

Yeni CDK₂ İnhibitörlerinin Keşfedilmesi İçin Bazı Piridazin Türevi Bileşiklerin SAR Analizi ve Kenetlenme Çalışması

Vildan ENİSOĞLU ATALAY*¹, Yeşim AYIK¹

¹Üsküdar Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 34662, İstanbul, Türkiye

(Alınış / Received: 07.01.2022, Kabul / Accepted: 17.05.2022, Online Yayınlanma / Published Online: 20.08.2022)

Anahtar Kelimeler

Piridazin,
Moleküler kenetlenme,
CDK₂,
Antikanser

Öz: Doğada nadir olarak bulunan ve çoğu canlının yaşamı için elzem olan makro moleküllerin yapı taşları arasında yer alan piridazinler pek çok farklı biyolojik aktiviteye sahip olan bir heterosiklik bileşik ailesidir. Bu çalışmada Ünal ve grubu tarafından sentezlenen yeni 8 farklı piridazin türevi bileşiğin DNA replikasyonu gibi önemli hücrel süreçlerde rol alan ve bu nedenle aktivitesinde gözlenen anormalliklerin kanser patolojisi ile ilişkili olduğu belirlenen siklin bağımlı kinaz 2 (CDK2) inhibitörü olabilme potansiyellerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda bileşiklerin konformer taramaları SPARTAN'14 programı üzerinde yarı deneysel PM6 yöntemi ile, geometri optimizasyonları ve Yapı-Aktivite İlişkileri (SAR) analizleri ise HF/6-31G(d) yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir bileşiğin çalışmanın amacı doğrultusunda seçilen aktif bölgelere moleküler kenetlenme işlemleri ise Autodock Tools-1.5.6 ve Autodock Vina programları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma sonucunda; incelenen bileşikler arasından en iyi afinite değerlerine sahip olan 1a2b (-10,8 kkal.mol⁻¹) ve 1b2b (-10,5 kkal.mol⁻¹) bileşiklerinin CDK2 inhibitörü olabilme potansiyellerinin yüksek olduğu belirlenmiş ve yeni antikanser ajanı ligandların tasarımında bu bileşiklerin öne çıkan özelliklerinin dikkate alınmasıyla birlikte ilgili ileri düzey çalışmaların yapılması gerektiği açığa çıkmıştır.

SAR Analysis and Molecular Modeling Study of Some Pyridazine Derivatives for Discovery of New CDK₂ Inhibitors

Keywords

Pyridazine,
Molecular docking,
CDK₂,
Anticancer

Abstract: Pyridazines, which are rarely found in nature and are among the building blocks of macromolecules that are essential for the life of most living things, are a family of heterocyclic compounds with many different biological activities. In this study, it was aimed to examine the potential of 8 different pyridazine derivative compounds synthesized by Ünal et al. to be cyclin-dependent kinase 2 (CDK₂) inhibitors, which take role in important cellular processes such as DNA replication so that the abnormalities observed in their activities are determined to be associated with cancer pathology. For this purpose, the conformer searches of the compounds were performed using the semi-experimental PM6 method on the SPARTAN'14 program, the geometry optimizations and Structure-Activity Relations (SAR) analyzes were performed using the HF/6-31G(d) method. Furthermore, molecular docking studies of each compound for the selected active sites for the purpose of the study was carried out using Autodock Tools-1.5.6 and Autodock Vina programs. As a result of the study; it was determined that 1a2b (-10.8 kcal.mol⁻¹) and 1b2b (-10.5 kcal.mol⁻¹) compounds, which have the best affinity values among the compounds examined, have a high potential to be CDK₂ inhibitors and it was become clear that advanced studies should be carried out considering the prominent features of these compounds for the design of new anticancer ligands.

1. Giriş

İlaç keşfi oldukça fazla zaman alıcı (~10 yıl) ve pahalı bir alandır [1]. Ancak son zamanlarda hesaplamalı kimya alanında yaşanan gelişmeler hesaplamalı ilaç

dizaynı süreçlerinin gelişmesine katkı sağlamıştır. Böylece çeşitli hesaplamalı tekniklerle biyolojik ve kimyasal sistemlerin önemli fizikokimyasal özelliklerini tahmin etmek mümkün olmuştur [2].

