T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HEPT BİLEŞİK SERİSİNİN HIV-1 İNHİBİTÖRÜ OLARAK ELEKTRON KONFORMASYON-GENETİK ALGORİTMA (EC-GA) YÖNTEMİ İLE QSAR İNCELENMESİ

Tezi Hazırlayan
Ebru KAYA

Tezi Yöneten
Prof. Dr. Emin SARIPINAR

Kimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Temmuz 2008

KAYSERİ

Prof. Dr. Emin SARIPINAR danışmanlığında **Ebru KAYA** tarafından hazırlanan **"HEPT Bileşik Serisinin HIV-1 İnhibitörü Olarak Elektron Konformasyon-Genetik Algoritma (EC-GA) Yöntemi İle QSAR İncelenmesi"** adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

28/ 07/2008

JÜRİ:

Başkan : Prof. Dr. Zeki BÜYÜKMUMCU

Üye : Prof. Dr. Emin SARIPINAR

Üye : Doç. Dr. İlhan Özer İLHAN

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 05/08/2008 tarih ve 2008/13-37 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

05/ 08/ 2008

Prof. Dr. Nusret AYYILDIZ

Enstitü Müdürü

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 saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Desteklerinden dolayı 105T396 nolu TÜBİTAK projesi çalışanları olan Mustafa Yıldırım, Fatih Çopur ve Emil SULTANOV' a teşekkürlerimi sunarım.

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

Ayrıca tüm çalışmalarım sırasında benden desteğini esirgemeyen, Lalehan AKYÜZ ve diğer çalışma arkadaşlarıma, hayatım boyunca yanımda olan ve her konuda benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili aileme minnettarlıklarımı bildiririm.

HEPT BİLEŞİK SERİSİNİN HIV-1 İNHİBİTÖRÜ OLARAK ELEKTRON KONFORMASYON-GENETİK ALGORİTMA (EC-GA) YÖNTEMİ İLE QSAR İNCELENMESİ

Ebru KAYA
Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tezi, Temmuz 2008
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Emin SARIPINAR

ÖZET

Bu çalışmada 1-[(2-hidroksietoksi)metil]-6-(feniltiyo)timin (HEPT) bileşiklerinin Elektron Konformasyon-Genetik Algoritma (EC-GA) ile kantitatif HIV aktivite hesaplaması ve farmakofor (Pha) grubu tanımlaması yapılmıştır. Serideki bütün bileşikler için Elektron Konformasyonel Uygunluk Matrisleri (ECMC) bileşiklerin elektronik yapı hesaplamaları ve konformasyon analiz bilgilerinden faydalanılarak EMRE 1.2 programı ile hazırlanmıştır. ECMC ler Pha grubu temsil eden ve aktif bileşiklerin hepsinde aynı olan Elektron Konformasyonel Alt Matrisi (ECSA) bulmak için karşılaştırılır. Moleküler parametreler serideki bütün bileşiklerin her bir konformeri için çalışma grubumuz tarafından geliştirilen EMRE 1.2 programı ile hazırlandı ve bu parametreler aktiviteyi hesaplamak için Genetik Algoritma Optimizasyon Tekniğinde kullanıldı. Biyolojik aktivite hesaplaması için 174 parametre hazırlandı. Ancak bu moleküler parametrelerin hepsi aktivite hesaplaması için önemli değildir. Bu parametrelerin önemli olanlarını seçmek ve aktivitelerine karar vermek için genetik algoritma optimizasyon tekniği ve en küçük kareler yöntemi kullanılmıştır. 80 bileşik için deneysel ve hesaplanan aktivite arasındaki korelasyon katsayısı, R^2, 0.9153 olarak bulunmuştur. Bu çalışmalara ek olarak bileşik serisi eğitim seti (45 bileşik) ve test seti (35 bileşik) olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Eğitim setinin biyoaktivitesini en iyi parametrelerle hesaplamak için, GA ve lsqnonlin metodları kullanılmıştır. Eğitim setinden elde edilen moleküler parametreler kullanılarak test seti için biyoaktivite belirlenmiştir. R değerleri eğitim ve test seti için sıra ile 0.9460 ve 0.7080 olarak hesaplanmıştır.

Anahtar Kelimeler: QSAR,EC-GA, HEPT, HIV-1, Farmakofor

QSAR STUDIES WITH ELECTRON CONFORMATION-GENETIC ALGORITHM (EC-GA) METHOD ON HEPT COMPOUNDS AS HIV-1 INHIBITOR

Ebru KAYA
Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences
M.Sc. Thesis, July 2008
Thesis Supervisor: Prof. Dr. Emin SARIPINAR

ABSTRACT

We report here the results of pharmacophore (Pha) identification and quantitative HIV activity prediction for the class of 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine (HEPT) using the Electron Confomation-Genetic Algorithm (EC-GA) method. The Electron Conformational Matrices of Congruity (ECMCs) are constructed from the data of conformational analysis and electronic structure calculation of each molecules in the compound series by EMRE 1.2 programme. Later, the ECMC is processed by means of a special program of matrix comparisons (ECSP 1.0) in order to reveal the Electron Conformational Submatrix of Activity (ECSA), which represent the Pha, same for all the active compounds. The molecular descriptors of every conformer of the compounds are performed with EMRE 1.2 which is prepared by us and these descriptors are used in Genetic Algorithm Optimization Tecnique (GA) for calculating the activity. Every conformer of each compound is described by 174 are molecular descriptors available for predicting biological activity. Not all of the molecular descriptors are important in determining the biological activity. To select the important variables for describing the inhibition activities, the variable selection method using GA and nonlinear least square regression methods (lsqnonlin) were applied. The correlation coffecient, between estimated activity and experimentally measured activity is found to be 0.9153. In addition to this calculation, the compound series divided into training set and testing set The most important molecular descriptors in determining the biological activity of training set are found by using GA and lsqnonlin calculations. Using the molecular descriptor values found biological activity of the test set are determined. R^2 values obtained are 0.9460 and 0.7080 for the training and testing sets, respectively.

Keywords: QSAR, EC-GA, HEPT, HIV-1, Pharmacophere

İÇİNDEKİLER

SAYFA

Kabul ve Onay Sayfası i
TEŞEKKÜR ii
ÖZET iii
ABSTRACT iv
İÇİNDEKİLER v
KISALTMALAR ve SİMGELER ix
TABLOLAR LİSTESİ x
ŞEKİLLER LİSTESİ xii

BÖLÜM 1
GİRİŞ

1.1. Giriş 1
1.2. İlaç Nedir? 2
1.2.1. İlaç Tasarımı 3
1.2.2. İlaç Geliştirme Aşamaları 4
1.2.2.1. Etken Maddenin Bulunması 5
1.2.2.1.1. Hedef Seçimi 5
1.2.2.1.2. Etken Maddenin Bulunması 6
1.2.2.1.3. Etken Maddenin Optimizasyonu 8
1.2.2.2. Preklinik Geliştirme 9
1.2.2.3. Klinik Geliştirme 9
1.3. Bilgisayar-Destekli İlaç Tasarımı 10
1.3.1. Kombinatoryal Kimya 12
1.3.2. Yüksek Üretimli Tarama (High Throughput Screening, HTS) 13
1.4. AIDS 14
1.4.1. HIV Nedir ve İnsan Vücudunu Nasıl Etkiler 15

BÖLÜM 2
QSAR METOTLARI

2.1. Yapı Aktivite İlişkisi (SAR) 24
2.2. Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi (QSAR) 25
2.2.1. Hansch Analizi 26
2.2.2. Free-Wilson Analizi 28
2.2.3. QSAR Teorisi 30
2.2.4. QSAR Teknikleri 31
2.2.4.1. Kimyasal Bir Serinin Seçilmesi 31
2.2.4.2. Değişken Seçimi 31
2.2.4.3. İstatistiksel Metodlar 33
2.2.5. 2D-QSAR Analizi 33
2.2.6. 3D-QSAR 34
2.2.6.1. Karşılaştırmalı Moleküler Alan Analizi (CoMFA) 36
2.2.6.2. Aktif Analog Yaklaşımı 37
2.2.6.3. Moleküler Şekil Analizi (MSA) 37
2.2.6.4. Karşılaştırmalı Moleküler Şekil Analizi CoMSIA 38
2.2.6.5. Karşılaştırmalı Moleküler Moment Analizi CoMMA 39
2.2.6.6. EigenValue (EVA) 39
2.3. Yeni QSAR metotları 39
2.3.1. Hologram QSAR (HQSAR) 40
2.3.2. Inverse QSAR 41
2.3.3 Binary QSAR 41
2.3.4. 4D-QSAR 42
2.3.5. 5D QSAR 43
2.3.6. 6D QSAR 43
2.4. Moleküler Modelleme ve QSAR 44
2.5. Biyoalıcı İle İlaç Molekülün Etkileşim Mekanizması 45

BÖLÜM 3
YÖNTEM

3.1. Materyal 48
3.2. Metot 48
3.2.1. Konformasyon Analiz İşlemi 49
3.2.2. Kuantum Kimyası Hesaplamaları 51
3.3. Elektron Topolojik Metot 54
3.4. Elektron Konformasyonel Metot 56
3.4.1. Konformerlerin Belirlenmesi 56
3.4.2. ETMC Matrisleri Oluşturulması 56
3.4.3. EC Metodunda Farmakofor Tanımlama 57
3.4.4. APS ve AG Grupları 59
3.4.5. Aktivitenin Genel Formülü 60
3.5. Elektron Konformasyonel Genetik Algoritma (EC-GA) Metodu 66
3.5.1. EMRE Yazılım Sisteminin Geliştirilmesi 68
3.5.2. Adım 1 71
3.5.3. Adım 2 72
3.5.3.1. Boltzman Dağılımı 72
3.5.4. Adım 3 73
3.5.5. Adım 4 78
3.5.6. Adım 5 80
3.5.6.1. Moleküler Parametreler 80
3.5.7. Adım 6 85
3.5.7.1. Sayısal Optimizasyon 86
3.5.7.2. Genetik Algoritma 89
3.5.7.2.1. Genetik Algoritma Operatörleri 92
3.5.7.2.1.1. Gen Havuzu 92
3.5.7.2.1.2. Seçim 92
3.5.7.2.1.3. Çaprazlama 93
3.5.7.2.1.4. Mutasyon 93
3.5.7.2.1.5. Elitizm 94

3.5.7.3. EC-GA Metodunda Genetik Algoritmanın Uygulanışı 94

BÖLÜM 4
BULGULAR

4.1. HEPT Serisi İçin Aktivite Hesaplamalarında Kullanılan Parametrelerin Hazırlanması 98
4.1.1. ECMC Matrislerinin Hazırlanması ve Farmakofor Bulunması 105
4.1.2. Aktivite Hesaplamalarda Kullanılan Parametreler..... 110
4.1.3. HEPT Türevi Serisinden Elde Edilen Hesaplama Sonuçları 120
4.1.3.1. HEPT Bileşiklerinin Kümeleme Analizi..... 120
4.1.3.2. Serinin Bölünmeden Hesaplanması 120
4.1.3.3. Serinin Eğitim ve Test Seti Olarak Hesaplanması 123

BÖLÜM 5
SONUÇ

5.1. 1-[2-hidroksietoksi-metil]-6-(feniltiyo)timin (HEPT) Türevinin Teorik Aktivite Hesaplama Sonuçları..... 125

KAYNAKLAR 138
ÖZGEÇMİŞ 146

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

EC : Elektron Konformasyonel

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 1.1. Türkiye'de Bildirilen AIDS Vaka ve Taşıyıcılarının Yıllara Göre Dağılımı 15
Tablo 2.1. QSAR Teknikleri ve Kullanılan Parametreler 44
Tablo4.1. HEPT Bileşik Serisinin Deneysel Aktivite Değerleri ve Konformer Sayıları 99
Tablo4.1. (Devamı) HEPT Bileşik Serisinin Deneysel Aktivite Değerleri ve Konformer Sayıları 100
Tablo 4.2. a32 Bileşiğinin Bütün Konformerleri İçin Boltzman Dağılımı ve Bağıl Enerji Değerleri..... 102
Tablo 4.2. (Devamı) a32 Bileşiğinin Bütün Konformerleri İçin Boltzman Dağılımı ve Bağıl Enerji Değerleri 103
Tablo 4.2. (Devamı) a32 Bileşiğinin Bütün Konformerleri İçin Boltzman Dağılımı ve Bağıl Enerji Değerleri 104
Tablo 4.3. a32 Bileşiğinin Eliminasyondan Sonra Kalan Konformerleri İçin Boltzman Dağılımı ve Bağıl Enerji Değerleri..... 104
Tablo 4.4. Hesaplamalarda Kullanılan Parametreler..... 110
Tablo 4.4. (Devamı) Hesaplamalarda Kullanılan Moleküler Parametreler..... 112
Tablo 4.4. (Devamı) Hesaplamalarda Kullanılan Moleküler Parametreler..... 113
Tablo 4.4. (Devamı) Hesaplamalarda Kullanılan Moleküler Parametreler..... 114
Tablo 4.4. (Devamı) Hesaplamalarda Kullanılan Moleküler Parametreler..... 115
Tablo 4.4. (Devamı) Hesaplamalarda Kullanılan Moleküler Parametreler..... 116
Tablo 4.4. (Devamı) Hesaplamalarda Kullanılan Moleküler Parametreler..... 117
Tablo 4.5. Hesaplamalardan Elde Edilen kj Değerleri ve Parametreler..... 120
Tablo 4.6. Elde Edilen kj Değerlerine Göre Hesaplanan Aktivite Değerleri 121
Tablo 4.6. (Devamı) Elde Edilen kj Değerlerine Göre Hesaplanan Aktivite Değerleri..... 122
Tablo 4.7. Hesaplamalardan Elde Edilen kj Değerleri ve Parametreler..... 124
Tablo 4.8. Elde Edilen kj Değerlerine Göre Hesaplanan Aktivite Değerleri 125
Tablo 5.1. HEPT Türevlerinin 17 Kappa ya Göre Deneysel ve Hesaplanan Aktiviteleri 127

Tablo 5.1. (Devamı) HEPT Türevlerinin 17 Kappa ya Göre Deneysel ve Hesaplanan Aktiviteleri 128

Tablo 5.2. Teorik Aktiviteyi Hesaplamak İçin Kullanılan 17 Kj Değeri ve Moleküler Parametreler..... 130

Tablo 5.3. HEPT Türevlerinin 18 Kappa ya Göre Deneysel ve Hesaplanan Aktiviteleri 132

Tablo 5.3. (Devamı)HEPT Türevlerinin 18 Kappa ya Göre Deneysel ve Hesaplanan Aktiviteleri 133

Tablo 5.4. Teorik Aktiviteyi Hesaplamak İçin Kullanılan 18 Kj Değeri ve Moleküler Parametreler..... 135

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. İlaç Geliştirme Aşamaları 5
Şekil 1.2. Yeni İlaç Etken Maddesi Araştırma ve Geliştirme Yolları 7
Şekil 1.3. Klasik Organik Sentez Metodları ile Kombinatoryal Sentez Metodlarının Farkı 13
Şekil 1.4. HIV-1 Virüsünün Yapısı 16
Şekil 1.5. Virüs RNAsı İle Konak Hücre DNA sından Provirüs Oluşumu 18
Şekil 1.6. NNRTIs İlaçlarının Etken Maddeleri 20
Şekil 1.7. Nükleotid Reverse Transcriptase İnhibitörünün Etken Maddesi 21
Şekil 1.8. NRTIs İlaçlarının Etken Maddeleri 22
Şekil 1.9. HEPT Türevlerinin Kimyasal Yapısı 23
Şekil 2.1. HQSAR da Hologramların Ortaya Çıkarılması ve Bu Hologramlardan Aktivite Değerinin Elde Edilmesi 40
Şekil 3.1. Serbest Haldeki İlaç Molekülünün Konformerlerinin ve Bağ Yapmış İlaç- Biyoalıcı Yapısının Enerji Karşılaştırmaları 65
Şekil 3.2. İlaç Tasarımında Emre Yazılım Sisteminin Basamakları 67
Şekil 3.3. EC-GA Metodunda Takip Edilen Aşamalar 71
Şekil 3.4. Üç Boyutlu ECMC'nin Gösterimi 75
Şekil 3.5. EMRE 1.2 Programının Arayüzü 77
Şekil 3.6. EMRE 1.2 Programının Matris Sekmesinin Arayüzü 77
Şekil 3.7. ECSP 1.0 Programına Ait Arayüz 78
Şekil 3.8. EMRE V1.2 Programına Ait "Parametrik" Sekmesi 84
Şekil 3.9. EMRE V1.2 Programına Ait "Dereceler" Sekmesi 85
Şekil 3.10. Genetik Algoritma Akış Şeması. 90
Şekil 3.11. Genetik Algoritma İşlemleri 92
Şekil 3.12. MATLAB 7.04 Programında Genetik Algoritma Optimizasyon Tekniğinin Çalışma Prensibi 95
Şekil 4.1. HEPT Bileşiklerinin Temel Yapısı 98
Şekil 4.2. a32 Aktivitesi En Yüksek Bileşiğin Uzaydaki Top-Çubuk ve

Uzaydaki Dolum Modeli Görünümleri 101
Şekil 4.3. a32 Bileşiği ve Konformerlerinin Üst Üste Çakıştırma İşlemi..... 105
Şekil 4.4. a32a Bileşiğinin Mulliken Yükleri Kullanılarak OluşturulanETMC Matrisi 106
Şekil 4.5. a32b Bileşiğinin Muliken Yükleri Kullanılarak Oluşturulan ETMC Matrisi 106
Şekil 4.6. En Basit Bileşiğe Göre Diğer Bileşiklerin Fonksiyonel Grupları ve Atomlarının Düzenlenmesi Yani Moleküllerde Birbirine Karşılık Gelen Atomlar..... 108
Şekil 4.6. (Devamı)En Basit Bileşiğe Göre Diğer Bileşiklerin Fonksiyonel Grupları ve Atomlarının Düzenlenmesi Yani Moleküllerde Birbirine Karşılık Gelen Atomlar..... 109
Şekil 4.7. HEPT Türevleri İçin Aktif Fragmenti Gösteren ECSA (Elektron Konformasyonel Alt Matris) ve Farmakofor Grubu Temsil Eden Atomlar 110
Şekil 4.8. Seçilen Düzleme, Belirlenen Atomların Van Der Waals Yarıçaplarından Çizilen Dik Uzaklıklar 118
Şekil 4.9. İki Atomun Oluşturduğu Doğru İle Düzlem Arasındaki Açı 118
Şekil 4.10. Atomlar Arası Açı Ve Torsiyon Açısı 119
Şekil 5.1. HEPT Türevleri İçin Aktif Fragmenti Gösteren ECSA (Elektron Konformasyonel Alt Matris) ve Farmakofor Grubu Temsil Eden Atomlar 126
Şekil 5.2. 17 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin R^2 Grafiği 131
Şekil 5.3. (a) 18 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin Eğitim Seti için Çizilmiş R Grafiği 136
Şekil 5.3. (b) 18 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin Test Seti için Çizilmiş R Grafiği

1. BÖLÜM

1.1. Giriş

Bilgisayar Destekli İlaç Tasarım ve Geliştirme yeni ve faydalı olabilecek bileşiklerin bulunması için hesaplamalı kimyayı ve kimyasal bilgi teknolojilerini kullanan bir yöntemdir. Kimyasal bilgi teknolojileri çeşitli kimyasal yapıların elektronik, üç boyutlu geometrik ve fizikokimyasal parametrelerini içerir. Moleküler modelleme ve hesaplamalı kimya yeni ilaç olabilecek maddelerin geliştirilmesinde ve sentezinde araştırmacılara yardımcı olmakta, ilaç-biyoalıcı etkileşmesinin temelini anlamakta gittikçe önemli bir rol oynamaktadır. İlaç geliştirme alanı yeni metot ve tekniklerin geliştirilmesi nedeni ile sürekli değişmekte ve çok yoğun bir bilgi birikimi oluşmaktadır. Bilgisayar destekli moleküler modelleme yaklaşımında ligant ve hedef protein arasındaki kimyasal etkileşim oldukça önemlidir. Biyoalıcının (enzim/protein) üç boyutlu yapısı biliniyorsa bu etkileşimi anlamak kolaylaşmaktadır. Fakat çoğu zaman biyoalıcının yapısı bilinmemektedir. X ışınları difraksiyonu ve NMR teknikleri kullanılarak kimyasal yapısı aydınlatılan biyoalıcıların ise etkileşim anındaki aktif yapısı tam olarak tespit edilememektedir. Bu nedenle yeni ilaçların tasarımı oldukça zorlaştığından ligant temelli 3D-QSAR (Three Dimensional Quantitative Structure Activity Relationship, Üç Boyutlu Kantitatif Yapı-Aktivite İlişkisi) yaklaşımları kullanılmaktadır. İleride bahsedileceği gibi son yıllarda çeşitli modeller ve yaklaşımlar geliştirilmiştir. Bu konularda uzman bazı ticari yazılım firmaları tarafından piyasada kullanım ücretleri oldukça yüksek çeşitli yazılımlar bulunmaktadır. (SYBYL, DOCK, CODESSA, DRAGON)

Bu çalışmada ligant temelli bilgisayar destekli rasyonel tasarım teknikleri kullanarak ve ileride (bölüm 3) ayrıntıları açıklanacak yeni yazılımlar geliştirerek ilaç etken maddesi olabilecek aday bileşiklerin geliştirilmesi hedeflenmiştir. Özellikle Türkiye'nin yazılım alanında büyük ölçüde yabancı kaynaklardan besleniyor olması yazılım sektörünün, aynı zamanda da ekonominin zarar görmesine neden olmaktadır. Türkiye, kendi

bünyesindeki kişisel yetenekleri üzerine uzmanlaşmış sektör temsilcileri yerine dış kaynaklara yönelmiş durumdadır. Fakat ekibimizin çalışma anlayışına göre bu hatanın bir an önce giderilmesi gerekmektedir. Bu nedenle dışarıya karşı bağımlılığı, yönelimleri, eğilimleri en az düzeye indirgeyip, kendi içinde güç kazanacak bir yapıya gidilmeli gerçeğini savunmakta ve var olan paket programlar yerine araştırma grubumuz tarafından ortaya konulan bu proje içerisinde ECSP 1.0 programı, EMRE 1.2 programı ve biyoaktiviteyi hesaplamak için MATLAB 7.04 paket programında genetik algoritma optimizasyon tekniğini kullanarak hesaplamaları gerçekleştiren yeni bir yazılım olmak üzere üç farklı program geliştirilmiştir. Bu sayede hem yazılım sektörüne katkıda bulunulmuş, hem de ekonomik anlamda bir değer oluşturularak ödemelerin yurt dışında program geliştiren şirketler yerine istihdam edilen personele yapılması sağlanmıştır. Geliştirilen bu yazılımlar ile biyoalıcılarla organizmada etkileşen ilaç olduğu düşünülen bileşiklerin, moleküler ve fizikokimyasal özelliklerinin tanımlanması ile üç boyutlu kantitatif yapı-aktivite ilişkileri açıklanmakta ve aktiviteden sorumlu olan farmakofor, Pha, grup belirlenmektedir [1,4].

Bu çalışmadaki amaç ise EC-GA, Elektron Konformasyon-Genetik Algoritma metodunun uygulanması ile AIDS (Acquired Immuno Deficiency Syndrome) hastalığının tedavisinde kullanılabilmesi için çeşitli QSAR çalışmaları PLS, MLR, (istatistik yöntemler), Yapay sinir ağları gibi farklı yöntemlerle konformerleri dikkate alınmadan, farklı çalışma grupları tarafından daha öncesinde de yapılmış olan 1-[(2-hidroksietoksi)metil]-6-(feniltiyo)timin (HEPT) bileşiklerinin [5-8], Pha grubu ile bu gruba etki eden aktiviteyi artıran AG (Auxiliary Group) ve aktiviteyi azaltan APS (Anti Pharmacophere Shielding Group) grupların geliştirilen yazılımlar ile belirlenmesidir. Konunun daha iyi anlaşılabilmesi ve öneminin daha iyi vurgulanabilmesi için bu ve ileriki bölümlerde ilaç, ilacın önemi, ilaç tasarım aşamaları, bilgisayar-destekli ilaç tasarımı, çalışma konumuz olan AIDS, HIV ve HEPT türevleri bu bölümde anlatılırken, QSAR yöntemleri ise ikinci bölümde anlatılmıştır.

1.2. İlaç Nedir?

İlaçlar genellikle biyolojik süreci etkileyen moleküller olarak tanımlanır. İlaçların vücudun belirli bölgelerine etki etmesi istendiğinden, vücuda yeterli konsantrasyonda verilmesi gerekmektedir. Ek olarak, ilaçlar güvenli olmalı ve vücuttan atılırken herhangi bir yan etkiye sebep olmamalıdır.

İlaçların büyük çoğunluğu spesifik biyolojik reseptörlerin aktivitelerini hafifleten ve onların etkileşimlerini, bağlanmalarını düzenleyen küçük moleküllerdir. Reseptörler ise, hayatın korunması için gereken çeşitli fonksiyonları yerine getiren diğer moleküllerle etkileşen ve bağlanan proteinlerdir.

Özellikle önemli bir ilaç reseptör grubu, normalde hormonlar ve nörotransmiterler gibi endojen düzenleyici ligandların bağlandığı reseptörler olarak işlev gören proteinlerdir. Birçok ilaç fizyolojik önemi olan bu tip reseptörler üzerinde etki gösterir. Fizyolojik reseptörler belirli sinyal moleküllerini tanıyacak ve yanıt oluşturacak şekilde özelleşmişlerdir. Agonistler organizmadaki fizyolojik reseptörlere bağlanarak endojen düzenleyici bileşiklerin etkilerini taklit ederler. Antagonistler ise ilgili reseptöre bağlanmakla birlikte iç düzenleyici aktiviteleri olmadığı için sadece agonistin bağlanmasını engelleyerek etki gösterirler. İlaçların reseptörlere bağlanışı iyonik, hidrojen bağları, hidrofobik, van der Waals ve kovalent etkileşimlerle gerçekleşir. Eğer ilaç reseptöre kovalent bağlarla bağlanırsa ilacın etkisi genellikle uzar. Kovalent olmamakla birlikte yüksek afiniteli bağlanmalarda genel olarak irreversibl kabul edilir [9].

İlaçlar genellikle aşağıda verilen üç aşamada çalışır:

- Bakteri, parazit ya da virüslerin biyolojik fonksiyonlarına müdahale eder. (Antibiyotikler ve HIV ilaçları)
- Bakteri, parazit ya da virüslerin sistemlerimiz ile etkileşimini engellemek
- Biyolojik fonksiyonlarımızın artmasına müdahale eder. (Aşılar, insülin, kanser ilaçları)

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 [10]. Ayrıca ilaç ve biyoalıcı arasındaki bağlanma etkileşimini geliştirmek ve ilacın biyoalıcı için seçiciliğini arttırmaktır. Daha güçlü ve daha seçici bağlanma için ilaç, bağlanma bölgesine göre uygun büyüklükte olmalı ve bağlanma için gerekli fonksiyonel gruplara sahip olmalıdır. Bu fonksiyonel gruplar birbirlerine göre doğru pozisyonda olmalılar ki hepsi aynı zamanda bağlanabilsinler. Mevcut ilaçların hemen hemen hiç biri ideal özelliklere sahip

olmadıklarından, araştırma kurumlarında ve ilaç endüstrisinin araştırma geliştirme laboratuarlarında, sürekli ilaç olabileceği düşünülen bileşiklerin sentezi yapılmakta ve bunlar belirli farmakolojik testlere tabii tutulmaktadır. İlaçların seçici, etkisi geçici ve doza bağlı olmalı gibi özelliklere sahip olmalıdır.

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

Bilgisayarlı ilaç tasarımı teknikleri ile daha önceleri tek bir ilaç bile dizayn edilememesine rağmen, bu tekniklerin gelişmesi uzun sürmemiştir. Günümüzde bütün dünyada farmakoloji ve biyoteknoloji şirketleri bilgisayar destekli ilaç tasarımı tekniklerini kullanmaktadır [11].

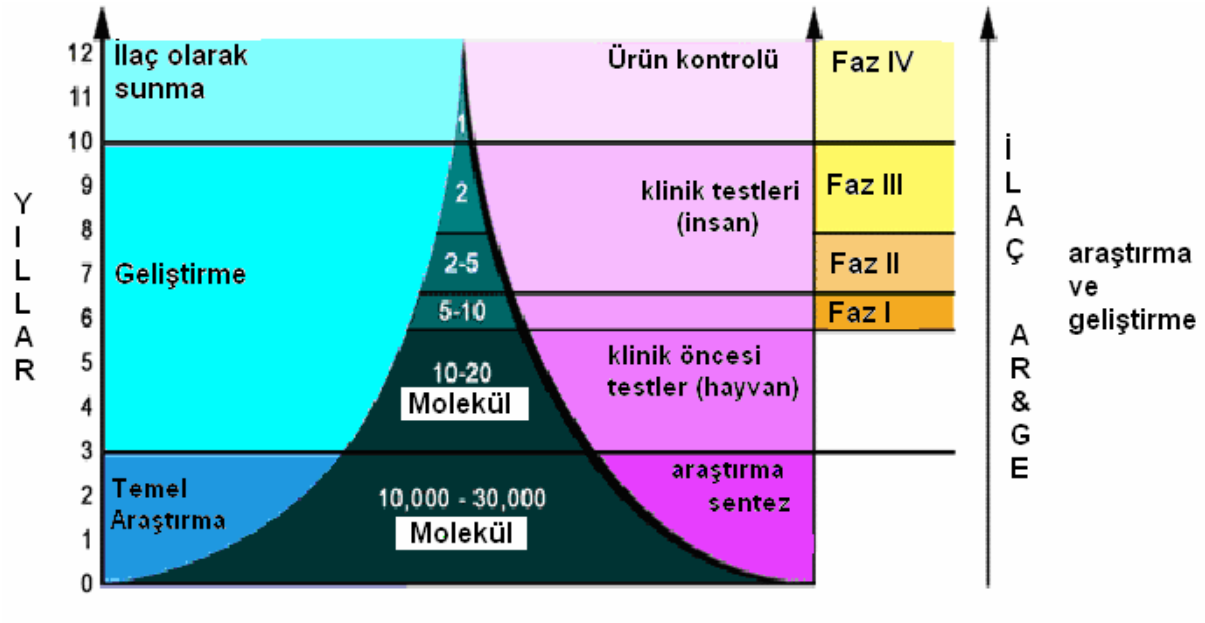
1.2.2. İlaç Geliştirme Aşamaları

İdeal ilaç geliştirmedeki amaç daha etkili, daha az toksik, daha az yan etkili olan ilaçlar elde etmektir. Yeni ilaç geliştirilmesi, uzun, zahmetli ve oldukça yüksek harcamaları gerektiren bir süreçtir. Son zamanlarda yapılan bir hesaplamaya göre, yeni ilaç geliştirilmesi yaklaşık 12-15 yılı ve 500-800 milyon USD harcamayı gerektirmektedir. Sürecin bu kadar uzun olması, yeni ilaç geliştirilmesinin zorluğu hakkında ipucu vermektedir.

İlaçların geliştirilmesi süreci üç bölümde incelenmektedir:

1. Etken maddenin bulunması
2. Preklinik geliştirme
3. Klinik geliştirme

Şekil 1.1. de moleküllerin sentezinden itibaren ilaç olarak piyasaya sürülene kadar geçirdiği aşamalar verilmiştir [12].



Şekil 1.1. İlaç Geliştirme Aşamaları

1.2.2.1. Etken Maddenin Bulunması

Etken maddenin bulunması aşağıda verilen üç başlık altında incelenmektedir.

1.2.2.1.1. Hedef seçimi

Keşif ve ilaç geliştirme safhalarından önce, geliştirilmesi düşünülen ilacın kullanılabileceği hastalık/hastalıklar/bulgular ile ilgili yeterli bilgi edinilmesi gereklidir. Bu çalışmalar sırasında hastalığın nedenleri, gelişimi, görülme sıklığı, topluma olan ekonomik yükü ilgili kurumlarla araştırılır.

Hastalığın nedenleri ve gelişimine yönelik araştırmalar, geliştirilmesi düşünülen ilaçla ilgili planların yapılmasına yardımcı olmaktadır. Bu bilgiler ışığında geliştirilecek ilaçla ilgili önemli stratejik kararlar alınabilir. Böylece bu ilacın aşağıdaki amaçlardan hangisine daha uygun olacağına karar verilir.

1. Hastalığın nedeninin elimine edilmesi,
2. Hastalık nedeni ile bozulan fizyolojik fonksiyonların yerine konulması,
3. Hastalığın olası yan etkilerinin önlenmesi,
4. Hastalığın belirtilerinin azaltılması.

Geçmişte, ilaç geliştirme programları genellikle in vivo yanıtın ölçülmesi temeline dayanıyordu. Günümüzde hedef proteinleri belirlemeden ilaç geliştirme programına

başlanması nadirdir. Bunun için de, biyolojik yanıt mekanizmasının çok iyi bilinmesi gerekmektedir.

1.2.2.1.2. Etken maddenin bulunması

Biyokimyasal hedef belirlendikten sonraki basamak etken bileşenin bulunmasıdır. Kimyasal sentez yolu ile ya da doğal kaynaklardan kazanılan, insan ve hayvan organizmasındaki hastalıkların engellenmesinde, geriletilmesinde, iyileştirilmesinde ve tanısında kullanılan, kimyasal yapısı ve özellikleri saptanmış olan maddelere ilaç etken maddesi denir.

Etken maddenin bulunması için ilk yaklaşım; hedef proteinin klonlanması; daha sonra hedef proteinin fonksiyonel aktivitesini ölçecek testlerin geliştirilmesidir. Yeni etken bileşen; bilinen moleküllerin modifikasyonu, doğal kaynakların rasgele taranması, biyolojik mekanizmaların ve kimyasal yapının anlaşılması, biyoteknoloji ve peptid/protein oluşturan genlerin klonlanması ile bulunur. Ancak, günümüz farmasötik endüstrisinde kombinatoryal kimya teknolojisi kullanımı eğilimi artmaktadır.

Bu teknoloji, reaksiyon ortamına konan çok sayıda farklı kimyasal maddenin karıştırılarak rasgele kombine olmaları sonucu, çok sayıda (binlerce) yeni kimyasal maddenin sentez edilmesidir. Kombinatoryal kimya; yüksek girip çıktılı tarama yöntemleri (high throughput) ile birlikte kullanılmaktadır. Bu; maddelerin otomatize tarama sistemleri kullanılarak farmakolojik etki taramalarından geçirilmesidir.

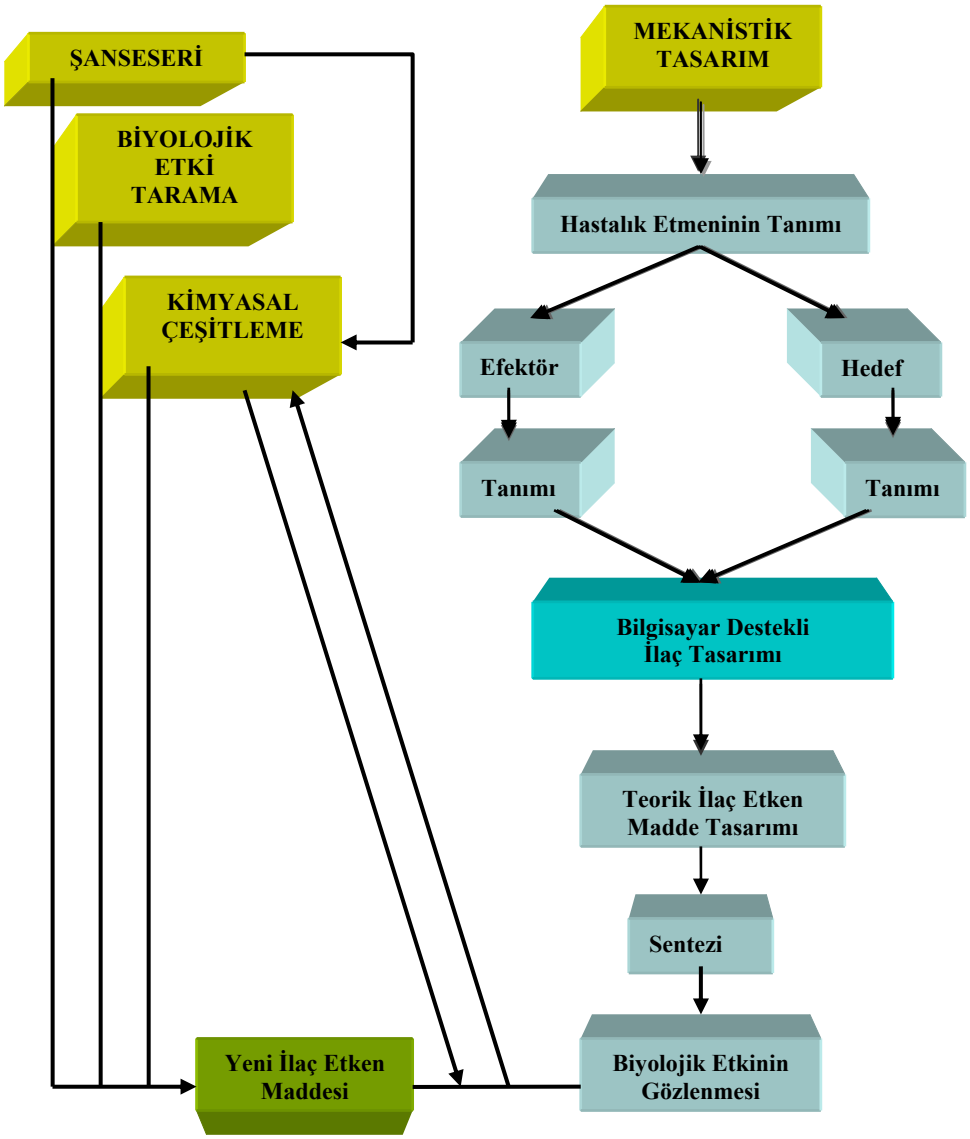
Şekil 1.2 de görüldüğü gibi ilaç etken madde tasarımı dört farklı şekilde yapılmaktadır.

Şans eseri bulma

Biyolojik tarama

Kimyasal çeşitleme

Mekanik tasarım



Şekil 1.2 Yeni İlaç Etken Maddesi Araştırma ve Geliştirme Yolları

İlaçlar bazen şans eseri ya da sezgi yardımı ile bulunabilir ancak ilaçların büyük kısmı hastalıkları tedavi etmek amacı ile yürütülen organize araştırmalar sonucu bulunmaktadır.

Biyolojik etki tarama yöntemi; Bu yöntemin amacı, araştırılan kimyasal yapılar arasında etkili olan bileşiği açığa çıkarmaktır. Bu yöntemde hedefin yapısı ve hastalığın mekanizması aydınlatılamaz ve çok fazla zaman, emek ve masraf kaybına neden olabilmektedir.

Kimyasal çeşitleme yöntemi; etkisi bilinen bir ilaç etken maddesi üzerinde etki değişikliklerini gözlemek amacıyla grup ya da atomlar üzerinde modifikasyonlar yapmaktır. Hedefin yapısı ile ilgili pek fazla bir bilgiye gereksinim duyulmamaktadır.

Mekanistik ilaç tasarımı; yönteminde ise tüm çalışmalar moleküler düzeyde gerçekleştirilir. Hastalıkla ilgili etmenin ve hastalık-hedef-efektör üçgenindeki ilişkilerle ilgili bilgilerin araştırılıp, tanımlanarak açıklığa kavuşturulması ve elde edilen verilerin yeni ilaç etken maddesi bileşiklerin tasarım çalışmalarında kullanılması esasına dayanır. Bu ilişkiler, kantitatif yapı-etki ilişkileri (Quantitative-Structure Activity Relantionship, QSAR) analiz teknikleri kullanılarak tanımlanır ve daha etkin moleküler yapılara ulaşmak için önermeler elde edilir. Günümüzde ideal ilaç tasarım yöntemidir [13].

1.2.2.1.3. Etken Maddenin Optimizasyonu

Bu adımda amaç, tarama ile bulunmuş olan etken maddenin, hedef üzerindeki potansiyelini arttırmaktır. Yani molekülün aktivitesini artıracak ve istenmeyen etkilerin iyileştirilmesini sağlayacak moleküler modifikasyonların yapılmasıdır. Ayrıca, selektivite, metabolik stabilite gibi özelliklerini de en elverişli hale getirmektir. Bu faz sonunda, bir veya daha fazla sayıda araştırma ilacı daha ileri geliştirme basamakları için hazırlar.

Bu amaç için önce molekülün farmakofor kısmı bulunur. Bu kısımda yapılan değişikliklerle molekülün reseptörle daha kuvvetli bağlar yapması sağlanır. Daha sonra etken madde için yapı-aktivite ilişkisi geliştirilerek uygun özelliklere sahip ilaç molekülüne ulaşılmaya çalışılır.

Etken maddenin optimizasyonunda kullanılan önemli yollar aşağıda verilen başlıklar altında toplanabilir.

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

Etken maddenin bulunması ve optimizasyonu için kullanılan yöntemleri kesin olarak ayırmak mümkün değildir. Çünkü bazı yollar her iki amaç içinde kullanılabilmektedir

1.2.2.2. Preklinik Geliştirme

Elde edilmiş olan etken kimyasal maddelerin, ilk olarak mutlaka klinik olmayan değerlendirme aşamalarından geçirilmeleri gerekmektedir. Klinik öncesi güvenlik değerlendirmeleri; hedef organlarda toksik etkilerin tanımlanması, doza bağımlılığı, maruz kalım süresi ile ilişkisi ve geri dönüşümlü olup olmadığının araştırılmasını içermektedir.

Preklinik çalışmalar farmakolojik testler, farmakokinetik incelemeler, toksisite deneyleri, kimyasal ve farmasötik geliştirme olmak üzere dört başlık altında incelenmektedir:

1.2.2.3. Klinik Geliştirme

Uygun bulunan etken maddeler klinik geliştirmede sağlıklı ve hasta gönüllüler üzerinde belirli protokollere göre incelenir. Klinik denemelerin amacı; araştırılan yeni ilacın terapötik etki sınırları içerisindeki maksimum etkinliğini, güvenliliğini ve aynı amaçla kullanılmakta olan ilaçlara göre üstünlüğü olup olmadığını kanıtlamaktır.

Araştırılan Yeni İlacın (Investigational New Drug-IND) klinik denemeleri dört dönemde (fazda) toplanmıştır [14].

Faz I denemelerinde, ürünle ilgili güvenilirlik verileri toplanır, doz aralığı saptanır, tolerans ve farmakokinetik özellikleri incelenir. Bu faza ait çalışmalar genellikle terapötik amaçlı değildir ve sağlıklı gönüllüler ile yürütülmektedir. Ancak toksik olduğu bilinen ilaçlar için (örn; sitotoksik ilaçlar) sağlıklı gönüllüler yerine, hastalar çalışmalara alınır. Maksimum tolere edilebilen doz bu faz çalışmaları ile saptanır. Faz II denemelerinde, ilacın etkinliği hastalarda belirlenir, yan etki profili araştırılır ve doz-cevap verileri toplanır. Etkililik ve güvenlilik inceleme dönemi de denir. Yürütülen bu fazda ayrıca, ilacın kısa süreli kullanımı ile ortaya çıkan en sık yan etkiler ve riskler saptanır. Bu faz çalışmalarının en önemli amacı, faz III çalışmalarında kullanılacak dozu ve doz intervallerini saptamaktır. Faz III denemelerinde, ürünün klinik etkinliği ve yan etkileri daha geniş bir hasta popülasyonunda değerlendirilir. Faz III klinik çalışmaları, IND nin ruhsatlandırılmadan önce insanlara uygulanmasının son evresidir. Bu çalışmalar ile IND nin ruhsatlandırılması için gerekli bilgiler sağlanır. Faz III çalışmaları ayrıca, doz-cevap ilişkisini, ilacın geniş popülasyonda ve hastalığın farklı dönemlerinde kullanımını veya diğer ilaçlarla kombinasyonunu da araştırır. Bu fazın ana amacı "etkinliğin kanıtlanması ve yan etkilerin izlenmesidir. Faz IV denemeleri,

ürün ilaç olarak kullanılmaya başlandıktan sonra yapılan klinik çalışmalardır. Bunlara genel olarak "postmarketing surveillance-pazarlama sonrası gözetim " çalışmaları adı verilir. Bu çalışmaların ana amacı "uzun süreli güvenilirlik" verilerinin toplanmasıdır. Ruhsatlandırma öncesi yapılan çalışmalar ile saptanamayan ve nadir görülen yan etkilerin ortaya çıkarılması; bilinen reaksiyonların görülme sıklığının gözlenmesi; risk faktörlerinin veya riskin ortaya çıkışını kolaylaştıran faktörlerin saptanması; piyasada bulunan diğer ilaçlar ile karşılaştırılması, uzun süreli kullanımda etkinliği ve hastanın yaşam kalitesi üzerine etkisini ve tedavide kullanılan klasik ilaçlar ile maliyet-etkililik analizlerinin yapılabilmesi amacıyla gerçekleştirilmektedir [14].

1.3. Bilgisayar-Destekli İlaç Tasarımı

1950 lerde başlayan bilgisayar teknolojisi, el hesap makineleri kullanılarak çok zor bir şekilde yapılan kuantum mekanik hesaplamalarını, shördinger denkleminin bilgisayar ile çözülmesi sonucunda çok kolay hale getirmiştir. Ancak o dönemlerde sadece birkaç atomlu küçük moleküllere uygulanabilen ab initio yöntemler ile hesaplamalar yapılıyordu. Daha sonrasında ise semiempirik moleküler orbiral teori ile çok büyük moleküller için de hesaplamalar yapılmaktadır. Aynı zamanda fizikokimyacılar tarafından geliştirilen empirik modelleme metodları ile büyük biyolojik sistemlerin üç boyutlu konformasyonel davranışları ve yapıları daha net olarak açıklanmıştır. Moleküler mekanik metod olarak adlandırılan bu metot ab initio ve semiempirik metotlardan çok daha hızlıdır. Ayrıca 1960 ve 1970 lerde fizikokimyacılar ilaç tasarımında, bileşiklerin lipofilik veya hidrofilik karakterini hesaplayan metodlar geliştirmişlerdir. Böylece günümüzde bilgisayar destekli ilaç tasarımı, (Computer-Assisted Drug Design, CADD) olarak adlandırılan ve ilaç geliştirme çalışmaları için kullanılan bir teknik ortaya çıkmıştır [15,16]. CADD ilaç olarak kullanılan biyolojik aktiviteye sahip bileşiklerin optimizasyonu, tasarımı ve araştırılması aşamalarını içeren bilgisayar destekli tekniklerin tümünü kapsamaktadır. İlk bilgisayar destekli, yapı bazlı ilaç tasarımı metotları 1980 lerin başında ortaya çıkmış olup ilk olarak Hammet eşitliği kullanılmış ve zaman içerisinde gelişim göstermiştir. Günümüzde ise gelişimi halen devam etmektedir [17].

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

kullanılmaktadır. Kimyacılar bilgisayar kullanarak sentezden önce ilaçların yapıları hakkında önbilgiye sahip olarak ilaçta istenen özellikleri belirleyip bu özelliklere uygun bileşiklerin sentezlerini gerçekleştirirler. Bu da para ve zaman kaybını önlemektedir.

