

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

**TİYAZOL, 2-HİDROKSİDİARİLAMİT VE PİRİMİDİN
TÜREVLERİ ÜZERİNDE MCET METODU VE
MOLEKÜLER DOCKİNG ÇALIŞMALARI**

**Hazırlayan
Burçin TÜRKMENOĞLU**

**Danışman
Prof. Dr. Yahya GÜZEL**

Doktora Tezi

**Temmuz 2019
KAYSERİ**

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

**TİYAZOL, 2-HİDROKSİDİARİLAMİT VE PİRİMİDİN
TÜREVLERİ ÜZERİNDE MCET METODU VE
MOLEKÜLER DOCKİNG ÇALIŞMALARI**

(Doktora Tezi)

**Hazırlayan
Burçin TÜRKMENOĞLU**

**Danışman
Prof. Dr. Yahya GÜZEL**

**Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından 2016-6547 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Temmuz 2019
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.

Burçin TÜRKMENOĞLU



YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI

“Tiyazol, 2-Hidroksidiarilamit ve Pirimidin Türevleri Üzerinde MCET Metodu ve Moleküler Docking Çalışmaları” adlı Doktora tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan

Burçin TÜRKMENOĞLU



Danışman

Prof. Dr. Yahya GÜZEL



Kimya ABD Başkanı

Prof. Dr. Emin SARIPINAR

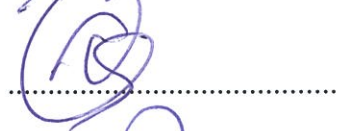
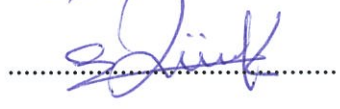
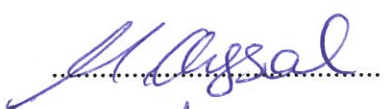
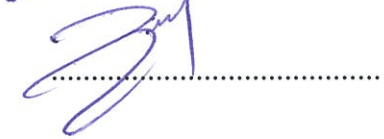
KABUL VE ONAY

Prof. Dr. Yahya GÜZEL danışmanlığında **Burçin TÜRKMENOĞLU** tarafından hazırlanan “**Tiyazol, 2-Hidroksidiarilamit ve Pirimidin Türevleri Üzerinde MCET Metodu ve Moleküler Docking Çalışmaları**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Kimya** Anabilim Dalında **Doktora** tezi olarak kabul edilmiştir.

16/07/2019

JÜRİ:

Danışman : Prof. Dr. Yahya GÜZEL
Üye : Prof. Dr. Talat ÖZPOZAN
Üye : Prof. Dr. Zülbiye KÖKBUDAK
Üye : Prof. Dr. Mehtap UYSAL
Üye : Doç. Dr. Başak DOĞRU MERT

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 27/08/2019 tarih ve 2019/0007 sayılı kararı ile onaylanmıştır.


27/08/2019

Prof. Dr. Mehmet AKKURT

Enstitü Müdürü 

TEŞEKKÜR

Sadece tez çalışmalarım süresince değil her zaman yanımda olan geniş bilgi ve deneyimleri ile her konuda yol gösteren ve desteğini hiç bir zaman esirgemeyen kıymetli danışmanım Prof. Dr. Yahya GÜZEL’e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

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

Araştırma görevlisi olarak birlikte çalıştığım tüm değerli arkadaşlarım; Öğr. Gör. Sevtap ÇAĞLAR YAVUZ, Dr. Serkan DAYAN, Dr. Öğr. Üyesi Senem AKKOÇ, Arş. Gör. Burcu SOMTÜRK YILMAZ, Dr. Emre YAVUZ, Arş Gör. Halis KARATAŞ, Arş Gör. Furkan UZCAN ve QSAR grubu olarak çalışma arkadaşlarım; Dilek Şeyma KIZILCAN, Tuğba ALP TOKAT, Ekrem Mesut SU, Ertuğrul ASLAN’a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Erciyes Üniversitesi **Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi’ne, FDK-2016-6547** nolu “**Tiyazol, 2-Hidroksidiarilamit ve Pirimidin Türevleri Üzerinde MCET Metodu ve Moleküler Docking**” başlıklı proje kapasamındaki desteklerinden ötürü teşekkür ederim.

Hayatım boyunca bana inançla destek olan, maddi manevi desteklerini esirgemeyen, akademisyen olma yolunda ilerlemem için bana ısrar eden ve destekleyen sevgili babam Garip KILIÇ, sevgili annem Sabiha KILIÇ, kardeşlerim Aylin DELİKANLI, Çağla BAŞLAN ve Behçet KILIÇ’a ayrıca üzerimde emekleri olan babaannem Semiha KILIÇ ve halam Servet KILIÇ’a sonsuz teşekkür ve minnettarlıklarımı bildiririm.

Bu yolda ilerlerken her zaman yanımda olup ve beni destekleyen pek çok fedakarlık yapan biricik sevgili oğlum Arda TÜRKMENOĞLU ve sevgili eşim Mustafa TÜRKMENOĞLU’na binlerce kez teşekkür ediyorum.

Burçin TÜRKMENOĞLU

Temmuz 2019

TİYAZOL, 2-HİDROKSİDİARİLAMİT VE PİRİMİDİN TÜREVLERİ ÜZERİNDE MCET METODU VE MOLEKÜLER DOCKİNG ÇALIŞMALARI

Burçin TÜRKMENOĞLU

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Doktora Tezi, Temmuz 2019

Danışman: Prof. Dr. Yahya GÜZEL

ÖZET

Tiyazol, 2-hidroksidiarilamit ve pirimidin türevlerinden oluşan üç ayrı seri üzerinde ‘moleküler docking’ ve 4D-Quantative Yapı Aktivite İlişkisi (4D-QSAR) analizi kullanılarak reseptör bağlanma bölgesindeki etkileşim noktalarının bulunması amaçlanmıştır. Bunun için, Ligand-Reseptör (L-R) arasındaki etkileşim enerjisinden doğan aktivite değerleri Levenberg-Marquardt (LM) algoritması ile doğrusal olmayan en küçük kareler (Non-linear Least Square-NLLS) yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Molekül Karşılaştırmalı Elektron Topolojisi (Molecular Comparative Electron Topogical-MCET) yönteminde farklı tipte lokal reaktif tanımlayıcılarına (LRT) arasından yeni olarak geliştirdiğimiz Klopman indeks tanımlayıcısı kullanılarak 4D-QSAR analizleri yapılmıştır. Moleküllerin hizalanarak üst üste binmesinden sonra 3D koordinat sisteminde düzenlenen atomların oluşturduğu kümeler arasından Genetik Algoritmanın (GA) uygulanmasıyla 3 boyutlu farmakofor modeli (3D-PhaM) elde edilmiştir. Reseptördeki 3D-PhaM’e ait öngörülen parametreler vesilesiyle aktiviteler hesaplanmış ayrıca moleküler docking yöntemiyle 3D-PhaM doğrulanmıştır. Eğitim ve test setindeki moleküller, yeni geliştirmiş olduğumuz algoritma ile optimum olarak ayrılmıştır. Sadece bir veri dışarıda bırakılarak çapraz doğrulama (Leave One Out-Cross Validation LOO-CV) yöntemi ile en iyi tahminler, dâhili eğitim setindeki bileşikler için q^2 ve harici test setindeki bileşikler için r^2 değerleri bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Tiyazol, 2-Hidroksidiarilamit, Pirimidin, 4D-QSAR, MCET, Moleküler docking, 3D-PhaM

**MCET METHOD AND MOLECULAR DOCKING STUDIES ON THIAZOLE,
2-HYDROXYDIARYLAMIDE AND PYRIMIDIN DERIVATIVES**

Burçin TÜRKMENOĞLU

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences

PhD Thesis, July 2019

Supervisor: Prof. Dr. Yahya GÜZEL

ABSTRACT

It was aimed to find the interaction points in the receptor binding side by using ‘molecular docking’ and 4D-Quantative Structure Activity Relationship (4D-QSAR) analysis on three separate series consisting of thiazole, 2-hydroxydiarylamide and pyrimidine derivatives. For this purpose, the activity values arising from the interaction energy between the Ligand-Receptor (L-R) were determined by the Levenberg-Marquardt (LM) algorithm using the non-linear Least Square (NLLS) method. In the Molecular Comparative Electron Topogical (MCET) method, 4D-QSAR analyzes were performed using the newly developed Klopman index idescriptor among different types of local reactivite descriptors (LRD). After aligning and overlapping the molecules, the 3D pharmacophore model (3D-PhaM) was obtained by applying the Genetic Algorithm (GA) from the clusters formed by the atoms arranged in the 3D coordinate system. The activities were calculated on the basis of the predicted parameters of 3D-PhaM in the receptor and 3D-PhaM was confirmed by molecular docking method. Molecules in the training and test set are optimally cleaved by our newly developed algorithm. Using the Leave One Out-Cross Validation (LOO-CV) method, the best estimates were found to be q^2 for the compounds in the internal training set and r^2 for the compounds in the external test set.

Keywords: Thiazole, 2-Hydroxydiarylamide, Pyrimidine, 4D-QSAR, MCET, Molecular docking, 3D-PhaM

İÇİNDEKİLER

TİYAZOL, 2-HİDROKSİDİARİLAMİT VE PİRİMİDİN TÜREVLERİ ÜZERİNDE MCET METODU VE MOLEKÜLER DOCKİNG ÇALIŞMALARI

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

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1. İlaç nedir?	3
1.1.1. İlaçların Hücrelere Tesirleri ve Reseptörleri	3
1.1.2. Bağlanma Etkileşimleri	4
1.1.2.1. İyonik Bağlanma	4
1.1.2.2. Hidrojen Bağı	4
1.1.2.3. Van der Waals Bağı	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 (CADD)	6

1.4. Yapı Aktivite İlişkisi (SAR) ve Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi (QSAR).....	8
1.4.1. SAR.....	8
1.4.2. QSAR.....	8
1.4.2.1. QSAR Teorisi	11
1.4.2.1.1. Hansch Analizi	12
1.4.2.1.2. Free-Wilson Analizi	14
1.4.3. 2D-QSAR Analizi	16
1.4.4. Yeni QSAR Metotları.....	17
1.4.4.1. Hologram QSAR (HQSAR).....	17
1.4.4.2. ‘Inverse’QSAR.....	18
1.4.4.3. ‘Binary’QSAR.....	19
1.4.5. 3D-QSAR.....	20
1.4.5.1. Karşılaştırmalı Moleküler Alan Analizi (CoMFA-Comparative Molecular Field Analysis)	21
1.4.5.2. Aktif Analog Yaklaşımı.....	23
1.4.5.3. Moleküler Şekil Analizi (MSA-Molecular Shape Analysis)	23
1.4.5.4. Karşılaştırmalı Moleküler Şekil Analizi (CoMSIA-Comparative Similarity Indices Analysis)	24
1.4.5.5. Karşılaştırmalı Moleküler Moment Analizi(CoMMA).....	25
1.4.6. 4D-QSAR.....	25
1.4.7. Moleküler Modelleme ve QSAR	26
1.4.8. QSAR eşitliği türetme: Basit ve çoklu lineer regresyon metodu.....	27
1.4.9. Çapraz Doğrulama (Cross Validation-CV)	29
1.4.10. Farmakofor (Pha) Kavramı	29
1.4.11. Farmakofor Tanımlama Metotları	30
1.4.12. Elektron Topolojik Matrise Dayalı Elektron Topolojik Metot.....	32
1.4.13. Levenberg-Marquardt (LM) Algoritması; Doğrusal Olmayan En Küçük Kareler (NLLS) Analizi.....	34
1.4.14. MCET Metodu.....	34

1.4.15. Yeni lokal reaktivite tanımlayıcı: Klopman İndeksi	36
1.4.16. Reseptör ile İlaç Molekülün Etkileşim Mekanizması	38
1.4.17. Moleküler docking.....	39

2. BÖLÜM

YÖNTEM VE MATERYAL

2.1. Kuantum Kimyasal Hesaplamaların Yapılması	40
2.2. Elektron Topolojik Matris (ETM) Programı	42
2.3. Bileşiklerin eğitim ve test setine bölünmesi	44
2.4. MCET Metodu	45
2.4.1. En Küçük Kareler (PLS) Yöntemi.....	50
2.4.2. Klopman İndeksi	51
2.5. Moleküler Docking.....	54
2.5.1. FlexX Docking Programı	55
2.5.1.1. Bağlanma serbest enerjisinin tahmini (ΔG)	55
2.5.1.2. FlexX'in Genel Docking Algoritması	56

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. Bileşik Serilerinin Seçimi.....	58
3.1.1. Tiyazol Türevleri	58
3.1.2. 2-Hidroksidiarilamit Türevleri	79
3.1.2.1. Transmembran proteaz/serin 4 (TMPRSS4)	80
3.1.3. Pirimidin Türevleri	94
3.1.3.1. Siklooksijenaz (COX) İnhibitörleri.....	95

4. BÖLÜM

TARTIŞMA-SONUÇ ve ÖNERİLER

4.1. Tiyazol Türev Serisi.....	113
--------------------------------	-----

4.2. 2-Hidroksidiarilamit Türev Serisi	114
4.3. Pirimidin Türev Serisi	114
KAYNAKÇA	116
ÖZGEÇMİŞ.....	135



KISALTMALAR

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

NLLS	: Doğrusal olmayan en küçük kareler yöntemi (Non-linear Least Square)
Pha	: Farmakofor (Pharmacophore)
PLS	: En küçük kareler yöntemi (Partial Least Square)
QSAR	: Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi
SAR	: Yapı Aktivite İlişkisi
SBDD	: Yapı Bazlı İlaç Tasarımı (Structure-Based Drug Design)



TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 3.1.	Tiyazol serisi için temel iskelet yapısı, sübstitüentler, molekül yapıları, deneysel aktivite değerleri IC ₅₀ (nM).	61
Tablo 3.2.	İncelenen seri-1'deki tiyazol bileşiklerinden n01 nolu bileşiğin 01'nci konformerinin (n01_01) kartezyen koordinatı.	71
Tablo 3.3.	Tiyazol serisi için farklı tanımlayıcılara göre bulunan q ² ve r ² değerleri.	72
Tablo 3.4.	Tiyazol serisinde 5 Molekül içindeki atomların uygun yerlerinden tanımlanan pozisyonlar (n01, n25 n30 ve n32).(3D-Pham atomlarını içerenler koyu renk ile gösterilmiştir).....	74
Tablo 3.5.	Tiyazol türevlerinin deneysel ve hesaplanan aktiviteleri.....	77
Tablo 3.6.	2-Hidroksidiarilamit serisi için temel iskelet yapısı, sübstitüentler, molekül yapıları, deneysel aktivite değerleri IC ₅₀ (nM).	81
Tablo 3.7.	2-Hidroksidiarilamit türev serisinin n01_01 nolu konformerin kartezyen koordinatı	88
Tablo 3.8.	2-hidroksidiarilamit türev serisi için farklı tanımlayıcılara göre bulunan q ² ve r ² değerleri.....	89
Tablo 3.9.	5 Molekül içindeki atomların uygun yerlerinden tanımlanan pozisyonlar (n01, n02, n11, n12, n13, n29 ve n32) (3D-PhaM atomlarını içerenler koyu kısım ile gösterilmiştir)	90
Tablo 3.10.	2-Hidroksidiarilamit türevlerinin deneysel ve hesaplanan aktiviteleri	92
Tablo 3.11.	Pirimidin serisi için temel iskelet yapısı, sübstitüentler, molekül yapıları, deneysel aktivite değerleri IC ₅₀ (nM).	96
Tablo 3.12.	Pirimidin türev serisinin n01_01 nolu konformerin kartezyen koordinatı.....	107
Tablo 3.13.	Farklı tanımlayıcılara göre bulunan q ² ve r ² değerleri	109
Tablo 3.14.	Pirimidin türev serisi içindeki atomların uygun yerlerinden tanımlanan pozisyonlar (n01ve n37) (3D-PhaM atomlarını içerenler koyu kısım ile gösterilmiştir).....	109
Tablo 3.15.	Pirimidin türev setinin deneysel ve hesaplanan aktiviteleri.....	110
Tablo 4.1.	Çalışılan üç seri için bulunan en iyi sonuçlar	114

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1.	İlaç keşfinde Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı (CADD) basamakları.....	7
Şekil 1.2.	HQSAR’da hologramların ortaya çıkarılması ve bu hologramlardan aktivite değerinin elde edilmesi.	18
Şekil 1.3.	QSAR’ı oluşturan bileşenler.	26
Şekil 1.4.	Üç Boyutlu Elektron Topolojik Matris.	32
Şekil 2.1.	"Moleküler Mekanik" hesaplamaların yapılması için belirlenen kademeleri gösteren ara yüzey.....	41
Şekil 2.2.	Spartan’08 programında HF-6.31 G* hesabının ara yüzü	41
Şekil 2.3.	Spartan’10 programında DFT-B3LYP 6-31G* hesabının ara yüzü.	42
Şekil 2.4.	Kuantum kimyasal hesaplamalarından sonra hazırlanan *.txt dosyaları.....	43
Şekil 2.5.	Kullanılan Elektron Topolojik Matris Programının ara yüzü.	43
Şekil 2.6.	4D-QSAR hesaplamaları için kullanılan MCET programının ara yüzü.....	47
Şekil 3.1.	Tiyazol bileşiği	58
Şekil 3.2.	Tiyazol bileşiğinin öncülüğünde fascin proteinin hücre göçü ve invazyonunu bloke edildiği gösterilmiştir.	60
Şekil 3.3.	Seri-1’deki tiyazol türevinin n01 numaralı molekülünün Elektron Topolojik Matris gösterimi.	76
Şekil 3.4.	Tiyazol türev setinin moleküllerin üst üste çakıştırılması ve 3D-PhaM grupları	76
Şekil 3.5.	Tiyazol türev setinin eğitim ve test setlerinin deneysel ve hesaplanan aktivite grafiği.	78
Şekil 3.6.	a) Reseptör-ligand arasındaki etkileşim. b)tgf- β enziminin aktif bölgesi içerisindeki en yüksek aktiviteye sahip molekül için seçilmiş yerleştirilmiş konformasyonun etkileşim diyagramı.	79
Şekil 3.7.	2-Hidroksidiarilamit türev serisinin n01 numaralı moleküle ait Elektron Topolojik Matrisi	81

Şekil 3.8.	3D-PhaM'in n01, n02, n11, n12, n13, n29 ve n32 moleküllerinin süperimpozisyonu	91
Şekil 3.9.	2-Hidroksidiarilamit türev serisi için eğitim ve test setlerinin deneysel ve hesaplanan aktivite grafiği	93
Şekil 3.10.	(a) Reseptör-ligand arasındaki etkileşim. (b) TRSSP enziminin aktif bölgesindeki en yüksek aktiviteye sahip molekül (n30) için seçilen konformasyonun etkileşim diyagramı.	93
Şekil 3.11.	Pirimidin basit gösterimi.....	94
Şekil 3.12.	Pirimidin türev serisindeki n01 numaralı molekülün Elektron Topolojik Matrisi	108
Şekil 3.13.	Pirimidin türev setinin eğitim ve test setlerinin deneysel ve hesaplanan aktivite grafiği.	111
Şekil 3.14.	a) Reseptör-ligand arasındaki etkileşim. b) Siklooksijenazlar enziminin aktif bölgesi içerisindeki en yüksek aktiviteye sahip molekül (n37) için seçilmiş yerleştirilmiş konformasyonun etkileşim diyagramı.	111

GİRİŞ

Bilgisayar destekli ilaç tasarımı (Computer-Assisted Drug Design-CADD), ilaç keşfindeki neredeyse tüm aşamaları kapsayan uygulama yelpazesini önemli ölçüde genişletmiştir [1]. İlaç araştırma ve geliştirme kapsamlı, pahalı, zaman alıcı ve risklidir. Fikirden pazara bir ilacın 12 yıl alacağı ve ortalama olarak 800 milyon dolardan daha fazla maliyet alacağı tahmin edilmektedir [2]. Araştırma döngüsünü kısaltmak ve masrafları azaltmak için çeşitli yeni teknolojiler geliştirilmiş ve ilaca uygulanmıştır. CADD bu tür evrimsel teknolojilerden biridir [3]. 1960'ların başlarında Kantitatif Yapı-Aktivite İlişkisi (Quantitative Structure Activity Relationship-QSAR) analizi olarak ortaya çıkan CADD kavramı, özellikle son on yılda, görülmemiş bir yapısal biyoloji ve bilgisayar kabiliyeti gelişimi olarak çok hızlı bir şekilde evrimleşmiştir. Moleküler modelleme ve simülasyon dahil CADD teknolojileri, ilaç keşfinde umut verici hale gelmiştir. Son zamanlarda, CADD, başka yöntemlerle yapılması zor olan birçok protein ile çok benzer yapıları paylaşan belirli bir hedef için oldukça seçici ligandların tasarlanmasında kullanılmıştır [4].

30-40 yıldır rasyonel ilaç dizaynında, farmakofor (Pharmacophore-Pha) ana kavramlardan bir tanesidir. Farmakofor tanımlamasında başarılı birçok derlemeler ve makaleler mevcuttur. Bu alandaki çalışmalar “Yapı-Aktivite İlişkisi” (Structure-Activity Relationship, SAR) QSAR başlığı altında yayınlanmıştır. Hansch tarafından yapılan öncü bir çalışmada moleküllerin biyolojik aktivitelerindeki değişikliklerin nicel olarak moleküllerdeki ölçülmüş fiziksel özelliklerle ilişkili olduğu gösterilmiştir [5]. Birçok QSAR yaklaşımında molekül tanımlamanın biçimsel metodu bilgisayarlarca kullanıldı (topolojik indisler, moleküler grafikler gibi). Molekülü tanımlayan bu metotlar genellikle biyolojik aktiviteyi doğru olacak şekilde tahmin edecek kadar etkili değildirler. Tanımlama biçiminin parametreleri genellikle fiziksel ve kimyasal

değişkenlere gereksinim duyarlar [6]. Son zamanlarda biyomoleküller üç boyutlu olarak ele alınıp elektronik özellikleriyle aktivite değerleri bulunmuş ve bu çalışmalar üç boyutlu QSAR (3D-QSAR) olarak isimlendirilmiştir [7].

Hopfinger 1997 yılında 3D-QSAR modeline dördüncü boyutu kazandırdı ve 4D-QSAR analizi terimini ortaya çıkardı. 4D-QSAR analizinin dördüncü boyutu konformerlerin 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 farklı sıcaklıklarda “Moleküler Dinamik Simülasyon” (MDS) kullanır. Minimum enerjili konformerin 2 kcal/mol içinde olan tüm konformerleri çalışılan bileşik serisindeki her bir bileşiğin en aktif konformeri olarak tanımlanır [8]. Bu küresel bir yüzeyde potansiyel enerjisi tüm düşük enerjili kararlı konformerleri için genellikle dikkate almak yararlıdır [9].

Reseptör yapısı belli olan hedeflere yönelik tasarlanan moleküllerin reseptördeki kavitelere uyumu ve amino asit kalıntılarıyla etkileşimleri, çeşitli açılardan irdelenebilmektedir. Bilgisayar ortamında 3D olarak ligand-reseptör etkileşmesi olarak ele alınan ve bu nedenle “reseptör -ya da yapısal- tabanlı ilaç tasarımı” olarak bilinen “docking” çalışmaları da bu sistem içinde yer almaktadır [10] Bir reseptörün yapısının aydınlatılmasında ligandın aktif konformasyonunun seçimi ve moleküllerin eşleştirilmesi oldukça önemlidir. Moleküller farklı sınıf bileşikler içinde olsalar bile, üç boyutlu yapılarının düzenlenmesiyle ortak özellikler gösterebilirler.

Modern kimyanın en önemli problemlerinden biri; belirli bir hastalığa iyi geldiği bilinen bir ilacın reseptörler ile etkileşim mekanizmasının nasıl olduğunu açıklayamamasıdır. Bu çalışmanın amacı, moleküllerin reseptörler ile etkileşimine neden olan yapı mekanizması bilinmemesine rağmen ilaç tasarımında aktiviteden sorumlu yapının yaklaşık olarak açıklamaya çalışılmasıdır. MCET (Moleküler Konformerlerin Elektron Topolojik) metoduyla etkileşimin benzeşimi 4D-QSAR ve moleküler docking analizlerinde gösterilmiştir. İlaç tasarımı, yapı-aktivite ilişkilerinden yararlanarak, farmakolojik aktivitesi öngörülebilir potansiyel ilaç moleküllerini dizayn etmek ve moleküler yapının elektronik özelliklerini tanımlamak üzere ortaya çıkartılmıştır.

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1. İlaç nedir?

İlaç, terimi ve kavramı çok açık değildir. Türkçe’de farmakofor 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” [11] 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 [12]. 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 yapılara 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'sında iyonlaşan amin grubu içerir. Bu tür kimyasal habercileri taklit eden ya da antagonize eden ilaçlar iyonik olarak bağlanmak için iyonize olmuş bir amin grubuna sahip olması gerekir. Bu yüzden iyonik bağ ilaç reseptör etkileşimlerinde önemli bir özelliktir. İyonik etkileşimler güçlü karakterdedir.

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

1.1.2.5. Kovalent Bağı

İki atom arasındaki elektronların ortaklaşa kullanılmasıyla oluşur. Bu bağ tipi, bağ tipleri arasında en kuvvetli olanıdır. Bu bağın kuvveti 40–100 kcal/mol olarak kabul edilir. Bu bağlanmaya çok nadir rastlanır [13].

1.2. İlaç Tasarımı

İlaç tasarımı, daha önceden tanımlanmış yapı-aktivite ilişkilerinden yararlanarak, farmakolojik aktivitesi öngörülebilir potansiyel ilaç moleküllerinin tasarlanmasıdır [14]. İlaç adayı olamayacak moleküllerden ilaç adayı olabilecek moleküllerin ayırt edilmesi ilaç gelişiminde maliyeti azaltmak için gereklidir. Çeşitli siliko yaklaşımlarda, yeni potansiyel ilaçların geliştirilmesi için kimyasal veri tabanlarının istenen biyolojik hedeflere karşı taranması potansiyeli gösterilmiştir [15]. Yeni ilaç geliştirmenin amacı, var olanlardan daha güçlü, daha az toksik ve yan etkileri en aza indirilmiş, yararlı terapötik bileşikler belirlemektir [14].

Ligand tabanlı sanal tarama, mevcut kimyasal veri tabanlarından hızla milyonlarca molekülü tarama kabiliyetinden dolayı popüler hale gelmiştir [16]. QSAR modellemesi, moleküler yapıyı biyolojik ve farmasötik aktivitelerle ilişkilendiren ilaç keşfinde önemli bir yaklaşımdır [17]. Bu tür yöntemleri, hedef moleküle benzer molekülleri tanımlamak amacıyla moleküler özelliklerin hesaplanmasına ve karşılaştırılmasına dayanır. 2 boyutlu yaklaşımlar önemli ölçüde daha düşük hesaplama süreleri gerektirir ve bu nedenle, ilaç geliştirmenin sonraki aşamalarında daha fazla tarama için kullanılabilecek bileşik sayısını azaltmak için çoğunlukla ön filtreler olarak kullanılır [18]. Bu yaklaşımlar dünya çapında akademi, endüstri ve araştırma kurumlarında yaygın olarak kullanılmaktadır [19].

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.

1.3. Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı (CADD)

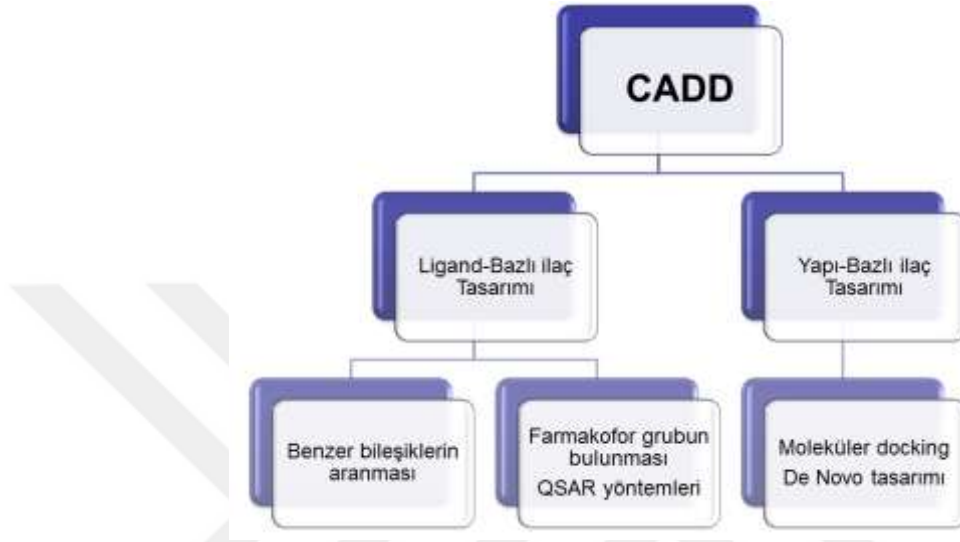
CADD, ilaç direnci mekanizmasını aydınlatmak, yeni ilaç hedefleri aramak ve hem bilinen hem de yeni hedefler için yeni ilaçlar tasarlamak için laboratuvar teknikleriyle birleştirilebilir. Özellikle CADD yöntemleri, ilaç tasarım sürecini kolaylaştırmak için kullanılan bir atomik seviyede Yapı Aktivite İlişkisi (Structure Activity Relationship-SAR) üreterek zaman ve maliyeti en aza indirebilir [20-21].

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 [22].

Hesaplamalı yaklaşımlar, ilaç tasarım sürecini hızlandırmak için deneyleri yorumlamak ve yönlendirmek için faydalı araçlardır. Yapı bazlı ilaç tasarımı (SBDD) ve ligand bazlı ilaç tasarımı (LBDD), var olan iki bilgisayar destekli ilaç tasarımı yaklaşımı türüdür. SBDD yöntemleri, kendi biyolojik fonksiyonları için önemli olan kilit bölgeleri ve etkileşimleri tanımlamak için tipik olarak proteinler veya RNA'dan olan, makro-moleküler hedef 3-Boyutlu yapısal bilgiyi analiz eder [23]. Bu bilgiler daha sonra hedefi içeren temel etkileşimlerle rekabet edebilecek ilaçları tasarlamak ve böylece mikroorganizmaların hayatta kalması için gerekli olan biyolojik yolları kesmek için kullanılabilir. LBDD yöntemleri, fizikokimyasal özellikleri ve ilacın aktiviteleri arasında bir yapı-aktivite ilişkisi olarak adlandırılan, bilinen ilaçların optimizasyonu için kullanılabilecek bilgiler veya yeni tasarımların yönlendirilmesi için bir ilişki kurmak amacıyla bilinen etkinliği arttırılmış hedef ligandlara odaklanır [23].

Herhangi bir bileşiğin yapısı ve kimyası denel yöntemlerle belirlenebilir, ancak hesaplama yolu ile öngörünün yapılabilmesi çok yararlıdır ve pek çok uygulama alanı bulmuştur. Örneğin farmakolojide yeni ilaçların geliştirilmesinde yaygın olarak

kullanılmaktadır. Kimyacılar bilgisayar kullanarak sentezden önce ilaçların yapıları hakkında ön bilgiye sahip olarak ilaçta istenen özellikleri belirleyip bu özelliklere uygun bileşiklerin sentezlerini gerçekleştirirler. Bu da para ve zaman kaybını önlemektedir. İlaç keşfinde CADD basamakları Şekil 1.1’de gösterilmiştir].



Şekil 1.1. İlaç keşfinde Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı (CADD) basamakları.

Bilgisayar destekli ilaç tasarımı; orijinal bileşiklerin tasarlanması, bu güne kadar kullanılan klasik metotlara göre çok daha hızlı ve ucuz olmaktadır [24]. 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, 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 [25].

- b) Kümeleme analizi (Cluster Analysis):** n boyutlu veri matrisinde yer alan ve doğal gruplamaları kesin olarak bilinmeyen birimleri, değişkenleri ya da birim ve değişkenleri birbirleri ile benzer olan alt kümelere ayırmaya yardımcı olan yöntemler topluluğudur. Birimleri, değişkenler arası benzerlik ya da farklılıklara dayalı olarak hesaplanan bazı ölçülerden yararlanarak homojen gruplara bölmek amacı ile kullanılır. Kümeleme analizi karmaşık oluşumların bulunduğu hemen-hemen tüm bilim alanlarında yararlanılan bir yöntemdir. Kalıp Tanıma ve Kümeleme analizi yöntemlerinin her ikisi de birçok parametre ile karakterize edilmiş çok sayıda bileşik içinden en uygun bileşiğe ulaşmak için gelişmiş istatistik ve bilgisayar yöntemlerinin kullanıldığı sayısal tekniklerdir [26].
- c) 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 [27].

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 (Pha) taşımasına 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 reaktivlik, elektronik etkiler, rezonans ve indüktif etkilerdir [28].

1.4.2. QSAR

Fischer'in kilit ve anahtar ilişkisi [29] ve Hansch, Fujita, Free ve Wilson'nın [30-31] önemli katkılarından 40 yıl sonra QSAR yaygın olarak kullanılan hale gelmesinden sonra, esas olarak ilaç keşif sürecine önemli bir katkıda bulunmuştur. Orijinal olarak benzer fizikokimyasal özelliklere sahip bileşiklerin benzer biyolojik etkileri tetiklediği fikrine dayanarak, QSAR genellikle potansiyel ilaç adaylarının yapısal ve elektronik

özellikleri ile ortak bir makro moleküler (protein, enzim) hedefe bağlanma afiniteleri arasında bir korelasyon oluşturmak için kullanılmıştır [32].

İlk QSAR çalışmaları tipik olarak bir molekülün biyolojik etkisini açıklamak için çözünürlük veya pKa değeri gibi bir fizikokimyasal özelliğe dayanırken, (1D-QSAR, Hansch, Fujita, Free ve Wilson, tekli atomların ve fonksiyonel grupların fizikokimyasal özelliklerini ve biyolojik aktiviteye katkılarını (2D-QSAR) dikkate alarak bir bileşiğin bağlanabilirliğini içeriyordu [32]. Günümüzde, Hansch-Fujita benzeri QSAR modelleri aynı zamanda bir ikame edicinin uzunluğu veya genişliği olarak 3D yapısal tanımlayıcıları içerebilir [32].

X-ışını kırınım çalışmalarından artan sayıda üç boyutlu protein yapılarının elde edilmesiyle, SBDD yapısını bir makromoleküler bağlanma cebinin topolojisine uyarlayarak yüksek afiniteli küçük molekülü bir molekülün belirlenmesi moleküler-mekanik (MM) ve moleküler dinamik simülasyonlarıyla (MDS) birleştirilmiş etkileşimli moleküler kenetleme kullanarak 1980’lerde umut verici bir araç olarak ortaya çıkmıştır. QSAR bir molekülün farmakolojik, toksikolojik ve biyolojik aktivitesinin kantitatif tahminini yapar. Bu metot, benzer bileşik serisinden ortaya çıkan yapı ve aktivite bilgilerini temel alır [56].

Bir QSAR modelinin temeli, (i) herhangi bir aykırı değer de dahil olmak üzere analog kümesinin temel kimyası; (ii) ilaç adayının biyolojik faaliyetlerinin en muhtemel belirleyicileri olan kimyasal özellikleri belirlemek için kimyasal yapı değişiklikleri ile biyolojik uç noktadaki ilgili değişiklikler arasındaki ilişkileri kantitatif olarak ilişkilendirmek ve özetlemek; (iii) biyolojik faaliyetlerini iyileştirmek için mevcut müşterileri optimize etmek; ve (iv) denenmemiş bileşiklerin biyolojik aktivitelerini tahmin etmeye dayanır [19].

Moleküller arasındaki ilişkiyi ve biyolojik özellikleri gösteren ilk çalışma 1863’te Strasburg Üniversitesi’nde A.F.A. Cros tarafından sunulmuştur. A.F.A. Cros, alkollerin sudaki çözünürlükleri azaldıkça memeliler üzerindeki toksik etkisinin arttığını gözlemiştir. 1868 de A. Crum Brown ve T. Fraser alkaloidlerin biyolojik etkileri üzerinde çalışmışlar ve genel yapı-aktivite ilişkisini formüllendirerek fizyolojik

aktivitenin kimyasal bileşimin yani konsantrasyonun bir fonksiyonu olarak değiştiğini bulmuşlardır.

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

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 1.1 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 gözlemlediler. 1890'larda, Marburg Üniversitesinden H.H. Meyer ve Zürih Üniversitesinden C.E. Overton, birbirinden bağımsız olarak çalışarak nötral organik bileşiklerin toksik etkisinin lipofilik ve su fazı arasındaki partisyon katsayısına ($\pi = \log P$) bağlı olduğuna dikkat çektiler [34].

Louis Hammett'in çalışmalarına kadar QSAR'ın gelişmesi aslında çok yavaştı. Ancak Louis Hammett, organik asit ve bazların elektronik özellikleri ile denge sabiti ve reaktiflikleri arasında ilişki kurarak, benzoik asit ile çeşitli türevlerinin dissosiyasyonu incelemişler ve bağlı olan süstitüentlerin aktiviteyi nasıl etkilediğini açıklayarak, QSAR'ın gelişimine büyük katkılarda bulunmuştur [35].

Aktivite ve toksisite de fizikokimyasal özelliklerin etkisinin araştırılması 19. yy'a dayanır. 1935'de Hammett sabiti, σ , organik asit ve bazların reaktifliği ile denge sabitleri arasındaki bağıntıyı açıklamak için kullanılmıştır. 1969'da Hansch tarafından yapılan yarı deneysel çalışmada ise QSAR için yeni bir dönem başlamıştır. QSAR da

çeşitli biyolojik aktiviteyi tahmin etmek için oktanol-su dağılma katsayısı (logP) hidrofobik özellik olarak tanımlanmıştır. logP veya hidrofobik özelliğin diğer ölçümleri toksikolojide ve ilaç araştırmalarında halen geniş çapta kullanılmaktadır. Aktivite ile fizikokimyasal özellikler arasındaki ilişkiyi kuran Hansch tipi yaklaşım çok değişkenli regresyon metodunu kullanarak enzim inhibisyonu, metabolizma, ligand reseptör bağlanması, toksiklik gibi problemlere çözüm getirmek için uygulanır. QSAR'daki temel çalışmalar Hansch tarafından yapılmıştır [36].

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 [36].

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 [37].

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

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 $\Delta G_{\text{bağlanma}}$ değerleri -9 ila -75 kJmol^{-1} arasında değişir. Bu değerler $2,5 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ ve $4,0 \cdot 10^{-14} \text{ M}$ 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 [37].

Standart serbest enerji ΔG^0 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 .

$$\Delta G^0 = -2,303 * R * T * \log K = -2,303 * R * T * \log \frac{k_b}{k_a} \quad (1.4)$$

Belirli biyolojik etkiye karşılık gelen molar konsantrasyonun logaritması, $\log C$, moleküler özellikler ya da fizikokimyasal özellikler ile ilişkilendirilebilir. Bu fizikokimyasal özellikler Eşitlik 1.4'te 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 süstitüe fenoksiasetik asit türevlerinde biyolojik aktivite ve lipofilite değişimleri incelenmiştir [30]. 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.

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

C; biyolojik aktiviteden sorumlu olan bileşiğin molar konsantrasyonu, π ; süstitüentin hidrofobik katkısıdır ve $\log P_X/P_H$ olarak verilir. σ ; süstitüentin 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 sübtitüe olmuş ve olmamış bileşiklerin oktanol ve su fazındaki dağılma katsayısını ifade ederken K_X ve K_H ise sıra ile meta ya da para sübtitüe olmuş veya sübtitüe 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 = Hammet elektronik parametresi, a, b, c = regresyon katsayıları, k=sabit terim. Bu eşitlik ilacın taşınması ve bağlanma affinitesi kavramlarından geliştirilmiştir. İlacın enzim veya reseptör gibi biyolojik aktif bölgelere bağlanması lipofilite, elektronik ve diğer serbest enerji özelliklerine bağlıdır ki buna bağlanma affinitesi denir.

Bu eşitlik taşınma ve bağlanma kavramının her ikisini de içeren matematiksel modeldir. Eşitlikte farklı fizikokimyasal özelliklerin bu kombinasyonu ve lineer olmayan lipofilite bağlılığı için parabolik terimin ortaya çıkmasına ek olarak, Hansch ve Fujita X sübtitüentlerinin lipofilite parametresi olan π 'yi tanımladılar, ($\Pi_X = \log P_{RX} - \log P_{RH}$) yaklaşık 30 yıl önce Hammett aynı anlama gelen elektronik parametre σ 'yı açıklamıştır. Hammett çalışmalarında referans olarak sübtitüe benzoik asitlerin iyonizasyon sabitlerini kullanarak aşağıdaki matematiksel bağıntıları önermiştir [5,38].

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

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

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

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

$$\log \tau_i - \log \tau_{Et} = \alpha \beta_i \quad (1.9)$$

τ_i ve τ_{Et} , biyolojik aktivite değerleri, α ; biyolojik aktivitenin belirli bir çeşidi için geçerli olan bir sabit ve β_i ; X_i sübstitüentinin 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 [38].

Özellikle laboratuvar çalışmalarında biyolojik aktiviteyi farklı şekilde açıklama yeteneğine ve esnekliğine sahip olması nedeni ile Hansch analizi oldukça avantajlıdır [39]. Bir Hansch analizi yapmak isteyen araştırmacı, her bir satırın bir bileşiği, her bir sütunun ise moleküllerin değişik özelliklerini gösterdiği bir tablo hazırlar. Genellikle analiz edilen bileşiklerin ortak özellikleri bir noktada kesişirler. Bu yüzden moleküllerin biyolojik aktivitelerindeki farklılıklar molekülün temel iskeletine eklenen sübstitüentlerin değişen özelliklerinden kaynaklanır. Sübstitüentlerin logP veya pKa gibi özellikler üzerine etkileri tablolarda mevcuttur. Regresyon analizi, moleküllerin hangi fiziksel özelliklerinin, biyolojik aktivitelerine en iyi şekilde nasıl etki ettiğini açıklar.

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 sübstitüentlerin bulunması veya bulunmaması durumunda biyolojik aktivite korelasyonunu kullanan bir regresyon tekniğidir [39].

Bu modelin esası, herhangi bir konumdaki sübstitüentin, temel molekül yapısına biyolojik katkısının olduğu ve her bir sübstitüentin bu katkısının, molekülde var olan

diğer gruplardan bağımsız olduğu varsayımına dayanır [40]. Free Wilson analizinde biyolojik aktivite aşağıdaki formül ile hesaplanır [34, 38, 39].

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

a_i , biyolojik aktivite değerlerine X_i , süstitüentlerinin grup katkıları ve μ daha çok süstitüe 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 süstitüentlerin varlığı veya yokluğunu göstermek için 1 ya da 0 değerlerini kullanır. Başka bir deyişle, Free Wilson analizi Hansch analizinden daha sınırlıdır [34].

