

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**2-FENİLİNDOL TÜREVLERİNİN GÖRECELİ BAĞLANMA
EĞİLİMLERİNİN 6D QSAR ANALİZİ OLARAK CoMCET
PROGRAMIYLA İNCELENMESİ**

**Tezi Hazırlayan
Kader Şahin**

**Tezi Yöneten
Yrd.Doç. Dr. İlhan Özer İlhan**

**Kimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Temmuz 2006
KAYSERİ**

Yrd.Doç.Dr. İlhan Özer İLHAN danışmanlığında **Kader Şahin** tarafından hazırlanan “**2 Fenilindol Türevlerinin Göreceli Bağlanma Eğilimlerinin 6D QSAR Analizi Olarak CoMCET Programıyla İncelenmesi**”adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

07 / 07/ 2006

JÜRİ:

Başkan :Prof.Dr.Emin SARIPINAR



Üye :Doç.Dr. Talat ÖZPOZAN

Üye :Yrd.Doç.Dr. İlhan Özer İLHAN



ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulunun 11../07./2006 tarih ve 2006/17-14.. sayılı kararı ile onaylanmıştır.

11../07../2006

N. Ayyıldız
Prof. Dr. Nusret AYYILDIZ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım süresince yakın ilgi ve yardımlarını gördüğüm, geniş bilgi ve deneyimleriyle bana yön veren ve en sıkıntılı anlarında bile benden desteğini esirgemeyen değerli hocam Sayın **Prof. Dr. Yahya Güzel'e** saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tüm çalışmalarım süresince benden her türlü maddi ve manevi desteğini esirgemeyen ve hayatım boyunca yanımda olan **aileme** teşekkür ve minnetlerimi sunarım.

Ayrıca bu çalışmamda çok emeği geçen sevgili arkadaşım Nazmiye Geçen'e bana değerli arkadaşlığını verdiği için sevgi ve şükranlarımı sunarım.

2-FENİLİNDOL TÜREVLERİNİN GÖRECELİ BAĞLANMA EĞİLİMLERİNİN 6D QSAR ANALİZİ OLARAK CoMCET PROGRAMIYLA İNCELENMESİ

Kader ŞAHİN

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans Tezi, Temmuz 2006

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. İlhan Özer İLHAN

ÖZET

Non steroidal östrojen reseptör (ER) ligandlarının üç boyutlu nicel yapı aktivite ilişkisini (3D QSAR) ortaya koymak için yeni geliştirilmiş “Comparative Molecular Conformer Electron Topological (CoMCET)” metodu kullanılmıştır. Östrojen reseptör için ligandların göreceli bağlanma eğilimlerinin (RBA) tanımlandığı bu model, ligandların sterik ve elektrostatik özelliklerini düşünmek için kullanılmıştır. Bu model kullanılarak CoMCET’den elde edilen sonuçlar 2-fenilindol türevlerinin RBA değerleri ile karşılaştırılmıştır. Tüm bunlar östrojen analoglarına benzeyen CoMCET’teki bileşiklerin yapısal özelliklerini belirlemek ve ER ligandlarının bağlanma türlerini daha ileri düzeyde açıklamak için yapılan bir çalışmadır. Her bir molekülün kararlı hal konformerini bulmak için yapılan moleküler dinamik hesaplamaları ve enerji minimizasyonundan sonra konformerlerin kuantum kimyasal özellikleri CoMCET metodunda referans molekülün matrisleri ile ilgili konformerin matrisini karşılaştırma işlemine dönüştürülmüştür. Bu metot moleküllerin aktivitelerini tahmin etmek kadar onların biyolojik etkileşim modellerinin anlaşılmasında da önemli bir ilerleme sağlar. Estradiol bileşiklerinin konformerlerini süperimpoz yaparak (aynı fonksiyonel atomları çoklukla birbiri üzerinde çakıştırarak) moleküllerin tüm çiftleri arasındaki benzerlik indisleri matrisinden Pha N1, C8 ve C9 atomları olarak belirlenmiştir. Pha atomları üst üste çakıştırıldıktan sonra AG (auxiliary groups) ve APS (anti-pharmacophore shielding) grupları için hipotez yürütülür. Estradiol bileşikleri için biyoaktivitenin nicel formülündeki kimyasal fonksiyonların geometrik bir düzenlemesi olarak AG, C2 ve C6 atomlarından , APS ise C3, C16 ve O2 atomlarından oluşmaktadır. Bu seri için $R^2 = 0,89$; se (standart hata) = 0,40 olarak bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: İlaç tasarımı, nicel yapı-aktivite ilişkisi; QSAR, elektron topolojik metot, farmakofor, Pha.,CoMCET

STUDY OF RELATIVE BINDING AFFINITY OF 2-PHENYLINDOLE DERIVATIVES USING THE CoMCET PROGRAM AS 3D QSAR ANALYSE

Kader ŞAHİN

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences

M. Sc. Thesis, July 2006

Thesis Supervisor: Assist. Prof. İlhan Özer İLHAN

ABSTRACT

A newly developed Comparative Molecular Conformer Electron Topological (CoMCET) method has been used to build a three dimensional quantitative structure-activity relationship (3D-QSAR) for nonsteroidal estrogen receptor (ER) ligands. The model in which relative binding affinity (RBA) of the ligands for ER is defined was used to visualize steric and electrostatic features of them. In this study, results obtained from the CoMCET using this model have also been compared to information from the RBA of 2-phenylindole derivatives. This is in an effort to determine structural features (steric and electrostatic) of compounds in the CoMCET analysis that may correspond to those of the estradiol analogues and to further clarify the mode of binding of nonsteroidal ER ligands. After energy minimizations and molecular dynamics calculations were performed to find the acceptable state conformer for each molecule, quantum chemical properties of them were taken into account by comparison their matrices with those of reference molecule in CoMCET method. This method offers a significant advance both in the understanding of the model of biological interaction of the estradiols as well as modeling and predicting their activity. From a matrix of the similarity indices between all pairs by superimposing the conformers of the estradiol compounds the pharmacophore (Pha) is defined as a group of specific atoms (N1, C8 and C9) in a given geometric arrangement that is deemed to exert the activity. After Pha is aligned, hypotheses are generated for the auxiliary groups (AG) and anti-pharmacophore shielding (APS) groups. AG consists of C2 and C6, and APS C3, O2 and C16 as a geometric arrangement of chemical functions in a quantitative formula of bioactivity for estradiol compounds. It is found that $R^2 = 0,89$ and se (standard error) = 0,40 for this series.

Keywords: drug design, quantitative structure-activity relationship; QSAR, electron topologic method, pharmacophore, Pha, CoMCET

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	I
TEŞEKKÜR	II
ÖZET	III
ABSTRACT	IV
KISALTMALAR ve SİMGELER	VII
TABLolar LİSTESİ	VIII
ŞEKİLLER LİSTESİ	IX
1.BÖLÜM	
GİRİŞ	1
2.BÖLÜM	
QSAR	4
2.1 İlaç Tasarımı ve Yeni İlaç Geliştirme	4
2.2 İlaç Geliştirme Yolları	5
2.2.1 Öncü bileşiğin Bulunması	5
2.2.2 Öncü Bileşiğin Düzenlenmesi	6
2.3 İlaçların Hücrelere Tesirleri ve Reseptörleri	7
2.3.1 Bağlanma Etkileşimleri	7
2.3.2 İyonik Bağlanma	8
2.3.3 Hidrojen Bağı	8
2.3.4 Van der Waals Bağı	8
2.3.5 Takviyeli İyon Bağı	8
2.3.6 Kovalent Bağı	8
2.4 Östrojenler	9
2.5 Fenilindol Bileşikleri	13
2.5.1 Genel özellikleri	13
2.5.1 Fenilindol Türevleri	14
2.6 QSAR	16
2.6.1 QSAR' ın Tarihi Gelişimi	17
2.6.2 QSAR' ın Teorisi	17
2.6.3 QSAR Yöntemi	23
2.6.4 QSAR' da Çok Boyutluluk	26
2.6.5 Bazı QSAR Teknikleri	27

2.6.5.1	HQSAR (Hologram QSAR)	27
2.6.5.2	ALMOND	28
2.6.5.3	COMSIA (Comperative Molecular Indices Analysis, Karşılaştırmalı Moleküler Benzerlik İndisleri Analizi)	28
2.6.5.4	CoMFA (Comparative Molecular Field Analysis)	29
2.6.5.5	QSAR Yöntemi Olarak CoMCET Programı	30
2.7	Farmakofor Kavramı	30
2.8	Farmakofor Tanımlama Metotları	31
3.BÖLÜM		
MATERYAL VE YÖNTEM		36
3.1	Materyal	36
3.2.	Metot	36
3.2.1	Konformasyon Analiz İşlemi	38
3.2.2	Kuantum Kimyası Hesaplamaları	40
3.3	Karşılaştırmalı Moleküler Konformer Elektron Topolojik Metot (CoMCET)	44
3.3.1	CoMCET Metodunun Gereği	44
3.3.2	Konformerlerin Belirlenmesi	45
3.3.3	ETMC Matrisleri Oluşturulması	45
3.3.4	CoMCET’de Farmakofer Tanımlama	47
3.3.5	APS ve AG	48
3.3.6	Aktivitenin Genel Formülü	48
4.BÖLÜM		
BULGULAR		53
4.1	Bileşiklerin Elektronik ve Geometrik Parametreleri	53
4.2	Elektron-Topolojik Matris	56
4.3	CoMCET Metodunun Uygulanması	56
5.BÖLÜM		
TARTIŞMA VE SONUÇ		65
KAYNAKLAR		72
ÖZGEÇMİŞ		78

KISALTMALAR VE SİMGELER

QSAR	: Kantitatif yapı aktivite ilişkisi
3D-QSAR	: Üç boyutlu kantitatif yapı aktivite ilişkisi
CoMCET	: Karşılaştırmalı Moleküler Konformerlerin Elektron Topolojik Metodu
Pha	: Farmakofor
APS	: Aktiviteyi perdeleyici grup
AG	: Aktiviteyi artırıcı yardımcı grup
ER	: Östrojen Reseptörü
ETMC	: Elektron Topolojik Matris
CADD	: Bilgisayar destekli ilaç tasarımı
OOP	: Out-Of- Pharmacophore (Farmakofor dışındaki gruplar)
DES	: Dietilstilbestrol

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1	2-Fenilindol Türevlerinin Göreceli Bağlanma Eğilimleri	14
Tablo 2.2	2-Fenilindol Türevlerinin Göreceli Bağlanma Eğilimleri (II)	16
Tablo 4.1	Model Bileşiğe Ait Kartezyen Koordinatlar	53
Tablo 4.2	Model Bileşiğinin Atomik Yükleri	54
Tablo 4.3	Model Bileşiğin Bağ Uzunlukları	54
Tablo 4.4	Pha' yı Oluşturan Atomlar ve Matris Değerleri	58
Tablo 4.5	Pha Dışında Aktiviteye Etki Eden Grupların(OOP) Bazı Özellikleri	58
Tablo 4.6	Aktiviteye Etki Ettiği Belirlenen Parametreler ve Bu Parametreleri Taşıyan Konformerler	59
Tablo 5.1	Çalışılmış Olan Bileşik Serisi	67
Tablo 5.2	Seriye Ait Deneysel ve Teorik Aktiviteler	70

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Hücre İçindeki Östrojen ve ER	10
Şekil 2.2.	Östrojen- Östrojen Reseptörü Etkileşimi	10
Şekil 2.3.	Östrojenin beyin, kemik, yumurtalık, kalp ve diğer dokulardaki bazı etkileri	12
Şekil 2.4.	Lineer serbest enerji ilişkisi	21
Şekil 3.1.	CoMCET Uygulamasındaki Algoritma	37
Şekil 3.2.	Üç Boyutlu Elektron-Topolojik Matris (Three Dimensional - ETMC).	51
Şekil 4.1.	N36 Model ve Referans Bileşiğine Ait ETMC Matrisi ve Uzaydaki Üç Boyutlu Yapısı	55
Şekil 4.2.	Pha'yı Oluşturan Atomların Referans Olarak Alınması ve Torsiyon Açısının Belirlenmesi	57
Şekil 5.1.	Çalışılmış Olan Bileşik Serisine Ait Temel İskelet	66
Şekil 5.2.	Pha ve Diğer Etkin Atomların N1,N4 ve N36 Bileşiklerinde Toplu Gösterimi	69
Şekil 5.3.	DeneySEL ve Teorik Aktiviteler Arasındaki Regresyon	71

1. BÖLÜM

GİRİŞ

Modern kimyanın en önemli problemlerinden biri; belirli bir hastalığa iyi geldiği bilinen bir ilacın biyoalıcılar ile etkileşim mekanizmasının nasıl olduğunu açıklayamamasıdır [1]. Bu problemi çözmek için esas yol, biyolojik aktif moleküllerin, biyoalıcı ile etkileşmesinin mikro mekanizmasını ortaya çıkarmaktır. Bu mekanizmanın aydınlatılması için gerekli olan fizikokimyasal özelliklerin esasını oluşturan elektronik özellikler detaylı kuantum kimyası hesaplamalarına dayandığından, işlemin pratik olarak incelenmesi fevkalade uzun ve zordur. Diğer taraftan, bilinen moleküler bileşim ve yapılarla farklı aktiviteye sahip kimyasal bileşikler hakkında birikmiş birçok deneysel bilgiler vardır. Problemin en iyi ve kolay çözümü için, aktif mekanizmanın bilinmesine çalışılır. Bunun için, deneysel yaklaşımdan faydalanarak; bütün aktif ve inaktif bileşikleri mukayese etmek ve onlar arasındaki benzerlik ve farklılıkları açıklamak gereklidir. Bu deneysel bilgiye istinaden aktivitesi belirlenecek moleküllerin başlıca özellikleri tayin edilebilir. Günümüzde bilgisayar destekli ilaç tasarımı ve toksikoloji farmasötik endüstrisinde oldukça iyi bilinen ve hızla gelişmekte olan bir bilim dalıdır. Bu bilim dalının genel unsurları moleküler yapı ve özellikleri tanımlamak ve yapı aktivite ilişkisini ortaya çıkarmaktır. Bir enzim ya da antikoru bağlayan bir bileşik serisine ait biyolojik aktivite ile ilgili verilere sahip olmak genel bir durumdur, fakat aktif bölgenin üç boyutlu yapısına ait kesin bir bilgiye sahip olmak zordur. Bu amaçla gerçekleştirilen “Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi (Quantitative Structure Activity Relationship, QSAR)” analizi, molekül setinin genelinde bulunan fonksiyonel grupların benzerliğine göre aktif bölge tarafından tanınabilen atomların üç boyutlu bir düzenlenmesini ele alır.

Kantitatif Yapı-Aktivite İlişkisi (Quantitative structure-activity relationships QSAR) biyolojik aktiviteye sahip bileşiklerin yapısal olarak özelliklerini aydınlatmak amaçlı 1890 yıllarında başlayan bir girişimdir. Aktiviteden sorumlu molekül yapısını belirlemek için, iki tip yaklaşım ağırlık kazanmıştır. Bunlardan birinde hesaplamalar incelemedeki molekül yapılarına dayandırılarak molekül ve biyoalıcının birbirleriyle etkileşim yerleri ve dolayısıyla da biyoalıcının yapı ve özellikleri belirlenirken, diğerinde biyoalıcının yapısı X-ışınları çalışmalarıyla sürdürülmektedir. 1964 yılında molekül yapılarıyla ilgili olarak onların elektronik ve fizikokimyasal özellikleri incelenmiş ve aktiviteleri açıklanmaya çalışılmıştır. 1988 den beri üç boyutlu molekül yapısına göre, bilgisayar teknolojisinin gelişmesine bağlı olarak, kapsamlı ve gerçekçi hesaplamalar yapılmaktadır.

QSAR, kimyasal yapı ve biyolojik aktivite arasında ilişki kurar ve türetilen modeller test edilmemiş kimyasalların aktivitelerini tahmin etmek için kullanılır [2]. Ligand reseptör etkileşimlerini tanımlamak ve en çok istenilen farmakolojik özelliklere sahip olan kimyasal yapıları tahmin etmek için bilgisayar destekli ilaç tasarımına yönelinmiştir. Kimya ve biyolojinin çeşitli alanlarında yaygın olarak kullanılan QSAR metodu bilgisayar teknolojisinin zaman içerisinde gelişmesiyle üç boyutlu QSAR(3D QSAR) halini almıştır. Başlangıçta QSAR metodu bileşiklerin fizikokimyasal özelliklerine göre aktiviteyi açıklamıştır. 3D QSAR metodu ise bileşiklerin aktivite değerlerini, klasik QSAR metotlarında yer almayan elektronik özellikleri hesaba katarak açıklamıştır. 3D QSAR metodu olarak kullanılan “Karşılaştırmalı Moleküler Konformerlerin Elektron Topolojik (Comparative Molecular Conformer Electron Topological, CoMCET)” program, biyoalıcı ile karşılıklı etkileşimdeki moleküllerin elektronik yapılarıyla ilgili bilgiler sunar [3]. Pratik bakımdan oldukça uzun ve zor olan böyle bir problemin çözümü; deneysel olarak belirli bir aktivite gösterdiği bilinen bileşikleri birbiri ile karşılaştırarak aktivite göstermelerine neden olan ortak yapıdaki aktif fragmenti bulmakla olur. Böylece molekülün yapı-aktivite ilişkisinde, moleküler aktiviteden sorumlu olan temel üç boyutlu elektronik özellik belirlenmiş olur [4–6].

Hem insanda hem de doğada üretilen ve oldukça farklı kimyasal yapılara sahip bileşiklerin önemli bir kısmı östrojenik aktiviteye sahiptir [7]. Son zamanlardaki çalışmalar, ligand yapısı-östrojen RBA' sı ilişkisini açıklamak için moleküler modellemeye odaklanmıştır [8,9]. Bununla birlikte reseptör bağlanması ve aktivite arasında kesin bir ilişki kurulamamıştır. ER' ye bağlanan ligandların farmakoforik elementlerinin belirlenmesi östrojenlerin biyolojik etkilerinin anlaşılması bakımından son derece önemlidir.

Yapı-aktivite incelemeleri bilgisayar modelleriyle birleştirildiğinde bileşik serisi içerisindeki aktiviteden sorumlu molekül içinde bulunan ortak ve genel bir parçanın elektronik ve geometrik özelliği aktif fragment ve farmakofor (Pharmacophor, Pha) olarak tanımlanır.

Bu çalışmada çok süstitüe estradiol türevlerinin biyomoleküler bağlanma aktiviteleri incelenerek, aktiviteden sorumlu fragment olan Pha çıkartılacaktır. Aktif fragmentteki (Pha) elektronik özellikler ile {anti-pharmacophore shielding (APS) ve auxiliary gruplar (AG)} APS ve AG gruplarının aktivite ile ilişkisi regresyon analizinde yapılacak ve bu ilişkinin modellenmesi sonucunda biyoalıcı-molekül etkileşim mekanizması aydınlatılacaktır

Burada, östrojenlerin yapısal özelliklerini tanımlamak ve ayırmak için CoMCET programına dayanan üç boyutlu bir QSAR sunuyoruz [10]. CoMCET hesaplamalarında, moleküldeki her bir konformerin üç boyutlu elektronik özellikleri dikkate alınarak model kullanılır. Her bir molekül için deneysel aktivite verileri hesaplanan veriler ile uyum göstermesi ölçüsünde başarılıdır. Aktivitede rol alan temel iskelete göre yeni moleküllerin tasarlanarak sentezlenmesi ve mevcut olan moleküllerin biyolojik aktivitelerinin tahmini için CoMCET ile çıkartılan sonuçlar kullanılır.

QSAR' ın doğuşundan sonra, ilaç tasarımına yeni bir boyut kazandıran ve bilgisayarların güçlerinin artmasına ve hızla gelişen bilgisayar ve yazılım teknolojilerine paralel olarak, ortaya çıkan (Computer Aided Drug Design, CADD) bilgisayar yardımlı ilaç tasarımı önemli bir ilerleme kaydetmiştir. Literatürde mevcut olan ve CADD'ın kullanımını, başvurularını ve gelişimini anlatan birçok monograflar, eleştiriler ve orijinal çalışmalar mevcuttur [11- 15].

2. BÖLÜM

QSAR

2.1. İlaç Tasarımı ve Yeni İlaç Geliştirme

İlaç tasarımı, yapı-aktivite ilişkilerinden yararlanarak, farmakolojik aktivitesi öngörülebilir potansiyel ilaç moleküllerinin tasarımıdır. İlaç tasarımının amacı ise ilaç ve biyoalıcı arasındaki bağlanma etkileşimini geliştirmek ve ilacın biyoalıcı için seçiciliğini arttırmaktır. Elde edilen ilacın yan etkilerinin öncekilere göre azalması, aktivitesinin ise artırılması istenmektedir. Daha güçlü ve daha seçici bağlanma için ilaç, bağlanma bölgesine göre uygun büyüklükte olmalı ve bağlanma için gerekli fonksiyonel gruplara sahip olmalı. Bu fonksiyonel gruplar birbirlerine göre doğru pozisyonda olmalı ki hepsi aynı zamanda bağlanabilsinler. Mevcut ilaçların hemen hemen hiç biri ideal özelliklere sahip olmadıklarından, araştırma kurumlarında ve ilaç endüstrisinin araştırma geliştirme laboratuvarlarında, sürekli ilaç olabileceği düşünülen bileşiklerin sentezi yapılmakta ve bunlar belirli farmakolojik testlere tabii tutulmaktadır. İlacın özellikleri:

- a. Seçici olmalı: Sadece istenen bölgeye etki etmeli vücudun diğer kısımlarını etkilememeli. Fakat böyle ilaçlar fazla değildir çoğu ilacın yan etkisi vardır.
- b. Etkisi geçici olmalı: Uzun ve kalıcı etki zehirlenmeye yol açabilir kısa olması etkiyi azaltabilir.
- c. Etkisi doza bağlı olmalı: Hastalıkların tedavisinde doz miktarı çok önemlidir ve doz miktarları farklıdır.

Organizmanın ilaç molekülünün organizmadaki yolculuğunun ve hedef moleküllerle etkileşiminin karmaşıklığı düşünüldüğünde, ilaç tasarımının ve ilaç tasarımında başarının ne kadar zor olduğu kolaylıkla görülebilir. Kaldı ki bugün pek çok hastalığının

nedenleri henüz tam olarak anlaşılmadığından, bu hastalıklar için ilaç geliştirmek daha da güçtür. Farmasotik amaçlarla sentezi yapılan on bine yakın bileşikten ancak birkaç tanesi çeşitli aşamaları geçip, klinik incelemelere kadar gelebilmekte ve bunlardan sadece bir tanesi ilaç olarak kullanıma girebilmektedir. Tüm bu aşamalardan sonra bir molekülün ilaç olarak kullanıma girmesi 10–12 yıl sürmektedir. İlaç olarak sentezi yapılan birçok bileşik aşamalardan herhangi birinde elenir. Çünkü sentezi yapılan bileşikler:

- Beklenen aktiviteyi göstermeyebilir.
- Gösterdiği aktivitenin gücü düşük olabilir, yani var olan ilaçlara hiç göre hiçbir üstünlük getirmeyebilir.
- Yeterince aktif olmasına rağmen toksik olabilir veya istenmeyen ciddi yan etkiler gösterebilir.
- Dayanıklı olmayabilir.
- Elde edilmesi çok zor veya pahalı olabilir.
- Farmasotik preparat haline getirilmesinde teknolojik güçlükler çıkarabilir.

Ruhsatlandıktan sonra da izlenen ilaçta, toksik, teratojenik veya yan etkileri çıkabilir ve bu ilacın piyasadan çekilmesine yol açabilir.

2.2. İlaç Geliştirme Yolları

İlaç geliştirmede iki önemli aşama söz konusudur.

2.2.1. Öncü Bileşiğin Bulunması

Öncü bileşik belli bir farmakolojik aktivite için model moleküldür. Bu bileşik arzu edilen farmakolojik etkiler, toksisite veya farmakokinetik problemler gibi istenmeyen özellikleri de taşıyabilir. Öncü bileşiğin bulunmasında başlıca yollar şöyle sıralanabilir.

- Doğal kaynaklar
- Tesadüfen bulma
- Klinik gözlemler
- Farmakoloji tarama testleri

- İlaç metabolizma çalışmaları
- Etkin endojen moleküllerinin yapılarını taklit etme
- Akılcı (rasyonel ilaç tasarımı)

Akılcı ilaç tasarımıyla yeni ilaç molekülüne ulaşmak üzere kullanılan önemli yöntemler aşağıdaki gruplar altında toplanabilir:

- a. Bilgisayar Yardımlı İlaç Tasarımı: Bir serinin en ümit verici bileşiklerini saptamak üzere ilaç aktivitesinde önemli fizikokimyasal parametreler, kantitatif yapı-aktivite ilişkileri ve kuantum kimyasal modellerle ilgilidir.
- b. Moleküler Modelleme: Moleküler konformasyon analizi olarak da adlandırılır. Bu yöntemle öncü molekül veya analog tasarımı için bilgisayar programları veya X-ışınları kristalografisi gibi yöntemlerle ilacın moleküler şekli ve konformasyonu araştırılır.
- c. Kalıp Tanıma ve Küme Analizi: Her biri birçok parametre ile karakterize çok sayıda bileşik içinde en uygun bileşiğe ulaşmak için gelişmiş istatistik ve bilgisayar yöntemlerinin kullanıldığı sayısal tekniklerdir.
- d. Reseptör-Uyum veya Reseptör Tanımlama Yöntemleri: Çeşitli modern spektroskopik teknikler yardımıyla, reseptörle ilaç arasındaki ilişkilerin ve bu ilişkilerde hangi güçlerin önemli olduğunun incelenmesi ve reseptörle en iyi uyumu sağlayacak molekülün tasarlanmasında bu bilgilerin kullanılmasıdır.

