T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

2-AMİNO-6-ARİLSÜLFONİL BENZONİTRİL BİLEŞİKLERİNİN HIV-1 İNHİBİTÖRÜ OLARAK CoMCET YÖNTEMİ İLE QSAR İNCELEMESİ

Tezi Hazırlayan
Lalehan KULAK

Tezi Yöneten
Prof. Dr. Emin SARIPINAR
Prof. Dr. Yahya GÜZEL

Kimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Temmuz 2005
KAYSERİ

i

Prof. Dr. Emin SARIPINAR ve Prof. Dr. Yahya GÜZEL danışmanlığında **Lalehan KULAK** tarafından hazırlanan **"2-Amino-6-arilsulfonil Benzonitril Bileşiklerinin HIV-1 İnhibitörü Olarak CoMCET Metodu İle QSAR İncelemesi"** adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

26/07/2005

JÜRİ:

Başkan : Prof. Dr. Emin SARIPINAR

Üye : Prof. Dr. Mustafa SOYLAK

Üye : Yrd. Doç. Dr. İlhan Özer İLHAN

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 04-08-2005 tarih ve 06 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

08/08/2005

Prof. Dr. Nusret AYYILDIZ

Enstitü Müdürü

Mühür ve İmza

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım süresince geniş bilgi ve deneyimleri ile her konuda yol gösterici olan, yardımlarını ve desteğini esirgemeyen sayın hocam **Prof. Dr. Emin SARIPINAR' a** sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Yaptığım çalışmalara ışık tutan ve yardımlarını esirgemeyen sayın hocam **Prof. Dr. Yahya GÜZEL' e** en içten teşekkürlerimi sunarım.

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

Ayrıca tüm çalışmalarım sırasında benden ilgi ve desteğini esirgemeyen, zor anlarımda yanımda olan nişanlım Levent AKYÜZ' e ve hayatım boyunca yanımda olan ve her konuda benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili anneme ve babama minnettarlıklarımı bildiririm.

2-AMİNO-6-ARİLSÜLFONİL BENZONİTRİL BİLEŞİKLERİNİN HIV-1 İNHİBİTÖRÜ OLARAK CoMCET YÖNTEMİ İLE QSAR İNCELEMESİ

Lalehan KULAK

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tezi, Temmuz 2005
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Emin SARIPINAR
Prof. Dr. Yahya GÜZEL

ÖZET

2-Amino-6-arilsulfonil benzonitril bileşiklerinin bir serisinin "Karşılaştırmalı Moleküler Konformerlerin Elektron Topolojik -CoMCET" metot ile kantitatif aktivite tahmini yapılmıştır. Bu metodun temel özelliği, aktivitenin Farmakofor (Pha) grubu ile açıklanmasına ek olarak, atomik elektronik özelliklerin bir seti şeklinde özel bir geometride molekülleri üst üste çakıştırması ve üç boyutlu yapı-aktivite ilişkisini açıklamasıdır. Bu metot, Pha ve aktiviteyi artıran AG ve aktiviteyi azaltan APS gruplarının parametrelerinin bir fonksiyonu olarak kantitatif aktivite tahminine izin verir ve moleküllerin aktivitelerini tahmin etmek kadar, onların biyolojik etkileşim modellerinin anlaşılmasında da önemli bir ilerleme sağlar. Bu çalışmada konformasyonel analiz, elektronik yapı hesaplamaları ve matriks karşılaştırması 2-Amino-6-arilsulfonil benzonitril türevlerinin 68 tanesi için yapılmıştır. Anti HIV-1 aktivitesi ve HIV-1 RT bağlanma affinitesi şeklinde, iki farklı aktivite özelliği ile incelenen bileşik serisinde 64 bileşiğin tümünün anti HIV-1 aktivitesi gösterdiği ancak 51 bileşiğin 28'inin HIV-1 RT bağlanma affinitesi gösterirken 23'ünün inaktif olduğu belirlenmiştir. 2-Amino-6-arilsulfonil benzonitril bileşik serisi için Pha hesaplanmış ve her iki seri içinde farmakoforun üç atomdan oluştuğu belirlenmiştir. Anti HIV-1 aktivitesi serisi için N1-H7-C12 ve HIV-1 RT bağlanma affinitesi serisi için N1-C8-C9 atomları Pha olarak bulunmuştur. Anti HIV-1 aktivitesi serisi için S1 ve C13 atomları aktiviteyi artıran AG grup ve C7 ve C15 atomları ise aktiviteyi azaltan APS grup olarak belirlenmiştir. HIV-1 RT bağlanma affinitesi serisi için C12 ve C1 atomu aktiviteyi artıran AG grup ve C10, C11, C5 ve O1 atomları ise APS grup olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: İlaç tasarımı, farmakofor, Auxilary Group (AG), Anti Pharmacophere Shielding Group (APS), QSAR, elektron konformasyonel metot.

QSAR STUDIES WITH CoMCET METHOD ON 2-AMINO-6-ARYLSULFONYL BENZONITRILE COMPOUNDS AS HIV-1 INHIBITOR

Lalehan KULAK

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences
M.Sc. Thesis, July 2005
Thesis Supervisor: Professor Emin SARIPINAR
Professor Yahya GÜZEL

ABSTRACT

Quantitative activity prediction for a series of 2-Amino-6-arylsulfonyl benzonitrile derivatives are revealed by "Comperative Molecular Conformational Electronic Topological Method" CoMCET method. The main features of this method is that in addition to revealing the activity by Pha groups, explains activity as set of atomic electronic features, superimposing in a special geometry and explains to 3D structure-activity relationship. This method allows for prediction of the parameters of the Pha, APS groups that decrease the activity and AG groups that increase the activity and offers a significant advance both in the understanding the model of biological interaction of the molecule and in the predicting its activity. In this study conformational analysis, electronic structure calculations and matrix comparisons are performed for the 68 2-Amino-6-arylsulfonyl benzonitrile derivatives. These compound series are examined in two by their anti HIV-1 activity and HIV-1 RT binding affinity. It was determined that the 64 of the anti HIV-1 activity compound series are active and 28 of the 51 HIV-1 RT binding affinity series are active and 23 are inactive. Pha is evaluated for series of 2-Amino-6-arylsulfonyl benzonitriles and it is determined that 3 atoms compose Pha in both of these series. In series of anti HIV-1 activity, N1-H7-C12 atoms and in series of HIV-1 RT N1-C8-C9 atoms are determined as Pha. S1 and C13 atoms are determined as AG groups that increase the activity and C7 and C15 atoms are determined as APS groups that decrease the activity for anti HIV-1 activity series. C12 and C1 atoms are determined as AG groups and C10, C11, C5 and O1 atoms as APS groups.

Keywords: Drug Design, Pharmacophere, Auxilary Group, Anti Pharmacophere Shielding Group, QSAR, electron conformational met

İÇİNDEKİLER

SAYFA

Kabul ve Onay Sayfası i
TEŞEKKÜR ii
ÖZET iii
ABSTRACT iv
İÇNDEKİLER v
KISALTMALAR VE SİMGELER vii
TABLOLAR LİSTESİ ix
ŞEKİLLER LİSTESİ x

BÖLÜM 1
GİRİŞ

1.1. Amaç 1
1.2. İlaç Nedir? 2
1.2.1. İlaç Tasarımı 3
1.2.2. İlaç Geliştirme Aşamaları 3
1.2.2.1. Öncü Bileşiğin Bulunması 3
1.2.2.1.1. Rasyonel İlaç Tasarımı 4
1.2.2.2. Öncü Bileşiğin Optimizasyonu 5
1.3. AIDS 5
1.4. HIV Nedir ve İnsan Vücudunu Nasıl Etkiler 6

BÖLÜM 2
QSAR METOTLARI

2.1. SAR(Yapı Aktivite İlişkisi) ve QSAR (Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi) 11
2.1.1. SAR 11
2.1.2. QSAR 11
2.1.2.1. QSAR Teorisi 13

2.1.2.2. 2D-QSAR Analizi 14
2.1.2.2.1. Hansch Analizi 15
2.1.2.2.2. Free-Wilson Analizi 17
2.1.3. Yeni QSAR metotları 19
2.1.3.1. Hologram QSAR (HQSAR) 19
2.1.3.2. Inverse QSAR 21
2.1.3.3. Binary QSAR 21
2.1.3.4. 3D-QSAR 22
2.1.3.4.1. Karşılaştırmalı Moleküler Alan Analizi CoMFA 23
2.1.3.4.2. Aktif Analog Yaklaşımı 25
2.1.3.4.3. Moleküler Şekil Analizi (MSA) 25
2.1.3.4.4. Karşılaştırmalı Moleküler Şekil Analizi CoMSIA 26
2.1.3.4.5. Karşılaştırmalı Moleküler Moment Analizi CoMMA 27
2.1.3.4.6. EVA 27
2.1.3.4.7. WHIM 27
2.1.3.5. 4D-QSAR 27
2.1.3.6. Moleküler Modelleme ve QSAR 28
2.1.4. Biyoalıcı İle İlaç Molekülün Etkileşim Mekanizması 29
2.1.5. QSAR Yöntemi Olarak CoMCET Programı 31
2.1.6. Farmakofor Tanımlamasına Genel Bakış 32

BÖLÜM 3

YÖNTEM

3.1. Materyal 38
3.2. Metot 38
3.2.1. Konformasyon Analiz İşlemi 39
3.2.2. Kuantum Kimyası Hesaplamaları 42
3.3. Karşılaştırmalı Moleküler Konformer Elektron Topolojik Metot (CoMCET) 45
3.3.1. CoMCET Metodunun Gereği 45
3.3.2. Konformerlerin Belirlenmesi 45

3.3.3. ETMC Matrisleri Oluşturulması 46
3.3.4. CoMCET'de Farmakofer Tanımlama 48
3.3.5. APS ve AG 49
3.3.6. Aktivitenin Genel Formülü 50
3.3.7. Matriks Karşılaştırması İle ECMC ve ECSA nın Hesaplanması 55

BÖLÜM 4
BULGULAR

4.1. Bulgular 60
4.1.1. Elektron-Topolojik Matris 60
4.1.2. Bileşiklerin Elektronik ve Geometrik Parametreleri 61
4.1.3. CoMCET Metodunun Uygulanması 76

BÖLÜM 5
SONUÇ

5.1. 2-Amino-6-Arilsulfonil Benzonitril Türevlerinin Anti HIV-1 Aktivitesi 86
5.2. 2-Amino-6-Arilsulfonil Benzonitril Türevlerinin HIV-1 RT Bağlanma Affinitesi 92

KAYNAKLAR 97
ÖZGEÇMİŞ 105

KISALTMALAR VE SİMGELER

QSAR **:** Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi

SAR **:**Yapı Aktivite İlişkisi

3D-QSAR **:**Üç Boyutlu Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi

2D-QSAR **:**İki Boyutlu Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi

HQSAR **:**Hologram Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi

CoMCET **:**Karşılaştırmalı Moleküler Konformerlerin Elektron Topolojik Metodu

Pha **:**Farmakofor

APS **:**Aktiviteyi perdeleyici grup

AG **:**Aktiviteyi artırıcı yardımcı grup

ETMC **:**Elektron Topolojik Matris

CADD **:**Bilgisayar destekli ilaç tasarımı

HTS **:**Çok Sayıdaki Bileşiği Ayırma Yöntemi (High Throughput Screening)

AIDS **:**Edinilmiş Yetersiz Bağışıklık Sistemi Sendromu

HIV **:**Vücut Bağışıklık Sistemi Virüsü

CoMFA **:**Karşılaştırmalı Moleküler Alan Analizi

MSA **:**Moleküler Şekil Analizi

CoMSIA **:**Karşılaştırmalı Moleküler Şekil Analizi

CoMMA **:**Karşılaştırmalı Moleküler Moment Analizi

ECMC **:**Elektron Konformasyonel Matris

ECSA **:**Elektron Konformasyonel Alt Matris

TABLOLAR LİSTESİ

TABLO NO **SAYFA**

Tablo 4.1 Çalışılan bileşik serisi ve deneysel aktivite değerleri 61

Tablo 4.2 Referans bileşiğinin kartezyen koordinatları 69

Tablo4.3. Referans bileşiğinin elektronik yükleri 70

Tablo 4.4. Referans bileşiğin bağ dereceleri 71

Tablo 4.5 Anti HIV-1 aktivitesine ait AG ve APS grupların özellikleri 77

Tablo 4.6 Anti HIV-1 Aktivitesine etki eden belirlenmiş AG ve APS parametreleri ve bu parametreleri taşıyan konformerler 79

Tablo 4.7 HIV-1 RT Bağlanma affinitesine ait AG ve APS grupların özellikleri 81

Tablo 4.8 HIV-1 RT Bağlanma affinitesine etki eden belirlenmiş AG ve APS parametreleri ve bu parametreleri taşıyan konformerler 83

Tablo 5.1 Bileşiklerin Anti HIV-1 Aktivitesi deneysel, CoMCET metodu ile hesaplanan teorik değeri ve Hansch analizi sonuçları.....86

Tablo 5.2 Bileşiklerin HIV-1 RT Bağlanma Affiniteleri deneysel, CoMCET metodu ile hesaplanan teorik değeri ve Hansch analizi sonuçları.....92

ŞEKİLLER LİSTESİ

ŞEKİL NO **SAYFA**

Şekil 1.1. İlaç geliştirme aşamaları 3

Şekil 1.2. HIV-1 Virüsünün yapısı 7

Şekil 1.3. Virüs RNA sı ile konak hücre DNA sından provirüs oluşumu 8

Şekil 2.1. HQSAR da hologramların ortaya çıkarılması ve bu hologramlardan aktivitenin değerinin elde edilmesi 20

Şekil 2.2. Üç Boyutlu Elektron-Topolojik (Three Dimensional ETMC TDETMC) 35

Şekil 3.1. Serbest haldeki ilaç molekülünün konformerlerinin ve bağ yapmış ilaç-biyoalıcı yapısının enerji karşılaştırmaları 55

Şekil 3.2. EC metodundaki Algoritma 58

Şekil 3.3. CoMCET metodundaki algoritma 59

Şekil 4.1. Çalışılan bileşik serisinin temel molekül yapıları ve deneysel olarak aktiviteleri 68

Şekil 4.2. L1 referans bileşiğinin uzaydaki top ve çubuk modeli 68

Şekil 4.3. L1 referans bileşiğinin uzaydaki top ve uzay dolum modeli görünümleri 69

Şekil 4.4. L1 referans bileşiğine ait ECMC matrisi 72

Şekil 4.5. Referans bileşiğe göre diğer bileşiklerin fonksiyonel grupları ve atomlarının düzenlenmesi 75

Şekil 4.6. Anti HIV-1 aktivitesi serisine ait referans molekülündeki Pha atomları...78

Şekil 4.7. LL60 nolu molekülde Pha atomları ve AG/APS grupları 78

Şekil 4.8. HIV-1 RT bağlanma affinitesi serisine ait referans molekülündeki Pha atomları 81

Şekil 4.9. LL20 ve LL25 nolu moleküllerde Pha atomları ve AG/APS grupları.....82

Şekil 4.10. LL 22 nolu molekülde e olarak işaretlenmiş APS atomu ve Pha atomları 82

Şekil 5.1. Deneysel ve teorik aktiviteler arasındaki regresyon.....88
Şekil 5.2. Referans bileşiğin HOMO ve LUMO orbital dağılımı.....89
Şekil 5.3. Deneysel olarak en düşük aktiviteye sahip olan bileşiğin HOMO ve LUMO orbital dağılımı 90
Şekil 5.4. Deneysel olarak en yüksek aktiviteye sahip olan bileşiğin HOMO ve LUMO orbital dağılımı 90
Şekil 5.5. Teorik olarak hesaplanan en düşük aktiviteye sahip olan bileşiğin HOMO ve LUMO orbital dağılımı 91
Şekil 5.6. Teorik olarak hesaplanan en yüksek aktiviteye sahip olan bileşiğin HOMO ve LUMO orbital dağılımı 91
Şekil 5.7. Deneysel ve teorik aktiviteler arasındaki regresyon.....94
Şekil 5.8. Deneysel olarak en düşük aktiviteye sahip olan bileşiğin HOMO ve LUMO orbital dağılımı 95
Şekil 5.9. Deneysel olarak en yüksek aktiviteye sahip olan bileşiğin HOMO ve LUMO orbital dağılımı 95
Şekil 5.10. Teorik olarak hesaplanan en düşük aktiviteye sahip olan bileşiğin HOMO ve LUMO orbital dağılımı 96
Şekil 5.11. Teorik olarak hesaplanan en yüksek aktiviteye sahip olan bileşiğin HOMO ve LUMO orbital dağılımı 96

BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1. Amaç

Modern kimyanın en önemli problemlerinden biri; belirli bir hastalığa iyi geldiği bilinen bir ilacın biyoalıcılar ile etkileşim mekanizmasının nasıl olduğunu açıklayamamasıdır [1]. Son 20 yıl boyunca bu alandaki çalışmalar "yapı-aktivite ilişkisi" (Structure-Activity Relationship, SAR) ve "nicel yapı-aktivite ilişkisi" (Quantitative SAR, QSAR) başlığı altında yayınlanmıştır. Başlangıçta QSAR metodu bileşiklerin fizikokimyasal özelliklerine göre aktiviteyi açıklamıştır. Fakat son zamanlarda biyo moleküller üç boyutlu olarak ele alınıp elektronik özellikleriyle aktivite değerleri bulunmuş ve bu çalışmalar 3D QSAR olarak adlandırılmıştır. QSAR yaklaşımlarındaki tüm gelişmeler bilgisayar kullanımı ile olmuştur. Pratik bakımdan oldukça uzun ve zor olan böyle bir problemin çözümü; deneysel olarak belirli bir aktivite gösterdiği bilinen bileşikleri birbiri ile karşılaştırarak aktivitelerine neden olan ortak yapıdaki sorumlu fragmenti bulmakla olur. Böylece molekülün yapı-aktivite ilişkisinde, aktiviteden sorumlu olan temel üç boyutlu elektronik özelliği belirlenmiş olur [2-4].

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

3D QSAR olarak kullanılan ve Güzel tarafından geliştirilen ''Karşılaştırmalı Moleküler Konformerlerin Elektron Topolojik'' (Comperative Molecular Conformer Electron Topological, CoMCET) metot reseptör ile karşılıklı etkileşimdeki moleküllerin etkin konformerlerine ait elektronik yapılarıyla birlikte onların "agonist" ve "antagonist" özelliklerini dikkate alarak ilgili bilgiler sunar [5]. Her bir molekül için deneysel aktivite verileri hesaplanan veriler ile uyum göstermesi ölçüsünde başarılıdır. Aktivitede

rol alan temel iskelete göre yeni moleküllerin dizayn edilerek sentezlenmesi ve mevcut olan moleküllerin biyolojik aktivitelerinin tahmini için CoMCET ile çıkartılan sonuçlar kullanılır.

Bu çalışmadaki amaç CoMCET metodu uygulaması ile 2-Amino-6-Arilsulfonil benzonitril türevlerinin "agonist" kantitatif uygulamalarını yapmak, Pha grup ile bu gruba etki eden aktiviteyi artıran AG (Auxiliary Group) ve aktiviteyi azaltan APS (Anti Pharmacophere Shielding Group) grupları belirlemektir.

1.2. İlaç Nedir?

İlaçların büyük çoğunluğu spesifik biyolojik reseptörlerin aktivitelerini hafifleten ve onların etkileşimlerini, bağlanmalarını düzenleyen küçük moleküllerdir. Reseptörler, hayatın korunması için gereken çeşitli fonksiyonları yerine getiren diğer moleküllerle etkileşen ve bağlanan proteinlerdir. Proteinler; hormon reseptörleri, hücre-sinyal reseptörleri gibi hücre-yüzey reseptörleri, enzimler ve diğer fonksiyonel proteinlerin çok büyük bir dizisinden oluşurlar. İlaçların en önemli rolü bazı tıbbi problemlere çare bulmak amacı ile bu reseptörlerin fonksiyonlarını düzenlemektir[6].

İlaçlar genellikle aşağıda verilen üç aşamada çalışır:

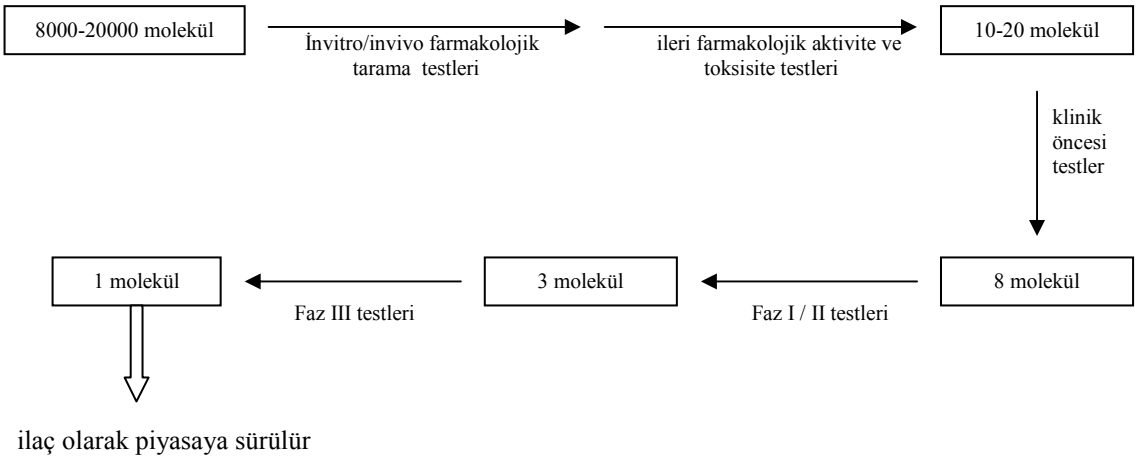
- Bakteri, parazit yada virüslerin biyolojik fonksiyonlarına müdahale eder.
    - Antibiyotiklerin tümü bu kategoriye girer
    - HIV ilaçları, insan bağışıklık sistemi virüsünde proteaz yada reverse transcriptase enzimlerinin fonksiyonunu kesmek için halen kullanılır.
- Bakteri, parazit yada virüslerin sistemlerimiz ile etkileşimini engellemek
- Biyolojik fonksiyonlarımızın artmasına müdahale eder.
    - Aşılar bağışıklığımızı artırır.
    - Insülin, diyabetik hastalar için kandaki şeker düzeyini kontrol etmeye yardım eder.
    - Kanserin ilaçla tedavisi anormal hücre gelişimini durdurmaya çalışır.

1.2.1. İlaç Tasarımı

İlaç tasarımı, daha önceden tanımlanmış yapı-aktivite ilişkilerinden yararlanarak, farmakolojik aktivitesi öngörülebilen potansiyel ilaç moleküllerinin tasarlanmasıdır. Yeni ilaç geliştirmenin amacı, var olanlardan daha güçlü, daha az toksik ve yan etkileri en aza indirilmiş, yararlı terapotik bileşikler geliştirmektir.

1.2.2. İlaç Geliştirme Aşamaları

İlaç geliştirmede Öncü bileşiğin bulunması ve Öncü bileşiğin optimizasyonu olmak üzere iki önemli aşama söz konusudur. Şekil 1.1. de moleküllerin sentezinden itibaren ilaç olarak piyasaya sürülene kadar geçirdiği aşamalar verilmiştir. Şekil 1.1 den görüldüğü gibi 8000-20000 molekülden ancak bir tanesi ilaç olarak piyasaya sürülebilmektedir. Bunun için ileri düzeyde hücre dışı (invitro) ve hücre içi (invivo) olmak üzere pahalı ve zaman alıcı çalışmaların yapılması gerekir.



Şekil 1.1. İlaç Geliştirme Aşamaları

1.2.2.1. Öncü Bileşiğin Bulunması

Öncü bileşik, belli bir farmakolojik aktiviteye sahip molekül olup çalışmalarda model olarak alınır. Bu molekül istenilen aktiviteyi gösterdiği gibi yan etkisi olabilecek diğer farmakolojik özelliklere de sahip olabilir. Doğal kaynaklar, tesadüfen bulma, klinik gözlemler, farmakolojik tarama testleri, ilaç metabolizma çalışmaları, rasyonel ilaç tasarımı gibi yollar öncü bileşiğin bulunmasında kullanılır.

1.2.2.1.1. Rasyonel İlaç Tasarımı

Rasyonel ilaç tasarımı yöntemleri tedavi edici özelliği olan yeni moleküllerin bulunmasını hızlandıran metotlardır. CADD (Computer Aided Drug Design) kullanılarak orijinal bileşiklerin tasarlanması, kombinatoryal kimya metotları (çok sayıda bileşiğin etkin ve hızlı bir şekilde beraber sentezlenmesini amaçlayan metot) ve HTS yöntemleri (high throughput screening) milyonlarca bileşiğin aktivitesinin denenmesi için kullanılan çok hızlı bir yöntem) kullanarak yeni kimyasal ilaç olabilecek moleküllerin belirlenmesi, doğal kaynaklı bileşiklerin etkilerinin yine HTS teknikler kullanılarak kısa zamanda milyonlarca molekül arasından ayrıştırılabilmesi bu güne kadar kullanılan konvansiyonel (klasik) metotlara göre çok daha hızlı ve ucuz bir yöntemdir [7].

Rasyonel ilaç tasarımı ile ilaç özelliği gösteren yeni moleküllere ulaşmak üzere kullanılan önemli yöntemler aşağıdaki gruplar altında toplanabilir.

1- **Moleküler Modelleme:** Moleküler grafik veya konformasyon analizi olarak da adlandırılır. Bu yöntemle, öncü molekül veya analog tasarımı (öncü bileşiğe yapısal olarak benzemesine rağmen farmakolojik etkisi kendi özelliklerinin sonucu olan bileşik tasarımı) için bilgisayar programları veya X-ışınları kristalografisi gibi yöntemlerle ilacın moleküler şekli veya konformasyonu araştırılır.

2- **Kalıp Tanıma (pattern recognition) ve Küme (cluster) Analizi:** Her biri birçok parametre ile karakterize edilmiş çok sayıda bileşik içinden en uygun bileşiğe ulaşmak için gelişmiş istatistik ve bilgisayar yöntemlerinin kullanıldığı sayısal tekniklerdir.

3- **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.

4- **Computer-Assisted Drug Design (CADD):** Bilgisayar destekli ilaç tasarımı, CADD ilaç geliştirme çalışmaları için ortaya çıkan bir tekniktir [8] ve ilaç olarak

kullanılan biyolojik olarak aktif bileşiklerin optimizasyonu, tasarımı ve araştırılması aşamalarını içeren bilgisayar destekli tekniklerin tümünü kapsar. İlk bilgisayar destekli, yapı bazlı ilaç tasarımı metotları 1980 lerin başında ortaya çıkmıştır ve ilk olarak Hammet eşitliği kullanılmıştır. ve zaman içerisinde gelişim göstermiştir. Günümüzde ise bu gelişimi halen devam etmektedir [9].

1.2.2.2. Öncü bileşiğin Optimizasyonu

Öncü bileşiğin bulunmasından sonra, amaçlanan aktiviteyi artıracak ve istenmeyen etkilerin iyileştirilmesini sağlayacak moleküler modifikasyonların yapılmasıdır. Bu amaç için önce molekülün farmakofor kısmı bulunur. Bu kısımda yapılan değişikliklerle molekülün reseptörle daha kuvvetli bağlar yapması sağlanır. Daha sonra öncü bileşik için yapı-aktivite ilişkisi geliştirilerek uygun özelliklere sahip ilaç molekülüne ulaşılmaya çalışılır.

1.3. AIDS

AIDS, Acquired Immuno Deficiency Syndrome kelimelerinin kısaltması olarak ortaya çıkmış ve Edinilmiş Yetersiz Bağışıklık Sistemi Sendromu olarak Türkçe'ye çevrilmiştir. AIDS ilk olarak 1981 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde keşfedilmiştir. Keşfinden hemen sonra hızla yayılarak bilinen tarihte en korkunç salgın hastalık olmuştur [10]. Son 20 yıl içinde kırk milyon insanın bu hastalıktan öldüğü belirlenmiştir ve Dünya Sağlık Örgütü 2001 de her gün 14000 insanın bu hastalığa yakalandığını tahmin etmektedir. Gelecek 10 yıl içinde 100 milyondan fazla insanın AIDS hastalığından etkileneceği de tahminler arasında yer almaktadır [11].

HIV, Human Immune Deficiency Virus, vücut bağışıklık sistemi virüsü, AIDS tamamen vücut bağışıklık sistemi ile ilgili olduğundan, hastalığa sebep olan virüse bu isim verilmiştir. Virüs, insan vücudunun hastalıklara karşı direncini sağlayan bağışıklık sistemini etkisiz hale getirmektedir. Vücut bağışıklık sisteminin etkisiz hale gelmesi, virüsten etkilenmeden önce kolayca baş edebildiği diğer hastalık mikroplarıyla artık çarpışamayacak duruma gelmesi demektir. Bu da basit bir enfeksiyonun bile ölümcül hale gelmesine sebep olabilir. AIDS hastalarının yarısından çoğu bağışıklık sistemlerinin etkisiz hale gelmesi yüzünden basit enfeksiyonlara yenilerek hayata veda etmişlerdir.

İnsan vücuduna bir defa HIV virüsü bulaşmışsa artık bu virüsün hiçbir şekilde yok edilmesi yada vücuttan atılması mümkün değildir. Fakat,virüsün etkilerine engel olmak için bir takım ilaçlar geliştirilmiştir. Bunlardan ilki ve en çok bilineni AZT (Zidovudine-3'-azido-2', 3'-dideoksitimidin) adı verilen ilaçtır. Bu ilaç virüsün çoğalmasını engellemektedir. AZT AIDS virüsünün meydana getirdiği belirtilerin görülmesini engellemekte ve AIDS'li hastanın yaşamının kısmen de olsa uzamasını sağlamaktadır. Bilim adamları AIDS'le savaşabilmenin diğer yollarını aramaya devam etmektedirler. Son yıllarda bu konuda büyük gelişme kaydedilmiştir. AIDS'e karşı korunmak için aşıların testleri halen deneysel aşamadadır. 1990 yılının başlarından itibaren bu konuda başarılı sonuçlar kaydedilmektedir.

1.4. HIV Nedir ve İnsan Vücudunu Nasıl Etkiler

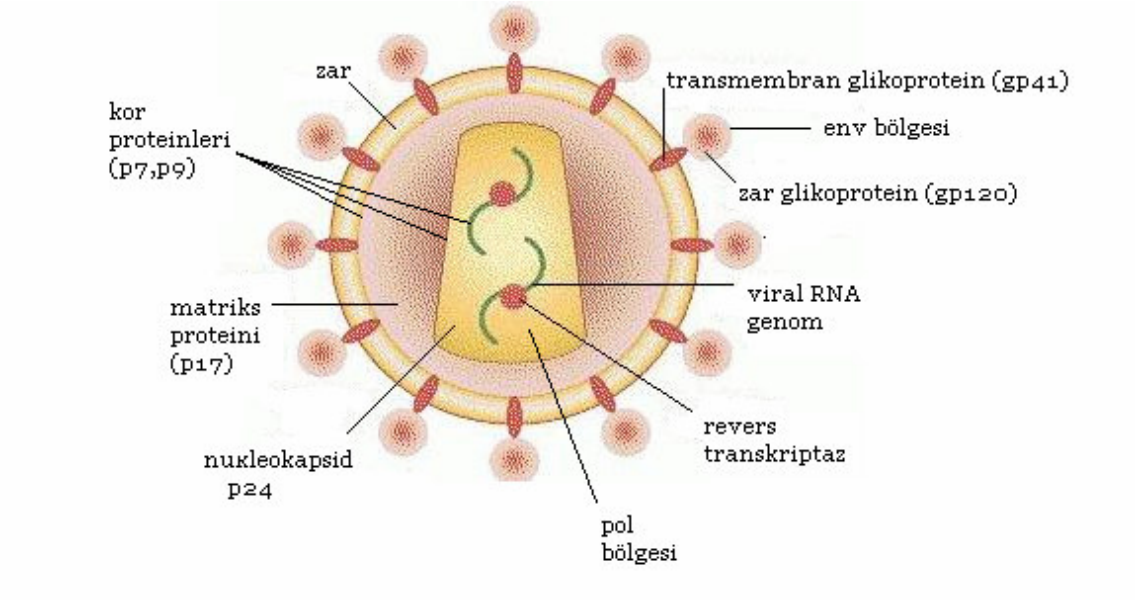
AIDS'e neden olan virüs ilk defa 1981 yılında Dr.Luc Montagnier tarafından bulunmuş, daha sonra Paris Pasteur Enstitüsündeki bilim adamları tarafından izlenmeye devam edilmiştir. Enstitü araştırmacıları virüse Lymphadenopathy-AssociatedVirüs (LAV) adını vermişlerdir. Çünkü bilim adamları virüse bir hastanın lenf düğümlerinde rastlamışlardı. Bu araştırmalarla aynı zamanlarda, başka bir yerde Dr.Robert Gallo ve meslektaşları Ulusal Kanser Enstitüsü'nde yaptıkları araştırmalarda AIDS virüsünün izine rastladılar. Dr.Gallo ve meslektaşları virüse Human T-Cell Lymphotropic Virüs III (HTLV-III) adını verdiler. Gallo ve personeli yeni tanımladıkları bu virüse benzeyen diğer virüsleri de ayırarak ayrılan virüsler HTLV-I ve HTLV-II isimlerini verdiler. Yeni tanımlanan bu virüsün etiketlenmesinden sonra Uluslararası Virüs Sınıflandırma Komitesi (International Commite on The Taxonomy of Viruses) virüsün adını Human Immuno Deficiency Virüs HIV olarak belirledi. Halen tıbbi topluluklar virüsün tanımlanmasında bu ismi kullanmaktadır [10].

HIV diğer virüslerden çok farklıdır. AIDS hastalığına sebep olan HIV virüsü, lentivirüs ailesine mensup bir retrovirüs tipi olarak bilinir [12].

Retrovirüsler 90-120 nm çaplı, etere duyarlı, çift kopyalanmış tek sarmal RNA çekirdeğine sahip (genom) virüslerdir [13]. Retrovirüslerde diğer virüsler gibi iki farklı membran ile sarılmış genetik yapıya ve protein kılıfına sahiptir. Retrovirüsler genetik bilgilerini Deoxiribonukleikasit, DNA yerine Ribonükleikasit, RNA larda saklarlar.

Retrovirüsler kendilerini eşlemek, yani viral RNA larından yeni bir DNA oluşturmak için "reverse transcriptase" adı verilen bir enzimi kullanırlar.

Aşağıdaki şekilde HIV-1 Virüsünün şematik yapısı görülmektedir.



Şekil 1.2. HIV-1 Virüsünün Yapısı

HIV, %10 hipoklorit, %50 etilalkol ve %0.3 H_2O_2 ile 10 dakikada inaktive olur. Kuru proteinli yapılarda, albumin gibi liyofilize kan ürünlerinde güçlükle (3 gün 68°C) inaktive edilebilir. Dışta lipid yapılı bir zarfı bulunan HIV; çift kopyalanmış tek sarmal RNA'dan oluşan viral genomu saran santral kor protein ile replikasyon sırasında viral RNA'dan proviral DNA'nın sentezlenmesinden sorumlu olan Reverse transcriptase (RT) enzimini barındıran nükleokapsid'den oluşur. (bkz Şekil1.2.)

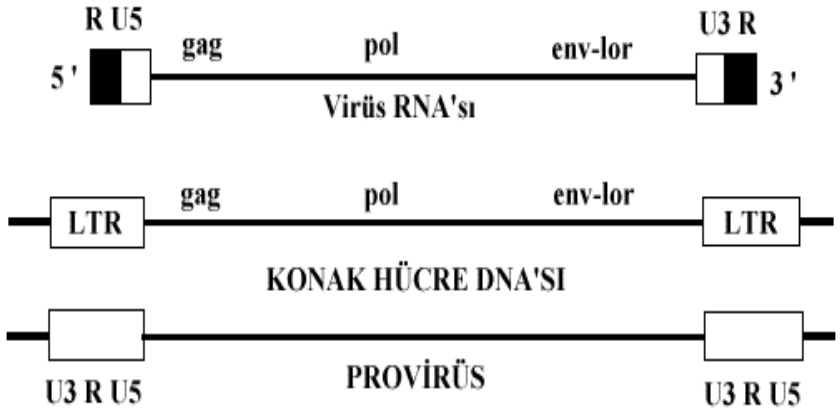
Genomda Long Terminal Repeate(LTR) segmentlerinin içerdiği Gag, Pol ve Env genlerinin etkinlikleri önemlidir. Gag bölgesi; protein55 denen öncü kor peptidinden; proteaz enziminin etkisi ile kor proteinleri (p7, p9), matriks proteini (p17) ve p24 yapısal proteini oluşumundan sorumludur. Pol bölgesi; Reverse Transcriptase, viral proteaz ve endonükleaz'ı kodlar. Env bölgesi; Zarfa ait gp120 ve transmembran proteini olan gp41' i oluşturan gp160 öncü proteinini kodlar. Virüse karşı aşı geliştirilemeyişinin

en önemli nedeni, çok sık yapısal değişikliğe uğrayan env geninin kodlayarak ürettiği zarf proteinlerinin de izolatlarda değişiklik göstermesidir [13].

HIV virüsünün girişine, virüs dış çeperi proteini gp120 ve transmembran gp41 proteini vasıta olur. Her iki protein de gp160 proteinin proteolitik parçalanmasından oluşur [14].

gp120 CD4+ hücrelere affinitesi ile p66 reverse transkriptase aktivitesi ile p24 de kuvvetli antijenite göstermesi ve virüsün çekirdeğini oluşturması ile özelleşmiştir [15]. HIV virüsünün ilk hedefi CD4+T yardımcı hücresi (AKYUVAR) adı verilen beyaz kan hücreleridir. Akyuvarların görevi bağışıklık sistemini yöneterek istenmeyen organizmalara karşı vücudu korumaktır [10].

