T.C.

YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

POTANSİYEL YENİ NİTROREDÜKTAZ İNHİBİTÖRLER ÜZERİNE DENEYSEL VE TEORİK ÇALIŞMALAR

MUSTAFA ÜRÜNVEREN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman: Prof. Dr. İrfan KOCA

İkinci Danışman: Doç. Dr. Yusuf SERT

OCAK – 2024

YOZGAT

T.C.

YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

POTANSİYEL YENİ NİTROREDÜKTAZ İNHİBİTÖRLER ÜZERİNE DENEYSEL VE TEORİK ÇALIŞMALAR

MUSTAFA ÜRÜNVEREN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman: Prof. Dr. İrfan KOCA

İkinci Danışman: Doç. Dr. Yusuf SERT

Bu çalışma Yozgat Bozok Üniversitesi Araştırma Projeleri Birimi tarafından FYL-2022-1035 kodu ile desteklenmiştir

OCAK – 2024

YOZGAT

	YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ **LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ** **LİSANSÜSTÜ TEZ ONAY FORMU**

T.C.

YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

Enstitümüzün Biyoloji Anabilim Dalı Tezli Yüksek Lisans Programı öğrencisi Mustafa ÜRÜNVEREN'in hazırladığı "**Potansiyel Yeni Nitroredüktaz İnhibitörler Üzerine Deneysel ve Teorik Çalışmalar**" başlıklı tezi ile ilgili tez savunma sınavı, Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri gereğince 30/01/2024 günü saat 10:30'da yapılmış, tezin onayına oy birliği/oy çokluğu ile karar verilmiştir.

Başkan	**:** Prof. Dr. Ümit BUDAK	……
Jüri Üyesi	**:** Prof. Dr. İrfan KOCA **(Danışman)**	……
Jüri Üyesi	**:** Doç. Dr. İrfan ÇAPAN	……

ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun …/…/…. tarih ve …… sayılı Enstitü Yönetim Kurulu Kararı ile onaylanmıştır.

…...../……../…….

Prof. Dr. Hasan Güner BERKANT

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan eder, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Mustafa ÜRÜNVEREN

30/01/2024

ÖN SÖZ

Tezin konusunu, Potansiyel Yeni Nitroredüktaz İnhibitörler Üzerine Deneysel ve Teorik Çalışmalar oluşturmaktadır. Yapılan çalışma, biyoloji ve kimya alanlarında multidisipliner bir araştırma gerçekleştirilip bilim dünyasına katkıda bulunmayı amaçlamıştır.

Çalışmalarım süresince, tez konumu belirlemeye yardımcı olan, mesleki bilgi ve birikimlerini benimle paylaşan, bu süreçte her zaman yanımda olan danışman hocam Sayın Prof. Dr. İrfan KOCA'ya teşekkür ederim.

Teorik çalışmalarımda her zaman yanımda olan, yardımlarını benden esirgemeyen ve aynı zamanda ikinci danışmanım olan Sayın Doç. Dr. Yusuf SERT'e teşekkür ederim.

Gaussian09W paket programının kullanımı ve teorik hesaplamalar konusunda desteği için Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fizik bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Fatih UCUN'a teşekkür ederim. Bu zorlu süreçte, tecrübelerini ve bilgilerini benimle paylaşan, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, çok kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. Hatice BAŞ'a bir teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresinde laboratuvarda yardımlarını gördüğüm, Doç. Dr. Mehmet GÜMÜŞ'e Arş. Gör. Mehmet YAKAN'a, Uzm. Biyolog Emre YAĞCI'ya ve Uzm. Kimyager Erhan ÜNAL'a ve çok teşekkür ederim.

Hayatımın her anında ve her alanında maddi, manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen canım aileme sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez çalışması; FYL-2022-1035 kodlu BAP projesi ile desteklenmiştir. Yozgat Bozok Üniversitesi Proje Koordinasyon Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne teşekkür ederim

Mustafa ÜRÜNVEREN

30/01/2024

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

POTANSİYEL YENİ NİTROREDÜKTAZ İNHİBİTÖRLER ÜZERİNE DENEYSEL VE TEORİK ÇALIŞMALAR

MUSTAFA ÜRÜNVEREN

YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI: Prof. Dr. İrfan KOCA
İKİNCİ DANIŞMAN: Doç. Dr. Yusuf SERT

Kanser, hücrenin kontrolsüz bir şekilde çoğalması ve başka doku veya organlara sıçraması olayıdır. Kanser geçmişte olduğu gibi günümüzde de ölüm oranı yüksek tedavi imkanı az olan bir hastalıktır. Bu hastalığın önlenmesi veya tedavisi için çok sayıda strateji geliştirilmektedir. Bu stratejilerden birisi de ilaç öncü bileşikleri üzerinedir.

Nitroredüktazlar, FMN (Flavin mononükleotid) ya da FAD (Flavin adenin dinükleotid),'in indirgemesini sağlayarak NAD(P)H kullanımı ile nitro grubuna sahip bileşiklerin indirgenme reaksiyonunu katalizlerler. Aktif hale gelen bileşik DNA'ya bağlanarak tümör oluşumunu engeller. Nitroredüktaz inhibitörler, kanser tedavisi için uygulanan yeni bir uygulama alanıdır. Tez kapsamında nitroredüktaz inhibitörü olabilecek yeni moleküller sentezlenmiş ve spektroskopik metotlar ile karakterize edilmiştir. Daha sonra sentez edilen moleküller ile ilgili kuantum kimyasal hesaplamaları (optimize yapılar, frontier orbitaller ve moleküler elektrostatik potansiyel analizi) Gaussian09@ paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tezin son kısmında in siliko (moleküler kenetlenme) hesaplamaları Autodock Vina programı ile gerçekleştirilmiştir. Moleküler kenetlenme sonuçları değerlendirildiğinde hedef moleküllerin iyi birer potansiyel nitroredüktaz inhibitörü (PDB:1KQC) olabileceği görülmüştür.

2024, 77 sayfa

Anahtar Kelimeler: Kanser, Nitroredüktaz, İnhibitör, Moleküler Kenetleme

ABSTRACT

MASTER THESIS

EXPERIMENTAL AND THEORETICAL STUDIES ON POTENTIAL NEW NITROREDUCTASE INHIBITORS

MUSTAFA ÜRÜNVEREN

YOZGAT BOZOK UNIVERSITY
SCHOOL of GRADUATE STUDIES
DEPARTMENT of BIOLOGY

SUPERVISOR: Prof. Dr. İrfan KOCA
CO-SUPERVISOR: Assoc. Prof. Dr. Yusuf SERT

Cancer is the uncontrolled proliferation of cells and their spread to other tissues or organs. Today, as in the past, cancer is a disease with a high mortality rate and few treatment options. Many strategies are being developed to prevent or treat this disease. One of these strategies is drug precursor compounds.

Nitroreductases catalyze the reduction reaction of compounds with a nitro group by reducing FMN (Flavin mononucleotide) or FAD (Flavin adenine dinucleotide) using NAD(P)H. The activated compound binds to DNA and prevents tumor formation. Nitroreductase inhibitors are a new application area for cancer treatment. Within the scope of the thesis, new molecules that can be nitroreductase inhibitors were synthesized and characterized by spectroscopic methods. Quantum chemical calculations (optimized structures, frontier orbitals and molecular electrostatic potential analysis) were then performed on the synthesized molecules. Gaussian09@ package program was used. In the last part of the thesis, in silico (molecular docking) calculations were performed with Autodock Vina program. The molecular docking results showed that the target molecules could be good potential nitroreductase inhibitors (PDB:1KQC).

2024, 77 pages

Keywords: Cancer, Nitroreductase, Inhibitor, Molecular docking

İÇİNDEKİLER

ÖN SÖZ iv
ÖZET v
ABSTRACT v
TABLOLAR LİSTESİ v
ŞEKİLLER LİSTESİ vi
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 2
2.1.Kanser 2
2.1.1. Kanser Etiyolojisi 4
2.1.2. Kanserden Korunma Yöntemleri 5
2.1.3. Kanser Oluşum Mekanizması 5
2.1.4. Kanserde Tanı ve Tarama Yöntemleri 6
2.1.5. Kanserde Klinik Sınıflama 6
2.1.6. Kanser Hastalıklarında Tedavi Yöntemleri 7
2.2. Nitroredüktazlar 11
2.3. Kanser Terapilerinde NTR'in Kullanımı 12
3. GEREÇ VE YÖNTEM 15
3.1. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler 15
3.2. Deneylerde Kullanılan Araç ve Cihazlar 15
3.3. Deneylerde Kullanılan Metotlar 15
3.3.1. **1** Bileşiğinin Sentezi 16
3.3.2. **1** Bileşiğinin Fenil Hidrazin ile Reaksiyonu 16
3.3.3. **2** Bileşiğinin Sentezi 17
3.3.4. **2** Bileşiğinin Benzaldehit Fenil Hidrazon ile Reaksiyonu 17
3.3.5. **3a-b** (Pirazol-3-Karboksilli Asit Klorür) Bileşiklerinin Sentezi 17
3.3.6. N-(2-nitrofenil)-4-benzoil-1,5-difenil-1H-pirazol-3-karboksamit (**M1**) sentezi 18
3.3.7. 4-benzoil-N-(4-nitrofenil)-1,5-difenil-1H-pirazol-3-karboksamit (**M2**) sentezi 21
3.3.8. **M3** Bileşiğinin Sentezi 24
3.3.9. **M4** Bileşiğinin Sentezi 27

3.3.10. **M5** Bileşiğinin Sentezi 30
3.3.11. **M6** Bileşiğinin Sentezi 33
3.3.3. Teorik Çalışmalar 36
4. BULGULAR 38
4.1. Deneysel Bulgular 38
4.1.1. 4-benzoil-N-(2-nitrofenil)-1,5-difenil-1H-pirazol-3-karboksamit (**M1**) 38
4.1.2. 4-benzoil-N-(4-nitrofenil)-1,5-difenil-1H-pirazol-3-karboksamit (**M2**) 38
4.1.3. 4-benzoil-N-((2-nitrofenil)karbamotiyoil)-1,5-difenil-1H-pirazol-3-karboksamit (**M3**) 38
4.1.4. 4-benzoil-N-((4-nitrofenil)karbamotiyoil)-1,5-difenil-1H-pirazol-3-karboksamit (**M4**) 39
4.1.5. Etil 3-((2-nitrofenil)karbamoil)-1,5-difenil-1H-pirazol-4-karboksilat (**M5**) 39
4.1.6. Etil 3-((4-nitrofenil)karbamoil)-1,5-difenil-1H-pirazol-4-karboksilat (**M6**) 39
4.2. Teorik Bulgular 40
4.2.1. Optimizasyon Çalışmaları 40
4.2.2. HOMO-LUMO dağılımları (Molekül Orbital Yapılarının İncelenmesi) 59
4.2.3. MEP Dağılımları 65
4.2.4. Moleküler Kenetleme Çalışmaları 66
5. TARTIŞMA ve SONUÇ 70
6. KAYNAKLAR 72

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo **Sayfa**

Tablo 4.1. M1 Molekülü Hesaplanan Optimize Parametreleri-I 42

Tablo 4.2. M1 Molekülü Hesaplanan Optimize Parametreleri-II..... 43

Tablo 4.3. M2 Molekülü için Hesaplanan Optimize Parametreleri-I 45

Tablo 4.4. M2 Molekülü için Hesaplanan Optimize Parametreleri-II..... 46

Tablo 4.5. M3 Molekülü için Hesaplanan Optimize Parametreleri-I 48

Tablo 4.6. M3 Molekülü için Hesaplanan Optimize Parametreleri-II..... 49

Tablo 4.7. M4 Molekülü için Hesaplanan Optimize Parametreleri-II..... 51

Tablo 4.8. M4 Molekülü için Hesaplanan Optimize Parametreleri-II..... 52

Tablo 4.9. M5 Molekülü için Hesaplanan Optimize Parametreleri-II..... 54

Tablo 4.10. M5 Molekülü için Hesaplanan Optimize Parametreleri-II..... 55

Tablo 4.11. M6 Molekülü için Hesaplanan Optimize Parametreleri-II..... 57

Tablo 4.12. M6 Molekülü için Hesaplanan Optimize Parametreleri-II..... 58

Tablo 4.13. M1-6 Moleküllerinin HOMO-LUMO Enerjilerine Bağlı Hesaplanan Diğer Önemli Parametreler..... 64

Tablo 4. 14. Moleküler kenetleme sonuçları 67

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil **Sayfa**

Şekil 2.1. Kanserde önemli keşifler 4

Şekil 2.2. Kanser oluşum süreci 6

Şekil 2.3. Gen yönlendirilmiş enzim-ilaç öncü tedavi yönteminin (GDEPT) şematik gösterimi (Zhang vd., 2015). 9

Şekil 2.4. Nitroredüktazların katalizlediği genel reaksiyon şeması 11

Şekil 2.5. Nitroredüktazların reaksiyon mekanizması 12

Şekil 2.6. Gen yönlendirilmiş enzim-ilaç öncü tedavi yönteminin (GDEPT) şematik gösterimi 13

Şekil 2.7. CB1954 ve **SN23682** ilaç-öncü maddesinin indirgenme mekanizması 14

Şekil 2.8. İlaç öncül olarak kullanılan bazı nitro bileşikleri 14

Şekil 3.1. 1 Bileşiğinin Sentez Şeması 16

Şekil 3.2. 1 Bileşiğinin Fenil hidrazin ile Tepkimesinin Şeması 16

Şekil 3.3. 2 Bileşiğinin Sentez Şeması 17

Şekil 3.4. 2b Bileşiğinin Benzaldehit Fenil Hidrazon ile Reaksiyon şeması 17

Şekil 3.5. 3a-b (Pirazol-3-Karboksilli Asit Klorür) Bileşiklerinin Sentez şemaları 18

Şekil 3.6. M1 Bileşiğinin sentez şeması 18

Şekil 3.7. M1 Bileşiğinin FTIR spektrumu 19

Şekil 3.8. M1 Bileşiğinin ^{1}H NMR spektrumu 20

Şekil 3.9. M1 Bileşiğinin ^{13}C-NMR spektrumu 21

Şekil 3.10. M2 Bileşiğinin sentez şeması 22

Şekil 3.11. M2 Bileşiğinin FTIR spektrumu 22

Şekil 3.12. M2 Bileşiğinin ^{1}H NMR spektrumu 23

Şekil 3.13. M2 Bileşiğinin ^{13}C-NMR spektrumu 24

Şekil 3.20. M4 Bileşiğinin ^{1}H NMR spektrumu 29

Şekil 3.21. M4 Bileşiğinin ^{13}C-NMR spektrumu 30

Şekil 3.22. M5 Bileşiğinin sentez Şeması 31

Şekil 3.28. M6 Bileşiğinin ^{1}H NMR spektrumu 35

Şekil 3.29. M6 Bileşiğinin ^{13}C-NMR spektrumu 36

Şekil 4.1. Moleküllerin optimize şekilleri 41

Şekil 4.2. M1 molekülü HOMO-LUMO dağılımları 61

Şekil 4.3. M2 molekülü HOMO-LUMO dağılımları 62

Şekil 4.4. M3 molekülü HOMO-LUMO dağılımları 62

Şekil 4.5. M4 molekülü HOMO-LUMO dağılımları 63

Şekil 4.6. M5 molekülü HOMO-LUMO dağılımları 63

Şekil 4.7. M6 molekülü HOMO-LUMO dağılımları 64

Şekil 4.8. M1 ve **M2** moleküllerinin MEP dağılımları 65

Şekil 4.9. M3 ve **M4** moleküllerinin MEP dağılımları 66

Şekil 4.10. M5 ve **M6** moleküllerinin MEP dağılımları 66

Şekil 4.11. M1 molekülünün protein içindeki duruşu 67

Şekil 4.12. M1+1KQB etkileşiminin 3 ve 2 boyutlu durumları. 68

Şekil 4.13. M2+1KQB etkileşiminin 3 ve 2 boyutlu durumları. 68

Şekil 4.14. M3+1KQB etkileşiminin 3 ve 2 boyutlu durumları. 68

Şekil 4.15. M4+1KQB etkileşiminin 3 ve 2 boyutlu durumları. 69

Şekil 4.16. M5+1KQB etkileşiminin 3 ve 2 boyutlu durumları. 69

Şekil 4.17. M6+1KQB etkileşiminin 3 ve 2 boyutlu durumları. 69

1. GİRİŞ

Kanser, vücudun bir veya birkaç bölümünü etkisi altına alabilen çok yönlü bir hastalık olup normal hücre büyüklüğünün ötesinde büyüyebilen ve daha sonra vücudun belirli kısımlarını tahrip eden ve öteki organlara yayılabilen anormal hücrelerin hızlı bir şekilde çoğalması olarak tarif edilmektedir. Kanser hem geçmişte hem de günümüzde en büyük sağlık sorunlarının başında gelmektedir. Tedavi yöntemlerinin de aynı şekilde bilim dünyası için zor bir süreç olduğu bilinmektedir. Literatüre bakıldığında kanser ve tedavi yöntemleri hakkında birçok çalışma yapıldığı bilinmektedir. Kanser tedavilerinde birçok farklı tedavi yöntemi (Kemoterapi, cerrahi, ilaç öncül maddeleri, vb.) bulunmaktadır. Bu tedaviler karşılaştırıldığında ilaç öncül maddelerin (nitroredüktazlar) vücutta yapmış olduğu inhibisyonlar, kemoterapi ve radyoterapi gibi tedavi yöntemlerine nazaran daha az olduğu gözlemlenmektedir.

Oksidoredüktaz enzim sınıfından olan nitroredüktazlar, nitro gruplarının indirgenme reaksiyonlarını katalizlemektedir. Bu özellikleri nedeniyle ekonomik değeri ve önemi yüksek kimyasalların sentezinde, kirliliğe sebep olan bileşiklerin parçalanması, toprak kirliliklerinin biyolojik olarak giderilmesinde ve özellikle kanser tedavilerinde kullanım alanları bulunmaktadır.

Bu tez çalışmasında; öncelikle kanser tedavilerinde, enzim-ilaç öncü bileşik olarak kullanılabilme potansiyeli bulunan pirazol karboksamit türevi bileşikler sentezlenmiştir ve spektroskopik metotlar ile karakterize edilmiştir. Akabinde sentezlenen bileşiklerin moleküler optimizasyonu, nitroredüktaz olma potansiyeli, moleküler kenetleme çalışmaları ile teorik olarak incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Kanser

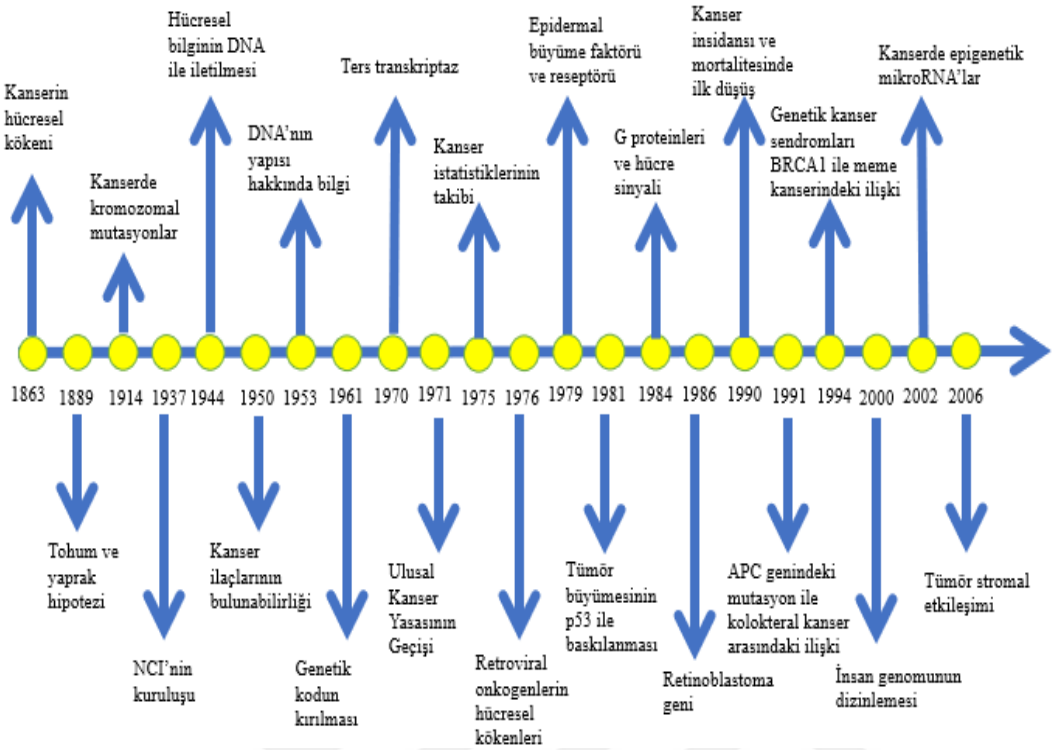
Kanser, vücudun bir veya birkaç bölümünü etkisi altına alabilen geniş bir hastalık grubu için kullanılan genel bir tanım olarak kullanılmaktadır. Kanser hastalığını tanımlamaya yardımcı olan bir özellik, normal hücre büyüklüğünün ötesinde büyüyebilen ve daha sonra vücudun belirli kısımlarını tahrip eden ve öteki organlara yayılabilen anormal hücrelerin hızlı bir şekilde çoğalmasıdır; diğer bir süreç metastaz olarak isimlendirilmektedir. Yaygın metastazlar, kanser hastalığından dolayı ölümün asıl nedeni olarak düşünülmektedir. Kanser, mutasyon sonucu meydana gelen hücrelerin olduğu noktada ve uzak noktalarda çoğalıp büyümesi sonucunda oluşmuş kötü huylu hastalıklar grubu olarak adlandırılmaktadır. Latincede ‘‘cancer’’ Yunan dilindeki “carcinos’’ sözcüğünden kaynağını almaktadır ve aynı zamanda yengeç anlamında da kullanılmaktadır (Fadıloğlu, 2003; Boveri, 1914). Hücre çekirdeğinde meydana geldiğinden dolayı, DNA’daki sıralamalarda ortaya çıkabilecek değişiklikler sebebiyle çekirdeğin gen organizasyonun bir kısmının değişmesi ile hücrelerin kontrolüz bir şekilde çoğalması sonucu meydana gelen bir hastalık olarak bilinmektedir (Kutluk ve Kars, 1994). Kanserli hücrelerin yerleşimi kontrol edilemediği takdirde çoğunlukla ölümle sonuçlanmaktadır (Amerikan Kanser Derneği, 2012). Kanser hem ülkemiz hem de dünyada % 22 ölüm oranı ile kalp ve damar hastalıklarının ardından gelen ikinci en çok ölüm nedeni olarak bilinmektedir.

184 ülkede yapılan bir araştırmaya göre 2008 yılında 12,7 milyon kanser hastası ve 7,6 milyon bu hastalığa bağlı ölüm meydana gelmişken, 2012 de 14,1 milyon kanser hastası ve 8,2 milyon kanser hastalığı nedeniyle ölüm gerçekleşmiştir. Kanser hastalığının artışı bu hızda devam ettiği düşünülürse, 2025 yılında 19 milyon ve 2030 yılında ise 30 milyonu geçmesi öngörülmektedir (Stewart ve Wild, 2014). Ülkemizde de kanser hastalığı sıklığı bu verilerle örtüşmektedir. Bu veriler sonucunda kanser kontrol programları yardımıyla beraber kanserin önlenmesi, erken teşhisi, yeni ilaçların geliştirilmesi ve uygun tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine yoğun çaba gösterilmesini zorunlu kılmaktadır.

1863’ten önce doktorlar tümörleri gözlemleyebiliyor, ölçebiliyor ve tartımını gerçekleştirebiliyorlardı. Fakat kanser hücresi içerisindeki işleyişi anlayabilmek için ellerinde çok az araç gereç vardı. 1863’te kanserin hücresel kökenini mikroskop kullanarak ortaya çıkaran Rudolf Virchow ve 1889'da metastaz ile ilgili tohum ve toprak hipotezi ile alakalı düşünen Stephen Paget'in de içinde bulunduğu birkaç gözlemci zamanlarının ilerisinde çalışmalar yapmışlardı. Diğer önemli gelişmeler, 1911'de Peyton Rous kuş kanserinin viral bir sebebinin keşfedilmesi ve 1914'te Theodor Boveri'nin kanserin kromozomal mutasyon sonucunda tetiklenebileceğini öne sürmüştür (Devita ve Rosenberg, 2012; Paget, 1889; Rous, 1914).

1944 yılında, Oswald Avery, *pnömokok basili* ile yaptığı ve hücresel bilginin proteinler tarafından değil, genler tarafından iletildiğini bildirmiştir. Onun çalışması, doğrudan 1953'te Watson ve Crick tarafından DNA'nın yapısının önemli keşfine yol açmıştır. Sekiz yıl sonra, genetik kod Nirenberg ve meslektaşları tarafından açıklanmıştır ve biyolojinin merkezi dogması oluşturulmuştur; bu bilgi DNA'dan RNA'ya sıkıştırılmış olup proteinlerin senteziyle sonuçlandı. Temin, Mizutani ve Baltimore tarafından bilginin RNA'dan DNA'ya diğer yoldan iletilebileceğini gösteren ters transkriptazın keşfi tıp üzerinde, özellikle de kanser tıbbı üzerinde derin bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Avery vd., 1944; Watson ve Crick, 1953; Nirenberg, vd. 1961; Temin, vd. 1970).

Hücresel büyümeyi yönlendiren veya baskılayan genlerin keşfi ve hem normal hücreler hem de kanser hücrelerinin birbirleriyle ve çevreleriyle iletişim kurmak için kullandıkları sinyal sistemlerinin karmaşık düzenlenmesi, kanser hücresi mekanizmasının planını ortaya çıkarmıştır. Belirli anormalliklerin belirli kanserlerle ilişkilendirilmesi, bilim adamlarının meme ve kolon kanseri gibi yaygın kanserler açısından yüksek risk altında olan kişileri belirlemesine olanak tanımıştır.



Şekil 2.1. Kanserde önemli keşifler

2.1.1. Kanser Etiyolojisi

Kimyasal maddeler, UV ışınlar, DNA alkilleyici ajanlar ve tütün ürünleri tüketimi kanser ile önemli derecede ilişkisi olduğu gösterilmiş önemli çevresel etkenlerdir. Bununla birlikte hormonlar, mutasyonlar ve bağışıklık sistemini olumsuz etkileyen farklı etkenler de kanser hastalığına neden olmaktadır. Bu etkenler üzerinde cinsiyet, yaş, yaşanılan bölge, meslek ve genlerin etkili olduğu düşünülmektedir. Bazı kanser türleri yaş ile doğru orantılı olarak yaş ilerleyişi ile birlikte ortaya çıkma oranı da artmaktadır. Kanser hastalığı kaynaklı ölümlerin %65-70'i 65 yaş sonrasında görülmektedir. Ek olarak kanser hastalığının bazı türleri görülme insidansı bakımından cinsiyetler arasında farklılık göstermektedir. Prostat kanseri sadece erkeklerde görülürken meme kanseri çoğunlukla kadınlarda meydana gelmektedir (NCI, 2014; Stewart ve Wild, 2014).

Fiziksel kanserojen etkenler içerisinde kronik inflamasyon, aşırı güneş ışınına maruz kalma ve tütün ürünlerinin kullanımı gösterilebilmektedir. Güneş ışınına bağlı olarak ultraviyole radyasyon ışınları melanoma kanserinin ana sebebi olarak gösterilmektedir. (NCI, 2014; Stewart ve Wild, 2014).

Literatüre bakıldığında, tütün ürünlerinin kansere yakalanma sıklığını arttırdığı tespit edilmiştir. Ağız içi kanserler ve akut miyeloid lösemide en ileride gelen sebep tütün ürünleri tüketimidir. Amerika Birleşik Devletleri'ndeki kanser hastalığına bağlı ölümlerin %30'unda sebep sigara içimidir (NCI, 2014; Sasco vd., 2001).

2.1.2. Kanserden Korunma Yöntemleri

Kanserin önlenmesi, birincil, ikincil ve üçüncül olarak üç farklı düzeyde yapılmaktadır. Birincil tedavi tümörün oluşum göstermesinin önlenmesine odaklı yaklaşımları içermektedir. İkincil tedavi yönteminde mortaliteyi ve morbiditeyi azaltıcı erken teşhis ve tedavi etkinliklerinden oluşmaktadır. Kanser hastalarının rehabilitasyonlarını sağlamak ve sakatlıklarını azaltmak ise üçüncül tedavi yöntemini oluşturmaktadır. Örnek olarak, hastaları düzenli izleyerek ve eğitimlerini sağlayarak komplikasyonlar önlenebilmektedir (Kutluk ve Kars, 1994).

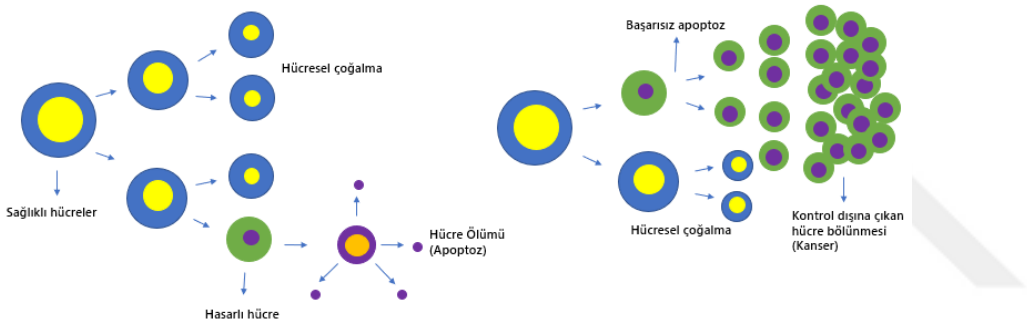
2.1.3. Kanser Oluşum Mekanizması

Hücrelerin bölünmesi ve büyümesi genler tarafından kontrol edildiğinden kanser temelde genlerle alakalı bir hastalıktır. Kromozomlar üzerindeki genler sıkı bir şekilde paketlenmiştir ve bu genlerdeki kimyasal veya fiziksel değişiklikler hücrenin fonksiyonunu doğrudan etkilemektedir. DNA onarım sistemleri, hasar durumunda genin fonksiyonunu iyileştirebilse de her zaman başarılı olmamaktadır. Bu mutasyonlardan dolayı proteinlerin yetersiz veya yanlış üretimi hücresel fonksiyonların bozulmasına neden olmaktadır.