Bilgisayar-destekli ilaç tasarım yöntemleri, deneysel yöntemler kullanılarak bir ilacın keşfinden ticari olarak satılmasına kadar geçen sürenin ve maliyetinin düşürülmesi amacıyla son yıllarda hem ilaç firmaları hem de üniversitelerde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

Bilgisayar-destekli ilaç tasarımında, ligand-temelli (ligand-based etki gösteren moleküllerin yapısından reseptör yapısının yorumlanması) ve yapı-temelli (structure-based bilinen reseptör yapısından hareketle etki gösterebilecek moleküllerin tasarlanması) olmak üzere iki temel yöntem bulunmaktadır. Eğer ilacın vücut içinde etkileştiği hedef protein yapısı bilinmiyorsa, QSAR (quantitative-structure activity relationship) gibi yöntemler kullanılırken, "Hedef protein" yapısı biliniyorsa Moleküler dinamik(MD), simulasyon (zamana karşı konformasyon analizi) ve Docking (protein-ligand kilitlenmesi) yöntemleri kullanılmaktadır.

Bilgisayar destekli ilaç tasarımı, ile 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) ile 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 olmaktadır [18]. Bilgisayar destekli 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 adlandırılan bu yöntemde klasik ve kuantum fizik eşitlikleri ile moleküllerin yapılarını sayısal ve görsel olarak gösteren bir bilim dalıdır. Bilgisayarlı kimya programlarında geometrik özellikler (bağ mesafesi, bağ açısı, torsiyon açısı), enerji parametreleri (oluşum enerjisi, aktivasyon enerjisi vb.), elektronik özellikler (dipol moment, yük, iyonizasyon potansiyeli, elektron affinitesi), spektroskopik özellikler (titreşim frekansları, kimyasal kayma) ve sterik özellikler (hacim, yüzey alanı, difüzyon, viskozite vb.) gibi parametrelerle moleküller üç boyutlu yapıda

tanımlanır. Bu yöntemle, etken madde veya analog tasarımı (etken maddeye yapısal olarak benzemesine rağmen farmakolojik etkisi kendi özelliklerinin sonucu olan bileşik tasarımı) yapılarak nasıl bir biyolojik aktivite göstereceğine karar verilir. X-ışınları kristalografisi gibi yöntemlerle ilacın moleküler şekli veya konformasyonu araştırılır [19].

2- Kalıp Tanıma (pattern recognition): Kalıp Tanıma, Makine Öğrenmesi'nin bir alt dalı olup, Görüntü İşleme'de girdi olarak alınan işlenmemiş bilgiyi inceleyip gelen verinin kategorisine göre işleme tabi tutmasıdır. Kalıplar ölçümlerin veya gözlemlerin genel gruplarını çok boyutlu uzayda tanımlanan uygun noktalarda sınıflandırır [20].

3- Kümeleme analizi (Cluster Analysis); n boyutlu veri matrisinde yer alan ve doğal gruplamaları kesin olarak bilinmeyen birimleri, değişkenleri ya da birim ve değişkenleri birbirleri ile benzer olan alt kümelere ayırmaya yardımcı olan yöntemler topluluğudur. Birimleri, değişkenler arası benzerlik ya da farklılıklara dayalı olarak hesaplanan bazı ölçülerden yararlanarak homojen gruplara bölmek amacı ile kullanılır. Kümeleme analizi karmaşık oluşumların bulunduğu hemen hemen tüm bilim alanlarında yararlanılan bir yöntemdir. Kalıp Tanıma ve Kümeleme analizi yöntemlerinin her ikisi de birçok parametre ile karakterize edilmiş çok sayıda bileşik içinden en uygun bileşiğe ulaşmak için gelişmiş istatistik ve bilgisayar yöntemlerinin kullanıldığı sayısal tekniklerdir [21].

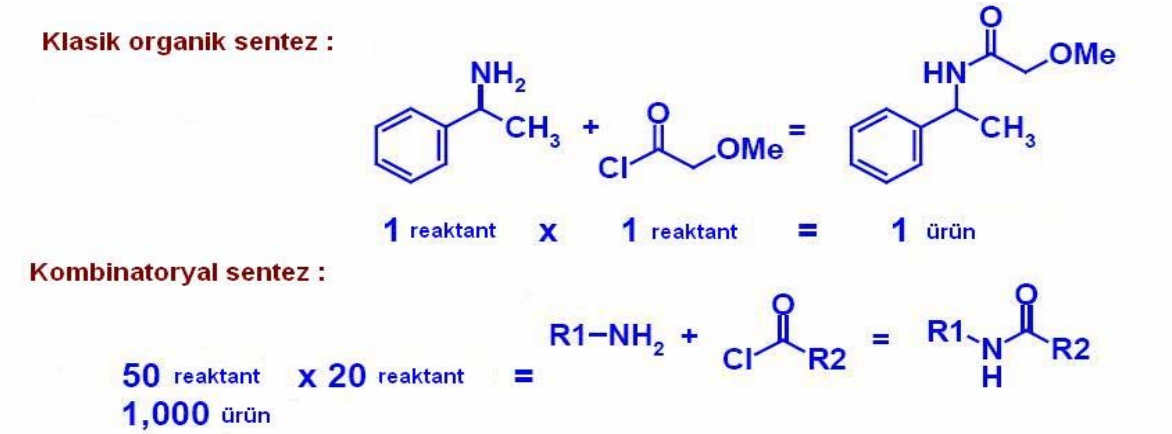
4- Reseptör Uyum veya Reseptör Tanımlama Yöntemleri: Çeşitli modern spektroskopik yöntemlerle reseptörle ilaç arasındaki ilişkilerin ve bu ilişkilerde hangi etkilerin fazla olduğu konularının incelenmesi ile reseptörle en iyi şekilde uyum sağlayacak molekülün tasarlanmasında elde edilen bilgilerin kullanılmasıdır.

1.3.1. Kombinatoryal Kimya

Kombinatoryal kimya, kimyasal yapıları benzer kombinatoryal kütüphane olarak adlandırılan çok sayıda bileşikten oluşur. Kombinatoryal kimya farmasötik kimya, agrokimya ve biyoteknoloji endüstrisinde akademisyen ve araştırmacılar tarafından geliştirilen, yeni ilaç geliştirme çalışmalarında maliyeti ve zamanı azaltan en önemli metotlardan biridir. İlaç olabilecek çeşitli bileşiklere sahip olmak için ilaç şirketleri, çok sayıda molekülü inceleyerek, önemli terapotik ve ticari değerlere sahip olan yeni çıkmış

bileşiklerin sayısını artırmaya çalışırlar. Bu amaçla bilim adamları, toplu halde taranan çok sayıda molekülü tasarlamak için kombinatoryal kimya metotlarını kullanırlar.

Kombinatoryal kimya, sistematik bilgi yönetimleri, rasyonel ilaç tasarımı yöntemleri ve klasik organik sentez tekniklerinin kompleks bir etkileşimini gerektirir. Geleneksel ilaç tasarımı yöntemi olarak kombinatoryal kimya organik sentez metodlarına bağlıdır. Aralarındaki farklılık ise kapsamlarıdır. Organik sentez metodları ile tek bir bileşik sentezlenirken kombinatoryal kimya ile Şekil 1.3 de gösterildiği gibi çok sayıda bileşik sentezlenebilir. Sentezleme işlemi için kombinatoryal kimya otomasyon işlemini kullanır.



Şekil 1.3 Klasik Organik Sentez Metodları ile Kombinatoryal Sentez Metodlarının Farkı

Sentezlenen çok sayıda molekülün hepsi aktif olamayacağından, bilim adamları moleküllerin çok büyük populasyonları içinden aktif olanları belirlemek için daha açık bir yola ihtiyaç duyarlar. Bu nedenle kombinatoryal organik sentez rasgele değildir, sistematik ve tekrarlıdır. Geleneksel ilaç tasarımı olarak kombinatoryal kimya teknikleri kimya, biyoloji ve ortak bilgilerin farklı özelliklerini birleştirdiğinden dolayı çok önemlidir [22].

1.3.2. Yüksek Üretimli Tarama (High Throughput Screening, HTS)

Yüksek üretimli tarama, HTS; tekniği kimya ve biyoloji ile ilgili alanlarda ve özellikle ilaç tasarımında kullanılan bilgisayarlı bir yöntemdir. İlaç olarak kullanılabilecek milyonlarca bileşiğin kimyasal yapılarının araştırılması ve aktivitesinin denenmesi için kullanılır, oldukça hızlı bir yöntemdir. HTS son yıllarda farmasötik kimya endüstrisinde yeni ilaçların araştırılması için bir kaynak olmuştur. Çok sayıda bileşiğin bu yöntemle taranması ile zamandan ve maliyetten tasarruf edilir [23]. Günümüzde kullanılan birçok

ilaç bu yöntem ile geliştirilmiştir. Bunlardan bazıları penisilin ve sefalosforin gibi antibakteriyel ilaçlar, aktinomisin ve paclitaxel gibi antikanser ilaçları, siklosporin ve FK-506 gibi bağışıklık sistemi ilaçları, mevinolin ve antiparasitik gibi kolesterol düşürücü ilaçlardır.

1.4. 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. Günümüzde hala etkili bir tedavisi bulunamamıştır. Günümüzde 8000 insan AIDS hastalığından ölmüştür ve gelecek 20 yıl içinde 100 milyon insanın AIDS hastalığından etkileneceği de tahminler arasında yer almaktadır. Dünya Sağlık Örgütü 2001 de her gün 14000 insanın bu hastalığa yakalandığını tahmin etmektedir. Sağlık Bakanlığı'nın son 10 yıllık araştırmasına göre, Türkiye'de bildirilen AIDS vaka ve taşıyıcılarının yıllara göre dağılımı Tablo 1.1 de verilmiştir [24-27].

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 olabilmektedir. İnsan vücuduna bir defa HIV virüsü bulaşmışsa artık bu virüsün hiçbir şekilde yok edilmesi ya da vücuttan atılması mümkün değildir. AIDS hastalarının yarısından çoğu bağışıklık sistemlerinin etkisiz hale gelmesi yüzünden basit enfeksiyonlara yenilerek hayata veda etmişlerdir. Tablo 1.1 de Türkiye'de bildirilen AIDS vaka ve taşıyıcılarının yıllara göre dağılımı verilmiştir.

Tablo 1.1 Türkiye'de Bildirilen AIDS Vaka ve Taşıyıcılarının Yıllara Göre Dağılımı

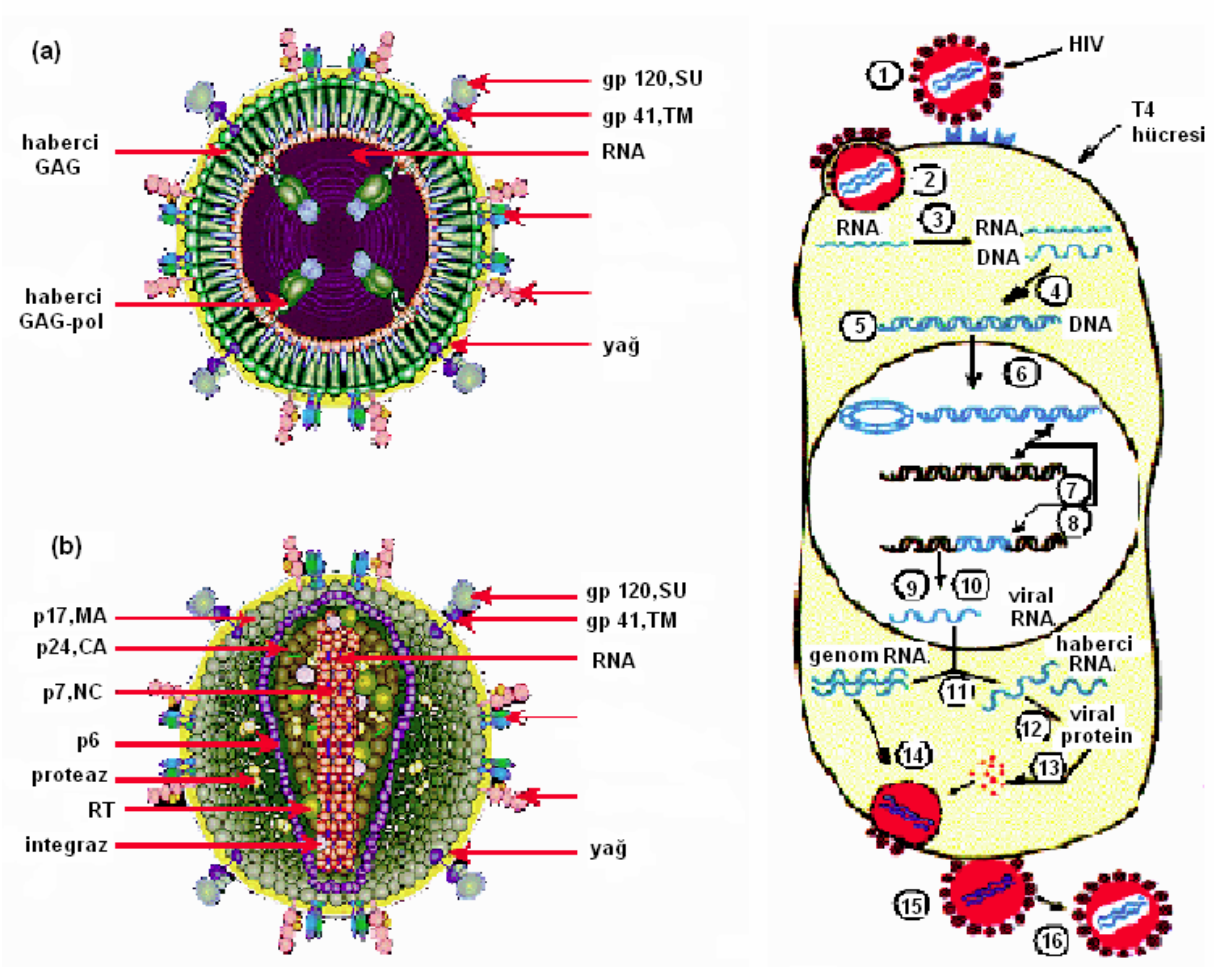
yıllar	vaka	taşıyıcı	toplam
1985	1	1	2
1986	2	3	5
1987	7	27	34
1988	9	26	35
1989	11	20	31
1990	14	19	33
1991	17	21	38
1992	28	36	64
1993	29	45	74
1994	34	52	86
1995	34	57	91
1996	37	82	119
1997	38	105	143
1998	29	80	109
1999	28	91	119
2000	46	112	158
2001	40	144	184
2002	48	142	190
2003	52	145	197
2004	47	163	210
2005	37	295	332
2006 (ilk 6 ay)	24	134	158
Toplam:	612	1800	2412

1.4.1. HIV Nedir ve İnsan Vücudunu Nasıl Etkiler

AIDS'e neden olan virüs ilk defa 1981 yılında Dr.Luc Montagnier tarafından bulunmuştur. Daha sonra Paris Pasteur Enstitüsündeki bilim adamları virüs üzerinde çeşitli araştırmalar yaparak, virüse Lymphadenopathy-AssociatedVirüs (LAV) adını vermişlerdir. 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 [24].

AIDS hastalığına sebep olan HIV virüsü, insan hücresi DNA sını kendi RNA sına dönüştürdüğü için, lentivirüs ailesine mensup bir retrovirüs tipi olarak bilinir. Retrovirüsler 90-120 nm çaplı, etere duyarlı, çift kopyalanmış tek sarmal RNA

çekirdeğine sahip (genom) virüslerdir. 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.



Şekil 1.4. Solda: HIV-1 Virüsünün Yapısı (a) Olgunlaşmamış ve (b) Olgunlaşmış.
Sağda: HIV in İnsan Hücresindeki Yaşam Süreci

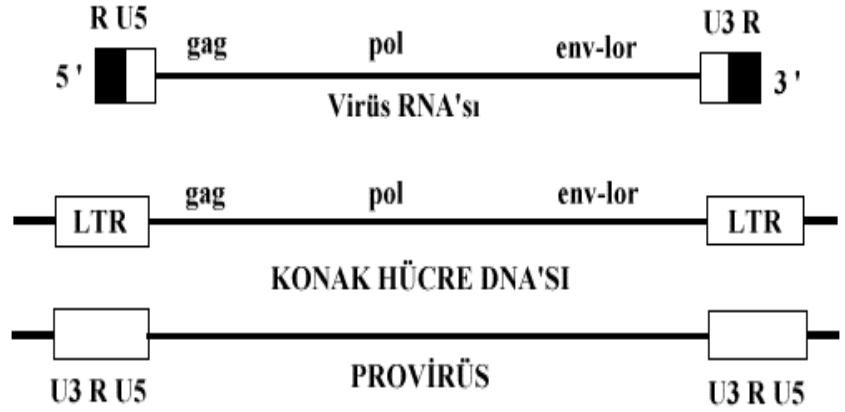
HIV, %10 hipoklorit, %50 etilalkol ve %0.3 H_2O_2 çözeltisi ile 10 dakikada inaktive olur. Kuru proteinli yapılarda, albumin gibi liyofilize kan ürünlerinde inaktive olmaları daha zordur (3 gün 68°C). Şekil 1.4 den görüldüğü gibi, HIV virüsünün en dış bölgesinde lipid yapılı gp120 ve gp41 olarak adlandırılan iki ana viral glikoprotein içeren ve maturasyon (olgunlaşma) sürecinde hücreden ayrılan çift katlı yağımsı bir tabaka vardır. HIV virüsünün bütünlüğünü sağlayan ve viral yapının şeklini veren membrana bağlı olan bir protein içerir. Bu protein HIV hücresinde p24 proteinini içeren silindir karakterli çekirdeğin çevresindedir. Çekirdeğin içinde iki özdeş RNA zinciri

vardır ve bu iki zincir tek sarmal halindedir. Viral RNA, p15 proteaz enziminin bileşenleri, p12 integraz proteini, p9 nükleoproteini ile ilgili olan ve viral RNA'dan proviral DNA'nın sentezlenmesinden sorumlu olan, Reverse Transkriptaz olarak adlandırılan DNA polimeraz enzimine bağlıdır.

Genomda Long Terminal Repeate (LTR) segmentlerinin içerdiği Gag, Pol ve Env genlerinin etkinlikleri önemlidir. Gag bölgesi nükleotid proteinlerinin sentezinden sorumludur. Protein55 denen öncü kor peptidinden; proteaz enziminin etkisi ile kor proteinleri (p7, p9), matriks proteini p17 ve p24 yapısal proteini oluşumunu sağlar. Pol bölgesi, reverse transkriptaz enziminin sentezinden sorumludur ve viral proteaz ve endonükleaz'ı kodlar. Env bölgesi, glikoprotein zarfının sentezinden sorumludur. 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 [25,29].

HIV virüsünün girişi, virüs dış çeperi proteini gp120 nin vücut hücrelerindeki CD4 reseptörlerine bağlanması ve transmembran gp41 proteininin aracılığı ile olur. Her iki protein de gp160 proteinin proteolitik parçalanmasından oluşur. CD4 reseptörleri özellikle yardımcı ve indükleyici olan T lenfositlerinin yüzeyinde bulunan proteik moleküllerdir [30]. HIV virüsünün ilk hedefi CD4+T yardımcı hücresi (AKYUVAR) adı verilen beyaz kan hücreleridir. Akyuvarların görevi bağışıklık sistemini yöneterek istenmeyen organizmalara karşı vücudu korumaktır.

HIV, hedef hücre olan CD4+ T lenfositlerine gp120'sinin Peptid bağı ile bağlanır. İkinci basamakta ise, hücre membranı ve virüs arasındaki füzyon ile hücre içine girer. Füzyon HIV genomik RNA sı ve gp41 proteini arasında ortaya çıkar. Zarfını kaybeden virüsün kor içeriği hedef hücre stoplazmasına yayılır. RT enzimi etkileşimde kilit rol oynar. RT ve genomik RNA, DNA halkasına girer ve böylece çift sarmallı lineer veya sirküler formda DNA kopyalarını yaptırır. 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 1.5. Virüs RNA sı İle Konak Hücre DNA sından Provirüs Oluşumu.

Şekil 1.5. de 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 [31].

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.

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 [32] ve HIV-1 proteaz, (HIV-1 PR), enzimi anti-HIV ilaçlarının geliştirilmesi için ilk hedeftir [33]. Bu nedenle, Reverse Transcriptase ve Proteaz enzimi inhibitörleri ile ilgili çalışmalar son yıllarda çok büyük önem ve hız kazanmıştır. Ayrıca gp120 proteinin aktif durumdaki üç boyutlu yapısının aydınlatılması da AIDS aşılarının geliştirilmesi için çok önemlidir.

Virüsün etkilerine engel olmak için bir takım ilaçlar geliştirilmiştir ve HIV ilaçları 5 farklı sınıfta incelenmektedir. Bunlar sıra ile giriş inhibitörleri, integraz inhibitörleri, proteaz inhibitörleri, bağlanma ve gelişme inhibitörleri, reverse transcriptase inhibitörleridir. Bu ilaçların birkaç tanesi birlikte alındığında, HIV hastası birçok kişide uzun süre boyunca virüsün yeniden oluşmasını yavaşlatabilir veya neredeyse durdurabilir.

Giriş inhibitörleri: Giriş inhibitörleri HIV ilaç sınıfında en yeni gruptur ve virüsün hücreye girişini engeller. İki farklı türü vardır. Bunlardan birincisi chemokine engelleyiciler ve ikincisi ise füzyon inhibitörleridir. Giriş inhibitörleri sınıfında kullanılan patentli ilaçlar ve etken maddeleri Fuzeon (enfuvirtide, ENF, T-20), Selzentry (Celsentri, maraviroc, UK-427,857), Vicriviroc (SCH-417690, SCH-D), PRO 140, TNX-355 şeklindedir.

İntegraz İnhibitörleri: Bu ilaçlar HIV virüsünün integraz enzimine müdahele eder. Bu tür ilaçlar vücut hücresindeki genetik yapı üzerine HIV virüsünün kendi genetik materyalini yerleştirmesini engeller. Böylece HIV virüsü çoğalamaz. Günümüzde iki farklı integraz inhibitörü ilaç bilinmektedir. Bunlar Isentress (raltegravir, MK-0518) ve Elvitegravir (GS-9137) dir ve bu konudaki çalışmalar devam etmektedir.

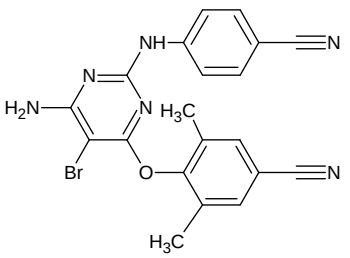
Proteaz İnhibitörleri: Bu ilaçlar HIV'in kendisini kopyalamak için kullandığı proteaz enzimine müdahele ederek HIV virüsünün yeniden oluşmasını önler. HIV insan vücuduna enfekte olduktan sonra DNA hücrelerinde kendi genetik materyalini oluşturur ve böylece HIV in yeni kopyaları ortaya çıkar. HIV in genetik materyali bir kere T hücrelerinin DNA sına girerse genetik materyalinin uzun bir zincirini oluşturur. Proteaz enzimi yeni oluşturulan protein zincirlerini küçük parçalara ayırır. Bu küçük parçalar daha sonra yeni virüsler oluşturmak için kullanılır. Proteaz inhibitörleri bu enzimin etkisini ve yeni virüs oluşumunu önlerler. Günümüzde kullanılan proteaz inhibitörleri

Agenerase (amprenavir, APV), Aptivus (tipranavir, TPV), Crixivan (indinavir, IDV), Invirase (saquinavir, SQV), Kaletra (Aluvia, lopinavir/ritonavir, LPV/r), Lexiva (Telzir, fosamprenavir, FPV), Norvir (ritonavir, RTV), Prezista (darunavir, DRV), Reyataz (atazana), Viracept (nelfinavir, NFV) dir.

Bağlanma ve Gelişme İnhibitörleri: Bu tür ilaçlar yeni virüs parçacıklarının çoğalmaması için HIV in vücuttaki yaşam sürecinin son adımına müdahale eder. CD4 hücrelerinin dışında yeni virüslerin gelişmesini engellerler. Henüz bu tür bir ilaç geliştirilmemiştir ancak birkaç aday ilaç üzerinde çalışmalar devam etmektedir.

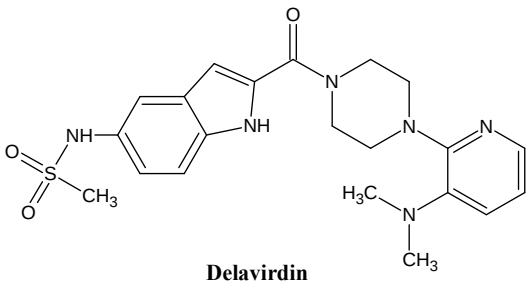
Reverse Transcriptase İnhibitörleri: Bu tür ilaçlar viral RNA dan poliviral DNA oluşumundan sorumlu olan HIV-1 Reverse Transcriptase, (HIV-1 RT), enzimine müdahale ederler. Reverse Transcriptase İnhibitörleri bilinen en eski HIV ilaçlarıdır. 3 farklı tipte Reverse Transcriptase İnhibitörleri ilaçları vardır.

Non-Nükleosid Reverse Transcriptase İnhibitörleri (NNRTIs): NNRTI olarak kullanılan ilaçlar ve bunların etken maddeleri; Intelence (etravirine, TMC-125), Rescriptor (delavirdine, DLV), Sustiva (Stocrin efavirenz, EFV), Viramune (nevirapine, NVP), Rilpivirine (TMC-278) şeklindedir. Bu ilaçların etken maddelerinin kimyasal yapıları Şekil 1.6 da verilmiştir.



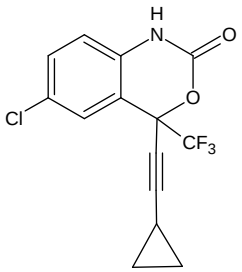
Etravirin

4-({6-amino-5-bromo-2-[(4-siyanofenil)amino] primidin-4-il}oksi)-3,5-dimetilbenzonitril



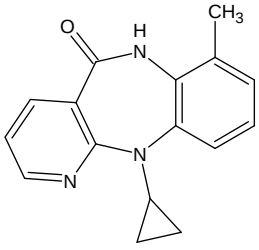
Delavirdin

N-(2-(4-(3-(1-metiletilamino)pridin-2-il)piperazin-1-il karbonil-1H-indol-5-il)metanilsülfonamit



Efavirenz

6-kloro-4-(siklopropiletinil)-4-(triflorometil)-1,4-dihidro-2*H*-3,1-benzoksazin-2-on

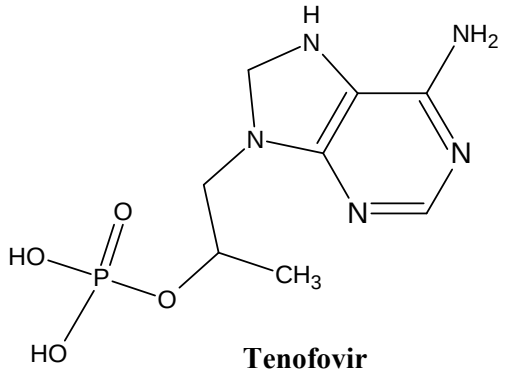


Nevirapin

11-siklopropil-7-metill-6,11-dihidro-5*H*-prido[2,3-*b*][1,5]benzodiazepin-5-on

Şekil 1.6. NNRTIs İlaçlarının Etken Maddeleri

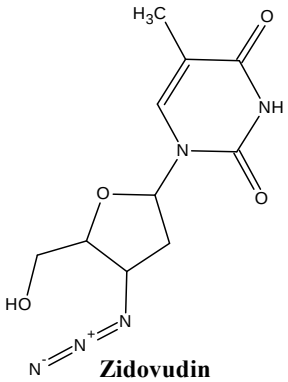
Nükleotid Reverse Transcriptase İnhibitörleri: Bilinen tek nükleotid reverse transcriptase inhibitörü Viread (tenofovir) dir ve etken maddesi Şekil 1.7 de görülmektedir.



Tenofovir

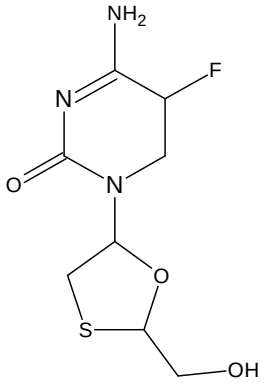
Şekil 1.7 Nükleotid Reverse Transcriptase İnhibitörünün Etken Maddesi

Nükleosid Reverse Transcriptase İnhibitörleri (NRTIs): NRTI olarak kullanılan ilaçlar ve bunların etken maddeleri;Combivir (zidovudine + lamivudine, AZT + 3TC), Emtriva (emtricitabine, FTC), Epivir (lamivudine, 3TC), Epzicom (Kivexa, abacavir + lamivudine, ABC + 3TC), Retrovir (zidovudine, AZT, ZDV), Trizivir (abacavir + zidovudine + lamivudine, ABC + AZT + 3TC), Truvada (tenofovir DF + emtricitabine, TDF + FTC), Videx & Videx EC (didanosine, ddI), Viread (tenofovir disoproxil fumarate, TDF), Zerit (stavudine, d4T), Ziagen (abacavir, ABC), Racivir (RCV), Amdoxovir (AMDX, DAPD), Apricitabine (SPD754, AVX754), Elvucitabine (ACH-126,443, Beta-L-Fd4C) şeklindedir [34]. Bunlardan ilk olarak kullanılan ve en çok bilinen AZT (Zidovudine-3'-azido-2', 3'-dideoksitimidin) adı verilen etken maddedir. Bu ilaç virüsün çoğalmasını engellemektedir. AZT AIDS virüsünün meydana getirdiği belirtilerin görülmesini engellemekte ve AIDS'li hastanın yaşamının kısmen de olsa uzamasını sağlamaktadır. Şekil 1.8 de etken maddelerin kimyasal yapıları verilmiştir.



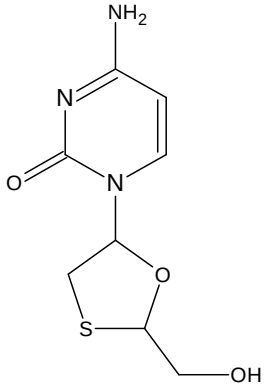
Zidovudin

1-[4-azido-5-(hidroksimetil)tetrahidrofuran-2-il] -5-metilprimidin-2,4(1*H*,3*H*)-dion



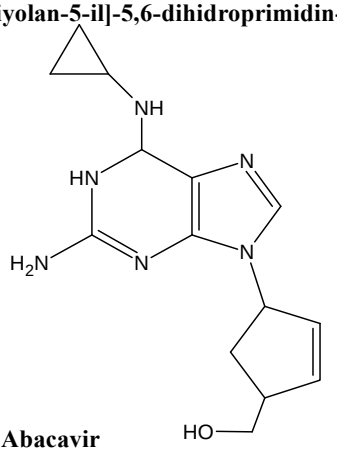
Emtricitabin

4-amino-5-floro-1-[2-(hidroksimetil)-1,3-oksatiyolan-5-il]-5,6-dihidroprimidin-2(1*H*)-on



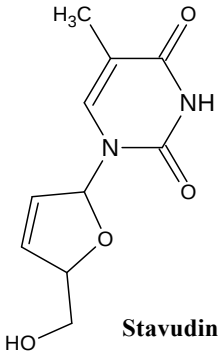
Lamuvidin

4-amino-1-[2-(hidroksimetil)-1,3-oksatiyolan-5-il]primidin-2(1*H*)-on



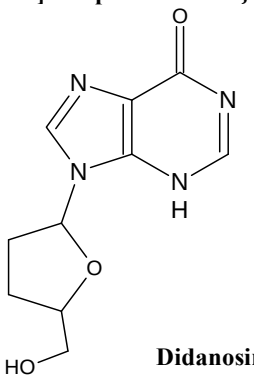
Abacavir

{4-[2-amino-6-(siklopropilamino)-1,6-dihidro-9*H*-purin-9-il]siklopent-2-en-1-il}metanol



Stavudin

1-[5-(hidroksimetil)-2,5-dihidrofuran-2-il] -5-metilprimidin-2,4(1*H*,3*H*)-dion



Didanosin

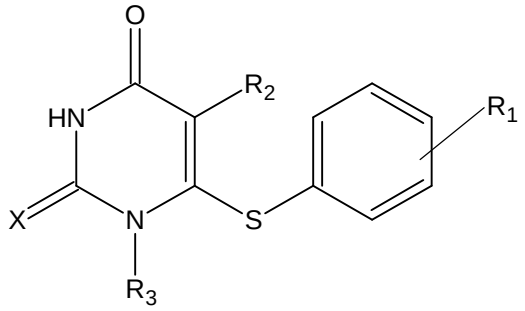
9-(5-(hidroksimetil)oksolan-2-il)-3H-purin -6-on

Şekil 1.8. NRTIs İlaçlarının Etken Maddeleri

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.

Görüldüğü gibi bileşiklerin birçoğu primidin türevidir. Bu nedenle bu çalışmada bir primidin türevi olan 1-[(2-hidroksietoksi)metil]-6-(feniltiyo)timin (HEPT) bileşikleri incelenmiştir [35,36].

Kimyasal yapısı Şekil 1.9 da verilen HEPT bileşikleri doğal maddelerin analoglardır. HEPT türevleri DNA-polimeraz enzimine bağımlı DNA ve RNA nın bağlanma bölgeleri ile etkileşmez. Bu ligantların yan etkileri belirlenmemiştir. HEPT ligantları enzimin sterik engelli bölgelerine bağlanmazlar ve bu da substrat ile bağlanmayı doğrudan etkilemez. Gerçekten NNRTI, serbest enzim molekülünden çok ligant-enzim kompleksine bağlanmak için daha yüksek bir affiniteye sahiptir. HEPT ligandı ile enzim etkileşimi enzimatik konformasyonel değişikliklere yol açar ve bunun anlamı enzimin aktif kısmının affinitesini azalmasıdır. Bu özellik sadece HIV-1 RT enzimine özgüdür. HEPT bileşikleri diğer retrovirüslere ve HIV-2 virüsüne karşı inaktiftir.



Şekil 1.9. HEPT Türevlerinin Kimyasal Yapısı

2. BÖLÜM

QSAR METOTLARI

Modern kimyanın en önemli problemlerinden biri; belirli bir hastalığa iyi geldiği bilinen bir ilacın biyoalıcılar ile etkileşim mekanizmasının nasıl olduğunu açıklayamamasıdır. 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 biyomoleküller üç boyutlu olarak ele alınıp elektronik özellikleriyle aktivite değerleri bulunmuş ve bu çalışmalar 3D QSAR olarak adlandırılmıştır. QSAR yaklaşımlarındaki tüm gelişmeler hızlı bilgisayarların 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.

Bu bölümde ilaç tasarımının temelini oluşturan Hansch analizi, Free Wilson Analizi ve QSAR çalışmalarında kullanılan çeşitli metotlar ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

2.1. Yapı Aktivite İlişkisi (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.

2.2. Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi (QSAR)

Kantitatif yapı aktivite ilişkisi, QSAR, biyolojik aktiviteyi kimyasal yapı ile açıklamaya çalışan kantitatif regresyon modelidir yani bir molekülün farmakolojik, toksikolojik ve biyolojik aktivitesinin kantitatif tahminini yapar. QSAR ve ilgili metodlar kimya, biyoloji ve toksikoloji bilimlerini de içine alan bilimsel uygulamalara başvurur. QSAR metodunun, hem çevresel toksikoloji hemde ilaç tasarımı uygulamalarında, test edilmemiş kimyasal maddelerin biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi ve sınıflandırılması için kullanılan, bilimsel olarak güvenilir bir metod olduğu kabul edilir. QSAR farmasotik endüstrisinde ilaç tasarımından optimizasyonuna kadar her aşamada çok gerekli ve değişmez bir araç olmuştur [37,38].

Aslında 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.).

$$\Phi = f(C) \tag{2.1}$$

Çoğu organik bileşiğin yapısı eskiden tam olarak bilinmediği için, bu ilişki kullanılarak diğer örneklerin aktivitesi açıklanamıyordu. Fakat bugün ilaç moleküllerinde bulunan bütün atomların ayrıntıları, hatta çoğu durumda bağlanma bölgesinin üç boyutlu yapısı bile bilinmektedir. 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) ya da moleküler özelliklerdeki değişim göz önüne alınarak (Hansch analizi) doğrudan ilişkilendirilebilir. Bu ilişki aşağıda verilmiştir.

$$\Delta\Phi = f(\Delta C) \tag{2.2}$$

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. Aynı zamanda 1984 de E. Fischer farklı enzimler ile glikozitlerin hidrolitik bölünmesini araştırdı ve anahtar-kilit modelini öne sürdü [39].
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. 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 [40].

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.

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

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 ya da ClogP, LUMO ve HOMO enerjisi ve yük gibi teorik olarak hesaplanan değerlerden elde edilebilir.

Hansch ve grubu, hidrofobik ilaçlar ve biyolojik aktivite arasında parabolik bir ilişkinin olduğunu ortaya çıkararak QSAR analizinde kullanmışlardır [41]. İlacın 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, ($\Pi_X = \log P_{RX} - \log P_{RH}$) 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 [42].

$$P\sigma = \log K_{RX} - \log K_{RH} \qquad (2.7)$$

$$P\sigma = \log k_{RX} - \log k_{RH} \qquad (2.8)$$

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.

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

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 [38]. 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.

2.2.2. 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 [43].

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 [44]. Free Wilson analizinde biyolojik aktivite aşağıdaki formül ile hesaplanır.

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

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 ya da 0 değerlerini kullanır. Başka bir deyişle, Free Wilson analizi Hansch analizinden daha sınırlıdır [38].

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 [44].

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.

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

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

Eşitlik için hiçbir sınırlama yoktur.

2. Her bir pozisyondaki grup katkıları referans bileşiğe dayanır.

Sabit terim μ en küçük kareler yöntemi ile hesaplanır ve substitue olmamış bileşik için değeri teorik olarak bulunur. Bir bileşiğin dışarıda bırakılması ya da hesaba katılması grup katkıları değerini önemli derecede etkilemez.
Bu avantajlar nedeni ile Fujita-Ban metodu Free-Wilson metodundan daha iyidir [43].

2.2.3. 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 [45].

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

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 [45].

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.

2.2.4. QSAR Teknikleri

QSAR teknikleri iki temel bölümde incelenir. Bunlardan ilki klasik Hansch tipi analizi içeren 2D-QSAR ve CoMFA gibi teknikleri içeren 3D-QSAR yöntemleridir. QSAR genel olarak üç adımdan oluşur.

1- kimyasal bir serinin seçilmesi
2- biyolojik aktivite ile kimyasal yapı arasındaki ilişkiyi ortaya çıkaracak değişkenlerin belirlenmesi
3- kimyasal yapının değişimi ile biyolojik aktivitenin nasıl değiştiğini gösterebilmek için istatistiksel metodların kullanılması

QSAR metodlarından iyi bir sonuç elde etmek için üç adımın her birinin uygulanması birkaç faktöre bağlıdır ki bunlardan biri training (deneme) seti dışındaki kimyasal serilerin aktivitesinin de tahmin edilmesidir.

2.2.4.1. Kimyasal Bir Serinin Seçilmesi

Daha önceden biyolojik aktivitesi deneysel olarak belirlenmiş, kimyasal yapısı tanımlanmış bir seri bileşik seçilir.

2.2.4.2. Değişken Seçimi

Klasik Hansch tipi uygulamalar en çok substituentlere ait özellikleri kullanırken, aynı zamanda yük gibi atomik özellikleri, orbital enerjisi, logP, molar refraktivite gibi moleküler özellikleri de kullanır. Değişkenler güçlü bir model elde etmek için çok dikkatli seçilmelidir. Bu durum ancak QSAR çalışmalarında kullanılan moleküler

değişkenlerin çok çeşitli olması ile açıklanabilir. Ek olarak, değişkenlerin değerleri deneysel olarak belirlenmeli veya hesaplanmalıdır. Klasik QSAR çalışmalarında kullanılan değişkenler seçimi ve hesaplanması çok zaman alan bir prosestir. Kimyasal yapıyı tanımlayan değişkenlerin birçoğu bazı ticari programlarla elde edilebilir. Bu ticari programlardan ikisi CODESSA ve DRAGON programlarıdır. Bu programların her ikisi de topolojik, geometrik, yapısal, termodinamik, elektrostatik ve kuantum mekaniksel özellikleri hazırlamaktadır. Ancak CODESSA programı ile bu değişkenleri elde edebilmek için GAUSSIAN VE AMPAC output dosyalarını kullanırken, DRAGON programı Sybyl, Molfiles, Multiple SD, HyperChem, SMILES. MacroModel output dosyalarını kullanır. bu programlarda sadece bir bileşiğin en düşük enerjili bir konformerini dikkate alarak parametreler hesaplanmaktadır. Halbuki bir bileşiğin yüzlerce konformeri olduğu için diğer konformerlerin moleküler parametrelerini hesaplayamamaktadır. GAUSSIAN, AMPAC, SYBYL, MOLFILES, MULTIPLE SD, HYPERCHEM, SMILES gibi programlar konformer hesabını yapamamaktadır. Bu nedenle CODESSA ve DRAGON programları sadece bir bileşiğin bir konformeri ile ilgili parametreleri hazırlamaktadır. Spartan (WAVEFUNCTION INC. 2006) paket programı ise MonteCarlo yöntemine göre bileşiklerin konformer hesaplarını yapabilmekte relatif olarak enerjilerini hesaplayabilmektedir. Bu nedenle spartan programı çalışmalarımız için en iyi programlardan biridir. CODESSA ve DRAGON programlarını bileşiklerin bütün konformerlerini hesaplamaya dahil ettiğimiz için kullanamadığımızdan moleküler parametreleri hazırlamak için ve ayrıca kendi ülkemizde kendi yazılımlarımızı geliştirilmesine katkıda bulunmak için çalışma grubumuz tarafından EMRE 1.2 adı verilen bir program geliştirilmiştir. Geliştirilen bu program ise her birinin output dosyaları farklı olan SPARTAN 02, SPARTAN 04 ve SPARTAN 06 programlarının output dosyalarını kullanmaktadır. EMRE 1.2 programının diğer iki programa göre üstünlüğü ise hem matris, hem de farmakofor grup belirlendikten sonra farmakofor düzlemine moleküldeki en uzak atomun dik uzaklığı, farmakofor düzlemi ile iki atom arasındaki açı, atomlar arası açı, torsiyon açısı ve van der waals yarıçapı gibi çeşitli özellikleri de hazırlamasıdır. Maliyeti ise verilen diğer iki programdan daha düşük olmakla beraber bu yazılımı geliştirmek amacı ile yeni özellikler üzerinde çalışılmaktadır.

İstatistiksel olarak güçlü bir model elde edilmesi yapı aktivite ilişkisinin değişimini açıklayan değişkenlerin ne kadar iyi seçildiğine bağlıdır. Kimyasal bileşiklerin biyolojik

mekanizması hakkında daha çok bilgiye sahip olan kimyacılar özel moleküler değişkenleri daha iyi seçebilirler.

2.2.4.3 İstatistiksel Metodlar

Yapı-aktivite ilişkisinin uygun korelasyonunu geliştirmek için seçilen QSAR metodu oldukça önemlidir. Buna rağmen moleküler değişkenler ile biyolojik aktivite arasındaki ilişki lineer olabilir ya da olmayabilir. Günümüzde QSAR modelinde en küçük kareler yöntemi (PLS) ile çoklu lineer regresyon (MLR) kullanılır. Biyolojik aktivite hesaplamalarında karşılaşılan en yaygın problem değişkenlerin sayısının bileşiklerin sayısını aşmasıdır. Hesaplama sonunda kalan parametre sayısının bileşik sayısını aşmaması istatistiksel hesaplamalarda önemlidir [38, 47].

Başlangıçta QSAR olarak ortaya çıkan bu metot zamanla gelişim göstererek aşağıda verilen yeni QSAR metotları şeklinde uygulama alanı bulmuştur.

2.2.5. 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 [38, 48].

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 değişkenleri sadece iki boyutlu yapıda tanımlanırlar, aksine üç boyutlu değişkenler kimyasal yapının üç boyutlu yapısını gerektirir. Fizikokimyasal parametreler is etek bir değere sahiptir ve molekülün tamamının özelliklerini karakterize eder.

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 [38, 39].

2.2.6. 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. Diğer sınırlamalardan biri ise molekül bazlı ilaç tasarımı için fiziksel organik kimyada önemli bilgilere ihtiyaç duyar ve sonuçlar etkileşimleri açıklayabilmek için grafiksel olarak değerlendiremez. 3D QSAR metodunu savunan kişiler bu metodun, klasik QSAR metodlarının sınırlamalarının üstesinden geldiğine inanırlar. 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 [41].

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 [49].

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 ya da 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 [41].

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.

2.2.6.1 Karşılaştırmalı Moleküler Alan Analizi (CoMFA)

1979 da Cramer ve Milne molekülleri karşılaştırmak için uzayda molekülleri üst üste çakıştırarak üç boyutlu olarak incelemişlerdir. Bunu izleyen yıllarda bu yaklaşım CoMFA (Comparative Molecular Field Analysis) 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, 50].

Aktivitenin doğrudan sistemin yapısal özellikleri ile ilgili olduğunu kabul eden CoMFA metotları 3D yapı-aktivite ilişkilerini kantitatif anlamda açıklar. Bu amaçla ilk olarak CoMFA modelini oluşturmak için analizde kullanılacak olan molekül seti seçilerek üst üste çakıştırılır. 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 [50].

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 [41, 51].

PLS analizlerinden alınan datalar kullanılarak CoMFA haritaları düzenlenir. Bu haritalar analizdeki bileşiklerin elektrostatik ve sterik özelliklerini açıklamakta kullanılır. Daha yüksek özellik değerlerine sahip olabilecek yeni bileşikleri önermeye yardımcı olan bu haritalar, bütün moleküller için ortak olan Pha'i göstermezler [52].

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 [53].

2.2.6.2 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 [54].

2.2.6.3. Moleküler Şekil Analizi (MSA)

Hopfinger ve çalışma 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 [41].

2.2.6.4. Karşılaştırmalı Moleküler Şekil Analizi (CoMSIA)

Karşılaştırmalı Moleküler Şekil Analizi olarak adlandırılan ve Gerard Klebe tarafından geliştirilen CoMSIA, (Comparative Molecular Shape Indices Analysis) 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 [55]. Klasik CoMFA metoduna benzer olarak CoMSIA yaklaşımından elde edilen 3D-QSAR metodu aşağıda verilen üç basamakta özetlenebilir.

1. İlk olarak, incelenen bütün moleküller yapı bazlı ya da alan bazlı olarak 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 ya da akseptör özelliği terimleri ile açıklanır. Mesafeye bağlı Gaussian tipi fonksiyon fizikokimyasal özelliklerin farklı türlerini hesaplamak için kullanılır. İndeks, $A_{EK,}$ ilgilenilen bileşikler ve prob atom arasında aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanır.

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

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 [56].

CoMFA ve CoMSIA metodlarına ek olarak, moleküler düzenlenmenin (moleküllerin üst üste çakıştırılmadığı) kullanılmadığı COMMA, WHIM ve EVA gibi yeni 3D-QSAR teknikleri geliştirilmiştir [41].

2.2.6.5. Karşılaştırmalı Moleküler Moment Analizi (CoMMA)

Karşılaştırmalı Moleküler Moment Analizi olarak adlandırılan CoMMA, (Comparative Molecular Moment Analysis) 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 [57].

