

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

**MCET METODUYLA FENİLDİAZOLHİDRAZİD
TÜREVLERİNİN 4D-QSAR İNCELENMESİ**

**Hazırlayan
Sefa AKSAKAL**

**Danışman
Prof. Dr. İlhan Özer İLHAN**

Yüksek Lisans Tezi

**Ağustos 2013
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

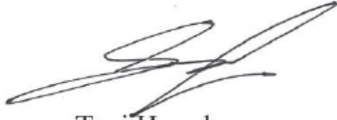
Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.



Adı-Soyadı: Sefa AKSAKAL

YÖNERGEYE UYGUNLUK

“MCET metoduyla Fenildiazolhidrazit türevlerinin 4D-QSAR incelenmesi” adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.



Tezi Hazırlayan
Sefa AKSAKAL



Danışman
Prof. Dr. İlhan Özer İLHAN



Kimya ABD Başkanı
Prof. Dr. Talat ÖZPOZAN

Prof. Dr. İlhan ÖZER İLHAN danışmanlığında Sefa AKSAKAL tarafından hazırlanan “MCET metoduyla fenildiazolhidrazit türevlerinin 4D-QSAR incelenmesi” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

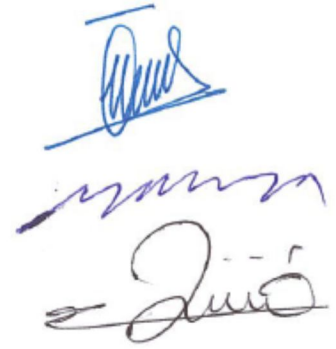
16/08/2013

JÜRİ:

Danışman :Prof. Dr. İlhan Özer İLHAN

Üye : Prof. Dr. Yahya GÜZEL

Üye :Doç.Dr. Zülbiye ÖNAL

**ONAY:**

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 23/08/2013 tarih ve 2013/37-10 sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Prof. Dr. Kazım KEŞLİOĞLU
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım süresince geniş bilgi ve deneyimleri ile her konuda yol gösterici olan, yardımlarını ve desteğini esirgemeyen Sayın Hocalarım Prof. Dr. İlhan Özer İLHAN ve Prof. Dr. Yahya GÜZEL' e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim süresince emeği geçen bütün hocalarıma sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca bana inançla destek olan, sabır gösteren ve her konuda benden maddi, manevi desteklerini esirgemeyen sevgili aileme sonsuz teşekkür ve minnettarlıklarımı bildiririm.

Ayrıca tez çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen değerli çalışma arkadaşlarım Burçin TÜRKMENOĞLU, Gökçe ALTIPARMAK, Hayriye YILMAZ ve Ekrem Mesut SU' ya teşekkür ederim.

Sefa AKSAKAL

Kayseri, Ağustos 2013

MCET METODUYLA FENİL DİAZOL HİDARZİT TÜREVLERİNİN 4DQSAR İNCELENMESİ

Sefa AKSAKAL

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans Tezi, Ağustos 2013

Tez Danışmanı: Prof. Dr. İlhan Özer İLHAN

ÖZET

Bu çalışmada Moleküler Konformer Elektron Topolojik (MCET) metod kullanılarak çoklu sübstitüentli Fenildiazolhidrazitin 27 türevinden oluşan seri için biyolojik aktiviteyi tahmin etme ve farmakofor (Pha), aktiviteyi artırıcı grup (AG) ve azaltıcı gruptan (APS) oluşan biyoyapıyı ortaya çıkarma amaçlanmıştır. MCET'in kabul edilmesi ve başarısı dört boyutlu yapı aktivite ilişkisini tarif etmek ve optimize edilen aktiviteler için yapısal düzenlemeleri tahmin etmek üzere bu seri içinde yöntemin kullanılmasına bağlanmıştır. Bu metot hem Fenildiazolhidrazitin biyolojik etkileşmesinin modelinin anlaşılması için hem de onların aktivitelerini tahmin etme için önemli avantaj sağlar. Bileşiklerin konformerlerinin çakıştırılmasıyla bütün çiftler arasındaki benzerlik indisli bir matristen, Pha (N2, S1, C3 ve C4) özel atomlu bir grup olarak verilmiş geometrik bir düzenleme içinde belirlenmiştir. Pha tam olarak üst üste çakıştırıldıktan sonra C11, C13, O3, C1 ve C12 den oluşan AG ve APS inceleme altındaki bileşikler için biyoaktivitenin nicel bir formül içinde kimyasal fonksiyonların geometrik bir düzenlemesi olarak üretilmiştir. Bu seri için birbirine bağımlı olarak korelasyon katsayısı $R^2 = 0.849$, $Q^2 = 0.916$ standart hata (se) = 0.195 olarak bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: İlaç tasarımı, Farmakofor, QSAR, MCET, Tau Protein

4D QSAR STUDYING WITH MCET METHOD ON PHENYLTHIAZOLE HYDRAZIDE DERIVATIVES

Sefa AKSAKAL

Erciyes University, Graduate School of Natural and Sciences

M.Sc. Thesis, August 2013

Thesis Supervisor: Prof. Dr. İlhan Özer İLHAN

ABSTRACT

In this study, it is aimed that predicting the biological activity for a series of 27 derivatives of multisubstituted Phenylthiazolyldiazide using “Molecular Conformer Electron Topological (MCET) Method and revealing biostructure consist of the pharmacophere (Pha), the auxiliary groups (AG) and anti-pharmacophere shielding (APS) groups. The success and the acceptance of MCET are attested to in this series. To describe four-dimensional structure–activity relationships and to predict structural modifications for optimizing activities the procedure is used. This method offers a significant advance both for understanding of the model of biological interaction of the Phenylthiazolyldiazide and for predicting their activity. From a matrix of the similarity indices between all pairs by superimposing the conformers of the compounds, Pha is defined as a group of specific atoms (N2, S1, C3 and C4) in a given geometric arrangement. After Pha is aligned, AG and APS consists of C11, C13, O3 C1 and C12 are generated as a geometric arrangement of chemical functions in a quantitative formula of bioactivity for understudy compounds. The values of standard error (se) = 0.195 and correlation coefficient $Q^2 = 0.916$ $R^2 = 0.849$ are respectively found for this series.

Keywords: Drug Design, Pharmacophere, QSAR, MCET, Tau Protein

İÇİNDEKİLER

MCET METODUYLA FENİLDİAZOLHİDARZİT TÜREVLERİNİN 4DQSAR İNCELENMESİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI.....	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI.....	ii
KABUL VE ONAY SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
KISALTMALAR LİSTESİ.....	x
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xii
GİRİŞ.....	1

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

1.1. İlaç Nedir?	3
1.1.1. İlaçların Hücrelere Tesirleri ve Reseptörleri.....	3
1.1.2. Bağlanma Etkileşimleri	4
1.1.2.1. İyonik Bağlanma.....	4
1.1.2.2. Hidrojen Bağı.....	4
1.1.2.3. Van der Waals Bağı.....	4
1.1.2.4. Takviyeli İyon Bağı.....	5
1.1.2.5. Kovalent Bağı.....	5
1.2. İlaç Tasarımı	5
1.3. Bilgisayar-Destekli İlaç Tasarımı	6
1.4. Yapı Aktivite İlişkisi (SAR) ve Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi (QSAR)	8
1.4.1. SAR	8
1.4.2. QSAR.....	9
1.4.2.1. QSAR Teorisi.....	10

1.4.2.1.1. Hansch Analizi	12
1.4.2.1.2. Free-Wilson Analizi	14
1.4.3. 2D-QSAR Analizi.....	15
1.4.4. Yeni QSAR Metotları	16
1.4.4.1. Hologram QSAR (HQSAR).....	16
1.4.4.2. Inverse QSAR	18
1.4.4.3. Binary QSAR.....	19
1.4.5. 3D-QSAR	19
1.4.5.1. Karşılaştırmalı Moleküler Alan Analizi (CoMFA).....	21
1.4.5.2. Aktif Analog Yaklaşımı	22
1.4.5.3. Moleküler Şekil Analizi (MSA)	23
1.4.5.4. Karşılaştırmalı Moleküler Şekil Analizi(CoMSIA).....	23
1.4.5.5. Karşılaştırmalı Moleküler Moment Analizi(CoMMA)	24
1.4.6. 4D-QSAR	24
1.4.7. Moleküler Modelleme ve QSAR.....	25
1.4.8. QSAR eşitliği türetme: Basit ve çoklu lineer regresyon metodu.....	26
1.4.9. R ² : Korelasyon katsayısının karesi	27
1.4.10. Cross Validation	28
1.4.11. Reseptör ile İlaç Molekülün Etkileşim Mekanizması	28
1.4.12. Farmakofor Kavramı	29
1.4.13. Farmakofor Tanımlama Metotları.....	30
1.4.14. Elektron Topolojik Matrise Dayalı Elektron Topolojik Metot.....	32
1.5. Alzheimer Hastalığı Nedir?	35
1.5.1 Alzheimer Hastalığının Nedenleri.....	36
1.5.2. Alzheimer Hastalığının Tedavisi	37

2. BÖLÜM

GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. QSAR Yöntemi Olarak MCET Metodu.....	38
2.1.1. Elektron Topolojik Metot	40
2.1.2. Elektron Konformasyonel Analizi.....	41
2.1.3. Konformasyon Analizi.....	41
2.1.4. ETM Matris Oluşumu	42

2.2. Moleküler Konformer Elektron Topolojik (MCET) Metottaki Adımlar	45
2.2.1. MCET’te Farmakofor Tanımlama	45
2.2.2. MCET’te APS ve AG.....	46
2.2.3. Modelin Belirlenmesi ve Uygulanması.....	50
2.2.4. Aktivitenin Genel Formülü	50

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. Çalışılan Bileşik Serisindeki Bulgular	53
3.2. Elektron-Topolojik Matris.....	58
3.3.MCET Metodunun Uygulanması	61
3.4. Fenildiazolhidrazid Türevlerinde Hesaplanan Aktivite Sonuçları	67

4. BÖLÜM

TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER

Tartışma, Sonuç ve Öneriler	74
KAYNAKLAR.....	77
ÖZGEÇMİŞ	84

KISALTMALAR VE SİMGELER

QSAR	: Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi
SAR	: Yapı Aktivite İlişkisi
2D-QSAR	: İki Boyutlu Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi
3D-QSAR	: Üç Boyutlu Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi
HQSAR	: Hologram Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi
MCET	: Moleküler Konformerlerin Elektron Topolojik Metodu
Pha	: Farmakofor
APS	: Aktiviteyi perdeleyici grup
AG	: Aktiviteyi artırıcı yardımcı grup
CADD	: Bilgisayar destekli ilaç tasarımı
HTS	: Çok Sayıdaki Bileşiği Ayrma Yöntemi (High Throughput Screening)
CoMFA	: Karşılaştırmalı Moleküler Alan Analizi
MSA	: Moleküler Şekil Analizi
CoMSIA	: Karşılaştırmalı Moleküler Şekil Analizi
CoMMA	: Karşılaştırmalı Moleküler Moment Analizi
ETM	:Elektron Topolojik Konformasyonel Matris
ETSA	:Elektron Konformasyonel Aktiflik Alt Matris

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 3.1. Çalışılan bileşik serisi, deneysel aktivitesi ve konformer sayıları	54
Tablo 3.2. Referans bileşiğin (N01) en düşük enerjili konformerine ait kartezyen kordinatlar	58
Tablo 3.3. Training setteki bileşiklerin deneysel ve modelden çıkan hesaplanan aktiviteleri.	65
Tablo 3.4. Test setteki bileşiklerin deneysel ve modelden çıkan hesaplanan aktiviteleri	65
Tablo 3.5. Pha dışında aktiviteye etki eden AG ve APS gruplarının bazı özellikleri.....	66
Tablo 3.6. Eğitim ve test setin deneysel ve hesaplanan aktiviteleri	71

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. HQSAR’ da hologramların ortaya çıkarılması ve bu hologramlardan aktivite değerinin elde edilmesi.....	17
Şekil 1.2. Üç Boyutlu Elektron-Topolojik Matris.	33
Şekil 2.1. MCET metodunun uygulamasındaki basamaklar	43
Şekil 3.1. Referans bileşiği N01 için top çubuk modeli	57
Şekil 3.2. Referans bileşiğinin (N01) konformerlerinin üst üste çakıştırılması	57
Şekil 3.3. Referans bileşiği N01’in en düşük enerjili konformerinin ETM matrisi	60
Şekil 3.4. En yüksek aktiviteli N12 bileşiğinin en düşük enerjili konformerlerinin ETM matrisi	60
Şekil 3.5. ETM matrisi oluşturmada kullanılan programın ara yüzü.....	61
Şekil 3.6. ETM Matrislerini okuyarak Pha belirlemede kullanılan programın ara yüzü.	62
Şekil.3.7. Pha’ yı oluşturan atomların referans olarak alınması ve Pha etrafındaki atomların pozisyonlarının belirlenmesi.	63
Şekil 3.8. Çalışılan bileşik serisi için aktif fragmenti (Pha) gösteren matris	67
Şekil 3.9. N01, N8,N13, N17 ve N27 bileşiklerindeki Pha, AG ve APS gruplar.	68
Şekil 3.10. Eğitim setindeki bileşiklerin deneysel ve hesaplanan aktiviteler arasındaki Q^2 ve test setindeki bileşiklerin R^2 grafiği	72

GİRİŞ

Günümüzde bilgisayar destekli ilaç tasarımı ve toksikoloji farmasötik endüstrisinde oldukça iyi bilinen ve hızla gelişmekte olan bir bilim dalıdır. Bu bilim dalının amacı, moleküler yapı ve özellikleri tanımlamak ve yapı aktivite ilişkisini ortaya çıkarmaktır. Bir bileşik serisine ait biyolojik aktivite ile ilgili verileri kullanarak reseptörün aktif bölgesinin üç boyutlu yapısını tahmin etmek amacıyla “Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi (Quantitative Structure Activity Relationship, QSAR)” analizi gerçekleştirilir. Bunun için molekül setinin genelinde bulunan fonksiyonel grupların benzerliğine göre aktif bölge tarafından tanınabilen atomların üç boyutlu bir düzenlenmesini ele alır. QSAR, kimyasal yapı ve biyolojik aktivite arasında ilişki kurar ve türetilen modeller test edilmemiş kimyasalların aktivitelerini tahmin etmek için kullanılır. Ligand-reseptör etkileşimlerini tanımlamak ve en çok istenilen farmakolojik özelliklere sahip olan kimyasal yapıları tahmin etmek için bilgisayar destekli ilaç tasarımına yönelenmiştir. Kimya ve biyolojinin çeşitli alanlarında yaygın olarak kullanılan QSAR metodu bilgisayar teknolojisinin zaman içerisinde gelişmesiyle önemli hale gelmiştir. Başlangıçta QSAR metodu bileşiklerin fizikokimyasal özelliklerine göre aktiviteyi açıklamıştır. Üç boyutlu QSAR (3D QSAR) metodu ise bileşiklerin aktivite değerlerini, klasik QSAR metotlarında yer almayan elektronik özellikleri üç boyutta hesaba katarak açıklamıştır. Bunun için molekül setinin genelinde bulunan fonksiyonel grupların benzerliğine göre aktif bölge tarafından tanınabilen atomların üç boyutlu bir düzenlenmesini ele alır. Pratik bakımdan oldukça uzun ve zor olan böyle bir problemin çözümü; deneysel olarak belirli bir aktivite gösterdiği bilinen bileşikleri birbiri ile karşılaştırarak aktivite göstermelerine neden olan ortak yapıdaki fragmenti bulmakla olur. Böylece molekülün yapı-aktivite ilişkisinde, moleküler aktiviteden sorumlu olan temel üç boyutlu elektronik özellik belirlenmiş olur [1–2].

Hopfinger 1997 yılında 3D-QSAR modeline dördüncü boyutu kazandı ve 4D-QSAR analizi terimini ortaya çıkardı. 4D-QSAR analizinin dördüncü boyutu konformerleri

eşleştirme ortalamasından kaynaklanır. Bu metoda göre, çoğu 3D-QSAR metotlarından farklı olarak, aktif konformasyon minimum enerjili konformer değildir. Sistemik konformasyonel araştırma yerine, konformasyonel eşleştirme özelliklerini belirlemek için multi-temperature molecular dynamics'yi (MDS) kullanır. Minimum enerjili konformerin 2 Kcal/mol içinde olan tüm konformerleri çalışılan bileşik serisindeki her bir bileşiğin en aktif konformeri olarak tanımlanır [3]. Bu küresel bir yüzeyde potansiyel enerjisi tüm düşük enerjili kararlı konformerleri için genellikle dikkate almak yararlıdır. T sıcaklığı, bir dağıtım i'inci konformasyon arasında fraksiyonel nüfus P_i , Boltzmann faktörü ile ilgilidir [4]. Bu çalışmada etkili tüm konformerleri ele alan "Moleküler Konformer Elektron Topolojik (Molecular Conformer Electron Topological (MCET))" metot 4D QSAR olarak kullanılır.

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

Bu çalışmada fenildiazolhidrazit türevleri incelenerek, aktiviteden sorumlu fragment olan Pha çıkartılacaktır. Pha'nın yanısıra anti-pharmacophore shielding (APS) ve auxiliary grupların (AG) aktivite ile ilişkisi elektronik özellikleriyle regresyon analizinde yapılacak ve bu ilişkinin modellenmesi sonucunda reseptör-molekül etkileşim mekanizması aydınlatılacaktır.

Burada, fenildiazolhidrazit türevlerinin yapısal özelliklerini tanımlamak ve ayırmak için MCET yöntemine dayanan dört boyutlu bir QSAR sunuyoruz. MCET hesaplamalarında, moleküldeki etkili olan tüm konformerin elektronik özellikleri dikkate alınarak tek bir model kullanılır. Her bir molekül için deneysel aktivite verileri hesaplanan veriler ile uyum göstermesi ölçüsünde başarılıdır. Aktivitede rol alan temel iskelete göre yeni moleküllerin tasarlanarak sentezlenmesi ve mevcut olan moleküllerin biyolojik aktivitelerinin tahmini için MCET ile çıkartılan sonuçlar kullanılır.

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

1.1. İlaç Nedir?

İlaç, terimi ve kavramı çok açık değildir. Türkçe’ de pharmacophore karşılığı olarak bugün geniş anlamli ilaç kullanılmaktadır. İlaç terimi oldukça yakın zamanlara kadar tıbbi farmakoloji içinde, genellikle insan ve hastalıkla ilgili olarak kullanılmıştır. Örneğin, Dünya Sağlık Örgütü’ nün 1966 yılında yapmış olduğu bir tanımlamada, “İlaçlar, alıcının yararına olmak üzere fizyolojik sistemler veya patolojik durumları değiştirmek veya incelemek amacıyla kullanılan veya bu amaçla hazırlanan madde veya ürünlerdir” [5] şeklinde bir açıklama getirmiştir.

1.1.1. İlaçların Hücrelere Tesirleri ve Reseptörleri

İlaçlar hücrelerin yüzeyinde veya içinde hücre yapısına ait belirli kimyasal gruplarla birleşmek, bağlanmak veya temas etmek suretiyle tesirlerini gösterirler. İlaçların büyük çoğunluğu spesifik biyolojik reseptörlerin aktivitelerini hafifleten ve onların etkileşimlerini, bağlanmalarını düzenleyen küçük moleküllerdir. Reseptörler, hayatın korunması için gereken çeşitli fonksiyonları yerine getiren diğer moleküllerle etkileşen ve bağlanan proteinlerdir. Proteinler; hormon reseptörleri, hücre-sinyal reseptörleri gibi hücre-yüzey reseptörleri, enzimler ve diğer fonksiyonel proteinlerin çok büyük bir dizisinden oluşurlar. İlaçların en önemli rolü bazı tıbbi problemlere çare bulmak amacı ile bu reseptörlerin fonksiyonlarını düzenlemektir [6]. Yani hücrenin ilaç molekülleri tarafından işgal edilen kısımlarına reseptör adı verilir. Reseptörler çoğunlukla hücrelerin yüzeyinde yer aldığından birçok ilaçlar tesirlerini hücre sathında daha bariz bir şekilde gösterirler. Bir ilaç hücrenin neresine tesir ederse etsin, hücrede oluşturacağı etki ancak hücre faaliyetinde kantitatif bir değişiklik olacaktır. Yani ilaçlar hücrenin faaliyetini azaltabilir veya çoğaltabilir; fakat asla hücre faaliyetinde kalitatif bir değişiklik meydana getiremezler. Bir hücre bir ilacın tesiri ile olağan olarak yaptığı işten başka bir

şey yapamaz. Mesela esas vazifesi kontraksiyon olan bir adale hücresi bir ilacın tesiriyle salgı yapamaz.

1.1.2. Bağlanma Etkileşimleri

Yapı ve aktivite arasındaki ilişkiden elde edilen bilgilerin en yararlı kısımlarından biri, ilacın reseptöre bağlanmasında önemli olan atomların ve fonksiyonel grupların tipidir. Moleküller uygun topolojik yapıya sahip oldukları zaman hedef bölgelere moleküller arası bağlanma kuvvetlerini kullanarak bağlanırlar.

1.1.2.1. İyonik Bağlanma

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

1.1.2.2. Hidrojen Bağı

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

1.1.2.3. Van der Waals Bağı

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

1.1.2.4. Takviyeli İyon Bağı

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

1.1.2.5. Kovalent Bağı

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

1.2. İlaç Tasarımı

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

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

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

sürmektedir. Bilgisayarlı ilaç tasarımı teknikleri ile bu süre çok kısalmıştır. Daha önceleri tek bir ilaç bile dizayn edilememesine rağmen, bu tekniklerin gelişmesi sayesinde ilaç modeli mümkün hale gelmiştir. Günümüzde bütün dünyada farmakoloji ve biyoteknoloji şirketleri bilgisayar destekli ilaç tasarımı tekniklerini kullanmaktadır [9].

1.3. Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı

1950'lerde başlayan bilgisayar teknolojisi, el hesap makineleri kullanılarak çok zor bir şekilde yapılan kuantum mekanik hesaplamalarını, Schördinger denkleminin bilgisayar ile çözülmesi sonucunda çok kolay hale getirmiştir. Ancak o dönemlerde sadece birkaç atomlu küçük moleküllere uygulanabilen ab initio yöntemler ile hesaplamalar yapılıyordu. Daha sonrasında ise semiempirik moleküler orbital teori ile çok büyük moleküller için de hesaplamalar yapılabilmektedir. Aynı zamanda fizikokimyacılar tarafından geliştirilen deneysel modelleme metotları ile büyük biyolojik sistemlerin üç boyutlu konformasyonel davranışları ve yapıları daha net olarak açıklanmıştır. Moleküler mekanik metot olarak adlandırılan bu metot ab initio ve semiempirik metotlardan çok daha hızlıdır. Ayrıca 1960 ve 1970'lerde fizikokimyacılar ilaç tasarımında, bileşiklerin lipofilik veya hidrofilik karakterini hesaplayan metotlar geliştirmişlerdir. Böylece günümüzde bilgisayar-destekli ilaç tasarımı (Computer-Assisted Drug Design (CADD)) olarak adlandırılan ve ilaç geliştirme çalışmaları için kullanılan bir teknik ortaya çıkmıştır [10]. CADD ilaç olarak kullanılan biyolojik aktiviteye sahip bileşiklerin optimizasyonu, tasarımı ve araştırılması aşamalarını içeren bilgisayar destekli tekniklerin tümünü kapsamaktadır. İlk bilgisayar destekli, molekül yapısına dayalı ilaç tasarımı metotları 1980'lerin başında ortaya çıkmış olup ilk olarak Hammet eşitliği kullanılmış ve zaman içerisinde gelişim göstermiştir. Günümüzde ise gelişimi halen devam etmektedir [11].

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

Bilgisayar-destekli ilaç tasarım yöntemleri, deneysel yöntemler kullanılarak bir ilacın keşfinden ticari olarak satılmasına kadar geçen sürenin ve maliyetinin düşürülmesi amacıyla son yıllarda hem ilaç firmaları hem de üniversitelerde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bilgisayar-destekli ilaç tasarımında, ligand-temelli (ligand-based etki gösteren moleküllerin yapısından reseptör yapısının yorumlanması) ve yapı-temelli (structure-based bilinen reseptör yapısından hareketle etki gösterebilecek moleküllerin tasarlanması) olmak üzere iki temel yöntem bulunmaktadır. Eğer ilacın vücut içinde etkileştiği hedef protein yapısı bilinmiyorsa, QSAR yöntemleri kullanılırken, “Hedef protein” yapısı biliniyorsa Moleküler dinamik (MD), simulasyon (zamana karşı konformasyon analizi) ve Docking (protein-ligand kilitlemesi) yöntemleridir. Kombinatoriyal kimya metotları (çok sayıda bileşiğin etkin ve hızlı bir şekilde beraber sentezlenmesini amaçlayan metot) ve High Throughput Screening (HTS) yöntemleri (milyonlarca bileşiğin aktivitesinin denenmesi için kullanılan çok hızlı bir yöntem) ile yeni kimyasal ilaç olabilecek moleküller belirlenmektedir. Doğal kaynaklı bileşiklerin etkilerinin yine HTS teknikler kullanılarak kısa zamanda milyonlarca molekül arasından ayrıştırılabilmesi kullanılmaktadır.

Bilgisayar destekli ilaç tasarımı; orijinal bileşiklerin tasarlanması, bu güne kadar kullanılan konvansiyonel (klasik) metotlara göre çok daha hızlı ve ucuz olmaktadır [12].Bilgisayar destekli ilaç tasarımı ile ilaç özelliği gösteren yeni moleküllere ulaşmak üzere kullanılan önemli yöntemler aşağıdaki gruplar altında toplanabilir.

a) Moleküler Modelleme: Moleküler grafik veya konformasyon analizi olarak da adlandırılan bu yöntemde klasik ve kuantum fizik eşitlikleri ile moleküllerin yapılarını sayısal ve görsel olarak gösteren bir bilim dalıdır. Bilgisayarlı kimya programlarında geometrik özellikler (bağ mesafesi, bağ açısı ve torsiyon açısı), enerji parametreleri (oluşum enerjisi, aktivasyon enerjisi vb.), elektronik özellikler (dipol moment, yük, iyonizasyon potansiyeli, elektron affinitesi), spektroskopik özellikler (titreşim frekansları, kimyasal kayma) ve sterik özellikler (hacim, yüzey alanı, difüzyon, viskozite vb.) gibi parametreler moleküllerin üç boyutlu yapısında tanımlanır ve model içinde kullanılır. Bu yöntemle, etken madde veya analog tasarımı (etken maddeye yapısal olarak benzemesine rağmen farmakolojik etkisi kendi özelliklerinin sonucu olan bileşik tasarımı) yapılarak nasıl bir biyolojik

aktivite göstereceğine karar verilir. X ışınları kristalografisi gibi yöntemlerle ilacın moleküler şekli veya konformasyonu araştırılır [13].

