kayalvizhi G, Subramaniyan B, Suganya G (2013). Topical application of antibiotics in primary teeth: an overview. *Journal of Dentistry for Children* 80: 71–79.
5. Goswami S (2018). Lesion sterilization and tissue repair in pediatric dentistry. *SRM Journal of Research in Dental Sciences* 9: 79–82.
6. Nakornchai S, Banditsing P, Visetratana N (2010). Clinical evaluation of 3Mix and Vitapex® as treatment options for pulpally involved primary molars. *International Journal of Paediatric Dentistry* 20: 214–221.
7. Albrecht LJ, Baumgartner JC, Marshall JG (2004). Evaluation of apical debris removal using various sizes and tapers of ProFile GT files. *Journal of endodontics* 30: 425–428.
8. LC de P (2007). Redefining the persistent infection in root canals: possible role of biofilm communities. *Journal of Endodontics* 33: 652–662.
9. Swimberghe RCD, Coenye T, De Moor RJG, Meire MA (2019). Biofilm model systems for root canal disinfection: a literature review. *International Endodontic Journal* 52: 604–628.
10. Duggan JM, Sedgley CM (2007). Biofilm formation of oral and endodontic *Enterococcus faecalis*. *Journal of endodontics* 33: 815–818.
11. Kitchen DB, Decornez H, Furr JR, Bajorath J (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nature reviews Drug discovery* 3: 935–949.

12. Lengauer T, Rarey M (1996). Computational methods for biomolecular docking. *Current opinion in structural biology* 6: 402–406.
13. Aşık A, Önçağ Ö (2022). Alternative endodontic technique in pediatric dentistry: lesion sterilization and tissue repair. *Clinical Dentistry Reviewed* 6: 6–11.
14. Northway WM, Wainright RW (1980). DE space a realistic measure of changes in arch morphology: space loss due to unattended caries. *Journal of dental research* 59: 1577–1580.
15. American Academy of Pediatric Dentistry (2023). Management of the developing dentition and occlusion in pediatric dentistry. The reference manual of pediatric dentistry. Chicago, Ill.: *American Academy of Pediatric Dentistry* 3: 83.
16. Souza JGS, Souza SE, Noronha M dos S, Ferreira EF e, Martins AME De BL (2018). Impact of untreated dental caries on the daily activities of children. *Journal of public health dentistry* 78: 197–202.
17. Holan G, Fuks AB (1993). A comparison of pulpectomies using ZOE and KRI paste in primary molars: a retrospective study. *Pediatric dentistry* 15: 403–407.
18. Seltzer S, Bender IB, Ziontz M (1963). The dynamics of pulp inflammation: correlations between diagnostic data and actual histologic findings in the pulp. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 16: 846–871.
19. American Association of Endodontists (2020). *Glossary of endodontic terms* American Association of Endodontists.
20. Berman LH R (2020). Diagnosis. In: Cohen's Pathway of the Pulp, 12th Ed. (H. Berman LH, editor) Elsevier, St. Louis, Missouri; Sayfa 2-31.
21. Rees JS, Addy M (2002). A cross- sectional study of dentine hypersensitivity. *Journal of clinical periodontology* 29: 997–1003.
22. Sert T (2018). Süt azı dişlerinde pulpanın sağlık durumunun belirlenmesinde pulse oksimetrenin başarısının değerlendirilmesi. Uzmanlık tezi, Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı, Kırıkkale
23. Torabinejad M, Fouad AF, Shabahang S (2020). Endodontics e-book: Principles and practice Elsevier Health Sciences, 1-22.

24. Von Böhl M, Ren Y, Fudalej PS, Kuijpers-Jagtman AM (2012). Pulpal reactions to orthodontic force application in humans: a systematic review. *Journal of Endodontics* 38: 1463–1469.
25. Kaan Aşçı S (2014). Endodonti. Quintessence yayıncılık, İstanbul; Sayfa: 167-184.
26. Roberson TM, Heymann H, Swift EJ (2002). Art and Science of Operative Dentistry. 4th ed. Mosby, St. Louis, Missouri; Sayfa: 69-74.
27. Garg N, Garg A (2010). Text Book of Endodontics. 2nd ed. Jaypee Brothers Medical Publishers, New Delhi; Sayfa: 150-172.
28. Siqueira Jr JF, Rôças IN (2003). PCR methodology as a valuable tool for identification of endodontic pathogens. *Journal of dentistry* 31: 333–339.
29. Hoshino E, Ando N, Sato M, Kota K (1992). Bacterial invasion of non- exposed dental pulp. *International endodontic journal* 25: 2–5.
30. Siqueira Jr JF, Rôças IN, Favieri A, Lima KC (2000). Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. *Journal of endodontics* 26: 331–334.
31. Zoletti GO, Siqueira Jr JF, Santos KRN (2006). Identification of *Enterococcus faecalis* in root-filled teeth with or without periradicular lesions by culture-dependent and independent approaches. *Journal of endodontics* 32: 722–726.
32. Cihangir İ (2021). Süt dişi kanal tedavisinde irrigasyon amacıyla kullanılan kitosan ve papain içerikli maddelerin antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirilmesi. Uzmanlık tezi, Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Pedodonti Anabilim Dalı, Kayseri
33. Rôças IN, Siqueira Jr JF, Santos KRN (2004). Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *Journal of endodontics* 30: 315–320.
34. Love RM (2001). *Enterococcus faecalis* a mechanism for its role in endodontic failure. *International endodontic journal* 34: 399–405.
35. Hubble TS, Hatton JF, Nallapareddy SR, Murray BE, Gillespie MJ (2003). Influence of *Enterococcus faecalis* proteases and the collagen- binding protein, Ace, on adhesion to dentin. *Oral microbiology and immunology* 18: 121–126.