2.2.2. Öncü Bileşiğin Düzenlenmesi

Öncü bileşiğin bulunmasından sonraki aşama, amaçlanan aktivitenin gücüne artıracak ve istenen etkilerin gücünü artıracak ve istenmeyen etkilerin veya özelliklerin iyileştirilmesini sağlayacak moleküler modifikasyonun yapılmasıdır. Bu amaçla öncelikle molekülün farmakofor kısmının (farmakolojik aktiviteden sorumlu bölgesinin) bulunması gerekir. İlacın reseptörle etkileşimi çok özeldir ve öncü molekülün ancak belli bir kısmı reseptörle etkileşmeye girmektedir; buna farmakofor bölge denir.

Farmakofor kısımlarda yapılan değişikliklerle, molekülün reseptörle daha kuvvetli bağlar yapması ve etkinliğini arttırması farmakofor kısmının dışında kalan bölgede yapılacak değişikliklerle molekülün özelliklerinin iyileştirilmesi sağlanabilir.

Öncü bileşiğin optimizasyonunda kullanılan önemli yollar aşağıda verilen başlıklar altında toplanabilir.

- Moleküler modifikasyon
- Latent ilaç (ön ilaç, hedeflendirilmiş ilaç) tasarımı
- Yumuşak (soft) ilaç tasarımı
- Kantitatif yapı aktivite ilişkisi

Öncü bileşiğin bulunması ve optimizasyonu için kullanılan yöntemleri kesin olarak ayırmak mümkün değildir. Çünkü bazı yollar her iki amaç içinde kullanılabilir. Ancak konunun anlaşılmasında pratik yarar sağlayacağı düşüncesiyle böyle bir sınıflandırma yapılmıştır. Çok yoğun çalışılan bir konu olması nedeniyle çeşitli kaynaklarda farklı yöntemlerin bulunması mümkündür [16].

2.3. İlaçların Hücrelere Tesirleri ve Reseptörleri

İlaçlar hücrelerin yüzeyinde veya içinde hücre yapısına ait belirli kimyasal gruplarla birleşmek, bağlanmak veya temas etmek suretiyle tesirlerini gösterirler. Hücrenin ilaç molekülleri tarafından işgal edilen kısımlarına reseptör adı verilir. Reseptörler çoğunlukla hücrelerin yüzeyinde yer aldığından birçok ilaçlar tesirlerini hücre sathında daha bariz bir şekilde gösterirler. Bir ilaç hücrenin neresine tesir ederse etsin, hücrede husule getireceği etki ancak hücre faaliyetinde kantitatif bir değişiklik olacaktır. Yani ilaçlar hücrenin faaliyetini azaltabilir veya çoğaltabilir; fakat asla hücre faaliyetinde kalitatif bir değişiklik husule getiremezler. Bir hücre bir ilacın tesiri ile olağan olarak yaptığı işten başka bir iş yapamaz. Mesela esas vazifesi kontraksiyon olan bir adale hücresi bir ilacın tesiriyle salgı yapamaz.

2.3.1. Bağlanma Etkileşimleri

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

2.3.2. İyonik Bağlanma

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

2.3.3. Hidrojen Bağı

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

2.3.4. Van der Waals Bağı

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

2.3.5. Takviyeli İyon Bağı

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

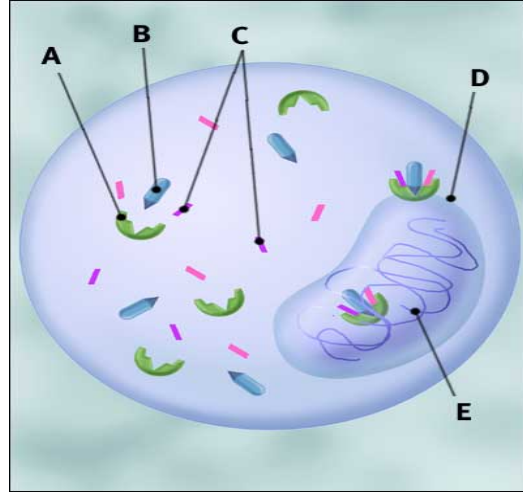
2.3.6. Kovalent Bağı

İki atom arasındaki elektronların ortaklaşa kullanılmasıyla oluşur. Bu bağ tipi, bağ tipleri arasında en kuvvetli olanıdır. Bu bağın kuvveti 40–100 kcal/mol olarak kabul edilir. Bu bağlanmaya çok nadir rastlanır [16].

2.4. Östrojenler

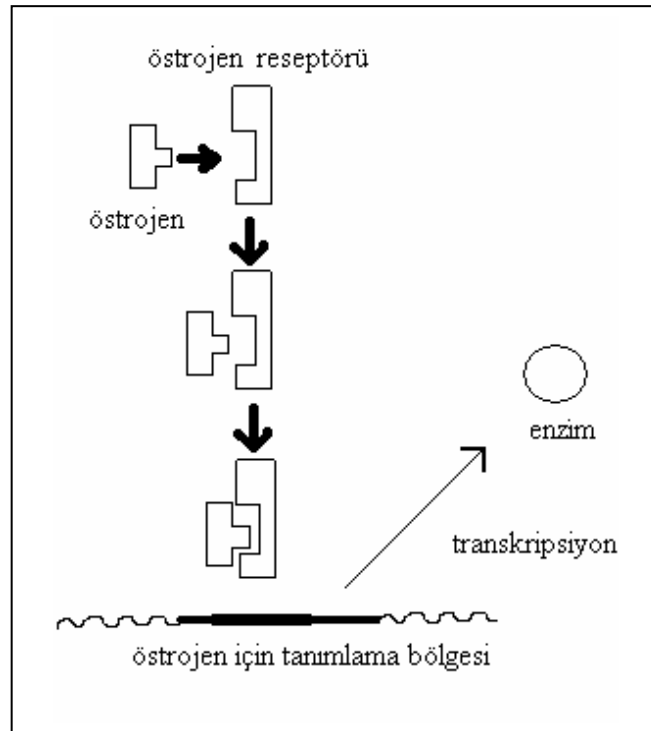
Östrojenler hormon değil, bir grup hormonun özel adıdır. İnsan vücudunda östrojenin üç şekli mevcuttur. Bunlar E1,E2,E3 olarak bilinen estron, estradiol ve estrioldür. Burada fotoöstrojen olarak isimlendirilen bir grup daha vardır. Bunlar hormon değildir fakat insan vücudunda östrojen reseptörlerinde bulunurlar [17]. Östrojenler (ya da oestrojenler) başlıca dişi cinsiyet hormonları olarak görev yapan ve çok çeşitli fonksiyonları olan bir grup steroid bileşiktir. Başlıca yumurtalıklarda ve plasentada üretilen östrojenlerin bazıları ise küçük miktarlarda diğer dokularda da üretilir (karaciğer, böbreküstü bezi ve göğüslerde). Östrojen reseptörü (Estrogen Receptor, ER), steroid hormonu reseptörü ailesine ait olan [18, 19] ve başka bir proteinle bir kompleks oluşturmuş olarak sitoplazmada bulunan bir hücre içi reseptördür. Farklı ER-ligandları, diğer önemli proteinlerle etkileşme kabiliyetini etkileyen reseptörde, farklı yapısal değişiklikler meydana getirir. ER seçiciliği östrojen reseptör şekillerinin ve düzenleyicilerinin çeşitliliğini yansıtır. Gelişme, farklılaşma ve çeşitli hedef dokuların görevini yerine getirmesini düzenleyen östrojenlerin ER- α ve ER- β olmak üzere iki izoformu vardır. İki izoformun ligand bağlama özellikleri benzer olmakla birlikte, dağılımlarında ve farklı dokulardaki ER agonist ve antagonistlerin seçici etkilerine katkıda bulunan RBA' ları arasında farklılıklar vardır [20]. Ayrıca büyüklük olarak da farklılık gösterirler (ER- α 595, ER- β 485 amino asit içerir). Dişi üreme sisteminde baskın tür ER- α iken, kemiklerde ve erkek prostat dokularında ER- β baskındır [21].

Östrojen hücreye girdiğinde reseptör-protein kompleksine bağlanarak reseptör-protein kompleksinin ayrılmasına neden olur. Daha sonra reseptör-ligand kompleksi çekirdeğe girer ve DNA zincirine bağlanır. Böylece çeşitli fonksiyonel ve yapısal proteinlere dönüştürülen mRNA' nın kopyalanmasını aktive eder.



Şekil 2.1. Hücre İçindeki Östrojen ve ER

- A östrojen reseptör
- B östrojen
- C östrojen yardımcı proteinleri
- D hücre çekirdeği
- E Hücre çekirdeği içinde DNA



Şekil 2.2. Östrojen- Östrojen Reseptörü Etkileşimi

Sağlık ve üreme fonksiyonunda hem pozitif hem de negatif etkilere neden olabilen östrojenler, üreme kontrolünde [22] kullanılmaktadır ve menopoz dönemindeki kadınlarda hormon destek tedavisi olarak kemik mineral yoğunluğu ve kardiyovasküler sağlığın korunması amacıyla tavsiye edilmektedir [23]. Steroid hormonlar (özellikle östrojenler) göğüs ve yumurtalık kanseri gibi bazı kanser türlerinin risklerinin artmasıyla ilişkilidir [24]. Dietilstilbestrol (DES)'ün artan yan etkileri insan embriyosunun östrojenik bileşiklere karşı hassasiyetini kanıtlamaktadır [2]. Son zamanlarda östrojenik aktiviteye sahip bileşiklerin insan ve diğer canlılardaki yan etkilerine dair endişe hızla artmaktadır. Bu yüzden 70.000 ya da daha fazla bileşik için östrojenik aktivite değerlendirilmesi gerekmektedir. Fakat xenoestrogen' in kimyasal yapıları çok çeşitli olduğu için, östrojenlik kimyasal yapının basit bir incelemesinden anlaşılmaz. Ayrıca bu amaçla yapılan canlı araştırmalarının çoğu, büyük çaba gerektiren, zaman alıcı ve pahalı araştırmalardır.

Östrojen hormonunun insan vücudunda üç formu mevcuttur.

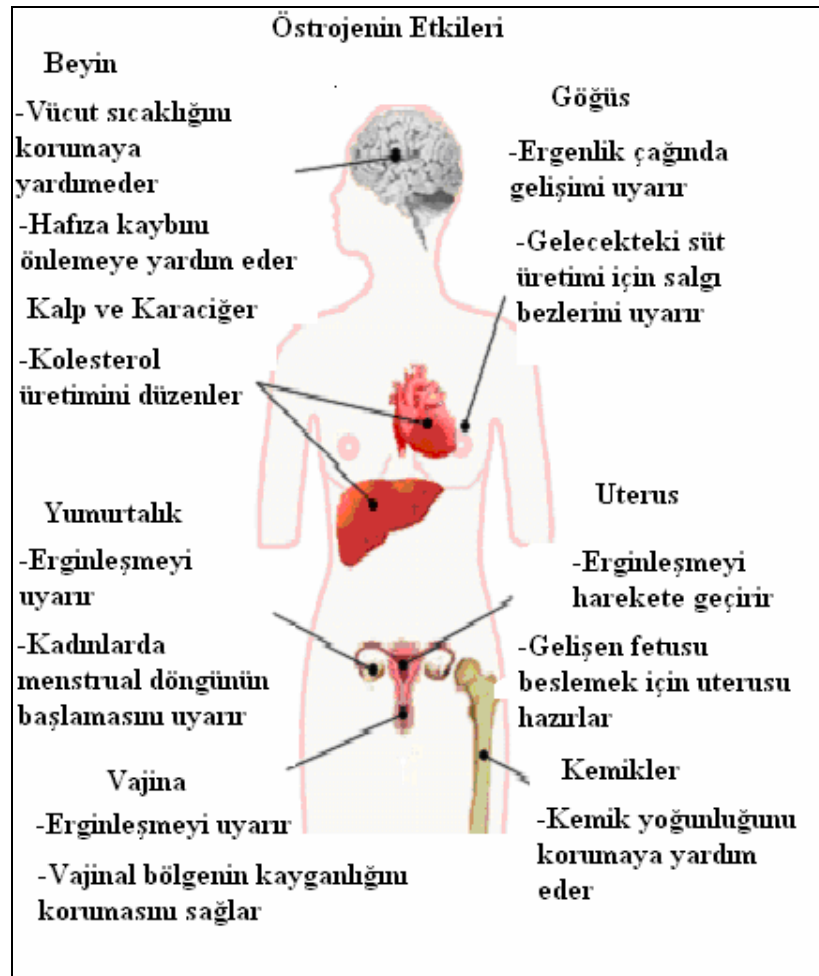
Östron (E1): Östronlar menopoz sonrası kadınlarda artan miktarlarda bulunan bir östrojendir. Bu hormon vücutta depolanan yağlardan üretilir. Östronlar östradiollere benzer görevlere sahiptir, fakat östradiollerden daha zayıf etkilere sahip olduğu düşünülür.

Östradiol (E2): Östradioller yumurtalıklar tarafından üretilen başlıca östrojenlerdendir. Bunlar kronik damar hastalıklarında ve psikolojik rahatlamlarda önemli etkilere sahiptir.

Östriol (E3): Östrioller üç ana östrojen hormonunun en zayıf olanıdır. 1996'da H.M Lemmon tarafından Amerikan Tıp Topluluğu dergisinde yayımlanan bir makalede, insan vücudunda östriollerin en yüksek seviyede oluşunun göğüs kanseri riskini azaltıcı bir etki yaptığı gösterilmiştir. Lemmon, göğüs kanserine sahip olmayan bir kadının idrarı ile bu hastalığa sahip bir kadının idrarını karşılaştırdığında, hastalığa sahip olmayan kadında östriol hormonunun daha az seviyede olduğunu kanıtlamıştır. Ayrıca vejetaryen ve Asyalı kadınlar daha yüksek östriol seviyesine sahiptir ve göğüs kanserine yakalanma riski diğer kadınlara oranla daha düşüktür [25].

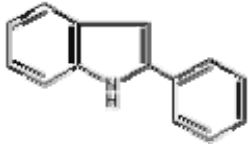
TRI-EST: Östriol, östradiol ve östron olarak isimlendirilen üç östrojenin kombinasyonudur. Tri-est genellikle vücutta 80:10:10 oranlarında bulunur. Bu üçlü kombinasyon çok yaygındır ve kan dolaşımında yer alan üç ana östrojen hormonunu içerir.

BI-EST: Östriol ve östradiol olarak isimlendirilen iki östrojen hormonunun kombinasyonudur. Östriol ve östradiol genellikle 80:20 oranlarında bulunurlar. Bunun yanında 50:50 yada 90:10 oranları da hekimler tarafından tercih edilir [26].



Şekil 2.3. Östrojenin Beyin, Kemik, Yumurtalık, Kalp ve Diğer Dokulardaki Etkileri

2.5. Fenilindol Bileşikleri



Formülü:	C ₁₄ H ₁₁ N
Molekül ağırlığı:	193.25
Fiziksel durumu:	Sarı beyaz toz halinde
Erime noktası:	188-181 C
Kaynama noktası:	250 C at 10 mmHg
Çözünürlük:	THF ve asetonda iyi, metanolde az çözünür
Kararlılık:	Normal şartlar altında kararlı

2.5.1. Genel özellikleri

İndol bileşikleri hoş olmayan bir kokuya ve açık sarı toz halinde kristallere sahiptir. Pürol halkası (4 karbon atomu ve 1 azot atomundan oluşan toplam 5 üyeye sahip) vardır ve bu halka benzen halkasıyla birleşir. Burada indolin olarak isimlendirilen bir tautomer ve izoindol olarak isimlendirilen yapısal bir izomer mevcuttur. Fakat bu yapılar kararlı değildir.

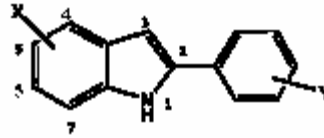
İndol bileşikleri bazı bitkilerde ve katranda bulunur. Ayrıca bu bileşikler bazı bakteri kültürleri tarafından çürüme süresince bağırsaklarda oluşturulur.

İndol bileşikleri ticari olarak pürivik asit ve fenilhidrazinden sentezlenir. İndol yapısı doğada bir motiftir. En belirgin örnekler; triptofan, serotonin (nörotransmitter), auxin (bitki gelişim hormonu) ve indigo (bitki renklendirici)'dur

Daha ilginç bir nokta, bütün bu bileşikler 3 pozisyonda fonksiyonel gruplara sahiptir. Genellikle hayvan proteinlerinde bulunan 20 aminoasitten biri olan indol bileşikler triptofanın hazırlanmasında ve parfümeride kullanılır. Bitki gelişim endüstrisinde de önemli uygulama alanına sahiptir. Bitkilerde köklerin gelişmesine yardımcı olan diğer maddeleri ve indolasetikasiti (auxin) hazırlamada kullanılır.

İndol bileşikleri ve bu bileşiklerin türevleri, parfüm yapımında, poliester liflerinin boyanmasında ve tarım kimyasallarında geniş bir kullanım alanına sahiptir.

2.5.2. Fenilindol Türevleri



Tablo 2.1 2-Fenilindol Türevlerinin Göreceli Bağlanma Eğilimleri

substituents		log RBA				
		obsd	calcd from eq 15	Δ	I_y	$E_{S-X,1}$
X	Y					
6-OH,1-Et,3-Me	4-OH	1.52	0.83	0.69	0	-1.31
5-OH,1-Et,3-Et	4-OH	1.36	0.83	0.53	0	-1.31
6-OH,1,3-Et ₂	4-OH	1.32	0.83	0.49	0	-1.31
6-OH,1-C ₃ H ₇ ,3-Et	4-OH	1.28	1.03	0.25	0	-1.43
5-OH,1-C ₃ H ₇	4-OH	1.26	1.03	0.22	0	-1.43
6-OH,1-Et	4-OH	1.20	0.83	0.38	0	-1.31
5-OH,1-C ₃ H ₇ ,3-Me	4-OH	1.20	1.03	0.17	0	-1.43
6-OH,1-C ₃ H ₇ ,3-Me	4-OH	1.11	1.03	0.08	0	-1.43
6-OH,1-CHMe ₂ ,3-Me	4-OH	1.11	1.51	-0.39	0	-1.71
6-OH,1,3-Me ₂	4-OH	1.00	0.71	0.29	0	-1.24
5-OH,1-Et,3-Me	4-OH	0.98	0.83	0.15	0	-1.31
6-OH,1-C ₃ H ₇	4-OH	0.93	1.03	-0.10	0	-1.43
5-OH,1-C ₃ H ₇ ,3-Me	3-OH	0.87	0.46	0.41	1	-1.43
6-OH,1-Me,3-Et	4-OH	0.77	0.71	0.06	0	-1.24
5-OH,1-Et	4-OH	0.76	0.83	-0.07	0	-1.31
5-OH,1,3-Me ₂	4-OH	0.66	0.71	-0.05	0	-1.24
5-OH,1-C ₄ H ₉ ,3-Me	4-OH	0.66	1.38	-0.71	0	-1.63
6-OH,1-C ₄ H ₉	4-OH	0.63	1.38	-0.74	0	-1.63
6-OH,1-Me	4-OH	0.58	0.71	-0.13	0	-1.24
5-OH,1-CHMe ₂ ,3-Me	4-OH ^a	0.54	1.51	-0.97	0	-1.71
6-OH,1-C ₃ H ₇ ,3-Me	3-OH	0.54	0.46	0.08	1	-1.43
6-OH,1-Et,3-Me	3-OH	0.48	0.26	0.22	1	-1.31
5-OH,1-C ₅ H ₁₁ ,3-Me	4-OH ^a	0.36	1.39	-1.03	0	-1.64
5-OH,1-Et,3-Me	3-OH	0.34	0.26	0.09	1	-1.31
5-OH,1,3-(C ₃ H ₇) ₂	4-OH ^a	0.23	1.03	-0.80	0	-1.43
6-OH,1-Et	3-OH	0.23	0.26	-0.03	1	-1.31
5-OH,1-Et	3-OH	0.23	0.26	-0.03	1	-1.31
5-OH,1-Me	4-OH	-0.10	0.71	-0.81	0	-1.24
5-OH,1,3-Me ₂	3-OH	-0.22	0.14	-0.36	1	-1.24
6-OH,1,3-Me ₂	3-OH	-0.26	0.14	-0.40	1	-1.24
6-OH,3-Et	4-OH	-0.89	-1.41	0.52	0	0.00
6-OH,3-Me	4-OH	-1.22	-1.41	0.18	0	0.00
5-OH,3-Me	4-OH	-1.22	-1.41	0.18	0	0.00
7-OH,1-Et,3-Me	4-OH ^a	-1.70	0.83	-2.53	0	-1.31
6-OH	4-OH	-2.00	-1.41	-0.59	0	0.00
5-OH	4-OH	-2.00	-1.41	-0.59	0	0.00

Von angerer ve arkadaşları, Tablo 2.1’de buzağı uterine östrojen reseptörü ile 2 fenilindollerin bir serisinin göreceli bağ aktivitelerini göstermiştir [28]. Eşitlik (2.1) bu veri seti için türetilmiştir. I_y bir gösterge değişkenidir. (3-OH için 1’dir).

$$\log \text{RBA} = -0.57((0.35)I,y - 1.71((0.30)Es-x,1 - 1.41((0.37) \quad (2.1)$$

$$n = 32 \quad r^2 = 0.83 \quad s = 0.409$$

$$F_{1,30} = 94.8 (Es-x,1) \quad F_{1,29} = 11.3 (I,y)$$

2-fenil halkasındaki OH grubu ile reseptör arasında hidrojen bağı etkileşimi olabilir ve hidrojen bağı oluşumu için geometrik olarak p-OH (para konumundaki OH) m-OH (meta konumunda OH) dan daha uygundur. 1-pozisyonundaki yani azot üzerindeki sübstitüentler için pozitif bir sterik etki görülmektedir. Es, taft sterik etki parametresidir. Hidrojen (H=0) hariç bu parametrelerin bütün değerleri negatiftir. Bundan dolayı Es teriminin negatif ilişkisi bu alandaki sterik hacim için bir üstünlük belirtmektedir [23].

2 fenil indoller için diğer bir veri seti Tablo 2.2’de [29] tarafından gösterilmiştir. Reseptör bağlama eğilimi 0 ~ 4 °C arasında buzağı uterin sitozolünde ölçülmüştür ve Eşitlik. (2.2) bu set için türetilmiştir. I gösterge değişkeni, 2-fenil halkasının para pozisyonunda 4-OCOME içeren bileşikler için 1’e eşittir. Bu eşitlik 1-pozisyonundaki B1 ve 3-pozisyonundaki MR olmak üzere iki negatif sterik parametre içerir.

$$\log \text{RBA} = -2.36(\pm 1.12)B1-x,1 - 1.05(\pm 0.24)MR-x,3 + 0.46(\pm 0.37)I + 4.66(\pm 1.76) \quad (2.2)$$

$$n = 23 \quad r^2 = 0.85 \quad s = 0.313 \quad F_{1,21} = 46.5(MR-x,3)$$

$$F_{1,20} = 10(B-1-x,1) \quad F_{1,19} = 6.9(I)$$

Tablo 2.2 2-Fenilindol Türevlerinin Göreceli Bağlanma Eğilimleri (II)

substituents		log RBA			BI- α ,1	MR- α ,3	I
X	Y	obsd	calcd from eq 16	Δ			
6-OCOMe,1-Et,3-Cl	4-OCOMe	1.18	0.91	0.28	1.52	0.603	1
5-OCOMe,1-Et,3-Cl	4-OCOMe	1.02	0.91	0.12	1.52	0.603	1
6-OH,1-Et,3-CHO	4-OH	0.81	0.35	0.46	1.52	0.688	0
6-OH,1-CH ₂ C ₆ H ₅ ,3-CHO	4-OH	0.74	0.35	0.38	1.52	0.688	0
5-OH,1-Et	4-OH	0.72	0.97	-0.25	1.52	0.103	0
6-OH,1-C ₃ H ₇ ,3-CHO	4-OH	0.64	0.35	0.28	1.52	0.688	0
6-OCOMe,1-Et,3-CHO	4-OCOMe	0.60	0.82	-0.21	1.52	0.688	1
5-OH,1-CH ₂ C ₆ H ₅ ,3-CHO	4-OH	0.54	0.35	0.18	1.52	0.688	0
5-OH,1-C ₃ H ₇ ,3-CHO	4-OH	0.34	0.35	-0.01	1.52	0.688	0
6-OH,1-Et,3-COMe	4-OH	0.28	-0.10	0.37	1.52	1.118	0
6-OH,1-Me,3-CHO	4-OH	0.08	0.35	-0.27	1.52	0.688	0
6-OH,1-Et,3-CH ₂ CH(CN) ₂	4-OH	-0.07	-0.41	0.34	1.52	1.419	0
6-OH,1-Et,3-CH ₂ OH	4-OH	-0.15	0.32	-0.47	1.52	0.719	0
5-OH,1-Et,3-CHO	4-OH	-0.16	0.35	-0.52	1.52	0.688	0
6-OCOMe,1-SO ₂ C ₆ H ₅ ,3-Cl	4-OCOMe	-0.25	-0.30	0.05	2.03	0.603	1
5-OCOMe,1-SO ₂ C ₆ H ₅ ,3-Cl	4-OCOMe	-0.35	-0.30	-0.05	2.03	0.603	1
6-OCOMe,1-Et,3-CH ₂ OCOMe	4-OCOMe	-0.37	-0.19	-0.18	1.52	1.648	1
6-OH,1-Et,3-CH=CHNO ₂	4-OH	-0.51	-0.65	0.14	1.52	1.642	0
6-OH,1-Et,3-CH(CH ₂ NO ₂) ₂	4-OH ^a	-0.60	-1.66	1.06	1.52	2.615	0
5-OH,1-Et,3-CH=CHNO ₂	4-OH	-0.70	-0.65	-0.05	1.52	1.642	0
5-OH,1-Et,3-CH ₂ CH(CN) ₂	4-OH	-0.85	-0.41	-0.44	1.52	1.419	0
5-OH,1-Et,3-CH=CH(CN) ₂	4-OH	-0.96	-0.99	0.03	1.52	1.972	0
6-OH,1-Et,3-CH=CH(CN) ₂	4-OH	-1.30	-0.99	-0.31	1.52	1.972	0
6-OH,3-CHO	4-OH ^a	-1.52	1.58	-3.11	1.00	0.688	0
5-OH,1-Et,3-CH(CH ₂ NO ₂) ₂	4-OH	-1.52	-1.66	0.14	1.52	2.615	0
5-OH,1-Et,3-COMe	4-OH ^a	-2.00	-0.10	-1.90	1.52	1.118	0

^a Data points not used in deriving equation.