*İlgili yazar: vildan.enisoglu@uskudar.edu.tr

Bilgisayar destekli ilaç tasarımı, ilaçları ve ilaçlarla bağlantılı biyolojik olarak aktif molekülleri keşfetmek, geliştirmek veya incelemek için hesaplamalı prensibi kimyaya uygulayarak kullanılmaktadır [3, 4]. Hesaplamalı yöntemlerden biri olan moleküler kenetlenme; bir makromolekül (reseptör) ile küçük bir molekülün (ligand) non-kovalent/kovalent bağlanmasını öngörmeye çalışan bir süreçtir [3, 5]. Hesaplamalı teknikler, atomik seviyedeki reseptör-ilaç etkileşimlerini yakından değerlendirerek yeni ve daha güçlü inhibitörlerin tasarımını kolaylaştırmaktadır [6]. Bu doğrultuda bu çalışmada moleküler kenetlenme yöntemi kullanılarak bazı piridazin türevi bileşiklerin siklin bağımlı kinaz 2 (CDK2) inhibitörü olabilme potansiyelleri incelenmiştir.

Hücre döngüsünün zamanında ve eşgüdümlü ilerlemesi, serin/treonin kinazların bir ailesi olan siklin bağımlı protein kinazların (CDK'lerin) sıralı bir şekilde aktivasyonu ve deaktivasyonu ile kontrol edilmektedir [7, 8]. Bu önemli göreve ek olarak CDK'ler hücre bölünmesinin düzenlenmesi, transkripsiyon ve hücre iskeletinin yapısının korunması gibi önemli hücresel süreçlerde de rol almaktadır [7]. Ayrıca anormal CDK aktivitesi ve hücre döngüsünün kontrolündeki ilgili bozulma doğrudan kanser moleküler patolojisi ile de bağdaştırılabilmektedir [8].

CDK2 enzim ailesi hücre döngüsünün G₁ ve S fazları arasındaki geçiş için gereklidir ve DNA replikasyonunu düzenlemektedir [4, 8]. CDK2'ler N-terminal alanı ve C-terminal alanı olmak üzere iki lobdan oluşmakta ve bu enzime bağlanacak olan ATP ve tüm inhibitörler loblar arasındaki derin yarıқта bağlanmaktadır [4]. CDK2 inhibitörleri, hücre döngüsünde G₁ fazından S fazına geçişi bloke ederek kinaz aktivitelerini azaltmaktadır [7]. Bu nedenlerle CDK2 enzimi ve inhibitörleri kanser de dâhil olmak üzere birçok proliferatif hastalığın tedavisinde potansiyel bir terapötik hedef olarak tanınmaktadır [3, 7, 8].

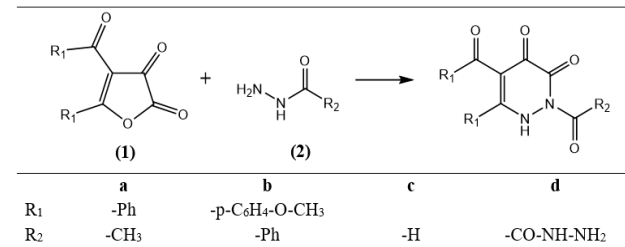
Literatür incelendiğinde Vijayan ve ark. tarafından yapılan çalışmada kuersetin ve onun glikozit bir türevi olan kuersitrinin X-ışını çözünürlükleri <3Å olan 15 farklı serin/treonin protein kinazlar üzerindeki inhibitör aktiviteleri araştırılmış ve CDK2 ailesini temsil etmesi için 4EK4 proteinini kullanarak moleküler kenetlenme işlemini gerçekleştirdiklerinde ligandların 4EK4 proteini içerisindeki Leu83, Gln131 ve Asp145 aminoasitleri ile etkileşimde bulduklarını; diğer serin/treonin protein kinaz örneği proteinleri kullandıklarında da ligandların çeşitli aminoasitlerle çeşitli etkileşimler kurduklarını gözlemlemiştir.

Piridazin ve piridin türevi bileşikler pürin bazlı CDK2 inhibitörleridir ve antikanser ajanlar olarak kullanım çalışmaları mevcuttur [7]. Piridazin türevi bileşikler

tıbbi kimyada oldukça önem taşıyan ve doğada nadir olarak bulunan en önemli heterosiklik bileşiklerden bir tanesidir [9]. 1,2-diazin olarak da adlandırılan piridazin en basit diazinlerden biridir ve iki komşu azot atomu içeren altı üyeli düzlemsel bir halka yapısındadır [9–11]. Azin ve diazin halkaları, DNA da dâhil olmak üzere birçok biyolojik sistemin yapısında ve işlevinde önemli bir rol oynamaktadır [12]. Bununla birlikte diazin halkaları, pek çok önemli doğal ve sentetik bileşiğin (örneğin nükleotidlerin) de yapı taşlarıdır [11].