HIV, hedef hücre olan CD4+ T lenfositlerine gp120'sinin Peptid bağı ile bağlanır. Daha sonra gp41 ile hücre membranında füzyon oluşturarak hücre içine girer. Zarfını kaybeden virüsün kor içeriği hedef hücre stoplazmasına yayılır. RT enzimi etkileşimde kilit rol oynar. Viral RNA'nın çift sarmallı lineer veya sirküler formda DNA kopyalarını yaptırır, yani oluşturulan DNA virüsün etkilemek istediği hücrenin DNA sı ile birleşir. Sirküler formlar genelde hedef hücre çekirdeği içinde sessiz kalırken, lineer formlar viral integraz enzimi ile hedef hücre DNA'sına girer. Virüsün oluşturduğu DNA ile birleşen hücre DNA'sına Proviral DNA veya provirüs adı verilmektedir.



Şekil 1.3. Virüs RNA sı İle Konak Hücre DNA sından Provirüs Oluşumu

Yukarıdaki şekilde hücre RNA'sının (RU5-U3R) konak hücreyle (LTR) birleşerek provirüsü (U3RU5LTR) oluşturması gösterilmektedir. Provirüs hücrenin genetik yapısının tamamını kendi kendini sürekli yenilemek için kullanır. Bu durumda retrovirüsler diğer virüslerde olduğu gibi yeni virüsler oluşturabilmek için gerekli mekanizmayı bulaştıkları hücreden temin ederler.

Proviral DNA oluşumundan sonra virüs çoğalmaya başlar. Yeni virüs partikülleri kendilerini kan akıntısına bırakarak enfekte edecek yeni akyuvar hücreleri aramaya başlarlar. HIV enfeksiyonunun ilerleyen dönemlerinde hücrelerin parçalanmasıyla beraber çok sayıda virüs dolaşıma geçer. Her gün yaklaşık olarak 1milyar viral partikül dolaşıma katılır. Viral yük ile CD4+ T Lenfosit sayısı arasında tersine bir ilişki söz konusudur.

Bir akyuvar hücresinin içinde HIV bulunması bu hücrenin görevini kısmen yada tamamen yapamaması anlamına gelmektedir. Akyuvar sayısının azalması vücut bağışıklık sisteminin normal zamanda kolayca üstesinden gelebileceği enfeksiyonlarla artık savaşamayacak duruma gelmesi demektir. Böylece bağışıklık sistemi zayıflar ve kişinin ölümüne neden olur [16].

Beyaz kan hücrelerinin diğer bir çeşidi olan makrofajlarda AIDS virüsü tarafından enfekte edilebilir. Makrofaj hücreleri kan dolaşım sisteminin dışında kalan bölgelerde mevcut olan organizmalarla savaşırlar. Makrofaj hücreleri beyine dahi taşınabilirler. HIV virüsü makrofaj hücrelerini kullanarak beyine girdiğinde glial hücrelerine saldırır. Bu hücreler sinir sistemi için yapısal destek ve izolasyon sağlayan hücrelerdir. Eğer virüs bu hücrelerin büyük bir kısmını yok ederse, kişinin akıl ve düşünme fonksiyonları tekrar onarılamayacak bir hal alır [10].

AIDS hastalığının kontrolünde HIV inhibitörlerinin geliştirilmesi çok önemli adımlardan biridir. Özellikle viral RNA dan poliviral DNA oluşumundan sorumlu olan HIV-1 Reverse Transcriptase, (HIV-1 RT), enzimi [17] ve HIV-1 proteaz, (HIV-1 PR), enzimi anti-HIV ilaçlarının geliştirilmesi için ilk hedeftir [18]. Ayrıca gp120 proteinin üç boyutlu yapısının aydınlatılması da AIDS aşılarının geliştirilmesi için çok önemlidir.

Bu nedenle bu alanla ilgili olarak, Reverse Transcriptase ve Proteaz enzimi inhibitörleri ile ilgili çalışmalar son yıllarda çok büyük önem ve hız kazanmıştır.

Bu çalışmada Reverse Transcriptase inhibitörü, (HIV-1 RT), olarak 2-Amino-6-arilsulfonil benzonitril ve türevleri incelendi. 2-amino-6-ariltiyobenzonitril bileşikleri J. H. Chan ve ekibi tarafından sentezlenmiş ve bu bileşiklerin HIV-1 virüsünün aktivitesini azalttığı belirlenmiştir. Bu bileşiklerin yapısal modifikasyonları olan sülfoksid ve sülfonlar da HIV-1 üzerine benzer etki de bulunurlar ve HIV-1 virüsünün non-nükleosid reverse transcriptase enzimi inhibitörleri (NNRTIs) olarak kullanılırlar [19].

NNRTIs HIV enfeksiyonlarının davranışında çok önemli bir rol oynar ve hastalığın tedavisinde kullanmak için bu inhibitörlerin bazıları üzerinde çalışılarak, HIV-1 virüsünün aktivitesini büyük oranda azalttığı görülmüştür [20]. Aynı bileşik serisinin QSAR incelemesi ise J. Thomas Leonard ve Kunal Roy tarafından gerçekleştirilmiştir [18].

BÖLÜM 2
QSAR METOTLARI

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

2.1.1. SAR

SAR terimi bileşiklerin kimyasal yapıları ile biyolojik ve farmakolojik aktiviteleri arasındaki ilişkinin kalitatif olarak belirlenmesi anlamına gelir. Yani bir molekül 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 reaktiflik, elektronik etkiler, rezonans ve indüktif etkilerdir [21].

2.1.2. QSAR

QSAR bir molekülün farmakolojik, toksikolojik ve biyolojik aktivitesinin kantitatif tahminini yapar. Bu metot, benzer bileşik serisinden ortaya çıkan yapı ve aktivite bilgilerini temel alır [22].

QSAR tarihinin başlangıç noktası kesin değildir. 1860 lardan 1960 lara kadar yüzyılı aşkın bir süre içinde gelişim göstermiştir. Moleküller arasındaki ilişkiyi ve biyolojik özellikleri gösteren ilk çalışma 1863'te Strasburg Üniversitesi'nde A.F.A. 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 (Eşitlik 2.1.).

$$\Phi = f(C) \qquad (2.1)$$

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. Fakat Eşitlik 2.1 bunu açıklamakta yetersiz kalmaktadır. $\Delta\Phi$ ile ΔC, ya yapısal parametreler (Free-Wilson analizi) yada moleküler özelliklerdeki değişim göz önüne alınarak (Hansch analizi) doğrudan ilişkilendirilebilir. Bu ilişki aşağıda verilmiştir.

$$\Delta\Phi = f(\Delta C) \qquad (2.2)$$

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, aldehitler, 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 bağlı olduğuna dikkat çektiler [23].

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 disosiasyonunu incelemişler ve bağlı olan substituentlerin aktiviteyi nasıl etkilediğini açıklayarak, QSAR'ın gelişimine büyük katkılarda bulunmuştur [24].

Uyuşturucu, bakteriyel, hemolitik ve toksik özellikler ile lipofilite arasındaki ilişkiler yüzyılın başından beri bilinmesine rağmen, 1964'te Free-Wilson metodu ve Hansch analizi ile ilgili yayınlar sonucunda, daha açık bir şekilde ortaya konulmuştur [25].

2.1.2.1. QSAR Teorisi

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

Bu durum, bazı araştırmalar, Örneğin; de novo ilaç dizaynı programı LUDI (2.3), tarafından ispat edilmiştir. Buna ek olarak, Free Wilson ve Hansch analizleri birleştirilerek yapılan çalışmaların sonucunda bu görüş desteklenmiştir [26].

$$\Delta G_{baglanma} = \Delta G_0 + \Delta G_{hb} + \Delta G_{iyonik} + \Delta G_{lipo} + \Delta G_{dönme} \qquad (2.3)$$

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

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

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

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

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

Eşitlik (2.3), serbest bağlanma enerjisi $\Delta G_{baglanma,}$ 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 (2.3) enerji değerlerinin geniş bir aralığına sahiptir: 45 farklı ligand-protein kompleksine ait $\Delta G_{baglanma}$ değerleri -9 ila -75 kjmol^{-1} arasında değişir. Bu değerler $2{,}5.10^{-2}$ M ve 4.10^{-14} M arasındaki bağlanma sabitlerine karşılık gelir. Matematiksel modelden, ligand bağlanma sabitlerinde yaklaşık 1,4 log birimlik hataya karşılık gelen standart sapma değeri 7,9 kjmol^{-1} olduğu bulunmuştur [26].

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

$$\Delta G = -2{,}303\,RT \log K = -2{,}303\,RT \log \frac{k_b}{k_a} \qquad (2.4)$$

Belirli biyolojik etkiye karşılık gelen molar konsantrasyonun logaritması, logC, moleküler özellikler yada fizikokimyasal özellikler ile ilişkilendirilebilir. Bu fizikokimyasal özellikler Eşitlik 2.4 de verildiği gibi serbest enerji ile ilişkisi olan denge sabitleridir. Normal olarak konsantrasyonun tersinin logaritmasının değeri, log(1/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.

2.1.2.2. 2D-QSAR Analizi

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.

2D-QSAR analizi kantitatif ilişkileri elde etmek için lineer regresyon tekniklerini kullanır. 2D-QSAR tekniklerinin çoğunun istatistiksel verileri şüphelidir. Ligand ve reseptör arasındaki başlangıç etkileşimi üzerinde durur. 2D-QSAR, 3D-QSAR kadar açık değildir. Genellikle yapı temelli farmakofor tanımlaması yapar ve reaksiyon bilgileri, yapısal özelliklerin tahmini ile kimyasal bilgiler üzerinde durur [27].

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

1. Moleküler bağlanma gibi iki boyutlu parametreler
2. Moleküler yüzey alanı gibi üç boyutlu parametreler

3. LogP gibi fizikokimyasal özellikler

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

2D-QSAR da kullanılan moleküler parametreleri, ya deneysel metotlardan (X-Ray, NMR gibi) yada moleküler mekanik (MM) hesaplamalarından elde etmek etkili bir yoldur. Ancak, HOMO ve LUMO gibi bazı parametreler kuvantum mekaniksel (QM) hesaplamaları gerektirir. Son yıllarda Tong, moleküler parametrelerin aynı seti için, MM de hesaplanan geometri ile QM de hesaplanan geometrileri kullanarak elde ettiği sonuçları QSAR modelinde karşılaştırmıştır. QM parametreleri kullanarak elde edilen QSAR sonuçları MM parametreleri kullanarak elde edilen QSAR sonuçlarından daha iyi olduğu görülmüştür [28].

2.1.2.2.1. Hansch Analizi

1964 de, C. Hansch, T. Fujita, tarafından yapılan çalışmada farklı fizikokimyasal parametreler kullanılarak substitue fenoksiasetikasit türevlerinde biyolojik aktivite ve lipofilite değişimleri incelenmiştir. QSAR daki başlıca ilerleme de Hansch ın bu çalışmasında biyolojik aktivitenin serbest enerji terimleri ile bağlantılı olduğunu ispat etmesinden sonra olmuştur. Bu yaklaşım başlangıçta lineer serbest enerji ilişkisi, LFER, olarak adlandırılmış daha sonra termodinamik yaklaşım olarak değiştirilmiş ve aşağıdaki eşitlik ile açıklanmıştır.

$$\text{Log}1/C = a\pi + b\sigma + cE_s + \ldots\ldots\ldots + \text{sabit} \qquad (2.5)$$

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

Korelasyon modeli tek bir parametre veya çeşitli parametrelerin kombinasyonu kullanılarak ortaya çıkarılabilir. Bu parametreler π, logP, σ gibi deneysel verilerden yada 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 [29]. ilacın n-oktanol/su sistemindeki dağılma katsayısı (hidrofobisite) ve biyolojik aktivite arasında ikinci dereceden bir ilişki olduğunu aşağıdaki formül ile göstermişlerdir.

$$\text{Log } 1/C = a(\log P)^2 + b(\log P) + c\sigma + \ldots\ldots + k \qquad (2.6)$$

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 de denir.

Bu eşitlik taşınma ve bağlanma kavramınının 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 substituentlerinin lipofilite parametresi olan π yi tanımladılar, (Π_X = log P_{RX} – log P_{RH}) yaklaşık 30 yıl önce Hammett aynı anlama gelen elektronik parametre σ yı açıklamıştır (eşitlik). Hammett çalışmalarında referans olarak substitue benzoik asitlerin iyonizasyon sabitlerini kullanarak aşağıdaki matematiksel bağıntıları önermiştir [30].

$$\rho\sigma = \log K_{RX} - \log K_{RH} \quad (2.7)$$

$$\rho\sigma = \log k_{RX} - \log k_{RH} \quad (2.8)$$

ρ belirli reaksiyonlar için özel olan reaksiyon sabiti ve σ substituentlerin 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 yada biyolojik Hammett eşitliği olarak tanımlanır.

$$\text{Log } \tau_i - \log \tau_{Et} = \alpha\beta_i \quad (2.9)$$

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

Özellikle laboratuar çalışmalarında biyolojik aktiviteyi farklı şekilde açıklama yeteneğine ve esnekliğine sahip olması nedeni ile Hansch analizi oldukça avantajlıdır [23]. 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.

2.1.2.2.2. Free-Wilson Analizi

1964 te Free ve Wilson genel yapısal özellikleri açıklamak için yeni bir matematiksel model geliştirdiler. Bu model substituentlerin bulunması veya bulunmaması durumunda biyolojik aktivite korelasyonunu kullanan bir regresyon tekniğidir [31].

Bu modelin esası, herhangi bir konumdaki substituentin, temel molekül yapısına biyolojik katkısının olduğu ve her bir substituentin bu katkısının, molekülde varolan diğer gruplardan bağımsız olduğu varsayımına dayanır [32]. Free Wilson analizinde biyolojik aktivite aşağıdaki formül ile hesaplanır.

$$\log 1/C = \sum a_i + \mu \quad (2.10)$$

a_i biyolojik aktivite değerlerine X_i substituentlerinin grup katkıları ve μ daha çok substitue olmamış analog olarak adlandırılan referans bileşiğin hesaplanmış biyolojik aktivite değeridir. Free Wilson analizi uygulama yapmak için daha kolaydır. Biyolojik aktiviteyi açıklamakta fizikokimyasal özelliklere ihtiyaç duymaz. Genel substituentlerin varlığı veya yokluğunu göstermek için 1 yada 0 değerlerini kullanır. Başka bir deyişle, Free Wilson analizi Hansch analizinden daha sınırlıdır [23].

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 [30].

Bunlar;

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

Free-Wilson analizi, biyolojik aktivite için önemli olan fizikokimyasal özelliklerin farkını görmede sık sık kullanılır.

Fujita ve Ban 1971 de Free-Wilson modelinin eksikliklerini gidermek için, aktivitenin logaritmasını kullanarak yeni bir eşitlik geliştirdiler. Bu eşitlik aşağıda verilmiştir.

$$\text{Log } A/A_0 = \sum G_i X_i \quad (2.11)$$

A ve A_0 sıra ile substitue olmuş ve olmamış bileşiklerin aktivite değeri, G_i i substituentinin aktivite katkısının logaritmasıdır ve X_i ise substituent bulunduğunda 1, bulunmadığında 0 olan bir değerdir. Substituentlerin bir seti için eşitlik aşağıdaki şekli alır.

$$\text{Log A} = \sum G_i X_i + \mu \qquad (2.12)$$

burada μ sabit bir terimdir.

Geliştirilmiş bu modelin başlıca avantajları şunlardır.

1. Yapısal matriks biçiminin değiştirilmesine ihtiyaç duymaz
2. Eşitlik için hiçbir sınırlama yoktur.
3. Her bir pozisyondaki grup katkıları referans bileşiğe dayanır.
4. Sabit terim μ en küçük kareler yöntemi ile hesaplanır ve substitue olmamış bileşik için değeri teorik olarak bulunur. Bir bileşiğin dışarıda bırakılması yada hesaba katılması grup katkıları değerini önemli derecede etkilemez.

Bu avantajlar nedeni ile Fujita-Ban metodu Free-Wilson metodundan daha iyidir [29].

2.1.3. Yeni QSAR metotları

2.1.3.1. Hologram QSAR (HQSAR)

Son yıllarda Tripos tarafından ortaya çıkarılan Hologram QSAR fragment bazlı bir QSAR yaklaşımıdır [28].

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 [29].

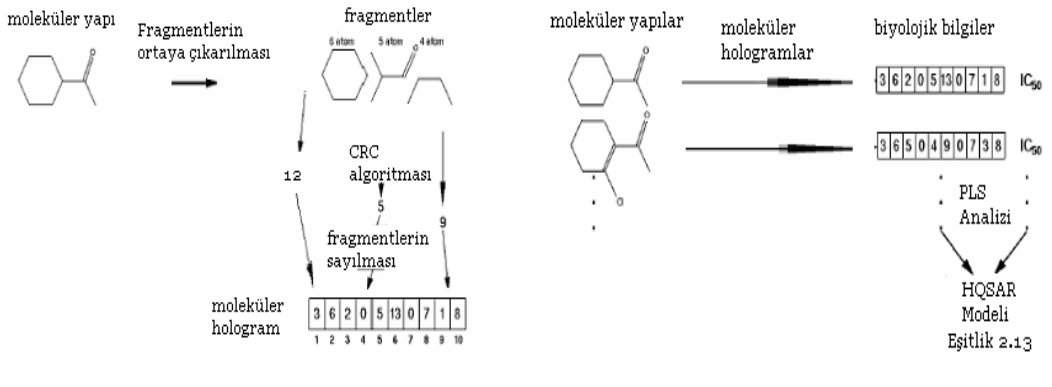
HQSAR da, seçilen bileşik serisindeki her bir molekül yapısal fragmentlerine ayrılır, daha sonra bu fragmentler CRC (cyclic redundancy check) algoritması kullanılarak özel bir sayı olarak tayin edilir. Bu sayılar sabit uzunluktaki bir sayı dizisinde depolanarak düzenlenir. Burada elde edilen diziler moleküler hologram olarak bilinir ve moleküler hologram dizileri, tanımlayıcılar olarak kullanılır. Bu tanımlayıcılar moleküllerin kimyasal ve topolojik bilgilerini tahmin etmek için kullanılır. QSAR modeli PLS

regresyon tekniği kullanılarak geliştirilmiş ve "leave-one-out" cross-validation tekniği kullanılarak geçerli kılınmıştır. Aktivite ile hologram dizileri arasındaki korelasyon, PLS ile elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak geçerli olmuştur.

$$A_i = C + \sum_{l=1}^{L} X_{il} C_{il} \qquad (2.13)$$

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

Aşağıda verilen ilk şekilde moleküler hologramların ortaya çıkarılma prosedürü ve ikinci şekilde ise bu hologramların kullanılarak aktiflik değerlerinin elde edilmesi gösterilmiştir [33].



(a) **(b)**

Şekil 2.1 HQSAR da Hologramların Ortaya Çıkarılması ve Bu Hologramlardan Aktivite Değerinin Elde Edilmesi

HQSAR ve Free-Wilson metotu 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.

2.1.3.2. Inverse QSAR

Inverse QSAR Focus-2D olarak bilinen bu yaklaşım yapısal olarak benzer bileşiklerin benzer biyolojik aktiviteyi göstereceği hipotezi üzerinde durur [34]. Bu yaklaşım topolojik parametreler gibi çeşitli kimyasal yapı parametrelerini, olasılık araştırma algoritmalarını ve kimyasal benzerlik fonksiyonlarını kullanır.

Bu metot özellikle peptit bileşik arşivindeki moleküllerin rasyonel dizaynı için Cho tarafından geliştirilen bir yaklaşımdır. Bu metodun amacı arşiv sentezi için çoğunlukla benzer olarak sunulan amino asitlerin alt serilerini seçmektir [35].

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 lest 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 amino asit temelli 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.

2.1.3.3. 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, hızlı metot olarak HTS (high throughput screening) metodu geliştirilmiştir. Genellikle bu metot aktif yada 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 [36].

Bu metot biyolojik aktivite için gereken önemli yapısal bilgileri çıkarmada ve ilaç tasarımı için arşivlerin tasarımında yardım eder. Metodun daha ayrıntılı şekli Labute'nin [37] ve Gao'nun [38] 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 sayısı olmak üzere $100(c_0/m_0)$ aktif bileşiklerin yüzdesini ve $100(c_1/m_1)$ ise inaktif bileşiklerin yüzdesini ve $100(c_0+c_1)/(m_0+m_1)$ tüm bileşikler için ayrıntılı yüzdeyi verir.

Binary QSAR metodunun avantaj ve dezavantajları Labute tarafından makalesinde sunulmuştur. Bu metot HTS için bileşiklerin seçiminde ve kombinatoryal arşivlerinin tasarımında kullanışlıdır. Binary QSAR metodunun başlıca dezavantajı parametrelerin yorumlanmasında kolay olmamasıdır [29].

2.1.3.4. 3D-QSAR

C. Hansch grubu ve diğer araştırmacıların üzerinde durduğu QSAR yaklaşımları, biyolojik aktivite veya moleküldeki fiziksel ve yapısal değişimler ile yapısal parametreler arasındaki kantitatif ilişkileri gösterir. Bu metotlar, birçok ticari ilaç ve pestisitlerin geliştirilmesinde ve ilaç reseptör etkileşimlerinin aydınlatılmasında yardım eder. Bununla birlikte, bu metotlar bazı sınırlamalara sahiptir. En önemli sınırlama, yeni substituentler için sayısal parametrelerin bulunmamasıdır. Aktif Analog Yaklaşımı, Moleküler Şekil Analizi, Karşılaştırmalı Moleküler Alan Analizi (CoMFA, Comparative Molecular Field Analysis) 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 [29].

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

Bir bileşiğe biyolojik aktivite kazandıran molekülün üç boyutlu yapısı olduğu için 3D-QSAR, moleküldeki yapısal değişikliklerin biyolojik özelliklerin değişimlerini nasıl

etkilediğini anlamamıza yardım eder. 3D-QSAR teknikleri yapı-aktivite ilişkilerini bilgisayar destekli olarak ortaya koyar. Hızı ve kesinliğinden dolayı 3D-QSAR metodları ile ligand-reseptör kompleks yapısı üzerindeki hesaplamalar yapılabilir. 3D QSAR teknikleri, incelenen molekül serisi dışındaki bileşiklerin aktifliğini veya inaktifliğinin tahmini için de kullanılır [39].

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, dönor-akseptör hidrojen bağı yada yüklü fonksiyonel gruplar tanımlanır.
3. Aktif Küme (Perform Cluster Analysis) sınıflandırma metodları ile bağlayıcı konformer seçilir. "Aktif Küme" aktif bileşiklerin yüksek konsantrasyonu ve inaktif bileşiklerin düşük konsantrasyonuna sahiptir. Aktif kümede her bir yapının en düşük enerjili konformeri reseptör ile etkileşen konformer olarak alınır.
4. Farmakoforun, dipol momenti, polaritesi, nokta yükleri, moleküler elektrostatik potansiyeli, HOMO ve LUMO orbitalleri, şekil ve hacim gibi özellikleri belirlenir.
5. Önemli farmakofor özellikleri seçilir [40].

Biyolojik aktivite ile kimyasal bir serinin üç boyutlu özellikleri arasındaki bağıntıyı kullanan 3D-QSAR, son yıllarda QSAR metotlarının en dikkat çekeni olmuştur. Çünkü aktivite hesabı için kimyasal yapıyı anlatan parametreler kullanılır. 3D-QSAR metodu, parametre tipine göre iki temel sınıfa ayrılır. Birincisi hacim bazlı (lattice-based, incelenecek bir bileşik bir hacim içine yerleştirilerek özelliklerinin araştırılması) ve ikincisi yüzey bazlı parametrelerdir. Hacim bazlı metot olarak, 3D-QSAR metodunda en çok kullanılan CoMFA dır.

2.1.3.4.1. CoMFA

1979 da Cramer ve Milne molekülleri karşılaştırmak için uzayda molekülleri üst üste çakıştırarak üç boyutlu olarak incelemişlerdir. Bunu izleyen yıllarda bu yaklaşım CoMFA nın ilk uygulamalı modeli şeklinde, DYLOMMS (dynamic lattice-oriented

molecular modelling system) metod olarak geliştirilmiş olmasına rağmen bilim adamları tarafından yetersiz olarak gösterilmiştir. Bunun ardından Cramer çeşitli çalışmalarla bu modelini geliştirerek 1988 de CoMFA olarak adlandırdığı bu yeni metodu ortaya çıkarmıştır ve bu metot geniş çapta kullanım alanı bularak, QSAR ve ilaç tasarımı için kullanılan en güçlü yöntemlerden biri olmuştur. CoMFA molekülün özelliklerini (biyolojik aktivite dahil) molekülün yapısı ile ilişkilendiren istatitiksel (PLS, PCA) ve grafiksel bir modeldir [41].

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-biyoalıcı etkileşimi) ile aynı bağlanma bölgelerini kullanması şartıdır. İkinci adım olarak, CoMFA modeli oluşturmak için moleküllerden bir alt grup (training set) seçilir. Geriye kalan moleküller test seti olarak düşünülür. Atomik yükler ve düşük enerjili konformasyonlar hesaplanır [41].

CoMFA da kimyasal yapının düzenlenmesi önemli olduğundan bu modelde moleküller birbiri 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 (Partial Least Squares- PLS) kullanılarak sterik ve elektrostatik alanlardaki değişimler, biyolojik aktivitede ki değişimler ile ilişkilendirilir. PLS analizi genellikle parametrelerin (yapısal, konformasyonel, geometrik, elektronik ve termodinamik gibi fizikokimyasal özellikler) sayısı kimyasal modellerin sayısından daha büyük olduğu zaman kullanılır. En küçük kareler analizi, basit doğrusal, çoklu regresyon modellerinin çözümlenmesinde kullanıldığı gibi, çok denklemli ekonometrik modellerin çözümündede kullanılan tekniklerden biridir [42].

PLS analizlerinden alınan datalar kullanılarak CoMFA haritaları düzenlenir. Bu haritalar analizdeki bileşiklerin elektrostatik ve sterik özelliklerini açıklamak ta kullanılır. Daha yüksek özellik değerlerine sahip olabilecek yeni bileşikleri önermeye yardımcı olan bu haritalar, bütün moleküller için ortak olan Pha'i göstermezler [43].

CoMFA da, örgü noktalarının belirlenmesinin güçlüğü, sonuçların biyoaktif konformasyonun seçimine ve moleküllerin çakıştırılması kurallarına bağımlı olması gibi bazı temel problemler olmasına rağmen, günümüzde metodun 3D-QSAR modelleri için oldukça kullanışlı bir araç olduğuna karar verilmiştir [44].

2.1.3.4.2. Aktif Analog Yaklaşımı

1979 da Marshall tarafından geliştirilen bu metodun temeli, benzer konformerler benzer aktiviteyi gösterir varsayımına dayanır. Bu metotta ilk olarak biyolojik olarak yüksek aktiviteye sahip bir bileşiğin konformerleri hesaplanır. Molekül serisindeki bütün bileşiklere bu işlem uygulandıktan sonra yüksek enerjili konformerler elimine edilir. Daha sonra aktif konformer belirlenir, moleküler hacim her bir molekül için hesaplanır ve moleküller üst üste çakıştırılır. Üst üste çakışmış konformerlerin belirli tolerans aralığında ortak olarak taşıdıkları aktif fragment Pha tanımlanır [45].

2.1.3.4.3. Moleküler Şekil Analizi (MSA)

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

1. İlk olarak konformasyonel analiz yapılır.
2. Çalışılan molekül serisindeki biyolojik olarak aktif konformer tanımlanır.
3. Referans bileşik seçilir.
4. Referans moleküle göre her bir bileşiğin üst üste çakıştırılması gerçekleştirilir.
5. Moleküler şekil parametreleri belirlenir.
6. Diğer Hansch tipi parametreler belirlenir.
7. 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 [29].

2.1.3.4.4. CoMSIA Comparative Molecular Shape 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 [46]. 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 yada alan bazlı olarak çakıştırılır.
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 "leave-one-out cross-validation" 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 dönor yada akseptör özelliği) terimleri ile açıklanır. Mesafeye bağlı Gaussian tipi fonksiyon fizikokimyasal özelliklerin farklı türlerini hesaplamak için kullanılır. İndeks, $A_{EK,}$ ilgilenilen bileşikler ve prob atom arasında aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanır.

$$A_{F.K}^{q}(j) = -\sum_{i=1}^{n} \omega_{probe,k}\, \omega_{ik}\, e^{-\alpha r_{iq}^{2}} \tag{2.14}$$

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 dönor 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 [47].

CoMFA ve CoMSIA metodlarına ek olarak, moleküler düzenlenmenin (moleküllerin üst üste çakıştırılmadığı) kullanılmadığı COMMA, WHIM ve EVA gibi yeni 3D-QSAR teknikleri geliştirilmiştir [28].

2.1.3.4.5. CoMMA (Comparative Molecular Moment Analysis)

Karşılaştırmalı Moleküler Moment Analizi olarak adlandırılan CoMMA, ilaç-reseptör etkileşiminde molekülün şekli kadar onun kütle ve yük dağılımlarının da önemli olduğunu dikatte alan bir metottur ve CoMMA da moleküllerin üst üste çakıştırılması işlemi yapılmaz [48].

2.1.3.4.6. EVA

EVA (EigenVAlue) parametreleri deneysel IR ve Raman moleküler dönme ve öteleme frekanslarından elde edilir. Katsayı parametreleri molekülün dönme modlarının yerini tutan katsayılara dayanan vektörlerdir. CoMFA ve CoMSIA gibi EVA da üç boyutlu bilgileri içine alır. Bu yöntem CoMMA da olduğu gibi moleküler düzenlenme ve moleküllerin üst üste çakıştırılmasını dikkate almaz ve sadece moleküler konformasyonu dikkate alır [49].

2.1.3.4.7. WHIM

Weighted Holistic Invariant Molecular parametreler olarak adlandırılan WHIM Prof. Roberto Todeschini tarafından geliştirilen 3D-moleküler parametreleridir. WHIM parametreleri hacim, şekil, simetri ve atom dağılımları ile moleküler yapının tamamı hakkında bilgi verir. Üç boyutlu moleküler yapının en düşük enerjili konformeri x, y, z kordinatlarında hesaplanır. Fizikokimyasal özellikleri ve biyolojik aktiviteyi modellemede yüksek kapasiteye sahip bu parametreler QSAR çalışmalarına yeni bir boyut kazandırmıştır. Heterojen bileşikler için de kullanışlıdır [50].

2.1.3.5. 4D-QSAR

Hopfinger 1997 yılında 3D-QSAR modeline dördüncü boyutu kazandırdı ve 4D-QSAR analizi terimini ortaya çıkardı. Bu metodun CoMFA dan başlıca farkı, konformasyonları eşleştirme işlemi yaparak, biyolojik aktivite bilgileri ile moleküler yapıların bir setinden

geliştirilen modelde hem moleküler konformerleri hemde moleküllerin üst üste çakışması incelemelerini birleştirmesidir. 4D-QSAR analizinin dördüncü boyutu eşleştirme ortalamasından kaynaklanır. Bu metoda göre, çoğu 3D-QSAR metodlarından farklı olarak, aktif konformasyon minimum enerjili konformer değildir. Sistematik konformasyonel araştırma yerine, konformasyonel eşleştirme özelliklerini belirlemek için MDS (multi-temperature molecular dynamics) yi kullanır. Minimum enerjili konformerin 2Kcal/mol içinde olan tüm konformerleri çalışılan bileşik serisindeki her bir bileşiğin en aktif konformeri olarak tanımlanır. Düşük enerjili konformerlerin bu serisi en iyi sonucu veren 3D-QSAR modellerinde ayrı ayrı hesaplanır. Moleküler çakışma problemi benzer örnekleme ve hesaplama tekniği ile çözülmüştür. Her bileşiğin konformerleri, CoMFA metodunda olduğu gibi, en iyi çakışmayı bulmak için daha önceden belirlenmiş dikdörtgen şekilli bir yüzeye yerleştirilir ve 3D parametreleri bilgisayarda hesaplanır, daha sonra PLS teknikleri kullanılarak biyolojik aktivite ile korelasyonu yapılır. 3D-QSAR modelleri PLS tekniği ile ortaya çıkarılmıştır. Bu metot en iyi çakışmayı sonuçlandırana kadar tekrar edilir. Aktif konformer, aktivite değerini en iyi veren, uygun 3D-QSAR modelinden seçilir. Bu metot 3D-QSAR modellerini geliştirmek için kullanılmıştır [29].

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 metot özellikle, ligandın reseptöre bağlanma serbest enerjisi tahmin edilirken, reseptör yapısı bilinmediği zamanlarda kullanışlıdır [51].

2.1.3.6. Moleküler Modelleme ve QSAR

Moleküler modelleme, bilgisayarlı kimya ve grafiksel tasarım teknikleri kullanılarak moleküler yapı ve özellikleri araştırmak için kullanılan bir tekniktir [52]. 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 [53].

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 imkan 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 uygun bir biçimde gerçekleştirilmesini yapar.

Kısaca moleküler modellemeye başlamak için üç ana metod kullanılır.

1. İlk olarak, özellikle bağ açısı ve bağ uzunlukları gibi geometrik özellikler yapılandırılır.

2. Molekül optimize edilerek uygun geometriye sahip olan fragmentler ortaya çıkarılır.

3. X-ışınları kristalografisi, nötron difraksiyonu veya NMR gibi fiziksel deney sonuçlarından elde edilen bilgiler kullanılarak yapılandırma işlemi yapılır.

Basit olarak moleküler modelleme ya moleküler ve biyolojik özellikleri tahmin eden yada 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 [54].

2.1.4. Biyoalıcı İle İlaç Molekülün Etkileşim Mekanizması

Biyolojik aktivite, incelenen molekül ve biyoalıcının etkileşimi ile doğrudan ilişkilidir. Bu etkileşimin mekanizması oldukça karmaşık olduğu gibi biyokimyanın en zor problemlerinden birisidir. Biyoalıcılar hakkındaki bilgiler genellikle sınırlıdır ve ilaç

molekülleri ile etkileşimleri, metabolizma gibi harici etkilerden dolayı oldukça karmaşıktır. Bu problem, ilaç-biyoalıcı etkileşiminin her bir kademesinde değişik biyolojik yöntemlere ve fizikokimyasal metotlara başvurmakla çözülebilir. Fakat, genel olarak bu yol çok uzun ve çözülmesi zordur. Diğer taraftan bilinen moleküler yapı ve maddelerin biyolojik aktiviteleri üzerine oldukça fazla miktarda deneysel bilgiler mevcuttur. İlaç-biyoalıcı etkileşiminin biyomekanizmasını dikkate almadan, bu probleme aktif ve inaktif bileşikleri deneysel metotlarla tespit ederek aralarındaki benzerlikleri ve farklılıkları açıklayan çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalardaki bilgilere dayanarak, aktiviteden sorumlu bileşiklerin temel özelliklerine karar verilebilir ve biyolojik aktivite için bazı tahmini kurallar formüllendirilebilir.

Kullanılan QSAR metotlarında problemin en zor kısmı, biyoalıcı ile ilaç molekülünün etkileşim mekanizmasını net olarak ortaya koyamamasıdır. Bu nedenle, ilaç-biyoalıcı 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 biyoalıcı-ilaç molekülü etkileşimidir. Bu kapalı kutu için girdinin kesinliği daha da azdır. Hakikaten molekülün hangi tür özelliklerinin biyolojik aktivite formülünde kullanılacağı belirli değildir.

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

2D-QSAR analizi üzerinde çok çalışılmış bir alandır. Moleküler parametrelerin değişik türlerinin yüzlercesini içeren QSAR çalışmaları, birbirini izleyen uygun metotların sürekli geliştirilmeleri ile hızla artmaktadır. Biyoalıcının üç boyutlu yapısının bilindiği durumlarda bağımsız olarak geliştirilen QSAR eşitliği, bağlanma bölgesinin polar ve apolar özelliklerini yansıtır.

Bununla birlikte, 2D-QSAR çalışmalarında, analiz yapmak için moleküllerin üç boyutlu yapıları hakkında hiçbir bilgi gerekmez. Bilgisayarların gücünün düşük olduğu günlerde bu bir avantajdı. Ancak bilinen bir molekül serisinden bilinmeyen molekül serisine extrapolasyon yapmak zordur.

Moleküler parametreler, genellikle QSAR analizinin bir parçası olarak modern kuantum kimya hesaplamalarından elde edilir. Mesela, özel bir atomda en yüksek enerjili dolu orbitaldeki (HOMO) veya en düşük enerjili boş orbitaldeki (LUMO) kısmi atomik katsayılar biyolojik aktivite ile ilişkili olabilir. Bu metotlar üç boyutlu bir yapı gerektirmemelerine rağmen, moleküler parametreler uzaydaki özelliklerin tanımlayıcıları değildirler. Bu yetersizliklerin üstesinden gelmek için 3D-QSAR metotları geliştirilmiştir [55-59]. 3D-QSAR metotları önceden ölçülmüş veya hesaplanmış sübstitüent değişkenlerinin tablosuna bağlı değildir, fakat bunun yerine analizdeki bütün moleküllerin özelliklerini dikkate alırlar. Sonuç olarak yeni moleküller analize daha kolay dahil edilirler. Bunun yanı sıra, hem Hansch eşitliği hem de 3D-QSAR metotları aynı özellikleri tanımlayabilirler ve tanımlayıcı modelleri verebilirler. Bu yaklaşımlara bir yenilik ise, Güzel, Y. tarafından geliştirilen ve bu çalışmada kullanılan CoMCET metodu ile moleküllerin üç boyutlu elektronik topolojik özellikleri (yük, atomlar arası mesafe, bağ mertebesi, bağ uzunluğu vs.) dikkate alınarak aktiviteden sorumlu Pha ve onun etrafında bulunan ve aktivite değerlerini artıran, AG veya azaltan, APS gruplarının belirlenmesidir.