- b) Kalıp Tanıma (Pattern Recognition):** Makine öğrenmesinin bir alt dalı olup, görüntü işlemede girdi olarak alınan işlenmemiş bilgiyi inceleyip gelen verinin kategorisine göre işleme tabi tutmasıdır. Kalıplar ölçümlerin veya gözlemlerin genel gruplarını çok boyutlu uzayda tanımlanan uygun noktalarda sınıflandırır [14].
- c) Kümeleme analizi (Cluster Analysis):** n boyutlu veri matrisinde yer alan ve doğal gruplamaları kesin olarak bilinmeyen birimleri, değişkenleri ya da birim ve değişkenleri birbirleri ile benzer olan alt kümelere ayırmaya yardımcı olan yöntemler topluluğudur. Birimleri, değişkenler arası benzerlik ya da farklılıklara dayalı olarak hesaplanan bazı ölçülerden yararlanarak homojen gruplara bölmek amacı ile kullanılır. Kümeleme analizi karmaşık oluşumların bulunduğu hemen hemen tüm bilim alanlarında kullanılan bir yöntemdir. Kalıp Tanıma ve Kümeleme analizi yöntemlerinin her ikisi de birçok parametre ile karakterize edilmiş çok sayıda bileşik içinden en uygun bileşiğe ulaşmak için gelişmiş istatistik ve bilgisayar yöntemlerinin kullanıldığı sayısal tekniklerdir [15].
- d) Reseptör Uyum veya Reseptör Tanımlama Yöntemleri:** Çeşitli modern spektroskopik yöntemlerle reseptörle ilaç arasındaki ilişkilerin ve bu ilişkilerde hangi etkilerin fazla olduğu konularının incelenmesi ile reseptörle en iyi şekilde uyum sağlayacak molekülün tasarlanmasında elde edilen bilgilerin kullanılmasıdır.

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

1.4.1. SAR

SAR terimi bileşiklerin kimyasal yapıları ile biyolojik ve farmakolojik aktiviteleri arasındaki ilişkinin kalitatif olarak belirlenmesi anlamına gelir. Yani bir molekül biyoaktif yapıyı (Pharmacophore, Pha) taşımaya bağlı olarak aktif veya inaktif şeklinde sınıflandırılır. Bileşiklerin yapı-aktivite ilişkisi açıklanırken, genellikle fonksiyonel grupların etkisi, stereokimyasal yapısı, büyüklüğü ve şekli dikkate alınır. Yapı-aktivite ilişkisine diğer katkılar ise kimyasal reaktivite, elektronik etkiler, rezonans ve indüktif etkilerdir [16].

1.4.2. QSAR

QSAR bir molekülün farmakolojik, toksikolojik ve biyolojik aktivitesinin kantitatif tahminini yapar. Bu metot, benzer bileşik serisinden ortaya çıkan yapı ve aktivite bilgilerini temel alır [17].

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

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

Çoğu organik bileşiğin yapısı henüz bilinmediği için bu ilişkiyi kullanarak aktiviteyi diğer örnekler üzerinde açıklamakta yetersiz kalıyorlardı fakat bugün ilaçlardaki her atom ile ilgili ayrıntılar bilinmektedir (çoğu durumda bağlanma bölgesinin üç boyutlu yapısı). Bu etkileşimi, farklı kimyasal moleküller ile etkileşim potansiyeli, üç boyutlu yapısı, yüzey özellikleri ve fizikokimyasal özellikler gibi farklı yollar kullanarak açıklayabiliriz. Eşitlik 1.2 deki $\Delta\Phi$ ile ΔC , ya yapısal parametreler (Free-Wilson analizi) ya da moleküler özelliklerdeki değişim göz önüne alınarak (Hansch analizi) doğrudan ilişkilendirilebilir. Bu ilişki aşağıda verilmiştir.

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

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

=logP) bağılı olduğuna dikkat çektiler [18]. Louis Hammett'in çalışmalarına kadar QSAR'ın gelişmesi aslında çok yavaştı. Ancak Louis Hammett, organik asit ve bazların elektronik özellikleri ile denge sabiti ve reaktivlikleri arasında ilişki kurarak, benzoik asit ile çeşitli türevlerinin dissosiyasyonu incelemişler ve bağılı olan substituentlerin aktiviteyi nasıl etkilediğini açıklayarak, QSAR'ın gelişimine büyük katkılarda bulunmuştur [19].

Uyuşturucu, bakteriyel, hemolitik ve toksik özellikler ile lipofilité arasındaki ilişkiler yüzyılın başından beri bilinmesine rağmen, 1964' te Free-Wilson metodu ve Hansch analizi ile ilgili yayınlar sonucunda, daha açık bir şekilde ortaya konulmuştur [20].

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

1.4.2.1. QSAR Teorisi

Bir bileşiğin farklı yapısal ve kimyasal özelliklerinin, kendi biyolojik aktivitesine doğrusal toplam katkısının göz önüne alınmasına dayanır. Burada biyolojik aktivitenin belirli fizikokimyasal özelliklere dayanarak taşınma ve bağlanma ile lineer ilişki içerisinde olduğu ispatlanmıştır.

Bu durum, bazı araştırmalar, Örneğin; de novo ilaç dizaynı programı LUDI (1.3), tarafından ispat edilmiştir. Buna ek olarak, Free Wilson ve Hansch analizleri birleştirilerek yapılan çalışmaların sonucunda bu görüş desteklenmiştir [20].

$$\Delta G_{\text{bağlanma}} = \Delta G_0 + \Delta G_{\text{hb}} + \Delta G_{\text{iyonik}} + \Delta G_{\text{lipo}} + \Delta G_{\text{dönme}} \quad (1.3)$$

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

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

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

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

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

Eşitlik (1.3), serbest bağlanma enerjisi $\Delta G_{bağlanma}$, bütün öteleme ve dönme serbestlik derecesi kayıplarını açıklayan ΔG_0 sabiti, nötral ve iyonik hidrojen bağı etkileşimleri ile ligand-protein arasındaki hidrofobik (veya lipofilik) etkileşimlerin yapıya bağlı enerji terimleri olan ΔG_{hb} , ΔG_{iyonik} , ΔG_{lipo} ve ligandın iç dönme serbestlik derecesi kaybını gösteren $\Delta G_{dönme}$ enerji terimi ile ilişkilidir. Eşitlik (1.3) enerji değerlerinin geniş bir aralığına sahiptir: 45 farklı ligand-protein kompleksine ait $\Delta G_{bağlanma}$ değerleri -9 ila -75 kJmol^{-1} arasında değişir. Bu değerler $2,5 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ ve $4 \cdot 10^{-14} \text{ M}$ arasındaki bağlanma sabitlerine karşılık gelir. Matematiksel modelden, ligand bağlanma sabitlerinde yaklaşık 1,4 log birimlik hataya karşılık gelen standart sapma değeri $7,9 \text{ kJmol}^{-1}$ olduğu bulunmuştur [20].

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

$$\Delta G = - 2,303 \text{ RT } \log K = - 2,303 \text{ RT } \log \frac{k_b}{k_a} \quad (1.4)$$

Belirli biyolojik etkiye karşılık gelen molar konsantrasyonun logaritması, $\log C$, moleküler özellikler ya da fizikokimyasal özellikler ile ilişkilendirilebilir. Bu fizikokimyasal özellikler Eşitlik 1.4 de verildiği gibi serbest enerji ile ilişkisi olan denge sabitleridir. Normal olarak konsantrasyonun tersinin logaritmasının değeri, $\log(1/C)$ veya $-\log(C)$, aktifliği fazla olan bileşiklerde daha yüksektir. Başlangıçta QSAR olarak ortaya çıkan bu metot zamanla gelişim göstererek aşağıda verilen yeni QSAR metotları şeklinde uygulama alanı bulmuştur.

1.4.2.1.1. Hansch Analizi

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

$$\log 1/C = a\pi + b\sigma + cE_s + \dots + \text{sabit} \quad (1.5)$$

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

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

Hansch ve grubu, hidrofobik ilaçlar ve biyolojik aktivite arasında parabolik bir ilişkinin olduğunu ortaya çıkararak QSAR analizinde kullanmışlardır [4]. İlacın n-oktanol/su sistemindeki dağılma katsayısı (hidrofobisite) ve biyolojik aktivite arasında ikinci dereceden bir ilişki olduğunu aşağıdaki formül ile göstermişlerdir.

$$\log 1/C = a(\log P)^2 + b(\log P) + c\sigma + \dots + k \quad (1.6)$$

P = n-oktanol/su dağılma katsayısı, σ = Hammett elektronik parametresi, a, b, c = regresyon katsayıları, k = sabit terim. Bu eşitlik ilacın taşınması ve bağlanma affinitesi kavramlarından geliştirilmiştir. İlacın enzim veya reseptör gibi biyolojik aktif bölgelere

bağlanması lipofilité, elektronik ve diğér serbest enerji özelliklerine bağıdır ki buna bağlanma affinitesi denir.

Bu eşitlik taşınma ve bağlanma kavramının her ikisini de içeren matematiksel modeldir. Eşitlikte farklı fizikokimyasal özelliklerin bu kombinasyonu ve lineer olmayan lipofilité bağılılığı için parabolik terimin ortaya çıkmasına ek olarak, Hansch ve Fujita X substituentlerinin lipofilité parametresi olan π 'yi tanımladılar, ($\Pi_X = \log P_{RX} - \log P_{RH}$) yaklaşık 30 yıl önce Hammett aynı anlama gelen elektronik parametre σ ' yi açıklamıştır. Hammett çalışmalarında referans olarak substituebenzoik asitlerin iyonizasyon sabitlerini kullanarak aşağıdaki matematiksel bağıntıları önermiştir [21].

$$\rho\sigma = \log K_{RX} - \log K_{RH} \quad (1.7)$$

$$\rho\sigma = \log k_{RX} - \log k_{RH} \quad (1.8)$$

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

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

$$\log \tau_i - \log \tau_{Et} = \alpha\beta_i$$

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

Özellikle laboratuvar çalışmalarında biyolojik aktiviteyi farklı şekilde açıklama yeteneğine ve esnekliğine sahip olması nedeni ile Hansch analizi oldukça avantajlıdır [22]. Bir Hansch analizi yapmak isteyen araştırmacı, her bir satırın bir bileşiği, her bir sütunun ise moleküllerin değişik özelliklerini gösterdiği bir tablo hazırlar. Genellikle analiz edilen bileşiklerin ortak özellikleri bir noktada kesişirler. Bu yüzden moleküllerin

biyolojik aktivitelerindeki farklılıklar molekülün temel iskeletine eklenen süstitüentlerin değişen özelliklerinden kaynaklanır. Süstitüentlerin logP veya pKa gibi özellikler üzerine etkileri tablolarda mevcuttur. Regresyon analizi, moleküllerin hangi fiziksel özelliklerinin, biyolojik aktivitelerine en iyi şekilde nasıl etki ettiğini açıklar.

1.4.2.1.2. Free-Wilson Analizi

1964' te Free ve Wilson genel yapısal özellikleri açıklamak için yeni bir matematiksel model geliştirdiler. Bu model substituentlerin bulunması veya bulunmaması durumunda biyolojik aktivite korelasyonunu kullanan bir regresyon tekniğidir [22].

Bu modelin esası, herhangi bir konumdaki substituentin, temel molekül yapısına biyolojik katkısının olduğu ve her bir substituentin bu katkısının, molekülde var olan diğer gruplardan bağımsız olduğu varsayımına dayanır [23]. Free Wilson analizinde biyolojik aktivite aşağıdaki formül ile hesaplanır.

$$\log 1/C = \sum a_i + \mu \quad (1.10)$$

a_i , biyolojik aktivite değerlerine X_i , substituentlerinin grup katkıları ve μ daha çok substitue olmamış analog olarak adlandırılan referans bileşiğin hesaplanmış biyolojik aktivite değeridir. Free Wilson analizi uygulama yapmak için daha kolaydır. Biyolojik aktiviteyi açıklamakta fizikokimyasal özelliklere ihtiyaç duymaz. Genel substituentlerin varlığı veya yokluğunu göstermek için 1 ya da 0 değerlerini kullanır. Başka bir deyişle, Free Wilson analizi Hansch analizinden daha sınırlıdır [18].

Free-Wilson analizi bir QSAR modeli ortaya çıkarmak için bileşiklerin kimyasal yapısının ve biyolojik aktivite değerlerinin bilinmesini gerektirir. Free-Wilson analizi için aşağıda verilen şartlar geçerlidir [24]. Bunlar;

1. Bileşiğe bağlı substituentin regresyon katsayısı değerlerini bulmak için bileşik kimyasal olarak modifiye edilir.
2. Farklı bir substituent bağlandığında yeni bileşen için tahminler yapılır
3. Molekülün üç boyutlu yapısını göz önüne almaz, substituenti tek noktada tayin eder bu nedenle istatistiksel sonuçlar için belirsizdir.

4. Çoğu serbestlik derecesi her substituenti açıklamada ihmal edilir.

Free-Wilson analizi, biyolojik aktivite için önemli olan fizikokimyasal özelliklerin farkını görmede sık sık kullanılır. Fujita ve Ban 1971 de Free-Wilson modelinin eksikliklerini gidermek için, aktivitenin logaritmasını kullanarak yeni bir eşitlik geliştirdiler. Bu eşitlik aşağıda verilmiştir.

$$\log A/ A_0 = \sum G_i X_i \quad (1.11)$$

A ve A₀ sıra ile substitue olmuş ve olmamış bileşiklerin aktivite değeri, G_i, i substituentinin aktivite katkısının logaritmasıdır ve X_i ise substituent bulunduğu 1, bulunmadığında 0 olan bir değerdir. Substituentlerin bir seti için eşitlik aşağıdaki şekli alır.

$$\log A = \sum G_i X_i + \mu \quad (1.12)$$

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

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

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

Bu avantajlar nedeni ile Fujita-Ban metodu Free-Wilson metodundan daha iyidir [28].

1.4.3. 2D-QSAR Analizi

2D-QSAR analizi kantitatif ilişkileri elde etmek için lineer regresyon tekniklerini kullanır. 2D-QSAR tekniklerinin çoğunun istatistiksel verileri şüphelidir. Ligand ve reseptör arasındaki başlangıç etkileşimi üzerinde durur. 2D-QSAR analizi 3D-QSAR kadar açık değildir. Genellikle yapı temelli farmakofor tanımlaması yapar ve reaksiyon bilgileri, yapısal özelliklerin tahmini ile kimyasal bilgiler üzerinde durur [24].

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

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

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

1.4.4. Yeni QSAR Metotları

1.4.4.1. Hologram QSAR (HQSAR)

Son yıllarda Tripos tarafından ortaya çıkarılan Hologram QSAR fragment bazlı bir QSAR yaklaşımıdır [25]. HQSAR, yapı-aktivite ilişkisini ortaya çıkarmak için kullanılan fizikokimyasal parametrelere ve üç boyutlu yapıya ihtiyaç duymayan yeni bir tekniktir. Bu metot biyolojik aktivite ve molekülün iki boyutlu yapısı arasındaki bağıntıyı temel alır [4].

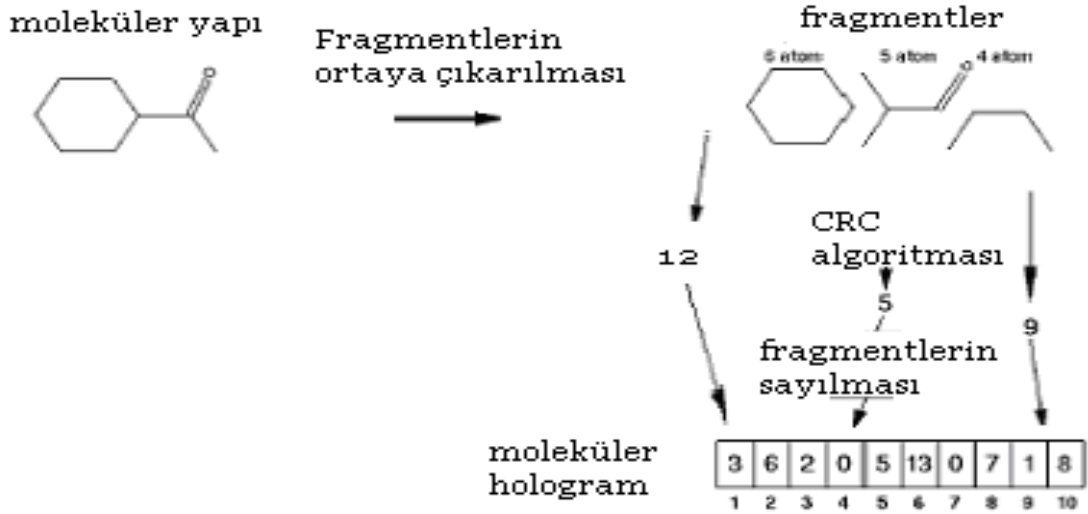
HQSAR da, seçilen bileşik serisindeki her bir molekül yapısal fragmentlerine ayrılır, daha sonra bu fragmentler Cyclic Redundancy Check (CRC) algoritması kullanılarak özel bir sayı olarak tayin edilir. Bu sayılar sabit uzunluktaki bir sayı dizisinde depolanarak düzenlenir. Burada elde edilen diziler moleküler hologram olarak bilinir ve moleküler hologram dizileri, tanımlayıcılar olarak kullanılır. Bu tanımlayıcılar moleküllerin kimyasal ve topolojik bilgilerini tahmin etmek için kullanılır. QSAR modeli PLS (Partial Least Square) regresyon tekniği kullanılarak geliştirilmiş ve Leave-

One-Out-Cross-Validation (LOOCV) tekniği kullanılarak geçerli kılınmıştır. Aktivite ile hologram dizileri arasındaki korelasyon, PLS ile elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak geçerli olmuştur.

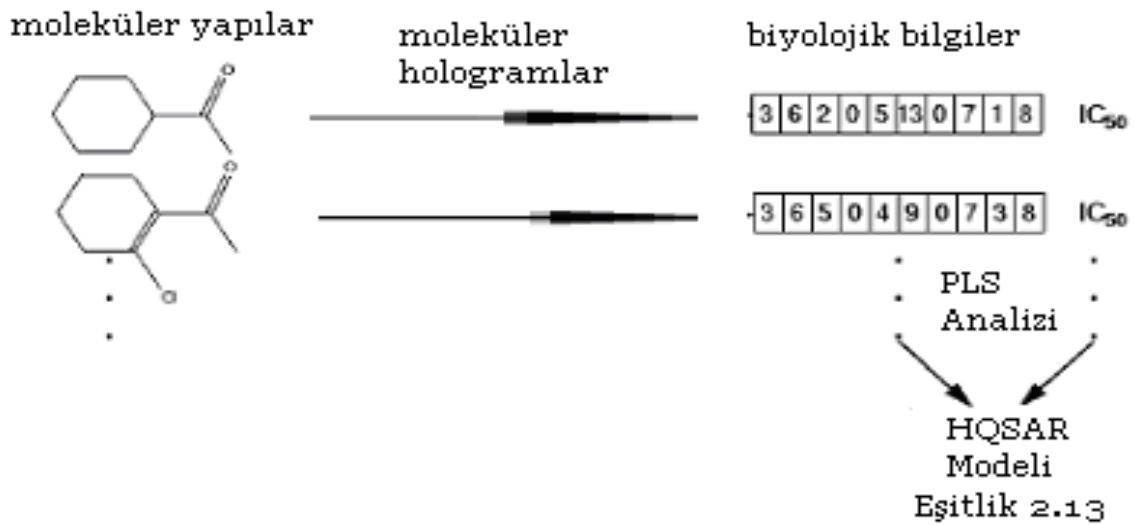
$$A_i = C \sum_{i=1}^L X_{il} C_{il} \quad (1.13)$$

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

Aşağıda verilen ilk şekilde moleküler hologramların ortaya çıkarılma proseduru ve ikinci şekilde ise bu hologramların kullanılarak aktiflik değerlerinin elde edilmesi gosterilmiştir [26].



(a)



(b)

Şekil 1.1. HQSAR' da hologramların ortaya çıkarılması ve bu hologramlardan aktivite değerinin elde edilmesi.

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

1.4.4.2. Inverse QSAR

Inverse QSAR Focus-2D olarak bilinen bu yaklaşım yapısal olarak benzer bileşiklerin benzer biyolojik aktiviteyi göstereceği hipotezi üzerinde durur [27]. Bu yaklaşım topolojik parametreler gibi çeşitli kimyasal yapı parametrelerini, olasılık araştırma algoritmalarını ve kimyasal benzerlik fonksiyonlarını kullanır.

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

1.4.4.3. Binary QSAR

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

Binary QSAR ise, çalışılan molekül serisinde aktif ve inaktif bileşikler için olasılık hesaplaması yapan ve biyolojik aktivitenin binary ifadesi (aktif=1 ve inaktif=0) ile bileşiklerin yapısal özelliklerini ilişkilendiren HTS analizini kullanan bir yaklaşımdır [28]. Bu metot biyolojik aktivite için gereken önemli yapısal bilgileri çıkarmada ve ilaç tasarımı için arşivlerin tasarımında yardım eder. Metodun daha ayrıntılı şekli Labute'nin [29] ve Gao'nun [29] makalelerinde yer almaktadır.

Bu QSAR modelinin performansı modelden tahmin edilen üç aşamanın belirlenmesi ile ölçülebilir. m_0 aktif bileşiklerin sayısı, m_1 inaktif bileşiklerin sayısı ve c_0 ve c_1 ise sıra ile model tarafından doğru olarak tahmin edilen aktif ve inaktif bileşiklerin sayısıdır. $100(c_0/m_0)$ aktif bileşiklerin yüzdesini ve $100(c_1/m_1)$ ise inaktif bileşiklerin yüzdesini ve $100(c_0+c_1)/(m_0+m_1)$ tüm bileşikler için ayrıntılı yüzdeyi verir.

Binary QSAR metodunun avantaj ve dezavantajları Labute tarafından makalesinde sunulmuştur. Bu metot HTS için bileşiklerin seçiminde ve kombinatoryal arşivlerinin tasarımında kullanışlıdır. Binary QSAR metodunun başlıca dezavantajı parametrelerin yorumlanmasında kolay olmamasıdır [30].

1.4.5. 3D-QSAR

C. Hansch grubu ve diğer araştırmacıların üzerinde durduğu QSAR yaklaşımları, biyolojik aktivite veya moleküldeki fiziksel ve yapısal değişimler ile yapısal parametreler arasındaki kantitatif ilişkileri gösterir. Bu metotlar, birçok ticari ilaç ve pestisitlerin geliştirilmesinde ve ilaç reseptör etkileşimlerinin aydınlatılmasında yardım eder. Bununla birlikte, bu metotlar bazı sınırlamalara sahiptir. En önemli sınırlama, yeni substituentler için sayısal parametrelerin bulunmamasıdır. Aktif Analog Yaklaşımı, Moleküler Şekil Analizi, Karşılaştırmalı Moleküler Alan Analizi (Comparative

Molecular Field Analysis (CoMFA)) gibi birçok 3D-QSAR modeli yaklaşımı 1980 lerde ortaya çıkmıştır. Birçok yeni metot 1990 larda geliştirilmiş ve bu alan son on yıl boyunca ilaç tasarımı için oldukça fazla gelişim göstermiştir [31].

Bilgisayar çalışmalarından önce bile kimyacılar incelenen bir molekül serisi içinde yapı aktivite ilişkilerinin nasıl olduğunu tahmin edebilirlerdi. Genellikle molekülün yapısındaki küçük değişiklikler aktivite değişimini fazla etkilemez. Benzer fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olan bileşikler benzer biyolojik aktiviteye sahiptir.

Bir bileşiğe biyolojik aktivite kazandıran molekülün üç boyutlu yapısı olduğu için 3D-QSAR, moleküldeki yapısal değişikliklerin biyolojik özelliklerin değişimlerini nasıl etkilediğini anlamamıza yardım eder. 3D-QSAR teknikleri yapı-aktivite ilişkilerini bilgisayar destekli olarak ortaya koyar. Hızı ve kesinliğinden dolayı 3D-QSAR metotları ile ligand-reseptör kompleks yapısı üzerindeki hesaplamalar yapılabilir. 3D QSAR teknikleri, incelenen molekül serisi dışındaki bileşiklerin aktifliğini veya inaktifliğinin tahmini için de kullanılır [31].

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

1. Konformasyonel analiz tekniklerini kullanarak minimum enerjili konformer seçilir.
2. İki atom arasındaki mesafe, halkalı sistemlerin optimizasyonu, donör-akseptör hidrojen bağı ya da yüklü fonksiyonel gruplar tanımlanır.
3. Aktif Küme (Perform Cluster Analysis)denilen sınıflandırma metotları ile Pharcophore (Pha) yapısını bulunduran bağlayıcı konformer seçilir. "Aktif Küme" Pha yapısı aktif bileşiklerin büyük sayısına ve inaktif bileşiklerin küçük sayısına sahiptir. Aktif kümede her bir yapının en düşük enerjili konformeri reseptör ile etkileşen konformer olarak alınır.
4. Biyolojik aktiviteye etki eden dipol momenti, polaritesi, nokta yükleri, moleküler elektrostatik potansiyeli, HOMO ve LUMO orbitalleri, şekil ve hacim gibi özellikleri belirlenir.
5. Önemli farmakofor özellikleri seçilir [32].