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 [41].

Bunlar;

1. Bileşiğe bağlı süstitüentin regresyon katsayısı değerlerini bulmak için bileşik kimyasal olarak modifiye edilir.
2. Farklı bir süstitüent bağlandığında yeni bileşen için tahminler yapılır
3. Molekülün üç boyutlu yapısını göz önüne almaz, süstitüenti tek noktada tayin eder bu nedenle istatistiksel sonuçlar için belirsizdir.
4. Çoğu serbestlik derecesi her süstitüenti açıklamada ihmal edilir [41].

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 kullanılarak geliştirilen yeni bir eşitlik aşağıda verilmiştir [42].

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

A ve A_0 sıra ile süstitüe olmuş ve olmamış bileşiklerin aktivite değeri, G_i , i süstitüentinin aktivite katkısının logaritmasıdır ve X_i ise süstitüent bulunduğunda 1,

bulunmadığında 0 olan bir değerdir. Sübstituentlerin 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 sübstitüe olmamış bileşik için değeri teorik olarak bulunur. Bir bileşiğin dışarıda bırakılması ya da hesaba katılması grup katkıları değerini önemli derecede etkilemez [43]. Bu avantajlar nedeni ile Fujita-Ban metodu Free-Wilson metodundan daha iyidir [43].

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. L-R 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 [41].

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 bağ sayısı

ile ilgilenir [32]. Topolojik parametreler, moleküldeki iki atom çifti arasındaki bağ bilgilerini kapsar. Geometrik parametre, yapının üç boyutlu koordinatlarını gerektiren, molekül yüzey alanı, moleküler yoğunluk ve hacim gibi özellikleri içine alır. Kuantum kimyasal parametreler ise moleküllerin elektronik özellikleri hakkında bilgi sağlayan HOMO ve LUMO gibi tanımlayıcılardır. Termodinamik parametreler, ilk olarak Hansch analizinde kullanılan molarrefraktivite, oluşum ısısı, hidrofobik özellik ve oktanol ve sudaki serbest solvasyon enerjisidir [32].

1.4.4. Yeni QSAR Metotları

1.4.4.1. Hologram QSAR (HQSAR)

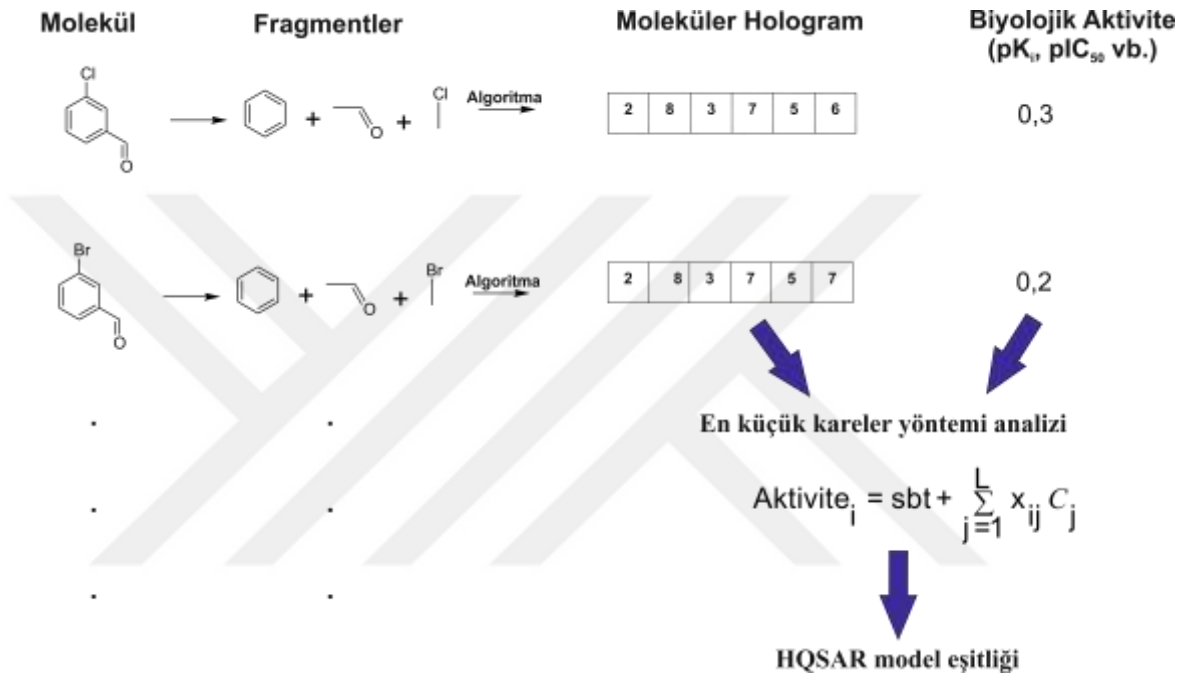
Son yıllarda Tripos tarafından ortaya çıkarılan Hologram QSAR fragment bazlı bir QSAR yaklaşımıdır [44,45]. HQSAR, yapı-aktivite ilişkisini ortaya çıkarmak için kullanılan fizikokimyasal parametrelere ve üç boyutlu yapıya ihtiyaç duymayan yeni bir tekniktir. Bu metot biyolojik aktivite ve molekülün iki boyutlu yapısı arasındaki bağıntıyı temel alır [46].

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 [45]. Bu tanımlayıcılar moleküllerin kimyasal ve topolojik bilgilerini tahmin etmek için kullanılır. QSAR modeli en küçük kareler (Partial Least Square, PLS) regresyon tekniği kullanılarak geliştirilmiş ve bir veri dışarıda bırakılarak çapraz doğrulama (Leave-One-Out-Cross-Validation, LOO-CV) tekniği kullanılarak geçerli kılınmıştır. Aktivite ile hologram dizileri arasındaki korelasyon, PLS ile elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak geçerli olmuştur [44].

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

Bu eşitlikte, A_i i bileşiğinin aktivitesi, C , bir sabit, X_{il} , l dizininde ya da i pozisyonunda bileşiğin moleküler hologramını işgal eden değer, C_{il} , PLS tekniğinden türetilen diziler için bir katsayı ve L ise hologram uzunluğudur [45].

Aşağıda verilen Şekil 1.2’de [47] moleküler hologramların ortaya çıkarılma prosedürü ve bu hologramların kullanılarak aktiflik değerlerinin elde edilmesi gösterilmiştir [45].



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

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

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 [48]. 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 pentapeptit bileşiğinin bir serisinden GA-PLS “Genetic Algorithm Partial Least Squares” metodu kullanılarak geliştirilen QSAR eşitliği ile geçerli kılınmış ve eşitlikten en aktif iki peptitin aktivitesi tahmin edilmiştir. Topolojik tanımlayıcılar Malconn-X programı ile hesaplanmıştır. Birçok 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 [48].

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 Çok Sayıdaki Bileşiği Ayırma Yöntemi (High Throughput Screening- HTS) 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 [43,49]. Bu metot biyolojik aktivite için gereken önemli yapısal bilgileri çıkarmada ve ilaç tasarımı için arşivlerin tasarımında yardım eder. Metodun daha ayrıntılı şekli Labute’nin [49] ve Gao’nun [43,50] 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 [43, 49, 50].

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 [51].

1.4.5. 3D-QSAR

1988’de QSAR’da yeni bir şeyi temsil ettiği ilk defa olarak, bu tür yapı-aktivite ilişkileri, ligand moleküllerinin boyutlu yapısına dayanıyordu. 3D-QSAR’da ligandların bir dizi bileşiği çevreleyen (3B alanda üst üste bindirilmiş) bir yüzeye veya ızgaraya eşlenen kimyasal prob ile etkileşimi esas alınmaktadır. Bu yüzey veya ızgara, gerçek biyolojik reseptörün bağlanma bölgesini temsil eder. QSAR modelinin niteliği kritik bir şekilde, hedef protein için yapısal bilgilerin yokluğunda tanımlanması neredeyse imkânsız olan ligandların doğru süper pozisyonuna bağlı bir prensibe dayanır [52-55]. C. Hansch grubu [5, 30]ve diğer araştırmacıların üzerinde durduğu [34, 38, 39] 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 süstitüentler için sayısal parametrelerin bulunmamasıdır. Aktif Analog Yaklaşımı, Moleküler Şekil Analizi (Molecular Shape Analysis-MSA), 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 [51].

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 [51].

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-QSARmetotları ile ligand-reseptör kompleks yapısı üzerindeki hesaplamalar yapılabilir. 3D QSAR teknikleri, incelenen molekül serisi dışındaki bileşiklerin aktifliğini veya inaktifliğinin tahmini için de kullanılır [51].

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 Analizi (Perform Cluster Analysis) denilen sınıflandırma metotları ile 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 [41].

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

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

Hacim bazlı metot olarak, 3D-QSAR metodunda en çok kullanılan CoMFA’dır. 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 fizikokimyasal özelliklerin biyolojik aktiviteyi molekülün yapısı ile ilişkilendiren istatistiksel (PLS, PCA) ve grafiksel bir modeldir [56].

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 modelini oluşturmak için moleküllerden bir alt grup eğitim seti (training set) ve geriye kalan moleküller test seti olarak seçilir. Bu iki sete bağlı olarak CoMFA metoduyla atomik yükler ve düşük enerjili konformasyonlar hesaplanır [56].

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 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 denklemlili ekonometrik modellerin çözümünde de kullanılan tekniklerden biridir [35]. 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 bileşikler önermeye yardımcı olan bu haritalar, bütün moleküller için ortak olan Pha'ı göstermezler [57].

CoMFA'da, örgü noktalarının belirlenmesinin güçlüğü, sonuçların biyoaktif konformasyonun seçimine ve moleküllerin karşılaştırılması kurallarına bağımlı olması gibi bazı temel problemlere rağmen, günümüzde metodun 3D-QSAR modelleri için oldukça kullanışlı bir araç olduğuna karar verilmiştir [58].

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 [59]. 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 karşılaştırılır. Üst üste karşılanmış konformerlerin belirli tolerans aralığında ortak olarak taşıdıkları aktif fragment Pha tanımlanır [59].

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

Hopfinger ve grubu 1980'de QSAR analizinde moleküllerin şekillerini ortaya çıkardılar ve bu metodu moleküler şekil analizi olarak adlandırdılar [60]. 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 [9].

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

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 [61]. 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 LOO-CV 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, $A_{F,K}$, ilgilenilen bileşikler ve prob atom arasında aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanır [62].

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

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 [62].

CoMFA ve CoMSIA metotlarına ek olarak, moleküler düzenlenmenin (moleküllerin üst üste çakıştırılmadığı) kullanılmadığı CoMMA, WHIM ve EVA gibi yeni 3D-QSAR teknikleri geliştirilmiştir [45].

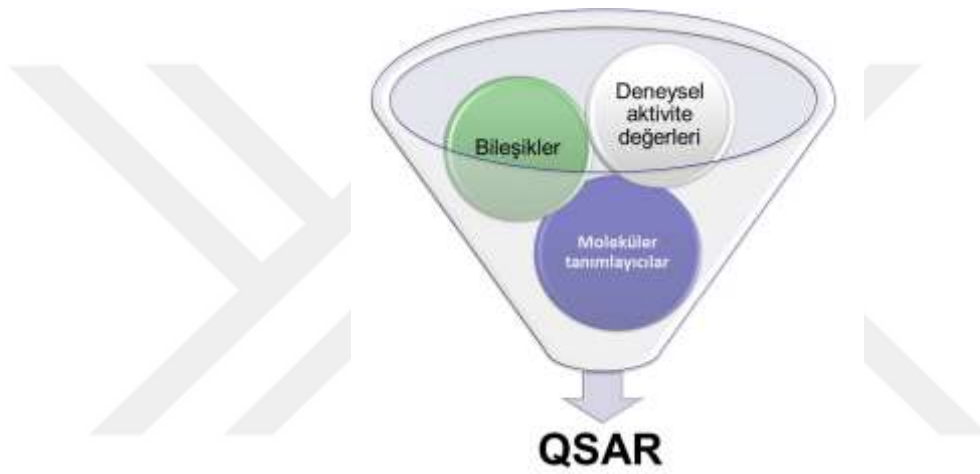
1.4.5.5. Karşılaştırmalı Moleküler Moment Analizi(CoMMA)

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 [63].

1.4.6. 4D-QSAR

QSAR modelinin niteliği kritik bir şekilde, hedef protein için yapısal bilgilerin yokluğunda tanımlanması neredeyse imkânsız olan ligandların doğru süper pozisyonuna bağlıdır. Bu sorun uzun zamandır tanınmakla birlikte, yalnızca ustalıkla geliştirilen 4D-QSAR teknolojileri, iyi çözümler sunmuş gibi görünmektedir [52-55]. Hopfinger 1997 yılında 3D-QSAR modeline dördüncü boyutu kazandırdı ve 4D-QSAR analizi terimini ortaya çıkardı [53]. 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. Sistemik konformasyonel araştırma yerine, konformasyonel eşleştirme özelliklerini belirlemek için MDS'yi kullanır. Minimum enerjili konformerin 2 kcal/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 [41]. 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 değeri en iyi veren, uygun 3D-QSAR modelinden seçilir. Bu metot 3D-QSAR modellerini geliştirmek için kullanılmıştır [41].



Şekil 1.3. QSAR'ı oluşturan bileşenler.

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 [54].

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 [64]. 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 [65].

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 [66].

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 [66].

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 [67].

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

Eşitliğinde y bağımlı, x ise bağımsız değişkendir. QSAR veya QSPR modelinde y biyolojik aktiviteyi, x ise logP veya sübstitüent 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 [67].

$$m = \frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \langle x \rangle)(y_i - \langle y \rangle)}{\sum_{i=1}^N (x_i - \langle x \rangle)^2} \quad (1.16)$$

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

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

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

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 [67].

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

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

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

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

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

1.4.9. Çapraz Doğrulama (Cross Validation-CV)

Çapraz doğrulama (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 LOO yaklaşımıdır. Bu prosesi her değer için tekrarlatma işlemi ile R^2 den daha doğru sonuç vermektedir ve q^2 ismini almaktadır [68]. q^2 değerlerini bulmak için eşitlik 1.23 kullanılmaktadır [67].

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

1.4.10. Farmakofor (Pha) 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 tanımla 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 [69].

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.

1.4.11. Farmakofor Tanımlama Metotları

Aktif ve inaktif bileşikleri yapısal olarak tanımlamak için kullanılan Pha tanımlama metotlarından birisi, aktif-benzeşim yaklaşımıdır. Başlangıçta Marshall tarafından sunuldu [70]. 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 [71]. 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 bileşikler 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 bileşikler içerir, bu yüzden süperpozisyon tanımsız veya anlamsız değildir. Süperpozisyon aktivitede etkili olan Pha grubu ve onunla beraber fonksiyonel özelliğe sahip biyoaktif yapının kendisidir.

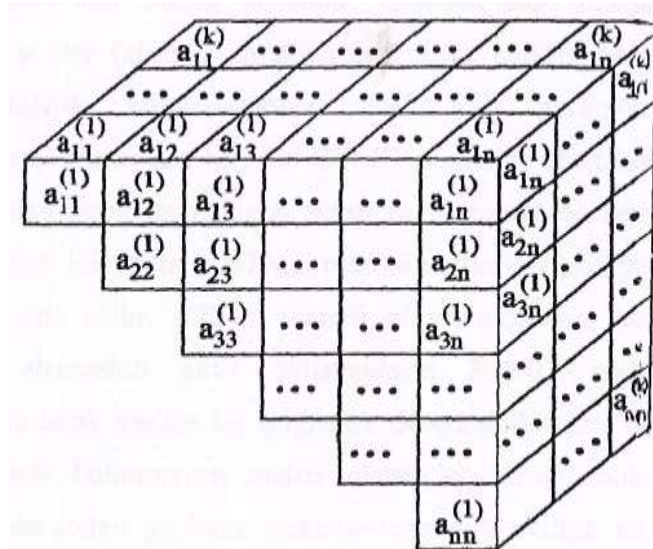
Hazır bir ticari moleküler modelleme programında bütünleştirilmiş bir ilave farmakofor haritalandırma stratejisi ChemX programının içerisinde kullanıma hazırdır. Yaklaşım aşına bir farmakofor tanımlama prosesini takip eder. İlk önce, veri set için düşük enerjili konformerleri belirlemek için bir konformasyonel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

1.4.12. Elektron Topolojik Matrise Dayalı Elektron Topolojik Metot

Bu tezin başlangıç noktası olarak sunulan, Pha tanımlama metotlarından bir tanesi de Elektron Topolojik Matris (ETM) yaklaşımıdır [72,73]. Bu yaklaşımda, bir molekülün geometrik ve elektronik özellikleri 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 1.4. Üç Boyutlu Elektron Topolojik Matris.

Şekil 1.4'te görüldüğü gibi her bir molekülün ETM'i ya da üç boyutlu Elektron Topolojik Matrisi (3D-ETM) hazırlanır. ETM'nin 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'inde ETM'inin 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} çifttir, a). Eğer i ve j birbirine kimyasal bağ ile bağlı iki komşu atomu gösteriyor ise a^{ij} , polarize edilebilirlik, bağ mertebesi 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_{ij} 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'ini oluşturur. Elektronik parametre için oluşturulan kombinasyonların sayısı m ve incelenen serinin molekül sayısı n ise her bir molekül için m tane ETM'i ve her bir kombinasyon için de n tane ETM'i elde edilir. ETM'i oluşturulduktan sonra aktif bileşiklerin ETM elemanları aktif olmayanların ETM elemanları ile tek-tek karşılaştırılarak verilen bir doğruluk derecesinde aktif bileşiklerde olan ancak inaktif bileşiklerde bulunmayan matris elemanları grubu bulunur

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.

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

Levenberg-Marquardt (LM) Algoritması, doğrusal olmayan en küçük kareler (NLLS) optimizasyon problemlerini çözmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Doğrusal olmayan en küçük kareler, m bilinmeyen argümanların doğrusal olmayan bir modelinde m moleküllerinin aktivite değerini ($m > n$) belirlemek için MCET'de kullanılır. Öncelikle, L-R arasındaki etkileşimi taklit etmek için reseptör sahasındaki ayarlanabilir sabitleri belirleyerek model aktivite değerlerini öngördük. İkincisi, bu öngörülen aktivite değerlerini, reseptör alanındaki etkileşim noktalarını 3D olarak haritalamak için deneysel verilerle karşılaştırdık. Modelde NLLS parametreleri olarak kullanılan aktivite değerleri, etkileşim noktalarını analiz etmek için tahmin edilmelidir. Bunu yapmak için, reseptördeki her aktif noktanın ayarlanabilir sabitleri ile serideki ligandların karşılık gelen lokal reaktif atomik tanımlayıcıları arasındaki eşzamanlı etkileşim hesaba katılmalıdır.

QSAR çalışmalarında, modelin karmaşıklığını ve tahmin yeteneğini kontrol etmek için gereken argümanların sayısı dikkatle seçilmelidir. Genel olarak, bu, öngörülen hata gibi bir performans ölçüsüne bağlı olarak çapraz doğrulama ile yapılır. LOO-CV, birçok pratik uygulamada iyi çalışır. En az fakat en etkili argümanlar, aynı anda boyut küçültme ve değişken seçimi için NLLS hesaplamalarına göre kullanılmıştır. Bununla birlikte, LOO-CV sırasında parametrelerin belirlenmesindeki karmaşıklık, eğitim ve test setindeki moleküllerin farkına bağlıdır. QSAR modelinde doğruluk ölçütleri, sırasıyla 0,6 ve 0,5'den daha fazla eğitim ve test sonuçlarıyla elde edilir.

1.4.14. MCET Metodu

Y. GÜZEL tarafından yazılan MCET programı, CoMFA ve CoMSIA gibi ligandlardaki atomların 3D/4D-QSAR yöntemlerinden hizalanması ve eşleştirilmesi ilkesi üzerinde çalışır. Metodumuzun en önemli özelliği, birden fazla konformer arasında aktif konformasyon seçerek QSAR metodu için dördüncü boyutu kullanmamızdır. Bir ilaç molekülü, bağları koparmadan uzayda atomları farklı konumlarda tutarak farklı konformerlere sahip olabilir. Konformerler arasında dinamik bir denge olduğu için, bu dönüşüm her an yapılır. Bu konformasyon arasında aktif konformasyonun reseptör ile

etkileşimi 4D-QSAR ile sonuçlanır. İlaç tasarımının etkili olabilmesi için, ilaç-reseptör kompleksinin aktif konformasyonunu bilmek son derece yararlıdır. Bir molekülün Pha, reseptördeki bağlanma bölgesinin aktif konformasyonu ile bağlantılı olarak bir grup atom konfigürasyonu ile tanımlanır. Böyle bir konformasyon her zaman en düşük enerji seviyesinde olmayabilir. Çalışma molekülündeki konformerlerden şablon ile en iyi şekilde örtüşen reseptör ile etkileşime girmek üzere seçilir. Çalışılan moleküllerin pek çok konformerinden desen yapısına göre her bir molekül arasından en uygun olanı otomatik olarak programımızda tanımlıyoruz.

Biyolojik etkileşimdeki enerji hesaplamaları pratikte uzun ve zor bir sorundur. Bu sorunun çözümünde moleküler konformerlerin seçilen konformal enerji katkısı ile reseptör-ligand etkileşiminin enerji katkısı birlikte ele alınmaktadır. Aynı molekül içindeki konformerlerin seçilen bir konformerde dönüştürülmesi, enerji alımı veya verilmesi ile sağlanabilir. Konformerin reseptöre bağlanma enerjisi, konformerler arasında dönüşüm esnasında verilmesi gereken enerjiden daha yüksek olmalıdır. Böylece, bir konformer, moleküldeki diğer konformerleri reseptör ile etkileşime girebilmek için temsil edebilir.

MCET yöntemini başkalarından ayıran en önemli özelliklerden biri, en uygun yapıda tek bir konformerin reseptör ile etkileşime girmesi. Metodumuzun diğer bir özelliği, atomik yük, Fukui indeksi, HOMO/LUMO katsayılarının yanı sıra, tarafımızdan tanımlanan Klopman indeksi gibi lokal reaktif tanımlayıcılarını da kullanabilmesidir. Bunlar, reseptör ile etkileşen moleküllerin elektronik yapıları hakkında bilgi verir.

Aktif konformasyonda, deneysel olarak spesifik bir aktivite sergilediği bilinen bileşiklerin aktivitesine neden olan ortak yapıdaki ligand çekirdeği yapısı ve bunun üzerine etki eden yan gruplar aynı anda bulunmuştur. Böylece, molekülün aktif konformasyonu ile ilişkili moleküler aktiviteden sorumlu olan bu üç grubun oluşturduğu aktif yapı, ETM'de sağlanan üç boyutlu elektronik özelliklerle belirlenir.

4D-QSAR uygulaması sırasında MCET yöntemindeki adımlar sırasıyla aşağıda verilmektedir:

- a) Referans konformer ETM'ye bağlı olarak, olası farmakokorlar en az dört atom kombinasyonu ile tanımlanır,

- b) ETM'leri kullanarak, tüm konformerlerin analog atom grupları referans molekül konformasyonundan düzenlenir,
- c) Farmakofor taşıyan konformerlerin ikame edicileri, Pha atomlarıyla hizalanır ve her konformerin yeni Kartezyen koordinatları oluşturmak üzere üst üste bindirilmesi,
- d) LOO-CV yöntemi kullanarak hesaplanır,
- e) Pha'nın aktif konformasyonda belirlenmesi ve geçerliliği, tüm istatistiksel hesaplamalarda en anlamlı sonuca varılır.

1.4.15. Yeni lokal reaktivite tanımlayıcı: Klopman İndeksi

İlk önce bölgesel/stereoseçici reaksiyonları açıklamak için kullanılan Klopman-Salem eşitliği yeni bir lokal reaktivite tanımlayıcı olarak tanıtılmış ve ligand-reseptör etkileşimini göstermek için kullanılmıştır [74-75]. Bu nedenle, "Klopman indeks" adını başka bir lokal reaktif tanımlayıcısı olarak verdik.

Eşitlik 1.24'te görüldüğü gibi basitleştirilmiş "Klopman İndeksi" eşitliğinde hem atomik yük hem de HOMO/LUMO katsayıları birlikte kullanıldığından, kendi içindeki sadece atomik yük veya katsayılarından oluşan tek tip tanımlayıcıdan daha etkilidir.

Pertürbasyon teorisi, ligand-reseptörü arasındaki etkileşim noktalarında kazanılan ($\Delta E < 0$) veya kaybolan ($\Delta E > 0$) enerjinin bir ifadesini elde etmek için kullanıldı.

$$\Delta E = \frac{Q_{nuc}Q_{elec}}{\epsilon R} - \frac{2(c_{nuc}c_{elec}\beta)^2}{E_{HOMO(nuc)} - E_{LUMO(elec)}} \quad (1.24)$$

İkili sistemde nükleofiller ve elektrofiller olarak ligand ve reseptör arasındaki etkileşim için Eşitlik 1.24'ün ilk terimi Coulombic itme veya çekme anlamına gelirken, ikinci terim sınır orbital terimindeki katkıyı ifade eder. Q_{nuc} ve Q_{elec} atomik yükleri, c_{nuc} ve c_{elec} orbital katsayılarını, atomlar arasındaki R mesafesini, ϵ yerel dielektrik sabiti, β rezonans integrallerini, E_{HOMO}/E_{LUMO} sınır ötesi enerji değerlerini temsil eder.

L-R arasındaki etkileşimler, farmakofor yoluyla gerçekleştirildiğinden, Eşitlik 1.24, yeniden düzenlenir ve etkileşim noktaları dikkate alınarak Eşitlik 1.25'e dönüştürülür.

$$\Delta E = \sum_{j=1}^J \frac{Q_{nuc,j} Q_{elec,j}}{\epsilon R_j} - \sum_{j=1}^J \frac{2(c_{nuc,j} c_{elec,j} \beta_j)^2}{E_{HOMO(nuc)} - E_{LUMO(elec)}} \quad (1.25)$$

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

Varsayım üzerine, reseptör alanındaki etkileşen atomların her biri için κ (Q içeren) ve ξ (c 'yi içeren) ayarlanabilir sabitler bilinmemektedir. Bu ayarlanabilir sabitler aşağıdaki eşitlikler 1.26 ve 1.27 ile ifade edilmektedir.

$$\kappa = Q_{elec} / \epsilon R \quad (1.26)$$

$$\xi = (c_{elec} \beta)^2 \quad (1.27)$$

Eşitlik 1.25, hesaplanacak ayarlanabilir sabitleri (κ ve ξ) içeren Eşitlik 1.26 ve Eşitlik 1.27 kullanılarak Eşitlik 1.28'e dönüştürülür.

$$\Delta E_n = \sum_{j=1}^J \kappa_j * Q_n^j - \sum_{j=1}^J \xi_j * \frac{2*(c_{nuc,n}^j)^2}{E_{HOMO(nuc,n)} - E_{LUMO(elec)}} \quad (1.28)$$

Ligand aktivitesi, ligand ve reseptör ($L + R \leftrightarrow L-R$) arasındaki reaksiyon esnasında ΔE enerjisi tarafından kurulan denge miktarında meydana gelir. Dolayısıyla, aktivite (A) ΔE enerjisine orantılıdır; $A \propto \Delta E$. Eşitlik 1.29 ligandın lokal reaktivite tanımlayıcısından kaynaklanan etkileşim enerjisi yanıt değişkenleri olarak alınırken, her bir ligandın biyolojik aktivitesi bağımlı bir değişken olarak kullanılmıştır.

$$A_n = A_0 * e^{-\Delta E_n / RT} \quad (1.29)$$

Eşitlik 1.29'daki A_0 sabiti bilinmediğinden, seri içindeki moleküllerin aktiviteleri referans moleküle göre hesaplanır. Referans molekülü için, $n = 1$ alınmasından ve aşağıdaki Eşitlik 1.30, Eşitlik 1.29'dan türetilir.

$$A_n = A_l \frac{e^{-\Delta E_n / RT}}{e^{-\Delta E_l / RT}} \quad (1.30)$$

Eşitlik 1.30, Eşitlik 1.31'e göre yeniden düzenlenir ve n numaralı molekül (A_n), referansın (A_l) aktivitesine göre hesaplanır.

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

Burada, A_l , n-inci molekülün faaliyeti iken A_l , 1-inci referans molekülünün faaliyetidir. Modelin çıktısı, ligand üzerindeki atomik tanımlayıcılardan ve reseptör alanındaki ayarlanabilir sabitlerden doğan doğrusal olmayan bir işlevdir.

İyi bir istatistiksel sonuç veren bir model bulmak için, gözlemlenen aktivite değerlerine göre hesaplanan ayarlanabilir sabitlerin anlamlı bir korelasyonunun sağlanması gereklidir. Çok küçük bir farkla deneysel ve öngörülen aktivite değerlerinin istatistiksel sonuçları NLLS yöntemi ile hesaplanmıştır. Tahmin edilen aktivite değerleri, reseptör alanındaki tüm pozisyonların ayarlanabilir sabitleri aynı anda hesaplandıktan sonra tespit edilebilir.

1.4.16. 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 [76,77]. Diğer taraftan bilinen moleküler yapı ve maddelerin biyolojik aktiviteleri üzerine oldukça fazla miktarda deneysel bilgiler mevcuttur. İlaç-reseptör etkileşiminin biyomekanizmasını dikkate almadan, bu probleme aktif ve inaktif bileşikleri deneysel metotlarla tespit ederek aralarındaki benzerlikleri ve farklılıkları açıklayan çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalarda bilgileri dayanarak, aktiviteden sorumlu Pha yapı için bileşiklerin temel özelliklerine karar verilebilir ve biyolojik aktivite için bazı tahmini kurallar formüllendirilebilir [36].

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 [36].

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 [76-80]. 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 zorludur[36].

1.4.17. Moleküler docking

Protein-ligand etkileşimlerinin ana elemanlarındaki bağlanma modlarını moleküler docking yoluyla düşük enerji skorunun daha iyi bir protein-ligand bağlamayı temsil ettiğini varsayarak açıklamaya yönelik girişimlerde bulunulmuştur [81]. Daha önceki QSAR çalışmaları ile deneylerin yapılmasının rasyonel ilaç tasarımında güçlü bir araç olduğu ve daha güvenilir istatistiksel modellere yol açtığı gösterilmiştir. İlaç keşfi zorluklarının üstesinden gelmek için, moleküler docking yaklaşımı ile QSAR çalışmaları kullanılmıştır [82]. 4D-QSAR ve moleküler docking yöntemlerini birleştiren çok amaçlı iş akışı birçok çalışmada açıklanmıştır [83]. MCET yöntemiyle 4D-QSAR sonuçları, inhibitörlerin hastalıklı bölge üzerindeki L-R etkileşimi mekanizma açıklamak için moleküler docking uyumluluğu ile ilgili olarak tartışılmıştır [80].

2. BÖLÜM

YÖNTEM VE MATERYAL

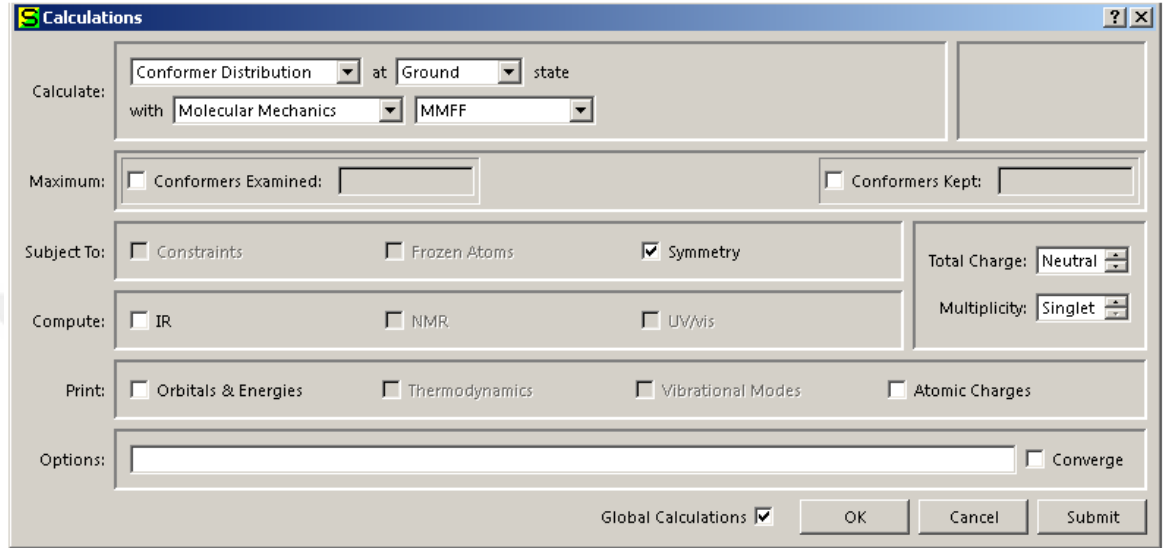
Tez çalışması sırasında literatürden alınan tiyazol [84], 2-Hidroksidiarilamit [85] ve pirimidin [86] türevleri üzerinde sırasıyla aşağıdaki basamaklar uygulanarak tüm hesaplamalar yapılmış ve sonuçlandırılmıştır.

- Spartan'10 programında literatürden alınan bileşiklerin çizimi gerçekleştirilerek kuantum kimyasal hesaplamaları yapılmıştır.
- Kuantum kimyasal sonuçları ETM programı ile Elektron Topolojik Matrisi ve Kartezyen koordinatlarını oluşturulmuştur.
- Bileşiklerin eğitim ve test setine bölünmesi işlemi yapılmıştır.
- Ligand-tabanlı QSAR hesaplamaları için ligand-reseptör etkileşimi hesaplamaları için MCET programı kullanılarak en iyi korelasyon katsayıları ve farmakofor grupları bulunmuştur.
- FlexX docking programı ile ligand-reseptör arasındaki etkileşimleri ve bağlanma enerjileri bulunmuştur.

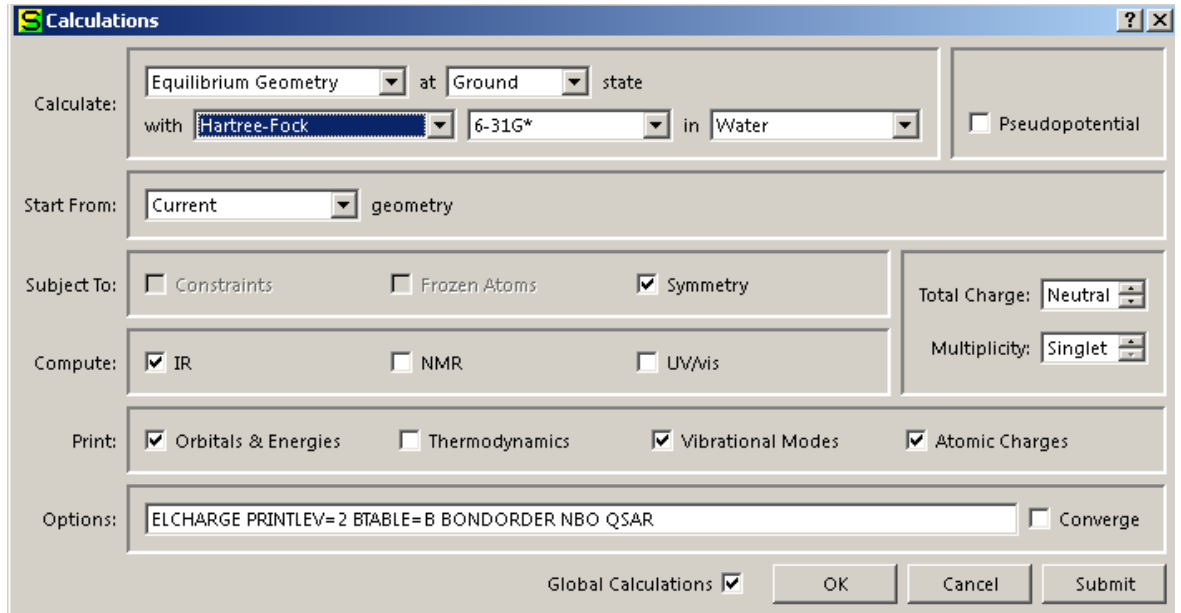
2.1. Kuantum Kimyasal Hesaplamaların Yapılması

Moleküler modelleme, tüm teorik ve hesaplamalı yöntemleri kullanarak moleküllerin davranışını yakın bir şekilde temsil etmeyi veya taklit etmeyi amaçlar. Moleküler modelleme tekniklerinin ortak özelliği, moleküler sistemlerin atomistik seviye tanımlamasıdır [87].

Spartan'10 (Wavefunction, Irvine, CA, ABD) ile yapılan moleküler modelleme hesaplamaları ve optimizasyonunun ara yüzleri Şekil 2.1'de Moleküler Mekanik, Şekil 2.2 ve Şekil 2.3'de ise Hartree Fock (HF)/ Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi (DFT-Density Functional Theory) ile gösterilmiştir.

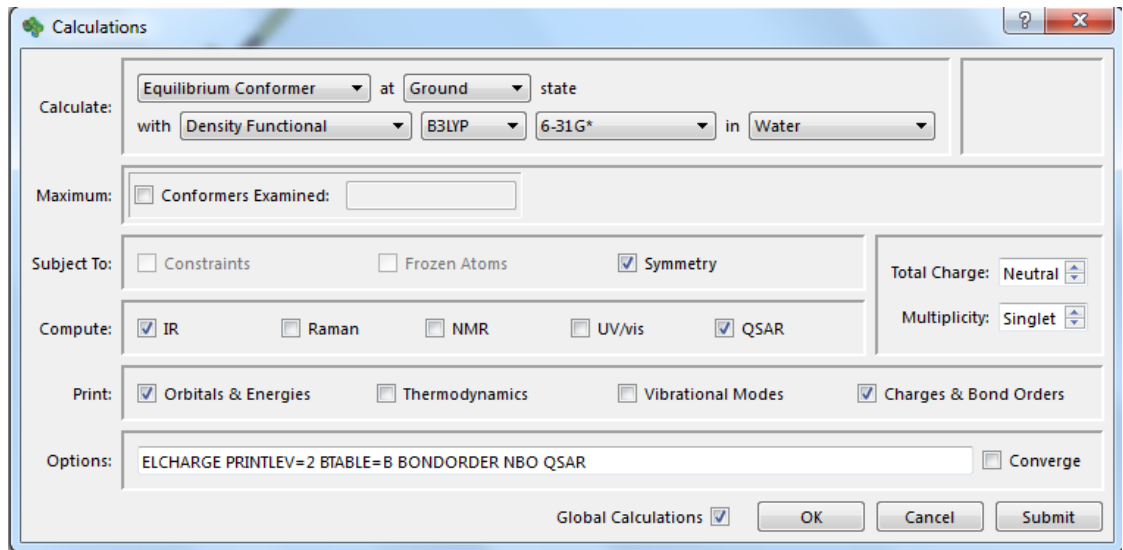


Şekil 2.1. "Moleküler Mekanik" hesaplamaların yapılması için belirlenen kademeleri gösteren ara yüzey.



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

Konformerlerin kuantum kimyasal hesaplamaları HF ve DFT yöntemi ile yapılmıştır.



Şekil 2.3. Spartan'10 programında DFT-B3LYP 6-31G* hesabının ara yüzü.

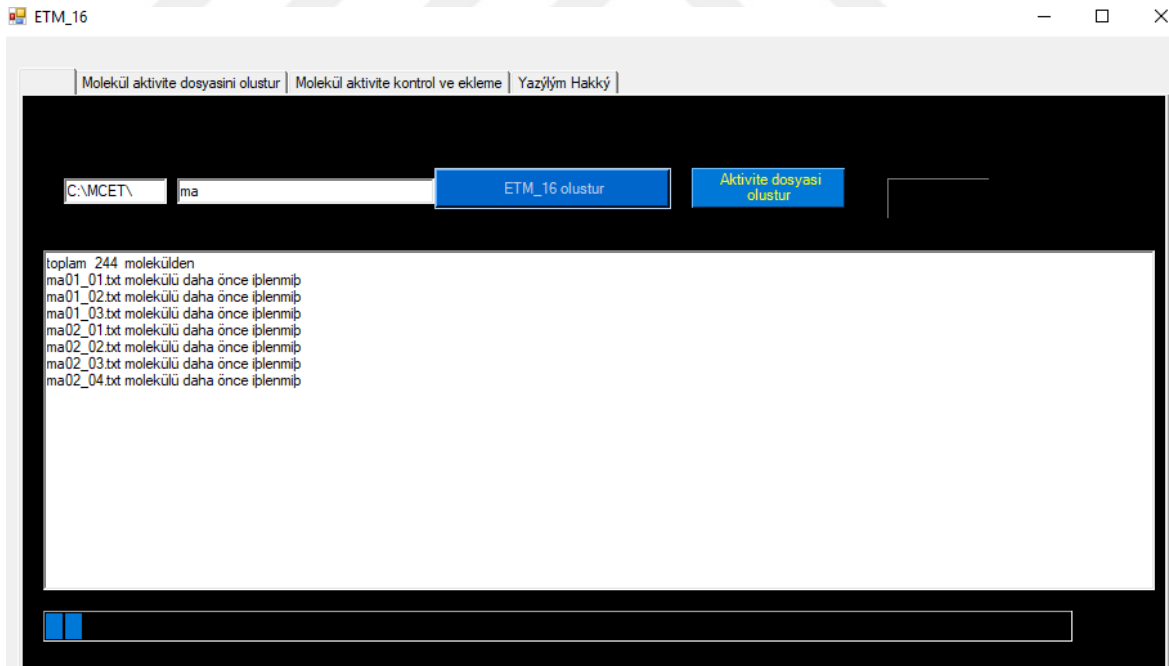
Moleküler sistemlerin tanımlanması için, atomik karakterler moleküler modelleme yöntemlerinde ortak bir özellik olarak kullanılır. Bir bileşiğin konformerlerinden birbirlerine benzer olanlar, ortak bir yapıya hizalanır ve yüksek enerjili olanlar, hem yakın oluşum enerjilerine hem de benzer yapılara sahip olan konformerlerden iptal edilir [80]. Boltzmann dağılımına göre, her bir molekülün en düşük enerjisine sahip bir bileşik, molekülünü temsil etmesi için seçilmiştir, çünkü diğerlerinden daha fazla bulunma olasılığına sahiptir.