Azot içeren heterosiklik bileşikler, çok çeşitli biyolojik ve farmakolojik özelliklere sahiptir [9]. Piridazin türevi heterosiklikler de geniş bir biyolojik aktivite yelpazesine sahiptir [13]. Örneğin; pek çok sitostatik ilaçta ve fungusidlerde antifungal/antitümör etkilere sahip olan piridazin çekirdekleri bulunmaktadır [14]. Ek olarak piridazin türevi bileşiklerin analjezik, antikonvülsif, anti-inflamatuvar, antitermik, antiülser, antidepresan, antiviral, antihipertansif, antibakteriyel vb. etkiler gösterdikleri de bilinmektedir [15].

Piridazin yapısı popüler bir farmakofordur ve bu nedenle piridazin çekirdeği farmakolojik olarak aktif olan yeni bileşikler geliştirmek için çok yönlü bir iskelet olarak kullanılmaktadır [9, 13]. Bununla beraber diğer farmakoforik grupları birbirine bağlamak için de kullanımı mümkün olmaktadır [13]. Bu çalışmada; Ünal ve grubu tarafından yayınlanan ve Şekil 1'de gösterilen prosedüre göre, 4-benzoil-5-fenil-2,3-furandion ve 4-(4-metoksibenzoil)-5-(4-metoksifenil)-2,3-furandion'un bazı açıl hidrazinleri arasındaki reaksiyon sonucu oluşan 8 farklı piridazin türevi bileşiğin CDK2 inhibitörü olabilme potansiyelleri araştırılmıştır.



Şekil 1. Çalışılan 8 farklı piridazin türevi bileşik [15]

Çalışmada CDK2 enzim ailesine ait olan ve aminopirazol inhibitörü ile kompleks halinde bulunan bir enzim (PDB kodu: 4EK4) kullanılmıştır. Bu enzim-inhibitör kompleksi oldukça düşük olan X-Ray çözünürlüğü (1,26 Å) sebebiyle tercih edilmiştir.

2. Materyal ve Metot

2.1. Moleküler yapılar, yapıların optimizasyonu ve SAR analizleri

Çalışmada kullanılan piridazin türevi bileşiklerin konformer taramaları SPARTAN'14 programı [16] kullanılarak yarı deneysel PM6 yöntemi [17, 18] ile

yapılmıştır. Aynı program aracılığıyla kararlı konformerlerin geometri optimizasyonları ve Yapı-Aktivite İlişkileri (SAR) analizleri HF/6-31G(d) [19-21] yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yapılan SAR analizleri sonucunda bileşiklerin moleküler hacim (MV, Å³), moleküler ağırlık (M_A, amu), moleküler yüzey alanı (A, Å²), moleküler dipol moment (μ, debye), logP (1-oktanol/su bölme katsayısı), polarizabilite, ovallık gibi kuantum kimyasal parametreleri hesaplanmıştır. Bunlara ek olarak; moleküllerin elektrostatik potansiyel haritaları oluşturularak lipofiliklik ve hidrofilitiklikleri karşılaştırılmıştır.

2.2. Moleküler kenetlenme işlemi

Moleküler kenetlenme işleminden önce; CDK₂ inhibitörü olma potansiyelleri araştırılan piridazin türevi 8 bileşiğin 4EK4 enzimine bağlanması için gerekli olan boşluğu sağlamak amacıyla Discovery Studio Visualizer [22] programı kullanılarak 4EK4-aminopirazol kompleksi, 4EK4 enzimi ve aminopirazol bileşiği olarak ayrılmıştır.

Yapılan literatür taraması sonucunda piridazin türevi bileşiklerin 4EK4 enzimi içerisinde etkileşimde buldukları Leu83, Gln131 ve Asp145 olarak adlandırılan 3 ayrı aminoasit tespit edilmiş ve bu aminoasitlerin karbonil gruplarının karbon atomları, x, y ve z koordinatları sırasıyla (-5.876, -4.035, 30.793), (-2.755, -9.024, 21.521) ve (4.575, -2.714, 20.057) olmak üzere, ligandların 4EK4 enzimi ile kenetleneceği aktif bölgeler olarak seçilmiştir. Bu çalışmada kullanılan ligandların tamamının bu 3 aktif bölgeye ayrı ayrı kenetlenme işlemleri Autodock Tools-1.5.6 [23] ve Autodock Vina [24] programları kullanılarak; x, y, ve z boyutlarının ölçüleri 40x40x40Å³ olan bir küp oluşturularak gerçekleştirilmiş ve böylece bileşiklerin 4EK4 enzimi içerisinde yer alan 3 farklı aktif bölgeye afiniteleri ayrı ayrı hesaplanmıştır.

