T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

BENZOTİYENOPİRİMİDİN BİLEŞİK SERİSİNİN ELEKTRON KONFORMASYON-GENETİK ALGORİTMA (EC-GA) YÖNTEMİYLE 4D-QSAR İNCELENMESİ

Hazırlayan
Harun KESKİN

Danışman
Prof. Dr. Emin SARIPINAR

Yüksek Lisans Tezi

Nisan 2019
KAYSERİ

T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

BENZOTİYENOPİRİMİDİN BİLEŞİK SERİSİNİN ELEKTRON KONFORMASYON-GENETİK ALGORİTMA (EC-GA) YÖNTEMİYLE 4D-QSAR İNCELENMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Hazırlayan
Harun KESKİN

Danışman
Prof. Dr. Emin SARIPINAR

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından FBY-11-3425 kodlu proje ile desteklenmiştir.

Nisan 2019
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

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

Harun KESKİN

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

"Benzotiyenopirimidin Bileşik Serisinin Elektron Konformasyon-Genetik Algoritma (EC-GA) Yöntemiyle 4D-QSAR İncelenmesi" adlı Yüksek Lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan
Harun KESKİN

Danışman
Prof. Dr. Emin SARIPINAR

Kimya ABD Başkanı
Prof. Dr. Emin SARIPINAR

Prof. Dr. Emin SARIPINAR danışmanlığında **Harun KESKİN** tarafından hazırlanan **"Benzotiyenopirimidin Bileşik Serisinin Elektron Konformasyon-Genetik Algoritma (EC-GA) Yöntemiyle 4D-QSAR İncelenmesi"** adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Kimya** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

05/04/2019

JÜRİ:

Danışman : Prof. Dr. Emin SARIPINAR

Üye : Prof. Dr. İlhan Özer İLHAN

Üye : Doç. Dr. Ertuğrul Gazi SAĞLAM

ONAY

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulunun 24/04/2019 tarih ve 2019/27-04 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

25/04/2019

Prof. Dr. Mehmet AKKURT

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

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

Ayrıca tez çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen değerli çalışma arkadaşlarım Sevtap ÇAĞLAR YAVUZ'a ve Uzman Semiha KÖPRÜ'ye ve de bu araştırmayı destekleyen **Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi** yetkililerine teşekkür ederim.

Harun KESKİN

Kayseri, Nisan 2019

BENZOTİYENOPİRİMİDİN BİLEŞİK SERİSİNİN ELEKTRON KONFORMASYON-GENETİK ALGORİTMA (EC-GA) YÖNTEMİYLE 4D-QSAR İNCELENMESİ

Harun KESKİN

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans Tezi, Nisan 2019

Danışman: Prof. Dr. Emin SARIPINAR

ÖZET

Bu çalışmada grubumuz tarafından geliştirilen Elektron Konformasyonel Genetik Algoritma (EC-GA) metodu kullanılarak Pim-1 ve Pim-2 inhibisyonu gösteren 96 adet benzotiyenopirimidin türevi bileşiklerin biyolojik aktivitesinden sorumlu farmakofor grubu bulunmuş ve nicel aktivite tahmini yapılmıştır. Bileşiklerin kuantum kimyasal hesaplamaları HF 3-21 G* metodu kullanılarak (sulu ortamda) yapıldıktan sonra yük, mesafe, bağ derecesi, kartezyen koordinatları ve konformasyon analiz bilgilerinden faydalanılarak serideki bileşiklerin bütün konformerleri için Elektron Konformasyonel Uygunluk Matrisleri (ECMC) hazırlanmıştır. EMRE programı kullanılarak ECMC'ler belirli tolerans değerleri içerisinde karşılaştırılıp benzotiyenopirimidin bileşikleri için aktiviteden sorumlu farmakofor grubu bulunmuştur. Bu bileşikler için inhibisyon aktivitelerine etki eden parametre gruplarının belirlenmesi ve teorik aktivite değerlerinin bulunması için EMRE yazılımı içinde olan genetik algoritma metodu kullanılmıştır. Ayrıca bileşikler eğitim ve test seti olarak sınıflandırılarak seride modeller kullanılmıştır. Modellerin doğruluğu çapraz doğrulama ve istatistiksel olarak yapılmıştır. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-1 inhibisyonu için q^2, $R^2_{eğitim}$, R^2_{test} değerleri sırasıyla 0,9170; 0,9519; 0,8326 olarak hesaplanmıştır. Pim-2 inhibisyonu için ise q^2, $R^2_{eğitim}$, R^2_{test} değerleri sırasıyla 0,8859; 0,9265; 0,9311 olarak hesaplanmıştır.

Anahtar Kelimeler: QSAR, farmakofor, elektron konformasyonel metot, genetik algoritma, bezotiyenopirimidin

4D-QSAR ANALYSIS OF BENZOTIENOPYRIMIDIN COMPOUNDS BY ELECTRON CONFORMATION-GENETIC ALGORITHM (EC-GA) METHOD

Harun KESKİN

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences

M.Sc. Thesis, April 2019

Thesis Supervisor: Prof. Dr. Emin SARIPINAR

ABSTRACT

In this study, the pharmacophore group responsible for the biological activity of 96 benzothienopyrimidine derivative compounds showing Pim-1 and Pim-2 inhibition using the Electron Conformational Genetic Algorithm (EC-GA) method developed by our group was found and quantitative activity was estimated. After the quantum chemical calculations of the compounds were made by using HF 3-21 G * (in aqueous medium) method. Electron Conformational Compatibility Matrices (ECMC) were prepared for all conformers of the compounds in the series by using load, distance, bond degree, cartesian coordinates and conformational analysis information. Using the EMRE program, the ECMCs were compared within specific tolerance values and the pharmacophore group responsible for the activity for the benzothienopyrimidine compounds was found. The genetic algorithm method used in EMRE software was used to determine the parameter groups affecting the inhibition activities and the theoretical activity values for these compounds. In addition, the compounds were classified as training and test set and the models were used in the series. The accuracy of the models was cross-validated and statistically done. For benzotienopyrimidin series Pim-1 inhibition q^2, $R^2_{training}$, R^2_{test} values are 0,9170; 0,9519; 0,8326 respectively. For benzotienopyrimidin series Pim-2 inhibition q^2, $R^2_{training}$, R^2_{test} values are 0,8859; 0,9265; 0,9311 respectively.

Keywords: QSAR, pharmacophore, electron conformational method, genetic algorithm, benzotienopyrimidin.

İÇİNDEKİLER

BENZOTİYENOPİRİMİDİN BİLEŞİK SERİSİNİN ELEKTRON KONFORMASYON-GENETİK ALGORİTMA (EC-GA) YÖNTEMİYLE 4D-QSAR İNCELENMESİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK……i
YÖNERGEYE UYGUNLUK.....ii
KABUL VE ONAY…….…….....iii
TEŞEKKÜR…….……..…iv
ÖZET.....v
ABSTRACT…….……..vi
İÇİNDEKİLER……..……..…vii
KISALTMALAR VE SİMGELER.....ix
TABLOLAR LİSTESİ x
ŞEKİLLER LİSTESİ xii

GİRİŞ 1

1. BÖLÜM
GENEL BİLGİLER

1.1. Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı 3
1.2. QSAR Metodları 5

2. BÖLÜM
MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal.....7
2.2. Metot.....7
2.2.1. Elektron Topolojik Metot.....8
2.2.2. Elektron Konformasyonel Metot.....8

2.2.2.1. Konformerler ve ECMC Matrislerinin Oluşturulması 9
2.2.2.2. Farmakofor Tanımlama 9
2.2.2.3. APS ve AG Grupları 10
2.2.2.4. Aktivitenin Genel Formülü 11
2.2.3. Optimizasyon ve Genetik Algoritma 12
2.2.4. Elektron Konformasyonel-Genetik Algoritma (EC-GA) Metodu.....13
2.2.4.1. EMRE Yazılımının Geliştirilmesi 17
2.2.4.2. Adım 1 17
2.2.4.3. Adım 2 26
2.2.4.3.1 Boltzman Dağılımı.....26
2.2.4.4. Adım 3 30
2.2.4.5. Adım 4……...31
2.2.4.6. Adım 5.....……...35
2.2.4.7. Adım 6……36
2.2.4.8. İstatiksel Analiz.....38
2.2.4.8.1. Dahili Doğrulama (Internal Validation).....38
2.2.4.8.2. Harici Doğrulama (External Validation).....39

3. BÖLÜM
BULGULAR

3.1. ECMC Matrislerinin Hazırlanması ve Farmakofor Bulunması……42
3.2. Aktivite Hesaplamasında Kullanılan Parametreler.....49
3.3. Benzotiyenopirimidin Bileşik Serisinin Aktivite Hesaplamaları……62
3.3.1. Benzotiyenopirimidin Serisinin Eğitim ve Test Seti Olarak Hesaplanması.....62

4. BÖLÜM
TARTIŞMA SONUÇ

4.1. Tartışma ve Sonuç.....83

KAYNAKLAR.....87
ÖZGEÇMİŞ.....94

KISALTMALAR VE SİMGELER

2D-QSAR : İki Boyutlu Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi

3D-QSAR : Üç Boyutlu Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi

4D-QSAR : Dört Boyutlu Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi

AG : Aktiviteyi artırıcı yardımcı grup

APS : Aktiviteyi perdeleyici grup

CADD : Bilgisayar destekli ilaç tasarımı

CCC : Uyum Korelasyon Katsayısı

PİM-1 : Serin-trionin kinaz reseptörü

PİM-2 : Serin-trionin kinaz reseptörü

E : E istatistik değeri

ECGA : Elektron Konformasyonel Genetik Algoritma

ECMC : Elektron Konformasyonel Uygunluk Matris

ECSA : Elektron Konformasyonel Alt Matris

ETM : Elektron Topolojik Metot

ETMC : Elektron Topolojik Uygunluk Matris

GA : Genetik Algoritma

PCA : Temel Bileşen Analizi

Pha : Farmakofor

PLS : Kısmi En Küçük Kareler Regresyon Analizi

$\mathbf{q^2}$: Dahili çapraz doğrulama değeri

$\mathbf{q^2_{ext1}}$: Harici çapraz doğrulama değeri (Eğitim ortalama)

$\mathbf{q^2_{ext2}}$: Harici çapraz doğrulama değeri (Test ortalama)

$\mathbf{q^2_{ext3}}$: Harici çapraz doğrulama değeri (Eğitim ve Test seti içerir)

QSAR : Kantitatif Yapı Aktivite İlişkisi

$\mathbf{R^2_{eğitim}}$: Eğitim seti için regrasyon katsayı değeri

$\mathbf{R^2_{test}}$: Test seti için regrasyon katsayı değeri

SAR : Yapı Aktivite İlişkisi

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Benzotiyenopirimidin serisine ait temel iskelet, sübstitüentler ve konformer sayıları.....18
Tablo 2.2. Benzotiyenopirimidin serisinden 61. bileşiğin 24 konformeri için bağıl enerji ve boltzmann değerleri.....27
Tablo 2.3. Benzotiyenopirimidin serisinden 69. bileşiğin 26 konformeri için bağıl enerji ve boltzmann değerleri.....28
Tablo 2.4. Benzotiyenopirimidin serisi için en basit bileşiğe göre diğer bileşiklerin fonksiyonel grupları ve atomlarının düzenlenmesi yani moleküllerde birbirine karşılık gelen atomlar.....33
Tablo 2.5. Moleküler Parametreler……..…….35
Tablo 3.1. a) 61. bileşiğe (referans) ait alt matris (ECSA) b) Yüksek aktiviteli bileşiklerin en düşük enerjili konformeri için tolerans değerleri c) Düşük aktiviteli bileşiklerin en düşük enerjili konformeri için tolerans değerleri d) 67 bileşiğin 554 konformeri için tolerans değerleri…….……46
Tablo 3.2. a) 69. bileşiğe (referans) ait alt matris (ECSA) b) Yüksek aktiviteli bileşiklerin en düşük enerjili konformeri için tolerans değerleri c) Düşük aktiviteli bileşiklerin en düşük enerjili konformeri için tolerans değerleri d) 67 bileşiğin 554 konformeri için tolerans değerleri…….……48
Tablo 3.3. Benzotiyenopirimidin serisi için hesaplamalarda kullanılan parametreler…….....49
Tablo 3.4. Pim-1 için deneysel aktivite değerleri ve hesaplanan aktivite değerleri…..63
Tablo 3.5. Pim-2 için deneysel aktivite değerleri ve hesaplanan aktivite değerleri…..66
Tablo 3.6. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-1 Model 1 için aktivite hesaplamalarında elde edilen parametre numaraları ve Kj değerleri…….....…....69
Tablo 3.7. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-1 Model 1 (50 bileşik eğitim, 17 bileşik test) için istatiksel sonuçlar…….....70
Tablo 3.8. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-1 Model 2 için aktivite hesaplamalarında elde edilen parametre numaraları ve Kj değerleri……....71
Tablo 3.9. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-1 Model 2 (45 bileşik eğitim, 22 bileşik test) için istatiksel sonuçlar……..…....……..72
Tablo 3.10. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-1 Model 3 için aktivite hesaplamalarında

elde edilen parametre numaraları ve Kj değerleri……..…..…….73
Tablo 3.11. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-1 Model 3 (67 bileşik eğitim) için istatiksel sonuçlar……..…….....74
Tablo 3.12. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-2 Model 1 için aktivite hesaplamalarında elde edilen parametre numaraları ve Kj değerleri…….....……76
Tablo 3.13. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-2 Model 1 (50 bileşik eğitim, 17 bileşik test) için istatiksel sonuçlar…….....…….…..77
Tablo 3.14. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-2 Model 2 için aktivite hesaplamalarında elde edilen parametre numaraları ve Kj değerleri……..…..……..77
Tablo 3.15. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-2 Model 2 (45 bileşik eğitim, 22 bileşik test) için istatiksel sonuçlar…….....78
Tablo 3.16. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-2 Model 3 için aktivite hesaplamalarında elde edilen parametre numaraları ve Kj değerleri……...……..79
Tablo 3.17. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-2 Model 3 (67 bileşik eğitim) için istatiksel sonuçlar……..……..……80
Tablo 3.18. Pim-1 için optimum parametre sayısına karşılık gelen istatiksel sonuçlar……...85
Tablo 3.19. Pim-2 için optimum parametre sayısına karşılık gelen istatiksel sonuçlar……..…….85

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. İlaç tasarımında EMRE yazılım sisteminin basamakları.....16
Şekil 2.2. Benzotiyenopirimidin serisinden h61 bileşiğine ait 24 konformerin üst üste çakıştırılması.....29
Şekil 2.3. Benzotiyenopirimidin serisinden h69 bileşiğine ait 26 konformerin üst üste çakıştırılması.....29
Şekil 2.4. Üç boyutlu ECMC'nin gösterimi.....30
Şekil 3.1. Benzotiyenopirimidin serisinde 61. bileşiğinin 1. konformerine ait ECMC.....43
Şekil 3.2. Benzotiyenopirimidin serisinde 69. bileşiğinin 1. konformerine ait ECMC.....44
Şekil 3.3. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-1 Model 1 (50 bileşik eğitim, 17 bileşik test) için optimum parametre sayısına karşılık dahili (q^2) ve harici (q^2ext1, q^2ext2, CCC (con1, con2, con3)) doğrulama katsayıları grafiği…….70
Şekil 3.4. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-1 Model 2 (45 bileşik eğitim, 22 bileşik test) için optimum parametre sayısına karşılık dahili (q^2) ve harici (q^2ext1, q^2ext2, CCC (con1, con2, con3)) doğrulama katsayıları grafiği…….72
Şekil 3.5. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-1 Model 3 (67 bileşik eğitim) için optimum parametre sayısına karşılık dahili (q^2) ve harici (q^2ext1, q^2ext2, CCC (con1, con2, con3)) doğrulama katsayıları grafiği…….74
Şekil 3.6. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-2 Model 1 (50 bileşik eğitim, 17 bileşik test) için optimum parametre sayısına karşılık dahili (q^2) ve harici (q^2ext1, q^2ext2, CCC (con1, con2, con3)) doğrulama katsayıları grafiği…….76
Şekil 3.7. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-2 Model 2 (45 bileşik eğitim, 22 bileşik test) için optimum parametre sayısına karşılık dahili (q^2) ve harici (q^2ext1, q^2ext2, CCC (con1, con2, con3)) doğrulama katsayıları grafiği…….78
Şekil 3.8. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-2 Model 3 (67 bileşik eğitim) için optimum parametre sayısına karşılık dahili (q^2) ve harici (q^2ext1, q^2ext2, CCC (con1, con2, con3)) doğrulama katsayıları grafiği…….80

GİRİŞ

İlaçlar hastalık etkeni üzerinde tesir gösterip hastalık etkenini baskılayıp tedavi etmeye ya da hafifletmeye yarayan bileşiklerdir. İlaçların keşfedilmesi süreci ve ilaç olarak ambalaja girmesi arasında zorlu bir süreç vardır. Laboratuar çalışmaları, klinik çalışmalar ve denekler üzerindeki etkilerinin tespit edilme süreci 10 yıl kadar süreyi gerektirmektedir. Laboratuar çalışmaları esnasında ilaç olabilecek bileşiğin en aktif bölgesinin tespit edilmesi ve biyolojik aktivitesinin deneysel olarak hesaplanması çalışmaları yapılmaktadır. İlaç olabilecek bileşiğin biyolojik aktivitesinin tespit edilmesi önemli bir süreçtir. Deneysel verilere yakın, güvenilir sonuçlar veren bilgisayar destekli hesaplamalarla da aktivite ile ilgili özelliklerin ortaya konarak biyolojik aktiviteleri tahmin edilir. Hem süreç hızlanır hem de daha az masrafla çalışılmış olur. Bizim grubumuzun geliştirdiği Elektron Konformasyonel-Genetik Algoritma metoduyla yapı aktivite ilişkisi ortaya konur ve aktivite hesabı yapılır. Bileşiğin yapısı ve aktivitesi arasındaki ilişkisi üzerine olan (Quantitative Structure-Activity Relationship, QSAR) çalışmalar, molekülün biyolojik olarak davranışını ortaya koymak açısından önemlidir.

QSAR, molekülün yapı-aktivite ilişkisini dikkate alır bunu da matematiksel bir formülle ifade eder ve aynı türden bileşikler için biyoaktiviteyi tahmin eder [1]. QSAR'da deneysel veriler toplanır, farmakofor belirlenir ve biyoaktivite hesabı yapılır. Moleküler parametreler oluşturularak aktiviteye katkısı yüksek olanlar belirlenir ve seçilir. Burada farmakofor kavramı, biyojik alıcılarla güçlü etkileşen bölgeyi temsil eder. Yapı-aktivite ilişkisini daha iyi anlamak için çok boyutlu QSAR teknikleri daha iyidir. Hopfinger ve arkadaşlarının geliştirdiği [2] 4D-QSAR' da 3D-QSAR'ın aksine tek konformeri değil, bileşiğin diğer konformerleri de dikkate alınır. Bizim de buradaki çalışmamız 4D-QSAR çalışmasına örnektir.

Bu çalışmada benzotiyenopirimidin bileşik serisi için farmakofor tanımlama ve biyoaktivite tahmini için yeni bir 4D-QSAR yaklaşımı olarak geliştirilen elektron konformasyonel-genetik algoritma metodu kullanılmıştır. Burada çalışılan bileşik serisi literatürden alınmıştır [3]. Deneysel aktivitesi bilinen ve bilinmeyen bileşiklerin teorik aktivitelerinin tahmini yapılmıştır. Bu bileşik serisinde Pim-1 ve Pim-2 inhibitörleri için farmokofor grup belirlenmiş ve aktivite hesapları yapılmıştır.

Hücre bölünmeleri hücre çekirdeği tarafından kontrol edilir ve bazen hücre kontrolden çıkar, kontrolsüzce çoğalmaya başlar, dolaşım sistemi aracılığı ile tüm vücuda yayılır. İlaçlar kontrolden çıkan bu hücrelerin yayılmasını azaltarak hastalığı baskılar ve tedavi etmeye yardımcı olur. İlaç olarak vücuda verilen molekül hedef proteinlerle etkileşir ve çeşitli mekanizmaların devreye girmesiyle hücre üzerinde etkili olmaya çalışır.

Pim-1, Pim-2, Pim-3 serin-trionin kinaz reseptörleri hücre bölünmesinde, programlı hücre ölümünde (apoptosis), hücrelerin farklılaşmasında ve embriyonik gelişimin düzenlenmesinde rol oynamaktadır [4].

Genellikle moloney kemirgen lösemi virüsü ile aktivite odağı haline gelen Pim-1 onkojeni ilk olarak fare T hücresindeki lenfoma ile ilişkilendirilmiştir. Daha sonra, prostat kanseri, akut miyeloid lösemi ve diğer kan üreten dokuların tümörleri dahil olmak üzere insanlarda görülen birçok kanser türünde rol oynadığı ortaya çıkarılmıştır. Pim-1 esas olarak hücre döngüsünün ilerlemesi, programlı hücre bölünmesi ve transkripsiyonel aktivasyon ve sinyal transdüksiyon yolunu ilgilendirmektedir [5].

Benzotiyenopirimidinler, Pim-1, Pim-2, Pim-3 kinazlarını subnanomolar ile düşük tek haneli nanomolar Ki değerlerine kuvvetli bir şekilde inhibe eden ve çeşitli kinazlardan oluşan bir panele karşı mükemmel seçicilik sergileyen yeni bir Pim inhibitörleri sınıfı olarak keşfedilmiştir. Pim kinazların küçük moleküllü inhibitörlerinin kanser terapisinde terapatik öneme sahip olabileceği düşünülmektedir [3].

1. BÖLÜM

1.1. Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı (CADD)

Bilgisayar destekli tasarım fizik, kimya, matematik, yazılım ve bilgisayar mühendisliği gibi birçok alanı içerisinde barındırmaktadır. Bu nedenle multidisipliner bir yaklaşımdır. Bilgisayar destekli tasarımda çeşitli yazımlı paketleri kullanılmaktadır. Bu yazılımlar modern ve hızlı bilgisayarların varlığı ile daha da önem kazanmıştır. Molekülün yapısı ile biyoaktive ilişkisi deneysel çalışmalara gerek kalmadan geliştirilen bir takım yazılımlarla ortaya konmuştur. Yeni yazılımların ortaya çıkmasıyla ya da eski yazılımların güncellenmesiyle daha iyi sonuçlar almayı umuyoruz. Teknoloji hızla değişmekte ve hızlanan bilgisayarlar ile yazılımları daha verimli çalıştırmaktadır. Sonuç olarak eskiden daha uzun sürede yapılan hesaplamalar daha kısa sürede bitmektedir. Gelecekte uzun süren bir çok hesaplamanın teknoloji sayesinde kısalmasıyla bu alanda çok fazla yeniliğe sahip olacağını düşünüyoruz.

İlaç geliştirmede toksik ve yan etkinin minumum olduğu durum en idealdir. İlaç keşifleri maliyetli, zaman alan, zor olan süreçlerdir [6]. İlaçlar üzerine teorik ve deneysel birçok çalışma yapılmaktadır. Molekülün izleyeceği tüm biyolojik süreçlerin ortaya konması ve yan etkilerinin denekler üzerinde çalışılması ve netleştirilmesi gerekmektedir. Kısaca ilaç olabilecek bir molekülün keşfinden patentinin alınmasına kadar ki süreç zor ve maliyetlidir. Patent almak daha sonra üretecek firmalara bunu belli bir ücret karşılığı satma avantajı kazandırır. Ülkemizde üretilen ilaçlarda bu sayı azdır. Bu yüzden ar-ge çalışmalarının önemi büyüktür. Ar-ge çalışmaları ile daha çok keşif yapılarak patent alınması ülkemiz adına kazanç sağlayacaktır.

İlaç olabilecek bileşikler, bir dizi teste tabi tutulurlar: Laboratuvar çalışmaları, ilacın yan etkileri üzerine çalışmalar, denek üzerinde testlerin tamamlanarak patentinin alınması ve ambalaja girerek satışa sunulması.

Yapılan araştırmalar, ilaç geliştirme çalışmalarının on yılı geçtiğini göstermektedir. Ayrıca bir milyar doların üzerinde bir harcama kalemi oluşturmaktadır. Bilgisayarlarda ilaç sentezi hem maliyet hem de zaman tasarruf sağladığından giderek kullanımı yaygınlaşmaktadır. Deneysel çalışmalara gerek kalmadan teorik hesaplamalar kullanılarak molekül yapıları hakkında önceden bilgi edinmek mümkündür. İlaç olabilecek bileşiklerde aranan özellikler sentezlenecek molekülde de aranarak bileşik sentezlenir [7].

Bilgisayar destekli tasarımdaki amaç, molekülün biyoaktivitesi ile molekülün yapısından kaynaklanan kimyasal özellikleri arasında lineer olan ve olmayan matematiksel bağıntıları ortaya koymak ve QSAR teknikleri ile aday bileşikleri ortaya koymaktır [8]. QSAR, yapı ile aktivite arasında ilişki olduğunu temele alır ve bunu matematiksel formüllerle ifade eder. Aynı türe ait bileşik sınıfı için aktivite tespiti yapar. Molekülün kimyasal yapısındaki değişimlerin biyoaktiviteyi nasıl etkilediğini gösterir [1]. 3D-QSAR yönteminde her bileşik için en düşük enerjili sedece bir konformeri hesaba katılırken, 4D-QSAR' da ise her bileşik için tüm düşük enerjili konformerleri hesaba katılır [2].

Moleküler Modelleme, Kalıp Tanıma, Kümeleme analizi, Reseptör Uyum veya Reseptör Tanımlama Yöntemleri bilgisayar destekli ilaç tasarımı ile ilaç özelliği gösteren yeni moleküllere ulaşmak üzere kullanılan önemli yöntemlerdir [9].

İlaç tasarımında farmakofor önemlidir. Bileşiğin bazı kısımları hedef proteinlerle daha güçlü etkileşir. Ancak bazı kısımların etkileşimi zayıftır. Burada farmakofor, etken madde olarak vücuda verilen bileşiğin biyolojik alıcıyla güçlü etkileşen bölgesini temsil eder [10].

Elektron topolojik ve Elektron Konformasyonel yöntemler farmakofor tesbitinde kullanılabilecek QSAR yöntemlerine örnektir. Molekülün kuantum kimyasal hesaplamalarından elde edilen parametreler aktive değerlerini doğrudan etkilemektedir. Bu parametrelerin hepsi aynı önemde değillerdir. Aktiviteye katkısı yüksek olan parametreleri seçmek daha çok önemlidir [11].

Çalışmamızda Elekron Konformasyonel-Genetik algoritma yöntemi kullanılmıştır. Bu metod 4D-QSAR yaklaşımıdır. Amacımız benzotiyenopirimidin serisi için aktiviteden

sorumlu olan farmakofor grubunu belirlemek ve biyolojik aktiviteyi tahmin etmektir. Bu kapsamda daha önce grubumuz tarafından geliştirilen bir 4D-QSAR program paketi (EMRE, ECSP ve Aktivite kodları) kullanılacaktır. Çalışmamızın ilk aşamasında spartan programı kullanılarak moleküllerin iskelet çizimleri yapılacaktır. İskelet dinamizmine göre en düşük enerji halleri minimize edilerek molekül yapıları çıkartılacaktır. Semi-empirik PM3 yöntemiyle bileşiklerimizin hesaplamaları yapıldıktan sonra Hartree-Fock (HF) 3-21G* (sulu ortamda) temel setiyle konformerler belirlenerek kuantum kimya hesaplamaları yapılacaktır. Hesaplamalar sonucunda elde edilen veriler kullanılarak bileşiklerin her bir konformeri için üç boyutlu elektron konformasyonel uygunluk matrisleri (ECMC) hazırlanacaktır. Daha sonra en yüksek aktiviteli bileşiğin en düşük enerjili konformerinin ECMC'si referans alınarak diğer ECMC'lerle belirli tolerans değerlerinde karşılaştırılarak aktiviteden sorumlu olan farmakofor grup yani elektron konformasyonel alt matris (ECSA, Pha) belirlenecektir. Pha'ya etki eden yani aktiviteyi arttırıcı (AG) ve aktiviteyi azaltıcı grup (APS)'ye ait üç boyutlu elektron topolojik özellikler çıkartılacak ve biyolojik aktivite tahmini yapılacaktır. Aktivite hesaplamalarında kullanılmak üzere elektronik, geometrik ve fizikokimyasal özellikler gibi çok sayıda değişken hazırlanacaktır. Biyolojik aktiviteyi tanımlayan önemli değişkenlerin seçimi ve eğitim ve test setindeki bileşiklerin teorik aktivite hesabı için genetik algoritma kullanılacaktır. Ayrıca deneysel olarak aktivitesi bilinmeyen veya sentez edilmemiş bileşiklerin aktivitesi önceden hesaplanacaktır. Modelin geçerliliğini tahmin etmek için regresyon analizi ve dahili ve harici çapraz doğrulama yapılacaktır.

1.2. Qsar Metotları

QSAR (quantitative structure-activity relationship), yapı ile aktivite arasındaki ilişkiyi temele alır. Molekülün yapısındaki değişim aktiviteyide değiştirir. 1960'lı senelerin başlarında Corwin Hansch [12] yapı aktivite arasındaki bu ilişkiyi ilk çalışanlardandır. QSAR, 2D-QSAR'dan başlayıp günümüze kadar geliştirilerek 6D-QSAR yani altı boyutlu hale kadar gelmiştir.

2D-QSAR'da nicel ilişkileri bulmak için doğrusal regresyon yöntemleri kullanılır. 2D-QSAR yöntemlerinin birçoğu istatistiksel olarak şüphelidir. Ligant ile alıcının başlangıç etkileşimini dikkate alır. 2D-QSAR, çoğunlukla yapıyı baz alarak farmakoforu tahmin eder [13].

2D-QSAR'da 3 boyutlu yapıya ait bilginin olmaması olumsuzdur. 3D-QSAR'da ise molekülün 3 boyutlu özellikleri hesaplamaya dahil edilir. Moleküle ait fizikokimyasal ve geometrik özelliklerin hesaba katılması bu metotta mümkündür [11].