2.2. Elektron Topolojik Matris (ETM) Programı

Her moleküler konformerin ETM'i, konformerin uzaysal ve atomik tanımlayıcı sayısal değerleri ile temsil edildiği matematiksel bir göstergedir. Konformerlerin Spartan hesaplamalarında HF yöntemiyle kuantum kimyasal hesaplamaları yapıldıktan sonra, atomların topolojik, elektronik ve geometrik değerlerini içeren bilgiler bir matris olarak verilmektedir [88-89]. ETM, benzer molekülleri yapısal olarak tanımlayarak ve atomik pozisyonları kümeleyerek moleküllerin hızlı yapısal karşılaştırmasına izin verir. Kartezyen koordinat değerleri, hesaplama sırasında veri kaynağı olarak ETM değerleri ile birlikte kullanılır. Kuantum kimyasal hesaplamalardan moleküler modelleme ile elde edilen sonuçların her bir molekülün konformerinin serilerden biri örnek olarak Şekil 2.4'te gösterildiği gibi .txt dosyası olarak kaydedilmesinden sonra ETM, Şekil 2.5'te ara yüzü verilen ETM programı (ETMP) ile bu dosyadaki değerlerden oluşturulur.

ar01_01	03.04.2017 14:04	Text Document	670 KB
ar01_02	03.04.2017 14:05	Text Document	670 KB
ar01_03	03.04.2017 14:05	Text Document	2,331 KB
ar01_04	03.04.2017 14:05	Text Document	2,331 KB
ar02_01	10.04.2017 19:16	Text Document	2,371 KB
ar02_02	10.04.2017 19:16	Text Document	2,389 KB
ar02_03	10.04.2017 19:16	Text Document	2,380 KB
ar02_04	10.04.2017 19:17	Text Document	2,371 KB
ar03_01	03.04.2017 14:06	Text Document	2,750 KB
ar03_02	03.04.2017 14:06	Text Document	2,780 KB
ar03_03	03.04.2017 14:07	Text Document	2,785 KB
ar03_04	03.04.2017 14:07	Text Document	2,767 KB
ar03_05	03.04.2017 14:07	Text Document	2,754 KB
ar04_01	03.04.2017 14:13	Text Document	2,517 KB
ar04_02	03.04.2017 14:13	Text Document	2,545 KB
ar04_03	03.04.2017 14:13	Text Document	2,548 KB
ar04_04	03.04.2017 14:13	Text Document	2,518 KB
ar05_01	03.04.2017 14:14	Text Document	2,550 KB
ar05_02	03.04.2017 14:14	Text Document	2,561 KB
ar05_03	03.04.2017 14:15	Text Document	2,561 KB
ar05_04	03.04.2017 14:34	Text Document	2,561 KB
ar06_01	03.04.2017 14:16	Text Document	2,551 KB
ar06_02	03.04.2017 14:16	Text Document	2,562 KB
ar06_03	03.04.2017 14:16	Text Document	2,562 KB
ar06_04	03.04.2017 14:17	Text Document	2,567 KB
ar06_05	03.04.2017 14:17	Text Document	2,551 KB

Şekil 2.4. Kuantum kimyasal hesaplamalarından sonra hazırlanan *.txt dosyaları.



Şekil 2.5. Kullanılan Elektron Topolojik Matris Programının ara yüzü.

Bu matrisin satırları ve sütunları aynı indeks atomlarıyla sıralanır. Farklı atomlar arasındaki topolojik mesafe, Ångström gibi köşegen olmayan bir yerde bulunurken, aynı atomlar arasındaki tanımlayıcı elektronik değerler ETM olarak köşegen bölgesinde verilmiştir. Köşeden geçen eksene göre sıra ve sütunlardaki değerler simetri

olduğundan, üst veya alt üçgen matris kullanılabilir. Matrisin köşegen olmayan değerleri, atomlar ve bağın uzunluğu arasındaki mesafe sabit olduğundan, her konformerin uzamsal yapısının aynı kalması için değişmeden kalacaktır. Buna göre, köşegen değerlerde kullanılan farklı cins tanımlayıcısına rağmen, köşegen olmayan değerler aynıdır ve sabittir. Her tanımlayıcı için aynı diyagonal olmayan değerleri kullanarak, üç boyutlu matris, matris iki boyutlu olsa da, diyagonal alandaki tanımlayıcı tiplerini değiştirerek elde edilir. Her bir konformer için, kalan atomların üç boyutlu üst üçgen matrisi, ETM .txt ve Moleküler iskeletteki O, N, S gibi fonksiyonel atomlar hariç, basitlik için sadece karbon atomlarına bağlı hidrojen atomları bulunur. Yok sayıldı. Daha sonra her bir konformer için, üç boyutlu üst üçgen matrisi ETM .txt olarak tutulur ve Kartezyen koordinatlar x-, y-, z-değerlerini dosyalarda Kartezyen koordinat .txt olarak tutar. Her zaman ilk üç atomun koordinatları; (0,0,0), (x, 0,0) ve (0, y, z) "iç koordinatın" koordinat değerlerinin kalan koordinatlarının söylenebileceği belirtilmiştir.

İki boyutlu ETM’de, diyagonal değerler elektrostatik yükler ve diyagonal olmayan değerler, bağ uzunluğu veya atomlar arasındaki mesafe ile verilir. Elektrostatik yük değerinin yerine farklı köşegen değerleri kullanılırsa, köşegen olmayan değerler sabit kalırken iki boyutlu yeni bir ETM oluşturulur. Her oluşan ETM’nin art arda gelmesi ile üç boyutlu bir matris oluşturulur. Çapraz olmayan değerler değişmeden ve çapraz değerler ayrı çizgiler halinde verildiğinde, bu üç boyutlu matrisi gösterildiği gibi iki boyutta göstermek mümkündür.

2.3. Bileşiklerin eğitim ve test setine bölünmesi

Birçok çalışma grubu daha öngörülebilir ve güvenilir modeller üretmek için rasyonel bölümlendirme yöntemleri geliştirmeyi amaçlamıştır. Bunlar, Kennard-Stone algoritmasını, Kohonen kendini düzenleyen haritaları, D-optimal tasarımını ve küre dışlama algoritmasının varyasyonlarını içerir [90-94]. Başlangıçta, incelenen bileşiklerin veri kümesi yapısal çeşitlilik ve farklı aktivite değerleri göz önünde bulundurularak eğitim ve test kümelerine ayrılır. Bu çalışmada, çoklu eğitim ve test setlerinde uygulanması için MCET’te rasyonel yöntemlerden bir küre dışlama algoritmasına benzer yeni bir algoritma hazırlanmıştır. En iyi eğitim ve test seti bölümünü elde etmek için, eğitim ve test setlerinde en yanıltıcı bileşiklerin belirli bir sayısı karşılıklı olarak değiştirilir. En

yüksek q^2 ve r^2 istatistiksel değerlerine sahip model göz önüne alındığında, eğitim ve test setindeki bileşikler belirlenir.

Eğitim ve test setlerini optimal şekilde bölmek için, bu çalışmada geliştirilen algoritma aşağıdaki adımlardan oluşur:

1. Başlangıçta, her iki bileşik grubunun yapılarının ve faaliyetlerinin birbirine benzer olduğu dağılımı seçilir.
2. Eğitim setinde en az ve en çok aktif bileşiklerin varlığını göz önünde bulundurun. Kümeleme için referans olarak en aktif beş ve en az beş aktif bileşiğin atomik pozisyonlarını alınır. Referans pozisyonlarını kullanarak küreler oluşturulur.
3. Bileşiklerin üst üste binmesinden sonra tolerans değerini kullanarak kürelere karşılık gelen atomları kümelenir.
4. LOO-CV kullanarak kümeler arasında aktif konumlardan 3D-PhaM'i oluşturulur.
5. Test setindeki bileşiklerin aktivitelerini 3D-PhaM kullanarak hesaplanır.
6. Öngörülen faaliyetlerde en büyük hataya yol açan bileşikler arasında, hem eğitim hem de test setindeki bileşiklerin (p) sayısını belirtin.
7. P sayı bileşiklerini setler arasında t-kez değiştirerek 4. adıma devam edin ve ardından döngüden çıkılır.

Kümedeki pozisyonların sayısı ve bileşimi, kümelerdeki bileşiklerin çeşitliliğinden dolayı değişebilir. Eğitim ve test setlerinin gösterilebilirliği, her değişiklikten sonra en üst düzeye çıkarılır ve buna göre 3D-PhaM üretilir.

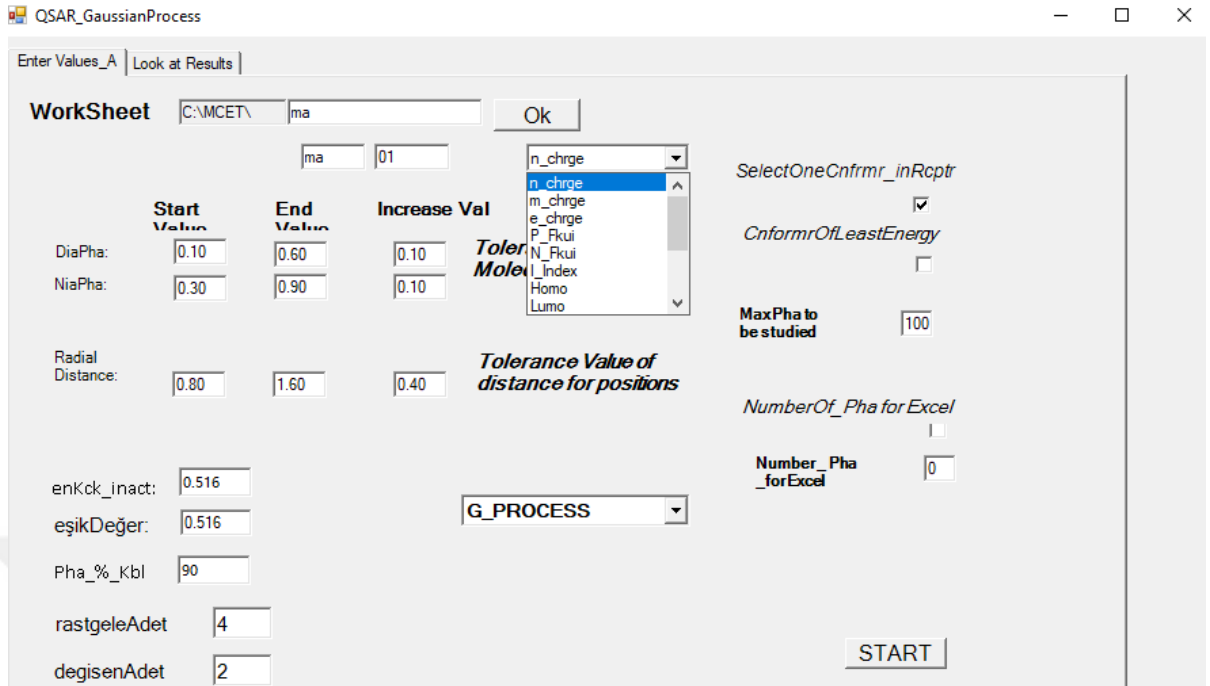
2.4. MCET Metodu

MCET programı [76-80] Y GÜZEL tarafından yazılmış, CoMFA ve CoMSIA gibi ligandlardaki atomların 3D/4D-QSAR yöntemlerinin hizalanması ve eşleştirilmesi prensibi üzerinde çalışmaktadır. Metodumuzun en önemli özelliği, QSAR metodu için dördüncü boyutu çoklu konformerlar arasında aktif konformasyon seçerek kullanmamızdır. Konformerler arasında dinamik bir denge olduğundan, bu dönüşüm her an yapılır. Aktif konformasyonun bu konformasyon arasındaki reseptör ile etkileşimi

4D-QSAR ile sonuçlanır. İlaç tasarımının etkili olabilmesi için ilaç reseptör kompleksinin aktif konformasyonunu bilmek son derece yararlıdır. Bir molekülün bir Pha grubu, reseptördeki bağlanma sahasının aktif konformasyonu ile bağlantılı bir grup atomik konfigürasyon ile tanımlanır. Böyle bir konformasyon her zaman en düşük enerji seviyesinde olmayabilir. İncelenen molekül konformerlerinden şablonla en iyi eşleşen bir tanesi, reseptörle diğer moleküler konformerlerle ortak bir yapı olarak etkileşime girdiği ve bu nedenle seçilen konformer olduğu düşünülür.

Son zamanlarda, ligand-temelli bir modeli öngörmek için ligand-reseptör etkileşmesinden sorumlu kimyasal özellikler olarak farklı LRT kullanılmıştır [95] Atomların kümelenmesi LRT tiplerine bağlıdır. Ligandlarda bağımsız bir değişken olan LRT tipi değiştiği için, farklı hizalama ve farklı üst üste binme nedeniyle farklı kümeler içeren bir toplama oluşacaktır. En iyi LRT'yi belirleme prosedürü çok önemli bir adımdır. 3D reseptörünün bağlanma bölgesinin yapısını daha gerçekçi bir şekilde belirleyebilmek için, LRT tipi iyi seçilmelidir. Dolayısıyla, kurulan model gerçeğe yakın olabilir. Yanlış bir tanımlayıcı kullanılarak iyi bir model oluşturulamaz. Daha iyi bir 3D-PhaM elde etmek için iyi bir LRT seçimi gereklidir. Bu nedenle, 3D-PhaM'de belirtilen pozisyonlar LRT tipine özgüdür.

L-R arasındaki etkileşim noktalarından kaynaklanan enerji, program arayüzünde seçilen LRT'nin türüne ve değerine bağlı olarak değişir. Şekil 2.6'da gösterilen MCET programının ara yüzündeki LRT tipi atomlar olarak Mulliken/Natural/Elektrostatik atom yükleri, HOMO/LUMO katsayıları, Fukui indeksi ve Klopman indeksi kullanılmaktadır.



Şekil 2.6. 4D-QSAR hesaplamaları için kullanılan MCET programının ara yüzü.

Etkileşim enerjisi, etkileşim noktalarındaki pozitif/negatif (artan/azalan aktivite) katkıların toplamıdır. Reseptörün 3D-PhaM'i, ligandların LRT değerlerine göre belirlenen parametrelerle ortaya çıkar [80]. Biyolojik aktivite ile bileşiklerin fizikokimyasal özellikleri arasındaki ilişkinin genellikle doğrusal olmadığı bilinmektedir [98].

MCET'te işletilen algoritmanın adımları aşağıdaki gibi özetlenmiştir:

- En basit, en aktif ve en uygun pozisyona sahip olan konfrmer, şablon molekül olarak seçilmiştir, çünkü reseptörle en uyumlu olanlardan biri olarak kabul edilir.
- İçinde en az bir fonksiyon atomunun bulunduğu 3, 4, 5 veya 6 atomdan oluşan kombinasyonlardan oluşan gruplar, aktif yapıların başlangıç veya çekirdek yapı olarak kabul edilir.
- En az bir aktif molekül konformeri bu çekirdek yapıyı içermelidir. Bu, formüldeki atomların tanımlayıcı değerleri ve uzaydaki koordinat değerleri tarafından verilen tolerans ile belirlenir. Buna göre, molekül sayısından minimum çekirdek yapı sayısına kadar sıralanır.

- d) Çekirdek yapının belirli bir sayısının (200'e kadar) başlangıç olduğu düşünülmektedir. Her deneme sırasında, çekirdek yapıdaki ilk üç atomun koordinat değerleri, sırasıyla yönelmiş atomların Kartezyen koordinatları (0, 0, 0) 1, (0, 0, z) 2 ve (0, y, z) 3 değişmiştir.
- e) Çekirdek yapıya uygulanan uzamsal geometrik toleranstan biraz daha büyük bir tolerans kullanılarak, yönlendirilmiş atomların tüm moleküllerin konformerlerinde pozisyonları şablon konformerinin atomik pozisyonları ile üst üste getirilir. Hem çekirdek yapı hem de uzamsal konumlar için kullanılan toleranslar belirli artışlarla değişmektedir, böylece üst üste örtüşen tüm moleküllerin uygunluğu kontrol edilmektedir. Optimum tolerans değeri en iyi örtüşme ile belirlenir.
- f) Şablon konformerdeki atomlarla eşleşen en fazla sayıda atom bulunan konformer, molekülündeki diğer konformerleri temsil edecek şekilde seçilir.
- g) Referans pozisyonlar en az ve çok aktif molekül atomlarından alınmıştır. Bu pozisyonlarda, atomları içeren seçilen konformerlerin molekülleri ve atomları kümelenir.
- h) Uzayın pozisyonlarında, atomların tanımlayıcı değerleri hesaplanır. Kullanılan tanımlayıcı değerleri; doğal yük, Mulliken yükü, elektrostatik yük, HOMO/LUMO orbital katsayıları, Fukui indeksi (f_+ , nükleofilik ve f_- , elektrofilik fonksiyonlar) Klopman indeksini sonlandırır. Burada, Klopman indeksi, (Natural, Mulliken veya elektrostatik yük, atom yükü olarak kullanılır, ligandın HOMO'su ve reseptörün LUMO'su, ön yörünge olarak veya tam tersi) seçilir. Elektrostatik yük/HOMO örnek verilebilir. Çalışmamızda, literatüre ilk kez ligand-reseptör etkileşimlerinde sunduğumuz Klopman indeksinden elde edilen daha iyi sonuçlar nedeniyle bu çalışmada Klopman indeksi kullanılmıştır. Klopman'ın indeksleri yalnızca atom yüküne değil aynı zamanda sınır yörüngesindeki katsayıların etkileşimine dâhil olduğu için daha gerçekçi bir analiz yapılabilir.
- i) Etkileşim noktaları olabilecek pozisyonlar GA ile belirlenir. Bu algoritma ile tartışılan çekirdek yapılara yeni pozisyonlar eklenerek model olgunlaştırılmıştır.

Modelin konumuna yeni bir pozisyon eklenip eklenemeyeceği, istatistiksel değerde önemli bir artışla belirlenir. Elde edilen modeldeki pozisyonlar, çekirdek yapılar da dâhil olmak üzere ligandların süperpozisyonunu gösterir, ancak reseptörün farmakofor yapısını bu pozisyonların negatif bir görüntüsü olarak ortaya koyar. Süperpozisyonadaki çekirdek yapı, her bir molekülün reseptörle etkileşime girdiği ortak bir yapı oluştururken, kalan yönlendirilmiş atomlar arttırıcı veya azaltıcı aktivite olarak işlev görür. Her molekülün, o konumdaki atomik tanımlayıcı değerine göre aktiviteyi arttırması veya azaltması belirlenir.

- j) Moleküllerin çekirdek yapılarını hizalayarak, reseptöre göre aynı mekansal duruma yerleştirilirler, karşılık gelen konformerin atomlarının en fazla sayıda şablonla eşleştirilmesi, şablonlar arasında konformer olarak en uygun pozisyonda olanın seçimine yardımcı olur.
- k) Üst üste binmiş atom kümeleri arasındaki etkileşimde yer alan kişiler üst üste binmeye neden olabilir ve modelin bağımsız değişkenleri olabilir. QSAR araştırmalarında kullanılan hizalama, üst üste binme ve üst üste koyma terimleri, birbirlerinin yerine kullanılmalarına rağmen MCET’te ayrı ayrı ifade edilir.
- l) Modellere yeni bir konum eklemek, PLS ölçümleriyle en iyi istatistiksel sonucu elde eden biri tarafından belirlenir. PLS hesaplamaları, NLLS olarak kabul edilir, çünkü ligand reseptör farmakofor yapısından kaynaklanan etkileşim enerjisi, doğrusal olmayan eşitlikte bir model olarak kullanılır. Yönlendirilmiş atom kümelerinin her çekirdek yapı ve NLLS hesaplamaları için, en uygun tolerans değerleri için en iyi istatistiksel sonuçlar elde edilir. Her çekirdek yapının kümelenmesi sırasındaki tolerans değerleri ve etrafındaki atomları ve atomları taşıyan moleküllerin, mümkün olan limit minimumdan maksimuma derecelendirilir. NLLS hesaplamaları Levenberg-Marquardt algoritması kullanılarak yapılır.
- m) Moleküller Gaussian prosesi tarafından belirlenen eğitim ve test olarak ikiye ayrılır. Bu işlem, test setindeki moleküllerin eğitim setindeki moleküllerle en iyi şekilde temsil edilmesini sağlar. Bunu yapabilmek için her iki kümedeki moleküllerin bağımsız değişkenleri arasında bir anlaşmaya varılması gerekir.

Gauss prosesini içeren bir makine öğrenme algoritması, eğitim verilerinden yararlanarak test setinde görünmeyen bir noktanın değerini tahmin etmek için noktalar arasındaki benzerliği kullanır. Her bir molekülün aktivitesi, eğitim setinde LOO-CV kullanılarak önerilen modellerle q^2 değerlerine göre doğrulanır. Dışlanan test setindeki moleküllerin aktiviteleri aynı model kullanılarak tahmin edilir.

Sonuç olarak, MCET yönteminde işlenen adımlar; kalıp konformeri seçimi, çekirdek yapıların hizalanması ve etrafına bindirilmiş atomlardan moleküler konformer seçimi, moleküllerin kümelenmesi, GP'e göre eğitim ve test setlerinin ayrılması, GA ile modelin önlenmesi ve süperpozisyonun süperpozisyonu -lineer eşitlik, LOO-CV'de PLS kullanarak q^2 ve r^2 değerlerini belirlenmesidir.

Biyolojik etkileşimdeki enerji hesaplamaları pratikte uzun ve zor bir sorudur. Bu sorunu çözmek için, reseptör-ligand etkileşiminin enerji katkısı ve moleküler konformerlerin seçilen konformal enerji katkısı birlikte ele alınır. Aynı moleküldeki konformerlerin seçilen bir konformerde dönüşümü, enerji alımı veya uygulaması ile sağlanabilir. Konformerlerin reseptör bağlama enerjisi, konformerler arasında dönüşüm sırasında daha yüksek olmalıdır. Dolayısıyla, bir konformer, reseptörle etkileşime girmek için molekül içindeki diğer konformerleri temsil edebilir. MCET yöntemini diğerlerinden ayıran en önemli özelliklerden biri, tek bir konformerin en uygun yapıdaki reseptör ile etkileşimidir. Yöntemimizin bir başka özelliği de, atom yükü, Fukui indeksi ve HOMO/LUMO katsayılarının yanı sıra sizin tarafınızdan tanımlanan Klopman indeksi gibi lokal reaktif tanımlayıcılarını kullanabilmesidir. Bunlar, reseptörle etkileşime giren moleküllerin elektronik yapıları hakkında bilgi sağlar.

2.4.1. En Küçük Kareler (PLS) Yöntemi

4D-QSAR modellerinin türetilmesinde kullanılan kısmi en küçük kareler istatistiksel yöntemi, orijinal değişkenlerin küçük bir lineer kombinasyon kümesi ile değiştirildiği çoklu regresyon analizinin bir uzantısıdır. Bu çalışmada, çapraz geçerlilik katsayısı q^2 kullanılarak optimal bileşenlerin sayısını belirlemek için LOO-CV PLS yöntemi kullanılmıştır. Çeşitli modellerin dış doğrulaması, beş moleküllü bir test seti

kullanılarak gerçekleştirildi. Son analiz (çapraz onaylanmış analiz), korelasyon katsayısını (r^2) elde etmek için çapraz doğrulama analizinden elde edilen optimum bileşen sayısı kullanılarak yapıldı. q^2 değeri modelin iç öngörülebilirliğini belirler, r^2 değeri modelin iç tutarlılığını değerlendirir. Böylece en iyi QSAR modeli, q^2 ve r^2 değerlerine göre seçildi.

2.4.2. Klopman İndeksi

İki ayrı (A ve B) molekül arasındaki c_a ve c_b ağırlık katsayısı kullanılarak ψ_A ve ψ_B orbitallerin lineer kombinasyonlarından yeni bir moleküler orbital ψ_{AB} oluşur. Basit bir Lewis asit-baz ($A+B \rightarrow AB$) reaksiyonu için, Klopman ve Jensen pertürbasyon Moleküler Orbital (MO) teorisi ve dalga fonksiyonunda, ψ_{AB} 'nin nasıl hesaplanacağı Eşitlik 2.1'de gösterilmiştir.

$$\Psi_{AB} = c_A \Psi_A + c_B \Psi_B \quad (2.1)$$

Klopman-Salem eşitliğine göre, iki ayrı bileşiğin karşılık gelen atomları elektrostatik etkileşim ve kovalent bağlarla, ayrı ayrı veya her ikisi ile etkileşime girdiğinde enerji kazancı (veya kaybı) hesaplanabilir [74, 99]. Eşitlik 2.2'nin detaylı formu aşağıda verilmiştir;

$$\Delta E = \sum_{a \in A, b \in B}^J (q_a + q_b) \beta_{ab} S_{ab} + \sum_{a \in A, b \in B}^J \left(\frac{Q_a Q_b}{\epsilon R_{ab}} \right) + \sum_{r \in A}^{occ.} \sum_{s \in B}^{unocc.} - \sum_{s \in B}^{occ.} \sum_{r \in A}^{unocc.} \frac{2 \left(\sum_{a \in A, b \in B}^J c_{ra} c_{sb} \beta_{ab} \right)^2}{E_r - E_s} \quad (2.2)$$

A ve B : Etkileşime giren moleküller

J : İki molekül arasındaki toplam etkileşim noktalarının sayısı

q_a : A molekülündeki j.nci etkileşim noktasında ($j = 1, 2, 3 \dots J$) yer alan a_j atomik orbitalinin elektron popülasyonu

β ve S : Rezonans ve çakışma integralleri

Q_a : k_i atomundaki toplam yük

ϵ : Lokal dielektrik sabiti

R_{ab} : k_i ve l_j atomları arasındaki mesafe

C_{ra} : r moleküler orbitalindeki a_i atomik orbitalinin katsayısı

E_r : r moleküler orbitalinin enerjisi

Burada, iki molekül (**A** ve **B**) arasındaki n-adet etkileşim noktalarını dikkate almak için; n, **A** ve **B** terimleri Eşitlik 2.2'ye tarafımızdan eklenmiştir.

Elektrofiller, nükleofillerle yumuşaklık veya sertlikteki benzerliklere göre kovalent veya elektrostatik bağlanmayı tercih eder ve daha hızlı reaksiyona girerler [100].

Eşitlik 2.3'teki ilk terimin kapalı kabuk itmeden dolayı bu terim basitlik için ihmal edilecektir. Eşitlik 2.3'teki basitleştirilmiş Klopman indeksi iyonik bağ, bağ yapmayan ve hidrojen bağ kuvvetlerinden oluşan Coulomb ve sınır orbital etkileşimlerinin aynı anda kullanıldığı bir tanımlayıcıdır. Sadece elektrostatik ve kovalent etkileşimi hesaba katarak ikinci ve üçüncü terimlerden oluşan Eşitlik 2.3 aşağıda verilmiştir;

$$\Delta E \approx \sum_I^n \left(\frac{Q_{nuc} Q_{elect}}{\epsilon R_i} \right) - 2 \sum_I^n \frac{(c_{nuc,i} c_{elect,i} \beta_i)^2}{E_{HOMO(nuc)} E_{LUMO(elec)}} \quad (2.3)$$

A-B molekülleri (veya ligand-reseptör) arasındaki bir etkileşim için; Eşitlik 3'ün ilk teriminde, **A** (nükleofil) ve **B** (elektrofil) moleküllerinin i-atamları arasındaki mesafe (R) ve dielektrik sabitiyle (ϵ) kısmi yüklerin (Q_{nuc} ve Q_{elect}) etkileşiminden kaynaklanan elektrostatik enerjiye yol açarken ikinci teriminde; **A** içindeki dolu orbital (nükleofil) ve **B**'deki boş orbital (elektrofil) üzerindeki i'nci atomların katsayıları (c_i) ve bu atomlar arasındaki rezonans integraller (β) nedeniyle kovalent bir enerjiye yol açar. Elektron verici molekül **B**'deki i'nci atom (nükleofil veya baz) ve elektron alıcı molekül **A**'daki i'nci atom (elektrofil veya asit) arasında bir etkileşim meydana gelirse, enerji değişimi Eşitlik 3'te iki terimin toplamı olarak verilir. İki molekülden birbirine enerji olarak yakın olan birinin HOMO'su ile diğerinin LUMO'su arasındaki etkileşim enerjisi o kadar büyüktür ki; diğer dolu-boş orbitaller arasındaki etkileşim enerjisi ihmal edilebilir ve yukarıdaki eşitliği, bir nükleofilin HOMO'sunu ve bir elektrofilin LUMO'sunu kullanarak basitleştirebiliriz. Bu sadeleştirilmiş son eşitlikte, iki ayrı tipdeki (hem elektrostatik hem de kovalent) etkileşiminin ayrı ayrı olduğunu ima etmiyoruz, aksine, her iki tip etkileşiminin de aynı anda olabileceğini söylüyoruz. Eşitlik 2.3 ile kimyasal reaksiyonların mekanizması kimyasal reaktivitenin hem elektrostatik hem de sınır orbital katkılarıyla açık ve kolay hale gelmiştir [74, 99]. Benzer şekilde, Pearson'ın Sert

Yumuşak Asit Bazlar (Hard Soft Acid Base-HSAB) teorisi de yük ve katsayı etkileşimlerine dayanmaktadır [101]. Klopman'ın moleküler komplekslere yaklaşımındaki son örneklerde; komplekslerin bağlanma enerjileri [102] ve Lewis asit/baz kimyasal reaksiyonunda H-akışı ile yük transfer enerjilerinin hesaplanması, uygun bir örtüşme olup olmamasına bağlı olarak vurgulanmıştır [103-104]. Biyolojik sistemlerde hidrojen bağlanması ile ortaya çıkan birçok kimyasal etkileşimde, Lewis asitleri/bazları hidrojen donörleri ve akseptörleri olarak görev yapar [105-107]. Hidrojen bağlarının kısmen kovalent ve kısmen iyonik (veya polar) olduğu bilinmektedir. Bir proton Lewis asidinin iki Lewis bazında tutulmasıyla oluşturulan hidrojen bağı için, her iki bileşiğin HOMO'ları ve LUMO'ları arasında (Lewis bazı proton-Lewis bazı) modeli ortaya çıkar [108-109].

Asit/Baz veya Elektrofil/Nükleofil etkileşimleri, HSAB teorisi ile açıklanabilir ve bu üç etkileşim aşağıdaki gibi tarihsel bir sürece sahiptir; a) asit-baz reaksiyonları; b) nükleofilik-elektrofilik etkileşimler; c) stereo- [110-111] ve regio- [112] seçici reaksiyonları sınır orbitallerine göre yer alır [113-114]. Bunların hepsini basit bir şekilde Eşitlik 2.3 ile içerebilen Klopman indeksini kullanarak açıklamak mümkündür.

Eşitlik 2.3'te gösterildiği gibi, ligand ve reseptörden birinin HOMO ve diğerinin LUMO sınır orbitalleri arasındaki etkileşim enerjisi öne çıkmasına rağmen bu orbitaller arasındaki enerji farkı büyük olduğunda, ilk terime bağlı olarak, sert asit-baz ile yük kontrollü küçük olduğunda, ikinci terime bağlı olarak, sınır orbitalinde katsayı kontrollü yumuşak asit-baz etkileşimi vardır. Aslında bu iki etkileşim ayrı ayrı değil birlikte ele alınarak genelleştirilmiştir. Buna göre basitleştirilmiş Klopman İndeksi, elektrostatik, kovalent ve hidrojen bağına taşıdığından, bu LRT'nin daha gerçekçi, doğru ve genel olduğu açıktır.

Ligand ve reseptörün etkileşimi sırasında, ligand ile reseptör arasındaki mesafe, dielektrik sabiti ve reseptör alanındaki pozisyon noktalarının κ ve ξ değerleri sırasıyla her iki terimde sürekli olarak verilmiştir ve sabit olarak toplanabilir.

Modelin çıktısı, ligand üzerindeki atom tanımlayıcılardan ve reseptör alanındaki ayarlanabilir sabitlerden kaynaklanan doğrusal olmayan bir fonksiyondur. İyi bir istatistiksel sonuç veren bir model bulmak için, gözlemlenen aktivite değerlerine göre hesaplanan düzeltilmiş sabitlerin anlamlı bir korelasyonu sağlanmalıdır. Deneysel ve

öngörülen verimlilik değerlerinin istatistiksel sonuçları NLLS yöntemiyle hesaplandı. Alıcı alandaki tüm pozisyonların ayarlanabilir sabitleri aynı anda hesaplandıktan sonra tahmini aktivite değerleri belirlenebilir.

2.5. Moleküler Docking

Moleküler docking 1960'lardaki başlangıcından bu yana, fizik, kimya, bilişim teknolojisi, biyokimya ve bilgisayarlardaki muazzam gelişmelerin yanı sıra docking, sadece ilaç tasarımı değil, protein-protein etkileşimlerinde ve nanomalzemelerin davranışlarında da güçlü ve çok önemli bir teknik haline geldi. Bilgisayar destekli ilaç tasarımının mevcut alanı, küçük molekülleri makro proteinlere, özellikle de protein hedeflerine yerleştirmek için kullanılan teknolojilere hâkim olmakta ve kullanımı yıldan yıla artmaktadır. Modern CADD'da, yapıya dayalı ilaç tasarımı önemlidir [84, 115-117] ve çoğu büyük ilaç şirketi bu departmana sahiptir. Birçok ticari ilaç doğrudan CADD yönteminden tasarlanmıştır [118]. Kuşkusuz, moleküler docking teknikleri kimyasal bileşiklerin anlaşılması için çok önemli bilimsel gelişmelerdir, özellikle de en iyi üç bilim insanı kimyada 2013 Nobel Ödülü'nü kazandığından beri daha da dikkati çekmektedir [119].

Orijinal moleküler docking kavramı rasyonel ilaç tasarımının “kilit ve anahtar” kavramından gelir, ancak “anahtarı” (ligand) “kilidi” (reseptör proteini) içine yerleştirmek için kullanılan kesin algoritmalar kullanılan docking programları arasında farklılık göstermektedir [119].

Moleküler docking yöntemi, küçük moleküllerin bir hedef proteinin bağlanma alanındaki davranışlarını araştırmaktadır. X-ışını kristalografisi kullanılarak deneysel olarak daha fazla protein yapısı belirlendiğinden, moleküler docking ilaç keşfedilmesinde bir araç olarak giderek daha fazla kullanılmaktadır [120].

Tez çalışmam sırasında 3 tane türev seti için de, moleküler docking hesaplamaları FlexX docking programı [121-122] kullanılarak yapılmıştır. Moleküler docking hesaplamalarında sırasıyla aşağıdaki işlemler uygulanmıştır:

1. Moleküler docking kullanılacak ligandların tümü Spartan'10 programında çizildi ve en aza indirildi. En düşük enerji uygunluğu araştırılacak ligand olarak seçildi.

2. Her bir türevin inhibe eden enzimler protein veri bankasından seçilmiştir (<https://www.rcsb.org>).
3. Reseptörler FlexX docking programında hazırladıktan sonra, ligand yerleştirilir ve ardından su molekülleri çıkarılmıştır.
4. Bağlanma bölgeleri ve bağlanma enerjileri ligand-reseptör kompleksindeki etkileşime göre gerçekleştirilmiştir.

2.5.1. FlexX Docking Programı

FlexX tarafından bağlanma, yalnızca ligand ile reseptör arasındaki kovalent bağ elle belirtilmişse yönetilebilir. Ligand yapı giriş dosyası, alıcı taraftaki kovalent bağa en yakın iki atomu içererek genişletilir. İlk docking, bu atomları reseptör yapısındaki konumlarıyla üst üste bindirerek gerçekleştirilir. Normal artımlı inşaat algoritması, son yerleştirmeye yol açar [122].

- Artan yapı tabanlı docking programıdır.
- Esnek ligand kullanılır.
- Protein yapısı topluluğu sayesinde protein esnekliği bulunmaktadır..
- BioSolveIT tarafından sağlanmıştır [122].

2.5.1.1. Bağlanma serbest enerjisinin tahmini (ΔG)

Moleküler docking sonuçlarının sıralanması, Bohm tarafından geliştirilen puanlama fonksiyonunun bir modifikasyonu ile yapılır [121,123].

$$\Delta G = \Delta G_0 + \Delta G_{rot} \times N_{rot} \quad (2.4)$$

$$+ \Delta G_{hb} \sum_{n\ddot{o}tral\ H-bağları} f(\Delta R, \Delta \alpha) \quad (2.5)$$

$$+ \Delta G_{iyon} \sum_{iyonik\ etkileşim} f(\Delta R, \Delta \alpha) \quad (2.6)$$

$$+ \Delta G_{aro} \sum_{aro\ .etkileşim} f(\Delta R, \Delta \alpha) \quad (2.7)$$

$$+ \Delta G_{lipo} \sum_{lipo} f_{ilite} der. f * (\Delta R) \quad (2.8)$$

Fonksiyonun ilk iki terimi Eşitlik 2.4'te sabit bir zemin terimi (ΔG_0) ve döner bağların engellenmesinden dolayı ligand bağlanması sırasında entropi kaybını hesaba katan bir terimdir (ΔG_{rot}). 2.5-2.7 arasındaki eşitliklerdeki terimler tüm ikili etkileşimlerin toplamıdır. Hesaplama fonksiyonunun son kısmı (2.8), hidrofobik temaslar olan ve yakın teması engelleyen (çarpışmalar) olan protein ve ligand arasındaki atom-atom temaslarını derecelendirmektedir. F , $f * \text{işlevleri}$ uzaklık ve açılı bağımlı sapmalardır [121, 123].

2.5.1.2. FlexX'in Genel Docking Algoritması

FlexX'teki kenetlenme algoritması, üç aşamadan oluşan artımlı bir inşaat stratejisine dayanır [122]:

- (1) Baz seçimi. docking algoritmasının ilk aşaması, ligandın bağlı bir kısmının, baz kısmının seçilmesidir.
- (2) Taban yerleşimi. İkinci aşamada, baz fragmenti ligandın geri kalanından bağımsız olarak aktif bölgeye yerleştirilir.
- (3) Karmaşık yapı. Yapım aşaması olarak adlandırılan son aşamada, ligand, taban fragmentinin farklı yerleşimlerinden başlayarak artan bir şekilde yapılır.

Geçerli FlexX sürümünde, temel seçim etkileşimli olarak gerçekleştirilir. Dockinge algoritması, taban parçasının seçimine oldukça duyarlıdır. Reseptörle açıkça baskın bir yönelime sahip olmayan bir ligandın bir kısmı seçilirse, docking algoritması açıkça doğru bağlama modunu tahmin etmede problemlere sahiptir [122].

Baz fragmenti yerleştirmek için kullanılan algorithmada kullanılan yöntemin sadece kısa bir özeti verilmiştir [121]. Baz docking algoritmasının amacı, aktif bölgedeki baz fragmentlerinin pozisyonlarını bulmaktır; öyle ki, fragman ve protein arasında yeterli sayıda olumlu etkileşimler eşzamanlı olarak gerçekleşebilir. Bu problem, bilgisayar görüşü ve örüntü tanıma alanındaki problemlerle ilgilidir. Bu alandaki bir problem, fotografik sahnedeki bir nesneyi tespit etmektir. Burada, nesnenin çoğu noktasının sahnedeki noktalara eşlenebilmesi için sahnedeki nesnenin bir "konumunu"

tanımlamamız gerekir. Fisher ve arkadaşları ile Kuntz ve arkadaşlarının geometrik docking yaklaşımına, geometrik karma olarak adlandırılan bir bilgisayarlı görme tekniğini başarıyla uygulamışlardır [124-125]. Bilgisayar görüşünden kenetlenme problemine adapte ettiğimiz algoritmaya poz kümeleme denir [126-127]. Burada algoritmanın uyarlanmış versiyonunu tarif edilmiştir [121].



3. BÖLÜM

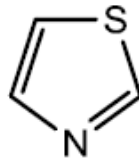
BULGULAR

3.1. Bileşik Serilerinin Seçimi

Bu tez çalışması kapsamında tiyazol [84], 2-hidoksidiarilamit [85] ve pirimidin [86] olmak üzere 3 seri üzerinde çalışılmıştır. Çalışmada kullanılan yapısal ve deneysel veriler literatürden alınmıştır ve ilgili bileşik serileri için kuantum kimyasal ve konformasyonel analiz hesaplamaları yapılmıştır. Tablo 3.1 ve 3.6 ve 3.11’de bileşik serilerine ait temel iskeletler, bağlı süstitüentler ve deneysel aktivite değerleri yer almaktadır.

3.1.1. Tiyazol Türevleri

Tiyazol, bir azot ve bir kükürt atomu bulunduran beşli halka yapısına sahip heterosiklik bileşiklerin ortak adıdır. Tiyamin (B1 vitamini), basitrasin ve penisilinler gibi biyolojik aktif tabii bileşiklerin yanı sıra sentez yoluyla elde edilen birçok ilaç aktif maddesi, boya ve sanayide kullanılan bazı kimyasal maddeler tiyazol halkası ihtiva eder. Tiyazoller bazı organizmalarda da bulunurlar [128]. Örneğin, bir feromon bileşiği olan 2-sec-butyl-4,5-dihidrotiyazol erkek fare, *Mus musculus*, idrarından izole edilmiştir. Dikkate değer bir başka erkek fare feromonu da 2-isopropil-4,5- dihidrotiyazol’dur [129].