36. Portenier I, Waltimo T, Ørstavik D, Haapasalo M (2005). The susceptibility of starved, stationary phase, and growing cells of *Enterococcus faecalis* to endodontic medicaments. *Journal of endodontics* 31: 380–386.
37. Ørstavik D, Haapasalo M (1990). Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Dental Traumatology* 6: 142–149.
38. Haapasalo M, Ørstavik D (1987). In vitro infection and of dentinal tubules. *Journal of dental research* 66: 1375–1379.
39. Lin Y, Mickel AK, Chogle S (2003). Effectiveness of selected materials against *Enterococcus faecalis*: part 3. The antibacterial effect of calcium hydroxide and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*. *Journal of endodontics* 29: 565–566.
40. Evans M, Davies JK, Sundqvist G, Figdor D (2002). Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *International endodontic journal* 35: 221–228.
41. McHugh CP, Zhang P, Michalek S, Eleazer PD (2004). pH required to kill *Enterococcus faecalis* in vitro. *Journal of Endodontics* 30: 218–219.
42. Distel JW, Hatton JF, Gillespie MJ (2002). Biofilm formation in medicated root canals. *Journal of endodontics* 28: 689–693.
43. Shamma BM, Kurdi S Al, Rajab A, Arrag EA (2023). Evaluation of antibacterial effects of different intracanal medicaments on *Enterococcus faecalis* in primary teeth: An in vitro study. *Clinical and Experimental Dental Research* 9: 341–348.
44. Çoğulu D, Ataç U, Önçağ O, Aksoy S, Eronat C (2007). Detection of *Enterococcus faecalis* in necrotic teeth root canals by culture and polymerase chain reaction methods. *European journal of dentistry* 1: 216–221.
45. Çoğulu D, Uzel A, Önçağ O, Eronat C (2008). PCR-based identification of selected pathogens associated with endodontic infections in deciduous and permanent teeth. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology* 106: 443–449.
46. Cancio V, Carvalho Ferreira D de, Cavalcante FS, Rosado AS, Teixeira LM, Braga Oliveira Q, Barcelos R, Gleiser R, Santos HF, Dos Santos KRN (2017). Can the

- Enterococcus faecalis identified in the root canals of primary teeth be a cause of failure of endodontic treatment? *Acta Odontologica Scandinavica* 75: 423–428.
47. Tulsani SG, Chikkanarasaiah N, Bethur S (2014). An in vivo comparison of antimicrobial efficacy of sodium hypochlorite and Biopure MTAD™ against enterococcus faecalis in primary teeth: A qPCR study. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry* 39: 30–34.
 48. American Academy of Pediatric Dentistry (2020). Guideline on pulp therapy for primary and young permanent teeth. *American Academy of Pediatric Dentistry* Chicago, I: 384–392.
 49. Alaçam A (2000). Pedodontide Endodontik Yaklaşımlar. Alaçam A (Ed.), Endodonti. Barış Yayınları, Ankara; Sayfa: 693–722.
 50. Takushige T, Cruz E V., Asgor Moral A, Hoshino E (2004). Endodontic treatment of primary teeth using a combination of antibacterial drugs. *International Endodontic Journal* 37: 132–138.
 51. Dorn SO, Cheung GSP (2015). Management of endodontic emergencies. Hargreaves L In, Berman KM, (Ed.), Cohen's Pathways of the Pulp. Mo: Elsevier, St. Louis; Sayfa:706-721.
 52. Soares J, Santos S, Silveira F, Nunes E (2006). Nonsurgical treatment of extensive cyst- like periapical lesion of endodontic origin. *International Endodontic Journal* 39: 566–575.
 53. Murvindran V, Raj JD (2014). Antibiotics as an intracanal medicament in endodontics. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 6: 297.
 54. Reynolds K, Johnson JD, Cohenca N (2009). Pulp revascularization of necrotic bilateral bicuspid using a modified novel technique to eliminate potential coronal discolouration: a case report. *International endodontic journal* 42: 84–92.
 55. Burrus D, Barbeau L, Hodgson B (2014). Treatment of abscessed primary molars utilizing lesion sterilization and tissue repair: literature review and report of three cases. *Pediatric dentistry* 36: 240–244.
 56. Pinky C, Shashibhushan KK, Subbareddy V V (2011). Endodontic treatment of

