

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**ENANTIYOSELEKTİF MOLEKÜLLERİN 3D QSAR
İNCELENMESİNDE FARKLI ‘YEREL REAKTİF
TANIMLAYICILARIN’ PERFORMANSININ
KIYASLANMASI**

**Hazırlayan
Dilek Şeyma KIZILCAN**

**Danışman
Prof. Dr. Yahya GÜZEL**

Doktora Tezi

**Şubat 2022
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**ENANTİYOSELEKTİF MOLEKÜLLERİN 3D QSAR
İNCELENMESİNDE FARKLI ‘YEREL REAKTİF
TANIMLAYICILARIN’ PERFORMANSININ
KIYASLANMASI**

(Doktora Tezi)

**Hazırlayan
Dilek Şeyma KIZILCAN**

**Danışman
Prof. Dr. Yahya GÜZEL**

**Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
Tarafından FDK-2020-9718 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Şubat 2022
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Dilek Şeyma KIZILCAN

İmza

YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI

“Enantiyoselektif Moleküllerin 3D QSAR İncelenmesinde Farklı ‘Yerel Reaktif Tanımlayıcıların’ Performansının Kıyaslanması” adlı Doktora tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan

Dilek Şeyma KIZILCAN

İmza

Danışman

Prof. Dr. Yahya GÜZEL

İmza

Kimya ABD Başkanı

Prof. Dr. Emin SARIPINAR

İmza

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım boyunca her zaman yanımda olan, geniş bilgi ve deneyimleri ile her konuda yol gösteren ve desteğini hiç bir zaman esirgemeyen saygıdeğer danışmanım Prof. Dr. Yahya GÜZEL’e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez izleme komitesinde görevli olarak bulunan ve tezimin ilerleyişinde deneyimleriyle yardımcı olan Prof. Dr. Zülbiye KÖKBUDAK ve Prof. Dr. Zeki BÜYÜKMUMCU hocalarıma teşekkür ederim.

QSAR grubu olarak çalışma arkadaşlarım Dr. Öğr. Üyesi Burçin TÜRKMENOĞLU ve Dr. Tuğba ALP TOKAT’a, bana her daim yol gösterici oldukları ve desteklerini hiç esirgemedikleri için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Erciyes Üniversitesi **Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi’ne, FDK-2020-9718** nolu **“Enantiyoselektif Moleküllerin 3D QSAR İncelenmesinde Farklı ‘Yerel Reaktif Tanımlayıcıların’ Performansının Kıyaslanması”** başlıklı proje kapsamındaki desteklerinden ötürü teşekkür ederim.

Bu serüvene başlamamda öncülük eden ve her zaman yanımda olan canım dostum Şeyda YILMAZ’a çok teşekkür ederim.

Hayatımın her anında hep yanımda olan ve maddi manevi desteklerini esirgemeyen, bu günlere gelebilmem için ve tez çalışmalarım boyunca pek çok fedakârlık yapan sevgili annem Mecbure KIZILCAN, sevgili babam Mustafa Ahmet KIZILCAN ve hayattaki en büyük şansım canım kardeşim Erdem KIZILCAN’a sonsuz teşekkür ve minnettarlıklarımı bildiririm.

Dilek Şeyma KIZILCAN

Şubat 2022, KAYSERİ

ENANTIYOSELEKTİF MOLEKÜLLERİN 3D QSAR İNCELENMESİNDE FARKLI ‘YEREL REAKTİF TANIMLAYICILARIN’ PERFORMANSININ KİYASLANMASI

Dilek Şeyma KIZILCAN

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Doktora Tezi, Şubat 2022

Danışman: Prof. Dr. Yahya GÜZEL

ÖZET

3 boyutlu (3B) yapıları gereği değişiklik gösteren stereoizomerik molekülleri 3 Boyutlu Kantitatif Yapı-Aktivite İlişkileri (3 Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationship, 3D QSAR) bakımından incelerken sıradan tanımlayıcılar yerine 3B tanımlayıcılar kullanmak gerekir. Ligand-reseptör (L-R) etkileşmesinden sorumlu olan reseptör tarafındaki farmakoforun parametreleri ve 3B yapısı, molekülün 3B iskeletine göre uzayda bulunan atomlarının Yerel Reaktif Tanımlayıcısı (Local Reactive Descriptor, LRD) kullanılarak bulunabilir. Bu amaçla, kiral atom içeren fenoterol stereoizomerleri ve stereokimya çalışmalarında yaygın olarak kullanılan steroidler için L-R arasındaki etkileşim incelenmiştir. Reseptörün etkileşim noktalarına karşılık gelen moleküllerin atomlarındaki parametreler, kendi yazılımımız olan Moleküler Konformer Elektron Topolojik (MCET) metod içinde doğrusal olmayan en küçük kareler yöntemi (Non-Linear Least Square, NLLS) kullanılarak hesaplanmıştır. 3B koordinat sisteminde hizalanarak üst üste getirilen moleküllerdeki atomların oluşturduğu kümelerdeki LRD’ler üzerinde Genetik Algoritma (GA) uygulanarak 3 boyutlu farmakofor model (3D-Pharmacophore Model, Pha) elde edilmiştir. Birini dışarıda bırakıp çapraz doğrulama (Leave One Out-Cross Validation, LOO-CV) ile eğitim setindeki moleküller için Q^2 ve harici test setindeki moleküller için R^2 değerleri LRD tipleri arasından en iyi sonucu veren Klopman İndeksi tanımlayıcısı ile bulunmuştur. Kullanılan serilerin ilaç molekülü adayı olabileceği ve deneysel çalışmalar yapan araştırmacılara kolaylık sağlayabileceği gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: 3D QSAR, tanımlayıcı, enantiyomer, LRD, fenoterol, steroid, MCET, Pha

**COMPARISON OF THE PERFORMANCE OF DIFFERENT 'LOCAL
REAGENT IDENTIFIERS' IN THE 3D QSAR STUDY OF
ENANTIOSELECTIVE MOLECULES**

Dilek Şeyma KIZILCAN

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences

PhD Thesis, February 2022

Supervisor: Prof. Dr. Yahya GÜZEL

ABSTRACT

When examining stereoisomeric molecules that vary due to their 3-dimensional (3D) structure in terms of 3-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationships (3D QSAR), it is necessary to use 3D descriptors instead of ordinary descriptors. The parameters and 3D structure of the receptor-side pharmacophore responsible for the ligand-receptor (L-R) interaction can be found using the Local Reactive Descriptor (LRD) of the atoms in space relative to the 3D skeleton of the molecule. For this purpose, the interaction between L-R was investigated for fenoterol stereoisomers containing chiral atoms and steroids commonly used in stereochemistry studies. The parameters in the atoms of the molecules corresponding to the interaction points of the receptor were calculated using the Non-linear Least Square (NLLS) in our own software, the Molecular Conformer Electron Topological (MCET) method. A pharmacophore model (Pha) was obtained by applying Genetic Algorithm (GA) on LRDs in clusters of atoms in molecules aligned and superimposed in the 3D coordinate system. With Leave One Out-Cross Validation (LOO-CV), the Q^2 values for the molecules in the training set and the R^2 values for the molecules in the external test set were found with the Klopman Index descriptor, which gave the best results among the LRD types. It has been shown that the series used can be drug molecule candidates and provide convenience to researchers who conduct experimental studies.

Keywords: 3D QSAR, descriptor, enantiomer, LRD, fenoterol, steroid, MCET, Pha

İÇİNDEKİLER

ENANTİYOSELEKTİF MOLEKÜLLERİN 3D QSAR İNCELENMESİNDE FARKLI ‘YEREL REAKTİF TANIMLAYICILARIN’ PERFORMANSININ KIYASLANMASI

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI	iii
KABUL VE ONAY	iv
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	viii
KISALTMALAR	xi
TABLolar LİSTESİ	xiii
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiv
GİRİŞ	1

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1. İlaç nedir?	3
1.1.1. İlaçların Hücrelere Tesirleri ve Reseptörleri	3
1.1.2. Bağlanma Etkileşimleri	4
1.1.2.1. İyonik Bağlanma	4
1.1.2.2. Hidrojen Bağı	4
1.1.2.3. Van der Waals Bağı	5
1.1.2.4. Takviyeli İyon Bağı	5
1.1.2.5. Kovalent Bağ	6
1.2. İlaç Tasarımı	6
1.3. Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı (Computer-Aided Drug Design, CADD)	7
1.4. Yapı Aktivite İlişkisi (Structure Activity Relationship, SAR) ve Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi (QSAR)	10
1.4.1. SAR	11
1.4.2. QSAR	11

1.4.2.1. QSAR Teorisi	13
1.4.2.1.1. Hansch Analizi	14
1.4.2.1.2. Free-Wilson Analizi	17
1.4.3. 2D QSAR Analizi	18
1.4.4. Yeni QSAR Metotları	19
1.4.4.1. Hologram QSAR (HQSAR)	19
1.4.4.2. 'Inverse'QSAR	21
1.4.4.3. 'Binary'QSAR.....	22
1.4.5. 3D QSAR.....	22
1.4.5.1. Karşılaştırmalı Moleküler Alan Analizi (CoMFA- Comparative Molecular Field Analysis).....	24
1.4.5.2. Aktif Analog Yaklaşımı.....	26
1.4.5.3. Moleküler Şekil Analizi (MSA-Molecular Shape Analysis).....	26
1.4.5.4. Karşılaştırmalı Moleküler Şekil Analizi (CoMSIA- Comparative Similarity Indices Analysis).....	27
1.4.5.5. Karşılaştırmalı Moleküler Moment Analizi (CoMMA).....	28
1.4.6. 4D QSAR.....	29
1.4.7. 5D QSAR.....	30
1.4.8. 6D-QSAR	30
1.4.9. Moleküler Modelleme ve QSAR	31
1.4.10. QSAR eşitliği türetme: Basit ve çoklu lineer regresyon metodu	32
1.4.11. Çapraz Doğrulama (Cross Validation-CV)	33
1.4.12. Farmakofor (Pha) Kavramı	33
1.4.13. Farmakofor Tanımlama Metotları.....	34
1.4.14. Elektron Topolojik Matrise (ETM) Dayalı Elektron Topolojik Metot	36
1.4.15. Levenberg-Marquardt (LM) Algoritması; Doğrusal Olmayan En Küçük Kareler (NLLS) Analizi	38
1.4.16. MCET Metodu	39
1.4.17. Yeni Lokal Reaktivite Tanımlayıcı: Klopman İndeksi	41
1.4.18. Reseptör ile İlaç Molekülünün Etkileşim Mekanizması	45
1.4.19. Stereokimya ve QSAR.....	46
1.5. Seçilen Molekül Serileri.....	49

1.5.1. Steroid Molekül Serisi	49
1.5.2. Fenoterol Stereoizomerleri Serisi	50

2. BÖLÜM

YÖNTEM VE MATERYAL

2.1. Kuantum Kimyasal Hesaplamaların Yapılması	52
2.2. Elektron Topolojik Matris (ETM) Programı	54
2.3. MCET Metodu	56
2.3.1. En Küçük Kareler (PLS) Yöntemi	58
2.3.2. Klopman İndeksi.....	58
2.4. Atomların 3B Uzayda Kümelenmesi	59
2.5. GA Uygulaması	60
2.6. Eğitim ve Test Setlerinin Optimum Gruplandırılması.....	61
2.7. Pha Belirlenmesi.....	62

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. Steroid Molekül Serisi	65
3.2. Fenoterol Stereoizomerleri Serisi	78

4. BÖLÜM

TARTIŞMA-SONUÇ ve ÖNERİLER

4.1. Steroid Molekül Serisi	88
4.2. Fenoterol Stereoizomerleri Serisi	88
KAYNAKÇA	91
ÖZGEÇMİŞ.....	111

KISALTMALAR

2D QSAR	: İki Boyutlu Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi
3D QSAR	: Üç Boyutlu Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi
4D QSAR	: Dört Boyutlu Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi
CADD	: Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı (Computer Aided Drug Design)
CoMFA	: Karşılaştırmalı Moleküler Alan Analizi (Comparative Molecular Field Analysis)
CoMMA	: Karşılaştırmalı Moleküler Moment Analizi (Comparative Molecular Moment Analysis)
CoMSIA	: Karşılaştırmalı Moleküler Şekil Analizi (Comparative Similarity Indices Analysis)
DFT	: Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi (Density Functional Theory)
ETM	: Elektron Topolojik Matris
ETMP	: Elektron Topolojik Matris Programı
GA	: Genetik Algoritma
HF	: Hartree-Fock
HQSAR	: Hologram Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi
HSAB	: Sert Yumuşak Asit Bazlar (Hard Soft Acid Base)
HTS	: Çok Sayıdaki Bileşiği Ayırma Yöntemi (High Throughput Screening)
LBDD	: Ligand Bazlı İlaç Tasarımı (Ligand-Based Drug Design)
LOO-CV	: Bir veri dışarıda bırakılarak çapraz doğrulama (Leave One Out-Croos Validation)
L-R	: Ligand-Reseptör
LRD	: Lokal Reaktif Tanımlayıcı (Local Reactive Descriptor)
MCET	: Moleküler Karşılaştırmalı Elektron Topolojik
MSA	: Moleküler Şekil Analizi (Molecular Shape Analysis)
NLLS	: Doğrusal olmayan en küçük kareler yöntemi (Non-linear Least Square)
Pha	: Farmakofor (Pharmacophore)

PhaM	: Farmakofofor Modeli
PLS	: En küçük kareler yöntemi (Partial Least Square)
QSAR	: Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi
SAR	: Yapı Aktivite İlişkisi
SBDD	: Yapı Bazlı İlaç Tasarımı (Structure-Based Drug Design)
β^2-AR	: Beta 2 adrenoseptör



TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1.1.	QSAR yaklaşımlarının boyutlarına göre sınıflandırılması ve kullanılan parametreler	31
Tablo 3.1.	Steroid bileşiklerinin molekül isimleri, molekül yapıları, deneysel ve hesaplanan aktivite değerleri ($IC_{50}(nM)$) (Test seti bileşikleri * ile gösterilmiştir).....	66
Tablo 3.2.	Steroid bileşiklerinden n01 nolu bileşiğin 01'nci konformerinin (n01_01) kartezyen koordinatı.....	70
Tablo 3.3.	Steroid bileşik serisindeki atomların uygun yerlerinden tanımlanan pozisyonlar (n01, n08 ve n18), Kartezyen koordinatlar, κ ve ξ değerleri. (Pha atomlarını içerenler koyu renk ile gösterilmiştir).....	72
Tablo 3.4.	Steroid bileşikleri için ligand tarafında farklı LRD tipleri ile bulunan Q^2 ve R^2 değerleri.....	73
Tablo 3.5.	Steroid bileşik serisinin deneysel ve hesaplanan aktiviteleri.....	76
Tablo 3.6.	Fenoterol stereoizomerlerinin molekül isimleri, molekül yapıları, deneysel ve hesaplanan aktivite değerleri IC_{50} (nM) (Test seti bileşikleri * ile gösterilmiştir).....	78
Tablo 3.7.	Fenoterol streoizomerlerinden n01 nolu bileşiğin 01'nci konformerinin (n01_01) kartezyen koordinatı.....	82
Tablo 3.8.	Fenoterol stereoizomerleri için farklı tanımlayıcılara göre bulunan Q^2 ve R^2 değerleri	84
Tablo 3.9.	Fenoterol stereoizomerleri serisindeki atomların uygun yerlerinden tanımlanan pozisyonlar (n01 ve n24), Kartezyen koordinatlar, κ ve ξ değerleri. (Pha atomlarını içerenler koyu renk ile gösterilmiştir).....	84
Tablo 3.10.	Fenoterol stereoizomer setinin deneysel ve hesaplanan aktiviteleri.....	85
Tablo 4.1.	Çalışılan iki seri için bulunan en iyi sonuçlar	89

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1.	Bilgisayar destekli ilaç tasarım basamakları.....	9
Şekil 1.2.	HQSAR’da hologramların ortaya çıkarılması ve bu hologramlardan aktivite değerinin elde edilmesi.	21
Şekil 1.3.	Üç Boyutlu Elektron Topolojik Matris.	37
Şekil 1.4.	Steroid iskelet yapısı.....	49
Şekil 1.5.	Fenoterolün yaygın dört stereoizomeri.....	51
Şekil 2.1.	"Moleküler Mekanik" hesaplamaların yapıldığı Spartan’8 programının ara yüzü.	53
Şekil 2.2.	HF-6.31 G* hesabının Spartan’08 programındaki ara yüzü.....	53
Şekil 2.3.	Spartan’8 programında DFT-B3LYP 6-31G* hesabının ara yüzü.	54
Şekil 2.4.	Kuantum kimyasal hesaplamalar sonucu hazırlanan *.txt dosyaları.	55
Şekil 2.5.	Kullanılan Elektron Topolojik Matris Programının ara yüzü.	55
Şekil 2.6.	3D QSAR hesaplamaları için kullanılan MCET programının ara yüzü.....	57
Şekil 3.1.	Steroid bileşik setinde moleküllerin üst üste çakıştırılması ve Pha grupları.....	74
Şekil 3.2.	Steroid bileşik serisinin n01 numaralı molekülünün Elektron Topolojik Matris gösterimi.....	75
Şekil 3.3.	Steroid bileşiklerinin eğitim ve test setlerinin deneysel ve hesaplanan aktivite grafiği.....	77
Şekil 3.4.	Fenoterol stereoizomer serisinden n01 numaralı molekülün Elektron Topolojik Matrisi.....	83
Şekil 3.5.	Fenoterol stereoizomerleri serisinde moleküllerin üst üste çakıştırılması ve Pha grupları.....	86
Şekil 3.6.	Fenoterol stereoizomerlerinin eğitim ve test setlerinin deneysel ve hesaplanan aktivite grafiği.....	87

GİRİŞ

Stereoselektivite tıbbi kimyada oldukça önem taşıyan bir kavramdır. Bazı ilaçların reseptör tarafından tanınması durumunun da dâhil olduğu birçok biyokimyasal reaksiyon stereospesifiktir. Aynı moleküldeki atomlarının sayısı ve bağ yapıları aynı olduğu halde 3 boyutlu (3 Dimensional, 3B) uzaydaki dizilişleri birbirinden farklı olan yapılara stereoizomerler denir. Stereoizomerler bu yapıları dolayısıyla 3B fizikokimyasal ve biyoaktif özellikleri bakımından da birbirlerinden farklıdır. Birçok ilaç, genellikle bir bileşiğin tek bir stereoizomerinden oluşur ve bunlardan biri terapötik etkiye sahipken diğeri toksik etki gösterebilir. L-R arasındaki etkileşim için birçok biyokimyasal reaksiyonun stereospesifikliğı, aynı karbon atomuna bağlı atom ya da atom gruplarının farklı konumlanmasından meydana gelen kiralite kavramı ile açıklanabilir [1]. Kiral moleküllerin 3B yapıları farklı olduğu için biyolojik aktiviteleri de farklıdır ve bu nedenle rastgele tanımlayıcılarla QSAR bakımından incelemek zordur. Ancak LRD'lerle molekülün yapısı ve biyolojik aktivitesi arasındaki ilişki açıklanabilir.

QSAR incelemelerinde moleküllerin biyolojik aktivitelerinin fizikokimyasal özellikleriyle olan ilişkilerinin ortaya çıkarılmasında yapısal tanımlayıcılara ihtiyaç duyulur [2]. Bu tanımlayıcılar, polarize edilebilirlik, elektronik ve sterik etkiler gibi bazı yapısal özelliklerden ortaya çıkar. Bu nedenle, bağımlı değişken olarak bilinen aktivitenin, bağımsız değişkenler olan tanımlayıcılara bağlı olduğunu ve onlarla belirlendiğini söyleyebiliriz. Bu yaklaşım L-R etkileşimini 3B olarak açıklanmasında bazen yetersiz kalmaktadır. Bu tür etkileşimler için 3D QSAR metodolojisi uygulanarak daha iyi sonuçlar elde edilebilir [3-5]. Moleküler tanımlayıcıların QSAR çalışmalarında yapı ve aktivite arasındaki ilişkiyi aydınlatmada yetersiz kalmasının en önemli sebebi tanımlayıcıların birbiri ile olan dejenerasyonudur. Yani birbiri ile aynı çıktıyı veren ya da aynı özelliklere sahip tanımlayıcıların bir arada bulunmasıdır. Stereoizomerlerin 3B yapılarındaki farklılıklarından dolayı aktivitelerindeki değişimi sıradan tanımlayıcılar

açıklamakta yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle reseptör ile ligand arasındaki bağlanma afinitesini 3B uzayda açıklayabilen en iyi tanımlayıcılar LRD'lerdir.

Çünkü her bir LRD 'nin 3B uzaydaki geometrik yapısı birbirinden farklıdır ve reseptörün farklı etkileşim noktalarıyla ilişkilidir. LRD 'lerin genel özelliği, 3B uzayda vektörel olarak kümelenmiş atomların elektronik özelliklerini bağımsız değişkenler olarak enantiyomerler arasında ayırt edebilecek kapasitede olmasıdır. 3D/4D tanımlayıcılarından elde edilen reseptörün farmakofor (Pha) modeli, aktiviteden sorumlu olan atomların kartezyen koordinatlarından oluşur. Bazı hesaplanmış LRD'ler; HOMO/LUMO orbitallerindeki atomik katsayılar veya atomlar üzerindeki elektron yoğunluklarından türetilen kısmi atomik yükler, Fukui İndeksi ve diğer elektronik özellikler tek başlarına veya geleneksel tanımlayıcılarla kombinasyon halinde kullanılmışlardır [6]. 3B uzayda reseptörün aktif noktalarına karşılık gelen ligandın her bir atomu, sahip olduğu LRD değeri kadar aktiviteye katkıda bulunur.

Bu çalışmada L-R arasındaki etkileşimi 3D QSAR olarak incelemek üzere literatürden aldığımız 31 adet steroid [7] ve 26 adet fenoterol türevi bileşikleri [8] üzerinde MCET yöntemi içerisinde farklı LRD'ler arasından en iyi olanının Klopman İndeksi tanımlayıcısı olduğunu gösterdik.

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1. İlaç nedir?

Tüketildiği zaman organizmanın fizyolojisinde veya psikolojisinde değişikliğe neden olan herhangi bir kimyasal maddeye ilaç adı verilir. Farmakolojik olarak bir ilaç, canlı bir organizmaya verildiğinde biyolojik bir etki yaratan, tipik olarak bilinen yapıya sahip bir kimyasal maddedir [9]. Farmasötik bir ilaç, bir hastalığı tedavi etmek, iyileştirmek, önlemek veya teşhis etmek ya da refahı artırmak için kullanılan kimyasal bir maddedir [10]. İlaçlar önceleri geleneksel yollarla şifalı bitkilerden ekstraksiyon yoluyla elde edilmiş olsa da daha yakın zamanda organik sentez yoluyla da elde edilmeye başlandı [11].

1.1.1. İlaçların Hücrelere Tesirleri ve Reseptörleri

Hücre içerisinde özel yapılı büyük bir molekülün belirli bir kısmını oluşturan; ilaç, zehir ya da fizyolojik maddeleri seçici olarak bağlayan ve böylece kimyasal olarak başlayıp biyolojik olarak devam eden etkinin oluşumuna aracılık eden yapılara reseptör adı verilir [12]. Reseptörü taşıyan büyük moleküllere de reseptör molekülü denir. Reseptör teorisi ilk olarak Clark tarafından ortaya atılmış ve farmakoloji alanında yeniliklere öncülük etmiştir [13,14]. Reseptörler, ilaç moleküllerini tanıyarak onlarla kendi seçimleri doğrultusunda geçici olarak etkileşime girer ve bu etkileşim sırasında oluşan kimyasal enerjiyi biyolojik etkiye çevirirler. İlaçlar hücrelerin yüzeyinde veya içinde hücre yapısına ait belirli kimyasal gruplarla birleşmek, bağlanmak veya temas etmek suretiyle etkilerini gösterirler. İlaçların büyük çoğunluğu spesifik biyolojik reseptörlerin aktivitelerini hafifleten ve onların etkileşimlerini, bağlanmalarını düzenleyen küçük moleküllerdir. Reseptöre bağlanan bu küçük molekülü ilaç gibi yapılara ligand adı verilir. İlaç reseptör birleşiminde bir etkileşimin olabilmesi için sadece yapısal uyum

yeterli değildir. Karşılıklı elektrik yüklerinin de zıt olması gereklidir. Ayrıca reseptöre bağlanan ilaç molekülünün reseptörde uyarı oluşturabilecek nitelikte olması gerekir.

İlaçlar reseptörlere hidrojen bağı, kovalent bağ, iyonik bağ, iyon-dipol, Vander Waals bağı gibi bazı kimyasal bağlarla bağlanırlar. Bazen bunlardan sadece biri ile bağlanırken bazen de birkaçı ile bağlanma gerçekleşebilir.

1.1.2. Bağlanma Etkileşimleri

İlacın reseptöre bağlanmasında rol alan atom ya da fonksiyonel grupların tipi ve özelliği, yapı ve aktivite arasındaki ilişkiden ortaya çıkan bilgiler için oldukça önemlidir. Hem ilaç hem de reseptör, bağlanmak için uygun yapıya sahipse L-R arasındaki etkileşim kuvvetleriyle birbirlerine bağlanabilirler. Bu bağlar L-R kompleksini oluşturabilecek kadar güçlü olmalı, ama sinyal iletdikten sonra ligand, reseptörü kolayca terk edebilmelidir. Çünkü genellikle ligand konsantrasyonu düştüğü zaman ilacın reseptör bölgesini terk etmesi istenir.

1.1.2.1. İyonik Bağlanma

Zıt elektrik yüklü iki molekül arasında elektrostatik çekim sonucu oluşan bağ tipidir. Zıt yüklü moleküller arasında oluşan iyonik bağlar güçlüdür ve uzun mesafeler boyunca hareket edebilir. Bu bağın etkileşim enerjisi yaklaşık 5 kcal/mol'dür. İlaçlar genellikle iyonizedir ve reseptörlerdeki aktif bölgeler, yüklü gruplar (karboksilik asitler ve aminler gibi) içerir. Bu nedenle ilaç reseptör etkileşiminde iyonik bağlar oldukça büyük önem taşımaktadır.

1.1.2.2. Hidrojen Bağı

Dipol etkileşimlerinin özel bir türü olan hidrojen bağı, N, O veya S atomları içeren fonksiyonel gruplar mevcut olduğunda bu atomlardan birine H atomunun bağlanması sonucu meydana gelir. Örneğin, iki su molekülü arasında:

- O ve H arasındaki elektronegatiflik farkından dolayı O-H bağı polarize olur.
- Oksijen molekülündeki yalnız elektron çiftleri, kısmi pozitif yüke sahip olan hidrojen ile bağ kuracaktır.

- H, verici ve alıcı arasında etkin bir şekilde paylaşılır.
- Vericiler (donör), her bir H için bir adet H bağı oluşturabilir. Alıcılar (akseptör), her elektron iyon çifti için bir adet H bağı oluşturabilir. H bağları yönlüdür.

Hidrojen bağları sadece ilaç-hedef etkileşimlerinde değil, aynı zamanda proteinlerin ve DNA'nın yapısını bir arada tutmada da önemlidir. İyonik bağdan daha zayıf olsa da ilaç-reseptör etkileşiminde hala önemli rol almaktadır. Bu bağın kuvveti 1-7 kcal/mol olarak kabul edilmektedir.

1.1.2.3. Van der Waals Bağı

Tüm atomlar arasında Van der Waals bağları vardır. Bir atom veya molekülle ilişkili elektron bulutunun sürekli hareket etmesi ve böylece elektronların asla eşit olarak dağılmaması nedeniyle ortaya çıkarlar. Küçük, yerel, anlık dipoller (yük ayrımları) oluşur. Dipoller küçük mıknatıslar gibi davranır ve birbirini çeker.

Van der Waals kuvvetleri zayıftır. Yüzey alanı ne kadar büyükse ve moleküllerdeki elektron sayısı ne kadar fazlaysa etkileşim o kadar büyük olacaktır. Bu etkileşimler yalnızca birbirine çok yakın olan moleküller arasında meydana gelir (0.4-0.6 nm aralıklı). Moleküller birbirinden ayrılırsa kuvvetler hızla düşer. $Kuvvet = 1/d^6$ (Burada d moleküller arasındaki mesafedir) [15]. Bu bağın etkileşim kuvveti 0.5-1 kcal/mol olarak kabul edilmektedir. Bu kuvvetler tek tek atomlar için önemsizdir, ancak özellikle moleküllerin yüzeyleri sıkı bir uyum sağlamak için doğru şekillerde ise, çok sayıda atom içeren molekül kısımlarında önemli olabilir.

1.1.2.4. Takviyeli İyon Bağı

İki molekülün bir ucunda başka bir bağ ile bağlıyken diğer ucunun da iyon bağı ile takviye edilerek desteklenmesi durumudur. Örneğin; iki molekül birbirine bir uçta Van der Waals bağı ile bağlıyken diğer ucundan da iyon bağı ile bağlandığında oldukça güçlü bir bağ oluşur ve molekül daha sabit bir şekle sahip olur. Bu bağın kuvvetinin 10 kcal/mol olduğu kabul edilir.

1.1.2.5. Kovalent Bağ

Organik moleküllerde, iki atom arasındaki elektron çiftlerinin ortaklaşa kullanılmasıyla meydana gelen bağ türüdür. Bu bağ tipi diğerlerine göre oldukça kuvvetlidir (40-110 kcal/mol) ve geri dönüşümsüzdür. İlaç-reseptör arasındaki bağ tipleri arasında en az rastlanan türdür [16].

1.2. İlaç Tasarımı

Genellikle rasyonel ilaç tasarımı olarak adlandırılan ilaç tasarımı, biyolojik bir hedefin yapı-aktivite bilgisine dayalı olarak yeni ilaçlar bulma sürecidir [17,18]. İlaç genel olarak, protein gibi bir makro molekülün işlevini aktive veya inhibe ederek hastaya terapötik bir fayda sağlayan organik küçük bir moleküldür. En temel anlamda, ilaç tasarımı, etkileşime girdikleri biyomoleküler hedefe şekil ve yük bakımından tamamlayıcı olan ve dolayısıyla ona bağlanacak olan moleküllerin tasarımını içerir. İlaç tasarımı sıklıkla bilgisayar modelleme tekniklerine dayanır fakat bu durum zorunlu değildir [18]. Bu tip modellemeye bilgisayar destekli ilaç tasarımı da denmektedir. Biyomoleküler hedefin üç boyutlu yapısının bilgisine dayanan ilaç tasarımı, yapı temelli ilaç tasarımı olarak bilinir [18]. Günümüzde bütün dünyada farmakoloji ve biyoteknoloji şirketleri bilgisayar destekli ilaç tasarımı tekniklerini kullanmaktadır [19].

"İlaç tasarımı" ifadesini aslında daha doğru şekilde adlandıracak olursak ligand tasarımıdır (yani hedefine sıkıca bağlanacak bir molekülün tasarımı) [20]. İlaç adayı olamayacak moleküller ile ilaç adayı olabilecek moleküllerin birbirinden ayırt edilmesi, ilaç gelişiminde maliyeti azaltmak için gereklidir. Bağlanma afinitesinin tahmini için tasarım teknikleri oldukça başarılı olmasına rağmen, bir ligandın güvenli ve etkili bir ilaç haline gelmesinden önce düzenlenmesi gereken birçok başka özellik vardır (biyoyararlanım, metabolik yarı ömür, yan etkiler vb. gibi). Bu diğer özellikleri rasyonel tasarım teknikleriyle tahmin etmek genellikle zordur. Özellikle ilaç geliştirmenin klinik aşamalarında yüksek yıpranma oranları nedeniyle, ilaç tasarım sürecinin başlarında, fizikokimyasal özellikleri geliştirme sırasında daha az komplikasyonla sonuçlanacağı ve dolayısıyla onaylanmış ve pazarlanan bir ilaca yol açma olasılığı daha yüksek olması beklenen aday ilaçların seçimine daha fazla odaklanılmalıdır [21]. Yeni ilaç geliştirmenin amacı, mevcut olanlardan daha güçlü, daha az toksik ve yan etkileri en aza indirilmiş, yararlı terapötik bileşikler belirlemektir [22].

Moleküler yapı ile biyolojik aktivite arasındaki ilişkiyi inceleyen QSAR, ilaç keşfinde oldukça önemli bir rol almaktadır [23]. İlaçların reseptörle etkileşimi sonucunda reseptörler konformasyonel değişime uğrarlar ve 3B olarak düzenlenirler. İlaç molekülü reseptöre bağlandığı andan itibaren reseptörde dönme hareketine sebebiyet verir ve vücut içerisinde bir dizi olay başlatılmış olur. Bahsedilen bu L-R etkileşimi ne kadar güçlü ise ilacın etkisi o kadar artar. Bu etkileşimde ligand ve reseptörün moleküler yapıları ve L-R arasındaki çekim kuvveti önemli iki parametredir.

Bir molekülün ilaç olarak adlandırılması ve o vasfı taşıyabilmesi için ortalama 12-15 yıl süre gerekmektedir. Yaklaşık olarak otuz bin adet sentezlenmiş bileşikten sadece bir tanesi tüm aşamaları geçerek ilaç olarak kullanıma girebilmektedir. Bilgisayarlı ilaç tasarımı teknikleri sayesinde bu uzun süreler oldukça kısaltılmıştır.

1.3. Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı (Computer-Aided Drug Design, CADD)

Hesaplamalı yöntemler, ilaç keşfinde QSAR'ın ilk uygulamalarından itibaren uzun yıllardır uygulanmaktadır [24]. Bilgisayarlar son zamanlarda birkaç nedenden dolayı ilaç keşif sürecinin önemli bir parçası haline gelmiştir. Bunlardan birincisi, ilaç geliştirmenin hızla artan maliyetlerinden dolayı, düşük maliyetli hesaplama yöntemlerinin çekiciliğini artırmasıdır. Bir diğeri ise, bu hedefler için potansiyel ilaçların keşfini kolaylaştırmanın bir yolu olarak ilaç hedeflerinin karakterizasyonuna rehberlik edebilen üç boyutlu yapısal bilgilerin artan kullanılabilirliğidir. Sonuç olarak, hesaplama yöntemleri tipik olarak ilaç keşif çalışmalarının ayrılmaz bir bileşenidir. Bu yaklaşımlar, ilaç özgüllüğü ve seçiciliği için gerekli olan moleküler özelliklerin ayrıntılı bir şekilde anlaşılmasını sağlama potansiyeline sahip oldukları için tıpta özellikle önemlidir.

CADD, benzer biyokimyasal özelliklere sahip ilaç ve aktif molekülleri keşfetmek, geliştirmek ve analiz etmek için kullanılan hesaplamalı yaklaşımların bir bütünü olarak tanımlanır [25-28]. Bu güne kadar CADD'ın farklı yönlerini vurgulayan bir dizi inceleme yayınlanmıştır [29-33].

CADD, sadece güçlü bileşiklerin tasarımına değil, aynı zamanda 'konseptten kliniğe' geçme aşamasının çoğuna da katkıda bulunabilir. Yeni ilacın geliştirilmesinde, ilaç tasarım sürecine katkıda bulunmak için moleküler özellikleri hesaplarken CADD

metodolojileri ve teknolojisi kullanılmaktadır [34]. CADD yöntemleri, reseptörün 3B yapısındaki bilgileri tamamen yeni öncü bileşikler tasarlamak için kullanmayı ve aynı zamanda hesaplamalı olarak taranabilen bileşiklerin büyük sanal kitaplıklarını oluşturmayı amaçlar [35]. CADD'ın ilaç keşfinde başarılı olarak kullanımına ait bazı örnekler aşağıda belirtilmiştir:

- ✓ Antikanser ajanlar olarak timidilat sentez inhibitörlerinin tasarımı [36],
- ✓ Antiviral ajanlar olarak HIV proteaz inhibitörleri [37],
- ✓ Nötrofil elastaz inhibitörleri [38],
- ✓ Antiglokom ajanı olarak karbonik anhidraz inhibitörü [39],
- ✓ Yeni tatlandırıcıların keşfi [40]

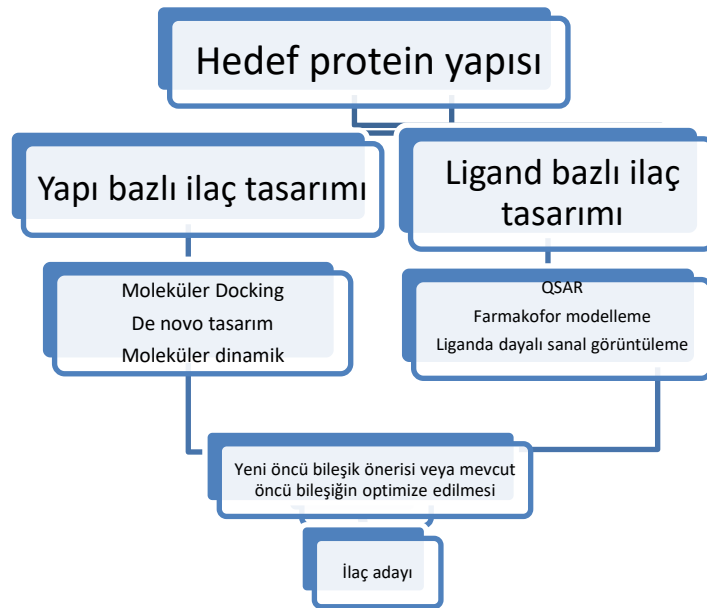
CADD ile ilaç keşfinin başlıca bilinen avantajları aşağıdaki gibi sıralanmıştır [41]:

- Büyük bileşik toplulukları arasından deneysel testler için, daha küçük bileşik kümesi seçilir.
- Kılavuz bileşiklerin optimizasyonu ile emilim, dağılım, metabolizma, atılım ve toksisite potansiyeli (Absorption, Distribution, Metabolism, and excretion - Toxicity, ADMET) gibi ilaç metabolizması ve farmakokinetik özellikleri artırılır.
- Başlangıç moleküllerine yeni fonksiyonel gruplar ekleyerek ya da mevcut parçalar üzerinde değişiklikler yaparak yeni bileşiklerin tasarımı başarıyla sonuçlanabilir [26].
- CADD ile, hayvan ve insanlar üzerinde yapılan deneyler değiştirilebilir, bu da hem zamandan hem de maliyetten tasarruf sağlar [42].
- İlaç direnci şansını azaltır ve böylece bu duruma neden olan faktörü hedef alacak kılavuz bileşiklerin üretimine yol açar.
- CADD ayrıca yüksek moleküler çeşitlilik veya benzerlik için uygun hale getirilebilen yüksek kalitede veri kümelerinin oluşturulmasına da öncülük eder [43].