3D-QSAR'de her bir bileşik için en düşük enerjili tek konformeri hesaba katılırken diğer düşük enerjili konformerlerinin hesaba katılmaması eksikliktir. Çünkü diğer düşük enerjili konformerlerde önemlidir. Hem tek konformeri hesaba katması hem de biyolojik reseptor ile ligand etkileşimi 3D-QSAR çalışmalarının sorunlarındandır [14-15].

3D-QSAR'ın eksiklerini gidermek için Hopfinger ve arkadaşları metotlarında yer alan s eksiklikleri ortadan kaldırmak için Hopfinger ve arkadaşları 4D-QSAR'ı geliştirmiştir [2].

4D-QSAR'daki dört boyutlu bakışta ise, molekülün diğer konformasyonları da hesaba katılır. Bu konformasyonların da etkileri hesaba dahil edilmiş olur. Ligandın reseptore bağlanma enerjisini tespit etmeye çalışır. Hedeflenen alıcının yani reseptorun yapısı bilinsin ya da bilinmesin bu metod kullanılabilir [16]. Bileşiğin hangi konformerinin alıcıyla etkileştiğini bilmek mümkün değildir. Çünkü konformerler arasındaki enerji farkları çok azdır. Bu nedenle birbirlerine kolaylıkla dönüşebilirler. Bu yüzden tüm konformerleri hesaba dahil ediyoruz. Çalışmamız 4D-QSAR'a bir örnektir.

5D-QSAR'da ise, ilaç alıcıları durağan değillerdir. Durağan olmadıklarından substrat etkilenir ve bu yönteme bu etkiler dahil edilir [17]. Ligand, hedef proteine bağlandığında yapısında konformasyonel bazı değişimlerin olduğunu dikkate alır [18].

6D-QSAR'da ise 5D-QSAR'a artı olarak çözücü-çözünen arasındaki kovalent bağ etkileşimleri dikkate alınır. Çözünme ile alakalı bazı parametrelerde hesaplamalara katılır. Farklı çözünme modelleri oluşturulabilir ve kullanılabilir [16-17,19].

2. BÖLÜM

MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

Bu çalışmada:

1) “Spartan 02” ve “Spartan 08” paket programları kullanılarak ve kuantum kimyasal hesaplamalar yapılmıştır.

2) Her bir bileşiğin her bir konformerinin yapısını üç boyutlu olarak belirleyen topolojik matrisleri (Electron Conformational Matrix of Congruity, ECMC) hazırlayan ve aktivite hesaplamasında kullanılmak üzere bileşiğin özelliklerini gösteren sayısal parametreleri hazırlayan EMRE V2.0 programı,

3) ECMC matrislerini atomlara göre karşılaştırarak elektron konformasyonel alt matrisi (Electron Conformational Sub Matrix, ECSA) belirleyen ECSP programı,

4) Matlab 7.0 paket programı ve bu program ile yazılarak biyolojik aktiviteyi hesaplayan program kodları,

5) Yazılımların geliştirilmesi için Delphi 6.0 ve C programları,

6) HP Workstation (iş istasyonu) xw 8200, Fujitsu-siemens celcius iş istasyonu,

7) Core 2 Quad işlemcili 5 adet pc, Dual 2 core işlemcili 1 adet pc

8) Veri depolama aygıtı,

9) 10 kVA’lık online güç kaynağı kullanılmıştır**.**

2.2. Metot

Bu çalışmada kuantum kimyasal hesaplamalar, spartan 02 ve spartan 08 programlarıyla yapılmıştır. Kuantum kimyasal hesaplamalar içerisinde semi-empirik, Hartree-Fock (HF), Density Functional Theory (DFT), moller plesset (MP2) olmak üzere çeşitli hesaplama yöntemleri bulunmaktadır [20]. Bileşiklerin kuantum kimyasal hesaplamaları Hartree-Fock 3-21 G* metodu kullanılarak sulu ortamda yapılmıştır. Biyoaktivite

tahmini için ise Elektron Konformasyon-Genetik Algoritma yöntemi kullanılarak hesap yapılmıştır.

2.2.1. Elektron Topolojik Metot (ETM)

Bu yöntem yapıyı temele alan farmakofor yöntemlerinden biridir. Topoloik yöntemde moleküler mekanik metod ile bileşiklerin Z matrisi çıkartılmaktadır. CNDO metoduyla elektronik, geometrik hesap yapılmaktadır [21]. Kuantum kimyasal hesaplamalar sonucu elde edilen bazı özellikler matrislerle temsil edilir. Hesaplardan elde edilen elektronik ve geometrik özellikler ETMC olarak isimlendirilen matrislerle gösterilir. ETMC, elektron topolojik uygunluk matrisidir. Yapılan hesaplamalar sonucu her moleküle ait konformasyonel analizler yapılır. Her bileşik için seçilen tek konformer topolojik matrise dönüştürülür [22]. Topolojik yöntemde elimizdeki bileşik serisine ait biyoaktivite değerleri biliyor ise, hesaplar aktivitenin belli bir değerinden sonra 2'ye bölünür. Değerin üstü aktif, altı ise aktif olmayan (inaktif) kabul edilir. Elde edilen alt matrisler karşılaştırılmasıyla aktivite alt matris elemanlarının bir fonksiyonu olarak belirtilir. Aktiviteyi ikiye bölerek yapılan hesaplarda altta kalan inaktif denilen kısım aktif olan kısma göre az da olsa düşük aktivite göstermektedir. İnaktiflerin aktivitelerinin çok az olması yapılarındaki bağlı sübstütientlerinden kaynaklanmaktadır. Farmakofor (Pha) burada yüksek aktiviteye sahip moleküllerin tek konformerlerinde aranmaktadır. Fakat konformerler arasında relatif enerji farkları çok azdır bu nedenle kolaylıkla birbirlerine dönüşebilirler. Topoloik yöntemde, düşük aktiviteli bileşiklerin matrisleri yoktur. Anti-farmakofor aranmaktadır. Topolojik yöntemde, nicel aktivite hesabı yapılmazken, konformasyonel yöntemde ise hem nicel aktivite hesabı yapılmakta hem de bileşiğin relatif enerjisi düşük tüm konformerleri hesaba katılmaktadır.

2.2.2. Elektron Konformasyonel Metot (ECM)

Bu metodun temeli yukarıda bahsi geçen topolojik yöntemdir. Elektron konformasyonel yöntem Bersuker ve çalışma grubu tarafından geliştirilmiştir. Bu yöntemde farmakofor grubunun tayini ve biyolojik aktivite tespiti yapılmaktadır [23-26]. Moleküllerin elektronik, kimyasal özellikleri matrislerle tanımlanır. Konformasyonel yöntemde bileşikler ECMC ile yani uygunluk matrisleriyle belirtilir. Farmakofor atomlarını temsil eden gurup ise ECSA ile yani konformasyonel alt matrisleriyle belirtilir. Konformasyonel yöntemde aktivite hesabında bileşiğin düşük enerjili tüm

konformerleri, aktiviteyi artıran ve azaltan gruplar da hesaba katılır. Bunlar da konformasyonel yöntemin, topolojik yönteme göre diğer bir artısıdır.

2.2.2.1. Konformerler ve ECMC Matrislerinin Oluşturulması

Kuantum kimyasal hesaplamalar sonucu elde edilen bileşiğe ait olan konformerler değerlendirilmeye alınır. Oda şartlarında bulunma ihtimali yüksek olanlar seçilir. Relatif enerjisi yüksek olan konformerler silinerek ayıklanır. Relatif enerji farkı, 1,5 kcal/mol'den fazla olanlar silinir. Birbirine çok yakın enerjili olanlar da ise düşük enerjili olan konformer tercih edilir. Her bileşiğe ait ECMC oluşturulur [24-26]. ECMC, köşegen elemanları baz alındığında simetriktir ve karedir. Yalnızca matrisin yukarı kısmı olan üçgen matris kullanılır. Matristeki köşegen elemanlar, molekülün atamlarının birçok özelliğini temsil eder. Bu özellikler molekülün atomlarına ait atom yükü, polarlanabilme vb. çeşitli elektonik özelliklerdir. Matristeki köşegen olmayan elemanları atomlar arasında bağ olup olmamasına göre 2'şekilde sınıflandırabiliriz. Arasında bağ bulunan 2 atom bağ derecesini, bağlı değilse atomlar arası uzaklığı gösterir. Sonuç olarak ECMC, moleküle ait geometrik ve elektronik özellikleri göstermiş olur [27].

2.2.2.2. Farmakofor Tanımlama

Konformasyonel yöntemde, ECMC'ler hazırlandıktan sonra köşegen (diyagonal) olan yada olmayan elemanlar, belirli tolerans değer aralıklarında karşılaştırılır. Aktif olarak tanımladığımız bileşiklerin hepsinde ortak bulunan fakat inaktiflerde bulunmayan matris elemanları belirlenir. Böylece aktif olarak tanımladığımız moleküllerin hepsinde ortak bulunan daha ufak matris bulunmuş olur. Elde edilen bu matrisler ECSA olarak tanımlanır. Farklı parametreleri denemek istersek ECMC oluşturma ve ECSA belirleme aşamaları tekrar yapılmalıdır. Parametreleri deneyerek elde edilen ECSA'lar, karşılaştırılarak hangi özelliklerin aktifleri inaktif bileşiklerden daha iyi ayırdığı bulunabilir. Matris karşılaştırılmalarında, kullandığımız serideki bileşiklerden istediğimiz yapıyı baz alabiliriz. Referans seçilen bileşik ve konformeri çalışmada belirtilmelidir. En basit yapıya sahip olan bileşiklerinde aktivitesi vardır. Bu nedenle farmakofor grubu bu bileşikte de olmak durumundadır.

Bulunan ECSA, biyoaktiviteden sorumlu farmakofordur. Matrisleri belli tolerans değer aralığında karşılaştırma yapmak için bileşikleri aktivitelerine göre düşük ve yüksek olarak sınıflandırırız. Konformasyonel uygunluk matrisleri, AG ve APS guruplarını da hesaba katar. Bu da ECMC'nin topolojik uygunluk matrislerine göre bir başka artısıdır [28]. Farmakofor barındıran konformerilerdeki herbir atom biyoaktiviteye sayısal olarak katkı yapar. İncelemeye alınan serideki moleküler parametreler içerisinde etki düzeyi önemli olanlar dikkate alınır. Konformasyonel metotta farmakofor tespiti, kuantum kimyasal hesaplamalar sonucu elde ettiğimiz moleküle ait özellikler matrislere dönüştürülmesiyle yapılır. Biyoaktivite tespitinde ise, istatiksel verilerin ve moleküler parametrelerin değerlendirilmesi sonucu karar verilir.

2.2.2.3. APS ve AG Grupları

APS, aktiviteyi azaltan gruptur. AG ise aktiviteyi arttıran gruptur. Bu gurupları belirleyebilmek için aktif bileşik yapılarını üst üste çakıştırılarak incelenmeye tabi tutmak gerekmektedir. Farmakofor, biyoaktivite için gerekli minimum atom grubunu içermektedir. Bu gurubun yanında farklı gurupların da olması aktivite artı yada eksi yönde etkilemektedir. Bazı durumlarda farmakofor grupta kayda değer büyüme olur fakat bu durum biyoaktiviteyi etkilemez.

Farmakofor, biyoaktivite için önemli şartlardandır. Ancak yeterli de değildir. Farmakofor, biyoaktivite için ihtiyaç olan atom grubunu barındırır. Fakat bu grubun dışında da aktviviteyi artı yada eksi yönde etkileyen gruplar vardır. Bunlar APS ve AG olarak tanımlanır. Aktiviteyi azaltıcı yönde etkileyen APS, hedef alıcı ile etkileşime girdiğinde sterik engelde bulunma yada perdeleme etkisiyle biyoaktiviteye negatif etkisi olur. AG ise, pozitif etkiler. Hedef alıcının yapısının bilinip bilinmemesine göre değerlendirme yapılabilir. Biyolojik alıcının yapısının bilinmesi, AG katkısı yönünden değerlendirmede öngörmemizi sağlayacaktır. Ancak bilinemediği hallerde durum biraz karmaşıktır. Bu durumda moleküllerin relatif aktiviteleri, yapısal-elektronik özelliklerin istatiksel analizi yapılabilmektedir. AG, gurupları yapısal-elektronik parametre özellikleri ile tanımlanmaktadır. Bu grupların biyoaktiviteye etkisi, minimizasyon işlemleri ile belirlenmektedir. APS ile AG gruplarına ait parametre ve nicel değerler hem molekülden moleküle, hemde konfomeriden konformeriye değişmektedir.

2.2.2.4. Aktivitenin Genel Formülü

AG ile APS gruplarının etkilerini hesaplamaya dahil etmek için S fonksiyonu kullanılır. Bu fonksiyon ise, AG ile APS guruplarını temsilen bazı parametre gruplarına bağlı olmaktadır. Aktivite e'nin üstel bir fonksiyonu olarak S'ye bağlı olarak değişmektedir.

$$A \sim e^{-S} \tag{2.1}$$

Molekül ile biyolojik alıcının etkileşmesinde, AG ile APS grupları exp(-E'n/kT)'nin birer faktörüdür. Bu nedenle E' değeri kadar biyoaktiviteyi yükseltir yada eksiltirler. APS için E'>0 ve biyoaktivite azalmaktadır. AG grupları için E'<0 ve biyoaktivite artmaktadır. Sni=E'ni/kT olarak gösterilmiştir. Genel olarak S fonksiyonu aşağıdaki eşitlikle gösterilir [26].

$$S_{ni} = \sum_{j=1}^{N} \kappa_j a_{ni}^{(j)} \tag{2.2}$$

Buradaki ani(j), n'inci bileşiğin i'inci konformerindeki APS veya AG nin j'inci tür özelliğini temsil eden (bağ açısı, torsiyon açısı, yük, atomik etkileşim indeksi ve atomlar arası uzaklık) bir parametre olup her bir problem için özel olduğu söylenilebilir. N seçtiğimiz APS yada AG parametrelerine ait sayıdır. Kj, toplu analiz sonucundan elde edilen değişken bir katsayıdır.

$ani^{(j)}$ parametresinin seçimi önem arzetmektedir. Farmokofor ani(j) parametresi atomik etkileşim indeksi, değerleri ve ECSA matrisleri kullanılarak belirlenen farmakofor atomlarının arasındaki mesafeler olarak alınabilir.

İlaçların molekül yapıları genelde organik karekterlidir. Bir molekülün çok sayıda konformeri vardır. Moleküllerin konformerlerinin analizi karmaşık görünür. Hem daha basit hale getirmek hem de molekül ile biyoalıcının arasında bağlanmada enerjideki farklılıklar için aşağıda belirtilen aktive hesap formülünü kullanırız. Burada eşitlik 2.2'yide hesaba dahil ederek sıcaklık ile enerjinin birer fonksiyonu olarak her bir konformerin Boltzmann dağılımını hesaba katarak n. bileşik için aktivite genel formülünü aşağıdaki eşitlik ile elde ederiz:

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

(2.3)

A_l referans maddenin aktivitesi, A_n hesaplanması düşünülen maddenin aktivitesidir ve m_n n. molekülün konformer sayısı, [Pha] farmakofor, R: gaz sabiti; T: Kelvin'dir. Bu formülde δ, Kronecker δ fonksiyonunun bir çeşididir.

Bu formülde sadece farmakofor bulunduran konformerler aktiviteye katkıda bulunur ve bu katkılar onların APS ve AG gruplarının etkilerine göre ağırlıklı olarak alınır ve enerji aktif konformasyonlardaki moleküllerin sayısına bağlıdır [26].

Bersuker, bileşiğe ait tüm konformerlerinin hesaba katılarak biyoaktivite hesabı için algoritmalar geliştirememiştir. Diğer konformerlerin inaktif olduğunu varsaymıştır. Aktivite hesabında molekülün en düşük enerjili tek konformerini hesaba katarak aktiviteyi hesaplamıştır.

Çalışmalarımızın temeli Elektron konformasyonel yönteme dayanmaktadır. Bu yöntem baz alınarak geliştirilen EC-GA metoduyla biyoaktivite hesabı yapılmıştır.

2.2.3. Optimizasyon ve Genetik Algoritma

Optimizasyon, belli şartlar içerisinde elimizdeki alternatiflerden en iyi olanı seçebilmektir. Optimize etmek, QSAR'da kullanılan modellemelerde esas konulardan bir tanesidir. Model kurarken hangi parametrelerin seçileceği konusunda önemli bilgiler edinmemizi sağlar. Modellemelerde az sayıda parametre ile iyi tahminler yapılabilmesi modelin başarısını gösterecektir. Dolayısıyla birçok parametreden en iyi olan alt seti seçmeliyiz. Parametrelerin seçiminde ise, optimizasyon algoritmaları kullanılmaktadır.

QSAR'da genellikle optimizasyon metodlarından biri olan genetik algoritma tercih edilir. Genetik algoritma doğal seçim ilkelerine dayanan bir arama ve optimizasyon tekniğidir. Genetik algoritmaların, fonksiyon optimizasyonu, çizelgeleme, mekanik öğrenme, tasarım, hücresel üretim gibi alanlarda başarılı uygulamaları bulunmaktadır.

Geleneksel optimizasyon yöntemlerine göre farklılıkları olan genetik algoritmalar, parametre kümesini değil kodlanmış biçimlerini kullanırlar. Geniş arama algoritmalarının aksine, genetik algoritmalar en iyiyi seçmek için tüm farklı durumları üretmez. Yani çözüm uzayının tamamını değil belirli bir kısmını tararlar. Böylece, etkin arama yaparak çok daha kısa bir sürede çözüme ulaşırlar [29].

GA, biyolojik süreci modelleyerek fonksiyonları optimize eder ve bir problemin çözümü evrimsel süreç kullanılarak çözülmektedir. Genetik algoritmanın çözmesi istenilen problemin her bir mümkün çözümüne kromozom denir. Bir kromozomun elemanlarından her birisi çözümün bir özelliğini göstermektedir. Bunlara da "gen" adı verilmektedir. Problemin en iyi çözümünü aramak için kullanılan ve rastgele olarak belirlenmiş başlangıç çözüm setine popülasyon denir. Tamamen rastgele olarak seçilmiş olan bir popülâsyonla çözüme başlamanın en iyi yol olduğu düşünülmektedir. Eğer kromozom sayısı az olursa GA çözüm aranan uzayın ancak bir kısmını gezebilir ve çaprazlama için fazla bir seçeneği yoktur. Kromozom sayısı çok fazla olursa genetik algoritma çok yavaş çalışır. Araştırmalar belli bir noktadan sonra popülasyon sayısını artırmanın bir yararı olmadığını göstermiştir. Genetik algoritma parametre seçimi için kullanıldığında, her kromozom ilgili problem için olası bir çözüme karşılık gelen ve araştırılan parametre havuzundan seçilen parametre setini temsil eder. Bunun uygunluk fonksiyonu (fitness function) ise türetilen QSAR modelinin tahmin yeteneğini temsil eder [20].

2.2.4. Elektron Konformasyonel-Genetik Algoritma (EC-GA) Metodu

Buradaki çalışmamızda farmokofor tesbiti ve biyolojik aktiviteyi belirlemek için EC-GA metodu kullanılmıştır. EG-GA yöntemi, EC metodu ile genetik algoritmanın birleşimiyle oluşturulan melez bir 4D-QSAR yaklaşımıdır. Grubumuz tarafından bu yöntem kullanılarak farklı bileşik serileri üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Çalışmalarla ilgili ayrıntılar literatürlerde verilmiştir [30-37].

EC-GA yöntemi, farmokofor gurubunun tesbiti ve aktivite hesabında kullandığımız aktivite formülü için elektron konformasyonel yöntemi baz alır. Biyoaktiviteyi etkileyen en iyi parametre alt setinin belirlenmesinde genetik algoritmadan faydalanılmaktadır.

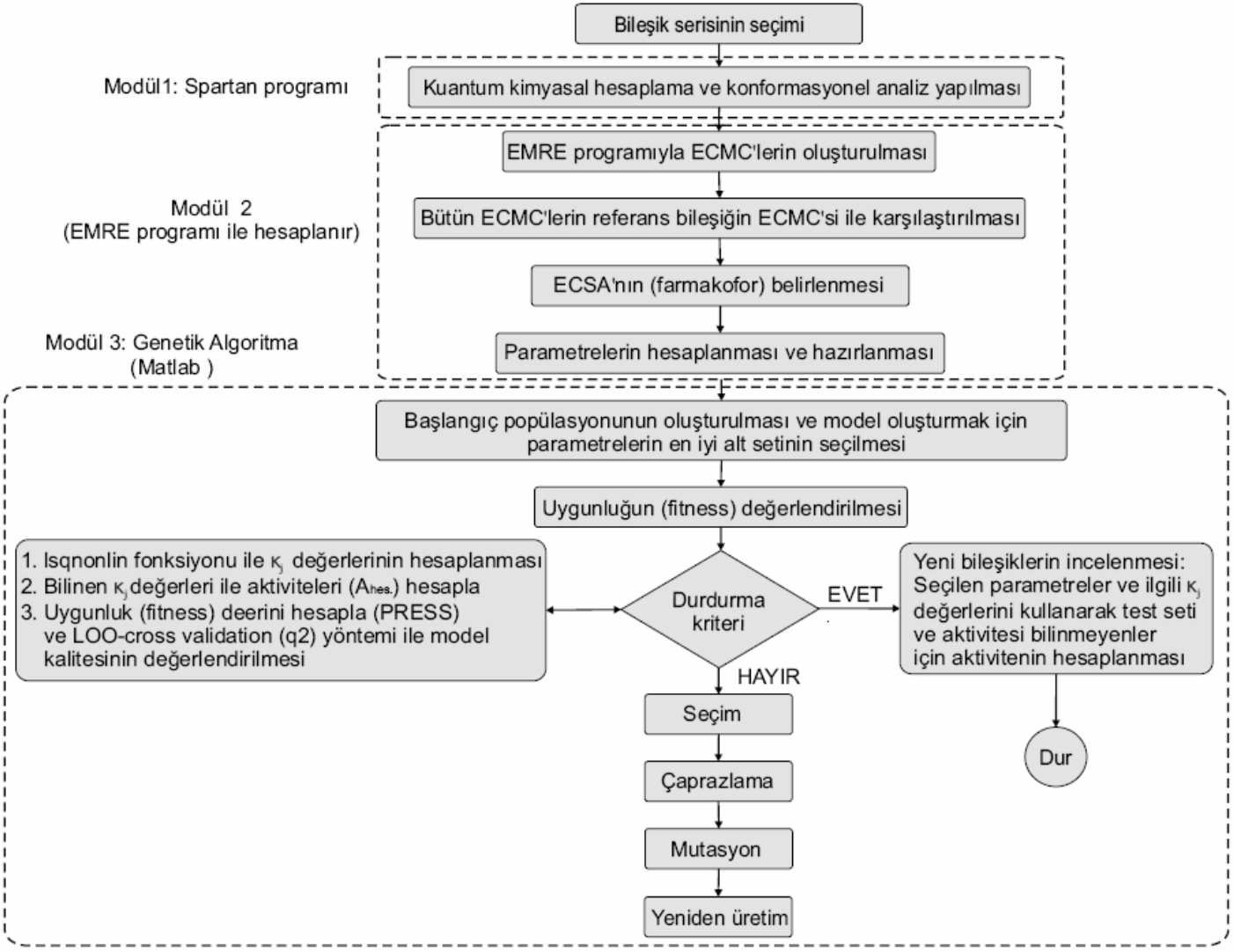
EC yöntemde, farmokofor gurubu belirlenmeye çalışılırken bileşik serisindeki tüm konformerler hesaba dahil edilir. Ancak biyoaktivite hesabındaki hesaplamanın zor oluşu ve tüm konformerlerin katkısını hesaba dahil edecek uygun metodlar geliştirilememesi nedeniyle farmokofor içeren en düşük enerjiye sahip konformer baz alınmaktadır. EC-GA'da ise, moleküllerin mümkün olan enerjili hallerindeki tüm konformerileri farmokofor hesabında olduğu gibi biyoaktivite hesabında da yer almaktadır ve bu durum formülüze edilmiş ve biyoaktivte formülünde gösterilmiştir. Bundan sebeple 4D-QSAR metodudur. Bütün konformerlerin hesaba dahil edilmesiyle hesap süresi uzamaktadır. Hesap süresini kısaltmak amacıyla paralel genetik algoritma kullanılmıştır. EMRE programı kullanılarak parametreler hazırlanmıştır. Bu parametreler, her bileşiğin herbir konformeri için tek tek hazırlanmıştır.

Tahmin gücü yüksek bir model için parametrelerin seçimi titizlikle yapılmalıdır. Otomatik parametre seçimi için Matlab kullanılarak genetik algoritma kodları oluşturulmuştur. Herbir parametrenin sayısal karşılığı olan κj'leri bulmak için Matlab'ın araç kutusundaki Isqnonlin fonksiyonuyla birlikte parametreleri kullanarak eşitlik 2.3'teki formül çözümlenir. Parametreler ve κj değerlerini belirlendikten sonra oluşturulan QSAR modelinin kalitesini değerlendirmek için bileşiklerden birini sırasıyla dışarıda bırakarak çapraz doğrulama (LOO-CV, leave-one-out cross validation) yapılmıştır [38].

Çalışma grubumuz tarafından geliştirilen, bir 4D-QSAR yaklaşımı olan Elektron Konformasyonel-Genetik Algoritma metodu ile farklı bileşik serileri üzerinde çalışmalar yapılarak lisansüstü tezler yazılmıştır. Aşağıda çalışılan bileşik serilerine ait sonuçlar tezlerde gösterilmiştir. Nifedipin analoğu 1,4-dihidropiridin, nitroimidazolil analoğu 1,4-dihidropiridin, artemisinin ve triazolpiridin oksazol serileri için çalışmalar yapılmış olup sonuçlar tezde verilmiştir [39]. Pirazol, benzotriazin, tetrahidrodibenzazosin, 4- (3-bromoanilino)-6,7- dimetoksikinazolin serileri için çalışmalar yapılmış olup sonuçlar tezde verilmiştir [40]. Penisilin türevleri için çalışmalar yapılmış olup sonuçlar tezde verilmiştir [41]. 3- (1,1-Diokso-2H- (1,2,4)-Benzotiyodiazin-3-il)-4-Hidroksi-2 (1H)-Kinolin serisi için çalışmalar yapılmış olup sonuçlar tezde verilmiştir [42]. 1-[(2- hidroksietoksi)metil]-6- (feniltiyo)timin (HEPT), tetrahidro-imidazo[4,5,1-jk][1,4]- benzodiazepin-2 (1H)-on ve -tion (TIBO), dihidro-alkil (yada siklo-alkil)tiyo-benziloksopirimidin (DABO), ve 2,3-Diaril-1,3-tiyazolidin-

4-on serileri için çalışmalar yapılmış olup sonuçlar tezde verilmiştir [43]. Rutenyum(II) aren kompleksleri için çalışmalar yapılmış olup sonuçlar tezde verilmiştir [44]. Dipeptidil bor serisi için çalışmalar yapılmış olup sonuçlar tezde verilmiştir [45]. Fenilpirazolglutamik asit piperazin serisi için çalışmalar yapılmış olup sonuçlar tezde verilmiştir [11]. Benzodiazepin ve melanokortin-4 serileri için çalışmalar yapılmış olup sonuçlar tezde verilmiştir [46]. Piridin karboksilik asit, oksadiazol, pirimidin ve oksazol türevleri için çalışmalar yapılmış olup sonuçlar tezde verilmiştir [47]. Fenilpirazin, alkinilfenoksiasetik asit ve ftalazin türevleri için çalışmalar yapılmış olup sonuçlar tezde verilmiştir [20].

Çalışmalarımızda izlenen adımlar ve hangi aşamalarda hangi programların kullanıldığı Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. İlaç tasarımında EMRE yazılım sisteminin basamakları.

2.2.4.1. EMRE Yazılımının Geliştirilmesi

Emre yazılım programı, Delphi, C+, Java ve Matlab dillerini kullanarak grubumuz tarafından belirlenen algoritma mantığı ile geliştirilmiş bir yazılım olup 3D ve 4D-QSAR çalışmalarında kullanılmaktadır [45]. Bu program vasıtası ile:

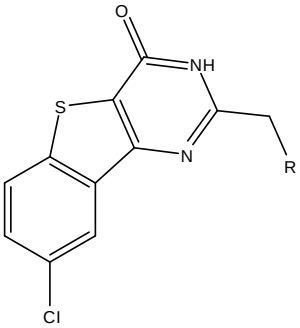
Kuantum kimyasal yada deneysel metotlardan elde edilen verilerin kullanılması ile parametre hazırlanabilmektedir. Bileşiklerin üç boyutlu elektron konformasyonel matrisleri oluşturulabilmektedir. Matrislerin karşılaştırmasını yaparak biyolojik aktiviteden sorumlu farmakofor grup belirlenebilmektedir. Matlab'da yazılan kodlarla genetik algoritma tekniği ile optimizasyon yaparak aktivite ve LOO-CV hesaplamaları yapmaktadır. Dahili, harici doğrulama ve uyumluluk korelasyon katsayısı (CCC) değerleri hesaplanarak modelin geçerliliği test edilebilmektedir [45].

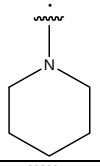
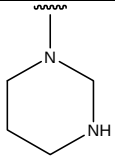
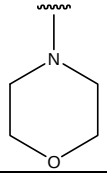
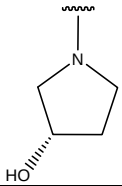
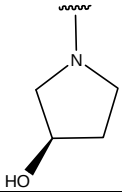
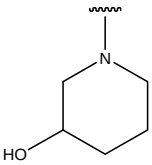
Akış şeması Şekil 2.1'de verilmiştir. EMRE programında atomik yükleri ile bağ derecesine göre matrisler oluşturulup farmakofor grup hesaplamaları yapılabilir. EMRE programının ECSP (farmakofor bulma) modülü ise bileşiklerin tek konformerini esas alarak hesaplama yapabildiği gibi bütün konformerlerini de kullanarak belirli tolerans değerleri ile % bağıl sapma cinsinden hesaplayabilmektedir. Bu yazılımlar ile bütün bileşiklerin ECMC matrisleri, geometrik ve elektronik parametreler hazırlanabilir ve teorik aktivite hesaplamaları yapılabilir [45].