Şekil 3.1. Tiyazol bileşiği

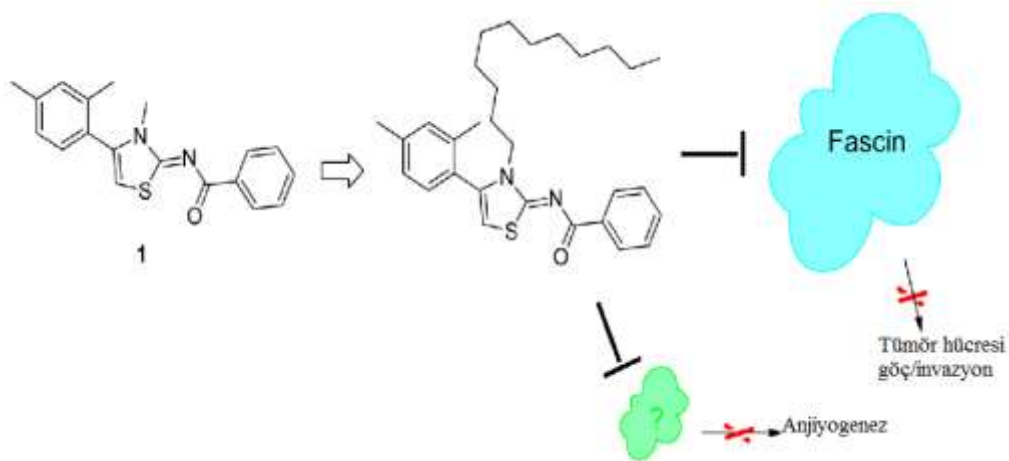
Habis tümörler yalnızca bulundukları doku ve organa zarar vermekle kalmazlar, yakınlarındaki organ ve dokulara da yayılabilir ve zarar verebilirler. Ayrıca kanserli hücreler bulundukları bölgelerden kan ya da lenf damarları yoluyla bedenin başka bölgelerine taşınabilir, orada yerleşebilir. İşte kanserli hücrelerin bulundukları doku dışında doğrudan ya da kan-lenf damarlarıyla başka bölgelere sıçramalarına "metastaz" (yayılma) denir. Metastatik kanserler, gerçek kanser vakalarından sonra sıkça görülür. Tümör alındıktan sonra, ameliyatta gözden kaçan tek bir hücre düşük ihtimalle de olsa metastaz başlatabilir. Genellikle, adrenal bezlerde, karaciğerde, beyin ve kemiklerde metastatik tümörler sıkça görülür. Metastatik tümör, genellikle gerçek tümöre bağlı olarak belli bir organ/organ grubunda ortaya çıkar. Örneğin, prostat kanseri genellikle kemiklere metastaz yaparken; gırtlak kanseri kadınlarda yumurtalık kanserine dönüşebilir. Bu durum ilk defa Stephen Paget tarafından 1889'da bulunmuş ve "Seed and Soil" teorisi adını almıştır. Bu teorinin temelinde, kanser hücresinin dolaşım sistemi içinde uzun süre sağ kalamaması ve ancak ilk oluştuğu dokuya benzer bir dokuda çoğalabilmesi yatar. Kanser hücrelerinin bağlı olduğu tümörden ayrılması bir bakıma moleküler bir "zincirlerini koparma" reaksiyonudur. Tüm sağlıklı ve kansere dönüşmüş hücreler birbirine hücre-dışı ağı proteinleri (Extra Cellular Matrix -ECM) ile sıkıca bağlıdır [130]. Metastatik hücreler bu bağı bir şekilde kırarak ayrılmayı başarırlar. Metastatik hücreler diğer gerçek kanserler gibi, gelişirken kendi altyapılarını hazırlarlar. Bu bağlamda, tümör etrafında kan damarları oluşumunu başlatarak büyüme için gerekli besini sağlarlar. Bu damar oluşturma işlemi angiyojen (angiogenesis) olarak adlandırılır. Kanser araştırmalarında bu kavram üzerinde oldukça yoğun çalışmalar bulunmaktadır. Angiyojen indirgeme (angiogenesis inhibition) adı verilen teknikte, bu damar oluşumu engellenerek, tümörün besinsiz kalması amaçlanmaktadır [130].

Benzotiyazol halkası, yararlı biyolojik aktiviteleri olan çeşitli deniz veya karasal doğal bileşiklerde bulunur [131-134]. Tiyazol, doğada önemli bir rol oynayan önemli bir bileşik türüdür ve tıbbi kimya alanında geniş uygulamalara sahip bir kükürt atomu içerir [135-136]. Farklı süstitüe edilmiş tiyazol kısımları içeren antitümör analogları, biyolojik aktivitelerinde önemli bir rol oynar [137]. Metastaz kanser hastalarında önde gelen ölüm nedenidir. Primer tümörlerin yaklaşık % 90'ı hastalığın metastatik yayılımına bağlanır [138-140]. Metastaz, kanser hücresi motilitesi, intravenöz dolaşım,

dolaşım geçişi ve sağkalım, yeni bir bölgeye ekstrasvazyon ve büyüme içeren çok sayıda aşamalı karmaşık bir süreçtir.

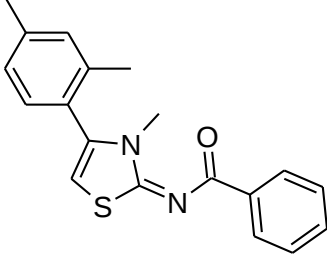
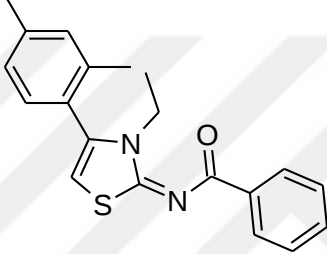
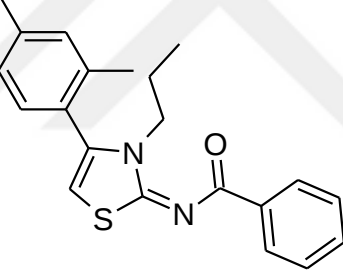
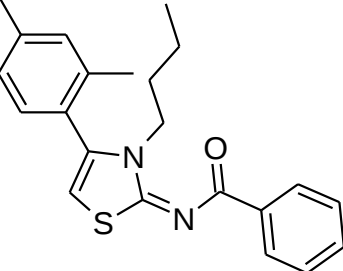
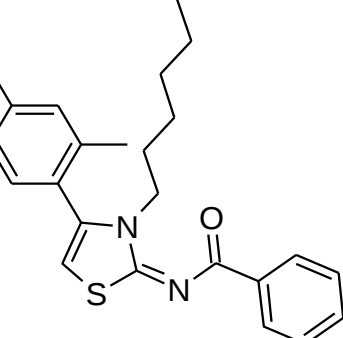
TGF- β -inv, invazyon, anjiyogenez ve metastaz indüklemek ve immün sürveyansı inhibe etmek için kullanılır. TGF- β 'nin tümör baskılayıcı ve pro-onkojenik faktör olarak ikili rolü nedeniyle, TGF- β sinyal yolunun üyeleri, kanser önleme ve tedavisinin yanı sıra ilerleyici tümör-kemosis ve metastaz için öngörücü biyobelirteçler için moleküler hedefler olarak düşünülmektedir [141]. TGF- β 'nin, keratinositler, göğüs kanseri hücreleri ve kolon hücreleri dâhil olmak üzere birçok farklı epitelyal hücre çizgisinde TGF- β 'nin bir otokrin negatif büyüme düzenleyicisi olarak rol oynayabildiği gösterildiğinde, tümör progresyonu inhibitörü olarak hareket edebileceği hipotezi öne sürülmüştür [142,143]. TGF- β ekspresyonunun anti-sens inhibisyonu, fare ksenograft modellerinde insan kolon adenokarsinomlarının oluşumunu ve büyümesini indüklemektedir [144].

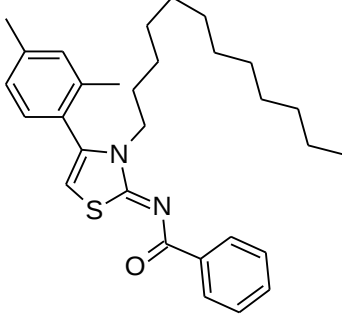
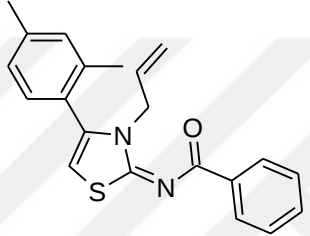
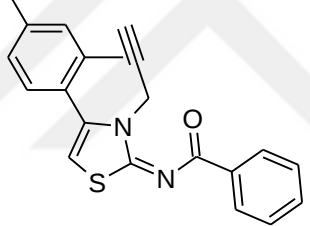
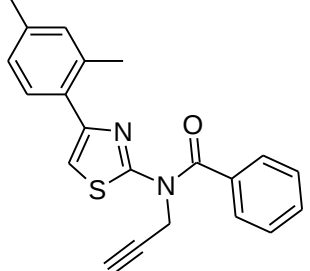
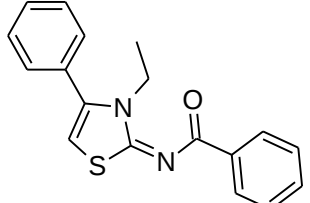
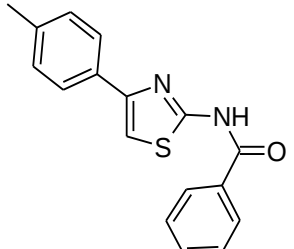
Fascin proteini, tümörün ilerlemesi, invazyonu, metastazı ve hastalığın ilerlemesi ile ilgili bağlantılıdır [145-149]. Son zamanlarda fascin kanser metastazı tedavisi için yeni bir terapötik hedef olarak ortaya çıkmıştır [150-152]. Önceki çalışmalarda fascinın biyolojik aktivitelerine bakılarak göç, invazyon ve kanserin yayılımını inhibe ettiği ortaya çıkarılmıştır [153].

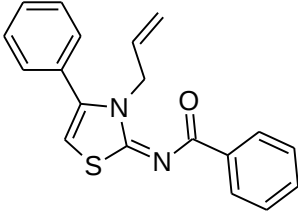
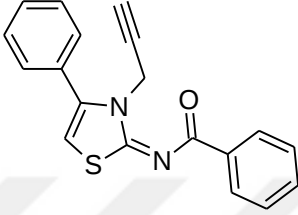
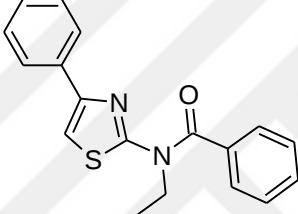
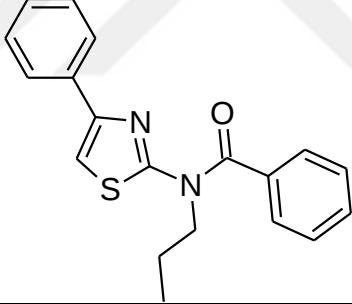
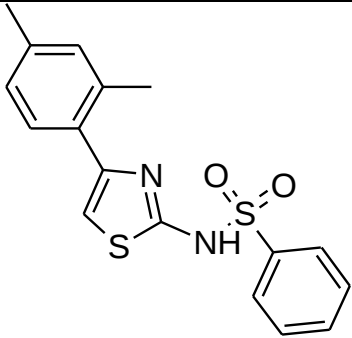
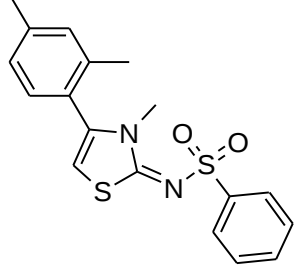


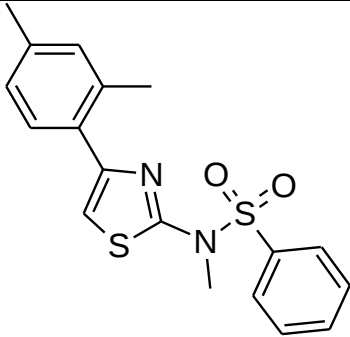
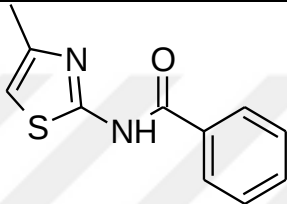
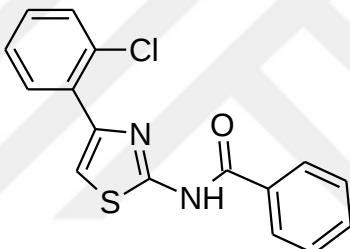
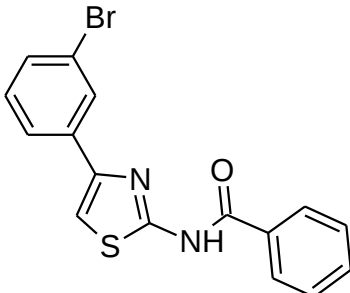
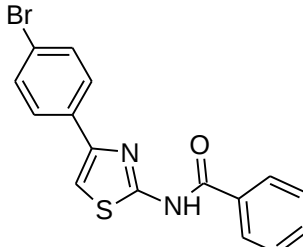
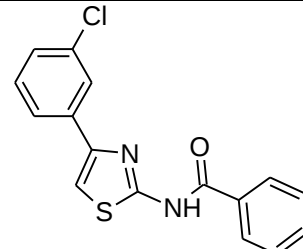
Şekil 3.2. Tiyazol bileşiğinin öncülüğünde fascin proteinin hücre göçü ve invazyonunu bloke edildiği gösterilmiştir.

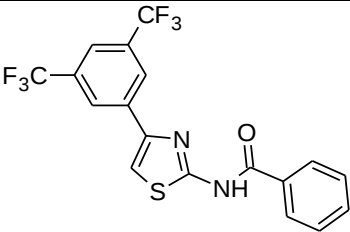
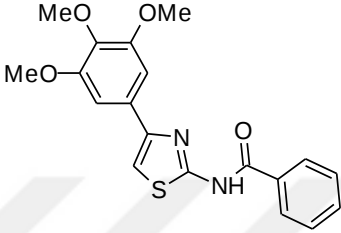
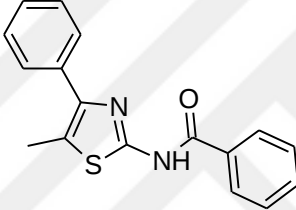
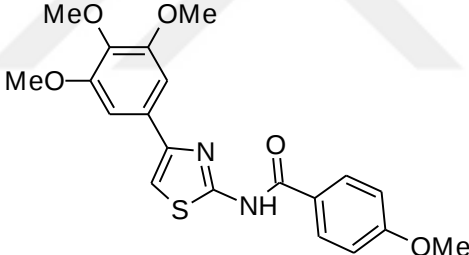
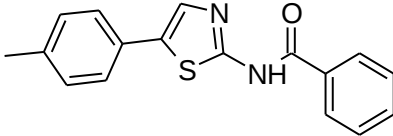
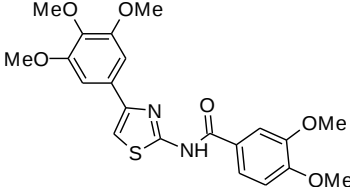
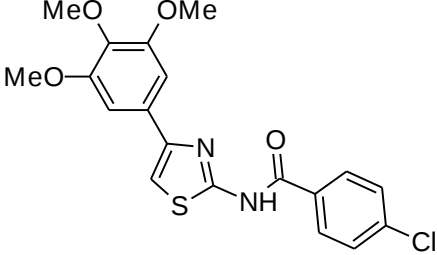
Tablo 3.1. Tiyazol serisi için temel iskelet yapısı, süstitüentler, molekül yapıları, deneysel aktivite değeri IC_{50} (nM).

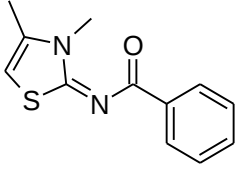
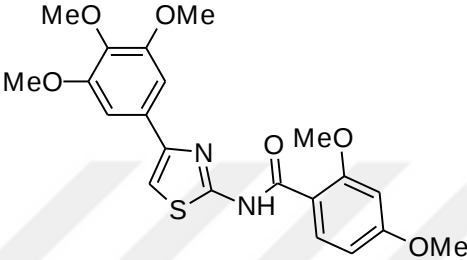
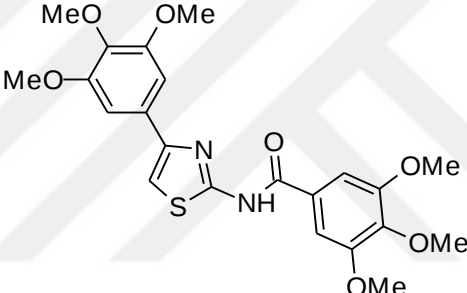
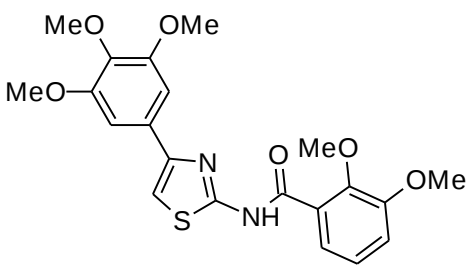
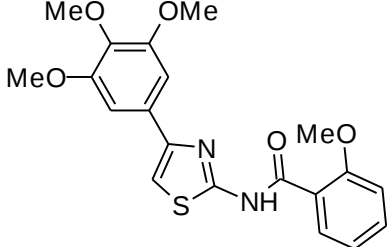
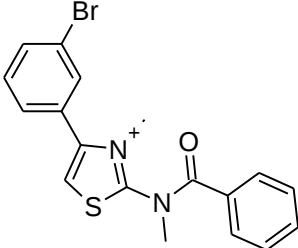
Molekül Numarası	Molekül Yapısı	Deneysel Aktivite (nM)
n01		3,67
n02		2,71
n03*		3,53
n04		3,71
n05		4,35

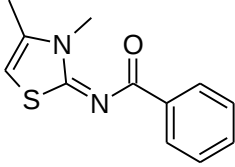
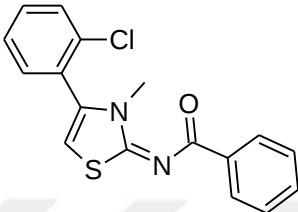
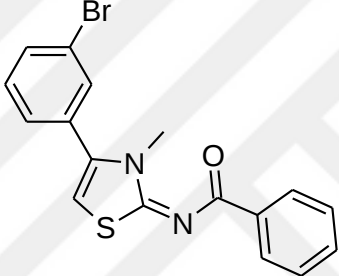
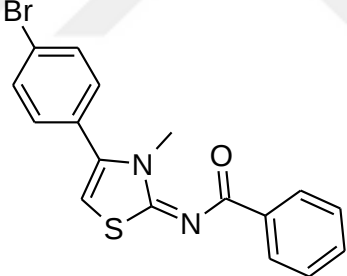
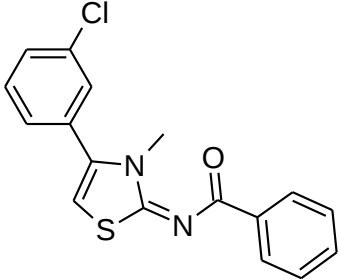
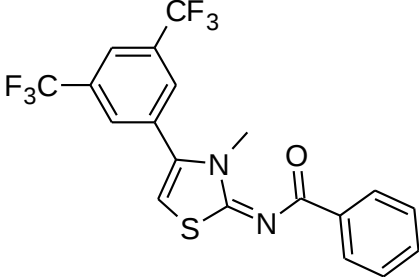
Molekül Numarası	Molekül Yapısı	DeneySEL Aktivite (nM)
n06		4,62
n07*		3,34
n08		2,40
n09		3,50
n10		4,29
n11*		3,18

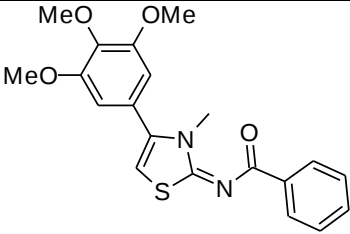
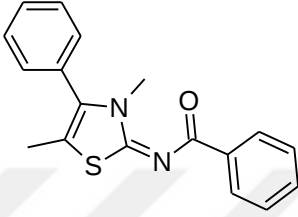
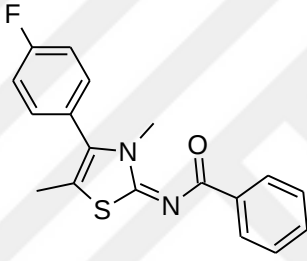
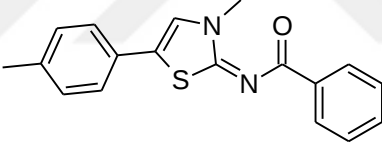
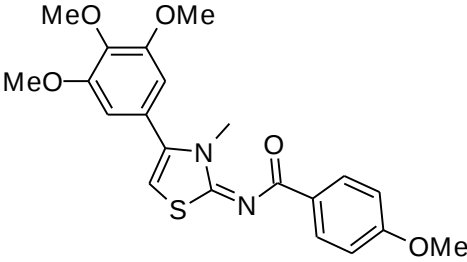
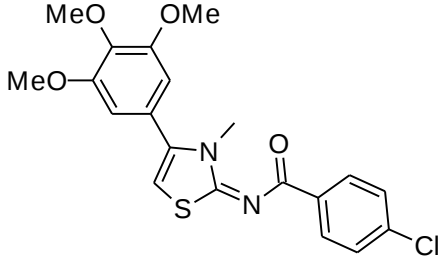
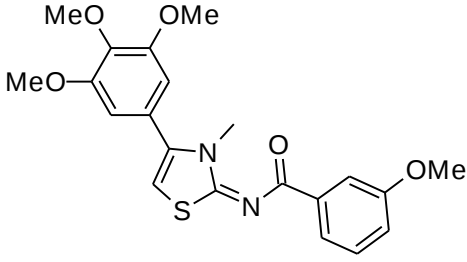
Molekül Numarası	Molekül Yapısı	DeneySEL Aktivite (nM)
n12*		2,92
n13		2,56
n14		3,27
n15		4,11
n16*		1,96
n17		2,84

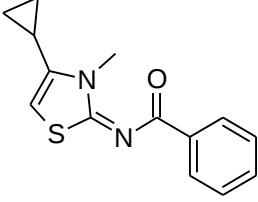
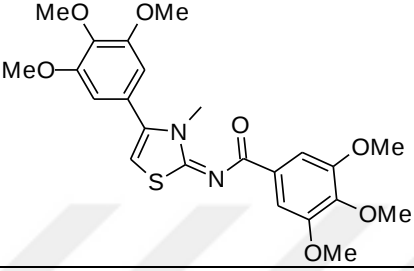
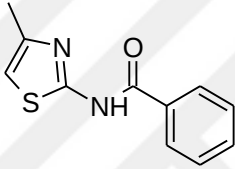
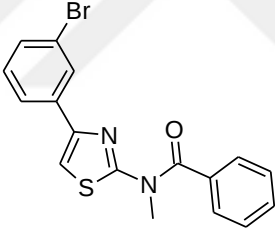
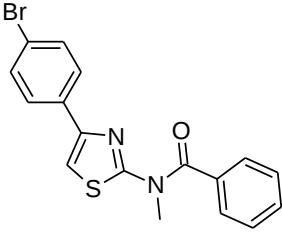
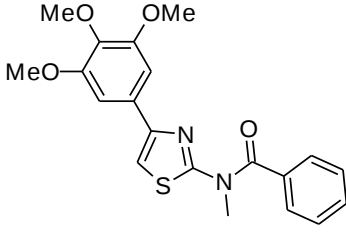
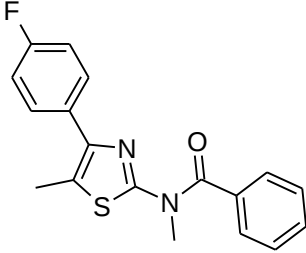
Molekül Numarası	Molekül Yapısı	Deneysel Aktivite (nM)
n18		1,60
n19		1,92
n20		1,82
n21		2,00
n22*		2,02
n23		3,91

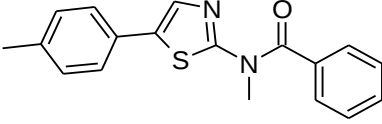
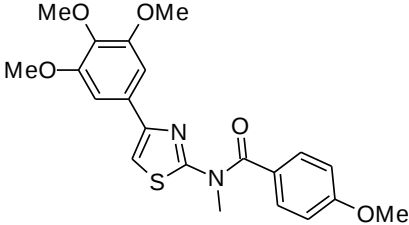
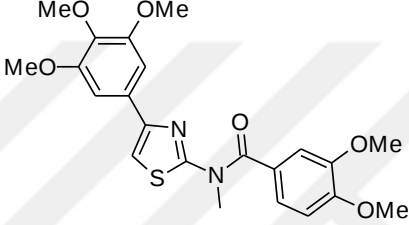
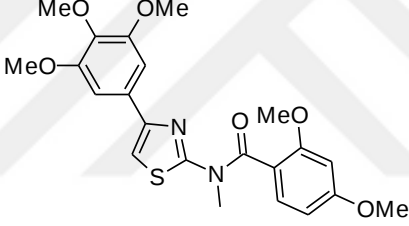
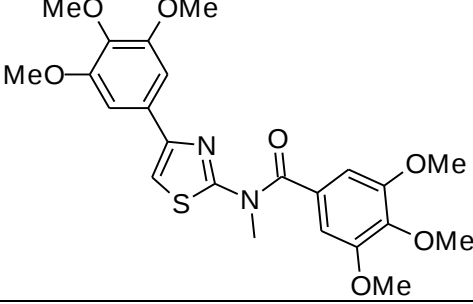
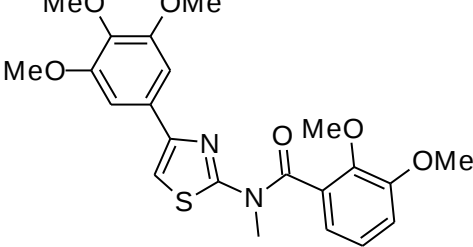
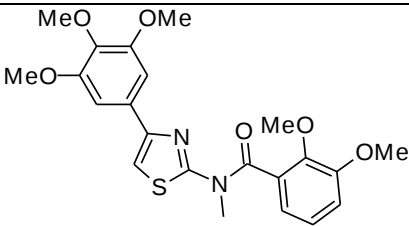
Molekül Numarası	Molekül Yapısı	Deneyisel Aktivite (nM)
n24		3,47
n25		1,30
n26		1,60
n27		2,04
n28		3,51
n29		1,60
n30*		1,60

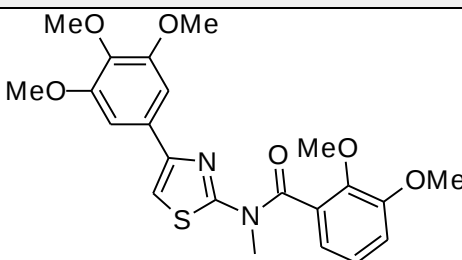
Molekül Numarası	Molekül Yapısı	Deneysel Aktivite (nM)
n31		1,60
n32*		1,30
n33		2,99
n34		1,82
n35		2,07
n36		1,85

Molekül Numarası	Molekül Yapısı	Deneyisel Aktivite (nM)
n37		1,82
n38		3,57
n39		3,52
n40*		3,90
n41		3,43
n42		4,01

Molekül Numarası	Molekül Yapısı	Deneyisel Aktivite (nM)
n43		2,97
n44		3,71
n45		3,07
n46		1,60
n47*		2,09
n48		3,12
n49		1,30

Molekül Numarası	Molekül Yapısı	Deneyisel Aktivite (nM)
n50		3,98
n51		2,71
n52		4,38
n53*		3,36
n54		3,50
n55*		2,00
n56		2,79

Molekül Numarası	Molekül Yapısı	Deneyisel Aktivite (nM)
n57		2,96
n58		3,51
n59		1,60
n60		2,30
n61*		3,33
n62		3,97
n63		1,60

Molekül Numarası	Molekül Yapısı	Deneyisel Aktivite (nM)
n64		3,19

Tablo 3.2’de incelenen seri-1’deki tiyazol serisinin en basit yapıya sahip olan n01 nolu bileşiğin en düşük Boltzman dağılımına sahip olan 01’inci konformerinin her bir atomunun Kartezyen koordinatları gösterilmiştir. 65 tane bileşiğin her bir konformerinin Kartezyen koordinatları .txt dosyası halinde bulunmaktadır. Bu Kartezyen koordinatları, 4D-QSAR’ın MCET metoduna göre yapılan hesaplamalarda baz alınarak 3D-Pham grubunun çıkarılmışında rol almışlardır.

Tablo 3.2. İncelenen seri-1’deki tiyazol bileşiklerinden n01 nolu bileşiğin 01’nci konformerinin (n01_01) kartezyen koordinatı.

Atom	x	y	z
N1	0	0	0
N2	2,40	0	0
S1	1,11	2,29	0
O1	2,23	-1,77	1,45
C6	-3,18	0,59	-1,26
C5	-2,48	0,51	-0,06
C3	-4,46	-0,30	1,01
C7	-6,62	-0,65	-0,24
C8	-2,40	-0,01	2,42
C9	-1,06	0,94	-0,03
C10	-0,63	2,20	-0,04
C2	-5,16	-0,23	-0,19
C11	1,23	0,55	0,03
C1	-4,51	0,22	-1,32
C12	-0,22	-1,45	-0,16
C4	-3,13	0,06	1,10
C13	2,82	-1,17	0,54
C14	4,12	-1,68	0,02
C15	6,51	-2,72	-0,90
C16	4,60	-2,87	0,54
C17	4,83	-1,01	-0,96
C18	6,03	-1,53	-1,42
C19	5,80	-3,39	0,08

Hem 4D-QSAR'ın MCET yöntemi hem de moleküler docking yöntemi, metastatik kanser üzerindeki inhibitör etkisinden sorumlu 3D-PhaM'yi tanımlamak için kullanıldı. Ligand bazlı MCET yöntemiyle tahmin edilen 3D-PhaM'in ayrıca moleküler bir docking çalışması olan FlexX programı kullanılarak yaklaşık olarak aynı yapı olduğu doğrulanmıştır. Bileşik n01'in aktif konformasyonunun ETM değerleri ve iskelet yapısı Şekil 3.3'te verilmiştir. Bu yapı, eğitim ve test setindeki bileşiklerin hizalanması ve üst üste binmesi için bir şablon olarak kullanılmıştır.

Metastatik kanser inhibitörü olan tiyazol bileşikleri ile reseptör arasındaki yapısal etkileşimi anlamak ve moleküllerin aktivitesini tahmin etmek için, reseptör bağlanma bölgesinin 3D-PhaM'i ligandlardaki LRT tipine bağlı olarak ortaya çıkarılmıştır.

Her referans konumu kümeye dahil edilemeyebilir. Bir referans pozisyonunda atom içeren toplam molekül sayısı, pozisyonun bir kümeye girebilmesi için yeterli olmalıdır (toplam molekül sayısının yaklaşık 1/8'i). Bağımsız değişkenler, belirli bir küme kümesi içindeki farklı kombinasyonlarla farklı sayılarla üretilir. Her kombinasyondaki argümanlar fonksiyonda kullanılır. Her 3D-PhaM'in öngörülmesi için, bir LRT tipi ile gerçekleştirilen bu işlemler her LRT tipi için tekrarlanır.

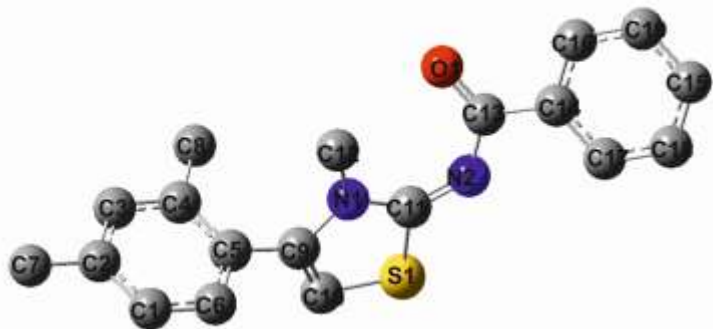
LRT tipi olarak doğal yük, Mulliken yükü, elektrostatik yük ve Fukui indeksi Klopman indeksi ile karşılaştırıldı. Her LRT tipi için en iyi q^2 , r^2 sonuçlarına sahip kombinasyon seçildi. Farklı LRT'ler için en iyi istatistiksel sonuçlar Tablo 3.3'te gösterilmektedir. Bunlar arasında en iyi sonucu üreten kombinasyon 3D-PhaM'yi oluşturur. Bu çalışmada, Klopman indeksi en iyi değeri veren LRT türüdür ve 3D-PhaM yapılandırması Tablo 3.3'te gösterilmektedir.

Tablo 3.3. Tiyazol serisi için farklı tanımlayıcılara göre bulunan q^2 ve r^2 değerleri.

Tanımlayıcılar	q^2	r^2
Natural yük	0,636	0,522
Mulliken yük	0,601	0,504
Elektrostatik yük	0,381	0,471
N_Fukui (f+)	0,613	0,130
P_Fukui (f-)	0,560	0,340
Natural HOMO Klopman	0,789	0,785
Mulliken HOMO Klopman	0,670	0,661
Elektrostatik HOMO Klopman	0,766	0,539

-0.517	-0.793	0.447	-0.714	-0.176	-0.129	-0.24	-0.672	-0.677	0.214	-0.484	-0.007	0.435	-0.255	-0.422	0.014	0.768	-0.189	-0.205	-0.179	-0.177	-0.257	-0.256	Natural yük
-0.933	-0.924	0.427	-0.702	-0.183	-0.123	-0.218	-0.584	-0.598	0.433	-0.525	-0.059	0.618	-0.243	-0.388	-0.033	0.838	-0.244	-0.216	-0.193	-0.197	-0.233	-0.233	Mulliken yük
0.188	-0.799	0.023	-0.691	-0.105	-0.08	-0.572	-0.764	-0.732	-0.148	-0.28	0.461	0.447	-0.413	-0.568	0.407	0.885	-0.22	-0.08	-0.065	-0.055	-0.203	-0.209	Elektrostatik yük
0.06	0.006	-0.145	0.001	0.091	0.194	0.042	0.003	0.005	0.062	0.158	0.242	0.046	0.045	0.008	0.078	0.001	0.005	0.004	0.001	0.004	0.001	0.001	f ⁺ , nükleofilik
0.069	0.024	-0.175	0.127	0.003	0.001	0.001	0.001	0.001	0.005	0.039	0.001	0.204	0.001	0.009	0.001	0.154	0.124	0.168	0.103	0.088	0.025	0.014	f ⁻ , elektrofilik
0.055	0.019	0.06	0.102	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.004	0.031	0.001	0.163	0.001	0.007	0.001	0.123	0.1	0.134	0.082	0.07	0.021	0.012	HOMO
0.048	0.005	0.084	0.001	0.072	0.155	0.034	0.001	0.004	0.05	0.126	0.193	0.037	0.036	0.006	0.063	0.001	0.004	0.003	0.001	0.003	0.001	0.001	LUMO
-0.288	0.244	0.733	0.259	0.227	-0.059	0.622	-0.289	0.388	-0.094	0.062	0.612	0.027	0.494	0.394	0.434	0.112	0.397	-0.026	-0.123	0.464	0.278	-0.376	Etkileşim indeksi
N1	N2	S1	O1	C6	C5	C3	C7	C8	C9	C10	C2	C11	C1	C12	C4	C13	C14	C15	C16	C17	C18	C19	
-0.517	2.403	2.545	3.197	3.465	2.533	4.578	6.652	3.401	1.419	2.286	5.169	1.346	4.701	1.479	3.312	3.098	4.443	7.11	5.448	5.027	6.377	6.713	N1
	-0.793	2.633	2.298	5.748	4.911	6.939	9.046	5.371	3.591	3.747	7.57	1.297	7.038	3.007	5.637	1.352	2.395	5.005	3.651	2.798	4.18	4.794	N2
		0.447	4.461	4.776	4.004	6.22	8.268	4.838	2.554	1.741	6.76	1.746	6.128	3.978	4.907	3.896	4.979	7.423	6.253	5.068	6.389	7.365	S1
			-0.714	6.49	5.449	6.86	9.074	5.039	4.516	5.115	7.725	2.9	7.551	2.949	5.673	1.239	2.366	4.971	2.764	3.626	4.763	4.145	O1
				-0.176	1.384	2.747	3.797	3.805	2.469	3.246	2.398	4.588	1.383	3.754	2.408	6.499	7.74	10.23	8.698	8.17	9.443	9.903	C6
					-0.129	2.388	4.3	2.536	1.482	2.5	2.785	3.71	2.405	2.995	1.397	5.591	6.949	9.588	7.869	7.522	8.853	9.149	C5
						-0.24	2.515	2.519	3.76	4.686	1.389	5.83	2.385	4.537	1.383	7.34	8.735	11.38	9.425	9.519	10.82	10.74	C3
							-0.672	5.03	5.782	6.631	1.515	7.941	2.528	6.443	3.803	9.481	10.78	13.3	11.46	11.47	12.72	12.71	C7
								-0.677	2.943	3.743	3.811	4.373	4.304	3.661	1.515	5.655	7.13	9.876	7.782	8.035	9.374	9.157	C8
									0.214	4.267	2.325	3.75	2.542	2.507	4.453	5.801	8.454	6.848	6.277	7.635	8.11		C9
										-0.484	5.142	2.485	4.536	3.676	3.471	4.853	6.126	8.712	7.304	6.401	7.754	8.515	C10
											-0.007	6.441	1.383	5.085	2.425	8.066	9.389	11.95	10.13	10.05	11.32	11.4	C2
												0.435	5.902	2.482	4.508	2.394	3.644	6.279	4.827	4.048	5.426	6.03	C11
													-0.255	4.743	2.788	7.684	8.928	11.4	9.795	9.425	10.67	11	C1
														-0.422	3.505	3.134	4.347	6.889	5.076	5.137	6.375	6.325	C12
															0.014	6.094	7.523	10.22	8.282	8.287	9.623	9.618	C4
																0.768	1.487	4.255	2.463	2.516	3.777	3.743	C13
																	-0.189	2.768	1.386	1.385	2.397	2.399	C14
																		-0.205	2.393	2.397	1.384	1.385	C15
																			-0.179	2.397	2.764	1.38	C16
																				-0.177	1.382	2.77	C17
																					-0.257	2.399	C18
																						-0.256	C19

C6'nın yükü = -0.176
C9-C10 bağ uzunluğu = 1.326 Å
C4-N2 bağ derecesi = 5.637 Å



Şekil 3.3. Seri-1'deki tiyazol türevinin n01 numaralı molekülünün Elektron Topolojik Matris gösterimi.

Reseptörde 3D-PhaM pozisyonlarına karşılık gelen parametreler olan κ ve ξ 'nin hesaplanan değerleri Tablo 3.4'te verilmiştir. Tabloda 3D-PhaM grubunda hangi molekülün hangi konformerinin hangi atomunun etki ettiği pozisyonlara bağlı olarak gösterilmiştir.

Tablo 3.4. Tiyazol serisinde 5 Molekül içindeki atomların uygun yerlerinden tanımlanan pozisyonlar (n01, n25 n30 ve n32).(3D-Pham atomlarını içerenler koyu renk ile gösterilmiştir)

Molekül numarası	Atom numarası	x, y, z Kartezyen koordinatları			Pozisyon	Kappa-(κ) değerleri	Ksi-(ξ) değerleri
		x	y	z			
n01	N1	0	0	0	a	-1,18	4,65
n01	C3	4,58	0	0	b	0,75	22,43
n01	C2	4,99	1,33	0	c	0,35	14,34
n25	C13	2,74	2,38	-0,17	d	-0,82	-29,99
n25	C7	2,07	1,16	-0,18	e	-0,59	-34,94
n25	C2	0,60	1,04	-0,26	f	-0,85	13,38
n25	C16	4,12	2,40	-0,08	g	0,50	35,57
n25	C14	2,78	-0,02	-0,08	h	-0,61	5,61
n32	N2	-2,22	-0,65	-0,01	i	0,13	6,55
n32	H1	-2,50	0,32	-0,06	j	0,27	1,50
n32	C11	-0,88	-0,94	0,02	k	0,41	8,95
n32	C7	-4,60	-1,12	-0,04	l	1,12	-3,47
n30	C11	6,95	1,39	-0,05	m	0,23	-24,78

En az ve en aktif (n01, n25, n30 ve n32) bileşiklerinin atomik pozisyonları kümeleme için referans konumlardır. Bu pozisyonların en iyi kombinasyonu için çekirdek yapının a, b, c ve h atomları ve d, e, f gibi diğer atomlar birlikte 3D-PhaM'yi oluşturur. Bu pozisyonlar, GA ile ortaya çıkan kombinasyonun parçalarıdır. Bu konumlardaki ligandların atom tanımlayıcıları ve reseptörün κ ve ξ parametreleri modelin sonuç argümanlarıdır [78]. Tablo 3.4'teki 3D-PhaM yapısı, referans konumlu moleküllerde belirtilen atomların x, y, z koordinat değerleri ile temsil edilir. 3D-PhaM'deki herhangi bir pozisyonda, atomu içeren molekül reseptör ile LRT değeri kadar etkileşime girer. 3D-PhaM'ye karşılık gelen reseptörün tüm ayarlanabilir parametreleri, NLLS kullanılarak ligandların değişken LRT değerleri ile hesaplandı. Bu çalışmada, Klopman indeksi **N_HKlopman** olarak gösterilmiştir, çünkü ligand üzerindeki HOMO sınır

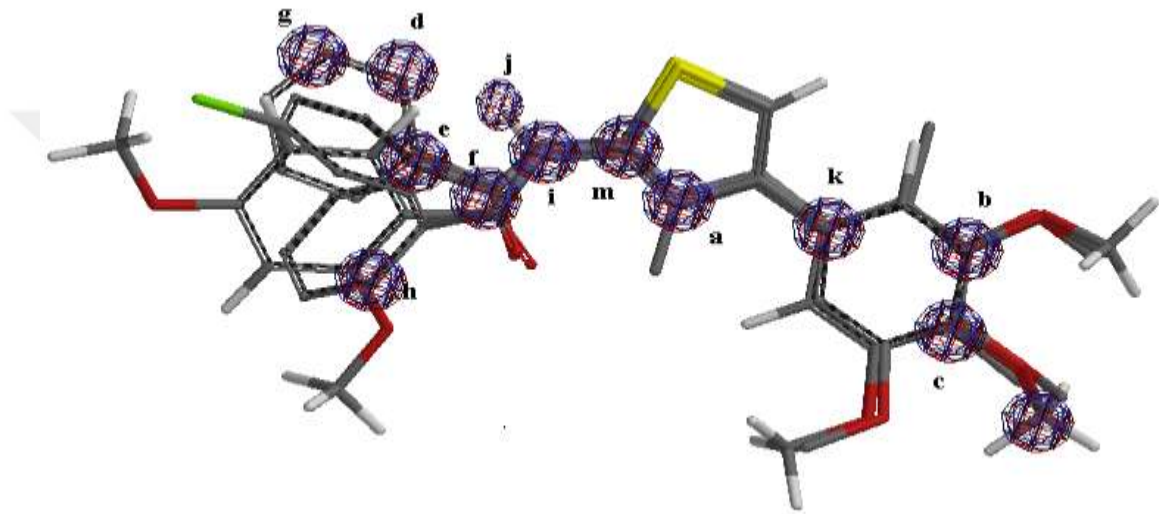
orbital etkileşimlerinde (reseptör tarafından LUMO) kullanılır ve elektrostatik etkileşimler için doğal yük kullanılır. Örneğin elektrostatik etkileşimler için; Tablo 3.4'te, κ 'nın değeri -1,18 olduğundan, LRT'nin '+' değeri L-R arasındaki çekim kuvvetini artırır ve '-' değeri itme kuvvetini artırır. Aynı yaklaşım tüm hesaplanan değerleri için kullanılabilir. Herhangi bir etkileşim noktasında reseptörün pozitif veya negatif parametresi için moleküllerin LRT değerlerine bağlı olarak, itme, çekim veya etkileşime girmeyen moleküller olan üç farklı türden bir kuvvet üretilir (bu noktada hiçbir atom taşımaz).

Sınır orbital etkileşimi için alıcı tarafındaki '-' veya '+' parametresi atomdaki katsayıdan kaynaklanır. Reseptör tarafındaki ligand üzerindeki sınır orbitallerindeki atomların karşısındaki bu katsayılar çözülmeye neden olur. Aynı işarete sahip olduklarında yapıştırma kuvvetine yol açarlar. Örneğin, $\xi_d = -29,99$ için, ligandın HOMO'sunda aynı işarete sahip olan atomik katsayı, çekim kuvvetine kuvvet verir, ya da tam tersi.