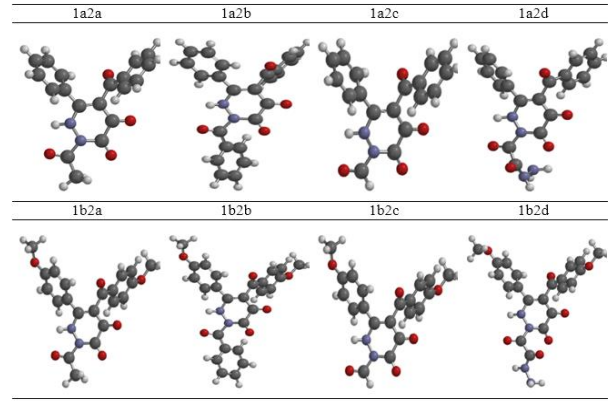
2.3. Etkileşimde bulunan aminoasitlerin analizi

Kullanılan bileşiklerin 3 farklı aktif bölgeye kenetlenme işlemleri gerçekleştirildikten sonra bu bileşiklerin 4EK4 enzimi içerisinde etkileşimde buldukları aminoasitler, gerçekleştirilen etkileşimlerin tipleri ve bağ uzunlukları Discovery Studio Visualizer [22] programı aracılığıyla analiz edilmiştir. Ek olarak Autodock Tools-1.5.6 programı [23] aracılığı ile de ligandların kenetlenme sonrası her bir aktif bölgede etkileşimde buldukları aminoasitler görüntülenmiş, elde edilen şekiller ekler kısmında verilmiştir.

3. Bulgular

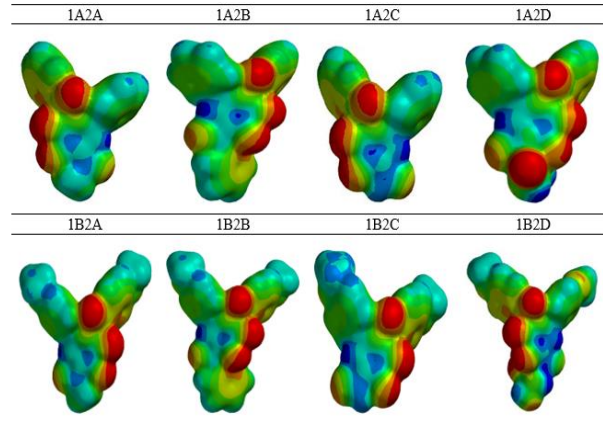
3.1. Optimize edilmiş moleküler yapılar

Ligand olarak kullanılan bileşiklerin optimize edilmiş 3 boyutlu moleküler yapıları Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2. Çalışılan ligandların 3 boyutlu moleküler yapıları: 1a2a: 2-Asetil-5-benzoil-6-fenil-1,2-dihidro-piridazin-3,4-dion; 1a2b: 3,5-Dibenzoil-6-fenil-1,2-dihidro-piridazin-3,4-dion; 1a2c: 4-(4-Metoksi-benzoil)-3-(4-metoksi-fenil)-1,2-dihidro-piridazin-3,4-dion; 1a2d: 4-Benzoil-5,6-diokso-3-fenil-5,6-dihidro-2H-piridazin-1-il-okso-asetik asit hidrazit; 1b2a: 2-Asetil-5-(4-metoksi-benzoil)-6-(4-metoksi-fenil)-1,2-dihidro-piridazin-3,4-dion; 1b2b: 2-Benzoil-5-(4-metoksi-benzoil)-6-(4-metoksi-fenil)-1,2-dihidro-piridazin-3,4-dion; 1b2c: 4-(4-Metoksi-benzoil)-3-(4-metoksi-fenil)-5,6-diokso-5,6-dihidro-2H-piridazin-1-karbaldehit; 1b2d: 4-(4-Metoksi-benzoil)-3-(4-metoksifenil)-5,6-diokso-5,6-dihidro-2H-piridazin-1-il-oksoasetik asit hidrazit

Ligand olarak kullanılan bileşiklerin moleküler elektrostatik potansiyel (MEP) haritaları Şekil 3'te gösterilmiştir.



Şekil 3. Çalışılan ligandların moleküler elektrostatik potansiyel (MEP) haritaları

3.2. Moleküler kenetlenme işlemi ve SAR analizleri sonuçları

Çalışmada kullanılan ligandların 3 farklı aktif bölgeye ayrı ayrı kenetlenme işlemleri sonucu elde edilen afiniteleri ve SAR analizi sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir.