Biyolojik aktivite ile kimyasal bir serinin üç boyutlu özellikleri arasındaki bağıntıyı kullanan 3D-QSAR, son yıllarda QSAR metotlarının en dikkat çekenini olmuştur. Çünkü

aktivite hesabı için kimyasal yapıyı anlatan parametreler kullanılır. 3D-QSAR metodu, parametre tipine göre iki temel sınıfa ayrılır. Birincisi hacim bazlı (lattice-based, incelenecek bir bileşik bir hacim içine yerleştirilerek özelliklerinin araştırılması) ve ikincisi yüzey bazlı parametrelerdir. Hacim bazlı metot olarak, 3D-QSAR metodunda en çok kullanılan CoMFA'dır.

1.4.5.1. Karşılaştırmalı Moleküler Alan Analizi (CoMFA)

1979 da Cramer ve Milne molekülleri karşılaştırmak için uzayda molekülleri üst üste çakıştırarak üç boyutlu olarak incelemişlerdir. Bunu izleyen yıllarda bu yaklaşım CoMFA'nın ilk uygulamalı modeli şeklinde, DYLOMMS (dynamic lattice-oriented molecular modelling system) metot olarak geliştirilmiş olmasına rağmen bilim adamları tarafından yetersiz olarak gösterilmiştir. Bunun ardından Cramer çeşitli çalışmalarla bu modelini geliştirerek 1988 de CoMFA olarak adlandırdığı bu yeni metodu ortaya çıkarmıştır ve bu metot geniş çapta kullanım alanı bularak, QSAR ve ilaç tasarımı için kullanılan en güçlü yöntemlerden biri olmuştur. CoMFA molekülün özelliklerini (biyolojik aktivite dahil) molekülün yapısı ile ilişkilendiren istatistiksel (PLS, PCA) ve grafiksel bir modeldir [33]. Aktivitenin doğrudan sistemin yapısal özellikleri ile ilgili olduğunu kabul eden CoMFA metotları 3D yapı-aktivite ilişkilerini kantitatif anlamda açıklar. Bu amaçla ilk olarak analizde kullanılacak olan molekül seti seçilir. En önemli ön koşul, benzer yapıya sahip olan moleküller aynı tip reseptörle (iyon kanalları, enzim, proteinler, hormonlar vb. gibi) aynı şekilde etkileşmesi (ligand-reseptör etkileşimi) ile aynı bağlanma bölgelerini kullanması şartıdır. İkinci adım olarak, CoMFA modeli oluşturmak için moleküllerden bir alt grup eğitim seti (training set) seçilir. Geriye kalan moleküller test seti olarak düşünülür. Atomik yükler ve düşük enerjili konformasyonlar hesaplanır [33].

CoMFA' da kimyasal yapının düzenlenmesi önemli olduğundan bu modelde moleküller birbirini üzerinde çakıştırılır ve bu çakıştırma için yapısal benzerlik esas alınır. Çakışmış moleküller üç boyutlu bir yüzeye yerleştirilir. Sonra sterik ve elektrostatik alanlarda moleküllerin her yüzey noktasında bütün moleküller için bilgisayarla hesaplama yapılır. En küçük kareler metodu (PLS) kullanılarak sterik ve elektrostatik alanlardaki değişimler, biyolojik aktivitede ki değişimler ile ilişkilendirilir. PLS analizi genellikle parametrelerin (yapısal, konformasyonel, geometrik, elektronik ve termodinamik gibi

fizikokimyasal özellikler) sayısı kimyasal modellerin sayısından daha büyük olduğu zaman kullanılır. En küçük kareler analizi, basit doğrusal, çoklu regresyon modellerinin çözümlenmesinde kullanıldığı gibi, çok denklemlilikli ekonometrik modellerin çözümünde de kullanılan tekniklerden biridir [19]. PLS çözümünü üretmek için iki kritere başvurur. İlk önce yeni bir eleman çekmek için ölçütü, kolektif yapısal parametreler sütunlarının hepsi ile deneysel bilgiler arasındaki genelleştirmenin derecesini artırmaktır. İkinci adımda, bir PLS tekrarlanabilirliğinin değerlendirilme safhasında henüz meydana getirilmiş prensip unsurlarının kabulü için ölçüt, bağlı değişkenleri tahmin etmek için tahmin yeteneğindeki bir ilerlemedir. PLS’ de bir QSAR’ ın tahmin yeteneğine değer biçmek için kullanılan teknik “Cross-Validation” (CV) dır. CV tahmin performansına değer biçmek için en iyi yol, tahmin etmektir fikrine dayanır. PLS kullanımında bir gizli tehlike vardır; PLS’nin deneme set içindeki her ilişkiyi açıklayacağına garanti yoktur. CoMFA prosesinin bir sonucu olarak her bir tip CoMFA alanı için gösterilmiş iki tür çevre seviyesi olacak; en çok pozitif ve en çok negatif. Bu haritalar analizdeki bileşiklerin elektrostatik ve sterik özelliklerini açıklamakta kullanılır. Daha yüksek özellik değerlerine sahip olabilecek yeni bileşikleri önermeye yardımcı olan bu haritalar, bütün moleküller için ortak olan Pha’ı göstermezler [34].

CoMFA da, örgü noktalarının belirlenmesinin güçlüğü, sonuçların biyoaktif konformasyonun seçimine ve moleküllerin çakıştırılması kurallarına bağımlı olması gibi bazı temel problemlere rağmen, günümüzde metodun 3D-QSAR modelleri için oldukça kullanışlı bir araç olduğuna karar verilmiştir [35].

1.4.5.2. Aktif Analog Yaklaşımı

1979’da Marshall tarafından geliştirilen bu metodun temeli, benzer konformerler benzer aktiviteyi gösterir varsayımına dayanır. Bu metotta ilk olarak biyolojik olarak yüksek aktiviteye sahip bir bileşiğin konformerleri hesaplanır. Molekül serisindeki bütün bileşiklere bu işlem uygulandıktan sonra yüksek enerjili konformerler elimine edilir. Daha sonra aktif konformer belirlenir, moleküler hacim her bir molekül için hesaplanır ve moleküller üst üste çakıştırılır. Üst üste çakışmış konformerlerin belirli tolerans aralığında ortak olarak taşıdıkları aktif fragment Pha tanımlanır [36].

1.4.5.3. Moleküler Şekil Analizi (MSA)

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

- a) İlk olarak konformasyonel analiz yapılır.
- b) Çalışılan molekül serisindeki biyolojik olarak aktif konformer tanımlanır.
- c) Referans bileşik seçilir.
- d) Referans moleküle göre her bir bileşiğin üst üste karşılaştırılması gerçekleştirilir.
- e) Moleküler şekil parametreleri belirlenir.
- f) Diğer Hansch tipi parametreler belirlenir.
- g) MSA 3D-QSAR yapılandırılır.

Çakışmış hacim V_{ov} ve çakışmamış hacim V_{non} gibi moleküler parametreler moleküler şeklin kantitatif ölçümleri olarak hesaplanır. Bu 3D parametreleri Hansch analizinde kullanılan fizikokimyasal özellikler ile birlikte denenmiş 3D-QSAR modellerini ortaya çıkarmak için kullanılır [4].

1.4.5.4. Karşılaştırmalı Moleküler Şekil Analizi (CoMSIA)

Karşılaştırmalı Moleküler Şekil Analizi olarak adlandırılan ve Gerhard Klebe tarafından geliştirilen CoMSIA, CoMFA ile benzerlik gösterir. Fakat CoMFA' da Lennard-jones ve Coulomb potansiyeli kullanılırken CoMSIA, hidrojen bağı, hidrofobisite, elektrostatik ve sterik özellikleri tayin etmek için daha çok Gaussian fonksiyonunu kullanır [37]. Klasik CoMFA metoduna benzer olarak CoMSIA yaklaşımından elde edilen 3D-QSAR metodu aşağıda verilen üç basamakta özetlenebilir.

1. İlk olarak, incelenen bütün moleküller yapı bazlı ya da alan bazlı olarak karşılaştırılır.
2. Moleküllerin toplamını kapsayacak şekilde düzgün aralıklı ve dikdörtgen şekilli bir yüzey oluşturulmuştur. Bazı özelliklere sahip incelenen atom elektrostatik, sterik, hidrofobik, H-bağı verici veya alıcı özelliğini ölçmek için her örgü noktasına yerleştirilmiştir.

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

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

$$A_{F.K}^q(j) = - \sum_{i=1}^n \omega_{probe,k} \omega_{ik} e^{-\alpha r_{iq}^2} \quad (1.14)$$

i: incelenen j molekülünün bütün atomlarının toplam indeksi; ω_{ik} : k atomunun fizikokimyasal özelliğinin gerçek değeri; $\omega_{prob k}$: +1 yüklü, 1Å yarıçaplı, +1 hidrofobisiteye sahip, H-bağı donör ve akseptör özellikleri +1 olan prob atom; α : düzeltme faktörü; r_{iq} : incelenen molekülün i atomunun ve yüzey noktası q'daki prob atom arasındaki karşılıklı mesafe [38].

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

1.4.5.5. Karşılaştırmalı Moleküler Moment Analizi (CoMMA)

Karşılaştırmalı Moleküler Moment Analizi olarak adlandırılan CoMMA, ilaç-reseptör etkileşiminde molekülün şekli kadar onun kütle ve yük dağılımlarının da önemli olduğunu dikkate alan bir metottur ve CoMMA' da moleküllerin üst üste çakıştırılması işlemi yapılmaz [39].

1.4.6. 4D-QSAR

Hopfinger 1997 yılında 3D-QSAR modeline dördüncü boyutu kazandırdı ve 4D-QSAR analizi terimini ortaya çıkardı. Bu metodun CoMFA'dan başlıca farkı, konformasyonları

eşleştirme işlemi yaparak, biyolojik aktivite bilgileri ile moleküler yapıların bir setinden geliştirilen modelde hem moleküler konformerleri hem de moleküllerin üst üste çakışması incelemelerini birleştirmesidir. 4D-QSAR analizinin dördüncü boyutu eşleştirme ortalamasından kaynaklanır. Bu metoda göre, çoğu 3D-QSAR metotlarından farklı olarak, aktif konformasyon minimum enerjili konformer değildir. Sistematik konformasyonel araştırma yerine, konformasyonel eşleştirme özelliklerini belirlemek için MDS'yi kullanır. Minimum enerjili konformerin 2kcal/mol içinde olan tüm konformerleri çalışılan bileşik serisindeki her bir bileşiğin en aktif konformerleri olarak tanımlanır. Düşük enerjili konformerlerin bu serisi en iyi sonucu veren 3D-QSAR modellerinde ayrı ayrı hesaplanır. Moleküler çakışma problemi benzer örnekleme ve hesaplama tekniği ile çözülmüştür. Her bileşiğin konformerleri, CoMFA metodunda olduğu gibi, en iyi çakışmayı bulmak için daha önceden belirlenmiş dikdörtgen şekilli bir yüzeye yerleştirilir ve 3D parametreleri bilgisayarda hesaplanır, daha sonra PLS teknikleri kullanılarak biyolojik aktivite ile korelasyonu yapılır. 3D-QSAR modelleri PLS tekniği ile ortaya çıkarılmıştır. Bu metot en iyi çakışmayı sonuçlandırana kadar tekrar edilir. Aktif konformer, aktivite değerini en iyi veren, uygun 3D-QSAR modelinden seçilir. Bu metot 3D-QSAR modellerini geliştirmek için kullanılmıştır [32].

Vedani son yıllarda QUASAR olarak adlandırılan paket programda 4D-QSAR yaklaşımını ortaya çıkarmıştır. Vedani ve grubuna göre bu program, çok yönlü konformasyonların etkilerinin birleştirilmesi ile 4D-QSAR kavramlarını kullanır. Bu metod özellikle, ligandın reseptöre bağlanma serbest enerjisi tahmin edilirken, reseptör yapısı bilinmediği zamanlarda kullanışlıdır [40].

1.4.7. Moleküler Modelleme ve QSAR

Moleküler modelleme, bilgisayarlı kimya ve grafiksel tasarım teknikleri kullanılarak moleküler yapı ve özellikleri araştırmak için kullanılan bir tekniktir [41]. Moleküler modelleme yaklaşımları, bilgisayarlı analiz ve interaktif tasarım olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Modern moleküler modelleme yaklaşımlarından en önemli üçü, yapı analizi, homolog modelleme ve etkileşimdir. Aslında en iyi modelleme teknikleri, moleküler dinamik, moleküler mekanik ve kuantum mekanik olmak üzere üç temel sınıfa ayrılır [42]. Çoğu moleküler modelleme çalışmaları üç basamak içerir. İlk adımda moleküler içi ve moleküller arası etkileşimleri açıklamak için bir model seçilir.

Moleküler modellemede kullanılan en genel iki model QM ve MM hesaplamaları ile elde edilir. Bu modeller, hesaplanan sistemde moleküllerin ve atomların enerji düzenlemesine imkân tanır ve bu modeller atom ve moleküllerin pozisyonundaki değişimlerin sistemin enerjisini nasıl değiştirdiğini belirlemeyi sağlar. Moleküler modelleme çalışmalarının ikinci basamağında konformasyonel araştırma, Monte Carlo Simülasyonu veya moleküler dinamik hesaplaması yapılır. Son olarak hesaplama sonuçları analiz edilir. Sadece özellikler hesaplanmaz aynı zamanda modelin uygun bir biçimde gerçekleştirilmesini yapar. Kısaca moleküler modellemeye başlamak için üç ana metot kullanılır.

1. İlk olarak, özellikle bağ açısı ve bağ uzunlukları gibi geometrik özellikler yapılandırılır.
2. Molekül optimize edilerek uygun geometriye sahip olan fragmentler ortaya çıkarılır.
3. X-ışınları kristalografisi, nötron difraksiyonu veya NMR gibi fiziksel deney sonuçlarından elde edilen bilgiler kullanılarak yapılandırma işlemi yapılır.

Basit olarak moleküler modelleme ya moleküler ve biyolojik özellikleri tahmin eden ya da molekülleri ve moleküler sistemleri analiz edebilen, deneysel bilgilere ve teorik kimyasal metotlara dayanan bir bilgisayar tekniği olarak düşünülebilir. Geçerli mevcut teknikler biyolojik aktiviteden sorumlu olan hidrofobisite, atomun ve molekülün elektronik özellikleri, molekülün geometrisi gibi özellikleri açıklar. Bütün bu özellikler ilaç tasarımında yapı-aktivite ilişkisini anlamakta önemlidir. SYBYL, AMBER, DOCK, MODELER ve RasMol moleküler modellemede en çok kullanılan programlardır [43].

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

Günümüze kadar birçok matematik metodu QSAR eşitliği türetmek için kullanılmıştır. Bunlardan en yaygını lineer regresyon yöntemidir. Basit bir lineer regresyon yönteminde aşağıdaki eşitlik kullanılmaktadır [44].

$$y = mx + c \quad (1.15)$$

Eşitliğinde y bağımlı, x ise bağımsız değişkendir. QSAR veya QSPR modelinde y biyolojik aktiviteyi, x ise logP veya substitüent katsayısı gibi moleküler tanımlayıcı

temsil etmektedir. Burada amaç m değerini bulmaktır. c ise gerçek gözlemler ve eşitlik tarafından tahmin edilen değerler arasındaki farkın toplamına eşittir. c ve m değerlerini veren formül eşitlik 1.16'da sunulmuştur. Birden fazla bağımsız değişken kullanıldığı zaman çoklu regresyon yöntemi kullanılmaktadır.

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

$$c = \langle y \rangle - m \langle x \rangle \quad (1.16)$$

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

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

1.4.9. R^2 : Korelasyon katsayısının karesi

Basit ve çoklu lineer regresyon kalitesini ölçmede kullanılan bir yoldur. Aşağıdaki eşitliğin hesaplanması sonucu 0 ile 1 arasında değişen değerler alabilir. 0'a yakın olması kurulan modelin kötü, 1'e yakın olması ise kurulan modelin güzel çalıştığını göstermektedir. R^2 değerinin hesaplanmasında kullanılan eşitlikler aşağıda gösterilmektedir [44].

$$TSS = \sum_{i=1}^N (y_i - \langle y \rangle)^2 \quad (1.18)$$

$$ESS = \sum_{i=1}^N (y_{hes.,i} - \langle y \rangle)^2 \quad (1.19)$$

$$RSS = \sum_{i=1}^N (y_i - y_{hes.,i})^2 \quad (1.20)$$

$$TSS = ESS + RSS \quad (1.21)$$

$$R^2 = \frac{ESS}{TSS} \equiv \frac{TSS - RSS}{TSS} \equiv 1 - \frac{RSS}{TSS} \quad (1.22)$$

1.4.10. Cross Validation

Cross Validation (CV) R^2 nin yalnız kullanıldığı durumlarda bazı problemlerin üstesinden gelmek için kullanılan bir metottur. Bazı verileri hesap dışı bırakarak geriye kalan verilerde QSAR modeli kurma temeline dayanır ve en basit cross validation ise Leave One Out (LOO) yaklaşımıdır (sadece bir veri dışarıda bırakılır). Bu prosesi her değer için tekrarlatma işlemi ile R^2 den daha doğru sonuç vermektedir ve Q^2 (q^2) ismini almaktadır [45]. Q^2 değerlerini bulmak için eşitlik 1.23 kullanılmaktadır [44].

$$Q^2 = 1 - \frac{PRESS}{\sum_{i=1}^N (y_i - \langle y \rangle)^2}; \quad PRESS = \sum_{i=1}^N (y_i - y_{hes.,i})^2 \quad (1.23)$$

1.4.11. Reseptör ile İlaç Molekülün Etkileşim Mekanizması

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

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

Molekülün hangi tür özelliklerinin biyolojik aktivite formülünde kullanılacağı belirli olmadığından incelenecek girdilerin kesinliği azdır. Birçok QSAR yaklaşımında, moleküler modelleme metodu bilgisayar hesaplamalarında kullanıldı (topolojik indisler, moleküler grafikler kartezyen koordinatlar atomik yükler bağ mertebesi bağ uzunlukları gibi). Molekülü tanımlayan bu metotlar genellikle biyolojik aktiviteyi doğru şekilde tahmin edecek kadar etkili değildirler. Tanımlama biçiminin parametreleri genellikle fiziksel ve kimyasal değişkenlere ve özelliklere gereksinim duyarlar. Örneğin daha etkili bir çözüm için molekülün etkin konformerleri 4D-QSAR olarak bir arada kullanılmıştır. Bu yüzden parametreleri kimyacılar geçmiş deneyimlerine dayanarak doğrudan kullanamazlar ve direkt olarak yeni bileşiklere uygulayamazlar. Bilgisayar hesaplamalarıyla QSAR’ da çözüm üretmek bu yüzden anlamlı ve temel gereksinimdir. QSAR metotlarının ana problemi doğru ve yeterli parametreleri bularak genel ve hassas biyolojik aktivite tahmininde bulunmasındaki zorluğudur.

1.4.12. Farmakofor Kavramı

İlaç etkisinden sorumlu olduğu düşünülen moleküllerin tek özelliklerinin bir seti, Pha, deneme setinde sadece aktif moleküllerde olan ve verilen bir geometrik düzenlemedeki atom veya atomik grupların bir seti olarak tanımlanır. Başka bir tanımlama ise, verilen bir bileşik serisinde ilgilenilen biyoaktiviteyi temsil eden verilen, bir geometrik düzenlemedeki bir grup özel atom olarak tanımlanır. Farmakofor kavramı yapı aktivite ilişkilerinde olduğu gibi ilaç tasarımı ve toksikolojide de çok yararlı olduğunu kanıtlamıştır. Pha’ yı tanımlamak biyoaktivitenin var ya da yok olduğunun tahmin edilebileceği anlamına gelir. Bu şekilde herhangi bir kantitatif aktivite belirtisi olmaksızın aktivitenin kalitatif tahmini için Pha bir belirleyicidir. Aktivitenin böylesine kuramsal bir ölçümü pratik kullanım için yetersizdir. Bu probleme ilk yaklaşım olarak

faydalı olabilir. Bununla birlikte, bu alandaki son çalışmalar bu farmakofor tanımının oldukça kaba ve makul bir aktivite tahmini için yetersiz olduğunu göstermektedir. I.B.Bersuker EC Metodunda Pha tanımı için üç önemli özellik belirtilmiştir [46].

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

Pha' nın olmasına rağmen aktivite Pha dışındaki gruplar tarafından aktiviteyi azaltan (anti pharcophore shielding; APS) ve artıran (auxiliary group; AG) fonksiyonel gruplar göz önüne alınmalıdır. Bu gruplar, Pha' nın reseptör ile uygun etkileşimini engelleyen APS veya sağlayan AG gruplarıdır.

1.4.13. Farmakofor Tanımlama Metotları

Aktif ve inaktif bileşikleri yapısal olarak tanımlamak için kullanılan Pha tanımlama metotlarından birisi, aktif-benzeşim yaklaşımıdır. Başlangıçta Marshall tarafından sunuldu [47]. Aktif- benzeşim yaklaşımı iki adımdan oluşur. İlk adımda bir grup aktif bileşikten oluşan deneme setindeki farklı fonksiyonel grupların ilaç-reseptör tanınmasında önemli etkisine bakılır. Bunun için bulunan bilgi, bir grup ilacın bağlanmadan sorumlu olan reseptördeki fonksiyonel grupların doğası hakkında biraz bilgi verebilir. Pha tespiti için konformer analizinin kullanımının basitleştirilmiş hali Consentino tarafından ele alınmıştır [48]. İkinci adımda ya farklı ve aynı serideki fonksiyonel grupların arasında ya da reseptör içinde varlığı kabul edilen noktalarla tanımlanmış bağlanma noktaları arasındaki benzerlik düşünülerek bir hipotez ileri sürülür. Temel olarak, aktif-benzeşim yaklaşımı işleyişi aşağıdaki gibidir;

Pha atomları arasındaki mesafe izinli konformerlerin her birisi için sistematik olarak kaydedilir. Bu yolla, istenilen şartları taşımayan ve bir Pha modelinin yapısı için alakalı olmayan konformerler, işleyişin ilk adımlarında çıkartılır. Oluşum entalpisindeki büyüklükten dolayı Boltzmann dağılımına göre bu konformerlerin sayıları azalacaktır.

Bu yüzden az nüfuzdaki konformerler elimine edilebilir. Bütün aktif moleküller tarafından başarılabilen atomlar arası mesafeler grubu var olması muhtemel olan Pha geometrisini temsil eder. Birincide öncü bir Pha modeli aktif-benzeşim yaklaşımı kullanılarak belirlenir, bir saflaştırma genellikle GA ile yapılır.

Fonksiyonel atomları çoklukla birbiri üzerinde çakıştırılan konformerler kullanılarak onların belirli tolerans aralığı ile ortak olarak taşıdıkları aktif fragment Pha tanımlanabilir. Bu işleyiş analiz için düşünülen bütün ligandlara bir geçiş sınırı tanımlayabilen genel bir duruş ve pozisyon meydana getirebilir. Bu yaklaşım biyolojik sorumluluğun farkını göstermek mümkündür. Aynı yolla mesela enzim inhibitörleri için aktif veya inaktif veya proteinler için agonist veya antagonist aktivite açıklanabilir.

Aktif moleküller bulunması mümkün olan konformerlerinden birisi ile süperimpoz yapılır, böylelikle birbirinin yerini tutan önemli grup (örneğin Pha) çakışır. Molekülleri süperimpoz etmekle aynı ortak iskelet üzerinde çakıştırma yapılır böylece ligandlar reseptörle ortak ve aynı taraftan etkileştirilmiş olur. Pha etrafındaki atomlar da ortak olarak yönlendirilerek tüm konformerler için sınıflandırılır ve süperimpoz tamamlanmış olur. Aktif-benzeşim yaklaşımı esas alınarak konformerler sınıflandırılmış ve etkili bileşikler bilindiğinde ve birisi bu bileşikleri daha esnek moleküllerin süperimpozu için şablon olarak ele alabildiğinde kullanılabilir. Düşünülebilen uzayı araştırmak ve sonra geriye ve/veya uzaklık kriterine dayanan saptanmış konformerleri analiz etmek için kullanışlı olarak tanıtılır.

Bu yaklaşım yeterince homolog olan bileşikleri içerir, bu yüzden süperpozisyon tanımsız veya anlamsız değildir. Süperpozisyon aktivitede etkili olan Pha grubu ve onunla beraber fonksiyonel özelliğe sahip AG ve APS'den oluşan biyoaktif yapının kendisidir. Burada enerji faktörleri göz önüne alınarak konformerlerin taşıdıkları Pha, AG ve APS ile ilgili henüz hiçbir hesaplama yapılmadığından, süperpozisyondaki kararlar henüz niteldir (aktif/inaktif), nicel değildir. Aktivitenin nicel değerleri öngörülen Pha'a bağlı olarak GA ile belirlenmiş AG ve APS gruplarına ait reseptör üzerindeki katsayıların hesaplanmasıyla belirlenir. Biyoyapıyı haritalandırmak için birçok yeni yaklaşımlar potansiyel reseptör etkileşim bölgelerinin davranışını ve hesaplama fikrini tekniklerinin ana özelliklerinden birisi olarak içerirler. Bunlara örnek olarak, DISCO (Distance Comparison) isimli bir program Martin ve ortak çalışanları

tarafından geliştirildi [49]. Program yapısal olarak farklı olan bileşikler için süperpozisyon kurallarını söyleme yeteneğine sahiptir. Bir bileşiğin birçok düşük enerjili konformerlerini ve noktalarını bulmakta faydalı olabilir. Prosesin ilk adımı ilgilenilen biyolojik hedef için iyi etki gösterecek temsili bileşiklerin bir grubunu seçmektir. Daha sonra her bir bileşik için bir grup düşük enerjili temsili konformerler bulmakta bir konformasyonel analiz işletilir. Her bir bileşik için bütün potansiyel farmakoforik unsurlar hesaplanır. Bu unsurlar kullanıcı tarafından kontrol edilebilen bir altyapı araştırma dili olarak algılanır. Tipik olarak araştırmacı her bileşiğin hidrojen bağı yapabilen bölgeleri, hidrojen bağı yapamayan bölgeleri, hidrofobik bölgeleri ve diğer kilit atomları potansiyel farmakoforik bölgeler gibi kullanır. DISCO' nun önemli bir özelliği hidrojen bağı yapabilen ve hidrojen bağı yapamayan bölgelerin hesaplanmasıdır. Bu noktalar bileşikteki ilgilenilen atomlardan otomatik olarak hesaplanır ve biyolojik hedef ile etkileşimin kabul edilen (varsayılan) bölgelerini gösterirler. Sonunda, bir referans bileşiği (genellikle en az konformerli birisi) kullanıcı tarafından seçilir.