2.6. QSAR

Bilgisayarlar ilaç tasarımı yöntemlerinin önemli bir kısmını oluşturmaktadır ve yapı analizleri, yapı karşılaştırmaları, öncü bileşik tasarımı, aktif konformasyon ve farmakofor belirlenmesi, protein ve bağlanma alanı yapısı, ligand bağlama, QSAR ve 3D QSAR'ı da içeren çok geniş bir uygulama alanına sahiptir. Bu bölümde bunlardan QSAR ve 6D QSAR ele alınacaktır.

Bilgisayar destekli ilaç tasarımının temel unsurları, moleküler yapı ve özellikleri tanımlamak için hesapsal kimyayı, yapı- aktivite ilişkisini ortaya çıkarmak için de istatistiksel yaklaşımları kapsar. İlaç etkisinin ilaç molekülünün belirli bir biyoalıcıyla etkileşmesi sonucu oluştuğunu kabul edersek, ilaç aktivitesini biyoalıcıya bağlanan ilaç molekülünün bazı özelliklerine bağlayabiliriz. Bu problemi çözmek için esas yol, aktif moleküllerin biyoalıcıyla etkileşme mekanizmasının ortaya çıkarılmasıdır. Bu durum pratiklikten çok uzaktır ve zordur. Diğer taraftan, moleküler yapısı ve bileşimi bilinen kimyasalların biyolojik aktiviteleri ile ilgili çok fazla deneysel veri mevcuttur. Problem için deneysel yaklaşım; aktif bileşikler, ilgili yapılara sahip olan inaktif bileşiklerle karşılaştırmak ve aralarındaki benzerlikleri ve farklılıkları ortaya çıkarmaktır. Bu bilgiye dayanarak aktiviteden sorumlu moleküllerin temel özellikleri belirlenebilir. Bu alandaki çalışmalar, aktivite için gerekli moleküler özelliklerin tahminine imkan sağlayan "Structure-Activity Relationship, SAR (yapı- aktivite ilişkisi)" ya da

“Quantitative Structure-Activity Relationship, QSAR (kantitatif yapı- aktivite ilişkisi)” adı altında yayınlanmıştır. Çoğu QSAR yaklaşımlarında, bilgisayarlarla kolaylıkla ele alınabilen biçimsel moleküler tanım metotları kullanılmaktadır (yapısal eleman vektörleri, moleküler grafikler ve topolojik indisler gibi). Molekülü tanımlayan bu metotlar, molekülün biyolojik aktivitesini temsil etmek için yeterli bilgiyi genellikle vermez. Çünkü biçimsel tanım parametreleri tüm fizikokimyasal ve kimyasal içerikten yoksundur. Moleküllerin biyolojik aktivitelerindeki en önemli özellikleri temsil edecek yeterli bir tanımın yapılması QSAR metotlarının esas problemidir.

QSAR’ ı belirlemeyi tasarlayan çok sayıda metot vardır. Bunların hepsi de kimyasalların moleküler yapı ve biyolojik aktiviteleri arasında doğrudan bir ilişki olduğu ve bilinen aktivitedeki bileşiklerin verilen bir setinden elde edilen QSAR’ ın yeni bileşiklere de uygulanabileceği düşüncesine dayanır. Bazı metotlar incelenen serideki tüm aktif (ya da inaktif) bileşiklerin tamamı için genel olan yapısal özellikleri elde etmeyi ve biyolojik aktivite için tahmin kurallarını formüleştirmeyi amaçlar.

2.6.1. QSAR’ın Tarihi Gelişimi

QSAR’ ın tarihi 19.yy’ a dayanır. 1863’ de Strasbourg Üniversitesi’ nde A.F.A. Cros, alkollerin suda çözünürlüğü azaldıkça memelilerde zehir etkisi ortaya çıkardığını gözlemlemiştir. 1890’ larda, Marburg Üniversitesinden Han Horst Meyer ve Zürih Üniversitesinden Charles Ernest Overton, birbirinden bağımsız olarak çalışarak organik bileşiklerin zehir etkisinin lipofiliteye bağlılığına dikkat çektiler. Louis Hammett’ in çalışmalarına kadar QSAR’ ın gelişmesi çok yavaştı. Louis Hammett, organik asit ve bazların elektronik özellikleri ile denge sabiti ve denge reaktivitesi arasında ilişki kurmuştur. Lipofilita ile kesin olmayan biyolojik özellikler (narkotik, bakteriyel, hemolitik ve toksik özellikler) arasındaki ilişkiler yüzyılın başından beri bilinmesine rağmen, 1964’ te Free Wilson metodu ve Hansch analizinin bağımsız yayınları QSAR gelişiminde bir dönüm noktası olmuştur [30].

2.6.2. QSAR’ ın Teorisi

Bütün QSAR analizleri, farklı yapısal özelliklerin lineer toplanabilir katkılarının tahminine ya da bileşiklerin biyolojik aktivitesine dayanır. Bu basit tahmin, bazı araştırmalar tarafından ispat edilmiştir. Örneğin; de novo ilaç dizaynı programı LUDI

(2.1) [31-33] işaret fonksiyonuyla yapılan birçok Free Wilson ve Hansch analizleri birleştirilerek bu görüşü desteklemektedirler.

$$\Delta G_{\text{bağlanma}} = \Delta G_0 + \Delta G_{\text{hb}} + \Delta G_{\text{iyonik}} + \Delta G_{\text{lipo}} + \Delta G_{\text{dönme}} \quad (2.1)$$

Bütün öteleme ve dönme entropileri kaybı; $\Delta G_0 = + 5,4 \text{ kJ/ mol}$

İdeal nötral hidrojen bağı; $\Delta G_{\text{hb}} = - 4,7 \text{ kJ/ mol}$

İdeal iyonik etkileşim; $\Delta G_{\text{iyonik}} = - 8,3 \text{ kJ/ mol}$

Lipofilik bağlantı; $\Delta G_{\text{lipo}} = - 0,17 \text{ j / mol } (\text{\AA})^2$

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

Eşitlik (2.1), serbest bağlanma enerjisi $\Delta G_{\text{bağlanma}}$ ile ΔG_0 arasında ilişki kurar ve bu ilişki bütün öteleme ve dönme serbestlik derecesi kayıplarını açıklar. ΔG_{hb} , ΔG_{iyonik} , ΔG_{lipo} nötral ve yüklenmiş hidrojen bağı etkileşimleri ve ligand-protein arasındaki hidrofobik etkileşimlerin yapı türevli enerji terimleridir. $\Delta G_{\text{dönme}}$ ligandın iç dönme serbestlik derecesi kaybını gösterir. Eşitlik (2.1) geniş bir enerji aralığını içine alır: 45 farklı ligand-protein kompleksine ait $\Delta G_{\text{bağlanma}}$ değerleri -9 ila -75 kJ / mol arasında değişir. Bu değerler $2,5 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ ve $4 \cdot 10^{-14} \text{ M}$ arasındaki bağlanma sabitlerine karşılık gelir. 7,9 kJ/mol değerindeki standart sapma, ligand bağlanma sabitlerinde 1,4 log birimi hata verir.

Serbest enerji ΔG ve denge sabiti K (ya da oran sabiti) (k_b = birleşme sabiti), (k_a = ayrışma sabiti) arasındaki ilişkiden dolayı, bazı değerlerin logaritmaları bağlanma eğilimleri ile ilişkilendirilebilir.

$$\Delta G = - 2,303 RT \log K = - 2,303 RT \log \frac{k_b}{k_a} \quad (2.2)$$

Belirli bir biyolojik etki oluşturan molar konsantrasyonun logaritması, $\log C$, moleküler özelliklerle ya da fizikokimyasal özelliklerle ilişkilendirilebilir. Ayrıca bu serbest enerji

ilişkileri denge sabitleridir. Konsantrasyonun tersinin logaritması, $\log(1/C)$, daha aktif benzerlikler için yüksek değerler elde etmeyi sağlar.

1960’larda Hansch ve Fujita tarafından yapılan öncü bir çalışmada moleküllerin biyolojik aktivitelerindeki değişikliklerin nicel olarak moleküllerdeki ölçülmüş fizikokimyasal özelliklerle ilişkili olduğu gösterildi [34, 35]. Klasik Hansch eşitliği (2.3) molekülün sterik (taft E_s), pKa (Hammett σ olarak parametrelendirmiştir), hidrofobisite ($\log P$) ile biyolojik aktivite ($\log 1/c$) arasındaki lineer ve parabolik ilişkiyi gösterir.

$$\log 1 / c = a + b * \log P + c * (\log P)^2 + d * \sigma + e * E_s + \quad (2.3)$$

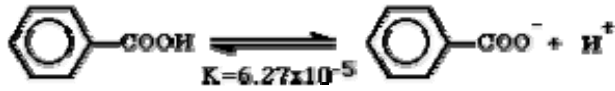
Hansch eşitliği türetmek için kullanılan süstitüentler her fizikokimyasal parametre için değerlerin iyi bir dağılımını temsil etmeli ve ayrıca parametreler arasındaki farkı ayırt edebilmelidir.

Bir Hansch analizi yapmak isteyen araştırmacı her bir satırın bir bileşiği temsil ettiği tablo hazırlar. Bu tablodaki her bir sütun ise moleküllerin değişik özelliklerini gösterir. Genellikle analiz edilen bileşikler ortak bir iskeleti paylaşırlar. Bu yüzden moleküllerin biyolojik aktivitelerindeki farklılıklar iskelete eklenen süstitüentlerin değişen özelliklerinin etkilerinden kaynaklanır. Log P veya pKa gibi süstitüentlerin moleküller üzerindeki etkileri tablolarda mevcuttur. Regresyon analizi, moleküllerin hangi fizikokimyasal özelliklerinin hangi kombinasyonlarının moleküllerin biyolojik aktivitelerini en iyi şekilde etkilediğini açıklar.

1964’ te Free ve Wilson tarafından türetilen matematiksel model, belirli yapısal özelliklerin var ya da yok olduğunu 1 ya da 0 değerleriyle tanımlar ve yapısal matrisleri biyolojik aktivite değerleriyle ilişkilendirir. Aşağıdaki eşitlikte verilen a_i değeri; bir bileşiğin farklı pozisyonlarındaki süstitüentlerin, biyolojik aktiviteye olan grup katkısını temsil eder. M ise referans bileşiğin, çoğu zaman serideki en basit yapıya sahip olan bileşiğin, aktivitesidir.

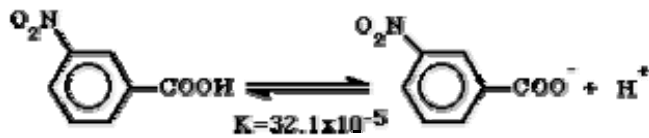
$$\log 1 / C = \sum a_i + \mu$$

Lineer Serbest Enerji İlişkisi: Louis Hammett (1894–1987)’deki çalışmasına kadar QSAR çok az bir gelişim göstermiştir. Hammett organik asitlerin elektronik özellikleri ile denge sabitleri arasında bir bağıntı kurmuştur.



Ayrıca Hammett benzoik asitin aromatik halkasına bağlanan süstitüentlerin bir düzene sahip olduğunu ve bu düzenin ayrışma sabitleri üzerinde nicel bir etki yaptığını gözlemlemiştir.

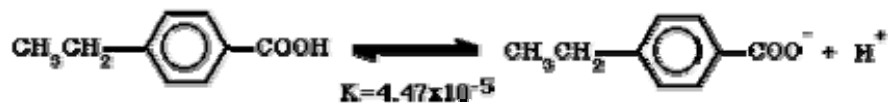
Örneğin



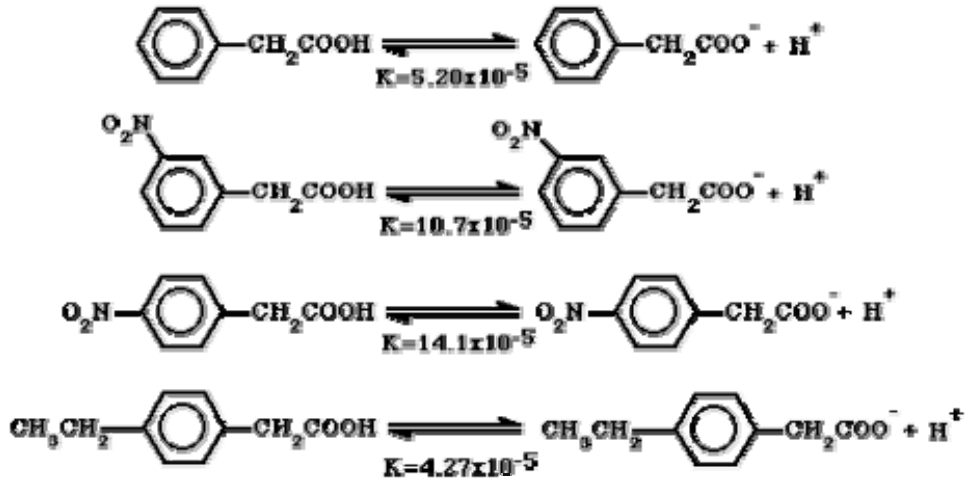
meta pozisyonunda bağlanan bir nitro grubu denge sabitinin artmasına neden olur. Çünkü nitro grubu elektron çekici bir gruptur. Nitro grubu para pozisyonunda düşünüldüğünde;



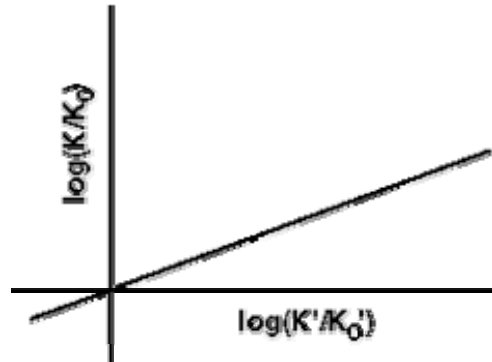
denge sabiti meta pozisyonunda olduğundan daha büyüktür. Şimdi para pozisyonunda etil grubunu düşünelim;



Bu durumda denge sabiti süstitüentsiz bileşikler için hesaplanan değerden daha düşüktür. Çünkü etil grubu elektron salıcı bir gruptur. Fenil asetik asitin ayrışması düşünüldüğünde;



elektron çekici nitro grubunun denge sabitini artırdığı gözlemlenmiştir. Bu artış, nitro grubu para pozisyonunda iken meta pozisyonunda olan artıştan daha büyüktür. Elektron salıcı etil grubu ise denge sabitini düşürür. Bu denge sabitlerine ait veriler aşağıda grafiğe geçirilmiştir:



Şekil 2.4. Lineer Serbest Enerji İlişkisi

Şekil 2.4 lineer serbest enerji ilişkilerini gösteren bir grafikdir. K_0 ve K_0' süstitüentsiz bileşikler için denge sabitini temsil eder. Lineer olan bu ilişki aşağıda yazılmıştır:

$$\log \frac{K}{K_0} = \rho \log \frac{K'}{K_0'}$$

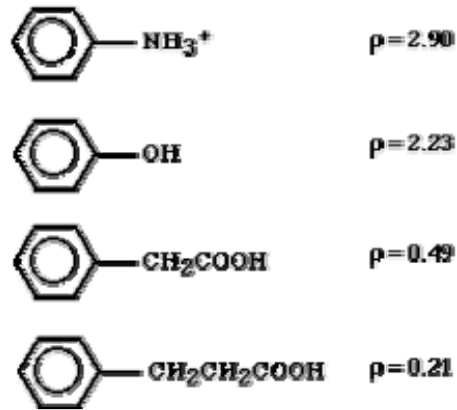
Burada ρ , doğrunun eğimidir.

$$\log \frac{K}{K_0} = \rho \sigma$$

ρ , verilen dengeye ait oransal bir sabittir. σ , bir süstitüent tanımlayıcıdır. σ 'nın büyüklüğü süstitüentin elektron salıcı veya elektron çekici özelliğinin gücünü verir. Hammett tarafından geliştirilen bu ilişkiler serbest enerji ilişkisi olarak isimlendirilir.

$$\Delta G = -RT \ln K$$

Bu ilişkilerin daha iyi anlaşılması için ρ ve σ değerlerini düşünmek yararlı olacaktır.



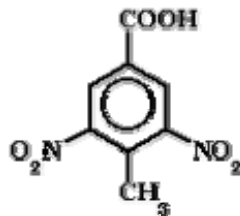
Hammett Eşitliğin Uygulaması

İyonlaşma dengesinin pKa tahmini:

$$\log \frac{K}{K_0} = \rho \sigma$$

$$pK_a = pK_a^0 - \rho \sigma$$

$$pK_a = 4.20 - 1.00 \Sigma \sigma$$



Nitro grupları için $\sigma_{\text{meta}} = 0,71$ ve metil gurupları için $\sigma_{\text{para}} = -0,13$ olarak verilmiştir. $pK_a = 2,91$ olarak hesaplanmıştır [36].

2.6.3. QSAR Yöntemi

QSAR modelleri, bileşiklerin kimyasal özellikleri ve biyolojik aktiviteleri arasındaki karmaşık ilişkilere çözüm bulmaya çalışan matematiksel modellerdir [37]. QSAR, aktif bileşiklerin özelliklerini ve yapısal ilişkilerini anlatır. Böyle modellerin genel amaçları: a) Test edilmemiş ve bazen de henüz mevcut olmayan bileşiklerin biyolojik aktivitelerinin tahminine izin vermek ve b) Bileşiklerin biyolojik aktiviteleri için hangi kimyasal özelliklerinin belirleyici unsurlar olduğunu çıkarmaktır. QSAR modelleri kurmak için kullanılan en yaygın teknikler regresyon analizi, yapay sinir ağları ve sınıflandırma yaklaşımlarına dayanır. Regresyon esaslı yaklaşımlar arasında çoklu lineer regresyon metodu (Multi Linear Regression, MLR) ve kısmi en küçük kareler (Partial Least Squares, PLS) regresyonu en iyi örneklerdir. QSAR modelleri otoriteler, endüstriler ve çevreye salınan kimyasalların risk değerlendirmesi için diğer kuruluşlar tarafından gittikçe daha fazla kullanılmaktadır [38,39].

QSAR gibi tahmine dayalı yöntemler kimyasalların düzenlenmesinde yardım için gereklidirler. Çünkü maliyeti önemli oranda düşürebilir, hayvan testlerine engel olabilir ve idari kararları hızlandırabilir. Bu ise bileşiklerin uygun özelliklerinin optimize edilerek, daha az istenmeyen yan etkili bileşiklerin tasarımına yol gösterebilir. QSAR’ da kullanılan aktiviteler fizikokimyasal ölçümleri ve biyolojik testleri içine alır. QSAR şu anda pek çok ilaç tasarımında, çevresel risk değerlendirmelerinde ve birçok bilim dalında uygulanmaktadır.

Kantitatif yapı- aktivite ilişkileri, bir grup bileşiğin biyolojik aktivitelerini fizikokimyasal özellikleriyle ilişkilendiren matematiksel bir formül türetmeyi kapsar. Fizikokimyasal özellikler için kantitatif değerler ölçülür veya hesaplanır, ve bunlar matematiksel bir eşitlik kullanılarak biyolojik aktivite ile ilişkilendirilir. Geleneksel QSAR’ ın dışına çıkmak için, aynı iskelete sahip fakat farklı sübstitüentleri olan bir analog seri sentezlenir. Analogların aktivitesi ölçülür ve bu aktiviteleri önemli olduğu düşünülen fizikokimyasal özelliklerle (örn: büyüklük, hidrofobisite, elektronegativite, dipol moment, hidrojen bağlama yeteneği vb.) ilişkilendiren bir formül düzenlenir. Bu fizikokimyasal özelliklerin bir kısmının aktiviteyi etkilemesi muhtemeldir ve bir fizikokimyasal özelliğin diğerlerinden bağımsız olarak değiştirildiği analoglar sentezlenebilirse, ideal olur. Fakat bu nadiren mümkündür. Genellikle, sübstitüenti

değiştirmek aynı zamanda bazı fizikokimyasal özelliklerin değişmesiyle sonuçlanır. Bu da bir fizikokimyasal özelliğin diğerinden daha önemli olup olmadığını belirlemeyi zorlaştırır. Bu nedenle, verilerin anlamlı olması için uygun bilgisayar yazılım paketlerinin kullanılması gerekir. Önsezi tek başına yeterli değildir.

QSAR eşitliklerini türetmeye yardım eden birçok yazılım programları vardır. Fakat hangi verilerin konulacağına karar vermek tıbbi kimyacıların bileceği iştir. Kesinlikle her bileşiğin biyolojik aktivitesi dâhil edilmelidir. Fakat biyolojik aktivite için hangi fizikokimyasal özelliklerin en önemli olabileceğine kimyacılar karar vermek ve sonrasında bu özelliklerin gerçekten önemli olup olmadığını test etmek için bir eşitlik türetmek zorundadırlar. QSAR, ancak bir bilgisayara yerleştirilecek kadar çok verinin kullanıldığı ve bilgisayarın, hepsini anlamlı kılması beklenen bir sorun değildir. Aslında, bir ya da iki fizikokimyasal özelliğe dayanan bir başlangıç eşitliği türetmek en iyisidir. Başlangıç eşitliğinin, hesaplanan aktiviteleri deneysel olarak ölçülenlere yakın vermesi umulur. Fakat matematiksel eşitliğe uymayan bileşikler büyük ihtimalle olacaktır. Böyle bileşikler baş belası olarak görülmemeli. Kimyacı bu moleküller üzerinde çalışabilir ve bu moleküllerin sahip olduğu ve diğerlerinin sahip olmadığı bir fizikokimyasal özelliği belirlemeye çalışabilir, sonra ise o özelliği içeren daha gelişmiş bir formülü araştırabilir.

Bir QSAR eşitliğinde üç fizikokimyasal özelliğin hemen hemen her zaman bulunduğu düşünülür. Bunlar hidrofobisite (yağlı karakter), süstitüentin elektronik özellikleri ve süstitüentin büyüklüğüdür.

a. Molekülün hidrofobisitesi: Bir molekülün hidrofobisitesi, normal olarak molekülün log P değeri ile ölçülür. P, dağılma katsayısı olarak bilinir. Oktanol-su karışımındaki bir bileşiğin göreceli çözünürlüğü ölçülerek, P değeri deneysel olarak belirlenebilir.

Oktanoldeki bileşiğin konsantrasyonu

$$P = \frac{\text{Oktanoldeki bileşiğin konsantrasyonu}}{\text{Sudaki bileşiğin konsantrasyonu}}$$

Sudaki bileşiğin konsantrasyonu

Daha hidrofobik bileşik, daha büyük kısmı organik tabakada dağılacak olan bileşiktir ve daha yüksek P ya da log P değerine sahip olur. Çoğu ilaçlarda log P değeri artarken aktivite de artma eğilimindedir. Bu ise genellikle, artan hidrofobisitenin ilacın biyoalıcıya ulaşmak için hücre membranlarından daha kolay geçmesine izin verdiğinin bir belirtisidir.

Aktivite hücre membranlarını geçen ilaç moleküllerine bağlı olduğu için, log P in vivo aktivitesi de dâhil olmak üzere çoğu QSAR eşitliklerinde mevcuttur.

b. Elektronik özellikler: Farklı süstitüentlerin elektronik özellikleri de biyolojik aktiviteyi etkilemede önemli role sahiptirler. Aromatik bileşiklerin elektronik özellikleri Hammett süstitüent sabitleri(σ) ile tanımlanır. Pozitif σ değerine sahip süstitüentler elektron çekici, negatif σ değerine sahip süstitüentler ise vericidirler.

c. Sterik faktör: Farklı süstitüentlerin büyüklükleri bileşiklerin aktivitesi için önemli olabilir. Hacimli gruplar ilaçların bağlanma bölgesine uygun bir şekilde yaklaşmasını engelleyerek aktiviteyi düşürebilir. Diğer taraftan hacimli bir süstitüent, bağlanma için gerekli aktif konformasyonu seçmesi için bir bileşiği güçlendirerek aktiviteyi arttırabilir. Süstitüentlerin sterik özelliklerini ölçmek hidrofobik ya da elektronik özelliklerinin ölçümü gibi açık değildir. Bununla birlikte genel olarak kullanılan üç yöntem vardır. a) Taft sterik faktör(E_s), deneysel olarak ölçülür. b) Molar refraktivite (MR) ise, süstitüentin moleküler ağırlığından, refraksiyon indeksinden ve yoğunluğundan hesaplanan bir büyüklüktür. c) Sterimol denilen yazılım programları kullanmak bir diğer seçenektir. Verloop sterik parametreleri olarak bilinen sterik faktörleri hesaplar [40].

