T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ

FARE DÖLYATAĞI ESTROJEN RESEPTÖRLERİYLE 17α,-SÜBSTİTÜE ESTRADİOLLERİN GÖRECELİ BAĞLANMA EĞİLİMLERİNİN COMCET METODUYLA TEORİK İNCELENMESİ

Proje No: FBA-08-448

Tez Projesi

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:
Prof.Dr. Yahya GÜZEL
Fen Fakültesi Kimya Bölümü

Tolga KARAZEHİR
Fen Fakültesi Kimya Bölümü

Aralık 2010
KAYSERİ

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZET I
ABSTRACT II
İÇNDEKİLER III
KISALTMALAR VE SİMGELER VI
TABLOLAR LİSTESİ VII
ŞEKİLLER LİSTESİ VIII

1. BÖLÜM
GİRİŞ

1.1. Giriş 1
1.2. İlaç Nedir? 2
1.2.1. İlaçların Hücrelere Tesirleri ve Reseptörleri 2
1.2.2. Bağlanma Etkileşimleri 3
1.2.2.1. İyonik Bağlanma 3
1.2.2.2. Hidrojen Bağı 3
1.2.2.3. Van der Waals Bağı 3
1.2.2.4. Takviyeli İyon Bağı 3
1.2.2.5. Kovalent Bağı 4
1.3. İlaç Tasarımı 4
1.4. İlaçta Araştırma-Geliştirme 4
1.4.1. Tanım 4
1.4.2. İlaçta Buluşlar ve Kronolojisi 5
1.4.3. AR-GE Çalışmaları 6
1.4.3.1. Klinik-Öncesi (Preklinik) Değerlendirme 6
1.4.3.2. Klinik Değerlendirme 7
1.5. Bilgisayar-Destekli İlaç Tasarımı 7
1.6. Östrojen Nedir? 9
1.6.1. Östrojen Hormonu Görevleri Nelerdir 10
1.6.2. Östrojen eksiliği ne yapar? 10
1.6.3. Östrojen fazlalığı ne gibi sonuçlar doğurur? 10
1.6.4. Östrojen içeren bitkiler nelerdir? 11

2. BÖLÜM

QSAR METOTLARI

2.1. Yapı Aktivite İlişkisi (SAR) ve Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi (QSAR) 12
2.1.1. SAR 12
2.1.2. QSAR 12
2.1.2.1. QSAR Teorisi 13
2.1.2.2. 2D-QSAR Analizi 14
2.1.2.2.1. Hansch Analizi 15
2.1.2.2.2. Free-Wilson Analizi 17
2.1.3. Yeni QSAR metotları 18
2.1.3.1. Hologram QSAR (HQSAR) 18
2.1.3.2. Inverse QSAR 19
2.1.3.3. Binary QSAR 20
2.1.3.4. 3D-QSAR 20
2.1.3.4.1. Karşılaştırmalı Moleküler Alan Analizi (CoMFA) 21
2.1.3.4.2. Aktif Analog Yaklaşımı 22
2.1.3.4.3. Moleküler Şekil Analizi (MSA) 22
2.1.3.4.4. Karşılaştırmalı Moleküler Şekil Analizi (CoMSIA) 23
2.1.3.4.5. Karşılaştırmalı Moleküler Moment Analizi (CoMMA) 24
2.1.3.4.6. EVA 24
2.1.3.4.7. WHIM 24
2.1.3.5. 4D-QSAR 24
2.1.3.6. Moleküler Modelleme ve QSAR 25
2.1.4. Biyoalıcı İle İlaç Molekülün Etkileşim Mekanizması 26
2.1.5. QSAR Yöntemi Olarak CoMCET Programı 28
2.1.6. Farmakofor Kavramı 28
2.1.7. Farmakofor Tanımlama Metotları 29

3. BÖLÜM

YÖNTEM

3.1. Materyal 33
3.2. Metot 33
3.3. Karşılaştırmalı Moleküler Konformer Elektron Topolojik Metot (CoMCET) 35
3.3.1. CoMCET Metodunun Gereği 35
3.3.2. Konformerlerin Belirlenmesi 35

3.3.3. ETM Matrisleri Oluşturulması.....36
3.3.4. CoMCET'de Farmakofer Tanımlama.....37
3.3.5. APS ve AG.....38
3.3.6. Aktivitenin Genel Formülü.....38

4. BÖLÜM
BULGULAR
4.1. İncelenen Bileşik Serisindeki Bulgular.....41
4.2. Elektron-Topolojik Matris.....44
4.3. CoMCET Metodunun Uygulanması.....45

5. BÖLÜM
SONUÇ
5.1. 17α Sübstitüe Estradiol Türevlerinin Hesaplanan Göreceli Bağlanma Affinitesi Sonuçları49

KAYNAKLAR.....57

KISALTMALAR VE SİMGELER

QSAR : Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi

SAR :Yapı Aktivite İlişkisi

3D-QSAR :Üç Boyutlu Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi

2D-QSAR :İki Boyutlu Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi

HQSAR :Hologram Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi

CoMCET :Karşılaştırmalı Moleküler Konformerlerin Elektron Topolojik Metodu

Pha :Farmakofor

APS :Aktiviteyi perdeleyici grup

AG :Aktiviteyi artırıcı yardımcı grup

ETM :Elektron Topolojik Matris

CADD :Bilgisayar destekli ilaç tasarımı

HTS :Çok Sayıdaki Bileşiği Ayırma Yöntemi (High Throughput Screening)

CoMFA :Karşılaştırmalı Moleküler Alan Analizi

MSA :Moleküler Şekil Analizi

CoMSIA :Karşılaştırmalı Moleküler Şekil Analizi

CoMMA :Karşılaştırmalı Moleküler Moment Analizi

ETM :Elektron Topolojik Konformasyonel Matris

ETSA :Elektron Konformasyonel Aktiflik Alt Matris

TABLOLAR LİSTESİ

TABLO NO **SAYFA**

Tablo 4.1. Çalışılan Bileşik Serisi, Deneysel Aktivitesi ve Konformer Sayıları 41
Tablo 4.2. Referans bileşiğin (N01) En Düşük Enerjili Konformerine Ait Kartezyen Koordinatlar 43
Tablo 5.1. Pha Dışında Aktiviteye Etki Eden AG ve APS Grupların Bazı Özellikleri 49
Tablo 5.2. Eğitim Setteki Bileşiklerin Deneysel ve Modelden Çıkan Hesaplanan Aktiviteleri52
Tablo 5.3. Test Setteki Bileşiklerin Deneysel ve Modelden Çıkan Hesaplanan Aktiviteleri .. 52
Tablo 5.4 Eğitim ve Test Setin Deneysel Aktiviteleri ve Hesaplanan Aktiviteleri 54

ŞEKİLLER LİSTESİ

ŞEKİL NO **SAYFA**

Şekil 1.1. İlaçta Buluşların Kronolojisi 5
Şekil 1.2. Farmasötik Ar-Ge Süreci 7
Şekil 2.1. HQSAR' da Hologramların Ortaya Çıkarılması ve Bu Hologramlardan Aktivitenin Değerinin Elde Edilmesi 19
Şekil 3.1. CoMCET Metodunun Uygulamasındaki Basamaklar 34
Şekil 3.2. Üç Boyutlu Elektron-Topolojik 36
Şekil 4.1. Referans Bileşiği N01 İçin Top Çubuk Modeli 43
Şekil 4.2. Referans Bileşiğinin (N01) Konformerlerinin (4 adet) Üst Üste Çakıştırılması 43
Şekil 4.3. Refarans Bileşiği N01'in En Düşük Enerjili Konformerinin ETM Matrisi 44
Şekil 4.4. ETM Matrisi Oluşturmada Kullanılan Programın Ara Yüzü 45
Şekil 4.5. ETM Matrislerini Okuyarak Pha Belirlemede Kullanılan Programın Ara Yüzü 46
Şekil 4.6. Pha' yı Oluşturan Atomların Referans Olarak Alınması ve Pha Etrafındaki Atomların Pozisyonlarının Belirlenmesi 47
Şekil 5.1. Çalışılan Bileşik Serisi İçin Aktif Fragmenti (Pha) Gösteren Matris 49
Şekil 5.2. O1, C4, C2 ve C7 Bileşiklerindeki Pha, AG ve APS Guruplar 50
Şekil 5.3. Eğitim Setteki Bileşiklerin Deneysel ve Hesaplanan Aktiviteler Arasındaki R^2 Grafiği 55
Şekil 5.4. Test Setteki Bileşiklerin Deneysel ve Hesaplanan Aktiviteler Arasındaki q^2 Grafiği 55

ÖZET

Karşılaştırmalı moleküler konformer elektron topolojik metot (CoMCET) kullanılarak *11β-bağlı olan estradiollerin* göreceli bağlanma affinitesinin nicel tahmini yapıldı. Bileşiklerin kuantum kimya hesaplamaları için "Spartan'08" programı kullanılmıştır ve Elektron Topolojik Matris (ETM) hesaplanan elektronik yapı ve konformasyon analiz verilerinden hazırlanmıştır. Farmakofor (Pha) ile beraber ona etki eden AG ve APS' ye grupların topolojik yapıları tartışıldı. Bu çalışmada konformasyonel analiz, elektronik yapı hesaplamaları ve matris karşılaştırması 33 adet bileşik için yapılmıştır. Seçilmiş referans molekülün atomları arasında O1, C4, C2 ve C7 atomları biyolojik aktiviteden sorumlu Pha olarak belirlenmiştir. Ayrıca aktivite üzerinde etkiye sahip olan AG ve APS atomların pozisyonları işaretlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: İlaç tasarımı; QSAR; östrojen reseptör

ABSTRACT

Using the Comperative Molecular Conformer Electron Topological Method (CoMCET), the quantitative prediction of *Relative Binding Affinities* of *11β-Substituted Estradiols* was done. For quantum chemistry calculations of compounds, "Spartan'08" programme was used, and The Electron Topologic Matrix (ETM) were constructed from the data of the calculated conformational analysis and electronic structure. The topological structure of pharmacophore (Pha) together with Auxiliary Group (AG) and Anti Pharmacophore Shielding (APS), which were affecting on it was discussed. In this study, the conformational analysis, the electronic structure calculations and the matrix comparisons were performed for the 33 compound. O1, C4, C2 and C7 among atoms of the selected reference molecule were determined as Pha which was responsible from biological activity. Also, positions of AG and APS atoms which had the effect on the activity were marked.

Keywords: Drug Design; QSAR; estrogen receptor

1. BÖLÜM
GİRİŞ

1.1. Giriş

Günümüzde bilgisayar destekli ilaç tasarımı ve toksikoloji farmasötik endüstrisinde oldukça iyi bilinen ve hızla gelişmekte olan bir bilim dalıdır. Bu bilim dalının genel unsurları moleküler yapı ve özellikleri tanımlamak ve yapı aktivite ilişkisini ortaya çıkarmaktır. Bir enzim ya da antikoru bağlayan bir bileşik serisine ait biyolojik aktivite ile ilgili verilere sahip olmak genel bir durumdur, fakat aktif bölgenin üç boyutlu yapısına ait kesin bir bilgiye sahip olmak zordur. Bu amaçla gerçekleştirilen "Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi" (Quantitative Structure Activity Relationship, QSAR) analizi, molekül setinin genelinde bulunan fonksiyonel grupların benzerliğine göre aktif bölge tarafından tanınabilen atomların üç boyutlu bir düzenlenmesini ele alır. QSAR, kimyasal yapı ve biyolojik aktivite arasında ilişki kurar ve türetilen modeller test edilmemiş kimyasalların aktivitelerini tahmin etmek için kullanılır [1]. Ligand reseptör etkileşimlerini tanımlamak ve en çok istenilen farmakolojik özelliklere sahip olan kimyasal yapıları tahmin etmek için bilgisayar destekli ilaç tasarımına yönelinmiştir. Kimya ve biyolojinin çeşitli alanlarında yaygın olarak kullanılan QSAR metodu bilgisayar teknolojisinin zaman içerisinde gelişmesiyle üç boyutlu QSAR (3D QSAR) halini almıştır. Başlangıçta QSAR metodu bileşiklerin fizikokimyasal özelliklerine göre aktiviteyi açıklamıştır. 3D QSAR metodu ise bileşiklerin aktivite değerlerini, klasik QSAR metotlarında yer almayan elektronik özellikleri hesaba katarak açıklamıştır. Pratik bakımdan oldukça uzun ve zor olan böyle bir problemin çözümü; deneysel olarak belirli bir aktivite gösterdiği bilinen bileşikleri birbiri ile karşılaştırarak aktivite göstermelerine neden olan ortak yapıdaki fragmenti bulmakla olur. Böylece molekülün yapı-aktivite ilişkisinde, moleküler aktiviteden sorumlu olan temel üç boyutlu elektronik özellik belirlenmiş olur [2-3].

Hopfinger 1997 yılında 3D-QSAR modeline dördüncü boyutu kazandırdı ve 4D-QSAR analizi terimini ortaya çıkardı. 3D-QSAR metotlarından farklı olarak 4D-QSAR analizinin dördüncü boyutu her bir moleküldeki en düşük enerjili konformerin değil ama etkin nüfuslu konformerlerin eşleştirme ortalamasından kaynaklanır. Sistematik konformasyonel araştırma yerine, konformasyonel eşleştirme özelliklerini belirlemek için multi-temperature molecular dynamics'i (MDS) kullanır. Minimum enerjili konformerin 2Kcal/mol içinde olan tüm konformerleri çalışılan bileşik serisindeki her bir

bileşiğin en aktif konformeri olarak tanımlanır [4]. "Karşılaştırmalı Moleküler Konformerlerin Elektron Topolojik (Comperative Molecular Conformer Electron Topological (CoMCET))'' metot 4D QSAR metodu olarak kullanılır.

Yapı-aktivite incelemeleri bilgisayar modelleriyle birleştirildiğinde bileşik serisindeki referans molekülde bulunan aktiviteden sorumlu, ortak ve genel bir parçanın elektronik ve geometrik özelliği aktif fragment ve Pha olarak tanıtılır.

Bu çalışmada 17α- sübstitüe estradiol türevlerinin biyomoleküler bağlanma affiniteleri incelenerek, aktiviteden sorumlu fragment olan Pha çıkartılacaktır. Aktif fragment farmakofor olarak adlandırılan Pha, elektronik özellikler ile "Anti-Pharmacophore Shielding" (APS) ve Auxiliary Grupların (AG) aktivite ile ilişkisi regresyon analizinde yapılacak ve bu ilişkinin modellenmesi sonucunda reseptör-molekül etkileşim mekanizması aydınlatılacaktır.

Burada, 17α- sübstitüe estradiol türevlerinin yapısal özelliklerini tanımlamak ve ayırmak için CoMCET yöntemine dayanan dört boyutlu bir QSAR sunuyoruz. CoMCET hesaplamalarında, moleküldeki her bir konformerin elektronik özellikleri dikkate alınarak model bulunur. Her bir molekül için deneysel aktivite verileri hesaplanan veriler ile uyum göstermesi ölçüsünde bulunan model başarılıdır. Aktivitede rol alan temel iskelete göre yeni moleküllerin tasarlanarak sentezlenmesi ve mevcut olan moleküllerin biyolojik aktivitelerinin tahmini için CoMCET ile çıkartılan sonuçlar kullanılır.

1.2. İlaç Nedir?

İlaç, terimi ve kavramı çok açık değildir. Türkçe' de pharmakon karşılığı olarak bugün geniş anlamlı ilaç kullanılmaktadır. İlaç terimi oldukça yakın zamanlara kadar tıbbi farmakoloji içinde, genellikle insan ve hastalıkla ilgili olarak kullanılmıştır. "İlaçlar, alıcının yararına olmak üzere fizyolojik sistemler veya patolojik durumları değiştirmek veya incelemek amacıyla kullanılan veya bu amaçla hazırlanan madde veya ürünlerdir" [5] şeklinde bir tanımlama getirmiştir.

1.2.1. İlaçların Hücrelere Tesirleri ve Reseptörleri

İlaçlar hücrelerin yüzeyinde veya içinde hücre yapısına ait belirli kimyasal gruplarla birleşmek, bağlanmak veya temas etmek suretiyle tesirlerini gösterirler. İlaçların büyük çoğunluğu spesifik biyolojik reseptörlerin aktivitelerini hafifleten ve onların etkileşimlerini, bağlanmalarını düzenleyen küçük moleküllerdir. Reseptörler, hayatın korunması için gereken çeşitli fonksiyonları yerine getiren diğer moleküllerle etkileşen ve bağlanan proteinlerdir. Proteinler; hormon reseptörleri, hücre-sinyal reseptörleri gibi hücre-yüzey reseptörleri, enzimler ve diğer fonksiyonel proteinlerin çok büyük bir dizisinden oluşurlar. İlaçların en önemli rolü bazı tıbbi problemlere çare bulmak amacı ile bu reseptörlerin fonksiyonlarını düzenlemektir [6]. Yani hücrenin ilaç molekülleri tarafından işgal edilen

kısımlarına reseptör adı verilir. Reseptörler çoğunlukla hücrelerin yüzeyinde yer aldığından birçok ilaçlar tesirlerini hücre sathında daha bariz bir şekilde gösterirler. Bir ilaç hücrenin neresine tesir ederse etsin, hücrede meydana getireceği etki ancak hücre faaliyetinde nicel bir değişiklik olacaktır. Yani ilaçlar hücrenin faaliyetini azaltabilir veya çoğaltabilir; fakat asla hücre faaliyetinde nitel bir değişiklik oluşturmazlar. Bir hücre bir ilacın tesiri ile normal olarak yaptığı işten başka bir iş yapamaz. Mesela esas vazifesi kontraksiyon olan bir adale hücresi bir ilacın tesiriyle salgı yapamaz.

1.2.2. Bağlanma Etkileşimleri

Yapı ve aktivite arasındaki ilişkiden elde edilen bilgilerin en yararlı kısımlarından biri, ilacın reseptöre bağlanmasında önemli olan atomların ve fonksiyonel grupların tipidir. İlaçlar hedef bölgelere moleküller arası bağlanma kuvvetlerini kullanarak bağlanırlar. Bununla birlikte bazı ilaçlar kovalent bağları oluşturabilir.

1.2.2.1. İyonik Bağlanma

Zıt yüklü gruplar arasında oluşur. Vücudun doğal kimyasal habercilerinin çoğu vücut pH' sında iyonlaşan amin grubu içerir. Bu tür kimyasal habercileri taklit eden ya da antagonize eden ilaçlar iyonik olarak bağlanmak için iyonize olmuş bir amin grubuna sahip olması gerekir. Bu yüzden iyonik bağ ilaç reseptör etkileşimlerinde önemli bir özelliktir. İyonik etkileşimler güçlü karakterdedir.

1.2.2.2. Hidrojen Bağı

Elektrofilik bir hidrojen atomu ile elektronegatif bir atom arasında oluşan hidrojen bağı iyonik bağdan daha zayıftır fakat ilaç-reseptör etkileşimlerinde hala önemlidir. Hidrojen bağının kuvveti 2–5 kcal/mol olarak kabul edilmektedir.

1.2.2.3. Van der Waals Bağı

Hem iyonik hem de hidrojen bağından daha zayıftır. Aromatik halka ya da alkil zinciri gibi hidrofobik gruplar arasında meydana gelir. Bu gruplardaki elektronların düzensiz dağılımı sonucu bu bölgelerde elektron yoğunluğunun kısmen az ve fazla olduğu bölgeler oluşur. Kısa sürelidir. Bu bağ çok yakın bir mesafeden teşekkül edeceği için bahis konusu iki molekülün (ilaç ve reseptör) bir birine çok iyi bir şekilde uyması gerekir. Van der Waals bağının kuvveti 0,5 kcal/mol olarak kabul edilir. İlaçla reseptör arasında bu şekilde teşekkül edecek zayıf bir bağdan doğal olarak önemli bir farmakolojik tesir beklenemez.

1.2.2.4. Takviyeli İyon Bağı

İyon bağının herhangi bir şekilde takviyesi neticesi ile hem kuvveti artar hem de daha sabit bir şekle sokulmuş olur. Mesela iki molekül bir ucunda iyon bağı ile bağlanıp diğer bir kısımdan da Van der Waals bağları ile birleşebilir; böylece daha sabit bir bağ meydana gelmiş olur. Bu bağın kuvveti 10 kcal/mol olarak kabul edilir.

1.2.2.5. Kovalent Bağı

İki atom arasındaki elektronların ortaklaşa kullanılmasıyla oluşur. Bu bağ tipi, bağ tipleri arasında en kuvvetli olanıdır. Bu bağın kuvveti 40–100 kcal/mol olarak kabul edilir. Bu bağlanmaya çok nadir rastlanır [7].

1.3. İlaç Tasarımı

İlaç tasarımı, daha önceden tanımlanmış yapı-aktivite ilişkilerinden yararlanarak, farmakolojik aktivitesi öngörülebilen potansiyel ilaç moleküllerinin tasarlanmasıdır. Yeni ilaç geliştirmenin amacı, var olanlardan daha güçlü, daha az toksik ve yan etkileri en aza indirilmiş, yararlı terapotik bileşikler geliştirmektir [8].

Ayrıca ilaç ve reseptör arasındaki bağlanma etkileşimini geliştirmek ve ilacın reseptör için seçiciliğini arttırmaktır. Daha güçlü ve daha seçici bağlanma için ilaç, bağlanma bölgesine göre uygun büyüklükte olmalı ve bağlanma için gerekli fonksiyonel gruplara sahip olmalıdır. Bu fonksiyonel gruplar birbirlerine göre doğru pozisyonda olmalılar ki hepsi aynı zamanda bağlanabilsinler. Mevcut ilaçların hemen hemen hiç biri ideal özelliklere sahip olmadıklarından, araştırma kurumlarında ve ilaç endüstrisinin araştırma geliştirme laboratuarlarında, sürekli ilaç olabileceği düşünülen bileşiklerin sentezi yapılmakta ve bunlar belirli farmakolojik testlere tabii tutulmaktadır. İlaçlar seçici, etkisi geçici ve doza bağlı olmalıdır.

Organizmanın ve ilaç molekülünün organizmadaki yolculuğunun ve hedef moleküllerle etkileşiminin karmaşıklığı düşünüldüğümde, ilaç tasarımının ve ilaç tasarımında başarının ne kadar zor olduğu kolaylıkla görülebilir. Farmasötik amaçlarla sentezi yapılan otuz bine yakın bileşikten ancak birkaç tanesi çeşitli aşamaları geçip, klinik incelemelere kadar gelebilmekte ve bunlardan sadece bir tanesi ilaç olarak kullanıma girmesi 12–15 yıl sürmektedir.

Bilgisayarlı ilaç tasarımı teknikleri ile daha önceleri tek bir ilaç bile dizayn edilememesine rağmen, bu tekniklerin gelişmesi uzun sürmemiştir. Günümüzde bütün dünyada farmakoloji ve biyoteknoloji şirketleri bilgisayar destekli ilaç tasarımı tekniklerini kullanmaktadır [9].

1.4. İlaçta Araştırma-Geliştirme

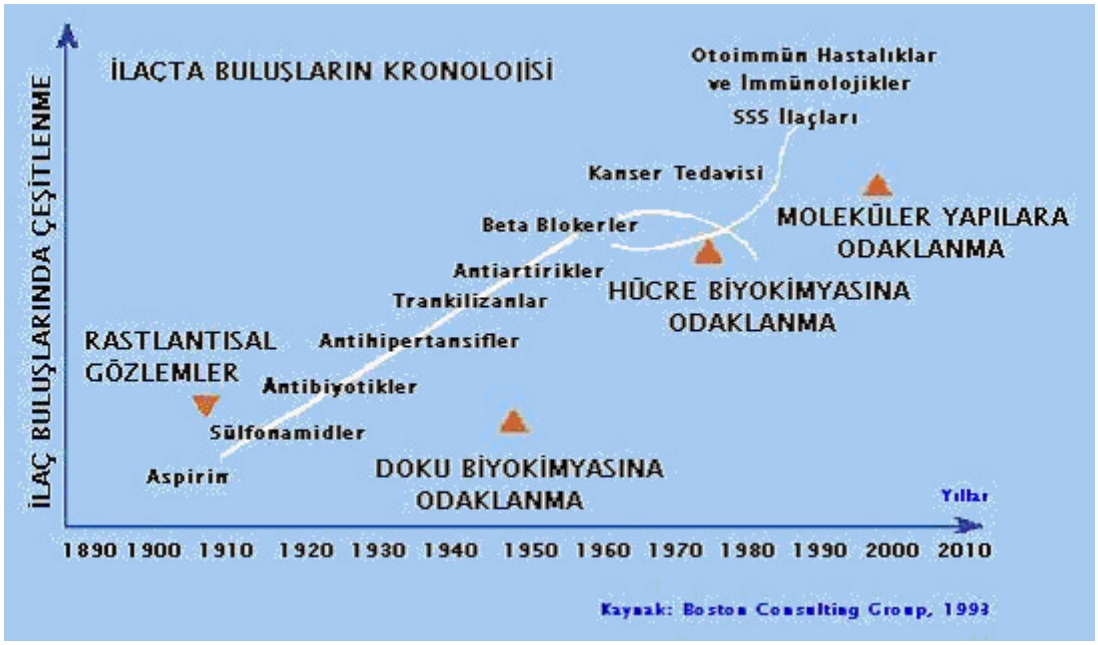
1.4.1. Tanım

Tedavide kullanılan yeni ilaçlar ve gelecek öngörüleri, ilaçta araştırma ve geliştirme (AR-GE) kavramının tanımıyla ve aynı zamanda bu sürecin tarihiyle ve yönelimleriyle ilgilidir. Öncelikle saptanması gereken husus, AR-GE' nin, tedavide kullanılacak yeni ilaçların keşfinin anahtarı olduğudur. AR-GE tedavide kullanılacak, endikasyon alanı ya da alanları hedeflenmiş yeni moleküllerin keşfinden, bunların etkin ve ruhsatlı bir ilaç formu olarak sağlık otoritesince tanıması ve denetlenmesini içeren her türlü yöntem ve uygulamayı içinde barındıran bir süreçtir.

1.4.2. İlaçta Buluşlar ve Kronolojisi

İnnovatör ilaç firmaları, uluslararası karakteristiklerinin bir parçası olarak Araştırma-Geliştirme (AR-GE) çalışmalarının özellikle II. Dünya Savaşı' nın sona ermesinden bu yana geliştiğini belirtmekte ve farmasötik AR-GE alanındaki yatırımların artmasının, 20. yy' ın ikinci yarısından bu yana sağlıklı yaşamın gelişmesine de katkıda bulunduğunu öne sürmektedirler. İlaç geliştirme çalışmalarının amacını açıklarken de, çeşitli hastalıkları tedavi edebilmek, yaşam kalitesini ve süresini artırmak olarak prospektif hedefleri önlerine koyduklarını ifade ederler.