2.1.5. QSAR Yöntemi Olarak CoMCET Programı

2-Amino-6-arilsulfonilbenzonitriller de incelenen bileşiklerin deneysel aktiviteleri kaynaklardan toplanarak molekül serisi belirlenmiştir. Moleküllerin konformasyonları dikkate alınarak "Spartan Pro 1x" programında kuantum kimya hesaplamaları yapılmıştır. Bu sonuçlar CoMCET programında ele alınarak her bir konformere ait elektronik özellikler, molekülün üç boyutta sayısal bir gösterimi olan ETMC matrisinde

gösterilmiştir. Matrislerin karşılaştırmasıyla aktiviteden sorumlu farmakofor, **Pha**, belirlenerek, Pha yı bulunduran konformerler için aktiviteyi azaltan grup, APS ve aktiviteyi artıran, AG gruplarına ait torsiyon açıları, Pha'den uzaklıkları ve bu grupların etkin katsayı değerleri bulunur. Bu karakteristik özellikler, Pha'in yanında aktivitenin değerine etki eder ve onun nicel olarak incelenmesine imkan sağlar. CoMCET programı ile elde edilen sonuçlar istatistik hesaplamalarda değerlendirilerek 3D-QSAR incelemeleri tamamlanır. Biyoalıcının moleküllerle olan etkileşim mekanizması bu programın sunduğu 3D-QSAR sonuçlarından sağlanır ve onun yapısı hakkında ön bilgiler elde edilir.

2.1.6. Farmakofor Tanımlamasına Genel Bakış

İlaç tasarımında farmakofor (Pha) terimi ana kavramlardan biridir. Reseptörün üç boyutlu yapısı bilinmediği zaman farmakofor tanımlaması, yeni farmakolojik ilaçların rasyonel tasarımında bir anahtardır. Pha modelleri, reseptör yapıları deneysel olarak açıklanamadığı zaman reseptör-ligand etkileşimini açıklamada kimyacılara yardım eder [60].

Farmakofor kavramı Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımında, (CADD- Computer-Assisted Drug Design), reseptör veya enzim ile etkileşen çeşitli moleküllerdeki genel üç boyutlu özelliklerin araştırılmasında kullanılır [61].

Farmakofor terimi 1900 lerin başında Ehrlich tarafından ortaya çıkarılmış ve ilaç aktivitesinden sorumlu temel özellikleri taşıyan moleküler iskelet ile ilgili olduğu ifade edilmiştir. Günümüzde ise Pha terimi üç boyutlu moleküler yapılara uygulandığında farklı bir anlam kazanır çünkü 3D farmakofor, özellikle kimyasal özellik (fonksiyonel gruplar) ile uzaydaki düzenlenmelerin bir toplamı olarak tanımlanır [62].

Pha, araştırmacılara bağlı olarak çeşitli şekillerde tanımlanmıştır. Ancak Pha çoğunlukla, kesin bir biyolojik aktivite sağlamak zorunda olan bileşiğin, kimyasal, yapısal ve fiziksel özelliklerinin kombinasyonlarını kapsayan bir grup özelliği olarak ifade edilir [63].

İncelenen molekül serisinde ilaç etkisinden sorumlu olan Pha grubudur. Deneme setindeki aktif moleküllerde aktiviteden sorumlu belli bir geometrik düzende olan

atomlar veya atom gruplarına farmakofor denilir. Bu tanımlama, belli bir moleküler sistemde Pha nın varlığında veya yokluğunda aktivitenin kalitatif olarak (aktivite var yada yok) belirlenmesinde kullanılabilir. Fakat Phanın var yada yok şeklinde tanımlanması, aktifliğin kalitatif ölçümü için yetersiz olabilir. Örneğin Pha var fakat aktiflik küçük ise, bileşik deneysel olarak inaktif şeklinde sınıflandırılabilir [63].

Probleme ilk yaklaşım olarak bu tanım kullanışlı olabilir. Bununla birlikte EC metodu ve bu alandaki son çalışmalar göstermiştir ki, Pha nın yukarıdaki tanımı iyi bir aktivite tahminini yapmak için yetersizdir. EC metotta Pha tanımlaması işlemi QSAR yaklaşımında kullanılandan daha farklıdır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda Pha dışındaki bazı atom gruplarınında (out-of-Pha=OOP) aktiviteye önemli derecede etki ettiğini göstermiştir. Bu gruplarda biyoalıcılar ile önemli derecede etkileşime girmektedir.

I.B.Bersuker EC metodunda, Pha nın tanımını aşağıdaki üç önemli aşamada göstermiştir.

1- Pha sadece atomlar ile değil moleküldeki atomların elektronik özellikleri ile de ilgilidir. Bilindiği gibi farklı bileşiklerde, aynı atomlar için farklı ve farklı atomlar için aynı olabilen elektronik özellikler olabilir.

2- Pha nın geometrik parametreleri ve elektronik özelliklerinin her ikisi de aktif bir bileşikten diğerine belirli sınırlar içerisinde değişir ve aktivite bu değişikliklerin (Pha esnekliği) bir fonksiyonu olabilir.

3- Pha aktivitenin tanımlanmasında gereklidir fakat tek başına yeterli değildir. Pha nın olmasına rağmen aktivite Pha dışındaki gruplar tarafından azaltılabilir (APS) yada artırılabilir (AG). Bu gruplar, Pha nın biyoalıcı ile uygun etkileşimini engelleyen APS (A.Dimoglo çalışmalarında APS grubunu anti farmakofor grup olarak tanımlamıştır) ve moleküldeki hidrofobisite gibi özellikleri sağlayan AG gruplarıdır [64].

Pha'nın belirlenmesi için bu tanım temel olarak alınır. İlaç moleküllerinde, konformerleri, geometrisi ve elektronik özellikleri önemlidir. Kantitatif biyolojik

aktivite tahmini regresyon analizi ve molekülün özelliklerinin değerlendirilmesi ile yapılırken, EC metodunda ise Pha belirlenmesi, kuantum kimya hesaplamalarından elde edilen moleküler özelliklerin bilgisayarla matriks haline getirilmesi ile yapılır.

Genelde, Pha, farklı bileşiklerin bir serisinde gözlemlenmiş biyolojik aktivitenin nedenini anlamak ve daha aktif bileşiklerin tasarımına yardımcı olmak için kullanılır. [65-69].

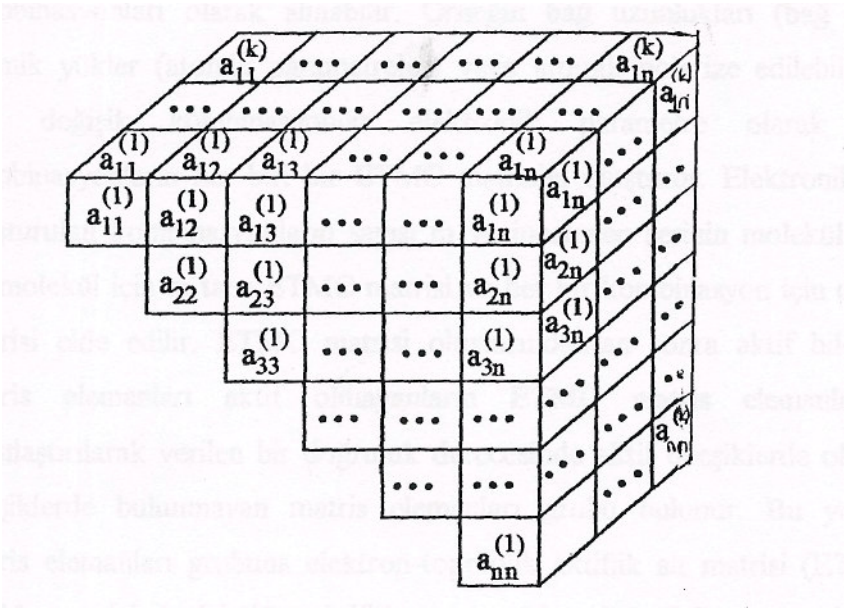
Enzimler veya biyoalıcılar hakkında yeterli bilgi bulunmadığından ve bunların özelliklerini belirlemek zor olduğundan, önemli stereo-elektronik parametreleri belirlemek için ilaç özelliği gösteren bir seri bileşiğin karşılaştırmalı yapı-aktivite ilişkisine dikkate alınması çalışmaları kolaylaştırır. Bu durumda moleküler modelleme yaklaşımı, bilinen aktif/inaktif moleküllerin yapısal özelliklerinin ayrıntılandırılmış analizinden oluşur ve bilinmeyen biyoalıcı bölgesinin yapısı elde edilen parametrelerin yorumlanması ile açıklanır. Bu problemleri çözmek için çeşitli metotlar vardır.

Pha tanımlamak için kullanılan birçok yeni metot, ilaç-biyoalıcı etkileşim bölgesinin hesaplamalarını içerirler. Martin ve grubu tarafından geliştirilen DİSCO (Distance Comparison) adlı bir program bu metotlara örnek olarak verilebilir. Bu programın ilk adımında temsili bileşik grubu seçilir. Daha sonra her bir bileşiğin düşük enerjili konformerini bulmak için bir konformasyonal analiz uygulanır. Daha sonra her bir bileşik için farmakofor grubu ile ilgili özellikler hesaplanır. DISCO'nun önemli bir özelliği hidrojen bağı yapabilen ve yapamayan bölgelerinin hesaplanmasıdır [70].

Ticari moleküler modelleme programlarına bir ek olarak, ChemX programının içerisinde farmakofor haritalandırma yöntemi kullanıma hazırdır. Bu yaklaşım bilinen bir farmakofor tanımı işlemini takip eder. İlk önce, seçilen molekül serisinde düşük enerjili konformerleri belirlemek için konformasyonal analiz yapılır. Daha sonraki adım ise hidrojen bağı yapabilen ve yapamayan bölgelerle, pozitif yüklü atomlar ve aromatik halka merkezleri olan potansiyel Pha noktaları belirlenir. Bu işlem sırasında, nokta çiftleri (mesafe anahtarı) ile sayısal bilgiler ve noktalar arası ilişkiler arasındaki mesafeler hesaplanır (formül anahtarı). Pha belirlenmesi mesafe ve formül anahtarlarının araştırılmasıyla tamamlanır. Daha sonra her bileşiğin en az bir konformeri bu Pha'lerle karşılaştırılır[71].

Bu tezin başlangıç noktası olarak sunulan, Pha tanımlama metotlarından bir tanesi de elektron topolojik yaklaşımdır [72-73]. Bu yaklaşımda, bir molekülün geometrik ve elektronik özellikleri bir matris içinde tanımlanır. Her bir molekül için, bir elektron topolojik matris, sadece konformasyonal analizinden seçilen bir konformere dayanarak yapılır. Elektron topolojik matris diyagonal elemanları ile bir elektronik yapısal parametre içeren gerekli atomlar arası mesafe matrisidir. Kimyasal olarak bağlı olan iki atom için non-diyagonal elemanları bağa ait (bağ sırası, Wieberg indisi, bağ enerjisi vb.) bilgileri depolamak için kullanılır. Bir seride aktif bileşikler için matrisler daha sonra, inaktif bileşiklerde bulunmayan ortak özellikleri bulmak için karşılaştırılırlar. Bu ortak özellikler aktivitenin elektron topolojik alt matrisinden çıkan Pha ile temsil edilir. Pha'nın sonuçlarının incelenen aktiviteyi temsil ettiği öne sürülür.

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



Şekil 2.2. Üç Boyutlu Elektron-Topolojik (Three Dimensional-ETMC TDETMC).

Şekil 2.2' de görüldüğü gibi her bir molekülün Elektron-Topolojik Uygunluk Matrisi (ETMC) ya da üç boyutlu ETMC (TDETMC) matrisi hazırlanır. ETMC matrisinin

her biri köşegen elemanlarına (ay^a^*) göre simetrik olduğundan şekilde sadece matrisin üst yarısı gösterilmiştir. Moleküldeki atom sayısı n ise bağımsız elemanların toplam sayısı n(n+l)/2' dir. TDETMC matrisinde ETMC matrisinin sayısı (m) elektronik parametrelerin seçimine bağlıdır. Molekülün elektronik özelliklerini tanımlayan atomik yükler valens aktiviteleri polarize edilebilirlik ve HOMO-LUMO enerjileri gibi atomik parametreler köşegen elemanları a^ (i=l 2 3...n, ve k=l 2 3....m) olarak seçilir. Köşegen dışı elemanlar (a^iki çeşittir, a. Eğer i ve j birbirine kimyasal bağ ile bağlı iki komşu atomu gösteriyor ise a^, polarize edilebilirlik, bağ mertebesi (Wiberg indeks) ve bağ enerjisi (toplam kovalent iyonik) gibi i-j bağının elektronik parametrelerinden birisi olabilir. b. i ve j birbirine kimyasal bağ ile bağlı olmayan atomları gösterir ise, o zaman aj/^Rji^ atomlar arası uzaklığı gösterir. Böylece her matris hem elektronik (aij) hem de geometrik parametreyi (Ry) 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 ETMC matrisini oluşturur. Elektronik parametre için oluşturulan kombinasyonların sayısı m ve incelenen serinin molekül sayısı n ise her bir molekül için m tane ETMC matrisi ve her bir kombinasyon için de n tane ETMC matrisi elde edilir. ETMC matrisi oluşturulduktan sonra aktif bileşiklerin ETMC matris elemanları aktif olmayanların ETMC matris elemanları ile tek-tek karşılaştırılarak verilen bir doğruluk derecesinde aktif bileşiklerde olan ancak inaktif bileşiklerde bulunmayan matris elemanları grubu bulunur. Bu yolla elde edilen matris elemanları grubuna elektron-topolojik aktiflik alt matrisi (ETSA) adı verilir. ETSA matrisi molekülün aktiflikten sorumlu olan elektron-topolojik fragmentini temsil eder.

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

Aktivite kantitatif olarak biliniyorsa incelenen seri belli bir aktivite değerinden itibaren ikiye bölünür. Bu değerin üstündekiler aktif altındakiler inaktif olarak kabul edilir. Her grup için ETSA matrisi bulunur. Bulunan ETSA matrislerinin matris elemanlarının karşılaştırılması ile aktivite ETSA parametrelerinin bir fonksiyonu olarak ifade edilir. Bir çok problem bu metodun en basit versiyonu ile çözülmüştür. Bu basit versiyon bir bütün halinde bu yaklaşımın ana özelliklerinin faydasını şu uygulamalarla açıklamıştır; misk kokusunun çıkışı [74 - 75], sarımsak aktivitesi [76-77], et kokusu [78-79], thymidine fosforilasin inhibe aktivitesi [80-81], bitki büyüme düzenleyicisi aktivitesi [82], dibenzo [a,d] sikloalkeniminlerin bir serisinin yapı-antagonist aktivitesi [65], glikolik asit oksidaz'ın inhibe aktivitesi [83], sandal ağacı kokusu [84], kehribar kokusu [85] ve benzerleri.

Bu çalışmaların çoğunluğunda ana hedef, Pha'i açıklamaktır. Pha kavramının değeri, eğer aktivite tahmininin kantitatif bir ölçüsü ile tanımlanırsa veya en azından büyüklük sırasına dizilirse anlamlı bir şekilde artar. Diğer araştırmaların arasından anlatılanlar bu incelemede yapılmıştır.

Bu çalışmada 64 bileşiğin anti HIV-1 aktiviteleri ve 28'i aktif 23'ü inaktif olan 51 bileşiğin HIV-1 RT bağlanma affiniteleri bir QSAR tekniği olan CoMCET metodu ile incelenmiştir.

BÖLÜM 3
YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışmada:

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

kullanılmıştır.

Tüm programlar için Pentium(R)-4 CPU 3.20 GHz, 1GB RAM bilgisayar kullanıldı.

3.2. Metot

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

Moleküler Mekanik, MMFF, metoduyla uygun konformerlerin belirlenmesi.

Programda bulunan ‘’Align’’ anahtar kelimesi ile moleküller üst üste çakıştırılarak molekülün aynı yapıya sahip yüksek enerjili konformerleri silinir.

Daha sonra silinme işleminden sonra kalan konformerlerin kuantum kimya hesaplamarı Semi-empirik AM1 metoduyla yapılır. Hesaplama sonucunda, oda sıcaklığında düşük enerjili konformerler seçilir (örneğin göreceli entalpi değeri 1cal’den büyük olanlar silinir).

Uygun atomlar tekrar ‘’align’’ yapılarak benzer veya az farklı konformerler işlem dışı bırakılır.

Biyolojik aktivite gösteren moleküllerin biyoalıcılar ile etkileşmesinde aktiflik mekanizmalarının açıklanması ve aktif fragmentin çıkartılması için yukarıda belirtilen beş kademedeki Spartan paket programı kullanılmasından sonra seri bileşiklerin incelenmesi için CoMCET metodu kullanılır.

Uygun elektron konformasyonal matris (ETMC) oluşturulur ve düzenlenir.

ETMC’ler referans konformere bağlı olarak karşılaştırılır.

Pha’ler belirlenir.

Pha’lere bağlı olarak, her bir Pha için bir veya birden fazla AG ve APS bulunur.

Regresyon analiz değerlerine göre en uygun tek bir Pha ve onun AG ve APS’leri sonuçlandırılır.

Aktivitenin Elektron Konformasyonal alt matrisi (“Electron Conformer Sub-Matrix”; ECSA) ile Pha, AG ve APS grupları çıkartılır.

Denenmemiş yeni bir molekül için Pha, AG ve APS grupların etkisi ile aktivite hesaplanır.

3.2.1. Konformasyon Analiz İşlemi

Moleküllerin konformasyon analizi Spartan paket programındaki moleküler mekanik, MMFF, metodu ile yapılır. Moleküler Mekanik, bir molekülün konformasyon enerjisini ve yapısını çıkarmak için kullanılan hesap metodudur. Bu metotta molekülün toplam

potansiyel enerjisini minimum yapan molekül yapısı bulunur. Moleküldeki atomlar arasında mümkün olan tüm karşılıklı etkileşimler dikkate alınarak hesaplamalar yapılır. Kullanılan program oldukça hızlıdır ve enzimler gibi büyük yapılı sistemler için dahi tepkime ısısı ve konformasyon kararlılıkları gibi nicelikler kolaylıkla hesaplanabilir. Ayrıca elektronik yapıya bağlı olan özellikler ya da elektronik yapı hakkında bilgi edinilebilir.

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

a)Van-der Waals etkileşim enerjisi;

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

$$U_W = -A / r^6 + B / r^{12} \tag{3.1}$$

$$U_W = -A / r^6 + Be^{-Cr} \tag{3.2}$$

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

b) Dönme enerjisi;

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

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

c)Elektrostatik enerji;

$$U_{el} = K\sum \frac{q_i\, q_j}{\varepsilon\ r_{ij}} \tag{3.4}$$

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

d) Hidrojen bağının enerjisi;

Morse potansiyeli olarak bilinen,

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

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

$$\Delta r = r - r_0 \tag{3.6}$$

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

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

e) Valens açısı enerjisi;

$$U_{açı} = \sum_{i=1}^{N_0} C_i (\alpha_1 - \alpha_1^0)^2 \tag{3.7}$$

denklemi ile hesaplanmıştır. Burada C_i uygun esneklik katsayısı, N_0 valens açılarının sayısı, C_i ve α_1^0 'ler ampirik parametrelerdir.

f)Valens bağı enerjisi;

$$U_{vb} = \sum K_i (r_i - r_i^0)^2 \tag{3.8}$$

denklemi ile hesaplanmıştır. Burada r^0 ve r kimyasal bağ uzunluklarının ideal ve gerçek değerleri, K_i esneklik katsayısı, K_i ve r_i ampirik parametrelerdir. Molekülde titreşim

hareketinin olmaması halinde valens açılarının ve valens bağ uzunluklarının sabit kaldığı söylenir. Bu enerjilerin toplamı, molekülün konformasyon enerjisini verir.

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

3.2.2. Kuantum Kimyası Hesaplamaları

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

Bu çalışmada *.txt dosyalarındaki bilgiler içerisinden atomların yükleri ve kartezyen koordinatları, moleküle ait enerjiler ET-matrisine dönüştürüldü. Bu matris değerleri, moleküllerin karşılaştırma ile aktif fragmentinin bulunması için kullanıldı. Bir molekülün detaylı yapısı kuantum mekaniksel metotla incelenir. Dolayısıyla molekül için, Schrödinger denkleminin çözülmesi gerekir. Fakat Schrödinger denklemi, yalnız hidrojen atomu ve ona benzer iyonlar için hassas çözülebilir.

İkiden fazla elektrona sahip atomların veya kuantum mekaniksel sistemlerin çözümü için Schrödinger denkleminin hassas çözümü mümkün değildir. Bunun için simulasyon metotlar kullanılmaktadır. Örneğin; N elektronlu atom için Hamilton operatörü;

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

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

$$H\Psi = E\Psi$$

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

$$= E\Psi(r_1, r_2, ...r_N, \sigma_1, \sigma_2, ..., \sigma_N) \qquad (3.11)$$

şeklinde yazılabilir. Burada r; x,y,z koordinatlarını, N moleküldeki elektronların sayısını, σ_N ise çekirdeklerin sayısını göstermektedir. Atomun hal fonksiyonu Ψ (r_1, r_2,.....r_N, σ_1, σ_2, ... σ_N) elektronların 3N sayıda uzay ve N sayıda spin koordinatları ile ilgilidir. Atomun yapısı tüm karşılıklı etkilere bağlıdır. Her bir elektronun durumu ise, çekirdeğin yanı sıra N-1 elektronun durumuna da bağlıdır. (3.11) denkleminin çözülmesi, atomun E enerjisinin ve Ψ hal fonksiyonunun bulunmasına, bunların bilinmesi ise atomu karakterize eden tüm parametrelerin bilinmesine imkan vermektedir.

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

a) Atomlar arası elektron yoğunlukları ve atom yükleri,

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

denklemi ile hesaplanmıştır. Burada, P_{pq} yoğunluk matrisi, C_{pq}^{*} ve C_{qj} orbital katsayılarıdır.

b) Elektronik yükler ve atom orbitalleri üzerindeki elektron yoğunlukları,

$$P_{AA} = \sum_{p=1}^{M} P_{pp} \qquad (3.13)$$

denklemi ile hesaplanmıştır. Burada, P_{AA} atomun elektron yoğunluk matrisi, P_{PP} yoğunluk matris elemanlarını göstermektedir.

c) Elektronik enerjiler,

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

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

d) Bağlanma enerjisi,

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

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

e) Molekülün toplam enerjisi,

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

(3.16)

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

f) Molekülün reaksiyon merkezleri,

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

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

3.3. Karşılaştırmalı Moleküler Konformer Elektron Topolojik Metot (CoMCET)

3.3.1. CoMCET Metodunun Gereği

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

İnceleme altındaki bileşik serisi deneme ve 8-12 moleküllü test set olarak rasgele 2 parçaya bölünür. APS ve AG'nin etkisi aktivitedeki rollerini yaklaşık olarak hesaba katarak parametirize edilebilir. Pha'e benzer şekilde bu parametrize etme işlemi CoMCET tarafından bulunan aynı elektronik ve geometrik parametrelerle AG ve APS grupların tanımlanmasına dayanır. Daha sonra aktivitelere oranla incelenen set için bu parametreleri işleterek ve en küçük kareler yöntemini kullanarak, aktivitede rol alan parametrelerin her birisinin etkinliğini temsil eden değişkenleri bulunur. Her bir konformerin bulunma yüzdesini, enerjisini ve sıcaklığı bir fonksiyon olarak ekleyerek biyoaktivitenin nicel tahmini için bir formül çıkartılır. CoMCET, Pha'in APS ve AG grupların parametreleriyle tamamlanmasıyla, Pha fikrini biyoaktivite tahmini için nitel bir araç olmaktan çıkarıp nicel bir araca yükseltir.

3.3.2. Konformerlerin Belirlenmesi

CoMCET metodun aslı şudur; biyolojik aktivitesi bilinen ve inceleme altına alınan bir seri molekülün (training set) olduğu düşünülürse, bu setteki bütün bileşikler için aynı deneysel metot uygulanarak aktivitelerin bulunması önemli bir aşamadır. İlgilenilen

aktivite için sadece bir tek Pha'in sorumlu olduğu düşünülür. Aktif moleküllerin aktiviteleri, her bir etkin konformerinin Pha'i taşımasına göre değer alır. Bu konformerlerin etkileri, taşıdıkları atom pozisyonlarına göre aktiviteyi azaltır veya artırır. Tüm bu konformer özellikleri dikkate alınarak CoMCET programında yer alır. Programda çıkartılan fonksiyonal özellikler deneme serisi (test set) bileşikler için uygulanarak onların deneysel aktiviteleri teorik hesaplanan ile doğrulanır. Bir katkı sağlama yapıldığını ve aktivitesi tahmin edilmiş yeni bileşikler içinde aynı şey istenilir.

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

3.3.3. ETMC Matrisleri Oluşturulması

ETMC molekülün hem elektronik hem de geometrik yapı özelliklerini içerir. Daha önceleri kullanılan bu yaklaşımın basit versiyonunda [86-87], her bir molekülü temsil eden ETMC için sadece en düşük enerjili olan temel hal (ground-state) konformeri dikkate alınırdı. CoMCET programını kullanarak, relatif enerji farkı 1-1.5 kcal/mol arasında olan konformerler atıldıktan sonra, geriye kalan düşük enerjili her bir konformer için ETMC matrisleri, (ECMC, Electron Conformational Matrix Congruity), oluşturulur.

ECMC, diyagonal elemanlarına göre simetrik olan kare matristir. Bundan dolayı simetrisinin üst tarafının kullanılmasıyla oluşan üçgen matris alınır. ECMC'de bağımsız elemanların tam sayısı s*(s+1)/2 dir. Burada s moleküldeki atomların sayısıdır. Molekülde atomların elektronik özelliklerini tanımlayan bir atomik parametre olan ve atomik yüklerden oluşan a_{ii} ECMC matrisinin diyagonal elemanlarıdır. Atomik yükler Mulliken elektronegativitesi ile hesaplanır. Matrisin non-diyagonal elemanları ise a_{ij} olup iki çeşittir; birincisinde eğer i ve j kimyasal olarak bağlı olan iki komşu atom ise, a_{ij} i-j bağının, bağ derecesi, wiberg sabiti, bağ enerjisi (toplam, kovalent, iyonik), HOMO (veya LUMO) katkısı veya polarlanabilirliği gibi elektronik parametrelerinden birisi olabilir. İkincisinde ise eğer i ve j bağ yapmamış iki atom ise, $a_{ij} = R_{ij}$ olur ve

atomlar arası uzaklık parametre olarak kullanılır. Bu yolla her bir ECMC, biyoreseptörle etkileşimi göz önüne alındığında, incelenen molekülün konformasyonel özelliklerini tam olarak ifade edebilen, hem a_{ii} ve a_{ij} elektronik karakterini hem de R_{ij} geometrik karakterini içerir [63]. a_{ii} ve a_{ij} elektronik parametreleri olarak da sadece atom yükleri ve bağ dereceleri kullanılırdı. Prensip olarak verilen bir konformerin R_{ij} aynı atomlar arası mesafeyi koruyarak elektronik parametrelerin a_{ii} sabit kalarak a_{ij} ile yukarıda bahsedildiği gibi değişik kombinasyonların en iyi elektronik tanımlayıcıyı bulmak için yapılabilir.

EC metodunda kullanılan ECMC nin diyagonal elemanları, ilgili atomun yüklerini gösterir. ETM metodunda atom yükleri yaygın olarak kullanılmıştır. Dönor-akseptör etkileşimlerinde ve H bağı oluşumunda çok önemli olan orbital kontrollü etkileşimlerde (ilaç-biyoalıcı etkileşim) ne atomik yük ne de onun türevi olan elektrostatik alan, dikkate alınır. I.B Bersuker çalışmalarında atom yükleri yerine ilgilenilen atomun yük-orbital kontrollü atom indeksini kullanmıştır. Bu ifadeyi kısaca etkileşim indeksi *(II)* olarak adlandırmış ve A atomu için aşağıdaki formül ile göstermiştir [85].

$$II(\mathrm{A}) = g^{A} \exp\left(-(2\alpha^{A})^{1/2} R_0 \right) \qquad (3.18)$$

Burada g^A incelenen serideki bir molekülün, A atomunun en dış orbitalindeki elektron yoğunluğu (H için 1s orbitali, ikinci ve üçüncü grup elementleri için np dir); α^A, molekülde atomun valens orbitalinden elektronun iyonlaşma enerjisini belirtir, R_0 ise hedef atomun dalga fonksiyonu ile maksimum çakışmanın olduğu kabul edilen noktaya, elektron yoğunuluğunun maksimum uzaklığını gösterir. Valens haldeki iyonlaşma potansiyeli, α^A, elektronik konfigürasyonun ve atomik yükün bir fonksiyonu olarak kolayca hesaplanabilir. Molekülün elektronik yapısı belirlenirse g ve α değerleri doğrudan elde edilebilir. R_0 değeri belirlidir. R_0 değerinin 2 au olduğu değer en uygun değerdir. Çünkü bu değer hidrojen atomu için yaklaşık 3 au, (1.5 Å), ve ikinci kabuktaki bir atom için 4 au, (yaklaşık 2.1 Å), değerini alır. *II* değerleri 0-1 arasında olup elektronik yapı hesaplamalarından doğrudan çıkartılabilir. *II* en yüksek değerde iken, en güçlü elektron dönor veya proton akseptör, en düşük değerde iken en güçlü proton dönor veya elektron akseptör özelliği sözkonusudur.

3.3.4. CoMCET'de Farmakofor Tanımlama

Tasarımdaki bir sonraki basamak; bütün ECMC'leri ilgili moleküllerin aktiviteleri ve matrisin diyagonal ve non-diyagonal elemanlarını verilen belirli tolerans aralıklarında, karşılaştırarak bütün aktif moleküller için ortak olan, inaktif moleküllerde ise bulunmayan elektron topolojik özellikleri tespit etmektedir. Bu çalışmalar CoMCET programı kullanılarak yapılır. Matriksleri karşılaştırmak için bileşik serisindeki yapı olarak en basit molekül referans olarak seçilir. (ETMC de ise aktifliği en fazla olan molekül referans olarak seçilir) Burada önce nitel olarak moleküllerin aktif-inaktif olarak sınıflandırılması gerekir. Bunun içinde sınır bir değer belirlenir. Bu değerden küçük olanlar inaktif, büyük olanlar ise aktif sınıfındadır. Bu sınırı tanımlarken aktif olmayanlar veya aktif denilemeyecek kadar küçük aktiviteye sahip olanlardan büyük bir değer alınır. Karşılaştırma işlemi yapılarak bütün aktif bileşiklerin bulundurduğu ortak özellik Pha olarak bulunur ve bu özelliği temsil eden ve matriks elemanları sayısı daha az olan, elektron konformasyonal alt matrisi (ECSA) oluşturulur. Eğer farklı elektronik yapı parametreleri denenmek istenirse (valens aktiviteleri, polarlanabilirliği, HOMO veya LUMO), ECMC oluşturulur ve ECSA, parantez içinde verilen yukarıdaki her bir parametre için tekrar bulunur, daha sonra farklı elektronik yapı parametreleri ile elde edilen ECSA karşılaştırması ile, inaktif bileşiklerden aktif bileşikleri ayırmada hangi parametrenin en iyi olacağı bulunur.

QSAR çalışmalarında bilinen yöntemlerin çoğu bileşiklerin enantiyomerlerinden birini diğerinden ayırmak için yetersiz kaldığı halde, ECMC de enantiyomerlerin farkı ortaya konulabilir. iki enantiyomerin matris elemanlarının mutlak değerleri aynı olmalarına rağmen, iki matrisdeki karşılıklı pozisyonları farklıdır (açı ve torsiyon açısı). Eğer ECSA (Pha) enantiyomerlerden birinde var ise, diğer enantiyomerde olmasını gerektirmez; eğer Pha her ikisinde de varsa, APS ve AG gruplarının pozisyonları farklı olacağından farklı aktiviteleri ortaya çıkarırlar. Moleküler sistemde atomları numaralandırma yolu (saat yönü veya tersi) önemlidir. Çünkü bu işlem ECMC de matris elemanlarının düzenini belirler. Bir tanesinin seçilmesiyle bütün konformerler ve enantiyomerler için korunur.

ECSA sonuçları, inceleme altındaki aktif Pha yı gösterir. Matris elemanları elektronik ve konformasyonal özelliklere karşılık geldiği için, ECSA prensip olarak, molekülün aktif konformeri, topoloji ve yük dağılımı ile açıklanan, aktif bölgesi (Pha) hakkında

bilgi verir. Tolerans değerlerinin verilmesi şartı ile, elektronik ve konformasyonel parametreler kullanılarak aktifliğin sayısal değeri, aktiflik kalitatif (aktiflik var yada yok) olarak bilindiği zaman bile kantitatif olarak elde edilebilir. Aktiflik kantitatif olarak bilindiği zaman bu işlem aktiflik değerinin her bir değeri için tekrarlanabilir ve daha sonra elektronik ve konformasyonel parametreler aktifliğin bir fonksiyonu olarak dikkate alınır. ECSA tarafından bulunan Pha tanımı, aktivite için yeni bileşiklerin taranmasında kullanılabilir.

Başlangıç farmakoforunu belirlemek için konformer sayısı az ve en basit yapıya sahip olan aktif yada inaktif bileşiklerden biri seçilir. Aktivitenin azalmasına ya Pha nın olmaması yada APS grupların olması durumlarından biri katkıda bulunur. Başlangıç farmakofor deneme setinin kötü bir seçimi sonucu olumsuz etkiler, bu nedenle iyi bir sonuç elde etmek için daha fazla çalışma gerekir.

Bu durum, APS ye sahip olmayan benzer inaktif bileşikler ile karşılaştırılması ile de ilişkilidir. Bileşik serisindeki aktif ve inaktif bileşiklerin en iyi ayrımını yapmak için parametrelerin minimum aralığını (tolerans değerleri) karşılaştırmak için çok önemlidir. Pha deneme setinden elde edilen ECSA, diğer aktif bileşiklerin ECSA ları ile karşılaştırırlır.

ECMC'nin ETMC ye göre diğer üstünlüğü de AG [88-89] ve APS grupları [83-84] tanımlayarak hesaba katmasıdır. Bu grupların aktiviteye katkıları, CoMCET programını kullanarak, Pha ile birlikte hesaplanmıştır. Aslında Pha'i bulunduran bir konformerdeki her bir atomun aktiviteye sayısal bir değer yansıtması söz konusudur ancak bu atomların incelen seri içinde en çok molekül içinde bulunan ve en etkili olanları göz önüne alınabilmektedir.

3.3.5. APS ve AG

Yukarıda belirtildiği gibi, Pha aktivite için çok önemli şartlardan biri olmasına rağmen tek başına yeterli değildir. Aynı Pha ya sahip farklı bileşiklerin neden, oldukça farklı aktivite gösterdiğini açıklayamaz. Pha aktivite için gerekli bir grup atomu içerir ancak molekülde Pha dışında aktiviteye etki eden diğer gruplarda bulunmaktadır. Bu gruplar atomlar olabildiği gibi atom grupları da olabilir ve aktiviteyi artırıcı yada azaltıcı etki gösterebilirler. Bunlar sterik sınırlamalara neden olan APS gruplar ve aktiviteye hidrofobisite gibi etkilerle katkıda bulunan AG gruplardır. AG gruplar hidrofobisiteyi

artırıcı özellik gösterebilirler veya biyoalıcı ile H-bağı yapabilirler. Bu atomların bu özellikleri aktiviteyi artırıcı özelliktir. APS gruplar ise biyoalıcı ile etkileşim esnasında sterik engel veya perdeleme yaparak aktiviteyi azaltıcı yönde etki ederler.

Pha dışındaki bazı gruplar biyoalıcı ile etkileşime katılmaz. Pha ile bu inert gruplar temel iskeleti oluştururlar. Pha ile temel iskelet arasındaki fark, yaklaşık olarak aynı aktiviteye sahip olan bileşikler için ECMC elemanlarının farklı olması veya bu elemanların olmamasıdır. Bu gruplar, eğer varsa, Pha nın dışında kalmış fazla etkisi olmayan bölgelerini veya biyoalıcının boşluklarındaki bazı boş yerleri işgal edecekleri için hiçbir katkıda bulunmazlar ve bunlar ligand-biyoalıcı etkileşimine katılmazlar. Temel iskelet kabaca, yaklaşık olarak aynı aktiviteye sahip farklı bileşiklerin üst üste çakışmaları ile ortaya çıkarılabilir. Bazı moleküller, temel iskelet bölgesinin içinde boşluğa sahiptirler.

