



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



ORGANİK BİLEŞİKLERİN AKUATİK
TOKSİSİTELERİNİN *İN SİLİKO*
YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI VE
TAHMİNİ

ELİF MERVE EMİNOĞLU

DOKTORA TEZİ

Kimya Anabilim Dalı
Organik Kimya Programı

DANIŞMAN

Prof. Dr. Safiye ERDEM

EŞ-DANIŞMAN

Prof. Dr. Melek Türker SAÇAN

İSTANBUL, 2024



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



ORGANİK BİLEŞİKLERİN AKUATİK
TOKSİSİTELERİNİN *İN SİLİKO*
YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI VE
TAHMİNİ

ELİF MERVE EMİNOĞLU
720813002

DOKTORA TEZİ
Kimya Anabilim Dalı
Organik Kimya Programı

DANIŞMAN
Prof. Dr. Safiye ERDEM
EŞ-DANIŞMAN
Prof. Dr. Melek Türker SAÇAN

İSTANBUL, 2024

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında her koşulda akademik ve manevi desteğini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Safiye ERDEM'e, bilgi ve tecrübelerinin yanında teşvik edici yaklaşımlarıyla yol gösteren eş danışmanım Prof. Dr. Melek Türker SAÇAN'a, değerli jüri üyelerim Prof. Dr. Ayşe OGAN, Prof. Dr. Kemal YELEKÇİ, Prof Dr. M. Vezir KAHRAMAN ve Doç. Dr. İrem KULU'ya,

TÜBİTAK-ARRS Slovenya ikili işbirliği 214Z225 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir; verdiği burs desteği için TÜBİTAK'a, proje ortaklarımız Dr. Nikola Minovski ve Prof. Dr. Marjana Novic'e, QSARINS yazılım lisansını sağlayan Prof. Dr. Paola Gramatica'ya (Insubria Üniv., İtalya) (www.qsar.it)

Son olarak benden sevgi ve desteklerini eksik etmeyen, hep yanımda olan aileme, sonsuz teşekkür ederim.

Şubat 2024

Elif Merve EMİNOĞLU

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
YENİLİK BEYANI	viii
SEMBOLLER.....	ix
KISALTMALAR.....	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
TABLO LİSTESİ.....	xiv
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
1.1. Giriş	1
1.2. Farmasötik Kimyasallar ve REACH Yönetmeliği.....	3
1.3. KYTİ Modelleri Kullanımı	5
1.3.1. OECD prensipleri	6
1.3.2. Liganda dayalı KYAİ / KYTİ modelleri.....	7
1.4. Moleküler Başlatıcı Olaylar ve Biyogöstergeler	9
1.4.1. AChE enzimi ve toksisite	11
1.4.2. Glutasyon-S-transferaz (GST) enzimi ve toksisite	15
2. MATERYAL VE METOD	19
2.1. KYTİ Modelleri	19
2.1.1. Veri setinin/dış setin hazırlanması ve tanımlayıcıların hesaplanması	20
2.1.2. Model oluşturma çalışmaları	23
2.1.3. Modellerin validasyon parametreleri	23
2.1.3.1. İç validasyon	23
2.1.3.2. Dış Validasyon	25
2.1.3.3. Uygulama alanının belirlenmesi.....	27
2.2. Moleküler Doking.....	30
2.2.1. AChE doking	30
2.2.2. GST doking.....	31

3. BULGULAR VE TARTIŞMA	33
3.1. Liganda Dayalı Geliştirilen Toksisite Modelleri	33
3.1.1. DRAGON Modeli ($MLR_{[D]}$).....	33
3.1.2. DRAGON-SPARTAN modeli $MLR_{[DS]}$	38
3.1.3. DRAGON-SPARTAN-ADMET modeli ($MLR_{[DSA]}$).....	44
3.1.4. ADMET modeli $MLR_{[A]}$	50
3.1.5. MLR modellerin seçimi	54
3.2. Hedef Enzimlere Dayalı Toksisite Modellemeleri	59
3.2.1. AChE enzimine moleküler doking	59
3.2.2. Glutasyon-S-transferaz (GST) enzimi homoloji modellemesi.....	76
3.2.3. GST enzimine moleküler doking	81
3.2.4. AChE ve GST doking sonuçlarının kıyaslanması	96
3.3. Liganda ve Yapıya Dayalı Farklı Modelleme Yaklaşımlarının Birlikte Değerlendirilmesi.....	98
4. GENEL DEĞERLENDİRME VE SONUÇ	113
KAYNAKLAR.....	115
EKLER	128
EK 1. $MLR_{[DSA]}$ modelinin veri set ölçümü pT değerleri, modelden tahmin edilmiş pT değerleri ve tanımlayıcı değerleri ile dış set bileşiklerinin modelden tahmin edilmiş pT değerleri ile tanımlayıcı değerleri tabloları. ...	128
EK 2. $MLR_{[A]}$ modelinin veri set ölçümü pT değerleri, modelden tahmin edilmiş pT değerleri ve tanımlayıcı değerleri ile dış set bileşiklerinin modelden tahmin edilmiş pT değerleri ile tanımlayıcı değerleri tabloları. ...	138
EK 3. $MLR_{[DSA]}$ ve $MLR_{[A]}$ modelleri için MAE kriterleri.	148
ÖZGEÇMİŞ.....	151

ÖZET

ORGANİK BİLEŞİKLERİN AKUATİK TOKSİSİTELERİNİN *İN SİLİKO* YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI VE TAHMİNİ

Aktif farmasötik bileşenler de dahil olmak üzere çeşitli kimyasalların çevreye sürekli salınımı ile ilgili olarak, bu kimyasalların akuatik organizmalar dahil ekosistem üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi önemlidir. Bu sebeple Kimyasalların Kaydı, Değerlendirilmesi, İzni ve Kısıtlanması (KKDİK) düzenlemesi kimyasallara ait akuatik toksisite değerlerini de içermesi gereken veri-güvenlik formlarının doldurulmasını zorunlu kılmıştır. Bu ölçümlerin çok sayıda deney hayvanı, zaman, bütçe ve emek gerektirmesi sebebiyle deneysel toksisite verileri bulunmayan kimyasalların toksisitelerinin matematiksel kantitatif yapı-toksisite ilişkisi (KYTİ) modelleri kullanılarak tahmin edilmesi önem kazanmakta ve büyük veri eksiklerinin bu şekilde *in siliko* tahminler ile doldurulması KKDİK tarafından da desteklenmektedir.

Bu çalışmanın ilk aşamasında, balık toksisite verileri deneysel olarak ölçülmüş çeşitli sınıflara ait ilaçlar ve endüstriyel kimyasallar (79 adet) literatürden derlenerek, çoklu doğrusal regresyon yöntemiyle Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Organizasyonu (OECD) kriterlerini karşılayan 4 yeni KYTİ modeli geliştirilmiştir. Geliştirilen modeller yardımıyla balık toksisite verileri literatürde bulunmayan 121 ilaç aktif maddesinin (farmasötik) balık toksisite değerleri tahmin edilmiştir. Bu toksisite verileri yardımıyla, literatürde ölçülmüş balık toksisite verileri bulunmayan bileşikler için gereken hayvan deneylerinin minimuma indirgenmesi, zamandan ve maliyetten tasarruf edilebilmesi ve veri eksiklerinin doldurulması amaçlanmıştır.

İkinci aşamada, toksisite mekanizmalarını aydınlatmak üzere, biyogösterge enzimleri olarak bilinen balık asetilkolinesteraz (AChE) ve glutatyon-S-transferaz (GST) enzimleri ile söz konusu toplam 200 bileşik için moleküler doking çalışmaları yapılmıştır. Böylece toksisiteye neden olan moleküler başlatıcı olayın kirleticilerin AChE ve/veya GST enzimlerine bağlanmaları nedeniyle olup olmadığı araştırılmıştır. Üçüncü aşamada ise, bu tez çalışmasından elde edilen en iyi doğrusal model ve AChE doking sonuçları, proje ortaklarımız tarafından tersine yayılmalı yapay sinir ağları yöntemiyle geliştirilen doğrusal olmayan model ve AChE toksikofor modeli ile entegre

edilerek birlikte değerlendirilmiştir. Bu şekilde liganda-dayalı ve hedef enzime-dayalı farklı yaklaşımların birlikte uygulanmasıyla yapılan toplu sanal filtreleme işlemi sonucunda balık toksisite verisi olmayan 121 dış set bileşiğinin toksisiteleri değerlendirilmiştir. Veri setindeki toksik bileşiklerden 4-hydroxy-2-methylnaphthyl benzoate (monobenzoate), tolcapone, paroxetine ve midazolam'ın, dış set bileşiklerinden ise desipramine, triflupromazine, clotrimazole ve bromazepam'ın AChE enzimine g bir şekilde bağlanmalarının toksisite mekanizmasının molekler başlatıcı olayı olduğu tespit edilmiştir. Bu bileşiklerin çoğunun antidepressan, antipsikotik, antiParkinson gibi merkezi sinir sistemini hedefleyen ilaç aktif maddeleri olmaları, AChE kullanılarak geliştirdiğimiz sanal tarama yönteminin özellikle nörotoksik bileşiklerin seilmesinde faydalı olacağını göstermektedir.

şubat 2024

Elif Merve EMİNOğLU

ABSTRACT

INVESTIGATION AND PREDICTION OF AQUATIC TOXICITY OF ORGANIC COMPOUNDS VIA *IN SILICO* METHODS

Regarding the continuous release of a variety of chemicals including active pharmaceutical ingredients into the environment, it is important to assess their effects on the ecosystem including aquatic organisms. For this reason, Registration, Evaluation, Authorization of Chemicals (REACH) regulation has made it mandatory to fill out material safety data sheet of chemicals which must include various aquatic toxicity data. Since these measurements require a large number of experimental animals, time, budget and labor, it is important to estimate the toxicity of chemicals for which experimental toxicity data are not available, using mathematical quantitative structure-toxicity relationship (QSTR) models. Filling the large data gaps using the predictions of such *in silico* models is also supported by REACH.

In the first part of this study, fish toxicity data of various classes of pharmaceuticals and industrial chemicals (79 items) were collected from the literature and 4 new QSTR models that meet the Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) criteria were developed by multiple linear regression method. With the help of the developed models, fish toxicity values of 121 pharmaceuticals for which fish toxicity data were not available in the literature were predicted. The main goal is to minimize the animal experiments required for chemicals that do not have measured fish toxicity data in the literature, to save time and cost, and to fill the data gaps.

In the second stage, in order to elucidate the mechanisms of toxicity, molecular docking studies were performed for the total of 200 chemicals with the fish acetylcholinesterase (AChE) and glutathione-S-transferase (GST), which are known as biomarker enzymes. Thus, it was explored whether the molecular initiating event leading to toxicity is the binding of these pollutants to AChE and/or GST enzymes.

In the third stage, the best linear model and AChE docking results obtained from this thesis were integrated and evaluated together with the AChE toxicophore model and the nonlinear model developed by our project partners using counter propagation artificial neural networks. In this way, the toxicities of 121 external set compounds without fish

toxicity data were evaluated based on the virtual screening process by applying different ligand-based and target enzyme-based approaches together. The strong binding of toxic compounds 4-hydroxy-2-methylnaphthyl benzoate (monobenzoate), tolcapone, paroxetine, midazolam, desipramine, triflupromazine, clotrimazole and bromazepam to the AChE enzyme revealed that this is the molecular initiating event of the toxicity mechanism. The fact that most of these compounds are drugs targeting the central nervous system, such as antidepressants, antipsychotics, antiParkinson's, etc, demonstrate that the virtual screening method we developed using AChE is particularly useful in the selection of neurotoxic compounds.

Şubat 2024

Elif Merve EMİNOĞLU

YENİLİK BEYANI

Tez çalışmasında organik bileşiklerin balıklar üzerinde ortaya çıkarabilecekleri toksisiteyi tahmin etmek üzere 4 adet özgün kantitatif yapı-toksisite ilişki (KYTİ) modeli geliştirilmiş, iç ve dış validasyonları tamamlanmıştır. Geliştirilen modeller toksisite veri boşluklarının doldurulabilmesi için Türkiye KKDİK (Avrupa REACH) tarafından şart koşulan OECD kriterlerini sağlamaktadır. Böylece, balık toksisite verisi eksik olan 121 adet bileşiğin toksisiteleri tahmin edilerek yeni veriler üretilmiştir.

Ayrıca, liganda-dayalı ve yapıya-dayalı farklı yaklaşımların entegre bir şekilde kullanılmış olması ve toksisite mekanizmalarına ışık tutulması tez çalışmasının özgün değerini arttırmıştır.

Tezden Sloven proje ortaklarımızla birlikte “Ecotoxicology and Environmental Safety” (etki faktörü 6.8, Q1) dergisinde aşağıdaki makale yayınlanmıştır:

Minovski, N., Saçan, M. T., **Eminoğlu, E. M.**, Erdem, S. S., & Novič, M. (2019). Revisiting fish toxicity of active pharmaceutical ingredients: Mechanistic insights from integrated ligand-/structure-based assessments on acetylcholinesterase. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 170, 548-558.

Şubat, 2024

Prof. Dr. Safiye ERDEM

Elif Merve EMİNOĞLU

SEMBOLLER

LC₅₀	: Letal Konsantrasyon 50 (Medyan öldürücü konsantrasyon)
pT	: -log [LC] ₅₀
Log P	: Partisyon Katsayısı
E_{HOMO}	: En yüksek dolu moleküler orbital enerjileri
E_{LUMO}	: En düşük boş moleküler orbital enerjileri
μ	: Dipol moment
E_{aq}	: Sulu faz enerjisi
η	: Sertlik
ω	: Elektrofillik
σ	: Yumuşaklık
R²	: Belirleme Katsayısı
R²_{cv}	: Çapraz validasyon katsayısı
R²_{adj}	: Düzeltilmiş belirleme katsayısı
Q²	: Çapraz validasyon
s	: Standart tahmin hatası
F	: Fischer istatistiği
Q²_{F1}, Q²_{F2}, Q²_{F3}	: Tahmin korelasyon katsayılarının kareleri
h*	: Kritik şapka değeri
CCC	: Uyum korelasyon katsayısı
ΔG_b	: Serbest bağlanma enerjisi

KISALTMALAR

AChE	: Asetilkolinesteraz
AOP	: Adverse outcome pathways (İstenmeyen sonuca giden yollar)
Cb	: Karbamat
CP ANN	: Counter propagation artificial neural network (Tersine yayımlı yapay sinir ağları)
GST	: Glutasyon-S-transferaz
KKDİK	: Kimyasalların Kaydı, Değerlendirilmesi, İzni ve Kısıtlanması
KYAI	: Kantitatif Yapı-Aktivite İlişkisi
KYÖİ	: Kantitatif Yapı-Özellik İlişkisi
KYTI	: Kantitatif Yapı-Toksisite İlişkisi
MIE	: Molecular Initiating Event (Moleküler başlatıcı olay)
MLR	: Çoklu Doğrusal Regresyon
PDB	: Protein data bank
PM6	: Parametrik metod 6
PPCP	: Pharmaceuticals and personal care products (İlaç ve kişisel bakım ürünleri)
RMSE	: Root Mean Square Error (Kök ortalama kare hata)
REACH	: Registration, Evaluation and Authorization of Chemicals
TcAChE	: <i>Torpedo californica</i> (<i>Tetronarce californica</i>) asetilkolinesteraz
OECD	: Organisation for Economic Co-operation and Development/Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü
OP	: Organofosfor

ŞEKİL LİSTESİ

SAYFA

Şekil 1.1.	Bir kirleticinin biyomakromolekül ile etkileşmesi (moleküler başlatıcı olay (MIE)) sonucu istenmeyen sonuca giden yol (AOP)	9
Şekil 1.2.	A) AChE'nin ACh'i hidroliz ederek normal aktivite gösterdiği durum B) AChE'nin inhibe edilmesi sonucu ACh'in biriktiği durum.	12
Şekil 1.3.	TcAChE enziminin aktif bölge şeması ve sembolik ester substratı	14
Şekil 1.4.	GSH kofaktörünün yapısı ve GSH'ın -SH grubunun ksenobiyotiklerle verdiği reaksiyonların örnekleri.	16
Şekil 1.5.	İnsan GST enzimine ait G ve H bölgelerindeki amino asit etkileşimleri..	17
Şekil 2.1.	KYTİ Model akış şeması.....	19
Şekil 2.2.	(A) AChE-Huperzine A(gri) kompleksine ait kristal yapı (pdb:1VOT) (B) 1VOT enziminin aktif bölgesindeki bazı önemli amino asitler (yeşil) ile Huperzine A (sarı).....	31
Şekil 3.1.	Deneysel pT değerlerine karşı MLR _[D] modeli ile tahmin edilen pT değerleri grafiği.	37
Şekil 3.2.	MLR _[D] modeli için Williams grafiği.	37
Şekil 3.3.	MLR _[D] modeli için Insubria grafiği.	38
Şekil 3.4.	Deneysel pT değerlerine karşı MLR _[DS] Modeli ile tahmin edilen pT değerleri grafiği.	42
Şekil 3.5.	MLR _[DS] Modeli için Williams grafiği.	43
Şekil 3.6.	MLR _[DS] için Insubria grafiği.	43
Şekil 3.7.	Deneysel pT değerlerine karşı MLR _[DSA] Modeli ile tahmin edilen pT değerleri grafiği.	48
Şekil 3.8.	MLR _[DSA] modeli için Williams grafiği.....	48
Şekil 3.9.	MLR _[DSA] modeli için Insubria grafiği.	49
Şekil 3.10.	Deneysel pT değerlerine karşı MLR _[A] Modeli ile tahmin edilen pT değerleri grafiği.	53
Şekil 3.11.	MLR _[A] modeli için Williams grafiği.	53
Şekil 3.12.	MLR _[A] modeli için Insubria grafiği.....	54

Şekil 3.13.	(-)-Huperzine A ile birlikte kristallenmiş TcAChE (PDB ID: 1VOT) kristal yapı kompleksinde enzimin aktif bölgesinde bulunan ligandın (pembe çubuk) ve aynı ligandın ((-)-Huperzine A) tekrar dok edilmesiyle elde edilen (yeşil çubuk) konformasyonları ve yönelimlerinin karşılaştırılması.....	59
Şekil 3.14.	AChE ile ilişkili en toksik veri seti bileşiklerinin yapıları. (Deneysel pT, MLR _[A] , MLR _[DSA] modellerinden tahmin edilmiş toksisite değerlerinin en az birinin 2'den büyük ve $\Delta G_b \leq -8$ olan bileşikler)	65
Şekil 3.15.	Veri setine ait Tablo 3.13 teki en toksik bileşiklerden seçilmiş 4 bileşiğin (A) Amitriptyline, (B) Risperidone, (C) Trenbolone acetate, (D) Midazolam, AChE bağlanma etkileşimleri.....	66
Şekil 3.16.	AChE ile ilişkili en toksik dış set bileşiklerinin yapıları. (MLR _[A] , MLR _[DSA] modellerinden tahmin edilmiş toksisite değerlerinin en az birinin 2'den büyük ve $\Delta G_b \leq -8$ olan bileşikler)	74
Şekil 3.17.	Dış set bileşiklerine ait Tablo 3.16'daki en toksik bileşiklerden seçilmiş 4 bileşiğin (A) Progesterone, (B) Clotrimazole, (C) Carbamazepine (D) Imipramine AChE bağlanma etkileşimleri.....	75
Şekil 3.18.	Blastp sonucuna göre E değerleri eşik değerlerini aşan sekansların sıralaması (171 pdb yapısından en düşük E değerine sahip ilk 10 pdb yapısı).	77
Şekil 3.19.	SWISS-MODEL ile modelleme sonucu.	78
Şekil 3.20.	QMEANDisCo sonucunda sekansların lokal kalite değerlendirmesi.	79
Şekil 3.21.	QMEANDisCo Global skoru ve sekansların kalite değerlendirilmesi grafiği.	80
Şekil 3.22.	(A) Kalıp insan GST enzimi (kırmızı, 4PGT) ve modellenmiş minimize edilmiş balık GST enziminin (mavi) çakıştırılmış görüntüsü (RMSD = 0.124). (B) Modellenen balık GST enzimine ait GSH kofaktörü ile enzimin aktif bölgesindeki amino asit kalıntılarından bazıları (C) Modellenen balık GST enzimine ait GSH kofaktörünün amino asit etkileşimlerinin 2-boyutlu gösterimi.....	81

Şekil 3.23.	GST ile ilişkili en toksik veri seti bileşiklerinin yapıları. (Deneysel pT, MLR _[A] , MLR _[DSA] modellerinden tahmin edilmiş toksisite değerlerinin en az birinin 2’den büyük ve $\Delta G_b \leq -8$ olan bileşikler)	86
Şekil 3.24.	Deneysel ölçülmüş pT ve MLR modellerden yüksek tahmin edilen ($pT \geq 1$) seçilmiş toksik kimyasalların GST enzimine bağlanma etkileşimleri. (A) Risperidone (B) Ethoxyquin (C) Trenbolone acetate (D) Midazolam	87
Şekil 3.25	GST ile ilişkili en toksik dış set bileşiklerinin yapıları. (MLR _[A] , MLR _[DSA] modellerinden tahmin edilmiş toksisite değerlerinin en az birinin 2’den büyük ve $\Delta G_b \leq -8$ olan bileşikler)	93
Şekil 3.26.	Dış set bileşiklerinden Tablo 3.24’teki en toksik bileşiklerden seçilmiş 4 bileşiğin (Estradiol, Triflupromazine, Carbamazepine, Desipramine) GST bağlanma etkileşimleri.	94
Şekil 3.27.	Veri setindeki bileşiklerin deneysel toksisite değerlerine karşı bağlanma afinitesi ($-\Delta G_b$ değerleri) ilişkisi. Dikey eksen AChE ve GST enzimlerinin doking skorlarının negatifidir. Her pT değeri için 2 afinite ($-\Delta G_b$) değerinden küçük olan GST’ye, büyük olan AChE’ye aittir.	96
Şekil 3.28.	Veri setindeki bileşiklerin deneysel toksisite değerlerine karşı pozitif ΔG_b değerlerinin ilişkisini gösteren radar grafiği.	97
Şekil 3.29.	Seçilmiş veri seti bileşiklerinin TcAChE ile doking bağlanma modları. (A) Monobenzoate (B) Tolcapone (C) Paroxetine ve(D) Midazolam	104
Şekil 3.30.	Dış set kimyasallarından taranan ve TcAChE ile etkileşimi olan bileşikler (A) Desipramine (B) Triflupromazine (C) Clotrimazole ve (D) Bromazepam.	110

TABLO LİSTESİ

SAYFA

Tablo 2.1.	Veri setindeki bileşiklerin, CAS RN, isimleriyle birlikte ve deneysel olarak ölçülmüş 96 saatlik balık toksisite değerleri (deneysel $pT = -\log LC_{50}$ (mM))..	21
Tablo 3.1.	MLR _[D] modeline ait tanımlayıcılar, sınıfları ve tanımları	34
Tablo 3.2.	MLR _[D] modelinin iç ve dış validasyon parametreleri.	36
Tablo 3.3.	MLR _[DS] modeline ait tanımlayıcılar, sınıfları ve tanımları	39
Tablo 3.4.	MLR _[DS] modelinin iç ve dış validasyon parametreleri.	41
Tablo 3.5.	MLR _[DSA] modeline ait tanımlayıcılar, sınıfları ve tanımları	45
Tablo 3.6.	MLR _[DSA] modelinin iç ve dış validasyon parametreleri.	47
Tablo 3.7.	MLR _[A] modeline ait tanımlayıcılar, sınıfları ve tanımları	51
Tablo 3.8.	MLR _[A] modelinin iç ve dış validasyon parametreleri.	52
Tablo 3.9.	4 modele ait iç validasyon parametreleri.....	55
Tablo 3.10.	4 modele ait dış validasyon parametreleri.....	56
Tablo 3.11.	MLR _[D] ve MLR _[DS] MLR _[DSA] MLR _[A] modellerinin parametrelerinin karşılaştırılması ve dış set tahmin performansları.....	58
Tablo 3.12.	Veri seti bileşiklerinin AChE ile rijid ve esnek doking serbest bağlanma enerjileri (ΔG_b kcal/mol).....	60
Tablo 3.13.	AChE bağlanması ile ilişkili olarak yüksek toksisiteye sahip veri seti bileşikleri. (Deneysel ölçülmüş pT ile MLR _[DSA] ve MLR _[A] modellerinden tahmin edilmiş toksisite değerleri $pT \geq 1$ olanlar ve AChE doking serbest bağlanma enerjileri $\Delta G_b \leq -8$ olan kimyasallar seçilmiştir.).....	64
Tablo 3.14.	Şekil 3.14 teki 4 bileşiğin AChE bağlanma enerjileri, etkileşim türü ve etkileşim mesafeleri.....	67
Tablo 3.15.	Dış set bileşiklerinin AChE ile rijid ve esnek doking serbest bağlanma enerjileri (Esnek doking skoruna göre ΔG_b değerleri küçükten büyüğe sıralanmıştır).....	68
Tablo 3.16.	AChE bağlanması ile ilişkili olarak yüksek toksisite gösteren dış set bileşikleri. (MLR _[DSA] ve MLR _[A] modellerinden tahmin edilmiş	

toksosite değerleri 1 den büyük olanlar ($pT \geq 1$) ile AChE doking serbest bağlanma enerjileri $\Delta G_b \leq -8$ olanlar)	72
Tablo 3.17. Dış set bileşiklerine ait Şekil 3.17’ deki 4 en toksik bileşiğin AChE bağlanma enerjileri, etkileşim türleri ve mesafeleri.	75
Tablo 3.18. Veri setindeki 79 bileşiğin deneysel ölçülmüş toksosite ($pT = -\log[LC]_{50}$) değerleri ile GST enzimine esnek doking serbest bağlanma enerjileri.	82
Tablo 3.19. Veri set kimyasallarının deneysel ölçülmüş pT ile $MLR_{[DSA]}$ ve $MLR_{[A]}$ modellerinden tahmin edilmiş toksosite değerleri $pT \geq 1$ olanlar ve GST doking serbest bağlanma enerjileri $\Delta G_b \leq -8$ olan kimyasallar.....	85
Tablo 3.20. Şekil 3.24 teki veri seti bileşiklerin GST enzimine serbest bağlanma enerjileri, deneysel pT , etkileşim türleri ve mesafeleri.	88
Tablo 3.21. Dış set bileşiklerinin GST enzimine esnek doking serbest bağlanma enerjileri (ΔG_b küçükten büyüğe doğru sıralanmış).....	88
Tablo 3.22. GST bağlanması ile ilişkili olarak yüksek toksosite gösteren dış set bileşikleri. ($MLR_{[DSA]}$ ve $MLR_{[A]}$ modellerinden tahmin edilmiş toksosite değerleri $pT \geq 1$ olanlar ve GST doking serbest bağlanma enerjileri $\Delta G_b \leq -8$ olan kimyasallar).	92
Tablo 3.23. Şekil 3.25’teki 4 bileşiğin GST enzimine bağlanma enerjileri, etkileşim türü ve etkileşim mesafeleri.....	95
Tablo 3.24. Doğrusal ve doğrusal olmayan $MLR_{[DSA]}$ ve CP ANN _[A] modellerinin parametrelerinin karşılaştırılması ve dış set tahmin performansları	98
Tablo 3.25. Doking hesapları sonucunda 23 bileşiğin Toksikofor modeli ile uyumlu olan doking etkileşim �eşitleri, serbest bağlanma enerjileri ve özellik sayıları. (Toksikofor etkileşim sayısı sonuçları (Minovski vd., 2019))	99
Tablo 3.26. Data set kimyasallarının sınıfı ve kullanım alanları, $MLR_{[DSA]}$ ve CPANN _[A] modellerinden tahmin edilen toksosite değerleri, toksikofor ve doking sonucunda gözlenen özellik sayısı ve serbest bağlanma enerjileri.	103

Tablo 3.27. Seçilmiş 4 veri seti bileşiğinin esnek doking sonucunda en yüksek afinite ile bağlanan konformasyonlarının <i>TcAChE</i> enzimiyle yaptığı etkileşimlerin listesi.....	105
Tablo 3.28. Balık toksisite verileri bilinmeyen dış set kimyasalları, toksikofor ve doking yaklaşımlarıyla değerlendirilmiş, sınıf ve kullanım alanları, $MLR_{[DSA]}$ ve $CP ANN_{[A]}$ modellerinden tahmin edilen toksisite değerleri, toksikofor ve doking sonucunda gözlenen özellik sayısı ve serbest bağlanma enerjileri.....	109
Tablo 3.29. Seçilmiş 4 dış set bileşiğinin esnek doking sonucunda en yüksek afinite ile bağlanan konformasyonlarının <i>TcAChE</i> enzimiyle yaptığı etkileşimlerin listesi.....	111

1. GİRİŞ ve AMAÇ

1.1. Giriş

İlaç aktif maddelerinin (farmasötiklerin) ve kimyasalların yaygın kullanımıyla bu maddelerin ve metabolitlerinin çeşitli yollarla çevreye yayılması, deniz canlılarının hayatı ve türlerinin devamlılığı için risk oluşturmaktadır (Sopko, 2010). Bu nedenle atık sulara atılan kimyasal maddelerin ve bu kimyasalların yarattığı olumsuz etkilerin tespit edilmesi önem kazanmaktadır. Bu konuda gerekli yasal düzenlemelerin yapılabilmesi ve güncellenebilmesi için söz konusu kimyasalların potansiyel zarar ve risklerinin değerlendirilmesi ve önceliklerine göre sınıflandırılması gerekmektedir. Ancak bunun için çok fazla sayıda test yapılarak veri boşluklarının doldurulması ihtiyacı vardır (Hommen vd., 2010). Yüksek Hacimde Üretilen Kimyasallar (Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü (OECD) üyesi bir ülke tarafından yılda 1000 tondan fazla miktarlarda üretilen/alım-satımı yapılan kimyasallar) (OECD, 2009) için toksisite verilerinin birçoğu eksiktir (Pedersen vd., 2003). Risk yönetimi değerlendirmeleri için besin zincirinin ilk 3 basamağındaki canlılara (algler/akuatik bitkiler, kabuklu deniz canlıları ve balıklar) ait toksisite verilerine ihtiyaç vardır. Bu bağlamda canlılar üzerinde çok fazla sayıda deneysel çalışma yapılmaktadır. Ancak bu çalışmalar oldukça masraflı oldukları ve de çok sayıda canlı kullanımı gerektirdikleri için bilgisayar destekli (*in siliko*) yöntemlerle bu veri ihtiyacının karşılanması Avrupa'da REACH (Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals) (EC, 2006), Türkiye-REACH olarak da bilinen KKDİK yönetmelikleri (TC, 2017) tarafından desteklenmektedir.

Bu çalışmada, literatürden elde edilen veri seti kullanılarak (Tuğcu vd., 2012) çeşitli organik bileşiklerin ve farmasötiklerin balık toksisitelerini açıklamak üzere çoklu doğrusal regresyon modelleri (MLR) geliştirilmiştir. Geliştirilen bu kantitatif yapı-toksisite ilişkisi (KYTİ) modelleri yardımıyla toksisitesi bilinmeyen başka kimyasalların/ilaç aktif maddelerinin balık toksisitelerinin tahmin edilebilmesi ve veri eksikliğinin giderilmesine katkıda bulunulması amaçlanmıştır. Bu veriler yardımıyla gelecekte yapılacak deneylerde canlı kullanımına gereksinim olmaması ya da minimuma indirgenmesiyle birlikte zamandan ve maliyetten de tasarruf edilebilmesi sağlanabilir.

Toksisite organizmada meydana gelen sayısız reaksiyonların bir sonucudur. Bu kimyasalların canlı organizmalar üzerindeki toksisitelerinin yorumlanabilmesi için, bazı hedef enzimler ile nasıl etkileştiklerinin bilinmesi önemli ipuçları sağlayacaktır. Mekanizmanın karmaşıklığı göz önüne alındığında, liganda-dayalı (yani doğrusal veya doğrusal olmayan KYAİ) ve yapıya-dayalı (toksikofor modelleme ve moleküler doking gibi) *in siliko* yaklaşımların entegrasyonu ile toplu olarak değerlendirilmesi toksisiteye giden yolu açıklamak üzere oldukça önemlidir.

Canlı vücutundaki kimyasalların zararlarını azaltıp atılmalarını sağlayan tepkimeler çeşitli metabolizma enzimleri tarafından katalizlenir. Asetilkolin esterase (AChE) ve glutatyon-S-transferaz (GST) enzimlerinin canlılardaki istenmeyen toksik etkiler için biyogösterge olarak kullanıldıkları literatürde bilinmektedir (Belabed ve Nouredine, 2003). Bu sebeple kullanacağımız farmasötiklerle AChE ve GST enzimleri üzerine moleküler doking çalışmaları yapılmıştır. Buradaki amaç ise, kimyasalın toksik etki oluşturmak için takip ettiği istenmeyen sonuca giden yolun (adverse outcome pathways (AOP)) tahmini, biyolojik hedef ile nasıl etkileştiğinin anlaşılması ve potansiyel toksik bileşiklerin tanınmasına olanak sağlamaktır. Toksisite mekanizmalarına ışık tutmak üzere moleküler doking yönteminin kullanımı son yıllarda önem kazanmış ve bu konudaki çalışmalara ilgi artmıştır. Bu ihtiyaçlar doğrultusunda, tez çalışmasının amacı *in siliko* yöntemler kullanarak balık toksisite verilerini tahmin etmek, veri eksikliğini tamamlamaya ve toksik etki mekanizmasını açıklamaya katkıda bulunmaktır. Bu amaca ulaşmak için kullanılacak organik kirleticilerin balık toksisitelerinin 2 farklı *in siliko* yöntem ile incelenmesi hedeflenmiştir.

- 1) Liganda-dayalı yöntem olarak Kantitatif Yapı-Toksisite İlişkisi modelleri (KYTİ) geliştirmek
- 2) Hedef enzimlere (yapıya)-dayalı yöntem olarak kirleticilerin balık AChE ve GST enzimi inhibisyonunu moleküler doking ile incelemek.

Elde edilecek KYTİ modelleri ile balık toksisite değerleri bilinmeyen farmasötiklerin/kimyasalların modelin uygulama alanı içerisinde kalması koşulu ile toksisite değerlerinin tahmin edilebilmesi amaçlanmıştır. Yapılması planlanan moleküler doking çalışmalarında ligandların (farmasötikler, organik kimyasallar) hedef enzimlere (balık AChE ve GST enzimi) bağlanması incelenerek, potansiyel toksik

bileşiklerin tanınmasında katkı sağlaması beklenmektedir. Farmasötikler/kimyasallar ile enzimlerin etkileşimi anlaşıldıktan sonra mekanistik yorum yapılması kolaylaşacaktır. Bağlanma afinitesi ile balık toksisitesi arasında bulunabilecek bir ilişki istenmeyen sonuca giden yolun (AOP) moleküler başlatıcı olayının anlaşılmasına yardımcı olacaktır.

1.2. Farmasötik Kimyasallar ve REACH Yönetmeliği

Tüm dünyada tüketimi hızla artmakta olan kimyasalların ve ilaçların insan sağlığına ve çevreye olan etkilerinin değerlendirilmesi ve analiz edilmesi gittikçe daha da karmaşık bir hal almaya başlamıştır. Aynı zamanda bu kimyasallar ve ilaçlar, biyolojik aktivite gösterecek şekilde tasarlanıp üretildiklerinden dolayı, çevreye doğrudan veya dolaylı olarak sulara ve toprağa yayıldıkları/karıştıkları durumlarda başta akuatik organizmalar olmak üzere, canlılara zararlı etkiler gösterebileceklerinden bu konunun araştırılması gerekmektedir. Bu kimyasalların ekosisteme etkileri ve toksisite riskleri giderek endişe verici bir durum haline gelmektedir (Li vd., 2012).

Bu ilaç kalıntıları ve organik bileşikler birçok yolla çevrenin su bileşenine karışabilmektedir. Örneğin; bir birey ilaç tedavisi gördüğü zaman, aldığı ilacın tamamen metabolize olması ve vücut tarafından kullanılması mümkün değildir. Hastanın kullandığı ilaç dozunun %30 dan %90 a kadar olan kısmı idrar yoluyla atılmaktadır (Sopko, 2010). Farklı kullanım amaçları ile üretilmiş bu kimyasallara medikal atıkların karıştığı evsel atık sularında ve bu sularla temas halinde olan bitkilerde, yeraltı ve içme sularında ve hatta buzullarda bile rastlanmaktadır. Bu organik atıkların ve metabolitlerinin sulara karışması deniz canlılarının hayatını ve türlerinin devamlılığını, dolayısı ile besin zinciri yolu ile insanların zehirlenme tehlikesini de giderek arttırmaktadır (Sopko, 2010). Bu bileşikler sulama amaçlı kullanılan atık sulardan ve içme sularından geleneksel arıtma yöntemleri ile yeterince arıtilamamaktadırlar (Joss vd., 2005; Verlicchi vd., 2010).

Avrupa Birliğinde yaklaşık olarak 3000 sentetik kimyasal tıbbi ilaç olarak kullanılmaktadır. Reçeteli ya da reçetesiz satılan tedavi edici ilaçlar, veteriner ilaçları, kozmetik ürünler ve parfümler bu tür kimyasallardandır (Fent vd., 2006). Bu kimyasallara örnek olarak analjezikler, anti-inflamatuar ilaçlar, antibiyotikler, beta-

blokerler, kontraseptifler, lipid düzenleyiciler ve nöroaktif ajanlar verilebilir. Ayrıca yüzlerce kişisel bakım ürünü günlük yaşamda oldukça fazla kullanılmaktadır.

Genel kullanımdaki ilaçların sayıları da düşünüldüğünde hangi ilaç veya ilaç grubunun akutik yaşama en fazla etkisi olduğuna karar vermek oldukça güçtür. Aynı zamanda bu tür maddelerin balık gibi birçok canlı üzerinde ne tür etkileri olduğuna dair bilgi eksikliği bulunmakta ve hedefte olmayan birçok canlıya olan muhtemel akut ve/veya kronik toksik etkiler tam olarak bilinmemektedir (Barceló ve Petrovic, 2007; Ortiz de García vd., 2014).

Bu bağlamda, Avrupa Birliği Aralık 2006'da kimyasal maddelerin üretimi ve kullanımı ile bunların hem insan sağlığı hem de çevre üzerindeki potansiyel etkilerini ele alan bir yönetmelik yayınlamıştır. Kimyasalların Kaydı, Değerlendirilmesi, İzni ve Kısıtlanması ("Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals" (REACH) yönetmeliğine göre, Avrupa Birliğinde yılda 1 ton veya daha fazla üretilen (ya da ithal edilen) endüstriyel kimyasalların toksisite açısından değerlendirilmeleri gerekmektedir (EC, 2006). REACH-benzeri mevzuatlar dünyada bazı ülkelerde yürürlüktedir ve bazı ülkelerde de yasalaştırma çalışmaları devam etmektedir (Jalba, 2013). REACH-benzeri yönetmelikler, Türkiye'de de Çevre ve Şehircilik Bakanlığı tarafından hazırlanmış ve 23 Haziran, 2017'de 30105 sayılı ve "KİMYASALLARIN KAYDI, DEĞERLENDİRİLMESİ, İZNİ VE KISITLANMASI HAKKINDA YÖNETMELİK" (KKDİK) başlıklı düzenleme olarak resmi gazetede yayınlanmıştır. Bu durum akutik toksisite verilerine olan ihtiyacın küresel bağlamda artacağına işaret etmektedir. Ayrıca farmasötik ilaç aktif maddelerinin bir kısmı öncelikli kimyasallar olarak belirlendiği için, bunlar da Avrupa Birliği mevzuatında önemli bir yer tutmaktadır (EC, 2012; EC, 2013). Diğer yandan, ilaç ve kişisel bakım ürünlerinin (PPCP) toksisitelerinin değerlendirmeleri de Avrupa mevzuatının gündemine girmiştir. 2012'de, Avrupa Komisyonu tarafından hazırlanan COM (2011) 876 nolu teklifinde bazı ilaçlar, öncelikli maddeler listesine eklenmiştir (EC, 2012). PPCP'ler de, endüstriyel kimyasallar, temizleyici malzemeler, boyalar vb. malzemelere uygulandığı gibi sulardaki toksisitelerinin değerlendirmeleri ilgili REACH yönetmeliğine tabidir (EC, 2006; Sobanska vd., 2014; Tarazona vd., 2014). Bu kimyasalların akutik çevreye olan etkilerinin incelenmesi ve değerlendirilmesi için deneysel verilere ihtiyaç vardır. Bu veri boşluğunu doldurmak için algler (Ertürk ve Saçan, 2012; Ertürk ve Saçan, 2013;

Tugcu vd., 2017) daphnia (su piresi) (Hernández vd., 2012), ve balık (Sehonova vd., 2017) gibi organizmalar üzerinde yapılan deneysel testlere ihtiyaç vardır. Örneğin akut alg toksisitesi geleneksel yöntemlerle 72-saatte büyümede %50 inhibisyona yol açan etkin konsantrasyon (IC₅₀) olarak belirlenmektedir (OECD, 2011) ancak bu tür biyoanalizlerin yerine güvenilir ve valide edilmiş kantitatif yapı-aktivite/toksosite ilişkisi (KYAİ/KYTİ) modelleri kullanılabilmektedir. Bu modeller yardımıyla tahmin edilen akut (Önlü ve Saçan, 2017; Tugcu vd., 2012) ve kronik (Tuğcu ve Saçan, 2018) ekotoksikolojik verilerin (Saçan vd., 2007; Saçan vd., 2004; Saçan vd., 2005) eksik olan deneysel toksisite verilerinin yerini doldurmada çok değerli katkıları bulunmaktadır.

1.3. KYTİ Modelleri Kullanımı

Ekotoksikolojik çalışmalar, çeşitli kimyasal grupların populasyon seviyesinden hücre seviyesine kadar çok farklı seviyelerdeki organizmalarla olan etkileşimini araştırırlar. Bunun yanı sıra, bu tür kimyasalların kayıt altına alınması ile ilgili yapılan çalışmaları da kapsamaktadırlar. Risk analizlerinin yapılabilmesi için kimyasalların canlılara olan toksik etkilerinin bilinmesi gerekmektedir. Bahsedilen kimyasallar dışında birçok kimyasal grup çevre açısından önemlidir. Kalıcı organik kimyasal grubuna dahil olan kimyasalların bir kısmının (ör: poliklorlu/bromlu bifeniller) üretimi yıllar önce durdurulmasına rağmen, bu maddelerin kalıntılarına hala havada, suda ve toprakta rastlanabilmektedir. Buna ek olarak, bu kimyasalların sağlığı olumsuz yönde etkilediği bilinmektedir (US EPA, 1996).

REACH yönetmeliği kapsamında kimyasalların akuatik toksisite, kalıcılık, biyolojik birikim ve ekotoksikolojik özelliklerine ek olarak kanserojen, mutajen ve üremeyi etkileyen toksisite verilerinin bilinmesi de büyük önem taşımaktadır (EC, 2006). Fakat, bu bilgiler birçok kimyasal için REACH veri tabanında bulunmamaktadır. Bu sebeple bir maddenin fizikokimyasal, toksikolojik ve ekotoksikolojik özellikleri hakkında mevcut tüm bilgilerinin elde edilmesi gerekmektedir.

Bu bilgileri elde etmek için alternatif yöntemlerin kullanımı REACH mevzuatında vurgulanmaktadır. Bu alternatif yöntemler arasında KYAİ/KYTİ modelleri de yer almaktadır. REACH mevzuatında Ek- X1, omurgalı testlerini mümkün olduğu ölçüde sınırlamayı ve bu sebeple oluşacak veri eksiğini tamamlamak adına geniş bir yasal düzenleme imkanı vermiştir. Hayvanlar üzerinde yapılacak testlere ancak mecburi

durumlarda son çare olarak başvurulacaktır. Deneysel aktivite/toksisite ölçümleri yerine nitel ve nicel yapı özellik/aktivite/toksisite ilişkileri modelleri gibi *in siliko* yöntemlerin kullanımına deneysel testlerin kullanımı zorunlu olmadığı durumlarda izin verilmiştir.

Deneysel testler gibi, geçerli kantitatif veya kalitatif yapı özellik ilişkisi (KYÖİ) modellerinden elde edilen sonuçlar da kimyasalın belirli bir tehlikeli özelliğinin varlığını veya yokluğunu gösterebilir. Bu sebeple KYÖİ/KYAI/KYTİ modellerinden elde edilen özellik/aktivite/toksisite verileri OECD tarafından öne sürülen aşağıdaki koşulların sağlanması durumunda kabul edilmektedir.

1.3.1. OECD prensipleri

KYAI/KYTİ modellerinin bilimsel olarak geçerli olması için 5 OECD kriterlerine uyması gerekmektedir (OECD, 2007).

1. **Tanımlanmış bir sonuç değeri:** Modellenmek istenen özelliğe ait (aktivite, toksisite vb) deneysel olarak ölçülmüş değerler ve ölçümün yapıldığı koşulları bilinen verilere ihtiyaç vardır.
2. **Kesin açıklanmış bir algoritma:** Burada kullanılacak yöntem açık bir algoritmaya sahip ve tekrarlanabilir olmalıdır. Lineer (çoklu doğrusal regresyon (MLR)), non-lineer Tersine Yayılmalı Yapay Sinir Ağları (Counter Propagation Artificial Neural Network (CP ANN)), ve machine learning (örn: deep learning vb.) gibi farklı yöntemlerle yapılan modellemeler kabul edilmektedir.
3. **Uygulanabilirlik alanı:** Bir KYAI/KYTİ modelinin tahmin kapasitesi sınırlı olduğundan her bileşiğin aktivite/toksisite gibi özelliklerinin tahmini için uygun olmayabilir. Bu sebeple geliştirilen modelin uygulanabilirlik alanı tanımlanmalıdır. Uygulanabilirlik alanının sınırları, kullanılan yöntem ve tahminlerin genel güvenilirliği ile ilgilidir.
4. **Uyum derecesi, sağlamlık ve tahmin edebilme gücü:** Geliştirilen KYTİ modeli, çeşitli istatistiksel parametrelerle doğrulanmalıdır. Bu sebeple iç ve dış validasyonları yapılmalıdır. İç validasyon, eğitim seti bileşikleriyle geliştirilen modelin uyum ve sağlamlığını test ederken, dış validasyon ise test set bileşikleriyle kullanarak tahmin gücünü belirler.

5. **Mümkün ise mekanistik bir yorum yapılması:** OECD nin 5. prensibine göre, her durumda şart olmamakla beraber, modellenen aktivite/toksisite özelliğinin modelde yer alan tanımlayıcılarla ilişkisinin mekanistik olarak açıklanmasıdır.

1.3.2. Liganda dayalı KYAİ / KYTİ modelleri

Kantitatif yapı-aktivite ilişkileri (KYAİ), bileşiklerin biyolojik aktivitelerini kimyasal yapıları ile ilişkilendiren *in siliko* matematiksel modellerdir. Söz konusu biyolojik aktivite toksisite ise genellikle kantitatif yapı-toksisite (KYTİ) ilişkileri terimi kullanılır. Önemli sayıda deneysel gözlemi rasyonalize etme, hayvan testlerini azaltma, kaynak tasarrufu sağlama ve toksik kimyasalları önceliklendirme bakımından *in siliko* modeller avantaj sağlarlar. KYAİ temelleri çok eskilere dayanır ve 60 yıldan beri kullanılmaktadır (Hansch ve Fujita, 1964; Free ve Wilson, 1964). KYAİ modellerdeki temel prensip, bir bileşiğin biyolojik aktivitesinin kimyasal yapısından kaynaklanan bazı özellikleri tarafından belirlendiği fikridir. Bu nedenle, temel bir KYAİ modeli, aktivitenin/toksisitenin yapısal özelliklerin bir fonksiyonu olarak aşağıdaki matematiksel denklem (Denklem 1.1) ile ifade edilir.

$$\text{Toksisite/aktivite} = f(\text{yapısal özellikler}) + \text{sabit} \quad (1.1)$$

Bu denklemde toksisite/aktivite “bağımlı değişken”, yapısal özellikler ise “bağımsız değişkenler” dir. Yapısal özellikler, bileşiklerin fiziksel, kimyasal, biyolojik, topolojik vb. gibi özelliklerini içeren ve çeşitli yazılımlarla hesaplanabilen tanımlayıcılardır. Bu bağlamda aşağıdaki yollar izlenir.

- Deneysel ölçülmüş aktivite/toksisite verilerinden oluşan bir veri seti
- Veri setindeki bileşikler için moleküler tanımlayıcıların hesaplanması
- Veri setinin eğitim ve test set olarak ayrımının yapılması

Daha sonra çeşitli yöntemler kullanılarak aktiviteyi/toksisiteyi en iyi temsil eden tanımlayıcılar seçilir ve model kurulma aşamasına geçilir. Model hazırlandıktan sonra iç ve dış validasyon kriterleri ile geçerliliği ispatlanır ve uygulanabilirlik alanı tanımlanır. Bu işlemler sonucunda elde edilen matematiksel model yardımıyla deneysel aktivite/toksisite ölçümü yapılmamış kimyasal bileşiklerin aktivite/toksisite değerleri tahmin edilebilir. Literatürde yayınlanmış çok sayıda KYAİ/KYTİ modelleri mevcuttur ancak bunların bazıları OECD kriterlerini sağlamaktan uzaktır. Araştırma grubumuzun

geliştirdiği OECD prensiplerine uygun modellere örnekler şunlardır: (Erzincan vd., 2015; Minovski vd., 2019; Fjodorova vd., 2023; Sabuncu-Gürses vd., 2023)

Başarılı bir KYTİ modellemesi için deneysel toksisite veri setinin seçimi önemli bir adımdır. Ayrıca, OECD doğrulama kriterlerinin ilk ilkesi "tanımlanmış bir sonuç değer" gerekliliğini belirtmektedir. Veri setindeki toksisite değerleri aynı koşullarda, aynı tanımlanmış yöntemle ölçülmüş olmalıdır. Modellenebilir bir veri setindeki kimyasal yapılarda uygun bir çeşitlilik ve toksisite değerlerinde de normal bir dağılımı olmalıdır (Golbraikh vd., 2014) çünkü KYTİ modellemesinin arkasındaki temel ilke, benzer bileşiklerin benzer toksisiteye sahip olmasıdır.

Moleküler tanımlayıcılar, bir molekülün resmi matematiksel gösterimleridir ve moleküler yapı içinde kodlanmış kimyasal bilgileri tasvir ederler. Bir molekülün her özelliği bir tanımlayıcı olarak kullanılabilir. Örneğin dipol momenti, çözünürlüğü, erime/kaynama noktaları, oluşma ısısı, vs. Moleküler tanımlayıcılar deneysel ölçümlerden veya teorik hesaplamalardan elde edilebilir ve genellikle kuantum kimyasal, fizikokimyasal, yapısal, topolojik, elektronik ve geometrik tanımlayıcılar olarak sınıflandırılmaktadır. Bir diğer sınıflandırmada ise, 0-boyutlu, 1-boyutlu, 2-boyutlu, 3-boyutlu tanımlayıcılar olarak gruplanırlar.

KYAİ modellerini oluşturmak, iç validasyon ve dış validasyon yapabilmek için veri seti, eğitim seti ve test setine bölünür. Eğitim/test set ayrımı yaparken dikkat edilmesi gereken noktalar vardır. Örneğin; eğitim seti test setini kapsamalı ve test seti eğitim setini temsil etmelidir. Eğitim setinin hem bağımlı hem de bağımsız değişkenlerin tüm aralığını kapsaması istenir. Bunu sağlamak için toksisite skorunun minimum ve maksimum değerine sahip bileşikler, eğitim setinde olacak şekilde seçilir.

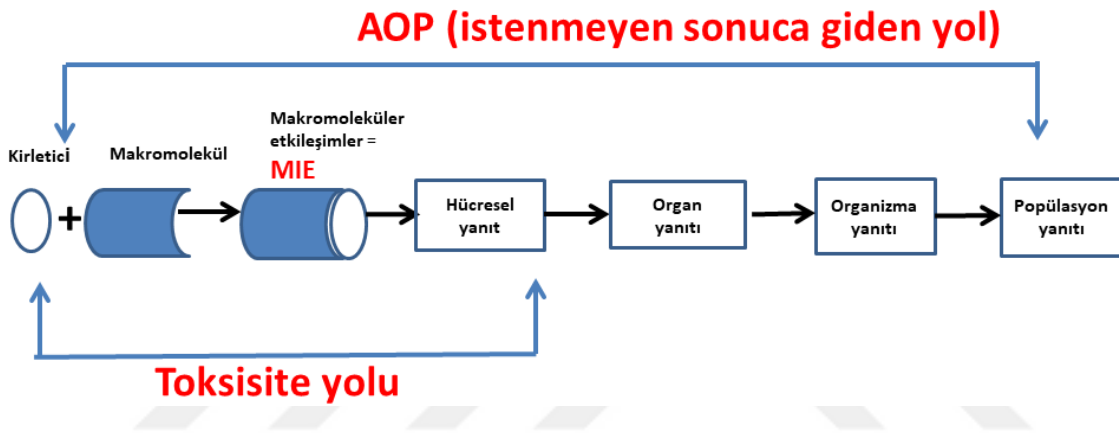
OECD prensiplerinin ikinci ilkesi, bir KYAİ modelinin "kesin bir algoritmaya" sahip olması gerektiğini belirtir. Toksisite ile seçilen tanımlayıcılar arasında matematiksel bir model oluşturmak için doğrusal veya doğrusal olmayan yöntemlere dayanan çeşitli algoritmalar kullanılabilir. Doğrusal regresyon yaklaşımları arasında, MLR, makul uygulaması ve yorumlanabilirliği nedeniyle sıklıkla kullanılmaktadır. Doğrusal bir regresyon modelinde, bağımlı (yanıt) ve bağımsız değişkenler (tanımlayıcılar) arasındaki doğrusal fonksiyon şu biçimi alır:

$$y = a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + \dots + b \quad (1.2)$$

y değeri deneysel ölçülmüş toksisiteyi, x_1, x_2, x_3 tanımlayıcıları a_1, a_2, a_3 değerleri tanımlayıcı katsayılarını, b denklemin sabitini ifade eder (Denklem 1.2).

1.4. Moleküler Başlatıcı Olaylar ve Biyogöstergeler

Çevresel risk değerlendirmesinde istenmeyen sonuca giden yollar (Adverse Outcome Pathways, AOP) ilk olarak Ankley vd. tarafından anahatlarıyla incelenmiştir. AOP, kimyasal olaylara maruz kalmış bireyde ya da popülasyonda meydana gelen istenmeyen olumsuz etkilere sebep olan olayların sırası olarak tanımlanabilir (Ankley vd., 2010).



Şekil 1.1. Bir kirlenicinin biyomakromolekül ile etkileşmesi (moleküler başlatıcı olay (MIE)) sonucu istenmeyen sonuca giden yol (AOP) (Ankley, 2010)

Toksitenin deneysel ölçümü ya da tahmini dolaylı olarak toksisiteye katkıda bulunan diğer önemli etkenleri anlamamız açısından yetersizdir. Bu nedenle, istenmeyen sonuca giden yolun anlaşılması, ekosistemde meydana gelen düzensizliklere sebep olabilecek etkenlerin daha ortaya çıkmadan önce olası sonuçlarının tahmin edilmesi, ekosistemin yapısında ve işleyişinde oluşacak kayıpların ve zararların engellenmesi açısından çok önemlidir. Toksik etki oluşturan kimyasalın biyolojik hedefle nasıl etkileşime girdiğini anlamak, AOP'yi öngörmeye yararlı olacaktır. Kimyasalın hedef biyomakromolekül ile yaptığı ve AOP'yi başlatan ilk moleküler etkileşim moleküler başlatıcı olay (MIE) olarak tanımlanır. Tek bir MIE birçok toksikolojik hedefin sebebi olabileceği gibi, tek bir hedef parametre birçok MIE'nin sonucu olabilir. Çok değişik kimyasal özelliklere sahip olan birçok bileşik aynı hedef parametre ile sonuçlanabilir. Bu moleküller ile yapı-aktivite/toksiste ilişkileri ve kantitatif yapı-aktivite/toksiste ilişkileri geliştirme

girişimleri moleküllerin gruplarının MIE özelliklerinin anlaşılmasıyla kolaylaşacaktır (Allen vd., 2014).

Moleküler başlatıcı etkinin tespit edilmesi, toksisiteyi oluşturan bir dizi olayın (AOP) meydana gelmesinde ilk etkileşimin ne olduğunun bilinmesi, gözlemlenen etkinin olumsuz bir sonuca neden olup olmayacağını belirlememiz için daha ileri testlerin yapılmasına öncelik verilmesini ve böylece bir sonraki adımın öngörülmesini sağlayabilir. Bu yaklaşımlar, biyogöstergeler gibi biyolojik hedefleri kullanarak biyolojik sistemin değişik seviyelerinde meydana gelen değişiklikleri ve bu değişikliklere sebep olan olayların birbiriyle bağlantılarını daha iyi açıklamayı amaçlamaktadır.