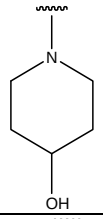
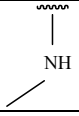
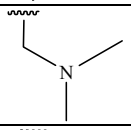
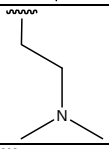
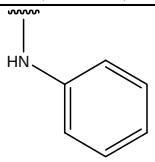
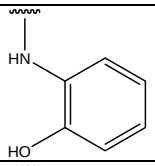
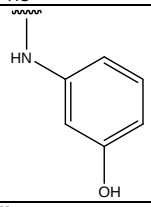
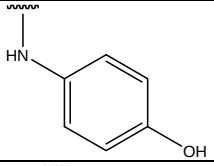
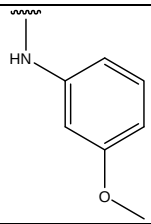
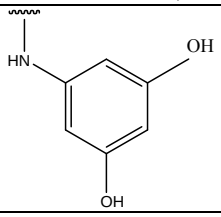
2.2.4.2: Adım 1. Bileşik Serisinin Seçimi

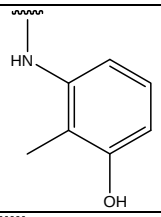
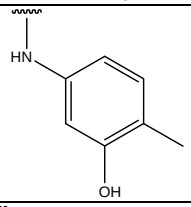
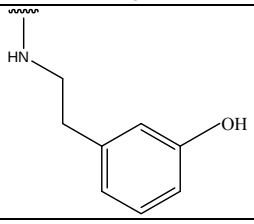
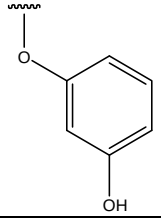
QSAR modelinin geliştirilebilmesi için elimizdeki deneysel verilere ait sonuçların güvenilirliğinin yüksek olması gerekmektedir. Deneysel verilerde doğruluk ve güvenilirlik olmaz ise anlamlı modeller geliştirmek de imkansız hale gelir. Benzer kimyasal yapıda olan ve sonuçların güvenilir olduğu literatürlerden alınan sonuçlar bizim hesaplama sonuçlarımız kıyaslanarak modelimizin tahmin gücü sorgulanacaktır. Bu sebeple deneysel sonuçlarının güvenilir olduğuna inandığımız benzotiyenopirimidin serisi literatürden alınmıştır [3]. Benzotiyenopirimidin serisi için temel iskelete bağlı olan sübstitüentler, hesaplamalarımız sonucu belirlenen konformer sayıları tablo 2.1'de yer almaktadır.

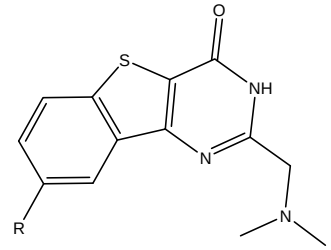
Tablo 2.1. Benzotiyenopirimidin serisine ait temel iskelet, sübstitüentler ve konformer sayıları.

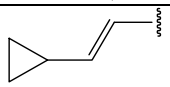
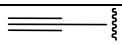
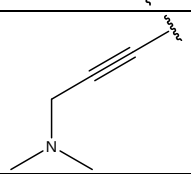


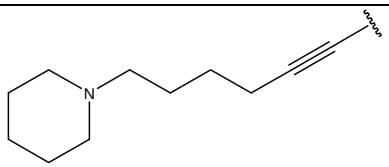
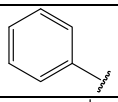
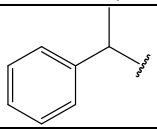
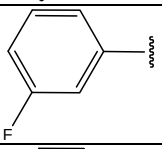
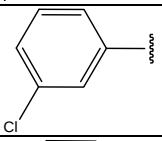
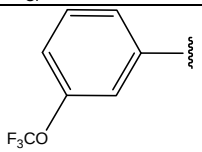
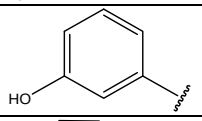
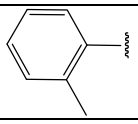
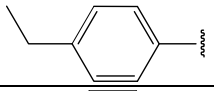
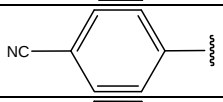
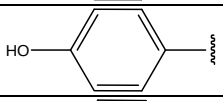
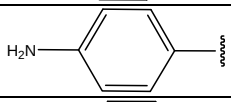
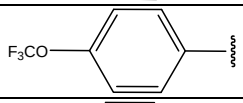
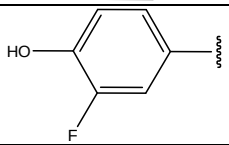
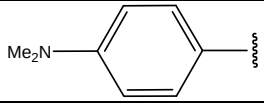
NO	**R**	**Konformer Sayısı**
1	H	1
2		2
3		4
4		6
5		4
6		13
7		14
8		23

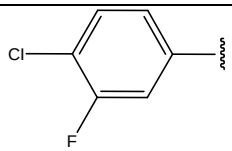
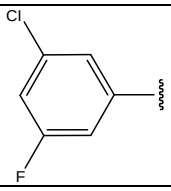
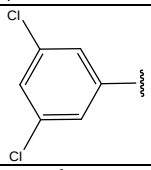
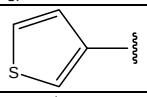
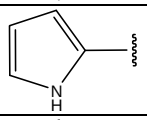
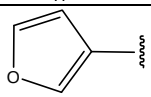
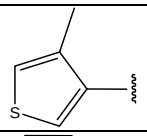
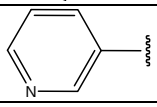
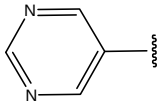
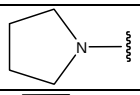
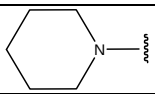
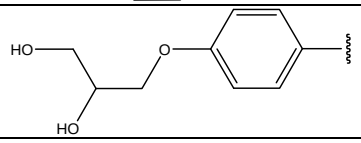
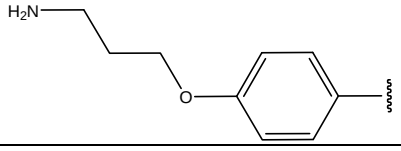
9		18
10		5
11		5
12		12
13		2
14		12
15		7
16		6
17		7
18		6

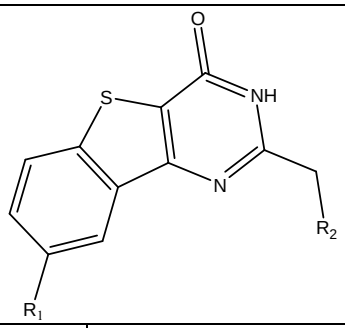
19		7
20		5
21		3
22		8

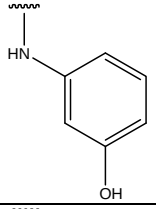
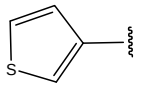
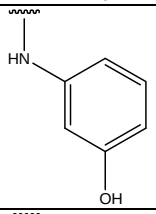
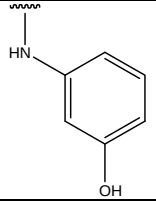
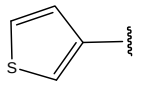
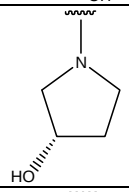
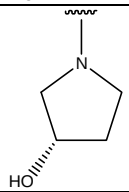
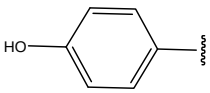
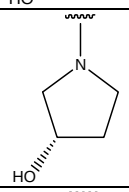
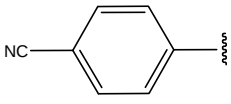
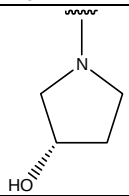


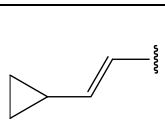
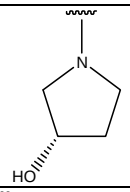
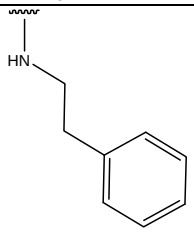
NO	R	Konformer Sayısı
23	CI	2
24	Br	2
25	H	2
26	Me	4
27	CF_3	4
28	Et	4
29		5
30		9
31		23
32		2
33		15

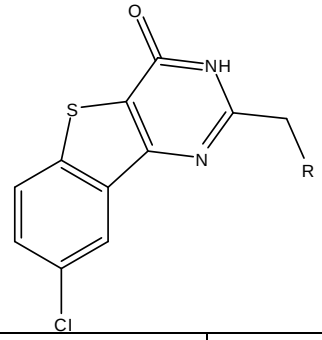
34		24
35		4
36		14
37		8
38		8
39		20
40		16
41		6
42		8
43		4
44		8
45		8
46		12
47		12
48		9

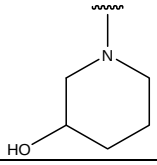
49		8
50		10
51		4
52		8
53		6
54		8
55		4
56		8
57		4
58		5
59		15
60		20
61		24

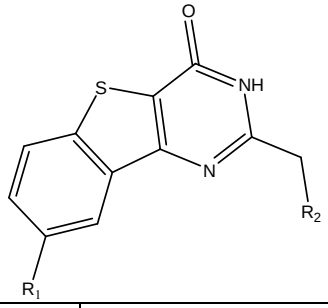


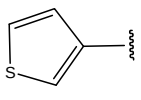
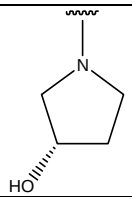
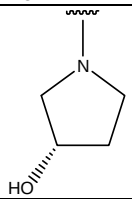
NO	R1	R2	Konformer Sayısı
62	Br		7
63			16
64	Ph		11
65			25
66	Ph		17
67			26
68			17

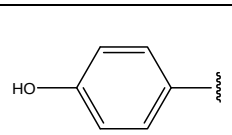
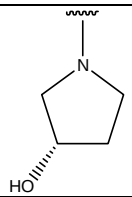
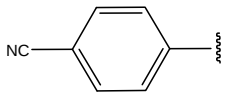
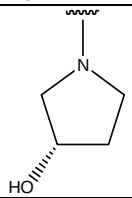
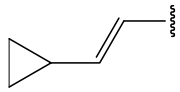
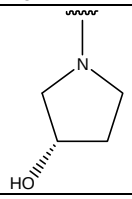
69			26
70	Br		26

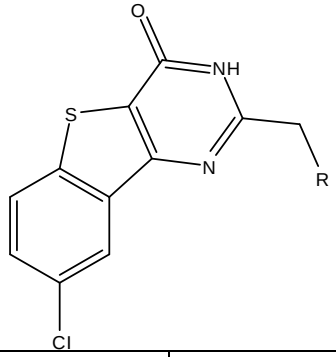


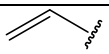
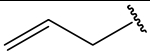
NO	R	Konformer Sayısı
71		20

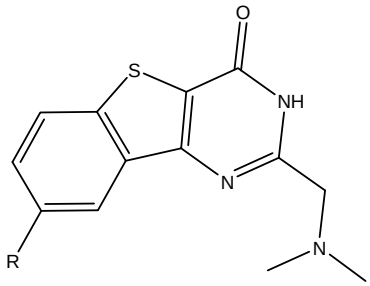


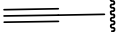
NO	R1	R2	Konformer Sayısı
72			5
73	Ph		5

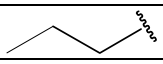
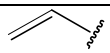
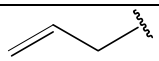
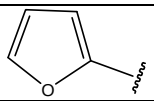
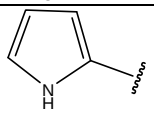
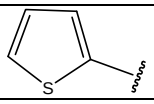
74			4
75			3
76			17



	R	Konformer Sayısı
77	Me	2
78	Et	3
79	Ph	1
80	Ph-CH2	5
81		2
82		9



NO	R	Konformer Sayısı
83	NO_2	1
84	OH	3
85	NH_2	2
86		1
87	NO_2	3
88	OH	4

89		14
90	CN	2
91		11
92		13
93	NH_2	4
94		8
95		8
96		8

2.2.4.3. Adım 2: Kuantum Kimyasal Hesaplamalar ve Konformasyonel Analiz

Çalışmamızın bu aşamasında Spartan 02 ve Spartan 08 programlarında bileşiklere ait iskelet çizimleri yapılmıştır. İskelet dinamizmine göre en düşük enerji halleri minimize edilerek molekül yapıları çıkartılmıştır. Semi-empirik PM3 yöntemiyle bileşiklerimizin hesaplamaları yapıldıktan sonra Hartree-Fock (HF) 3-21G* (sulu ortamda) temel setiyle konformerler belirlenerek kuantum kimya hesaplamaları yapılmıştır. Konformerler analiz edilerek yüksek enerjili ve sanal frekansa sahip konformerler elimine edilmiştir. Sonra moleküle ait konformerler üst üste çakıştırılmış ve aynı yapıya sahip yüksek enerjili konformerler silinmiştir. Boltzmann dağılımına göre oda sıcaklığında düşük enerjili konformerler seçilir. Düşük enerjiye sahip konformerilerin oda sıcaklığında var olma olasılıkları fazladır [20]. Düşük relatif enerjiye sahip ve üst üste çakışmayan moleküllerin konformerlerinin Spartan çıktıları txt dosyaları halinde kaydedilmiştir. Bu çalışmada *.txt dosyalarındaki bilgiler içerisinden atomların yükleri ve kartezyen koordinatları, moleküle ait enerjiler elektron konformasyonel matrislere dönüştürülmüştür. Bu matris değerleri, moleküllerin karşılaştırma ile aktif fragmentinin (yada Pha) bulunması için kullanılmıştır.

2.2.4.3.1. Boltzman Dağılımı

Boltzmann dağılımı, farklı enerjiye sahip hallerin populasyonlarını hesaplamak için ortaya atılan bir formüldür. Populasyon dağılımları enerjiyle sıcaklığın bir fonksiyonudur. E_i ve E_j hallerindeki herbir bileşiğe ait konformeri sayıları oranı $N_i/N_j=e^-$

$^{(E_i-E_j)/kT}$ şeklinde ifade edilmiştir. Bu ifade enerji hallerinin populasyonuna işaret eder [48].

Çalışmamızda boltzman dağılımını dikkate alarak düşük enerjiye sahip konformerleri seçtik ve diğerlerini sildik. Boltzmann dağılımlarının yüksek olması, oda sıcaklığında molekülün düşük enerjiye sahip yapılarının var olma olasılıklarının yüksek oluğunu gösterir. Aşağıdaki tablodan da anlaşılacağı üzere boltzman değeri yükseldikçe relatif enerji değerlerinde düşüş olmaktadır. Benzotiyenopirimidin serisinden 61. bileşiğin 24 konformeri ve 69. bileşiğin 26 konformeri için relatif enerji ve bu değerlere karşılık gelen boltzman değerleri sırasıyla Tablo 2.2 ve 2.3'te verilmiştir.

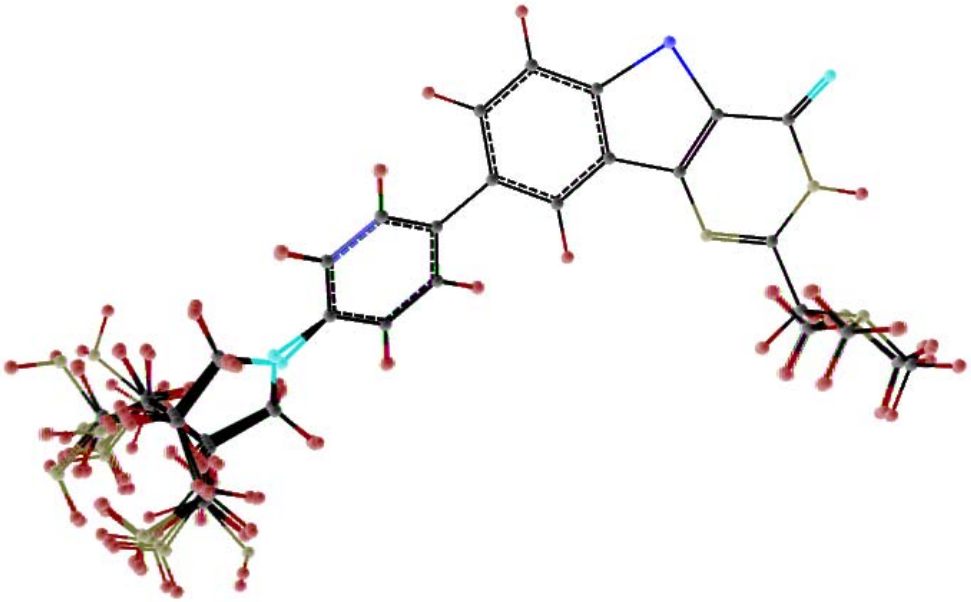
Tablo 2.2. Benzotiyenopirimidin serisinden 61. bileşiğin 24 konformeri için bağıl enerji ve boltzmann değerleri

Konformer	**rel. E (kcal/mol)**	**Boltzmann Dağılımı**
h61_1	0	0.1085
h61_2	0.02	0.1052
h61_3	0.05	0.0995
h61_4	0.06	0.0978
h61_5	0.07	0.0969
h61_6	0.07	0.0959
h61_7	0.16	0.0826
h61_8	0.73	0.0318
h61_9	0.77	0.0298
h61_10	0.82	0.027
h61_11	0.84	0.0264
h61_12	0.84	0.0261
h61_13	0.85	0.0257
h61_14	0.85	0.0257
h61_15	0.87	0.0251
h61_16	0.93	0.0228
h61_17	1.17	0.015
h61_18	1.3	0.0122
h61_19	1.35	0.011
h61_20	1.39	0.0104
h61_21	1.48	0.009
h61_22	1.58	0.0075
h61_23	1.92	0.0043
h61_24	1.98	0.0038

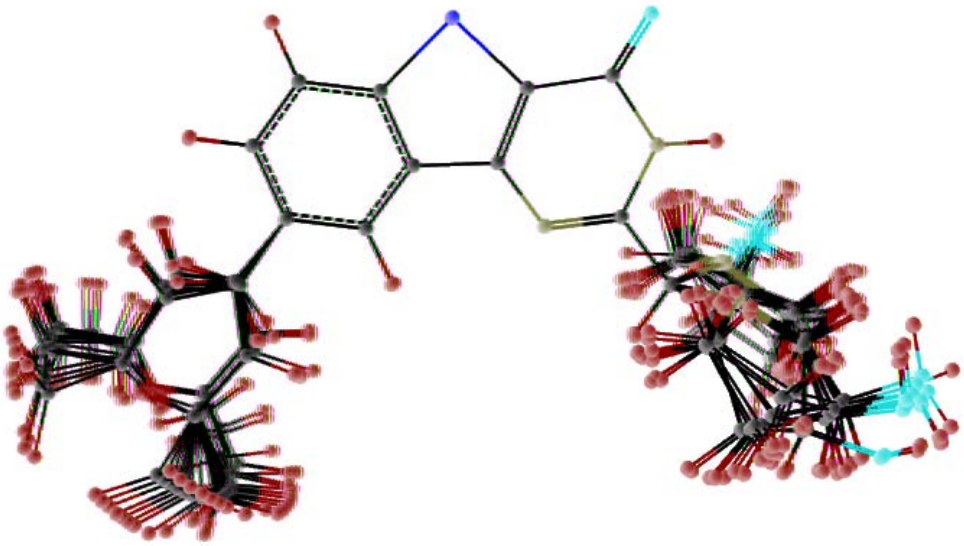
Tablo 2.3. Benzotiyenopirimidin serisinden 69. bileşiğin 26 konformeri için bağıl enerji ve boltzmann değerleri

Konformer	rel. E (kcal/mol)	Boltzmann Dağılımı
h69_1	0	0.2032
h69_2	0.31	0.1207
h69_3	0.69	0.0635
h69_4	0.71	0.0618
h69_5	0.72	0.06
h69_6	0.73	0.059
h69_7	0.78	0.0548
h69_8	0.95	0.0411
h69_9	0.99	0.0385
h69_10	1.09	0.0323
h69_11	1.11	0.031
h69_12	1.13	0.0302
h69_13	1.31	0.0223
h69_14	1.33	0.0217
h69_15	1.34	0.0212
h69_16	1.4	0.0191
h69_17	1.48	0.0167
h69_18	1.55	0.0148
h69_19	1.57	0.0142
h69_20	1.61	0.0134
h69_21	1.72	0.0111
h69_22	1.73	0.0109
h69_23	1.76	0.0104
h69_24	1.79	0.0099
h69_25	1.79	0.0098
h69_26	1.90	0.0082

Konfomerlerin eliminasyonunda boltzmann dağılımı dikkate alınmıştır ve virgülden sonraki dördüncü hanesi sıfır olanlar silinmiştir. Aktivite fonksiyonu üstel bir fonksiyondur. Bu sebeple boltzman değerleri azaldıkça aktiviteye olan katkısı da azalmaktadır. Kalan konfomerler kendi aralarında çakıştırmaya tabi tutulmuştur. Birbirinin aynısı olanlar veya çok yakın enerjiye sahip birden çok konformeri var ise yüksek enerjiye sahip olan konformer elimine edilmiştir. Serideki her bileşiğin ayrı ayrı birçok konformeri vardır. Konformer sayılarının fazlalığı ve burada hepsini tek tek göstermek yer kaplayacağı ve gereksiz olacağından sadece benzotiyenopirimidin serisine ait 61. ve 69. bileşikleri için şekil 2.2-2.3'te konformerlerinin üst üste çakıştırılma işlemi gösterilmiştir. Burada 61. bileşik, Pim-1 için aktivitesi en yüksek bileşiktir. Pim-2 için ise, aktivitesi en yüksek olan bileşik 69. bileşiktir.



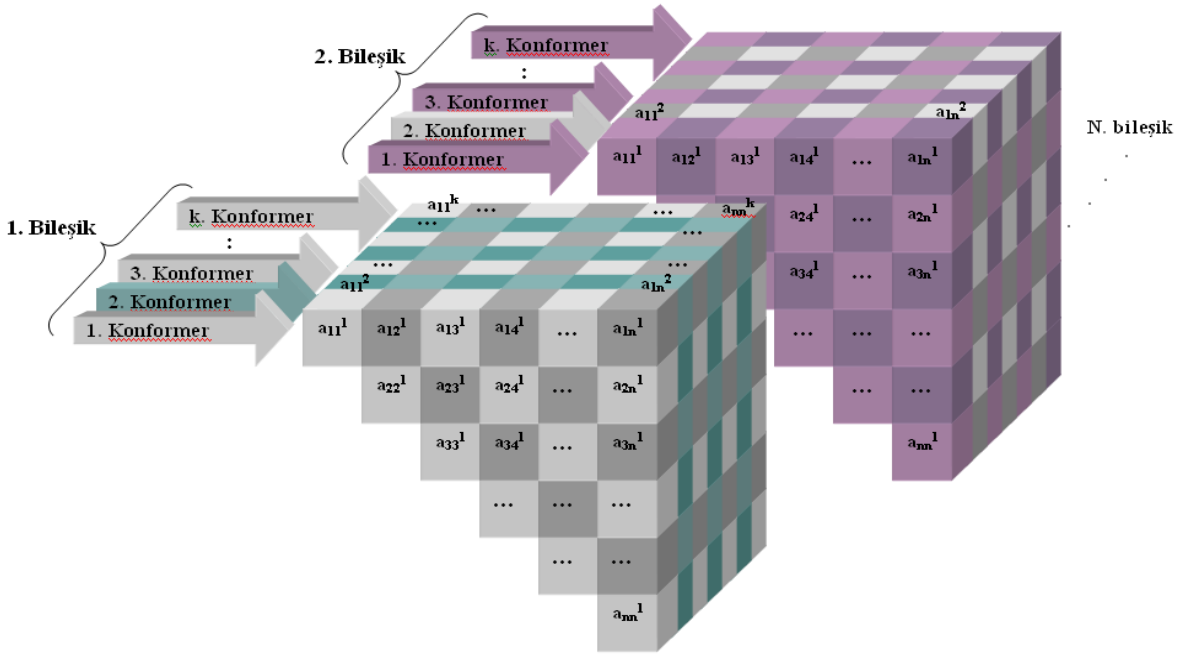
Şekil 2.2. Benzotiyenopirimidin serisinden h61 bileşiğine ait 24 konformerin üst üste çakıştırılması



Şekil 2.3. Benzotiyenopirimidin serisinden h69 bileşiğine ait 26 konformerin üst üste çakıştırılması

2.2.4.4. Adım 3: ECMC'lerin Oluşturulması

Biyoaktivitesi en yüksek olan bileşiğin en düşük enerjili konformeri referans olarak seçilir. Referans bileşiğin fonksiyonel atomlarına göre serideki bileşiklerin her bir konformeri için ECMC matrisleri hazırlanmıştır. ECMC, köşegen elemanları baz alındığında simetriktir ve karedir. Yalnızca matrisin yukarı kısmı olan üçgen matris kullanılır. Matristeki köşegen elemanlar, molekülün atomlarının birçok özelliğini temsil eder. Bu özellikler molekülün atomlarına ait atom yükü, polarlanabilme vb. çeşitli elektonik özelliklerdir. Matristeki köşegen olmayan elemanları atomlar arasında bağ olup olmamasına göre 2 şekilde sınıflandırabiliriz. Arasında bağ bulunan 2 atom bağ derecesini, bağlı değilse atomlar arası uzaklığı gösterir. Sonuç olarak ECMC, moleküle ait geometrik ve elektronik özellikleri göstermiş olur [27]. ECMC'ler EMRE programı ile hazırlanmıştır. ECMC'nin 3 boyutlu hali aşağıdaki şekilde gösterilmiştir. Herbir matrisi de daha küçük alt birimler oluşturmuştur. Bu alt birimler ise, moleküldeki atomların atomik özelliklerini veya atomların arasındaki özellikleri temsil eder. Matristeki sutun/satır sayıları, molekülde bulunan atomların sayılarına (n) karşılık gelir. Matrislerdeki herbir dikey tabaka ise, molekülün farklı konformerlerine denk gelir. Böylelikle herbir molekül için o molekülün konformeri sayısı miktarınca tabakaya sahip olacaktır. Herbir tabakada molekülün atomlarına ait olan özellikler bulunacaktır [46]. Serimizde yer alan bileşikler için şekildeki gibi matrisler oluşturulmuştur.



Şekil 2.4. Üç boyutlu ECMC'nin gösterimi.

2.2.4.5. Adım 4: ECMC'lerin Karşılaştırılması ve Farmakofor Grup Tanımlama

Çalışmamızın buradaki aşamasında serimizdeki tüm bileşiklerin aktif ve inaktif sınıflandırılması yapılır. Yüksek aktiviteye sahip olanlar aktif, düşük aktiviteye sahip olanlar inaktiftir. Aktif olarak sınıflandırdığımız bileşikler, referans bileşiğe ait diyagonal matris elemanlarının dikkate alınmasıyla belirlenecek tolerans sınırlarında yük değerlerinin aralarındaki benzerlikler karşılaştırılır. Referans bileşiğe ait herbir atoma ait yük, diğer bileşiklerdeki atomlara ait yüklerle karşılaştırması yapılır. Her 2 matristeki diyagonal elemanlarının değerlerindeki farklara bakılır. Tolerans değerini aşmayan matris elemanı tutulmakta ve bu değeri aşanlar ise serbest bırakılmaktadır. Sonuç olarak her 2 matrisin nxn'lik tüm alt matrisleri karşılaştırmaya tabi tutulmaktadır. Tolerans değerlerinde, minumum değerlerden maksimum değerlere kadar belirlediğimiz artış miktarı hesaplar yapılır. Böylece nxn'lik matrislerdeki ortak olan gurupları belirlemiş oluruz. Matrislerin boyutları da bu şekilde küçültmüş olur. Sonraki durumda yalnızca yük testini geçen atomların mesafeleri araştırılacaktır. Yani büyük oranda seçme işlemi de yapılmış olmaktadır. Yükleri arasındaki farkları, tolerans değerinden fazla olan atomların eliminasyonu yapıldığından, testten geçen atomların referans bileşikteki o atoma karşılık gelmeyenlerde çıkarılır. Referansın ilgili atomuna karşılık gelen atom olmadığı halde yalnızca başka atomların karşılığı olan atomlar da çıkarılır. Yük testinden geçmiş olan diyagonal matris elamanlarının kesişme noktasında olan non-diyagonal elemanların karşılaştırılması yapılır. Burada mesafe için belirlenen tolerans değerini geçmeyen matris elemanları tutulmakta ve diğerleri elenmektedir. Bu karşılaştırmalar tüm ECMC'ler için yapılmaktadır. Ufak boyutlu çok miktarda alt matris elde edilir. Çakıştırmaların sonunda bulunan alt matrislerden en iyisini seçmek gerekir. Bunun için ise $P\alpha$ ve α_a ifadeleri kullanılmaktadır. Bu ifadeler, farmakoforun bulunma olasılıklarına karşılık gelir. Genelde 0,6'dan fazla olan değerler yeterli kabul edilir [22,49].

$$P_\alpha = (n_1+1)/ (n_1+n_3+2), \quad (2.4)$$

$$\alpha_a = (n_1*n_4-n_2*n_3)/ (N_1*N_2*N_3*N_4)^{1/2}, \quad (2.5)$$

n_1, farmakofora sahip olan n_2, farmakofora sahip olmayan yüksek aktiviteli bileşik sayısını, n_3 ve n_4 ise farmakofora sahip olan ve olmayan düşük aktiviteli bileşik sayısını

göstermektedir. N_1 ve N_2, sırası ile yüksek ve düşük aktiviteli bileşiklerin sayısını gösterirken, $N_3=n_1+n_3$; $N_4=n_2+n_4$ şeklinde ifade edilir.

P_α sadece yüksek aktiviteli bileşiklerle, α_a değeri aktivite özelliği bulunan hem yüksek hem düşük aktiviteli bileşiklerle ilgilidir. P_α ve α_a değerlerinin dikkate alınmasıyla belirlenen elektron konformasyonel alt matris farmakofor gurubunu göstermektedir [45].