İlk olarak, çekirdek yapının tanımlayıcı ve mesafe tolerans değerleriyle ($\Delta q = 0,1$; $\Delta r = 0,6$) hizalı dört atomlu yapısı, reseptör ile L-R kompleksini oluşturur. CS'nin Şekil 3.4'te gösterilen etkileşim noktalarından yapısı a, b, c ve h ile verilmiştir. Her aday CS'nin ilk üç atomu (a, b ve c olarak adlandırılır), başlangıç noktaları olarak (0,0,0), (x, 0,0) ve (x, y, 0) olarak hizalanır. Konformerde kalan atomların pozisyonları, x, y ve z'nin Kartezyen koordinat değerlerinde yeniden düzenlenir. Bu nedenle, uzayda yakın koordinat değerlerine sahip tüm ligandların atomları, alıcı pozisyon ile benzer pozisyonlarda etkileşime girebilir. Tanımlanan konum tolerans değeri ($\Delta r = 0,9$) içinde üst üste atomlara sahip moleküller, ilgili pozisyon için kümelenir. Çekirdek yapının atomlarını hizalamak için iki ayrı tolerans değeri kullanılırken, kalan yönlendirilmiş atomların kümesinde sadece pozisyon tolerans değeri kullanılır. Konumdaki benzerlik ve çekirdek yapının atomlarının kimliği, reseptörle etkileşimin kökeni ve kökenidir. Kümenin herhangi bir konumundaki atom, aktivitesi tanımlayıcı değeri ile etkiler. Olumlu/olumsuz ve büyük/küçük olduğu kadar aktivitede de rol alır.

Her pozisyonadaki moleküllerin sayısı toplam moleküllerin 1/8'inden büyükse, bu pozisyonlardaki atomlar modelde bağımsız değişkenler olarak incelenir. Kümelenmiş pozisyonlar arasında doğrudan ve dolaylı kombinasyonlar yapılır. İlk olarak, çekirdek

yapının ilk üç atomu için r^2 (tüm ligandlar için regresyon katsayısı) değerleri hesaplanır ve en iyileri listelenir. Daha sonra kümelenmiş konumlardan hangisinin dördüncü argüman olarak seçilmesi gerektiği tartışmalıdır. Bunun için, her pozisyon bir aday olarak kullanılır ve r^2 'deki en büyük artışa yol açan dördüncü pozisyon olarak belirlenir. Aynı şekilde, en iyi r^2 değerlerine sahip beşinci, altıncı ve sonraki etkileşim noktaları modele dâhil edilmiştir. Bu çalışmada, 13 pozisyondan oluşan etkileşim noktalarının yapısı Şekil 3.4'te a, b, c, vb. harflerle verilmiştir.



Şekil 3.4. Tiyazol türev setinin moleküllerin üst üste çakıştırılması ve 3D-PhaM grupları

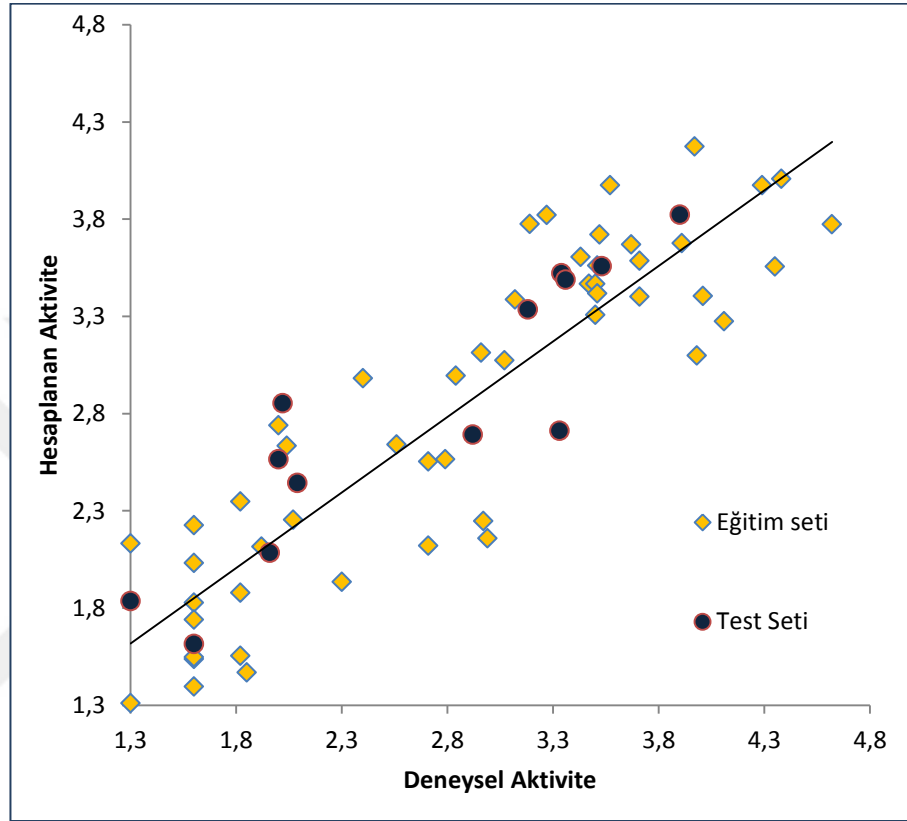
Klopman indeksinin LRT değerlerini kullanarak 64 molekül için bir model istatistiksel sonuçlar ile doğrulandı ($q^2 = 0,789$, $r^2 = 0,785$). Elde edilen QSAR modeli için, gözlemlenen ve öngörülen faaliyetler arasındaki yakınlığın bir başka ölçüsü rm^2 metriği ile gösterilmiştir ($r_m^2 = 0,769$) [154]. MCET tarafından belirlenen modelin öngörülen gücü, harici bir test setinde de (Tablo 3.5'te "*" ile işaretli moleküller) doğrulanır.

Tablo 3.5. Tiyazol türevlerinin deneysel ve hesaplanan aktiviteleri

Molekül Numarası	Deneysel Aktivite (pKi)	Hesaplanan Aktivite (pKi)	Molekül Numarası	Deneysel Aktivite (pKi)	Hesaplanan Aktivite (pKi)
n01	3,67	3,67	n33	2,99	2,16
n02	2,71	2,55	n34	1,82	1,55
n03*	3,53	3,56	n35	2,07	2,25
n04	3,71	3,59	n36	1,85	1,47
n05	4,35	3,56	n37	1,82	1,878
n06	4,62	3,77	n38	3,57	3,98
n07*	3,34	3,52	n39	3,52	3,72
n08	2,40	2,98	n40*	3,90	3,82
n09	3,50	3,31	n41	3,43	3,61
n10	4,29	3,97	n42	4,01	3,41
n11*	3,18	3,34	n43	2,97	2,25
n12*	2,92	2,69	n44	3,71	3,40
n13	2,56	2,64	n45	3,07	3,07
n14	3,27	3,82	n46	1,60	1,55
n15	4,11	3,27	n47*	2,09	2,44
n16*	1,96	2,08	n48	3,12	3,39
n17	2,84	2,99	n49	1,30	2,13
n18	1,60	2,03	n50	3,98	3,10
n19	1,92	2,12	n51	2,71	2,12
n20	1,82	2,35	n52	4,38	4,01
n21	2,00	2,74	n53*	3,36	3,49
n22*	2,02	2,85	n54	3,50	3,47
n23	3,91	3,68	n55*	2,00	2,57
n24	3,47	3,47	n56	2,79	2,57
n25	1,30	1,31	n57	2,96	3,11
n26	1,60	1,83	n58	3,51	3,42
n27	2,04	2,63	n59	1,60	2,23
n28	3,51	3,56	n60	2,30	1,93
n29	1,60	1,74	n61*	3,33	2,71
n30*	1,60	1,62	n62	3,97	4,17
n31	1,60	1,54	n63	1,60	1,40
n32*	1,30	1,84	n64	3,19	3,78

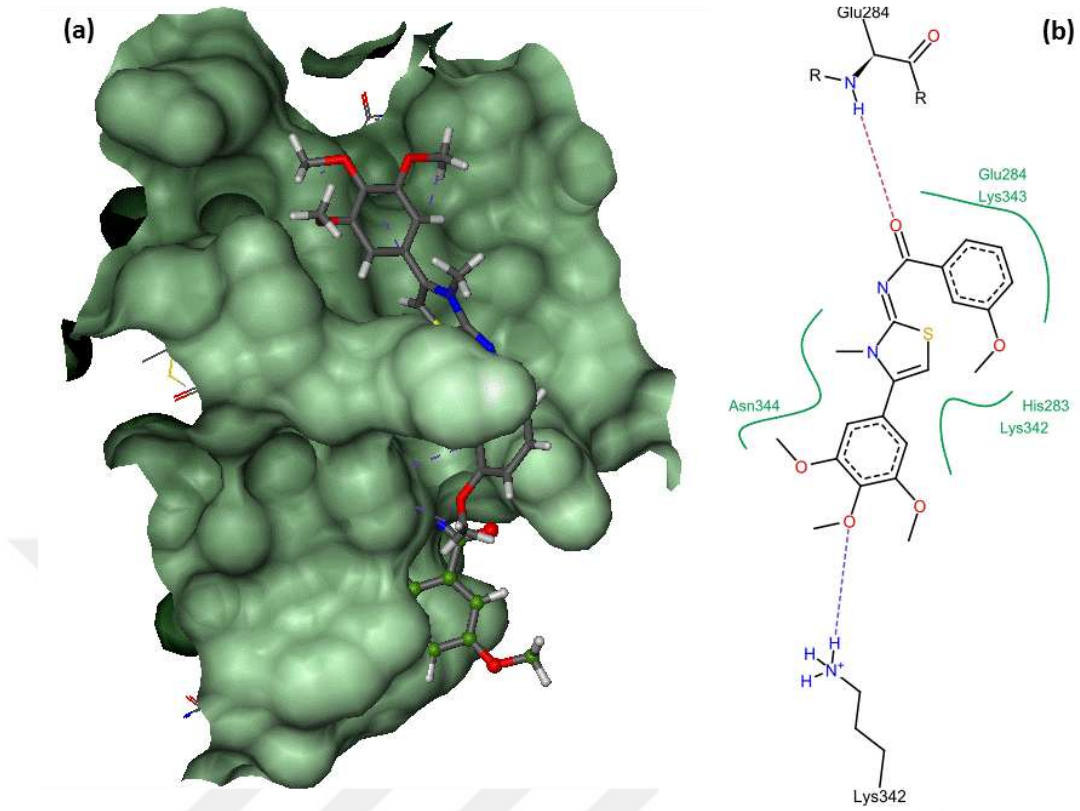
Modelleme sırasında, eğitim setindeki bileşikler, test setindekiler dışında kullanılır. İç eğitim setindeki ligandların aktiviteleri ile doğrulanan 3D model, dış test setindeki

ligandların tahminini yapmak için kullanılmıştır. Hem eğitim hem de test setleri için model kullanılarak öngörülen ve gözlemlenen aktiviteler arasındaki grafik değerleri Şekil 3.5'te gösterilmiştir.



Şekil 3.5. Tiyazol türev setinin eğitim ve test setlerinin deneysel ve hesaplanan aktivite grafiği.

Moleküler docking, TGF- β enzimine göre gerçekleştirildi. İlk olarak, protein veri bankası (PDB: 5E8S), en düşük RMSD değerinden başlayarak, metastaz üzerinde etkili olan proteinleri test etmek için kullanıldı. En aktif ligand seçildi ve docking yapıldı. FlexX docking programına serbest bağlanma enerjisi $\Delta G = -5,09$ kcal/mol olarak bulundu. Şekil 3.6a, reseptör-ligand arasındaki etkileşimi göstererek bağlanma yerlerini gösterir. Şekil 3.6b'de hidrojen bağlayıcı amino asitler Glu 284 ve Lys 342 tanımlanmıştır. Ayrıca yeşil renk ile gösterilen amino asitler ise polar etkileşimleri temsil etmektedir. Bu aminoasitler Şekil 3.6b de görüldüğü gibi; Glu 284, Lys 343, His 283, Lys 342, Asn 344 aminoasitleridir.



Şekil 3.6. a) Reseptör-ligand arasındaki etkileşim. b)tgf- β enziminin aktif bölgesi içerisindeki en yüksek aktiviteye sahip molekül için seçilmiş yerleştirilmiş konformasyonun etkileşim diyagramı.

3.1.2. 2-Hidroksidiarilamit Türevleri

Kanser günümüzün en önemli sağlık problemlerinden biridir. Kanser türleri arasında özellikle kolon kanseri batı ülkelerinde yüksek mortalite ve insidans göstermektedir ve Dünya Sağlık Örgütünün verilerine göre yılda 600,000'in üzerinde insan kolon kanseri nedeniyle ölmektedir. Kanser sağaltımında tümör hücrelerinin çevre dokuya minimum hasar vererek öldürülmesi hedeflenmektedir. Apoptoz (programlı hücre ölümü) hücrelerin enflamatuvar bir yanıt oluşturmada öldürülmesini sağlayan fizyolojik bir süreçtir ve bu nedenle kanser sağaltımında yaygın olarak kullanılmaktadır [155].

2-hidroksidiarilamit serisinin mantar öldürücü, viral ve bakterisidal aktiviteleri de dahil olmak üzere çok çeşitli ilginç biyolojik özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte, kansere karışan herhangi bir serin proteaza karşı 2-hidroksidiarilamit serisinin önleyici etkinliği bildirilmemiştir [85]. Bu çalışmada, bileşik 1'in TMPRSS4 serin proteaz aktivitesine karşı türevlerinin yapı-aktivite ilişkileri (SAR), her bir aril

grubunun kimyasal modifikasyonlarıyla 2-hidroksidiarilamitlerin sentezlenmesiyle belirlenmiştir [156].

3.1.2.1. Transmembran proteaz/serin 4 (TMPRSS4)

Transmembran proteaz/serin 4 (TMPRSS 4), tip II transmembran serin proteaz (TTSP) ailesinin bir üyesidir ve birkaç kanserde yüksek oranda eksprese edildiği bulunmuştur. TMPRSS4, pankreatik, tiroid, kolon ve diğer kanser dokularında hücre yüzeyinde yüksek oranda eksprese olan yeni bir tip II transmembran serin proteazdır [157].

Son zamanlarda, tip II transmembran serin proteazlar (TTSP), hücre dışı bir proteolitik alan, bir transmembran alan ve kısa bir sitoplazmik alana sahip yeni bir serin proteaz alt ailesi olarak kabul edilmiştir [158-161]. Birçok TTSP, normal dokulara kıyasla çeşitli tümörlerde aşırı eksprese edilir, potansiyel rollerinin tümör gelişimi ve ilerlemesiyle ilintilendirilir [161-162]. Başlangıçta TMPRSS3 olarak anılan TMPRSS4, pankreatik, tiroid, akciğer ve kolorektal kanserlerde yüksek oranda eksprese olan bir TTSP'dir [163-166]. Daha önce, TMPRSS4'ün hücre göçü, invazyon, epiteliyal mezenkimal geçiş ve kolon kanseri hücrelerindeki metastazın önemli bir mediatörü olduğunu ve kolorektal kanser evresi progresyonuyla ilişkili olarak artmış TMPRSS4 ekspresyonunu bildirilmiştir [165-167].

TMPRSS4, kolon kanseri hücrelerinin istilas ve metastazında rol oynayan yeni bir tip II transmembran serin proteazdır. Bu çalışmada, sentezlenen 2-hidroksidiarilamit türevleri serisinin ve TMPRSS4 serin proteaz aktivitesini inhibe etmek ve kanser hücresi istilasını bastırmak için değerlendirilmiştir. Bu türevler, TMPRSS4 serin proteazına karşı iyi inhibisyon aktivitesi deneysel olarak gösterilmiştir; bu da TMPRSS4'ü kolon kanseri hücrelerinin umut verici anti-invazif etkinliği ile ilgilidir [85].

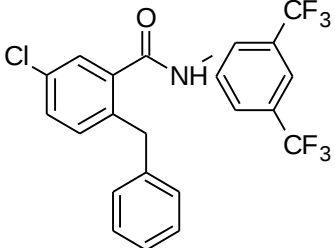
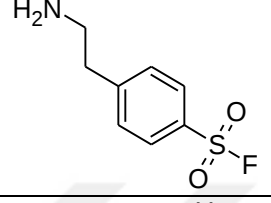
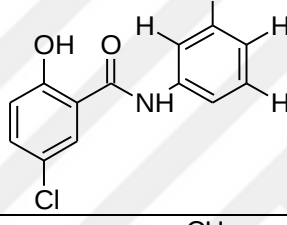
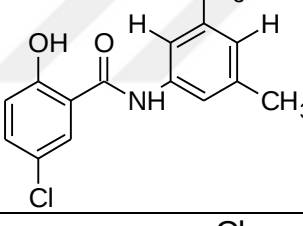
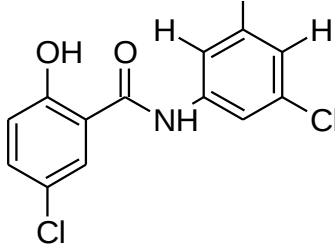
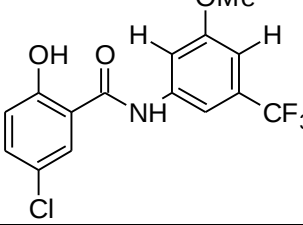
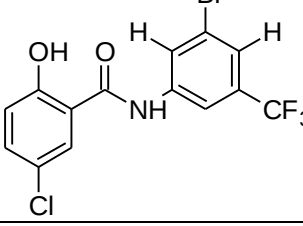
TMPRSS4, özellikle kanser invazyonunu ve metastazı azaltmak için kanser tedavisi için potansiyel bir terapötik hedef olabilir. Bugüne kadar hiçbir spesifik TMPRSS4 inhibitörü bildirilmemiştir. Tümör hücresi invazyonunda TMPRSS4 serin proteolitik aktivitesinin rolü göz önüne alındığında, bu aktivitenin inhibisyonu kanser tedavilerinin geliştirilmesine potansiyel yeni bir yaklaşım olabilir [85]. Metastaz üzerinde inhibisyon etkileri olan 41 adet 2-hidroksidiarilamit türevi literatürden elde edilmiştir [85]. Aktivite hesaplamalarında pKi değerlerini kullanmak için, inhibitör Ki (nM) değerleri, negatif

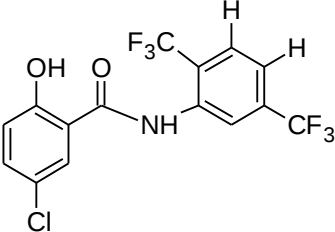
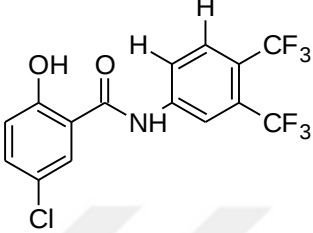
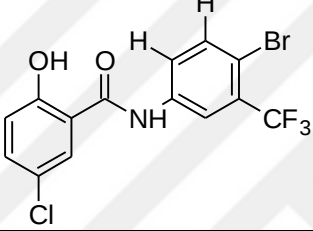
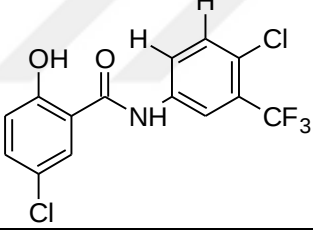
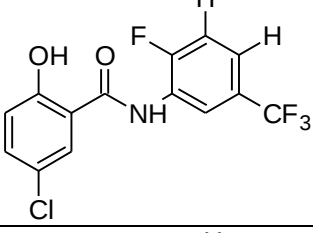
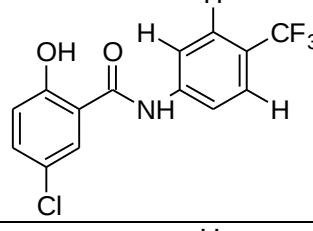
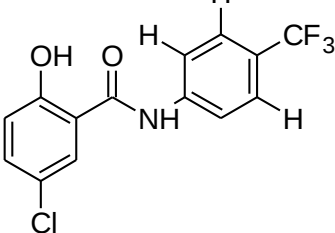
logaritmik ölçekte ($\log 1/K_i$) dönüştürülmüştür. Çalışmada, yapısal çeşitliliğe sahip 41 bileşiğin veri seti, 33 bileşikten oluşan bir eğitim setine ve 8 bileşiğin bir test setine bölünmüştür. Hem eğitim hem de test setleri için, MCET yöntemiyle hesaplanan aktiviteler, makaleden elde edilen deney sonuçlarına göre hesaplanmıştır. Aktivite hesaplamaları, Klopman indeksi, Fukui indeksi, Natural ve Mulliken yükü gibi farklı tanımlayıcılarla MCET yönteminde yapılmıştır. Tablo 3.6'da 41 adet bileşiğin yapıları gösterilmiştir.

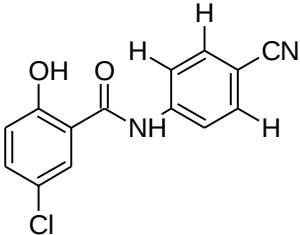
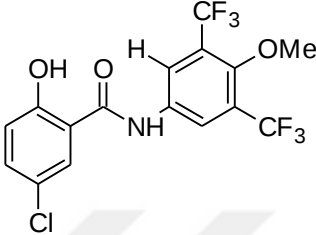
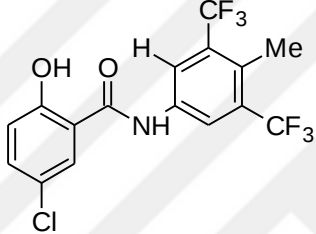
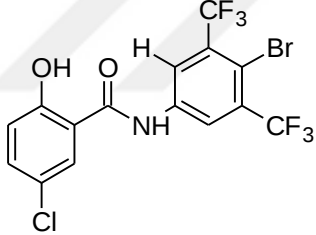
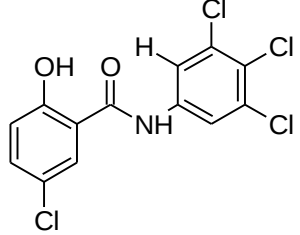
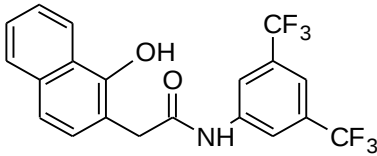
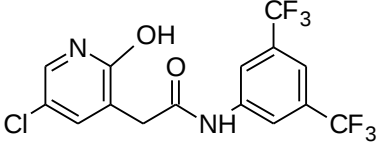
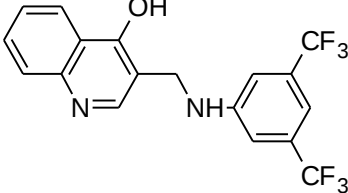
Tablo 3.6. 2-Hidroksidiarilamit serisi için temel iskelet yapısı, süstitüentler, molekül yapıları, deneysel aktivite değerleri IC_{50} (nM).

Molekül Numarası	Molekül Yapısı	Deneysel Aktivite (nM)
n01		1,96
n02		1,00
n03		1,89
n04*		1,54
n05		1,92

Molekül Numarası	Molekül Yapısı	Deneyisel Aktivite (nM)
n06*		1,92
n07		1,55
n08		1,54
n09		1,92
n10*		1,72
n11		1,00
n12*		1,00

Molekül Numarası	Molekül Yapısı	Deneysel Aktivite (nM)
n13		1,00
n14		1,41
n15		1,30
n16		1,41
n17		1,72
n18		1,80
n19*		1,92

Molekül Numarası	Molekül Yapısı	Deneyisel Aktivite (nM)
n20		1,70
n21		1,89
n22		1,52
n23		1,46
n24*		1,46
n25		1,55
n26		1,80

Molekül Numarası	Molekül Yapısı	Deneyisel Aktivite (nM)
n27		1,89
n28		1,12
n29		1,92
n30		2,00
n31		2,22
n32		1,00
n33		1,00
n34		1,00

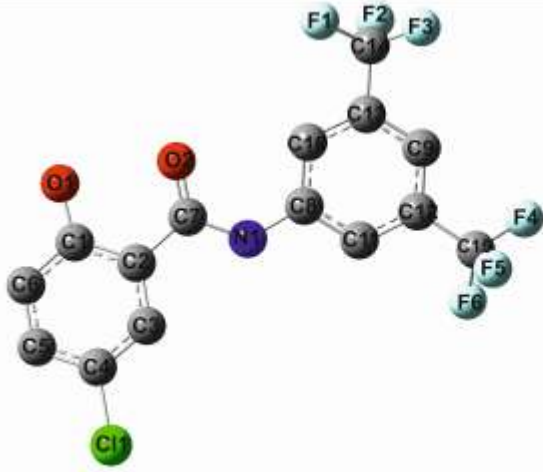
Molekül Numarası	Molekül Yapısı	Deneyisel Aktivite (nM)
n35*		1,00
n36*		1,10
n37		1,00
n38		1,00
n39		1,00
n40		1,00
n41		1,07

Şekil 3.7’de; örneğin bu dosyalar; n01_01 için, ‘n01’sayısı molekül sayısını temsil ederken ‘_01’numarası konformer sayısını temsil etmektedir. Atomik yükler, Fukui indeksi ve ETM’deki sınır orbitallerinin katsayıları isteğe bağlı olarak değiştirilse de, konformer’in iskelet yapısı sabit olduğundan çapraz olmayan değerler değişmez. Şekil 3.7’de gösterilen iki boyutlu ETM’de, diyagonal değerler elektrostatik yükler ve diyagonal olmayan değerler, bağ uzunluğu veya atomlar arasındaki mesafe ile verilir. Elektrostatik yük değerinin yerine farklı köşegen değerleri kullanılırsa, köşegen olmayan değerler sabit kalırken iki boyutlu yeni bir ETM oluşturulur. Her oluşan ETM’nin art arda gelmesi ile üç boyutlu bir matris oluşturulur. Çapraz olmayan değerler değişmeden ve çapraz değerler ayrı çizgiler halinde verildiğinde, bu üç boyutlu matrisi Şekil 3.7’de gösterildiği gibi iki boyutta göstermek mümkündür.

-0.649	-0.6	-0.208	-0.266	-0.681	-0.218	0.385	0.696	-0.072	-0.221	0.166	-0.199	-0.217	-0.224	-0.15	-0.145	1.135	-0.36	-0.359	-0.363	1.134	-0.359	-0.359	-0.364	-0.364	0.424	0.52	0.001	Natural yük	
-0.571	-0.755	-0.125	-0.156	-0.641	-0.205	0.314	0.632	-0.077	0.03	0.374	-0.192	-0.181	-0.232	-0.012	-0.029	0.795	-0.263	-0.256	-0.267	0.792	-0.263	-0.255	-0.269	-0.269	0.351	0.452	-0.016	Mulliken yük	
-0.5	-0.57	-0.104	-0.252	-0.545	-0.149	0.411	0.602	0.092	-0.265	0.449	-0.292	-0.315	-0.416	0.175	0.132	0.367	-0.14	-0.149	-0.143	0.372	-0.141	-0.15	-0.149	-0.149	0.352	0.428	-0.114	Elektrostatik yük	
0.094	0.127	0.175	0.118	0.001	0.012	0.01	0.289	0.086	0.092	0.009	0.037	0.005	0.017	0.026	0.02	0.008	0.001	0.005	0.004	0.01	0.001	0.007	0.001	0.001	0.056	0.001	-0.236	f ₊ , nükleofilik	
0.004	0.036	0.018	0.017	0.001	0.051	0.008	0.012	0.464	0.007	0.007	-0.003	0.001	0.01	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.038	0.001	0.155	f ₋ , elektrofilik	
0.003	0.029	0.015	0.014	0.001	0.041	0.007	0.01	0.371	0.006	0.006	0.001	0.001	0.008	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.03	0.001	0.324	HOMO	
0.075	0.102	0.14	0.095	0.001	0.01	0.008	0.231	0.068	0.073	0.007	0.034	0.004	0.014	0.021	0.016	0.006	0.001	0.004	0.003	0.008	0.001	0.006	0.001	0.001	0.001	0.044	0.001	0.011	LUMO
0.544	0.151	-0.066	0.057	0.662	-0.1	0.032	0.349	0.259	0.089	-0.17	0.109	-0.415	0.138	-0.191	0.113	0.174	0.296	0.571	0.977	0.009	0.511	0.815	0.18	0.18	-0.018	0.043	0.61	Etkileşim indeksi	
O2	N1	C5	C6	O1	C3	C1	C7	C4	C2	C8	C9	C10	C11	C12	C13	C14	F1	F2	F3	C15	F4	F5	F6	F6	H7	H1	C1		
-0.5	2.284	5.041	4.225	2.58	3.66	2.821	1.242	4.806	2.381	2.91	5.258	2.853	4.286	5.277	4.202	4.872	4.419	5.348	6.077	6.699	7.588	7.253	6.997	6.997	3.154	1.694	6.376	O2	
	-0.57	5.096	4.867	4.22	2.894	3.713	1.373	4.27	2.438	1.408	4.217	2.479	2.393	3.681	3.73	4.983	5.079	5.587	6.006	4.89	5.976	5.402	4.973	4.973	1.009	3.645	5.396	N1	
		-0.104	1.383	3.622	2.418	2.428	4.301	1.401	2.817	6.503	9.314	7.334	7.288	8.668	8.704	9.725	9.402	10.2	10.84	9.634	10.82	9.983	9.307	9.307	4.818	4.309	2.737	C5	
			-0.252	2.345	2.788	1.406	3.786	2.407	2.441	6.217	8.994	6.819	7.211	8.539	8.211	9.069	8.625	9.482	10.25	9.665	10.77	10.1	9.476	9.476	4.859	3.161	4.023	C6	
				-0.545	3.685	1.339	2.866	4.138	2.43	5.275	7.796	5.42	6.539	7.685	6.764	7.335	6.728	7.651	8.57	9.025	9.976	9.578	9.102	9.102	4.688	0.991	5.895	O1	
					-0.149	2.435	2.546	1.383	1.409	4.281	7.057	5.297	4.94	6.324	6.601	7.78	7.65	8.371	8.811	7.254	8.473	7.567	6.988	6.988	2.476	3.815	2.725	C3	
						0.411	2.494	2.8	1.421	4.987	7.713	5.469	6.097	7.369	6.86	7.674	7.224	8.091	8.865	8.589	9.651	9.071	8.528	8.528	3.92	1.884	4.558	C1	
							0.602	3.808	1.485	2.51	5.23	3.055	3.715	4.921	4.443	5.426	5.202	5.966	6.563	6.213	7.242	6.72	6.329	6.329	2.033	2.303	5.268	C7	
								0.092	2.428	5.658	8.429	6.666	6.261	7.651	7.98	9.14	8.961	9.703	10.18	8.501	9.736	8.779	8.125	8.125	3.794	4.561	1.758	C4	
									-0.265	3.802	6.599	4.523	4.799	6.118	5.902	6.91	6.64	7.431	8.035	7.27	8.388	7.706	7.189	7.189	2.534	2.422	4.045	C2	
										0.449	2.811	1.402	1.401	2.424	2.412	3.792	4.144	4.447	4.731	3.796	4.767	4.398	4.156	4.156	2.044	4.531	6.68	C8	
											-0.292	2.435	2.419	1.393	1.394	2.502	3.617	3.143	2.784	2.515	2.779	3.222	3.599	3.599	4.689	6.928	9.299	C9	
												-0.315	2.421	2.795	1.394	2.505	2.753	3.233	3.58	4.301	4.989	4.919	4.969	4.969	3.337	4.522	7.853	C10	
													-0.416	1.392	2.771	4.279	4.96	4.901	4.95	2.5	3.606	3.161	2.774	2.774	2.48	5.86	6.974	C11	
														0.175	2.398	3.777	4.748	4.37	4.151	1.507	2.367	2.361	2.365	2.365	3.87	6.922	8.33	C12	
															0.132	1.508	2.371	2.362	2.363	3.785	4.158	4.425	4.728	4.728	4.456	5.84	9.069	C3	
																0.367	1.348	1.351	1.35	5.017	5.098	5.604	6.057	6.057	5.812	6.356	10.35	C14	
																	-0.14	2.174	2.178	6.093	6.331	6.567	7.095	7.095	6.015	5.737	10.29	F1	
																		-0.149	2.171	5.527	5.399	6.341	6.441	6.399	6.691	10.97		F2	
																			-0.143	5.114	4.988	5.495	6.322	6.322	6.764	7.591	11.29		F3
																				0.372	1.347	1.352	1.352	1.352	4.836	8.315	8.919		C15
																					-0.141	2.173	2.18	2.18	6.016	9.215	10.2		F4
																						-0.15	2.172	2.172	5.297	8.882	9.052		F5
																							-0.149	-0.149	4.674	8.499	8.373		F6
																								0.352	4.285	4.68		H7	
																									0.428	6.297		H1	
																										-0.114		C1	

N1'in yükü= -0,57
O2-C7 bağ uzunluğu = 1,242 Å
F1-C10 bağ derecesi = 2,753 Å

N1'in yükü= -0,57
O2-C7 bağ uzunluğu = 1,242 Å
F1-C10 bağ derecesi = 2,753 Å



Şekil 3.7. 2-Hidroksidiarilamit türev serisinin n01 numaralı moleküle ait Elektron Topolojik Matrisi

Her bir konformer için, üç boyutlu üst üçgen matrisi ETM_txt olarak, Tablo 3.7’de görüldüğü gibi Kartezyen koordinat ise x-, y-, z- değerlerini Cart_txt olarak tutulmaktadır. İşte ilk üç atomun koordinatları; (0, 0, 0), (x, 0, 0) ve (0, y, z) "iç koordinatın" koordinat değerlerinin kalan koordinatlarının söylenebileceği belirtilmiştir.

Tablo 3.7. 2-Hidroksidiarilamit türev serisinin n01_01 nolu konformerin kartezyen koordinatı

Atom	x	y	z
O2	0	0	0
N1	2,28	0	0
C5	1,02	4,94	0
C6	-0,14	4,22	0,25
O1	-1,29	2,19	0,43
C3	2,24	2,88	-0,33
C1	-0,13	2,81	0,21
C7	1,07	0,64	0,02
C4	2,21	4,26	-0,29
C2	1,08	2,12	-0,05
C8	2,56	-1,38	0,01
C9	3,30	-4,09	0,02
C10	1,58	-2,38	-0,09
C11	3,91	-1,75	0,12
C12	4,27	-3,09	0,12
C13	1,96	-3,72	-0,08
C14	0,90	-4,79	-0,13
F1	-0,23	-4,35	-0,72
F2	0,57	-5,19	1,11
F3	1,33	-5,87	-0,81
C15	5,73	-3,46	0,17
F4	5,93	-4,68	0,71
F5	6,27	-3,49	-1,07
F6	6,45	-2,57	0,89
H7	3,10	0,59	0,10
H1	-1,14	1,22	0,29
Cl1	3,67	5,18	-0,65

MCET tanımlayıcılarına dayanarak, 41 bileşiğin metastatik etkinliği üzerindeki sübstitüentlerin hidrofobik, elektrostatik, sterik, donör ve reseptör alanları üzerindeki etkilerini açıklamak ve tahmin etmek için bir 4D-QSAR modeli önerilmiştir. Beş alanın farklı kombinasyonları yaratıldı. Tablo 3.8’de görüldüğü gibi en iyi MCET eğitim setinin çapraz onaylı korelasyon katsayısı q^2 ve çapraz onaylı olmayan korelasyon katsayısı r^2 sırasıyla 0,998 ve 0,993’tür. Bu istatistiksel sonuçlar, MCET modelinin iyi bir stabilite ve güçlü prediktif kabiliyeti gösterdi.

Tablo 3.8. 2-hidroksidiarilamit türev serisi için farklı tanımlayıcılara göre bulunan q^2 ve r^2 değerleri

Tanımlayıcılar	q^2	r^2
Natural yük	0,82	0,47
Mulliken yük	0,87	0,76
Elektrostatik yük	0,83	0,69
N_Fukui (f+)	0,86	0,82
P_Fukui (f-)	0,98	0,99
HOMO	0,92	0,91
LUMO	0,93	0,87
Natural HOMO Klopman	0,99	0,98
Mulliken HOMO Klopman	0,995	0,991
Elektrostatik HOMO Klopman	0,998	0,993
Natural LUMO Klopman	0,995	0,991
Mulliken LUMO Klopman	0,997	0,996
Elektrostatik LUMO Klopman	0,993	0,994

Tablo 3.9’deki MCET metodu neticesinde, Pha gruplarını ve aktivite gruplarını etkileyen bu gruplarda hangi moleküllerin yer aldığı görülmüştür. a, b, c ve e atomları Pha grubudur; diğer atomlar ise aktiviteyi artıran/azaltan grupları temsil eder.

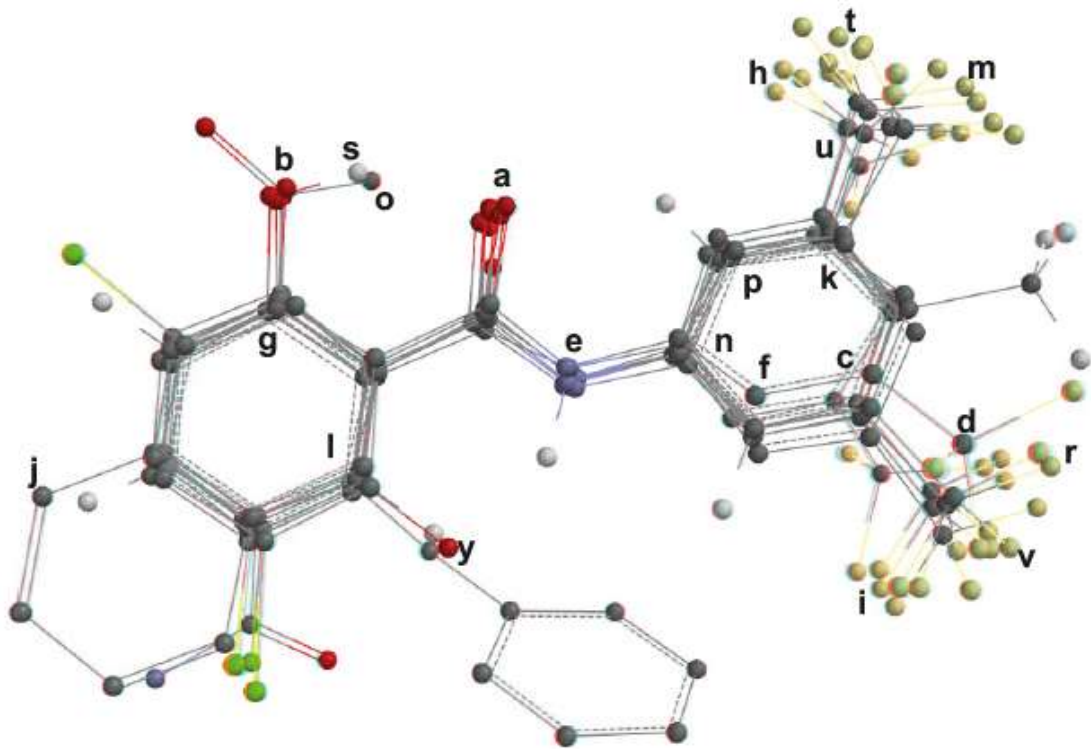
Tablo 3.9. 5 Molekül içindeki atomların uygun yerlerinden tanımlanan pozisyonlar (n01, n02, n11, n12, n13, n29 ve n32) (3D-PhaM atomlarını içerenler koyu kısım ile gösterilmiştir)

Molekül Numarası	Atom Numarası	x, y, z Kartezyen Koordinatları			Pozisyonlar	Parametre sabitleri	
		x	y	z		Kappa-(κ)	Ksi-(ξ)
n01_01	O2	0	0	0	a	-0,06	-0,21
n01_01	O1	2,58	0	0	b	-0,19	-1,01
n01_01	C12	-4,76	2,29	0	c	-0,11	-5,94
n02_04	C15	3,71	1,99	0,82	d	0,49	39,93
n02_04	N1	-1,21	2,02	0,74	e	0,22	11,19
n02_04	C11	1,21	1,98	0,69	f	0,50	-4,28
n02_04	C1	-3,90	1,09	-1,67	g	0,46	27,32
n02_04	F1	1,09	-2,04	-2,15	h	0,07	7,07
n12_04	F6	4,42	-2,33	1,29	i	1,34	-0,87
n13_02	C3	1,91	1,86	-2,23	j	0,45	0,99
n13_02	C13	2,05	-3,35	1,61	k	-1,08	-2,32
n02_04	C3	-1,60	1,65	-2,21	l	-0,23	-8,33
n02_04	F3	2,34	-2,72	-0,50	m	0,94	3,56
n11_01	C11	-2,80	3,89	-0,12	n	-0,16	15,46
n12_04	C17	-2,14	-0,14	-1,01	o	-0,62	-5,75
n12_04	C10	4,39	2,10	-0,96	p	0,71	-28,83
n01_01	F4	-6,84	3,24	-0,62	r	0,03	-34,85
n29_03	H1	1,07	-1,47	1,62	s	-0,34	-8,49
n02_04	F2	0,16	-2,77	-0,32	t	0,32	-5,35
n11_01	C15	-4,57	5,63	-0,39	u	0,51	-5,47
n12_04	F5	6,53	-2,01	0,84	v	-0,68	-1,51
n32_03	O2	-1,49	-0,03	1,91	y	0,19	-0,14

Türev seti eğitim seti olarak 33 bileşik ve test seti olarak 8 bileşik iki gruba ayrılır. Tüm eğitim ve test seti bileşiklerinin biyolojik aktiviteleri ve hesaplanan aktiviteleri Tablo 3.10’da verilmiştir. Bu veri seti 4D-QSAR (MCET) modelini oluşturmak ve fizikokimyasal özelliklerini analiz etmek için kullanıldı. Moleküler dockingte de, en aktif moleküle göre hesaplamalar yapılmıştır.