İlaçta buluşların, gelişim çizgisi içerisinde ve günümüze ulaşan yöneliminde, başlıca dört aşamanın bulunduğu görülmektedir. Bunlar aşağıda sırayla verilmektedir. 19. yy. sonu ile 20. yy.' ın başlangıcı Rastlantısal Gözlem Dönemi (RGD) olarak anılmaktadır. Rastlantısal gözlemler bazı çok önemli ilaçların keşfinde ve geliştirilmesinde önemli rol de oynamıştır. Bu dönemde yeni ilaç ya da grubu olarak başlıca kazanımlar arasında aspirin, sülfonamidler ve antibiyotikler bulunmuştur. Klasik örnek Fleming' in 1928 yılında penisilini keşfedişidir; bu gözlem antibiyotik tedavisinin başlangıcını oluşturmuştur. Bazı ilaçların ise yan etkileri incelenirken rastlantısal olarak başka bir hastalığın tedavisinde kullanılabileceği de keşfedilmiştir. Antibakteriyel olan sülfonamidlerin oral antidiyabetik olarak kullanımı, tifo tedavisi için kullanılan sülfonamidlerin hastalarda yan etki olarak kan şekerini düşürmelerinin saptanmasıyla bulunmuştur.



Şekil 1.1. İlaçta Buluşların Kronolojisi.

1940 ların başlangıcı Doku Biyokimyasına Odaklanma Dönemi' nin (DBOD) de açılışı olmuş ve bu dönemde antihipertansif ilaçlar, trankilizanlar, antiaritmik ilaçlar, beta blokerler gibi çeşitli farmakolojik gruplara özgü keşifler yapılmıştır. 1952' de Rauwolfia serpentina bitkisinden rezerpinin izole edilmesi ve hipertansiyon tedavisinde yararlı olduğunun gösterilmesi ile bitkiler üzerindeki ilaç

keşif ve geliştirilme çalışmaları hızlandırılmıştır. Doğal kaynaklardan etkin bileşiklerin ayıklanabilmesi için biyolojik sistemler üzerinde yapılan araştırmaların çok uzun zaman alması ve pahalı olması sentez yoluyla yeni bileşiklerin üretilmesine yol açmıştır. Günümüzdeki yeni ilaçların çoğu ilaç firmaları tarafından araştırma ve geliştirme çalışmaları sonucunda üretilmiş orijinal bileşiklerdir. 1970 ler Hücre Biyokimyasına Odaklanma Dönemi' nin (HBOD) başlangıcını oluşturmuştur. Özellikle kanser tedavisine yönelik ilaç araştırmalarının yoğunlaştığı bir dönem olarak bilinmektedir. Moleküler Yapılara Odaklanma Dönemi (MYOD) ise, görece yeni dönem çalışmalarını içinde barındırmaktadır. Özellikle insan genom haritasının çözümlendiği 2000 ler, tedavi alanlarında kullanılan yeni ürünlerin gündeme gelmesine neden olmuştur.

1.4.3. AR-GE Çalışmaları

İlaç geliştirme süresi 4 ana bölümden oluşur:

1 Keşif ve araştırma,
2 Klinik öncesi çalışmalar,
3 Klinik çalışmalar,
4 Onay ve pazar sonrası denetim.

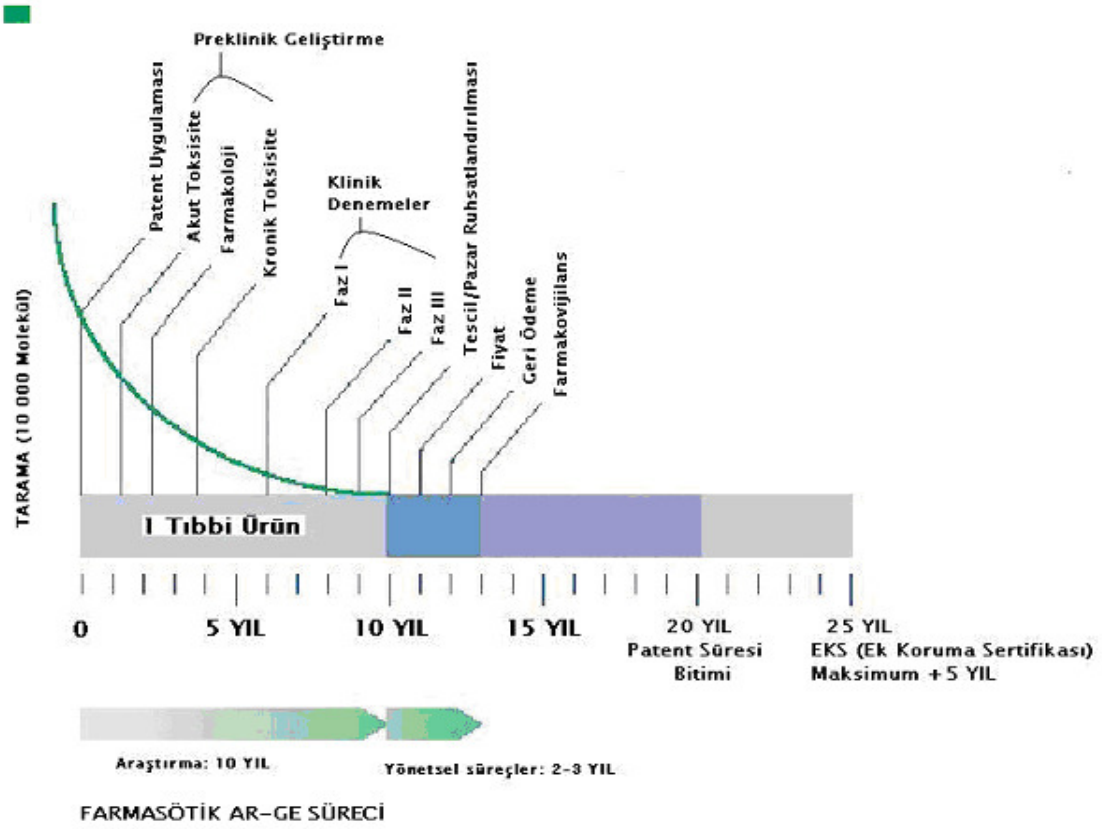
Aşağıda biyomedikal olarak, yeni ilaç geliştirilmesi ve değerlendirilmesi süreci tanımlanmaktadır.

1.4.3.1. Klinik-Öncesi (Preklinik) Değerlendirme

Doğal kaynaklardan veya sentez yoluyla ortaya çıkarılan bir kimyasal molekülün insanda denenmeden önce uygun deney hayvanları üzerinde farmakolojik etki profillerinin, toksisitelerinin ve farmakokinetik özelliklerinin denenmesi ile insanlar üzerindeki olası yarar ve zararlarının öngörülmeye çalışılması preklinik değerlendirmenin esasını oluşturur. Bu biçimde yapılan etraflı çalışmalar genelde 2-3 yıllık bir çalışma dönemini kapsar. Binlerce molekül arasında tarama testleri ile ilaç olmaya aday olan molekül/(ler) ayrıştılır ve sonuçta bu aday moleküllerin farmasötik şekil haline getirilmesi araştırmaları yapılır. Deneyler başlıca tarama ve toksisite testleri olarak sürdürülür. Tarama testleri başlıca canlı deney hayvanı, izole organ preparatları ve/veya hücre kültürleri gibi laboratuar koşullarındaki araştırmalar olarak sürdürülür. Toksisite testlerine gelince bunlar genellikle fare, sıçan (rat) ve kemirici dışı bir tür olarak köpeklerde yapılır. Toksisite araştırmaları doğası ve içeriği bakımından başlıca dört basamak deneyle gerçekleştirilir. Bunlar;

i) Akut toksisite,
ii) Subakut toksisite,
iii) Kronik toksisite,
iv) Özel toksisite (teratojenik, kanserojenik, mutajenik ve fertilite üzerine etkiler) incelemeleri olarak gerçekleştirilir.

Tüm preklinik incelemelerin temel ve başlıca amacı insanda tıbbi amaçlarla yeterince etkili olacak ve toksisitesi fazla ve ciddi problemler oluşturmayacak bir molekülü insan için öngörüsel bir seleksiyonla ayrıştırabilmektir.



Şekil1 1.2. Farmasötik Ar-Ge Süreci

1.4.3.2. Klinik Değerlendirme

Yukarıda anlatıldığı biçimde insan üzerinde kullanılabileceği öngörülen aday ilaç molekülleri çeşitli farmasötik biçimlere getirilerek ve ilgili etik kuruldan mutlaka izni alınarak gönüllü sağlam ve hasta denekler üzerinde denenir [10].

1.5. Bilgisayar-Destekli İlaç Tasarımı

1950 lerde başlayan bilgisayar teknolojisi, el hesap makineleri kullanılarak çok zor bir şekilde yapılan kuantum mekanik hesaplamalarını, Schrödinger denkleminin bilgisayar ile çözülmesi sonucunda çok kolay hale getirmiştir. Ancak o dönemlerde sadece birkaç atomlu küçük moleküllere uygulanabilen ab initio yöntemler ile hesaplamalar yapılıyordu. Daha sonrasında ise semiempirik moleküler orbiral teori ile çok büyük moleküller için de hesaplamalar yapılabilmektedir. Aynı zamanda fizikokimyacılar tarafından geliştirilen empirik modelleme metotları ile büyük biyolojik sistemlerin üç boyutlu konformasyonel davranışları ve yapıları daha net olarak açıklanmıştır. Moleküler mekanik metot olarak adlandırılan bu metot ab initio ve semiempirik metotlardan çok daha hızlıdır. Ayrıca 1960 ve 1970 lerde fizikokimyacılar ilaç tasarımında, bileşiklerin lipofilik veya hidrofilik karakterini hesaplayan metotlar geliştirmişlerdir. Böylece günümüzde bilgisayar-destekli ilaç tasarımı (Computer-Assisted Drug Design (CADD)) olarak adlandırılan ve ilaç geliştirme çalışmaları için kullanılan bir

teknik ortaya çıkmıştır [11]. CADD ilaç olarak kullanılan biyolojik aktiviteye sahip bileşiklerin optimizasyonu, tasarımı ve araştırılması aşamalarını içeren bilgisayar destekli tekniklerin tümünü kapsamaktadır. İlk bilgisayar destekli, yapı bazlı ilaç tasarımı metotları 1980 lerin başında ortaya çıkmış olup zaman içerisinde gelişim göstermiştir. Günümüzde ise gelişimi halen devam etmektedir [12].

Herhangi bir bileşiğin yapısı ve kimyası denel yöntemlerle belirlenebilir, ancak hesaplama yolu ile öngörünün yapılabilmesi çok yararlıdır ve pek çok uygulama alanı bulmuştur. Örneğin farmakolojide yeni ilaçların geliştirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kimyacılar bilgisayar kullanarak sentezden önce ilaçların yapıları hakkında önbilgiye sahip olarak ilaçta istenen özellikleri belirleyip bu özelliklere uygun bileşiklerin sentezlerini gerçekleştirirler. Bu da para ve zaman kaybını önlemektedir.

Bilgisayar-destekli ilaç tasarım yöntemleri, deneysel yöntemler kullanılarak bir ilacın keşfinden ticari olarak satılmasına kadar geçen sürenin ve maliyetinin düşürülmesi amacıyla son yıllarda hem ilaç firmaları hem de üniversitelerde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

Bilgisayar-destekli ilaç tasarımında, ligand-temelli (ligand-based etki gösteren moleküllerin yapısından reseptör yapısının yorumlanması) ve yapı-temelli (structure-based bilinen reseptör yapısından hareketle etki gösterebilecek moleküllerin tasarlanması) olmak üzere iki temel yöntem bulunmaktadır. Eğer ilacın vücut içinde etkileştiği hedef protein yapısı bilinmiyorsa, Quantitative-Structure Activity Relationship (QSAR) gibi yöntemler kullanılırken, "Hedef protein" yapısı biliniyorsa Moleküler dinamik (MD), simulasyon (zamana karşı konformasyon analizi) ve Docking (protein-ligand kilitlenmesi) yöntemleri kullanılmaktadır.

Bilgisayar destekli ilaç tasarımı ile orijinal bileşiklerin tasarlanması;

(1) Kombinatoryal kimya metotları (çok sayıda bileşiğin etkin ve hızlı bir şekilde beraber sentezlenmesini amaçlayan metot),

(2) High Throughput Screening (HTS) yöntemleri (milyonlarca bileşiğin aktivitesinin denenmesi için kullanılan çok hızlı bir yöntem) ile yeni kimyasal ilaç olabilecek moleküllerin belirlenmesi,

(3) Doğal kaynaklı bileşiklerin etkilerinin yine HTS teknikler kullanılarak kısa zamanda milyonlarca molekül arasından ayrıştırılabilmesi gibi bu güne kadar kullanılan konvansiyonel (klasik) metotlara göre çok daha hızlı ve ucuz olmaktadır [13].

Bilgisayar destekli ilaç tasarımı ile ilaç özelliği gösteren yeni moleküllere ulaşmak üzere kullanılan önemli yöntemler aşağıdaki gruplar altında toplanabilir.

a) **Moleküler Modelleme:** Moleküler grafik veya konformasyon analizi olarak da adlandırılan bu yöntemde klasik ve kuantum mekanik eşitlikleri ile moleküllerin yapılarını sayısal ve görsel olarak gösteren bir bilim dalıdır. Bilgisayarlı kimya programlarında geometrik özellikler (bağ mesafesi, bağ açısı, torsiyon açısı), enerji parametreleri (oluşum enerjisi, aktivasyon enerjisi vb.), elektronik özellikler (dipol moment, yük, iyonizasyon potansiyeli, elektron affinitesi),

spektroskopik özellikler (titreşim frekansları, kimyasal kayma) ve sterik özellikler (hacim, yüzey alanı, difüzyon, viskozite vb.) gibi parametrelerle moleküller üç boyutlu yapıda tanımlanır. Bu yöntemle, etken madde veya analog tasarımı (etken maddeye yapısal olarak benzemesine rağmen farmakolojik etkisi kendi özelliklerinin sonucu olan bileşik tasarımı) yapılarak nasıl bir biyolojik aktivite göstereceğine karar verilir. X-ışınları kristalografisi gibi yöntemlerle ilacın moleküler şekli veya konformasyonu araştırılır [14].

b) **Kalıp Tanıma (pattern recognition):** Kalıp Tanıma, Makine Öğrenmesi'nin bir alt dalı olup, Görüntü İşleme'de girdi olarak alınan işlenmemiş bilgiyi inceleyip gelen verinin kategorisine göre işleme tabi tutmasıdır. Kalıplar ölçümlerin veya gözlemlerin genel gruplarını çok boyutlu uzayda tanımlanan uygun noktalarda sınıflandırır [15].

c) **Kümeleme analizi (Cluster Analysis):** n boyutlu veri matrisinde yer alan ve doğal gruplamaları kesin olarak bilinmeyen birimleri, değişkenleri ya da birim ve değişkenleri birbirleri ile benzer olan alt kümelere ayırmaya yardımcı olan yöntemler topluluğudur. Birimleri, değişkenler arası benzerlik ya da farklılıklara dayalı olarak hesaplanan bazı ölçülerden yararlanarak homojen gruplara bölmek amacı ile kullanılır. Kümeleme analizi karmaşık oluşumların bulunduğu hemen hemen tüm bilim alanlarında yararlanılan bir yöntemdir. Kalıp Tanıma ve Kümeleme analizi yöntemlerinin her ikisi de birçok parametre ile karakterize edilmiş çok sayıda bileşik içinden en uygun bileşiğe ulaşmak için gelişmiş istatistik ve bilgisayar yöntemlerinin kullanıldığı sayısal tekniklerdir [16].

d) **Reseptör Uyum veya Reseptör Tanımlama Yöntemleri:** Çeşitli modern spektroskopik yöntemlerle reseptörle ilaç arasındaki ilişkilerin ve bu ilişkilerde hangi etkilerin fazla olduğu konularının incelenmesi ile reseptörle en iyi şekilde uyum sağlayacak molekülün tasarlanmasında elde edilen bilgilerin kullanılmasıdır.

1.6. Östrojen Nedir?

Östrojen hormonu, kadınların adet döngüsünde ve diğer önemli rol oynayan bir grup steroid hormondur. Östrojen hormonu hem erkek hem kadınlarda bulunmakla beraber, üreme yaşında kadınlarda seviyeleri çok daha yüksektir. Östrojen kadınlarda göğüs gibi ikincil cinsiyet özelliklerinin gelişimini sağlar ve adet döngüsüyle ilişkili olan endometrium kalınlaşması ve diğer süreçleri düzenler. Folikül uyarıcı hormon (FSH) ve lüteinizan hormon (LH), yumurtlayan kadınlarda östrojen üretimini düzenlerler. Kan dolaşımında bulunan östrojen, FSH ve LH'nin seviyelerinin azalmasına neden olduğu için bazı oral kontraseptiflerde östrojenler bulunur.

1.6.1. Östrojen Hormonu Görevleri Nelerdir?

Kadınlarda bulunan üç ana östrojen, östradiol, östriol ve östron'dur. Menarş ile menopoz arasında başlıca östrojen östradiol dür. Ergenlik çağında vücudun hipofiz bezinden salgılanan FSH ve LH hormonları genç kızlarda yumurtalıkları uyararak östrojen salgısını başlatır.Östrojen hormonu salınımı genç kızlarda boy büyümesi erkeklere nazaran ergenliğin başında başlar, hızlı olur ve daha çabuk biter. Östrojenin etkisi ile genital bölgede kıllanma, kalça bölgesinde yağlanma, memelerde büyüme, meme başının renginde koyulaşma ve gelişme görülür. Genç kızlarda vücut hatları yuvarlaklaşır, meme ve kalçalar dolgunlaşır. Yumurtalıkların hacmi artar, rahim iç ve dıştan kalınlaşır, vagina boy olarak uzar ve içindeki hücreler kayganlığı sağlayan mukus maddesini salgılar. Kadınlarda ergenliğin son noktası olarak adet kanaması gerçekleşir ve bununla beraber boy büyümesi durur. Östrojen progesteron dediğimiz diğer bir hormonla belirli bir düzen içinde çalışır. Adetin ilk iki haftasında östrojen salgılanıp, rahmi büyütür ve yumurtanın oluşmasında rol oynar. Adet döneminin son iki haftasında progesteron salgılanarak rahim salgılarını arttırır, eğer bu dönemde hamilelik gerçekleşirse progesteron rahmi hamileliğe hazırlar, gebelik oluşmaz ise progesteron adet kanaması, mens oluşmasına yol açar [17, 18].

1.6.2. Östrojen eksiliği ne yapar?

Östrojen eksikliği memelerde küçülme, vaginada kuruluk, cinsel ilişki esnasında ağrı, cillte kırışıklık, saç dökülmesi, vaginada sarkma, cinsel isteksizlik ve cinsel ilişkiden zevk almama sonuçlarını doğurur. Östrojen eksikliği olursa kadın erken menopoza girebilir, bu durumda sıcak basmaları, terleme atakları ve psikolojik dengesizlikler görülür.

1.6.3. Östrojen fazlalığı ne gibi sonuçlar doğurur?

Östrojen fazlalığı en sık yumurtalık faaliyetlerinin bozulması sonucu gelişir. Polikistik over hastalığı dediğimiz sendromda düzenli aylık yumurtlama yoktur ve kısırlık vardır. Overler östrojeni fazla salgılarsa armut tipi şişmanlık başlar, yani kalçalarda yağ birikir, sellülitlerde patlama olur. Östrojen fazlalığı durumunda kalça ve bacakları kalın orantısız bir vücut açığa çıkar. Fazla östrojenin en kötü sonucu kanser hücrelerini uyarmasıdır. Östrojen hap olarak alınsa da vücut kendi kendine aşırı salgılama yapsa da fazlası kanseri tetikleyebilir. Östrojen düzeyinin kanda yüksek olması rahim ve meme kanseri için direk bir risk faktörüdür. Östrojen fazlalığı yağ dokusunun miktarını arttırır. Artan yağ dokusunda daha fazla testosteron östrojene çevrilir, bu da yağ dokusu miktarını daha da artırır. Sonuçta bir kısır döngü oluşur. Daha fazla östrojen daha fazla yağ; bu da yine daha fazla östrojen demektir. Sonuçta hücreler uyarılır ve vücutta kadınlık organlarında kanser gelişimi başlayabilir. Östrojen fazlalığı

vücudun su ve tuz tutmasına neden olur. Yüz yuvarlaklaşır, el ve ayaklarda şişlik ve ödem gelişir. Östrojen fazlalığı bacak damarlarının tıkanmasına, akciğere pıhtı kaçmasına, safra kesesinde taş oluşmasına ve tansiyonda artışa sebep olabilir.

1.6.4. Östrojen içeren bitkiler nelerdir?

Menopozda olduğu kadar bazı cinsel ve cilt sorunlarının varlığında günümüzde östrojen içeren bitkiler sıklıkla kullanılmaktadır. Östrojen içeren bitkiler arasından en çok kullanılanları;

Adaçayı: Doğal östrojenler içeriyor. Ateş basması, gece terlemeleri gibi menopoz şikayetlerinde etkili.

Soya fasulyesi: Soyadan elde edilen ve doğal östrojen olan isoflavonlar, menopoz şikayetlerini hafifletiyor.

Civan perçemi: Doğal östrojen kaynağı olan bitki menopoz şikayetlerinin giderilmesinde çok yararlı.

Anason: İçinde belli oranda doğal östrojenler ve buna benzer maddeler var. Menopoz sıkıntılarının yanı sıra uyku bozuklukları, gaz kolit, hazımsızlık şikayetlerine iyi geliyor.

Maydanoz: Doğal östrojenler içeren maydanoz menopoz şikayetlerini gidermek için etkili.

Kızıldereli otu: Kızıldereli.

2. BÖLÜM

QSAR METOTLARI

2.1. Yapı Aktivite İlişkisi (SAR) ve Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi (QSAR)

2.1.1. SAR

SAR terimi bileşiklerin kimyasal yapıları ile biyolojik ve farmakolojik aktiviteleri arasındaki ilişkinin kalitatif olarak belirlenmesi anlamına gelir. Yani bir molekül aktif veya inaktif şeklinde sınıflandırılır. Bileşiklerin yapı-aktivite ilişkisi açıklanırken, genellikle fonksiyonel grupların etkisi, stereokimyasal yapısı, büyüklüğü ve şekli dikkate alınır. Yapı-aktivite ilişkisine diğer katkılar ise kimyasal reaktiflik, elektronik etkiler, rezonans ve indüktif etkilerdir [19].

2.1.2. QSAR

QSAR bir molekülün farmakolojik, toksikolojik ve biyolojik aktivitesinin kantitatif tahminini yapar. Bu metot, benzer bileşik serisinden ortaya çıkan yapı ve aktivite bilgilerini temel alır [20].

QSAR tarihinin başlangıç noktası kesin değildir. 1860 lardan 1960 lara kadar yüzyılı aşkın bir süre içinde gelişim göstermiştir. Moleküller arasındaki ilişkiyi ve biyolojik özellikleri gösteren ilk çalışma 1863' te Strasburg Üniversitesi'nde A.F.A. Cros tarafından sunulmuştur. A.F.A. Cros, alkollerin sudaki çözünürlükleri azaldıkça memeliler üzerindeki toksik etkisinin arttığını gözlemiştir. 1868 de A. Crum Brown ve T. Fraser alkaloidlerin biyolojik etkileri üzerinde çalışmışlar ve genel yapı-aktivite ilişkisini formüllendirerek fizyolojik aktivitenin kimyasal bileşimin yani konsantrasyonun bir fonksiyonu olarak değiştiğini bulmuşlardır.

$$\Phi = f(C) \qquad (2.1)$$

Çoğu organik bileşiğin yapısı henüz bilinmediği için bu ilişkiyi kullanarak aktiviteyi diğer örnekler üzerinde açıklamakta yetersiz kalıyorlardı fakat bugün ilaçlardaki her atom ile ilgili ayrıntılar bilinmektedir (çoğu durumda bağlanma bölgesinin üç boyutlu yapısı). Bu etkileşimi, farklı kimyasal moleküller ile etkileşim potansiyeli, üç boyutlu yapısı, yüzey özellikleri ve fizikokimyasal özellikler gibi farklı yollar kullanarak açıklayabiliriz. Fakat Eşitlik 2.1 bunu açıklamakta yetersiz kalmaktadır. $\Delta\Phi$ ile ΔC, ya yapısal parametreler (Free-Wilson analizi) yada moleküler özelliklerdeki değişim göz önüne alınarak (Hansch analizi) doğrudan ilişkilendirilebilir. Bu ilişki aşağıda verilmiştir.

$$\Delta\Phi = f(\Delta C) \qquad (2.2)$$

Aynı zamanda Crum Brown ve Fraser kendi genel yapı-aktivite formüllerini geliştirmişler ve B.J. Richardson, alkollerin uyuşturucu aktivitelerinin molekül ağırlıkları ile orantılı olduğunu göstermiştir. 1893'te, C. Richet eterler, aldehitler, alkoller, ketonlar ve diğer bileşiklerin toksik etkilerinin sudaki çözünürlükleri ile ilişkili olduğunu gözlemlediler. 1890 larda, Marburg Üniversitesinden H.H. Meyer ve Zürih Üniversitesinden C.E. Overton, birbirinden bağımsız olarak çalışarak nötral organik bileşiklerin toksik etkisinin lipofilik ve su fazı arasındaki partisyon katsayısına bağlı olduğuna dikkat çektiler [21].

Louis Hammett'in çalışmalarına kadar QSAR'ın gelişmesi aslında çok yavaştı. Ancak Louis Hammett, organik asit ve bazların elektronik özellikleri ile denge sabiti ve reaktiflikleri arasında ilişki kurarak, benzoik asit ile çeşitli türevlerinin disosiasyonunu incelemişler ve bağlı olan substituentlerin aktiviteyi nasıl etkilediğini açıklayarak, QSAR'ın gelişimine büyük katkılarda bulunmuştur [22]. Uyuşturucu, bakteriyel, hemolitik ve toksik özellikler ile lipofilite arasındaki ilişkiler yüzyılın başından beri bilinmesine rağmen, 1964' te Free-Wilson metodu ve Hansch analizi ile ilgili yayınlar sonucunda, daha açık bir şekilde ortaya konulmuştur [23].

2.1.2.1. QSAR Teorisi

Bir bileşiğin farklı yapısal ve kimyasal özelliklerinin, kendi biyolojik aktivitesine doğrusal toplam katkısının göz önüne alınmasına dayanır. Burada biyolojik aktivitenin belirli fizikokimyasal özelliklere dayanarak taşınma ve bağlanma ile doğrusal ilişki içerisinde olduğu ispatlanmıştır. Bu durum, bazı araştırmalar, Örneğin; de novo ilaç dizaynı programı LUDI (2.3), tarafından ispat edilmiştir. Buna ek olarak, Free Wilson ve Hansch analizleri birleştirilerek yapılan çalışmaların sonucunda bu görüş desteklenmiştir [24].

$$\Delta G_{baglanma} = \Delta G_0 + \Delta G_{hb} + \Delta G_{iyonik} + \Delta G_{lipo} + \Delta G_{dönme} \qquad (2.3)$$

Öteleme ve dönme entropilerinin toplam kaybı; ΔG_0 = + 5,4 kJ mol^{-1}

İdeal nötral hidrojen bağı; ΔG_{hb} = - 4,7 kJ mol^{-1}

İdeal iyonik etkileşim; ΔG_{iyonik} = - 8,3 kJ mol^{-1}

Lipofilik (veya hidrofobik) bağlantı; ΔG_{lipo} = - 0,17 J mol^{-1} $A^{0\,-2}$

Ligandın her dönebilen bağına ait entropi kaybı; $\Delta G_{dönme}$ = + 1,4 kJ mol^{-1}

Eşitlik (2.3), serbest bağlanma enerjisi $\Delta G_{baglanma,}$ bütün öteleme ve dönme serbestlik derecesi kayıplarını açıklayan ΔG_0 sabiti, nötral ve iyonik hidrojen bağı etkileşimleri ile ligand-protein arasındaki hidrofobik (veya lipofilik) etkileşimlerin yapıya bağlı enerji terimleri olan ΔG_{hb}, ΔG_{iyonik}, ΔG_{lipo} ve ligandın iç dönme serbestlik derecesi kaybını gösteren $\Delta G_{dönme}$ enerji terimi ile ilişkilidir.