- necrosed primary teeth using two different combinations of antibacterial drugs: An: in vivo: study. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry* 29: 121–127.
57. Arangannal P, Muthiah G, Jeevarathan J, Sankar P (2019). Lesion Sterilization and Tissue Repair in Nonvital Primary Teeth: An: In vivo: Study. *Contemporary Clinical Dentistry* 10: 31–35.
 58. Coll JA, Vargas K, Marghalani AA, Chen CY, AlShamali S, Dhar V, Crystal YO (2020). A systematic review and meta-analysis of nonvital pulp therapy for primary teeth. *Pediatric dentistry* 42: 256–461.
 59. Coll JA, Dhar V, Vargas K, Chen CY, Crystal YO, AlShamali S, Marghalani AA (2020). Use of non-vital pulp therapies in primary teeth. *Pediatric dentistry* 42: 337–349.
 60. Windley III W, Teixeira F, Levin L, Sigurdsson A, Trope M (2005). Disinfection of immature teeth with a triple antibiotic paste. *Journal of endodontics* 31: 439–443.
 61. Alam T, Nakazawa F, Nakajo K, Uematsu H, Hoshino E (2005). Susceptibility of *Enterococcus faecalis* to a combination of antibacterial drugs (3Mix) in vitro. *Journal of oral biosciences* 47: 315–320.
 62. Garcia C, Cruz E, Hoshino E (2004). 3Mix Lesion Sterilization and Tissue Repair (LSTR) therapy in extensive caries of deciduous teeth. *The J Philippine Dental Assoc* 56: 4–13.
 63. Persoon IF, Hoogenkamp MA, Bury A, Wesselink PR, Hartog AF, Wever R, Crielaard W (2013). Antimicrobial effect of a modified vanadium chloroperoxidase on *Enterococcus faecalis* biofilms at root canal pH. *Journal of Endodontics* 39: 1035–1038.
 64. Yu W, MacKerell AD (2017). Computer-aided drug design methods. *Antibiotics: methods and protocols* 85–106.
 65. Chen GS, Chern J-W (2007). Computer-aided drug design. NY: Wiley, New Jersey; Sayfa: 89-107.
 66. Dar AM, Mir S (2017). Molecular docking: approaches, types, applications and

basic challenges. *J Anal Bioanal Tech* 8: 1–3.

67. Singh H, Das S, Yadav J, Srivastava VK, Jyoti A, Kaushik S (2021). In silico prediction, molecular docking and binding studies of acetaminophen and dexamethasone to *Enterococcus faecalis* diaminopimelate epimerase. *Journal of Molecular Recognition* 34: e2894.
68. Khan D, Maharaj RT, Moon A, Gajbhiye P, Jariya M (2017). Insilico docking of various inhibitors of *E. faecalis* folate pathway. *International Journal of Scientific and Research Publications* 7: 430.
69. Sahare P, Moon A (2016). In silico modelling of β -lactam resistant *Enterococcus faecalis* PBP4 and its interactions with various phyto-ligands. *Int J Pharm Pharm Sci* 8: 151–155.
70. Singh H, Das S, Gupta PP, Batra S, Prakash R, Srivastava VK, Jyoti A, Gupta V, Kothari SL, Kaushik S (2020). Binding of metronidazole to *Enterococcus faecalis* homoserine kinase: binding studies, docking studies, and molecular dynamics simulation studies. *Pharmacognosy Magazine* 16.
71. Sato I, Ando- Kurihara N, Kota K, Iwaku M, Hoshino E (1996). Sterilization of infected root- canal dentine by topical application of a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline in situ. *International endodontic journal* 29: 118–124.
72. Hoshino E, Kurihara- Ando N, Sato I, Uematsu H, Sato M, Kota K, Iwaku M (1996). In- vitro antibacterial susceptibility of bacteria taken from infected root dentine to a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. *International endodontic journal* 29: 125–130.
73. Nalawade TM, Parikh D, Mallikarjuna RM (2019). Lesion sterilization and tissue repair (LSTR) technique and its clinical application in primary and permanent teeth: A review. *Ann Essence Dent* 11: 1–6.
74. Mohammadi Z, Abbott P V (2009). On the local applications of antibiotics and antibiotic- based agents in endodontics and dental traumatology. *International endodontic journal* 42: 555–567.