AG ve APS grupların etkisi onların pozisyonuna ve reaktifliğe bağlıdır. Benzer durumun Pha da olduğu bilinmektedir. Pha atomlarından farklı olarak, (Pha geometrisi ve elektronik parametreleri), APS ve AG grupların parametreleri bir bileşikten diğerine tamamen değişir. Bu grupların her birinin aktiviteye katkısını açıklamak için ECMC den elde edilen elektronik ve yapısal parametreler kullanılır. Bileşikten bileşiğe APS ve AG grupları ve bu grupların pozisyonları değiştiği için bu parametrelerin (sayısı ve çeşitliliği) seçimi kısmen keyfidir. Bunların seçimi için en iyi model regresyon analizidir [64]. APS ve AG'ye karar vermek için aktif bileşiklerin üst üste çakıştırılmış yapılarını incelememiz gerekir. Biyoalıcıdaki konformasyonel değişiklikler bilinirse AG doğrudan hesaplanabilir ancak çalışmalarda biyoreseptör bilinmediği için AG yi tanımlamak daha zordur [63].

3.3.6. Aktivitenin Genel Formülü

APS grupları aktiviteyi kısmen veya tamamen azaltan ve sterik engele neden olan atom grupları olarak da tanımlanır. Eğer biyoalıcı yapısı biliniyorsa hem sterik engeli hemde aktiviteyi azaltan yükleri doğrudan hesaplanabilir. Biyoalıcının yapısı bilinmiyorsa bu işlem zorlaşır. Bu problemi çözmek için, Pha da olduğu gibi bileşiklerin relatif aktivite değerleri ile yapısal ve elektronik parametrelerin istatistiksel karşılaştırılması

yapılabilir. Bunun için hem sterik engelleri hemde aktiviteyi azaltan yükleri ortaya çıkarmak için APS değerlerini kantitatif olarak (sayısal olarak) karakterize eden S ile gösterilen bir parametreyi dikkate alırız. Bileşikler ile biyoalıcılar arasındaki etkileşim diğer moleküller arası etkileşim (en azından, sterik ve diğer enerji bariyer faktörleri göz önüne alınabilir) ile benzediğinden dolayı aktivitenin (A) eksponansiyel olarak (e üzeri bir fonksiyon olarak) S ye bağlıdır. Yani AG ve APS gruplarının etkisini hesaba katmak için aktiviteyi artıran yada azaltan S fonksiyonunu kullanırız. S fonksiyonu AG ve APS'yi temsil eden bir grup parametreye bağlıdır.

$$A \sim e^{-S} \tag{3.19}$$

Molekül-biyoalıcı etkileşiminde AG ve APS grupları exp(-E'n/kT) nin bir faktörü olarak E' miktarı kadar aktiviteyi artırır yada azaltırlar. APS için E'>0 ve aktivite azalırken, AG grupları için E'<0 ve aktivite artar. $S_{ni}=E'_{ni}/kT$ olarak gösterilmiştir ve genel olarak S fonksiyonu aşağıdaki eşitlik ile ifade edilir.

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

Burada $a_{ni}^{(j)}$, (ECMC de verilen a_{ii} parametrelerden farklıdır.) n'inci bileşiğin i'inci konformerindeki APS veya AG nin j'inci tür özelliğini temsil eden (bağ açısı, torsiyon açısı, yük, *II* ve atomlar arası uzaklık) bir parametre olup her bir problem için spesifik olduğu söylenilebilir. N seçilen AG parametrelerinin sayısı ve κ_j toplu analiz sonucundan elde edilen değişken bir katsayıdır.

$a_{ni}^{(j)}$ parametresinin seçimi önemlidir. Pha için $a_{ni}^{(j)}$ parametresi atomik etkileşim indeksi, *II,* değerleri ve ECSA dan elde edilen Pha atomları arasındaki mesafeler olarak alınabilir. APS gruplar için $a_{ni}^{(j)}$ parametresinin seçimi daha fazla kimyasal bilgileri gerektirir. APS parametreleri ise Pha nın ve temel iskeletin dışında kalan pozisyonlarına göre belirlenen sterik faktörler olarak alınır. κ_j değerleri farklı birimlerde verilebilir ve birimsiz bir ifadedir. κ_j nin daha büyük değeri, hesaplanan biyoaktiviteye karşılık gelen parametrelerde daha etkilidir. $\kappa_j>0$ için aktivite bu bileşiklerde artar. Kısacası κ_j katsayısının mutlak değerinin büyüklüğü, aktivite üzerindeki etkiyi gösterir ve APS ve AG gruplarını üç boyutlu yapı içinde tanımak Pha'dan sonra ikinci derecede öneme sahiptir.

Konformasyonel analiz, bilgisayar destekli ilaç tasarımında genellikle oldukça karışık olarak görülen bir problemdir ve çoğunlukla organik yapılara sahip ilaç moleküllerinin birçok konformeri vardır. Bu nedenle bu problemi basitleştirmek için ilaç-biyoalıcı bağlanmasındaki enerji farklılıkları için, (3.20) eşitliği ile birlikte sıcaklığın ve enerjinin bir fonksiyonu olarak her bir konformerin Boltzman dağılımını hesaba katarak n. bileşik için aktivite genel formülünü aşağıdaki eşitlik halinde elde ederiz:

$$A_n = A_0 \frac{\sum_{i=1}^{m_n} \delta_{ni}[Pha] e^{-S_{ni}} e^{-E_{ni}/kT}}{\sum_{i=1}^{m_n} e^{-E_{ni}/kT}} \qquad (3.21)$$

A_0 aşağıda açıklanacağı üzere sabittir ve m_n n. molekülün konformer sayısıdır. Bu formülde δ, Dirac δ fonksiyonunun bir çeşididir ve δ_{ni}[Pha], Pha bulunduğu zaman 1, Pha bulunmadığı zaman 0 dır.

Bu formülde sadece Pha'i bulunduran konformerler aktiviteye katkıda bulunur ve bu katkılar onların APS ve AG gruplarının etkilerine göre ağırlıklı olarak alınır ve enerji aktif konformasyonlardaki moleküllerin relatif sayısına bağlıdır. Bu sayılar E_{ni} konformerin enerjisiyle hızla azalır. (E_{ni} de konformasyonun enerji değeri yaklaşık 2.8 kcal/mol ise tüm konformerler göz önüne alındığı zaman bu değerin katkısı 0.01 den daha azdır.)

Bu formülde A_0 sabittir ve bu değeri delirlemek için, çalışılan molekül setinden (training set) aktivitesi bilinen bir referans molekül (l) seçeriz ve bu molekül için aktiviteyi (A_l) aşağıdaki eşitlik ile hesaplarız.

$$A_l = A_0 \frac{\sum_{i=1}^{m_l} \delta_{li}[Pha] e^{-S_{li}} e^{-E_{li}/kT}}{\sum_{i=1}^{m_l} e^{-E_{li}/kT}} \qquad (3.22)$$

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

$$A_n = A_l \frac{\sum_{i=1}^{m_l} e^{-E_{li}/kT}}{\sum_{i=1}^{m_n} e^{-E_{ni}/kT}} \frac{\sum_{i=1}^{n} \delta_{ni}[Pha] e^{-S_{ni}} e^{-E_{ni}/kT}}{\sum_{i=1}^{m_l} \delta_{li}[Pha] e^{-S_{li}} e^{-E_{li}/kT}} \qquad (3.23)$$

Bu formüle bağlı olarak önemli yoğunluktaki konformerlerin kuantum kimyasal hesaplamaları Spartan Pro 1X programı ile yapılır ve daha sonra CoMCET programı ile ECMC matriksleri oluşturulur. Daha sonra ECMC, aktiviteyi tahmin etmek için Pha nın ve APS/AG grupların etkisinin açıklanmasında kullanılır. APS/AG grupların parametrelerinin tahmini, onları ECMC den ayıracak bir algoritma bulunmadığı için zaman alıcıdır ve böylece her bir konformer için ayrı ayrı hesap yapılması gerekir. Özellikle reseptör yapısı bilinemediği durumlarda, reseptörle etkileşim sırasında molekülün yapısında meydana gelen konformasyonel değişim ihtimalinden dolayı belirsizlik ortaya çıkar.

Bu problem molekül-biyoalıcı etkileşimlerinin bazı genel özelliklerini dikkate alarak çözülmüştür. İlk olarak, enzim katalizli reaksiyonlarda, reaksiyonun daha önceden dengede olduğu hesaba katılarak Boltzman dağılımı kullanılır. Önemli bir nokta da, önemli yoğunluktaki konformerlerin arasında 2-3 kcal/mol olan enerji farkından daha büyük olan (10-20 kcal/mol) substrat-enzim bağlanma enerjisidir. Bu durumda ligandın en az bir konformeri Pha ya sahiptir ve diğer tüm konformerler enerji kazanmak ve resptöre bağlanmak için denge dönüşümüne uğrarlar.

Pha'ya sahip olan konformer *P* ile gösterilirse enerjisi E_{np} olur. (en düşük enerjili konformeri $E_{n0}=0$ olarak gösterilir.) Pha sahip birçok konformer varsa *p* biyoalıcıya en iyi bağlanandır ve genellikle en düşük E_{np} değerindedir. Reseptöre bağlandıktan sonra bağ yapmış durumdaki bu konformerin enerjisi $E_{np}+E'_{np}-\Delta$ olur. Burada E'_{np} APS ve AG grupların katkısı ve Δ molekül-biyoalıcı bağlanma enerjisidir. $\Delta>\delta$ olursa bu bağlanma en düşük enerjilidir. (Bkz. Şekil.3.1.) Termal dönüşümden sonra diğer tüm konformerlerin enerjileri E_{np} ve dengede bağlanma enerjisi $E_{n\,i} - [\Delta-(E_{np}+E'_{np})]$ olur.

$$A_n = A_0 \frac{\sum_i \exp\left[\left(-E_{ni} + \Delta - E_{np} - E'_{np}\right)/kT\right]}{\sum_i \exp\left(-E_{ni}/kT\right)} = A_0 \exp\left[\left(\Delta - E_{np} - E'_{np}\right)/kT\right]$$

(3.24)

expΔ sabittir ve A_0 a dahil edilebilir. Yukarıdaki formülde $S_{np}= E'_{np} / kT$ eşitliği kullanılarak

$$A_n = A_0 e^{-E_{np}/kT} e^{-S_{np}} \tag{3.25}$$

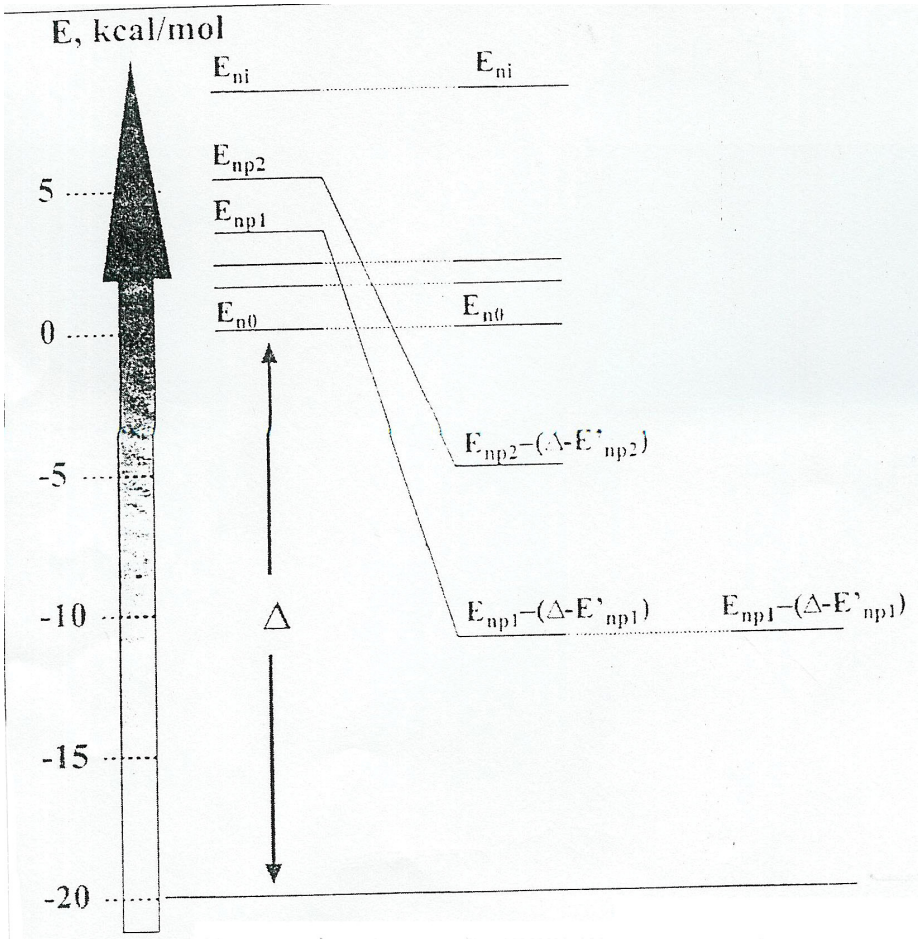
eşitliğini yazabiliriz. Aktivitesi A_l olarak bilinen, l referans bileşiği ile karşılaştırılarak A_0 belirlenir. Böylece eşitlik:

$$A_n = A_l e^{-(E_{np}-E_{lp})/kT} e^{-(S_{np}-S_{lp})} \tag{3.26}$$

haline dönüşür. Bu formül sadece, Pha ya sahip en düşük enerjili konformerin biyoaktiviteyi tahmin etmek için kullanılır. Elde edilen bu son formül Eşitlik 3.23 ün basitleştirilmiş halidir. Çünkü eksponensiyal faktörden dolayı, *exp(-E'np / kT),* yüksek enerjili konformerler ihmal edilir. (oda sıcaklığında E_{np} değeri yaklaşık olarak 1.5 kcal/mol olduğu için *exp(-E'np / kT)* ifadesinin sayısal değeri yaklaşık 0.08 dir.) çoğu durumda Pha temel hal koformasyonunda bulunur.

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

Bu yolla elde edilen κ_j ile aktiviteleri bilinmeyen aynı tür başka bileşikler için aktivite tahmini yapılabilir. Bu çalışmada 68 molekül içeren 2-Amino-6-arilsulfonil benzonitril türevleri için aktivite tahmini bu yolla yapıldı. Bağlı durumda olmayan yani serbest haldeki ilaç molekülünün (substrat) konformerlerinin ve bağ yapmış ilaç-biyoalıcı yapısının enerji karşılaştırmaları Şekil 3.1. de verilmiştir.



Şekil 3.1. Serbest Haldeki İlaç Molekülünün Konformerlerinin Ve Bağ Yapmış İlaç-Biyoalıcı Yapısının Enerji Karşılaştırmaları

Δ, Pha dan dolayı SE bağlanmasının enerji farkıdır ve E'_{np} ise APS ve AG gruplarından dolayı bağlanma enerjisindeki azalmadır. Bağlanma ve dönüşümden sonra yani 300 K de E_0 yerine $-\Delta + E_{np}+E'_{np}$ eşitliği kullanılır [64].

3.3.7. Matriks Karşılaştırması İle ECMC ve ECSA nın Hesaplanması

Bu metodun genel şeması Şekil 3.3.'de gösterilmiştir. Karşılaştırma işleminin yapılması için gereken programlar ve algoritmaların temeli, elektronik yapı hesaplamaları ve moleküler mekanik simülasyonları (Spartan gibi) için kullanılan ticari paket programlara dayanır. Konformasyonal analiz moleküler mekanik hesaplamaları ile yapılırken, elektronik yapı hesaplamaları semiempirik AM1 hesaplamaları ile gerçekleştirilmiştir.

CoMCET programı, C# temelli olarak Y. Güzel tarafından, ECSA ve ECMC yi hesaplamak için yazılmıştır. Bu işlem CoMCET ile Pha nın belirlenmesinde çok önemlidir. Fakat yeterince açık değildir ve bazı açıklamalara ihtiyaç duyar. İki matrisin karşılaştırılması diyagonal elemanları ile yapılır. Referans bileşiğin ECMC sinden başlayarak, program ikinci matrisin diyagonal elemanlarının hepsini bulur. Verilen toleranslar her iki matris içinde aynıdır ve her iki matriste de çakışmayan diyagonal elemanlar için sıfır konulur. Daha sonra non diyagonal elemanlar satır ve sütunlara yerleştirilir. İkinci matris ilk matriste aynı değerler ile iki diyagonal elemanın satır ve sütunlarını işgal eder. Tekrar çakışan diyagonal matris elemanları korunur, oysa çakışmayan elemanlar sıfır olarak elde edilmiştir. Benzer diyagonal elemanlar nondiyagonal yerlerde sıfıra ek olarak, diğer diyagonal elemanlara bağlı sıfır olan nondiyagonal elemanlara sahiptir.

Referans bileşik ile karşılaştırılarak, çalışılan serideki bütün bileşikler için ECMC oluşturulur. Bu karşılaştırma EC metotta yapıldığında, değerler birbirini tutmuyorsa bu durumda diğer bileşikler için oluşturulan matrikslerde elemanlar sıfır olarak alınır. CoMCET de ise bu karşılaştırma bileşiklerin fonksiyonel atomlarına göre düzenlenmesinden dolayı matriksin diyagonal ve nondiyagonal elemanları sıfır olarak alınmaz ve bu düzenlenme EC metoduna göre önemli bir avantaj sağlamaktadır. Sonuç olarak, diyagonal ve nondiyagonal matriks elemanlarının hepsi ile ECSA elde edilir ve çalışılan bileşik serisinden seçilen bütün aktif bileşikler için aynıdır.

Bu işlemin sonuçları matriks elemanları için verilen toleranslara bağlıdır. Büyük değerdeki toleranslar büyük ve genel alt matrisleri oluştururken, küçük tolerans değerleri ise deneme setinde ECSA yı vermeyebilir. Bu nedenle bu toleransların iyi kontrol edilmesi gerekir ve bu kontrol dikkatli bir şekilde yapılır. İlk olarak, belli bir aktiviteye sahip olduğu bilinen referans (en basit yapılı konformeri) bir bileşik seçeriz. Böylece ECMC nin farmakofor içerdiği kesin olarak belirlenmiş olur. Daha sonra referans bileşik ile diğer bütün aktif bileşiklerin ECMC sinin karşılaştırılması, önce relatif olarak büyük tolerans değerlerini alarak gerçekleştirilir. Başlangıç tolerans değerleri elektronik (kimyasal olarak bağlı çiftler için diyagonal ve non diyagonaldir) ve geometrik parametreler için farklıdır. Toleranslar değerleri iyi bir sonuç elde dilinceye kadar azar azar düşürülür. Son ayarlamalar, aynı bileşiğin farklı parametreleri için, atomlar arası mesafelerde ve torsiyon açılarında olduğu gibi, tolerans değerleri daha

büyük alınabilir, bazı parametre değerleri ise, yüklerde olduğu gibi, tolerans değişimlerine karşı diğerlerinden daha duyarlı olabilir.

Bilgisayar hızına bağlı olarak matriks karşılaştırması çok kısa zamanda gerçekleştirilebilir. Çakışan matriks elemanları hemen elde edilir. Fakat karşılaştırma işleminde bazı bileşikler için çok büyük sayılar ortaya çıkabilir, bu süreyi uzatabilir. Bilgisayarla yapılan kıyaslamalarda sonuca ulaşmak için karşılaştırılacak sayıların fazla olması gerekir. Bu işlemi basitleştirmek için, tercihen APS ve AG grupların aktiviteye etki etmediği, en küçük molekül yapılı en az sayıda aktif bileşik, Pha yı belirlemek için ilk adım olarak hesaplanır. Tahmini Pha nın belirlenmesi için daha küçük bir molekül serisi seçimi belli bir kontrol ile yapılır. Daha sonra, ilk bulunan Pha ya göre diğer bileşiklerin hepsi kontrol edilir. Bütün aktif bileşiklerin aynı Pha ya sahip olduğu farz edildiği için, molekül serisindeki en basit bileşiklerin sınırlı sayısından elde edilen Pha için ilk değerler, sonucu kesinleştirmek için relatif olarak küçük değişmeler yapıldığında büyük değişiklikler meydana gelir.

Bu daha küçük serilerden Pha elde etmek için kullanılan ilk yaklaşım kesin sonuç olarak alınamaz. Kalan bileşiklerin ekstra atomlar içermeyeceği garanti değildir. Özellikle inaktif bileşikler için (Pha olmamasından dolayı APS ve AG gruplarında etkisinin olmadığı için inaktif kabul edilir.) daha sonraki karşılaştırmalar ECSA parametreleri için doğru toleranslara izin verir. Sonuçta bu parametreler inaktif bileşiklerin tam olarak ayrılması ile ortaya çıkarlar. Bu durumda arta kalan aktif moleküllerdeki Pha karakterlerinin sınırları belirlenir. ECSA parametrelerindeki toleranslar ilaç etkisini ortaya çıkaran enzimle etkileşiminin bazı hassas durumları yansıtan biyoalıcı ve Pha nın her ikisinin önemli karakterleridir. Başlangıç deneme seti temel hal konformerinde aktif olduğu kabul edilen, küçük sayılı bir bileşik serisinden seçilmelidir ve bu gereksinim özellikle referans bileşik için önemlidir. Bazı aktif bileşiklerin ECMC lerinin karşılaştırılması işlemi başarısız olursa, daha önceden etkisi ihmal edilmiş 1.5 kcal/mol üzerindeki konformasyonlarda dikkate alınarak çalışılabilir.

ADIM 1: Pha BELİRLENMESİ

Deneysel verilerden deneme seti seçilir.

↓

Konformasyonel analiz yapılır ve oda sıcaklığında yoğun olan konformerler ayrılır

↓

Elektronik parametreler hesaplanır ve ECMC oluşturulur

↓

ECSA yı belirlemek için ECMC kullanılır

ADIM 2: MUHTEMEL Pha BULUNMASI VE APS VE AG GRUPLARIN ETKİSİNİN HESAPLANMASI

Karşılaştırma ile Pha nın dışındaki APS ve AG gruplar seçilir

↓

Muhtemel Pha ve APS ve AG grupların etkisi için parametreler seçilir ve ECMC ve ECSA dan bunların parametreleri belirlenir

↓

Aktivite formülleri kullanılarak en küçük kareler yöntemi uygulanır ve k_j katsayıları hesaplanır.

ADIM 3: YENİ BİLEŞİKLERE UYGULANMASI

Yeni bileşiklerin mümkün konformerleri ve enerjileri hesaplanır ve ECMC leri oluşturulur.

↓

Molekülün Pha taşıyıp taşımadığına bakılır. Molekül Pha taşımıyorsa inaktiftir ve işlem bırakılır. Pha varsa aktiftir ve işleme devam edilir.

↓

AG ve APS gruplar belirlenir ve parametreleri hesaplanır.

↓

Adım 2 de elde edilen k_j değerleri ve aktivite formülleri kullanılarak beklenen aktivite hesaplanır.

Şekil 3.2. EC Metodundaki Algoritma

Çalışılacak molekül serisi belirlenir.

↓

Konformasyonel analiz yapılır ve yüksek enerjili konformerler elimine edilir.

↓

Bileşiklerin ECMC leri, referans bileşiğin fonksiyonel atomlarına göre düzenlenerek hazırlanır.

↓

Muhtemel Pha hesaplanır.

↓

Aktif moleküllerin taşıdığı Pha larda kartezyen kordinatlar kullanılarak üst üste çakıştırma işlemi uygulanır.

↓

AG ve APS grupların etkileri tek tek değil kombinasyonları yapılarak en küçük kareler yöntemindeki sonucuna göre değerlendirilir

↓

Her bir pozisyondaki AG ve APS grupların etkinlik değerleri olan k_j sabitleri belirlenir. Bunun için istatistiksel hesaplamalar yapılır.

↓

Her bir molekülün teorik aktivitesi belirlenir.

Şekil 3.3. CoMCET Metodundaki Algoritma

BÖLÜM 4

BULGULAR

4.1. Bulgular

4.1.1. Elektron-Topolojik Matris

2-Amino-6-arilsulfonil benzonitril bileşiklerinin belli bir serisi Pha belirleme ve aktiviteyi tahmin etmek için seçilerek deneysel aktiviteleri 5.00 ve 0.939 arasında değişen anti HIV-1 aktivitesi ve deneysel aktiviteleri 5.523 ve 1.721 arasında değişen HIV-1 RT bağlanma affinitelerinin incelenmesi için iki gruba ayrılmıştır. Serideki toplam 68 bileşikten 64'ünün anti HIV-1 aktivitesi ve 51'inin HIV-1 RT bağlanma affinitesi incelenerek, anti HIV-1 aktivitesinde hepsinin de aktif olduğu ve HIV-1 RT bağlanma affinitesinde ise 28 bileşiğin aktif 23 bileşiğin inaktif olduğu belirlenmiştir. Spartan Pro 1X programında bileşikler için moleküler mekanik (MMFF) hesaplaması yapılarak konformerleri bulunmuş, yüksek enerjili konformerler elimine edilerek, daha sonra elektronik ve geometrik parametrelerini hesaplamak için semiempirik AM1 hesaplaması yapılmıştır. Relatif enerji farkı 1 kcal/mol den yüksek olanlar dikkate alınmamıştır. Hesaplama sonucu elde edilen sonuçlarda, CoMCET metodu uygulanarak bütün bileşiklerin ECMC'leri oluşturulmuştur. ECSA yı açıklamak için yapı olarak en basit ve en az sayıda konformeri olan bir referans bileşik seçilir. Bu bileşiğin ECMC'si ile serideki diğer bileşikler karşılaştırılarak bütün bileşikler için ECSA bulunur.

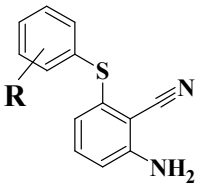
Çok sayıda bileşik bulunduğundan ve bu bileşiklerden elde edilen matris sonuçları yaklaşık olarak 780 sayfa olduğundan, sadece referans bileşiğin ECMC'sinin matris değerleri Şekil 4.4.'de verilmiştir. Hesaplamalarda ise bu değerlerin hepsi kullanılmıştır. Bu matriste; atomlar üzerindeki özellikler, diyagonal değerleri yükler olarak (Q_{ii}) ve nondiyagonal değerler olarak atomlar arası özellikler, bağ mertebeleri (W_{ij}) veya molekül içinde kimyasal olarak bağ yapmış ve yapmamış atomlar arasındaki mesafeler

(R_{ij}) olarak verilmiştir. Çalışmalarımızda sonuçlar daha iyi çıktığı için hesaplamalarda bağ mertebeleri kullanılmamıştır. Matrisi çok büyüttüğü ve tekrarlanan benzer özelliklere sahip olduğundan fazla önemli olmayan, karbon atomlarına bağlı hidrojen atomları gösterilmemiştir.

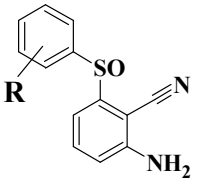
4.1.2. Bileşiklerin Elektronik ve Geometrik Parametreleri

2-Amino-6-arilsulfonil benzonitril bileşikleri ve bu bileşiklerin tiyo ve sülfinil türevleri Şekil 4.1. de verilmiştir. Bu bileşik serisi üç gruba ayrılmış ve deneysel aktivite değerleri Tablo 4.1 de verilmiştir. 1-23 arası bileşikler tiyobenzonitriller, 24-38 arası bileşikler sülfinil benzonitriller ve 39-68 arası bileşikler ise sülfonil benzonitrillerdir. Bu bileşikler temel yapılarında S atomuna bağlı iki benzen halkası içermekte ve bu benzen halkasından birine CN ve NH_2 grupları bağlanırken, diğerinde ise çeşitli substituentler bulunmaktadır.

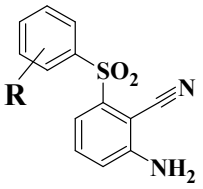
Tablo 4.1 Çalışılan Bileşik Serisi ve Deneysel Aktivite Değerleri.



1-23



24-38



39-68

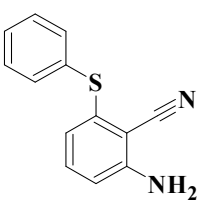
MolekülNo	R	Anti HIV-1 Aktivitesi	HIV-1RT Bağlanma Affinitesi
1	H	1.836	2.061
2	2-OCH_3	2.367	2.569
3	3- OCH_3	2.222	2.824
4	2-CH_3	1.796	_
5	3- CH_3	2.215	3.018
6	4-CH_3	0.939	2.244
7	2-Cl	2.387	2.142
8	3-Cl	2.131	1.796
9	4-Cl	_	1.921
10	2-Br	1.523	_

Tablo 4.1 (Devamı) Çalışılan Bileşik Serisi ve Deneysel Aktivite Değerleri.

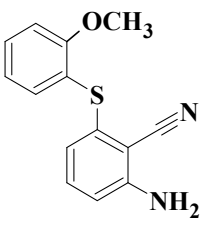
11	3-Br	2.292	1.824
12	3-F	2.009	1.921
13	2-CN	_	2.041
14	3-CN	2.762	2.959
15	4-CN	1.359	_
16	3-CF_3	1.893	2.149
17	3-NH_2	1.502	_
18	2,5-Cl_2	_	2.456
19	3,5-$(CH_3)_2$	3.367	2.959
20	3,5- Cl_2	_	3.921
21	3-Cl, 5-CH_3	2.754	2.770
22	3-OCH_3, 5-CH_3	2.699	3.854
23	3-OCH_3, 5-CF_3	2.292	1.886
24	2-OCH_3	2.319	1.921
25	3- OCH_3	1.796	1.721
26	2-CH_3	1.032	_
27	3- CH_3	1.534	2.000
28	4-CH_3	1.310	_
29	2-Br	1.407	_
30	3-Br	4.097	2.319
31	4-Br	1.694	_
32	2-CN	2.409	2.004
33	3-CN	1.848	_
34	3-CF_3	1.398	_
35	3,5-$(CH_3)_2$	3.469	3.301
36	2,5-Cl_2	2.007	2.208
37	3-Cl, 5-CH_3	3.495	3.284
38	3-OCH_3, 5-CF_3	2.648	3.046
39	H	2.699	2.161
40	2-OCH_3	3.222	2.854
41	3- OCH_3	3.046	3.222
42	4- OCH_3	1.602	1.886
43	2-CH_3	2.638	2.347
44	3- CH_3	3.3998	3.699

Tablo 4.1 (Devamı) Çalışılan Bileşik Serisi ve Deneysel Aktivite Değerleri.

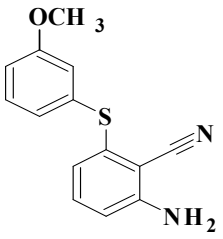
45	4-CH_3	2.022	2.137
46	2-Cl	2.387	2.229
47	3-Cl	3.229	3.398
48	4-Cl	2.523	_
49	2-Br	2.301	1.921
50	3-Br	3.268	3.699
51	4-Br	1.699	_
52	2-F	2.523	2.301
53	3-F	2.523	_
54	2-CN	2.268	2.222
55	3-CN	2.620	2.745
56	4-CN	1.097	_
57	3-CF_3	2.456	2.276
58	2,5-Cl_2	3.523	3.523
59	3,5- Cl_2	4.155	4.523
60	3,5-$(CH_3)_2$	5.000	5.155
61	3-Br,5-CH_3	4.699	5.523
62	3-Cl, 5-CH_3	4.523	5.301
63	3-OCH_3, 5-CH_3	4.301	5.000
64	3-OCH_3, 5-CF_3	4.046	4.398
65	3-OH, 5-CH_3	3.367	_
66	3-OCH_2CH_3,5-CH_3	4.222	_
67	3-$O(CH_2)_2CH_3$ 5-CH_3	4.222	_
68	3-$O(CH_2)_2CH_3$ 5-CH_3	3.222	3.398