2.2.6.6. EigenValue (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 [58].

2.3. Yeni QSAR metotları

Son yıllarda 2D-QSAR ve 3D-QSAR metotlarına ek olarak yeni QSAR metotları geliştirilmiştir. Bunlar aşağıda ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

2.3.1. Hologram QSAR (HQSAR)

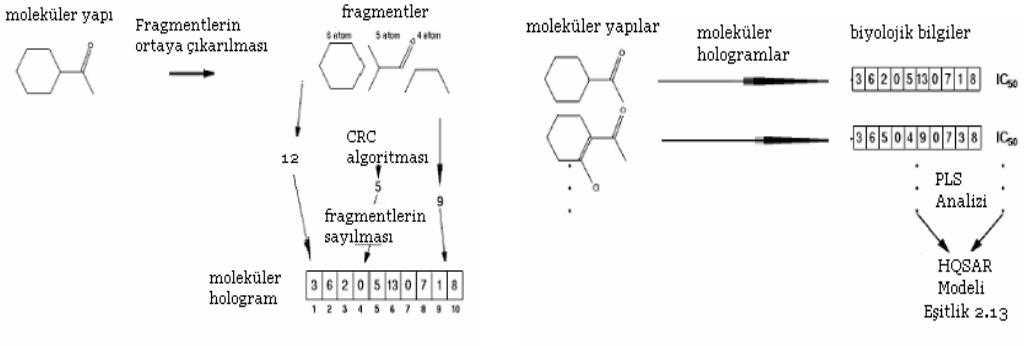
Son yıllarda Tripos tarafından ortaya çıkarılan Hologram QSAR fragment bazlı bir QSAR yaklaşımıdır [38]. HQSAR, yapı-aktivite ilişkisini ortaya çıkarmak için kullanılan fizikokimyasal parametrelere ve üç boyutlu yapıya ihtiyaç duymayan yeni bir tekniktir. Bu metot biyolojik aktivite ve molekülün iki boyutlu yapısı arasındaki bağıntıyı temel alır [47,60].

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 ya da 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 [47].



(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.

2.3.2. Inverse QSAR

Inverse QSAR Focus-2D olarak bilinen bu yaklaşım yapısal olarak benzer bileşiklerin benzer biyolojik aktiviteyi göstereceği hipotezi üzerinde durur [59]. Bu yaklaşım topolojik parametreler gibi çeşitli kimyasal yapı parametrelerini, olasılık araştırma algoritmalarını ve kimyasal benzerlik fonksiyonlarını kullanır [62].

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 [61].

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.

2.3.3. 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 ya da inaktif şeklinde bilgiler ürettiği için sonuçlarda hatalara rastlanılır.

Binary QSAR ise, çalışılan molekül serisinde aktif ve inaktif bileşikler için olasılık hesaplaması yapan ve biyolojik aktivitenin binary ifadesi (aktif=1 ve inaktif=0) ile bileşiklerin yapısal özelliklerini ilişkilendiren HTS analizini kullanan bir yaklaşımdır [63].

Bu metot biyolojik aktivite için gereken önemli yapısal bilgileri çıkarmada ve ilaç tasarımı için arşivlerin tasarımında yardım eder. Metodun daha ayrıntılı şekli Labute'nin [64,65] 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.

2.3.4. 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 [38].

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 [66].

2.3.5. 5D QSAR

Vedani tarafından geliştirilen 5D QSAR yöntemi ile QSAR tekniklerine daha güçlü, yeni bir boyut kazandırıldı. 5D QSAR, birçok ligandın proteine bağlanması süresince meydana gelen değişikliklerin de incelendiği bir yöntemdir. Ligantların proteinlere bağlanması ile oluşan konformasyonal değişikliklerin belirlenmesi QSAR teknikleri için en önemli ilerlemelerden biri olmuştur. Aslında konformasyonel değişikliklerin mekanizması ve derecesinin belirlenmesi, proteinin yapısı bilinmediği durumlarda mümkün değildir. Ancak 5D QSAR tekniğinde, farklı konformasyonel değişiklikler alternatif bağlanma modelleri sunularak açıklanabilir [67].

2.3.6. 6D QSAR

6D QSAR tekniği yine Vedani tarafından geliştirilen bir modeldir. 6D QSAR tekniği diğer QSAR tekniklerine ek olarak çözücü molekülleri ve çözünen madde arasında zayıf kovalent bağların oluştuğu çeşitli çözünme modellerini de inceler [66,67].

Tablo 2.1. QSAR Teknikleri ve Kullanılan Parametreler

QSAR Tekniği	**Kullanılan Parametreler**
1D QSAR	pKa, logP gibifizikokimyasal parametreler
2D QSAR	1D QSAR+Yapısal, geometrik, elektrostatik, termodinamik parametreler
3D QSAR	2D QSAR+Elektrostatik, sterik, hidrofobik parametreler
4D QSAR	3D QSAR+Konformasyonlar, protonlanma ve stereoizomerlerle ilgili parametreler
5D QSAR	4D QSAR+Ligand-protein bağlanmasında oluşan konformasyonel değişiklikler ile ilgili parametreler
6D QSAR	5D QSAR+Çözünme ile ilgili parametreler

Tablo 2.1 de bütün QSAR tekniklerinde kullanılan parametreler özet olarak verilmiştir.

2.4. Moleküler Modelleme ve QSAR

Moleküler modelleme, bilgisayarlı kimya ve grafiksel tasarım teknikleri kullanılarak moleküler yapı ve özellikleri araştırmak için kullanılan bir tekniktir [68]. 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 [69].

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 (kuantum mekanik) ve MM (moleküler mekanik) 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 [70].

2.5. 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 [71-75].

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, elektron-konformasyonel metod (ECM), elektronik topolojik metot (ETM), karşılaştırmalı moleküler konformasyonel elektron topolojik metodun (CoMCET veya EC-GA elektron konformasyon-genetik algoritma) gelişmesi ile olmuştur. Bu metotlar aktiviteden sorumlu Pha ve onun etrafında bulunan ve aktivite değerlerini artıran, AG veya azaltan, APS gruplarının belirlenmesinde kullanılır. Bu metotlar üçüncü bölümde ayrıntılı olarak anlatılmıştır.

3. BÖLÜM

YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışmada:

1). Spartan 04, Spartan 06 paket programlarında kuantum kimyasal hesaplamalar yapılmıştır. Bu programda;

1a. Semiempirik hesaplamalar yer almaktadır.

2). Her bir konformerin yapısını üç boyutlu olarak belirleyen topolojik matrisleri (Electron Conformational Matrix of Congruity, ECMC) hazırlayan program (EMRE 1.2),

3). ECMC matrislerini atomlara göre karşılaştırarak alt matrisi (Electron Conformational Sub Matrix, ECSA) belirleyen program (ECSP 1.0),

4). Matlab 7.0 paket programını kullanarak biyolojik aktiviteyi hesaplayan program

5). Yazılımların geliştirilmesi için Delphi 6.0 ve C programları

6). HP Workstation (iş istasyonu) xw 8200

7). Fujitsu-siemens celcius iş istasyonu

8). Core 2 Duo işlemcili 5 adet pc

9). HP Notebook kullanılmıştır.

3.2. Metot

Bu metotta aşağıda belirtilen aşamalar uygulanarak çalışmalar yapılmıştır.

- Spartan 04 ve spartan 06 paket programında HEPT türevlerinin çizimi ve en düşük enerjili molekül yapıları çıkartılır
- Semiempirik, PM3, metoduyla molekülün konformerleri belirlenir.
- Hesaplama sonucunda, oda sıcaklığında düşük enerjili konformerler seçilir (örneğin göreceli entalpi değeri 1.5 kcal/mol'den büyük olanlar silinir).
- Spartan programında bulunan ''Align'' anahtar kelimesi ile moleküller üst üste çakıştırılarak molekülün aynı yapıya sahip yüksek enerjili konformerleri silinir.
- EMRE 1.2 veya ECSP 1.0 programlarından herhangi biri kullanılarak uygunluk elektron konformasyonal matrisi (ECMC) oluşturulur ve düzenlenir.
- ECMC'ler alt matrisi bulmak için ECSP 1.0 programı ile referans bileşiğinin en düşük enerjili konformerine bağlı olarak karşılaştırılır.
- Aktivitenin Elektron Konformasyonal alt matrisi ("Electron Conformer Sub-Matrix"; ECSA) yani Farmakofor (Pharmacophere, Pha) grubu belirlenir.
- EMRE 1.2 programı kullanılarak molekülü temsil eden elektronik, geometrik ve fizikokimyasal parametreler hazırlanır.
- Matlab 7.0 da kullanılarak geliştirilmiş olan kodlar ile genetik algoritma sayısal optimizasyon tekniği kullanılarak en uygun parametreler ile aktivite bütün bileşik serisi için hesaplanır.
- Regresyon analizi yapılarak en uygun R^2 değerleri bulunur.
- Pha grubu içeren denenmemiş yeni bir molekül için (test seti) eğitim setinde bulunan kj ve moleküler parametreler kullanılarak aktivite hesaplanır.

3.2.1. Konformasyon Analiz İşlemi

Moleküllerin konformasyon analizi Spartan paket programındaki semiempirik, PM3, metodu kullanılarak yapılır. Konformasyonel problemi bilgisayar destekli ilaç tasarımında çok karışık problemlerden biri olarak düşünülür. İlaç molekülleri çok sayıda konformasyona sahiptir ve bu konformerlerin geometrik özellik gibi yapısal parametreleri ve elektronik özellikleri birbirinden farklıdır. Çoğu QSAR çalışmalarında konformerler hesaba katılmamaktadır. Bu çalışmada ise konformerler hesaba katıldığından dolayı semiempirik PM3 yöntem kullanılarak moleküllerin konformasyonal analiz işlemleri yapılmıştır.

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.

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

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

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

b) Dönme enerjisi;

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

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, ± işaretleri ise başlangıç konformasyonunun seçilmesi ile ilgilidir.

c)Elektrostatik enerji;

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

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,

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

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

$$\Delta r = r - r_0$$

(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;

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

(3.7)

denklemi ile hesaplanmıştır. Burada C_i uygun esneklik katsayısı, N_0 valens açılarının sayısı, C_i ve $\alpha_1{}^0$ 'ler ampirik parametrelerdir.

f)Valens bağı enerjisi;

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

(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.

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

(3.9)

3.2.2. Kuantum Kimyası Hesaplamaları

Semiempirik hesaplamaların ardından bütün moleküller için çalışılacak konformerler tespit edildikten sonra bu konformerler Semiempirik programında PM3 metodu ile tekrar hesaba alındı. Ardından göreceli olarak, toplam enerjileri 1.5 kcal/mol den küçük olan konformerlerin sonuçları *.txt dosyaları halinde farklı olarak kaydedilir.

Bu çalışmada *.txt dosyalarındaki bilgiler içerisinden atomların yükleri ve kartezyen koordinatları, moleküle ait enerjiler elektron konformasyonel matrislere 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 mutlak çözülebilir.

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

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

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,

$H\Psi = E\Psi$

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

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

(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 PM3 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,

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

(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,

$$P_{AA} = \sum_{p=1}^{M} P_{pp}$$

(3.13)

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

c) Elektronik enerjiler,

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

(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,

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

(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,

$$RM = \sum_{i=1}^{N} C_i$$

(3.17)

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

3.3.Elektron Topolojik Metot

Pha tanımlama metotlarından bir tanesi de Elektron Topolojik Metottur (Electron Topological Method, ETM) [76-83]. Bu yaklaşımda, bir molekülün geometrik ve elektronik özellikleri bir matris içinde tanımlanır. Bu yöntemde çok eski olan MP2 moleküler mekanik programı ile bileşiğin z matrisi hazırlanır. Hazırlanan bu matris CNDO metodu ile semiempirik hesabı yapılır. Burada kullanılan her iki yöntemde oldukça eski olup bu hesaplama yöntemleri günümüzde kullanılmamaktadır. Hesaplamalarda en düşük enerjili yapıda olan konformeri bulma olasılığı çok düşüktür. Bu yöntemin yeni teknikler (AM1, PM3, HF, DFT) ile güncelleştirilerek hesaplamaların yapılması kısmen daha uygundur.

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 derecesi, bağ mesafesi) bilgileri depolamak için kullanılır. ETM, SAR yöntemleri gibi analiz edilen çok sayıda veri oluşturur ve başlangıç olarak bileşikleri aktif ya da inaktif olarak sınıflandırır. Ele alınan bileşikler benzer temel yapıya sahip değil ise klasik QSAR teknikleri ile ETM verilerini analiz etmek ve aktif bileşikleri tahmin etmeyi imkânsız kılmasa da zorlaştırır. ETM verileri üç boyutlu kimyasal yapı ile biyolojik aktiviteyi yarı nicel (aktif ya da inaktif) olarak ilişkilendiren önemli bir veri tabanı sağlamaktadır.

ET metodunda 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 alt matris bulunur. Bulunan alt matrislerin elemanlarının karşılaştırılması ile aktivite alt matris parametrelerinin bir fonksiyonu olarak ifade edilir. Oysa inaktif olarak nitelendirilen bileşikler aktif olarak sınıflandırılan bileşiklere göre düşük de olsa aktivite göstermektedirler ve aktivitelerindeki bu düşüş moleküle bağlı olan sübstitüentlerin farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Çoğu zaman aktiflikleri arasında büyük bir fark olmadığı için keyfi olarak yapılan bu bölme hatalara götürmektedir. Bu yönüyle sübstitüentlerin etkisini dikkate almamaktadır. Bu da yöntemin en önemli eksikliklerinden biridir. Bunu elimine etmek için zaman zaman birden fazla farmakofor hesaplama yoluna gidilmiştir. ETM'de Pha sadece yüksek aktiviteli bileşiklerde aranmakta, ECM'de ise incelenen bütün bileşik serisi içinde aranmaktadır.

ETM de bileşiklerin bütün konformerleri değil de tek bir konformeri hesaba katılır. Biyoalıcının aktif durumdaki üç boyutlu yapısı bilinemediği için biyoalıcının ilgili molekülün konformerlerinden (bir bileşiğin yüzlerce konformer yapısı bulunmaktadır.) hangisi ile etkileştiği bilinmemektedir. Hâlbuki moleküllerin düşük enerjili olan birden çok konformeri mevcuttur ve bunların o bileşiğin aktivitesine katkısı ihmal edilemez. Her bir konformerin aktiviteye katkısı Boltzmann dağılımına göre dikkate alınması gerekir. ETM' de göz ardı edilen bu etken Elektron Konformasyonel Metot (ECM) adı verilen bir metotta ise sadece farmakofor grubu bulmak için dikkate alınmıştır. Aktivite hesaplamalarında ise konformerler hesaba katıldığında işlemin çok karışık olduğundan aktiviteyi bu şekilde hesaplayamamışlardır ve bu nedenle konformerleri dikkate almamışlardır.

3.4. Elektron Konformasyonel Metot

Elektron Konformasyonel Metot (Electron Conformatioanal Method, ECM), [84-88], aynı tür biyolojik aktiviteye sahip bir bileşik serisi için Pha' nın tanımlanmasını ve teorik olarak aktivitenin hesaplanmasını esas almaktadır. Metot biyolojik aktivitesi bilinen bir bileşik serisinde belirli biyolojik aktiviteden sorumlu tek bir Pha olduğunu varsayar ve prensipte bir yapı aktivite ilişkisidir. Ancak ECM' de Pha'nın varlığı aktivite için gereklidir fakat yeterli şart değildir. Bunun için hem sterik engeller hem de aktiviteyi azaltan (APS) veya aktiviteyi artıran (AG) gruplar da hesaba katılır [89].

3.4.1. Konformerlerin Belirlenmesi

ECM de; 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. Hesaplanacak aktivitelerden sadece bir tek Pha'in sorumlu olduğu düşünülür. Aktif moleküllerin aktiviteleri, her bir konformerinin taşıdıkları atom veya atom gruplarının konumuna göre aktiviteyi azaltır veya artırır. Tüm bu konformerlerin özellikleri ECM de dikkate alınır.

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 konformerlerinin hepsinin elektronik yapısı incelenir. Eğer aynı veya yakın enerjilerde birden fazla konformer varsa düşük enerjili konformer bu küçük aralıkta bulunan konformerleri temsil edeceğinden diğerleri silinir.

3.4.2. ECMC Matrislerinin Oluşturulması

ECMC, molekülün hem elektronik hem de geometrik yapı özelliklerini içerir. Daha önceleri ETM de, her bir molekülü temsil eden ETMC için sadece en düşük enerjili olan temel hal (ground-state) konformeri dikkate alınırdı. Ancak EC metodunda, relatif enerji farkı 1.5 kcal/mol den büyük olan konformerler silindikten sonra, geriye kalan düşük enerjili her bir konformer için ECMC matrisleri, oluşturulur [87, 88].

EC metodunda kullanılan ECMC nin diyagonal elemanları, ilgili atomun yüklerini gösterir nondiyagonal elemanlar ise birbirine bağlı atomlar ise bağ derecesi, bağlı değilse bağ mesafesini gösterir. ETM metodunda atom yükleri yaygın olarak kullanılmıştır [85]. I.B Bersuker EC metodu ile gerçekleştirdiği çalışmalarında atom

yükleri yerine etkileşim indeks değerini kullanmıştır. Bu çalışmada ise mulliken yükleri kullanılmıştır.

3.4.3. EC Metodunda Farmakofor Tanımlama

İlaç tasarımında (Pha) terimi ana kavramlardan biri olup 1900 lerin başında Ehrlich tarafından ortaya çıkarılmış ve 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 [86]. İncelenen molekül serisinde ilaç etkisinden sorumlu olan Pha grubudur. Deneme setindeki aktif moleküllerde aktiviteden sorumlu belli bir geometrik düzende üç boyutlu yapısı olan atomlar veya atom gruplarına farmakofor denir. 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 kantitatif ölçümü için yetersizdir. Örneğin Pha var fakat aktiflik küçük ise, bileşik deneysel olarak inaktif şeklinde sınıflandırılabilir [89].

Reseptörün üç boyutlu yapısı bilinmediği durumlarda farmakofor tanımlaması, yeni farmakolojik ilaçların tasarımında bir anahtardır ve oldukça önemlidir. Pha modelleri, reseptör yapıları deneysel olarak açıklanamadığı zaman veya açıklanması zor olduğunda reseptör-ligand etkileşimini açıklamada kimyacılara yardım eder. Farmakofor kavramı Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımında reseptör veya enzim ile etkileşen çeşitli moleküllerdeki genel üç boyutlu özelliklerin araştırılmasında kullanılır [92]. Pha çoğunlukla, biyolojik aktivite sağlamak zorunda olan bir bileşiğin, fizikokimyasal (logP, ovality, hacim, yüzey alanı vb. gibi) geometrik (uzaklık, açı, torsiyon açısı, atomların farmakofor düzlemine uzaklığı ve açısı vb. gibi) ve elektronik (HOMO, LUMO, yükler, kimyasal sertlik, dipol moment, elektronegatiflik vb gibi) özelliklerinin kombinasyonlarını kapsayan bir grup özelliği olarak ifade edilir [86, 93-97].

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 sınır değerler içerisinde değişebilir 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) ya da artırılabilir (AG). Bu gruplar, Pha nın biyoalıcı ile uygun etkileşimini engelleyen APS ve moleküldeki hidrofobisite gibi özellikleri sağlayan AG gruplarıdır [89].

Pha'nın belirlenmesi için burada anlatılan bilgiler temel olarak alınır. İlaç moleküllerinde, konformerleri, geometrisi ve elektronik özellikleri önemlidir. EC metodunda Pha belirlenmesi, kuantum kimya hesaplamalarından elde edilen moleküler özelliklerin bilgisayarla matris haline getirilmesi ile kantitatif biyolojik aktivite tahmini ise regresyon analizi ve molekülün özelliklerinin değerlendirilmesi ile yapılır [89].
Bunun sonucu olarak Pha, farklı bileşiklerin bir serisinde gözlemlenmiş biyolojik aktivitenin nedenini anlamak ve daha aktif bileşiklerin tasarımına yardımcı olmak için kullanılır [93-97].
EC metodunda bileşiklerin ECMC'lerinde matrisin diyagonal ve non-diyagonal elemanlarını verilen belirli tolerans aralıklarında, karşılaştırarak bütün aktif moleküller için ortak olan, inaktif moleküllerde ise bulunmayan elektron topolojik özellikler tespit edilir. Matrisleri karşılaştırmak için bileşik serisindeki yapı olarak en basit molekül referans olarak seçilir. Çünkü en basit yapılı bileşiğinde aktivitesi olduğuna göre farmakofor grubu bu bileşikte de bulunmak zorundadır. Bu nedenle referans alınmasında bir mahsur bulunmamaktadır. ETM de ise aktifliği en fazla olan molekül referans olarak seçilir ve bu yöntemde bileşikler aktif ve inaktif olarak ikiye bölündüğü için matrislerin karşılaştırılmasında aktivitelerde dikkate alınır.
ECMC ler hazırlandıktan sonra referans bileşiğe göre karşılaştırma işlemi yapılarak bütün aktif bileşiklerin bulundurduğu ortak özellik Pha olarak bulunur ve bu özelliği temsil eden ve matris elemanları sayısı daha az olan, elektron konformasyonal alt matrisi (ECSA) oluşturulur.
QSAR çalışmalarında bilinen yöntemlerin çoğu bileşiklerin enantiyomerlerinden birini diğerinden ayırmak için yetersiz kaldığı halde, ECMC de enantiyomerlerin farkı ortaya konulabilir. İki 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.

Farmakoforu belirlemek için konformer sayısı az ve en basit yapıya sahip olan aktif yada inaktif bileşiklerden biri seçilir. Nendi hakkında herhangi bir yorum getirememektedir. Aktivitenin azalmasına ya Pha nın olmaması yada APS grupların olması durumlarından biri sebep olabilir. 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 karşılaştırılr.

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

3.4.4. APS ve AG Grupları

Pha aktivite için çok önemli şartlardan biri olmasına rağmen tek başına yeterli değildir. Aynı Pha ya sahip farklı bileşiklerin neden farklı aktivite gösterdiğini açıklayamaz. Pha

aktivite için gerekli bir grup atomu içerir ancak molekülde Pha dışında aktiviteye etki eden diğer gruplarda (Out-of-Pha groups, OOP) bulunmaktadır. Bu gruplar atomlar olabildiği gibi atom grupları da olabilir ve aktiviteyi artırıcı ya da azaltıcı etki gösterebilirler. Bunlar sterik sınırlamalara neden olan APS gruplar ve aktiviteye hidrofobisite gibi etkilerle katkıda bulunan AG gruplardır ki bu gruplar hidrojence zengin olan ve aktiviteyi artırıcı özellik gösteren gruplardır. Bu atomların hidrofob özellikleri aktiviteyi artırıcı özellik gösterirler. APS gruplar ise biyoalıcı ile etkileşim esnasında sterik engel veya perdeleme yaparak aktiviteyi azaltıcı yönde etki ederler [89].

Pha dışındaki bazı gruplar biyoalıcı ile etkileşime katılmaz. Pha ile bu inert gruplar molekülün temel iskeletini 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.

AG ve APS grupların etkisi onların pozisyonuna ve reaktifliğe bağlıdır. Pha atomlarından farklı olarak 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 [89]. 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 [89].

3.4.5. 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 EC metotta hem sterik engelleri hemde aktiviteyi azaltan yükleri ortaya çıkarmak için APS değerlerini kantitatif olarak (sayısal olarak) karakterize eden S ile gösterilen bir parametre dikkate alınır. Bileşikler ile biyoalıcılar arasındaki etkileşim diğer moleküller arası etkileşim (en azından, sterik ve diğer enerji bariyer faktörleri göz önüne alınabilir) ile benzediğinden dolayı aktivite (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.

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

(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.

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

(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, atomik etkileşim indeksi ,*(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, 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. Yani $\kappa_j>0$ ve $a_{np}^{(j)}< a_{lp}^{(j)}$ için aktivite bu bileşiklerde artar ve $a_{np}^{(j)}> a_{lp}^{(j)}$ ise azalır. $\kappa_j<0$ ise tam tersi doğrudur. Kısacası κ_j katsayısının mutlak değerinin büyüklüğü, aktivite üzerindeki etkiyi gösterir ve APS ve AG gruplarını üç boyutlu yapı içinde tanımlamak Pha'dan sonra ikinci derecede öneme sahiptir [89].

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:

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

(3.21)

A_0 aşağıda açıklanacağı üzere sabittir ve m_n n. molekülün konformer sayısıdır. Bu formülde δ, Dirac δ fonksiyonunun bir çeşididir

$$\delta_{ni}[Pha] = \begin{cases} \textbf{0, Pha bulunmadığı zaman} \\ \textbf{1, Pha bulunduğu zaman} \end{cases}$$

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.) [89].

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.

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

(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.

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

(3.23)

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 substrat-enzim bağlanma enerjisidir (10-20 kcal/mol). Bu durumda ligandın en az bir konformeri Pha ya sahiptir ve diğer tüm konformerler enerji kazanmak ve resptöre bağlanmak için denge dönüşümüne uğrarlar [89].

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. Δ>δ 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

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

(3.25)

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

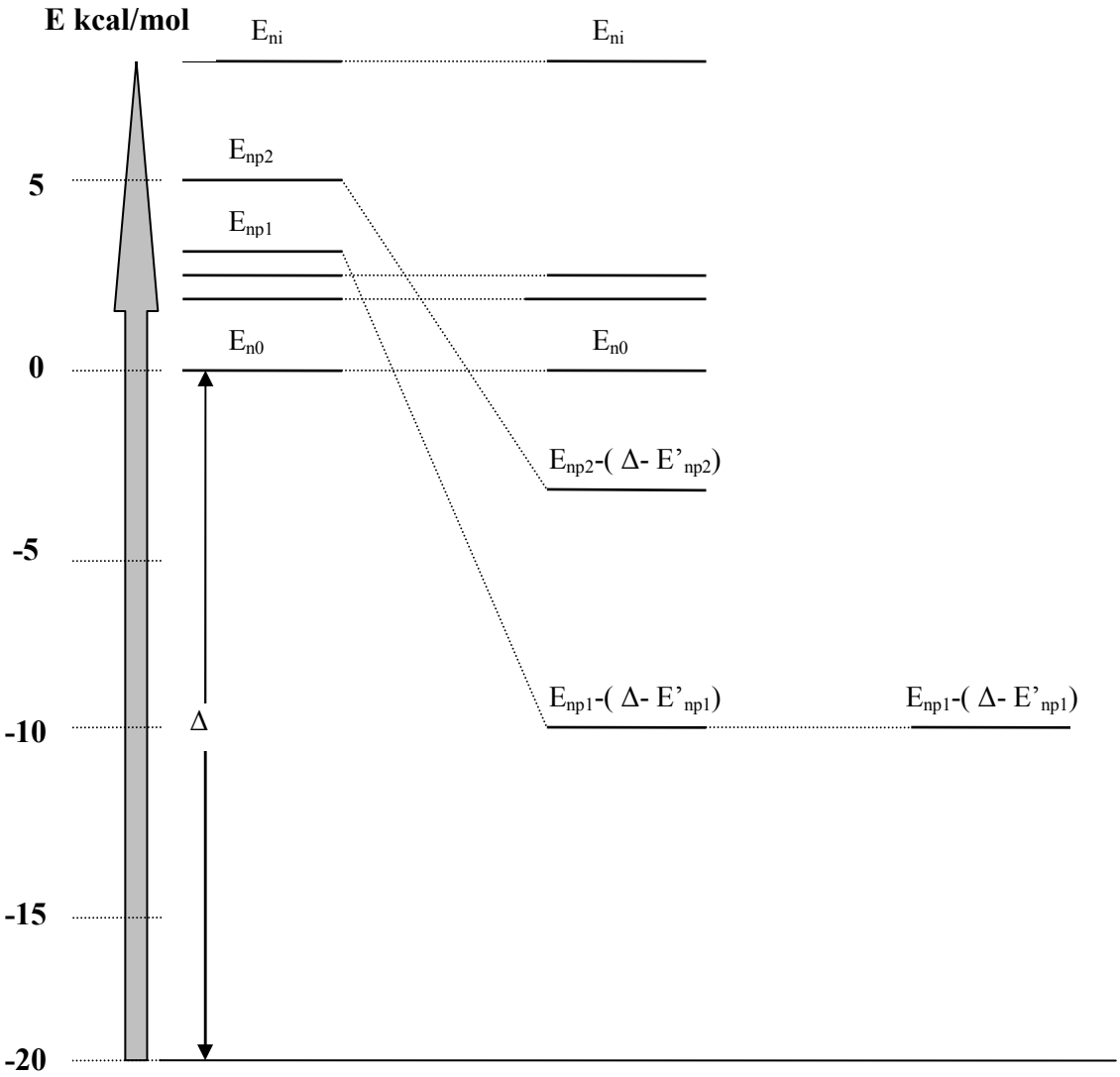
$$A_n = A_l e^{-(E_{np}-E_{lp})/kT} e^{-(S_{np}-S_{lp})}$$

(3.26)

haline dönüşür. Bu formül sadece, Pha ya sahip en düşük enerjili konformerin biyoaktivitesini 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 edilebilir. (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. Bersuker Eşitlik 3.23 de gösterilen formül kullanarak bir bileşiğin tüm konformerlerini hesaba katarak aktivite hesaplaması için algoritma geliştiremediğinden dolayı sadeleştirilmiş formül olan ve en düşük enerjili bir konformeri hesaba katan Eşitlik 3. 26 yı kullanmıştır. Diğer konformerlerin inaktif pozisyonda olduğunu kabul etmiştir. Bu çalışmanın en zor kısmını kj değerlerini hesaplama kısmı oluşturmaktadır. Bersuker çalışmalarında cross-validation yöntemlerinden olan leave one out metodunu kullanarak en uygun kappa sayısını ve değerini hesaplama yoluna gitmiştir [89].

Molekül setindeki bileşiklerin bilinen deneysel aktiviteleri kullanılarak yukarıdaki formül çözülür 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. 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.

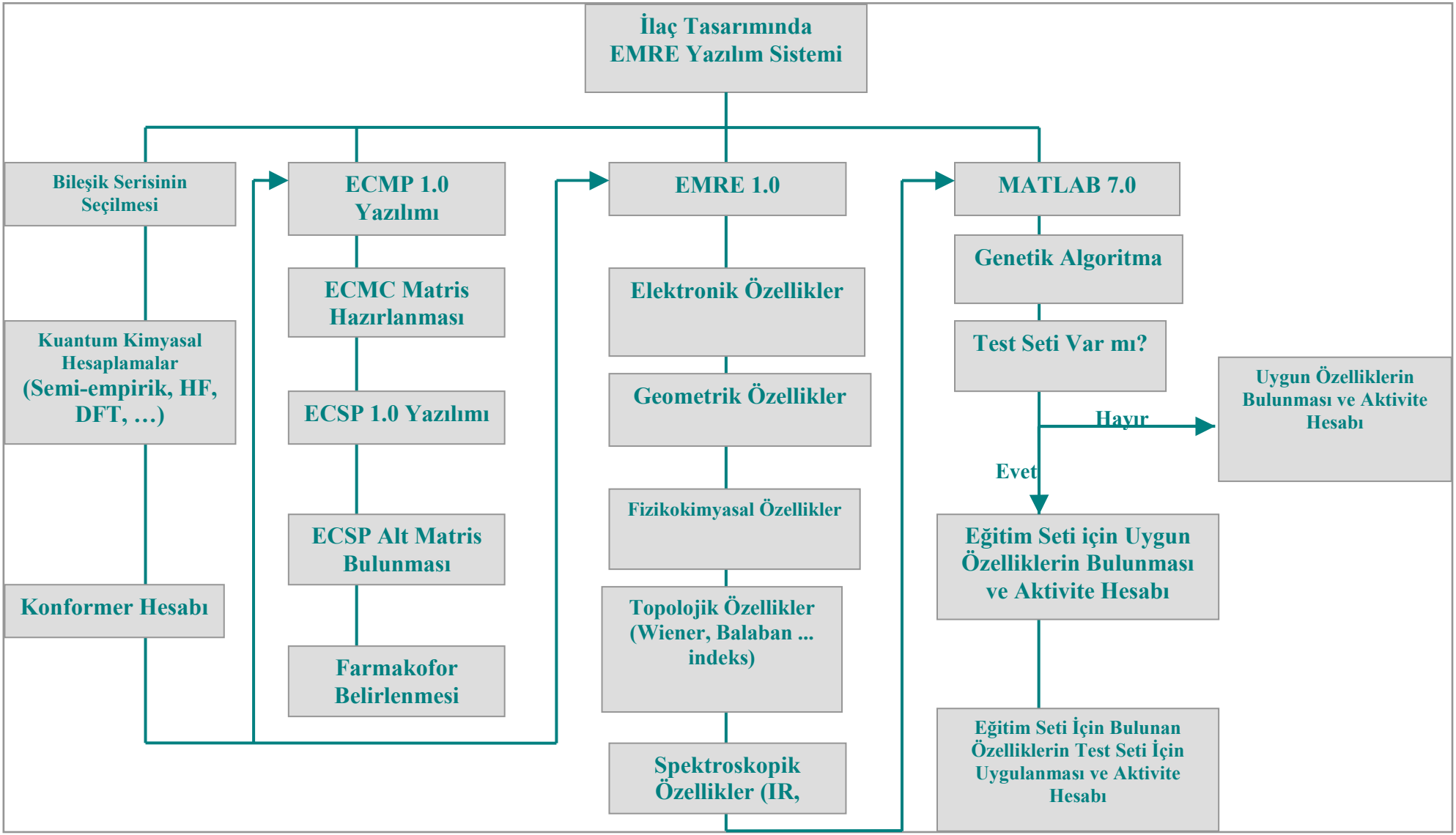
Δ, Pha dan dolayı SE bağlanmasının enerji farkıdır ve E'_{np} ise APS ve AG gruplarından dolayı bağlanma enerjisindeki azalmadır. Bağlanma ve dönüşümden sonra yani 300 K de E_0 yerine $-\Delta + E_{np}+E'_{np}$ eşitliği kullanılır [89].

EC Metodu bizim çalışmalarımızın temelini oluşturmaktadır. EC metodunu esas alarak geliştirilen EC-GA, Elektron Konformasyon-Genetik Algoritma, yöntemi biyolojik aktivitenin hesaplamaları gerçekleştirilmiştir.

3.5. Elektron Konformasyon-Genetik Algoritma (EC-GA) Metodu

EC metodunda leave one out yöntemi ile sadece en düşük enerjili tek bir konformer kullanılarak teorik aktivite hesaplamaları yapılmaktadır. Ancak daha sonradan EMRE 1.2, ECSP 1.0 programlarının ve Matlab 7.0 paket programı kullanılarak yazılan genetik algoritma optimizasyon tekniğini kullanan yeni kodların geliştirilmesi ile bütün konformerler hesaplamalara dahil edilmiştir. Böylece EC metodunda gerçekleştirilemeyen ve sorun olarak görülen aktivite hesaplamaları tüm konformerler dahil edilerek CoMCET yönteminde [90,91] çözülmüştür. Birden fazla şüpheli farmakofor grubunun olması durumunda ise ECSA matrisinin diyagonal ve nondiyagonal değerleri moleküler parameter olarak kullanılarak yine genetic algoritma optimizasyon tekniği ile aktivite hesaplaması yapılır ve en uygun R^2 değerine göre farmakofor gruba karar verilir. EC-GA Metodunda EC Metotta [84-88] olduğu gibi Pha tanımlaması ve biyoaktivite hesaplanması serideki bileşiklerin bütün konformerleri dikkate alınarak gerçekleştirilir. EC-GA Metodu, Pha grubu, aktiviteyi artıran (AG) ve aktiviteyi azaltan (APS) grupları tanımlamak ve biyolojik aktiviteyi hesaplamak için kullanılan bir metottur. Bu metotta molekülü tanımlayacak yüzlerce parametre hazırlamak ve bunların içinden hem eğitim hem de test seti için en uygun olan parametreleri seçmek mümkündür. Çünkü bazı parametreler eğitim seti için uygun olurken test seti için kötü olabilmektedir.

İleride ayrıntılı olarak açıklanacağı gibi geliştirilen bu yazılımların tamamına Şekil 3.2 de gösterilen ilaç tasarımında EMRE yazılım sistemi şeklinde isimlendirilmiştir. Şekilden görüldüğü gibi EC-GA metodu içerisinde Spartan paket programı, çalışma grubumuz tarafından geliştirilen ECSP 1.0 programı ve son olarakta yine çalışma grubumuz tarafından geliştirilen, aktiviteyi ve kj değerlerini hesaplamak için Matlab 7.04 paket programında genetik algoritma optimizasyon tekniğini kullanarak hesaplamaları gerçekleştiren yeni bir yazılım olmak üzere üç farklı program kullanılmaktadır. Tezin ileriki kısımlarında geliştirilen bu yazılımlar ayrıntılı olarak açıklanacaktır.



Şekil 3.2. İlaç Tasarımında Emre Yazılım Sisteminin Basamakları

3.5.1. EMRE Yazılım Sisteminin Geliştirilmesi

Sistem gerçekleştirme aşamalarından programlama, test ve dokümantasyon adımları yazılım geliştirme olarak adlandırılır. Bu adım, yazılım mühendisleri ve programcılar tarafından gerçekleştirilir. Bu çalışmada geliştirilen yazılımlar TÜBİTAK tarafından desteklenen proje ile hizmet alımı şeklinde yapılmış olup yazılım mühendisleri ve programcılar tarafından bizim tarafımızdan belirlenen algoritma mantığı çerçevesinde yazılmıştır. Bu konudaki çalışmaların uzun yıllar devam edeceğini düşünmekteyiz. Çünkü yeni program geliştirme uzun bir süreci kapsamaktadır. Bu yazılımları geliştirmekteki amacımız QSAR çalışmalarında kullanılabilecek yeni programları ülkemize kazandırabilmekdir. Ayrıca hesaplamalarda çok sayıda veri kullanıldığından ve bunların her birinin formatı farklı olduğundan hesaplamaları basit olarak el ile yapmak mümkün değildir. Örneğin sadece ECMC matrislerinin hazırlanması mümkün olmamaktadır. Bu nedenle matris hazırlanması için yeni yazılımlar geliştirilmesi yoluna gidilerek çalışma grubumuz tarafından Delphi 6.0 programlama dilini kullanan EMRE 1.2 programı geliştirilmiştir.

Çalışma grubumuz tarafından bu amaçla, ileride ayrıntıları açıklanacak programların geliştirilmesi için aşağıda verilmiş olan genel kurallar uygulanmıştır. Yazılım geliştirme (veya programlama) için izlenmesi gereken aşamalar şunlardır:

- 1. Program analizi;

  A Program amaçlarının saptanması: Çözülmek istenen problemin açık tanımı yapılmalıdır. Yazılması gereken programın hedefleri saptanmalıdır.

  B Girdilerin saptanması: Programa veri olarak neler girileceği belirlenmelidir.

  C Çıktıların saptanması: Program çıktılarının neler olacağı belirlenmelidir. Raporlar, grafikler ekranda görüntülenebilir veya yazıcıdan bastırılabilir.

  D İşlemlerin tanımlanması: Programa girilen verinin çıktıya dönüştürülürken yapılması gereken işlemler tanımlanmalıdır.

  E Program gerçekleştirme yapılabilirliğinin araştırılması: Programın gerçekleştirilmesi için bütçenin durumu, süresi, eleman yeterliliği gözden geçirilmelidir.

  F Analizin belgelenmesi: Programın hedefleri, girdisi, çıktısı ve gereken işlemler, daha sonra başvuru amacıyla belgelenmelidir.

- 2. Program tasarımı; Program tasarımı, iki aşamadan oluşur.

A ilk aşamada, program mantığı belirlenerek sıradüzen diyagramı (hierachy chart) hazırlanır.

B Daha sonra, ayrıntılı tasarım yapılarak, program, sözdekod (pseudocode) veya akış diyagramı (flowchart) yollarından biriyle açıklanır. Ayrıntılı tasarımda, sırasal, koşul, döngü gibi çeşitli kontrol yapıları kullanılır.

- 3. Program kodlanması Çoğu kişi, kodlamayı programlama olarak sanırlar. Ancak kodlama, programlama aşamalarından yalnız biridir. Şu aşamalardan oluşur:

  A Programlama dili seçimi: Yüzlerce programlama dili vardır. Bütün diller her amaca uygun değildir. Bazı diller matematiksel işlemler için, bazıları veritabanı yönetimi için daha uygundur. Bu dillerden, programın amacına uygun olanı veya kurumda yaygın olarak kullanılanı, programlama yapmak için seçilir.

  B Programın yazılması: Program bilgisayar kullanılarak seçilen programlama dilinin kurallarına göre yazılır. Program, daha sonra üzerinde başka programcıların değişiklik yapmasına olanak tanıyacak şekilde kolay anlaşılır ve açıklayıcı olmalıdır.

- 4. Program testi Programı yazanlar kodlama sırasında hata yapabilirler. İki tür hata vardır: sözdizimi (syntax) ve mantık (semantic veya logic).

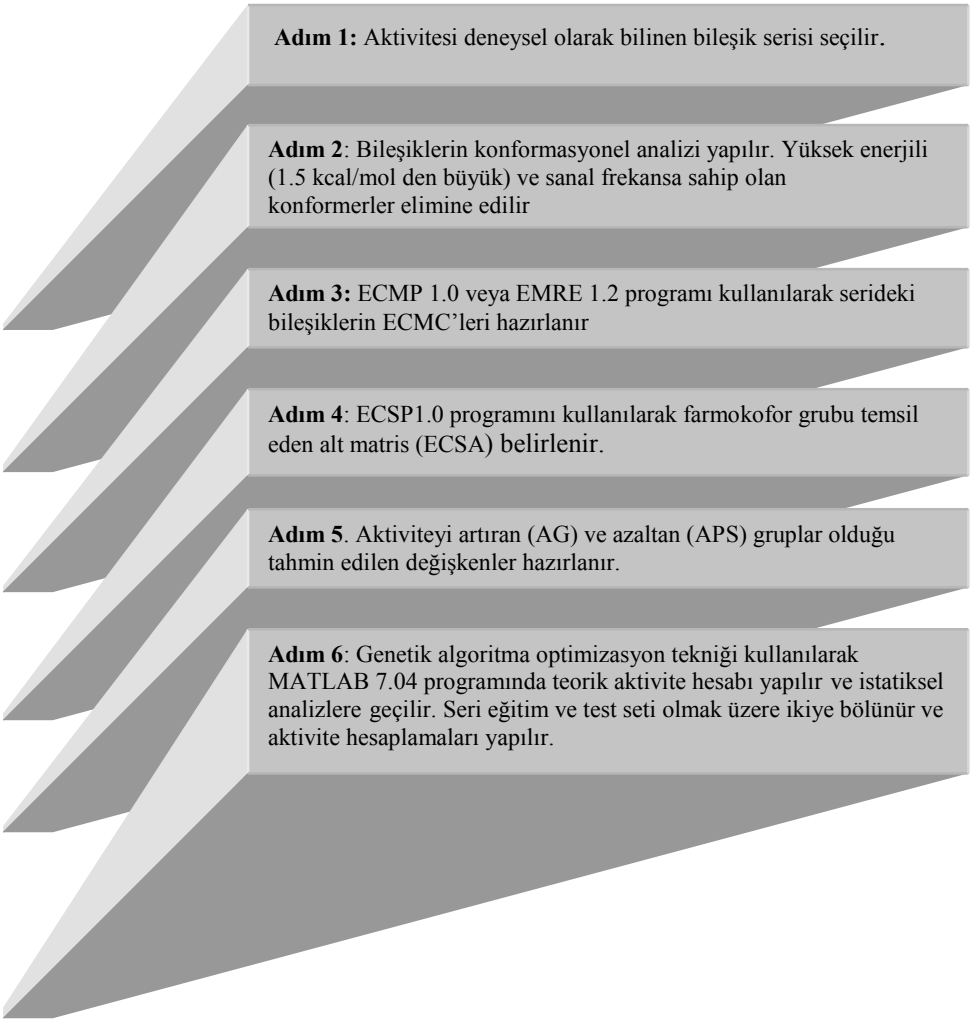
  A Sözdizimi hatası, seçilen programlama dilinin kurallarına uyulmamasıdır.

  B Mantık hatası, programın istenen işlevi gerçekleştirmemesi veya yanlış olarak gerçekleştirmesidir. Program testi sırasında program, sözdizimi ve mantık hatalarından temizlenir. Hataların temizlenmesi (debug) için çeşitli yöntemlerden bir ya da bir kaç tanesi kullanılabilir: Masabaşı inceleme: Programcı, program kodlarını kontrol ederek sözdizimi veya mantık hatalarını düzeltmeye çalışır. Ayrıca mantık hatalarını bulmak için, örnek verinin program komutları tarafından nasıl işlendiği el veya hesap makinesi ile takip ederek doğru sonuçlar elde edip etmediğini bulmaya çalışır. Derleyici programı: programlar, Derleyici program tarafından makine diline çevrilip çalıştırılır. Program çalıştırılmadan önce, programın sözdizimi hatasının olmaması gerekir. Derleyici program, sözdizimi hatalarının bulunmasına yardımcı olur. Gerçek veriyle çalıştırma (alfa testi): Programın bütün sözdizimi hataları temizlendikten sonra, mantık hatası olup olmadığı araştırılır. Bunun için çıktısı bilinen girdiler verilerek programın doğru sonuçlara ulaşıp ulaşmadığına bakılır ve mantık hataları düzeltilir.

Beta testi: En sonunda, program bir grup potansiyel kullanıcıya deneme için bir süre kullandırılır. Kullanıcılar, karşılaştıkları sorunları programcılara bildirirler.

- 5. Program belgeleme ve bakım Belgeleme, programı ve nasıl kullanılacağını anlatan yazılı açıklamalardır. Aslında belgeleme, yazılım bittikten sonra değil, yazılım geliştirmenin bütün aşamalarında yapılır. Bu aşamada, daha önce hazırlanan belgeler gözden geçirilerek son haline getirilir. Belgeleme, programın içinde, programın nasıl çalıştığını ve ne yaptığını anlatan yorum satırları ve kullanım kılavuzu olarak yapılır. Belgeleme, programda daha sonra yapılacak güncellemeler açısından önemlidir.

Bu mantık çerçevesi içinde bu yazlımlar ETM, ECM ve EC-GA metotlarını da kapsamaktadır. Bu yazılımlar kullanılarak bütün bileşik serileri için ECMC matrisleri ve geometrik, elektronik ve fizikokimyasal parametreler hazırlanabilir ve teorik aktivite hesaplamaları yapılabilir. Şekil 3.3 de ise EC-GA metodunda takip edilen aşamalar gösterilmektedir.



Şekil 3.3. EC-GA Metodunda Takip Edilen Aşamalar

3.5.2. Adım 1

Şekil 3.3 de adım 1 de görüldüğü gibi; EC-GA Metodunda deneysel aktivitesi bilinen bir bileşik serisi seçildikten sonra spartan paket programı ile çizimleri yapılır. Deneysel çalışmaları desteklemek ya da deneysel çalışma yapmadan elde edilecek sonuçları önceden öngörmek amacıyla hesaplamalı yöntemleri kullanacak olan kimyacılar için moleküler mekanik, semiempirik, ab initio, yoğunluk fonksiyonel teori, moller-pleset gibi çeşitli hesaplama yöntemleri mevcut olup bunlar yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bu çalışmada, hem zaman açısından kazanmak (çünkü bileşiklerde atom sayısı ve conformer sayısı fazla olduğundan mevcut bilgisayarlarımız yeterli olmamaktadır) hem de aktivite hesaplamalarında kullanılacak parametrelerin hesaplanması bakımından (EMRE 1.2 programı şu an için sadece semiemprik çıktılarını okumaktadır diğer yöntemlerin çıktılarını okuması için çalışmalar halen devam etmektedir. Bu çalışmaların zaman alacağı düşünülmektedir.) semiempirik moleküler orbital yöntemlerinden PM3

metodu kullanılmıştır. Diğer yöntemlerle bileşiklerin konformer hesaplamalarını yapmak hem çok zaman almasından hem de altyapımızın uygun olmamasından dolayı mümkün olmamıştır.