CADD, L-R arasındaki bağlanma kinetiği ve ligandın reseptöre bağlanma bölgesindeki bilgilerine dayanarak potansiyel ilaç moleküllerini belirlemek için kullanılır. CADD yöntemi “Yapı bazlı ilaç tasarımı (Structure Based Drug Design, SBDD)” ve “Ligand bazlı ilaç tasarımı (Ligand Based Drug Design, LBDD)” olmak üzere başlıca 2 farklı türde karşımıza çıkar [44].

LBDD yaklaşımında, bir ya da daha fazla ligandın bir reseptöre bağlandığı bilinir, fakat bu reseptörün 3B uzaydaki yapısı bilinmez. Yeni ilaç molekülünün tasarımında reseptöre bağlanan ligandın bilinen fizikokimyasal özelliklerinden yola çıkılarak işlem gerçekleştirilir [44]. Reseptöre bağlanan ligandın büyüklüğü, yükü, elektronegatifliği, lipofilikliği, hidrojen bağı donörü ve akseptörü olup olmama gibi fizikokimyasal özelliklerine bakılarak reseptörün aktif bölgesinde Pha oluşturulur. Bu tez çalışmasında bilgisayar destekli ilaç tasarım yöntemlerinden ligand bazlı yöntem kullanılmıştır.

SBDD yaklaşımında ise reseptör olarak adlandırdığımız makromolekülün (protein, RNA, DNA vb.) yapısı kristalografik olarak bilinir. L-R etkileşiminde reseptörün bilinen 3B yapısından yola çıkılarak potansiyel ilaç molekülünü oluşturacak ligandın tasarımı gerçekleştirilir. Yani, tasarım ve yöntemler reseptörün yapısı baz alınarak oluşturulur.



Şekil 1.1. Bilgisayar destekli ilaç tasarım basamakları

Bilgisayar destekli ilaç tasarımında kullanılan çeşitli yöntemler aşağıda sıralanmıştır:

- a) Moleküler Modelleme:** Bu yöntemde moleküllerin özellikleri ve davranışları teorik metotlarla bilgisayar üzerinden hesaplanır ve simüle edilir. Yöntemin bir diğer adı da moleküler grafik veya konformasyon analizi olarak bilinir. Bilgisayar hesaplamalı yöntemlerde moleküllerin geometrik özellikleri, enerji parametreleri, elektronik özellikleri, spektroskopik özellikleri ve sterik özellikleri gibi parametreler matematiksel olarak ifade edilir ve moleküllerin 3B yapısı tanımlanarak ve bu özellikler model içinde kullanılır. Burada bahsi geçen özelliklere örnek verecek olursak; Geometrik özellikler = Bağ mesafesi, bağ açısı, torsiyon açısı vb., Enerji parametreleri = Oluşum enerjisi, aktivasyon enerjisi vb., Elektronik özellikler = Dipol moment, yük, iyonizasyon potansiyeli, elektron affinitesi vb., Spektroskopik özellikler = Titreşim frekansları, kimyasal kayma vb., Sterik özellikler = Hacim, yüzey alanı, difüzyon, viskozite vb. şeklinde tanımlayabiliriz. Moleküler modelleme ile moleküllerin geçiş halleri ve enerjileri, geometrileri, fizikokimyasal özellikleri, IR, UV ve NMR spektrumları, kimyasal reaktiviteleri, substrat-enzim etkileşimleri ve sistemlerin morfolojik özellikleri hesaplanabilmektedir [45-50].
- b) Kalıp Tanıma (pattern recognition):** Makine Öğrenmesi'nin bir alt dalıdır. Kalıp tanıma tekniğinde, görüntü işleme girdisi olarak alınan işlenmemiş bilgi incelenip gelen verinin kategorisine göre işleme tabi tutulur [51].
- 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. Değişkenler arası benzerlik ya da farklılıklara dayanarak hesaplanan bazı ölçülerden yararlanarak, birimleri homojen gruplara bölmek amacı ile kullanılır. Kümeleme analizi, karmaşık durumların bulunduğu neredeyse tüm bilim alanlarında yararlanılan bir yöntemdir [52].
- d) Reseptör Uyum veya Reseptör Tanımlama Yöntemleri:** Çeşitli modern spektroskopik yöntemlerle L-R arasındaki ilişkilerde hangi etkilerin fazla ve hangilerinin az olduğu incelenerek elde edilen bilgilerin, reseptörle en iyi uyumu sağlayacak molekülün tasarlanmasında kullanılmasıdır [53].

1.4. Yapı Aktivite İlişkisi (Structure Activity Relationship, SAR) ve Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi (QSAR)

1.4.1. SAR

Bir bileşiğin kimyasal yapısı ile biyolojik ve farmakolojik aktivitesi arasındaki ilişkinin kalitatif olarak belirlenmesi SAR olarak açıklanır. Yani bir molekül Pha'yı taşıyıp taşıyamamasına bağlı olarak aktif veya inaktif olarak sınıflandırılır. Bileşiklerin yapı-aktivite ilişkisi açıklanırken, fonksiyonel grupların etkisi, stereokimyasal yapısı, büyüklüğü ve şekli, kimyasal reaktivlik, elektronik etkiler, rezonans ve indüktif etkiler dikkate alınır [54].

1.4.2. QSAR

QSAR, bir molekülün yapısının (yani geometrik, sterik ve elektronik özelliklerinin) onun fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinden sorumlu olduğu ilkesine dayanır. Yani moleküllerin kimyasal yapısı ile biyolojik aktivitesi arasındaki bağlantıyı nicel olarak inceler ve açıklar. QSAR modellemesi yaklaşık 40 yıl önce tarım kimyası, ilaç tasarımı, toksikoloji, endüstriyel ve çevre kimyası uygulamalarında kullanılmaya başlandı.

Aslında toksikoloji alanında doğmuştur ve kimyasal yapı ile akut toksik etki arasındaki ilişkileri ölçmeye yönelik girişimler, 100 yılı aşkın bir süredir toksikoloji literatüründe yerini almıştır. 1863'te Strasbourg Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden Cros, birincil alifatik alkoller ve suda çözünürlükleri ile toksisite arasında bir ilişki olduğunu kaydetti ve alkollerin suda çözünürlüğü azaldıkça memeliler üzerindeki toksisitesinin arttığını gözlemledi [55,56]. 1890'larda, Marburg Üniversitesi'nden Hans Horst Meyer ve Zürih Üniversitesi'nden Charles Ernest Overton, organik bileşiklerin toksisitesinin lipofilitelerine bağlı olduğunu belirtmişlerdir [56,57]. 1868'de, A. Crum-Brown ve T. Fraser, yaptıkları bir çalışmada belirli bir biyolojik sistemdeki (F) bir maddenin fizyolojik aktivitesinin, kimyasal konsantrasyonun (C) bir fonksiyonu (f) olduğu kanaatine varmışlardır [58].

$$\phi = f(C) \quad (1.1)$$

Böylece, kimyasal yapıdaki bir değişiklik (ΔC), biyolojik aktivitedeki ($\Delta\phi$) bir değişikliğe neden olacaktır.

$$\Delta\phi = f(\Delta C) \quad (1.2)$$

20. yüzyılın başında, Meyer ve Overton, bir grup organik bileşiğin narkotik (depresan) etkisinin, zeytinyağı/su dağılım katsayılarına paralel olduğunu öne sürdüler [59,60]. Sonraki yıllarda, Hammett'in ufuk açıcı çalışması, organik reaksiyonlarda süstitüe grupların tanımlanmasında “ σ - ρ ” kavramlarını ortaya çıkarırken, Taft ise polar, sterik ve rezonans etkilerini ayırmak için bir yol tasarladı ve ilk sterik parametrenin (E_s) tanıtılmasını sağladı [61-63]. Organik asitlerin ve bazların elektronik özelliklerini denge sabitleri ve reaktiviteleriyle ilişkilendiren Louis Hammett'in çalışmasına kadar QSAR'da çok az ek gelişme meydana geldi. Hammett'in organik asit olarak benzoik asiti kullandığı çalışmasında ρ , doğrunun eğimidir ve belirli bir dengeye ait bir orantı sabitidir. Bu denge üzerindeki süstitüentlerin etkisini, bu süstitüentlerin benzoik asit dengesi üzerindeki etkisiyle ilişkilendirir. Yani, süstitüentlerin etkisi benzoik asit dengesi üzerindeki orantılı olarak daha büyükse, o zaman $\rho > 1$; etki benzoik asit dengesinden daha az ise, $\rho < 1$. Tanım olarak, benzoik asit için $\rho = 1$ 'dir. σ , süstitüentlerin bir tanımlayıcısıdır. σ 'nın büyüklüğü, süstitüentlerin elektron çeken veya veren özelliklerinin nispi gücünü verir. Süstitüe grup elektron çekiyorsa σ pozitif, elektron veriyorsa negatiftir.

1962'de Hansch ve arkadaşları bitki büyüme düzenleyicilerinin yapı-aktivite ilişkilerini ve bunların Hammett sabitlerine ve hidrofobikliğe olan bağımlılıkları üzerine çalışmalar yaptılar [64]. Oktanol/su sistemi kullanılarak, bir dizi bölünme katsayısı ölçüldü ve böylece yeni bir hidrofobik ölçek tanıtıldı. Bir süstitüentin bağıl hidrofobikliği olan π parametresi, sigma tanımına benzer bir şekilde tanımlanmıştır.

$$\pi = \log P_X - \log P_H \quad (1.3)$$

P_X ve P_H , bir türevin ve ana molekülün ayrılma katsayılarını temsil eder.

Hammett ve Taft'ın katkıları birlikte, Hansch ve Fujita tarafından hidrofobik sabitleri Hammett'in elektronik sabitleriyle birleştirerek lineer Hansch denklemini ve onun birçok genişletilmiş biçimini veren QSAR paradigmasının geliştirilmesinin temelini oluşturdu [65].

QSAR'ın birçok pratik amacı vardır ve bu teknikler birçok durumda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle in silico çalışmaları aşağıdaki amaçlar doğrultusunda yürütülmektedir [66]:

- Fizikokimyasal özellikleri ve biyolojik aktiviteyi rasyonel yollarla tahmin etmek.
- Bir takım kimyasal bileşiğin etki mekanizmalarını kavramak ve rasyonelleştirmek.
- Ürün geliştirme maliyetinde tasarruf gereksinimi (örneğin farmasötik, pestisit, kişisel ürünler vb. alanlarda).
- Uzun ve pahalı hayvan deneylerini azaltmak ve böylece hayvanlara verilen acı ve rahatsızlığı minimuma indirmek.
- Verimliliği artırmak ve başarılı olma ihtimali düşük olan yöntemlerin sebep olduğu israfı ortadan kaldırmak için çevreci kimyaya teşvik etmek.

1.4.2.1. QSAR Teorisi

QSAR teorisi, bir bileşiğin yapısal ve kimyasal özelliklerinin, biyolojik aktivitesine olan doğrusal toplam katsayısını ele alır. Burada biyolojik aktivitenin belirli fizikokimyasal özelliklere dayanarak taşınma ve bağlanma ile doğrusal ilişkisi olduğu kanıtlanmıştır [67]. Bu durum, “de novo” ilaç dizaynı programı LUDI (1.3) gibi bazı araştırmalar tarafından ispat edilmiştir. Buna ek olarak, Free Wilson ve Hansch analizleri birleştirilerek yapılan çalışmaların sonucunda bu görüş desteklenmiştir [68].

$$\Delta G_{\text{bağlanma}} = \Delta G_0 + \Delta G_{hb} + \Delta G_{\text{iyonik}} + \Delta G_{\text{lipo}} \quad (1.4)$$

Öteleme ve dönme entalpilerinin toplam kaybı; $\Delta G_0 = + 5,4 \text{ kJmol}^{-1}$

İdeal nötral hidrojen bağı; $\Delta G_{hb} = -4,7 \text{ kJmol}^{-1}$

İdeal iyonik etkileşim; $\Delta G_{\text{iyonik}} = -8,3 \text{ kJmol}^{-1}$

Lipofilik (veya hidrofobik) bağlantı; $\Delta G_{\text{lipo}} = -0,17 \text{ kJmol}^{-1} A^{0-2}$

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

Eşitlik (1.4)'te, serbest bağlanma enerjisi ($\Delta G_{\text{bağlanma}}$), bütün öteleme ve dönme serbestlik derecesi kayıplarını açıklayan ΔG_0 sabiti, ligandın iç dönme serbestlik derecesi kaybını gösteren $\Delta G_{\text{dönme}}$ ve nötral ve iyonik hidrojen bağı etkileşimleri ile L-R

arasındaki hidrofobik (veya lipofilik) etkileşimlerin yapıya bağlı enerji terimleri olan ΔG_{hb} , ΔG_{iyonik} , ΔG_{lipo} enerji terimi ile ilişkilidir. Eşitlik (1.4) enerji değerlerinin çok geniş bir aralığına sahiptir. 45 farklı L-R kompleksine ait $\Delta G_{bağlanma}$ değerleri -9 ile -75 kJ/mol arasında değişir. Bu değerler $2,5 \cdot 10^{-2}$ M ve $4,0 \cdot 10^{-14}$ 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 olduğu bulunmuştur [68].

Denge sabiti K ya da oran sabiti k (k_b = birleşme sabiti, k_a = L-R kompleks ayrışma sabiti) ile standart serbest enerji ΔG^0 arasındaki termodinamik ilişkiden dolayı, bu değerlerin logaritması ile bağlanma affiniteleri aralarında bir bağlantı kurulabilir .

$$\Delta G^0 = -2,303 * R * T * \log K = -2,303 * R * T * \log \frac{k_b}{k_a} \quad (1.5)$$

Belirli bir biyolojik etkiye karşılık gelen molar konsantrasyonun logaritması (logC) ile moleküler özellikler ya da fizikokimyasal özellikler ilişkilendirilebilir. Bu fizikokimyasal özellikler Eşitlik 1.5'te verildiği gibi serbest enerji ile ilişkili olan denge sabitleridir. Aktifliği fazla olan bileşiklerde log(1/C) veya -log(C) daha yüksektir.

İlk etapta QSAR olarak ortaya çıkan metot zamanla gelişim göstererek yeni QSAR metotları şeklinde uygulama alanı bulmuştur. Bu yöntemler aşağıda başlıklar halinde açıklanmıştır.

1.4.2.1.1. Hansch Analizi

1960'ların başında Corwin Hansch, henüz sentezlenmemiş bileşiklerin biyolojik aktivitesini tahmin etmek için doğrusal çoklu regresyon kullanımını önermiştir [64,69]. 1964'te, C. Hansch, T. Fujita, tarafından yapılan çalışmada sübstitüe fenoksiasetikasit türevlerinde biyolojik aktivite ve lipofilite değişimleri farklı fizikokimyasal parametreler kullanılarak incelenmiştir [65]. QSAR'daki ilerlemeler de Hansch'ın bu çalışmasında biyolojik aktivitenin serbest enerji terimleri ile bağlantılı olduğunu kanıtlamasından sonra olmuştur. Başlangıçta lineer serbest enerji ilişkisi (Linear Free Energy Relationship, LFER), olarak adlandırılan daha sonra termodinamik yaklaşım olarak değiştirilen bu yaklaşımda, her bir kimyasal yapı hidrofobikliği, sterik özellikleri

ve elektronik etkileri tanımlayan çeşitli parametrelerle temsil edilir ve genellikle aşağıdaki denklemde biçimlendirilir:

$$\log 1/C = a\pi + b\sigma + cE_s + \dots + \text{sabit} \quad (1.6)$$

C; biyolojik aktiviteden sorumlu olan bileşiğin molar konsantrasyonu,

π ; süstitüentin hidrofobik katkısı ($\log P_X/P_H$),

σ ; süstitüentin Hammett elektronik katsayısı ($\log K_X/K_H$),

E_s ; Taft sterik parametresi,

a, b, c; regresyon katsayılarıdır.

Yukarıdaki eşitlikte P_X ve P_H sıra ile süstitüe olmuş ve olmamış bileşiklerin oktanol ve su fazındaki dağılma katsayısını ifade ederken K_X ve K_H ise sıra ile meta ya da para süstitüe olmuş veya süstitüe olmamış benzoik asit türevlerinin 25 °C deki iyonizasyon sabitleridir.

Korelasyon modeli tek bir parametre olabileceği gibi çeşitli parametrelerin kombinasyonu kullanılarak da oluşabilir. Bu parametreler, ClogP, LUMO/HOMO enerjisi ve yük gibi teorik olarak hesaplanan değerlerden ya da π , logP, σ gibi deneysel verilerden elde edilebilir.

Hansch, bir ilacın bir zardan geçme yeteneğinin, lipid tipi bir çözücü ile su arasındaki bölünme katsayısı ile modellenebileceğini öne sürmüştür. Hansch ve arkadaşları, biyolojik aktivitenin hidrofobik ilaçlar ile parabolik bir ilişki içinde olduğunu ortaya çıkararak QSAR analizinde kullanmışlardır. İlacın n-oktanol/su sistemindeki dağılma katsayısı (hidrofobisite) ve biyolojik aktivite arasında ikinci dereceden bir ilişki olduğunu aşağıdaki formül ile göstermişlerdir.

$$\log 1/C = a(\log P)^2 + b(\log P) + c\sigma + \dots + k \quad (1.7)$$

P=n-oktanol/su dağılma katsayısı,

σ = Hammett elektronik parametresi,

a, b, c = regresyon katsayıları,

k=sabit terim.

Bu eşitlik, ilacın taşınma ve bağlanma affinitesi kavramlarının her ikisini de içeren matematiksel modeldir. İlacın enzim veya reseptör gibi biyolojik aktif bölgelere bağlanması bağlanma affinitesi denir ve bağlanma affinitesi lipofilite, elektronik ve diğer serbest enerji özelliklerine bağlıdır. Hansch ve Fujita, farklı fizikokimyasal özelliklerin bu kombinasyonu ve lineer olmayan lipofilite bağlılığı için parabolik terimin ortaya çıkmasına ek olarak, X süstitüentlerinin lipofilite parametresi olan π 'yi ($\pi_X = \log P_{RX} - \log P_{RH}$) tanımlamışlardır. Hansch ayrıca lipofiliklik ve ilaç aktivitesi arasında lineer bir serbest enerji ilişkisi (Hammett denklemi gibi) olması gerektiğini ve bunun bölüm katsayısı ile gösterilebileceğini öne sürmüştür. Hammett aynı anlama gelen elektronik parametre σ 'yı yaklaşık 30 yıl önce açıklamıştır. Hammett çalışmalarında referans olarak süstitüe benzoik asitlerin iyonizasyon sabitlerini kullanarak aşağıdaki matematiksel bağıntıları önermiştir [70,71].

$$p\sigma = \log K_{RX} - \log K_{RH} \quad (1.8)$$

$$p\sigma = \log k_{RX} - \log k_{RH} \quad (1.9)$$

ρ belirli reaksiyonlara özel reaksiyon sabiti ve σ süstitüentlerin 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 hem ilaç tasarımında hem de biyolojide kullanılabilir. Bu durumda biyolojik aktivitenin Hammett σ değerleri ile ilişkisi ya da biyolojik Hammett eşitliği olarak tanımlanır.

$$\log \tau_i - \log \tau_{Et} = \alpha \beta_i \quad (1.10)$$

τ_i ve τ_{Et} ; biyolojik aktivite değerleri,

α ; biyolojik aktivitenin belirli bir çeşidi için geçerli olan bir sabit

β_i ; X_i sübstitüentinin etil grubuna göre daha az veya daha fazla olan sabit aktivite katkısı. Bu eşitlik, özel olmayan bir biyolojik aktiviteyi açıklamasına rağmen genel bir model olarak kabul edilemez [71].

Hansch analizi, özellikle laboratuvar çalışmalarında biyolojik aktiviteyi farklı şekilde açıklama yeteneğine ve esnekliğine sahip olduğu için oldukça avantajlıdır [72].

1.4.2.1.2. Free-Wilson Analizi

1964'te Free ve Wilson, moleküllerin genel yapısal özelliklerini açıklamak için yeni bir matematiksel model geliştirdiler [73]. Bu model, sübstitüentlerin varlığı veya yokluğunda biyolojik aktivite korelasyonunu kullanan bir regresyon tekniğidir [72].

Bu model, herhangi bir konumdaki sübstitüentin, temel molekül yapısına biyolojik olarak katkı sağladığı ve bu katkının, molekülde var olan diğer gruplardan bağımsız olduğu varsayımına dayanır [74]. Free Wilson analizinde biyolojik aktivite aşağıdaki formül ile hesaplanır.

$$\log 1/C = \sum a_i + \mu \quad (1.11)$$

a_i , X_i sübstitüentlerinin biyolojik aktivite değerlerine grup katkıları ve μ ise daha çok sübstitüe olmamış analog olarak adlandırılan referans bileşiğin hesaplanmış biyolojik aktivite değeridir. Free Wilson analizi, uygulamada daha kolaydır. Biyolojik aktiviteyi açıklarken fizikokimyasal özelliklere ihtiyaç duymaz. Genel sübstitüentlerin varlığı veya yokluğunu göstermek için 1 ya da 0 değerlerini kullanır. Bu nedenle de Free Wilson analizi Hansch analizinden daha sınırlıdır [75].

Free-Wilson analizinde bir QSAR modeli oluşturmak için bileşiklerin kimyasal yapısı ve biyolojik aktiviteleri bilinmelidir. Free-Wilson analizi için geçerli olan şartlar aşağıda listelenmiştir [76];

1. Bileşiğe bağlı grupların regresyon katsayısı değerlerini bulmak için bileşik kimyasal olarak modifiye edilir.
2. Farklı bir grup bağlandığında yeni bileşen için tahminler yapılır

3. Free-Wilson analizi molekülün 3B yapısını dikkate almaz, bağlı grubu tek noktada tayin eder bu nedenle istatistiksel sonuçlar için belirsizdir.
4. Her bir süstitüent açıklanırken çoğu serbestlik derecesi ihmal edilir.

Free-Wilson analizi, biyolojik aktivite için önemli olan fizikokimyasal özelliklerin farkını görmede sıklıkla kullanılır. 1971’de Fujita ve Ban, Free-Wilson modelinin eksikliklerini gidermek için, aktivitenin logaritmasını kullanarak yeni bir eşitlik geliştirmişleridir [77].

$$\log A/A_0 = \sum G_i X_i \quad (1.12)$$

A, süstitüe olmuş bileşiklerin aktivite değeri; A₀, süstitüe olmamış bileşiklerin aktivite değeri; G_i, i süstitüentinin aktiviteye katkısının logaritması; X_i ise süstitüent bulunduğunda 1, bulunmadığında 0 olan bir değerdir. Bir süstitüent seti için eşitlik aşağıdaki gibidir.

$$\log A = \sum G_i X_i + \mu \quad (1.13)$$

Burada μ sabit bir terimdir. Geliştirilmiş bu modelin başlıca avantajları şunlardır.

1. Yapısal matris biçiminin değiştirilmesine ihtiyaç duymaz.
2. Eşitlik için hiçbir sınırlama yoktur.
3. Her bir pozisyondaki grup katkıları referans bileşiğe dayanır.

Sabit terim olan μ , en küçük kareler yöntemi ile hesaplanır ve değeri, süstitüe olmamış bileşik için teorik olarak bulunur. Bir bileşiğin dışarıda bırakılması ya da hesaba katılması, gruba olan katkı değerini önemli derecede etkilemez [78]. Bu avantajlar nedeni ile Fujita-Ban metodu Free-Wilson metoduna göre daha iyidir [78].

1.4.3. 2D QSAR Analizi

2D QSAR, bağlanma indisleri, 2D-farmakofor gibi yapısal modellerin 3B temsilini hesaba katmadan aktivite ile ilişkili olduğunu söyler [79]. Yani 2D QSAR modeli, bir bileşiğin yapısal formülüne dayanarak onunla ilgili bilgileri içerir [80]. Bu tür modeller sadece molekülün topolojisini yansıtır ve buna rağmen oldukça popülerdir [81,82]. Bu

tür yaklaşımların kapasitesi, moleküler yapının topolojik modellerinin kapalı bir biçimde, bileşiğin olası konformasyonları hakkında bilgi içermesinden kaynaklanmaktadır [83]. Bu yaklaşım çok parametrelili optimizasyon stratejisi olarak adlandırılır ve suda çözünürlük, bölme katsayısı ($\log P$), dağılım katsayısı ($\log D$), iyonizasyon sabiti (pK_a) ve topolojik polar yüzey alanı ($tPSA$) gibi ilaç moleküllerinin çeşitli fizikokimyasal özellikleri, işlemlerin çoğunda önemli bir rol oynar [84].

2D QSAR analizi L-R arasındaki başlangıç etkileşimi üzerinde durur ve kantitatif ilişkileri elde etmek için lineer regresyon tekniklerini kullanır. Bu nedenle 3D QSAR kadar açık olmadığı için istatistiksel verilerin çoğu şüphelidir.

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

- Moleküler bağlanma gibi iki boyutlu parametreler
- Moleküler yüzey alanı gibi üç boyutlu parametreler
- $\log P$ gibi fizikokimyasal özellikler

2D QSAR modeli için parametreler, geometrik, yapısal, elektrostatik, topolojik, kuantum kimyasal ve termodinamik parametreler olarak sınıflandırılabilir. En basit tanımlayıcı, atom sayısı, moleküler ağırlık, bağ sayısı ve H bağı sayısı ile ilgilenen yapısal parametredir ve bu parametre geometrik veya elektronik yapıya bakmadan moleküler yapıyı yansıtır [85]. Geometrik parametre, moleküler yapının üç boyutlu koordinatlarını gerektiren, molekül yüzey alanı, moleküler yoğunluk ve hacim gibi özellikleri içerir. Topolojik parametreler, moleküldeki iki atom çifti arasındaki bağ bilgilerini kapsar. Termodinamik parametreler, ilk olarak Hansch analizinde kullanılan oluşum ısısı, molar refraktivite, hidrofobik özellik ve oktanol ve sudaki serbest solvasyon enerjisidir [73]. Kuantum kimyasal parametreler ise moleküllerin elektronik özellikleri hakkında bilgi sağlayan HOMO ve LUMO gibi tanımlayıcılardır.

1.4.4. Yeni QSAR Metotları

1.4.4.1. Hologram QSAR (HQSAR)

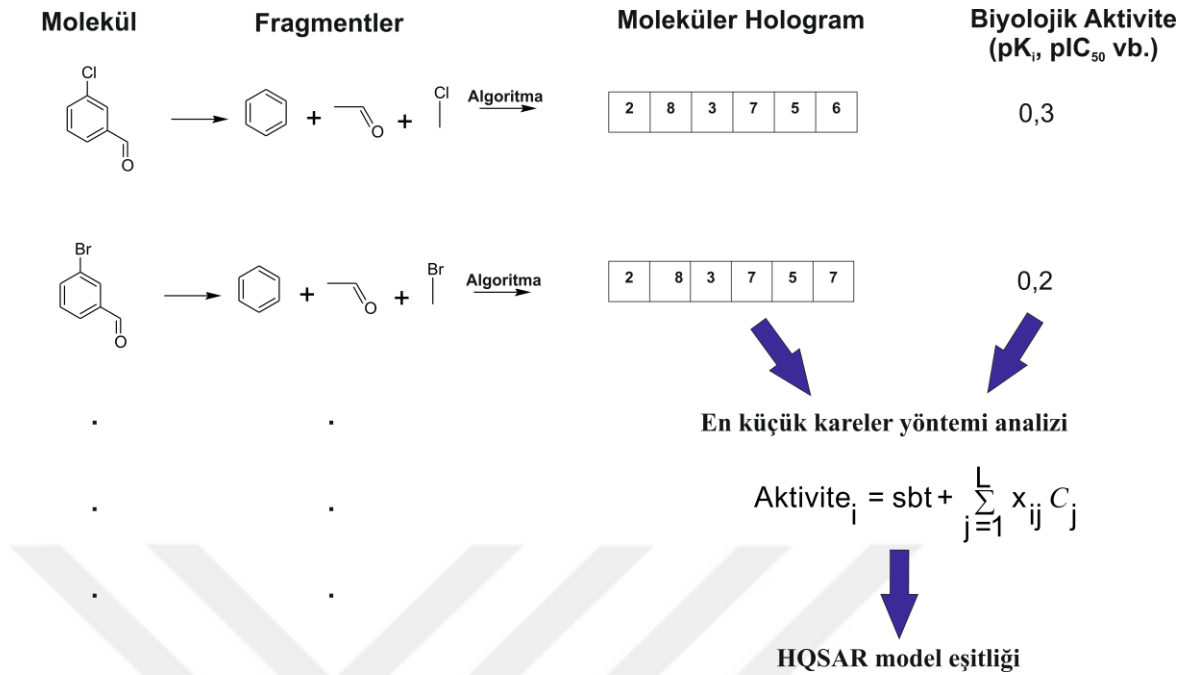
Tripos tarafından ortaya çıkarılan HQSAR fragment (parça) bazlı bir QSAR yaklaşımıdır ve yapı-aktivite ilişkisini ortaya çıkarmak için kullanılan fizikokimyasal

parametrelere ve üç boyutlu yapıya ihtiyaç duymayan yeni bir tekniktir [86-88]. HQSAR, biyolojik aktivite ile ilgili molekül kümelerindeki tüm dallanmış, döngüsel ve örtüşen alt yapısal parçaların tanımlanmasını içerir. Seçilen bileşik serisindeki her bir molekül yapısal fragmentlerine ayrılır ve her parçaya, döngüsel artıklık kontrol (Cyclic Redundancy Check, CRC) algoritması kullanılarak bir tamsayı değeri atanır. Her orijinal molekülün yapı parçaları, parça boyutu parametreleri olan minimum ve maksimum sayıda atomdan oluşur. Oluşturulan dizeler daha sonra sabit uzunluktaki bir sayı dizisinde depolanarak düzenlenir. Bu diziler bir moleküler hologram oluşturur ve tanımlayıcı olarak kullanılır [87]. Bir veri seti için hesaplanan bu moleküler hologramlar, bileşiklerin sayısı ve moleküler hologramın uzunluğu ile ilgili bir veri matrisi verir. Bir biyolojik aktivite matrisi de oluşturulur. Wold'un en küçük kareler (Partial Least Square, PLS) tekniği kullanılarak, veri setindeki alt yapısal özellikler ile biyolojik aktivite arasında bir ilişki geliştirilmiştir [89]. LOO-CV, en iyi tahmine dayalı modeli veren bileşenlerin sayısını belirlemek için kullanılmış ve QSAR modeli oluşturulmuştur. PLS ile biyolojik aktivite ve hologram dizileri arasındaki korelasyon eşitliği elde edilmiş ve bu eşitlik aşağıda gösterilmiştir [86].

$$A_i = C \sum_{l=1}^L X_{il} C_{il} \quad (1.14)$$

Bu eşitlikte, A_i , i bileşiğinin biyolojik aktivitesi; C , bir sabit; X_{il} , l dizisinde ya da i pozisyonunda bileşiğin moleküler hologramını işgal eden değer; C_{il} , PLS tekniğinden türetilen diziler için bir katsayı ve L ise hologram uzunluğudur [87].

Aşağıda verilen Şekil 1.2'de [90] moleküler hologramların ortaya çıkarılma prosedürü ve bu hologramların kullanılarak aktiflik değerlerinin elde edilmesi gösterilmiştir [87].



Şekil 1.2. HQSAR’da hologramların ortaya çıkarılması ve bu hologramlardan aktivite değerinin elde edilmesi.

Diğer QSAR yöntemlerinde olduğu gibi, parametreleri akılcıca seçmek önemlidir. Anahtar parametreler hologram uzunluğunu, parça boyutunu ve parça tipini (atoma karşı bağlar, vb.) içerir. Tahmin edilebilirlik ve kritik atomik katkılar açısından bu yaklaşımın hızı ve faydası birkaç yeni uygulamada iyi tanımlanmıştır [91,92].

1.4.4.2. ‘Inverse’QSAR

‘Inverse’QSAR Focus-2D olarak bilinen bu yaklaşım yapısal olarak benzer bileşiklerin benzer biyolojik aktiviteyi göstereceği hipotezini savunur [93]. Yüksek tahmin edilen biyolojik aktiviteye sahip sanal bir bileşik kitaplık oluşturmak için önceden yapılandırılmış bir QSAR yaklaşımı kullanılır. Bileşik serisinin optimizasyonu genetik algoritmalar kullanılarak elde edilmiştir. Bu yaklaşım topolojik parametreler gibi çeşitli kimyasal yapı parametrelerini, olasılık araştırma algoritmalarını ve kimyasal benzerlik fonksiyonlarını kullanır.

Kier ve Hall'un topolojik tanımlayıcıları veya bir dizideki amino asit Z tanımlayıcıları (Z₁=hidrofobiklik, Z₂=boyut, Z₃=elektronik), izotropik yüzey alanı (Isotropic Surface Area, ISA) ve elektronik yük indeksi (Electronic Charge Index, ECI) gibi çeşitli tanımlayıcılar, yapıların modellenmesi için kullanılmıştır [93]. GA optimizasyon

yönteminin etkinliği istatistiklerle iyi bir şekilde belirlenmiştir. Potansiyel olarak örneklenebilecek çok sayıda yapısal tanımlayıcının yanı sıra veri tabanında bulunmayan çözelti moleküllerinin sağlanamaması da dahil olmak üzere bu yaklaşımın belirli sınırlamaları vardır. Faulon'un grubu, imza tanımlayıcıyı tanıtarak bu sorunları ele almıştır [94]. Bir molekülün imzası, atomik imzalarının doğrusal birleşimi olarak tanımlanır. Yakın zamanda bu tanımlayıcıyı, hücreler arası yapışma molekülleri-1 (Intercellular Adhesion Molecules, ICAM) inhibitör peptitlerinin bir 'Inverse'QSAR çalışmasında uyguladılar [95]. Öngörülen inhibitörlerin ikisi sentezlendi, test edildi ve en güçlü inhibe edici peptitler olarak doğrulandı. Yeni tasarlanan bileşiklerin bazıları, daha odaklı bir eğitim seti oluşturmak için eğitim setinin orijinal üyeleriyle birleştirilebilir, bu da daha yüksek kaliteli kılavuz bileşiklerin üretilmesi için iyiye işaretir.

1.4.4.3. 'Binary'QSAR

Biyolojik olarak aktif yeni bileşiklerin sentezlenerek arşive eklenmesi önem kazandıkça araştırmacılar kısa zamanda milyonlarca bileşiğin denenmesi için hızlı ve yeni metotlar bulma çabasına girmişlerdir. Bunun sonucu olarak Çok Sayıdaki Bileşiği Ayırma Yöntemi (High Throughput Screening-HTS) geliştirilmiştir. Biyolojik aktiviteyi 'aktif' veya 'inaktif' olarak sınıflandırarak büyük miktarda tarama verisi üreten HTS yönteminde, geleneksel yaklaşımların kullanımı göz ardı edilir. Binary QSAR, bu tür bir yanıtı ustalıkla idare edebilecek bir yaklaşım sunar. İlk olarak, ikili ölçüm verilerini (1=aktif, 0=aktif olmayan) bileşiklerin moleküler tanımlayıcıları ile ilişkilendiren Labute tarafından tanıtılmıştır [96]. Ardından, Bayes Teoremine dayalı olarak aktifler ve aktif olmayanlar için bir olasılık dağılımı belirlenir [78,97]. Bu metot biyolojik aktivite için gereken önemli yapısal bilgileri çıkarmada ve ilaç tasarımı için arşivlerin tasarımında yardım eder. Binary QSAR metodunun avantaj ve dezavantajları Labute'un bir çalışmasında açıklanmıştır. Bu metot HTS için bileşiklerin seçiminde ve arşivlenmesinde oldukça kullanışlıdır. Binary QSAR metodunun başlıca dezavantajı parametrelerin yorumlanmasında kolay olmamasıdır [98].

1.4.5. 3D QSAR

Bir molekülün boyutu ve 3B yapısı, molekülün biyolojik aktivitesini modüle eden önemli yapısal özelliklerden bazılarıdır [99,100]. Ayrıca, farmasötik açıdan ilgi çekici

çok sayıda molekül, bazı durumlarda beklenen hidrofobik veya hidrofilik özelliklerde değişikliklere izin veren bir esneklik gösterir [101]. Daha önce açıklandığı gibi, ilgili modeller 2D QSAR yöntemleri kullanılarak elde edilebilir. Fakat, 2D tanımlayıcılar önemli 3B özellikleri hesaba katamazlar [102]. Bu durum yapı-aktivite arasındaki ilişkiyi daha net açıklamak adına yeni arayışlar doğurmuştur. 3D QSAR yöntemi, Karşılaştırmalı Moleküler Alan Analizi (Comparative Molecular Field Analysis, CoMFA), 1988'de Cramer tarafından tanıtıldı ve QSAR'ın ilerlemesinde önemli bir adımı temsil etmektedir [103]. Aktif Analog Yaklaşımı, Moleküler Şekil Analizi (Molecular Shape Analysis-MSA) ve CoMFA gibi birçok 3D QSAR modeli yaklaşımı 1980'lerde ortaya çıkmıştır.

Bir molekülün biyolojik aktivitesi onun 3B yapısına bağlı olduğu için 3D QSAR, moleküldeki yapısal değişikliklerin biyolojik özellikleri nasıl etkilediğini anlamamıza yardım eder. 3D QSAR teknikleri yapı-aktivite ilişkilerini bilgisayar destekli olarak ortaya koyar. Hızı ve kesinliğinden dolayı 3D QSAR metotları ile L-R kompleks yapısı üzerindeki hesaplamalar yapılabilir. 3D QSAR yöntemleri, incelenen molekül serisi dışındaki bileşiklerin aktifliğini veya inaktifliğini tahmin etmek için de kullanılır [98].

3D QSAR'da bir takım genel kurallar mevcuttur ve bunlar aşağıda maddeler halinde gösterilmiştir.

1. Konformasyonel analiz yöntemleri kullanılarak minimum enerjili konformer seçilir.
2. İki atom arasındaki mesafe, halkalı sistemlerin optimizasyonu, donör-akseptör hidrojen bağı ya da yüklü fonksiyonel gruplar tanımlanır.
3. Aktif Küme Analizi (Perform Cluster Analysis) adı verilen sınıflandırma teknikleri ile Pha yapısını bulunduran bağlayıcı konformer seçilir. Aktif kümede her bir yapının en düşük enerjili konformeri reseptör ile etkileşen konformer olarak alınır.
4. Biyolojik aktiviteye etki eden atom yükleri, HOMO ve LUMO orbitalleri, dipol momenti, polaritesi, moleküler elektrostatik potansiyeli, şekil ve hacim gibi özellikleri belirlenir.
5. Farmakofor adayının özellikleri seçilir.