Çakıştırılma işleminde moleküllerin en düşük enerjiye sahip konformerileri baz alınmaktadır. Aktivitesi yüksek moleküllerin en düşük enerjiye sahip olan konformerileri ECSA'yı kapsamıyor ise bu durumda ECSA daha yüksek enerjiye sahip konformerilerde taranmaktadır [45].

Aktif olarak sınıflandırılan bileşiklerin inaktiflere oranla tolerans değerleri daha düşük olmaktadır. En iyi ECSA'yı bulmak amacıyla toleransı sınırlamadan tüm bileşiklerin tüm konformerileri için en fazla olan tolerans değerlerini belirlemek gerekir. Sonuçta belirlediğimiz farmokofor grubu yani alt matris molekülün üç boyutlu özelliklerini temsil eder. ECMC'leri kullanarak ECSP programıyla ECSA belirlenmiştir. ECSA farmakofor atomlarını temsil eder.

ECSP isimli programda bileşiklerin hem en düşük enerjiye sahip konformerleriyle hesap yapılabilir hem de bütün konformerileri hesaplamaya dahil edilebilmektedir. İlave olarak hesap yapılırken belli tolerans değerlerinin yüzde bağıl sapma türünden hesabı veya ikisiyle de hesap yapılabilme imkanı mevcuttur. Spartan dosyası içerisindeki atomlara verilen numaraların kullanılmasıyla oluşturulmuş atm olarak isimlendirilen dosyalarda, bileşiklere ait atomların referans bileşiğe göre karşılıklarının gösterimi vardır. Hazırlanan atm dosyaları programın çalışma hızı artmakta çakıştırma işlemi kısa sürede bitmektedir. Tablo 2.4'te serideki bileşiklerin atomlarının kıyaslanarak yazılması ile oluşturulmuş atm dosyasından örnek verilmiştir. Tabloda serimizdeki bileşiklerin temel iskeletindeki atomlarının üst üste çakıştırılmasıyla yazıldığı görülmektedir.

Tablo 2.4. Benzotiyenopirimidin serisi için en basit bileşiğe göre diğer bileşiklerin fonksiyonel grupları ve atomlarının düzenlenmesi yani moleküllerde birbirine karşılık gelen atomlar.

h1	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h2	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h3	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h4	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h5	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h6	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h7	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h8	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h9	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h10	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h11	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h12	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h13	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h14	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h15	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h16	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h17	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h18	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h19	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h20	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h21	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h22	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h23	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h24	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h25	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h26	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h27	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h28	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h29	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h30	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h31	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C7	C8	N2	C10	C11	N1	H2	C9	O1
h32	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h33	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h34	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h35	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h36	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h37	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h38	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h39	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h40	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h41	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h42	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h43	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h44	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h45	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h46	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h47	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h48	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h49	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1

h50	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h51	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h52	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h53	C1	C2	C3	C4	C18	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h54	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h55	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h56	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h57	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h58	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h59	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h60	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h61	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h62	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C17	N1	H7	C7	O1
h63	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C19	N1	H7	C7	O1
h64	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C23	N1	H7	C7	O1
h65	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h66	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C21	N1	H7	C7	O1
h67	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C21	N1	H7	C7	O1
h68	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C22	N1	H7	C7	O1
h69	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C22	N1	H7	C7	O1
h70	C2	C3	C1	C5	C6	C4	S1	C8	C7	N2	C12	C9	N1	H1	C13	O1
h71	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h72	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C11	N1	H7	C7	O1
h73	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C21	N1	H7	C7	O1
h74	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C21	N1	H7	C7	O1
h75	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C22	N1	H7	C7	O1
h76	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N2	C10	C22	N1	H7	C7	O1
h77	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N1	C10	C11	N2	H5	C7	O1
h78	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N1	C10	C11	N2	H5	C7	O1
h79	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N1	C10	C11	N2	H5	C7	O1
h80	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N1	C10	C11	N2	H5	C7	O1
h81	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N1	C10	C11	N2	H5	C7	O1
h82	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N1	C10	C11	N2	H5	C7	O1
h83	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N1	C10	C11	N2	H5	C7	O1
h84	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N1	C10	C11	N2	H5	C7	O1
h85	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N1	C10	C11	N2	H5	C7	O1
h86	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N1	C10	C11	N2	H5	C7	O1
h87	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N1	C10	C11	N2	H5	C7	O1
h88	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N1	C10	C11	N2	H5	C7	O1
h89	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N1	C10	C11	N2	H5	C7	O1
h90	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N1	C10	C11	N2	H5	C7	O1
h91	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N1	C10	C11	N2	H5	C7	O1
h92	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N1	C10	C11	N2	H5	C7	O1
h93	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N1	C10	C11	N2	H5	C7	O1
h94	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N1	C10	C11	N2	H5	C7	O1
h95	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N1	C10	C11	N2	H5	C7	O1
h96	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	C9	C8	N1	C10	C11	N2	H5	C7	O1

Bileşik serimizdeki tüm bileşiklere ait konformerlerin matrislerinin bulunduğu mat. uzantılı dosyaların ECSP programında kullanılmasıyla belirlediğimiz tolerans sınır değerlerinde hesap verilmektedir. Belirtilen gurupların tolerans sınır değerlerinde

taraması yapıldıktan sonra hesaplamaya ait sonuçları analiz ederek istatiksel olarak sonuç verir. Pα ile αa değerlerinin incelenmesiyle farmokoforu temsil edecek alt matrise karar verilmektedir. Pα ile αa değerleri yüksek olan alt matris farmakoforu temsil etmektedir. Çalışmamızda benzotiyenopirimidin türevleri için seçtiğimiz alt matris ve farmakofor atom gurubuna ait sonuçlar 3. bölüm bulgular kısmında verilmiştir.

2.2.4.6. Adım 5: Parametre Hazırlama ve APS/AG Grupları

Aktiviteyi artıran veya azaltan gurupların etkileri temel iskelete bağlı süstitüentlerin etkileri dikkate alınarak araştırılmıştır. AG ile APS guruplarının etkilerini hesaplamaya dahil etmek için S fonksiyonu kullanılır. Bu fonksiyon ise, AG ile APS guruplarını temsilen bazı parametre guruplarına bağlı olmaktadır. Aktivite e'nin üstel bir fonksiyonu olarak S'ye bağlı olarak değişmektedir. Biyoaktivite hesaplama fonksiyonu için hangi $a_{ni}^{(j)}$ parametreleri kullanılacak tesbiti yapılmalıdır. Dolayısıyla serideki bütün bileşikler için parametre havuzu oluşturulur. Sonra parametre seçimi yapılır. Parametreleri hazırlamak amacıyla spartan dosyasında bulunan çıktı bölümünden verileri alarak çok sayıda farklı parametreleri oluşturulması sağlanır. Böylece parametre seçimleri için de uygun duruma getirilmiş olur. Parametrelerin hazırlanması ve aktivite hesabında kullanılmaya hazır hale getirilmesi için grubumuzca geliştirilen Delphi 7.0 programı kullanılarak yazılmış EMRE V2.0 programı kullanılmıştır.

Çalışmamızda kullandığımız parametreler; termodinamik, kuantum kimyasal, elektrostatik ve geometrik olmak üzere 4 sınıfta incelenebilir. Her parametre sınıfına ait hangi parametrelerin hazırlandığı ve bunlardan bazıları Tablo 3.3'te bulgular bölümünde verilmiştir. Parametreler sınıflandırılarak Tablo 2.5'te gösterilmiştir.

Tablo 2.5. Moleküler Parametreler

Parametre Sınıfı	**Moleküler Parametreler**
Termodinamik Parametreler	Titreşim, öteleme ve dönme entalpisi, titreşim, öteleme ve dönme entropisi, eigenvalues, mutlak sıfır noktası enerjisi (ZPE), gibss enerjisi, temel titreşim frekansı, solvatasyon enerjisi, oluşum enerjisi, log P.
Kuantum Kimyasal	HOMO ve LUMO enerjisi, LUMO-HOMO farkı, Fukui

Parametreler	atomik nükleofilik reaktivite indeksi, Fukui atomik elektrofilik reaktivite indeksi, bağ derecesi, yumuşaklık. sertlik, elektronegativite, kimyasal potansiyel.
Elektrostatik Parametreler	Mulliken ve elektrostatik yükler, atomik valens, minimum ve maksimum kısmi atomik yükler, polarlanabilirlik, dipol moment.
Geometrik Parametreler	Moleküler yüzey alanı ve hacim, ovalite, açı, torsiyon açısı, yüzey-doğru açısı, atomlar arası mesafe.

HOMO, LUMO, Elektoron afinitesi (A), İyonizasyon potansiyeli (I), Hardness (η), Kimyasal sertlik, Softness (S), Kimyasal potansiyel (μ), Elektronegatiflik (χ), Elektrofilik indeks (ω), Ovality, Bağ dipol momenti (μ), Mulliken yük, Natural yük, Elektrostatik yük, Polarlanabilirlik, Bağ açısı, Torsiyon açısı, Atomlar arası mesafe ve bağ mesafesi, Bağ derecesi, Dik uzaklık, Log P, Kararlılık İndeksi, Aktivasyon Enerji İndeksi, Fukui Atomik Nükleofilik Reaktivite İndeksi, Fukui Atomik Elektrofilik Reaktivite İndeksi, HBA, HBD, ε_{LUMO}, C_{LUMO} parametreleri de hesaplanmış olup bu parametrelere ait açıklamalar gurubumuz öğrencileri tarafından daha önce yapılan çalışmalarda [7,11,39-47] verilmiştir.

2.2.4.7. Adım 6: Parametre Seçimi ve Aktivite Hesaplanması

Çalıştığımız benzotiyenopirimidin serisinde deneysel biyoaktivite değerleri literatürden alınmıştır [3]. Literatürden aldığımız seriye ilave olarak temel iskelete çeşitli sübstütientler bağlayarak bunlarında aktivite tahminleri yapılmaya çalışılmış ve sonuçlar bulgular bölümünde verilmiştir. Aktivite hesaplamaları eşitlik 2.3'teki denklem kullanılarak yapılmıştır. Hazırladığımız parametrelerden hangilerinin seçileceğine karar vermek zordur. Bundan dolayı çalıştığımız teknikle alakalı gereken modellemeyi yapabilmek için sayısal çözüm yöntemlerine ihtiyaç duyulmuştur. Bu durumu çözmek adına MATLAB 7.0 programı vasıtasıyla yazılan genetik algoritma optimizasyon tekniğini içeren yeni bir kod daha önceki yıllarda çalışma gurubumuz tarafından geliştirilmişti.

Çalışmamız dahilinde genetik algoritma optimizasyon tekniğinin uygulanması amacıyla Matlab yazılımında bulunan lsqnonlin fonksiyonu kullanılmıştır. Bu fonksiyon en küçük kareler metoduna dayanarak lineer olmayan problemleri çözer ve sürekli fonksiyonların minimize edilmesinde kullanılır [32].

Tanımlanan sayıdaki popülasyon, alt parametre setinden rastgele hazırlanır ve parametre havuzundan rastgele seçilen parametrelerle popülasyon sayısı kadar alt parametre seti oluşturulur. Popülâsyonda bulunan her bir alt parametre seti lsqnonlin fonksiyonuna gönderilerek **κ** değerleri bulunur. Matlab programında her alt parametre seti için uygunluk fonksiyonunun değeri hesaplanır ve fonksiyonun aldığı değere göre her bir alt set küçükten büyüğe doğru sıralanır. Kullanıcının belirlediği sayıda en iyi alt parametre seti seçilir (elit count) ve kalan alt setler silinir. Matristen rastgele iki satır (κ seti) seçilir. Bu iki κ seti rastgele noktalardan çaprazlanarak yeni setler oluşturulur. Matrisin kalan kısmının %75'i çaprazlama işlemiyle oluşturulur. Kalan kısmın ise %0.015'i mutasyon olarak isimlendirilen işlemle oluşturulur. Bunun için rastgele seçilen bir alt parametre seti, parametre listesinden seçilen bir parametre ile değiştirilir. Popülâsyonun kalan kısmı ise parametre listesinden rastgele seçilen parametrelerle doldurulur. Bu şekilde yeni popülasyondaki yeni alt parametre setleri için uygunluk değerleri hesaplanır ve aynı işlemler tekrar edilir. Böylece iyi olan alt parametre setleri için κ değerleri tutulur, kötüler elenir. Programda yer alan jenerasyon sayısı, popülasyon sayısı, uygunluk değeri vs. limit değerleri tamamlanınca döngü tamamlanmış olur. PRESS (predicted residual errors sum of squares) uygunluk fonksiyonu olarak kullanılır [20].

$$PRESS_P = \sum_{n=1}^{N} \left| A_n^{den} - A_n^{hes} \right|^2 \qquad (2.6)$$

A_n^{den} : Eğitim setindeki n. bileşiğin deneysel aktivite değeri.

A_n^{hes} : Eğitim setindeki n. bileşiğin hesaplanan aktivite değeri.

N : Eğitim setindeki toplam bileşik sayısı. P : Seçilen parametre sayısı.

2.2.4.8. İstatiksel Analiz

Bir modelin doğrulanması sonuçları açısından tekrarlanabilirliğini belirlemektedir. Yani modelin tahmin gücünü, performansını göstermektedir. Çalışmalarda κ_j adedi (yani alt parametre setindeki parametre sayısı), popülasyon sayısı ve κ_j limitleri değiştirilerek farklı denemelerle farklı sonuçlar bulunur. Bu şekilde alt parametre seti ve bunlara karşılık gelen κ_j değerleri kullanılarak bir model oluşturulur. En yüksek R^2 ve en düşük standart hataya (se) sahip olan model en iyi model olarak kabul edilir ve elde edilen modeller içerisinden seçilir. R^2 değeri 1'e ne kadar yakınsa, standart hata değeri de 0'a ne kadar yakınsa doğruluğun o kadar yüksek olması beklenir. QSAR modellerinin tahmin yeteneklerinin dahili ve harici doğrulama yöntemleriyle test edilmesi gerekir [25-26].

$$R^2 = \left[\frac{\left(\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n} \right)^2}{\left(\sum x^2 - \frac{\left(\sum x\right)^2}{n} \right)\left(\sum y^2 - \frac{\left(\sum y\right)^2}{n} \right)} \right]^2 \qquad (2.7)$$

Burada x hesaplanan aktivite değerleri, y deneysel aktivite değerleri ve n ise veri sayısıdır.

$$se = \sqrt{\frac{1-r^2}{n-2}} \qquad (2.8)$$

2.2.4.8.1. Dahili Doğrulama (Internal Validation)

PRESS, gözlenen aktivite değerleri ile tahmin edilen aktivite değerleri arasındaki farkın kareleri toplamıdır. Model geçerliliğini ölçmek için çapraz doğrulama (leave one out croos validation) yöntemi en çok kullanılan yöntemlerdendir, tüm veriyi kullanmayı sağlar. İncelenen bileşik serisi eğitim ve test seti olarak 2 kısma bölünür. Eğitim setindeki her bir bileşik sırasıyla birer kez dışarıda bırakılarak model kurulur ve bu model dışarıda kalan bileşiğin aktivitesini tahmin etmekte kullanılır. Denklem 2.9'da gösterilmiştir [50-52].

$$q^2 = 1 - \frac{\sum_{n=1}^{N} \left| A_n^{den} - A_n^{hes} \right|^2}{\sum_{n=1}^{N} \left| A_n^{den} - \overline{A}_n^{den} \right|^2} \equiv 1 - \frac{PRESS}{SSY} \qquad (2.9)$$

Burada A_n^{den} deneysel aktivite değerlerini, A_n^{hes} ise LOO-CV metodu ile hesaplanan aktivite değerlerini göstermektedir. Modelin tahmin yeteneğinin bir ölçüsü olarak çapraz doğrulama katsayısı (q^2) eşitlik 2.9 ile hesaplanmaktadır. q^2 değerinin 0.55'den yüksek olduğu QSAR modellerinin kabul edilebilir olup, q^2 değeri 1'e ne kadar yakın ise kurulan modelin tahmin gücünün o kadar yüksek olduğunu gösterir [53].

2.2.4.8.2. Harici Doğrulama (External Validation)

Harici doğrulama, eğitim setinde olmayan bileşiklere yani test seti bileşiklerine uygulanır. Eğitim setindeki bileşikler yardımıyla QSAR modeli kurulur ve modelin tahmin gücünü doğrulamak için test seti bileşiklerine uygulanır. Bu metod QSAR'da modelimizin tahmin yeteneğini ortaya çıkarmada kullanılmaktadır. Harici doğrulamada, q^2 hesaplamak için Schüüremann ve ekibinin kullandığı iki eşitlik (2.10 ve 2.11) vardır [60]. Nicola C. tarafından kullanılan diğer eşitliğimiz ise QSAR yönteminin güvenirliğini artırmak amacı ile Nicola C. tarafından üçüncü bir eşitlik (2.12) kullanılmıştır [50].

Uyum korelasyon katsayısı, istatistiksel bir parametre olup QSAR metodunun harici doğrulamasında bir kriterdir ve en sınırlayıcı kriter olduğu bulunmuştur. Diğer doğrulama kriterleriyle kıyaslandığında uyum korelayon katsayısının iyi bir kararlılığa sahip olduğu ve beklenildiği gibi veri dağılımı arttıkça uyum korelasyon katsayısının azaldığı görülmüştür [50]. Uyum korelasyon katsayısı eğitim, test setindeki bileşikler ve bileşiklerin tamamı için çözülür. Bu çalışmada, q^2_{ext3} (eşitlik 2.12) ve CCC (Uyum Korelasyon Katsayısı) (eşitlik 2.13, 2.14, 2.15) eşitlikleri de üzerinde çalıştığımız serilere uygulanarak model geçerliliği test edilmiştir.

$$q^2_{ext1} = 1 - \frac{\sum_{n=1}^{N_{test}} \left| A^{den}_{n_{test}} - A^{hes}_{n_{test}} \right|^2}{\sum_{n=1}^{N_{test}} \left| A^{den}_{n_{test}} - \overline{A}^{den}_{eğitim} \right|^2} \tag{2.10}$$

$$q^2_{ext2} = 1 - \frac{\sum_{n=1}^{N_{test}} \left| A^{den}_{n_{test}} - A^{hes}_{n_{test}} \right|^2}{\sum_{n=1}^{N_{test}} \left| A^{den}_{n_{test}} - \overline{A}^{den}_{n_{test}} \right|^2} \tag{2.11}$$

$$q^2_{ext3} = 1 - \frac{\left[\sum_{n=1}^{N_{test}} \left| A^{den}_{n_{test}} - A^{hes}_{n_{test}} \right|^2 \right] \Big/ N_{test}}{\left[\sum_{n=1}^{N_{eğitim}} \left| A^{den}_{n_{eğitim}} - A^{den}_{eğitim} \right|^2 \right] \Big/ N_{eğitim}} \tag{2.12}$$

Burada N test bileşiklerinin sayısını, A^{den}_n deneysel aktivite değerlerini, A^{hes}_n hesaplanan aktivite değerlerini, $\overline{A}^{den}_{eğitim}$ eğitim seti için aktivite değerleri ortalaması, $\overline{A}^{den}_{n_{test}}$ test seti için aktivite değerleri ortalamasını göstermektedir.

$$Con1 = \hat{P}_{eğitim} = \frac{2 \sum_{i=1}^{n_{eğitim}} (A^{hes}_i - \overline{A}^{hes})(A^{den}_i - \overline{A}^{den})}{\sum_{i=1}^{n_{eğitim}} (A^{hes}_i - \overline{A}^{hes})^2 + \sum_{i=1}^{n_{eğitim}} (A^{den}_i - \overline{A}^{den})^2 + \boldsymbol{n}_{eğitim} (\overline{A}^{hes} - \overline{A}^{den})^2} \tag{2.13}$$

$$Con2 = \hat{P}_{test} = \frac{2 \sum_{i=1}^{n_{test}} (A^{hes}_i - \overline{A}^{hes})(A^{den}_i - \overline{A}^{den})}{\sum_{i=1}^{n_{test}} (A^{hes}_i - \overline{A}^{hes})^2 + \sum_{i=1}^{n_{test}} (A^{den}_i - \overline{A}^{den})^2 + \boldsymbol{n}_{test} (\overline{A}^{hes} - \overline{A}^{den})^2} \tag{2.14}$$

$$Con3 = \hat{P}_{hepsi} = \frac{2\sum_{i=1}^{n_{hepsi}} (A_i^{hes} - \overline{A}^{hes})(A_i^{den} - \overline{A}^{den})}{\sum_{i=1}^{n_{hepsi}} (A_i^{hes} - \overline{A}^{hes})^2 + \sum_{i=1}^{n_{hepsi}} (A_i^{den} - \overline{A}^{den})^2 + \boldsymbol{n}_{hepsi}(\overline{A}^{hes} - \overline{A}^{den})^2} \quad (2.15)$$

Yukarıdaki formüllerde CCC: Concordance Correlation Coefficient (Uyum Korelasyon Katsayısı), $n_{\text{eğitim}}$: eğitim bileşikleri sayısını, n_{test}: test bileşikleri sayısını, n_{hepsi}: bütün bileşiklerin sayısını, A_i^{den} : Deneysel aktivite değerlerini, A_i^{hes} : Hesaplanan aktivite değerlerini, $\overline{A}^{hes}$: Hesaplanan aktivite değerleri ortalamasını, $\overline{A}^{den}$: Deneysel aktivite değerleri ortalamasını göstermektedir.

Elde edilen modeller, istatistiksel analiz sonucu elde edilen R^2, q^2, q^2_{ext1}, q^2_{ext2}, q^2_{ext3} ve con1, con2, con3 değerlerine göre değerlendirilerek en iyi alt parametre seti ve model belirlenir. En iyi alt parametre seti ve bunlara karşılık gelen κ_j değerleri kullanılarak aktivitesi bilinmeyen bileşiklerin aktivitesi eşitlik 2.3 kullanılarak hesaplanır.

Genetik algoritma ile en iyi model, dolayısıyla da bu modeli oluşturan en iyi parametreler belirlendikten sonra, alt parametre setindeki parametrelerden hangisinin biyolojik aktiviteye katkısının daha fazla olduğunu tahmin etmek için E-istatistik tekniği kullanılır [54-55].

Alt parametre setindeki her bir parametre sırasıyla ihmal edilip kalan parametrelerle model oluşturulur. İhmal ettiğimiz parametrenin sonucu ne kadar etkilediği oluşturulan modelin yorumlanmasıyla ortaya çıkacaktır. E değeri aşağıda belirtilen formülle hesaplanır. E değeri artarsa, bu parametrenin az katkı verdiği anlamına gelir [46].

$$E = \frac{PRESS_P}{PRESS_{P-1}} \quad (2.16)$$

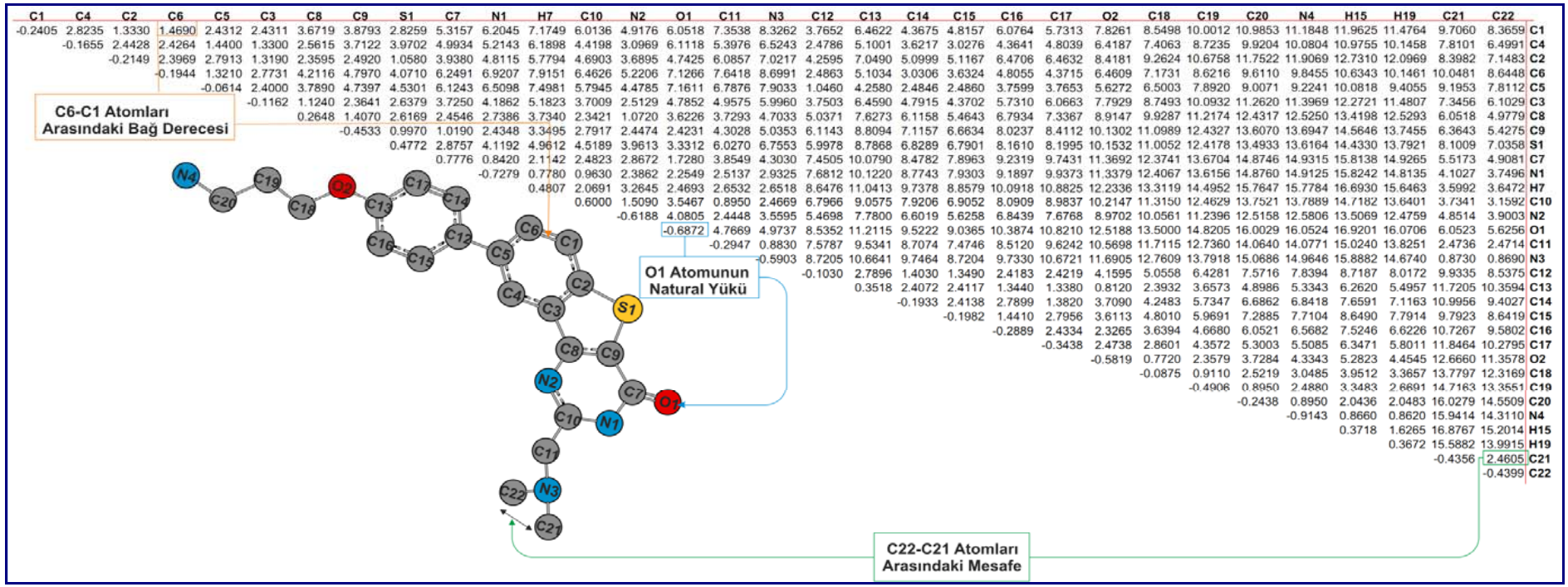
Bir parametrenin modelle ilişkisi fazlaysa o parametreyi ihmal etmek modelin performansını düşürecektir.

3. BÖLÜM

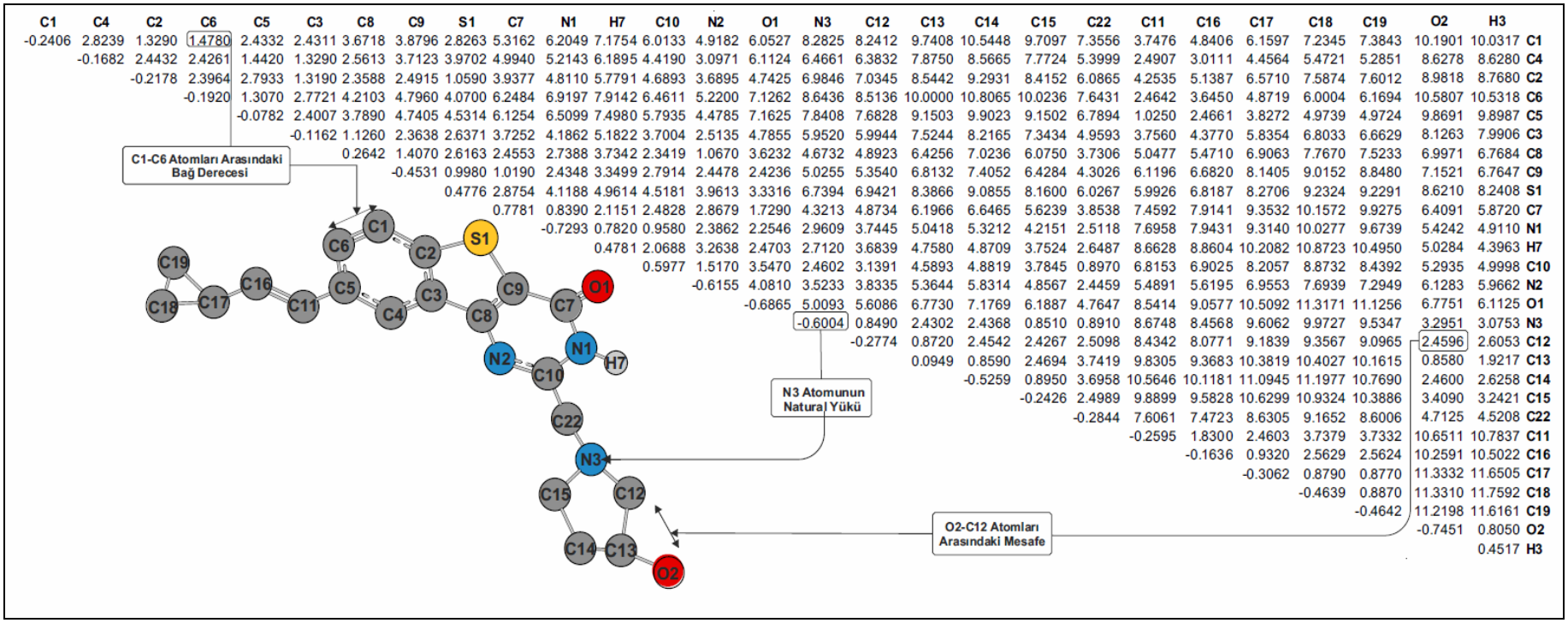
BULGULAR

3.1. ECMC Matrislerinin Hazırlanması ve Farmakofor Bulunması

Çalışmamızda *.txt dosyalarında bulunan bilgilerin içerisinden atomlara ait yükler, kartezyen koordinatları, bağ dereceleri ve atomlar arası mesafeler ile moleküle ait enerjiler kullanılarak 2. bölümde açıklandığı gibi ECMC'ler oluşturulmuştur [56]. ECMC, moleküle ait geometrik ve elektronik özellikleri göstermektedir. Aşağıdaki gösterilen şekillerde, oluşturulan ECMC'lerden iki örnek gösterilmiştir. Şekil 3.1 ve 3.2'de benzotiyenopirimidin serisinde 61. ve 69. bileşiğe ait konformerler için oluşturulmuş ECMC'ler gösterilmiştir. Konformerlerin değişmesiyle matrisler de değişmektedir. Karbon atomuna bağlı hidrojen atomlarının reseptörle etkileşiminde fazlaca bir etkisi olmadığından matriste dikkate alınmamıştır [26,56].



Şekil 3.1. Benzotiyenopirimidin serisinde 61. bileşiğinin 1. konformerine ait ECMC.



Şekil 3.2. Benzotiyenopirimidin serisinde 69. bileşiğinin 1. konformerine ait ECMC.