3.3. Etkileşimde bulunan aminoasitlerin analizi

Hesaplamaları yapılan 8 adet piridazin türevi ligandın çalışılan 4EK4 enziminin sırasıyla Asp145, Gln131 ve Leu83 olmak üzere seçilen aktif bölge merkezleri için her bir ligandın etkileşime girdiği aminoasitler ve

Tablo 1. Moleküler kenetlenme işlemi ve SAR analizleri sonuçları

Ligand	logP	MV	μ	Polarizabilite	Afinite (kcal.mol ⁻¹)		
					Leu83	Gln131	Asp145
1a2a	0,73	325,96	5,51	62,25	-9,6	-9,5	-9,6
1a2b	1,83	391,05	6,00	70,56	-10,7	-10,8	-10,8
1a2c	0,47	308,37	6,16	63,85	-9,3	-9,3	-9,4
1a2d	-0,39	350,06	7,19	67,23	-9,1	-9,1	-9,1
1b2a	-1,22	379,43	5,66	69,70	-8,6	-8,6	-8,6
1b2b	-0,12	444,55	5,39	75,01	-10,4	-10,5	-10,5
1b2c	-1,49	361,85	6,87	68,32	-9,1	-9,0	-9,1
1b2d	-2,34	404,23	7,21	71,78	-8,8	-9,0	-9,0

Tablo 2. Etkileşimde bulunan aminoasitler ve etkileşim türleri

Etkileşim Türü	1a2a	1a2b	1a2c	1a2d	1b2a	1b2b	1b2c	1b2d
Sigma- π	Ile10	Ile10, Leu134	Ile10	Ile10	Ile10	Leu134	Ile10	-
Alkil- π	Val18	Val18, Lys20, Ala31	Val18, Leu134	Val18, Ala31, Leu134	-	Val18, Lys20, Ala31	-	Ile10
Katyon- π	Lys89	Lys89	-	-	-	Lys89	-	-
Van der Waals Bağı	Gly11, Glu12, Thr14, Lys33, Leu83, Gln85, Lys129, Gln131 ¹ , Asn132, Leu134, Asp145	Glu8, Lys33, His84	Gly11, Glu12, Gly13, Asp86, Lys89, Lys129, Asn132 ³ , Asp145	Gly13, Thr14, Lys33, Asp86 ⁴ , Lys129, Gln131 Asn132, Asp145	Glu8, Lys9, Val18, Lys20 ⁵ , Phe82, Leu83, Gln85 ³ , Asp86, Leu134	Glu8, Lys33, His84	Gly11, Glu12, Gly13, Val18, His84, Gln85, Asp86, Lys89, Lys129, Asn132 ¹ , Leu134, Asp145	Gly11, Glu12, Gly13, Tyr15, Val18, His84, Gln85, Asp86, Lys88, Lys89, His125 ³ , Asp127 ³ , Leu134, Asp145 ³ , Leu148 ¹
C-H Bağı	-	Gln85	Gln131	Gly11	His84, Gln85 ¹	Gln85	Leu83, Gln131	Leu83, Lys129
Konvensiyonel -H Bağı	Asp86, Lys89	Leu83, Asp86, Lys89	Thr14, Lys33, Gln131	Glu12, Lys89	Lys89	Lys20, Leu83, Asp86, Lys89	Thr14, Lys33, Gln131	Thr14, Lys33, Gln131

¹Bu aminoasitler ile sadece Asp145 aktif bölgesinde etkileşim yapılmıştır.

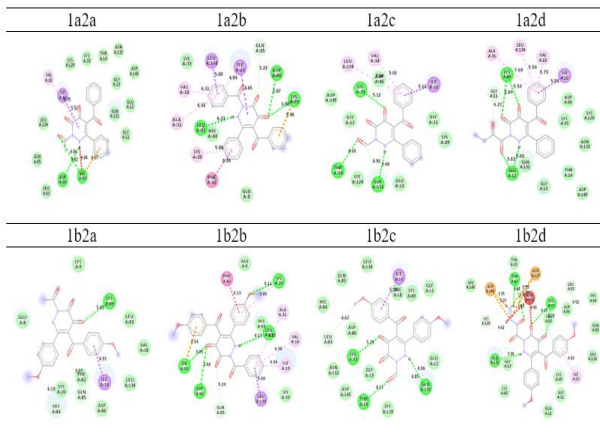
²Bu aminoasit ile sadece Leu83 aktif bölgesinde etkileşim yapılmıştır.

³Bu aminoasitler ile Leu83 ve Gln131 aktif bölgelerinde etkileşim yapılmıştır.

⁴Bu aminoasit ile Leu83 ve Asp145 aktif bölgelerinde etkileşim yapılmıştır.

⁵Bu aminoasit ile Asp145 ve Gln131 aktif bölgelerinde etkileşim yapılmıştır.

sahip oldukları etkileşim türleri aşağıda Tablo 2'de listelenmiştir.