3D QSAR, küçük moleküllerin biyolojik aktivitesini 3B uzayda hesaplanan özellikleriyle ilişkilendiren nicel modellerdir [104,105]. Tüm 3D QSAR yöntemleri, moleküler modellemeyi ve bir dizi bileşik içindeki nispi biyolojik aktivitenin istatistiksel analizini birleştirir. Tüm QSAR teknikleri, incelenen tüm bileşiklerin aynı biyolojik hedefe kovalent olmayan bir şekilde bağlandığını; yapısal olarak benzer bileşiklerin benzer şekilde bu ortak reseptör bölgesine yönlendirileceğini ve sistemin dinamiklerinin ihmal edilebileceğini savunur. Ancak yöntemler, bileşikler tanımlama biçimleri ve 3B özellikler ile biyolojik aktivite arasındaki ilişkileri nasıl saptadıkları konusunda farklılık gösterir. Tüm QSAR yöntemlerinde olduğu gibi, 3D QSAR'lar genellikle henüz test edilmemiş bileşiklerin gücünü tahmin etmek için 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.

1.4.5.1. Karşılaştırmalı Moleküler Alan Analizi (CoMFA-Comparative Molecular Field Analysis)

Bir ligandın 3B yapısına bakılarak biyolojik aktivitesinin tahmin edilebildiği 3D QSAR yöntemine ilk uygulanan metod olan CoMFA, uzun yıllar boyunca 3D QSAR terimi ile eş anlamlı olarak kullanıldı [106]. Muhtemelen şimdiye kadar hacim bazlı metod olarak kullanılan en yaygın 3D QSAR yöntemidir [106,107]. 1979'da Cramer ve Milne molekülleri karşılaştırmak için uzayda molekülleri üst üste çakıştırarak 3B olarak incelemişlerdir. Bunu izleyen yıllarda bu yaklaşım CoMFA'nın ilk uygulamalı modeli şeklinde, DYLOMMS (Dynamic Lattice-Oriented Molecular Modelling System) metod olarak geliştirilmiş fakat bilim adamları tarafından yetersiz bulunmuştur. 1988'de Cramer bu modeli geliştirerek CoMFA olarak adlandırdığı bu yeni metodu ortaya çıkarmış ve bu metod geniş çapta kullanım alanı bularak, QSAR ve ilaç tasarımı için kullanılan en güçlü yöntemlerden biri olmuştur. CoMFA, molekülün fizikokimyasal özelliklerini biyolojik aktivitesini, molekülün yapısı ile ilişkilendiren istatistiksel ve grafiksel bir modeldir [108]. CoMFA, "bir dizi hizalanmış bileşik veya ilaç molekülü etrafındaki sterik ve elektrostatik alanın uygun bir örneğinin biyolojik özelliklerini anlamak için gerekli tüm bilgileri sağlayabileceğini" varsaymaktadır [106]. CoMFA'nın altında yatan fikir, biyolojik aktivite gibi özelliklerin, genellikle molekülleri çevreleyen kovalent olmayan etkileşim alanlarının şekil ve kuvvetlerindeki eşdeğer değişikliklerle

yakından ilişkili olmasıdır. Yani sterik ve elektrostatik alanlar, bir dizi bileşiğin biyolojik özelliklerini anlamak için gerekli tüm bilgileri sağlar. Bu nedenle, moleküller kübik bir ızgaraya yerleştirilir ve tanımlanmış bir prob ile molekül arasındaki etkileşim enerjileri her bir ızgara noktası için hesaplanır.

Bir CoMFA çalışmasında elektrostatik ve sterik olmak üzere iki potansiyel kullanılır. Lennard-Jones işlevi sterik potansiyeli, Coulomb işlevi ise elektrostatik potansiyeli temsil eder. CoMFA'nın standart uygulamasında yalnızca bağlanma serbest enerjisinin entalpik katkıları sağlanır. Birçok bağlanma etkisi, hidrofobik ve entropik katkılar tarafından yönetildiği için kuvvetlerin beklenen ana katkılarını ve bu koşullar altında CoMFA'nın gerçekçi sonuçlar bulup bulamayacağını önceden karakterize etmek gerekir.

CoMFA uygulaması, anlaşılır moleküler tanımlama, istatistiksel analiz ve sonuçların grafiksel gösteriminin toplu kombinasyonu nedeniyle çekicidir. CoMFA moleküllerin biyolojik aktivitelerinin 3B yapılarıyla alakalı olduğunu savunur ve bunu kantitatif olarak 3B olarak inceler. Bu amaçla ilk önce analizi yapılacak olan molekül seti seçilir. Burada en önemli şart, benzer yapıya sahip olan moleküllerin aynı tip reseptörle (enzimler, proteinler, hormonlar vb. gibi) aynı şekilde etkileşime girerken (L-R etkileşimi) aynı bağlanma bölgelerini kullanması şartıdır. Daha sonra CoMFA modelini oluşturmak için moleküllerden bir alt grup olarak eğitim seti (training set) seçilir ve geriye kalan moleküller de test seti olarak seçilir. Bu iki set yardımıyla CoMFA metodu ile atomik yükler ve düşük enerjili konformasyonlar hesaplanır [108].

CoMFA'da moleküller birbiri üzerinde karşılaştırılır ve bu karşılaştırma için yapısal benzerlik esas alınır. Karşılaştırılan bu moleküller üç boyutlu bir yüzeye yerleştirilir. Orijinal CoMFA'da, prob olarak +1 yüklü bir sp^3 karbon atomu kullanılır. Bu prob yardımı ile veri setindeki tüm moleküllerin boyutunun $4\text{\AA}$ ötesine uzanan ve düzenli olarak örneklenen bir 3B ızgara kutusunun, her ızgara noktasındaki ligandlar için alan değerleri sistematik olarak hesaplanır [106]. Izgara çözünürlüğü, biyolojik aktivitedeki varyasyonları tanımlamak için gerekli olan alan bilgisini üretecek bir aralıkta olmalıdır. Öte yandan, istatistiksel analize çok alakasız bir verinin dahil edilmesi, modelin tahmin edilebilirliğinin azalmasına neden olabilir. Yaklaşık olarak standarta yakın olarak düşünülen $2\text{\AA}$ çözünürlük kullanılır. Genellikle, daha doğru $1\text{\AA}$ aralığının aksine $2\text{\AA}$ 'lik

bir ızgara aralığı kullanılarak üstün sonuçlar elde edilir [109]. Moleküller, daha önce GRID [110] tarafından hesaplananlar gibi moleküler etkileşim alanlarıyla tanımlanır, sterik ve elektrostatik alanlardaki değişimlerle biyolojik aktivite arasındaki ilişki PLS ve LOO-CV ile hesaplanır [106,111-113]. 3D QSAR çalışmalarında doğrudan CoMFA uygulamaları ile ilgili geçmişten günümüze oldukça fazla çalışma yapılmış ve hala da devam etmektedir [114-116].

CoMFA programı, kullanıcı tarafından ayarlanabilen çeşitli parametreler (prob atomları, yükler, enerji skalası, enerji kesintileri vb.) sağladığı için kendi mucidi dışındaki diğer araştırmacılar tarafından da kolaylıkla kullanılabilir. Parametre ayarlarındaki bu esneklik, kullanıcının tüm prosedürü kendi çalışmalarına uygun hale getirebilmesini sağlar.

1.4.5.2. Aktif Analog Yaklaşımı

Bu yaklaşım, birbirine benzeyen konformerlerin biyolojik aktivite bakımından benzerlik göstereceğini savunur. Yöntemde ilk olarak incelenen molekül serisindeki en yüksek enerjili molekül seçilir ve konformerleri hesaplanır. Bu işlem, molekül serisindeki tüm moleküllere uygulanır ve işlem sonunda yüksek enerjili konformerler göz ardı edilerek işlem dışı bırakılır. Daha sonra her bir molekül için moleküler hacim hesaplanır, aktif konformerler belirlenir ve moleküller üst üste karşılaştırılır. Üst üste karşılanan konformerler arasından belirli bir tolerans aralığında reseptör ile uyumlu olan ortak taşıdıkları aktif yapı belirlenir ve Pha tanımlanır.

1.4.5.3. Moleküler Şekil Analizi (MSA-Molecular Shape Analysis)

MSA, moleküler şekil benzerliği ve ortak ölçümlerini diğer moleküler tanımlayıcılarla birleştiren bir takım yönteme dayanan bir QSAR yaklaşımıdır [117,118]. MSA terimi, Van der Waals küreleri gibi, molekülü oluşturan atomların bazı özellikleri tarafından temsil edilen üç boyutlu moleküler şekillerin karşılaştırılmasından doğan moleküler benzerliği anlatır. Bu yaklaşımın temeli, molekül şeklinin bağlanma bölgesindeki boşluğun şekli ile ilişkili olduğuna ve dolayısı ile biyolojik aktiviteyle bağlantılı olduğuna dayanır. Bundan dolayı bağlanma bölgesindeki boşluğun şeklini temsil edecek bir referans molekül seçilir ve referans ile diğerleri arasındaki şekil benzerlikleri bu bileşiklerin biyolojik aktivitelerini belirlemede kullanılır.

3D QSAR’da MSA yaklaşımında işlemler yedi adımda gerçekleşir:

- a) Konformasyonel analiz yapılması,
- b) Aktif konformerin tanımlanması,
- c) Referans bileşiğin seçimi,
- d) Her bir bileşiğin referans moleküle göre üst üste karşılaştırılması,
- e) Moleküler şekil benzerliği veya ortaklığı parametrelerinin hesaplanması,
- f) Hansch tipi parametreler gibi diğer moleküler tanımlayıcıların belirlenmesi,
- g) MSA ile 3D QSAR modelinin geliştirilmesi.

1.4.5.4. Karşılaştırmalı Moleküler Şekil Analizi (CoMSIA-Comparative Similarity Indices Analysis)

Klebe ve arkadaşları, çoğu CoMFA yönteminde kullanılan Lennard-Jones potansiyelinin fonksiyonuyla ilgili problemler nedeniyle, CoMSIA olarak adlandırılan ve benzerlik indekslerine dayalı bir CoMFA yöntemi geliştirmiştir [4,107]. CoMFA ile benzerlikleri olsa da CoMFA’da Lennard-jones ve Coulomb potansiyeli kullanılırken CoMSIA’da, hidrojen bağı, hidrofobisite, elektrostatik ve sterik özellikleri tayin etmek için daha çok Gaussian fonksiyonunu kullanır [119]. CoMSIA yaklaşımından elde edilen 3D QSAR metodundaki basamaklar aşağıdaki gibi özetlenebilir.

1. Öncelikle, incelenen bütün moleküller yapı bazlı olarak karşılaştırılır.
2. Moleküllerin tamamını kapsayacak şekilde düzgün aralıklı ve dikdörtgen şekilli bir yüzey oluşturulur. İncelenecek atomlar H-bağı donörü ya da akseptörü, hidrofobik, elektrostatik ve sterik özelliklerini ölçmek üzere her bir örgü noktasına yerleştirilir.
3. En sonunda da elde edilen sonuçlar test edilen bileşiklerin biyolojik aktiviteleri ile birleştirilerek bir tablo içine yerleştirilir ve CoMSIA modelini elde etmek için PLS uygulanır.

Molekül hizalaması, iki molekülün birbirine göre rastgele oryantasyonundan başlanarak sterik, elektrostatik ve hidrofobik özelliklerin ağırlıklı kombinasyonuna dayalı benzerlik puanı (A_F) kullanılarak gerçekleştirilir ve en iyi hizalama, maksimum benzerlik puanı

ile elde edilir. Ayrıca, her molekül için moleküler etkileşim alanları, Lennard-Jones ve Coulomb potansiyel fonksiyonlarının yerine benzerlik indeksleri cinsinden hesaplanır. Benzerlik alanları, moleküller ve farklı prob atomları arasındaki benzerliği temsil edenlerle hesaplanır. Ayrıca, CoMSIA tekniği ile tipik olarak yalnızca sterik ve elektrostatik alanlar değil, aynı zamanda hidrofobik alanlar ve H-bağı donörü/akseptörü alanları da dikkate alınır. Bir bileşik ile bir prob atomu arasındaki fizikokimyasal özelliğe göre düzenli aralıklı ızgaranın (1.1 ve 2.0 Å) kesişimlerindeki benzerlik değerleri aşağıdaki şekilde hesaplanır [120]:

$$A_{F.K}^q(j) = - \sum_{i=1}^n \omega_{probe,k} \omega_{ik} e^{-\alpha r_{iq}^2} \quad (1.15)$$

i: İncelenen j molekülünün tüm atomlarına ait toplam indeks;

ω_{ik} : Hedef molekülün k atomunun fizikokimyasal özelliğinin gerçek değeri;

$\omega_{prob \ k}$: 1Å yarıçaplı, +1 yüklü, +1 hidrofobisitesi olan ve +1 değerinde H-bağı donör/akseptör özelliklerine sahip olan prob atom;

α : düzeltme faktörü;

r_{iq} : q yüzey noktasındaki prob atomu ile incelenen molekülün i atomu arasındaki karşılıklı mesafe.

Bazı durumlarda CoMSIA'nın CoMFA'ya göre bir takım avantajları olabilir [121]:

1. Lennard-Jones ve Coulomb potansiyel alanları kullanılırken meydana gelebilecek ızgara tabanlı prob-atom etkileşimlerinde ani değişikliklerden kaçınarak, benzerlik indekslerinde Gauss dağılımının kullanılması,
2. Sterik veya elektrostatik potansiyel alanlarla sınırlı olmayan bir benzerlik probu seçilmesi,
3. CoMSIA'nın bir hidrofobik prob vasıtasıyla çözücü entropik terimlerini yakalamaya çalışabilmesi.

1.4.5.5. Karşılaştırmalı Moleküler Moment Analizi (CoMMA)

Molekölün 3B geometrik temsiline dayanan CoMMA, temel eylemsizlik momentleri (dipol momentinin büyüklüğü vb.) ve temel dört kutuplu moment gibi tanımlayıcıların geliştirilmesinde, moleküler kütle momentlerini ve ikinci dereceye kadar olan yük dağılımlarını kullanan, hizalama işlem yapılmayan bir 3D QSAR yaklaşımıdır [122,123]. Bu tanımlayıcılar, hizalama yapmadan bu işlemi devam ettirmek için, her molekülün kütle merkezine ve ayrıca dipol merkezine çevrildikten sonra elde edilir. Bu moleküler moment tanımlayıcıları ile aktivitenin korelasyonu, PLS kullanılarak gerçekleştirilir.

1.4.6. 4D QSAR

Hedef protein yapısının bilinmediği durumlarda uygulanan QSAR modelinin niteliği ligandların doğru süperpozisyonuna bağlıdır. QSAR'daki bu gibi sorunları aşmak adına uzun süreli çalışmalar yapılmış ve sonunda Hopfinger ve arkadaşları 1997'de, geleneksel 3D QSAR yöntemlerinde bulunan alışlagelmiş üç boyutlu tanımlayıcılarda grup ortalamasını alarak konformasyonel esnekliği ve hizalama özgürlüğünü içeren 4D QSAR formalizmini önermiştir [124,125]. Burada yöntemin “dördüncü boyutu”, bir eğitim setinin üyelerinin uzaysal özelliklerini örnekleyen topluluktur. CoMFA'dan farkı, konformerleri eşleştirerek biyolojik aktivite bilgileri ile moleküler yapıların bir setinden geliştirilen modelde hem konformerleri hem de align işlemlerini birleştirmesidir ve 3D QSAR'dakinin aksine aktif konformasyon minimum enerjili konformer değildir. Bu yaklaşımda, konformasyonel eşleştirme özelliklerini belirlemek için moleküler dinamik simülasyon (MDS) kullanılır ve tanımlayıcılar ise her bir deneme hizalamasına göre, konformasyonel davranışın bir grup ortalamasına karşılık gelen, kübik grid hücrelerindeki farklı atom tiplerinin doluluk frekanslarıdır [126,127]. Çalışılan bileşik serisindeki her bir bileşiğin en aktif konformeri, minimum enerjili konformerin 2 kcal/mol içinde olan tüm konformerlerdir. Bu düşük enerjili konformerler serisi, en iyi sonucu veren 3D QSAR modelleri içinde ayrı ayrı hesaplanır. CoMFA'da olduğu gibi, en iyi çakışmayı yapabilmek için her bir bileşiğin konformeri daha önceden belirlenmiş grid içine yerleştirilir ve 3B parametreleri bilgisayarda hesaplanır. PLS tekniği ile de biyolojik aktivite ilişkilendirmesi yapılır. Burada aktif konformer, uygun 3D QSAR modelinde en iyi aktivite değerini verenler arasından seçilir.

QSAR modellerini oluştururken çoklu konformasyonları, altyapı gruplarını ve hizalamaları hesaba katma ihtiyacı, 4D QSAR analizinin gelişimine yön vermiştir. Bu QSAR serbestlik dereceleri normalde 3D QSAR analizinde sabit tutulur. 4D QSAR analizi, aktif konformasyonları ve tercih edilen hizalamayı anlamlı ve nitelikli bir şekilde tahmin edebildiği sürece, bir sonraki CoMFA ve/veya CoMSIA teknikleri için bir önışlemci olabilir. Ayrıca, 4D QSAR yönteminin L-R veri setleri için nicel Pha oluşturulması için hem yararlı hem de güvenilir olduğu kanıtlanmıştır [128,129] .

1.4.7. 5D QSAR

3D QSAR ve 4D QSAR modellerindeki temel düşünce, farklı moleküler alan ve farklı konformasyonlara sahip moleküllerin farklı biyolojik aktivite göstereceği yönündedir. Bu varsayım üzerine oluşturulan sanal modeller genellikle moleküllerin bağlanma afinitesini, farmakokinetik ve toksik özelliklerini tahmin etmek için kullanılır [130]. Moleküler yapı ve biyolojik aktivite arasındaki bağlantıyı kurmak adına yapılan bütün bu özverili çalışmalara rağmen, reseptörün doğal esnekliği ilaç tasarımında çoğunlukla göz ardı edilmiştir. Ligandın reseptöre en düşük enerji konformasyonu ile bağlandığı ve bunu yapmak için reseptör yapısının ligand molekülünü yutmak için bozulacağı çok aşikâr bir durumdur. Vedani tarafından geliştirilen 5D QSAR yaklaşımı, ligandın reseptöre bağlandığı durumlarda reseptör yapısında meydana gelecek esneklik gibi yapısal değişiklikleri ele alır [131]. Burada esneklikten kasıt, reseptörün bağlanma bölgesinin yüzeyinin, kendisine bağlanan ligandın boyutuna ve topolojisine bağlı olarak hafifçe küçülebilmesi veya genişleyebilmesidir. Gerçek hedef proteinin yapısının bilinmediği durumlarda indüklenmiş uyumun doğruluğu ve mekanizmasının tanımlanması mümkün olmadığından, farklı indüklenmiş uyum protokolleri (elektrostatik ve sterik etki, hidrojen bağı veya lipofilikliğe bağlı büyüklük vb.) alternatif olarak sunulur [85]. 5D QSAR modeli, L-R etkileşiminde QSAR metoduna daha kesin ve daha güvenilir sonuçlar vermesi bakımından oldukça ışık tutucu olmuştur.

1.4.8. 6D-QSAR

Vedani tarafından geliştirilen ve QSAR çalışmasına eklenen bu yeni boyut, çözme ve çözünme fonksiyonunu dikkate alır [132]. Çözünen ve çözücü kavramları burada çok önemlidir çünkü L-R bağlanmasında kovalent olmayan etkileşimler de incelenmektedir

[130]. Bu güne kadar literatüre eklenen bütün QSAR teknikleri ile boyutlarına göre yaklaşımları ve kullandıkları parametreler Tablo 1.1’de özetlenmiştir.

Tablo 1.1. QSAR yaklaşımlarının boyutlarına göre sınıflandırılması ve kullanılan parametreler

QSAR teknikleri	Boyutlarının özelliği ve Kullanılan Parametreler
1D QSAR	Aktiviteyi pKa, log P, vb. gibi global moleküler fizikokimyasal özelliklerle ilişkilendirir.
2D QSAR	Aktivite, yapısal özelliklerle (bağlantı, 2D farmakofor, vb.) ilişkilidir fakat bu özelliklerin açık bir 3B temsili dikkate alınmaz. (1D QSAR+Yapısal, geometrik, elektrostatik, termodinamik parametreler)
3D QSAR	Aktivite, ligandların üç boyutlu yapısı ile ve molekülleri çevreleyen kovalent olmayan etkileşim alanlarıyla ilişkilidir. (2D QSAR+Elektrostatik, sterik, hidrofobik parametreler)
4D QSAR	Ligandlar, bir konfigürasyon topluluğu olarak temsil edilir. (3D QSAR+Konformasyonlar, protonlanma ve stereoizomerlerle ilgili parametreler)
5D QSAR	4D QSAR’da farklı indüklenmiş-uyum modellerini açıkça temsil eder. (4D QSAR+Ligand-protein bağlanmasında oluşan konformasyonel değişiklikler ile ilgili parametreler)
6D QSAR	5D QSAR’a ek olarak çözünürlük etkisini de inceler. (5D QSAR+Çözünme ile ilgili parametreler)

1.4.9. Moleküler Modelleme ve QSAR

Moleküler yapı ve özelliklerini araştırmak için bilgisayarlı ve grafiksel tekniklerin kullanıldığı moleküler modelleme yaklaşımları [133] bilgisayarlı analiz ve interaktif tasarım olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Modern moleküler modelleme teknikleri yapı analizi, homolog modelleme ve etkileşim olarak üçe ayrılmış olsa da aslında en iyi modelleme teknikleri moleküler dinamik, moleküler mekanik ve kuantum mekanik yöntemleridir [134].

Moleküler modelleme çalışmalarının çoğu üç adımda gerçekleşir ve bunların ilkinde molekül içi ve moleküller arası etkileşimleri açıklamak için model seçilir. Kuantum mekanik metot (Quantum Mechanics, QM) ve moleküler mekanik metot (Molecular Mechanics, MM), en genel bilinen moleküler modelleme teknikleridir. Bu iki model, incelenen sistemdeki molekül ve atomların enerji düzeylerinin belirlenmesine ve bunların pozisyonlarındaki değişimin sistemin enerjisini nasıl değiştirdiğinin anlaşılmasına olanak sağlar. Moleküler modelleme çalışmalarının ikinci adımında konformasyonel araştırma, Monte Carlo Simülasyonu veya moleküler dinamik hesaplaması yapılır ve en son adım olarak da hesaplama sonuçları analiz edilir.

Moleküler modelleme, molekülerin biyolojik özelliklerini tahmin edebilen, molekülleri ve onların sistemlerini analiz edebilen, deneysel bilgilere ve teorik kimyasal metotlara dayanan bir bilgisayar tekniğidir. Hâlihazırda bulunan teknikler biyolojik aktiviteden sorumlu olan atomun ve molekülün elektronik özellikleri, hidrofobisite ve molekülün geometrisi gibi özellikleri açıklar. Bütün bu özellikler ilaç tasarımında yapı-aktivite ilişkisini anlamakta önemlidir. Moleküler modellemede en çok kullanılan programlar SYBYL, AMBER, DOCK, MODELER ve RasMol gibi programlardır [135].

1.4.10. QSAR eşitliği türetme: Basit ve çoklu lineer regresyon metodu

QSAR eşitliği türetmek için bu güne kadar birçok matematiksel metot kullanılmıştır. Bunlar arasında en yaygın olanı lineer regresyon yöntemidir ve basit bir linner regresyon eşitliği aşağıda gösterilmiştir [136].

$$y = mx + c \quad (1.16)$$

Bu eşitlikte y bağımlı değişken, x ise bağımsız değişkendir. Yani QSAR modeli için düşünüldüğünde y biyolojik aktiviteyi, x ise logP veya süstitüent katsayısı gibi moleküler tanımlayıcıları temsil eder. Eşitlikteki c ise gerçek gözlemler ve eşitlik ile türetilen değerler arasındaki farkın toplamıdır. Çoklu regresyon yöntemi birden fazla bağımsız değişken olduğu zaman kullanılmaktadır [136]. Burada amaç m değerini bulmaktır ve c ve m değerlerini veren formül Eşitlik 1.17’de gösterilmiştir.

$$m = \frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \langle x \rangle)(y_i - \langle y \rangle)}{\sum_{i=1}^N (x_i - \langle x \rangle)^2} \quad (1.17)$$

$$c = \langle y \rangle - m\langle x \rangle$$

Bu formül basit lineer regresyon kadar kolay olmasa da istatistiksel paket programları kullanılarak kolayca kurulabilir.

$$\langle x \rangle = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_i \quad \langle y \rangle = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N y_i \quad (1.18)$$

Aşağıdaki eşitliğin sonucunun 0'a yakın olması kurulan modelin kötü olduğunu, 1'e yakın olması ise kurulan modelin güzel çalıştığını göstermektedir. R^2 değerinin hesaplanmasında kullanılan eşitlikler aşağıda gösterilmektedir [136].

$$TSS = \sum_{i=1}^N (y_i - \langle y \rangle)^2 \quad (1.19)$$

$$ESS = \sum_{i=1}^N (y_{hes.,i} - \langle y \rangle)^2 \quad (1.20)$$

$$RSS = \sum_{i=1}^N (y_i - y_{hes.,i})^2 \quad (1.21)$$

$$TSS = ESS + RSS \quad (1.22)$$

$$R^2 = \frac{ESS}{TSS} \equiv \frac{TSS - RSS}{TSS} \equiv 1 - \frac{RSS}{TSS} \quad (1.23)$$

1.4.11. Çapraz Doğrulama (Cross Validation-CV)

Çapraz doğrulama (CV) yöntemleri, R^2 değerinin tek başına kullanılmasından kaynaklanan bazı sorunların denetlenmesi ve üstesinden gelinmesi için kullanılır. CV, veri setinden bazı değerlerin çıkarılmasını, kalan verileri kullanarak bir QSAR modelinin türetilmesini ve sonrasında çıkarılan verilerin değerlerini tahmin edilmesidir [137,138]. En basit ve en genel CV prosedürü, her nesnenin birer birer alındığı bir dışarıda bırakma (LOO tekniği) tekniğidir [136]. Bu işlemi veri kümesindeki her bir değer için tekrarlamak, R^2 'den daha iyi bir sonuç verir ve Q^2 olarak adlandırılır [139]. Q^2 değerlerini bulmak için eşitlik 1.24 kullanılmaktadır [136].

$$Q^2 = 1 - \frac{PRESS}{\sum_{i=1}^N (y_i - \langle y \rangle)^2}; \quad PRESS = \sum_{i=1}^N (y_i - y_{hes.,i})^2 \quad (1.24)$$

1.4.12. Farmakofor (Pha) Kavramı

İlaçların proteinlerle spesifik etkileşimi (L-R etkileşiminin bir örneği) de burada rol alan tüm moleküllerin moleküler özelliklerinin 3B düzenlemesi de, ligand ve reseptörün

bağlanma bölgesi arasındaki yapısal bir tamamlayıcılığa bağlıdır. Bu tamamlayıcı yapı, bir bileşiğin belirli bir biyolojik özellik göstermesi için sahip olması gereken noktaların 3B düzenlenmesini temsil etmelidir. Bu noktalar, H-bağı donörü/akseptörü gibi belirli bir karakteristik özelliği olan atomlar ya da reseptör veya aromatik halka merkezlerindeki tamamlayıcı noktalar olabilir [140]. İşte bu noktalara sahip yapı farmakofor olarak nitelendirilir. Yani Pha, belirli bir biyolojik hedef yapı ile en uygun etkileşimi sağlamak için gerekli olan sterik, elektrostatik ve diğer fizikokimyasal özellikler topluluğudur [141]. Bir Pha, gerçek bir molekülü ya da fonksiyonel grupların gerçek bir bileşimini temsil etmez, bir dizi bileşiğin hedef yapıya yönelik ortak moleküler etkileşimi açıklayan soyut bir kavramdır. Bir dizi aktif molekül tarafından paylaşılan en büyük ortak payda olarak kabul edilebilir. Basit bir şekilde açıklayacak olursak Pha, L-R etkileşiminde fizikokimyasal özelliklerden biyolojik sinyal üreterek aktiviteden sorumlu olan gruptur.

Yapı-aktivite ilişkilerinde çok yararlı olduğu kanıtlanan Pha, ilaç tasarımı ve toksikolojide de oldukça faydalı ve kullanışlıdır. Pha'yı tanımlamak demek biyoaktivitenin varlığının ya da yokluğunun nicel hesaplamalara gerek olmadan tahmin edilebilmesi demektir. Fakat bu durum ilk etapta faydalıymış gibi görünse de uzun soluklu düşünüldüğünde yetersizlikleri söz konusudur. Bersuker tarafından yapılan çalışmalarda Pha tanımı aşağıdaki özellikler katılarak geliştirilmiştir [142,143].

1. Pha'nın sadece periyodik tablodaki herhangi bir atom grubu olduğu düşünülmemelidir. Aynı atomlar için farklı ve farklı atomlar için aynı olabilen, farklı bileşiklerdeki molekül içi atomlara özgü elektronik özelliklerle de tanımlanmalıdır.
2. Pha'nın elektronik ve geometrik parametreleri belirli tolerans değerleri aralığında her bileşikte değişiklik gösterir ve aktivite de bu çeşitliliğin bir fonksiyonu olabilir. Bu durum Pha'nın esnekliği olarak adlandırılabilir.
3. Aktivitenin tanımlanmasında Pha gerekli bir kavramdır fakat tek başına yeterli değildir. Aktiviteyi arttıran (Auxiliary group; AG) ve azaltan (Anti Pharmacophore Shielding; APS) grupların varlığı da hesaba katılmalıdır.

1.4.13. Farmakofor Tanımlama Metotları

Pha tanımlama metotlarından birisi Marshall tarafından kullanılan aktif-benzeşim yaklaşımıdır [144]. Bu yaklaşım aktif ve inaktif bileşiklerin yapısal olarak tanımlanması için kullanılır ve iki adımdan oluşur. İlk adımda L-R arasındaki etkileşim için, bir grup aktif bileşik serisinden oluşan deneme setindeki farklı sübstitüentlerin etkisine bakılır. Buradan elde edilen veriler, reseptörün aktif tarafındaki fonksiyonel grupların özellikleri hakkında bilgi verir. Bu yöntemin basitleştirilmiş hali Consentino tarafından değerlendirilmiştir [145]. İkinci adımda ise reseptörün bağlanma noktaları olarak kabul edilmiş noktaları arasındaki ya da aynı ve farklı serilerdeki fonksiyonel gruplar arasındaki benzerlik düşünülerek ona göre bir yaklaşımda bulunulur. Aktif-benzeşim yaklaşımının temel işleyişini şu şekilde anlatabiliriz:

Her bir izinli konformer için Pha atomları arasındaki mesafe sistematik olarak kaydedilir. Bu vesileyle, uygun şartlara sahip olmayan ve Pha yapısı ile alakasız olan konformerler bu basamaklarda çıkarılmış olur. Boltzman dağılımına göre oluşum entalpisindeki büyüklük sebebiyle bu konformerlerin sayıları azalacağından dolayı bu az sayıdaki konformerler işlem dışı bırakılabilir. Bütün aktif moleküller tarafından oluşturulan atomlar arası mesafeler grubu, Pha'nın geometrik yapısını temsil eder. Böylelikle GA yardımı ile aktif-benzeşim yaklaşımı kullanılarak kılavuz bir Pha modeli belirlenmiş olur. Fonksiyonel atomları birbiri üzerinde çakıştırılabilen konformerlerin kullanılmasıyla belirli tolerans değerleri arasında ortak taşıdıkları aktif parça olan Pha tanımlanabilir.

Aktif moleküller ile onların en uygun konformerleri süperimpoz yapılır ve Pha gibi birbirinin yerini tutan önemli grup çakışır. Moleküllerin süperimpoz edilmesiyle ortak bir iskelet üzerinde çakıştırma yapılmış ve böylece ligandlar reseptörle ortak bir yönden etkileştirilmiş olur. Pha etrafındaki atomlar da ortak olarak yönlendirilerek tüm konformerler için sınıflandırılır ve süperimpoz tamamlanmış olur. Aktif-benzeşim yaklaşımı esasına göre konformerleri sınıflandırmak için etkili bileşikler (en çok aktif ve en az atomlu basit yapılar) daha esnek yapıdaki bileşiklerle kıyaslanabilir ve onlarla süperpozisyon yapılabilir. Bu yaklaşım yeterince homolog olan bileşikleri içerdiğinden dolayı süperpozisyon anlamlıdır. Aslında süperpozisyon, aktivitede etkili olan Pha grubu ve biyoaktif yapının kendisidir.

ChemX adı verilen bir modelleme programı içerisinde, hâlihazırda bulunan moleküler modelleme programına ek olarak Pha haritalandırma stratejisi de bulunmaktadır. Bu yaklaşım bilindik bir Pha tanımlama işlemini takip eder. İlk önce veri setindeki düşük enerjili konformerleri belirlemek için konformasyonel analiz yapılır. Daha sonra H-bağı yapabilen ve yapamayan bölgeler, pozitif yüklü atomlar ve aromatik halka merkezleri olan Pha noktaları otomatik olarak görevlendirilir. Bu süreç sırasında, bu noktaların çiftleri (mesafe anahtarı) ile sayısal bilgiler, noktalar arası ilişkiler ve türler arasındaki mesafeler depolanır (formül anahtarı). Mümkün olan üç veya dört noktalı Pha'lar için mesafe ve formül anahtarlarının araştırılmasıyla, önerilmiş Pha'lar tanımlanır. Daha sonra bu Pha'larla her bileşiğin en az bir konformeri karşılaştırılarak onaylama işlemi tamamlanmalıdır.

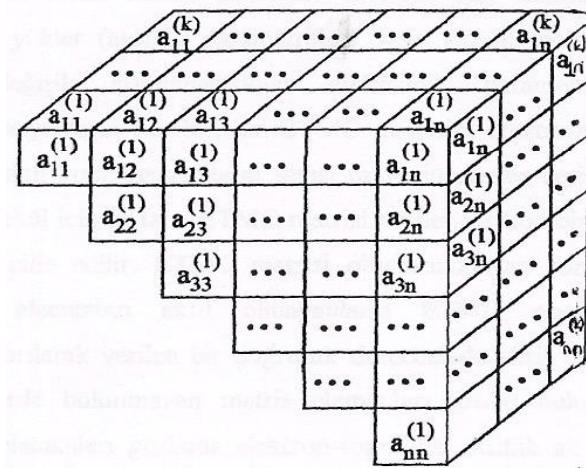
1.4.14. Elektron Topolojik Matrise (ETM) Dayalı Elektron Topolojik Metot

Moleküllerin topolojik, geometrik ve elektronik özelliklerinin Elektronik Topolojik Matris (ETM) adı verilen bir matris üzerinde tanımlandığı bir QSAR yaklaşımı olan elektronik topolojik metot, Pha tanımlama yöntemlerinden bir tanesidir [146,147]. Bileşikler biyolojik aktiviteleri ile temsil eden matrislerin karşılaştırılması, aktiviteden sorumlu spesifik moleküler fragmentleri sunan alt matrisi bulmayı amaçlar. Bu matriste diyagonal (köşegen) elemanlar atomun elektronik değerini verirken nondiyagonal (köşegen olmayan) elemanlar geometrik olarak atomlar arası mesafe ve bağ uzunluğunu gösterir. Yani kimyasal bağ yapan iki atom arasındaki bağa ait bilgiler (Wieberg indisi, bağ sırası, bağ enerjisi vb.) ya da kimyasal bağ yapmamış atomlar arasındaki mesafe bilgileridir. Bir molekülün belirli bir yapısı için atomlar arası mesafeler sabitlenirken, atomlara ve bağlara göre elektronik parametreler farklı şekillerde birleştirilebilir ve her biri farklı bir ETM verir. Örneğin A atomlu her bir molekül için, ETM kare simetrik $A \times A$ matrisi aşağıdaki gibi tanımlanır [141]:

- a) Diyagonal elemanlar; atomik yükler, orbital enerjileri veya polarizasyon gibi elektronik atomik parametrelerdir.
- b) Kimyasal bağ kurmuş atomlara karşılık gelen nondiyagonal elemanlar; bağ enerjisi, bağ sırası veya polarize edilebilirlik gibi bağların elektronik parametreleridir.

- c) Kimyasal bağ kurmamış atomlara karşılık gelen nondiyagonal elemanlar; geometrik olarak karşılıklı denk gelen atomlar arası mesafelerdir (R_{ij}).

bu matrisler birlikte ele alındığında $A \times A \times M$ öğeleriyle 3B bir matris elde edilir. Burada M, tüm elektronik parametre kombinasyonlarının sayısını ifade eder. Tüm aktif bileşiklerin ETM'leri inaktif bileşiklerin matrisleriyle karşılaştırarak, tüm aktif bileşiklerde bulunan ve inaktif bileşiklerde bulunmayan matris elementlerini içeren bir alt matris türetilir. Bu matriste yer alan bilgiler, yeni aktif bileşiklerin tasarımının yanı sıra çeşitli bileşiklerin aktivitelerine göre taranmasına izin verir ve Pha' 'yı temsil ettiği öne sürülür. Deneysel ve biyolojik aktivitesi bilinen ve konformasyon analizi yapılarak elektronik yapısı hesaplanan bileşik serisinin ETM'si aşağıdaki şekilde gösterilebilir.



Şekil 1.3. Üç Boyutlu Elektron Topolojik Matris.