3.5.3. Adım 2

Adım 2 de seçilen bileşik serisinin PM3 yöntemi ile konformer hesabı yapıldığında yüzlerce konformer ortaya çıkmaktadır. Spartan da bileşiklerin konformer dağılımları Monte-Carlo yöntemine göre yapılmaktadır (WAVEFUNCTION INC., 2006.). Boltzman dağılımı ve bağıl enerji değerlerine bakarak eliminasyon yapılır. Boltzman dağılımı aşağıda kısa bir şekilde açıklanmıştır.

3.5.3.1. Boltzman Dağılımı

Farklı enerjili hallerin populasyonlarını hesaplamak için ortaya atılan bir formüldür ve 19. yüzyılın sonlarına doğru Avustralyalı bilim adamı Ludwig Boltzman tarafından türetilmiştir. Boltzmann dağılımının bilinmesi gereken en önemli özelliklerinden biri popülasyon dağılımlarının enerji ile sıcaklığın üstel bir fonksiyonudur. Bu formül E_i ve E_j hallerdeki tanecik sayılarının oranı olan N_i/N_j büyüklüğünü

$$N_i/N_j=e^{-(E_i-E_j)/kT} \quad (3.27)$$

şeklinde tanımlar. Boltzmann dağılımının yorumlanmasına ilişkin önemli bir nokta, bu ifadenin seviyelerin değil enerji hallerinin populasyonlarına işaret ettiğidir. Boltzmann dağılımı enerji halleri ile ilgilendiğinden, aynı enerji seviyesine ait bir dejenere hal setinin tüm üyeleri aynı populasyon değerine sahip olacaktır [99].

Bağıl enerji değerleri ile boltzman dağılımları karşılaştırıldığında, bağıl enerji değeri azaldıkça boltzman dağılımı değerinin artar. Boltzman dağılımının yüksek olması oda sıcaklığında düşük enerjili olanların bulunma ihtimalinin daha fazla olduğunu gösterdiğinden literatürde verilen bilgilere göre [89] belli bir değerin üzerinde olanlar silinebilir. Bu çalışmada 1.5 kcal/mol den büyük olan konformerler silinmiştir. Konformer hesabı yapıldığında bazı konformerler relatif olarak düşük enerjili olmasına rağmen tam optimize olmadıkları için sanal frekansa sahip olurlar ve bu durum geçiş halini gösterir bu nedenle bu konformerler dikkate alınmaz. Kalan konformerler için

kendi aralarında bazı atomlar üzerinden üst üste çakıştırma işlemi (align) yapılmış ve birbirinin aynı ya da yakın enerjili olan birden fazla konformer varsa yüksek enerjili konformerler silinmiştir.

Moleküler özelliklerin (sterik durum, elektrostatik potansiyel ve hidrofobisite gibi) üç boyutta göz önüne alınması, aktif ve inaktif bileşikler arasındaki benzerlikler ve farklılıkları belirlemek için ilk adımdır. Bir bileşik serisi için genel olan üç boyutlu yapısal özellikleri ortaya çıkarmak için en kolay yol üst üste çakıştırma (süperimpozisyon) işleminin uygulanmasıdır. Topolojik analoglar ele alındığında üst üste çakıştırma işlemi bellidir. Fakat kimyasal olarak ilişkili olmayan yapılar karşılaştırıldığında bu açık değildir. Üç boyutta ortak stereokimyasal özellikleri paylaşan farklı moleküllerin nasıl benzer biyolojik aktivite ortaya koyduklarını gösteren çeşitli terapötik alanlarda kapsamlı analizler yapılmıştır. Bu ise yeni kılavuz bileşiklerin rasyonel tasarımında üç boyutlu farmakoforik modellerin gelişmesine yol açmıştır. Molekül yapıları genellikle atomik pozisyonlarının temel alınmasıyla düzene sokulmuştur [89]. Küçük bağıl enerjili olan ve üst üste çakışmayan konformerlerin Spartan çıktıları *.txt dosyaları halinde kaydedilir.

3.5.4. Adım 3

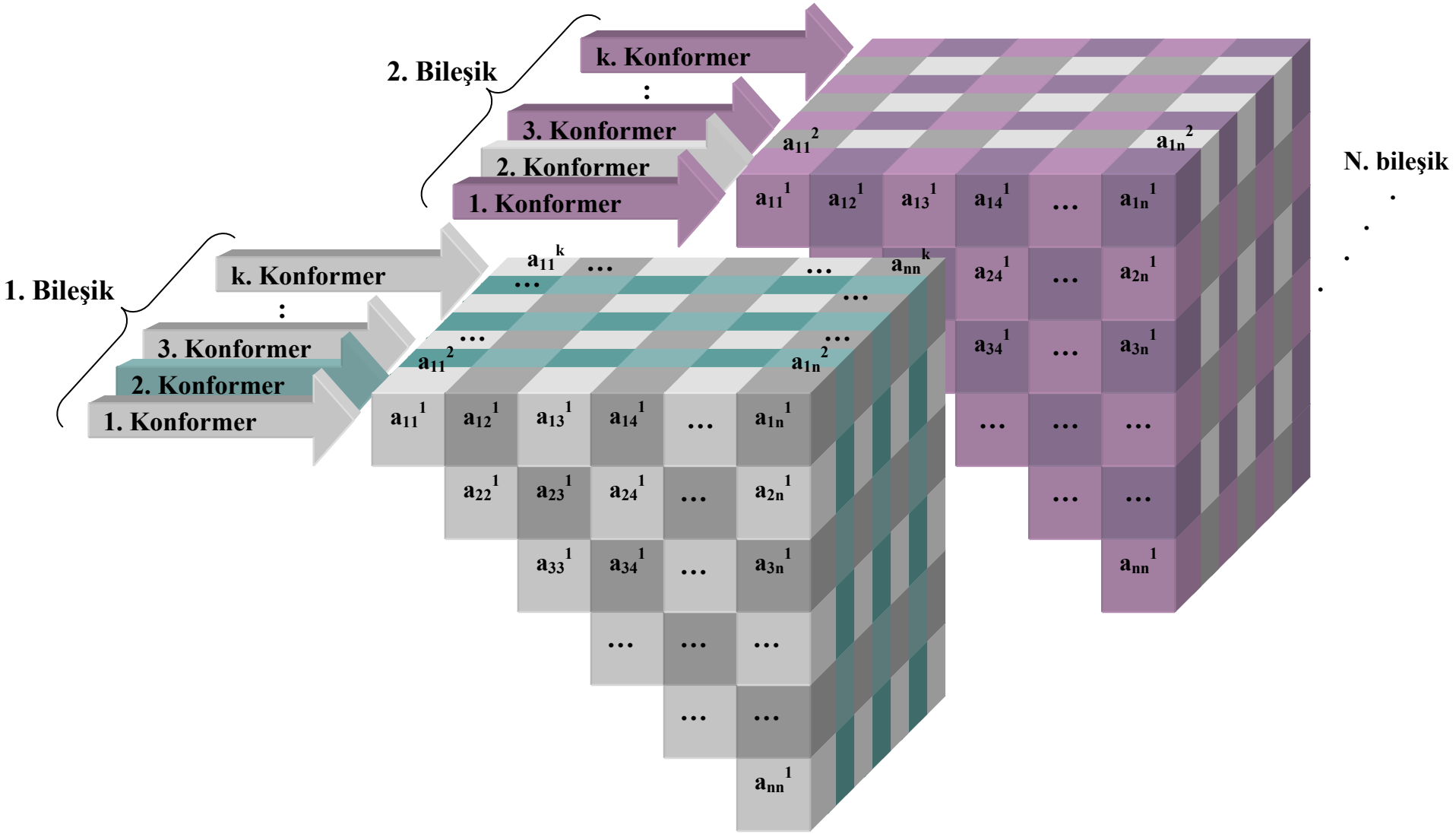
Adım 2 te belirtildiği gibi hazırlanan .txt dosyalarındaki atomlar arası mesafe veya kartezyen kordinatlar, bağ derecesi ve atomik yükler kullanılarak ECMC matrisleri oluşturulur. Bu ECMC matrisinin daha karışık bir gösterimi olan üç boyutlu TDECMC (Three Dimensional ECMC) aşağıda Şekil 3.4 de ikinci dereceden (n^2) bir matris ile gösterilmiştir. ECMC' nin her biri köşegen elemanlarına ($a_{ij}^{(k)}=a_{ji}^{(k)}$) göre simetrik olduğundan şekilde matrisin sadece üst yarısı gösterilmiştir. Moleküldeki atom sayısı n ise, bağımsız elemanların toplam sayısı n(n+1)/2' dir. TDECMC matrisinde oluşturulabilecek ECMC sayısı (m), elektronik parametrelerin seçimine bağlıdır. Belli bir bileşiğin belli bir konformasyonu için geometrik parametreler sabit alınmasına karşın elektronik parametrelerin değişik kombinasyonları 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 ECMC oluşturur. Atomik yükler (atomik Valens, Mulliken yükü, Elektrostatik ve Natural yük gibi özellikler), valens aktiviteleri ve polarize edebilirlik gibi bu elektronik parametreler köşegen

elemanları $a_{ii}^{(k)}$ (i=1 2 3...n, ve k=1, 2, 3 …) olarak seçilir. Burada k, ilgili bileşiğin konformer sayısını belirtir. Köşegen olmayan elemanlar ($a_{ij}^{(k)}$) iki çeşittir,

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

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

Şekil 3.4 de ECMC üç boyutlu olarak gösterilmiştir. Her bir matris küçük alt birimlerden oluşmuştur ve bu alt birimler moleküldeki atomların atomik özelliklerini ya da atomlar arasındaki özellikleri temsil etmektedir. Matrislerdeki sütun/satır sayıları moleküldeki atom sayısına (n) karşılık gelmektedir. Matrislerin dikey tabakalardan oluştuğu düşünülürse her bir tabaka bileşiğin farklı bir konformerine karşılık gelmektedir. Böylece her bir bileşik için o bileşiğin konformer sayısı (k) kadar tabaka olacak ve her bir tabakada moleküldeki atomlara ait özellikler yer alacaktır. C-H bağları apolar kabul edildiğinden ve C atomuna bağlı hidrojen atomları reseptörle etkileşimde çok fazla etkiye sahip olmadığından matriste gösterilmemiştir [89,83]. Bu şekilde serideki her bir bileşik ve her bir konformeri için benzer bir matris oluşturulmuştur.

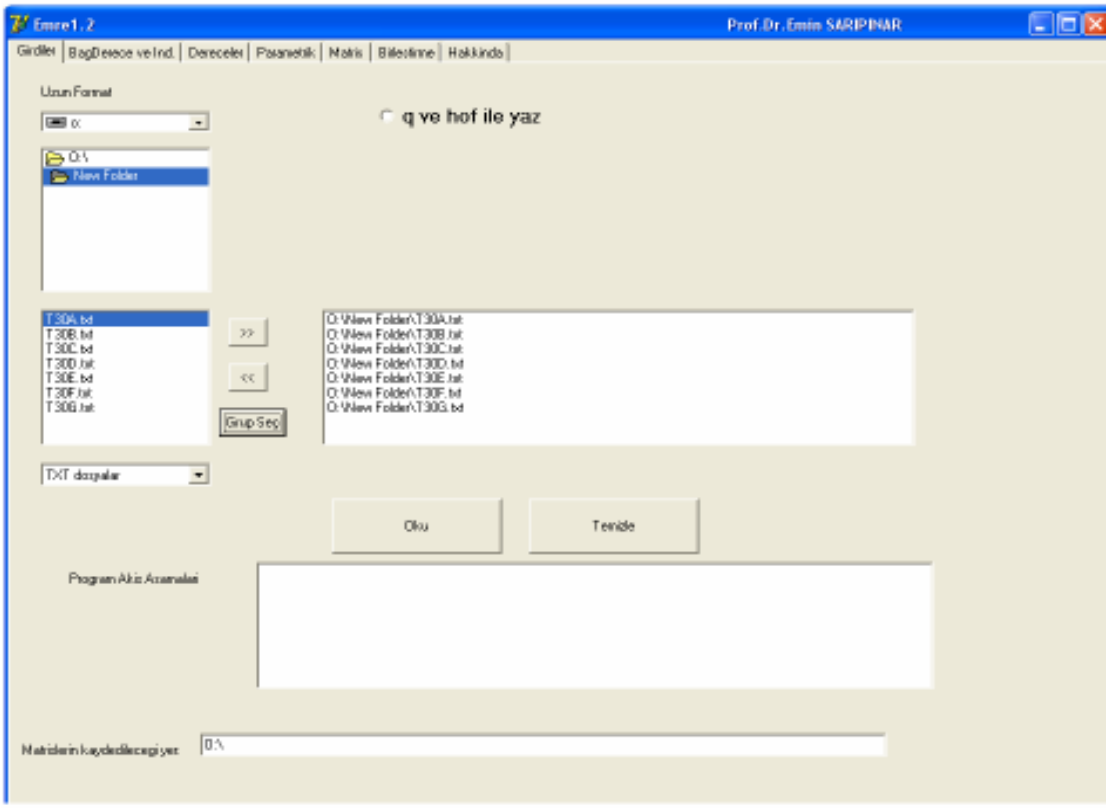


Şekil 3.4. Üç Boyutlu ECMC'nin Gösterimi

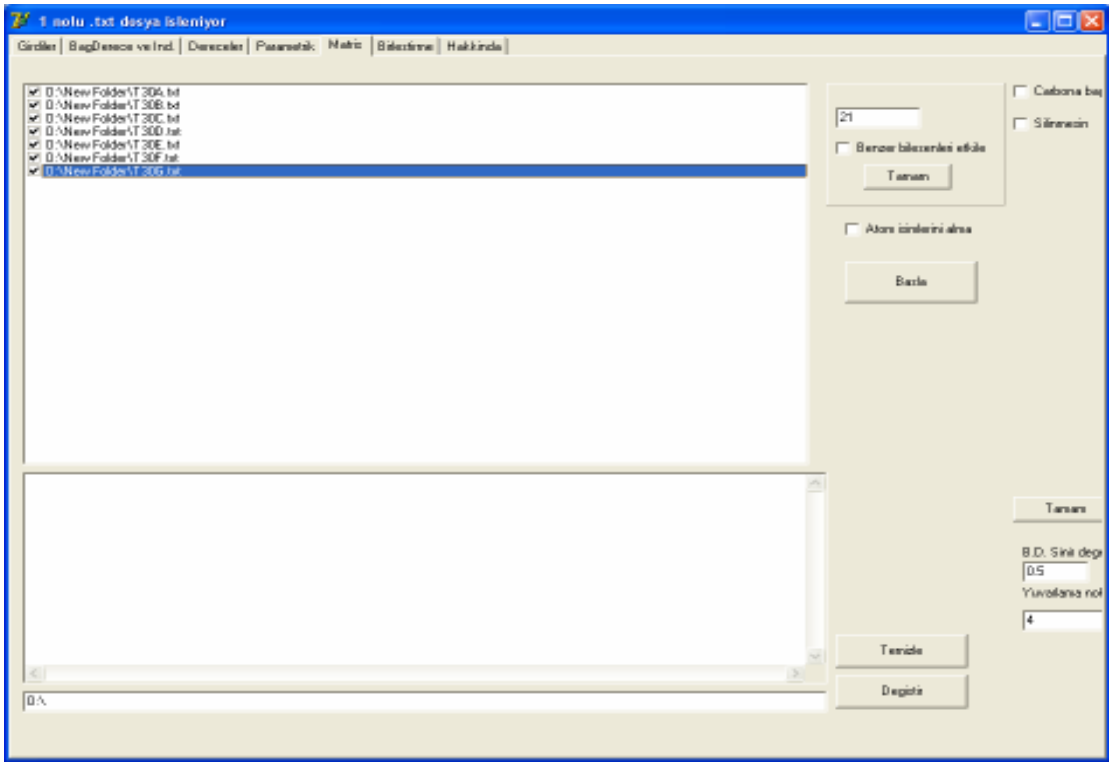
ECMC matrisleri çalışma serilerindeki her bir bileşiğin bütün konformerleri için hazırlanmakta olup seride yüzlerce konformer yer almakta ve ayrıca .txt dosyalarındaki kartezyen koordinatları ve yükleri kullanarak hesaplanması ve yazılması el ile mümkün olmamaktadır. Bu nedenle matris hazırlanması için yeni yazılımlar geliştirilmesi yoluna gidilerek çalışma grubumuz tarafından Delphi 6.0 programlama dilini kullanan EMRE 1.2 programı geliştirilmiştir. Bu program için yaklaşık 200 sayfalık (7000 satır) bir kod yazılmıştır. Aktivite hesaplaması çalışmaları kadar kod yazmak için de zaman harcanmıştır. Kod yazma ve bu konuda yeni yazılımlar geliştirme konusunda oldukça başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Yazılan bu kodlar sadece çalışılan bu bileşik serisi için değil genel amaçlı olduğundan dolayı, istenilen bileşik serisi için kolaylıkla kullanılabilmektedir. ECMC matrisleri bu program ile hazırlanmıştır.

Programımız şu anda sadece Spartan programına ait semi-empirik hesaplama çıktılarını kullanabilmektedir. İleriki aşamalarda Hartree Fock (HF), Density Functional Theory (DFT), Moller Plesset (MP) gibi yöntemlerin ve Gaussian paket programının çıktılarının da kullanılabilmesi için çalışmalarımız devam etmektedir.

EMRE 1.2 programının arayüzü Şekil 3.5 de verilmiştir. Şekil 3.6 da ise programa ait matris sekmesinin arayüzü görülmektedir. Spartan programından elde edilen .txt dosyalarının okunması EMRE 1.2 programında yer alan “Girdiler” sekmesinde gerçekleştirilmektedir. Txt dosyaları okunduktan sonra programın “Matris” sekmesinde ilgili bileşik için aktivite değeri girilerek matris hazırlanır. Program, txt dosyalarındaki kartezyen koordinat, bağ dereceleri ve yük değerlerini kullanarak her bileşiğin her bir konformeri için ECMC hazırlar. “Parametrik” ve “Dereceler” sekmelerinde ise aktivite hesabı için kullanılan değişkenler hazırlanır. Bu programın geliştirilmesi için çalışmalara devam edilmektedir.



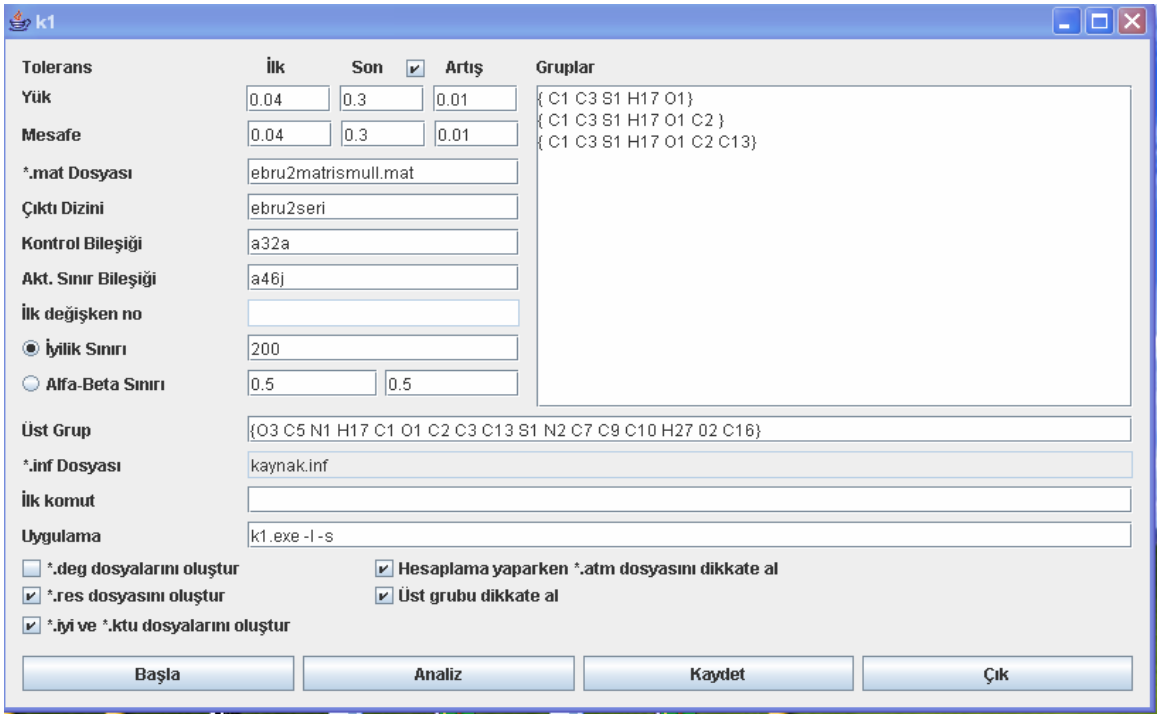
Şekil 3.5 EMRE 1.2 Programının Arayüzü



Şekil 3.6 EMRE 1.2 Programının Matris Sekmesinin Arayüzü

3.5.5. Adım 4

Adım 4 te ise; hazırlanan ECMC matrisleri kullanılarak atomik yükler ve atomlar arası mesafelerin karşılaştırılması ile ECSP 1.0 (Elektron Konformasyon Alt Matris Programı) adını verdiğimiz, şu an yazımına devam edilen ve geliştirilmeye çalışılan bir program ile farmokofor grubu temsil eden alt matris (ECSA elektron konformasyonel alt matris) belirlenir. Bu program için C programlama dilinde yaklaşık 50 sayfalık (2500 satır) bir kod yazılmıştır. Programın arayüzü Şekil 3.7 de verilmektedir. Bu şekilde altmatris taraması için verdiğimiz yük ve mesafe tolerans değerleri ile birlikte kullandığımız matris dosyası, çıktı dizini görülmektedir. Burada kontrol bileşiği olarak verilen en aktif olan bileşik verilir, aktivite sınır bileşiği ise serideki aktivitesi en düşük olan bileşiktir. İyilik sınırı hesaplama sonucunda çok fazla bilgi olduğu için sonuçları daha iyi görebilmek için gereksiz bilgilerin çıktı dosyasında görülememesini sağlar. Üst grup olarak belirtilen grup ise bütün bileşiklerdeki ortak temel yapıyı göstermektedir. Genellikle en basit yapılı molekül üst grup olarak tanımlanmıştır. Bu grup hesaplamalarda kolaylık sağlamakta ve hesaplama süresini kısaltmaktadır. Yanda görülen atom grupları ise farmakofor grup olarak düşünülen atomlar olup elde edilen hesaplama sonuçları içerisinden analiz yapılarak en uygun olan farmakofor grubu belirlemek için kullanılır.



Şekil 3.7 ECSP 1.0 Programına Ait Arayüz

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.

Bu işlemin sonuçları matris 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. Tolerans değerleri aktivitenin çok önemli parametrelerinden biridir. Bileşiklerin farklı aktivite göstermeleri bu tolerans değerlerinin kantitatif olarak bir fonksiyonudur. Aktif bir bileşikten daha az aktif bir bileşiğe gidildikçe tolerans değerlerinin dinamik değişimi aktivitenin değişiminde önemli bir rol oynar. İlk olarak, belli bir aktiviteye sahip olduğu bilinen referans bir bileşik seçilir. 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. Tolerans değerleri iyi bir sonuç elde edilinceye kadar azar azar düşürülür.

Bilgisayar hızına bağlı olarak matris karşılaştırması çok kısa zamanda gerçekleştirilebilir. Çakışan matris 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.

Çoğu QSAR yöntemi farmakofor grubun bulunmasını istatistiksel yöntemle yapar ancak bu yöntemde istatistiksel yöntemler kullanılmaz [100].

3.5.6 Adım 5

Adım 5 te ise; AG ve APS grupların aktiviteye katkısını gösteren ve aktivite hesaplamalarında kullanlacak olan moleküler parametreler EMRE 1.2 programı ile hazırlanır. Alt matrisin yani farmakoforun belirlenmesinden sonra moleküllerde aktiviteye etki eden grupların, serideki bileşiklerin temel iskeletine bağlı olan substituentlerin etkisine göre araştırılması için Eşitlik 3.29 da verilen aktivite formülü kullanılır. Bunun için EC metotta olduğu gibi APS veya AG grupların katkısını ortaya çıkarmak için APS ve AG değerlerini kantitatif olarak karakterize eden ve S ile gösterilen bir parametre dikkate alınır. Yani EC-GA metodunda da AG ve APS gruplarının etkisini hesaba katmak için aktiviteyi artıran yada azaltan S fonksiyonu kullanılır.

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

(3.28)

Burada $a_{ni}^{(j)}$, n'inci bileşiğin i'inci konformerindeki APS veya AG nin j'inci tür özelliğini temsil eden torsiyon açısı, elektrostatik veya muliken yükleri, dik uzaklık, HOMO, LUMO, kimyasal potansiyel, oluşum entalpisi, solvatasyon, logP, hardness, negativity, ovality, elektrofilik indeks ve atomlar arası uzaklık gibi özellikler ile tanımlanmış bir parametredir. Bu parametreler molekülün özelliklerini tanımlayan ve QSAR çalışmalarında yaygın olarak kullanılan değişkenlerdir [101]. N seçilen parametrelerin sayısı ve kj (kappa) toplu analiz sonucundan hesaplanan değişken bir katsayıdır. kj değerleri birimsiz ifadedir. kj katsayısının mutlak değerinin büyüklüğü, aktivite üzerindeki etkiyi gösterir ve APS ve AG gruplarını üç boyutlu yapı içinde tanımlamak için Pha'dan sonra ikinci derecede öneme sahiptir. Bu çalışmada kullanılan bazı değişkenler aşağıda kısaca açıklanmıştır.

3.5.6.1. Moleküler Parametreler

Bu çalışmada kullanılan elektronik, geometrik ve fizikokimyasal parametreler kısaca açıklanmıştır.

HOMO (highest occupied molecular orbital) bir moleküldeki en yüksek enerjili dolu orbitali,

LUMO (lowest unoccupied molecular orbital) ise bir moleküldeki en düşük enerjili boş orbitali belirtir. ε_{HOMO} ve ε_{LUMO} şeklinde gösterilir [102].

Hardness: Hardness (η) moleküllerin dayanıklılığıdır ve lumo ile homo enerjileri arasındaki farkın yarısına eşittir. Sonuçlar au (atomic unite) cinsinden elde edilir. Şu şekilde gösterilir.

$$\eta \approx \frac{1}{2}(I - A) \approx \frac{1}{2}(\varepsilon_{LUMO} - \varepsilon_{HOMO})$$

$$I \approx -\varepsilon_{HOMO} \quad \text{ve} \quad A \approx -\varepsilon_{LUMO}$$

Formuldeki *I* iyonizasyon potansiyeli, *A* ise elektron afinitesini göstermektedir.

Sistemden bir elektron çıkarıldığı zamanki enerji değişimine iyonizasyon potansiyeli (I), bir elektron eklendiği zamanki enerji varyasyonuna ise elektron afinitesi (E) denir [102].

Elektoron afinitesi: Bir ligantın bir donör atomdan tam olarak bir elektron alma yatkınlığıdır. LUMO nun ters işaretlisidir.

İyonizasyon potansiyeli: HOMO nun ters işaretlisidir.

Kimyasal sertlik: Hardness ile aynı formulle hesaplanır fakat sonuç eV (elektron volt) cinsinden bulunur.

Softness: Softness kimyasal reaktivitenin derecesini ölçen moleküllerin bir özelliğidir. Ayrıca Hardness in tersidir. S şeklinde gösterilir.

$$S = \frac{1}{\eta}$$

Kimyasal potansiyel: μ şeklinde gösterilir ve aşağıdaki formülle hesaplanır [102].

$$\mu \approx -\frac{1}{2}(I + A) \approx \frac{1}{2}(\varepsilon_{HOMO} + \varepsilon_{LUMO})$$

Elektronegatiflik: Bir molekülde ki atomun elektronları kendine çekme kapasitesidir. Kimyasal potansiyelin zıt işaretlisidir. χ şeklinde gösterilir.

$$\chi = -\mu \qquad \chi = \frac{I + A}{2}$$

Elektrofilik indeks: Donör ve akseptör arasındaki elektron alışverişi sırasında oluşan enerji azalmasının bir ölçüsüdür. (ω) şeklinde gösterilir ve aşağıdaki formülle hesaplanır [102].

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta}$$

Ovality: Bir molekülün nasıl küre yada silindirik şekilde olacağının bir ölçüsüdür.
Hacim ve alan oranına bakılarak aşağıdaki şekilde tanımlanır.

$$O = A / (4*Pi* ((3*V) / 4*Pi) ^ (2/3))$$

A: alan, V: hacim, O: ovality i ifade etmektedir.
Bağ dipol moment: Bir moleküldeki kimyasal bağın polarlığının bir ölçüsüdür. Bağ dipolu (μ) şu şekilde verilir:

$$\mu = \delta\, d$$

$^{+}\delta - \delta^{-}$ şeklinde gösterilen bağ dipolunda ki d kısmi pozitif ve kısmi negatif yükler arasındaki uzaklığı verir. $^{+}\delta - \delta^{-}$ ise bağ ile paralel olan ve pozitiften negatife giden bir vektör demektir.
Nükleer yüklerin bir setteki kuantum mekanik dalga fonksiyonunun dağılması 3 yolla mümkündür. Bunlar mulliken yükler, natural yükler ve elektrostatic yükler dir.
1. Mulliken yük standart mulliken analizini kullanarak iki atom merkezinin yoğunluk/dalga fonksiyonunu alır ikiye böler, böylece herbir bileşen atomundaki elektron bulutunun yarısı alınmış olur.
2. Natural yükler mulliken yüklere benzerdir fakat büyük setler için matematiksel hesaplamalarla daha iyi sonuçlar elde edilir. Natural ve mulliken yükler herbir atomun yükünün kimyasal reaktivitesini saptamak için kullanılan en iyi yöntemlerdir.
3. Elektrostatik yük bütün dalga boylarının meydana getirdiği elektrostatik alandan yüklerin oluşturulduğu sayısal bir metottur. Molekül yada atomun elektrostatik

potansiyelinin yarısı söz konusu olduğunda elektrostatik yükü kullanmak daha uygundur.

Polarizability: Polarizability yük dağılımının bağıl bir ölçüsüdür. Yani bir atom yada moleküldeki elektron bulutudur ki bu en dış elektrik alanla molekül yada atomun biçiminin bozularak iyon yada dipole yakın bir görünüme sahip olmasıyla gerçekleşir.

α ile gösterilen elektronik polarizability bir atomun indüklenmiş dipol momentinin (P), bu dipol momenti oluşturan elektrik alana (E) oranıdır [103].

$$P = \alpha E$$

Bağ açısı: Bir moleküldeki üç atom arasındaki açıdır.

Torsiyon açısı: Bir molekülde dört atomdan oluşan iki düzlem arasındaki açıdır.

Atomlar arası mesafe ve bağ mesafesi: Atomlar arası mesafe atomlar arası denge mesafesidir ve itici ve çekici güçler arasında bir denge ile oluşur. Bağ mesafesi ise kovalent olarak bağlı iki atomun çekirdekleri arasındaki mesafedir

Bağ derecesi: iki atom arasındaki bağ sayısı olup bağ derecesi kaçlı bağ olduğunu gösterir. Diğer bir deyişle, iki atom 2 elektron paylaşırsa tek bağ, 4 elektron paylaşırsa çift bağ, 6 elektron paylaşırsa üçlü bağ meydana gelir. Bağ derecesi arttıkça bağ uzunluğu azalır.

$$\textbf{Bağ derecesi} = \frac{\textbf{Bağ MO deki é sayısı toplamı} - \textbf{Karşıbağ MO é sayısı}}{\textbf{2}}$$

Elektronlar, kovalent bağlarda atomları bir arada tutar. Bağ derecesinin yüksekliği, daha çok elektronun bulunduğunu ve böylece atomların daha sıkıca bir arada tutulduğunu gösterir.

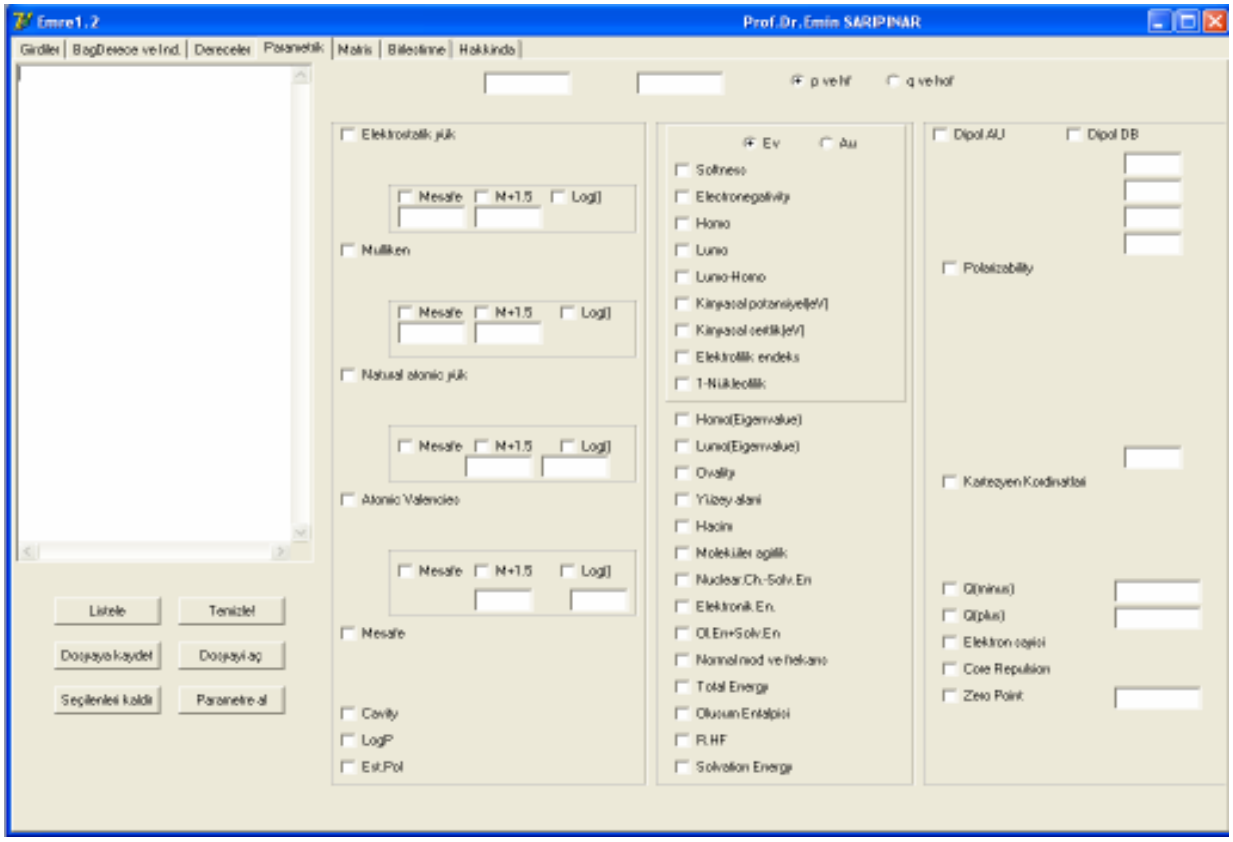
Dik uzaklık: Bir moleküldeki en uzak atomun seçilen belli bir düzleme (farmakofor düzlemi) dik uzaklığıdır. (Bkz. Şekil 4.2.)

LogP: Yüklü ya da yüksüz küçük organik moleküllerdeki oktanol-su çözünme katsayısıdır. Oktanol-su çözünme katsayısı iki çözücü olan su ve oktanoldaki diferansiyel çözünürlüğün bir ölçüsüdür. Bu ise bir maddenin bağıl hidrifobisite ve hidrofilisitesinin bir ölçüsüdür.

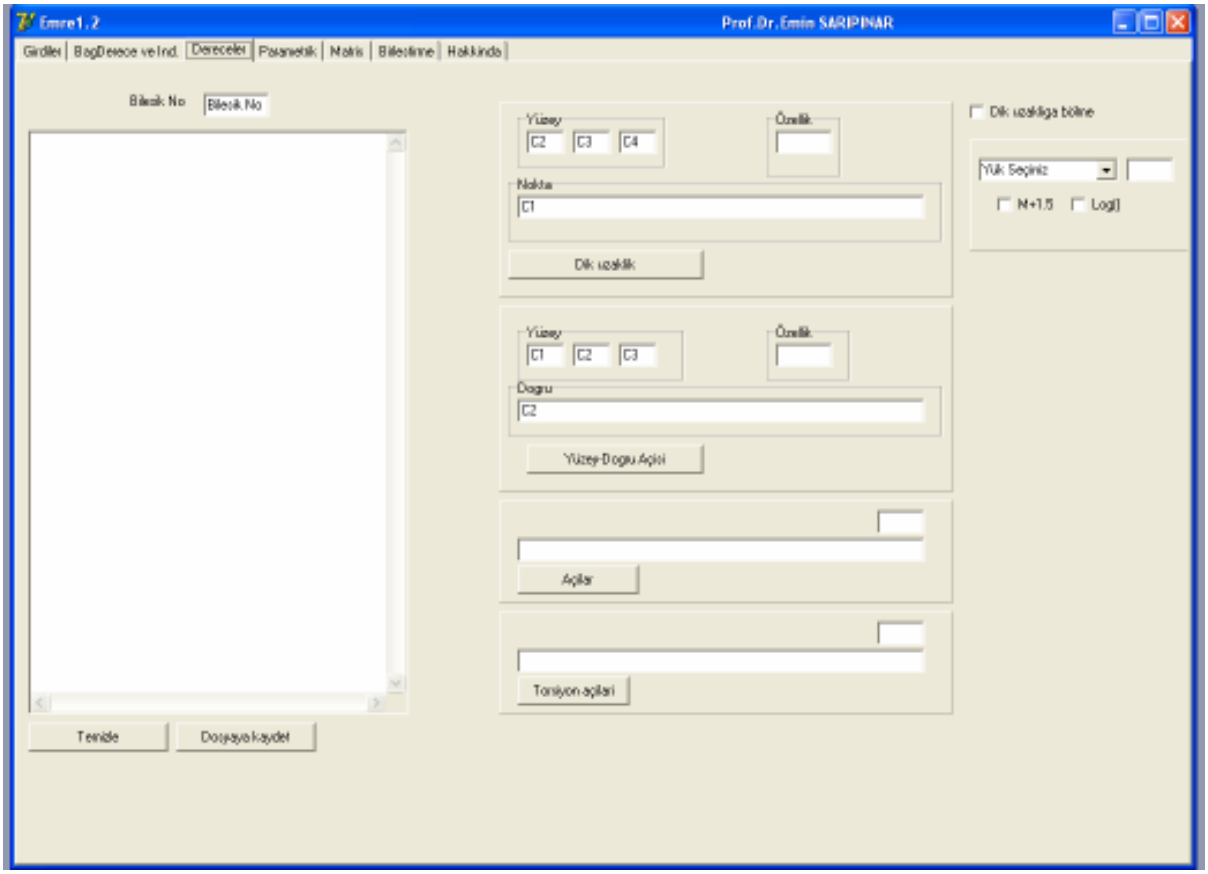
İlaç benzeri maddelerin içeriğindeki moleküler büyüklük ile birlikte, dönen bağların sayısı ve hidrojen bağlarına yatkınlık, LogP değeri; apsorpsiyon, biyoyararlılık, hidrofobik ilaç reseptör etkileşimi, metabolizma ve toksisite ile ilişkilidir [104].

$a_{ni}^{(j)}$ parametresinin yani değişkenlerin seçimi önemlidir. Çünkü aktiviteye etki eden

grup özelliklerinin elde edilmesini sağlar. Aktivite üzerinde etkisi olduğu tahmin edilen ve QSAR çalışmalarında kullanılan bu parametreler, EMRE 1.2 programının Şekil 3.8 ve Şekil 3.9 da görülen "parametrik" ve "dereceler" sekmeleri kullanılarak, S fonksiyonundaki formata uygun şekilde hazırlanır. EMRE 1.2 programı, serideki bileşiklerin toplamda yüzlerce konformerinin olduğu düşünülürse bu konformerlerin her biri için oluşturulması gereken çok sayıda değişkenin, yaklaşık 2400-2500 sayfalık çıktılar halinde bulunan txt. dosyalarından yerlerinin tespit edilip istenilen formatta elle yazılması mümkün olmamasından dolayı geliştirilmiştir. Ayrıca bu programda txt. dosyalarında çıktı olarak bulunmayan ve aktivite hesaplamalarında çok büyük önem taşıyan torsiyon açısı, farmakofor olarak belirlenen düzleme diğer atomların dik uzaklığının hesaplanması ve en uzak atomların farmakofor düzlemine olan dik uzaklığının logaritması ile bu uzaklığa Hidrojen atomunun van der waals yarıçapı olan 1.5Å mesafesinin toplamı da matematiksel olarak ifade edilen bunun gibi değişkenlerin hesaplanması ve bulunması da EMRE 1.2 programında gerçekleştirilmiştir. Son olarak yine bu programda düzlem ile seçilen iki atom arasındaki açıyı ölçmek için yine bu program kullanılmıştır.



Şekil 3.8 EMRE V1.2 Programına Ait "Parametrik" Sekmesi



Şekil 3.9 EMRE V1.2 Programına Ait "Dereceler" Sekmesi

3.5.7 Adım 6

Son olarak adım 6 da ise; serideki deneysel aktivitesi bilinen bileşikler ve konformerleri için belirlenen değişkenler hazırlandıktan sonra Matlab 7.0 paket programında yazılan ve genetik algoritma (GA) optimizasyon tekniği kullanarak çalışan yeni bir kod ile aşağıda belirtilen formüle göre aktivite hesaplamaları yapılır.

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

(3.29)

Burada A_l referans bileşiğin deneysel aktivitesi, E_l referans bileşiğinin oluşum entalpisi, A_n aktivitesi hesaplanacak bileşiğin aktivitesi, E_n aktivitesi hesaplanacak bileşiğin oluşum entalpisi, m_l referans bileşiğin konformer sayısı, m_n aktivitesi bulunacak bileşiğin konformer sayısı, k Boltzman sabiti (burada gaz fazında hesaplamalar

yapıldığı için bir mol bileşik için kcal/mol cinsinden R, gaz sabiti olarak alınmaktadır.), T ise kelvin cinsinden sıcaklığı ifade etmektedir. Bersuker Eşitlik 3.29 da gösterilen bu formülü kullanarak bir bileşiğin tüm konformerlerini hesaba katarak aktivite hesaplaması için algoritma geliştiremediğinden dolayı sadeleştirilmiş formül olan ve en düşük enerjili bir konformeri hesaba katan

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

formülünü kullanmaktadır. Burada bir molekülün diğer konformerlerinin inaktif pozisyonda olduğunu kabul ederek sadece en düşük enerjili konformeri üzerinden hesaplama yapılmaktadır. Gerçekte ise biyoalıcı ile molekülün hangi konformerinin etkileştiği net olarak açıklanamamaktadır. Biyolojik ortamda hangi konformerin daha aktif olduğu ve boltzman dağılımlarının nasıl değiştiği bilinmemektedir. Bu nedenle relatif olarak belli bir enerji değerine sahip bütün konformerlerin aktivite hesaplamalarında kullanılması uygundur. Bersuker bu sorunu çözemediğini çalışmasında belirtmiştir. Bu çalışmada ise eşitlik 3.29 da gösterilen bu formül kullanılarak bir bileşiğin tüm konformerleri hesaba katılarak genetik algoritma tekniği ile çözülmüştür.

Eşitlik 3.28 ve eşitlik 3.29 da verilen $a_{ni}^{(j)}$ parametresine bağlı olarak hesaplanması gereken çok sayıda kj değeri ortaya çıkmakta, bileşik sayısına ve hesaplanması gereken kj değerine bağlı olarak bilinmeyen sayısı ile denklem sayısı eşit olmamakla birlikte bazı durumlarda denklemler bilinen çoğu matematiksel kurallar ile çözülememekte ve çalışmanın en zor kısmını k_j değerlerinin hesaplanması oluşturmaktadır. Örneğin biz çalışmalarımızda 15 değişkene karşılık 36 denklem ile karşılaştık ve Mathematica paket programını kullanarak bu karmaşık denklem sistemlerini çözemedik. Bu nedenle oluşan bu karmaşık denklem sistemlerinin çözülebilmesi için Matlab 7.04 paket pogramında yaklaşık 40 sayfalık (2000 satır) yeni bir kod yazıldı ve ancak genetik algoritma sayısal optimizasyon tekniği kullanılarak aktivite ve kj hesaplamaları gerçekleştirilmiştir.

3.5.7.1. Sayısal Optimizasyon

İnsanların yaşamları boyunca karşılaştıkları sorunları çözüm arayışları zamanla bu çözümleri modeller üzerinde arama yaklaşımını doğurmuştur. Matematik ve bilgisayardaki gelişmeleri dış dünyanın problemlerini matematiksel olarak modelleyip çözerek bu çözümleri gerçek hayata yansıtma olanağı vermiştir.

Matematiksel modelleme tekniği öncelikle doğrusal ve az sayıda değişkenlerin kullanılmasıyla başlamıştır. Bir süre sonra doğrusallık varsayımını her problem için geçerli olmadığı anlaşılmıştır. Bu durumda doğrusal olmayan modellemeye gidilmiştir. Ancak doğrusal olmayan modellerin kendine özgü çözümleri uygulamada birçok sorunu beraberinde getirmiştir. Zamanla geliştirilen bazı yöntemlerle doğrusal olmayan modellerin hızla çözümlenmesi sağlanmış ve bu optimizasyon teorisini geliştirmiştir.

Optimizasyon, reel bir fonksiyonu maksimize veya minimize etme probleminin çözümünü, çözüm için izin verilen bir küme dahilindeki reel veya tamsayı değerlerini sistematik bir şekilde kullanarak arama işlemidir. Optimizasyon "En İyileme" anlamına gelir ve herzaman için hedeflenen bir sonuçtur. Bir işin yapılmış olması demek, o işin en iyi şekilde yapıldığı anlamına gelmez. Örneğin yaklaşık 200 değişkenli bir kümede sekiz parametre bulunan PC lerle en iyi çözüm için ortalama ortalama 20 yıl gerekmektedir. Optimizasyon teknikleri, yapılmış veya yapılmakta olan işin en iyi çözümünü ortaya koymak için kullanılır. Bu teknikler kullanılarak ortaya konulmuş olan çözüm, Optimum Çözüm olarak adlandırılır. Hedef her zaman için bu optimum çözümü yakalayabilmektir.

Kök arama ve optimizasyon bir bakıma birbirine benzerler. Kök arama, fonksiyonların sıfır olduğu noktaların aranması işlemidir. Optimizasyon hesaplamalarında ise minimum ve maksimum noktaların aranması söz konusudur. Türevin sıfır olduğu noktayı bulma işlemi kök bulma gibi yorumlanır ise kök bulma yöntemlerinin optimizasyon yöntemleri olarak da kullanılabileceği düşünülebilir.

Optimizasyon teknikleri, anlamından da anlaşılacağı gibi çok geniş bir yelpazede kullanım alanlarına sahiptirler. Mühendislikten işletme ve ekonomiye, askeri modellerden tarıma, tıp ve ilaç sektöründen spora kadar birbirlerinden çok farklı alanlarda geniş ölçüde kullanılmaktadır. Daha spesifik olarak, örneğin, uydu yörüngelerinin düzenlenmesi, robot kolunun hareketinin optimizasyonu, finansal planlama, taşımacılık problemleri, spor liglerinin optimizasyonu, mamul karışım problemleri, askeri hedeflerin vurulmasında optimal silah karışımının belirlenmesi ve radyoterapide ışınların optimal açı ve yoğunluklarının belirlenmesi bunlardan sadece bir kaçıdır.

