

## SAR

### SAR (Structure-Activity Relationship):

- odnos strukture i aktivnosti jedinjenja;
- molekulska struktura i biološka aktivnost jedinjenja su u korelaciji ako se posmatraju rezultati sistematskih strukturnih modifikacija;
- SAR je kvalitativan a ne kvantitativan odnos.

### Cilj SAR-a:

Identifikovati FG koje su značajne za aktivnost ili za vezivanje za receptor

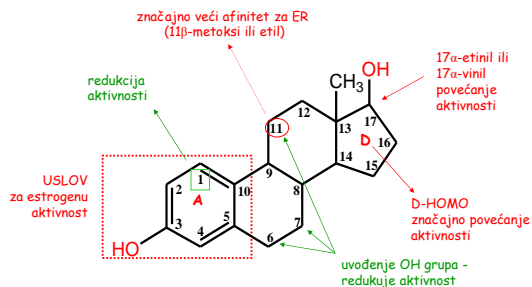
### Metod:

- Izmeniti, ukloniti ili maskirati funkcionalnu grupu;
- Ispitati aktivnost analoga;
- Modifikacije mogu izmeniti elektronske/sterne efekat;
- Najjednostavnija je izmena lead molekula;
- Neki analozi se moraju ponovo sintetisati (npr zamena aromatičnog prstena cikloheksanom);
- Omogućava identifikaciju grupa koje su značajne za vezivanje.

## SAR estrogena

rastojanje između OH (3 i 17)  
10,3 - 12,1 Å

uklanjanje kiseonika iz pol. 3 ili 17  
ili 17 $\alpha$  - OH grupa (EPI) redukcija aktivnosti



## SAR/QSAR/QSPR/QSRR/QSTR

QSAR-Quantitative Structure-Activity Relationship

QSPR-Quantitative Structure Property Relationship

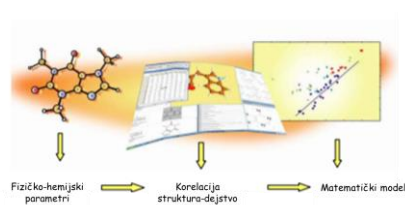
QSRR-Quantitative Structure Retention Relationships

QSTR-Quantitative Structure Toxicity Relationship

QSPKR-Quantitative Structure Pharmacokinetic Relationship

## Uvod u QSAR

### Quantitative Structure Activity Relationships-



### Značaj primene QSAR :

- eksperimenti potrebni za razumevanje fizičkih, hemijskih i bioloških osobina jedinjenja su veoma skupi;
- In silico modeli omogućavaju bolje razumevanje interakcije ili reakcije između molekula i njihove aktivnosti;
- Pružaju korisne informacije o biološkoj aktivnosti koje se mogu iskoristiti za istraživanje lekova i predviđanje ADMET-a;
- Omogućavaju predviđanje osobina/aktivnosti jedinjenja pre njihove sinteze.

### Istorijat QSAR

- Dmitri Mendeljev (1834-1907);
- 1893, C. Richet-toksičnost nekih organskih jedinjenja je obrnuto proporcionalna rastvorljivosti u vodi (etri, alkoholi, ketoni);
- 1937, L.P. Hammett ispitivao hemijsku reaktivnost supstituisanih benzena;
- 1952- 1956, R.W. Taft definisao postupak odvajanja polarnih, sternih i rezonantnih efekata;
- 1970-1990, razvoj 2D QSAR (deskriptori, matematički modeli) i 3D QSAR (farmakofore, docking)
- 1990-virtuelni *screening*

### QSAR = Quantitative structure-activity relationships

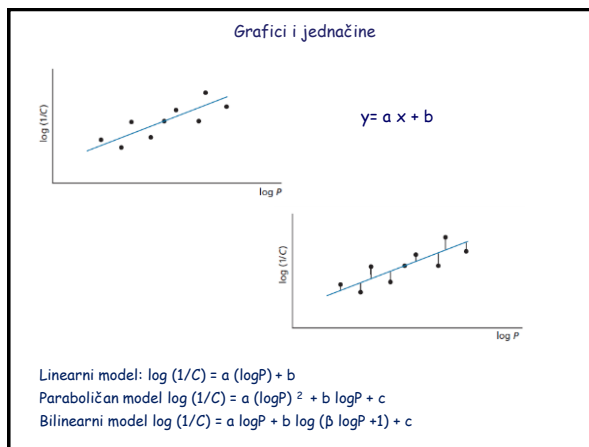
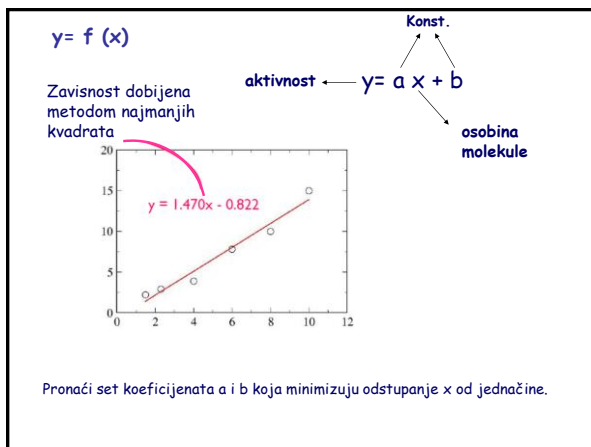
QSAR-korelacija između osobina molekula (izraženih **numerički**) i **biološke aktivnosti**.

Biološka aktivnost se kvantitativno iskazuje kao koncentracija koja daje određeni biološki odgovor.

Fizičko hemijske osobine leka mogu se iskazati **numerički**.

### Biološki podaci korišćeni u QSAR

Aktivnost	Biološki parametri
<b>1. Izolovani receptori</b>	
Konstante brzine	$\log k_{cat}$ , $\text{Log } k$
Michaelis-Mentenova	$\log 1/K_M$
Inhibitorne konstante	$\log 1/K_i$ , $pA_2$ ;
Konstante afiniteta	$pA_1$ ,
<b>2. Čelijski sistemi</b>	
Inhibitorne konstante	$\log 1/IC_{50}$
Rezistencija	$\log CR$
In vitro biološki podaci	$\log 1/C$
Mutagenost	$\log TA_{98}$
<b>3. "In vivo" sistemi</b>	
Faktor biokoncepcije	$\log BCF$
In vivo konstante reakcije	$\log I$ (indukcija)
Farmakodinamske konstante brzine	$\log T$ (ukupni klirens)



### QSAR postupak

- Izdvojiti set molekula koji reaguju sa istim receptorom i izazivaju poznati efekat.
- Podeliti izabrana jedinjenja u dve podgrupe: jednu za trening, drugu za ispitivanje.
- Određiti fizičko-hemijske parametre ispitivanja.
- Napraviti model: pronaći korelaciju između aktivnosti i osobina jedinjenja (regresiona analiza, statistički model).
- Validirati model.
- Testirati dobijeni model.

