

1.1. BİLGİSAYAR DESTEKLİ İLAÇ ETKEN MADDE TASARIM VE GELİŞTİRME YÖNTEMLERİ

Yirminci yüzyılın ikinci yarısından itibaren araştırmacılar, yeni ilaç etken maddesi bileşiklere ulaşabilmek amacıyla kimyasal bileşiklerin moleküler yapıları ile biyolojik etkileri arasındaki ilişkileri tanımlama çalışmalarına yoğunlaşmışlardır. Bu yeni teknikler, yeni ilaç etken maddesi niteliğindeki kimyasal bileşiklerin geliştirilmesi, daha ideal etkili bileşiklere ulaşılması, etki mekanizmalarının tanımlanabilmesi etkinliklerinin yürütülmesinde giderek önemli rol kazanmışlardır.

Bilgisayar destekli ilaç etken maddesi tasarımı için iki kaynak hareket noktası kullanılmaktadır.

1- Hedef = Reseptörler, enzimler, nükleik asitler

2- Efektör = Hedefin etkili yüzeyini işgal eden, hedefi olumlu ya da olumsuz etkileyen doğal endojen maddeler veya ilaçlar olabilir.

Bilgisayar destekli ilaç molekülü tasarım ve geliştirme çalışmaları iki grupta incelenir.

- 1- Efektör (Ligand) Yapısına Dayalı Yöntemler
 - Kantitatif yapı-Etki İlişkileri Analizleri (QSAR)
 - Farmakofor analizi
- 2- Hedef Yapısına Dayalı Yöntemler
 - Moleküler Doking

Ligand yapısına dayalı tasarımda etki gösteren moleküllerin yapısından faydalanılarak reseptör yapısının yorumlanması amaçlanmaktadır. Hedef yapısına dayalı tasarımda ise, bilinen reseptör yapısından hareketle etki gösterebilecek moleküllerin tasarlanması amaçlanmaktadır.

1.1.1. Efektör Yapısına Dayalı Yöntemler

1.1.1.1. Kantitatif Yapı-Etki İlişkileri (QSAR)

Kantitatif yapı-etki ilişkileri (QSAR), kimyasal bileşiklerin moleküler nitelikleri (yapısal/fizikokimyasal özellikleri) ile biyolojik aktiviteleri arasındaki ilişkileri matematiksel yöntemlerle tanımlama işlemleridir.

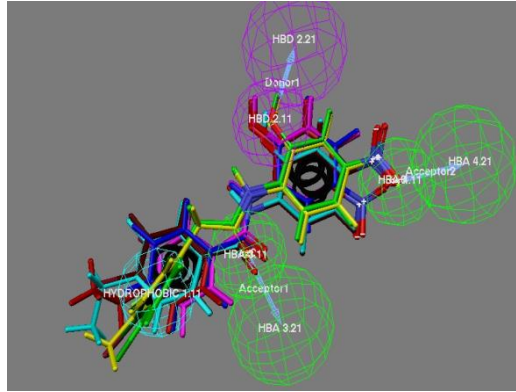
.
. .
.

1.1.1.2. Farmakofor Analizi

İlaç tasarımında sık karşılaşılan, terapötik olarak söz konusu reseptörün üç boyutlu yapısı bilinmediği durumlarda, moleküler modelleme çalışmalarıyla, ligandların yapıları iyice karakterize edilir. Böylece biyolojik etkide rol oynayan konformasyonları kesin bir biçimde ortaya çıkarılabilir. Reseptörün yapısı daha sonra bu tür ligandlardan ortaya çıkartılabilmekte veya 'haritalanabilmektedir'. Böylelikle mevcut yapı-etki ilişkilerini kullanılarak yeni ilaç adaylarını tasarlamak mümkün olmaktadır.

Farmakofor ligandların biyolojik aktiviteleri için gerekli olan temel fonksiyonel grupları olarak tanımlanmaktadır. Diğer bir ifadeyle farmakofor, belli bir biyolojik aktivite için gerekli olan yapısal elemanların uzaysal düzenlemesidir.