İlk olarak, tanımlayıcı ve mesafe tolerans değerleri ile çekirdek yapının yapısı, reseptör ile L-R kompleksini oluşturur. Çekirdek yapı elemanının Şekil 3.8’de gösterilen etkileşim noktalarından bir yapısı a, b, c ve e ile verilmiştir. Her aday çekirdek yapının ilk üç atomu (a, b ve c olarak adlandırılır) başlangıç noktaları (0,0,0), (x, 0,0) ve (x, y,

0) ile hizalanır. Konformatörde kalan atomların pozisyonları, x, y ve z'nin Kartezyen koordinat değerlerinde yeniden düzenlenir. Bu nedenle, uzayda koordinat değerlerine sahip tüm ligandların atomları, reseptör pozisyonu ile benzer pozisyonlarda etkileşime girebilir. Çekirdek yapı atomlarını hizalamak için iki farklı tolerans değeri kullanıldığında, kalan yönlendirilmiş atom kümesinde sadece pozisyon tolerans değeri kullanılır. Çekirdek yapı atomlarının benzerliği ve kimliği, reseptörle etkileşimin kaynağı ve kökenidir. Kümedeki herhangi bir konumdaki atom, etkinliği tanımlayıcı değeri ile etkiler. Kümelenmiş pozisyonlar arasında doğrudan ve dolaylı kombinasyonlar yapılır. İlk önce, çekirdek yapıdaki ilk üç atom için r^2 'nin değerleri (tüm ligandlar için regresyon katsayısı) hesaplanır ve en iyileri listelenir. Ardından, dördüncü argüman olarak kümelenmiş konumlardan hangisinin seçilmesi gerektiği tartışmalıdır. Bunun için her pozisyon aday olarak kullanılır ve r^2 'deki en büyük artışa yol açan dördüncü pozisyon olarak belirlenir. Benzer şekilde, en iyi r^2 değerlerine sahip beşinci, altıncı ve sonraki etkileşim noktaları modele dahil edilmiştir. Şekil 3.8'de a, b, c, vb. 22 konumdan oluşan etkileşim noktalarının yapısı verilmiştir.

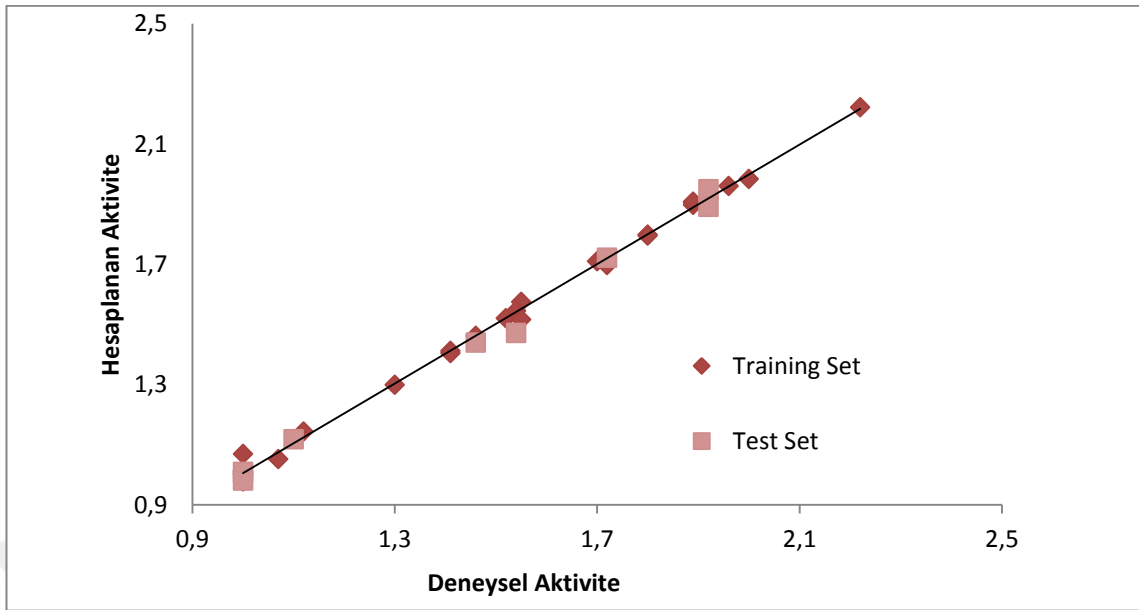


Şekil 3.8. 3D-PhaM'in n01, n02, n11, n12, n13, n29 ve n32 moleküllerinin süperimpozisyonu

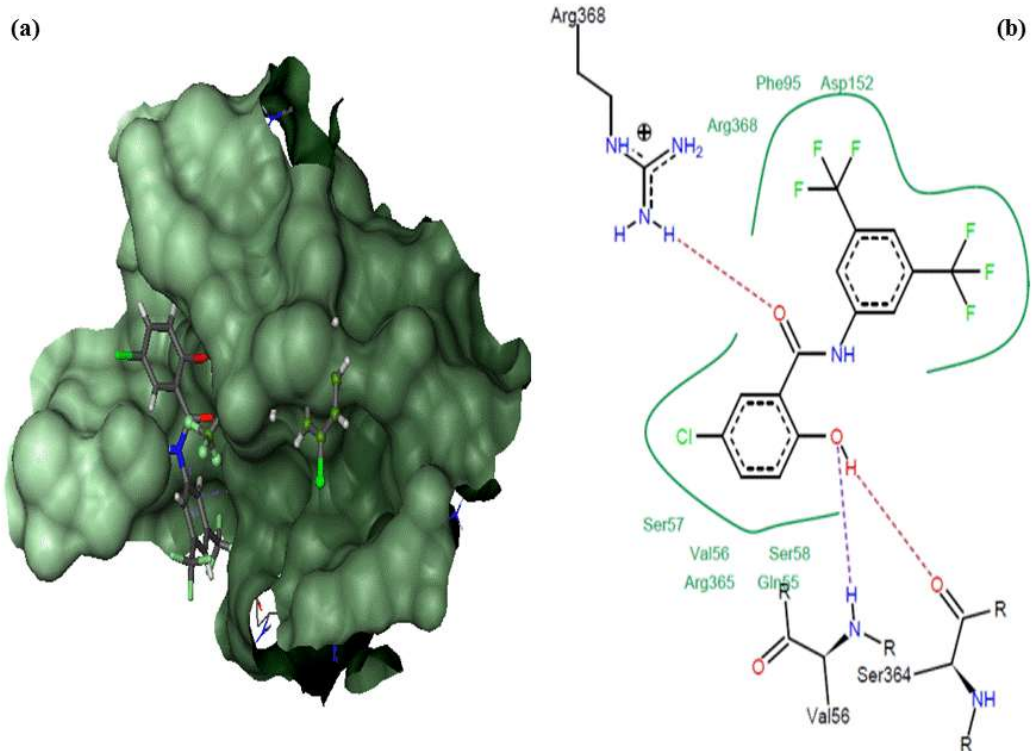
Tablo 3.10. 2-Hidroksidiarilamit türevlerinin deneysel ve hesaplanan aktiviteleri

Molekül Numarası	Deneysel Aktivite (pKi)	Hesaplanan Aktivite (pKi)	Molekül Numarası	Deneysel Aktivite (pKi)	Hesaplanan Aktivite (pKi)
n01	1,96	1,96	n22	1,52	1,49
n02	1,00	1,09	n23	1,46	1,47
n03	1,89	1,88	n24*	1,46	1,45
n04*	1,54	1,49	n25	1,55	1,55
n05	1,92	1,87	n26	1,80	1,83
n06*	1,92	1,91	n27	1,89	1,88
n07	1,55	1,58	n28	1,12	1,06
n08	1,54	1,53	n29	1,92	1,93
n09	1,92	1,92	n30	2,00	2,02
n10*	1,72	1,73	n31	2,22	2,22
n11	1,00	1,02	n32	1,00	1,01
n12*	1,00	1,01	n33	1,00	1,01
n13	1,00	1,01	n34	1,00	1,02
n14	1,41	1,41	n35*	1,00	0,95
n15	1,30	1,38	n36*	1,10	1,14
n16	1,41	1,42	n37	1,00	1,01
n17	1,72	1,67	n38	1,00	0,99
n18	1,80	1,82	n39	1,00	1,01
n19*	1,92	1,88	n40	1,00	1,00
n20	1,70	1,65	n41	1,07	1,05
n21	1,89	1,89	Test serisi “*” ile belirtilmiştir.		

Klopman indeks değerlerini kullanan 41 molekül için bir model istatistiksel sonuçlarla doğrulandı ($q^2 = 0,998$, $r^2 = 0,993$). MCET tarafından belirtilen modelin öngörülen gücü, harici bir test setinde de (Tablo 3.10’da “*” ile işaretli moleküller) doğrulanır. Modelleme sırasında, eğitim setindeki bileşikler test setinin dışında kullanılır. İç test setindeki ligandların aktiviteleri ile doğrulanan 3D model, dış test setindeki ligandları tahmin etmek için kullanıldı. Hem eğitim hem de test setleri için model kullanılarak öngörülen ve gözlemlenen aktiviteler arasındaki grafik değerler, Şekil 3.9’da gösterilmiştir.



Şekil 3.9. 2-Hidroksidiarilamit türev serisi için eğitim ve test setlerinin deneysel ve hesaplanan aktivite grafiği



Şekil 3.10. (a) Reseptör-ligand arasındaki etkileşim. (b) TRSSP enziminin aktif bölgesindeki en yüksek aktiviteye sahip molekül (n30) için seçilen konformasyonun etkileşim diyagramı.

Önceden oluşturulmuş 4D-QSAR modelinin stabilitesini araştırmak ve en aktif molekül (n30) ve TMPRSS4 enzimi (PDB ID: 5CE1) arasındaki etkileşimi araştırmak için moleküler docking yapılmıştır. Moleküler docking sonucunda bağlanma bölgesi bulunarak aktif olan amino asitlerde Şekil 3.10b’de gösterilmiştir. Arg 368, Ser 364, Val 56 H-bağı etkileşimini gösterirken; Phe 95, Asp 152, Ser 57, Val 56, Arg 365, Arg 368, Gln 55, Ser 58 amino asitleri polar etkileşimleri göstermiştir. 3D-PhaM atomlarının gösterildiği Şekil 3.8 ile etkileşim diyagramının gösterildiği Şekil 3.10b karşılaştırıldığında her iki yöntem sonucu bulunan aktif atomların birbirini desteklediği görülmüştür.

3.1.3. Pirimidin Türevleri

Bir demans tipi olan Alzheimer hastalığı (AH); yaşa bağlı olarak merkezi sinir sisteminin (MSS) bazı bölgelerinde nöron ve sinaps kayıpları nedeni ile ortaya çıkan; bilişsel ve kognitif işlevlerde azalma, çeşitli davranışsal ve nöropsikiyatrik sorunlarla karakterize olan ilerleyici nörodejeneratif bir hastalıktır [168]. Alzheimer hastalığının histolojik özelliği anormal işleme ve intrasellüler proteinlerinin neden olduğu oligomerize amiloid- β prekürsör proteininin (A β PP) hücre dışı birikimidir. AH patogeneğinde yer aldığı düşünülen diğer mekanizmalar ise; mitokondriyal disfonksiyon, anormal kalsiyum regülasyonu, nöronal hücrelerin kaybı, mitokondriyal disfonksiyon, anormal kalsiyum regülasyonu ve nöroinflamasyon olarak sıralanabilir [169]. Alzheimer hastalığı yaşla ilişkili nörodejeneratif bir hastalıktır ve yaşlılarda demansın en sık ve en baskın nedenidir, ilerleyici bilişsel gerileme, psiko- davatik bozukluklar, hafıza kaybı, senil plakların varlığı, nörofibriler yumaklar ve kolinerjik iletimdeki azalmayı provoke eder [170-171].



Şekil 3.11. Pirimidinin basit gösterimi

Pirimidin türevleri, ilginç biyolojik aktiviteleri nedeniyle ilaç endüstrisinde önemli bir ilgi görmüştür [172]. Bunlar antibakteriyel, antifungal, antiviral ve siklooksijenazlar inhibitörleri (COX) dahil olmak üzere çok çeşitli terapötik aktiviteler sergilemiştir [173-177]. Ayrıca inotrop ve β -blokör ajanlar olarak kullanılmıştır. Deneysel çalışmalarda,

steroidal yapı ile kaynaşmış pirimidin halkası içeren bazı bileşikler anti-Alzheimer ajanları olarak değerlendirilmiştir [86].

3.1.3.1. Siklooksijenaz (COX) İnhibitörleri

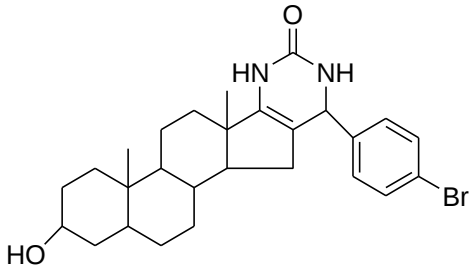
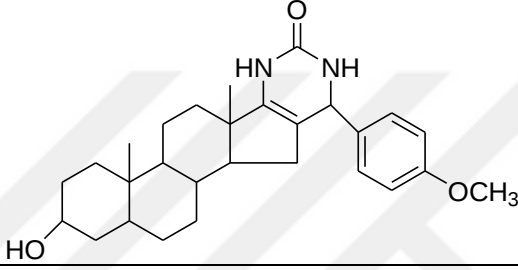
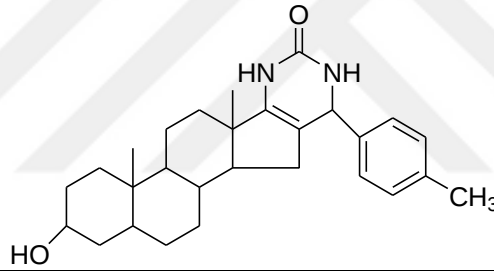
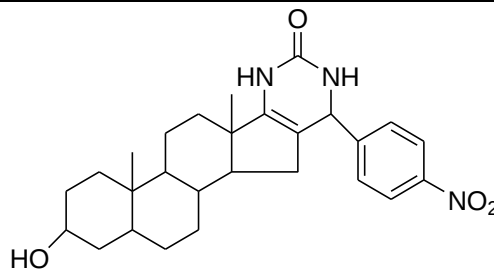
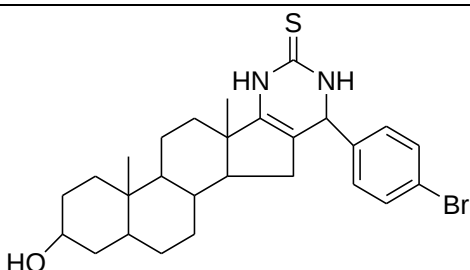
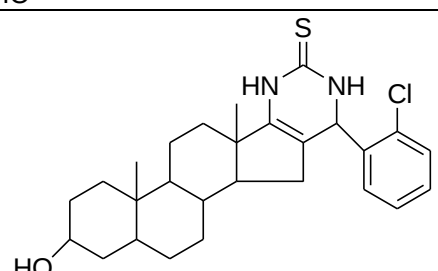
Çoğu organik asit yapısında olan ve yapısal olarak genellikle heterojen olmalarına rağmen benzer terapötik etki ve yan etki gösteren bir ilaç grubudur. Analjezik, antipiretik ve anti-inflamatuar etki gösterirler. Aspirin bu grup ilaçların prototipidir ve non-streoid anti-inflamatuar ilaçlar (NSAİİ) olarak tanımlanırlar [178-179].

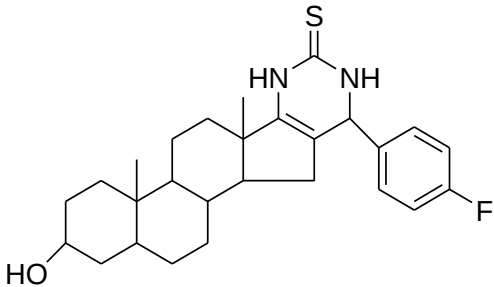
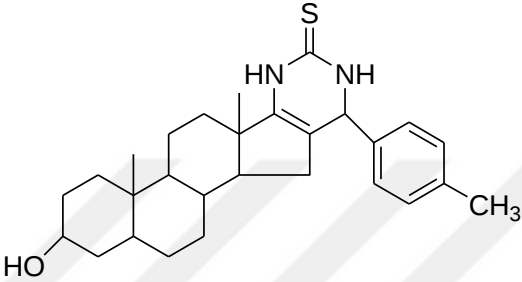
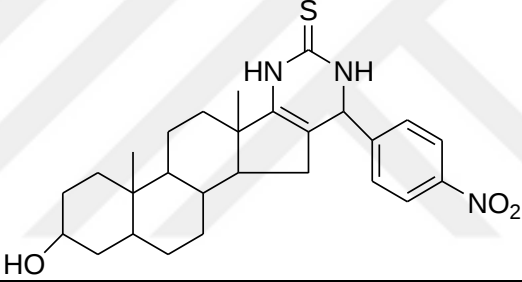
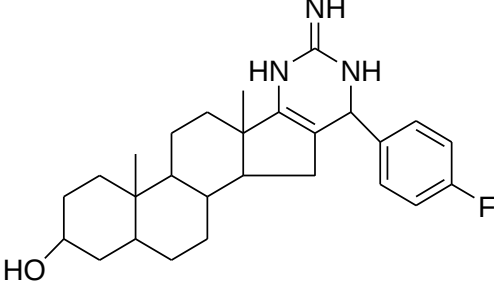
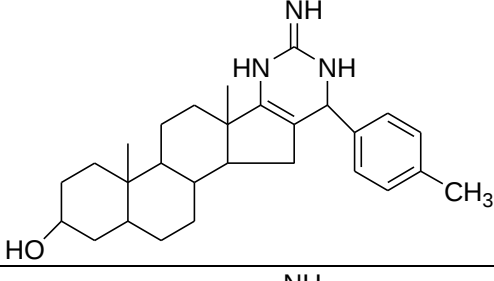
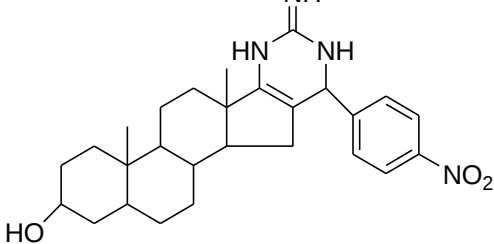
NSAİİ'lerin kısa tarihçesine bakıldığında; ilk kez 1820'de kolşisin, 1860'da salisilik asitin tanımlanmış ve ilk Aspirin tablet 1897'de Felix Hoffman tarafından sentezlenmiştir. Non-streoid antiinflamatuar ilaç isminin 1949 yılında ilk kullanılışı, fenilbutazonun sentezlenmesi ile eş zamanlıdır. 1971'de John R. Vane etki mekanizmaları konusunda yaptığı çalışmalar sonucunda ilk defa siklooksijenaz (COX) enzimini tanımlamış ve bu buluşla Nobel ödülü almıştır [180]. 1976'da ise ilk defa prostoglandin endoperoksit sentetaz (siklooksijenaz) enzimi elde edilmiştir. Bu konu ile ilgili son gelişme 1990'ların başında COX'ın tek bir molekül olmadığı, birden fazla izomerlerinin ve bunların da farklı işlevlerinin olduğunun gösterilmesi olmuştur [179]. Epidemiyolojik çalışmalar, non-steroid anti-inflamatuar ilaçların (NSAİİ) uzun süreli kullanımının AH geliştirilme riskini azalttığını ve hastalığın başlangıcını geciktirdiğini göstermiştir. Bazı NSAİİ'lerin, siklooksijenazların (COX) inhibisyonu ve peroksizom proliferatörü ile aktive olan alfa reseptörünün aktivasyonu dahil olmak üzere birçok yolla etkileşime girerek AH'nin patolojik özelliklerini hedef aldıkları varsayılmıştır.

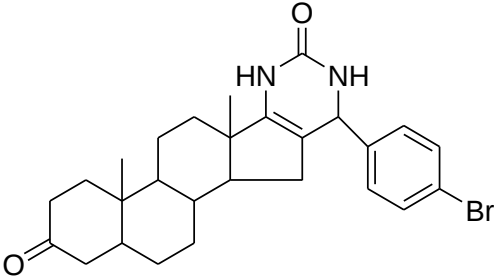
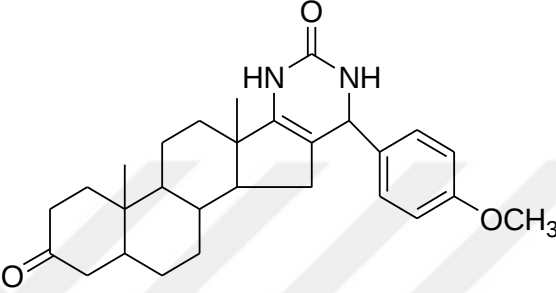
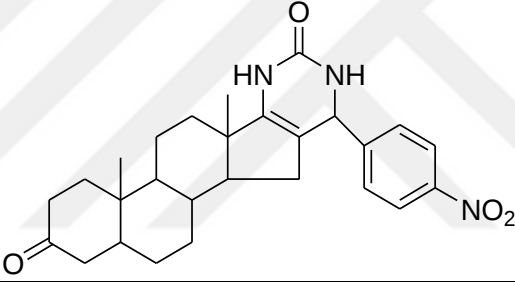
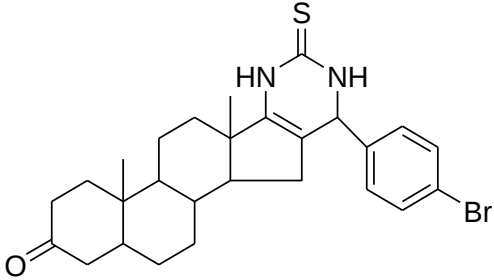
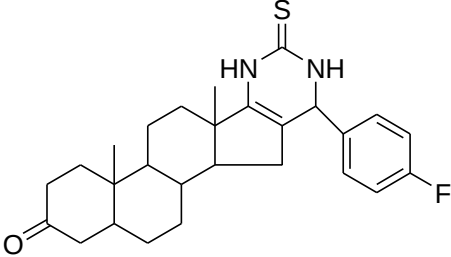
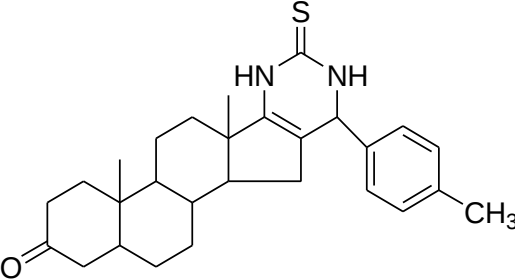
NSAİİ başlıca etki mekanizması prostaglandin yapımından sorumlu siklooksijenaz (COX) enzimini inhibe etmektir. Bu enzimin yapısal izoformu COX-1 hücreler arası sinyalleme ve doku homeostazında rol oynamaktadır. İnflamatuar hücrelerde indüklenen COX-2 inflamasyonda rol oynayan prostanooidlerin yapımından sorumludur. Selektif olmayan bir şekilde her iki COX izoenzimini inhibe eden NSAİİlerin istenmeyen etkilerinden, özellikle gastrointestinal yan etkilerden çoğunlukla COX-1 sorumludur. İstenmeyen etkileri azaltmak üzere selektif olarak COX-2 enzimini inhibe eden ilaçlar geliştirilmiştir [181].

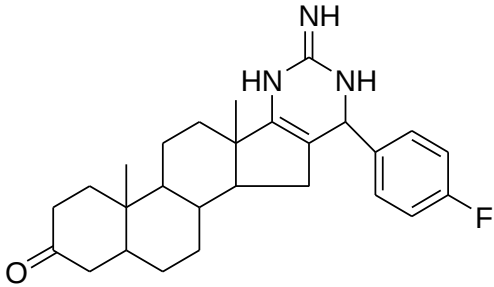
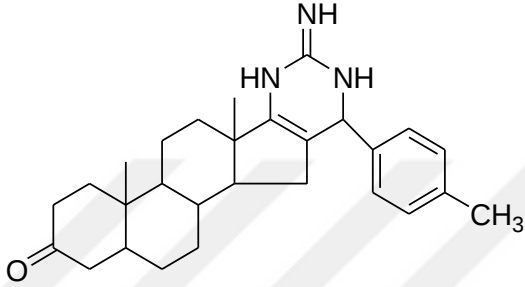
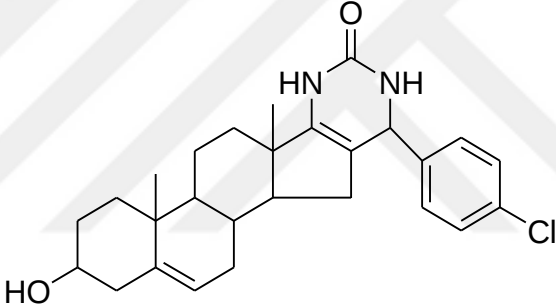
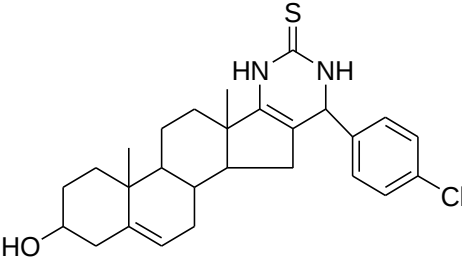
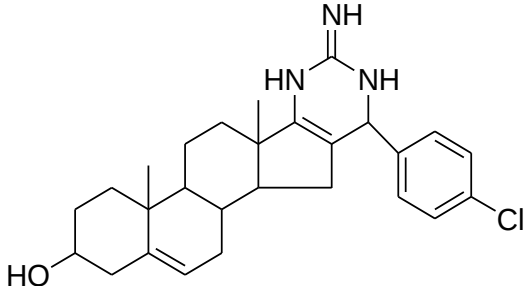
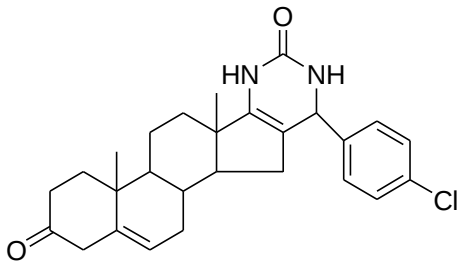
Pirimidin türevindeki bulunan 65 tane bileşiğin kimyasal yapıları ve deneysel aktivite değerleri Tablo 3.11'de verilmiştir.

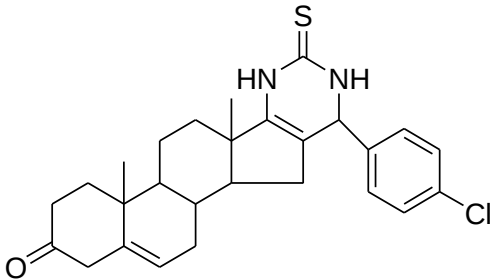
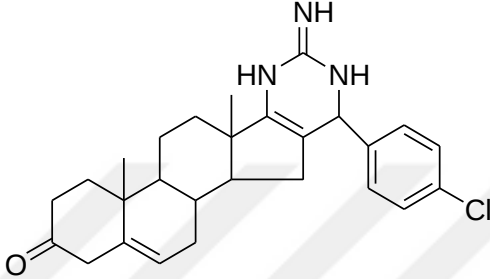
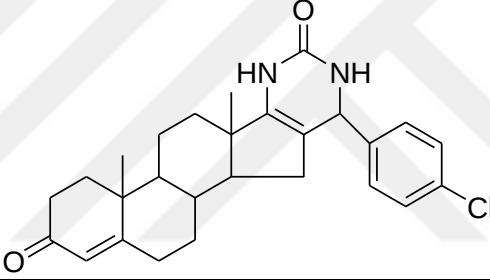
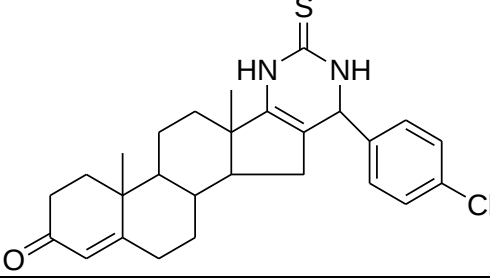
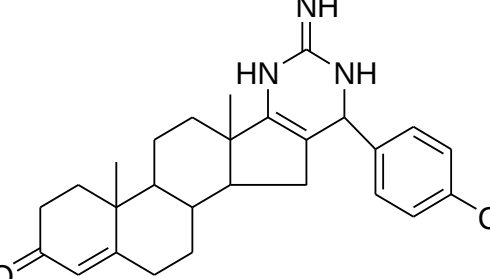
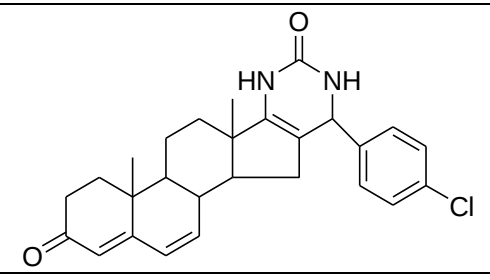
Tablo 3.11. Pirimidin serisi için temel iskelet yapısı, süstitüentler, molekül yapıları, deneysel aktivite değeri IC_{50} (nM).

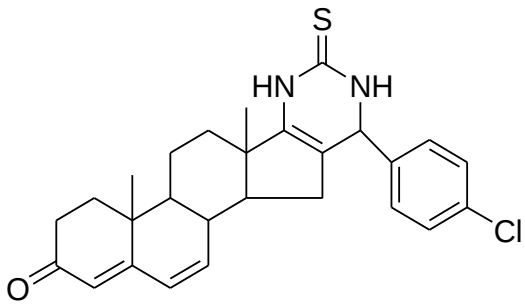
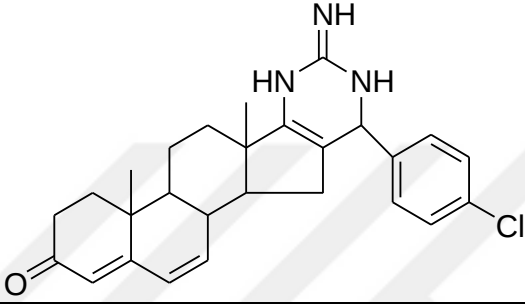
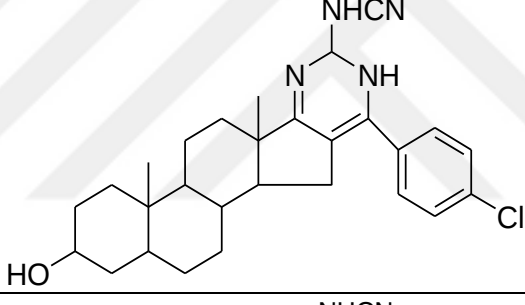
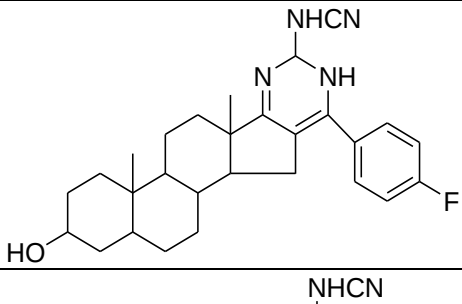
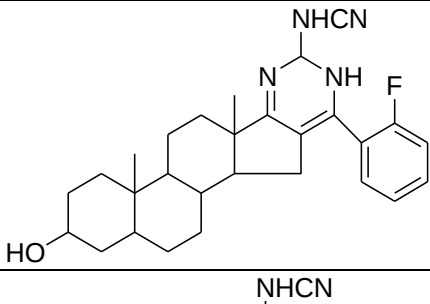
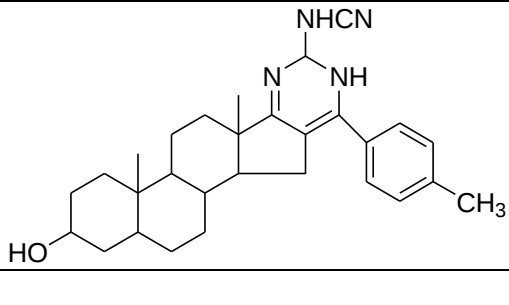
Molekül	Bileşik Yapısı	Deneysel Aktivite
n01		0,807
n02		0,809
n03		0,814
n04		0,812
n05		0,737
n06		0,725

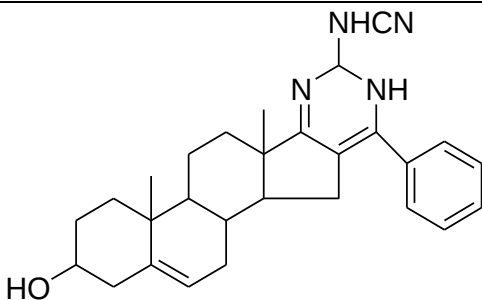
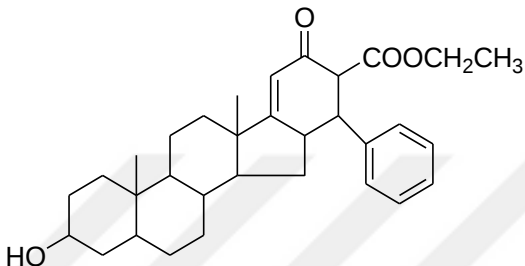
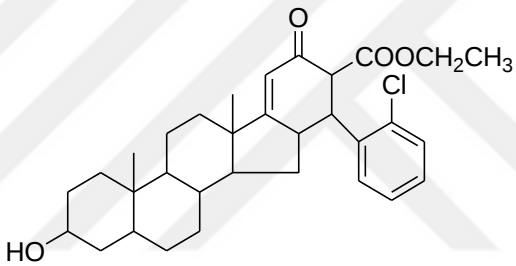
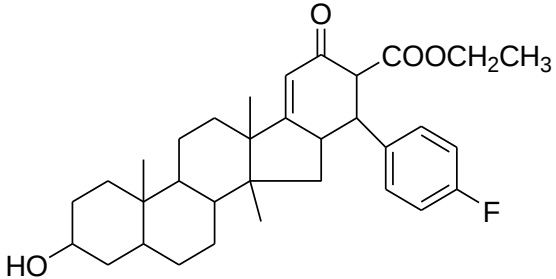
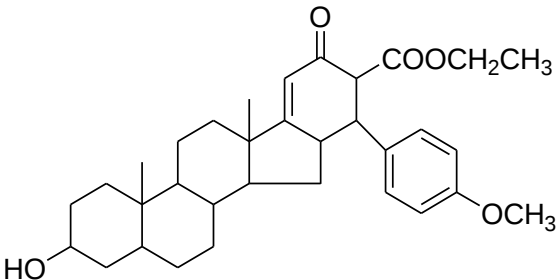
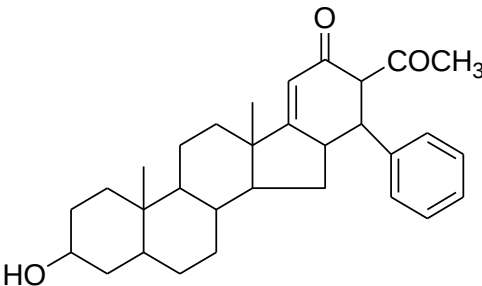
Molekül	Bileşik Yapısı	Deneyisel Aktivite
n07		0,723
n08		0,747
n09		0,744
n10		0,654
n11		0,664
n12		0,659

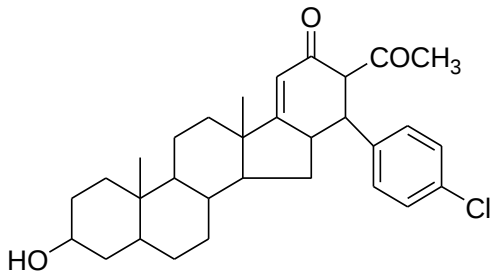
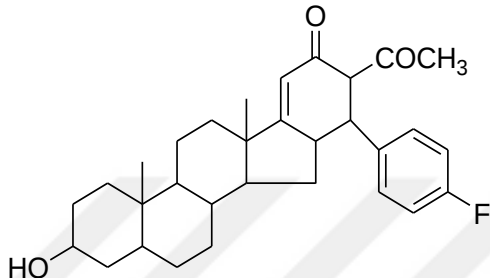
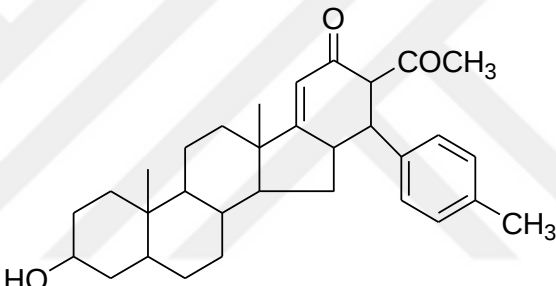
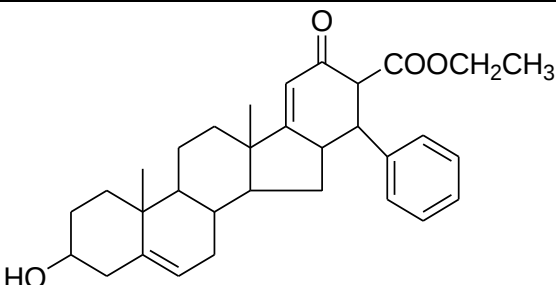
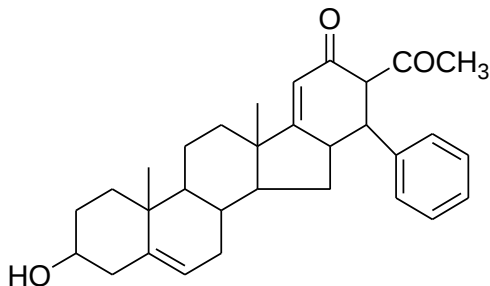
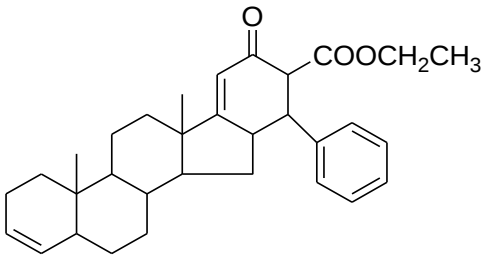
Molekül	Bileşik Yapısı	DeneySEL Aktivite
n13		0,792
n14		0,803
n15		0,794
n16		0,677
n17		0,674
n18		0,717

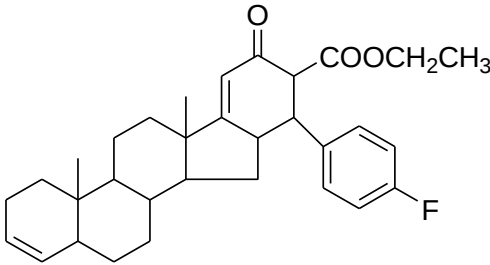
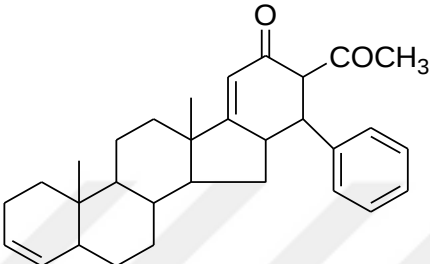
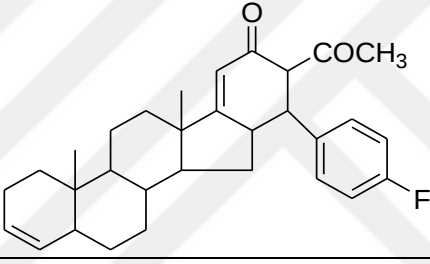
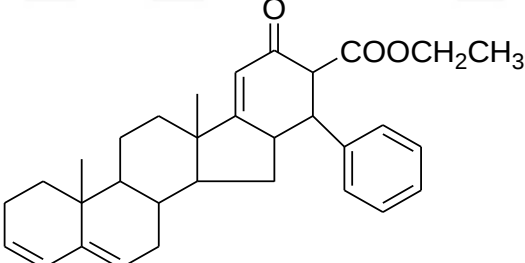
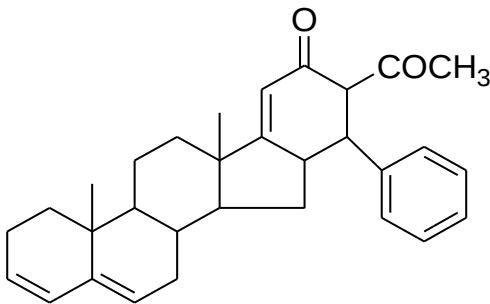
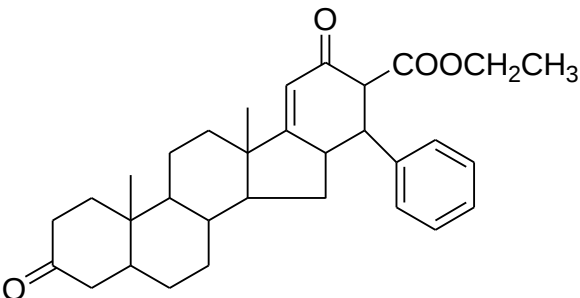
Molekül	Bileşik Yapısı	Deneyisel Aktivite
n19		0,563
n20		0,647
n21		0,761
n22		0,673
n23		0,550
n24		0,754

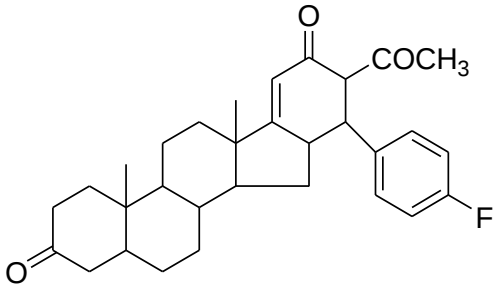
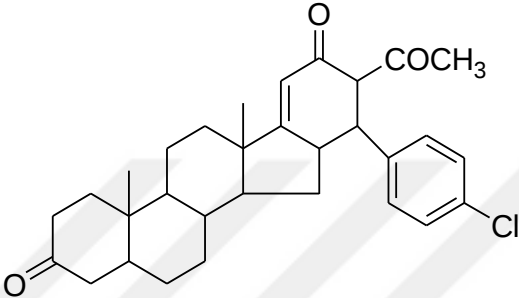
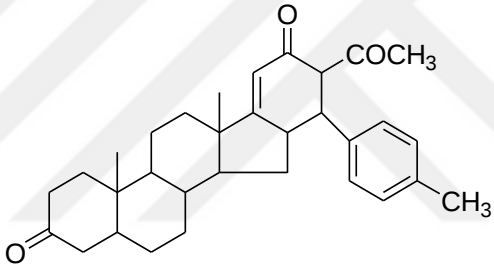
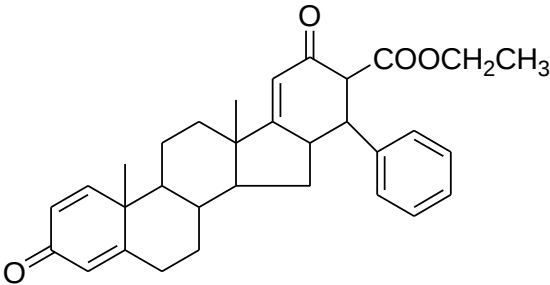
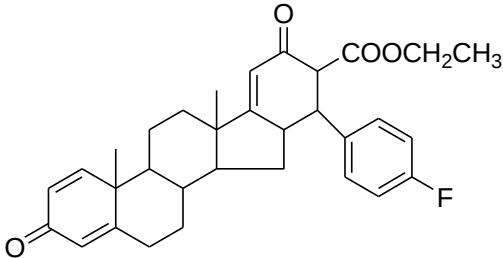
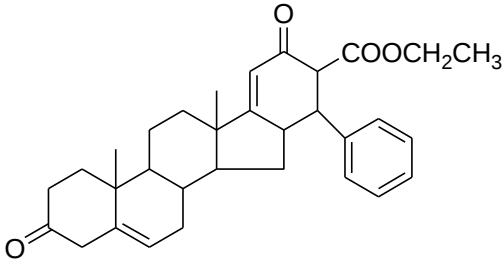
Molekül	Bileşik Yapısı	Deneyisel Aktivite
n25		0,671
n26		0,542
n27		0,750
n28		0,668
n29		0,540
n30		0,613