Optimizasyon modelleri yukarıdada belirtildiği gibi matematiksel teknikler kullanmaktadır. Daha özel anlamda, optimizasyon modelleme geleneksel olarak *matematik programlama* olarakta adlandırılmaktadır. Diğer bir ifadeyle, matematik programlama, optimizasyon modelinin kurulması ve çözümün elde edilmesi işlemine

verilen genel isimdir. Geçmişten gelen bir gelenekle günümüzde de "matematik programlama" ve "optimizasyon" kavramları eşanlamlı olarak kullanılmaktadır.

Optimizasyonun hedefi özellikle en kisa sürede en iyi ve en uygun sonucu elde etmektir. Optimizasyon, proseslerdeki en uygun çalisma kosullarinin belirlenmesi için kullanilir. Çalışmalarda optimize edilecek olan parametrelerin önceden seçilmesi gerekir. Seçilen parametreler ile hazirlanan modelin özelliklerine göre programlama tipine karar verilir. Algoritma ise, bir sorunun çözümü için gerekli olan islem grubu olarak tanımlanabilir. İyi bir algoritmada olmasi gereken özellikler göz önüne alinarak programlama tipine göre bir algoritmanin hazirlanmasi gerekir. Kullanim kolayligina göre de optimizasyon tipine karar verilir. Çok karmaşık modeller ile hazırlanan optimizasyonun işlemesi çok yavaş olacaktır. Basit bir optimizasyon modeli ise kolay anlaşılırdır ancak bu seferde doğruluktan sapmalar olacak bazen de optimizasyon döngüsü tamamlanmayacaktır. Optimizasyon seçimi için bile bir optimizasyon yapmak gerekebilir.

Optimizasyon modelleri çeşitli kriterlere göre sınıflandırılabilmektedir. Matematik programlar fonksiyonlarının tipine göre birinci dereceden fonksiyonlardan oluşuyorlarsa *lineer programlama*, diğer durumlarda ise *lineer olmayan programlama* şeklinde sınıflandırılırlar. Karar değişkenlerinin tipine göre, sadece tam sayılı değişkenlerden oluşan problemlere *tam sayılı programlama* adı verilir. Hem sürekli hem de tam sayılı değişken içeren modeller ise *karma tam sayılı programlama* adını alırlar. En az bir tane rassal parametre içeren programlar ise *stokastik programlar* olarak nitelendirilirler. Aksi halde ise model *deterministik* olarak isimlendirilir. Optimizasyon probleminin çözümü zamanın bir fonksiyonu ise, problem *dinamik programlama* olarak adlandırılmaktadır. Dinamik programlama da kendi içerisinde deterministik ve stokastik olarak sınıflandırılabilmektedir. Birden fazla amaç fonksiyonuyla başa çıkmak için geliştirilen ve çok kriterli karar verme aracı olan *hedef programlama*, birbirleriyle çelişebilen amaçları hep birlikte göz önüne almakta ve amaçlardan sapmaları minimize ederek çözüme ulaşmaktadır. *Konveks* ve *kesirli programlama* türleri de yine yaygın olarak kullanılabilen optimizasyon modellerindendir.

Eğer problem içindeki değişkenler optimum noktayı sağlarken aynı zamanda belirlenen bir aralık içinde de kalmaları gerekiyorsa optimizasyon kısıtlı optimizasyon olarak, eğer bir sınır söz konusu değilse optimizasyon kısıtsız optimizasyon olarak adlandırılır. Amaç fonksiyonu içindeki değişken sayısı bir adet ise tek boyutlu optimizasyon, amaç

fonksiyonundaki değişken sayısı birden fazla ise çok boyutlu optimizasyon olarak adlandırılır [105-108].

Aktivite ve kj sabitlerinin hesaplamasında kullanılan genetik algoritma mantığının çalışma prensibi ise aşağıdaki sistem üzerine kurulmuştur.

3.5.7.2 Genetik Algoritma

Genetik algoritmalar yapay zekanın gittikçe genişleyen bir kolu olan evrimsel hesaplama tekniğinin bir parçasını oluşturmaktadır. Adından da anlaşıldığı üzere, evrimsel hesaplama tekniğinin bir parçası olan genetik algoritma Darwin'in evrim teorisinden esinlenerek oluşturulmuştur. Herhangi bir problemin genetik algoritma ile çözümü, problemi sanal olarak evrimden geçirmek suretiyle yapılmaktadır.

Evrimsel hesaplama ilk olarak 1960'larda I.Rechenberg tarafından "Evrim Stratejileri (Evolutionsstrategie)" isimli eserinde tanıtılmıştır. Onun fikri daha sonra başka araştırmacıların da ilgisini çekmiş ve geliştirilmiştir. John Holland evrim sürecinin bir bilgisayar yardımıyla kullanılarak, bilgisayara anlayamadığı çözüm yöntemlerinin öğretilebileceğini düşündü. Genetik Algoritma (GA) böylece John Holland tarafından bu düşüncenin bir sonucu olarak bulundu. Onun öğrencileri ve arkadaşları tarafından geliştirildi ve bu sayede Holland'ın kitabı "Doğal ve Yapay Sistemlerde Adaptasyon (Adaption in Natural and Artificial Systems)" 1975 yılında yayınlandı.

1992 yılında John Koza genetik algoritmayı kullanarak çeşitli görevleri yerine getiren programlar geliştirdi. Bu metoda Genetik Programlama adını verdi.

Genetik algoritma geleneksel yöntemlerle çözümü zor veya imkansız olan problemlerin çözümünde kullanılmaktadır [109]. GA tekniği, çözüm uzayının büyüklüğüne rağmen iyi bir çözüme kısa zamanda yakınsamaktadır. Genetik algoritma raslantısal arama tekniklerini kullanarak çözüm bulmaya çalışan, parametre kodlama esasına dayanan sezgisel bir arama tekniğidir. Genetik algoritmalar doğadaki canlıların geçirdiği süreci örnek alır ve iyi nesillerin kendi yaşamlarını muhafaza edip kötü nesillerin yok olması prensibine dayanır. Matematiksel modellemenin yapılamadığı veya kesin çözümün olmadığı problemlerde genetik algoritmadan yararlanılır [110]. Genetik algoritma, seçim çaprazlama ve mutasyon olmak üzere üç temel işlemden (operatörden) meydana gelmektedir [111].

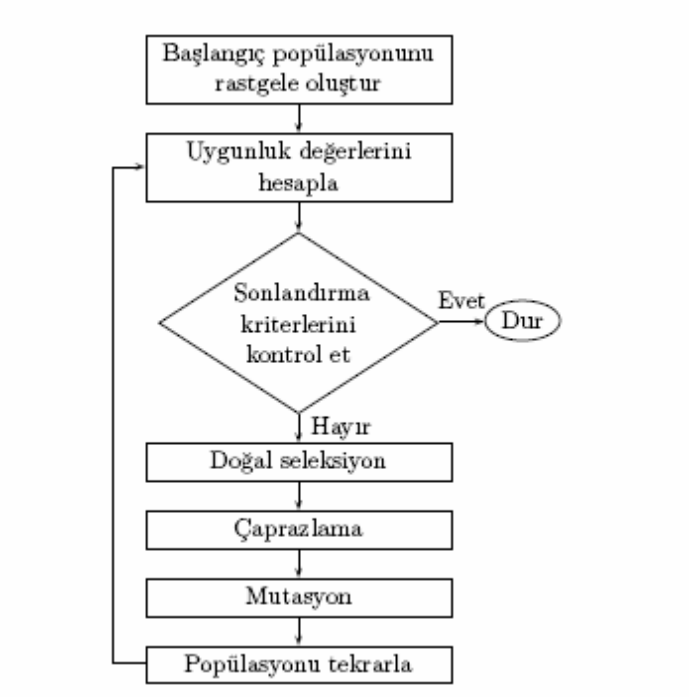
Genetik algoritmanın önemli özelliklerinden biride bir grup üzerinde çözüm araması ve bu sayede çok sayıda çözümün içinden en iyiyi seçmesidir. Genetik algoritma tek bir

alana bağımlı kalarak çözüm aramaz yığının tamamında çözüm arar. Genetik algoritmanın uygulanmasında kullanılan operatörler raslantısal yöntemlere dayanır ve kesin yöntemler kullanmaz [111].

Algoritma ilk olarak populasyon diye tabir edilen bir çözüm (kromozomlarla ifade edilir) seti ile başlatılır. Bir populasyondan alınan sonuçlar bir öncekinden daha iyi olacağı beklenen yeni bir populasyon oluşturmak için kullanılır. Yeni populasyon oluşturulması için seçilen çözümler uyumluluklarına göre seçilir. Çünkü uyumlu olanların daha iyi sonuçlar üretmesi olasıdır. Bu istenen çözüm sağlanıncaya kadar devam ettirilir.

Görüldüğü üzere genetik algoritmanın yapısı oldukça geneldir ve herhangi bir probleme uygulanabilir. Kromozomların tanımlanması genellikle ikili düzendeki sayılarla yapılır. Çaprazlama işlemi için kullanılan bireyler iyi bireylerden seçilir [110].

Başlangıçta doğrusal olmayan (nonlineer) en iyileme problemlerine uygulanan genetik algoritma, sonraları karmaşık problemler de başarıyla uygulanmıştır. Son yıllarda üretim, planlama tasarım, elektronik ve finansman gibi farklı ve çok geniş sahaları kapsayan konuların alt birimlerinde yapılan gerek teorik gerekse uygulamalı genetik algoritma çalışmalarının sayısı artmaktadır [110].Genetik Algoritmanın Aşamaları Şekil 3.10 da görülmektedir.



Şekil 3.10. Genetik Algoritma Akış Şeması.

Genetik algoritmanın çalışmasını aşağıdaki adımlarla özetleyebiliriz

1. Adım: Olası çözümlerin kodlandığı bir çözüm grubu oluşturulur. Çözüm grubu biyolojideki benzerliği nedeniyle populasyon, çözümlerin kodları da kromozom olarak adlandırılır. Bu adıma populasyonda bulunan birey sayısını belirleyerek başlanır. Bu sayı için bir standart yoktur. Genel olarak önerilen 100-300 aralığında bir büyüklüktür. Büyüklük seçiminde yapılan işlemlerin karmaşıklığı ve aramanın derinliği önemlidir. Populasyon bu işlemden sonra rasgele oluşturulur.

2. Adım: Her kromozomun ne kadar iyi olduğu bulunur. Kromozomların ne kadar iyi olduğunu bulan fonksiyona uygunluk fonksiyonu denir. Bu fonksiyon işletilerek kromozomların uygunluklarının bulunmasına ise hesaplama(evalution) adı verilir. Bu fonksiyon genetik algoritmanın beynini oluşturmaktadır. GA da probleme özel çalışan tek kısım bu fonksiyondur. Çoğu zaman GA nın başarısı bu fonksiyonun verimli ve hassas olmasına bağlı olmaktadır.

3. Adım: Bu kromozomları eşleyerek yeniden kopyalama ve değiştirme operatörleri uygulanır. Bu sayede yeni bir populasyon oluşturulur. Kromozomların eşlenmesi kromozomların uygunluk değerlerine göre yapılır.

4. Adım: Yeni kromozomlara yer açmak için eski kromozomlar ortadan kaldırılır. Eski kromozomlar çıkartılarak sabit büyüklükte bir populasyon sağlanır.

5. Adım: Tüm kromozomların uygunlukları tekrar hesaplanır. Tüm kromozomlar yeniden hesaplanarak yeni populasyonun başarısı bulunur.

6. Adım: GA defalarca çalıştırılarak çok say da populasyon oluşturulup hesaplanır. Eğer zaman dolmamışsa 3. adıma gidilir.

7. Adım: O ana kadar bulunan en iyi kromozom sonuçtur. Çünkü populasyonların hesaplanmasında en iyi bireyler saklanmıştır.

Görüldüğü üzere genetik algoritmanın yapısı oldukça geneldir ve herhangi bir probleme uygulanabilir. Kromozomların tanımlanması genellikle ikili düzendeki sayılarla yapılır. Çaprazlama işlemi için kullanılan bireyler iyi bireylerden seçilir.

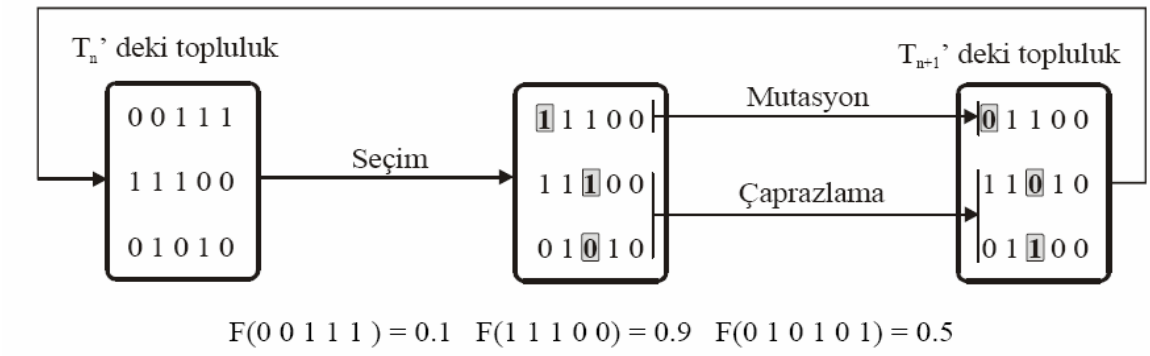
GA kullanılarak bir problem çözülecekse algoritmanın ne zaman sonlanacağına kullanıcı karar vermektedir. GA'nın belli bir sonlanma kriteri yoktur. Sonucun yeterince iyi olması veya yakınsamanın sağlanması algoritmanın durması için kriter olarak kullanılabilir [112].

3.5.7.2.1. Genetik Algoritma Operatörleri

Genetik algoritmanın en önemli kısımları çaprazlama ve mutasyon işlemleridir. Bu işlemler bir olasılık değeri ile ve genelde rasgele olarak uygulanır. Bu şekilde iyi sonuç alınabilmektedir.

3.5.7.2.1.1. Gen Havuzu

Gen havuzu, kromozomların uygunluklarının değerlendirilip kopyalama işleminin yapıldığı yerdir. Şekil 1'de gen havuzunda yapılan işlemler görülmektedir. Burada F(00111)=0.1, F(11100)=0.9, F(01010)=0.5, topluluğun uygunluk değerlerini göstermektedir. Bu topluluk içerisinden uygunluk değeri yüksek olan bireyler seçilerek, en yüksek uygunluklu birey, uygunluğu düşük olan bireyin yerini almaktadır. Daha sonraki adımda ise ilk birey mutasyona uğratılmakta, ikinci ve üçüncü bireyler ise çaprazlama işlemine tabi tutulmaktadır. Bir sonraki adımda yeni bireyler oluşmaktadır. Bu işlemler daha önce verilmiş bir jenerasyon sayısına kadar veya topluluk artık başarıda artış sağlayamaz duruma gelinceye kadar devam etmektedir. Genetik Algoritma ile yapılan işlemler genellikle aşağıda belirtilen üç operatör yardımıyla icra edilmektedir [114].



Şekil 3.11 Genetik Algoritma İşlemleri

3.5.7.2.1.2. Seçim

Bu operatör yeni topluluk içerisinde, uygunluğu yüksek bireylerin bulunmasını sağlamaktadır. Burada bahsedilen uygunluk değeri, Genetik Algoritma ile bulunan problemin sonuç değerini göstermektedir. Bireylerin uygunluk değerleri esas alınarak seçim işlemi yapılmaktadır. Seçim işlemi topluluk içerisinde uygunlukları düşük olan bireyleri eleyip, elenenler yerine uygunlukları yüksek olan bireylerin birkaç adet kopyasını yaparak tamamlanmaktadır edilmektedir [114].

3.5.7.2.1.3. Çaprazlama

Biyolojik terim olarak çaprazlama genel olarak, bir bireyin içerisindeki değişimi kastetmesine rağmen, çaprazlama terimi burada bireyler arasındaki benzer alt kromozomların değişimlerini ifade etmektedir. Kromozom temsil ettiği çözümle ilgili bilgi içermelidir. Her kromozom ikili (binary) bir diziden oluşur. Bu dizi içindeki bit adı verilen her bir sayı çözümün bir karakteristiğini temsil edebilir veya bir dizi bütünüyle bir sayıya işaret edebilir.

Kromozomu ikili düzendeki sayılar dizisiyle ifade etmek çok tercih edilen bir temsil şeklidir ancak bunun yerine tamsayı veya reel sayılar da kullanılabilir. İkili düzenin tercih edilmesinin sebebi basit olması ve bilgisayar tarafından daha kolay ve hızlı bir biçimde işlenebilmesidir.

Genetik Algoritmada çaprazlama iki kromozomun bir araya gelerek genetik bilgi değişimi yapmasıdır. İki ebeveyn arasında seçilmiş olan sitelerdeki genlerin yerleri değiştirilerek çaprazlama işlemi tamamlanmaktadır. En çok kullanılan çaprazlama çeşitleri bir noktalı çaprazlama, iki noktalı çaprazlama, üniform çaprazlama ve sıralı çaprazlamadır.

Yavru kromozomlar, ebeveynlerden farklı olmasına ragmen onların özelliklerini taşımaktadır. Aşağıda görüldüğü gibi, kromozom uzunlugu Lk=10 olan iki ebeveyn arasında 6. ve 10. sitelerde yapılan çaprazlama işlemiyle iki yavru birey oluşmaktadır [114].

1.Ebeveyn = 1 1 0 0 1 0 0 0 0 0 l.Çocuk = 1 1 0 0 1 1 0 0 0 1

2.Ebeveyn = 0 1 0 1 1 1 0 0 0 1 2.Çocuk = 0 1 0 1 1 0 0 0 0 0

3.5.7.2.1.4. Mutasyon

Sınırlı bir topluluk üzerinde çalışıldığında, toplulukta birkaç genetik bilginin erkenden kaybolma ihtimali bulunmaktadır. Mutasyon oluşan yeni çözümlerin önceki çözümü kopyalamasını önlemek ve sonuca daha hızlı ulaşmak amacıyla yapılır. Örnek olarak, bir kromozomu oluşturan genlerin tamamı 0 ya da 1 olabilmektedir. Böyle bir kromozomu çaprazlama operatörü ile değiştirmek mümkün olmamaktadır.

Çaprazlama vasıtasıyla üretilemeyen uygunluk değeri yüksek kromozomların, mutasyon vasıtasıyla üretmek mümkün olmaktadır. Bunun yanında uygunluk değeri oldukça yüksek olan kromozomları bozma ihtimali de bulunmaktadır. Aşağıda görüldüğü gibi Lk = 8 uzunlugundaki bir kromozomda, rasgele seçilmiş olan 5 numaralı sitede, 1 değeri yerine 0 yazılarak kromozom mutasyona uğratılmıştır [114].

01001101 01000101

3.5.7.2.1.5. Elitizm

Üreme, çaprazlama ve mutasyon işlemleri sonrasında kuşakta bulunan en iyi uyumluluğa sahip birey sonraki kuşağa aktarılamayabilir. Bunu önlemek için bu işlemlerden sonra oluşan yeni kuşağa bir önceki kuşağın en iyi (elit) bireyi, yeni kuşaktaki herhangi bir birey ile değiştirilir. Buna elitizm adı verilir [114].

3.5.7.3. EC-GA Metodunda Genetik Algoritmanın Uygulanışı

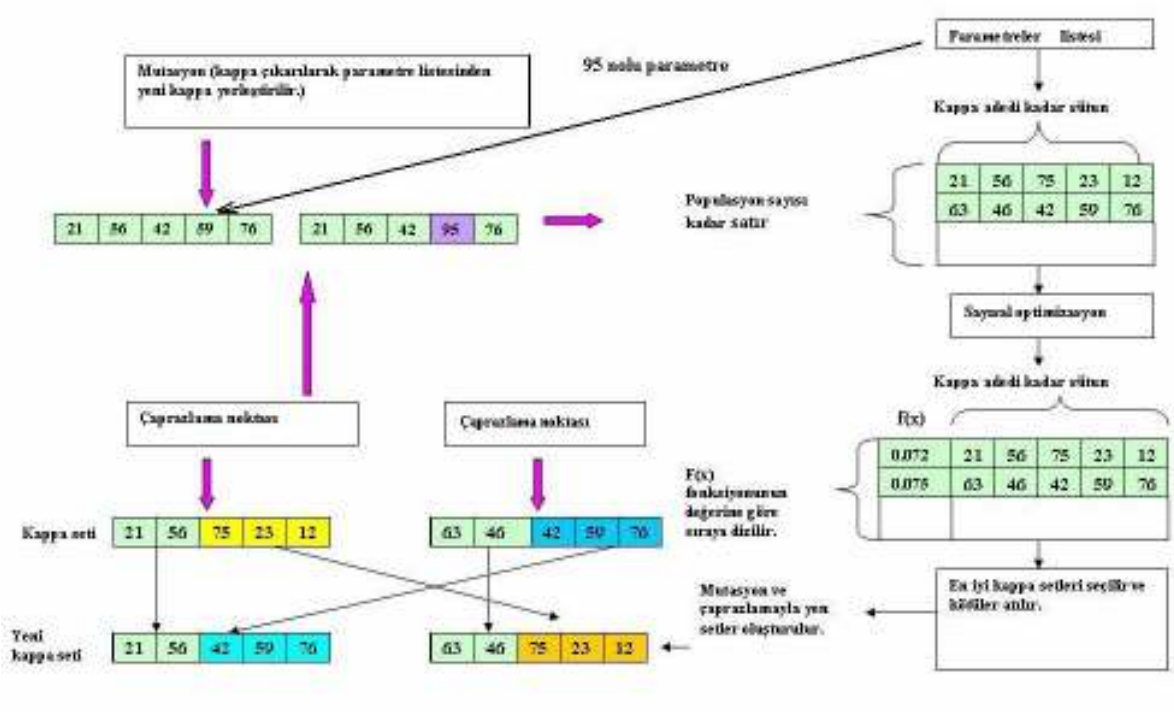
Çalışmada çok fazla parametre olduğundan, hangi parametrelerin üzerinden prosese devam edilecegine karar vermek çok zordur. Bunun için, üzerinde çalısılan proses hakkında gerekli altyapıyı bilmek, anlamak ve prosesi modellemek için sayısal çözüm metotlarina ihtiyaç vardir. Bu çalısmada problemi çözmek için MATLAB 7.04 programında optimizasyon metotlarından olan genetik algoritma tekniğini kullanan yeni bir kod yazılmıştır.

Yazılan bu kodda genetik algoritma optimizasyon tekniği içerisinde yer alan fmincon ve lsqnonlin komutu kullanılmıştır. fmincon komutu lineer olmayan çok değişkenli bir f(x) fonksiyonunu, verilen alt ve üst sınırlar içerisinde, lineer olmayan şartlar altında minimum yapan x değerlerini bulmak için nonlineer optimizasyon yapar. lsqnonlin en küçük kareler yöntemini kullanarak lineer olmayan problemleri çözer ve sürekli fonksiyonların minimize edilmesinde kullanılır. Alınan sonuçlar lokal, yani belirli alt ve üst sınırlar içerisinde kalan sonuçlardır. lsqnonlin komutu ile yapılan hesaplamalar fmincon komutu ile yapılan hesaplamalardan daha hızlı ve daha güvenlidir.

Genetik Algoritma tekniğinin moleküler paramöetreleri dikaate alarak yazılan kod içerisindeki çalışma prensibi ise Şekil 3.12 de açıklanmıştır. Karecikler içindeki sayılar gösterimin daha iyi anlaşılabilmesi için oluşturulmuş ve hesaplamalarda kullanılan rasgele seçilmiş moleküler parametrelerden bazılarını göstermektedir.

Programda sayısı kullanıcı tarafından belirlenen, satır sayısı populasyon sayısına eşit ve sütun sayısı da kapa adedine eşit olan bir matris oluşturulur. Örneğin kappa adedi=5 ve populasyon sayısı=200 ise 5 sütunlu ve 200 satırlı bir matris oluşturulur. EMRE 1.2 programı kullanılarak hazırlanan parametre (özellik) listesinden rastgele seçilen özellikler ile bu matrisin elemanları oluşturulur. Matrisin her bir satırı (kapa seti) lsqnonlin fonksiyonuna gönderilerek kappa değerleri hesaplanır.

Matrisin her bir satırı hesaplanan fonksiyon değerine göre küçükten büyüğe doğru sıraya dizilir ve kullanıcının belirlediği en iyi elemanlar (elit count) seçilir ve kalan satırlar silinir.



Şekil 3.12. MATLAB 7.04 Programında Genetik Algoritma Optimizasyon Tekniğinin Çalışma Prensibi

Örneğin ilk 15 satırı alınmış 200 satırlı bir matrisi tamamlamak için ise şu yol izlenir.15 satırlı matris'ten rastgele iki satır (kappa seti) seçilir. Bu iki kappa seti rastgele noktalardan çaprazlanarak yeni setler oluşturulur. İlk 15 satırı belli olan matrisin kalan 185 satırının %75'i yukarıda anlatılan çaprazlama işlemiyle oluşturulur. Kalan diğer satırların %0.015'i mutasyon olarak adlandırılan işlemle oluşturulur. Bu işlemde ise rasgele seçilen bir satırdan yine rasgele seçilen bir noktadan çıkarılan kappa yerine parametre listesinden yeni bir kappa yerleştirilir. Matrisin kalan son kısmı da yine parametre listesinden rasgele seçilen parametrelerle doldurulur. Bütün bu işlemler ile yeniden oluşturulan 200 satırlı matris için tekrar hesaplama yapılır. Böylece iyi olan kappa setleri tutularak iyi olmayan setler elimine edilmiş olur. Jenerasyon sayısı, uygunluk değeri ifadelerinde yer alan limit değerleri tamamlanıncaya kadar döngü devam eder. Fitness function olarak toplam bağıl hata formülü kullanılır.

$$f = \sum_{i=1}^{n} \frac{[AD - AT]}{AD}$$

Çalışmalarda kj adedi, populasyon sayısı ve kj limitleri değiştirilerek çeşitli denemeler yapılarak değişik bağıl hataya sahip birçok sonuç elde edildi ve bu sonuçların içinden en uygunlarını seçmek için istatistiksel olarak değerlendirme işlemine geçilir. İstatistiksel değerlendirme işlemi regresyon analizi yapılarak gerçekleştirilir. Regresyon işlemi ile elde edilen sonuçların değerlendirilmesi hesaplanan değerlerin birbirlerini ne oranda temsil ettiğini gösteren R (korelasyon katsayısı) ve doğru değerden ne kadar sapma olduğunu gösteren standart hata kavramları ile yapılır. İstatistiksel hesaplamalarda R kavramını hesaplayabilmek için ilk olarak Eşitlik 3.30 de verilen kullanılır. Standart hatayı hesaplamak için Eşitlik 3.31 de verilen formül kullanılır. İstatistiksel olarak elde edilen sonuçlara karar vermek için daha çok R^2 değerinin 1'e yakın, standart hata değerinin sıfıra yakın olması gerektiğinden ancak bu şartlar sağlandığında elde edilen sonuçların kesinliği ve doğruluğu iyidir denilebilir.

$$r = \sqrt{\frac{\left(\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}\right)^2}{\left(\sum x^2 - \frac{\left(\sum x\right)^2}{n}\right)\left(\sum y^2 - \frac{\left(\sum y\right)^2}{n}\right)}}$$

(3.30)

$$se = \sqrt{\frac{1 - r2}{n - 2}}$$

(3.31)

Son olarak elde edilen sonuçlar değerlendirilerek biyolojik aktivite ve AG ve APS grupların aktiviteye katkısı belirlenir.

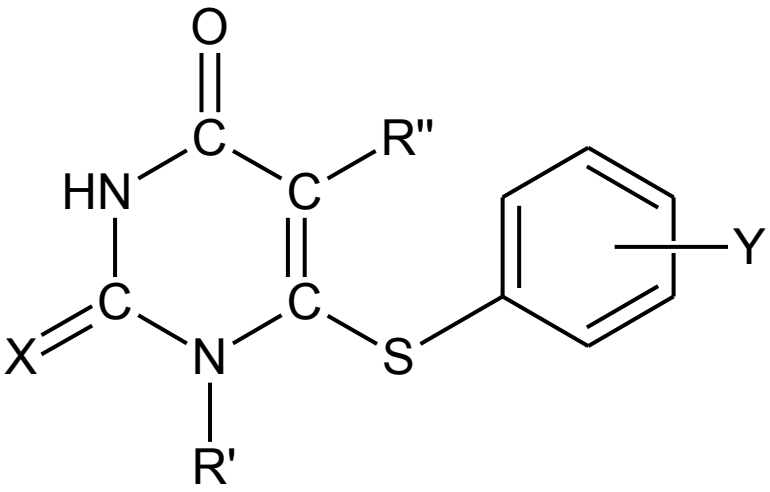
EC yönteminde tek konformer alınarak aktivite çözümü yapılırken ve en uygun parametreyi seçmek için leave one out cross validation etodu kullanılmıştır. Bu çalışmada ise düşük enerjili bütün konformerler hesaba katılarak aktivite hesaplanmış ve genetik algoritma sayısal optimizasyon tekniği ile eğitim ve test setleri için en uygun parametreler bulunmuştur.

BÖLÜM 4

BULGULAR

4.1 HEPT Serisi İçin Aktivite Hesaplamalarında Kullanılan Parametrelerin Hazırlanması

Deneysel aktivitesi bilinen 1-[2-hidroksietoksi-metil]-6-(feniltiyo)timin (HEPT) serisinden 80 adet bileşik alınmıştır [35,36].



1-[2-hidroksietoksi-metil]-6-(feniltiyo) timin (HEPT)

Şekil 4.1 HEPT Bileşiklerinin Temel Yapısı

Tablo 4.1. de çalışılan bileşik serisinin deneysel aktivite değerleri, temel iskelete bağlı olan substituentler ile herbir bileşiğin hesaplanan konformer sayısı gösterilmiştir.

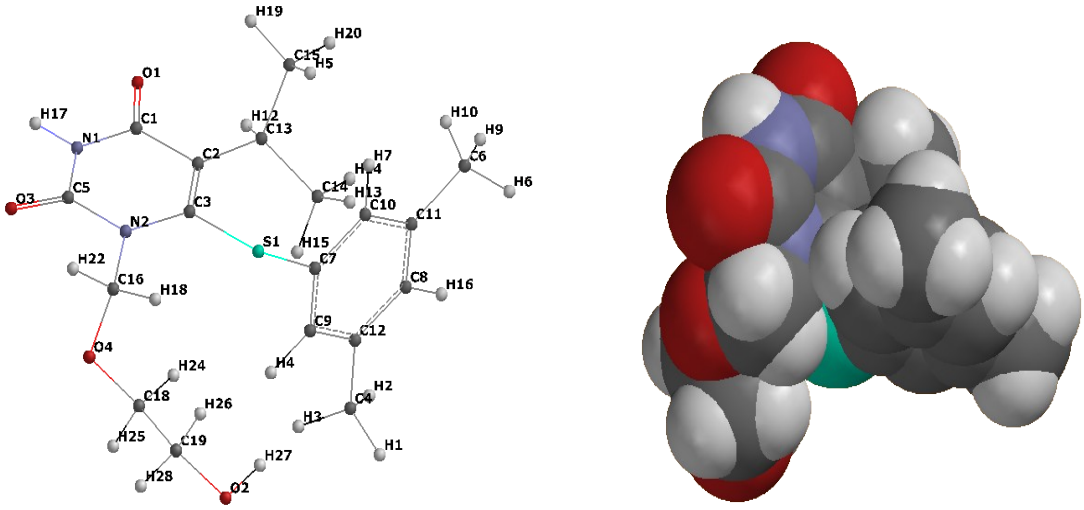
Tablo 4.1. HEPT Bileşik Serisinin Deneysel Aktivite Değerleri ve Konformer Sayıları

No	R1	R2	R3	X	Log(1/EC_{50})	Konf.say
1	2-Me	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	4.15	12
2	2-NO_2	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	3.85	9
3	2-OMe	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	4.72	9
4	3-Me	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	5.59	15
5	3-Et	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	5.57	10
6	3-t-Bu	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	4.92	11
7	3-CF_3	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	4.35	12
8	3-F	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	5.48	9
9	3-Cl	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	4.89	13
10	3-Br	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	5.24	9
11	3-I	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	5.00	8
12	3-NO_2	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	4.47	9
13	3-OH	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	4.09	9
14	3-OMe	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	4.66	12
15	3,5-Me_2	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	6.59	17
16	3,5-Cl_2	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	5.89	6
17	3,5-Me_2	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	S	6.66	10
18	3-COOMe	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	5.10	13
19	3-COMe	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	5.14	6
20	3-CN	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	5.00	12
21	H	$CH_2CH=CH_2$	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	5.60	9
22	H	Et	$CH_2OCH_2CH_2OH$	S	6.96	14
23	H	Pr	$CH_2OCH_2CH_2OH$	S	5.00	8
24	H	i-Pr	$CH_2OCH_2CH_2OH$	S	7.23	8
25	3,5-Me_2	Et	$CH_2OCH_2CH_2OH$	S	8.11	12
26	3,5-Me_2	i-Pr	$CH_2OCH_2CH_2OH$	S	8.30	6
27	3,5-Cl_2	Et	$CH_2OCH_2CH_2OH$	S	7.37	8
28	H	Et	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	6.92	9
29	H	Pr	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	5.47	9
30	H	i-Pr	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	7.20	8
31	3,5-Me_2	Et	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	7.89	12
32	3,5-Me_2	i-Pr	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	8.57	7
33	3,5-Cl_2	Et	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	7.85	10
34	4-Me	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	3.66	10
35	H	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	5.15	11
36	H	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	S	6.01	9
37	H	I	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	5.44	6
38	H	$CH=CH_2$	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	5.69	10
39	H	CH=CHPh	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	5.22	8
40	H	CH_2Ph	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	4.37	13
41	H	$CH=CPh_2$	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	6.07	12
42	H	Me	$CH_2OCH_2CH_2OMe$	O	5.06	10
43	H	Me	$CH_2OCH_2CH_2OAc$	O	5.17	15
44	H	Me	$CH_2OCH_2CH_2OCOPh$	O	5.12	12
45	H	Me	CH_2OCH_2Me	O	6.48	9
46	H	Me	$CH_2OCH_2CH_2Cl$	O	5.82	10
47	H	Me	$CH_2OCH_2CH_2N_3$	O	5.24	12
48	H	Me	$CH_2OCH_2CH_2F$	O	5.96	9
49	H	Me	$CH_2OCH_2CH_2Me$	O	5.48	10
50	H	Me	CH_2OCH_2Ph	O	7.06	7
51	H	Et	CH_2OCH_2Me	O	7.72	10
52	H	Et	CH_2OCH_2Me	S	7.58	7
53	3,5-Me_2	Et	CH_2OCH_2Me	O	8.24	10

Tablo 4.1(Devamı). HEPT Bileşik Serisinin Deneysel Aktivite Değerleri ve Konformer Sayıları

54	3,5-Me_2	Et	CH_2OCH_2Me	S	8.30	11
55	H	Et	CH_2OCH_2Ph	O	8.23	10
56	3,5-Me_2	Et	CH_2OCH_2Ph	O	8.55	8
57	H	Et	CH_2OCH_2Ph	S	8.09	7
58	3,5-Me_2	Et	CH_2OCH_2Ph	S	8.14	9
59	H	i-Pr	CH_2OCH_2Me	O	7.99	8
60	H	i-Pr	CH_2OCH_2Ph	O	8.51	10
61	H	i-Pr	CH_2OCH_2Me	S	7.89	8
62	H	i-Pr	CH_2OCH_2Ph	S	8.14	8
63	H	Me	CH_2OMe	O	5.68	9
64	H	Me	CH_2OBu	O	5.33	16
65	H	Me	Et	O	5.66	8
66	H	Me	Bu	O	5.92	9
67	3,5-Cl_2	Et	CH_2OCH_2Me	S	7.89	10
68	H	Et	CH_2O-i-Pr	S	6.66	13
69	H	Et	CH_2O-c-Hex	S	5.79	13
70	H	Et	CH_2OCH_2-c-Hex	S	6.45	13
71	H	Et	$CH_2OCH_2C_6H_4$(4-Me)	S	7.11	10
72	H	Et	$CH_2OCH_2C_6H_4$(4-Cl)	S	7.92	10
73	H	Et	$CH_2OCH_2CH_2Ph$	S	7.04	12
74	3,5-Cl_2	Et	CH_2OCH_2Me	O	8.13	10
75	H	Et	CH_2O-i-Pr	O	6.47	10
76	H	Et	CH_2O-c-Hex	O	5.40	11
77	H	Et	CH_2OCH_2-c-Hex	O	6.35	13
78	H	Et	$CH_2OCH_2CH_2Ph$	O	7.02	14
79	H	c-Pr	CH_2OCH_2Me	S	7.02	13
80	H	c-Pr	CH_2OCH_2Me	O	7.00	17

Seride aktivitesi en yüksek a32 nolu bileşiği için top ve uzay dolum görünümü Şekil 4.2.de gösterilmiştir. Üzerindeki numaralar atomlara ait numaralandırmayı göstermektedir.



Şekil 4.2. a32 Aktivitesi En Yüksek Bileşiğin Uzaydaki Top-Çubuk ve Uzaydaki Dolum Modeli Görünümleri.

Moleküllerin konformasyon analizi Spartan paket programındaki semiempirik, PM3 metodu ile yapılmıştır. Bu metotta molekülün toplam potansiyel enerjisini minimum yapan molekül yapısı bulunmuştur. 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.

Semiemprik PM3 yöntemi ile yapılan konformer hesaplamalarında her bir bileşik için yaklaşık 90-100 konformer bulunmuştur. Tüm bileşiklerin gösterimi çok uzun olacağından raporda örnek teşkil etmesi amacı ile en yüksek aktiviteye sahip olan molekülün bütün konformerlerinin boltzman dağılımı ve bağıl enerji değerleri Tablo 4.2 de verilmiştir. Tablodaki relatif enerji değerleri ile boltzman dağılımları karşılaştırıldığında, relatif enerji değeri azaldıkça boltzman dağılımı değerinin arttığı görülmektedir. Relatif enerjisi 1.5 kcal/mol den büyük olanlarda bu dağılım oldukça küçük olmaktadır. Bu durum çalışmada incelenen bütün bileşikler için geçerlidir. Bu nedenle boltzman dağılımının yüksek olması oda sıcaklığında düşük enerjili olanların bulunma ihtimalinin daha fazla olduğunu gösterdiğinden literatürde verilen bilgilere göre [89] 1.5 kcal/mol den büyük olan konformerler ihmal edilmiştir.

Tablo 4.2 a32 Bileşiğinin Bütün Konformerleri İçin Boltzman Dağılımı ve Bağıl Enerji Değerleri

Konformer No	Bağıl Enerji (kcal/mol)	Boltzman Dağılımı
001	0.000000000	0.0338219248
013	0.001655000	0.0337275877
024	0.018869820	0.0327617888
035	0.024294690	0.0324632073
046	0.031231810	0.0320853539
057	0.039900820	0.0316193434
068	0.049974340	0.0310863276
079	0.051405250	0.0310113468
090	0.106039910	0.0282797735
020	0.108405920	0.0281670750
002	0.117708730	0.0277282983
004	0.122898400	0.0274864990
005	0.134673200	0.0269456732
006	0.183743670	0.0248040520
007	0.258057500	0.0218803368
019	0.288109650	0.0207982673
008	0.298365700	0.0204413673
009	0.310287710	0.0200341838
010	0.316746380	0.0198169925
011	0.319331120	0.0197307343
012	0.327068150	0.0194747711
014	0.328545220	0.0194262841
015	0.330513400	0.0193618634
016	0.332272250	0.0193044750
017	0.366881070	0.0182092189
018	0.378744280	0.0178482700
021	0.418713570	0.0166840111
022	0.424321850	0.0165268413
023	0.431416980	0.0163301229
025	0.435066700	0.0162298451
026	0.439814560	0.0161003164
027	0.453796260	0.0157248484
028	0.465447170	0.0154186689
029	0.477880680	0.0150984961
030	0.478922560	0.0150719707
031	0.481976720	0.0149944825
032	0.485187560	0.0149134486
033	0.505959970	0.0143996806
034	0.518804720	0.0140908842
036	0.520758340	0.0140445016
050	0.693452770	0.0104937142
061	0.715442330	0.0101114140
037	0.723302340	0.00997816926
038	0.724257650	0.00996209475
039	0.726011700	0.00993264766

Tablo 4.2 (Devamı) a32 Bileşiğinin Bütün Konformerleri İçin Boltzman Dağılımı ve Bağıl Enerji Değerleri

040	0.739463940	0.00970968531
041	0.758405300	0.00940420324
042	0.847812770	0.00808705562
043	0.885486030	0.00758887951
044	0.932273150	0.00701269328
045	1.25794868	0.00404743248
047	1.42354985	0.00306056458
048	1.45263998	0.00291393470
049	1.56533633	0.00240923164
051	1.65391597	0.00207469253
053	1.72341889	0.00184506338
054	1.72450521	0.00184168380
055	1.72521756	0.00183947101
052	1.77118849	0.00170215209
056	1.78123611	0.00167353160
058	1.81389592	0.00158378336
059	1.84334220	0.00150699913
060	2.06786471	0.00103168780
062	2.16608652	0.000874090122
063	2.41826685	0.000571109774
064	2.42524884	0.000564419636
065	2.46680611	0.000526189940
066	2.75525037	0.000323389655
067	2.77645858	0.000312019314
069	2.77673900	0.000311871682
070	2.78654543	0.000306752619
071	2.79466115	0.000302579728
072	2.80631551	0.000296686453
073	2.82104025	0.000289404418
074	2.82682070	0.000286594831
075	2.89143807	0.000256984413
076	2.91240644	0.000248049256
077	3.12872813	0.000172180533
078	3.23928046	0.000142874347
080	3.42976247	0.000103595211
081	3.43635259	0.000102449401
082	3.74890967	6.04532167e-005
083	4.08255320	3.44250044e-005
084	4.24178333	2.63127124e-005
085	4.27112978	2.50412507e-005
086	4.29118989	2.42076636e-005
087	4.33560981	2.24592428e-005
088	4.33688904	2.24108069e-005
089	4.79077210	1.04179441e-005
091	4.85278695	9.38270322e-006
092	5.35314729	4.03261528e-006

Tablo 4.2 (Devamı) a32 Bileşiğinin Bütün Konformerleri İçin Boltzman Dağılımı ve Bağıl Enerji Değerleri

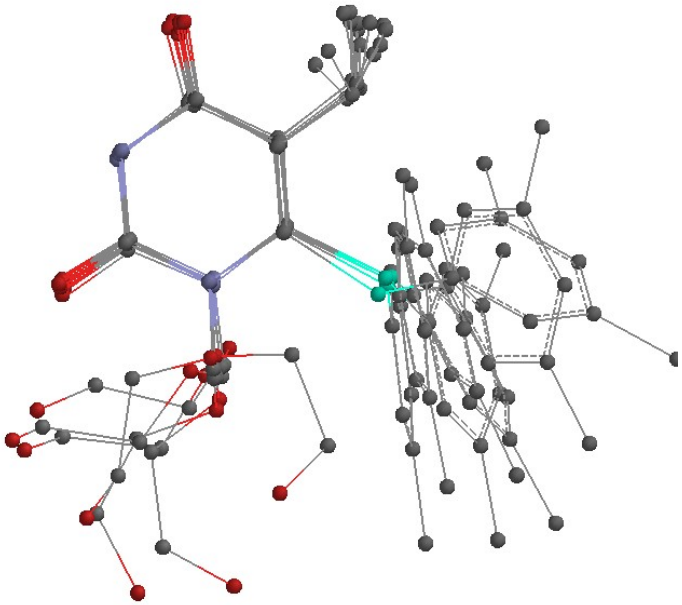
093	5.37405669	3.89279165e-006
094	5.40780250	3.67728278e-006
095	5.41284384	3.64612839e-006
096	5.88970024	1.63048977e-006
097	6.15490671	1.04215879e-006
098	6.29569344	8.21757502e-007
099	6.54343866	5.40950829e-007
100	6.99076586	2.54265515e-007
003	7.16225992	1.90366348e-007

Kalan konformerler arasında üst üste çakıştırma işlemi (align) yapılmış ve birbirinin aynı ya da yakın enerjili olan birden fazla konformer varsa yüksek enerjili konformerler silinmiştir. a32 bileşiği için eliminasyondan sonra kalan konformerlerin bağıl enerji ve Boltzmann dağılım değerleri Tablo 4.3 de verilmiştir. Buradan görüldüğü gibi eliminasyondan sonra Boltzmann dağılım değerleri değişmiştir. Bunun nedeni Boltzmann dağılım formülüne göre molekül sayısının dikkate alınmasıdır. Eliminasyondan önce 100 konformer dikkate alınırken eliminasyondan sonra 9 konformer kalmıştır.

Tablo 4.3. a32 Bileşiğinin Eliminasyondan Sonra Kalan Konformerleri İçin Boltzman Dağılımı ve Bağıl Enerji Değerleri

Konformer No	Bağıl Enerji (kcal/mol)	Boltzman Dağılımı
001	0.000000000	0.235709931
013	0.001655000	0.235052482
024	0.018869820	0.228321688
019	0.288109650	0.144946161
028	0.465447170	0.107454955
045	1.25794868	0.0282071477
048	1.45263998	0.0203076363

Kalan konformerlerin Spartan çıktıları *.txt dosyaları halinde kaydedilmiştir. Seride 80 bileşiğin hepsi için konformer hesaplamaları ve üst üste çakıştırma işlemleri yapılmış ancak bu raporda, çok sayıda konformerin gösterimi oldukça uzun olacağından, örnek olması açısından sadece en aktif a32 bileşiği için Şekil 4.3 de kalan konformerlerin üst üste çakışması gösterilmiştir. Bu şekilde, yüksek enerjili ve birbirinin aynı olan konformerlerin silinme işleminden sonra, üst üste çakıştırılamayan ve farklı enerjilere sahip olan dokuz adet konformeri görülmektedir

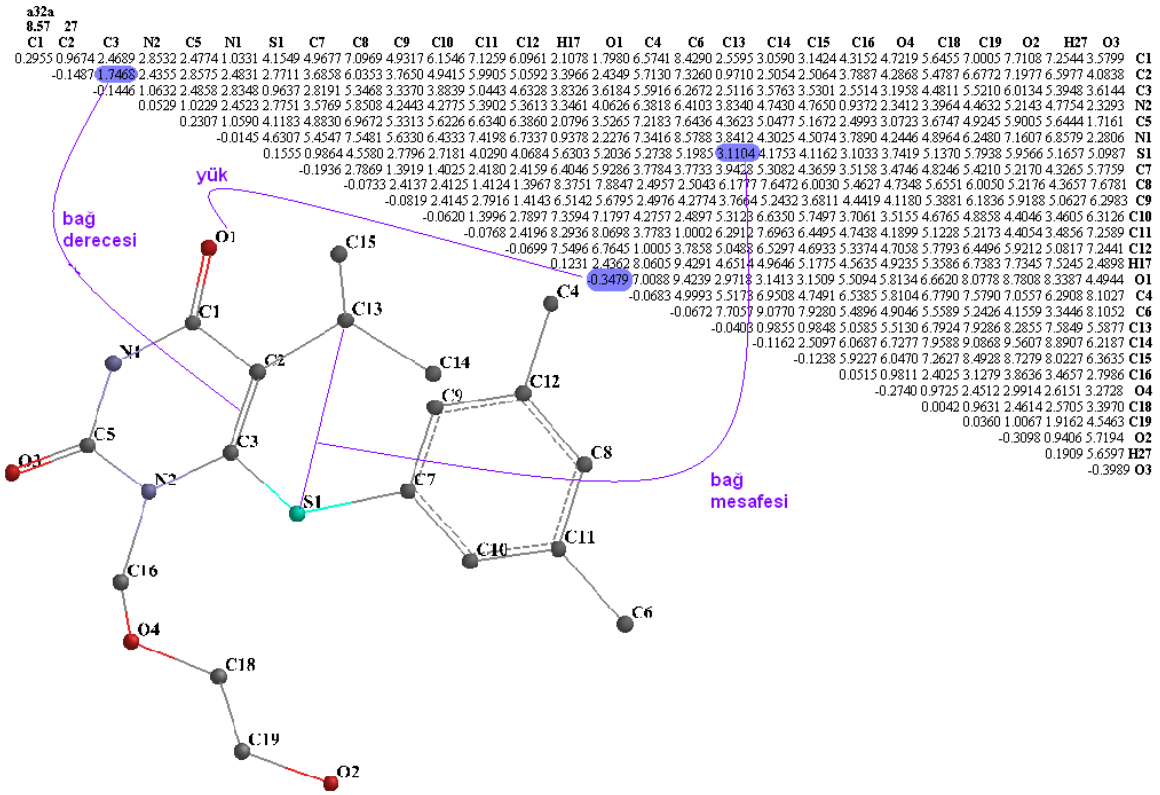


Şekil 4.3. a32 Bileşiği ve Konformerlerinin Üst Üste Çakıştırma İşlemi.