Eşitlik (2.3) enerji değerlerinin geniş bir aralığına sahiptir: 45 farklı ligand-protein kompleksine ait $\Delta G_{baglanma}$ değerleri -9 ila -75 kJ mol^{-1} arasında değişir. Bu değerler $2{,}5.10^{-2}$ M ve 4.10^{-14} M arasındaki bağlanma sabitlerine karşılık gelir. Matematiksel modelden, ligand bağlanma sabitlerinde yaklaşık 1,4 log birimlik hataya karşılık gelen standart sapma değeri 7,9 kJ mol^{-1} olduğu bulunmuştur [24].

Serbest enerji ΔG ve ligand-reseptör kompleksindeki denge sabiti K ya da oran sabiti $Q = k_b/k_a$ (k_b: birleşme sabiti, k_a: ayrışma sabiti) arasındaki termodinamik ilişkiden dolayı, bu değerlerin logaritması ile bağlanma affiniteleri aralarında bir bağlantı kurulabilir.

$$\Delta G = -2{,}303\, RT \log K = -2{,}303\, RT \log \frac{k_b}{k_a} \qquad (2.4)$$

Belirli biyolojik etkiye karşılık gelen molar konsantrasyonun logaritması, logC, moleküler özellikler yada fizikokimyasal özellikler ile ilişkilendirilebilir. Bu fizikokimyasal özellikler Eşitlik 2.4 de verildiği gibi serbest enerji ile ilişkisi olan denge sabitleridir. Normal olarak konsantrasyonun tersinin logaritmasının değeri, log(1/C), aktifliği fazla olan bileşiklerde daha yüksektir. Başlangıçta QSAR olarak ortaya çıkan bu metot zamanla gelişim göstererek aşağıda verilen yeni QSAR metotları şeklinde uygulama alanı bulmuştur.

2.1.2.2. 2D-QSAR Analizi

Aktivite ve toksisite de fizikokimyasal özelliklerin etkisinin araştırılması 19. yy' a dayanır. 1935' de Hammett sabiti, σ, organik asit ve bazların reaktifliği ile denge sabitleri arasındaki bağıntıyı açıklamak için kullanılmıştır. 1969' da Hansch tarafından yapılan yarı deneysel çalışmada ise QSAR için yeni bir dönem başlamıştır. QSAR da çeşitli biyolojik aktiviteyi tahmin etmek için oktanol-su dağılma katsayısı (logP) hidrofobik özellik olarak tanımlanmıştır. logP veya hidrofobik özelliğin diğer ölçümleri toksikolojide ve ilaç araştırmalarında halen geniş çapta kullanılmaktadır. Aktivite ile fizikokimyasal özellikler arasındaki ilişkiyi kuran Hansch tipi yaklaşım çok değişkenli regresyon metodunu kullanarak enzim inhibisyonu, metabolizma, ligand reseptör bağlanması, toksiklik gibi problemlere çözüm getirmek için uygulanır. QSAR' daki temel çalışmalar Hansch tarafından yapılmıştır.

2D-QSAR analizi kantitatif ilişkileri elde etmek için lineer regresyon tekniklerini kullanır. 2D-QSAR tekniklerinin çoğunun istatistiksel verileri şüphelidir. Ligand ve reseptör arasındaki başlangıç etkileşimi üzerinde durur. 2D-QSAR, 3D-QSAR kadar açık değildir. Genellikle yapı temelli farmakofor tanımlaması yapar ve reaksiyon bilgileri, yapısal özelliklerin tahmini ile kimyasal bilgiler üzerinde durur [25].

2D-QSAR da kullanılan moleküler parametreler genellikle üç grupta toplanır.

- Moleküler bağlanma gibi iki boyutlu parametreler

- Moleküler yüzey alanı gibi üç boyutlu parametreler
- LogP gibi fizikokimyasal özellikler

2D-QSAR için parametreleri yapısal, topolojik, geometrik, elektrostatik, kuantum kimyasal ve termodinamik parametreler olarak sınıflandırabiliriz. En basit tanımlayıcı, geometrik veya elektronik yapıya bakmadan moleküler yapıyı yansıtan yapısal parametredir ki bu parametre atom sayısı, moleküler ağırlık, bağ sayısı ve H bağı sayısı ile ilgilenir. Topolojik parametreler, moleküldeki iki atom çifti arasındaki bağ bilgilerini kapsar. Geometrik parametre, yapının üç boyutlu koordinatlarını gerektiren, molekül yüzey alanı, moleküler yoğunluk ve hacim gibi özellikleri içine alır. Kuantum kimyasal parametreler ise moleküllerin elektronik özellikleri hakkında bilgi sağlayan HOMO ve LUMO gibi tanımlayıcılardır. Termodinamik parametreler, ilk olarak Hansch analizinde kullanılan molar refraktivite, oluşum ısısı, hidrofobik özellik ve oktanol ve sudaki serbest solvatasyon enerjisidir.

2D-QSAR da kullanılan moleküler parametreleri, ya deneysel metotlardan (X-Ray, NMR gibi) yada moleküler mekanik (MM) hesaplamalarından elde etmek etkili bir yoldur. Ancak, HOMO ve LUMO gibi bazı parametreler kuantum mekaniksel (QM) hesaplamaları gerektirir. Son yıllarda Tong, moleküler parametrelerin aynı seti için, MM' de hesaplanan geometri ile QM' de hesaplanan geometrileri kullanarak elde ettiği sonuçları QSAR modelinde karşılaştırmıştır. QM parametreleri kullanarak elde edilen QSAR sonuçları MM parametreleri kullanarak elde edilen QSAR sonuçlarından daha iyi olduğu görülmüştür [26].

2.1.2.2.1. Hansch Analizi

1964' te, C. Hansch, T. Fujita, tarafından yapılan çalışmada farklı fizikokimyasal parametreler kullanılarak substitue fenoksiasetikasit türevlerinde biyolojik aktivite ve lipofilite değişimleri incelenmiştir. QSAR daki başlıca ilerleme de Hansch' ın bu çalışmasında biyolojik aktivitenin serbest enerji terimleri ile bağlantılı olduğunu ispat etmesinden sonra olmuştur. Bu yaklaşım başlangıçta lineer serbest enerji ilişkisi (LFER), olarak adlandırılmış daha sonra termodinamik yaklaşım olarak değiştirilmiş ve aşağıdaki eşitlik ile açıklanmıştır.

$$\log 1/C = a\pi + b\sigma + cE_s + \ldots\ldots + \text{sabit} \qquad (2.5)$$

C; biyolojik aktiviteden sorumlu olan bileşiğin molar konsantrasyonu, π; substituentin hidrofobik katkısıdır ve log P_X / P_H olarak verilir. σ; substituentin Hammett elektronik katsayısıdır ve log K_X / K_H olarak verilir. E_s; Taft sterik parametresi ve a, b, c ise uygun katsayılardır. Bu açıklamada P_X ve P_H sıra ile substitue olmuş ve olmamış bileşiklerin oktanol ve su fazındaki dağılma katsayısını ifade ederken K_X ve K_H ise sıra ile meta ya da para substitue olmuş veya substitue olmamış benzoik asit türevlerinin 25 ºC deki iyonizasyon sabitleridir.

Korelasyon modeli tek bir parametre veya çeşitli parametrelerin kombinasyonu kullanılarak ortaya çıkarılabilir. Bu parametreler π, logP, σ gibi deneysel verilerden yada ClogP, LUMO ve HOMO enerjisi ve yük gibi teorik olarak hesaplanan değerlerden elde edilebilir.

Hansch ve grubu, hidrofobik ilaçlar ve biyolojik aktivite arasında parabolik bir ilişkinin olduğunu ortaya çıkararak QSAR analizinde kullanmışlardır [27]. ilacın n-oktanol/su sistemindeki dağılma katsayısı (hidrofobisite) ve biyolojik aktivite arasında ikinci dereceden bir ilişki olduğunu aşağıdaki formül ile göstermişlerdir.

$$\log 1/C = a(\log P)^2 + b(\log P) + c\sigma + \ldots\ldots + k \qquad (2.6)$$

P = n-oktanol/su dağılma katsayısı, σ = Hammet elektronik parametresi, a,b,c = regresyon katsayıları, k = sabit terim. Bu eşitlik ilacın taşınması ve bağlanma affinitesi kavramlarından geliştirilmiştir. İlacın enzim veya reseptör gibi biyolojik aktif bölgelere bağlanması lipofilite, elektronik ve diğer serbest enerji özelliklerine bağlıdır ki buna bağlanma affinitesi denir.

Bu eşitlik taşınma ve bağlanma kavramının her ikisini de içeren matematiksel modeldir. Eşitlikte farklı fizikokimyasal özelliklerin bu kombinasyonu ve lineer olmayan lipofilite bağlılığı için parabolik terimin ortaya çıkmasına ek olarak, Hansch ve Fujita X substituentlerinin lipofilite parametresi olan π' yi tanımladılar, ($\Pi_X = \log P_{RX} - \log P_{RH}$) yaklaşık 30 yıl önce Hammett aynı anlama gelen elektronik parametre σ' yı açıklamıştır. Hammett çalışmalarında referans olarak substitue benzoik asitlerin iyonizasyon sabitlerini kullanarak aşağıdaki matematiksel bağıntıları önermiştir [28].

$$\rho\sigma = \log K_{RX} - \log K_{RH} \qquad (2.7)$$

$$\rho\sigma = \log k_{RX} - \log k_{RH} \qquad (2.8)$$

ρ belirli reaksiyonlar için özel olan reaksiyon sabiti ve σ substituentlerin elektron verici veya çekici özelliklerine bağlı bir parametre olan elektronik Hammett sabitidir. K denge sabiti ve k aromatik bileşiklerin reaksiyon hız sabitidir.

Doğal olarak bu eşitlik ilaç tasarımında ve biyolojide de kullanılabilir. Bu durumda biyolojik aktivitenin Hammett σ değerleri ile ilişkisi yada biyolojik Hammett eşitliği olarak tanımlanır.

$$\log \tau_i - \log \tau_{Et} = \alpha\beta_i \qquad (2.9)$$

τ_i ve $\tau_{Et;}$ biyolojik aktivite değerleri, α; biyolojik aktivitenin belirli bir çeşidi için geçerli olan bir sabit ve β_i; X_i substituentinin etil grubuna göre daha az veya daha fazla olan sabit aktivite katkısı. Eşitlik özel olmayan bir biyolojik aktiviteyi açıklamasına rağmen genel bir model olarak kabul edilemez.

Özellikle laboratuar çalışmalarında biyolojik aktiviteyi farklı şekilde açıklama yeteneğine ve esnekliğine sahip olması nedeni ile Hansch analizi oldukça avantajlıdır [21]. Bir Hansch analizi yapmak isteyen araştırmacı, her bir satırın bir bileşiği, her bir sütunun ise moleküllerin değişik

özelliklerini gösterdiği bir tablo hazırlar. Genellikle analiz edilen bileşiklerin ortak özellikleri bir noktada kesişirler. Bu yüzden moleküllerin biyolojik aktivitelerindeki farklılıklar molekülün temel iskeletine eklenen sübstitüentlerin değişen özelliklerinden kaynaklanır. Sübstitüentlerin logP veya pKa gibi özellikler üzerine etkileri tablolarda mevcuttur. Regresyon analizi, moleküllerin hangi fiziksel özelliklerinin, biyolojik aktivitelerine en iyi şekilde nasıl etki ettiğini açıklar.

2.1.2.2.2. Free-Wilson Analizi

1964' te Free ve Wilson genel yapısal özellikleri açıklamak için yeni bir matematiksel model geliştirdiler. Bu model substituentlerin bulunması veya bulunmaması durumunda biyolojik aktivite korelasyonunu kullanan bir regresyon tekniğidir [29]. Bu modelin esası, herhangi bir konumdaki substituentin, temel molekül yapısına biyolojik katkısının olduğu ve her bir substituentin bu katkısının, molekülde var olan diğer gruplardan bağımsız olduğu varsayımına dayanır [30]. Free Wilson analizinde biyolojik aktivite aşağıdaki formül ile hesaplanır.

$$\log 1/C = \sum a_i + \mu \qquad (2.10)$$

$a_{i,}$ biyolojik aktivite değerlerine $X_{i,}$ substituentlerinin grup katkıları ve μ daha çok substitue olmamış analog olarak adlandırılan referans bileşiğin hesaplanmış biyolojik aktivite değeridir. Free Wilson analizi uygulama yapmak için daha kolaydır. Biyolojik aktiviteyi açıklamakta fizikokimyasal özelliklere ihtiyaç duymaz. Genel substituentlerin varlığı veya yokluğunu göstermek için 1 yada 0 değerlerini kullanır. Başka bir deyişle, Free Wilson analizi Hansch analizinden daha sınırlıdır [21]. Free-Wilson analizi bir QSAR modeli ortaya çıkarmak için bileşiklerin kimyasal yapısının ve biyolojik aktivite değerlerinin bilinmesini gerektirir. Free-Wilson analizi için aşağıda verilen şartlar geçerlidir [28].

Bunlar;

1. Bileşiğe bağlı substituentin regresyon katsayısı değerlerini bulmak için bileşik kimyasal olarak modifiye edilir.

2. Farklı bir substituent bağlandığında yeni bileşen için tahminler yapılır

3. Molekülün üç boyutlu yapısını göz önüne almaz, substituenti tek noktada tayin eder bu nedenle istatistiksel sonuçlar için belirsizdir.

4. Çoğu serbestlik derecesi her substituenti açıklamada ihmal edilir

Free-Wilson analizi, biyolojik aktivite için önemli olan fizikokimyasal özelliklerin farkını görmede sık sık kullanılır.

Fujita ve Ban 1971 de Free-Wilson modelinin eksikliklerini gidermek için, aktivitenin logaritmasını kullanarak yeni bir eşitlik geliştirdiler. Bu eşitlik aşağıda verilmiştir.

$$\log A/ A_0 = \sum G_i X_i \quad (2.11)$$

A ve A_0 sıra ile substitue olmuş ve olmamış bileşiklerin aktivite değeri, G_i, i substituentinin aktivite katkısının logaritmasıdır ve X_i ise substituent bulunduğunda 1, bulunmadığında 0 olan bir değerdir. Substituentlerin bir seti için eşitlik aşağıdaki şekli alır.

$$\log A = \sum G_i X_i + \mu \quad (2.12)$$

burada μ sabit bir terimdir.

Geliştirilmiş bu modelin başlıca avantajları şunlardır.

1. Yapısal matris biçiminin değiştirilmesine ihtiyaç duymaz

Eşitlik için hiçbir sınırlama yoktur.

2. Her bir pozisyondaki grup katkıları referans bileşiğe dayanır.

Sabit terim μ en küçük kareler yöntemi ile hesaplanır ve substitue olmamış bileşik için değeri teorik olarak bulunur. Bir bileşiğin dışarıda bırakılması yada hesaba katılması grup katkıları değerini önemli derecede etkilemez.

Bu avantajlar nedeni ile Fujita-Ban metodu Free-Wilson metodundan daha iyidir [27].

2.1.3. Yeni QSAR Metotları

2.1.3.1. Hologram QSAR (HQSAR)

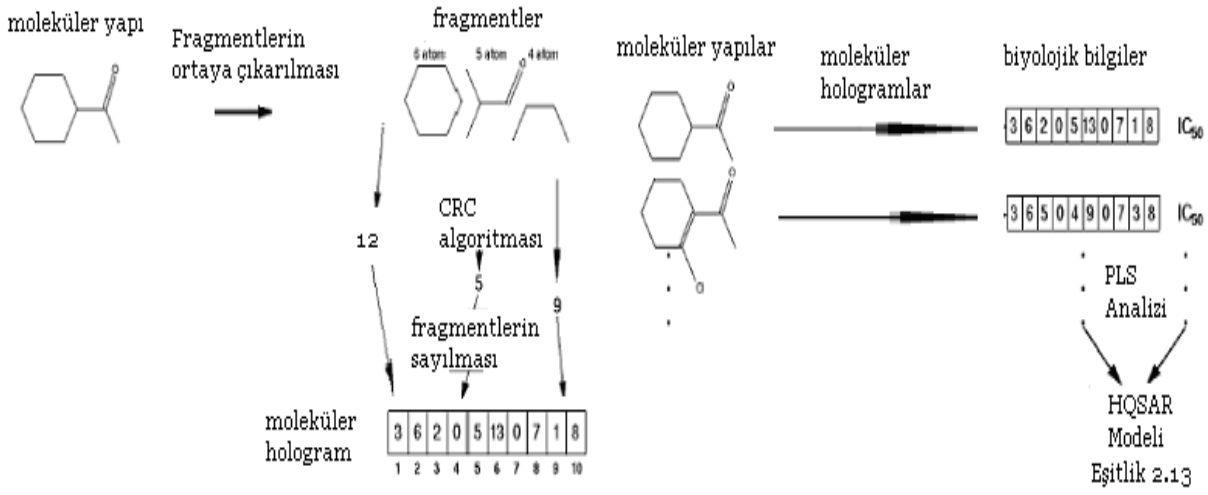
Son yıllarda Tripos tarafından ortaya çıkarılan Hologram QSAR fragment bazlı bir QSAR yaklaşımıdır [26].

HQSAR, yapı-aktivite ilişkisini ortaya çıkarmak için kullanılan fizikokimyasal parametrelere ve üç boyutlu yapıya ihtiyaç duymayan yeni bir tekniktir. Bu metot biyolojik aktivite ve molekülün iki boyutlu yapısı arasındaki bağıntıyı temel alır [27]. HQSAR da, seçilen bileşik serisindeki her bir molekül yapısal fragmentlerine ayrılır, daha sonra bu fragmentler Cyclic Redundancy Check (CRC) algoritması kullanılarak özel bir sayı olarak tayin edilir. Bu sayılar sabit uzunluktaki bir sayı dizisinde depolanarak düzenlenir. Burada elde edilen diziler moleküler hologram olarak bilinir ve moleküler hologram dizileri, tanımlayıcılar olarak kullanılır. Bu tanımlayıcılar moleküllerin kimyasal ve topolojik bilgilerini tahmin etmek için kullanılır. QSAR modeli "Partial Least Squares" (PLS) regresyon tekniği kullanılarak geliştirilmiş ve leave-one-out-cross-validation tekniği kullanılarak geçerli kılınmıştır. Aktivite ile hologram dizileri arasındaki korelasyon, PLS ile elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak geçerli olmuştur.

$$A_i = C + \sum_{l=1}^{L} X_{il} C_{il} \quad (2.13)$$

Bu eşitlikte, $A_{i,}$ i bileşiğinin aktivitesi, C, bir sabit, X_{il}, *l* dizininde yada i pozisyonunda bileşiğin moleküler hologramını işgal eden değer, C_{il}, PLS tekniğinden türetilen diziler için bir katsayı ve L ise hologram uzunluğudur.

Aşağıda verilen ilk şekilde moleküler hologramların ortaya çıkarılma prosedürü ve ikinci şekilde ise bu hologramların kullanılarak aktiflik değerlerinin elde edilmesi gösterilmiştir [31].



(a) (b)

Şekil 2.1. HQSAR' da Hologramların Ortaya Çıkarılması ve Bu Hologramlardan Aktivite Değerinin Elde Edilmesi.

HQSAR ve Free-Wilson metodu gibi diğer fragment bazlı QSAR teknikleri arasındaki temel fark, üst üste çakışan fragmentleri içeren bütün mümkün fragmentleri kapsamasıdır. Metot çok hızlıdır ve ClogP gibi fizikokimyasal özelliklerin tahmininde kullanılabilir.

2.1.3.2. Inverse QSAR

Inverse QSAR Focus-2D olarak bilinen bu yaklaşım yapısal olarak benzer bileşiklerin benzer biyolojik aktiviteyi göstereceği hipotezi üzerinde durur [32]. Bu yaklaşım topolojik parametreler gibi çeşitli kimyasal yapı parametrelerini, olasılık araştırma algoritmalarını ve kimyasal benzerlik fonksiyonlarını kullanır.

Bu metot özellikle peptit bileşik arşivindeki moleküllerin rasyonel dizaynı için Cho tarafından geliştirilen bir yaklaşımdır. Bu metodun amacı arşiv sentezi için çoğunlukla benzer olarak sunulan amino asitlerin alt serilerini seçmektir [33].

Bileşik arşivindeki yüksek aktiviteli bileşikleri seçmek için daha önceden özellikleri belirlenmiş QSAR metotları kullanılır. Bu metot, 28 bradykinin-potentiating BK pentapeptit bileşiğinin bir serisinden "genetic algorithma" GA-PLS metodu kullanılarak geliştirilen QSAR eşitliği ile geçerli kılınmış ve eşitlikten en aktif iki peptitin aktivitesi tahmin edilmiştir. Topolojik tanımlayıcılar Malconn-X programı ile hesaplanmıştır. Birçok amino asit temelli tanımlayıcılar olan elektronik özellikler ve hidrofobisite sıra ile elektronik yük indeksi (Electronic Charge Index (ECI)) ve izotropik yüzey alanı (Isotropic Surface Area (ISA)) kullanılarak anlatılmıştır.

2.1.3.3. Binary QSAR

Biyolojik aktiviteye sahip yeni bileşiklerin sentezlenerek arşive dahil edilmesinde kombinatoryal kimyanın ortaya çıkmasından sonra araştırmacılar kısa zamanda milyonlarca bileşiğin denenmesi için hızlı ve yeni metotlar araştırmışlardır. Buna göre daha hızlı metot olarak High Throughput Screening (HTS) metodu geliştirilmiştir. Genellikle bu metot aktif ya da inaktif şeklinde bilgiler ürettiği için sonuçlarda hatalara rastlanılır.

Binary QSAR ise, çalışılan molekül serisinde aktif ve inaktif bileşikler için olasılık hesaplaması yapan ve biyolojik aktivitenin binary ifadesi (aktif=1 ve inaktif=0) ile bileşiklerin yapısal özelliklerini ilişkilendiren HTS analizini kullanan bir yaklaşımdır [34]. Bu metot biyolojik aktivite için gereken önemli yapısal bilgileri çıkarmada ve ilaç tasarımı için arşivlerin tasarımında yardım eder. Metodun daha ayrıntılı şekli Labute'nin [35] ve Gao'nun [36] makalelerinde yer almaktadır. Bu metot HTS için bileşiklerin seçiminde ve kombinatoryal arşivlerinin tasarımında kullanışlıdır. Binary QSAR metodunun başlıca dezavantajı parametrelerin yorumlanmasında kolay olmamasıdır [27].

2.1.3.4. 3D-QSAR

C. Hansch grubu ve diğer araştırmacıların üzerinde durduğu QSAR yaklaşımları, biyolojik aktivite veya moleküldeki fiziksel ve yapısal değişimler ile yapısal parametreler arasındaki kantitatif ilişkileri gösterir. Bu metotlar, birçok ticari ilaç ve pestisitlerin geliştirilmesinde ve ilaç reseptör etkileşimlerinin aydınlatılmasında yardım eder. Bununla birlikte, bu metotlar bazı sınırlamalara sahiptir. En önemli sınırlama, yeni substituentler için sayısal parametrelerin bulunmamasıdır. Aktif Analog Yaklaşımı, Moleküler Şekil Analizi, Karşılaştırmalı Moleküler Alan Analizi (Comparative Molecular Field Analysis (CoMFA)) gibi birçok 3D-QSAR modeli yaklaşımı 1980 lerde ortaya çıkmıştır. Birçok yeni metot 1990 larda geliştirilmiş ve bu alan son on yıl boyunca ilaç tasarımı için oldukça fazla gelişim göstermiştir [27].

Bir bileşiğe biyolojik aktivite kazandıran molekülün üç boyutlu yapısı olduğu için 3D-QSAR, moleküldeki yapısal değişikliklerin biyolojik özelliklerin değişimlerini nasıl etkilediğini anlamamıza yardım eder. 3D-QSAR teknikleri yapı-aktivite ilişkilerini bilgisayar destekli olarak ortaya koyar. Hızı ve kesinliğinden dolayı 3D-QSAR metotları ile ligand-reseptör kompleks yapısı üzerindeki

hesaplamalar yapılabilir. 3D QSAR teknikleri, incelenen molekül serisi dışındaki bileşiklerin aktifliğini veya inaktifliğinin tahmini için de kullanılır [37].

3D-QSAR da genel kurallar aşağıda maddeler halinde gösterilmiştir.

1. Konformasyonel analiz tekniklerini kullanarak minimum enerjili konformer seçilir.

2. İki atom arasındaki mesafe, halkalı sistemlerin optimizasyonu, dönor-akseptör hidrojen bağı yada yüklü fonksiyonel gruplar tanımlanır.

3. Aktif Küme (Perform Cluster Analysis) sınıflandırma metotları ile bağlayıcı konformer seçilir. "Aktif Küme" aktif bileşiklerin yüksek konsantrasyonu ve inaktif bileşiklerin düşük konsantrasyonuna sahiptir. Aktif kümede her bir yapının en düşük enerjili konformeri reseptör ile etkileşen konformer olarak alınır.

4. Farmakoforun, dipol momenti, polaritesi, nokta yükleri, moleküler elektrostatik potansiyeli, HOMO ve LUMO orbitalleri, şekil ve hacim gibi özellikleri belirlenir.

5. Önemli farmakofor özellikleri seçilir [38].

Biyolojik aktivite ile kimyasal bir serinin üç boyutlu özellikleri arasındaki bağıntıyı kullanan 3D-QSAR, son yıllarda QSAR metotlarının en dikkat çekeni olmuştur. Çünkü aktivite hesabı için kimyasal yapıyı anlatan parametreler kullanılır. 3D-QSAR metodu, parametre tipine göre iki temel sınıfa ayrılır. Birincisi hacim bazlı (lattice-based, incelenecek bir bileşik bir hacim içine yerleştirilerek özelliklerinin araştırılması) ve ikincisi yüzey bazlı parametrelerdir. Hacim bazlı metot olarak, 3D-QSAR metodunda en çok kullanılan CoMFA' dır.