Hazır bir ticari moleküler modelleme programında bütünleştirilmiş bir ilave farmakofor haritalandırma stratejisi ChemX programının içerisinde kullanıma hazırdır. Yaklaşım aşına bir farmakofor tanımı prosesini takip eder. İlk önce, veri set için düşük enerjili konformerleri belirlemek için bir konformasyonel analiz yapılır. Sıradaki adım ise hidrojen bağı yapabilen bölgeler, hidrojen bağı yapamayan bölgeler, pozitif yüklenmiş atomlar ve aromatik halka merkezleri olan potansiyel Pha noktalarının otomatik görevlendirilmesidir. Bu proses sırasında, bu noktaların çiftleri (mesafe anahtarı) ile sayısal bilgiler, tipler ve noktalar arası ilişkiler arasındaki mesafeler depolanır (formül anahtarı). Önerilmiş Pha' lar mümkün olan üç veya dört noktalı Pha' lar için mesafe ve formül anahtarlarının araştırılmasıyla tanımlanır. Daha sonra her bileşiğin en az bir konformerinin bu Pha' larla karşılaştırılmasıyla onaylanmalıdır. ChemX' in Pha haritalandırma fonksiyonu geçmişte sekiz serotonin reseptör antagonistlerinin bir grubu için bir Pha haritasının çıkarılmasında kullanıldı [50].

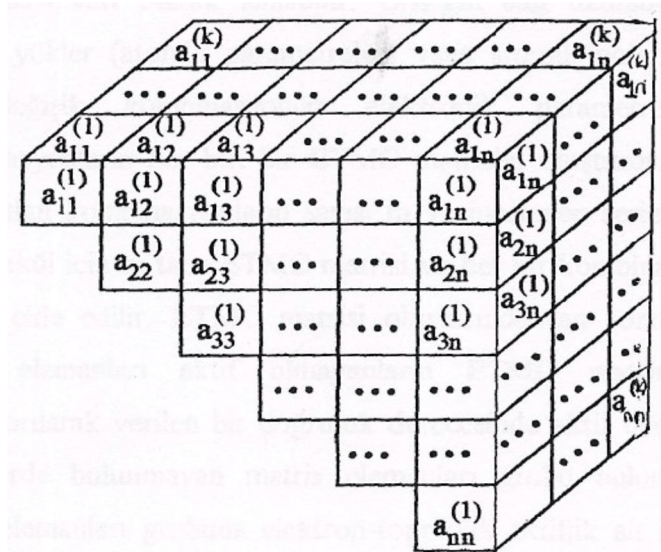
1.4.14. Elektron Topolojik Matrise Dayalı Elektron Topolojik Metot

Bu tezin başlangıç noktası olarak sunulan, Pha tanımlama metotlarından bir tanesi de Elektron Topolojik (ET) metot yaklaşımıdır [51,52]. Bu yaklaşımda, bir molekülün

geometrik ve elektronik özellikleri Elektron Topolojik Matris (ETM) denilen bir matris içinde tanımlanır. Her bir molekül için, bir ETM tarafından temsil edilir. ETM'in diyagonal elemanları atomun bir elektronik değeri ve nondiyagonal elemanları ise geometrik olarak atomlar arası mesafe veya uzunluk değeridir. Kimyasal olarak bağ yapmış olan iki atom için bağa ait (bağ sırası, Wieberg indisi, bağ enerjisi vb.) bilgileri veya bağ yapmamışlar için mesafe bilgileridir.

Bir seride aktif bileşikler için matrisler daha sonra, inaktif bileşiklerde bulunmayan ortak özellikleri bulmak için karşılaştırılırlar. Bu ortak özellikler aktivitenin elektron topolojik alt matrisinden çıkan Pha ile temsil edilir. Pha'nın sonuçlarının incelenen aktiviteyi temsil ettiği öne sürülür.

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



Şekil 1.2. Üç Boyutlu Elektron-Topolojik Matris.

Şekil 1.2' de görüldüğü gibi her bir molekülün Elektron-Topolojik Uygunluk Matrisi (ETM) ya da üç boyutlu ETM (3D-ETM) matrisi hazırlanır. ETM matrisinin her biri köşegen elemanlarına ($a^{*}a$) göre simetrik olduğundan şekilde sadece matrisin üst yarısı gösterilmiştir. Moleküldeki atom sayısı n ise bağımsız elemanların toplam sayısı $n(n+1)/2$ ' dir. 3D-ETM matrisinde ETM matrisinin sayısı (m) elektronik parametrelerin

seçimine bağlıdır. Molekülün elektronik özelliklerini tanımlayan atomik yükler valens aktiviteleri polarize edilebilirlik ve HOMO-LUMO enerjileri gibi atomik parametreler köşegen elemanları a^i ($i=1, 2, 3, \dots, n$, ve $k=1, 2, 3, \dots, m$) olarak seçilir. Köşegen dışı elemanlar (a^{ik}) çeşittir, a. Eğer i ve j birbirine kimyasal bağ ile bağlı iki komşu atomu gösteriyor ise a^{ij} , polarize edilebilirlik, bağ mertebesi (Wiberg indeks) ve bağ enerjisi (toplam kovalentiyonik) gibi i - j bağının elektronik parametrelerinden birisi olabilir. b. i ve j birbirine kimyasal bağ ile bağlı olmayan atomları gösterir ise, o zaman a_{ij}/R_{ji} atomlar arası uzaklığı gösterir. Böylece her matris hem elektronik (a_{ij}) hem de geometrik parametreyi (R_{ij}) içerir.

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

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

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

karşılaştırılması ile aktivite ETSA parametrelerinin bir fonksiyonu olarak ifade edilir. Birçok problem bu metodun en basit versiyonu ile çözülmüştür. Bu basit versiyon bir bütün halinde bu yaklaşımın ana özelliklerinin faydasını şu uygulamalarla açıklamıştır; misk kokusunun çıkışı [53,54], sarımsak aktivitesi [55,56], et kokusu [57,58], thymidinefosforilasininhibe aktivitesi [59,60], bitki büyüme düzenleyicisi aktivitesi [61], dibenzo [a,d] sikloalkeniminlerin bir serisinin yapı-antagonist aktivitesi [62], glikolik asit oksidaz'ın inhibe aktivitesi [63], sandal ağacı kokusu [64], kehribar kokusu [65] ve benzerleri.

Bu çalışmaların çoğunluğunda ana hedef, bileşiklerin incelenen bir serisinde aktivitede rol aldıkları zannedilen, düzenlenmiş geometride verilen spesifik atomların bir grubu olarak tanımlanan Pha' yı açıklamaktır. Pha' nın yerini tayin etmek biyoaktivitenin varlığını veya yokluğunu tanımlayabilme yeteneği demektir. Bu şekilde Pha bir araç olarak hiçbir nicel büyüklük bildirmeden aktivitenin nitel (evet/hayır) tahmini için bilgi sağlar. Aktivitenin böyle bir saf nitel ölçümü pratikte kullanım için etkin olmayabilir. Mesela, eğer Pha mevcutsa fakat aktivite küçük ise bileşik deneysel olarak inaktif olarak sınıflandırılır. Pha kavramının değeri, eğer aktivite tahmininin nicel bir ölçüsü ile tanımlanırsa veya en azından büyüklük sırasına dizilirse anlamlı bir şekilde artar.

1.5. Alzheimer Hastalığı Nedir?

Günlük yaşam işlevlerinin sürdürülmesini engelleyen ilerleyici bir beyin hastalığı olan, bellek kaybı, günlük yaşamın gereksinimlerini yerine getirmede zorlanma; algılamada, toplumsal davranışların düzenlenmesinde ve duygusal tepkilerin kontrolünde bozulma gibi sık karşılaşılan belirtilerle tanımlanan demans özellikle yaşlı popülasyonda görülen, geri dönüşümsüz ve ilerleyici bir durumdur. Kesin bir tedavisi olmayan demansın bir çok çeşidi arasında, Alzheimer hastalığı (*Alzheimer's Disease, AD*), % 50-60 sıklıkla en sık görülen tipidir [66-67]. Görülme sıklığı da, yaşla doğru orantılı olarak artmaktadır. İlk defa 1907 yılında ALOIS ALZHEIMER adında bir Alman doktor tarafından tanımlanan Alzheimer hastalığı; hafıza, konuşma, yön bulma, insanları tanıma, problem çözme gibi çeşitli zihinsel işlevlerin zamanla zayıfladığı, günlük işleri yerine getirme yeteneklerinin azaldığı ve davranış bozukluklarının görülebildiği ilerleyici bir beyin hastalığıdır [68-69]. Kronik bir hastalık olması nedeniyle uzun bir tedavi süresi olan ve mali yükü artıran Alzheimer hastalığı, kalp hastalıkları ve kanserden sonra tedavi

maliyeti en yüksek hastalıklardan birisidir. Özellikle gelişmiş ülkelerde, yaşam standartlarının yükselmesi ve sağlık hizmetlerinin gelişmesine bağlı olarak yaşlı nüfusun artmasından dolayı, Alzheimer hastalığı çağımızın önemli hastalıkları arasına girmiştir. Bugün dünyada 20 milyona yakın insanın Alzheimer hastalığına yakalandığı tahmin edilmektedir. Nörodejeneratif bir hastalık olan Alzheimer hastalığının görülme sıklığı, yaş ile orantılı olarak artmaktadır. 65–70 yaşlar arası % 1.5 iken, 85 yaş sonrasında % 6'ya kadar artmaktadır [70–71]. Devlet İstatistik Enstitüsü'nün (DİE) rakamlarına göre; Türkiye'de yaklaşık 250.000 Alzheimer vakası bulunmaktadır.

1.5.1. Alzheimer Hastalığının Nedenleri

Alzheimer hastalığının nedenlerinden birisinin beyinde nörofibriler dejenerasyon sonucu meydana gelen ve 1889 yılında BELJAHOW tarafından saptanıp “senil plak” olarak adlandırılan oluşumlar olduğu düşünülmektedir [72]. Amiloid, dejenere nöron ve reaktif glia hücrelerinden teşekkül eden heterojen yapılar olan senil plaklar, erken yaştaki Down sendromlu hastalarda veya normal yaşlanmada da görülebilmektedir. Ancak Alzheimer hastalığında sayıları aşırı derecede artmaktadır.

Ayrıca bulunan apolipoprotein E (E₄ alleli) de, hastalığın oluşum mekanizmalarından biri olarak gösterilmektedir [73,74]. Başlıca karaciğer tarafından sentezlenen bir plazma proteini olan apolipoprotein E, diğer proteinlerden farklı olarak merkezi sinir sisteminde astrositler, Schwann hücreleri ve oligodendrositler tarafından da sentezlenir ve beyinde lipaz aktivitesini bozarak yaşlanmaya maruz beyin bölgelerinde kolesterol ve lipit seviyesini değiştirebilir [75]. Alzheimer hastalığında neokorteks incelendiğinde; presnaptik terminal dansitesinde % 45 azalma ve frontal, temporal bölgelerde kortekste apolipoprotein E'ye bağlı olarak önemli ölçüde sinaptik kayıp olduğu tespit edilmiştir [76].

Tau protein, aksonların mikrotübül yapısında bulunur ve Santral Sinir Sistemi (SSS)'nin dejeneratif hastalıklarında Beyin Omurilik Sıvısı (BOS)'na salınır. Bu nedenle BOS Tau düzeyinin, bazı hastalıkların tanısı ve aksonal hasarın şiddetinin belirlenmesinde bir belirteç olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Alzheimer Hastalığı 'nda oluşan temel patolojilerden biri, ana bileşeni Tau proteini olan Nörofibriller Yumak (Nörofibriller Tangle) diye bilinen intranöronal birikimlerdir.

Ancak hücre içi birikimlerde bulunan Tau, mikrotübüle bağlı bulunandan farklı olarak hiperfosforile şekildedir. Bu birikimlerin, hücrenin temel iskeletini bozarak önce aksonal iletinin bozulması na, sonra da hücrenin ölümüne neden olduğu düşünülür. Nöron ölümü eşik değeri aştığında kognisyon ve özellikle bellek sorunları klinik olarak saptanır hale gelmektedir. Alzheimer Hastaltğı 'nda BOS' ta total Tau ve fosforile Tau düzeyleri belirgin olarak yüksektir, ancak fosforile Tau'daki artış daha spesifktir. BOS total Tau düzeyinin, Alzheimer Hastalığının gelişimini izlemek ve diğer tip demanslardan ayırt etmek için de kullanılabilceğı anlaşılmıştır. Demansa dönüşme potansiyeli olan ılımlı kognitif etkilenmesi olanlarda da tau artışı saptanmıştır [77].

1.5.2. Alzheimer Hastalığının Tedavisi

Nöronlar içerisinde nörofibriler yumakların birikimi, büyük bir ihtimalle AH'deki hücre ölümünden sorumludur. Nörofibriler yumaklar Tau proteininden yapılmışlardır ve eğer yüksek oranda fosforilasyona uğramaları halinde normal koşullarda bağlanmaları gereken mikrotübüllere bağlanamazlar. Serbest kalan Tau kendi kendine agregasyona uğrar ve çift sarmallar "paired helical filaments" (PHF) oluşturur. Tau proteinin fosforilizasyonu kinaz ve fosfataz enzimlerinin arasındaki dengeye bağlıdır. Kinazların inhibisyonu veya fosfatazların etkisinin artırılması PHF oluşumunu azaltır. Buna yönelik geliştirilmiş bir ilaç yoktur.

2. BÖLÜM

GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. QSAR Yöntemi Olarak MCET Metodu

Spartan'08 programında molekül iskeletlerinin çizilir ve iskelet dinamizmine göre en düşük enerji hallerin minimize edilir. MMFF metoduyla tek bağlar etrafındaki dönme ve onlar arasındaki açı yüzünden ortaya çıkan uygun konformer yapıları belirlenir. Çok yüksek enerjili konformerlerin bertaraf edilmesi ve etkili olan konformerlerin ele alınması için önce Semi-empirik AM1 metoduyla kuantum kimya hesaplamaları yapılır. Daha sonra konformerlerin kuantum kimya hesaplamalarının Hartree-Fock 3-21G metoduyla hesaplanması tekrarlanır. Düşük enerjili olan konformerler seçilir (örneğin göreceli entalpi değeri 1 kcal'den büyük olanlar silinerek molekül nüfusunun % 85' i inceleme altında tutulur). Molekülün geri kalan konformerlerine "align" yapılarak birbirinin aynı yapısında olanları yine silinerek konformer seçimleri tamamlanır. Sonra her bir konformore ait *.txt uzantılı dosyalar kaydedilir ve ETM programıyla ETM matrislerine dönüştürülür. ETM matrislerini kullanarak referans molekül konformeri ile tüm konformerlerin çakışan atom gruplarını içeren birçok kombinasyonla Farmakofor (Pha) yapı üretilir, Pha'ı taşıyan konformerlerin Pha atomları align yapılır. Karınca Yürüyüşü Algoritması ile Pha yapısı tüm konformerlerde karşılaştırılarak ele alınır. GA kullanılmasıyla Pha etrafındaki (AG ve APS) grupların pozisyonları belirlenir. Bu pozisyonlar ile sınıflandırılmış bütün atomlar çalıştırılır ve onlardan bağımsız değişken olanlar maksimum düzeyde seçilir. Newton-Raphson yöntemine göre reseptörün etkileşim bölgelerinin κ -ayarlanabilir katsayıları öngörülür. En küçük Kareler Yöntemi ile en uygun κ -lar belirlenir. Birini dışarıda bırakarak çapraz doğrulama (Leave One Out Cross-Validation; LOOCV) ile eğitim setinde model oluşturulur. Böylece LOO çok sayıda denklem oluşturarak her bir molekülün aktivitesi diğerleri üzerinden hesaplanır ve eğitim setinde model kurulur. Bu modelin sağlıklı olduğu test setinde doğrulanır.

MCET programı ile elde edilen sonuçlar istatistik hesaplamalarda değerlendirilerek 4D-QSAR incelemeleri tamamlanır.

MCET programında moleküllerin konformasyonları dikkate alınarak her bir konformere ait elektronik özellikler yine ETM matrisinde verilmiştir. Matrislerin karşılaştırılmasıyla aktiviteden sorumlu Pha'yı bulduran etkin konformeler ve Pha'a bağımlı olarak aktivitede rol alan AG ve APS grupları belirlenir. Bu gruplar, Pha'a göre torsiyon açılar, açılar ve uzaklıklar ile yönlendirilmiş pozisyonlarda sınıflandırılır. Ligandlar aynı bir reseptör ile bu gruplar üzerinden etkileşerek aktiviteyi ortaya çıkarır. Bu gruplara karşılıklı gelen noktalarda reseptör tarafındaki noktaların etkin katsayı κ -değerleri istatistik sonuçlara dayandırılarak bulunur. Böylece bu karakteristik özellikler, Pha'ın yanında aktivitenin değerine etki eder ve onun nicel olarak incelenmesine imkan sağlar. MCET programı ile elde edilen sonuçlar istatistik hesaplamalarda değerlendirilerek çoklu konformerlerin kullanıldığı demek olan 4D-QSAR incelemeleri tamamlanır. Reseptörün moleküllerle olan etkileşim mekanizması bu programın sunduğu 4D-QSAR sonuçlarından sağlanır ve onun yapısı hakkında ön bilgiler elde edilir.

QSAR teknikeri olan Güzel, Y. tarafından geliştirilen MCET metodunun Bersuker ve arkadaşları tarafından geliştirilen EC metottan en önemli farklılıkları; 1) hesaplamaların tamamı serideki bir kısım moleküllere göre değil tümüne birden uygulanması 2) Pha yapısı öngörüldükten sonra onun atomları "align" yapılarak geri kalan tüm atomların koordinat değerlerinin düzenlenmesi 3) hesaplamalarda ligandın reseptör ile etkileştiği noktaların atomik özellik olarak (örneğin; yük, HOMO/LUMO'daki katsayılar, İnteraksiyon İndeks gibi) ele alınması diğer değişkenlerin (bağ uzunluğu, açı, enerji gibi) parametre olarak alınması 4) hesaplamaların otomatik ve eş zamanlı olarak yapılması söylenebilir.

Bu yaklaşımda da molekül konformerlerinin üç boyutlu elektronik topolojik özellikleriyle ETM dosyası hazırlanmıştır. ETM matrisleri atom sırası dikkate alınmadan hazırlandığında tek başlarına stereo yapıyı göstermezler. Bunun için üç parametre (mesafe, açı ve torsiyon açısı) kullanılarak ETM matristen belirlenen Pha atomlarının stereo yapısı ayrıca kontrol edilmiştir. Konformerlerin ETM dosyalarını karşılaştırarak Pha'nın bulunmasında "karınca yürüyüşü" algoritması kullanılmış moleküldeki atomların koordinat değerleri Pha atomlarının "align" yapılması sonucu

yeniden düzenlenmiştir. Bu düzenleme Pha etrafındaki tüm atomların uygun pozisyonlarda sınıflandırılması için yine mesafe, açı ve torsiyon açısı belirlenmiş toleranslar ile kullanılmıştır. Pozisyonlar olarak ayırt edilmiş bir yığın gruplar içinde reseptörle etkileşimde rol alan ve etkin olan parametreleri belirlemek üzere “Genetik Algoritma” (GA) yapılmıştır. Ligandın AG veya APS fonksiyonel gruplarının reseptördeki karşılığı olan κ katsayıları Newton-Raphson yaklaşımına ve en küçük kareler yöntemine göre hesaplanmıştır. Moleküllerin etkin konformeri Boltzmann dağılımına göre modelde hesaba katılmış ve 4D-QSAR analizi gerçekleştirilmiştir.

2.1.1. Elektron Topolojik Metot

Yapı temelli farmakofor tanımlama metotlarından birisi de A.S. Dimoglo ve çalışma arkadaşları tarafından geliştirilen elektron topolojik metottur [78]. ET metotta moleküler mekanik yöntemle bileşiklerin Z matrisini çıkartılmaktadır. Eski bir yöntem olan CNDO yöntemiyle elektronik ve geometrik hesaplamalar yapmaktadır. Bu metotta molekülün kuantum kimyasal hesaplamalardan elde edilen geometrik ve elektronik özellikleri elektron topolojik uygunluk matrisi (ETMC) denilen bir matris ile temsil edilir [62] ve her molekülün konformasyonel analiz ile seçilen tek bir konformeri için ETMC oluşturulur. ETMC, diyagonal elemanlarını atomik yük, polarlanabilirlik, HOMO-LUMO enerjisi gibi elektronik parametrelerin oluşturduğu bir matristir. Köşegen olmayan elemanlar, kimyasal olarak bağlı atomlar için bağ ile ilgili özellikleri (bağ derecesi, Wiberg indeksi, bağ enerjisi gibi) özellikleri ifade eder. ET metot, başlangıç olarak bileşikleri aktif ya da inaktif olarak sınıflandırır. ET metotta aktivite kantitatif olarak biliniyorsa incelenen seri belli bir aktivite değerinden itibaren ikiye bölünür. Bu değer üstündekiler aktif altındakiler inaktif olarak kabul edilir. Daha sonra aktiflerde bulunan ama inaktiflerde aynı kombinasyonda bulunmayan ortak özellikleri bulmak için aktif bileşiklerin matrisleri karşılaştırılır. Belirlenen ortak matris elemanlarına elektron-topolojik alt matris (ETSA) denir ve aktiviteden sorumludur. Bu metottaki temel amaç, belirli bir biyolojik aktiviteden sorumlu farmakofor grubu ortaya çıkarmaktır. Farmakoforun tespit edilmesi, biyoaktivitenin var ya da yok olduğunun belirlenmesi demektir. Bu şekilde farmakofor, herhangi bir nicel belirleme olmaksızın aktivitenin nitel olarak tahmin edilmesine (var, yok) imkân sağlar. Fakat aktivitenin bu şekilde nitel olarak tahmin edilmesi pratik açıdan yetersiz olabilir. Örneğin farmakofor içermesine rağmen aktivitesi küçük olan bir bileşik deneysel olarak inaktif şeklinde

sınıflandırılacaktır. Oysa inaktif olarak nitelendirilen bileşikler aktif olarak sınıflandırılan bileşiklere göre düşük de olsa aktivite göstermektedirler ve aktivitelerindeki bu düşüş moleküle bağlı olan süstitüentlerin farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Aktivitenin nicel olarak tahmin edilmesi durumunda farmakofor kavramının deneysel açıdan değeri artacaktır.

2.1.2. Elektron Konformasyonel Analizi

Temelini ET metodun oluşturduğu elektron-konformasyonel (EC) metot Bersuker ve arkadaşları tarafından farmakofor tanımlama ve biyoaktivite tahmini için geliştirilmiş bir metottur [63]. Bileşiklerin elektronik ve geometrik özellikleri içeren matrislerle temsil edilmesi ve tüm aktif bileşiklerde ortak olan farmakofora ait alt matrisin belirlenmesi her iki metotta da ortaktır. EC metotta bileşikler elektron konformasyonel uygunluk matrisiyle (ECMC), aktiviteden sorumlu grubu temsil eden atomlar ise elektron konformasyonel alt matris (ECSA) ile temsil edilir. EC metottaki farklılık ilgili bileşiklerin dikkate değer tüm konformerlerinin katkılarının ve farmakofor dışındaki atomik grupların aktiviteye etkisini kapsamaktadır. Farmakofor tanımlanmasında ET metotta her bileşiğin tek bir konformeri dikkate alınırken, EC metotta oda sıcaklığında en fazla bulunan tüm konformerlerin katkısı dikkate alınır. Bununla birlikte EC metot farmakofor tanımlamasında tüm konformerleri dikkate almasına rağmen biyoaktivite tahmininde sadece en düşük enerjili konformeri kullanmaktadır. EC metodun ikinci üstünlüğü ise farmakofor dışındaki grupların (AG ve APS) aktivite üzerindeki etkisinin nicel aktivite formülünde yer almasıdır. Böylece bu iki gelişme ile biyoaktivite tahmini nitel olarak kalmayıp nicel hale dönüşmüştü [79].