Şekil 4. 4EK4 enzimi ile piridazin türevi bileşiklerin etkileşim haritaları

Çalışılan piridazin türevi bileşiklerden 4EK4 enzimi için en iyi afinite değerinin elde edildiği Asp145 amino asidinin aktif bölge merkezi olarak atandığı kenetlenme çalışmalarından elde edilen etkileşim haritaları aşağıda Şekil 4'te verilmiştir

4. Tartışma ve Sonuç

Bu başlık altında; çalışmada elde edilen bulgular ilgili Bu çalışmada Ünal ve grubu tarafından sentezlenip literatüre kazandırılmış olan sekiz farklı piridazin türevi bileşiğin antikanser ajanlar olarak rol alabilme potansiyelleri hesaplamalı yaklaşımlar ile incelenmiştir. Söz konusu ligandların CDK₂ inhibitörü olabilme potansiyelleri serin/treonin protein kinazlar ailesinden siklin bağımlı kinazların bir üyesi olan 4EK4 enzimi içerisindeki üç farklı aktif bölgeye, literatürde Vijayan ve ark. tarafından 4EK4 proteini ile yapılmış kenetlenme çalışmasına uyumlu olarak,

moleküler kenetlenme işlemi yapılarak; ligandların afiniteleri ve bağlandıkları aminoasitler, bağlanma türleri belirlenerek açıklanmaya çalışılmıştır.

Leu83, Gln131 ve Asp145 aminoasitlerinin üç farklı olası aktif bölge olarak seçilmesiyle gerçekleştirilen bu simülasyonlar sonucunda yukarıda Tablo 1'de de görülebileceği gibi Leu83 merkezli kenetlenme çalışmalarında afinite değerleri -8,6 ile -10,7 kkal.mol⁻¹ olarak, Gln131 ve Asp145 merkezli kenetlenme çalışmalarında ise -8,6 ile -10,8 kkal.mol⁻¹ olarak tespit edilmiştir. Çalışılan tüm aktif bölgeler için yapılan kenetlenme işlemlerinde elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde ortak olarak -8,6 kkal.mol⁻¹lık değer ile 1b2a ligandının en düşük afiniteye sahip olduğu, Gln131 ve Asp145 merkezleri için -10,8 kkal.mol⁻¹, Leu83 merkezi için ise -10,7 kkal.mol⁻¹ değeri ile en iyi afinitenin 1a2b ligandına ait olduğu gözlemlenmiştir.

Kenetlenme çalışmaları yapılan 8 piridazin türevi ligand için elde edilen afinite sıralaması toplu olarak değerlendirildiğinde Leu83 ve Asp145 merkezleri için 1a2b > 1b2b > 1a2a > 1a2c > 1a2d = 1b2c > 1b2d > 1b2a şeklindedir. Öte taraftan Gln131 merkezi için yapılan kenetlenme çalışmasından elde edilen afinite sıralamasında (1a2b > 1b2b > 1a2a > 1a2c > 1a2d > 1b2c = 1b2d > 1b2a) çok küçük bir fark tespit edilmiştir. Sıralamadaki bu tutarlılık literatürde verilen aktif bölge merkezi aminoasit seçiliminin kenetlenme çalışmalarında bağlanma afiniteleri üzerinde çok anlamlı bir değişikliğe neden olmadığını göstermiştir.

Moleküler kenetlenme işlemine ek olarak kullanılan ligandların SAR analizleri de yapılmış ve bileşiklerin elektrostatik potansiyel haritaları çizilmiştir. Yapılan SAR analizi sonuçları incelendiğinde; en büyük hacime sahip olan bileşiğin 1b2b bileşiği (MV: 444,55 Å³), en düşük hacime sahip olan bileşiğin ise 1a2c bileşiği (MV: 308,37 Å³) olduğu ve diğer bileşiklerin hacimlerinin çok fazla değişiklik göstermediği gözlemlenmiştir. Moleküllerin dipol momentlerinin ise 5,39-7,21 D aralığında değiştiği ve 1b2d bileşiği için en yüksek (μ : 7,21), 1b2b bileşiği için ise en düşük (μ : 5,39) değeri aldığı belirlenmiştir. En yüksek polarizabilite değerine sahip olan ligandın 75,01 değeri ile 1b2b bileşiği ve en düşük polarizabilite değerine sahip olan ligandın ise 62,25 değeri ile 1a2a bileşiği olduğu saptanmıştır.