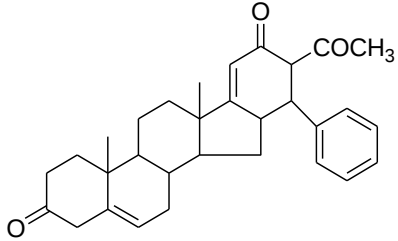
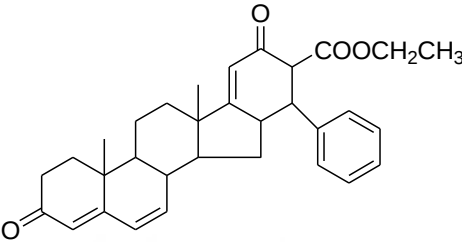
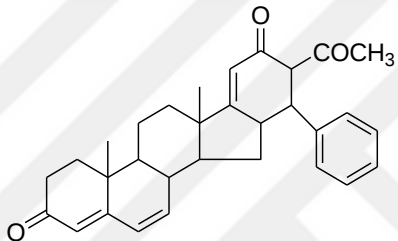
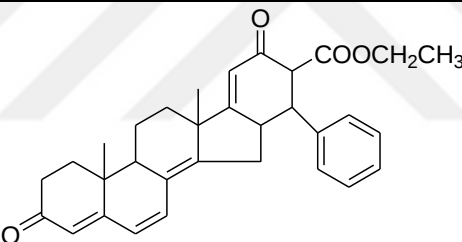
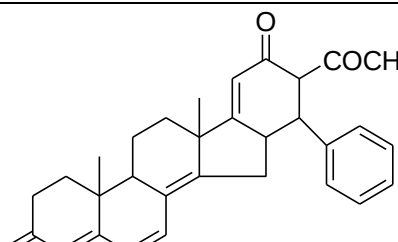
Molekül	Bileşik Yapısı	Deneyisel Aktivite
n31		0,562
n32		0,658
n33		0,528
n34		0,520
n35		0,533
n36		0,530

Molekül	Bileşik Yapısı	Deneysel Aktivite
n37		0,516
n38		0,934
n39		0,886
n40		0,885
n41		0,892
n42		0,893

Molekül	Bileşik Yapısı	DeneySEL Aktivite
n43		0,968
n44		0,965
n45		0,970
n46		0,872
n47		0,948
n48		0,938

Molekül	Bileşik Yapısı	Deneysel Aktivite
n49		0,936
n50		0,978
n51		0,975
n52		0,863
n53		0,947
n54		0,878

Molekül	Bileşik Yapısı	Deneyisel Aktivite
n55		0,881
n56		0,960
n57		0,963
n58		0,858
n59		0,947
n60		0,852
Molekül	Bileşik Yapısı	Deneyisel

		Aktivite
n61		0,945
n62		0,827
n63		0,942
n64		0,823
n65		0,943

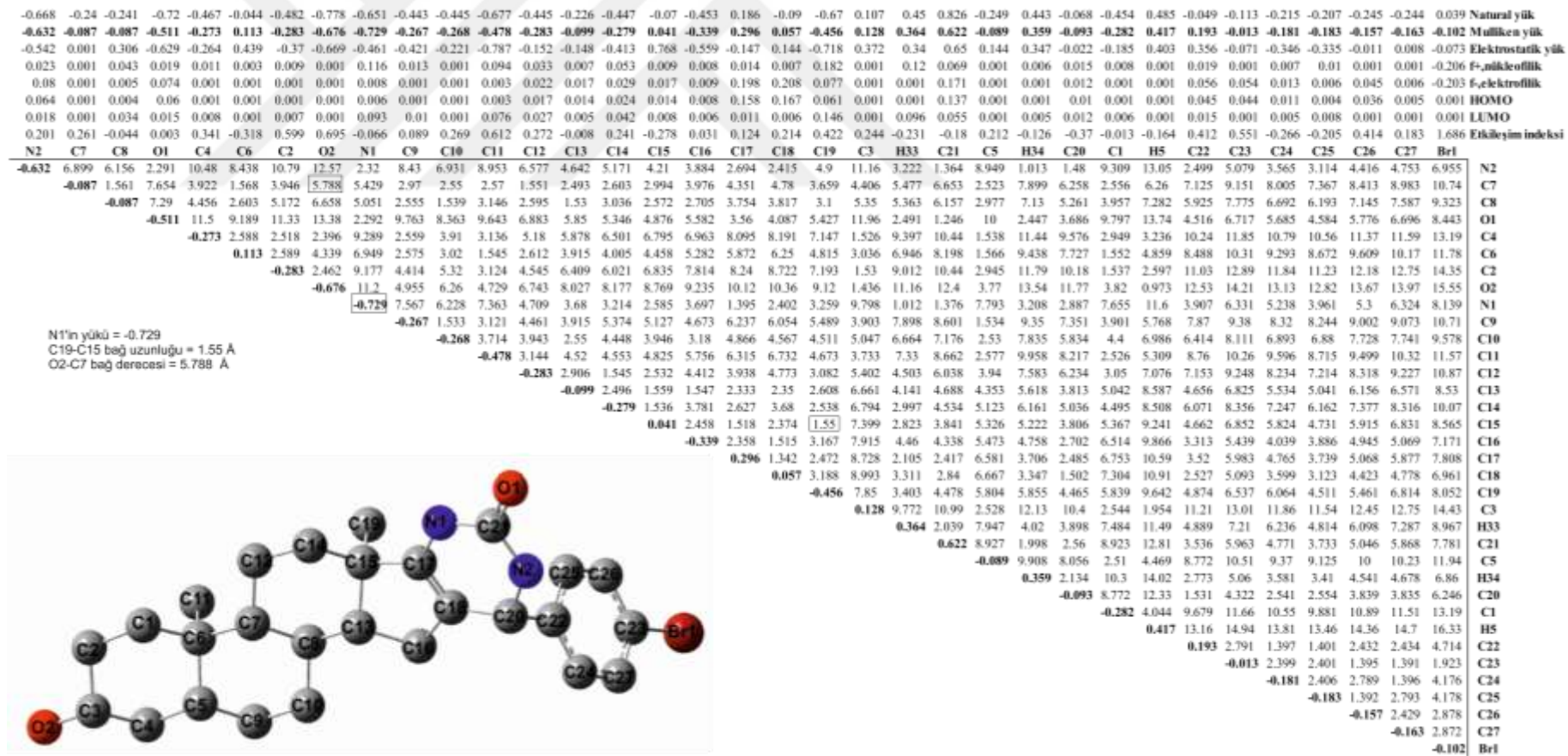
Spartan'10 programında çizilmiş olan 65 pirimidin bileşiklerinin çizilmesi ve hesaplamaları moleküllerin kuantum kimyasal DFT-B3LYP 6-31G* hesaplamaları yapılmıştır. Kuantum kimya hesaplamaları yapılan tüm moleküllerin kuantum kimyasal çıktıları olan *.txt dosyaları hazırlanmıştır Kuantum kimyasal çıktıları olan *.txt dosyalarından yeni düzenlenmiş olan ETM'e çevrilmiştir ve atomlar referans molekülünde ilk sıraya yerleştirilmiştir. Her bir konformerin bir ETM ile temsil edilen matrisi vardır. Referans olarak n01_01 nolu bileşiğin ETM'si ise Şekil 3.12'de diyagonal, nondiyagonal ve yük olarak matrisi halinde gösterilmiştir. Bu şekilde n01

nolu bileşik baz alınarak şekilde üzerinde işaretlenerek ve herbir atomun numaralandırılması yapılarak gösterilmiştir.

Tablo 3.12’de referans bileşik olarak en basit gösterimde olan n01_01 nolu bileşiğin konformerini kullanılarak ETMP sonucu oluşan Kartezyen koordinatları (x, y, z) olarak sırayla gösterilmiştir. Her bir atomun kartezyen koordinatı Tablo 3.12’de verilmiştir.

Tablo 3.12. Pirimidin türev serisinin n01_01 nolu konformerin kartezyen koordinatı

Atom	X	Y	Z
N2	0	0	0
C7	6,90	0	0
C8	6,02	1,29	0
O1	-0,42	-1,94	-1,15
C4	10,30	1,53	1,21
C6	8,43	0,32	-0,11
C2	10,77	-0,75	0,24
O2	12,48	0,55	1,45
N1	1,70	-1,06	-1,16
C9	7,96	2,56	1,08
C10	6,46	2,25	1,12
C11	8,78	0,95	-1,47
C12	6,41	-1,07	-1,01
C13	4,56	0,85	0,15
C14	4,89	-1,37	-0,95
C15	4,09	-0,06	-1,02
C16	3,39	1,85	0,36
C17	2,60	-0,11	-0,68
C18	2,22	0,96	0,03
C19	4,22	0,58	-2,42
C3	11,01	0,23	1,38
H33	2,03	-1,89	-1,63
C21	0,38	-1,04	-0,80
C5	8,79	1,27	1,09
H34	-0,99	0,03	0,18
C20	0,77	1,22	0,34
C1	9,26	-0,99	0,08
H5	12,95	-0,29	1,57
C22	0,22	2,46	-0,36
C23	-0,75	4,75	-1,62
C24	-0,27	3,53	0,39
C25	0,22	2,56	-1,76
C26	-0,27	3,69	-2,39
C27	-0,76	4,69	-0,23
Br1	-1,41	6,34	-2,491



Şekil 3.12. Pirimidin türev serisindeki n01 numaralı molekülün Elektron Topolojik Matrisi

4D-QSAR'ın MCET metodu ile birçok tanımlayıcıya göre hesaplamalar yapılmıştır. Yapılan bu hesaplamaların en iyi istatistiksel sonuçları Tablo 3.13'te gösterilmiştir. Tabloda da görüldüğü gibi en iyi sonuç Mulliken HOMO Klopman tanımlayıcısına göre q^2 ve r^2 sırasıyla 0,865 ve 0,861 olarak bulunmuştur.

Tablo 3.13. Farklı tanımlayıcılara göre bulunan q^2 ve r^2 değerleri

Tanımlayıcılar	q^2	r^2
Natural yük	0,627	0,577
Mulliken yük	0,854	0,772
Elektrostatik yük	0,810	0,806
N_Fukui (f+)	0,610	0,616
P_Fukui (f-)	0,562	0,638
HOMO	0,666	0,664
LUMO	0,510	0,445
Natural HOMO Klopman	0,853	0,781
Mulliken HOMO Klopman	0,865	0,861
Elektrostatik HOMO Klopman	0,810	0,806
Natural LUMO Klopman	0,835	0,788
Mulliken LUMO Klopman	0,805	0,768
Elektrostatik LUMO Klopman	0,801	0,831

En iyi istatistiksel veri elde edildikten sonra pirimidin türev serisi için 3D-PhaM atomları MCET metodu sonucu elde edilen .txt dosyalarından alınmıştır. Tablo 3.14'te 3D-Pham atomlarının hangilerinin olduğu, pozisyonları κ ve ξ değerleri gösterilmiştir. Tabloda n01 ve n37 moleküllerinin 41 bileşik içinde 3D-PhaM yapısına en çok katkıda bulunan atomları bulundurulduğu yorumlanabilir. Bu bileşiklerin bir kısmının aktiviteyi azaltan/artıran bileşikler olduğu söylenebilir.

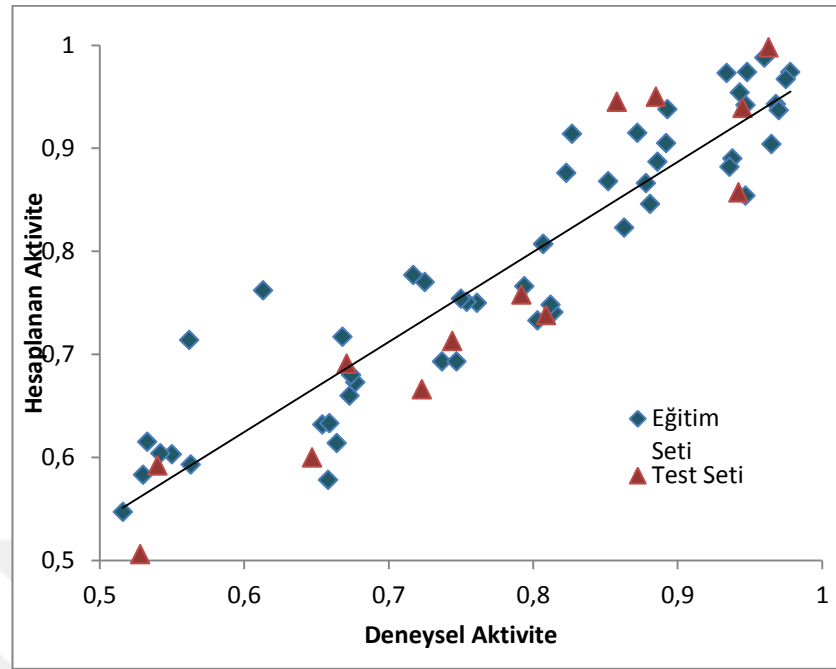
Tablo 3.14. Pirimidin türev serisi içindeki atomların uygun yerlerinden tanımlanan pozisyonlar (n01 ve n37) (3D-PhaM atomlarını içerenler koyu kısım ile gösterilmiştir)

Molekül Numarası	Atom Numarası	x, y, z Kartezyen Koordinatları			Pozisyon Simgeleri	Kappa-(κ) Değerleri	Ksi-(ξ) Değerleri
		x	y	z			
n01_02	N2	0	0	0	ka=	-1,12	0,45
n01_02	C21	1,36	0	0	kb=	-0,39	0,20
na01_02	C7	1,91	6,63	0	kc=	-0,23	0,06
n37_02	N1	1,75	1,67	-0,03	kd=	-0,39	-0,48
n37_02	C10	6,28	-2,36	0,74	ke=	-0,24	-7,04
n37_02	C25	0,57	-3,10	1,84	kf=	-1,11	-3,04

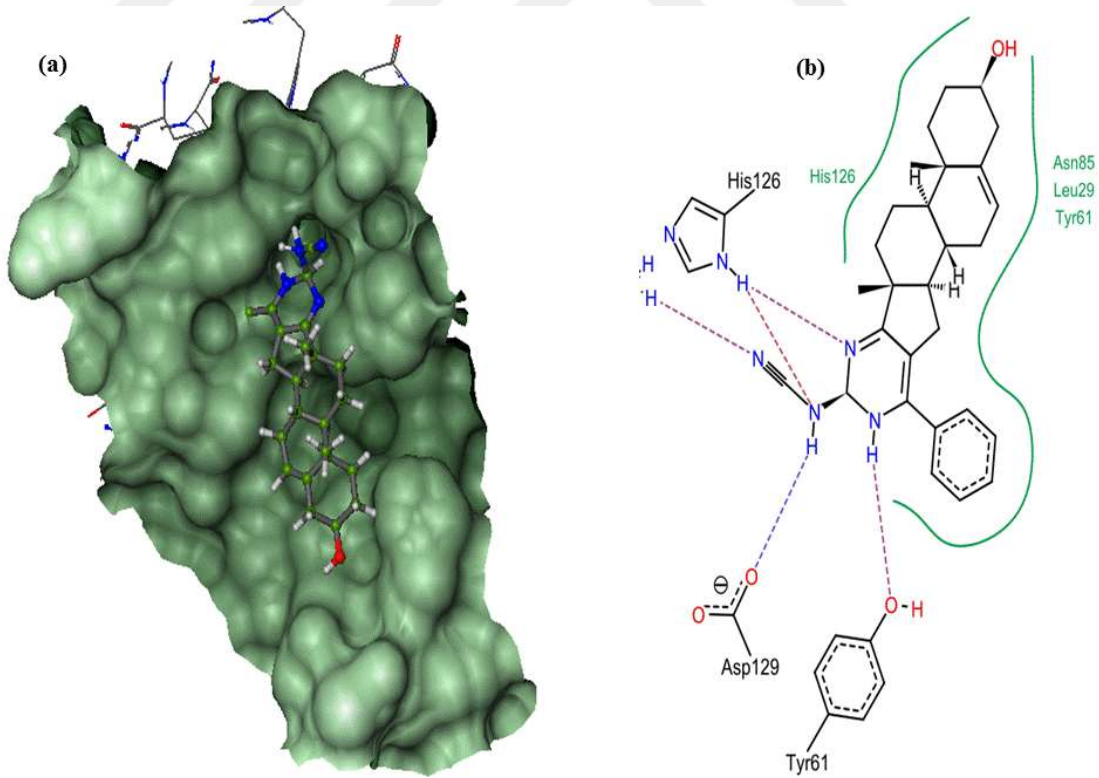
En iyi tanımlayıcıya göre sonuç bulunur ve Tablo 3.15'te görüldüğü gibi deneysel ve hesaplanan aktiviteler belirlenir. Bunlar da grafiğe geçirilerek Şekil 3.13'te görüldüğü gibi doğrusal bir artış görülür. Burdan da sonuçların yani hesaplanan ve deneysel bulunan aktivitelerin birbirine ne kadar yakın olduğu görülmektedir.

Tablo 3.15. Pirimidin türev setinin deneysel ve hesaplanan aktiviteleri

Molekül Numarası	Deneysel Aktivite	Hesaplanan Aktivite	Molekül Numarası	Deneysel Aktivite	Hesaplanan Aktivite
n01_01	0,807	0,807	n34_02	0,520	0,454
n02_01*	0,809	0,738	n35_02	0,533	0,615
n03_01	0,814	0,741	n36_02	0,530	0,583
n04_01	0,812	0,748	n37_02	0,516	0,547
n05_02	0,737	0,693	n38_01	0,934	0,973
n06_03	0,725	0,770	n39_01	0,886	0,887
n07_02*	0,723	0,666	n40_01*	0,885	0,950
n08_02	0,747	0,693	n41_01	0,892	0,905
n09_02*	0,744	0,713	n42_02	0,893	0,938
n10_01	0,654	0,632	n43_01	0,968	0,943
n11_01	0,664	0,614	n44_01	0,965	0,904
n12_01	0,659	0,633	n45_05	0,970	0,937
n13_01*	0,792	0,758	n46_02	0,872	0,915
n14_01	0,803	0,733	n47_04	0,948	0,974
n15_01	0,794	0,766	n48_06	0,938	0,890
n16_01	0,677	0,673	n49_01	0,936	0,882
n17_01	0,674	0,680	n50_02	0,978	0,974
n18_01	0,717	0,777	n51_02	0,975	0,967
n19_01	0,563	0,593	n52_04	0,863	0,823
n20_01*	0,647	0,600	n53_02	0,947	0,942
n21_01	0,761	0,750	n54_01	0,878	0,866
n22_02	0,673	0,660	n55_01	0,881	0,846
n23_01	0,550	0,603	n56_02	0,960	0,988
n24_01	0,754	0,751	n57_02*	0,963	0,998
n25_01*	0,671	0,691	n58_02*	0,858	0,945
n26_01	0,542	0,604	n59_01	0,947	0,854
n27_01	0,750	0,754	n60_01	0,852	0,868
n28_01	0,668	0,717	n61_02*	0,945	0,939
n29_01*	0,540	0,592	n62_02	0,827	0,914
n30_01	0,613	0,762	n63_03*	0,942	0,857
n31_02	0,562	0,714	n64_01	0,823	0,876
n32_01	0,658	0,578	n65_02	0,943	0,954
n33_06*	0,528	0,506	Test seti * işaretiyle belirtilmiştir.		



Şekil 3.13. Pirimidin türev setinin eğitim ve test setlerinin deneysel ve hesaplanan aktivite grafiği.



Şekil 3.14. a) Reseptör-ligand arasındaki etkileşim. b) Siklooksijenazlar enziminin aktif bölgesi içerisindeki en yüksek aktiviteye sahip molekül (n37) için seçilmiş yerleştirilmiş konformasyonun etkileşim diyagramı.

4D-QSAR modelinin stabilitesini araştırmak ve en aktif molekül (n37) ve siklooksijenaz enzimi (PDB ID: 4TPK) arasındaki etkileşimi araştırmak için moleküler docking yapılmıştır.

L-R arasındaki etkileşime bakıldığında Asp 129, Tyr 61, His 126 ile H bağı etkileşimi olduğu; His 126, Asp 85, Leu 29, Tyr 61 ile de polar bir etkileşim olduğu görölmektedir. şekil 3.14a'da L-R arasındaki etkileşimin hangi yönden ve nasıl yerleştiği görölmektedir. şekil 3.14b'de ise ligandın enzimin hangi yöndeki aminoasitlere nasıl bir bağlanama çeşidi yaptığı görölmektedir. Serbest bağlanma enerjisi en iyi aktiviteye sahip olan n37 nolu molekül için serbest bağlanma enerjisi -12,377 k/cal mol olarak bulunmuştur.

4. BÖLÜM

TARTIŞMA-SONUÇ ve ÖNERİLER

Tiyazol, 2-hidroksidiarilamit ve pirimidin türevlerinden oluşan üç farklı seri üzerinde MCET metoduyla 4D-QSAR hesaplamaları yapılarak oluşan modellerin doğruluğu, moleküler docking programında etkileşim bölgelerine ait serbest bağlanma enerjileri ile gösterilmiştir. Herbir türev serisinin ligand ve reseptör bazlı sonuçları ayrı ayrı tartışılarak önerilerde bulunulmuştur.

4.1. Tiyazol Türev Serisi

Bu çalışmada, metastaz inhibitörü olan 64 tiyazol türevi molekülü için 4D-QSAR çalışmaları yapılmış ve moleküler docking ile tatmin edici sonuçlar vermiştir. Her iki yöntemde de önerilen L-R kompleks modeli araştırılmış ve muhtemel bağlanmasının keşfedilmesinde birbirlerini desteklediği görülmüştür. Tiyazollerin metastaz üzerindeki inhibe edici deneysel bağlanma afinitesini değerlendirmek için, 4D-QSAR modeliyle reseptör tarafındaki etkileşim noktalarının parametrelerinin ligand bazlı olarak belirlenmiş olması ve yapı bazlı olarak hedef proteindeki bir docking deneyindeki etkileşim enerjisinin doğrulanması faydalı olmuştur.

4D-QSAR modelinde atomların elektronik değerlerine ait farklı tanımlayıcılara göre L-R arasındaki sorumlu Pha yapılar ileri sürülmüş ve bunlar arasından en uygun NLLS sonucuna göre tanımlayıcı tipi belirlenmiştir. Diğer tanımlayıcı LRT tipleri arasında, Klopman indeksi tarafından üretilen 3D-PhaM ile en iyi sonuç elde edilmiştir. Sonuçlanan modele bakılarak yeni bir bileşiğin iskeleti farklı olsa bile, aktvitesi, 3D-PhaM yapısına karşılık gelen atomların tanımlayıcı değerleri kullanılarak hesaplanabilir. 3D-PhaM grubunu oluşturan moleküller ise n01, n25, n30 ve n30'dur.

4.2. 2-Hidroksidiarilamit Türev Serisi

Yeni bir seri olarak 2-hidroksidiarilamit türevlerinin metastaz inhibitörü yapı-aktivite ilişkisi, MCET içinde 4D-QSAR araştırılması ile 3D-PhaM yapısı ortaya çıkartılmıştır. Bu ikinci seride kendi yazılımımızda kullanılan 4D-QSAR hesaplamaları tekrarlanmış ve tatminkar sonuçlar elde edilmiş. 4D-QSAR hesaplamalarından ortaya çıkan biyolojik yapının bir parçası olan 3D-PhaM'e göre aktiviteyi azaltan ve artıran gruplar, n01, n02, n11, n12, n29 ve n32 moleküllerinde belirlenmiştir. Ayrıca yapı bazlı olarak serin proteaz enzimine göre moleküler docking yapılmıştır. Öncelikle protein veri bankasından (PDB: 5CE1) TMRSS4'e göre FlexX docking programı ile ortaya çıkan bağlanma bölgesi 3D-PhaM'i doğrulamıştır.

4.3. Pirimidin Türev Serisi

Üçüncü bir seri olarak ele alınan pirimidin türevlerinden 65 adet bileşik tekrar olarak 4D-QSAR incelemeleri ile siklooksijenaz enzimine ait 3D-PhaM yapısı incelenmiştir. 4D-QSAR hesaplamalarında biyo-yapının parçaları olan Pha, AG ve APS grupları n01 ve n37 nolu moleküllere göre ortaya çıkarılmıştır. Enzimin etkileşim noktaları 3 boyutlu olarak ligand-bazlı inceleme ile gösterilmiştir. Ayrıca yapı-bazlı olarak moleküler docking işlemi enzime göre en aktif molekül kullanılarak yapılmıştır. Yeniden 4D-QSAR çalışmalarının doğruluğu ortaya konmuştur.

Tablo 4.1. Çalışılan üç seri için bulunan en iyi sonuçlar

Seri- Türev adı	En iyi tanımlayıcı	q^2	r^2
1.Seri-Tiyazol türev seti	Natural HOMO Klopman	0,789	0,785
2.Seri-2-hidroksidiarilamit türev seti	Elektrostatik HOMO Klopman	0,998	0,993
3.Seri- Pirimidin türev seti	Mulliken HOMO Klopman	0,865	0,861

Yukarıda belirtilen birbirinden farklı 3 adet molekül serisi için hem ligand-bazlı hem de yapı-bazlı çalışmalar birbirini doğrulamıştır. Bu çalışmada en önemli sonuç; QSAR çalışmalarında yeni bir tanımlayıcı Klopman indeksinin ilk olarak tarafımızdan bu seri için uygulanmasıdır ve tanımlayıcının gücünün gösterilmesidir. Kimyadaki moleküller arasındaki reaksiyonlarda etkileşim mekanizmasını açıklamak için güvenle kullanılan

bu indeksin, L-R arasındaki üç boyutlu bir etkileşim için kullanılması oldukça önemli bir gelişmedir. Ayrıca moleküler docking sonuçlarının eklenmesi, ileri sürülen 3D-PhaM yapısını desteklemiş olması gösterir ki; QSAR çalışmalarında Klopman indeksi, yaygın olarak kullanılan bir tanımlayıcı olma yeteneğine sahiptir. Klopman indeksi bir tanımlayıcı olarak MCET programı içerisinde özel bir algoritma ile kullanılmaktadır.

Her üç seride 4D-QSAR incelemelerinde karşılaşılan bazı sorunlar, MCET algoritmasındaki düzenlemeler ile aşılmış ve program daha olgun hale getirilmiştir. MCET programının güvenilirliği DOCKING çalışmalarıyla da ayrıca doğrulanmış ve hemen hemen aynı sonuçlar elde edilmiştir. MCET'in başarısı diğer uluslararası QSAR 'paket' programları ile rekabet edecek seviyeye geldiği görülmüştür. Herhangi bir docking hesaplamasına gerek duymadan MCET ile elde edilen 3D-PhaM yapıları araştırmacılar tarafından doğrudan kullanılabilir.

Her üç serideki bileşiklere ait üç ayrı 3D-PhaM yapısı kullanılarak yeni bileşiklerin biyo-aktiviteleri hesaplanabilir.

Bu çalışmada, 4D-QSAR ve moleküler docking yöntemleri ilk defa bu üç türev serisini incelemek için aynı anda uygulanmıştır. 4D-QSAR çalışması, Tablo 3.16'da gösterildiği gibi yüksek q^2 ve r^2 gibi istatistiksel olarak anlamlı prediktif sonuçlar vermiştir. Ayrıca üç seri içinde moleküler docking analizleri sonucu elde edilen 3 boyutlu topoloji yapılar ile MCET metodu sonucu elde edilen 3D-Pham yapıları arasında iyi bir tutarlılık bulunmuştur. Ayrıca, birleşik bir 4D-QSAR ve moleküler docking çalışmasının, hedeflerin ve ligandların etkileşim mekanizmalarını anlamak için daha yararlı bilgiler sağlayabileceğini göstermektedir. Bu bulgular ilaç gelişiminde çalışılan tiyazol, 2-hidroksidiarilamit ve pirimidin serilerinin iyi bir inhibitör özelliğinin olduğundan dolayı büyük bir öneme sahiptir.

KAYNAKÇA

1. Tang, Y., Zhu, W., Chen, K., Jiang, H., 2006. New technologies in computer-aided drug design: toward target identification and new chemical entity discovery. **Drug Discovery Today: Technologies** 3: 307–313.
2. DiMasi, J.A., Hansen, R.W., Grabowski, H.G., 2003. The price of innovation: new estimates of drug development costs. **Journal. Health Economics**, 22: 151–185.
3. Cohen, M.S., Zhang, C., Shokat, K.M., Taunton, J., 2005. Structural bioinformatics-based design of selective, irreversible kinase inhibitors. **Science**, 308: 1318–132.
4. Hajduk, P.J., Hajduk, P.J., Huth, J.R., Tse, C., 2005. Predicting protein druggability. **Drug Discovery Today**, 10: 1675–1682.
5. Hansch, C., Muir, R.M., Fujita, T., Maloney, P.P., Geiger, E., Streich, M., 1963. The correlation of biological activity of plant growth regulators and chloromycetin derivatives with Hammett constants and partition coefficients. **Journal of the American Chemical Society**, 18: 2817-2824.
6. Ghose, A.K., Crippen, G.M., 1985. Gemometrically fesaible binding modes of a flexible ligand molecule at the receptor site. **Journal of Computational Chemistry**, 6: 350-359.
7. Wermuth, C.G., Langer, T., 1993. Pharmacophore identification, in 3D QSAR in drug design, theory, methods and applications, 117-136. Ed: Kubinyi, H. ESCOM, Leiden, The Netherlands.
8. Debnath, A.K., 2001. Quantitative structure-activity relationship (QSAR) paradigm–Hansch Era to New Millennium. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**, 1: 187-195.
9. <http://chemistry.illinoisstate.edu/standard/che38037/handouts/380.37confsear ch1.pdf>. (Erişim Tarihi: 10/07/2019)
10. Lengauer, T., Rarey, M., 1996. Computational methods for biomolecular docking. **Current Opinion in Structural Biology**, 6 (3): 402-406.

11. Kayaalp, O., 2000. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 1, 1-199.
12. Ho, C., 2003. Drug design methodologies. (Web sayfası: <http://www.newdrugdesign.com>). (Erişim Tarihi: 10/07/2019)
13. Kaymakçalan, Ş., 1970. Genel Farmakoloji, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara.
14. <http://netsci.org/scgi-bin/Courseware/Drugs/Intro/top.html>. (Erişim Tarihi: 10/07/2019)
15. Danishuddin, M, Khan, A. U., 2015. Structure based virtual screening to discover putative drug candidates: necessary considerations and successful case studies. **Methods**, **71**: 135–145.
16. Danishuddin, M., Khan, A. U., 2015. Virtual screening strategies: a state of art to combat with multiple drug resistance strains. **MedCrave Online Journal of Proteomics & Bioinformatics**, **2** (2): 00042.
17. Shahlaei, M., 2013. Descriptor selection methods in quantitative structure–activity relationship studies: a review study. **Chemical Reviews**, **113**: 8093–8103.
18. Murgueitio, M. S., Bermudez, M., Mortier, J., Wolber, G., 2012. In silico virtual screening approaches for anti-viral drug discovery. **Drug Discovery Today: Technologies**, **9** (3): 219-225.
19. Khan, A.U., 2016. Descriptors and their selection methods in QSAR analysis: paradigm for drug design. **Drug Discovery Today**, **21**: 1291–1302.
20. Schneider, G., Fechner, U., 2005. Computer-based de novo design of drug-like molecules. **Nature Reviews Drug Discovery**, **4**: 649–663.
21. Yu, W., Guvench, O., MacKerell, A. D., 2013. Computational approaches for the design of protein–protein interaction inhibitors. In: Zinzalla, G., editor. Understanding and exploiting protein–protein interactions as drug targets. London, UK: Future Science Ltd; p. 99-102.
22. McCarthy, D. J., 1999. Computational approaches to structure-based ligand design. **Pharmacology & Therapeutics**, **84**: 179–191.

23. Yu, W., Mackerell, A.D., 2017. Computer-Aided Drug Design Methods. **Methods in Molecular Biology**, 1520: 93–94.
24. Sargutan, A.E., 2005. Sağlık teknolojisi yönetimi. (Web sayfası: <http://vizyon2023.tubitak.gov.tr/teknolojiongorusu/paneller/raporozet/saglik.pdf>) (Erişim Tarihi: 10/07/2019)
25. Allen, B.R., 1994. An introduction to molecular modeling. **Mathematech**, 1: 83.
26. 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.
27. Wang, S., He, C., Hashemi, T., Bayne, M., 1997. Cloning and expressional characterization of a novel galanin receptor. Identification of different pharmacophores within galanin for the three galanin receptor subtypes. **Journal of Biological Chemistry**, 272 (3): 1949–52.
28. <http://fred.hmc.psu.edu/ds/retrieve/fred/meshdescriptor/D013329>. (Erişim Tarihi: 10/07/2019)
29. Fischer, E., 1894. Einfluss der Configuration auf die Wirkung der Enzyme. **Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft**, 27: 2984–2993.
30. Hansch, C., Fujita, T., 1964. p–s–p Analysis. A method for the correlation of biologicalactivity and chemical structure. **Journal of the American Chemical Society**, 86: 1616–1626
31. Free, S.M., Wilson, J.W., 1964. A mathematical contribution to structure–activity studies. **Journal of Medicinal Chemistry**, 7: 395–399.
32. Lill, M.A., 2007. Multi-dimensional QSAR in drug discovery. **Drug Discovery Today**, 12: 1013–1017.
33. http://www.medicalglossary.org/structureactivity_relationship_quantitative_structureactivity_relationship_definitions.html. (Erişim Tarihi: 10/07/2019)
34. Kubinyi, H., 2002. From narcosis to hyperspace: The history of QSAR. **Quantitative Structure-Activity Relationships**, 21: 348-356.

35. Loo, G., Jianhong, C., 2000. QSAR and drug design. (Web sayfası: http://www.biochem.vt.edu/courses/modeling/qsar_drug..html). (Erişim Tarihi: 10/07/2019)
36. Türkmenoğlu, B., 2013. Benzodiazepin GABAA Reseptöründe Flavonoid Bağlanmalarının MCET Metoduyla 4D-QSAR İncelenmesi. Erciyes Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 107.
37. Fruhbeis, H., Klein, R., Wallmeier, H., 1987. Computer-assisted molecular design (CAMD): An overview. **Angewandte Chemie International Edition**, **26**: 403-418.
38. Kubinyi, H., 1997. QSAR and 3D QSAR in drug design. **Drug Discovery Today**, **2**: 457-467.
39. Kubinyi, H., 1993. QSAR: Hansch analysis and related approaches. **Methods and Principles in Medicinal Chemistry**, **1**.
40. 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.
41. http://molvis.chem.indiana.edu/C687_S99/lecture4.html
42. Fujita, T., Ban, T., 1971. Structure-Activity Study of Phenethylamines as Substrates of Biosynthetic Enzymes of Sympathetic Transmitters. **Journal of Medicinal Chemistry**, **14**: 148–152.
43. 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.
44. Perkins, R., Fang, H., Tong, W., Welsh, W. J., 2003. Quantitative structure-activity relationship methods: perspectives on drug discovery and toxicology. **Environmental Toxicology and Chemistry**, **22** (8): 1666-1679.
45. David, R., Tripos, L., 1997. HQSAR: A new highly predictive QSAR technique. **Tripos Technical Notes**, **1** (5), 1-17.
46. <http://chemistry.illinoisstate.edu/standard/che38037/handouts/380.37confsearch1.pdf>. (Erişim Tarihi: 10/07/2019)

47. Myint, K.Z., Xie, X.Q., 2010. Recent advances in fragment-based QSAR and multi-dimensional QSAR methods. **International Journal of Molecular Sciences**, **11**: 3846–3866.
48. 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.
49. Labute, P., 1999. Binary QSAR: A new method for the determination of quantitative structure activity relationships. **Pacific Symposium on Biocomputing**, 444–455
50. 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.
51. Kubinyi, H., Folkers, G., Martin, Y.C., 1998. 3D-QSAR in drug design-Recent advances. **Perspectives in Drug Discovery and Design**, **12**: R5– R7.
52. Hopfinger, A.J., Wang, S., Tokarski, J. S., Jin, B., Albuquerque, M., Madha, P. J., 1997. Construction of 3D-QSAR models using the 4D-QSAR analysis formalism. **Journal of the American Chemical Society**, **119**: 10509–10524
53. Ekins, S., Bravi, G., Binkley, S., Gillespie, J.S., Ring, B.J., Wikel, J.H., Wrighton, S.A., 2000. Three-and four-dimensional-quantitative structure activity relationship (3D/4D-QSAR) analyses of CYP2C9 inhibitors. **Drug Metabolism & Disposition**. **28**: 994–1002.
54. Vedani, A., Briem, H., Dobler, 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** (23): 4416–4427.
55. Lukacova, V., Balaz, S., 2003. Multimode ligand binding in receptor site modeling: implementation in CoMFA. **Journal of Chemical Information and Computer Sciences**. **43** (6): 2093–2105.

56. Kubinyi, H., Comparative Molecular Field Analysis (CoMFA), BASF AG, D-67056 Ludwigshafen Germany. (<http://www.wiley.com/legacy/wileychi/ecc/samples/sample05.pdf>). (Erişim Tarihi: 10/07/2019)
57. 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.
58. 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.
59. Richon, A.B., Young, S.S., 1997. Network science an introduction to QSAR methodology. (Web sayfası: <http://www.netsci.org/Science/Compchem/feature19.html>). (Erişim Tarihi: 10/07/2019)
60. Hopfinger, A.J., 1980. A QSAR investigation of dihydrofolate reductase inhibition by Baker triazines based upon molecular shape analysis. **Journal of the American Chemical Society**, **102** (24): 7196–7206.
61. 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.
62. Hou, T., Li, Y., Liao, N., Xu, X., 2000. Three-dimension quantitative structure-activity relationship analysis of some cinnamamides using comparative molecular similarity indices analysis (CoMSIA). **Journal of Molecular Modeling**, **6**: 438–445.
63. 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.
64. http://www.genomicglossaries.com/content/molecular_modeling_gloss.asp (Erişim Tarihi: 10/07/2019)

65. Smith, C., 1998. Molecular modeling -seeing the whole picture with modeling software packages. **Scientist**, **12**: 17-31.
66. Gund, T., 1996. Molecular modelling of small molecules. **In Guidebook on Molecular Modeling in Drug Design, Cohen**, 55-92.
67. Andrew, R., Leach, V., Gillet J., Glaxosmithkline research and Development, Stevenage. **An Introduction to Cheminformatics**, ISBN 978-1-4020-6291-9 (e-book).
68. Berman, H.M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T.N., Weissig, H., Shindyalov, L.N., Bourne, P.E., 2000. The protein data bank. **Nucleic Acids Research**, **28**: 235-242.
69. Bersuker, I.B., 2003. Pharmacophore identification and quantitative bioactivity prediction using the electron-conformational method. **Current Pharmaceutical Design**, **9**: 1575-1606.
70. 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.
71. Cosentino, U., Moro, G., Pitea, D., Scolastico, S., Todeschini, R., Scolastico, C., 1992. Pharmacophore identification by molecular modeling and chemometrics, the case of HMG-CoA reductase inhibitors. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, **6**: 47-60.
72. 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.
73. 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.
74. Klopman, G., 1968. Chemical reactivity and the concept of charge- and frontier-controlled reactions. **Journal of the American Chemical Society**, **90** (2): 223-231.

75. Klopman, G., 1974. Chemical Reactivity and Reaction Paths, John Wiley & Sons, Ltd, New York.
76. Yilmaz, H., Güzel Y., Önal, Z., Altıparmak, G., Kocakaya S.O., 2011. 4D-QSAR study of p56(lck) protein tyrosine kinase inhibitory activity of flavonoid derivatives using MCET method. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, 32 (12): 4352-4360.
77. Yilmaz H., Boz, M., Türkmenoğlu, B., Güzel, Y., 2014. Pharmacophore and functional group identification of 4,4'-dihydroxydiphenylmethane as bisphenol-A (BSA) derivative. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, 13 (1): 117-129.
78. Güzel, Y., Aslan, E., Türkmenoğlu, B., Su, E.M., 2018. 4D-QSAR studies Using a new descriptor of the Klopman index: antibacterial activities of sulfone derivatives containing 1, 3, 4-oxadiazole moiety based on MCET model. **Current Computer Aided Drug Design**, 14 (3): 207-220.
79. 4D-QSAR Study of Flavonoid Derivatives with MCET Method. Türkmenoğlu B., Yilmaz H., Su E. M. , Alp Tokat T., Güzel Y.
80. Türkmenoğlu, B., Güzel, Y., 2018. Molecular docking and 4D-QSAR studies of metastatic cancer inhibitor thiazoles. **Computational Biology and Chemistry**, 76: 327-337.
81. Thomsen, R., Christensen, M.H., 2006. Computational analyses of docosahexaenoic acid (DHA, C22:6, n-3) with alzheimer's disease-causing amyloid peptide A β 1-42 reassures its therapeutic utility. **Journal of Medicinal Chemistry**, 49: 3315–3321.
82. Jung, H., Lee, K.P., Park, S.J., Park, J.H. and et al, 2008. TMPRSS4 promotes invasion, migration and metastasis of human tumor cells by facilitating an epithelial-mesenchymal transition. **Oncogene**, 27: 2635–2647.
83. Gajo, G.C., Silva, D.R., Barigye, S.J., da Cunha, E.F.F., 2018. Multi-objective optimization of benzamide derivatives as rho kinase inhibitors. **Molecular Informatics**, 37: 1700080.