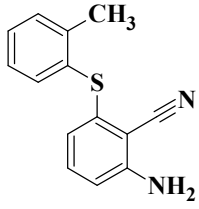
LL01
1.836
2.061



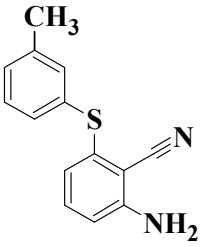
LL02
2.367
2.569



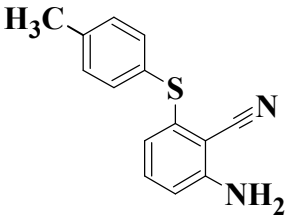
LL03
2.222
2.824



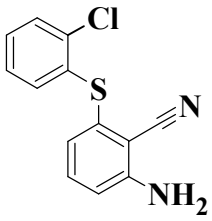
LL04
1.796
_



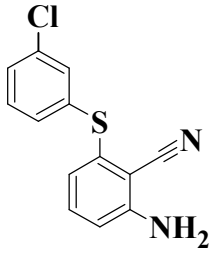
LL05
2.215
3.018



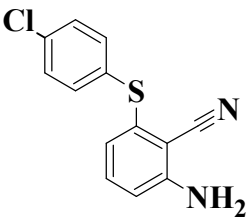
LL06
0.939
2.244



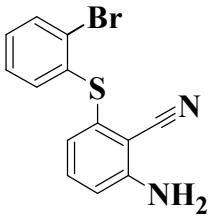
LL07
2.387
2.142



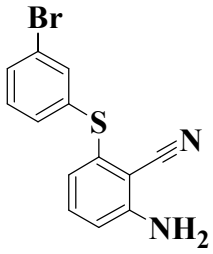
LL08
2.131
1.796



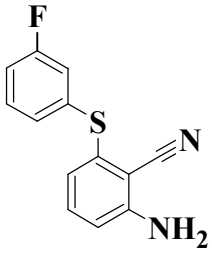
LL09
1.921



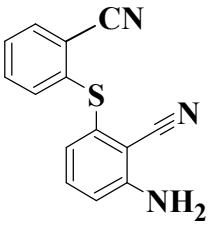
LL10
1.523
–



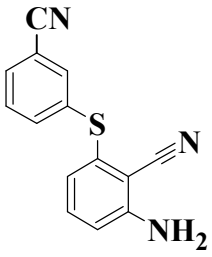
LL11
2.292
1.824



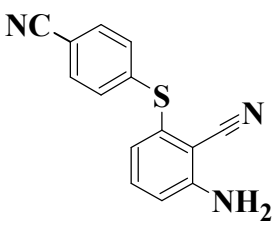
LL12
2.009
1.921



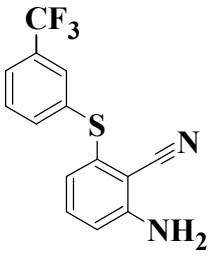
LL13
2.041



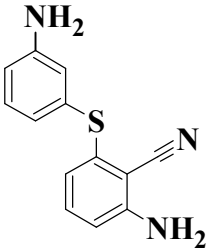
LL14
2.762
2.959



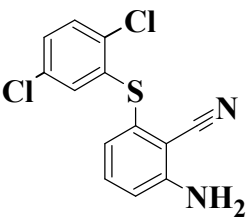
LL15
1.359
–



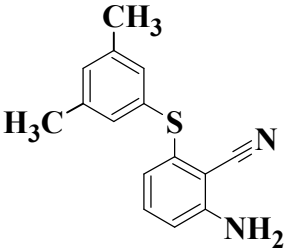
LL16
1.893
2.149



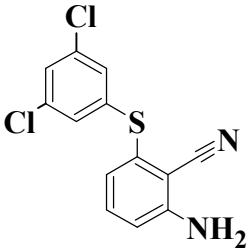
LL17
1.502
–



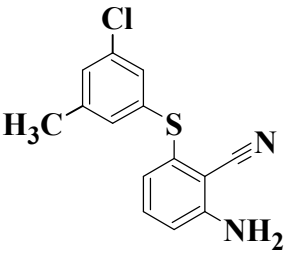
LL18
2.456



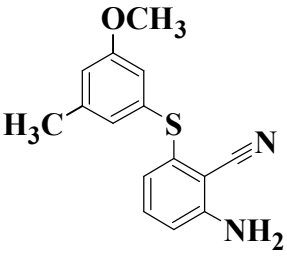
LL19
3.367
2.959



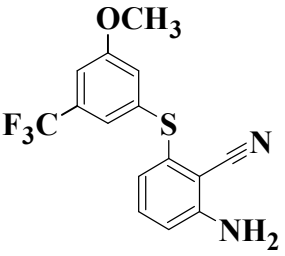
LL20
3.921



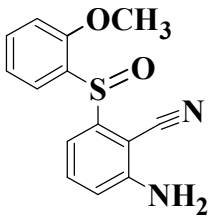
LL21
2.754
2.770



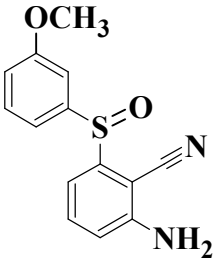
LL22
2.699
3.854



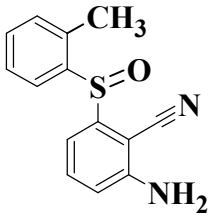
LL23
2.292
1.886



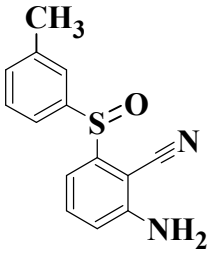
LL24
2.319
1.921



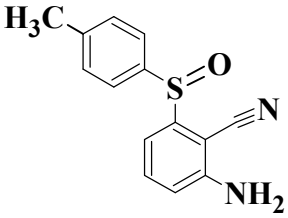
LL25
1.796
1.721



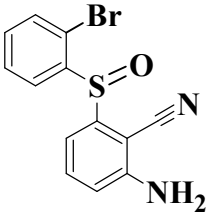
LL26
1.032
–



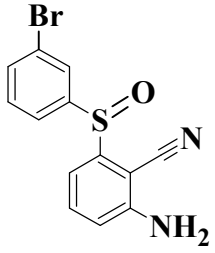
LL27
1.534
2.000



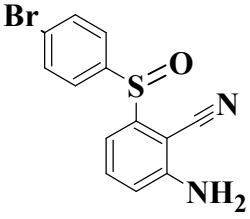
LL28
1.310
–



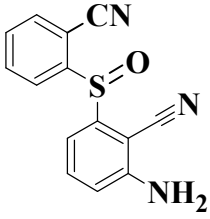
LL29
1.407
–



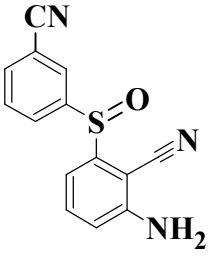
LL30
4.097
2.319



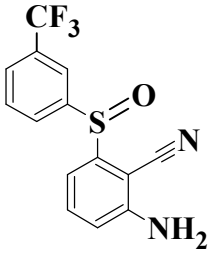
LL31
1.694
–



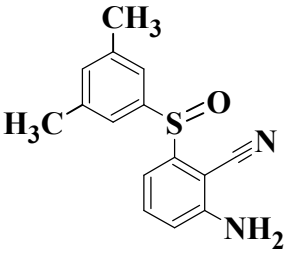
LL32
2.409
2.004



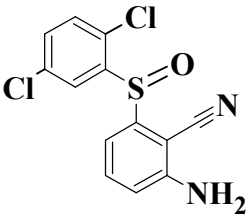
LL33
1.848
–



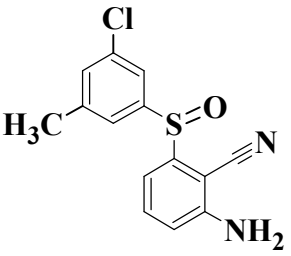
LL34
1.398
–



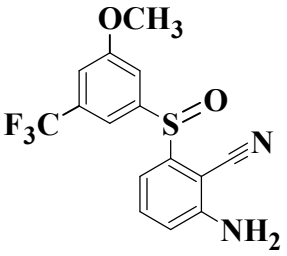
LL35
1.534
2.000



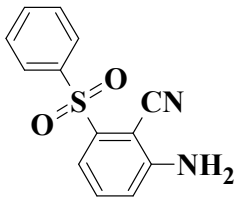
LL36
1.310
–



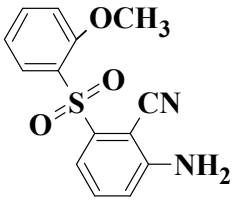
LL37
3.495
3.284



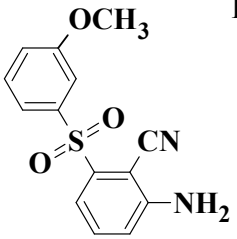
LL38
2.684
2.932



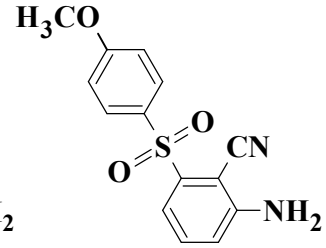
LL39
2.699
2.161



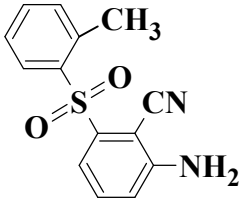
LL40
3.222
2.854



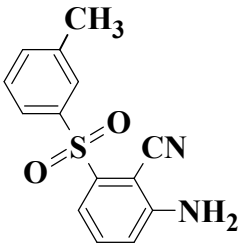
LL41
3.046
3.222



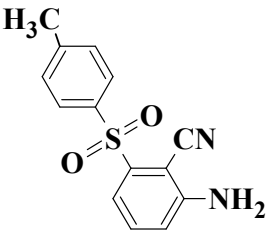
LL42
1.602
1.886



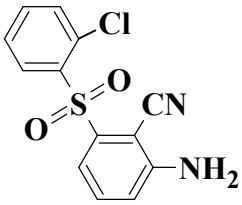
LL43
2.638
2.347



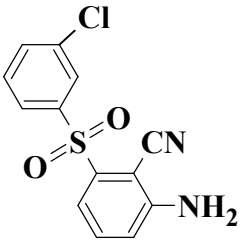
LL44
3.398
3.699



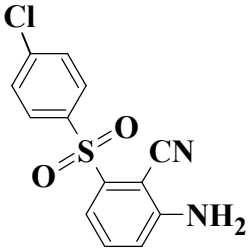
LL45
2.022
2.137



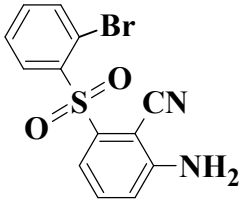
LL46
2.387
2.229



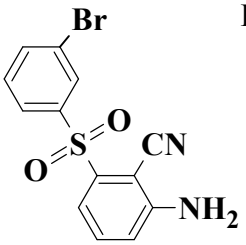
LL47
3.229
3.398



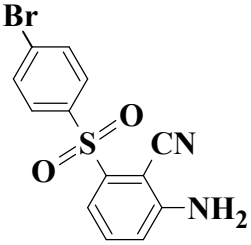
LL48
2.523
–



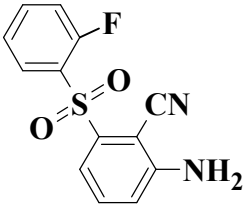
LL49
2.301
1.921



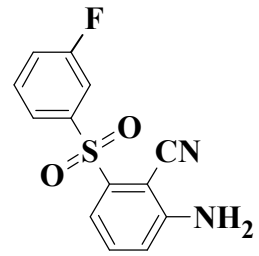
LL50
3.268
3.699



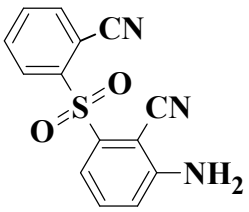
LL51
1.699
–



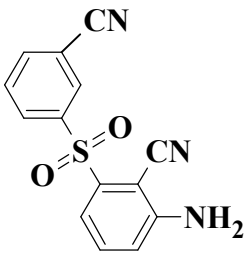
LL52
2.523
2.301



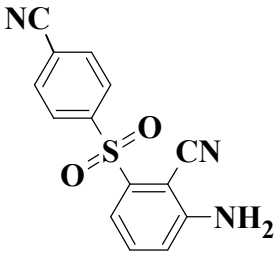
LL53
2.523
–



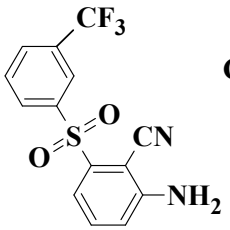
LL54
2.268
2.222



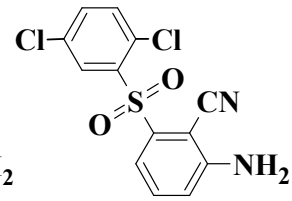
LL55
2.620
2.745



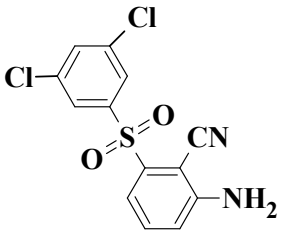
LL56
1.097
–



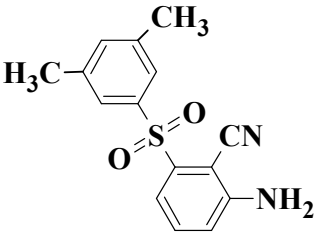
LL57
2.456
2.276



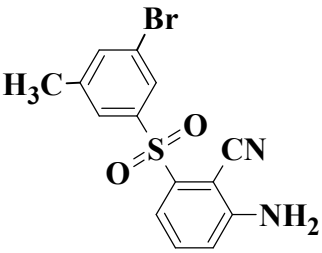
LL58
3.523
3.523



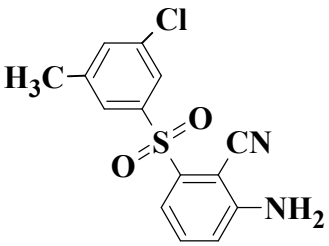
LL59
4.155
4.523



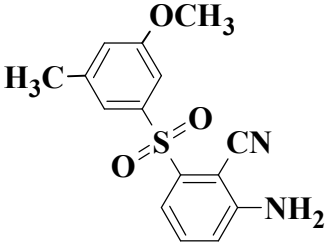
LL60
5.000
5.155



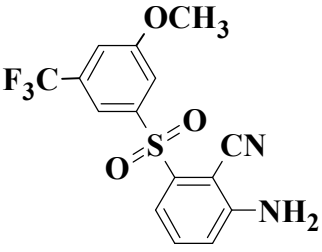
LL61
4.699
5.523



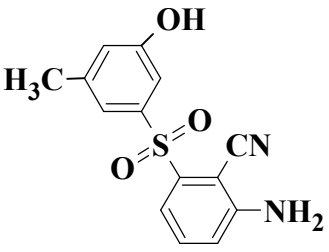
LL62
4.523
5.301



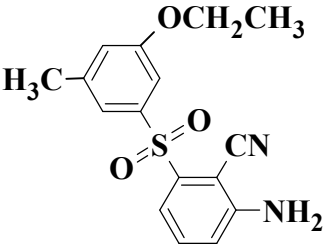
LL63
4.301
5.000



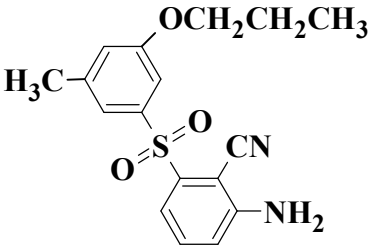
LL64
4.046
4.398



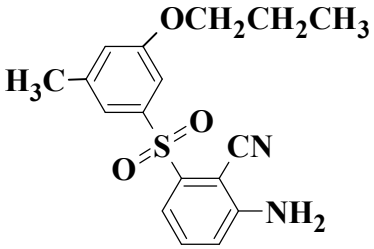
LL65
3.367
–



LL66
4.222
–



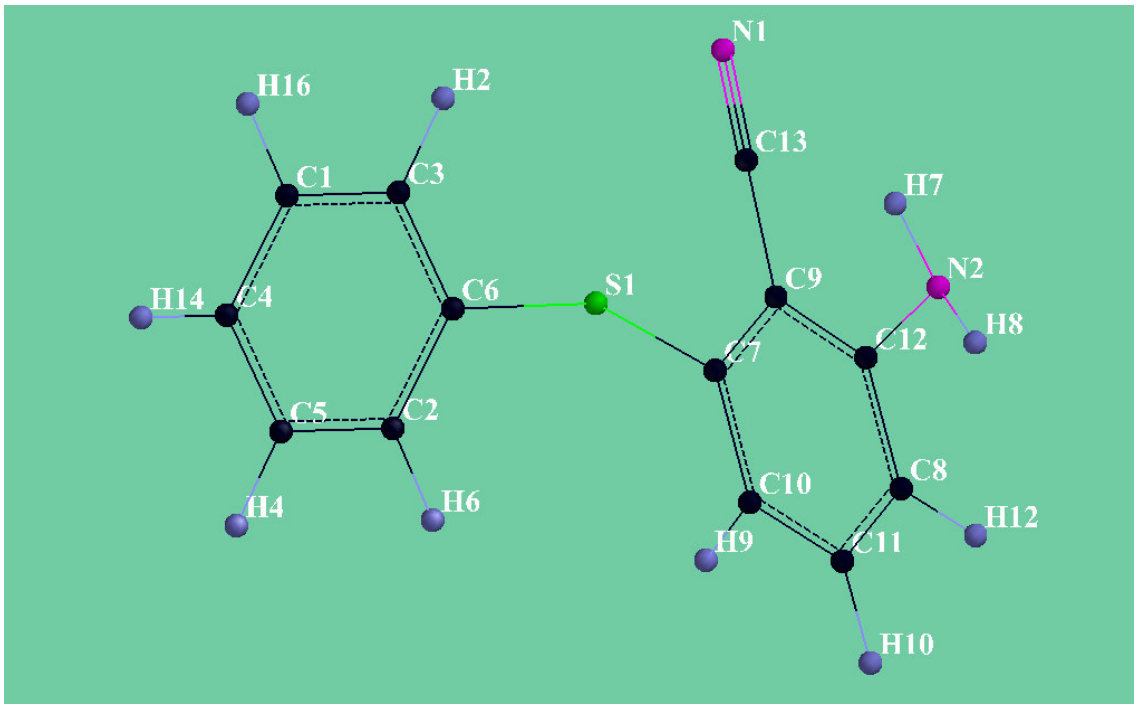
LL67
4.222
–



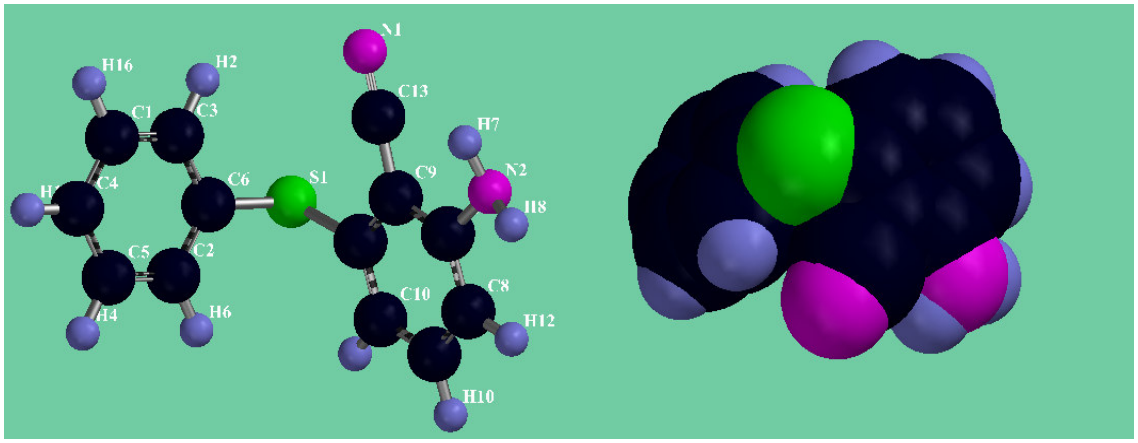
LL68
3.222
3.398

Şekil 4.1. Çalışılan Bileşik Serisinin Temel Molekül Yapıları ve Deneysel Olarak Aktiviteleri. İlk Olarak Anti HIV-1 Aktivitesi Daha Sonra HIV-1 RT Bağlanma Affinitesi Verilmiştir.

İncelenen bileşik serisinden en basit yapıdaki referans olarak seçilen L1 nolu bileşiğin yapısal top ve çubuk modeli Şekil 4.2. de ve top ve uzay dolum görünümü Şekil 4.3. de gösterilmiştir. Üzerindeki numaralar atomlara ait numaralandırmayı gösterir.



Şekil 4.2. L1 Referans Bileşiğinin Uzaydaki Top ve Çubuk Modeli.



Şekil 4.3. L1 Referans Bileşiğinin Uzaydaki Top ve Uzay Dolum Modeli Görünümleri.

Molekül serisinde çok sayıda bileşik olduğundan bütün bileşikler yerine yine sadece referans olarak seçilen bileşiğe ait, semiempirik AM1 hesaplaması yapılarak elde edilen kartezyen koordinatlar, atom yükleri ve bağ mertebeleri, sırasıyla, Tablo 4.2, Tablo 4.3 ve Tablo 4.4'de verilmiştir.

Tablo 4.2 Referans Bileşiğinin Kartezyen Koordinatları.

Kartezyen Koordinatlar (Angstrom)			
Atom	**X**	**Y**	**Z**
C1	-3.3333	-1.4690	-0.0644
C2	-1.9447	-1.0220	2.3114
C3	-1.9570	-1.2511	-0.0936
C4	-4.0148	-1.4775	1.1527
C5	-3.3175	-1.2580	2.3409
C6	-1.2525	-1.0235	1.0932
H7	-1.4203	-1.2596	-1.0560
H8	-3.8504	-1.2661	3.3035
H9	-1.3972	-0.8340	3.2489
S10	0.4404	-0.8888	1.1874
C11	0.9435	0.2108	0.0003
C12	1.9958	2.0308	-1.8696
C13	2.3344	0.2525	-0.2345
C14	0.1040	1.0750	-0.7001
C15	0.6338	1.9735	-1.6270
C16	2.8822	1.1620	-1.1800
H17	-0.9811	1.0598	-0.5159
H18	-0.0438	2.6514	-2.1699
H19	2.3913	2.7482	-2.6033
C20	3.1915	-0.6250	0.4800
N21	3.9046	-1.3404	1.0598

Tablo 4.2 (Devamı) Referans Bileşiğinin Kartezyen Koordinatları.

N22	4.2343	1.1605	-1.4785
H23	4.5921	1.9708	-1.9265
H24	4.8436	0.7190	-0.8309
H25	-3.8791	-1.6437	-1.0034
H26	-5.0998	-1.6557	1.1753

Tablo 4.3 Referans Bileşiğinin Elektronik Yükleri.

Atom	**Yükler**
C1	-0.134
C2	-0.090
C3	-0.100
C4	-0.111
C5	-0.133
C6	-0.282
H7	0.144
H8	0.137
H9	0.146
S10	0.388
C11	-0.170
C12	-0.219
C13	-0.097
C14	-0.198
C15	-0.049
C16	0.143
H17	0.146
H18	0.136
H19	0.138
C20	-0.090
N21	-0.048
N22	-0.350
H23	0.208
H24	0.215
H25	0.136
H26	0.135

Tablo 4.4 Referans Bileşiğin Bağ Mertebeleri

C1-C2	0.1076	C1-C3	1.4254	C1-C4	1.4114	C1-H25	0.9480
C2-C6	1.3748	C2-C5	1.4266	C2-H9	0.9446	C3-H7	0.9455
C4-C5	1.4098	C4-H26	0.9487	C5- H26	0.9478	C6-S10	1.0036
C11-S10	1.0363	C11-C13	1.3011	C11-C14	1.4026	C12-C15	1.4567
C12-16	1.2969	C12-H19	0.9468	C13-C20	1.0112	C14-H17	0.9436
C15-H18	0.9474	C16-N22	1.1341	C20-N21	2.8705	N22-H23	0.9203
N22-H24	0.9170						

LL01_01

10	21	22	20	6	11	16	3	12	13	1	2	4	5	14	7	23	24	
S1	N1	N2	C13	C6	C7	C12	C3	C8	C9	C1	C2	C4	C5	C10	C11	H7	H8	
0.386	3.498	5.069	2.853	1.701	1.695	3.971	2.642	4.504	2.629	3.950	2.741	4.495	4.017	2.745	4.019	5.103	5.924	S1
	-0.047	3.576	1.165	5.177	3.508	3.509	5.992	4.856	2.584	7.342	5.996	7.937	7.348	4.835	5.376	2.946	4.508	N1
		-0.349	2.847	6.444	3.730	1.385	7.553	2.433	2.446	8.790	6.814	9.058	8.160	4.203	3.694	0.993	0.992	N2
			-0.089	4.510	2.446	2.458	5.462	3.742	1.420	6.799	5.239	7.298	6.622	3.717	4.211	2.499	3.805	C13
				-0.283	2.745	5.201	1.401	5.352	4.034	2.424	1.399	2.800	2.422	3.070	4.461	6.628	7.227	C6
					-0.168	2.461	3.885	2.814	1.411	5.068	3.263	5.362	4.605	1.394	2.419	4.019	4.484	C7
						0.142	6.326	1.420	1.422	7.515	5.539	7.747	6.861	2.820	2.432	2.041	2.032	C12
							-0.088	6.483	5.126	1.393	2.416	2.416	2.788	4.182	5.555	7.664	8.321	C3
								-0.219	2.439	7.514	5.458	7.584	6.644	2.420	1.385	3.303	2.596	C8
									-0.098	6.383	4.570	6.730	5.943	2.422	2.791	2.620	3.302	C9
										-0.134	2.788	1.395	2.415	5.119	6.442	8.965	9.530	C1
											-0.097	2.416	1.394	3.177	4.428	7.143	7.550	C2
												-0.109	1.395	5.179	6.414	9.346	9.771	C4
													-0.134	4.328	5.490	8.522	8.860	C5
														-0.199	1.395	4.754	4.736	C10
															-0.048	4.464	3.968	C11
																0.214	1.682	H7
																	0.207	H8

Şekil 4.4. L1 Referans Bileşiğine Ait ECMC Matrisi (Matris Üzerinde Verilen Numaralar Tablo 4.2., Tablo 4.3. ve Tablo 4.4. de Verilen Atomlara Karşılık Gelen Numaralardır)

```
LL01_01
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8

LL01_02
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8

LL01_03
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8

LL01_04
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8

LL02_01
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  O1  C14

LL02_02
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  O1  C14

LL02_03
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  O1  C14

LL02_04
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  O1  C14

LL02_05
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  O1  C14

LL02_06
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  O1  C14

LL02_07
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  O1  C14

LL02_08
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  O1  C14

LL03_01
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8  O1  C14

LL03_02
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8  O1  C14

LL03_03
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8  O1  C14

LL03_04
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  O1  C14

LL03_05
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  O1  C14

LL03_06
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  O1  C14

LL03_07
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  O1  C14

LL03_08
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  O1  C14

LL04_01
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8  C14

LL04_02
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8  C14

LL04_03
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8  C14

LL04_04
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8  C14
```

```
LL04_05
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8  C14

LL04_06
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  C14

LL04_07
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  C14

LL04_08
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  C14

LL04_09
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8  C14

LL05_01
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8  C14

LL05_02
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8  C14

LL05_03
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  C14

LL05_04
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8  C14

LL05_05
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8  C14

LL05_06
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  C14

LL05_07
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  C14

LL05_08
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  C14
LL06_01
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8  C14

LL06_02
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8  C14

LL06_03
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  C14

LL06_04
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  C14

LL07_01
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8  Cl1

LL07_02
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8  Cl1

LL07_03
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8  Cl1

LL07_04
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  Cl1

LL07_05
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  Cl1

LL07_06
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  Cl1

LL07_07
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  Cl1
```

```
LL08_01
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  Cl1

LL08_02
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  Cl1

LL08_03
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  Cl1

LL08_04
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  Cl1

LL08_05
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8  Cl1

LL08_06
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8  Cl1

LL08_07
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8  Cl1

LL10_01
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8  Br1

LL10_02
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8  Br1

LL10_03
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8  Br1

LL10_04
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8  Br1

LL10_05
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8  Br1

LL11_01
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  Br1

LL11_02
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  Br1

LL11_03
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C2  C8  C9  C1  C3  C4  C5  C10 C11 H7  H8  Br1

LL11_04
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8  Br1

LL11_05
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8  Br1

LL11_06
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8  Br1

LL11_07
S1  N1  N2  C13 C6  C7  C12 C3  C8  C9  C1  C2  C4  C5  C10 C11 H7  H8  Br1
.
.
.
.
.
```

Şekil 4.5. Referans Bileşiğe Göre Diğer Bileşiklerin Fonksiyonel Grupları ve Atomlarının Düzenlenmesi Yani Moleküllerin Üst Üste Çakıştırılması, 68 Bileşik İçin Yapılmış Ancak Burada 11 Bileşiğe ve Konformerlerine Ait Düzenlenme Verilmiştir.

4.1.3. CoMCET Metodunun Uygulanması

CoMCET metodu EC metodu gibi iki bölümden oluşur. İlk kısmında ECMC oluşturularak Pha belirlenirken ikinci kısmında kantitatif biyoaktivite tahmini yapılır. İlk olarak, elektronik yapı hesaplamaları ve matriks karşılaştırması için bilgisayarlı metotlar kullanılırken, kantitatif biyoaktivite tahmini için istatistiksel metotlar kullanılır.

Molekül serisindeki molekülün yapı-aktivite ilişkilerinin belirlenmesi için; sahip olduğu her bir konformerin, oluşum entalpileri göz önüne alınarak bu konformerlerin aktif fragmenti Pha belirlenmiştir. Bir konformerin etkisi, biyoalıcı ile temel etkileşim alanı olan Pha'i taşımasına bağlıdır. Pha etrafında yer alan ve aktivite üzerinde etkili olan AG ve APS grupların bulunması için, torsiyon açısına ve uzaklığa bağlı olarak belirli toleranslar verilmiş; söz konusu atom ve Pha üzerindeki ilk üç atomun torsiyon açısına ve koordinat merkezinden göreceli uzaklığına göre sınıflandırılmıştır. Konformerlerdeki tüm atomlar bu iki özellikte belirli tolerans değerlerine göre sınıflandırılmış ve etkin atomlar bulunmuştur. Bu atomlar; a_{ni}^{j} parametresi ile, n'nci molekülün i'nci konformerinin j'nci pozisyonları, yani Tablo 4.5 ve Tablo 4.7 de a, b, c, d, e ve f harfleri ile temsil edilen AG ve APS gruplar olarak işaretlenmiştir. Pha ile birlikte bu atomların etkileri ile, aktivite değerleri belirlenmiş ve κ_j sabiti değerleri en küçük kareler yöntemi kullanılarak bulunmuştur. κ_j nin negatif değeri aktiviteyi azaltan, APS, grubu, pozitif değeri ise aktiviteyi artıran, AG, grubu temsil eder. Burada atom yük değeri a_{ni}^{j} ile etkinlik katsayısı κ^{j}'nin kullanılması ile her bir n'nci molekülün teorik aktiviteleri hesaplanmıştır. Tablo 4.6 ve Tablo 4.8'de bileşiklerin bu hesaplamalara göre yapılan teorik aktiviteleri verilmiştir.

Tablo 4.5 ve Tablo 4.7 de Pha'i oluşturan atom simgeleri ve ECSA matrisi ile bu matrisin diagonal (Δd) ve nondiagonal (Δdd) tolerans değerleri, konformerlerin çoğu için AG ve APS grupların sınıflandırılmasında kullanılan tolerans torsiyon açıları (ΔT) ve tolerans uzaklık değeri (Δr), pozisyonun belirlenmesinde kullanılan konformer ile o konformerin aktiviteye etki eden atomunun ismi ve bu pozisyonun özellikleri olan atomun torsiyon ve mesafe değerleri verilmiştir.

Tablo 4.6 ve Tablo 4.8'de moleküllerin deneysel aktiviteleri ve hesaplanan aktiviteleri ile birlikte her bir konformerin oluşum entalpileri ($kcal.mol^{-1}$), bu konformerlerin taşıdığı AG ve APS grupları gösteren atom işareti (a^{j}) verilmiştir. Konformerler

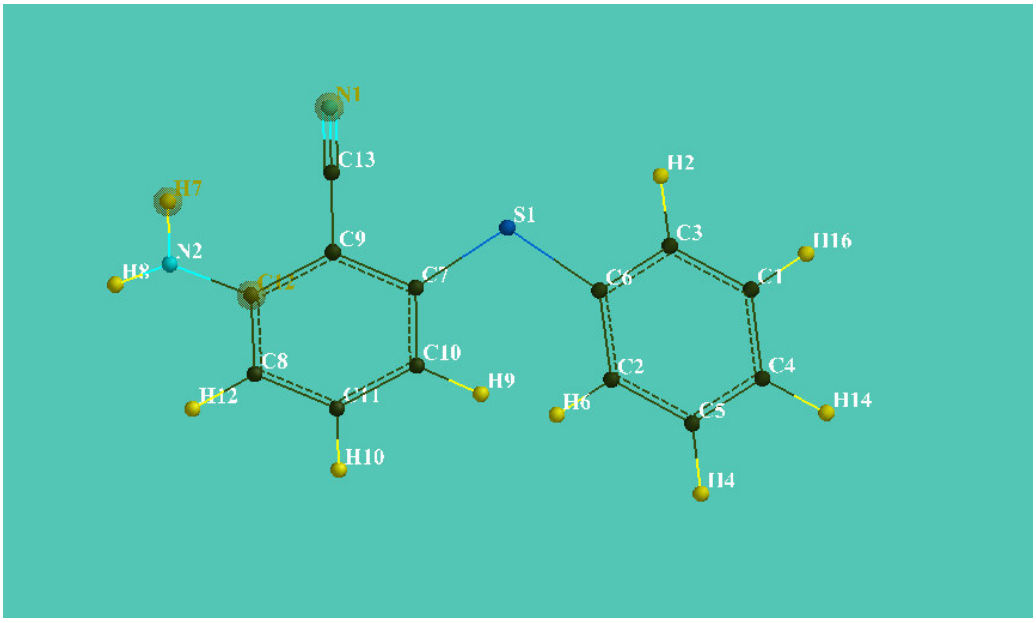
üzerindeki '$' işareti; Pha'i taşımayan konformerleri göstermektedir. Bu atomlar Δr yarıçap ve ΔT torsiyon açısı tolerans değerlerine ve T, torsiyon açısı ve r, yarıçap mesafesine göre, j-grup pozisyonu olarak, a,b,c vs. simgeleriyle, sınıflandırılmıştır. Bu grupta AP ve AGS grupları taşıyan konformerin oluşum entalpi değerinin yanında a^j işareti bulunmaktadır. κ^j değerinin $a_{ni}{}^j$ ile çarpım sonucu '+' (pozitif) çıktığında belirtilen atomun Pha ile birlikte aktiviteyi artırdığını, yani o atomun AG grup olarak etki ettiğini, '-' (negatif) değerde ise azalttığını, yani APS grup olarak etki ettiğini gösterir.

Tablo 4.5 Anti HIV-1 Aktivitesine Ait AG ve APS Grupların Özellikleri

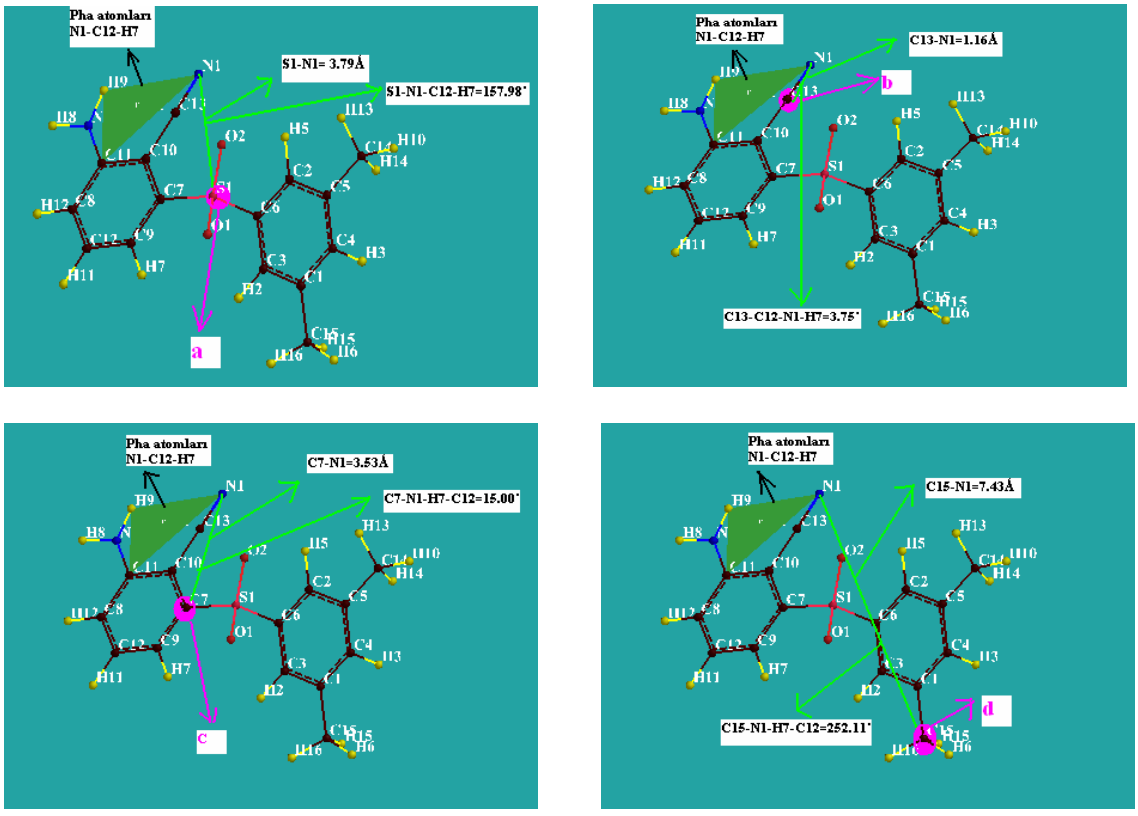
Mol no	Atom no	Torsiyon açısı	Mesafe/ Å	Etkin değeri	Pozisyon
LL60_01	S1	S1-N1-C12 H7= 157.98	S1-N1 = 3.79	k1= 0.92	a
LL60_01	C13	C13-N1-H7-C12= 3.75	C13-N1= 1.16	k2= 0.95	b
LL60_01	C7	C7-N1-H7-C12-= 15.00	C7-N1 = 3.53	k3= 0.13	c
LL60_01	C15	C15-N1-H7-C12= 252.11	C15-N1= 7.43	k4= 0.67	d

Pha

N1	H7	C12			
-0.047	2.947	3.509	N1	Δd=0.1	Δdd=0.15
	0.213	2.040	H7	ΔT=10	Δr =1
		0.142	C12		



Şekil 4.6. Anti HIV-1 Serisine Ait Referans Molekülündeki Pha Atomları (N1, C12, H7)



Şekil 4.7. LL60 nolu Molekülde Pha Atomları ve a ve b Olarak İşaretlenmiş AG Grupları ile c ve d Olarak İşaretlenmiş APS Grupları

Tablo 4.6 Anti HIV-1 Aktivitesine Etki Ettiği Belirlenmiş AG Ve APS Parametreleri ve Bu Parametreleri Taşıyan Konformerler.

			Konformerlerin oluşum entalpileri ve sahip oldukları APS ve AG grupların a, b, c, d gibi harflerle gösterimi												
Mol no	**Den.Akt**	**Teo.Akt**	**(1)**	**(2)**	**(3)**	**(4)**	**(5)**	**(6)**	**(7)**	**(8)**	**(9)**	**(10)**	**(11)**	**(12)**	
LL01	1.836	1.836	84.22	84.22,a,b,c	84.24,b,c	84.24	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL02	2.367	2.161	49.26,a,b,c	49.26,d	49.28,a,b,c,d	49.28	50.16	50.16,a,b,c	50.20	50.20,a,b,c	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL03	2.222	1.824	46.59,b,c	46.59	46.60,a,b,c	46.64	46.64,a,b,c	46.69,b,c	46.70,d	46.74,b,c	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL04	1.796	1.819	77.63	77.63,b,c	77.65,a,b,c	77.65	77.84,b,c	78.15	78.24,a,b,c	78.27,a,b,c	78.27	$0.00	$0.00	$0.00	
LL05	2.215	2.105	76.59,a,b,c	76.60	76.61	76.61	76.61,b,c	76.62,b,c	76.63,d	76.88,a,b,c	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL06	0.939	0.813	76.41	76.42,a,b,c	76.43	76.43,b,c	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL07	2.387	2.276	79.00,a,b,c	79.04	79.04,b,c	79.48,a,b,c	79.48	79.55,a,b,c	79.55	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL08	2.131	1.721	77.53,d	77.53,b,c	77.56,a,b,c	77.56	77.62	77.64,b,c	77.64	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL10	1.523	1.759	89.74	89.74,a,b,c	89.76,b,c	89.76,d	90.66,a,b,c	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL11	2.292	1.977	89.47,b,c	89.49	89.49,a,b,c	89.55,a,b,c	89.55	89.58,b,c	89.90,a,b,c	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL12	2.009	1.985	39.58,d	39.58,b,c	39.60,a,b,c,d	39.61	39.71,b,c	39.72	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL14	2.762	2.564	116.34,b,c	116.34,d	116.38,a,b,c,d	116.38	116.47	116.51,b,c	116.51	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL15	1.359	1.489	116.22	116.22,a,b,c	116.22,b,c	116.22	116.23,a,b,c	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL16	1.893	1.794	-71.29,b,c	-71.28,d	-71.24	-71.21, a,b,c,d	-71.13	-71.12,a,b,c	-71.08,b,c	-71.07	-70.71	$0.00	$0.00	$0.00	
LL17	1.502	1.822	82.69	82.84	82.84,b,c	82.90,b,c	82.90	82.93	83.22,a,b,c	82.69,a,b,c,d	82.74,d	82.74,b,c	82.83,a,b,c	$0.00	
LL19	3.367	3.289	69.01,a,b,c	69.02	69.04,b,c	69.04,d	69.28	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL21	2.754	1.887	69.89,b,c	69.91,d	69.91	69.93,a,b,c	69.99	70.00,a,b,c	70.03,d	70.03,b,c	70.34,a,b,c	$0.00	$0.00	$0.00	
LL22	2.699	2.498	39.03,d	39.04,b,c	39.04,a,b,c	39.04	39.05	39.08,a,b,c	39.11,b,c	39.14,d	39.18,b,c	39.18,d	39.22,a,b,c	39.75	
LL23	2.292	1.82	-108.36,b,c	-108.36,d	-108.31	-108.31 ,a,b,c,d	-108.30,b,c	-108.30	-108.29,d	-108.29, a,b,c,d	-108.10	-108.09, a,b,c	-107.99 ,b,c	-107.98 d	
LL24	2.319	2.423	18.40,a,b,c	18.52,d	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL25	1.796	2.174	16.68	16.79,a,b,c	16.98	16.98	17.20,a,b,c	17.32	17.52,a,b,c	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL26	1.032	1.567	49.15,a,b,c	49.20	49.22,a,b,c	49.23,b,c	49.25,d	49.27,d	49.30,a,b,c	49.58,a,d	49.59	49.63,a,b,c	$0.00	$0.00	
LL27	1.534	1.635	46.76,a,b,c	46.88,d	46.91,d	46.78,a,b,c	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL28	1.31	1.459	46.51,a,b,c,d	46.64,d	46.64,d	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL29	1.407	1.685	61.47,a,b,c	61.54,a,d	61.75,a,b,c	61.80	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL30	4.097	3.973	59.61,a,b,c	59.62,a,b,c	59.63,d	59.64,a,b,c	59.80,d	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL31	1.694	2.198	59.68,a,b,c,d	59.81,d	59.81,d	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL32	2.409	1.92	90.17,a,b,c	90.30	90.36,a	90.44,a,b,c	91.00,a,b,c,d	91.17	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL33	1.848	1.748	86.36,b,c	86.40,a,b,c	86.59,d	86.38,d	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL34	1.398	1.547	-101.31,d	-101.24,b,c,d	-101.17,a,b,c	-101.16, a,b,c	-100.99,d	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL35	3.469	3.367	39.20,a,b,c	39.33,d	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL36	2.007	2.167	43.13,a,b,c,d	43.13,a,b,c,d	43.20,d	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL37	3.495	3.302	40.11,a,b,c	40.14,d	40.14,a,b,c	40.30,d	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	

Tablo 4.6 (Devamı) Anti HIV-1 Aktivitesine Etki Ettiği Belirlenmiş AG ve APS Parametreleri Ve Bu Parametreleri Taşıyan Konformerler.