75. Sato T, Hoshino E, Uematsu H, Kota K, Iwaku M, Noda T (1992). Bactericidal efficacy of a mixture of ciprofloxacin, metronidazole, minocycline and rifampicin against bacteria of carious and endodontic lesions of human deciduous teeth in vitro. *Microbial ecology in Health and Disease* 5: 171–177.
76. Ruparel NB, Teixeira FB, Ferraz CCR, Diogenes A (2012). Direct effect of intracanal medicaments on survival of stem cells of the apical papilla. *Journal of endodontics* 38: 1372–1375.
77. Nanda R, Koul M, Srivastava S, Upadhyay V, Dwivedi R (2014). Clinical evaluation of 3 Mix and Other Mix in non-instrumental endodontic treatment of necrosed primary teeth. *Journal of oral biology and craniofacial research* 4: 114–119.
78. Anila B, Murali H, Cheranjeevi J, Kapil RS (2020). Lesion sterilization and tissue repair (LSTR): A review. *Journal of Scientific Dentistry* 4: 49–55.
79. Gomes BPFA, Vianna ME, Zaia AA, Almeida JFA, Souza-Filho FJ, Ferraz CCR (2013). Chlorhexidine in endodontics. *Brazilian dental journal* 24: 89–102.
80. Walsh T, Oliveira- Neto JM, Moore D (2015). Chlorhexidine treatment for the prevention of dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 4.
81. Athanassiadis B, Abbott P V, Walsh LJ (2007). The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. *Australian dental journal* 52: S64–S82.
82. Mohammadi Z, Abbott P V (2009). The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. *International endodontic journal* 42: 288–302.
83. Slot DE, Vaandrager NC, Van Loveren C, Van Palenstein Helderman WH, Van der Weijden GA (2011). The effect of chlorhexidine varnish on root caries: a systematic review. *Caries research* 45: 162–173.
84. Manipal S, Hussain S, Wadgave U, Duraiswamy P, Ravi K (2016). The mouthwash war-chlorhexidine vs. herbal mouth rinses: A meta-analysis. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR* 10: ZC81.

85. Siqueira Jr JF, Paiva SSM, Rôças IN (2007). Reduction in the cultivable bacterial populations in infected root canals by a chlorhexidine-based antimicrobial protocol. *Journal of Endodontics* 33: 541–547.
86. Gomes BPFA, Aveiro E, Kishen A (2023). Irrigants and irrigation activation systems in endodontics. *Brazilian Dental Journal* 34: 1–33.
87. Estrela C, Ribeiro RG, Estrela CRA, Pécora JD, Sousa-Neto MD (2003). Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine tested by different methods. *Brazilian dental journal* 14: 58–62.
88. Li W, Liu H, Xu Q (2012). Extracellular dextran and DNA affect the formation of *Enterococcus faecalis* biofilms and their susceptibility to 2% chlorhexidine. *Journal of endodontics* 38: 894–898.
89. Tüzüner T, Ulusoy AT, Baygin O, Yahyaoglu G, Yalcin I, Buruk K, Nicholson J (2013). Direct and transdentinal (indirect) antibacterial activity of commercially available dental gel formulations against *Streptococcus mutans*. *Medical principles and practice* 22: 397–401.
90. Pande AN, Biswas S, Reddy ND, Jayashree BS, Kumar N, Rao CM (2017). In vitro and in vivo anticancer studies of 2'-hydroxy chalcone derivatives exhibit apoptosis in colon cancer cells by HDAC inhibition and cell cycle arrest. *EXCLI journal* 16: 448.
91. Manzo E (2021). Synthesis of marine natural products and molecules inspired by marine substances. *Marine Drugs* 19.
92. Imperatore C, Della Sala G, Casertano M, Luciano P, Aiello A, Laurenzana I, Piccoli C, Menna M (2019). In Vitro Antiproliferative Evaluation of Synthetic Meroterpenes Inspired by Marine Natural Products. *Marine Drugs* 17: 684.
93. Aiello P, Sharghi M, Mansourkhani SM, Ardekan AP, Jouybari L, Daraei N, Peiro K, Mohamadian S, Rezaei M, Heidari M (2019). Medicinal plants in the prevention and treatment of colon cancer. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 1: 2075614.
94. Yao H, Xu W, Shi X, Zhang Z (2011). Dietary flavonoids as cancer prevention