2.1.3.4.1. Karşılaştırmalı Moleküler Alan Analizi (CoMFA)

1979 da Cramer ve Milne molekülleri karşılaştırmak için uzayda molekülleri üst üste çakıştırarak üç boyutlu olarak incelemişlerdir. Bunu izleyen yıllarda bu yaklaşım CoMFA' nın ilk uygulamalı modeli şeklinde, DYLOMMS (dynamic lattice-oriented molecular modelling system) metot olarak geliştirilmiş olmasına rağmen bilim adamları tarafından yetersiz olarak gösterilmiştir. Bunun ardından Cramer çeşitli çalışmalarla bu modelini geliştirerek 1988 de CoMFA olarak adlandırdığı bu yeni metodu ortaya çıkarmıştır ve bu metot geniş çapta kullanım alanı bularak, QSAR ve ilaç tasarımı için kullanılan en güçlü yöntemlerden biri olmuştur. CoMFA molekülün özelliklerini (biyolojik aktivite dahil) molekülün yapısı ile ilişkilendiren istatistiksel (PLS, PCA) ve grafiksel bir modeldir [39].

Aktivitenin doğrudan sistemin yapısal özellikleri ile ilgili olduğunu kabul eden CoMFA metotları 3D yapı-aktivite ilişkilerini kantitatif anlamda açıklar. Bu amaçla ilk olarak analizde kullanılacak olan molekül seti seçilir. En önemli ön koşul, benzer yapıya sahip olan moleküller aynı tip reseptörle (iyon kanalları, enzim, proteinler, hormonlar vb. gibi) aynı şekilde etkileşmesi (ligand-reseptör etkileşimi) ile aynı bağlanma bölgelerini kullanması şartıdır. İkinci adım olarak, CoMFA modeli oluşturmak için

moleküllerden bir alt grup (training set) seçilir. Geriye kalan moleküller test seti olarak düşünülür. Atomik yükler ve düşük enerjili konformasyonlar hesaplanır [39].

CoMFA' da kimyasal yapının düzenlenmesi önemli olduğundan bu modelde moleküller birbiri üzerinde çakıştırılır ve bu çakıştırma için yapısal benzerlik esas alınır. Çakışmış moleküller üç boyutlu bir yüzeye yerleştirilir. Sonra sterik ve elektrostatik alanlarda moleküllerin her yüzey noktasında bütün moleküller için bilgisayarla hesaplama yapılır. En küçük kareler metodu PLS kullanılarak sterik ve elektrostatik alanlardaki değişimler, biyolojik aktivitede ki değişimler ile ilişkilendirilir. PLS analizi genellikle parametrelerin (yapısal, konformasyonel, geometrik, elektronik ve termodinamik gibi fizikokimyasal özellikler) sayısı kimyasal modellerin sayısından daha büyük olduğu zaman kullanılır. En küçük kareler analizi, basit doğrusal, çoklu regresyon modellerinin çözümlenmesinde kullanıldığı gibi, çok denklemli ekonometrik modellerin çözümünde de kullanılan tekniklerden biridir [40].

PLS analizlerinden alınan veriler kullanılarak CoMFA haritaları düzenlenir. Bu haritalar analizdeki bileşiklerin elektrostatik ve sterik özelliklerini açıklamak ta kullanılır. Daha yüksek özellik değerlerine sahip olabilecek yeni bileşikleri önermeye yardımcı olan bu haritalar, bütün moleküller için ortak olan Pha'ı göstermezler [41-42].

2.1.3.4.2. Aktif Analog Yaklaşımı

1979' da Marshall tarafından geliştirilen bu metodun temeli, benzer konformerler benzer aktiviteyi gösterir varsayımına dayanır. Bu metotta ilk olarak biyolojik olarak yüksek aktiviteye sahip bir bileşiğin konformerleri hesaplanır. Molekül serisindeki bütün bileşiklere bu işlem uygulandıktan sonra yüksek enerjili konformerler elimine edilir. Daha sonra aktif konformer belirlenir, moleküler hacim her bir molekül için hesaplanır ve moleküller üst üste çakıştırılır. Üst üste çakışmış konformerlerin belirli tolerans aralığında ortak olarak taşıdıkları aktif fragment Pha tanımlanır [43].

2.1.3.4.3. Moleküler Şekil Analizi (MSA)

Hopfinger ve grubu 1980' de QSAR analizinde moleküllerin şekillerini ortaya çıkardılar ve bu metodu moleküler şekil analizi olarak adlandırdılar. Bu metodun asıl amacı QSAR' da konformasyonel analizi gerçekleştirmektir. 3D-QSAR' da bu metodu kullanarak yapılandırma aşağıda verilen maddeler ile gerçekleştirilir.

1. İlk olarak konformasyonel analiz yapılır.
2. Çalışılan molekül serisindeki biyolojik olarak aktif konformer tanımlanır.
3. Referans bileşik seçilir.
4. Referans moleküle göre her bir bileşiğin üst üste çakıştırılması gerçekleştirilir.
5. Moleküler şekil parametreleri belirlenir.
6. Diğer Hansch tipi parametreler belirlenir.

7. MSA 3D-QSAR yapılandırılır.

Çakışmış hacim V_{ov} ve çakışmamış hacim V_{non} gibi moleküler parametreler moleküler şeklin kantitatif ölçümleri olarak hesaplanır. Bu 3D parametreleri Hansch analizinde kullanılan fizikokimyasal özellikler ile birlikte denenmiş 3D-QSAR modellerini ortaya çıkarmak için kullanılır [27].

2.1.3.4.4. Comparative Molecular Shape Indices Analysis (CoMSIA)

Karşılaştırmalı Moleküler Şekil Analizi olarak adlandırılan ve Gerhard Klebe tarafından geliştirilen CoMSIA, CoMFA ile benzerlik gösterir. Fakat CoMFA' da Lennard-jones ve Coulomb potansiyeli kullanılırken CoMSIA, hidrojen bağı, hidrofobisite, elektrostatik ve sterik özellikleri tayin etmek için daha çok Gaussian fonksiyonunu kullanır [44]. Klasik CoMFA metoduna benzer olarak CoMSIA yaklaşımından elde edilen 3D-QSAR metodu aşağıda verilen üç basamakta özetlenebilir.

1. İlk olarak, incelenen bütün moleküller yapı bazlı yada alan bazlı olarak çakıştırılır.

2. Moleküllerin toplamını kapsayacak şekilde düzgün aralıklı ve dikdörtgen şekilli bir yüzey oluşturulmuştur. Bazı özelliklere sahip incelenen atom elektrostatik, sterik, hidrofobik, H-bağı verici veya alıcı özelliğini ölçmek için her örgü noktasına yerleştirilmiştir.

3. Sonuç olarak, alan örneklemesinden elde edilen sonuçlar test edilen bileşiklerin biyolojik aktiviteleri ile birleştirilerek bir tablo içine yerleştirilir ve PLS son CoMSIA modelini elde etmek için uygulanır.

Genel olarak "leave-one-out cross-validation" tekniği CoMSIA modeli için kantitatif ölçüm aracı olarak kullanılabilir. CoMSIA da benzerlik farklı fizikokimyasal özelliklerin (sterik engel, kısmi atomik yük, bölgesel hidrofobik özellik ve H-bağı dönor ya da akseptör özelliği) terimleri ile açıklanır. Mesafeye bağlı Gaussian tipi fonksiyon fizikokimyasal özelliklerin farklı türlerini hesaplamak için kullanılır. İndeks, $A_{EK,}$ ilgilenilen bileşikler ve prob atom arasında aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanır.

$$A_{F,K}^{q}(j) = -\sum_{i=1}^{n} \omega_{probe,k}\, \omega_{ik}\, e^{-\alpha r_{iq}^{2}} \qquad (2.14)$$

i-incelenen j-molekülünün bütün atomlarının toplam indeksi; ω_{ik}: k atomunun fizikokimyasal özelliğinin gerçek değeri; $\omega_{prob\ k}$: +1 yüklü, 1Å yarıçaplı, +1 hidrofobisiteye sahip, H-bağı dönor ve akseptör özellikleri +1 olan prob atom; α: düzeltme faktörü; $r_{iq:}$ incelenen molekülün i atomunun ve yüzey noktası q' daki prob atom arasındaki karşılıklı mesafe [45].

CoMFA ve CoMSIA metotlarına ek olarak, moleküler düzenlenmenin (moleküllerin üst üste çakıştırılmadığı) kullanılmadığı COMMA, WHIM ve EVA gibi yeni 3D-QSAR teknikleri geliştirilmiştir [26].

2.1.3.4.5. Comparative Molecular Moment Analysis (CoMMA)

Karşılaştırmalı Moleküler Moment Analizi olarak adlandırılan CoMMA, ilaç-reseptör etkileşiminde molekülün şekli kadar onun kütle ve yük dağılımlarının da önemli olduğunu dikkate alan bir metottur ve CoMMA' da moleküllerin üst üste çakıştırılması işlemi yapılmaz [46].

2.1.3.4.6. EVA

EVA (EigenVAlue) parametreleri deneysel IR ve Raman moleküler dönme ve öteleme frekanslarından elde edilir. Katsayı parametreleri molekülün dönme modlarının yerini tutan katsayılara dayanan vektörlerdir. CoMFA ve CoMSIA gibi EVA' da üç boyutlu bilgileri içine alır. Bu yöntem CoMMA' da olduğu gibi moleküler düzenlenme ve moleküllerin üst üste çakıştırılmasını dikkate almaz ve sadece moleküler konformasyonu dikkate alır [47].

2.1.3.4.7. WHIM

Weighted Holistic Invariant Molecular parametreler olarak adlandırılan WHIM Prof. Dr. Roberto Todeschini tarafından geliştirilen 3D-moleküler parametreleridir. WHIM parametreleri hacim, şekil, simetri ve atom dağılımları ile moleküler yapının tamamı hakkında bilgi verir. Üç boyutlu moleküler yapının en düşük enerjili konformeri x, y, z koordinatlarında hesaplanır. Fizikokimyasal özellikleri ve biyolojik aktiviteyi modellemede yüksek kapasiteye sahip bu parametreler QSAR çalışmalarına yeni bir boyut kazandırmıştır. Heterojen bileşikler için de kullanışlıdır [48].

2.1.3.5. 4D-QSAR

Hopfinger 1997 yılında 3D-QSAR modeline dördüncü boyutu kazandırdı ve 4D-QSAR analizi terimini ortaya çıkardı. Bu metodun CoMFA' dan başlıca farkı, konformasyonları eşleştirme işlemi yaparak, biyolojik aktivite bilgileri ile moleküler yapıların bir setinden geliştirilen modelde hem moleküler konformerleri hemde moleküllerin üst üste çakışması incelemelerini birleştirmesidir. 4D-QSAR analizinin dördüncü boyutu eşleştirme ortalamasından kaynaklanır. Bu metoda göre, çoğu 3D-QSAR metotlarından farklı olarak, aktif konformasyon minimum enerjili konformer değildir. Sistematik konformasyonel araştırma yerine, konformasyonel eşleştirme özelliklerini belirlemek için MDS (multi-temperature molecular dynamics)' yi kullanır. Minimum enerjili konformerin 2 Kcal/mol içinde olan tüm konformerleri çalışılan bileşik serisindeki her bir bileşiğin en aktif konformeri olarak tanımlanır. Düşük enerjili konformerlerin bu serisi en iyi sonucu veren 3D-QSAR modellerinde ayrı ayrı hesaplanır. Moleküler çakışma problemi benzer örnekleme ve hesaplama tekniği ile çözülmüştür. Her bileşiğin konformerleri, CoMFA metodunda olduğu gibi, en iyi çakışmayı bulmak için daha önceden belirlenmiş dikdörtgen şekilli bir yüzeye yerleştirilir ve 3D

parametreleri bilgisayarda hesaplanır, daha sonra PLS teknikleri kullanılarak biyolojik aktivite ile korelasyonu yapılır. 3D-QSAR modelleri PLS tekniği ile ortaya çıkarılmıştır. Bu metot en iyi çakışmayı sonuçlandırana kadar tekrar edilir. Aktif konformer, aktivite değerini en iyi veren, uygun 3D-QSAR modelinden seçilir. Bu metod 3D-QSAR modellerini geliştirmek için kullanılmıştır [27].

Vedani son yıllarda QUASAR olarak adlandırılan paket programda 4D-QSAR yaklaşımını ortaya çıkarmıştır. Vedani ve grubuna göre bu program, çok yönlü konformasyonların etkilerinin birleştirilmesi ile 4D-QSAR kavramlarını kullanır. Bu metod özellikle, ligandın reseptöre bağlanma serbest enerjisi tahmin edilirken, reseptör yapısı bilinmediği zamanlarda kullanışlıdır [49].

2.1.3.6. Moleküler Modelleme ve QSAR

Moleküler modelleme, bilgisayarlı kimya ve grafiksel tasarım teknikleri kullanılarak moleküler yapı ve özellikleri araştırmak için kullanılan bir tekniktir [50]. Moleküler modelleme yaklaşımları, bilgisayarlı analiz ve interaktif tasarım olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Modern moleküler modelleme yaklaşımlarından en önemli üçü, yapı analizi, homolog modelleme ve etkileşimdir. Aslında en iyi modelleme teknikleri, moleküler dinamik, moleküler mekanik ve kuantum mekanik olmak üzere üç temel sınıfa ayrılır [51].

Çoğu moleküler modelleme çalışmaları üç basamak içerir. İlk adımda moleküler içi ve moleküller arası etkileşimleri açıklamak için bir model seçilir. Moleküler modellemede kullanılan en genel iki model QM ve MM hesaplamaları ile elde edilir. Bu modeller, hesaplanan sistemde moleküllerin ve atomların enerji düzenlemesine imkan tanır ve bu modeller atom ve moleküllerin pozisyonundaki değişimlerin sistemin enerjisini nasıl değiştirdiğini belirlemeyi sağlar. Moleküler modelleme çalışmalarının ikinci basamağında konformasyonel araştırma, Monte Carlo Simülasyonu veya moleküler dinamik hesaplaması yapılır. Son olarak hesaplama sonuçları analiz edilir. Sadece özellikler hesaplanmaz aynı zamanda uygun bir biçimde gerçekleştirilmesini yapar.

Kısaca moleküler modellemeye başlamak için üç ana metot kullanılır.

1. İlk olarak, özellikle bağ açısı ve bağ uzunlukları gibi geometrik özellikler yapılandırılır.

2. Molekül optimize edilerek uygun geometriye sahip olan fragmentler ortaya çıkarılır.

3. X-ışınları kristalografisi, nötron difraksiyonu veya NMR gibi fiziksel deney sonuçlarından elde edilen bilgiler kullanılarak yapılandırma işlemi yapılır.

Basit olarak moleküler modelleme ya moleküler ve biyolojik özellikleri tahmin eden ya da molekülleri ve moleküler sistemleri analiz edebilen, deneysel bilgilere ve teorik kimyasal metotlara dayanan bir bilgisayar tekniği olarak düşünülebilir. Geçerli mevcut teknikler biyolojik aktiviteden sorumlu olan hidrofobisite, atomun ve molekülün elektronik özellikleri, molekülün geometrisi gibi özellikleri açıklar. Bütün bu özellikler ilaç tasarımında yapı-aktivite ilişkisini anlamakta önemlidir. SYBYL,

AMBER, DOCK, MODELER ve RasMol moleküler modellemede en çok kullanılan programlardır [52].

2.1.4. Reseptör İle İlaç Molekülün Etkileşim Mekanizması

Biyolojik aktivite, incelenen molekül ve reseptörün etkileşimi ile doğrudan ilişkilidir. Bu etkileşimin mekanizması oldukça karmaşık olduğu gibi biyokimyanın en zor problemlerinden birisidir. Reseptörler hakkındaki bilgiler genellikle sınırlıdır ve ilaç molekülleri ile etkileşimleri, metabolizma gibi harici etkilerden dolayı oldukça karmaşıktır. Bu problem, ilaç-reseptör etkileşiminin her bir kademesinde değişik biyolojik yöntemlere ve fizikokimyasal metotlara başvurmakla çözülebilir fakat genel olarak bu yol çok uzun ve çözülmesi zordur. Diğer taraftan bilinen moleküler yapı ve maddelerin biyolojik aktiviteleri üzerine oldukça fazla miktarda deneysel bilgiler mevcuttur. İlaç-reseptör etkileşiminin biyomekanizmasını dikkate almadan, bu probleme aktif ve inaktif bileşikleri deneysel metotlarla tespit ederek aralarındaki benzerlikleri ve farklılıkları açıklayan çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalardaki bilgilere dayanarak, aktiviteden sorumlu bileşiklerin temel özelliklerine karar verilebilir ve biyolojik aktivite için bazı tahmini kurallar formüllendirilebilir.

Kullanılan QSAR metotlarında problemin en zor kısmı, reseptör ile ilaç molekülünün etkileşim mekanizmasını net olarak ortaya koyamamasıdır. Bu nedenle, ilaç-reseptör etkileşim mekanizması bilinmeyen bir kapalı kutu gibi düşünülebilir. Sadece bu kapalı kutudaki girdiler ve çıktılar analiz edilebilir ve ayrıntılı olarak karşılaştırılabilir. Bu işlemde, çıktılar, biyolojik aktivite olarak tanımlanan deneysel olarak belirlenmiş kantitatif reseptör-ilaç molekülü etkileşimidir. Bu kapalı kutu için girdinin kesinliği daha da azdır. Hakikaten molekülün hangi tür özelliklerinin biyolojik aktivite formülünde kullanılacağı belirli değildir.

Molekülün hangi tür özelliklerinin biyolojik aktivite formülünde kullanılacağı belirli olmadığından incelenecek girdilerin kesinliği azdır. Birçok QSAR yaklaşımında, moleküler modelleme metodu bilgisayar hesaplamalarında kullanıldı (topolojik indisler, moleküler grafikler kartezyen koordinatlar atomik yükler bağ mertebesi bağ uzunlukları gibi). Molekülü tanımlayan bu metotlar genellikle biyolojik aktiviteyi doğru şekilde tahmin edecek kadar etkili değildirler. Tanımlama biçiminin parametreleri genellikle fiziksel ve kimyasal değişkenlere gereksinim duyarlar. Bu parametreleri kimyacılar geçmiş deneyimlerine dayanarak doğrudan kullanamazlar ve direkt olarak yeni bileşiklere uygulayamazlar. Bilgisayar hesaplamalarıyla QSAR' da çözüm üretmek bu yüzden anlamlı ve temel gereksinimdir. QSAR metotlarının ana problemi doğru ve yeterli parametreleri bularak genel ve hassas biyolojik aktivite tahmininde bulunmasındaki zorluğudur.

Moleküler parametreler, genellikle QSAR analizinin bir parçası olarak modern kuantum kimya hesaplamalarından elde edilir. Mesela, özel bir atomda en yüksek enerjili dolu orbitaldeki (HOMO) veya en düşük enerjili boş orbitaldeki (LUMO) kısmi atomik katsayılar biyolojik aktivite ile ilişkili

olabilir. Bu metotlar üç boyutlu bir yapı gerektirmemelerine rağmen, moleküler parametreler uzaydaki özelliklerin tanımlayıcıları değildirler. Bu yetersizliklerin üstesinden gelmek için 3D-QSAR metotları geliştirilmiştir [53–54]. 3D-QSAR metotları önceden ölçülmüş veya hesaplanmış sübstitüent değişkenlerinin tablosuna bağlı değildir, fakat bunun yerine analizdeki bütün moleküllerin özelliklerini dikkate alırlar. Sonuç olarak yeni moleküller analize daha kolay dahil edilirler. Bunun yanı sıra, hem Hansch eşitliği hem de 3D-QSAR metotları aynı özellikleri tanımlayabilirler ve tanımlayıcı modelleri verebilirler. Bu yaklaşımlara bir yenilik ise, Güzel, Y. tarafından geliştirilen ve bu çalışmada kullanılan CoMCET metodu ile moleküller konformerlerin üç boyutlu elektronik topolojik özellikleriyle beraber mesafe, açı ve torsiyon açısı kullanılmıştır. Bu metoda göre;

- **i.** Molekülün stero yapısını ortaya çıkartabilmek için üç yeni parametre kullanılarak Pha etrafındaki gruplar seneryolandırılmış ve pozisyonlar çıkartılmıştır.
- **ii.** Pha'nın bulunması sırasında aynı biyo-yapıya sahip olan pek çok atom gruplarını bertaraf etmek için anlamlı biyo-yapıyı kullanmak için "karınca yürüyüşü" algoritması uygulanmıştır. Buna göre reseptörle etkileşen ligandın atomlarının yapısal ve fizikokimyasal benzer özellikleri öne çıkartılmıştır.
- **iii.** Moleküldeki atomların koordinat değerleri Pha atomlarının "align" yapılması sonucu yeniden düzenlenmiş ve pozisyon almıştır.
- **iv.** Pha etrafındaki tüm atomların maksimum düzeyde çakışması için "Genetik Algoritma" kullanılmıştır.
- **v.** Newton Rapson yaklaşımıyla reseptördeki ön görülen biyoaktif yapıya ait κ katsayıları en küçük kareler yöntemine göre otomatik olarak belirlenmiştir.
- **vi.** κ değerleri ile aktiviteyi artıran özellik Auxiliariy Group (AG) veya aktiviteyi azaltan özellik Anti Pharmacafor Shielding (APS) olarak belirlenmiştir.
- **vii.** Moleküllerin her bir konformeri modelde hesaba katılmasıyla 4D QSAR analizi gerçekleştirilmiştir.

2.1.5. QSAR Yöntemi Olarak CoMCET Metodu

Moleküllerin konformasyonları dikkate alınarak "Spartan 04" programında kuantum kimya hesaplamaları yapılmıştır. Bu sonuçlar CoMCET programında ele alınarak her bir konformere ait elektronik özellikler, molekülün üç boyutta sayısal bir gösterimi olan ETM matrisinde gösterilmiştir. Matrislerin karşılaştırmasıyla aktiviteden sorumlu Pha belirlenerek, Pha' yı bulunduran konformerler için aktiviteyi azaltan grup (APS) ve aktiviteyi artıran (AG) gruplarına ait torsiyon açıları, Pha'dan uzaklıkları ve bu grupların etkin katsayı değerleri bulunur. Bu karakteristik özellikler, Pha'ın yanında aktivitenin değerine etki eder ve onun nicel olarak incelenmesine imkan sağlar. CoMCET programı ile elde edilen sonuçlar istatistik hesaplamalarda değerlendirilerek 4D-QSAR incelemeleri tamamlanır. Reseptörün moleküllerle olan etkileşim mekanizması bu programın sunduğu 4D-QSAR sonuçlarından sağlanır ve onun yapısı hakkında ön bilgiler elde edilir.

2.1.6. Farmakofor Kavramı

İlaç etkisinden sorumlu olduğu düşünülen moleküllerin tek özelliklerinin bir seti, Pha, deneme setinde sadece aktif moleküllerde olan ve verilen bir geometrik düzenlemedeki atom veya atomik grupların bir seti olarak tanımlanır. Başka bir tanımı ise, verilen bir bileşik serisinde ilgilenilen biyoaktiviteyi temsil eden verilen, bir geometrik düzenlemedeki bir grup özel atom olarak tanımlanır. Farmakofor kavramı yapı aktivite ilişkilerinde olduğu gibi ilaç tasarımı ve toksikolojide de çok yararlı olduğunu kanıtlamıştır. Pha' yı tanımlamak biyoaktivitenin var ya da yok olduğunun tahmin edilebileceği anlamına gelir. Bu şekilde herhangi bir kantitatif aktivite belirtisi olmaksızın aktivitenin kalitatif tahmini için Pha bir belirleyicidir. Aktivitenin böylesine kuramsal bir ölçümü pratik kullanım için yetersizdir. Bu probleme ilk yaklaşım olarak faydalı olabilir. Bununla birlikte, bu alandaki son çalışmalar bu farmakofor tanımının oldukça kaba ve makul bir aktivite tahmini için yetersiz olduğunu göstermektedir. I.B.Bersuker EC Metodunda Pha tanımı için üç önemli özellik belirtilmiştir [55].

1. Pha sadece bir grup atom olarak tanımlanmamalı. Moleküldeki uygun atomların elektronik özellikleriyle de tanımlanmalı. Elektronik özellikler ise farklı bileşiklerde; aynı atomlar için farklı, farklı atomlar için ise aynı olabilir.
2. Pha' nın hem elektronik özellikleri hem de geometrik parametreleri, belirli sınırlar içerisinde, bir bileşikten diğer bir bileşiğe değişiklik gösterir ve aktivite bu varyasyonların bir fonksiyonu olabilir.
3. Pha aktivitenin tanımlanmasında gereklidir fakat tek başına yeterli değildir.

Pha' nın olmasına rağmen aktivite Pha dışındaki gruplar tarafından azaltılabilir (APS) ya da artırılabilir (AG). Bu gruplar, Pha' nın reseptör ile uygun etkileşimini engelleyen APS (A.Dimoglo çalışmalarında APS grubunu anti-farmakofor grup olarak tanımlamıştır) ve moleküldeki hidrofobisite gibi özellikleri sağlayan AG gruplarıdır.

2.1.7. Farmakofor Tanımlama Metotları

Aktif ve inaktif bileşikleri yapısal olarak tanımlamak için kullanılan Pha tanımlama metotlarından birisi, aktif-benzeşim yaklaşımıdır. Başlangıçta Marshall tarafından sunuldu [56]. Aktif- benzeşim yaklaşımı iki adımdan oluşur. İlk adımda bir grup aktif bileşikten oluşan deneme setindeki farklı fonksiyonel grupların ilaç-reseptör tanınmasında önemli etkisine bakılır. Bunun için bulunan bilgi, bir grup ilacın bağlanmadan sorumlu olan reseptördeki fonksiyonel grupların doğası hakkında biraz bilgi verebilir. İkinci adımda ya farklı ve aynı serideki fonksiyonel grupların arasında ya da reseptör içinde varlığı kabul edilen noktalarla tanımlanmış bağlanma noktaları arasındaki benzerlik düşünülerek bir hipotez ileri sürülür.

Temel olarak, aktif-benzeşim yaklaşımı işleyişi aşağıdaki gibidir;

Aktif moleküller bulunması mümkün olan konformerlerinden birisi ile süperimpoz yapılır, böylelikle birbirinin yerini tutan önemli gruplar (örneğin Pha) çakışırlar. Pha atomları arasındaki mesafe izinli konformerlerin her birisi için sistematik olarak kaydedilir. Bu yolla, istenilen şartları taşımayan ve bir Pha modelinin yapısı için alakalı olmayan konformerler, işleyişin ilk adımlarında çıkartılır. Gibbs enerjilerindeki büyüklükten dolayı Boltzmann dağılımına göre bu konformerlerin sayıları azalacaktır. Az nüfuzdaki konformerler de elimine edilebilir. Bütün aktif moleküller tarafından başarılabilen atomlar arası mesafeler grubu var olması muhtemel olan Pha geometrisini temsil eder. Bu yaklaşım yeterince homolog olan bileşikleri içerir, bu yüzden süperpozisyon tanımsız veya anlamsız değildir. Ayrıca enerji faktörleri göz önüne alınarak konformerlerin taşıdıkları Pha, AG ve APS ile ilgili henüz hiçbir hesaplama yapılmadığından, süperpozisyondaki kararlar henüz niteldir (aktif/inaktif), nicel değildir.