Genin fonksiyonunu etkileyen bir diğer faktör ise genin yapısını değiştirmeden fonksiyonunu değiştiren metilasyon, asetilasyon, fosforilasyon ve ribosilasyon gibi epigenetik değişikliklerdir. Bu modifikasyonlar yalnızca belirli bir bölgeye etki edebildiği gibi, kromozomların tamamını veya büyük bir kısmını etkileyen bölgesel silmelere, eklemelere veya inversiyonlara da neden olabilmektedir.

Kanser oluşumunda önemli rol oynayan üç gen grubu vardır. Bunlar; onkogenler (RAS, Erk ve MYC gibi 19 genler), tümör baskılayıcı genler (TP53 geni) ve DNA onarım genleridir. Hücre büyümesini ve farklılaşmasını sağlayan normal genler olan proto-onkogenler, mutasyonlar, gen ekspresyonunun artması, gen dublikasyonları gibi kromozomal düzenlemeler nedeniyle aktifleşebilir ve onkogenlere dönüşebilmektedir. Tümör baskılayıcı genler hücre bölünmesini ve çoğalmasını kontrol ederek hasar durumunda

DNA onarımını başlatabilmektedir. Onarım girişimi başarısız olursa apoptozu tetikleyebilmektedir. Silmeler, nokta mutasyonları, epigenetik gen susturulması, kromozomların hatalı ayrılması ve epigenetik rekombinasyonlar, tümör baskılayıcı genin kontrolünün kaybına yol açarak hücre döngüsünde kontrolün kaybına ve karsinogenezle sonuçlanabilmektedir. Bir diğer önemli gen grubu, gerekli proteinleri hasarlı DNA bölgesine çeken ve böylece genin işlevini eski haline getiren DNA onarım genleridir. Onarımın etkisiz olması durumunda hücrenin epigenetik veya nekrotik yolunun yok edilmesini sağlamak, DNA onarım genlerinin bir diğer önemli işlevi olmaktadır. Ancak bu önemli gen grubundaki fonksiyon kaybı, hücrenin kanser oluşumunda sık görülen bir sorun olmaktadır. En çok bilinen DNA onarım genlerinden biri, fonksiyon bozukluğu nedeniyle meme kanserine neden olan (BRCA) genidir (Baykara, O., 2016).



Şekil 2.2. Kanser oluşum süreci

2.1.4. Kanserde Tanı ve Tarama Yöntemleri

Erken evrede teşhis edildiğinde tedavisi daha mümkün olan kanser türlerinin, tanının geç konmasından dolayı, her yıl çok sayıda insan ölmektedir. Kanser tarama testlerinin, hastalığın daha erken ve tedavi olasılığı daha yüksekken teşhis edilmesi amaçlanmaktadır (Smith vd., 2013).

2.1.5. Kanserde Klinik Sınıflama

Tümörler kaynağını aldığı doku ya da hücre türüne göre farklılık gösterir ve bu şekilde sınıflandırılmaktadır. Tümör kötü huylu ise malign iyi huylu ise benign adını almaktadır. Kötü huylu tümörlerin kapsülleri bulunmamaktadır ve çevresindeki dokulara hızlı yayılış göstermektedir. Hızlı bir şekilde büyüyen bu tümör hücreleri uzaktaki doku ve organlara da metastaz yapabilmektedir. İyi huylu tümörler ise kapsül bulundurduklarından dolayı çevresindeki dokulara yayılış göstermemektedirler. Bu hücrelerde farklılaşma

görülmekte ve mitoz hızı da yavaş olmaktadır. Ayrıca iyi huylu tümörlerin metastaz özelliği de bulunmamaktadır (Edge vd., 2010; NCI, 2015).

Hastada kanser teşhisi yapıldığında bu hastalığın hangi evrede olduğunu belirlemek te tedavi açısından önem arz etmektedir. Hastalığın evresine bağlı olarak hastalığın boyutu, tedavinin planlanması, prognozunun belirlenmesi gerekmektedir. Kanserin evrelerinin belirlenmesi açısından yaygın olarak kullanılan Amerikan Kanser Birliğinin Tümör Nodül Metastaz (TNM) sınıflandırma sistemi kullanılmaktadır. (Edge ve Compton, 2010; NCI, 2015).

2.1.6. Kanser Hastalıklarında Tedavi Yöntemleri

Kanser hastalıklarında tavsiye edilen tedavi yöntemleri, hastalığın türüne göre ve hastalık tipine göre tedavi yöntemi belirlenmektedir. Uygulanacak olan tedavinin planlamasını multidisipliner bir ekip bir araya gelerek oluşturmaktadır. Hastalığın tedavisi için farklı tedavi yöntemleri kendi başına ya da diğer tedaviler ile birlikte kullanılarak tedavi sürecini kolaylaştırması ve hastanın hayatta kalma şansını üst seviyeye çıkarmak hedeflenmektedir. Bu sebeple kanser tedavisi radyoterapi, cerrahi tedavi ve kemoterapinin tek tek ya da kombinasyonlarından meydana gelmektedir. Radikal cerrahi tedaviler, geniş çaplı hiperfraksiyone radyasyon tedavisi ve/veya yüksek doz kemoterapiden meydana gelen tedavi yöntemleri hastaların hemen hemen tamamında toksisiteye sebep olur ve hastaların yalnızca bir kısmı bu tedavilerden yarar görmektedir (Sausville ve Longo, 2005).

Cerrahi yöntem ise kanserin lokal olduğu hastalarda iyileşme olasılığını arttırmaktadır. Bu yöntem kanserde değişik amaçlarla kullanılmaktadır. Tanısal tedavi, tümörün kesin teşhisi için, tümörün türü ve yayılımına göre tümörün bulunduğu yerleşim yerinden yalnızca biyopsi alınır veya tümörlü dokunun tamamı çıkarılmaktadır. Önleyici cerrahi tedavide kanser olmadığı halde kesinlikle kansere evrileceği bilinen kanser öncesi dokuların çıkarılması maksadıyla uygulanmaktadır. Küratif cerrahi tedavi yöntemi, tümörlü dokunun ve yayılım gösterme ihtimalinin bulunduğu komşu bölgelerin çıkarılması yöntemi olarak karşımıza çıkmaktadır. Palyatif cerrahi tedavi yöntemi, ileri seviye kanser oluşumlarında hastalığın acilen sorun oluşturan semptomlarını düzeltmek ve yaşamını uzatmak amacı ile yapılmaktadır (Sausville ve Longo, 2005). Tümörlü dokuyu ve etrafındaki risk barındıran sağlıklı dokuları vücuttan çıkarma şeklinde gerçekleştirilen cerrahi müdahale, kanser türlerinin bazılarında başarılı tedavi yöntemlerinden birisi olarak

bilinmektedir (NIH, 2015). Cerrahi müdahale sonrasında enfeksiyon ve ağrı oluşma ihtimali, cerrahi operasyonun olumsuz bir sonucu olarak görülmektedir. Tümörlü hücreleri çıkarmak haricinde kriyocerrahi, foto dinamik, hipertermi, ve lazer tedavisi gibi çeşitli tedavi yöntemleri uygulamak ta mümkün olmaktadır (NIH, 2015; Urruticoechea vd., 2010).

Kanserde kemoterapi tedavi yöntemi ender olarak tek başına, çoğunlukla diğer tedavi yöntemleri ile beraber uygulanmaktadır. Kemoterapi, kanser hastasının normal hücrelerine zarar vermeden kanser hücrelerini yok etmek için kullanılan ilaç tedavi yöntemi olarak kullanılmaktadır. Bu maksatla kullanılan ilaçların tamamı anti kanser ilaçlar olarak adlandırılmaktadır. Kanser terapilerinin her biri hastada yaşamsal tehdit oluşturacak düzeyde potansiyel zarar riski barındırmakta ve yapılan tedavi hiçbir faydası olmadan da vücutta toksisite meydana getirebilmektedir (Sausville ve Longo, 2005).

Radyoterapi tedavi yöntemi, radyasyon ışınlarının hücrelere hasar verici etkisinden faydalanarak kötü huylu hücreleri tahrip etme ve bu sırada normal hücrenin tahribatını da en düşük seviyede tutma maksadıyla uygulanan ve tümör tedavilerinde çok önemli yeri bulunan bir tedavi yöntemi olarak bilinmektedir. Kanser tedavisi gören hastaların %60'ı tedavinin bir evresinde radyoterapi almaktadır. Radyoterapi türlü radyoaktif ışın ve atom partiküllerinin yaymış oldukları enerjiyi tümörün lokal olarak bulunduğu bölgeye toplayarak hücrenin atomlarını iyonize etmek, böylece DNA'yı tahrip ederek tümör hücresinin bölünme esnasında yok olması prensibine dayanmaktadır (Sausville ve Longo, 2005).

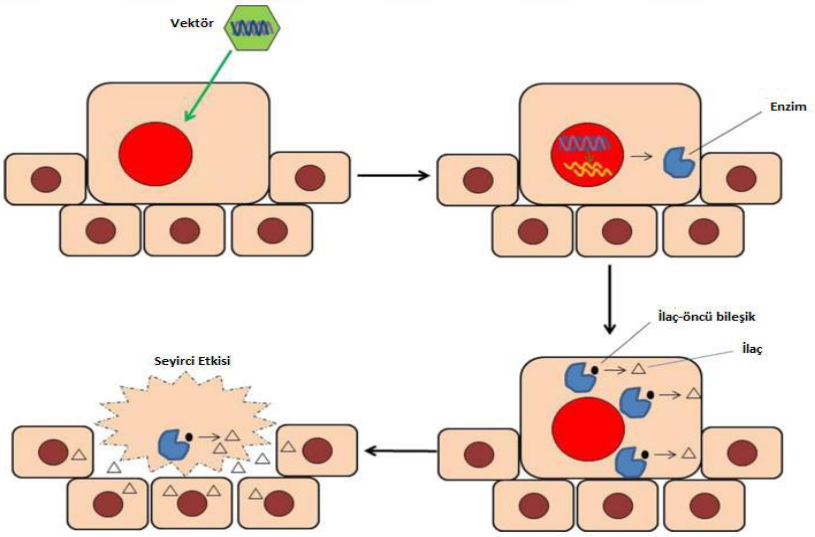
Alternatif tıp tedavi yöntemi, bağışıklık sistemini güçlendirerek, uygulanmakta olan asıl tedaviye destek sağlamayı hedefleyen fakat güvenilirlik ve etkinlik bakımından kontrollü deneylerle doğrulanmamış ön-tıbbi metotları olarak karşımıza çıkmaktadır.

Endokrin tedavi yöntemi, hormon tedavisi olarak ta bilinen hormonların gelişimi üzerinden tümörlü hücrelerin büyüyüp çoğalmasını durduran veya yavaşlatan tedavi yöntemi olarak değerlendirilmektedir. Endokrin sistemin vücutta hormon üretimini sonlandırarak ya da vücuttaki hormon faaliyetlerini engelleyerek etkisini göstermektedir (NIH, 2015).

Genler kullanılarak ta tümör hastalıkları tedavi edilebilmektedir. Alternatif tedavi metotları üzerine yapılan çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır. Gen tedavisi de bu yöntemlerin içinde yer almaktadır. (Denny, 2002). Gen tedavisi, genetik yapının bozuk kısmının sağlıklı genetik kopyası ile değiştirilmesini hedeflemektedir. Uygulamalı hızlı bir

şekilde yaygın hale gelen gen tedavilerinde, özellikle gen yönlendirilmiş enzim-ilaç öncü tedavi yöntemi **(GDEPT)** yoğun olarak ilgi görmektedir (Denny, 2003). GDEPT tanımlaması, yirmi yıldan uzun bir süredir var olsa da bu tutumun klinik önemi son beş yılda daha fazla ortaya çıkmaktadır (Zhang vd., 2015).

Bu yöntem, iki temel basamaktan meydana gelmektedir. Birinci basamak, bakteriyel, viral veya maya kaynaklı enzime bağlı gen bölgesinin taşıyıcı vektöre bağlanarak kanser hücresine taşınması ve kanser hücresinde bu genin kendisini ifade etmesine dayanmaktadır (Denny, 2002; Dachs vd., 2005). İkinci basamakta ise, kanser hücrelerine nakledilen enzim vasıtasıyla, organizmaya sitotoksisitesi az ilaç öncü bileşiğin toksisitesini artırarak hücre zehirleme kapasitesi yüksek olan bileşenlere çevrilmesi işlemi olarak karşımıza çıkmaktadır. Böylelikle, aktif hale gelen ilaç, etraftaki tümörlü hücrelere etki göstermektedir.



Şekil 2.3. Gen yönlendirilmiş enzim-ilaç öncü tedavi yönteminin (GDEPT) şematik gösterimi (Zhang vd., 2015).

GDEPT yöntemi için kullanılacak olan enzim, tek başına veya sağlıklı olan hücrelere nispeten kanserli hücrelerde yüksek oranda tesir etmesi beklenmektedir. Enzim, derişimleri düşük olan ilaç öncü bileşikleri etkin bir biçimde ilaca dönüştürmek için yüksek katalitik dinamiğe sahip olması gerekmektedir (Zhang vd., 2015).

GDEPT yöntemi için ideal ilaç öncü bileşik, zehir içermemeli veya oldukça az düzeyde zehir içermeli ve enzimatik etkileşimin ardından yüksek oranda sitotoksisite tepkimesi vermesi beklenmelidir. Bununla beraber kanser hücreleri tarafından etkileyici bir

biçimde içeri alınabilmeli ve bahsi geçen enzim yönünden yüksek ilgi gösterilirken, öteki endojen olan enzimler tarafından düşük ilgi göstermesi gerekmektedir (Zhang vd., 2015).

Kanserli hücrelerin etkin bir biçimde öldürülebilmesi için ilaç öncü bileşiklerin uzun bir yarı-ömür özelliği bulundurmalıdır. Zehirleyici ilaç, bir kanser hücresinden dışarı atılır ve etkin taşıyıcı araçlar yardımıyla çevredeki diğer kanserli hücreler tarafından içeriye alınmaktadır (Zhang vd., 2015). Anlamlı bir kanser gerilemesi ve köklü klinik yanıt alınabilmesi için, seyirci etkisi çok fazla önem taşımaktadır. Etkin bir seyirci etkisi oluşturabilmek için etken maddenin difüzleme yeteneği olmalıdır ya da boşlukların kesişmesi vasıtasıyla komşu hücreler tarafından etkili bir şekilde taşınması gerekmektedir (Duarte vd., 2012).

Gen modifiye tümör hücrelerinde ilaç öncü bileşiğin aktifleşmesiyle birlikte kanserli hücrede zehirli ilaç derişimi oluşurken, sağlıklı olan dokularda ilaca olan maruziyeti minimuma indirmesi amaçlanmaktadır (Denny, 2002; Hamstra vd., 2004).

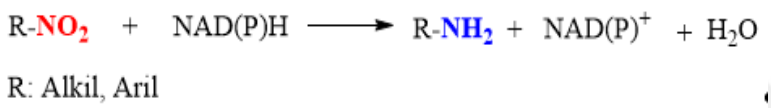
Kısaca, çağımızın en büyük sorunu haline gelen kanser hastalığının tedavisinde, ilaç kullanılarak uygulanan tedavinin seçenekleri veya ilaçların tamamlayıcısı olarak görev alan "Gen Merkezli Enzim İlaç Öncü Tedavisi" nde kullanılması için yapılan çalışmalar fazlasıyla önem taşımaktadır. Kemoterapi tedavi yönteminde vücuda verilen ilaçla kanserli hücrenin öldürülmesi hedeflenmektedir. Fakat bu durumla birlikte sağlıklı hücrelerin de ölümü gerçekleşmektedir. Bu durum hastanın vücut direncinde düşme ve zayıflamaya sebep olmaktadır. İlaç öncü bileşikleri aktif olmadığından diğer ilaç maddelerine benzer şekilde vücuda verilebilir. Aktifleşme gerçekleştirilemediği takdirde vücut dışına atılabildiklerinden dolayı da kemoterapi tedavisinde karşılaşılan sorunlara nazaran daha az sorun ile karşılaşılmaktadır. Fakat kanser hücrelerinde enzimle bir araya geldiğinde aktifleşebileceği için kanser hücrelerini seçici olarak inaktif ettikten sonra sağlıklı olan hücrelerde olumsuz bir etki bırakmamaktadır. Bu konu üzerine yapılan çalışmaların sayısının arttırılması ve geliştirilmesi ile birlikte kemoterapi tedavisinde karşı karşıya kalınan olumsuz etkileri ve sağlıklı hücrelerin ölümünü devre dışı bırakmak amaçlanmaktadır.

Bu tezde yer alan, orijinal Nitroredüktaz inhibitörleri, yukarıda bahsedilen GDEPT yönteminde kullanılabileceği öngörülmektedir.

2.2. Nitroredüktazlar

Enzimler metabolik tepkimeleri hızlandıran biyolojik katalizörler olup protein yapılı moleküllerdir. Kimyasal tepkimelerin hızını artırmaya yarar. Ayrıca canlının yaşamını sürdürmesi ve reaksiyon enerji dengesinin sağlanması yönünde önemli bir görevi vardır. Enzimler katalizledikleri reaksiyonlara göre 6 ana sınıfa ayrılmıştır. Bu ana sınıflandırmada büyük bir yer tutan oksidoredüktazlar, indirgenme-yükseltgenme reaksiyonlarını katalizleyen kofaktör bağımlı enzimlerdir. Kimya ve ilaç endüstrisi içinde seçici olarak yükseltgenme ve indirgenme reaksiyonlarının gerçekleşesini sağlayan oksidoredüktazlar biyoteknolojik prosesler içinde önemli yere sahiptir (Goldberg vd., 2007).

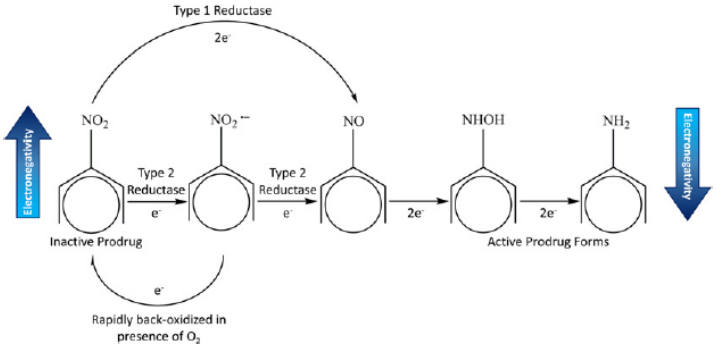
Nitroredüktazlar ise oksidoredüktaz sınıfı enzimler olup nitro gruplu bileşiklerin indirgenme reaksiyonunu katalizler.



Şekil 2.4. Nitroredüktazların katalizlediği genel reaksiyon şeması

FMN bağlı nitroredüktazlar (NTR), *Escherichia coli* NTR, *Enterobacteria cloacae* NTR, *Salmonella typhimurium* NTR ve *Vibrio fischeri* flavin oksidoredüktazı içine alan yapısal olarak homolog enzimler grubudur (Bryant vd., 1991; Anlezark vd., 1992; Zenno vd., 1994; Watanabe vd., 1998).

Escherichia coli tip I bakteriyel nitroredüktazın, kanser gen terapilerinde kullanıldığı ayrıca nitrofurazon, nitrofurantoin gibi organik nitroaromatik ve nitroheterosiklik bileşiklerin indirgenmesini katalizlediği bilinmektedir. Nitroredüktazlar ise nitro grubunu tek elektron ile indirgeyip nitro anyon radikali oluşturmakta, oluşan radikal faydasız bir döngüye girerek aerobik ortamda tekrar okside olurken süper oksit anyonu oluşumuna sebep olmaktadır.



Şekil 2.5. Nitroredüktazların reaksiyon mekanizması.

Nitroredüktazların uygulama alanlarını şu şekilde sıralayabiliriz. (Klefenz, 2002).

- Ticari değeri yüksek kimyasalların sentezi

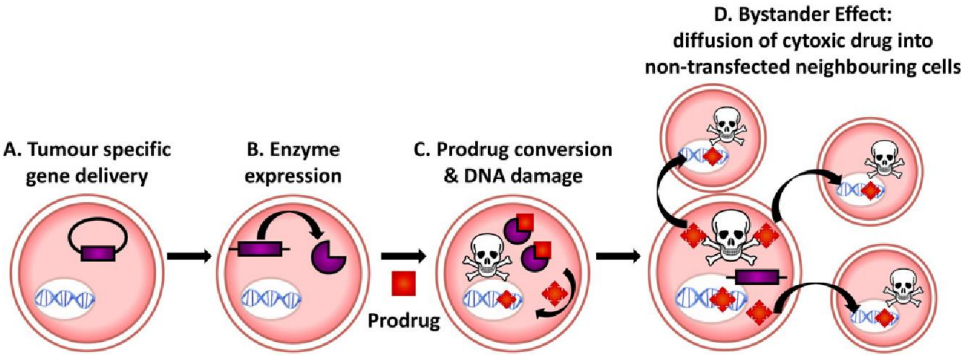
- Nitroaromatik bileşiklerin biyodegredasyonu ve kirliliğin önlenmesi

- Kanser terapilerinde kullanımı

2.3. Kanser Terapilerinde NTR'in Kullanımı

Ölümlere sebep olan kanser hastalığının tedavisinde atılacak her adım hayati önem taşımaktadır. Alternatif tedavi yöntemleri üzerine çalışmalar her geçen gün artmaktadır. Bu yöntemlerden biri de "Gen Tedavisi"dir (Denny, 2002). Gen Tedavisi, bozuk genetik yapının sağlıklı kopyası ile değiştirilmesini amaçlamaktadır. Baş-boyun kanser tedavisi için geliştirilmiş bir gen tedavisi ürünü, 2000 yılında piyasaya sürülerek kullanıma başlanmıştır. Uygulamaları hızla yaygınlaşmakta olan gen tedavilerinde, özellikle gen yönlendirilmiş enzim-ilaç öncü tedavi yöntemi (GDEPT) yoğun ilgi görmektedir (Denny, 2003).

Bu yöntemler, temelde iki basamaktan oluşmaktadır. Birinci basamak, viral, bakteriyel veya maya kaynaklı enzime ait genin taşıyıcı vektöre yüklenerek tümör hücresine taşınması ve tümör hücresinde bu genin ifadesidir (Denny, 2002). İkinci basamakta ise, tümör hücrelerine aktarılan ve ifadesi yapılan enzim yardımıyla, organizmaya sistemli olarak verilen zehirliliği düşük ilaç öncü bileşiğin hücre zehirleyiciliği (sitotoksisitesi) yüksek bileşenlere çevrilmesidir. Daha sonra, etkin hale gelen ilaç, seyirci etkisiyle etraftaki kanserli hücrelere etki etmektedir.



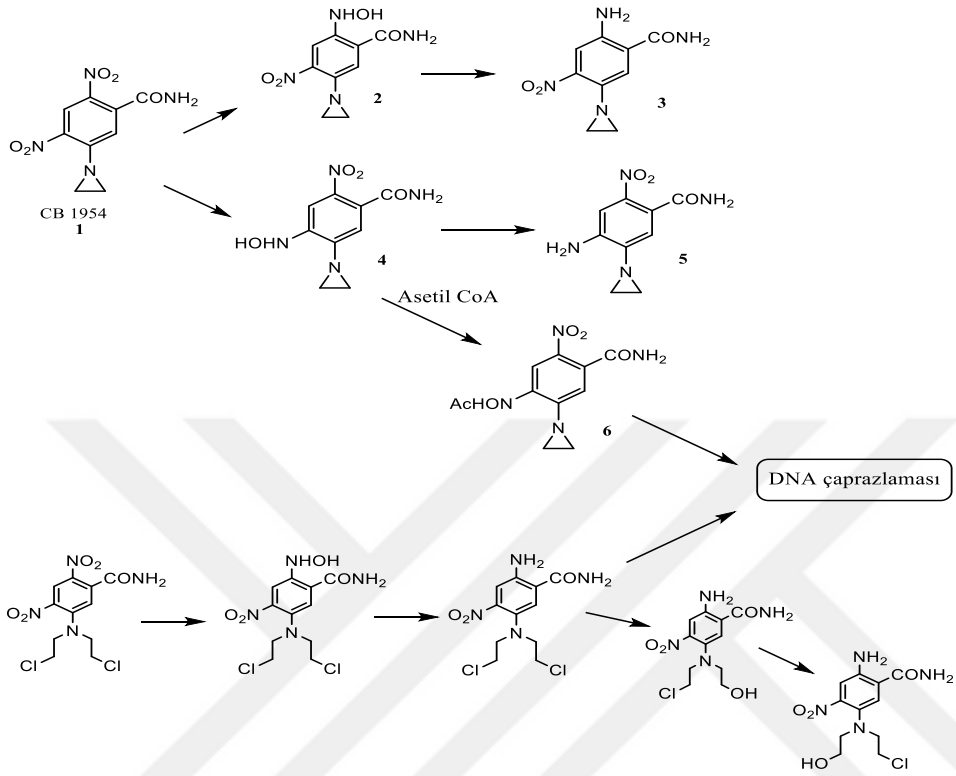
Şekil 2.6. Gen yönlendirilmiş enzim-ilaç öncü tedavi yönteminin (GDEPT) şematik gösterimi

Tümörlü hücrelerin etkili bir şekilde öldürülebilmesi için ilaç öncü bileşiklerin uzun bir yarı-ömre sahip olmaları gerekir. Bütün tümör hücrelerinin genin bir kopyasını alması mümkün olmadığı için, bu aşamada seyirci sitotoksik etki devreye girer. Zehirleyici ilaç, bir tümör hücresinden dışarıya atılır ve etkin taşıyıcı araçlar vasıtasıyla çevredeki hücreler tarafından hücre içine alınır (Zhang vd., 2015). Anlamlı bir tümör gerilemesi ve kalıcı klinik cevap alınabilmesi için, seyirci etkisi çok büyük önem taşımaktadır. Etkili bir seyirci etkisi yaratabilmek için etkin metabolitin difüzlenme özelliği olmalı ya da boşlukların kesişmesi yoluyla komşu hücreler tarafından etkin bir şekilde taşınabilmelidir. Seyirci etkisi, başta pasif difüzyon olmak üzere çok çeşitli mekanizmalar üzerinden etkisini göstermektedir (Duarte vd., 2012). Gen modifiye kanser hücrelerinde ilaç öncü bileşiğin etkinleşmesiyle birlikte tümörde zehirli ilaç derişimi oluşturulurken, geniş terapötik indeks ile normal, sağlıklı dokularda ilaca maruziyeti en aza indirir. Gen yönlendirilmiş enzim-ilaç öncü tedavi çalışmalarında nitroredüktazların (NTR) kullanımı dikkat çekmektedir.

GDEPT tedavisinde nitroredüktazların tercih edilmesinin en önemli nedeni, aromatik nitro bileşiklerinin indirgenmesinin elektronik aralığının çok geniş olmasıdır. Bu aralığın eniş olması oluşması muhtemel elektrofilik metabolitlerin potansiyel sitotoksik olmasını ve aromatik nitro bileşiklerinin etkinleştirmesinde sağlam bir "elektronik anahtar" gibi davranmasını sağlar. Bu yüzden nitroaromatikler, gen merkezli ilaç öncü tedavisinde (GDEPT) nitroredüktaz (NTR) enzimleri ile konjugasyonda etkindirler (Denny, 2002).

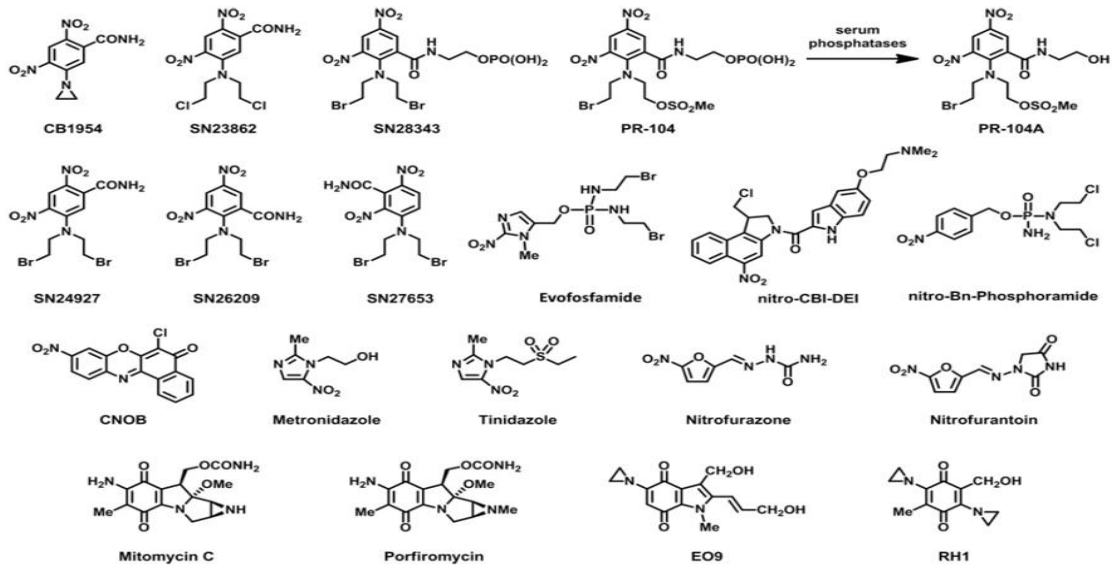
Kanser tedavisinde kullanılması hedeflenen, klinik denemeleri halen devam etmekte olan CB 1954 (5-aziridinil-2,4-dinitrobenzamit) bileşiğine alternatif olabilmesi amacıyla,

ondan daha etkili ve yan etkileri daha az olabilecek bileşiklerin sentezi için bilim adamları tarafından pek çok araştırma yapılmaktadır (Güngör, 2016).



Şekil 2.7. CB1954 ve **SN23682** ilaç-öncü maddesinin indirgenme mekanizması

Aşağıda ilaç öncül ilaç olarak kullanılan bazı nitro bileşikleri verilmiştir.



Şekil 2.8. İlaç öncül olarak kullanılan bazı nitro bileşikleri

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

İlgili kimyasal maddeler Merck, Fluka ve Sigma-Aldrich gibi farklı markalı ürünler temin edilerek deneylerde kullanılmıştır.

Çözücü kimyasallar ve reaktifler maddeler analitik saflıkta olup deneylerde herhangi bir saflaştırma işlemlerine başvurulmadan kullanılmıştır.

3.2. Deneylerde Kullanılan Araç ve Cihazlar

Deneyler sırasında kullanılan araç ve cihazlar aşağıda sıralanmıştır.

1-Bruker marka 500 MHz NMR cihazı,

2- Perkin Elmer marka IR spektrofotometresi (ATR),

3- Heidolph marka döner buharlaştırıcı,

4- Memmert marka etüv (300^{o}C),

5- Camag marka ince tabaka kromatogram lambası (254/366 nm),

6- Heidolph marka vakum pompası.