### Validacija QSAR modela

Statistički parametri:

- RMSEE (Root Mean Square Error of Estimation),
- RMSEP (Root Mean Square Error of Prediction),
- $R^2$  (koeficijent determinacije formiranog modela),
- F-odnos, p-vrednost,
- interni validacioni parametar  $Q^2$ ,
- r (koeficijent korelacije između predviđenih i eksperimentalno određenih vrednosti)
- eksterni validacioni parametar  $R^2_{obs}$  vs pred.

## Molekulski deskriptori

Molekulski deskriptor je krajnji rezultat logičkog i matematičkog procesa koji konvertuje hemijske informacije (kodirane u hemijskoj formuli) u korisnu numeričku vrednost.

Deskriptori opisuju:

- fizičko-hemijske osobine
- veličinu molekula (npr. molekulska zapremina, polarizabilnost, molarna refraktivnost)
- polarnost (npr. polarna površina, dipolni moment, energija HOMO i LUMO orbitala)
- kvantno-hemijske osobine (npr. energije orbitala, maksimum i minimum elektrostatičkog potencijala, parcijalno naelektrisanje)

## Podela deskriptora

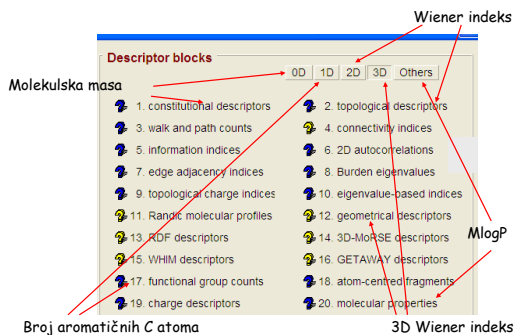
- fizičko-hemijski,
- kvantno-hemijski,
- topološki i
- konstitucionalne deskriptore

Najčešće korišćeni deskriptori u QSAR/QSPR/QSRR analizi su:

- Deskriptori koji opisuju topološke osobine molekula (atomske veze u molekulu, veličina, simetrija, račvanje, oblik molekula);
- Konstitucionalni deskriptori (molekulska masa, broj i tip atoma u molekulu);
- Geometrijski deskriptori (izvedeni iz trodimenzionalne strukture molekula, molekulski volumen, sterne osobine molekula);
- Deskriptori koji opisuju elektronske osobine molekula (lipofilnost, sposobnost građenja vodoničnih veza, naelektrisanje, polarizabilnost, dipolni moment, različite vrste energije).

Određivanje deskriptora : eksperimentalno i teorijski

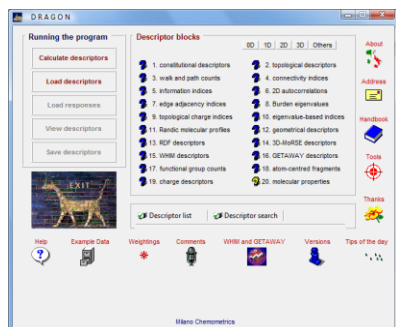
Kompjuterski programi mogu izračunati nekoliko hiljada molekulskih deskriptora.



ID	Name	Description	Block
1	MW	molecular weight	Constitutional indices
2	AMW	average molecular weight	Constitutional indices
3	Sv	sum of atomic van der Waals volumes (scaled on Carbon atom)	Constitutional indices
4	Se	sum of atomic Sanderson electronegativities (scaled on Carbon atom)	Constitutional indices
5	Sp	sum of atomic polarizabilities (scaled on Carbon atom)	Constitutional indices
6	Si	sum of first ionization potentials (scaled on Carbon atom)	Constitutional indices
7	Mv	mean atomic van der Waals volume (scaled on Carbon atom)	Constitutional indices
8	Me	mean atomic Sanderson electronegativity (scaled on Carbon atom)	Constitutional indices
9	Mp	mean atomic polarizability (scaled on Carbon atom)	Constitutional indices
10	Mi	mean first ionization potential (scaled on Carbon atom)	Constitutional indices
11	nAT	number of atoms	Constitutional indices
12	nK	number of non-H atoms	Constitutional indices
13	nBT	number of bonds	Constitutional indices
14	nBD	number of non-H bonds	Constitutional indices
15	nBM	number of multiple bonds	Constitutional indices
16	SCBO	sum of conventional bond orders (H-depleted)	Constitutional indices
17	RBN	number of rotatable bonds	Constitutional indices
18	RBF	rotatable bond fraction	Constitutional indices
19	nDB	number of double bonds	Constitutional indices
20	nTB	number of triple bonds	Constitutional indices
21	nAB	number of aromatic bonds	Constitutional indices
22	nH	number of Hydrogen atoms	Constitutional indices
23	nC	number of Carbon atoms	Constitutional indices
24	nN	number of Nitrogen atoms	Constitutional indices
25	nO	number of Oxygen atoms	Constitutional indices
26	nP	number of Phosphorous atoms	Constitutional indices
27	nS	number of Sulfur atoms	Constitutional indices
28	nF	number of Fluorine atoms	Constitutional indices
29	nCl	number of Chlorine atoms	Constitutional indices
30	nBR	number of Bromine atoms	Constitutional indices
31	nI	number of Iodine atoms	Constitutional indices
32	nB	number of Boron atoms	Constitutional indices
33	nHM	number of heavy atoms	Constitutional indices
34	nHE	number of heteroatoms	Constitutional indices
35	nX	number of halogen atoms	Constitutional indices
36	H%	percentage of H atoms	Constitutional indices
37	C%	percentage of C atoms	Constitutional indices
38	N%	percentage of N atoms	Constitutional indices
39	O%	percentage of O atoms	Constitutional indices
40	X%	percentage of halogen atoms	Constitutional indices
41	nCsp3	number of sp3 hybridized Carbon atoms	Constitutional indices
42	nCsp2	number of sp2 hybridized Carbon atoms	Constitutional indices
43	nCsp	number of sp hybridized Carbon atoms	Constitutional indices

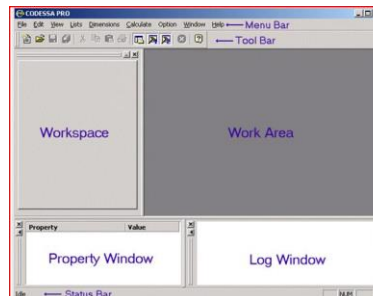
## Software

## DRAGON



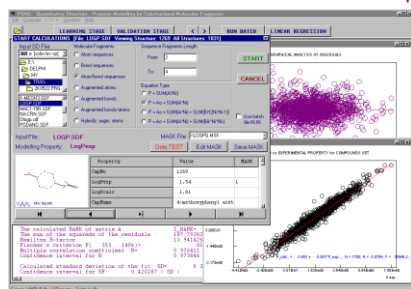
Softver DRAGON izračunava 1664 molekularnih deskriptora podeljenih u 20 blokova.