Moleküler tanımlayıcılar genellikle QSAR analizinin bir parçası olarak modern kuantum kimya hesaplamalarından elde edilirler. Mesela, özel bir atomda HOMO veya LUMO orbitallerindeki kısmi atomik katsayılar biyolojik aktivite ile ilişkili olabilirler. Bu metotlar üç boyutlu bir yapı gerektirmemelerine rağmen, moleküler tanımlayıcılar uzaydaki özelliklerin tanımlayıcıları değildirler. Bu yetersizliklerin üstesinden gelmek için 3D QSAR metotları geliştirildi [4, 5, 6, 41, 32]. 3D QSAR geleneksel QSAR metotlarından farklıdır ve birçok avantajları vardır. 3D QSAR metodunda her

molekölün fizikokimyasal özellikleri bilgisayarla hesaplanır ve hiçbir deneysel sabit yer almaz. İkinci olarak, hesaplanan özellikler tüm molekül içindir, özel süstitüentler için değil. Bu özellikler “alanlar” olarak bilinir ve çoğu 3D QSAR çalışmaları bir sterik alanın ve bir elektrostatik alanın hesaplanmasını kapsar. Bunlardan ilki molekülün şeklini tanımlar, ikincisi ise molekülün elektronik karakterini belirler. İlginç olan, hidrofobik özelliklerin 3D QSAR’ da daha az önemli olmasıdır. Yukarıda bahsedilen alanlar hesaplandığı için QSAR’ dakinden daha çeşitli moleküllerle çalışmak mümkündür. Mesela geleneksel QSAR deneysel sabitleri bulunmadığı için alışılmamış süstitüente sahip moleküllerle baş edemez. İkinci olarak, QSAR aynı temel iskelete sahip moleküllerle sınırlıyken, 3D QSAR’ da bu durum söz konusu değildir. Üçüncü olarak ise, QSAR’ ın aksine 3D QSAR yeni moleküllerin sentezi için kullanılabilir [40]. Bu 3D QSAR metotları moleküllerin ilgili biyolojik gücünü moleküllerin üç boyutlu uzaydaki elektrostatik, sterik, hidrojen bağı ve hidrofobik özellikleri ile birleştirirler. 3D QSAR metotları önceden ölçülmüş veya hesaplanmış süstitüent değişkenlerinin tablosuna bağılı değildir, fakat bunun yerine analizdeki bütün moleküllerin özelliklerini dikkate alırlar. Sonuç olarak yeni moleküller analize daha kolay dâhil edilirler. Bunun yanı sıra, hem Hansch eşitliği hem de 3D QSAR metotları aynı özellikleri tanımlayabilirler ve tanımlayıcı modelleri verebilirler. Bu yaklaşımlara bir yenilik ise, Güzel, Y. tarafından geliştirilen ve bu çalışmada kullanılan CoMCET programıdır. Bu metot ile moleküllerin üç boyutlu elektron topolojik özellikleri (yük, atomlar arası mesafe, bağı mertebesi, bağı uzunluğu vs.) dikkate alınarak, aktiviteden sorumlu Pha ve onun etrafında bulunan ve aktivite değerlerini artıran, AG veya azaltan, APS grupları belirlenmektedir.

2.6.4. QSAR’ da Çok Boyutluluk

Çok boyutlu QSAR teknikleri ($n>3$) protein- ligand etkileşiminin tanımlanmasında son derece güçlüdür. Fakat ligandların üst üste çakıştırılmasında oldukça hassastır. Yani ligand moleküllerinin biyoaktif konformasyonundan ya da yönlendirilmesinden başka temellere dayanan simülasyonlar, ilaç tasarımı çalışmalarında tahmin amaçlı olarak faydalı değildir.

1D QSAR: Moleküler bağlanma pK_a , $\log P$, vb. fizikokimyasal parametrelerle ilişkilendirilir.

2D QSAR: Bağlanma eğilimi yapısal parametrelerle(yapısal topolojik, geometrik, elektrostatik, termodinamik) belirlenir.

3D QSAR: Moleküler bağlanma uzaydaki üç boyutlu elektrostatik, sterik, hidrojen bağı ve hidrofobik özellikleriyle belirlenir.

4D QSAR: Ligand veri setini içeren moleküllerin çoklu gösterimine (konformasyonlar, protonlanma hali, stereoizomer) izin verir.

5D QSAR: 4D QSAR' dan farklı olarak Pha' nın sekiz farklı eş zamanlı, yönlenmiş pozisyonların değerlendirilmesine izin verir.

6D QSAR: En uygun çözünme modeli tarafsız bir şekilde tanımlanır. Çözünmemenin derecesi, yüzeyden çözücünün uzaklaştırılması ve farklı protonlanma hallerinin katkısı gibi anlık gelişmelere fırsat verir. Bu tanımlamadaki özellik yerine CoMCET programında agonist/antagonist etkisi 6D olarak kullanılmıştır.

2.6.5. Bazı QSAR Teknikleri

2.6.5.1. HQSAR (Hologram QSAR)

HQSAR, fragment esaslı yapı-aktivite ilişkileri üretmek için moleküler hologramları(çok boyutlu görüntü) ve PLS' yi kullanır. 3D QSAR metotlarından farklı olarak, HQSAR çok geniş veri setlerinin otomatikleştirilmiş analizlerine izin verir. Böylece moleküllerin düzenlenmelerini gerektirmez. Kabul edilen çalışmalar göstermektedir ki, HQSAR çok daha karmaşık olan diğer 3D QSAR teknikleriyle karşılaştırılacak düzeyde tahmin yeteneğine sahiptir.

QSAR analiz teknikleri yeni bileşiklerin keşfedilme araştırmaları için hızlandırıldı. HQSAR bu güçlü tekniğin uygulanabilirliğini genişletti. Hızlı ve kullanımı kolay olmakla birlikte gelecekteki sentez çalışmalarına yol gösterecek kesin aktivite tahmini sağlamaktadır. Avantajları ise şunlardır:

- Kimyasal yapıyı biyolojik aktivite ya da özelliklerle ilişkilendirecek kantitatif modelleri otomatik olarak oluşturur.

- İsteğe bağlı kullanıcı girdilerine olan ihtiyacı en aza indirir-üç boyutlu yapı, konformasyonel ya da atomları üst üste çakıştırma kararları yoktur.
- Geleneksel boyutlardaki setlerle birlikte binlerce yapıyı içeren geniş veri setlerine uygulanabilir.
- Bir veri setinin SAR profilini hızlı bir şekilde tanımlar.
- İlgilenilen özelliğe pozitif ya da negatif katkıda bulunan moleküler fragmentteki renk kodlayan atomlar vasıtasıyla, kolaylıkla yorumlanabilen modeller üretir.
- Yapı koleksiyonlarına tahmin üretmek için veritabanlarını araştırır [42].

2.6.5.2. ALMOND

ALMOND yapı-aktivite ilişkisini hızlı bir şekilde oluşturmak ve test etmek için, moleküler tanımlayıcıların yeni bir üretim şeklini ve istatistiksel bir alan sunar. Geleneksel QSAR metotlarında fonksiyonel grupların belirlenmesi ve moleküllerin üst üste çakıştırılması çok zaman alan işlemlerdir. Molekülleri süperimpoz (aynı fonksiyonel atomları çoklukla birbiri üzerinde çakıştırma) etmeye ihtiyaç duymaksızın 3D QSAR modelleri oluşturmaktadır. ALMOND hızlıdır ve daha objektif olarak daha karmaşık metotların tahmin gücüne sahip olur. ALMOND ve tanımlayıcıları farmakoforik bölgelerin iç geometriksel ilişkisini temsil ettiği için, farmakodinamik özelliklerin tahmini için yararlıdır(yani spesifik reseptör-ligand etkileşimi). Avantajları şunlardır:

- Diğerlerinin aksine ilk düzenleme gerekmediği için ALMOND' un 3D QSAR analizi kısa zamanda yapılabilir.
- Klasik oto korelasyon metotlarından farklı olarak ALMOND tanımlayıcıları, orijinal bilgilerin yeniden kurulmasına izin verir [43].

2.6.5.3. COMSIA (Comperative Molecular Indices Analysis, Karşılaştırmalı Moleküler Benzerlik İndisleri Analizi)

CoMSIA, CoMFA metodunun son zamanlarda geliştirilmiş bir uzantısıdır [44, 45]. Moleküler benzerlik, benzerlik indisleri yolu ile karşılaştırılır. Standart CoMFA tekniğine göre avantajları, hem bölge değişiklikleri hem de üst üste çakıştırılmış atomlardaki küçük değişiklikler hususunda daha güçlü olmasıdır. Bu ise benzerlik indisleri uygulamasının bir sonucudur. Benzerlik indisleri, Lennard-Jones ve Coulomb

potansiyeli yerine Gaussian tipi bir mesafe bağıllığı kullanarak hesaplanır. Çünkü onlar kesim değerlerinin daha fazla/az isteğe bağlı uygulamasını yaparlar. Dahası CoMSIA tekniği ile sadece sterik ve elektrostatik alanlar değil aynı zamanda hidrofobik, hidrojen bağı verici ve hidrojen bağı alıcı alanları da dikkate alınır. Benzerlik indisleri, üst üste çakışma öncesi moleküller için, düzenli bir şekilde yerleştirilmiş grid olan örgün kafes noktasında hesaplanır [46].

2.6.5.4. CoMFA (Comparative Molecular Field Analysis)

3D QSAR türetmede kullanılan en popüler metottur. 1988’ de ilk olarak Cremer tarafından tanıtılan CoMFA metodu Tripos Software Ltd. tarafından geliştirilmiştir. Çalışmada kullanılan her molekül bilgisayarda moleküler modelleme yazılımları kullanılarak oluşturulur. Eğer molekül çeşitli konformasyonlarda bulunabiliyorsa, aktif konformasyonlar tanımlanmalı. Aksi takdirde diğer moleküller anlamsız olur. Her molekül için Pha daha sonra belirlenir.

İkinci aşamada her molekül bir örgü kafesine yerleştirilir. Burada, her molekülün kafes içinde aynı göreceli pozisyon ve yönlenmede olduğundan emin olmak önemlidir. Molekül kafes içine bir kez yerleştirildi mi, molekül etrafındaki sterik ve elektrostatik alanlar ölçülebilir. Bu etkileşim alanları ilk önceleri sterik ve elektrostatik alanlardı, fakat daha sonra hidrofobik alanlar ve hidrojen bağı alıcı ve hidrojen bağı verici alanlarla genişletildi. Bunun için özel olarak belirlenmiş bir prob atom, kafes noktasının her birine sırasıyla yerleştirilir ve molekülle prob atom arasındaki elektrostatik ve sterik etkileşimler hesaplanır. Prob atomu moleküle ne kadar yakınsa, sterik etkileşim enerjisi de o kadar yüksek olur. Aynı sterik etkileşim enerjisine sahip kafes noktaları, sterik alanları belirlemek için çizgilerle birleştirilir. Uygun bir çevre çizgisi seçerek, molekülün şekli belirlenebilir.

Elektrostatik alan da benzer şekilde hesaplanabilir. Prob atomu pozitif yüklü olduğu için, pozitif elektrostatik etkileşimler molekülün negatif karakterde olan bölgelerini belirtir. Negatif etkileşimler ise molekülün pozitif karakterdeki bölgelerini belirtir. Molekülün pozitif ve negatif bölgelerini belirtmek için aynı enerjili kafes noktaları çevre çizgileriyle birleştirilir. Aktivitede sterik ve elektrostatik etki olup olmadığını belirlemek için, moleküllerin biyolojik aktiviteleri hesaplanan sterik ve elektrostatik alanlarla karşılaştırılır. Böylece moleküller kendi alan özellikleri ile temsil edilmiş

olurlar. Tüm moleküllerin alanları içindeki genel bölgeleri ortaya çıkarmak için çok değişkenli istatistikler uygulanır. CoMFA yönteminde kısmi en küçük kareler (partial least squares, PLS) regresyon metodu kullanılır. Oldukça karmaşık lineer eşitlik formundaki bir QSAR hesaplanır. Her regresyon eşitliği gibi QSAR da en küçük kareler uygunluğunun kalanlarından hesaplanan r^2 korelasyon katsayısı ile tanımlanır. Bu katsayı, modelin giriş verisine ne kadar uyduğunun ya da onu ne oranda yansıttığının bir ölçümüdür. Regresyon kalitesinin tahmini için diğer parametreler standart tahmin hatası SE ve F değeridir. Her kafes noktası bir QSAR katsayısına sahip olduğu için, CoMFA QSAR eşitliği üç boyutlu çevre haritası şeklinde grafiksel olarak özetlenir. Tahmin edilen yapılar model türetilmesinde kullanılanlara benzemek şartıyla yeni bileşiklerin özellik değerlerinin tahmininde de CoMFA QSAR eşitliği kullanılabilir. CoMFA’ da molekül setinin önceden uygun bir şekilde “üst üste çakışma” yapılması gerekir. Moleküllerin üst üste çakışma yapılması, onları belirli kurallara göre üst üste koymak demektir. Bu ise moleküler alanların karşılaştırılabilmesini kesinleştirir [40].

2.6.5.5. QSAR Yöntemi Olarak CoMCET Programı

ER’ deki incelenen bileşiklerin deneysel aktiviteleri kaynaklardan toplanarak molekül serisi belirlenir. Moleküllerin konformasyonları dikkate alınarak “Spartan ES V2.0.1” programında kuantum kimya hesaplamaları yapılır. Bu sonuçlar CoMCET programında ele alınarak her bir konformere ait elektronik özellikler, molekülün üç boyutta sayısal bir gösterimi olan ETMC matrisinde gösterilir. Matrislerin karşılaştırmasıyla aktiviteden sorumlu Pha belirlenir. Bu Pha’ yı bulunduran konformerler için APS ve AG gruplarına ait torsiyon açıları, Pha’ dan uzaklıkları ve bu grupların etkin katsayı değerleri bulunur. Bu karakteristik özellikler, Pha’ nın yanında aktivitenin değerine etki eder ve onun nicel olarak incelenmesine imkân sağlar. CoMCET programı ile elde edilen sonuçlar istatistik hesaplamalarda değerlendirilerek 3D QSAR incelemeleri tamamlanır. Biyoalıcının moleküllerle olan etkileşim mekanizması bu programın sunduğu 3D QSAR sonuçlarından sağlanır ve onun yapısı hakkında ön bilgiler elde edilir.

2.7. Farmakofor Kavramı

İlaç etkisinden sorumlu olduğu düşünülen moleküllerin tek özelliklerinin bir seti, farmakofor (Pha), deneme setinde sadece aktif moleküllerde olan ve verilen bir geometrik düzenlemedeki atom veya atomik grupların bir seti olarak tanımlanır. Başka

bir tanımı ise, verilen bir bileşik serisinde ilgilenilen biyoaktiviteyi temsil eden verilen, bir geometrik düzenlemedeki bir grup özel atom olarak tanımlanır. Farmakofor kavramı yapı aktivite ilişkilerinde olduğu gibi ilaç tasarımı ve toksikolojide de çok yararlı olduğunu kanıtlamıştır. Pha' yı tanımlamak biyoaktivitenin var ya da yok olduğunun tahmin edilebileceği anlamına gelir. Bu şekilde herhangi bir kantitatif aktivite belirtisi olmaksızın aktivitenin kalitatif tahmini için Pha bir belirleyicidir. Aktivitenin böylesine kuramsal bir ölçümü pratik kullanım için yetersizdir. Bu probleme ilk yaklaşım olarak faydalı olabilir. Bununla birlikte, bu alandaki son çalışmalar bu farmakofor tanımının oldukça kaba ve makul bir aktivite tahmini için yetersiz olduğunu göstermektedir. EC Metoduna dayanarak geliştirilmiş Pha tanımı için üç önemli özellik belirtilmiştir[47]:

1. Pha sadece bir grup atom olarak tanımlanmamalı. Moleküldeki uygun atomların elektronik özellikleriyle de tanımlanmalı. Elektronik özellikler ise farklı bileşiklerde; aynı atomlar için farklı, farklı atomlar için ise aynı olabilir.
2. Pha' nın hem elektronik özellikleri hem de geometrik parametreleri, belirli sınırlar içerisinde, bir bileşikten diğer bir bileşiğe değişiklik gösterir ve aktivite bu varyasyonların bir fonksiyonu olabilir.
3. Pha aktivite için gerekli fakat yeterli bir şart değildir. Çünkü Pha varlığında bile molekülün aktivitesi OOP(Out-of-Pha) grupları tarafından sıfıra kadar azaltılabilir.

2.7.1. Farmakofor Tanımlama Metotları

Aktif ve inaktif bileşikleri yapısal olarak tanımlamak için kullanılan Pha tanımlama metotlarından birisi, aktif-benzeşim yaklaşımıdır. Başlangıçta Marshall tarafından sunuldu [48]. Aktif- benzeşim yaklaşımı iki adımdan oluşur. İlk adımda bir grup aktif bileşikten oluşan deneme setindeki farklı fonksiyonel grupların ilaç-biyoalıcı tanınmasında önemli etkisine bakılır. Bunun için bulunan bilgi, bir grup ilacın bağlanmadan sorumlu olan biyoalıcıdaki fonksiyonel grupların doğası hakkında biraz bilgi verebilir. İkinci adımda ya farklı ve aynı serideki fonksiyonel grupların arasında ya da biyoalıcı içinde varlığı kabul edilen noktalarla tanımlanmış bağlanma noktaları arasındaki benzerlik düşünülerek bir hipotez ileri sürülür.

Temel olarak, aktif-benzeşim yaklaşımı işleyişi aşağıdaki gibidir:

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

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

Aktif-benzeşim yaklaşımı esas olarak konformer olarak sınıflandırılmış ve etkili bileşikler bilindiğinde ve birisi bu bileşikler daha esnek moleküllerin süperpozisyonu için şablon olarak ele alabildiğinde kullanılabilir. Düşünülebilen konformasyonel esneklikteki sistemler için, çeşitli metotlarla konformasyonel uzayı araştırmak ve sonra geriye ve/veya uzaklık kriterine dayanan saptanmış konformerleri analiz etmek için kullanışlı olarak tanıtılır. Pha tespiti için konformer analizinin kullanımının basitleştirilmiş hali Consentino tarafından ele alınmıştır [49].

3D QSAR teknikleri, çalışılan molekül serisinin dışındaki bileşiklerin potansiyelini tahmin için ve de çalışılan bileşiklerin potansiyelini uygun hale getiren nicel biyolojik

modelleri araştırmak ve çalıştırmak için kullanılır. Gerçekte birçok 3D QSAR metotlarının başvuruları onerilmiş bir Pha modelini gerektirir [4, 5, 6, 32, 50]. QSAR metotları direkt olarak Pha çıkarmak için nadiren kullanılmasına rağmen, n modellerin kalitesinin geliştirilmesi için değerli metotlardır. Birleştirildiklerinden beri bu yaklaşımlara Cramer [51] tarafından daha çok dikkat harcanmıştır. Cramer'in karşılaştırılmalı moleküler alan düzenlemesi (CoMFA), 3D QSAR metotları için geniş olarak kullanılmaktadır. 90' dan fazla CoMFA alışmaları basılmıştır ve bunlardan en az 25 tanesi data setin dışındaki bileşikler için doğru aktivite tahminini içerirler.

Bir QSAR alışması, eğer yapısal parametreler gerçekten biyolojik aktivitedeki farklılıklarla ilişkili değilse başarılı olamaz. Yapısal parametrizasyonun bu sorununa yeni bir yaklaşım, moleküler şeklin biyolojik aktivite ile ilişkili olduğuna ve ligand-biyoalıcı etkileşiminin kovalent bağlanmada nadiren değişiklikler içerdiği inanışlarının birleştirilmesine dayanır. Bu felsefe CoMFA' yı temel olarak geleneksel QSAR' dan ayırır. CoMFA, st üste çakıştırılmış bir grup bileşiğin etrafındaki sterik ve elektrostatik alanın uygun bir örneklenmesinin moleküllerin biyolojik özelliklerini anlamak için gerekli bütün bilgileri sağlayabildiğini kabul eder [51]. CoMFA, anlaşılabilir moleküler tanımları, istatistik analizleri ve sonuçların grafiksel sunumlarından dolayı çekicidir.

CoMFA, çözümünü üretmek için iki kritere başvuran ve tekrarlanabilen bir işlem olan kısmi en küçük kareler analizini (Partial Least Squares- PLS) kullanır. İlk önce yeni bir eleman çekmek için kriter, kolektif yapısal parametreler stnlarının hepsi ile deneysel bilgiler arasındaki genelleştirmenin derecesini artırmaktır. İkinci adımda, bir PLS tekrarlanabilirliğinin değerlendirilme safhasında henüz meydana getirilmiş prensip unsurlarının kabul için kriter, bağlı değişkenleri tahmin etmek için tahmin yeteneğindeki bir ilerlemedir. PLS' de bir QSAR' ın tahmin yeteneğine değer biçmek için kullanılan teknik "cross-validation" dır. Cross-validation tahmin performansına değer biçmek için en iyi yol, tahmin etmektir fikrine dayanır. PLS kullanımında bir gizli tehlike vardır; PLS'nin deneme set içindeki her ilişkiyi aıklayacağına garanti yoktur. CoMFA prosesinin bir sonucu olarak her bir tip CoMFA alanı için gösterilmiş iki tür evre seviyesi olacak; en çok pozitif ve en çok negatif. Daha yüksek özellik değerlerine sahip olabilecek yeni bileşikleri önermeye yardımcı olan bu evre haritaları bütün moleküller için ortak olan Pha' yı göstermezler.

Pha haritalandırmak için birçok yeni yaklaşımlar potansiyel biyoalıcı etkileşim bölgelerinin davranışını ve hesaplama fikrini tekniklerinin ana özelliklerinden birisi olarak içerirler. Bunlara örnek olarak, DISCO (Distance Comparison) isimli bir program Martin ve ortak çalışanları tarafından geliştirildi [52]. Program yapısal olarak farklı olan bileşikler için süperpozisyon kurallarını söyleme yeteneğine sahiptir. Bir bileşiğin birçok düşük enerjili konformerlerini ve noktalarını bulmakta faydalı olabilir. Prosesin ilk adımı ilgilenilen biyolojik hedef için iyi etki gösterecek temsili bileşiklerin bir grubunu seçmektir. Daha sonra her bir bileşik için bir grup düşük enerjili temsili konformerler bulmakta bir konformasyonel analiz işletilir. Daha sonra her bir bileşik için bütün potansiyel farmakoferik unsurlar hesaplanır. Bu unsurlar kullanıcı tarafından kontrol edilebilen bir altyapı araştırma dili olarak algılanır. Tipik olarak araştırmacı her bileşiğin hidrojen bağı yapabilen bölgeleri, hidrojen bağı yapamayan bölgeleri, hidrofobik bölgeleri ve diğer kilit atomları potansiyel farmakoferik bölgeler gibi kullanır. DISCO' nun önemli bir özelliği hidrojen bağı yapabilen ve hidrojen bağı yapamayan bölgelerin hesaplanmasıdır. Bu noktalar bileşikteki ilgilenilen atomlardan otomatik olarak hesaplanır ve biyolojik hedef ile etkileşimin kabul edilen (varsayılan) bölgelerini gösterirler. Sonunda, bir referans bileşiği (genellikle en az konformerli birisi) kullanıcı tarafından seçilir.

Hazır bir ticari moleküler modelleme programında bütünleştirilmiş bir ilave farmakofer haritalandırma stratejisi ChemX programının içerisinde kullanıma hazırdır. Yaklaşım aşına bir farmakofer tanımlama prosesini takip eder. İlk önce, veri set için düşük enerjili konformerleri belirlemek için bir konformasyonel analiz yapılır. Sıradaki adım ise hidrojen bağı yapabilen bölgeler, hidrojen bağı yapamayan bölgeler, pozitif yüklenmiş atomlar ve aromatik halka merkezleri olan potansiyel Pha noktalarının otomatik görevlendirilmesidir. Bu proses sırasında, bu noktaların çiftleri (mesafe anahtarı) ile sayısal bilgiler, tipler ve noktalar arası ilişkiler arasındaki mesafeler depolanır (formül anahtarı). Önerilmiş Pha' lar mümkün olan üç veya dört noktalı Pha' lar için mesafe ve formül anahtarlarının araştırılmasıyla tanımlanır. Daha sonra her bileşiğin en az bir konformerinin bu Pha' larla karşılaştırılmasıyla onaylanmalıdır. ChemX' in Pha haritalandırma fonksiyonu geçmişte sekiz serotonin reseptör antagonistlerinin bir grubu için bir Pha haritasının çıkarılmasında kullanıldı [53].

Bu tezin başlangıç noktası olarak sunulan, Pha tanımlama metodlarından bir tanesi de elektron topolojik yaklaşımdır [54, 55]. Bu yaklaşımda, bir molekülün geometrik ve elektronik özellikleri bir matris içinde tanımlanır. Her bir molekül için, bir elektron topolojik matris, konformasyonel analizinden seçilen sadece bir konformere dayanarak yapılır. Elektron topolojik matris diyagonal elemanları ile bir elektronik yapısal parametre içeren gerekli bir atomlar arası mesafe matrisidir. Kimyasal olarak bağlı olan iki atom için non-diyagonal elemanları bağa ait (bağ sırası, Wieberg indisi, bağ enerjisi vb.) bilgileri depolamak için kullanılır. Bir seride aktif bileşikler için matrisler daha sonra, inaktif bileşiklerde bulunmayan ortak özellikleri bulmak için karşılaştırılırlar. Bu ortak özellikler aktivitenin elektron topolojik alt matrisinden çıkan Pha ile temsil edilir. Pha' nın sonuçlarının incelenen aktiviteyi temsil ettiği öne sürülür. Birçok problem bu metodun en basit versiyonu ile çözülmüştür. Bu basit versiyon bir bütün halinde bu yaklaşımın ana özelliklerinin faydasını şu uygulamalarla açıklamıştır; misk kokusunun çıkışı [56, 57], sarımsak aktivitesi [58, 59], et kokusu [3], thymidine fosforilasin inhibe aktivitesi [3, 59], bitki büyüme düzenleyicisi aktivitesi [60], dibenzo [a,d] sikloalkeniminlerin bir serisinin yapı-antagonist aktivitesi [61], glikolik asit oksidaz'ın inhibe aktivitesi [62], sandal ağacı kokusu [63], kehribar kokusu [64] ve benzerleri.