Şekil 3.1-3.2'de benzotiyenopirimidin serisinde yer alan 61 ve 69 nolu bileşiklerin 1. konformerleri için matrisler verilmiştir. Şekil 3.1'de 61. bileşikteki O1 atomuna ait natural yük, C6-C1 atomları arasındaki bağ derecesi, C22-C21 atomları arasındaki mesafe şekil üzerinde işaretlenerek gösterilmiştir. O1 atomunun natural yükü -0,6872 değerini göstermektedir. C6-C1 atomları arasındaki bağ derecesi 1,4690 değerini gösterirken, C22-C21 atomları arasındaki mesafe ise 2,4605 değerini göstermektedir. Şekil 3.2'de ise 69. Bileşikteki N3 atomuna ait natural yük, C1-C6 atomları arasındaki bağ derecesi, O2-C12 atomları arasındaki mesafe şekil üzerinde işaretlenerek gösterilmiştir. N3 atomunun natural yükü -0,6004 değerini göstermektedir. C1-C6 atomları arasındaki bağ derecesi 1,4780 değerini gösterirken, O2-C12 atomları arasındaki mesafe ise 2,4596 değerini göstermektedir. Konformerleri oluşturan atomların farklı yönlenmeleri sebebiyle, her iki matrisin sayısal değerlerindeki farklılıklar atomlar arası mesafede daha belirgin olarak gözlenmektedir.

Biyoaktivite denkleminde konformerlerin katkıları Boltzmann dağılımlarına göre verilmektedir. Boltzmann dağılımlarının yüksek olması, oda sıcaklığında molekülün düşük enerjiye sahip yapılarının var olma olasılıklarının yüksek oluğunu gösterir. Ligand temelli QSAR çalışmalarında reseptör ile ligandın etkileşmesi dikkate alınmamaktadır. Çünkü aktif hale gelmiş bir reseptörün yapısını bilmek çok zordur. Düşük enerjiye sahip olan konformerlerin biyoaktiviteye katkıları yüksek enerjiye sahip konformerlere kıyasla daha fazladır. Yani düşük enerjiye sahip olan konformerin biyoalıcı ile daha iyi etkileşmesi beklenir.

Kuantum kimyasal hesaplamalar neticesinde molekülün sahip olduğu özelliklerin ve bilgisayarda elde edilen output dosyalarından matrislerin hazırlanması için EMRE V2.0 veya ECSP programı kullanılmıştır. Bu programlar Spartan 02 ve Spartan 08 programı ile elde edilen oldukça karışık çıktı dosyalarını düzenli birer matris dosyası haline dönüştürür. Bu programın kullanılmasıyla benzotiyenopirimidin serisindeki 96 bileşiğin toplam 856 adet olan konformerlerinin tümü için matrisler oluşturulmuştur. Şekil 3.1 ve 3.2'de görülen matrisler tek konformer için üç boyutlu olarak hazırlanmıştır. Bileşik serilerine ait tüm konformerler için Şekil 2.4'de gösterildiği gibi matris hazırlanmıştır. Her bir konformerin. txt dosyasının büyüklüğü yaklaşık olarak 7.00 – 10.00 MB büyüklükte olup yaklaşık binlerce sayfa olduğundan matrislerin elle hazırlanması

mümkün değildir. EMRE V2.0 programı işimizi oldukça kolaylaştırmıştır. Hazırlanan ECMC matrisleri kullanılarak atomik yükler ve atomlar arası mesafelerin karşılaştırılması ile ECSP programı ile farmokofor grubunu temsil eden alt matris belirlenmiştir. ECSP programı serideki bütün bileşiklerin konformerlerinin matrislerinin yer aldığı .mat uzantılı dosyayı kullanarak verilen tolerans değerleri içerisinde tarama yaparak sonuçların bulunduğu çıktı dizinini oluşturur. Bu çıktı dizininde oluşan dosyalar incelendiğinde, elde edilen hesaplama sonuçları içerisinden analiz yapılarak en uygun olan farmakofor grup belirlenir. ECSP programının kullanılmasıyla benzotiyenopirimidin serisi için aktiviteden sorumlu olan farmakofor gurubu bulunmuştur. Birden fazla alt matris bulunma ihtimali olduğu için farmakoforu temsil eden matrisin (grubun) hangisi olacağına grubun hem düşük tolerans değerine ve aynı zamanda da bileşik serisinin bütün konformerlerin hepsinde o grubun çıkıp çıkmamasına bakılarak karar verilir. Buna göre çıkan guruplar tekrar analiz edilerek en uygun grup bulunmaya çalışılır ve bulunan bu alt matris farmakofor grubu olarak tanımlanır [42].

Üzerinde çalıştığımız benzotiyenopirimidin bileşik serisine ait 96 adet bileşik ve bunlara ait toplam 856 konformer bulunmaktadır. Farmakofor gurubunun belirlenmesinde Pim-1 için biyoaktivite değeri en yüksek olan 61 nolu bileşik, Pim-2 için ise 69 nolu bileşik referans alınmıştır. Serideki bütün bileşikler referans bileşiğe göre belli tolerans değerlerinde karşılaştırılarak çıkan düşük tolerans değerine sahip atom grubu farmakofor atom grubu olarak belirlenmiştir. Pim-1 için farmakofor atomları C1, C5, S1, C7, N1, H7, N2, O1, C11 olarak bulunmuştur. Pim-2 için ise farmakofor atomları C1, C5, S1, C7, N1, H7, N2, O1, C22 olarak bulunmuştur. Tablo 3.1'de Pim-1 için bulunan sonuçlar verilmiştir.

Tablo 3.1. a) 61. bileşiğe (referans) ait alt matris (ECSA).

b) Yüksek aktiviteli bileşiklerin en düşük enerjili konformeri için tolerans değerleri.

c) Düşük aktiviteli bileşiklerin en düşük enerjili konformeri için tolerans değerleri

d) 67 bileşiğin 554 konformeri için tolerans değerleri.

a) 61. bileşiğe (referans) ait alt matris (ECSA)

C1	C5	S1	C7	N1	H7	N2	O1	C11
-0.2134	+2.4312	+2.8259	+5.3157	+6.2045	+7.1749	+4.9176	+6.0518	+7.3538
	-0.0496	+4.5301	+6.1243	+6.5098	+7.4981	+4.4785	+7.1611	+6.7876
		+0.4928	+2.8757	+4.1192	+4.9612	+3.9613	+3.3312	+6.0270
			+0.8792	+0.8420	+2.1142	+2.8672	+1.7280	+3.8549
				-0.9623	+0.7780	+2.3862	+2.2549	+2.5137
					+0.4320	+3.2645	+2.4693	+2.6532
						-0.8090	+4.0805	+2.4448
							-0.6796	+4.7669
								-0.2300

b) Yüksek aktiviteli bileşiklerin en düşük enerjili konformeri için tolerans değerleri.

C1	C5	S1	C7	N1	H7	N2	O1	C11
±0.0126	±0.0397	±0.0041	±0.0027	±0.0062	±0.0051	±0.0103	±0.0012	±0.0100
	±0.4091	±0.0560	±0.0421	±0.0332	±0.0320	±0.0211	±0.0469	±0.0178
		±0.0176	±0.0011	±0.0013	±0.0014	±0.0008	±0.0009	±0.0043
			±0.0025	±0.0060	±0.0014	±0.0011	±0.0100	±0.0099
				±0.0018	±0.0040	±0.0014	±0.0013	±0.0106
					±0.0021	±0.0016	±0.0039	±0.0191
						±0.0067	±0.0017	±0.0046
							±0.0081	±0.0112
								±0.0489

m_max (maksimum mesafe):±0.0560 h24a
y_max (maksimum yük) :±0.4091 h58a

c) Düşük aktiviteli bileşiklerin en düşük enerjili konformeri için tolerans değerleri

C1	C5	S1	C7	N1	H7	N2	O1	C11
±0.0119	±0.0145	±0.0058	±0.0046	±0.0046	±0.0361	±0.0125	±0.0067	±0.0224
	±0.3299	±0.0224	±0.0203	±0.0173	±0.0158	±0.0119	±0.0194	±0.0529
		±0.0284	±0.0064	±0.0046	±0.0407	±0.0024	±0.0048	±0.0101
			±0.0335	±0.0320	±0.0429	±0.0088	±0.1290	±0.0293
				±0.0490	±0.1500	±0.0033	±0.0034	±0.0389
					±0.0570	±0.0201	±0.0517	±0.0761
						±0.0611	±0.0052	±0.0294
							±0.0266	±0.0389
								±0.3808

m_max:±0.1500 h12a
y_max:±0.3808 h1a

d) 67 bileşiğin 554 konformeri için tolerans değerleri

C1	C5	S1	C7	N1	H7	N2	O1	C11
±0.0132	±0.0397	±0.0058	±0.0046	±0.0085	±0.0361	±0.0125	±0.0059	±0.0403
	±0.4100	±0.0561	±0.0421	±0.0374	±0.0352	±0.0216	±0.0469	±0.0533
		±0.0317	±0.0064	±0.0089	±0.0407	±0.0024	±0.0059	±0.0167
			±0.0355	±0.0370	±0.0429	±0.0088	±0.1290	±0.0304
				±0.0490	±0.1500	±0.0078	±0.0034	±0.0395
					±0.0570	±0.0201	±0.0517	±0.0771
						±0.0611	±0.0053	±0.0407
							±0.0266	±0.0400
								±0.3808

m_max:±0.1500 h12a
y_max:±0.4100 h58e

Tablo 3.2'de Pim-2 için sonuçlar verilmiştir.

Tablo 3.2. a) 69. bileşiğe (referans) ait alt matris (ECSA) .

b) Yüksek aktiviteli bileşiklerin en düşük enerjili konformeri için tolerans değerleri.

c) Düşük aktiviteli bileşiklerin en düşük enerjili konformeri için tolerans değerleri

d) 67 bileşiğin 554 konformeri için tolerans değerleri.

a) 69. bileşiğe (referans) ait alt matris (ECSA)

C1	C5	S1	C7	N1	H7	N2	O1	C22
-0.2406	+2.4332	+2.8263	+5.3162	+6.2049	+7.1754	+4.9182	+6.0527	+7.3556
	-0.0782	+4.5314	+6.1254	+6.5099	+7.4980	+4.4785	+7.1625	+6.7894
		+0.4776	+2.8754	+4.1188	+4.9614	+3.9613	+3.3316	+6.0267
			+0.7781	+0.8390	+2.1151	+2.8679	+1.7290	+3.8538
				-0.7293	+0.7820	+2.3862	+2.2546	+2.5118
					+0.4781	+3.2638	+2.4703	+2.6487
						-0.6155	+4.0810	+2.4459
							-0.6865	+4.7647
								-0.2844

b) Yüksek aktiviteli bileşiklerin en düşük enerjili konformeri için tolerans değerleri

C1	C5	S1	C7	N1	H7	N2	O1	C22
±0.0222	±0.0417	±0.0044	±0.0032	±0.0050	±0.0046	±0.0096	±0.0045	±0.0082
	±0.2941	±0.0573	±0.0430	±0.0333	±0.0315	±0.0211	±0.0478	±0.0182
		±0.0235	±0.0014	±0.0042	±0.0048	±0.0010	±0.0022	±0.0043
			±0.0194	±0.0330	±0.0077	±0.0095	±0.1300	±0.0070
				±0.0031	±0.0430	±0.0028	±0.0037	±0.0213
					±0.0135	±0.0082	±0.0077	±0.0393
						±0.0080	±0.0046	±0.0073
							±0.0286	±0.0159
								±0.0133

m_max:±0.1300 h21a
y_max:±0.2941 h58a

c) Düşük aktiviteli bileşiklerin en düşük enerjili konformeri için tolerans değerleri

C1	C5	S1	C7	N1	H7	N2	O1	C22
±0.0116	±0.0415	±0.0062	±0.0051	±0.0058	±0.0356	±0.0119	±0.0076	±0.0242
	±0.2606	±0.0573	±0.0432	±0.0331	±0.0319	±0.0210	±0.0483	±0.0547
		±0.0164	±0.0061	±0.0035	±0.0405	±0.0024	±0.0052	±0.0098
			±0.0064	±0.0350	±0.0420	±0.0059	±0.0150	±0.0304
				±0.0251	±0.1540	±0.0033	±0.0016	±0.0408
					±0.0232	±0.0208	±0.0507	±0.0806
						±0.0355	±0.0057	±0.0305
							±0.0098	±0.0411
								±0.4535

m_max:±0.1540 h12a
y_max:±0.4535 h1a

d) 67 bileşiğin 554 konformeri için tolerans değerleri

C1	C5	S1	C7	N1	H7	N2	O1	C22
±0.0237	±0.0417	±0.0062	±0.0051	±0.0089	±0.0356	±0.0119	±0.0076	±0.0385
	±0.2952	±0.0574	±0.0432	±0.0375	±0.0351	±0.0216	±0.0483	±0.0551
		±0.0262	±0.0061	±0.0085	±0.0405	±0.0024	±0.0059	±0.0170
			±0.0213	±0.0400	±0.0420	±0.0095	±0.1300	±0.0315
				±0.0251	±0.1540	±0.0078	±0.0037	±0.0414
					±0.0232	±0.0208	±0.0507	±0.0816
						±0.0355	±0.0058	±0.0396
							±0.0286	±0.0422
								±0.4535

m_max:±0.1540 h12a
y_max:±0.4535 h1a

Yukarıdaki matrislerde m_max, mesafe için maksimum tolerans değerini; y_max ise yük için maksimum tolerans değerini belirtmektedir. Literatürdeki çalışmalara göre inaktif moleküllerde tolerans değerin daha büyük olması gerektiği verilmektedir [57]. Bulduğumuz farmakofor sonuçlarında mesafe ve yükün maksimum tolerans değerleri, aktivitesi büyük olan bileşiklerde daha düşük, düşük aktivitelilerde ise daha yüksek olduğu yukarıdaki matrislerde görülmektedir. En düşük enerjili konformerde matris elemanı bulunmaması durumunda daha yüksek enerjili konformerlerde tarama yapılabilir [57].

3.2. Aktivite Hesaplamasında Kullanılan Parametreler

Farmokofor gurubunun belirlenmesi aşamasından sonra biyoaktivite hesaplamaları aşamasına geçilmiştir. Aktivite hesaplamaları için aktiviteyi etkilediği düşünülen 1594 adet parametre benzotiyenopirimidin serisindeki 96 adet bileşik için EMRE V2.0 programında aktivite formülünde (eşitlik 2.3) kullanılabilmesi için uygun formatta hazırlanmıştır. Bileşik ve konformer sayısı arttıkça üstel olarak parametre sayısı da artacağından, benzotiyenopirimidin serisinde bütün konformerler için 1594 adet parametre hazırlanmıştır. Bütün bileşiklerin bütün konformerlerinin parametrelerini vermek çok yer kaplayacağından sadece Pim-1 için referans bileşik olan 61 nolu bileşiğin en düşük enerjili konformeri için parametreler tablo 3.3'te verilmiştir.

Tablo 3.3. Benzotiyenopirimidin serisi için hesaplamalarda kullanılan parametreler.

NO	PARAMETRELER	NO	PARAMETRELER
	Mesafe (Å)		
1	S1 O1	14	C9 C12
2	N1 N2	15	C9 N4
3	N1 S1	16	S1 C11
4	S1 N2	17	S1 C22

5	C7 N2	18	O1 C11
6	S1 C12	19	O1 C22
7	S1 N4	20	N1 C11
8	O1 C12	21	N1 C22
9	O1 N4	22	N2 C11
10	N1 C12	23	N2 C22
11	N1 N4	24	C9 C11
12	N2 C12	25	C9 C22
13	N2 N4	26	N4 C21
	Mesafe + Van der Waals (Å)		
27	S1(S1) O1(O1)	40	C9(C9) C12(C12)
28	N1(H7) N2(N2)	41	C9(C9) N4(H19)
29	N1(H7) S1(S1)	42	S1(S1) C11(C11)
30	S1(S1) N2(N2)	43	S1(S1) C22(H5)
31	C7(O1) N2(N2)	44	O1(O1) C11(C11)
32	S1(S1) C12(C12)	45	O1(O1) C22(H5)
33	S1(S1) N4(H19)	46	N1(H7) C11(C11)
34	O1(O1) C12(C12)	47	N1(H7) C22(H5)
35	O1(O1) N4(H19)	48	N2(N2) C11(C11)
36	N1(H7) C12(C12)	49	N2(N2) C22(H5)
37	N1(H7) N4(H19)	50	C9(C9) C11(C11)
38	N2(N2) C12(C12)	51	C9(C9) C22(H5)
39	N2(N2) N4(H19)	52	N4(N4) C21(H21)
	C1 C5 C8 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å)		
53	S1	59	C10
54	C9	60	H7
55	C2	61	N4
56	O1	62	C12
57	N1	63	C11
58	N2	64	C22
	C1 C5 C8 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı + Van der Waals (Å)		
65	S1(S1)	70	N4(H19)
66	O1(O1)	71	C12(C14)
67	N1(H7)	72	C11(N3)
68	N2(N2)	73	C22(H24)
69	H7(H7)		
	C8 S1 C7 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å)		
74	C1	80	C10
75	C9	81	H7
76	C2	82	N4
77	O1	83	C5
78	N1	84	C11
79	N2	85	C22
	C8 S1 C7 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı + Van der Waals (Å)		
86	C1(H1)	90	H7(H7)
87	O1(O1)	91	N4(H19)
88	N1(H7)	92	C5(C12)
89	N2(N2)	93	C11(N3)
		94	C22(H24)
	S1 C7 N1 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å)		
95	C8	101	C10
96	C9	102	H7
97	C2	103	N4
98	O1	104	C5

99	C3	105	C11
100	N2	106	C22
	S1 C7 N1 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı + Van der Waals (Å)		
107	C8(C8)	112	N4(H19)
108	O1(O1)	113	C5(C12)
109	C3(C3)	114	C11(N3)
110	N2(N2)	115	C22(H24)
111	H7(H7)		
	S1 C7 O1 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å)		
116	C8	122	C10
117	C9	123	H7
118	C2	124	N4
119	N1	125	C5
120	C3	126	C11
121	N2	127	C22
	S1 C7 O1 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı + Van der Waals (Å)		
128	C8(C8)	133	N4(H19)
129	N1(H7)	134	C5(C12)
130	C3(C3)	135	C11(N3)
131	N2(N2)	136	C22(H24)
132	H7(H7)		
	C1 C7 O1 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å)		
137	S1	143	C10
138	C9	144	H7
139	C2	145	N4
140	N1	146	C5
141	C3	147	C11
142	N2	148	C22
	C1 C7 O1 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı + Van der Waals (Å)		
149	S1(S1)	154	N4(H19)
150	N1(H7)	155	C5(C12)
151	C3(C3)	156	C11(N3)
152	N2(N2)	157	C22(H24)
153	H7(H7)		
	O1 C7 N1 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å)		
158	S1	164	C10
159	C9	165	H7
160	C2	166	N4
161	C8	167	C5
162	C3	168	C11
163	N2	169	C22
	O1 C7 N1 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı + Van der Waals (Å)		
170	S1(S1)	175	N4(H19)
171	C8(C8)	176	C5(C12)

172	C3(C3)	177	C11(N3)
173	N2(N2)	178	C22(H24)
174	H7(H7)		
	C7 N1 H7 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å)		
179	S1	185	C10
180	C9	186	C1
181	C2	187	N4
182	O1	188	C12
183	C3	189	C11
184	N2	190	C22
	C7 N1 H7 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı + Van der Waals (Å)		
191	S1(S1)	196	N4(H19)
192	O1(O1)	197	C12(C14)
193	C3(C3)	198	C11(N3)
194	N2(N2)	199	C22(H24)
195	C1(H1)		
	C7 N1 N2 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å)		
200	S1	206	C10
201	C9	207	H7
202	C2	208	N4
203	O1	209	C12
204	C3	210	C11
205	C1	211	C22
	C7 N1 N2 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å) + Van der Waals (Å)		
212	S1(S1)	217	N4(H19)
213	O1(O1)	218	C12(C14)
214	C3(C3)	219	C11(N3)
215	C1(H1)	220	C22(H24)
216	H7(H7)		
	N2 N1 H7 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å)		
221	S1	227	C10
222	C9	228	C7
223	C2	229	N4
224	O1	230	C12
225	C3	231	C11
226	C1	232	C22
	N2 N1 H7 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å) + Van der Waals (Å)		
233	S1(S1)	238	N4(H19)
234	O1(O1)	239	C12(C14)
235	C3(C3)	240	C11(N3)
236	C1(H1)	241	C22(H24)
237	C7(O1)		
	N2 N1 C11 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å)		
242	S1	248	C10

243	C9	249	C7
244	C2	250	N4
245	O1	251	C12
246	C3	252	H7
247	C1	253	C22
	N2 N1 C11 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å) + Van der Waals (Å)		
254	S1(S1)	259	N4(H19)
255	O1(O1)	260	C12(C14)
256	C3(C3)	261	H7(H7)
257	C1(H1)	262	C22(H24)
258	C7(O1)		
	S1 N2 O1 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å)		
263	C7	269	C10
264	C9	270	H7
265	C2	271	N4
266	N1	272	C5
267	C3	273	C11
268	C1	274	C22
	S1 N2 O1 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å) + Van der Waals (Å)		
275	C7(O1)	280	N4(H19)
276	N1(H7)	281	C5(C12)
277	C3(C3)	282	C11(N3)
278	C1(H1)	283	C22(H24)
279	H7(H7)		
	S1 N2 N1 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å)		
284	C8	290	C10
285	C9	291	H7
286	C2	292	N4
287	C7	293	C5
288	C3	294	C11
289	O1	295	C22
	Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å) + Van der Waals (Å)		
296	C8(C8)	301	N4(H19)
297	C7(O1)	302	C5(C12)
298	C3(C3)	303	C11(N3)
299	O1(O1)	304	C22(H24)
300	H7(H7)		
	C1 C8 O1 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å)		
305	S1	311	C10
306	C9	312	H7
307	C2	313	N4
308	C7	314	C5
309	N1	315	C11
310	N2	316	C22
	C1 C8 O1 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å) + Van der Waals (Å)		
317	S1(S1)	322	N4(H19)
318	C7(O1)	323	C5(C12)
319	N1(H7)	324	C11(N3)
320	N2(N2)	325	C22(H24)

321	H7(H7)		
	C1 C8 O1 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å) + Van der Waals (Å)		
317	S1(S1)	322	N4(H19)
318	C7(O1)	323	C5(C12)
319	N1(H7)	324	C11(N3)
320	N2(N2)	325	C22(H24)
321	H7(H7)		
	C1 C8 H7 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å)		
326	S1	332	C10
327	C9	333	O1
328	C2	334	N4
329	C7	335	C5
330	N1	336	C11
331	N2	337	C22
	C1 C8 H7 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å) + Van der Waals (Å)		
338	S1(S1)	343	N4(H19)
339	C7(O1)	344	C5(C12)
340	N1(H7)	345	C11(N3)
341	N2(N2)	346	C22(H24)
342	O1(O1)		
	C1 C8 C11 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å)		
347	S1	353	C10
348	C9	354	H7
349	C2	355	N4
350	O1	356	C12
351	N1	357	C7
352	N2	358	C22
	C1 C8 C11 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å) + Van der Waals (Å)		
359	S1(S1)	364	N4(H19)
360	O1(O1)	365	C12(C14)
361	N1(H7)	366	C7(O1)
362	N2(N2)	367	C22(H24)
363	H7(H7)		
	C1 C5 C4 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å)		
368	S1	374	C10
369	C9	375	H7
370	C2	376	N4
371	O1	377	C12
372	N1	378	C7
373	N2	379	C22
	C1 C5 C4 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å) + Van der Waals (Å)		
380	S1(S1)	385	N4(H19)
381	O1(O1)	386	C12(C14)
382	N1(H7)	387	C7(O1)

383	N2(N2)	388	C22(H24)
384	H7(H7)		

	C4 C8 S1 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å)		
389	C3	395	C10
390	C9	396	H7
391	C2	397	N4
392	O1	398	C12
393	N1	399	C7
394	N2	400	C22
	C4 C8 S1 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å) + Van der Waals (Å)		
401	C3(C3)	406	N4(H19)
402	O1(O1)	407	C12(C14)
403	N1(H7)	408	C7(O1)
404	N2(N2)	409	C22(H24)
405	H7(H7)		
	C4 O1 C7 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å)		
410	S1	416	C10
411	C9	417	H7
412	C2	418	N4
413	C8	419	C12
414	N1	420	C3
415	N2	421	C22
	C4 O1 C7 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å) + Van der Waals (Å)		
422	S1(S1)	427	N4(H19)
423	C8(C8)	428	C12(C14)
424	N1(H7)	429	C3(C3)
425	N2(N2)	430	C22(H24)
426	H7(H7)		
	C4 C8 N2 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å)		
431	S1	437	C10
432	C9	438	H7
433	C2	439	N4
434	O1	440	C12
435	N1	441	C11
436	C7	442	C22
	C4 C8 N2 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å) + Van der Waals (Å)		
443	S1(S1)	448	N4(H19)
444	O1(O1)	449	C12(C14)
445	N1(H7)	450	C11(N3)
446	C7(O1)	451	C22(H24)
447	H7(H7)		
	C4 O1 H7 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å)		
452	S1	458	C10

453	C9	459	N2
454	C2	460	N4
455	C8	461	C12
456	N1	462	C11
457	C7	463	C22
	C4 O1 H7 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å) + Van der Waals (Å)		
464	S1(S1)	469	N4(H19)
465	C8(C8)	470	C12(C14)
466	N1(H7)	471	C11(N3)
467	C7(O1)	472	C22(H24)
468	N2(N2)		
	C4 N1 N2 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å)		
473	S1	479	C10
474	C9	480	H7
475	C2	481	N4
476	O1	482	C12
477	C3	483	C11
478	C1	484	C22
	C4 N1 N2 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å) + Van der Waals (Å)		
485	S1(S1)	490	N4(H19)
486	O1(O1)	491	C12(C14)
487	C3(C3)	492	C11(N3)
488	C1(H1)	493	C22(H24)
489	H7(H7)		
	H7 N1 C11 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å)		
494	S1	500	C10
495	C9	501	C3
496	C2	502	N4
497	O1	503	C12
498	C7	504	C8
499	N2	505	C22
	H7 N1 C11 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å) + Van der Waals (Å)		
506	S1(S1)	511	N4(H19)
507	O1(O1)	512	C12(C14)
508	C7(O1)	513	C8(C8)
509	N2(N2)	514	C22(H24)
510	C3(C3)		
	C11 C7 O1 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å)		
515	S1	521	C10
516	C9	522	H7
517	C2	523	N4
518	C1	524	C12
519	N1	525	C8
520	N2	526	C22

	C11 C7 O1 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å) + Van der Waals (Å)		
527	S1(S1)	532	N4(H19)
528	C1(H1)	533	C12(C14)
529	N1(H7)	534	C8(C8)
530	N2(N2)	535	C22(H24)
531	H7(H7)		
	C11 O1 C8 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å)		
536	S1	542	C10
537	C9	543	H7
538	C2	544	N4
539	C7	545	C12
540	N1	546	C3
541	N2	547	C22
	C11 O1 C8 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å) + Van der Waals (Å)		
548	S1(S1)	553	N4(H19)
549	C7(O1)	554	C12(C14)
550	N1(H7)	555	C3(C3)
551	N2(N2)	556	C22(H24)
552	H7(H7)		
	C11 C1 C4 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å)		
557	S1	563	C10
558	C9	564	H7
559	C2	565	N4
560	C7	566	C12
561	N1	567	C8
562	N2	568	C22
	C11 C1 C4 Düzlemine Yüzey Dik Uzaklığı (Å) + Van der Waals (Å)		
569	S1(S1)	574	N4(H19)
570	C7(O1)	575	C12(C14)
571	N1(H7)	576	C8(C8)
572	N2(N2)	577	C22(H24)
573	H7(H7)		
	Açı (Radyan)		
578	N2 C10 N1	592	N4 C7 C22
579	C11 C10 N1	593	N4 N1 C22
580	C11 C10 N2	594	N4 N2 C22
581	C10 C11 N3	595	C12 C1 N3
582	C12 C5 C4	596	C12 S1 N3
583	C12 C5 C6	597	C12 O1 N3
584	N4 C5 C4	598	C12 N1 N3
585	N4 C5 C6	599	N4 C22 C1
586	C22 C11 O1	600	N4 C22 S1
587	C22 C11 S1	601	N4 C22 O1
588	N3 C11 O1	602	N4 C22 C7

589	N3 C11 S1	603	N4 C22 N1
590	N4 S1 C22	604	N4 C22 N2
591	N4 O1 C22	605	N4 C22 H7
	***Yüzey Doğru Açısı (Radyan)**		
606	C1 C5 C8 (S1 C11)	...	...
...	Çeşitli Yüzey Doğru Açıları	...	...
...	...	...	...
...	...	...	...
...	...	1330	C11 C1 C4 (H15 C21)
	Mulliken Bond Order		
1331	C1 C2	1341	C9 C7
1332	C2 C3	1342	C7 O1
1333	C3 C4	1343	C7 N1
1334	C4 C5	1344	N1 H7
1335	C5 C6	1345	N1 C10
1336	C6 C1	1346	N2 C10
1337	S1 C2	1347	C10 C11
1338	S1 C9	1348	C11 N3
1339	C3 C8	1349	C5 C12
1340	C8 C9	1350	C12 C15
	Lowdin Bond Order		
1351	C1 C2	1361	C9 C7
1352	C2 C3	1362	C7 O1
1353	C3 C4	1363	C7 N1
1354	C4 C5	1364	N1 H7
1355	C5 C6	1365	N1 C10
1356	C6 C1	1366	N2 C10
1357	S1 C2	1367	C10 C11
1358	S1 C9	1368	C11 N3
1359	C3 C8	1369	C5 C12
1360	C8 C9	1370	C12 C15
	Mulliken Yükü (e-)		
1371	S1	1377	C5
1372	N1	1378	C11
1373	O1	1379	C10
1374	C7	1380	C12
1375	N2	1381	C8
1376	C1	1382	C9
	Natural Yük (e-)		
1383	S1	1389	C5
1384	N1	1390	C11
1385	O1	1391	C10
1386	C7	1392	C12
1387	N2	1393	C8