2.1.3. Konformasyon Analizi

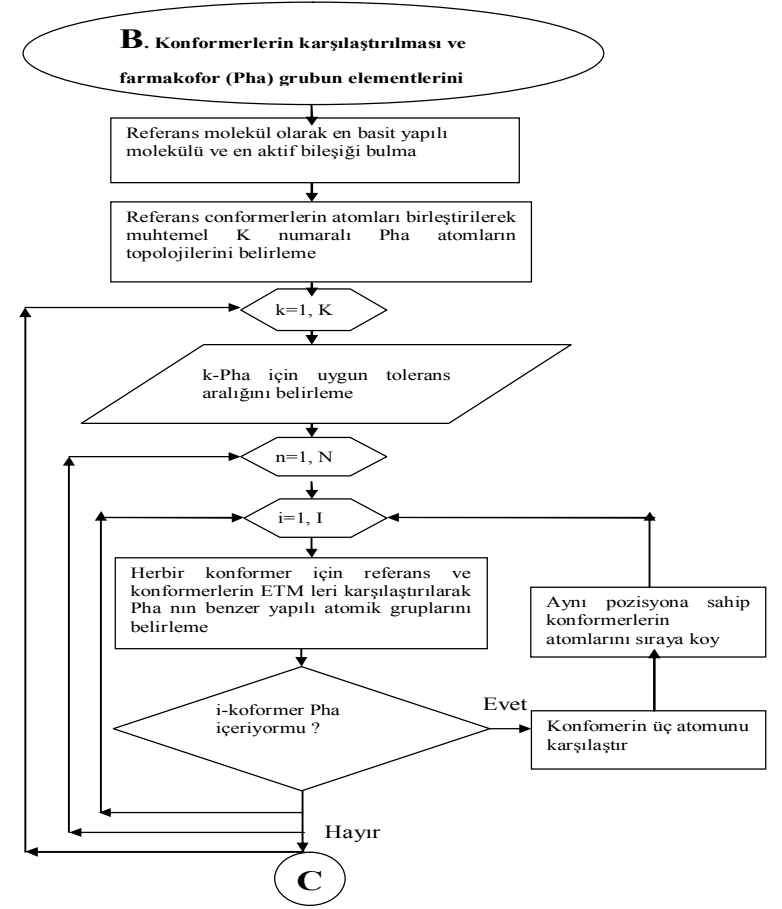
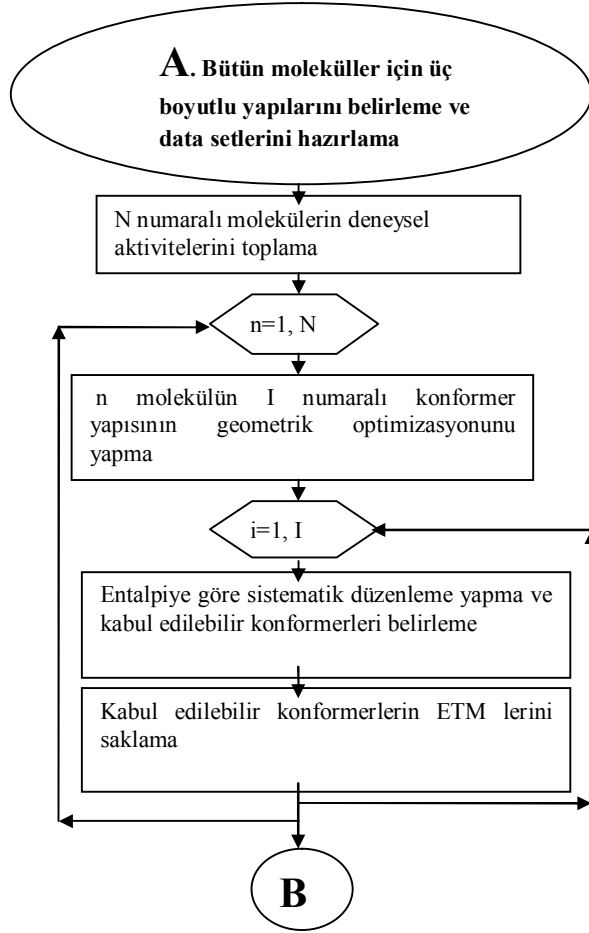
Moleküllerin konformasyon analizi Spartan paket programındaki Moleküler Mekanik (MMFF) metodu ile yapılır. Moleküler Mekanik, bir molekülün konformasyon enerjisini ve yapısını çıkarmak için kullanılan hesap metodudur. Bu metotta molekülün toplam potansiyel enerjisini minimum yapan molekül yapısı bulunur. Moleküldeki atomlar arasında mümkün olan tüm karşılıklı etkileşimler dikkate alınarak hesaplamalar yapılır. Kullanılan program oldukça hızlıdır ve enzimler gibi büyük yapıli sistemler için dahi, tepkime ısısı ve konformasyon kararlılıkları gibi nicelikler kolaylıkla

hesaplanabilir. Ayrıca elektronik yapıya bağlı olan özellikler ya da elektronik yapı hakkında bilgi edinilebilir.

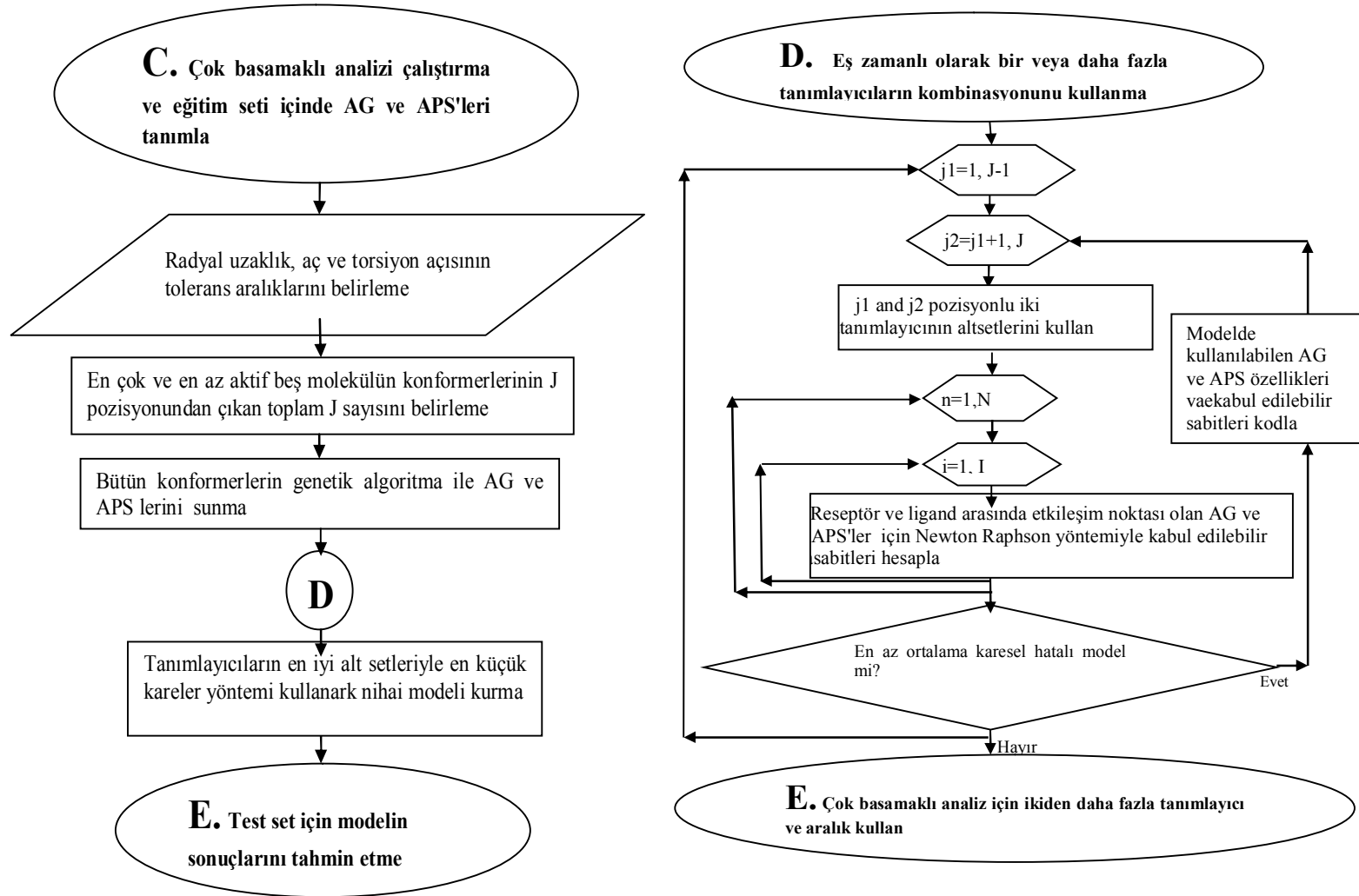
Molekülün konformasyon enerjisi, mekanik model esas alınarak mümkün olan etkileşme enerjilerinin (Van der Waals, dönme, elektrostatik, hidrojen bağı, valens bağı, valens açısı gerilme enerjileri) toplamı şeklindedir.

2.1.4. ETM Matris Oluşumu

Her bir konformer için ETM matrisleri oluşturulur. ETM, diyagonal elemanlarına göre simetrik olan kare matristir. Bundan dolayı simetrisinin üst tarafının kullanılmasıyla oluşan üçgen matris alınır. ETM'de bağımsız elemanların tam sayısı $s*(s+1)/2$ ' dir. Burada s moleküldeki atomların sayısıdır. Diyagonal elemanları için, molekülde atomların elektronik özelliklerini tanımlayan bir atomik parametre olan a_{ii} , atomik yüklerden oluşur. Bu yükler Mulliken elektronegativitesi ile hesaplanır. Matrisin non-diyagonal elemanları ise a_{ij} olup iki çeşittir; ilk türünde eğer i ve j kimyasal olarak bağlı atomlar iseler, a_{ij} i - j bağının elektronik parametrelerinden birisi olabilir, örneğin bağ derecesi, wiberg sabiti, bağ enerjisi veya polarlanabilirliği gibi. İkinci türünde ise eğer i ve j bağ yapmamış iki atom iseler, $a_{ij} = R_{ij}$ olur ve atomlar arası mesafe bir parametre olarak kullanılır. Bu yolla her bir ETM, hem a_{ii} ve a_{ij} elektronik karakterini hem de R_{ij} geometrik karakterini içerir. Bu parametrelerle ETM' nin incelenen molekülün konformerinin bütün özelliklerini temsil ettiği kabul edilir. ETM molekülün hem elektronik hem de geometrik yapı özelliklerini içerir. Daha önceleri kullanılan bu yaklaşımın basit versiyonunda [80], her bir molekülde sadece tek bir konformer için kullanılırdı ve bu konformerde en düşük enerjili olan temel hal (ground-state) konformeriydi. a_{ii} ve a_{ij} elektronik parametreleri olarak da sadece atom yükleri ve bağ dereceleri kullanılırdı. Prensip olarak verilen bir konformerin R_{ij} aynı atomlar arası mesafeyi koruyarak elektronik parametrelerin a_{ii} sabit kalarak a_{ij} ile yukarıda bahsedildiği gibi değişik kombinasyonların en iyi elektronik tanımlayıcıyı bulmak için yapılabilir. Ne atomik yük ne de onun türevi olan elektrostatik alan molekül içi etkileşimleri modellemede geniş olarak kullanılmaz. Bu ikisi etkileşimlerde orbitallerin etkisini hesaba katmaz ancak orbitallerin etkisi çok önemli olabilir.



Şekil 2.1. MCET metodunun uygulamasındaki basamaklar



Şekil 2.1'in devamı

2.2. Moleküler Konformer Elektron Topolojik (MCET) Metottaki Adımlar

Moleküllerin reseptörler ile etkileşmesinde aktiflik mekanizmalarının açıklanması ve aktif fragmentinin çıkartılması için MCET metodunun akış diyagramı Şekil 2.1. deki gibidir. MCET metodu EC metodunun modifiye edilmiştir fakat uygulama prosedürü ve programı farklıdır. En önemli farklılıklar aşağıdaki gibidir.

2.2.1. MCET'te Farmakofor Tanımlama

Farmakofor tanımı için; bütün ETM' leri ilgili moleküllerin aktiviteleri ve matrisin diyagonal ve non-diyagonal elemanlarını verilen belirli tolerans aralıklarında, karşılaştırarak bütün aktif moleküller için ortak olan, inaktif moleküllerde ise bulunmayan elektron topolojik özellikleri tespit etmektedir. Matrislerin karşılaştırılması sırasında bileşik serisindeki yapı olarak en basit molekül referans olarak seçilir. Burada önce nitel olarak moleküllerin aktif-inaktif olarak sınıflandırılması gerekir. Bunun için de sınır bir değer belirlenir. Bu değerden küçük olanlar inaktif, büyük olanlar ise aktif sınıfındadır. Bu sınırı, aktif olmayanlar veya aktif denilemeyecek kadar küçük aktiviteye sahip olanlardan büyük bir değer ile tanımlanır. Karşılaştırma işlemi yapılarak daha çok aktif bileşiklerin bulundurduğu ortak özellik Pha olarak bulunur ve bu özelliği temsil eden matris elemanları sayısı daha az olan, elektron topolojik alt matrisi (ETSM) oluşturulur. Eğer farklı elektronik yapı parametreleri denenmek istenirse (valens aktiviteleri, polarlanabilirliği, HOMO veya LUMO), ETM yapısı ve ETSM' yi göstermek için kullanılan metot, her bir setin parametresi için tekrarlanır, daha sonra farklı elektronik yapı parametreleri ile elde edilen ETSM karşılaştırması ile inaktif bileşiklerden aktif bileşikleri ayırmada hangisinin en iyi olacağı tahmin edilebilir. Bu matris açıklamasının enantiyomerleri ayırmaya izin verip vermediği önemli bir sorudur. Bu sorunun cevabı sadece düzenli hazırlanmış ETM ler için evettir. Align olarak işaretlenmiş atomlara göre diğer atomlar saat yönündeki sıralamasıyla ETM matrisinde yerleştirilirse enantiyomerler ETM tarafından açıklanırlar; iki enantiyomerin matris elemanlarının mutlak değerleri aynı olmalarına rağmen, iki matristeki karşılıklı pozisyonları farklıdır. Ayrıca kolon ve dizilerde yer değiştirmelerine izin verilmez çünkü atomların matristeki sıralaması bozulur. Bu eğer ETSM (Pha) enantiyomerlerden birinde var ise, diğer enantiyomerde olmasını gerektirmez. Moleküler sistemde atomları numaralandırma yolu (saat yönü veya tersi)

önemlidir. Çünkü bu işlem ETM’de matris elemanlarının düzenini belirler. Bir tanesinin seçilmesiyle bütün konformerler ve enantiyomerler korunur. ETSM tarafından sağlanan Pha tanımı, yeni bileşiklerin aktivitelerini nitel olarak göstermede direkt olarak kullanılabilir [81].

Farmakofor yapısı (Pha) seri içerisindeki her bir molekülün en düşük enerjili konformerinde değil ama konformerlerden en az birinde olmalıdır. Eğer referans molekülün birden fazla konformerinde Pha varsa her bir konformerin yapısı farmakofor üretiminde sırasıyla kullanılır. Metodumuzda müşterek yapı olarak Pha kullanılır. Pha atomları align yapılarak tüm yapının süperimpoz edilmesi kolaylaşır. Farklı yapıları molekülde doğrudan süperimpoz etmek zor olduğundan Pha belirlendikten sonra tüm konformerin süperimpoz edilmesi anlamlıdır. Referans olarak ele alınan en basit ve en az konformerli molekülden kalıp konformasyon seçilir. Burdaki atomların kombinasyonlarıyla K-sayıda Pha yapıları oluşturulur. Pha’nın k-ncı sayısı 1 den K’a kadardır. Pha’nın atomlarından oluşan her yapıya göre bir seri diyagonal ve non-diyagonal tolerans değerleri kullanılır. Buna göre tüm konformerlerde eşleştirme yapılabilir. Pha taşıyan konformerler belirlenir. Moleküllerin konformerlerinden en az birisi Pha yapıya sahip ise o molekül aktiftir. Serisi içerisinde moleküller aktif ve inaktif olarak bölünmüşse en iyi Pha’lar α_a ve P_a değerlerine göre sıralanır. Böylece önemsiz Pha’lar boşa çıkartılarak önemlileri elde tutulur. Aktiviteden sorumlu olabilecek her bir aday Pha sadece nitel olarak moleküllerin aktifliklerinden haber verir. Gerçekte aktiviteden sorumlu tek bir Pha yapısı vardır ki; bu yapı anahtar niteliğindedir. Bir ligand bu yapıyı taşıyorsa aktiftir yoksa inaktiftir. Gerçek yapıyı ortaya çıkartmak için onun beraberliğinde hareket eden diğer molekül tanımlayıcıları bağımsız değişken olarak aktivitenin fonksiyonu içinde kullanılmalıdır.

2.2.2. MCET’te APS ve AG

APS ve diğer AG’ ye karar vermek için aktif bileşiklerin süperpozisyon yapılmış yapılarını incelememiz gerekir. Pha, aktivite için gerekli bir grup atomu içerir. Pha’ da bulunan atomlara ilave olarak, mevcut olan moleküler yapıdaki atom veya atom gruplarının varlığı aktiviteyi azaltıcı veya artırıcı yönde etki yapabilir. Bazı grup atomları hidrofobisiteyi artırıcı özellik gösterebilirler veya biyoalıcı ile H-bağı yapabilirler. Bu atomların bu özellikleri aktiviteyi artırıcı özellik olup, bu grup atomlara

AG atomlar denir. Bazı grup atomlar ise biyoalıcı ile etkileşim esnasında sterik engel veya perdeleme yapabilecekleri için aktiviteyi azaltıcı yönde etki ederler ve bu yüzden bu tür grup atomlara ise APS atomlar denir.

MCET'in diğer üstünlüğü de AG ve APS gruplarını [81–82] eğitim setindeki tüm konformerler için tanımlayarak hesaba katmasıdır. Bu grupların aktiviteye katkıları Pha ile birlikte hesap içine alınır. Aslında Pha'yı bulunduran bir konformerdeki her bir atomun aktiviteye sayısal bir değer yansıtması söz konusudur ancak, bu atomların incelenen seri içinde en çok molekül içinde bulunan ve en etkili olanları göz önüne alınabilmektedir.

Bir molekülün biyolojik aktivite tahmini için gerekli olan; Pha'nın yanı sıra, aktiviteyi artıran AG veya aktiviteyi azaltan APS gurupları model içinde her bir konformer için kullanan MCET metodunun temelleri verilecektir. Önceki benzer çalışmalara göre yapılan yenilik öngörülen Pha'nın ilk üç atomu koordinat merkezlerinde yerleştirilerek diğer atomların koordinat değerleri yeniden belirlemektir. Pha taşıyan tüm konformerler align yapılarak onun etrafındaki grupların pozisyonlar olarak genetik algoritma ile işaretlenir.

MCET metodunda da, EC metodunda olduğu gibi, Pha fikri aşağıdaki üç önemli özellik ile tanımlanır [81].

1. Pha sadece bir grup atom olarak tanımlanmamalı, moleküldeki uygun atomların elektronik özellikleriyle de tanımlanmalıdır. Elektronik özellikler ise farklı bileşiklerde; aynı atomlar için farklı, farklı atomlar için ise aynı olabilir.
2. Pha'nın hem elektronik özellikleri hem de geometrik parametreleri, belirli sınırlar içerisinde, bir bileşikten diğer bir bileşiğe değişiklik gösterir ve aktivite bu varyasyonların bir fonksiyonu olabilir.
3. Pha aktivite için gerekli fakat yeterli bir şart değildir. Çünkü Pha varlığında bile molekülün aktivitesi, reseptör ile etkileşimini engelleyen APS grup tarafından (tamamen veya kısmen) azaltılabilir veya hidrofobisite, lipofilite gibi başka özelliklerle AG grup tarafından artırılabilir. Molekül serisi eğitim ve test setleri olarak ikiye ayrılır. Eğitim seti içerisinde her bir önemli Pha'daki atomlar align yapıldıktan sonra geri kalan atomlar yönlendirilir. Her alignden sonra Pha'nın üç atomunun Kartezyen koordinat

değerleri, sırasıyla, x_1 , y_1 ve $z_1=0$; x_2 ve $y_2=0$ ve $x_3=0$ olduktan sonra diğerlerinin değerleri de bu sayılara göre yeniden düzenlenir. En çok aktif ve inaktif moleküllerden 5'er adet toplam 10 adet moleküllerin yönlendirilmiş atomlarından pozisyonlar oluşturulur. Bu pozisyonların mesafe, açı ve dihedral açıları Kartezyen koordinatlardan belirlenir.

Pozisyona sahip konformerler, mesafe, açı ve dihedral açıdan oluşan tolerans değerle işaretlenir. Aynı molekülün bir konformerinin sahip olduğu pozisyona diğer konformeri sahip olmayabilir. Böylece Pha taşıyan konformerler, bu pozisyonlarda atom bulundurmaları itibarıyla sınıflandırılabilir. Bu pozisyonlardan hangilerinin reseptör tarafından etkilendiğini bulmak için GA yapılır. Bu uygulamayla pozisyonlardaki gruplar en az sayıdan başlayarak birer-birer artırarak maksimum sayıya ulaştırılır ve bağımsız değişkenlerin en uygun alt grubu ortaya çıkar. Bağımsız değişken sayısı toplam molekülün $1/3$ veya $1/5$ i kadar olmalıdır ve toplam molekül sayısına eşit veya fazla olmamalıdır. Bazı bağımsız değişkenlerin katma değerleri çok küçüktür. Bunlar hesaba katıldığında korelasyon katsayısındaki artış çok olmaz. Bu tip bağımsız değişkenler sadece gürültü yaptıklarından iptal edilmeli veya dikkate alınmamalıdır. Parametrelerin kombinasyonla oluşturulmuş pek çok alt setleri içinde iyi olanı bulunmalıdır.

Genetik algoritma yalnızca regresyon analizi içerisindeki bağımsız değişkenlerin optimum sayısını seçmez aynı zamanda doğrusal olmayan eksponansiyel fonksiyon içeren eşitlik 2.5 den aktivite değerini hesaplar. Böylece MCET kullanılarak oluşturulan modelin sonuçları yapı aktivite arasındaki ilişkiyi hızlı bir şekilde tanımlayabilir.

GA ile belirlenen alt grup içinde AG'in yanısıra APS'ler de olabilir. AG ve APS bağımsız değişkenlerini tahmin etmek için tüm pozisyonlarda sınıflandırılmış konformerler hesaba katılır. Ligandlara ait AG ve APS'ler sadece bağımsız değişkenler olarak belirlenmez aynı zamanda onların reseptör tarafındaki etkileştiği noktalara ait κ_j ayarlanabilir sabitleri de Newton-Raphson yöntemiyle hesaplanır. Hesaplamanın eş zamanlı olabilmesi için tüm sabitlerin değerleri değişim prensi ile sabit kalana kadar sürdürülür. PLS'deki değerlerine göre en iyi bağımsız değişken alt grubu olarak işaretlenir. MCET içindeki algoritmada yer alan aktivite eşitliğinde kullanılan κ_j nin ilgili parametre değerleri, konformerlerin a_{ni}^j değişkenleriyle çarpılarak etkileşim enerjisi hesaplanır. Newton-Raphson yaklaşımına göre parametrelerin ayarlanabilir

değerleri eş zamanlı olarak tahmin edilir. Bu değerlerinin ve dolayısıyla aktivitenin hesaplanması sırasında konformerlerin katkı miktarları eşitlik içinde Boltzmann dağılımı kadar etkiye sahip olduğu unutulmamalıdır.

Her bir konformerin bulunma yüzdesini, enerjisini ve sıcaklığı bir fonksiyon olarak ekleyerek biyoaktivitenin nicel tahmini için bir formül çıkartılır. MCET, Pha'ı APS ve AG grupların parametreleriyle birlikte ele alır. Böylece Pha fikrini biyoaktivite tahmini için nitel bir araç olmaktan çıkarıp nicel bir araca dönüştürür.

Değişim prensibi olarak belirtilen işleyiş aşağıdaki gibidir. Buna göre parametrelerin ayarlanabilir değerlerinin aktivitedeki rolleri regresyon analizi ile belirlenir. Eşitlik 2.1 de verilen S fonksiyonu içerisindeki κ_j ' değerinin kontrolü, deneysel ve hesaplanan aktivite arasındaki fark en küçük kareler yöntemi minimize edilerek yapılır. Bir κ_{ji} çözmek için birçok $j = 1, 2, \dots, J$. için κ_j değerlerine ihtiyacımız vardır. Böyle bir hesaplama için gerekli yaklaşımlar aşağıda sıralanmıştır.

- a. $j=1$ için deneme κ_j ile başla.
- b. Kalan bütün κ_j ' ler için bir κ_j hesapla.
- c. Bir κ_{ji} tahmin etmek için kurulan eşitlikte Newton-Raphson uygulamasını yap.
- d. Bir κ_j için yeni değerle tanımla.
- e. Tanımlanan bisinin ardından gelen diğer κ_j için hesaplamayı tekrarla.
- f. Bütün moleküllerin aktivitelerinden elde edilen κ_j ler değişmeye kadar yinelemeye devam et.

Bu yaklaşıma göre bütün κ_j 'ler 4D-QSAR modelini oluşturmak için hesaplanır. MCET farmakofor etrafındaki bağımsız değişkenleri tanımlamak için rastgele seçilmiş bir parametre değil sadece atomik özellikleri kullanmaktadır.

Bu çalışmanın amacı üç boyutlu uzaydaki biyoyapının etkileşim noktalarını araştırmaktır. Reseptörün etkileşim noktalarındaki atomların yükleri bağımsız değişken olarak kullanılır. Uzaklık, açı ve torsiyon açısı gibi değişkenler sadece farmakofor ile ilgili atomların pozisyonları için kullanılır.

2.2.3. Modelin Belirlenmesi ve Uygulanması

Molekülün eğitim setindeki bütün bileşikler için aynı deneysel metot uygulanarak aktivitelerin bulunması önemli bir aşamadır. İlgilenilen aktivite için sadece bir tek Pha'nın sorumlu olduğu düşünülür. MCET metodunda uygulan programın aslı şudur;

- a) Aktif moleküllerin aktiviteleri, her bir etkin konformerinin Pha'yı taşımasına göre değer alır.
- b) Bu konformerlerin kesir etkileri ve taşıdıkları atom pozisyonları aktiviteyi nicel olarak değiştirir.
- c) Molekülün aktivitesini hesaplamak üzere tüm bu konformer özellikleri eş zamanlı olarak kurulan model içinde yer alır.

Biyolojik aktivitesi bilinen ve inceleme altına alınan bir seri, eğitim ve test setleri olarak iki gruba ayrılır. QSAR modeli kurmak için eğitim setindeki aktiviteden birini hesap dışı bırakarak geriye kalan verilerle LOOCV yapılır. Dışarıda bırakılan molekül için aktivite, diğerlerinden çıkartılan model ile Q^2 değerleri hesaplanır.

Programda çıkartılan modele dayanarak fonksiyonel özellikler deneme serisi (test set) bileşikleri için deneysel aktiviteler teorik hesaplanan ile R^2 ölçeğinde doğrulanır.