Birincide öncü bir Pha modeli aktif-benzeşim yaklaşımı kullanılarak saptanır, bir saflaştırma genellikle yapılır. Fonksiyonel atomları çoklukla birbiri üzerinde çakıştırılan konformerler kullanılarak onların belirli tolerans aralığı ile ortak olarak taşıdıkları aktif fragment Pha tanımlanabilir. Bu işleyiş analiz için düşünülen bütün ligandlara bir geçiş sınırı tanımlayabilen genel bir duruş ve pozisyon meydana getirebilir. Bu yaklaşım kullanılarak değişik ligandların topolojilerinin karşılaştırılması ve bunun Pha, AG ve APS olarak hesaplanmasıyla, biyolojik sorumluluğun farkını göstermek mümkündür. Aynı yolla, mesela enzim inhibitörleri için aktivite veya inaktivite veya proteinler için agonist veya antagonist aktivite açıklanabilir.

Aktif-benzeşim yaklaşımı esasına göre molekülleri sınıflandırmak üzere etkili bileşikler (en çok aktif, az atomlu ve basit yapılı olanlar) daha esnek yapıya sahip olan bileşiklerle kıyaslanabilir ve onlarla süperpozisyon yapabilir. Pha' nın tespiti için konformer analizinin kullanımının basitleştirilmiş hali Consentino tarafından ele alınmıştır [57].

3D QSAR teknikleri, çalışılan molekül serisinin dışındaki bileşiklerin potansiyelini tahmin etmek ve çalışılan bileşiklerin potansiyelini uygun hale getiren nicel biyolojik modelleri araştırmak ve çalıştırmak için kullanılır. Gerçekte birçok 3D QSAR metotlarının başvuruları önerilmiş bir Pha modelini gerektirir [58–59, 54, 60–61]. QSAR metotları direkt olarak Pha çıkarmak için nadiren kullanılmasına rağmen, ön modellerin kalitesinin geliştirilmesi için değerli metotlardır. Cramer'in karşılaştırmalı moleküler alan düzenlemesi (CoMFA), 3D QSAR metotları için geniş olarak kullanılmaktadır. 90'dan fazla CoMFA çalışmaları basılmıştır ve bunlardan en az 25 tanesi veri setin dışındaki bileşikler için doğru aktivite tahminini içerirler. CoMFA, üst üste çakıştırılmış bir grup bileşiğin etrafındaki sterik ve elektrostatik alanın uygun bir örneklenmesinin moleküllerin biyolojik özelliklerini anlamak için gerekli bütün bilgileri sağlayabildiğini kabul eder [62]. CoMFA,

anlaşılabilir moleküler tanımları, istatistik analizleri ve sonuçların grafiksel sunumlarından dolayı çekicidir.

CoMFA, çözümünü üretmek için iki kritere başvuran ve tekrarlanabilen bir işlem olan kısmi en küçük kareler analizini (PLS) kullanır. İlk önce yeni bir eleman çekmek için kriter, kolektif yapısal parametreler sütunlarının hepsi ile deneysel bilgiler arasındaki genelleştirmenin derecesini artırmaktır. İkinci adımda, bir PLS tekrarlanabilirliğinin değerlendirilme safhasında henüz meydana getirilmiş prensip unsurlarının kabulü için kriter, bağlı değişkenleri tahmin etmek üzere tahmin yeteneğindeki bir ilerlemedir. PLS' de bir QSAR' ın tahmin yeteneğine değer biçmek için kullanılan teknik "cross-validation" (CV) dır. CV tahmin performansına değer biçmek için en iyi yol, tahmin etmektir fikrine dayanır. PLS kullanımında bir gizli tehlike vardır; PLS'nin eğitim set içindeki her ilişkiyi açıklayacağına garanti yoktur. CoMFA prosesinin bir sonucu olarak her bir tip CoMFA alanı için gösterilmiş iki tür çevre seviyesi olacak; en çok pozitif ve en çok negatif. Daha yüksek özellik değerlerine sahip olabilecek yeni bileşikleri önermeye yardımcı olan bu çevre haritaları bütün moleküller için ortak olan Pha' yı göstermezler.

Pha haritalandırmak için birçok yeni yaklaşımlar potansiyel reseptör etkileşim bölgelerinin davranışını ve hesaplama fikrini tekniklerinin ana özelliklerinden birisi olarak içerirler. Bunlara örnek olarak, DISCO (Distance Comparison) isimli bir program Martin ve ortak çalışanları tarafından geliştirildi [63]. Program yapısal olarak farklı olan bileşikler için süperpozisyon kurallarını söyleme yeteneğine sahiptir. Bir bileşiğin birçok düşük enerjili konformerlerini ve noktalarını bulmak faydalı olabilir. Prosesin ilk adımı ilgilenilen biyolojik hedef için iyi etki gösterecek temsili bileşiklerin bir grubunu seçmektir. Daha sonra her bir bileşik için bir grup düşük enerjili temsili konformerler bulmakta bir konformasyonel analiz işletilir. Her bir bileşik için bütün potansiyel farmakoferik unsurlar hesaplanır. Bu unsurlar kullanıcı tarafından kontrol edilebilen bir altyapı araştırma dili olarak algılanır. Tipik olarak araştırmacı her bileşiğin hidrojen bağı yapabilen bölgeleri, hidrojen bağı yapamayan bölgeleri, hidrofobik bölgeleri ve diğer kilit atomları potansiyel farmakoferik bölgeler gibi kullanır. DISCO' nun önemli bir özelliği hidrojen bağı yapabilen ve hidrojen bağı yapamayan bölgelerin hesaplanmasıdır. Bu noktalar bileşikteki ilgilenilen atomlardan otomatik olarak hesaplanır ve biyolojik hedef ile etkileşimin varsayılan bölgelerini gösterirler. Sonunda, bir referans bileşiği (genellikle en az konformerli birisi) kullanıcı tarafından seçilir.

Mevcut moleküler modelleme programına bütünleştirilmiş bir ilave olarak biyo-yapı haritalandırma stratejisi ChemX programının içerisinde kullanıma hazırdır. Yaklaşım aşina bir biyo-yapı tanımı işlemini takip eder. İlk önce, veri set için düşük enerjili konformerleri belirlemek için bir konformasyonal analiz yapılır. Sıradaki adım ise hidrojen bağı yapabilen bölgeler, hidrojen bağı yapamayan bölgeler, pozitif yüklenmiş atomlar ve aromatik halka merkezleri olan potansiyel Pha noktalarının otomatik görevlendirilmesidir. Bu işlem sırasında, bu noktaların çiftleri ile sayısal

bilgiler, tipler ve noktalar arasındaki ilişkiler mesafeler ile depolanır. Önerilmiş Pha' lar mümkün olan üç veya dört noktalı Pha' lar için mesafe ve formül anahtarlarının araştırılmasıyla tanımlanır. Daha sonra her bileşiğin en az bir konformerinin bu Pha' larla karşılaştırılmasıyla onaylanmalıdır. ChemX' in Pha haritalandırma fonksiyonu geçmişte sekiz serotonin reseptör antagonistlerinin bir grubu için bir Pha haritasının çıkarılmasında kullanıldı [64].

Bunlara benzer özelliklerde sunulan Pha tanımlama metotlarından bir tanesi de elektron topolojik yaklaşımdır [65-66]. Bu yaklaşımda, bir molekülün geometrik ve elektronik özellikleri bir matris içinde tanımlanır. Her bir molekül için, bir elektron topolojik matris, sadece konformasyonal analizinden seçilen en düşük enerjili bir konformere dayanarak yapılır. Elektron topolojik matris diyagonal elemanları ile bir elektronik yapısal parametre içeren gerekli atomlar arası mesafe matrisidir. Bir seride aktif bileşikler için matrisler daha sonra, inaktif bileşiklerde bulunmayan ortak özellikleri bulmak için karşılaştırılırlar. Bu ortak özellikler aktivitenin elektron topolojik alt matrisinden çıkan Pha ile temsil edilir. Pha'nın sonuçlarının incelenen aktiviteyi temsil ettiği öne sürülür.

Aktivite kantitatif olarak biliniyorsa incelenen seri belli bir aktivite değerinden itibaren ikiye bölünür. Bu değerin üstündekiler aktif altındakiler inaktif olarak kabul edilir. Her grup için ETSA matrisi bulunur. Bulunan ETSA matrislerinin matris elemanlarının karşılaştırılması ile aktivite ETSA parametrelerinin bir fonksiyonu olarak ifade edilir. Birçok problem bu metodun en basit versiyonu ile incelenmiştir. Bu basit versiyon bir bütün halinde bu yaklaşımın ana özelliklerinin faydasını aşağıdaki uygulamalarla açıklamıştır; misk kokusunun çıkışı [67-68], sarımsak aktivitesi [69-70], et kokusu [71-72], thymidine fosforilasin inhibe aktivitesi [73-74], bitki büyüme düzenleyicisi aktivitesi [75], dibenzo [a,d] sikloalkeniminlerin bir serisinin yapı-antagonist aktivitesi [76], glikolik asit oksidaz'ın inhibe aktivitesi [77], sandal ağacı kokusu [78], kehribar kokusu [79] ve benzerleri.

Bu çalışmaların çoğunluğunda ana hedef, bileşiklerin incelenen bir serisinde aktivitede rol aldıkları zannedilen, düzenlenmiş geometride verilen spesifik atomların bir grubu olarak tanımlanan Pha' yı açıklamaktır. Pha' nın yerini tayin etmek biyoaktivitenin varlığını veya yokluğunu tanımlayabilme yeteneği demektir. Bu şekilde Pha bir araç olarak hiçbir nicel büyüklük bildirmeden aktivitenin nitel (evet/hayır) tahmini için bilgi sağlar.

Aktivitenin böyle bir saf nitel ölçümü pratikte kullanım için etkin olmayabilir. Mesela, eğer Pha mevcutsa fakat aktivite küçük ise bileşik deneysel olarak inaktif olarak sınıflandırılır. Pha kavramının değeri, eğer aktivite tahmininin nicel bir ölçüsü ile tanımlanırsa veya en azından büyüklük sırasına dizilirse anlamlı bir şekilde artar.

Bu çalışmada 17-α sübstitüe estradiol türevlerinin 33 adet bileşiğin göreceli bağlanma affiniteleri 4D QSAR tekniği ile incelenmiştir. Güzel, Y. tarafından geliştirilen CoMCET metodun temel yaklaşımı hem aktivitenin nitel özelliği olan Pha' nın belirlenmesi hem de belirli pozisyonlarındaki atomların hesaba katılmasıyla aktiviteye yol açan biyo-yapının nicel olarak bulunmasıdır.

3. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

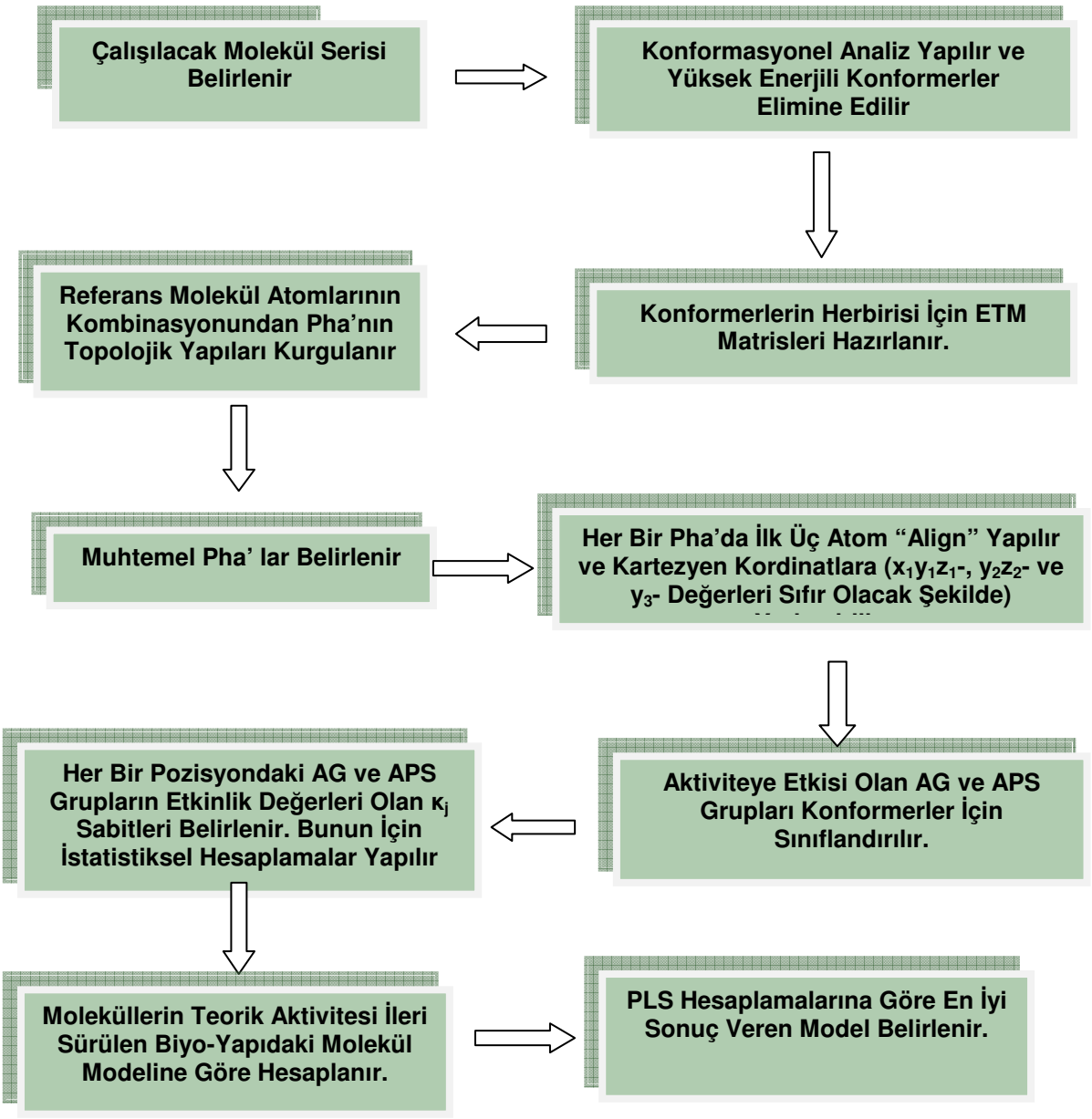
Bu çalışmada:

1) Spartan 04 yazılım paket programında kuantum kimyasal olarak;
   1a. Moleküler Mekanik hesaplamalar,
   1b. Kuantum kimyasal hesaplamalar yapılmıştır.
2) Güzel tarafından geliştirilen CoMCET içerisinde;
   2a. Her bir konformerin topolojisini üç boyutlu olarak temsil eden konformerlerin ETM lerini düzenleyen program,
   2b. ETM matrislerini kullanarak benzeşen atom gruplarından muhtemel Pha' ları ve buna göre AG ve APS grupları belirleyen program kullanılmıştır.

3.2. Metot

Spartan 04 programında molekül iskeletleri çizilir ve iskelet dinamizmine göre en düşük enerji halleri minimize edilerek molekül yapıları çıkarılır. Daha gelişmiş bir kuantum hesaplama için semi-empirik AM1 metodu veya Hartree-Fock 3-21G(*) ab-initio metodu ile konformerlerin kuantum kimya hesaplamaları yapılır. Daha sonra moleküldeki tüm konformerler "Align" yapılarak esneklik ölçeği içerisinde aynı yapıya yakın olanları silinir. Ayrıca düşük enerjili olanlar seçilir (örneğin göreceli entalpi değeri 1 kcal'den büyük olanlar silinir). Bu demektir ki; Boltzmann istatistik dağılımına göre molekül nüfusunun % 85' i inceleme altında tutulmaktadır. Bunların sonucunda geri kalan ve kabul edilebilir konformeler tutulur.

Biyolojik aktivite gösteren moleküllerin reseptörler ile etkileşmesinde aktiflik mekanizmalarının açıklanması ve aktif fragmentin çıkartılması için hem Spartan programındaki işleyiş hem de CoMCET metodunun uygulanması basamaklar halinde Şekil 3.1 verilmiştir.



Şekil 3.1. CoMCET Metodunun Uygulamasındaki Basamaklar

Uygun ETM oluşturulur ve düzenlenir, tüm konformerlerin ETM'leri referans konformerinkine bağlı olarak karşılaştırılır. Aktif moleküllerin tamamının bulundurğu ortak yapılardan Pha'lar belirlenir, ona bağlantılı olarak bir veya birden fazla AG ve APS bulunur. Regresyon analiz değerlerine göre en uygun tek bir Pha ve onun AG ve APS' lerini sonuçlandırılır. Aktivitenin Elektron Topolojik Alt Matrisi ("Electron Topolojik Sub-Matrix"; ETSM) ile Pha, AG ve APS çıkartılır ve denenmemiş yeni bir molekül için Pha, AG ve APS' lerden aktivite hesaplanır.

3.3 Karşılaştırmalı Moleküler Konformer Elektron Topolojik Metot (CoMCET)

3.3.1 CoMCET Metotunun Gereği

Bir molekülün biyolojik aktivite tahmini için gerekli olan; Pha'nın yanı sıra, aktiviteyi artıran AG veya aktiviteyi azaltan APS guruplarını her bir konformer için model içinde kullanan CoMCET metodunun temelleri verilecektir. Önceki benzer çalışmalara göre yapılan yenilik öngörülen Pha'ın ilk üç atomu koordinat merkezlerinde yerleştirilerek diğer atomların koordinat değerleri yeniden belirlemektir. Pha taşıyan tüm konformerler align yapılarak onun etrafındaki APS ve AG grupları pozisyonlar olarak genetik algoritma ile işaretlenir. EC metodunda olduğu gibi CoMCET metodunda da Pha fikri aşağıdaki üç önemli özellik ile tanımlanır [55].

- Pha sadece bir grup atom olarak tanımlanmamalı, moleküldeki uygun atomların elektronik özellikleriyle de tanımlanmalıdır. Elektronik özellikler ise farklı bileşiklerde; aynı atomlar için farklı, farklı atomlar için ise aynı olabilir.
- Pha' nın hem elektronik özellikleri hem de geometrik parametreleri, belirli sınırlar içerisinde, bir bileşikten diğer bir bileşiğe değişiklik gösterir ve aktivite bu varyasyonların bir fonksiyonu olabilir.
- Pha aktivite için gerekli fakat yeterli bir şart değildir. Çünkü Pha varlığında bile molekülün aktivitesi, reseptör ile etkileşimini engelleyen APS grup tarafından (tamamen veya kısmen) azaltılabilir veya hidrofobisite, lipofilite gibi başka özelliklerle AG grup tarafından artırılabilir.

APS ve AG' nin etkisi aktivitedeki rollerini yaklaşık olarak hesaba katarak parametrize edilebilir. Pha' ya benzer şekilde bu parametrize etme işlemi CoMCET tarafından bulunan aynı elektronik ve geometrik parametrelerle AG ve APS grupların tanımlanmasına dayanır. Daha sonra aktivitelere oranla incelenen set için bu parametreleri işleterek ve en küçük kareler yöntemini kullanarak, aktivitede rol alan parametrelerin her birisinin etkinliğini temsil eden değişkenler bulunur. Her bir konformerin bulunma yüzdesini, enerjisini ve sıcaklığı bir fonksiyon olarak ekleyerek biyoaktivitenin nicel tahmini için bir formül çıkartılır. CoMCET, Pha' nın APS ve AG grupların parametreleriyle tamamlanmasıyla, Pha fikrini biyoaktivite tahmini için nitel bir araç olmaktan çıkarıp nicel bir araca dönüştürür.

3.3.2 Konformerlerin Belirlenmesi

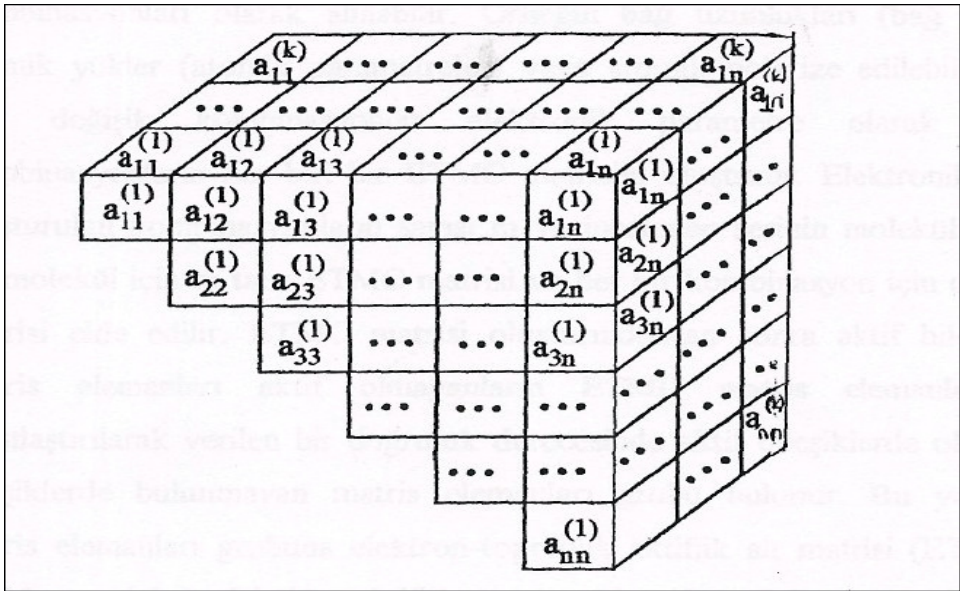
Çalışma sırasında öncelikle incelenen setin bileşiklerinin konformerlerinin enerjileri yaklaşık olarak hesaplanır ve oda sıcaklığında yoğun olarak bulunması beklenenler ayrılır. Daha sonra modern kuantum kimyasal metotlarla moleküllerin her birisinin bulunma ihtimali çok olan konformerlerin hepsinin elektronik yapısı hesaplanır. Eğer aynı veya yakın enerjilerde birden fazla konformer varsa düşük enerjili konformer bu küçük aralıkta bulunan konformerleri temsil edeceğinden diğerleri silinir.

CoMCET metodun aslı şudur; biyolojik aktivitesi bilinen ve inceleme altına alınan bir seri molekülün eğitim (training) seti olursa, bu setteki bütün bileşikler için aynı deneysel metot uygulanarak aktivitelerin bulunması önemli bir aşamadır. İlgilenilen aktivite için sadece bir tek Pha' nın sorumlu olduğu düşünülür. Aktif moleküllerin aktiviteleri, her bir etkin konformerinin Pha' yı taşımasına göre değer alır ve ayrıca Pha etrafındaki atom pozisyonlarına göre aktiviteyi azaltır veya artırır. Tüm bu konformer özellikleri dikkate alınarak CoMCET programında yer alır. Programda çıkartılan fonksiyonel özellikler deneme serisi (test set) bileşikleri için uygulanarak onların deneysel aktiviteleri teorik hesaplanan ile doğrulanır.

3.3.3 ETM Matrisleri Oluşturulması

Her bir konformer için ETM matrisleri oluşturulur. ETM, diyagonal elemanlarına göre simetrik olan kare matristir. Bundan dolayı simetrisinin üst tarafının kullanılmasıyla oluşan üçgen matris alınılır.
ETM molekülün hem elektronik hem de geometrik yapı özelliklerini içerir. Daha önceleri kullanılan bu yaklaşımın basit versiyonunda [81,82], her bir molekülde sadece tek bir konformer için kullanılırdı ve bu konformerde en düşük enerjili olan temel hal (ground-state) konformeriydi.

Konformasyon analizi yapılan elektronik yapısı hesaplanan ve deneysel biyolojik aktivitesi bilinen bileşik serisinin Elektron-Topolojik yöntemle incelenmesi şu şekildedir.



Sekil 3.2. Üç Boyutlu Elektron-Topolojik Matris.

Şekil 3.2' de görüldüğü gibi her bir molekülün ETM'si hazırlanır. Onun her biri köşegen elemanlarına göre simetrik olduğundan şekilde sadece matrisin üst yarısı gösterilmiştir. Moleküldeki atom sayısı n ise bağımsız elemanların toplam sayısı n(n+l)/2' dir. ETM matrisinin sayısı (m) elektronik parametrelerin seçimine bağlıdır. Molekülün elektronik özelliklerini tanımlayan atomik yükler valens aktiviteleri polarize edilebilirlik ve HOMO-LUMO enerjileri gibi

atomik parametreler köşegen (diyagonal) elemanları a_{nm} (n=m) ve köşegen dışı (non-diyagonal) elemanları (n≠m) bağa ait (bağ uzunluğu, bağ derecesi-Wieberg indisi, bağ enerjisi vb.) ve atomlar arası mesafeye ait olarak seçilir. Böylece her matris hem elektronik hem de geometrik parametreyi içerir.

Bir molekülün belli bir konformasyonu için geometrik parametrelerin sabit olmasına karşın elektronik parametreler atomik ve bağ parametrelerinin değişik kombinasyonları olarak alınabilir. Örneğin bağ uzunlukları (bağ parametresi) ile atomik yükler (atomik parametreler) veya atomik polarize edilebilirlik-bağ enerjisi gibi değişik kombinasyonlar elektronik parametre olarak alınabilir. Bu kombinasyonların her biri bir ETM matrisini oluşturur. Elektronik parametre için oluşturulan kombinasyonların sayısı k ve incelenen serinin molekül sayısı n ise her bir molekül için k tane ETM matrisi ve her bir kombinasyon için de n tane ETM matrisi elde edilir. ETM matrisi oluşturulduktan sonra aktif bileşiklerin ETM matris elemanları aktif olmayanların ETM matris elemanları ile tek-tek karşılaştırılarak verilen bir doğruluk derecesinde aktif bileşiklerde olan ancak inaktif bileşiklerde bulunmayan matris elemanları grubu bulunur. Bu yolla elde edilen matris elemanları grubuna elektron-topolojik aktiflik alt matrisi (ETSA) adı verilir. ETSA matrisi molekülün aktiflikten sorumlu olan elektron-topolojik fragmentini temsil eder.

Şayet k > 1 ise ETSA matrisini belirleme işlemi k defa tekrarlanmalıdır. Bu yolla elde edilen ETSA matrisleri aynı ya da farklı olabilir. Bunlardan bazıları daha fazla bilgi verebilir ve aktif bileşiklerin inaktif bileşiklerden daha iyi ayrılmasını sağlar. Bu nedenle incelenen bileşik serisinin analizinde en fazla bilgi ihtiva eden ETSA matrislerinin elektronik ve geometrik parametreleri kullanılır.