## CODESSA Pro



- ✓ Izračunava veliki broj molekularnih deskriptora na osnovu 3D geometrijske strukture i/ili kvantno-hemijskih parametara;
- ✓ Definiše (višestruki) linearni i nelinearni QSPR

## ISIDA program



- ✓ izračunava deskriptore fragmenta;
- ✓ razvija (multi) linearne i nelinearne QSPR modele

## Osobine optimalnog deskriptora

- Da bude jednostavan tip deskriptora
- Nezavisan i lako se izračunava
- Pokazuje dobru korelaciju sa najmanje jednom osobinom jedinjenja
- Postepeno se menja sa promenom strukture
- Ne pokazuje „lažne“ korelacije sa drugim deskriptorima
- Može da razlikuje izomere
- Da može da se primeni na deo strukture
- Adekvatno predstavlja strukturu
- Može se primeniti i na strukturno slična jedinjenja
- Pokazuje zavisnost od veličine, ako je povezan sa veličinom molekula

### Izbor deskriptora

- Pronaći deskriptore koji međusobno korelišu (npr molekulska masa i temperatura ključanja kod serije homologih jedinjenja).
- Izabrati deskriptore koji najbolje opisuju (korelišu) sa posmatranim biološkim efektom.
- Konačni QSAR uključuje najviše 3-5 deskriptora (izuzimajući ukrštenu interakciju).

### Ograničenje broja deskriptora

- Broj ispitivanih jedinjenja treba da bude 5 puta veći od broja posmatranih deskriptora
- Razlog: mali broj jedinjenja u odnosu na broj deskriptora može dati pogrešnu korelaciju
  - 2 ispitivanja tačno definišu liniju
  - 3 tačno definišu ravan
  - veći broj ispitivanja daje tačniju korelaciju

### Teorijski molekularni deskriptori

- razlikuju po složenosti informacija koje u sebi nose, tj. po vremenu koje je potrebno za njihovo izračunavanje
- prema vrsti algoritma koji se koristi za njihovo izračunavanje mogu podeliti na OD (nulti), 1D, 2D, 3D i 4D
- 0 D-najjednostavniji, konstitucionalni deskriptori
- 1 D-strukturni
- 2 D-topološki
- 3 D-geometrijski
- 4 D-sterne osobine molekula

### Molekularni deskriptori: 1D (strukturni)

Jednostavni deskriptori koji se odnose samo na molekularni sastav jedinjenja i ne uzimaju u obzir geometriju ili elektronsku strukturu molekula.

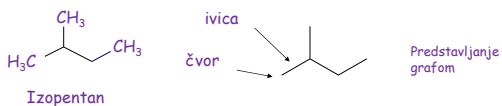
- Broj atoma,
- Absolutni i relativni broj C, H, O, S, N, F, Cl, Br, I, P atoma
- Broj hemijskih veza (jednostruke, dvostruke, trostruke i aromatični prsten),
- Broj benzenovih prstena,
- Molekulska masa i prosečna atomska masa,
- Broj rotirajućih veza (terminalni H atomi se ne računaju),
- Broj akceptora vodonika,
- Broj donora vodonika.....

### Molekularni deskriptori: 2D (topološki)

Deskriptori zasnovani na prikazu molekularnih grafova. Omogućavaju razlikovanje molekula prema njihovoj veličini, stepenu grananja, fleksibilnosti i ukupnom obliku.

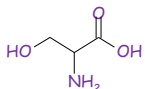
- Fizičke osobine (molekulska refraktivnost, ukupno naelektrisanje molekule, log P....)
- Molekularni indeksi konektiviteta,
- Parcijalno naelektrisanje,
- Farmakofora,
- Topološki elektronski indeksi,
- Kappa indeksi....

## Topološki deskriptori: primer



Izopentan

Graf se sastoji od ivice, čvorova i okruženja i koristi se za dobijanje deskriptora.



- Broj atoma
- Molekulski indeks konektiviteta
- Molekulska masa
- Rastojanja u molekuli
- Kappa indeks
- Elektrotološki indeks

## Molekulski deskriptori: 3D (geometrijski)

- Odnos dužine i širine molekula,
- Zapremina molekule,
- Odnos aktuelne i minimalne površine molekule,
- Sterimol parametri,
- Taftov sterni parametar....

## Molekulski deskriptori: 4 D (kvantno-hemijski deskriptori)

- Jonizacioni potencijal ( $IP$  - Ionization Potential)
- Dipolni moment
- HOMO (*Highest occupied molecular orbital energy*) i LUMO (*Lowest occupied molecular orbital energy*),
- Energija protonovanja ( $\Delta E$  - Energy of Protonation)
- Elektrostatički potencijal
- Afinitet prema elektronima ( $EA$  - Electron Affinity) .....

**Osnovni molekulski deskriptori:** broj ugljenikovih atoma, molekulska masa, refraktivnost, polarizabilnost, Van der Waals-ova zapremina i površina, zapremina i površina molekula dostupna rastvaraču, ukupna energija.....

**Deskriptori koji se odnose na polarnost molekula:** dipolni moment, atomska i fragmentaciona naelektrisanja, HOMO i LUMO energije, delimično naelektrisanje površine, lokalni dipoli, submolekularni parametri polarnosti.....

**Deskriptori koji se odnose na geometriju (oblik) molekula:** Odnos dužine i širine molekula, STERIMOL parametri, momenti inercije, *Shadow area* parametri....

**Topološki deskriptori** (izvedeni na osnovu teorije grafova): molekulski indeksi konektiviteta, Kappa indeksi, informacijski indeksi, topološki elektronski indeksi....

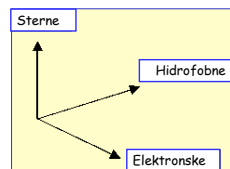
**Fizičko-hemijski, empirijski i semiempirijski deskriptori:** Hammett-ove konstante, Hansch-ove konstante, Taft-ove sterne konstante, parametri rastvorljivosti, solvatohromni parametri (LSER), podeoni koeficijent ( $\log P$ ), temperatura ključanja, pKa vrednosti ....