2.2.4. Aktivitenin Genel Formülü

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

$$A \sim e^{-S} \quad (2.1)$$

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

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

Burada $a_{ni}^{(i)}$ n' inci bileşiğin i' inci konformerinin j' inci tür APS veya AG özelliğini temsil eder. $a_{ni}^{(i)}$ her bir problem için spesifik bir parametredir. N seçilen AG parametrelerinin sayısı, κ_j toplu analiz sonucundan elde edilen ayarlanabilen bir sabittir. Bu sabitin mutlak değerinin büyüklüğü referans olduğu atomun aktivite üzerinde ne kadar etkili olduğunu gösterir ve bu tip atomları üç boyutlu yapı içinde tanımak Pha' dan sonra ikinci derecede öneme sahiptir. Bu fonksiyon ile birlikte sıcaklığının ve enerjisinin bir fonksiyonu Boltzmann dağılımını hesaba katarak aşağıdaki genel formülü elde ederiz:

$$A_n = A_0 \frac{\sum_{i=1}^{m_n^{Pha}} e^{-S_{ni}} e^{-E_{ni}/kT}}{\sum_{i=1}^{m_n} e^{-E_{ni}/kT}} \quad (2.3)$$

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

Bu formülde A_0 sabittir ve bilinmez. Bunun için molekül setinden (training set) aktivitesi bilinen bir referans molekül (l) seçeriz ve A_1 için eşitlik 2.4'ü yazarız.

$$A_1 = A_0 \frac{\sum_{i=1}^{m_1^{Pha}} e^{-S_{li}} e^{-E_{li}/kT}}{\sum_{l=1}^{m_l} e^{-E_{li}/kT}} \quad (2.4)$$

A_n ve A_l için yazılan bu iki formül birleştirilirse A_0 lar birbirini götürüleceği için bilinmesine gerek kalmadan aşağıdaki formül elde edilir.

$$A_n = A_1 \frac{\sum_{i=1}^{m_l} e^{-E_{li}/kT} \sum_{i=1}^{m_n^{Pha}} e^{-S_{ni}} e^{-E_{ni}/kT}}{\sum_{i=1}^{m_n} e^{-E_{ni}/kT} \sum_{i=1}^{m_l^{Pha}} e^{-S_{li}} e^{-E_{li}/kT}} \quad (2.5)$$

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

Bu yolla elde edilen κ_j ile aktiviteleri bilinmeyen aynı tür başka bileşikler için aktivite tahmini yapılabilir. Bu çalışmada Tau Protein inhibitörü fenildiazolhidrazid (Phenylthiazolyhydrazide-PTH) türevi olan 27 bileşik için tau protein inhibisyon tahmini bu yolla yapıldı.[83].

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. Çalışılan Bileşik Serisindeki Bulgular

Bu çalışmada:

1) Spartan'08 software paket programında:

1a. Moleküler konformerlerin belirlenmesi için, moleküler mekanik hesaplamalar,

1b. Her bir konformere ait kuantum kimyasal hesaplamalar yapılmıştır.

2) Y. GÜZEL tarafından geliştirilen;

2a. Her bir konformer için Spartan paket programında elde edilen kuantum kimyasal sonuçları Elektron Topolojik Matris'e (ETM) dönüştüren program kullanılmıştır.

2b. Aktiviteleri hesaplamak için MCET programı kullanılmıştır. Bu programın işleyişi sırasında:

2b1.. Referans molekül konformeri ile ETM matrislerinin karşılaştırılması sonucu ortak yapılardaki atomların kombinasyonundan Pha atom gruplarını öngören,

2b2.. Pha'ı taşıyan konformerlerin Pha atomlarını align yaptıktan sonra her bir konformerdeki tüm süstitüentleri yeni kartezyen koordinatlarına taşıyan,

2b3.. Genetik Algoritma (GA) kullanılarak Pha etrafındaki AG ve APS grupları tahmin eden,

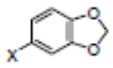
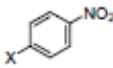

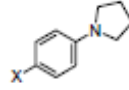
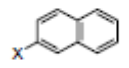
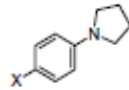

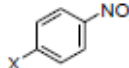
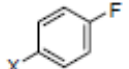
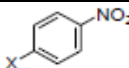
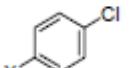
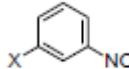
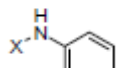
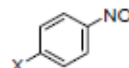
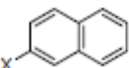
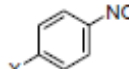



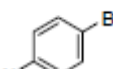

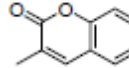



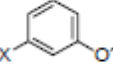
2b4.. Basit Leave One Out Cross Validation (LOOCV) içerisinde istatistik sonuçlara dayanarak eğitim ve test setleri için aktiviteyi belirleyen önemli adımlar vardır.

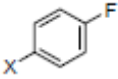


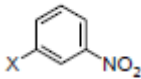
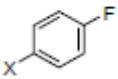
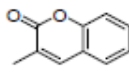
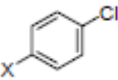
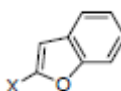
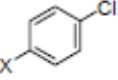
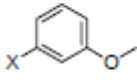

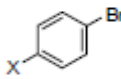
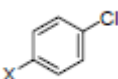

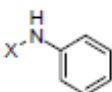
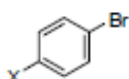
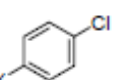
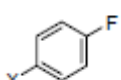
2c. Excelde Model Analizi (EMA) ile tüm sonuçları istatistik değerleriyle doğruluğunu gösteren program kullanılmıştır.

Deneysel aktivitesi bilinen fenildiazolhidrazit türevlerinin 27 adet bileşiği literatürden alınmıştır [83]. Tablo 3.1 'de çalışılan bileşik serilerinin temel iskeleti ve bu iskelete bağlı olan substituentler deneysel aktiviteleri ve relatif enerjisi 2.0 kcal/mol' den daha büyük olan konformerlerin ihmal edildikten sonra kalan konformer sayıları gösterilmiştir.

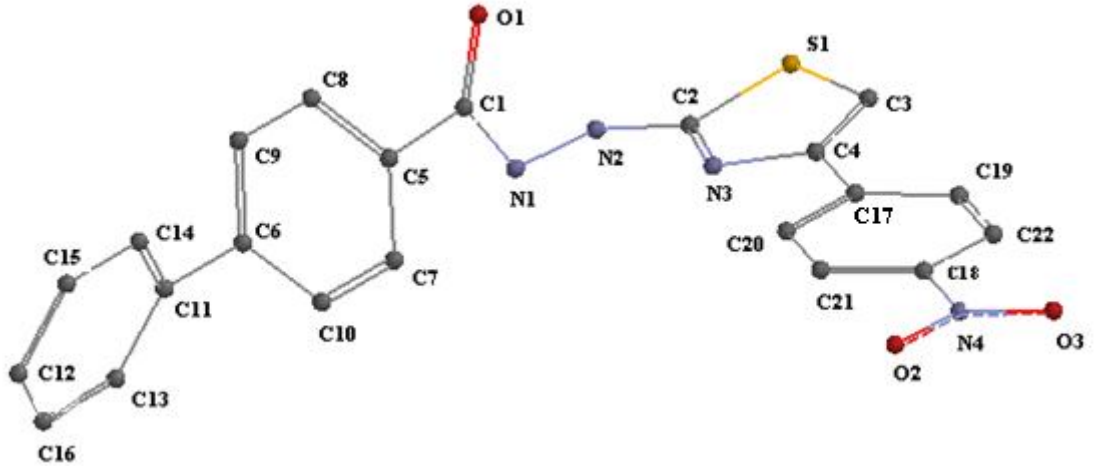
Tablo 3.1. Çalışılan bileşik serisi, deneysel aktivitesi ve konformer sayıları.

Numara	R1	R2	R3	Deneysel Aktivite	Konformer Sayısı
1		H		1.3	3
2		H		1.6	6
3		H		1.9	6
4		H		2.0	5
5		H		3.1	7

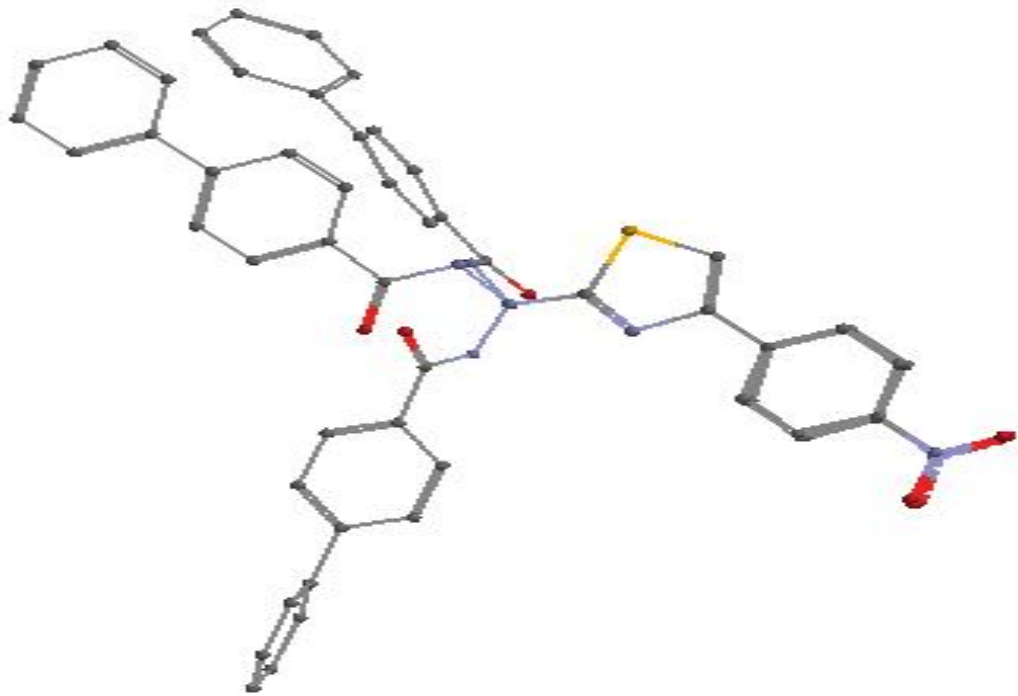
Tablo 3.1'in devamı					
6		H		3.9	6
7		H		4.9	3
8		H		5.8	8
9		H		6.3	3
10		H		6.9	5
11		CH ₃		7.7	5
12		H		10.8	3
13		H		13.6	4
14		H		17.0	6
15		H		18.0	5
16		H		23.2	2
17		H		25.3	6
18		H		28.3	13

Tablo 3.1'in devamı					
19		H		33.6	4
20		H		35.5	6
21		H		47.2	2
22		H		47.2	4
23		H		59.2	8
24		H		60.9	3
25		H		146.5	6
26		H		146.5	4
27		H		183.8	4

Seride referans bileşiği olarak seçilen N01 bileşiği için top çubuk modeli Şekil 3.1.'de verilmiştir. Boltzmann dağılımına göre herhangi bir bileşik için, enerji olarak bulunabilmesi mümkün konformerler arasında düşük enerjili konformerlerin sayısı daha çok olacaktır. Bu konformerler diğerlerine göre aktivitede daha etkili olacağından, bileşiklerin daha yüksek enerjiye sahip olanlar silinmiştir. Kalan konformerler Şekil 3.2'de gösterildiği gibi üst üste çakıştırılmıştır.



Şekil 3.1. Referans bileşiği N01 için top çubuk modeli.



Şekil 3.2. Referans Bileşiğinin (N01) Konformerlerinin Üst Üste Çakıştırılması.

Tablo 3.2. Referans bileşiğin (N01) En Düşük Enerjili Konformerine Ait Kartezyen Koordinatlar.

Kartezyen koordinatları (Å)			
Atom	X	Y	Z
C1	1.5941838	0.8285141	0.8285141
O1	1.0672288	1.9266522	0.7358902
N1	0.8285141	-0.2492251	1.3382429
H1	1.3531662	-1.0297474	1.7643826
N2	-0.4487466	-0.0883729	1.6770774
H5	-0.6751855	0.5583289	2.408153
C2	-1.3926621	-0.3609816	0.7416275
N3	-2.6384535	-0.0753196	0.8798978
S1	-0.99077	-1.1804588	-0.7415268
C3	-2.6685661	-1.1226916	-1.1722188
C4	-3.3885515	-0.511367	-0.217546
C5	3.018815	0.5781038	0.5407316
C6	5.7188317	0.2621994	-0.0678471
C7	3.5331487	-0.68373	0.2815553
C8	3.8541304	1.6812637	0.4678542
C9	5.1920483	1.5263953	0.175931
C10	4.8717831	-0.8390274	-0.0191951
C11	7.1620364	0.0918049	-0.3886714
C12	9.8599352	-0.2261644	-0.9898709
C13	7.9255761	-0.8585286	0.2781494
C14	7.7654405	0.8810251	-1.3602555
C15	9.1058919	0.7213154	-1.6591207
C16	9.2666681	-1.0150049	-0.0204928
C17	-4.8365536	-0.264133	-0.2189172
C18	-7.5469778	0.2298592	-0.1631588
C19	-5.6554302	-0.7039157	-1.2573078
C20	-5.4044127	0.4265151	0.8469516
C21	-6.7583269	0.6752859	0.8767604
C22	-7.0083359	-0.4585533	-1.2318029
N4	-8.9646284	0.4866619	-0.1351483
O2	-9.4297996	1.1119978	0.8427206
O3	-9.6567901	0.0700941	-1.0911344

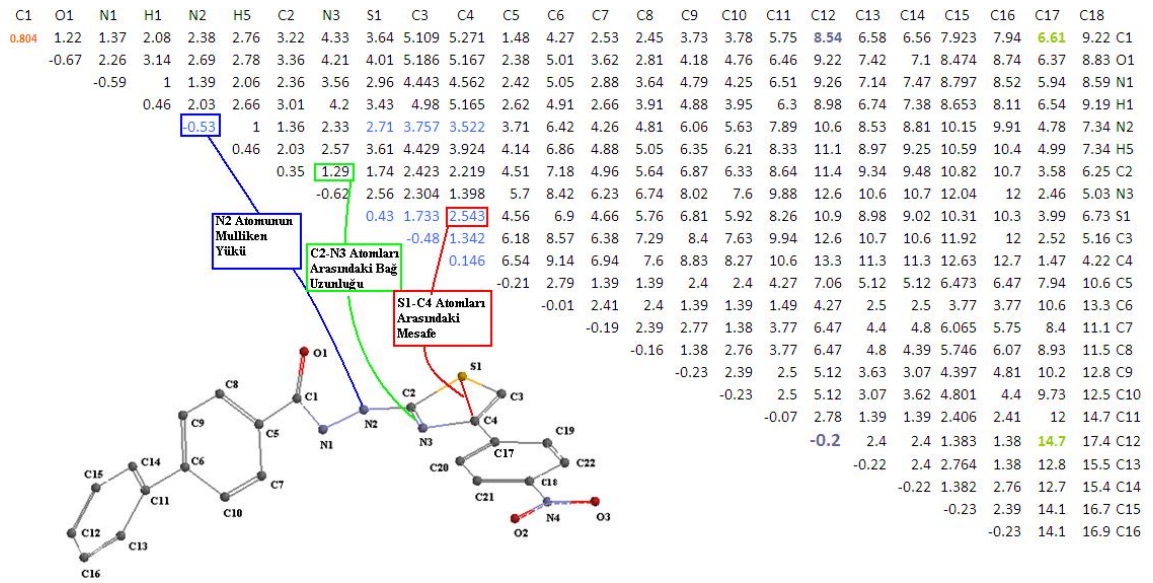
3.2. Elektron-Topolojik Matris

Bu çalışmada *.txt dosyalarındaki bilgiler içerisinden kartezyen koordinatları dosyası, atomların yükleri, bağ uzunluğu ve atomlar arası mesafelerden 137 adet konformeri içeren Elektron Topolojik Matris (ETM) oluşturulmuştur. Serideki toplam 27 bileşikten hepsi aktiftir. Topolojik matrisine örnek olarak serideki referans bileşiğin (N01) en düşük enerjili konformerinin matrisleri Şekil 3.3.' de, en yüksek aktiviteye sahip (N12)

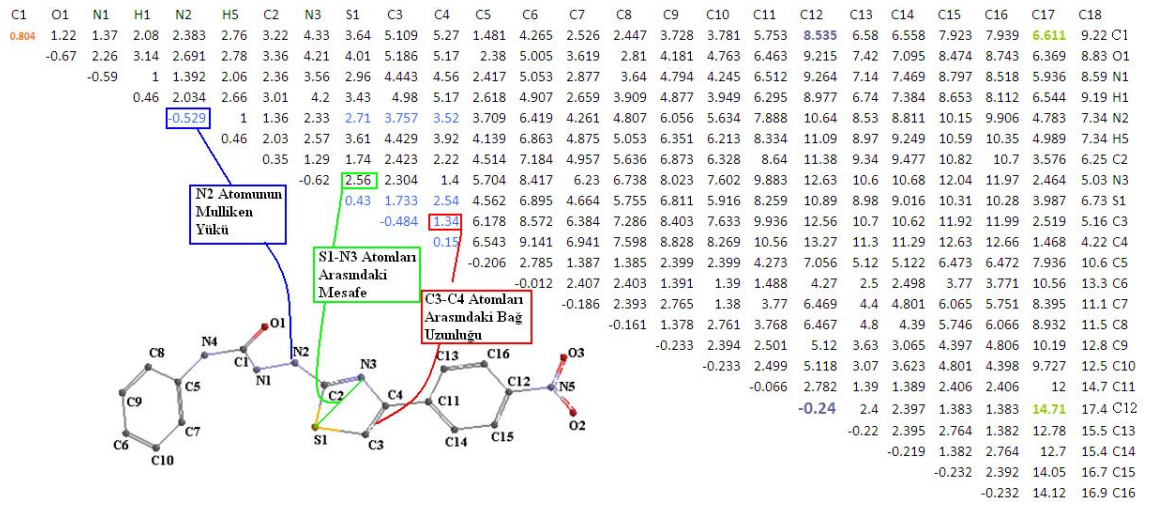
bileşiminin en düşük enerjili konformerinin matrisi Şekil 3.4.' de, verilmiştir. Matrisi çok büyüttüğü ve tekrarlanan benzer özelliklere sahip olduğu için, fazla önemli olmayan karbon atomlarına bağlı hidrojen atomları gösterilmemiştir. ETM, diyagonal elemanlarına göre simetrik olan kare matristir. Bundan dolayı simetrisinin üst tarafının kullanılmasıyla oluşan üçgen matris alınmıştır. ETM'de bağımsız elemanların tam sayısı $s*(s+1)/2$ dir. Burada s moleküldeki atomların sayısıdır. Molekülde atomların elektronik özelliklerini tanımlayan bir atomik parametre olan ve atomik yüklerden oluşan a_{ii} ETM matrisinin köşegen (diyagonal) elemanlarıdır. Atomik yükler Mulliken elektronegativitesi ile hesaplanır. Matrisin non-diyagonal elemanları ise a_{ij} olup iki çeşittir; birincisinde eğer i ve j kimyasal olarak bağlı olan iki komşu atom ise, a_{ij} i-j bağının, bağ uzunluğu gösteren bir elektronik parametredir. İkincisinde ise eğer i ve j bağ yapmamış iki atom ise, $a_{ij} = R_{ij}$ olur ve atomlar arası uzaklık parametre olarak kullanılır. Bu yolla her bir konformerin matrisi, reseptörle etkileşimi göz önüne alındığında, incelenen molekülün konformasyonel özelliklerini tam olarak ifade edebilen, hem a_{ii} ve a_{ij} elektronik karakterini hem de R_{ij} geometrik karakterini içermektedir.

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

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



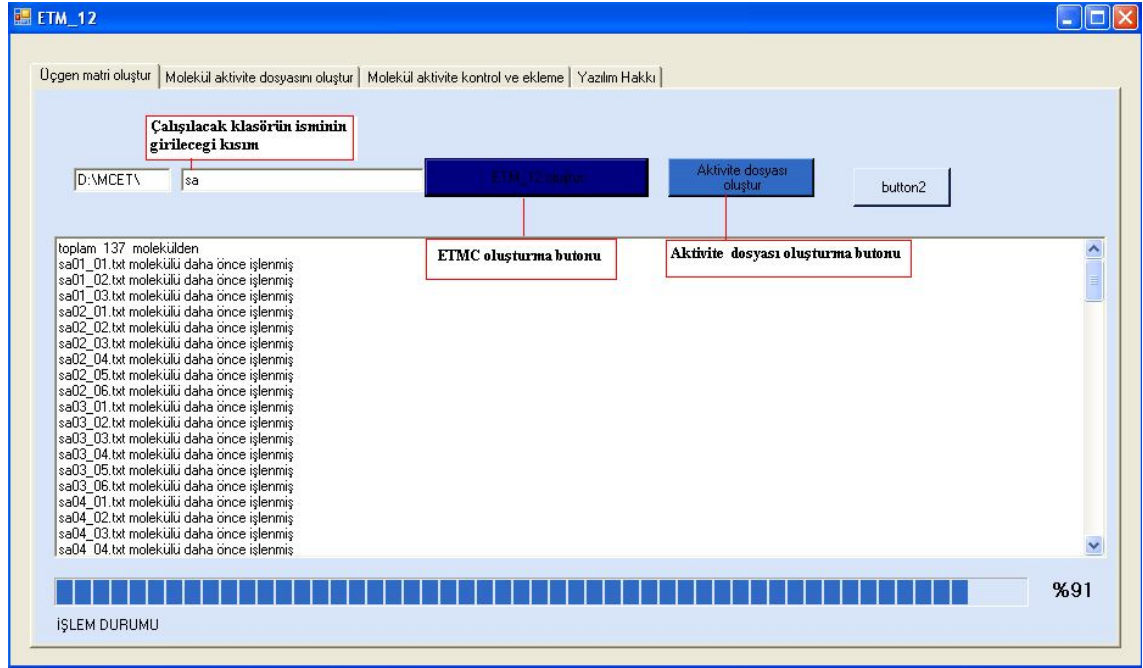
Şekil 3.3. Referans Bileşiği N01'in En Düşük Enerjili Konformerinin ETM Matrisi.



Şekil 3.4. En Yüksek Aktiviteli N12 Bileşiğinin En Düşük Enerjili Konformerinin ETM Matrisi.

Hesaplamalar ile elde edilen sonuçların mevcut yeni yöntemlerle değerlendirilmesi ve hesaplamalar sonucu elde edilen kuantum kimyasal özelliklerin ve bilgisayarda elde edilen çıktı dosyalarının ETM' de hazırlanması için kuantum kimyasal hesaplamalar ile bileşiklerin konformasyonel analizlerini gerçekleştirerek matris oluşturan programına ihtiyaç duyulmuştur ve bu program C# dilinde yazılmıştır. Bu program, Spartan 08 programı ile elde edilen oldukça karışık çıktı dosyalarının (*.txt uzantılı) düzenli birer

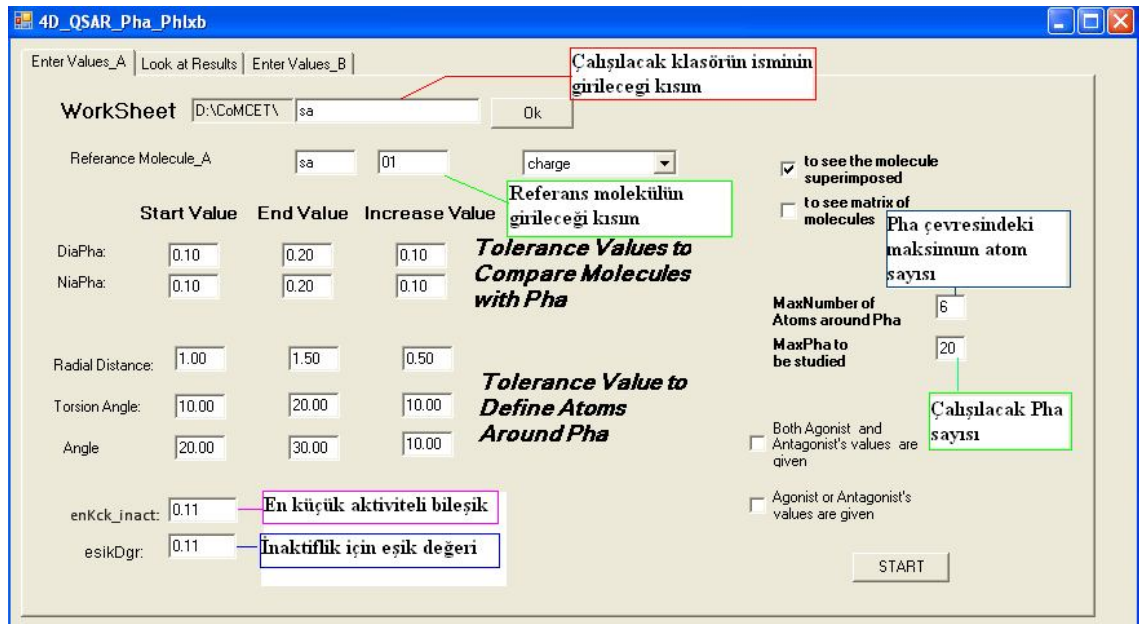
matris dosyası haline dönüştürür ve bu program kullanılarak 27 bileşiğin 137 konformerinin hepsi için matrisler oluşturulmuştur. Her bir konformerin *.txt uzantılı dosyasının büyüklüğü 0.50 – 16.00 MB olup yaklaşık 2500-3000 sayfa olduğu düşünülürse tezde belirtilmesi olanaksızdır. Şekil 3.5.’ da ETM matrisi oluşturmada kullanılan programın ara yüzü görülmektedir.



Şekil 3.5. ETM matrisi oluşturmada kullanılan programın ara yüzü.