Farmakofor modeli ise molekülün üç boyutlu yapısını kapsayan; hidrofobik gruplar, yüklü veya iyonize olabilen gruplar, hidrojen bağı verici (donör) ve alıcıları (akseptör) gibi molekül özelliklerini gösterir. Farmakofor model oluşturmak için bileşikler üst üste çakıştırılarak sahip oldukları ortak özellikler tespit edilir. Bu özellikler, reseptöre bağlanmak için gerekli olan karakteristik özelliklerle benzeşen kimyasal fonksiyonları içerir. Oluşturulan farmakofor modeli ile uyumlu olan bileşikler üç boyutlu veri tabanları olarak kullanılabilir ve sonuçta etkin yeni aday moleküllerin önerilmesi sağlanır.



Şekil 4.5. İki hidrojen bağı alıcısı, bir hidrojen bağı vericisi ve bir hidrofobik özellikten oluşan farmakofor model ve bu modelle haritalandırılan bileşikler

Farmakofor analiz ile etki gösteren moleküllerin yapısından yola çıkılarak reseptör yapısının yorumlanması amaçlanır. Bu yöntem kullanılırken;

- Reseptörün yapısı bilinmemekte
- Etki mekanizması bilinmemekte veya bilinmemekte
- Ligant ve ligandın biyolojik aktivitesi bilinmemektedir.

Farmakofor grupların özellikleri

Hidrojen bağı alıcısı: Üzerinde serbest elektron çifti taşıyan atomlar

Ör: O, N, S...

Hidrojen bağı vericisi: Üzerinde en az bir tane H atomu taşıyan atomlar

Ör: -OH, -NH-, R_3NH^+ , -SH...

Hidrofobik Özellik:

- Nonpolar gruplar hidrofobik özelliği artırır.

Ör: -R, -X, -Ar

- Polar gruplar ise hidrofobik özelliği azaltır.

Ör: -COOH, -OH, -NH₂

Aromatik Halka Özelliği: Aromatik yapıdaki halkalar

Ör: -Ar

benzen, tiyofen, piridin, naftalen...

Elektrostatik özellik: Anyon veya katyan halinde bulunan atomlar

Ör: -NH₃⁺ (pozitif iyonize olabilen grup)

-COO⁻ (negatif iyonize olabilen grup)

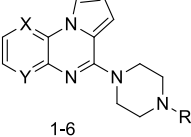
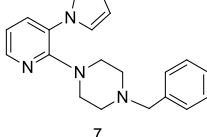
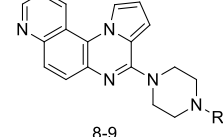
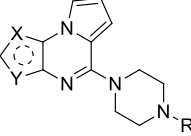
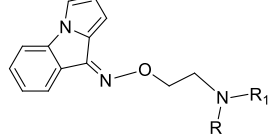
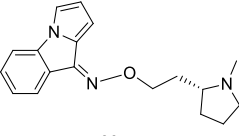
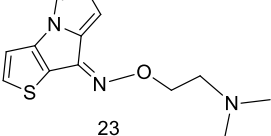
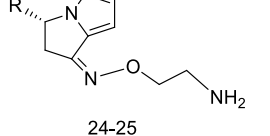
Serotonin 5-HT₃ Reseptörü Kısmi Agonistleri Üzerine Farmakofor Analiz Uygulaması

Serotonin 5-HT₃ reseptörleri çok sayıda fizyolojik olayların oluşumundaki etkileri nedeniyle potansiyel terapötik hedefler olarak araştırılmıştır. Bu reseptörün agonistler tarafından aktive edilmesi durumunda;

- santral sinir sisteminde; beyin sapında mide bulantısı ve kusma merkezi uyarılması, anksiyete ve felç;
- periferik sinir sisteminde; sinir hücrelerinin uyarılması (otonom ve ağrı sinirleri) kusma gibi etkiler gözlenmektedir.

Serotonin 5-HT₃ reseptörü kısmi agonistleri, çeşitli gastrointestinal sistem rahatsızlıklarında özellikle irritabl barsak sendromunda (spastik kolon) kullanılmaktadır.