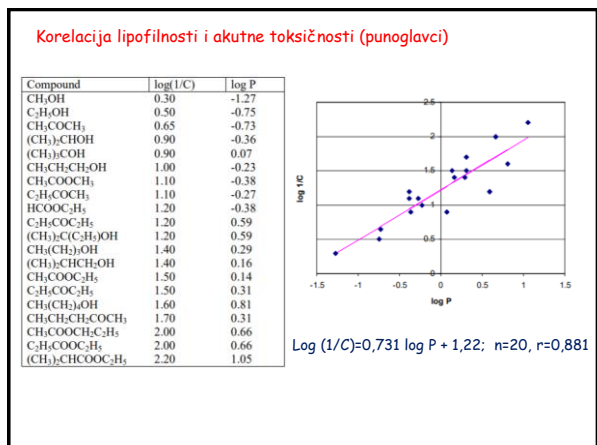
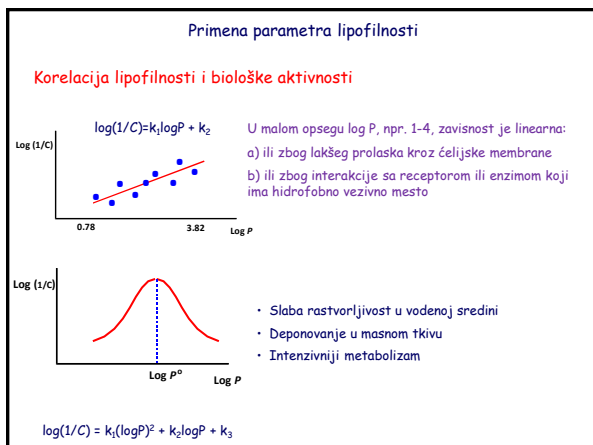
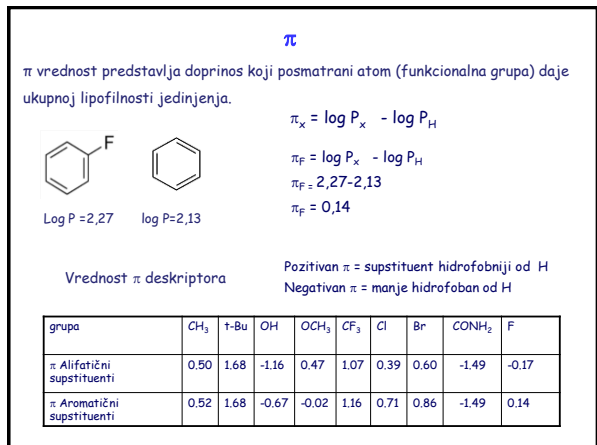
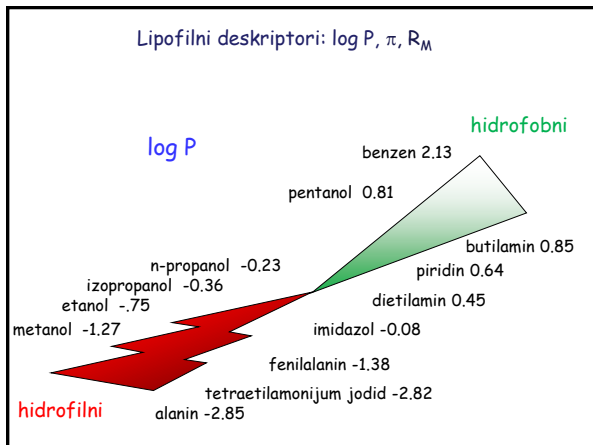
**Kombinovani (oblik/polarnost) molekulski i deskriptori:** *Comparative molecular field analyses* (CoMFA) parametri, *Comparative molecular surface CoMSA* parametri,

**Indikatorске променљиве:** Zero-one indikatori, *Ad hoc* dizajnirani deskriptori

## Najznačajniji molekulski deskriptori

- Fizičko-hemijske osobine jedinjenja se mogu klasifikovati u tri tipa:
- Hidrofobne ( $\log P$ ,  $\pi$ ,  $R_M$ )
- Elektronske ( $\sigma$ )
- Sterne ( $E_s$ , MR, Verloop-ov sterni parametar)



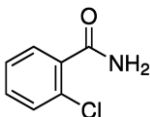




## Primena parametra lipofilnosti

## Određivanje lipofilnosti računskim putem

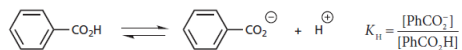
Izračunati log P hlorbenzamida ako je log P benzena 2,13.



$$\log P_{\text{hlorbenzamid}} = \log P_{\text{benzen}} + \pi_{\text{Cl}} + \pi_{\text{amid}} = 2,13 + 0,71 + (-1,49) = 1,35$$

$$\log P_{\text{exp}} = 1,51$$

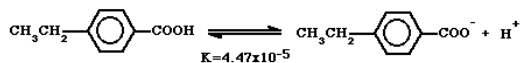
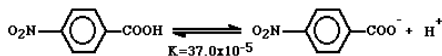
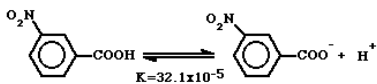
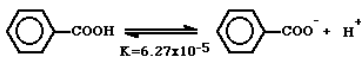
## Elektronski deskriptori: Hammett-ova konstanta



Pozitivni i negativni induktivni i mezomerni efekti utiču na konstantu disocijacije aromatičnih jedinjenja.

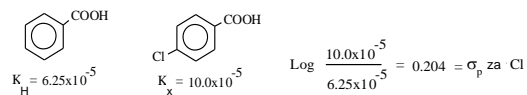


Supstituenti pokazuju kvantitativni efekat na konstantu disocijacije.

Hammett-ova konstanta  $\sigma_x$ -mera elektronskih efekata supstituenata na stepen disocijacije.

$$\sigma_x = \log \frac{K_x}{K_H} = \log K_x - \log K_H$$

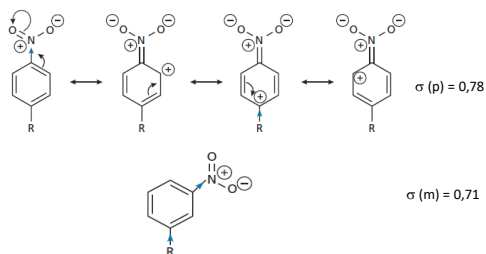
$$\sigma_x = \log (K_x / K_{\text{benzoeva kiselina}})$$



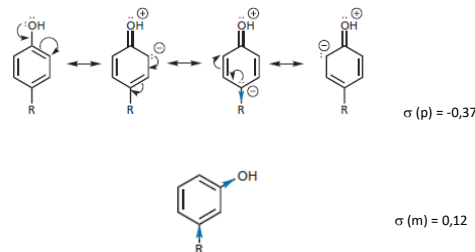
$$\text{Log} \frac{10.0 \times 10^{-5}}{6.25 \times 10^{-5}} = 0.204 = \sigma_p \text{ za Cl}$$

Ako je  $K_x > K_{\text{benz. kis}}$  i  $\sigma_x = \log K_x - \log K_{\text{benz. kis}}$ ;  $\sigma$  će biti pozitivna vrednost. $(\sigma^+)$  - supstituenti akceptori elektrona, $(\sigma^-)$  - supstituenti donori elektrona

Hametova konstanta uzima u obzir i rezonantni i induktivni efekat supstituenata.