LL38	2.648	2.453	-138.41,a,b,c	-138.31	-137.93	-137.87, a,b,c	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL39	2.699	2.507	26.52	26.52,a,b,c	26.52	26.79,b,c	26.79,a	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL40	3.222	3.087	-9.55,a,b,c,d	-9.55	-9.55	-9.25,a	-9.25,b,c	-8.86,a,b,c	-8.86	-8.86,a,b,c	-8.64,b,c	-8.64,a,d	$0.00	$0.00	
LL41	3.046	3.167	-11.03,a,b,c	-11.03	-10.81,b,c	-10.81,a	-10.60 a,b,c,d	-10.60	-10.36,a,d	-10.36,a,b,c	-10.32, a,b,c,d	$0.00	$0.00	$0.00	
LL42	1.602	1.435	-13.03	-12.74,a,d	-12.74,a,d	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL43	2.638	3.162	20.86,a,b,c	20.86	21.15,a,b,c	21.15,a	21.84,a,b,c	21.84	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL44	3.398	3.491	18.84,a,b,c	18.85	18.90	18.90,a,b,c,d	19.11,a	19.12,a,b,c	19.17,b,c	19.17,a,d	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL45	2.022	2.243	18.45,a,b,c,d	18.45	18.73,a,d	18.73,b,c	18.74,b,c	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL46	2.387	2.329	23.31,a	23.31,a	23.57,a,b,c	23.57,a	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL47	3.229	3.658	20.31	20.32,a,b,c,d	20.57,a,d	20.59,a,b,c	20.82,a	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL48	2.523	3.727	19.90,a,b,c,d	19.90	19.90,a,b,c,d	20.15,a,d	20.15,b,c	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL49	2.301	2.564	36.81,a	36.81,a,b,c	37.04,a	37.05,a,b,c	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL50	3.268	2.906	32.17	32.17,a,b,c,d	32.42,b,c	32.42,a,d	32.50,a,b,c	32.50	32.73,a	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL51	1.699	1.856	32.40	32.40,a,b,c,d	32.65,b,c	32.65,a,d	32.65,b,c	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL52	2.523	2.674	-15.30,a,b,c	-15.30	-15.01,b,c	-15.01,a	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL53	2.523	2.876	-17.36	- 17.36,a,b,c,d	-17.10,a,d	-17.10,a,b,c	-17.08	-16.84,a	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL54	2.268	2.354	63.72	63.72,a,b,c	64.01,a	64.01,a,b,c	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL55	2.62	2.7	59.11	59.11,a,b,c,d	59.38,a,d	59.38,b,c	59.51,a,b,c	59.51	59.76,a	59.76,b,c	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL56	1.097	1.234	59.79,a,b,c,d	59.79	60.04,a,d	60.04,b,c	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL57	2.456	2.678	-128.44	-128.44, a,b,c,d	-128.19,b,c	-128.19,a,d	-127.84,a,b,c	-127.84	-127.63,a	-127.63, a,b,c	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL58	3.523	3.965	17.73,a	17.73,a,b,c	18.00,a	18.00,a,b,c	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL59	4.155	4.087	14.87	14.87,a,b,c,d	15.09,a,d	15.09,a,b,c	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL60	5	4.167	11.28,a,b,c,d	11.28	11.54,a,d	11.54,a,b,c	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL61	4.699	2.884	24.47	24.48,a,b,c,d	24.72,b,c	24.72,a,d	24.87	24.87,a,b,c,d	25.09,a,d	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL62	4.523	4.103	12.62,a,b,c,d	12.62	12.86,a,b,c	12.87,a,d	12.95,a,b,c,d	12.95	13.18,a,d	13.19,a,b,c	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL63	4.301	4.103	12.62,a,b,c,d	12.62	12.86,a,b,c	12.87,a,d	12.95,a,b,c,d	12.95	13.18,a,d	13.19,a,b,c	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL64	4.046	3.943	-165.42 a,b,c,d	-165.23,a,d	-165.23,b,c	-164.65	-164.64, a,b,c,d	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL65	3.367	2.987	-24.74, a,b,c,d	-24.74	-24.51,b,c	-24.39	-24.15,a,d	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL66	4.222	4.307	-24.25, a,b,c,d	-24.25	-24.03,a,d	-24.03,a,b,c	-23.89	-23.89, a,b,c,d	-23.66, a,b,c	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL67	4.222	4.061	-29.86, a,b,c,d	-29.86	-29.59,a,b,c	-29.59,a,d	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL68	3.222	3.528	-31.07	-31.07, a,b,c,d	-30.86,a,b,c	-30.73	-30.51,a,b,c	$-30.45	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	

Tablo 4.7 HIV-1 RT Bağlanma Affinitesine Ait AG ve APS Grupların Özellikleri.

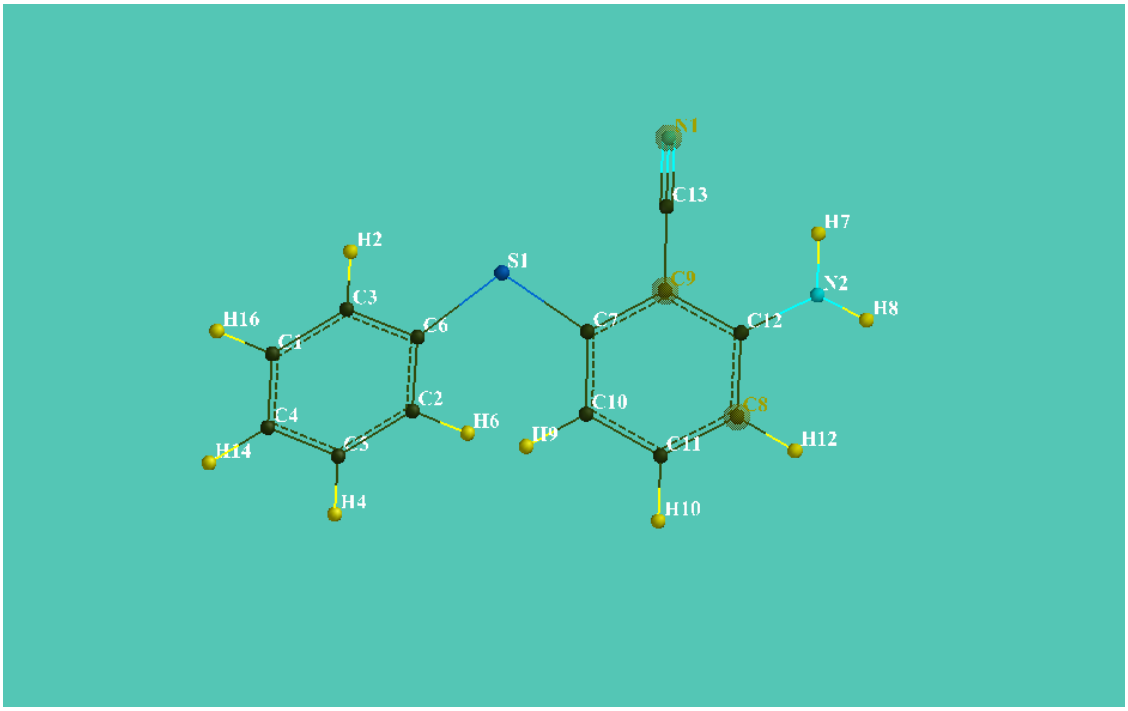
Mol no	**Atom no**	**Torsiyon açısı**	**Mesafe/ Å**	**Etkin değeri**	**Pozisyon**
LL20_01	C10	C10-N1-C8-C9= 0.75	C10-N1= 4.84	k1= 0.56	a
LL20_01	Cl1	Cl1-N1-C8-C9= 37.42	Cl1-N1= 8.37	k2= 0.57	b
LL20_01	Cl2	Cl2-N1-C8-C9=343.04	Cl2-N1= 8.47	k3= 1.39	c
LL22_01	C5	C5-N1-C8-C9= 330.43	C5-N1= 7.30	k4= 0.52	d
LL22_01	O1	O1-N1-C8-C9= 17.70	O1-N1= 8.34	k5= 2.28	e
LL25_01	C1	C1-N1-C8-C9= 43.77	C1-N1= 5.69	k6= -0.82	f

Pha

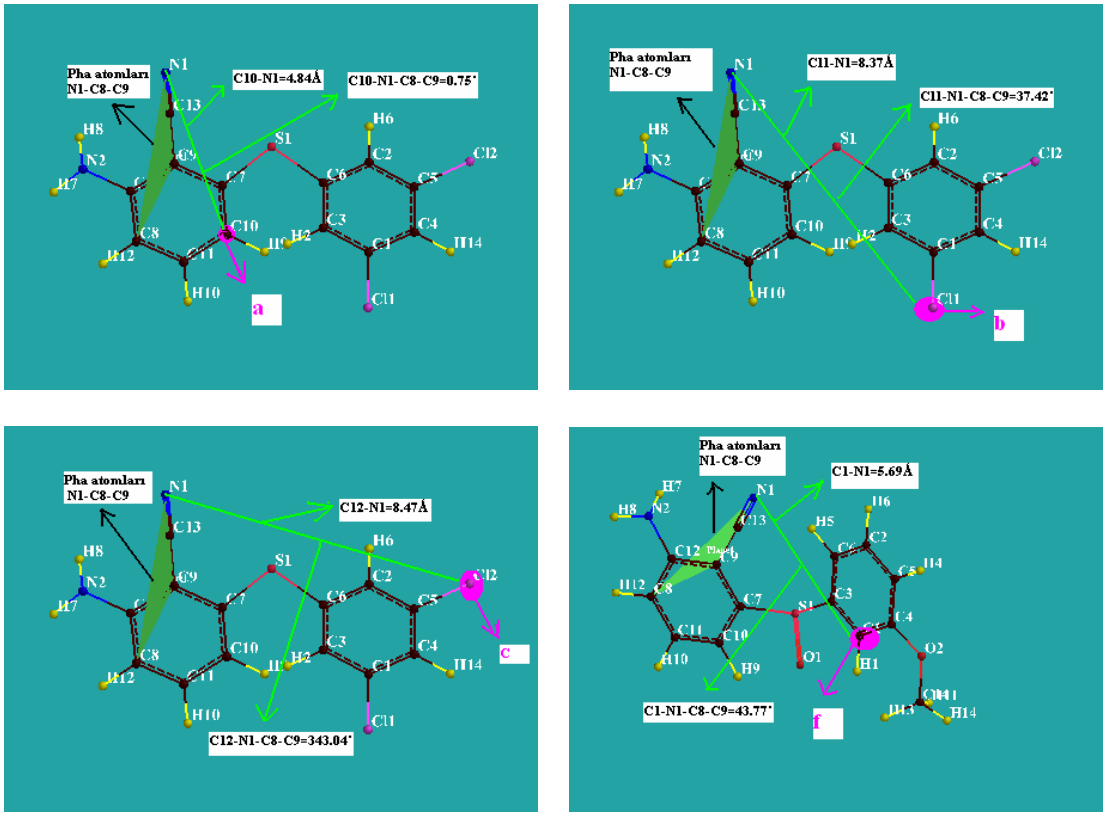
N1	C8	C9	
-0.047	4.856	2.584	N1
	-0.219	2.439	C8
		-0.097	C9

Δd=0.1 Δdd=0.15
ΔT=10 Δr =1

HIV-1 RT bağlanma affinitesi serisine ait referans molekülündeki Pha atomları Şekil 4.8. de ve AG ve APS atomları Şekil 4.9. da gösterilmiştir.

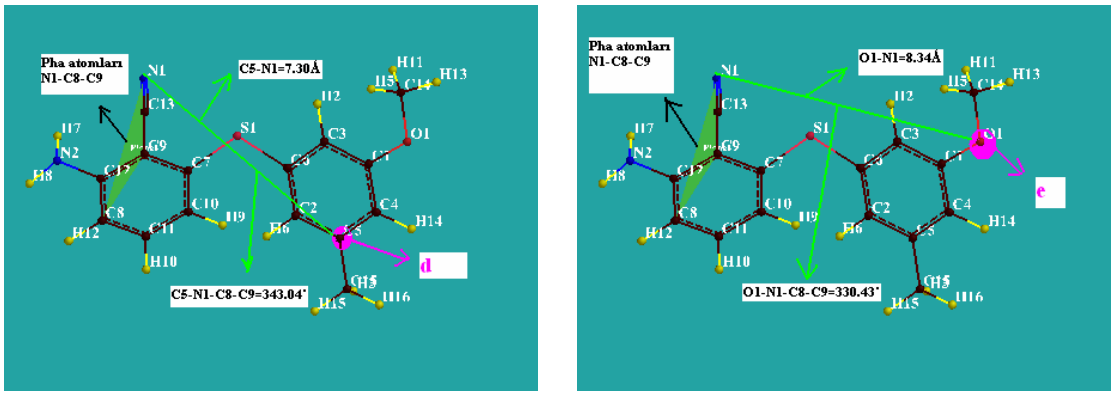


Şekil 4.8. HIV-1 RT Bağlanma Affinitesi Serisine Ait Referans Molekülündeki Pha Atomları (N1, C8, C9)



Şekil 4.9. LL20 ve LL25 nolu Molekülllerde Pha Atomları ve a ve b Olarak İşaretlenmiş APS Grupları vee c ve f Olarak İşaretlenmiş AG Grupları.

Ayrıca LL22 nolu molekülde C5ve O1 atomları APS gruplar olarak belirlenmiş ve Şekil 4.10. da d ve e olarak gösterilmiştir.



Şekil 4.10. LL 22 Nolu Molekülde d ve e Olarak İşaretlenmiş APS Atomu ve Pha Atomları

Tablo 4.8 HIV-1 RT Bağlanma Affinitesine Etki Ettiği Belirlenmiş AG Ve APS Parametreleri Ve Bu Parametreleri Taşıyan Konformerler

			Konformerlerin oluşum entalpileri ve sahip oldukları APS ve AG grupların a, b, c, d gibi harflerle gösterimi												
Mol no	**Den.Akt**	**Teo.Akt**	**(1)**	**(2)**	**(3)**	**(4)**	**(5)**	**(6)**	**(7)**	**(8)**	**(9)**	**(10)**	**(11)**	**(12)**	
LL01	2.061	2.061	84.22,a,e	84.22,a,c,d,e	84.24,a,e	84.24,c,d	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL02	2.569	2.457	49.26,a,d,e	49.26,a,c	49.28,a,c,d,e,f	49.28,c,d,e	50.16,c,d,f	50.16,a,e,f	50.20,a,c,e,f	50.20,a,c,d,e,f	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL03	2.824	2.698	46.59,a,c,e	46.59,c,d,e	46.60,a,c,d,e	46.64,a,b,e	46.64,a,c,d	46.69,a,b,e	46.70,c,d	46.74,a,b,e	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL05	3.018	2.945	76.59,a,b,c,d,e	76.60,b,c,d	76.61,a,b,e	76.61,a,e	76.61,a,e	76.62,a,b,e	76.63,c,d	76.88,a,b,e	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL06	2.244	2.245	76.41,a,e	76.42,a,c,d,e	76.43,c,d	76.43,a,e	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL07	2.143	2.093	79.00,a,d	79.04,d	79.04,a,b	79.48,a,d,e,f	79.48,d,e	79.55,a,e	79.55,d,e,f	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL08	1.796	1.856	77.53,c,d	77.53,a,b,e	77.56,a,c,d	77.56,a,b,e	77.62,a,e	77.64,a,e	77.64,c,d,e	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL09	1.921	1.987	77.33,a,e	77.33,a,c,d	77.34,a,e	77.34,c,d	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL11	1.824	1.854	89.47,a,b,e	89.49,a,b,e	89.49,a,c,d	89.55,a,b,c,d	89.55,a,e	89.58,a,e	89.90,a,e	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL12	1.921	1.988	39.58,d	39.58,a,b,e	39.60,a,c,d	39.61,a,b,e	39.71,a,c,e	39.72,d	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL13	2.041	2.091	118.39,a,b	118.39,a,d	118.47,a,b	118.48,d,f	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL14	2.959	3.345	116.34,a,b,e	116.34,c,d	116.38,a,c,d	116.38,a,b,e	116.47,a,e	116.51,a,c,e	116.51,c,d,e	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL16	2.149	2.203	-71.29,a,b,e	-71.28,c,d	-71.24,a,b,e	-71.21,a,c,d	-71.13 a,c,e	-71.12, a,b,c,d	-71.08,a,c,e	-71.07,b,c,d,e	-70.71,b,d,e	$0.00	$0.00	$0.00	
LL18	2.456	2.423	72.49,a,b	72.49,d	72.50,a,b	72.50,a,d	73.25,a,e,f	73.26,b,d,e	73.29,a,b,d,e	73.30,a,d,e,f	73.43,d,e,f	$0.00	$0.00	$0.00	
LL19	2.959	2.936	69.01,a,b,c,d,e	69.02,a,b,e	69.04,a,b,e	69.04,b,c,d,e	69.28,b,d,e	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL20	3.921	3.245	71.45,a,b,c,e	71.45,d,e	71.46,a,b,c,e	71.46,a,b,c,d	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL21	2.77	2.687	69.89,a,b,e	69.91,c,d,e	69.91,a,b,e	69.93,a,b,c,d	69.99,a,b,e	70.00,a,b,c,d	70.03,b,c,d	70.03,a,b,e	70.34,a,b,d,e	$0.00	$0.00	$0.00	
LL22	3.854	3.278	39.03,c,d,e	39.04,a,b,c,e	39.04,a,c,d,e	39.04,a,b,e	39.05,a,b,e	39.08,a,b,c,d	39.11,a,b,c,e	39.14,c,d,e	39.18,a,b,c,e	39.18,c,d,e	39.22,a,b,c,d	39.75,b,d,e	
LL23	1.886	1.867	-108.36,a,b,e	-108.36,c,d	-108.31, a,b,c,e	-108.31, a,c,d,e	-108.30, a,b	-108.30, a,b,c,e	-108.29,d,e	-108.29 a,b,d,e	-108.10, a,b,c,e	-108.09, a,b,c,d,e	-107.99, a,b,c	-107.98 d,e	
LL24	1.921	1.935	18.40,a	18.52,a	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL25	1.721	1.875	16.68,b,f	16.79,a,b,f	16.98,f	16.98,f	17.20,a,f	17.32,a,f	17.52,a,f	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL27	2	2.065	46.76,a	46.88,a	46.91,a	46.78,a	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL30	2.319	2.315	59.61,a	59.62,a	59.63,a	59.64,a	59.80,a	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL32	2.004	2.087	90.17,a,f	90.30,a	90.36,f	90.44,a,f	91.00,a,d	91.17,a,f	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL35	3.301	2.979	39.20,a	39.33,a	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL36	2.208	2.200	43.13,a	43.13,a	43.20,a	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL37	3.248	1.824	40.11,a	40.14,a	40.14,a	40.30,a	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	
LL38	3.046	2.956	-138.41,a,f	-138.31, a,b,f	-137.93,a,b,f	$-137.87	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	$0.00	

LL60_01 nolu konformer göz önüne alınarak teorik aktivite değerinin hesaplanması aktivite formülleri kullanılarak yapılmıştır. Ayrıca bu hesaplama Tablo 4.5, Tablo 4.6, Tablo 4.7 ve Tablo 4.8 deki değerlerin nasıl kullanıldığını da açıklamaktadır.

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

denklemi kullanılarak n. molekülün (LL60) ve i. konformerinin (LL60_01) j-pozisyonlarının (a,b,c vs. gibi) aktiviteye katkı değeriyle (κ^j) bu konformerin ilgili pozisyondaki atomun yükünün (a_{ni}^j) çarpımlarının toplam katkısı hesaplanır (S_{ni}). Bu işlemi gerçekleştirmek için Tablo 4.6 dan LL60 nolu bileşik bulunarak, 1 nolu konformerinin oluşum entalpisi değeri ile birlikte verilen a, b, c, d harfleri dikkate alınır. İlk olarak bu harflerin Tablo 4.5 de, κ^j değerlerini temsil eden, k_1, k_2, k_3 ve k_4 değerleri belirlenir. Bu değer LL60_01 nolu konformerde S1 atomunun yükü ile çarpılır. Aynı şekilde diğer harfler için de aynı işlemler uygulanarak 1 nolu konformerin aktiviteye katkısı belirlenmiş olur. Ardından bu işlem diğer konformerler için uygulanarak toplamları alınır ve aktiviteye toplam katkı bulunur.

$$A_n = A_0 x \frac{\sum_{i=1}^{n} e^{-Ea/RT} x \sum_{i=1}^{n} e^{sni}}{\sum_{i=1}^{n} e^{-Ea/RT}} x \frac{\sum_{i=1}^{m} e^{-E_{li}/RT} x}{\sum_{i=1}^{m} e^{-Eli/RT} x \sum_{i=1}^{m} e^{sni}} \tag{4.2}$$

Bu denklemi uygulamak için Tablo 4.6 da verilen LL60 nolu ve LL01 nolu referans bileşiğin oluşum entalpileri dikkate alınır. Denklemdeki E_a ifadesi yerine LL 60 nolu bileşiğin oluşum entalpi değerleri, E_{li} ifadesi yerine de referans bileşiğin oluşum entalpi değerleri yazılır. S_{ni} ise hem referans bileşik hem de aktivitesini hesaplamak istediğimiz bileşik için yukarıda anlatıldığı gibi ayrı ayrı hesaplanarak formülde yerine yazılır. Bu denklemde $A_{0,}$ Tablo 4.6 dan alınan referans bileşiğin aktivite değeridir.

İfadelerin yerine yazılması ile elde edilen aktivite hesaplaması Eşitlik 4.3 de gösterilmiştir.

$$An = 1,836\,x\left(\frac{\left(e^{0,92x2,845}+e^{0,95x0,44}+e^{0,13x(-0,54)}+e^{0,67x(-0,36)}\right)}{e^{-11.28/RT}+e^{-11.28/RT}+e^{-11.54/RT}+e^{-11.54/RT}}\right.$$

$$+\frac{e^{-11.28/RT}+e^{-11.54/RT}\left(e^{0,92x2,845}+e^{0,67x(-0,36)}\right)}{e^{-11.28/RT}+e^{-11.28/RT}+e^{-11.54/RT}+e^{-11.54/RT}} \qquad (4.3)$$

$$\left.+\frac{e^{-11.54/RT}\left(e^{0,92x2,845}+e^{0,95x0,44}+e^{0,13x(-0,54)}\right)}{e^{-11.28/RT}+e^{-11.28/RT}+e^{-11.54/RT}+e^{-11.54/RT}}\right)$$

$$x\frac{e^{-84.22/RT}+e^{-84.22/RT}+e^{-84.22/RT}e^{-84.22/RT}}{e^{-84.22/RT}+e^{-84.22/RT}\left(e^{0,92x2,845}+e^{0,95x0,44}+e^{0,13x(-0,54)}\right)+e^{-84.22/RT}\left(e^{0,95x0,44}+e^{0,13(-0,54)}\right)e^{-84.22/RT}}=4,167$$

BÖLÜM 5

SONUÇ

5.1. 2-Amino-6-Arilsulfonil Benzonitril Türevlerinin Anti HIV-1 Aktivitesi

Tablo 5.1 de 2-Amino-6-Arilsulfonil benzonitril türevlerinin anti HIV-1 aktivitesi için deneysel, CoMCET metodu ile hesaplanan teorik aktivite değerleri ve Hansch analizinden elde edilen aktivite değerleri verilmiştir.

Tablo 5.1 Bileşiklerin Anti HIV-1 Aktivitesi Deneysel, CoMCET Metodu İle Hesaplanan Teorik Değeri ve Hansch Analizi Sonuçları

Mol no	**Den.Akt.**	**Teo.Akt**	**Hansch analizi**
LL01	1.836	1.836	1.684
LL02	2.367	2.161	2.341
LL03	2.222	1.824	2.328
LL04	1.796	1.819	1.684
LL05	2.215	2.105	2.201
LL06	0.939	0.813	1.091
LL07	2.387	2.276	1.684
LL08	2.131	1.721	2.228
LL10	1.523	1.759	1.684
LL11	2.292	1.977	2.361
LL12	2.009	1.985	1.657
LL14	2.762	2.564	2.248
LL15	1.359	1.489	1.091
LL16	1.893	1.794	1.595
LL17	1.502	1.822	2.183
LL19	3.367	3.289	3.318
LL21	2.754	1.887	3.346
LL22	2.699	2.498	3.446
LL23	2.292	1.82	2.738
LL24	2.319	2.423	2.341
LL25	1.796	2.174	2.328
LL26	1.032	1.567	1.684
LL27	1.534	1.635	2.201
LL28	1.31	1.459	1.091
LL29	1.407	1.685	1.684
LL30	4.097	3.973	2.361
LL31	1.694	2.198	1.091
LL32	2.409	1.92	1.684
LL33	1.848	1.748	2.248
LL34	1.398	1.547	1.595
LL35	3.469	3.367	3.318
LL36	2.007	2.167	2.228

Tablo 5.1 (Devamı) Bileşiklerin Anti HIV-1 Aktivitesi Deneysel, CoMCET Metodu İle Hesaplanan Teorik Değeri ve Hansch Analizi Sonuçları

LL37	3.495	3.302	3.346
LL38	2.648	2.453	2.738
LL39	2.699	2.507	2.569
LL40	3.222	3.087	3.226
LL41	3.046	3.167	3.214
LL42	1.602	1.435	1.976
LL43	2.638	3.162	2.569
LL44	3.398	3.491	3.086
LL45	2.022	2.243	1.976
LL46	2.387	2.329	2.569
LL47	3.229	3.658	3.113
LL48	2.523	3.727	1.976
LL49	2.301	2.564	2.569
LL50	3.268	2.906	3.246
LL51	1.699	1.856	1.976
LL52	2.523	2.674	2.569
LL53	2.523	2.876	2.543
LL54	2.268	2.354	2.569
LL55	2.62	2.7	3.133
LL56	1.097	1.234	1.976
LL57	2.456	2.678	2.480
LL58	3.523	3.965	3.113
LL59	4.155	4.087	4.323
LL60	5	4.167	4.203
LL61	4.699	2.884	4.363
LL62	4.523	4.103	4.231
LL63	4.301	4.103	4.331
LL64	4.046	3.943	3.623
LL65	3.367	2.987	3.526
LL66	4.222	4.307	4.347
LL67	4.222	4.061	4.029
LL68	3.222	3.528	3.375

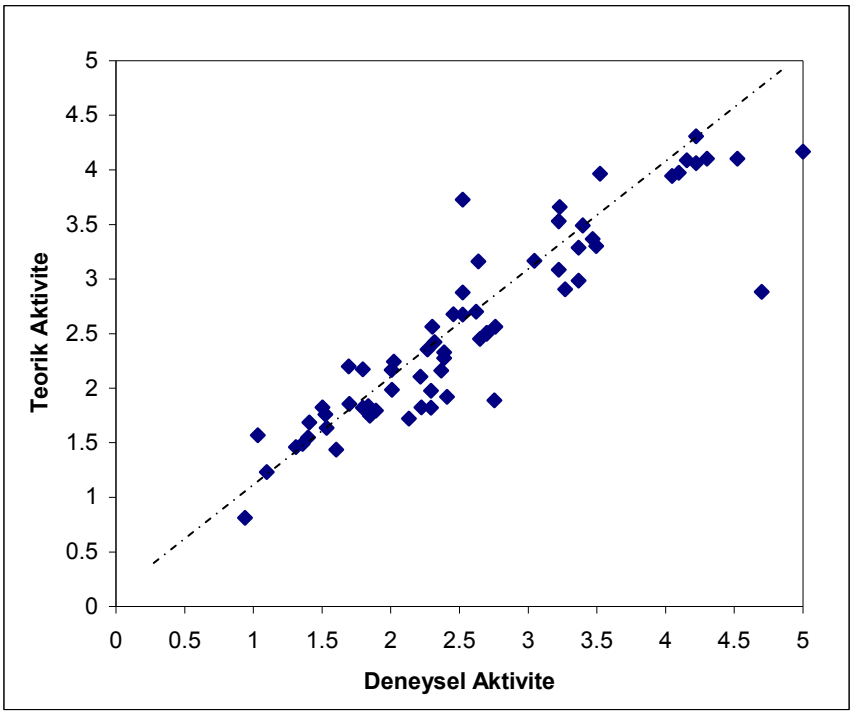
2-Amino-6-Arilsulfonil Benzonitril bileşikleri serisinde deneysel aktiviteler göz önüne alındığında, meta pozisyonunda elektron çekici substituent sayısı arttıkça aktivitenin artmakta olduğu, orto ve para pozisyonlarına bağlanan elektron çekici substituentlerin olduğu bileşiklerde ise aktivitenin azaldığı görülmektedir. Orto pozisyonunda elektron verici grupların bağlı olması durumunda aktivite artarken, elektron verici bu gruplar meta pozisyonuna bağlanınca aktivite azalmaktadır [18].

CoMCET metodu ile hesaplanan teorik aktivite değerleri deneysel değerler ile genellikle uyum içindedir ve yine aynı şekilde meta pozisyonuna bağlı grupların varlığı aktiviteyi artırmaktadır. Ayrıca genel olarak orto ve para pozisyondaki elektron çekici gruplar aktiviteyi azaltırken, orto pozisyondaki elektron verici grupların aktiviteyi

artırıcı etkisinin daha fazla olduğı ve para pozisyonundaki elektron verici grupların aktiviteyi azaltıcı etki gösterdiği belirlenmiştir.

Çalışılan bu bileşik serisinde CoMCET metodu ile referans bileşiğe göre ECSA oluşturulduktan sonra bu seriye ait Pha N1, H7, C12 atomları olarak bulunmuştur. Buna ek olarak, atom yükü ve κ_j değerleri çarpımı APS ve AG grupların aktiviteye katkısını gösterdiğinden, yük ve κ_j değerinin her ikisi pozitif olan S1 ve C13 atomları aktiviteyi artıran AG grup olarak belirlenirken, atom yükleri negatif ve κ_j değerleri pozitif olan C7 ve C15 atomları ise APS grup olarak belirlenmiştir.

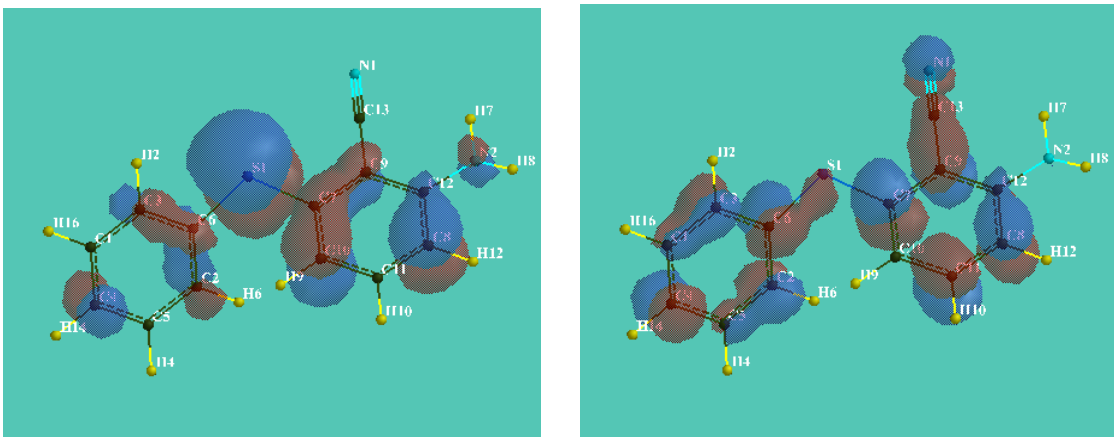
κ_j değerleri, k_1= 0.92, k_2 = 0.95, k_3 = 0.13 ve k_4 =0.67 olarak hesaplanmıştır. Elde edilen bu değerler ve AG ve APS grup olarak belirlenen atom yükleri kullanılarak, istatistiksel analiz sonucunda teorik aktiviteler hesaplanmıştır. Deneysel ve teorik aktiviteler arasındaki regresyon Şekil 5.1. de gösterilmiştir. Deneysel ve teorik değerler arasındaki regresyon katsayısı R^2 = 0.831 ve standart hata se= 0.737 olarak belirlenmiştir.



Şekil 5.1. Deneysel ve Teorik Aktiviteler Arasındaki Regresyon

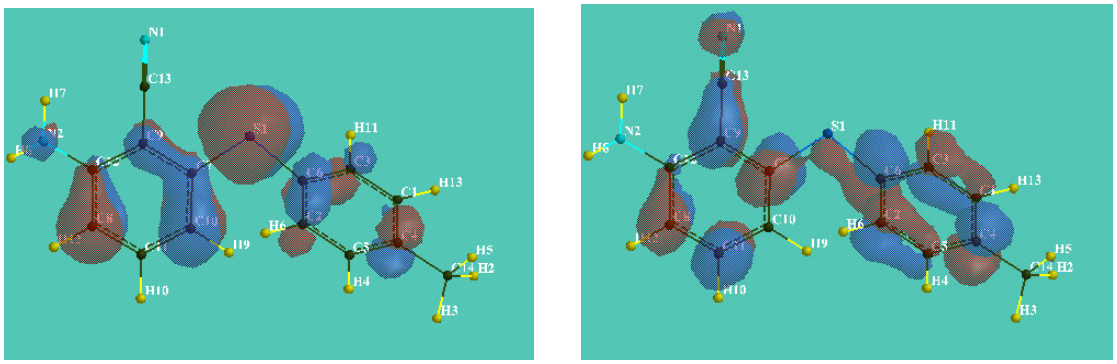
Ayrıca bu çalışmada seri içinden seçilen en yüksek ve en düşük aktiviteli bileşiklerin HOMO ve LUMO orbitalleri Spartan Pro 1X programı ile hesaplanmış ve bu orbitaller aktivitenin karşılaştırılmasında kullanılmıştır.

Referans bileşik ile deneysel olarak en yüksek aktiviteli ve en düşük aktiviteli iki bileşiğin HOMO ve LUMO orbitalleri sıra ile Şekil 5.2., Şekil 5.3. ve Şekil 5.4. de verilmiştir. Referans bileşik ve en düşük aktiviteli bileşiğin orbital dağılımlarının birbirine çok benzediği, ancak en aktif bileşiğin orbital dağılımının farklı olduğu görülmektedir. S1 atomunun orbital katkısı referans ve en düşük aktiviteli bileşikte yoğun olarak bulunmakta ancak N1 atomunun orbital katkısı hemen hemen yok gibidir ve en yüksek aktiviteye sahip olan bileşikte ise S1 atomu orbital katkısı yok ve N1 orbital katkısı oldukça fazla olduğu belirlenmiştir. NH_2 grubunda ise en düşük ativiteye sahip olan bileşikte N atomunda orbital katkısının az olduğu ancak en aktif bileşikte ise bu orbital katkısına H atomlarının da katıldığı görülmüştür. R substituentlerinin bağlı olduğu benzen halkasındaki atomların en düşük aktiviteye sahip olan bileşikte HOMO orbitalleri katkısının olduğu fakat en aktif bileşikte bu katkının hiç olmadığı belirlenmiştir.