Moleküler kenetlenme hesaplamalarının sonucunda Tablo 2'de verilen 1a2b ve 1b2b ligandlarının aktif bölge aminoasitleri ile yaptığı etkileşimler incelendiğinde her iki ligandın hemen hemen aynı aminoasitler ile etkileşime girdiği görülmüştür. Afinite olarak öne çıkan bu iki ligandın dışındaki diğer incelenen ligandların hemen hepsi çok sayıda Van der Waals etkileşimine girerken 1a2b ve 1b2b ligandları sadece Glu8, Lys33 ve His84 aminoasitleri ile etkileşime girmiştir. Sigma- π bağı etkileşimlerine

bakıldığında ise ayırt edici aminoasidin sadece en yüksek afiniteye sahip olan 1a2b ve 1b2b ligandları ile etkileşime giren Leu134 olduğu ve afinite değerini olumlu yönde desteklediği görülmüştür. Diğer güçlü bir etkileşim türü olan konvansiyonel H bağı etkileşimlerine bakıldığında ise en düşük afiniteye sahip olan 1b2a ligandı için sadece Lys89 aminoasidi ile etkileşim tespit edilirken Leu83, Asp86 ve Lys89 aminoasitleri en iyi afiniteye sahip olan 1a2b ve 1b2b ligandlarında ortak olarak saptanmıştır.

Ligandların 2 boyutlu yapıları ile afinite arasındaki ilişkinin tespit edilmesi amacıyla Şekil 1 ve moleküler kenetlenme çalışmaları sonucunda elde edilen afinite değerleri birlikte incelendiğinde; piridazin türevinin ikinci pozisyonundaki süstitüe grubun -Ph olması halinde afinitenin yükseldiği, hatta birinci pozisyonundaki -p-C₆H₄-O-CH₃ ve -Ph süstitüe gruplarının afinite üzerinde çok fazla etkisinin olmadığı görülmüştür. Bu etki ikinci pozisyonundaki süstitüe grupların -Ph dışında olması halinde tüm çalışılan ligandlarda da benzer bir şekilde afinite düşmeye neden olmuştur. Özellikle en düşük afinitenin elde edildiği 1b2a bileşiğinin yapısında ikinci pozisyonundaki süstitüe grup olan alifatik -CH₃ grubunun afiniteyi olumsuz etkilediği görülmektedir. Tablo 1'de verilen logP değerleri ile afinite arasındaki ilişkiye bakıldığında ise logP değerindeki düşüşün afiniteyi olumsuz yönde etkilediği, en iyi afiniteyi veren 1a2b ligandında logP değerinin en yüksek olduğu görülmektedir. Şekil 3'te verilen MEP haritaları incelendiğinde genel anlamda yapıların haritalarının benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak ikinci pozisyonunda -Ph gruplarının takılı olduğu 1a2b ve 1b2b ligandlarında -Ph grubundaki π - bağı elektronlarının delokalizasyonundan kaynaklı elektron yoğunluğunun yapıyı daha reaksiyona girme potansiyelini artırıcı etkisi afinite üzerindeki artış ile gözlenmiştir. Benzer şekilde diğer ligandların MEP haritalarına bakıldığında ise piridazin çekirdeğinin alt kısmında bir elektron yoğunluğunun olmadığı, bunun da afiniteyi olumsuz yönde etkilediği düşünülmektedir.

Sonuç olarak yapılan hesaplamalar neticesinde ligandın ikinci pozisyonuna takılan -Ph grubunun, konvansiyonel -H bağının ve logP değerlerinin afinite üzerinde etkili olduğu saptanmıştır. Piridazin çekirdeklerinin antikanser ajanı olarak değerlendirileceği ligand tasarımlarında yukarıda belirtilen bu özelliklerin dikkate alınması ve deneysel veriler ile desteklenmesi tavsiye edilmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından Üniversite Öğrencilerinin Araştırma Projelerini Destekleme Programı (2209/A, Proje No: 1919B011701111) araştırma projesi olarak desteklenmiştir. Grubumuz

yazılım desteği için Prof. Dr. Safiye Sağ Erdem'e teşekkür eder.

Etik Beyanı

Bu çalışmada, "Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi" kapsamında uyulması gerekli tüm kurallara uyulduğunu, bahsi geçen yönergenin "Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiğine Aykırı Eylemler" başlığı altında belirtilen eylemlerden hiçbirinin gerçekleştirilmediğini taahhüt ederiz.