Her bir molekülün üç boyutlu Elektron Topolojik Matrisi (3B-ETM) Şekil 1.3'te görüldüğü gibi hazırlanır. Oluşturulan bu ETM'nin her biri diyagonal elemanlara ($a^{(k)}$) göre simetrik olduğu için, şekilde sadece matrisin üst yarısı gösterilmiştir. Moleküldeki atom sayısı n adettir ve bağımsız elemanların toplam sayısına $(n(n+1)/2)$ eşittir. 3B-ETM'inde m terimi ETM'nin sayısını ifade eder ve elektronik parametrelerin seçimine bağlıdır. Molekülün elektronik özellikleri (atomik yükler, valans aktiviteleri, polarize edilebilirlik ve HOMO-LUMO enerjileri vb. gibi atomik parametreler) diyagonal elemanlar $a^{(k)}$ ($i=1, 2, 3...n$, ve $k=1, 2, 3...m$) ($n=m$) olarak seçilir. Nondiyagonal elemanlar ($n \neq m$) ikiye ayrılır;

- a) i ve j , aralarında kimyasal bağ olan iki komşu atomu temsil ediyor ise a_{ij} , polarize edilebilirlik, bağ mertebesi ve bağ enerjisi gibi i - j bağının elektronik parametrelerinden birisi olabilir.
- b) i ve j , aralarında kimyasal bağ olmayan atomları temsil ediyor ise, o zaman a_{ij}/R_{ij} atomlar arası uzaklığı gösterir. Böylece her matris hem elektronik (a_{ij}) hem de geometrik parametreleri (R_{ij}) içermiş olur.

Herhangi bir molekülün belirli bir konformasyonu için geometrik parametrelerin sabit olmasına karşı elektronik parametreler, atomik ve bağ parametrelerinin farklı kombinasyonları olarak alınabilir. Örneğin atomik yükler (atomik parametreler) ile bağ uzunlukları (bağ parametresi) veya atomik polarize edilebilirlik ile bağ enerjisi gibi değişik kombinasyonlar elektronik parametre olarak alınabilir. Bu kombinasyonlar sonucunda her biri için bir ETM oluşturulmuş olur. m adet elektronik parametre kombinasyonu ve n adet molekül varlığında her bir molekül için m adet ETM ve her bir kombinasyon için de n adet ETM elde edilir. ETM oluşturulduktan sonra aktif moleküllerin ETM elemanları ile inaktif moleküllerin ETM elemanları tek tek karşılaştırılır ve verilen doğruluk derecesinde aktif moleküllerde olup da inaktif moleküllerde olmayan matris elemanları grubu bulunur.

Bütün bu çalışmaların asıl hedefi, incelenen molekül serisinde aktivitede rol aldığı düşünülen ve spesifik bir geometriye sahip olan atomlar grubu olarak nitelendirilen Pha'yı açıklamaktır. Pha'nın varlığını bulmak ve yerini tayin etmek demek, biyolojik aktivitenin var ya da yok olduğunu açıklayabilmek demektir. Bu şekilde Pha yardımıyla hiçbir nicel büyüklük bildirmeden aktivitenin nitel (var/yok) tahmini için bilgi toplanmış olunur. Tabiki bu aktivite ölçümü için tek başına yeterli değildir, bazen Pha varlığında aktivite düşük olabilir ve molekül inaktif olarak değerlendirilebilir. Fakat Pha, aktivite tahmininin nicel bir ölçüsü ile tanımlanırsa işte o zaman Pha kavramının değeri artmış olur.

1.4.15. Levenberg-Marquardt (LM) Algoritması; Doğrusal Olmayan En Küçük Kareler (NLLS) Analizi

Levenberg-Marquardt (LM) algoritması, doğrusal olmayan en küçük kareler (NLLS) analizi için yaygın kullanılan güçlü ve sağlam bir yöntemdir. Model parametrelerinin

daha objektif olarak belirlenmesine olanak sağlar. En küçük kareler problemleri, veri noktaları ile fonksiyon arasındaki hataların karelerinin toplamını en aza indirerek, parametrelenmiş bir fonksiyonun ölçülen veri noktalarına bir dizi olarak yerleştirilmesi bağlamında ortaya çıkmaktadır [148]. Levenberg-Marquardt algoritması NLLS problemlerini çözmek için, MCET programı içerisinde kullanılmak üzere Klopman İndeksinin her bir etkileşim noktasındaki parametre için geliştirilmiştir.

L-R etkileşimi her bir küme içinde yer alan atomların farklı elektronik değerleri (büyük/küçük ve pozitif/negatif) ölçeğinde gerçekleşir. Bu etkileşim enerjisi konformerden konformere, non-linear olarak artabilir veya azalabilir. Ayrıca, L-R arasındaki etkileşim enerjisi, doğrusal olmayan bir denklem ile aktiviteyi verir. Bu yüzden geliştirilen model, NLLS ile yapılan bir optimizasyon ile gerçekleşir.

Reseptöre ait etkileşim bölgesinin her bir noktasındaki parametreyi tahmin etmek için, ligand tarafındaki karşılık gelen LRD'nin elektronik değeri kullanılır. Klopman indeksinde bir noktaya iki tip (elektrostatik ve kovalent etkileşimlere ait) elektronik değer karşılık geldiğinden reseptör tarafında da iki parametre sabitinin öngörülmesi gerekir. Bu parametreleri belirlemek için özel olarak Levenberg-Marquardt yönteminin algoritmasını MCET içinde düzenledik [149,150]. Klopman indeksinde aynı anda belirlenen her iki parametre eş zamanlı bir etkileşime uğrayarak belirlenir yani bir noktadaki reseptörün iki etkileşim parametresi birbirinden bağımsız veya ayrı değildir. Bu nedenle, bir tipin (örneğin; atomik yük) parametresi ayarlandıktan sonra, diğer tip (sınır orbitaldeki atomik katsayı) parametre buna bağlı olarak aynı anda hesaplanır. Her iki parametre değeri, NLLS sonuçlarına göre her model için minimum bir sapmada elde edilene kadar bir döngüde yeniden hesaplanır. Her iki parametre türünü de tahmin etmek uzun zaman ve hesaplama maliyeti gerektirir. Ancak, genellikle daha doğru sonuçları elde etmek için bu ayrıntı ve masraf önemsizdir.

Bu çalışmada NLLS yöntemiyle, ligandın bir dizi aktivite gözlemi ve kümelenmiş pozisyonlarındaki LRD değerleri kullanarak reseptörün bilinmeyen parametreleri doğrusal olmayan bir etkileşimle tahmin edilmiştir.

1.4.16. MCET Metodu

Sayın hocamız Prof. Dr. Yahya GÜZEL tarafından yazılan MCET programı [151-155] , 3D/4D QSAR incelemelerinde kullanılan CoMFA ve CoMSIA teknikleri gibi ligandlardaki atomların hizalanması ve eşleştirilmesi ilkesi üzerinde çalışır. Metodumuzun en önemli özelliği, birden fazla konformer arasında aktif konformasyon seçerek QSAR çalışmalarındaki dördüncü boyutu kullanmasıdır. Bir ilaç molekülü, atomlar arasındaki kimyasal bağı koparmadan 3B uzayda atomlarının farklı yönelmesiyle çeşitli konformasyonlara sahip olabilir ve oluşan konformerler arasında dinamik bir denge olduğu için, bu dönüşüm sürekli devam eder. Tüm konformerler arasından aktif konformerin reseptör ile etkileşimi sonucunda 4D QSAR yaklaşımı gerçekleşmiş olur. Bir ilaç tasarımının ne kadar etkili olduğunu anlayabilmemiz için ilacın reseptör ile oluşturduğu kompleks yapının aktif konformasyonunu bilmemiz bize yarar sağlayacaktır. Bir molekülün Pha'sı, reseptördeki etkileşim bölgesinin aktif konformasyonu ile bağlantılı olan bir grup atomun konfigürasyonu olarak tanımlanır ve bu konformasyonun her zaman en düşük enerjili olamayacağı bilinir. Çalışılan molekül serisindeki konformerler arasından, şablon ile en iyi şekilde çakışan en uygun yapı, reseptörle etkileşime girmek üzere seçilir ve bu işlem programımız tarafından otomatik olarak gerçekleştirilir.

Biyolojik etkileşimler için enerji hesaplamaları uzun ve zor bir yoldur ve bunun çözüme ulaştırılması adına seçilmiş moleküler konformerin enerjisi ile L-R etkileşim enerjisinin katkısı birlikte ele alınır. Bir molekülün konformerlerine enerji vererek ya da enerjisi düşürülerek, seçilmiş konformere dönüştürülebilir. Fakat bu dönüşüm sırasında verilmesi gereken enerji, konformerin reseptöre bağlanma enerjisinden büyük olmamalıdır. Yani konformerin reseptöre bağlanma enerjisi, seçilmiş konformere dönüştürülme enerjisinden yüksek olmalıdır. Böylece bir konformer, reseptörle etkileşime girebilmek için moleküldeki diğer konformerleri temsil edebilir.

MCET metodunu diğer yöntemlerden ayıran en önemli özelliklerden bir diğeri ise, reseptörle etkileşime girmek için en uygun yapıdaki tek bir tane konformerin olmasıdır. Yöntemin diğer önemli özelliği, Fukui indeksi, atomik yük, HOMO/LUMO katsayılarına ek olarak, Klopman İndeksi [153,156] gibi tarafımızdan tanıtılan LRD'lerin de kullanılabilmesidir. Bütün bunlar, reseptör ile etkileşime giren moleküllerin elektronik yapıları hakkında bize bilgi verir.

Deneyisel olarak spesifik bir aktiviteye sahip olduğu bilinen bileşiklerin aktivitesinin kaynağı olan ortak yapıdaki ligand çekirdek yapısı ve bunun üzerine etki eden yan gruplar, aktif konformasyon içinde aynı anda bulunur. Böylece, moleküler aktiviteden sorumlu ve aktif konformasyonla bağlantılı olan bu üç grubun oluşturduğu aktif yapı, ETM’de sağlanan üç boyutlu elektronik özelliklerle belirlenir.

QSAR uygulaması sırasında MCET yönteminde aşağıdaki adımlar sırasıyla uygulanır [157]:

- a) Şablon yapının atomları arasından en az bir tanesi fonksiyon olmak üzere toplam dört veya daha fazla atom Pha’nın çekirdek yapısını oluşturur. Çekirdek yapı, incelenen moleküllerin en az bir konformerinde bulunmak üzere başlangıç olarak alınır.
- b) Tüm konformerlerin arasından şablon yapıyla en uyumlu olan ve maksimum atom sayısında çakışan, molekülünü temsil etmek üzere seçilir [155].
- c) Seçilen konformerlerin atom yığınları arasından kümelenmeler yapılır ve yeterli sayıda atom bulunduran kümeler dikkate alınır.
- d) Ele alınan kümeler GA ile sorgulanır ve modele sadece bir kısmı dahil edilir.
- e) Aktiviteler LOO-CV yöntemi ile PLS yöntemi kullanılarak hesaplanır.

1.4.17. Yeni Lokal Reaktivite Tanımlayıcı: Klopman İndeksi

Önceleri kimyasal reaksiyonlardaki sert-yumuşak asit-baz (Hard-Soft Acid-Base, HSAB) etkileşimlerini daha detaylı olarak açıklamak [158,159] için ileri sürülen Klopman İndeksi, L-R arasındaki etkileşimi açıklamak üzere QSAR çalışmalarında ilk kez yeni bir LRD olarak tarafımızca kullanılmış ve literatüre tanıtılmıştır [149,150,153,155-157,160]. Klopman İndeksi’nin en önemli özelliği sert yumuşak asit baz yaklaşımını eş zamanlı olarak ele almasıdır [158,161].

İki ayrı (A ve B) molekül arasındaki c_A ve c_B ağırlık katsayısı kullanılarak ψ_A ve ψ_B orbitallerin lineer kombinasyonlarından yeni bir moleküler orbital (MO) ψ_{AB} oluşur. Basit bir Lewis asit-baz ($A+B \rightarrow AB$) reaksiyonu için, Klopman ve Jensen pertürbasyon moleküler orbital teorisi ve dalga fonksiyonunda, ψ_{AB} ’nin nasıl hesaplanacağı Eşitlik 1.25’te gösterilmiştir.

$$\Psi_{AB} = c_A \Psi_A + c_B \Psi_B \quad (1.25)$$

Pertürbasyon teorisi, L-R arasındaki etkileşim noktalarında kazanılan ($\Delta E < 0$) veya kaybedilen ($\Delta E > 0$) enerjinin bir ifadesini elde etmek için kullanılmıştır.

Klopman-Salem denklemine göre, iki ayrı bileşiğin karşılık gelen atomları elektrostatik etkileşim ve kovalent bağlarla, ayrı ayrı veya her ikisi ile etkileşime girdiğinde enerji kazancı veya kaybı hesaplanabilir [158,161]. Denklemin detaylı formu aşağıda verilmiştir;

$$\Delta E = - \sum_{a \in A, b \in B}^n (q_a + q_b) \beta_{ab} S_{ab} + \sum_{a \in A, b \in B}^n \left(\frac{Q_a Q_b}{\epsilon R_{ab}} \right) + \sum_{r \in A}^{occ.} \sum_{s \in B}^{unocc.} - \sum_{s \in B}^{occ.} \sum_{r \in A}^{unocc.} \frac{2 (\sum_{a \in A, b \in B}^n c_{ra} c_{sb} \beta_{ab})^2}{E_r - E_s} \quad (1.26)$$

A ve B	: Etkileşime giren moleküller
n	: İki molekül arasındaki etkileşim noktalarının sayısı
q_a	: a_m atomik orbitalindeki elektron popülasyonu, $m = 1, 2, 3 \dots n$
β ve S	: Rezonans ve Çakışma integralleri
Q_a	: a_m atomundaki toplam yük
ϵ	: Lokal dielektrik sabiti
R_{ab}	: a_m ve b_m atomları arasındaki mesafe
c_{ra}	: r molekül orbitalindeki a_m atomik orbitalinin katsayısı
E_r	: r molekül orbitalinin enerjisi

Burada, iki molekül (A ve B) arasındaki n adet etkileşim noktalarını dikkate almak için; n, A ve B terimleri Eşitlik 1.26'ya tarafımızdan eklenmiştir.

Elektrofiller, nükleofillerle yumuşaklık veya sertlikteki benzerliklere göre kovalent veya elektrostatik bağlanmayı tercih eder ve daha hızlı reaksiyona girerler [162]. Eşitlik 1.26'daki ilk terim, kapalı kabuk itmeden dolayı basitlik için ihmal edilecektir. Eşitlik 1.27'deki basitleştirilmiş Klopman İndeksi iyonik bağ, bağ yapmayan ve hidrojen bağ kuvvetlerinden oluşan Coulombic ve sınır orbital etkileşimlerinin aynı anda kullanıldığı bir tanımlayıcıdır. Sadece elektrostatik ve kovalent etkileşimi hesaba katarak ikinci ve üçüncü terimlerden oluşan bu denklem aşağıda verilmiştir;

$$\Delta E \approx \sum_i^n \left(\frac{Q_{nuc} Q_{elect}}{\epsilon R_i} \right) - 2 \sum_i^n \frac{(c_{nuc,i} c_{elect,i} \beta_i)^2}{E_{HOMO(nuc)} - E_{LUMO(elec)}} \quad (1.27)$$

A ve B moleküllerinin (QSAR için Ligand ve Reseptör) etkileşiminde; Eşitlik 1.27'nin ilk teriminde, A (nükleofil) ve B (elektrofil) molekülleri olarak ele alınırsa n adet noktada etkileşim gerçekleşmektedir. Birinci terimde; etkileşim noktasına karşılık gelen i noktasında atomların arasındaki mesafe (R) ve dielektrik sabitiyle (ε), i noktasının her iki tarafında yer alan kısmi yüklerin (Q_{nuc} ve Q_{elect}) etkileşiminden kaynaklanan elektrostatik enerjiye yol açarken ikinci terimde; A molekülünde HOMO (nükleofil) ve B'deki LUMO (elektrofil) üzerindeki i'nci atomların katsayıları (c_i) ve bu atomlar arasındaki rezonans integraller (β) nedeniyle kovalent bir enerjiye yol açar. Elektron verici (nükleofil veya baz) A moleküldeki i'nci atom ve elektron alıcı (elektrofil veya asit) B moleküldeki i'nci atom arasında bir etkileşim meydana gelebilir. İkinci terimdeki etkileşim enerjisi, ilgili moleküllerin elektrofil (asidik) veya nükleofil (bazik) karakterine bağlı olarak sınır orbital enerji seviye farkları, bu orbitaldeki i'nci atomların katsayıları ve rezonans integralleri ölçөгindedir. İki molekülün etkileşimi sırasındaki enerji değişimi Eşitlik 1.27'de iki terimin toplamı olarak verilir. İki molekülden birbirine enerji olarak yakın olanın HOMO'su ile diğerinin LUMO'su arasındaki etkileşim enerjisi, diğer dolu-boş orbitaller arasındaki etkileşim enerjisini ihmal edecek kadar büyüktür. Yukarıdaki denklem, bir nükleofilin HOMO'sunu ve bir elektrofilin LUMO'sunu kullanmak üzere basitleştirilmiştir. Bu sadeleştirilmiş son denklemde, iki ayrı tipdeki (hem elektrostatik hem de kovalent) etkileşimin ayrı ayrı olduğunu ima etmiyoruz, aksine, her iki tip etkileşimin de aynı anda olabileceğini söylüyoruz. Eşitlik 1.27 ile kimyasal reaksiyonların mekanizması, kimyasal reaktivitenin hem elektrostatik hem de sınır orbital katkılarıyla açık ve kolay hale gelmiştir [158,161]. Benzer şekilde, Pearson'ın HSAB teorisi de yük ve katsayı etkileşimlerine dayanmaktadır [163]. Klopman'ın moleküler komplekslere yaklaşımındaki son örneklerde; komplekslerin bağlanma enerjileri [164] ve Lewis asit/baz kimyasal reaksiyonunda H-akışı ile yük transfer enerjilerinin hesaplanması, uygun bir örtüşme olup olmamasına bağlı olarak vurgulanmıştır [165,166].

L-R etkileşimi sırasında, ligand ve reseptör arasındaki mesafe, dielektrik sabiti ve reseptör alanındaki pozisyon noktalarının değerleri her iki terimde de sürekli olarak verilir ve Kappa (κ) ve Ksi (ξ) sabitler olarak özetlenebilir.

κ (Q içeren) ve ξ (c'yi içeren) sabitleri ayarlanabilir sabitlerdir ve varsayım üzerine, reseptör alanındaki etkileşen atomların her biri için tam olarak bilinmemektedir. Bu ayarlanabilir sabitler aşağıdaki eşitlikler 1.28 ve 1.29 ile ifade edilmektedir.

$$\kappa = Q_{\text{elec}} / \epsilon R \quad (1.28)$$

$$\xi = (c_{\text{elec}} \beta)^2 \quad (1.29)$$

Ligand aktivitesi, L-R arasındaki reaksiyon esnasında ΔE enerjisi tarafından kurulan denge miktarından meydana gelir. Dolayısıyla, aktivite (A) ve ΔE enerjisi doğru orantılıdır. Eşitlik 1.30 ligandın LRD'sinden kaynaklanan etkileşim enerjisi yanıt değişkenleri olarak alınırken, her bir ligandın biyolojik aktivitesi bağımlı bir değişken olarak kullanılmıştır.

$$A_n = A_0 * e^{-\Delta E_n / RT} \quad (1.30)$$

Eşitlik 1.30'daki A_0 sabiti bilinmediği için, seri içindeki moleküllerin aktiviteleri referans moleküle göre hesaplanır. Referans molekülü için, $n = 1$ alınarak aşağıdaki eşitlik 1.31 türetilir.

$$A_n = A_l \frac{e^{-\Delta E_n / RT}}{e^{-\Delta E_l / RT}} \quad (1.31)$$

Eşitlik 1.31, Eşitlik 1.32'ye göre yeniden düzenlenir ve n numaralı molekülün aktivitesi (A_n), referansın (A_l) aktivitesine göre hesaplanır.

$$A_n = A_l e^{-(\Delta E_n - \Delta E_l) / RT} \quad (1.32)$$

Burada A_n , n-inci molekülün aktivitesi iken A_l , l-ninci referans molekülünün aktivitesidir. Modelin çıktısı, ligandın LRD'lerinden ve reseptör alanındaki ayarlanabilir sabitlerden doğan doğrusal olmayan bir işlevdir.

Gözlemlenen aktivite değerlerine göre hesaplanan ayarlanabilir sabitlerin anlamlı bir korelasyonu sağlanarak iyi bir istatistiksel sonuç veren bir model bulunabilir. Deneysel ve öngörülen aktivite değerlerinin istatistiksel sonuçları çok küçük bir farkla, NLLS yöntemi ile hesaplanmıştır. Tahmin edilen aktivite değerleri, reseptör alanındaki tüm pozisyonların ayarlanabilir sabitleri aynı anda hesaplandıktan sonra tespit edilebilir.

1.4.18. Reseptör ile İlaç Molekülünün Etkileşim Mekanizması

Bir molekülün biyolojik aktivitesi, molekülün reseptörle olan etkileşimi ile doğrudan ilişkilidir. Bu etkileşim mekanizması çok karmaşıktır ve bu nedenle biyokimya dalının zorlu problemleri arasındadır. Reseptörler hakkında sınırlı bilgiler olduğu için ilaç molekülü ile reseptör etkileşimleri dış etkilerin (metabolizma, vücut içi sıvı transferi vb.) de varlığından dolayı açıklaması zordur. Etkileşimin her bir adımında biyolojik ya da fizikokimyasal yöntemlere ihtiyaç duyulacağı için oldukça uzun bir yoldur ve çok zaman alabilir [151,152]. Bunun yanı sıra moleküler yapısı bilinen bileşiklerin biyolojik aktivitelerini bulma üzerine fazlasıyla deneysel veriler mevcuttur. İlaç ve reseptör etkileşiminde, mekanizma için nicel ölçümlere gerek duymadan sadece biyolojik olarak aktif ya da inaktiflik durumuna göre benzerlik ya da farklılıkların açıklanabildiği farklı çalışmalar mevcuttur. Bu verilere dayanarak, aktiviteden sorumlu olan Pha için bileşiklerin temel özellikleri hakkında bilgi edinilerek biyolojik aktivite formüllendirilebilir [67,167].

Hâlihazırda kullanılan QSAR tekniklerinin, ilaç ile reseptör arasındaki etkileşim mekanizmasını net olarak ortaya koyamaması bir sorundur ve bu nedenle bu mekanizma kapalı bir kutu gibi içinde sırlar saklamaktadır. Sadece bu kapalı kutudaki girdiler ve çıktılar analiz edilebilir ve ayrıntılı olarak karşılaştırılabilir. Bahsedilen çıktılar, biyolojik aktivite olarak nitelendirilen, deneysel olarak bulunmuş, ilaç ve reseptörün kantitatif etkileşimidir. Girdilerin ise kesinliği daha azdır ve gerçekten de molekülün hangi özelliklerinin biyolojik aktivitede rol alacağı belli değildir [67,167].

Bugüne kadar moleküler modelleme metodu birçok QSAR yaklaşımında 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. Molekülleri tanımlama biçiminin parametreleri genellikle fiziksel ve kimyasal özelliklere ve onların parametrelerine ihtiyaç duyarlar. Bu nedenle çeşitli parametreler geçmiş deneyimlere dayanarak direkt olarak kullanılamaz ve yeni bileşiklere uygulanamaz. Bu yüzden bilgisayar hesaplamalarıyla QSAR'da çözüm üretmek çok anlamlı ve en temel gereksinimdir. QSAR tekniklerinin de temel sorunu, doğru ve yeterli parametreleri bularak genel ve hassas biyolojik aktivite tahmininde karşılaşılan zorluklardır [67,167].

1.4.19. Stereokimya ve QSAR

QSAR modelinde biyolojik aktivitenin veya fizikokimyasal özelliğin hesaplanmasındaki belirsizliğin bir nedeni, tanımlayıcıların birbiriyle dejenerasyonudur. Yani bir modelde aynı işlevi gerçekleştiren ve aynı çıktıya yol açan farklı tanımlayıcılar olduğu gibi niteliksiz ve yetersiz tanımlayıcıların da olabilmesidir [149,157]. Binlerce tanımlayıcının üretilebileceği dikkate alındığında, hangi özelliğin bir tanımlayıcıyı kullanışlı hale getirdiğini sormak çok önemlidir. Bir tanımlayıcı iyi bir model oluşturmak için, bazı fizikokimyasal/biyolojik özelliklerle yapısal özellikleri ilişkilendirmeli, diğer tanımlayıcılarla minimum korelasyona sahip olmalı ve faydalı bir tanımlayıcı olarak geniş bir molekül sınıfına uygulanabilmelidir [168]. Bunun için molekül iskeletindeki yapısal farklılıklar küçük olsa bile bu farklılığı yansıtabilmelidir. Bu nedenle, model geliştirilmesinde en uygun tanımlayıcıların seçimi en zor ve en önemli görevlerden biri olarak kabul edilir [169,170]. Molekülün temel karakteristiğini verebilen niteliğe ve düşük dejenerasyona sahip olan az sayıdaki tanımlayıcıların kullanılması kolaylık sağlar [171]. Tanımlayıcı niteliği göz önüne alındığında, daha iyi ve gelişmiş özelliklere sahip tanımlayıcılar daha açıklayıcı olduğundan, bunların yer aldığı modeller anlamlıdır [172]. Moleküllerin geometrik yapılarının, içerdikleri atomların farklı koordinat değerlerinin ve atomların farklı elektronik özelliklerinin hesaba katıldığı LRD'ler, birbirine dejenerasyonu olmayan vektör uzayı olarak ele alındıklarından dolayı minimum korelasyona sahiptir ve biyolojik aktivitenin öngörülmesinde kullanılabilir.

Moleküler tanımlayıcılar, molekülün kimyasal bilgisini sembolik ve sayısal olarak temsil eden ve iki ana kategoriye giren mantıksal ve matematiksel sonuçlardır. Birincil tanımlayıcılar; 0D, 1D, 2D, 3D ve 4D olarak sınıflandırılırken [3,4,155,173-176] ikincil

tanımlayıcılar; Log P, molar kırılma, dipol momenti ve polarizasyon, moleküler ağırlık gibi genel fizikokimyasal özellikler olarak sınıflandırılır [141,177,178]. Tanımlayıcıların 0D'den 4D'ye etkinlik derecesi arttıkça, dejenerasyon azalır ve sıfıra kadar yaklaşabilir. İkincil tanımlayıcıların çoğu, özellikle enantiyomer içeren yakın yapısal izomerler ve çok benzer moleküller için yüksek dejenerasyon nedeniyle düşük kalite ve öneme sahiptir. Bir molekülün kimyasal yapısı ve/veya moleküler özelliklerini biyolojik aktiviteleriyle ilişkilendiren QSAR'a stereospesifikliğı dahil etmek bazı durumlarda gerekli olabilir [1]. QSAR incelemelerinde özellikle deneysel ölçümlerle elde edilen tanımlayıcılar gibi 0D, 1D, 2D veya 2.5D olan teorik tanımlayıcılar ile stereoizomerlerin aktivitelerini belirlemek mümkün değildir. Bu yüzden yüksek dereceden teorik tanımlayıcılar (konformer/konformerler için, sırayla, 3D/4D) ile QSAR modelinin belirlenmesi daha güvenli olur. 3D/4D-QSAR incelemelerinde neredeyse hiç dejenerasyon göstermeyen LRD'ler tercih edilebilir.

Farklı enerji seviyesindeki moleküler orbitallerin dikkate alınmasıyla atomların karşılık gelen katsayıları veya elektronik değerleri farklı LRD'leri doğurur. En anlamlı LRD, L-R arasındaki gerçek etkileşimi yansıtabilir. Buna rağmen farklı LRD'lerin ortak molekül orbital katsayılarına sahip olduğundan birbirine benzerlik göstermesi muhtemeldir. Örneğin atomik yükler, dolu orbitallerin katsayılarından hesaplanır. Buna rağmen bir LRD, diğerinden etkileşim mekanizmasını gösterebilir. HOMO/LUMO sınır orbital katsayıları (atomlar üzerindeki elektron yoğunluklarından türetilen kısmi atomik yükler), Fukui İndeksi ve diğer elektronik özellikler tek başlarına veya geleneksel tanımlayıcılarla kombinasyon halinde kullanılmışlardır [6,179-181]. Sınır orbital teorisine göre, nükleofilik/elektrofilik ve hidrojen bağ etkileşimleri, HOMO/LUMO orbitallerindeki enerji haritalarına göre açıklanabilir. Nükleofilik atak, HOMO-nükleofilden LUMO-elektrofile elektron akışıyla gerçekleşirken, elektrofilik atak ise hidrojen vericisi olan LUMO orbitalinden hidrojen alıcısı olan HOMO orbitaline hidrojen aktarımıyla gerçekleşir [182-184]. Elektron donörleri ve akseptörleri arasındaki farklı sübstitüenler nedeniyle meydana gelen E_{HOMO} ve E_{LUMO} enerji farklılıklarından dolayı hidrojene bağlı küçük grupların etkisine bakıldığında, elektrostatik atom yüklerinden kaynaklı Coulombic etkileşim görülürken sınır orbital katsayılarından kaynaklı kovalent etkileşimin ortaya çıktığı görülmüştür [183,185]. LRD'ler her iki etkileşimi ayrı ayrı inceleyebilir veya Klopman indeksindeki gibi birlikte sahip

olabilirler [158,161]. MCET içinde kullanılan Klopman indeksi, yüklerin (Natural, Mulliken ve Elektrostatik) ve sınır orbitallerin (HOMO/LUMO) karşılıklı çapraz çiftleştirilerek türetilmesi ve Fukui indeksinin farklılıkları LRD'in sayısını ayrıca artırmıştır. Buna göre; ligand tarafındaki Klopman indeksi olarak kullanılan nLKlopman'da; natural charge ve LUMO katsayılarından veya eHKlopman'da elektrostatik charge ve HOMO katsayılarından türetilmiştir. Benzer şekilde, Fukui indeksi; LUMO orbitaline 1 elektron yerleştiğinde veya HOMO orbitalinden bir elektronun uzaklaştığında, elektron yoğunluk farklarına bağlı olarak molekülün her bir atomdaki nükleofilik (f^+), elektrofilik (f^-) veya bunların ortalamasından doğan radikalik (f^0) atak etkisini gösterir.

Stereokimya göz önünde bulundurulduğunda atomlar, kartezyen değerlerine göre 3B uzayda rol aldıklarından, verilen bir kiral molekülün tüm stereoizomerlerinde birbirinden farklı davranışa sahiptirler. Molekül içinde sahip olduğu geometrik yapıya göre işlevselliğinden dolayı birbirinin yerinde kullanılamaz ve bu nedenle dejenere olmadığı düşünülmelidir. 3B uzayda kümelenmiş atomlar, enantiyomerler arasında ayırt edebilecek kapasitededir. Her bir kümedeki atomların aynı reseptör noktası ile etkileşime girebilmesi için kümelerin indeks sırasına göre vektörel olarak konumlandırılması gerekir. Bu indeksler arasından bir kısmı etkileşim noktalarına karşılık gelebilirken diğer kısmı fonksiyonel değildir. Fonksiyonel kümeler ile elde edilen reseptörün etkileşim geometrisi, kümedeki atomların kartezyen koordinatlarıdır ve Pharmacophore Model (PhaM) yapısını oluşturur. Pha, L-R ekileşiminde reseptörün aktif tarafında biyolojik aktiviteden sorumlu olan yapıdır ve bu noktalara karşılık gelen atomların elektronik özelliklerinden türetilen tanımlayıcı tipine bağlıdır. Pha sayesinde herhangi bir ligandın aktivitesi belirlenebilir ve 3B olarak konumlanması hakkında bilgi sahibi olunabilir. Bunun için, incelenmek istenen herhangi bir molekülün, belirlenen Pha yapısının temelini oluşturan çekirdek yapıya sahip olup olmadığına bakılır. Molekül ile şablon yapı üst üste çakıştırıldıktan sonra molekülün kalan atomlarından Pha'nın 3B kartezyen koordinat değerleriyle benzerlik gösterenler belirlenir. Pha'yı oluşturan her bir atomun fizikokimyasal, elektronik vb. özellikleri farklı tanımlayıcılar içerisinde kullanılarak L-R arasındaki etkileşim enerjisi ve aktivitesi hesaplanır.

Pha, toplam I-tane vektör indeksinden oluşur ve her bir noktasında i.nci indekste ele alınan bir molekül atom bulunduruyorsa o atomun LRD'si kadar bağımsız değişken

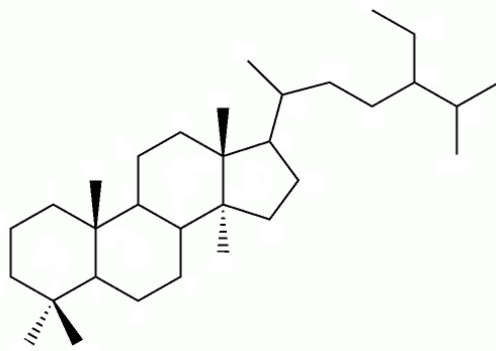
olarak aktiviteye katkı yapar. Pha'ya karşılık gelen ligandların LRD'leri ve reseptörün hesaplanmış parametre değerleri birlikte toplam aktivitede rol alır.

En anlamlı LRD tanımlayıcısı kullanılarak 3D QSAR incelemeleri ile etkileşimden sorumlu en doğru Pha belirlenebilir. Bunun belirlemenin kesin bir yolu olmamasına rağmen, en az sayıda etkileşim noktası, en çok fonksiyonel atomun olduğu Pha yapı ve en iyi istatistik sonuç, başlıca değerlerdir. 3D QSAR incelemeleri için geliştirmiş olduğumuz MCET yazılımında birbirinden farklı LRD'ler kullanılmaktadır [151]. Bunların arasında yeni bir LRD olarak literatüre kazandırdığımız “Klopman İndeksi” en etkin olanıdır [153] ve bu çalışmada da 31 adet steroid bileşikler [13] ve 26 adet fenoterol stereoimerleri [14] üzerinde diğer LRD'ler ile kıyaslanmak için uygulanmıştır.

1.5. Seçilen Molekül Serileri

1.5.1. Steroid Molekül Serisi

Steroidler, birbiriyle kaynaşmış dört halkadan oluşan karbon iskeletli lipidlerdir [186]. Steroidler asetil koenzim A (KoA) biyosentez yolundan oluşurlar [186]. Bitkiler, hayvanlar ve mantarlarda yüzlerce çeşit steroid tanımlanmıştır. Steroidlerin canlılardaki en önemli işlevi, genellikle hormon olarak faaliyette bulunmalarıdır [187]. Steroid hormonlar fizyolojik etkilerini steroid hormon reseptör proteinlerine bağlanarak gösterirler [187]. Bu reseptörlere bağlanınca gen transkripsiyonuna ve hücre fonksiyonunda değişimlere neden olurlar [187]. İnsan fizyolojisi ve tıpta en önemli steroidler kolesterol, steroid hormonlar, onların öncüleri ve onların metabolitleridir. Steroidlerin genel iskelet yapısını gösteren molekül yapısı Şekil 1.4'te verilmiştir.

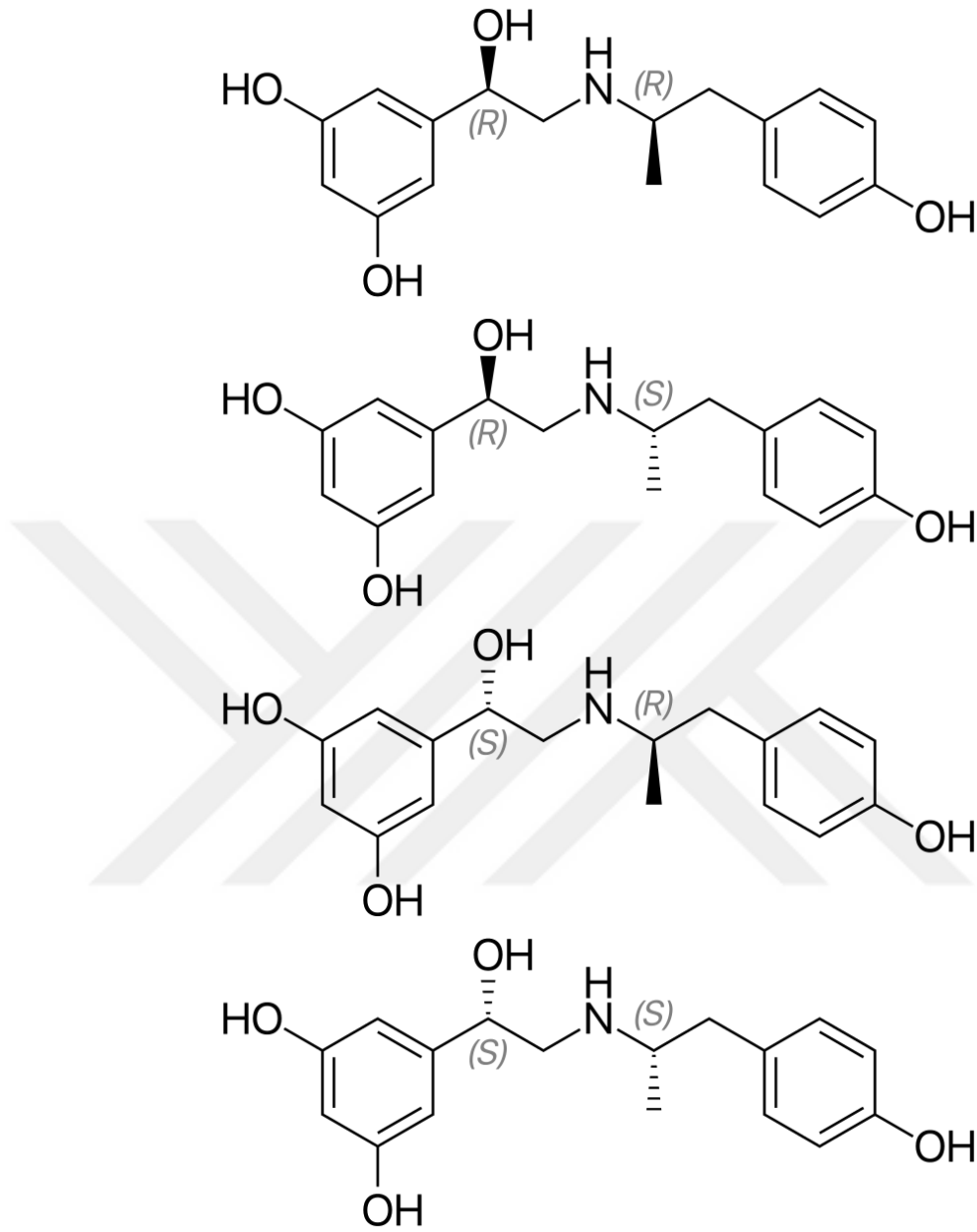


Şekil 1.4. Steroid iskelet yapısı

Steroidler, halkalara bağı fonksiyonel grupların çeşitliliği nedeniyle 3B yapı olarak birbirinden oldukça farklıdır. Stereoizomerler, aynı moleküldeki atomlarının sayısı ve bağ yapıları aynı olduğu halde bağlanış şekilleri ve uzaydaki dizilişleri sebebiyle 3B fizikokimyasal ve biyoaktif özellikleri bakımından birbirinden farklıdır. Pek çok ilaç, genellikle bir bileşiğin tek bir stereoizomerinden oluşur ve bunlardan biri vücut üzerinde terapötik etkilere sahipken, diğeri toksik olabilir. Bazı ilaçların reseptörleri tarafından tanınması dahil olmak üzere birçok biyokimyasal reaksiyonun stereospesifikliği, aynı karbon atomuna bağı atom veya atom gruplarının farklı rotasyonu olan kiraliteyle açıklanabilir [1].