7- Heidolph marka manyetik karıştırıcı.

3.3. Deneylerde Kullanılan Metotlar

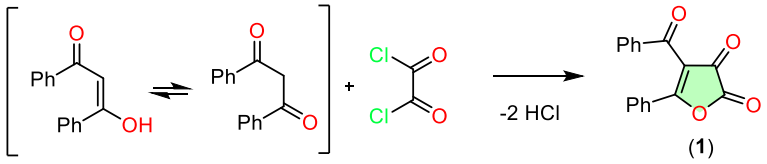
Tez kapsamında yapılan çalışmalarda nitroredüktaz inhibitörü olabilecek yeni organik bileşikler sentezlenmiş ve spektroskopik metotlar ile karakterize edilmiştir. Sonrasında teorik çalışmalar ile optimize yapılar belirlenmiş ve in siliko çalışmalar ile nitroredüktaz inhibitörü olma potansiyelleri araştırılmıştır.

Deneysel çalışmalar, Yozgat Bozok Üniversitesi Kimya Bölümü Organik Kimya Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Her bir reaksiyon için gerekli olan uygun çözücü kimyasallar aracılığıyla reaktiflerin kaynatılması, oda şartlarında karıştırılması ya da soğuk su banyosunda karıştırmak suretiyle optimal deneysel şartlar belirlenmiştir. Reaksiyonların tamamı manyetik karıştırıcı ve üzerinde bulunan kurutma başlıklı geri soğutucu sisteminde gerçekleştirilmiştir. Deneyler gerçekleştirilirken, çözücü kimyasal, sıcaklık, çöktürme ve saflaştırma koşulları denenmiştir. Bu bağlamda en uygun reaksiyon koşulları belirlenmiştir. Sentezlenen maddelerin saflık düzeyi ve reaksiyonların durumları ince tabaka kromatografisi (İTK) ile kontrol ve takip edilmiştir.

Sentezlenen bileşiklerin karakterizasyonunda; FT-IR, ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR tekniklerinden faydalanılmıştır. NMR analizleri ise Gazi Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (TAUM) Laboratuvarlarında yapılmıştır.

3.3.1. 1 Bileşiğinin Sentezi

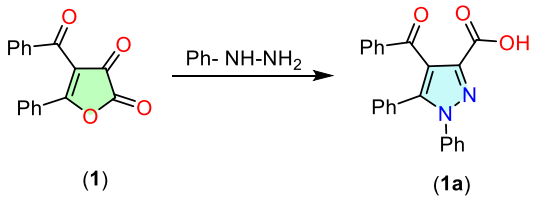
Bir reaksiyon balonunun içerisine 10 g dibenzoilmetan tartıldı. Üzerine 100 mL mutlak eter eklenerek çözülmesi sağlandı. Bu işlemin ardından Anorganik tuzlardan kurtulmak için süzme işlemi yapıldı. Çözünen maddenin üzerine 4,1 mL oksailklorür eklenerek kurutma başlığı ($CaCl_2$) takılarak karanlıkta ve laboratuvar şartlarında 3 gün bekletildi beklenen süre ardından iğnemsi kristal yapıda sarı renkte çöken madde vakum motoru yardımıyla tekrar süzüldü ve kloroform ile kristallendirme işlemi gerçekleştirildi ve vakum desikatörü (P_2O_5)içerisinde kurumaya bırakıldı. E.N.: 120^{o}C, M_A= 278,26 g/moL



Şekil 3.1. 1 Bileşiğinin Sentez Şeması

3.3.2. 1 Bileşiğinin Fenil Hidrazin ile Reaksiyonu

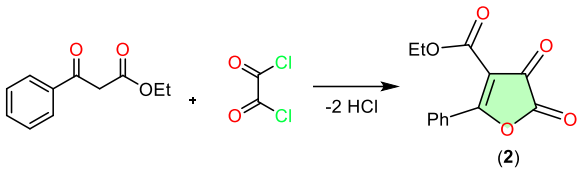
Bu sentez aşaması yapılırken literatürden faydalanılmıştır. Bu sentez için **1** bileşiği benzende çözüldü ve (1:1) mol oranda fenil hidrazin eklendikten sonra, kurutma başlıklı ($CaCl_2$) geri soğutuculu sistem altında ve çeker ocak içerisinde manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak kaynatma işlemi yapıldı. Reaksiyon sonlandıktan ve reaksiyon ortam sıcaklığı düştükten sonra ortamdaki benzen döner buharlaştırıcı ve vakum pompası yardımıyla ortamdan uzaklaştırıldı. Reaksiyon balonunun içerisinde kalan yağımsı madde üzerine siklohekzan eklenerek laboratuvar koşullarında karışmaya bırakıldı. Siklohekzan yardımıyla çöken madde süzüldükten sonra metil alkol ile kristallendirildi. Elde edilen ürünün E.N.: 195-196 ^{o}C olarak saptandı.



Şekil 3.2. 1 Bileşiğinin Fenil hidrazin ile Tepkimesinin Şeması

3.3.3. 2 Bileşiğinin Sentezi

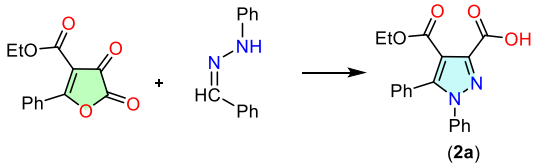
10 mL etilbenzoilasetat bir balon içerisine konuldu. Balon içerisine çeker ocak içinde 8 mL okzalil klorür damla damla eklendikten sonra kurutma başlığı ($CaCl_2$) takıldı ve karanlık ortamda oda sıcaklığında 3 gün bekletildi. Bu sürenin ardından balonun içerisine 25 mL mutlak eter ilave edildi. Bu işlemin ardından balon laboratuvar içerisindeki buzdolabına 30-45 dakika aralığında bırakıldı. Bu süre sonrasında balon içerisindeki ürün manyetik karıştırıcı yardımı ile oda sıcaklığında karıştırılarak çökmesi sağlandı. Süzme sorası elde edilen sarı renkli ürün vakum desikatöründe (P_2O_5) kuruması için bekletildi. E.N.: 90°C ve M_A = 246,05 g/mol



Şekil 3.3. 2 Bileşiğinin Sentez Şeması

3.3.4. 2 Bileşiğinin Benzaldehit Fenil Hidrazon ile Reaksiyonu

Bir reaksiyon balonunun içerisine 2 mmol (0,492 g) tartıldı. Üzerine 2 mmol (0,392 g) Benzaldehit fenil Hidrazon eklendikten sonra etüv içerisinde 100 °C sıcaklıkta yaklaşık 40-45 dakika bekletildi bu sürenin ardından balonun içerisinde oluşan yağımsı kısın üzerine mutlak eter eklenerek oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Beyaz renkte elde edilen ürün vakum motoru yardımıyla süzüldü ve vakum desikatörüne konuldu. E.N.: 168-172°C (Yıldırım, İ. vd., 1997).

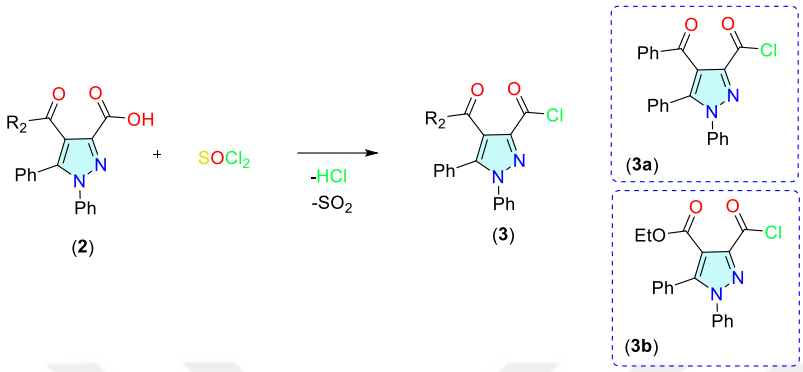


Şekil 3.4. 2 Bileşiğinin Benzaldehit Fenil Hidrazon ile Reaksiyon şeması

3.3.5. 3a-b (Pirazol-3-Karboksilli Asit Klorür) Bileşiklerinin Sentezi

Bir reaksiyon balonuna önceden sentezlenen **1a** veya **2a** bileşikleri tartılarak konuldu. Balonun içerisine çeker ocak içinde ve damlalık yardımıyla kararınca tiyonil klorür eklendi. Balonun üzerine kurutma başlığı ($CaCl_2$) takılarak geri soğutucu sistem altında ve balon sıcak su banyosu içerisinde 4 saatlik bir süreyle (HCl gaz çıkışı bitene kadar) karışmaya

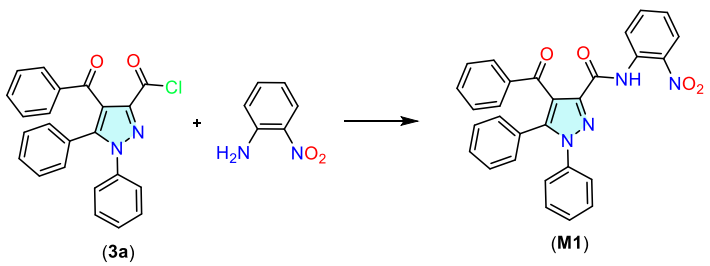
bırakıldı. Reaksiyon ortamında tiyonilklorür bittikten sonra balon içerisinde kalan madde üzerine mutlak eter ilave edildi. Mutlak eter yardımıyla çöken ürün vakum desikatöründe (P_2O_5) kurutulmaya bırakıldı.



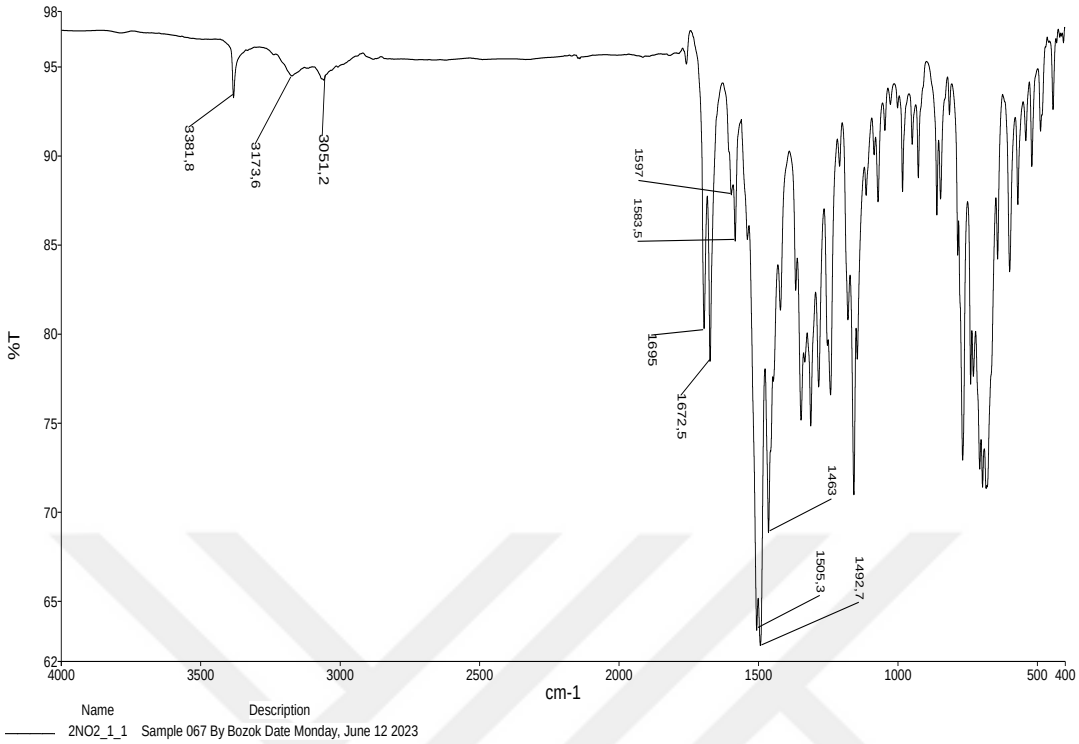
Şekil 3.5. 3a-b (Pirazol-3-Karboksilli Asit Klorür) Bileşiklerinin Sentez şemaları

3.3.6. *N*-(2-nitrofenil)-4-benzoil-1,5-difenil-1*H*-pirazol-3-karboksamit (M1) sentezi

1 mmol (0,386 g) **3a** reaksiyon balonu içerisine tartıldı toluen'de çözüldü ve üzerine 1mmol 2-Nitroanilin (0,138g) eklendi ve manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak kurutma başlıklı geri soğutucu altında kaynamaya bırakıldı (24 saat). Kaynama işleminden sonra balon içerisindeki çözücü döner buharlaştırıcı yardımıyla ortamdan uzaklaştırıldı. Bu işlemin ardından izopropil alkol kullanılarak çöktürme işlemi gerçekleştirildi. Çöken ürün vakum yardımıyla süzüldü. İTK sonrasında ürünün başlangıç maddesinden faklı, yeni bir ürün olduğu belirlendi. Elde edilen ürün bütil alkol ile kristallendirilerek saflaştırıldı.

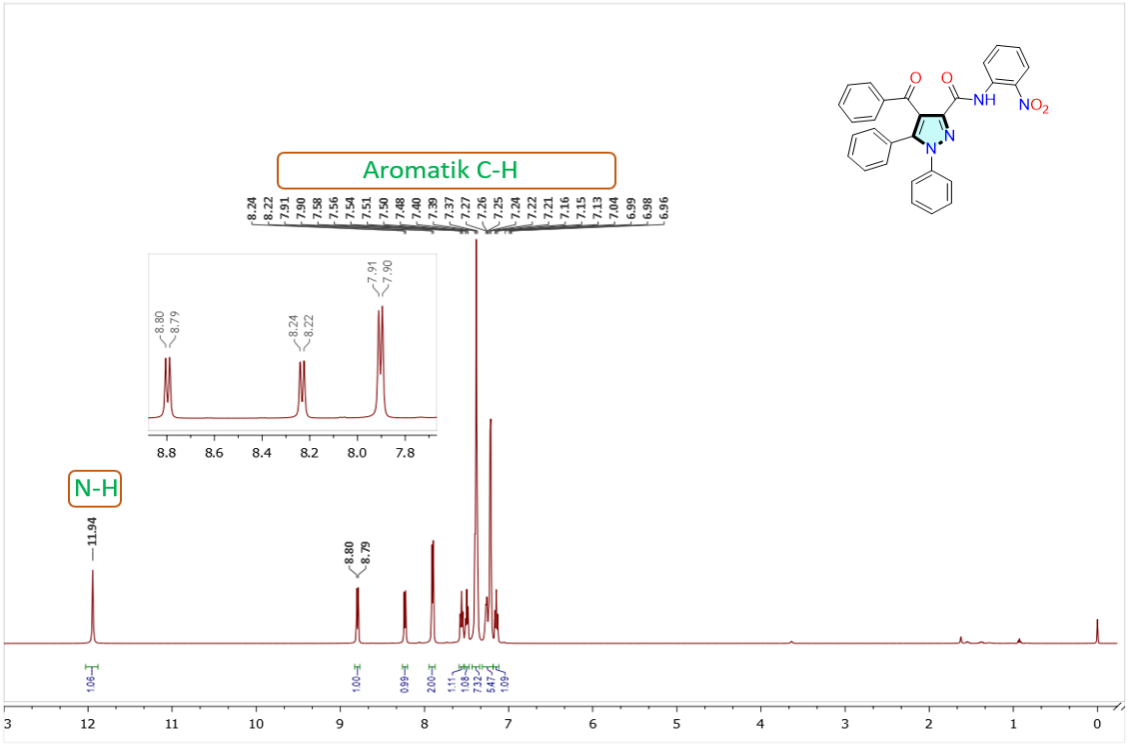


Şekil 3.6. M1 Bileşiğinin sentez şeması



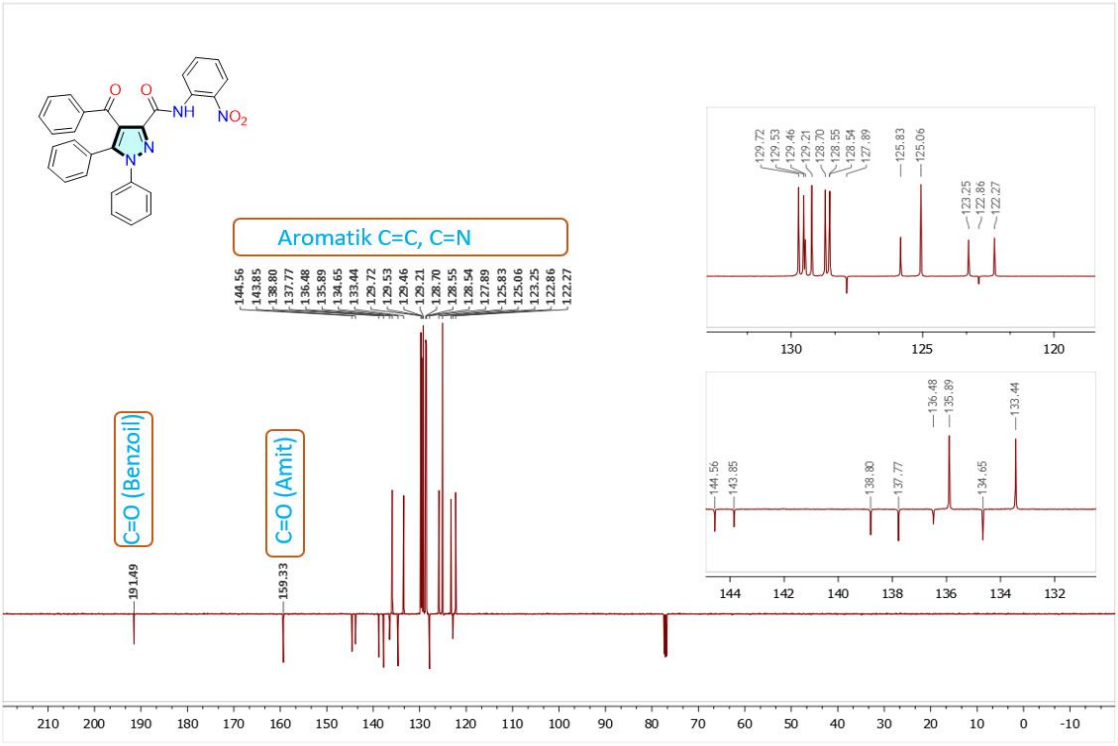
Şekil 3.7. M1 Bileşiğinin FTIR spektrumu

M1 bileşiğinin FT-IR spektrumunda (ATR) 3381 cm^{-1}'deki bant N-H gerilme titreşiminden, 3173-3051 cm^{-1} arasındaki bantlar aromatik C-H gerilme titreşimlerinden, 1695 cm^{-1}'deki bant C=O (benzoil) gerilme titreşiminden, 1672 cm^{-1}'deki bant C=O (amit) gerilme titreşiminden, 1583-1463 cm^{-1} aralığındaki bantlar aromatik C=C ve C=N gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır (Şekil 3.7.).



Şekil 3.8. M1 Bileşiğinin ^{1}H NMR spektrumu

Şekil 3.8.'de **M1** bileşiğinin $CDCl_3$'da çözülerek alınan ^{1}H-NMR spektrumu görülmektedir. Buna göre: 11.94 ppm'de gözlenen birli pik NH sinyaline karşılık gelmektedir. 8.24-6.96 ppm aralığında gözlenen çoklu pikler on dokuz tane aromatik protona aittir. Spektrumdaki piklerin integral alanları karşılaştırılarak bulunan proton sayıları yapı ile uyumludur.

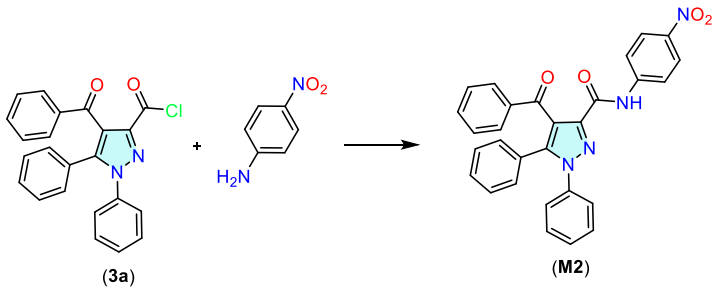


Şekil 3.9. M1 Bileşiğinin ^{13}C-NMR spektrumu

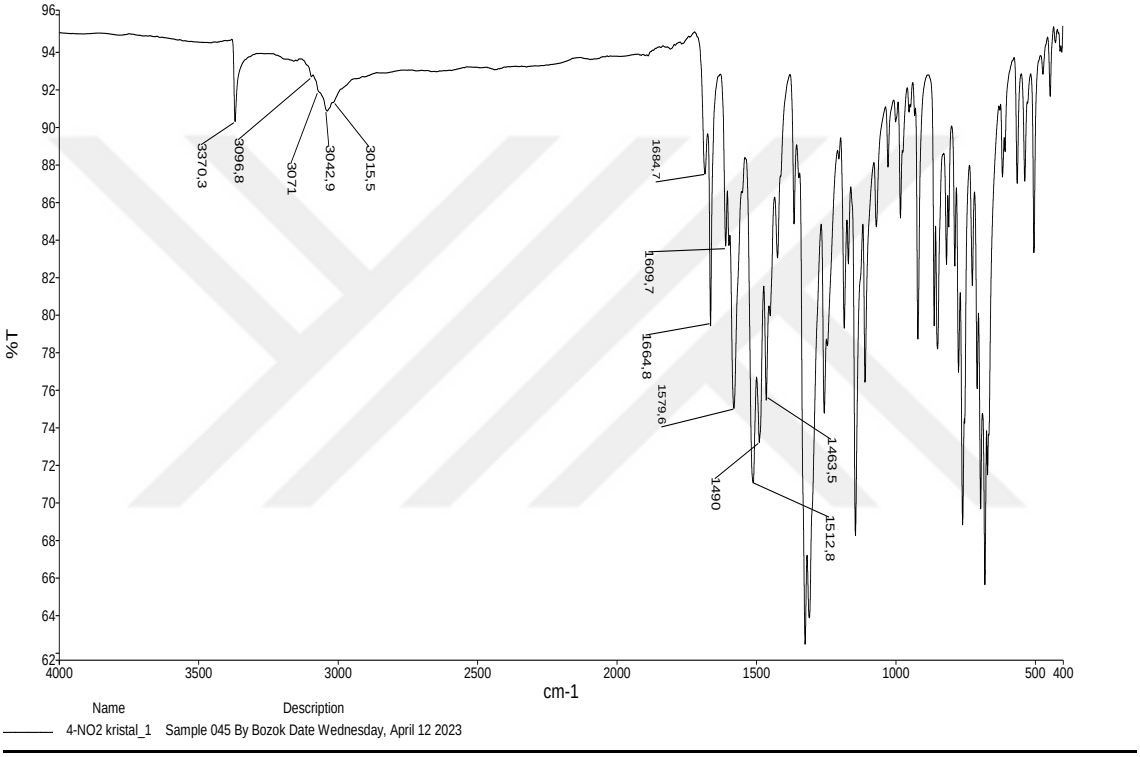
M1 bileşiğinin $CDCl_3$ ile çözülerek alınan ^{13}C-NMR spektrumu Şekil 3.9.'da verilmiştir. Moleküldeki karbonil gruplarına ait sinyaller 191.5 (CO, benzoil) ve 159.3 (CONH, amit) ppm'de gözlenmiştir. 144.6-122.3 ppm aralığında yirmi bir tane aromatik C=C ve C=N gruplarının karbon atomlarına ait sinyaller yer almaktadır. Moleküldeki tüm karbon atomlarına ait sinyaller, diğer spektroskopik verilerle (^{1}H-NMR ve FT-IR) birleştirildiğinde, yapı karakterize edilmiştir.

3.3.7. 4-benzoil-*N*-(4-nitrofenil)-1,5-difenil-1*H*-pirazol-3-karboksamit (M2) sentezi

1 mmol (0,386g) **3a** bileşiği reaksiyon balonu içerisine tartılarak toluen'de çözüldü ve üzerine 1mmol 4-nitroanilin (0,138g) eklendi ve manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak kurutma başlıklı geri soğutucu altında kaynamaya bırakıldı (24 saat). Kaynama işleminden sonra balon içerisindeki çözücü, döner buharlaştırıcı yardımıyla ortamdan uzaklaştırıldı. Bu işlemin ardından izopropil alkol kullanılarak çöktürme işlemi gerçekleştirildi. Çöken madde goach krozesi ile süzüldü. İnce tabaka kromotografisi yardımıyla ürünün başlangıç maddelerinden faklı bir ürün olduğu belirlendi. Elde edilen ürün izopropil alkol ile kristallendirilerek saflaştırıldı.

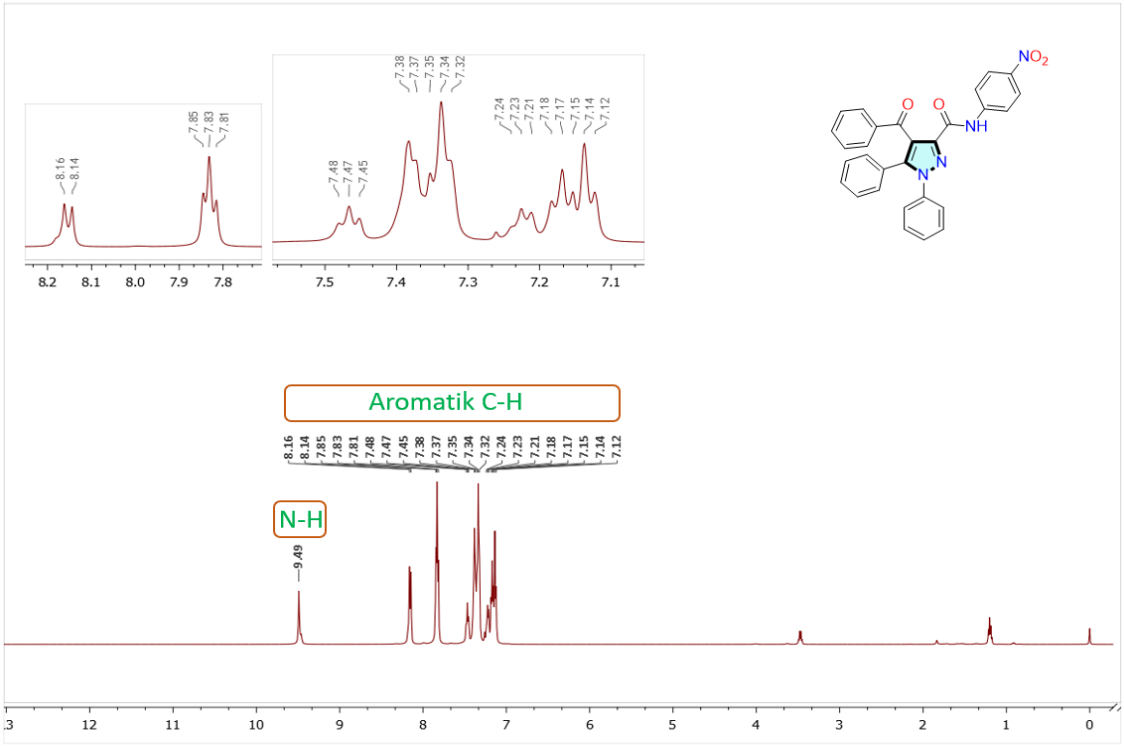


Şekil 3.10. M2 Bileşiğinin sentez şeması



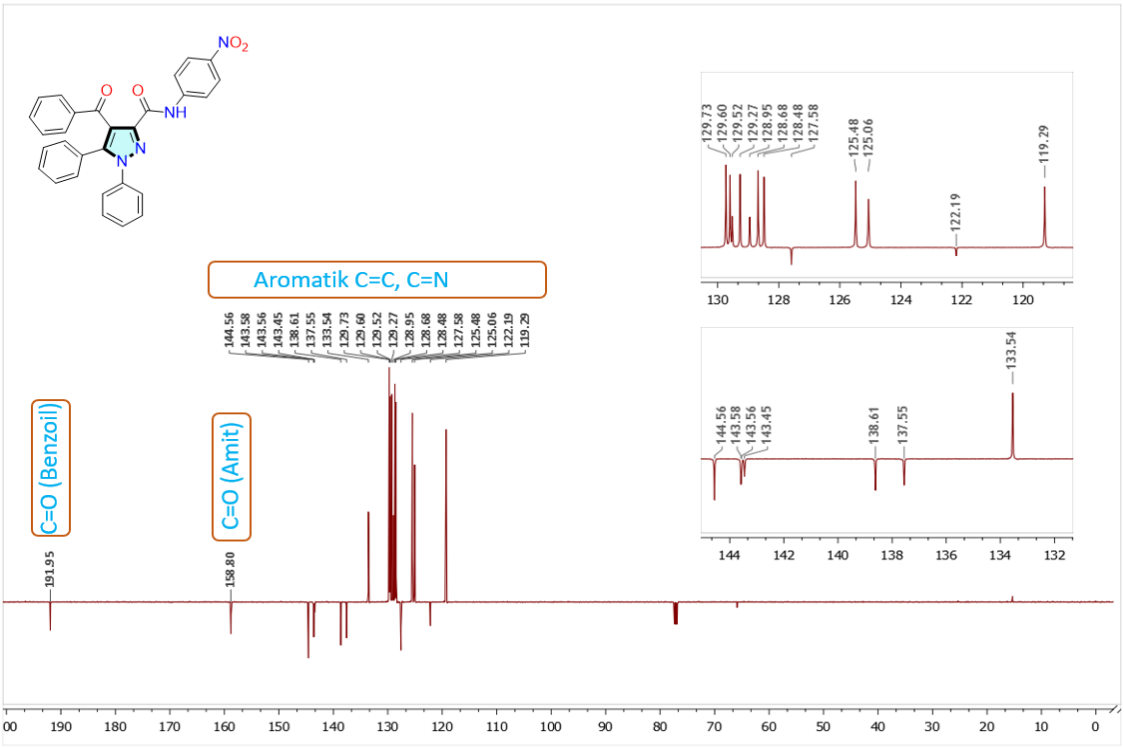
Şekil 3.11. M2 Bileşiğinin FTIR spektrumu

M2 bileşiğinin FT-IR spektrumunda (ATR) 3370 cm^{-1}'deki bant N-H gerilme titreşiminden, 3096-3015 cm^{-1} arasındaki bantlar aromatik C-H gerilme titreşimlerinden, 1684 cm^{-1} deki bant C=O (benzoil) gerilme titreşiminden, 1664 cm^{-1} deki bant C=O (amit) gerilme titreşiminden, 1609-1463 cm^{-1} aralığındaki bantlar aromatik C=C ve C=N gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır (Şekil 3.11.).