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

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

Bu çalışmada 27' si aktif, 9' u aktif olmayan toplam 36 bileşiğin ER aktiviteleri bir QSAR tekniği olan CoMCET programı ile incelenmiştir.

3.BÖLÜM

MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu çalışmada:

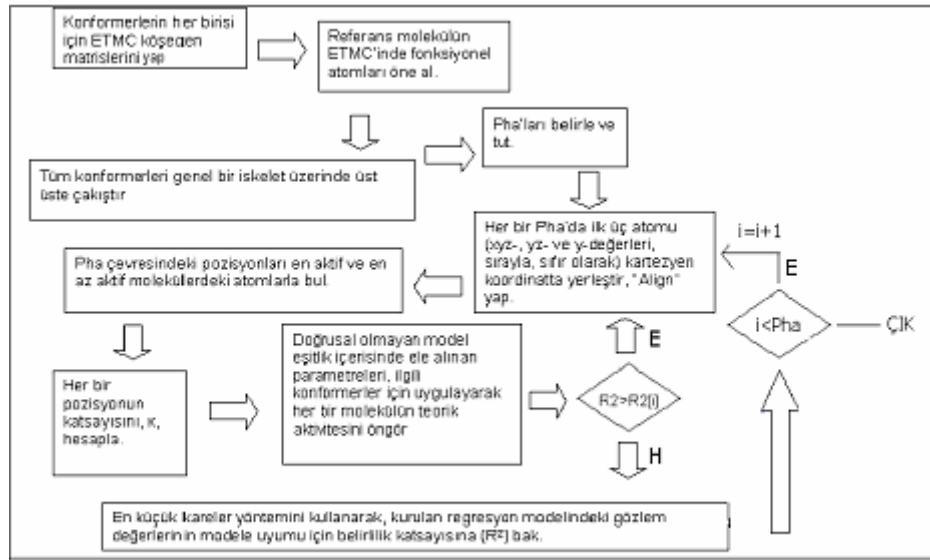
- 1) Spartan Pro 1X yazılım paket programında kuantum kimyasal hesaplamalar yapılmıştır. Bu programda;
 - 1a. Moleküler Mekanik hesaplamalar,
 - 1b. Kuantum kimyasal hesaplamalar,
- 2) Yahya Güzel tarafından geliştirilen CoMCET içerisinde;
 - 2a. Her bir konformerin topolojisini üç boyutlu olarak temsil eden konformerlerin topolojik matrisleri (Electron Topologic Matrix of Conformers, ETMC) çıkartan program,
 - 2b. ETMC matrislerinin üst üste çakışmaya göre yeniden düzenleyen program,
 - 2c. Benzeşen atom gruplarından muhtemel Pha'leri ve buna göre AG ve APS grupları belirleyen program, kullanılmıştır.

Tüm programlar için Pentium(R)-4 CPU 1.70 GHz, 256 MB RAM bilgisayar kullanıldı.

3.2. Metot

Spartan Pro.1x programında molekül iskeletlerinin çizimi ve iskelet dinamizmine göre en düşük enerji halleri minimize edilerek molekül yapılarının çıkartılması.

- MMFF metoduyla uygun konformerlerin belirlenmesi.
- “Üst üste çakışma” yapılarak moleküldeki aynı konformerlerin silinmesiyle temsil edici konformerlerin tutulması.
- Konformerlerin kuantum kimya hesaplamalarının Semi-empirik AM1 metoduyla hesaplanması.
- Düşük enerjili olanların seçilmesi (örneğin göreceli entalpi değeri 1cal'den büyük olanlar silinir).
- Uygun atomlar tekrar “üst üste çakışma” yapılarak benzer veya az farklı konformerlerin işlem dışı bırakılması.
- Biyolojik aktivite gösteren moleküllerin biyoalıcılar ile etkileşmesinde aktiflik mekanizmalarının açıklanması ve aktif fragmentin çıkartılması için yukarıda belirtilen beş kademedeki Spartan paket programı kullanılmasından sonra seri bileşiklerin incelenmesi için CoMCET programının uygulanmasındaki algoritma Şekil 3.1'deki gibidir:



Şekil 3.1. CoMCET Uygulamasındaki Algoritma

- Uygun elektron konformasyonel matrisin (ETMC) oluşturulması ve düzenlenmesi.
- ETMC'lerin referans konformere bağlı olarak karşılaştırılması.

- Pha'lerin belirlenmesi.
- Pha'lere bağılı olarak, her bir Pha için bir veya birden fazla AG'nin ve APS'nin bulunması.
- Regresyon analiz değerlerine göre en uygun tek bir Pha ve onun AG ve APS'lerini sonuçlandırılması
- Aktivitenin Elektron Konformasyon alt matrisi ("Electron Conformer Sub-Matrix"; ECSM) ile Pha, AG ve APS'nin çıkartılması.
- Denenmemiş yeni bir molekül için Pha, AG ve APS'lerden aktivitenin hesaplanması.

3.2.1. Konformasyon Analiz İşlemi

Moleküllerin konformasyon analizi Spartan paket programında MMFF metodu ile yapılır. Moleküler Mekanik, bir molekülün konformasyon enerjisini ve yapısını çıkarmak için kullanılan hesap metodudur. Bu metotta molekülün toplam potansiyel enerjisini minimum yapan molekül yapısı bulunur. Moleküldeki atomlar arasında mümkün olan tüm karşılıklı etkileşimler dikkate alınarak hesaplamalar yapılır. Kullanılan program oldukça hızlıdır ve enzimler gibi büyük yapıli sistemler için dahi tepkime ısısı ve konformasyon kararlılıkları gibi nicelikler kolaylıkla hesaplanabilir. Ayrıca elektronik yapıya bağılı olan özellikler ya da elektronik yapı hakkında bilgi edinilebilir.

Molekülün konformasyon enerjisi, mekanik model esas alınarak mümkün olan etkileşme enerjilerinin (Van der Waals, dönme, elektrostatik, hidrojen bağı, valens bağı, valens açısı gerilme enerjileri) toplamı şeklindedir.

a) Van der Waals etkileşim enerjisi;

Lennard-Jones (3.1) yada Buckingham (3.2) olarak bilinen potansiyelle belirlenir.

$$U_w = -A/r^6 + B/r^{12} \quad (3.1)$$

$$U_w = -A/r^6 + Be^{-Cr} \quad (3.2)$$

Burada A,B,C ampirik parametrelerdir, r; Van-der Waals yarıçapıdır.. Her iki ifadede birinci terim çekmeyi, ikinci terim ise itmeyi karakterize etmektedir.

b) Dönme enerjisi;

$$U_d = \frac{U_0}{2} (1 \pm n \cos \emptyset) \quad (3.3)$$

denklemleri ile hesaplanmıştır. Burada U_0 potansiyel engelin yüksekliğini karakterize eden ampirik parametre, $\emptyset$ iki yüzlü dönme açısı, n ise atom elektronlarının kendi etrafında dönmesi ile oluşan valens halleri ile ilgili bir parametre, $\pm$ işaretleri ise başlangıç konformasyonunun seçilmesi ile ilgilidir.

c) Elektrostatik enerji;

$$U_{el} = K \sum \frac{q_i \cdot q_j}{\epsilon \cdot r_{ij}} \quad (3.4)$$

denklemleri ile hesaplanmıştır. Burada q_i ve q_j karşılıklı etkileşen atomların yükleri, r_{ij} onlar arasındaki uzaklık, ϵ ise molekülün yer aldığı ortamın (dielektrik) katsayısı, K ise angstrom ile ölçüldüğünde enerjinin kcal/mol ile ifade edilmesi için gereken dönüşüm parametresidir. ($K=232$)

d) Hidrojen bağının enerjisi;

Morse potansiyeli olarak bilinen,

$$U_{hb} = D [1 - \exp(-c\Delta r)]^2 - D \quad (3.5)$$

denklemleri ile hesaplanmıştır. Burada D hidrojen bağının ayrışma enerjisi (dissosiasyon enerjisi) ,

$$\Delta r = r - r_0 \quad (3.6)$$

olup r_0 hidrojen bağının denge halindeki uzunluğu, r herhangi bir andaki uzunluğu (uzanımı) , c ise ampirik bir parametredir.

Birçok organik ve biyolojik moleküller makro moleküller bileşiklerde molekül içi hidrojen bağları mevcuttur. Bu bağların enerjileri de molekülün toplam enerjisini (konformasyon enerjisini) etkilemektedir.

e) Valens açısı enerjisi;

$$U_{a\phi} = \sum_{i=1}^{N_o} C_i (\alpha_i - \alpha_i^o)^2 \quad (3.7)$$

denklemleri ile hesaplanmıştır. Burada C_i uygun esneklik katsayısı, N_o valens açılarının sayısı, C_i ve α_i^o ler ampirik parametrelerdir.

f) Valens bağı enerjisi;

$$U_{vb} = \sum K_i (r_i - r_i^o)^2 \quad (3.8)$$

denklemleri ile hesaplanmıştır. Burada r^o ve r kimyasal bağ uzunluklarının ideal ve gerçek değerleri, K_i esneklik katsayısı, K_i ve r_i^o deneye dayalı parametrelerdir, molekülde titreşim hareketinin olmaması halinde valens açılarının ve valens bağ uzunluklarının sabit kaldığı söylenir. Bu enerjilerin toplamı, molekülün konformasyon enerjisini verir.

$$U = U_W + U_d + U_{el} + U_{hb} + U_{tit} (U_{va} + U_{vb}) \quad (3.9)$$

Spartan paket programı Pentium-IV / 1600 bilgisayarda çalıştırıldı. 31 bileşik için geometrik optimizasyon işlemi ile konformasyon enerjileri hesaplanarak her bir bileşiğin konformasyonel yapıları belirlendi.

3.2.2. Kuantum Kimyası Hesaplamaları

Moleküler mekanik hesaplamaların ardından bütün moleküller için çalışılacak konformerler tespit edildikten sonra bu konformerler Semi-empirik programında Austin Model-1 (AM1) metodu ile tekrar hesaba alındı. Ardından göreceli olarak, toplam enerjileri <1 olan konformerlerin sonuçları txt dosyaları halinde farklı olarak kaydedildi. Bu çalışmada *.txt dosyalarındaki bilgiler içerisinde atomların yükleri ve

kartezyen koordinatları, moleküle ait enerjiler ET-matrisine dönüştürüldü. Bu matris değerleri, moleküllerin karşılaştırma ile aktif fragmentinin bulunması için kullanıldı.

Bir molekülün detaylı yapısı kuantum mekaniksel metotla incelenir. Dolayısıyla molekül için, Schrödinger denkleminin çözülmesi gerekir. Fakat Schrödinger denklemi, yalnız hidrojen atomu ve ona benzer iyonlar için hassas çözülebilir. İki'den fazla elektrona sahip atomların veya kuantum mekaniksel sistemlerin çözümü için Schrödinger denkleminin hassas çözümü mümkün değildir. Bunun için simülasyon metotları kullanılmaktadır, örneğin; N elektronlu atom için Hamilton operatörü;

$$H = -\frac{h^2}{2m} \sum_{i=1}^N \nabla_i^2 - Ze^2 \sum_{i=1}^N \frac{1}{r_i} + e^2 \sum_{i>j}^N \sum_{j=1}^N \frac{1}{r_{ij}} + R \quad (3.10)$$

şeklinde verilmektedir. Burada Z çekirdek yükü, e elektron yükü, m atom kütlesi, ∇_i^2 ise koordinatlara bağlı olup ikinci mertebeden diferansiyel operatörlerinin toplamını göstermektedir. Atomun tam hareketi dikkate alınmamıştır. Denklem (3.10) daki birinci terim elektronların kinetik, ikinci ve üçüncü terimler ise elektronların atom çekirdeği ve birbirleri arasındaki karşılıklı etki enerjisinin operatörleridir. R ise relativistik etkileri dikkate alan terimdir. Deney verileri göstermiştir ki; dış alan etkilediğinde hafif atomlar için relativistik etkiler dikkate alınmayabilir. Bu sebepten izole olmuş atomlar için relativistik olmayan Schrödinger denklemi genel halde, $H\Psi = E\Psi$

$$\left\{ -\frac{h^2}{2m} \sum_{i=1}^N \nabla_i^2 - Ze^2 \sum_{i=1}^N \frac{1}{r_i} + e^2 \sum_{i>j}^N \sum_{j=1}^N \frac{1}{r_{ij}} \right\} \Psi(r_1, r_2, \dots, r_N, \sigma_1, \sigma_2, \dots, \sigma_N) \\ = E\Psi(r_1, r_2, \dots, r_N, \sigma_1, \sigma_2, \dots, \sigma_N) \quad (3.11)$$

şeklinde yazılabilir. Burada r_i x,y,z koordinatlarını, N moleküldeki elektronların sayısını, σ_N ise çekirdeklerin sayısını göstermektedir. Atomun hal fonksiyonu $\Psi(r_1, r_2, \dots, r_N,$

$\sigma_1, \sigma_2, \dots, \sigma_N)$ elektronların 3N sayıda uzay ve N sayıda spin koordinatları ile ilgilidir. Atomun yapısı tüm karşılıklı etkilere bağlıdır. Her bir elektronun durumu ise,

çekirdeğin yanı sıra N-1 elektronun durumuna da bağlıdır. (3.11) denkleminin çözülmesi, atomun E enerjisinin ve Ψ hal fonksiyonunun bulunmasına, bunların bilinmesi ise atomu karakterize eden tüm parametrelerin bilinmesine imkân vermektedir.

Spartan paket programında AM1 metodu kullanılarak her bir bileşiğin, HOMO-LUMO enerjisi ve katsayıları, atomlar arası yoğunlukları ve atom yükleri, elektronik yükler ve bileşiğin toplam enerjisi gibi elektronik yapı parametreleri aşağıda gösterilen bağıntılardan hesap edilmiştir.

a) Atomlar arası elektron yoğunlukları ve atom yükleri

$$P_{pq} = \sum_{j=1}^N C_{pj}^* C_{qi} \quad (3.12)$$

denklemini ile hesaplanmıştır. Burada, P_{pq} yoğunluk matrisi, C_{pj}^* ve C_{qi} orbital katsayılarıdır.

b) Elektronik yükler atom orbitalleri üzerindeki elektron yoğunlukları,

$$P_{AA} = \sum_{p=1}^M P_{pq} \quad (3.13)$$

denklemini ile hesaplanmıştır. Burada P_{AA} atomun elektron yoğunluk matrisi, P_{pq} yoğunluk matris elemanını göstermektedir.

c) Elektronik enerjiler,

$$E_A = 2 \sum_{k=1}^{N_A} P_{kk} U_{kk}^A + \sum_{k=1}^{N_A} \sum_{m=1}^{N_{AB}} (2P_{kk} P_{mm} - P_{km}^2) \Gamma_{AA} \quad (3.14)$$

denklemini ile hesaplanmıştır. Burada, E_A elektronik enerjiyi, N_A ve N_B A ve B atomlarında dikkate alınan orbitallerin sayısını, P_{kk} , P_{mm} ; k ve m orbitallerinin yoğunluk matrislerini, U_{kk}^A iyonlaşma potansiyeli, Γ_{AA} ise bir atom içinde değişik orbitallerde yer alan iki elektronun karşılıklı etkileşime integralini gösterir.

d) Bağlanma enerjisi ,

$$E_{AB} = \sum_{k=1}^{N_A} \sum_{m=1}^{N_B} (4P_{km} \beta_{km} - 2P_{km}^2 \Gamma_{AB}) + \frac{Z_A^* Z_B^*}{R_{AB}} - 2P_{AA} V_B^A + 4P_{AA} P_{BB} \Gamma_{AB}^A \quad (3.15)$$

denklemini ile hesaplanmıştır. Burada, EAB bağlanma enerjisi, Z_A^* ve Z_B^* etkin çekirdek yükünü, V_B^A B atomunun k orbitalinde bulunan elektron ile A atomu çekirdeği arasındaki çekim integrali, P_{AA} ve P_{BB} A ve B atomlarının yük yoğunluk matrislerini , Γ_{AB} A atomunun k orbitalinde bulunan elektronla B atomunun m orbitalinde bulunan elektronun karşılıklı etkileşme integrali ($\Gamma_{km} = \Gamma_{AB}$) ' dir.

e) Molekülün toplam enerjisi ,

$$E_T = \sum_{\alpha > \beta} \sum_{\beta=1}^k \frac{Z_\alpha Z_\beta e^2}{R_{\alpha\beta}} + \sum_{k=1}^m \sum_{k=1}^m P_{km} (2H_{km} + \sum_{p=1}^m \sum_{q=1}^m (2\langle km|V|pq\rangle - \langle kq|V|pm\rangle)) = \sum_{A=1}^k E_A + \sum_{A>B}^k E_{AB} \quad (3.16)$$

denklemini ile hesaplanmıştır. Bu denklemlerde, Z_α ve Z_β α ve β atomları arası uzaklığı, P_{km} ise k ve m orbitallerinin yoğunluk matrisini ifade etmektedir. $|V|$ ise $(Z_A^* Z_B^*) / R_{AB}$ ifadesine eşittir. H_{km} ; k ve m orbitallerinin çakışma integraline eşit bir değer olup ($H_{km} = S_{km} \beta_{km}$) ' dir. β_{km} ise $\beta_A^0 + \beta_B^0$ rezonans integralleri olan parametrelerin toplamına eşittir. β_A^0 ve β_B^0 parametreleri A ve B atomlarının türüne bağlıdır.

g) Molekülün reaksiyon merkezleri,

$$RM = \sum_{i=1}^N C_i \quad (3.17)$$

denklemini ile bulunmuştur. Burada, RM reaksiyon merkezlerini, C_i atomik orbitallerin HOMO-LUMO'larının katsayılarını ifade etmektedir.

3.3. Karşılaştırmalı Moleküler Konformer Elektron Topolojik Metot (CoMCET)

3.3.1. CoMCET Programının Gereği

Bir molekülün biyolojik aktivite tahmini için gerekli olan; Pha, Auxilary Group (AG) (aktivitenin artmasında yardımcı olan) ve aktivitenin azalmasında rol alan perdeleyici APS grupları tanımlamada kullanılan CoMCET programının temelleri verilecektir. Önceki benzer çalışmalara göre yapılan yenilik APS ve diğer AG grupların etkilerini ve konformasyonel problemi içerir. Konformasyonel problem oda sıcaklığında yoğun olarak bulunan bütün konformerlerin dağılımlarını hesaba katarak çözüldü. İkinci önemli gelişme biyoaktivitenin nicel formülüne APS ve AG gruplarının doğru bir şekilde parametrize edilmesiyle başarıldı. Bu iki temel gelişmeyle biyoaktivitenin tahmini saf nitel olmaktan çıkarılıp nicel hale dönüştürüldü.

CoMCET programına dayanan, Pha fikri aşağıdaki üç önemli tanımlamalar yapılarak geliştirilebilir [3-66].

- 1) Pha grubu sadece periyodik tablodan aynı atomlar olarak tanımlanmamalı. Pha'deki bir atom; farklı atomlar ile aynı olabilirken, aynı atomlar için de farklı olabilen elektronik karakterlerden tanımlanabilir.
- 2) Hem elektronik karakterler hem de geometrik parametreler belirli sınırlar (toleranslar) içerisinde bir aktif bileşikten bir başkasına değişebilir ve aktivitenin büyüklüğü bu değişim miktarlarına bağlı olabilir.
- 3) Pha aktivite için gerekli fakat yeterli koşul değildir. Pha'nın varlığında molekülün aktivitesi reseptör ile etkileşimini engelleyen APS grup tarafından (tamamen veya kısmen) azaltılabilir veya hidrofobisite, lipofilite gibi başka özelliklerle AG grup tarafından artırılabilir.

İnceleme altındaki bileşik serisi deneme ve 8-12 moleküllü test set olarak rasgele 2 parçaya bölünür. APS ve AG'nin etkisi aktivitedeki rollerini yaklaşık olarak hesaba katarak parametrize edilebilir. Pha'e benzer şekilde bu parametrize etme işlemi CoMCET tarafından bulunan aynı elektronik ve geometrik parametrelerle AG ve APS grupların tanımlanmasına dayanır. Daha sonra aktivitelere oranla incelenen set için bu parametreleri işleterek ve en küçük kareler yöntemini kullanarak, aktivitede rol alan parametrelerin her birisinin etkinliğini temsil eden değişkenleri bulunur. Her bir

konformerin bulunma yüzdesini, enerjisini ve sıcaklığı bir fonksiyon olarak ekleyerek biyoaktivitenin nicel tahmini için bir formül çıkartılır. CoMCET, Pha'in APS ve AG grupların parametreleriyle tamamlanmasıyla, Pha fikrini biyoaktivite tahmini için nitel bir araç olmaktan çıkarıp nicel bir araca yükseltir.

3.3.2. Konformerlerin Belirlenmesi

CoMCET programının aslı şudur; biyolojik aktivitesi bilinen ve inceleme altına alınan bir seri molekülün (training set) olduğu düşünülürse, bu setteki bütün bileşikler için aynı deneysel metot uygulanarak aktivitelerin bulunması önemli bir aşamadır. İlgilenilen aktivite için sadece bir tek Pha'in sorumlu olduğu düşünülür. Aktif moleküllerin aktiviteleri, her bir etkin konformerinin Pha'i taşımasına göre değer alır. Bu konformerlerin etkileri, taşıdıkları atom pozisyonlarına göre aktiviteyi azaltır veya artırır. Tüm bu konformer özellikleri dikkate alınarak CoMCET programında yer alır. Programda çıkartılan fonksiyonel özellikler deneme serisi (test set) bileşikler için uygulanarak onların deneysel aktiviteleri teorik hesaplanan ile doğrulanır. Bir katkı sağlama yapıldığını ve aktivitesi tahmin edilmiş yeni bileşikler içinde aynı şey istenilir.

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

3.3.3. ETMC Matrisleri Oluşturulması

Her bir konformer için ETMC matrisleri oluşturulur. ETMC, diyagonal elemanlarına göre simetrik olan kare matristir. Bundan dolayı simetrisinin üst tarafının kullanılmasıyla oluşan üçgen matris alınır.

CoMCET'de bağımsız elemanların tam sayısı $s*(s+1)/2$ dir. Burada s moleküldeki atomların sayısıdır. Diyagonal elemanları için, molekülde atomların elektronik özelliklerini tanımlayan bir atomik parametre olan a_{ii} , atomik yüklerden oluşur. Bu yükler Mulliken elektronegativitesi ile hesaplanır. Matrisin non-diyagonal elemanları ise a_{ij} olup iki çeşittir; ilk türünde eğer i ve j kimyasal olarak bağlı atomlar iseler, a_{ij} i-j

bağının elektronik parametrelerinden birisi olabilir, örneğin bağ derecesi, wiberg sabiti, bağ enerjisi veya polarlanabilirliği gibi. İkinci türünde ise eğer i ve j bağ yapmamış iki atom iseler, $a_{ij} = R_{ij}$ olur ve atomlar arası mesafe bir parametre olarak kullanılır. Bu yolla her bir ETMC, hem a_{ii} ve a_{ij} elektronik karakterini hem de R_{ij} geometrik karakterini içerir. Bu parametrelerle ETMC'nin incelenen molekülün konformerinin bütün özelliklerini temsil ettiği kabul edilir. ETMC molekülün hem elektronik hem de geometrik yapı özelliklerini içerir. Daha önceleri kullanılan bu yaklaşımın basit versiyonunda [67,68], her bir molekülde sadece tek bir konformer için kullanılırdı ve bu konformerde en düşük enerjili olan temel hal (ground-state) konformeriydi. a_{ii} ve a_{ij} elektronik parametreleri olarak da sadece atom yükleri ve bağ dereceleri kullanılırdı. Prensip olarak verilen bir konformerin R_{ij} aynı atomlar arası mesafeyi koruyarak elektronik parametrelerin a_{ii} sabit kalarak a_{ij} ile yukarıda bahsedildiği gibi değişik kombinasyonların en iyi elektronik tanımlayıcıyı bulmak için yapılabilir. Ne atomik yük ne de onun türevi olan elektrostatik alan molekül içi etkileşimleri modellemede geniş olarak kullanılmaz. Bu ikisi etkileşimlerde orbitallerin etkisini hesaba katmaz ancak orbitallerin etkisi çok önemli olabilir, örneğin hidrojen bağı için. Bütün bu anlatılanlar atomik etkileşim dizini (II) dir. Atomik etkileşim dizini (II), Fukui-Klopman tipinin [69,70] rölatif ölçümünün bir türevi olarak yük ve orbital kontrollü hedef atomla etkileşimi açıklar. Atomik etkileşim dizininin basitleştirilmiş ve normalize edilmiş formülü (3.18)'de gösterildiği gibidir;

$$\Pi (A) = g^A \exp (-2 (\sqrt{2E_A})) \quad (3.18)$$

burada g^A molekülün HOMO'sundaki en dış orbitalin yoğunluğunu, E_A bu orbitalin valens haldeki iyonlaşma potansiyelini belirtir. Bu valens haldeki iyonlaşma potansiyeli elektronik konfigürasyonun ve atomik yükün bir fonksiyonu olarak kolayca hesaplanabilir. Gerçekte eşitlik (3.18)'deki exponansiyel davranış en dıştaki elektronların yoğunluğunu yansıtır.

Hesaplanmış elektronik ve geometrik parametreler ile her bir molekülün temel-hal (ground-state) konformerini s tane atomu ile ETMC'sinde temsil edilir. Burada s sayısı molekülden moleküle değişir.