1.5.2. Fenoterol Stereoizomerleri Serisi

β^2 -AR agonisti (bağlanma afinitesi yüksek, aktiviteyi arttırıcı etkisi yüksek) [188] olan fenoterol astım tedavisinde [189] ve konjestif kalp yetmezliğinin tedavisinde de kullanılır [190]. Fenoterolün 3B yapısına bakıldığında iki kiral merkezi vardır ve bu nedenle (R,R), (R,S), (S,R) ve (S,S) olmak üzere dört adet stereoizomeri mevcuttur. Klinik olarak kullanılan ilaç (rac-fenoterol) (R,R) ve (S,S) izomerlerinin rasemik bir karışımıdır [191]. β^2 -AR'nin enantioselektifliğini teyit için yapılan çalışmalarda (R,R) ve (S,S) enantiyomerlerinin (R,S), (S,R) enantiyomerlerine göre daha aktif olduğu görülmüştür [192,193]. Bu nedenle klinik ilaçlarda (R,R) ve (S,S) enantiyomerlerinin rasemik karışımı kullanılır.



Şekil 1.5. Fenoterolün yaygın dört stereoizomeri

Stereoizomerleri 3D QSAR incelerken sıradan tanımlayıcılarla Pha yapısını aydınlatmak oldukça zor olduğu için bu yapıları 3B olarak daha ayrıntılı açıklamak üzere özellikle bu iki seriyi seçtik. MCET programımız içinde kullandığımız Klopman İndeksi tanımlayıcısı hem elektrostatik yük hem de sınır orbital katsayılarını eş zamanlı kullanabildiğinden 3B yapıları aydınlatmak için oldukça yeterli ve güvenilir bir tanımlayıcı olduğunu bu tez çalışmasında her iki seri üzerinde ispatladık.

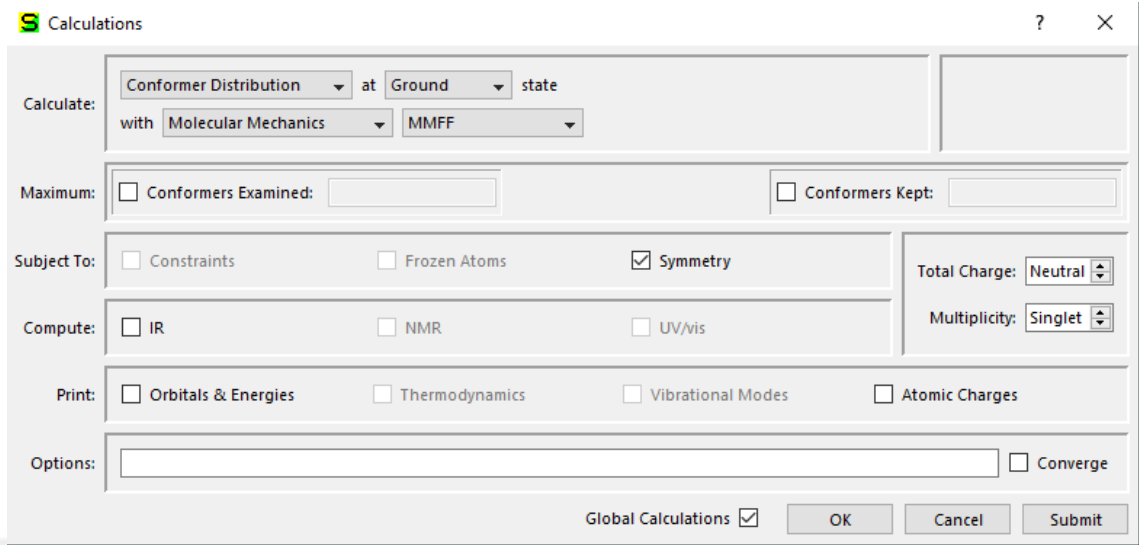
2. BÖLÜM

YÖNTEM VE MATERYAL

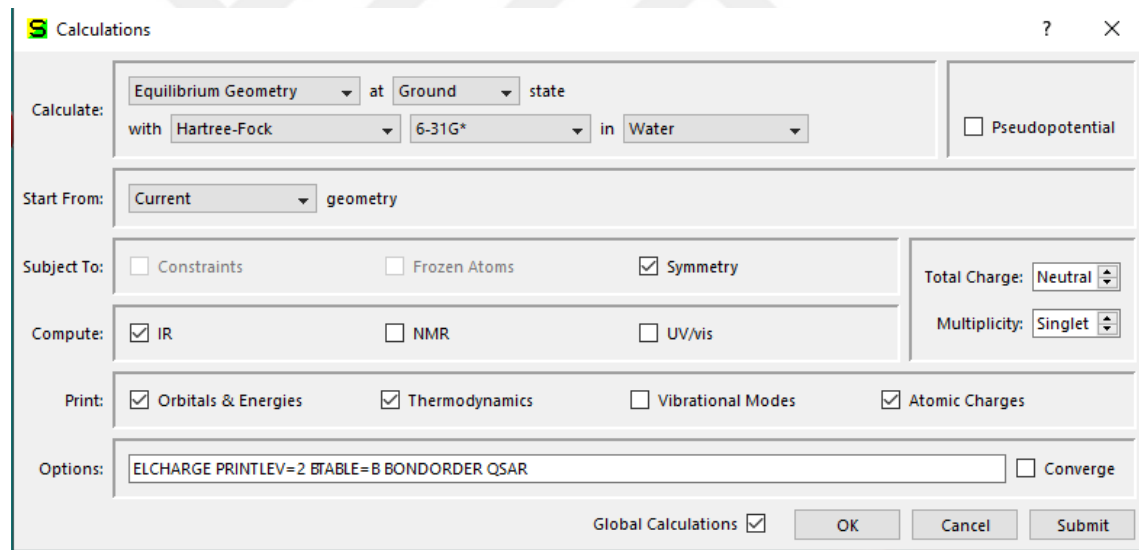
Literatürden aldığımız her iki molekül serisinde moleküler modelleme için, moleküllerin 3B geometrik yapıları Spartan'8 paket programında çizilerek, Molecular Mechanics Force Field (MMFF) ile farklı konformerler oluşturuldu. Steroid serisindeki her bir konformer için kuantum kimyasal hesaplamalar Hartree-Fock 6-31G* yöntemiyle, fenoterol stereoizomerleri serisindeki her bir konformer için kuantum kimyasal hesaplamalar DFT-B3LYP 6-31G* yöntemi ile yapıldı. En yüksek enerjili konformerler, sayı olarak bulunma olasılığı en düşük olduğu için (Boltzmann Dağılımı'na göre) konformerler arasından çıkartıldı. Kalan konformerlerin geometrik ve kuantum bilgilerini saklamak üzere ETM programı ile kaydedilerek ETM.txt ve cartCoord.txt dosyaları oluşturuldu [146,147]. Daha sonra 3D QSAR çalışması için MCET metodu içerisinde hesaplamalar yapıldı ve L-R etkileşimi için uygun Pha yapısı ve uygun model tahminlerinde bulunuldu.

2.1. Kuantum Kimyasal Hesaplamaların Yapılması

Spartan'8 paket programı ile yapılan moleküler modelleme hesaplamaları ve optimizasyonunun ara yüzleri Şekil 2.1'de Moleküler Mekanik, Şekil 2.2'de Hartree Fock (HF) ve Şekil 2.3'de de Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi (DFT-Density Functional Theory) ile gösterilmiştir.



Şekil 2.1. "Moleküler Mekanik" hesaplamaların yapıldığı Spartan'8 programının ara yüzü.



Şekil 2.2. HF-6.31 G* hesabının Spartan'08 programındaki ara yüzü

Stereoid serisinin konformerlerinin kuantum kimyasal hesaplamaları HF ile fenoterol stereoisomerlerinin konformerlerinin kuantum kimyasal hesaplamaları da DFT yöntemi ile yapılmıştır.

Calculations

Calculate: Equilibrium Geometry at Ground state
with Density Functional B3LYP 6-31G* in Water ☐ Pseudopotential

Start From: Current geometry

Subject To: ☐ Constraints ☐ Frozen Atoms ☒ Symmetry

Compute: ☒ IR ☐ NMR ☐ UV/vis

Print: ☒ Orbitals & Energies ☒ Thermodynamics ☐ Vibrational Modes ☒ Atomic Charges

Options: ELCHARGE PRINTLEV=2 BTABLE=B BONDORDER QSAR ☐ Converge

Global Calculations ☒ OK Cancel Submit

Şekil 2.3. Spartan'8 programında DFT-B3LYP 6-31G* hesabının ara yüzü.

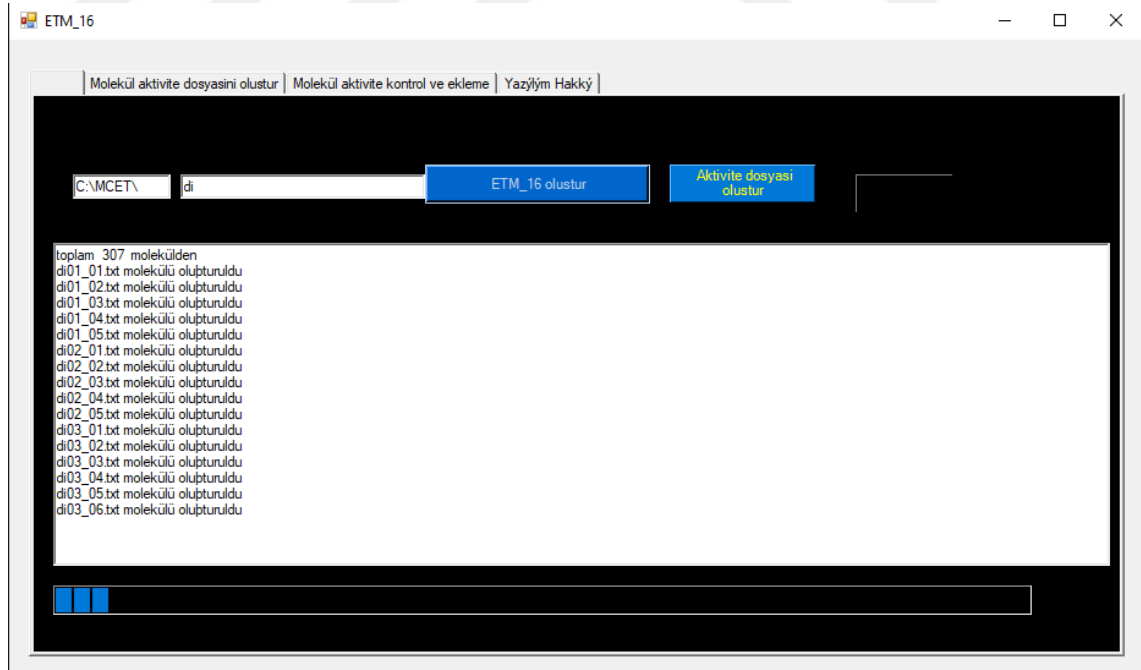
Moleküler modelleme yöntemlerinde, moleküler sistemlerin tanımlanması için atomik karakterler ortak bir özellik olarak kullanılır. Bir molekülün konformerleri arasında birbirine benzeyenler ortak bir yapıda hizalanır ve yüksek enerjili olanlar iptal edilir [155]. Boltzmann dağılımına göre, her bir moleküldeki en düşük enerjili molekül, diğerlerine göre bulunma olasılığı daha çok olacağından dolayı molekülünü temsil etmek üzere seçilir.

2.2. Elektron Topolojik Matris (ETM) Programı

Her bir konformerin ETM'i, konformerin atomik tanımlayıcıların sayısal değerleri ile 3B uzayda temsil edildiği matematiksel bir göstergedir. Konformerlerin Spartan'8 programında HF ve DFT yöntemiyle kuantum kimyasal hesaplamaları yapıldıktan sonra, atomların elektronik, geometrik ve topolojik değerlerini içeren bilgiler bir matris olarak verilir [194,195]. ETM ile benzer moleküller yapısal olarak tanımlanarak atomik pozisyonlar kümelenip, moleküller hızlı bir şekilde yapısal olarak karşılaştırılabilir. Hesaplama sırasında kartezyen koordinat değerleri, veri kaynağı olarak ETM değerleri ile birlikte kullanılır. Her bir molekülün konformerinin kuantum kimyasal hesaplamalardan moleküler modelleme ile elde edilen sonuçları .txt dosyası olarak Şekil 2.4'te gösterilmiştir. Bu verilerin kullanılarak ETM'nin oluşturulduğu ETM programının (ETMP) ara yüzü de Şekil 2.5'te verilmiştir. Bu veriler sadece serilerden birisi için örnek gösterilmek amaçlı eklenmiştir. İşlemlerin hepsi her iki molekül seti için de tekrarlanmıştır.

di01_01	5.07.2021 08:47	Metin Belgesi	2,343 KB
di01_02	5.07.2021 08:47	Metin Belgesi	2,328 KB
di01_03	5.07.2021 08:48	Metin Belgesi	2,326 KB
di01_04	5.07.2021 08:48	Metin Belgesi	2,341 KB
di01_05	5.07.2021 08:49	Metin Belgesi	2,341 KB
di02_01	5.07.2021 11:03	Metin Belgesi	2,343 KB
di02_02	5.07.2021 11:03	Metin Belgesi	2,341 KB
di02_03	5.07.2021 11:04	Metin Belgesi	2,328 KB
di02_04	5.07.2021 11:04	Metin Belgesi	2,326 KB
di02_05	5.07.2021 11:04	Metin Belgesi	2,341 KB
di03_01	5.07.2021 11:24	Metin Belgesi	2,342 KB
di03_02	5.07.2021 11:25	Metin Belgesi	2,371 KB
di03_03	5.07.2021 11:25	Metin Belgesi	2,346 KB
di03_04	5.07.2021 11:25	Metin Belgesi	2,341 KB
di03_05	5.07.2021 11:25	Metin Belgesi	2,343 KB
di03_06	5.07.2021 11:26	Metin Belgesi	2,343 KB
di03_07	5.07.2021 11:26	Metin Belgesi	2,344 KB
di03_08	5.07.2021 11:26	Metin Belgesi	2,345 KB
di03_09	5.07.2021 11:27	Metin Belgesi	2,378 KB
di03_10	5.07.2021 11:27	Metin Belgesi	2,343 KB

Şekil 2.4. Kuantum kimyasal hesaplamalar sonucu hazırlanan *.txt dosyaları.



Şekil 2.5. Kullanılan Elektron Topolojik Matris Programının ara yüzü.

Bu matrisin satırları ve sütunları aynı indeks atomlarıyla sıralanır. Farklı atomlar arasındaki topolojik mesafe (Ångström, Å) veya bağ uzunluğu nondiyagonal elemanken, aynı atomlar arasındaki tanımlayıcı elektronik değerler diyagonal

elemanlardır. Elektrostatik yük değerinin yerine farklı diyagonal değerler kullanıldığında, nondiyagonal değerler sabit kalırken iki boyutlu yeni bir ETM oluşturulur. Oluşturulan her ETM'nin art arda gelmesi ile üç boyutlu bir matris meydana gelir.

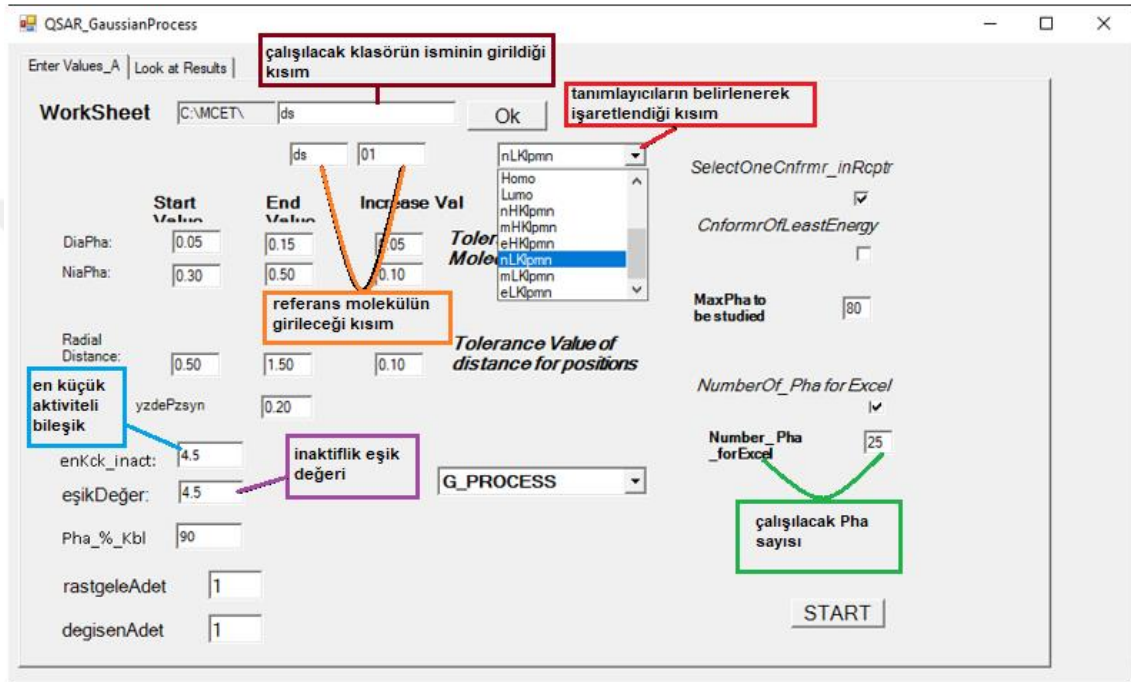
2.3. MCET Metodu

Bölüm 1'de, Prof. Dr. Yahya GÜZEL tarafından yazılan programımız MCET'in, QSAR incelemeleri için ne kadar faydalı ve açıklayıcı bir teknik olduğunu açıkladık. L-R arasındaki etkileşimi açıklamada kullandığımız MCET metodu içerisindeki adımlar aşağıda sıralanmıştır:

- a) Kuantum kimya hesaplamaları, ETM'ye çevrilerek 3B tanımlayıcılar oluşturulur.
- b) Molekül serisi içinde en basit, en az konformerli ve en aktif molekül belirlenerek onun en düşük enerjili konformeri şablon olarak seçilir.
- c) Şablondaki atomların kombinasyonundan en az bir tanesi fonksiyonel atom olmak üzere dört, beş veya altı tanesinin oluşturduğu bir çekirdek yapı diğer geri kalan atomların maksimum sayıda çakışmasına (superimpose) hizmet etmek için hizalanarak ('align') senaryolanır. Böylelikle moleküller reseptörle uyumlu hale getirilir.
- d) Toplam molekül sayısının 1/5'inden fazla sayıda atomların 3B koordinat değerlerine göre çakıştığı kümeler etkileşim noktaları için dikkate alınır.
- e) Bu kümeler arasından etkili olanlar GA ile belirlenir.
- f) Yeni bir tanımlayıcı olarak kullanılan Klopman İndeksi, diğer LRD'ler ile kıyaslanarak performansından emin olunur.
- g) NLLS uygulaması, Levenberg-Marquart yönteminde işletilerek reseptöre ait parametreler hesaplanır.
- h) Eğitim ve harici test setleri, optimal yarılarak birinde ileri sürülen model diğerinde doğrulanır.
- i) LOO-CV yöntemi ile Pha yapısı eğitim ve test setlerine ait olarak istatistiksel Q^2 ve R^2 değerleri ile tahmin edilip doğrulanır.

Program içerisinde seçilen LRD'nin tütüne bağı olarak L-R arasındaki etkileşim noktalarından kaynaklanan enerji değişir. MCET programında LRD tipi olarak Mulliken/Natural/Elektrostatik atom yükleri, HOMO/LUMO katsayıları, Fukui indeksi ve Klopman indeksi kullanılmaktadır.

Şekil 2.6'da MCET programının ara yüzü gösterilmiştir.



Şekil 2.6. 3D QSAR hesaplamaları için kullanılan MCET programının ara yüzü.

MCET programının faydaları aşağıdaki gibi listelenmiştir [150]:

- Üç boyutlu L-R etkileşim mekanizmasını açıklayabilen Pha, tek bir LRD tipi kullanılarak daha kolay anlaşılabilir.
- Reseptör tarafındaki hesaplanan parametrelerin pozitif/negatif ya da büyük/küçük değerlerine bakılarak ligand üzerindeki atomun aktiviteyi nasıl etkilediği hakkında yorum yapılabilir. Reseptörün hesaplanan parametresi etkileşimin her noktasında sabittir fakat ligandların LRD'leri farklı değerlerle farklı etkileşimlere sahip olabilir.
- Reseptör tarafındaki aktif noktalarla uyumlu ligandın 3B yapısına karşılık gelen LRD'lerin elektrostatik ve kovalent etkileşimleri ayrı ayrı veya aynı anda birlikte kullanılabilir.

- d) Hem ligandın LRD'leri hem de reseptörün parametreleri Excel dosyasında ayrı ayrı verildiğinden, aktivite sonuçları yeniden hesaplanabilir ve analitik olarak yorumlanabilir.
- e) Etkileşime dâhil olan ligandın seçilen konformerinin çekirdek yapısı, atomik pozisyonları ve atomik değerleri, şablona göre düzenlenmiş ETM olarak ikinci bir Excel dosyasında verilir ve her molekülün seçilen konformer değerleri kullanılarak yapılan aktivite tahmini geometrik olarak gösterilebilir.

2.3.1. En Küçük Kareler (PLS) Yöntemi

Bir analizde, nispeten çok sayıda birbiriyle ilişkili tanımlayıcı kullanıldığında biyolojik aktiviteyi açıklamak için PLS kullanılabilir [111,112]. Özellik sayısı, bileşik sayısına eşit veya daha fazla olduğunda, matris tekil olduğu için çoklu regresyon analizi kullanmak mümkün değildir. Bununla birlikte, gerçekten bağımsız özelliklerin sayısının, bir analizde göz önünde bulundurulabilecek özelliklerin sayısından daha az olduğu düşünülebilir. Birkaç özellik, tüm bileşikler üzerinde benzer bir varyasyon gösterdiğinde, bu özellikler tek bir grubun üyeleri olarak görülebilir. Bu nedenle, içerdiği gerçek özellik bilgisi miktarı, bireysel özelliklerin toplam sayısı ile değil, bu tür grupların sayısı ile ilgilidir [140].

PLS, biyoaktivite ile ilişkili değişkenler grubunu keşfeder ve gizli değişkenler olarak adlandırılan, her biri tek bir tanımlayıcı grubuyla yüksek düzeyde ilişkili ve kalan gruplarla zayıf bir ilişki içinde olan bir dizi mükemmel ortogonal değişken üretir. Daha fazla gizli değişken eklemek, biyolojik aktivitenin daha fazlasını açıklar. PLS, bu orijinal değişkenlerde kodlanmış varyansı çıkararak ve aynı anda biyolojik aktivite ile en çok ilişkili olan özelliklere daha fazla ağırlık vererek her bir orijinal özelliğin her bir gizli değişkene katkısını hesaplar. Bir PLS analizi, yüzlerce veya binlerce girdi özelliği ile başlasa bile genellikle ondan daha az gizli değişkenle sonuçlanır.

2.3.2. Klopman İndeksi

Klopman-Salem eşitliği ilk başta kimyasal reaksiyonlardaki Hard-Soft Asit-Baz (HSAB) etkileşimleri daha detaylı açıklamak için verilmiştir [158,159]. L-R arasındaki etkileşimleri açıklamak üzere ilk kez yeni bir LRD olarak tarafımızdan literatüre

tanıtılmış ve kullanılmıştır [153,156]. Basitleştirilmiş bu tanımlayıcı ile sert ve yumuşak etkileşim eşzamanlı olarak birlikte ele alınmaktadır.

$$\Delta E = \frac{Q_{nuc}Q_{elec}}{\epsilon R} - \frac{2(c_{nuc}c_{elec}\beta)^2}{E_{HOMO(nuc)} - E_{LUMO(elec)}} \quad (2.1)$$

Eşitlik 1’de görüldüğü gibi basitleştirilmiş “Klopman İndeksi” eşitliğinde hem atomik yük hem de HOMO/LUMO katsayıları birlikte kullanıldığından dolayı, sadece atomik yük veya sınır orbital katsayılarından oluşan diğer tanımlayıcılardan daha etkilidir.

Eşitlik 1’de gösterildiği gibi, ligand ve reseptörden birinin HOMO’su ile diğerinin LUMO’su arasındaki etkileşim enerjisi öne çıkmaktadır. Her ikisinin orbitalleri arasındaki enerji farkı büyük olduğunda; ilk terime bağlı olarak yük kontrollü sert asit-baz etkileşimi gözlenirken, enerji farkı küçük olduğunda ise ikinci terime bağlı olarak sınır orbitalinde katsayı kontrollü yumuşak asit-baz etkileşimi vardır. Eşitlik 1’deki bu iki etkileşim ayrı ayrı değil birlikte ele alınarak tek bir LRD tanımlayıcı olarak genelleştirilmiştir. Buna göre basitleştirilmiş Klopman İndeksi, elektrostatik, kovalent ve hidrojen bağını taşıdığından dolayı diğer LRD’lerden daha gerçekçi, doğru ve genel olma şansı büyüktür. Bu yeni LRD’in üstünlüğü diğer LRD’ler ile kıyaslayarak gösterilmeye çalışılmıştır. MCET yazılımı içinde kullanılan; align, superimposed, kümeleşme, GA, LOO-CV, doğrusal olmayan etkileşimle parametrelerin belirlenmesi, istatistik hesaplamalar gibi tüm yaklaşımlar aynı olduğu halde farklı LRD’in kıyaslanması, doğrudan LRD’den doğan üstünlüğü yansıtmaktadır [157].

2.4. Atomların 3B Uzayda Kümelenmesi

En aktif, en basit ve en az konformer sayısına sahip moleküllerin en düşük enerjili konformerleri şablon olarak seçilir [147]. Şablondaki atomların kombinasyonu ile farklı çekirdek yapılar üretilir ve en iyi sonuca sahip farmakoforun bulunması için program döngüsü içinde bu yapılar değiştirilerek ele alınır. İncelenen moleküllerin konformerleri içinde en az birinin bu çekirdek yapıya sahip olması, aktif olması için temel şarttır. Moleküllerden birisi aktif olduğu halde konformerinin hiç birinde bu çekirdek yapı bulunmuyorsa ele alınan bu çekirdek yapı yetersizdir ve farmakofor için başlangıç yapısını oluşturamaz. Bu özellikteki çekirdek yapılar geri plana atılır veya hiç değerlendirilmez. Çekirdek yapıya göre hizalanan moleküllerin geri kalan atomları çakıştırılarak reseptöre göre uzayda düzenlenir. Maksimum sayıda çakışan atoma sahip

konformer kendi molekülünün aktivitesinden sorumlu olarak seçilir. Atomlar kartezyen koordinat değerlerindeki benzerlikleriyle vektörel olarak kümelenebilir. Yanlış hizalanma ve dolayısıyla yanlış üst üste çakıştırma sonucu hatalı seçilmiş konformere göre yapılacak kümeleme işlemleri, farmakoforun başlangıç adımındayken yetersizliğe sebep olur. Bu yüzden çekirdek yapının iyi seçilmesi önemlidir ve yeni bir çekirdek yapı ele alınarak işlemlerin tekrarlanmasıyla hata kaynağı bertaraf edilebilir.

Çekirdek yapının içinde en az bir fonksiyonel atom olmak üzere şablondaki atomların farklı kombinasyonlarından çok sayıda çekirdek yapı oluşturulabilir. Bunların arasında tüm moleküllerde ortak yapıda olanlar çekirdek yapı için aday olabilir. Ele alınan çekirdek yapısına göre moleküller uzayda öyle bir tarz ile düzenlenmiş olmalı ki; kümelerdeki atom sayısı maksimum olabilsin ve bu kümelerden bazılarının koordinat değerleri reseptörün aktif yapısıyla uyumlu olsun. Bunlara göre aday çekirdek yapılarından en iyisi kümelerdeki LRD değerlerinden elde edilen istatistiksel sonuçla belirlenebilir. Şablonun atomlarıyla en çok sayıda çakışmış atomu olan ve dolayısıyla en iyi üst üste çakışmış olan bir konformer, reseptörle etkileşimde sorumlu olabilir. Her bir molekül için bir konformerin 3B koordinatta yönelmiş atomlarının pozisyonları, reseptörle uyumlu olarak kümelenmek için kullanılır.

Kümelenmenin olgunluğu, molekül iskeletlerinin başlangıç olarak iyi hizalanmasına ve bir konformerin atomlarının şablonla üst üste çakışma performansına bağlıdır. Çok iyi kümelenme için farklı tolerans değerleri denenmelidir. Şablonun bir atomu etrafında kümelenme sırasında konformerin bir atomu, koordinat değerine göre ele alınan toleransla küme içine girebilir veya girmeyebilir. Ayrıca verilen bir limit değere göre yetersiz sayıda atom içeren küme adayları kümelenmenin dışında kalabilir.

2.5. GA Uygulaması

Kümeler arasından kombinasyonla optimum alt küme, GA ile belirlenir. Bu alt kümenin 3B pozisyonları Pha yapısını oluşturur. Reseptör tarafındaki parametre başlangıç olarak en iyi istatistik sonuca sahip çekirdek yapısı alındıktan sonra yeni bir kümenin pozisyonu bu yapıya ilave edilmeye çalışılır. Mevcut alt kümeye yeni bir eleman ilave etmek için ilaveden sonraki istatistik değer in öncekinden daha iyi olması gerekir. Alt kümenin eleman sayısı, tüm elemanların ilave denemeleri yapıldıktan sonra en iyi istatistik iyileşmeye göre yapılır. Bazen bu denemeler sonunda ciddi bir artış

gözlenmezse alt küme sayısının artırılamayacağı anlaşılır. Bir küme içindeki tüm atomlar, rakipleri olarak tüm kümelerdekinden daha etkin bir şekilde moleküllerinin aktivitesine katkı sağlarsa Pha yapısına ilave edilir. Gerçek bir model, mevcut kombinasyondaki kümelerin sayısını artırmak üzere geri kalan kümeler arasındaki en anlamlı olanı seçen ve diğer fazlalıkları hariç tutan GA adımları ile oluşturulabilir. Analiz edilen tüm veri kümelerindeki atom özelliklerini model içinde işleyen bir GA kullanılarak, ileri yönde özellik ekleme adım seçim algoritması uygulanmaktadır. Ele alınan LRD özelliklerine göre oluşan alt kümeden daha doğru, yüksek bir sınıfa sahip yeni bir alt kümenin bulunmasına çalışılır. Ek olarak, kademeli bir ileri seçim ile ele alınan küme için algoritma tarafından döndürülen sonuçlar, geri kalan tüm kümeleri işleyen sonuçlarla karşılaştırılmaktadır [196]. Bu nedenle, ileri beslemeli seçim yöntemiyle döndürülen özellik seti üzerine inşa edilen kombinasyonun doğruluğu ne kadar yüksek ise Pha yapı o kadar gerçeğe yakın olur. Tüm kümeler sırayla mevcut alt sete ilave yapılmasına rağmen her bir kümenin katkısı az olduğunda veya hiç olmadığında küme ilavesi durdurulur ve kümelerin kombinasyonu tamamlanır. GA'nın çalıştırılması sırasında ardışık yinelemelerle etkin küme rafine edilebilir. Hangi kümenin ilave edildiği, modeli oluşturan kombinasyon kümelerdeki LRD değerlerinden yapılan regresyon analizi ile anlaşılmaktadır. En iyi istatistiksel sonuçlara göre Pha'in, her kombinasyon için oluşturulan doğrusal olmayan modeller arasından kurulduğu tahmin edilmektedir [197].

2.6. Eğitim ve Test Setlerinin Optimum Gruplandırılması

Biyolojik aktivitesi bilinen ve inceleme altına alınan bir seri, eğitim ve test setleri olarak iki gruba ayrılır. QSAR modeli kurmak için eğitim setindeki aktiviteden birini hesap dışı bırakarak geriye kalan verilerle LOO-CV yapılır. Dışarıda bırakılan molekül için aktivite, diğerlerinden çıkartılan model ile tahmin edilerek Q^2 değerleri hesaplanır. Programdan çıkartılan modele dayanarak fonksiyonel özellikler ile test seti bileşikleri için deneysel aktiviteler, teorik olarak hesaplananlar ile R^2 ölçeğinde doğrulanır.

Eğitim ve test setlerindeki moleküller değiştikçe, bağımlı ve bağımsız değişkenlere ait verilerdeki vektör dizileri değişir. Sınıflandırma yapılırken eğitim ve test setleri arasında moleküllerin gereksiz yer değiştirmesi önlenabilir ve iki set arasında iyi bir sınıflandırma oluşturularak modeldeki belirsizlik azaltılabilir. İyi bir sınıflandırma,

setlerdeki birbirinin aynısı ya da birbirine çok yakın moleküllerin gereksiz olarak aynı yerde yığılmasını önlemekle sağlanır. Eğitim ve test setlerinin aktiviteleri ve iskelet yapıları arasındaki benzerlik ve dağılımların yakın gruplaması için uygulanır. Çok dikkatli olunsu bile, molekülleri rastgele olarak uygun şekilde her iki sette gruplamak mümkün olmayabilir.

GA'nın başarısı, moleküllerin etkili eğitim ve test setlerinin gruplandırılmasına bağlıdır. Test molekülündeki aktiviteyi gerçekçi bir modelle hesaplayabilmek için, eğitim setindeki moleküllerin atomik pozisyonları test setindeki moleküllerinkine yakın olması önemlidir. Her ligand için, tanımlayıcının büyük/küçük ve pozitif/negatif yük değerine sahip olmasına bağlı olarak aktiviteyi arttırdığı veya azalttığı bilinmektedir. Aynı kümeler üzerinde yaklaşık olarak aynı tanımlayıcıya sahip olan ligandlar, birbirleriyle yakın aktivite gösterir.

2.7. Pha Belirlenmesi

Pha, aktif bir molekülün incelenen reseptörle etkileşim bölgelerinin matematiksel bir denklem ile gösterimidir. Reseptörün etkileşen noktalarına karşılık gelen konformerlerdeki atomların LRD elektronik özellikleri ile Pha belirlenir. Bu atomlar, sahip oldukları LRD değerleri kadar fizikokimyasal ve biyolojik aktivitelerden sorumludur. Molekül aktiviteleri ile bağımlı değişkenler ve kümelerde yer alan atomların LRD değerleriyle bağımsız değişkenlerden büyük bir veri havuzu, Pha'ı belirlemek için oluşturulur. Geometrik olarak molekülün reseptörün bir etkileşim noktasına karşılık gelen atomunun LRD değerleri, bu veri havuzunda aynı kolon indeksinde yerleşir. Aktif bir molekülün konformerlerinden en az birinin yapısı, Pha'in tamamını veya bir kısmını içerebilir ve bu ölçüde aktivite gösterebilir. Reseptörün farmakofor yapısının tamamında veya bir kısmında bulundurduğu atomların LRD değerleri kadar aktivitede etkili olur.

Geometrik olarak stereo izomerlere sahip moleküller farklı 3B kartezyen koordinat değerlerindeki atomlar ile reaktivlik gösterir. Özellikle stereo izomeri olan bileşiklerde yapı-aktivite ilişkilerini tahmin etmek, ancak üç boyutta birbirinden farklı hareket eden LRD'ler ile mümkündür. Bu yüzden fizikokimyasal özelliklerinden türetilmiş diğer tanımlayıcılardan çok daha etkin uygulama bulmuştur. Daha da ötesi bir molekülün reseptöre en uyumlu konformerindeki atomların LRD değerleri kullanılmasıyla daha

gerçekçi bir yaklaşım ortaya konabilir. Ligandın, reseptörün farmakofor yapısına tamamına sahip olması gerekmez çünkü her ligand aynı reseptör yapısına göre farklı etkileşim noktaları nedeniyle farklı aktiviteye sahiptir. Aktif moleküllerin bazıları, reseptörün farmakoforunun tamamıyla etkileşirken, diğerleri sadece bunun bir kısmıyla etkileşebilir. Bu etkileşimlerde stereo yapılar oldukça farklı davrandığından dolayı niçin tanımlayıcı olarak LRD'in seçildiğini anlaşılr.

Ligand farmakofor yapısının hangisinde atom bulunduruyorsa o atomun LRD'si ve bunun karşılığı parametre değeri kadar aktiviteyi artırır veya azaltır. Farmakofor yapıya karşılık gelen LRD'ler ve parametreler, alt kümenin her bir elemanına göre model içinde beraber kullanılır. Bağımlı değişken olan molekül aktivitesi, LRD ve parametre değeri değiştikçe değişebilir. Pha yapı reseptörün 3B olarak geometrisi olduğu halde Pha ise bu geometride yer alan parametre değerleri olarak hem geometrik hem de elektronik bir karakterdir ve Pha olarak isimlendirilir.

Pha seçiminde gözlemsel ve öngörülen aktiviteler arasındaki minimum belirsizlik iyi seçilmiş LRD ile sağlanır. Üretilen Pha'da reseptörün ilgili parametreleri, ligandların karşılık gelen pozisyonlarındaki LRD değerlerine göre hesaplanır. Reseptörün Pha'ine ait parametre bilgileri, ligandın deneysel aktivite verilerine ve LRD değerlerine dayanarak NLLS ile en iyi istatistik sonuçlardan alınır. Pha, reseptörün etkileşim haritasıdır ve incelenen molekül setinin geometrisine göre etkileşim hakkında bilgi verebilir. Etkileşim noktaları olarak belirlenen bu yapı reseptörün gerçek Pha'ın tamamı olmasa da çoğunluğunu içinde barındırabileceğinden dolayı önemlidir. Pha'in gerçeğini belirlemek için, incelenen moleküllerdeki iskelet çeşitliliğini artırmak gerekebilir. Çeşitli iskelet yapıları sahip olan çok sayıda aktif molekül içeren serilerle oluşturulan model daha doğru olabilir.