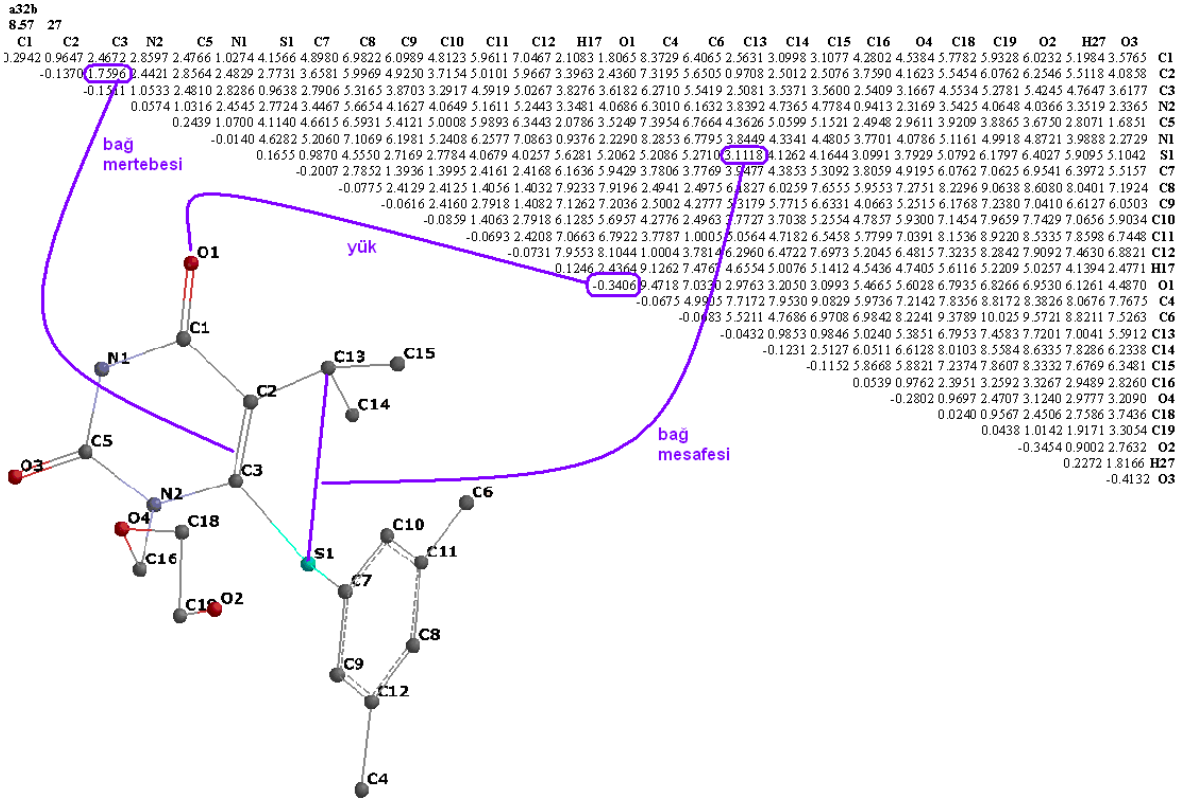
4.1.1.ECMC Matrislerinin Hazırlanması ve Farmakofor Bulunması

Bu çalısmada *.txt dosyalarındaki bilgiler içerisinden atomların yükleri, kartezyen koordinatları, bağ dereceleri ve atomlar arası mesafeler ile moleküle ait enerjiler kullanılarak 3. bölümde açıklandığı gibi ECMC oluşturulmuştur [113].

Bu çalışmada, matris hesaplamalarında txt dosyalarından hem elektrostatik hemde muliken yükleri kullanılarak matris oluşturulmuştur ve farmafokorun belirlenmesi ile buna bağlı olarak aktivite hesaplaması bu iki matris serisi ayrı ayrı dikkate alınarak gerçekleştirilecektir. Şekil 4.4 ve Şekil 4.5 de a32a ve a32b bileşiği için muliken yükleri kullanılarak oluşturulan iki farklı ECMC matrisi gösterilmiştir. Konformerler değiştikçe matris değişmektedir. Aynı konformerin ise elektrostatik ve mulliken yükleri kullanılarak hazırlanan matrislerinde ise sadece diyagonal değerlerinin farklı olduğu görülür. Karbona bağlı hidrojen atomları reseptörle etkileşimde çok fazla etkiye sahip olmadığı için matris de dikkate alınmamıştır [89,98,113].



Şekil 4.4. a32a Bileşiğinin Muliken Yükleri Kullanılarak Oluşturulan ETMC Matrisi.



Şekil 4.5. a32b Bileşiğinin Muliken Yükleri Kullanılarak Oluşturulan ETMC Matrisi

Şekil 4.4 ve Şekil 4.5 karşılaştırıldığında aynı bileşik olmasına rağmen konformerlerdeki farklılıktan dolayı matrislerinde farklı olduğu görülür. Bağ mesafeleri, bağ dereceleri ve yüklerindeki bu farklılıktan dolayı her birinin aktiviteye katkısı farklı olmaktadır. Bu matris değerleri, moleküllerin karşılaştırma ile aktif fragmentinin (farmakofor: aktiviteden sorumlu grup) bulunması için kullanılacaktır.

Hesaplamalar ile elde edilen sonuçların mevcut yeni yöntemlerle değerlendirilmesi ve hesaplamalar sonucu elde edilen kuantum kimyasal özelliklerin ve bilgisayarda elde edilen out dosyalarından matrislerin hazırlanması için EMRE 1.2 veya ECSP 1.0 programı kullanılmıştır. Bu program Spartan 04 ve spartan 06 programı ile elde edilen oldukça karışık out dosyalarının düzenli birer matris dosyası haline dönüştürür ve bu program kullanılarak 80 bileşiğin 824 konformerinin hepsi için matrisler oluşturulmuştur. Her bir konformerin .txt dosyasının büyüklüğü yaklaşık olarak 7.00 – 10.00 MB büyüklükte olup yaklaşık 5000-6000 sayfa olduğundan matrislerin elle hazırlanması mümkün değildir. EMRE 1.2 programı işimizi oldukça kolaylaştırmıştır.

Adım 4 te ise; hazırlanan ECMC matrisleri kullanılarak atomik yükler ve atomlar arası mesafelerin karşılaştırılması ile ECSP 1.0 (Elektron Konformasyon Alt Matris Programı) programı ile farmokofor grubu temsil eden alt matris (ECSA elektron konformasyonel alt matris) belirlenmiştir. ECSP 1.0 programı serideki bütün bileşiklerin konformerlerinin matrislerinin yer aldığı tumull.mat isimli dosyasını kullanarak verilen tolerans değerleri içerisinde tarama yaparak sonuçların bulunduğu çıktı dizinini oluşturur (bkz. Şekil 3.7). Bu çıktı dizininde oluşan dosyalar incelendiğinde, elde edilen hesaplama sonuçları içerisinden analiz yapılarak en uygun olan farmakofor grup belirlenir.

ECSP 1.0 programında alt matris belirleme işlemi yapılırken her bileşik için spartan atomlara farklı numara vermektedir ve her bileşik için atomların numaralandırmasına karşılık gelen atm dosyası oluşturulmuştur. Bu dosya en basit yapılı bileşiğe göre oluşturulmuştur. Şekil 4.8 de bileşiklerdeki her bir atomun karşılaştırılarak yazılmasıyla oluşan ve atm dosyası adı verilen dosya gösterilmiştir. Görüldüğü gibi serideki her bir bileşiğin temel iskeletindeki atomlar bu dosyada üst üste çakıştırılarak yazılmıştır. Bu dosya alt matris hesaplaması yapılırken atomların karşılaştırılmasında programın çalışma hızını artırmakta ve çalışma grubumuza oldukça büyük bir kolaylık sağlamaktadır.

a1 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 H5
a2 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 H5

a3 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 H5
a4 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C16 O3 H3
a5 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C16 O3 H3
a6 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 H5
a7 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 H5
a8 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C16 O3 H3
a9 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 H5
a10 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 H3
a11 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 H5
a12 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 H5
a13 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 H5
a14 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 H5
a15 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 H9
a16 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O3 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O4 H6
a17 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 S2 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O4 H3
a18 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 H9
a19 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 H17
a20 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 H5
a21 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C16 O3 H3
a22 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 S2 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 H17
a23 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 S2 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 H5
a24 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 S2 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 H12
a25 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 S2 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 H12
a26 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 S2 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 H12
a27 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 S2 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 H13
a28 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O3 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O4 H3
a29 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C16 O3 H3
a30 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O2 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O3 C13 C14 O4 H12
a31 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 H4
a32 O1 C1 N1 H17 C5 C2 C3 N2 O3 C13 C16 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O4 C18 C19 O2 H27
a33 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 H15
a34 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 H5
a35 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 H17
a36 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 S2 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O4 H2
a37 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 I1 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C16 O3 H3
a38 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 H3
a39 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 H3
a40 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 H5
a41 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O3 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O4 H2
a42 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 C15
a43 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 C15
a44 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 O3 C15
a45 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14
a46 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O3 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 Cl1
a47 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 N3
a48 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O3 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14 F1
a49 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C16 C14
a50 O1 C1 N1 H17 C5 C2 C3 N2 O3 C13 C16 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O4 C18 C15
a51 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14
a52 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 S2 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14
a53 O1 C1 N1 H17 C5 C2 C3 N2 O3 C13 C16 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O4 C15 C17
a54 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 S2 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14

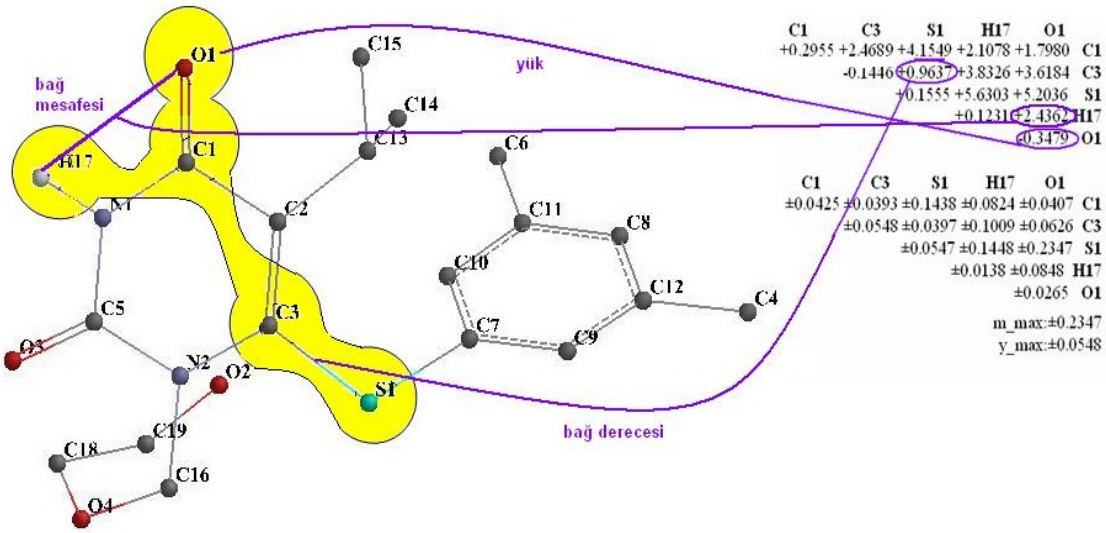
Şekil 4.6. En Basit Bileşiğe Göre Diğer Bileşiklerin Fonksiyonel Grupları ve Atomlarının Düzenlenmesi Yani Moleküllerde Birbirine Karşılık Gelen Atomlar

a55 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O3 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14

a56 O1 C1 N1 H17 C5 C2 C3 N2 O3 C13 C16 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O4 C15 C17
a57 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 S2 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14
a58 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 S2 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14
a59 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O3 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14
a60 O1 C1 N1 H17 C5 C2 C3 N2 O3 C13 C16 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O4 C18 C15
a61 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 S2 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14
a62 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 S2 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14
a63 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13
a64 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C18 C14
a65 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 C13
a66 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O3 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 C13 C14 C15
a67 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 S2 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14
a68 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 S2 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13
a69 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 S2 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13
a70 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 S2 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14
a71 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 S2 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14
a72 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 S2 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14
a73 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 S2 C13 C16 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O4 C18 C4
a74 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O3 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14
a75 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13
a76 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O4 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13
a77 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O3 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14
a78 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O3 C13 C16 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O4 C18 C4
a79 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 S2 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14
a80 O1 C1 N1 H1 C5 C2 C3 N2 O3 C6 C4 S1 C7 C8 C9 C10 C11 C12 O2 C13 C14

Şekil 4.6. (Devamı)En Basit Bileşiğe Göre Diğer Bileşiklerin Fonksiyonel Grupları ve Atomlarının Düzenlenmesi Yani Moleküllerde Birbirine Karşılık Gelen Atomlar

Farmokofor grubu temsil eden ECSA matrisi Şekil 4.7 de gösterilmiş olup belirlenen bu atomlar temel iskelet üzerinde de işaretlenmiştir. ECSA matrisinin belirlenmesi için ECSP V1.0 programında mulliken yükleri, bağ dereceleri ve mesafeler için tolerans değerleri girilerek ve bu değerler 0.01 oranında artırılarak, ECMC matrisleri en aktif bileşiğe göre karşılaştırılmış sonuç olarak en uygun olan ECSA seçilmiştir. C1, C3, S1, H17, O1 atomları farmakofor grup olarak belirlenmiş ve atomlara ait yükler, bağ derecesi ve atomlar arası mesafe Şekil 4.7 de gösterilmiştir. Belirlenen ECSA matrisinde yükler için (diagonal) tolerans değerleri 0.0548 iken, mesafe ve bağ derecesi için (nondiagonal) verilen tolerans değerleri 0.2347 olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.7. HEPT Türevleri İçin Aktif Fragmenti Gösteren ECSA (Elektron Konformasyonel Alt Matris) ve Farmakofor Grubu Temsil Eden Atomlar.

4.1.2. Aktivite Hesaplamalarda Kullanılan Parametreler

Adım 5 te ise; seçilen bileşik serisinde aktivite hesaplamalarına geçilmiştir. Bunun için aktiviteye etki ettiği düşünülen 174 adet parametre belirlenerek EMRE 1.2 programında aktivite formülünde (Eşitlik 3.29) kullanılabilmesi için serideki 80 bileşik için uygun formatta hazırlanmıştır. Bu parametrelerden 129'u ve iki bileşiğin ilk üç konformeri için hesaplanan değerleri karşılaştırma yapılabilmesi açısından Tablo 4.4 de verilmiştir.

Tablo 4.4 Hesaplamalarda Kullanılan Parametreler

Özellik No	Özellik	1.bileşiğin ilk üç konformeri	2.bileşiğin ilk üç konformeri
	Mulliken Yük		

1	O1	p(1,1,1)=-0.341056;
		p(1,2,1)=-0.343336;
		p(1,3,1)=-0.340833;
			p(2,1,1)=-0.344256;
			p(2,2,1)=-0.344256;
			p(2,3,1)=-0.335461;

2	C1	p(1,1,2)=0.285086;
		p(1,2,2)=0.285004;
		p(1,3,2)=0.284646;
			p(2,1,2)=0.28349;
			p(2,2,2)=0.28349;
			p(2,3,2)=0.281602;

3	N1	p(1,1,3)=-0.004837;
		p(1,2,3)=-0.001015;
		p(1,3,3)=-0.003806;
			p(2,1,3)=-0.004297;
			p(2,2,3)=-0.004297;
			p(2,3,3)=-0.006966;

4	H1	p(1,1,4)=0.124214;
		p(1,2,4)=0.125007;
		p(1,3,4)=0.124444;
			p(2,1,4)=0.124856;
			p(2,2,4)=0.124856;
			p(2,3,4)=0.125331;

5	C2	p(1,1,5)=-0.14381;
		p(1,2,5)=-0.14847;
		p(1,3,5)=-0.141721;
			p(2,1,5)=-0.149474;
			p(2,2,5)=-0.149474;
			p(2,3,5)=-0.133188;

6	C3	p(1,1,6)=-0.155119;
		p(1,2,6)=-0.157699;
		p(1,3,6)=-0.159282;
			p(2,1,6)=-0.15364;
			p(2,2,6)=-0.15364;
			p(2,3,6)=-0.160829;

Tablo 4.4 (Devamı) Hesaplamalarda Kullanılan Parametreler

7	N2	p(1,1,7)=0.064454;	p(2,1,7)=0.053745;
		p(1,2,7)=0.081519;	p(2,2,7)=0.053745;
		p(1,3,7)=0.07039;	p(2,3,7)=0.056994;
8	C5	p(1,1,8)=0.242065;	p(2,1,8)=0.229499;
		p(1,2,8)=0.241956;	p(2,2,8)=0.229499;
		p(1,3,8)=0.244193;	p(2,3,8)=0.24379;
9	O4	p(1,1,9)=-0.413959;	p(2,1,9)=-0.38892;
		p(1,2,9)=-0.414929;	p(2,2,9)=-0.38892;
		p(1,3,9)=-0.411983;	p(2,3,9)=-0.398876;
10	C6	p(1,1,10)=-0.083443;	p(2,1,10)=-0.082933;
		p(1,2,10)=-0.082462;	p(2,2,10)=-0.082933;
		p(1,3,10)=-0.083867;	p(2,3,10)=-0.08582;
11	S1	p(1,1,11)=0.167146;	p(2,1,11)=0.181702;
		p(1,2,11)=0.160651;	p(2,2,11)=0.181702;
		p(1,3,11)=0.166917;	p(2,3,11)=0.186454;
12	C4	p(1,1,12)=0.045617;	p(2,1,12)=0.052718;
		p(1,2,12)=0.03026;	p(2,2,12)=0.052718;
		p(1,3,12)=0.033539;	p(2,3,12)=0.054633;
13	O2	p(1,1,13)=-0.278505;	p(2,1,13)=-0.274739;
		p(1,2,13)=-0.277104;	p(2,2,13)=-0.274739;
		p(1,3,13)=-0.275338;	p(2,3,13)=-0.285801;
14	O3	p(1,1,14)=-0.345188;	p(2,1,14)=-0.311128;
		p(1,2,14)=-0.331893;	p(2,2,14)=-0.311128;
		p(1,3,14)=-0.331464;	p(2,3,14)=-0.341184;
15	N2 ye bağlı en uzak atom	p(1,1,15)=0.227086;	p(2,1,15)=0.202302;
		p(1,2,15)=0.226831;	p(2,2,15)=0.202302;
		p(1,3,15)=0.225711;	p(2,3,15)=0.223458;
16	C10 a bağlı ilk atom	p(1,1,16)=-0.091088;	p(2,1,16)=1.30859;
		p(1,2,16)=-0.086873;	p(2,2,16)=1.30859;
		p(1,3,16)=-0.091098;	p(2,3,16)=1.30609;
17	C10 a bağlı O5 atomu	p(1,1,17)= 0.0;	p(2,1,17)=-0.572901;
		p(1,2,17)= 0.0;	p(2,2,17)=-0.572901;
		p(1,3,17)= 0.0;	p(2,3,17)=-0.587095;
18	C10 a bağlı O6 atomu	p(1,1,18)= 0.0;	p(2,1,18)=-0.595932;
		p(1,2,18)= 0.0;	p(2,2,18)=-0.595932;
		p(1,3,18)= 0.0;	p(2,3,18)=-0.574947;
19	C11 e bağlı ilk atom	p(1,1,19)= 0.0;	p(2,1,19)= 0.0;
		p(1,2,19)= 0.0;	p(2,2,19)= 0.0;
		p(1,3,19)= 0.0;	p(2,3,19)= 0.0;
20	C11 e bağlı karbona çift bağlı O atomu	p(1,1,20)= 0.0;	p(2,1,20)= 0.0;
		p(1,2,20)= 0.0;	p(2,2,20)= 0.0;
		p(1,3,20)= 0.0;	p(2,3,20)= 0.0;
	Mesafeler		
21	O4-C1	p(1,1,21)=3.571187;	p(2,1,21)=3.574181;
		p(1,2,21)=3.57369;	p(2,2,21)=3.574181;
		p(1,3,21)=3.572287;	p(2,3,21)=3.568288;
22	H1-C1	p(1,1,22)=2.108495;	p(2,1,22)=2.107019;
		p(1,2,22)=2.109138;	p(2,2,22)=2.107019;
		p(1,3,22)=2.10763;	p(2,3,22)=2.105504;
23	C6-C1	p(1,1,23)=2.50079;	p(2,1,23)=2.49807;
		p(1,2,23)=2.498393;	p(2,2,23)=2.49807;
		p(1,3,23)=2.501056;	p(2,3,23)=2.501389;
24	C4-C1	p(1,1,24)=4.297164;	p(2,1,24)=4.33418;
		p(1,2,24)=4.317638;	p(2,2,24)=4.33418;
		p(1,3,24)=4.298562;	p(2,3,24)=4.273623;
25	S1-C1	p(1,1,25)=4.14858;	p(2,1,25)=4.144198;
		p(1,2,25)=4.146613;	p(2,2,25)=4.144198;
		p(1,3,25)=4.147839;	p(2,3,25)=4.1481;

Tablo 4.4 (Devamı) Hesaplamalarda Kullanılan Parametreler

26	C10-C1	p(1,1,26)=6.102049;	p(2,1,26)=6.271184;
		p(1,2,26)=6.201077;	p(2,2,26)=6.271184;
		p(1,3,26)=6.114206;	p(2,3,26)=6.171355;
27	C10 a bağlı en uz.at.-C1	p(1,1,27)=6.738949;	p(2,1,27)=7.031255;
		p(1,2,27)=6.828415;	p(2,2,27)=7.031255;
		p(1,3,27)=6.746986;	p(2,3,27)=6.924205;
28	C11-C1	p(1,1,28)=7.009789;	p(2,1,28)=7.184482;
		p(1,2,28)=7.135344;	p(2,2,28)=7.184482;
		p(1,3,28)=7.026178;	p(2,3,28)=7.068229;
29	C11 e bağlı en uzak atom-C1	p(1,1,29)= 0.0;	p(2,1,29)= 0.0;
		p(1,2,29)= 0.0;	p(2,2,29)= 0.0;
		p(1,3,29)= 0.0;	p(2,3,29)= 0.0;
30	C8-C1	p(1,1,30)=6.930403;	p(2,1,30)=7.009597;
		p(1,2,30)=7.050813;	p(2,2,30)=7.009597;
		p(1,3,30)=6.950101;	p(2,3,30)=6.902659;
31	O2-C1	p(1,1,31)=4.58786;	p(2,1,31)=4.772629;
		p(1,2,31)=4.664115;	p(2,2,31)=4.772629;
		p(1,3,31)=4.5754;	p(2,3,31)=4.490656;
32	O3-C1	p(1,1,32)=6.037059;	p(2,1,32)=7.750745;
		p(1,2,32)=6.005956;	p(2,2,32)=7.750745;
		p(1,3,32)=5.940827;	p(2,3,32)=5.99135;
33	N2 ye bağlı en uzak atom-C1	p(1,1,33)=5.20592;	p(2,1,33)=7.389705;
		p(1,2,33)=5.116875;	p(2,2,33)=7.389705;
		p(1,3,33)=5.065248;	p(2,3,33)=5.169518;
34	C2 ye bağlı en uzak atom-C1	p(1,1,34)=2.50079;	p(2,1,34)=2.49807;
		p(1,2,34)=2.498393;	p(2,2,34)=2.49807;
		p(1,3,34)=2.501056;	p(2,3,34)=2.501389;
35	N2 ye bağlı en uzak atom-S1	p(1,1,35)=5.929381;	p(2,1,35)=5.140692;
		p(1,2,35)=6.060831;	p(2,2,35)=5.140692;
		p(1,3,35)=6.04255;	p(2,3,35)=5.932764;
36	C2 ye bağlı en uzak atom-N2 ye bağlı en uzk atom	p(1,1,36)=6.979158;	p(2,1,36)=7.200309;
		p(1,2,36)=6.954691;	p(2,2,36)=7.200309;
		p(1,3,36)=6.914164;	p(2,3,36)=7.253489;
	Diğer Özellikler		
37	Log P	p(1,1,37)=2.3;	p(2,1,37)=-1.64;
		p(1,2,37)=2.3;	p(2,2,37)=-1.64;
		p(1,3,37)=2.3;	p(2,3,37)=-1.64;
38	Softness	p(1,1,38)=0.24499;	p(2,1,38)=0.24499;
		p(1,2,38)=0.24499;	p(2,2,38)=0.24499;
		p(1,3,38)=0.24499;	p(2,3,38)=0.24499;
39	Elektronegatiflik	p(1,1,39)=5.17028;	p(2,1,39)=5.71452;
		p(1,2,39)=5.17028;	p(2,2,39)=5.71452;
		p(1,3,39)=5.17028;	p(2,3,39)=5.71452;
40	HOMO	p(1,1,40)=-9.43269;	p(2,1,40)=-9.78383;
		p(1,2,40)=-9.42574;	p(2,2,40)=-9.78383;
		p(1,3,40)=-9.44729;	p(2,3,40)=-9.88738;
41	LUMO	p(1,1,41)=-1.13638;	p(2,1,41)=-1.52578;
		p(1,2,41)=-1.08809;	p(2,2,41)=-1.52578;
		p(1,3,41)=-1.14204;	p(2,3,41)=-1.64578;
42	LUMO-HOMO	p(1,1,42)=8.29631;	p(2,1,42)=8.25805;
		p(1,2,42)=8.33765;	p(2,2,42)=8.25805;
		p(1,3,42)=8.30525;	p(2,3,42)=8.2416;
43	Kimyasal Potansiyel	p(1,1,43)=-5.284535;	p(2,1,43)=-5.654805;
		p(1,2,43)=-5.256915;	p(2,2,43)=-5.654805;
		p(1,3,43)=-5.294665;	p(2,3,43)=-5.76658;
44	Kimyasal Sertlik	p(1,1,44)=4.148155;	p(2,1,44)=4.129025;
		p(1,2,44)=4.168825;	p(2,2,44)=4.129025;
		p(1,3,44)=4.152625;	p(2,3,44)=4.1208;

Tablo 4.4 (Devamı) Hesaplamalarda Kullanılan Parametreler

45	Elektrofilik İndeks	p(1,1,45)=3.366112;	p(2,1,45)=3.8722;
		p(1,2,45)=3.314502;	p(2,2,45)=3.8722;
		p(1,3,45)=3.375392;	p(2,3,45)=4.034829;
46	1-Nükleofilik	p(1,1,46)=0.297079;	p(2,1,46)=0.258251;
		p(1,2,46)=0.301704;	p(2,2,46)=0.258251;
		p(1,3,46)=0.296262;	p(2,3,46)=0.247842;
47	HOMO(eigenvalue)	p(1,1,47)=-0.34664;	p(2,1,47)=-0.35955;
		p(1,2,47)=-0.34639;	p(2,2,47)=-0.35955;
		p(1,3,47)=-0.34718;	p(2,3,47)=-0.36335;
48	LUMO(eigenvalue)	p(1,1,48)=-0.04176;	p(2,1,48)=-0.05607;
		p(1,2,48)=-0.03999;	p(2,2,48)=-0.05607;
		p(1,3,48)=-0.04197;	p(2,3,48)=-0.06048;
49	Ovality	p(1,1,49)=1.591;	p(2,1,49)=1.649;
		p(1,2,49)=1.578;	p(2,2,49)=1.649;
		p(1,3,49)=1.581;	p(2,3,49)=1.627;
50	Yüzey Alanı	p(1,1,50)=337.6;	p(2,1,50)=358.9;
		p(1,2,50)=334.4;	p(2,2,50)=358.9;
		p(1,3,50)=334.9;	p(2,3,50)=352.8;
51	Hacim	p(1,1,51)=290.73;	p(2,1,51)=302.01;
		p(1,2,51)=290.06;	p(2,2,51)=302.01;
		p(1,3,51)=290.09;	p(2,3,51)=300.48;
52	Moleküler Ağırlık	p(1,1,52)=322.38;	p(2,1,52)=353.35;
		p(1,2,52)=322.38;	p(2,2,52)=353.35;
		p(1,3,52)=322.38;	p(2,3,52)=353.35;
53	Ol.En. + Solv.En	p(1,1,53)=-185.379;	p(2,1,53)=-145.699;
		p(1,2,53)=-152.103;	p(2,2,53)=-145.699;
		p(1,3,53)=-152.114;	p(2,3,53)=-177.109;
54	Normal Mod ve Frekans	p(1,1,54)=20.22;	p(2,1,54)=11.53;
		p(1,2,54)=20.69;	p(2,2,54)=11.53;
		p(1,3,54)=14.34;	p(2,3,54)=8;
	Oluşum Entalpisi	hf(1,1)=-124.909;	hf(2,1)=-118.079;
		hf(1,2)=-124.643;	hf(2,2)=-118.079;
		hf(1,3)=-124.634;	hf(2,3)=-117.169;
55	Solvatasyon Enerjisi	p(1,1,55)=-60.47;	p(2,1,55)=-27.62;
		p(1,2,55)=-27.46;	p(2,2,55)=-27.62;
		p(1,3,55)=-27.48;	p(2,3,55)=-59.94;
57	Dipol X (debye)	p(1,1,57)=-3.8727;	p(2,1,57)=-0.1515;
		p(1,2,57)=-4.6779;	p(2,2,57)=-0.1515;
		p(1,3,57)=-4.907;	p(2,3,57)=-3.9432;
58	Dipol Y	p(1,1,58)=1.8245;	p(2,1,58)=-2.4742;
		p(1,2,58)=1.4548;	p(2,2,58)=-2.4742;
		p(1,3,58)=2.8714;	p(2,3,58)=-3.6534;
59	Dipol Z	p(1,1,59)=0.6105;	p(2,1,59)=3.2565;
		p(1,2,59)=-1.3905;	p(2,2,59)=3.2565;
		p(1,3,59)=0.0692;	p(2,3,59)=-1.2407;
60	Dipol (toplam)	p(1,1,60)=4.324326;	p(2,1,60)=4.092669;
		p(1,2,60)=5.092442;	p(2,2,60)=4.092669;
		p(1,3,60)=5.685885;	p(2,3,60)=5.51689;
61	XX	p(1,1,61)=175.886735;	p(2,1,61)=215.386821;
		p(1,2,61)=175.15667;	p(2,2,61)=215.386821;
		p(1,3,61)=176.385504;	p(2,3,61)=187.6095;
62	YY	p(1,1,62)=218.744322;	p(2,1,62)=174.552627;
		p(1,2,62)=210.670884;	p(2,2,62)=174.552627;
		p(1,3,62)=223.133476;	p(2,3,62)=213.571657;
63	ZZ	p(1,1,63)=117.323716;	p(2,1,63)=133.323938;
		p(1,2,63)=124.328343;	p(2,2,63)=133.323938;
		p(1,3,63)=113.817219;	p(2,3,63)=127.164919;

Tablo 4.4 (Devamı) Hesaplamalarda Kullanılan Parametreler

64	XY	p(1,1,64)=-3.37205;	p(2,1,64)=-15.945951;
		p(1,2,64)=-25.127598;	p(2,2,64)=-15.945951;
		p(1,3,64)=-3.698168;	p(2,3,64)=-10.352086;
65	XZ	p(1,1,65)=13.644044;	p(2,1,65)=3.735272;
		p(1,2,65)=-10.008226;	p(2,2,65)=3.735272;
		p(1,3,65)=-12.273105;	p(2,3,65)=9.565191;
66	YZ	p(1,1,66)=-6.333783;	p(2,1,66)=-17.527957;
		p(1,2,66)=-25.186198;	p(2,2,66)=-17.527957;
		p(1,3,66)=5.104726;	p(2,3,66)=-5.870203;
67	Average	p(1,1,67)=170.651591;	p(2,1,67)=174.421129;
		p(1,2,67)=170.051966;	p(2,2,67)=174.421129;
		p(1,3,67)=171.112066;	p(2,3,67)=176.115359;
68	Q(minus)	p(1,1,68)=-0.414;	p(2,1,68)=-0.595;
		p(1,2,68)=-0.414;	p(2,2,68)=-0.595;
		p(1,3,68)=-0.412;	p(2,3,68)=-0.587;
69	Q(plus)	p(1,1,69)=0.227;	p(2,1,69)=0.202;
		p(1,2,69)=0.226;	p(2,2,69)=0.202;
		p(1,3,69)=0.225;	p(2,3,69)=0.223;
70	Elekrton Sayısı	p(1,1,70)=118;	p(2,1,70)=128;
		p(1,2,70)=118;	p(2,2,70)=128;
		p(1,3,70)=118;	p(2,3,70)=128;
	Dik Uzaklık		
71	(H1-O1-S1)	p(1,1,71)=0.233482;	p(2,1,71)=0.134907;
	düzlemi- C2 ye	p(1,2,71)=0.120035;	p(2,2,71)=0.134907;
	bağlı en uzak atom	p(1,3,71)=0.210171;	p(2,3,71)=0.253603;
72	(H1-O1-S1)	p(1,1,72)=4.368362;	p(2,1,72)=4.308377;
	düzlemi- C8	p(1,2,72)=4.28817;	p(2,2,72)=4.308377;
		p(1,3,72)=4.364614;	p(2,3,72)=4.410649;
73	(H1-O1-S1)	p(1,1,73)=2.034139;	p(2,1,73)=2.155549;
	düzlemi- C10	p(1,2,73)=2.174183;	p(2,2,73)=2.155549;
		p(1,3,73)=2.036755;	p(2,3,73)=2.082484;
74	(H1-O1-S1)	p(1,1,74)=1.009752;	p(2,1,74)=1.312567;
	düzlemi- C10 a	p(1,2,74)=1.347251;	p(2,2,74)=1.312567;
	bağlı en uzak atom	p(1,3,74)=1.016853;	p(2,3,74)=1.080629;
75	(H1-O1-S1)	p(1,1,75)=3.375462;	p(2,1,75)=3.457878;
	düzlemi- C11	p(1,2,75)=3.475412;	p(2,2,75)=3.457878;
		p(1,3,75)=3.376314;	p(2,3,75)=3.427888;
76	(H1-O1-S1)	p(1,1,76)=0.0;	p(2,1,76)=0.0;
	düzlemi- C11 e	p(1,2,76)=0.0;	p(2,2,76)=0.0;
	bağlı en uzak atom	p(1,3,76)=0.0;	p(2,3,76)=0.0;
77	(H1-O1-S1)	p(1,1,77)=2.14063;	p(2,1,77)=1.980239;
	düzlemi- O2	p(1,2,77)=1.988511;	p(2,2,77)=1.980239;
		p(1,3,77)=2.024392;	p(2,3,77)=2.326014;
78	(H1-O1-S1)	p(1,1,78)=1.75187;	p(2,1,78)=3.171057;
	düzlemi- O3	p(1,2,78)=1.9183;	p(2,2,78)=3.171057;
		p(1,3,78)=2.073202;	p(2,3,78)=2.022656;
79	(H1-O1-S1)	p(1,1,79)=2.818397;	p(2,1,79)=2.586799;
	düzlemi- C13	p(1,2,79)=2.490456;	p(2,2,79)=2.586799;
		p(1,3,79)=2.627755;	p(2,3,79)=3.091812;
80	(H1-O1-S1)	p(1,1,80)=1.136105;	p(2,1,80)=2.740882;
	düzlemi- N2 ye	p(1,2,80)=1.384331;	p(2,2,80)=2.740882;
	bağlı en uzak atom	p(1,3,80)=1.477543;	p(2,3,80)=1.342866;
81	(H1-O1-S1)	p(1,1,81)=0.210569;	p(2,1,81)=0.201331;
	düzlemi- O4	p(1,2,81)=0.176967;	p(2,2,81)=0.201331;
		p(1,3,81)=0.174827;	p(2,3,81)=0.274737;

Tablo 4.4 (Devamı) Hesaplamalarda Kullanılan Parametreler

	Yüzey Doğru Açısı		
82	(H1-O1-C3)	p(1,1,82)=35.070297;	p(2,1,82)=33.020579;
	düzlemi-(O2,S1)	p(1,2,82)=31.375394;	p(2,2,82)=33.020579;
		p(1,3,82)=32.04639;	p(2,3,82)=38.085162;
83	(H1-O1-C3)	p(1,1,83)=73.538296;	p(2,1,83)=68.489503;
	düzlemi-(C8,S1)	p(1,2,83)=68.043728;	p(2,2,83)=68.489503;
		p(1,3,83)=73.046787;	p(2,3,83)=75.358433;
84	(H1-O1-C3)	p(1,1,84)=3.754316;	p(2,1,84)=0.797862;
	düzlemi-(C2 e bağlı	p(1,2,84)=0.445997;	p(2,2,84)=0.797862;
	en uzak atom,S1)	p(1,3,84)=3.64093;	p(2,3,84)=3.683297;
85	(H1-O1-C3)	p(1,1,85)=8.056366;	p(2,1,85)=37.810862;
	düzlemi-(N2 e bağlı	p(1,2,85)=15.593262;	p(2,2,85)=37.810862;
	en uzak atom,C4)	p(1,3,85)=15.44899;	p(2,3,85)=8.195911;
86	(H1-O1-S1)	p(1,1,86)=34.8818;	p(2,1,86)=32.634563;
	düzlemi-(O2,S1)	p(1,2,86)=30.809781;	p(2,2,86)=32.634563;
		p(1,3,86)=31.96693;	p(2,3,86)=37.673273;
87	(H1-O1-S1)	p(1,1,87)=72.953637;	p(2,1,87)=70.072175;
	düzlemi-(C8,S1)	p(1,2,87)=69.805555;	p(2,2,87)=70.072175;
		p(1,3,87)=72.8009;	p(2,3,87)=74.282216;
88	(H1-O1-S1)	p(1,1,88)=4.285117;	p(2,1,88)=2.475591;
	düzlemi-(C2 e bağlı	p(1,2,88)=2.199172;	p(2,2,88)=2.475591;
	en uzak atom,S1)	p(1,3,88)=3.859879;	p(2,3,88)=4.646382;
89	(H1-O1-S1)	p(1,1,89)=7.674655;	p(2,1,89)=39.626186;
	düzlemi-(N2 e bağlı	p(1,2,89)=14.166842;	p(2,2,89)=39.626186;
	en uzak atom,C4)	p(1,3,89)=15.267659;	p(2,3,89)=7.495364;
90	(C7-C11-C12)	p(1,1,90)=58.273892;	p(2,1,90)=41.106126;
	düzlemi-(H1,S1)	p(1,2,90)=51.137756;	p(2,2,90)=41.106126;
		p(1,3,90)=57.912539;	p(2,3,90)=48.589154;
91	(C7-C11-C12)	p(1,1,91)=1.167498;	p(2,1,91)=20.026491;
	düzlemi-(O2,O1)	p(1,2,91)=12.657159;	p(2,2,91)=20.026491;
		p(1,3,91)=0.512791;	p(2,3,91)=8.663565;
92	(H1-O1-C3)	p(1,1,92)=4.762211;	p(2,1,92)=11.002312;
	düzlemi-(C2 e bağlı	p(1,2,92)=0.33824;	p(2,2,92)=11.002312;
	en uzak atom,S1)	p(1,3,92)=4.567618;	p(2,3,92)=5.389291;
93	(H1-O1-C3)	p(1,1,93)=57.853775;	p(2,1,93)=15.902115;
	düzlemi-(N2 e bağlı	p(1,2,93)=76.916711;	p(2,2,93)=15.902115;
	en uzak atom,N2)	p(1,3,93)=55.741254;	p(2,3,93)=64.21256;
	Açılar		
94	C1-C7-N2 e bağlı	p(1,1,94)=52.116878;	p(2,1,94)=101.416014;
	en uzak atom	p(1,2,94)=51.77745;	p(2,2,94)=101.416014;
		p(1,3,94)=48.46506;	p(2,3,94)=51.135886;
95	N2 e bağlı en uzak	p(1,1,95)=89.833932;	p(2,1,95)=145.357044;
	atom-C4-C1	p(1,2,95)=84.863899;	p(2,2,95)=145.357044;
		p(1,3,95)=84.083317;	p(2,3,95)=89.418311;
96	C8-S1-C1	p(1,1,96)=105.205419;	p(2,1,96)=106.767897;
		p(1,2,96)=107.895229;	p(2,2,96)=106.767897;
		p(1,3,96)=105.649611;	p(2,3,96)=104.387526;
97	C3-S1-C7	p(1,1,97)=102.595543;	p(2,1,97)=104.315936;
		p(1,2,97)=104.229844;	p(2,2,97)=104.315936;
		p(1,3,97)=102.643569;	p(2,3,97)=103.037762;
98	C4-C3-S1	p(1,1,98)=90.004597;	p(2,1,98)=89.876879;
		p(1,2,98)=90.083963;	p(2,2,98)=89.876879;
		p(1,3,98)=89.897673;	p(2,3,98)=90.570476;
99	N2 e bağlı en uzak	p(1,1,99)=49.041115;	p(2,1,99)=88.561965;
	atom-C1-H1	p(1,2,99)=46.852087;	p(2,2,99)=88.561965;
		p(1,3,99)=46.808815;	p(2,3,99)=49.123788;

Tablo 4.4 (Devamı) Hesaplamalarda Kullanılan Parametreler

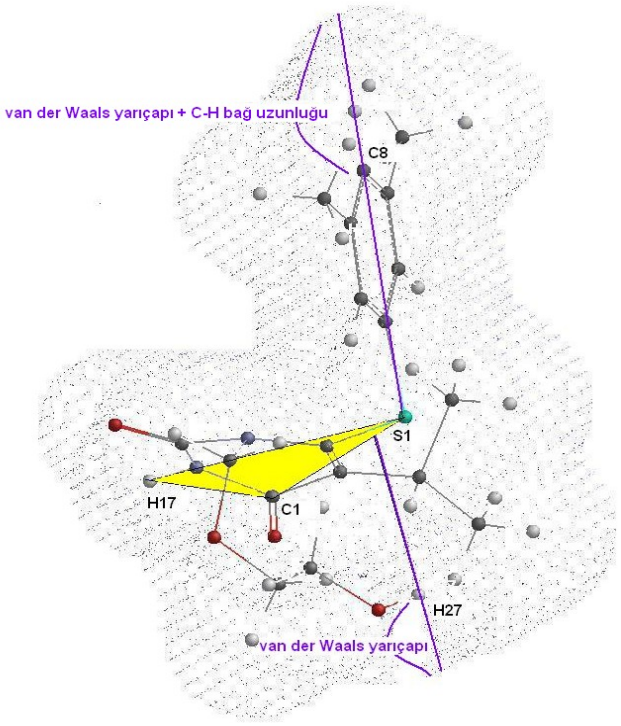
100	C8-C1-H1	p(1,1,100)=112.858172;	p(2,1,100)=123.389592;
		p(1,2,100)=122.620077;	p(2,2,100)=123.389592;
		p(1,3,100)=113.680278;	p(2,3,100)=113.137677;
101	N2 e bağlı en uzak atom-S1-C1	p(1,1,101)=59.097324;	p(2,1,101)=104.970576;
		p(1,2,101)=56.495641;	p(2,2,101)=104.970576;
		p(1,3,101)=55.959247;	p(2,3,101)=58.549899;
102	O4-S1-C1	p(1,1,102)=82.816389;	p(2,1,102)=82.609536;
		p(1,2,102)=82.666219;	p(2,2,102)=82.609536;
		p(1,3,102)=82.837159;	p(2,3,102)=82.701291;
103	C3-N2 e bağlı en uzak atom-S1	p(1,1,103)=14.875572;	p(2,1,103)=19.393479;
		p(1,2,103)=13.847007;	p(2,2,103)=19.393479;
		p(1,3,103)=13.959478;	p(2,3,103)=14.754674;
	Torsiyon Açısı		
104	O2-N2-C3-S1	p(1,1,104)=62.394898	p(2,1,104)=57.765967
		p(1,2,104)=64.752273	p(2,2,104)=-63.466549
		p(1,3,104)=-63.341809	p(2,3,104)=68.267981
105	C7-S1-C3-N2	p(1,1,105)=81.561727	p(2,1,105)=-93.126084
		p(1,2,105)=-92.234393	p(2,2,105)=93.177032
		p(1,3,105)=-80.869977	p(2,3,105)=84.130373
106	C2 e bağlı en uzak atom-C2-C3-S1	p(1,1,106)=1.225716	p(2,1,106)=-3.529210
		p(1,2,106)=-4.208424	p(2,2,106)=3.998227
		p(1,3,106)=-1.798647	p(2,3,106)=-0.171791
107	N2 e bağlı en uzak atom-N2-C3-S1	p(1,1,107)=82.480188	p(2,1,107)=37.041792
		p(1,2,107)=55.489261	p(2,2,107)=-121.719025
		p(1,3,107)=-56.247546	p(2,3,107)=120.337254
108	C8-C3-C1-O1	p(1,1,108)=-87.630351	p(2,1,108)=59.750833
		p(1,2,108)=60.853583	p(2,2,108)=-61.394398
		p(1,3,108)=86.471245	p(2,3,108)=-87.530664
109	N2 e bağlı en uzak atom-H1-C3-C8	p(1,1,109)=94.080100	p(2,1,109)=-64.040003
		p(1,2,109)=-71.553276	p(2,2,109)=71.435608
		p(1,3,109)=-100.894210	p(2,3,109)=98.685324
	Bağ Derecesi		
110	C3-C2 bağ derecesi	p(1,1,110)=1.751048;	p(2,1,110)=1.732867;
		p(1,2,110)=1.742053;	p(2,2,110)=1.732867;
		p(1,3,110)=1.750861;	p(2,3,110)=1.751003;
111	C2-C1 bağ derecesi	p(1,1,111)=0.963436;	p(2,1,111)=0.962501;
		p(1,2,111)=0.965029;	p(2,2,111)=0.962501;
		p(1,3,111)=0.962801;	p(2,3,111)=0.958189;
112	O3-H5 bağ derecesi	p(1,1,112)=0.900387;	p(2,1,112)=0.938634;
		p(1,2,112)=0.902219;	p(2,2,112)=0.938634;
		p(1,3,112)=0.902752;	p(2,3,112)=0.90289;
113	C5-O4 bağ derecesi	p(1,1,113)=1.684171;	p(2,1,113)=1.725748;
		p(1,2,113)=1.680496;	p(2,2,113)=1.725748;
		p(1,3,113)=1.686874;	p(2,3,113)=1.703434;
114	N2-C3 bağ derecesi	p(1,1,114)=1.052526;	p(2,1,114)=1.066229;
		p(1,2,114)=1.058661;	p(2,2,114)=1.066229;
		p(1,3,114)=1.052437;	p(2,3,114)=1.052819;
	Diğer Özellikler		
115	Gravitational 3D	p(1,1,115)=5091.700743	p(2,1,115)=5912.254502
		p(1,2,115)=10235.748051	p(2,2,115)=11824.509004
		p(1,3,115)=15331.164232	p(2,3,115)=17676.135028
116	Electron charge density CI	p(1,1,116)=61270.533177	p(2,1,116)=52797.148649
		p(1,2,116)=61422.681342	p(2,2,116)=52932.126963
		p(1,3,116)=61603.965221	p(2,3,116)=53071.560232
117	Topological electron index	p(1,1,117)=41.185565	p(2,1,117)=55.460007
		p(1,2,117)=35.783785	p(2,2,117)=55.460007
		p(1,3,117)=37.392210	p(2,3,117)=59.722167

Tablo 4.4 (Devamı) Hesaplamalarda Kullanılan Parametreler

118	Boltzmann Distribution	p(1,1,118)=0.217607	p(2,1,118)=0.370947
		p(1,2,118)=0.138734	p(2,2,118)=0.181095
		p(1,3,118)=0.136650	p(2,3,118)=0.079908
119	ZPE (kj\mol)	p(1,1,119)=0.217607	p(2,1,119)=0.370947
		p(1,2,119)=0.138734	p(2,2,119)=0.181095
		p(1,3,119)=0.136650	p(2,3,119)=0.079908
120	Boltzmann Dist.ZPE (kj\mol)	p(1,1,120)=823.935079	p(2,1,120)=756.093945
		p(1,2,120)=824.207959	p(2,2,120)=758.516356
		p(1,3,120)=824.296367	p(2,3,120)=758.441964
121	G° (kj\mol)	p(1,1,121)=164.860762	p(2,1,121)=115.042470
		p(1,2,121)=167.130975	p(2,2,121)=122.638662
		p(1,3,121)=167.050640	p(2,3,121)=123.528554
122	S° (kj\mol)	p(1,1,122)=0.647308	p(2,1,122)=0.699361
		p(1,2,122)=0.643365	p(2,2,122)=0.682479
		p(1,3,122)=0.643956	p(2,3,122)=0.686564
123	H° (kj\mol)	p(1,1,123)=357.855628	p(2,1,123)=323.556963
		p(1,2,123)=358.950178	p(2,2,123)=326.119761
		p(1,3,123)=359.045990	p(2,3,123)=328.227574
124	CFD (POS)	p(1,1,124)=1.000000	p(2,1,124)=1.000000
		p(1,2,124)=1.000000	p(2,2,124)=1.000000
		p(1,3,124)=1.000000	p(2,3,124)=1.000000
125	CFD(HBA)	p(1,1,125)=7.000000	p(2,1,125)=10.000000
		p(1,2,125)=7.000000	p(2,2,125)=10.000000
		p(1,3,125)=7.000000	p(2,3,125)=10.000000
126	CFD(HBD)	p(1,1,126)=2.000000	p(2,1,126)=2.000000
		p(1,2,126)=2.000000	p(2,2,126)=2.000000
		p(1,3,126)=2.000000	p(2,3,126)=2.000000
127	PSA	p(1,1,127)=61.159297	p(2,1,127)=108.815988
		p(1,2,127)=61.407641	p(2,2,127)=101.971222
		p(1,3,127)=61.533625	p(2,3,127)=101.673600
128	Rel.Eaq (kj\mol)	p(1,1,128)=0.000000	p(2,1,128)=0.000000
		p(1,2,128)=5.080455	p(2,2,128)=-52.179269
		p(1,3,128)=3.141203	p(2,3,128)=-57.220854
129	Eaq (kj\mol)	p(1,1,129)=-641.511215	p(2,1,129)=-559.158186
		p(1,2,129)=-636.430760	p(2,2,129)=-611.337455
		p(1,3,129)=-638.370012	p(2,3,129)=-616.379040

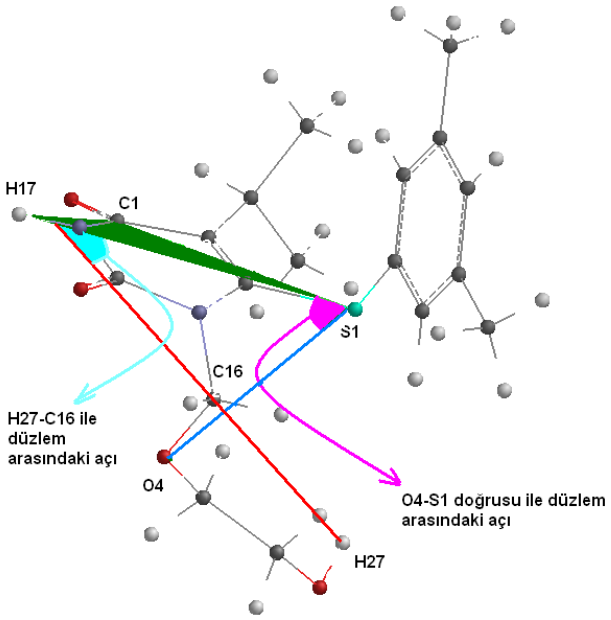
Şekil 4.8 , 4.9 ve 4.10 da EMRE 1.2 ile hesaplanan bazı geometrik özellikler şekiller üzerinde çizilerek gösterilmiştir.