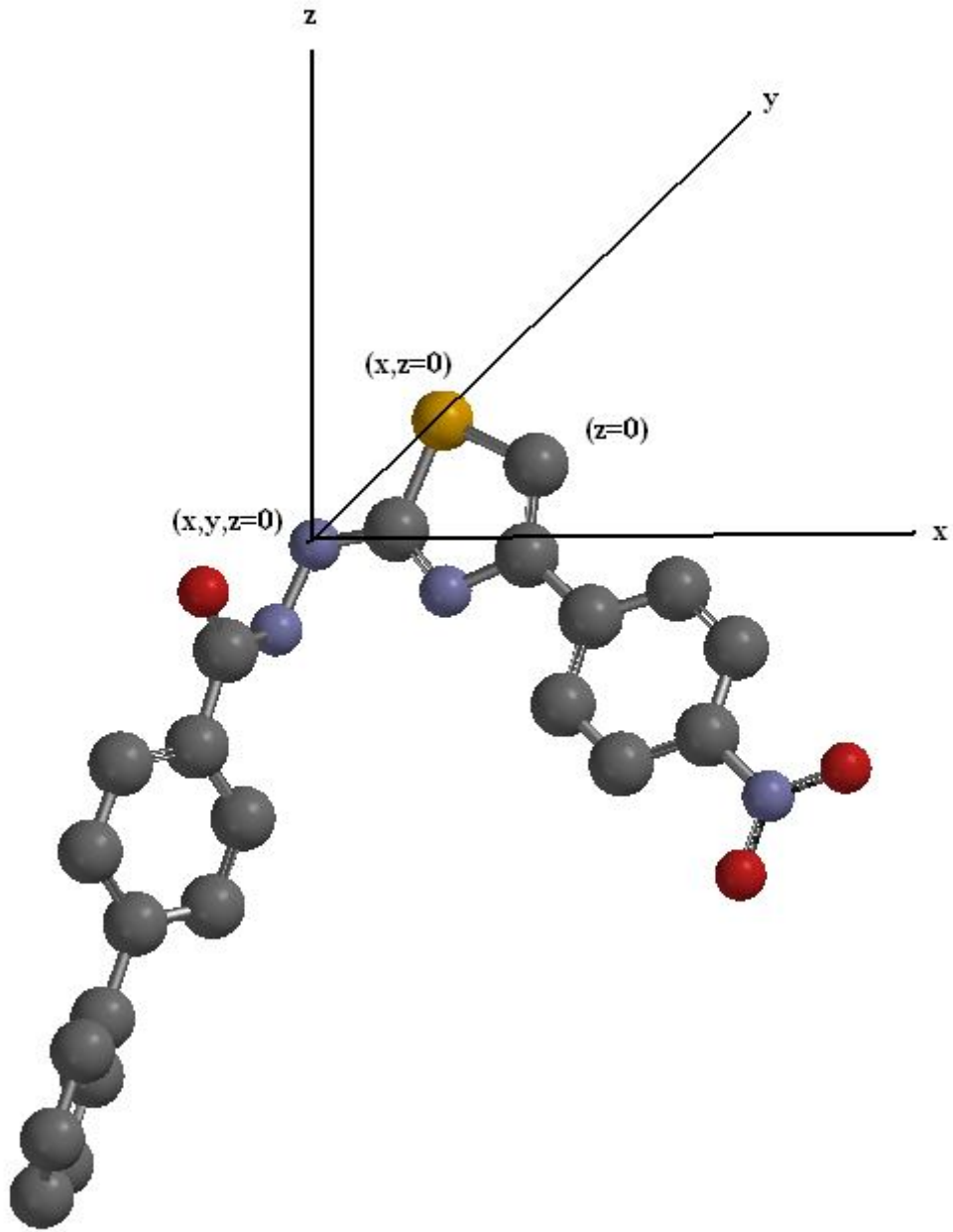
3.3. MCET Metodunun Uygulanması

Bileşik serisindeki bileşiklerin yapı-aktivite ilişkilerinin belirlenmesi için; *.txt uzantılı dosyalarından oluşturulan ETM matrisleri MCET programı ile okunarak aktiviteden sorumlu gurup Pha belirlenmiştir. Serideki her bir bileşiğin sahip olduğu her bir konformerinin oluşum entalpileri göz önünde tutularak, konformerin kendi molekülünde sayısal orantı kesirleri belirlenmiştir. Bir konformerin etkisi, bu kesir oranıyla birlikte, biyoalıcının etkileyeceği esas bölge olan Pha' yı taşımasına bağlıdır. Şekil 3.6'te ETM matrislerini okuyarak Pha belirlemede kullanılan programın ara yüzü görülmektedir.



Şekil 3.6. ETM Matrislerini okuyarak Pha belirlemede kullanılan programın ara yüzü.

Pha etrafında yer alan ve aktivite üzerinde etkili olan atomların bulunması için söz konusu atom ve Pha üzerindeki ilk üç atom, belirli tolerans sınırları içerisinde, torsiyon açısına ve koordinat merkezinden göreceli uzaklığına göre sınıflandırılmıştır. Bu sınıflandırma Şekil 3.6.'da görülmektedir. Konformerdeki tüm atomların pozisyonlarını belirlemek amacıyla, Pha' yı oluşturan atomlar referans alınır.



Şekil.3.7. Pha' yı oluşturan atomların referans olarak alınması ve Pha etrafındaki atomların pozisyonlarının belirlenmesi.

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

Pha' nın 2. sıradaki atomu için $x = 0$, $z = 0$, $y \neq 0$, 3. sıradaki atomu için ise $x \neq 0$, $y \neq 0$, $z = 0$ alınır. Böylece molekülün ele alınan atomu ile Pha' nın 3. , 2. ve 1. atomları, sırasıyla, torsiyon açısının noktaları olarak alınır. Konformerdeki tüm atomlar yukarıda anlatıldığı şekilde, belirli tolerans değerlerine göre pozisyonlarıyla sınıflandırılmış ve

etkin atomlar bulunmuştur. Bu atomlar; n' inci molekülün i' inci konformerinin j' inci pozisyonları olarak işaretlenmiştir. Konformerlerin aktivite değerleri, Φ_{ij} ile birlikte her bir pozisyonda bulundukları atomların katkılarıyla belirlenmiştir. Burada, atom yük değeri a_{ij}^j ile etkinlik katsayısı κ^j ' nin çarpım değerlerinin toplamları, her bir n' inci molekülün teorik aktiviteleri hesaplanmasında kullanılmıştır. Tablo 3.3. ve Tablo 3.4.' de bileşiklerin hesaplanan teorik aktiviteleri bu hesaplamalara göre verilmiştir.

Tablo 3.3. Training Setteki Bileşiklerin Deneysel ve Modelden Çıkan Hesaplanan Aktiviteler

Mol no	Den. Akt	Hes. Akt	Konformerlerin oluşum entalpileri, sahip oldukları APS ve AG grupların pozisyonlarının a, b, c, d... olarak gösterimi.							
			(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	
N01	0.110	0.21	-4392847.27abcde	-4392837.76abc	-4392837.73abc					
N02	0.200	0.108	-4176716.45abcd	-4176712.09abcd	-4176706.52abc	-4176706.52abc	-4176703.05abc	-4176703.05abc		
N03	0.280	0.102	-4410015.64abce	-4410015.64abce	-4410015.64abce	-4410015.64abce	-4410007.13abce	-4410007.13abce		
N04	0.300	0.490	-3852416.68abce	-3852416.65abce	-3852416.64abce	-3852413.62abce	-3852413.62abce			
N05	0.490	0.521	-3835255.78abcd	-3835252.06abcd	-3835252.03abcd	-3835246.95abc	-3835246.95abc	-3835243.71abc	-3835243.71abc	
N06	0.590	0.495	-4283262.50abcd	-4283262.38abc	-4283253.57abc	-4283253.56abc	-4283253.02abc	-4283253.01abc		
N07	0.690	0.49	-4068840.61abce	-4068832.69abce	-4068832.68abce					
N08	0.760	0.702	-4215351.19abcde	-4215351.17abcde	-4215350.54abcde	-4215350.53abcde	-4215342.06abce	-4215341.82abce	-4215341.54abce	
N09	0.800	0.517	-3788110.78abcd	-3788102.39abc	-3788102.39abc					
N12	1.030	0.758	-3937238.94abcd	-3937238.94abc	-3937234.39abc					
N15	1.260	1.482	-10024582.80abc	-10024582.80abcd	-10024575.59abc	-10024575.59abc	-10024575.59abc			
N17	1.400	1.771	-4100379.45abd	-4100375.96abd	-4100371.66ab	-4100371.66ab	-4100368.00ab	-4100368.00ab		
N18	1.450	1.454	-4295838.64abd	-4295835.92abcd	-4295835.18abd	-4295834.41ab	-4295832.38abcd	-4295831.00ab	-4295830.95ab	
N19	1.530	1.637	-3520538.70ab	-3520530.85ab	-3520530.84ab	-3519868.25ab				
N20	1.550	1.303	-4992885.80ab	-4992885.09ab	-4992884.84ab	-4992883.81ab	-4992877.76abc	-4991926.92abc		
N22	1.670	1.5	-4854948.39abcd	-4854939.72abc	-4854939.69abc	-4854924.06abcd				
N23	1.770	1.464	-4657234.51abd	-4657231.96abcd	-4657230.57abd	-4657226.43ab	-4657224.00abc	-4657223.29ab	-4657223.29ab	
N24	1.780	1.491	-9977445.22abcd	-9977437.19abc	-9977437.19abc					
N25	2.170	2.245	-5299768.61abd	-5299767.81abd	-5299761.02ab	-5299761.01ab	-5299759.39ab	-5299759.39ab		
N26	2.170	2.012	-10126573.35abcd	-10126573.35abcd	-10126570.69abc	-10126570.70abc				

Tablo 3.4. Test Setteki Bileşiklerin Deneysel ve Modelden Çıkan Hesaplanan Aktiviteleri

Mol. No	Den. Akt.	Hes. Akt.	Konformerlerin oluşum entalpileri, sahip oldukları APS ve AG grupların pozisyonlarının a, b, c, d... olarak gösterimi.					
			(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
N10	0.840	0.413	-4051671.73abcd	-4051671.70abcd	-4051662.81abc	-4051662.81abc	-4051662.80abc	
N13	1.130	0.422	-4192068.26abcd	-4192068.11abcd	-4192058.85abc	-4192058.70abc		
N14	1.230	1.537	-3304122.58ab	-3304119.11ab	-3304114.72ab	-3304111.84ab	-3304111.84ab	-3304076.91ab
N16	1.370	1.327	-3991685.26abc	-3991680.69abc				
N21	1.670	1.328	-4208100.34abc	-4207298.91abc				
N27	2.260	3.678	-4719925.71abc	-4719917.64abc	-4719917.64abc	-4719917.64abc		

Tablo 3.3. ve Tablo 3.4.’ training set ve test setteki bileşiklerin deneysel aktiviteleri ve hesaplanan aktiviteleri ile birlikte her bir konformerin oluşum entalpileri (kcal/ mol) ve bu konformerlerde aktiviteye etki eden atomların pozisyonlarını gösteren atom işareti (a^i) verilmiştir. Bu konformerler üzerindeki ‘\$’ işareti Pha’yı taşımayan konformerleri gösterirken, bu atomlar yarıçap tolerans (Δr), torsiyon açısı tolerans değerlerinde (Δ_{TorsTlr}), yarıçap mesafesi (r), torsiyon açısına (t) göre ve j-grup pozisyon olarak a,b,c vs. simgeleriyle sınıflandırılmıştır. Tablolarda konformer sayısı maksimum 7 adet alınmıştır. Tablodaki boşluklar, örneğin N16 molekülü için konformer sayısının iki adet olduğunu molekülün 3.4.5.... konformerlere sahip olmadığını göstermek için boş bırakılmıştır.

Tablo 3.5’ de ise konformerlerin çoğu için, Pha dışında aktiviteyi değiştiren (AG ya da APS) atomların sınıflandırılmasında kullanılan tolerans torsiyon açıları (Δ_{TorsTlr}) ve tolerans mesafe boyutu pozisyonlarının belirlenmesinde kullanılan (Δr), konformerin ismi, konformerin aktivitede etkili olan atomlarının ismi, pozisyonu ve bu pozisyonun özellikleri olarak atomun torsiyon açısı, bağ açısı ve mesafe değerleri verilmiştir.

Tablo 3.5. Pha Dışında Aktiviteye Etki Eden AG ve APS Grupların Bazı Özellikleri.

Molekül No	Atom No	Torsiyon Açısı	Bağ Açısı	Mesafe (Å)	Etkin Değeri	Pozisyon
N03_01	C23	1.40	155.06	r=7.55	$\kappa_a = -2.337$	a
N27_01	C14	25.93	171.57	r=2.82	$\kappa_b = -0.863$	b
N03_01	C24	7.50	161.33	r= 8.77	$\kappa_c = -2.407$	c
N27_01	C1	50.78	26.18	r=4.32	$\kappa_d = 0.117$	d
N01_01	N4	-0.54	14.31	r=7.67	$\kappa_e = 6.177$	e

Pha’ nın varlığı aktivite için gereklidir fakat yeterli şart değildir. Bu nedenle Pha ‘yı temsil eden matrisin belirlenmesinden sonra moleküllerde aktiviteye etki eden gruplar, serideki bileşiklerin temel iskeletine bağlı olan substituentlerin etkisine göre araştırılması için aşağıdaki eşitlik 3.19 ve eşitlik 3.22’ deki aktivite formülü kullanıldı.

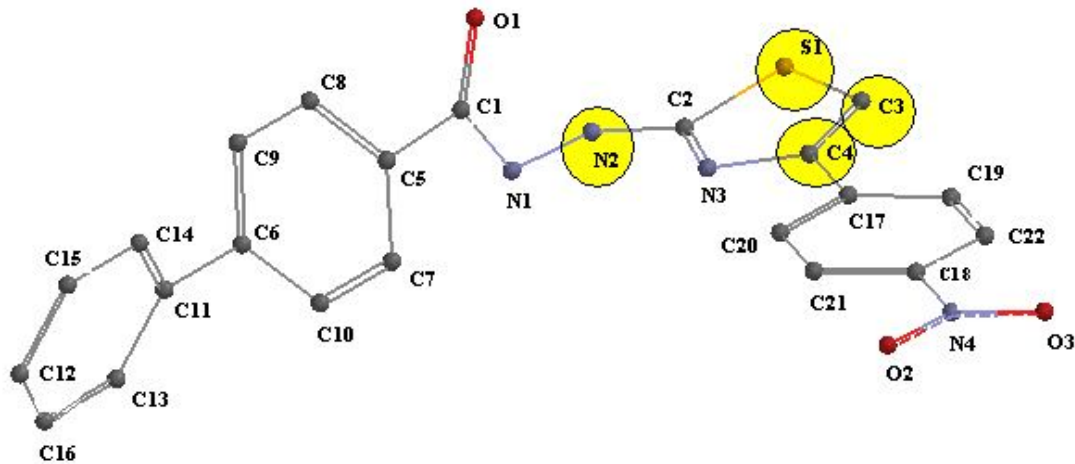
$$S_{ni} = \sum_{j=1}^N \kappa_j a_{ni}^{(j)} \quad (3.19)$$

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

Eşitlik 3.19’ da n-molekül ve i-konformerinin j-pozisyonlarının katkı değeriyle (κ^j) bu konformerin ilgili pozisyondaki atomun yükünün (a_{ni}^j) çarpım toplamları sübstituent katkısıdır (S_{ni}). Eşitlik 3.22’ de “ l ” alt indisi referans bileşiği belirtmek için, “ n ” alt indisi ise ele alınan bileşiği belirtmek için kullanılmıştır. m_l^{Pha} ve m_n^{Pha} sırasıyla, referans ve ele alınan bileşikteki Pha bulunduran konformerlerin sayısını ifade etmektedir. Pha’in bulundurduğu aktivite A_l (N01) göz önüne alınarak, n’ inci molekülün aktivitesi (A_n) hesaplanmıştır.

3.4. Fenildiazolhidrazit Türevlerinde Hesaplanan Aktivite Sonuçları

Çalışılan bileşik serisinden seçilen referans bileşiğine (N01) göre tüm konformerlerin ETM’si karşılaştırılarak farmakofor (Pha) grup belirlenmiştir. Pha grubunu temsil eden Elektron Topolojik Aktiflik Alt Matrisi (ETSA) diyagonal tolerans (Δ_{DiaTlr}) ve nondiyagonal ($\Delta_{NdiaTlr}$) tolerans değerleri ile Şekil 3.8.’ de gösterilmiştir. Pha’ın atomları (N2, S1, C3 ve C4) temel iskelet üzerinde (sarı renkli olarak) işaretlenmiştir.



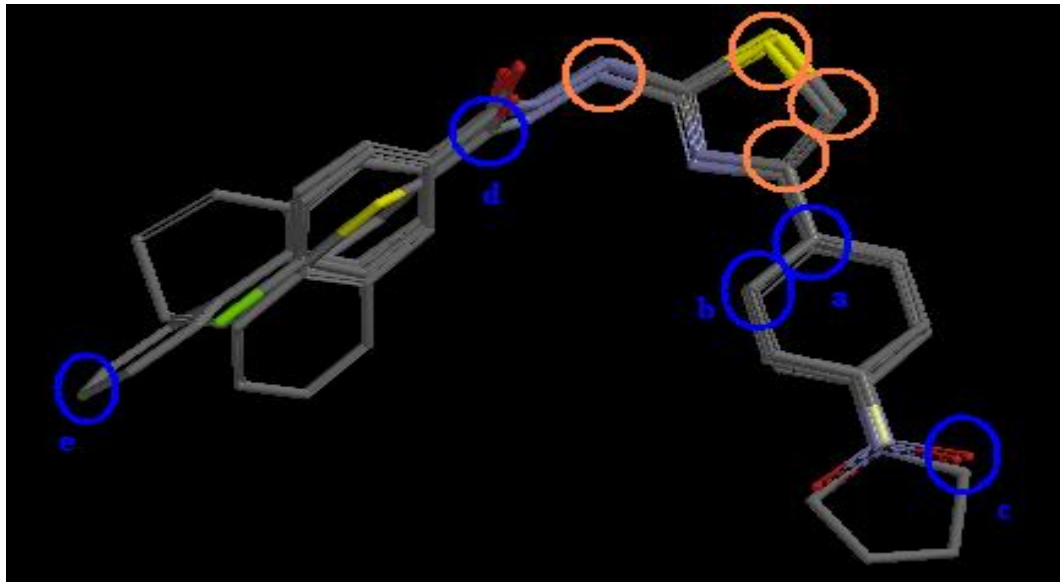
N2	S1	C3	C4	
-0.529	2.708	3.757	3.522	N2
	0.428	1.733	2.543	S1
		-0.484	1.342	C3
			0.146	C4

Şekil 3.8. Çalışılan Bileşik Serisi İçin Aktif Fragmenti (Pha) Gösteren Matris.

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

Burada $a_{ni}^{(j)}$ n' inci bileşiğin i' inci konformerinin j' inci tür APS veya AG özelliğini temsil eder. $a_{ni}^{(j)}$ her bir problem için spesifik bir parametredir. Bu fonksiyon ile birlikte sıcaklığının ve enerjisinin bir fonksiyonu Boltzman dağılımını hesaba katarak genel formülü eşitlik 3.20' yi elde edilmişti. Eşitliğe (3.20) göre S_{ni} değeri pozitif olduğu durumlarda üstel olarak eşitliğin sayısal değerinde azalış olacağından aktiviteyi azaltır, negatif olduğu durumlarda ise üstel olarak eşitliğin sayısal değerinde artış olduğundan aktiviteyi artırır. S_{ni} ise eşitlik 3.19' daki gibi κ ve $a_{ni}^{(j)}$ değerlerinin çarpımı olduğuna göre bu çarpım pozitif çıktığında aktiviteyi azaltan (APS) özellik negatif çıktığında aktiviteyi artıran (AG) özellikten bahsedebiliriz.

Şekil 3.9.' de sırasıyla N01, N8, N13, N17 ve N27 bu bileşiklerin üst üste çakıştırılması, bileşiklerde Pha dışında aktiviteye etki ettiği belirlenen atomları (APS veya AG mavi renk ile) ve taşıdıkları pozisyonlar a, b, c,.. harfleriyle ve Pha atomları (turuncu renkle) gösterilmiştir.



Şekil 3.9. N01, N8, N13, N17 ve N27 Bileşiklerindeki Pha, AG ve APS Grupları.

Çalışılan bileşik serisinde daha önceden bahsedildiği gibi eşitlik 3.22 kullanılarak teorik aktivite hesapları yapıldı. Moleküllerin aktivitelerindeki artma/azalma aşağıdaki parametrelere göre ele alınmıştır.

kıyaslanabilir. Bunun için bu iki molekülün her ikisi veya ikisinden birisi aynı bir fonksiyonu bulundurması yeterlidir. Her ikisi bir fonksiyonu bulundurursa bu fonksiyona ait sayısal değerleri (bu çalışmada atomik yük değerleri) büyük veya küçük ve pozitif veya negatif olmaları yüzünden aktivite artabilir veya azalabilir. Artma ve azalmaya göre bu fonksiyonların AG veya APS olmalarından bahsedilebilir. Tablo 3.3 den görüleceği üzere incelenen serideki moleküllerin hiç birinde tek bir pozisyon bulunmamaktadır. Bu durumda yapılabilecek tek şey en az fonksiyon bulunduran molekülleri ele almaktır. Az fonksiyon az denklemi incelemeyi yani az sayıda molekülü birbiriyle kıyaslamayı gerektirir. Böylece nitel açıklama kolay olur. Buna göre N20 molekülündeki yüksek enerjili konformerleri az nüfustan dolayı ihmal edilirse az fonksiyonel grupta N19 ve N20 moleküllerin ilk 4 konformeri sadece a ve b grubunu ihtiva eder. a ve b gruplarına ait yüklerinin tipine (+ veya -) ve büyüklüklerine bakarak onların aktivitedeki rollerini açıklayabiliriz. Böylece a ve b gibi 2 bilinmeyenli N19 ve N20 gibi iki denklemde açıklayabiliriz.

5 konformeri olan N15 molekülünün 2. konformerindeki d pozisyonu ihmal edilirse N19 ve N20 moleküllerinde a ve b pozisyonun yanı sıra c pozisyonu 5 konformerin tamamında mevcuttur. Burada aktivitenin azaldığı görülmektedir. Aynı zamanda N16 molekülünde N14 molekülündeki a ve b gruplarından farklı olarak c grubunda bulunmaktadır. Yine burada da aktivitenin azaldığı görülüyor. Buna göre söylenebilir ki c grubu APS olarak hareket etmektedir. d pozisyonuna gelince N25 molekülünde a ve b pozisyonuna ek olarak 1 ve 2 nolu konformerlerde d pozisyonu bulunmaktadır. Bu molekülün aktivitesinin önemli ölçüde artması gösteriyor ki d pozisyonu bu molekül için AG dir. e pozisyonunun bazı konformerlerinde bulunduğu N01, N03, N04, N07 ve N08 nolu moleküllerde aktivitenin önemli ölçüde azalmasından anlaşılır ki e pozisyonu APS olarak davranmaktadır. Tablo 3, 3 deki pozisyonlar olan a, b, c, d ve e pozisyonlarının molekül aktivitesi üzerindeki katkıları yüklerin büyüklükleri ve cinsleri konformer enerjilerinin miktarı ölçeğinde birbirleriyle yarışır. MCET metoduyla hazırlanan model üç boyutlu yapıyı biyo-yapıyı bulmak için kullanılmıştır. İnhibitör substitüentlerinin pozisyonları aktivite için önemli olduğu kanıtlanmış olup topolojik yapıları MCET metoduyla gösterilmiştir.

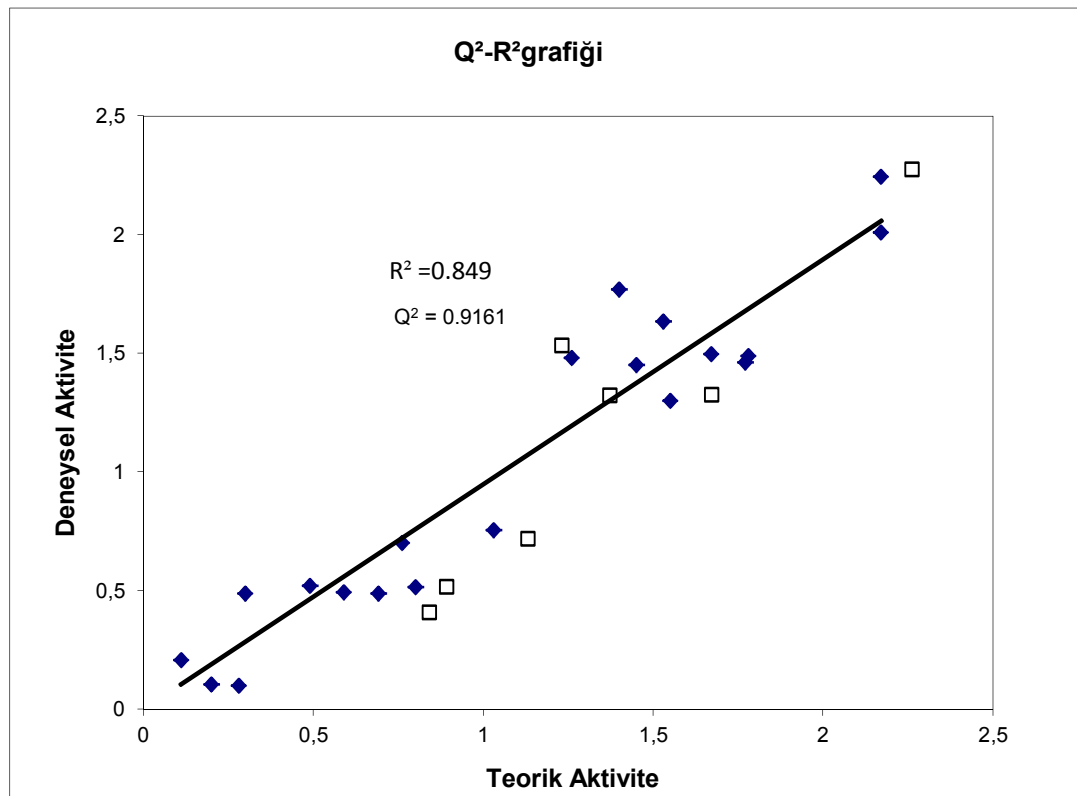
Tablo 3.6' de training set ve test setin, deneysel aktivitesi ve hesaplanan aktiviteleri ile standart sapmaları ve belirlilik katsayısı (R^2) verilmiştir. Çalışılan bileşik serisinde seri

training set ve test set olarak ikiye bölünmüştür. Training set eğitim setidir ve bu set için bulunan parametreler test sette denir.

Tablo 3.6. Training ve Test Setin Deneysel Aktivite ve Hesaplanan Aktivite.