Bu tez çalışmasında, rastgele bir tanımlayıcı yerine 3B etkileşimlerde ideal performans gösterebilen LRD'ler arasından en etkili olanıyla (Klopman İndeksi) Pha belirledik. Her bir LRD için Pha birbiriyle aynı olmayabilir. Bu yüzden LRD tipi farklılaştıkça Pha'in tamamı veya bir kısmı farklı olabilir. Farklı LRD'ler kullanılarak oluşturulan modeller arasında en iyi istatistiksel sonuca sahip olanı seçilir. Bazen, en iyi istatistiksel sonuca sahipi modeli seçmek yerine, çok sayıda işlevsel atom ve minimum sayıda parametre içeren bir modeli seçmek faydalı olabilir. Modeldeki atomların işlevsel (C = O, O, N,

vb.) atomları (özellikle H-bağ donörü/akseptörü) olması önemlidir ayrıca az sayıdaki parametre içeren modelin daha kolay yorumlanacağı bilinmelidir.

Aktivitenin hesaplanması için Pha'e karşılık gelen pozisyonlarda ligandın atomik tanımlayıcı değerleri ve reseptörün hesaplanan parametre sabitleri modelde kullanılan argümanlardır. L-R arasındaki etkileşim enerjisi, bu pozisyonlardaki ligand ve reseptör argümanları vasıtasıyla gerçekleşen etkileşimlerin toplamıdır ve aktivite üzerinde doğrusal olmayan bir etkiye sahiptir.

Eğitim setindeki bileşiklerin aktiviteleri, LOO-CV tekniğinin kullanılmasıyla doğrulanır ve hariç tutulan test setinin aktiviteleri, ortaya çıkan model tarafından tahmin edilir. En iyi model, kümeler arasından GA ile seçilenlerin LRD değerlerini kullanılarak reseptör parametrelerinin tahmin edilmesine ve hesaplanan aktivitelere göre sonuçlanan Q^2 ve R^2 değerlerine dayanır.

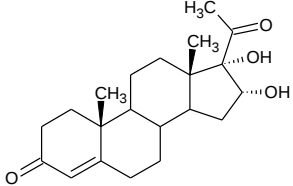
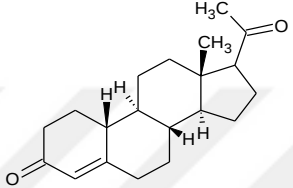
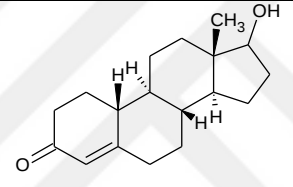
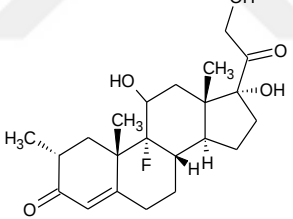
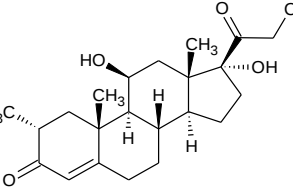
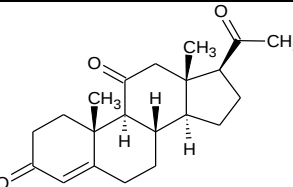
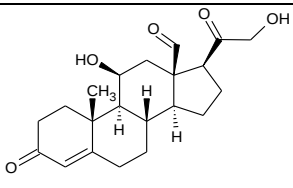
3. BÖLÜM

BULGULAR

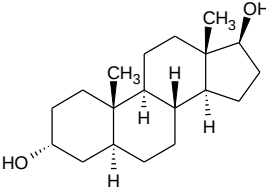
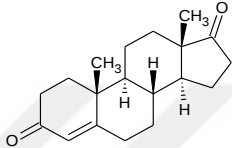
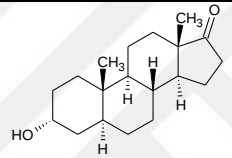
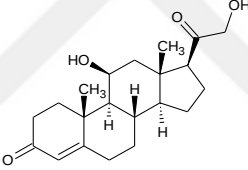
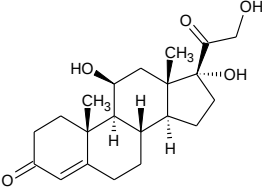
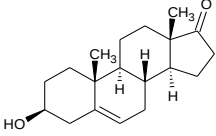
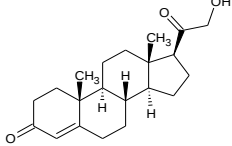
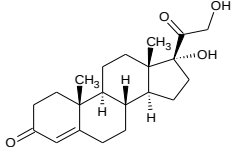
3.1. Steroid Molekül Serisi

Steroidler, halkalara bağlı fonksiyonel grupların çeşitliliği nedeniyle 3B yapı olarak birbirinden oldukça farklıdır. Stereoizomerler, aynı moleküldeki atomlarının sayısı ve bağ yapıları aynı olduğu halde bağlanış şekilleri ve uzaydaki dizilişleri sebebiyle 3B fizikokimyasal ve biyoaktif özellikleri bakımından birbirinden farklıdır. Pek çok ilaç, genellikle bir bileşiğin tek bir stereoizomerinden oluşur ve bunlardan biri vücut üzerinde terapötik etkilere sahipken, diğeri toksik olabilir. Bazı ilaçların reseptörleri tarafından tanınması dahil olmak üzere birçok biyokimyasal reaksiyonun stereospesifikliğı, aynı karbon atomuna bağlı atom veya atom gruplarının farklı rotasyonu olan kiraliteyle açıklanabilir [1]. Kiraliteye sahip moleküllerin farklı 3B yapıları, farklı biyolojik aktiviteleri doğurur ve bu yüzden rastgele tanımlayıcılarla QSAR olarak incelemek zordur. Tablo 3.1’de bu tez çalışmasında kullanılan steroid bileşiklerinin molekül şekilleri ve IC₅₀ olarak hesaplanmış aktiviteleri gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Steroid bileşiklerinin molekül isimleri, molekül yapıları, deneysel ve hesaplanan aktivite değerleri (IC₅₀(nM)) (Test seti bileşikleri * ile gösterilmiştir).

Molekül Numarası	Molekül Adı	Moleküler Yapı	Deneysel Aktivite	Hesaplanan Aktivite
N1	16-17-dihidroksiprogesteron		6.247	6.248
N2	19-norprogesteron		6.817	6.897
N3	19-nortestosteron		6.144	6.169
N4	2-metil-9-florokortizol		5.797	5.946
N5	2-metilkortizol		7.688	7.035
N*6	4-pregnene-3-11-20-trion		6.779	6.429
N7	Aldosteron		6.279	6.661

Tablo 3.1. Steroid bileşiklerinin molekül isimleri, molekül yapıları, deneysel ve hesaplanan aktivite değerleri (IC₅₀(nM)) (Test seti bileşikleri * ile gösterilmiştir). (devamı)

Molekül Numarası	Molekül Adı	Moleküler Yapı	Deneysel Aktivite	Hesaplanan Aktivite
N8*	Androstandiol		5.000	5.110
N9*	Androstendion		5.763	6.107
N10	Androsteron		5.613	5.568
N11	Kortikosteron		7.881	7.881
N12*	Kortizol		7.881	7.953
N13	Dehidroepiandrosteron		5.000	4.774
N14	Deoksikortikosteron		7.653	7.849
N15	Deoksikortizol		7.881	7.655

Tablo 3.1. Steroid bileşiklerinin molekül isimleri, molekül yapıları, deneysel ve hesaplanan aktivite değerleri ($IC_{50}(nM)$) (Test seti bileşikleri * ile gösterilmiştir). (devamı)

Molekül Numarası	Molekül Adı	Moleküler Yapı	Deneysel Aktivite	Hesaplanan Aktivite
N16	Dihidrotestosteron		5.919	6.228
N17	Epikortikosteron		7.200	7.179
N18	Estradiol		5.000	4.898
N19	Estriol		5.000	5.149
N20	Estron		5.000	4.977
N21	Etiyokolanolon		5.225	5.149
N22*	Hidroksipregnenolon		5.000	4.972
N23	Hidroksiprogesteron		7.740	7.654

Tablo 3.1. Steroid bileşiklerinin molekül isimleri, molekül yapıları, deneysel ve hesaplanan aktivite değerleri (IC₅₀(nM)) (Test seti bileşikleri * ile gösterilmiştir). (devamı)

Molekül Numarası	Molekül Adı	Moleküler Yapı	Deneysel Aktivite	Hesaplanan Aktivite
N24	Prednizolon		7.512	7.199
N25	Testosteron		6.724	6.829
N26*	17-metilprogesteron		7.120	7.115
N27	Androstendiol		5.000	5.232
N28	Kortizolasetat		7.553	7.251
N29	Kortizon		6.892	7.202
N30	Pregnenolon		5.225	5.358
N31	Progesteron		7.380	7.381

Birinci seri olarak incelenen steroid bileşikleri serisinde en basit yapıya sahip olan n01 nolu bileşiğin en düşük Boltzman dağılımına sahip olan 01'inci konformerinin her bir atomunun Kartezyen koordinatları Tablo 3.2'de gösterilmiştir. 31 adet bileşiğin her bir konformerinin Kartezyen koordinatları .txt dosyası halinde saklanmaktadır. Bu Kartezyen koordinatları, 3D QSAR'ın MCET metoduna göre yapılan hesaplamalarda baz alınarak Pha grubunun çıkarılmışında rol almışlardır.

Tablo 3.2. Steroid bileşiklerinden n01 nolu bileşiğin 01'nci konformerinin (n01_01) kartezyen koordinatı.

Atom	X	Y	Z
O1	0	0	0
C3	4.2066	0	0
C6	1.9976	1.2211	0
O4	9.3471	3.02	4.289
O2	11.36	0.5113	2.7828
C4	1.2126	-0.014	-0.064
C5	3.3321	1.2564	-0.011
O3	8.321	0.6766	4.4548
C7	5.3432	0.1911	1.0641
C8	6.1089	1.5314	0.9328
C9	5.13	2.705	0.9966
C10	4.0458	2.5837	-0.072
C1	3.3531	-1.224	0.4037
C11	4.7663	-0.203	-1.426
C12	6.3044	-1.013	1.1418
C13	7.3897	-0.866	2.2227
C14	8.163	0.4469	2.0565
C15	7.1442	1.6079	2.057
C16	9.0136	0.3939	0.7703
C17	9.05	0.8851	3.2674
C18	9.2381	2.4063	3.0223
C19	8.0118	2.8657	2.1978
C20	10.385	0.1398	3.3838
C21	10.447	-1.069	4.2816
C2	1.9867	-1.284	-0.275
H14	8.5097	1.3968	5.0478
H24	9.5606	3.9408	4.1868

Aktivite hesaplamaları yapılırken eğitim setindeki moleküllerin aktiviteleri LOO-CV yöntemi ile önce doğrulanır ve sonra test setinin aktiviteleri ile model tahmin edilir. Farklı atom kümeleri arasından GA ile seçilen grubun LRD değerleri kullanılarak hesaplanan Q^2 ve R^2 değerleri ile en iyi model bulunur. Reseptör tarafındaki parametreler, eğitim setindeki moleküllerin LRD değerleri kullanılarak doğruluğu kanıtlanmış değerlerdir ve işlem boyunca sabittirler, fakat reseptörün aktif noktalarına karşılık gelen her bir ligand için farklı LRD değerleri vardır. Reseptörün herhangi bir noktasında etkileşime giren birbirinden bağımsız iki farklı ligand arasında meydana gelecek olan kuvvet, ligandların sahip olduğu LRD değerlerine bağlıdır. Söz konusu etkileşim Coulombic olarak atomların yükleri arasında ele alınırsa hem ligand hem de reseptörün atomik yükü aynı ise elektrostatik olarak itme kuvveti oluşurken, farklı ise (biri negatif diğeri pozitif yüklü) çekme kuvveti oluşur. Diğer bir ifade ile elektrostatik etkileşim noktasındaki reseptöre ait negatif değerdeki κ parametresi için, ligandın karşılık gelen LRD değeri negatifse sterik etki oluşur, pozitifse elektrostatik etki oluşur. Aynı durumu sınır orbital etkileşimi için düşünecek olursak, bu kez molekül orbitallerdeki atomların katsayılarının negatif veya pozitifliği söz konusudur. Aynı fazda katsayılar birbiriyle bağ oluştururken farklı fazdakiler karşı bağlayıcı etkiye sahiptir. Herhangi bir noktada reseptöre ait negatif bir ξ katsayısı varsa, bu noktada ligandın orbital katsayısı negatif olduğunda kovalent bağlanma diğer taraftan pozitif olduğunda ise karşı bağ oluşumu meydana gelir. L-R etkileşiminde her bir etkileşim noktasındaki itme veya çekme kuvveti; reseptör tarafındaki κ ve ξ parametre değerleri ile ligand tarafındaki kısmi yükü ve sınır orbital katsayılarından oluşan LRD değerleri ile belirlenir. Diğer LRD'lerde sadece yük veya katsayı kullanılırken Klopman İndeksi'nde hem elektrostatik hem de kovalent etkileşimlerin her ikisi eş zamanlı olarak kullanılır. Klopman İndeksi tanımlayıcısı ile yapılan çalışmada en iyi model ile istatistiksel sonuç önerilmiştir. Buna göre Tablo 3.3'te Klopman İndeks tanımlayıcısının kullanıldığı steroid bileşiklerindeki atomların pozisyonları, Kartezyen koordinatları ve κ/ξ parametre değerleri gösterilmektedir.

Tablo 3.3. Steroid bileşik serisindeki atomların uygun yerlerinden tanımlanan pozisyonlar (n01, n08 ve n18), Kartezyen koordinatlar, κ ve ξ değerleri. (Pha atomlarını içerenler koyu renk ile gösterilmiştir)

Molekül Numarası	Atom Numarası	X	Y	Z	Pozisyon Adı	κ Değeri	ξ Değeri
n01	O1	0	0	0	a	-1.287	-7.989
n01	C3	4.207	0	0	b	-0.384	-2.832
n01	C15	7.144	2.611	0	c	0.124	7.634
n08	C2	1.920	-1.360	0.324	d	0.102	18.995
n08	C5	3.235	-0.068	-2.001	e	-0.112	-3.119
n08	C8	5.642	1.123	-0.688	f	-1.311	-21.319
n08	C12	5.654	-0.756	1.054	g	0.087	-5.650
n08	C14	7.171	1.253	1.380	h	-0.036	3.597
n08	C16	8.411	0.625	0.715	i	-0.010	5.488
n08	C1	3.157	-1.956	-0.350	j	-0.344	-5.777
n18	C9	5.602	2.372	0.850	k	0.138	7.236
n08	C6	1.969	0.506	-1.337	l	0.164	0.335

Tablo 3.3'te gösterilen a, b, c vb. harfler, ligandların etkileşim noktalarındaki atomlarının pozisyonlarını işaret eder ve birbirinden farklı kümelerin model içindeki indeks değerleridir. Model içinde bu indekslere karşılık gelen itme veya çekme kuvveti aktiviteyi arttırıcı veya azaltıcı yönde etki gösterir. Reseptörün etkileşim noktasında herhangi bir atom bulundurmayan ligandın aktivitesinde değişme olamaz. Bu indekslerde atom bulunduran ligandların itme veya çekme kuvvetlerinin büyüklüğü LRD değerlerine bağlıdır ve bu LRD değerleri dikkate alınarak reseptör tarafındaki karşılık gelen aktif noktaların parametreleri Levenberg-Marquardt algoritmasıyla doğrusal olmayarak belirlenmektedir.

Tablo 3.3'te MCET metodu sonucunda Pha içindeki atomların pozisyonları hangi moleküllerden türetildikleri gösterilmiştir. Şablon (n01) ve diğer bazı moleküller (n08 ve n18) atom yığınlarıyla kümelerin oluşmasına kaynak olmuştur. Pha içindeki atomların kümeleri vektörel indeks olarak a, b, c ve f harfleri sırasıyla model içinde yer almıştır. Pha içindeki çekirdek yapıya ait atomlar tüm moleküller için ortak bir yapıdır ve benzer LRD değerleriyle ortak etkiye sahiptir. Çekirdek yapının haricinde kalan diğer atomlar bazı moleküller için aktiviteyi arttırıcı bazıları için azaltıcı etkiye sahiptir. Bunun sebebi, çekirdek yapıdaki tüm atomların LRD değerlerinin tolerans değerleri ölçeğinde birbirinin aynısı olmasıdır. Geri kalan atomların LRD değerleri ise negatiften pozitifliğe veya küçükten büyüğe değişebilir hatta etkileşimin bir noktasında herhangi bir molekül

(n15, n21 vb.) hiçbir atom bulundurmazabilir. Model içindeki her bir indeksin değişik LRD değerleri, reseptörün karşılık gelen parametresinin değerine bağlı olarak aktiviteyi artırır/azaltır/değiştirmez. Tablo 3.4'te R^2 ve Q^2 değerlerinin farklı LRD tipleri ile elde edilen sonuçları gösterilmektedir.

Tablo 3.4. Steroid bileşikleri için ligand tarafında farklı LRD tipleri ile bulunan Q^2 ve R^2 değerleri.

Tanımlayıcı Tipleri	Q^2	R^2
N_Charge	0.482	0.910
nLKlopman	0.955	0.964
N_Fukui (f⁺)	0.945	0.823
P_Fukui (f⁻)	0.898	0.975
mHKlopman	0.955	0.962
eHKlopman	0.945	0.910
E_Charge	0.869	0.796
M_Charge	0.865	0.897

N_Charge: Natural Yük

M_Charge: Mulliken Yük

E_Charge: Elektrostatik Yük

N_Fukui (f⁺): Nükleofillere karşı Fukui İndeksi

P_Fukui (f⁻): Elektrofollere karşı Fukui İndeksi

nLKlopman; n: Natural Yük, L: LUMO, Klopman: Klopman İndeksi

mHKlopman; m: Mulliken Yüğü, H: HOMO, Klopman: Klopman İndeksi

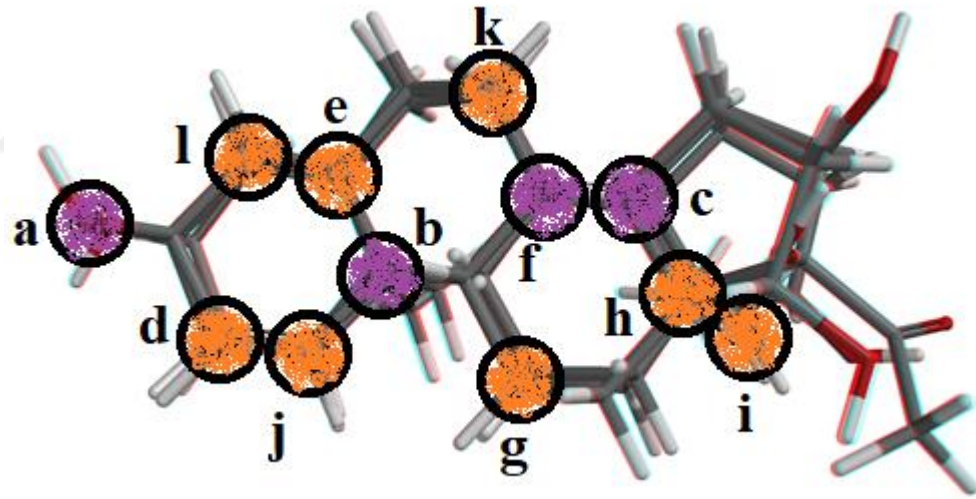
eHKlopman; e: Elektrostatik Yük, H: HOMO, Klopman: Klopman İndeksi

f⁺, f⁻ ve f⁰; sabit dış potansiyele karşı nükleofilik, elektrofilik ve radikalik atak olarak Fukui indeksleridir.

Tablo 3.4'te farklı LRD tipleri ile elde edilen Q^2 ve R^2 değerleri benzer ve büyük değerlerde hatta 0.900'ün üzerinde sonuçlar olmasına rağmen en gerçekçi ve güvenli olanı belirlemek mümkündür. Bunun için öncelikle dikkate alınması gereken özellik modeldeki indeks sayısıdır. Pha atomlarının sayısı da en az 4 atom olması gerekir. Buradaki Q^2 ve R^2 sonuçları iyi gibi görünse bile aranan tüm özellikleri sağlamadığı için kayıt dışı bırakılır ve işleme alınmaz. Sonuçların spesifikliği ve güvenilirliğinin

sağlam olabilmesi için aktiviteye etki eden atomlarının sayısı, tanımlayıcı atom sayısı ve Q^2 ve R^2 değerlerinin hepsinin birlikte istenen kriterleri sağlaması gereklidir. Bu saydığımız tüm koşulları sağlayan tek tanımlayıcının Klopman İndeksi olduğunu görüyoruz. Klopman denklemi hem elektrostatik etki hem de sınır orbital etkileşimlerini de içerdiğinden, her iki etkileşim de burada ele alınmaktadır. Bu çalışmada, sınır orbital etkileşimleri için, ligandın HOMO'su nükleofil olarak, reseptörün LUMO'su da elektrofil olarak kullanılmıştır. Klopman indeksi kullanılarak konformerlerin 3B kartezyen koordinatlarına göre konumlandırılan atomlar ile en ideal Pha oluşturulmuştur.

a, b, c vb. pozisyonları olarak işaretlenen etkileşim noktalarını gösteren 3B farmakofor yapısı Şekil 3.1'de verilmiştir. Belirtilen bu noktalarda reseptör ile etkileşime giren bazı ligand atomlarının, uygun görülen tolerans aralığı içinde olabileceği görülebilir.



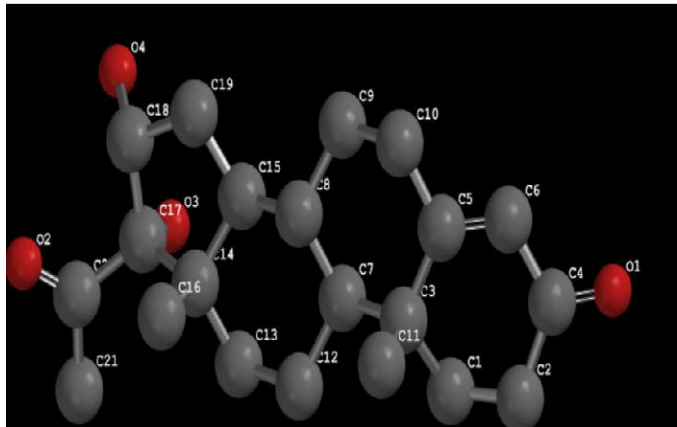
Şekil 3.1. Steroid bileşik setinde moleküllerin üst üste çakıştırılması ve Pha grupları

O1	C3	C15	O4	O2	C4	C5	O3	C7	C8	C9	C10	C1	C11	C12	C13	C14	C6	C16	C17	C18	C19	C20	C21	C2	H14	H24	
-0.714	4.207	7.606	10.718	11.707	1.214	3.561	9.463	5.451	6.367	5.884	4.801	3.592	4.979	6.487	7.765	8.43	2.341	9.055	9.662	10.013	8.788	10.923	11.341	2.381	9.992	11.156	O1
	-0.071	3.93	7.344	7.693	2.995	1.531	6.102	1.569	2.614	3.027	2.59	1.546	1.545	2.594	3.978	4.481	2.524	4.884	5.909	6.344	5.246	7.046	7.643	2.579	6.778	7.856	C3
		-0.233	3.439	4.416	6.505	4.351	2.829	2.497	1.53	2.527	3.884	5.013	4.59	2.9	2.492	1.545	5.556	2.574	2.371	2.44	1.534	3.797	4.798	6.356	3.295	3.977	C15
			-0.837	3.552	9.712	7.601	2.564	5.868	4.896	5.359	6.878	8.309	8.002	5.952	4.817	3.607	8.698	4.403	2.385	1.412	2.486	3.193	4.234	9.671	1.978	0.951	O4
				-0.684	10.552	8.533	3.473	6.266	5.66	6.842	8.12	8.531	7.855	5.53	4.24	3.279	9.793	3.093	2.39	2.855	4.135	1.204	2.362	10.022	3.747	4.12	O2
					0.678	2.472	8.451	4.287	5.23	4.885	3.844	2.503	3.81	5.327	6.642	7.281	1.465	7.856	8.563	8.933	7.723	9.8	10.26	1.502	9.02	10.169	C4
						0.131	6.721	2.517	2.946	2.519	1.508	2.515	2.488	3.913	5.095	5.317	1.335	5.799	6.602	6.738	5.419	7.907	8.629	2.887	7.24	7.976	C5
							-0.826	4.539	4.246	5.124	6.512	6.686	6.928	4.231	2.869	2.414	7.754	3.76	1.409	2.426	3.159	2.386	2.756	8.145	0.952	3.502	O3
								-0.222	1.549	2.524	2.949	2.53	2.586	1.543	2.578	3	3.659	3.688	4.368	4.89	3.945	5.55	6.164	3.903	5.23	6.45	C7
									-0.224	1.53	2.525	3.933	3.221	2.56	3.009	2.58	4.227	3.124	3.81	3.863	2.646	5.121	6.066	5.136	4.766	5.321	C8
										-0.412	1.527	4.353	3.802	3.902	4.4	3.927	3.607	4.525	4.882	4.59	3.126	6.316	7.301	5.235	5.436	5.598	C9
											-0.444	3.899	3.181	4.417	5.324	5.104	2.461	5.494	6.251	6.047	4.578	7.622	8.56	4.386	6.895	7.099	C10
												-0.421	2.527	3.05	4.442	5.353	2.825	5.899	6.716	7.394	6.454	7.758	8.086	1.527	7.418	8.917	C1
													-0.629	3.101	4.543	4.908	3.425	4.819	6.447	6.826	5.752	7.404	8.099	3.197	7.647	8.465	C11
														-0.416	1.539	2.534	4.984	3.075	3.957	4.882	4.367	4.797	5.198	4.552	5.092	6.664	C12
															-0.416	1.533	6.194	2.517	2.63	3.842	3.783	3.366	3.692	5.967	3.789	5.628	C13
															-0.06	6.545	1.543	1.564	2.435	2.428	2.606	3.531	6.825	3.158	4.324	C14	
																-0.4	7.106	7.78	7.935	6.611	9.109	9.745	2.52	8.241	9.062	C6	
																	-0.64	2.545	3.028	3.025	2.962	4.065	7.3	4.422	4.955	C16	
																		0.226	1.552	2.479	1.533	2.607	8.194	1.93	3.232	C17	
																			0.145	1.547	2.566	3.889	8.779	2.377	1.953	C18	
																				-0.456	3.804	5.075	7.722	3.245	2.741	C19	
																					0.693	1.507	9.271	2.805	3.971	C20	
																						-0.73	9.612	3.228	5.088	C21	
																							-0.516	8.836	10.226	C2	
																								0.518	2.884	H14	
																									0.516	H24	

O1'in yükü= -0.714

C18 ile O3 arasındaki mesafe= 2.426 Å

C2-C4 arasındaki bağ uzunluğu= 1.502Å



O1'in yükü= -0.714
C18 ile O3 arasındaki mesafe= 2.426 Å
C2-C4 arasındaki bağ uzunluğu= 1.502 Å

Şekil 3.2. Steroid bileşik serisinin n01 numaralı molekülünün Elektron Topolojik Matris gösterimi

Klopman İndeksi tanımlayıcısının güçlü performansa sahip olduğu, daha kesin ve güvenilir olduğu, ileri sürülen Pha 'ya bakılarak anlaşılmaktadır. Bir QSAR modelinin doğruluğu, genellikle harici test setleri kullanılarak eğitim setinde çapraz doğrulama ile kontrol edilerek anlaşılır. Hem eğitim hem de test setlerindeki moleküller yapı ve aktivite bakımından birbirlerine benzerlik gösterdiğinden, test setindeki moleküllerin aktiviteleri eğitim setindeki moleküllerin aktiviteleri kullanılarak hesaplanmıştır. Tablo 3.5'te hem eğitim hem de test setleri için deneysel ve teorik aktivite değerleri gösterilmiştir.

Tablo 3.5. Steroid bileşik serisinin deneysel ve hesaplanan aktiviteleri

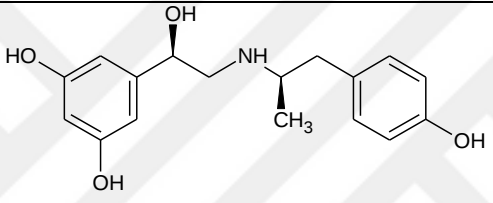
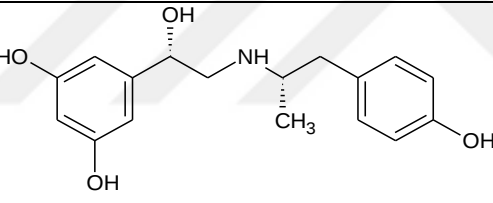
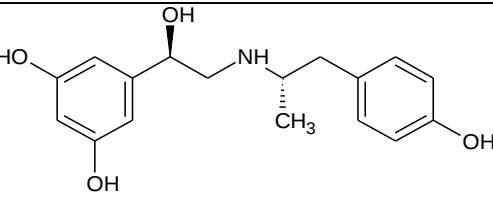
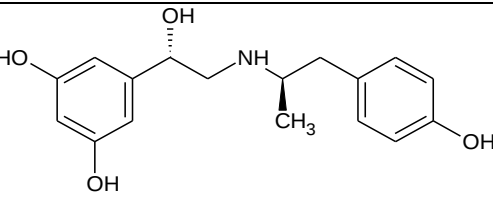
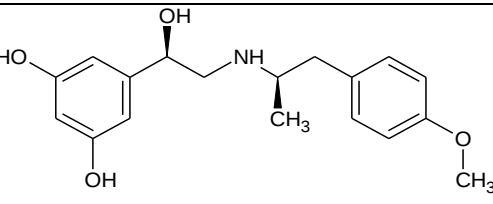
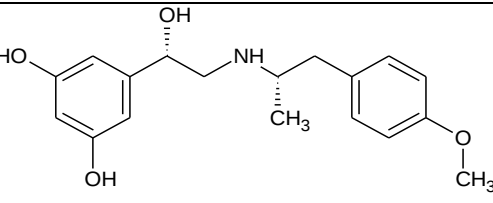
Molekül Numarası	Deneysel Aktivite	Hesaplanan Aktivite	Molekül Numarası	Deneysel Aktivite	Hesaplanan Aktivite
n01	6.247	6.248	n17	7.200	7.179
n02	6.817	6.897	n18	5.000	4.898
n03	6.144	6.169	n19	5.000	5.149
n04	5.797	5.946	n20	5.000	4.977
n05	7.688	7.035	n21	5.225	5.149
n06*	6.779	6.429	n22*	5.000	4.972
n07	6.279	6.661	n23	7.740	7.654
n08*	5.000	5.110	n24	7.512	7.199
n09*	5.763	6.107	n25	6.724	6.829
n10	5.613	5.568	n26*	7.120	7.115
n11	7.881	7.881	n27	5.000	5.232
n12*	7.881	7.953	n28	7.553	7.251
n13	5.000	4.774	n29	6.892	7.202
n14	7.653	7.849	n30	5.225	5.358
n15	7.881	7.655	n31	7.380	7.381
n16	5.919	6.228	Test Set molekülleri * ile gösterilmiştir.		

Modelleme sırasında, eğitim setindeki bileşikler, harici test setinde doğrulanır. Eğitim setindeki ligandların aktiviteleri ile doğrulanan Pha, harici test setindeki ligandların tahminini yapmak için kullanılmıştır. Her iki set için gözlenen ve tahmin edilen aktivite değerleri Şekil 3.4'teki grafik ile gösterilmiştir.

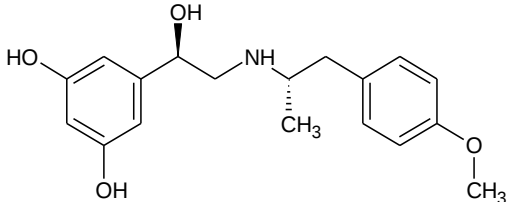
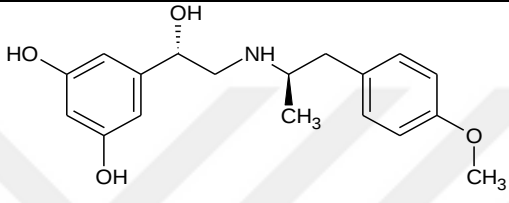
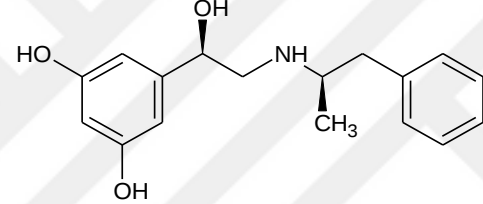
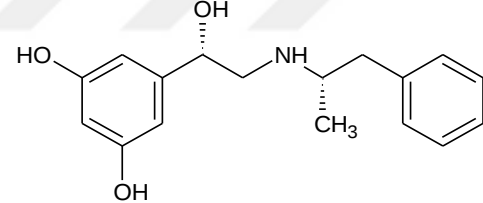
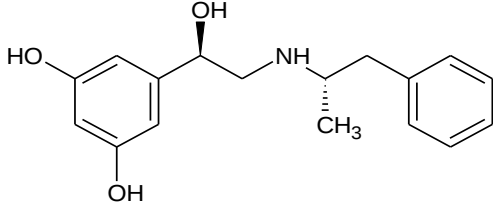
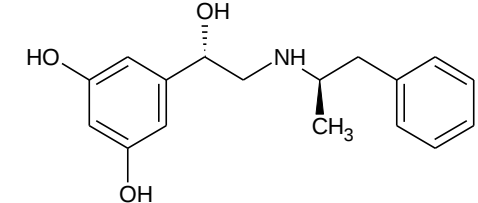
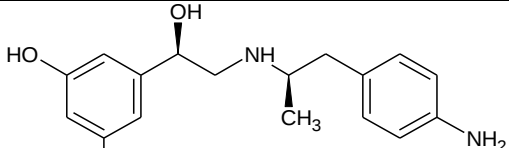
3.2. Fenoterol Stereoizomerleri Serisi

Pha yapısını aydınlatmak adına kullandığımız ikinci seri olan fenoterol stereoizomerlerinin molekül yapısı ve deneysel ve hesaplanan aktivite değerleri (IC_{50}) Tablo 3.6’da verilmiştir.

Tablo 3.6. Fenoterol stereoizomerlerinin molekül isimleri, molekül yapıları, deneysel ve hesaplanan aktivite değerleri IC_{50} (nM) (Test seti bileşikleri * ile gösterilmiştir).