Şekil 4.8. da farmakofor atomlardan olan H17-C1-S1 atomlarının oluşturduğu farmakofor düzlemine H27 atomunun (R' grubunun en uzak atomu) dik uzaklığı+ vander Waals yarıçapı ve C8 atomunun dik uzaklığı + vander Waals yarıçapı görülmektedir. Bir düzlemin olabilmesi için en az üç noktaya ihtiyaç vardır ifadesinden çıkarak burada oluşturulan düzlem üç atom içermekte ve üçgen şeklinde gösterilmiştir.



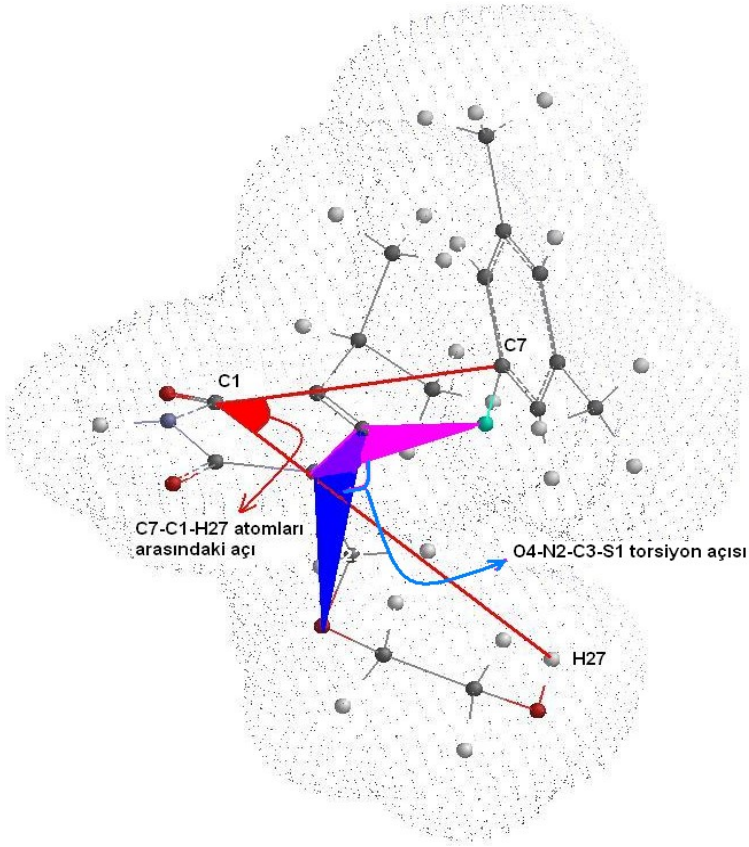
Şekil 4.8. Seçilen Düzleme, Belirlenen Atomların Van Der Waals Yarıçaplarından Çizilen Dik Uzaklıklar.

Şekil 4.9 de H17-C1-S1 atomlarının oluşturduğu farmakofor düzlemi ile O4-S1 atomlarının oluşturduğu doğru arasındaki açı ile aynı düzlemle H27-C16 atomlarının oluşturduğu doğru arasındaki açı gösterilmiştir.



Şekil 4.9. Seçilen İki Atomun Oluşturduğu Doğru İle Düzlem Arasındaki Açı

Şekil 4.10 de EMRE 1.2 ile hesaplanan özelliklerden atomlar arası açı ve torsiyon açısı gösterilmiştir. Atomlar arası açı üç atomun oluşturduğu açı, torsiyon açısı ise dört atomun oluşturduğu iki düzlem arasındaki açı olarak tanımlanır. Atomlar arasındaki açıya C1-C7-H27, torsiyon açısına ise O4-N2-C3-S1 atomlarının oluşturduğu iki düzlem arasındaki açı örnek olarak verilmiştir.



Şekil 4.10. Atomlar Arası Açı ve Torsiyon Açısı

Adım 6 da ise; serideki 80 bileşik ve konformerleri için belirlenen bu değişkenler hazırlandıktan sonra Matlab 7.04 paket programında yazılan kod ile Eşitlik 3.29 daki formüle göre aktivite hesaplamaları yapıldı. Aktivite hesaplamaları bileşiklerin EC değerlerine göre yapılmaktadır ve EC çeşitli birimlerde verilmektedir.

Bir ilacın etkisinin belirli bir ilaç tarafından oluşturulabilen maksimum yanıtın yarısına eşit olduğu ligand konsantrasyonuna EC_{50} (maksimum yanıtın %50'sini oluşturan ilaç konsantrasyonu) olarak adlandırılır. İlaç konsantrasyonları genellikle logaritmik eksende gösterildiğinden EC_{50} değeri pEC_{50} (-log EC_{50}) gibi logaritmik birimler halinde belirtilir.

Deneysel değerlere göre teorik aktivite hesaplaması yapılarak istatistiksel analiz sonuçları değerlendirilmiştir. Elde edilen birçok hesaplama sonucu bu bölümde verilmiştir.

4.1.3. HEPT Türevi Serisinden Elde Edilen Hesaplama Sonuçları

Çalışmalarda daha önceden de belirtildiği gibi 1-[2-hidroksietoksi-metil]-6-(feniltiyo)timin (HEPT) bileşiklerinin deneysel aktivite hesaplamaları EC-GA metodu ile Eşitlik 3.29 kullanılarak serideki bileşikler bölünmeden ve ikinci olarak ise bileşik serisi eğitim ve test set şeklinde sınıflandırılarak aktivite hesaplamaları gerçekleştirilmiştir.

4.1.3.1. Serinin Bölünmeden Hesaplanması

Yapılan birçok tarama sonucunda k_j 5 adetten başlanarak çeşitli hesaplamalar ve iterasyonlarla 22 adede kadar çıkılmıştır. Yapılan taramalardan elde edilen sonuçlar Tablo 4.5 de verilmiştir.

Tablo 4.5. Hesaplamalardan Elde Edilen kj Değerleri ve Parametreler

Kj adedi	**Parametre no**	**Kj değeri**
5	24,37,70,87,136	*-0.2261,-0.10658,0.004896,-0.00767,-0.38944*
8	9,37,51,69,82,92,114,133	*1.9794,-0.101,0.0025,0.6062,-0.0063 0.0051,-20.7248,-0.08841*
10	9,24,53,61,76,111,125,152,157,169	*2.6148,-0.1084,-0.0019,0.0009,-0.0544, -18.4710,0.1046,-0.2251,0.3463,0.0709*
11	8,9,10,27,71,76,125,129,141,153,157	*0.9719,4.7038,-2.6798,0.0222,1.4139, -0.0364,0.1004,-0.0004,-1.1862,-0.6429,0.4159*
12	7,9,21,27,37,70,76,88,92,110,114 141	*4.1705,4.9787,-1.8504,0.0279,-0.0690,0.0038,-0.0192 ,-0.0108,0.0049,-6.8135,-31.8415,0.1918*
15	7,17,37,62,76,113,114,123,125,130 140,144,147,157,172	*5.1677,-0.3996,0.0652,-0.0021,-0.0355,1.3502 -22.0819,-0.0003,0.1612,0.0766,0.0699,0.0393 -0.2472,0.2981,0.0655*
17	1,2,4,7,14,21,24,48,62,67,71,76, 113,117,125,129,153	*28.4238,-18.6318,4.3741,5.7674,0.1736,2.6539 0.1336,13.8915,-0.0035,0.0054,0.3576,-0.0390 8.3091,-0.0128,0.1472,-0.0005,-1.7915*
18	1,2,4,7,17,21,27,29,37,69,71,77,88 92,93,113,132,135	*21.4537,-17.3770,3.9846,5.1285,0.5278,3.8453 0.0351,-0.0169,-0.0257,2.1610,0.2929,0.0933, -0.0231,0.0043,-0.0031,9.6869,0.0298,0.0471*
20	1,2,9,11,20,62,70,74,76,82,92,113 120,122,124,126,152,160,161,169	*19.2302,-16.5167,8.3827,-6.5701,-0.5374,-0.0044 0.0171,0.0855,-0.0479,-0.0014,0.0049,3.8572 -0.0005,-1.5493,2.5015,0.2326,-0.0757,-0.1444 0.2477,0.1529*
22	*7,13,14,30,37,45,50,60,70,75,76 79,80,84,92,97,107,108,113,130 131,141*	*6.0635,-0.6695,-0.2857,0.8392,-0.0298,-0.3068 -0.0090,-0.0660,0.0285,0.2758,-0.0292,0.0508 0.0766,-0.0213,0.0114,0.0010,0.0022,-0.0012 1.5243,0.1200,-0.2339,0.2905*

Tablo 4.5 de verilen kj değerlerine göre hesaplanan aktivite değerleri Tablo 4.6 da verilmiştir. Tablo 4.6 dan görüldüğü gibi kj sayısının artışı ile aktivite değerlerinin deneysel değerlere daha yakın olarak bulunmuştur

Tablo 4.6. Elde Edilen kj Değerlerine Göre Hesaplanan Aktivite Değeri

No	5 kj	8 kj	10 kj	11 kj	12 kj	15 kj	17 kj	18 kj	20 kj	22 kj
1	5.5696	5.1099	5.3313	4.8787	4.2486	4.6163	4.7696	4.1129	4.6031	4.2902
2	3.5598	4.0083	3.7392	3.5329	3.7639	3.8514	3.6781	3.8501	3.7198	3.8745
3	4.8552	5.4817	4.1873	4.0760	4.7158	4.2294	4.5156	4.7598	4.5627	4.8423
4	5.1562	4.9538	5.7482	5.3720	5.0074	5.2408	5.3713	4.9216	5.2894	5.2247
5	5.3435	5.6550	6.1705	5.7625	5.5521	5.8435	5.3444	5.4222	5.6406	5.8245
6	5.7182	5.8202	5.9020	5.8585	6.1955	6.0421	5.6772	5.7823	5.5455	5.3490
7	5.0592	4.9580	4.4003	4.3469	5.0196	4.6188	4.8045	4.7932	4.5099	4.5966
8	5.0124	4.4872	4.8316	4.9789	4.7703	4.9229	4.9336	4.9884	4.8111	4.5769
9	5.3026	4.9476	5.4290	5.5456	5.4275	5.5976	5.2313	5.5293	5.4314	5.4912
10	5.3175	4.5576	4.9424	5.3089	5.0446	4.8463	5.1060	5.0733	4.9937	5.0684
11	5.8031	5.3179	5.3737	5.9012	5.7989	5.2622	5.4999	5.5528	5.4522	5.7409
12	3.3389	3.7551	4.1810	4.1936	4.2276	4.6044	4.7547	4.1270	4.3301	4.4078
13	4.8353	4.4285	4.6579	4.5022	4.4108	4.2843	4.3263	4.5285	4.3603	4.1699
14	4.7398	4.7592	4.2319	4.6315	4.6603	4.5348	4.2957	4.8279	4.6980	4.5142
15	5.1864	4.9081	5.2629	5.2635	4.9646	5.1827	5.7519	5.1344	5.7357	5.8500
16	4.7139	6.1425	5.7285	5.7262	5.1912	5.7364	5.8957	5.7515	5.9409	5.9189
17	6.3240	5.8647	6.2033	6.2942	6.1558	6.1353	6.1411	5.9367	6.1951	5.9333
18	4.5212	5.1575	4.6963	4.7148	5.0593	5.0586	4.7991	4.8371	4.5724	5.3445
19	4.6579	4.8026	5.5309	5.3213	5.2092	5.8340	5.2798	5.4391	5.6611	5.3178
20	5.0576	4.5346	5.1596	5.2913	4.9764	4.9993	5.0083	4.5451	4.8571	5.1637
21	5.9425	5.7783	5.9255	6.1131	5.6252	5.7927	5.6350	5.6635	5.6995	5.4689
22	6.6161	6.4682	6.8191	6.5202	6.5370	6.8031	6.6951	6.1493	6.9613	6.5779
23	6.7294	6.2356	5.8810	5.5753	6.1552	5.7230	5.4654	5.6811	5.6814	5.5830
24	6.5820	6.7490	6.5083	6.9784	7.3594	6.9078	6.9727	7.3724	7.0405	6.9413
25	6.9773	7.1425	7.7599	7.4480	7.5225	7.5597	7.6326	8.2938	7.9503	8.4610
26	6.8503	7.1391	7.3737	7.7568	7.9651	7.7997	8.0984	8.0754	8.5640	7.9489
27	7.0551	6.5280	7.4442	7.1408	7.3283	7.3202	7.2360	7.2166	7.2312	7.1225
28	6.0832	5.9759	6.3218	6.2149	6.1617	6.4369	6.6243	7.1455	6.8122	6.9661
29	6.0852	5.5839	5.5733	5.1561	5.5862	4.9756	4.9815	5.0914	5.3743	5.0942
30	5.8711	5.9883	6.2052	6.4577	6.2864	6.0921	6.6434	6.5185	6.5851	6.2327
31	6.2201	7.2077	7.3627	7.0450	7.4585	7.2148	7.4321	7.5210	7.0010	7.2740
32	8.5700	8.5700	8.5700	8.5700	8.5700	8.5700	8.5700	8.5700	8.5700	8.5700
33	6.4711	6.1207	6.8012	6.7912	6.9206	6.6128	7.1429	7.7094	7.0491	6.9058
34	5.2376	4.8593	4.7004	4.7967	4.8271	4.5693	4.7241	4.6225	4.3598	4.4182
35	5.1323	4.8713	4.7777	4.8538	4.7376	4.9877	4.6050	4.4868	4.9706	4.7732
36	5.7850	5.4105	5.2347	5.4108	5.4841	5.3792	5.1797	5.3089	4.9485	5.1737
37	5.3958	4.7867	5.5033	5.4110	5.2346	5.4134	5.5454	5.5337	5.6471	5.5295
38	5.4696	5.3459	5.5273	5.6069	6.3147	5.8622	5.9285	5.8482	5.6332	6.1889
39	5.2593	6.2743	5.3748	5.1415	5.1207	4.8450	5.0804	5.2676	5.2223	4.9992
40	5.5917	5.4474	5.4106	4.5777	4.4661	4.9639	4.5093	4.4754	4.3938	4.4721
41	5.3605	5.3485	5.4027	5.6718	5.4606	5.9358	5.6742	5.4416	5.7051	5.9486
42	5.1316	5.2599	4.6017	4.8904	5.2979	5.0783	5.0528	5.6849	5.3119	4.8431
43	5.1454	4.9148	5.2704	5.5485	5.2599	5.2791	5.2246	4.7153	5.2145	5.0273
44	5.7139	4.5962	4.4462	4.9602	4.5846	4.8581	5.0407	5.0706	5.1039	5.0147
45	6.0264	6.2271	6.0704	5.9975	6.0942	5.8456	5.5052	5.9919	5.9647	5.5320

Tablo 4.6. (Devamı) Elde Edilen kj Değerlerine Göre Hesaplanan Aktivite Değeri

46	5.7973	5.7691	5.3232	5.6105	5.3511	5.5578	5.2847	5.3274	5.2455	5.7013
47	4.8764	4.8035	5.1578	5.1601	4.8805	4.3650	5.0338	5.6108	5.6859	5.3136
48	5.5860	5.9919	5.6721	5.6789	5.8761	6.1976	5.7783	5.9510	6.4081	5.8995
49	5.5752	5.6017	5.0134	5.2039	5.1590	5.0775	5.4527	5.2656	5.1498	4.9385
50	6.1450	6.5405	6.1393	6.4988	6.6188	7.1859	6.9429	6.6907	6.7241	6.9107
51	6.7247	7.8822	7.5534	8.0859	7.6530	7.6135	8.3470	7.9088	7.4050	7.8637
52	7.2959	7.6104	7.7074	7.4074	7.3786	7.5185	7.9908	7.4722	7.5814	7.7680
53	6.7434	7.8141	7.5724	7.4149	7.7000	7.4095	7.8893	7.8062	7.4495	8.0294
54	7.7830	7.8841	8.0039	8.1822	8.1466	7.7725	8.6173	8.6919	8.2322	8.3401
55	6.8811	7.3036	7.4352	7.2132	7.5768	7.9631	8.0113	7.6802	8.3253	8.2347
56	7.3633	8.2606	8.7813	8.2745	8.5424	9.2359	8.9217	8.5301	9.1555	8.7591
57	7.5615	7.7228	8.1530	7.8779	7.6085	8.0455	7.9165	7.7989	7.2084	8.1259
58	8.1389	7.9378	8.7542	8.7768	8.2643	8.3192	8.8029	8.4654	8.7593	8.3909
59	6.5119	7.4096	6.9281	7.2642	7.4457	7.2366	7.5538	7.2261	7.9287	8.2622
60	6.7245	7.6104	7.1865	7.8706	7.9010	8.3186	8.4973	8.1109	8.3762	7.9959
61	7.3311	7.6446	7.3925	7.5623	7.8190	7.3214	7.6096	7.9014	8.5042	7.4936
62	7.5579	7.8476	7.7678	8.6180	8.0696	8.3288	8.5974	8.4403	8.2265	8.2645
63	5.5070	6.1191	6.0099	5.7705	5.8699	6.2108	6.0042	4.1129	6.0149	6.2141
64	5.4226	4.9515	4.7094	4.8314	4.7411	4.8568	5.2325	5.9644	5.3403	5.0962
65	5.5986	5.4567	5.9321	5.4317	5.6744	5.7160	5.4689	5.0359	5.0945	5.8740
66	5.9423	5.7983	6.2328	5.7693	6.0583	5.6497	5.7512	5.6272	5.9538	5.6952
67	8.0194	7.7943	8.5145	8.0171	7.9252	7.9972	7.8581	5.8571	8.4690	7.9266
68	7.3266	7.7165	7.1730	7.1636	7.0631	6.9546	7.0677	7.8287	6.9239	6.6634
69	5.0630	7.2203	5.8869	6.2854	6.1336	6.5294	5.6085	7.0437	6.1823	6.2500
70	7.3449	6.7545	6.6274	6.6025	6.5933	6.3142	6.7539	5.6735	6.1501	6.1867
71	7.6399	7.1887	6.8980	7.2376	7.5327	7.4646	7.0415	6.6521	7.0053	7.8145
72	7.7476	7.5673	7.5752	8.1702	7.6104	7.4697	7.3256	7.3378	7.4092	7.6587
73	7.6350	6.4564	7.3929	6.9876	6.5375	7.1906	7.0227	7.7023	6.6827	7.0216
74	7.2071	7.2190	7.8879	7.4829	8.0775	7.4763	7.9592	7.0622	8.5175	7.6610
75	6.7282	7.5949	7.1303	7.0573	6.9966	6.8165	6.4620	7.8515	6.5606	7.1387
76	6.7014	6.5963	6.0224	6.4713	5.9671	5.7394	5.6545	7.0167	5.4550	5.2675
77	6.7579	6.6796	6.1827	6.1822	6.5412	6.2793	6.0975	5.6777	6.4477	6.2034
78	6.8699	6.6529	7.3338	7.4148	7.4753	7.2221	7.3261	6.5490	7.2929	7.1240
79	6.6753	6.9784	7.1436	6.7679	6.9518	7.6279	7.4271	6.9482	6.9735	7.3102
80	6.0168	6.4307	6.4967	6.2015	6.6390	6.8697	7.2096	6.9629	6.7386	6.9449
R^2	0.6657	0.7489	0.8260	0.8582	0.8665	0.8672	**0.9153**	0.9018	0.9071	0.9129
Standart hata	0.0655	0.0567	0.0472	0.0426	0.0413	0.0413	**0.0330**	0.0355	0.0345	0.0334

Yapılan taramalar sonucunda parametre sayısı arttıkça genellikle R^2 değerinin daha yüksek çıktığı görülmüştür. Ancak aktivite hesaplamalarında kullanılan parametre sayısının az ve R^2 değerinin maksimum, standart hata değerinin ise minimum olduğu durum en uygun durumdur. Daha önceki çalışmalarda bu nedenle, R değeri 0,9153 ve standart hata değeri 0,0330 olan 17 k_j adedi ile hesaplanan sonucun hem kimyasal açıdan hem de istatistiksel açıdan en uygun sonuç olduğuna karar verilmişti.

4.1.3.2. Serinin Eğitim ve Test Seti Olarak Hesaplanması

Eğitimde kullanılan örnek setine *eğitim seti,* test için kullanılan sete ise *test seti* adı verilmektedir. Genetik algoritmada en iyi parametrelerin yani kappa değerlerinin ve regresyon katsayılarının belirlenmesi işlemine setin eğitimi denir. Başlangıç değeri olarak sıfır olacak şekilde işleme başlanarak geniş bir uzay alanında tarama yapılır. Bu taramadaki amaç uygun parametre ve kappa değerleri için doğru çıktıları üretecek değerleri bulmaktır. Bunun için defalarca iterasyon yapılır. Uygun kappa değerlerine ve regresyon katsayısının maksimum ve standart hatanın minimum olduğunda eğitim setinin uygun bir şekilde hazırlanmış olduğunu gösterir. Bu duruma eğitim setinin *öğrenmesi* denir. Setin öğrenip öğrenmediğini (performansını) ölçme yani aktivitesi bilinmeyen bileşiklerin (test setinin) aktivitesinin belirlenmesi için yapılan denemelere ise *"setin test edilmesi"* denir. Test etmek için eğitim setinde bulunmayan bileşikler kullanılır. Test etme sırasında eğitim setinde bulunan moleküler parametreler (parametrelerin sayısal değerleri değişebilir) ve kappa değerleri değiştirilmez. Eğitim setinde en küçük kareler yöntemi ile bulunan kappa değerleri kullanılır. Test örnekleri hesaplamaya tabii tutulur ve eğitim sırasında belirlenen parametreler kullanılarak daha önceden hesaba dahil edilmeyen bu örnekler için çıktılar üretilir. Elde edilen çıktıların doğruluk değerleri setin öğrenmesi hakkında bilgiler verir.

Genetik algoritma tekniğinin bu şekilde bilinen örneklerden belirli bilgileri çıkartarak bilinmeyen örnekler hakkında yorumlar yapabilme (genelleme yapabilme) yeteneğine *"Adapte olmuş öğrenme"* denir.

Daha öncesinde yazılmış olan kodlarda üstel fonksiyon sonsuza gittiğinden kappa değerleri sınırlandırılarak -50-+50 sınırında arama yapılmaktaydı. Ancak kodların geliştirilmesi ile kappa değerlerindeki sınır kaldırılarak uzayın geniş bir aralığı taranmış ve daha iyi sonuçlar elde edilmiştir.

Aktiviteler referansa bağlı olarak hesaplanmakta ve matematiksel olarak ifade edildiği için eşitliğin bir tarafında yapılan bir değişiklik diğer tarafına da yansımaktadır. Bunun sonucu olarak parametreler ve kappa değerleri de değişmektedir. Çalışmalara başladığımızda en iyi değerlerini hangi birimde kullanınca elde edileceği bilinmediğinden çeşitli denemeler yapılmıştır.

Tablo 4.7 de aktivite hesaplamalarında elde edilen parametreler ile kj değerleri gösterilmiştir. Tablo 4.8 de ise hesaplanan eğitim ve test seti bileşikleri için teorik aktivite değerleri verilmiştir. Elde edilen en iyi sonuçlar ise bölüm 5 de verilmiştir.

Tablo 4.7. Hesaplamalardan Elde Edilen kj Değerleri ve Parametreler

Kj adedi	Parametre no	*Kj değeri*
5	24,76,78,92,114	*-0.0830,-0.0468,0.0866,0.0066,-11.6986*
10	2,30,41,53,69,72,76,107,113,134	*-23.4725,-0.5186,-0.3773,-0.0014,4.4144 -0.3267,-0.0778,0.0015,9.0050,4.0252*
15	2,3,8,19,21,29,44,53,69,76,78,92 113,138,146	*-18.5945,12.7431,5.3586,0.5641,8.8557 0.0052,-0.0114,-0.0004,3.6375,-0.0795 0.1808,0.0038,11.0425,-0.0140,-0.0426*
18	2,8,9,13,19,23,30,34,48,69,74,76 78,92,95,107134,140	*-9.9945,3.5203,16.6069,-0.5867,0.6035 -0.0874,0.0687,0.0079,0.8429,3.9165 0.1832,-0.0567,0.0542,0.0074,0.0008 0.0013,-0.6206,0.0079*
20	*9,11,24,37,41,43,45,47,50,67,70 75,83,92,106,107,113,131,139,141*	*5.1048,3.7336,-0.1860,-0.1859,-2.6147,-1.479 , 3.7020,3.03274,-0.0072,0.0014,0.0302,0.3195, -0.0076,0.0086,-7E-05,0.0019,0.09130,-0.3915, -0.0249,0.0739*

Tablo 4.8. Elde Edilen kj Değerlerine Göre Hesaplanan Aktivite Değerleri

5 kj		**10 kj**		**15 kj**		**18kj**		**20 kj**	
eğitim	*aktivite*	*eğitim*	*aktivite*	*eğitim*	*aktivite*	*eğitim*	*aktivite*	*eğitim*	*aktivite*
1	4.7860	1	4.4284	1	4.4817	1	4.1190	1	4.3720
3	4.8810	3	4.5975	3	4.8586	3	4.7342	3	4.9968
4	4.8324	4	5.4996	4	5.1616	4	5.0679	4	4.7390
7	5.2483	7	4.7681	7	4.4172	7	4.4746	7	4.4657
8	4.9013	8	5.0598	8	5.6935	8	5.5554	8	4.2105
11	5.2171	11	5.1561	11	5.3196	11	5.0492	11	5.8466
16	6.3107	16	5.9044	16	5.9308	16	5.8298	16	5.8321
20	5.1131	20	5.1091	20	5.1825	20	5.2463	20	4.9934
21	5.5281	21	5.5477	21	5.8439	21	5.6173	21	5.6521
23	5.7314	23	5.3998	23	5.4675	23	5.5025	23	5.8831
24	6.1502	24	6.2347	24	6.6062	24	6.6276	24	6.4879
25	7.3501	25	7.6352	25	7.9263	25	7.7274	25	6.6897
28	5.7699	28	6.3448	28	5.9354	28	6.8553	28	7.2276
29	5.2321	29	5.3594	29	4.9024	29	5.1592	29	6.0233
31	7.1869	31	7.5666	31	8.0669	31	7.6183	31	6.4653
32	8.5700	32	8.5700	32	8.5700	32	8.5700	32	8.5700
33	7.0957	33	7.1603	33	7.4185	33	7.2928	33	7.0476
34	4.1349	34	4.2085	34	3.8672	34	4.0649	34	4.8177
38	5.6451	38	5.2886	38	5.7963	38	5.5579	38	5.9076
39	5.3529	39	5.1145	39	5.1344	39	5.0868	39	5.2562
40	4.9389	40	4.4811	40	4.4128	40	4.5009	40	4.4614
41	5.4476	41	6.5085	41	6.2154	41	5.9447	41	5.4765
42	4.3297	42	5.3870	42	5.3348	42	5.1823	42	4.7004
44	4.3954	44	5.1711	44	4.8199	44	4.6808	44	4.6127
45	5.9059	45	6.0177	45	5.8677	45	6.0629	45	6.0032
46	5.5789	46	5.1414	46	5.2973	46	5.4241	46	5.9633
48	5.7877	48	5.7366	48	5.9618	48	6.5216	48	5.6733
49	5.1532	49	4.8476	49	5.2525	49	4.9550	49	5.2854
52	7.3850	52	7.4414	52	6.9520	52	7.3292	52	7.2063
53	8.2624	53	8.6483	53	8.9765	53	8.5955	53	7.1075
57	7.5136	57	7.8213	57	7.5068	57	7.7869	57	7.7858
60	7.0628	60	7.9369	60	8.5599	60	8.1857	60	8.3660
61	7.5342	61	8.0131	61	7.9603	61	7.7200	61	7.4099

Tablo 4.8.(Devamı) Elde Edilen kj Değerlerine Göre Hesaplanan Aktivite Değerleri

62	7.6522	62	8.4074	62	8.7197	62	8.0766	62	7.9454

65	5.3551	65	5.4992	65	5.4280	65	5.8110	65	5.1866
66	5.6684	66	5.6100	66	5.7829	66	5.7937	66	6.1352
68	7.5583	68	6.8719	68	6.7715	68	6.8276	68	6.9931
70	6.9693	70	6.5594	70	6.3301	70	6.4030	70	6.4626
71	7.4726	71	6.7699	71	7.0061	71	6.8463	71	7.3633
73	7.5457	73	7.3526	73	7.0498	73	7.6628	73	8.2412
74	8.2066	74	8.4586	74	7.7749	74	8.0905	74	8.1405
76	6.8297	76	5.9263	76	5.9849	76	5.8261	76	6.3020
79	7.1826	79	7.3398	79	7.4966	79	7.2176	79	6.2712
80	6.3491	80	7.5247	80	7.5618	80	7.2635	80	6.2392
test	*aktivite*	*test*	*aktivite*	*test*	*aktivite*	*test*	*aktivite*	*test*	*aktivite*
2	5.1666	2	3.3702	2	3.4365	2	3.5030	2	1.7822
5	5.3332	5	6.3178	5	5.6511	5	5.9726	5	5.8791
6	5.4726	6	5.8390	6	5.1692	6	5.3753	6	5.6345
9	5.2524	9	5.6232	9	5.5382	9	5.4039	9	5.0189
10	4.7947	10	4.8363	10	5.2828	10	4.8250	10	4.7939
12	5.7261	12	4.1620	12	2.3308	12	2.0718	12	2.6774
13	4.6116	13	5.1605	13	5.0113	13	5.5049	13	3.9776
14	4.9120	14	4.9126	14	5.5471	14	5.4086	14	3.5573
15	4.6345	15	5.4990	15	5.3360	15	5.1189	15	4.9803
17	5.5900	17	6.4563	17	5.6170	17	6.1616	17	5.7542
18	5.59971	18	4.8767	18	4.2117	18	4.2558	18	4.1378
19	5.7726	19	6.8627	19	5.3916	19	5.9668	19	5.4126
22	5.8499	22	5.2785	22	5.0972	22	5.3710	22	5.9509
26	7.1168	26	8.4180	26	8.3543	26	8.4539	26	7.2343
27	7.6040	27	6.9532	27	7.2795	27	6.8227	27	7.0334
30	5.2918	30	6.2737	30	5.7266	30	6.1982	30	6.7919
35	4.1618	35	4.1799	35	3.7070	35	4.2568	35	5.2600
36	4.6930	36	4.6146	36	4.3536	36	4.6175	36	5.4122
37	4.6544	37	4.7428	37	5.5478	37	5.4070	37	5.2754
43	4.3590	43	3.9211	43	3.7967	43	3.7211	43	4.9416
47	5.4983	47	6.3069	47	6.0907	47	6.7451	47	4.7301
50	5.8681	50	6.6135	50	6.6641	50	6.7362	50	6.8416
51	7.1170	51	7.9868	51	7.1364	51	7.9501	51	8.1918
54	8.9149	54	9.0260	54	9.3321	54	9.2174	54	7.4332
55	6.9666	55	7.7411	55	7.3383	55	8.5658	55	7.8708
56	8.8756	56	10.791	56	10.0732	56	9.7388	56	8.5170
58	8.8699	58	10.584	58	10.032	58	10.1282	58	7.8232
59	7.0100	59	7.4124	59	7.6753	59	7.7216	59	7.9184
63	5.5053	63	5.9129	63	5.6043	63	6.1900	63	6.0872
64	4.7656	64	4.5289	64	4.9920	64	4.7410	64	5.1584
67	9.0229	67	9.1225	67	8.2294	67	7.6894	67	8.1172
69	7.4244	69	6.8778	69	6.7745	69	6.8909	69	7.0023
72	7.5272	72	7.3651	72	7.5535	72	7.7920	72	8.4371
75	7.1881	75	7.0109	75	6.4917	75	7.0960	75	7.9872
77	6.7032	77	6.4429	77	6.3410	77	6.6099	77	7.0368
78	7.2397	78	7.3905	78	7.2165	78	7.6838	78	7.9908

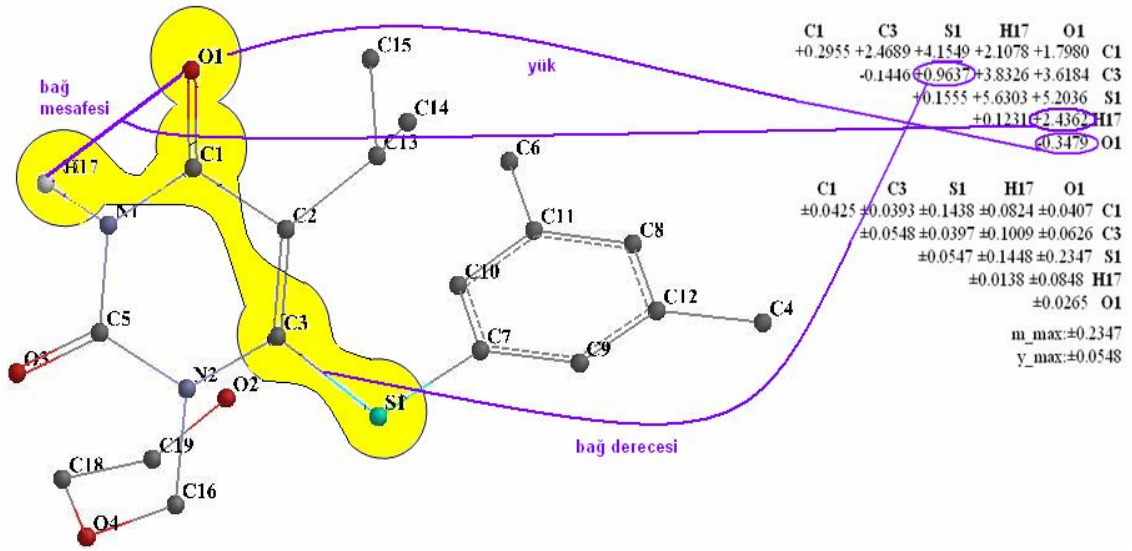
	R^2 değerler i (eğitim)	*R^2 değerler i (test)*	*Standart hata (eğitim)*	*Standart hata (test)*
5	0.7902	0.6038	0.0706	0.1079
10	0.9154	0.6939	0.0448	0.0948
15	0.9173	0.7103	0.0443	0.0922
18	0.9459	0.7080	0.0358	0.0926
20	0.7759	0.7793	0.0730	0.0805

5. BÖLÜM

SONUÇ

5.1. 1-[2-hidroksietoksi-metil]-6-(feniltiyo)timin (HEPT) Türevinin Teorik Aktivite Hesaplama Sonuçları

Çalışılan bu bileşik serisinde aktivitesi en yüksek olan a32 referans bileşiğine göre ECMC lerin karşılaştırılması ile Şekil 5.1 de gösterildiği gibi C1, O1, C3, H17 ve S1 atomları farmakofor grup olarak bulunmuştur. C1, O1, ve C3 atomları kimyasal yönden oldukça önemli olan fonksiyonel bir gruptur ve özellikle protein yapısında bulunan negatif uçların C3 ile tepkimeye girmesi, yani Michael tipi reaksiyon vermesi beklenen bir özelliktir. Diğer negatif atomlar fonksiyonel grup özelliğine sahiptir. H17 atomu proteinlerle H bağı oluşturması açısından oldukça önemlidir. S atomları proteinlerde bulunan disülfür bağlarını oluşturması açısından oldukça önemlidir. S1 atomu HIV-1 virüsü ile etkileşerek disülfür bağlarını oluşturması olasıdır.



Şekil 5.1. HEPT Türevleri İçin Aktif Fragmenti Gösteren ECSA (Elektron Konformasyonel Alt Matris) ve Farmakofor Grubu Temsil Eden Atomlar.

Çalışmalarda daha önceden de belirtildiği gibi 1-[2-hidroksietoksi-metil]-6-(feniltiyo)timin (HEPT) bileşiklerinin deneysel aktivite hesaplamaları EC-GA metodu ile Eşitlik 3.29 kullanılarak serideki bileşikler bölünmeden ve ikinci olarak ise bileşik serisi eğitim ve test set şeklinde sınıflandırılarak aktivite hesaplamaları gerçekleştirilmiştir. Serideki bileşiklerin bölünmeden hesaplanan teorik aktiviteleri Tablo 5.1 de verilmiştir.

Tablo 5.1. HEPT Türevlerinin 17 Kappaya Göre Deneysel ve Hesaplanan Aktiviteleri.

No	***R1***	***R2***	***R3***	***X***	**Deneysel Aktivite** $Log(1/EC_{50})$	**Hesaplanan Aktivite** $Log(1/EC_{50})$
1	2-Me	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	4.15	4.7696
2	2-NO_2	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	3.85	3.6781
3	2-OMe	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	4.72	4.5156
4	3-Me	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	5.59	5.3713
5	3-Et	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	5.57	5.3444
6	3-t-Bu	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	4.92	5.6772
7	3-CF_3	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	4.35	4.8045
8	3-F	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	5.48	4.9336
9	3-Cl	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	4.89	5.2313
10	3-Br	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	5.24	5.1060
11	3-I	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	5.00	5.4999
12	3-NO_2	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	4.47	4.7547
13	3-OH	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	4.09	4.3263
14	3-OMe	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	4.66	4.2957
15	3,5-Me_2	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	6.59	5.7519
16	3,5-Cl_2	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	5.89	5.8957
17	3,5-Me_2	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	S	6.66	6.1411
18	3-COOMe	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	5.10	4.7991
19	3-COMe	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	5.14	5.2798
20	3-CN	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	5.00	5.0083
21	H	$CH_2CH=CH_2$	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	5.60	5.6350
22	H	Et	$CH_2OCH_2CH_2OH$	S	6.96	6.6951
23	H	Pr	$CH_2OCH_2CH_2OH$	S	5.00	5.4654
24	H	i-Pr	$CH_2OCH_2CH_2OH$	S	7.23	6.9727
25	3,5-Me_2	Et	$CH_2OCH_2CH_2OH$	S	8.11	7.6326
26	3,5-Me_2	i-Pr	$CH_2OCH_2CH_2OH$	S	8.30	8.0984
27	3,5-Cl_2	Et	$CH_2OCH_2CH_2OH$	S	7.37	7.2360
28	H	Et	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	6.92	6.6243
29	H	Pr	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	5.47	4.9815
30	H	i-Pr	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	7.20	6.6434
31	3,5-Me_2	Et	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	7.89	7.4321
32	3,5-Me_2	i-Pr	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	8.57	8.5700
33	3,5-Cl_2	Et	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	7.85	7.1429
34	4-Me	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	3.66	4.7241
35	H	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	5.15	4.6050
36	H	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	S	6.01	5.1797
37	H	I	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	5.44	5.5454
38	H	$CH=CH_2$	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	5.69	5.9285
39	H	CH=CHPh	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	5.22	5.0804
40	H	CH_2Ph	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	4.37	4.5093
41	H	$CH=CPh_2$	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	6.07	5.6742
42	H	Me	$CH_2OCH_2CH_2OMe$	O	5.06	5.0528
43	H	Me	$CH_2OCH_2CH_2OAc$	O	5.17	5.2246

Tablo 5.1.(Devamı) HEPT Türevlerinin 17 Kappaya Göre Deneysel ve Hesaplanan Aktiviteleri.

44	H	Me	$CH_2OCH_2CH_2OCOPh$	O	5.12	5.0407
45	H	Me	CH_2OCH_2Me	O	6.48	5.5052
46	H	Me	$CH_2OCH_2CH_2Cl$	O	5.82	5.2847
47	H	Me	$CH_2OCH_2CH_2N_3$	O	5.24	5.0338
48	H	Me	$CH_2OCH_2CH_2F$	O	5.96	5.7783
49	H	Me	$CH_2OCH_2CH_2Me$	O	5.48	5.4527
50	H	Me	CH_2OCH_2Ph	O	7.06	6.9429
51	H	Et	CH_2OCH_2Me	O	7.72	8.3470
52	H	Et	CH_2OCH_2Me	S	7.58	7.9908
53	3,5-Me_2	Et	CH_2OCH_2Me	O	8.24	7.8893
54	3,5-Me_2	Et	CH_2OCH_2Me	S	8.30	8.6173
55	H	Et	CH_2OCH_2Ph	O	8.23	8.0113
56	3,5-Me_2	Et	CH_2OCH_2Ph	O	8.55	8.9217
57	H	Et	CH_2OCH_2Ph	S	8.09	7.9165
58	3,5-Me_2	Et	CH_2OCH_2Ph	S	8.14	8.8029
59	H	i-Pr	CH_2OCH_2Me	O	7.99	7.5538
60	H	i-Pr	CH_2OCH_2Ph	O	8.51	8.4973
61	H	i-Pr	CH_2OCH_2Me	S	7.89	7.6096
62	H	i-Pr	CH_2OCH_2Ph	S	8.14	8.5974
63	H	Me	CH_2OMe	O	5.68	6.0042
64	H	Me	CH_2OBu	O	5.33	5.2325
65	H	Me	Et	O	5.66	5.4689
66	H	Me	Bu	O	5.92	5.7512
67	3,5-Cl_2	Et	CH_2OCH_2Me	S	7.89	7.8581
68	H	Et	CH_2O-i-Pr	S	6.66	7.0677
69	H	Et	CH_2O-c-Hex	S	5.79	5.6085
70	H	Et	CH_2OCH_2-c-Hex	S	6.45	6.7539
71	H	Et	$CH_2OCH_2C_6H_4$(4-Me)	S	7.11	7.0415
72	H	Et	$CH_2OCH_2C_6H_4$(4-Cl)	S	7.92	7.3256
73	H	Et	$CH_2OCH_2CH_2Ph$	S	7.04	7.0227
74	3,5-Cl_2	Et	CH_2OCH_2Me	O	8.13	7.9592
75	H	Et	CH_2O-i-Pr	O	6.47	6.4620
76	H	Et	CH_2O-c-Hex	O	5.40	5.6545
77	H	Et	CH_2OCH_2-c-Hex	O	6.35	6.0975
78	H	Et	$CH_2OCH_2CH_2Ph$	O	7.02	7.3261
79	H	c-Pr	CH_2OCH_2Me	S	7.02	7.4271
80	H	c-Pr	CH_2OCH_2Me	O	7.00	7.2096
	R^2	**Standart Hata**				
	0.9153	0.0330				

Aktivite hesaplamalarında kullanılan parametre sayısının az ve R^2 değerinin maksimum, standart hata değerinin ise minimum olduğu durum en uygun durum olduğundan hem kimyasal açıdan en uygun parametreler hem de minimum hata ile maksimum R^2 değerini veren sonuçlar seçilmiştir.