Tablo 4.4. Çalışma seti olarak kullanılan etkili Serotonin 5-HT₃ reseptör agonistleri

					
					
					
Bileşik	X	Y	R	R ₁	Activite (-log IC ₅₀)
1	N	C	H	-	8,83
2	N	C	allil	-	11,40
3	N	C	benzil	-	12,09
4	N	C	4F-benzil	-	8,59
5	C	C	Benzil	-	9,45
6	C	C	4F-benzil	-	8,62
7	-	-	-	-	7,34
8	-	-	allil	-	7,71
9	-	-	benzil	-	7,51
10	S	C	H	-	7,92
11	S	C	CH ₃	-	6,09
12	S	C	allil	-	8,58
13	S	C	benzil	-	8,85
14	S	C	4F-benzil	-	7,67
15	C	S	CH ₃	-	6,62
16	C	S	allil	-	9,04
17	C	S	benzil	-	8,34
18	C	S	4F-benzil	-	8,93
19	-	-	H	H	6,66
20	-	-	CH ₃	CH ₃	8,24
21	-	-	benzil	H	6,54
22	-	-	-	-	7,85
23	-	-	-	-	8,46
24	-	-	tiyenil	-	6,05
25	-	-	fenil	-	6,00

1. Konformasyonel veribankası oluşturma

- Çalışmada biyolojik aktivitesi bilinen 25 bileşik ve 19000 farklı bileşik içeren bir veribankasından bu 25 bileşiğe yapısal olarak benzerlik gösteren 250 inaktif bileşik kullanılır.
- Oluşturulan çalışma setindeki 275 bileşik için konformasyonel analiz çalışması başlatılıp ve bu bileşiklerin farklı konformasyonları elde edilir.
- Oluşturulan konformerlerin biyolojik aktivite değerleri girilir.

2. Farmakoforun oluşturulması

Biyolojik aktivitesi en yüksek olan bileşik üzerinde, iki aromatik halka, bir hidrojen bağı akseptörü, bir hidrojen bağı vericisi ve katyonik bölge özelliklerini içeren farmakofor model gösterilir.

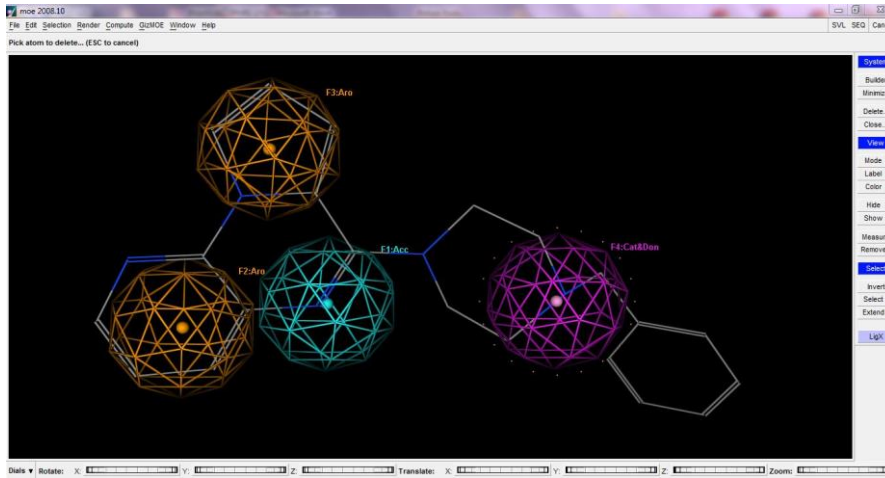
3. Farmakofor analizi

Çalışma serisindeki 275 molekül ve bunların konformerleri oluşturulan farmakofor modeli ile karşılaştırılır.

4. Sonuçların değerlendirilmesi

Çalışma serisindeki bileşiklerin farmakofor model ile karşılaştırılması işlemi sonucunda elde edilen sayısal veriler incelenir. Moleküllerin farmakofor model ile uyumları RMSD değeri ile açıklanır.