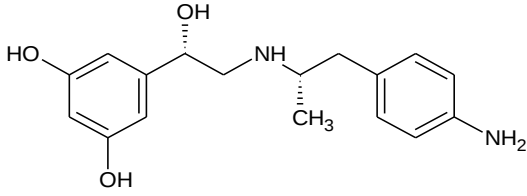
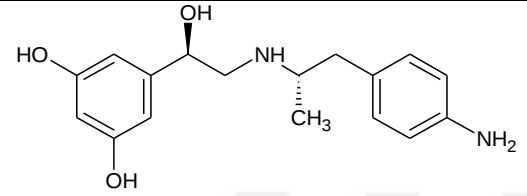
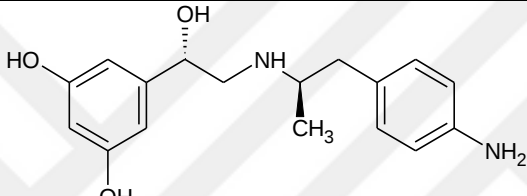
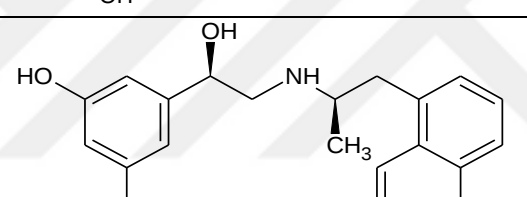
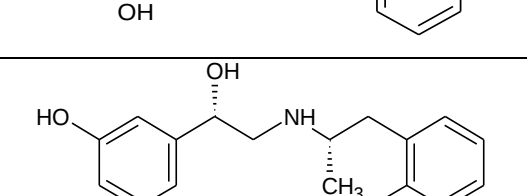
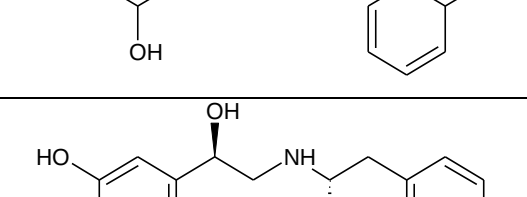
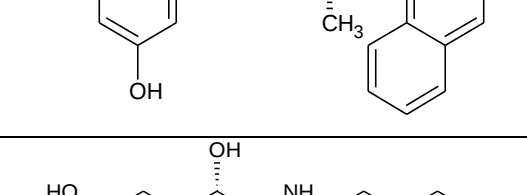
Molekül Numarası	Molekül Yapısı	Deneysel Aktivite	Hesaplanan Aktivite
N1		6.460	6.461
N2		4.560	4.643
N3		5.430	5.512
N4		4.990	4.965
N5*		6.320	6.262
N6		4.800	4.849

Tablo 3.6. Fenoterol stereoizomerlerinin molekül isimleri, molekül yapıları, deneysel ve hesaplanan aktivite değerleri IC₅₀ (nM) (Test seti bileşikleri * ile gösterilmiştir). (devamı)

Molekül Numarası	Molekül Yapısı	Deneysel Aktivite	Hesaplanan Aktivite
N7		5.710	5.566
N8		5.280	5.295
N9*		5.530	5.528
N10		4.540	4.540
N11		5.100	5.193
N12		4.640	4.682
N13		5.730	6.108

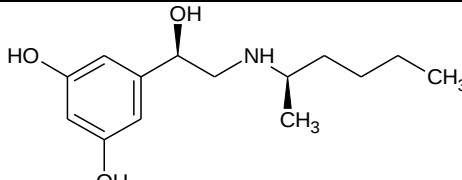
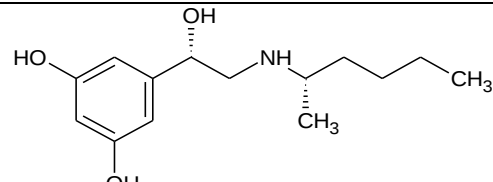
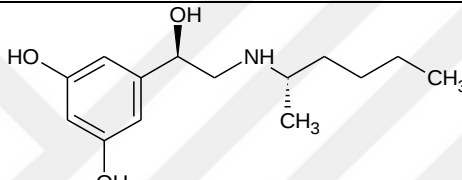
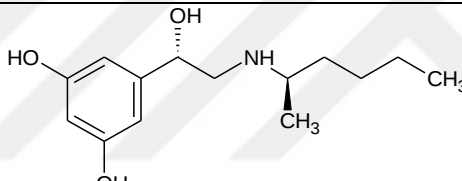
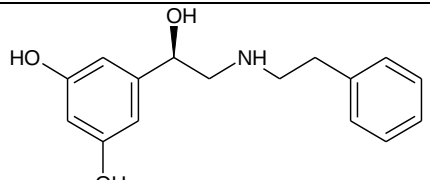
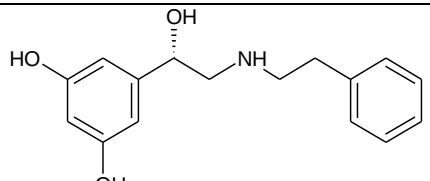
Tablo 3.6. Fenoterol stereoizomerlerinin molekül isimleri, molekül yapıları, deneysel ve hesaplanan aktivite değerleri IC₅₀ (nM) (Test seti bileşikleri

* ile gösterilmiştir). (devamı)

Molekül Numarası	Molekül Yapısı	Deneysel Aktivite	Hesaplanan Aktivite
N14*		4.540	4.506
N15		5.220	5.155
N16*		4.510	4.477
N17		6.620	6.627
N18		5.600	5.529
N19		6.470	6.473
N20		5.750	5.726

Tablo 3.6. Fenoterol stereoizomerlerinin molekül isimleri, molekül yapıları, deneysel ve hesaplanan aktivite değerleri IC₅₀ (nM) (Test seti bileşikleri)

* ile gösterilmiştir). (devamı)

Molekül Numarası	Molekül Yapısı	Deneysel Aktivite	Hesaplanan Aktivite
N21		5.030	5.003
N22		4.250	4.229
N23		4.500	4.565
N24		4.000	4.014
N25*		4.980	4.978
N26		4.690	4.693

26 adet fenoterol stereoizomerlerinin Spartan'8 programında çizimi ve moleküllerin kuantum kimyasal DFT-B3LYP 6-31G* hesaplamaları yapılmıştır. Kuantum kimya hesaplamaları yapılan tüm moleküllerin kuantum kimyasal çıktıları olan *.txt dosyaları hazırlanmıştır. Oluşturulan *.txt dosyaları yeniden düzenlenmiş olan ETM'ye çevrilmiştir ve atomlar referans molekülünde ilk sıraya yerleştirilmiştir. Her bir konformerini temsil eden bir ETM vardır. Referans olarak n01_01 nolu bileşiğin ETM'si ise Şekil 3.4'da diyagonal, nondiyagonal ve yük olarak matris halinde gösterilmiştir. Bu

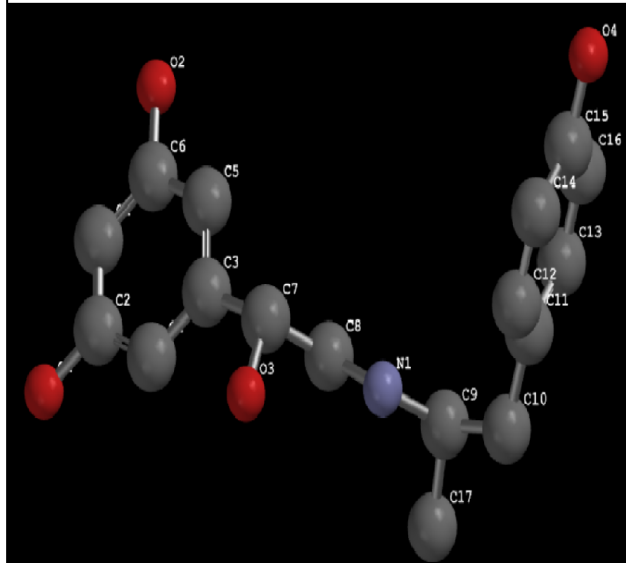
şekilde n01 nolu bileşik baz alınarak şekilde üzerinde işaretlenerek ve her bir atomun numaralandırılması yapılarak gösterilmiştir.

Tablo 3.7’de referans bileşik olarak en basit gösterimde olan n01_01 nolu bileşiğin konformerini kullanılarak ETMP sonucu oluşan Kartezyen koordinatları (x, y, z) olarak sırayla gösterilmiştir. Her bir atomun kartezyen koordinatı Tablo 3.7’de verilmiştir.

Tablo 3.7. Fenoterol stereoizomerlerinden n01 nolu bileşiğin 01’nci konformerinin (n01_01) kartezyen koordinatı.

Atom	X	Y	Z
O1	0	0	0
O2	4.7403	0	0
O3	3.5072	4.9387	0
O4	-2.983	9.2915	-3.087
N1	2.5319	6.0771	-2.28
C5	3.582	2.1287	-0.255
C6	3.5708	0.7409	-0.091
C1	1.1624	2.1294	-0.247
H3	5.4954	0.6123	-0.073
H1	-0.756	0.6106	-0.076
C7	2.36	4.3184	-0.579
C8	2.3318	4.6359	-2.089
C4	2.3701	0.0355	-0.01
C9	2.8393	6.4731	-3.671
C10	2.532	7.9755	-3.865
C2	1.1691	0.7398	-0.09
H4	3.619	5.7378	-0.56
C11	1.0812	8.3525	-3.645
C12	0.6576	8.9861	-2.471
C13	0.1054	8.0554	-4.611
C14	-0.683	9.3095	-2.257
C15	-1.633	8.9993	-3.231
C16	-1.234	8.3704	-4.415
C3	2.3725	2.8233	-0.333
H14	-3.115	9.7297	-2.226
H11	1.6638	6.5455	-2.014
C17	4.3022	6.1864	-4.017

O2	O3	C6	O4	N1	C1	C2	C5	H1	H3	C7	C8	C4	C9	C10	O1	H4	C11	C12	C13	C14	C15	C16	C3	H14	H11	C17	
-0.572	6.003	1.386	10.061	6.888	4.175	3.691	2.375	5.583	0.974	4.888	5.527	2.434	7.892	9.127	4.804	6.747	9.06	9.213	9.155	9.453	9.541	9.396	3.658	10.277	6.948	8.497	O2
	-0.616	4.804	8.41	2.733	2.825	4.199	3.664	4.772	6.722	1.427	2.415	5.031	4.038	5.02	5.095	0.982	5.562	5.545	6.529	6.474	7.313	7.338	2.424	8.479	3.173	4.284	O3
		0.502	9.925	5.925	2.79	2.404	1.399	4.331	1.932	3.801	4.53	1.394	6.961	8.268	3.648	5.585	8.385	8.578	8.642	9.002	9.235	9.062	2.416	10.14	6.128	7.42	C6
			-0.587	6.434	10.104	11.156	8.714	12.491	11.004	7.71	7.128	11.087	6.494	5.723	12.447	7.926	4.209	3.705	3.66	2.446	1.389	2.381	8.817	0.975	5.504	7.973	O4
				-0.695	4.562	5.86	4.644	6.605	7.715	2.452	1.467	6.453	1.479	2.474	6.859	2.069	3.026	3.467	3.904	4.56	5.177	4.9	3.796	6.724	1.021	2.483	N1
					-0.547	1.395	2.421	2.452	4.606	2.529	3.346	2.429	5.577	6.955	2.437	3.625	7.513	7.777	8.125	8.583	9.113	8.9	1.399	10.305	5.126	5.589	C1
						0.516	2.786	1.929	3.838	3.807	4.545	1.397	6.797	8.226	1.387	5.02	8.754	9.057	9.254	9.796	10.233	9.977	2.414	11.378	6.402	6.762	C2
							-0.53	4.599	3.186	2.515	3.323	2.428	5.778	7.004	4.172	4.374	7.076	7.207	7.416	7.655	7.965	7.852	1.395	8.905	4.775	6.374	C5
								0.43	5.607	4.887	5.502	3.179	7.379	8.809	0.975	5.49	9.606	9.975	10.243	10.894	11.445	11.139	3.841	12.715	7.331	6.947	H1
									0.426	5.683	6.315	2.453	8.678	9.966	4.732	7.502	9.959	10.152	10.04	10.416	10.488	10.304	4.345	11.233	7.838	9.184	H3
										0.283	1.542	4.317	3.799	4.92	4.966	1.898	5.224	5.315	5.937	6.078	6.694	6.631	1.515	7.863	2.738	4.371	C7
											-0.122	5.044	2.476	3.787	5.623	2.284	4.215	4.674	4.791	5.559	5.999	5.656	2.524	7.45	2.024	3.165	C8
												-0.579	7.418	8.824	2.37	5.862	9.153	9.424	9.496	9.994	10.3	10.061	2.803	11.316	6.84	7.601	C4
													0.705	1.546	7.683	3.296	2.573	3.538	3.294	4.738	5.155	4.554	4.969	6.937	2.033	1.53	C9
														-0.799	9.14	4.149	1.515	2.546	2.539	3.835	4.336	3.827	6.249	6.136	2.494	2.522	C10
															-0.581	5.878	9.818	10.176	10.36	11.001	11.474	11.171	3.701	12.68	7.508	7.402	O1
															0.374	4.789	4.811	5.854	5.86	6.75	6.747	3.18	8.018	2.575	3.555		H4
																0.359	1.401	1.404	2.441	2.821	2.44	6.568	4.639	2.503	3.899		C11
																	-0.182	2.399	1.396	2.414	2.782	6.738	3.853	2.678	4.85		C12
																		-0.295	2.782	2.413	1.391	7.117	4.344	3.386	4.63		C13
																			-0.365	1.396	2.417	7.412	2.468	3.633	6.14		C14
																				0.378	1.399	7.895	1.933	4.288	6.614		C15
																					-0.23	7.759	3.19	4.185	5.964		C16
																						0.281	9.001	4.143	5.358		C3
																							0.437	5.746	8.412		H14
																								0.324	3.331		H11
																									-0.736		C17



N1-C9 arasındaki bağ uzunluğu= 1.479 Å

O2'nin yükü= -0.572

O4 ile O3 arasındaki mesafe= 8.41 Å

Şekil 3.4. Fenoterol stereoizomer serisinden n01 numaralı molekülün Elektron Topolojik Matrisi

Fenoterol stereoizomerleri seti için MCET metodu içerisinde 3D QSAR çalışmasıyla Pha aydınlatmak üzere farklı LRD'ler kullanarak hesaplamalar yapılmıştır. Kullanılan LRD'ler arasından en iyi Q^2 ve en iyi R^2 değerini veren Klopman indeksi tanımlayıcısı olmuştur. Tablo 3.8'de fenoterol stereoizomerleri için kullanılan LRD'ler ve en iyi Q^2 ve R^2 sonuçları verilmiştir.

Tablo 3.8. Fenoterol stereoizomerleri için farklı tanımlayıcılara göre bulunan Q^2 ve R^2 değerleri

Tanımlayıcılar	Q^2	R^2
N_Charge	0.751	0.882
nLKlopman	0.984	0.986
N_Fukui	0.890	0.850
P_Fukui	0.887	0.843
mHKlopman	0.984	0.999
eHKlopman	0.994	0.984
E_Charge	0.823	0.815
M_Charge	0.757	0.796
eLKlopman	0.981	0.998

Bir önceki molekül serisi için de söylediğimiz gibi bazı LRD'lerde sonuçlar iyi gibi görünse de Pha'yı oluşturacak tüm özellikleri taşımadığı için kabul edilemezler. Burada fenoterol stereoizomerleri için en iyi istatistiksel sonuçlar elde edildikten sonra, MCET metodu sonucu oluşturulan *.txt dosyaları içerisinde Pha atomlarının hangileri olduğu, pozisyonları ve κ ve ξ değerleri tablo 3.9'da gösterilmiştir.

Tablo 3.9. Fenoterol stereoizomerleri serisindeki atomların uygun yerlerinden tanımlanan pozisyonlar (n01 ve n24), Kartezyen koordinatlar, κ ve ξ değerleri. (Pha atomlarını içerenler koyu renk ile gösterilmiştir)

Molekül Numarası	Atom Numarası	X	Y	Z	Pozisyon Adı	κ Değeri	ξ Değeri
n01	O2	0	0	0	a	5.366	-8.661
n01	O3	6.003	0	0	b	-1.064	-4.781
n01	C6	1.239	0.621	0	c	11.186	0.728
n24	C3	3.630	0.377	-0.262	d	-1.644	27.994
n24	C1	3.792	1.746	-0.017	e	-1.965	8.063
n24	C2	2.671	2.536	0.238	f	5.450	43.398
n24	C5	2.355	-0.188	-0.250	g	2.574	-63.367
n24	H1	3.705	4.151	0.457	h	0.454	26.256
n24	C7	4.825	-0.483	-0.620	i	0.678	8.425
n24	C8	5.047	-0.509	-2.152	j	0.084	2.688
n24	C4	1.388	1.983	0.245	k	6.237	19.930

Tablo 3.9'da MCET metodu sonucunda Pha, AG ve APS gruplarını içeren grupları hangi moleküllerin atomları olduğu gösterilmiştir. n01 ve n24 numaralı molekülleri tabloda görüldüğü gibi bu gruplarda atom bulunduran moleküllerdir. Pha atomlarını temsil eden a, b, c, d ve g atomları koyu renkle gösterilmiştir. Diğer atomlar ise AG ve APS gruplarını temsil eder.

En iyi tanımlayıcıya göre hesaplanan aktiviteler ve deneysel aktivite değerleri Tablo 3.10'da görüldüğü gibi belirlenir.

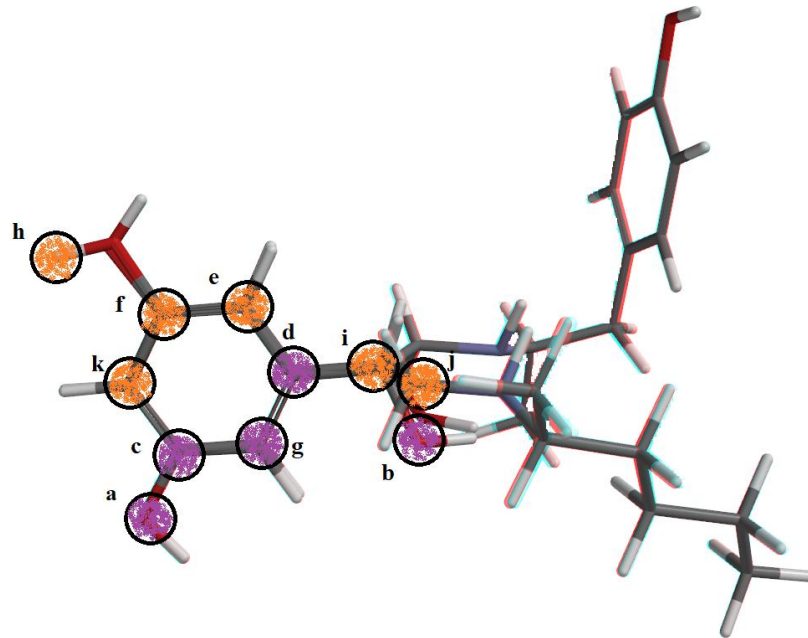
Tablo 3.10. Fenoterol stereoizomer setinin deneysel ve hesaplanan aktiviteleri

Molekül Numarası	Deneysel Aktivite	Hesaplanan Aktivite	Molekül Numarası	Deneysel Aktivite	Hesaplanan Aktivite
n01	6.460	6.461	n14*	4.540	4.506
n02	4.560	4.643	n15	5.220	5.155
n03	5.430	5.512	n16*	4.510	4.477
n04	4.990	4.965	n17	6.620	6.627
n05*	6.320	6.262	n18	5.600	5.529
n06	4.800	4.849	n19	6.470	6.473
n07	5.710	5.566	n20	5.750	5.726
n08	5.280	5.295	n21	5.030	5.003
n09*	5.530	5.528	n22	4.250	4.229
n10	4.540	4.540	n23	4.500	4.565
n11	5.100	5.193	n24	4.000	4.014
n12	4.640	4.682	n25*	4.980	4.978
n13	5.730	6.108	n26	4.690	4.693
Test setindeki moleküller * ile gösterilmiştir.					

Klopman İndeksi tanımlayıcısı ile hesaplanan en iyi Q^2 ve R^2 bulunmuş ve konformerlerin 3B Kartezyen koordinatlarına göre konumlandırılan atomlar yardımıyla Pha modeli oluşturulmuştur. Çekirdek yapının tanımlayıcı ve mesafe tolerans değerleriyle hizalı dört atomlu yapısı, reseptör ile L-R kompleksini oluşturur. Her aday molekülün ilk üç atomu (a, b ve c olarak adlandırılır), başlangıç noktaları olarak (0,0,0), (x, 0,0) ve (x, y, 0) olarak hizalanır. Konformerde kalan atomların pozisyonları, x, y ve z'nin Kartezyen koordinat değerlerinde yeniden düzenlenir. Bu nedenle, uzayda yakın koordinat değerlerine sahip tüm ligandların atomları, reseptör pozisyonu ile benzer pozisyonlarda etkileşime girebilir. Tanımlanan konum tolerans değeri içinde üst üste

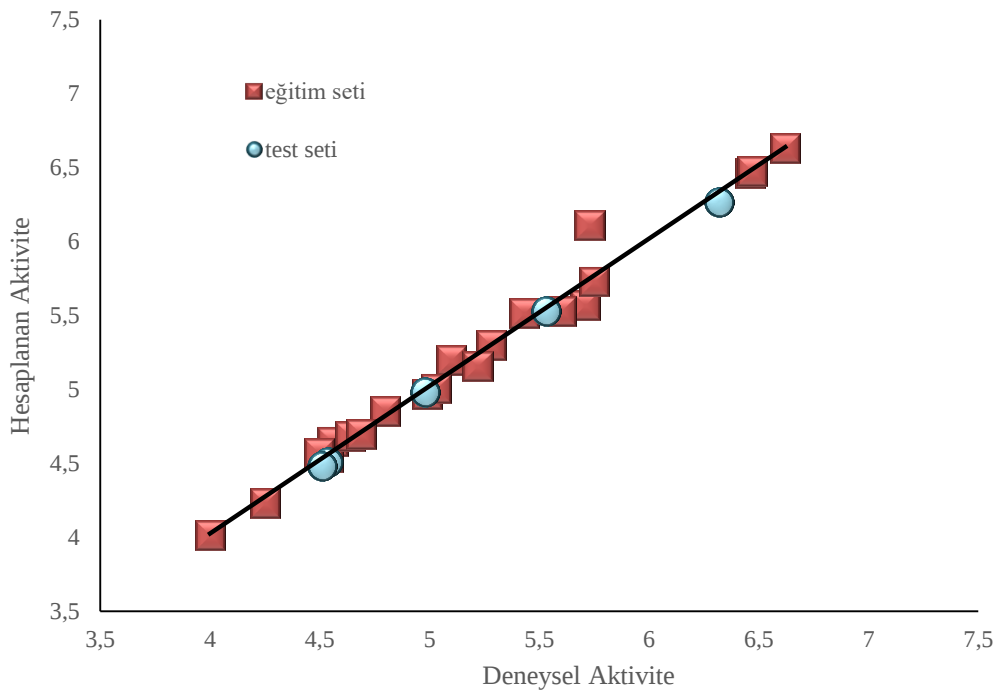
atomlara sahip moleküller, ilgili pozisyon için kümelenir. Çekirdek yapının atomlarını hizalamak için iki ayrı tolerans değeri kullanılırken, kalan yönlendirilmiş atomların kümesinde sadece pozisyon tolerans değeri kullanılır. Konumdaki benzerlik ve çekirdek yapının atomlarının kimliği, reseptörle etkileşimin temelidir. Kümenin herhangi bir konumundaki atom, aktiviteyi tanımlayıcı değeri ile etkiler. Pozitif/negatif ve büyük/küçük olmasına bağlı olarak aktivitede rol alır.

Her pozisyonundaki moleküllerin sayısı toplam moleküllerin 1/8'inden büyükse, bu pozisyonlardaki atomlar modelde bağımsız değişkenler olarak incelenir. Kümelenmiş pozisyonlar arasında doğrudan ve dolaylı kombinasyonlar yapılır. İlk olarak, çekirdek yapının ilk üç atomu için R^2 (tüm ligandlar için regresyon katsayısı) değerleri hesaplanır ve en iyileri listelenir. Daha sonra kümelenmiş konumlardan hangisinin dördüncü argüman olarak seçilmesi gerektiği tartışmalıdır. Bunun için, her pozisyon bir aday olarak kullanılır ve R^2 'deki en büyük artışa yol açan dördüncü pozisyon olarak belirlenir. Aynı şekilde, en iyi R^2 değerlerine sahip beşinci, altıncı ve sonraki etkileşim noktaları modele dâhil edilmiştir. Bu çalışmada, Pha'nın 3B yapısı ve etkileşim noktaları Şekil 3.5'te a, b, c, vb. harflerle gösterilmiştir.



Şekil 3.5. Fenoterol stereoizomerleri serisinde moleküllerin üst üste çakıştırılması ve Pha grupları

LOO-V yöntemiyle eğitim setindeki moleküllerin aktivitelerinin harici test setindeki moleküller ile doğrulanarak hesaplanan aktivite değerlerine ait grafik oluşturulmuş ve sonuçların doğruluğu gösterilmiştir. Hem eğitim hem de test setleri için model kullanılarak deneysel ve hesaplanan aktiviteler arasındaki grafik değerleri Şekil 3.6'da gösterilmiştir.



Şekil 3.6. Fenoterol stereoizomerlerinin eğitim ve test setlerinin deneysel ve hesaplanan aktivite grafiği.

Şekil 3.6'da eğitim ve test setleri için deneysel ve teorik aktivitelerine ait olarak istatistik sonuçlar sırayla Q^2 ve R^2 değerleri (sırasıyla grafikte bordo ve mavi renkle gösterilmiştir) verilmiştir. Moleküldeki eğitim setine (21 bileşik) ait istatistiksel hesaplamalarda belirlilik katsayısı $Q^2=0.981$ olarak bulunmuştur. Kurulan regresyon modelindeki katsayıların ana kütle değerlerine ne kadar yakın olduğu (yani güvenilirliği), katsayıların standart hatalarına bakılarak ölçülmektedir. Yöntemin doğruluğunu tespit etmek için harici test setine (5 bileşik) ait R^2 değeri hesaplandığında değer $R^2=0.998$ olarak bulunmuştur.

4. BÖLÜM

TARTIŞMA-SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında 31 adet steroid bileşik serisi ve 26 adet fenoterol stereoizomerleri serisi MCET metoduyla 3D QSAR olarak incelendi. L-R arasındaki etkileşime dayalı en iyi sonuçlar, farklı LRD'ler arasından yeni bir LRD olarak tanıttığımız Klopman İndeksi tanımlayıcısı ile elde edildi. Her iki seri için de elde edilen tüm sonuçlar ayrı ayrı değerlendirilerek önerilerde bulunuldu.

4.1. Steroid Molekül Serisi

İlk seri olarak çalışılan 31 adet steroid molekül seti için 3D QSAR çalışmaları MCET metodu içerisinde yapılmıştır. L-R arasındaki oluşacak kompleks yapının bağlanma bölgesi ve yapısal özellikleri hakkında öngörude bulunulmuştur. L-R arasındaki etkileşimde aktiviteden sorumlu Pha yapılar, 3D QSAR modelinde atomların elektronik değerlerine ait farklı tanımlayıcılara göre ileri sürülmüştür. Bu tanımlayıcılar arasından en uygun olanı, NLLS sonucuna göre belirlenmiştir. Bütün LRD'ler arasından Klopman indeksi tarafından üretilen Pha ile en iyi sonuç elde edilmiştir ($Q^2=0.955$ ve $R^2=0.964$). Yeni bir bileşiğin moleküler yapısı farklı olsa bile Pha yapısına karşılık gelen atomların tanımlayıcı değerleri kullanılarak, aktivitesi hesaplanabilir. Steroid bileşik serisi için Pha grubunu oluşturan moleküller ise n01, n08 ve n18'dir.

4.2. Fenoterol Stereoizomerleri Serisi

β^2 -AR olan 26 adet fenoterol stereoizomerleri bu tez çalışmasında 3D QSAR incelemelerinde ikinci bir seri olarak kullanılmıştır. İlk seride olduğu gibi bu seride de yapı-aktivite ilişkisini 3D QSAR olarak açıklamak için kendi yazılımımız olan MCET yöntemi kullanılmıştır ve Pha ortaya çıkarılmıştır. Pha içerisinde biyo-yapının birer parçası olan Pha, AG ve APS grupları fenoterol stereoizomerleri serisinde n01 ve n24

numaralı moleküllerde mevcut olduğu görülmüştür. Elde edilen sonuçların literatürdeki diğer programlarda elde edilenlerden daha tatminkar olduğu görülmüş ve hem programımızın güvenilirliği hem de kullandığımız LRD Klopman İndeksi tanımlayıcısının faydalı ve yeterli bir tanımlayıcı olduğu bir kez daha kanıtlanmıştır ($Q^2=0.981$ ve $R^2=0.998$). Tablo 4.1’de her ki molekül serisi için kullanılan tanımlayıcılar ve elde edilen en iyi Q^2 ve R^2 değerleri gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Çalışılan iki seri için bulunan en iyi sonuçlar

Seri- Türev adı	En iyi tanımlayıcı	Q^2	R^2
1.Seri-Steroid bileşik seti	nLKlopman	0,955	0,964
2.Seri-Fenoterol stereoizomerleri	eLKlopman	0,981	0,998

Enantiyoselektif moleküllerin 3B yapı-aktivite ilişkileri ancak atomların bölgesel etkileşimleriyle açıklanabileceğinden dolayı farklı LRD tipleri kullanılmıştır. MCET içinde kullanılan LRD’nin ya atomik yük ya da katsayı olmak üzere etkileşim elementleri tek tip olmanın yanı sıra Klopman indeksinde her iki etkileşim elemanlarının kombinasyonlarıyla LRD tipleri çoğaltılmıştır. Etkileşim sırasında bir atomun LRD’leri bir veya iki etkileşim elemanı ile temsil edildiğinden Pha yapısını anlamak ve yorumlamak oldukça kolaydır. Nonpolar” (NP), “polar-positif yük” (P^+), “polar-negatif yük” (P^-), “hidrojen bağı akseptörü” (HA), “hidrojen bağı donörü” (HD) gibi etkileşim elementlerinin her bir atom üzerinde haritasını takip etmek zor olduğu halde Klopman indeksinde olduğu gibi en fazla iki (atomik yük ve katsayı) etkileşim element ile pratik yaklaşım sağlanabilir. Her iki seride en fazla iki etkileşim elementinden türetilen farklı LRD tipleri arasında sırasıyla nLKlopman ve eLKlopman İndeksi tanımlayıcısı ile en iyi ve en doğru sonuçlar gözlemlendi. Bu da daha sonraki QSAR çalışmalarında yaygın olarak Klopman indeksinin bir tanımlayıcı olma yeteneğini ve özelliğini göstermektedir.

Çalışılan her iki seride eğitim ve test setleri için elde edilen sonuçların farklı uluslararası yazılımlar ile hesaplanandan daha iyi olması hem MCET yönteminin hem de LRD olarak kullanılan Klopman İndeks tanımlayıcısının güvenli olduğunu göstermiştir. Bileşiklerin IC_{50} değerlerini tahmin etmek için elde edilen Pha’nın oldukça gerçekçi olduğu Klopman indeksine bağlı olarak bir 3B fizikokimyasal etkileşiminden doğan

enerji değerlerine dayandırılmıştır. Böylece elektrostatik ve kovalent etkileşimler kullanarak elde edilen model, yapı-aktivite ilişkisi için oldukça açık ve yeterli bilgi sunmaktadır. Buna bağlı olarak, aktiviteyi etkileyen ve belirtilen yapısal özelliklere sahip bir dizi yeni molekül serisi tasarlanabilir.



KAYNAKÇA

1. Crippen, G. M., 2008. Chirality descriptors in QSAR. **Current Computer-Aided Drug Design**, **4**: 259-264.
2. Puzyn, T., Leszczynski, J., Cronin, M. T., 2010. Recent Advances in QSAR Studies. Methods and Applications. Challenges and advances in computational chemistry and physics. Springer, New York, 423 pp.
3. Cramer, R. D., Patterson, D. E., Bunce J. D., 1988. Comparative molecular field analysis (CoMFA). 1. Effect of shape on binding of steroids to carrier proteins. **Journal of the American Chemical Society**, **110** (18): 5959-5967.
4. Klebe, G., Abraham, U., Mietzner, T., 1994. Molecular similarity indices in a comparative analysis (CoMSIA) of drug molecules to correlate and predict their biological activity. **Journal of Medicinal Chemistry**, **37** (24): 4130-4146.
5. Sippl, W., 2010. 3D QSAR-application, recent advances and limitations, pp. 103–126. In: Recent advances in QSAR studies. Challenges and advances in computational chemistry and physics. (Eds: T. Puzyn, J. Leszczynski, M. T. Cronin). Springer New York.
6. Sharma, S., Ravichandran, V., Jain, P. K., Mourya, V. K., Agrawal, R. K., 2008. Prediction of caspase-3 inhibitory activity of 1,3-dioxo-4-methyl-2,3-dihydro-1h-pyrrolo[3,4-c] quinolines: QSAR study. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, 424-431..
7. Chen, G. H., Xia, Z. N., Lu, Y., 2010. Three-dimensional vector of pharmacophore atomic interaction and its applications to stereoisomeric description. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, **102**: 91-99.
8. Castillo-Garit, J. A., García-Domenech, R., Marrero-Ponce, Y., Torrense, F., Abad, C., 2011. Atom-based 3D-chiral quadratic indices. Part 3: prediction of the binding affinity of the stereoisomers of fenoterol to the β_2 adrenergic receptor. **Afinidad-Barcelona- LXVIII**, **555**: 334-340.

9. Rang, H. P., Dale, M. M., Ritter, J. M., Flower, R. J., Henderson, G., 2012. Rang & Dale's Pharmacology Edinburgh. Elsevier/Churchill Livingstone, New York, 777 pp
10. Kayaalp, O., 2000. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 1, 1-199.
11. Atanasov, A. G., Waltenberger, B., Pferschy-Wenzig, E. M., Linder, T., Wawrosch, C., Uhrin, P., Temml, V., Wang, L., Schwaiger, S., Heiss, E. H., Rollinger, J. M., Schuster, D., Breuss, J. M., Bochkov, V., Mihovilovic, M. D., Kopp, B., Bauer, R., Dirsch, V. M., Stuppner, H., 2015. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. **Biotechnol Adv.** **33** (8):1582-614. doi:10.1016/j.biotechadv.2015.08.001. PMC 4748402. PMID 26281720.
12. Kaya S, Ünsal A. 2002. İlaçların etkileri, veteriner farmakoloji. Cilt 1.4. Baskı. Ankara: Medisan Yayınevi, s.:89-121
13. Clark, A.J. 1933. The Mode Of Action Of Drugs On Cells, Edward Arnold
14. Kenakin T. 2004. Principles: receptor theory in pharmacology, Trends in pharmacological Sciences Vol:25 No.4 186-192.
15. <https://www.lecturio.com/magazine/biological-interaction/> (Erişim Tarihi, Ocak 2022)
16. Kaymakçalan, Ş., 1970. Genel Farmakoloji, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara.
17. Madsen U, Krogsgaard-Larsen P, Liljefors T (2002). Textbook of Drug Design and Discovery. Washington, D.C.: Taylor & Francis. ISBN 978-0-415-28288-8.
18. Reynolds CH, Merz KM, Ringe D, eds. (2010). Drug Design: Structure- and Ligand-Based Approaches (1 ed.). Cambridge, UK: Cambridge University Press. ISBN 978-0521887236.
19. Richards W. G., 1994. Computer Aided Drug Design, **Pure Appl. Chem.**, **66** (8), 1589-1596.

20. Tollenaere JP (Apr 1996). "The role of structure-based ligand design and molecular modelling in drug discovery". **Pharmacy World & Science**. **18** (2): 56–62. doi:10.1007/BF00579706. PMID 8739258. S2CID 21550508.
21. Waring MJ, Arrowsmith J, Leach AR, Leeson PD, Mandrell S, Owen RM, Pairaudeau G, Pennie WD, Pickett SD, Wang J, Wallace O, Weir A (2015). "An analysis of the attrition of drug candidates from four major pharmaceutical companies". **Nature Reviews Drug Discovery**. **14** (7): 475–86. doi:10.1038/nrd4609. PMID 26091267. S2CID 25292436.
22. <http://netsci.org/scgi-bin/Courseware/Drugs/Intro/top.html>. (Erişim tarihi, Ocak 2022)
23. Shahlaei, M., 2013. Descriptor selection methods in quantitative structure–activity relationship studies: a review study. **Chemical Reviews**, **113**: 8093–8103.
24. Cherkasov A, Eugene N. Muratov, Denis Fourches, Alexandre Varnek, Igor I. Baskin, Mark Cronin, John Dearden, Paola Gramatica, Yvonne C. Martin, Roberto Todeschini, Viviana Consonni, Victor E. Kuz'min, Richard Cramer, Romualdo Benigni, Chihae Yang, James Rathman, Lothar Terfloth, Johann Gasteiger, Ann Richard, Alexander Tropsha (2014) QSAR modeling: where have you been? Where are you going to? **J Med Chem** **57**: 4977–5010. <https://doi.org/10.1021/jm4004285>
25. S.Surabhi, B. 2018. Singh, Computer aided drug design: an overview, **J. Drug Deliv. Therapeut.** **8** (5), 504e509.
26. A. Veselovsky, A. Ivanov, Strategy of computer-aided drug design, *Curr. Drug Targets - Infect. Disord.* **3** (1) (2003) 33e40.
27. Hassan Baig, M., Ahmad, K., Roy, S., Mohammad Ashraf, J., Adil, M., Haris Siddiqui, M., Khan, S., Amjad Kamal, M., Provazník, I., Choi, I., 2016. Computer aided drug design: success and limitations, **Curr. Pharmaceut. Des.** **22**(5), 572-581.
28. Kore, P.P., Mutha, M.M., Antre, R.V., Oswal, R.J., Kshirsagar, S.S., 2012. Computer-aided Drug Design: an Innovative Tool for Modeling.

29. Durrant JD, McCammon JA (2011) Molecular dynamics simulations and drug discovery. **BMC Biol** **9**:71. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-9-71>
30. Ganesan, A., Coote M.L., Barakat K. 2017. Molecular dynamics-driven drug discovery: leaping forward with confidence. *Drug Discov Today* **22**:249–269. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2016.11.001>
31. Leelananda S.P, Lindert S. 2016. “Computational methods in drug discovery” **Beilstein J. Org. Chem.** **12**, 2694–2718. DOI: 10.3762/bjoc.12.267
32. Mortier, J., Rakers, C., Bermudez, M., Murgueitio, M. S., Riniker, S., Wolber, G. (2015). The impact of molecular dynamics on drug design: applications for the characterization of ligand–macromolecule complexes. **Drug Discovery Today**, **20**(6), 686–702. doi:10.1016/j.drudis.2015.01.003
33. Sliwoski, G, Kothiwale, S, Meiler, J, Lowe, E. W. 2014. “Computational Methods in Drug Discovery” **Pharmacol Rev** **66**: 334–395.
34. Liljefors, T, Petterson, I. 2004 Computer-Aided Development and Use of Three Dimensional Pharmacophore Models In Handbook of Drug Design and Discovery; Larsen P K, Liljefors T and Madsen U., Eds, (New York: CRCPress)p 86- 116.
35. McCarthy J D 1999 Computational approaches to structure-based ligand design **Pharmacology & Therapeutics.** **84**,179–91.
36. Appelt K, Becquet R J and Barlett C A 1991 Design of enzyme inhibitors using iterative protein crystallographic analysis. **J. Med. Chem.** **34**, 1834-925.
37. Thaisrivongs S 1994 HIV protease inhibitors. **Annu. Rep. Med. Chem.** **29**, 133-44.
38. Hlasta, D. J, Pagani, E. D. 1998 Human leukocyte elastase inhibitors. **Annu. Rep. Med. Chem.** **29**, 195-204.
39. Baldwin J J, Panticello GS and Anderson P S 1989 Novel topically active carbonic anhydrase inhibitors for the treatment of glaucoma. **J. Med. Chem.** **32**, 2510-13.
40. Worthy W. 1990. Synthetic Sweeteners Developed Design. **Chem. Eng. News.** **68** (18) 8.

41. Tomar V, Mazumder M, Chandra R, Yang J, Sakharkar M. K. 2019. Small Molecule Drug Design, **Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology**, 3, 741-760. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.20157-X>
42. Mallipeddi, P. L., Kumar, G., White, S. V., Webb, T. R. 2014. Recent advances in computer –aided drug design as applied to anti-influenza drug discovery. **Current topics in Medicinal Chemistry**, 14, 1875-1889.
43. Ou-Yang, S. S., Lu, J. Y., Kong, X. Q., Liang, Z. J., Luo, C., Jiang, H. 2012. Computational drug discovery. **Acta Pharmacologica Sinica**, 33, 1131-1140.
44. Yu, W., Mackerell, A.D., 2017. Computer-Aided Drug Design Methods. **Methods in Molecular Biology**, 1520: 93–94.
45. Akı, E., 2013. İlaç Etken Maddesi Araştırma ve Geliştirme Yöntemleri.
46. Koga, H., Itoh, A., Murayama, S., Suzue, S., & Irikura, T. (1980). Structure-activity relationships of antibacterial 6, 7-and 7, 8-disubstituted 1-alkyl-1, 4-dihydro-4-oxoquinoline-3-carboxylic acids. **Journal of medicinal chemistry**, 23(12), 1358-1363.
47. Duncia, J. V., Chiu, A. T., Carini, D. J., Gregory, G. B., Johnson, A. L., Price, W. A., ... & Timmermans, P. B. (1990). The discovery of potent nonpeptide angiotensin II receptor antagonists: a new class of potent antihypertensives. **Journal of medicinal chemistry**, 33(5), 1312-1329.
48. Duncia, J. V., Carini, D. J., Chiu, A. T., Johnson, A. L., Price, W. A., Wong, P. C., ... & Timmermans, P. B. (1992). The discovery of DuP 753, a potent, orally active nonpeptide angiotensin II receptor antagonist. **Medicinal research reviews**, 12(2), 149-191.
49. Can, H., 2013. İlaç Tasarımında Kuantum Kimya Uygulamaları – I. Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü.
50. Smith, S. J., Sutcliffe, B. T., 1997. The development of computational chemistry in the United Kingdom. **Reviews in Computational Chemistry**. 70: 271–316.