- agents. *Journal of Environmental Science and Health, Part C* 29: 1–31.
95. Satari A, Ghasemi S, Habtemariam S, Asgharian S, Lorigooini Z (2021). Rutin: A flavonoid as an effective sensitizer for anticancer therapy; insights into multifaceted mechanisms and applicability for combination therapy. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 1: 9913179.
 96. Yang W-Y, Kim C-K, Ahn C-H, Kim H, Shin J, Oh K-B (2016). Flavonoid glycosides inhibit sortase A and sortase A-mediated aggregation of *Streptococcus mutans*, an oral bacterium responsible for human dental caries. *Journal of microbiology and biotechnology* 26: 1566–1569.
 97. Yamini L, Vijjulatha M (2008). Inhibitors of human dihydrofolate reductase: a computational design and docking studies using glide. *Journal of Chemistry* 5: 263–270.
 98. He J, Qiao W, An Q, Yang T, Luo Y (2020). Dihydrofolate reductase inhibitors for use as antimicrobial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* 195: 112268.
 99. Basak T, Nath V, Kumar V, Goyal AK (2021). In silico identification of antifungal compounds as mutant DHFRase inhibitors: structure-based approach, molecular dynamics simulation and structural integrity analysis. *Journal of Computational Biophysics and Chemistry* 20: 589–602.
 100. Cody V, Schwalbe CH (2006). Structural characteristics of antifolate dihydrofolate reductase enzyme interactions. *Crystallography Reviews* 12: 301–333.
 101. Jeong K-W, Lee J-Y, Kang D-I, Lee J-U, Shin SY, Kim Y (2009). Screening of flavonoids as candidate antibiotics against *Enterococcus faecalis*. *Journal of natural products* 72: 719–724.
 102. Gajiwala KS, Margosiak S, Lu J, Cortez J, Su Y, Nie Z, Appelt K (2009). Crystal structures of bacterial FabH suggest a molecular basis for the substrate specificity of the enzyme. *FEBS letters* 583: 2939–2946.
 103. Sakakibara Y, Yanagisawa H (2003). Agmatine deiminase from cucumber seedlings is a mono-specific enzyme: purification and characteristics. *Protein expression and purification* 30: 88–93.

104. Llácer JL, Polo LM, Tavárez S, Alarcón B, Hilario R, Rubio V (2007). The gene cluster for agmatine catabolism of *Enterococcus faecalis*: study of recombinant putrescine transcarbamylase and agmatine deiminase and a snapshot of agmatine deiminase catalyzing its reaction 1254–1265.
105. Jayalakshmi S, Narendran K, Sukumar E, Irshad Ahamed J, Nivedhitha MS, Rajesh Kumar S (2021). Molecular docking studies, in vitro-brine shrimp lethal assay and antibacterial assessment of embelin, vilangin and phenyl vilangin against endodontic pathogen, *Enterococcus faecalis*. *Research on Chemical Intermediates* 47: 4855–4878.
106. Das K, Butler GH, Kwiatkowski V, Clark AD, Yadav P, Arnold E (2004). Crystal structures of arginine deiminase with covalent reaction intermediates: implications for catalytic mechanism. *Structure* 12: 657–667.
107. Meziane-Cherif D, Stogios PJ, Evdokimova E, Egorova O, Savchenko A, Courvalin P (2015). Structural and functional adaptation of vancomycin resistance VanT serine racemases. *MBio* 6: 10–1128.
108. Priyadarshi A, Lee EH, Sung MW, Nam KH, Lee WH, Kim EE, Hwang KY (2009). Structural insights into the alanine racemase from *Enterococcus faecalis*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics* 1794: 1030–1040.
109. Ondrechen MJ, Briggs JM, McCammon JA (2001). A model for enzyme– substrate interaction in alanine racemase. *Journal of the American Chemical Society* 123: 2830–2834.
110. Donlan RM, Costerton JW (2002). Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical microbiology reviews* 15: 167–193.
111. Whitchurch CB, Tolker-Nielsen T, Ragas PC, Mattick JS (2002). Extracellular DNA required for bacterial biofilm formation. *Science* 295: 1487.
112. Parsek MR, Singh PK (2003). Bacterial biofilms: an emerging link to disease pathogenesis. *Annual Reviews in Microbiology* 57: 677–701.
113. Ghameshlouei S, Ahrabi NZ, SarveAhrabi Y (2021). In vitro and in silico evaluation of biological activity of a new series of oxadiazole compounds against Esp gene