3.3.4. CoMCET’de Farmakofer Tanımlama

Tasarımdaki bir sonraki basamak; bütün ETMC’leri ilgili moleküllerin aktiviteleri ve matrisin diyagonal ve non-diyagonal elemanlarını verilen belirli tolerans aralıklarında, karşılaştırarak bütün aktif moleküller için ortak olan, inaktif moleküllerde ise bulunmayan elektron topolojik özellikleri tespit etmektedir. Burada önce nitel olarak moleküllerin aktif-inaktif olarak sınıflandırılması gerekir. Bunun içinde sınır bir değer belirlenir. Bu değerden küçük olanlar inaktif, büyük olanlar ise aktif sınıfındadır. Bu sınırı tanımlarken aktif olmayanlar veya aktif denilemeyecek kadar küçük aktiviteye sahip olanlardan büyük bir değer alınır. Karşılaştırma işlemi yapılarak daha çok aktif bileşiklerin bulundurduğu ortak özellik Pha olarak bulunur ve bu özelliği temsil eden elektron konformasyonel alt matrisi (ECSM) oluşturulur. Eğer farklı elektronik yapı parametreleri denenmek istenirse (valens aktiviteleri, polarlanabilirliği, HOMO veya LUMO), ETMC yapısı ve ECSA’yı göstermek için kullanılan metot her bir setin parametresi için tekrarlanır, daha sonra farklı elektronik yapı parametreleri ile elde edilen ECSM karşılaştırması ile, inaktif bileşiklerden aktif bileşikleri ayırmada hangisinin en iyi olacağı tahmin edilebilir. Bu matris açıklamasının enantiyomerleri ayırmaya izin verip vermediği önemli bir sorudur. Bu sorunun açıklaması evettir, enantiyomerler çeşitli ETMC tarafından açıklanırlar; iki enantiyomerin matris elementlerinin mutlak değerleri aynı olmalarına rağmen, iki matrisdeki karşılıklı pozisyonları farklıdır. Ayrıca kolon ve dizilerde yer değiştirmelerine izin verilmez. Bu eğer ECSM (Pha) enantiyomerlerden birinde var ise, diğer enantiyomerde olmasını gerektirmez; eğer varsa, farklı APS ve AG ile farklı aktivitelerin ortaya çıkmasında eşlik eder. Moleküler sistemde atomları numaralandırma yolu (saat yönü veya tersi) önemlidir. Çünkü bu işlem ETMC de matris elementlerinin düzenini belirler. Bir tanesinin seçilmesiyle bütün konformerler ve enantiyomerler korunur. ECSM tarafından sağlanan Pha tanımı, yeni bileşiklerin aktivitelerini nitel olarak göstermede direkt olarak kullanılabilir [71].

CoMCET’nin diğer üstünlüğü de AG ve APS grupları [3-66] tanımlayarak hesaba katmasıdır. Bu grupların aktiviteye katkıları Pha ile birlikte hesap içine alınmıştır. Aslında Pha’i bulunduran bir konformerdeki her bir atomun aktiviteye sayısal bir değer yansıtması söz konusudur ancak bu atomların incelen seri içinde en çok molekül içinde bulunan ve en etkili olanları göz önüne alınabilmektedir.

3.3.5. APS ve AG

APS ve diğer AG'ye karar vermek için aktif bileşiklerin üst üste çakışma yapılmış yapılarını incelememiz gerekir. Pha aktivite için gerekli bir grup atomu içerir. Bu Pha'de bulunan atomlara ilave olarak mevcut olan moleküler yapıdaki atom veya atom gruplarının varlığı aktiviteyi azaltıcı veya artırıcı yönde etki yapabilir. Bazı grup atomlar hidrofobisiteyi artırıcı özellik gösterebilirler veya biyo-alıcı ile H-bağı yapabilirler. Bu atomların bu özellikleri aktiviteyi artırıcı özellik olup bu grup atomlara AG atomlar denir. Bazı grup atomlar ise biyo-alıcı ile etkileşim esnasında sterik engel veya perdeleme yapabilecekleri için aktiviteyi azaltıcı yönde etki ederler ve bu yüzden bu tür grup atomlara ise APS atomlar denir.

Bu grupların tanımlanması 3D QSAR da önemlidir. Çünkü moleküller 3 boyutlu olarak incelendiği için bulunan grupların üç boyutlu uzaydaki dizilişinin de incelenmesi gerekmektedir. Eğer bu gruplar tespit edilmezse inceleme 3D-QSAR olmaktan çıkıp 2-D QSAR ve hatta sadece QSAR olur. Yani aktivitenin nicel miktarı verilir ancak aktivitenin kaynağı moleküler iskelet içinde tam olarak açıklanamaz.

3.3.6. Aktivitenin Genel Formülü

AG ve APS gruplarının etkisini hesaba katmak için aktiviteyi artıran yada azaltan S fonksiyonunu kullanırız:

$$A \sim e^{-S} \quad (3.19)$$

S fonksiyonu AG ve APS'yi temsil eden bir grup parametreye bağlıdır. Genel olarak şöyle kabul edebiliriz:

$$S_{ni} = \sum_{j=1}^N \kappa_j a_{ni}^{(j)} \quad (3.20)$$

Burada $a_{ni}^{(j)}$ n'inci bileşiğin i'inci konformerinin j'inci tür APS veya AG özelliğini temsil eder. $a_{ni}^{(j)}$ her bir problem için spesifik bir parametredir. κ_j toplu analiz sonucundan elde edilen ayarlanabilen bir sabittir. Bu sabitin mutlak değerinin büyüklüğü referans olduğu atomun aktivite üzerinde ne kadar etkili olduğunu gösterir ve bu tip atomları üç boyutlu yapı içinde tanımak Pha'dan sonra ikinci derecede öneme

sahiptir. Bu fonksiyon ile birlikte sıcaklığının ve enerjisinin bir fonksiyonu Boltzman dağılımını hesaba katarak aşağıdaki genel formülü elde ederiz:

$$A_1 = A_0 \frac{\sum_{i=1}^{m_1} e^{-S_{i1}} e^{-E_{i1} / kT}}{\sum_{i=1}^{m_1} e^{-E_{i1} / kT}} \quad (3.21)$$

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

Bu formülde A_0 sabittir ve bilinmez. Bunun için molekül setinden (training set) aktivitesi bilinen bir referans molekül (I) seçeriz ve A_1 'yi

$$A_1 = A_0 \frac{\sum_{i=1}^{m_1} e^{-S_{i1}} e^{-E_{i1} / kT}}{\sum_{i=1}^{m_1} e^{-E_{i1} / kT}} \quad (3.22)$$

A_n ve A_1 için yazılan bu iki formül birleştirilirse A_0 bilinmesine gerek kalmadan devre dışı bırakılır.

$$A_n = A_1 \frac{\sum_{i=1}^{m_1} e^{-E_{i1} / kT} \sum_{i=1}^{m_n} e^{-S_{ni}} e^{-E_{ni} / kT}}{\sum_{i=1}^{m_n} e^{-E_{ni} / kT} \sum_{i=1}^{m_1} e^{-S_{i1}} e^{-E_{i1} / kT}} \quad (3.23)$$

molekül setindeki bileşiklerin bilinen deneysel aktiviteleri kullanılarak yukarıdaki formül işletilir ve $|A_n - A_n^{\text{exp}}|^2$ fonksiyonu üzerinden küçük kareler yöntemi kullanılarak ayarlanabilir κ_j sabitlerini elde ederiz. Bu yolla elde edilen κ_j ile aktiviteleri bilinmeyen aynı tür başka bileşikler için aktivite tahmini yapılabilir.

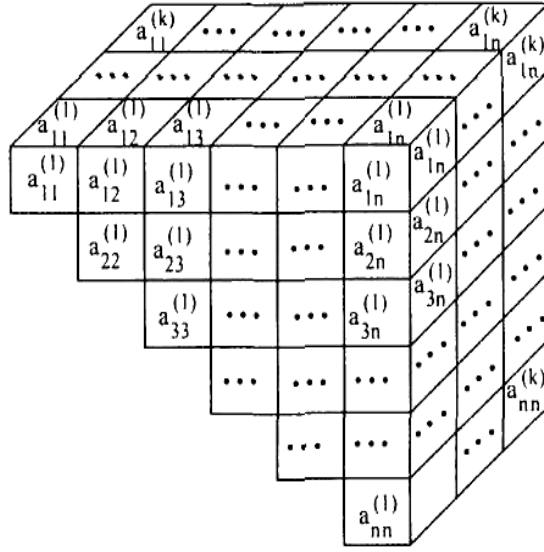
3.5. Elektron Topolojik Metot (ETM)

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

Şekil 3.2’de görüldüğü gibi her bir molekülün Elektron-Topolojik uygunluk Matrisi (ETMC) ya da üç boyutlu ETMC (TDETM) matrisi hazırlanır. ETMC matrisinin her biri köşegen elemanlarına ($a_{ij}^{(k)} = a_{ji}^{(k)}$) göre simetrik olduğundan şekilde sadece matrisin üst yarısı gösterilmiştir. Moleküldeki atom sayısı n ise bağımsız elemanların toplam sayısı $n(n+1)/2$ ’ dir. TDETM matrisinde ETMC matrisinin sayısı (m) elektronik parametrelerin seçimine bağlıdır. Molekülün elektronik özelliklerini tanımlayan atomik yükler valens aktiviteleri polarize edebilirlik ve HOMO-LUMO enerjileri gibi atomik parametreler köşegen elemanları $a_{ii}^{(k)}$ ($i=1, 2, 3, \dots, n$, ve $k=1, 2, 3, \dots, m$) olarak seçilir. Köşegen dışı elemanlar ($a_{ij}^{(k)}$) iki çeşittir,

a) Eğer i ve j birbirine kimyasal bağ ile bağlı iki komşu atomu gösteriyor ise $a_{ij}^{(k)}$, polarize edilebilirlik, bağ mertebesi (Wiberg İndeks) ve bağ enerjisi (toplam kovalent iyonik) gibi i - j bağının elektronik parametrelerinden birisi olabilir.

b) i ve j birbirine kimyasal bağ ile bağlı olmayan atomları gösterir ise o zaman $a_{ij}^{(k)} = R_{ji}^{(k)}$ atomlar arası uzaklığı gösterir. Böylece her matris hem elektronik (a_{ij}) hem de geometrik parametreyi (R_{ij}) içerir.



Şekil 3.2. Üç Boyutlu Elektron-Topolojik Matris (Three Dimensional-ETMC).

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

Şayet $m > 1$ ise ETSA matrisini belirleme işlemi m defa tekrarlanmalıdır. Bu yolla elde edilen ETSA matrisleri aynı ya da farklı olabilir. Bunlardan bazıları daha fazla bilgi verebilir ve aktif bileşiklerin inaktif bileşiklerden daha iyi ayrılmasını sağlar. Bu

nedenle incelenen bileşik serisinin analizinde en fazla bilgi ihtiva eden ETSA matrislerinin elektronik ve geometrik parametreleri kullanılır.

Aktivite kantitatif olarak biliniyorsa incelenen seri belli bir aktivite değerinden itibaren ikiye bölünür. Bu değer üstündekiler aktif altındakiler inaktif olarak kabul edilir. Her grup için ETSA matrisi bulunur. Bulunan ETSA matrislerinin matris elemanlarının karşılaştırılması ile aktivite ETSA parametrelerinin bir fonksiyonu olarak ifade edilir.

Özet olarak bir bileşik serisinin elektron topolojik metotla incelenmesinde izlenen hesap basamakları sırasıyla şunlardır.

1. Konformasyon analizi,
2. Elektronik yapının belirlenmesi,
3. Elektronik parametrelerin (atomik yükler, bağ mertebesi, polarlanabilirlik HOMO-LUMO enerjileri gibi) hesaplanması
4. ETMC matrisinin oluşturulması
5. Oluşturulan ETMC matrislerinden ETSA matrislerinin bulunması,
6. Bileşiklerin taranması ve verilen biyolojik aktiflikte yeni bileşiklerin dizaynı.

4.BÖLÜM

BULGULAR

4.1. Bileşiklerin Elektronik ve Geometrik Parametreleri

İncelenen bileşik serisinde yer alan ve en basit yapılardan biri olduğu için model olarak seçilen (Şekil 4.1) N36 bileşiğine ait; kartezyen koordinatlar, elektronik yükler ve bağ mertebeleri, sırasıyla, Tablo 4.1, Tablo 4.2 ve Tablo 4.3’ de verilmiştir.

Tablo 4.1 Model Bileşiğe (N36) Ait Kartezyen Koordinatlar

Kartezyen Koordinatlar			
Atomlar	X	Y	Z
H1	0.9718383	3.4809510	-1.7890473
C1	0.0647347	2.8729541	-1.9015805
C2	-2.3113275	1.3043111	-2.2234987
C3	-0.0820993	1.6784941	-1.1943198
C4	-0.9697822	3.2627474	-2.7485067
C5	-2.1481611	2.4922515	-2.9115007
C6	-1.2819580	0.8888600	-1.3622715
H6	-3.2219513	0.7029779	-2.3486927
C7	0.7459264	0.9720820	-0.2506495
C8	0.0584859	-0.1909369	0.1209074
N1	-1.1630764	-0.2564120	-0.5715854
C9	0.4910056	-1.2122225	1.0590166
C10	1.3655468	-3.1412511	2.8793183
C11	1.3197242	-0.8497243	2.1312786
C12	0.1092051	-2.5547301	0.9080969
C13	0.5382105	-3.5214181	1.8090393
C14	1.7595587	-1.8053386	3.0412293
H7	1.6218371	0.2022799	2.2530396
H8	-0.5239120	-2.8598199	0.0609392
H10	0.2461458	-4.5750621	1.6974169
H11	2.4085522	-1.5158183	3.8796190
H12	-1.8765199	-0.9134236	-0.4030569

Tablo 4.1'in Devamı

H15	-2.9261854	2.8601504	-3.5957796
H17	1.7275732	1.2798690	0.0948034
O1	-0.9222391	4.4264270	-3.4890705
H3	-0.0787375	4.8616305	-3.3014844
O2	1.7552762	-4.1414976	3.7384329
H4	2.3223292	-3.7483308	4.4179066

Tablo 4.2 Atom Yükleri

Atom	Yük
H1	0.136769
C1	-0.174658
C2	-0.113210
C3	-0.046367
C4	0.054199
C5	-0.132896
C6	-0.026059
H6	0.135469
C7	-0.195679
C8	0.022643
N1	-0.206257
C9	-0.064089
C10	0.085499
C11	-0.06972

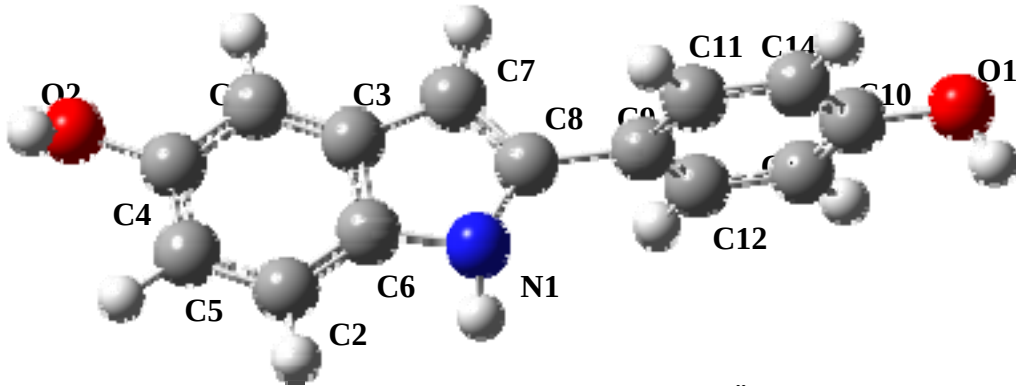
Atom	Yük
C12	-0.08965
C13	-0.15596
C14	-0.21246
H7	0.143128
H8	0.135043
H10	0.153370
H11	0.137366
H12	0.248309
H15	0.149304
H17	0.156164
O1	-0.256938
H3	0.214786
O2	-0.248396
H4	0.220308

Tablo 4.3 Model Bileşiğin Bağ Uzunlukları

Bağ Uzunlukları							
O1-C4	1.380	C4-C5	1.417	C5-C2	1.382	C2-C6	1.405
C6-C3	1.446	C3-C1	1.396	C1-C4	1.393	O1-H3	0.968
C6-N1	1.397	N1-C8	1.406	C8-C7	1.401	C7-C3	1.441
C8-C9	1.453	N1-H12	0.984	C9-C12	1.404	C12-C13	1.389
C13-C10	1.405	C10-C14	1.402	C14-C11	1.391	C11-C9	1.403
C10-O2	1.375	O2-H4	0.968				

kr36_01 num Of AtmInMolkl = 20 actOfMolkl = -2.00 Heat Of Formation = -8.25

charge	-0.174	-0.113	-0.046	0.054	-0.132	-0.026	-0.195	0.022	-0.206	-0.064	0.085	-0.069	-0.089	-0.155	-0.212	0.248	-0.256	0.214	-0.248	0.220
g_charge	-0.018	0.010	-0.024	0.028	0.008	-0.013	-0.019	0.011	-0.116	-0.033	0.044	0.035	0.022	0.001	-0.036	1.809	-0.157	1.564	-0.152	1.605
y_charge	-0.095	-0.080	-0.066	-0.047	-0.084	-0.064	-0.096	-0.053	-0.102	-0.074	-0.042	-0.071	-0.077	-0.092	-0.107	0.198	-0.106	0.160	-0.107	0.163
yg_charge	0.001	0.007	-0.034	-0.024	0.012	-0.033	0.010	-0.027	-0.057	-0.038	-0.022	0.015	0.009	0.011	-0.004	1.443	-0.065	1.172	-0.065	1.193
homoT	1.090	1.072	1.052	1.021	1.079	1.044	1.096	1.031	1.075	1.054	1.009	1.059	1.064	1.082	1.097	0.770	1.077	0.808	1.072	0.802
C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	N1	C9	C10	C11	C12	C13	C14	H12	O1	H3	O2	H4	
-0.174	2.865	1.395	1.392	2.462	2.457	2.608	3.671	3.615	5.063	7.792	5.630	6.111	7.408	7.013	4.511	2.430	2.436	9.158	9.427	
-0.113	2.483	2.431	1.382	1.404	3.653	3.653	2.546	4.996	7.702	6.065	5.527	6.904	7.345	2.901	3.644	4.336	9.040	9.545		
-0.046	2.390	2.807	1.446	1.440	2.290	2.302	3.709	6.474	4.406	4.730	6.036	5.785	3.250	3.677	3.817	7.847	8.168			
0.054	.417	2.766	3.798	4.606	4.142	6.054	8.839	6.779	6.955	8.310	8.164	4.874	1.380	1.912	10.21	10.55				
-0.132	2.391	4.215	4.611	3.741	6.037	8.809	6.973	6.719	8.103	8.317	4.238	2.361	3.169	10.17	10.61					
-0.026	2.314	2.272	1.396	3.663	6.422	4.690	4.352	5.728	5.991	2.126	4.143	4.581	7.781	8.240						
-0.195	1.401	2.292	2.559	5.205	3.053	3.766	4.947	4.424	3.233	5.020	5.011	6.563	6.823							
0.022	1.405	1.452	4.245	2.462	2.491	3.764	3.745	2.130	5.942	6.104	5.618	6.020								
-0.206	2.511	5.159	3.717	3.015	4.384	4.898	0.984	5.522	5.901	6.495	7.016									
-0.064	2.792	1.402	1.403	2.428	2.426	2.798	7.380	7.498	4.166	4.589										
0.085	2.410	2.410	1.405	1.402	5.123	10.15	10.21	1.374	1.910											
-0.069	2.422	2.802	1.390	4.079	8.028	8.005	3.688	3.825												
-0.089	1.389	2.799	2.890	8.314	8.529	3.638	4.317													
-0.155	2.440	4.186	9.662	9.837	2.363	3.168														
-0.212	5.087	9.416	9.383	2.437	2.446															
0.248	6.240	6.707	6.384	6.993																
-0.256	0.967	11.52	11.82																	
0.214	11.57	11.81																		
-0.248	0.968																			
0.220																				



Şekil 4.1. Model ve Referans Bileşiğine Ait ETMC Matrisi ve Üç Boyutlu Yapısı

4.2. Elektron-Topolojik Matris

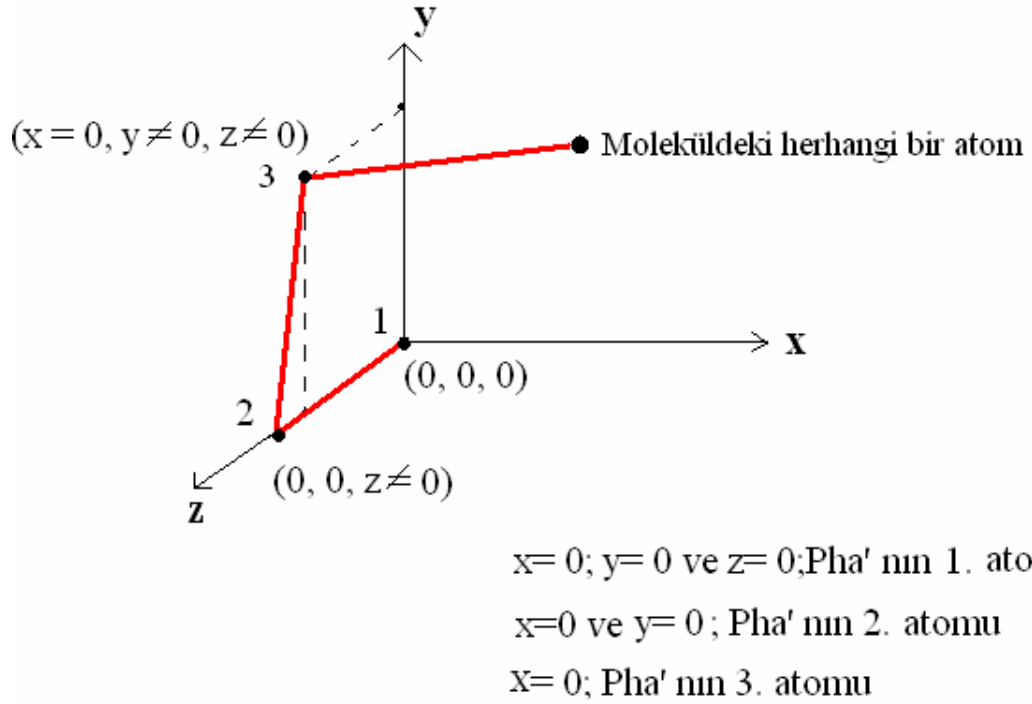
Serideki toplam 36 bileşikten 27' si aktif, 9' u da aktif_olmayan olarak iki gruba ayrılmıştır. Elektron topolojik metot ile bütün bileşiklerin ETMC' leri oluşturulmuştur.

Elektron Topolojik matrisine örnek olarak model bileşiğinin ETMC' sinin uzaydaki gösterimi matris değerleri ile Şekil 4.1' de verilmiştir. Bu matriste; atomlar üzerindeki özellikler, yük değerleri (Q_{ii}) olarak; atomlar arası özellikler ise a) bağ mertebeleri (W_{ij}) ve b) molekül içinde kimyasal bağ yapmamış atomlar arasındaki mesafeler (R_{ij}) olarak optimize edilmiştir. Matrisi çok büyüttüğü ve tekrarlanan benzer özelliklere sahip olduğu için fazla önemli olmayan karbon atomlarına bağlı hidrojen atomları gösterilmemiştir.

Aktif fragmentlerin çıkartılması, prensip olarak seri içerisindeki bileşiklerden en aktif fakat daha önemlisi en basit olanının ölçü bileşiği olarak alınması ve bunun ETMC' si ile tüm bileşiklerin oluşturulmuş ETMC' lerinin kıyaslanması düşüncesine dayanır. Bu çalışmada seri içerisindeki N36 bileşiği kontrol bileşiği olarak alınmıştır.

4.3. CoMCET Programının Uygulanması

Molekül serisindeki molekülün yapı-aktivite ilişkilerinin belirlenmesi için; sahip olduğu her bir konformerinin oluşum entalpileri göz önünde tutularak, konformerin kendi molekülü içinde sayısal orantı kesirleri belirlenmiştir. Bir konformerin etkisi, bu kesir orantısıyla birlikte, biyoalıcının etkileyeceği esas bölge olan Pha' yı taşımasına bağlıdır. Pha etrafında yer alan ve aktivite üzerinde etkili olan atomların bulunması için; söz konusu atom ve Pha üzerindeki ilk üç atom, belirli tolerans sınırları içerisinde, torsiyon açısına ve koordinat merkezinden göreceli uzaklığına göre sınıflandırılmıştır. Konformerdeki tüm atomların pozisyonlarını belirlemek amacıyla, Pha' yı oluşturan atomlar referans alınırlar.



Şekil 4. 2. Pha' yı Oluşturan Atomların Referans Olarak Alınması ve Torsiyon Açısının Belirlenmesi

Pha' nın 1. sıradaki atomu koordinat sisteminin merkezine yerleştirilerek, yani $x = 0$; $y = 0$ ve $z = 0$ alınarak tüm atomların mesafesi de buna göre belirlenir.

Pha' nın 2. sıradaki atomu için $x = 0$ ve $y = 0$; 3. sıradaki atomu için ise $x = 0$ alınır. Böylece molekülün ele alınan atomu ile Pha' nın 3. , 2. ve 1. atomları, sırasıyla, torsiyon açısının noktaları olarak alınır.