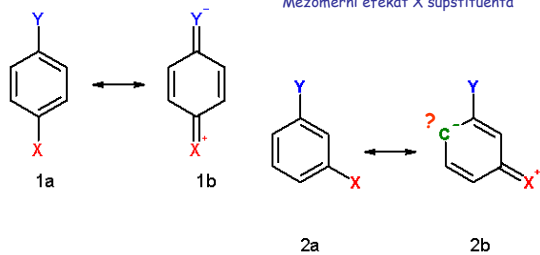


**NO<sub>2</sub> u p-položaju: induktivni i mezomerni efekat (veći uticaj) !**  
**m položaj: samo induktivni efekat !**



**OH u p-položaju: ED rezonantni efekat je značajniji od EA induktivnog efekta**  
**m položaj: induktivni EA efekat**

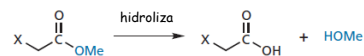
Mezomerni efekat X supstituenta



Vrednost  $\sigma$  zavisi da li je supstituent u m ili p položaju.

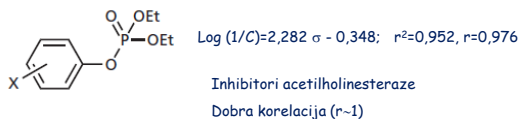
grupa	$\sigma_p$	$\sigma_m$
-NH <sub>2</sub>	-0.57	-0.09
-OH	-0.38	0.13
-OCH <sub>3</sub>	-0.28	0.10
-CH <sub>3</sub>	-0.14	-0.06
-H	0	0
-F	0.15	0.34
-Cl	0.24	0.37
-COOH	0.44	0.35
-CN	0.70	0.62
-NO <sub>2</sub>	0.81	0.71

Elektronski efekat alifatičnih supstituenata  $\sigma_i$

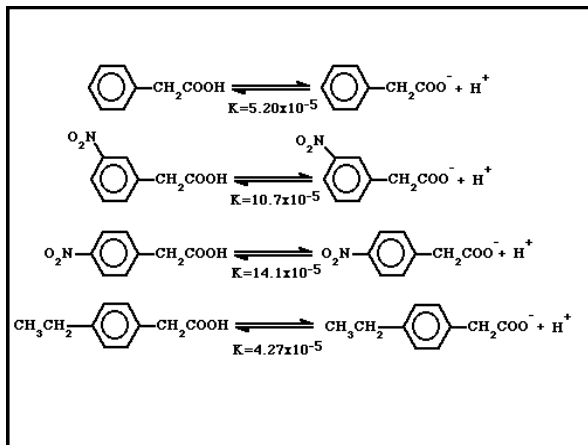
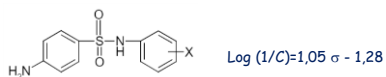


Grupa (ED)	$\sigma_i$	Grupa (EA)	$\sigma_i$
CH <sub>3</sub> -	-0,04	NMe <sub>3</sub> <sup>+</sup>	0,93
CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -	-0,07	CN	0,53
CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	-0,34		

Primer: insekticidni efekat supstituisanih derivata dietilfenil fosfata



Primer: antimikrobni efekat supstituisanih sulfonamida



Odnos logaritamskih vrednosti konstanti disocijacije derivata benzojeve/benzoje kis i derivata fenilsirćetne/fenilsirćetne kis.  $\log(K_x/K_{ben})$ ;  $\log(K_x/K_{fe})$  je linearan.

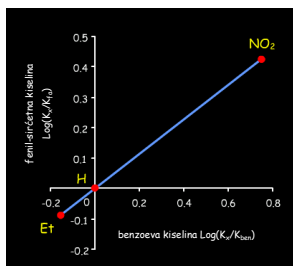
Benzojeva kis.

R	$K_x$	$\text{Log}(K_x/K_{ben})$
NO <sub>2</sub>	$37,05 \times 10^{-5}$	0,776
Et	$4,4 \times 10^{-5}$	-0,15
H	$6,2 \times 10^{-5}$	0

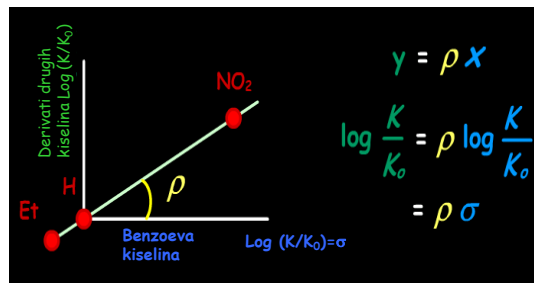
Fenilsirćetna kis.

R	$K_x$	$\text{Log}(K_x/K_{fe})$
NO <sub>2</sub>	$14,1 \times 10^{-5}$	0,43
Et	$4,2 \times 10^{-5}$	-0,09
H	$5,2 \times 10^{-5}$	0

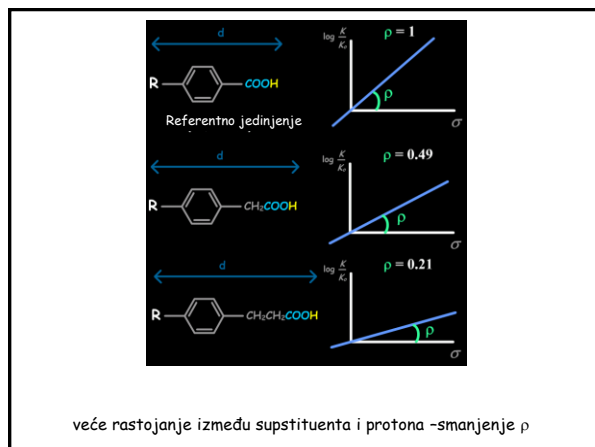
•  $\sigma$ : deskriptor



$\rho$ -zavisni od osnovne strukture kiseline (benzojeva kis, fenilsirćetna kis,.....)



$$\text{Log}(K/K_0) = \rho \sigma$$



Primena Hammetove jednačine: predviđanje pKa vrednosti derivata kiselina

$$\log \frac{K}{K_0} = \rho \sigma$$

$$\log K - \log K_0 = \rho \sigma$$

$$-pK + pK_0 = \rho \sigma$$

$$pK = pK_0 - \rho \sigma$$

$$pK_{\text{kis}} = pK_{0(\text{kis})} - \rho_{(\text{kis})} \sum \sigma_{\text{supstituenata}}$$