- expression in *Enterococcus faecalis* biofilm. *Gene, Cell and Tissue* 8: 2.
114. Toledo-Arana A, Valle J, Solano C, Arrizubieta MJ, Cucarella C, Lamata M, Amorena B, Leiva J, Penadés JR, Lasa I (2001). The enterococcal surface protein, Esp, is involved in *Enterococcus faecalis* biofilm formation. *Applied and environmental microbiology* 67: 4538–4545.
 115. Bayel Secinti B, Tatar G, Taskin Tok T (2019). Determination of potential selective inhibitors for ROCKI and ROCKII isoforms with molecular modeling techniques: structure based docking, ADMET and molecular dynamics simulation. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 37: 2457–2463.
 116. Anand P, Nagarajan D, Mukherjee S, Chandra N (2014). ABS–Scan: In silico alanine scanning mutagenesis for binding site residues in protein–ligand complex. *F1000Research* 3.
 117. Agamah FE, Mazandu GK, Hassan R, Bope CD, Thomford NE, Ghansah A, Chimusa ER (2020). Computational/in silico methods in drug target and lead prediction. *Briefings in bioinformatics* 21: 1663–1675.
 118. Katsila T, Spyroulias GA, Patrinos GP, Matsoukas M-T (2016). Computational approaches in target identification and drug discovery. *Computational and structural biotechnology journal* 14: 177–184.
 119. Meng X-Y, Zhang H-X, Mezei M, Cui M (2011). Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. *Current computer-aided drug design* 7: 146–157.
 120. De Ruyck J, Brysbaert G, Blossey R, Lensink MF (2016). Molecular docking as a popular tool in drug design, an in silico travel. *Advances and Applications in Bioinformatics and Chemistry* 1–11.
 121. Coleman RG, Carchia M, Sterling T, Irwin JJ, Shoichet BK (2013). Ligand pose and orientational sampling in molecular docking. *PloS one* 8: e75992.
 122. Kramer B, Rarey M, Lengauer T (1999). Evaluation of the FLEXX incremental construction algorithm for protein–ligand docking. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* 37: 228–241.

123. Jones G, Willett P, Glen RC, Leach AR, Taylor R (1997). Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking. *Journal of molecular biology* 267: 727–748.
124. Friesner RA, Banks JL, Murphy RB, Halgren TA, Klicic JJ, Mainz DT, Repasky MP, Knoll EH, Shelley M, Perry JK (2004). Glide: a new approach for rapid, accurate docking and scoring. 1. Method and assessment of docking accuracy. *Journal of medicinal chemistry* 47: 1739–1749.
125. Morris GM, Huey R, Lindstrom W, Sanner MF, Belew RK, Goodsell DS, Olson AJ (2009). AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of computational chemistry* 30: 2785–2791.
126. Abagyan R, Totrov M, Kuznetsov D (1994). ICM—A new method for protein modeling and design: Applications to docking and structure prediction from the distorted native conformation. *Journal of computational chemistry* 15: 488–506.
127. Molecular Operating Environment IC-AMD (2019). [online]. Available from: [Http://www.chemcomp.com](http://www.chemcomp.com). [Accessed 7 March 2024]
128. Kerns EH (2001). High throughput physicochemical profiling for drug discovery. *Journal of pharmaceutical sciences* 90: 1838–1858.
129. Thompson TN (2001). Optimization of metabolic stability as a goal of modern drug design. *Medicinal research reviews* 21: 412–449.
130. Gleeson MP (2008). Generation of a set of simple, interpretable ADMET rules of thumb. *Journal of medicinal chemistry* 51: 817–834.
131. Pollastri MP (2010). Overview on the rule of five. *Current protocols in pharmacology* 49: 9–12.
132. Karakuş S, Tok F, Türk S, Salva E, Tatar G, Taskın-Tok T, Kocyigit-Kaymakcioglu B (2018). Synthesis, anticancer activity and ADMET studies of N-(5-methyl-1, 3, 4-thiadiazol-2-yl)-4-[(3-substituted) ureido/thioureido] benzenesulfonamide derivatives. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements* 193: 528–534.
133. Daina A, Michielin O, Zoete V (2017). SwissADME: a free web tool to evaluate

- pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific reports* (Vol. 7), Nature Publishing Group UK London.
134. Tatar Yilmaz G, Yayli N, Tüzüner T, Bozdal G, Salmanli M, Renda G, Korkmaz B, Bozdeveci A, Alpay Karaoğlu Ş (2024). Synthesis, Antimicrobial Activities, and Molecular Modeling Studies of Agents for the Sortase A Enzyme. *Chemistry and Biodiversity* e202301659.
 135. Stanzione F, Giangreco I, Cole JC (2021). Use of molecular docking computational tools in drug discovery. *Progress in Medicinal Chemistry* 60: 273–343.
 136. UniProt: the universal protein knowledgebase in 2023 (2023). *Nucleic acids research* (Vol. 51), Oxford University Press. [Accessed 7 March 2024]
 137. Bourne CR, Wakeham N, Webb N, Nammalwar B, Bunce RA, Berlin KD, Barrow WW (2014). The structure and competitive substrate inhibition of dihydrofolate reductase from *Enterococcus faecalis* reveal restrictions to cofactor docking. *Biochemistry* 53: 1228–1238.
 138. Beierlein JM, Karri NG, Anderson AC (2010). Targeted mutations of bacillus anthracis dihydrofolate reductase condense complex structure– activity relationships. *Journal of medicinal chemistry* 53: 7327–7336.
 139. Berman HM, Westbrook J, Feng Z, Gilliland G, Bhat TN, Weissig H, Shindyalov IN, Bourne PE (2000). The protein data bank. *Nucleic acids research* 28: 235–242.
 140. BIOVIA (2021). Biovia Discovery Studio 2021 Client. *Dassault Systèmes: San Diego, CA, USA*.
 141. Dolinsky TJ, Nielsen JE, McCammon JA, Baker NA (2004). PDB2PQR: an automated pipeline for the setup of Poisson–Boltzmann electrostatics calculations. *Nucleic acids research* 32: W665–W667.
 142. Deus FP, Ouanounou A (2022). Chlorhexidine in dentistry: pharmacology, uses, and adverse effects. *International dental journal* 72: 269–277.
 143. Kim S, Chen J, Cheng T, Gindulyte A, He J, He S, Li Q, Shoemaker BA, Thiessen PA, Yu B (2023). PubChem 2023 update. *Nucleic acids research* 51: D1373–D1380.

144. Ravindranath PA, Forli S, Goodsell DS, Olson AJ, Sanner MF (2015). AutoDockFR: Advances in protein-ligand docking with explicitly specified binding site flexibility. *PLoS computational biology* 11: e1004586.
145. Bektaş Ö (2023). Süt dişi endodontik tedavisinde alternatif bir yaklaşım: lezyon sterilizasyonu ve doku tamiri tekniği. *HRU International Journal of Dentistry and Oral Research* 3: 166-172.
146. Fuks AB, Peretz B, Teeth YP (2016). Pediatric Endodontics. Current Concepts in Pulp Therapy for Primary and Young Permanent Teeth. Editorial Springer, Israel; Sayfa: 23-36.
147. Cameron AC, Widmer RP (2013). Handbook of pediatric dentistry. 4th ed. Elsevier Health Sciences, Canberra; Sayfa: 103-122.
148. Shetty AA, Geethanjali G, Hegde AM (2020). Lesion sterilization and tissue repair in primary teeth. *SRM Journal of Research in Dental Sciences* 11: 99–105.
149. Khubchandani M, Jain S, Dahiya P, Khilji I, Teja MS, Nadeshwari G (2021). LSTR-lesion sterilization and tissue repair a tool in taming the LEO (Lesions of Endodontic Origin)-a review. *Int J Med Dent Res* 1: 9–15.
150. Francisco PA, Fagundes PI da G, Lemes-Junior JC, Lima AR, Passini MRZ, Gomes BPFA (2021). Pathogenic potential of *Enterococcus faecalis* strains isolated from root canals after unsuccessful endodontic treatment. *Clinical Oral Investigations* 1–9.
151. Betal SK, Ahuja V (2022). Antibiotic usage in pediatric dentistry: A review. *The Journal of Dental Panacea* 4: 64–69.
152. Parasuraman VR, Muljibhai BS (2012). 3Mix-MP in Endodontics–An overview. *J Dent Med Sci* 3: 36–45.
153. Sato T, Hoshino E, Uematsu H, Noda T (1993). In vitro antimicrobial susceptibility to combinations of drugs of bacteria from carious and endodontic lesions of human deciduous teeth. *Oral microbiology and immunology* 8: 172–176.
154. Duarte ML, Pires PM, Ferreira DM, Pintor AVB, de Almeida Neves A, Maia LC, Primo LG (2020). Is there evidence for the use of lesion sterilization and tissue

repair therapy in the endodontic treatment of primary teeth? A systematic review and meta-analyses. *Clinical oral investigations* 24: 2959–2972.