Kaynakça

- [1] Menteşe, E., Yılmaz, F., Emirik, M., Ülker, S., Kahveci, B. 2018. Synthesis, molecular docking and biological evaluation of some benzimidazole derivatives as potent pancreatic lipase inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 76, 478–486.
- [2] Alaşalvar, C., Soylu, M. S., Ünver, H., Ocak Iskeleli, N., Yildiz, M., Çiftçi, M., Banoğlu, E. 2014. Crystal structure and DFT calculations of 5-(4-Chlorophenyl)-1-(6-methoxy-pyridazin-3-yl)-1H-pyrazole-3-carboxylic acid. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 132, 555–562.
- [3] Arun, A. K., Mohan, K., Riyaz, S. 2013. Structure guided inhibitor designing of CDK2 and discovery of potential leads against cancer. *Journal of Molecular Modeling*, 19(9), 3581–3589.
- [4] Otyepka, M., Kryštof, V., Havlíček, L., Siglerová, V., Strnad, M., Koča, J. 2000. Docking-based development of purine-like inhibitors of cyclin-dependent kinase-2. *Journal of Medicinal Chemistry*, 43(13), 2506–2513.
- [5] Kumar, A., Zhang, K. Y. J. 2016. A pose prediction approach based on ligand 3D shape similarity. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 30(6), 457–469.
- [6] Baby, B., Antony, P., Al Halabi, W., Al Homedi, Z., Vijayan, R. 2016. Structural insights into the polypharmacological activity of quercetin on serine/threonine kinases. *Drug Design, Development and Therapy*, 10, 3109–3123.
- [7] Babu, P. A., Narasu, M. L., Srinivas, K. 2007. Pyridines, pyridazines and guanines as CDK2 inhibitors: A review. *Arkivoc*, 2007(2), 247–265.
- [8] Davies, T. G., Tunnah, P., Meijer, L., Marko, D., Eisenbrand, G., Endicott, J. A., Noble, M. E. M. 2001. Inhibitor binding to active and inactive CDK2: The crystal structure of CDK2-cyclin A/indirubin-5-sulphonate. *Structure*, 9(5), 389–397.
- [9] Prabavathi, N., Senthil Nayagi, N., Venkatram Reddy, B. 2015. Molecular structure, vibrational spectra, natural bond orbital and thermodynamic analysis of 3,6-dichloro-4-methylpyridazine and 3,6-dichloropyridazine-4-carboxylic acid by dft approach. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 136, 1134–1148.
- [10] Qin, X. F., Wang, F., Wu, H. S. 2014. Density functional studies of the stepwise substitution of pyridine, pyridazine, pyrimidine, pyrazine, and 1,3,5-triazine with BCO. *Journal of Molecular Modeling*, 20(1), 2079–2085.
- [11] Breda, S., Reva, I. D., Lapinski, L., Nowak, M. J., Fausto, R. 2006. Infrared spectra of pyrazine, pyrimidine and pyridazine in solid argon. *Journal of Molecular Structure*, 786, 193–206.
- [12] Reimers, J. R., Cai, Z.-L. 2012. Hydrogen bonding and reactivity of water to azines in their S1 (n, π^*) electronic excited states in the gas phase and in solution. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 14(25), 8791.
- [13] George, R. F., Saleh, D. O. 2016. Synthesis, vasorelaxant activity and 2D-QSAR study of some novel pyridazine derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 108, 663–673.
- [14] Soliman, S. M., Albering, J., Abu-Youssef, M. A. M. 2015. Molecular structure, spectroscopic properties, NLO, HOMO-LUMO and NBO analyses of 6-hydroxy-3(2H)-pyridazinone. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 136, 1086–1098.
- [15] Ünal, D., Saripinar, E., Akçamur, Y. 2006. A new method for the preparation of pyridazine systems: Experimental data and semiempirical PM3 calculations. *Turkish Journal of Chemistry*, 30(6), 691–701.
- [16] Spartan 14v1.1.4 (2014) Wavefunction, Inc., Irvine, CA. (<https://www.wavefun.com/>)
- [17] Stewart, J. J. P. 2007. Optimization of parameters for semiempirical methods V: Modification of NDDO approximations and application to 70 elements. *Journal of Molecular Modeling*, 13(12), 1173–1213.
- [18] Stewart, J. J. P. 2008. Application of the PM6 method to modeling the solid state. *Journal of Molecular Modeling*, 14(6), 499–535.
- [19] McWeeny, R., Diercksen, G. 1968. Self-consistent perturbation theory. II. Extension to open shells. *The Journal of Chemical Physics*, 49(11), 4852–4856.
- [20] Pople, J. A., Nesbet, R. K. 1954. Self-consistent orbitals for radicals. *The Journal of Chemical Physics*, 22(3), 571–572.
- [21] Roothaan, C. C. J. 1951. New developments in molecular orbital theory. *Reviews of Modern Physics*, 23(2), 69–89.
- [22] Dassault Systèmes BIOVIA, Discovery Studio Visualizer, V2. San Diego: Dassault Systèmes. 2017.

- [23] Sanner, M. F. 1999. Python: a programming language for software integration and development. *Journal of Molecular Graphics & Modelling*, 17(1), 57–61.
- [24] Trott, O., Olson, A. 2010. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 31(2), 455–461.