Kirleticilerin canlıda veya dokuda sebep olduğu biyokimyasal cevapların ölçümünde biyogösterge denilen indikatörler kullanılır. Biyogöstergeler, fizyolojide meydana gelen değişikliği işaret eden, biyokimyasal ve doku düzeyindeki saptanabilir değişiklikleri gösteren indikatörlerdir (Smit vd., 2009). Biyogöstergelerin, çevresel kirlenmelerin önceden saptanması amacıyla erken uyarıcı sinyal olarak kullanımı yaygındır (Belabed ve Noureddine, 2013). Literatürde, asetilkolin esterase (AChE) ve glutatyon-S-transferaz (GST) canlılardaki istenmeyen toksik etkiler için biyogösterge enzimleri olarak bilinmektedir (Belabed ve Noureddine, 2003). Örneğin organofosfor pestisitlerin (OP) toksik etkilerinin belirlenmesi amacıyla AChE enzimi inhibisyonu yaygın olarak kullanılmaktadır (Rickwood ve Galloway, 2004). AChE ayrıca başka birçok kirletici için de toksisite biyogöstergesi olarak sıklıkla kullanılmaktadır (Reyes vd., 2011).

Trombini vd., yenilebilir tuzlu su ıstırdyeleri (*Ruditapes philippinarum*) ile yaptıkları çalışmada, deniz suyuna çeşitli miktarlar ve zamanlarda carbamazepine, diclofenac ve ibuprofen farmasötiklerini eklemişler ve çeşitli biyomarker enzimlerle (superoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon redüktaz (GR), total glutatyon peroksidaz (T-GPx), glutatyon-S-transferaz (GST), lipid peroksidasyonu (LPO), asetilkolin esterase (AChE) ve metalotiyonein (MT)) etkilerini incelemişlerdir. Bu ilaçların serbest radikal (ROS) artışıyla organizmaların enzim aktivitelerinde değişikliğe sebep olduklarını gözlemlemişlerdir. Ayrıca organizmaların bu ilaçlarla kısa zaman maruz bırakılsalar bile deniz canlıları için potansiyel nörotoksik tehlike oluşturduğunu gözlemlemişlerdir (Trombini vd., 2019).

Akdeniz midyesinde (*Mytilus galloprovincialis*), NSAID (non steroid anti-inflamatuar ilaç) grubu ilaçlar olan ibuprofen ve diklofenak (250 ng/L) maruz kaldıktan sonra iki hafta boyunca antioksidan enzimlerin SOD, CAT, GST ve GR aktivite ölçümlerinde, sindirim sistemi salgı bezlerinde lipid peroksidasyon artışı gözlenmiş erkek deniz midyelerinde gonad proteinlerinde endokrin bozucu sonuçlara sebep olmuştur (Gonzalez-Rey ve Bebianno, 2011; Gonzalez-Rey ve Bebianno 2012).

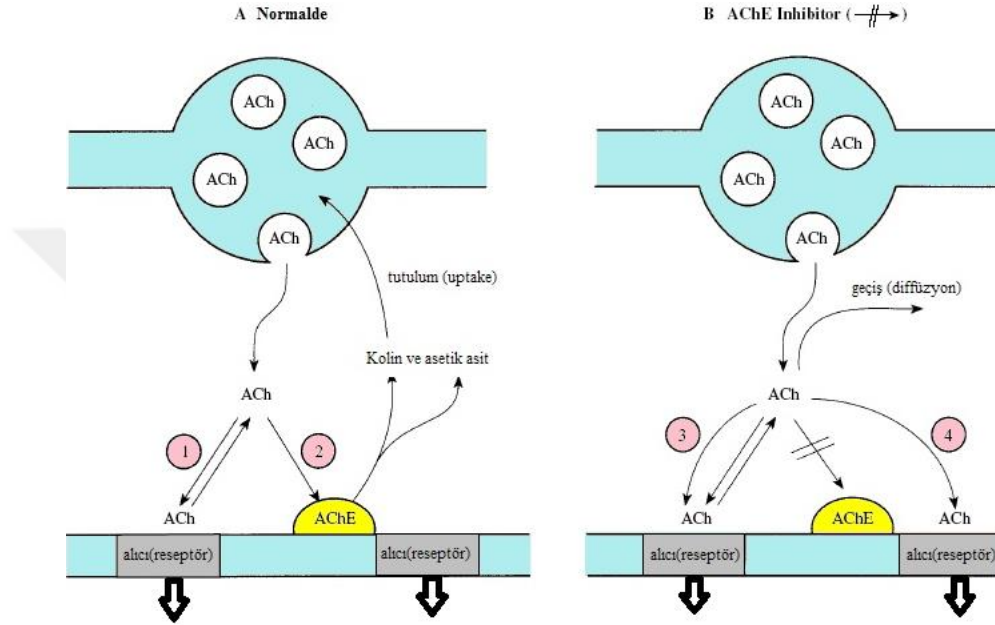
Bu inhibisyon mekanizmalarını aydınlatmak için deneysel testlerin yanında ligand-temelli KYTİ ve yapı-temelli moleküler doking çalışmaları gibi *in-siliko* yöntemler de literatürde sıklıkla uygulanmaktadır (Moralev ve Tikhonov, 2010; Sharma vd., 2011; Veselinović vd., 2014). Yapılmış çalışmalarda, organofosfor pestisitlerin *Torpedo californica* balığının AChE'sinin aktif bölgesinde bulunan SER200 kalıntısının hidroksil grubuna geri dönüşümsüz bir şekilde bağlanarak AChE'yi inhibe ettiği tespit edilmiştir (Dvir vd., 2010). İlaç aktif maddelerinin de pestisitler gibi aynı biyolojik hedefle etkileşime girerek toksisite oluşturabileceği ihtimali konusundaki bilgi ve çalışmaların yetersizliği düşünüldüğünde, ilaç aktif maddelerin hedef olmayan organizmalarda da (örn: balıklarda) AChE enzimi ile olan etkileşimleri ile ilgili araştırma yapmak kaydadeğer bir çalışma konusudur.

Moleküler doking ve farmakofor/toksikofor modelleme yöntemleri de biyolojik hedefle ligandların etkileşiminde toksikolojik etki mekanizmalarını tanımlamak için katkı sağlayan tamamlayıcı yöntemlerdir. Kimyasalların canlı organizmalarda gerçekleştireceği toksikolojik etkilerinin mekanizmalarının karmaşıklığı düşünüldüğünde, liganda-dayalı matematiksel modellemeler (Doğrusal ya da doğrusal olmayan KYTİ) ve yapı-temelli modelleme yaklaşımları (moleküler doking, toksikofor vb.) gibi yöntemlerin beraber kullanımının balıklardaki AChE, GST gibi biyogösterge enzimlerle muhtemel etkileşimlerin değerlendirilmesi, toksisiteye hangi moleküler başlatıcı olay/olayların sebep olduğunu aydınlatmakta önemli katkılar sağlayabilir.

1.4.1. AChE enzimi ve toksisite

AChE enzimi genel olarak merkezi sinir sisteminde nöromusküler uçlarda ve kolinerjik sinapslarda bulunur. Asetilkolin (ACh) maddesi ise, sinir uçlarından diğer bir sinir lif membranına sürekli uyarı gönderilerek sinir iletiminde rol oynayan aktif bir nörotransmitterdir. Sinirsel uyarım sağlandıktan sonra görevi biten ACh maddesinin

AChE tarafından asetik asit ve kolin inaktif maddelerine hidroliz edilmesi gerekir (Şekil 1.2A). Aksi halde, AChE inhibe edilir ve bu görevini yerine getiremezse (Şekil 1.2B), ACh nörotransmitterinin sinir uçlarında birikmesiyle hedef hücre sürekli uyarılır, önce felç ve sonra ölüme kadar gidecek istenmeyen sonuçlara sebep olur. Bu sebeple, AChE enzim aktivitesi, merkezi ve periferel sinir sisteminin düzenli ve normal fonksiyon göstermesi için gereklidir (Lionette vd., 2013).



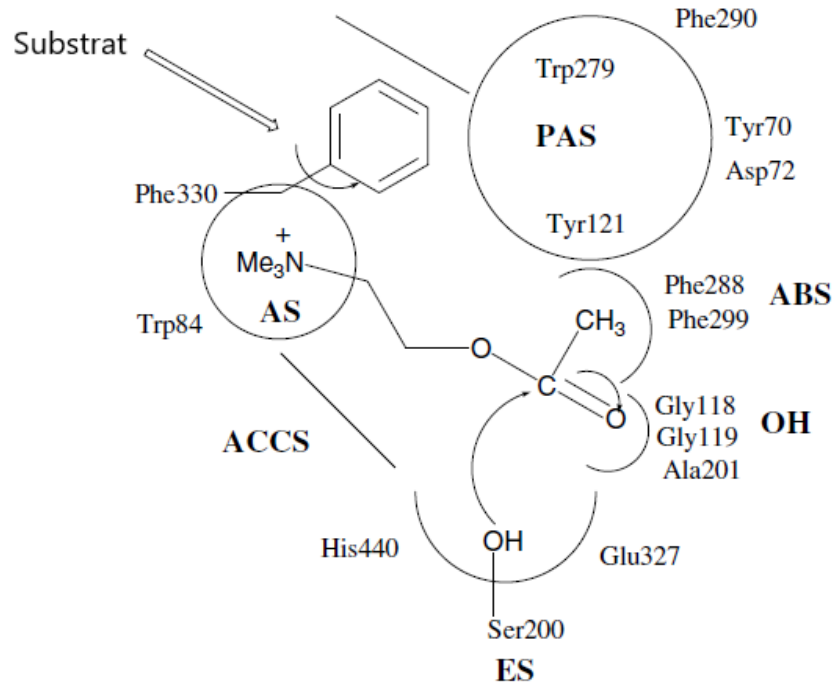
Şekil 1.2. A) AChE'nin ACh'i hidroliz ederek normal aktivite gösterdiği durum B) AChE'nin inhibe edilmesi sonucu ACh'in biriktiği durum. (Yılmaz, 2011)

Pestisitler ve bazı kimyasal ilaçlar besin zinciri yoluyla kullanım alanlarının çok dışına ulaşarak hayvanlara ve bunlarla beslenen insanlara kadar ulaşmaktadır. Bu maddeler tüm canlılarda olumsuz metabolik bozukluklara sebep olmaktadır. Bu olumsuzluklardan biri de enzim sistemleri üzerindeki etkileridir. Organizmadaki metabolik olaylardan sorumlu olan enzimlerin bu kimyasalların etkisiyle aktivitelerinin sınırlandırıldığına dair pek çok çalışma mevcuttur (Yılmaz, 2011). Organofosfor (OP) bileşikleri ve karbamat (Cb) pestisitlerinin kolinesteraz enzimlerini (ChE) geri dönüşümsüz inhibe ederek toksisite oluşturdıkları bilinmektedir. 1970'lerden beri akuatik organizmaların OP ve Cb pestisidlerine maruz kalması durumunda ChE enziminin inhibisyon aktivitesi bir biyogösterge olarak kullanılmaktadır (Fulton ve Key, 2010). Yarılanma ömrü kısa olan OP ve Cb pestisitlerine çeşitli zaman aralıklarında maruz kalan deniz canlılarının AChE aktivitelerini zamana karşı ölçen çalışmalar da literatürde mevcuttur. Ağır metaller

(Diamantino vd., 2003), yüzey aktif maddeler (Guilhermino vd., 2000) hidrokarbonlar (Kang ve Fang, 1997) ve farmasötikler (Nunes vd., 2006) gibi diğer sınıf bileşiklerin de yüksek kontaminasyon durumlarında ChE fonksiyonunu bozan kaynaklar olabileceği anlaşılmıştır. ChE grubuna ait enzimlerin arasından asetilkolinesteraz (AChE) kolinerjik sinir iletiminde anahtar bir rol oynar. Çünkü AChE çoğu hayvan türünde duyu ve nöromusküler sistemlerinde başlıca nörotransmitterdir.

AChE aynı zamanda Alzheimer hastalığının tedavisi için kullanılan ilaçların da hedef enzimidir. Bilinen işlevlerine ek olarak AChE'nin apoptoz ve kanser gibi diğer hücrel mekanizmalarda yer aldığına dair yeni kanıtlar ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle, AChE aktivitesini inhibe eden bileşiklerin belirlenmesi sadece ilaç keşfi için değil, aynı zamanda insan sağlığını olumsuz yönde etkileyebilecek potansiyel kimyasal tehlikelerin belirlenmesi için de önemlidir (Li vd., 2021). Bir biyolojik hedef için üretilmiş ilaç ya da potansiyel toksik kimyasalların, istenen hedefle etkileşmesinin yanında, akuatik ortamda alg, balık gibi sucul canlılardaki AChE ile etkileşime girerek istenmeyen etkilere sebep olabileceği de göz önünde bulundurulmalıdır. Bu ilaçların balık gibi akuatik canlılardaki biyogösterge enzimlerle etkilerinin nasıl olabileceği ile ilgili bilgi eksikliği vardır. Toksisite yolunun karmaşıklığı göz önüne alındığında bu kimyasallarla AChE enziminin yapabileceği ekotoksikolojik etkileşimleri aydınlatmak yol gösterici olabilir. Bunun için doking, toksikofor modellemesi gibi yöntemler bu etkileşimleri anlamak, spesifik toksikolojik etki mekanizmasını anlamak üzere kullanılabilir (Cronin ve Madden, 2010).

Farmakolojik öneminden dolayı AChE üzerinde çok çalışılan bir enzimdir ve protein veri bankasında (PDB) çeşitli AChE enzimlerine ait kristal yapılar mevcuttur. *Torpedo californica* balığına ait TcAChE kristal yapısında aktif bölge 20 Å luk derinlikte gömülmüş ve yaklaşık 5Å genişliğinde TYR121 ve PHE330 amino asit kalıntılarının oluşturduğu van der Waals boğaz bölgesinden oluşmaktadır (Şekil 1.3). AChE'nin katalitik kısmı, anyonik bağlanma bölgesi (AS) ve peripheral anyonik bölge (PAS) olmak üzere iki substrat bağlanma bölgesinden oluşur. Diğer bölgeler aşağıda açıklandığı üzere esteratik bölge, açıl bağlanma bölgesi (ABS), oksianyon boşluğu (OH) başlıklarıyla listelenmiştir (Şekil 1.3) (Sussman vd., 1991).



Şekil 1.3. TcAChE enziminin aktif bölge şeması ve sembolik ester substratı (Zhou vd., 2008)

Anyonik substrat bağlanma bölgesi (AS): Kuarterner azotlarına ve *pi* elektronlarına sahip bölgeleri içeren Trp84, Glu199, ve Phe330 amino asitlerini içerir. Elektronca zengin aromatik halkaları sayesinde substratların katyonik bölgesiyle katyon-*pi* etkileşimi yaparlar.

Esteratik bölge (ES): Ser200-His440-Glu327 katalitik üçlü bölgesinin bulunduğu bölgedir (Giacobini, 2003). Bu bölgedeki Ser200 substrat veya inhibitördeki ester karbonil grubuna nükleofil olarak saldırarak kovalent bağ oluşmasını sağlar.

Açıl bağlanma bölgesi (ABS): ACh in asetil grubuna bağlanan Trp233, Phe288, Phe290 ve Phe331 amino asitlerini içeren “açıl cep” olarak bilinen bölgedir (Harel vd., 1996).

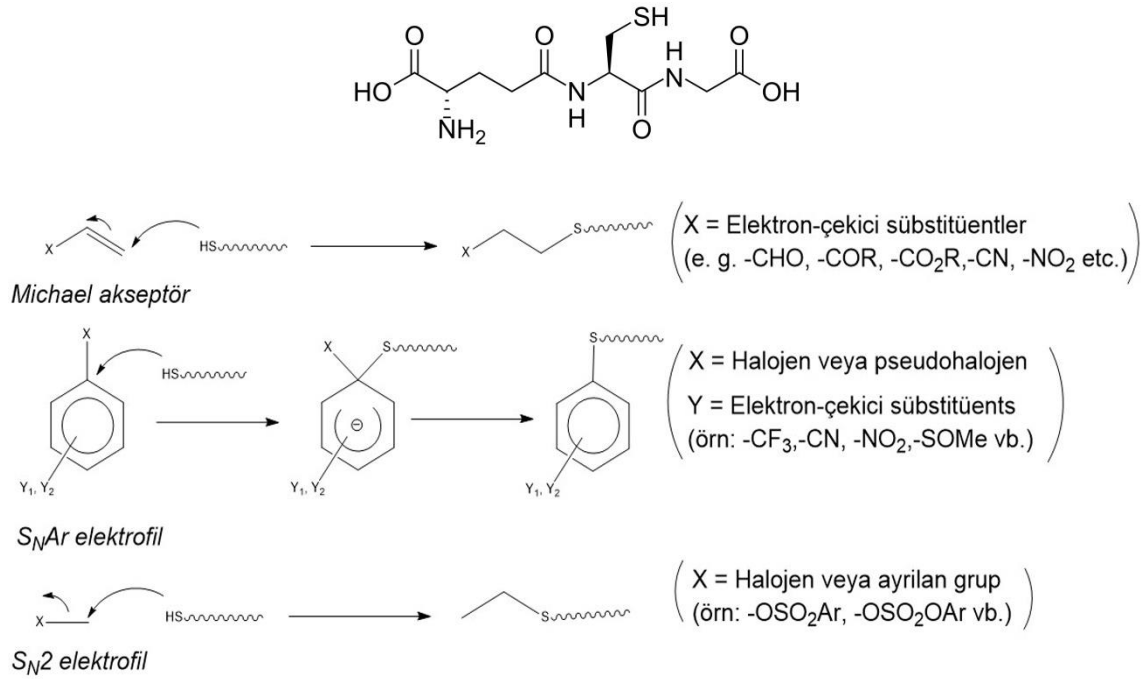
Periferal anyonik bağlanma bölgesi (PAS): Trp279, Tyr70, Tyr121, Asp72, Glu199 ve Phe290 amino asitlerinden oluşan, aynı zamanda Tacrine isimli Alzheimer ilacının bağlanma bölgesidir. Aktif bölge oyuğunun ağzında bulunur (Taylor vd., 1994). Bu bölge katalitik aktiviteyi etkileyen bölgedir. Ligandlar ilk bu bölgeye bağlanır, sonrasında aktif merkeze yönlendirilirler.

Oksianyon boşluğu (OH): Anyonik bölgenin yanında bulunan bu bölgede, ACh'in bağlanmasında etkili olduğu bilinen Gly118, Gly119 ve Ala201 amino asitleri ile açıl bağlanma bölgesindeki Trp233, Phe288, Phe290 ve Phe331 amino asitlerinin karbonil oksijenlerinin stabilizasyonundan sorumlu olduğu bölgedir. Bu bölgede geçiş durumları stabilize edilir ve aktivasyon enerjisi bariyeri azaltılır. Substrat dikey pozisyonundan yatay pozisyona döndürülerek, katalitik Ser200'ün etkisine girmesi sağlanır (Zhou vd., 2008).

1.4.2. Glutasyon-S-transferaz (GST) enzimi ve toksisite

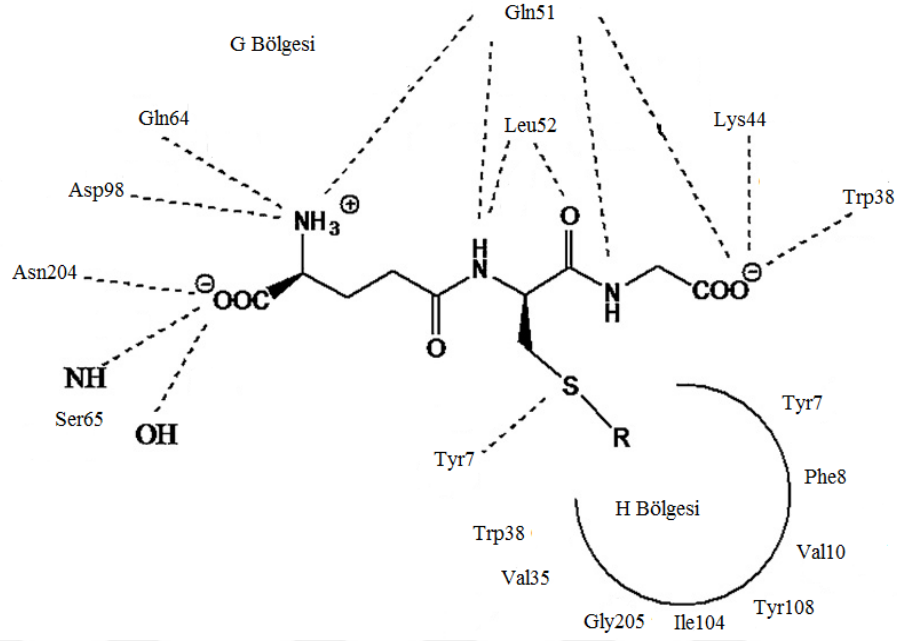
GST enzimleri potansiyel sitotoksik ve genotoksik bileşikleri inaktive edebilmesi sebebiyle zararlı karsinojik kimyasalların hücrel detoksifikasyonunda önemli bir enzimdir. Faz II detoksifikasyon enzimlerinden olan GST enzimi genel anlamda hücrenin savunma mekanizması olarak tanımlanabilir. Faz I ilaç metabolizması sonucunda oluşan karsinojenler (örn, aflatoksin B1 ve benzo(a)piren) bileşiklerinin hücrel zararlarını önlemek gibi önemli görevleri vardır. Toksik bileşik, GST enziminde yer alan glutasyon (GSH) kofaktörüne bağlanarak zararsız bir metabolit formuna dönüştürülür ve hücreden dışarı atılır (Şekil 1.4). Ayrıca çiftçilikte tarım için kullanılan pestisitler olarak bilinen dikloropentiltriokloroetan (DDT), atrazin ve parathion gibi çevresel kirlenici maddelerin detoksifikasyonunda da kullanılır. GST enzimi bunun gibi pestisitleri GSH-konjugasyonu ya da dehalojenasyon mekanizmalarıyla temizleyebilmektedir (Şekil 1.4).

Glutasyon molekülü, glutamik asit, sistein ve glisin amino asitlerinden oluşan bir tripeptittir. Sahip olduğu indirgenmiş -SH grubu sayesinde reaktif oksijen türleri (ROS) ve ksenobiyotiklerin elektrofilik fonksiyonel gruplarıyla tepkimeye girerek, bunların zararlı etkilerini azaltır ve böylece hücre savunmasında önemli görevler üstlenir. GSH molekülü GST enziminin kofaktörü olarak görev alır. Vitamin E ve C gibi önemli antioksidan bileşiklerin etkinliklerini de artırıcı özelliğe sahiptir (Allen vd., 2007).



Şekil 1.4. GSH kofaktörünün yapısı ve GSH'ın -SH grubunun ksenobiyotiklerle verdiği reaksiyonların örnekleri.

İnsan GSTPi (hGSTPi) enzimi homodimer halde bulunur. Her bir GST monomeri β -şerit ve α -heliks yapılarından oluşan N-terminal bölge ile α -heliks yapıları içeren C-terminal bölgeden oluşmaktadır (Oakley, 2011). Homodimer yapıdan oluşan GST enziminin her bir alt birimi glutasyon bağlanma bölgesi (G bölgesi) ve elektrofilik-hidrofobik substrat bağlanma bölgesinden (H bölgesi) meydana gelir (Şekil 1.5). İnsan GSTPi enziminde, TYR7, enzimatik kataliz reaksiyonlarında GSH 'ın tiyol grubunun aktivasyonundan sorumlu amino asittir (Lannutti vd., 2012). H bölgesinde bulunan amino asitler PHE9, PRO10, VAL11, VAL36, TYR104, TYR109 ve GLY206'dır (Oakley vd., 1997). Bir de ligandın bağlanma bölgesi olarak adlandırılan 3. bağlanma bölgesi (L bölgesi) olduğu düşünülmektedir. Bu bölge H bölgesinin içinde ve homodimer enzim alt birimlerinin arasına yakın bölgede olup (Balchin vd., 2010) hidrofobik ligandların bağlanma bölgesidir.



Şekil 1.5. İnsan GST enzimine ait G ve H bölgelerindeki amino asit etkileşimleri (Lannutti vd., 2012).

GST'nin kanser gelişimi ve kemoterapötik ilaçlara oluşan dirençte rol oynadığı bilinmektedir. Bu nedenle GST inhibitörleri farmakolojik öneme sahiptir. Diğer yandan, yıllardır süregelen denizlere karışmış kimyasal kirleticilerin, ilaçların vb. kimyasalların akuatik canlılara toksik etkileri endişe vericidir. Bu sebeple, deniz canlılarının AChE enzimlerinde olduğu gibi, GST enzimleri de toksisite ölçümleri için biyogösterge enzim olarak kullanılmaktadır (Cairrão vd., 2004; Gröner vd., 2015). GST glutatyon konjugasyon reaksiyonlarını katalize eden detoksifiye edici enzimdir. Ancak toksik maddelerin alımı detoksifikasyon kapasitesini ve boşaltım sistemini aşarsa, dolaşım sistemi tarafından emilebilir ve vücutta çeşitli kimyasal etkileşimlere girebilir. Böylece kanser, hormon bozulması, astım gibi solunum yolu hastalıkları, alerjiler ve aşırı duyarlılık gibi çeşitli ölümcül hastalıklarla bağlantılı sorunlar ortaya çıkabilir (Ritika vd., 2021). Sularda yaşayan canlılar için de toksik etkiler söz konusudur. Portekiz kuzeybatı kıyılarında yapılan çalışmada akuatik toksisiteyi ölçmek amacıyla *Fucus spiralis* türü dalga yosununun GST enzimi biyogösterge enzim olarak kullanılabileceğini göstermişlerdir (Cairrão vd., 2004; Gröner vd., 2015). Bir NSAID analjezik grubu olan Diclofenac ilacını kullanarak *Oreochromis niloticus* balık karaciğer enzimlerinden CYP1A ve GST enzimlerini biyogösterge olarak kullanmış, 1.27 mg/L konsantrasyona 24 saat boyunca maruz bırakıldığında CYP1A ve GST enzim

seviyelerinin belirgin şekilde düştüğünü gözlemlemişlerdir (Gröner vd., 2015). Bir fluorokinon grubu antibiyotik olan Norfloxacin *Xiphophorus helleri* balığına 168 saat boyunca çeşitli konsantrasyonlarda (0, 0.24, 1.2, ve 6 mg/L) maruz bırakılmış ve CYP1A, CYP3A ve GST enzimlerinin gen aktivitelerinin önemli ölçüde etkilendiğini görmüşlerdir (Liang vd., 2015).

Li vd., kafein ve sülfometoksazolün japon balığında, AChE aktivitesini azalttığı ve EROD (7-etoksiresorufin-O-deetilaz), GST (glutasyon-S-transferaz) ve SOD (süperoksit dismutaz) aktivitesini ise arttırdığını göstermiştir. Bu biyogöstergelerin balıklarda, farmasötik ve kişisel bakım ürünlerinin ekolojik risk değerlendirilmelerinde kullanılabileceğini göstermişlerdir (Li vd., 2012),

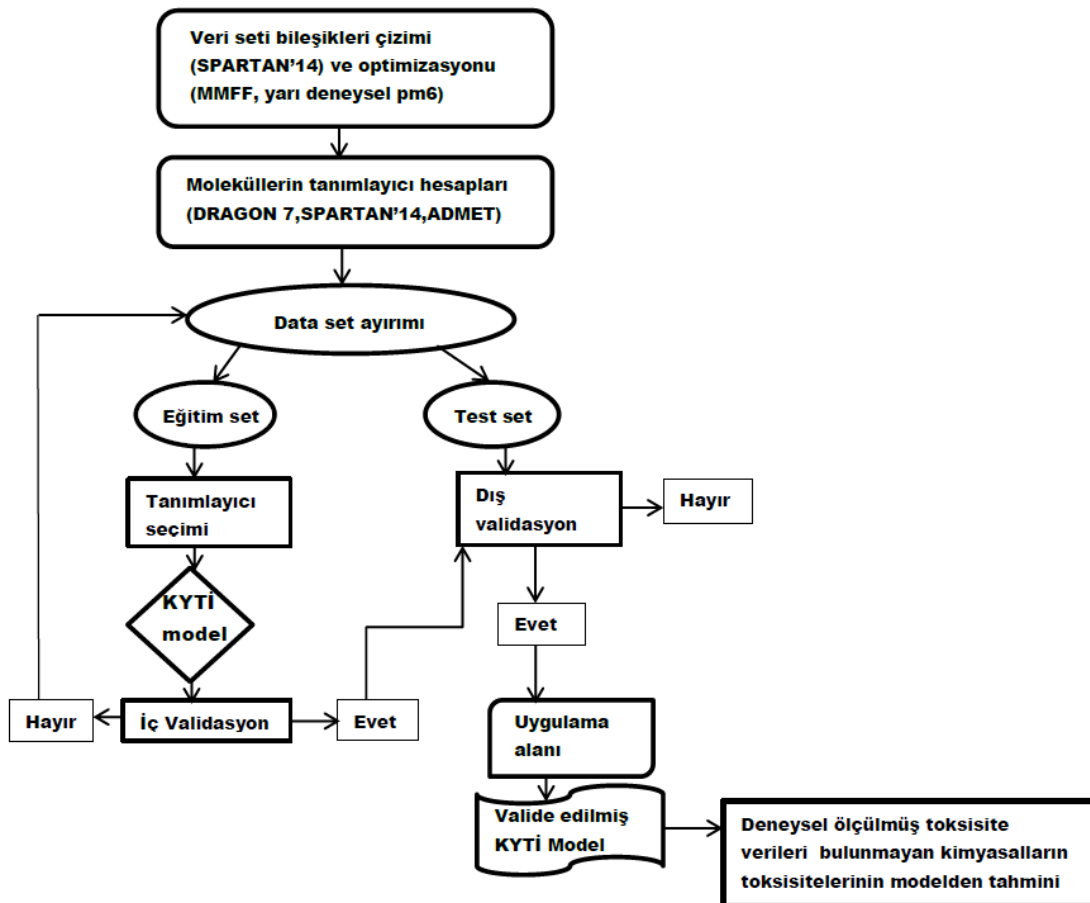
Son yıllarda kirleticilerin ve toksik bileşiklerin canlılar ve insanlar üzerinde göstereceği olumsuz etkilerin mekanizmalarını anlayabilmek için GST (Ritika vd., 2021; Mihaljević vd., 2020) ve AChE (Minovski vd., 2019; Li vd.; 2021; Li vd., 2023) enzimlerini hedefleyen moleküler doking çalışmalarına ilgi yoğunlaşmıştır.

2. MATERİYAL VE METOD

Toksik bileşikler tahmin etmek için ligand temelli ve yapı temelli olmak üzere 2 farklı genel yaklaşım kullanılmıştır. Ligand temelli yaklaşım olarak KYTİ modelleri, yapı temelli yaklaşım olarak da moleküler doking uygulanmıştır.

2.1. KYTİ Modelleri

KYTİ modelleri QSARINS 2.2.1 yazılımı (www.qsar.it) kullanılarak geliştirildi. KYTİ model geliştirme akış şeması Şekil 2.1’de verilmiş ve aşağıdaki bölümlerde açıklanmıştır. Moleküllerin yapıları optimize edilerek hesaplanan tanımlayıcılar ve ölçülmüş pT değerlerini içeren veri seti QSARINS yazılımına yüklenerek, model geliştirme hazırlık aşamasına geçilmiştir.



Şekil 2.1. KYTİ Model akış şeması.

2.1.1. Veri setinin/dış setin hazırlanması ve tanımlayıcıların hesaplanması

Kullanılacak veri seti, Sanderson vd. (2009)'den toplanan çeşitli kimyasallar ve ilaçların *Oncornycus mykiss*, *Rainbow trout*, *Torpedo californica* ve diğer balık türlerine ait LC₅₀ toksisite değerlerini (%50 öldürücü konsantrasyon, milimolar) içermektedir. Bu veri setindeki LC₅₀ değerlerinin negatif logaritması alınarak pT kısaltmasıyla (-log LC₅₀) daha önce Tuğcu vd. tarafından revize edilmiş ve 99 bileşik kullanılarak KYTİ modeli geliştirilmiştir (Tuğcu vd., 2012). Bu tez çalışmasında ise aynı veri seti tekrar düzenlenmiştir. Toksisite test protokolleri ve CAS no'ları belli olmayan kimyasallar ile balık yerine başka akuatik canlı türlerine ait toksisite verileri kullanılan kimyasallar da veri setinden çıkarılmıştır. Kalan 79 bileşik (Tablo 2.1) SPARTAN'14 (Wavefunction Inc., 2014) programı kullanılarak çizilmiştir.

Çizilen bileşiklerin konformasyonları SPARTAN'14 (Wavefunction Inc, 2014) yazılımı kullanılarak moleküler mekanik MMFF yöntemi ile tarandıktan sonra her bileşik için konformerler yarı-deneysel PM6 (Stewart, 2007) metodu ile optimize edilmiştir. Optimizasyon sonrasında bileşiklerin en düşük sulu faz enerjili konformasyonları seçilmiş ve mol.2 formatında kaydedilmiştir. Daha sonra bu yapılar, tanımlayıcı hesabı için mol.2 formatında DRAGON 7 (Kode, 2016) ve mdl.mol formatında ADMET 8.0.4.6 (Simulations Plus Inc., 2016) yazılımlarına aktarılarak, DRAGON'dan 5227 ve ADMET'ten hesaplanan 413 tanımlayıcıdan oluşan bir tanımlayıcı havuzu oluşturulmuştur. Ayrıca, bu tanımlayıcı havuzuna SPARTAN yazılımından elde edilen gaz fazı enerjisi (E), sulu faz enerjisi (E_{aq}), dipol moment (μ), en yüksek enerjili dolu moleküler orbital enerjisi (E_{HOMO}), en düşük enerjili boş moleküler orbital enerjisi (E_{LUMO}), (E_{LUMO} - E_{HOMO}) boşluğu (gap), sertlik (hardness (η =gap/2)), elektrofiliik indeksi (ω), yumuşaklık (σ), LogP, boşluk doldurmalı model CPK(alan), CPK(hacim) ve hacim/alan tanımlayıcılardan oluşan 13 tanımlayıcı da eklenmiştir (LoPachin vd., 2007). Toplamda, 5653 adet DRAGON, ADMET ve SPARTAN tanımlayıcılarından oluşan geniş bir tanımlayıcı havuzu oluşturulmuştur.

Veri seti bileşiklerinin haricinde bazı ilaçlar ve kimyasallardan oluşturduğumuz 121 bileşikten oluşan bir dış set hazırlanmış, bu bileşiklere de veri setindeki bileşiklere uygulanan yapı çizim, optimizasyon işlemleri ve tanımlayıcı hesaplamaları veri seti ile aynı şekilde yapılmıştır. Literatürde balık toksisite verileri olmayan 121 bileşik ile bir

dış set oluşturulmuş ve hazırlanan KYTİ modelleri ile bu bileşiklerin toksisite değerleri tahmin edilmiştir.

Tablo 2.1. Veri setindeki bileşiklerin no, CAS RN, isimleri ve deneysel olarak ölçülmüş 96 saatlik balık toksisite değerleri (deneysel pT = -log LC₅₀ (mM)).

No	CAS RN	İsim	Deneysel pT (mM)
1	107-98-2	1-Methoxy-2-propanol	-1.708
2	120-78-5	2,2-Dithiobisbenzothiazole	0.702
3	39263-32-6	2-Amino-5-bromobenzonitrile	0.789
4	696-23-1	2-Methyl-4(5)-nitroimidazole	-1.387
5	371-40-4	4-Fluoroaniline	1.648
6	50-78-2	Acetylsalicylic acid	0.041
7	107-02-8	Acroleine	3.545
8	59277-89-3	Acyclovir	0.375
9	5329-14-6	Amidosulfonic acid	0.14
10	50-48-6	Amitriptyline	2.551
11	57-43-2	Amobarbital	0.423
12	62-53-3	Aniline	0.944
13	100-66-3	Anisol	-0.045
14	27589-33-9	Azosemide	0.63
15	100-52-7	Benzaldehyde	1.145
16	65-85-0	Benzoic acid	-0.169
17	98-88-4	Benzoyl-chloride	1.273
18	501-53-1	Benzyl-chloroformiate	1.232
19	100-46-9	Benzylamine	0.688
20	58-08-2	Caffeine	0.349
21	154361-50-9	Capecitabine	-0.384
22	66-25-1	Capronaldehyde	0.855
23	64544-07-6	Cefuroxime axetil	0.629
24	367-21-5	Chlorfluoroaniline	0.464
25	637-07-0	Clofibrate	1.499
26	882-09-7	Clofibric acid	0.382
27	1622-61-3	Clonazepam	-0.501
28	5251-34-3	Cloprednol	1.103
29	439-14-5	Diazepam	1.351
30	111-42-2	Diethanolamine	-0.881
31	46755-94-6	Diphenylpropanediol	0.853
32	1141-88-4	Dithiodianiline	3.671
33	112-54-9	Dodecanal	1.851
34	106-89-8	Epichlorohydrine	0.482
35	91-53-2	Ethoxyquin	1.082
36	57-63-6	Ethinylestradiol	2.268
37	74-96-4	Ethyl bromide	-0.237

Tablo 2.1. (devam) Veri setindeki bileşiklerin no, CAS RN, isimleri ve deneysel olarak ölçülmüş 96 saatlik balık toksisite değerleri (deneysel pT = -log LC₅₀ (mM)).

No	CAS RN	İsim	Deneysel pT (mM)
38	104227-87-4	Famciclovir	-0.487
39	76824-35-6	Famotidine	-0.304
40	98319-26-7	Finasteride	1.27
41	79660-72-3	Fleroxacin	0.643
42	78755-81-4	Flumazenil	-0.217
43	1622-62-4	Flunitrazepam	0.572
44	111-30-8	Glutaraldehyde	0.951
45	108-31-6	Maleic anhydride	-0.185
46	2898-12-6	Medazepam	2.319
47	59-05-2	Methotrexate	0.728
48	59467-70-8	Midazolam	1.879
49	2211-28-1	Monobenzoate	2.331
50	110-91-8	Morpholine	-0.315
51	121-69-7	N,N-dimethylaniline	0.565
52	91-66-7	N,N-diethylaniline	1.386
53	22204-53-1	Naproxen	-0.386
54	54-11-5	Nicotine	1.608
55	67-20-9	Nitrofurantoin	1.377
56	59-87-0	Nitrofurazone	1.297
57	55-63-0	Nitroglycerin	1.879
58	57849-23-7	Octabase H	2.049
59	149-73-5	Orthoformic acid trimethylester	-0.6
60	103-90-2	Paracetamol	-0.398
61	61869-08-7	Paroxetine	2.217
62	76-74-4	Pentobarbital	0.66
63	50-06-6	Phenobarbital	-0.319
64	110-89-4	Piperidine	0.267
65	3282-30-2	Pivaloyl chloride	-0.396
66	123-38-6	Propionaldehyde	0.618
67	51-52-5	Propylthiouracil	0.194
68	58-14-0	Pyrimethamine	1.625
69	106266-06-2	Risperidone	1.835
70	69-72-7	Salicylic acid	0.572
71	57-85-2	Testosterone propionate	1.236
72	60-54-8	Tetracycline	0.305
73	119-64-2	Tetralin	0.799
74	58-55-9	Theophylline	-0.373
75	76-75-5	Thiopental	0.966
76	134308-13-7	Tolcapone milled	2.261
77	10161-34-9	Trenbolone acetate	2.319
78	3380-34-5	Triclosan	3.047
79	935-92-2	Trimethylquinone	2.177

2.1.2. Model oluşturma alışmaları

KYTİ modelleri geliştirme aşamasında eēitim set bileşikleriyle çoklu doērusal regresyon modelleri (MLR) kurmak için çeşitli denemeler yapılmıştır. Öncelikle veri setindeki 79 bileşik eēitim ve test set bileşikleri olarak ayrılmıştır. Çok sayıda, yanıtı (deneysel llm taksisite deēerleri) göre, molekül yapısına göre ve rastgele ayırım seçenekleri denenmiştir. Bu ayırım eēitim/test oranı 80/20% olacak şekilde QSARINS yazılımı kullanılarak yapılmıştır.

Model geliştirmek aşamasında anlamlı tanımlayıcıları seçmek için QSARINS yazılımında bulunan ‘‘all subsets’’ ve ‘‘Genetik algoritma’’ seçenekleri kullanılmıştır (Gramatica vd., 2013; Gramatica vd., 2014, www.qsar.it).

QSARINS yazılımında yer alan ‘‘excluding semi-constant descriptors (> 80%) ve highly intercorrelated descriptors (>95%)’’ seçenekleri işaretlenerek deēerleri sabite yakın/deēiřmeyen tanımlayıcılar ve birbiriyle korelasyon gösteren tanımlayıcılar elenerek denemeler yapılmış, tanımlayıcı filtrasyonu ile anlamlı ve iyi ilişki veren tanımlayıcıların yanına yeni anlamlı tanımlayıcılar bulmak için genetik algoritmanın yanı sıra ‘‘hold model and add one more variable’’ seeneēi de kullanılmıştır.

Hazırlanan MLR modellerinin OECD prensiplerine göre uyum derecesi, saēlamlıēı ve tahmin gücü test edilmelidir. Bu nedenle i ve dış validasyonlar ařaēıda aıklandıēı gibi yapılmıştır.

2.1.3. Modellerin validasyon parametreleri

2.1.3.1. İ validasyon

Geliştirilen modelin istatistiksel olarak kalitesinin deēerlendirilmesi, modelin saēlamlıēını gvenilirliēini ölçmek için çeşitli kriterler kullanılır. Belirleme katsayısı R^2 , modelden tahmin edilen deēerlerle, deneysel llm deēerlerin arasındaki uyumu gösterir ve Denklem 2.1’deki formüle göre hesaplanır (Chirico ve Gramatica, 2011).

Denklemde y_i i bileřiēine ait deneysel llm taksisite deēerini, $\hat{y}_i$ i bileřiēinin modelden tahmin edilmiş taksisite deēerini, $\bar{y}$ deneysel llm taksisite deēerlerinin ortalamasını gösterir. Golbraikh ve Tropsha kriterlerine göre $R^2 > 0.60$ olması modelin genellikle geçerli olduēunu gösterir (Golbraikh ve Tropsha, 2002). R^2 deēeri eklenen

bileşik sayısına göre artış gösterir. Bu sebeple R^2 değerinin 0.6 dan büyük olması tek başına yeterli bir kriter değildir Bu sebeple bu artışın gerçekten modelin sağlamlığı ile arttığı ya da bu artışın anlamsız matematiksel bir artış mı olduğunu anlamak için bir diğer parametre de düzeltilmiş belirleme katsayısı (R^2_{adj}) değeridir. Bu değerlerin birbirine paralel çıkması modelin sağlamlığını gösterir.

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2} \quad (2.1)$$

Aynı zamanda bu anlamsız korelasyonu önlemek için Topliss oranına dikkat edilmesi gerekir. Buna göre eğitim setindeki veri sayısının tanımlayıcı sayısına oranı 5 ya da üzerinde olmalıdır (Dearden vd., 2009; Chirico ve Gramatica, 2011; Gramatica vd., 2013).

Modelin sağlamlığını test etmek için Q^2_{LOO} (Q^2) ve Q^2_{LMO} çapraz validasyon parametrelerinden de yararlanılır. Q^2_{LOO} değeri hesaplanırken eğitim setinden her seferinde 1 veri atılarak korelasyon katsayısı yeniden hesaplanır. Q^2_{LMO} hesaplanırken de birden fazla veri dışarıya atılarak model test edilir. Eğitim setinden atılan verilerle Q^2 katsayısındaki değişimin test edilmesiyle modelin hassasiyeti ve sağlamlığı test edilmiş olur.

Q^2_{LOO} (Q^2) Denklem 2.2 ile hesaplanır.

Denklemden y_i eğitim setinden atılan i verisinin deneysel olarak ölçülmüş toksisite değeri $\hat{y}_i$ modelden tahmin edilmiş toksisite değerini gösterir. $\bar{y}$ ise deneysel olarak ölçülmüş toksisite değerlerinin ortalamasını gösterir.

Q^2 değerinin 0.5 ten büyük olması modelin sağlamlığını gösterir. (Golbraikh ve Tropsha, 2002).

$$Q^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2} \quad (2.2)$$

Bir KYTİ modelinin güvenilirliğini belirlemeye yarayan bir başka kriter ise Y-karıştırma yanıt randomizasyon prosedürüdür. Burada deneysel ölçülmüş toksisite değerleriyle tanımlayıcı değerleri arasında olası şans korelasyonu olup olmadığı test edilir. Bunun için eğitim setine ait verilerin deneysel ölçülmüş toksisite değerleri ile onlara ait olan tanımlayıcı değerleri karıştırılır. Buradaki tanımlayıcı değerlerinin tümü kendisine ait olan deneysel toksisite değerleriyle eşleşmeyecek şekilde karıştırılmış olur. Bu işlem

sürekli tekrar edilerek $R^2_{Y_{scr}}$ ve $Q^2_{Y_{scr}}$ değerleri hesaplanır. Bu değerlerin küçük değerler olması geliştirilen modelin şans korelasyonu olmadığını gösterir (Gramatica, 2007).

Deneysel ölçülmüş toksisite değerleri ile modelden tahmin edilen toksisite değerleri arasında ortalama sapma değerini belirleyen istatistiksel parametre ise $RMSE$ ile gösterilen standart hata karelerinin ortalamalarının kareköküdür (Denklem 2.3). Hem test ($RMSE_{Test}$) hem de eğitim set ($RMSE_{Tr}$) için ayrı ayrı hesaplanan bu değerlerin düşük olması modelin tahmin gücünün iyi olduğunu gösterir (Chirico ve Gramatica, 2011). Denklemde y_i i bileşiğine ait deneysel ölçülmüş toksisite değeri, $\hat{y}$ ise modelden tahmin edilmiş toksisite değerini, n ise eğitim set bileşik sayısını gösterir.

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y})^2}{n}} \quad (2.3)$$

2.1.3.2. Dış Validasyon

Modellerin dış validasyonu için QSARINS yazılımında mevcut olan çeşitli kriterler değerlendirilmiştir. Bunlar, test set için korelasyon katsayısının karesi (R^2_{Test}), tahmin korelasyon katsayılarının kareleri (Q^2_{F1} , Q^2_{F2} , Q^2_{F3}), uyum korelasyon katsayısı (CCC_{Test}), r^2_m ve Δr^2_m gibi istatistiksel parametrelerle model valide edilmiştir.

Shi vd. modelin tahmin gücü için dış validasyon kriteri olarak Q^2_{F1} validasyon parametresini geliştirmiştir (Shi vd., 2001) (Denklem 2.4). Daha sonra Schüürmann vd., Q^2_{F1} parametresini geliştirirerek modelin tahmin performansını daha iyi ölçmek için Q^2_{F2} parametresini geliştirmiştir (Denklem 2.5). Bunun için Q^2_{F1} denkleminin paydasında i bileşiğinin deneysel ölçülmüş toksisite değeri (y_i) ile i bileşiğinin eğitim setine ait deneysel ölçülmüş toksisite ortalama değerinin ($\bar{y}_{tr}$) farkının karesi yerine; i bileşiğine ait deneysel ölçülmüş toksisite değeri ile test set bileşiklerinin ortalamasının farkının karesini kullanmıştır (Schüürmann vd., 2008). Consonni vd. tarafından geliştirilen Q^2_{F3} denklemi (Denklem 2.6) ile Q^2_{F1} ve Q^2_{F2} validasyon kriterlerini daha da iyileştirmişlerdir (Consonni vd., 2009). Sırası ile n_{Test} ve n_{Tr} test ve eğitim set kimyasallarının sayısını gösterir. Bu üç değer (Q^2_{F1} , Q^2_{F2} , Q^2_{F3}) 0.6'dan büyük değerler olması modelin tahmin gücünün iyi olduğunu gösterir (Chirico ve Gramatica, 2011).

$$Q_{F1}^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^{n_{test}} (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^{n_{test}} (y_i - \bar{y}_{tr})^2} \quad (2.4)$$

$$Q_{F2}^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^{n_{test}} (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^{n_{test}} (y_i - \bar{y}_{test})^2} \quad (2.5)$$

$$Q_{F3}^2 = 1 - \frac{[\sum_{i=1}^{n_{test}} (y_i - \hat{y}_i)^2] / n_{test}}{[\sum_{i=1}^{n_{tr}} (y_i - \bar{y}_{tr})^2] / n_{tr}} \quad (2.6)$$

y_i : i bileşiğinin deneysel ölçülmüş toksisite değeri

$\hat{y}_i$: i bileşiğinin modelden tahmin edilmiş toksisite değeri

$\bar{y}_{tr}$: eğitim setinin deneysel ölçülmüş toksisite değerlerinin ortalaması

$\bar{y}_{test}$: test setinin deneysel ölçülmüş değerlerinin ortalaması

n_{tr} : eğitim setindeki bileşik sayısı

n_{test} : test setteki bileşik sayısı

Uyum korelasyon katsayısı (CCC) Lin (1989; 1992) tarafından önerilmiş, daha sonra Chirico ve Gramatica tarafından geliştirilmiş (Chirico ve Gramatica, 2011; Chirico ve Gramatica, 2012) ve Denklem 2.8 ile son halini almıştır. Burada $\hat{y}$ tahmin edilen toksisite değerlerinin ortalamasıdır. Chirico ve Gramatica, iyi ve kabul edilebilir bir modelin CCC_{Test} değerinin 0.85'ten büyük olması gerektiğini söylemişlerdir (Chirico ve Gramatica, 2011). CCC değeri hem eğitim (CCC_{Tr}) hem de test set (CCC_{Test}) için kullanılan validasyon parametreleridir.

$$CCC = \frac{2 \sum_{i=1}^{n_{test}} (y_i - \bar{y})(\hat{y}_i - \bar{\hat{y}})}{\sum_{i=1}^{n_{test}} (y_i - \bar{y})^2 + \sum_{i=1}^{n_{test}} (\hat{y}_i - \bar{\hat{y}})^2 + n_{test} (\bar{y} - \bar{\hat{y}})^2} \quad (2.8)$$

Geliştirilen modellerin performansını değerlendirmek için kullanılan bir diğer kriter de $r_{maverage}^2$ ve Δr_m^2 dir. r^2 , test set için belirleme katsayısıdır. Denklem 2.9 ile hesaplanır. r_0^2 , r^2 değerinin merkezden geçen değeridir. r_m^2 x ekseninde deneysel ölçülmüş toksisite değerine karşılık y ekseninde tahmin edilen toksisitenin belirleme katsayısıdır. Bir modelin kabul görmesi için gereken eşik değerler $r_m^2 > 0.50$ ve $\Delta r_m^2 < 0.20$ olduğu durumlardır (Ojha vd., 2011).

$$r_m^2 = r^2 \left(1 - \sqrt{r^2 - r_0^2} \right) \text{ ve } \Delta r_m^2 = |r_m^2 - r_m'^2| \quad (2.9)$$

Güvenilir modeller oluşturmak için bir diğer test yönteminde ise Golbraikh ve Tropsha kriterleri uyumuna bakılır (Golbraikh ve Tropsha, 2002). Bu kriterler şöyledir;

- I. $(R^2 - R_0^2)/R^2 < 0.1$ ve $0.85 \leq k \leq 1.15$
- II. $(R^2 - R_0'^2)/R^2 < 0.1$ ve $0.1 \leq k' \leq 1.15$
- III. $|R_0^2 - R_0'^2| < 0.3$

R^2 (modelden tahmin edilen toksisite değerine karşılık deneysel ölçülmüş toksisite değeri grafiğinden elde edilmiş korelasyon katsayısı) ve R'^2 (deneysel ölçülmüş toksisite değerine karşılık tahmin edilen toksisite değerleri grafiğinden elde edilmiş korelasyon katsayısını gösterir.

R_0^2 tahmin edilen değere karşı gözlenen korelasyon katsayısının karesi ve k “0” dan geçen regresyon eğrisinin eğimi.

$R_0'^2$ ise deneysel ölçülmüş toksisite değerine karşı modelden tahmin edilmiş korelasyon katsayısının karesi ve k' “0” dan geçen regresyon eğrisinin eğimi.

Ek olarak modellerin kalitesi için *MAE* (ortalama mutlak hata) kriteri (Denklem 2.10) kullanılarak test set tahminleri açısından ‘iyi’, ‘orta’ veya ‘kötü’ olarak test edilmiştir (Roy vd., 2016). MAE_{Test} , $n_{Test} > 10$ olduğunda test verilerinin %95 i üzerinden hesaplanan ortalama mutlak hatadır. Aşağıdaki koşullar sağlandığında modelin tahmin gücü “iyi” kabul edilir.

$$MAE = 1/n \sum |Y_{deneysel} - Y_{tahmin\ edilen}| \quad (2.10)$$

İyi tahmin için,

$MAE_{Test} \leq 0.1 \times \text{“eğitim set aralığı”}$ ve $MAE_{Test} + 3 \times \sigma \leq 0.2 \times \text{“eğitim set aralığı”}$ şartlarının olması gerekir. Burada σ test setin mutlak hata değerlerinin standart sapmasıdır. *MAE* kriteri için “XternalValidation Plus” (Roy vd., 2016) online yazılımı kullanılmıştır.

2.1.3.3. Uygulama alanının belirlenmesi

Geliştirilen modelin geçerli olabilmesi için bir diğer validasyon kriteri ise uygulanabilirlik alanının belirlenmesidir. Burada geliştirilen modelde yer alan bileşiklerin yapı türleri ve en düşük ve en yüksek sonuç değerlerine göre bir tahmin

aralığı oluşturulur. Bu çalışmada geliştirilen modellerin uygulama alanının belirlenmesi için kaldırıcı yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde yanıt (sonuç) değişkenlerine ait standardize edilmiş artık değerlerine karşılık çizilen kaldırıcı (şapka) değerleri (h) grafiğinden faydalanılır.

Kaldırıcı yöntemi ya da şapka değerleri olarak isimlendirilen parametre aşağıdaki Denklem 2.11 formülü hesaplanır.

$$H_i = X_i^T (X^T X)^{-1} X_i \quad (2.11)$$

Bu formülde X eğitim setindeki tanımlayıcılarından oluşan tanımlayıcı matriks, X_i bileşiğin tanımlayıcı vektörü, X^T ise X değerinin transpose matriksidir (Gramatica, 2007).

Uygulama alanının sınırlarını çizmeye yarayan kritik şapka değeri (h^*) Denklem 2.12 ile hesaplanır. Burada p denklemdeki tanımlayıcı sayısını, n ise eğitim setini oluşturan bileşiklerin sayısını gösterir.

$$h^* = 3(p+1)/n \quad (2.12)$$

Veri setindeki kimyasalların yapısı kaldırıcı etkisine sebep olur. Bir molekülün modelin eğitim setinin merkezinden uzaklığı kaldırıcı olarak tanımlanır. Modeldeki bir bileşiğin şapka değeri (h) kritik şapka olarak bulunmuş değerinden (h^*) büyükse o bileşik yüksek kaldırıcı bileşik olarak tanımlanır. Yüksek kaldırıcı bileşiklerden tahmin edilen toksisite değerleri deneysel olarak ölçülmüş toksisite değerlerine yakın olan bileşiklerin eğitim setinde bulunması modeli güçlendiren bir etkidir (İyi kaldırıcı) (Gramatica, 2007). Kritik şapka değerinin dışında kalan yapılar yapısal olarak veri setini oluşturan bileşiklerin yapılarından farklı olan bileşiklerdir ve yapısal aykırı değer olarak tanımlanır (Gramatica, 2007).

Modelin uygulama alanını belirlemede Williams grafiğinden faydalanılır. Bileşiklerin kaldırıcı değerlerine karşı standart artık değerleri ile çizilen grafikte, kritik şapka değeri (h^*) dikey olarak kesikli çizgiyle ayrıca gösterilir. Grafiğin dışında kalan bileşikler yapısal ya da yanıt aykırı değer olarak belirlenir. Bir diğer uygulama alanını belirleme yöntemi için Insubria grafiğinden faydalanılır. Tahmin edilmiş toksisite değerlerine karşı şapka değerleri grafiği ile çizilen Insubria grafiğinin sınırları içindeki bileşikler modelin uygulama alanının içinde kalan bileşiklerdir. (Gramatica vd. 2013; Gramatica

vd., 2014). Burada şapka değeri (h) kritik şapka değerinden (h^*) büyük bulunan bileşik modelin yapısal uygulama alanının dışında kalmıştır. Eğitim setindeki tahmin edilen en düşük ve en yüksek aktivite/toksisite değerleri aralığının dışında kalan bileşikler ise yanıt aykırı değer olarak belirlenir.

Bu çalışmada yanıt (sonuç) standardize edilmiş artık değerleri Williams grafiğinde ± 3 ya da ± 2.5 aralıklarında yatay kesikli çizgilerle genişletilmiş, bileşiklerin bu alanın içinde yer alıp almadığına bakılmıştır. Alanın dışında kalan bileşikler yanıt-aykırı değer (response outlier) olarak belirlenmiştir. Doğrusal modellerde uygulama alanı analizi için kullanılan bir yöntem kaldıraç yöntemidir (OECD, 2007). Uygulanabilirlik alanı için farklı metotlar kullanılmaktadır. Örneğin, öklid uzaklığı ile uygulanabilirlik alanının tanımlanması bu metotlardan biridir (Minovski vd., 2013).