51. Zahid, M. A. H., Mittal, A., Joshi, R. C. A., 2006. Pattern recognition-based approach for phylogenetic network construction with constrained recombination. **Pattern Recognition**, **39** (12): 2312-2322
52. Wang, S., Lu, H., Zhao, Y., Mostofi, R., Young Kim, H., Yin, L., 2007. Numerical study of coal particle cluster combustion under quiescent conditions. **Chemical Engineering Science**, **62** (16): 4336-4347.
53. Wang, S., He, C., Hashemi, T., Bayne, M., 1997. Cloning and expressional characterization of a novel galanin receptor. Identification of different pharmacophores within galanin for the three galanin receptor subtypes. **Journal of Biological Chemistry**, **272** (3): 1949–52.
54. <http://fred.hmc.psu.edu/ds/retrieve/fred/meshdescriptor/D013329>. (erişim tarihi, Ocak 2022)
55. Paola Gramatica. 2014. A Short History Of Qsar Evolution.
56. Borman, S. 1990. New QSAR Techniques Eyed for Environmental Assessments. **Chem. Eng. News**, **68**: 20-23.
57. Lipnick, R.L. 1986. Charles Ernest Overton: Narcosis Studies and a Contribution to General Pharmacology. **Trends Pharmacol. Sci.**, **7**: 161-164.
58. Crum-Brown A, Fraser TR. On the connection between chemical constitution and physiological action. Part 1. On the physiological action of the ammonium bases, derived from Strychia, Brucia, Thebaia, Codeia, Morphia and Nicotia. *Trans. Roy. Soc. Edinburgh*. 1868–9; 25:151–203.
59. Meyer, H. 1899. Welche Eigenschaft der Anaesthetica bedingt ihre narkotische Wirkung?. **Naunyn-Schmiedeberg's Arch Exp Pathol Pharmacol**, **42**, 109-118.
60. Overton, E. 1901. Studien iiber die Narkose. *fischer, Jena*.
61. Hammett, L.P. 1935. Some relations between reaction rates and equilibrium constants. **Chemical reviews**, **17**(1), 125-136.
62. Hammett, L.P., 1970. Physical Organic Chemistry, 2nd ed., McGraw-Hill, New York.

63. Taft Jr, R. W. 1952. Polar and steric substituent constants for aliphatic and o-Benzoate groups from rates of esterification and hydrolysis of esters. **Journal of the American Chemical Society**, **74**(12), 3120-3128.
64. Hansch, C., Maloney, P. P., Fujita, T., Muir, R. M. 1962. Correlation of biological activity of phenoxyacetic acids with Hammett substituent constants and partition coefficients. **Nature**, **194**(4824), 178-180.
65. Hansch, C., Fujita, T., 1964. p-s-p Analysis. A method for the correlation of biological activity and chemical structure. **Journal of the American Chemical Society**, **86**: 1616-1626
66. Mark T. D. Cronin. 2010. Quantitative Structure-Activity Relationships (Qsars) – Applications And Methodology 3-11 **Recent Advances In Qsar Studies** (Tomasz Puzyn, Jerzy Leszczynski, Mark T.D. Cronin) Springer Dordrecht Heidelberg London New York
67. Türkmenoğlu, B., 2013. Benzodiazepin GABAA Reseptöründe Flavonoid Bağlanmalarının MCET Metoduyla 4D QSAR İncelenmesi. Erciyes Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 107.
68. Fruhbeis, H., Klein, R., Wallmeier, H., 1987. Computer-assisted molecular design (CAMD): An overview. **Angewandte Chemie International Edition**, **26**: 403-418.
69. Hansch C., Steward A.R. 1964. The use of substituent constants in the analysis of the structure-activity relationship in penicillin derivatives. **J Med Chem** **7**:691-694
70. Hansch, C., Muir, R.M., Fujita, T., Maloney, P.P., Geiger, E., Streich, M., 1963. The correlation of biological activity of plant growth regulators and chloromycetin derivatives with Hammett constants and partition coefficients. **Journal of the American Chemical Society**, **18**: 2817-2824.
71. Kubinyi, H., 1997. QSAR and 3D QSAR in drug design. **Drug Discovery Today**, **2**: 457-467.
72. Kubinyi, H., 1993. QSAR: Hansch analysis and related approaches. **Methods and Principles in Medicinal Chemistry**, **1**.

73. Free, S.M., Wilson, J.W., 1964. A mathematical contribution to structure–activity studies. **Journal of Medicinal Chemistry**, 7: 395–399.
74. 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., 2000. Farmasötik Kimya, Ankara.
75. Kubinyi, H., 2002. From narcosis to hyperspace: The history of QSAR. **Quantitative Structure-Activity Relationships**, 21: 348-356.
76. http://molvis.chem.indiana.edu/C687_S99/lecture4.html (Erişim Tarihi: Aralık 2021).
77. Fujita, T., Ban, T., 1971. Structure-Activity Study of Phenethylamines as Substrates of Biosynthetic Enzymes of Sympathetic Transmitters. **Journal of Medicinal Chemistry**, 14: 148–152.
78. Gao, H., Lajiness, M.S., Van Drie J., 2002. Enhancement of binary QSAR analysis by a GA-based variable selection method. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, 20 (4): 259-68.
79. Patel, H. M., Noolvi, M. N., Sharma, P., Jaiswal, V., Bansal, S., Lohan, S., Kumar, S. S., Abbot, V., Dhiman, S., Bhardwaj, V. 2014. Quantitative structure–activity relationship (QSAR) studies as strategic approach in drug discovery, **Med Chem Res**, 23:4991–5007 DOI: 10.1007/s00044-014-1072-3
80. Seel, M, Turner, D. B., Willett, P. (1999) HQSAR - a highly predictive QSAR technique based on molecular holograms. **QSAR** 18:245–252
81. Artemenko, A. G., Muratov, E. N., Kuz'min, V. E. et al. (2007) Identification of individual structural fragments of N,N_-(bis-5-nitropyrimidyl) dispirotripiperazine derivatives for cytotoxicity and antiherpetic activity allows the prediction of new highly active compounds. **J Antimicrob Chemother** 60: 68-77.
82. Baurin N, Mozziconacci JC, Arnoult E et al. (2004) 2D QSAR consensus prediction for highthroughput virtual screening. An application to COX-2 inhibition modeling and screening of the NCI database. **J Chem Inf Model**, 44:276–285

83. Kuz'min, V. E., Artemenko, A. G., Muratov, E. N., Polischuk, P. G., Ognichenko, L. N., Liahovsky, A. V., Hromov, A. I., Varlamova, E. V. 2010 Virtual Screening And Molecular Design Based On Hierarchical Qsar Technology, Recent Advances In Qsar Studies (Tomasz Puzyn, Jerzy Leszczynski, Mark T.D. Cronin) 127–176.
84. Baxter AD, Lockey PM (2001) 'Hit' to 'lead' and 'lead' to 'candidate' optimization using multi-parametric principles. **Drug Discov World** 2:9–15
85. Lill, M.A., 2007. Multi-dimensional QSAR in drug discovery. **Drug Discovery Today**, 12: 1013–1017.
86. Perkins, R., Fang, H., Tong, W., Welsh, W. J., 2003. Quantitative structure-activity relationship methods: perspectives on drug discovery and toxicology. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 22 (8): 1666-1679.
87. David, R., Tripos, L., 1997. HQSAR: A new highly predictive QSAR technique. **Tripos Technical Notes**, 1 (5), 1-17.
88. Heritage, T.; Lowis, D. R. 1999. In Rational Drug Design; Parrill, A. L., Reddy, M. R., Eds.; American Chemical Society: Washington, DC, pp 212–225.
89. Lindberg, W.; Persson, J.-A.; Wold, S. Anal. Chem. 1983, 55, 643–648.
90. Myint, K.Z., Xie, X.Q., 2010. Recent advances in fragment-based QSAR and multi-dimensional QSAR methods. **International Journal of Molecular Sciences**, 11: 3846–3866.
91. Zhang, H., Li, H., Liu, C. 2005. CoMFA, CoMSIA, and molecular hologram QSAR studies of novel neuronal nAChRs ligands-open ring analogues of 3-pyridyl ether. **Journal of chemical information and modeling**, 45(2), 440-448.
92. Honorio, K. M., Garratt, R. C., Andricopulo, A. D. 2005. Hologram quantitative structure–activity relationships for a series of farnesoid X receptor activators. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, 15(12), 3119-3125.

93. Zheng, W., Cho, S.J., Tropsha, A., 1998. Rational combinatorial library design.1. focus-2D: A new approach to the design of targeted combinatorial chemical libraries.**Journal Chemical Informational Computer Sciences**, **38** (2): 251-258.
94. Visco Jr, D. P., Pophale, R. S., Rintoul, M. D., Faulon, J. L. 2002. Developing a methodology for an inverse quantitative structure-activity relationship using the signature molecular descriptor. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, **20**(6), 429-438.
95. Churchwell, C. J., Rintoul, M. D., Martin, S., Visco Jr, D. P., Kotu, A., Larson, R. S., ... Faulon, J. L. 2004. The signature molecular descriptor: 3. Inverse-quantitative structure-activity relationship of ICAM-1 inhibitory peptides. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, **22**(4), 263-273.
96. Labute, P.,1999. Binary QSAR: A new method for the determination of quantitative structure activity relationships. **Pacific Symposium on Biocomputing**, 444-455
97. Gao, H., Williams, C., Labute, P., Bajorath, J., 1999. Binary quantitative structure-activity relationship (QSAR) analysis of estrogen receptor ligands. **Journal Chemical Informational Computer Sciences**, **39**: 164.
98. Kubinyi, H., Folkers, G., Martin, Y.C., 1998. 3D QSAR in drug design-Recent advances. **Perspectives in Drug Discovery and Design**, **12**: R5– R7.
99. Mezey, P. G. 1992. Shape-similarity measures for molecular bodies: A 3D topological approach to quantitative shape-activity relations. **Journal of chemical information and computer sciences**, **32**(6), 650-656.
100. Camenisch, G., Folkers, G., van de Waterbeemd, H. 1998. Shapes of membrane permeability-lipophilicity curves: extension of theoretical models with an aqueous pore pathway. **European journal of pharmaceutical sciences**, **6**(4), 321-329.
101. Fania Bajot. 2010. The Use Of Qsar And Computational Methods In Drug Design (Tomasz Puzyn, Jerzy Leszczynski, Mark T.D. Cronin) **Recent Advances In Qsar Studies**, 261–282. Doi 10.1007/978-1-4020-9783-6_9,

102. Carrupt P-A, Testa B., Gaillard P. 1997. Computational approaches to lipophilicity: Methods and applications. In: Boyd DB, Lipkowitz KB (eds) *Reviews in computational chemistry*, 11. Wiley-VCH, New York
103. Cramer, R. D., Wendt, B. 2007. Pushing the boundaries of 3D-QSAR. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, **21**(1), 23-32.
104. Kubinyi H., (Ed.).3D QSAR in Drug Design. Theory Methods and Applications; ESCOM: Leiden, 1993, pp 759.
105. Green, S. M., Marshall, G. R. 1995. 3D-QSAR: a current perspective. **Trends in pharmacological sciences**, **16**(9), 285-291.
106. R. D. Cramer, S. A. dePriest, D. E. Patterson, P. Hecht, in *3D QSAR in Drug Design. Theory Methods and Applications*; ; H. Kubinyi, Eds., ESCOM, Leiden, 1993, p. 443. The Developing Practice of Comparative Molecular Field Analysis.
107. Kim, K. H., Greco, G., Novellino, E. 1998. A critical review of recent CoMFA applications. **3D QSAR in drug design**, 257-315.
108. Kubinyi, H. 2008. Comparative Molecular Field Analysis (CoMFA) In book: *Handbook of Chemoinformatics: From Data to Knowledge in 4 Volumes* Ludwigshafen Germany. 1555-1574 Johann Gasteiger (Editor) ISBN: 978-3-527-61827-9 Online ISBN:9783527618279 Wiley-VCH (https://www.academia.edu/25034618/Comparative_Molecular_Field_Analysis_CoMFA)
109. Folkers G., Merz A., Rognan D. 1993. CoMFA: Scope and limitations. In: Kubinyi H (ed) *3D QSAR in drug design. Theory, methods and applications*. ESCOM Science Publishers BV, Leiden.
110. Goodford, P. J. 1985. A computational procedure for determining energetically favorable binding sites on biologically important macromolecules. **Journal of medicinal chemistry**, **28**(7), 849-857.
111. Wold, S., Ruhe, A., Wold, H., & Dunn, Iii, W. J. (1984). The collinearity problem in linear regression. The partial least squares (PLS) approach to generalized inverses. *SIAM Journal on Scientific and Statistical Computing*, **5**(3), 735-743.

112. Wold, S., Johansson, E., Cocchi, M., 1993. in *3D QSAR in Drug Design. Theory Methods and Applications*; H. Kubinyi, Eds., ESCOM, Leiden, p. 523. PLS-Partial Least-Squares Projections to Latent Structures.
113. Wold, S. (1978). Cross-validatory estimation of the number of components in factor and principal components models. **Technometrics**, **20**(4), 397-405.
114. Kubinyi, H. (Ed.). 1993. *3D QSAR in drug design: volume 1: theory methods and applications* (Vol. 1). Springer Science & Business Media.
115. Thibaut, U.. (1993). *3D QSAR in Drug Design. Theory Methods and Applications*; H. Kubinyi, Eds., ESCOM, Leiden, p. 661. Applications of CoMFA and Related 3D QSAR Approaches.
116. Cramer III, R. D., Bunce, J. D., Patterson, D. E., Frank, I. E. (1988). Crossvalidation, bootstrapping, and partial least squares compared with multiple regression in conventional QSAR studies. **Quantitative Structure-Activity Relationships**, **7**(1), 18-25.
117. Hopfinger, A.J. 1980. A QSAR Investigation of Dihydrofolate Reductase Inhibition by Baker Triazines Based upon Molecular Shape Analysis. **J.Am. ChemSoc.**, **102**, 7196-7206.
118. Burke, B.J., Hopfinger, A.J. 1993. Advances in Molecular Shape Analysis. In *3D QSAR in Drug Design. Theory, Methods and Applications*. (Kubinyi, H., ed.), ESCOM, Leiden (The Netherlands), pp. 276-306.
119. Klebe, G., Kubinyi, H., Folkers, G., Martin, Y.C., 1998. Comparative molecular similarity indices: CoMSIA 3D QSAR in drug design. **Kluwer Academic Publishers**, **3**, 87.
120. Hou, T., Li, Y., Liao, N., Xu, X., 2000. Three-dimension quantitative structure-activity relationship analysis of some cinnamamides using comparative molecular similarity indices analysis (CoMSIA). **Journal of Molecular Modeling.**, **6**: 438-445.
121. Doweyko, A. M. 2007. Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationship: The State of the Art, Pages 575-595, In: *Comprehensive*

Medicinal Chemistry II Volume 4: Computer-Assisted Drug Design (John B. Taylor, David J. Trigg). Elsevier

122. Silverman, B. D., Platt, D. E. 1996. Comparative molecular moment analysis (CoMMA): 3D-QSAR without molecular superposition. **Journal of medicinal chemistry**, **39**(11), 2129-2140.
123. Silverman, B. D., Platt, D. E., Pitman, M., Rigoutsos, I. 1998. Comparative molecular moment analysis (CoMMA). **Perspectives in drug discovery and design**, **12**, 183-196.
124. Hopfinger, A.J., Wang, S., Tokarski, J. S., Jin, B., Albuquerque, M., Madha, P. J., 1997. Construction of 3D QSAR models using the 4D QSARanalysis formalism. **Journal of the American Chemical Society**, **119**: 10509–10524
125. Ekins, S., Bravi, G., Binkley, S., Gillespie, J.S., Ring, B.J., Wikel, J.H., Wrighton, S.A., 2000. Three-and four-dimensional-quantitative structure activity relationship (3D/4D QSAR) analyses of CYP2C9 inhibitors. **Drug Metabolism & Disposition**. **28**: 994–1002.
126. Albuquerque M.G., Hopfinger A.J., Barreiro E.J., De-Alencastro R.B. 1998. Four-dimensional quantitative structure-activity relationship analysis of a series of interphenylene 7-oxabicycloheptane oxazole thromboxane A2 receptor antagonists. **J Chem Inf Comput Sci** **38**:925–938,
127. Albuquerque M., Brito M., Cunha E., Alencastro R., Antunes O., Castro H., Rodrigues C. 2007. Multidimensional-QSAR: beyond the third-dimension in drug design. **Curr Methods Med Chem Biol Phys** **1**:91–100
128. Andrade, C. H., Pasqualoto, K. F., Ferreira, E. I., Hopfinger, A. J. 2009. Rational design and 3D-pharmacophore mapping of 5'-thiourea-substituted α -thymidine analogues as mycobacterial TMPK inhibitors. **Journal of chemical information and modeling**, **49**(4), 1070-1078.
129. Krasowski, M. D., Hong, X., Hopfinger, A. J., Harrison, N. L. 2002. 4D-QSAR analysis of a set of propofol analogues: mapping binding sites for an anesthetic phenol on the GABAA receptor. **Journal of medicinal chemistry**, **45**(15), 3210-3221.

130. Damale, M., Harke, S., Kalam Khan, F., Shinde, D., & Sangshetti, J. (2014). Recent Advances in Multidimensional QSAR (4D-6D): A Critical Review. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, **14**(1), 35–55. doi:10.2174/138955751131 36660104
131. Vedani, A., Dobler, M. (2002). 5D-QSAR: The Key for Simulating Induced Fit? **Journal of Medicinal Chemistry**, **45**(11), 2139–2149. doi:10.1021/jm011005p
132. Vedani, A., Dobler, M., Lill, M. A. (2005). Combining Protein Modeling and 6D-QSAR. Simulating the Binding of Structurally Diverse Ligands to the Estrogen Receptor. **Journal of Medicinal Chemistry**, **48**(11), 3700–3703. doi:10.1021/ jm050185q
133. http://www.genomicglossaries.com/content/molecular_modeling_gloss.asp (Erişim tarihi, Ocak 2022)
134. Smith, C., 1998. Molecular modeling -seeing the whole picture with modeling software packages. **Scientist**, **12**: 17-31.
135. Cohen, N. C. (Ed.). 1996. *Guidebook on molecular modeling in drug design*. Gulf Professional Publishing.
136. Leach, A. R., Gillet V. J. 2007. *An Introduction to Cheminformatics*, 255, Springer ISBN 978-1-4020-6290-2
137. Efron, B. 1983. Estimating the Error Rate of a Prediction Rule: Improvement on Cross-Validation. **Journal of American Statistical Association**, **78**, 316-331.
138. Osten, D.W. 1988. Selection of optimal regression models via cross-validation. **Journal of Chemometrics**, **2**(1), 39-48.
139. Berman, H.M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T.N., Weissig, H., Shindyalov, L.N., Bourne, P.E., 2000. The protein data bank. **Nucleic Acids Research**, **28**: 235-242.
140. Coats, E. A. 1998. The CoMFA steroids as a benchmark dataset for development of 3D QSAR methods. In *3D QSAR in drug design* (pp. 199-213). Springer, Dordrecht.

141. Todeschini, R., Consonni, V. 2000. Methods and Principles in Medicinal Chemistry In: Handbook of Molecular Descriptors (R. Mannhold, H. Kubinyi, H. Timmerman) WILEY-VCH Verlag GmbH. Pp:667
142. Bersuker, I. B., Bahceci, S, Boggs, J. 2000. E. In Pharmacophore Perception, Development, and Use in Drug Design, Guner OF, Ed.; International University Line: La Jolla, pp. 457-74.
143. Bersuker, I.B., 2003. Pharmacophore identification and quantitative bioactivity prediction using the electron-conformational method. **Current Pharmaceutical Design**, **9**: 1575-1606.
144. Marshall, G.R., Barry, C.D., Bosshard, H.E., Damkoehler, R.A., Dunn, D.A., 1979. The conformational parameter in drug design, The Active Analog Approach, In *Symposium on Computer-Assisted Drug Design*, ACS Symposium Series 112, (Olson), American Chemical Society, 205-226.
145. Cosentino, U., Moro, G., Pitea, D., Scolastico, S., Todeschini, R., Scolastico, C., 1992. Pharmacophore identification by molecular modeling and chemometrics, the case of HMG-CoA reductase inhibitors. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, **6**: 47-60.
146. Bersuker, I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M. Yu., Greni, A.I., Vysotskaya, L. E., Mikhailova, T.V., 1989. Study of the electronic and structural properties of the chemical compounds in garlic aroma. **Food/ Nahrung**, **33**, 405-411.
147. Bersuker, I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M., Vlad, P.F., Pesaro, M., 1991. Origin of musk fragrance activity, the electron-topological approach. **New Journal Chemistry**, **15**: 307-320.
148. Noorizadeh, H., Farmany, A. 2010. "Exploration of Linear and Nonlinear Modeling Techniques to Predict of Retention Index of Essential Oils", **Journal of the Chinese Chemical Society**, **57**, 1268-1277. <https://doi.org/10.1002/jccs.201000188>.
149. Kızılcın, D. Ş., Türkmenoğlu, B., Güzel, Y. 2020. The use of the Klopman index as a new descriptor for pharmacophore analysis on strong aromatase inhibitor flavonoids against estrogen-dependent breast cancer. **Structural Chemistry**, **31**(4), 1339-1351.

150. Alp Tokat, T., Türkmenoğlu, B., Güzel, Y., Kızılcın, D. Ş. 2019. Investigation of 3D pharmacophore of N-benzyl benzamide molecules of melanogenesis inhibitors using a new descriptor Klopman index: uncertainties in model. **Journal of Molecular Modeling**, 25:247 <https://doi.org/10.1007/s00894-019-4120-6>
151. Yılmaz, H., Güzel Y., Önal, Z., Altıparmak, G., Kocakaya S.O., 2011. 4D QSAR study of p56(lck) protein tyrosine kinase inhibitory activity of flavonoid derivatives using MCET method. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, 32 (12): 4352-4360.
152. Yılmaz H., Boz, M., Türkmenoğlu, B., Güzel, Y., 2014. Pharmacophore and functional group identification of 4,4'-dihydroxydiphenylmethane as bisphenol-A (BSA) derivative. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, 13 (1): 117-129.
153. Güzel, Y., Aslan, E., Türkmenoğlu, B., Su, E.M., 2018. 4D QSAR studies Using a new descriptor of the Klopman index: antibacterial activities of sulfone derivatives containing 1, 3, 4-oxadiazole moiety based on MCET model. **Current Computer Aided Drug Design**, 14 (3): 207-220.
154. Türkmenoğlu, B., Yılmaz, H., Su, E. M., Tokat, T. A., Güzel, Y. (2017). 4D-QSAR study of flavonoid derivatives with MCET method. **International Journal of Chemistry and Technology**, 1(1), 14-23.
155. Türkmenoğlu, B., Güzel, Y., 2018. Molecular docking and 4D QSAR studies of metastatic cancer inhibitor thiazoles. **Computational Biology and Chemistry**, 76: 327-337.
156. Türkmenoğlu, B., Güzel Y., 2021. Klopman Index: A new descriptor used in MCET for 3D/4D QSAR modeling, pp. 1-16. In: Current Academic Studies in Science and Mathematics Sciences-II (Eds: E. Yıldız, E. Yıldız Özkan). Livre de Lyon, France.
157. Kızılcın, D. Ş., Türkmenoğlu, B., Güzel, Y. 2021. Comparison of the performance of different "local reactive descriptors" in 3D-QSAR analysis of enantioselective molecules. **Structural Chemistry**, 1-11.

158. Klopman, G. 1968. Chemical reactivity and the concept of charge-and frontier-controlled reactions. **Journal of the American Chemical Society**, **90**(2), 223-234.
159. Klopman, G., 1974. Chemical Reactivity and Reaction Paths, John Wiley & Sons, Ltd, New York.
160. Türkmenoğlu, B., Güzel, Y., Su, E. M., & Kızılcın, D. Ş. 2020. Investigation of inhibitory activity of monoamine oxidase A with 4D-QSAR using Fukui indices identifier. **Materials Today Communications**, **25**, 101583.
161. Salem, L. 1968. Intermolecular orbital theory of the interaction between conjugated systems. II. Thermal and photochemical cycloadditions. **Journal of the American Chemical Society**, **90**(3), 543-552, 553-566.
162. LoPachin, R. M., Gavin, T. 2015. "Reactions of electrophiles with nucleophilic thiolate sites: relevance to pathophysiological mechanisms and remediation", **Free Radic Res.**, 50(2), 195–205. <https://doi.org/10.3109/10715762.2015.1094184>.
163. Doichinova, I. A., Natcheva, R. N., Mihailova, D. N. 1994. QSAR studies of 8-substituted xanthines as adenosine receptor antagonists. **European journal of medicinal chemistry**, **29**(2), 133-138.
164. Poleshchuk, O. K., Branchadell, V., Fateev, A. V., Legon, A. C. 2006. SO₃ complexes with nitrogen containing ligands as the object of nuclear quadrupole interactions and density functional theory calculations. **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, **761**(1-3), 195-201.
165. Stone, A. J. 1993. Computation of charge-transfer energies by perturbation theory. **Chemical physics letters**, **211**(1), 101-109.
166. Amos, R. D., Alberts, I. L., Andrews, J. S et al., 2001. The Cambridge Analytic Derivatives Package, issue 6.5, University of Cambridge, Cambridge.
167. Kızılcın, D. Ş. 2017. Östrojen Bağımlı Meme Kanseri Karşı Güçlü Aromataz İnhibitörleri Olarak Flavonoidlerin Mcet Metoduyla 4D QSAR İncelenmesi. Erciyes Üniversitesi, Kayseri, Yüksek Lisans Tezi, 92.

168. Guha, R., Willighagen, E. 2012. A survey of quantitative descriptions of molecular structure. **Current topics in medicinal chemistry**, 12(18), 1946-1956.
169. Goodarzi, M., Dejaegher, B., Heyden, Y. V. 2012. Feature selection methods in QSAR studies. **Journal of AOAC International**, 95(3), 636-651.
170. Palczewska, A., Neagu, D., Ridley, M. 2013. Using Pareto points for model identification in predictive toxicology. **Journal of Cheminformatics**, 5(1), 1-16.
171. Todeschini, R., Consonni, V., Maiocchi, A. 1999. The K correlation index: theory development and its application in chemometrics. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, 46(1), 13-29.
172. Hawkins, D. M. 2004. The problem of overfitting. **Journal of chemical information and computer sciences**, 44(1), 1-12.
173. Weininger, D. 1988. SMILES, a chemical language and information system. 1. Introduction to methodology and encoding rules. **Journal of chemical information and computer sciences**, 28(1), 31-36.
174. Rarey, M., Dixon, J. S. 1998. Feature trees: a new molecular similarity measure based on tree matching. **Journal of computer-aided molecular design**, 12(5), 471-490.
175. Bravi, G., Gancia, E., Mascagni, P., Pegna, M., Todeschini, R., Zaliani, A. 1997. MS-WHIM, new 3D theoretical descriptors derived from molecular surface properties: A comparative 3D QSAR study in a series of steroids. **Journal of computer-aided molecular design**, 11(1), 79-92.
176. Mundy, J. L., Huang, C., Liu, J., Hoffman, W., Forsyth, D. A., Rothwell, C. A., ... Bournez, O. 1994. MORSE: a 3D object recognition system based on geometric invariants. **Image Underst Work**, 2, 1393-402.
177. Karelson, M., Lobanov, V. S., Katritzky, A. R. 1996. Quantum-chemical descriptors in QSAR/QSPR studies. **Chemical reviews**, 96(3), 1027-1044.
178. Khan, A. U. 2016. Descriptors and their selection methods in QSAR analysis: paradigm for drug design. **Drug discovery today**, 21(8), 1291-1302.

179. Parr, R. G., Yang, W. 1984. Density functional approach to the frontier-electron theory of chemical reactivity. **Journal of the American Chemical Society**, **106**(14), 4049-4050.
180. Ayers, P. W., Levy, M. 2000. Perspective on “Density functional approach to the frontier-electron theory of chemical reactivity”. **Theoretical Chemistry Accounts**, **103**(3), 353-360.
181. Fukui, K., Yonezawa, T., Shingu, H. 1952. A molecular orbital theory of reactivity in aromatic hydrocarbons. **The Journal of Chemical Physics**, **20**(4), 722-725.
182. Sahu, V. K., Khan, A. K. R., Singh, R. K., Singh, P. P. 2008. “Hydrophobic, Polar and Hydrogen Bonding Based Drug-Receptor Interaction of Tetra hydroimidazobenzodiazepinones”, **American Journal of Immunology**, **4** (3), 33-42.
183. van der Vaart, A., Merz Jr, K. M. 2002. Charge transfer in small hydrogen bonded clusters. **The Journal of chemical physics**, **116**(17), 7380-7388.
184. Liao, H.Y., Chu, S.Y. 2003. Hydrogen bond acceptor capability of carbonyl π -electrons—case study of the hydrogen-bonded urea dimer. **New Journal of Chemistry**, **27**(2), 421-424.
185. Lewis, D. F. V., Ioannides, C., & Parke, D. V. (1994). Interaction of a series of nitriles with the alcohol-inducible isoform of P450: Computer analysis of structure—activity relationships. **Xenobiotica**, **24**(5), 401-408.
186. Nahar L., Sarker S.D, 2019. Chemistry for pharmacy students: general, organic and natural product chemistry, John Wiley & Sons
187. Sarker S.D., Lutfun N. 2007. Chemistry for pharmacy student. West Sussex, England: John Wiley & Sons Ltd
188. O'Donnell, S. R. 1970. A selective β -adrenoreceptor stimulant (Th1165a) related to orciprenaline. **European Journal of Pharmacology**, **12**(1), 35-43.
189. Heel, R. C., Brogden, R. N., Speight, T. M., Avery, G. S. 1978. Fenoterol: a review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy in asthma. **Drugs**, **15**(1), 3-32.

190. Xiao, R. P., Zhang, S. J., Chakir, K., Avdonin, P., Zhu, W., Bond, R. A., ... & Cheng, H. 2003. Enhanced Gi signaling selectively negates β 2-adrenergic receptor (AR)–but not β 1-AR–mediated positive inotropic effect in myocytes from failing rat hearts. **Circulation**, **108**(13), 1633-1639.
191. Jozwiak, K., Khalid, C., Tanga, M. J., Berzetei-Gurske, I., Jimenez, L., Kozocas, J. A., Wainer, I. W. 2007. Comparative molecular field analysis of the binding of the stereoisomers of fenoterol and fenoterol derivatives to the β 2 adrenergic receptor. **Journal of medicinal chemistry**, **50**(12), 2903-2915.
192. Kaiser, G., Wiemer, G., Kremer, G., Dietz, J., Palm, D. 1978. Identification and quantification of β -adrenoceptor sites in red blood cells from rats. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, **305**(1), 41-50.
193. Beigi, F., Bertucci, C., Zhu, W., Chakir, K., Wainer, I. W., Xiao, R. P., Abernethy, D. R. 2006. Enantioselective separation and online affinity chromatographic characterization of R, R-and S, S-fenoterol. **Chirality: The Pharmacological, Biological, and Chemical Consequences of Molecular Asymmetry**, **18**(10), 822-827.
194. Güzel, Y., 1996. Investigation of the relationship between the inhibitory activity of glycolic acid oxidase and its chemical structure, electron-topological approach. **Journal of Molecular Structure: Theochem**, **366**: 131-137.
195. Dimoglo, A. S., 1987. The electron-topological approach in the search and design of biologically active compounds. Thesis of Doctor of Sciences.
196. Rejer, I., Lorenz, K. 2013. Genetic algorithm and forward method for feature selection in EEG feature space, **Journal of Theoretical and Applied Computer Science**, **7** (2), 72-82
197. Gallant, A. R., 1982. Nonlinear Statistical Inference. Editör: John Wiley & Sons. New York: NY

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Dilek Şeyma KIZILCAN
Uyruğu: Türkiye (T.C)

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü	2018
Lisans	Pamukkale Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü	2011
Lise	Sakarya Anadolu Lisesi, Sakarya	2006

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2012-2015	Özel Hüma Kadın Hastalıkları ve Doğum Hastanesi	3 yıl

YABANCI DİL

İngilizce

ARAŞTIRMA ALANLARI

- 3 Boyutlu İlaç Tasarımı ve Modelleme
- QSAR (Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi)
- Hesaplamalı Kimya
- Fizikokimya
- Kimya

6. Kuantum kimyası

TEZLER

1. Yüksek Lisans, "Östrojen Bağımlı Meme Kanserine Karşı Güçlü Aromataz İnhibitörleri Olarak Flavonoidlerin MCET Metoduyla 4D Qsar İncelenmesi", Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Aralık, 2017.

YAYINLAR

1. **Kızılcın, D. Ş.**, Türkmenoğlu, B., Güzel, Y. (2021). Comparison of the performance of different “local reactive descriptors” in 3D QSAR analysis of enantioselective molecules. *Structural Chemistry* <https://doi.org/10.1007/s11224-021-01859-y>
2. Turkmenoglu, B., Guzel, Y., Su, E. M., **Kızılcın, D. Ş.** (2020). Investigation of inhibitory activity of monoamine oxidase A with 4D QSAR using Fukui indices identifier. *Materials Today Communications*, 25. doi:ARTN 101583 10.1016/j.mtcomm.2020.101583
3. **Kızılcın, D. Ş.**, Türkmenoğlu, B., Güzel, Y. (2020). The use of the Klopman Index as a new descriptor for pharmacophore analysis on strong aromatase inhibitor flavonoids against estrogen-dependent breast cancer. *Structural Chemistry*, <https://doi.org/10.1007/s11224-020-01498-9>
4. Alp Tokat, T., Türkmenoğlu, B., **Kızılcın, D. Ş.**, Güzel, Y. (2019). Investigation of 3D Pharmacophore of N-Benzyl Benzamide Molecules of Melanogenesis Inhibitors Using a New Descriptor Klopman Index; Uncertainties in Model. *Journal Of Molecular Modeling*, 25

ULUSLARARASI KONGRELERDE SUNULAN SÖZLÜ SUNUMLAR

1. Y. Güzel, B. Türkmenoğlu, **D.Ş. Kızılcın**. "Ligand-based determination of the 3D pharmacophore model of the receptor by non-linear least squares (NLLS) in the MCET method", International Conference on Applied Analysis and Mathematical Modeling, İstanbul, Türkiye, 20-24 Haziran 2018, vol.1, no.1, pp.1-1.
2. **D.Ş. Kızılcın**, B. Türkmenoğlu, Y. Güzel "4D QSAR Study on Monochloroacetic Acid Derivatives with Antimicrobial", International Eurasian Conference On

Biological And Chemical Sciences, Ankara, Türkiye, 26-27 Nisan, 2018, vol.1, no.1, pp.453-453.

3. B. Türkmenoğlu, **D. Ş. Kızılcın**, T. Alp Tokat, Y. Güzel, Z. Kökbudak, "Investigation of Imidazol [1,5A] Pyridine Derivatives as partial Agaonists of 5-HT4 Receptors by MCET Method", 1nd International Scientific and Vocational Studies Congress, BILMES Congres, Nevşehir, Türkiye, 5-8 Ekim 2017, vol.1, no.1, pp.119-120.
4. **D.Ş. Kızılcın**, B. Türkmenoğlu, T. Alp Tokat, Y. Güzel, Z. Kökbudak, "4D QSAR Investigation of Aralkyl Diamine Derivatives Used as Potential Triple Reuptake Inhibitors" 1nd International Scientific and Vocational Studies Congress, BILMES Congres, Nevşehir, Türkiye, 5-8 Ekim 2017, vol.1, no.1, pp.121-122.

ULUSLARARASI KONGRELERDE SUNULAN POSTERLER

1. B. Türkmenoğlu, **D.Ş. Kızılcın**, Y. Güzel, "4D QSAR and Molecular Docking Studies on Thiosemicarbazones and 1,3-thiazoles with Antitumor Activity", International Conference on Applied Analysis and Mathematical Modeling, İstanbul, Türkiye, 20-24 Haziran 2018, vol.1, no.1, pp.1-1.
2. B. Türkmenoğlu, **D.Ş. Kızılcın**, Y. Güzel, "Molecular Docking and 4D QSAR STUDIES OF P38 MAP KINASE INHIBITOR", INTERNATIONAL CONFERENCE ON PHYSICAL CHEMISTRY AND FUNCTIONAL MATERIALS (PCFM'18), ELAZIĞ, TÜRKİYE, 19-21 Haziran 2018, vol.1, no.1, pp.1-1
3. B. Türkmenoğlu, **D.Ş. Kızılcın**, Y. Güzel, "Molecular Docking and MCET Method Studies of Hydroxydiarylamide Compounds", INTERNATIONAL EURASIAN CONFERENCE ON BIOLOGICAL AND CHEMICAL SCIENCES, ANKARA, TÜRKİYE, 26-27 Nisan 2018, vol.1, no.1, pp.1265-1265.

ULUSAL KONGRELERDE SUNULAN POSTERLER

1. **D.Ş. Kızılcın**, B. Türkmenoğlu, Y. Güzel, "Östrojen-Bağımlı Meme Kanserine Karşı Güçlü Aromataz İnhibitörleri Olarak Flavonoidlerin MCET Metoduyla 4D QSAR İncelenmesi", 5. İlaç Kimyası: İlaç Etkin Maddesi Tasarımı, Sentezi, Üretimi ve Standardizasyonu Kongresi, Antalya, Türkiye, 30 Mart-2 Nisan 2017, vol.1, no.1, pp.267-267.

ULUSAL KONGRELERDE SUNULAN SÖZLÜ SUNUMLAR

1. B. Türkmenoğlu, **D.Ş. Kızılcan**, Y. Güzel, "Potansiyel Antitümör Ajanları Olarak Kumarin Türevlerinin 4D QSAR ve Moleküler Docking Çalışmaları", 29. Ulusal Kimya Kongresi, Ankara, Türkiye, 10-14 Eylül 2017, cilt.1, no.1, ss.103-103.

KATILDIĞIM KONGRE, SEMPOZYUM VE BİLİMSEL TOPLANTILAR

1. International Eurasian Conference On Biological And Chemical Sciences, Ankara, Nisan, 2018.
2. 1nd International Scientific and Vocational Studies Congress, BILMES Congres, Nevşehir, Ekim, 2017.