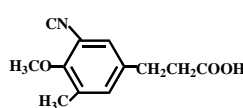
supstituent	$\sigma$ meta	$\sigma$ para
CH <sub>3</sub>	-0.07	-0.13
NH <sub>2</sub>	-0.16	-0.66
CN	0.56	0.66
NO <sub>2</sub>	0.71	0.78
OCH <sub>3</sub>	0.12	-0.27

$pK_{\text{kis}} = pK_{0(\text{kis})} - \rho_{(\text{kis})} \sum \sigma_{\text{supstituenata}}$

Benzoeva kiselina:  
 $pK_0 = -\log(6,2 \times 10^{-5}) = 4,2$        $\rho = 1$

$pK_{\text{kis}} = 4,2 - 1,00 (0,71 - 0,13 + 0,71) = 2,91$

Zadatak: Predvideti pKa vrednost prikazanog jedinjenja ( $\rho=0,21$ ;  $pK_0=4,73$ )



supstituent	$\sigma$ meta	$\sigma$ para
CH <sub>3</sub>	-0.07	-0.13
NH <sub>2</sub>	-0.16	-0.66
CN	0.56	0.66
NO <sub>2</sub>	0.71	0.78
OCH <sub>3</sub>	0.12	-0.27

$$pK_{\text{kis}} = pK_{0(\text{kis})} - \rho_{(\text{kis})} \sum \sigma_{\text{supstituenata}}$$

### Sterni parametri

Vezivanje leka za receptor zavisi od:

- voluminoznosti
- veličine
- oblika

U kvantifikaciji sternih parametara primenjuju se tri pristupa:

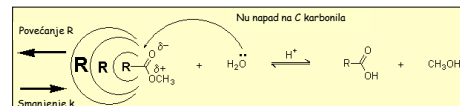
- ❖ Taftov parametar- $E_s$
- ❖ Molarna refraktivnost
- ❖ Verloopov sterni parametar

### Taftov sterni parametar ( $E_s$ )

Taft je je kvantifikovao sterni (prostorni) efekat koristeći hidrolizu estara.  
Taft-ov sterni parametar  $E_s$ .



Veličina R utiče na brzinu hidrolize.



$$E_s = \log k_x - \log k_0$$

$k_x$ -predstavlja brzinu hidrolize alifatičnog estra koji ima supstituent X  
 $k_0$ -brzina hidrolize referentnog estra

$E_s$  Vrednost za različite supstituente

Substituent	H	F	CH <sub>3</sub> -	CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -	Pro	n-Bu	i-Pro	i-Bu	Ciklopentil
$E_s$	1,24	0,78	0	-0,07	-0,36	-0,39	-0,47	-0,93	-0,51

Ako se umesto H kao referentni supstituent koristi CH<sub>3</sub>,  $E_s$  H je + 1,24 (vrednost ostalih supstituenata se menja).

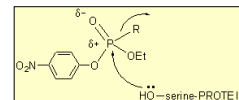
H	Me	Pr	i-Bu	F	Cl	Br	OH	SH	NO <sub>2</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CN	NH <sub>2</sub>
0.0	-1.24	-1.60	-2.78	-0.46	-0.97	-1.16	-0.55	-1.07	-2.52	-3.82	-0.51	-0.61

H 0.00 referentni supstituent u jednažini  
Me -1.24: mali sterni efekat na hidrolizu  
t-Bu -2.78 : veliki sterni efekat na hidrolizu

Primena  $E_s$ :

$E_s$  se može koristiti za razumevanje biološke aktivnosti nekih jedinjenja npr hidrolize inhibitora asetilholin esteraze.

Biološka aktivnost organofosfata direktno zavisi od Taft-ovog sternog parametra  $E_s$  za supstituent R:



$$\log (I/C) = 2.58 E_s + 7.94$$

### Molarna refraktivnost (MR)

$$MR = \frac{(n^2 - 1)}{(n^2 + 2)} \times \frac{MW}{d}$$

↑  
Korekcijski faktor za polarizaciju  
n=indeks refrakcije

↑  
Definiše zapreminu

n = indeks refrakcije  
MW= molekulska masa  
d = gustina

Korekcijski faktor za polarizaciju  
n=indeks refrakcije

supstituent	MR vrednost
H	0.0
CH <sub>3</sub>	4.7
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	9.4
C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	24.3
OH	1.5
NH <sub>2</sub>	4.2
SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	11.3

Što je MR vrednost supstituenta veća, to je veći sterni efekat i supstituent se lakše vezuje za polarnu površinu.

Negativna vrednost MR označava sternu prepreku na mestu vezivanja.

### Verloop-ov sterni parametar

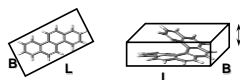
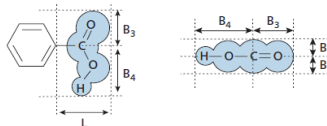
-Izračunava se softverski (kompjuterski program STERIMOL).

-Program izračunava sterne faktore na osnovu Van der Waalsovog radijusa, dužine veza, uglova koje grade veze i mogućih konformacija supstituenata.

-Dimenzije supstituenta R se definiše kao:

L = dužina veze koja povezuje R sa jedinjenjem  
B<sub>i</sub> = 4 parametara širine

Primer: karboksilne kiseline



Vrednost STERIMOL parametara različitih supstituenata

	H	Me	n-Pr	t-Bu	F	Cl	Br	OH	SH	NO <sub>2</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CN	NH <sub>2</sub>
L	2.06	3.00	5.05	4.11	2.65	3.52	3.83	2.74	3.47	3.44	6.28	4.23	2.93
B1	1.00	1.52	1.52	2.59	1.35	1.80	1.95	1.35	1.70	1.70	1.70	1.60	1.50
B2	1.00	2.04	3.49	2.97	1.35	1.80	1.95	1.93	2.33	1.70	1.70	1.60	1.50
B3	1.00	1.90	1.90	2.86	1.35	1.80	1.95	1.35	1.70	2.44	3.11	1.60	1.84
B4	1.00	1.90	1.90	2.86	1.35	1.80	1.95	1.35	1.70	2.44	3.11	1.60	1.84

### HANSCH-ova analiza

Hansch-linearnu i nelinearnu zavisnost biološke aktivnosti od parametara kao što su: log P, π, σ i E<sub>s</sub>.

$$\log\left(\frac{1}{C}\right) = k_1 \log P + k_2 \sigma + k_3 E_s + k_4$$

π = lipofilnost supstituenata

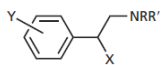
σ = Hamet-ova konstanta

E<sub>s</sub> = taftova sterna konstanta

$$\log\left(\frac{1}{C}\right) = -k_1 (\log P)^2 + k_2 \log P + k_3 \sigma + k_4 E_s + k_5$$

Konstante k<sub>1</sub> - k<sub>5</sub> se određuju softverom kako bi se dobila jednačina sa najboljom korelacijom.