Deneysel verisi olmayan dış set kimyasalları için de kaldıraç değerlerine karşı çizilen tahmin değerleri grafiğinden elde edilen toksisitelerin Insubria grafikleri (Gramatica vd., 2013; Gramatica vd., 2014) kullanılmıştır. Geliştirilen modellerin Insubria grafikleri modellerin eğitim setindeki bileşiklerin toksisitelerinin tahmin aralığını temsil eden yatay kesikli çizgilerle ve tanımlayıcı aralığını belirleyen kritik kaldıraç (h^*) değerinin arasında kalan dikdörtgen alanı göstermektedir. Bu alanın içinde kalan dış setteki kimyasalların değerleri güvenilir olarak değerlendirilmektedir.

Yapı temelli yaklaşımları kullanabilmek için kullanılacak organizmaya ait hedef enzimin 3 boyutlu X-ray yapısının bilinmesi gerekmektedir. Bu çalışmada kullanacağımız hedef enzimlerden biri asetilkolinesteraz (AChE) enzimidir. AChE ye ait *Torpedo californica* balığına ait pdb yapısı mevcuttur. Kullandığımız bir diğer hedef enzim glutatyon-S-transferaz (GST) enzimidir. GST enziminin insana ve diğer bazı organizmalara ait pdb yapısı olup balığa ait enzim pdb yapısı bulunmadığından balığa ait enzim homoloji modellemeyle tasarlanmıştır.

2.2. Moleküler Doking

Ligand-protein moleküler kenetlenmesi, ligandların enzimlerin aktif bölgelerine bağlanırken tercih ettikleri yönelim ve konformasyonlarını tahmin eden en yaygın hesaplama tekniğidir. Skorlama fonksiyonları, enzim bağlanma bölgesine en iyi kilit-anahtar uyumunu gösteren ligand konformasyonunu tespit etmek için kullanılır. Bu şekilde elde edilen docking skorları, ligandların hedef enzime karşı bağlanma afinitelerinin göstergesidir. Doklama sonucunda, elde edilen enzim-ligand kompleksinin stabilitesinden sorumlu moleküller arası bağlanma etkileşimlerinin analiz edilmesi, bağlanma mekanizması hakkında önemli bilgiler sağlar. Bununla birlikte, moleküler docking yönteminin bazı sınırlamalarından dolayı sonuçları deneysel sonuçlarla her zaman uyumlu değildir (Yelekçi ve Erdem, 2023). Moleküler docking yönteminin en önemli kısıtlaması enzim-ligand kompleksinin tüm dinamik hareketini tanımlayamaması yalnızca statik bir durumu göstermesidir. Bu tez çalışmasında, ligand esnekliğinin yanında enzimdeki kritik aminoasit yan zincirlerinin dinamiğini de göz önüne alan “esnek ligand-kısmi esnek enzim” docking yöntemi uygulanmıştır.

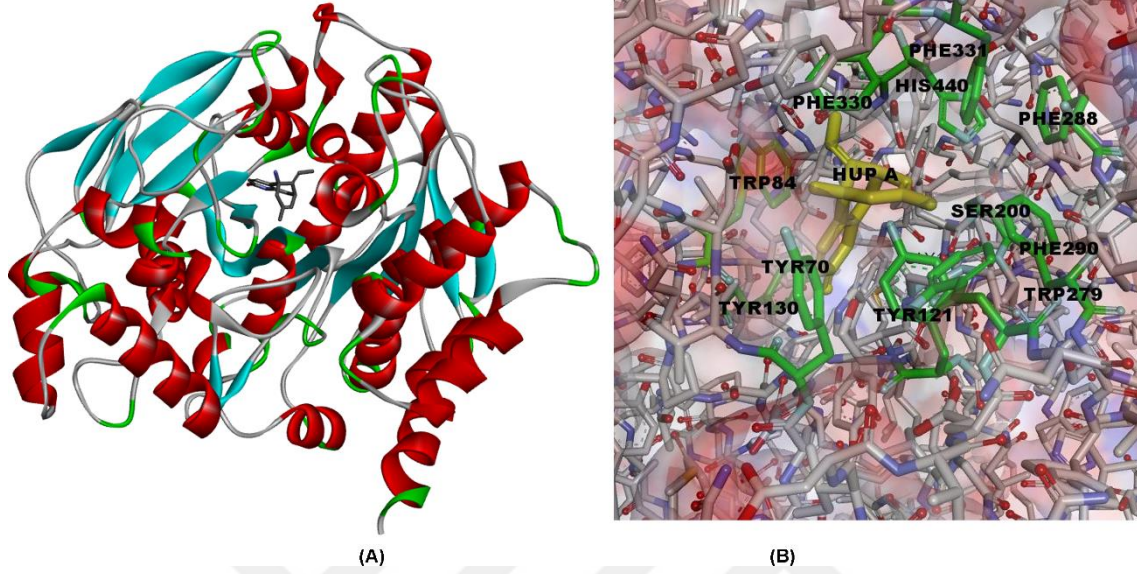
2.2.1. AChE docking

Torpedo californica (TcAChE) balığına ait (PDB kodu: 1VOT, çözünürlük: 2.5 Å) Huperzine A ligandıyla kristallendirilmiş enzim X-Ray pdb yapısı kullanıldı. Enzimin docking işlemine hazır hale getirilmesi aşamasında aşağıdaki işlemler, Autodock Tools 1.5.6 (Morris vd., 2009) yazılımı ile gerçekleştirildi.

- Ligandıyla kristallendirilmiş enzimden ligandı ve tüm su molekülleri silindi.
- Grid box x, y, z boyutları sırasıyla 40 x 40 x 40 Å, merkezi koordinatları 4.465, 67.028, 63.953 Å, olacak şekilde hazırlandı.
- Esnek docking aşamasında, aktif bölge amino asit kalıntılarından TYR121, TYR130, TRP84, PHE290, PHE330 ve PHE331 esnek olarak tutuldu.
- Boş enzimde gereken düzenlemeler yapıldıktan sonra pdbqt formatına çevrilerek kaydedildi.

Rijid ve esnek docking çalışmaları için enzim ve ligandların hazırlanması Autodock Tools (Morris vd., 2009) ile gerçekleştirildi. Docking işlemi Autodock Vina (Trott ve Olson, 2010) yazılımı kullanılarak yapılmıştır. Docking sonucunda ligandların enzimle

bağlanma modlarının incelenmesi aşamasında Discovery Studio 4.0 (Accelrys Software Inc., 2013) yazılımı kullanılmıştır. Doking işlemi için kullanılan AChE yapısı ve aktif bölgesi Şekil 2.2. de verilmiştir.



Şekil 2.2. (A) AChE-Huperzine A(gri) kompleksine ait kristal yapı (pdb:1VOT) (B) 1VOT enziminin aktif bölgesindeki bazı önemli amino asitler (yeşil) ile Huperzine A (sarı).

Doking işleminin validasyonu için RMSD (Root mean square deviation) yöntemi kullanılmıştır. Bunun için boş enzim kendi kristal yapı ligandıyla dok edilmiştir. Daha sonra enzimin X-Ray yapısındaki ligandın koordinatlarıyla, dok edilmiş halinin koordinatları birbiriyle karşılaştırılıp, $RMSD < 2$ koşulu kontrol edildi.

2.2.2. GST doking

Diğer bir toksisite biyomarker enzimi olarak bilinen glutatyon-S-transferaz (GST) enzimiyle de doking planlanmıştır. Ancak pdb bankasındaki (Berman vd., 2000) GST enzimleri taratıldığında balığa ait üç boyutlu kristal GST yapısının olmadığı görüldü. Bu sebeple homoloji modelleme yöntemiyle balık GST enziminin 3-boyutlu yapısı modellenmiştir. Bunun için öncelikle balığa ait iki boyutlu protein dizilimini gösteren aminoasit sekansı arandı. 3-boyutlu kristal yapısı bilinmeyen balık türüne (*Danio Rerio*) ait GST pi enziminin aminoasit referans sekansı (refseq) NCBI veri bankasında aratıldı.

- Referans sekansa benzer kalıp enzim NCBI blastp (Altschul vd., 1997) yazılımı ile bulundu.

- Uygun kalıp enzim bulunduktan sonra SWISS-MODEL (Waterhouse vd., 2018) online yazılımında enzim modelleme aşamasına geçildi
- Daha sonra modellenen enzimin uygunluğu incelendikten sonra Gromacs programı kullanılarak minimize edildi.
- Minimize edilen enzimin QMEANDisCo (Studer vd., 2020) programı ile validasyonu yapıldı.
- Minimizasyon işlemi sonrasında modellenen enzimle kalıp enzim RMSD sonucu için ICM Molsoft Browser (www.molsoft.com) kullanıldı.
- Veri setindeki ve dış setteki bileşiklerle esnek doking çalışmaları yapıldı. Bunun için aşağıdaki işlemler, Autodock Tools 1.5.6 (Morris vd. 2009) yazılımı ile gerçekleştirildi.
- Grid box x, y, z boyutları sırasıyla 45 x 40 x 55 Å, merkezi koordinatları 65.990, 59.822, 48.638 Å, olacak şekilde hazırlandı.
- Esnek doking aşamasında, aktif bölge amino asit kalıntılarından TYR8, PHE9, TYR109, ILE105 esnek olarak tutuldu.
- Doking sonrasında enzimin ligandlarla bağlanma afiniteleri Discovery Studio 4.0. (Accelrys Software Inc., 2013) da incelendi.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Liganda Dayalı Geliştirilen Toksisite Modelleri

Liganda dayalı model olarak 4 adet MLR modeli geliştirilmiştir. Modeller kendisini oluşturan tanımlayıcılara göre adlandırılmışlardır. Sadece DRAGON tanımlayıcılarını içeren model $MLR_{[D]}$, DRAGON ve SPARTAN tanımlayıcılarını içeren model $MLR_{[DS]}$, DRAGON, SPARTAN ve ADMET tanımlayıcılarını içeren $MLR_{[DSA]}$ ve sadece ADMET tanımlayıcılarını içeren model $MLR_{[A]}$ olarak adlandırılmıştır.

3.1.1. DRAGON Modeli ($MLR_{[D]}$)

Geliştirilen diğer üç KYTİ modelinden farklı olarak, $MLR_{[D]}$ modelinde veri setindeki 79 bileşiğe Tropsha, (2010) tarafından belirlenen kural uygulanmıştır. Buna göre veri setindeki 5 kimyasalın toksisite değerlerine en yakın olan bileşiklerin (bileşik no: 1, 4, 7, 30, 32) toksisite değerleri ile aralarında %10 ila %15 oranında farklılık gösterdiği tespit edilmiş ve ön deneme olarak veri setinden çıkarılmıştır. Kalan 74 bileşik eğitim ve test set olmak üzere ikiye ayrılarak modelleme çalışmaları yapılmıştır. Elde edilen modellerden DRAGON tanımlayıcılarından oluşan en iyi model $MLR_{[D]}$ olarak adlandırılmıştır. Bu model 8 tanımlayıcı içermektedir ve detaylar aşağıda (Denklem 3.1) verilmiştir.

$$pT = 0.3864 (\pm 0.1485) - 0.7612 (\pm 0.2504) \text{VE2sign_L} + 0.8793 (\pm 0.3143) \text{MATSi} + 0.1352 (\pm 0.0575) \text{GATS6s} - 0.5269 (\pm 0.1521) \text{CATS2D_03_NL} - 2.0570 (\pm 0.3694) \text{B04[N-Cl]} + 1.1877 (\pm 0.2948) \text{B06[N-N]} + 0.0911 (\pm 0.0134) \text{MLOGP2} + 0.7065 (\pm 0.3038) \text{Mor17m} \quad (3.1)$$

Modeldeki tüm tanımlayıcılar ve tanımları Tablo 3.1. de görülmektedir. İlk doğrusal DRAGON modelinde yer alan 8 tanımlayıcıdan, MATSi, GATS6s, B06[N-N], MLOGP2 ve Mor17m tanımlayıcıları pozitif katkıda bulunmuştur. Bu tanımlayıcıların değeri ile toksisite değeri doğru orantılı şekilde artmaktadır. VE2sign_L, CATS2D_03_NL ve B04[N-Cl] tanımlayıcıları negatif katkıda bulunmuştur. CATS2D_03_NL tanımlayıcısı 3 uzaklıkta negatif lipofilik değeri tanımlayan CATS2D tanımlayıcısıdır. Lipofiliklik reaktiflikle ters orantılıdır. Negatif lipofiliklik ise reaktiviteyi temsil edip, veri setindeki ilaç ve kimyasalların suda reaktif olup toksisiteye

sebepe olduğunu gösterir denebilir. Yakın tarihte, içerisinde CATS2D_03_NL tanımlayıcısı da bulunan moleküler hidrofobikliği temsil eden yeni bir tanımlayıcı geliştirmiştir (Yu, 2020). Bu tanımlayıcı kullanarak Pseudokirchneriella subcapitata, balığına ait KYTİ modeli geliştirilmiş ve organik bileşiklerin balık toksisitesine etkisi açıklanmıştır.

Tablo 3.1. MLR_[D] modeline ait tanımlayıcılar, sınıfları ve tanımları.

MLR _[D]		Modeli
Tanımlayıcılar	Sınıf	Tanım
DRAGON 7 tanımlayıcıları		
VE2sign_L	2D matriks-tabanlı tanımlayıcıları	Laplace matriksten elde edilen son özvektörün ortalama katsayısı
MATS1i	2D otokorelasyon	İyonizasyon potansiyeli ile ağırlıklandırılmış lag1 in Moran otokorelasyonu
GATS6s	2D otokorelasyon	I halinde ağırlıklandırılmış Geary otokorelasyonu
B04[N-C]	2D atom çiftleri	Topolojik 4 uzaklığındaki N-C nin varlığı/yokluğu
B06[N-N]	2D atom çiftleri	Topolojik 4 uzaklığındaki N-Nnin varlığı/yokluğu
CATS2D_03_NL	CATS 2D	Lag 03 teki negative lipofillik
Mor 17m	3D-MoRSE tanımlayıcıları	Kütle ile ağırlıklandırılmış sinyal 32
MLOGP2	Moleküler özellikler	Moriguchi Oktanol-su dağılım katsayısının karesi (logP ²)

Modele en büyük pozitif katkıda bulunan B06[N-N] tanımlayıcısı 6 topolojik uzaklıkta N-N varlığı/yokluğu 2 boyutlu atom çiftleri sınıfından tanımlayıcıdır. Kimyasalların N-N bağ sayılarının artmasıyla akuatik toksisitesinin artışı doğru orantılıdır. İkinci en büyük katkıda bulunan MATS1i tanımlayıcısı ise iyonizasyon potansiyeli ile ağırlıklandırılmış lag1 Moran 2 boyutlu otokorelasyon tanımlayıcısıdır. Kimyasalların

iyonizasyon potansiyelleri ne kadar fazla ise o kadar akut toksisiteye sebep olduğu söylenebilir.

MLR_[D] modelinin tüm iç ve dış validasyon parametreleri Tablo 3.2 de verilmiştir. Modelin R^2 ve R^2_{adj} değerleri sırasıyla 0.7060 ve 0.6608 dir. Q^2_{LOO} (0.6378) değerinin R^2 ile yakın olması modelin sağlamlığını göstermektedir. Y-karıştırma yanıt randomizasyon testleri sonucunda (2000 kez karıştırma ile) R^2_{Yscr} ve Q^2_{Yscr} değerlerinin sırasıyla düşük katsayılara sahip olması (0.1334 ve -0.2283) şans korrelasyonu olmadığını gösterir. Yüksek R^2_{Test} (0.7458) ve düşük $RMSE_{Test}$ (0.4148) değerleri modelin tahmin gücünün iyi olduğunu göstermektedir. MLR_[D] modelinin diğer dış validasyon parametreleri r^2_m ve CCC_{Test} literatür eşik değerinin üzerindedir. Q^2_{F1} , Q^2_{F2} ve Q^2_{F3} değerleri literatür eşik değeri (0.70) üzerindedir. Q^2_{F1} , Q^2_{F2} değerlerinin yakın değerler (0.7476, 0.7426) olması eğitim ve test setindeki bileşiklerin deneysel ölçülmüş toksisite değerlerinin homojen olduğunu gösterir.

Deneysel pT değerlerine karşı MLR_[D] modeli ile tahmin edilen pT değerleri grafiği Şekil 3.1’de verilmiştir. Bu grafikte hem veri seti hem de eğitim setindeki bileşiklerin ölçülmüş ve modelden tahmin edilmiş toksisite değerlerinin merkezden geçen eğilim çizgisi boyunca homojen dağılımlı olması, deneysel ölçülmüş toksisite değerleri ile modelden tahmin edilmiş toksisite değerlerinin birbiriyle uyumlu olduğunu gösterir.

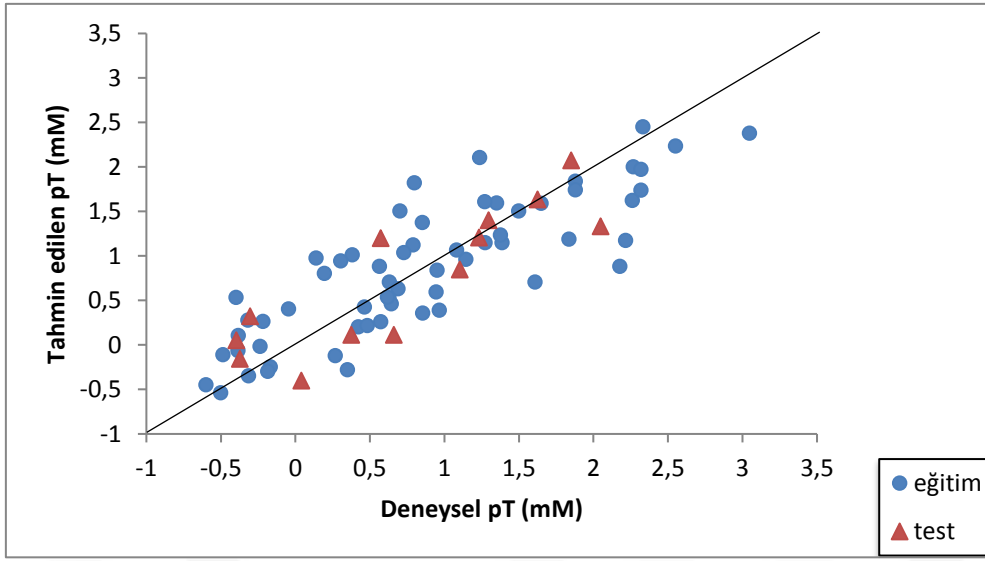
Modelin Williams grafiğinde (Şekil 3.2) eğitim setindeki 3 bileşik Cefuroxime axetil, Chlorfluoroaniline ve Azosemide modelin yapısal alanı dışında kalmıştır. Bu bileşiklerdeki ortak özellik hepsinin amino grubuna ve halkalı yapılara sahip olmalarıdır. Modelde yanıt aykırı değer bulunmamıştır (Şekil 3.2).

Geliştirilen modelin Insubria grafiğinde (Şekil 3.3) kritik şapka değerinin $h^*=0.443$ üzerine çıkan ve modelin uygulama alanı dışında kalan 10 bileşik olmuştur. Modelin tahmin gücü test set dışında bir dış set (121 bileşik) ile de test edilmiştir. Toksisite değerleri modelden tahmin edilen 121 bileşiğin %90.9’unun modelin uygulama alanı içerisinde olduğu görülmektedir. Bu bileşikler için tahmin edilen toksisite değerleri uygulama alanı içinde kaldığından güvenilir olarak kullanılabilir.

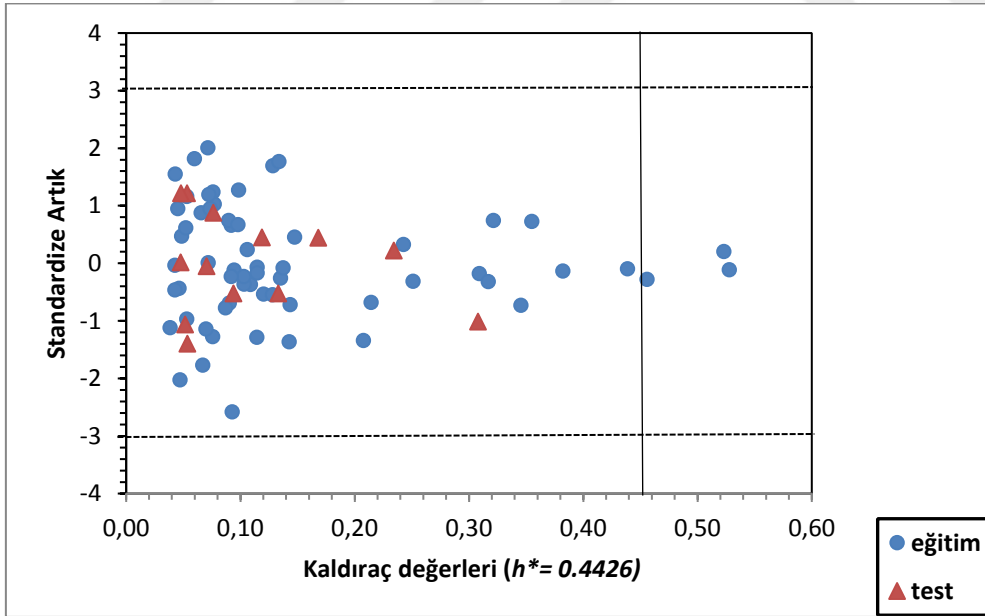
Tablo 3.2. MLR_[D] modelinin iç ve dış validasyon parametreleri.

İç validasyon parametreleri												
Tanımlayıcı sayısı	N_{TR}/n_{TEST}	R^2	R^2_{adj}	$RMSE_{TR}$	CCC_{TR}	F	Q^2_{LOO}	$RMSE_{CV}$	Q^2_{LMO}	CCC_{CV}	R^2_{Yscr}	Q^2_{Yscr}
8	61/13	0.7060	0.6608	0.4873	0.8277	15.6115	0.6378	0.5409	0.6185	0.7882	0.1334	-0.2283
Dış validasyon parametreleri												
R^2_{TEST}	Q^2_{F1}	Q^2_{F2}	Q^2_{F3}	CCC_{TEST}	$r^2_{maver.}$	Δr^2_m	$RMSE_{TEST}$	k'	k	$R^2-R'_0/R^2$	R^2-R_0/R^2	MAE- kriterine göre
0.7458	0.7476	0.7426	0.787	0.8606	0.6747	0.083	0.4148	0.8883	0.9691	0.0306	0.0021	-

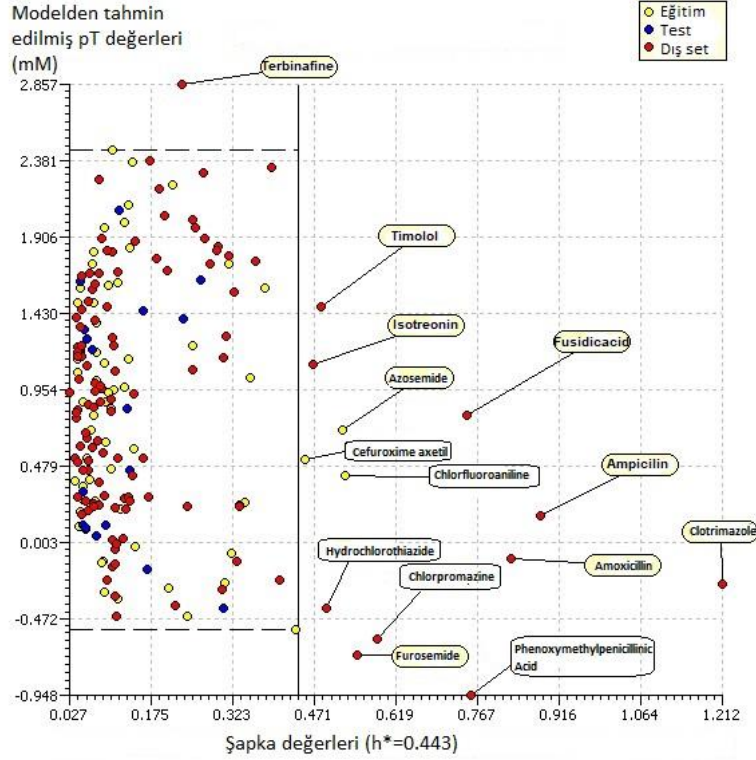
Tablo 2.1'deki sıralamaya göre, test set bileşikler no: 6, 8, 18, 28, 33, 39, 43, 56, 58, 62, 65, 68, 74.



Şekil 3.1. Deneysel pT değerlerine karşı $MLR_{[D]}$ modeli ile tahmin edilen pT değerleri grafiği.



Şekil 3.2. $MLR_{[D]}$ modeli için Williams grafiği.



Şekil 3.3. MLR_[D] modeli için Insubria grafiği.

3.1.2. DRAGON-SPARTAN modeli MLR_[DS]

Veri setindeki 79 bileşik kullanılarak DRAGON ve SPARTAN tanımlayıcılarından oluşan 9 tanımlayıcılı MLR_[DS] modeli geliştirilmiş ve model denklemi (3.2) aşağıda verilmiştir.

$$\begin{aligned}
 pT = & 20.3151 (\pm 3.8387) - 20.8215 (\pm 7.5726) \text{ VE2sign_Dz(v)} - 13.7958 (\pm 6.5163) \\
 & \text{Eta_B_A} - 12.3259 (\pm 3.0905) \text{ SpMaxA_G/D} - 0.5941 (\pm 0.2066) \text{ RDF020v} - 0.3708 \\
 & (\pm 0.1309) \text{ Mor32s} - 0.9442 (\pm 0.2385) \text{ CATS2D_04_NL} - 0.1395 (0.0337) \text{ F01[C-N]} + \\
 & 0.0445 (\pm 0.0181) \text{ MLOGP2} - 1.3995 (\pm 0.2289) \text{ Sertlik (Hardness=ELUMO-EHOMO/2)}
 \end{aligned}
 \quad (3.2)$$

Bu modelde Hardness tanımlayıcısı SPARTAN tanımlayıcısı olup, diğer tanımlayıcılar DRAGON'a ait tanımlayıcılardır. Sertlik (Hardness) tanımlayıcısı molekülün stabilitesi ya da reaktivitesi hakkında bilgi veren tanımlayıcıdır. Bu değer yüksek ise molekül reaktif değildir anlamına gelir (Todeschini ve Consonni, 2009).

Denklem (3.2)'ye göre diğer topolojik ve elektronik özellikleri temsil eden tanımlayıcıların artışı ile toksisite azalmıştır. Bu tanımlayıcılar toksisite modeline negatif katkıda bulunmuşlardır. Örneğin CATS2D_04_NL tanımlayıcısı 4 uzaklıktaki negatif lipofilikliği temsil eder. Denklemde negatif lipofilisite ile pT 'nin ters orantılı olması lipofilikliğin toksisiteyi arttırdığını işaret etmektedir.

MLOGP2 hidrofobikliği temsil eden Moriguchi oktanol-su ayrılım katsayısının karesi ($\log P^2$) tanımlayıcısıdır. Bu tanımlayıcının artışı ile toksisite artmıştır. Modeli oluşturan tüm tanımlayıcılar Tablo 3.3. de açıklamalarıyla birlikte listelenmiştir.

Tablo 3.3. MLR_[DS] modeline ait tanımlayıcılar, sınıfları ve tanımları

Tanımlayıcılar	Sınıf	Tanım
VE2sign_Dz(v)	2D matris-tabanlı tanımlayıcıları	Baryz matriksten elde edilen son özvektörün ortalama katsayısının Van der Waals hacmi ile ağırlıklandırılmış değeri.
Eta_B_A	ETA indisleri	Eta ortalama dallanma indeksi
SpMaxA_G/D	3D matris-tabanlı tanımlayıcıları	Uzaklık-uzaklık matrisinden normalize edilmiş öncü özdeğer (katlanma derece indexi)
F01[C-N]	2D atom çiftleri	Topolojik 1 uzaklığındaki C-N frekansı
CATS2D_04_NL	CATS 2D	Lag 04 teki negative lipofiliklik
RDF020v	RDF tanımlayıcıları	Atomik van der Waals hacmine göre ağırlıklandırılmış 020 radyal dağılım fonksiyonu
Mor 32s	3D-MoRSE tanımlayıcıları	I halinde ağırlıklandırılmış sinyal 32
MLOGP2	Moleküler özellikler	Moriguchi Oktanol-su dağılım katsayısının karesi ($\log P^2$)
SPARTAN'14 tanımlayıcısı		
Sertlik (Hardness)	Kuantum Kimyasal Enerji	En düşük boş ve en yüksek dolu moleküler orbitallerinin enerji farkının yarısı (Hardness= $E_{LUMO}-E_{HOMO}/2$)

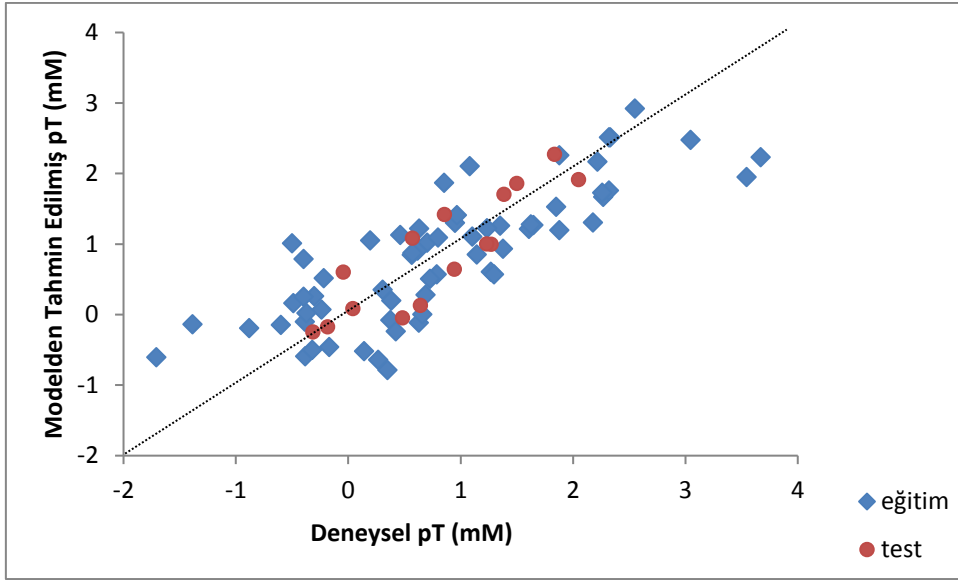
Modele ait tüm iç ve dış validasyon parametreleri Tablo 3.4 te verilmiştir. $MLR_{[DS]}$ model için R^2 ve R^2_{adj} değerleri sırasıyla 0.6582 ve 0.6012 bulunmuştur. Y-karıştırma yanıt randomizasyon testleri sonucunda (2000 kez karıştırma ile) R^2_{Yscr} (0.1432) ve Q^2_{Yscr} (-0.2233) düşük bulunması modelin şans korrelasyonu ile oluşmadığının göstergesidir. Yüksek R^2_{Test} değeri (0.7761 ve düşük $RMSE_{Test}$ (0.3841) değerleri modelin tahmin gücünün iyi olduğunu göstermektedir. Dış validasyon parametrelerinden $r^2_{maver.}$ literatür eşik değerinin üzerinde ve 0.7068 olarak bulunmuştur (Ojha vd., 2011). CCC_{Test} literatür eşik değerinin üzerindedir. Q^2_{F1} (0.7080), Q^2_{F2} (0.7079) değerlerinin yüksek ve yakın değerler olması, eğitim ve test seti oluşturan bileşiklerin ölçülmüş toksisite değerlerinin dağılımının homojen olduğunu gösterir. Q^2_{F3} (0.8824) ve CCC_{Test} (0.8715) değerlerinin büyük olması modelin tahmin gücünün iyi olduğunu gösterir.

Tablo 3.4. MLR_[DS] modelinin iç ve dış validasyon parametreleri.

İç validasyon parametreleri												
Tanımlayıcı sayısı	N_{TR}/n_{TEST}	R^2	R^2_{adj}	$RMSE_{TR}$	CCC_{TR}	F	Q^2_{LOO}	$RMSE_{CV}$	Q^2_{LMO}	CCC_{CV}	R^2_{Yscr}	Q^2_{Yscr}
9	64/15	0.6582	0.6012	0.6547	0.7939	11.5546	0.5278	0.7695	0.4777	0.7217	0.1432	-0.2233
Dış validasyon parametreleri												
R^2_{TEST}	Q^2_{F1}	Q^2_{F2}	Q^2_{F3}	CCC_{TEST}	$r^2_{mav.}$	Δr^2_m	$RMSE_{TEST}$	k'	k	$R^2-R'_0/R^2$	R^2-R_0/R^2	MAE kriterine göre
0.7761	0.7080	0.7079	0.8824	0.8715	0.7068	0.0443	0.3841	0.861	1.0426	0.0048	0.0179	İYİ

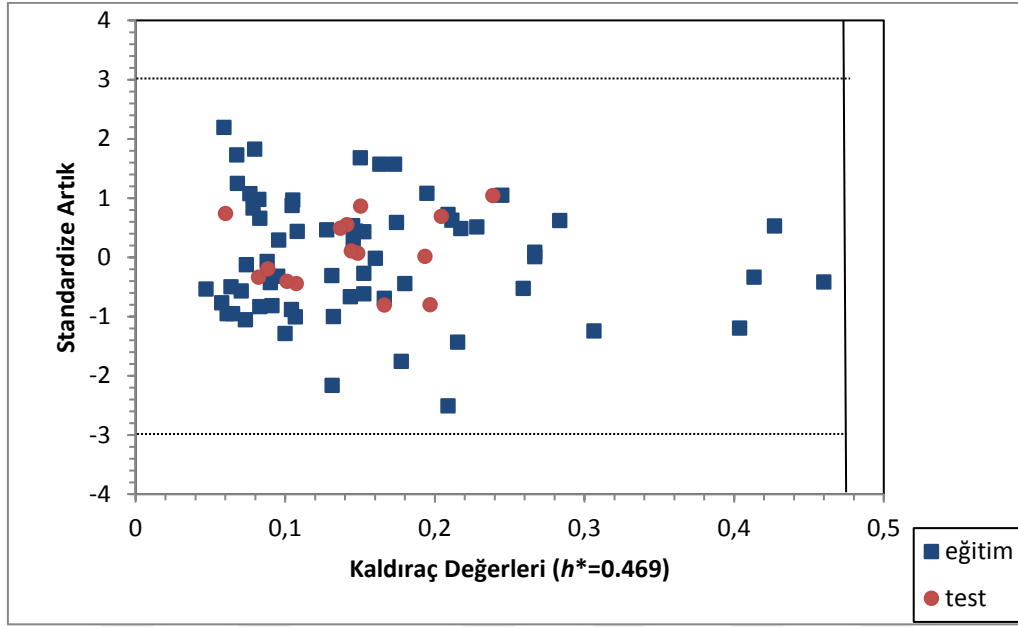
Tablo 2.1'deki sıralamaya göre, test set bileşikler no: 6, 12, 13, 17, 18, 22, 25, 34, 41, 43, 45, 50, 52, 58, 69

Deneysel ölçülmüş pT değerlerine karşı $MLR_{[DS]}$ modeli ile tahmin edilen pT değerleri grafiği Şekil 3.4 de verilmiştir. Veri seti ve eğitim seti bileşiklerinin ölçülmüş ve modelden tahmin edilmiş toksisite değerlerinin grafiğın eğilim çizgisi etrafında genel olarak homojen dağılımlı olması, deneysel ölçülmüş toksisite değerleri ile modelden tahmin edilmiş toksisite değerlerinin birbiriyle uyumlu olduğunu gösterir.

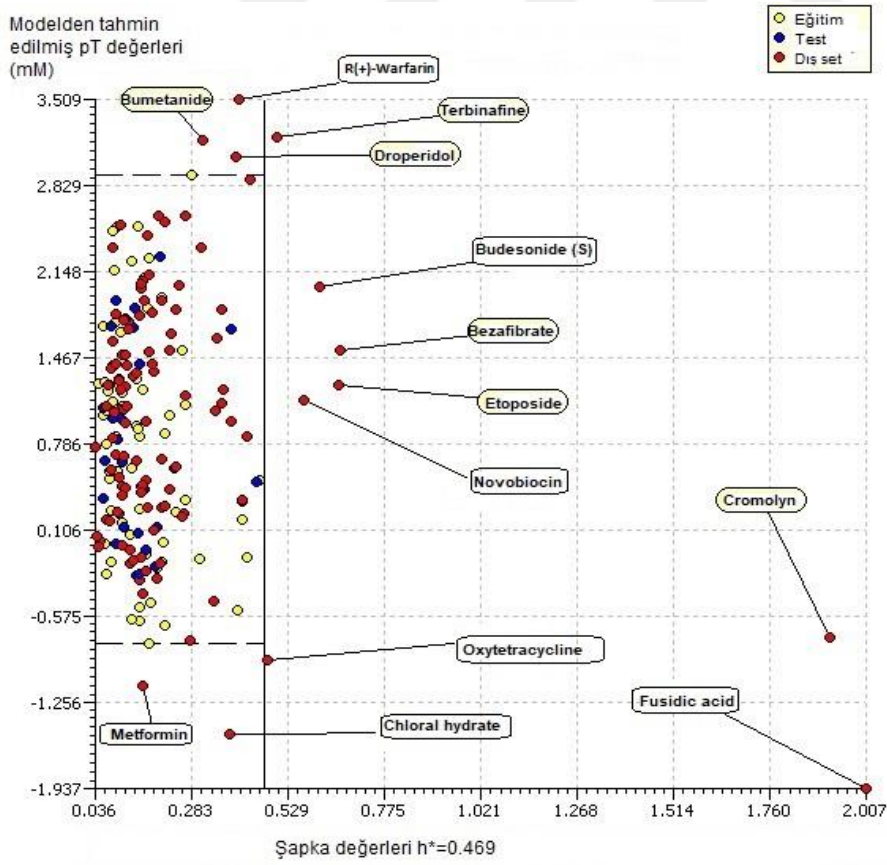


Şekil 3.4. Deneysel pT değerlerine karşı $MLR_{[DS]}$ Modeli ile tahmin edilen pT değerleri grafiği.

Modelin Williams grafiğinde (Şekil 3.5) kritik şapka değerini ($h^* = 0.469$) aşan yapısal aykırı değer bulunmamıştır. Ayrıca modelde ± 2.5 değerlerini aşan yanıt aykırı değer de bulunmamıştır. Modelin tahmin gücü 121 dış set bileşiği ile de test edilmiştir ve Şekil 3.6'daki Insubria grafiğinde verilmiştir. Dış set bileşiklerinden 5 bileşik yanıt aykırı değer olarak, 10 bileşik de yapısal aykırı değer olmak üzere toplam 15 bileşik modelin uygulama alanı dışında kalmıştır (Şekil 3.6). 15 bileşik dışında dış set bileşiklerinin büyük çoğunluğu modelin uygulama alanı içinde kalmıştır.



Şekil 3.5. MLR_[DS] Modeli için Williams grafiği.



Şekil 3.6. MLR_[DS] için Insubria grafiği.

3.1.3. DRAGON-SPARTAN-ADMET modeli (MLR_[DSA])

MLR_[DSA] modeli DRAGON, SPARTAN ve ADMET gruplarına ait 8 tanımlayıcıdan (Tablo 3.5) oluşmuştur. Model Denklem 3.3'te verilmiştir.

$$\begin{aligned} pT = & 3.7147 (\pm 0.9581) - 1.0856 (\pm 0.3627) \text{ VE1sign_B(p)} + 0.3542 (\pm 0.0967) \\ & \text{Eig06_EA(bo)} - 4.5739 (\pm 1.6003) \text{ TDB10p} + 2.9820 (\pm 0.9979) \text{ E3e} - 0.4645 \\ & (\pm 0.1101) \text{ Gap(ELUMO-EHOMO)} + 0.9089 (\pm 0.1923) \text{ EEM_NFon} - 1.4067 (\pm 0.2767) \\ & \text{H_MultiN} - 0.2185 (\pm 0.0527) \text{ NPA_Q4} \end{aligned} \quad (3.3)$$

Modelin tüm iç ve dış validasyon parametreleri Tablo 3.6 da verilmiştir. MLR_[DSA] modeli için R^2 ve R^2_{adj} değerleri sırasıyla 0.6365 ve 0.5836 bulunmuştur. Q^2_{LOO} (0.602) değerinin R^2 ile paralel olması modelin sağlamlığını göstermektedir. Y-karıştırma yanıt randomizasyon testleri sonucunda (2000 kez karıştırma ile) R^2_{Yscr} ve Q^2_{Yscr} değerlerinin sırasıyla düşük katsayılara sahip olması 0.1264 ve -0.1944, şans korrelasyonu ile kurulmadığının göstergesidir. Yüksek R^2_{Test} değeri (0.8661) ve düşük $RMSE_{Test}$ (0.3970) değeri olması modelin tahmin gücünün iyi olduğunu göstermektedir. MLR_[DSA] modelinin diğer dış validasyon parametreleri r^2_m ve CCC_{Test} literatür eşik değerinin üzerindedir. Q^2_{F1} , Q^2_{F2} ve Q^2_{F3} değerleri literatür eşik değerlerini geçmiştir. Modelde yer alan tüm tanımlayıcılar ve tanımları Tablo 3.5 te gösterilmiştir. Geliştirilen modelde balık toksisitesine en fazla pozitif katkısı olan tanımlayıcı Eig06_EA(bo) olmuştur. Ayrıca modeldeki E3e ve EEM_NFon tanımlayıcıları da modele pozitif katkıda bulunurken, H_MultiN ve NPA_Q4 tanımlayıcıları ise negatif katkıda bulunmuştur.

LUMO-HOMO enerji aralığı (gap) tanımlayıcısının toksisiteyle negatif ilişkide olması, küçük enerji boşluğuna sahip moleküllerin toksisiteyi arttırdığını göstermektedir (Todeschini ve Consonni, 2009). LUMO-HOMO enerji aralığı küçük bileşiklerin daha reaktif oldukları bilinmektedir. Daha yüksek reaktiviteye sahip bileşiklerin, hedef organizma ile daha güçlü moleküler etkileşimler yapabileceğini, dolayısıyla bu durumun da bileşiğin toksisitesini arttıracaklarını gösteren bir etken olarak varsayabiliriz.

Şekil 1'de VE1sign_B (p) ve TDB10p tanımlayıcılarının toksisiteye negatif katkısı vardır. Bu tanımlayıcılar polarize edilebilirlik ile ters orantılı olduğundan, polarize edilebilirliğin artmasının toksisitesi arttırması beklenir. *Daphnia magna* için polarize edilebilirliğin toksisite üzerindeki olumlu etkisi de tespit edilmiştir.

Tablo 3.5. MLR_[DSA] modeline ait tanımlayıcılar, sınıfları ve tanımları

Tanımlayıcılar	Sınıf	Tanım
DRAGON 7 tanımlayıcıları		
VE1sign_B(p)	2D matris- tabanlı tanımlayıcıları	Burden matristen elde edilen son özvektörün katsayı toplamının polarizabilite ile ağırlıklandırılmış değeri.
Eig06_EA(bo)	Kenar bitişiklik indeksleri	Kenar bitişiklik matrisinin bağ derecesiyle ağırlıklandırılmış n.6 özdeğeri.
TDB10p	3D otokorelasyonları	3D Topolojik uzaklık tabanlı tanımlayıcılar –lag 10 polarizebilirlikle ağırlıklandırılmış
E3e	WHIM tanımlayıcıları	3. bileşen erişilebilirlik yönlü WHIM indeksi-Sanderson elektronegativitesi ile ağırlıklandırılmış
SPARTAN'14 tanımlayıcısı		
Gap (E_{LUMO}-E_{HOMO})	Kuantum Kimyasal (Enerji)	Gap (aralık) önemli bir kararlılık endeksidir, Büyük bir GAP kimyasal tepkimelerde düşük reaktiviteye sahip olan bir molekülün yüksek kararlılığı ile ilgilidir. Bu molekülün en düşük uyarılma enerjisinin bir yaklaşımasıdır ve mutlak sertliğin tanımı için kullanılabilir.
ADMET tanımlayıcıları		
H_MultiN	MH Sw modelleri için Meylan Flags	Aşağıdakilerden en az birine sahip bileşikler: -dört veya daha fazla aromatik azotu bulunan -aromatik olmayan ve iki veya daha fazla alifatik azotlar. Bir alifatik N tam olarak C(=O), C(=S), or S(=O) gruplarına bağlı olmalı. -İki veya daha fazla aromatik veya alifatik azotlar. Tüm alifatik azotlar C(=O), C(=S), or S(=O) gruplarına bağlı olmalı.
NPA_Q4	Elektronik özelliklerden (yük birimi= mutlak elektron yükü) türetilmiş tanımlayıcılar	Tahmini NPA kısmi atomik yüklerin otokorelasyon vektörünün dördüncü bileşeni
EEM_NFon	Elektronik özelliklerden (yük birimi= mutlak elektron yükü) türetilmiş tanımlayıcılar	N ve O üzerinde minimum sigma Fukui indeksi

Denkleimde, VE1sign_B (p) ve TDB10p tanımlayıcılarının da toksisiteye negatif katkısı olduğu görülmektedir. Bu tanımlayıcılar polarize edilebilirlik özelliği ile ters orantılı olan tanımlayıcılardır. Bu sebeple polarize edilebilirliğin artmasının toksisiteyi de artırması beklenir. *Daphnia magna* ile yapılan bir çalışmada da polarize edilebilirlik özelliğinin toksisite üzerinde pozitif katkısı olabileceği gösterilmiştir (Aalizadeh vd., 2017). Ancak bu özelliğin toksisite üzerinde nasıl etkili olduğunun tam mekanizması hala iyi anlaşılmamıştır. Öte yandan yüksek polarizasyon özelliklerine sahip bir bileşiğin daha güçlü nükleofilik özellik taşıması sebebiyle hedef biyomakromoleküle daha kolay nükleofilik atak yapabileceği ve böylece potansiyel hedef için toksisite arttırıcı bir etken olması muhtemeldir.

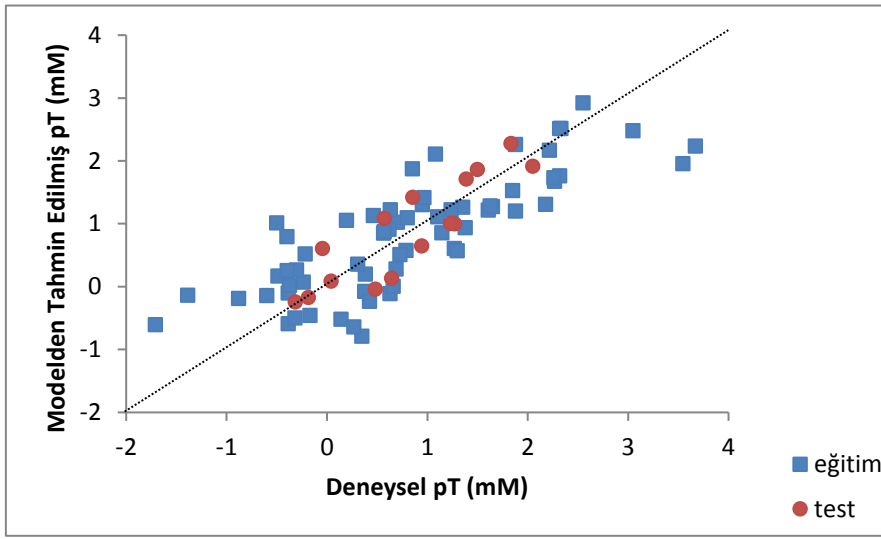


Tablo 3.6. MLR_[DSA] modelinin iç ve dış validasyon parametreleri.

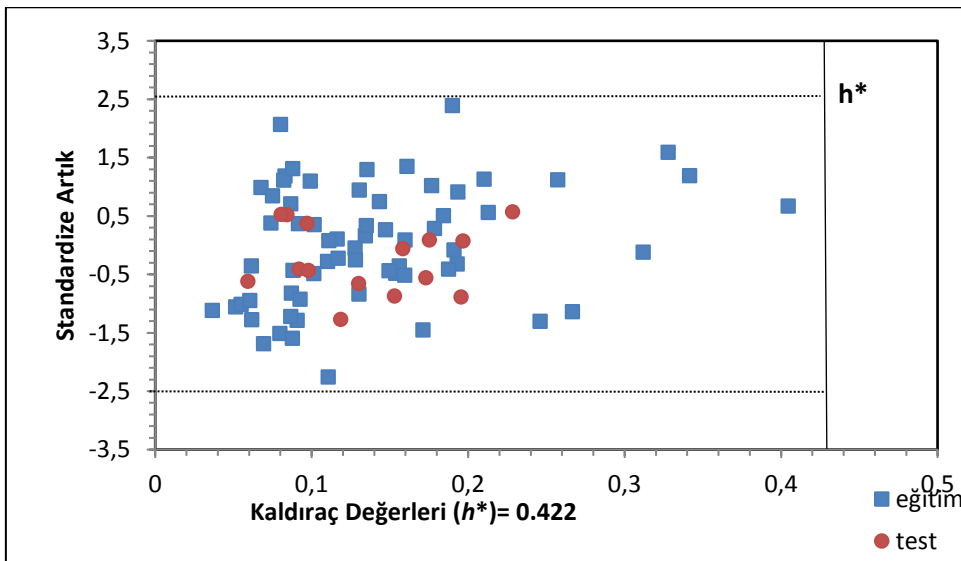
İç validasyon parametreleri												
Tanımlayıcı sayısı	N_{TR}/n_{TEST}	R^2	R^2_{adj}	$RMSE_{TR}$	CCC_{TR}	F	Q^2_{LOO}	$RMSE_{CV}$	Q^2_{LMO}	CCC_{CV}	R^2_{Yscr}	Q^2_{Yscr}
8	64/15	0.6365	0.5836	0.6437	0.7779	12.037	0.5064	0.7501	0.4665	0.7017	0.1264	-0.1944
Dış validasyon parametreleri												
R^2_{TEST}	Q^2_{F1}	Q^2_{F2}	Q^2_{F3}	CCC_{TEST}	r^2_{maver}	Δr^2_m	$RMSE_{TEST}$	k'	k	$R^2-R'_0/R^2$	R^2-R_0/R^2	MAE kriterine göre
0.8661	0.8415	0.8405	0.8617	0.9131	0.8183	0.0801	0.3970	0.832	1.1059	0.0001	0.0119	İYİ

Tablo 2.1'deki sıralamaya göre test set bileşikler no: 3, 13, 16, 17, 21, 35, 43, 51, 52, 59, 64, 68, 69, 75, 78.

Deneysel pT değerlerine karşı $MLR_{[DSA]}$ modeli ile tahmin edilen pT değerleri grafiği Şekil 3.7 de verilmiştir. Eğitim ve test set bileşiklerinin dağılımı genel olarak homojendir. Modeldeki bileşiklerin ölçülmüş ve modelden tahmin edilmiş toksisite değerlerinin uyumlu olması modelin tahmin gücünün güvenilirliğini gösterir. $MLR_{[DSA]}$ modeline ait Williams grafiği Şekil 3.8 de verilmiştir. Modelde kritik şapka değeri $h^*=0.422$ değerini aşan yapısal aykırı değer bulunmamaktadır. Kesikli yatay çizgilerle gösterilen (Şekil 3.8) standart sapma ± 2.5 sınır değerlerini aşan yanıt aykırı değer de bulunmamaktadır.

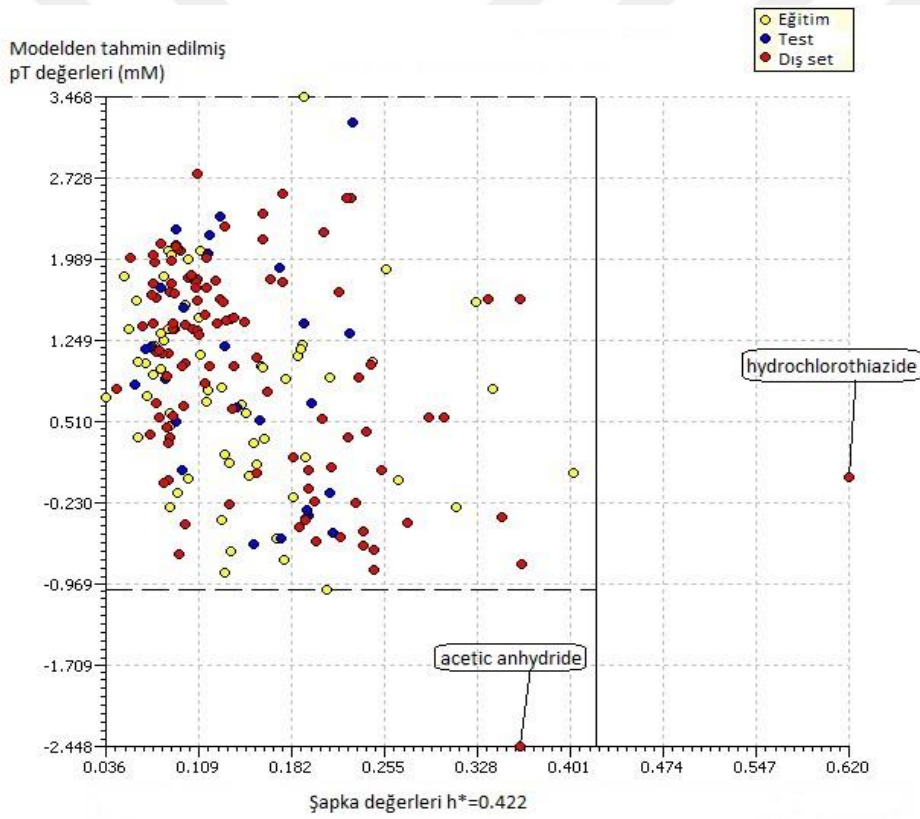


Şekil 3.7. Deneysel pT değerlerine karşı $MLR_{[DSA]}$ Modeli ile tahmin edilen pT değerleri grafiği.



Şekil 3.8. $MLR_{[DSA]}$ modeli için Williams grafiği.

Bir KYTİ modelinin her türlü yapısal ve kimyasal özellikteki bileşikler için kullanılabilir ve anlamlı toksisite tahmini yapması beklenemez. Modelin yaptığı tahminlerin geçerliliğini araştırmak amacıyla tahminlerin uygulama alanında olup olmadığı Insubria grafiği ile izlenmiştir. Modelin Insubria grafiğinde (Şekil 3.9) 121 dış set bileşiğinin 119'unun tahmin edilmiş toksisite değerleri modelin uygulama alanı içinde kalmıştır. Acetic anhydride modelin yanıt aykırı değeri olarak dışarıda kalırken, Hydrochlorothiazide bileşiği de yapısal aykırı değer olarak dışarıda kalmıştır. Yalnızca 2 bileşiğin dışarıda kaldığı bu modelin kapsama performansı oldukça yüksek bulunmuştur.



Şekil 3.9. MLR_[DSA] modeli için Insubria grafiği.

3.1.4. ADMET modeli MLR_[A]

Tüm tanımlayıcıları ADMET tanımlayıcıları olan ve 8 tanımlayıcıdan oluşan MLR_[A] modeline ait toksisite modeli denklem 3.4 ile gösterilmiştir. Modele ait tüm tanımlayıcılar ve tanımları sınıflarıyla birlikte Tablo 3.7. de verilmiştir.

$$\begin{aligned} pT = & -1.4283 (\pm 0.2359) + 5.7513 (\pm 0.7822) \mathbf{F_DbleB} + 0.7111 (\pm 0.2911) \mathbf{FCation} + \\ & 0.8312 (\pm 0.3126) \mathbf{H_Phenol} + 0.6092 (\pm 0.0697) \mathbf{MlogP} + 0.2859 (\pm 0.1119) \\ & \mathbf{MUT_Risk} + 0.8616 (\pm 0.1698) \mathbf{PriAmine_NH2} + 0.0003 (\pm 0.0001) \mathbf{S+MDCK} + \\ & 0.1790 (\pm 0.0698) \mathbf{SaaO} \end{aligned} \quad (3.4)$$

MLR_[A] modelinde F_DbleB modele en yüksek pozitif katkıda bulunan tanımlayıcı olmuştur. (+5.7513 (±0.7822)) R^2 ile R^2_{adj} değerleri sırasıyla 0.698 ve 0.834 olarak literatür eşik değerlerinden büyük bulunmuştur. Q^2_{LOO} (0.6015) değerinin R^2 ile yakın olması modelin sağlamlığını göstermektedir. Y-karıştırma yanıt randomizasyon testleri sonucunda (2000 kez karıştırma ile) R^2_{Yscr} ve Q^2_{Yscr} değerlerinin sırasıyla düşük katsayılarla sahip olması (0.1204 ve -0.1895) şans korrelasyonu olmadığını gösterir. Yüksek R^2_{Test} değeri (0.834 ve düşük $RMSE_{test}$ (0.2999) değerleri modelin tahmin gücünün iyi olduğunu göstermektedir. MLR_[A] modelinin diğer dış validasyon parametreleri r^2_{maver} 0.7764 çıkmıştır. CCC_{Test} 0.9033 değeri literatür eşik değerinin üzerindedir.