155. Jaya AR, Praveen P, Anantharaj A, Venkataraghavan K, Prathibha Rani S (2012). In vivo evaluation of lesion sterilization and tissue repair in primary teeth pulp therapy using two antibiotic drug combinations. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry* 37: 189–191.
156. Grewal N, Sharma N, Chawla S (2018). Comparison of resorption rate of primary teeth treated with alternative lesion sterilization and tissue repair and conventional endodontic treatment: An: in vivo: randomized clinical trial. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry* 36: 262–267.
157. Sain S, J R, S A, George S, Issac JS, John SA (2018). Lesion Sterilization and Tissue Repair–Current Concepts and Practices. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry* 11: 446–450.
158. Trairatvorakul C, Sastararui T (2014). Indirect pulp treatment vs antibiotic sterilization of deep caries in mandibular primary molars. *International journal of paediatric dentistry* 24: 23–31.
159. Ferreira LLG, Andricopulo AD (2019). ADMET modeling approaches in drug discovery. *Drug discovery today* 24: 1157–1165.
160. Xiong G, Wu Z, Yi J, Fu L, Yang Z, Hsieh C, Yin M, Zeng X, Wu C, Lu A (2021). ADMETlab 2.0: an integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties. *Nucleic acids research* 49: W5–W14.
161. Xu M, Wu P, Shen F, Ji J, Rakesh KP (2019). Chalcone derivatives and their antibacterial activities: Current development. *Bioorganic Chemistry* 91: 103133.
162. Gomes MN, Muratov EN, Pereira M, Peixoto JC, Rosseto LP, Cravo PVL, Andrade CH, Neves BJ (2017). Chalcone derivatives: promising starting points for drug design. *Molecules* 22: 1210.
163. Gao F, Huang G, Xiao J (2020). Chalcone hybrids as potential anticancer agents: Current development, mechanism of action, and structure- activity relationship. *Medicinal Research Reviews* 40: 2049–2084.

164. Henry EJ, Bird SJ, Gowland P, Collins M, Cassella JP (2020). Ferrocenyl chalcone derivatives as possible antimicrobial agents. *The Journal of antibiotics* 73: 299–308.
165. Lin Y, Zhang M, Lu Q, Xie J, Wu J, Chen C (2019). A novel chalcone derivative exerts anti-inflammatory and anti-oxidant effects after acute lung injury. *Aging (Albany NY)* 11: 7805.
166. Rocha S, Ribeiro D, Fernandes E, Freitas M (2020). A systematic review on anti-diabetic properties of chalcones. *Current medicinal chemistry* 27: 2257–2321.
167. Mahapatra DK, Bharti SK, Asati V (2017). Chalcone derivatives: anti-inflammatory potential and molecular targets perspectives. *Current topics in medicinal chemistry* 17: 3146–3169.
168. Tatar G, Salmanli M, Dogru Y, Tuzuner T (2022). Evaluation of the effects of chlorhexidine and several flavonoids as antiviral purposes on SARS-CoV-2 main protease: molecular docking, molecular dynamics simulation studies. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 40: 7656–7665.
169. Salmanli M, Tatar Yilmaz G, Tuzuner T (2021). Investigation of the antimicrobial activities of various antimicrobial agents on Streptococcus Mutans Sortase A through computer-aided drug design (CADD) approaches. *Computer Methods and Programs in Biomedicine* 212: 106454.
170. Tempone AG, dos Santos Theodoro R, Romanelli MM, Ferreira DAS, Amaral M, de Assis LR, Santa Cruz LM, Costa AR, Zanella RC, Christodoulides M (2022). A new reduced chalcone-derivative affects the membrane permeability and electric potential of multidrug-resistant Enterococcus faecalis. *Chemico-Biological Interactions* 365: 110086.
171. Pereira D, Durães F, Szemerédi N, Freitas-da-Silva J, Pinto E, Martins-da-Costa P, Pinto M, Correia-da-Silva M, Spengler G, Sousa E (2022). New chalcone–triazole hybrids with promising antimicrobial activity in multidrug resistance strains. *International Journal of Molecular Sciences* 23: 14291.
172. Graciani J, Rosalen PL, de Oliveira Chaves dos Santos E, Rocha KAP, Balen BRT, Garcia MAR, Lazarini JG, da Silva DR, Carvalho SG, Regasini LO (2023). Evaluation of efficacy of new chalcone-based endodontic irrigant against dual

- biofilm *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*: a study in vitro. *Odontology* 111: 573–579.
173. Moon A, Khan D, Gajbhiye P, Jariya M (2017). Insilico docking of various inhibitors of *E. Faecalis* folate pathway. *International Journal of Scientific and Research Publications* 7.
174. Kumari R, Mishra RC, Yadav S, Yadav JP (2019). Exploring molecular docking studies of alanine racemase inhibitors from *elettaria cardamomum*. *Current Enzyme Inhibition* 15: 91–102.
175. Windaryanti D, Gabriel CS, Hidayat IW, Zainuddin A, Dharsono HDA, Satari MH, Kurnia D (2022). The potential of 24-propylcholesterol as antibacterial oral bacteria of *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 and inhibitor biofilms formation: in vitro and in silico Study. *Advances and Applications in Bioinformatics and Chemistry* 99–111.