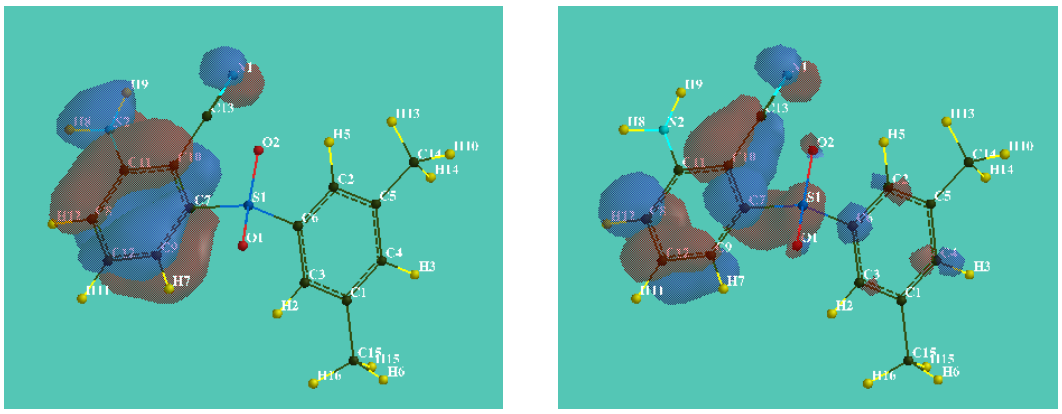
(a) (b)

Şekil 5.2. a) Referans Bileşiğin (LL01) HOMO Orbital Dağılımı (b) Referans Bileşiğin LUMO Orbital Dağılımı



(a) (b)

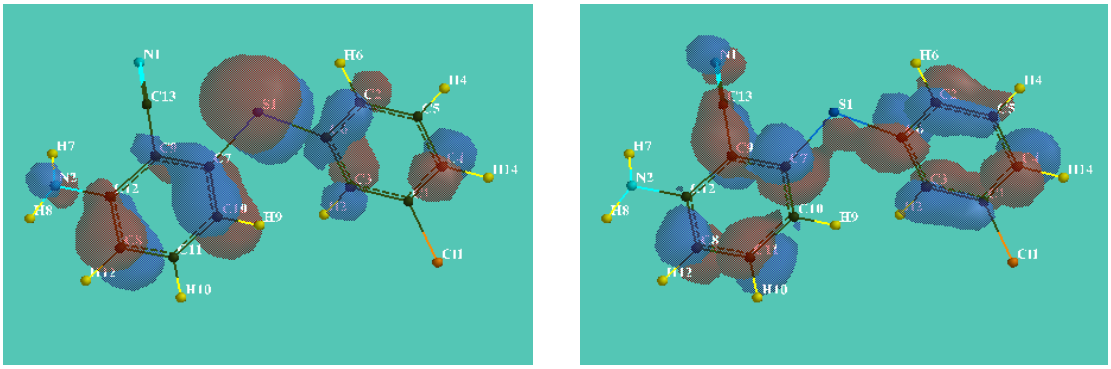
Şekil 5.3. a) Deneysel Olarak En Düşük Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin (LL06) HOMO Orbital Dağılımı b) Deneysel Olarak En Düşük Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin LUMO Orbital Dağılımı



(a) (b)

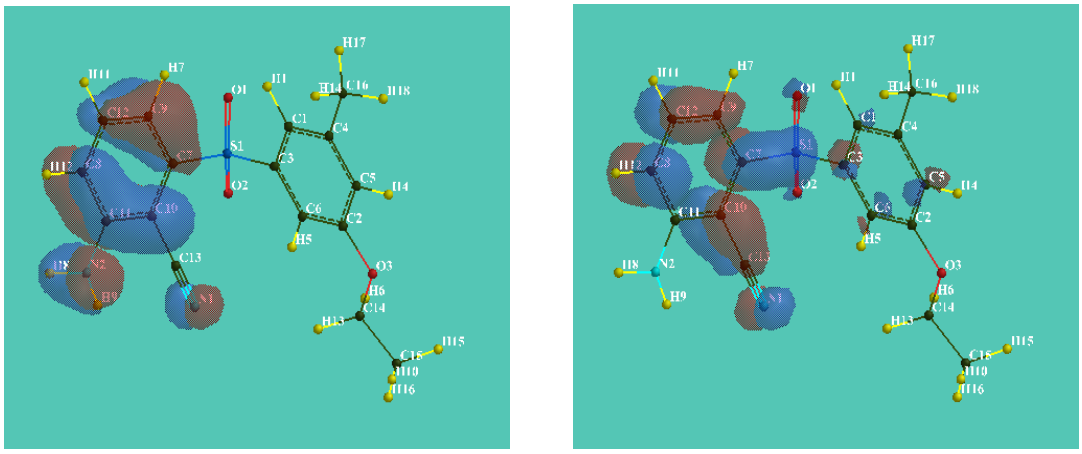
Şekil 5.4. a) Deneysel Olarak En Yüksek Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin (LL60) HOMO Orbital Dağılımı b) Deneysel Olarak En Yüksek Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin LUMO Orbital Dağılımı

CoMCET ile hesaplanan en yüksek ve en düşük aktiviteye sahip olan bileşiklerin ise HOMO ve LUMO dağılımlarının deneysel olarak en yüksek ve en düşük aktiviteli bileşiklerin HOMO ve LUMO orbital dağılımlarına büyük oranda benzediği Şekil 5.5. ve Şekil 5.6. da görülmektedir.



(a) (b)

Şekil 5.5. a) Teorik Olarak Hesaplanan En Düşük Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin (LL08) HOMO Orbital Dağılımı b) Teorik Olarak Hesaplanan En Düşük Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin LUMO Orbital Dağılımı



(a) (b)

Şekil 5.6. a) Teorik Olarak Hesaplanan En Yüksek Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin (LL66) HOMO Orbital Dağılımı b) Teorik Olarak Hesaplanan En Yüksek Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin LUMO Orbital Dağılımı

En düşük aktiviteli bileşiklerde Pha grubu atomlarının (referans bileşikteki N1, C12, H7) herhangi bir orbital katkısı göstermemesi ve aktif bileşiklerde bu atomların yoğun olarak orbital katkısına sahip olması ilaç-biyoalıcı etkileşiminde bağlanmanın HOMO orbitalleri üzerinden olabileceğini söylememize yardımcı olur.

Referans bileşik ve en düşük aktiviteye sahip olan bileşiklerde LUMO katkıları R gruplarının bağlı olduğu benzen halkası, CN grubu ve bağlı olduğu benzen halkası üzerinde yoğunlaşmışken, NH_2 gruplarında herhangi bir katkı sözkonusu değildir. En yüksek aktiviteli bileşikte ise sadece C1, C2, C3 ve C6 atomları üzerinde az miktarda

katkı gözlenirken , CN grubu ve bağlı olduğu benzen halkası üzerinde LUMO orbitali dağılımı yoğun olarak tespit edilmiş ve NH_2 grubu üzerinde aynı şekilde herhangi bir katkı gözlenmemiştir.

Aktiviteyi artıran AG gruplar olarak belirlenen C13 ve S1 atomları ile aktiviteyi azaltan APS grup olarak belirlenen C7 atomunun yüksek oranda LUMO katkılarının olduğu görülmüştür. Buna göre AG ve APS grupların ilaç-biyoalıcı etkileşimi sırasında LUMO orbitalleri ile etkileşime katıldığını söyleyebiliriz.

5.2.2-Amino-6-Arilsulfonil Benzonitril Türevlerinin HIV-1 RT Bağlanma Affinitesi

Tablo 5.2 de 2-Amino-6-Arilsulfonil benzonitril türevlerinin HIV-1 RT bağlanma affiniteleri için deneysel, CoMCET metodu ile hesaplanan teorik aktivite değerleri ve Hansch analizinden elde edilen aktivite değerleri verilmiştir.

Tablo 5.2 Bileşiklerin HIV-1 RT Bağlanma Affiniteleri Deneysel, CoMCET Metodu İle Hesaplanan Teorik Değeri ve Hansch Analizi Sonuçları

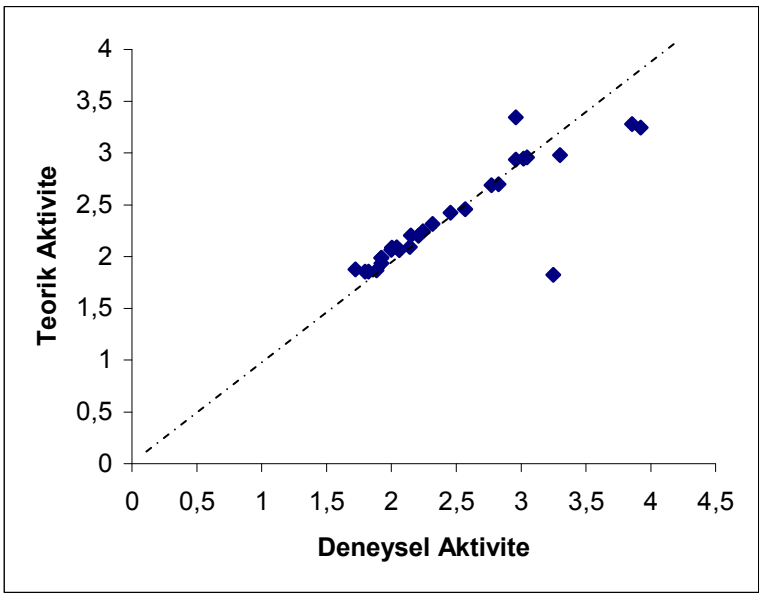
Mol no	Den.Akt	Teo.Akt	Hansch analizi
LL01	2.061	2.061	1.725
LL02	2.569	2.457	1.725
LL03	2.824	2.698	2.461
LL05	3.018	2.945	2.322
LL06	2.244	2.245	1.725
LL08	2.143	2.093	2.352
LL11	1.796	1.856	2.493
LL12	1.921	1.987	1.693
LL14	1.824	1.854	2.374
LL16	1.921	1.988	1.596
LL18	2.041	2.091	2.352
LL19	2.959	3.345	3.641
LL20	2.149	2.203	3.780
LL21	2.456	2.423	3.671
LL22	2.959	2.936	3.781
LL23	3.921	3.245	2.932
LL38	2.77	2.687	2.932
LL37	3.854	3.278	3.671
LL36	1.886	1.867	2.352
LL35	1.921	1.935	3.641
LL32	1.721	1.875	1.725
LL30	2	2.065	2.493
LL27	2.319	2.315	2.322
LL25	2.004	2.087	2.461
LL24	3.301	2.979	1.725
LL13	2.208	2.2	2.374
LL09	3.248	1.824	1.725
LL07	3.046	2.956	1.725

Bu seride de aktiviteler ikinci meta substituent ile genellikle artmaktadır. Elektron verici gruplar ikinci substituent olarak meta pozisyonunda bulunması durumunda aktivite artış göstermektedir. Aktivitenin düşük olarak gözlendiği yapılar ise genellikle para pozisyonunda halojen atomlarının ve elektron verici bir grubun bulunduğu yapılardır.

CoMCET metodu ile hesaplanan teorik aktivite değerlerinin, genellikle deneysel veriler ile uyum içinde olduğu görülmüştür. Meta pozisyonunda triflorometil grubu bulunan LL16 nolu bileşik, en aktif bileşik olarak hesaplanmıştır ve bu sonuçta meta pozisyonunda elektron çekici grubun bulunması halinde aktivitenin arttığını doğrulamaktadır.

Çalışılan bu bileşik serisinde CoMCET metodu ile referans bileşiğe göre ECSA oluşturulduktan sonra bu seriye ait Pha N1, C8, C9 atomları olarak belirlenmiştir. Buna ek olarak, atom yükü ve κ_j değerleri çarpımı APS ve AG grupların aktiviteye katkısını gösterdiğinden, yük ve κ_j değerinin her ikisi pozitif olan C12 atomu, yük ve κ_j değerinin her ikisi de negatif olan C1 atomu aktiviteyi artıran AG grup olarak belirlenirken, atom yükleri negatif ve κ_j değerleri pozitif olan C10, C11, C5 ve O1 atomları ise APS grup olarak belirlenmiştir.

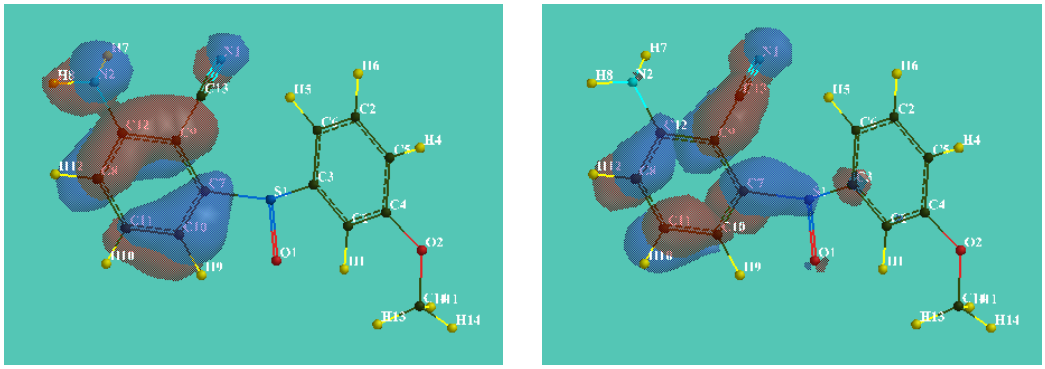
κ_j değerleri, k_1= 0.56, k_2 = 0.57, k_3 = 1.39, k_4 =0.52, k_5 =2.28 ve k_6 = -0.82 olarak hesaplanmıştır. Elde edilen bu değerler ve AG ve APS grup olarak belirlenen atom yükleri kullanılarak, istatistiksel analiz sonucunda teorik aktiviteler hesaplanmıştır. Deneysel ve teorik aktiviteler arasındaki regresyon Şekil 5.7. de gösterilmiştir. Deneysel ve teorik değerler arasındaki regresyon katsayısı R^2 = 0.724 ve standart hata se= 0.526 olarak belirlenmiştir.



Şekil 5.7. Deneysel ve Teorik Aktiviteler Arasındaki Regresyon

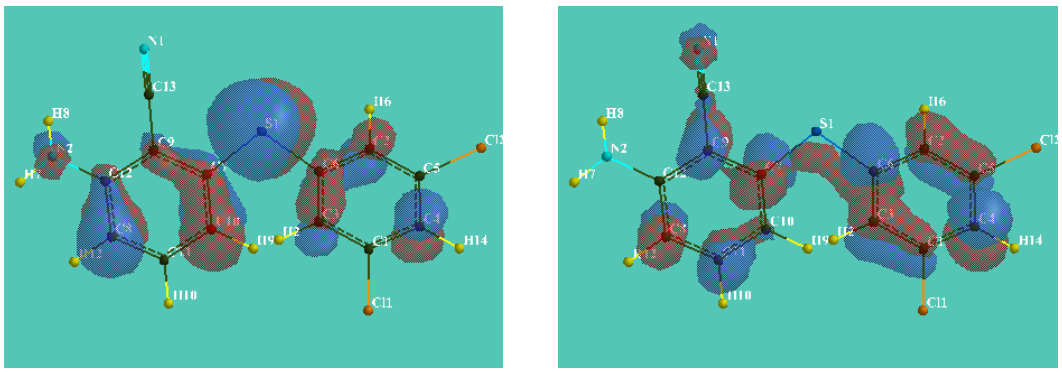
Ayrıca bu seri içinde deneysel ve teorik olarak en yüksek ve en düşük aktiviteli bileşiklerin HOMO ve LUMO dağılımları karşılaştırılmış ve bu bileşiklerin orbital katkıları Şekil 5.8., Şekil 5.9., Şekil5.10. ve Şekil 5.11. de gösterilmiştir.

Deneysel olarak en yüksek aktiviteye sahip olan bileşiğin HOMO dağılımı Şekil 5.2 de verilen referans bileşiğin HOMO dağılımına benzerlik gösterirken, en düşük aktiviteli bileşikte bu dağılım farklılık göstermektedir. En aktif bileşikte S1 atomu üzerinde yoğun olarak HOMO orbital katkısı varken en düşük aktiviteli bileşikte S1 atomu üzerinde HOMO orbital katkısı söz konusu değildir. En yüksek aktiviteli bileşikte orbital katkıları C1, C6, C8, C10 ve N2 atomları üzerinde toplanırken, en düşük aktiviteli bileşikte NH_2 grubu, N1 atomu ve bağlı olduğu benzen halkasının bütün atom orbitallerinin HOMO katkısına sahip olduğu belirlenmiştir.



(a) (b)

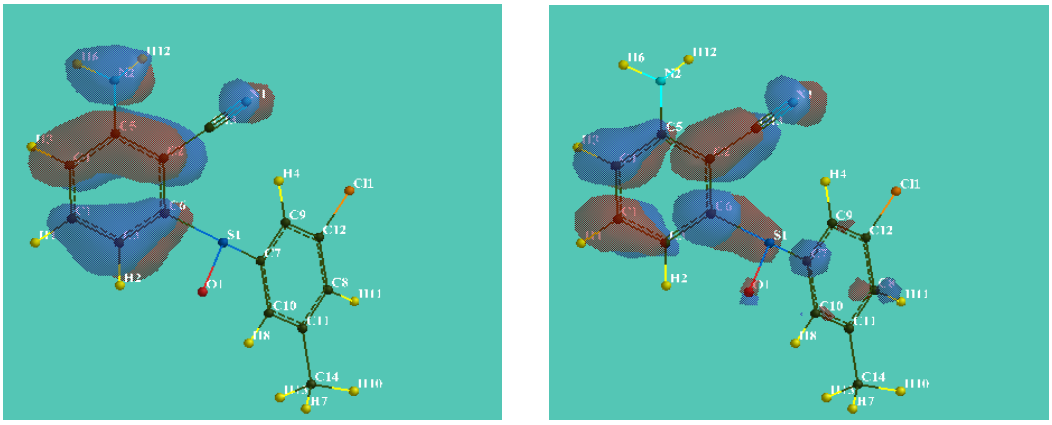
Şekil 5.8. a) Deneysel Olarak En Düşük Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin (LL25) HOMO Orbital Dağılımı b) Deneysel Olarak En Düşük Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin LUMO Orbital Dağılımı



(a) (b)

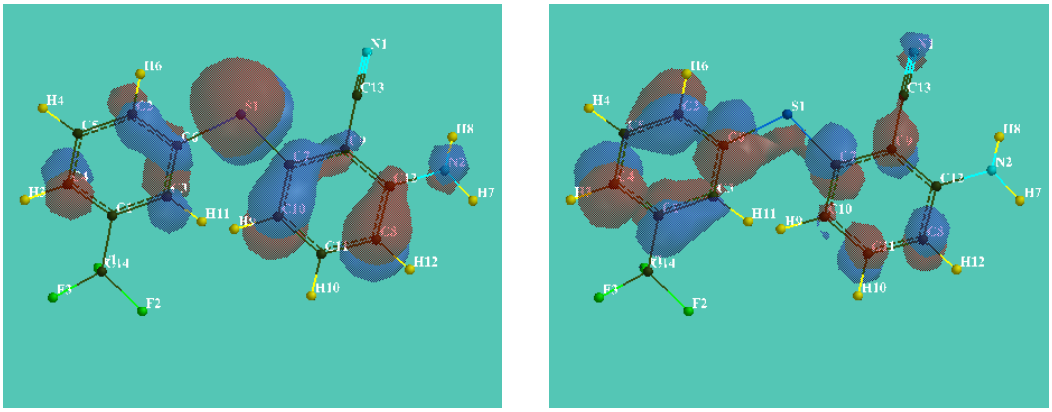
Şekil 5.9. a) Deneysel Olarak En Yüksek Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin (LL20) HOMO Orbital Dağılımı b) Deneysel Olarak En Yüksek Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin LUMO Orbital Dağılımı

CoMCET metodu ile hesaplanan en düşük ve en yüksek aktiviteye sahip bileşikler deneysel olarak en yüksek ve en düşük aktiviteyi gösteren bileşikler ile benzerlik göstermektedir. Teorik olarak hesaplanan en yüksek ve en düşük aktiviteli bileşikler için HOMO ve LUMO dağılımları Şekil 5.10. ve 5.11. de verilmiştir.



(a) (b)

Şekil 5.10. a) Teorik Olarak En Düşük Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin (LL37) HOMO Orbital Dağılımı b) Teorik Olarak En Düşük Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin LUMO Orbital Dağılımı



(a) (b)

Şekil 5.11. a) Teorik Olarak En Yüksek Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin (LL16) HOMO Orbital Dağılımı b) Teorik Olarak En Yüksek Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin LUMO Orbital Dağılımı

En yüksek aktiviteli bileşiklerde Pha grubunun (N1, C8, C9) HOMO orbitallerine katkısı azdır ancak en düşük aktiviteli bileşiklerde bu katkı daha yoğun olarak görülmektedir.

En yüksek aktiviteli bileşiğin LUMO dağılımı referans bileşik ile benzerlik göstermektedir fakat en düşük aktiviteli bileşiğin LUMO orbital dağılımı farklıdır. En yüksek aktiviteli bileşikte N1 katkısı daha az iken en düşük aktiviteli bileşikte fazladır. En yüksek aktiviteli bileşikte R gruplarının bağlandığı benzen halkası üzerinde yoğun olarak LUMO dağılımı varken en düşükte bu dağılım sadece C3 atomu üzerindedir.

CoMCET metodu ile hesaplanan en yüksek ve en düşük aktiviteli bileşiklerin LUMO dağılımları deneysel olarak hesaplanan bileşikler ile uyum göstermektedir.

En düşük aktiviteli bileşiklerde N1, C8, C9 atomlarındaki orbital katkıları oldukça fazladır. Buna göre bu serideki bileşikler ilaç-biyoalıcı etkileşiminde LUMO orbitallerini kullanmakta olduğunu söyleyebiliriz.

Daha önceden bu bileşik serisi için Hansch analizinin lineer serbest enerji ilişkisini kullanarak, lipofilite, Hammett'in elektronik parametresi ve sterik parametreler ile QSAR analizi yapılmış ve bu çalışmadan elde edilen değerler Tablo 5.1 ve Tablo 5.2 de verilmiştir. Bu çalışmanın bazı sonuçları deneysel aktiviteye daha yakın olmasına rağmen, sadece bağlı olan substituentlere ve kuantum mekaniksel parametrelere (Wang-Ford yükleri) göre aktiviteyi açıklamışlardır [19]. CoMCET metodunda ise üç boyutlu yapı dikkate alınarak Pha, AG ve APS grupların belirlenmesi ile aktivitenin değişiminin açıklanması bu metodun üstünlüğü olarak nitelendirilebilir.

CoMCET metodu 2-Amino-6-arilsulfonil benzonitril bileşiklerinin aktivite tahmini ve Pha grubunun belirlenmesi için etkili bir metottur. Belirlenen Pha grupları her iki bileşik serisindede üç atom içermektedir. Pha atomu olarak belirlenen N atomu, her iki seride de genel atom olduğundan, kantitatif olarak aktivitenin belirlenmesinde önemli bir rol oynar. Sonuçlar kantitatif aktivite tahminini sağlayan CoMCET metodunun başarılı bir yöntem olduğunu gösterir. CoMCET metodu ile moleküler ve elektronik yapıların bütün özellikleri ayrıntılı olarak incelenebilir. Ayrıca CoMCET metodu biyoalıcı ve ilaç etkileşimini açıklamakta kullanılır.

BÖLÜM 5

SONUÇ

5.1. 2-Amino-6-Arilsulfonil Benzonitril Türevlerinin Anti HIV-1 Aktivitesi

Tablo 5.1 de 2-Amino-6-Arilsulfonil benzonitril türevlerinin anti HIV-1 aktivitesi için deneysel, CoMCET metodu ile hesaplanan teorik aktivite değerleri ve Hansch analizinden elde edilen aktivite değerleri verilmiştir.

Tablo 5.1 Bileşiklerin Anti HIV-1 Aktivitesi Deneysel, CoMCET Metodu İle Hesaplanan Teorik Değeri ve Hansch Analizi Sonuçları

Mol no	**Den.Akt.**	**Teo.Akt**	**Hansch analizi**
LL01	1.836	1.836	1.684
LL02	2.367	2.161	2.341
LL03	2.222	1.824	2.328
LL04	1.796	1.819	1.684
LL05	2.215	2.105	2.201
LL06	0.939	0.813	1.091
LL07	2.387	2.276	1.684
LL08	2.131	1.721	2.228
LL10	1.523	1.759	1.684
LL11	2.292	1.977	2.361
LL12	2.009	1.985	1.657
LL14	2.762	2.564	2.248
LL15	1.359	1.489	1.091
LL16	1.893	1.794	1.595
LL17	1.502	1.822	2.183
LL19	3.367	3.289	3.318
LL21	2.754	1.887	3.346
LL22	2.699	2.498	3.446
LL23	2.292	1.82	2.738
LL24	2.319	2.423	2.341
LL25	1.796	2.174	2.328
LL26	1.032	1.567	1.684
LL27	1.534	1.635	2.201
LL28	1.31	1.459	1.091
LL29	1.407	1.685	1.684
LL30	4.097	3.973	2.361
LL31	1.694	2.198	1.091
LL32	2.409	1.92	1.684
LL33	1.848	1.748	2.248
LL34	1.398	1.547	1.595
LL35	3.469	3.367	3.318
LL36	2.007	2.167	2.228

Tablo 5.1 (Devamı) Bileşiklerin Anti HIV-1 Aktivitesi Deneysel, CoMCET Metodu İle Hesaplanan Teorik Değeri ve Hansch Analizi Sonuçları

LL37	3.495	3.302	3.346
LL38	2.648	2.453	2.738
LL39	2.699	2.507	2.569
LL40	3.222	3.087	3.226
LL41	3.046	3.167	3.214
LL42	1.602	1.435	1.976
LL43	2.638	3.162	2.569
LL44	3.398	3.491	3.086
LL45	2.022	2.243	1.976
LL46	2.387	2.329	2.569
LL47	3.229	3.658	3.113
LL48	2.523	3.727	1.976
LL49	2.301	2.564	2.569
LL50	3.268	2.906	3.246
LL51	1.699	1.856	1.976
LL52	2.523	2.674	2.569
LL53	2.523	2.876	2.543
LL54	2.268	2.354	2.569
LL55	2.62	2.7	3.133
LL56	1.097	1.234	1.976
LL57	2.456	2.678	2.480
LL58	3.523	3.965	3.113
LL59	4.155	4.087	4.323
LL60	5	4.167	4.203
LL61	4.699	2.884	4.363
LL62	4.523	4.103	4.231
LL63	4.301	4.103	4.331
LL64	4.046	3.943	3.623
LL65	3.367	2.987	3.526
LL66	4.222	4.307	4.347
LL67	4.222	4.061	4.029
LL68	3.222	3.528	3.375

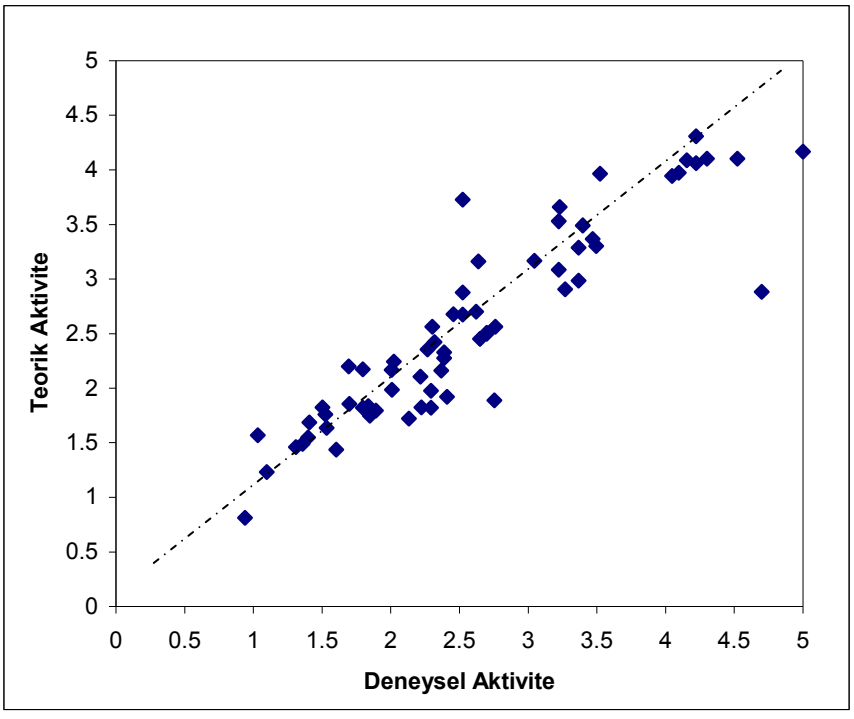
2-Amino-6-Arilsulfonil Benzonitril bileşikleri serisinde deneysel aktiviteler göz önüne alındığında, meta pozisyonunda elektron çekici substituent sayısı arttıkça aktivitenin artmakta olduğu, orto ve para pozisyonlarına bağlanan elektron çekici substituentlerin olduğu bileşiklerde ise aktivitenin azaldığı görülmektedir. Orto pozisyonunda elektron verici grupların bağlı olması durumunda aktivite artarken, elektron verici bu gruplar meta pozisyonuna bağlanınca aktivite azalmaktadır [18].

CoMCET metodu ile hesaplanan teorik aktivite değerleri deneysel değerler ile genellikle uyum içindedir ve yine aynı şekilde meta pozisyonuna bağlı grupların varlığı aktiviteyi artırmaktadır. Ayrıca genel olarak orto ve para pozisyondaki elektron çekici gruplar aktiviteyi azaltırken, orto pozisyondaki elektron verici grupların aktiviteyi

artırıcı etkisinin daha fazla olduğı ve para pozisyonundaki elektron verici grupların aktiviteyi azaltıcı etki gösterdiği belirlenmiştir.

Çalışılan bu bileşik serisinde CoMCET metodu ile referans bileşiğe göre ECSA oluşturulduktan sonra bu seriye ait Pha N1, H7, C12 atomları olarak bulunmuştur. Buna ek olarak, atom yükü ve κ_j değerleri çarpımı APS ve AG grupların aktiviteye katkısını gösterdiğinden, yük ve κ_j değerinin her ikisi pozitif olan S1 ve C13 atomları aktiviteyi artıran AG grup olarak belirlenirken, atom yükleri negatif ve κ_j değerleri pozitif olan C7 ve C15 atomları ise APS grup olarak belirlenmiştir.

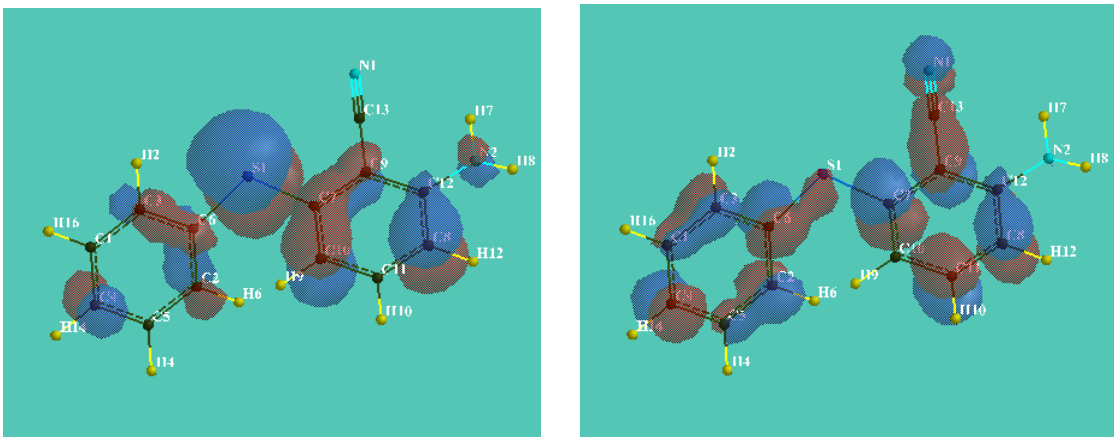
κ_j değerleri, k_1= 0.92, k_2 = 0.95, k_3 = 0.13 ve k_4 =0.67 olarak hesaplanmıştır. Elde edilen bu değerler ve AG ve APS grup olarak belirlenen atom yükleri kullanılarak, istatistiksel analiz sonucunda teorik aktiviteler hesaplanmıştır. Deneysel ve teorik aktiviteler arasındaki regresyon Şekil 5.1. de gösterilmiştir. Deneysel ve teorik değerler arasındaki regresyon katsayısı R^2 = 0.831 ve standart hata se= 0.737 olarak belirlenmiştir.



Şekil 5.1. Deneysel ve Teorik Aktiviteler Arasındaki Regresyon

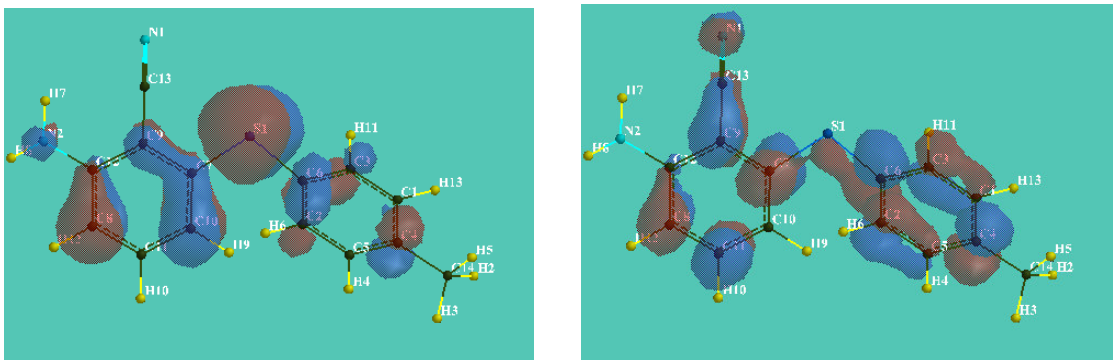
Ayrıca bu çalışmada seri içinden seçilen en yüksek ve en düşük aktiviteli bileşiklerin HOMO ve LUMO orbitalleri Spartan Pro 1X programı ile hesaplanmış ve bu orbitaller aktivitenin karşılaştırılmasında kullanılmıştır.

Referans bileşik ile deneysel olarak en yüksek aktiviteli ve en düşük aktiviteli iki bileşiğin HOMO ve LUMO orbitalleri sıra ile Şekil 5.2., Şekil 5.3. ve Şekil 5.4. de verilmiştir. Referans bileşik ve en düşük aktiviteli bileşiğin orbital dağılımlarının birbirine çok benzediği, ancak en aktif bileşiğin orbital dağılımının farklı olduğu görülmektedir. S1 atomunun orbital katkısı referans ve en düşük aktiviteli bileşikte yoğun olarak bulunmakta ancak N1 atomunun orbital katkısı hemen hemen yok gibidir ve en yüksek aktiviteye sahip olan bileşikte ise S1 atomu orbital katkısı yok ve N1 orbital katkısı oldukça fazla olduğu belirlenmiştir. NH_2 grubunda ise en düşük ativiteye sahip olan bileşikte N atomunda orbital katkısının az olduğu ancak en aktif bileşikte ise bu orbital katkısına H atomlarının da katıldığı görülmüştür. R substituentlerinin bağlı olduğu benzen halkasındaki atomların en düşük aktiviteye sahip olan bileşikte HOMO orbitalleri katkısının olduğu fakat en aktif bileşikte bu katkının hiç olmadığı belirlenmiştir.



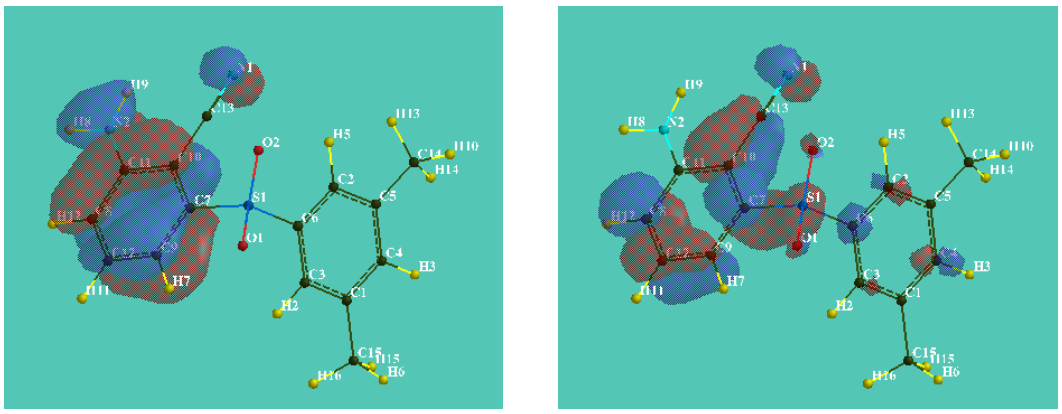
(a) (b)

Şekil 5.2. a) Referans Bileşiğin (LL01) HOMO Orbital Dağılımı (b) Referans Bileşiğin LUMO Orbital Dağılımı



(a) (b)

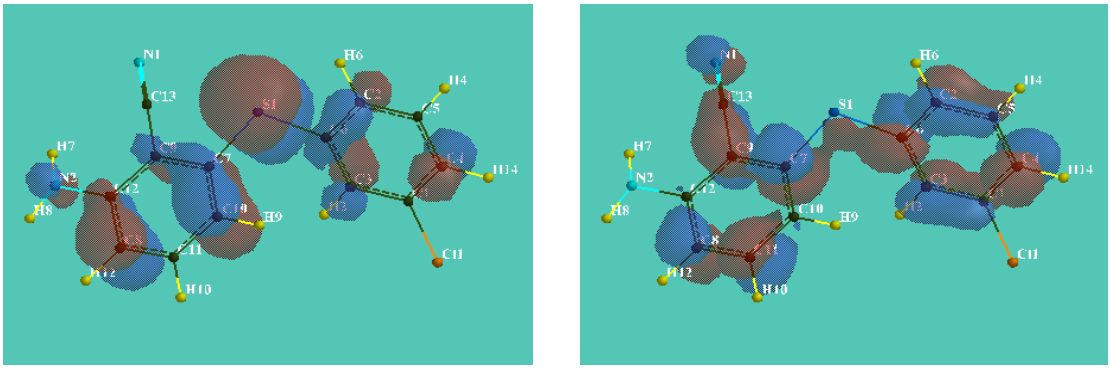
Şekil 5.3. a) Deneysel Olarak En Düşük Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin (LL06) HOMO Orbital Dağılımı b) Deneysel Olarak En Düşük Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin LUMO Orbital Dağılımı



(a) (b)

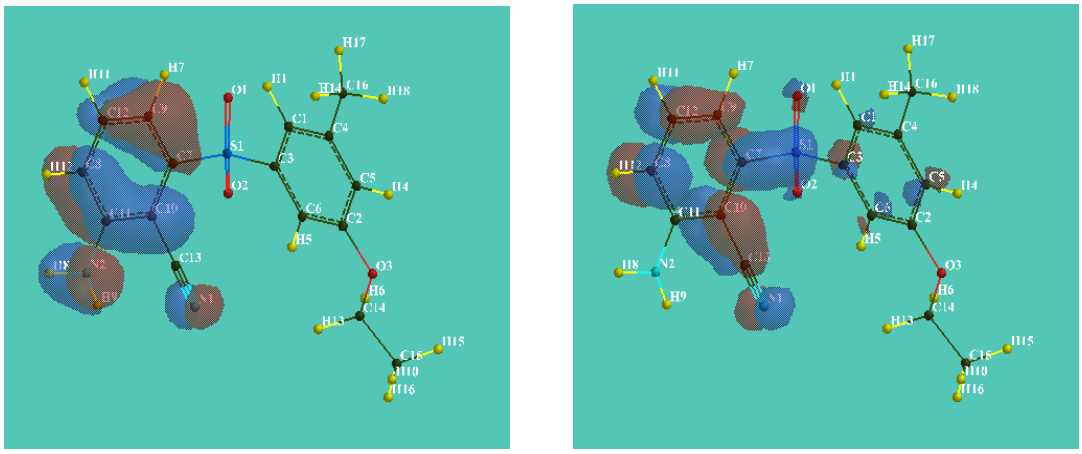
Şekil 5.4. a) Deneysel Olarak En Yüksek Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin (LL60) HOMO Orbital Dağılımı b) Deneysel Olarak En Yüksek Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin LUMO Orbital Dağılımı

CoMCET ile hesaplanan en yüksek ve en düşük aktiviteye sahip olan bileşiklerin ise HOMO ve LUMO dağılımlarının deneysel olarak en yüksek ve en düşük aktiviteli bileşiklerin HOMO ve LUMO orbital dağılımlarına büyük oranda benzediği Şekil 5.5. ve Şekil 5.6. da görülmektedir.