3.3.4 CoMCET' de Farmakofor Tanımlama

Tasarımdaki bir sonraki basamak; bütün ETM' leri ilgili moleküllerin aktiviteleri ve matrisin diyagonal ve non-diyagonal elemanlarını verilen belirli tolerans aralıklarında, karşılaştırarak bütün aktif moleküller için ortak olan, inaktif moleküllerde ise bulunmayan elektron topolojik özellikleri tespit etmektedir. Matrisleri karşılaştırmak için bileşik serisindeki yapı olarak en basit molekül referans olarak seçilir. Burada moleküllerin aktif-inaktif olarak nitel sınıflandırılması gerekir. Bunun için de sınır bir değer belirlenir. Bu değerden küçük olanlar inaktif, büyük olanlar ise aktif sınıfındadır. Bu sınırı tanımlarken aktif olmayanlar veya aktif denilemeyecek kadar küçük aktiviteye sahip olanlardan büyük bir değer alınır. Karşılaştırma işlemi yapılarak daha çok aktif bileşiklerin bulundurduğu ortak özellik Pha olarak bulunur ve bu özelliği temsil eden matris elemanlarından daha az sayıda olan, elektron topolojik alt matrisi (ETSM) oluşturulur. ETSM' i belirlenmiş Pha, yeni bileşiklerin aktivitelerini nitel olarak göstermede direkt olarak kullanılabilir [80-81]. ETSM' yi göstermek için eğer farklı elektronik yapı (atomların valens aktivitesi, polarlanabilirliği HOMO veya LUMO katsayıları gibi) parametreleri denenmek istenirse ETM' in söz konusu yapısı her bir setin parametresi için tekrarlanır. Daha sonra elde edilen ETSM karşılaştırması ile inaktif bileşiklerden

aktif bileşikleri ayırmada hangisinin en iyi olacağı tahmin edilebilir. Moleküler sistemde atomları numaralandırma yolu (saat yönü veya tersi) önemlidir. Çünkü bu işlem ETM de matris elemanlarının düzenini belirler. Bir tanesinin seçilmesiyle bütün konformerler ve enantiyomerler korunur. Bu matris açıklamasının enantiyomerleri ayırmaya izin verip vermediği önemli bir sorudur. Bu sorunun açıklaması evettir, enantiyomerler ETM tarafından açıklanırlar; iki enantiyomerin matris elemanlarının mutlak değerleri aynı olmalarına rağmen, iki matristeki karşılıklı pozisyonları farklıdır. Ayrıca kolon ve dizilerde yer değiştirmelerine izin verilmez. Bu eğer ETSM (Pha) olarak enantiyomerlerden birinde var ise, diğer enantiyomerde olmasını gerektirmez; eğer varsa, farklı APS ve AG ile farklı aktivitelerin ortaya çıkmasında eşlik eder. ETM'nin kullanıldığı çalışmalarda yukarıda belirtilen matris elemanlarının saat yönünde (veya tersi) dizilişi dikkate alınmazsa iki enantiyomerler birbiri ile aynı ETM' ye sahip olur. Benzer şekilde Pha' nın yapısını gösteren ETSM' de enantiyomerik özellikleriyle ele alınır. Enantiyomerlerin yapılarını birbirinden ayırt etmek üzere diğer bir yol ETSM' nin yanı sıra Pha' nın atomlarının küresel koordinatlar ile CoMCET içinde kullanılmasıdır.

3.3.5 APS ve AG

CoMCET' in diğer üstünlüğü de AG [82] ve APS grupları [83] tanımlayarak hesaba katmasıdır. Bu grupların aktiviteye katkıları Pha ile birlikte hesap içine alınmıştır. Aslında Pha' yı bulunduran bir konformerdeki her bir atomun aktiviteye sayısal bir değer yansıtması söz konusudur ancak, bu atomların incelen seride en çok molekül içinde bulunan ve en etkili olanları göz önüne alınabilmektedir. APS ve diğer AG' ye karar vermek için aktif bileşiklerin süperpozisyon olan yapılarını incelememiz gerekir. Pha, aktivite için gerekli bir grup atomu içerir. Pha' da bulunan atomlara ilave olarak, mevcut olan moleküler yapıdaki atom veya atom gruplarının varlığı aktiviteyi azaltıcı veya artırıcı yönde etki yapabilir. Bazı grup atomlar hidrofobisiteyi artırıcı özellik gösterebilirler veya reseptör ile H-bağı yapabilirler. Bu atomların bu özellikleri aktiviteyi artırıcı özellik olup, bu grup atomlara AG atomlar denir. Bazı grup atomlar ise reseptör ile etkileşim esnasında sterik engel veya perdeleme yapabilecekleri için aktiviteyi azaltıcı yönde etki ederler ve bu yüzden bu tür grup atomlara ise APS atomlar denir.

3.3.6 Aktivitenin Genel Formülü

AG ve APS gruplarının etkisini hesaba katmak için aktiviteyi artıran ya da azaltan S fonksiyonunu kullanırız.

$$A \sim e^{-S} \tag{3.18}$$

S fonksiyonu AG ve APS'yi temsil eden bir grup parametreye bağlıdır. Genel olarak Pha etrafında etki eden tüm pozisyonlanmış grupların reseptörle etkileşim değerlerinin toplamıdır.

$$S_{ni} = \sum_{j=1}^{N} \kappa_j a_{ni}^{(j)} \tag{3.19}$$

Burada $a_{ni}^{(j)}$ n' inci bileşiğin i' inci konformerinin j' inci tür APS veya AG özelliğini temsil eder. $a_{ni}^{(j)}$ her bir problem için spesifik bir parametredir ancak reseptör-ligand etkileşim noktaları ele alınırsa bu parametrenin söz konusu atomun yükü olarak ele alınması anlamlıdır. Bu yaklaşım rastgele parametreyi işlem içine katmayı önler. Ligand-reseptör etkileşim noktalarında onların atomları q_1 ve q_2 Coulombik yük miktarlarıyla ele alınırsa o noktadaki etkileşim enerjisi $E= q_1q_2/(4\pi\varepsilon r)$ olarak denklemde yeralır. Pha' nın etkileşim enerjisi hariç diğer noktalardaki standart bağlanma Gibbs enerjisi Δ_bG^o olarak bu parametrelerden hesaplanır. Ligand reseptör arasındaki etkileşim K-denge sabiti ile gösterilirse denge kurulduğunda aktiviteyi göstermek üzere bu noktalardan ve Pha' dan gelen etkileşim toplam miktarı K-sabiti olarak işlemi katılmış olur. N-adet seçilen AG/APS parametreleri için κ_j' ler toplu analiz sonucundan eş zamanlı elde edilen ayarlanabilen bir sabitlerdir ve $q_2/(4\pi\varepsilon r)$ değerinin karşılığıdır. q_2 reseptördeki etkileşen noktanın yükü olmakla beraber r ligand-reseptör arasında bu noktadaki mesafedir ve q_2 aynı pozisyon için sabit olduğu halde r mesafesi konformerin ilgili pozisyonu yüzünden değişkendir. Bu κ_j-sabitin mutlak değerinin büyüklüğü referans atomun aktivite üzerinde ne kadar etkili olduğunu gösterir. Diğer taraftan q_1 her bir konformer için değişkendir ve bu tip atomları üç boyutlu yapı içinde tanımak Pha' dan sonra ikinci derecede öneme sahiptir. Bu S-fonksiyon ile birlikte Pha' nın katma değeri de sıcaklığının ve enerjisinin bir fonksiyonu Boltzman dağılımını hesaba katarak aşağıdaki genel formülü elde ederiz:

$$A_n = A_0 \frac{\sum_{i=1}^{m_n^{Pha}} e^{-S_{ni}}\, e^{-E_{ni}/kT}}{\sum_{i=1}^{m_n} e^{-E_{ni}/kT}} \qquad (3.20)$$

A_0 aşağıda açıklanacağı üzere sabittir ve m_n n. molekülün konformerinin sayısıdır. A_n' nın exponansiyel olarak S' ye bağlı olduğunu kabul ediyoruz. Çünkü ilaç-reseptör arasındaki etkileşim herhangi bir molekül içi etkileşime benzerdir. Bu formülde sadece Pha'yı bulunduran konformerler aktiviteye katkıda bulunur ve aktif konformerleri olan moleküllerin sayısına bağlı olarak bu katkılar gerçekleşir. Bu sayılar konformerin enerjisiyle (E_{ni}), Boltzman istatistik dağılımı göz önüne alınırsa, ani olarak düşer. Bu yüzden çoğu zaman yüksek enerjili konformerlerin katkılarını ihmal edebiliriz.

Bu formülde A_0 sabittir ve bilinmez. Bunun için molekül setinden (training set) aktivitesi bilinen bir referans molekül (l) seçeriz ve A_l için eşitlik 3.21'i yazarız.

$$A_1 = A_0 \frac{\sum_{i=1}^{m_1^{Pha}} e^{-S_{li}}\, e^{-E_{li}/kT}}{\sum_{i=1}^{m_l} e^{-E_{li}/kT}} \qquad (3.21)$$

An ve Al için yazılan bu iki formül birleştirilirse A_0 lar birbirini götüreceği için bilinmesine gerek kalmadan aşağıdaki formül elde edilir.

$$A_n = A_l * \frac{\sum_{i=1}^{m_l} e^{-E_{li}/kT} \sum_{i=1}^{m_n^{Pha}} \left(e^{-\sum_{j=1}^{J} \kappa^j a_{ni}^j} * e^{-E_{ni}/kT} \right)}{\sum_{i=1}^{m_n} e^{-E_{ni}/kT} \sum_{i=1}^{m_l^{Pha}} \left(e^{-\sum_{j=1}^{J} \kappa^j a_{li}^j} * e^{-E_{li}/kT} \right)} \qquad (3.22)$$

Molekül setindeki bileşiklerin bilinen deneysel aktiviteleri kullanılarak yukarıdaki formül işletilir ve hesaplanan aktivite değeri, A_n^{hsp}, deneysel aktivite değeri, A_n^{dny}, ve M molekül sayısı olmak üzere, $\sum_n^M |A_n^{hsp} - A_n^{dny}|^2$ fonksiyonu üzerinden en küçük kareler yöntemi kullanılarak değişken κ_j katsayıları elde edilir.

Bu yolla elde edilen κ_j ile aktiviteleri bilinmeyen aynı tür başka bileşikler için aktivite tahmini yapılabilir.

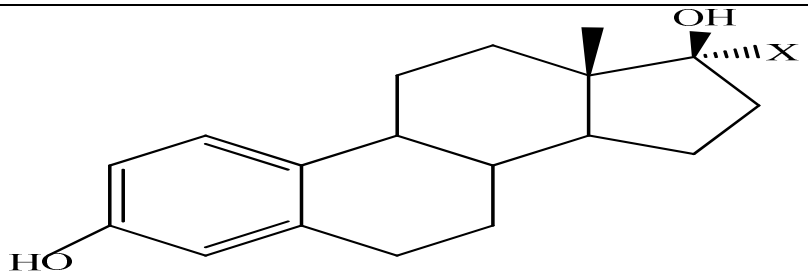
4. BÖLÜM

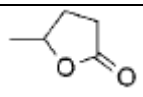
BULGULAR

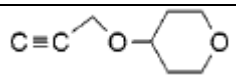
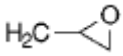
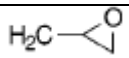
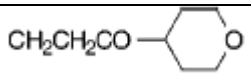
4.1. İncelenen Bileşik Serisindeki Bulgular

Deneysel olarak göreceli bağlanma affinitesi bilinen 17α sübstitüe estradiol türevlerindeki 33 adet bileşiği literatürden alınmıştır [84, 85]. Tablo 4.1 'de incelenen bileşik serilerinin temel iskeleti ve bu iskelete bağlı olan substituentler ile deneysel aktiviteleri ve düşük enerjili olan etkin nüfuslu konformer sayıları gösterilmiştir.

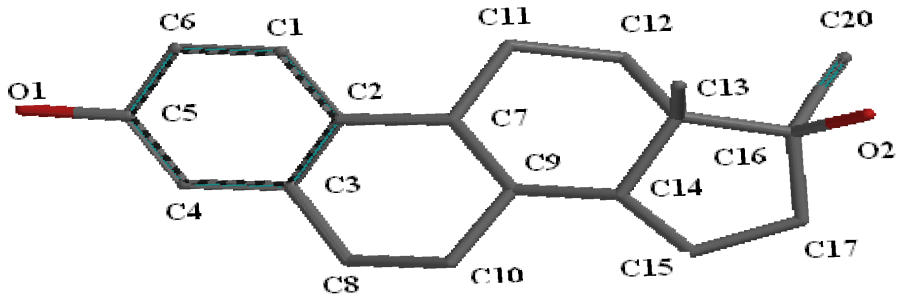
Tablo 4.1. İncelenen Bileşik Serisi, Deneysel Aktivitesi ve Konformer Sayıları.



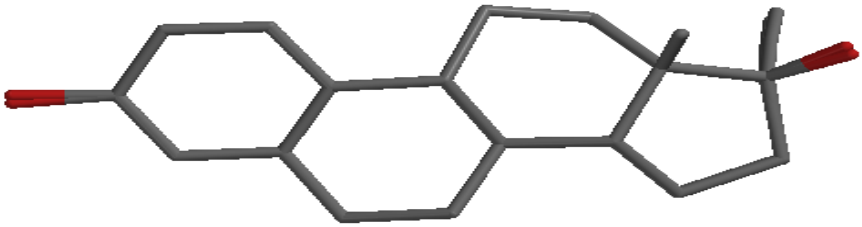
Bileşikler	X	DeneyselAktivite	Konformer S.
1	C≡CH	2.02	4
2	H	2.00	2
3	Me	1.86	6
4	$CH_2C{\equiv}CH$	1.69	4
5	$C{\equiv}\bar{C}Me$	1.51	4
6	C≡CI	1.49	4
7	$CH_2C{\equiv}CI$	1.45	6
8	$CH_2\bar{C}H{=}CH_2$	1.26	6
9	$C_6\bar{H}_5$	1.08	4
10		0.92	3
11		0.90	2

12	$C{=}CC{=}CC_6H_5$	0.85	2
13	$C{=}CH_2OH$	0.81	6
14	$C{=}C_6H_5$	0.76	2
15	C_3H_7	0.69	3
16	C_4H_9	0.67	6
17	$C{=}CC_4H_8I$	0.67	12
18	$CH_2C_6H_5$	0.63	4
19		0.60	0
20	$C{=}CC_6H_{11}$	0.51	4
21	$C{=}CC{=}CC_5H_{11}$	0.40	7
22		0.32	5
23	CH_2CH_2CHOH	0.15	21
24	$CH_2C{=}CC_5H_{11}$	0.04	12
25	$CH_2C{=}CC_6H_{13}$	0.04	18
26	$CH_2C{=}CC{=}CC_4H_9$	0.04	6
27	$C{=}CC_6H_{13}$	-0.05	20
28	$C{=}CC_6H_{12}I$	-0.10	16
29		-0.28	0
30	$CH_2CH{=}CHC_5H_{11}$	-0.30	13
31	$CH_2C{=}CC{=}CC_6H_5$	-0.40	3
32	$CH_2OC_6H_{13}$	-0.70	7
33		-0.96	13

Seride referans bileşiği olarak seçilen N01 bileşiği için top-çubuk modeli ve atomların numaralandırmaları Şekil 4.1.'de, referans bileşiğin konformerlerinin üst üste çakıştırılması Şekil 4.2' de ve referans bileşiğin en düşük enerjili konformerine ait kartezyen koordinatlar tablo 4.2.' de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Referans Bileşiği N01 İçin Top Çubuk Modeli.



Şekil 4.2. Referans (N01) Bileşiğinin Konformerlerinin (4 adet) Üst Üste Çakıştırılması.

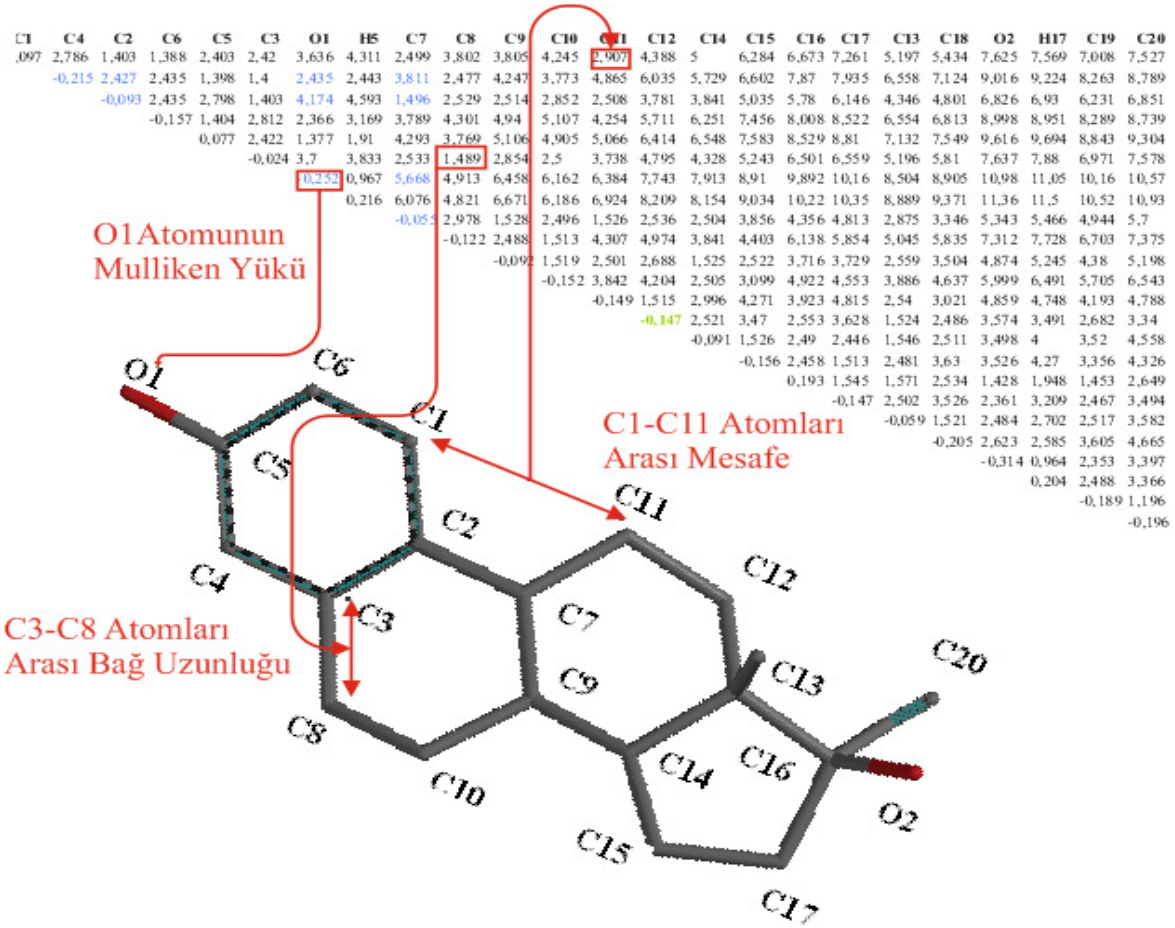
Tablo 4.2. Referans bileşiğin (N01) En Düşük Enerjili Konformerine Ait Kartezyen Koordinatlar.

Kartezyen koordinatları (Å)			
Atom	**X**	**Y**	**Z**
C1	0.3309908	3.4268678	-0.1390517
C4	0.2487482	3.5878751	2.5817941
C2	.2368498	2.2477597	0.6164838
C6	.1336392	4.6748201	0.4358228
C5	0.1612302	4.7485083	1.8072888
C3	0.0467213	2.3359653	1.987898
O1	0.3505272	6.0083838	2.3298028
H5	0.5452493	5.9128597	3.272926
C7	0.4980533	0.9340454	-0.0502299
C8	0.1589379	1.1260979	2.8488983
C9	0.0120086	-0.2515069	0.7829642
C10	0.4730454	-0.0981591	2.2226677
C11	-0.1062208	0.8686466	-1.4503408
C12	-0.5803723	-0.5210758	-1.8260665
C14	0.5263156	-1.5590186	0.1878014
C15	-0.1865134	-2.7666157	0.7904192
C16	-0.2511596	-3.0473503	-1.6512895
C17	-0.3115215	-3.8040212	-0.3049347
C13	0.3517252	-1.6282422	1.3475563
C18	1.7041883	-1.4803865	2.0289952
O2	0.6167308	-3.8258675	-2.4758503
H17	0.6239703	-3.4211758	-3.3515666
C19	1.5681845	-2.9767805	-2.2611962
C20	2.6580754	-2.9667141	-2.7553919

4.2. Elektron-Topolojik Matris

Bu çalışmada *.txt dosyalarındaki bilgiler içerisinden kartezyen koordinatları dosyası, atomların yükleri, bağ uzunluğu ve atomlar arası mesafelerden 225 adet konformeri içeren ETM oluşturulmuştur.

Aktif fragmentlerin çıkartılması, prensip olarak seri içerisindeki bileşiklerden en aktif fakat daha önemlisi en basit olanının ölçü bileşiği olarak alınması ve bunun ETM' si ile tüm bileşiklerin oluşturulmuş ETM' lerinin kıyaslanması düşüncesine dayanır. Bu çalışmada seri içerisindeki N01 bileşiği, referans bileşiği olarak alınmış ve Pha belirlemede bu matristen yararlanılmıştır.

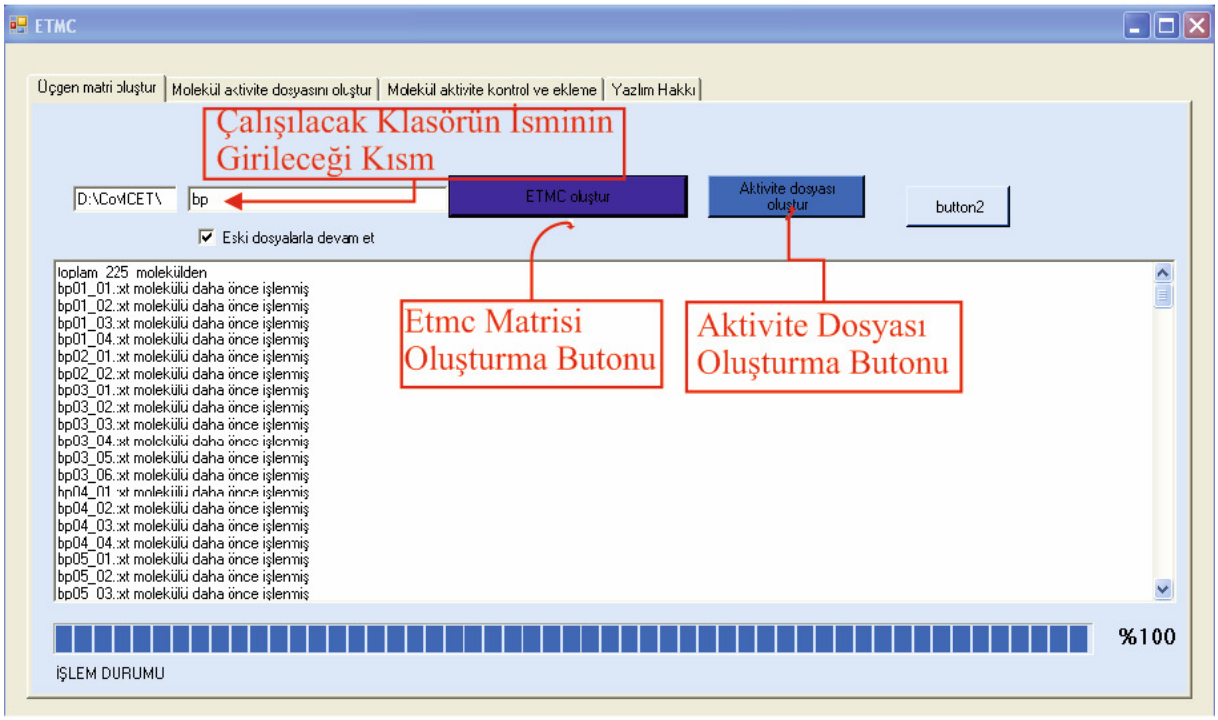


Şekil 4.3. Refarans Bileşiği N01'in en Düşük Enerjili Konformerinin ETM Matrisi.

Matrislere bakıldığında bağ uzunluğu, iki atom arası uzaklık ve atom yüklerinin her birinin aktiviteye katkısı farklı olmaktadır. Bu matris değerleri, moleküllerin karşılaştırma ile aktif fragmentin (farmakofor: aktiviteden sorumlu grup) bulunması için kullanılır. Matris karşılaştırılması; referansın diagonal alt matrisinin karşılığı incelenen konformerdeki diagonallerde işaretlenir. Diagonallere karşılık gelen nondiagonallar ile alt matris (ETSA) konformerden belirlenir. Bu alt matris karınca yürüyüşü algoritması gereği atom cinsleri değil ama atom tiplerinin uyum göstermesi dikkate alınır. Bu durum ikinci bir kontrol olarak genetik algoritmayla belirlenir.

Elektron Topolojik matrisine örnek olarak serideki referans bileşiğin (N01) en düşük enerjili konformerinin matrisi verilmiştir. Matrisi çok büyüttüğü ve tekrarlanan benzer özelliklere sahip olduğu için hidrojen atomları (karbon atomlarına bağlı) gösterilmemiştir.

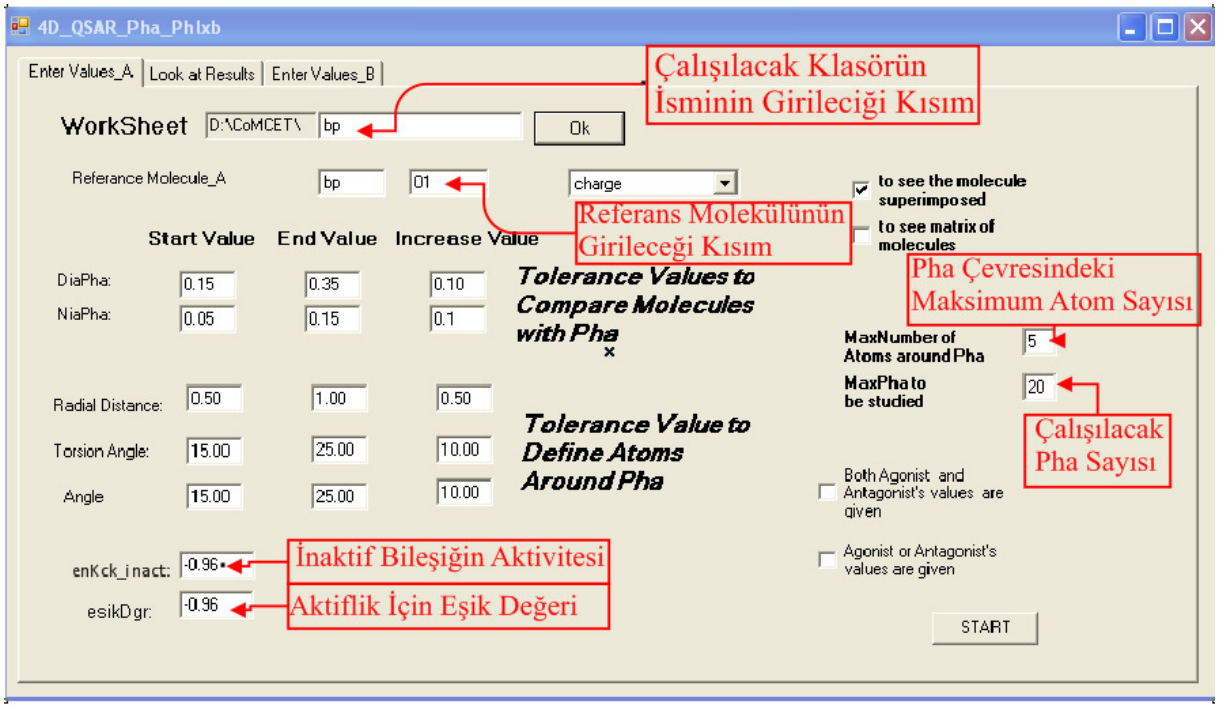
Hesaplamalar ile elde edilen sonuçların mevcut yeni yöntemlerle değerlendirilmesi ve hesaplamalar sonucu elde edilen kuantum kimyasal özelliklerin ve bilgisayarda elde edilen çıktı dosyalarının ETM' de hazırlanması için kuantum kimyasal hesaplamalar ile bileşiklerin konformasyonel analizlerini gerçekleştirerek matris oluşturan programına ihtiyaç duyulmuştur ve bu program C# dilinde yazılmıştır. Bu program, Spartan 04 programı ile elde edilen oldukça karışık çıktı dosyalarının (*.txt uzantılı) düzenli birer matris dosyası haline dönüştürür ve bu program kullanılarak 33 bileşiğin 225 konformerinin hepsi için matrisler oluşturulmuştur. Her bir konformerin *.txt uzantılı dosyasının büyüklüğü 9.00 – 11.00 MB olup yaklaşık 2500-3000 sayfa olduğu düşünülürse raporda belirtilmesi olanaksızdır. Şekil 4.4.' de ETM matrisi oluşturmada kullanılan programın ara yüzü görülmektedir.