Şekil 3.12. M2 Bileşiğinin ^{1}H NMR spektrumu

Şekil 3.12.'de **M2** bileşiğinin $CDCl_3$'da çözülerek alınan ^{1}H-NMR spektrumu görülmektedir. Buna göre: 9.49 ppm'de gözlenen birli pik NH sinyaline karşılık gelmektedir. 8.16-7.12 ppm aralığında gözlenen çoklu pikler on dokuz tane aromatik protona aittir. Spektrumdaki piklerin integral alanları karşılaştırılarak bulunan proton sayıları yapı ile uyumludur.



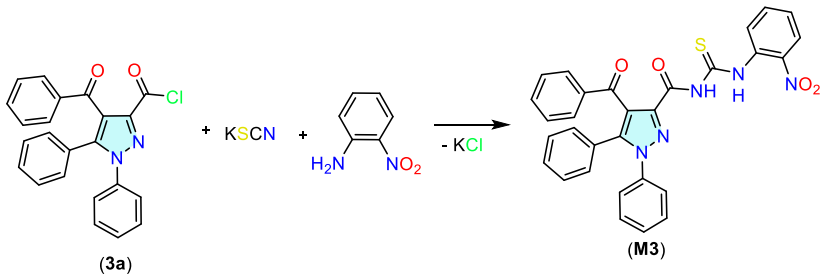
Şekil 3.13. M2 Bileşiğinin ^{13}C-NMR spektrumu

M2 bileşiğinin $CDCl_3$ ile çözülerek alınan ^{13}C-NMR spektrumu Şekil 3.13'te verilmiştir. Moleküldeki karbonil gruplarına ait sinyaller 192.0 (CO, benzoil) ve 158.8 (CONH, amit) ppm'de gözlenmiştir. 144.6-119.3 ppm aralığında on dokuz tane aromatik C=C ve C=N gruplarının karbon atomlarına ait sinyaller yer almaktadır. Moleküldeki tüm karbon atomlarına ait sinyaller, diğer spektroskopik verilerle (^{1}H-NMR ve FT-IR) birleştirildiğinde, yapı karakterize edilmiştir.

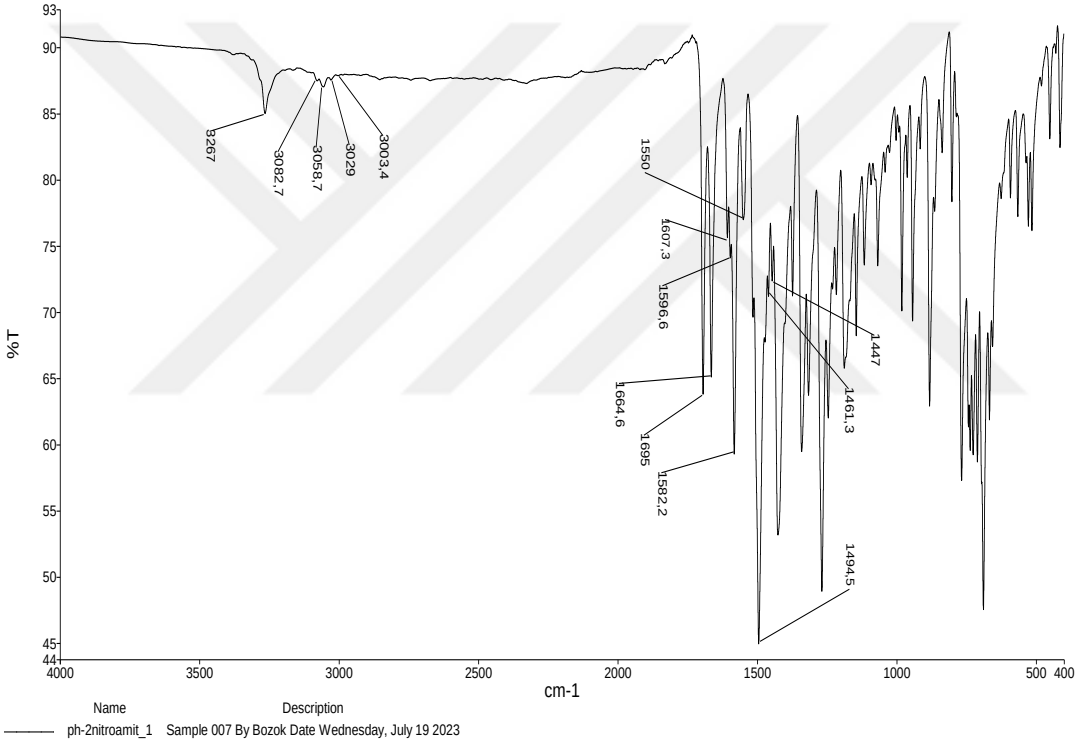
3.3.8. M3 Bileşiğinin Sentezi

Bir reaksiyon balonunun içerisine 0,75 g **3a** bileşiği tartıldı üzerine 0,187 g KSCN ilave edildi ve asetonitrilde 2 saat kaynamaya bırakıldı. Bu sürenin ardından balonun içerisindeki madde başka bir reaksiyon balonu içerisine filtre kağıdı yardımıyla süzüldü. Bu aşamadaki filtrasyon işleminde reaksiyon ortamındaki tuzlardan kurtulmak amaçlanmıştır. Yeni reaksiyon balonundaki süzüntü kısmına bir miktar asetonitril ile beraber 0,267 g 2-nitro anilin ilave edildi ve 24 saat manyetik karıştırıcı ile geri soğutucu sistem altında kaynamaya bırakıldı. Bu işlemlerin ardından reaksiyon ortamındaki asetonitril döner buharlaştırıcı yardımıyla reaksiyon ortamından uzaklaştırıldı. Kalan ham ürün üzerine mutlak eter eklenerek oda sıcaklığında karıştırıldı. Çöken madde vakum yardımıyla süzüldü ve

kurumaya bırakıldı. İTK analizi sonucuna göre yeni bir ürün olduğu belirlenen madde bütil alkol ile kristallendirilerek saflaştırıldı ve vakum desikatöründe (P_2O_5) kurumaya bırakıldı.

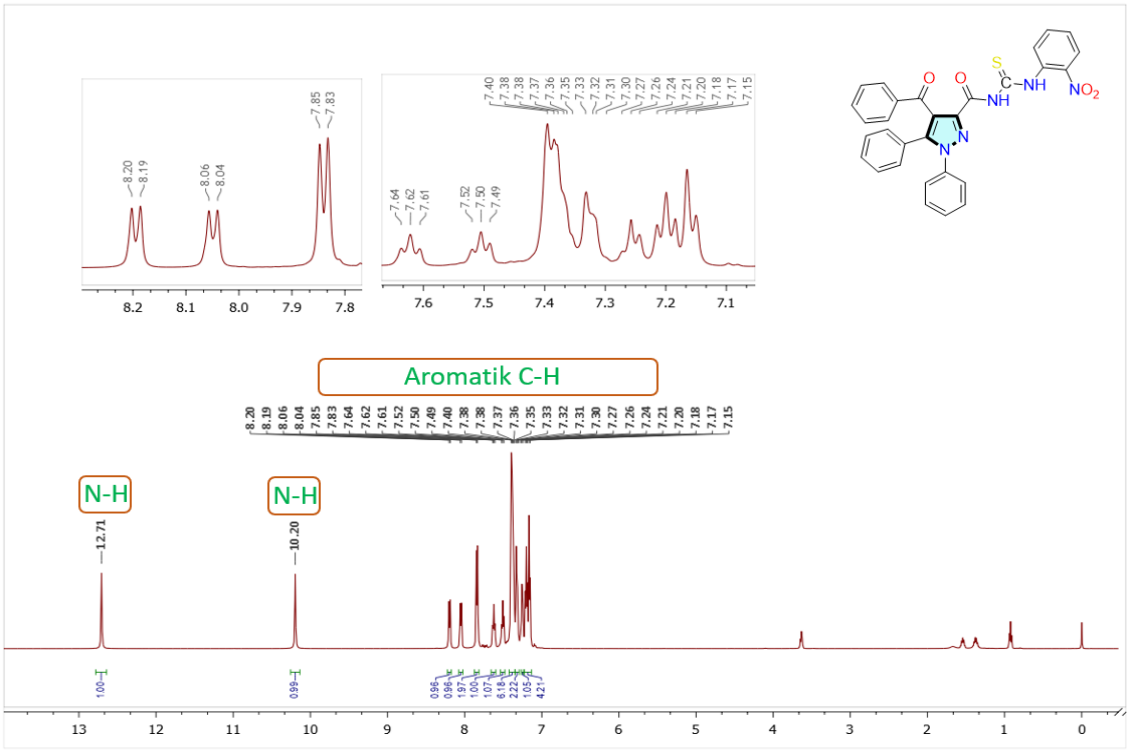


Şekil 3.14. M3 Bileşiğinin Sentez Şeması



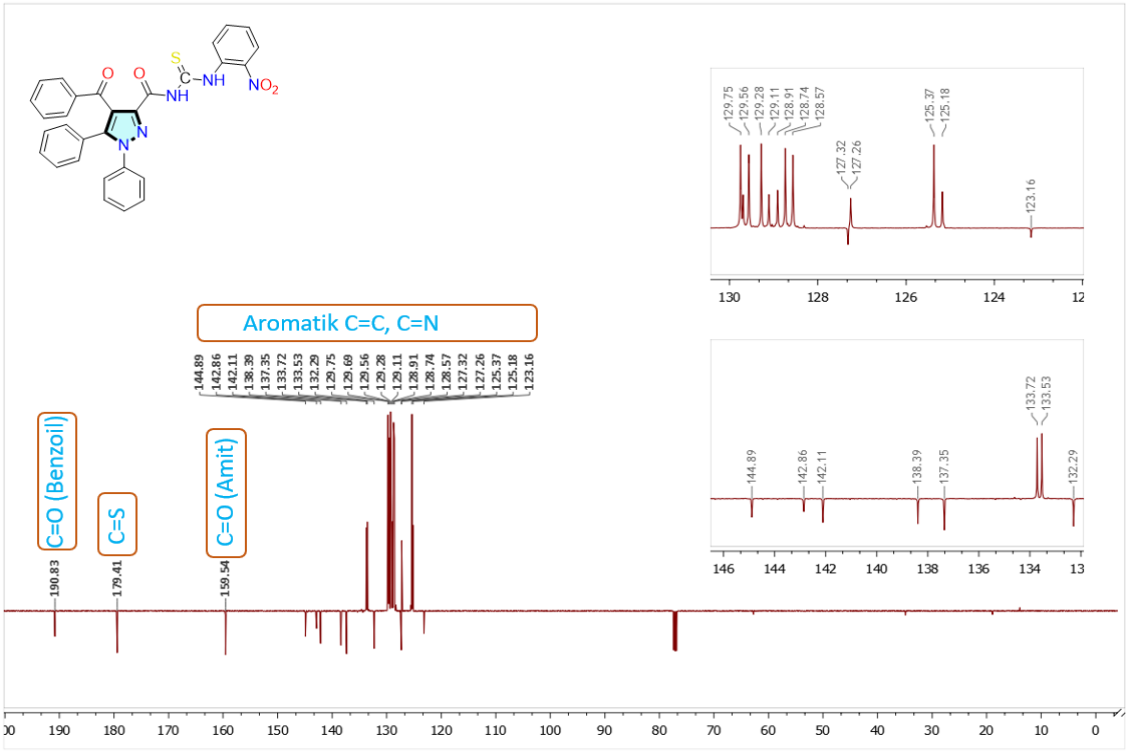
Şekil 3.15. M3 Bileşiğinin FTIR spektrumu

M3 bileşiğinin FT-IR spektrumunda (ATR'li) 3267 cm^{-1}'deki bant N-H gerilme titreşiminden, 3082-3003 cm^{-1} arasındaki bantlar aromatik C-H gerilme titreşimlerinden, 1695 cm^{-1}'deki bant C=O (benzoil) gerilme titreşiminden, 1664 cm^{-1}' deki bant C=O (amit) gerilme titreşiminden, 1607-1447 cm^{-1} aralığındaki bantlar aromatik C=C ve C=N gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır (Şekil 3.23.).



Şekil 3.16. M3 Bileşiğinin ^{1}H NMR spektrumu

Şekil 3.24'de **M3** bileşiğinin $CDCl_3$'da çözülerek alınan ^{1}H-NMR spektrumu görülmektedir. Buna göre: 12.71 ve 10.20 ppm'de gözlenen birli pikler NH sinyallerine karşılık gelmektedir. 8.20-7.15 ppm aralığında gözlenen çoklu pikler on dokuz tane aromatik protona aittir. Spektrumdaki piklerin integral alanları karşılaştırılarak bulunan proton sayıları yapı ile uyumludur.



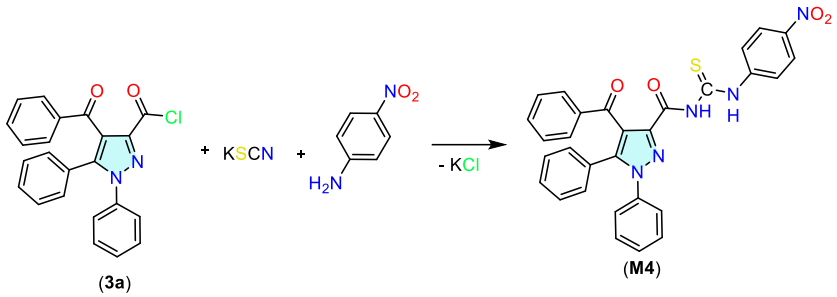
Şekil 3.17. M3 Bileşiğinin ^{13}C-NMR spektrumu

M3 bileşiğinin $CDCl_3$ ile çözülerek alınan ^{13}C-NMR spektrumu Şekil 3.25'te verilmiştir. Moleküldeki karbonil gruplarına ait sinyaller 190.8 (CO, benzoil), 179.4 (CS) ve 159.5 (CONH, amit) ppm'de gözlenmiştir. 144.9-123.2 ppm aralığında yirmibir tane aromatik C=C ve C=N gruplarının karbon atomlarına ait sinyaller yer almaktadır. Moleküldeki tüm karbon atomlarına ait sinyaller, diğer spektroskopik verilerle (^{1}H-NMR ve FT-IR) birleştirildiğinde, yapı karakterize edilmiştir.

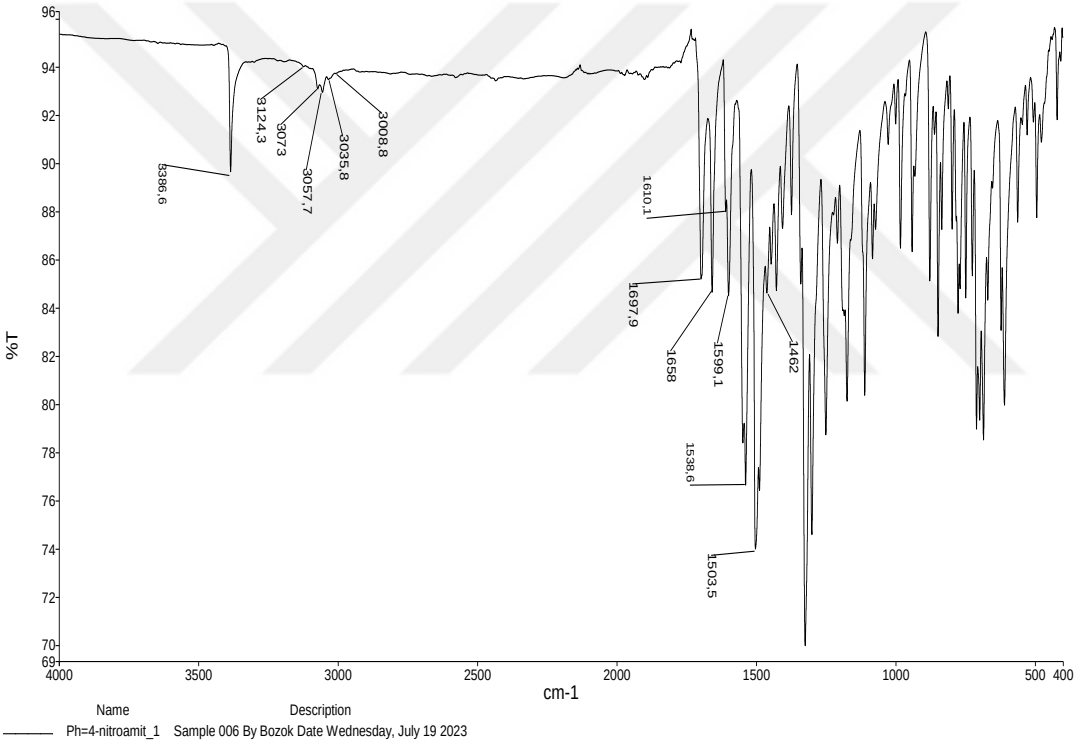
3.3.9. M4 Bileşiğinin Sentezi

Bir reaksiyon balonunun içerisine 0,75 g **3a** bileşiği tartıldı. Üzerine 0,187 g KSCN ilave edildi ve asetonitrilde 2 saat kaynamaya bırakıldı. Bu sürenin ardından balonun içerisindeki karışım başka bir reaksiyon balonu içerisine filtre kağıdı yardımıyla süzüldü. Yeni reaksiyon balonundaki süzüntü kısmına bir miktar asetonitril ile beraber 0,267 g 4-nitroanilin ilave edildi ve 24 saat manyetik karıştırıcı ile geri soğutucu sistem altında kaynamaya bırakıldı. Bu işlemlerin ardından reaksiyon ortamındaki asetonitril döner buharlaştırıcı yardımıyla reaksiyon ortamından uzaklaştırıldı. Kalan ham ürün üzerine mutlak eter eklenerek oda sıcaklığında karıştırıldı. Çöken madde vakum yardımıyla süzüldü ve kurumaya bırakıldı.

İTK sonucuna göre yeni bir ürün olduğu belirlenen madde bütil alkol ile kristallendirilerek saflaştırıldı ve vakum desikatöründe (P_2O_5) kurumaya bırakıldı.

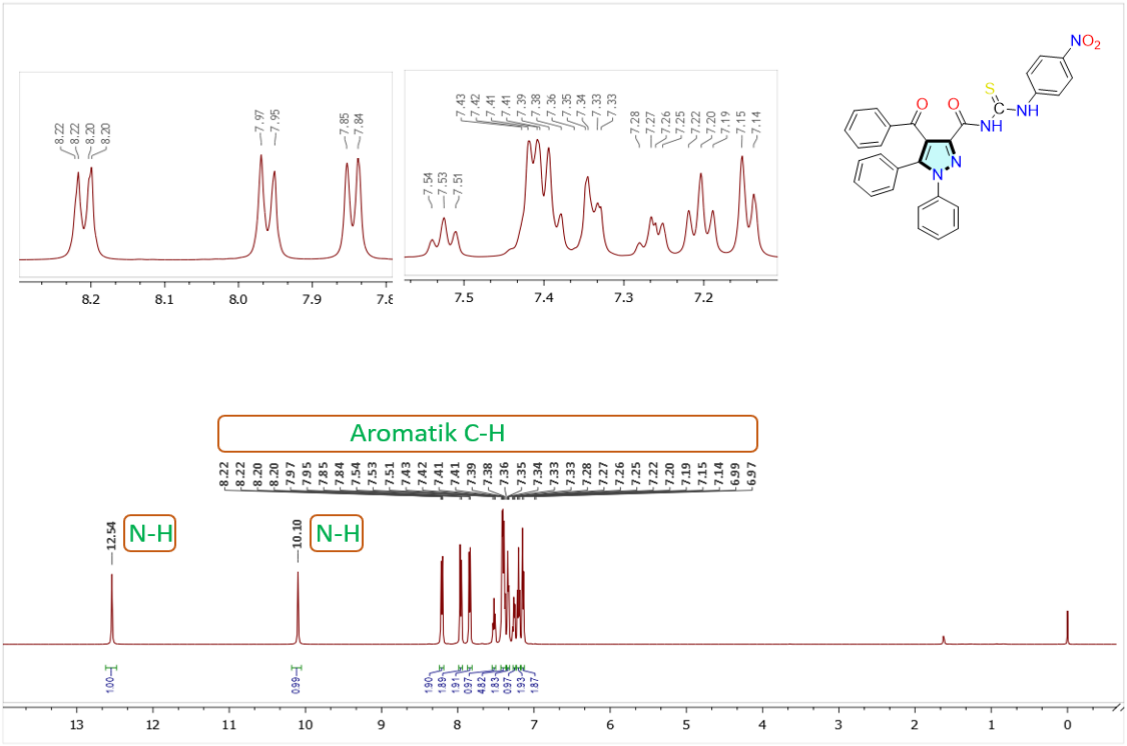


Şekil 3.18. M4 Bileşiğinin Sentezi



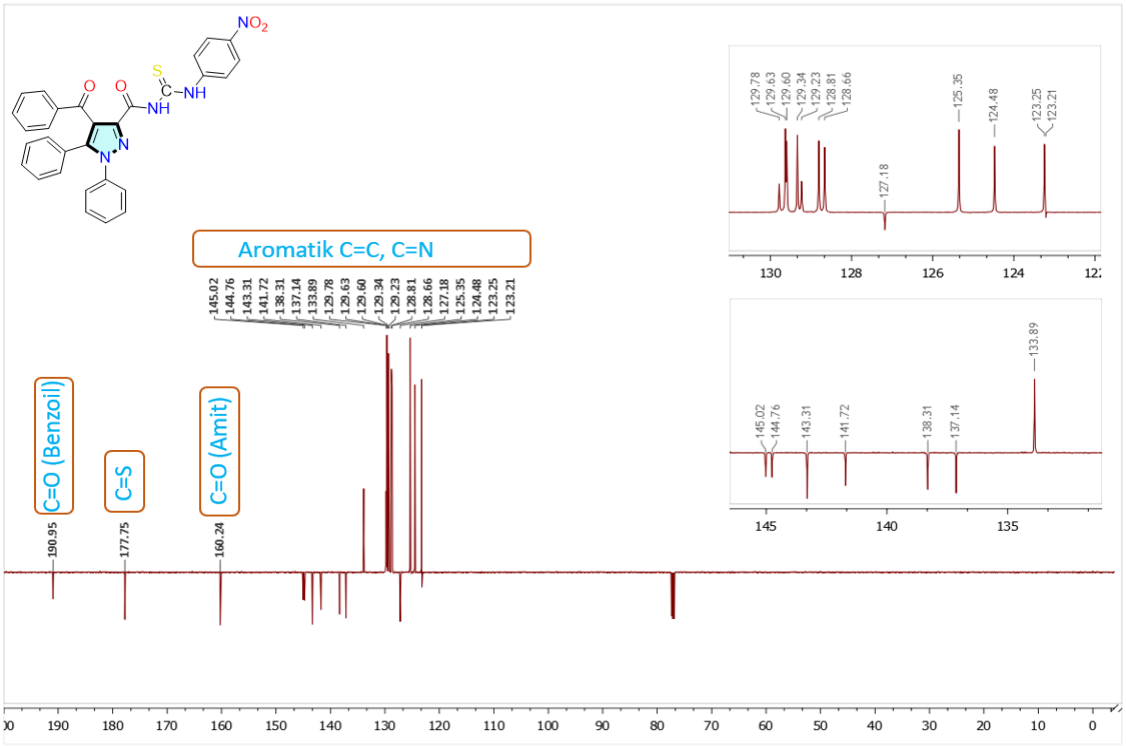
Şekil 3.19. M4 Bileşiğinin FTIR spektrumu

M4 bileşiğinin FT-IR spektrumunda (ATR'li) 3386 cm^{-1}'deki bant N-H gerilme titreşiminden, 3124-3008 cm^{-1} arasındaki bantlar aromatik C-H gerilme titreşimlerinden, 1697 cm^{-1}'deki bant C=O (benzoil) gerilme titreşiminden, 1658 $cm^{-1'}$ deki bant C=O (amit) gerilme titreşiminden, 1610-1462 cm^{-1} aralığındaki bantlar aromatik C=C ve C=N gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır (Şekil 3.27.).



Şekil 3.14 M4 Bileşiğinin ^{1}H NMR spektrumu

Şekil 3.28'de **M4** bileşiğinin $CDCl_3$'da çözülerek alınan ^{1}H-NMR spektrumu görülmektedir. Buna göre: 12.54 ve 10.10 ppm'de gözlenen birli pikler NH sinyallerine karşılık gelmektedir. 8.22-6.97 ppm aralığında gözlenen çoklu pikler on dokuz tane aromatik protona aittir. Spektrumdaki piklerin integral alanları karşılaştırılarak bulunan proton sayıları yapı ile uyumludur.

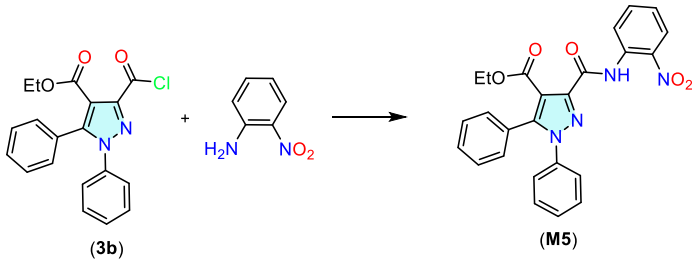


Şekil 3.15 M4 Bileşiğinin ^{13}C-NMR spektrumu

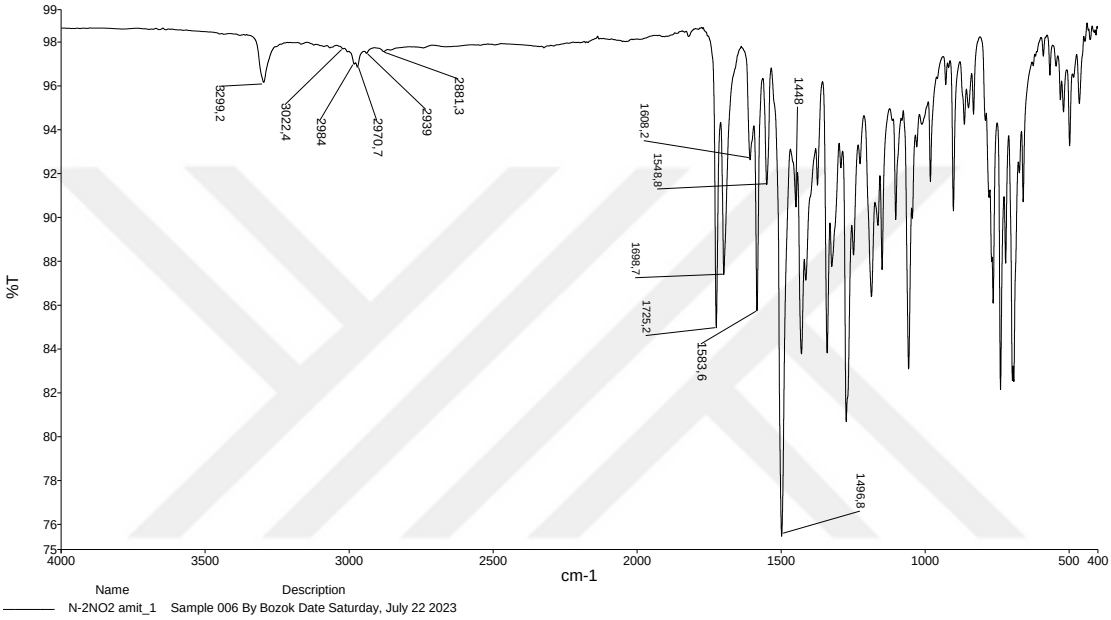
M4 bileşiğinin $CDCl_3$ ile çözülerek alınan ^{13}C-NMR spektrumu Şekil 3.29'da verilmiştir. Moleküldeki karbonil gruplarına ait sinyaller 191.0 (CO, benzoil), 178.0 (CS) ve 160.2 (CONH, amit) ppm'de gözlenmiştir. 145.0-123.2 ppm aralığında on dokuz tane aromatik C=C ve C=N gruplarının karbon atomlarına ait sinyaller yer almaktadır. Moleküldeki tüm karbon atomlarına ait sinyaller, diğer spektroskopik verilerle (^{1}H-NMR ve FT-IR) birleştirildiğinde, yapı karakterize edilmiştir.

3.3.10. M5 Bileşiğinin Sentezi

Bir reaksiyon balonunun içerisine 0,354 g **3b** bileşiği tartıldı ve toluende çözüldü. Üzerine 0,138 g 2-nitroanilin ilave edildi. Geri soğutucu sistem altında kaynamaya 24 saat bırakıldı. Bu süre zarfından sonra madde döner buharlaştırıcı ortamdaki toluen ortamdan uzaklaştırıldı. Reaksiyon ortamı soğutulduktan sonra mutlak eter eklenerek oda sıcaklığında karışmaya bırakıldı. Çöken madde vakum yardımıyla süzüldü ve kurumaya bırakıldı. İTK analizi sonucunda sentezlenen ürünün yeni bir madde olduğu belirlenmiştir. Elde edilen madde bütil alkol ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır.