EC-GA metodu ile hesaplanan teorik aktivite değerlerinin deneysel değerler ile genellikle uyum içinde olduğu görülmektedir. Tablo 5.1. de verilmiş olan teorik aktiviteleri hesaplamakta kullanılan moleküler parametreler ve buna bağlı olarak en küçük kareler yöntemi kullanılarak hesaplanmış kj değerleri ise Tablo 5.2 de verilmiştir. Görüldüğü gibi aktiviteleri hesaplamak için 17 adet moleküler parametre ve kj değeri ve

a32 molekülü ise referans olarak kullanılmıştır. κ_j değerleri, k1=28.4238, k2=-18.6318, k3=4.3741, k4=5.7674, k5=0.1736, k6=2.6539, k7=0.1336, k8=13.8915, k9=-0.0035, k10=0.0054, k11=0.3576, k12=-0.0390, k13=8.3091, k14=-0.0128, k15=0.1472, k16=-0.0005, k17=-1.7915 olarak hesaplanmıştır. Hesaplamalar sonucu elde edilen ani(j) parametreleri ise aşağıda verilmiştir.

$a_{ni}^{(1)}$=O1

$a_{ni}^{(2)}$=C1

$a_{ni}^{(3)}$=H1

$a_{ni}^{(4)}$=N1

$a_{ni}^{(5)}$=O3

$a_{ni}^{(6)}$=R(O4-C1)

$a_{ni}^{(7)}$=R(C4-C1)

$a_{ni}^{(8)}$=LUMO

$a_{ni}^{(9)}$=Polarizability (YY)

$a_{ni}^{(10)}$=Polarizability (Average)

$a_{ni}^{(11)}$=H_I ([H1-O1-S1]-C2 ye bağlı en uzak atom)

$a_{ni}^{(12)}$=H_I ([H1-O1-S1]-C11 e bağlı en uzak atom)

$a_{ni}^{(13)}$=C5-O4 Bağ Derecesi

$a_{ni}^{(14)}$=Topolojik Elektronik İndex

$a_{ni}^{(15)}$=CFD (HBA)

$a_{ni}^{(16)}$=Eaq (kj/mol)

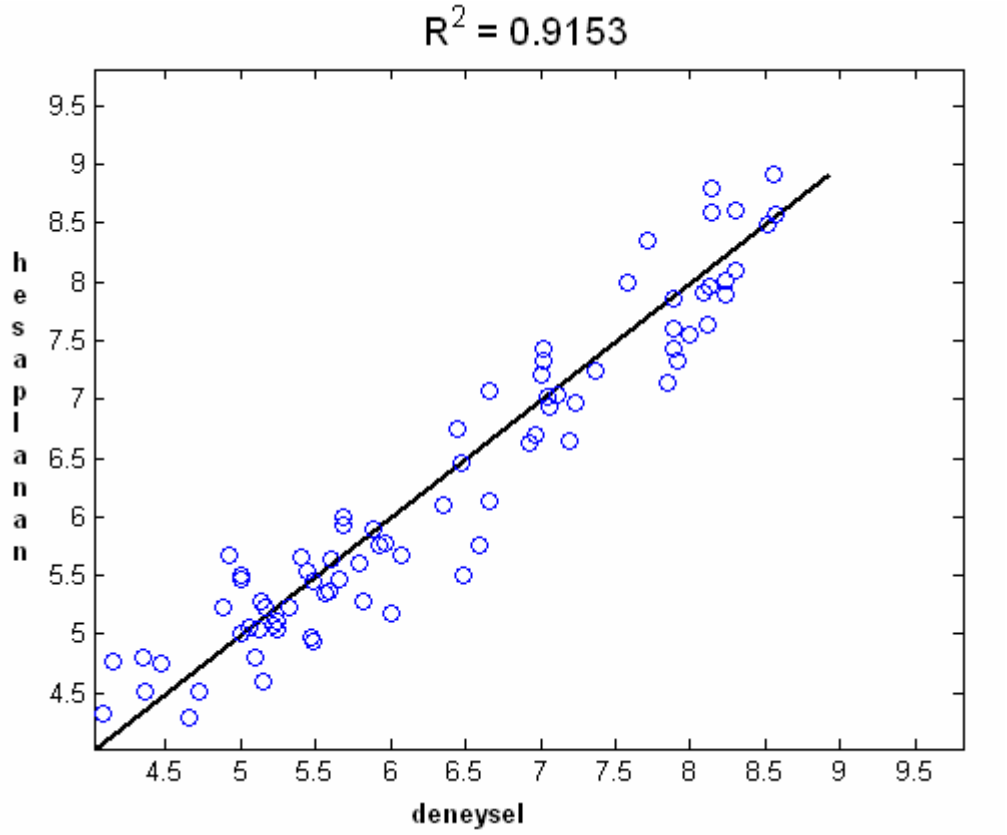
$a_{ni}^{(17)}$=H_I([H1-O1-S1]-C2' ye bağlı en uzak atom-S1)

İlk parametre olan $a_{ni}^{(1)}$ O1 atomunun mulliken yükü, $a_{ni}^{(2)}$, $a_{ni}^{(3)}$,$a_{ni}^{(4)}$ ve $a_{ni}^{(5)}$ parametreleri ise sıra ile C1, H1, N1 ve O3 atomlarının mulliken yüklerini göstermektedir. $a_{ni}^{(6)}$(O4-C1) arasındaki, $a_{ni}^{(7)}$ ise C4-C1 atomları arasındaki mesafedir. $a_{ni}^{(8)}$ LUMO (eigenvalue), $a_{ni}^{(9)}$ polarizability (YY) ve $a_{ni}^{(10)}$ ise polarizability (Average) özelliklerini ifade eder. $a_{ni}^{(11)}$ H_I şeklinde gösterilmiş olan ([H1-O1-S1]) düzlem ile C2 ye bağlı en uzak atom arasındaki dik uzaklığı, $a_{ni}^{(12)}$ ise [H1-O1-S1] düzlemi ile C11 e bağlı en uzak atom arasındaki dik uzaklığı vermektedir. $a_{ni}^{(13)}$ C5-O4 bağ derecesi, $a_{ni}^{(14)}$ topolojik elektronik index, $a_{ni}^{(15)}$ CFD (HBA),
$a_{ni}^{(16)}$ ise Eaq (kj/mol) özelliklerini ifade eder. Son olarak $a_{ni}^{(17)}$ özelliği ise H_I ([H1-O1-S1]) düzleminin, C2' ye bağlı en uzak atom ve S1 atomlarının oluşturduğu doğruyla, arasındaki yüzey doğru açısı olarak tanımlanır.

Elde edilen kj değerleri ile AG ve APS grup olarak belirlenen ani(j) özellikleri kullanılarak, istatistiksel analiz sonucunda teorik aktiviteler hesaplanmıştır. Deneysel aktivite değerlerine karşı hesaplanan teorik aktivite değerleri Şekil 5.2. de gösterilmiştir. Deneysel ve teorik aktivite değerleri arasındaki korelasyon katsayısı R=0.9153 ve standart hata se=0.0330 olarak bulunmuştur.

Tablo 5.2. Teorik Aktiviteyi Hesaplamak İçin Kullanılan 17 Kj Değeri ve Moleküler Parametreler

Parametre No	**Moleküler Parametre**	**a 32a Konformeri için parametrenin sayısal değeri**	**a 32b Konformeri için parametrenin sayısal değeri**	**Kj Değeri**
1	O1 atomunun mulliken yük	-0.3479	-0.3406	28.4238
2	C1 atomunun mulliken yük	0.2955	0.2942	-18.6318
4	H1 atomunun mulliken yük	0.1231	0.1245	4.3741
7	N1 atomunun mulliken yük	0.0529	0.0573	5.7674
14	O3 atomunun mulliken yük	-0.3098	-0.3454	0.1736
21	O4-C1 mesafe	3.5798	3.5764	2.6539
24	C4-C1 mesafe	6.5741	8.3729	0.1336
48	LUMO (eigenvalue)	-0.0361	-0.0412	13.8915
62	Polarizability (YY)	188.7497	245.9229	-0.0035
67	Polarizability (Average)	191.1229	193.3919	0.0054
71	(H1-O1-S1)-C2 ye bağlı en uzak atomun dik uzaklığı	1.6387	1.6538	0.3576
76	(H1-O1-S1)-C11 e bağlı en uzak atomun dik uzaklığı	3.9153	5.2330	-0.0390
113	C5-O4 Bağ Derecesi	1.7161	1.6851	8.3091
117	Topolojik Elektronik İndex	49.6640	52.8470	-0.0128
125	CFD (HBA)	7.0000	7.0000	0.1472
129	Eaq (kj/mol)	-653.2938	-711.9068	-0.0005
153	(H1-O1-S1)-C2' ye bağlı en uzak atom-S1 arasındaki yüzey doğru açısı	0.6349	0.6631	-1.7915
	R^2	**Standart Hata**		
	0.9153	0.0330		



Şekil 5.2. 17 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin R^2 Grafiği

Seçilen yöntemlerin ve parametrelerin uygun olup olmadığını anlamak için aktivitesi bilinmeyen ya da aktivitesi bilinen bileşikleri kontrol etmek amacı ile teste tabii tutulma yoluna gidilmiştir. Bunun için serideki bileşikler iki kısma ayrılmıştır. Tablo 5.3 de serideki bileşiklerin eğitim ve test setleri olarak iki kısma ayrılması ile hesaplanan aktiviteler verilmiştir. Tablodan anlaşıldığı gibi hesaplanan teorik aktivite değerleri deneysel değerlerle uyum içerisindedir. Çalışmanın bu kısmında eğitim setinden hesaplanan kj değerleri ve ani(j) parametreleri test seti bileşiklerine uygulanmış ve bu set için aktiviteler hesaplanmıştır.

Tablo 4.8 de verilen hesaplanan değerler arasından minimum hata ile maksimum R^2 değerini veren ve uygun bir sonuç olarak görülen 18 kappalı setin, eğitim ve test setlerinin hangi bileşikler olduğu, ayrıca bu bileşiklere karşılık gelen bilinen ve hesaplanan aktiviteleri de Tablo 5.3. de verilmiştir.

Tablo 5.3. HEPT Türevlerinin 18 Kappaya Göre Deneysel ve Hesaplanan Aktiviteleri.

Bileşik No	R1	R2	R3	X	Konsayısı	Log ($1/EC_{50}$)	Hesaplanan Aktivite
			EĞİTİM SETİ				
1	2-Me	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	12	4.15	4.1190
3	2-OMe	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	9	4.72	4.7343
4	3-Me	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	15	5.59	5.0679
7	3-CF_3	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	12	4.35	4.4746
8	3-F	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	9	5.48	5.5555
11	3-I	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	8	5.00	5.0493
16	3,5-Cl_2	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	6	5.89	5.8298
20	3-CN	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	12	5.00	5.2463
21	H	$CH_2CH=CH_2$	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	9	5.60	5.6173
23	H	Pr	$CH_2OCH_2CH_2OH$	S	8	5.00	5.5026
24	H	i-Pr	$CH_2OCH_2CH_2OH$	S	8	7.23	6.6277
25	3,5-Me_2	Et	$CH_2OCH_2CH_2OH$	S	12	8.11	7.7275
28	H	Et	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	9	6.92	6.8554
29	H	Pr	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	9	5.47	5.1595
31	3,5-Me_2	Et	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	12	7.89	7.6183
32	3,5-Me_2	i-Pr	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	7	8.57	8.5700
33	3,5-Cl_2	Et	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	10	7.85	7.2928
34	4-Me	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	10	3.66	4.0649
38	H	$CH=CH_2$	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	10	5.69	5.5579
39	H	CH=CHPh	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	8	5.22	5.0869
40	H	CH_2Ph	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	13	4.37	4.5009
41	H	$CH=CPh_2$	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	12	6.07	5.9447
42	H	Me	$CH_2OCH_2CH_2OMe$	O	10	5.06	5.1823
44	H	Me	$CH_2OCH_2CH_2OCOPh$	O	12	5.12	4.6808
45	H	Me	CH_2OCH_2Me	O	9	6.48	6.0629
46	H	Me	$CH_2OCH_2CH_2Cl$	O	10	5.82	5.4242
48	H	Me	$CH_2OCH_2CH_2F$	O	9	5.96	6.5216
49	H	Me	$CH_2OCH_2CH_2Me$	O	10	5.48	4.9550
52	H	Et	CH_2OCH_2Me	S	7	7.58	7.3293
53	3,5-Me_2	Et	CH_2OCH_2Me	O	10	8.24	8.5956
57	H	Et	CH_2OCH_2Ph	S	7	8.09	7.7869
60	H	i-Pr	CH_2OCH_2Ph	O	10	8.51	8.1858
61	H	i-Pr	CH_2OCH_2Me	S	8	7.89	7.7200
62	H	i-Pr	CH_2OCH_2Ph	S	8	8.14	8.0766
65	H	Me	Et	O	8	5.66	5.8111
66	H	Me	Bu	O	9	5.92	5.7937
68	H	Et	CH_2O-i-Pr	S	13	6.66	6.8276
70	H	Et	CH_2OCH_2-c-Hex	S	13	6.45	6.4031
71	H	Et	$CH_2OCH_2C_6H_4$(4-Me)	S	10	7.11	6.8464
73	H	Et	$CH_2OCH_2CH_2Ph$	S	12	7.04	7.6628
74	3,5-Cl_2	Et	CH_2OCH_2Me	O	10	8.13	8.0905
76	H	Et	CH_2O-c-Hex	O	11	5.40	5.8261
79	H	c-Pr	CH_2OCH_2Me	S	13	7.02	7.2177
80	H	c-Pr	CH_2OCH_2Me	O	17	7.00	7.2636
			TEST SETİ				
2	2-NO_2	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	9	3.85	3.5030
5	3-Et	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	10	5.57	5.9726
6	3-t-Bu	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	11	4.92	5.3754
9	3-Cl	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	13	4.89	5.4039

Tablo 5.3. (Devamı) HEPT Türevlerinin 18 Kappaya Göre Deneysel ve Hesaplanan Aktiviteleri

10	3-Br	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	9	5.24	4.8251
12	3-NO_2	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	9	4.47	2.0718
13	3-OH	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	9	4.09	5.5049
14	3-OMe	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	12	4.66	5.4087
15	3,5-Me_2	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	17	6.59	5.1189
17	3,5-Me_2	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	S	10	6.66	6.1616
18	3-COOMe	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	13	5.10	4.2559
19	3-COMe	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	6	5.14	5.9668
22	H	Et	$CH_2OCH_2CH_2OH$	S	14	6.96	5.3710
26	3,5-Me_2	i-Pr	$CH_2OCH_2CH_2OH$	S	6	8.30	8.4532
27	3,5-Cl_2	Et	$CH_2OCH_2CH_2OH$	S	8	7.37	6.8227
30	H	i-Pr	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	8	7.20	6.1982
35	H	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	11	5.15	4.2568
36	H	Me	$CH_2OCH_2CH_2OH$	S	9	6.01	4.6176
37	H	I	$CH_2OCH_2CH_2OH$	O	6	5.44	5.4070
43	H	Me	$CH_2OCH_2CH_2OAc$	O	15	5.17	3.7211
47	H	Me	$CH_2OCH_2CH_2N_3$	O	12	5.24	6.7456
50	H	Me	CH_2OCH_2Ph	O	7	7.06	6.7362
51	H	Et	CH_2OCH_2Me	O	10	7.72	7.9501
54	3,5-Me_2	Et	CH_2OCH_2Me	S	11	8.30	9.2174
55	H	Et	CH_2OCH_2Ph	O	10	8.23	8.5658
56	3,5-Me_2	Et	CH_2OCH_2Ph	O	8	8.55	9.7388
58	3,5-Me_2	Et	CH_2OCH_2Ph	S	9	8.14	10.1283
59	H	i-Pr	CH_2OCH_2Me	O	8	7.99	7.7216
63	H	Me	CH_2OMe	O	9	5.68	6.1900
64	H	Me	CH_2OBu	O	16	5.33	4.7410
67	3,5-Cl_2	Et	CH_2OCH_2Me	S	10	7.89	7.6894
69	H	Et	CH_2O-c-Hex	S	13	5.79	6.8909
72	H	Et	$CH_2OCH_2C_6H_4$(4-Cl)	S	10	7.92	7.7920
75	H	Et	CH_2O-i-Pr	O	10	6.47	7.0960
77	H	Et	CH_2OCH_2-c-Hex	O	13	6.35	6.6099
78	H	Et	$CH_2OCH_2CH_2Ph$	O	14	7.02	7.6838

R^2 test seti 0.7080 R^2 eğitim seti 0.9460

Standart hata test seti 0.0927 Standart hata eğitim seti 0.0358

Tablo 5.3 de verilmiş olan teorik aktiviteleri hesaplamakta kullanılan moleküler parametreler ve buna bağlı olarak en küçük kareler yöntemi kullanılarak hesaplanmış kj değerleri ise Tablo 5.4 de verilmiştir. Görüldüğü gibi aktiviteleri hesaplamak için 18 adet moleküler parametre ve buna bağlı olarak 18 adet kj değeri kullanılmıştır. Ayrıca κ_j değerleri, k1=-9.9945, k2=3.5203, k3=16.6070, k4=-0.5867, k5=0.6035, k6=-0.0875, k7=0.0688, k8=0.0080, k9=0.8430, k10=3.9166, k11=0.1833, k12=-0.0567, k13=0.0543, k14=0.0074, k15=0.0008, k16=0.0014, k17=-0.6206, k18=0.0080 olarak hesaplanmıştır. Hesaplamalar sonucu elde edilen ani(j) parametreleri ise aşağıda verilmiştir.

$a_{ni}^{(1)}$= C1

$a_{ni}^{(2)}$= C5

$a_{ni}^{(3)}$= O4

$a_{ni}^{(4)}$= O2

$a_{ni}^{(5)}$= C11'e bağlı ilk atom

$a_{ni}^{(6)}$= R(C6-C1)

$a_{ni}^{(7)}$= R(C8-C1)

$a_{ni}^{(8)}$= R(C2'ye bağlı en uzak atom-C1)

$a_{ni}^{(9)}$= LUMO (eigenvalue)

$a_{ni}^{(10)}$= Q (plus)

$a_{ni}^{(11)}$= H_I ([H1-O1-S1]-C10'a bağlı en uzak atom)

$a_{ni}^{(12)}$= H_I ([H1-O1-S1]-C11'e bağlı en uzak atom)

$a_{ni}^{(13)}$= H_I ([H1-O1-S1]-O3)

$a_{ni}^{(14)}$= H_{II}([C7-C11-C12]-(C2 ye bağlı en uzak atom-S1)) yüzey-doğru açısı

$a_{ni}^{(15)}$= (N2'ye bağlı en uzak atom-C4-C1) açısı

$a_{ni}^{(16)}$= (N2'ye bağlı en uzak atom-N2-C3-S1)

$a_{ni}^{(17)}$= (O4-C1) + Van der Waals mesafesi

$a_{ni}^{(18)}$= (C2'ye bağlı en uzak atom-C1) + Van der Waals mesafesi

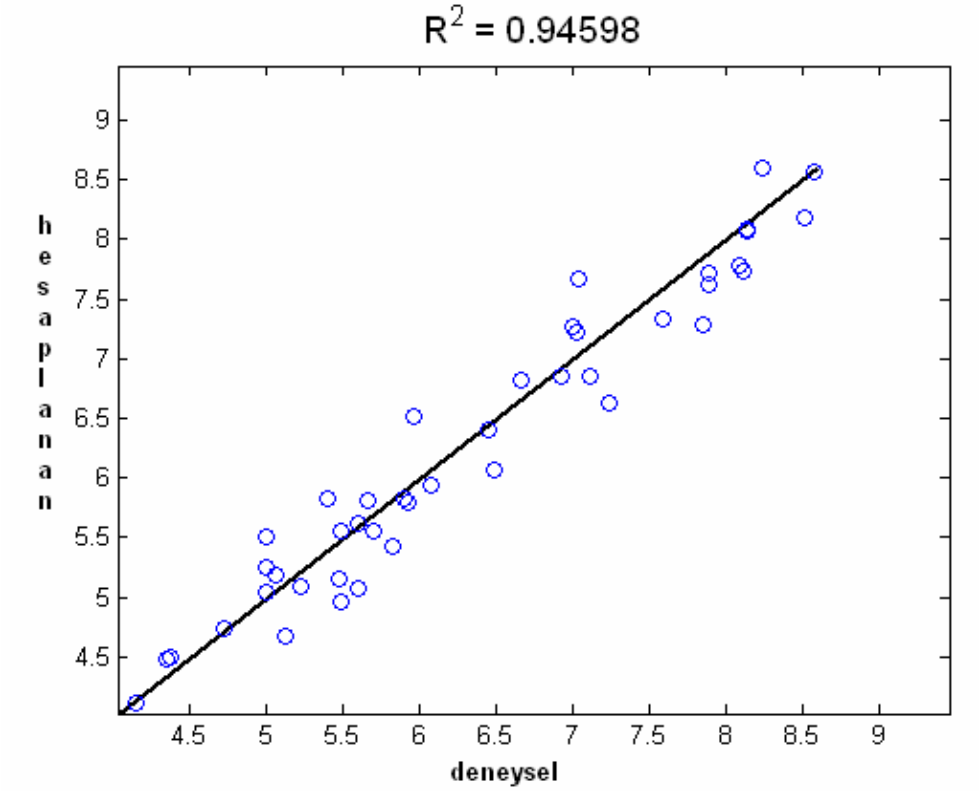
İlk beş parametre olan $a_{ni}^{(1)}$, $a_{ni}^{(2)}$, $a_{ni}^{(3)}$,$a_{ni}^{(4)}$ ve $a_{ni}^{(5)}$ sıra ile C1, C5, O4, O2 atomlarının yükleri ile C11'e bağlı ilk atomun mulliken yükünü temsil etmektedir. $a_{ni}^{(6)}$,$a_{ni}^{(7)}$,$a_{ni}^{(8)}$ sırasıyla (C6-C1), (C8-C1), (C2'ye bağlı en uzak atom-C1) arasındaki mesafeleri göstermektedir. Sıradaki $a_{ni}^{(9)}$ ve $a_{ni}^{(10)}$ nolu parametreler LUMO (eigenvalue) ve Q (plus) değerlerini vermektedirler. $a_{ni}^{(11)}$ H_I olarak gösterilen ve [H1-O1-S1] atomlarından oluşan düzleminin C10'a bağlı en uzak atom ile ,$a_{ni}^{(12)}$ H_I (H1-O1-S1) düzleminin C11'e bağlı en uzak atom ile $a_{ni}^{(13)}$ ise H_I (H1-O1-S1) düzleminin O3 atomu ile arasındaki dik uzaklığı göstermektedir. $a_{ni}^{(14)}$ nolu özellik H_{II} olarak gösterilen ve [C7-C11-C12] atomlarından seçilen düzlemin, C2 ye bağlı en uzak atom ve S1 atomunun oluşturduğu doğruyla, arasındaki yüzey-doğru açısını temsil etmektedir. $a_{ni}^{(15)}$ özelliği N2'ye bağlı en uzak atom, C4 ve C1 atomları arasındaki açıdır. $a_{ni}^{(16)}$ N2'ye bağlı en uzak atom, N2, C3 ve S1 atomlarının arasındaki torsiyon açısıdır. Son olarak $a_{ni}^{(17)}$ özelliği O4-C1 atomları arasındaki mesafeyle Van der Waals yüzey alanının uzaklık toplamı, $a_{ni}^{(18)}$ ise C2'ye bağlı en uzak atom-C1 atomları arasındaki mesafeyle Van der Waals mesafesi toplamını vermektedir.

Elde edilen bu kj değerleri ve ani(j) parametreleri ile hesaplanan aktivite değerlerinin eğitim ve test setleri için yapılan regresyon sonucunda çizilen R^2 grafiği Şekil 5.3 de verilmiştir.

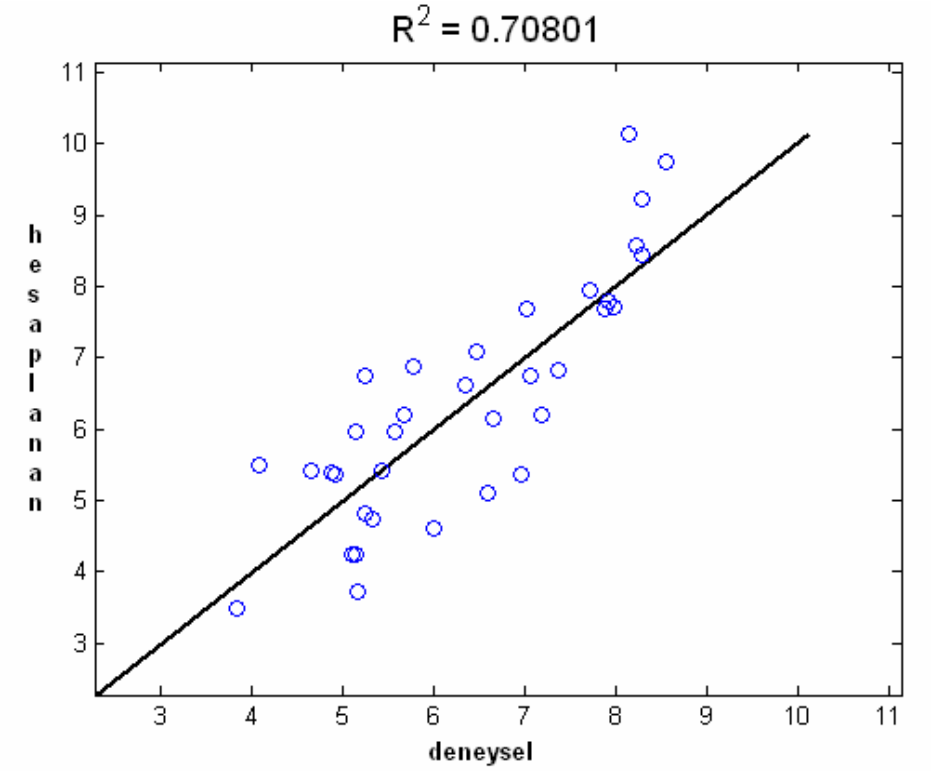
Tablo 5.4. Teorik Aktiviteyi Hesaplamak İçin Kullanılan 18 Kj Değeri ve Moleküler Parametreler

Parametre No	**Moleküler Parametreler**	**a 32a Konformeri için parametrenin sayısal değeri**	**a 32b Konformeri için parametrenin sayısal değeri**	**Kj değeri**
2	C1 mulliken yük	0.2955	0.2942	-9.9945
8	C5 mulliken yük	0.2307	0.2439	3.5203
9	O4 mulliken yük	-0.3989	-0.4131	16.6070
13	O2 mulliken yük	-0.2739	-0.2802	-0.5867
19	C11'e bağlı ilk atom mulliken yük	-0.0671	-0.0683	0.6035
23	C6-C1	2.5594	2.5630	-0.0875
30	C8-C1	7.0968	6.9821	0.0688
34	C2'ye bağlı en uzak atom-C1 mesafesi	3.0589	3.0997	0.0080
48	LUMO (eigenvalue)	-0.0361	-0.0412	0.8430
69	Q (plus)	0.1900	0.2270	3.9166
74	(H1-O1-S1)-C10'a bağlı en uzak atom arasındaki dik uzaklık	0.000	0.000	0.1833
76	(H1-O1-S1)-C11'a bağlı en uzak atom arasındaki dik uzaklık	3.9153	5.2330	-0.0567
78	(H1-O1-S1)-O3 arasındaki dik uzaklık	3.7302	1.9784	0.0543
92	(C7-C11-C12)yüzeyi ile (C2 ye bağlı en uzak atom-S1)doğrusu arasındaki açı	3.4961	0.7888	0.0074
95	N2'ye bağlı en uzak atom-C4-C1 arasındaki açı	137.3362	90.0169	0.0008
107	N2'ye bağlı en uzak atom-N2-C3-S1 torsiyon açısı	-43.8567	-121.2578	0.0014
134	O4-C1 van derWaals mesafesi	4.3399	4.3365	-0.6206
140	C2'ye bağlı en uzak atom-C1 van derWaals mesafesi	4.7540	4.7948	0.0080
R^2	R^2	Standart Hata	Standart Hata	
Eğitim seti	Test Seti	Eğitim Seti	Test Seti	
0.945976	0.708007	0.035865	0.092672	

*sadece iki konformerin değerleri verilmiştir.



Şekil 5.3. (a) 18 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin Eğitim Seti için Çizilmiş R^2 Grafiği



Şekil 5.3. (b) 18 Kappa ile Hesaplanan Teorik Aktivitenin Test Seti için Çizilmiş R^2 Grafiği

Bu çalışma EC-GA metodu olarak isimlendirildiği gibi genetik algoritma sayısal optimizasyon tekniğinin yoğun ve başarılı bir şekilde kullanılmasından dolayı Elektron Konformasyon-Genetik Algoritma Metodu olarak da isimlendirilebilir. Bu metod HEPT bileşiklerinin aktivite tahmini ve Pha grubunun belirlenmesi için etkili bir metot olduğu anlaşılmıştır. Sonuçlar kantitatif aktivite tahminini sağlayan bu metodun başarılı bir yöntem olduğunu göstermektedir. Bu metod ile moleküler ve elektronik yapıların bütün özellikleri ayrıntılı olarak incelenmiştir.

Seçilen bu parametrelerin hazırlanan 174 değişken içerisinde hem test seti olmaksızın yapılan hesaplamalarda hem de test seti ile yapılan hesaplamalarda en iyi parametreler olduğuna karar verilmiştir.

Ayrıca bu çalışmada 80 adet bileşiğin aktivite hesaplamaları ile birlikte EMRE 1.2, ECSP 1.0 ve MATLAB 7.04 paket programında genetik algoritma optimizasyon tekniğini kullanarak aktivite hesaplaması yapan yeni bir kod olmak üzere üç farklı yazılım geliştirilmiştir. Geliştirilen bu yazılımlar sadece bu seri için değil biyolojik aktivitesi hesaplanmak istenilen diğer sayı sınırlaması olmaksızın bileşik içeren her türlü seri için de kullanılabilir. Geliştirilmiş olan bu programların piyasada mevcut olan diğer programlardan farkı konformerlerin de moleküler parametrelerinin hazırlanıp aktivite hesaplamalarında kullanıyor olmasıdır. Bu seride yer alan 80 bileşik ve bu bileşiklere ait 821 konformerin hepsi için bu programların başarı ile uygulandığı yukarıdaki verilerden görülmektedir.

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, (1997), pp:105-164.

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, (1997), pp:127-182.

5. Gayen, S., Debnath, B., Samanta, S., Jha, T., QSAR Study on Some Anti-HIV HEPT Analogues Using Physicochemical and Topological Parameters, Bioorganic & Medicinal Chemistry 12, 1493–1503 (2004).

6. Guo, W., Hu, X., Chu, N., Yin, C., Quantitative Structure–Activity Relationship Studies on HEPTs by Supervised Stochastic Resonance, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 16, 2855–2859, (2006).

7. Arakawa, R., Hasegawa, K., Funatsu, F., QSAR Study of anti-HIV HEPT Analogues Based on Multi-Objective Genetic Programming and Counter-Propagation Neural Network, Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems 83, 91–98, (2006).

8. Douali, L., Villemin, D., Cherqaou, D., Neural Networks: Accurate Nonlinear QSAR Model for HEPT Derivatives, J. Chem. Inf. Comput. Sci. *43*, 1200-1207, (2003).

9. http://www.newdrugdesign.com

10. (http://netsci.org/scgi-bin/Courseware/Drugs/Intro/top.html)

11. Rıchards W. G., Computer Aided Drug Design, Pure Appl. Chem., 66, 8, 1589-1596, (1994).

12. http://www.msd.com.hk/health_info/drug_education/e_ddp_introduction.html.

13. Şener, E. A., Yalçın İ., Farmasötik/Medisinal Kimyada İlaç Etken Madde Tasarım Yöntemleri-1 Kantitatif Yapı-Etki İlişkileri Analizleri (QSAR), Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara (2002), pp:2-10.

14. Türk Farmakoloji Derneği Klinik Farmakoloji Çalışma Grubu Elektronik Bülteni www.tfd.org.tr\kfcg.html Sayı:1 Ocak-Nisan 2005

15. Rattı E., Trist D., Continuing Evolution of the Drug Discovery Process in the Pharmaceutical Industry, Pure Appl. Chem., 73, 67-75, (2001).

16. 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).

17. Mccarthy, D. J., Computational Approaches to Structure-Based Ligand Design, Pharmacology & Therapeutics, 84, 179–191, (1999).

18. http://vizyon2023.tubitak.gov.tr/teknolojiongorusu/paneller/raporozet/saglik.pdf.

19. Allen B. Richon, An Introduction to Molecular Modeling, Mathematech, 1, 83, (1994).

20. Zahid, M.A.H., Mittal, A., Joshi, R.C., A pattern recognition-based approach for phylogenetic network construction with constrained recombination, Pattern Recognition, 39 (12), 2312-2322, (2006).

21. Wang, S., Lu, H., Zhao, Y., Mostofi, R., Young Kim, H., Yin, L. , Numerical study of coal particle cluster combustion under quiescent conditions, Chemical Engineering Science, 62 (16), 4336-4347, (2007).

22. Meunıer, F., A combinatorial proof of a theorem of Freund Journal of Combinatorial Theory, Series A, 115 (2), 317-325, (2008).

23. Ahsen O., Voigtmann, U., Klotz M., Nifantiev, N., Schottelius, A., Ernst A., Tiemann, B., Parczyk, K., A miniaturized high-throughput screening assay for fucosyltransferase VII, Analytical Biochemistry, 372, 96–105, (2008).

24. http://bornova.ege.edu.tr/~eunal/aids.html

25. Duda-Seıman C., Duda-Seiman D., Putz M. V., Ciubotariu D., QSAR Modelling of Anti-HIV Activity With HEPT Derivatives, Digest journal of nanomaterials and Biostructures, 2, 2 207-219, (2007).

26. Matılu, M., McMichael. J. A., A Review of Vaccines for HIV Prevention, J. Gene. Med., 5, 3–10, (2003).

27. http://www.aidsnedir.com/bilgi45.html

28. Roy, K., Leonard. J. T., Classical QSAR Modeling of Anti-HIV 2,3-Diaryl-1,3-thiazolidin-4-ones, QSAR Comb. Sci., 24, 579-592, (2005).

29. http://www.infeksiyon.com/detail.asp?ctg=10&Article=189

30. 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).

31. Horowıtz, H.W., Telzak, E.E., Sepkowitz, K.A., Wormser G.P., Human Immunodeficiency Virus Infection, Part 1, 44 (10), 545-608, (1998).

32. Tısdale, 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).

33. 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).

34. http://www.aidsmeds.com/list.shtml

35. Douali, L., Villemin, D., Zyad, A. and Cherqaoui, D., Artifical Neural Networks: Non-linear QSAR studies of HEPT derivatives as HIV-1 reverse transcriptase inhibitors, Kluwer Academic Publishers, 1-8, (2004)

36. Jalali-Heravi, M., Parastar, F., Use of Artificial Neural Networks in a QSAR Study of Anti-HIV Activity for a Large Group of HEPT Derivatives, J. Chem. Inf. Comput. Sci. 40, 147-154, (2000).

37. http://www.medicalglossary.org/structureactivity_relationship_quantitative_structureactivity_relationship_definitions.html

38. Perkıns, 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).

39. Kubınyı, H., From Narcosis to Hyperspace: The History of QSAR, Quant.Struct.-Act.Relat., 21, 348-356, (2002).

40. Bevan, R.D., QSAR and Drug Design, 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).

41. Debnath, A. K., Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) Paradigm – Hansch Era to New Millennium, Mini Reviews in Medicinal Chemistry, 1, 187-195, (2001).

42. Kubınyı, H., QSAR and 3D QSAR in Drug Design vol 2, 457-467, (1997)

43. Kubınyı, H., "QSAR: Hansch Analysis and Related Approaches", Vol. 1 "Methods and Principles in Medicinal Chemistry", R. Mannhold et al., Eds., VCH, Weinheim, (1993).

44. 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).

45. Fruhbeıs, H., Klein, R., Wallmeier, H., Computer-Assisted Molecular Design (CAMD), An Overview. Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 26, 403-418, (1987).

46. Wavefunction inc. 18401 Von Karman Avenue, Suite 370, Irvine, CA 92612 USA, 2006.

47. Lowıs, D.R., HQSAR A New, Highly Predictive QSAR Technique, Inc. Tripos Technical Notes, Vol 1, No. 5, (1997).

48. http://molvis.chem.indiana.edu/C687_S99/lecture4.html

49. Kubınyı, H., Folkers, G., Martin, Y.C., 3D-QSAR Drug Design Recent Advances Volume 3, Kluwer/ Escom, Boston, (1998).

50. Kubınyı, H., Comparative Molecular Field Analysis (CoMFA), BASF AG, D-67056 Ludwigshafen, Germany, (1996).

51. 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).

52. Mıshra, 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, 46(8), 2613-2618, (2002).

53. 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).

54. Rıchon, A. B., Young, S. S., Network Science An Introduction to QSAR Methodology, Mathematech, 1, 83, (1994).

55. 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, (1998), 87.

56. 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).

57. Sılverman, B. D., Platt, D. E.,. Comparative Molecular Moment Analysis (CoMMA): 3D-QSAR without Molecular Superposition, J. Med. Chem., 39 (11), 2129 -2140, (1996).

58. 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).

59. 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).

60. Cho, S., J., Hologram Quantitative Structure Activity Relationship (HQSAR) Study of Mutagen X, Bull. Korean Chem. Soc. 26, 1, 85, (2005).

61. 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).

62. Visco, Jr.D.P., Pophale, R. S., Rintoul, M. D., Faulon, J. L., Developing A Methodology For An İnverse Quantitative Structure-Activity Relationship Using The Signature Molecular Descriptor, Journal of Molecular Graphics and Modelling 20, 429–438, (2002).

63. 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).

64. Labute, P., A New Method For the Determination of Quantitative Structure Activity Relationships, Pac. Symp. Biocomput., 444, (1999).

65. 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).

66. Vedanı, A., Briem, H., Dobler, M., Dollinger, H., McMasters, D. R., J. Med. Chem., 43, 4416, (2000).

67. Greener, M., QSAR: Prediction Beyond the Fourth Dimension, Drug Discovery&Development,2005 60-Lill M. A., Multi-Dimensional QSAR in Drug Discovery, Drug Discovery Today, 12, 1013, (2007).

68. http://www.genomicglossaries.com/content/molecular_modeling_gloss.asp

69. Smıth, C., "Molecular Modeling - Seeing the Whole Picture with Modeling Software Packages", Scientist, 12(17), 31, (1998).

70. Gund, T., Molecular Modelling of Small Molecules. In Guidebook on Molecular Modeling in Drug Design, Cohen, N.C., Academic Press, New York, (1996), 55-92

71. Kubınyı, H., Folkers, G., Martin, Y.C., 3D QSAR in Drug Design, Ligand-Protein Interactions and Molecular Similarity, Eds., Kluwer/ Escom, Boston, (1998).

72. Kubınyı, H., 3D QSAR in Drug Design, Theory, Methods and Applications, Ed., ESCOM, Leiden, The Netherlands, (1993).

73. Hopfınger, A.J., Tokarski, J.S., Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationships. In Practical Application of Computer-Aided Drug Design, Charifson, P.S., Marcel Dekker, New York, (1997), 105-164

74. 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., Wiley-VCH, New York, (1997), 11.

75. 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., Wiley-VCH, New York, (1997), 183-240

76. 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).

77. 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).

78. Shvets, N. M., The study of data and control flows and the user interface organization in an applied system used in chemistry and medicine for the biological activities prediction Comput. Sci. J., Moldova (Kishinev), 3, 301, (1997).

79. Shvets, N. M. and Dimoglo, A. S., Structure–odor relationships: results of an applied electronic-topological approach, Nahrung, 42, 364, (1998).

80. Dimoglo, A. S., Compositional approach to electronic structure description of chemical compounds, oriented on computer analysis of structure–activity relationships, Chim. Pharm. Zh., 19, 438 ,(1985).

81. Shvets, N. M., Applied program system for the prognosis of biological activity of chemical compounds: development and use, Comput. Sci. J., Moldova (Kishinev), 1, 101, (1993).

82. Saripinar, E., Güzel, Y., Patat, S., Yildirim, I., Akçamur, Y., Dimoglu A., "Electron-Topological investigation of the relationship Structure-Antitubercular activity of thiosemicarbasone derivatives" Arzneimittel Forschung Drug Research 46(II), 8,824-828, (1996).

83. Dimoglo, A.S., Vlad, P.F., Shvets, N.M., Coltsa, M.N., Güzel, Y., Saraçoglu, M., Saripinar E., and Patat S., 'Electronic-Topological Investigations of the Relationships Between Chemical Structure and Ambergris Odor" New Journal of Chemistry 19,1217-1226, (1995).

84. Bersuker, I.B., Bahceci, S., and Boggs, J.E., Improved Electron-Conformational Method of Pharmacophore Identification and Bioactivity Prediction. Application to Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors, J. Chem. Inf. Comput. Sci. 40, 1363–1376, (2000).

85. Bersuker, I.B., and Dimoglo, A.S. The Electron-Topological Approach to theQSARProblem, in:Lipkowitz, K.B.,Boyd, D.B. (Eds.), Reviews in Computational Chemistry, Vol. 2, VCH, , New York, (1991), pp. 423–460.

86. Bersuker, I.B., Bahceci, S., and Boggs, J.E., The Electron-Conformational Method of Identification of Pharmacophore and Anti-Pharmacophore Shielding,

in: Guner, O.F. (Ed.), Pharmacophore Perception, Development, and Use in Drug Design, International University Line, La Jolla, (2000), pp. 457–474,

87. Bersuker, I.B., Bahc¸eci, S., Boggs, J.E., and Pearlman, R.S., An Electron-Conformational Method of Identification of Pharmacophore and Anti-Pharmacophore Shielding: Application to Rice Blast Activity, J. Comput-Aided Mol. Design 13, 419–434, (1999).

88. Bersuker, I.B., Bahceci, S., Boggs, J.E., and Pearlman, R.S., A Novel Electron-Conformational Approach to Molecular Modeling for QSAR by Identification of Pharmacophore and Anti-Pharmacophore Shielding, SAR QSAR Environ. Res. 10, 157–173, (1999).

89. Bersuker, I. B., Pharmacophore Identification and Quantitative Bioactivity Prediction Using the Electron-Conformational Method, Current Pharmaceutical Design, 9, 1575-1606, (2003).

90. Kulak, L., 2-Amino-6-Arilsülfonil Benzonitril Bileşiklerinin Hıv-1 İnhibitörü Olarak CoMCET Yöntemi İle QSAR İncelemesi, (Yüksek Lisans Tezi) T.C. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, (2005).

91. Şahin, K., 2-Fenilindol Türevlerinin Göreceli Bağlanma Eğilimlerinin 6d-Qsar Analizi Olarak Comcet Metoduyla İncelenmesi, (Yüksek Lisans Tezi) T.C. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, (2005).

92. Mason, J. S., Good, A. C., Martin, E. J., 3-D Pharmacophores in Drug Discovery Current Pharmaceutical Design, 7, 567-597, (2001).

93. 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., John Wiley, New York, (1995), 1, 573-659

94. 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, Kluwer/ Escom, Boston, (1998), pp 253-271.

95. Wermuth, C.G., Langer, T. Pharmacophore Identification. In 3D QSAR in Drug Design, Theory, Methods and Applications, Kubinyi, H., Ed., Vol.1., ESCOM, Leiden, The Netherlands, (1993), pp 117-136.

96. 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., ESCOM, Leiden, The Netherlands, (1993), pp 137-149,

97. Doucet, J.P., Weber, J. Computer-Aided Molecular Design, Theory, and Applications, Academic Press, San Diego, (1996), pp 364-404.

98. 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, J. Am. Chem. Soc., 219, 594, (2000).

99. Atkins, P.W., Physical Chemistry, Oxford Universty Press, (1998), pp:10.

100.Bersuker, I.B., QSAR Without Arbitrary Descritors: The Electron-Conformational Method, J.Comput. Aided. Mol. Des., (2008).

101. Karelson, M., Lobanov, V.S., Kartrizky, A.R., Quantum-Chemical Descriptors in QSAR/QSPR Studies, Chem. Rev. 96, 1027-1043, (1996).

102. Parthasarathı, R., Subramanian, V., Roy, D.R., Chattaraj, P.K., Electrophilicty index as a possible descriptor of biological activity, Bioorganic & Medicinal Chemical 12, 5533-5543, (2004).

103. http://www.wavefun.com/support/sp_compfaq/Properties_FAQ.html

104. http://www.q-lead.com/cnt/LogP/LogP.pdf

105. Arifoğlu, U., Matlab Simulink ve Mühendislik Uygulamaları, ALFA Basım Yayım Dağıtım Ltd. Şti., İstanbul, Ağustos (2005), pp: 578.

106. http://mf.kou.edu.tr/elohab/syilmaz/SayCoz_dosyalar/10.Optimizasyon.ppt

107. http://www.tesionline.com/__PDF/17020/17020p.pdf

108. http://www.biltek.tubitak.gov.tr/gelisim/matematik/kuralim.htm

109. Kurt, M., Semetay, C., Genetik Algoritma ve Uygulama Alanları Mühendis ve Makina, Cilt:42 Sayı:501, 19-24, (2001).

110. Biroğul, S., Genetik Algoritma Yaklaşımıyla Atölye Çizelgeleme, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara., Ocak (2005).

111. Uçaner, M. E., Özdemir, O. N., Genetik Algoritmalar İle İçme Suyu Şebekelerinde Ek Klorlama Optimizasyonu, Gazi Üniv. Müh. Mim. Fak. Der., 17, 157-170, (2002)

112. İşçi, Ö., Korukoğlu, S., Genetik Algoritma Yaklaşım ve Yöneylem Araştırmasında Bir Uygulama, Yönetim ve Ekonomi, 10, 2, (2003).

113. Bersuker, I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, M.Yu., The Electron-Topologic Approach to The QSAR Problem Illustrated by Inhibitor Activity for

Thymidine Phosphorylas and á-Chymo-Trypsin, In QSAR in Drug Design and Toxicology, ed: Hadzi, D., Jerman-Blazic, B., Vol:10, Elsevier,Amsterdam, 43-48, (1987).

114. Turgut, P., Arslan, A., Sürekli Bir Kirişte Maksimum Momentlerin Genetik Algoritmalar İle Belirlenmesi , DEÜ Mühendislik Fakültesi Fen ve Mühendislik Dergisi,Cilt: 3 Sayı,1-9 Ekim 2001

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ebru Kaya
Baba Adı : Kemal
Anne Adı : Nurten
Doğum Yeri : Kayseri
Doğum Tarihi : 30.10.1983

İlk, orta ve lise öğrenimini Kayseri'de tamamladı. Yüksek öğrenimini Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümünde 2001-2005 yılları arasında tamamladı. 2005 yılında Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Bölümünde yüksek lisans öğrenimine başladı.

Adres: Kocatepe Mah. Cevizli Sit. Çağrı Apt. No: 22/ 31
Melikgazi / KAYSERİ