Şekil 4.4. ETM Matrisi Oluşturmada Kullanılan Programın Ara Yüzü.

4.3. CoMCET Metodunun Uygulanması

Bileşik serisindeki bileşiklerin yapı-aktivite ilişkilerinin belirlenmesi için; *.txt uzantılı dosyalarından oluşturulan ETM matrisleri CoMCET programı ile okunarak aktiviteden sorumlu gurup Pha belirlenmiştir. Şekil 4.5.'de ETM matrislerini okuyarak Pha belirlemede kullanılan programın ara yüzü görülmektedir.



Şekil 4.5. ETM Matrislerini Okuyarak Pha Belirlemede Kullanılan Programın Ara Yüzü.

Bu arayüzeyde;

a. Çalışılacak molekül serisi ismi kısaltılmiş ilk iki harf ile belirlenmiş.

b. Referans molekülün ismi molekül serisini bildiren iki harf ve molekül numarası ile verilmiş.

c. Diagonal özelliklerinin seçimi değişen atomik özellikler (charge, HOMO katsayısı, interaction index vs.) olarak listeden belirlenmiş.

d. Pha' ın bulunması için diagonal ve nondiagonal (başlangıç, son ve artış değerlerine göre tekrarlanan döngüler içinde) tolerans değerleri öngörülmüş.

e. Pha etrafındaki maksimum pozisyon sayısı ve sonuçları incelenecek en iyi Pha sayısı verilmiş.

f. Pozisyonların bulunması için (Pha' dakine benzer şekilde) mesafe, açı ve torsiyon (başlangıç ve son değerler arasında belirlenen artışlarla değişen) tolerans değerleri verilmiş.

g. Aktif-inaktif arasındaki sınır değer ile endüşük aktif değer kaydedilmiştir.

Serideki toplam 33 bileşiğin tamamı aktif olarak ele alınmış ve onlarda Pha yapı araştırılmıştır. Bunların 33' ünde Pha bulunur. Aktivitesi inaktif olanlar kadar düşük olduğu halde bileşik Pha grubunu taşıyabilir. Bunların aktivesindeki azalma APS gruplarından kaynaklanmaktadır. Bu durumda Pha' lar en iyi istatistiksel olarak P_a ve α_a değerleri dikkate alınarak tespit edilmiştir. En iyi Pha grupları α_a ve P_a istatistik hesaplamalarına göre aktif ve inaktif özellikleriyle nitelik olarak sıralanmıştır.

P_a ve α_a sırasıyla eşitlik 5.1 ve 5.2 ile verilir.

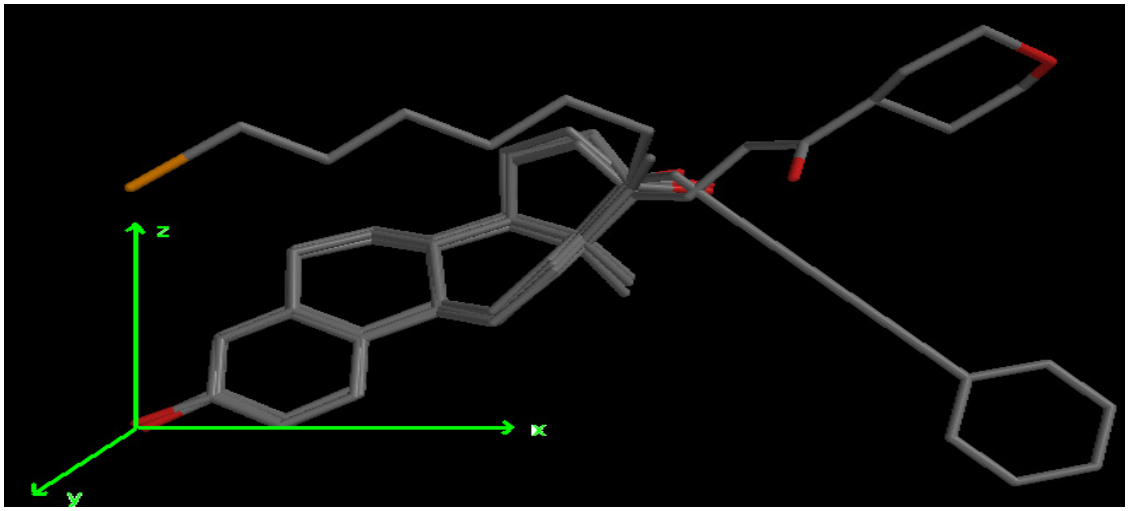
$$P_a=(\nu_1+1)/(\nu_1+\nu_2+2) \quad (5.1)$$

$$\alpha_a=(\nu_{1*}\nu_4-\nu_{2*}\nu_3)/ (\mu_{1*}\mu_{2*}\mu_{3*}\mu_4)^{1/2} \quad (5.2)$$

Burada ν_1 ve ν_3 sırasıyla aktif bileşikler içinde aktif fragmente sahip olan ve olmayan ν_2 ve ν_4 ise inaktif bileşikler içinde aktif fragmente sahip olan ve olmayan moleküllerin sayısıdır. μ_1 ve μ_2 sırasıyla aktif ve inaktif bileşiklerin sayısını verir. $\mu_3= \nu_1+\nu_3$ $\mu_4= \nu_2+\nu_4$ Burada; $\nu_1= 33$, $\nu_2= 0$, $\nu_3= 0$, $\nu_4=0$, $\mu_1= 33$, $\mu_{2=} 0$, $\mu_3= 33$, $\mu_4= 0$ ve Pa=0.97, $\alpha_{a=}$ 0.00 olarak bulunmuştur.

Eşitlik 3.22' den görüleceği üzere n-nolu molekülün aktivitesini hesaplamak Pha taşıyan konformerlerin sayısı ile etkilenir. Eğer tüm konformerler Pha'yı bulunduruyorsa Boltzmann dağılımına göre molekülün nüfus dağılımı 1 olarak değer kazanır. Pha'yı taşımayan konformerin enerjisi düşük seviyede olursa nüfus dağılımı 1'den 0'a doğru hızlı azalır. Yüksek enerjili konformer için popülasyondaki azalma küçülür.

Konformerdeki tüm atomların pozisyonlarını belirlemek amacıyla, Pha' yı oluşturan atomlar referans alınırlar. Pha etrafında belirli pozisyonlarda yer alan ve aktivite üzerinde etkili olan atomların bulunması biyo-aktif topoloji için esastır. Söz konusu atomun pozisyonunun belirlenmesi için Pha üzerindeki ilk üç atom ile belirli tolerans sınırları içerisinde mesafe, açı ve torsiyon değerleri kullanılır. Koordinat merkezinden göreceli uzaklığa 1-nolu atom, aralarındaki açıya 1- ve 2-nolu atom ve torsiyon açısına 1-, 2-ve 3-nolu atom kullanılmıştır. Bu düzenleme Şekil 4.6' da görülmektedir.



Şekil 4. 6. Pha öngörüldükten sonra onun atomlarının yeni kartezyen koordinat sistemine 1, 2 ve 3 nolu atomlarının (sırasıyla $x_1=0$, $y_1=0$ ve $z_1=0$; $y_2=0$ ve $z_2=0$; $y_3=0$ olarak) yerleştirilmesi ve geri kalan atomların buna göre yönlendirilerek pozisyonlarılması.

Şekil 4. 6. da gösterildiği gibi, Pha' nın ilk üç atomuna göre geri kalan atomların pozisyonları belirlenir. Artık konformerdeki tüm atomlar, yukarıda anlatıldığı şekilde, belirli tolerans değerlerine göre küresel koordinatlara ait pozisyonlarıyla sınıflandırılabilir.

Moleküllerin aktivite değerleri, onların konformerlerinin Pha ile birlikte ele alınan pozisyonlarda atom bulundurmalarına bağlı olarak hesap edilir. Burada her bir n' inci molekülün teorik aktiviteleri hesaplanması için; bir etkin i-konformerine ait j-pozisyonuna karşılık gelen atom yük değeri a_{ni}^{j} ile bu pozisyona ait etkinlik katsayısı κ^{j}' nin çarpımının tüm pozisyonlardaki toplamları hesaplanmıştır. Eşitlik 3.19' da n-molekül ve i-konformerinin j-pozisyonlarının katkı değeriyle (κ^{j}) bu konformerin ilgili pozisyondaki atomun yükünün (a_{ni}^{j}) çarpım toplamları sübstitüent katkısıdır (S_{ni}). Eşitlik 3.22' de " *l* " alt indisi referans bileşiği belirtmek için, " n " alt indisi ise ele alınan bileşiği belirtmek için kullanılmıştır. m_l^{Pha} ve m_n^{Pha} sırasıyla, referans ve ele alınan bileşikteki Pha bulunduran konformerlerin sayısını ifade etmektedir. Pha'in bulundurduğu aktivite A_o göz önüne alınarak, n' inci molekülün aktivitesi (A_n) hesaplanmıştır.

Eşitlik 3.22' in sağındaki referans aktiviteden (A_l) sonraki terim daima pozitif olacağından A_n aktivite değeri A_l' e bağlı olarak pozitif veya negatif değerlikli olabilir. İncelenen bileşik serisinde hem pozitif hem de negatif aktivite değerleri varsa bu denkleme göre hesaplama gerçekleştirilemez. -log(IC_{50}) gibi denklemde log önündeki sayı 1' den büyükse veya yüzde inhibisyon değerleri ortalamaya göre küçükse ortaya çıkan aktivite değeri negatiftir. Hem negatif hem de pozitif aktivite değerlerine sahip bir seri için eşitlik 3.22' yi kullanarak hesap yapabilmek imkansızdır. A_l'nin sağındaki pay ve paydaların orantı sonuçları hep pozitif çıkacağından dolayı aktivitelere A_l' nin negatif veya pozitif olmasına göre, sırayla, negatif veya pozitif olacaktır yani serideki tüm hesaplanan aktiviteler ya negatif veya pozitiftir. Bir kısmı negatif bir kısmı pozitif değildir. Halbuki deneysel aktivitelerde hem pozitif hem de negatif değerler olabilir. Hesaplanan aktivitenin hem pozitif hem de negatif olabilmesi için eşitlik 3. 22 yerine aşağıdaki eşitlik 3.23 düzenlenmiştir.

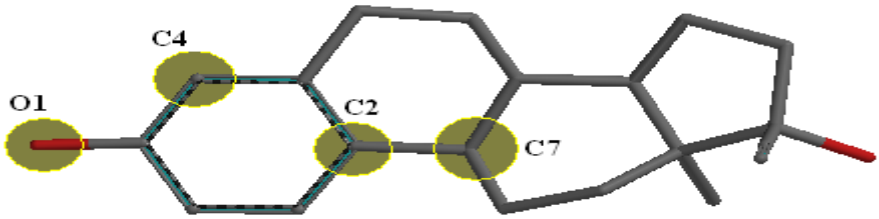
$$A_n = (A_l - C) * \frac{\sum_{i=1}^{m_l} e^{-E_{li}/kT} \sum_{i=1}^{m_n^{Pha}} \left(e^{-\sum_{j=1}^{J} \kappa^j a_{ni}^j} * e^{-E_{ni}/kT} \right)}{\sum_{i=1}^{m_n} e^{-E_{ni}/kT} \sum_{i=1}^{m_l^{Pha}} \left(e^{-\sum_{j=1}^{J} \kappa^j a_{li}^j} * e^{-E_{li}/kT} \right)} + C \qquad (3.23)$$

C-sabiti bileşik serisindeki en düşük aktivite değeridir. Buna göre $A_l \neq C$ olmalıdır.

5. BÖLÜM
SONUÇ

5.1. 17α Sübstitüe Estradiol Türevlerinin Hesaplanan Göreceli Bağlanma Affinitesi Sonuçları

Çalışılan bileşik serisinden seçilen referans bileşiğinden (N01) ETM karşılaştırması ile farmakofor gurup belirlenmiştir. Farmakofor grubu temsil eden matris (Elektron Topolojik Aktiflik Alt Matrisi (ETSA)) ve bu matrisin diyagonal tolerans (Δ_{DiaTlr}) ve nondiyagonal ($\Delta_{NdiaTlr}$) tolerans değerleri Şekil 5.1.' de gösterilmiş olup belirlenen bu atomlar temel iskelet üzerinde işaretlenmiştir. O1, C4, C2 ve C7 atomları farmakofor grup olarak belirlenmiştir.



C4	**C2**	**O1**	**C7**	
-0,215	2,427	2,435	3,811	**C4**
	-0,093	4,174	1,496	**C2**
		-0,252	5,668	**O1**
			-0,055	**C7**

Şekil 5.1. Çalışılan Bileşik Serisi İçin Aktif Fragmenti (Pha) Gösteren Matris.

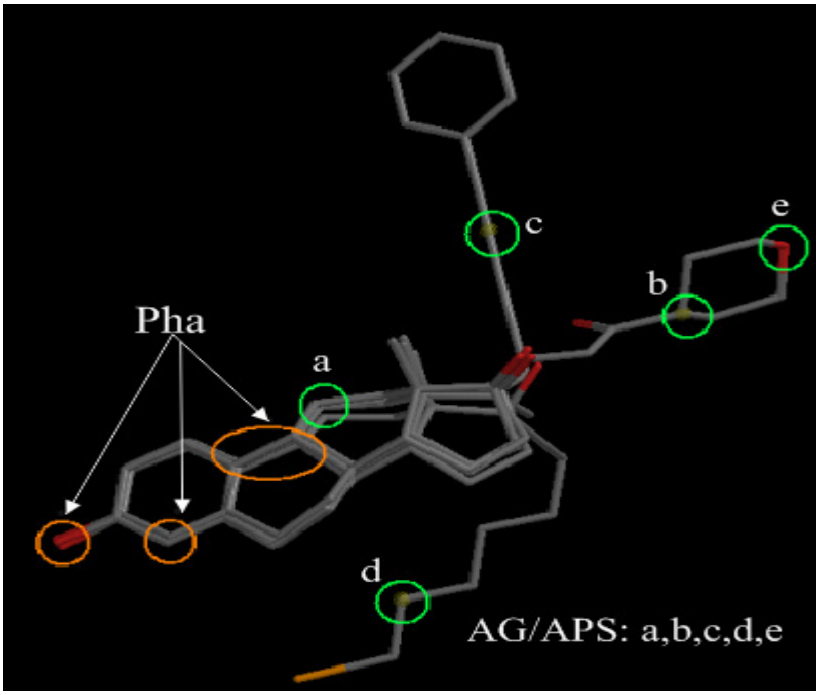
Çalışılan bileşik serisinde daha önceden bahsedildiği gibi eşitlik 3.22 kullanılarak teorik aktivite hesapları yapıldı.

Tablo 5.1. Pha Dışında Aktiviteye Etki Eden AG ve APS Grupların Bazı Özellikleri.

Molekül No	**Atom No**	**Torsiyon Açısı**	**Bağ Açısı**	**Mesafe (Å)**	**Etkin Değeri**	**Pozisyon**
N01_01	C12	55.48	17.05	r=6.04	κ_a= -0,147	a
N33_01	C22	46.52	27.00	r=12.48	κ_b= -0,154	b
N31_01	C22	84.00	6.65	r=10.76	κ_c= -0,155	c
N28_01	C25	77.54	66.93	r=7.06	K_d= -0.072	d
N33_01	O4	50.03	25.42	r=15.31	K_e= -0,269	e

Pha' nın varlığı aktivite için gereklidir fakat yeterli şart değildir. Bu nedenle Pha 'yı temsil eden matrisin belirlenmesinden sonra moleküllerde aktiviteye etki eden gruplar, serideki bileşiklerin temel iskeletine bağlı olan substituentlerin etkisine göre araştırılması için pozisyonların toplam katkılarını dikkate alan aşağıdaki 3.19' eşitlikdeki formül kullanıldı.

Şekil 5.2.' de sırasıyla N01, N28, N31 ve N33 bileşiklerin Pha atomları üst üstte çakıştırıldıktan sonra bileşiklerde geri kalan yönlenmiş atomlardan hangilerinin reseptörle etkileşerek aktiviteye etki ettiği belirlenebilir. Bu atomların taşıdıkları pozisyonlar a, b, c, d, e harfleriyle işaretlenmiş ve bunların APS veya AG oldukları moleküllerin aktivitedeki artma veya azalma değerlerinden tahmin edilmiş ve Pha atomları gösterilmiştir.



Şekil 5.2. N01, N28, N31, N33 Bileşiklerindeki Pha, AG ve APS Guruplar.

Pha'nın bulunmasından sonra etkin atomları belirlemek üzere Tablo 5.1. deki en çok veya en az aktif moleküllerden seçilmiş pozisyonlar kullanıldı. Bu tablodaki (N01, N28, N31 ve N33) moleküller pozisyonların belirlenmesi için referans olarak ele alındı. Tüm konformerlerin Pha atomları bu referansınki ile align yapılarak geri kalan atomların tolerans ölçülerine göre ele alınan pozisyona sahip olup olmalarına bakılarak sınıflandırıldı. Bu atomlar; n' inci molekülün i' inci konformerinin j' inci pozisyonları olarak her bir konformer için Tablo 5.2. ve Tablo 5.3.' de işaretlenmiştir. Pha dışında aktiviteyi değiştiren (AG ya da APS) atomların sınıflandırılmasında kullanılan ortak pozisyonlar genetik algoritma ile çıkartılmıştır.

Eşitlik 3.18' göre ($A \approx e^{-S}$) S fonksiyonu AG ve APS'yi temsil eden bir grup parametreye bağlıdır. Genel olarak eşitlik 3.19' daki ($S_{ni} = \sum_{j=1}^{N} \kappa_j a_{ni}^{(j)}$) gibi kabül edilir.

Burada $a_{ni}^{(j)}$ n' inci bileşiğin i' inci konformerinin j' inci tür APS veya AG özelliğini temsil eder. $a_{ni}^{(j)}$ her bir problem için spesifik bir parametredir ve liganddaki etkili pozisyonlar AG veya APS olarak ele alınır. Pozisyonun AG veya APS olması reseptördeki etkileştiği κ değerinin pozitif veya negatif olmasına bağlıdır. Eşitliğe (3.20) göre S_{ni} değeri pozitif olduğu durumlarda üstel olarak eşitliğin sayısal değerinde azalış olacağından aktiviteyi azaltır, negatif olduğu durumlarda ise üstel olarak eşitliğin sayısal değerinde artış olduğundan aktiviteyi artırır. S_{ni} ise eşitlik 3.19' daki gibi κ ve $a_{ni}^{(j)}$ değerlerinin çarpımı olduğuna göre bu çarpım pozitif çıktığında aktiviteyi azaltan (APS) özellik negatif çıktığında aktiviteyi artıran (AG) özellikten bahsedebiliriz.

Tablo 5.2. ve Tablo 5.3.' eğitim set ve test setteki bileşiklerin deneysel ve hesaplanan aktiviteleri ile birlikte her bir konformerin oluşum entalpileri (kJ mol^{-1}) ve bu konformerlerde aktiviteye etki eden atomların j-pozisyonlarını gösteren (a,b,c, d, e) işareti ile verilmiştir. Bu konformerler üzerindeki '$' işareti; Pha'yı taşımayan konformerleri gösterir ve aktivite üzerinde etkileri yoktur. Konformerler üzerinde bu atomlar mesafe (Δ_r), açı ($\Delta_{Açı}$) ve torsiyon açısı tolerans ($\Delta_{TorsTlr}$) değerlerine göre sınıflandırılır.

Tablo 5.2. ve Tablo 5.3.' de bileşiklerin hesaplanan teorik aktiviteleri bu hesaplamalara göre verilmiştir. Bu tablolarda her bir satırda bir molekülün sahip olduğu her bir konformerinin oluşum entalpileri göz önünde tutularak, konformerin kendi molekülü içinde sayısal orantı kesirleri belirlenmiştir. Bir konformerin etkisi, bu kesir orantısıyla birlikte, reseptörün etkileşeceği esas bölge olan Pha' yı taşımasına bağlıdır. Pha taşımayan konformerler için "$" işareti kullanılmıştır. Tablodaki boşluklar molekülün söz konusu numarada konformere sahip olmadığını gösterir, örneğin N11 molekülü yalnızca 2-nolu konformere sahip olup diğer konformerleri bulundurmamaktadır. Bu moleküle ait satır boyunca karşılık gelen sütunlarda konformer numaraları vardır ve konformer bulunmayan sütunlar harfsiz olarak boş bırakılmıştır.

Tablo 5.2. Eğitim Setteki Bileşiklerin Deneysel ve Modelden Çıkan Hesaplanan Aktiviteleri.

Mo	Dny.	Hes.	Konformerlerin oluşum entalpileri, sahip oldukları APS ve AG grupların pozisyonlarının a, b, c olarak gösterimi.											
lNo	Akt.	Akt.	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)
N01	2,02	2,020	-797.87a	-797.19a	-782.43a	-782.11a								
N02	2,00	2,233	-1953.21a	-1952.82a										
N03	1,86	2,138	-1928.68a	-1927.99a	-1923.67a	-1923.29a	-1913.06a	-1912.74a						
N04	1,69	1,969	-934.23a	-933.50a	-924.48a	-924.11a								
N05	1,51	2,072	-998.72a	-998.00a	-983.39a	-983.03a								
N06	1,49	1,870	-623.91a	-623.34a	-608.30a	-608.08a								
N07	1,45	2,015	-763.62a	-763.11a	-754.89ab	-754.52ab	-746.94ab	-746.20ab						
N08	1,26	2,286	-1602.35a	-1601.93a	-1590.68a	-1589.96a	-1586.24a	-1585.34a						
N09	1,08	1,871	-1280.89a	-1280.68a	-1266.92a	-1266.71a								
N10	0,92	1,919	-3237.43a	-3236.52a	-3221.53a									
N11	0,90	2,072	-1872.66a	-1872.16a										
N12	0,85	1,919	471.39a	487.42a										
N13	0,81	1,987	-1767.52a	-1767.00a	-1764.88a	-1763.76a	-1751.71a	-1750.35a						
N14	0,76	1,969	-419.62a	-403.00a										
N15	0,69	2,108	-512.82a	-509.25a	-509.06a									
N16	0,67	1,348	-2265.15ab	-2264.07ab	-2252.77a	-2252.00a	-2250.20a	-2249.43a						
N18	0,63	1,526	-1428.38ab	-1428.07ab	-1413.88ab	-1413.19ab								
N20	0,51	2,020	-1426.61a	-1425.88a	-1411.43a	-1411.06a								
N22	0,32	1,060	-1986.19a	-1985.08a	-1984.71a	-1984.27a	-1983.46a							
N24	0,04	0,949	-1587.03ac	-1579.48a	-1579.10a	-1578.55ac	-1577.73ac	-1577.50ab	-1577.13ab	-1576.23a	-1575.02ac	-1574.30a	-1573.53a	-1570.51a
N25	0,04	0,847	-1714.89ac	-1714.57ac	-1713.98ac	-1713.68ac	-1710.69ac	-1710.66ac	-1709.83ac	-1707.66a	-1707.47a	-1703.60a	-1702.70ab	-1702.25ab
N26	0,04	1,545	-582.75ab	-582.36ab	-571.12ab	-570.94ab	-570.73ab	-570.56ab						
N27	-0,05	0,774	-1572.95ad	-1572.28ad	-1568.90a	-1568.43a	-1568.20a	-1565.09ad	-1564.30ad	-1562.20ad	-1561.77a	-1561.04ad	-1560.72a	-1560.30ad
N28	-0,10	0,707	-1283.12ad	-1279.40a	-1279.29a	-1279.05a	-1276.50a	-1275.56a	-1275.24ad	-1273.44ad	-1271.85ad	-1271.12a	-1268.28ad	-1267.92a
N30	-0,30	0,692	-2245.25abe	-2244.37ab	-2244.02ab	-2240.31ac	-2235.78ac	-2232.98ab	-2232.24ab	-2231.65ab	-2231.62abe	-2231.18ab	-2230.95ab	-2230.58ab
N31	-0,40	0,976	331.32ac	340.44ab	340.81abe									
N33	-0,96	-0,038	-3626.57abe	-3623.21abe	-3623.16abe	-3620.97ab	-3620.95ab	-3614.90ab	-3614.61ab	-3614.19abe	-3613.57abe	-3612.60a	-3612.29abe	-3611.94abe

Tablo 5.3. Test Setteki Bileşiklerin Deneysel ve Modelden Çıkan Hesaplana Aktiviteleri.