Konformerdeki tüm atomlar yukarıda anlatıldığı şekilde, belirli tolerans değerlerine göre pozisyonlarıyla sınıflandırılmış ve etkin atomlar bulunmuştur. Bu atomlar; n' inci molekülün i' inci konformerinin j' inci pozisyonları olarak işaretlenmiştir. Konformerlerin aktivite değerleri, Pha ile birlikte her bir pozisyonda bulundurdıkları atomların katkılarıyla belirlenmiştir. Burada atom yük değeri a_{ni}^j ile etkinlik katsayısı $\kappa^{j'}$ nin çarpım değerlerinin toplamı, her bir n' inci molekülün teorik aktiviteleri hesaplanmasında kullanılmıştır. Tablo 4.6' da bileşiklerin teorik aktiviteleri bu hesaplamalara göre verilmiştir.

Tablo 4.4’ de Pha’ yı oluşturan atomların simgeleri ve matris değerleri ile bu matrisin diyagonal (Δ_{DiaTlr}) ve nondiyagonal (Δ_{NdiaTlr}) tolerans değerleri verilmiştir. Tablo 4.5’ de ise konformerlerin çoğu için, Pha dışında aktiviteyi değiştiren atomların sınıflandırılmasında kullanılan tolerans torsiyon açıları (Δ_{TorsTlr}) ve tolerans mesafe boyutu (Δ_r), pozisyonlarının belirlenmesinde kullanılan konformerin ismi, konformerin aktivitede etkili olan atomlarının ismi ve pozisyonu, ve bu pozisyonun özellikleri olarak atomun torsiyon açısı ve mesafe değerleri verilmiştir. Torsiyon açıları ve mesafe değerleri, Şekil 4.2’ de gösterildiği gibi belirlenmektedir.

Tablo 4.4 Pha’ yı Oluşturan Atomlar ve

Matris Değerleri

Pha

N1	C8	C9
-0.116	1.406	2.512
	0.011	1.453
		-0.033

$$\Delta_{\text{NdiaTlr}} = 0.35 \quad \Delta_{\text{DiaTlr}} = 0.05$$

$$\Delta_{\text{TorsTlr}} = 40 \quad \Delta_r = 1$$

Tablo 4.5 Pha Dışında Aktiviteye Etki Eden Grupların (OOP) Bazı Özellikleri

Molk. No	Atom No	Torsiyon Açısı	Mesafe (Å)	Açı	Etkin Değeri	Pozisyon
kr01_01	C6	0.69	r = 1.40	107.54	kp1=-4.62	a
kr01_01	C2	1.48	r = 2.54	132.45	kp2=-0.72	b
kr01_01	C3	-1.65	r = 2.31	71.29	kp3=2.52	c
kr01_01	O2	-0.92	r = 6.51	46.05	kp4=1.08	d
kr03_01	C16	-58.31	r = 2.51	119.22	kp5=7.50	e

Tablo 4.6' da moleküllerin deneysel aktiviteleri ve hesaplanan aktiviteleri ile birlikte her bir konformerin oluşum entalpileri (kcal/ mol), ve bu konformerlerde aktiviteye etki eden atomların pozisyonlarını gösteren atom işareti (a^j) verilmiştir. Bu konformerler üzerindeki '\$' işareti; Pha'yı taşımayan konformerleri gösterirken, bu atomlar Δr yarıçap ve Δ_{TorsTlr} torsiyon açısı tolerans değerlerinde ve r, yarıçap mesafesi t, torsiyon açısına göre, j-grup pozisyon olarak, a,b,c vs. simgeleriyle, sınıflandırılmıştır.

Bu grupta bir atom taşıyan konformerin oluşum entalpisinin yanında a^j işareti bulunmaktadır. κ^j değerinin a_{ni}^j ile çarpım sonucu '+' (pozitif) çıktığında belirtilen atomun Pha ile birlikte aktiviteyi artırdığını '-' (negatif) de ise azalttığını gösterir.

Tablo 4.6 Aktiviteye Etki Ettiği Belirlenen Parametreler ve Bu Parametreleri Taşıyan Konformerler

			Konformerlerin Oluşum Entalpileri * ve Sahip Oldukları Pozisyonlar					
Molk. No	Den Akt.	Teo. Akt.	1 (7, 13, 19)	2 (8, 14, 20)	3 (9, 15, 21)	4 (10, 16, 22)	5 (11, 17, 23)	6 (12, 18, 24)
kr36	-2.000	-2.000	-8.25 a,b,c,d					
kr01	1.520	1.23	-15.73 a,b,c,d	-15.65 a,b,c,d,e	-15.53 a,b,c,d			
kr02	1.360	0.882	-20.97 a,b,c,d	-20.97 a,b,c,d,e	-20.86 a,b,c,d,e	-20.86 a,b,c,d	-20.86 a,b,c,d,e	-20.71 a,b,c,d
kr03	1.320	0.986	-21.49 a,b,c,d,e	-21.49 a,b,c,d	\$-21.47	-21.47 a,b,c,d	-21.44 a,b,c,d,e	-21.42 a,b,c,d,e
			-21.39 a,b,c,d	-21.39 a,b,c,d,e	-21.38 a,b,c,d,e	\$-21.36	\$-21.26	
kr04	1.280	1.929	-28.40 a,b,c,d	-28.31 a,b,c,d,e	-28.30 a,b,c,d,e	-28.29 a,b,c,d,e	-27.67 a,b,c,d,e	-27.67 a,b,c,d
			-27.65 a,b,c,d,e	-27.65 a,b,c,d	-27.65 a,b,c,d,e	-27.65 a,b,c,d	-27.64 a,b,c,d,e	-27.60 a,b,c,d,e
			-27.60 a,b,c,d	-27.59 a,b,c,d	-27.53 a,b,c,d			

* Konformerlerin oluşum entalpileri kcal/mol olarak verilmiştir..

Tablo 4.6 ' nın devamı

kr05	1.260	0.866	-15.01 a,b,c,d,e	-15.01 a,b,c,d	-14.96 a,b,c,d,e	-14.25 a,b,c,d,e	-14.25 a,b,c,d	-14.24 a,b,c,d,e
			-14.22 a,b,c,d	-14.17 a,b,c,d	-14.11 a,b,c,d,e			
kr06	1.200	1.047	-8.58 a,b,c,d	-8.58 a,b,c,d,e	-8.57 a,b,c,d	-8.57 a,b,c,d,e	\$-8.50	
kr07	1.200	0.652	-22.13 a,b,c,d	-22.01 a,b,c,d,e	-21.86 a,b,c,d,e	-21.64 a,b,c,d	-21.53 a,b,c,d,e	-21.41 a,b,c,d,e
			-21.40 a,b,c,d	-21.34 a,b,c,d,e	-21.34 a,b,c,d	-21.32 a,b,c,d,e		
kr08	1.110	1.868	-22.66 a,b,c,d	-22.57 a,b,c,d,e	-21.95 a,b,c,d,e	-21.95 a,b,c,d	-21.90 a,b,c,d	-21.89 a,b,c,d,e
			-21.89 a,b,c,d	-21.84 a,b,c,d,e	-21.67 a,b,c,d,e			
kr09	1.110	1.068	-18.65 a,b,c,d,e	-18.57 a,b,c,d,e	-18.52 a,b,c,d,e			
kr10	1.000	1.165	-9.83 a,b,c,d	-9.81 a,b,c,d	-9.81 a,b,c,d	-9.79 a,b,c,d	-9.76 a,b,c,d	-9.49 a,b,c,d
kr11	0.980	0.291	-15.19 a,b,c,d	-15.04 a,b,c,d,e	-15.18 a,b,c,d	-15.11 a,b,c,d,e	-14.93 a,b,c,d	-14.92 a,b,c,d,e
			-14.89 a,b,c,d	-14.80 a,b,c,d,e				
kr12	0.930	0.780	-15.49 a,b,c,d	\$-15.48	-15.47 a,b,c,d,e	-14.75 a,b,c,d,e	-14.75 a,b,c,d	-14.75 a,b,c,d,e
			-14.75 a,b,c,d	-14.64 a,b,c,d				
kr13	0.870	1.584	-21.79 a,b,c,d	-21.78 a,b,c,d,e	-21.78 a,b,c,e	-21.77 a,b,c	-21.63 a,b,c,d,e	-21.57 a,b,c,d,e
			-21.06 a,b,c,d,e	-21.05 a,b,c,e	-21.03 a,b,c,d	-21.01 a,b,c	-21.00 a,b,c,d,e	-21.00 a,b,c,d
			-20.98 a,b,c,e	-20.97 a,b,c				
kr14	0.770	0.683	-15.55 a,b,c,d	-15.51 a,b,c,d	\$-15.43	-15.32 a,b,c,d	-15.28 a,b,c,d	-15.17 a,b,c,d
			-15.10 a,b,c,d					

Tablo 4.6 ' nın devamı

kr15	0.760	0.339	-8.07 a,b,c,d	-8.05 a,b,c,d,e	-7.78 a,b,c,d,e			
kr16	0.660	0.103	-9.27 a,b,c,d	-8.96 a,b,c,d				
kr17	0.660	0.208	-28.92 a,b,c,d,e	-28.92 a,b,c,d	-28.24 a,b,c,d,e	-28.24 a,b,c,d	-28.23 a,b,c,d	-28.23 a,b,c,d
			-28.23 a,b,c,d,e	-28.23 a,b,c,d,e	-28.20 a,b,c,d,e	-28.17 a,b,c,d	-28.17 a,b,c,d,e	-28.15 a,b,c,d,e
			-28.12 a,b,c,d					
kr18	0.630	1.876	-22.29 a,b,c,d,e	-22.28 a,b,c,d	-22.14 a,b,c,d,e	-21.61 a,b,c,d,e	-21.60 a,b,c,d,e	-21.60 a,b,c,d
			-21.59 a,b,c,d	-21.59 a,b,c,d,e	\$-21.57	-21.57 a,b,c,d	-21.57 a,b,c,d,e	-21.53 a,b,c,d
			-21.50 a,b,c,d,e	-21.42 a,b,c,d,e				
kr19	0.580	0.774	-2.72 a,b,c,d	-2.67 a,b,c,d	-2.63 a,b,c,d			
kr20	0.540	-0.023	-18.06 a,b,c,d,e	-17.88 a,b,c,d,e	-17.75 a,b,c,d,e			
kr21	0.540	-0.247	-22.34 a,b,c	-22.34 a,b,c,d	-22.33 a,b,c,d,e	-22.23 a,b,c,d,e	-22.15 a,b,c,d,e	-22.12 a,b,c,d,e
			-21.76 a,b,c,d,e	-21.63 a,b,c,d	-21.63 a,b,c,d,e	-21.62 a,b,c	-21.62 a,b,c,e	-21.57 a,b,c,d
			-21.56 a,b,c,d,e	-21.56 a,b,c	-21.56 a,b,c,e			
kr22	0.480	-0.275	-15.42 a,b,c,d	-15.41 a,b,c	-15.40 a,b,c,d,e	-15.28 a,b,c,d,e	-15.26 a,b,c,d,e	-15.26 a,b,c,d,e
			-15.18 a,b,c,d,e					
kr23	0.360	0.237	-35.77 a,b,c,d,e	-35.35 a,b,c,d,e	-35.08 a,b,c,d	-35.08 a,b,c,d,e	-35.08 a,b,c,d,e	-35.08 a,b,c,d
			-35.08 a,b,c,d	-35.07 a,b,c,d,e	-35.01 a,b,c,d,e	-34.98 a,b,c,d	-34.96 a,b,c,d,e	

Tablo 4.6 ' nın devamı

kr24	0.340	0.672	-14.85 a,b,c,d	-14.84 a,b,c,d,e	-14.84 a,b,c	-14.76 a,b,c,d,e	-14.76 a,b,c,d	-14.75 a,b,c,d,e
			-14.73 a,b,c,d,e	-14.69 a,b,c,d,e	-14.61 a,b,c,d			
kr25	0.230	0.227	-34.02 a,b,c,d,e	-33.67 a,b,c,d,e	-33.60 a,b,c,d,e	-33.60 a,b,c,d,e	-33.58 a,b,c,d	-33.46 a,b,c,d,e
			-33.46 a,b,c,d	-33.17 a,b,c,d,e	-33.17 a,b,c,d	-33.11 a,b,c,d	-33.11 a,b,c,d,e	
kr26	0.230	-0.356	-8.25 a,b,c,d	-8.21 a,b,c,e	-8.21 a,b,c,d,e	-8.21 a,b,c,d		
kr27	0.230	0.732	-7.73 a,b,c,d,e	-7.73 a,b,c,d	-7.69 a,b,c,d,e	-7.67 a,b,c,d	-7.65 a,b,c,d	-7.65 a,b,c,d,e
			-7.59 a,b,c,d,e	-7.18 a,b,c,d	-6.89 a,b,c,d,e			
kr28	-0.100	-0.101	-2.21 a,b,c,d					
kr29	-0.220	-0.517	-8.90 a,b,c,d	-8.87 a,b,c,d	-8.39 a,b,c,d	-8.34 a,b,c,d		
kr30	-0.260	0.159	-9.49 a,b,c,d	-9.46 a,b,c,d				
kr31	-0.890	-0.988	-28.48 a,b,c,d	-28.17 a,b,c,d	-27.51 a,b,c,d			
kr32	-1.220	-0.949	-15.93 a,b,c,d					
kr33	-1.220	-1.994	-15.33 a,b,c,d					
kr34	-1.700	-1.117	-14.97 a,b,c,d,e	-14.95 a,b,c,d	-14.81 a,b,c,d,e	-13.36 a,b,c,d	-13.34 a,b,c,d	-13.33 a,b,c,d,e
			-13.09 a,b,c,d,e	-13.01 a,b,c,d,e	-12.85 a,b,c,d,e			
kr35	-2.000	-1.747	-8.80 a,b,c,d	\$-8.75				

$$S_{ni} = \sum_{j=1}^N \kappa_j a_{ni}^{(j)} \quad (4.1)$$

$$A_n = A_1 \frac{\sum_{i=1}^{m_l} e^{-E_{li}/kT} \sum_{i=1}^{m_n^{Pha}} e^{-S_{ni}} e^{-E_{ni}/kT}}{\sum_{i=1}^{m_n} e^{-E_{ni}/kT} \sum_{i=1}^{m_l^{Pha}} e^{-S_{li}} e^{-E_{li}/kT}} \quad (4.2)$$

(4.1) denkleminde n-molekül ve i-konformerinin j-pozisyonlarının katkı değeriyle (κ^j) bu konformerin ilgili pozisyonundaki atomun yükünün (a_{ni}^j) çarpım toplamı süstituent katkısıdır (S_{ni}).

(4.2) denkleminde “ l ” alt indisi referans bileşiği belirtmek için, “ n ” alt indisi ise ele alınan bileşiği belirtmek için kullanılmıştır. m_l^{Pha} ve m_n^{Pha} sırasıyla, referans ve ele alınan bileşikteki Pha bulunduran konformerlerin sayısını ifade etmektedir. Pha’ın bulundurduğu aktivite A_0 göz önüne alınarak, n’ inci molekülün aktivitesi (A_n) hesaplanmıştır.

(4.1) ve (4.2) denklemlerine göre; N36 bileşiği için aktivite hesabı aşağıda verilmiştir:

$$R = 1.987 \cdot 10^{-3} \text{ kcal/ mol} \cdot \text{K} ,$$

T = 298 K olarak alınmıştır.

$$A_n = A_1 = \frac{\sum_{i=1}^{m_1} e^{-E_{li} / kT} \sum_{i=1}^{m_n} \delta_{ni} [\text{Pha}] e^{-S_{ni}} e^{-E_{ni} / kT}}{\sum_{i=1}^{m_n} e^{-E_{ni} / kT} \sum_{i=1}^{m_1} \delta_{li} [\text{Pha}] e^{-S_{li}} e^{-E_{li} / kT}}$$

1.Terim

2.Terim

3.Terim

4.Terim

$$S_{ni} = \sum_{j=1}^N \kappa_j A_{ni}^{\oplus}$$

Pha

N1

C8

C9

Dia= 0.05

NonDia= 0.35

-0.116

1.406
0.0112.512
1.453

MklOran=

ConfOran= 0.967

D_Aci =

-0.033

D_Tors = 40

20

D_Cap = 1

kr_01 için

E₀₁

pozisyonlar

S₀₁(kapa*yük)e^{-S₀₁}e^{-E₀₁/RT}

R sbt

T

1. konformer

-15,73

a,b,c,d

-0,4

1,49

3,4448E+11

1,987

298,00

2. konformer

-15,65

a,b,c,d,e

-0,34

1,4

3,0094E+11

3. konformer

-15,53

a,b,c,d

-0,4

1,49

2,0046E+13

Referans

bileşik için

N_36

g_charge

kapa

E

C6

-0,01

-4,62

-8,25

Sn 36,1

-0,17

C2

0,01

-0,72

eE36,1/RT

1,01

C3

-0,02

2,52

üs(-Sn)

1,19

O2

-0,15

1,08

N_01

kapa

yük

Atomlar

k1(a)

-4,52

0,02

C6

k2(b)

-0,72

-0,01

C2

k3(c)

2,52

-0,06

C3

k4(d)

1,08

-0,15

O2

k5(e)

7,50

0,01

C16

A₀₁=

(1.Terim*2.Terim)/(3.Terim*4.Terim)

1.terim

1,01

2.terim

1301688008394,99

3.terim

891155729887,54

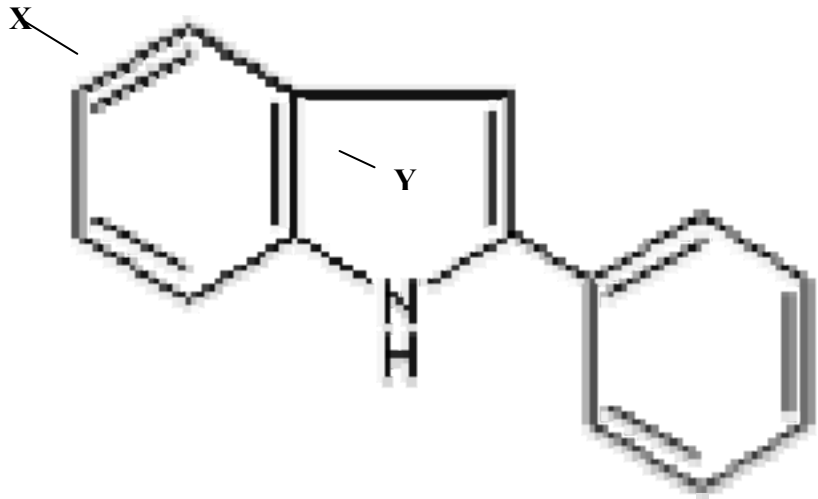
4.terim

1,20

5.BÖLÜM

TARTIŞMA VE SONUÇ

Tablo 5.1’ deki seride verilen bileşiklerinin deneysel aktiviteleri; aynı metotların uygulandığı çalışmaları bulunduran literatürden alınmıştır [23]. Şekil 5.1’ de serideki bileşiklerin hidrojensiz olarak temel iskeleti gösterilmiştir. Referans molekülü olarak N36 tüm moleküllerde kıyaslama için kullanılmıştır.

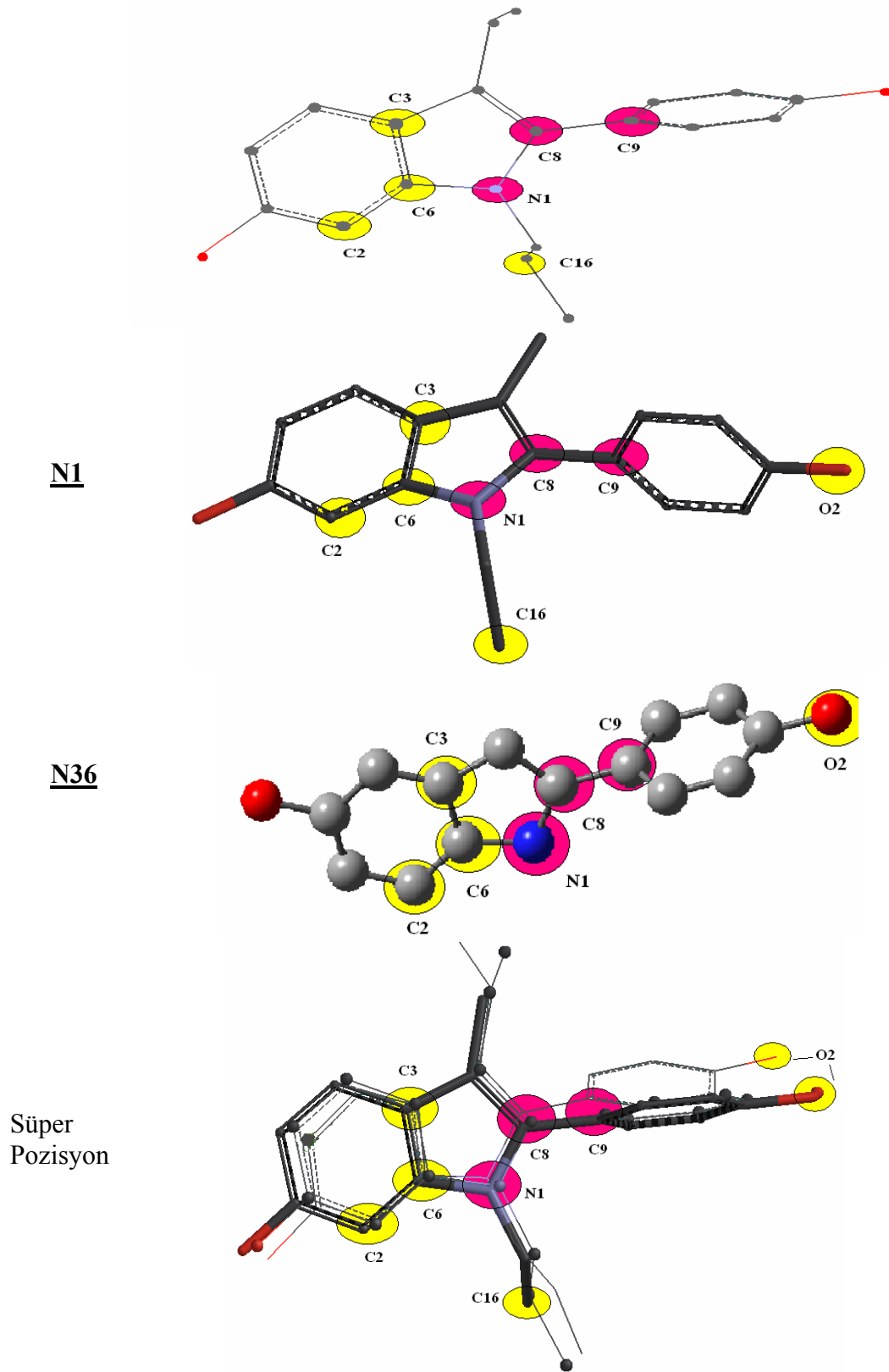


Şekil 5.1. Çalışılmış Olan Bileşik Serisine Ait Temel İskelet

Tablo 5.1 Çalışılmış Olan Bileşik Serisi

substituents		log RBA			I_y	$E_{S-x,1}$
		obsd	calcd from eq 15	Δ		
X	Y					
6-OH,1-Et,3-Me	4-OH	1.52	0.83	0.69	0	-1.31
5-OH,1-Et,3-Et	4-OH	1.36	0.83	0.53	0	-1.31
6-OH,1,3-Et ₂	4-OH	1.32	0.83	0.49	0	-1.31
6-OH,1-C ₃ H ₇ ,3-Et	4-OH	1.28	1.03	0.25	0	-1.43
5-OH,1-C ₃ H ₇	4-OH	1.26	1.03	0.22	0	-1.43
6-OH,1-Et	4-OH	1.20	0.83	0.38	0	-1.31
5-OH,1-C ₃ H ₇ ,3-Me	4-OH	1.20	1.03	0.17	0	-1.43
6-OH,1-C ₃ H ₇ ,3-Me	4-OH	1.11	1.03	0.08	0	-1.43
6-OH,1-CHMe ₂ ,3-Me	4-OH	1.11	1.51	-0.39	0	-1.71
6-OH,1,3-Me ₂	4-OH	1.00	0.71	0.29	0	-1.24
5-OH,1-Et,3-Me	4-OH	0.98	0.83	0.15	0	-1.31
6-OH,1-C ₃ H ₇	4-OH	0.93	1.03	-0.10	0	-1.43
5-OH,1-C ₃ H ₇ ,3-Me	3-OH	0.87	0.46	0.41	1	-1.43
6-OH,1-Me,3-Et	4-OH	0.77	0.71	0.06	0	-1.24
5-OH,1-Et	4-OH	0.76	0.83	-0.07	0	-1.31
5-OH,1,3-Me ₂	4-OH	0.66	0.71	-0.05	0	-1.24
5-OH,1-C ₄ H ₉ ,3-Me	4-OH	0.66	1.38	-0.71	0	-1.63
6-OH,1-C ₄ H ₉	4-OH	0.63	1.38	-0.74	0	-1.63
6-OH,1-Me	4-OH	0.58	0.71	-0.13	0	-1.24
5-OH,1-CHMe ₂ ,3-Me	4-OH ^a	0.54	1.51	-0.97	0	-1.71
6-OH,1-C ₃ H ₇ ,3-Me	3-OH	0.54	0.46	0.08	1	-1.43
6-OH,1-Et,3-Me	3-OH	0.48	0.26	0.22	1	-1.31
5-OH,1-C ₅ H ₁₁ ,3-Me	4-OH ^a	0.36	1.39	-1.03	0	-1.64
5-OH,1-Et,3-Me	3-OH	0.34	0.26	0.09	1	-1.31
5-OH,1,3-(C ₃ H ₇) ₂	4-OH ^a	0.23	1.03	-0.80	0	-1.43
6-OH,1-Et	3-OH	0.23	0.26	-0.03	1	-1.31
5-OH,1-Et	3-OH	0.23	0.26	-0.03	1	-1.31
5-OH,1-Me	4-OH	-0.10	0.71	-0.81	0	-1.24
5-OH,1,3-Me ₂	3-OH	-0.22	0.14	-0.36	1	-1.24
6-OH,1,3-Me ₂	3-OH	-0.26	0.14	-0.40	1	-1.24
6-OH,3-Et	4-OH	-0.89	-1.41	0.52	0	0.00
6-OH,3-Me	4-OH	-1.22	-1.41	0.18	0	0.00
5-OH,3-Me	4-OH	-1.22	-1.41	0.18	0	0.00
7-OH,1-Et,3-Me	4-OH ^a	-1.70	0.83	-2.53	0	-1.31
6-OH	4-OH	-2.00	-1.41	-0.59	0	0.00
5-OH	4-OH	-2.00	-1.41	-0.59	0	0.00

CoMCET ile ilgili denklemler “4.3. CoMCET Programının Uygulanması” nda açıklandığı gibi kullanılır. Tüm moleküllere ait teorik aktivite değerleri Tablo 4.6’ da verilmiştir. Ayrıca CoMCET programı ile elde edilen Pha’ ya ait bilgiler ve aktivitede etkili olan OOP gruplarına (Out-Of-Pha, Pha dışındaki atomlar/ gruplar) ait bilgiler, sırasıyla, Tablo 4.4 ve Tablo 4.5’ de bulunmaktadır. Tablo 4.4’ e göre N36 referans bileşiğindeki N1, C8 ve C9 atomlarından oluşan yapı, aktiviteden sorumlu grup (Pha) olarak verilmiştir. Pha, Şekil 5.2’ de pembe daire içine alınarak belirtilmiştir. Pha etrafında bulunan ve aktiviteye, ayrıca arttırıcı veya azaltıcı yönde katkıda bulunan atomlar ise sarı daireler içinde gösterilmiştir. Bu atomlar yük değerleri ile etkinlik katsayılarının (κ) çarpım sonucuna bağlı olarak aktivite artırmış veya azaltmıştır. Etkinlik katsayısı ile ilgili pozisyonlardaki yük değerleri çarpımının (+) olması aktiviteyi artırırken, (-) olması aktiviteyi azaltmaktadır. Buna göre; hem etkinlik katsayıları hem de yük değerleri (-) olan C6 ve C2 atomları aktiviteyi arttırıcı, yani AG atomları olarak belirlenmiş ve a ve b pozisyonları ile gösterilmiştir. C3, C8 ve O2 atomları ise (-) yük değerlerine ve (+) etkinlik değerlerine sahiptirler. Dolayısıyla aktiviteyi azaltıcı APS atomları olarak belirlenmiş ve c,d ve e ile gösterilmiştir.