1388	C1	1394	C9
	Elektrostatik Yükü (e-)		
1395	S1	1401	C5
1396	N1	1402	C11
1397	O1	1403	C10
1398	C7	1404	C12
1399	N2	1405	C8
1400	C1	1406	C9
	Mulliken Valens (e-)		
1407	S1	1413	C5
1408	N1	1414	C11
1409	O1	1415	C10
1410	C7	1416	C12
1411	N2	1417	C8
1412	C1	1418	C9
	Lowdin Valens (e-)		
1419	S1	1425	C5
1420	N1	1426	C11
1421	O1	1427	C10
1422	C7	1428	C12
1423	N2	1429	C8
1424	C1	1430	C9
	Elektrofilik Atom Sınır Elektron Yoğunluğu		
1431	S1	1437	C5
1432	N1	1438	C11
1433	O1	1439	C10
1434	C7	1440	C12
1435	N2	1441	C8
1436	C1	1442	C9
	Elektrofilik Atom Sınır Elektron Yoğunluğu İndeksi		
1443	S1	1449	C5
1444	N1	1450	C11
1445	O1	1451	C10
1446	C7	1452	C12
1447	N2	1453	C8
1448	C1	1454	C9
	Nükleofilik Atom Sınır Elektron Yoğunluğu		
1455	S1	1461	C5
1456	N1	1462	C11
1457	O1	1463	C10
1458	C7	1464	C12
1459	N2	1465	C8
1460	C1	1466	C9
	Nükleofilik Atom Sınır Elektron Yoğunluğu İndeksi		

1467	S1	1473	C5
1468	N1	1474	C11
1469	O1	1475	C10
1470	C7	1476	C12
1471	N2	1477	C8
1472	C1	1478	C9
	Fukui Atomik Nükleofilik Reaktivite İndeksi		
1479	S1	1485	C5
1480	N1	1486	C11
1481	O1	1487	C10
1482	C7	1488	C12
1483	N2	1489	C8
1484	C1	1490	C9
	Fukui Atomik Elektrofilik Reaktivite İndeksi		
1491	S1	1497	C5
1492	N1	1498	C11
1493	O1	1499	C10
1494	C7	1500	C12
1495	N2	1501	C8
1496	C1	1502	C9
	Elektrofilik Atom Sınır Elektron Yoğunluğu İndeksi (ev)		
1503	S1	1509	C5
1504	N1	1510	C11
1505	O1	1511	C10
1506	C7	1512	C12
1507	N2	1513	C8
1508	C1	1514	C9
	Nükleofilik Atom Sınır Elektron Yoğunluğu İndeksi (ev)		
1515	S1	1521	C5
1516	N1	1522	C11
1517	O1	1523	C10
1518	C7	1524	C12
1519	N2	1525	C8
1520	C1	1526	C9
	Atomik Nükleofilik Reaktivite İndeksi (ev)		
1527	S1	1533	C5
1528	N1	1534	C11
1529	O1	1535	C10
1530	C7	1536	C12
1531	N2	1537	C8
1532	C1	1538	C9
	Atomik Elektrofilik Reaktivite İndeksi (ev)		
1539	S1	1545	C5

1540	N1	1546	C11
1541	O1	1547	C10
1542	C7	1548	C12
1543	N2	1549	C8
1544	C1	1550	C9
1551	E_{L-H} = Lumo-Homo Farkı	1562	E_{L-H} = Lumo-Homo Farkı
1552	Kararlılık İndeksi	1563	Kararlılık İndeksi
1553	Aktivasyon Enerji İndeksi	1564	Aktivasyon Enerji İndeksi
1554	Hardness	1565	Hardness
1555	Elektronegatiflik İndeksi	1566	Elektronegatiflik İndeksi
1556	Kimyasal Potansiyel	1567	Kimyasal Potansiyel
1557	Softness	1568	Softness
1558	Electrofilik İndeks	1569	Electrofilik İndeks
1559	Homo	1570	Homo
1560	Lumo	1571	Lumo
1561	Nükleofilik İndeks	1572	Nükleofilik İndeks
1573	relE	1576	HBD
1574	E	1577	HBA
1575	PSA	1578	POS
	Torsiyon Açısı (Radyan)		
1579	C11 O1 S1 C12	1587	C22 N2 S1 C12
1580	C11 O1 S1 N4	1588	C22 N2 S1 N4
1581	C11 N2 S1 C12	1589	C22 N1 S1 C12
1582	C11 N2 S1 N4	1590	C22 N1 S1 N4
1583	C11 C7 S1 C12	1591	C22 N2 O1 C12
1584	C11 C7 S1 N4	1592	C22 N2 O1 N4
1585	C22 O1 S1 C12	1593	C22 C7 C1 C12
1586	C22 O1 S1 N4	1594	C22 C7 C1 N4

Tabloda ***** ile işaretlenmiş olan yüzey doğru açısı değerleri 606 ile 1330 numaralı parametreleri kapsamaktadır. Çeşitli yüzeyler ile çeşitli iki atom arasında geçen yüzey doğru açısı değerlerini göstermektedir. Çok yer kapladığından bu aralık tabloda gösterilmemiştir.

Benzotiyenopirimidin bileşik serimizde 96 adet bileşiğimiz bulunmaktadır. Bu bileşiklerimizin her bir konformeri için belirlenen değişkenler hazırlandıktan sonra Matlab 7.04 paket programında yazılan kod ile eşitlik 2.3'deki formüle göre aktivite hesaplamaları yapılmıştır. Bileşiklerin literatürde Pim-1 ve Pim-2 için inhibisyon değerleri (K_i) nanomolar cinsinden verilmiştir [3]. Bu değerler molar birimine dönüştürülerek eksi logaritması ($-\log K_i$) alınarak hesaplamalarda kullanılmıştır. Pim-1 ve Pim-2 inhibisyon değerleri biyolojik veya biyokimyasal fonksiyonların engellenmesinde bir bileşiğin etkinliğinin bir ölçümü olarak tarif edilmektedir.

3.3. Benzotiyenopirimidin Bileşik Serisinin Aktivite Hesaplamaları

Serimizde yer alan bileşikler için hazırladığımız 1594 parametrenin içinden biyoaktivite üzerinde en fazla etkili olan parametreleri seçmek için genetik algoritma optimizasyon tekniği kullanılmıştır. En iyi parametreler ve bu parametrelere ait k_j değerleri hesaplandıktan sonra aktivite hesaplamaları eşitlik 2.3 kullanılarak yapılmıştır. Kullanılan bu denklem lineer olmadığı için bu denklemin çözümü lsqnonlin fonksiyonu ile gerçekleştirilmiştir. Benzotiyenopirimidin serisi için yapılan hesaplamalar ilerleyen sayfalarda açıklanmıştır. Aktivite hesaplamalarında kullanılan parametre sayısının az, R^2 değerinin maksimum, standart hata değerinin minimum ve q^2 değerinin maksimum olduğu durum en uygun durumdur. Bu nedenle çalışmamızda en yüksek R^2, en düşük standart hata ve q^2 değerlerinin maksimum olduğu sonuçlar hem kimyasal açıdan hem de istatistiksel açıdan en uygun sonuçlar olduğuna karar verilmiştir. Taramalar sonucunda parametre sayısı arttıkça R^2 ve q^2 değerlerinde bir artış olduğu gözlenmektedir. Ayrıca benzotiyenopirimidin serisinde oluşturulan modelin etkinliğini arttırmak ve modelin performansını ölçmek için 3 farklı bileşik setinde hesaplamalar yapılarak modelleme geliştirilmiştir. Bu hesaplamalara ilişkin sonuçlar ilerleyen sayfalarda verilmiştir.

3.3.1. Benzotiyenopirimidin Serisinin Eğitim ve Test Seti Olarak Hesaplanması

Geliştirilen bir modelde en önemli etken verilerin eğitim ve test seti şeklinde ikiye ayrılmasıdır. Nedeni genetik algoritmada en iyi parametrelerin yani kappa değerlerinin ve regresyon katsayılarının belirlenebilmesi, geliştirilen optimizasyon modelinin biyolojik aktivite hesaplamalarında deneye ihtiyaç duyulmadan aktivitesi bilinmeyen bileşiklerin aktivite hesaplamalarını tahmin edebilmesi ve ayrıca modelin performansını ölçmektir. Aktivite değerlerinin sınıflandırılması ya da tahmin edilebilmesinde modelin oluşturulması için kullanılan veri setinin bir kısmı eğitim seti olarak tarif edilir. Eğitim seti farklı modelleri değerlendirmek için kullanılan test seti ile bağlantılı olarak kullanılır. Eğitim ve test seti için bileşik sayıları belirlendikten sonra yazılan matlab kodlarıyla bu bileşikler rastgele seçilerek hesaplamalar başlatılmıştır. Hazırlanan parametreler arasından aktivite üzerine en çok etki eden parametrelerin seçimi genetik algoritma optimizasyon tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir. En iyi parametrelerin ve bu parametreler karşılık gelen kappa değerlerinin bulunmasıyla işleme başlanmıştır.

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 (ortalama 2000) iterasyon yapılır. Uygun kappa değerlerine, regresyon katsayısının maksimum ve standart hatanın minimum olduğunda ulaşılmış olur. 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. Eğitim seti için bulunan moleküler parametreler ve kappa değerleri değiştirilmeden aynı aktivite formülü (eşitlik 2.3) kullanılarak test seti için yeni hesaplamalar yapılır. Test seti için de regresyon katsayısı ve q^2 nin maksimum olduğu hesaplama sonucu en iyi değerdir. Bu şekilde eğitim setinin uygunluğu test edilmiş olur. Elde edilen çıktıların doğruluk değerleri setin öğrenmesi hakkında bilgiler verir [42]. Geçerliliği en iyi olan modeli belirleyebilmek, modelin performansını ölçmek ve sonuçların doğruluğunu test etmek için 3 ayrı hesaplama seti ile çalışılmıştır. Bileşik serimizde 96 adet bileşiğimiz mevcuttur. Bu bileşiklerden 67 tanesinin deneysel aktivitesi bilinmektedir. 29 bileşiğin ise, temel iskelete çeşitli sübsütientler ekleyerek çizimini yaptık ve aktivitelerini tahmin etmeye çalıştık. Bunlar içinde kiral bileşikler de mevcuttur. Aktivite tahminleri için 3 farklı model kullanılmıştır. Model 1'de bileşikler 50 eğitim 17 test olarak, model 2'de ise 45 eğitim 22 test olarak bölünerek hesap yapılmıştır. Model 3'te ise 67 bileşik eğitim olarak alınmış ve bölmeden hesap verilmiştir. Pim-1 ve Pim-2 için bu hesaplar ayrı ayrı yapılmıştır. Aşağıdaki tablolarda sırasıyla Pim-1 ve Pim-2 için bu modellere ait bulunan sonuçlar verilmiştir.

Tablo 3.4. Pim-1 için deneysel aktivite değerleri ve hesaplanan aktivite değerleri.

		Pim1-$A_{hesaplanan}$		
Bileşik No	Pim1-$A_{deneysel}$	Model 1	Model 2	Model 3
1[a,b]	6,4461	5,4898	6,8400	6,4464
2	7,8539	7,5425	7,8464	7,9210
3[b]	7,9208	7,1862	6,5077	7,2842
4[b]	7,9586	7,9405	7,9224	7,8831
5	6,4789	7,2636	7,0571	7,4606
6[d]		7,9245	8,0451	7,2147
7	8,0458	7,5081	7,8528	7,6997

8[d]		10,5231	10,6505	9,7403
9	7,3768	7,5688	7,1972	7,2994
10[a]	7,1487	7,1129	7,4749	7,2649
11[b]	7,7696	7,6658	6,3822	7,5572
12[a]	7,9586	8,3501	8,0299	8,1137
13	7,3565	7,4386	7,5990	7,2598
14	7,0362	6,9128	7,5079	7,3553
15[a]	9,0458	7,0102	7,9113	8,5088
16	6,9706	7,3611	7,2389	6,8654
17[a]	7,0362	6,7869	7,1213	7,0405
18	7,1805	7,1567	7,4172	7,6608
19	7,4202	7,3012	7,2373	7,2177
20	7,7447	7,5884	6,9489	7,4277
21[a]	7,3098	6,7430	7,2478	7,5821
22[b]	7,7959	7,6791	7,7017	7,5157
23[a,b]	7,8539	7,7920	8,5969	7,9270
24[a]	8,3010	7,0069	7,9012	8,3978
25	6,5287	6,5447	6,5337	6,6799
26	7,4949	7,1560	7,4714	7,5866
27[a]	7,9586	6,7094	7,7277	7,3818
28[b]	7,4437	7,3055	7,0650	7,3166
29[b]	7,6990	7,4944	7,1636	7,6348
30	8,0458	7,8011	7,9629	8,0057
31	9,0000	8,6996	8,2404	9,4978
32[b]	8,3010	8,0293	8,7895	8,1499
33[b]	7,3979	8,2823	8,2660	8,2503
34	8,5229	8,6617	8,8291	8,6693
35	8,3979	8,0774	8,1988	8,2538
36[a,b]	7,1871	7,7533	7,5839	7,9501
37	8,2218	8,2912	8,1295	8,3895
38	8,5229	8,4247	8,2543	8,4671
39	8,3010	8,5064	8,3501	8,3855
40[a]	9,0000	8,3851	8,8001	8,2805
41[a]	7,8539	7,7616	8,3316	8,1486
42[b]	8,3010	8,3546	8,0915	8,7203
43[a,b]	8,3010	8,7454	8,7789	8,6645
44	8,6990	8,5419	8,7739	8,5775
45	8,6990	8,8095	9,2176	8,9914
46[a]	7,9208	8,2862	8,1257	8,2480
47	9,0000	8,8505	8,8875	8,5540
48[b]	8,3979	8,1245	8,2724	8,0892
49	8,0969	8,4209	8,1431	8,3304

50	8,5229	8,3574	8,1616	8,2558
51[b]	8,3979	8,1036	8,1206	8,1735
52	8,3979	8,2277	8,2921	8,4145
53	8,0969	8,2800	8,4396	7,7687
54	8,0969	8,4199	8,4412	8,4226
55	7,9586	7,7760	7,9046	7,4158
56[b]	8,6990	8,2945	8,3548	8,3324
57[b]	7,5376	8,5416	8,5798	8,3528
58	8,3979	8,5140	8,2164	8,3958
59[b]	6,5670	7,1985	8,3129	6,5492
60[d]		9,3811	9,5035	8,7001
61	9,2218	9,2218	9,2218	9,2218
62[a,b]	9,0969	7,2150	8,0882	8,5580
63[b]	8,6990	8,7864	9,7322	8,7360
64[a]	8,6990	8,4073	8,9498	8,4125
65[b]	8,3010	8,2642	8,3819	7,8185
66[d]		8,4546	8,6302	8,0062
67[d]		9,0269	9,6067	8,5882
68[d]		9,3162	9,2116	7,9660
69	9,0969	8,7194	8,9319	8,5529
70	7,3665	7,3829	7,5058	7,5938
71[d]		7,9026	7,8595	7,0992
72[d]		12,6311	10,5304	11,2665
73	8,5229	15,0318	15,0460	14,7967
74	9,1549	16,3311	16,2106	15,1447
75[a,b]	8,3979	16,5593	16,1025	15,1336
76[d]		12,8324	10,4068	10,2870
77[d]		6,3138	6,1468	6,1238
78[d]		6,8840	6,2706	6,5076
79[d]		6,6129	5,5857	6,3580
80[d]		6,6671	5,3208	5,6864
81[d]		5,7753	5,9929	6,0619
82[d]		6,5118	6,1130	6,5114
83[d]		8,9102	13,8576	6,9806
84[d]		7,4195	9,2964	6,5851
85[d]		8,7149	8,6394	6,2840
86[d]		6,2538	5,3808	6,3246
87[d]		6,4007	13,0224	6,6308
88[d]		7,1974	7,9383	7,7584
89[d]		7,3440	7,3161	7,3513
90[d]		8,5522	10,0764	7,9644

91[d]		7,9798	8,1410	7,4803
92[d]		7,8981	8,1440	7,7260
93[d]		9,5689	9,7517	9,9771
94[d]		8,6666	8,8504	8,5342
95[d]		8,4295	8,6856	8,0857
96[d]		8,0554	8,2421	8,1512

Tablodaki simgeler
a: Model 1 için test bileşikleri
b: Model 2 için test bileşikleri
d: Tüm modeller için aktivitesi bilinmeyen bileşikler

Tablo 3.5. Pim-2 için deneysel aktivite değerleri ve hesaplanan aktivite değerleri.

		Pim2-$A_{hesaplanan}$		
Bileşik No	Pim2-$A_{deneysel}$	Model 1	Model 2	Model 3
1[a]	5,9431	5,4569	6,0289	6,4040
2[b]	7,2007	7,2275	7,5388	7,5210
3[b]	6,8268	5,7330	6,2890	6,3940
4	6,8601	6,8673	7,3789	7,0950
5[a]	5,9031	6,1257	5,9890	6,5705
6[d]		7,1467	6,7735	7,3526
7	7,0757	6,4840	7,1196	6,6210
8[d]		7,4624	10,2731	9,3271
9	6,6861	6,2874	6,4175	6,5723
10	6,8153	6,4523	6,2533	6,1350
11[b]	6,3990	5,8104	6,4429	5,8856
12[b]	6,6757	7,4493	9,8327	6,8821
13[a]	5,8465	6,3644	5,8409	5,8518
14[a]	5,8465	5,9811	5,8573	5,4929
15[a,b]	6,8327	6,6225	6,1519	6,7973
16[b]	5,8465	6,0349	6,2809	6,1802
17[a,b]	5,8465	5,7395	6,1699	6,0269
18[a,b]	6,1481	6,1801	5,2229	5,8281
19	5,8465	6,0102	6,0541	6,0877
20[b]	5,8465	6,5169	6,5224	6,4537
21	7,3979	7,9694	7,2361	7,4400
22	6,3872	6,5497	6,1665	6,2840
23	7,2007	7,0266	7,7752	7,1231
24	7,7959	6,8500	6,9779	7,3989
25[b]	6,6234	6,9463	6,4642	6,5396

26	6,9136	7,4644	7,1583	7,2299
27[b]	7,4437	6,8258	7,9783	7,3446
28[a]	7,0809	7,2617	7,2472	7,1957
29[a]	7,6778	7,5913	7,1599	7,0889
30	7,4685	7,9610	7,6218	7,8578
31	8,6990	8,1201	8,6976	8,7113
32	7,5229	7,3804	7,7667	7,5718
33	7,0044	7,2958	6,4111	7,6049
34[b]	7,6383	7,2179	10,4061	7,4665
35	8,0969	7,9116	8,0617	7,7897
36	6,9626	7,8199	7,2925	7,3025
37[a]	7,8861	7,9683	7,7312	7,6344
38[b]	7,8861	7,9592	7,9135	7,8083
39	7,3565	7,5857	8,1549	7,4540
40	8,3979	7,9266	7,8688	7,6869
41[b]	7,4949	8,2550	8,0236	7,7645
42[a]	7,9208	8,1162	8,3662	7,7583
43[a]	7,6778	7,6808	8,0281	7,6444
44[b]	8,5229	8,0710	8,4242	7,8842
45[b]	8,6990	8,5107	9,6689	8,5470
46	7,5376	7,3222	7,8223	7,4289
47[a]	8,3010	8,1815	8,1585	7,7969
48	7,8861	7,8655	8,0769	8,2247
49[a]	7,6576	7,7049	7,6986	7,4199
50	7,3468	7,4997	7,1187	7,4098
51	5,8477	7,6039	6,1628	7,5648
52	8,6990	8,0393	8,3307	7,9516
53[a]	8,5229	8,1586	8,5936	8,2693
54	8,2218	7,9169	8,1431	7,8472
55	8,1549	7,9103	8,2568	7,6329
56	8,5229	7,7954	7,7316	7,6216
57	7,1805	7,5310	7,4839	7,3937
58	8,3010	8,6230	8,3252	7,4877
59[b]	6,9208	8,1922	8,5631	7,4031
60[d]		8,1421	8,1455	7,8700
61[a]	8,2218	8,1219	8,5573	7,8175
62[b]	7,2218	6,9011	6,0523	7,0647
63[a,b]	6,8182	7,1985	8,1076	6,7093
64[b]	6,0273	6,5523	7,4344	6,5393
65[a]	8,5229	8,2088	7,9491	7,9613
66[d]		8,4865	7,9354	8,1441

67[d]		8,9732	8,9000	8,7859
68[d]		8,3799	7,6157	8,0227
69	9,0458	9,0458	9,0458	9,0458
70[b]	7,3872	7,7346	7,7608	7,1188
71[d]		6,5806	6,8731	7,1551
72[d]		9,9648	9,1014	11,0883
73	8,0000	14,9390	15,4802	15,0452
74[b]	8,6990	15,4652	16,0910	15,5561
75[b]	7,5376	14,8109	14,9502	14,4923
76[d]		9,0422	9,0773	10,1868
77[d]		6,4360	5,7929	4,7551
78[d]		6,1370	6,2043	5,6795
79[d]		5,9914	5,4237	5,4801
80[d]		6,7553	5,6412	5,2969
81[d]		6,3457	5,5661	5,8852
82[d]		6,5094	6,1506	6,1009
83[d]		2,5810	5,8946	10,3762
84[d]		7,5391	6,2302	5,1240
85[d]		7,0629	5,4922	4,5123
86[d]		6,4569	5,1030	5,7720
87[d]		5,3539	19,7260	6,4341
88[d]		5,2495	5,9521	5,8883
89[d]		6,6748	7,1771	6,5522
90[d]		6,4904	8,5392	7,3834
91[d]		6,9353	8,2668	6,9236
92[d]		7,1823	8,7722	6,6680
93[d]		6,5538	8,5018	6,3968
94[d]		7,3491	9,4450	7,7588
95[d]		7,5153	9,2324	7,4968
96[d]		7,1583	8,3603	7,1598

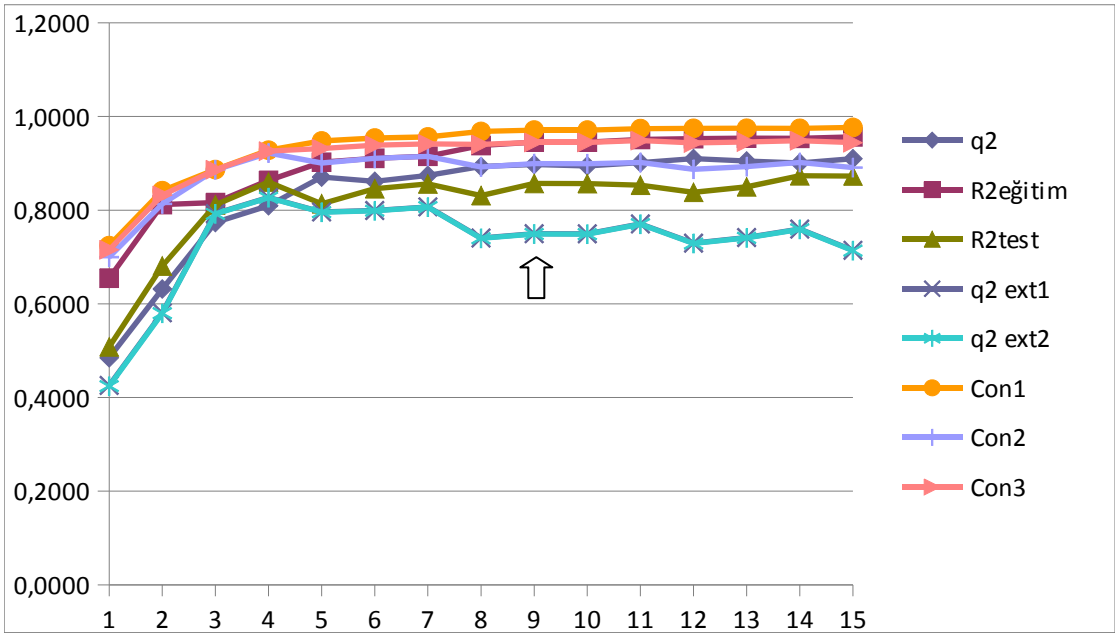
Tablodaki simgeler
a: Model 1 için test bileşikleri
b: Model 2 için test bileşikleri
d: Tüm modeller için aktivitesi bilinmeyen bileşikler

Serideki bileşikler rastgele (random) eğitim ve test seti olarak seçildikten sonra bileşik seti sabit tutulup 1 parametreden (1 Kj) 15 parametreye (15 Kj) kadar taramalar yapılmıştır. Ayrıca literatürlerde baş parmak (Thumb approach) kuralına göre, iyi bir model elde etmek için data seti (eğitim seti) seçilen parametre sayısının yaklaşık 5-7 katı olmalıdır yani aktivite hesaplamalarında kullanılan parametre sayısının az olması

gerekmektedir [58]. Pim-1 hesaplamalarında model-1 için 10, model-2 için 7, model-3 için 13; Pim-2 için ise model-1 için 10, model-2 için 9, model-3 için 12 parametreden sonrası için olan hesaplama sonuçları tabloda verilmemiştir. Aşağıdaki grafiklerde yer alan con1, con2, con3 çizgileri uyum korelasyon katsayısını göstermektedir. Eşitlik 2.13, 2.14, 2.15'deki formüller kullanılarak da hesaplamalar yapılmıştır. Bu hesaplamalar modellerimizin doğruluğunu desteklemesi açısından önemlidir. Uyum korelasyon katsayısı 0,85 den büyük değerler QSAR'ın doğruluğu açısından oldukça iyi sonuçlar olarak kabul edilmektedir. Tablo 3.6'da benzotiyenopirimidin serisinde Pim-1 Model 1 (50 bileşik eğitim, 17 bileşik test seti) için aktivite hesaplamalarında aktiviteye en fazla etkisi olan parametre numaraları ile buna karşılık gelen Kj değerleri görülmektedir.

Tablo 3.6. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-1 Model 1 (50 bileşik eğitim, 17 bileşik test) için aktivite hesaplamalarında elde edilen parametre numaraları ve Kj değerleri.

$K_{j\ adedi}$	**Parametre No**	K_j **değeri**
1	356	-2,4086
2	356, 1604	-2.2733, -6.4867
3	356, 1575, 1604	-1.6614, -0.0037, -6.6872
4	356, 1575, 1604, 1623	-1.5127, -0.0040, -6.6238, -1.0162
5	39, 356, 1575, 1604, 1623	-0.0178, -0.7255, -0.0014, -4.1883, -2.2943
6	39, 356, 1378, 1575, 1604, 1623	-0.0197 , -0.5868, -0.5111, -0.0017, -3.0001
7	39, 356, 1378, 1405, 1575, 1604, 1623	-0.0194, -0.8055, -0.6319, 0.6535, -0.0012, -2.6824, -2.311384
8	39, 356, 1333, 1378, 1405, 1575, 1604, 1623	-0.0195, -0.8802, -5.7276,-0.6404, 0.6061, -0.0013, -3.0245, 2.1920
9	39, 356, 1333, 1378, 1381, 1405, 1575, 1604, 1623	-0.01623, -0.6752, -6.8654, -0.6607, 8.8950, 0.8446, -0.0020, -4.3606, -1.9405
10	39, 82, 356, 1333, 1378, 1381, 1405, 1575, 1604, 1623	-0.0174, -0.0195, -0.4089, -7.1321, -0.8370, 13.6307, 0.8891, -0.0018, -3.7387, -2.2817



Şekil 3.3. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-1 Model 1 (50 bileşik eğitim, 17 bileşik test) için optimum parametre sayısına karşılık dahili (q^2) ve harici (q^2ext1, q^2ext2, CCC (con1, con2, con3)) doğrulama katsayıları grafiği.

.