Deneysel pT değerlerine karşı MLR_[A] modeli ile tahmin edilen pT değerleri grafiği Şekil 3.10 da verilmiştir. Eğitim ve test set bileşikleri için modelden tahmin edilen ve ölçülmüş toksisite değerlerinin grafikte çizgi etrafındaki dağılımı uyumludur.

Modelde eğitim ve test set bileşiklerin hepsi kritik şapka değeri $h^*=0.403$ sınırları içinde olduğundan yapısal aykırı değer bulunmamıştır. Standart sapma değerleri ± 2.5 aşan yanıt aykırı değer de bulunmamaktadır (Şekil 3.11).

Geliştirilen modelin Insubria grafiğinde (Şekil 3.12) toksisite değerleri tahmin edilen 121 bileşiğin %94.21'inin modelin uygulama alanı içerisinde olduğu görülmektedir. Bu bileşikler için tahmin edilen toksisite değerleri uygulama alanı içinde kaldığından güvenilir olarak kullanılabilir.

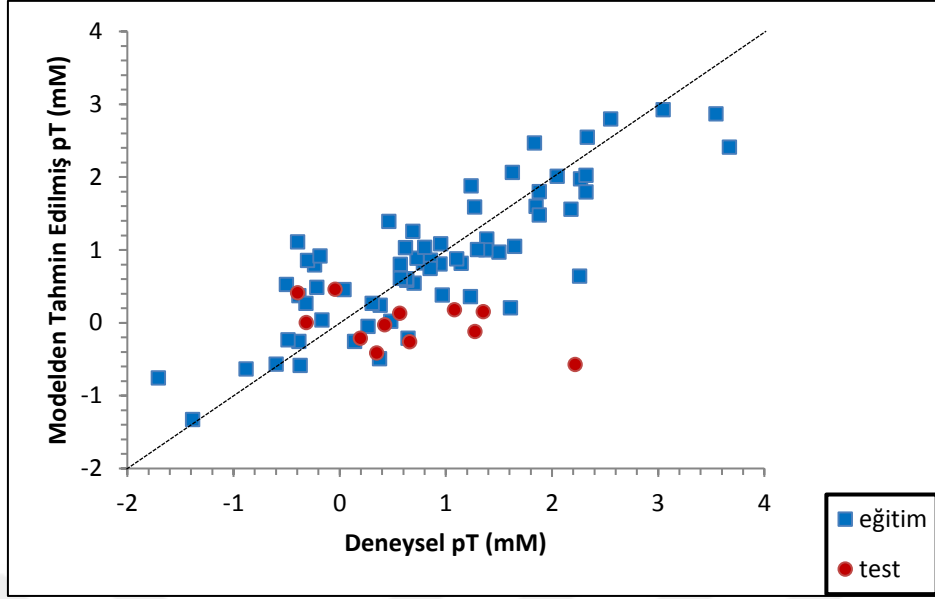
Tablo 3.7. MLR_[A] modeline ait tanımlayıcılar, sınıfları ve tanımları.

MLR _[A] modeli			
ADMET Tanımlayıcıları	Sınıf	Tanımlar	İstisnai durumlar
F_DbleB	Basit yapısal tanımlayıcıları	Çift bağların tüm bağlara oranı	
FCation	Moleküler iyonizasyon tanımlayıcıları	Saf katyonik türlerin belirli Ph (varsayılan 7.4) değerinde iyonize fraksiyona kümülatif katkısı	
H_Phenol	MH Sw modelleri için Meylan Flags	bir aromatik karbona bağlı en az bir OH grubu içeren bileşikler	Aynı halkada, amino tipi yan gruplara sahip ve nitro, alkoksi veya diğer OH grubuna orto konumunda OH bulunan bileşikler
MlogP	Moleküler özellik	Oktan-ol-su dağılım katsayısının Moriguchi modeli	
MUT_Risk	Toksisite modelleri-Üreme ve Genetik Toksisite	Bakteriyel mutajenite	
PriAmine_-NH ₂	Basit Yapısal Tanımlayıcılar	Primer aminlerin sayısı	
S+MDCK	Fizikokimyasal ve Biyofarmasötik Özellikleri-Geçirgenlik	belirgin MDCK COS geçirgenliği [cm/s x 10 ⁷]	
SaaO	Atom-türü Elektropolojik Durum İndisleri	aOa grupları için atom-türü E-durum indeksi	

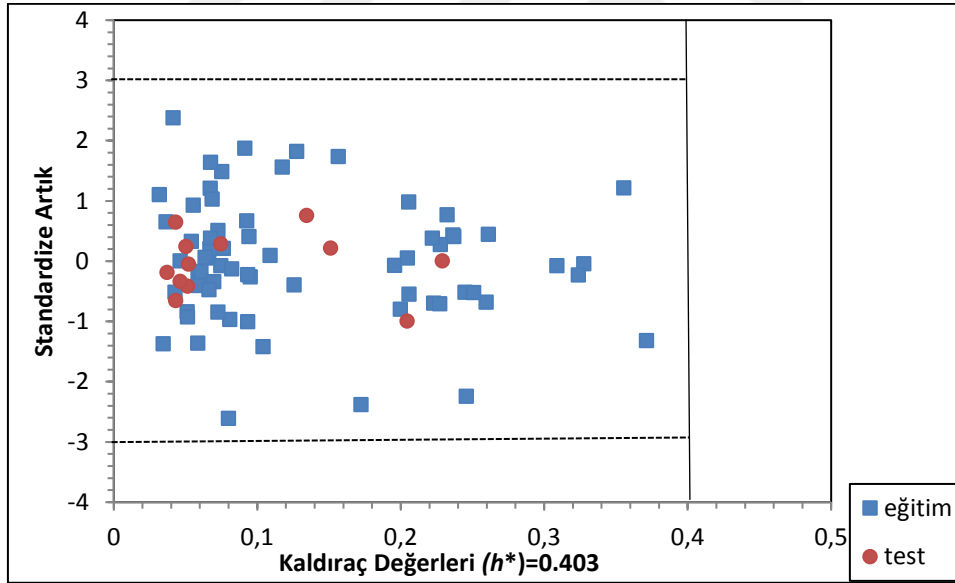
Tablo 3.8. MLR_[A] modelinin iç ve dış validasyon parametreleri.

İç validasyon parametreleri												
Tanımlayıcı sayısı	N_{TR}/n_{TEST}	R^2	R^2_{adj}	$RMSE_{TR}$	CCC_{TR}	F	Q^2_{LOO}	$RMSE_{CV}$	Q^2_{LMO}	CCC_{CV}	R^2_{Yscr}	Q^2_{Yscr}
8	67/12	0.6989	0.6574	0.6026	0.8228	16.8296	0.6015	0.6932	0.5687	0.7653	0.1204	-0.1895
Dış validasyon parametreleri												
R^2_{TEST}	Q^2_{F1}	Q^2_{F2}	Q^2_{F3}	CCC_{TEST}	$r^2_{maver.}$	Δr^2_m	$RMSE_{TEST}$	k'	k	$R^2-R'_0/R^2$	R^2-R_0/R^2	MAE kriterine göre
0.834	0.8494	0.8307	0.9254	0.9033	0.7764	0.0988	0.2999	0.8618	1.0474	0.0197	0.0001	İYİ

Tablo 2.1'deki sıralamaya göre test sete seçilen bileşikler no: 11, 13, 17, 20, 29, 36, 50, 51, 60, 61, 62, 67.



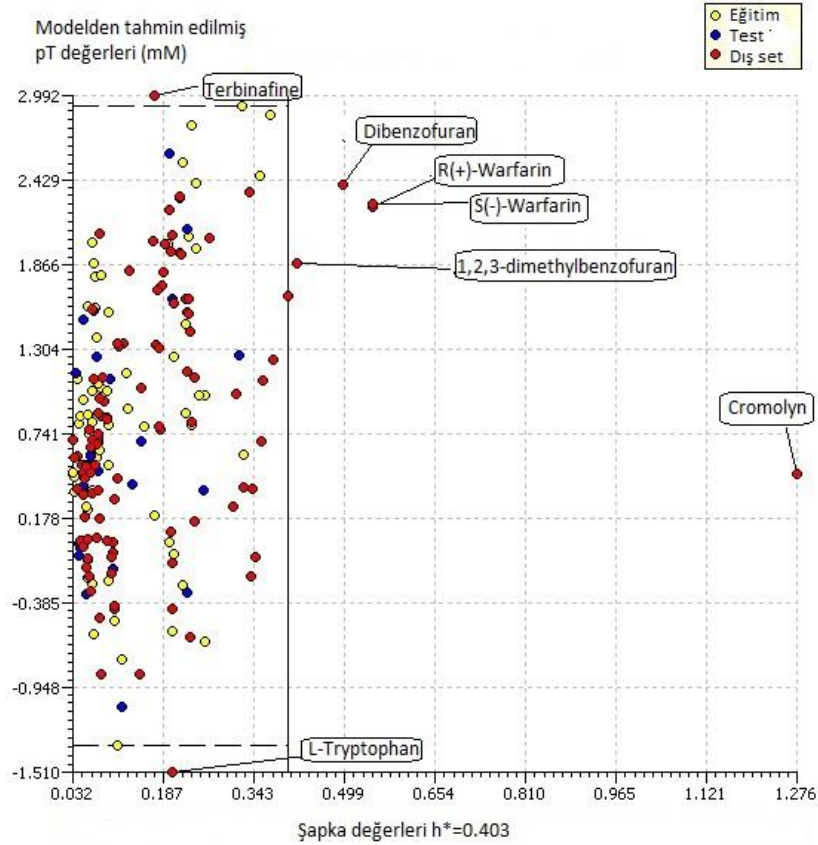
Şekil 3.10. Deneysel pT değerlerine karşı $MLR_{[A]}$ Modeli ile tahmin edilen pT değerleri grafiği.



Şekil 3.11. $MLR_{[A]}$ modeli için Williams grafiği.

ADMET modelindeki tanımlayıcılar, çift bağların sayısının toplam bağ sayısına oranı, belirtilen pH'da (7.4) iyonlaşmış fraksiyona katyonik türlerin kümülatif katkısı, amino, hidroksi, alkoksi ve nitro sübstitüentleri olan fenolik yapılar, primer amin sayısı, lipofilite ve polar yüzey alanı gibi özellikleri temsil etmektedir. ADMET modeli, çift bağların sayısının toplam bağ sayısına oranı, belirtilen pH'da (7.4) iyonlaşmış

fraksiyona katyonik türlerin kümülatif katkısı, amino, hidroksi, alkoksi ve nitro yan grubuna sahip fenolik gruplar, primer amin sayısı, lipofilisite ve polar yüzey alanı gibi özellikleri temsil eden tanımlayıcılardan oluşmuştur (Tablo 3.7) Ancak toksisite mekanizmasının çok karmaşık bir konu olması sebebiyle, sadece yapısal özellikleri ilgilendiren bu tanımlayıcılarla toksisiteyi tamamen açıklamamız mümkün değildir.



Şekil 3.12. MLR_[A] modeli için Insubria grafiği.

3.1.5. MLR modellerin seçimi

Yukarıda anlatılan geliştirilen MLR modeller toplu halde değerlendirilmek üzere iç ve dış validasyon parametreleri sırasıyla Tablo 3.9 ve Tablo 3.10'da toplu halde verilmiştir.

Tablo 3.9. 4 modele ait iç validasyon parametreleri.

MLR_[D] İç validasyon parametreleri												
Tanımlayıcı sayısı	N_{TR}/n_{TEST}	R^2	R^2_{adj}	$RMSE_{TR}$	CCC_{TR}	F	Q^2_{LOO}	$RMSE_{CV}$	Q^2_{LMO}	CCC_{CV}	R^2_{Yscr}	Q^2_{Yscr}
8	61/13	0.7060	0.6608	0.4873	0.8277	15.6115	0.6378	0.5409	0.6185	0.7882	0.1334	-0.2283
MLR_[DS] İç validasyon parametreleri												
Tanımlayıcı sayısı	N_{TR}/n_{TEST}	R^2	R^2_{adj}	$RMSE_{TR}$	CCC_{TR}	F	Q^2_{LOO}	$RMSE_{CV}$	Q^2_{LMO}	CCC_{CV}	R^2_{Yscr}	Q^2_{Yscr}
9	64/15	0.6582	0.6012	0.6547	0.7939	11.5546	0.5278	0.7695	0.4777	0.7217	0.1432	-0.2233
MLR_[DSA] İç validasyon parametreleri												
Tanımlayıcı sayısı	N_{TR}/n_{TEST}	R^2	R^2_{adj}	$RMSE_{TR}$	CCC_{TR}	F	Q^2_{LOO}	$RMSE_{CV}$	Q^2_{LMO}	CCC_{CV}	R^2_{Yscr}	Q^2_{Yscr}
8	64/15	0.6365	0.5836	0.6437	0.7779	12.037	0.7017	0.7501	0.4665	0.7017	0.1264	-0.1944
MLR_[A] İç validasyon parametreleri												
Tanımlayıcı sayısı	N_{TR}/n_{TEST}	R^2	R^2_{adj}	$RMSE_{TR}$	CCC_{TR}	F	Q^2_{LOO}	$RMSE_{CV}$	Q^2_{LMO}	CCC_{CV}	R^2_{Yscr}	Q^2_{Yscr}
8	67/12	0.6989	0.6574	0.6026	0.8228	16.8296	0.6015	0.6932	0.5687	0.7653	0.1204	-0.1895

Tablo 3.10. 4 modele ait dış validasyon parametreleri.

MLR_[D] Dış validasyon parametreleri												
R^2_{TEST}	Q^2_{F1}	Q^2_{F2}	Q^2_{F3}	CCC_{TEST}	$r^2_{maver.}$	Δr^2_m	$RMSE_{TEST}$	k'	k	$R^2-R'_0/R^2$	R^2-R_0/R^2	MAE kriterine göre
0.7458	0.7476	0.7426	0.7870	0.8606	0.6747	0.083	0.4148	0.8883	0.9691	0.0306	0.0021	-
MLR_[DS] Dış validasyon parametreleri												
R^2_{TEST}	Q^2_{F1}	Q^2_{F2}	Q^2_{F3}	CCC_{TEST}	$r^2_{maver.}$	Δr^2_m	$RMSE_{TEST}$	k'	k	$R^2-R'_0/R^2$	R^2-R_0/R^2	MAE kriterine göre
0.6582	0.7080	0.7079	0.8824	0.8715	0.7068	0.0443	0.3841	1.0426	0.861	0.0048	0.0179	İYİ
MLR_[DSA] Dış validasyon parametreleri												
R^2_{TEST}	Q^2_{F1}	Q^2_{F2}	Q^2_{F3}	CCC_{TEST}	$r^2_{maver.}$	Δr^2_m	$RMSE_{TEST}$	k'	k	$R^2-R'_0/R^2$	R^2-R_0/R^2	MAE kriterine göre
0.8661	0.8415	0.8405	0.8617	0.9131	0.8183	0.0801	0.3970	0.832	1.1059	0.0001	0.0119	İYİ
MLR_[A] Dış validasyon parametreleri												
R^2_{TEST}	Q^2_{F1}	Q^2_{F2}	Q^2_{F3}	CCC_{TEST}	$r^2_{maver.}$	Δr^2_m	$RMSE_{TEST}$	k'	k	$R^2-R'_0/R^2$	R^2-R_0/R^2	MAE kriterine göre
0.834	0.8494	0.8307	0.9254	0.9033	0.7764	0.0988	0.2999	0.861	1.0474	0.0197	0.0001	İYİ

Tüm geliştirilen modellerin iç ve dış validasyon parametreleri literatür eşik değerlerinin üzerinde çıkmıştır. İç validasyon parametrelerine bakılırsa (Tablo 3.9), 74 Bileşik kullanılarak geliştirilen $MLR_{[D]}$ modelinin R^2 değeri diğer modellere kıyasla yüksek çıkmasına rağmen (0.7060), eğitim setindeki 3 bileşik modelin yapısal alanı dışında kalmıştır. MAE kriterine de uymamıştır. Dış validasyon parametreleri incelendiğinde (Tablo 3.10) $MLR_{[DSA]}$ ve $MLR_{[A]}$ modellerinin R^2_{Test} ve Q^2_{F1} , Q^2_{F2} , Q^2_{F3} , CCC_{Test} gibi değerleri $MLR_{[D]}$ ve $MLR_{[DS]}$ modellerine göre daha yüksek bulunmuştur.

Modellerin toplam tahmin performans değerlendirilmesi Tablo 3.11 de gösterilmiştir. En iyi model performansına karar verirken, iç ve dış validasyonlarının yanında uygulama alanı içinde kalan dış set bileşik sayısı da değerlendirilmiştir. Buna göre $MLR_{[DSA]}$ ve $MLR_{[A]}$ modellerinin uygulama alanlarında dış set bileşiklerinden dışarıda kalan bileşik sayılarının diğerlerine nazaran daha az olması, modellerin kapsama alanının genişliğini ve tahmin gücünün daha iyi olduğunu gösterir. $MLR_{[D]}$ ve $MLR_{[DS]}$ modellerinin Insubria grafiğinde sırasıyla 11 ve 13 dış set bileşiği modelin uygulama alanı dışında kalmıştır. Modellerin uygulama alanı içinde kalan bileşiklerin yüzdesi (kapsama yüzdesi) %89.25 ve %90.9 bulunmuştur (Tablo 3.11). $MLR_{[A]}$ modelinin Insubria grafiğinde dış set bileşiklerinden toksisite değerleri tahmin edilen 121 bileşikten 7 bileşik modelin uygulama alanı dışında kalmıştır. Modelin kapsama yüzdesi %94.21 dir. $MLR_{[DSA]}$ modeli ise kapsama yüzdesi açısından en başarılı model olup (%98.34) uygulama alanı dışında kalan yalnızca 2 bileşik (acetic anhydride ve hydrochlorothiazide) bulunmaktadır.

Görüldüğü üzere tahmin performansı açısından en başarılı olan 2 model $MLR_{[DSA]}$ ve $MLR_{[A]}$ modelleridir. Bu modellerden eğitim/test/dış set bileşikleri için tahmin edilmiş toksisite değerleri ve hesaplanmış tanımlayıcılar EK1 ve EK2'deki tablolarda verilmiştir. MAE kriteri için “XternalValidationPlus” (Roy vd.,2016) kullanılarak elde edilen tablolar EK3'te verilmiştir.

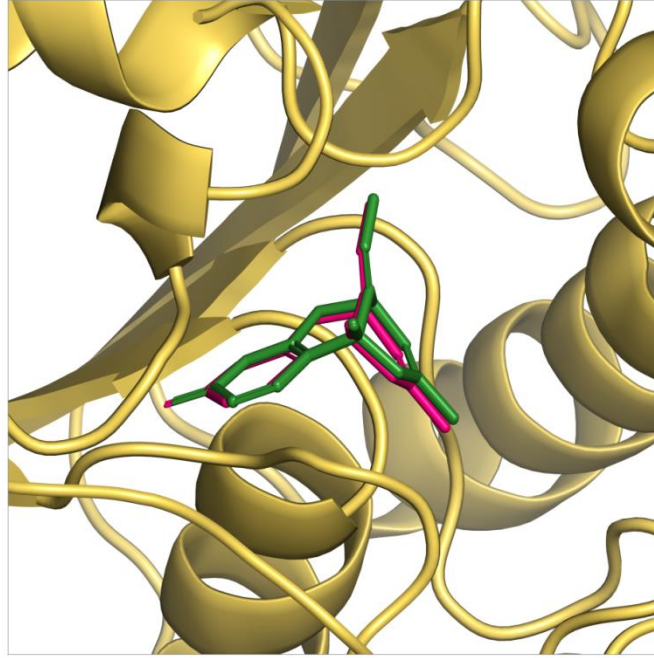
Tablo 3.11. MLR_[D] ve MLR_[DS] MLR_[DSA] MLR_[A] modellerinin parametrelerinin karşılaştırılması ve dış set tahmin performansları

Modeller	N_{Tr} / n_{Test}	R^2_{TR}	R^2_{TEST}	$RMSE_{TEST}$	Modelden tahmin edilen pT aralığı		pT değerleri uygulama alanı içinde kalan bileşik sayısı	pT değerleri uygulama alanı dışında kalan dış set kimyasalları	pT değerleri uygulama alanı içinde kalan bileşikler %	Kritik kaldırma (şapka) değerleri
					Min	Max				
MLR _[D]	61/13	0.7060	0.7458	0.4148	-0.5370	2.4508	110	11	90.9	$h^*=0.443$
MLR _[DS]	64/15	0.6582	0.6582	0.3841	-0.7868	2.9237	108	13	89.25	$h^*=0.469$
MLR _[DSA]	64/15	0.6365	0.8661	0.3970	-1.011	3.4677	119	2	98.34	$h^*=0.422$
MLR _[A]	67/12	0.6989	0.8340	0.2999	-1.3297	2.9257	114	7	94.21	$h^*=0.403$

3.2. Hedef Enzimlere Dayalı Toksisite Modellemeleri

3.2.1. AChE enzimine moleküler doking

Doking protokolünün doğruluğunu test etmek üzere, 1VOT AChE pdb XRay yapısında enzimle birlikte kristallendirilmiş olan ligand ((-)-Huperzine A), suları silinmiş enzimin aktif bölgesine dok edildi. Kristallendirilmiş yapıdaki ligandın konformasyonu ile yaptığımız doking işlemleri sonucunda elde edilen en iyi üç konformasyonun ayrı ayrı kendi ligandıyla Discovery Studio 4.0 (Accelrys Software Inc., 2013) programı kullanılarak karşılaştırılmasıyla elde edilen RMSD değeri 0.485 olarak bulunmuştur.



Şekil 3.13. (-)-Huperzine A ile birlikte kristallenmiş TcAChE (PDB ID: 1VOT) kristal yapı kompleksinde enzimin aktif bölgesinde bulunan ligandın (pembe çubuk) ve aynı ligandın ((-)-Huperzine A) tekrar dok edilmesiyle elde edilen (yeşil çubuk) konformasyonları ve yönelimlerinin karşılaştırılması.

Uyguladığımız doking protokolü $RMSD < 2.0 \text{ \AA}$ kriterini sağladığı için güvenilirliği doğrulanmıştır (Verdonk vd., 2003; Trott ve Olson, 2010).

Esnek doking yöntemi enzimin bir kısmının dinamik hareketini dikkate alabildiğinden rijid doking yöntemine göre daha gerçekçidir. Enzimdeki bazı önemli amino asitlerin konformasyonlarının değiştirilmesine olanak sağlayarak ligandın daha kolay

bağlanmasına yardım eder. Bu nedenle, doking performansını test etmek amacıyla veri seti için önce rijid daha sonra da esnek doking uygulayarak sonuçları kıyaslanmıştır.

Veri seti bileşikleri

Veri setindeki bileşiklerin AChE doking bağlanma enerjileri Tablo 3.12’de verilmiştir. Enzime iyi bağlanma kriteri olarak serbest bağlanma enerjileri -8 ve daha küçük olanlar koyu renk ile gösterilmiştir. Beklenildiği gibi, esnek doking bağlanma skorları rijid doking skorlarından daha iyi çıkmıştır. 79 veri seti bileşiğinden 10 tanesinin rijid ve esnek doking sonucu ise değişmemiştir. Bu bileşikler genellikle molekül yapısı küçük bileşikler olduklarından her iki yöntemde de bağlanma afiniteleri aynı kalmıştır ve genelde -2.6 ile -7.3 kcal/mol arasında düşük bağlanma afinitelerine sahip bileşikler arasında gözlenmiştir. Belirlediğimiz iyi bağlanma kriteri olarak bağlanma enerjisi -8’den küçük olan ve serbest bağlanma enerjisi aynı kalan tek bir bileşik amobarbital ($\Delta G_b = -8.1$ kcal/mol) olmuştur. Rijid doking sonuçlarına göre en iyi bağlanan ($\Delta G_b \leq -8$) 30 bileşik bulunmuştur. Bu bileşiklerin serbest bağlanma enerjileri -8.1 ile -11.1 kcal/mol aralığında bulunmuştur.

Esnek doking sonuçlarına göre enzime en iyi bağlanan ($\Delta G_b \leq -8$) bileşik sayısı 38’e yükselmiştir. Bu bileşiklerin serbest bağlanma enerjileri -8.1 ile -13.1 kcal/mol aralığında bulunmuştur. Beklenildiği gibi esnekliğin artırılması ligandların daha güçlü bağlanmasını sağlamıştır.

Tablo 3.12. Veri seti bileşiklerinin AChE ile rijid ve esnek doking serbest bağlanma enerjileri (ΔG_b kcal/mol).

CAS RN	İsim	Rijid doking bağlanma enerjileri	Esnek doking bağlanma enerjileri
107-98-2	1-Methoxy-2-propanol	-3.6	-3.6
120-78-5	2,2-Dithiobisbenzothiazole	-7.8	-9.6
39263-32-6	2-Amino-5-bromobenzonitrile	-6.8	-6.9
696-23-1	2-Methyl-4(5)-nitroimidazole	-5.3	-6
371-40-4	4-Fluoroaniline	-5.5	-5.6
50-78-2	Acetylsalicylic acid	-7.1	-7.5
107-02-8	Acroleine	-3	-3.2
59277-89-3	Acyclovir	-7.2	-7.6
5329-14-6	Amidosulfonic acid	-3.7	-3.9
50-48-6	Amitriptyline	-9	-13.1
57-43-2	Amobarbital	-8.1	-8.1

Tablo 3.12. (devam) Veri seti bileşiklerinin AChE ile rijid ve esnek doking serbest bağlanma enerjileri (ΔG_b kcal/mol).

CAS RN	İsim	Rijid doking bağlanma enerjileri	Esnek doking bağlanma enerjileri
62-53-3	Aniline	-5.3	-5.3
100-66-3	Anisol	-5.4	-5.4
27589-33-9	Azosemide	-10.5	-10.9
100-52-7	Benzaldehide	-5.7	-5.8
65-85-0	Benzoic acid	-6.4	-6.4
98-88-4	Benzoyl-chloride	-6.4	-6.5
501-53-1	Benzyl-chloroformiate	-7	-7
100-46-9	Benzylamine	-5.8	-5.9
58-08-2	Caffeine	-7.2	-7.5
154361-50-9	Capecitabine	-8.3	-9.5
66-25-1	Capronaldehyde	-4.7	-5.2
64544-07-6	Cefuroxime axetil	-7.1	-9.9
367-21-5	Chlorfluoroaniline	-5.8	-6
637-07-0	Clofibrate	-7.1	-8.1
882-09-7	Clofibric acid	-7.2	-7.7
1622-61-3	Clonazepam	-11.1	-11.3
5251-34-3	Cloprednol	-9.4	-11
439-14-5	Diazepam	-8.8	-10.5
111-42-2	Diethanolamine	-4.1	-4.1
46755-94-6	Diphenylpropanediol	-9	-9.8
1141-88-4	Dithiodianiline	-7.5	-8.5
112-54-9	Dodecanal	-5.6	-6.4
106-89-8*	Epichlorohydrine	-3.1	-3.1
57-63-6	Ethinylestradiol	-9.3	-11.2
91-53-2	Ethoxyquin	-8.4	-9
74-96-4	Ethyl bromide	-2.6	-2.6
104227-87-4	Famciclovir	-8.6	-8.9
76824-35-6	Famotidine	-8.5	-8.8
98319-26-7	Finasteride	-9.2	-12.9
79660-72-3	Fleroxacin	-7.9	-9.9
78755-81-4	Flumazenil	-8.1	-10.4
1622-62-4	Flunitrazepam	-9.8	-11.9
111-30-8	Glutaraldehyde	-4.2	-4.6
108-31-6	Maleic anhydride	-4.7	-4.8
2898-12-6	Medazepam	-10.1	-10.7
59-05-2	Methotrexate	-9.4	-11
59467-70-8	Midazolam	-9	-11.3
2211-28-1	Monobenzoate	-9.8	-10.8
110-91-8	Morpholine	-3.7	-3.8
121-69-7	N,N-dimethylaniline	-5.8	-6

Tablo 3.12. (devam) Veri seti bileşiklerinin AChE ile rijid ve esnek doking serbest bağlanma enerjileri (ΔG_b kcal/mol).

CAS RN	İsim	Rijid doking bağlanma enerjileri	Esnek doking bağlanma enerjileri
91-66-7	N,N-diethylaniline	-6.2	-6.7
22204-53-1	Naproxen	-8.6	-11.1
54-11-5	Nicotine	-6.6	-6.8
67-20-9	Nitrofurantoin	-7.9	-8.2
59-87-0	Nitrofurazone	-7.5	-8.2
55-63-0	Nitroglycerin	-6.3	-6.5
57849-23-7*	Octabase H	-8.5	-11.2
149-73-5	Orthoformic acid trimethylester	-3.6	-3.6
103-90-2	Paracetamol	-6.4	-6.7
61869-08-7	Paroxetine	-9.9	-11.5
76-74-4*	Pentobarbital	-7.8	-8.4
50-06-6	Phenobarbital	-9	-10.2
110-89-4	Piperidine	-4.2	-4.3
3282-30-2	Pivaloyl chloride	-4.9	-5.1
123-38-6	Propionaldehyde	-3	-3.1
51-52-5	Propylthiouracil	-6.4	-6.6
58-14-0	Pyrimethamine	-8.8	-8.7
106266-06-2	Risperidone	-11	-12.7
69-72-7	Salicylic acid	-6.4	-6.8
57-85-2	Testosterone propionate	-9.1	-12.2
60-54-8	Tetracycline	-8.6	-11.5
119-64-2	Tetralin	-7.2	-7.3
58-55-9	Theophylline	-7.1	-7.3
76-75-5*	Thiopental	-7.3	-7.8
134308-13-7	Tolcapone	-9.1	-11.4
10161-34-9	Trenbolone acetate	-8.8	-12
3380-34-5	Triclosan	-8.1	-9.7
935-92-2	Trimethylquinone	-7.3	-7.3

*ile gösterilen bileşikler rasemik karışım olduğu için her 2 enantiyomerin ayrı doking çalışmaları yapılmış doking bağlanma enerjilerinin ortalamaları alınarak yazılmıştır. (Esnek doking enantiyomer bağlanma enerjileri (kcal/mol): S-Epichlorohydrine: -3.1, (R)-Epichlorohydrine: -3.2, (R)-Octabase H: -11, (S)-Octabase H: -11.4, (R)-Pentobarbital: -8.1, (S)-Pentobarbital: -8.6, (R)-Thiopental: -7.8, (S)-Thiopental: -7.7)

Veri setindeki 79 kimyasaldan toksisite riski yüksek bileşikleri seçmek için bir filtreleme yapılmıştır. Filtreleme yapılırken 4 kritere de uyan ortak kimyasallar seçilmiş ve Tablo 3.13 de gösterilmiştir. Bu yaklaşıma göre hem deneysel ölçülmüş pT değerleri 1'den büyük olanlar, hem de $MLR_{[DSA]}$ ve $MLR_{[A]}$ modellerinden tahmin edilmiş toksisite değerleri 1'den büyük olan kimyasallar ile aynı zamanda AChE enzimine doking serbest bağlanma enerjileri de -8 ve daha küçük olan bileşikler dikkate alınmıştır. Bu kriterlerin tümüne uyan 18 kimyasal Tablo 3.13'de gösterilmiştir.

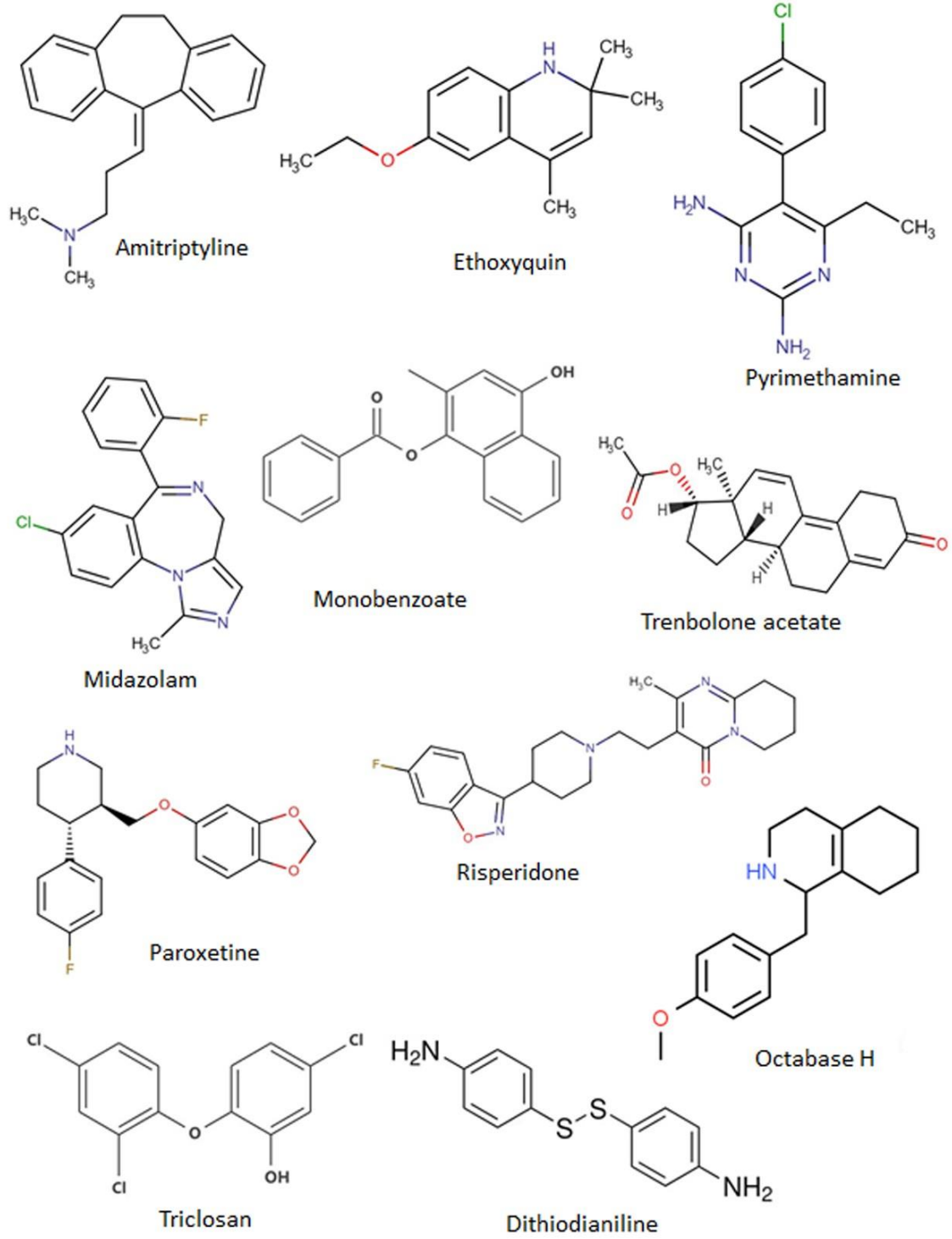
Tablo 3.13 deki bu 18 bileşiğin AChE enzimine de çok iyi bağlanıyor olmaları toksik etkilerine sebep olan moleküler başlatıcı olayın AChE enzimine bağlanma olduğuna işaret etmektedir. Tablo 3.13 de yer almayan fakat $pT \geq 1$ olan bileşikler için AChE bağlanması dışında farklı toksisite başlatıcı olaylar söz konusu olabilir.

AChE enzimine bağlanarak toksik etki gösteren bu 18 adet veri seti bileşiğinden en toksik olanlar ($pT \geq 2$) seçilerek yapıları ve isimleri Şekil 3.14'te gösterilmiştir. Bu farmasötik bileşiklerin yapılarında genellikle aromatik halkaların ve amin/imin gruplarının bulunduğu görülmektedir.

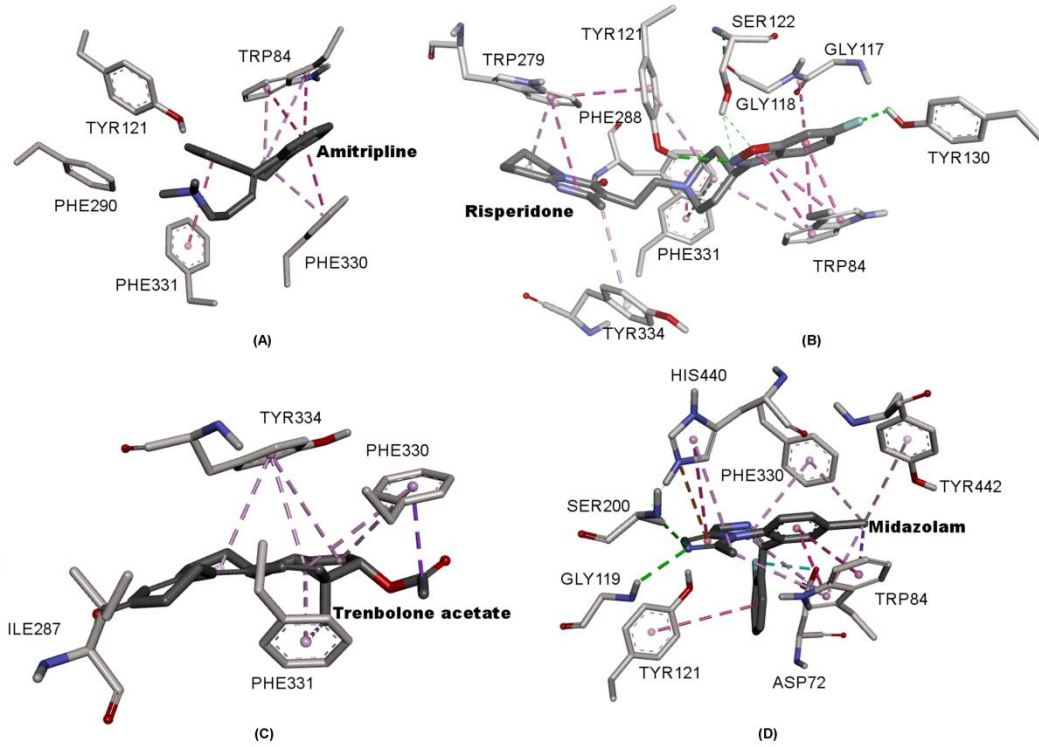
Veri setindeki yüksek toksisite gösteren kimyasalların AChE ile bağlanma mekanizmalarını açıklamak üzere Şekil 3.14'teki yapılardan seçilen en toksik 4 ilacın (Amitriptyline, Risperidone, Trenbolone acetate, Midazolam) AChE aktif bölgesindeki bağlanma pozları ve bağlanma etkileşimleri Şekil 3.15 de gösterilmiştir.

Tablo 3.13. AChE bağlanması ile ilişkili olarak yüksek toksisiteye sahip veri seti bileşikleri. (Deneysel ölçülmüş pT ile MLR_[DSA] ve MLR_[A] modellerinden tahmin edilmiş toksisite değerleri pT ≥ 1 olanlar ve AChE doking serbest bağlanma enerjileri $\Delta G_b \leq -8$ olan kimyasallar seçilmiştir.)

CAS no	Isim	Deneysel ölçülmüş pT (mM)	MLR _[DSA] ile tahmin edilmiş pT (mM)	MLR _[A] ile tahmin edilmiş pT (mM)	AChE ΔG_b (kcal/mol)
50-48-6	Amitriptyline	2.551	1.834	2.797	-13.1
98319-26-7	Finasteride	1.27	1.220	1.587	-12.9
106266-06-2	Risperidone	1.835	1.549	2.468	-12.7
57-85-2	Testosterone propionate	1.236	1.903	1.880	-12.2
10161-34-9	Trenbolone acetate	2.319	2.031	2.022	-12
61869-08-7	Paroxetine	2.217	1.363	1.644	-11.5
59467-70-8	Midazolam	1.879	2.123	1.801	-11.3
91-53-2	Ethoxyquin	2.268	1.916	1.978	-11.2
57849-23-7	Octabase H*	2.049	1.363	2.01	-11
2211-28-1	Monobenzoate	2.331	1.324	2.549	-10.8
2898-12-6	Medazepam	2.319	1.999	1.794	-10.7
439-14-5	Diazepam	1.351	1.023	1.505	-10.5
3380-34-5	Triclosan	3.047	2.219	2.926	-9.7
57-63-6	Ethinylestradiol	1.082	1.130	1.260	-9
58-14-0	Pyrimethamine	1.625	1.200	2.063	-8.7
1141-88-4	Dithiodianiline	3.671	3.468	2.411	-8.5
67-20-9	Nitrofurantoin	1.377	1.119	0.999	-8.2
59-87-0	Nitrofurazone	1.297	1.058	1.004	-8.2



Şekil 3.14. AChE ile ilişkili en toksik veri seti bileşiklerinin yapıları. (Deneysel pT, MLR_[A], MLR_[DSA] modellerinden tahmin edilmiş toksisite değerlerinin en az birinin 2'den büyük ve $\Delta G_b \leq -8$ olan bileşikler)



Şekil 3.15. Veri setine ait Tablo 3.13 teki en toksik bileşiklerden seçilmiş 4 bileşiğin (A) Amitriptyline, (B) Risperidone, (C) Trenbolone acetate, (D) Midazolam, AChE bağlanma etkileşimleri.

Amitriptyline ilacının aromatik ve sikloheptan halkaları AChE aktif bölge boşluğunda anyonik substrat bağlama bölgesinde TRP84 ile 2 π - π istiflenme etkileşimi ve 2 π -alkil etkileşimi ile PHE330'un aromatik halkasıyla 3.95Å mesafeli π - π istiflenme etkileşimi yapmıştır. Açıl bağlama bölgesi amino asitlerinden PHE331 ile de π - π T-şekli etkileşimi yapmıştır. Tüm etkileşimler ve mesafeleri Tablo 3.14'de verilmiştir.

Bir diğer farmasötik ilaç bileşiği Risperidone AChE enziminin anyonik substrat bağlama bölgesindeki TRP84 ile 4 adet π - π istiflenme ve π -alkil etkileşimleri yapmıştır. Açıl bağlanma bölgesinde PHE288 ile hidrojen bağı, PHE331 ile π -alkil etkileşimleri yapmıştır. TYR130 ile de hidrojen bağı yapmıştır. Periferal anyonik bölgede TRP279 ile π - π istiflenme ve π -alkil etkileşimleri; TYR121 ile hidrojen bağı ve π -alkil etkileşimleri yapmıştır. Diğer amino asit kalıntılarıyla yaptığı etkileşimler Şekil 3.15 ve etkileşim türü ve mesafeleri Tablo 3.14 de gösterilmiştir.

İyi bağlanma afintesi gösteren bir diğer kimyasal Trenbolone acetate PHE330 ile π -sigma ve π -alkil etkileşimleri, PHE331 ile de π -alkil etkileşimleri yapmıştır. TYR334 ve

ILE287 ile sırasıyla π -alkil etkileşimleri (3 adet) ve C-H zayıf bağ etkileşimleri yaptığı görülmektedir (Şekil 3.15 ve Tablo 3.14).

Midazolam ilacının fenil ve siklo halkaları anyonik substrat bağlama bölgesinde TRP84 ve PHE330 ile etkileşimler yapmıştır. TRP84 amino asidi ile π -alkil, π - π istiflenme, π -sigma olmak üzere 6 etkileşim yapmıştır (Şekil 3.15, Tablo3.14). PHE330 ile π -alkil etkileşimi yapmıştır. HIS440 ile π - π T-şekli ve π -kasyon etkileşimleri, oksianyon boşluğunda GLY119 ve esteratik bölgede SER200 ile yapığı hidrojen bağı mesafeleri sırasıyla 2.92 ve 2.88 Å olarak görülmektedir. TYR442 ile π -alkil, ASP72 ile halojen (F) etkileşimi yapmıştır.

Tablo 3.14. Şekil 3.14 teki 4 bileşiğin AChE bağlanma enerjileri, etkileşim türü ve etkileşim mesafeleri.

Bileşik	$\Delta G(\text{kcal/mol})$	Esnek Doking Etkileşimler	Etkileşim Türü ve Bağ mesafesi (Å)
Amitriptyline	-13.1	Ligand-...TRP84	π - π stacked*2 (4.44) (4.65)
		Ligand...TRP84	π -alkyl*2 (5.28)(4.10)
		Ligand-fenil...PHE330-fenil	π -alkyl (4.11)
		Ligand...PHE330-fenil	π - π stacked (3.95)
		Ligand-fenil...PHE330-fenil	π - π T-shaped (4.58)
Risperidone	-12.7	Ligand-F...TYR130-OH(H)	Hidrojen bağı (2.62)
		Ligand...TRP84	π - π stacked*4 (3.73) (4.28)(4.58) (4.53)
		Ligand...TRP84	π -alkyl (5.38)
		Ligand...PHE331	π -alkyl (5.39)
		Ligand...TYR121	π -alkyl (5.42)
		Ligand-N...TYR121-OH(H)	HBA (3.02)
		Ligand-F...TYR130-OH(H)	HBA(2.62)
		Ligand-C=O(O)...PHE288-NH(H)	HBA(2.39)
		Ligand-N-C-C(C)...TYR334-fenil	π -alkyl (4.66)
		Ligand-N-O(N)...SER122-OH(H)	HBA (2.27)
		Ligand-N-O(O)...SER122-OH(H)	HBA (2.22)
		Ligand...GLY117-GLY118	Amide- π -stacked (4.80)
		Ligand...TRP279-fenil	π - π stacked (4.54)
		Ligand...TRP279-fenil	π -alkyl (4.25)
Trenbolone acetate	-12	Ligand-C=O(C)...PHE330-fenil	π -sigma (4.25)
		Ligand...PHE330-fenil	π -alkyl*2 (4.96) (4.86)
		Ligand...PHE331-fenil	π -alkyl (4.44)
		Ligand...TYR334-fenil	π -alkyl*3 (4.95)(4.35)(4.56)
		Ligand-C=O(O)...ILE287-C-NH(C)	C-H (3.60)

Tablo 3.14. (devam) Şekil 3.14 teki 4 bileşiğin AChE bağlanma enerjileri, etkileşim türü ve etkileşim mesafeleri.

Bileşik	$\Delta G(\text{kcal/mol})$	Esnek Doking Etkileşimler	Etkileşim Türü ve Bağ mesafesi (Å)
Midazolam	-11.3	Ligand...TRP84	π -alkyl*2 (4.60) (5.44)
		Ligand-fenil...TRP84-fenil	π - π stacked*2 (3.79)(4.62)
		Ligand-Cl...TRP84-fenil	π -alkyl (4.19)
		Ligand-Cl...TRP84-fenil	π -sigma (3.97)
		Ligand-Cl...PHE330-fenil	π -alkyl (4.70)
		Ligand...PHE330-fenil	π -alkyl (4.85)
		Ligand-C...HIS440	π -alkyl (5.19)
		Ligand...HIS440	π - π T shaped (5.40)
		Ligand-C=NH(N)...HIS440-C=NH(N)	Eelectrostaic π -cation (4.77)
		Ligand-N...GLY119-NH(H)	HBA(2.92)
		Ligand-Cl...TYR442-fenil	π -alkyl (4.79)
		Ligand-C=N(N)...SER200-OH(H)	HBA(2.88)
		Ligand-F...ASP72-C-O2(O)	Halogen(F) (3.40)

Dış set bileşikler

Deneysel ölçülmüş toksisite değerleri bilinmeyen 121 Dış set bileşiğine ait rijid ve esnek doking bağlanma enerjileri Tablo 3.15’de verilmiştir. Bileşikler esnek doking serbest bağlanma enerjilerine göre iyi bağlananlardan zayıf bağlananlara göre sıralanmıştır.

Tablo 3.15. Dış set bileşiklerinin AChE ile rijid ve esnek doking serbest bağlanma enerjileri (Esnek doking skoruna göre ΔG_b değerleri küçükten büyüğe sıralanmıştır)

İsim	Rijid doking serbest bağlanma enerjileri $\Delta G_b(\text{kcal/mol})$	Esnek doking serbest bağlanma enerjileri $\Delta G_b(\text{kcal/mol})$
Progesterone	-9.6	-12.8
Estradiol	-8.6	-12.4
Clotrimazole	-10	-12.3
Cromolyn	-11.9	-12.3
R(+)-Warfarin	-9.9	-12.2
Novobiocin	-10.7	-12.2
Phenytoin	-10.6	-12.1
Doxycycline	-8.8	-11.9
Glibenclamide	-10.9	-11.9
Oxytetracycline	-9	-11.9
Hydrocortisone	-6.6	-11.8
Droperidol	-10.9	-11.7
Terbinafine	-10.1	-11.7

Tablo 3.15. (devam) Dış set bileşiklerinin AChE ile rijid ve esnek doking serbest bağlanma enerjileri (Esnek doking skoruna göre ΔG_b değerleri küçükten büyüğe sıralanmıştır)

İsim	Rijid doking serbest bağlanma enerjileri $\Delta G_b(\text{kcal/mol})$	Esnek doking serbest bağlanma enerjileri $\Delta G_b(\text{kcal/mol})$
Carbamazepine	-10.1	-11.6
Methylprednisolone	-9.6	-11.6
Chlordiazopoxide	-9.9	-11.5
Fusidic acid	-8.8	-11.5
S(-)-Warfarin	-9.8	-11.3
Indomethacin	-9	-11.2
Prednisone	-8.9	-11.1
Acrivastine	-9.2	-11.1
Ampicilin	-8.2	-10.9
Prednisolone	-9.2	-10.9
Quinine	-9.1	-10.9
Sulfasalazine	-9.8	-10.9
(22S)-Budesonide	-8.4	-10.8
Lomefloxacin (R)	-7.9	-10.8
Bezafibrate	-10.4	-10.8
Flumetasone	-9.3	-10.8
Quinidine	-8.7	-10.8
Bromazepam	-10.6	-10.7
Lomefloxacin (S)	-7.9	-10.6
Isotretionin	-9.6	-10.6
Tolazamide	-9.3	-10.6
Imipramine	-9.1	-10.5
(22R)-Budesonide	-7.9	-10.4
Desipramine	-8.6	-10.3
Etoposide	-8.8	-10.3
Phenoxymethylpenicillinic Acid	-9.3	-10.2
Phenylbutazone	-8.3	-10.2
Sulfaphenazole	-8.1	-10.2
Ciprofloxacin	-7.7	-10.1
Triflupromazine	-8.5	-10.1
Fenpropidin (S)	-8.2	-10
Norfloxacin	-7.9	-10
Cefalexin	-8.2	-10
R(-)-Nisoldipine	-8	-9.9
Levofloxacin	-8.7	-9.9
R(+)-Fluoxetine	-8.5	-9.8

Tablo 3.15. (devam) Dış set bileşiklerinin AChE ile rijid ve esnek doking serbest bağlanma enerjileri (Esnek doking skoruna göre ΔG_b değerleri küçükten büyüğe sıralanmıştır)

İsim	Rijid doking serbest bağlanma enerjileri $\Delta G_b(\text{kcal/mol})$	Esnek doking serbest bağlanma enerjileri $\Delta G_b(\text{kcal/mol})$
S(+)-Nisoldipine	-9	-9.8
Cefuroxime	-7.3	-9.8
Chlorpromazine	-8.5	-9.8
Nadolol	-8.2	-9.8
Prazosin	-8.7	-9.8
Amoxicillin	-8.4	-9.7
Scopolamine	-8.6	-9.7
Bumetanide	-8.6	-9.6
Furosemide	-8.6	-9.6
Promazine	-8.2	-9.6
Sulfachlorpyridazine	-8.4	-9.6
Flutamide	-8.4	-9.4
Diclofenac	-9.1	-9.3
Dansylglycine	-8.8	-9.3
Propranolol (S)	-8.6	-9.2
Propranolol (R)	-8.6	-9.1
Fenpropidin (R)	-8.1	-9
Sulfamethoxazole	-8.5	-9
Trimethoprim	-8	-9
Metaxalone (R)	-8.6	-8.9
Acridine	-8.4	-8.9
Hydrochlorothiazide	-8.7	-8.9
Xanthene	-8.4	-8.9
Metipranolol (S)	-7.8	-8.8
Lamotrigine	-8.6	-8.8
Ibuprofen (R)	-8	-8.7
Metaxalone (S)	-8.6	-8.7
Stavudine	-8.2	-8.7
Sulfadiazine	-8.4	-8.7
Zidovudine	-8	-8.7
4-Nitroquinoline oxide	-8.6	-8.7
Sumatriptan	-8.1	-8.7
S(-)-Secobarbital	-8.2	-8.6
L-tryptophan	-8.3	-8.6
Carbazole	-8.3	-8.5
Dibenzofuran	-8.3	-8.5

Tablo 3.15. (devam) Dış set bileşiklerinin AChE ile rijid ve esnek doking serbest bağlanma enerjileri (Esnek doking skoruna göre ΔG_b değerleri küçükten büyüğe sıralanmıştır)

İsim	Rijid doking serbest bağlanma enerjileri $\Delta G_b(\text{kcal/mol})$	Esnek doking serbest bağlanma enerjileri $\Delta G_b(\text{kcal/mol})$
S(-)-Fluoxetine	-8.4	-8.4
Ibuprofen (S)	-7.9	-8.4
Metipranolol (R)	-8	-8.4
Chlorpropamide	-8	-8.4
Dibenzothiophene	-8.3	-8.4
R(+)-Secobarbital	-8.1	-8.3
Tolbutamide	-8.5	-8.1
6-Methylquinoline	-7.4	-8
Timolol	-7.5	-8
Antipyrine	-7.9	-7.9
Lidocaine	-7.9	-7.9
Tetracaine	-7.3	-7.8
Cotinine	-7.6	-7.6
Procaine	-7	-7.6
Cimetidine	-6.6	-7.4
2,3-dimethylbenzofuran	-7.4	-7.4
Clonidine	-6.8	-7.4
2-Methylbenzofuran	-6.8	-7.3
Gentisic acid	-6.5	-6.8
Quinoline	-6.9	-6.8
Tetrachlorohydroquinone	-6.5	-6.7
Metronidazole	-6	-6.6
Indole	-6.6	-6.6
Benzofuran	-6.3	-6.3
Benzothiophene	-6.3	-6.3
Metformin	-6	-6.1
Fluorouracil	-5.6	-5.8
5-fluorocytosine	-5.5	-5.6
Acetic anhydride	-4.3	-4.8
Chloral hydrate	-4.3	-4.6
Ethyl propionate	-4.1	-4.6
Aminopropanol	-3.4	-3.6
Chloroacetyl chloride	-3.5	-3.6
Chloroacetic acid	-3.5	-3.5
Acetic acid glycial	-3.2	-3.4
Ethylene oxide	-2.3	-2.2

Rijid doking sonuçlarına göre iyi bağlanan ($\Delta G_b \leq -8$) 91 adet bileşik bulunmuştur. En iyi afiniteye bağlanan bileşiğin (Cromolyn) serbest bağlanma enerjisi -11.9 kcal/mol olarak bulunmuştur. Esnek doking sonuçlarına göre enzime iyi bağlanan ($\Delta G_b \leq -8$) bileşik sayısı 94'e yükselmiştir. Bunlardan en iyi bağlanan bileşik progesterone -12.8 kcal/mol serbest bağlanma enerjisi ile daha yüksek afinite göstermiştir. Hem veri set hem de dış set için esnek doking sonuçları daha iyi bulunduğundan toksisite değerlendirmeleri için esnek doking serbest bağlanma enerjileri dikkate alınmıştır.

Dış setteki 121 kimyasaldan yüksek toksisite gösteren bileşikleri seçmek için veri setinde olduğu gibi MLR modellerinden tahmin edilen pT değerleriyle birlikte toplu bir filtreleme yapılmıştır. Tahmin değerlerinin güvenilirliğini sağlamak amacıyla her 2 MLR modelin de uygulama alanı dışında kalan kimyasallar listeden çıkarılmıştır. Bu yaklaşıma göre $MLR_{[DSA]}$ ve $MLR_{[A]}$ modellerinden tahmin edilmiş toksisite değerleri 1'den büyük olan kimyasallar arasından aynı zamanda AChE enzimine bağlanma enerjileri -8 ve daha küçük olanlar dikkate alınmıştır. Bu kriterlerin tümüne uyan 26 farmasötik bileşik Tablo 3.16 da gösterilmiştir.