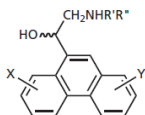
Primer:  $\beta$ -haloarilamini



$$\log\left(\frac{1}{C}\right) = 1.22\pi - 1.59\sigma + 7.89$$

(n = 22, r<sup>2</sup> = 0.841)

Primer: derivati fenantrena kao potencijalni antimalarici



$$\text{Log}(1/C) = -0.015(\pi_{\text{sum}})^2 + 0.14\pi_{\text{sum}} + 0.27\sum\pi_x + 0.40\sum\pi_y + 0.65\sum\sigma_x + 0.88\sum\sigma_y + 2.34$$

(n=102, r=0,0913, r<sup>2</sup> = 0,834)

Substituent	H	Me	Et	n-Pr	n-Bu	OMe	NHCONH <sub>2</sub>	I	CN
$\pi$	0.00	0.56	1.02	1.50	2.13	-0.02	-1.30	1.12	-0.57
MR	0.10	0.56	1.03	1.55	1.96	0.79	1.37	1.39	0.63

Značaj Hansch-ove analize:

- Predviđanje aktivnosti jedinjenja koja još nisu sintetisana;
- Procena uticaja parametara na mehanizam delovanja leka;
- Rešavanje problema korelacije hemijske strukture i biološke aktivnosti;
- Procena značaja hidrofobnih, elektronskih i sternih faktora za vezivanje nosivih jedinjenja za receptore.

Prednosti Hansch-ove analize:

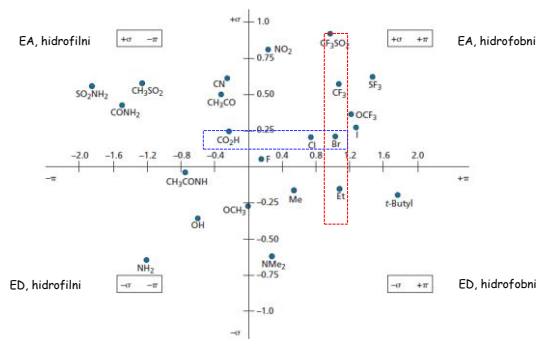
- Deskriptor ( $\pi$ ,  $\sigma$ ,  $E_s$ ) malih organskih molekula mogu se primeniti na biološke sisteme;
- Predviđanja su kvantitativna i mogu se statistički vrednovati;
- Brzo i lako;
- Potencijalna ekstrapolacija: dobijeni zaključci mogu se proširiti na hemijske supstituente koji nisu uključeni u analizu.

Nedostaci Hansch-ove analize:

- Potrebni su deskriptori za proučavanje supstituenata;
- Potreban je veliki broj jedinjenja;
- Ograničenja vezano za upotrebu deskriptora malih molekula;
- Protonovani oblik lekova u fiziološkim uslovima;
- Ekstrapolacije izvan vrednosti deskriptora korišćenih u studiji su ograničene;
- Korelacija između pojedinih deskriptora.

### Craig-ov grafik

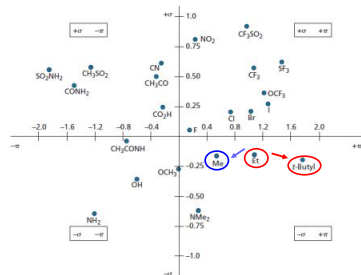
-vizuelizacija relativnih osobina ( $\pi$  i  $\sigma$ ) različitih supstituenata



## Primena Craig-ovog grafika

Primer 1: Ako je zamenom etil grupe sa t-butil grupom došlo do znatnog smanjenja aktivnosti, značajni za dejstvo su :

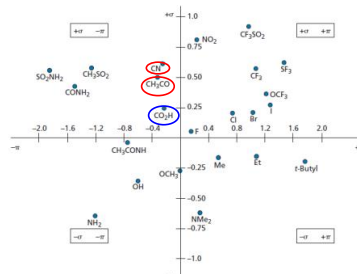
- a) Elektronski efekti  
b) Efekti hidrofobnosti



Predložite uvođenje sledećeg supstituenta koji će uticati na dalje povećanje aktivnosti.

Primer 2: Ako je zamenom CN sa grupe bromom sa  $\text{CH}_3\text{CO}$  došlo do znatnog smanjenja aktivnosti, značajni za dejstvo su :

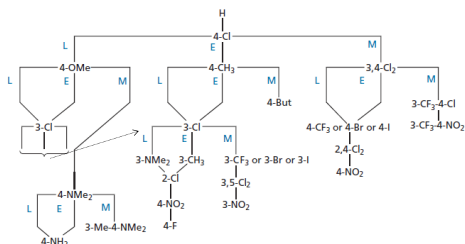
- a) Elektronski efekti  
b) Efekti lipofilnosti



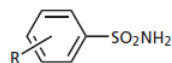
Predložite uvođenje sledećeg supstituenta koji će uticati na dalje povećanje aktivnosti.

## Topliss-ova šema

Za aromatična jedinjenja

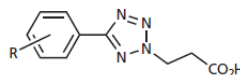


Redosled sinteze supstituisanih benzensulfonamida prema Topliss-ovoj šemi



Redosled sinteze	R	Bioložka aktivnost	Aktivnost †
1	H	-	
2	4-Cl	M	
3	3,4-Cl <sub>2</sub>	L	
4	4-Br	E	
5	4-NO <sub>2</sub>	M	*

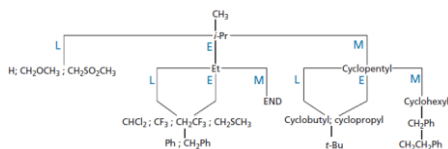
Redosled sinteze supstituisanih ariltetrazolilalkanskih kiselina prema Topliss-ovoj šemi



Redosled sinteze	R	Bioložka aktivnost	Aktivnost
1	H	-	
2	4-Cl	L	
3	4-OMe	L	
4	3-Cl	M	*
5	3-CF <sub>3</sub>	L	
6	3-Br	M	*
7	3-I	L	
8	3,5-Cl <sub>2</sub>	M	*



## Za alifatična jedinjenja



## QSAR model

Građenje QSAR modela:

1. **Trenirani (ispitivani) set molekula**

- veliki broj struktura
- strukturo različite molekule

2. **Deskriptori**

- značajni za ispitivanu osobinu ili aktivnost

3. **Matematički model**

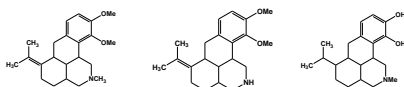
(jednačina) koji izražava odnos između osobine (aktivnosti) i deskriptora