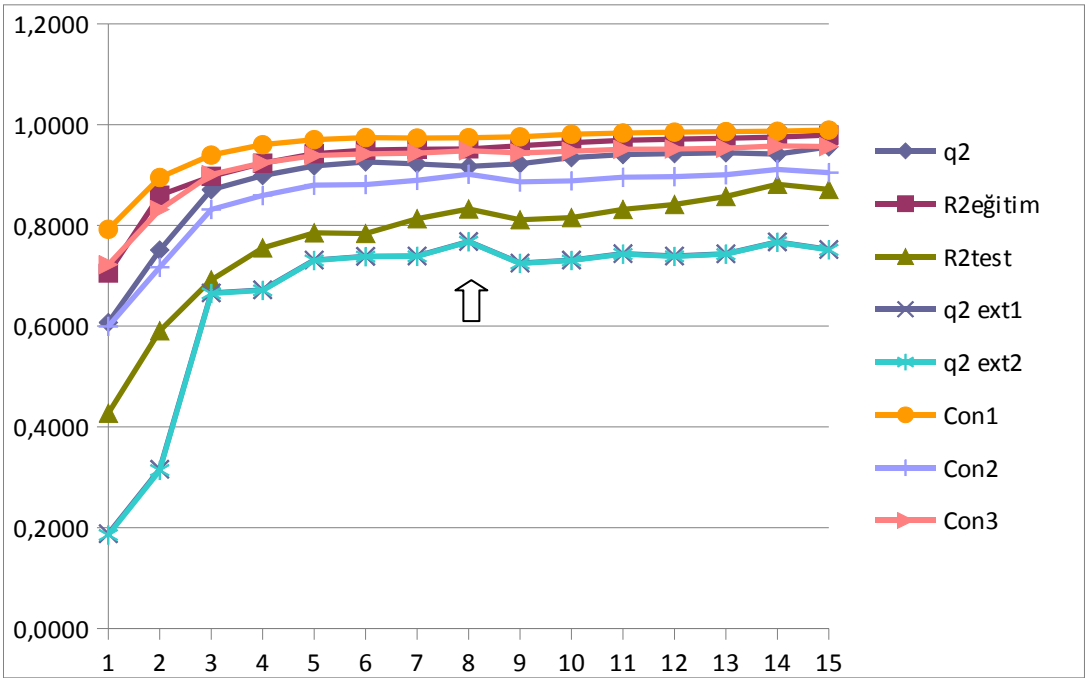
Tablo 3.7. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-1 Model 1 (50 bileşik eğitim, 17 bileşik test) için istatiksel sonuçlar.

	q^2	R^2eğitim	R^2test	q^2 ext1	q^2 ext2	Con1	Con2	Con3
1	0,4849	0,6546	0,5081	0,4258	0,4243	0,7243	0,6997	0,7156
2	0,6316	0,8121	0,6808	0,5809	0,5798	0,8416	0,8134	0,8319
3	0,7737	0,8163	0,8112	0,7926	0,7920	0,8866	0,8860	0,8863
4	0,8096	0,8636	0,8600	0,8271	0,8267	0,9281	0,9221	0,9260
5	0,8707	0,9024	0,8136	0,7962	0,7957	0,9479	0,9007	0,9316
6	0,8615	0,9106	0,8459	0,7993	0,7988	0,9540	0,9107	0,9387
7	0,8740	0,9153	0,8560	0,8070	0,8065	0,9565	0,9149	0,9417
8	0,8933	0,9381	0,8312	0,7405	0,7399	0,9680	0,8925	0,9406
9	0,8976	0,9452	0,8571	0,7497	0,7491	0,9710	0,8994	0,9448
10	0,8945	0,9452	0,8567	0,7495	0,7488	0,9710	0,8992	0,9447
11	0,9014	0,9509	0,8534	0,7705	0,7699	0,9741	0,9020	0,9486
12	0,9101	0,9528	0,8381	0,7296	0,7289	0,9747	0,8874	0,9435
13	0,9050	0,9536	0,8497	0,7416	0,7409	0,9749	0,8930	0,9456
14	0,9009	0,9534	0,8735	0,7596	0,7590	0,9747	0,9019	0,9484
15	0,9098	0,9565	0,8729	0,7143	0,7136	0,9767	0,8910	0,9442

Şekil 3.3'de benzotiyenopirimidin bileşik serisinde Pim-1 Model 1 (50 bileşik eğitim, 17 bileşik test) için optimum parametre sayısına karşılık ccc ve regresyon katsayısı ve q^2 grafiği verilmiştir. Bu hesaplamalarda belli bir parametre sayısına kadar regresyon katsayısının ve q^2'nin yükseldiği görülmektedir. Hem baş parmak kuralına göre hem de şekil 3.3'de yapılan hesaplamalara ilişkin sonuçlarda benzotiyenopirimidin serisinde eğitim ve test seti için 9 parametre sayısından sonra istatistiksel hesaplamalarda önemli bir değişiklik olmadığı için en uygun parametre sayısı olarak 9 parametre belirlenmiştir. 9' dan fazla parametre ile kuracağımız modellerde aşırı uygun sonuçlar elde edilmesini sağlamaktadır. Elde edilecek aşırı uygun sonuçlar iyi gibi görünse de modelin tahmin gücünde zayıflatmaya neden olacaktır. Baş parmak kuralına göre eğitim seti seçtiğimiz parametre sayısının 5-7 katı aralığında olmalıdır. Parametre sayısı olabildiğince az seçilmiştir. Sonuç olarak 9 parametre sayısı Pim1 model 1 için uygundur.

Tablo 3.8. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-1 Model 2 (45 bileşik eğitim, 22 bileşik test) için aktivite hesaplamalarında elde edilen parametre numaraları ve Kj değerleri.

$K_{j\ adedi}$	**Parametre No**	**K_j değeri**
1	356	-2.4583
2	356, 1604,	-2.2733, -6.4867
3	356, 1575, 1604	-1.7678, -0.0033, -7.4987,
4	356, 1391, 1575, 1604	-1.5045, 5.4109, -0.0035, -7.751825
5	51, 356, 1391, 1575, 1604	0.0331, -1.0159, 6.5230, -0.0038, -7.1806
6	51, 356, 1354, 1391, 1575, 1604	0.0324, -0.6419, 1.7066, 8.0188, -0.0038
7	51, 356, 1354, 1391, 1549, 1575, 1604	0.0371, -0.6660, 1.7488, 8.6511, 26.9303, -0.0040, -7.1477



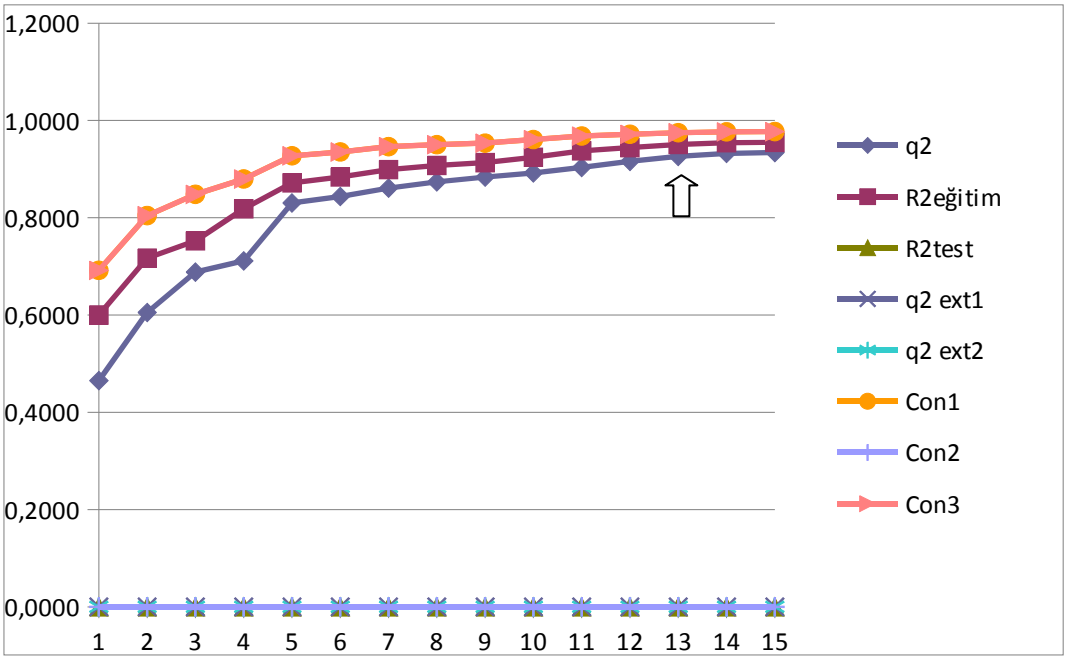
Şekil 3.4. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-1 Model 2 (45 bileşik eğitim, 22 bileşik test) için optimum parametre sayısına karşılık dahili (q^2) ve harici (q^2ext1, q^2ext2, CCC (con1, con2, con3)) doğrulama katsayıları grafiği.

Tablo 3.9. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-1 Model 2 (45 bileşik eğitim, 22 bileşik test) için istatiksel sonuçlar.

	q^2	R^2eğitim	R^2test	q^2 ext1	q^2 ext2	Con1	Con2	Con3
1	0,6071	0,7054	0,4272	0,1880	0,1855	0,7923	0,5996	0,7221
2	0,7510	0,8599	0,5907	0,3160	0,3139	0,8951	0,7170	0,8314
3	0,8708	0,8972	0,6917	0,6659	0,6649	0,9395	0,8317	0,9010
4	0,8989	0,9235	0,7554	0,6720	0,6710	0,9601	0,8595	0,9241
5	0,9181	0,9423	0,7852	0,7312	0,7304	0,9702	0,8798	0,9385
6	0,9260	0,9497	0,7839	0,7387	0,7379	0,9743	0,8811	0,9417
7	0,9220	0,9512	0,8132	0,7394	0,7386	0,9734	0,8895	0,9435
8	0,9170	0,9519	0,8326	0,7681	0,7674	0,9740	0,9015	0,9482
9	0,9223	0,9579	0,8111	0,7253	0,7244	0,9758	0,8865	0,9439
10	0,9345	0,9642	0,8155	0,7311	0,7303	0,9809	0,8884	0,9473
11	0,9406	0,9688	0,8318	0,7439	0,7431	0,9834	0,8956	0,9510
12	0,9426	0,9712	0,8416	0,7393	0,7385	0,9852	0,8966	0,9516
13	0,9441	0,9731	0,8574	0,7436	0,7428	0,9862	0,9007	0,9532
14	0,9415	0,9751	0,8817	0,7673	0,7665	0,9869	0,9111	0,9576
15	0,9559	0,9793	0,8712	0,7522	0,7514	0,9892	0,9047	0,9566

Tablo 3.10. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-1 Model 3 (67 bileşik eğitim) için aktivite hesaplamalarında elde edilen parametre numaraları ve Kj değerleri.

$K_{j\ adedi}$	**Parametre No**	K_j **değeri**
1	299	-5.7422
2	299, 356	-3.4295, -1.4422
3	299, 356, 566	-3.5615, -2.4367, 7.823147
4	31, 299, 356, 566	12.5292, -3.5536, -2.4163, 8.1784
5	31, 39, 299, 356, 566	37.4077, -0.0187, -2.3068, -0.9930, 3.8145
6	31, 39, 194, 299, 356, 566	31.4130, -0.0197, -0.0762, -3.756754, -0.838765, 3.752391
7	31, 39, 49, 194, 299, 356, 566	34.7859, -0.0199, 0.0240, -0.100436, -4.227994, -0.555548, 3.462675
8	31, 39, 49, 194, 299, 356, 566, 1388	32.7089, -0.0207, 0.0300, -0.1107, -4.1329, -0.9632, 5.0447, -5.0790
9	31, 39, 49, 194, 299, 356, 566, 1332, 1388	30.9722, -0.0208, 0.0303, -0.1180, -4.1471, -0.9463, 4.5555, 9.3107, -6.6526
10	31, 39, 49, 194, 299, 356, 566, 1332, 1388, 1604	22.1031, -0.0211, 0.0248, -0.1367, -3.8832, -1.1113, 4.556416, 10.3999, -9.0549, -3.2657
11	31, 39, 49, 194, 299, 353, 356, 566, 1332, 1388, 1604	15.8959, -0.0209, 0.0285, -0.1429, -4.0093, -6.2299, -1.3222, 5.6611, 8.7546, -9.6893, -4.0817
12	31, 39, 49, 194, 299, 353, 356, 446, 566, 1332, 1388, 1604	15.5435, -0.0205, 0.0245, -0.1550, -4.2474, -9.4209, -1.5404, 8.9834, 6.3020, 7.8157, -9.3353, -4.4374
13	31, 39, 49, 194, 299, 353, 356, 446, 566, 1332, 1388, 1407, 1604	14.0311, -0.0158, 0.0228, -0.1433, -3.8256, -10.4497, -1.7149, 10.9365, 7.2123, 11.5054, -9.8526, 5.0426,-4.3886



Şekil 3.5. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-1 Model 3 (67 bileşik eğitim) için optimum parametre sayısına karşılık dahili (q^2) ve harici (q^2ext1, q^2ext2, CCC (con1, con2, con3)) doğrulama katsayıları grafiği.

Tablo 3.11. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-1 Model 3 (67 bileşik eğitim test) için istatiksel sonuçlar.

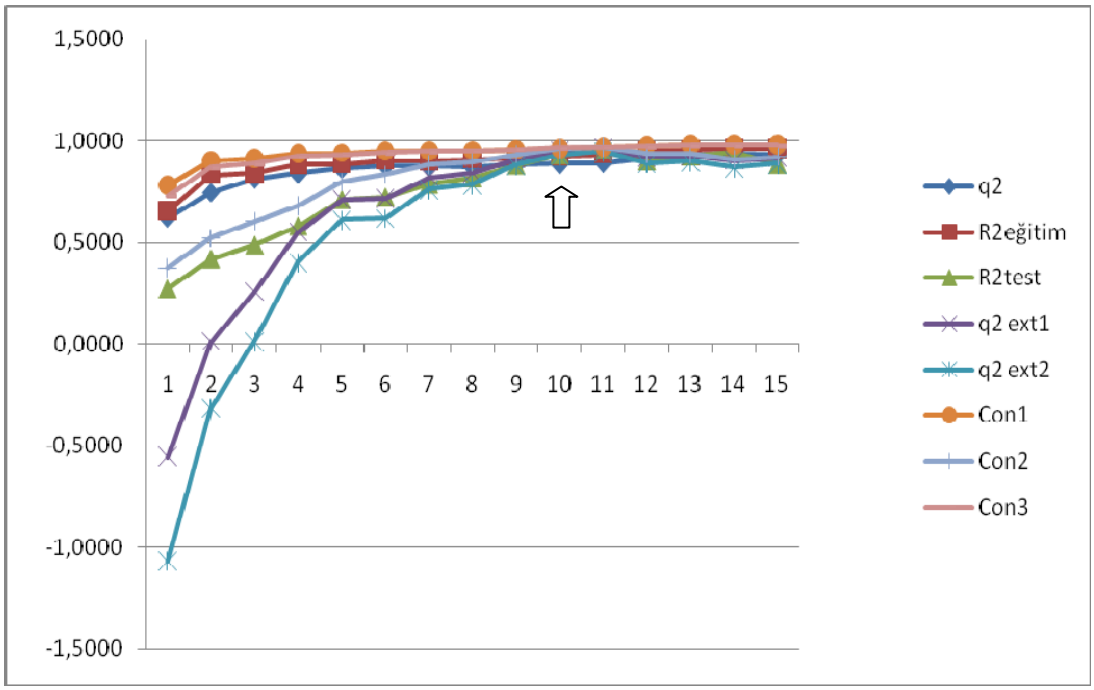
	q^2	R^2eğitim	Con1	Con3
1	0,4650	0,6001	0,6920	0,6920
2	0,6052	0,7169	0,8045	0,8045
3	0,6883	0,7525	0,8482	0,8482
4	0,7113	0,8184	0,8798	0,8798
5	0,8303	0,8718	0,9275	0,9275
6	0,8438	0,8839	0,9353	0,9353
7	0,8610	0,8990	0,9462	0,9462
8	0,8737	0,9075	0,9502	0,9502
9	0,8836	0,9134	0,9535	0,9535
10	0,8921	0,9243	0,9608	0,9608
11	0,9034	0,9374	0,9681	0,9681
12	0,9160	0,9443	0,9717	0,9717
13	0,9262	0,9506	0,9749	0,9749
14	0,9324	0,9543	0,9767	0,9767
15	0,9340	0,9551	0,9772	0,9772

Şekil 3.4'de ve 3.5'de sırasıyla Pim-1 Model 2 ve Pim-1 Model 3 için optimum parametre sayısına karşılık ccc ve regresyon katsayısı ve q^2 grafiği verilmiştir. Bu hesaplamalarda belli bir parametre sayısına kadar regresyon katsayısının ve q^2'nin yükseldiği görülmektedir. Hem baş parmak kuralına göre hem de şekil 3.4 ve 3.5'de yapılan hesaplamalara ilişkin sonuçlarda benzotiyenopirimidin serisinde model 2 için 8, model 3 için ise 13 parametre sayısından sonra istatistiksel hesaplamalarda önemli bir değişiklik olmadığı için en uygun parametre sayısı olarak parametre belirlenmiştir. Pim-1 inhibisyonunda model-2 için 8' den fazla, model-3 için ise 13'den fazla parametre ile kuracağımız modeller ile aşırı uygun sonuçlar elde edilir. Elde edilecek aşırı uygun sonuçlar iyi gibi görünse de modelin tahmin gücünde zayıflatmaya neden olacaktır. Baş parmak kuralına göre eğitim seti, seçtiğimiz parametre sayısının 5-7 katı aralığında olmalıdır. Parametre sayısı olabildiğince az seçilmiştir. Sonuç olarak Pim-1 inhibisyonunda model-2 için 8, model-3 için ise 13 optimum parametre sayısı olarak seçilmiştir.

Pim-1'de Model 1 ve Model 2 için con1, con2, con3; Model 3 için ise con1, con3 optimum parametre değerlerindeki uyum korelasyon katsayı değerlerinin 0,85'den büyük olduğu grafiklerde görülmektedir. 0,85 den büyük değerler QSAR'ın doğruluğu açısından oldukça iyi sonuçlar olarak kabul edilmektedir. Burada con1 eğitim bileşikleri için, con2 test bileşikleri için, con3 ise hem eğitim hem test bileşikleri için yapılan hesabı göstermektedir. Model 1 ve Model 2'de test bileşikleri hesaplamada var iken Model 3'te test bileşikleri yoktur. Bu nedenle Model 3'te con2 değeri grafikte sıfır görünmektedir. Model 3'te con1 ve con3 değerlerinin aynı çıkmasının da sebebi budur. Model 3 için con1 ve con3 hesaplamalarında test seti olmadığından bu iki değer birbirine eşit çıkmıştır. Aynı zamanda R^2_{test}, q^2_{ext1}, q^2_{ext2}, istatistik değerleri de model-3'te test seti olmadığından sıfır çıkmıştır. Model 3'te tabloda ve grafikte bahsedilen bu değerler olmadığından verilmemiştir.

Tablo 3.12. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-2 Model 1 (50 bileşik eğitim, 17 bileşik test) için aktivite hesaplamalarında elde edilen parametre numaraları ve Kj değerleri.

$K_{j\ adedi}$	**Parametre No**	K_j **değeri**
1	356	-2.858135
2	356, 1604	-2.5943, -9.4514
3	356, 1528, 1604	-1.9908, 100.0000, -11.1614
4	356, 1528, 1604, 1646	-2.2221, 100.0000, -8.5717, 0.2679
5	356, 357, 1528, 1604, 1646	-2.6656, 1.8300, 100.0000, -7.5731, 0.3429
6	356, 357, 1368, 1528, 1604, 1646	-2.7127, 2.3549, -4.1738, 100.0000, -7.4656
7	63, 356, 357, 1368, 1528, 1604, 1646	-13.6527, -2.3387, 7.7022, -3.6924 100.0000, -7.1660, 0.2820
8	63, 356, 357, 446, 1368, 1528, 1604, 1646	-20.3380 , -2.3912, 10.4875, 5.1426, -4.2038, 100.0000, -6.8176, 0.2829
9	63, 356, 357, 390, 446, 1368, 1528, 1604, 1646	-36.3445, -2.0363, 16.3815, -33.9620, 15.6580, -3.9596, 100.0000, -7.92151, 0.2464
10	63, 356, 357, 390, 446, 1331, 1368, 1528, 1604, 1646	-43.5783, -1.7383, 19.1075, -35.4683, 17.0989, -10.0295, -3.4817, 100.0000, -7.4599, 0.2476



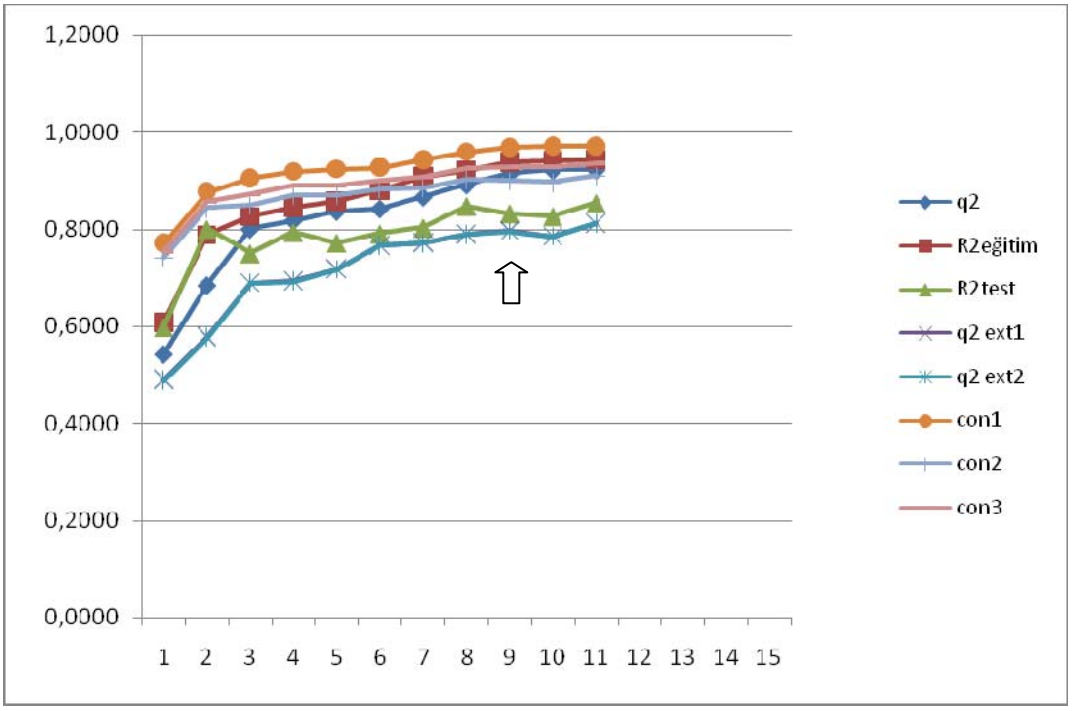
Şekil 3.6. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-2 Model 1 (50 bileşik eğitim, 17 bileşik test) için optimum parametre sayısına karşılık dahili (q^2) ve harici (q^2ext1, q^2ext2, CCC (con1, con2, con3)) doğrulama katsayıları grafiği.

Tablo 3.13. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-2 Model 1 (50 bileşik eğitim, 17 bileşik test) için istatiksel sonuçlar.

	q^2	R^2eğitim	R^2test	q^2 ext1	q^2 ext2	Con1	Con2	Con3
1	0,6209	0,6550	0,2735	-0,5563	-1,0666	0,7820	0,3764	0,7261
2	0,7474	0,8329	0,4197	0,0098	-0,3149	0,9007	0,5240	0,8672
3	0,8127	0,8418	0,4884	0,2566	0,0129	0,9141	0,6050	0,8854
4	0,8385	0,8825	0,5818	0,5490	0,4011	0,9369	0,6825	0,9207
5	0,8619	0,8878	0,7124	0,7071	0,6111	0,9406	0,8003	0,9309
6	0,8763	0,9039	0,7240	0,7137	0,6199	0,9499	0,8362	0,9412
7	0,8753	0,9036	0,7877	0,8203	0,7613	0,9501	0,8843	0,9460
8	0,8716	0,9108	0,8178	0,8390	0,7862	0,9530	0,8993	0,9498
9	0,8812	0,9164	0,8809	0,9100	0,8805	0,9571	0,9375	0,9566
10	0,8859	0,9265	0,9311	0,9471	0,9297	0,9625	0,9623	0,9631
11	0,8910	0,9354	0,9578	0,9609	0,9481	0,9670	0,9708	0,9678
12	0,9136	0,9529	0,9016	0,9172	0,8901	0,9738	0,9406	0,9720
13	0,9291	0,9599	0,9256	0,9237	0,8987	0,9796	0,9389	0,9776
14	0,9361	0,9631	0,9442	0,9024	0,8704	0,9800	0,9131	0,9765
15	0,9317	0,9634	0,8862	0,9143	0,8862	0,9801	0,9247	0,9773

Tablo 3.14. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-2 Model 2 (45 bileşik eğitim, 22 bileşik test) için aktivite hesaplamalarında elde edilen parametre numaraları ve Kj değerleri.

$K_{j\ adedi}$	**Parametre No**	**K_j değeri**
1	356	-3.2179
2	356, 1600	-3.1100, -5.8857
3	356, 1600, 1601	-2.5769, -5.7312, 0.6968
4	132, 356, 1600, 1601	3.0890, -2.6251, -6.6087, 0.6590
5	132, 356, 1510, 1600, 1601	2.6875, -2.3994, 100.0000, -6.2412, 0.6745
6	132, 356, 1508, 1510, 1600, 1601	2.5347, -2.2366, 15.1802, 100.0000, -6.1173, 0.6270
7	132, 356, 471, 1508, 1510, 1600, 1601	2.6184, -2.1468, 0.0409, 21.8676, 100.0000, -6.6977, 0.6052
8	132, 299, 356, 471, 1508, 1510, 1600, 1601	2.5952, -1.4700, -1.8827, 0.0470, 21.9544, 100.0000, -6.8021, 0.6202
9	132, 299, 356, 471, 1469, 1508, 1510, 1600, 1601	1.8212, -1.7641, -1.1640, 0.0499, 1.5569, 30.6038, 100.0000, -7.7052, 0.6747



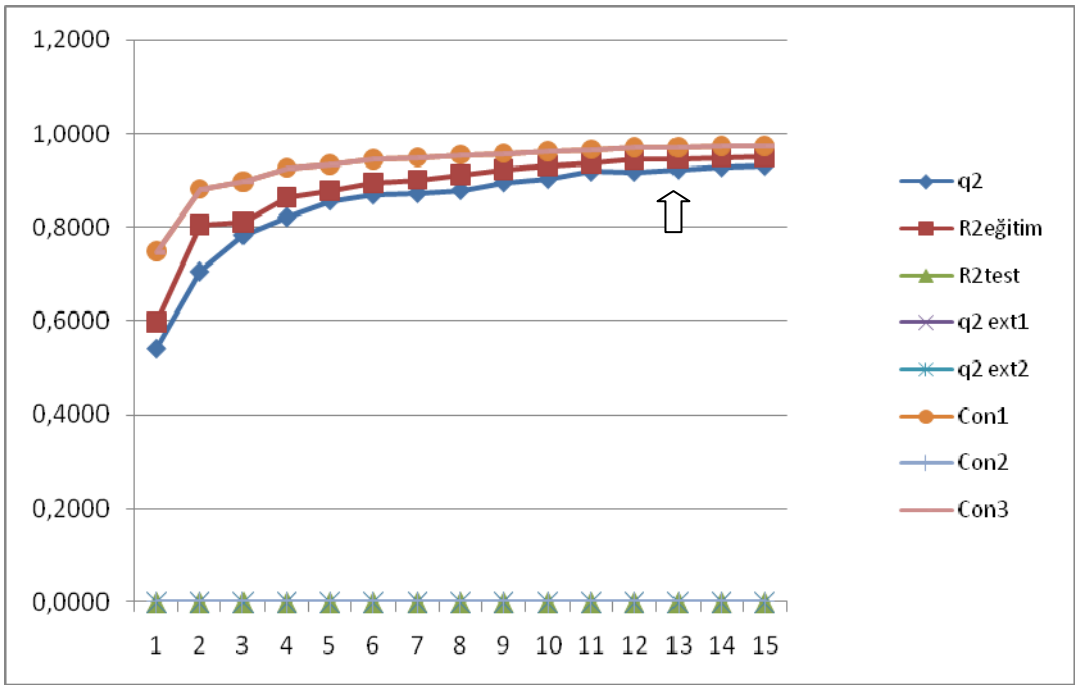
Şekil 3.7. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-2 Model 2 (45 bileşik eğitim, 22 bileşik test) için optimum parametre sayısına karşılık dahili (q^2) ve harici (q^2ext1, q^2ext2, CCC (con1, con2, con3)) doğrulama katsayıları grafiği.

Tablo 3.15. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-2 Model 2 (45 bileşik eğitim, 22 bileşik test) için istatiksel sonuçlar.

	q^2	R^2eğitim	R^2test	q^2 ext1	q^2 ext2	Con1	Con2	Con3
1	0,5429	0,6077	0,5974	0,4906	0,4881	0,7704	0,7410	0,7549
2	0,6848	0,7883	0,8006	0,5791	0,5770	0,8765	0,8428	0,8565
3	0,8008	0,8260	0,7500	0,6904	0,6889	0,9053	0,8487	0,8719
4	0,8179	0,8444	0,7940	0,6940	0,6925	0,9188	0,8699	0,8891
5	0,8373	0,8566	0,7722	0,7184	0,7170	0,9233	0,8693	0,8906
6	0,8425	0,8802	0,7909	0,7671	0,7659	0,9270	0,8821	0,9002
7	0,8667	0,9078	0,8031	0,7728	0,7717	0,9430	0,8849	0,9082
8	0,8919	0,9211	0,8478	0,7906	0,7896	0,9587	0,9030	0,9253
9	0,9142	0,9375	0,8327	0,7969	0,7959	0,9678	0,8999	0,9280
10	0,9214	0,9419	0,8270	0,7863	0,7853	0,9701	0,8958	0,9263
11	0,9221	0,9432	0,8543	0,8132	0,8123	0,9710	0,9094	0,9348

Tablo 3.16. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-2 Model 3 (67 bileşik eğitim) için aktivite hesaplamalarında elde edilen parametre numaraları ve Kj değerleri.

$K_{j\ adedi}$	**Parametre No**	**K_j değeri**
1	356	-2.9475
2	356, 1604	-2.6332, -10.1214
3	356, 1528, 1604	-2.1135, 100.0000, -10.7815
4	356, 1528, 1604, 1646	-2.3291, 100.0000, -8.3094, 0.2854
5	356, 1375, 1528, 1604, 1646,	-2.0714, -12.6373, 100.0000, -7.4397, 0.2809
6	162, 356, 1375, 1528, 1604, 1646,	-1.5107, -2.0216, -14.4238, 100.0000, -7.2174, 0.2425
7	162, 315, 356, 1375, 1528, 1604, 1646	-1.9387, 3.3453, -2.3620, -10.7229, 100.0000, -6.3972, 0.2696
8	162, 315, 356, 1375, 1482, 1528, 1604, 1646	-3.6452, 4.0603, -2.0367, -12.7485, 100.0000, 18.7752, -5.5538, 0.2557
9	162, 315, 356, 1375, 1482, 1528, 1604, 1631, 1646	-4.0991, 2.0266, -1.8028, -15.0906, 100.0000, -0.7734, -6.4095, 0.5826, 0.2748
10	162, 315, 356, 558, 1375, 1482, 1528, 1604, 1631, 1646	-5.2169, 9.6901,-1.3791, -8.7334, -14.9333, 100.0000, -13.0489, -5.9890, 0.6379, 0.2158
11	162, 315, 356, 392, 558, 1375, 1482, 1528, 1604, 1631,1646	-7.5491, 12.1710, -1.3463, 3.5328, -12.5839, -17.1331, 10.0000, -20.3632, -5.4874, 0.6995, 0.2223
12	134, 162, 315, 356, 392, 558, 1375, 1482, 1528, 1604, 1631, 1646	-0.0704, -7.5616, 11.9395, -1.5670, 3.8659, -11.6301, -16.8794, 99.9998, -22.6559, -5.0466, 0.6934, 0.2366



Şekil 3.8. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-2 Model 3 (67 bileşik eğitim) için optimum parametre sayısına karşılık dahili (q^2) ve harici (q^2ext1, q^2ext2, CCC (con1, con2, con3)) doğrulama katsayıları grafiği.