Tablo 3.16. AChE bağlanması ile ilişkili olarak yüksek toksisite gösteren dış set bileşikleri. ($MLR_{[DSA]}$ ve $MLR_{[A]}$ modellerinden tahmin edilmiş toksisite değerleri 1 den büyük olanlar ($pT \geq 1$) ile AChE doking serbest bağlanma enerjileri $\Delta G_b \leq -8$ olanlar)

CAS no	İsim	$MLR_{[DSA]}$ ile tahmin edilmiş pT (mM)	$MLR_{[A]}$ ile tahmin edilmiş pT (mM)	AChE ΔG_b (kcal/mol)
57-83-0	Progesterone	2.559	2.078	-12.8
50-28-2	Estradiol	2.053	2.111	-12.4
23593-75-1	Clotrimazole	1.827	1.837	-12.3
548-73-2	Droperidol	1.769	2.025	-11.7
298-46-4	Carbamazepine	3.236	1.567	-11.6
6990-06-3	Fusidic acid	1.433	1.346	-11.5
130-95-0	Quinine	1.775	1.317	-10.9
56-54-2	Quinidine	1.672	1.337	-10.8
50-49-7	Imipramine	2.003	2.014	-10.5
50-47-5	Desipramine	2.770	1.824	-10.3
50-33-9	Phenylbutazone	2.084	1.956	-10.2
526-08-9	Sulfaphenazole	1.420	1.118	-10.2
146-54-3	Triflupromazine	2.116	2.069	-10.1
67306-00-7*	Fenpropidin (S)	1.494	2.322	-10
50-53-3	Chlorpromazine	1.967	2.239	-9.8
19216-56-9	Prazosin	1.019	1.236	-9.8
26787-78-0	Amoxicillin	1.816	1.012	-9.7

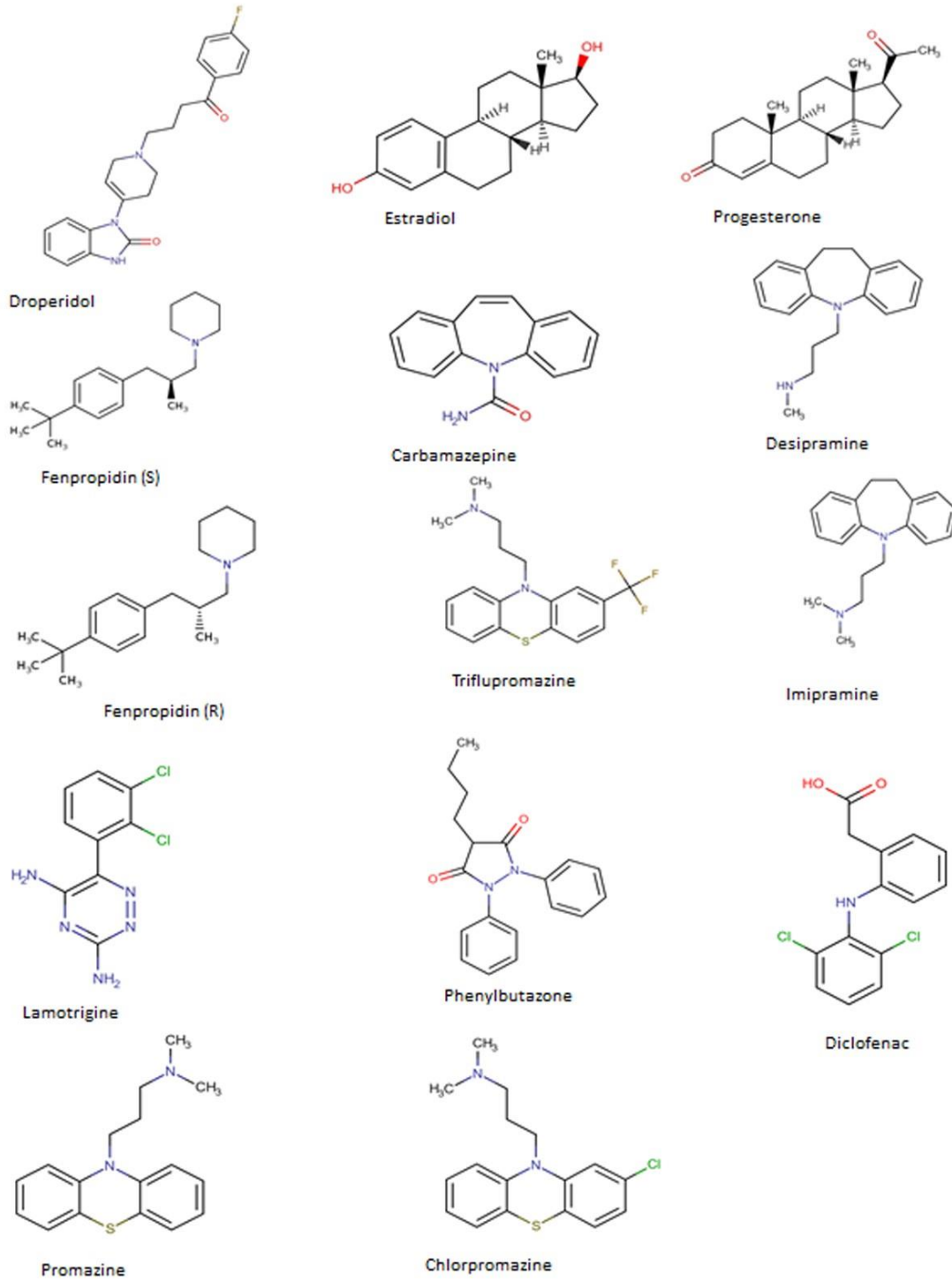
Tablo 3.16. (devam) AChE bağlanması ile ilişkili olarak yüksek toksisite gösteren dış set bileşikleri. (MLR_[DSA] ve MLR_[A] modellerinden tahmin edilmiş toksisite değerleri 1 den büyük olanlar ($pT \geq 1$) ile AChE doking serbest bağlanma enerjileri $\Delta G_b \leq -8$ olanlar)

CAS no	İsim	MLR _[DSA] ile tahmin edilmiş pT (mM)	MLR _[A] ile tahmin edilmiş pT (mM)	AChE ΔG_b (kcal/mol)
58-40-2	Promazine	2.031	1.706	-9.6
15307-86-5	Diclofenac	2.379	1.113	-9.3
525-66-6*	Propranolol (S)	1.387	1.555	-9.2
525-66-6*	Propranolol (R)	1.643	1.640	-9.1
67306-00-7*	Fenpropidin (R)	1.736	2.319	-9
260-94-6	Acridine	1.626	1.546	-8.9
92-83-1	Xanthene	1.033	1.113	-8.9
84057-84-1	Lamotrigine	2.177	2.356	-8.8
86-74-8	Carbazole	1.627	1.431	-8.5

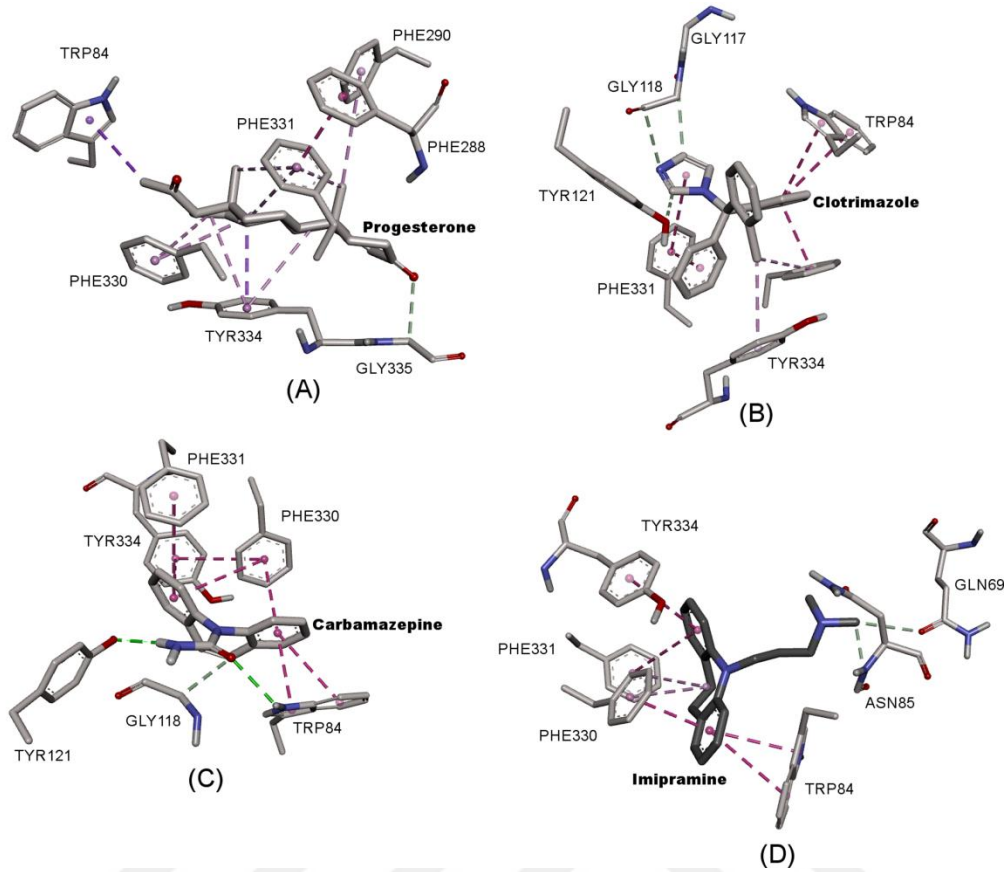
Tablo 3.16 daki dış set bileşiklerinden 26 bileşiğin AChE enzimine çok iyi bağlanıyor olmaları toksik etkilerine sebep olan moleküler başlatıcı olayın AChE enzimine bağlanma olduğuna işaret etmektedir. Tablo 3.16 da bulunmayan fakat $pT \geq 1$ olan bileşikler için AChE bağlanması dışında farklı toksisite başlatıcı olaylar söz konusu olabilir.

AChE enzimine bağlanarak toksik etki gösteren bu 26 adet dış set bileşiğinden en toksik olanlar ($pT \geq 2$) seçilerek yapıları ve isimleri Şekil 3.16'da gösterilmiştir. Bu organik bileşikler arasında Carbamazepine, Desipramine, İmipiramine yapılarında 5H-Dibenz[b,f]azepine halkası, promazine, chlorpromazine ve triflupromazine yapılarında ise phenothiazine iskeleti dikkat çekmektedir.

Dış settteki yüksek toksisite gösteren kimyasalların AChE ile bağlanma mekanizmalarını açıklamak üzere Şekil 3.16'daki yapılardan örnek olarak seçilen Progesterone, Clotrimazole, İmipiramine ve Carbamazepine için AChE bağlanma etkileşim görüntüleri Şekil 3.17'de, etkileşim çeşitleri ve mesafeleri Tablo 3.17 de verilmiştir.



Şekil 3.16. AChE ile ilişkili en toksik dış set bileşiklerinin yapıları. ($MLR_{[A]}$, $MLR_{[DSA]}$ modellerinden tahmin edilmiş toksisite değerlerinin en az birinin 2'den büyük ve $\Delta G_b \leq -8$ olan bileşikler)



Şekil 3.17. Dış set bileşiklerine ait Tablo 3.16'daki en toksik bileşiklerden seçilmiş 4 bileşiğin (A) Progesterone, (B) Clotrimazole, (C) Carbamazepine (D) Imipramine AChE bağlanma etkileşimleri.

Tablo 3.17. Dış set bileşiklerine ait Şekil 3.17' deki 4 en toksik bileşiğin AChE bağlanma enerjileri, etkileşim türleri ve mesafeleri.

Bileşik	$\Delta G(\text{kcal/mol})$	Esnek Doking Etkileşimler	Etkileşim Türü ve Bağ mesafesi (Å)
Progesterone	-13.1	Ligand -C...TRP84	π -sigma (3.85)
		Ligand-C...PHE290	π -alkyl (4.99)
		Ligand...PHE330-fenil	π -alkyl (4.86) (5.43)
		Ligand-C...PHE331-fenil	π -alkyl (4.56) (4.78)
		Ligand...PHE331-fenil	π -alkyl (4.57)
		Ligand...TYR334-fenil	π -alkyl*2 (4.59) (4.62)
		Ligand...TYR334-fenil	π -sigma (3.72)
		Ligand...GLY335	C-H (3.29)

Tablo 3.17. (devam) Dış set bileşiklerine ait Şekil 3.17' deki 4 en toksik bileşiğin AChE bağlanma enerjileri, etkileşim türleri ve mesafeleri.

Bileşik	$\Delta G(\text{kcal/mol})$	Esnek Doking Etkileşimler	Etkileşim Türü ve Bağ mesafesi (Å)
Clotrimazole	-12.7	Ligand-fenil...TRP84	π - π T-shaped (4.91)
		Ligand-fenil...TRP84-fenil	π - π T-shaped (4.72)
		Ligand-fenil...PHE330-fenil	π - π stacked (3.67)
		Ligand-Cl...PHE330-fenil	π -alkyl (4.72)
		Ligand-Cl...TYR334-fenil	π -alkyl (4.11)
		Ligand-...PHE331-fenil	π - π T-shaped (4.81)
		Ligand-C=N(C)...TYR121-OH(O)	C-H (3.78)
		Ligand-C=N(N)...GLY118-C=O(C)	C-H (3.43)
		Ligand-C...GLY117-N-C=O(O)	C-H (3.73)
Carbamazepine	-11.6	Ligand-NH(H)...TRP84-C=O(O)	HBA(2.79)
		Ligand-fenil...TRP84	π - π stacked*2 (3.70) (4.32)
		Ligand-NH2(H)...TYR121-OH(O)	HBD(2.22)
		Ligand-fenil...PHE330-fenil	π - π stacked (4.05)
		Ligand-fenil...PHE330-fenil	π - π T-shaped (4.74)
		Ligand-fenil...PHE331-fenil	π - π T-shaped (5.36)
		Ligand-fenil...TYR334-fenil	π - π T-shaped (4.71)
		Ligand-C=O(O)...GLY118-N-C=O(C)	C-H (3.55)
Imipramine	-10.5	Ligand-fenil...TRP84	π - π stacked*2 (4.06) (4.59)
		Ligand-fenil...PHE330-fenil	π - π stacked (3.80)
		Ligand-fenil...PHE330	π -alkyl (4.25)
		Ligand...PHE331-fenil	π -alkyl (5.40)
		Ligand-fenil...PHE331-fenil	π - π T-shaped (5.25)
		Ligand-fenil...TYR334-fenil	π - π T-shaped (4.22)
		Ligand-N-C(C)...GLN69-C=O(O)	C-H (3.65)
		Ligand-N-C(C)...TRP84-C=O(O)	C-H (3.42)

3.2.2. Glutatyon-S-transferaz (GST) enzimi homoloji modellemesi

Üç boyutlu kristal yapısı bilinmeyen balık türüne (*Danio Rerio*) ait glutatyon-S-transferaz pi enziminin aminoasit fasta sekansı NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) veri bankasında aratıldı. Sekans seçilirken referans sekans (refseq) (O'Leary vd.,2016)

olmasına ve mutant olmamasına dikkat edildi. Seçilen referans sekans (208 amino asitten oluşan) ve kodu fasta formatında aşağıda verilmiştir.

“>NP_571809.1 glutathione-S-transferase pi [*Danio rerio*]”

MAPYTLTYFAVKGRGALKIMLADKDQQLKENLVTFEEWMKGDLCATCVFG
QLPKFEDGDLVLFQSNAMLRHLGRKHAAYGKNDSEASLIDVMNDGVEDLRLK
YIKLIYQEYETGKEAFIKDLPNHLKCFENVLAKNKTGFLVGDQISFADYNLFDLL
LNLKVLSPSCLDSFSLKSFVDKISARPKVKALLEECENFKKLPINGNGKQ”

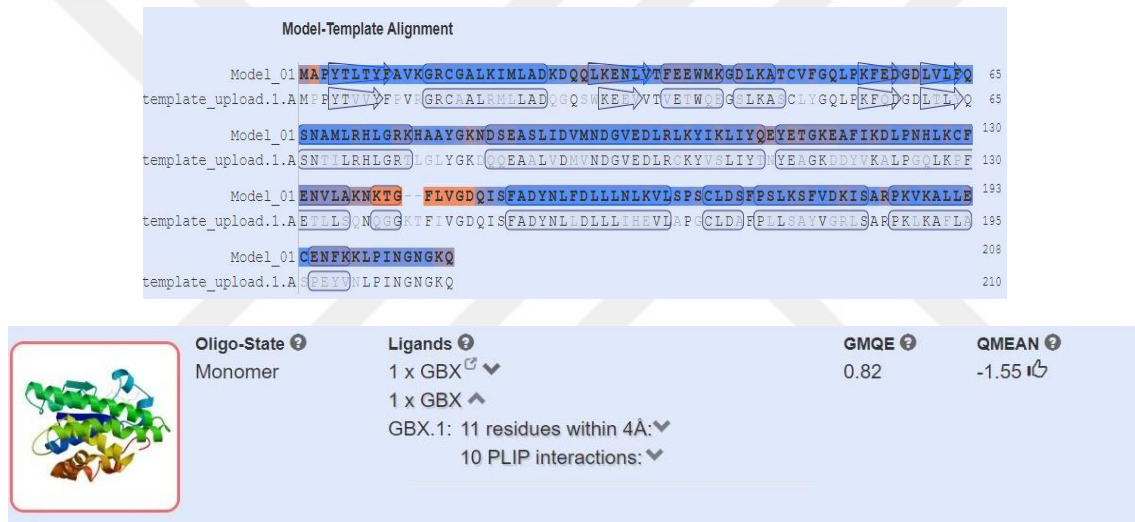
GST enziminin 3 boyutlu yapısını belirlemek amacı ile önce kalıp enzim pdb yapısı (template) seçilmesi gerektiği için NCBI’ın BLAST (Altschul vd., 1997) arama motoru kullanıldı. Kalıp enzim bulmak amacıyla blastp (protein-protein BLAST) algoritması seçildi. “>NP_571809.1” kodlu fasta sekansı girildi ve database (veri tabanı) PDB veri bankası seçilerek taratıldı. Taramada eşik değeri (“expect threshold”) en benzer yapıları bulmak amacı ile 0.0001 olarak seçildi. “Max target” 500, “word size” 3 olarak alındı. Geri kalan ayarlar “default” olarak bırakılarak uygun kalıp (template) araştırıldı. Sonuçlarda hedef sekansa benzerliği en yüksek yapılar listelendi. Bu yapılardan benzerlik oranı en yüksek çıkan ilk 10 yapı Şekil 3.18’de gösterilmiştir. İlk 2 kalıbın benzerlik oranları kısmen daha iyi çıkmasına rağmen, 1. kalıp enzimin makalesi yayınlanmamış olduğundan, 2. kalıp enzim kristallenmiş glutatyon molekülü içermediğinden, benzerlik oranı 59.52% olan 3. Kalıp insana ait pdb 4PGT_A zinciri seçildi. Buradaki amacımız hedef sekansa en çok benzeyen kalıp enzimi bulmanın yanında enzimle birlikte kristallendirilmiş glutatyonun yapısının da bulunmasıydı.

	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Per. Ident	Accession
✓	Chain A, Glutathione S-transferase P [Homo sapiens]	276	276	100%	5e-95	60.48%	5L6X_A
✓	Chain A, GLUTATHIONE S-TRANSFERASE P1-1 [Homo sapiens]	275	275	100%	1e-94	60.48%	22GS_A
✓	Chain A, PROTEIN (GLUTATHIONE S-TRANSFERASE) [Homo sapiens]	275	275	100%	2e-94	59.52%	4PGT_A
✓	Chain A, Glutathione S-transferase [Homo sapiens]	274	274	100%	3e-94	60.00%	11GS_A
✓	Chain A, Glutathione S-transferase [Homo sapiens]	274	274	100%	5e-94	59.52%	1PGT_A
✓	Chain A, Glutathione S-Transferase P1-1 [Homo sapiens]	273	273	100%	1e-93	59.52%	17GS_A
✓	Chain A, Glutathione S-transferase P1-1 [Homo sapiens]	272	272	99%	2e-93	60.10%	10GS_A
✓	Chain A, Glutathione S-transferase P [Homo sapiens]	271	271	99%	3e-93	59.62%	3CSI_A
✓	Chain A, GLUTATHIONE S-TRANSFERASE [Homo sapiens]	271	271	99%	5e-93	59.62%	1EOG_A
✓	Chain A, Glutathione S-transferase P [Homo sapiens]	271	271	99%	6e-93	59.62%	1PX7_A

Şekil 3.18. Blastp sonucuna göre E değerleri eşik değerlerini aşan sekansların sıralaması (171 pdb yapısından en düşük E değerine sahip ilk 10 pdb yapısı).

Uygun kalıp (4PGT_A) bulunduğundan sonra, 4PGT homodimer enzimi pdb bank veri tabanından (Berman vd., 2000) indirilip, B zinciri ve suları temizlendi. Daha sonra A zincirinde beraber kristallendirildiği glutatyon molekülü ile kovalent bağlı olan ligandın (GBX: glutathione conjugate of (+)-anti-bpde) glutatyon kısmı kalacak şekilde (+)-anti-bpde kısmı silindi ve glutatyon molekülü aynı koordinatlarda bırakılarak enzimin A zinciriyle birlikte kaydedildi. SWISS-MODEL (Waterhouse vd., 2018) yazılımı ile homoloji modelleme aşamasına geçildi.

Bunun için <https://swissmodel.expasy.org/> sayfasında Modelling =>user template mode seçilerek açılan pencerelerde istenen *danio rerio* balığına ait sekans ile hazırladığımız template yapı sisteme yüklenerek modellendi.



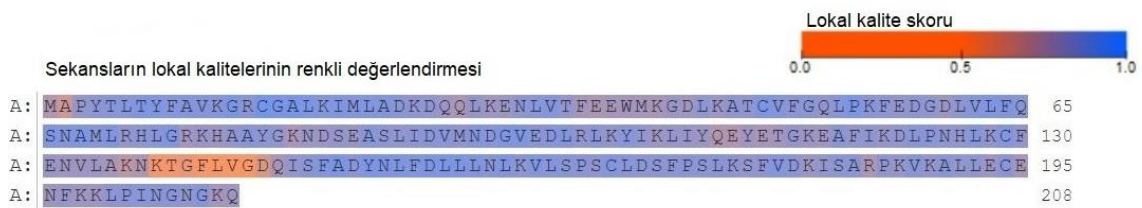
Şekil 3.19. SWISS-MODEL ile modelleme sonucu.

Modellenen yapının GMQE (Global Model Quality Estimation) sonucu 0.82 bulunmuştur (Şekil 3.19). Bu değer, hedef ile kalıp dizilerinin hizalaması ve kalıp belirleme metotlarının özellikleri birleştirilerek hesaplanan bir kalite tahmin skorudur. Kullanılan dizi analizi ve kalıp ile modellenen proteinin doğruluk payını gösteren bu skor 0-1 arasında bir değer alır ve 1'e yakın sonuç veren modeller başarılı kabul edilir (Waterhouse vd., 2018).

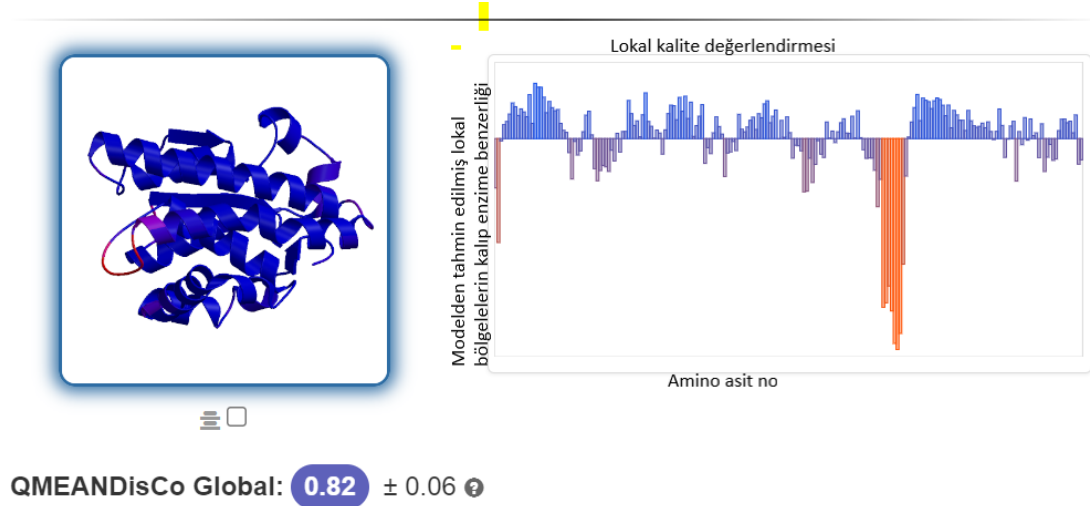
QMEAN değeri -1.55 çıkmıştır. Bu değer -4'ün üzerinde olmalıdır (Benkert vd., 2011). Homoloji model sonucunda, modellenen enzim ve kullanılan kalıp enzim hizalanması (Model-Template Alignment) 3 boyutlu yapıya göre oluşturulan ikincil yapı katlanmaları Şekil 3.19'da verilmiştir. Aminoasit sekansındaki turuncu bölgeler 3 boyutlu model

oluşturulurken tam olarak tahmin edilemeyen bölgeleri göstermektedir. Mavi bölgeler ise daha doğru modellenmiş bölgeleri temsil etmektedir. Katlanmalar ikincil yapı analizi ile karşılaştırıldığında az da olsa bazı bölgelerde farklılıklar göstermiştir. Bunun nedeni ikincil yapıya ait sekans kullanılarak, 3 boyutlu yapının tahmininin yapılmasıdır. Bunlardan bazı heliks ve şerit yapıların boyları bir veya iki aminoasit uzayıp kısalmıştır.

Modellenen enzimi doking aşamasından önce daha kararlı hale getirmek amacıyla GROMACS Moleküler dinamik (MD) (Abraham vd., 2015) yazılımı ile enerji minimizasyonu uygulandı. Bu aşamada enzim GST koenzimi (GSH) ile birlikte GROMACS yazılımında minimizasyona tabi tutuldu. Minimizasyon sonucunda ilk yapı ile son yapı arasındaki enerjiye bakıldığında potansiyel enerjinin düştüğü, yapının kararlı hale geldiği gözlenmiştir. Minimizasyon işleminden sonra QMEANDisCo (Studer vd., 2020) yazılımında modelin kalitesi incelenmiştir. QMEANDisCo sonucu 0.82 bulunmuştur. Burada 0.6'nın altındaki değerler düşük benzerliğe sahip kabul edilmektedir. Genel itibariyle 0.6 değerinin çok altında bölge bulunmamaktadır. Kalitesi iyi çıkan bölgeler mavi renkli gösterilmiştir. Kırmızı rankle gösterilen KTGFLVGD ile gösterilen sekans kısmı LYS138 ile ASP145 arasındaki 8 aminoasit içeren bölgeyi göstermektedir. Bu bölge mavi ya da daha açık kırmızı olan bölgelere göre tahmin kalitesi daha düşük olan bölgeleri göstermektedir. Modellenen enzimin her sekansının kalitesinin iyi çıkması beklenemez. Mavi bölgeler çoğunlukta olduğu için genel olarak modelin kalitesi iyi çıkmıştır diyebiliriz.



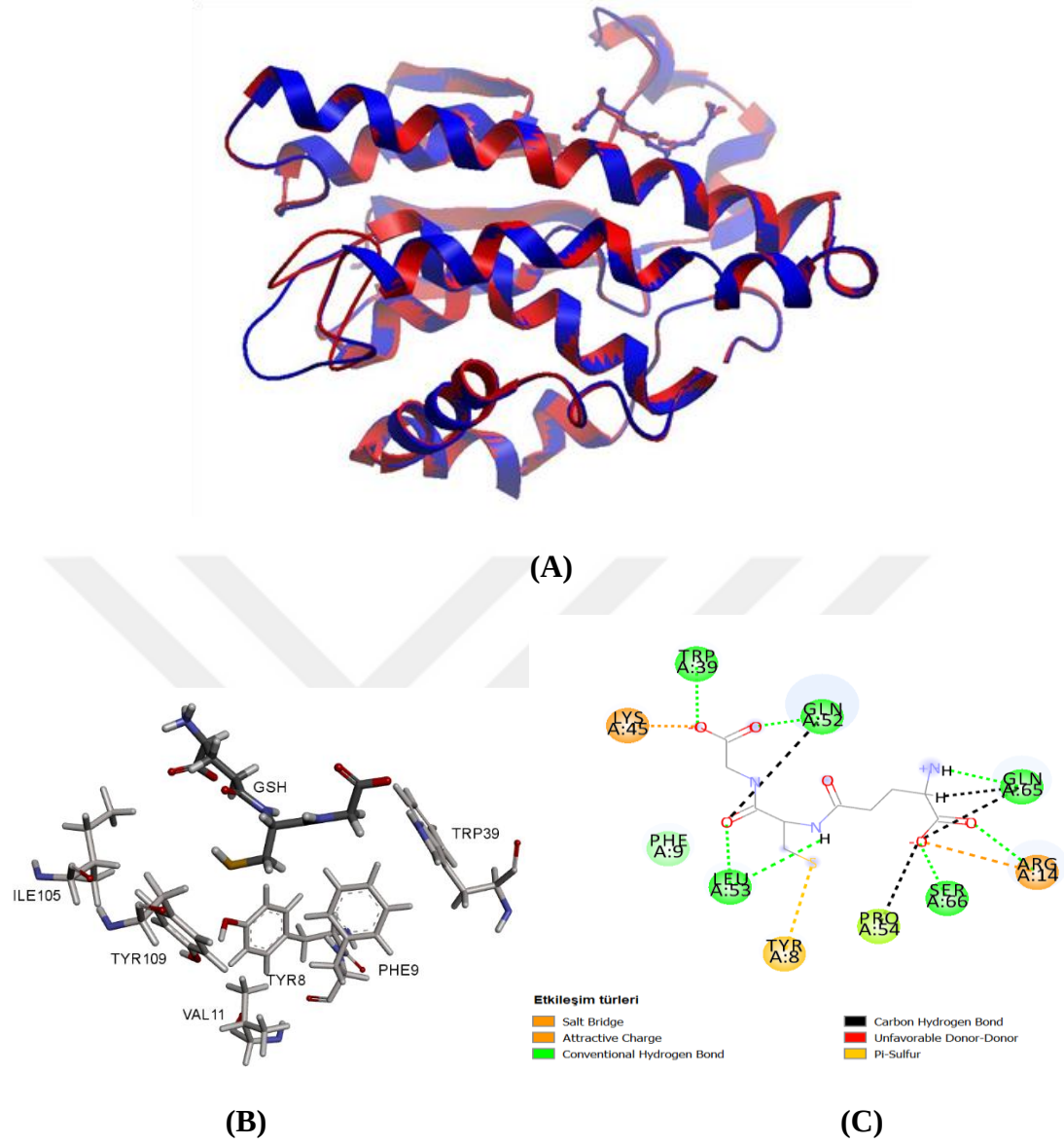
Şekil 3.20. QMEANDisCo sonucunda sekansların lokal kalite değerlendirmesi.



Şekil 3.21. QMEANDisCo Global skoru ve sekansların kalite değerlendirilmesi grafiği.

Minimizasyon işlemi sonrasında modellenen enzimle kalıp enzim ICM Molsoft Browser (www.molsoft.com) kullanılarak karşılaştırılmış ve RMSD sonucu $rmsd_partial_unweighted=0.162$, $rmsd_full_weighted=0.124$ olarak bulunmuştur (Şekil 3.22A).

Şekil 3.22’de modellenen balık GST enzimine ait GSH kofaktörü ile enzimin aktif bölgesindeki amino asit kalıntılarının etkileşimleri gösterilmiştir. Buna göre, glutatyon kofaktörü G bölgesinde TRP39, LYS45, GLN52, GLN65 ile etkileşim yaparken, H bölgesinde, LEU53, TYR8, SER66, ARG14 ile bağlanma yapmıştır. Glutatyona bağlı inhibitor olmadığından, ILE105, TYR109, PHE9 gibi muhtemel H bölge amino asitleriyle bağlanma olmamıştır. Glutatyonun inhibitor bağlanma bölgesi –SH kalıntısının sülfürüyle TYR8’in pi-sülfür etkileşimi yaptığı görülmektedir. Modellenen GST balık enziminde H bölgesinde TYR8, PHE9, TYR109, ILE105, VAL11 amino asitleri görünmektedir.



Şekil 3.22. (A) Kalıp insan GST enzimi (kırmızı, 4PGT) ve modellenmiş minimize edilmiş balık GST enziminin (mavi) karşılaştırılmış görüntüsü (RMSD = 0.124). (B) Modellenen balık GST enzime ait GSH kofaktörü ile enzimin aktif bölgesindeki amino asit kalıntılarından bazıları (C) Modellenen balık GST enzime ait GSH kofaktörünün amino asit etkileşimlerinin 2-boyutlu gösterimi.

3.2.3. GST enzime moleküler doking

Tablo 3.18’ de 79 veri seti bileşiğinin modellenen balık GST enzime esnek doking sonucunda serbest bağlanma enerjileri verilmiştir. Enzime güçlü bağlanma afinitesi eşik değeri -8 kcal/mol olarak kabul edilip, yüksek afinite gösteren bileşikler tespit

edilmiştir. GST enzimine serbest bağlanma enerjileri -8 den küçük bulunan 16 bileşik Tablo 3.18 de işaretlenmiştir. Aynı zamanda bu bileşiklerin ölçülmüş balık toksisite değerlerine (pT) bakıldığında 0.305 ile 2.551 arasında pozitif değerler olduğu görülmektedir.

Bu bileşikler arasından en toksikleri seçmek amacıyla bağlanma enerjileri -9 ve daha küçük olan 8 bileşik vardır. Bu kimyasalların ayrıca deneysel ölçülmüş toksisite değerleri de en düşük 1.351 ile en yüksek 2.331 arasında bulunan yüksek toksisitedeki bileşikler olarak bulunmuştur.

Tablo 3.18. Veri setindeki 79 bileşiğin deneysel ölçülmüş toksisite ($pT = -\log[LC]_{50}$) değerleri ile GST enzimine esnek doking serbest bağlanma enerjileri.

CAS RN	İsim	Deneysel pT (mM)	ΔG_b (kcal/mol)
107-98-2	1-Methoxy-2-propanol	-1.708	-3.2
120-78-5	2,2-Dithiobisbenzothiazole	0.702	-8.3
39263-32-6	2-Amino-5-bromobenzonitrile	0.789	-5.4
696-23-1	2-Methyl-4(5)-nitroimidazole	-1.387	-4.4
371-40-4	4-Fluoroaniline	1.648	-4.6
50-78-2	Acetylsalicylic acid	0.041	-6.1
107-02-8	Acroleine	3.545	-2.8
59277-89-3	Acyclovir	0.375	-5.9
5329-14-6	Amidosulfonic acid	0.14	-3.4
50-48-6	Amitriptyline	2.551	-8
57-43-2	Amobarbital	0.423	-5.9
62-53-3	Aniline	0.944	-4.4
100-66-3	Anisol	-0.045	-4.8
27589-33-9	Azosemide	0.63	-8.2
100-52-7	Benzaldehyde	1.145	-5
65-85-0	Benzoic acid	-0.169	-5.4
98-88-4	Benzoyl-chloride	1.273	-5.5
501-53-1	Benzyl-chloroformiate	1.232	-6.2
100-46-9	Benzylamine	0.688	-4.9
58-08-2	Caffeine	0.349	-5.9
154361-50-9	Capecitabine	-0.384	-7.4
66-25-1	Capronaldehyde	0.855	-4.1
64544-07-6	Cefuroxime axetil	0.629	-3.2
367-21-5	Chlorfluoroaniline	0.464	-7.6
637-07-0	Clofibrate	1.499	-6.2
882-09-7	Clofibric acid	0.382	-6.3

Tablo 3.18. (devam) Veri setindeki 79 bileşimin deneysel ölçülmüş toksisite ($pT = -\log[LC]_{50}$) değerleri ile GST enzimine esnek doking serbest bağlanma enerjileri.

CAS RN	İsim	Deneysel pT (mM)	ΔG_b (kcal/mol)
1622-61-3	Clonazepam	-0.501	-7.7
5251-34-3	Cloprednol	1.103	-7.6
439-14-5	Diazepam	1.351	-9.1
111-42-2	Diethanolamine	-0.881	-3.1
46755-94-6	Diphenylpropanediol	0.853	-6.9
1141-88-4	Dithiodianiline	3.671	-7.3
112-54-9	Dodecanal	1.851	-5.5
106-89-8	Epichlorohydrine	0.482	-3
91-53-2	Ethoxyquin	2.268	-9
57-63-6	Ethinylestradiol	1.082	-7.1
74-96-4	Ethyl bromide	-0.237	-2.1
104227-87-4	Famciclovir	-0.487	-6.8
76824-35-6	Famotidine	-0.304	-6.2
98319-26-7	Finasteride	1.27	-9.1
79660-72-3	Fleroxacin	0.643	-7.9
78755-81-4	Flumazenil	-0.217	-7.3
1622-62-4	Flunitrazepam	0.572	-8
111-30-8	Glutaraldehyde	0.951	-3.7
108-31-6	Maleic anhydride	-0.185	-4
2898-12-6	Medazepam	2.319	-8.3
59-05-2	Methotrexate	0.728	-8.6
59467-70-8	Midazolam (base)	1.879	-8.7
2211-28-1	Monobenzoate	2.331	-10
110-91-8	Morpholine	-0.315	-2.3
121-69-7	N,N'-dimethylaniline	0.565	-4.9
91-66-7	N,N-diethylaniline	1.386	-5.4
22204-53-1	Naproxen(S)	-0.386	-7.4
54-11-5	Nicotine (S)	1.608	-5.3
67-20-9	Nitrofurantoin	1.377	-6.9
59-87-0	Nitrofurazone	1.297	-6.6
55-63-0	Nitroglycerin	1.879	-5.1
57849-23-7	Octabase H	2.049	-8.1
149-73-5	Orthoformic acid trimethylester	-0.6	-2.9
103-90-2	Paracetamol	-0.398	-5.6
61869-08-7	Paroxetine	2.217	-9.8
76-74-4	Pentobarbital	0.66	-5.7
50-06-6	Phenobarbital	-0.319	-6.2
110-89-4	Piperidine	0.267	-3.2

Tablo 3.18. (devam) Veri setindeki 79 bileşimin deneysel ölçülmüş toksisite ($pT = -\log[LC]_{50}$) değerleri ile GST enzimine esnek doking serbest bağlanma enerjileri.

CAS RN	İsim	Deneysel pT (mM)	ΔG_b (kcal/mol)
3282-30-2	Pivaloyl chloride	-0.396	-3.7
123-38-6	Propionaldehyde	0.618	-2.7
51-52-5	Propylthiouracil	0.194	-5.2
58-14-0	Pyrimethamine	1.625	-6.7
106266-06-2	Risperidone	1.835	-10.5
69-72-7	Salicylic acid	0.572	-5.2
57-85-2	Testosterone propionate	1.236	-9.1
60-54-8	Tetracycline	0.305	-8.3
119-64-2	Tetralin	0.799	-6.4
58-55-9	Theophylline	-0.373	-5.7
76-75-5	Thiopental	0.966	-5.3
134308-13-7	Tolcapone milled	2.261	-8.1
10161-34-9	Trenbolone acetate	2.319	-9
3380-34-5	Triclosan	3.047	-6.7
935-92-2	Trimethylquinone	2.177	-6.3

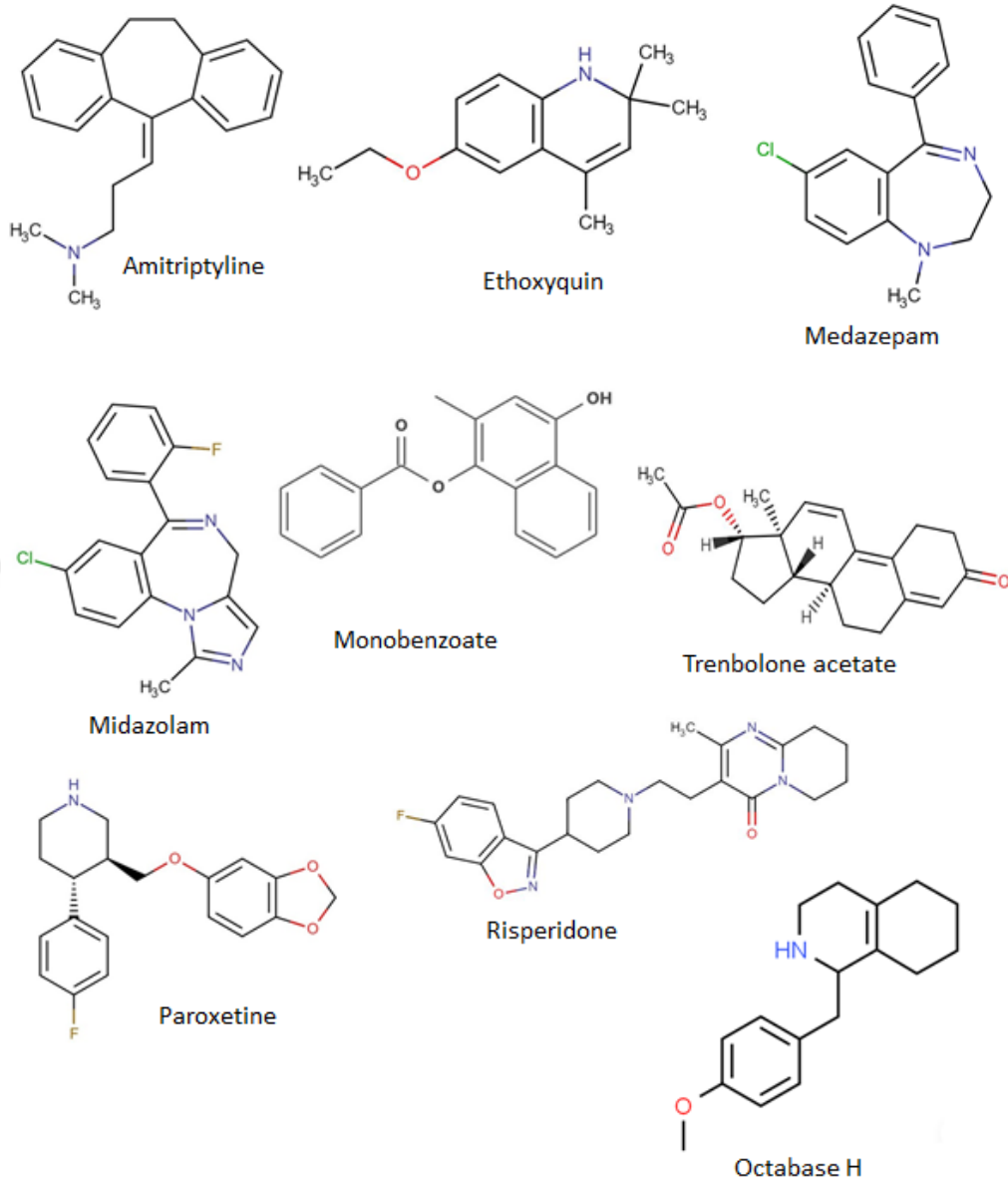
Bu bileşikler arasında GST enzimine serbest bağlanma enerjileri en düşük ve en iyi afinitede bulunan 3 kimyasal Risperidone (-10.5), Paroxetine (-9.8) ve Monobenzoate (-10) ve Diazepam (-9.1) olmuştur. Bu kimyasalların deneysel toksisite pT değerleri ise sırasıyla 1.835, 2.217, 2.331 ve 1.351 olarak bilinen toksik bileşiklerdir.

Veri setindeki 79 kimyasaldan en toksik bileşikleri seçmek için toksisite verileri ve doking skorları toplu halde değerlendirilmiştir. Seçim yapılırken aşağıdaki 4 kriterin hepsine birlikte uyan kimyasallar seçilmiş ve Tablo 3.20 de gösterilmiştir. Bu yaklaşıma göre hem deneysel ölçülmüş pT değerleri 1'den büyük olanlar, hem de $MLR_{[DSA]}$ ve $MLR_{[A]}$ modellerinin tahmin edilmiş toksisite değerleri 1'den büyük olan kimyasallar ile aynı zamanda GST enzimine doking serbest bağlanma enerjileri de -8 ve daha küçük olanlar dikkate alınmıştır. Bu kriterlerin tümüne uyan 12 kimyasal Tablo 3.19'da gösterilmiştir.

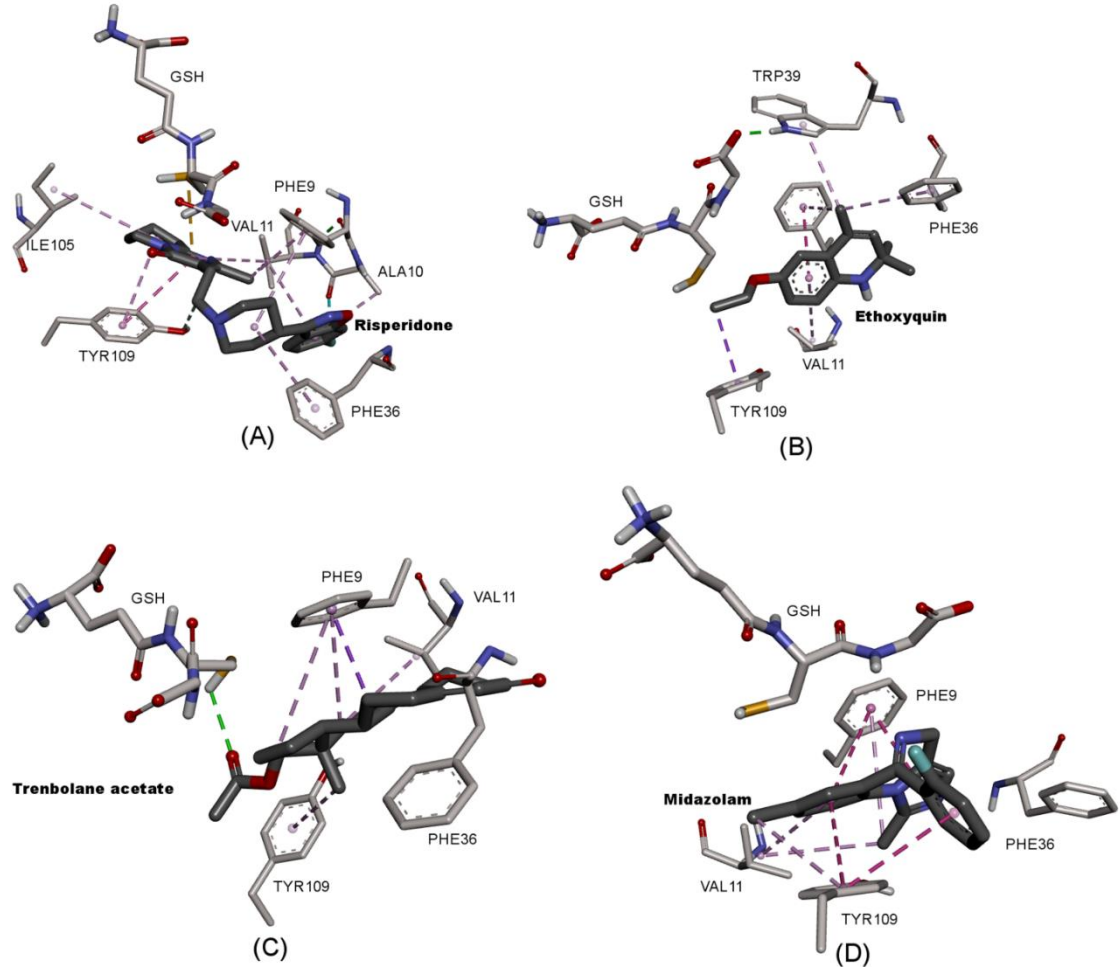
Tablo 3.19. Veri set kimyasallarının deneysel ölçülmüş pT ile $MLR_{[DSA]}$ ve $MLR_{[A]}$ modellerinden tahmin edilmiş toksisite değerleri $pT \geq 1$ olanlar ve GST doking serbest bağlanma enerjileri $\Delta G_b \leq -8$ olan kimyasallar.

CAS no	İsim	Deneysel ölçülmüş pT (mM)	$MLR_{[DSA]}$ ile tahmin edilmiş pT (mM)	$MLR_{[A]}$ ile tahmin edilmiş pT (mM)	$\Delta G_b(kcal/mol)$
106266-06-2	Risperidone	1.835	1.549	2.468	-10.5
2211-28-1	Monobenzoate	2.331	1.324	2.549	-10
61869-08-7	Paroxetine	2.217	1.363	1.644	-9.8
439-14-5	Diazepam	1.351	1.023	1.505	-9.1
98319-26-7	Finasteride	1.27	1.220	1.587	-9.1
57-85-2	Testosterone propionate	1.236	1.903	1.880	-9.1
91-53-2	Ethoxyquin	2.268	1.916	1.978	-9
10161-34-9	Trenbolone acetate	2.319	2.031	2.022	-9
59467-70-8	Midazolam	1.879	2.123	1.801	-8.7
2898-12-6	Medazepam	2.319	1.999	1.794	-8.3
57849-23-7	Octabase H*	2.049	1.363	2.010	-8.1
50-48-6	Amitriptyline	2.551	1.834	2.797	-8

Tablo 3.19 daki 12 bileşik için GST enzimine bağlanmanın moleküler başlatıcı olay (MIE) etkisi ile toksisiteye neden olabilecekleri öngörülmektedir. Bu bileşiklerden yüksek toksisiteye sahip olanlardan ($pT > 2$) kimyasal yapıları Şekil 3.23'te verilmiştir. Bu bileşikler arasından seçilen 4 tanesinin GST enzimine bağlanma etkileşimleri Şekil 3.24 ve Tablo 3.20'de gösterilmiştir.



Şekil 3.23. GST ile ilişkili en toksik veri seti bileşiklerinin yapıları. (Deneysel pT, $MLR_{[A]}$, $MLR_{[DSA]}$ modellerinden tahmin edilmiş toksisite değerlerinin en az birinin 2'den büyük ve $\Delta G_b \leq -8$ olan bileşikler)



Şekil 3.24. Deneysel ölçülmüş pT ve MLR modellerden yüksek tahmin edilen ($pT \geq 1$) seçilmiş toksik kimyasalların GST enzimine bağlanma etkileşimleri. (A) Risperidone (B) Ethoxyquin (C) Trenbolone acetate (D) Midazolam

Şekil 3.24'te görüldüğü gibi, Risperidone ve Trenbolone acetate enzimin kofaktörü GSH ile sırasıyla π -sülfür ve H-bağı etkileşimleri yapmaktadır. Bu bileşiklerin GST'ye yüksek afinite ile bağlanmalarını sağlayan enzim-ligand etkileşimleri çoğunlukla hidrofobik (π -alkil, π - π , π -T, π -sigma çeşidi) etkileşimlerdir (Tablo 3.20). Midazolam ve Ethoxyquin de VAL11, TYR109 ve PHE9 ile hidrofobik π -alkil, π - π , π -T, π -sigma, π - π istiflenme gibi etkileşimler yapmıştır (Tablo 3.20).

Tablo 3.20. Şekil 3.24 teki veri seti bileşiklerin GST enzimine serbest bağlanma enerjileri, deneysel pT, etkileşim türleri ve mesafeleri.

Bileşik	$\Delta G(\text{kcal/mol})$	Deneysel pT (mM)	Esnek Doking Etkileşimler	Etkileşim Türü ve Bağ mesafesi (Å)
Risperidone	-10.5	1.835	Ligand -fenil...GSH-S	π -sulphur (3.93)
			Ligand-C...TYR109-fenil	π -alkyl (4.88)
			Ligand-fenil...TYR109-Fenil	π - π stacked (4.53)
			Ligand-C...TYR109-OH	C-H bağ (3.48)
			Ligand-C...PHE9-fenil	π -alkyl*2 (4.40)(5.11)
			Ligand-...PHE36-fenil	π -alkyl(5.31)
			Ligand -...ILE105	Alkyl (5.44)
			Ligand-fenil...ALA10	π -alkyl(5.05)
			Ligand-F...ALA10-O	Halogen (F) (2.88)
			Ligand-C...VAL11-C	Alkyl (4.24)
			Ligand-fenil...VAL11	π -alkyl*2(5.24)(5.42)
Ethoxyquin	-9	2.268	Ligand-C...TYR109-fenil	π -sigma (3.76)
			Ligand-fenil..VAL11	π -alkyl (5.39)
			Ligand-C...PHE36-fenil	π - alkyl (4.90)
			Ligand...PHE9-fenil	π - π stacked (4.15)
			Ligand-C...TRP39	π -alkyl (4.45)
			Ligand-C...PHE9-fenil	π -alkyl (4.11)
Trenbolone acetate	-9	2.319	Ligand-C=O(O)...GSH-SH(H)	HBA(2.79)
			Ligand...PHE9-fenil	π -alkyl*2 (4.73)(5.44)
			Ligand...PHE9	π -sigma (3.46)
			Ligand...VAL11	Alkyl (5.46)
			Ligand...TYR109-fenil	π -alkyl (4.71)
Midazolam	-8.7	1.879	Ligand-fenil...TYR109-fenil	π - π T shaped(4.69)
			Ligand-fenil...TYR109-fenil	π - π stacked (5.10)
			Ligand-Cl...TYR109-fenil	π -alkyl (4.64)
			Ligand-fenil...PHE9-fenil	π - π stacked*2 (5.08)(3.82)
			Ligand-fenil...PHE9	π -alkyl (5.19)
			Ligand...VAL11	π -alkyl (5.13)
			Ligand...VAL11	Alkyl (4.76)

Dış set bileşikleri

Tablo 3.21’ de 121 dış set bileşiğinin modellenen balık GST enzimine esnek doking sonucunda serbest bağlanma enerjileri ΔG_b küçükten büyüğe doğru listelenmiştir. Enzime güçlü bağlanma afinitesi eşik değeri -8 kcal/mol olarak kabul edilip, yüksek afinite gösteren bileşikler tespit edilmiştir. Bu bağlamda, GST enzimine bağlanarak toksisite gösterme potansiyeli olan 49 kimyasal ($\Delta G_b \leq -8$ kcal/mol) bulunmaktadır. GST enzimine en iyi bağlanan serbest bağlanma enerjileri -10’dan küçük olan 3 bileşik Glibenclamide (-10.2), Cromolyn (-10.1) ve Novobiocin (-10.1) olarak tespit edilmiştir.