4. **Validacija matematičkog modela**

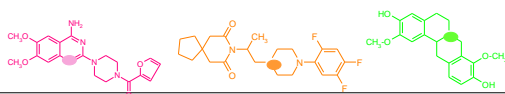
## Ispitivani set jedinjenja

**Kongenerički set molekula**

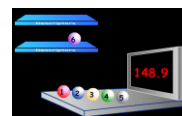
-set molekula sličnih hemijskih struktura (analogi)

**Nekongenerički set molekula**

-set molekula različitih hemijskih struktura



## Selekcija deskriptora



-izračunat je veliki broj deskriptora za QSAR analizu

**-dobar model sadrži mali broj dobro izabranih deskriptora**

-veliki broj deskriptora može da dovede do grešaka u predviđanju

**Selekcija deskriptora:**

- manuelno (ukoliko poznamo mehanizam dejstva lekova)
- automatski (pomoću statističkih metoda, upotreba programa)

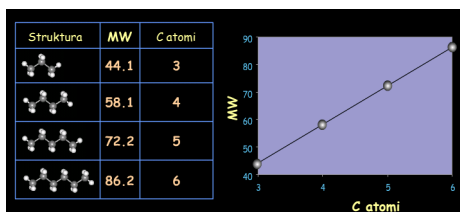
**Selekcija deskriptora eliminacijom (Backward selekcija)**

- počinje se sa QSAR modelom koji sadrži sve deskriptore
- eliminišu se deskriptori čije odsustvo ne smanjuje preciznost modela
- uspostavljanje korelacije sa značajnim deskriptorima

### Primer korelisanih deskriptora

-za seriju alkana

-dva visoko korelisana deskriptora: MW i broj C atoma



MW - bira se deskriptor koji sadrži potpuniju informaciju

### Tabela podataka

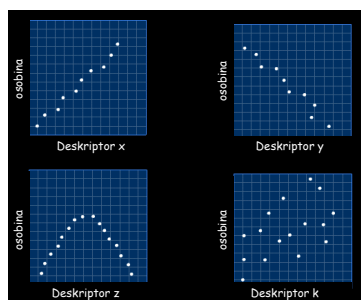
-prvi korak je sumiranje molekula i molekulskih karakteristika

Jedinjenje	Osobina koja se prati					
	Aktivnost	LogP	MR	MW	HOMO	Density
1	98	-4.03	87.10	332.2	-12.0	1.47
2	24	-3.68	76.53	324.4	-11.5	1.43
3	28	-4.34	91.23	290.3	-11.2	1.37
4	64	-5.19	100.2	310.1	-9.2	1.36
5	18	-5.59	91.32	291.5	-10.2	1.41
n	52	-4.83	72.12	340.3	-11.3	1.36

### Grafička analiza

-preliminarne interpretacije

-ispitivanja zakonitosti



### Matematički modeli

-uspostavljanje odgovarajućih korelacija

-interpretacija modela

- **Linearne metode**

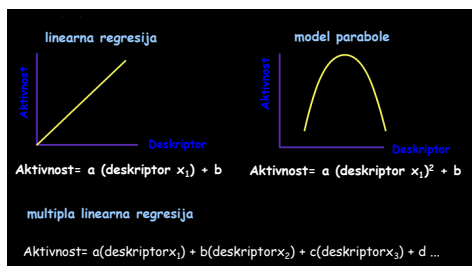
Multilinearna regresija (Multilinear Regression Analysis, MLR),  
Metoda najmanjih kvadrata (Partial Least Squares, PLS)

- **Nelinearne metode**

Metoda glavnih komponentata  
(Principal Component Analysis, PCA)

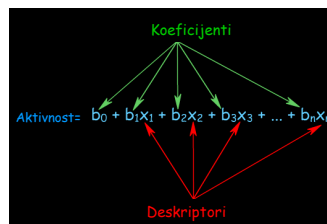
Veštačke neuronske mreže (Artificial Neural Network, ANN)

### Matematički modeli



### Multipla linearna regresija

- korelacija sa više deskriptora
- uticaji različitih faktora
- linearnost za svaki pojedinačni deskriptor



### Multipla linearna regresija

- antikonvulzivi
- biloška aktivnost je rezultat kombinovanog dejstva lipofilnih, sternih i elektronskih efekata

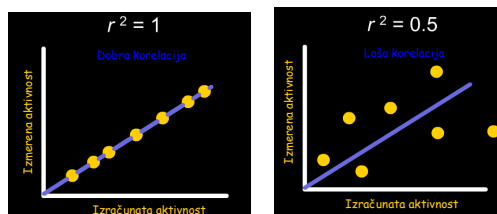
model	r
$\log 1/C = 0.009 E_s + 3.411$	0.03
$\log 1/C = -0.626 \sigma + 3.314$	0.27
$\log 1/C = -0.078 \log P + 3.432$	0.38
$\log 1/C = -0.210 \log P - 2.214 \sigma + 3.154$	0.80
$\log 1/C = 0.21 E_s - 0.238 \log P - 3.81 \sigma + 3.046$	0.95

loš model ■

dober model ■

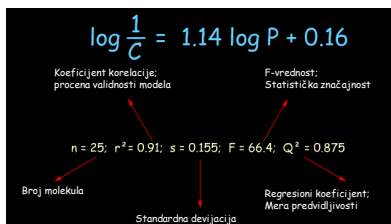
### Koeficijent korelacije $r^2$

- stepen korelacije između eksperimentalnih i izračunatih vrednosti za aktivnost
- od 0 do 1



## Validacija modela

- standardna devijacija
- $r^2$  -poređenje različitih modela
- t i F (mera reproduktivnosti modela za podatke koji su korišćeni za konstruisanje modela)



## Prednost QSAR

- o Kvantifikovanjem odnosa SAR obezbeđuje se **razumevanje uticaja strukture na aktivnost**.
- o Moguće je **predvideti puteve sinteze novih analoga**.
- o Rezltati mogu biti korišćeni za bolje razumevanje **interakcija funkcionalnih grupa**.
- o Kada se ustanovi QSAR moguće je **predvideti biološku aktivnost** srodnih jedinjenja i uštedeti vreme potrebno za složena biološka ispitivanja.

## Nedostatak QSAR

- **Pogrešne korelacije** koje mogu nastati zbog bioloških podataka koji su uzrok eksperimentalne greške.
- **Ako broj ispitivanih jedinjenja nije dovoljno veliki prikupljeni podaci ne odražavaju osobine cele grupe**. Posledično, QSAR se ne može koristiti za pouzdano predviđanje jedinjenja najbolje aktivnosti.
- **3D struktura liganda koja se vezuje za receptor nije uvek poznata pa se istraživanje najčešće izvodi sa najjednostavnijom strukturom koja ne mora biti adekvatan reprezent**.
- **Iako postoji veliki broj uspešnih predviđanja ne treba očekivati da su QSAR studije uvek tačne**.

## Molekulski docking