Tablo 3.17. Benzotiyenopirimidin serisi Pim-2 Model 3 (67 bileşik eğitim test) için istatiksel sonuçlar.

	q^2	R^2eğitim	Con1	Con3
1	0,5402	0,5969	0,7471	0,7471
2	0,7050	0,8042	0,8811	0,8811
3	0,7823	0,8107	0,8974	0,8974
4	0,8209	0,8628	0,9262	0,9262
5	0,8556	0,8771	0,9332	0,9332
6	0,8684	0,8939	0,9450	0,9450
7	0,8717	0,9011	0,9484	0,9484
8	0,8780	0,9102	0,9539	0,9539
9	0,8947	0,9225	0,9575	0,9575
10	0,9021	0,9309	0,9611	0,9611
11	0,9180	0,9359	0,9657	0,9657
12	0,9176	0,9435	0,9699	0,9699
13	0,9221	0,9450	0,9706	0,9706
14	0,9272	0,9481	0,9729	0,9729
15	0,9303	0,9502	0,9735	0,9735

Tablo 3.6, 3.8, 3.10, 3.12, 3.14, 3.16'daki tablolarda parametre sayısına karşılık gelen parametre değerleri verilmiştir. Şekil 3.6, 3.7 ve 3.8'de sırasıyla Pim-2 inhibisyonuna ait model 1, model 2, model 3 için optimum parametre sayısına karşılık ccc ve regresyon katsayısı ve q^2 grafiği verilmiştir. Bu hesaplamalarda belli bir parametre sayısına kadar regresyon katsayısının ve q^2'nin yükseldiği görülmektedir. Hem baş parmak kuralına göre hem de bu şekillerde yapılan hesaplamalara ilişkin sonuçlarda benzotiyenopirimidin serisinde pim-2 inhibisyonunda model-1 için 10, model-2 için 9, model-3 için 13 parametre sayısından sonra istatistiksel hesaplamalarda önemli bir değişiklik olmadığı için en uygun parametre sayısı olarak parametre belirlenmiştir. Pim-2 inhibisyonunda model-1 için 10' dan fazla, model-2 için 9'dan fazla, model-3 ise 13'den fazla parametre ile kuracağımız modeller ile aşırı uygun sonuçlar elde edilir. Elde edilecek aşırı uygun sonuçlar iyi gibi görünse de modelin tahmin gücünde zayıflatmaya neden olacaktır. Baş parmak kuralına göre eğitim seti, seçtiğimiz parametre sayısının 5-7 katı aralığında olmalıdır. Parametre sayısı olabildiğince az olması gerekmektedir. Sonuç olarak Pim-2 inhibisyonunda model-1 için 10, model-2 için 9, model-3 için 13 parametre sayısı optimum parametre sayısı olarak belirlenmiştir.

Pim-2 inhibisyonunda Model 1 ve Model 2 için con1, con2, con3; Model 3 için ise con1, con3 optimum parametre değerlerindeki uyum korelasyon katsayı değerlerinin 0,85'den büyük olduğu grafiklerde görülmektedir. 0,85 den büyük değerler QSAR'ın doğruluğu açısından oldukça iyi sonuçlar olarak kabul edilmektedir. Burada con1 eğitim bileşikleri için, con2 test bileşikleri için, con3 ise hem eğitim hem test bileşikleri için yapılan hesabı göstermektedir. Model 1 ve Model 2'de test bileşikleri hesaplamada var iken Model 3'te test bileşikleri yoktur. Bu nedenle Model 3'te con2 değeri grafikte sıfır görünmektedir. Model 3'te con1 ve con3 değerlerinin aynı çıkmasının da sebebi budur. Model 3 için con1 ve con3 hesaplamalarında test seti olmadığından bu iki değer birbirine eşit çıkmıştır. Aynı zamanda R^2_{test}, q^2_{ext1}, q^2_{ext2}, istatistik değerleri de model-3'te test seti olmadığından sıfır çıkmıştır. Model 3'te tabloda ve grafikte bahsedilen bu değerler olmadığından verilmemiştir.

Biyolojik aktivitenin tahmin edilmesinde modelin kurulması için kullanılan veri setinin bir kısmı eğitim seti olarak tarif edilmektedir. Eğitim seti, test setiyle birlikte bağlantılı olarak kullanılmaktadır. Model-3'te ise test seti yoktur. Bu nedenle aktivite tahmin performansı açısından pim-1 ve pim-2 için model-1 ve model-2, model-3 göre daha önemlidir. Çünkü eğitim ve test seti için benzer veriler kullanılarak veri farklılıklarının etkisi minimize edilebilir ve modelin daha iyi anlaşılması sağlanır [44]. Test seti olmadığı taktirde modelin geçerliliğini kabul etmek imkansızdır. Model-3'ü denememizdeki amacımız bileşik sayısı arttığı takdirde eğitim setinin nasıl çıkacağını görmek içindir. Dikkat edilirse model-3'te istatiksel değerler oldukça iyi çıkmıştır.

Pim-1 için model-1 ve model-2'nin performansı kıyaslandığında her iki modelinde performansının iyi olduğu istatiksel sonuçlar incelendiğinde ortaya çıkmaktadır. Ancak model-2'nin model-1'e göre performansının biraz daha iyi olduğu istatiksel analiz sonucu söylenebilir.

Pim-2 için de model-1 ve model-2'nin performansı kıyaslandığında her iki modelinde performansının iyi olduğu istatiksel sonuçlar incelendiğinde ortaya çıkmaktadır. Ancak model-1'nin model-2'e göre performansının biraz daha iyi olduğu istatiksel analiz sonucu söylenebilir.

4. BÖLÜM

TARTIŞMA VE SONUÇ

4.1. Tartışma ve Sonuç

Günümüzde bilgisayarlar kullanılarak yapılan ilaç tasarımları konusunda birçok çalışma yapılıyor ancak yerli yazılım konusunda yetersiz olmamız bizi yabancı yazılımlara yöneltmekte ve döviz bazlı satın alınan bu programlar araştırmacılara daha fazla mali külfet getirmektedir. Bilgisayar destekli yazılımların ülkemizde yerli olarak üretilmesi, patentlerinin alınması hem bilime hem de ekonomimize katkı sağlayacaktır. Biz buradaki çalışmamızda grubumuz tarafından geliştirilen EC-GA Metodu ve EMRE yazılımları sayesinde ülkemizde gelişmekte olan bilgisayar destekli yazılımlar kullanılarak yapılan tasarımlara yeni katkılar sağlamayı umuyoruz. Bu çalışmada grubumuz tarafından geliştirilen EC-GA Metodu ile benzotiyenopirimidin bileşik türevleri çalışılmış ve iyi sonuçlara ulaşılmıştır.

Benzotiyenopirimidinler, pim kinazları subnanomolar ile düşük tek haneli nanomolar Ki değerlerine kuvvetli bir şekilde inhibe eden ve çeşitli kinazlardan oluşan bir panele karşı mükemmel seçicilik sergileyen yeni bir Pim inhibitörleri sınıfı olarak keşfedilmiştir. Burada çalışılan bileşik serisi literatürden alınmıştır [3]. Deneysel aktivitesi bilinen ve bilinmeyen bileşiklerin teorik aktivitelerinin tahmini yapılmıştır. Ayrıca farmakofor grubu tespit edilmiştir. Farmakofor grubunun tayininde ilk önce Pim-1 için aktivite değeri en yüksek olan 61 nolu bileşik, Pim-2 için ise 69 nolu bileşik referans alınmıştır. Serideki bütün bileşikler referans bileşiğe göre belli tolerans değerlerinde karşılaştırılarak çıkan düşük tolerans değerine sahip atom grubu farmakofor atom grubu olarak belirlenmiştir. Pim-1 için farmakofor atomları C1, C5, S1, C7, N1, H7, N2, O1, C11 olarak bulunmuştur. Pim-2 için ise farmakofor atomları C1, C5, S1, C7, N1, H7, N2, O1, C22 olarak bulunmuştur.

EC-GA metodu kullanılarak oluşturulan modellerde, bileşiklerin biyoaktivitesinde rol oynayan moleküler özelliklerin daha iyi anlaşılması sağlamıştır. EC-GA yönteminde 2 aşama vardır. Birincisi farmakofor belirleme, ikincisi ise aktivite tahmin etmek şeklindedir. Aktivite tahmininde aktiviteye artı yada eksi yönde katkı yapan gruplarında dikkate alınmasıyla aktivite hesaplanmaktadır. Aktivite hesabından önce moleküler özelliklerin parametreleri oluşturulmaktadır. Güvenilir deneysel veriler elimizde olduğu müddetçe kantitatif aktiviteyi tahmin edebilmek mümkündür. Farmakofor tesbitinde ve aktivite tahmininde bileşiklerin konformasyonal esnekliği Boltzmann dağılımına bağlı olarak dikkate alınır. Boltzmann dağılımlarının yüksek olması, oda sıcaklığında molekülün düşük enerjiye sahip yapılarının var olma olasılıklarının yüksek oluğunu gösterir.

Farmakofor tesbiti ve biyoaktivite hesaplamalarında kullanılmak üzere EMRE programı serimizdeki bileşiklerimize uygulanmıştır. Benzotiyenopirimidin türevleri için farmakofor tespiti yapılmış olup, biyoaktiviteyi etkileyen önem derecesi yüksek parametreler ve κ_j değerlerine ulaşılmıştır. Konformerler arasında enerji farklarının çok az olması sebebiyle konformerler birbirlerine kolaylıkla dönüşebilmektedirler. Dolayısıyla biyolojik alıcıyla hangi konformerin yada konformerlerin etkileştiğini tesbit etmek mümkün olmamaktadır. Bu sebeple bileşiklerimizin tüm konformerleri Boltzmann dağılımlarıyla orantılı olacak şekilde dikkate alınarak hesaplamalar yapılmıştır. Bu sebeple çalışmamız 4D-QSAR çalışmasıdır. Literatürde, çalıştığımız bileşik türevlerine ait 4D-QSAR çalışmasının olmaması nedeniyle sonuçların kıyaslaması yapılamamıştır. Hesaplamasını yaptığımız seride birkaç adet kiral bileşik vardır. Bu bileşiklerin de farmokofor tespiti ve biyoaktivite hesapları yapılmıştır. Geçerliliği en iyi olan modeli belirleyebilmek, modelin performansını ölçmek ve sonuçların doğruluğunu test etmek için 3 ayrı hesaplama seti (Model) ile çalışılmıştır. Bileşik serimizde 96 adet bileşiğimiz mevcuttur. Bu bileşiklerden 67 tanesinin deneysel aktivitesi bilinmektedir. 29 bileşiğin ise, temel iskelete çeşitli sübsütientler ekleyerek çizimini yaptık ve aktivitelerini tahmin etmeye çalıştık. Aktivite tahminleri için 3 farklı model kullanılmıştır. Model 1'de bileşikler 50 eğitim 17 test olarak, model 2'de ise 45 eğitim 22 test olarak bölünerek hesap yapılmıştır. Model 3'te ise 67 bileşik eğitim olarak alınmış ve bölmeden hesap verilmiştir. Pim-1 ve Pim-2 için bu hesaplar ayrı ayrı yapılmıştır. Aktivite hesaplamalarında kullanılan parametre sayısının az, R^2 değerinin

maksimum, standart hata değerinin minimum ve q^2 değerinin maksimum olduğu durum en uygun durumdur. Bu nedenle çalışmamızda en yüksek R^2, en düşük standart hata ve q^2 değerlerinin maksimum olduğu sonuçlar hem kimyasal açıdan hem de istatistiksel açıdan en uygun sonuçlar olduğuna karar verilmiştir.

Benzotiyenopirimidin serisinde Pim-1 ve Pim-2 için optimum parametre sayısına karşılık gelen istatiksel sonuçlar aşağıdaki gibi verilmiştir.

Tablo 3.18. Pim-1 için optimum parametre sayısına karşılık gelen istatiksel sonuçlar.

Pim-1	q^2	R^2eğitim	R^2test	q^2ext1	q^2ext2	Con1	Con2	Con3
Model-1	0,8976	0,9452	0,8571	0,7497	0,7491	0,9710	0,8994	0,9448
Model-2	0,9170	0,9519	0,8326	0,7681	0,7674	0,9740	0,9015	0,9482
Model-3	0,9262	0,9506				0,9749		0,9749

Tablo 3.19. Pim-2 için optimum parametre sayısına karşılık gelen istatiksel sonuçlar.

Pim-2	q^2	R^2eğitim	R^2test	q^2ext1	q^2ext2	Con1	Con2	Con3
Model-1	0,8859	0,9265	0,9311	0,9471	0,9297	0,9625	0,9623	0,9631
Model-2	0,9142	0,9375	0,8327	0,7969	0,7959	0,9678	0,8999	0,9280
Model-3	0,9221	0,9450				0,9706		0,9706

Biyolojik aktivitenin tahmin edilmesinde modelin kurulması için kullanılan veri setinin bir kısmı eğitim seti olarak tarif edilmektedir. Eğitim seti farklı modelleri değerlendirmek için kullanılan test seti ile bağlantılı olarak kullanılır. Bu nedenle aktivite tahmin performansı açısından pim-1 ve pim-2 için model-1 ve model-2, model-3 göre daha önemlidir. Çünkü eğitim ve test seti için benzer veriler kullanılarak veri farklılıklarının etkisi minimize edilebilir ve modelin daha iyi anlaşılması sağlanır [44]. Test seti olmadığı taktirde modelin geçerliliğini kabul etmek imkansızdır. Model-3'ü denememizdeki amacımız bileşik sayısı arttığı takdirde eğitim setinin nasıl çıkacağını görmek içindir. Dikkat edilirse model-3'te istatiksel değerler oldukça iyi çıkmıştır.

Pim-1 için model-1 ve model-2'nin performansı kıyaslandığında her iki modelinde performansının iyi olduğu istatiksel sonuçlar incelendiğinde ortaya çıkmaktadır. Ancak

model-2'nin model-1'e göre performansının biraz daha iyi olduğu istatiksel analiz sonucu söylenebilir. Pim-2 için ise model-1 ve model-2'nin performansı kıyaslandığında her iki modelinde performansının iyi olduğu istatiksel sonuçlar incelendiğinde ortaya çıkmaktadır. Ancak model-1'nin model-2'e göre performansının biraz daha iyi olduğu istatiksel analiz sonucu söylenebilir. Pim-2 için model-2'de $R^2_{eğitim}$ ve q^2 değerleri, model-1'e göre biraz daha fazla olsa da R^2_{test}, q^2_{ext1}, q^2_{ext2}, con1, con2, con3 değerleri model-1'de daha iyidir. Sonuç olarak teorik hesaplama sonuçları ve yapılan istatistik analizler sonucu Pim-1 için model-2 (45 bileşik eğitim, 22 bileşik test) setinin, Pim-2 için ise model-1 (50 eğitim 17 test) setinin diğer 2 set grubuna göre daha iyi sonuçlar verdiği belirlenmiştir.

Çalışmamızın neticesinde sentezlenmemiş deneysel aktivitesi bilinen ve bilinmeyen bileşiklerin teorik olarak biyolojik aktiviteleri hesaplanmıştır. Tablo 3.4 ve 3.5'te literatürden [3] aldığımız deneysel veriler ile hesapladığımız aktivite değerleri verilmiştir. Neticede hesaplamalarımızın sonucunda ulaşılan değerler ile deneysel literatür değerleri arasında ciddi bir sapma gözlenmemiştir. Modellerimizin herbirinin aktivite tahmin performansı, istatiksel sonuçlara bakıldığında gayet iyi olduğu görülmektedir. Ayrıca enantiomerlerin (R,S) biyoaktiviteleri arasında da önemli bir fark görülmemiştir.

Kullandığımız EC-GA metodu birçok bilimi bir araya getirmektedir. Kimya, Fizik, bilgisayar, matematik ve yazılım mühendisliği gibi birçok bilimi kapsamaktadır. Bu nedenle multidisipliner bir çalışmadır. Yazılım her geçen gün daha da önemli hale gelmektedir. Yazılımların daha da geliştirilmesi bir çok alanda işimizi kolaylaştırmaktadır. EC-GA metodu ile deneysel ortamda alınan sonuçların teorik hesaplamalar ile kısa zaman ve daha az masraf ile alınması avantaj oluşturmaktadır. Bu tarz çalışmalar biyolojik aktivite gösteren yeni bileşiklerin keşfine ışık tutacak ve ilaç araştırmalarında yeni moleküllerin geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Thomas, G., (2003). Fundamentals of Medicinal Chemistry. Wiley-Blackwell, Weinheim, 56-70.
2. Hopfinger A.J., Wang S., Tokarski J.S. and et al. (1997). Construction of 3D-QSAR Models Using the 4D-QSAR Analysis Formalism, **Journal of American Chemical Society, 119,** 10509-10524.
3. Tao Z.F., et al., (2009). Discovery of 3H-benzo[4,5]thieno[3,2-d]pyrimidin-4-ones as potent, highly selective and orally bioavailable inhibitors of the human protooncogene proviral insertion site in moloney murine leukemia virus (Pim) kinases, **Journal of Medicinal Chemistry,** 52(21): 6621–6636
4. **http://en.wikipedia.org/wiki/Serine/threonine-specific_protein_kinase** (Erişim Tarihi: 26 Kasım 2012).
5. **http://en.wikipedia.org/wiki/PIM1** (Erişim Tarihi: 26 Kasım 2012).
6. Itai, A., Tomioka, N., Kato, K., (1995). QSAR and drug design: New developments and applications, **Elsevier Science Publication Company, 23**: 3-4.
7. Çağlar, S., (2013). Rutenyum (II) Aren Komplekslerinin Elektron Konformasyonel-Genetik Algoritma (EC-GA) Metodu ile Farmakofor Modellenmesi ve 4D-QSAR Analizi. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 4 s.
8. Puzyn, T., Leszczynski, J., Cronin, M. T., (2010). Recent Advances In Qsar Studies: Methods And Applications. Springer, London New York, 423 pp.
9. Richon, A.B., (1994). An Introduction to Molecular Modeling, Mathematech, 1, 83
10. Wermuth, C.G., (2006). Pharmacophores: historical perspective and viewpoint from a medicinal chemist,. 3-11. In: Pharmacophores and pharmacophore searches (Eds. R. Mannhold, H. Kubinyi, G. Folkers) Wiley-VCH, Weinheim
11. Bahar, R., 2016. Elektron Konformasyonel-Genetik Algoritma Metodu ile Fenilpirazolglutamik Asit Piperazin Bileşiklerinde Farmakofor Belirlenmesi ve 4D-QSAR Analizi. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 115 s.

12. Hansch C., et al., (1962). Correlation of biological activity of phenoxyacetic acids with hammett substituent constants and partition coefficients. **Nature, 194**: 178-180
13. Perkins, R., Fang, H., Tong, W., Welsh, W.J., 2003. Quantitative structure-activity relationship methods: Perspectives on drug discovery and toxicology, Environmental Toxicology and Chemistry, 22(8), 1666-1679.
14. Klebe G., 1998. Comparative Molecular Similarity Indices: Comsia." 3D Qsar in Drug Design. Kluwer Academic Publishers, 3: 87 pp58-
15. Krasowski MD, Hong X, Hopfinger AJ, Harrison NL, (2002). 4D-QSAR Analysis of a Set of Propofol Analogues: Mapping Binding Sites for an Anesthetic Phenol on the GABAA Receptor, **Journal of Medicinal Chemistry, 45,** 3210–3221.
16. Vedani A., et al., (2000). Multiple-Conformation and Protonation-State Representation in 4D-QSAR: The Neurokinin-1 Receptor System, **Journal of Medicinal Chemistry, 43,** 4416-4427.
17. Vedani A., Dobler, M., (2002). 5D-QSAR: The key for simulating induced fit ?, **Journal of Medicinal Chemistry, 45,** 2139–2149.
18. Lill M. A., (2007). Multi-dimensional QSAR in drug Discovery, **Drug Discovery Today, 12,** 1013-1017.
19. Greener M., (2005). Qsar: prediction beyond the fourth dimension. **Drug Discovery&Development, 8** (5): 44.
20. Köprü S., 2018. Fenilpirazin, Alkinilfenoksiasetik Asit, Ftalazin Türevlerinin Elektron Konformasyonel-Genetik Algoritma (EC-GA) Metodu ile 4D-QSAR analizi. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Kayseri, 228 s.
21. Dimoglo A.S., (1987). The Electron-Topological Approach İn The Search And Design Of Biologically Active Compounds. Rostow/Don University, Thesis of Doctor of Sciences, Russia.
22. Güzel Y., Sarıpınar E., Yıldırım İ., (1997). Electron-topological (ET) investigation of structure-antagonist activity of a series of

dibenzo[a,d]cycloalkenimines. **Journal of Molecular Structure (Theochem), 418,** 83-91.

23. Bersuker I.B., et al., (1991). Origin of Musk Fragrance Activity: The Electron-Topological Approach, **New Journal of Chemistry, 15,** 307-320.
24. Bersuker I.B., et al., (1999). An Electron-Conformational Method of Identification of Pharmacophore and Anti- Pharmacophore Shielding: Application to Rice Blast Activity, **Journal of Computer-Aided Molecular Design, 13**, 419–434.
25. Bersuker I. B., Bahçeci S., Boggs J. E., Pearlman R. S., (1999). A novel electronconformational approach to molecular modeling for qsar by identification of pharmacophore and anti-pharmacophore shielding. **SAR and QSAR in Environmental Research, 10,** 157-173.
26. Bersuker I.B., Bahçeci S., Boggs, J.E., (2000). Improved Electron-Conformational Method of Pharmacophore Identification and Bioactivity Prediction. Application to Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors, **Journal of Chemical Information Computer Sciences, 40,** 1363-1376.
27. Bersuker I.B., Dimoglo A.S., (1991). The Electron-Topological Approach to the QSAR Problem, **Reviews in Computational Chemistry, 2,** 423–460, Lipkowitz, K.B., Boyd, D.B. (eds.), VCH, New York.
28. Dimoglo A.S., et al., (1995). Electronic-Topological Investigations of the Relationships Between Chemical Structure and Ambergris Odor, **New Journal of Chemistry 19,** 1217-1226.
29. Goldberg D.E., (1989). Genetic Algorithms in Search, Optimization and Machine Learning, , Addison-Wesley Longman Publishing Co., 1-7
30. Sarıpınar E., Geçen N., Şahin K., Yanmaz E., (2010). Pharmacophore identification and bioactivity prediction for triaminotriazine derivatives by electron conformational-genetic algorithm qsar method, **European Journal of Medicinal Chemistry, 45,** 4157-4168.
31. Şahin K., Sarıpınar E., Yanmaz E., Geçen N., (2011). Quantitative bioactivity prediction and pharmacophore identification for benzotriazines derivatives by

electron conformational-genetic algorithm qsar method, **SAR and QSAR in Environmental Research, 22,** 217–238.

32. Yanmaz E., Sarıpınar E., Şahin K., Geçen N., Çopur F., (2011). 4D-qsar analysis and pharmacophore modeling: electron conformational-genetic algorithm approach for penicillins, **Bioorganic & Medicinal Chemistry, 19,** 2199-2210.

33. Geçen N., Sarıpınar E., Yanmaz E., Şahin K., (2012). Application of electron conformational–genetic algorithm approach to 1,4-dihydropyridines as calcium channel antagonists: pharmacophore identification and bioactivity prediction, **The Journal of Molecular Modeling, 18,** 65–82.

34. Akyüz L., Sarıpınar E., Kaya E., Yanmaz E., (2012). 4D-qsar study of hept derivatives by electron conformational-genetic algorithm method, **SAR and QSAR in Enviramental Research, 23**, 409-433.

35. Akyüz L., Sarıpınar E., (2013). Conformation depends on 4D-QSAR analysis using ec-ga method: pharmacophore identification and bioactivity prediction of tibos as non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, **Journal of Enzyme Inhibition And Medicinal Chemistry, 28**, 776–791

36. Özalp, A., Yavuz, S. Ç., Sabancı, N., Çopur, F., Kökbudak, Z., Sarıpınar, E. (2016). 4D-QSAR investigation and pharmacophore identification of pyrrolo[2,1-c][1,4] benzodiazepines using electron conformational–genetic algorithm method, **SAR and QSAR Environmental Research, 27,** 317–42.

37. Yavuz, S. Ç., Sabancı, N., Sarıpınar, E., (2018). Pharmacophore Modelling And 4D-QSAR Study Of Ruthenium(II) Arene Complexes As Anticancer Agents (Inhibitors) By Electron Conformational-Genetic Algorithm Method,**Current Computer-Aided Drug Design, 13**, 3-18.

38. Consonni V., Ballabio TDR, (2009). Comments on the Definition of the Q2 Parameter for QSAR Validation, **Journal of Chemical Information and Modelling, 49,** 1669–1678.

39. Geçen, N., (2010). 1,4-Dihidropiridin, Artemisinin ve Triazolpiridinoksazol Türevlerinin Nicel Yapı Aktivite İlişkilerinin İncelenmesi ve Biyoaktif Yapının Belirlenmesi. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Kayseri, 182 s.
40. Şahin, K., (2010). Elektron Konformasyonel Genetik Algoritma 4D-Qsar Metodu İle Pirazol, Benzotriazin, Dibenzazosin ve Kinazolin Serilerinde Farmakofor Belirlenmesi ve Biyoaktivite Hesabı. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Kayseri, 158 s.
41. Yanmaz, E., (2010). Elektron Konformasyonel-Genetik Algoritma Qsar Metodu ile Penisilin Türevlerine Ait Farmakofor Grubunun Belirlenmesi ve Biyoaktivite Hesabı. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 142 s.
42. Aydın, S., (2010). 3- (1,1-Diokso-2H- (1,2,4)-Benzotiyodiazin-3-il)-4-Hidroksi-2 (1H)-Kinolin Bileşik Serisinin Hepatit C İnhibitörü olarak Elektron Konformasyonel-Genetik Algoritma (EC-GA) Yöntemi ile QSAR İncelenmesi. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 127 s.
43. Akyüz, L., (2011). Timin, Benzodiazepin, Tiyazolidin, Pirimidin ve İmidazolidinon Türevlerinin Kantitatif Aktivitelerinin Belirlenmesi. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Kayseri, 187 s.
44. Çağlar, S., (2013). Rutenyum(II) Aren Komplekslerinin Elektron Konformasyonel-Genetik Algoritma (EC-GA) Metodu ile Farmakofor Modellemesi ve 4D QSAR Analizi. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 104 s.
45. Çatalkaya, S., (2014). Dipeptidil Bor Bileşiklerinin Elektron Konformasyonel-Genetik Algoritma (EC-GA) Metodu ile 4D-QSAR Analizi. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 123 s.
46. Özalp, A., (2014). Elektron Konformasyonel Genetik Algoritma 4D QSAR Metodu ile Benzodiazepin ve Melanokortin-4 Serilerinde Farmakofor Belirlenmesi ve Biyoaktivite Hesabı. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Kayseri, 194 s.
47. Tüzün B,. (2018). Elektron Konformasyonel-Genetik Algoritma Metodu ile Piridin Karboksilik Asit, Oksadiazol, Pirimidin ve Oksazol türevlerine Ait

Farmakofor Gruplarının Belirlenmesi ve Biyoaktivite Hesabı. Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Sivas, 186 s.

48. Rosines, E., Bersuker, I.B., Boggs, J.E., (2001). Pharmacophere Identification and Bioactivity Prediction for Group I Metabotropic Glutamate Receptor Agonists by the Electron-Conformational QSAR Method, **Quantitative Structure-Activity Relationship, 20**, 327-334.

49. Dimoglo A.S., Shvets N.M., Tetko I.V., Livingstone D.J., (2001). Electronic-topological investigation of the structure-acetylcholinesterase inhibitor activity relationship in the series of n-benzylpiperidine derivatives. **Quantitative Structure-Activity Relationship, 20**, 31-45.

50. Chirico N., Gramatica P., (2011). Real external predictivity of qsar models: how to evaluate it? Comparison of different validation criteria and proposal of using the concordance correlation coefficient. **Journal of Chemical Information and Modeling, 51,** 2320-2335.

51. Chirico N., Gramatica P., (2012). Real external predictivity of qsar models. part 2. new intercomparable thresholds for different validation criteria and the need for scatter plot inspection. **Journal of Chemical Information and Modeling, 52,** 2044−2058.

52. Lin L.I., (1989). A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility, **Biometrics, 45,** 255−268.

53. Fan F., et al., (2009). Novel Dimer Based Descriptors with Solvational Computation for QSAR Study of Oxadiazoylbenzoyl-ureas as Novel Insect-growth Regulators, **Journal of Computational Chemistry. 31,** 586–591.

54. Makkouk Al. H., Bersuker I. B., Boggs J.E., (2004). Quantitative Drug Activity Prediction for Inhibitors of Human Breast Carcinoma, **International Journal of Pharmaceutical and Medicinal Research, 18,** 81-89.

55. Livingstone D., (1995). Data Analysis for Chemists, Oxford University, England, 155.

56. Bersuker, I.B., Dimoglo, A.S., Gorbachov, (1987). M.Yu., The Electron-Topologic Approach to The QSAR Problem Illustrated by Inhibitor Activity for Thymidine Phosphorylase and α-Chymo-Trypsin, In QSAR in Drug Design and Toxicology, Vol.10, pp. 43-48, Hadzi, D., Jerman-Blazic, B. (eds.), Elsevier, Amsterdam.

57. Marenich, A.V., et al., (2008). Quantitative Antidiabetic Activity Prediction for the Class of Guanidino- and Aminoguanidinopropionic Acid Analogs Based on Electron-Conformational Studies, **Journal of Chemical Information and Modeling, 48,** 556-568.

58. Waller, C.L., (2004). A Comparative QSAR Study Using CoMFA, HQSAR, and FRED/ SKEYS Paradigms for Estrogen Receptor Binding Affinities of Structurally Diverse Compounds, **Journal of Chemical Information Computer Sciences, 44,** 758-765.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Harun KESKİN

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Yılı ve Yeri: 1986, Kayseri

Medeni Durumu: Evli

Tel: +90 555 547 01 15

email: harun-keskin@hotmail.com.tr

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Lisans	Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi	2009
Lise	Sümer Lisesi, Kayseri	2004