Tablo 3.21. Dış set bileşiklerinin GST enzimine esnek doking serbest bağlanma enerjileri (ΔG_b küçükten büyüğe doğru sıralanmış)

CAS RN	İsim	GST Enzimine Esnek doking serbest bağlanma enerjileri (ΔG_b kcal/mol)
10238-21-8	Glibenclamide	-10.2
16110-51-3	Cromolyn	-10.1
303-81-1	Novobiocin	-10.1
5543-58-8	R(+)-Warfarin	-9.7
5543-57-7	S(-)-Warfarin	-9.7
548-73-2	Droperidol	-9.7
50-28-2	Estradiol	-9.4
53-86-1	Indomethacin	-9.1
57-83-0	Progesterone	-9.1
526-08-9	Sulfaphenazole	-9.1
599-79-1	Sulfasalazine	-9.1
91161-71-6	Terbinafine	-9
85721-33-1	Ciprofloxacin	-8.9
4759-48-2	Isotretionin	-8.8
6990-06-3	Fusidic acid	-8.8
1156-19-0	Tolazamide	-8.8
98079-62-0	Lomefloxacin (S)	-8.7
33419-42-0	Etoposide	-8.7
67306-00-7*	Fenpropidin (S)	-8.6
100568-03-4	R(+)-Fluoxetine	-8.6
98079-55-1	Lomefloxacin (R)	-8.5
70458-96-7	Norfloxacin	-8.5
41859-67-0	Bezafibrate	-8.5
51372-28-2	(22S) Budesonide	-8.4
53-03-2	Prednisone	-8.4
87848-99-5	Acrivastine	-8.4
15686-71-2	Cefalexin	-8.4
100986-85-4	Levofloxacin	-8.4
19216-56-9	Prazosin	-8.4

Tablo 3.21. (devam) Dış set bileşiklerinin GST enzimine esnek doking serbest bağlanma enerjileri (ΔG_b küçükten büyüğe doğru sıralanmış)

CAS RN	İsim	GST Enzimine Esnek doking serbest bağlanma enerjileri (ΔG_b kcal/mol)
56-54-2	Quinidine	-8.4
146-54-3	Triflupromazine	-8.4
100568-02-3	S(-)-Fluoxetine	-8.2
298-46-4	Carbamazepine	-8.2
2135-17-3	Flumetasone	-8.2
525-66-6*	Propranolol (R)	-8.1
1812-30-2	Bromazepam	-8.1
260-94-6	Acridine	-8.1
50-47-5	Desipramine	-8.1
564-25-0	Doxycycline	-8.1
42200-33-9	Nadolol	-8.1
57-41-0	Phenytoin	-8.1
130-95-0	Quinine	-8.1
525-66-6*	Propranolol (S)	-8
13311-84-7	Flutamide	-8
58-25-3	Chlordiazopoxide	-8
1091-85-6	Dansylglycine	-8
50-23-7	Hydrocortisone	-8
79-57-2	Oxytetracycline	-8
50-24-8	Prednisolone	-8
23593-75-1	Clotrimazole	-7.9
92-83-1	Xanthene	-7.9
50-53-3	Chlorpromazine	-7.8
50-49-7	Imipramine	-7.8
83-43-2	Methylprednisolone	-7.8
58-40-2	Promazine	-7.8
80-32-0	Sulfachlorpyridazine	-7.8
87-08-1	Phenoxymethylpenicillinic Acid	-7.7
64-77-7	Tolbutamide	-7.7
1665-48-1*	Metaxalone (R)	-7.6
54-31-9	Furosemide	-7.6
51372-29-3	(22R) Budesonide	-7.5
723-46-6	Sulfamethoxazole	-7.5
55268-75-2	Cefuroxime	-7.5
94-20-2	Chlorpropamide	-7.5
132-64-9	Dibenzofuran	-7.5
1665-48-1*	Metaxalone (S)	-7.4
86-74-8	Carbazole	-7.4
132-65-0	Dibenzothiophene	-7.4
68-35-9	Sulfadiazine	-7.3
22664-55-7*	Metipranolol (R)	-7.2
103573-38-2	S(+)-Nisoldipine	-7.2
28395-03-1	Bumetanide	-7.2

Tablo 3.21. (devam) Dış set bileşiklerinin GST enzimine esnek doking serbest bağlanma enerjileri (ΔG_b küçükten büyüğe doğru sıralanmış)

CAS RN	İsim	GST Enzimine Esnek doking serbest bağlanma enerjileri (ΔG_b kcal/mol)
50-33-9	Phenylbutazone	-7.2
738-70-5	Trimethoprim	-7.2
67306-00-7*	Fenpropidin (R)	-7.1
51146-56-6	S(+)-Ibuprofen	-7.1
22664-55-7*	Metipranolol (S)	-7.1
103573-36-0	R(-)-Nisoldipine	-7.1
69-53-4	Ampicilin	-7.1
58-93-5	Hydrochlorothiazide	-7.1
51-34-3	Scopolamine	-7.1
103628-46-2	Sumatriptan	-7.1
15307-86-5	Diclofenac	-7
56-57-5	4-Nitroquinoline oxide	-7
84057-84-1	Lamotrigine	-7
137-58-6	Lidocaine	-7
26787-78-0	Amoxicillin	-6.9
73-22-3	L-tryptophan	-6.8
51146-57-7	R(-)-Ibuprofen	-6.7
3056-17-5	Sitavudine	-6.6
60-80-0	Antipyrine	-6.6
59-46-1	Procaine	-6.5
26839-75-8	Timolol	-6.5
94-24-6	Tetracaine	-6.4
3782-00-1	2,3-dimethylbenzofuran	-6.3
91-62-3	6-Methylquinoline	-6.3
30516-87-1	Zidovudine	-6.2
486-56-6	Cotinine	-6
91-22-5	Quinoline	-6
20224-45-7	S(-)-Secobarbital	-5.9
4265-25-2	2-Methylbenzofuran	-5.9
22328-94-5	R(+)-Secobarbital	-5.8
51481-61-9	Cimetidine	-5.8
4205-90-7	Clonidine	-5.8
271-89-6	Benzoofuran	-5.4
95-15-8	Benzothiophene	-5.4
120-72-9	Indole	-5.4
490-79-9	Gentisic acid	-5.2
87-87-6	Tetrachlorohydroquinone	-5.1
443-48-1	Metronidazole	-4.8
2022-85-7	5-fluorocytosine	-4.8
51-21-8	Fluorocil	-4.6
105-37-3	Ethyl propionate	-4
657-24-9	Metformin	-3.8
108-24-7	Acetic anhydride	-3.6

Tablo 3.21. (devam) Dış set bileşiklerinin GST enzimine esnek doking serbest bağlanma enerjileri (ΔG_b küçükten büyüğe doğru sıralanmış)

CAS RN	İsim	GST Enzimine Esnek doking serbest bağlanma enerjileri (ΔG_b kcal/mol)
302-17-0	Chloral hydrate	-3.4
64-19-7	Acetic acid glycial	-3.3
79-04-9	Chloroacetyl chloride	-3
156-87-6	Aminopropanol	-2.8
79-11-8	Chloroacetic acid	-2.8
75-21-8	Ethylene oxide	-1.8

*bileşikler için her 2 enantiyomere (R ve S) rasemik karışımın cas no'ları verilmiştir.

Dış setteki 121 kimyasaldan en toksik bileşikleri seçmek için veri setinde olduğu gibi MLR modelleri ile birlikte değerlendirilmiştir. Bu yaklaşıma göre $MLR_{[DSA]}$ ve $MLR_{[A]}$ modellerinden tahmin edilmiş toksisite değerleri 1'den büyük olan kimyasallar ile aynı zamanda GST enzimine doking serbest bağlanma enerjileri de -8 ve daha küçük olanların ortak olduğu durum dikkate alınmıştır. Bu kriterlerin tümüne uyan 15 kimyasal Tablo 3.22'de gösterilmiştir.

Tablo 3.22. GST bağlanması ile ilişkili olarak yüksek toksisite gösteren dış set bileşikleri. ($MLR_{[DSA]}$ ve $MLR_{[A]}$ modellerinden tahmin edilmiş toksisite değerleri $pT \geq 1$ olanlar ve GST doking serbest bağlanma enerjileri $\Delta G_b \leq -8$ olan kimyasallar).

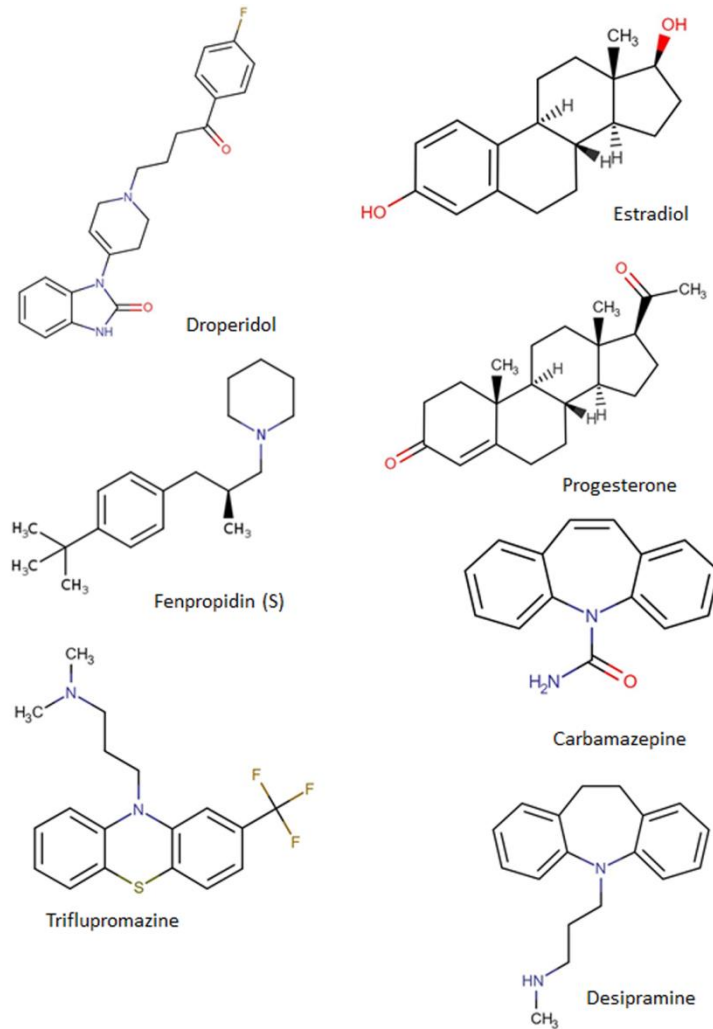
CAS RN	İsim	$MLR_{[DSA]}$ ile tahmin edilmiş pT (mM)	$MLR_{[A]}$ ile tahmin edilmiş pT (mM)	GST Doking ΔG_b (kcal/mol)
548-73-2	Droperidol	1.769	2.025	-9.7
50-28-2	Estradiol	2.053	2.111	-9.4
57-83-0	Progesterone	2.559	2.078	-9.1
526-08-9	Sulfaphenazole	1.420	1.118	-9.1
6990-06-3	Fusidic acid	1.433	1.346	-8.8
67306-00-7*	Fenpropidin (S)	1.494	2.322	-8.6
146-54-3	Triflupromazine	2.116	2.069	-8.4
56-54-2	Quinidine	1.672	1.337	-8.4
19216-56-9	Prazosin	1.019	1.236	-8.4
298-46-4	Carbamazepine	3.236	1.567	-8.2
50-47-5	Desipramine	2.770	1.824	-8.1
130-95-0	Quinine	1.775	1.317	-8.1
525-66-6*	Propranolol (R)	1.643	1.640	-8.1
260-94-6	Acridine	1.626	1.546	-8.1
525-66-6*	Propranolol (S)	1.387	1.555	-8

*bileşikler için her 2 enantiyomere (R ve S) rasemik karışımın cas no'ları verilmiştir.

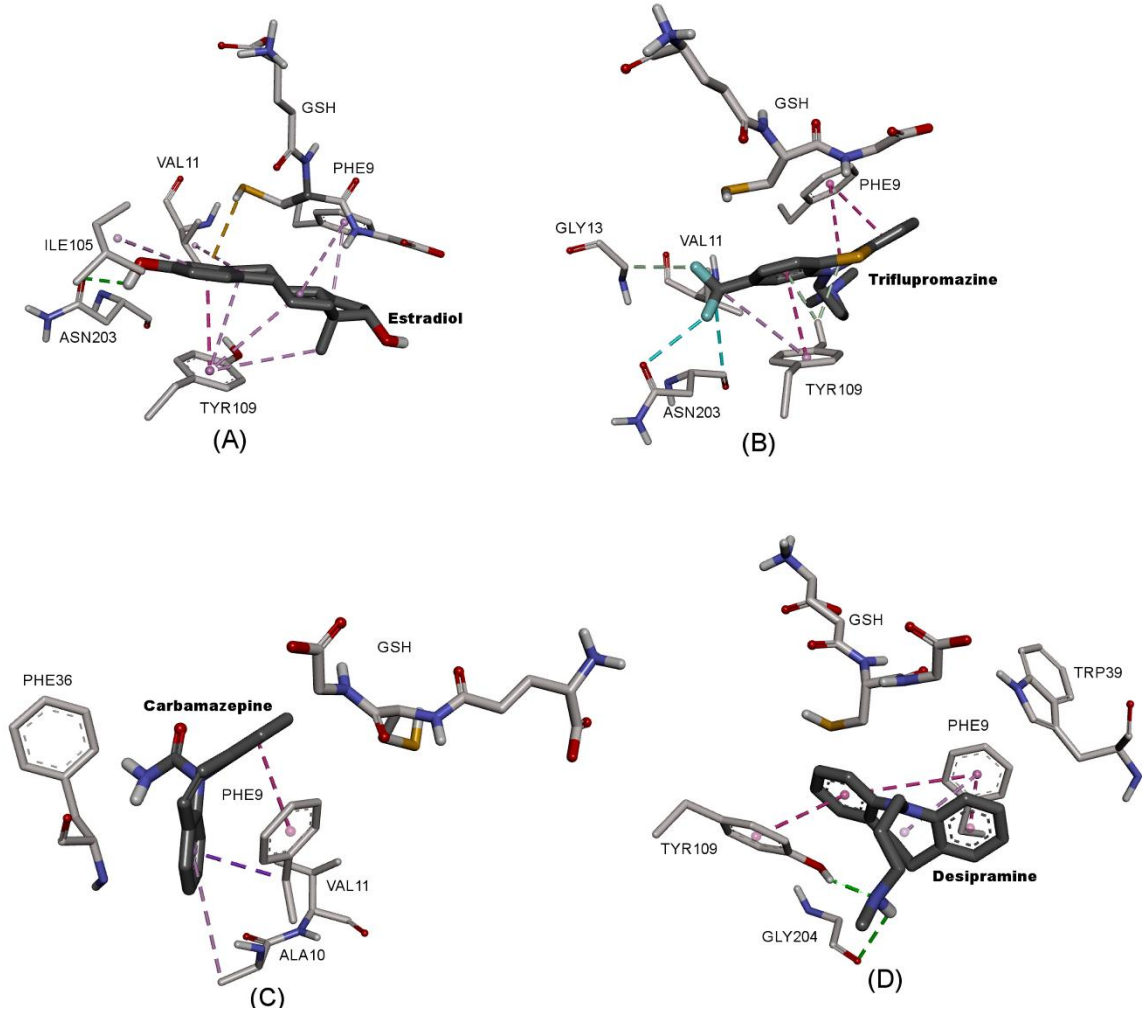
Tablo 3.22’de $MLR_{[DSA]}$ ve $MLR_{[A]}$ modellerinin en az birinden tahmin edilmiş toksisite değerleri 2’den büyük olan kimyasalların yapıları Şekil 3.25’te verilmiştir.

Bu bileşiklerden yüksek toksisiteye sahip olanlardan ($pT > 2$) kimyasal yapıları Şekil 3.25’te verilmiştir.

En yüksek toksisite gösteren (her 2 modelden de tahmin edilmiş $pT > 2$) dış set bileşiklerinden seçilmiş 4 bileşiğin (Estradiol, Triflupromazine, Carbamazepine, Desipramine) GST enziminin aktif bölgesindeki pozları Şekil 3.26’da, enzim-ligand etkilileşim türleri ve mesafeleri Tablo 3.23’te verilmiştir.



Şekil 3.25 GST ile ilişkili en toksik dış set bileşiklerinin yapıları. ($MLR_{[A]}$, $MLR_{[DSA]}$ modellerinden tahmin edilmiş toksisite değerlerinin en az birinin 2’den büyük ve $\Delta G_b \leq -8$ olan bileşikler)



Şekil 3.26. Dış set bileşiklerinden Tablo 3.24'teki en toksik bileşiklerden seçilmiş 4 bileşiğin (Estradiol, Triflupromazine, Carbamazepine, Desipramine) GST bağlanma etkileşimleri.

Tablo 3.23. Şekil 3.25'teki 4 bileşiğin GST enzimine bağlanma enerjileri, etkileşim türü ve etkileşim mesafeleri.

Bileşik	$\Delta G(\text{kcal/mol})$	Esnek Doking Etkileşimler	Etkileşim Türü ve Bağ mesafesi (Å)
Estradiol	-9.4	Ligand-fenil...PHE9-fenil	π - π stacked (5.78)
		Ligand...PHE9-fenil	π -alkil (4.36)
		Ligand...TYR109-fenil	π - π stacked (4.35)
		Ligand-NH(N)...TYR109-OH(H)	HBA (2.07)
		Ligand-NH(H)...GLY204-C=O(O)	HBD (2.70)
Triflupromazine	-8.4	Ligand-fenil...PHE9-fenil	π - π stacked (4.03)
		Ligand...PHE9-fenil	π - π stacked (4.77)
		Ligand...TYR109-fenil	π -alkil (5.36)
		Ligand-fenil...TYR109-fenil	π - π stacked (4.33)
		Ligand...TYR109	π - donor H bond*2 (2.55)(2.84)
		Ligand-F...GLY13	C-H Halogen (3.60)
		Ligand-C...VAL11	Alkil (4.56)
		Ligand-F...ASN203-C=O(O)	Halogen (F) (3.24)
		Ligand-F...ASN203-C	Halogen (F) (3.50)
Carbamazepine	-8.2	Ligand-fenil...PHE9-fenil	π - π stacked (4.53)
		Ligand-fenil...PHE9	π - sigma (3.76)
		Ligand-fenil... ALA10	π -alkil (5.43)
Desipramine	-8.1	Ligand-fenil...PHE9-fenil	π - π stacked*2 (3.67) (5.78)
		Ligand...PHE9-fenil	π -alkil (4.35)
		Ligand-N...TYR109-OH(H)	HBA(2.07)
		Ligand-fenil...TYR109-fenil	π - π stacked (4.35)
		Ligand-NH(H)...GLY204-C=O(O)	HBD(2.70)

Estradiol hormone bileşiği GST enziminin G bölgesinde PHE9 ile π - π istiflenme ve π -alkil etkileşimi, TYR109 ile π - π istiflenme ve hidrojen bağı etkileşimi yapmıştır. H bölgesinde ise GLY204 ile hidrojen bağı etkileşimi yapmıştır.

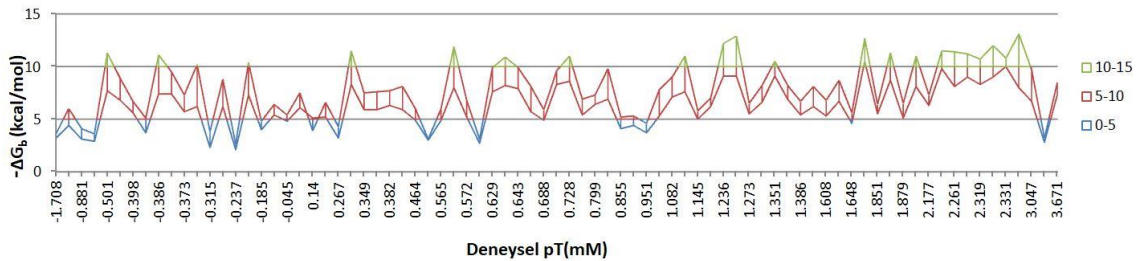
Triflupromazine PHE9, TYR109, GLY13, VAL11, ASN203 amino asitleriyle π - π istiflenme, ASN203 ile de halojen etkileşimleri yapmıştır.

Carbamazepine enzimin G bölgesinde PHE9 ile π - π istiflenme ve π -sigma etkileşimleri, H bölgesinde ALA10 ile π -alkil etkileşimi yapmıştır.

Desipramine PHE9 ile π - π istiflenme ve π -alkyl etkileşimleri, TYR109 ile hidrojen bağı ve π - π istiflenme, ayrıca H bölgesinde de GLY204 ile hidrojen bağı etkileşimleri vardır.

3.2.4. AChE ve GST doking sonuçlarının kıyaslanması

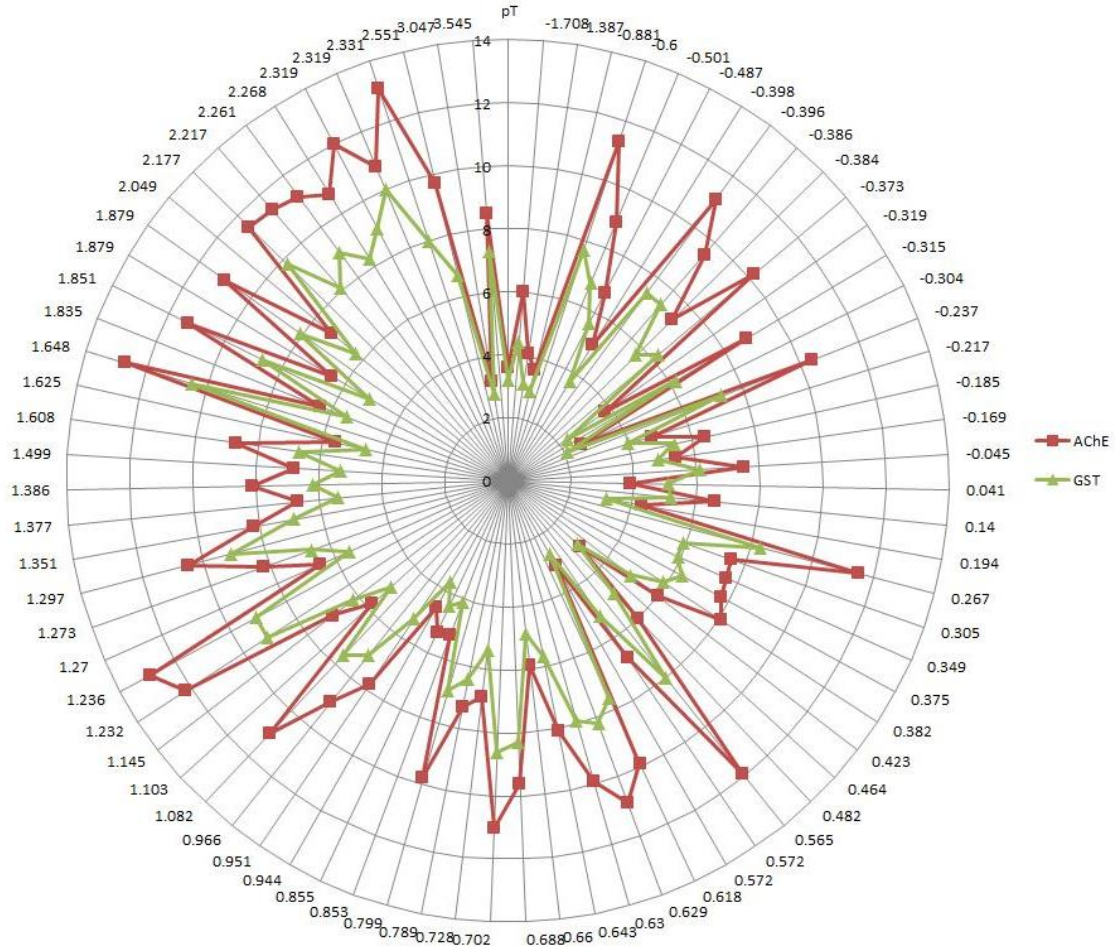
Tüm doking skorlarını deneysel toksisite değerleri ile kıyaslamak amacıyla veri seti bileşiklerinin ölçülmüş toksisite değerlerinin AChE ve GST bağlanma afiniteleri ($-\Delta G_b$) ile ilişkisini gösteren grafik Şekil 3.27’de verilmiştir. Genellikle AChE’ye iyi bağlanan bileşikler GST’ye de iyi bağlanmıştır, fakat GST afiniteleri nispeten daha zayıftır. Toksisite değerleri ve doking skorları arasında doğrusal bir ilişki bulunamamıştır. Ancak, toksisitesi 1’den büyük olan bileşiklerin çoğunun bağlanma afinitelerinin de 8’den büyük bulunmuş olması kantitatif olmasa da kalitatif bir ilişki olabileceğini göstermektedir. Bağlanma afinitesi en büyük olan bileşiklerin (yeşil, afinite 10-15 aralığında) çoğu grafiğin sağ tarafında olup toksisitesi açısından da pT en yüksek bileşiklerdir. Bu bileşikler için toksisiteye giden yolun başlatıcı olayının bu enzimlere güçlü bir şekilde bağlanmaları olduğunu söylemek mümkündür. Benzer şekilde, bağlanma afinitesi en zayıf olan (mavi, afinite 0-5) bileşiklerin büyük çoğunluğu grafiğin sol tarafında ve toksisitesi en düşük bileşiklerdir.



Şekil 3.27. Veri setindeki bileşiklerin deneysel toksisite değerlerine karşı bağlanma afinitesi ($-\Delta G_b$ değerleri) ilişkisi. Dikey eksen AChE ve GST enzimlerinin doking skorlarının negatiftir. Her pT değeri için 2 afinite ($-\Delta G_b$) değerinden küçük olan GST’ye, büyük olan AChE’ye aittir.

Veri setindeki bileşiklerin deneysel ölçülmüş pT değerlerine karşılık AChE ve GST enzimlerine bağlanma afinitelerine karşı radar grafiği Şekil 3.28 de gösterilmiştir. Bileşiklerin radar grafiğinde afinite (pozitif serbest bağlanma enerjileri) merkezden dışarıya doğru artmaktadır. Deneysel ölçülmüş pT değerleri ise dairenin sağ çevresinden sola doğru saat yönünde artmaktadır. Dairenin, merkezinden geçen dikey bir çizgi ile ikiye bölündüğünü düşünürsek, sağ yarım küre pT değerleri küçük olan, sol yarım küre

ise büyük olan bileşiklerden oluşmaktadır. Buna benzer şekilde, bazı istisnalar dışında genelde sağ küredeki bileşiklerin bağlanma afinitelerinin daha küçük, sol küredekinin ise daha büyük olduğu gözlenmektedir. Grafikte birçok bileşi için saat yönüne doğru gidildikçe artan pT değerlerine karşılık pozitif bağlanma enerjilerinin de arttığı görülmektedir. Bu durumda veri seti bileşiklerinin çoğunluğu için toksisitenin AChE ve GST enzimlerine bağlanmayla arttığını düşünebiliriz.



Şekil 3.28. Veri setindeki bileşiklerin deneysel toksisite değerlerine karşı pozitif ΔG_b değerlerinin ilişkisini gösteren radar grafiği.

AChE ve GST doking skorları -8 ve daha düşük, deneysel ölçülmüş toksisite değerleri yüksek olan ($pT \geq 1$) bileşikler tablolarda (Tablo 3.13 ve 3.19) değerlendirilmiştir. Veri setinde AChE doking için bulduğumuz en toksik 18 kimyasal (Tablo 3.13) aynı zamanda GST enzimi için bulduğumuz (Tablo 3.19) 12 kimyasalın tamamını kapsamıştır. Bu sebeple GST enzimine bağlanarak toksisiteye neden olan kimyasallar

AChE enzimine de iyi bağlandığından bu kimyasalların her 2 enzime bağlanmasının da toksisiteyi başlatıcı etkenler olduğu düşünülebilir.

Dış set kimyasallarının deneysel ölçülmüş toksisite değerleri bulunmadığından, bunların toksisite değerleri için, geliştirdiğimiz ve tahmin performansı iyi olarak seçtiğimiz 2 MLR modeli dikkate alınmıştır ve bu modellerden bulunan tahmin değerleri kullanılmıştır. Toksisite yolunu (AOP) açıklamak üzere moleküler başlatıcı olayın (MIE) aydınlatılması için hem liganda dayalı (MLR modeller) hem de yapı temelli (docking) sonuçlarını beraber değerlendirilmiştir.

Dış set kimyasalları için de hem AChE docking, hem de GST docking sonuçları MLR modellerden tahmin edilen toksisite değerleri için ayrı ayrı değerlendirilmiş ve AChE docking sonucunda bulunan en toksik 26 kimyasal aynı zamanda GST enzimine bağlanarak toksisiteyi başlatan 15 kimyasalın tamamını kapsamıştır. Bu 15 kimyasal için de her 2 enzime bağlanmanın toksisiteyi başlatıcı etkenler ya da etkenlerden ikisi olduğu düşünülebilir.

3.3. Liganda ve Yapıya Dayalı Farklı Modelleme Yaklaşımlarının Birlikte Değerlendirilmesi

Çalışmanın bu son aşamasında farklı yöntemlerden oluşan ligand-temelli ve yapı-temelli modelleme çalışmaları entegre edilerek toplu bir toksisite değerlendirmesi yapılmıştır. Bu tez kapsamında geliştirilen ligand temelli doğrusal modeller (MLR) proje ortağımız olan Sloven araştırmacılar (Minovski vd., 2019) tarafından geliştirilen, doğrusal olmayan (CP ANN (tersine yayımlı yapay sinir ağları) modelleri ile kıyaslanmıştır. Bu modellerden elde edilen toksisite sonuçları ile yaptığımız AChE moleküler docking ve Minovski vd. tarafından (Minovski vd., 2019) AChE enzimiyle yapılan yapı-temelli toksikofor sonuçları birleştirilerek bütünsel bir değerlendirme yapılmıştır. Bu yaklaşımların amacı deneysel ölçülmüş toksisite değerleri olmayan, balıklar özellikle AChE bağlanma yoluyla risk oluşturma potansiyeli olan kimyasalların ortaya çıkarılmasıdır.

MLR modelleri gibi CP ANN modelleri de tahmin performansları açısından aynı dış set ile test edilmiş ve toplamda 4 MLR ve 4 CP ANN modelden en iyi tahmin performansına sahip 2 model seçilmiştir (Tablo 3.24). Bu modellerden biri MLR_[D_{SA}]

biri de proje ortaklarımız Minovski vd. tarafından bulunan CP ANN_[A] modeli olmuştur (Minovski vd.,2019). MLR_[DSA] modelinin istatistiksel verileri Bölüm 3.1 de verimştir. CP ANN_[A] modelinin istatistiksel değerleri ile grafikleri ortak yayınlımızda (Minovski vd., 2019) verilmiştir.

Her iki modelin de istatistiksel parametreleri literatür eşik değerlerinin üzerinde bulunmuştur. Her 2 modelde de yapısal ve yanıt aykırı değer bulunmamıştır. Veri setini oluşturan 79 kimyasaldan 60 kadarının MLR_[DSA] ve CP ANN_[A] modellerinden tahmin edilen toksisite değerleri $pT > 0$ olarak bulunmuştur.

Tablo 3.24. Doğrusal ve doğrusal olmayan MLR_[DSA] ve CP ANN_[A] modellerinin parametrelerinin karşılaştırılması ve dış set tahmin performansları

Doğrusal MLR_[DSA] Modeli	Değer	Doğrusal olmayan CP ANN_[A] Modeli	Değer
n_{Total}	79	n_{Total}	79
n_{Tr}	64	n_{Tr}	67
n_{Test}	15	n_{Test}	12
R^2_{Tr}	0.637	R^2_{Tr}	0.86
R^2_{Test}	0.866	R^2_{cv}	0.6
$RMSE_{Test}$	0.397	R^2_{Test}	0.56
h^*	0.422	ED_{crit}	0.076
pT Aralığı		pT Aralığı	
Min	-1.011	Min	-1.748
Max	3.467	Max	3.545
Uygulama alanı dışında kalan dış set kimyasalları	2	Uygulama alanı dışında kalan dış set kimyasalları	3
Uygulama alanı içinde kalan dış set kimyasalları	119	Uygulama alanı içinde kalan dış set kimyasalları	118
pT değerleri uygulama alanı alanı içinde kalan bileşikler %	98%	pT değerleri uygulama alanı alanı içinde kalan bileşikler %	97%

Tablo 3.25. Doking hesapları sonucunda 23 bileşiğin Toksikofor modeli ile uyumlu olan doking etkileşim çeşitleri, serbest bağlanma enerjileri ve özellik sayıları. (Toksikofor etkileşim sayısı sonuçları (Minovski vd., 2019))

İSİM	TYR121	TYR130	TRP84	PHE290	PHE330	PHE331	ΔG_b (kcal/mol) Esnek Doking	Doking Etkileşim Sayısı	Toksikofor Etkileşim Sayısı
Amobarbital	π -alkyl		π -alkyl*4+ π -sigma*2+ HBA(2.29)		π -alkyl		-8.1	3	4
Azosemide	HBA(2.93)		π - π stacked*4+ π -alkyl		π -alkyl	π -sulfur	-10.9	4	3
Cefuroxime axetil	HBD(2.32)+ π - sulfur		HBA(1.96)+ π -alkyl+ π - sigma+ C-H		π -alkyl+ π -sigma	π -alkyl	-9.9	4	4
Cloprednol		HBA (2.45)	π -sigma*2+ π -donor H- bond		π -alkyl*5	π - alkyl*2+ π - sigma	-11	4	3
Diazepam	π - π T-shaped		π - π stacked*2+ π - alkyl*2		π - π T shaped+ π - sigma		-10.5	3	6
Diphenyl propanediol	HBA(2.14)		π - π stacked*2		π - π stacked	π - π stacked	-9.8	4	5
Dithiodianiline	HBD(2.32)+ π - donor H bond				π -sulfur + π - π stacked		-8.5	2	5
Ethinylestradiol	π -alkyl		π -alkyl+ π - sigma		π -alkyl	π -alkyl	-11.2	4	2
Ethoxyquin			π - π stacked*2+ π - alkyl		π -sigma+ π - alkyl		-9	2	5
Finasteride			π -sigma*2	π -alkyl	π -alkyl	π -alkyl*3	-12.9	4	4
Fleroxacin	π -alkyl*2+ Halogen H bond*2+ π - π T shaped+C-H	HBA (2.41)	π - π stacked*4				-9.9	3	6
Flunitrazepam	Halogen H bond		π - π stacked*2+ π - alkyl+C-H		π - π T- shaped		-11.9	3	4
Midazolam	π - π T shaped		π - π stacked*2+ π - alkyl*3+ π - sigma		π -alkyl*2		-11.3	4	6
Monobenzoate		HBA (2.47)	π - π stacked*4		π - π T- shaped	π -alkyl	-10.8	4	5
Nitroglycerin	HBA(2.80)	HBA (2.23)	HBA(2.89)+ π - cation*2				-6.5	3	1
Paroxetine	HBA(2.20)		π - π stacked*2			π - π stacked*2	-11.5	3	5
Pentobarbital			π -alkyl*3+ HBA(2.24)		π -sigma + π -alkyl	π -alkyl	-8.4	3	6
Propylthiouracil	HBD(2.35)		π - π stacked*2+ π -sigma		π - π stacked+ π - sigma	π -sulfur	-6.6	4	3
Pyrimethamine			π - π T shaped*2+ π - π stacked+ π - alkyl*2+ HBD(2.90)		π - π stacked+ π - sigma		-8.7	2	2
Tetracycline	HBA(2.53)		π - sigma+HBA(2. 11)		π -alkyl	π -sigma π - donor H bond	-11.5	4	3
Thiopental	HBA(2.02)+ π -alkyl		π -alkyl*2		π -alkyl+ π - sigma		-7.8	3	6
Tolcapone		HBA (2.48)	π - π T shaped+ π - π stacked*2		π - π stacked+ π - alkyl	π -alkyl	-11.4	4	4
Triclosan			π -alkyl*3+ π - π stacked*2		π - π stacked+ π - alkyl	π - π T shaped+ π - sigma	-9.7	3	5

AChE toksikofor modelinden elde edilen etkileşim çeşitleri ve sayıları AChE doking sonuçları ile kıyaslamalı olarak Tablo 3.25'te verilmiştir. Deneysel balık toksisite değeri yüksek olan ($pT > 0$) 60 kimyasal arasından toksikofor sonuçlarına göre toksik bulunan 23 kimyasal, $MLR_{[DSA]}$ ve $CP ANN_{[A]}$ modellerinden tahmin edilen balık toksisite değerleri, $TcAChE$ enzimiyle doking bağlanma enerjileri ve etkileşim sayıları ile birlikte değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme sonucunda, 14 kimyasal seçilerek Tablo 3.26'da ilgili verileri ile birlikte listelenmiştir. Toksik kimyasallar arasından bu 14 kimyasalı seçerken odaklandığımız noktalar sırası ile şöyledir; kimyasallardan deneysel toksisite değeri (pT) yüksek olanlar, $MLR_{[DSA]}$ ve $CP ANN_{[A]}$ modellerinden tahmin edilen toksisite değerleri yüksek olanlar ve 1VOT toksikofor etkileşim özelliği sayısı fazla olanlar (4 ve 6 aralığında), aynı zamanda doking bağlanma serbest enerjileri -8.0 den küçük olanlar dikkate alınmıştır. Tablo 3.26'daki bileşiklerin bağlanma serbest enerjileri -8.5 ila -12.9 kcal/mol arasındadır. İlginçtir ki, bu toksik bileşiklerin 6 tanesi (tolcapone, amobarbital, midazolam, diazepam, flunitrazepam ve paroksetin) ortak bir özelliği paylaşmaktadır. Bunlar, Parkinson hastalığı, kaygı ve depresyon gibi merkezi sinir sistemi (CNS) bozukluklarını tedavi etmek için kullanılan farmasötik bileşiklerdir. AChE'nin çoğunlukla anti-Alzheimer ve anti-Parkinson ilaçlar ile hedeflenen bir sinir sistemi enzimi olduğu da bilinmektedir (Guzior vd. 2015; Kandiah vd. 2017). Tablo 3.26'daki CNS (merkezi sinir sistemi) ilaçlarının $TcAChE$ ile yüksek bağlanma afinitelerine ($\Delta G_b = -11.0$ kcal/mol civarı) sahip olmaları sebebiyle balık türlerinde AChE enziminin bu tip ilaç aktif maddeleri ile güçlü inhibisyonunun toksisite yolunda moleküler başlatıcı olay olmasını işaret edebileceği şeklinde yorumlanmıştır.

Tüm modelleme yaklaşımlarının birlikte değerlendirildiği bütünleşik yaklaşım sonucunda, yüksek toksisiteye sahip 4 temsili bileşik, 4-hydroxy-2-methylnaphthyl benzoate (monobenzoate), tolcapone, paroxetine ve midazolam AChE etkileşimlerini incelemek amacıyla seçilmiş olup Tablo 3.26'da gri vurgulanmıştır. Bu bileşiklere ait doking sonuçlarından elde edilen $TcAChE$ aktif bölgesine bağlanma konformasyonunun yaptığı etkileşimler Şekil 3.29'de gösterilmiş ve Tablo 3.27'de listelenmiştir.

Şekil 3.29(A)'da yeşil renk ile gösterilen 4-hydroxy-2-methylnaphthyl benzoate (monobenzoate) ilaç formulasyonunda kullanılmaktadır. Bu bileşiğin $TcAChE$ enzimine yüksek afiniteyle bağlanması, TRP84 ve PHE330 ile yaptığı hidrofobik etkileşimler ve

bunun yanısıra SER122, TYR130 ve GLU199 amino asit kalıntılarıyla yaptığı hidrojen bağı etkileşimleri ile ilişkilendirilmiştir.

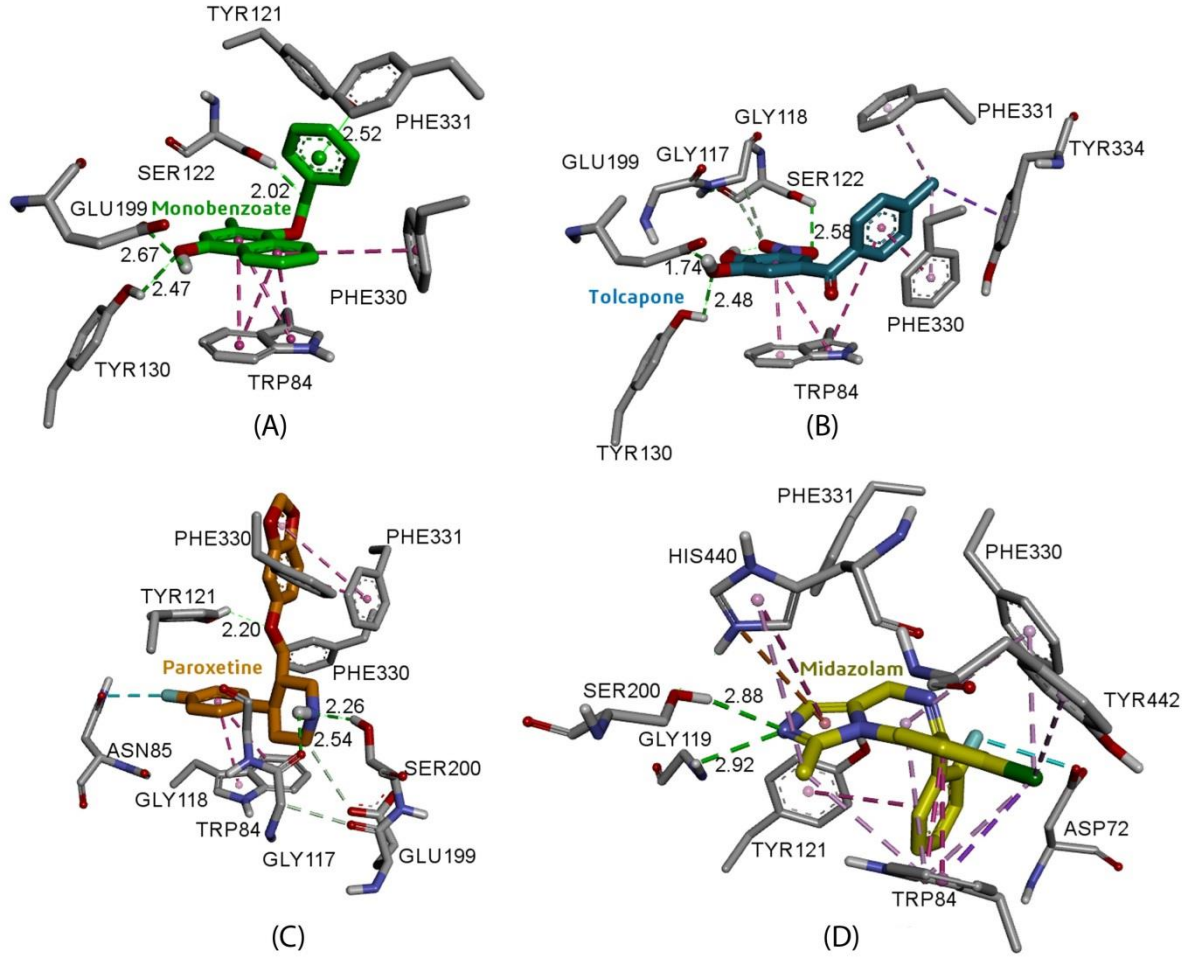
Şekil 3.29(B)'de açık mavi ile gösterilen ikinci bileşik tolcapone ise, Parkinson hastalığı tedavisinde kullanılan catechol-O-methyltransferase enzimi inhibitörüdür (Antonini vd. 2008). *TcAChE*'ye yüksek afiniteyle bağlanması, TRP84, PHE330, PHE331, TYR334 amino asit kalıntılarıyla yaptığı hidrofobik etkileşimlerin yanısıra SER122, TYR130 ve GLU199 ile yaptığı hidrojen bağları ile ilişkilidir.

Şekil 3.29(C)'de kahverengi ile temsil edilen bileşik ise, antidepresan olarak kullanılan serotonin geri alım inhibitörü olan paroksetin bileşiğidir (Mellerup ve Plenge 1986). Bu bileşiğin *TcAChE* enziminin aktif bölgesinde doking oryantasyonu incelendiğinde aromatik yan zincirlerine sahip TRP84, PHE290, PHE331 ile hidrofobik etkileşimler yaptığı ve TYR121, GLU199 ve SER200 ile de hidrojen bağı yaptığı gözlenmiştir. Ayrıca, Asn85 ile de bir halojen bağ etkileşimi de görülmektedir.

Şekil 3.29(D)'de sarı renkli gösterilmiş midazolam $GABA_A$ reseptörlerindeki $GABA$ nörotransmitterlerin etkisini artırarak nöral inhibisyona sebep olan bir antianksiyete ajanıdır (Olkola ve Ahonen 2008). Şekil 3 te görüldüğü üzere, midazolam *TcAChE* aktif bölgesine TRP84, TYR121, Phe330, TYR442 ve HİS440 ile yaptığı hidrofobik etkileşimlerle bağlanmaktadır. Aynı zamanda SER200, GLY119 ile yaptığı hidrojen bağının yanında ve ASP72 ile de halojen bağı yapmaktadır.

Tablo 3.26. Data set kimyasallarının sınıfı ve kullanım alanları, MLR_[DSA] ve CP ANN_[A] modellerinden tahmin edilen toksisite değerleri, toksikofor ve doking sonucunda gözlenen özellik sayısı ve serbest bağlanma enerjileri.

CAS-RN	İsim	Sınıf/Kullanım alanları	DeneySEL pT (mM)	MLR _[DSA] Modelin den Tahmin edilen pT (mM)	CP ANN _[A] Modelin den Tahmin edilen pT (mM)	Etkileşim sayısı		Serbest bağlanma enerjisi. (kcal/mol)
						Toksikofor	Esnek Doking	
1141-88-4	Dithiodianiline	Endüstriyel	3.671	3.468	2.642	5	2	-8.5
3380-34-5	Triclosan	Endüstriyel	3.047	2.219	3.047	5	3	-9.7
2211-28-1	Monobenzoate	Farmasötik formülasyon	2.331	1.324	2.331	5	3	-10.8
134308-13-7	Tolcapone	Antiparkinson Ajanları	2.261	1.622	1.448	4	4	-11.4
61869-08-7	Paroxetine	Antidepresan	2.217	1.363	2.299	5	3	-11.5
59467-70-8	Midazolam	Benzodiazepinler, Antianksiyete Ajanları	1.879	2.123	1.879	6	3	-11.3
439-14-5	Diazepam	Benzodiazepinler, Antianksiyete Ajanları	1.351	1.023	2.319	6	3	-10.5
98319-26-7	Finasteride	Benign Prostat Hypertrofik Ajanlar	1.270	1.220	1.270	4	4	-12.9
91-53-2	Ethoxyquin	Endüstriyel	1.082	1.130	1.653	5	2	-9.0
46755-94-6	Diphenylpropanediol	Endüstriyel	0.853	1.576	0.853	5	4	-9.8
79660-72-3	Fleroxacin	Antimikrobiyal	0.643	1.206	0.643	6	3	-9.9
64544-07-6	Cefuroxime axetil	Antibiyotik	0.629	0.698	0.629	4	4	-9.9
1622-62-4	Flunitrazepam	Benzodiazepinler, Antianksiyete Ajanları	0.572	0.535	0.040	4	3	-11.9
57-43-2	Amobarbital	Sedatif veHypnotikler	0.423	0.590	1.038	4	3	-8.1



Şekil 3.29. Seçilmiş veri seti bileşiklerinin *TcAChE* ile doking bağlanma modları. (A) Monobenzoate (B) Tolcapone (C) Paroxetine ve (D) Midazolam

Tablo 3.27. Seçilmiş 4 veri seti bileşiğinin esnek doking sonucunda en yüksek afinite ile bağlanan konformasyonlarının TcAChE enzimiyle yaptığı etkileşimlerin listesi.

Bileşik	$\Delta G(\text{kcal/mol})$	Esnek Doking Etkileşimler	Etkileşim Türü ve Bağ mesafesi (Å)
Monobenzoate	-10.8	Ligand-OH(H)...GLU199-C=O(O)	Hidrojen bağı (HBD)=2.67
		Ligand-OH(O)...TYR130-OH(H)	Hidrojen bağı (HBA)=2.47
		Ligand-C=O(O)...SER122-OH(H)	Hidrojen bağı (HBA)=2.02
		Ligand-fenil...TYR121-OH(H)	π -donor Hidrojen bağı(2.52)
		Ligand-fenil...TRP84	π - π stacked*4 (4.05, 3.90, 4.26, 3.81)
		Ligand-fenil...PHE330	π - π T shaped (5.20)
Tolcapone	-11.4	Ligand-OH(O)...TYR130-OH(H)	Hidrojen bağı (HBA)=2.47
		Ligand-OH(H)...GLU199-C=O(O)	Hidrojen bağı (HBD)=2.47
		Ligand-N=O(O)...SER122-OH(H)	Hidrojen bağı (HBA)=2.58
		Ligand-N=O(O)...SER122-C=O(C)	C-H bağı (3.46)
		Ligand-N=O(O)...GLY118-N-C(C)	C-H bağı (3.62)
		Ligand ...TRP84	π - π stacked*2 (4.29, 3.93)
		Ligand-fenil...PHE330	π - π stacked (3.66)
		Ligand-C...PHE330	π - alkil (4.73)
		Ligand-C...PHE331	π - alkil (4.44)
		Ligand-C...TYR334	π - sigma (3.73)
Paroxetine	-11.5	Ligand-C=O(O)...TYR121-OH(H)	Hidrojen bağı (HBA)=2.20
		Ligand-fenil...PHE331	π - π stacked*2 (5.10, 4.05)
		Ligand-F...ASN85-C=O(O)	Halojen Hidrojen bağı (3.21)
		Ligand-fenil...TRP84	π - π stacked*2 (4.66, 4.06)
		Ligand-NH(N)...SER200-OH(H)	Hidrojen bağı (HBA)=2.26
		Ligand-NH(H)...GLY117-C=O(O)	Hidrojen bağı (HBD)=2.54
		Ligand-N-C...GLU199-C=O(O)	C-H bağı (3.79)

Tablo 3.27. (devam) Seçilmiş 4 veri seti bileşiğinin esnek doking sonucunda en yüksek afinite ile bağlanan konformasyonlarının *TcAChE* enzimiyle yaptığı etkileşimlerin listesi.

Bileşik	$\Delta G(\text{kcal/mol})$	Esnek Doking Etkileşimler	Etkileşim Türü ve Bağ mesafesi (Å)
Midazolam	-11.3	Ligand-C=N (N)...GLY119-NH(H)	Hidrojen bağı (HBA)=2.92
		Ligand-C=N (N)...SER200-OH(H)	Hidrojen bağı (HBA)=2.88
		Ligand-Cl ...PHE330-fenil	π - alkil (4.70)
		Ligand-...PHE330-fenil	π - alkil (4.85)
		Ligand ...TRP84	π - π stacked*2 (4.62, 3.79)
		Ligand-Cl...TRP84	π - alkil (4.19)
		Ligand ...TRP84	π - alkil*2 (4.60)(5.44)
		Ligand-Cl...TRP84	π - sigma (3.97)
		Ligand-Cl...TYR442-fenil	π - alkil (4.79)
		Ligand-F...ASP72-COO(O)	Halojen Hidrojen bağı (F) (3.40)

Veri set için kullanılan ligand ve yapı temelli metodolojileri entegre eden aynı yaklaşım deneysel toksisite verileri olmayan dış set kimyasalları için de kullanılmıştır. KYTİ, doking ile CP ANN ve toksikofor (Minovski vd., 2019) yaklaşımlarının entegrasyonu yoluyla dış setten taranan toksik kimyasallar, terapötik sınıf/ kullanımları ve KYTİ modellerinden tahmin edilen balık toksisite değerleri ile birlikte Tablo 3.28’de verilmiştir. 10 toksikofor bileşiğine ait serbest bağlanma enerjilerinin, $-8.3 > \Delta G > -12.3$ kcal/mol arasında olması, bu bileşiklerin balık AChE enzimine yüksek afinitede bağlandığını göstermektedir. Bu bileşiklerden çoğunun anksiyete, sedatifler ve depresyon gibi merkezi sinir sistemi (CNS) bozukluklarını tedavi etmek için kullanılan farmasötik sınıftan olması dikkat çekicidir.

Tablo 3.28’de gösterilen 10 toksik bileşik arasından seçilen 4 bileşik, desipramine, triflupromazine, clotrimazole ve bromazepam için doking sonucunda elde edilen TcAChE aktif bölgesine bağlanma modları Şekil 3.29’da gösterilmiştir. Bir trisiklik antidepressan olan desipramine’in fare synaptosomlarında norepinefrin ve serotoninin geri alım inhibitörü olduğu bilinmektedir (Marsh, 2007). Bu bileşiğin, TcAChE aktif bölgesinde TRP84, PHE330, PHE331 ve TYR334 ile yaptığı hidrofobik etkileşimler ve ASN85 ile yaptığı hidrojen bağı ile birlikte aynı zamanda TYR121 ve TYR70 ile de zayıf etkileşimler yaptığı görülmüştür.

Bir fenotiazine sınıfı ilacı olan Triflupromazine bir antipsikotik ilaç olmakla birlikte bir antiemetiktir (Frank vd., 1962). Periferik anyonik bölgede ASP72 ile hidrojen bağı yapması ve TYR130 ile de halojen-hidrojen bağı yaptığı gözlenmektedir. Ek olarak aromatik yan zincire sahip TRP84, PHE330, PHE331 ve TYR334 amino asit kalıntıları ile hidrofobik etkileşimler, TYR70, GLN69 ve GLY123 ile de zayıf C-H etkileşimleri yapmıştır.

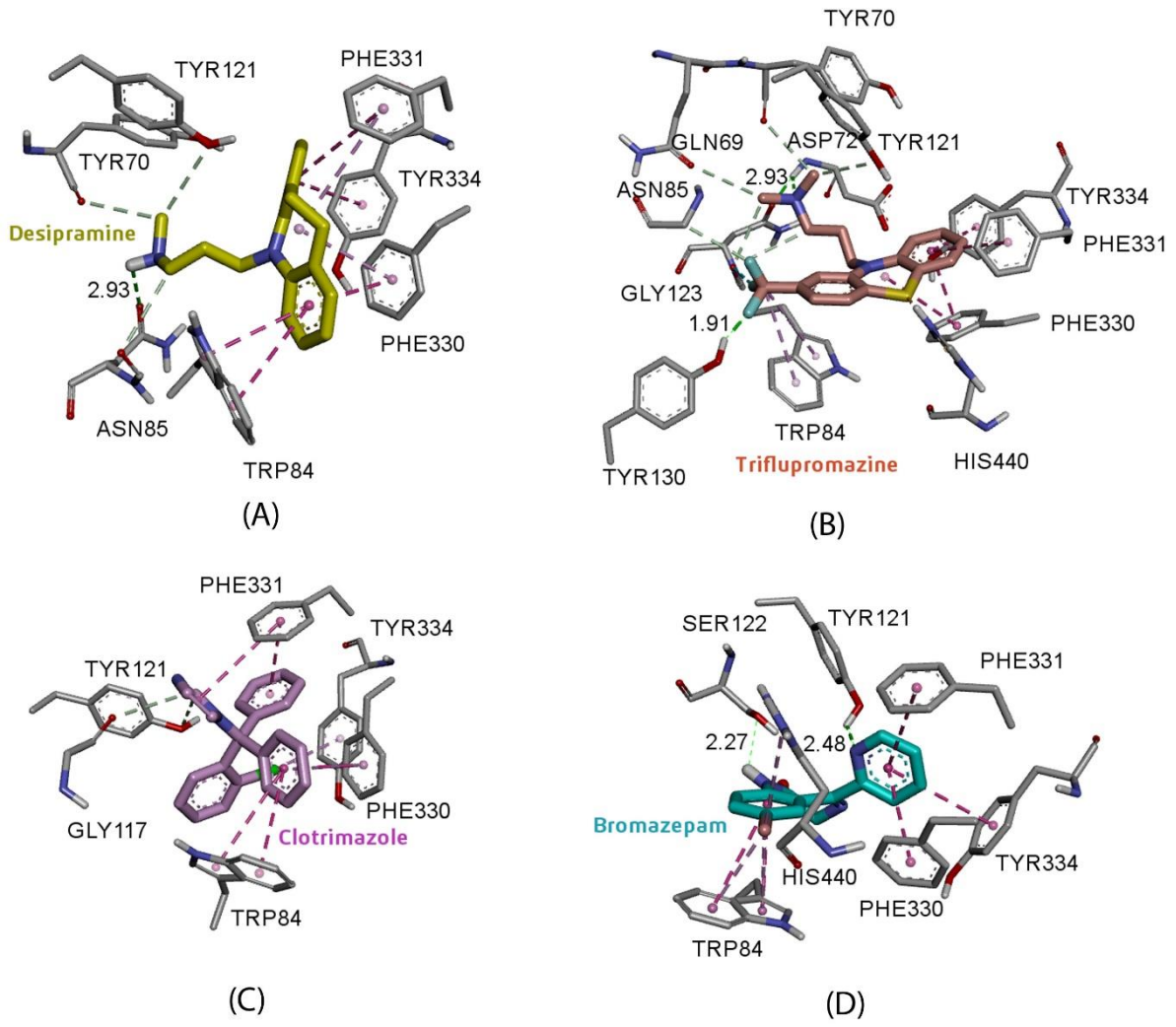
Bir fungusid ajan olan Clotrimazole’un sitokrom P-450 inhibitörü olduğu ve insan ve hayvanlarda kullanıldığı ve su canlıları için toksik bir kirlenici olduğu bilinmektedir (Porsbring vd., 2009). Düşük bağlanma enerjisine (-12.3 kcal/mol) sahip olması, TRP84, TYR121, PHE330, PHE331 ile güçlü etkileşimler yapmasının yanında, GLY117 ve TYR334 ile de etkileşimler yaparak toksisite göstermektedir.

Bromazepam, GABA reseptörüne bağlanarak etki gösteren ve anksiyete ve panic stress bozukluğunda etkili olduğu bilinen bir farmasötik bileşiktir (Rowlett vd., 2006). Fick vd. Avrupa nehirlerinde yaptıkları çalışmalarda benzodiazepin sınıfı ilaçlardan bromazepamın en çok rastlanan 4 antianksiyete ajanından biri olduğu ve ng/L seviyelerinde tespit edildiğini bildirmişlerdir (Fick vd., 2017) Yaptığımız doking hesaplamalarında bromazepam *TcAChE* aktif bölgesine yüksek afinitede bağlanmıştır. TRP84, PHE330, PHE331, TYR334 ve HIS440 ile π - π hidrofobik etkileşimleri yaptığı ve SER122 ve TYR121 ile sırasıyla 2.27 Å ve 2.48 Å mesafelerde hidrojen bağı yaptığı görülmüştür (Şekil 3.29, Tablo 3.29).

Sonuç olarak, bağlanma enerjileri ve güçlü ligand-*TcAChE* etkileşimleriyle birlikte MLR ve CP ANN balık toksisite modellerinden tahmin edilen toksisite değerleri değerlendirildiğinde Tablo 3.26 ve 3.28 de listelenen bu kirletici bileşiklerin balıklar için *TcAChE* inhibitörü olabileceği ve bu dış set kimyasallarının AChE'ye bağlanmalarının AOP yolunda toksisiteyi başlatıcı moleküler olay olma ihtimalini desteklemektedir.

Tablo 3.28. Balık toksisite verileri bilinmeyen dış set kimyasalları, toksikofor ve doking yaklaşımlarıyla değerlendirilmiş, sınıf ve kullanım alanları, MLR_[DSA] ve CP ANN_[A] modellerinden tahmin edilen toksisite değerleri, toksikofor ve doking sonucunda gözlenen özellik sayısı ve serbest bağlanma enerjileri.

