

Free-Wilson Analiz Metodu

Kantitatif yapı-etki ilişkileri analizlerine uyarlanan *de novo* yöntemlerinin ilki olan Free-Wilson metodu, 1964 yılında Spencer M. Free ve James W. Wilson adlı araştırmacılar (Bkz. Bölüm 3.2.) tarafından tanımlanarak, uygulamaya sokulmuştur [5].

Bu analiz metodunda, kimyasal molekül bağımsız parçalara bölünerek elde edilen atom ve/veya atom grupları yapısal parametreler olarak ele alınır ve bu parametrelerin biyolojik aktivite üzerine gösterdikleri katkıların nicel değerleri bulunur. Analiz işlemi, en küçük kareler metodu kullanılarak çoklu doğrusal (lineer) regresyon işlemi aracılığıyla çözümlenir ve yapısal parametrelerin biyolojik etkiye gösterdikleri katkı payları hesaplanır. Elde edilen bu nicel katkıların matematiksel toplamı biyolojik aktiviteyi tanımlar [3, 7-10].

Bir benzeş (homolog) dizin içerisindeki moleküllerden türetilen bağımsız yapısal parametrelerin biyolojik aktiviteye olan nicel katkı payı değerlerinin saptanması esasına dayanan Free-Wilson Analiz Metodu aşağıda verilen şekilde tanımlanır;

Biyolojik Etki = Moleküldeki Değişken Yapısal Parametrelerin
Gösterdikleri Etki Katkı Payları Toplamı +
Averaj Nitelikteki Sabitenin Etki Katkı Değeri

Yukarıda tanımlanan bu analiz modeli bir benzeş dizin üzerinden matematiksel olarak çözümlendiğinde ise eşitlik 8/3 ile belirtilir [7-9];

$$BA = \sum_{ij} a_{ij} x_{ij} + \mu$$

8/3

Bu bağıntıda kullanılan biyolojik etki (BA), kısıtlama olmaksızın doğrusal (lineer) (LD_{50} veya % inhibisyon gibi) veya logaritmik ($\log 1/C$) değerler ile tanımlanacak şekilde yer alabilir. Ancak mümkünse $\log 1/C$ değerleri şeklindeki tanımlama öncelikle tercih edilir. a_{ij} ise, i nci konumdaki sübstitüentin biyolojik aktiviteye olan katkı payı değerini gösterir. Eğer bu sübstitüent molekülün j konumunda yer alıyorsa x_{ij} değeri 1, aksi halde 0 olarak tanımlanır. μ terimi ise, molekülün dilimlenmesi sonucu oluşturulan yapısal parametrelerin dışında kalan bölümün biyolojik aktiviteye ait averaj nitelikteki sabit katkı payı değerini gösterir.

Matematiksel olarak yukarıdaki denklemlerle gösterilen bu ilişki en küçük kareler metodu aracılığıyla çoklu regresyon işlemi ile çözümlenerek, a_{ij} ve μ değerleri elde edilir. Bu çözümleme için öncelikle bir yapısal matris tablosu hazırlanır. Regresyon işlemindeki serbestlik derecesinin kabul edilebilir ve geçerli sınırlarda bulunabilmesi için, yapısal matriste yer alacak kimyasal bileşiklerin (objelerin) sayısı,

$$n \geq G + 5$$

8/4

şeklinde olmalıdır. Böylece analizde yer alması gereken ve istatistiksel yönden uygun serbestlik derecesi sağlayan toplam minimum bileşik sayısı (n) bulunmuş olur [11,12]. Bu eşitlikte, n analizde yer alan objelerin sayısını, G ise molekülün tüm değişik konumlarında (p) yer alan ve bağımsız yapısal parametreler olarak seçilen sübstitüentlerin toplamının (m_j) bir fazlasını içerir ve aşağıda verilen eşitlik ile tanımlanır :