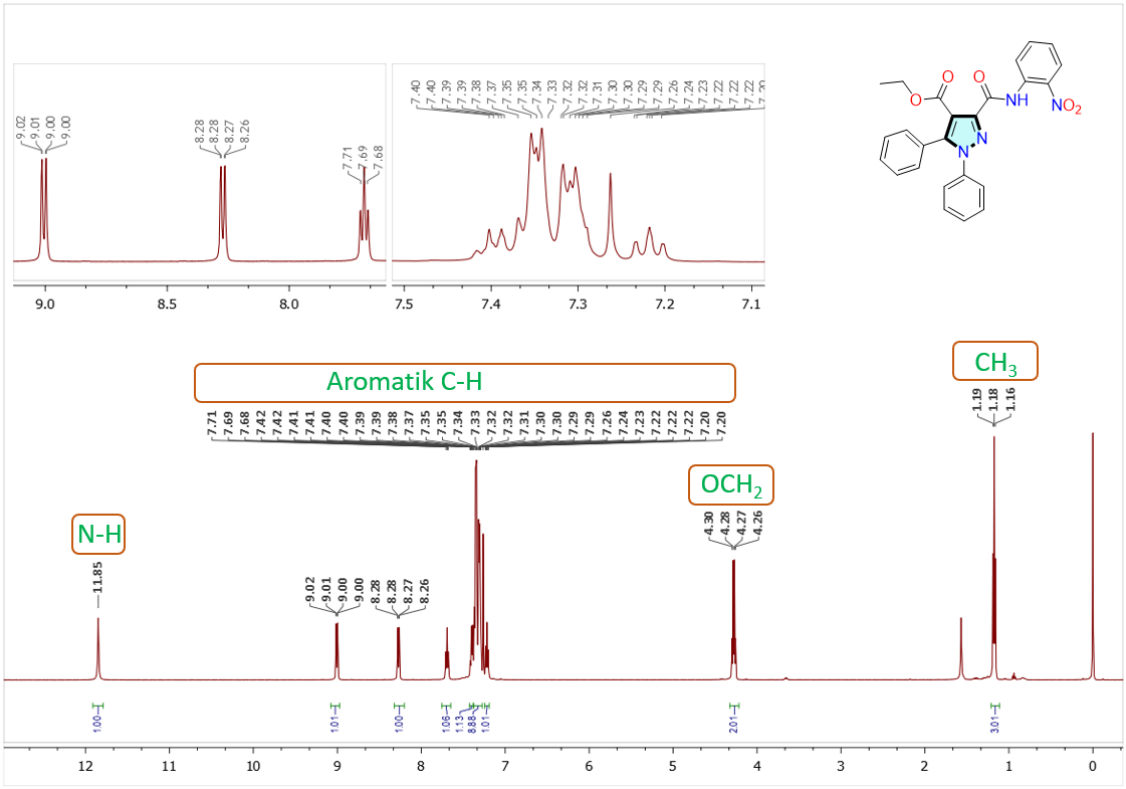


Şekil 3.22.16 M5 Bileşiğinin sentez şeması



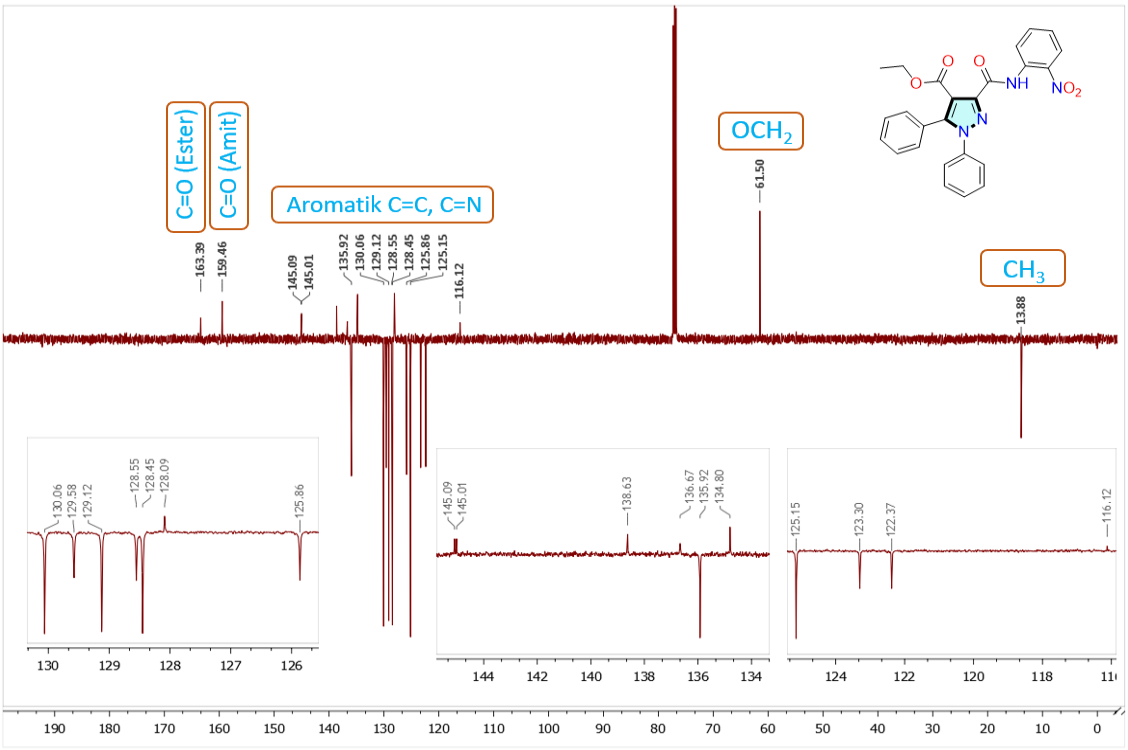
Şekil 3.23. M5 Bileşiğinin FTIR spektrumu

M5 bileşiğinin FT-IR spektrumunda (ATR'li) 3299 cm^{-1}'deki bant N-H gerilme titreşiminden, 3022-2881 cm^{-1} arasındaki bantlar aromatik C-H gerilme titreşimlerinden, 1725 cm^{-1}'deki bant C=O (ester) gerilme titreşiminden, 1698 cm^{-1}' deki bant C=O (amit) gerilme titreşiminden, 1608-1448 cm^{-1} aralığındaki bantlar aromatik C=C ve C=N gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır (Şekil 3.15.).



Şekil 3.24. M5 Bileşiğinin ^{1}H NMR spektrumu

Şekil 3.16'da **M3** bileşiğinin $CDCl_3$'da çözülerek alınan ^{1}H-NMR spektrumu görülmektedir. Buna göre: 11.85 ppm'de gözlenen birli pik NH sinyaline karşılık gelmektedir. 9.02-7.20 ppm aralığında gözlenen çoklu pikler on dört tane aromatik protona aittir. Aromatik bölgede 9.02 ile 8.26 ppm aralığında görülen ikilinin ikilisi şeklindeki pikler, nitro grubunun bağlı olduğu aromatik halkadaki iki tane protona aittir. 4.28 ppm deki dörtlü pik etil grubundaki metilen protonlarına, 1.18 ppm deki üçlü pik ise etil grubundaki metil protonlarına aittir. Spektrumdaki piklerin integral alanları karşılaştırılarak bulunan proton sayıları yapı ile uyumludur.



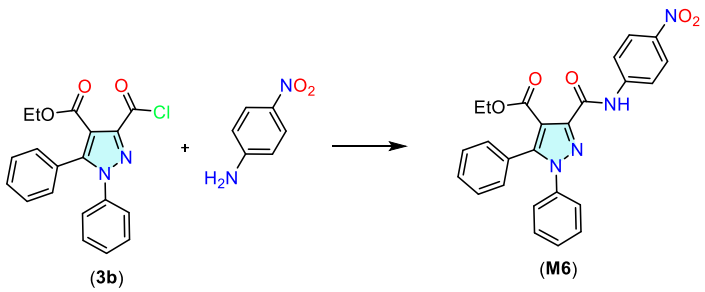
Şekil 3.25. M5 Bileşiğinin ^{13}C-NMR spektrumu

M3 bileşiğinin $CDCl_3$ ile çözülerek alınan ^{13}C-NMR spektrumu Şekil 3.17'de verilmiştir. Moleküldeki karbonil gruplarına ait sinyaller 163.4 (CO, ester) ve 159.5 (CONH, amit) ppm'de gözlenmiştir. 145.1-116.1 ppm aralığında on dört tane aromatik C=C ve C=N gruplarının karbon atomlarına ait sinyaller yer almaktadır. 61.5 ppm de etil grubundaki metilen karbonuna ait sinyal, 13.9 ppm de ise etil grubundaki metil karbonuna ait sinyal görülmüştür. Moleküldeki tüm karbon atomlarına ait sinyaller, diğer spektroskopik verilerle (^{1}H-NMR ve FT-IR) birleştirildiğinde, yapı karakterize edilmiştir.

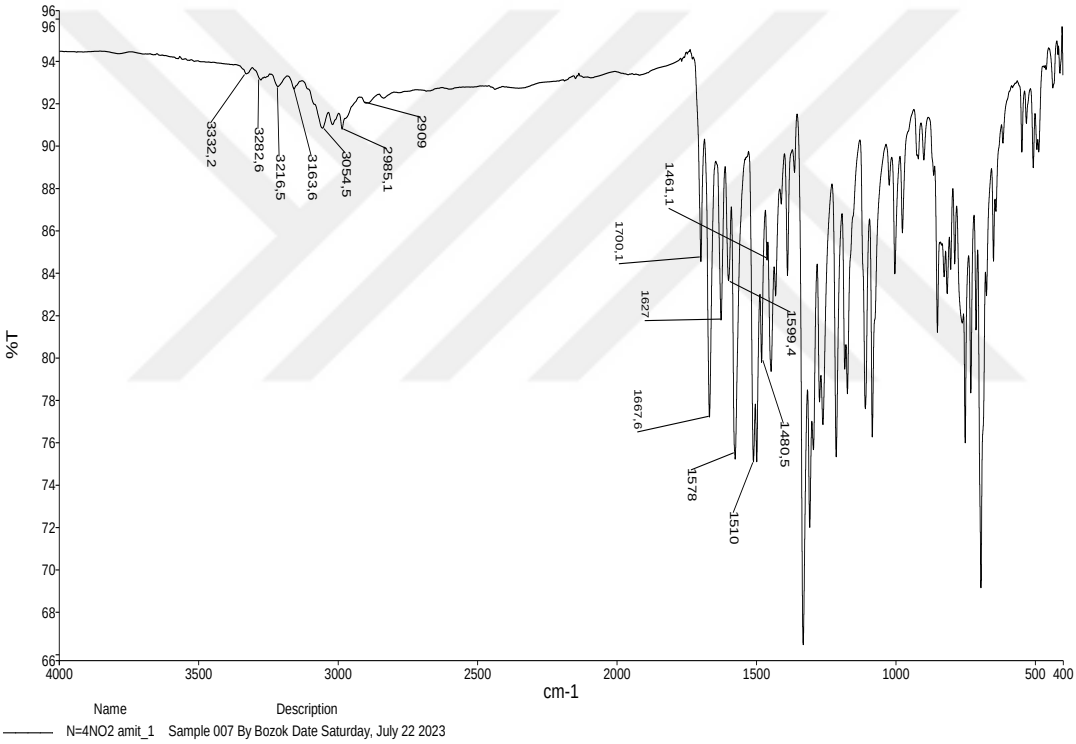
3.3.11. M6 Bileşiğinin Sentezi

Bir reaksiyon balonunun içerisine 0,354 g **3b** bileşiği tartıldı ve toluende çözüldü. Üzerine 0,138 g 4-nitroanilin ilave edildi. Geri soğutucu sistem altında kaynamaya 24 saat bırakıldı. Bu süre sonunda çözücü döner buharlaştırıcı yardımıyla ortamdan uzaklaştırıldı. Reaksiyon ortamı soğutulduktan sonra mutlak eter eklenerek oda sıcaklığında karışmaya bırakıldı. Çöken madde vakum yardımıyla süzüldü ve kurumaya bırakıldı. İTK analizi sonucunda

sentezlenen ürünün yeni bir madde olduğu belirlenmiştir. Elde edilen madde bütil alkol ile kristallendirilerek saflaştırıldı.

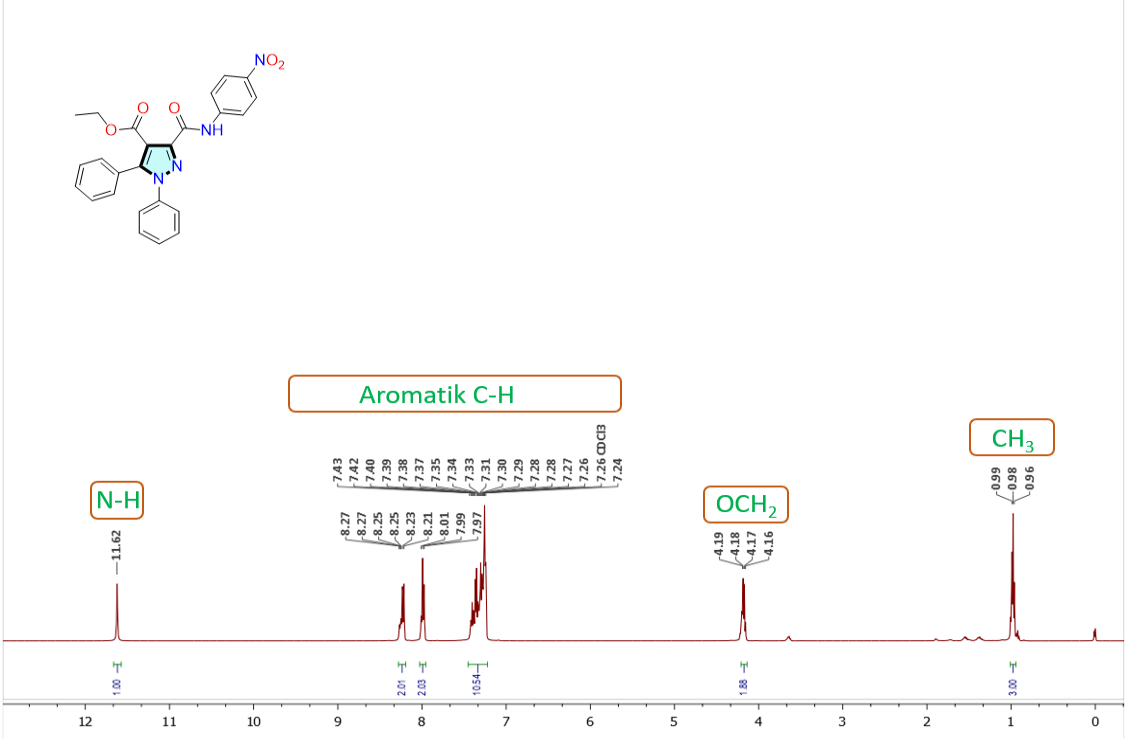


Şekil 3.26. M6 Bileşiğinin Sentez Şeması



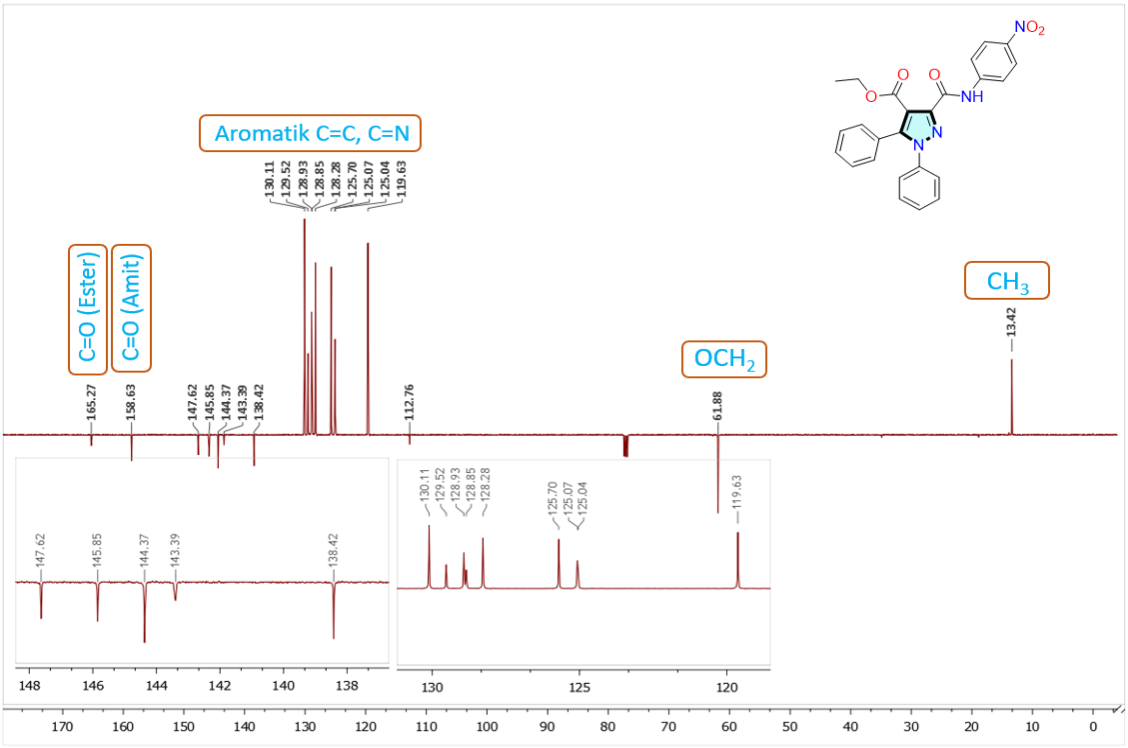
Şekil 3.27. M6 Bileşiğinin FTIR spektrumu

M6 bileşiğinin FT-IR spektrumunda (ATR) 3332 cm^{-1}'deki bant N-H gerilme titreşiminden, 3163-2909 cm^{-1} arasındaki bantlar aromatik C-H gerilme titreşimlerinden, 1700 cm^{-1}'deki bant C=O (ester) gerilme titreşiminden, 1667 cm^{-1}' deki bant C=O (amit) gerilme titreşiminden, 1627-1461 cm^{-1} aralığındaki bantlar aromatik C=C ve C=N gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır (Şekil 3.19.).



Şekil 3.17 M6 Bileşiğinin ^{1}H NMR spektrumu

Şekil 3.20'de **M6** bileşiğinin $CDCl_3$'da çözülerek alınan ^{1}H-NMR spektrumu görülmektedir. Buna göre: 11.62 ppm'de gözlenen birli pik NH sinyaline karşılık gelmektedir. 8.27-7.24 ppm aralığında gözlenen çoklu pikler on dört tane aromatik protona aittir. Aromatik bölgede 9.02 ile 8.26 ppm aralığında görülen ikilinin ikilisi şeklindeki pikler, nitro grubunun bağlı olduğu aromatik halkadaki iki tane protona aittir. 4.18 ppm deki dörtlü pik etil grubundaki metilen protonlarına, 0.98 ppm deki üçlü pik ise etil grubundaki metil protonlarına aittir. Spektrumdaki piklerin integral alanları karşılaştırılarak bulunan proton sayıları yapı ile uyumludur.



Şekil 3.18 M6 Bileşiğinin ^{13}C-NMR spektrumu

M6 bileşiğinin $CDCl_3$ ile çözülerek alınan ^{13}C-NMR spektrumu Şekil 3.21'de verilmiştir. Moleküldeki karbonil gruplarına ait sinyaller 165.3 (CO, ester) ve 158.6 (CONH, amit) ppm'de gözlenmiştir. 147.6-112.8 ppm aralığında on beş tane aromatik C=C ve C=N gruplarının karbon atomlarına ait sinyaller yer almaktadır. 61.9 ppm de etil grubundaki metilen karbonuna ait sinyal, 13.4 ppm de ise etil grubundaki metil karbonuna ait sinyal görülmüştür. Moleküldeki tüm karbon atomlarına ait sinyaller, diğer spektroskopik verilerle (^{1}H-NMR ve FT-IR) birleştirildiğinde, yapı karakterize edilmiştir.

3.3.3. Teorik Çalışmalar

M1-6 moleküllerinin optimizasyonları Gaussian 09W paket (M.J. Frisch vd., 2009) ve Gauss View 5.0 (R. Dennington vd., 2009) arayüz programları kullanılarak gaz fazında DFT teori, B3LYP fonksiyonel ve 6-311++G (d, p) baz setinde gerçekleştirilmiştir. **M1-6** moleküllerine ait HOMO-LUMO dağılımları ve bu dağılımlara bağlı olarak hesaplanan enerji değerleri için optimizasyonlar üzerinden oluşturulan chk* dosyaları kullanılmıştır. Hesaplamalar yine aynı teori, fonksiyonel ve baz seti kullanılarak gaz fazında elde edilmiştir. **M1-6** moleküllerine ait MEP dağılımları ve bu dağılımlara bağlı olarak elde edilen skala

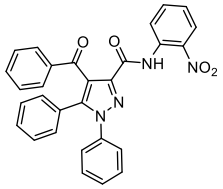
değerleri optimizasyonlar üzerinden oluşturulan chk* dosyaları ile elde edilmiştir. Hesaplamalar yine aynı teori, fonksiyonel ve baz seti kullanılarak gaz fazında elde edilmiştir.

M1-6 moleküllerinin nitroredüktaz enzimi olan PDB: 1KQC'ye kenetlenme işlemleri için Autodock Vina programı (Trott O. vd., 2010) kullanılmıştır. Ligantların optimizasyon işlemleri yukarda ifade edildiği üzere yapılmış olup optimize yapılar üzerinden protein data bank formatları kullanılmıştır. Hedef olarak kullanılan PDB: 1KQC proteinin kristal yapısına protein data bank üzerinden ve ilgili literatürden ulaşılmıştır. Ligantların ve proteinin hazırlık aşamaları Discover Studio Visualizer 4.0 (DSV 4.0) ile gerçekleştirildi. Ligantlar+ PDB: 1KQC için elde edilen enerji hesaplamaları, yakaladığı bağ sayıları, inhibisyon değerleri Tablosu ve bu etkileşmelerin 3D ve 2D formaları teorik bulgular kısmında sunulmuştur. Proteinde A, B, C ve D zincirleri mevcut olmasına rağmen hesaplamalar aktif bölgenin yoğun olarak yer aldığı A zinciri üzerinde gerçekleştirilmiştir. Yapı üzerindeki aktif rezidüler ARG207, LYS205, ASN42, SER39, PRO38, SER40, THR41, PHE124, ASN71, LYS14, SER12, HIS11, ARG10, LYS74, PRO163, LEU145, GLN142, GLU165, GLY166, ILE164'dir. Hesaplama için kullanılan grid parametreleri ise x_boyut=40, y_boyut=40, z_boyut=40, uzay=0.375Å, x_merkez=5.275, y_merkez=-0.867 ve z_merkez=29.247. Kenetlenme için elde edilen Ki değerler=Ki=exp(-G/RT) denklemi kullanılarak elde edilmiştir. Burada G bağlanma enerjisi, R gaz sabiti $1.9872036x10^{-3}$ kcal/mol ve T oda sıcaklığı 298.15 K'dir.

4. BULGULAR

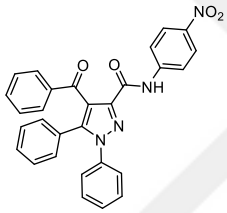
4.1. Deneysel Bulgular

4.1.1. 4-benzoil-*N*-(2-nitrofenil)-1,5-difenil-1*H*-pirazol-3-karboksamit (M1)



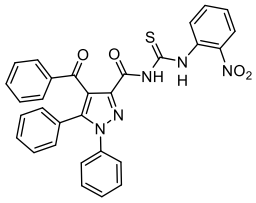
Renk: sarı, Verim 0.361 g, 74%, Molekül formülü: $C_{29}H_{20}N_4O_4$, Molekül ağırlığı: 488.50, FTIR (ATR, cm^{-1}): 3381 (NH), 3173-3051 (aromatik C-H), 1695 (C═O, benzoil), 1672 (C═O, amit), 1583-1463 cm^{-1} (C=C ve C=N). ^{1}H-NMR (500 MHz; $CDCl_3$, ppm): δ 11.94 (s, 1H, NH), 8.24-6.96 (m, 19H, Ar–H). ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$, ppm) δ 191.5 (C=O, benzoil), 159.3 (C=O, amit), 144.6, 143.9, 138.8, 137.8, 136.5, 135.9, 134.6, 13.4, 129.7, 129.5, 129.5, 129.2, 128.7, 128.6, 128.5, 127.9, 125.8, 125.1, 123.2, 122.9, 122.3 (aromatik C=C ve C=N).

4.1.2. 4-benzoil-*N*-(4-nitrofenil)-1,5-difenil-1*H*-pirazol-3-karboksamit (M2)



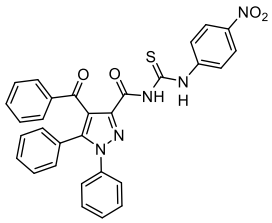
Renk: sarı, Verim 0.376 g, 77%, Molekül formülü: $C_{29}H_{20}N_4O_4$, Molekül ağırlığı: 488.50, FTIR (ATR, cm^{-1}): 3370 (NH), 3096-3015 (aromatik C-H), 1684 (C═O, benzoil), 1664 (C═O, amit), 1609-1463 cm^{-1} (C=C ve C=N). ^{1}H-NMR (500 MHz; $CDCl_3$, ppm): δ 9.49 (s, 1H, NH), 8.16-7.12 (m, 19H, Ar–H). ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$, ppm) δ 192.0 (C=O, benzoil), 158.8 (C=O, amit), 144.6, 143.6, 143.6, 143.4, 138.6, 137.6, 133.5, 129.7, 129.6, 129.5, 129.3, 129.0, 128.7, 128.5, 127.6, 125.5, 125.1, 122.2, 119.3 (aromatik C=C ve C=N).

4.1.3. 4-benzoil-*N*-((2-nitrofenil)karbamotiyoil)-1,5-difenil-1*H*-pirazol-3-karboksamit (M3)



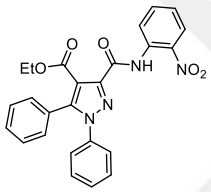
Renk: sarı, Verim 0.443 g, 81%, Molekül formülü: $C_{30}H_{21}N_5O_4S$, Molekül ağırlığı: 547.58, FTIR (ATR, cm^{-1}): 3267 (NH), 3082-3003 (aromatik C-H), 1695 (C═O, benzoil), 1664 (C═O, amit), 1607-1447 cm^{-1} (C=C ve C=N). ^{1}H-NMR (500 MHz; $CDCl_3$, ppm): δ 12.71 (s, 1H, NH), 10.20 (s, 1H, NH), 8.20-7.15 (m, 19H, Ar–H). ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$, ppm) δ 190.8 (C=O, benzoil), 179.4 (C=S), 159.5 (C=O, amit), 144.9, 142.9, 142.1, 138.4, 137.4, 133.7, 133.5, 132.3, 129.8, 129.7, 129.6, 129.3, 129.1, 128.9, 128.7, 128.6, 127.3, 127.3, 125.4, 125.2, 123.2 (aromatik C=C ve C=N).

4.1.4. 4-benzoil-*N*-((4-nitrofenil)karbamotiyoil)-1,5-difenil-1*H*-pirazol-3-karboksamit (M4)



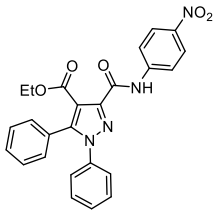
Renk: sarı, Verim 0.394 g, 72%, Molekül formülü: $C_{30}H_{21}N_5O_4S$, Molekül ağırlığı: 547.58, FTIR (ATR, cm^{-1}): 3386 (NH), 3124-3008 (aromatik C-H), 1697 (C═O, benzoil), 1658 (C═O, amit), 1610-1462 cm^{-1} (C=C ve C=N). ^{1}H-NMR (500 MHz; $CDCl_3$, ppm): δ 12.54 (s, 1H, NH), 10.10 (s, 1H, NH), 8.22-6.97 (m, 19H, Ar–H). ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$, ppm) δ 191.0 (C=O, benzoil), 177.8 (C=S), 160.2 (C=O, amit), 145.0, 144.8, 143.3, 141.7, 138.3, 137.1, 133.9, 129.8, 129.6, 129.6, 129.3, 129.2, 128.8, 128.7, 127.2, 125.4, 124.5, 123.2, 123.2 (aromatik C=C ve C=N).

4.1.5. Etil 3-((2-nitrofenil)karbamoil)-1,5-difenil-1*H*-pirazol-4-karboksilat (M5)



Renk: sarı, Verim 0.365 g, 80%, Molekül formülü: $C_{25}H_{20}N_4O_5$, Molekül ağırlığı: 456.45, FTIR (ATR, cm^{-1}): 3299 (NH), 3022-2881 (aromatik ve alifatik C-H), 1725 (C═O, ester), 1698 (C═O, amit), 1608-1448 cm^{-1} (C=C ve C=N). ^{1}H-NMR (500 MHz; $CDCl_3$, ppm): δ 11.85 (s, 1H, NH), 9.02-7.20 (m, 14H, Ar–H), 4.28 (q, 2H, O$\underline{CH_2}$$CH_3$), 1.18 (t, 3H, $OCH_2\underline{CH_3}$). ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$, ppm) δ 163.4 (C=O, ester), 159.5 (C=O, amit), 145.1, 145.0, 138.6, 136.7, 135.9, 134.8, 130.1, 129.6, 129.1, 128.6, 128.4, 128.1, 125.9, 125.2, 123.3, 122.4, 116.1 (aromatik C=C ve C=N), 61.5 (O$\underline{C}$$H_2CH_3$), 13.9 ($OCH_2\underline{C}H_3$).

4.1.6. Etil 3-((4-nitrofenil)karbamoil)-1,5-difenil-1*H*-pirazol-4-karboksilat (M6)



Renk: sarı, Verim 0.347 g, 76%, Molekül formülü: $C_{25}H_{20}N_4O_5$, Molekül ağırlığı: 456.45, FTIR (ATR, cm^{-1}): 3332 (NH), 3163-2909 (aromatik ve alifatik C-H), 1700 (C═O, ester), 1667 (C═O, amit), 1627-1461 cm^{-1} (C=C ve C=N). ^{1}H-NMR (500 MHz; $CDCl_3$, ppm): δ 11.62 (s, 1H, NH), 8.27-7.24 (m, 14H, Ar–H), 4.18 (q, 2H, O$\underline{CH_2}$$CH_3$), 0.98 (t, 3H, $OCH_2\underline{CH_3}$). ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$, ppm) δ 165.3 (C=O, ester), 158.6 (C=O, amit), 147.6, 145.9, 144.4, 143.4, 138.4, 130.1, 129.5, 128.9, 128.8, 128.3, 125.7, 125.1, 125.0, 119.6 (aromatik C=C ve C=N), 61.9 (O$\underline{C}$$H_2CH_3$), 13.4 ($OCH_2\underline{C}H_3$).