CAS-RN	İsim	Sınıf/kullanım alanı	MLR _[DSA] modelinden tahmin edilen pT (mM)	CP ANN _[A] modelinden Tahmin edilen pT (mM)	Özellik sayısı		Serbest bağlanma enerjisi (kcal/mol)
					Toksikofor	Doking	
*50-47-5	Desipramine	Antidepresan	2.770	2.299	5	4	-10.3
146-54-3	Triflupromazine	Antipsikotikler	2.116	2.299	6	3	-10.1
23593-75-1	Clotrimazole	Antifungal	1.827	1.879	6	4	-12.3
1812-30-2	Bromazepam	Antianksiyete ajanları	2.068	1.436	6	4	-10.7
56-57-5	4-Nitroquinoline oxide	Endüstriyel	1.796	1.185	4	3	-8.7
22328-94-5	(R)-(+)-Secobarbital	Sedatif ve hipnotikler	1.697	1.038	6	5	-8.3
20224-45-7	(S)-(-)-Secobarbital		0.783	1.038	6	4	-8.6
	Metipranolol (R)	Anti-Glokom	1.357	0.852	6	3	-8.4
	Metipranolol (S)		1.341	0.852	6	4	-8.8
548-73-2	Droperidol	Antipsikotikler	1.769	0.665	6	2	-11.7



Şekil 3.30. Dış set kimyasallarından taranan ve *TcAChE* ile etkileşimi olan bileşikler (A) Desipramine (B) Triflupromazine (C) Clotrimazole ve (D) Bromazepam.

Tablo 3.29. Seçilmiş 4 dış set bileşiğinin esnek doking sonucunda en yüksek afinite ile bağlanan konformasyonlarının TcAChE enzimiyle yaptığı etkileşimlerin listesi.

Bileşik	$\Delta G(\text{kcal/mol})$	Esnek Doking Etkileşimler	Etkileşim Türü ve Bağ mesafesi (Å)
Desipramine	-10.3	Ligand...TRP84	π - π stacked*2 (4.09, 4.62)
		Ligand-N-C(C)...TRP84-C=O(O)	C-H (3.57)
		Ligand-N-C(C)...TYR121-OH(O)	C-H bağı (3.67)
		Ligand...PHE330	π - π stacked (3.78)
		Ligand...PHE330	π -alkil (4.20)
		Ligand...PHE331	π - alkil (5.33)
		Ligand...PHE331	π - π T shaped (5.27)
		Ligand...TYR334	π - π T shaped (4.71)
		Ligand-N-C(C)...TYR70-C=O(O)	C-H bağı (3.42)
		Ligand-NH(H)...ASN85-C=O(O)	Hidrojen bağı (HBD)=2.93
Triflupromazine	-10.1	Ligand-C-F(F)...TYR130-OH(H)	Halojen Hidrojen bağı 1.91
		Ligand-C-F(C)...TRP84	π - alkil*2 (4.68,5.08)
		Ligand-N-C(C)...TRP84-C=O(O)	C-H (3.37)
		Ligand-C-F(F)...TRP84-C=O(O)	Halojen Hidrojen bağı (3.01)
		Ligand-C...TRP84-C=O(O)	C-H bağı (3.77)
		Ligand-N-C(C)...TYR121-OH(O)	C-H bağı (3.79)
		Ligand-N-C(C)...TYR70-C=O(O)	C-H bağı (3.38)
		Ligand... PHE330	π - π stacked*2 (3.85, 4.68)
		Ligand... PHE331	π - π T shaped (4.92)
		Ligand... HIS440	π - sülfür (4.92)
		Ligand-N...ASP72-NH	Hidrojen bağı (HBA)=2.93
		Ligand... TYR334	π - π T shaped (4.69)
Clotrimazole	-12.3	Ligand-N-C(C)... GLN69-C=O(O)	C-H bağı (3.75)
		Ligand-Cl...PHE330-fenil	π -alkil (4.72)
		Ligand...PHE330-fenil	π - π stacked (3.67)
		Ligand... PHE331-fenil	π - π T shaped (4.81)
		Ligand... PHE331-fenil	π - π stacked (4.00)
		Ligand-C... GLY117-C=O(O)	C-H bağı (3.73)
		Ligand...TRP84	π - π T shaped*2 (4.91, 4.72)
		Ligand-C...TYR121-OH(O)	C-H bağı (3.78)

Tablo 3.29. (devam) Seçilmiş 4 dış set bileşiğinin esnek doking sonucunda en yüksek afinite ile bağlanan konformasyonlarının *TcAChE* enzimiyle yaptığı etkileşimlerin listesi.

Bileşik	$\Delta G(\text{kcal/mol})$	Esnek Doking Etkileşimler	Etkileşim Türü ve Bağ mesafesi (Å)
Bromazepam	-10.7	Ligand...PHE330	π - π stacked (4.40)
		Ligand-N...TYR121-OH(H)	Hidrojen bağı (HBA)=2.48
		Ligand-NH(H)...SER122-OH(O)	Hidrojen bağı (HBA)=2.27
		Ligand...TRP84	π - π stacked*2 (4.58, 4.07)
		Ligand-Br...TRP84	π -alkil*2 (4.28, 5.98)
		Ligand-fenil...TYR334-fenil	π - π T shaped (4.79)
		Ligand-Br...HIS440	π -alkil (5.44)
		Ligand-fenil...PHE331-fenil	π - π T shaped (5.21)

4. GENEL DEĞERLENDİRME VE SONUÇ

Bu çalışmada, farmasötik bileşikler ve organik kimyasallara ait literatürdeki balık letal toksisite (LC_{50}) (balıkların %50 sini öldüren konsantrasyon) verileri kullanılarak, ligand ve yapı-temelli modelleme yaklaşımları entegre edilmiş ve toksisitenin değerlendirilmesine mekanistik bir bakış açısı sunulmuştur. Bu amaçla geliştirilen 4 MLR modelinden OECD prensiplerine uygun validasyon ve tahmin gücüne sahip en iyi 2 model üzerinden ($MLR_{[DSA]}$, $MLR_{[A]}$) 79 adet veri set ve 121 adet dış set organik kimyasal ve ilaca ait balık toksisite tahminleri yapılmış ve bu sonuçlar AChE ve GST enzimlerine doking çalışmalarıyla desteklenmiştir.

Veri seti bileşiklerinin toplu değerlendirmelerinde bu kimyasallara ait deneysel ölçülmüş toksisite değerleri yüksek olanlar için ($pT > 1$), MLR modellerden tahmin edilen toksisite değerleri de 1 den büyük olanlar ile AChE enzime bağlanma enerjileri -8 ve daha küçük olma kriteri dikkate alınmıştır. AChE ve MLR modellerden veri setindeki 79 bileşikten en toksik bileşikler Amitriptyline, Risperidone, Trenbolone acetate ve Midazolam olarak tespit edilmiştir. Bu bileşikler için toksisiteyi başlatan olayın AChE enzime bağlanma olması muhtemeldir.

Aynı zamanda toksisite yolunun tek bir olaya bağlı olmayabileceği düşünülerek, AChE yerine GST enzime de doking çalışmaları yapılmıştır. Veri seti bileşiklerinin GST enzime bağlanmaları için de aynı kriterlere göre seçim yapıldığında Risperidone, Monobenzoate, Paroxetine, Ethoxyquin, Trenbolone acetate ve Midazolam en toksik bileşikler olarak bulunmuştur. Bu bileşikler için ise toksisiteye neden olan muhtemel moleküler başlatıcı olay GST enzime bağlanmadır.

Dış set bileşiklerinden toksisitesi yüksek olanları seçmek amacıyla her 2 modelden de tahmin edilen pT değeri 1 den büyük olanlar ile AChE doking serbest bağlanma enerjisi -8 ve daha düşük olması kriteri belirlenmiş ve bu kriterlere uyan 26 bileşik bulunmuştur. (Her 2 modelden de uygulama alanının dışında kalan bileşikler değerlendirmeye alınmamıştır.) Bu 26 bileşik için toksisiteyi başlatıcı olayın AChE enzime bağlanması olabileceği sonucuna varılmıştır. En yüksek toksisiteye sahip olanlar ise Progesterone, Estradiol Clotrimazole Droperidol, Carbamazepine, Imipramine ve Triflupromazine olarak bulunmuştur. GST enzimi için de aynı kriterlere göre ($MLR_{[DSA]}$, $MLR_{[A]}$) modellerinden tahmin edilmiş balık pT değeri 1 den büyük olanlar ve GST enzime

doking serbest bağlanma enerjisi de -8 ve daha düşük olması) seçim yapılmış olup bu kriterlere uyan 12 bileşik belirlenmiştir. Bulunan bileşiklerin hepsi aynı zamanda AChE toplu değerlendirmesinde de toksik bulunmuş bileşiklerdir. Bu dış set bileşiklerinden en toksikler Progesterone, Estradiol, Droperidol, Carbamazepine, Desipramine ve Triflupromazine olarak tespit edilmiştir. Bu 12 bileşik için toksisiteyi başlatıcı olayın AChE ve/veya GST enzimlerine bağlanması olabileceği sonucuna varılmıştır. Aynı zamanda deneysel ölçülmüş balık toksisite verileri olmayan bu bileşikler için bulunan balık toksisite verileri literatürdeki veri boşluğunu doldurabilir.

Ayrıca, proje kapsamında bir başka bütünsel yaklaşım daha yapılmıştır. Geliştirilen MLR modellerin tanımlayıcı ve toksisite verileri kullanılarak proje ortaklarımız Minovski vd. tarafından doğrusal olmayan (tersine yayımlı yapay sinir ağıları (CP ANN)) modelleri ve AChE enzimiyle toksikofor modelleri geliştirilmiştir (Minovski vd., 2019). En toksik bileşikler bulmak amacıyla ligand temelli MLR_[DSA] ve CP ANN_[A] modelleri ile yapı-temelli AChE doking ve toksikofor sonuçları bütünsel değerlendirilmiş ve en toksik çıkan bileşikler tespit edilmiştir.

Bu bütüncü yaklaşımın sonucunda veri seti bileşiklerinden en toksik seçilen 4 bileşik Monobenzoate, Tolcapone, Paroxetine ve Midazolam olmuştur. Balık için potansiyel risk oluşturabilecek ve deneysel balık toksisite verileri bulunmayan bileşikler de bu yöntemlerle ortaya çıkarılmıştır. Bu dış set bileşiklerinden en toksik bulunan 4 farmasötik bileşik Desipramine Triflupromazine, Clotrimazole ve Bromazepam seçilmiştir.

Deneysel ölçülmüş balık toksisite verileri olmayan bu bileşikler için bulunan balık toksisite verileri kullanılarak veri boşluğu doldurulabilir. İleriki çalışmalarda tespit edilen en toksik bileşiklerin AChE/GST enzimleriyle yaptıkları komplekslere moleküler dinamik simülasyonları uygulayarak komplekslerin dinamik kararlılıkları gözlenebilir. Bu sonuçları deneysel olarak da desteklemek amacıyla seçili bileşikler için *in vitro/in vivo* balık toksisite ölçümleri yapılabilir.

KAYNAKLAR

Aalizadeh, R., von der Ohe, P.C., Thomaidis, N. (2017). Prediction of acute toxicity of emerging contaminants on the water flea daphnia magna by ant colony optimization - support vector machine QSTR models. *Environmental Science: Processes and Impacts* 19(3), 438-448.

Abraham M.J, Murtola T., Schulz R., Páll S., Smith J.C., Hess B., Lindahl, E. (2015). Gromacs: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *SoftwareX*, 1-2, 19-25.

Accelrys Software Inc. (2013). Discovery Studio Modeling Environment, Release 4.0, San Diego.

Allen, T. C., Granville, L. A., Cagle, P. T., Haque, A., Zander, D. S., & Barrios, R. (2007). Expression of glutathione S-transferase π and glutathione synthase correlates with survival in early stage non-small cell carcinomas of the lung. *Human pathology*, 38(2), 220-227.

Allen, T.E.H., Goodman, J.M., Gutsell, S., Russell, P.J. (2014). Defining molecular initiating events in the adverse outcome pathway framework for risk assessment. *Chemical Research in Toxicology*, 27, 2100-2112.

Altschul, S. F., Madden, T. L., Schäffer, A. A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., Lipman, D. J. (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic acids research*, 25(17), 3389-3402.

Ankley, G.T., Bennett, R.S., Erickson, R. J., Hoff, D.J., Hornung, M.W., Johnson, R. D., Mount, D.R., Nichols, J.W., Russom, C.L., Schmieder, P.K., Serrano, J.A., Tietge, J.E., Villeneuve, D.L. (2010). Adverse outcome pathways: a conceptual framework to support ecotoxicology, research and risk assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29, 730-741.

Antonini, A., Abbruzzese, G., Barone, P., Bonuccelli, U., Lopiano, L., Onofri, M., Zappia, M., Quattrone, A. (2008). COMT inhibition with tolcapone in the treatment algorithm of patients with Parkinson's disease (PD): Relevance for motor and non-motor features, *Neuropsychiatric disease and treatment*, 4(1), 1-9.

Armstrong, R.N. (1997). Structure, catalytic mechanism, and evolution of the glutathione transferases. *Chemical Research in Toxicology*, 10(1), 2-18.

- Balchin, D., Fanucchi, S., Achilonu, I., Adamson, R. J., Burke, J., Fernandes, M., Gildenhuis, S., Dirr, H. W. (2010). Stability of the domain interface contributes towards the catalytic function at the H-site of class alpha glutathione transferase A1-1. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 1804(12), 2228-2233.
- Barceló, D., Petrovic, M. (2007). Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the Environment. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 387, 1141–1142.
- Belabed, S., Noureddine, S. (2013). Acute toxicity of cadmium on *Donax trunculus*: acetylcholinesterase, glutathione S-transferase activities and pattern of recovery. *European Journal of Experimental Biology*, 3, 54-61.
- Benkert, P., Biasini, M., Schwede, T. (2011). Toward the estimation of the absolute quality of individual protein structure models. *Bioinformatics*, 27, 343-350.
- Berman H.M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T. N., Weissig H., Shindyalov, I. N., Bourne, P. W. (2000). The protein data bank. *Nucleic Acids Research*, 28(1), 235-242.
- Cairrão, E., Couderchet, M., Soares, A.M.V.M., Guilhermino L. (2004). Glutathione-S-transferase activity of *Fucus* spp. as a biomarker of environmental contamination. *Aquatic Toxicology*, 70, 277-286.
- Chirico, N., Gramatica, P. (2011). Real external predictivity of QSAR models: How to evaluate it? Comparison of different validation criteria and proposal of using the concordance correlation coefficient. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 51, 2320-2335.
- Chirico, N., Gramatica, P. (2012). Real external predictivity of QSAR models. Part 2. New intercomparable thresholds for different validation criteria and the need for scatter plot inspection. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 52, 2044-2058.
- Consonni, V., Ballabio, D., Todeschini, R. (2009). Comments on the definition of the Q^2 parameter for QSAR validation. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 49, 1669-1678.
- Cronin, M. T. D., Madden, J. C. (2010). *in silico* toxicology—an introduction. In *Silico Toxicology: Principles and Applications*. Cambridge: RSC Publishing, 1-10.

Dearden, J.C., Cronin, M.T.D., Kaiser, K.L.E. (2009). How not to develop a quantitative structure–activity or structure–property relationship (QSAR/QSPR). SAR and QSAR in Environmental Research, 20, 241-266.

Diamantino, T.C., Almeida, E., Soares, A.M.V.M., Guilhermino, L. (2003) Characterization of cholinesterases from daphnia magna Straus and their inhibition by zinc. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 71(2), 219-225.

Dvir, H., Silman I., Harel, M., Rosenberry, T.L., Sussman, J.L. (2010). Acetylcholinesterase: from 3D structure to function. Chemico-biological interactions, 187(1-3), 10-22.

EC, (2006). European Commission, Regulation No. 1907/2006 of the European Parliament and of the Council of 18 December 2006 Concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH). Official Journal of the European Union, L 396/1-849.

EC, (2012). European Commission, Proposal for a Directive of the European Parliament and of the Council amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy. <http://eur-lex.europa.eu/legalcontent/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:52011PC0876&from=EN>.

EC, (2013). European Commission, Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013 amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy. Official J Eur Union L226:1-17.

Ertürk, M. D., Saçan, M. T. (2012). First toxicity data of chlorophenols on marine alga *Dunaliella tertiolecta*: Correlation of marine algal toxicity with hydrophobicity and interspecies toxicity relationships. Environmental Toxicology and Chemistry, 31, 1113-1120.

Ertürk, M. D., Saçan, M. T. (2013). Assessment and modeling of the novel toxicity data set of phenols to *Chlorella vulgaris*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 90, 61-68.

Erzincan, P., Saçan, M. T., Yüce-Dursun, B., Daniş, Ö., Demir, S., Erdem, S. S., & Ogan, A. (2015). QSAR models for antioxidant activity of new coumarin derivatives. SAR and QSAR in Environmental Research, 26(7-9), 721-737.

- Fent, K., Weston, A., Caminada, D. (2006). Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic toxicology*, 76(2), 122-159 .
- Fick, J., Brodin, T., Heynen, M., Klaminder, J., Jonsson, M., Grabicova, K., Randak, T., Grabic, R., Kodes, V., Slobodnik, J., Sweetman, A., Earnshaw, M., Caracciolo, A.B., Lettieri, T., Loos, R. (2017). Screening of benzodiazepines in thirty European rivers. *Chemosphere*, 176, 324-332.
- Fjodorova, N., Novič, M., Venko, K., Rasulev, B., Saçan, M.,T., Tugcu, G., Toropov, A. A. (2023). Cheminformatics and Machine Learning Approaches to Assess Aquatic Toxicity Profiles of Fullerene Derivatives. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(18), 14160.
- Frank, P.E., Coyle, J.T. (1962). Triflupromazine (Vesprin) for control of emesis incidental to ophthalmic surgery. *American journal of ophthalmology*, 53, 683-686.
- Free, S. M., Wilson, J. W. (1964). A mathematical contribution to structure-activity studies. *Journal of Medicinal Chemistry*, 7, 395-399.
- Giacobini, E. (2003). Cholinesterases: New Roles in Brain Function and in Alzheimer's Disease. *Neurochemical Research*, 28, 515-522.
- Golbraikh, A., Muratov, E., Fourches, D., Tropsha, A. (2014). Data set modelability by QSAR. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 54, 1-4.
- Golbraikh, A., Tropsha, A. (2002). Beware of q^2 !. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 20, 269-276.
- Gonzalez-Rey, M., Bebianno, M.J. (2011). Non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) ibuprofen distresses antioxidant defense system in mussel *Mytilus galloprovincialis* gills. *Aquatic Toxicology*, 105(3-4), 264–269.
- Gonzalez-Rey, M., Bebianno, M.J. (2012). Does non-steroidal anti-inflammatory (NSAID) Ibuprofen induces antioxidant stress and endocrine disruption in mussel *Mytilus galloprovincialis*?. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 33(2), 361-371.
- Gramatica, P. (2007). Principles of QSAR models validation: Internal and external. *QSAR and Combinatorial Science*, 26, 694-701.

Gramatica, P., Cassani, S., Chirico, N. (2014). QSARINS-Chem: Insubria datasets and new QSAR/QSPR models for environmental pollutants in QSARINS. *Journal of Computational Chemistry*, 35, 1036-1044.

Gramatica, P., Cassani, S., Roy, P. P., Kovarich, S., Yap, C. W., Papa, E. (2012). QSAR modeling is not “push a button and find a correlation”: A case study of toxicity of (benzo-) triazoles on algae. *Molecular Informatics*, 31, 817-835.

Gramatica, P., Chirico, N., Papa, E., Cassani, S., Kovarich, S. (2013). QSARINS: A new software for the development, analysis, and validation of QSAR MLR models. *Journal of Computational Chemistry*, 34, 2121-2132.

Gramatica, P., Papa, E. (2005). An update of the BCF QSAR model based on theoretical molecular descriptors. *QSAR and Combinatorial Science*, 24, 935-960.

Gröner, F., Zikov'a, A., Kloas, W. (2015). Effects of the pharmaceuticals diclofenac and metoprolol on gene expression levels of enzymes of biotransformation, excretion pathways and estrogenicity in primary hepatocytes of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part – C Toxicology & pharmacology: CBP* 167, 51-57.

Guilhermino, L., Lacerda, M.N., Nogueira, A.J.A., Soares, A.M.V.M. (2000). In vitro and in vivo inhibition of *Daphnia magna* acetylcholinesterase by surfactant agents: possible implications for contamination biomonitoring. *Science of the Total Environment*, 247, 137-141.

Guzior, N., Wieckowska, A., Panek, D., Malawska, B. (2015). Recent development of multifunctional agents as potential drug candidates for the treatment of Alzheimer's disease. *Current Medicinal Chemistry*, 22(3), 373-404.

Hansch, C., Fujita, T. (1964) ρ - π Analysis. A method for the correlation of biological activity and chemical structure. *Journal of American Chemical Society*, 86, 1616-1626.

Harel, M., Quinn, D. M., Nair, H. K., Silman, I., Sussman, J. L. (1996). The X-ray structure of a transition state analog complex reveals the molecular origins of the catalytic power and substrate specificity of acetylcholinesterase. *American Chemical Society* 118(10), 2340-2346.

Hernández Leal, A.M., Soeter, S.A.E., Kools, M.H.S., Kraak, J.R., Parsons, H., Temmink, G., Zeeman, Buisman, C.J.N. (2012). Ecotoxicological assessment of grey

water treatment systems with *Daphnia magna* and *Chironomus riparius*. *Water Research*, 46, 1038-1044.

Hommen, U., Baveco. J.M.H., Galic, N. van den Brink, P.J. (2010). Potential application of ecological models in the European environmental risk assessment of chemicals I: Review of protection goals in EU directives and regulations, *Integrated Environmental Assessment and Management*, 6, 325-337.

ICM Molsoft Browser (www.molsoft.com)

Joss, A., Keller, E., Alder, A.C., Göbel, A., McArdell, C.S., Ternes, T., Siegrist, H. (2005). Removal of pharmaceuticals and fragrances in biological wastewater treatment. *Water Research*, 39, 3139-3152.

Kandiah, N., Pai, M-C, Senanarong, V., Looi, I., Ampil, E., Park, K. W., Karanam, A. K., Christopher, S. (2017). Rivastigmine: the advantages of dual inhibition of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase and its role in subcortical vascular dementia and Parkinson's disease dementia. *Clin. Interv. Aging*, 12, 697-707.

Kang, J.J., Fang, H.W. (1997). Polycyclic aromatic hydrocarbons inhibit the activity of Acetylcholinesterase purified from electric eel. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 238, 367-371.

Kode srl. (2016). DRAGON 7 (software for molecular descriptor calculation) (<https://chm.kode-solutions.net/>).

Lannutti, F., Marrone, A., Re, N. (2012). Binding of GSH conjugates to π -GST: A cross-docking approach. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 32, 9-18.

Li, J. J., Dai, M. J., & Xue, J. Z. (2023). Investigation on toxicity and mechanism to *Daphnia magna* for 14 disinfection by-products: Enzyme activity and molecular docking. *The Science of the total environment*, 905, 167059.

Li, S., Zhao, J., Huang, R., Travers, J., Klumpp-Thomas, C., Yu, W., MacKerell, A. D., Jr, Sakamuru, S., Ooka, M., Xue, F., Sipes, N. S., Hsieh, J. H., Ryan, K., Simeonov, A., Santillo, M. F., Xia, M. (2021). Profiling the Tox21 chemical collection for acetylcholinesterase inhibition. *Environmental health perspectives*, 129(4), 47008.

Li, Z., Lu, G., Yang, X., Wang C. (2012). Single and combined effects of selected pharmaceuticals at sublethal concentrations on multiple biomarkers in *carassius auratus*. *Ecotoxicology*, 21, 353-361.

Liang, X., Wang, L., Ou, R., Nie, X., Yang, Y.F., Wang, F., Li, K. (2015). Effects of norfloxacin on hepatic genes expression of P450 isoforms (CYP1A and CYP3A), GST and P-glycoprotein (P-gp) in swordtail fish (*Xiphophorus Helleri*). *Ecotoxicology*, 24, 1566-1573.

Lionette, M.G., Caricato, R., Calisi, A., Giordano, M.E., Schettino, T. (2013). Acetylcholinesterase as a biomarker in environmental and occupational medicine: New insights and future perspectives. *BioMed Research International*, 2013, 321213.

LoPachin, R.M., Gavin, T., Geohagen, B.C., Das, S. (2007). Neurotoxic Mechanisms of Electrophilic Type-2 Alkenes: Soft-soft Interaction Described by Quantum Mechanical Parameters. *Toxicological Sciences*, 98, 561-570.

Marsh, W. (2007). Desipramine, in *xPharm: The comprehensive pharmacology reference*. Editor(s): S.J. Enna, David B. Bylund, Elsevier, 1-5, <https://doi.org/10.1016/B978-008055232-3.61564-8>.

Mellerup, E.T., Plenge, P. (1986) High affinity binding of 3H-paroxetine and 3H-imipramine to rat neuronal membranes. *Psychopharmacology*, 89, 436-439.

Mihaljević I., Bašica B., Maraković N., Kovačević R., Smital T. (2020). Interaction of organotin compounds with three major glutathione S-transferases in zebrafish. *Toxicology in Vitro*, 62, 104713.

Minovski, N., Sacan, M.T., Eminoğlu, E.M., Erdem, S.S., Novič, M. (2019). Revisiting fish toxicity of active pharmaceutical ingredients: Mechanistic insights from integrated ligand-/structure-based assessments on acetylcholinesterase. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 170, 548-558.

Minovski, N., Župerl, Š., Drgan, V., Novič, M. (2013). Assessment of applicability domain for multivariate counter-propagation artificial neural network predictive models by minimum Euclidean distance space analysis: A case study. *Analytica Chimica Acta*, 759, 28-42.

Moralev, S.N, Tikhonov, D.B. (2010). Investigation of structure-activity relationships in organophosphates-cholinesterase interaction using docking analysis. *Chemico-biological interactions*, 187(1-3), 153-156.

Morris, G.M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M.F., Belew, R.K., Goodsell, D.S., Olson, A.J. (2009). Autodock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, 16, 2785-2791.

Nunes, B., Carvalho, F., Guilhermino, L. (2006). Effects of Widely Used Pharmaceuticals and a Detergent on Oxidative Stress Biomarkers of the Crustacean *Artemia Parthenogenetica*. *Chemosphere*, 62, 581-594.

Oakley, A. (2011). Glutathione Transferases: A structural Perspective. *Drug Metabolism Reviews*, 43(2), 138-151.

Oakley, A.J., Lo Bello, M., Battistoni, A., Ricci, G., Rossjohn, J., Villar, H.O., Parker, M.W. (1997). The Structures of Human Glutathione Transferase P1-1 in Complex with Glutathione and Various Inhibitors at High Resolution. *Journal of Molecular Biology*, 274, 84-100.

OECD, (2007). Guidance Document on the Validation of (Quantitative) Structure-Activity Relationships [(Q)SAR] Models. Environment Health and Safety Publications. Series on Testing and Assessment No. 69. Paris, France.

OECD, (2009). The 2007 OECD List of High Production Volume Chemicals. Environment, Health and Safety Publications. Series on Testing and Assessment No. 112. Paris, France.

OECD, (2011). Organisation for Economic Co-operation and Development. Test No. 201: Freshwater alga and cyanobacteria, growth inhibition test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Paris, France.

Ojha, P.K., Mitra, I., Das, R.N., Roy, K. (2011). Further exploring r^2_m metrics for validation of QSPR models, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 107(1), 194-205.

O'Leary, N. A., Wright, M. W., Brister, J. R., Ciufo, S., Haddad, D., McVeigh, R., Rajput, B., Robbertse, B., Smith-White, B., Ako-Adjei, D., Astashyn, A., Badretdin, A., Bao, Y., Blinkova, O., Brover, V., Chetvernin, V., Choi, J., Cox, E., Ermolaeva, O., Farrell, C. M., ... Pruitt, K. D. (2016). Reference sequence (RefSeq) database at NCBI: current status, taxonomic expansion, and functional annotation. *Nucleic Acids Research*, 44(D1), D733–D745. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1189>.

Olkkola, K.T., Ahonen, J. (2008) Midazolam and other benzodiazepines, in: J. Schüttler, H. Schwilden (Eds.) *Handbook of Experimental Pharmacology*, Springer, Berlin, 335-360.

Önlü, S., Saçan, M.T. (2017). An in silico algal toxicity model with a wide applicability potential for industrial chemicals and pharmaceuticals, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 36, 1012-1019.

Ortiz de García, S. A., Pinto Pinto, G., García-Encina, P. A., & Irusta-Mata, R. (2014). Ecotoxicity and environmental risk assessment of pharmaceuticals and personal care products in aquatic environments and wastewater treatment plants. *Ecotoxicology*, 23, 1517-1533.

Pedersen, F., de Bruijn, J., Munn, S., van Leeuwen, K. (2003). Assessment of additional testing needs under REACH—Effects of (Q)SARs, risk based testing and voluntary industry initiatives. JRC Report, <http://home.kpn.nl/reach/downloads/reachtestingneedsfinal.pdf>

Porsbring, T., Blanck, H., Tjellstrom, H., Backhaus, T. (2009). Toxicity of the pharmaceutical clotrimazole to marine microalgal communities. *Aquatic Toxicology*, 91, 203-211.

Reyes M., Collange B., Rault M., Casanelli S., Sauphanor, B. (2011). Combined Detoxification Mechanisms and Target Mutation Fail to Confer a High Level of Resistance to Organophosphates in *Cydia Pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 99, 25-32.

Rickwood, C.J., Galloway, T.S. (2004). Acetylcholinesterase inhibition as a biomarker of adverse effect A study of *Mytilus* ed exposed to the priority pollutant chlorfenvinphos. *Aquatic Toxicology*, 67, 45-56.

Ritika, A., Ritika, G., Nikita, J., Bableen, K., Arunima, M., Minakshi, B., Anu, S., Nitin, A., & Dinesh, K. (2021). In silico prediction, characterization and molecular docking studies on Glutathione-S-transferase as a molecular sieve for toxic agrochemicals explored in survey of North Indian farmers. *Heliyon*, 7(9), e07875.

Rowlett, J.K., Lelas, S., Tornatzky, W., Licata, S.C. (2006). Anti-conflict effects of benzodiazepines in rhesus monkeys: relationship with therapeutic doses in humans and role of GABAA receptors. *Psychopharmacology*, 184, 201-211.

Sabuncu Gürses, G., Erdem, S. S., & Saçan, M. T. (2023). A QSAR study to predict the survival motor neuron promoter activity of candidate diaminoquinazoline derivatives for the potential treatment of spinal muscular atrophy. *SAR and QSAR in Environmental Research*, 34(3), 247-266.

Saçan, M. T., Erdem, S. S., Özpınar, G. A., & Balcıoglu, I. A. (2004). QSPR study on the bioconcentration factors of nonionic organic compounds in fish by characteristic root index and semiempirical molecular descriptors. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 44(3), 985-992

Saçan, M. T., Özkul, M., & Erdem, S. S. (2005). Physico-chemical properties of PCDD/PCDFs and phthalate esters. *SAR and QSAR in Environmental Research*, 16(5), 443-459.

Saçan, M. T., Özkul, M., Erdem, S. S. (2007). QSPR analysis of the toxicity of aromatic compounds to the algae (*Scenedesmus obliquus*). *Chemosphere*, 68(4), 695-702.

Sanderson, H., Thomsen, M. (2009). Comparative analysis of pharmaceuticals versus industrial chemicals acute aquatic toxicity classification according to the United Nations classification system for chemicals. Assessment of the (Q)SAR predictability of pharmaceuticals acute aquatic toxicity and their predominant acute toxic mode-of-action, *Toxicology letters*, 187(2), 84-93.

Schüürmann, G., Ebert, R. U., Chen, J., Wang, B., Kühne, R. (2008). External validation and prediction employing the predictive squared correlation coefficient-test set activity mean vs training set activity mean. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 48, 2140-2145.

Sharma, A.K., Gaur, K., Tiwari, R.K., Gaur, M.S. (2011). Computational interaction analysis of organophosphorus pesticides with different metabolic proteins in humans. *Journal of Biomedical Research*. 25, 335-347.

Shi, L. M., Fang, H., Tong, W., Wu, J., Perkins, R., Blair, R. M., Branham, W. S., Dial, S. L., Moland, C. L., Sheehan, D. M. (2001). QSAR models using a large diverse set of estrogens. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 41, 186-195.

Simulations Plus, Inc, (2016). ADMET Predictor (TM) version 8.0.4.6 (<http://www.simulations-plus.com/>).

Smit, M. G., Bechmann, R. K., Hendriks, A. J., Skadsheim, A., Larsen, B. K., Baussant, T., Bamber, S., Sanni, S. (2009). Relating biomarkers to whole- organism effects using species sensitivity distributions: A pilot study for marine species exposed to oil. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 28(5), 1104-1109.

Sobanska, M.A., Cesnaitis, R., Sobanski, T., Versonnen, B., Bonnomet, V., Tarazona, J.V., De Coen, W. (2014). Analysis of the ecotoxicity data submitted within the

framework of the REACH Regulation. Part 1. General overview and data availability for the first registration deadline. *Science of The Total Environment*, 470-471, 1225-1232.

Sopko, K. (2010). Pharmaceuticals in the Environment: An Overview & Brief Insight into Northeast Ohio. MPHP 429: Introduction to Environmental Health, 8 April, Ohio, USA. https://kipdf.com/pharmaceuticals-in-the-environment-an-overview-brief-insight-into-northeast-ohio_5ace51fa7f8b9af3958b457e.html.

Stewart, J.J.P. (2007). Optimization of Parameters for Semiempirical Methods V: Modification of NDDO Approximations and Application to 70 Elements. *Journal of Molecular Modeling*, 13(12), 1173-1213.

Studer, G., Rempfer, C., Waterhouse, A.M., Gumienny, G., Haas, J., Schwede, T. (2020). QMEANDisCo - distance constraints applied on model quality estimation. *Bioinformatics*, 36, 1765-1771.

Sussman, J. L., Harel, M., Frolow, F., Oefner, C., Goldman, A., Toker, L., Silman, I. (1991). Atomic structure of acetylcholinesterase from *Torpedo californica*: a prototypic acetylcholine-binding protein. *Science*, 253(5022), 872-879.

Tarazona, J.V., Sobanska, M.A., Cesnaitis, R., Sobanski, T., Bonnomet, V., Versonnen, B., De Coen, W. (2014). Analysis of the ecotoxicity data submitted within the framework of the REACH Regulation. Part 2. Experimental aquatic toxicity assays, *Science of The Total Environment*, 472, 137-145.

Taylor, J. L., Mayer, R. T., Himel C. M. (1994). Conformers of acetylcholinesterase: A mechanism of allosteric control *Molecular Pharmacology*, 45, 74.

TC (2017). Çevre ve Şehircilik Bakanlığı, Kimyasalların Kaydı, Değerlendirilmesi, İzni ve Kısıtlanması Hakkında Yönetmelik (KKDİK). Türkiye Cumhuriyeti Resmi Gazete, 23 Haziran 2017, Sayı: 30105 (Mükerrer), 464-855.

Todeschini, R., Consonni, V. (2009). *Molecular Descriptors for Chemoinformatics*. Vol. 41, 2nd edition, Wiley-VCH, Weinheim, Germany.

Trombini, C., Hampel, M., Blasco, J. (2019). Assessing the effect of human pharmaceuticals (carbamazepine, diclofenac and ibuprofen) on the marine clam *Ruditapes philippinarum*: An integrative and multibiomarker approach, *Aquatic Toxicology*, 208, 146-156.

Tropsha A. (2010). Best Practices for QSAR Model Development, Validation, and Exploitation. *Molecular informatics*, 29(6-7), 476-488.

Trott, O., Olson, A.J. (2010). Software News and Update AutoDock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 31, 455-461.

Tugcu, G., Ertürk, M.D., Saçan, M.T. (2017). On the aquatic toxicity of substituted phenols to *Chlorella vulgaris*: QSTR with an extended novel data set and interspecies models, *Journal of Hazardous Materials*, 339, 122-130.

Tugcu, G., Saçan, M.T. (2018). “A multipronged QSAR approach to predict algal low-toxic-effect concentrations of substituted phenols and anilines”, *Journal of Hazardous Materials*, 344, 893-901.

Tugcu, G., Saçan, M.T., Vracko, M., Novic, M., Minovski, N. (2012). “QSTR modelling of the acute toxicity of pharmaceuticals to fish”, *SAR and QSAR in Environmental Research*, 23, 297-310.

US EPA (1996). PCBs: Cancer Dose-Response Assessment and Application to Environmental Mixtures, EPA/600/P-96/001F, Office of Research and Development, National Center for Environmental Assessment, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.

Verdonk, M.L., Cole, J.C., Hartshorn, M.J., Murray, C.W., Taylor, R.D. (2003). Improved protein-ligand docking using GOLD. *Proteins: Structure Function and Bioinformatics*, 52(4), 609-623.

Verlicchi, P., Galletti, A., Petrovic, M., Barceló, D. (2010). Hospital effluents as a source of emerging pollutants: An Overview of Micropollutants and Sustainable Treatment Options. *Journal of Hydrology*, 389(3-4), 416–428.

Veselinović, J.B., Nikolić, G.M., Trutić, N.V., Živković, J.V., Veselinović, A.M. (2015). Monte Carlo QSAR models for predicting organophosphate inhibition of acetylcholinesterase. *SAR and QSAR in Environmental Research*, 26, 449–460.

Waterhouse, A., Bertoni, M., Bienert, S., Studer, G., Tauriello, G., Gumienny, R., Heer, F.T., de Beer, T.A.P., Rempfer, C., Bordoli, L., Lepore, R., Schwede, T. (2018). SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Research*, 46(W1), W296-W303.

Wavefunction, Inc. (2014) Irvine, USA, SPARTAN'14 <http://wavefun.com>

www.qsar.it, QSARINS 2.2.1. (2015).

Yelekçi, K., Erdem, S.S. (2023). Computational Chemistry and Molecular Modeling of Reversible MAO Inhibitors. In: Binda, C. (eds) Monoamine Oxidase. Methods in Molecular Biology, vol 2558. Humana, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2643-6_17

Yılmaz, H.L. (2011). Kolinerjik Etkili Maddelerle Zehirlenmeler, Pediatrik Zehirlenmeler, Editör: Çıtak, A., Yılmaz, H., L, İstanbul Medikal Yayıncılık; 205-215.

Yu, X. (2020). Quantitative structure-toxicity relationships of organic chemicals against *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Aquatic Toxicology*, 224, 105496.

Zhou, X., Wang, X. B., Wang, T., & Kong, L. Y. (2008). Design, synthesis, and acetylcholinesterase inhibitory activity of novel coumarin analogues. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16(17), 8011–8021.

EKLER

EK 1. MLR_[DSA] modelinin veri set ölçümüş pT değerleri, modelden tahmin edilmiş pT değerleri ve tanımlayıcı değerleri ile dış set bileşiklerinin modelden tahmin edilmiş pT değerleri ile tanımlayıcı değerleri tabloları.

Tablo 1. Veri set bileşikleri için MLR_[DSA] modelinin tanımlayıcı değerleri, ölçülmüş ve modelden tahmin edilmiş pT değerleri.

CAS RN	İsim	VE1sign_B(p)	Eig06_EA(bo)	TDB10p	E3e	Gap (E _{LUMO} -E _{HOMO})	EEM_NFon	H_MultiN	NPA_Q4	pT(≤96h mM)	MLR _[DSA] dan tahmin edilmiş pT
<i>Eğitim set</i>											
107-98-2	1-Methoxy-2-propanol	0.355	0.000	0.000	0.381	11.780	0.146	0.000	0.632	-1.708	-1.011
120-78-5	2,2-Dithiobisbenzothiazole	0.000	2.298	0.347	0.460	7.250	0.676	0.000	-0.207	0.702	1.606
696-23-1	2-Methyl-4(5)-nitroimidazole	0.253	-1.705	0.000	0.113	9.320	0.345	0.000	-0.438	-1.387	-0.746
371-40-4	4-Fluoroaniline	-0.036	-1.500	0.000	0.278	8.590	1.322	0.000	-0.912	1.648	1.463
50-78-2	Acetylsalicylic acid	-0.367	-0.059	0.000	0.175	8.950	0.214	0.000	2.327	0.041	0.143
107-02-8	Acroleine	-0.103	0.000	0.000	0.512	9.660	1.273	0.000	-0.197	3.545	2.067
59277-89-3	Acyclovir	-0.294	1.448	0.031	0.277	8.520	0.131	1.000	2.417	0.375	-0.542
5329-14-6	Amidosulfonic acid	-0.908	0.000	0.000	0.422	10.820	-0.056	0.000	0.338	0.140	0.809
50-48-6	Amitriptyline	0.055	2.030	0.113	0.413	8.610	0.808	0.000	-0.048	2.551	1.834
57-43-2	Amobarbital	0.420	0.674	0.000	0.417	10.360	1.335	0.000	2.529	0.423	0.590
62-53-3	Aniline	0.193	-1.899	0.000	0.296	8.900	1.314	0.000	-0.100	0.944	0.797
27589-33-9	Azosemide	0.468	2.122	0.150	0.317	8.160	0.525	0.000	2.663	0.630	0.322
100-52-7	Benzaldehyde	-0.021	-1.500	0.000	0.211	9.340	1.236	0.000	0.097	1.145	0.600
501-53-1	Benzyl-chloroformiate	0.073	-0.709	0.000	0.330	9.170	0.148	0.000	-0.583	1.232	0.371
100-46-9	Benzylamine	0.071	-1.500	0.000	0.327	9.520	1.320	0.000	-0.373	0.688	0.941
58-08-2	Caffeine	-0.237	0.630	0.000	0.209	8.580	0.762	1.000	-0.009	0.349	0.121

CAS RN	İsim	VE1sign_B(p)	Eig06_EA(bo)	TDB10p	E3e	Gap (E _{LUMO} -E _{HOMO})	EEM_NFon	H_MultiN	NPA_Q4	pT(≤96h mM)	MLR _[DSA] dan tahmin edilmiş pT
66-25-1	Capronaldehyde	-0.234	-1.932	0.000	0.329	10.520	1.597	0.000	0.029	0.855	0.825
64544-07-6	Cefuroxime axetil	0.102	2.709	0.219	0.419	8.480	0.174	0.000	1.527	0.629	0.698
367-21-5	Chlorfluoroaniline	-0.078	-1.207	0.000	0.254	8.480	1.035	0.000	-0.541	0.464	1.250
637-07-0	Clofibrate	0.090	0.944	0.082	0.338	8.820	0.175	0.000	-0.407	1.499	0.736
882-09-7	Clofibric acid	0.065	0.158	0.000	0.287	8.930	0.203	0.000	-2.058	0.382	1.042
1622-61-3	Clonazepam	0.285	2.024	0.008	0.386	8.270	0.306	1.000	-0.409	-0.501	0.356
5251-34-3	Cloprednol	0.128	2.366	0.077	0.429	8.830	0.306	0.000	-1.492	1.103	1.843
439-14-5	Diazepam	0.046	1.887	0.010	0.434	8.290	0.624	1.000	-0.604	1.351	1.023
111-42-2	Diethanolamine	-0.155	-1.802	0.000	0.364	11.590	0.339	0.000	-0.360	-0.881	-0.666
46755-94-6	Diphenylpropanediol	-0.028	1.500	0.002	0.473	9.610	0.335	0.000	-0.265	0.853	1.576
1141-88-4	Dithiodianiline	0.000	1.936	0.041	0.458	7.300	1.258	0.000	-0.623	3.671	3.468
112-54-9	Dodecanal	-0.216	0.261	0.164	0.385	10.520	1.662	0.000	0.002	1.851	1.064
106-89-8	Epichlorohydrine	0.162	0.000	0.000	0.409	10.960	0.265	0.000	0.175	0.482	-0.131
91-53-2	Ethoxyquin	-0.184	1.171	0.091	0.333	7.460	0.202	0.000	2.263	1.082	1.130
74-96-4	Ethyl bromide	0.211	0.000	0.000	0.457	10.450	0.000	0.000	0.000	-0.237	-0.005
104227-87-4	Famciclovir	0.138	2.332	0.175	0.380	8.380	0.187	1.000	-1.076	-0.487	-0.170
76824-35-6	Famotidine	-0.801	1.447	0.232	0.280	7.960	0.163	0.000	5.798	-0.304	0.055
98319-26-7	Finasteride	-0.078	2.276	0.151	0.422	9.650	1.416	0.000	3.472	1.270	1.220
79660-72-3	Fleroxacin	-0.057	2.150	0.157	0.284	7.590	0.361	0.000	1.208	0.643	1.206
78755-81-4	Flumazenil	0.006	1.880	0.110	0.353	8.540	0.176	1.000	0.415	-0.217	-0.381
111-30-8	Glutaraldehyde	-0.299	-2.000	0.000	0.479	10.460	1.429	0.000	0.888	0.951	1.006
108-31-6	Maleic anhydride	0.529	-2.000	0.000	0.543	9.650	0.200	0.000	0.029	-0.185	-0.256
2898-12-6	Medazepam	0.092	1.809	0.010	0.279	7.870	0.651	0.000	-0.097	2.319	1.999
59-05-2	Methotrexate	-0.184	2.811	0.183	0.452	7.360	0.317	1.000	-0.101	0.728	0.906
59467-70-8	Midazolam	0.096	2.287	0.036	0.383	7.970	0.633	0.000	0.678	1.879	2.123

CAS RN	İsim	VE1sign_B(p)	Eig06_EA(bo)	TDB10p	E3e	Gap (E _{LUMO} -E _{HOMO})	EEM_NFon	H_MultiN	NPA_Q4	pT(≤96h mM)	MLR _[DSA] dan tahmin edilmiş pT
2211-28-1	Monobenzoate	-0.063	2.091	0.125	0.239	7.780	0.225	0.000	-0.315	2.331	1.324
110-91-8	Morpholine	-0.026	-2.000	0.000	0.375	11.060	0.176	0.000	0.160	-0.315	-0.859
22204-53-1	Naproxen	0.022	1.137	0.102	0.224	8.100	0.165	0.000	-1.414	-0.386	0.992
54-11-5	Nicotine	0.060	0.865	0.000	0.462	8.530	0.817	0.000	0.164	1.608	2.079
67-20-9	Nitrofurantoin	-0.231	1.551	0.032	0.085	8.030	0.228	0.000	-0.085	1.377	1.119
59-87-0	Nitrofurazone	0.225	0.989	0.037	0.337	8.100	0.220	0.000	0.164	1.297	1.058
55-63-0	Nitroglycerin	-0.067	0.335	0.000	0.359	10.150	0.226	0.000	-1.290	1.879	0.750
57849-23-7	Octabase H	-0.044	1.500	0.111	0.434	8.820	0.185	0.000	-0.956	2.049	1.363
103-90-2	Paracetamol	-0.108	-0.736	0.000	0.086	8.480	0.332	0.000	-0.097	-0.398	0.212
61869-08-7	Paroxetine	0.132	2.024	0.180	0.438	8.220	0.199	0.000	-1.050	2.217	1.363
76-74-4	Pentobarbital	0.454	0.840	0.000	0.413	10.350	1.333	0.000	5.356	0.660	-0.017
50-06-6	Phenobarbital	0.396	1.500	0.000	0.500	9.290	1.166	0.000	4.013	-0.319	1.175
3282-30-2	Pivaloyl chloride	-0.068	-1.860	0.000	0.395	10.670	1.228	0.000	-0.013	-0.396	0.471
123-38-6	Propionaldehyde	-0.177	0.000	0.000	0.342	10.520	1.490	0.000	-0.267	0.618	1.453
51-52-5	Propylthiouracil	0.469	-0.476	0.000	0.320	8.290	1.145	0.000	2.327	0.194	0.673
69-72-7	Salicylic acid	-0.308	-1.136	0.000	0.454	8.640	0.309	0.000	1.614	0.572	0.916
57-85-2	Testosterone propionate	0.046	2.122	0.123	0.419	9.780	0.255	0.000	-5.083	1.236	1.903
60-54-8	Tetracycline	-0.191	2.830	0.139	0.331	7.840	0.343	1.000	2.362	0.305	0.024
119-64-2	Tetralin	0.000	-0.728	0.000	0.207	9.510	0.000	0.000	-0.386	0.799	-0.259
58-55-9	Theophylline	-0.180	0.615	0.000	0.156	8.580	0.715	1.000	-1.564	-0.373	0.193
134308-13-7	Tolcapone milled	0.234	1.962	0.098	0.419	8.160	0.325	0.000	-0.728	2.261	1.622
10161-34-9	Trenbolone acetate	0.122	2.213	0.095	0.441	8.340	0.233	0.000	-2.040	2.319	2.031
935-92-2	Trimethylquinone	0.097	-0.741	0.000	0.254	8.590	1.357	0.000	-0.072	2.177	1.364

CAS RN	İsim	VE1sign_B(p)	Eig06_EA(bo)	TDB10p	E3e	Gap (E _{LUMO} -E _{HOMO})	EEM_NFon	H_MultiN	NPA_Q4	pT(≤96h mM)	MLR _[DSA] dan tahmin edilmiş pT
<i>Test set</i>											
39263-32-6	2-Amino-5-bromobenzonitrile	0.060	-1.074	0.000	0.215	8.230	0.489	0.000	0.073	0.789	0.865
100-66-3	Anisol	0.118	-1.500	0.000	0.113	9.120	0.172	0.000	-0.399	-0.045	-0.488
65-85-0	Benzoic acid	0.187	-1.427	0.000	0.387	9.410	0.317	0.000	-0.002	-0.169	-0.343
98-88-4	Benzoyl-chloride	-0.122	-1.427	0.000	0.309	9.220	0.990	0.000	0.109	1.273	0.733
154361-50-9	Capecitabine	-0.229	1.792	0.191	0.399	8.710	0.195	1.000	-0.092	-0.384	0.315
57-63-6	Ethinylestradiol	-0.142	2.099	0.059	0.252	8.960	0.380	0.000	-2.924	2.268	1.423
1622-62-4	Flunitrazepam	0.265	2.038	0.013	0.364	8.170	0.356	1.000	-1.089	0.572	0.401
121-69-7	N,N'-dimethylaniline	-0.013	-1.000	0.000	0.187	8.450	0.885	0.000	-0.446	0.565	0.733
91-66-7	N,N-diethylaniline	0.098	-0.215	0.000	0.430	8.510	0.997	0.000	0.148	1.386	1.394
149-73-5	Orthoformic acid trimethylester	-0.135	-1.618	0.000	0.356	11.750	0.144	0.000	-1.976	-0.600	-0.541
110-89-4	Piperidine	-0.045	-2.000	0.000	0.361	12.170	1.357	0.000	-0.002	0.267	0.372
58-14-0	Pyrimethamine	-0.298	1.500	0.023	0.307	8.820	0.642	0.000	3.051	1.625	0.869
106266-06-2	Risperidone	-0.271	2.532	0.197	0.346	7.840	0.437	0.000	1.113	1.835	0.854
76-75-5	Thiopental	-0.387	0.838	0.008	0.458	9.050	0.844	0.000	4.631	0.966	1.858
3380-34-5	Triclosan	-0.143	1.903	0.059	0.473	8.240	0.157	0.000	-1.004	3.047	2.005

* işaretli bileşikler rasemik karışım olduğundan, TDB10p ve E3e tanımlayıcılarının her 2 enantiyomeri için ayrı hesaplanmış ve aritmetik ortalaması alınmıştır.

Tablo 2. Dış set bileşikleri için CAS RN, isim, sınıf, $MLR_{[DSA]}$ modelinin tanımlayıcı değerleri ile modelden tahmin edilen pT değerleri.