(a) (b)

Şekil 5.5. a) Teorik Olarak Hesaplanan En Düşük Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin (LL08) HOMO Orbital Dağılımı b) Teorik Olarak Hesaplanan En Düşük Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin LUMO Orbital Dağılımı



(a) (b)

Şekil 5.6. a) Teorik Olarak Hesaplanan En Yüksek Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin (LL66) HOMO Orbital Dağılımı b) Teorik Olarak Hesaplanan En Yüksek Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin LUMO Orbital Dağılımı

En düşük aktiviteli bileşiklerde Pha grubu atomlarının (referans bileşikteki N1, C12, H7) herhangi bir orbital katkısı göstermemesi ve aktif bileşiklerde bu atomların yoğun olarak orbital katkısına sahip olması ilaç-biyoalıcı etkileşiminde bağlanmanın HOMO orbitalleri üzerinden olabileceğini söylememize yardımcı olur.

Referans bileşik ve en düşük aktiviteye sahip olan bileşiklerde LUMO katkıları R gruplarının bağlı olduğu benzen halkası, CN grubu ve bağlı olduğu benzen halkası üzerinde yoğunlaşmışken, NH_2 gruplarında herhangi bir katkı sözkonusu değildir. En yüksek aktiviteli bileşikte ise sadece C1, C2, C3 ve C6 atomları üzerinde az miktarda

katkı gözlenirken , CN grubu ve bağlı olduğu benzen halkası üzerinde LUMO orbitali dağılımı yoğun olarak tespit edilmiş ve NH_2 grubu üzerinde aynı şekilde herhangi bir katkı gözlenmemiştir.

Aktiviteyi artıran AG gruplar olarak belirlenen C13 ve S1 atomları ile aktiviteyi azaltan APS grup olarak belirlenen C7 atomunun yüksek oranda LUMO katkılarının olduğu görülmüştür. Buna göre AG ve APS grupların ilaç-biyoalıcı etkileşimi sırasında LUMO orbitalleri ile etkileşime katıldığını söyleyebiliriz.

5.2.2-Amino-6-Arilsulfonil Benzonitril Türevlerinin HIV-1 RT Bağlanma Affinitesi

Tablo 5.2 de 2-Amino-6-Arilsulfonil benzonitril türevlerinin HIV-1 RT bağlanma affiniteleri için deneysel, CoMCET metodu ile hesaplanan teorik aktivite değerleri ve Hansch analizinden elde edilen aktivite değerleri verilmiştir.

Tablo 5.2 Bileşiklerin HIV-1 RT Bağlanma Affiniteleri Deneysel, CoMCET Metodu İle Hesaplanan Teorik Değeri ve Hansch Analizi Sonuçları

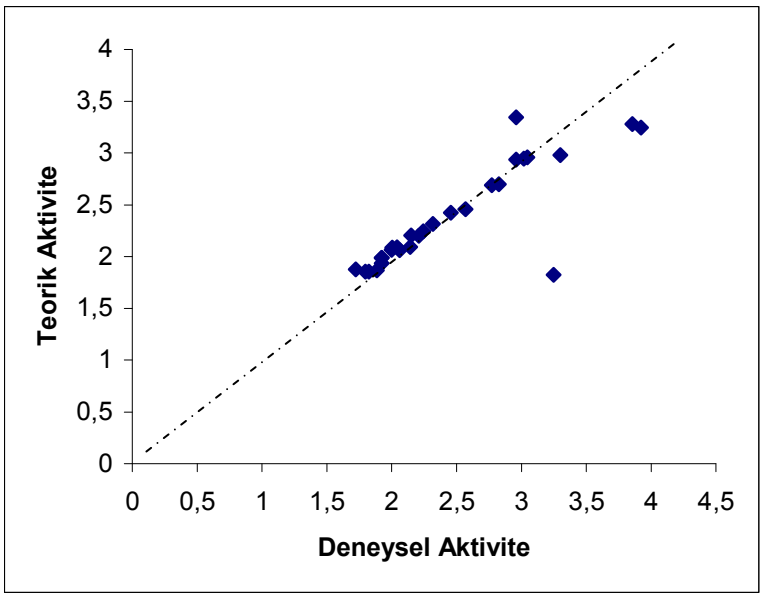
Mol no	**Den.Akt**	**Teo.Akt**	**Hansch analizi**
LL01	2.061	2.061	1.725
LL02	2.569	2.457	1.725
LL03	2.824	2.698	2.461
LL05	3.018	2.945	2.322
LL06	2.244	2.245	1.725
LL08	2.143	2.093	2.352
LL11	1.796	1.856	2.493
LL12	1.921	1.987	1.693
LL14	1.824	1.854	2.374
LL16	1.921	1.988	1.596
LL18	2.041	2.091	2.352
LL19	2.959	3.345	3.641
LL20	2.149	2.203	3.780
LL21	2.456	2.423	3.671
LL22	2.959	2.936	3.781
LL23	3.921	3.245	2.932
LL38	2.77	2.687	2.932
LL37	3.854	3.278	3.671
LL36	1.886	1.867	2.352
LL35	1.921	1.935	3.641
LL32	1.721	1.875	1.725
LL30	2	2.065	2.493
LL27	2.319	2.315	2.322
LL25	2.004	2.087	2.461
LL24	3.301	2.979	1.725
LL13	2.208	2.2	2.374
LL09	3.248	1.824	1.725
LL07	3.046	2.956	1.725

Bu seride de aktiviteler ikinci meta substituent ile genellikle artmaktadır. Elektron verici gruplar ikinci substituent olarak meta pozisyonunda bulunması durumunda aktivite artış göstermektedir. Aktivitenin düşük olarak gözlendiği yapılar ise genellikle para pozisyonunda halojen atomlarının ve elektron verici bir grubun bulunduğu yapılardır.

CoMCET metodu ile hesaplanan teorik aktivite değerlerinin, genellikle deneysel veriler ile uyum içinde olduğu görülmüştür. Meta pozisyonunda triflorometil grubu bulunan LL16 nolu bileşik, en aktif bileşik olarak hesaplanmıştır ve bu sonuçta meta pozisyonunda elektron çekici grubun bulunması halinde aktivitenin arttığını doğrulamaktadır.

Çalışılan bu bileşik serisinde CoMCET metodu ile referans bileşiğe göre ECSA oluşturulduktan sonra bu seriye ait Pha N1, C8, C9 atomları olarak belirlenmiştir. Buna ek olarak, atom yükü ve κ_j değerleri çarpımı APS ve AG grupların aktiviteye katkısını gösterdiğinden, yük ve κ_j değerinin her ikisi pozitif olan C12 atomu, yük ve κ_j değerinin her ikisi de negatif olan C1 atomu aktiviteyi artıran AG grup olarak belirlenirken, atom yükleri negatif ve κ_j değerleri pozitif olan C10, C11, C5 ve O1 atomları ise APS grup olarak belirlenmiştir.

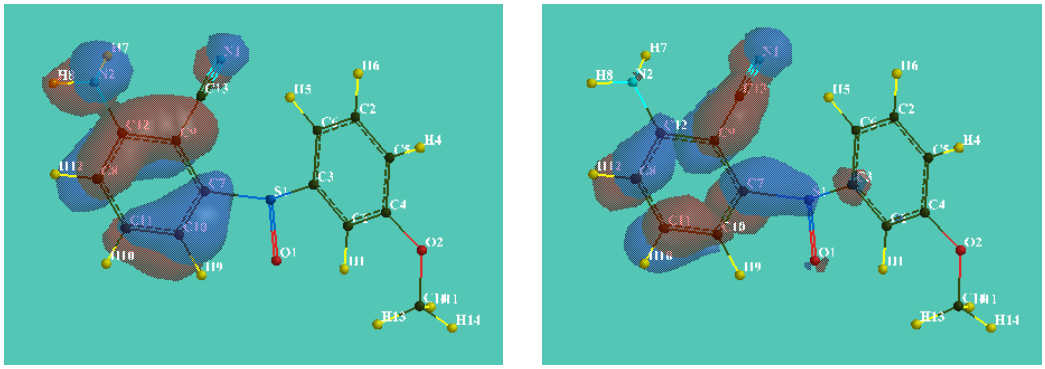
κ_j değerleri, k_1= 0.56, k_2 = 0.57, k_3 = 1.39, k_4 =0.52, k_5 =2.28 ve k_6 = -0.82 olarak hesaplanmıştır. Elde edilen bu değerler ve AG ve APS grup olarak belirlenen atom yükleri kullanılarak, istatistiksel analiz sonucunda teorik aktiviteler hesaplanmıştır. Deneysel ve teorik aktiviteler arasındaki regresyon Şekil 5.7. de gösterilmiştir. Deneysel ve teorik değerler arasındaki regresyon katsayısı R^2 = 0.724 ve standart hata se= 0.526 olarak belirlenmiştir.



Şekil 5.7. Deneysel ve Teorik Aktiviteler Arasındaki Regresyon

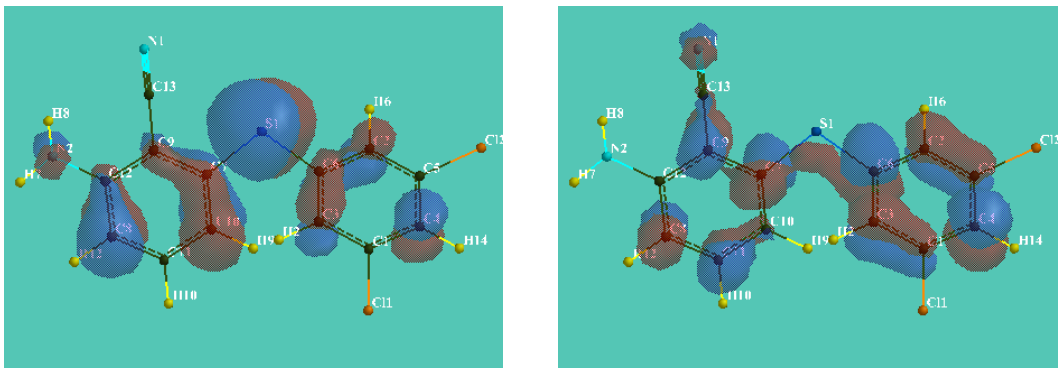
Ayrıca bu seri içinde deneysel ve teorik olarak en yüksek ve en düşük aktiviteli bileşiklerin HOMO ve LUMO dağılımları karşılaştırılmış ve bu bileşiklerin orbital katkıları Şekil 5.8., Şekil 5.9., Şekil5.10. ve Şekil 5.11. de gösterilmiştir.

Deneysel olarak en yüksek aktiviteye sahip olan bileşiğin HOMO dağılımı Şekil 5.2 de verilen referans bileşiğin HOMO dağılımına benzerlik gösterirken, en düşük aktiviteli bileşikte bu dağılım farklılık göstermektedir. En aktif bileşikte S1 atomu üzerinde yoğun olarak HOMO orbital katkısı varken en düşük aktiviteli bileşikte S1 atomu üzerinde HOMO orbital katkısı söz konusu değildir. En yüksek aktiviteli bileşikte orbital katkıları C1, C6, C8, C10 ve N2 atomları üzerinde toplanırken, en düşük aktiviteli bileşikte NH_2 grubu, N1 atomu ve bağlı olduğu benzen halkasının bütün atom orbitallerinin HOMO katkısına sahip olduğu belirlenmiştir.



(a) (b)

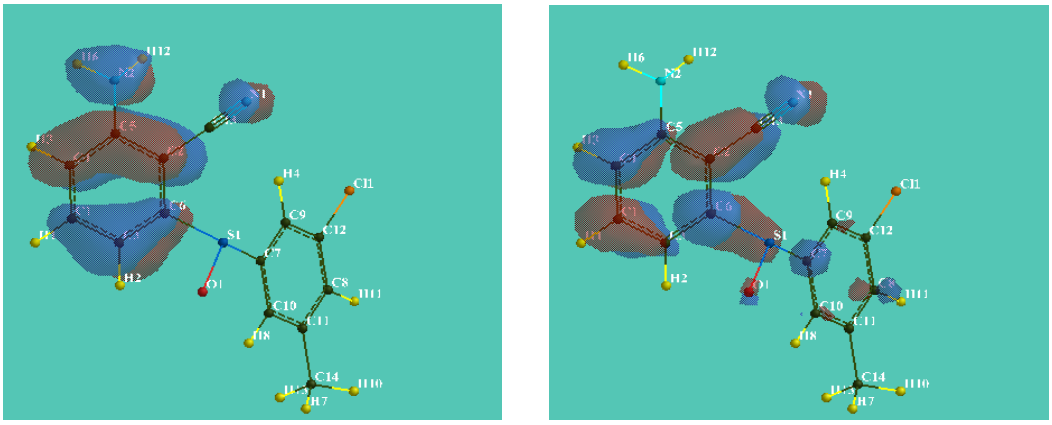
Şekil 5.8. a) Deneysel Olarak En Düşük Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin (LL25) HOMO Orbital Dağılımı b) Deneysel Olarak En Düşük Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin LUMO Orbital Dağılımı



(a) (b)

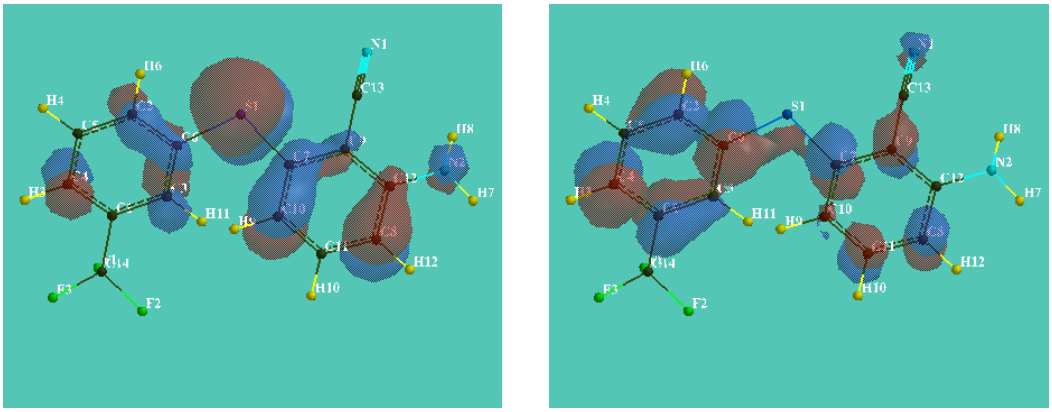
Şekil 5.9. a) Deneysel Olarak En Yüksek Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin (LL20) HOMO Orbital Dağılımı b) Deneysel Olarak En Yüksek Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin LUMO Orbital Dağılımı

CoMCET metodu ile hesaplanan en düşük ve en yüksek aktiviteye sahip bileşikler deneysel olarak en yüksek ve en düşük aktiviteyi gösteren bileşikler ile benzerlik göstermektedir. Teorik olarak hesaplanan en yüksek ve en düşük aktiviteli bileşikler için HOMO ve LUMO dağılımları Şekil 5.10. ve 5.11. de verilmiştir.



(a) (b)

Şekil 5.10. a) Teorik Olarak En Düşük Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin (LL37) HOMO Orbital Dağılımı b) Teorik Olarak En Düşük Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin LUMO Orbital Dağılımı



(a) (b)

Şekil 5.11. a) Teorik Olarak En Yüksek Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin (LL16) HOMO Orbital Dağılımı b) Teorik Olarak En Yüksek Aktiviteye Sahip Olan Bileşiğin LUMO Orbital Dağılımı

En yüksek aktiviteli bileşiklerde Pha grubunun (N1, C8, C9) HOMO orbitallerine katkısı azdır ancak en düşük aktiviteli bileşiklerde bu katkı daha yoğun olarak görülmektedir.

En yüksek aktiviteli bileşiğin LUMO dağılımı referans bileşik ile benzerlik göstermektedir fakat en düşük aktiviteli bileşiğin LUMO orbital dağılımı farklıdır. En yüksek aktiviteli bileşikte N1 katkısı daha az iken en düşük aktiviteli bileşikte fazladır. En yüksek aktiviteli bileşikte R gruplarının bağlandığı benzen halkası üzerinde yoğun olarak LUMO dağılımı varken en düşükte bu dağılım sadece C3 atomu üzerindedir.

CoMCET metodu ile hesaplanan en yüksek ve en düşük aktiviteli bileşiklerin LUMO dağılımları deneysel olarak hesaplanan bileşikler ile uyum göstermektedir.

En düşük aktiviteli bileşiklerde N1, C8, C9 atomlarındaki orbital katkıları oldukça fazladır. Buna göre bu serideki bileşikler ilaç-biyoalıcı etkileşiminde LUMO orbitallerini kullanmakta olduğunu söyleyebiliriz.

Daha önceden bu bileşik serisi için Hansch analizinin lineer serbest enerji ilişkisini kullanarak, lipofilite, Hammett'in elektronik parametresi ve sterik parametreler ile QSAR analizi yapılmış ve bu çalışmadan elde edilen değerler Tablo 5.1 ve Tablo 5.2 de verilmiştir. Bu çalışmanın bazı sonuçları deneysel aktiviteye daha yakın olmasına rağmen, sadece bağlı olan substituentlere ve kuantum mekaniksel parametrelere (Wang-Ford yükleri) göre aktiviteyi açıklamışlardır [19]. CoMCET metodunda ise üç boyutlu yapı dikkate alınarak Pha, AG ve APS grupların belirlenmesi ile aktivitenin değişiminin açıklanması bu metodun üstünlüğü olarak nitelendirilebilir.

CoMCET metodu 2-Amino-6-arilsulfonil benzonitril bileşiklerinin aktivite tahmini ve Pha grubunun belirlenmesi için etkili bir metottur. Belirlenen Pha grupları her iki bileşik serisindede üç atom içermektedir. Pha atomu olarak belirlenen N atomu, her iki seride de genel atom olduğundan, kantitatif olarak aktivitenin belirlenmesinde önemli bir rol oynar. Sonuçlar kantitatif aktivite tahminini sağlayan CoMCET metodunun başarılı bir yöntem olduğunu gösterir. CoMCET metodu ile moleküler ve elektronik yapıların bütün özellikleri ayrıntılı olarak incelenebilir. Ayrıca CoMCET metodu biyoalıcı ve ilaç etkileşimini açıklamakta kullanılır.

KAYNAKLAR

1. Fujita, T., Et al, The role of QSAR in Drug Design, Eds, Academic Press, London, 1984.
2. Bersuker, I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu., The Electron-Topologic Approach to The QSAR Problem Illustrated by Inhibitor Activity for Thymidine Phosphorylase and á-Chymo-Trypsin, In QSAR in Drug Design and Toxicology, ed: Hadzi, D., Jerman-Blazic, B., Vol:10, Elsevier,Amsterdam, (1987), pp:43-48.
3. Hopfinger, A. J., Tokarski, J. S. Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationships. In Practical Application of Computer-Aided Drug Design', Charifson, P. S., Ed., Marcel Dekker, New York, pp 105-164. , 1997.
4. Oprea, T. I., Waller, C. L. Theoretical and Practical Aspects of Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationships. In Reviews in Computational Chemistry', Lipkowitz, K. B., Boyd, D. B., Eds., Wiley-VCH, New York, Vol. 11, pp 127-182. , 1997.
5. Greco, G., Novellino, E., Martin, Y. C. Approaches to Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationships. In Reviews in Computational Chemistry, Lipkowitz, K. B., Boyd, D. B., Eds., Wiley-VCH, New York, Vol.11.pp 183-240. , 1997.
6. http://www.newdrugdesign.com.
7. http://vizyon2023.tubitak.gov.tr/teknolojiongorusu/paneller/raporozet/saglik.pdf
8. Roberto, G., et. al., Computer-Assisted Drug Development (CADD): An Emerging Technology for Designing First-time-in-man and Proof-of-Concept Studies from Preclinical Experiments, J. Pharm. Sci. 13, 261–270, 2001.
9. McCarthy, D. J., Computational Approaches to Structure-Based Ligand Design, Pharmacology & Therapeutics, 84, 179–191,1999.
10. http://bornova.ege.edu.tr/~eunal/aids.html
11. Matilu, M., McMichael. J. A., A Review of Vaccines for HIV Prevention, J. Gene. Med., 5, 3–10, 2003.
12. Roy, K., Leonard. J. T., Classical QSAR Modeling of Anti-HIV 2,3-Diaryl-1,3-thiazolidin-4-ones, QSAR Comb. Sci., 2004.
13. http://www.infeksiyon.com/detail.asp?ctg=10&Article=189

14. Hallenberger, S., et. al., The role of Eukaryotic Subtilisin- Like Endoproteases for the Activation of Human Immunodeficiency Virus Glycoproteins in Natural Host cells, J. Virol. 71, 1036–1045, 1997
15. De Vita, Jr., et. al., AIDS:Biology, Diagnosis, Treatment and Prevention, Lippicott-Raven Publishers, fourth edition 1997.
16. Horowitz H.W., Telzak, E.E., Sepkowitz, K.A., Wormser G.P., Human Immunodeficiency Virus Infection, Part 1, 44 (10), 545-608,1998.
17. Tisdale, M., et. al., Structural Characterization of HIV Reverse Transcriptase: A Target For The Design of Specific Virus Inhibitors, J.Antimicrob. Chemother., 23A, 47 – 54, 1989.
18. Roy, K., Leonard, J.T., Classical QSAR Modeling of HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitor 2-Amino-6- arylsulfonylbenzonitriles and Congeners, QSAR Comb. Sci., 23, 2004.
19. Chan, J. H., et. al., 2-Amino-6-arylsulfonylbenzonitriles as Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors of HIV-1, J. Med. Chem., 44, 1866 - 1882, 2001.
20. Ungwitayatorn, J., et. al., 3D-QSAR Studies on Phthalimide Derivatives as HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitors, Science Asia, 30, 81-88, 2004.
21. http://fred.hmc.psu.edu/ds/retrieve/fred/meshdescriptor/D013329
22. http://www.medicalglossary.org/structureactivity_relationship_quantitative_structureactivity_relationship_definitions.html
23. Kubinyi, H., From Narcosis to Hyperspace: The History of QSAR, Quant.Struct.-Act.Relat., 21, 348-356, 2002.
24. QSAR and Drug Design, Bevan R.D.Department of Biochemistry and Anaerobic Microbiology Virginia Polytechnic Institute and State University Blacksburg,USA,http://www.biochem.vt..edu/courses/modeling/qsar_drug..html June, 2000.
25. Fruhbeis, H., Klein, R., Wallmeier, H. Computer-Assisted Molecular Design (CAMD), An Overview. Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 26, 403-418, 1987.
26. Kubinyi, H., ed., 3D QSAR ın Drug Design. Theory, Methods and Applications, ESCOM Science Publishers, 1993.
27. http://molvis.chem.indiana.edu/C687_S99/lecture4.html

28. Perkins, R., Fang, H., Tong, W., Welsh, W. J. Quantitative Structure-Activity Relationship Methods: Perspectives on Drug Discovery and Toxicology, Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 22, No. 8, 2003.
29. Debnath, A. K., Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) Paradigm – Hansch Era to New Millennium, Mini Reviews in Medicinal Chemistry, 1, 187-195 187, 2001.
30. Kubinyi, H., QSAR and 3D QSAR in Drug Design vol 2, 457-467, 11 Nov 1997
31. Kubinyi, H., "QSAR: Hansch Analysis and Related Approaches", Vol. 1 of "Methods and Principles in Medicinal Chemistry", R. Mannhold et al., Eds., VCH, Weinheim, 1993.
32. 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., Farmasötik kimya Ankara, 2000.
33. David, R., Tripos, L., HQSAR A New, Highly Predictive QSAR Technique, Inc. Tripos Technical Notes, Vol 1, No. 5
34. Zheng, W., Cho, S. J., Tropsha, A., Rational Combinatorial Library Design.1. Focus-2D: A New Approach to the Design of Targeted Combinatorial Chemical Libraries, J. Chem. Inf. Comput. Sci., 38 (2), 251 -258, 1998.
35. Zheng, W., Cho, S. J., Tropsha, A., Rational Combinatorial Library Design. 2. Rational Design of Targeted Combinatorial Peptide Libraries Using Chemical Similarity Probe and the Inverse QSAR Approaches, J. Chem. Inf. Comput. Sci., 38 (2), 259 -268, 1998.
36. Gao, H., Lajiness, M.S., Van Drie J., Enhancement of Binary QSAR Analysis by a GA-Based Variable Selection Method, J. Mol. Graph. Model., 20(4), 259-68, 2002
37. Labute, P., A New Method For the Determination of Quantitative Structure Activity Relationships, Pac. Symp. Biocomput., 444, 1999.
38. Gao, H., Williams, C., Labute, P., Bajorath, J., Binary Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) Analysis of Estrogen Receptor Ligands J. Chem. Inf. Comput. Sci., 39, 164, 1999.
39. Kubinyi, H., Folkers, G., Martin, Y.C., 3D-QSAR Drug Design Recent Advances Volume 3, Kluwer/ Escom, Boston, 1998.
40. http://molvis.chem.indiana.edu/C687_S99/lecture4.html

41. Kubinyi, H., Comparative Molecular Field Analysis (CoMFA), BASF AG, D-67056 Ludwigshafen, Germany
42. Van De Waterbeemd, H. R., Carter, E., Grassy, G., Kubinyi, H., Martin, Y.C., Tute, M. S., Willett, P., International Union Ofpure and Applied Chemistry and Human Health Division Medicinal Chemistry Section Glossary of Terms Used Incomputantional Drug Design, 1997
43. Mishra, H., Parrill, A. L., Williamson, J. S., Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationship and Comparative Molecular Field Analysis of Dipeptide Hydroxamic Acid Helicobacter pylori Urease Inhibitors Antimicrobial Agents and Chemotherapy, August, 46(8), 2613-2618, 2002
44. Hasegawa K., Arakawa, M., Funatsu, K., 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, 2000.
45. Richon, A. B., Young, S. S., Network Science An Introduction to QSAR Methodology http://www.netsci.org/Science/Compchem/feature19.html October, 1997
46. Klebe, G., "Comparative Molecular Similarity Indices: CoMSIA." 3D QSAR in Drug Design, Kubinyi, H.;Folkers, G.; Martin, Y. C. (Eds.), Kluwer Academic Publishers, Great Britain, 3, 87, 1998
47. Hou, T., Li, Y., Liao, N., Xu, X., Three-Dimension Quantitative Structure-Activity Relationship Analysis of Some Cinnamamides Using Comparative Molecular Similarity Indices Analysis (CoMSIA), J. Mol. Model., 6, 438 – 445, 2000,
48. Silverman, B. D., Platt, D. E.,. Comparative Molecular Moment Analysis (CoMMA): 3D-QSAR without Molecular Superposition, J. Med. Chem., 39 (11), 2129 -2140, 1996.
49. Ferguson, A. M., Heritage, T., Jonathon, P., et al. "EVA: A new theoretically based molecular descriptor for use in QSAR/QSPR analysis." J. Comp.-Aided Mol. Des., 11, 143, 1997.
50. Todeschini, R., Lasagni, M., Marengo E., J.Chemometrics, 8, 263 – 272, 1994,
51. Vedani, A., Briem, H., Dobler, M., Dollinger, H., McMasters, D. R., J. Med. Chem., 43, 4416, 2000.

52. http://www.genomicglossaries.com/content/molecular_modeling_gloss.asp
53. Smith, C., "Molecular Modeling - Seeing the Whole Picture with Modeling Software Packages", Scientist, 12(17), 31, 1998.
54. Gund, T., Molecular Modelling of Small Molecules. In Guidebook on Molecular Modeling in Drug Design, Cohen, N.C., Ed., 55-92, Academic Press, New York, 1996.
55. Kubinyi, H., Folkers, G., Martin, Y.C., 3D QSAR in Drug Design, Ligand-Protein Interactions and Molecular Similarity, Eds., Kluwer/ Escom, Boston, 1998.
56. Kubinyi, H., 3D QSAR in Drug Design, Theory, Methods and Applications, Ed., ESCOM, Leiden, The Netherlands, 1993.
57. Hopfinger, A.J., Tokarski, J.S. Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationships. In Practical Application of Computer-Aided Drug Design, Charifson, P.S., Ed., 105-164, Marcel Dekker, New York, 1997.
58. Oprea, T.L., Waller, C.L., Theoretical and Practical Aspects of Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationships. In Reviews in Computational Chemistry, Lipkowitz, K.B., Boyd, D.B., Eds., 11, 127-182, Wiley-VCH, New York, 1997.
59. Greco, G., Novellino, E., Martin, Y.C., Approaches to Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationships. In Reviews in Computational Chemistry, Lipkowitz, K.B., Boyd, D.B., Eds., 11, 183-240, Wiley-VCH, New York, 1997.
60. Finn P. W., Kavraki, L. E., Computational Approaches to Drug Design, Springer-Verlag New York Inc. Algorithmica, 25, 347–371,1999.
61. Mason, J. S., Good, A. C., Martin, E. J., 3-D Pharmacophores in Drug Discovery Current Pharmaceutical Design, 7, 567-597, 2001.
62. Tropsha, A., Zheng, W., Identification of the Descriptor Pharmacophores Using Variable SelectionQSAR: Applications to Database Mining, Current Pharmaceutical Design, 7, 599-612, 2001.
63. Bersuker, I. B., Bahceci, S., Boggs, J. E., Improved Electron-Conformational Method of Pharmacophore Identification and Bioactivity Prediction -Application to Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors Journal of Chemical Information and Computer Sciences, 40, 1363-1376, 2000

64. Bersuker I. B., Pharmacophore Identification and Quantitative Bioactivity Prediction Using the Electron-Conformational Method Current Pharmaceutical Design, 9, (20), 1575-1606, 2003.
65. Marshall, G.R., Molecular Modeling in Drug Design. In Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery, Principles and Practice, 5th ed., Wolff, M.E.,Ed., 1, 573-659, John Wiley, New York, 1995.
66. Ghose, A.K., Wendoloski, J.J. Pharmacophore Modelling, Methods, Experimental Verification and Applications. In 3D QSAR in Drug Design, Ligand-Protein Interactions and Molecular Similarity, Kubinyi, H., Folkers, G., Martin, Y.C., Eds., Vol.2, pp 253-271, Kluwer/ Escom, Boston, 1998.
67. Wermuth, C.G., Langer, T. Pharmacophore Identification. In 3D QSAR in Drug Design, Theory, Methods and Applications, Kubinyi, H., Ed., Vol.1., pp 117-136, ESCOM, Leiden, The Netherlands, 1993.
68. Glonder, V. E., Vorpagel, E.R. Computer-Assisted Pharmacophore Identification. In 3D QSAR in Drug Design, Theory, Methods and Applications, Kubinyi, H., Ed., Vol. 1. pp 137-149, ESCOM, Leiden, The Netherlands, 1993.
69. Doucet, J.P., Weber, J. Computer-Aided Molecular Design, Theory, and Applications, pp 364-404, Academic Press, San Diego, 1996.
70. Application in Chem-X Lead Generation I. Automatic Pharmacophore Identification for a Set of Compounds, Chemical Ltd, Oxon, UK, 1995.
71. Pearlman, R.S. 3D Molecular Structures, Generation and Use in 3D Searching. In 3D QSAR in Drug Design, Theory, Methods and Application, Kubinyi, H., Ed., Vol.1. pp 41-79, ESCOM, Leiden, 1993.
72. Bersuker I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu. , Vlad, P.F., Pesaro, M. Origin of Musk Fragrance Activity, The Electron-Topological Approach. New J. Chem. 15, 307-320, 1991.
73. Bersuker, I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu., Greni, A.I., Vysotskaya, L.E., Mikhailova, T.V. Study of the Electronic and Structural Properties of the Chemical Compounds in Garlic Aroma. Die Nahrung- Food 33, 405-411, 1989.
74. Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu., Bersuker, I.B., Greni, A.I., Vysotskaya, L.E., Stepanova, O.V., Lukash, E.Yu. Structural and Electronic Origin of Meat Odour of Organic Hetero-Atomic Compounds. Die Nahrung- Food 32, 461-473, 1988.

75. Bersuker, I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu., Vlad, P.F., Koltsa, M.N. Structural and Electronic Origin of Odour Properties of Organic Compounds as Revealed by the Electron-Topologic Approach to the QSAR Problem. In QSAR in Drug Design and Toxicology, Hadzi, D., Jerman-Blazic, B., Eds., Vol.10, pp 340-342, Elsevier, Amsterdam, 1987.
76. Bersuker, I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu., The Electron-Topologic Approach to the QSAR Problem Illustrated by Inhibitor Activity for Thymidine Phosphorylase and α-Chymo-Trypsin. In QSAR in Drug Design and Toxicology, Hadzi, D., Jerman-Balzic, B., Eds., Vol.10, pp 43-48, Elsevier, Amsterdam, 1987.
77. Bersuker, I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu., The Electron-Topologic Approach to Structure-Activity Relationships. Inhibition of Thymidine Phosphorylase by Uracil Derivatives. Bioogan. Khim. 13, 38-44, 1987.
78. Dimoglo, A.S., Bersuker, I.B., Popa, D.P., Kuchkova, K.I. Electron-Topological Study of Plant Growth-Regulator Activity in a Series of Analogs of Abscisic Acid. Theor. Eksp. Khim. 5, 590, 1989.
79. Guzel, Y., Saripinar, E., Yildirim. I. Electron-Topological(ET) Investigation of Structure- Antagonist Activity of a Series of di benzo[a,d] cycloalkenimines. J.Mol.Struc. (Theochem) 418, 83-91, 1997.
80. Guzel, Y. Investigation of the Relationship Between the Inhibitory Activity of Glycolic Acid Oxidase and its Chemical Structure, Electron- Topological Approach. J. Mol. Structure. (Theochem) 366, 131-137, 1996.
81. Dimoglo, A.S., Beda, A.A., Shvets, N.M., Gorbachov, M.Yu., Kheifits, L.A., Aulchenko, I.S. Investigation of the Relationship Between Sandalwood Odor and Chemical Structure, Electron- Topological Approach. New J. Chem. 19, 149-154, 1995.
82. Dimoglo, A.S., Vlad, P.F., Shvets, N.M., Koltsa, M.N., Güzel, Y., Saracoğlu, M., Saripinar, E., Patat, S. Electron-Topological Investigations of the Relationship Between Chemical Structure and Ambergris Odor, New J. Chem. 19, 1217-1226, 1995.
83. Bersuker, I.B., Bahceci, S., Boggs, J.E., Atomic İndex of Charge and Orbital Controlled İntermolecular İnteraction in Molecular Modeling for QSAR in Drug Design, 219, 594, J. Am. Chem. Soc., 2000

84. Bersuker I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu. , Vlad, P.F., Pesaro, M. Origin of Musk Fragrance Activity, The Electron-Topological Approach. New J. Chem. 15, 307-320, 1991.
85. Bersuker, I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu., Greni, A.I., Vysotskaya, L.E., Mikhailova, T.V. Study of the Electronic and Structural Properties of the Chemical Compounds in Garlic Aroma, Die Nahrung- Food 33, 405-411, 1989.
86. Bersuker, I.B; Bahceci, S.; Boggs, E.J.; Pearlman, R.S. An Electron-Conformational Method of Identification of Pharmacophore and Anti-Pharmacophore Shielding Application of Rice Blast Activity, J. Compund-Aided Mol. Des. 13, 419-434, 1999.
87. Bersuker, I.B; Bahceci, S.; Boggs, E.J.; Pearlman, R.S. A Novel Electron Conformational Approach to Molecular Modeling for QSAR by Identification of Pharmacophore and Anti- Pharmacophore Shielding. SAR and QSAR in Env. Res. 10, 157-173, 1999.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Lalehan Kulak
Baba Adı : Seyit
Anne Adı : Güler
Doğum Yeri : Kayseri
Doğum Tarihi : 09.02.1981

İlk, orta ve lise öğrenimini Kayseri'de tamamladı. Yüksek öğrenimini Erciyes Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde 1999-2003 yılları arasında tamamladı. 2003 yılında Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde Yüksek Lisans öğrenimine başladı.

Adres: Fatih mah. Şelale cad. No:55 Kıranardı/KAYSERİ
Tel: 0-352 341 38 79