4.2. Teorik Bulgular

4.2.1. Optimizasyon Çalışmaları

M1-6 moleküllerinin optimizasyonları Gaussian 09W (M.J. Frisch vd., 2009) paket ve Gauss View 5.0 (R. Dennington vd., 2009) arayüz programları kullanılarak gaz fazında DFT teori, B3LYP fonksiyonel ve 6-311++G (d, p) baz setinde gerçekleştirilmiştir. Bağ uzunlukları ve bağ açılarında tüm moleküllerde eklenen madde değiştiğinde oranların da değiştiği gözlemlenmiştir. Bu değişikliklerin sebebi yeni molekülün bağlandığı konum ve elektronların yüklerinden kaynaklı olduğu görülmüştür. **M1-6** moleküllerinin optimize yapıları aşağıdaki Şekil 4.1'de verilmiştir. Optimize yapılara ait elde edilen parametreler ise Tablo 4.1-4.12 arasında verilmiştir. Benzer yapılara ait optimize parametreler de birbirine yakındır. Toplam enerji olarak moleküller değerlendirildiğinde, en düşük enerjinin **M4** molekülünde olduğu dolayısıyla en kararlı yapının bu molekül olduğu görülmüştür. Elde edilen enerji değerleri;

M1= -1636.48034575 a.u (atomik birim),

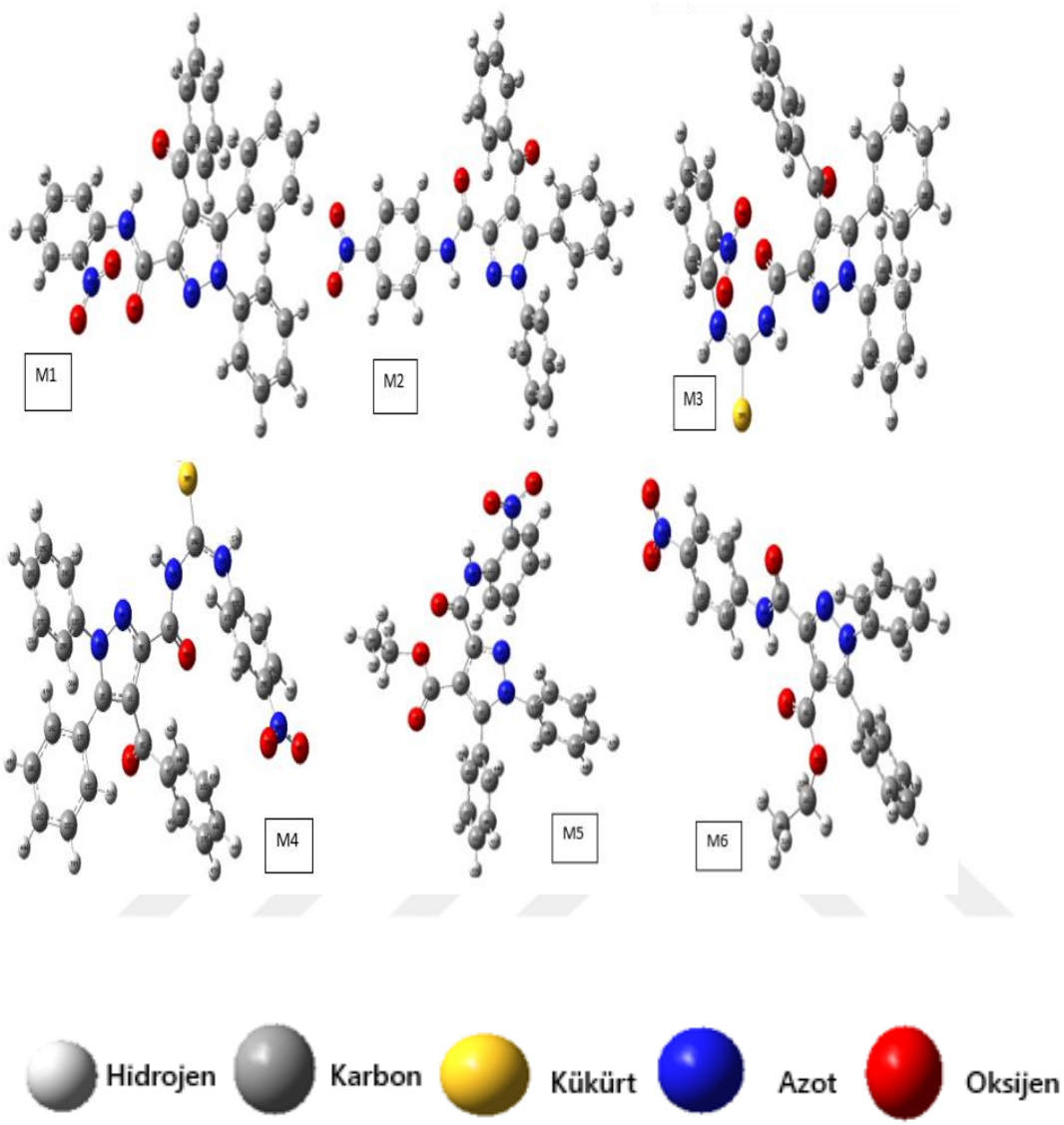
M2= -1636.49966531 a.u,

M3= - 2128.081520470 a.u,

M4= -2128.08557828 a.u,

M5= -1559.29463778 a.u ve

M6= -1559.31275092 a.u olarak bulunmuştur. Burada dikkat edilirse **M1** ve **M2** moleküllerinin, **M3** ve **M4** moleküllerinin ve **M5** ve **M6** moleküllerinin enerji değerleri birbirine çok yakındır. Bu yapıların kimyasal olarak birbirine çok benzediği anlamını taşımaktadır.



Şekil 4.1. Moleküllerin optimize şekilleri

Tablo 4.1. M1 Molekülü Hesaplanan Optimize Parametreleri-I

Geometrik Parametreler	Hesaplanan Değerler	Geometrik Parametreler	Hesaplanan Değerler
Bağ uzunlukları (Å)	B3LYP/6-311++G(d,p)	Bağ uzunlukları (Å)	B3LYP/6-311++G(d,p)
C1-C2	1.404	C20-C21	1.394
C1-C5	1.439	C20-H43	1.083
C1-C6	1.477	C21-C22	1.399
C2-N3	1.381	C21-H44	1.084
C2-C19	1.475	C22-C23	1.402
N3-N4	1.375	C22-H45	1.085
N3-C18	1.435	C23-C24	1.394
N4-C5	1.341	C23-H46	1.085
C5-C9	1.492	C24-H47	1.084
C6-C7	1.482	C25-C26	1.396
C6-O8	1.264	C25-H48	1.084
C7-C20	1.407	C26-C27	1.400
C7-C24	1.409	C26-H49	1.085
C9-O10	1.245	C27-C28	1.399
C9-N11	1.379	C27-H50	1.085
N11-C12	1.407	C28-C29	1.398
N11-H38	1.022	C28-H51	1.085
C12-C13	1.408	C29-H52	1.085
C12-C17	1.411	C30-C31	1.398
C14-C15	1.401	C30-H53	1.082
C14-H40	1.084	C31-C32	1.399
C15-C16	1.392	C31-H54	1.084
C15-H41	1.083	C32-C33	1.400
C16-C17	1.400	C32-H55	1.085
C16-H42	1.082	C33-C34	1.397
C17-N35	1.465	C33-H56	1.084
C18-C30	1.400	C34-H57	1.083
C18-C34	1.400	N35-O36	1.262
C19-C25	1.408	N35-O37	1.263
C19-C29	1.407		

Tablo 4.2. M1 Molekülü Hesaplanan Optimize Parametreleri-II

Geometrik Parametreler	Hesaplanan Değerler	Geometrik Parametreler	Hesaplanan Değerler
Bağ uzunlukları (Å)	Bağ Açıları	Bağ uzunlukları (Å)	Bağ Açıları
C2-C1-C5	105.4	C12-C17-C16	121.1
C2-C1-C6	126.7	C12-C17-C35	122.9
C5-C1-C6	127.7	C16-C17-C35	115.7
C1-C2-N3	105.9	N3-C18-C30	120.9
C1-C2-C19	130.1	N3-C18-C34	118.1
N3-C2-C19	123.9	C30-C18-C34	120.8
C2-N3-N4	112.1	C2-C19-C25	120.9
C2-N3-C18	130.2	C2-C19-C29	120.0
N4-N3-18	117.5	C25-C19-C29	119.0
N3-N4-C5	105.8	C7-C20-C21	120.0
C1-C5-N4	110.5	C7-C20-H43	119.7
C1-C5-C9	132.8	C21-C20-H43	119.9
N4-C5-C9	116.5	C20-C21-C22	120.0
C1-C6-C7	121.3	C20-C21-H44	119.8
C1-C6-O8	119.5	C22-C21-H44	120.1
C7-C6-O8	119.0	C21-C22-C23	120.0
C6-C7-C20	122.0	C21-C22-H45	119.9
C6-C7-C24	118.0	C23-C22-H45	119.9
C20-C7-C24	119.3	C22-C23-C24	119.9
C5-C9-O10	121.5	C22-C23-H46	120.0
C5-C9-N11	115.5	C24-C23-H46	119.9
O10-C9-N11	122.8	C7-C24-C23	120.3
C9-N11-C12	124.7	C7-C24-H47	118.5
C9-N11-H38	117.7	C23-C24-H47	121.1
C12-N11-H38	117.3	C19-C25-C26	120.3
N11-C12-C13	117.3	C19-C25-C48	119.7
N11-C12-C17	125.2	C26-C25-H48	119.9
C13-C12-C17	117.3	C25-C26-C27	120.2
C12-C13-C14	121.5	C25-C26-H49	119.6
C12-C13-H39	118.1	C27-C26-H49	120.0
C14-C13-H39	120.3	C26-C27-C28	119.7
C13-C14-C15	120.1	C26-C27-H50	120.0
C13-C14-H40	119.5	C28-C27-H50	120.1
C15-C14-H40	120.2	C27-C28-C29	120.1

C14-C15-C16	119.3	C27-C28-H51	120.1
C14-C15-H41	120.6	C29-C28-H51	119.6
C16-C15-H41	119.9	C19-C29-C28	120.4
C15-C16-C17	120.3	C19-C29-H52	119.5
C15-C16-H42	121.5	C28-C29-H52	120.0
C17-C16-H42	118.0	C18-C30-C31	119.2
C18-C30-H53	120.3	C32-C33-H56	120.1
C31-C30-H53	120.4	C34-C33-H56	119.4
C30-C31-C32	120.3	C18-C34-C33	119.3
C30-C31-H54	119.4	C18-C34-H57	119.2
C32-C31-H54	120.1	C33-C34-H57	121.3
C31-C32-C33	119.8	C17-C35-O36	118.5
C31-C32-H57	120.0	C17-C35-O37	117.6
C33-C32-H55	120.1	O36-C35-O37	123.7
C32-C33-C34	120.3		

Tablo 4.3. M2 Molekülü için Hesaplanan Optimize Parametreleri-I

Geometrik Parametreler	Hesaplanan Değerler	Geometrik Parametreler	Hesaplanan Değerler
Bağ uzunlukları (Å)	B3LYP/6-311++G(d,p)	Bağ uzunlukları (Å)	B3LYP/6-311++G(d,p)
C1-C2	1.397	C20-C21	1.397
C1-C5	1.420	C20-H43	1.084
C1-C6	1.497	C21-C22	1.400
C2-N3	1.390	C21-H44	1.085
C2-C19	1.473	C22-C23	1.402
N3-N4	1.371	C22-H45	1.085
N3-C18	1.434	C23-C24	1.394
N4-C5	1.347	C23-H46	1.085
C5-C9	1.476	C24-H47	1.084
C6-C7	1.484	C25-C26	1.396
C6-O8	1.248	C25-H48	1.084
C7-C20	1.406	C26-C27	1.400
C7-C24	1.407	C26-H49	1.085
C9-O10	1.250	C27-C28	1.399
C9-N11	1.382	C27-H50	1.085
N11-C12	1.400	C28-C29	1.397
N11-H38	1.015	C28-H51	1.085
C12-C13	1.413	C29-H52	1.085
C12-C17	1.412	C30-C31	1.397
C14-C15	1.399	C30-H53	1.083
C14-H40	1.081	C31-C32	1.400
C15-C16	1.398	C31-H54	1.084
C15-N35	1.455	C32-C33	1.399
C16-C17	1.392	C32-H55	1.084
C16-H41	1.082	C33-C34	1.398
C17-H42	1.079	C33-H56	1.084
C18-C30	1.400	C34-H57	1.083
C18-C34	1.400	N35-O36	1.266
C19-C25	1.40	N35-O37	1.268
C19-C29	1.407		

Tablo 4.4. M2 Molekülü için Hesaplanan Optimize Parametreleri-II

Geometrik Parametreler	Hesaplanan Değerler	Geometrik Parametreler	Hesaplanan Değerler
Bağ uzunlukları (Å)	B3LYP/6-311++G(d,p)	Bağ uzunlukları (Å)	B3LYP/6-311++G(d,p)
C2-C1-C5	105.3	C12-C17-H42	119.4
C2-C1-C6	125.6	C16-C17-H42	120.9
C5-C1-C6	128.6	N3-C18-C30	118.7
C1-C2-N3	106.2	N3-C18-C34	120.4
C1-C2-C19	129.1	N30-C18-C34	120.8
N3-C2-C19	124.5	C2-C19-C25	121.1
C2-N3-N4	111.6	C2-C19-C29	119.7
C2-N3-C18	129.7	C25-C19-C29	119.0
N4-N3-C18	118.5	C7-C20-C21	120.3
N3-N4-C5	105.3	C7-C20-H43	119.8
C1-C5-N4	111.4	C21-C20-H43	119.8
C1-C5-C9	128.4	C20-C21-C22	120.0
N4-C5-C9	120.0	C20-C21-H44	119.9
C1-C6-C7	119.8	C22-C21-H44	120.0
C1-C6-O8	118.8	C21-C22-C23	120.0
C7-C6-O8	121.2	C21-C22-H45	119.9
C6-C7-C20	122.2	C23-C22-H45	120.0
C6-C7-C24	118.3	C22-C23-C24	120.0
C20-C7-C24	119.3	C22-C23-H46	120.0
C5-C9-O10	121.8	C24-C23-H46	119.9
C5-C9-N11	113.3	C7-C24-C23	120.3
O10-C9-N11	124.7	C7-C24-H47	118.3
C9-N11-C12	128.6	C23-C24-H47	121.3
C9-N11-H38	114.2	C19-C25-C26	120.3
C12-N11-H38	117.1	C19-C25-H48	119.7
N11-C12-C13	117.1	C26-C25-H48	119.8
N11-C12-C17	123.2	C25-C26-C27	120.2
N13-C12-C17	119.5	C25-C26-H49	119.6
C12-C13-C14	120.7	C27-C26-H49	120.1
C12-C13-H39	119.6	C26-C27-C28	119.7
C14-C13-H39	119.6	C26-C27-H50	120.0
C13-C14-C15	118.9	C28-C27-H50	120.1
C13-C14-H40	121.5	C27-C28-C29	120.1
C15-C14-H40	119.5	C27-C28-H51	120.1

C14-C15-C16	121.2	C29-C28-H51	119.6
C14-C15-N35	119.1	C19-C29-C28	120.4
C16-C15-N35	119.5	C19-C29-H52	119.6
C15-C16-C17	119.9	C28-C29-H52	119.9
C15-C16-H41	119.2	C18-C30-C31	119.4
C17-C16-H41	120.7	C18-C30-H53	119.4
C12-C17-C16	119.5	C31-C30-H53	121.1
C30-C31-C32	120.2	C34-C33-H56	119.4
C30-C31-H54	119.5	C18-C34-C33	119.2
C32-C31-H54	120.1	C18-C34-H57	120.1
C31-C32-C33	119.8	C33-C34-H57	120.5
C31-C32-H55	120.0	C15-N35-O36	118.2
C33-C32-H55	120.0	C15-N35-O37	118.1
C32-C33-C34	120.3	O36-N35-O37	123.5
C32-C33-H56	120.1		

Tablo 4.5. M3 Molekülü için Hesaplanan Optimize Parametreleri-I

Geometrik Parametreler	Hesaplanan Değerler	Geometrik Parametreler	Hesaplanan Değerler
Bağ uzunlukları (Å)	B3LYP/6-311++G(d,p)	Bağ uzunlukları (Å)	B3LYP/6-311++G(d,p)
C1-C2	1.397	C20-H48	1.085
C1-C5	1.420	C21-C22	1.399
C1-C6	1.496	C21-H49	1.085
C2-N3	1.391	C22-C23	1.397
C2-C13	1.47	C22-H50	1.085
N3-N4	1.367	C23-H51	1.085
N3-C12	1.434	C24-C25	1.397
N4-C5	1.347	C24-H52	1.083
C5-C9	1.472	C25-C26	1.400
C6-C7	1.486	C25-H53	1.084
C6-O8	1.248	C26-C27	1.399
C7-C14	1.406	C26-H54	1.084
C7-C18	1.408	C27-C28	1.397
C9-O10	1.246	C27-H55	1.084
C9-N11	1.397	C28-H56	1.082
N11-C29	1.387	C29-S30	1.720
N11-H41	1.017	C29-N31	1.366
C12-C24	1.400	N31-C32	1.417
C12-C28	1.400	N31-H57	1.013
C13-C19	1.408	C32-C33	1.405
C13-C23	1.407	C32-C37	1.409
C14-C15	1.398	C33-C34	1.392
C14-H42	1.083	C33-H58	1.084
C15-C16	1.399	C34-C35	1.401
C15-H43	1.084	C34-H59	1.084
C16-C17	1.403	C35-C36	1.390
C16-H44	1.085	C35-H60	1.083
C17-C18	1.394	C36-C37	1.400
C17-H45	1.085	C36-H61	1.081
C18-H46	1.084	C37-N38	1.460
C19-C20	1.396	N38-O39	1.262
C19-H47	1.084	N38-O40	1.269
C20-C21	1.400		

Tablo 4.6. M3 Molekülü için Hesaplanan Optimize Parametreleri-II

Geometrik Parametreler	Hesaplanan Değerler	Geometrik Parametreler	Hesaplanan Değerler
Bağ uzunlukları (Å)	B3LYP/6-311++G(d,p)	Bağ uzunlukları (Å)	B3LYP/6-311++G(d,p)
C2-C1-C5	105.2952	C16-C17-H45	120.0
C2-C1-C6	125.5854	C18-C17-H45	119.9
C5-C1-C6	128.8	C7-C18-C17	120.3
C1-C2-N3	106.2	C7-C18-H46	118.3
C1-C2-C13	129.1	C17-C18-H46	121.3
N3-C2-C13	124.6	C13-C19-C20	120.3
C2-N3-N4	111.6	C13-C19-C47	119.7
C2-N3-C12	129.8	C20-C19-H47	119.9
N4-N3-C12	118.4	C19-C20-C21	120.2
N3-N4-C5	105.4	C19-C20-H48	119.6
C1-C5-N4	111.3	C21-C20-H48	120.1
C1-C5-C9	128.5	C20-C21-C22	119.7
N4-C5-C9	119.9	C20-C21-H49	120.0
C1-C6-C7	119.5	C22-C21-H49	120.1
C1-C6-O8	119.1	21-CC22-C23	120.1
C7-C6-O8	121.2	C21-C22-H50	120.1
C6-C7-C14	122.3	C23-C22-H50	119.6
C6-C7-C18	118.2	C13-C23-C22	120.3
C14-C7-C18	119.3	C13-C23-H51	119.6
C5-C9-O10	122.6	C22-C23-H51	119.9
C5-C9-N11	112.8	C12-C24-C25	119.3
O10-C9-N11	124.4	C12-C24-H52	119.4
C9-N11-C29	130.1	C25-C24-H52	121.1
C9-N11-H41	114.3	C24-C25-C26	120.2
C29-N11-H41	113.7	C24-C25-H53	119.5
N3-C12-C24	118.6	C26-C25-H53	120.2
N3-C12-C28	120.4	C25-C26-C27	119.8
C24-C12-C28	120.8	C25-C26-H54	120.0
C2-C13-C19	121.0	C27-C26-H54	120.0
C2-C13-C23	119.8	C26-C27-C28	120.3
C19-C13-C23	119.0	C26-C27-H55	120.1
C7-C14-C15	120.2	C28-C27-H55	119.4
C7-C14-H42	120.5	C12-C28-C27	119.2
C15-C14-H42	119.2	C12-C28-H56	120.2

C14-C15-C16	120.0	C27-C28-H56	120.5
C14-C15-H43	119.4	N11-C29-S30	119.5
C16-C15-H43	120.4	N11-C29-N31	120.4
C15-C16-C17	119.9	S30-C29-N31	120.0
C15-C16-H44	120.0	C29-N31-C32	133.2
C17-C16-H44	119.9	C29-N31-H57	111.5
C16-C17-C18	120.0	C32-N31-H57	114.7
N31-C32-C33	116.3	C36-C35-H60	120.0
N31-C32-C37	126.0	C35-C36-C37	120.3
C33-C32-C37	117.5	C35-C36-H61	121.3
C32-C33-C34	121.4	C37-C36-H61	118.2
C32-C33-H58	118.2	C32-C37-C36	120.9
C34-C33-H58	120.2	C32-C37-N38	122.8
C33-C34-C35	120.2	C36-C37-N38	116.0
C33-C34-H59	119.5	C37-N38-O39	118.7
C35-C34-H59	120.2	C37-N38-O40	117.5
C34-C35-H36	119.3	O39-N38-O40	123.6
C34-C35-H60	120.6		

Tablo 4.7. M4 Molekülü için Hesaplanan Optimize Parametreleri-II

Geometrik Parametreler	Hesaplanan Değerler	Geometrik Parametreler	Hesaplanan Değerler
Bağ uzunlukları (Å)	B3LYP/6-311++G(d,p)	Bağ uzunlukları (Å)	B3LYP/6-311++G(d,p)
C1-C2	1.397	C20-H48	1.085
C1-C5	1.421	C21-C22	1.399
C1-C6	1.499	C21-H49	1.085
C2-N3	1.391	C22-C23	1.397
C2-C13	1.474	C22-H50	1.084
N3-N4	1.368	C23-H51	1.085
N3-C12	1.435	C24-C25	1.397
N4-C5	1.348	C24-H52	1.083
C5-C9	1.471	C25-C26	1.400
C6-C7	1.333	C25-H53	1.084
C6-O8	1.249	C26-C27	1.399
C7-C14	1.406	C26-H54	1.084
C7-C18	1.408	C27-C28	1.397
C9-O10	1.243	C27-H55	1.084
C9-N11	1.404	C28-H56	1.083
N11-C29	1.389	C29-S30	1.718
N11-H41	1.016	C29-N31	1.369
C12-C24	1.400	N31-C32	1.414
C12-C28	1.400	N31-H57	1.012
C13-C19	1.408	C32-C33	1.406
C13-C23	1.407	C32-C37	1.407
C14-C15	1.397	C33-C34	1.390
C14-H42	1.084	C33-H58	1.084
C15-C16	1.400	C34-C35	1.398
C15-H43	1.084	C34-H59	1.081
C16-C17	1.402	C35-C36	1.398
C16-H44	1.085	C35-N38	1.454
C17-C18	1.394	C36-C37	1.389
C17-H45	1.085	C36-H60	1.081
C18-H46	1.084	C37-H61	1.082
C19-C20	1.396	N38-O39	1.269
C19-H47	1.084	N38-O40	1.265
C20-C21	1.400		

Tablo 4.8. M4 Molekülü için Hesaplanan Optimize Parametreleri-II

Geometrik Parametreler	Hesaplanan Değerler	Geometrik Parametreler	Hesaplanan Değerler
Bağ uzunlukları (Å)	B3LYP/6-311++G(d,p)	Bağ uzunlukları (Å)	B3LYP/6-311++G(d,p)
C2-C1-C5	105.2	C16-C17-H45	120.0
C2-C1-C6	125.5	C18-C17-H45	119.9
C5-C1-C6	128.7	C7-C18-C17	120.3
C1-C2-N3	106.2	C7-C18-H46	118.3
C1-C2-C13	129.1	C17-C18-H46	121.3
N3-C2-C13	124.6	C13-C19-C20	120.2
C2-N3-N4	111.6	C13-C19-H47	119.7
C2-N3-C12	129.8	C20-C19-H47	119.8
N4-N3-C12	118.4	C19-C20-C21	120.2
N3-N4-C5	105.4	C19-C20-H48	119.6
C1-C5-N4	111.4	C21-C20-H48	120.1
C1-C5-C9	128.6	C20-C21-C22	119.7
C4-C5-C9	119.8	C20-C21-H49	120.0
C1-C6-C7	120.0	C22-C21-H49	120.1
C1-C6-O8	118.5	C21-C22-C23	120.1
C7-C6-O8	121.3	C21-C22-H50	120.1
C6-C7-C14	122.3	C23-C22-H50	119.6
C6-C7-C18	118.3	C13-C23-C22	120.3
C14-C7-C18	119.2	C13-C23-H51	119.6
C5-C9-O10	122.9	C22-C23-H51	119.9
C5-C9-N11	113.0	C12-C24-C25	119.3
O10-C9-N11	123.9	C12-C24-H52	119.4
C9-N11-C29	128.3	C25-C24-H52	121.1
C9-N11-H41	114.5	C24-C25-C26	120.2
C29-N11-H41	114.7	C24-C25-H53	119.5
N3-C12-C24	118.6	C26-C25-H53	120.2
N3-C12-C28	120.4	C25-C26-C27	119.8
C24-C12-C28	120.9	C25-C26-H54	120.0
C2-C13-C19	121.1	C27-C26-H54	120.0
C2-C13-C23	119.7	C26-C27-C28	120.3
C19-C13-C23	119.0	C26-C27-H55	120.1
C7-C14-C15	120.3	C28-C27-H55	119.4
C7-C14-H42	119.7	C12-C28-C27	119.2
C15-C14-H42	119.8	C12-C28-H56	120.2

C14-C15-C16	119.9	C27-C28-H56	120.5
C14-C15-H43	120.3	N11-C29-S30	120.2
C16-C15-H43	119.6	N11-C29-N31	118.8
C15-C16-C17	120.0	S30-C29-N31	120.9
C15-C16-H44	119.7	C29-N31-C32	130.1
C17-C16-H44	120.1	C29-N31-H57	112.9
C16-C17-C18	120.0	C32-N31-H57	116.3
N31-C32-C33	118.3	C36-C35-N38	119.1
N31-C32-C37	121.6	C35-C36-C37	119.3
C33-C32-37	119.9	C35-C36-H60	119.4
C32-C33-C34	120.2	C37-C36-H60	121.2
C32-C33-H58	119.6	C32-C37-C36	119.9
C34-C33-H58	120.0	C32-C37-H61	120.1
C33-C34-C35	118.9	C36-C37-H61	119.9
C33-C34-H59	121.4	C35-N38-O39	118.1
C35-C34-H59	119.5	C35-N38-O40	118.3
C34-C35-C36	121.4	O39-N38-O40	123.4
C34-C35-C38	119.3		

Tablo 4.9. M5 Molekülü için Hesaplanan Optimize Parametreleri-II

Geometrik Parametreler	Hesaplanan Değerler	Geometrik Parametreler	Hesaplanan Değerler
Bağ uzunlukları (Å)	B3LYP/6-311++G(d,p)	Bağ uzunlukları (Å)	B3LYP/6-311++G(d,p)
C1-C2	1.401	C18-C23	1.406
C1-C5	1.424	C19-C20	1.396
C1-C6	1.463	C19-H40	1.084
C2-N3	1.382	C20-C21	1.399
C2-C18	1.475	C20-H41	1.085
N3-N4	1.386	C21-C22	1.399
N3-C17	1.433	C21-H42	1.085
N4-C5	1.340	C22-C23	1.396
C5-C8	1.489	C22-H43	1.085
C6-O7	1.238	C23-H44	1.083
C6-O29	1.380	C24-C25	1.397
C8-O9	1.245	C24-H45	1.082
C8-N10	1.389	C25-C26	1.400
N10-C11	1.396	C25-H46	1.084
N10-H35	1.017	C26-C27	1.399
C11-C12	1.412	C26-H47	1.084
C11-C16	1.421	C27-C28	1.397
C12-C13	1.389	C27-H48	1.084
C12-H36	1.081	C28-H49	1.082
C13-C14	1.405	O29-C31	1.484
C13-H37	1.084	C30-C31	1.522
C14-C15	1.387	C30-H50	1.096
C14-H38	1.083	C30-H51	1.093
C15-C16	1.404	C30-H52	1.093
C15-H39	1.081	C31-H53	1.091
C16-N32	1.452	C31-H54	1.092
C17-C24	1.400	N32-O33	1.264
C17-C28	1.400	N32-O34	1.277
C18-C19	1.408		

Tablo 4.10. M5 Molekülü için Hesaplanan Optimize Parametreleri-II

Geometrik Parametreler	Hesaplanan Değerler	Geometrik Parametreler	Hesaplanan Değerler
Bağ uzunlukları (Å)	B3LYP/6-311++G(d,p)	Bağ uzunlukları (Å)	B3LYP/6-311++G(d,p)
C2-C1-C5	105.8	N3-C17-C28	120.6
C2-C1-C6	127.7	C24-C17-C28	120.7
C5-C1-C6	126.3	C2-C18-C19	120.3
C1-C2-N3	105.6	C2-C18-N3	120.5
C1-C2-C18	130.4	C19-C18-C23	119.1
N3-C2-C18	123.9	C18-C19-C20	120.3
C2-N3-N4	112.1	C18-C19-H40	119.7
C2-N3-C17	130.1	C20-C19-H40	119.9
N4-N3-C17	117.7	C19-C20-C21	120.1
N3-N4-C5	105.0	C19-C20-H41	119.6
C1-C5-N4	111.3	C21-C20-H41	120.1
C1-C5-C8	128.7	C20-C21-C22	119.7
N4-C5-C8	119.1	C20-C21-H42	120.1
C1-C6-O7	126.8	C22-C21-H42	120.1
C1-C6-O29	110.1	C21-C22-C23	120.2
O7-C6-O29	122.9	C21-C22-H43	120.1
C5-C8-O9	120.7	C23-C22-H43	119.6
C5-C8-N10	118.9	C18-C23-C22	120.3
O9-C8-N10	119.9	C18-C23-H44	119.6
C8-N10-C11	129.5	C22-C23-H44	119.9
C8-N10-H35	114.9	C17-C24-C25	119.3
C11-N10-H35	115.4	C17-C24-C45	119.3
N10-C11-C12	120.9	C25-C24-C45	121.2
N10-C11-C16	122.0	C24-C25-C26	120.3
C12-C11-C16	117.0	C24-C25-H46	119.4
C11-C12-C13	121.2	C26-C25-H46	120.1
C11-C12-H36	118.5	C25-C26-C27	119.8
C13-C12-H36	120.1	C25-C26-H47	120.1
C12-C13-C14	120.8	C27-C26-H47	120.0
C12-13-H37	119.1	C26-C27-C28	120.3
C14-C13-H37	119.9	C26-C27-C48	120.1
C13-C14-C15	119.1	C28-C27-C48	119.4
C13-C14-H38	120.6	C17-C28-C27	119.2
C15-C14-H38	120.1	C17-C2-H49	120.2

C14-C15-C16	120.3	C27-C28-H49	120.4
C14-C15-H39	121.6	C6-O29-C31	117.7
C16-C15-H39	117.9	C31-C30-H50	109.8
C11-C16-C15	121.2	C31-C30-H51	110.7
C11-C16-N32	122.3	C31-C30-H52	110.5
C15-C16-N32	116.4	H50-C30-H51	108.2
N3-C17-C24	118.4	H50-C30-H52	108.9
H51-C30-H52	108.4	O30-C31-H54	112.0
O29-C31-C30	110.3	H53-C31-H54	110.1
O29-C31-H53	103.3	C16-N32-O33	118.6
O29-C31-H54	108.1	C16-N32-O34	119.1
C30-C31-H53	112.3	O33-N32-O34	122.2