RMSD (Root-mean-square deviation): Gerçekte gözlenen değer ile bir model oluşturularak tahmin edilen değer arasındaki farklılığı ölçen bir değerdir. Bu değer sıfıra ne kadar yakınsa, molekülün farmakofor model ile uyumu o kadar yüksektir.



Şekil 4.6. Çalışma sonucunda oluşturulan farmakofor model

Turuncu: aromatik halka, açık mavi: hidrojen bağı alıcısı,
mor: hidrojen bağı vericisi ve katyonik merkez

	mol	rmsd	mseq	row	hitmap	-log(C50)
1	03	0.3115	1	1	7 17 27 29	12.0900
25	02	0.3115	2	2	7 17 23 25	11.4000
93	05	0.2984	3	3	7 17 27 29	9.4500
117	16	0.3035	4	4	3 13 23 24	9.0400
185	18	0.3035	5	5	3 13 28 29	8.9300
209	13	0.2946	6	6	3 13 27 28	8.8500
233	01	0.3101	7	7	7 17 20 22	8.8300
237	06	0.2984	8	8	7 17 28 30	8.6200
261	04	0.3115	9	9	7 17 28 30	8.5900
285	12	0.2946	10	10	3 13 23 24	8.5800

1152 entries, 39 selected, 39 visible, 6 fields, 0 selected, all visible.

Şekil 4.7. Farmakofor analizi çalışması sonucunda elde edilen sonuçlar

Sorular

- 1) Farmakofor model nedir? Nasıl oluşturulur?
- 2) Serotonin 5-HT₃ reseptörü kısmi agonistleri üzerine oluşturduğunuz farmakofor modelde ortaya çıkan en önemli özellikler nelerdir?
- 3) Serotonin 5-HT₃ reseptörü kısmi agonistleri üzerine oluşturduğunuz farmakofor modelini esas alarak Serotonin 5-HT₃ reseptörü kısmi agonisti olabilecek yeni bir molekül tasarlayınız.

1.1.2. Hedef Yapısına Dayalı Yöntemler

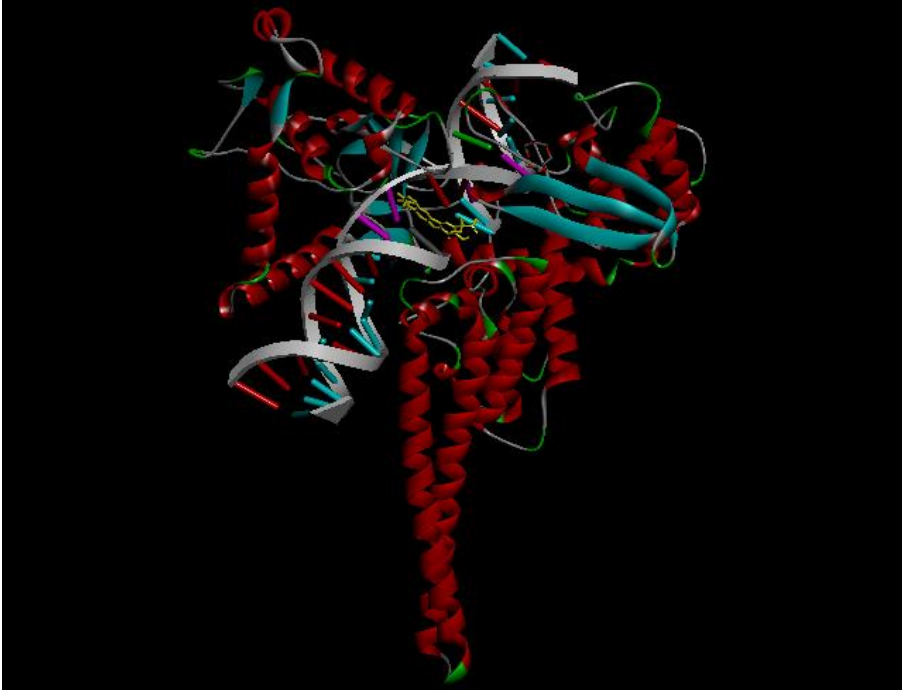
4.1.2.1. Doking Yöntemi

Protein-ligand doking yöntemlerinin, ilaç tasarımı konusundaki önemi tartışmasızdır. İlaç tasarımında, küçük moleküller ile reseptörler arasında yapılan doking çalışmaları gittikçe artan bir önem kazanmaktadır.