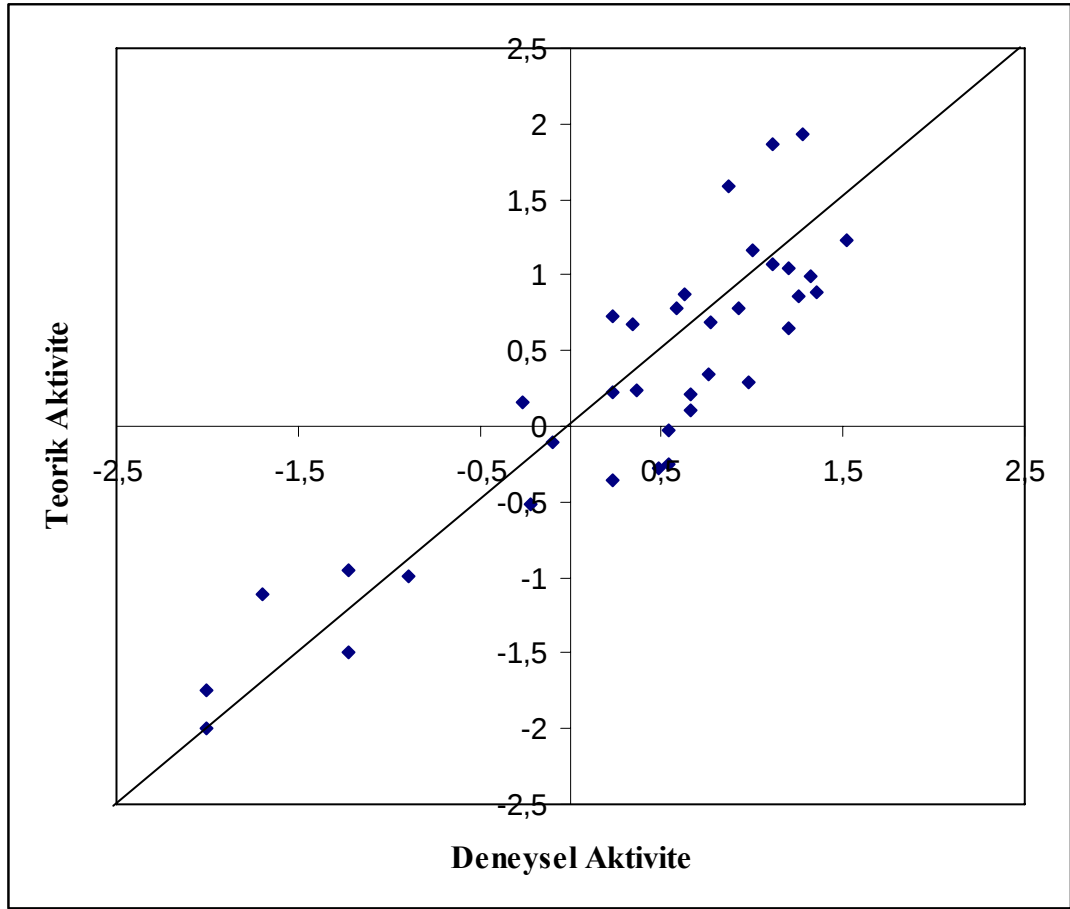
Şekil 5.2. Pha, AG ve APS' nin N1, N4 ve N36 Bileşiklerinde

Toplu Gösterimi

Şekil 5.2' de moleküllerin çakıştırılmış olarak bulunduğu durumda; tüp, çubuk modeli ve top-çubuk modeli sırasıyla N1, N4ve N36 bileşiklerine aittir.

Tablo 5.2 Seriyeye Ait Deneysel ve Teorik Aktiviteler

R^2		0,898614363
Bileşikler	Deneysel	Teorik
kr36	-2	-2
kr01	1,52	1,23
kr02	1,36	0,882
kr03	1,32	0,986
kr04	1,28	1,929
kr05	1,26	0,866
kr06	1,2	1,047
kr07	1,2	0,652
kr08	1,11	1,868
kr09	1,11	1,068
kr10	1	1,165
kr11	0,98	0,291
kr12	0,93	0,78
kr13	0,87	1,584
kr14	0,77	0,683
kr15	0,76	0,339
kr16	0,66	0,103
kr17	0,66	0,208
kr18	0,63	0,876
kr19	0,58	0,774
kr20	0,54	-0,023
kr21	0,54	-0,247
kr22	0,48	-0,275
kr23	0,36	0,237
kr24	0,34	0,672
kr25	0,23	0,227
kr26	0,23	-0,356
kr27	0,23	0,732
kr28	-0,1	-0,101
kr29	-0,22	-0,517
kr30	-0,26	0,159
kr31	-0,89	-0,988
kr32	-1,22	-0,949
kr33	-1,22	-1,494
kr34	-1,7	-1,117
kr35	-2	-1,747



Şekil 5.3. Deneysel ve Teorik Aktiviteler Arasındaki Regresyon

Kurulan regresyon modelinde, gözlemlenen değerlerin modelle uyumluluk içerisinde olup olmadığını belirlilik katsayısı (R^2) ile değerlendirebiliriz. Bulunan belirlilik katsayısı, bağımsız değişken değerlerindeki değişimlerin ne kadarının (%) kurulan regresyon modeli ile açıklandığını gösterir. Değer 0 ile 1 arasında değişmektedir. 1'e yaklaştıkça modelin uygunluğu artmaktadır. Molekül serisine ait istatistik hesaplamalarla belirlilik katsayısı $R^2=0.89$ ve kurulan regresyon modelindeki katsayıların anakütle değerlerine ne kadar yakın olduğu yani güvenilirliği, katsayıların standart hatalarına bakılarak ölçülmektedir. Standart hata, anakütleden örnek olarak alınan gözlem değerleri için kullanılan terimdir. Standart hata $se=0.42$ olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar; doğrusal olmayan denkleme göre çıkartılan bir modelleme ve simülasyondan elde edilmiştir. İleri sürülen modellemenin tüm biyo-aktif moleküllere göre uygulanabilir olması önemlidir. Biyo-aktif moleküllerin aktiviteleri, molekül yapısında

bulunan ortak ve genel bir parça olan Pha (Tablo 4.4, N1 C8 C9)' in yanı sıra, Pha haricindeki diğ er atomların her birinin aktiviteye katkısı olacaktır. Fakat bunlar, etkilerinin az olmasından dolayı ele alınmamıştır. Bu ihmaller standart sapmaya neden olmaktadır. Ayrıca CoMCET programında biyolojik aktivitenin yalnızca agonist değ erleri ele alınmış, antagonist değ erleri ise ele alınmamıştır. Pha bulunması ve etkin grupların pozisyonlarının belirlenmesi sırasında kullanılan tolerans değ erleri yine regresyon hesaplamalarında standart hataya neden olmaktadır.

Bazen bir fonksiyonel özellik molekül serisi içerisinde yalnızca bir molekülde bulunabilir. Hesaplamalarda sadece birkaç molekülde bulunan fonksiyonel özellikler dikkate alınsaydı, sonuçların değ erlendirilmesi çok karmaşık olacaktı. Hesaplamalarda seri içerisindeki  oğ u molekülde bulunan fonksiyonel özellikler kullanılmış ve    fonksiyonel  zellik (Tablo 4.5, a,b ve c fonksiyonel bağımsız değ işkenler) ile yapılan bir çözümlleme de oldukça tatminkardır.

Burada ilgili moleküle ait konformerlerde, j= a, b, c, d, e molekülde bulunan pozisyonları göstermektedir. Pozisyonların Pha  zerindeki sayısal etkinlik değ erleri $K_a = -4,62$, $K_b = -6,72$, $K_c = 2,52$, $K_d = 1,08$ ve $K_e = 7,50$ olarak bulunmuştur. Moleküllere ait konformerlerde bazı pozisyonlar geometrik değ işimden dolayı kaybolur.  rneğ n, N1 molekülünün 1. konformerinde a,b,c,d - pozisyonları varken, 2. konformerinde a, b, c, d, e pozisyonları vardır.

KAYNAKLAR

1. Fujita, T., et al., The role of QSAR in Drug Design, Eds, Academic Press, London, 1984.
2. Tong, W., et al., Environmental Health Perspectives, Volume 105, Number 10, October, 1997.
3. Bersuker, I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu., The Electron-Topologic Approach to The QSAR Problem Illustrated by Inhibitor Activity for Thymidine Phosphorylase and α -Chymo-Trypsin, In QSAR in Drug Design and Toxicology, ed: Hadzi, D., Jerman-Blazic, B., Vol. 10, Elsevier, Amsterdam, pp: 43–48, 1987.
4. Hopfinger, A. J., Tokarski, J. S., Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationships, In Practical Application of Computer-Aided Drug Design, Charifson, P. S., Ed., Marcel Dekker, New York, pp 105-164, 1997.
5. Oprea, T. I., Waller, C. L., Theoretical and Practical Aspects of Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationships, In Reviews in Computational Chemistry, Lipkowitz, K. B., Boyd, D. B., Eds., Wiley-VCH, New York, Vol. 11, pp 127-182, 1997.
6. Greco, G., Novellino, E., Martin, Y. C., Approaches to Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationships. In Reviews in Computational Chemistry, Lipkowitz, K. B., Boyd, D. B., Eds., Wiley-VCH, New York, Vol. 11, pp 183-240, 1997.
7. McLachlan, J.A., ed. Estrogens in the Environment II: Influences on Development, New York, Elsevier, 1985.
8. Brann, D. W., Hendry, L. B., Mahesh, V. B., Emerging Diversities in the Mechanism of Action of Steroid Hormones, J. Steroid Biochem. Mol. Biol., 52, 113-133, 1995.
9. Anstead, G. M., Carlson, K.E., Katzenellenbogen, J.A., The Estradiol Pharmacophore: Ligand Structure-Estrogen Receptor Binding Affinity Relationship and for binding site,,steroids,62,268-303,1997

10. Tong, W., et al., QSAR Models for Binding of Estrogenic Compounds to Estrogen Receptor α and β Subtypes, *The Endocrine Society*, Vol. 138, No. 9, 1997.
11. Charifson, P.S., Kuntz, I.D., Recent Successes and Continuing Limitations in Computer-Aided Drug Design In *Practical Applications of Computer-Aided Drug Design*, Charifson, P.S., Ed., pp 1-37, Marcel Dekker, Newyork, 1997.
12. Itai, A., Mizutani, M.Y., Nishibata, Y., Tomioka, N., Computer-Assisted New Lead Design, In *Guidebook on Molecular Modeling in Drug Design*, Cohen, N.C., Ed., pp 93-137, Academic Press, New York, 1996.
13. Gund, P., Maggiora, G., Snyder, J.P., Computer-Assisted Drug Discovery, In *Guidebook on Molecular Modeling in Drug Design*, Cohen, N.C., Ed., pp 219-233, Academic Press, New York, 1996.
14. Balbes, L.M., Mascarella, S.W., Boyd, D.B., A Perspective of Modern Methods in Computer-Aided Drug Design, In *Reviews in Computational Chemistry*, Lipkowitz, K.B., Boyd, D.B., Eds., Vol.5, pp 337-379, VCH, Newyork, 1997.
15. Martin, Y.C., Kim, K.H., Bures, M.G., Computer-Assisted Drug Design in the 21st Century, Wermuth, C.G., Koga, N., Konig, H., Metcalf, B.W. Eds., pp 295-317, Blackwell Scientific, Oxford, 1992.
16. Akgün, H., Balkan, A., *Farmasötik Kimya-1*, Ankara, 2000.
17. [http://rx4u.com/natural%20hormones.htm#ESTRIOL%20\(E3\)](http://rx4u.com/natural%20hormones.htm#ESTRIOL%20(E3)).
18. Mangelsdorf, D.J. , Thummel, C. , Beato, M., The nuclear receptor superfamily: The second decade, *Cell* 83, 835-839, 1995.
19. Katzenellenbogen, B.S. , Estrogen receptors: bioactivities and interactions with cell signaling pathways, *Biol. Reprod.*, 54, 287-293, 1996.
20. Kramer, V.J. , Giesy, J.P., *The Science of the Total Environment*, 233, 141-161, 1999.
21. Mukherjee, S. , Saha, A. and Roy, K., *Bioorganic and Med. Chem. Letters*, 15, 957–961, 2005.
22. Mishell, J.R., Noncontraceptive benefits of oral contraceptives, *J. Reprod. Med.*, 38 (supp. 112), 1021–1029, 1993.
23. Gao, H., Katzenellenbogen, J.A., Garg, R., and Hansch, C., Comparative QSAR Analysis of Estrogen Receptor Ligands, *Chem. Rev.*, 99, 723-744, 1999.

24. Azzaoui, K. , et al., Effect of Steroids on DNA Synthesis in an Vitro Replication System: Initial Quantitative Structure-Activity Relationship Studies and Construction of a Non-Estrogen Receptor Pharmacophore, *J. Med. Chem.*, 41, 1392-1398, 1998.
25. [http://rx4u.com/natural%20hormones.htm#ESTRIOL%20\(E3\)](http://rx4u.com/natural%20hormones.htm#ESTRIOL%20(E3)).
26. <http://www.natural-hormones.net/estrogen.htm>.
27. von Angerer, E.; Prekajac, J.; Strohmeier, J. *J. Med. Chem.* 27, 1439, 1984.
28. Mahboobi, S.; Grothus, G.; von Angerer, E. *Arch. Pharm. (Weinheim, Ger.)*, 327, 481, 1994.
29. Kubinyi, H., QSAR and 3D QSAR in Drug Design Part 1: Methodoloji, DDT, Vol. 2, No. 11, 1997.
30. Hansch, C. and Fujita, T., *J. Am. Chem. Soc.*, 86, 1616-1626, 1964.
31. Kubinyi, H., ed., 3D QSAR in Drug Design. Theory, Methods and Applications, ESCOM Science Publishers, 1993.
32. Böhm, H-J., *J. Computer-Aided Molecular Design*, 8, 243–256, 1994.
33. Sanz, I., Giraldo, J., and Manaut F., Eds., QSAR and Modelling, Concepts, Computational, Tools and Biological Applications, Prous Science Publishers, Barcelona (Spain), 1995.
34. Hansch C., Fujita, T.,J., *Am. Chem. Soc.*, 86, 1616–1626, 1964.
35. <http://www.netsci.org/Science/Compchem/feature12.html>
36. Eriksson, L., et al., Methods for Reliability and Uncertainty Assessment and for Applicability Evaluations of Classification- and Regression- Based QSARs, *Environmental Health Perspectives*, Vol. 111, No. 10, August, 2003.
37. Anonymous, QSAR for prediction of fate and effects of chemicals in the environment, Environmental Technologies RTD Programme (DGXII/D-1), Contract EV5V-CT92-0211, Brussels:Commission of the European Union, 1995.
38. Fate and Activity Modeling of Environmental Pollutants Uusing Structure-Activity Relationships (FAME), Contract number ENV4-CT96-0221. Brussels: Environment and Climate Programme of the European Union, 1999.
39. Patrick, G., Medicinal Chemistry The Instant Notes Series, Department of Chemistry and Chemical Engineering, Paisley University, Paisley, Scotland, 2001.

40. Kubinyi, H., Folkers, G., Martin, Y.C., Eds., 3D QSAR in Drug Design, Ligand-Protein Interactions and Molecular Similarity, Kluwer / Escom , Boston, 1998.
41. Kubinyi, H., Ed., 3D QSAR in Drug Design, Theory, Methods and Applications, ESCOM, Leiden, The Netherlands, 1993.
42. <http://www.tripos.com/sciTech/inSilicoDisc/strActRelationship/hqsar.html>.
43. Klebe, G., Abraham. U., Mietzner, T., Molecular Similarity Indices in a Comparative Analysis (CoMSIA) of Drug Molecules to Correlate and Predict Their Biological Activity, J. Med. Chem., 37, 4130-4146, 1994.
44. Klebe, G., Comparative molecular similarity indices analysis: CoMSIA, Kubinyi, H., Folkers, G., Martin, Y.C. (Ed.), 3D QSAR in Drug Design: Recent Advances, 3, pp. 87–104, KLUWER / ESCOM, Dordrecht, Boston, London, 1998.
45. Wellsow, J. , Serotonin Transporter Ligands: CoMFA and CoMSIA Studies for the Prediction of New PET Radiotracers, zu Erlangung des Grades eines Doktors der Naturwissenschaften, der Fakultät für Chemie und Pharmazie der Eberhard-Karls-Universität Tübingen, 2002.
46. Bersuker, I.B., Pharmacophore Identification and Quantitative Bioactivity Prediction Using the Electron-Conformational Method, Current Pharmaceutical Design, 9, 1575-1606, 2003.
47. Marshall, G.R., Barry, C.D., Bosshard, H.E., Damkoehler, R.A., Dunn, D.A., The Conformational Parameter in Drug Design, The Active Analog Approach, In Symposium on Computer-Assisted Drug Design, ACS Symposium Series 112, Olson, E.C., Christoffersen, R.E., Eds., pp 205-226, American Chemical Society, Washington, D.C., 1979.
48. Cosentino, U., Moro, G., Pitea, D., Scolastico, S., Todeschini, R., Scolastico, C., Pharmacophore Identification by Molecular Modeling and Chemometrics, The Case of HMG-CoA Reductase inhibitors, J.Computer-Aided Molecular Design, 6, 47-60, 1992.
49. Kubinyi, H., Folkers, G., Martin, Y.C., Eds., 3D QSAR in Drug Design, Ligand-Protein Interactions and Molecular Similarity, Kluwer/ Escom, Boston, 1998.
50. Cramer III, R.D., Patterson, D.E., Bunce, J.D., Comparative Molecular Field Analysis (CoMFA) 1. Effect of Shape on Binding of Steroids to Carrier Proteins, J. Am. Chem. Soc., 110, 5959-5967, 1988.

51. Martin, Y.C., Bures, M.G., Danaher, E.A., DeLazzer, J., Lico, I., Pavlik, P.A., A Fast New Approach to Pharmacophore Mapping and Its Application of Dopamnergic and Benzodiazepine Agonists, *J. Computer-Aided Molecular Design*, 7, 83-102, 1993.
52. Application in Chem-X Lead Generation I. Automatic Pharmacophore Identification for a Set of Compounds, Chemical Ltd, Oxon, UK, 1995.
53. Bersuker, I.B., Dimoglo, A.S., The Electron-Topological Approach to the QSAR Problem, In *Reviews in Computational Chemistry*, Lipkowitz, K.B., Boyd, D.B., Eds., Vol. 2, pp 423–460, VCH, New York, 1991.
54. Bersuker, I.B., et al., Origin of Musk Fragrance Activity, *The Electron-Topological Approach*, *New J. Chem.*, 15, 307-320, 1991.
55. Bersuker, I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu., Greni, A.I., Vysotskaya, L.E., Mikhailova, T.V., Study of the Electronic and Structural Properties of the Chemical Compounds in Garlic Aroma, *Die Nahrung- Food*, 33, 405-411, 1989.
56. Bersuker, I.B., Dimoglo, A.S., Electron-Topology of Garlic's Biologically Active Thioallyl Compounds, In *First World Congress on the Health Significance of Garlic and Garlic Constituents*, Washington, D.C., 1990.
57. Dimoglo, A.S., et al., Structural and Electronic Origin of Meat Odour of Organic Hetero-Atomic Compounds, *Die Nahrung- Food*, 32, 461-473, 1988.
58. Bersuker, I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu., Vlad, P.F., Koltsa, M.N., Structural and Electronic Origin of Odour Properties of Organic Compounds as Revealed by the Electron-Topologic Approach to the QSAR Problem, In *QSAR in Drug Design and Toxicology*, Hadzi, D., Jerman-Blazic, B., Eds., Vol. 10, pp 340–342, Elsevier, Amsterdam, 1987.
59. Guzel, Y., Investigation of the Relationship Between the Inhibitory Activity of Glycolic Acid Oxidase and its Chemical Structure, *Electron- Topological Approach*, *J. Mol. Struct. (Theochem)*, 366, 131–137, 1996.
60. Dimoglo, A.S., Beda, A.A., Shvets, N.M., Gorbachov, M.Yu., Kheifits, L.A., Aulchenko, I.S., Investigation of the Relationship Between Sandalwood Odor and Chemical Structure, *Electron- Topological Approach*, *New J. Chem.*, 19, 149-154, 1995.
61. Dimoglo, A.S., Vlad, P.F., Shvets, N.M., Koltsa, M.N., Güzel, Y., Saracoglu, M., Saripinar, E., Patat, S., *Electron-Topological Investigations of the Relationship*

- Between Chemical Structure and Ambergris Odor, *New J. Chem.*, 19, 1217-1226, 1995.
62. Bersuker, I.B., Bahçeci, S., Boggs, J.E., Improved Electron-Conformational Method of Pharmacophore Identification and Bioactivity Prediction. Application to Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors, *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 40(6), 1363–1376, 2000.
 63. Bersuker, I.B, Bahceci, S., Boggs, E.J., The Electron-Conformational Method of Identification of Pharmacophore and Anti-Pharmacophore Shielding, In *Pharmacophore Perception, Development, and Use in Drug Desing*, Guner, O., Ed., International University Line, March, 2000.
 64. Dimoglo, A.S., Berkuser, I.B., Popa, D.P., Kuchkova, K.I., Electron-Topological Study of Plant Growth-Regulator Activity in a Series of Analogs of Absciscic Acid, *Theor. Eksp. Khim.* 5, 590, 1989.
 65. Kubinyi, H., 3D QSAR in Drug Design. Theory, Methods and Applications , ESCOM, Leiden, 1993.
 66. Cramer, R.D., Patterson, D.E., and Bunce, J.D., *J. Am. Chem. Soc.*, 1988,110,5959-5967.
 67. Fukui, K. *Theory of Orientation and Stereoselection*, Springer-Verlag: Berlin, 1975
 68. Klopman, G. The Generalized Perturbation Theory of Chemical Reactivity and its Applications. In *Chemical Reactivity and Reaction Paths*; Klopman, G., Ed.; pp 55-165
 69. Cramer,R.D., and Milne, M., Abstract of Papers of the Am. Chem. Soc. M., April 1979, Computer Chemistry Section, no.44.
 70. Dimoglo, A.S., Beda, A.A., Shvets, N.M., Gorbachov, M.Yu., Kheifits, L.A., Aulchenko, I.S., Investigation of the Relationship Between Sandalwood Odor and Chemical Structure, Electron- Topological Approach., *New J.Chem.*, 19, 149-154, 1995.
 71. Dimoglo, A.S., Vlad, P.F., Shvets, N.M., Koltsa, M.N., Guzel, Y., Saracoglu, M., Saripinar, E., Patat, S., Electron-Topological Investigations of the Relationship Between Chemical Structure and Ambergris Odor., *New J.Chem.*, 19, 1217-1226, 1995.

ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Erzurum’da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Kayseri’ de, lise öğrenimini Bursa’da tamamladı. 2004 yılında Ankara Üniversitesi Fen ve Mühendislik Fakültesi Kimya Bölümünden mezun oldu. 2004 yılında Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Ana Bilim dalında yüksek lisans öğrenimine başladı.

Adres : Erciyes Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi
Kimya Bölümü, 38039, TALAS / KAYSERİ

Tel : 0505 457 75 07

Tel : 0352 437 49 01 (33640)

E-mail : sahkader@yahoo.com