Tablo 4.11. M6 Molekülü için Hesaplanan Optimize Parametreleri-II

Geometrik Parametreler	Hesaplanan Değerler	Geometrik Parametreler	Hesaplanan Değerler
Bağ uzunlukları (Å)	B3LYP/6-311++G(d,p)	Bağ uzunlukları (Å)	B3LYP/6-311++G(d,p)
C1-C2	1.408	C18-C23	1.406
C1-C5	1.445	C19-C20	1.398
C1-C6	1.593	C19-H40	1.084
C2-N3	1.3755	C20-C21	1.399
C2-C18	1.479	C20-H41	1.085
N3-N4	1.376	C21-C22	1.400
N3-C17	1.437	C21-H42	1.085
N4-C5	1.341	C22-C23	1.397
C5-C8	1.503	C22-H43	1.085
C6-O7	1.254	C23-H44	1.085
C6-O29	1.361	C24-C25	1.396
C8-O9	1.249	C24-H45	1.082
C8-N10	1.376	C25-C26	1.400
N10-C11	1.401	C25-H46	1.084
N10-H35	1.025	C26-C27	1.399
C11-C12	1.415	C26-H47	1.084
C11-C16	1.412	C27-C28	1.398
C12-C13	1.386	C27-H48	1.084
C12-H36	1.085	C28-H49	1.082
C13-C14	1.400	O29-C31	1.488
C13-H37	1.081	C30-C31	1.521
C14-C15	1.398	C30-H50	1.096
C14-N32	1.453	C30-H51	1.094
C15-C16	1.392	C30-H52	1.093
C15-H38	1.082	C31-H53	1.092
C16-H39	1.078	C31-H54	1.090
C17-C24	1.400	N32-O33	1.267
C17-C28	1.400	N32-O34	1.268
C18-C19	1.405		

Tablo 4.12. M6 Molekülü için Hesaplanan Optimize Parametreleri-II

Geometrik Parametreler	Hesaplanan Değerler	Geometrik Parametreler	Hesaplanan Değerler
Bağ uzunlukları (Å)	B3LYP/6-311++G(d,p)	Bağ uzunlukları (Å)	B3LYP/6-311++G(d,p)
C2-C1-C5	105.7	N3-C17-C28	121.0
C2-C1-C6	125.6	C24-C17-C28	120.8
C5-C1-C6	128.5	C2-C18-C19	120.0
C1-C2-N3	105.7	C2-C18-C23	120.6
C1-C2-C18	131.4	C19-C18-C23	119.2
N3-C2-C18	122.7	C18-C19-C20	120.2
C2-N3-N4	112.3	C18-C19-H40	119.6
C2-N3-C17	130.2	C20-C19-H40	120.0
N4-N3-C17	117.3	C19-C20-C21	120.1
N3-N4-C5	106.2	C19-C20-H41	119.6
C1-C5-N4	109.9	C21-C20-H41	120.1
C1-C5-C8	135.5	C20-C21-C22	119.8
C4-C5-C8	114.4	C20-C21-H42	120.1
C1-C6-O7	125.1	C22-C21-H42	120.0
C1-C6-O29	113.8	C21-C22-C23	120.1
O7-C6-O29	121.0	C21-C22-H43	120.1
C5-C8-O9	119.9	C23-C22-H43	119.7
C5-C8-N10	116.3	C18-C23-C22	120.2
O9-C8-N10	123.7	C18-C23-H44	119.5
C8-N10-C11	127.6	C22-C23-H44	120.1
C8-N10-H35	116.5	C17-C24-C25	119.3
C11-N10-H35	115.7	C17-C24-H45	119.3
N10-C11-C12	116.4	C25-C24-H45	121.3
N10-C11-C16	124.1	C24-C25-C26	120.3
C12-C11-C16	119.4	C24-C25-H46	119.4
C11-C12-C13	120.7	C26-C25-H46	120.2
C11-C12-H36	119.3	C25-C26-C27	119.7
C13-C12-H36	119.9	C25-C26-H47	120.1
C12-C13-C14	119.0	C27-C26-H47	120.0
C12-C13-H37	121.4	C26-C27-C28	120.4
C14-C13-H37	119.5	C26-C27-H48	120.1
C13-C14-C15	121.2	C28-27-H48	119.3
C13-C14-N32	119.2	C17-C28-C27	119.2
C15-C14-N32	119.5	C17-C28-H49	120.5

C14-C15-C16	119.9	C27-C28-H49	120.2
C14-C15-H38	119.2	C6-O29-C31	118.3
C16-C15-H38	120.7	C31-C30-H50	109.6
C11-C16-C15	119.6	C31-C30-H51	110.8
C11-C16-H39	119.4	C31-C30-H52	110.9
C15-C16-H39	120.9	H50-C30-H51	108.2
N3-C17-C24	118.0	H50-C30-H52	108.1
H51-C30-H52	108.9	C30-C31-H54	112.4
O29-C31-C30	110.6	H53-C31-H54	110.3
O29-C31-H53	108.1	C14-N32-O33	118.3
O29-C31-H54	102.8	C14-N32-O34	118.2
C30-C31-H53	111.9	O33-N32-O34	123.3

4.2.2. HOMO-LUMO dağılımları (Molekül Orbital Yapılarının İncelenmesi)

Elektronların konumlandığı elektronlarca doldurulmuş en yüksek orbital HOMO ve doldurulmamış elektron yönünden boş olan moleküler orbital LUMO, kimyasal tepkimelerin meydana geldiği ana orbiallerdir. Elektronik geçiş absorbsiyonu, en düşük noktadan ilk uyarılmış düzeye gelmesine karşılık gelmektedir ve asıl olarak elektronların absorbsiyonu düzeylerinde en düşük seviyeden (HOMO), en yüksek seviyeye (LUMO) uyarılmış olması belirtilmektedir. E_{HOMO} ve E_{LUMO} değerleri arasındaki fark (ΔE) moleküllerin kararlılık seviyesinin belirlenmesinde önemli rol almaktadır. Bu parametre aracılığıyla moleküllerin etkileşimlerden sonra orbital enerji seviyelerini belirleme ve yorumlama yapılabilmektedir. E_{HOMO} ve E_{LUMO} değerleri arasındaki fark (ΔE) küçük ise reaktiflerin reaksiyon göstermesi ve etkileşimi daha kolay olmaktadır. Daha büyük enerji farklarında elektronların dağılım şekli daha az gerçekleştiğinden, kutuplaşma daha az olacaktır ve böylelikle kimyasal kararlılık gösterir. Bu tip moleküllere sert yapıdaki moleküller de denilmektedir. Küçük enerji farklarında ise molekül elektron dağılımına basit bir şekilde yön verebileceğinden dolayı, en iyi şekilde polarize edilir ve yüksek düzeyde kimyasal reaktif özellik gösterirler. Bu tip moleküllere de yumuşak yapıdaki moleküller denilmektedir. İncelenen moleküllere ait HOMO-LUMO dağılımları optimize yapılara ait chk* dosyaları kullanılarak DFT (Yoğunluk fonksiyon teorisi) B3LYP fonksiyoneli ve 6-311++G (d, p) baz seti kullanılarak gaz fazında hesaplanmıştır.

M1-6 moleküllerine ait HOMO ve LUMO dağılımlarına ayrı ayrı bakarsak **M1** molekülü için HOMO dağılımları molekülün sol tarafında ve kısmi olarak tekli oksijen atomu üzerinde görülürken LUMO dağılımları molekülün sol ve orta kısımlarındaki halkalar üzerinde yoğunlaşmıştır. Yine kısmi olarak fenil halkası üzerinde LUMO dağılımı görülmektedir. **M2** molekülünde HOMO ve LUMO bulutları arasında değişim neredeyse gözlenmemiştir. **M3** molekülünde molekülün sol tarafındaki kükürt atomunda ve kısmi olarak sol tarafta görülen dağılım LUMO dağılımda molekülün sadece sol tarafında yoğunlaşmıştır ve kükürt üzerindeki yoğunluk azalmıştır. Aynı davranış **M4** molekülü için molekülün sağ tarafında gerçekleşmiş olup sol taraflarında bir elektron bulutu oluşmamıştır. **M5** molekülünde neredeyse tüm molekülü kaplayan HOMO dağılımları LUMO'ya çıktığında sadece molekülün sol tarafında transfer edilmiştir. Son olarak **M6** molekülünde HOMO ve LUMO dağılımları molekülün sağ kısmında yoğunlaşmıştır. HOMO ve LUMO enerjileri kullanılarak elde edilen bant genişliklerine bakıldığında ΔE değeri en yüksek **M1** molekülünde 3.991 eV olduğu görülmüştür. Bant genişliğinin en küçük olduğu değer ise **M3** molekülünde 2.898 eV olarak görülmüştür. Bant genişliğinin büyük olması molekülün kararlılığına küçük olması ise bir sonraki adımda reaksiyonun hızlı bir şekilde gerçekleşebileceği anlamına gelmektedir. Koopmans teoremine göre HOMO enerjisinin negatifi ve LUMO enerjinin negatifi sırasıyla iyonlaşma enerjisine ve elektron ilgisine karşılık gelmektedir. (T. Koopmans 1933.) Buna göre moleküllerdeki iyonizasyon potansiyelleri karşılaştırıldığında en yüksek potansiyeli değeri **M5** molekülünde en düşük değer ise **M3** molekülünde yakalanmıştır. Elektron ilgisi değerlerine göre en yüksek değer **M4** molekülünde en düşük değer ise **M1** molekülünde gözlenmiştir. Bu değer hesaplanan toplam enerji değerleri ile örtüşmektedir. En yüksek enerjiye sahip olan molekülün en düşük elektron ilgisi değerine sahip olması beklenir. Koopsman teoreminin devamı olarak hesaplanan kimyasal sertlik, kimyasal yumuşaklık, kimyasal potansiyel ve elektrofilik indeks gibi değerler hesaplanarak Tablo 4.13'te verilmiştir. Tablodaki değerler incelendiğinde **M5** molekülünün diğerlerine kıyasla daha sert, kimyasal yumuşaklık açısından ise **M1** molekülünün daha yumuşak olduğu söylenilebilir. İlgili parametrelerin hesaplanmasıyla ilgili kullanılan formalizmler aşağıda yer almaktadır.

İyonizasyon potansiyeli = $I = -E_{HOMO}$ (Denklem 4.1)

Elektron ilgisi = $A = -E_{LUMO}$ (Denklem 4.2)

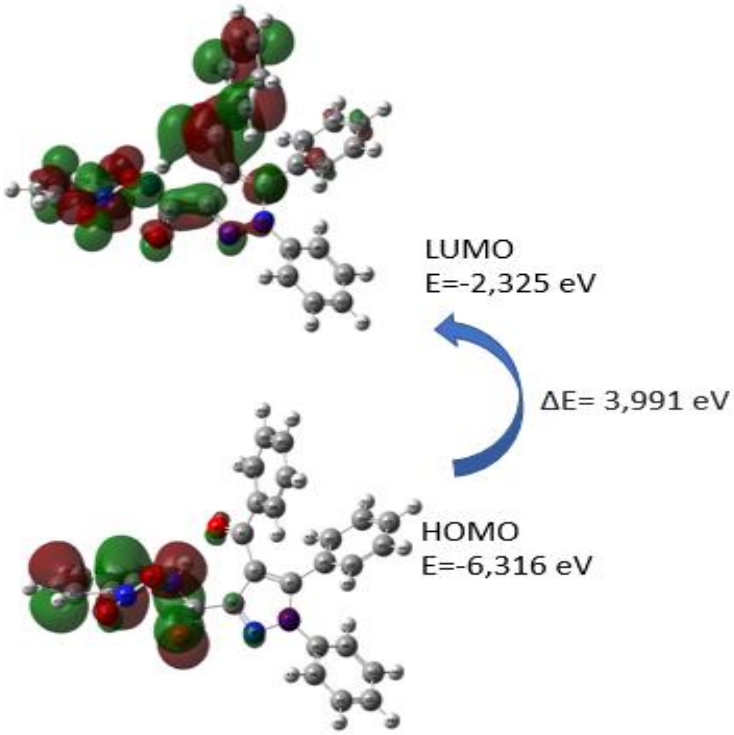
Kimyasal Sertlik = η = (I-A) /2 (Denklem 4.3)

Kimyasal yumuşaklık = ζ= 1/(2η) (Denklem 4.4)

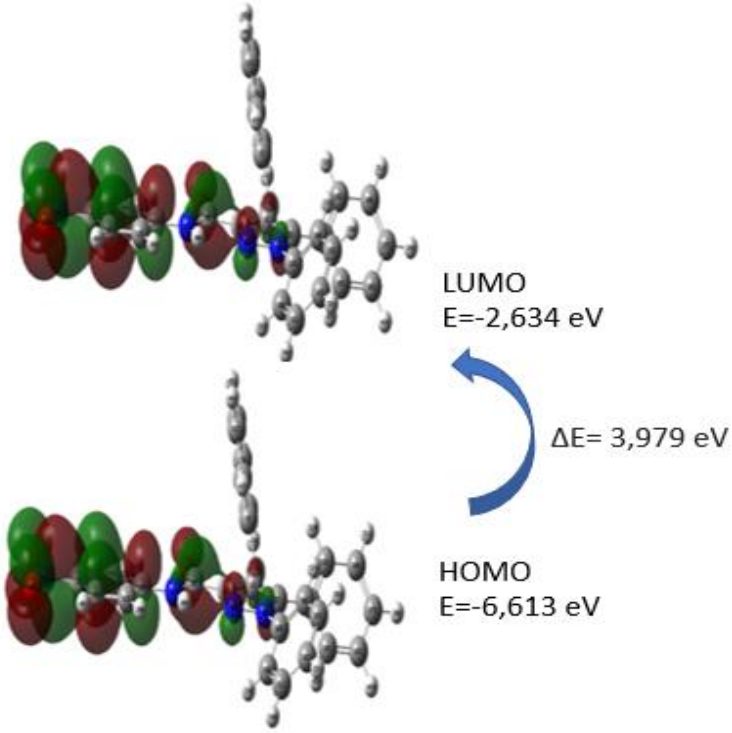
Elektronegatiflik = X = (I+A) /2 (Denklem 4.5)

Kimyasal potansiyel = μ = -(I+A) /2 (Denklem 4.6)

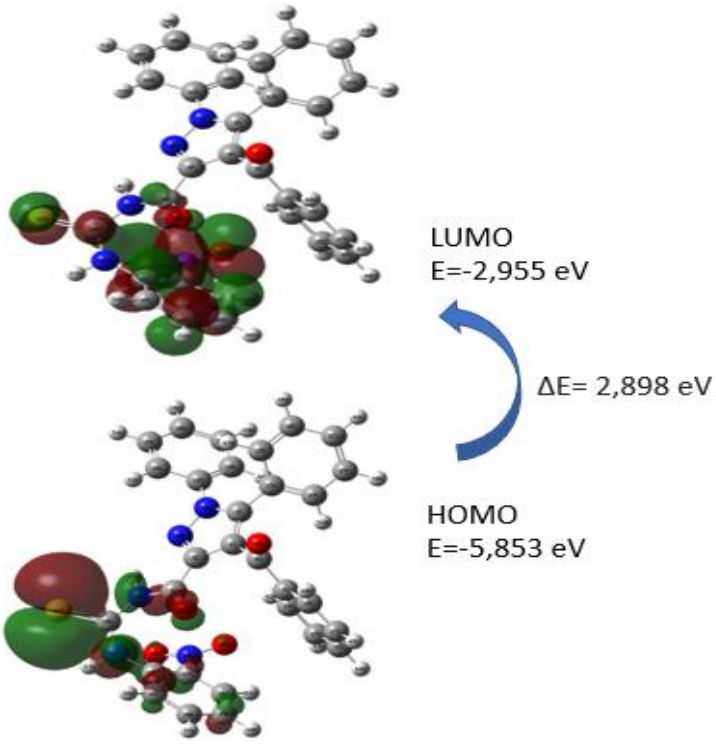
Elektrofilik indeks = w = $\mu^2/2\eta$ (Denklem 4.7)



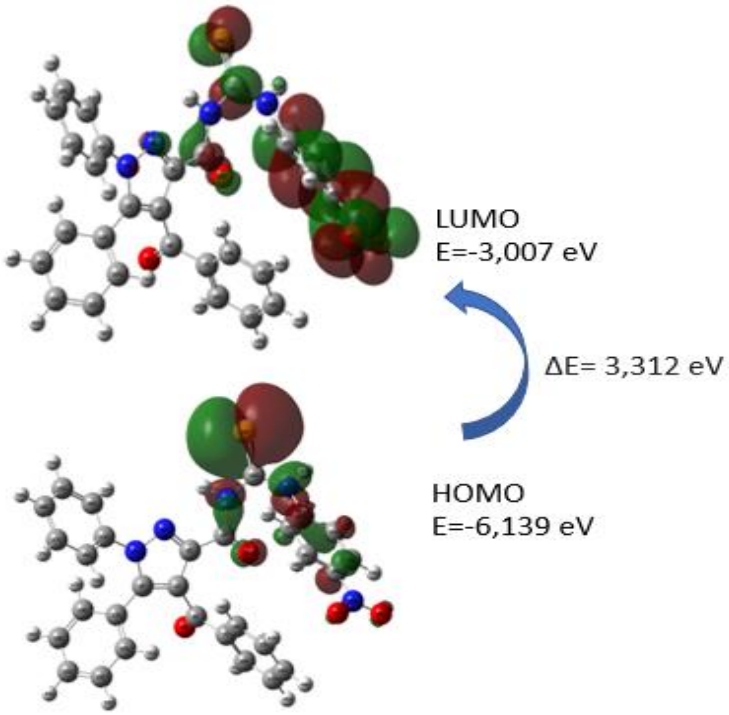
Şekil 4.2. M1 molekülü HOMO-LUMO dağılımları



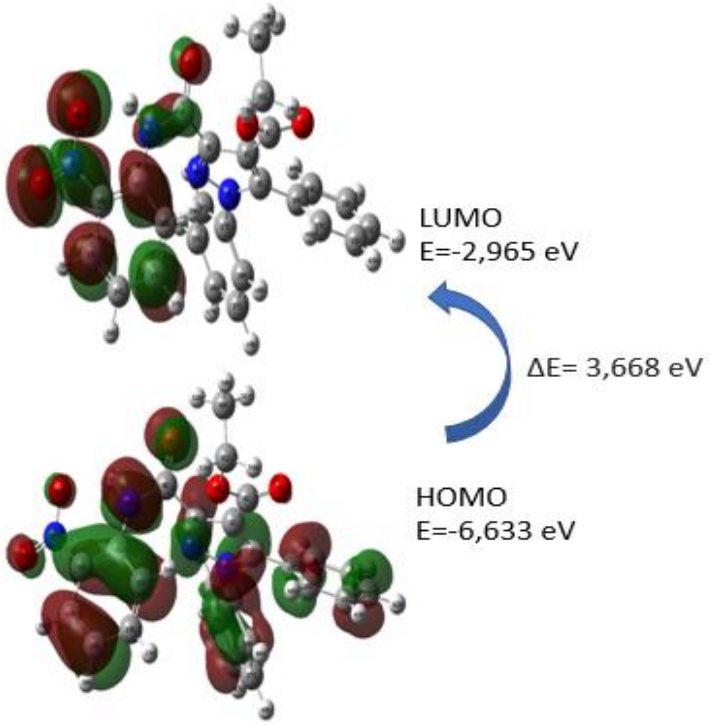
Şekil 4.3. M2 molekülü HOMO-LUMO dağılımları



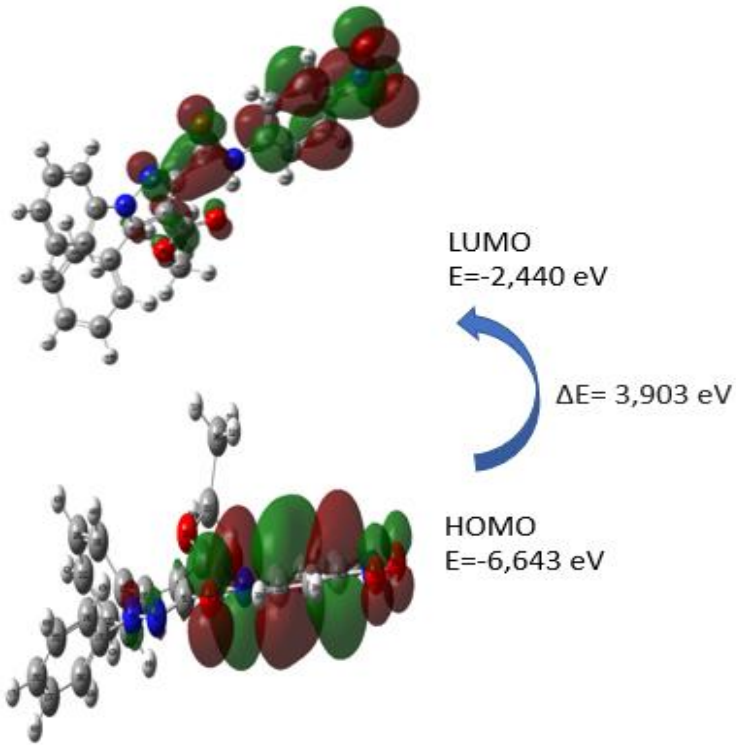
Şekil 4.4. M3 molekülü HOMO-LUMO dağılımları



Şekil 4.5. M4 molekülü HOMO-LUMO dağılımları



Şekil 4.6. M5 molekülü HOMO-LUMO dağılımları



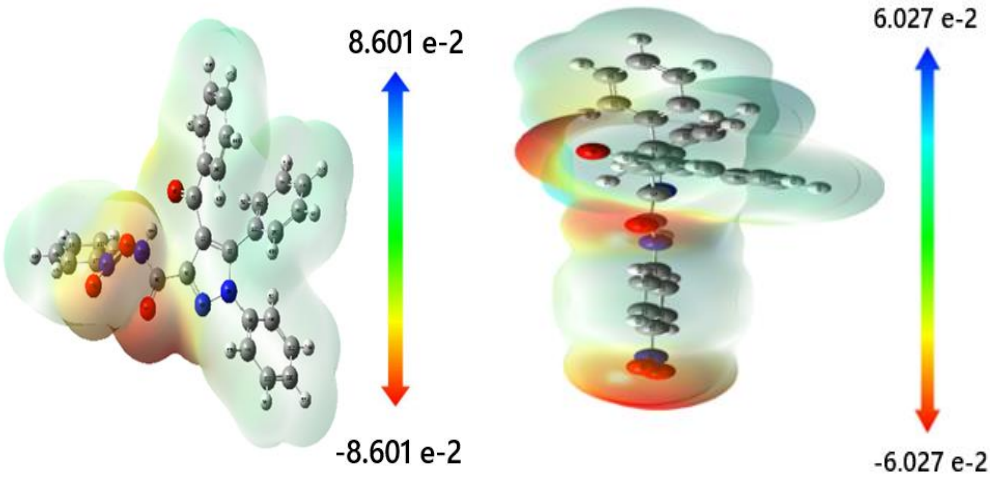
Şekil 4.7. M6 molekülü HOMO-LUMO dağılımları

Tablo 4.13. M1-6 Moleküllerinin HOMO-LUMO Enerjilerine Bağlı Hesaplanan diğer Önemli Parametreler

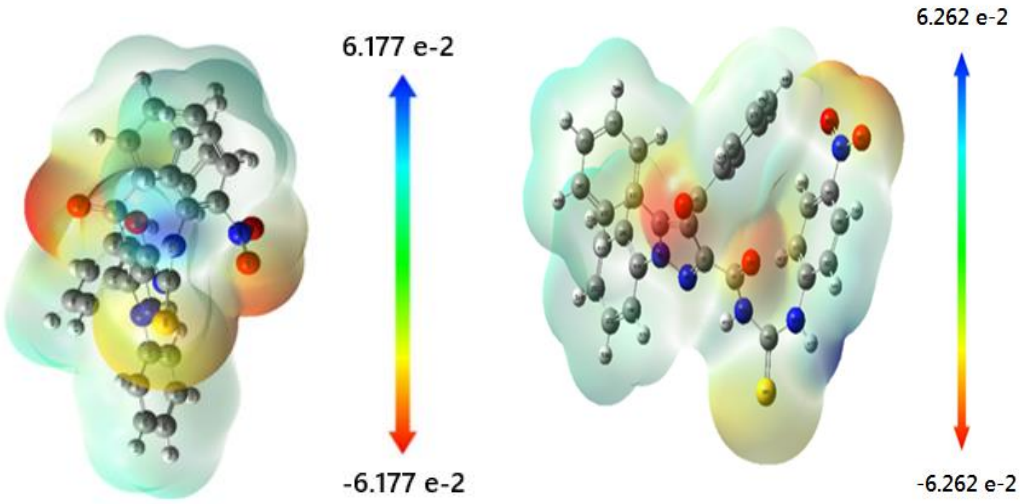
Parametreler	**M1 Molekülü**	**M2 Molekülü**	**M3 Molekülü**	**M4 Molekülü**	**M5 Molekülü**	**M6 Molekülü**
E_{LUMO} (eV)	-2.325	-2.634	-2.955	-3.007	-2.965	-2.440
E_{HOMO} (eV)	-6.316	-6.613	-5.853	-6.139	-6.633	-6.343
Eneji Bant Genişliği	3.991	3.979	2.898	3.132	3.668	3.903
İyonizasyon Potansiyeli	6.316	6.613	5.853	6.139	6.633	6.343
Elektron İlgisi	2.325	2.634	2.955	3.007	2.965	2.440
Kimyasal Sertlik	-4.321	-4.624	-4.404	-4.573	-4.799	-4.392
Kimyasal yumuşaklık	-0.116	-0.108	-0.114	-0.109	-0.104	-0.114
Elektronegatiflik	-4.320	-4.624	-4.404	-4.573	-4.799	-4.392
Kimyasal Potansiyel	4.321	4.624	4.404	4.573	4.799	4.392
Elektrofilik İndeks	2.339	2.686	3.346	3.338	3.139	2.471

4.2.3. MEP Dağılımları

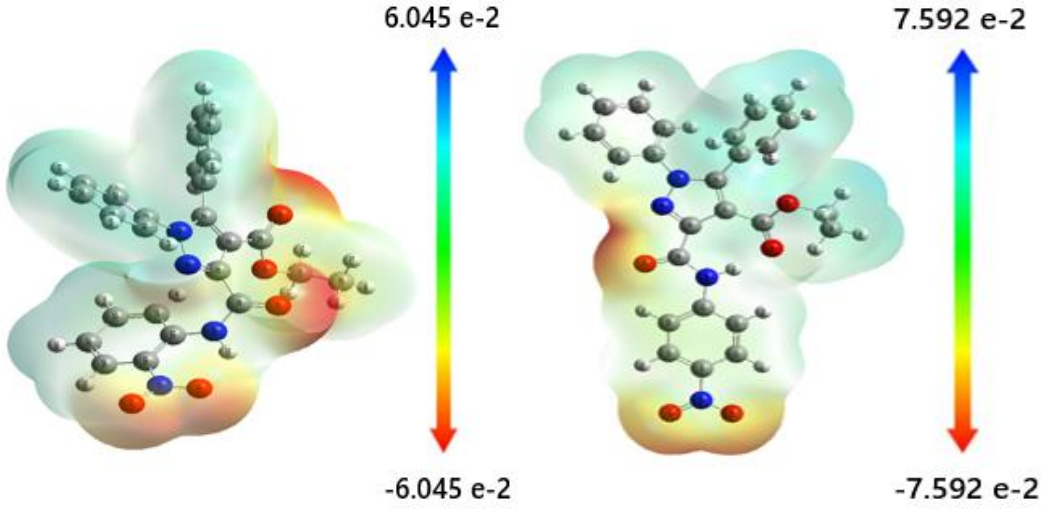
Moleküllerin çevrelerindeki alanlarda eksen üzerindeki r (x, y, z) noktalarda moleküler elektrostatik potansiyel (MEP) *V*(r), moleküllerin elektriksel yüklerinden elde edilen moleküllerin elektronları ile pozitif bir birim (r'de bulunan yükler) ile aralarındaki enerji etkileşimlerine bağlı olarak açıklanmaktadır. MEP, nükleofilik ve elektrofilik atılımları ve ayrı olarak ta hidrojen-bağ etkileşimlerinin pozisyonlarını değerlendirmek ve yorumlamak için çok avantajlıdır. Öte yandan elektronik yoğunluğu belirten bir yöntemdir. (Matoga, D. vd., 2007) MEP yönteminin bir diğer önemi, moleküler şekil, boyut ve negatif-pozitif ve elektrostatik potansiyel lokasyonların renklendirerek ayırt edilmesidir. Yüzeydeki elektrostatik potansiyelin farklı değerleri farklı renklerle temsil edilir. Potansiyel düzeyine göre; kırmızı <turuncu <sarı <yeşil <mavi. **M1** molekülü için MEP dağılım skalası -8.601 e-2'den 8.601 e-2'ye, **M2** için -6.027 e-2'den 6.027 e-2'ye, **M3** için -6.177 e-2'den 6.177 e-2'ye, **M4** için -6.262 e-2'den 6.262'ye, **M5** için -6.045 e-2'den 6.045' e-2'ye ve **M6** için -7.592 e-2'den 7.592 e-2'ye olacak şekilde hesaplanmıştır. Değerlerdeki (-) kısımlar elektron yoğunluğun fazla olduğu yerleri yani elektrofilik noktalarını (+) kısımlar ise nükleofilik noktaları göstermektedir. Şekil 4.8-4.10'dan da görüldüğü gibi negatif bölgeler genellikle oksijen atomlarının, azot atomlarının ve kısmi olarak kükürt atomlarının üzerinde yoğunlaştığı pozitif bölgelerin ise moleküllerin hidrojen atomları üzerinde yoğunlaştığı görülmüştür. **M1-6** moleküllerine ait MEP dağılımları ve bu dağılımlara bağlı olarak elde edilen skala değerleri optimizasyonlar üzerinden oluşturulan sonuçlar aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.8. M1 ve **M2** moleküllerinin MEP dağılımları