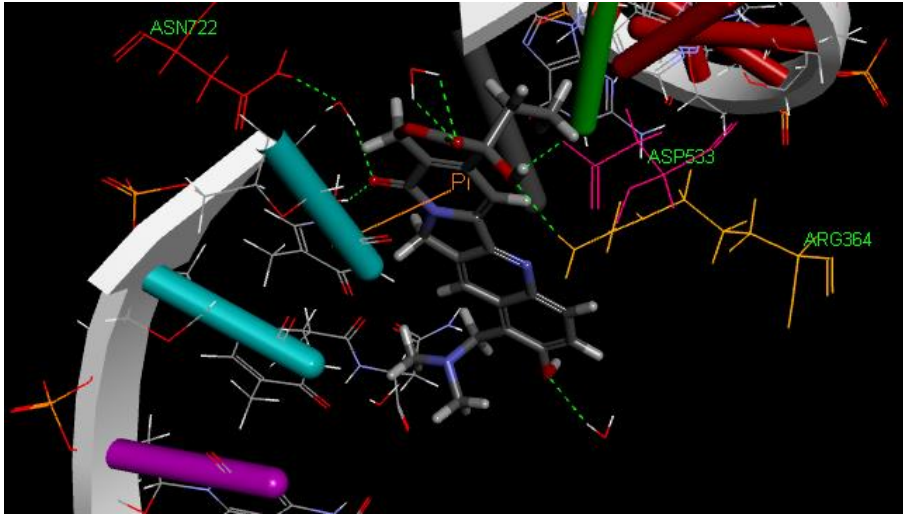
Doking çalışmalarında reseptör olarak ele alınan yapı, protein yapısındadır. Reseptörün yapısının tanımlanmasında en çok X ışınları kristalografisi ve nükleer manyetik rezonans (NMR) teknikleri kullanılmaktadır. Kristal olarak elde edilebilen bir protein üzerine X ışınları gönderilerek, bu proteinin yapısı belirlenebilmektedir. Daha kompleks olan NMR yönteminde, su ortamında çözünen proteinin konformasyonu saptanabilmektedir. Ancak, NMR yöntemi oldukça karışık ve kompleks çözümlemelere gereksinim duymaktadır. Dolayısıyla, tercih edilen yöntem X ışınları kristalografisidir.

Moleküler doking teknikleri, bilgisayar destekli rasyonel ilaç tasarımı ilaç ya da ilaç adayları ile enzim, nükleik asit, reseptör proteinlerinin birbirine nasıl uyum gösterdiklerini araştırmak için sıklıkla kullanılmaktadır. Doking çalışmalarında, üç boyutlu yapısı belli olan reseptöre bağlanma enerjileri belirlenebilmekte ve reseptörün bağlanma bölgesinde ligandın pozisyonu canlandırılabilir. Bu durum, bağlanma tipinin anlaşılması ve proteinleri hedefleyen küçük moleküllü, daha uyumlu ligandların tasarlanması için faydalı olabilmektedir. Başka bir deyişle; doking, ligandın uygun konformasyonu ile reseptör arasında anahtar-kilit ilişkisine benzer bir uyum olması durumudur. Ligandlar genellikle hareketlidir (flexible) ve çözücü içerisinde birçok farklı konformasyonda bulunmaktadır. En çok kullanılan doking yöntemi; sabit tutulan proteinin aktif

yöresi ile ligandın bir seri konformasyonu arasında yapılan doking işlemidir. Şekil 4.8 ve Şekil 4.9 da protein ilaç etkileşimleri görülmektedir.



Şekil 4.8. Topotekan bileşiğinin (sarı renkli) Topoizomeraz I enzimi ve DNA ile etkileşimi (Pdb: 1K4T)



Şekil 4.9. Topotekan bileşiğinin doking pozu (Hidrojen bağları ve pi etkileşimleri)