84. Zheng, S., Zhong, Q., Jiang, Q., Mottamal, M., Zhang, Q., Zhu, N., Burrow, M.E., Worthylake, R.A., Wang, G., 2013. Discovery of a series of thiazole derivatives as novel inhibitors of metastatic cancer cell migration and invasion. **ACS Medicinal Chemistry Letters**, **4**: 191–196.
85. Sunghyun, K., Hye-Jin, M., Min-Seo, K., Myung-Geun, J., Semi, K., 2013. Discovery of novel 2-hydroxydiarylamide derivatives as TMPRSS4 inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, **23**: 1748-1751.
86. Abdalla, M.M., Al-Omar, M.A., Al-Salahi, R.A., Amr, A.G., Sabrye, N.M., 2012. A new investigation for some steroidal derivatives as anti-Alzheimer agents. **International Journal of Biological Macromolecules**, **51**: 56–63.
87. Parsons, J., Holmes, J.B., Rojas, J.M., Tsai, J., Strauss, C.E., 2005. Practical conversion from torsion space to cartesian space for in silico protein synthesis. **Journal of Computational Chemistry**, **26**: 1063-1068
88. 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.
89. Dimoglo, A. S., 1987. The electron-topological approach in the search and design of biologically active compounds. Thesis of Doctor of Sciences.
90. Kennard, R.W., Stone, L., 1969. Computer aided design of experiments. **Technometrics**, **11**: 137–148.
91. Zupan, J., Novic, M., Ruisánchez, I., 1997. Kohonen and counterpropagation artificial neural networks in analytical chemistry. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, **38**: 1-23.
92. Mitchell, T.J., 1974. An algorithm for the construction of “D-Optimal” experimental designs. **Technometrics**, **16**: 203–210.
93. Snarey, M., Terrett, N.K., Willett, P., Wilton, D.J., 1997. Comparison of algorithms for dissimilarity-based compound selection. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, **15**: 372–385.
94. Gobbi, A., Lee, M.L., 2003. DISE: Directed sphere exclusion. **Journal of Chemical Information and Computer Sciences**, **43**: 317–323.

95. Niu, M.M., Qin, J.Y., Tian, C.P., Yan, X.F. and et al., 2014. Tubulin inhibitors: pharmacophore modeling, virtual screening and molecular docking. **Acta Pharmacologica Sinica**, **35**: 967–979.
96. Su, E.M., Turkmenoglu, B., Guzel, Y., 2016. 3D biostructure visualisation using 4D-QSAR model for substitute ureas binding at the Raf-1 kinase receptor site. **International Journal of Innovative Studies in Sciences and Engineering Technology**, **2** (12): 67-75.
97. Kim, K.H., 1993. Nonlinear dependence in comparative molecular field analysis. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, **7**: 71-82.
98. Mitra, S.P., 2009. Drug–receptor interaction: pharmacology, binding and thermodynamics–A Review. **Journal of Surface Science and Technology**, **25**: 103-152.
99. Salem, L. 1968. Intermolecular orbital theory of the interaction between conjugated systems. I. General theory; II. Thermal and photochemical calculations. **Journal of the American Chemical Society**, **90**: 543–552 & 553–566.
100. LoPachin, R.M., Gavin, T. 2016. Reactions of electrophiles with nucleophilic thiolate sites: relevance to pathophysiological mechanisms and remediation. **Free Radical Research**, **50**: 195–205.
101. Doichinova, I.A., Natcheva, R.N., Mihailova, D.N., 1994. QSAR studies of 8-substituted xanthines as adenosine receptor antagonists. **European Journal of Medicinal Chemistry**, **29**: 133–138
102. Poleshchuk, O.K., Branchadell, V., Brycki, B., Fateev, A.V., Legon, A.C., 2006. HFI and DFT study of the bonding in complexes of halogen and interhalogen diatomics with Lewis base. **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, **760**: 175-182.
103. Stone, A.J., 1993. Computation of charge-transfer energies by perturbation theory. **Chemical Physics Letters**, **211**: 101-109.
104. Amos, R.D., Alberts, I.L., Andrews, J.S et al., 2001. The Cambridge Analytic Derivatives Package. University of Cambridge, Cambridge.

105. Kone, M., Illien, B., Groton, J., Laurence, C., 2005. B3LYP and MP2 calculations of the enthalpies of hydrogen-bonded complexes of methanol with neutral bases and anions: comparison with experimental data. **Journal of Physical Chemistry A**, **109**: 11907-11913.
106. Tirgar, A., Golbabaie, F., Hamed, J., Nourijelyani, K., 2011. Removal of airborne hexavalent chromium using alginate as a biosorbent. **International Journal of Environmental Science and Technology**, **8**: 237-244.
107. Beildeck, C.L., Steel, W.H., Walker, R.A., 2003. Surface effects on solvation characterization, and intra-molecular complications. **Langmuir**, **19**: 4933-4939.
108. El Malki, Z., Bouachrine, M., Hamidi, M., Serein-Spirau, F., Lere-Porte, J.P., Marc Sotiropoulos, J., 2016. Theoretical study of new donor- π -acceptor compounds based on carbazole, thiophene and benzothiadiazole for photovoltaic application as dyesensitized solar cells. **Journal of Materials and Environmental Science**, **7**: 3244-3255.
109. Trapani, G., Franco, M., Latrofa, A., Genchi, G., Liso, G. 1992. Synthesis and benzodiazepine receptor binding of some 4H-pyrimido [2,1-b] benzothiazol-4-ones. **European Journal of Medicinal Chemistry**, **27**: 39-44.
110. Fukui, K., Fujimoto, H., 1966. The transition state of the claisen and the cope rearrangements. **Tetrahedron Letters**, **7** (2): 251-255.
111. Hoffmann, R., Woodward, R.B., 1965. Orbital symmetries and endo-exo relationships in concerted cycloaddition reactions. **Journal of the American Chemical Society**, **87** (19): 4388-4389.
112. Sauer, S., 1967. Diels-alder reactions II: The reaction mechanism. **Angewandte Chemie International Edition**, **6**: 16-33.
113. Morell, C., Grand, A., Toro-Labbé, A., 2007. Using the reactivity-selectivity descriptor $\Delta f(r)$ in organic chemistry. **Theoretical Aspects of Chemical Reactivity**, **19**: 101-117.

114. Damoun, S., Woude, G.V., Me'ndez, F., Geerlings, P. J., 1997. Local softness as a regioselectivity indicator in [4+2] cycloaddition reactions. **Journal of Physical Chemistry A**, **101**: 886–893.
115. Warren, G.L., Do, T.D., Kelley, B.P., Nicholls, A., Warren, S.D., 2012. Essential considerations for using protein-ligand structures in drug discovery. **Drug Discovery Today**, **17**: 1270–81.
116. Merz, K.M., Ringe, D., Reynolds, C.H., 2010. Drug design: Structure- and ligand-based approaches. New York: Cambridge University Press.
117. Pei, J., Yin, N., Ma, X., Lai, L., 2014. Systems biology brings new dimensions for structure-based drug design. **Journal of the American Chemical Society**, **136**: 11556–11565.
118. Sliwoski, G., Kothiwale, S., Meiler, J., Lowe, E.W., 2014. Computational methods in drug discovery. **Pharmacological Reviews**, **66**: 334–395.
119. Chen, Y.C., 2015. Beware of docking! **Trends in Pharmacological Sciences**, **36** (2): 78–95.
120. Pagadala, N.S. Syed, K., Tuszynski, J., 2017. Software for molecular docking: a review. **Biophysical Review**, **9**: 1–102.
121. Rarey, M., Kramer, B., Lengauer, T., Klebe, G., 1996. A fast, flexible docking method using an incremental construction algorithm. **Journal of Molecular Biology**, **261**: 470–489.
122. Kramer, B., Rarey, M., Lengauer, T., 1999. Evaluation of the FlexX incremental construction algorithm for protein-ligand docking. **Proteins**, **37**: 228–241.
123. Bohm, H.J., 1994. The development of a simple empirical scoring function to estimate the binding constant for a protein–ligand complex of known three-dimensional structure. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, **8**: 243–256.
124. Fischer, D., Lin, S.L., Wolfson, H.L., Nussinov, R., 1995. A geometry-based suite of molecular docking processes. **Journal of Molecular Biology**, **248**: 459–477.

125. Kuntz, I.D., Blaney, J.M., Oatley, S.J., Langridge, R.L., Ferrin, T.E., 1982. A geometric approach to macromolecule–ligand interactions. **Journal of Molecular Biology**, **161**: 269–288.
126. Linnainmaa, S., Harwood, D., Davis, L.S., 1988. Pose determination of a three-dimensional object using triangle pairs. **IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence**, **10** (5): 634–646.
127. Olson, C.F., 1994. Time and space efficient pose clustering. In IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition, pp. 251–258, IEEE Computer Society Press, Seattle, Washington.
128. Ceylan, M., Akdoğan, N., Yeni Bir Sınıf (2-(2-Stirilsiklopentil)Benzo[D]Tiyazol) Türevlerinin Sentezi ve İn Vitro Antikanser Antiproliferatif) Aktivitelerinin İncelenmesi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Proje No: 2011/106, Ağustos, 2013.
129. Tashiro, T., Osada, K., Mori, K., 2008. Syntheses of 2-isopropyl-4,5-dihydrothiazole and 6-hydroxy-6-methyl-3-heptanone, pheromone components of the male mouse, *Mus musculus*. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, **72**: 2398–2402.
130. <http://www.genbilim.com/fen-bilimleri/tip/metastaz-nedir/> (Erişim Tarihi: 10/07/2019)
131. Gunawardana, G.P., Kohmoto, S., Gunesakara, S.P., McConnel, O.J., Koehn, F.E., 1998. Dercitin, a new biologically active acridine alkaloid from a deep-water marine sponge, *dercitus* species. **Journal of the American Chemical Society**, **110**: 4856–4858.
132. Gunawardana, G.P., Kohmoto, S., Burren, N.S., 1989. New cytotoxic acridine alkaloids from two deep water marine sponges of the family Pachastrellidae. **Tetrahedron Letters**, **30**: 4359–4362.
133. Gunawardana, G.P., Koehn, F.E., Lee, A.Y., Clardy, J., He, H.Y., Faulkner, J.D., 1992. Pyridoacridine alkaloids from deep-water marine sponges of the Family Pachastrellidae: structure revision of dercitin and related compounds and correlation with the kuanoniamines. **Journal of Organic Chemistry**, **57**: 1523–1526.

134. Carroll, A.R., Scheuer, P.J., 1990. Kuanoniamines A, B, C, and D: pentacyclic alkaloids from a tunicate and its prosobranch mollusk predator *Chelynotus semperi*. **Journal of Organic Chemistry**, 55: 4426–4431.
135. Hai-Bo, S., Shi-Jie, Z., Qiu-Fu, G., Dian-Wu, G., Chao-Ming, C., WeiXiao, H., 2010. Synthesis and anticancer evaluation of thiazolylchalcones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 20: 6555–6559.
136. Metzger, J.V., in: Katritzky, A.R. Rees, C.W. (Eds.), 1984. Comprehensive Heterocyclic Chemistry, vol. 6, Pergamon, New York, 235-332; (b) Wen-Long, W., De-Yong, Y., Min, G., Min-Zhi, F., Jing-Ya, L., Ya-Cheng, X., Fa-Jun, N., 2015. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 15: 5284-5287.
137. Al-Saadi, M.S., Faidallah, H.M., Rostom, A.F., 2008. Synthesis and biological evaluation of some 2,4,5-trisubstituted thiazole derivatives as potential antimicrobial and anticancer agents. **Archiv der Pharmazie–Chemistry in Life Science**, 341: 424-434.
138. Chambers, A.F., Groom, A.C., MacDonald, I.C., 2002. Metastasis: Dissemination and growth of cancer cells in metastatic sites. **Nature Reviews Cancer**, 2: 563–572.
139. Fidler, I.J., 2003. The pathogenesis of cancer metastasis: the ‘seed and soil’ hypothesis revisited. **Nature Reviews Cancer**, 3: 453–458.
140. Hanahan, D., Weinberg, R.A., 2011. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell**, 144: 646–674.
141. Jakowlew, S.B., 2006. Transforming growth factor-beta in cancer and metastasis. **Cancer and Metastasis Reviews**, 25: 435–457.
142. Arteaga, C.L., Coffey, R.J, Jr, Dugger, T.C., McCutchen, C.M., Moses, H.L., Lyons, R.M., 1990. Growth stimulation of human breast cancer cells with anti-transforming growth factor beta antibodies: evidence for negative autocrine regulation by transforming growth factor beta. **Cell Growth & Differentiation**, 1: 367–374.

143. Glick, A.B., Flanders, K.C., Danielpour, D., Yuspa, S.H., Sporn, M.B., 1989. Retinoic acid induces transforming growth factor β 2 in cultured keratinocytes and mouse epidermis. **Cell Regulation**, **1**: 617–626.
144. Wu, S.P., Sun L-Z., Willson, J.K.V., Humphrey, L.E., Kerbel, R., Brattain, M.G., 1993. Repression of autocrine transforming growth factor beta 1 and beta 2 in quiescent CBS colon carcinoma cells leads to progression of tumorigenic properties. **Cell Growth Differ**, **4**: 115–123.
145. Pelosi, G., Pasini, F., Fraggetta, F., Pastorino, U., Iannucci, A., Maisonneuve, P., Arrigoni, G., De Manzoni, G., Bresaola, E., Viale, G., 2003. Independent value of fascin immunoreactivity for predicting lymph node metastases in typical and atypical pulmonary carcinoids. **Lung Cancer**, **42** (2): 203–213.
146. Vignjevic, D., Schoumacher, M., Gavert, N., Janssen, K.-P., Jih, G., Laé, M., Louvard, D., Ben-Ze'ev, A., Robine, S., 2007. Fascin, a novel target of β -catenin-TCF signaling, is expressed at the invasive front of human colon cancer. **Cancer Research**, **67** (14): 6844–6853.
147. Darnel, A. D., Behmoaram, E., Vollmer, R. T., Corcos, J., Bijian, K., Sircar, K., Su, J., Jiao, J., Alaoui-Jamali, M. A., Bismar, T. A., 2009. Fascin regulates prostate cancer cell invasion and is associated with metastasis and biochemical failure in prostate cancer. **Clinical Cancer Research**, **15** (4): 1376–1383.
148. Yoder, B.J., Tso, E., Skacel, M., Pettay, J., Tarr, S., Budd, T., Tubbs, R. R., Adams, J.C., Hicks, D.G., 2005. The expression of fascin, an actin-bundling motility protein, correlates with hormone receptor–negative breast cancer and a more aggressive clinical course. **Clinical Cancer Research**, **11**: 186–192.
149. Al-Alwan, M., Olabi, S., Ghebeh, H., Barhoush, E., Tulbah, A., Al-Tweigeri, T., Ajarim, D., Adra, C., 2011. Fascin is a key regulator of breast cancer invasion that acts via the modification of metastasis-associated molecules. **PLoS One**, **6**: e27339.
150. Hashimoto, Y., Kim, D.J., Adams, J.C., 2011. The roles of fascins in health and disease. **Journal of Pathology**, **224**: 289–300.

151. Jayo, A., Parsons, M., 2010. Fascin: a key regulator of cytoskeletal dynamics. **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, **42**: 1614–1617.
152. Chen, L., Yang, S., Jakoncic, J., Zhang, J.J., Huang, X.Y., 2010. Migrastatin analogues target fascin to block tumour metastasis. **Nature**, **464**: 1062–1066.
153. Kraft, R., Kahn, A., Medina-Franco, J.L., Orlowski, M.L., Baynes, C., López-Vallejo, F., Barnard, K., Maggiora, G.M., Restifo, L.L., 2013. A cell-based fascin bioassay identifies compounds with potential anti-metastasis or cognition-enhancing functions. **Disease Models & Mechanisms**, **6**: 217–235.
154. Roy, P.P., Roy, K., 2008. On some aspects of variable selection for partial least squares regression models. **QSAR & Combinatorial Science**, **27**: 302–313.
155. World Health Organization. WHO "Cancer". (February 2006). Retrieved on 2009-02-12.
156. Lee, I.Y., Gruber, T.D., Samuels, A., Yun, M., Nam, B., Kang, M., Crowley, K., Winterroth, B., Boshoff, H.I., Barry, C.E., 2013. Structure-activity relationships of antitubercular salicylanilides consistent with disruption of the proton gradient via proton shuttling. **Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters**, **21**: 114–126.
157. Hye-Jin, M., Myung, L., Jung Weon, L., Semi, K., 2014. TMPRSS4 induces cancer cell invasion through pro-uPA processing. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, **446**: 1–7.
158. Hooper, J.D., Clements, J.A., Quigley, J.P., Antalis, T.M., 2001. Type II Transmembrane serine proteases. Insights into an emerging class of cell surface proteolytic enzymes. **Journal of Biological Chemistry**, **276**: 857–860.
159. Netzel-Arnett, S., Hooper, J.D., Szabo, R., Madison, E.L., Quigley, J.P., Bugge, T.H., Antalis, T.M., 2003. Membrane anchored serine proteases: a rapidly expanding group of cell surface proteolytic enzymes with potential roles in cancer. **Cancer Metastasis Reviews**, **22**: 237–258.

160. Szabo, R.; Wu, Q.; Dickson, R.B.; Netzel-Arnett, S. Antalis, T.M. Bugge, T.H. Type II transmembrane serine proteases. *Thromb. Haemostasis*. 2003, 90, 185–193.
161. Szabo, R., Bugge, T.H., 2008. Type II transmembrane serine proteases in development and disease. **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, **40**: 1297–1316.
162. Webb, S.L., Sanders, A.J., Mason, M.D., Jiang, W.G., Type II transmembrane serine protease (TTSP) deregulation in cancer. **Frontiers in Bioscience (Landmark Ed)**, **16**: 539–552.
163. Wallrapp, C., Hahnel, S., Muller-Pillasch, F., Burghardt, B., Iwamura, T., M., Ruthenburger, M., Lerch, M.M., Adler, G., Gress, T.M., 2000. A novel transmembrane serine protease (TMPRSS3) overexpressed in pancreatic cancer. **Cancer Research**, **60**: 2602–2606.
164. Kebebew, E., Peng, M., Reiff, E., Duh, Q.Y., Clark, O.H., McMillan, A., 2005. ECM1 and TMPRSS4 are diagnostic markers of malignant thyroid neoplasms and improve the accuracy of fine needle aspiration biopsy. **Annals of Surgery**, **242**: 353–361.
165. Kim, S., Kang, H.Y., Nam, E.H., Choi, M.S.; Zhao, X.F., Hong, C.S., Lee, J.W. Lee, J.H., Park, Y.K., 2010. TMPRSS4 induces invasion and epithelial-mesenchymal transition through upregulation of integrin alpha5 and its signaling pathways. **Carcinogenesis**, **31**: 597–606.
166. Larzabal, L., Nguewa, P.A., Pio, R., Blanco, R., Sanchez, B., Rodriguez, M.J., Pajares, M.J., Catena, R., Montuenga, L.M., Calvo, A., 2011. Overexpression of TMPRSS4 in non-small cell lung cancer is associated with poor prognosis in patients with squamous histology, *Br. Journal of Cancer*, **105**:608–1614.
167. Jung, H., Lee, K.P., Park, S.J., Park, J.H., Jang, Y.S., Choi, S.Y., Jung, J.G., Jo, K., Park, D.Y., Yoon, J.H., Lim, D.S., Hong, G.R., Choi, C., Park, Y.K., Lee, J.W., Hong, H.J., Kim, S., Park, Y.W., 2008. TMPRSS4 promotes invasion, migration and metastasis of human tumor cells by facilitating an epithelial-mesenchymal transition. **Oncogene**, **27**: 2635–2647.

168. Özkay, Ü.D., Öztürk, Y., Can, Ö.D., 2011 .Yaşlanan dünyanın hastalığı: Alzheimer hastalığı. **Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi**, **18**: 35-42.
169. Leandro, G.S., Sykora, P., Bohr, V.A., 2015. The impact of base excision DNA repair in age-related neurodegenerative diseases. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, **776**: 31-39.
170. Scarpini, E., Scheltens, P., Feldman, H., 2003. Treatment of Alzheimer's disease: current status and new perspectives. **The Lancet Neurology**, **2**: 539–547.
171. Parihar, M.S., Hemnani, T., 2004. Alzheimer's disease pathogenesis and therapeutic interventions. **Journal of Clinical Neuroscience**, **11**: 456–467.
172. Katritzky, A.R., Xu, Y.J., Tu, H., 2003. Regiospecific synthesis of 3-substituted imidazo [1,2-a]pyridines, imidazo[1,2-a]pyrimidines, and imidazo[1,2-c]pyrimidines. **Journal of Organic Chemistry**, **68**: 4935–4937
173. Rival, Y., Grassy, G., Michel, G., 1992. Synthesis and antibacterial activity of some imidazo[1,2-a]pyrimidine. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, **40**: 1170–1176.
174. Fisher, M.H., Lusi, A., 1972. Imidazo[1,2-a]pyridine anthelmintic and antifungal agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, **15**: 982–985.
175. Hamdouchi, C., de Blas, J., del Prado, M., Gruber, J., Heinz, B.A., Vance, L., 1999. 2-Amino-3- substituted-6-[(E)-1-phenyl-2-(N-methylcarbamoyl) vinyl]imidazo-[1,2-a] pyridines as a novel class of inhibitors of human rhinovirus: Stereospecific synthesis and antiviral activity. **Journal of Medicinal Chemistry**, **42**: 50–59.
176. Lhassani, M., Chavignon, O., Chezal, J.M., Teulade, J.C., Chapat, J.P., Snoeck, R., Andrei, G., Balzarini, J., Clercq, E., De Gueiffier, A., 1999. Synthesis and antiviral activity of imidazo[1,2-a]pyridines. **European Journal of Medicinal Chemistry**, **34**: 271–274.

177. Gueiffier, A., Lhassani, M., Elhakmaoui, A., Snoeck, R., Andrei, G., Chavignon, O., Teulade, J.C., Kerbal, A., Essassi, E.M., Debouzy, J.C., Witvrouw, M., Blache, Y., Balzarini, J., De Clercq, E., Chapat, J.P., 1996. Synthesis of acyclo-C-nucleosides in the imidazo[1,2-a]pyridine and pyrimidine series as antiviral agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, **39**: 2856–2859.
178. Brooks, P.M., 2000. NSAIDs. In: Textbook of Rheumatology (Eds: J.H. Klippel, P.A. Dieppe) 2th ed. London: Harcourt Publisher Ltd, 3.5.1-6.
179. Ardoin, S.P., Sundy, J.S., 2006. Update on nonsteriodal anti-inflammatory drugs. **Current Opinion in Rheumatology**, **18**: 221-26.
180. Vane, J.R., 1971. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. **Nature New Biology**, **231**: 235-37.
181. Çınar, G.M., Erol, A., 2005. COX-2 İnhibitörleri. **Türkiye Klinikleri Journal of Internal Medical Sciences**, **1** (9): 53.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Burçin TÜRKMENOĞLU
Uyruğu: Türkiye (T.C)
Doğum Tarihi ve Yeri: 10.09.1986-Adana
Medeni Durum: Evli
e-mail: burcinturkmenoglu@gmail.com; bkilic@erciyes.edu.tr
Yazışma Adresi: Mevlana Mahallesi Gözde Sokak Yaşampark 3 Konutu
Daire:10 Talas/Kayseri

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü	2013
Lisans	Çukurova Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü	2009
Lise	Yabancı dil ağırlıklı Anafartalar Lisesi, Adana	2005

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2010-Halen	Erciyes Üniversitesi	9 yıl

YABANCI DİL

İngilizce

ARAŞTIRMA ALANLARI

1. Moleküler Docking Çalışmaları
2. 3 Boyutlu İlaç Tasarımı ve Modelleme
3. QSAR (Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi)

4. Hesaplamalı Kimya
5. Fizikokimya
6. Kimya
7. Kuantum kimyası

TEZLER

1. Yüksek Lisans, "BENZODİAZEPİN GABAA RESEPTÖRÜNDE FLAVONOİD BAĞLANMALARININ MCET METODUYLA 4D-QSAR İNCELENMESİ", ERCİYES ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ KİMYA Ağustos, 2013.

YAYINLAR

1. T. Alp Tokat, **B. Türkmenoğlu**, D. Ş. Kızılcı, Y. Güzel "Investigation of 3D Pharmacophore of N-Benzyl Benzamide Molecules of Melanogenesis Inhibitors Using a New Descriptor Klopman Index; Uncertainties in Model", Journal Of Molecular Modeling, vol.25, 2019.
2. Y. Güzel, E. Aslan, **B. Türkmenoğlu** E. M. Su "4D-QSAR Studies Using a New Descriptor of the Klopman Index: Antibacterial Activities of Sulfone Derivatives Containing 1, 3, 4-Oxadiazole Moiety Based on MCET Model", Current Computer-Aided Drug Design, vol.14, pp.1-1, 2018.
3. **B. Türkmenoğlu**, Y. Güzel "Molecular docking and 4D-QSAR studies of metastatic cancer inhibitor thiazoles", Computational Biology and Chemistry, vol.76, pp.327-337, 2018.
4. **B. Türkmenoğlu**, H. Yılmaz, E. M. Su, T. Alp Tokat, Y. Güzel "4D-QSAR Study of Flavonoid Derivatives with MCET Method", International Journal of Chemistry and Technology, vol.1, pp.14-23., 2017.
5. E. M. Su, **B. Türkmenoğlu**, Y. Güzel "3D Biostructure Visualisation Using 4D-QSAR Model for Substitute Ureas Binding at the Raf-1 Kinase Receptor Site", International Journal of Innovative Studies in Sciences and Engineering Technology, vol.2, pp.67-75, 2016

6. H. Yılmaz, **B. Türkmenoğlu**, M. Boz, Y. Güzel "Pharmacophore and Functional Group Identification of 4,4 '-dihydroxydiphenylmethane as Bisphenol-A (BSA) Derivative", Tropical Journal of Pharmaceutical Research, vol.13, pp.117-126, 2014.

ULUSLARARASI KONGRELERDE SUNULAN SÖZLÜ SUNUMLAR

1. H. Karataş, S. Çağlar Yavuz, E. Saripinar, **B. Türkmenoğlu**, Z. Kökbudak "Reactions of Aminoguanidine Derivatives with Dimethyl Acetylenedicarboxylate", 2nd International Scientific and Vocational Studies Congress, BILMES Congres, Nevşehir, Türkiye, 5-8 Temmuz 2018.
2. Y. Güzel, **B. Türkmenoğlu**, D.Ş. Kızılcın "Ligand-based determination of the 3D pharmacophore model of the receptor by non-linear least squares (NLLS) in the MCET method", International Conference on Applied Analysis and Mathematical Modeling, İstanbul, Türkiye, 20-24 Haziran 2018, vol.1, no.1, pp.1-1.
3. D.Ş. Kızılcın, **B. Türkmenoğlu**, Y. Güzel "4D-QSAR Study on Monochloroacetic Acid Derivatives with Antimicrobial", International Eurasian Conference On Biological And Chemical Sciences, Ankara, Türkiye, 26-27 Nisan, 2018, vol.1, no.1, pp.453-453.
4. **B. Türkmenoğlu**, D.Ş. Kızılcın, T. Alp Tokat, Y. Güzel, Z. Kökbudak, "Investigation of Imidazol[1,5A] Pyridine Derivatives as partial Aganists of 5-HT₄ Receptors by MCET Method ", 1nd International Scientific and Vocational Studies Congress, BILMES Congres, Nevşehir, Türkiye, 5-8 Ekim 2017, vol.1, no.1, pp.119-120.
5. D.Ş. Kızılcın, **B. Türkmenoğlu**, T. Alp Tokat, Y. Güzel, Z. Kökbudak, "4D-QSAR Investigation of Aralkyl Diamine Derivatives Used as Potential Triple Reuptake Inhibitors" 1nd International Scientific and Vocational Studies Congress, BILMES Congres, Nevşehir, Türkiye, 5-8 Ekim 2017, vol.1, no.1, pp.121-122.

6. Y. Güzel, E. Aslan, **B. Türkmenoğlu**, E.M. Su "Novel Local Reactivity Descriptor for 4D-QSAR Study on Antibacterial Activity", 3th International Conference on Engineering and Natural Science, Budapeşte, Macaristan, 3-7 Mayıs 2017, vol.1, no.1, pp.337-337.
7. T. Alp Tokat, Y. Güzel, **B. Türkmenoğlu**, E. Aslan, "Pharmacophore and Functional Group Identification of Flavonoid Derivatives with MCET Method", 4.th International BAU Drug Design Congress, İstanbul, Türkiye, 13-15 Ekim 2016, vol.1, no.1, pp.262-262.

ULUSLARARASI KONGRELERDE SUNULAN POSTERLER

1. **B. Türkmenoğlu**, D.Ş. Kızılcın, Y. Güzel, "4D-QSAR and Molecular Docking Studies on Thiosemicarbazones and 1,3-thiazoles with Antitumor Activity", International Conference on Applied Analysis and Mathematical Modeling, İstanbul, Türkiye, 20-24 Haziran 2018, vol.1, no.1, pp.1-1.
2. **B. Türkmenoğlu**, D.Ş. Kızılcın, Y. Güzel, "Molecular Docking and 4D-QSAR STUDIES OF P38 MAP KINASE INHIBITOR", INTERNATIONAL CONFERENCE ON PHYSICAL CHEMISTRY AND FUNCTIONAL MATERIALS (PCFM'18), ELAZIĞ, TÜRKİYE, 19-21 Haziran 2018, vol.1, no.1, pp.1-1
3. S. Akkoç, S. Çağlar Yavuz, **B. Türkmenoğlu**, "Theoretical Calculations And Molecular Docking Study Anticancer Effect Of Synthesized Salt Against Hela Cell Line", " , INTERNATIONAL CONFERENCE ON PHYSICAL CHEMISTRY AND FUNCTIONAL MATERIALS (PCFM'18), ELAZIĞ, TÜRKİYE, 19-21 Haziran 2018, vol.1, no.1, pp.313.
4. **B. Türkmenoğlu**, D.Ş. Kızılcın, Y. Güzel, "Molecular Docking and MCET Method Studies of Hydroxydiarylamide Compounds", INTERNATIONAL EURASIAN CONFERENCE ON BIOLOGICAL AND CHEMICAL SCIENCES, ANKARA, TÜRKİYE, 26-27 Nisan 2018, vol.1, no.1, pp.1265-1265.

5. S. Akkoç, **B. Türkmenoğlu**, S. Çağlar Yavuz 'Synthesized a new organic compound's cytotoxic activity quantum mechanics calculations and docking studies' 2nd NPCPT International Conference on Natural Products for Cancer Prevention and Therapy, 8-11 November 2017, Kayseri/Turkey.
6. **B. Türkmenoğlu**, Yahya Güzel, "4D-QSAR STUDY OF SERINE PROTEASE ACTIVITY OF 2-HYDROXYDYARILAMIDE DERIVATIVES", Innovation in Medicine Summit-3, GAZİANTEP, TÜRKİYE, 11-13 Mayıs 2017, vol.1, no.1, pp.85-85
7. Y. Güzel, E.M. Su, **B. Türkmenoğlu**, T. Alp Tokat, "4D-QSAR Study by Using Fukui Indices for Monoamine Oxidase-A Inhibitor Activity", 3th International Conference on Engineering and Natural Science, Budapeşte, Macaristan, 3-7 Mayıs 2017, vol.1, no.1, pp.529-529.
8. E. Aslan, **B. Türkmenoğlu**, H.G. Aslan, Y. Güzel, "INVESTIGATION OF NEW PYRROL DERIVATIVES AS ANTITUBERCULOS AGENTS WITH MCET METHOD", Innovation in Medicine Summit-3, Gaziantep, Türkiye, 11-13 Mayıs 2017, vol.1, no.1, pp.86-86.
9. **B. Türkmenoğlu**, Y. Güzel, E.M. Su, E. Aslan, "Effects of Benzyl Compounds on Phosphodiesterase Inhibitor Studying with MCET Method", Third International Conference on New Trends in Chemometrics and Applications, Antalya, Türkiye, 25-28 Mayıs 2016, vol.1, no.1, pp.117-118.
10. **B. Türkmenoğlu**, T. Alp Tokat, H. Yılmaz, Y. Güzel, "4D-QSAR Studying with MCET Method Estrogen Receptor Ligands", Third International Conference on New Trends in Chemometrics and Applications, Antalya, Türkiye, 25-28 Mayıs 2016, vol.1, no.1, pp.119-119.
11. **B. Türkmenoğlu**, Y. Güzel, E.M. Su, T. Alp Tokat, "4D-QSAR Study of Thiazole Derivatives with MCET Method ", 4.th International BAU Drug Design Congress, İstanbul, Türkiye, 13-15 Ekim 2016, vol.1, no.1, pp.52-52.
12. H. Yılmaz, **B. Türkmenoğlu**, Y. Güzel, "3D Bioactive Structure Mapping Using 4D-QSAR Model for Flavonoid Binding at the Benzodiazepine GABA-A

Receptor Site", PITTCON CONFERENCE & EXPO, New Orleans, A.B.D., 8-12 Mart 2015, vol.1, no.1, pp. 958-958.

13. E.M. Su, Y. Güzel, H. Yılmaz, **B. Türkmenoğlu**, T. Alp Tokat, "4D-QSAR studies on substituted ureas as Raf-1 kinase inhibitors with CoMCET", 2.nd International BAU-Drug Design Symposium, İstanbul, Türkiye, 17-19 Nisan 2014, vol.1, no.1, pp.126-126.
14. **B. Türkmenoğlu**, E.M. Su, T. Alp Tokat, H. Yılmaz, Y. Güzel, "4D-QSAR Study Using COMCET Method for The Flavonoid-Mediated Inhibition of breast Cancer Resistance Protein (BCRP/ABCG2)", 1 st International BAU-Drug Design Symposium, İstanbul, Türkiye,, 21-23Mart 2013, vol.1, no.1, pp.62-62.
15. H. Yılmaz, Y. Güzel, **B. Türkmenoğlu**, Ş. Özhan Kocakaya, M. Gökçe, "QSAR and Docking Analysis for Analgesic activity of 3(2H)-Pyrazinone Derivatives", 1 st International BAU-Drug Design Symposium, İstanbul, Türkiye, 21-23 Mart 2013, vol.1, no.1, pp.57-58.
16. **B. Türkmenoğlu**, H. Yılmaz, Z. Kökbudak, Y. Güzel, "4D-QSAR STUDY OF SODIUM CHANNEL BLOCKER ACTIVITY OF 3- AMINOPYRROLES USING MCET METHOD", The 2nd International Conference on Computation for Science and Technology, Niğde, Türkiye, 9-11 Temmuz 2012, vol.1, no.1, pp.190-190.
17. H. Yılmaz, Y. Güzel, G. Altıparmak, **B. Kılıç**, Z. Kökbudak, "Ligand Based Research Of N-Benzylpiperidine Derivatives To Mouse Acetylcholinesterase and 4D QSAR Analysis", International Symposium on Drug Research and Development, ANTALYA, TÜRKİYE, 27-29 Mayıs 2011, vol.1, no.1, pp.116-116.

ULUSAL KONGRELERDE SUNULAN POSTERLER

1. **B. Türkmenoğlu**, Y. Güzel, "Metastatik Kanser İnhibitörü Tiyazollerin Moleküler Docking ve 4D-QSAR Çalışmaları", 5. İlaç Kimyası: İlaç Etkin Maddesi Tasarımı, Sentezi, Üretimi ve Standardizasyonu Kongresi, Antalya, Türkiye, 30 Mart- 2 Nisan 2017, vol.1, no.1, pp.266-266.

2. D.Ş. Kızılcı, **B. Türkmenoğlu**, Y. Güzel, "Östrojen-Bağımlı Meme Kanserine Karşı Güçlü Aromataz İnhibitörleri Olarak Flavonoidlerin MCET Metoduyla 4D-QSAR İncelenmesi", 5. İlaç Kimyası: İlaç Etkin Maddesi Tasarımı, Sentezi, Üretimi ve Standardizasyonu Kongresi, Antalya, Türkiye, 30 Mart-2 Nisan 2017, vol.1, no.1, pp.267-267.
3. **B. Türkmenoğlu**, Y. Güzel "4D-QSAR Studying With MCET Method on Trypsin-Like Serine Protease Inhibitors", 28. Ulusal Kimya Kongresi, Mersin, Türkiye, 15-21 Ağustos 2016, cilt.1, no.1, ss.539-539.
4. B. Somtürk Yılmaz, S. Akkoç, **B. Türkmenoğlu**, N. Özdemir, İ.Ö. İlhan 'Inhibition of Peroxidase Activity by Symmetric and Unsymmetric Substituent Novel'28. Ulusal Kimya Kongresi, P-018, 15-21 Ağustos 2016, Mersin, Türkiye.
5. T. Alp Tokat, **B. Türkmenoğlu**, E.M. Su, H. Yılmaz, E. Aslan, Y. Güzel "Melanogenez İnhibitörü Olarak N Benzilbenzamidlerin MCET Metoduyla 4D-QSAR İncelenmesi", 5. Fiziksel Kimya Kongresi, Konya, Türkiye, 16-19 Mayıs 2015, cilt.1, no.1, ss.89-89.
6. E. Aslan, **B. Türkmenoğlu**, Y. Güzel, "1,3,4-Oksadizolları Bulunduran Sülfon Türevlerindeki Antibakteriyal Aktivitelerin MCET Metotla Hesaplanması", 27. Ulusal Kimya Kongresi, Çanakkale, Türkiye, 23-28 Ağustos 2015, cilt.1, no.1, ss.516-516.
7. **B. Türkmenoğlu**, H. Yılmaz, S. Aksakal, İ.Ö. İlhan, Z. Kökbudak, E.M. Su Y. Güzel, "Aldoz Redüktaz İnhibitörleri olarak Flavonoid Bileşiklerinin MCET Metoduyla 4D QSAR Olarak İncelenmesi", III. Fiziksel Kimya Günleri Kongresi, Balıkesir, Türkiye, 12-15 Temmuz 2012, cilt.1, no.1, ss.152-152.
8. Z. Önal, **B. Kılıç**, S. Culfa, G. Altıparmak, H. Yılmaz, M. Boz, Y. Güzel, "Mono Amin Oksidaz Tep-A Türevlerinin MCET Metoduyla 4D QSAR Analizi", 25. Ulusal Kimya Kongresi, Erzurum, Türkiye, 27 Haziran-2 Temmuz 2011, cilt.1, no.1, ss.15-15.

9. **B. Kılıç**, H. Yılmaz, M. Boz, G. Altıparmak, Z. Önal, Y. Güzel, "Benzodiazepin GABAA Reseptöründe Flavonoid Bağlanmalarının MCET Metoduyla 4D-QSAR incelenmesi", 25. Ulusal Kimya Kongresi, Erzurum, Türkiye, 27 Haziran – 2 Temmuz 2011, cilt.1, no.1, ss.14-14.

ULUSAL KONGRELERDE SUNULAN SÖZLÜ SUNUMLAR

1. **B. Türkmenoğlu**, D.Ş. Kızılcın, Y. Güzel, "Potansiyel Antitümör Ajanları Olarak Kumarin Türevlerinin 4D-QSAR ve Moleküler Docking Çalışmaları", 29. Ulusal Kimya Kongresi, Ankara, Türkiye, 10-14 Eylül 2017, cilt.1, no.1, ss.103-103.
2. **B. Kılıç**, E. Baran, B. Doğru Mert, B. Yazıcı, "Yumuşak Çeliğin Asidik Ort. Korozyonu Üzerine 2-Amino-6-Metil Piridinin İnhibisyon Etkisi", 12.Uluslararası Korozyon Sempozyumu, Eskişehir, Türkiye, 6-9 Ekim 2010, vol.1, no.1, pp.1-1.

KATILDIĞIM KONGRE, SEMPOZYUM VE BİLİMSEL TOPLANTILAR

1. Uygulamalı Biyokimya Güncel Konular-5 Biyokimya Lisansüstü Yaz Okulu, Kayseri, Haziran, 2019.
2. International Conference on Physical Chemistry and Functional Materials (PCFM'18), Elazığ, Haziran, 2018.
3. Innovation in Medicine Summit-3, Gaziantep, Mayıs 2017.
4. Uluslararası Katılımlı 5. İlaç Kimyası: İlaç Etkin Maddesi Tasarımı, Sentezi, Üretimi ve Standardizasyonu Kongresi, Antalya, Mart 2017.
5. 29. Ulusal Kimya Kongresi, Ankara, Eylül 2017.
6. 2nd International Conference on Natural Products for Cancer Prevention and Therapy, Kayseri, Kasım 2017.
7. Third International Conference On New Trends In Chemometrics And Applications, Antalya, Mayıs 2016.

8. 28. Ulusal Kimya Kongresi, Mersin, Ağustos 2016.
9. 1 st International BAU-Drug Design Symposium, İstanbul, Mart 2013.
10. III. Fiziksel Kimya Günleri Kongresi, Balıkesir, Temmuz 2012.
11. The 2nd International Conference on Computation for Science and Techonology, Niğde, Temmuz 2012.
12. 25. Ulusal Kimya Kongresi, Erzurum, Haziran 2011.

BİLİMSEL HAKEMLİKLER

1. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, Dergide Hakemlik, Ağustos 2019
2. Synthetic Communications, Dergide Hakemlik, Temmuz 2019
3. Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry, Dergide Hakemlik, Mayıs 2019
4. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, Dergide Hakemlik, Mart 2019
5. Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, Hakemlik, Ocak, 2019
6. Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry, Dergide Hakemlik, Kasım 2018
7. Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry, Dergide Hakemlik, Ekim 2018
8. Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry, Dergide Hakemlik, Eylül 2018
9. Molecular Informatics, Dergide Hakemlik, Temmuz 2018
10. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy , Dergide Hakemlik, Temmuz 2018

11. Journal of Saudi Chemical Society, Dergide Hakemlik, Şubat 2018
12. Journal of Saudi Chemical Society, Dergide Hakemlik, Şubat 2018
13. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, Dergide Hakemlik, Şubat 2018
14. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, Dergide Hakemlik, Ocak 2018
15. Journal of Molecular Structure, Dergide Hakemlik, Aralık 2017
16. Journal of Molecular Structure, Dergide Hakemlik, Aralık 2017
17. Journal of Molecular Structure, Dergide Hakemlik, Kasım 2017
18. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, Dergide Hakemlik, Kasım 2017
19. Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry, Dergide Hakemlik, Ekim 2017
20. Journal of Saudi Chemical Society, Dergide Hakemlik, Haziran 2017
21. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, Dergide Hakemlik, Haziran 2017
22. Journal of Saudi Chemical Society, Dergide Hakemlik, Mayıs 2017
23. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, Dergide Hakemlik, Mayıs 2017

PROJELER

1. Y. Güzel, **B. Türkmenoğlu** "CTP Çubukları Arasında Dörtgen Bağlantı Elemanı DŞE Modülü Kullanarak Portatif Sera Konstrüksiyon Üretimi", 49.640,46 TL, BAP Araştırma Projesi, FBA-2016-6775, Araştırmacı, 31.07.2019.

2. Y. Güzel, **B. Türkmenoğlu** "Tiyazol, 2-Hidroksidiarilamit ve Pirimidin Türevleri Üzerinde MCET Metodu ve Moleküler Docking Çalışmaları", 21.528,90 TL, BAP Doktora, FDK-2016-6547, Araştırmacı, Devam Ediyor

KATILDIĞIM KURSLAR

1. Computer Aided Drug Design, Gaziantep, Mayıs 2017
2. Chemometric Course Programme, Antalya, Mayıs 2016
3. Yüksek Başarımlı Hesaplama ve Paralel Programlama Yaz Okulu, İstanbul, Haziran 2011
4. 25. Ulusal Kimya Kongresi Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı Çalıştayı, Erzurum, Haziran 2011