Şekil 4.9. M3 ve **M4** moleküllerinin MEP dağılımları



Şekil 4.10. M5 ve **M6** moleküllerinin MEP dağılımları

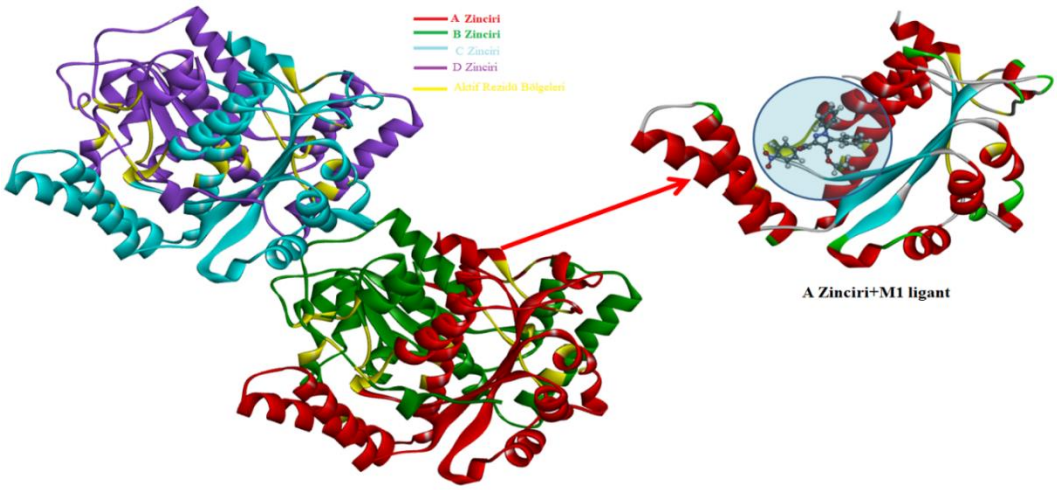
4.2.4. Moleküler Kenetleme Çalışmaları

Bu bölümde, **M1-6** moleküllerinin nitroredüktaz enzimi olan PDB: 1KQC'ye kenetlenme işlemleri için Autodock Vina (O. Trott vd., 2010) programı kullanılarak yapılmıştır. Yapılan işlemlerin sonuçları Tablo 4.14'te verilmiştir. Elde edilen kenetlenme skorlarına göre en iyi sonuç -9.2 kcal/mol enerji ile **M1** molekülü ile hedef protein arasında elde edilmiştir. En zayıf etkileşim ise -8.2 kcal/mol enerji ile **M5** molekülü ile hedef protein arasında görülmüştür. Tablo 4.14'ten de görüldüğü gibi kenetlenmelere ait inhibisyon değerleri $Ki = \exp(-\Delta G/RT)$ formülü kullanılarak hesaplanmıştır. Formül içerisindeki ΔG: bağlanma enerjisini, R: gaz sabitini = 1.9872036×10^{-3} kcal/mol ve T: oda sıcaklığı = 298.15 K olarak

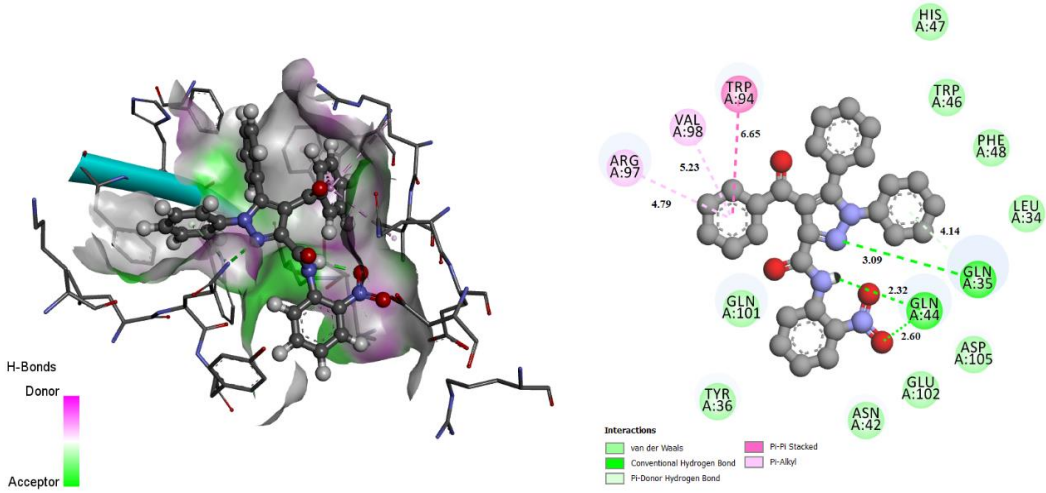
alınmıştır. Buna göre en düşük inhibisyon en yüksek enerjili **M1** molekülünde 0.180448µM olarak bulunmuştur. Etkileşmelere ait en iyi sonuç **M1** molekülünde elde edildiğinden molekülün protein içerisindeki duruşu Şekil 4.11'de sadece bu molekül için verilmiştir. Buna göre proteinde dört farklı zincir olmasına rağmen molekülün A zincirine aktif bölge üzerinden tutunduğu görülmüştür. Şekilde sarı ile gösterilen kısımlar A zincirine ait aktif rezidülerdir. Diğer taraftan moleküller ile 1KQC proteini arasındaki etkileşimlerin 3 boyutlu ve 2 boyutlu durumları Şekil 4.12-17 arasında verilmiştir. En iyi sonuç **M1** molekülünde yakalandığı için 2 boyutlu etkileşime bakıldığında üç geleneksel hidrojen bağı, bir tane π-π-stakt, iki tane de π- alkil etkileşimi görülmüştür. İlgili rezidüler ve atomlar arasındaki bağ uzunlukları ise Şekil 4.12'de açıkça verilmiştir.

Tablo 4.14. Moleküler kenetleme sonuçları

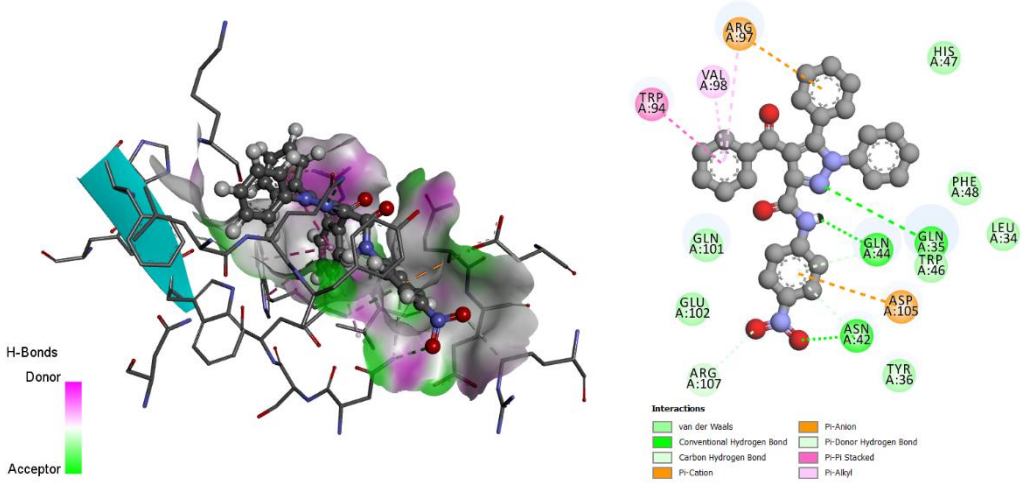
Moleküller	Kenetlenme Skoru (kcal/mol)	Yakaladığı Hidrojen Bağı Sayısı	Ki-İnhibisyon Değeri (µM)
M1	-9.2	3	0.180448
M2	-9.0	3	0.252902
M3	-8.9	2	0.299401
M4	-9.1	3	0.213625
M5	-8.2	3	0.97579
M6	-8.4	2	0.696234



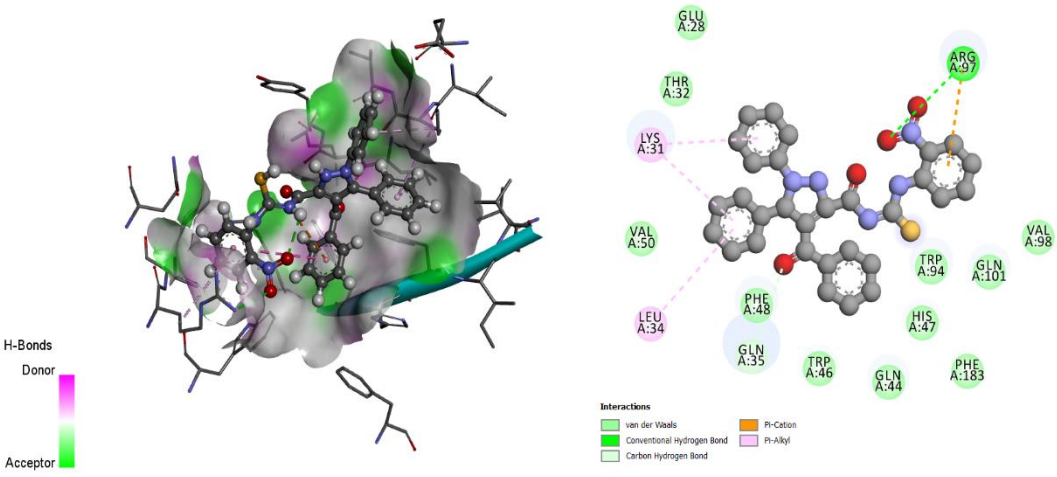
Şekil 4.11. M1 molekülünün protein içindeki duruşu



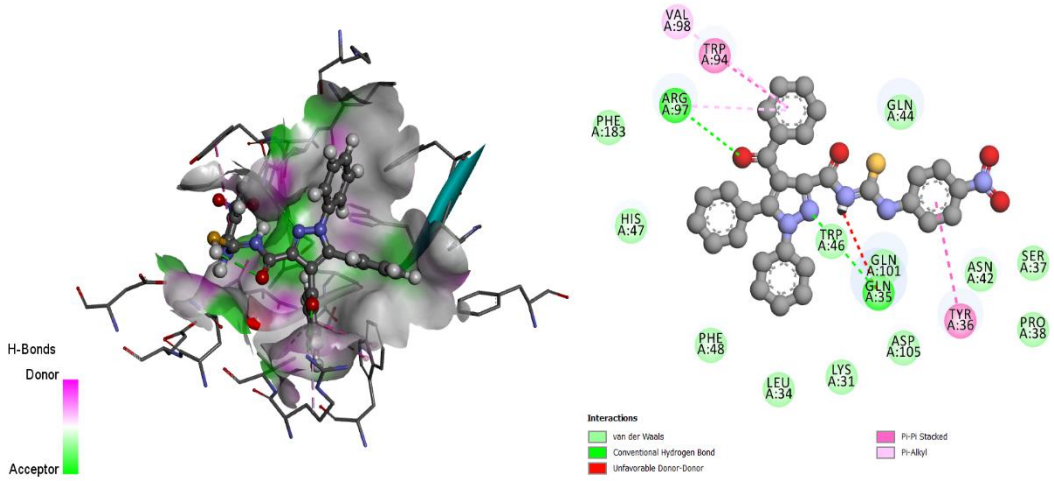
Şekil 4.12. M1+1KQB etkileşiminin 3 ve 2 boyutlu durumları.



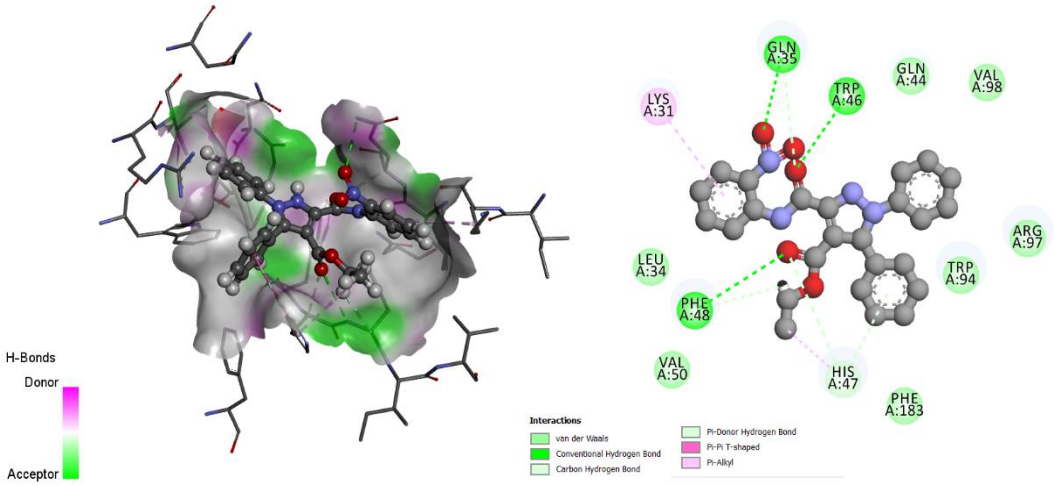
Şekil 4.13. M2+1KQB etkileşiminin 3 ve 2 boyutlu durumları.



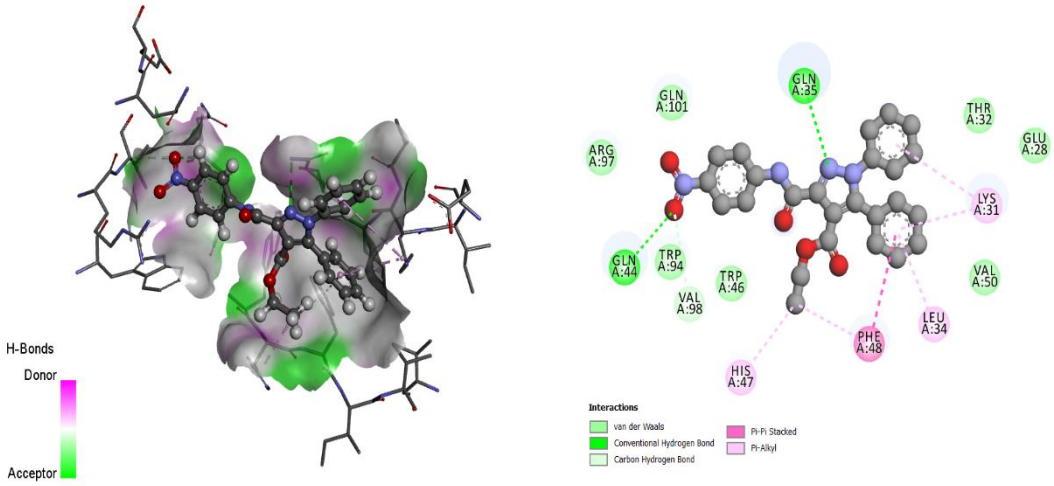
Şekil 4.14. M3+1KQB etkileşiminin 3 ve 2 boyutlu durumları.



Şekil 4.15. M4+1KQB etkileşiminin 3 ve 2 boyutlu durumları.



Şekil 4.16. M5+1KQB etkileşiminin 3 ve 2 boyutlu durumları.



Şekil 4.17. M6+1KQB etkileşiminin 3 ve 2 boyutlu durumları.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Kanser uzun yıllardır tüm dünyanın gündeminde olan ölümcül hastalıklar listesinde üst sıralarda yer alan bir hastalıktır. Kanserin tanısı, çeşitleri ve evreleri teknolojinin de gelişmesiyle açığa çıkmıştır. Bu gelişmelerin ardından kanser tedavileri için birçok yöntem ve farklı tedaviler denenmiştir. Tüm tedavilerde olduğu gibi bu tedavi yöntemlerinin de yan etkileri mevcuttur. Kanser hastalarına yönelik tedaviler kişisel olarak belirlenen ve en uygun şekilde uygulanan yöntemler olsa dahi yan etkileri yüksek oranda sağlıklı dokulara zarar vermektedir. Bu sebepten dolayı nitroredüktaz türevi ilaç öncül maddelerin keşfi ile bu yan etkilere karşı daha güvenilir ve iyileştirme oranı yüksek tedavi yöntemi sunulmaktadır. Nitroredüktaz inhibitörleri (ilaç öncül) tedavi sırasında sağlıklı hücreye zarar vermeden sadece kanserli hücreyi ölüme zorlayarak kanser sürecine son vermeyi hedefleyen bir yöntemdir. Bu tez çalışmasında potansiyel yeni nitroredüktaz inhibitörleri üzerine deneysel ve teorik çalışmalar yapılarak yeni ilaç öncül maddelerin sentezi hedeflenmiştir. Bu amaçla pirazol-3-karboksilli asit klorür türevi olan **3a,b** bileşikleri kullanılarak nitro grubu ihtiva eden dört adet pirazol-3-karboksamit, iki adet pirazolil açiltiyoüre türevi bileşik sentezlenmiştir. Elde edilen hedef ürünler katı formda olup, %74-80 verim aralığında elde edilmiştir. Yeni bileşiklerin yapıları FTIR, ^{1}H ve ^{13}C NMR spektroskopileri yardımıyla aydınlatılmıştır.

Teorik olarak elde edilen sonuçları genel hatlarıyla şu şekilde vurgulayabiliriz.

M1-6 moleküllerinin gaz fazındaki optimize yapıları Gaussian 09W ve Gauss View 5.0 proğramı kullanılarak en kararlı halleri tespit edildi. Buna göre en kararlı yapının enerji olarak **M4** molekülü olduğu tespit edilmiştir. Yapılara ait optimizasyon parametreleri de ilgili kısımda değerlendirilmiştir.

E_{HOMO} ve E_{LUMO} değerleri arasındaki fark (ΔE) küçük ise reaktiflerin reaksiyon göstermesi ve etkileşimi daha kolay olmaktadır. Daha büyük enerji farklarında elektronların dağılım şekli daha az gerçekleştiğinden, kutuplaşma daha az olacaktır ve böylelikle kimyasal kararlılık gösterir. **M1-6** moleküllerine ait HOMO ve LUMO dağılımlarına bakıldığında ΔE değeri en yüksek M1 molekülünde 3.991 eV olduğu görülmüştür. Bant genişliğinin en küçük olduğu değer ise M3 molekülünde 2.898 eV olarak görülmüştür.

Moleküler elektrostatik potansiyel (MEP) haritaları incelendiğinde, moleküllerdeki elektron yoğunluğunun genellikle oksijen atomlarının, azot atomlarının ve kısmi olarak kükürt

atomlarının üzerinde yoğunlaştığı, pozitif bölgelerin ise moleküllerde bulunan nitro üzerinde yoğunlaştığı görülmüştür.

M1-6 moleküllerinin nitroredüktaz enzimi olan PDB: 1KQC'ye kenetlenme işlemleri için Autodock Vina (O. Trott vd., 2010) programı kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen kenetlenme skorlarına göre en iyi sonuç -9.2 kcal/mol enerji ile **M1** molekülü ile hedef protein arasında elde edilmiştir.

Bu çalışmanın sunucunda elde edilen maddeler bu konu ile ilgili yapılabilecek anti kanser ilaç öncü çalışmalarına kaynak oluşturma niteliği taşıdığı düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

Akcamur, Y., Penn, G., Ziegler, E., Sterk, H., Kollenz, G., Peters, K., & Schnering, H. G. (1986). Reaktionen mit cyclischen Oxalylverbindungen, XXIV. Zur Reaktion von 4-Benzoyl-5-phenyl-furan-2, 3-dion mit Phenylhydrazonen bzw. Phenylhydrazin. *Monatshefte fuer Chemie Chemical Monthly*, *117*(2), 231-245.

American Cancer Society. www. Cancer. org/acs/groups/content/@ epidemiologysurveilance /documents / document / acspc-031941. pdf.

Anlezark, G. M., Melton, R. G., Sherwood, R. F., Coles, B., Friedlos, F., & Knox, R. J. (1992). The bioactivation of 5-(aziridin-1-yl)-2, 4-dinitrobenzamide (CB1954) — I: purification and properties of a nitroreductase enzyme from Escherichia coli—a potential enzyme for antibody-directed enzyme prodrug therapy (ADEPT). *Biochemical pharmacology*, *44*(12), 2289-2295.

(Avery OT, Macleod CM, McCarty M. Pnömokok türlerinin dönüşümüne neden olan maddenin kimyasal doğasına ilişkin çalışmalar: pnömokok tip III'ten izole edilen bir dezoksiribonükleik asit fraksiyonu ile dönüşümün uyarılması. *J Exp Med* 1944;79:137–58).

Baykara, O. (2016). Kanser Tedavisinde Güncel Yaklaşimlar. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, *5*(3), 154-165.

Berman, H. M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T. N., Weissig, H., ... & Bourne, P. E. (2000). The protein data bank. *Nucleic acids research*, *28*(1), 235-242.

Blackadar, C. B. (2016). Historical review of the causes of cancer. *World journal of clinical oncology*, *7*(1), 54.

Bryant, C., Hubbard, L., & McElroy, W. D. (1991). Cloning, nucleotide sequence, and expression of the nitroreductase gene from Enterobacter cloacae. *Journal of Biological Chemistry*, *266*(7), 4126-4130

Boveri T *Zur Frage der Entwicklung malign Tumoren*. Jena, Almanya: Gustav Fischer-Verlag, (1914)

Cham, K., Cham, A., Chase, T., Zhou, V. ve Cham, B. (2015). Melanom Dışı Cilt Kanserlerinin Tedavisi: CuradermBEC5 ve Çeşitli Yerleşik Yöntemlerin Karşılaştırmalı Bir Çalışması. *Kanser Tedavisi Dergisi*, *6* (12), 1045.

Cohen, S. M., & Ellwein, L. B. (1991). Genetic errors, cell proliferation, and carcinogenesis. *Cancer research*, *51*(24), 6493-6505.

Dachs, G. U., Tupper, J., & Tozer, G. M. (2005). From bench to bedside for gene-directed enzyme prodrug therapy of cancer. *Anti-cancer drugs*, *16*(4), 349-359.

Dennington, R., Keith, T., Millam, J., & GaussView, V. (2009). Semichem Inc. *Shawnee Mission KS*, *GaussView, Version*, *5*(8).

Denny, W. A. (2002). Nitroreductase-based GDEPT. *Current pharmaceutical design*, *8*(15), 1349-1361.

Denny, W. A. (2003). Prodrugs for gene-directed enzyme-prodrug therapy (suicide gene therapy). *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, *2003*(1), 48.

DeVita Jr, V. T., & Rosenberg, S. A. (2012). Two hundred years of cancer research. *New England Journal of Medicine*, *366*(23), 2207-2214.

Duarte, S., Carle, G., Faneca, H., de Lima, M. C. P., & Pierrefite-Carle, V. (2012). Suicide gene therapy in cancer: where do we stand now. *Cancer letters*, *324*(2), 160-170.

Duis, J. M. (2008). *Acid/base chemistry and related organic chemistry conceptions of undergraduate organic chemistry students* (Doctoral dissertation, University of Northern Colorado).

Edge, S. B., & Compton, C. C. (2010). The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Annals of surgical oncology*, *17*(6), 1471-1474.

Edge, S. B., Byrd, D. R., Compton, C. C., Fritz, A. G., Greene, F. L., Trotti, A., & American Joint Committee on Cancer. (2010). Breast. AJCC cancer staging manual. *New York: Springer-Verlag*, 347-369.

El-Nabi, H. A. A., El-Din, A. N., & Fahmi, M. S. (2003). Synthesis of functionalised pyrimidin-2-one derivatives. *Journal of Chemical Research*, *2003*(8), 514-515.

Fadıloğlu, Ç., Cantilav, Ş., Yıldırım, Y. K., & Tokem, Y. (2006). Meme kanserli kadınlarda umutsuzluk düzeyi ve başetme davranişlari arasindaki ilişki. *Ege Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Dergisi*, *22*(2), 147-160.

Frisch, M. J., Trucks, G. W., Schlegel, H. B., Scuseria, G. E., Robb, M. A., Cheeseman, J. R., ... & Cioslowski, J. (2009). Uranyl Extraction by N, N-Dialkylamide Ligands Studied by Static and Dynamic DFT Simulations. In *Gaussian 09*. Gaussian Inc Wallingford.

Goldberg, K., Schroer, K., Lütz, S., & Liese, A. (2007). Biocatalytic ketone reduction—a powerful tool for the production of chiral alcohols—part I: processes with isolated enzymes. *Applied microbiology and biotechnology*, *76*, 237-248.

Güngör, T. (2016). *Nitroredüktaz Esaslı Kanser Tedavisine Yönelik Aromatik Ve Heterosiklik İlaç-Öncü Bileşiklerin Geliştirilmesi*, Yayımlanmış Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale 18 Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Üniversitesi

Hamstra, D. A., Lee, K. C., Tychewicz, J. M., Schepkin, V. D., Moffat, B. A., Chen, M., ... & Rehemtulla, A. (2004). The use of 19F spectroscopy and diffusion-weighted MRI to evaluate differences in gene-dependent enzyme prodrug therapies. *Molecular Therapy*, *10*(5), 916-92.

Harbour, J. W. (2006). Eye cancer: unique insights into oncogenesis the Cogan lecture. *Investigative ophthalmology & visual science*, *47*(5), 1737-1745.

Klefenz, H. (2002). *Industrial pharmaceutical biotechnology*. Wiley-VCH Verlag GmbH.

Koeller, K. M., & Wong, C. H. (2001). Enzymes for chemical synthesis. *Nature*, *409*(6817), 232-240.

Koopmans, T. (1933). Ordering of wave functions and eigenenergies to the individual electrons of an atom. *Physica*, *1*, 104-113.

Kutluk, T., & Kars, A. (1994). General information about cancer. *Turkish Association of Cancer Research and Control Publications. Ankara: Prime Ministry Printing House*, 40-7.

Matoga, D., Szklarzewicz, J., Stadnicka, K., & Shongwe, M. S. (2007). Iron (III) complexes with a biologically relevant aroylhydrazone: crystallographic evidence for coordination versatility. *Inorganic chemistry*, *46*(22), 9042-9044.Mirzaie, S., Rafii, F., Yasunaga, K., Yoshunaga, K., Sepehrizadeh, Z., Kanno, S., ... & Shahverdi, A. R. (2012). Prediction of the mode of interaction between monoterpenes and the nitroreductase from Enterobacter cloacae by docking simulation. *Computers in Biology and Medicine*, *42*(4), 414-421.

Nirenberg MW, Matthaei JH. E. coli'de hücresiz protein sentezinin doğal olarak oluşan veya sentetik poliribonükleotidlere bağımlılığı. Proc Natl Acad Sci ABD 1961; 47 :1588–602.

Paget, S. (1889). The distribution of secondary growths in cancer of the breast. *The Lancet*, *133*(3421), 571-573.

Roa, B. B., Boyd, A. A., Volcik, K., & Richards, C. S. (1996). Ashkenazi Jewish population frequencies for common mutations in BRCA1 and BRCA2. *Nature genetics*, *14*(2), 185-187.

Roldán, M. D., Pérez-Reinado, E., Castillo, F., & Moreno-Vivián, C. (2008). Reduction of polynitroaromatic compounds: the bacterial nitroreductases. *FEMS microbiology reviews*, *32*(3), 474-500.

Rous PA Bulaşıcı bir kuş neoplazmı (kümes hayvanlarının sarkomu) . J Exp Med 1910; 12 :696–705.

Sasco, A. J. (2001). Epidemiology of breast cancer: an environmental disease? *Apmis*, *109*(S103), S80-S92.

Sausville, E. A. (2008). Principles of cancer treatment. *Harrison's principles of internal medicine*, 514-517.

Sausville, E. A., & Longo, D. L. (2001). Principles of cancer treatment. *Harrisons Principles of Internal Medicine*, *1*, 530-546.

Sausville, E. A., & Longo, D. L. (2005). Principles of cancer treatment: surgery, chemotherapy, and biologic therapy. *Harrisons Principles of Internal Medicine*, *16*(1), 464.

Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2018). Cancer statistics, 2018. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, *68*(1), 7-30.

Smith, R. A., Brooks, D., Cokkinides, V., Saslow, D., & Brawley, O. W. (2013). Cancer screening in the United States, 2013: a review of current American Cancer Society guidelines, current issues in cancer screening, and new guidance on cervical cancer screening and lung cancer screening. *CA: a cancer journal for clinicians*, *63*(2), 87-105.

Smith, R. A., Cokkinides, V., & Brawley, O. W. (2012). Cancer screening in the United States, 2012: A review of current American Cancer Society guidelines and current issues in cancer screening. *CA: a cancer journal for clinicians*, *62*(2), 129-142.

Studio, Discovery. "Discovery studio." Accelrys [2.1] (2008)

Tarver, T. (2012). American cancer society. cancer facts and figures 2014. J Consumer Health Internet, 16, 366-367.

Temin HM, Mizutani S. Rous sarkom virüsünün virionlarında RNA'ya bağımlı DNA polimeraz . Doğa 1970; 226 :1211–3.

Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of computational chemistry*, *31*(2), 455-461.

Urruticoechea, A., Alemany, R., Balart, J., Villanueva, A., Vinals, F., & Capella, G. (2010). Recent advances in cancer therapy: an overview. *Current pharmaceutical design*, *16*(1), 3-10.

Watanabe, M., Nishino, T., Takio, K., Sofuni, T., & Nohmi, T. (1998). Purification and characterization of wild-type and mutant "classical" nitroreductases of Salmonella typhimurium: L33R mutation greatly diminishes binding of FMN to the nitroreductase of S. typhimurium. *Journal of Biological Chemistry*, *273*(37), 23922-23928.

Watson JD, Crick FHC. Nükleik asitlerin moleküler yapısı: deoksiriboz nükleik asidin yapısı. Doğa 1953; 171 :737–8.

Wild, C. (2014). *World cancer report 2014* (pp. 482-494). C. P. Wild, & B. W. Stewart (Eds.). Geneva, Switzerland: World Health Organization.

Yildirim, I., Ilhan, I. Ö. (1997). Functionalization and cyclization reactions of various acetanilides with 4-benzoyl-5-phenyl-2, 3-furandione. Experimental and theroetical investigations. *Journal of heterocyclic chemistry*, *34*(3), 1047-1051.

Zenno, S., Saigo, K., Kanoh, H., & Inouye, S. (1994). Identification of the gene encoding the major NAD (P) H-flavin oxidoreductase of the bioluminescent bacterium Vibrio fischeri ATCC 7744. *Journal of bacteriology*, *176*(12), 3536-3543.

Zhang, J., Kale, V., & Chen, M. (2015). Gene-directed enzyme prodrug therapy. *The AAPS journal*, *17*, 102-110.

Zhang, Y., Zhang, K., Zhao, M., Zhang, L., Qin, M., Guo, S., & Gong, P. (2015). Discovery of a novel class anti-proliferative agents and potential inhibitors of EGFR tyrosine kinases based on 4-anilinotetrahydropyrido [4,3-d] pyrimidine scaffold: Design, synthesis and biological evaluations. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, *23*(15), 4591-4607.



T.C.
YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