$$G = 1 + \sum_{j=1}^p m_j$$

8/5

Regresyon işlemi için gerekli olan minimum sayıdaki (n) bileşik dışında analizde yer almayan bileşiklerin ($N-n$) biyolojik etkileri ise analiz sonucu elde edilen yapısal parametrelerin katkı değerleri

aracılığıyla eşitlik 8/3 kullanılarak hesaplanır. N sayısı, analizde yer alan sübstitüentlerin tümünün molekülde karşılıklı birer kez kullanıldığı zaman ortaya çıkacak toplam maksimum bileşik sayısını belirtir :

$$N = \prod_{j=1}^p m_j \quad 8/6$$

Yapısal matrisin hazırlanması sırasında dikkat edilmesi gereken diğer bir nokta da analizde yapısal parametre olarak kullanılan her bir sübstitüentün bileşiklerde en az iki defa konuşlandırılmış durumda olması gereksinimidir. Bu durum sağlanırsa, kimyasal yapıda yer alan atom ve/veya atom gruplarının regresyon analizi sonucu hesaplanan katkısız değerleri istatistiksel olarak daha anlam kazanır hale gelmiş olur.

Yapısal parametreler ile yer aldıkları konumları ve bileşiklerin gözlenen aktivite değerlerini içeren yapısal matrisin hazırlanışından sonra, bu matrisden yararlanılarak analizde kullanılan bileşikleri tanımlayan n sayısı kadar doğrusal (lineer) eşitlik üretilir. Bu denklemlerden hareketle simetri eşitlikleri adı verilen çözümleyici denklemler türetilerek, korelasyon matrisinin düzenlenmesi sağlanır.

Free ve Wilson, korelasyon matrisinde yer alan ve çoklu regresyon işleminin çözümlenmesinde kullanılan bağımsız parametrik değerlerin belirlenmesinde, simetri eşitlikleri adı verilen ve matematiksel olarak eşitlik 8/7 ile gösterilen ek çözümleyici denklemleri kullanmışlardır [13,14].

$$\sum a_{ij} x_{ij} = 0 \quad 8/7$$

Yapısal parametre olarak kullanılan sübstitüentlerin molekülde yer aldıkları farklı her konum için ayrı ayrı türetilen bu eşitlik, sübstitüentlerin yer aldıkları her konum için aktiviteye olan toplam katkılarının sıfır olduğunu gösterir.

Free-Wilson yönteminin tanımlandığı denklemde yer alan μ , çoklu regresyon işleminin çözümlenmesi sırasında hesaplanan kesişim noktası değeri olarak korelasyon denkleminde yer alır. Analizde kullanılan tüm bileşiklerin gözlenen etki değerlerinin iştirakleri ile hesaplanan bu ortalama nitelikli sabite değeri aşağıda belirtilen eşitlik ile saptanır [14].

$$\mu = 1/n \sum_{j=1}^n \log 1/C \quad 8/8$$

Çoklu regresyon işlemi sonucu saptanan korelasyon denklemleri eğer istatistiksel olarak anlamlı bulunursa, elde edilen regresyon katsayıları bağımsız yapısal parametre olarak seçilen sübstitüentlerin biyolojik aktiviteye olan nicel katkılarını yani a_{ij} değerlerini gösterir. Böylece molekülün analizlenen konumlarında yer alan atom ve/veya atom gruplarının biyolojik etkiye olan katkıları belirlenmiş olur.

Ayrıca sübstitüentlerin olumlu ve olumsuz yönde gösterdikleri nicel katkı farkı değerleri üzerinden, sübstitüentlerin molekülde konuşlandırıldıkları konumların aktiviteye olan duyarlılığını da matematiksel olarak hesaplamak mümkündür. Bunun sonucunda biyolojik aktiviteye karşı molekülün en duyarlı konumunu saptamak ve araştırıcıyı karışık konum bağımlılığından kurtarmak fırsatı sağlanmış olur.

Prensipieri yukarıda belirtilen bu metodun kullanıldığı bir yapay analiz örneği, uygulama basamaklarını da gösterir biçimde aşağıda okuyucuya sunulmaya çalışılmıştır.