	İsim	VE1sign_B(p)	Eig06_EA(bo)	TDB10p	E3e	Gap ($E_{LUMO}-E_{HOMO}$)	EEM_NFon	H_MultiN	NPA_Q4	$MLR_{[DSA]}$ modelinden tahmin edilmiş pT
Antibiyotikler										
98079-62-0	Lomefloxacin (S)	-0.060	2.122	0.152	0.278	7.590	0.355	0.000	1.401	1.157
98079-55-1	Lomefloxacin (R)	-0.060	2.122	0.145	0.283	7.590	0.355	0.000	1.401	1.204
69-53-4	Ampicilin	-0.121	2.046	0.234	0.442	9.160	0.332	0.000	-2.518	1.416
443-48-1	Metronidazole	-0.281	-0.217	0.000	0.296	8.950	0.312	0.000	-1.083	1.188
70458-96-7	Norfloxacin	-0.094	1.954	0.111	0.263	7.830	0.349	0.000	1.314	1.179
26787-78-0	Amoxicillin	-0.083	2.483	0.196	0.413	8.940	0.329	0.000	-2.977	1.816
68-35-9	Sulfadiazine	0.550	1.500	0.097	0.290	8.830	0.396	0.000	3.262	-0.384
15686-71-2	Cefalexin	0.123	2.045	0.212	0.358	8.760	0.319	0.000	-2.203	1.106
55268-75-2	Cefuroxime	-0.079	2.324	0.187	0.306	8.330	0.166	0.000	-2.049	1.410
85721-33-1	Ciprofloxacin	-0.106	2.245	0.117	0.230	7.880	0.346	0.000	1.882	1.019
564-25-0	Doxycycline	-0.226	2.786	0.136	0.463	8.290	0.325	1.000	3.082	0.071
6990-06-3	Fusidic acid	-0.113	2.697	0.196	0.480	9.300	0.233	0.000	-0.974	1.433
100986-85-4	Levofloxacin	0.026	2.354	0.136	0.311	7.520	0.217	0.000	1.780	1.142
303-81-1	Novobiocin	0.160	2.876	0.207	0.350	7.930	0.150	0.000	-3.074	1.781
79-57-2	Oxytetracycline	-0.125	2.874	0.131	0.427	8.390	0.322	1.000	2.198	0.052
87-08-1	Phenoxymethylpenicillinic Acid	0.111	2.081	0.181	0.452	8.930	0.188	0.000	-2.694	1.463
80-32-0	Sulfachlorpyridazine	0.438	1.500	0.103	0.398	8.440	0.359	0.000	1.481	0.569
526-08-9	Sulfaphenazole	-0.475	2.090	0.161	0.437	8.450	0.432	0.000	2.681	1.420
738-70-5	Trimethoprim	0.065	1.952	0.129	0.322	8.810	0.160	0.000	1.638	0.402
723-46-6	Sulfamethoxazole	0.548	1.500	0.111	0.302	8.610	0.325	0.000	3.810	-0.492
Antikoagulan (Kan sulandırıcı)										
5543-58-8	Warfarin (R)	-0.272	2.192	0.097	0.482	8.450	0.238	0.000	2.034	1.627

	İsim	VE1sign_B(p)	Eig06_EA(bo)	TDB10p	E3e	Gap (E _{LUMO} - E _{HOMO})	EEM_NFon	H_MultiN	NPA_Q4	MLR _[DSA] modelinden tahmin edilmiş pT
5543-57-7	Warfarin (S)	-0.272	2.192	0.098	0.420	8.540	0.238	0.000	2.034	1.396
Antidepresan										
100568-03-4	Fluoxetine (S)	0.403	1.661	0.106	0.388	8.700	0.232	0.000	0.703	0.554
	Fluoxetine (R)	0.403	1.661	0.119	0.414	8.920	0.232	0.000	0.703	0.470
50-47-5	Desipramine	-0.001	1.839	0.048	0.447	8.040	1.062	0.000	-0.268	2.770
50-49-7	Imipramine	-0.008	2.030	0.110	0.364	8.130	0.823	0.000	-0.030	2.003
Antidisritmik										
137-58-6	Lidocaine	0.012	0.618	0.118	0.311	9.140	0.895	1.000	-2.786	0.078
56-54-2	Quinidine	0.015	2.114	0.142	0.381	8.110	0.179	0.000	-1.569	1.672
Anti-epileptik										
298-46-4	Carbamazepine	-0.205	2.030	0.000	0.521	8.150	0.951	0.000	0.244	3.236
84057-84-1	Lamotrigine	-0.219	1.791	0.011	0.482	8.460	0.504	0.000	1.492	2.177
57-41-0	Phenytoin	0.087	1.908	0.003	0.552	9.530	1.131	0.000	0.553	2.409
Anti-fungal										
2022-85-7	5-fluorocytosine	-0.230	-1.349	0.000	0.174	8.960	0.634	0.000	0.433	0.326
23593-75-1	Clotrimazole	-0.016	2.026	0.005	0.346	8.800	0.649	0.000	0.614	1.827
91161-71-6	Terbinafine	-0.094	2.120	0.185	0.408	8.160	0.824	0.000	2.203	1.416
Antihipertansif										
525-66-6*	Propranolol (R)	0.080	1.902	0.138	0.458	7.990	0.207	0.000	-0.591	1.643
	Propranolol (S)	0.080	1.902	0.152	0.425	8.190	0.207	0.000	-0.591	1.387
4205-90-7	Clonidine	-0.033	0.669	0.000	0.375	7.980	0.526	0.000	-0.452	1.976
42200-33-9	Nadolol	0.092	2.031	0.174	0.351	9.010	0.217	0.000	-1.954	1.024
19216-56-9	Prazosin	-0.187	2.734	0.243	0.303	7.770	0.165	0.000	0.914	1.019
103573-38-2	Nisoldipine (S)	0.131	2.261	0.135	0.275	8.140	0.162	0.000	4.760	-0.098
103573-36-0	Nisoldipine (R)	-0.131	2.261	0.135	0.275	8.140	0.162	0.000	4.760	0.186
Anti-enflamatuar										

	İsim	VE1sign_B(p)	Eig06_EA(bo)	TDB10p	E3e	Gap (E _{LUMO} - E _{HOMO})	EEM_NFon	H_MultiN	NPA_Q4	MLR _[DSA] modelinden tahmin edilmiş pT
51146-57-7	Ibuprofen (R)	0.087	0.852	0.086	0.466	9.470	0.382	0.000	0.220	0.819
51146-56-6	Ibuprofen (S)	0.087	0.852	0.086	0.466	9.470	0.382	0.000	0.220	0.819
15307-86-5	Diclofenac	0.137	1.990	0.024	0.440	7.940	0.256	0.000	-1.655	2.379
53-03-2	Prednisone	-0.123	2.296	0.075	0.398	9.360	0.336	0.000	-1.632	1.820
53-86-1	Indomethacin	-0.126	2.530	0.146	0.295	7.620	0.145	0.000	-2.113	2.014
83-43-2	Methylprednisolone	-0.112	2.331	0.073	0.434	9.380	0.344	0.000	-1.230	1.847
50-33-9	Phenylbutazone	0.000	1.930	0.167	0.412	8.130	1.156	0.000	0.247	2.084
50-24-8	Prednisolone	0.055	2.278	0.070	0.439	9.400	0.341	0.000	-1.315	1.683
Antianksiyete ajanı										
1812-30-2	Bromazepam	0.032	1.877	0.003	0.390	8.390	0.608	0.000	0.374	2.068
58-25-3	Chlordiazopoxide	0.153	1.922	0.040	0.403	7.870	0.681	0.000	0.364	2.132
Antipsikotik										
50-53-3	Chlorpromazine	-0.066	2.052	0.119	0.297	7.360	0.711	0.000	0.528	1.967
548-73-2	Droperidol	-0.135	2.318	0.178	0.333	8.000	0.848	0.000	0.674	1.769
58-40-2	Promazine	0.000	1.966	0.101	0.302	7.420	0.790	0.000	0.413	2.031
146-54-3	Triflupromazine	0.175	2.130	0.117	0.312	7.180	0.804	0.000	-0.211	2.116
Anti-Glokom										
22664-55-7	Metipranolol (R)	0.010	2.077	0.178	0.391	8.770	0.217	0.000	-2.023	1.357
	Metipranolol (S)	0.010	2.077	0.183	0.348	8.480	0.217	0.000	-2.023	1.341
26839-75-8	Timolol	-0.072	1.600	0.196	0.425	7.800	0.169	0.000	-0.236	1.313
Anti-viral										
3056-17-5	Stavudine	-0.280	1.066	0.010	0.308	9.140	0.203	0.000	-0.719	1.365
30516-87-1	Zidovudine	-0.296	1.636	0.026	0.412	9.050	0.214	0.000	0.463	1.615
Otonomik ajanlar										
918121-83-2	Metaxalone (S)	0.336	0.825	0.028	0.352	9.420	0.199	0.000	1.769	-0.017
	Metaxalone (R)	0.336	0.825	0.043	0.351	9.330	0.199	0.000	1.769	-0.047

	İsim	VE1sign_B(p)	Eig06_EA(bo)	TDB10p	E3e	Gap (E _{LUMO} - E _{HOMO})	EEM_NFon	H_MultiN	NPA_Q4	MLR _[DSA] modelinden tahmin edilmiş pT
Kanser kemoterapi										
51-21-8	Fluorouracil	0.252	-1.338	0.000	0.374	9.200	0.995	0.000	0.143	0.682
33419-42-0	Etoposide	0.045	2.946	0.206	0.417	7.720	0.177	0.000	-4.402	2.548
Kortikosteroid										
51372-28-2	Budesonide (S)	-0.076	2.385	0.141	0.505	9.410	0.216	0.000	1.309	1.042
51372-29-3	Budesonide (R)	-0.076	2.385	0.130	0.449	9.400	0.216	0.000	1.309	0.930
2135-17-3	Flumetasone	-0.026	2.397	0.080	0.461	9.330	0.345	0.000	-0.542	1.700
Diuretik										
28395-03-1	Bumetanide	-0.408	2.063	0.147	0.307	7.600	0.225	0.000	0.077	1.789
54-31-9	Furosemide	0.535	1.738	0.110	0.399	8.540	0.178	0.000	3.852	-0.210
58-93-5	Hydrochlorothiazide	-0.667	1.297	0.000	0.299	8.840	0.291	0.000	8.848	0.016
Fungisid-endüstriyel										
67306-00-7*	Fenpropidin (R)	-0.257	1.500	0.177	0.474	9.090	1.035	0.000	0.511	1.736
	Fenpropidin (S)	-0.257	1.500	0.186	0.408	9.100	1.035	0.000	0.511	1.494
Hormon										
50-28-2	Estradiol	-0.132	1.702	0.035	0.334	8.960	0.386	0.000	-2.593	2.053
50-23-7	Hydrocortisone	-0.093	2.231	0.073	0.439	9.610	0.350	0.000	-1.402	1.742
57-83-0	Progesterone	-0.038	2.118	0.062	0.401	9.780	1.593	0.000	-1.077	2.559
Hipoglisemik										
94-20-2	Chlorpropamide	0.588	1.422	0.176	0.396	9.210	0.399	0.000	3.000	-0.615
10238-21-8	Glibenclamide	0.591	2.550	0.202	0.367	8.360	0.153	0.000	5.406	-0.778
1156-19-0	Tolazamide	0.605	1.584	0.221	0.388	8.830	0.487	0.000	2.353	-0.408
64-77-7	Tolbutamide	0.594	1.500	0.160	0.423	9.520	0.473	0.000	3.625	-0.653
Endüstriyel										
64-19-7	Acetic acid glycial	-0.582	0.000	0.000	0.200	11.930	0.338	0.000	0.282	-0.353
108-24-7	Acetic anhydride	0.628	-2.000	0.000	0.258	11.150	0.218	0.000	2.571	-2.448

	İsim	VE1sign_B(p)	Eig06_EA(bo)	TDB10p	E3e	Gap (E _{LUMO} - E _{HOMO})	EEM_NFon	H_MultiN	NPA_Q4	MLR _[DSA] modelinden tahmin edilmiş pT
156-87-6	Aminopropanol	0.285	0.000	0.000	0.485	12.100	0.329	0.000	0.501	-0.579
79-11-8	Chloroacetic acid	-0.464	0.000	0.000	0.186	11.120	0.230	0.000	0.166	-0.219
79-04-9	Chloroacetyl chloride	0.396	0.000	0.000	0.207	10.610	0.638	0.000	0.000	-0.446
75-21-8	Ethylene oxide	0.139	0.000	0.000	0.317	12.190	0.352	0.000	0.000	-0.833
3782-00-1	2,3-dimethylbenzofuran	0.119	-0.290	0.000	0.173	8.610	0.271	0.000	-0.610	0.379
4265-25-2	2-Methylbenzofuran	0.087	-0.715	0.000	0.100	8.750	0.260	0.000	0.339	-0.237
56-57-5	4-Nitroquinoline oxide	0.197	1.309	0.000	0.218	7.580	0.798	0.000	0.110	1.796
91-62-3	6-Methylquinoline	0.053	-0.312	0.000	0.089	8.500	0.750	0.000	-0.389	0.631
260-94-6	Acridine	-0.033	1.870	0.000	0.000	7.630	0.741	0.000	-0.385	1.626
271-89-6	Benzofuran	-0.047	-1.250	0.000	0.000	8.870	0.228	0.000	-0.264	-0.532
95-15-8	Benzothiophene	-0.028	-1.250	0.000	0.000	8.220	0.000	0.000	-0.152	-0.483
86-74-8	Carbazole	0.000	1.500	0.000	0.000	8.070	1.180	0.000	-0.263	1.627
1091-85-6	Dansylglycine	0.207	2.024	0.099	0.395	7.570	0.305	0.000	-4.118	2.593
132-64-9	Dibenzofuran	0.000	1.500	0.000	0.000	8.430	0.246	0.000	-0.022	0.559
132-65-0	Dibenzothiophene	0.000	1.500	0.000	0.000	7.880	0.000	0.000	0.159	0.551
120-72-9	Indole	-0.029	-1.250	0.000	0.000	8.600	1.155	0.000	-0.315	0.427
91-22-5	Quinoline	-0.030	-0.927	0.000	0.000	8.670	0.721	0.000	-0.250	0.102
87-87-6	Tetrachlorohydroquinone	0.000	0.000	0.000	0.000	7.860	0.161	0.000	-0.720	0.367
92-83-1	Xanthene	-0.048	1.792	0.000	0.076	8.570	0.254	0.000	-0.707	1.033
105-37-3	Ethyl propionate	-0.368	-1.858	0.000	0.465	11.610	0.211	0.000	0.042	-0.367
Lokal anestetik										
59-46-1	Procaine	-0.232	1.098	0.201	0.331	8.230	0.193	0.000	-0.432	0.870
94-24-6	Tetracaine	-0.208	1.500	0.144	0.431	8.320	0.202	0.000	1.151	1.166
Sedatif ve hipnotik										
302-17-0	Chloral hydrate	-0.036	-1.602	0.000	0.296	10.470	0.157	0.000	0.186	-0.692
22328-94-5	Secobarbital (R)	-0.421	1.078	0.000	0.451	10.100	1.304	0.000	3.183	1.697

	İsim	VE1sign_B(p)	Eig06_EA(bo)	TDB10p	E3e	Gap (E _{LUMO} - E _{HOMO})	EEM_NFon	H_MultiN	NPA_Q4	MLR _[DSA] modelinden tahmin edilmiş pT
20224-45-7	Secobarbital (S)	0.421	1.078	0.000	0.451	10.100	1.304	0.000	3.183	0.783
Metabolit										
486-56-6	Cotinine (nicotine metabolite)	-0.023	1.141	0.000	0.446	9.050	0.770	0.000	-1.348	2.265
490-79-9	Gentisic acid (salicylic acid metabolite)	-0.149	-0.921	0.000	0.114	7.900	0.303	0.000	-0.679	0.645
Diğer										
60-80-0	Antipyrine ^a	-0.224	1.470	0.000	0.295	8.260	1.028	0.000	0.744	2.293
87848-99-5	Acrivastine ^b	-0.060	2.450	0.237	0.361	7.660	0.352	0.000	-0.911	1.602
657-24-9	Metformin ^c	0.369	-1.398	0.000	0.357	10.190	0.762	0.000	1.207	-0.420
51481-61-9	Cimetidine ^d	0.280	1.510	0.150	0.388	8.840	0.660	0.000	-1.024	1.134
41859-67-0	Bezafibrate ^e	0.036	1.933	0.155	0.499	8.450	0.212	0.000	-1.826	1.806
130-95-0	Quinine ^f	0.015	2.114	0.137	0.400	8.060	0.179	0.000	-1.569	1.775
51-34-3	Scopolamine ^g	0.297	2.000	0.138	0.483	8.760	0.227	0.000	1.806	0.653
16110-51-3	Cromolyn ^h	0.258	2.639	0.273	0.338	8.080	0.180	0.000	-1.735	0.918
73-22-3	L-tryptophan ⁱ	-0.052	1.270	0.003	0.273	8.480	0.319	0.000	-2.113	1.834
599-79-1	Sulfasalazine ^j	0.434	2.484	0.233	0.464	7.790	0.289	0.000	2.513	0.537
103628-46-2	Sumatriptan ^k	0.262	1.811	0.146	0.435	8.190	0.389	0.000	-0.728	1.410
4759-48-2	Isotretinoin ^l	0.419	1.756	0.211	0.308	7.970	0.378	0.000	2.758	-0.126
13311-84-7	Flutamide ^m	-0.142	1.606	0.045	0.221	8.270	0.378	1.000	-3.220	0.690

Diğer sınıfı: a: Analjezik/antipiretik, b: Antihistaminik, c: Antidiyabetik, d: Antiülser, e: Antilipidemik ajan, f: Anti-malaryal (sıtma), g: antiemetik, h: Antiastım ajan, i: amino asit, j: Antiromatoid, k: Antimigren, l: Anti-akne, m: Antineoplastik ajan *: Rasemik karışım CAS numarası

EK 2. MLR_[A] modelinin veri set ölçümüş pT değerleri, modelden tahmin edilmiş pT değerleri ve tanımlayıcı değerleri ile dış set bileşiklerinin modelden tahmin edilmiş pT değerleri ile tanımlayıcı değerleri tabloları.

Tablo 1. Veri seti bileşikleri için CAS RN, isim, MLR_[A] modelinin tanımlayıcı değerleri, deneysel ölçülmüş ve modelden tahmin edilmiş pT değerleri.

Cas RN	İsim	F_DbleB	FCation	H_Phenol	MlogP	MUT_Risk	PriAmine_-NH2	S+MDCK	SaaO	Deneysel Ölçülmüş pT(≤96h mM)	MLR _[A] den tahmin edilmiş pT
<i>Eğitim set</i>											
107-98-2	1-Methoxy-2-propanol	0.000	0.000	0.000	-0.081	1.000	0.000	1444.727	0.000	-1.708	-0.758
120-78-5	2,2-Dithiobisbenzothiazole	0.000	0.000	0.000	1.815	2.000	0.000	973.818	0.000	0.702	0.541
39263-32-6	2-Amino-5-bromobenzonitrile	0.000	0.000	0.000	1.918	0.000	1.000	732.646	0.000	0.789	0.822
696-23-1	2-Methyl-4(5)-nitroimidazole	0.000	0.094	0.000	-0.453	1.000	0.000	71.397	0.000	-1.387	-1.330
371-40-4	4-Fluoroaniline	0.000	0.000	0.000	1.953	0.000	1.000	1415.642	0.000	1.648	1.048
50-78-2	Acetylsalicylic acid	0.154	0.000	0.000	1.400	0.000	0.000	489.196	0.000	0.041	0.456
107-02-8	Acroleine	0.667	0.000	0.000	0.094	0.000	0.000	1346.360	0.000	3.545	2.867
59277-89-3	Acyclovir	0.059	0.000	0.000	-0.940	1.000	1.000	66.501	0.000	0.375	-0.495
5329-14-6	Amidosulfonic acid	0.500	0.000	0.000	-2.805	0.000	0.000	11.819	0.000	0.14	-0.258
50-48-6	Amitriptyline	0.043	0.972	0.000	4.369	1.000	0.000	1122.384	0.000	2.551	2.797
62-53-3	Aniline	0.000	0.001	0.000	1.506	0.000	1.000	1513.406	0.000	0.944	0.806
27589-33-9	Azosemide	0.080	0.000	0.000	2.077	1.000	0.000	5.235	0.000	0.63	0.585
100-52-7	Benzaldehyde	0.125	0.000	0.000	1.769	0.000	0.000	1495.488	0.000	1.145	0.817
65-85-0	Benzoic acid	0.111	0.000	0.000	1.294	0.000	0.000	126.919	0.000	-0.169	0.037
501-53-1	Benzyl-chloroformiate	0.091	0.000	0.000	1.677	0.000	0.000	811.833	0.000	1.232	0.360
100-46-9	Benzylamine	0.000	0.986	0.000	1.591	0.000	1.000	502.116	0.000	0.688	1.254

Cas RN	İsim	F_DbleB	FCation	H_Phenol	MlogP	MUT_Risk	PriAmine_-NH2	S+MDCK	SaaO	Deneysel Ölçülmüş pT(≤96h mM)	MLR _[A] den tahmin edilmiş pT
154361-50-9	Capecitabine	0.077	0.000	0.000	1.188	0.000	0.000	25.465	0.000	-0.384	-0.255
66-25-1	Capronaldehyde	0.167	0.000	0.000	1.442	0.000	0.000	1503.493	0.000	0.855	0.860
64544-07-6	Cefuroxime axetil	0.189	0.000	0.000	-0.091	0.000	0.000	245.579	5.181	0.629	0.606
367-21-5	Chlorfluoroaniline	0.000	0.000	0.000	2.564	0.000	1.000	1314.860	0.000	0.464	1.390
637-07-0	Clofibrate	0.063	0.000	0.000	2.525	0.000	0.000	1670.195	0.000	1.499	0.970
882-09-7	Clofibric acid	0.071	0.000	0.000	1.972	0.000	0.000	185.813	0.000	0.382	0.240
1622-61-3	Clonazepam	0.083	0.000	0.000	2.369	0.000	0.000	110.919	0.000	-0.501	0.527
5251-34-3	Cloprednol	0.167	0.000	0.000	1.661	1.000	0.000	167.007	0.000	1.103	0.878
111-42-2	Diethanolamine	0.000	0.991	0.000	-0.917	2.000	0.000	253.785	0.000	-0.881	-0.634
46755-94-6	Diphenylpropanediol	0.000	0.000	0.000	2.770	1.000	0.000	671.899	0.000	0.853	0.747
1141-88-4	Dithiodianiline	0.000	0.000	0.000	2.514	1.000	2.000	994.902	0.000	3.671	2.411
112-54-9	Dodecanal	0.083	0.000	0.000	3.322	0.000	0.000	1740.228	0.000	1.851	1.597
106-89-8	Epichlorohydrine	0.000	0.000	0.000	0.408	3.000	0.000	1142.889	0.000	0.482	0.021
57-63-6	Ethinylestradiol	0.000	0.000	1.000	4.004	0.000	0.000	452.013	0.000	2.268	1.978
74-96-4	Ethyl bromide	0.000	0.000	0.000	1.597	2.000	0.000	2263.996	0.000	-0.237	0.796
104227-87-4	Famciclovir	0.083	0.000	0.000	-0.298	0.000	1.000	112.529	0.000	-0.487	-0.235
76824-35-6	Famotidine	0.200	0.161	0.000	-0.218	1.000	1.000	10.806	0.000	-0.304	0.855
98319-26-7	Finasteride	0.100	0.000	0.000	3.652	0.000	0.000	719.229	0.000	1.27	1.587
79660-72-3	Fleroxacin	0.071	0.012	0.000	0.823	1.000	0.000	35.730	0.000	0.643	-0.211
78755-81-4	Flumazenil	0.083	0.000	0.000	1.510	1.000	0.000	761.866	0.000	-0.217	0.486
1622-62-4	Flunitrazepam	0.080	0.000	0.000	2.491	0.000	0.000	204.268	0.000	0.572	0.611
111-30-8	Glutaraldehyde	0.333	0.000	0.000	0.076	1.000	0.000	868.711	0.000	0.951	1.082
108-31-6	Maleic anhydride	0.429	0.000	0.000	-0.846	1.000	0.000	366.667	0.000	-0.185	0.917
2898-12-6	Medazepam	0.048	0.052	0.000	3.863	0.000	0.000	1858.897	0.000	2.319	1.794
59-05-2	Methotrexate	0.086	0.000	0.000	-0.313	1.000	2.000	9.135	0.000	0.728	0.886

Cas RN	İsim	F_DbleB	FCation	H_Phenol	MlogP	MUT_Risk	PriAmine_-NH2	S+MDCK	SaaO	Deneysel Ölçülmüş pT(≤96h mM)	MLR _[A] den tahmin edilmiş pT
59467-70-8	Midazolam	0.038	0.001	0.000	3.864	1.000	0.000	1225.324	0.000	1.879	1.801
2211-28-1	Monobenzoate	0.043	0.000	1.000	3.641	1.000	0.000	1306.600	0.000	2.331	2.549
91-66-7	N,N-diethylaniline	0.000	0.147	0.000	2.813	0.000	0.000	2531.076	0.000	1.386	1.150
22204-53-1	Naproxen	0.056	0.000	0.000	2.352	0.000	0.000	156.703	0.000	-0.386	0.371
54-11-5	Nicotine	0.000	0.935	0.000	1.272	0.000	0.000	641.605	0.000	1.608	0.204
67-20-9	Nitrofurantoin	0.167	0.000	0.000	0.028	2.000	0.000	10.132	4.900	1.377	0.999
59-87-0	Nitrofurazone	0.143	0.000	0.000	0.271	2.000	0.000	42.747	4.811	1.297	1.004
55-63-0	Nitroglycerin	0.214	0.000	0.000	0.575	3.000	0.000	1550.536	0.000	1.879	1.478
57849-23-7	Octabase H	0.048	0.970	0.000	3.307	1.000	0.000	579.958	0.000	2.049	2.010
149-73-5	Orthoformic acid trimethylester	0.000	0.000	0.000	0.301	0.000	0.000	2251.387	0.000	-0.600	-0.569
50-06-6	Phenobarbital	0.167	0.000	0.000	1.185	0.000	0.000	43.066	0.000	-0.319	0.265
110-89-4	Piperidine	0.000	0.999	0.000	0.817	0.000	0.000	566.778	0.000	0.267	-0.050
3282-30-2	Pivaloyl chloride	0.167	0.000	0.000	1.442	1.000	0.000	1390.214	0.000	-0.396	1.112
123-38-6	Propionaldehyde	0.333	0.000	0.000	0.202	0.000	0.000	1392.740	0.000	0.618	1.030
58-14-0	Pyrimethamine	0.000	0.129	0.000	2.642	0.000	2.000	222.792	0.000	1.625	2.063
106266-06-2	Risperidone	0.029	0.709	0.000	3.054	1.000	0.000	402.454	5.339	1.835	2.468
69-72-7	Salicylic acid	0.100	0.000	1.000	1.237	0.000	0.000	242.559	0.000	0.572	0.805
57-85-2	Testosterone propionate	0.107	0.000	0.000	3.839	0.000	0.000	1178.363	0.000	1.236	1.880
60-54-8	Tetracycline	0.143	0.000	1.000	-0.875	2.000	0.000	8.895	0.000	0.305	0.266
119-64-2	Tetralin	0.000	0.000	0.000	3.170	0.000	0.000	1778.170	0.000	0.799	1.037
58-55-9	Theophylline	0.143	0.000	0.000	-0.251	0.000	0.000	581.624	0.000	-0.373	-0.585
76-75-5	Thiopental	0.188	0.000	0.000	1.138	0.000	0.000	129.838	0.000	0.966	0.383
134308-13-7	Tolcapone milled	0.048	0.000	0.000	2.438	1.000	0.000	85.257	0.000	2.261	0.642
10161-34-9	Trenbolone acetate	0.192	0.000	0.000	3.220	0.000	0.000	1274.591	0.000	2.319	2.022
3380-34-5	Triclosan	0.000	0.000	1.000	4.353	0.000	0.000	2903.598	0.000	3.047	2.926

Cas RN	İsim	F_DbleB	FCation	H_Phenol	MlogP	MUT_Risk	PriAmine_-NH2	S+MDCK	SaaO	Deneysel Ölçülmüş pT(≤96h mM)	MLR _[A] den tahmin edilmiş pT
935-92-2	Trimethylquinone	0.364	0.000	0.000	0.879	0.000	0.000	1202.723	0.000	2.177	1.559
<u>Test set</u>											
57-43-2	Amobarbital	0.188	0.000	0.000	1.163	0.000	0.000	118.555	0.000	0.423	0.394
100-66-3	Anisol	0.000	0.000	0.000	1.859	0.000	0.000	2364.561	0.000	-0.045	0.414
98-88-4	Benzoyl-chloride	0.111	0.000	0.000	2.102	1.000	0.000	1257.204	0.000	1.273	1.155
58-08-2	Caffeine	0.133	0.000	0.000	0.082	1.000	0.000	868.479	0.000	0.349	-0.065
439-14-5	Diazepam	0.091	0.000	0.000	3.355	0.000	0.000	1220.133	0.000	1.351	1.505
91-53-2	Ethoxyquin	0.059	0.006	0.000	2.826	0.000	0.000	2078.008	0.000	1.082	1.260
110-91-8	Morpholine	0.000	0.936	0.000	-0.473	2.000	0.000	559.145	0.000	-0.315	-0.311
121-69-7	N,N'-dimethylaniline	0.000	0.006	0.000	2.193	0.000	0.000	2609.336	0.000	0.565	0.695
103-90-2	Paracetamol	0.091	0.000	0.000	1.060	0.000	0.000	910.430	0.000	-0.398	0.013
61869-08-7	Paroxetine	0.000	0.992	0.000	3.289	1.000	0.000	259.274	0.000	2.217	1.644
76-74-4	Pentobarbital	0.188	0.000	0.000	1.163	0.000	0.000	130.081	0.000	0.66	0.397
51-52-5	Propylthiouracil	0.182	0.000	0.000	0.386	0.000	0.000	433.276	0.000	0.194	-0.017

Tablo 2. Dış set bileşikleri için CAS RN, isim, sınıf, tanımlayıcı değerleri ile MLR_[A] modelinden tahmin edilen pT değerleri.

CAS RN	İsim	F_DbleB	FCation	H_Phenol	MlogP	MUT_Risk	PriAmine_-NH2	S+MDCK	SaaO	MLR _[A] dan tahmin edilmiş pT
Antibiyotik										
98079-62-0	Lomefloxacin (S)	0.074	0.023	0.000	0.706	2.000	0.000	38.691	0.000	0.028
98079-55-1	Lomefloxacin (R)	0.074	0.023	0.000	0.706	2.000	0.000	38.468	0.000	0.028
69-53-4	Ampicilin	0.115	0.000	0.000	0.656	0.000	1.000	6.627	0.000	0.498
443-48-1	Metronidazole	0.000	0.472	0.000	-0.437	1.000	0.000	11.077	0.000	-1.070
70458-96-7	Norfloxacin	0.080	0.026	0.000	0.348	2.000	0.000	38.034	0.000	-0.155
26787-78-0	Amoxicillin	0.111	0.000	1.000	0.175	0.000	1.000	5.634	0.000	1.012
68-35-9	Sulfadiazine	0.111	0.000	0.000	0.487	0.000	1.000	20.936	0.000	0.375
15686-71-2	Cefalexin	0.154	0.000	0.000	1.087	0.000	1.000	9.550	0.000	0.983
55268-75-2	Cefuroxime	0.194	0.000	0.000	-0.351	0.000	0.000	13.942	5.136	0.394
85721-33-1	Ciprofloxacin	0.074	0.023	0.000	0.588	2.000	0.000	40.996	0.000	-0.044
564-25-0	Doxycycline	0.143	0.000	1.000	-0.875	2.000	0.000	8.924	0.000	0.266
6990-06-3	Fusidic acid	0.100	0.000	0.000	3.603	0.000	0.000	16.337	0.000	1.346
100986-85-4	Levofloxacin	0.069	0.017	0.000	0.064	2.000	0.000	40.224	0.000	-0.396
303-81-1	Novobiocin	0.085	0.000	0.000	1.062	0.000	0.000	6.034	5.488	0.692
79-57-2	Oxytetracycline	0.139	0.000	1.000	-1.599	2.000	0.000	7.416	0.000	-0.198
87-08-1	Phenoxymethylpenicillinic Acid	0.115	0.000	0.000	0.924	0.000	0.000	10.236	0.000	-0.199
80-32-0	Sulfachlorpyridazine	0.105	0.000	0.000	1.047	0.000	1.000	8.759	0.000	0.679
526-08-9	Sulfaphenazole	0.083	0.000	0.000	1.970	0.000	1.000	18.813	0.000	1.118
738-70-5	Trimethoprim	0.000	0.400	0.000	0.855	0.000	2.000	193.073	0.000	1.159
723-46-6	Sulfamethoxazole	0.111	0.000	0.000	0.565	0.000	1.000	11.687	4.768	1.273
Antikoagulan										
5543-58-8	R(+)-Warfarin	0.080	0.000	1.000	2.332	0.000	0.000	69.631	5.331	2.259

CAS RN	İsim	F_DbleB	FCation	H_Phenol	MlogP	MUT_Risk	PriAmine_-NH2	S+MDCK	SaaO	MLR _[A] dan tahmin edilmiş pT
5543-57-7	S(-)-Warfarin	0.080	0.000	1.000	2.332	0.000	0.000	115.640	5.331	2.272
Antidepresan										
100568-02-3	S(-)-Fluoxetine	0.000	0.996	0.000	4.153	0.000	0.000	481.617	0.000	1.954
100568-03-4	R(+)-Fluoxetine	0.000	0.996	0.000	4.153	0.000	0.000	436.092	0.000	1.941
50-47-5	Desipramine	0.000	0.995	0.000	3.644	0.000	0.000	1082.228	0.000	1.824
50-49-7	Imipramine	0.000	0.973	0.000	3.876	0.000	0.000	1295.317	0.000	2.014
Antidisritmik										
137-58-6	Lidocaine	0.059	0.732	0.000	2.520	0.000	0.000	1279.708	0.000	1.350
56-54-2	Quinidine	0.037	0.782	0.000	2.192	2.000	0.000	295.299	0.000	1.337
Antiepileptik										
298-46-4	Carbamazepine	0.100	0.000	0.000	3.139	1.000	0.000	740.414	0.000	1.567
84057-84-1	Lamotrigine	0.000	0.000	0.000	2.382	2.000	2.000	128.067	0.000	2.356
57-41-0	Phenytoin	0.095	0.000	0.000	2.201	0.000	0.000	92.827	0.000	0.488
Anti fungal										
2022-85-7	5-fluorocytosine	0.111	0.000	0.000	0.081	0.000	1.000	201.289	0.000	0.182
23593-75-1	Clotrimazole	0.000	0.006	0.000	4.519	1.000	0.000	739.097	0.000	1.837
91161-71-6	Terbinafine	0.043	0.560	0.000	4.984	1.000	0.000	1500.554	0.000	2.992
Antihipertansif										
525-66-6*	Propranolol (R)	0.000	0.992	0.000	2.534	2.000	0.000	824.418	0.000	1.640
525-66-6*	Propranolol (S)	0.000	0.992	0.000	2.534	2.000	0.000	541.269	0.000	1.555
4205-90-7	Clonidine	0.067	0.990	0.000	2.660	1.000	0.000	563.668	0.000	1.734
42200-33-9	Nadolol	0.000	0.994	0.000	0.966	0.000	0.000	56.997	0.000	-0.116
19216-56-9	Prazosin	0.032	0.150	0.000	0.760	0.000	1.000	392.349	5.196	1.236
103573-38-2	S(+)-Nisoldipine	0.138	0.000	0.000	1.481	0.000	0.000	362.580	0.000	0.376
103573-36-0	R(-)-Nisoldipine	0.138	0.000	0.000	1.481	0.000	0.000	362.618	0.000	0.376

CAS RN	İsim	F_DbleB	FCation	H_Phenol	MlogP	MUT_Risk	PriAmine_-NH2	S+MDCK	SaaO	MLR _[A] dan tahmin edilmiş pT
Antiinflamatuvar										
51146-57-7	R(-)-Ibuprofen	0.067	0.000	0.000	2.824	0.000	0.000	142.236	0.000	0.718
51146-56-6	S(+)-Ibuprofen	0.067	0.000	0.000	2.824	0.000	0.000	142.133	0.000	0.718
15307-86-5	Diclofenac	0.050	0.000	0.000	3.582	0.000	0.000	240.397	0.000	1.113
53-03-2	Prednisone	0.172	0.000	0.000	1.442	0.000	0.000	169.883	0.000	0.493
53-86-1	Indomethacin	0.074	0.000	0.000	2.714	0.000	0.000	111.220	0.000	0.684
83-43-2	Methylprednisolone	0.133	0.000	0.000	1.747	0.000	0.000	153.619	0.000	0.449
50-33-9	Phenylbutazone	0.080	0.000	0.000	3.699	2.000	0.000	328.446	0.000	1.956
50-24-8	Prednisolone	0.138	0.000	0.000	1.528	0.000	0.000	157.788	0.000	0.343
Antianksiyete ajan										
1812-30-2	Bromazepam	0.095	0.000	0.000	2.180	0.000	0.000	857.641	0.000	0.705
58-25-3	Chlordiazopoxide	0.087	0.035	0.000	1.517	2.000	0.000	1245.675	0.000	0.967
Antipsikotik										
50-53-3	Chlorpromazine	0.000	0.967	0.000	3.912	1.000	0.000	1035.223	0.000	2.239
548-73-2	Droperidol	0.097	0.746	0.000	3.329	1.000	0.000	176.841	0.000	2.025
58-40-2	Promazine	0.000	0.973	0.000	3.406	0.000	0.000	1223.566	0.000	1.706
146-54-3	Triflupromazine	0.000	0.971	0.000	4.259	0.000	0.000	708.331	0.000	2.069
Anti glokom										
22664-55-7*	Metipranolol (R)	0.045	0.992	0.000	1.941	0.000	0.000	183.952	0.000	0.777
22664-55-7*	Metipranolol (S)	0.045	0.992	0.000	1.941	0.000	0.000	253.966	0.000	0.798
26839-75-8	Timolol	0.000	0.987	0.000	0.005	1.000	0.000	55.637	0.000	-0.421
Antiviral										
3056-17-5	Sitavudine	0.176	0.000	0.000	0.376	0.000	0.000	129.832	0.000	-0.145
30516-87-1	Zidovudine	0.100	0.000	0.000	-0.246	2.000	0.000	35.088	0.000	-0.421
Otonomik ajan										

CAS RN	İsim	F_DbleB	FCation	H_Phenol	MlogP	MUT_Risk	PriAmine_-NH2	S+MDCK	SaaO	MLR _[A] dan tahmin edilmiş pT
1665-48-1*	Metaxalone (S)	0.0588	0.000	0.000	1.597	0.000	0.000	521.859	0.000	0.040
1665-48-1*	Metaxalone (R)	0.0588	0.000	0.000	1.597	0.000	0.000	368.305	0.000	-0.007
Kanser kemoterapi										
51-21-8	Fluorocil	0.222	0.000	0.000	-0.005	0.000	0.000	194.273	0.000	-0.095
33419-42-0	Etoposide	0.021	0.000	0.000	0.238	1.000	0.000	81.849	0.000	-0.853
Kortikosteroid										
51372-28-2	(22, S) Budesonide	0.114	0.000	0.000	2.014	0.000	0.000	460.833	0.000	0.594
51372-29-3	(22, R) Budesonide	0.114	0.000	0.000	2.014	0.000	0.000	279.184	0.000	0.540
2135-17-3	Flumetasone	0.125	0.000	0.000	1.962	0.000	0.000	163.574	0.000	0.535
Diüretik										
28395-03-1	Bumetanide	0.115	0.000	0.000	0.761	0.000	0.000	13.830	0.000	-0.297
54-31-9	Furosemide	0.136	0.000	0.000	-0.568	0.000	0.000	14.167	5.105	-0.072
58-93-5	Hydrochlorothiazide	0.222	0.000	0.000	-0.547	0.000	0.000	17.812	0.000	-0.478
Fungisid-endüstriyel										
67306-00-7*	Fenpropidin (R)	0.000	0.996	0.000	4.480	0.000	0.000	1033.592	0.000	2.319
67306-00-7*	Fenpropidin (S)	0.000	0.996	0.000	4.480	0.000	0.000	1045.259	0.000	2.322
Hormon										
50-28-2	Estradiol	0.000	0.000	1.000	3.635	1.000	0.000	692.208	0.000	2.111
50-23-7	Hydrocortisone	0.103	0.000	0.000	1.618	0.000	0.000	144.575	0.000	0.196
57-83-0	Progesterone	0.115	0.000	0.000	4.050	0.000	0.000	1253.330	0.000	2.078
Hipoglisemik										
94-20-2	Chlorpropamide	0.176	0.000	0.000	1.832	0.000	0.000	17.107	0.000	0.708
10238-21-8	Glibenclamide	0.114	0.000	0.000	3.437	0.000	0.000	20.699	0.000	1.329
1156-19-0	Tolazamide	0.136	0.000	0.000	2.028	1.000	0.000	9.451	0.000	0.880
64-77-7	Tolbutamide	0.167	0.000	0.000	1.845	0.000	0.000	21.625	0.000	0.661

CAS RN	İsim	F_DbleB	FCation	H_Phenol	MlogP	MUT_Risk	PriAmine_-NH2	S+MDCK	SaaO	MLR _[A] dan tahmin edilmiş pT
Endüstriyel										
64-19-7	Acetic acid glycial	0.333	0.000	0.000	-0.792	0.000	0.000	111.012	0.000	0.040
108-24-7	Acetic anhydride	0.333	0.000	0.000	-0.357	1.000	0.000	1011.722	0.000	0.861
156-87-6	Aminopropanol	0.000	0.998	0.000	-0.534	1.000	1.000	196.435	0.000	0.163
79-11-8	Chloroacetic acid	0.250	0.000	0.000	-0.273	2.000	0.000	114.437	0.000	0.450
79-04-9	Chloroacetyl chloride	0.250	0.000	0.000	0.655	3.000	0.000	1250.520	0.000	1.642
75-21-8	Ethylene oxide	0.000	0.000	0.000	-0.564	2.000	0.000	1153.982	0.000	-0.854
3782-00-1	2,3-dimethylbenzofuran	0.000	0.000	0.000	1.977	2.000	0.000	1824.791	5.499	1.880
4265-25-2	2-Methylbenzofuran	0.000	0.000	0.000	1.674	2.000	0.000	1797.871	5.368	1.663
56-57-5	4-Nitroquinoline oxide	0.067	0.000	0.000	-0.034	4.000	0.000	1023.681	0.000	0.385
91-62-3	6-Methylquinoline	0.000	0.005	0.000	1.977	1.000	0.000	1546.299	0.000	0.529
260-94-6	Acridine	0.000	0.032	0.000	2.581	3.000	0.000	1736.262	0.000	1.546
271-89-6	Benzofuran	0.000	0.000	0.000	1.356	1.000	0.000	1659.733	5.118	1.098
95-15-8	Benzothiophene	0.000	0.000	0.000	2.373	0.000	0.000	1742.458	0.000	0.540
86-74-8	Carbazole	0.000	0.000	0.000	2.387	3.000	0.000	1822.379	0.000	1.431
1091-85-6	Dansylglycine	0.136	0.000	0.000	0.907	0.000	0.000	11.686	0.000	-0.088
132-64-9	Dibenzofuran	0.000	0.000	0.000	2.387	3.000	0.000	1680.679	5.652	2.400
132-65-0	Dibenzothiophene	0.000	0.000	0.000	3.404	3.000	0.000	1805.834	0.000	2.045
120-72-9	Indole	0.000	0.000	0.000	1.356	0.000	0.000	1761.896	0.000	-0.073
91-22-5	Quinoline	0.000	0.008	0.000	1.674	0.000	0.000	1514.112	0.000	0.051
87-87-6	Tetrachlorohydroquinone	0.000	0.000	1.000	2.736	0.000	0.000	181.048	0.000	1.124
92-83-1	Xanthene	0.000	0.000	0.000	3.275	0.000	0.000	1820.666	0.000	1.113
105-37-3	Ethyl propionate	0.167	0.000	0.000	0.590	0.000	0.000	1544.473	0.000	0.353
Lokal anestetik										
59-46-1	Procaine	0.059	0.966	0.000	1.717	0.000	1.000	380.326	0.000	1.618

CAS RN	İsim	F_DbleB	FCation	H_Phenol	MlogP	MUT_Risk	PriAmine_-NH2	S+MDCK	SaaO	MLR _[A] dan tahmin edilmiş pT
94-24-6	Tetracaine	0.053	0.915	0.000	2.237	0.000	0.000	559.608	0.000	1.055
Sedatif ve hipnotik										
302-17-0	Chloral hydrate	0.000	0.000	0.000	0.735	2.000	0.000	743.874	0.000	-0.186
22328-94-5	R(+)-Secobarbital	0.235	0.000	0.000	1.353	0.000	0.000	100.066	0.000	0.779
20224-45-7	S(-)-Secobarbital	0.235	0.000	0.000	1.353	0.000	0.000	100.063	0.000	0.779
Metabolit										
486-56-6	Cotinine	0.071	0.001	0.000	0.752	0.000	0.000	779.778	0.000	-0.325
490-79-9	Gentisic acid	0.091	0.000	1.000	0.697	0.000	0.000	69.673	0.000	0.372
Diğer										
60-80-0	Antipyrine ^a	0.067	0.000	0.000	2.223	0.000	0.000	919.186	0.000	0.585
87848-99-5	Acrivastine ^b	0.107	0.001	0.000	2.539	0.000	0.000	35.484	0.000	0.746
657-24-9	Metformin ^c	0.250	1.000	0.000	-0.329	1.000	0.000	49.791	0.000	0.821
51481-61-9	Cimetidine ^d	0.059	0.974	0.000	-0.397	0.000	0.000	101.528	0.000	-0.609
41859-67-0	Bezafibrate ^e	0.077	0.000	0.000	2.987	0.000	0.000	30.061	0.000	0.843
130-95-0	Quinine ^f	0.037	0.782	0.000	2.192	2.000	0.000	227.937	0.000	1.317
51-34-3	Scopolamine ^g	0.040	0.402	0.000	1.013	2.000	0.000	119.071	0.000	0.313
16110-51-3	Cromolyn ^h	0.108	0.000	0.000	-0.942	0.000	0.000	14.612	10.380	0.482
73-22-3	L-tryptophan ⁱ	0.063	0.000	0.000	-2.147	0.000	1.000	16.625	0.000	-1.510
599-79-1	Sulfasalazine ^j	0.133	0.000	0.000	1.157	0.000	0.000	10.212	0.000	0.046
103628-46-2	Sumatriptan ^k	0.095	0.983	0.000	0.423	0.000	0.000	58.012	0.000	0.093
4759-48-2	Isotretinoin ^l	0.273	0.000	0.000	3.974	0.000	0.000	179.950	0.000	2.615
13311-84-7	Flutamide ^m	0.053	0.000	0.000	2.686	0.000	0.000	301.622	0.000	0.601

Diğer sınıfı: a: Analjezik/antipiretik, b: Antihistaminik, c: Antidiyabetik, d: Antiülser, e: Antilipidemik ajan, f: Anti-malaryal (sıtma), g: antiemetik, h: Antiastım ajan, i: amino asit, j: Antiromatoid, k: Antimigren, l: Anti-akne, m: Antineoplastik ajan *: Rasemik karışım cas numarası

EK 3. MLR_[DSA] ve MLR_[A] modelleri için MAE kriterleri.

Tablo 1. MLR_[DSA] modeli MAE kriteri için 'XternalValidationPlus' sonucu

User Input File Info.	FileName	MLR _[DSA] .XLSX
Model biasness test	SystematicErrorResult	Absent
	nPE / nNE	1.5000
	nNE / nPE	0.6667
	MPE / MNE	1.7919
	MNE / MPE	0.5581
	AAE - AE	0.1849
	R ² (Residuals; serial correlation)	0.0283
	R ² (Residuals and Yobs values)	0.1957
	R ² Test(100% data)	0.8660
	R0 ² Test(100% data)	0.8556
	R0 ² Test(100% data)	0.8659
Classical Metrics (for 100% data)	Q2F1(100% data)	0.8413
	Q2F2(100% data)	0.8404
	Scaled Avg.Rm ² (100% data)	0.8159
	Scaled DeltaRm ² (100% data)	0.0071
	CCC(100% data)	0.9130
	R ² Test(95% data)	0.8506
	R0 ² Test(95% data)	0.8300
Classical Metric (after removing 5% data with high residuals)	R0 ² Test(95% data)	0.8170
	Q2F1(95% data)	0.8309
	Q2F2(95% data)	0.8294
	ScaledAvgRm2(95% data)	0.7938
	ScaledDeltaRm2(95% data)	0.1041
	CCC(95% data)	0.9146
	RMSEP(100% data)	0.3972
Error-based metrics (for 100% data)	SD(100% data)	0.2109
	SE(100% data)	0.0544
	MAE(100% data)	0.3410
	RMSEP(95% data)	0.3465
Error-based metric (after removing 5% data with high residuals)	SD(95% data)	0.1683
	SE(95% data)	0.0450
	MAE(95% data)	0.3062
	MAE+3*SD(95% data)	0.8112
BASIC DATA STRUCTURE INFORMATION		
	NCompTest	15
Number of test set compounds,	Train range	5.3790
Range and Mean (train and test)	TrainYMean	0.8161
	Test range	3.6470
	TestYMean	0.8930
Distribution of observed response values of Test set around Test mean(in %)	%Y(+/-0.5)TestMean	40.0000
	%Y(+/-1.0)TestMean	66.6667
	%Y(+/-1.5)TestMean	93.3333

User Input File Info.	FileName	MLR _[DSA] .XLSX
	%Y(+/-2.0)TestMean	93.3333
Distribution of observed response values of Test set around Train mean (in %)	%Y(+/-0.5)TrainMean	33.3333
	%Y(+/-1.0)TrainMean	66.6667
	%Y(+/-1.5)TrainMean	93.3333
	%Y(+/-2.0)TrainMean	93.3333
	%NComp>(0.1*TR)	20.0000
Distribution of prediction errors (in %)	%NComp>(0.15*TR)	6.6667
	%NComp>(0.2*TR)	0.0000
	%NComp>(0.25*TR)	0.0000
	(0.1*TrainingSetRange)	0.5379
Threshold values utilized to judge the model predictions	(0.15*TrainingSetRange)	0.8069
	(0.2*TrainingSetRange)	1.0758
	(0.25*TrainingSetRange)	1.3448
RESULT (MAE-based criteria applied on 95% data)	Prediction Quality	GOOD

Tablo 2. MLR_[A] modeli MAE kriteri için 'XternalValidationPlus' sonucu

User Input File Info.	FileName	MLR _[A] .XLSX
Model biasness test	SystematicErrorResult	Absent
	nPE / nNE	1.0000
	nNE / nPE	1.0000
	MPE / MNE	1.2048
	MNE / MPE	0.8300
	AAE - AE	0.2224
	R ² (Residuals; serial correlation)	0.0544
	R ² (Residuals and Yobs values)	0.2611
	R ² Test(100% data)	0.8340
	R0 ² Test(100% data)	0.8339
	R0 ² Test(100% data)	0.8175
Classical Metrics (for 100% data)	Q2F1(100% data)	0.8494
	Q2F2(100% data)	0.8307
	Scaled Avg.Rm ² (100% data)	0.7511
	Scaled DeltaRm ² (100% data)	0.1267
	CCC(100% data)	0.9033
	R ² Test(95% data)	0.8025
	R0 ² Test(95% data)	0.8014
Classical Metric (after removing 5% data with high residuals)	R0 ² Test(95% data)	0.7194
	Q2F1(95% data)	0.8596
	Q2F2(95% data)	0.7895
	ScaledAvgRm2(95% data)	0.7320
	ScaledDeltaRm2(95% data)	0.0421
	CCC(95% data)	0.8948
	RMSEP(100% data)	0.2999
Error-based metrics	SD(100% data)	0.1803

User Input File Info.	FileName	MLR _{[A].xl} sx
(for 100% data)	SE(100% data)	0.0521
	MAE(100% data)	0.2452
	RMSEP(95% data)	0.2613
Error-based metric	SD(95% data)	0.1552
(after removing 5% data	SE(95% data)	0.0468
with high residuals)	MAE(95% data)	0.2154
	MAE+3*SD(95% data)	0.6809
BASIC DATA STRUCTURE INFORMATION		
	NCompTest	12
Number of test set compounds,	Train range	5.3790
Range and Mean (train and test)	TrainYMean	0.8697
	Test range	2.6150
	TestYMean	0.6130
Distribution of observed	%Y(+/-0.5)TestMean	50.0000
response values of Test set	%Y(+/-1.0)TestMean	83.3333
around Test mean(in %)	%Y(+/-1.5)TestMean	91.6667
	%Y(+/-2.0)TestMean	100.0000
Distribution of observed	%Y(+/-0.5)TrainMean	50.0000
response values of Test set	%Y(+/-1.0)TrainMean	75.0000
around Train mean (in %)	%Y(+/-1.5)TrainMean	100.0000
	%Y(+/-2.0)TrainMean	100.0000
	%NComp>(0.1*TR)	8.3333
Distribution of prediction	%NComp>(0.15*TR)	0.0000
errors (in %)	%NComp>(0.2*TR)	0.0000
	%NComp>(0.25*TR)	0.0000
	(0.1*TrainingSetRange)	0.5379
Threshold values utilized	(0.15*TrainingSetRange)	0.8069
to judge the model predictions	(0.2*TrainingSetRange)	1.0758
	(0.25*TrainingSetRange)	1.3448
RESULT (MAE-based criteria applied on 95% data)	Prediction Quality	GOOD

ÖZGEÇMİŞ

Adı, Soyadı: Elif Merve Eminoğlu

Eğitim Bilgileri

Doktora (PhD.)	Marmara Üniversitesi - Organik Kimya programı -2013-2024
Pedagojik formasyon	Marmara Üniversitesi - 2018-2019
Yüksek Lisans	Marmara Üniversitesi - Organik Kimya programı - 2011-2013
Lisans	Kocaeli Üniversitesi - Kimya-2003-2007
Lise	Özel Doğu Lisesi - 1999-2002

İş Deneyimi

01/2023 – 11/2023 Aida Recycling Management Geri Dönüşüm Sanayi ve Ticaret Ltd.-
İstanbul/Pazarlamacı

02/2020 – 06/2020 Maltepe Kız Anadolu İHL Proje Okulu- İstanbul
Kimya öğretmeni

05/2011- 10/2015 Eminoğlu Eczanesi- İstanbul
Satış destek elemanı

01/2009 - 04/2011 Komturk İletişim-İstanbul
Satış Destek Sorumlusu

01/2008 - 12/2008 Seviye Dergisi Dershanesi-İstanbul
Kimya ve ingilizce öğretmeni

10/2007 - 01/2008 Sanofi-aventis / Medikal Klinik Operasyonlar Departmanı-İstanbul
Stajyer

07/2007 - 09/2007 Sandoz İlaç / Kalite Kontrol Departmanı -İstanbul
Stajyer

Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler:

1. Novel Polythiophene Based Nanofibers Obtained by Simultaneous Electrospinning and UV. Elif Merve EMİNOĞLU, Memet Vezir KAHRAMAN, Synthetic Metals (2013). 183, 29-35.
2. Fabrication of photo-cross-linked polyethyleneimine-based barriers for CO₂ capture. Elif Merve EMİNOĞLU, Feriha BEYPINAR, Memet Vezir

KAHRAMAN, Ali DURMUŞ, Polymers for Advanced Technologies (2015). 26, 1053-1058.

3. Preparation and Electrical Properties of Polypyrrole Containing Photocured Thiol-Ene Based Composites. Seyfullah MADAKBAŞ, Fatih DUMLUDAĞ, Elif Merve EMİNOĞLU, Ferhat ŞEN, Memet Vezir KAHRAMAN, Progress in Organic Coatings (2015). 80, 33–38.
4. Revisiting Fish Toxicity of Active Pharmaceutical Ingredients: Mechanistic Insights from Integrated Ligand-/Structure-based Assessments on Acetylcholinesterase. Nikola MINOVSKI, Melek Türker SAÇAN, Elif Merve EMİNOĞLU, Safiye Sağ ERDEM, Marjana NOVIC. Ecotoxicology and Environmental Safety (2019). 170, 548-558.

Etkinlikler

1. Medikal Uygulamalar için Radyasyon Önleyici Kurşun İçermeyen Zırh. Memet Vezir KAHRAMAN, Elif Merve EMİNOĞLU, Ferhat ŞEN. Kimyevi Maddeler ve Mamülleri Sektöründe 3. Ar-Ge Proje Pazarı, 2 Kasım 2013, Haliç Kongre Merkezi, İstanbul.
2. Medikal Röntgen ve Gama Uygulamaları için Kurşun İçermeyen Çevreci Zırh. Memet Vezir KAHRAMAN, Ferhat ŞEN, Elif Merve EMİNOĞLU. Marmara Üniversitesi I. İnovasyon ve Proje Pazarı Günleri, 11-12 Aralık 2013, Sultanahmet Rektörlük Yerleşkesi, İstanbul.
3. Medikal Röntgen ve Gama Uygulamaları için Kurşun İçermeyen Çevreci Zırh. Memet Vezir KAHRAMAN, Ferhat ŞEN, Elif Merve EMİNOĞLU. 3. Türkiye Ar-Ge Zirvesi ve Fuarı, 08-10 Mayıs 2014, İstanbul Kongre Merkezi, İstanbul.
4. Medikal Röntgen Uygulamaları için Radyasyon Önleyici Yerel Kaynaklı Kurşun İçermeyen Çevreci Zırh. Memet Vezir KAHRAMAN, Ferhat ŞEN, Elif Merve EMİNOĞLU. Bülent Ecevit Üniversitesi I. Ar-Ge Proje Pazarı, 13 Mayıs 2014, Zonguldak.

Hakemli Ulusal ve Uluslararası Kongre/Sempozyum Bildirileri:

1. Fabrication and Characterization of Photo Cross-linked Polythiophene Based Nanofibers Obtained by Reactive Electrospinning. Elif Merve EMİNOĞLU,

- Memet Vezir KAHRAMAN, 19th European Symposium on Polymer Spectroscopy, 07-11 July 2013, Prague-CZECH REPUBLIC.
2. Acrylated and Maleated Thiophene Based Photo-Cross Linked Nanofibers. Elif Merve EMİNOĞLU, Memet Vezir KAHRAMAN. I. Ulusal Organik Kimya Kongresi, 25-29 Ekim 2013, Sakarya, TÜRKİYE.
 3. Tiyol-En Esaslı Polipirol İçeren Kompozitler. Seyfullah MADAKBAŞ, Elif Merve EMİNOĞLU, Ferhat ŞEN, Fatih DUMLUDAĞ, Memet Vezir KAHRAMAN. II. Ulusal Ege Kompozit Malzemeler Sempozyumu , 201307-09 Kasım 2013, Kuşadası, Aydın, Türkiye.
 4. Development of Photo-Cross Linked Polyethyleneimine Nanofibers As CO₂ Sensor. Elif Merve EMİNOĞLU, Feriha BEYPINAR, Memet Vezir KAHRAMAN. Science and Engineering of Polymeric Materials, 17-19 March 2014, Yasmine Hammamet, TUNISIA.
 5. Fabrication of Photo Cross-Linked Acrylated and Maleated Polythiophene Based Nanofibers. Elif Merve EMİNOĞLU, Memet Vezir KAHRAMAN. International Symposium on Advanced Polymeric Materials, 13-16 May 2014, Putra World Trade Centre, Kuala Lumpur, MALAYSIA.
 6. Polypyrrole Containing Thiol-Ene Based Composites. Seyfullah MADAKBAŞ, Elif Merve EMİNOĞLU, Ferhat ŞEN, Fatih DUMLUDAĞ, Memet Vezir KAHRAMAN. International Symposium on Advanced Polymeric Materials, 13-16 May 2014, Putra World Trade Centre, Kuala Lumpur, MALAYSIA.
 7. Dual-Curable Cyanate Ester/Boron Phosphate Composites. Ferhat ŞEN, Elif Merve EMİNOĞLU, Memet Vezir KAHRAMAN, 7-9 May 2015, International Congress on Chemical, Biological and Environmental Sciences, Kyoto, JAPAN.
 8. Relations of Pharmaceutical compounds toxicity via AChE inhibition of *Torpedo californica*. Elif Merve EMİNOĞLU, Safiye Sağ ERDEM, Melek Türker SAÇAN. 2. Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı Kursu (Uygulamalı), 16-17 Mayıs 2016, Biruni Üniversitesi, İstanbul, Türkiye.
 9. In Silico Modelling on Fish Toxicity of Pharmaceuticals. Elif Merve Eminoglu, Melek Türker SAÇAN, Safiye Sağ ERDEM. International Conference on Applied Mathematics, Modelling and Life Sciences, 3-5 October 2018, Limak Eurasia Luxury Hotel, Istanbul, Turkey. (Oral Presentation)

10. Minovski N., Saan M.T., Eminoğlu E. M., Erdem S., Novi M. “Revisiting fish toxicity of active pharmaceutical ingredients: Mechanistic insights from integrated ligand-/structure-based assessments on acetylcholinesterase, 18th International Conference on QSAR in Environmental and Health Sciences, 11-15 June, 2018, Bled, Slovenia.

Görev Alınan Projeler

1. Çapraz Bağlı Tiyofen Esaslı Nanofiberlerin Hazırlanması ve Karakterizasyonu. Marmara Universitesi Bilimsel Araştımlar Proje Koordinasyon Birimi yüksek lisans tez projesi, FEN-C-YLP-040712-0284. (2012-2013).
2. Medikal Uygulamalar İçin Radyasyondan Koruyucu Bor İçeren Teknik Tekstillerin Hazırlanması. TUBITAK 1505 - niversite Endüstri İşbirliği Programı, 5120004, (2012-2013).
3. UV Işınlarıyla Sertleşebilen İletken Polimer Katkılı Hibrit Kaplamalar. Marmara Universitesi Bilimsel Araştımlar Proje Koordinasyon Birimi, Araştırma Projesi FEN-B-100713-0325, (2013).
4. Yüksek Performans Uygulamaları için Siyanat Ester Kompozitlerin Hazırlanması ve Karakterizasyonu. Marmara Universitesi Bilimsel Araştımlar Proje Koordinasyon Birimi Bilimsel Araştırma Geliştirme Projesi FEN-A-280214-0044. (2014-2016).
5. In Silico Models for Environmentally and Biologically Relevant Endpoints. TUBITAK-ARRS Turkey-Slovenya İşbirliği Projesi 214Z225, (2015-2018).