<i>Training Set</i>		
Molekül No	Deneysel Aktivite	Hesaplanan Aktivite
N01	0.11	0.21
N02	0.2	0.108
N03	0.28	0.102
N04	0.3	0.49
N05	0.49	0.521
N06	0.59	0.495
N07	0.69	0.49
N08	0.76	0.702
N09	0.8	0.517
N12	1.03	0.758
N15	1.26	1.482
N17	1.4	1.771
N18	1.45	1.454
N19	1.53	1.637
N20	1.55	1.303
N22	1.67	1.5
N23	1.77	1.464
N24	1.78	1.491
N25	2.17	2.245
N26	2.17	2.012
Q^2		0.916
Standart Hata		0.195
<i>Test Set</i>		
Molekül No	Deneysel Aktivite	Hesaplanan Aktivite
N10	0.84	0.413
N11	0.89	0.52
N13	1.13	0.422
N14	1.23	1.537
N16	1.37	1.327
N21	1.67	1.328
N27	2.26	2.678
R^2		0.849
Standart Hata		0.234

Kurulan regresyon modelinde, gözlemlenen değerlerin modelle uyumluluk içerisinde olup olmadığını belirlilik katsayısı (R^2) ile değerlendirebiliriz. Bulunan belirlilik katsayısı, bağımsız değişken değerlerindeki değişimlerin ne kadarının (%) kurulan regresyon modeli ile açıklandığını gösterir. Değer 0 ile 1 arasında değişmektedir. 1'e yaklaştıkça modelin uygunluğu artmaktadır. Şekil 3.10 'de training set ve test set için deneysel ve hesaplanan teorik aktiviteler arasındaki R^2 ve Q^2 grafiği verilmiştir.



Şekil 3.10. Eğitim Setindeki 20 Adet Bileşiğin Deneysel ve Hesaplanan Aktiviteler Arasındaki Q^2 (dolu noktalar) ve Test Setindeki 7 adet Bileşiğin R^2 (boş noktalar) Grafiği.

Molekül serisine ait istatistik hesaplamalarla belirlilik katsayısı R^2 0.849 olarak bulunmuştur. Kurulan regresyon modelindeki katsayıların ana kütle değerlerine ne kadar yakın olduğu yani güvenilirliği, katsayıların standart hatalarına bakılarak ölçülmektedir. Standart hata, ana kütlede örnek olarak alınan gözlem değerleri için kullanılan terimdir. Standart hata training set için 0.195 ve test set için ise 0.234 olarak bulunmuştur. Yöntemin doğruluğunu tespit etmek için Q^2 değeri hesaplandığında değer 0.916 olarak bulunmuştur. Literatürlere baktığımızda Q^2 0.5' ten büyük olduğunda yöntemin doğruluğu kabul edilmektedir.

Bu çalışmada Pha üzerindeki sayısal etkinlik değerleri Newton-Rapson yöntemi kullanarak çoklu non-lineer denklem üzerinden ligandın etkileştiği reseptör tarafına ait sabitler (κ) olan; $\kappa_a=-2.337$, $\kappa_b=-0.863$, $\kappa_c=-2.407$, $\kappa_d= 0.117$ $\kappa_e= 6.177$ değerleriyle bulunmuştur.

4.BÖLÜM

TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada 27 tane fenildiazolhidrazit bileşiğinin türevlerinin aktivitesi 4D-QSAR olarak incelendi. Çalışılan bileşik serisinin teorik aktivite hesapları Eşitlik 2.5 içerisinde belirlenen model kullanılarak yapıldı. Bu modelde tüm moleküllerde Pha'nın yanı sıra AG ve APS gruplarının parametre katsayıları ve onlara karşılık gelen bağımsız değişken değerleri (örneğin yük miktarları) hesap içinde kullanıldı. Referans molekül dahil tüm molekülün konformerlerinin Pha taşıyanları etkin konformerler olarak seçildi. Etkin konformerler içinde pozisyon bulunduranların atomik yüklerine ait nicel değerler aktivite hesabı sırasında kullanıldı. Böylece model içinde moleküle ait topolojik özellikler bir QSAR nicel analiz için kullanıldı. Rastgele seçilmiş tanımlayıcılarla ile yapılan model ve bu model ile yapılan hesaplamalar istatistiksel bir zorlama olduğundan onun yerine topolojik olarak oluşturulan bir model ligand-reseptör arasındaki etkileşmeyi açıklamak için daha gerçekçidir. Yaptığımız çalışmadaki gibi ligand-reseptör arasındaki etkileşim her ikisi arasındaki “docking” anlamına gelen 3D yapısındaki topolojik değişkenler kullanılarak gerçekleştirildi. Bunun için her bir konformerin yapısındaki pozisyonlar ayrı ayrı işleme konuldu. Moleküler modelleme alanında “docking” bir molekülün reseptöre daha kararlı bir yapı oluşturacak şekilde bağlandığı zaman tercih edilen yönlenmesidir. Bu yöntem ligand-reseptör arasındaki bağlanma affinitesini veya birbirine tutunma kuvvetini tahmin etmek için kullanılan önemli bir metottür. Bu amaca hizmet için temel geometrik yapı olarak Pha grubu ve onun etrafında yönlenmiş AG ve APS grupları hesaba katıldı. Bu yüzden Ligand-Reseptör arasındaki etkileşim mekanizması daha gerçekçidir ve etkileşim sırasındaki olaylara ışık tutar. Reseptöre ait biyoaktif yapı bilinmese bile pK_i bağlanma affinitelerine bağlı olarak ligand bazlı bu çalışma ile yapı aydınlatılabilir. Bu yapının temelini oluşturan Pha'nın geometrisi ve onun etrafında yönlenmiş grupların pozisyonları yapılan analizlerde belirlendi. Bu pozisyonlardaki noktalar, ligand ve reseptör arasında

Pha'n yanı sıra diğer etkileşim noktalarıdır. Pozisyonlardaki tanımlayıcı özellikleri söz konusu pozisyona sahip olan konformerlerin atomik yük değerleridir. Her bir j- pozisyonunda ligandların etkileşim noktaları için r konformerin atomik yük miktarı iken reseptörün etkileşim noktaları için ortak değerlere sahiptir. Konformerlere ait değerler Eşitlik 2.2 de a_{ni}^j ile verilmiş ve Tablo 3.4 de konformerlerin oluşum entalpi değerlerinin yanında a, b, c vs harfler ile işaret edilmiştir. Reseptöre ait değerler ise tüm moleküllerle için κ_j -parametreleri ile ortak değerler olarak belirlenmiştir. Bu parametre değerleri ayarlanabilir sabitler olmasına rağmen aynı zamanda reseptörün yükünü, ligand-reseptör arasındaki mesafeyi, ortamın dielektrik sabitini vs ihtiva eder. Bu parametre sabitlerinin hesaplanması, QSAR analizi yapılması için önemli bir basamaktır ve model içinde konformerlerin tanımlayıcıları (atomik yükleri) ile birlikte kullanıldı. Reseptör-ligand arasındaki bağlanma affinitesinin analizi için; Pha, AG ve APS gruplarındaki atomik yüklerin tiplerinin negatif-pozitif olması etkili olduğu gibi bu yüklerin değerlerinin büyük-küçük olması da hesaba katılmalıdır. Örneğin aynı pozisyondaki reseptör tarafının atomik yükü pozitif ise ligand tarafındaki negatif olmasıyla ligand-reseptörün bu pozisyonda çekme kuvveti etkili olur ve affinitenin artmasına katkı sağlar. Bu katkının daha büyük olması pozisyona ait ligand yükünün daha fazla negatif ve reseptör yükünün daha fazla pozitif olmasıyla olur. Eşitlik 2.2'in negatif işareti yüzünden reseptör tarafındaki κ_j -parametresi ile ligand tarafındaki a_{ni}^j bağımsız değişken değerleri farklı tipte iseler (Örneğin birisi negatif değerde iken diğeri pozitif veya tersi) bağlanma affinitesine katkı sağlarlar. Bu yüzden ligandın a_{ni}^j değerinin κ_j -parametresi ile farklı tipte olanları AG şeklinde ve aynı tipte olanları APS şeklinde değerlendirilir. Pha'n atomik yüklerinin tipleri ve miktarları ayrı-ayrı değerlendirilmeyip geometrik yapısıyla bir bütün yani sabit olarak ele alınır. Bağlanma affinitesinde bir başka etki konformerlerin enerji değerlerinden kaynaklanır. Düşük enerjili konformerlerin Boltzmann dağılım kanununa göre daha fazla nüfuzlu olduklarından onların sahip oldukları AG ve APS ler de diğerlerinden daha fazla etkilidir. Yukarıda söylenen detaylı açıklamalar MCET metodunda 4D-QSAR analizine ait Eşitlik 2.5 ile oluşturulan model içinde kullanılmıştır. Bu modele ait pozisyonlar belirlenmiş ve onlardaki κ_j -parametreler hesaplanmıştır. Excel'de hazırlanmış Visual Basic programında bu parametre değerleri yeniden kullanılarak aktiviteler tekrar hesaplanmış ve modelin işleyişi uygulanarak denetlenmiştir.

Bu çalışmadaki molekül serisine göre sonuç olarak söylenebilir ki; Pha grubunu bulunduracak temel iskelete sahip yeni, farklı ve kılavuz bir molekül belirlemek mümkündür.

Pha'yı taşıyan temel iskeletin yanı Fenildiazolhidrazit türevlerinin aktivitesini artırıcı pozisyonlar a-, b- ve d- bulunması ve azaltıcı pozisyonda da c-, ve e- pozisyonlarının bulunmaması dikkat edilecek temel özelliklerdir.

MCET metodu ile 4D-QSAR analizi için kurulan modelde ligand-reseptör arasındaki etkileşim noktaları biyo-yapıyı geometrik olarak ortaya çıkartacak şekilde belirtilmiştir. Biyo-yapı içerisinde aktivitenin temel şartı olan Pha ve diğer etkili tanımlayıcılar bulunmaktadır. Ligand bazlı bir çalışma ile reseptörün biyo yapısı hakkında önemli bir yorum getirilmiştir. Reseptörün bu yapısına bağlı olarak daha aktif ve basit yapıya yeni moleküller ileri sürülebilir.

KAYNAKLAR

1. Hopfinger, A. J., Tokarski, J. S., 1997. Three-dimensional quantitative structure-activity relationships, 105-164. In: Practical Application of Computer-Aided Drug Design (Eds. P. S. Charifson, M. Dekker) New York.
2. Greco, G., novellino, E., Martin, Y.C., Lipkoitz, K.B., Boyd, D.B., 1997. Approaches to three-dimensional quantitative structure-activity relationships. In **Reviews in Computational Chemistry**, Wiley-VCH, New York, **11**, 183-240.
3. Debnath, A. K., 2001. Quantitative structure-activity relationship (QSAR) paradigm – Hansch Era to New Millennium. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**, **1**, 187-195.
4. http://chemistry.illinoisstate.edu/standard/che38037/handouts/380.37confsearc_h1.pdf
5. Kayaalp, O., 2000. **Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji**, **1**, 1-199.
6. Ho, C., 2003. Drug design methodologies.
(Web sayfası: <http://www.newdrugdesign.com>).
7. Kaymakçalan, Ş., 1970. Genel Farmakoloji, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara.
8. <http://netsci.org/scgi-bin/Courseware/Drugs/Intro/top.html>
9. Richards, W.G., 1994. Computer aided drug design. **Pure & Applied Chemistry**, **6** (8): 1589-1596.
10. Roberto, G., 2001. Computer-assisted drug development (CADD): An emerging technology for designing first-time-in-man and proof-of-concept studies from preclinical experiments. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, **13**, 261–270.
11. McCarthy, D. J., 1999. Computational approaches to structure-based ligand design. **Pharmacology & Therapeutics**, **84**, 179–191.
12. Sargutan, A. E., 2005. Sağlık teknolojisi yönetimi. (Web sayfası: <http://vizyon2023.tubitak.gov.tr/teknolojiongorusu/paneller/raporozet/saglik.pdf>).
13. Allen, B. R., 1994. An introduction to molecular modeling. **Mathematech**, **1**, 83.
14. Zahid, M. A. H., Mittal, A., Joshi, R. C. A., 2006. Pattern recognition-based approach for phylogenetic network construction with constrained recombination. **Pattern Recognition**, **39** (12), 2312-2322.

15. Wang, S., Lu, H., Zhao, Y., Mostofi, R., Young Kim, H., Yin, L., 2007. Numerical study of coal particle cluster combustion under quiescent conditions. **Chemical Engineering Science**, **62** (16), 4336-4347.
16. <http://fred.hmc.psu.edu/ds/retrieve/fred/meshdescriptor/D013329>.
17. http://www.medicalglossary.org/structureactivity_relationship_quantitative_structureactivity_relationship_definitions.html.
18. Kubinyi, H., 2002. From narcosis to hyperspace: The history of QSAR,. **Quantitative Structure-Activity Relationships**, **21**, 348-356.
19. Loo, G., Jianhong, C., 2000. QSAR and drug design. (Web sayfası: http://www.biochem.vt.edu/courses/modeling/qsar_drug..html).
20. Fruhbeis, H., Klein, R., Wallmeier, H., 1987. Computer-assisted molecular design (CAMD): An overview. **Angewandte Chemie International Edition**, **26**, 403-418.
21. Kubinyi, H., 1997. QSAR and 3D QSAR in drug design. **Drug Discovery Today**, **2**, 457-467.
22. Kubinyi, H., 1993. QSAR: Hansch analysis and related approaches. **Methods and Principles in Medicinal Chemistry**, **1**.
23. Akgün, H., Balkan, A., Bilgin, A. A., Çalış, Ü., Dalkara, S., Erdoğan, H., Erol, D. D., Ertan, M., Özkanlı, F., Palaska, E., Saraç, S., Şafak C., 2000. Farmasötik Kimya, Ankara.
24. http://molvis.chem.indiana.edu/C687_S99/lecture4.html
25. Perkins, R., Fang, H., Tong, W., Welsh, W. J., 2003. Quantitative structure-activity relationship methods: perspectives on drug discovery and toxicology. **Environmental Toxicology and Chemistry**, **22**, No. 8.
26. David, R., Tripos, L., 1997. HQSAR: A new highly predictive QSAR technique. **Tripos Technical Notes**, **1**, No. 5.
27. Zheng, W., Cho, S. J., Tropsha, A., 1998. Rational combinatorial library design.1. focus-2D: A new approach to the design of targeted combinatorial chemical libraries. **Journal Chemical Informational Computer Sciences**, **38** (2), 251 - 258.

28. Gao, H., Lajiness, M.S., Van Drie J., 2002. Enhancement of binary QSAR analysis by a GA-based variable selection method. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, **20** (4), 259-68.
29. Labute, P., 1999. A new method for the determination of quantitative structure activity relationships. *Pacific Symposium on Biocomputing*, 444.
30. Gao, H., Williams, C., Labute, P., Bajorath, J., 1999. Binary quantitative structure-activity relationship (QSAR) analysis of estrogen receptor ligands. **Journal Chemical Informational Computer Sciences**, **39**, 164.
31. Kubinyi, H., Folkers, G., Martin, Y. C., 1998. 3D-QSAR. **Drug Design Recent Advances**, **3**.
32. http://molvis.chem.indiana.edu/C687_S99/lecture4.htm
33. Kubinyi, H., Comparative Molecular Field Analysis (CoMFA), BASF AG, D-67056 Ludwigshafen Germany.
(<http://www.wiley.com/legacy/wileychi/ecc/samples/sample05.pdf>).
34. Mishra, H., Parrill, A. L., Williamson, J. S., 2002. Three-dimensional quantitative structure-activity relationship and comparative molecular field analysis of dipeptide hydroxamic acid helicobacter pylori urease inhibitors. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, **46** (8), 2613-2618.
35. Hasegawa, K., Arakawa, M., Funatsu, K., 2000. Rational choice of bioactive conformations through use of conformation analysis and 3-way partial least squares modeling. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, **50**, 253-261.
36. Richon, A. B., Young, S. S., 1997. Network science an introduction to QSAR methodology.
(Web sayfası: <http://www.netsci.org/Science/Compchem/feature19.html>).
37. Klebe, G., Kubinyi, H., Folkers, G., Martin, Y. C., 1998. Comparative molecular similarity indices: CoMSIA 3D QSAR in drug design. **Kluwer Academic Publishers**, **3**, 87.
38. Hou, T., Li, Y., Liao, N., Xu, X., 2000. Three-dimension quantitative structure-activity relationship analysis of some cinnamamides using comparative molecular similarity indices analysis (CoMSIA). **J. Mol. Model.**, **6**, 438 – 445.

39. Silverman, B. D., Platt, D. E., 1996. Comparative molecular moment analysis (CoMMA): 3D-QSAR without molecular superposition. **Journal of Medicinal Chemistry**, **39** (11), 2129-2140.
40. Vedani, A., Briem, H., Dobler, M., Dollinger, H., McMasters, D. R., 2000. Multiple conformation and protonation-state representation in 4D-QSAR: The neurokinin-1 receptor system. **Journal of Medicinal Chemistry**, **43**, 4416-4427.
41. http://www.genomicglossaries.com/content/molecular_modeling_gloss.asp
42. Smith, C., 1998. Molecular modeling -seeing the whole picture with modeling software packages. **Scientist**, **12**, 17-31.
43. Gund, T., 1996. Molecular modelling of small molecules. **In Guidebook on Molecular Modeling in Drug Design, Cohen**, 55-92.
44. Andrew, R., Leach, V., Gillet J., Glaxosmithkline research and Development, Stevenage. **An Introduction to Cheminformatics**, ISBN 978-1-4020-6291-9 (e-book).
45. Berman, H.M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T.N., Weissig, H., Shindyalov, LN., Bourne, P.E., 2000. The protein data bank. **Nucleic Acids Research**, **28**, 235-242.
46. Bersuker, I.B., 2003. Pharmacophore identification and quantitative bioactivity prediction using the electron-conformational method. **Current Pharmaceutical Design**, **9**, 1575-1606.
47. Marshall, G.R., Barry, C.D., Bosshard, H.E., Damkoehler, R.A., Dunn, D.A., 1979. The conformational parameter in drug design, The Active Analog Approach, *In Symposium on Computer-Assisted Drug Design, ACS Symposium Series 112, (Olson), American Chemical Society*, 205-226.
48. Cosentino, U., Moro, G., Pitea, D., Scolastico, S., Todeschini, R., Scolastico, C., 1992. Pharmacophore identification by molecular modeling and chemometrics, the case of HMG-CoA reductase inhibitors. **J.Computer-Aided Molecular Design**, **6**, 47-60.
49. Dimoglo, A. S., Bersuker, I. B., Popa, D. P., Kuchkova, K. I. 1989. Electron-topological study of plant growth-regulator activity in a series of analogs of abscisic acid. **Journal of Chemical Information and Modeling**, **5**, 590.

50. Pickett S. D., Mason J. S., McLay, M., 1996. Diversity profiling and design using 3D pharmacophores: Pharmacophore-derived queries (PDQ). **Journal of Chemical Information and Modeling**, 1214–1223.
51. Bersuker, I. B., Dimoglo, A. S., Gorbachov, M., Vlad, P. F., Pesaro, M., 1991. Origin of musk fragrance activity, the electron-topological approach. **New Journal Chemistry**, **15**, 307-320.
52. Bersuker, I. B., Dimoglo, A. S., Gorbachov, M. Yu., Greni, A.I., Vysotskaya, L. E., Mikhailova, T. V., 1989. Study of the electronic and structural properties of the chemical compounds in garlic aroma. **Food/ Nahrung**, **33**, 405-411.
53. Dimoglo, A. S., Gorbachov, M. Yu., Bersuker, I. B., Greni, A. I., Vysotskaya, L. E., Stepanova, O. V., Lukash, E. Yu. 1988. Structural and electronic origin of meat odour of organic hetero-atomic compounds. **Food/ Nahrung**, **32**, 461-473.
54. Bersuker, I. B., Dimoglo, A. S., Gorbachov, M. Yu., Vlad, P. F., Koltsa, M. N., 1987. Structural and electronic origin of odour properties of organic compounds as revealed by the electron-topologic approach to the QSAR problem. **In QSAR in Drug Design and Toxicology**, **10**, 340–342.
55. Bersuker, I. B., Dimoglo, A. S., Gorbachov, M. Yu., 1987. The electron-topologic approach to the QSAR problem, illustrated by inhibitor activity for thymidine phosphorylase and α -chymo-trypsin. **In QSAR in Drug Design and Toxicology**, **10**, 43-48.
56. Bersuker, I. B., Dimoglo, A. S., Gorbachov, M. Yu., 1987. The electron-topologic approach to structure-activity relationships. **Reviews in computational chemistry**, **13**, 38-44.
57. Dimoglo, A. S., Bersuker, I. B., Popa, D. P., Kuchkova, K. I. 1989. Electron-topological study of plant growth-regulator activity in a series of analogs of abscisic acid. **Journal of Chemical Information and Modeling**, **5**, 590.
58. Guzel, Y., Saripinar, E., Yildirim. I., 1997. Electron-topological (ET) investigation of structure- antagonist activity of a series of di benzo[a,d] cycloalkenimines. **Journal of Molecular Structure: Theochem**, **418**, 83-91.
59. Guzel, Y., 1996. Investigation of the relationship between the inhibitory activity of glycolic acid oxidase and its chemical structure, electron-topological approach. **Journal of Molecular Structure: Theochem**, **366**, 131-137.

60. Dimoglo, A. S., Beda, A. A., Shvets, N. M., Gorbachov, M. Yu., Kheifits, L. A., Aulchenko, I. S. 1995. Investigation of the relationship between sandalwood odor and chemical structure, electron-topological approach. **New Journal Chemistry**, **19**, 149-154.
61. Dimoglo, A. S., Vlad, P. F., Shvets, N. M., Koltza, M. N., Güzel, Y., Saracoğlu, M., Saripinar, E., Patat, S., 1995. Electron-topological investigations of the relationship between chemical structure and ambergris odor. **New Journal Chemistry**, **19**, 1217–1226.
62. Marshall, G. R., 1995. Molecular modeling in drug design. principles and practice, 5th Wolff. **In Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery**, **6**, 573-659.
63. Bersuker, I. B., Bahceci, S., Boggs, J. E., 2000. Atomic index of charge and orbital controlled intermolecular interaction in molecular modeling for QSAR in drug design. **Journal of the American Chemical Society**, **122**, 594.
64. Bersuker I. B., Dimoglo, A. S., Gorbachov, M. Yu. , Vlad, P. F., Pesaro, M., 1991. Origin of musk fragrance activity, the electron-topological approach. **New Journal Chemistry**, **15**, 307-320.
65. Bersuker, I. B., Dimoglo, A. S., Gorbachov, M. Yu., Greni, A. I., Vysotskaya, L. E., Mikhailova, T. V. 1989. Study of the electronic and structural properties of the chemical compounds in garlic aroma. **Die Nahrung- Food**, **33**, 405-411.
66. Adams, R.L., Craig, P.L., Parsons, O.A.: 1984, Neuropsychology of Dementia, , **The Journal of American Medical Association**, **4 (2)**, 387-405.
67. Bachman, D.L., Wolf, P.A., Linn, R.T., 1992, Prevalence of Dementia and Probable Senile Dementia of the Alzheimer Type in the Framingham Study, **The Journal of American Medical Association**, **42**, 115-9.
68. Terry, R.D., 1983, Senile Demantia of Alzheimer's Type, **The Journal of American Medical Association**, **14**, 497-506.
69. Cummings, J.L., 1992, Dementia: A Clinical Approach, Butterworth-Heinemann Press, Boston.
70. Beard, C.M., Kökmen, E., Kurland, L.T., 1995, A Prevalence of Dementia is Changing Over Time in Rochester, **Neurol**, **9**, 45- 75.
71. Prince, M., 1997, The Number of People with Dementia is Rising Quickly, **World Alzheimer's Day Bulletin**, **21**.

72. Dickson, D., 1997, The Pathogenesis of Senile Plaques, **Journal of Neuropathology & Experimental Neurology**, **56**, 321-39.
73. Namba, Y., Tomonga, M., Otoma, E., 1991, Apolipoprotein E Immunoreactivity in Cerebral Amyloid Deposits and Neurofibrillary Tangles in Alzheimer's Disease, **Brain Research**, **541**, 163-6, Elsevier
74. Poirier, J., Davignon, J., Bouthillier, D., 1993, Apolipoprotein E Polymorphism and Alzheimer's Disease, **Lancet**, **342**, 697-9.
75. Davies, C.A., Mann, D.M.A., Sumpter, P.Q., 1987, Quantitative Morphometric Analysis of the Neuronal and Synaptic Content of the Frontal and Temporal Cortex in Patients with Alzheimer's Disease, **Journal Neurology Sciences**, **78**, 151-64.
76. Friede, R.L., 1965, Enzyme Histochemical Studies of Senile Plaques, **Journal of Neuropathology & Experimental Neurology**, **24**, 477-91.
77. Kandemir Erdoğan M., Sütlaş P., 2004, Santral Sinir Sisteminin Dejeneratif Hastalıklarında BOS Tau Düzeylerinin Bir Belirteç Olarak Kullanımı : Bir Gözden Geçirme Yazısı, **Düşünen Adam**, 17(2):126-130.
78. Dimoglo, A. S., 1987. The electron-topological approach in the search and design of biologically active compounds. **Thesis of Doctor of Sciences**.
79. Bahceci, S., 1999. The electron-conformational method of molecular modeling,. **Drug Design and Structure-Activity Relationships**, The University of Texas at Austin.
80. Bersuker, I. B., 1991. Origin of musk fragrance activity, the electron-topological approach. **New Journal Chemistry**, **15**, 307-320.
81. Bersuker, I. B., Bahceci, S., Boggs, E. J., Pearlman, R. S., 1999. A novel electron conformational approach to molecular modeling for QSAR by identification of pharmacophore and anti-pharmacophore shielding, **SAR and QSAR in Environmental Research**, **10**, 157-173.
82. Bersuker, I. B., 2003. Pharmacophore identification and quantitative bioactivity prediction using the electron-conformational method. **Current Pharmaceutical Design**, **9**, 1575-1606.
83. Park, H. R., Kim, M. K., Kim, D. W., Choo I. H. and Chong Y. 2010. 3D Qsar ComFA Study on Phenylthiazolyhydrazide(PTH) derivatives as Tau Protein Aggregation Inhibitors. **Bull. Korean Chem. Soc.** 31, 3838-3841

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Sefa AKSAKAL
Uyruğu: Türkiye (TC)
Doğum Tarihi ve Yeri: 18 Şubat 1986, Sivas
Medeni Durumu: Bekâr
Tel: +90 505 342 31 14
email: sefaaksakal@hotmail.com
Yazışma Adresi: M.A. Ersoy Mah. 70.sok. 7/4
Merkez/Sivas

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	E.Ü. Fen Bilimler Enstitüsü	2013
Lisans	Erciyes Ü. Fen Fakültesi Kimya	2011
Lise	Sivas Lisesi(YDA)	2004

YABANCI DİL

İngilizce