Mol.	Den	Hes.	Konformerlerin olusum entalpileri ve sahip oldukları APS ve AG grupların a, b, c,d,e olarak gösterimi.											
No	Akt.	Akt.	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)
N17	0,67	1,261	-1049.88a	-1041.80ad	-1041.23ad	1041.00ad	-1038.86a	-1037.80a	-1036.98a	-1036.89a	-1036.79a	-1036.70a	-1034.24a	-1033.08a
N21	0,4	1,083	-571.83a	-571.15a	-559.83a	-559.55a	-559.16a	-558.87a	-556.40a					
N23	0,15	0,955	-2971.74a	-2970.00ab	-2969.70ab	2968.06a	-2966.80a	-2965.94a	-2963.46ab	-2962.85ab	-2962.55ab	-2959.25a	-2958.35a	-2958.27a
N32	-0,7	0,668	-769.02a	-766.79a	-766.89a	-766.20ac	-766.03a	-765.79ac	-765.13ac					

AG ve APS gruplardan birini taşımasına göre moleküllerin aktivitesi dikkate alınırsa bu özelliklerin aktiviteyi artırması veya azalması yüzünden moleküllerin aktiviteleri referans molekülünki ile kıyaslanabilir. Referans molekülün (N01) tüm konformerleri Pha'yı bulundurmakla beraber aynı zamanda a-pozisyonunu da bulundurur. Benzer olarak N02-N06, N08-N16, N20-N22 moleküllerinin de tum konformerelir sadece a-pozisyonunu taşımaktadırlar. Bunların aktivitelerindeki farklılık bu pozisyonlardaki atomların yüklerinin farklı olmasındandır. Eğer hepsinde de aynı yük miktarı olsaydı ilgili moleküller aynı aktiviteye sahip olacaklardı. b-pozisyonu referans molekülünde bulunmamaktadır. N18 ve N26 moleküllerinin tüm konformerlerinde a-pozisyonunun yanı sıra b-pozisyonları da vardır. Bu moleküllerde aktivitenin önemli ölçüde azalması gösterir ki; bu moleküllerin b-pozisyonundaki atomları reseptör ile APS olarak etkilenmektedir. N07 ve N23 nolu moleküllerde ise tüm konformerlerde a-pozisyonu olmakla beraber konformerlerin bazılarında b-pozisyonu bulunmaktadır ve başka pozisyon bulunmamaktadır. Bu moleküllerde de aktivite b-pozisyonu taşıyan konformerler yüzünden önemli ölçüde azalmıştır. a-pozisyonunun yanı sıra bazı konformerlerde c-pozisyonunun da bulunduğu N32 molekülünde aktivitenin azalması, c-pozisyonunun APS olduğunu gösterir. Hem b-pozisyonu hem de c-pozisyonu bulundukları konformerde APS olarak hareket ettiklerinden a-pozisyonunun yanısarı b- ve c-pozisyonlarını taşıyan N24 ve N25 nolu moleküllerin aktivitelerindeki azalma, benzer olarak açıklanabilir. Konformerlerinin bazılarında a-pozisyonunun yanı sıra sadece d-pozisyonunu taşıyan moleküllerin (N17, N27-N28) aktivitelerindeki azalma d-pozisyonunun APS olarak hareket etmesinden kaynaklanır. Bazı konformerlerinde e-pozisyonunun yanı sıra diğer bir çok pozisyonu taşıyan moleküller için e-pozisyonunun AG veya APS olduğu hakkında Tablo 5.2' den hiçbir yorum yapılamaz. Ancak e-pozisyonunu taşıyan moleküllerde Eş.(3.22) denklemi kullanılarak pozisyonun AG veya APS olduğu çıkartılabilir. Birden fazla pozisyonlara sahip konformerleri olan moleküllerin aktiviteleri Tablo 5.2 den doğrudan yorumlanamadığı zaman Eş.(3.22) kullanılarak taşıdıkları AG ve APS gruplarına göre benzer şekilde hesaplanabilir.

Bu yorumlardan da anlaşılacağı üzere moleküllerin nicel aktivite özellikleri, rastgele parametrelerden seçilmiş değil ancak reseptörün 3-boyutlu yapısını aydınlatacak şekilde etkileşim noktalarından elde edilmiştir.

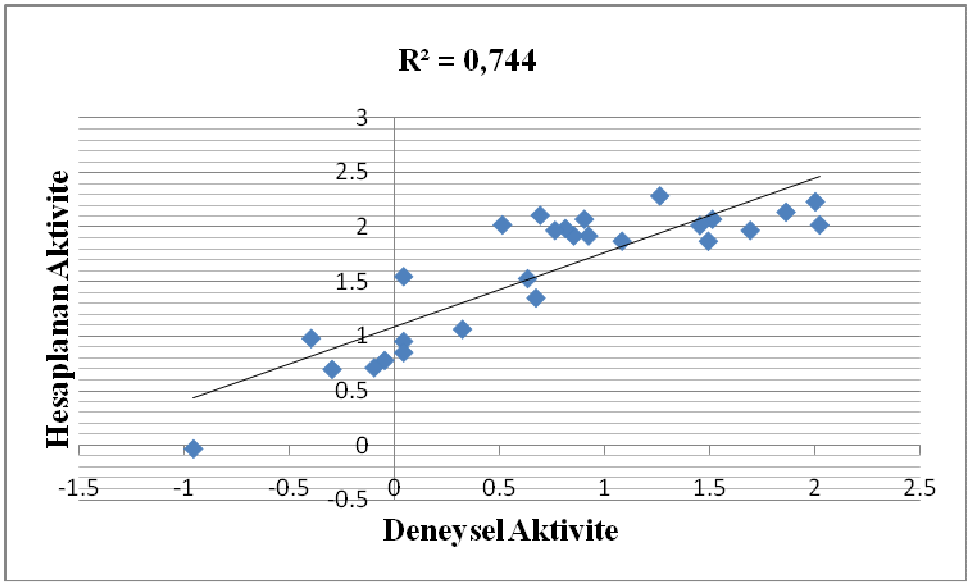
Tablo 5.4' de training set ve test setin, deneysel aktivitesi ve hesaplanan aktiviteleri ile standart sapmaları ve belirlilik katsayısı (R^2) verilmiştir. Çalışılan bileşik serisinde seri training set ve test set olarak ikiye bölünmüştür. Eğitim seti ile belirlenen modeldeki parametreler test sette aynı modelde tekrar hesap içinde kullanılır.

Tablo 5.4. Eğitim ve Test Setin Deneysel Aktiviteleri ve Hesaplanan Aktiviteleri.

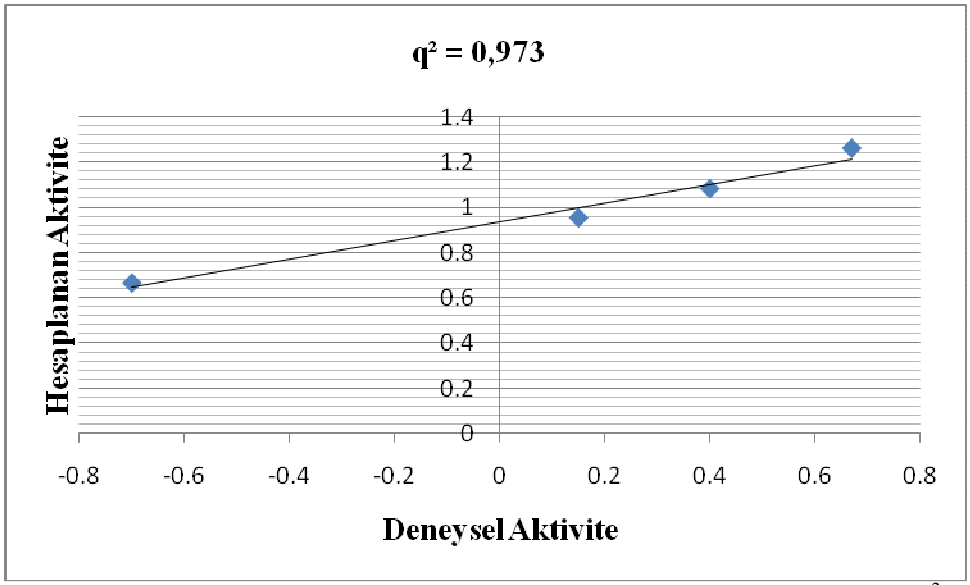
Eğitim Set		
Molekül No	**Deneysel Aktivite**	**Hesaplanan Aktivite**
N01	2,02	2,02
N02	2.00	2,233
N03	1,86	2,138
N04	1,69	1,969
N05	1,51	2,072
N06	1,49	1,87
N07	1,45	2,015
N08	1,26	2,286
N09	1,08	1,871
N10	0,92	1,919
N11	0,9	2,072
N12	0,85	1,919
N13	0,81	1,987
N14	0,76	1,969
N15	0,69	2,108
N16	0,67	1,348
N18	0,63	1,526
N20	0,51	2,02
N22	0,32	1,06
N24	0,04	0,949
N25	0,04	0,847
N26	0,04	1,545
N27	-0,05	0,774
N28	-0,1	0,707
N30	-0,3	0,692
N31	-0,4	0,976
N33	-0,96	-0,038
R^2	**0,744**	
Standart Hata	**0.402**	
Test Set		
Molekül No	**Deneysel Aktivite**	**Hesaplanan Aktivite**
N17	0,67	1,261
N21	0,4	1,083
N23	0,15	0,955
N32	-0,7	0,668
q^2	**0,973**	
Standart Hata	**0.117**	

Kurulan regresyon modelinde, gözlemlenen değerlerin modelle uyumluluk içerisinde olup olmadığını belirlilik katsayısı (R^2) ile değerlendirebiliriz. Bulunan belirlilik katsayısı, bağımsız değişken

değerlerindeki değişimlerin ne kadarının (%) kurulan regresyon modeli ile açıklandığını gösterir. Değer 0 ile 1 arasında değişmektedir. 1' e yaklaştıkça modelin uygunluğu artmaktadır. Şekil 5.3 ve Şekil 5.4' de eğitim set ve test set için deneysel ve hesaplanan teorik aktiviteler arasındaki R^2 grafiği verilmiştir.



Şekil 5.3. Eğitim Setteki Bileşiklerin Deneysel ve Hesaplanan Aktiviteler Arasındaki R^2 Grafiği.



Şekil 5.4. Test Setteki Bileşiklerin Deneysel ve Hesaplanan Aktiviteler Arasındaki R^2 Grafiği.

Molekül serisine ait istatistik hesaplamalarla belirlilik katsayısı R^2 eğitim set için 0.744 ve test set için 0.973 olarak bulunmuştur. Kurulan regresyon modelindeki katsayıların anakütle değerlerine ne kadar yakın olduğu yani güvenirliliği, katsayıların standart hatalarına bakılarak ölçülmektedir. Standart hata,

anakütleden örnek olarak alınan gözlem değerleri için kullanılan terimdir. Standart hata eğitim set için 0.402 ve test set için ise 0.117 olarak bulunmuştur.

Bu çalışmada biyolojik aktiviteden sorumlu olan üç boyutlu biyo-geometriyi temsil eden Pha' ın ortaya çıkarılması ve onun üzerinde etkili olan ve aktivitenin niceliğini belirleyen reseptöre ait sayısal etkileşim (κ), κ_a= -0,147, κ_b= -0,154, κ_c= -0,155, κ_d= -0.072, κ_e= -0,269 değerleri bulunmuştur. Bu durum QSAR çalışmalarında amaçlanan ancak sıkça başarılamayan bir adımdır. Herhangi bir parametre ile QSAR modeli çıkartılmamış onun yerine daha anlamlı olan topolojik parametrelerle model kurulmuştur. Bu sayede reseptörün etkileşim yapısını anlamamız daha gerçekçi ve açıklayıcı olmuştur. Böylece ligand-reseptör arasındaki etkileşim karmaşık ilişkilerle değil ama geometrik olarak Van der Waal etkileşim enerjisi ile gösterilmiştir. Ligand tarafındaki Pha olan biyo-anahtar ile onunla beraber eş zamanlı çalışan diğer gruplar $a_{ni}^{(j)}$ değerleriyle ve reseptör tarafındakilerde κ değerleriyle ele alınmıştır. Ligand-reseptör arasındaki etkileşim fizikokimyasal olayları açıklamada sıkça başvurulan standart Gibbs enerjisi Eşitlik 3.23 verilen modelde üstel fonksiyon olarak hesaplama içinde yer almıştır.

KAYNAKLAR

1. Tong, W., et al., Environmental Health Perspectives, Volume 105, Number 10, October, 1997.
2. Hopfinger, A. J., Tokarski, J. S., Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationships, In Practical Application of Computer-Aided Drug Design, Charifson, P. S., Ed., Marcel Dekker, New York, pp 105-164, 1997.
3. Greco, G., Novellino, E., Martin, Y. C., Approaches to Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationships. In Reviews in Computational Chemistry, Lipkowitz, K. B., Boyd, D. B., Eds., Wiley-VCH, New York, Vol. 11, pp 183-240, 1997.
4. Debnath, A. K., Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) Paradigm – Hansch Era to New Millennium, Mini Reviews in Medicinal Chemistry, 1, 187-195 187, 2001.
5. http://bornova.ege.edu.tr/~eunal/aids.html
6. http://www.newdrugdesign.com.
7. Kaymakçalan, Ş., Genel Farmakoloji, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara, 1970.
8. http://netsci.org/scgi-bin/Courseware/Drugs/Intro/top.html
9. Richards W. G., Computer Aided Drug Design, Pure Appl. Chem., 66, 8, 1589-1596,1994.
10. Başgut B., Abacıoğlu N., Farmakoloji. Eczacılık Fakültesi, Gazi Üniversitesi, Türkiye, http://www.universite-toplum.org/text.php3?id=247, 2010.
11. Roberto, G., et. al., Computer-Assisted Drug Development (CADD): An Emerging Technology for Designing First-time-in-man and Proof-of-Concept Studies from Preclinical Experiments, J. Pharm. Sci. 13, 261–270, 2001.
12. McCarthy, D. J., Computational Approaches to Structure-Based Ligand Design, Pharmacology & Therapeutics, 84, 179–191,1999.
13. http://vizyon2023.tubitak.gov.tr/teknolojiongorusu/paneller/raporozet/saglik.pdf.
14. Allen B. Richon, An Introduction to Molecular Modeling, *Mathematech*, 1, 83, 1994.
15. Zahid, M.A.H., Mittal, A., Joshi, R.C., A pattern recognition-based approach for phylogenetic network construction with constrained recombination, *Pattern Recognition*, 39 (12), p.2312-2322, Dec 2006.
16. Wang, S., Lu, H., Zhao, Y., Mostofi, R., Young Kim, H., Yin, L. , Numerical study of coal particle cluster combustion under quiescent conditions, *Chemical Engineering Science*, 62 (16), p.4336-4347, Aug 2007.
17. http://www.webanne.com/kadinlik_hormonu_ostr
18. http://tr.wikipedia.org/wiki/%C3%96strojen
19. http://fred.hmc.psu.edu/ds/retrieve/fred/meshdescriptor/D013329
20. http://www.medicalglossary.org/structureactivity_relationship_quantitative_structureactivity_relationship_definitions.html

21. Kubinyi, H., From Narcosis to Hyperspace: The History of QSAR, Quant.Struct.-Act.Relat., 21, 348-356, 2002.

22. QSAR and Drug Design, Bevan R.D.Department of Biochemistry and Anaerobic Microbiology Virginia Polytechnic Institute and State University Blacksburg,USA,http://www.biochem.vt..edu/courses/modeling/qsar_drug..html June, 2000.

23. Fruhbeis, H., Klein, R., Wallmeier, H. Computer-Assisted Molecular Design (CAMD), An Overview. Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 26, 403-418, 1987.

24. Fruhbeis, H., Klein, R., Wallmeier, H. Computer-Assisted Molecular Design (CAMD), An Overview. Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 26, 403-418, 1987.

25. http://molvis.chem.indiana.edu/C687_S99/lecture4.html

26. Perkins, R., Fang, H., Tong, W., Welsh, W. J. Quantitative Structure-Activity Relationship Methods: Perspectives on Drug Discovery and Toxicology, Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 22, No. 8, 2003.

27. Debnath, A. K., Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) Paradigm – Hansch Era to New Millennium, Mini Reviews in Medicinal Chemistry, 1, 187-195 187, 2001.

28. Kubinyi, H., QSAR and 3D QSAR in Drug Design vol 2, 457-467, 11 Nov 1997

29. Kubinyi, H., "QSAR: Hansch Analysis and Related Approaches", Vol. 1 of "Methods and Principles in Medicinal Chemistry", R. Mannhold et al., Eds., VCH, Weinheim, 1993.

30. Akgün, H., Balkan, A., Bilgin, A.A., Çalış, Ü., Dalkara, S., Erdoğan, H., Erol, D.D., Ertan, M., Özkanlı, F., Palaska, E., Saraç, S., Şafak C., Farmasötik kimya Ankara, 2000.

31. David, R., Tripos, L., HQSAR A New, Highly Predictive QSAR Technique, Inc. Tripos Technical Notes, Vol 1, No. 5

32. Zheng, W., Cho, S. J., Tropsha, A., Rational Combinatorial Library Design.1. Focus-2D: A New Approach to the Design of Targeted Combinatorial Chemical Libraries, J. Chem. Inf. Comput. Sci., 38 (2), 251 -258, 1998.

33. Zheng, W., Cho, S. J., Tropsha, A., Rational Combinatorial Library Design. 2. Rational Design of Targeted Combinatorial Peptide Libraries Using Chemical Similarity Probe and the Inverse QSAR Approaches, J. Chem. Inf. Comput. Sci., 38 (2), 259 -268, 1998.

34. Gao, H., Lajiness, M.S., Van Drie J., Enhancement of Binary QSAR Analysis by a GA-Based Variable Selection Method, J. Mol. Graph. Model., 20(4), 259-68, 2002.

35. Labute, P., A New Method For the Determination of Quantitative Structure Activity Relationships, Pac. Symp. Biocomput., 444, 1999.

36. Gao, H., Williams, C., Labute, P., Bajorath, J., Binary Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) Analysis of Estrogen Receptor Ligands, J. Chem. Inf. Comput. Sci., 39, 164, 1999.

37. Kubinyi, H., Folkers, G., Martin, Y.C., 3D-QSAR Drug Design Recent Advances, Volume 3, Kluwer/ Escom, Boston, 1998.

38. http://molvis.chem.indiana.edu/C687_S99/lecture4.htm

39. Kubinyi, H., Comparative Molecular Field Analysis (CoMFA), BASF AG, D-67056 Ludwigshafen, Germany.

40. Van De Waterbeemd, H. R., Carter, E., Grassy, G., Kubinyi, H., Martin, Y.C., Tute, M. S., Willett, P., International Union of Pure and Applied Chemistry and Human Health Division Medicinal Chemistry Section Glossary of Terms Used Incomputantional Drug Design, 1997 .

41. Mishra, H., Parrill, A. L., Williamson, J. S., Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationship and Comparative Molecular Field Analysis of Dipeptide Hydroxamic Acid Helicobacter pylori Urease Inhibitors Antimicrobial Agents and Chemotherapy, August, 46(8), 2613-2618, 2002.

42. Hasegawa K., Arakawa, M., Funatsu, K., Rational Choice of Bioactive conformations Through Use of Conformation Analysis and 3-Way Partial Least Squares Modeling, Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 50*, 253-261, 2000.

43. Richon, A. B., Young, S. S., Network Science An Introduction to QSAR Methodology,http://www.netsci.org/Science/Compchem/feature19.html October, 1997.

44. Klebe, G., "Comparative Molecular Similarity Indices: CoMSIA." 3D QSAR in Drug Design, Kubinyi, H.;Folkers, G.; Martin, Y. C. (Eds.), Kluwer Academic Publishers, Great Britain, 3, 87, 1998

45. Hou, T., Li, Y., Liao, N., Xu, X., Three-Dimension Quantitative Structure-Activity Relationship Analysis of Some Cinnamamides Using Comparative Molecular Similarity Indices Analysis (CoMSIA), J. Mol. Model., 6, 438 – 445, 2000.

46. Silverman, B. D., Platt, D. E.,. Comparative Molecular Moment Analysis (CoMMA): 3D-QSAR without Molecular Superposition, J. Med. Chem., 39 (11), 2129 -2140, 1996.

47. Ferguson, A. M., Heritage, T., Jonathon, P., et al. "EVA: A new theoretically based molecular descriptor for use in QSAR/QSPR analysis." J. Comp.-Aided Mol. Des., 11, 143, 1997.

48. Todeschini, R., Lasagni, M., Marengo E., J.Chemometrics, 8, 263 – 272, 1994.

49. Vedani, A., Briem, H., Dobler, M., Dollinger, H., McMasters, D. R., J. Med. Chem., 43, 4416, 2000.

50. http://www.genomicglossaries.com/content/molecular_modeling_gloss.asp

51. Smith, C., "Molecular Modeling - Seeing the Whole Picture with Modeling Software Packages", Scientist, 12(17), 31, 1998.

52. Gund, T., Molecular Modelling of Small Molecules. In Guidebook on Molecular Modeling in Drug Design, Cohen, N.C., Ed., 55-92, Academic Press, New York, 1996.

53. Kubinyi, H., Folkers, G., Martin, Y.C., 3D QSAR in Drug Design, Ligand-Protein Interactions and Molecular Similarity, Eds., Kluwer/ Escom, Boston, 1998.

54. Greco, G., Novellino, E., Martin, Y.C., Approaches to Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationships. In Reviews in Computational Chemistry, Lipkowitz, K.B., Boyd, D.B., Eds., 11, 183-240, Wiley-VCH, New York, 1997.

55. Bersuker, I.B., Pharmacophore Identification and Quantitative Bioactivity Prediction Using the Electron-Conformational Method, Current Pharmaceutial Design, 9, 1575-1606, 2003.

56. Marshall, G.R., Barry, C.D., Bosshard, H.E., Damkoehler, R.A., Dunn, D.A., The Conformational Parameter in Drug Design, The Active Analog Approach, In Symposium on Computer-Assisted Drug Design, ACS Symposium Series 112, Olson, E.C., Christoffersen, R.E., Eds., pp 205-226, American Chemical Society, Washington, D.C., 1979.

57. Cosentino, U., Moro, G., Pitea, D., Scolastico, S., Todescihini, R., Scolastico, C., Pharmacophore Identification by Molecular Modeling and Chemometrics, The Case of HMG-CoA Reductase inhibitors, J.Computer-Aided Molecular Design, 6, 47-60, 1992.

58. Hopfinger, A. J., Tokarski, J. S., Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationships, In Practical Application of Computer-Aided Drug Design, Charifson, P. S., Ed., Marcel Dekker, New York, pp 105-164, 1997.

59. Oprea, T. I., Waller, C. L., Theoretical and Practical Aspects of Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationships, In Reviews in Computational Chemistry, Lipkowitz, K. B., Boyd, D. B., Eds., Wiley-VCH, New York, Vol. 11, pp 127-182, 1997.

60. Kubinyi, H., Ed., 3D QSAR in Drug Design, Theory, Methods and Applications, ESCOM, Leiden, The Netherlands, 1993.

61. Kubinyi, H., Folkers, G., Martin, Y.C., Eds., 3D QSAR in Drug Design, Ligand-Protein Interactions and Molecular Similarity, Kluwer/ Escom, Boston, 1998.

62. Cramer III, R.D., Patterson, D.E., Bunce, J.D., Comparative Molecular Field Analysis (CoMFA) 1. Effect of Shape on Binding of Steroids to Carrier Proteins, J. Am. Chem. Soc., 110, 5959-5967, 1988.

63. Martin, Y.C., Bures, M.G., Danaher, E.A., DeLazzer, J., Lico, I., Pavlik, P.A., A Fast New Approach to Pharmacophore Mapping and Its Application of Dopamingergic and Benzodiazepine Agonists, J. Computer-Aided Molecular Design, 7, 83-102, 1993.

64. Application in Chem-X Lead Generation I. Automatic Pharmacophore Identification for a Set of Compounds, Chemical Ltd, Oxon, UK, 1995.

65. Bersuker I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu. , Vlad, P.F., Pesaro, M. Origin of Musk Fragrance Activity, The Electron-Topological Approach. New J. Chem. 15, 307-320, 1991.

66. Bersuker, I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu., Greni, A.I., Vysotskaya, L.E., Mikhailova, T.V. Study of the Electronic and Structural Properties of the Chemical Compounds in Garlic Aroma. Die Nahrung- Food 33, 405-411, 1989.

67. Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu., Bersuker, I.B., Greni, A.I., Vysotskaya, L.E., Stepanova, O.V., Lukash, E.Yu. Structural and Electronic Origin of Meat Odour of Organic Hetero-Atomic Compounds. Die Nahrung- Food 32, 461-473, 1988.

68. Bersuker, I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu., Vlad, P.F., Koltsa, M.N. Structural and Electronic Origin of Odour Properties of Organic Compounds as Revealed by the Electron-Topologic Approach to the QSAR Problem, In QSAR in Drug Design and Toxicology, 10, 340-342, 1987.

69. Bersuker, I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu., The Electron-Topologic Approach to the QSAR Problem Illustrated by Inhibitor Activity for Thymidine Phosphorylase and α-Chymo-Trypsin, In QSAR in Drug Design and Toxicology,10, 43-48, 1987.

70. Bersuker, I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu., The Electron-Topologic Approach to Structure-Activity Relationships. Inhibition of Thymidine Phosphorylase by Uracil Derivatives. Bioogan. Khim., 13, 38-44, 1987.

71. Dimoglo, A.S., Bersuker, I.B., Popa, D.P., Kuchkova, K.I. Electron-Topological Study of Plant Growth-Regulator Activity in a Series of Analogs of Abscisic Acid.,Theor. Eksp. Khim., 5, 590, 1989.

72. Guzel, Y., Saripinar, E., Yildirim. I. Electron-Topological(ET) Investigation of Structure-Antagonist Activity of a Series of di benzo[a,d] cycloalkenimines. J.Mol.Struc. ,Theochem., 418, 83-91, 1997.

73. Guzel, Y. Investigation of the Relationship Between the Inhibitory Activity of Glycolic Acid Oxidase and its Chemical Structure, Electron- Topological Approach. J. Mol. Structure. (Theochem) 366, 131-137, 1996.

74. Dimoglo, A.S., Beda, A.A., Shvets, N.M., Gorbachov, M.Yu., Kheifits, L.A., Aulchenko, I.S. Investigation of the Relationship Between Sandalwood Odor and Chemical Structure, Electron- Topological Approach. New J. Chem. 19, 149-154, 1995.

75. Dimoglo, A.S., Vlad, P.F., Shvets, N.M., Koltsa, M.N., Güzel, Y., Saracoğlu, M., Saripinar, E., Patat, S. Electron-Topological Investigations of the Relationship Between Chemical Structure and Ambergris Odor, New J. Chem. 19, 1217-1226, 1995.

76. Marshall, G.R., Molecular Modeling in Drug Design. In Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery, Principles and Practice, 5th ed., Wolff, M.E.,Ed., 1, 573-659, John Wiley, New York, 1995.

77. Bersuker, I.B., Bahceci, S., Boggs, J.E., Atomic İndex of Charge and Orbital Controlled Intermolecular Interaction in Molecular Modeling for QSAR in Drug Design, 219, 594, J. Am. Chem. Soc., 2000.

78. Bersuker I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu. , Vlad, P.F., Pesaro, M. Origin of Musk Fragrance Activity, The Electron-Topological Approach. New J. Chem. 15, 307-320, 1991.

79. Bersuker, I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu., Greni, A.I., Vysotskaya, L.E., Mikhailova, T.V. Study of the Electronic and Structural Properties of the Chemical Compounds in Garlic Aroma, Die Nahrung- Food 33, 405-411, 1989.

80. Bersuker, I.B., et al., Origin of Musk Fragrance Activity, The Electron-Topological Approach, New J. Chem., 15, 307-320, 1991.

81. Bersuker, I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu., Greni, A.I., Vysotskaya, L.E., Mikhailova, T.V., Study of the Electronic and Structural Properties of the Chemical Compounds in Garlic Aroma, Die Nahrung- Food, 33, 405-411, 1989.

82. Bersuker, I.B., Bahceci, S., Boggs, E.J., Pearlman, R.S., A Novel Electron Conformational Approach to Molecular Modeling for QSAR by Identification of Pharmacophore and Anti-Pharmacophore Shielding, SAR and QSAR in Environmental Research, 10, 157-173, 1999.

83. Bersuker, I.B, Bahceci, S., Boggs, E.J., The Electron-Conformational Method of Identification of Pharmacophore and Anti-Pharmacophore Shielding, In Pharmacophore Perception, Development, and Use in Drug Desing, Guner, O., Ed., International University Line, March,2000.

84. Salman, M.; Reddy, B. R.; Delgado, P.; Stotter, P. L.; Fulcher, L. C.; Chamness, G. C. *Steroids* **1991**, *56*, 375.

85. Salman, M.; Reddy, B. R.; Ray, S.; Stotter, P. L.; Chamness, G. C. *J. Steroid Biochem*. **1986**, *24*, 539.