

Quantum Mechanical Calculations, Hirshfeld Surface Analysis, Molecular Docking, ADME and Toxicology Studies of the Ethyl 4-chloro-2-[(4-nitrophenyl)hydrazono]-3-oxobutrate Compound

Sefa Öztürk ^a, Tuğba Aycan ^{b,1}, Zeynep Keleşoğlu ^c, Cem Cüneyt Ersanlı ^d

^a Sinop Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Fizik Bölümü, Sinop/Türkiye
ORCID ID: 0000-0003-2036-7734

^b Sinop Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Fizik Bölümü, Sinop/Türkiye
ORCID ID: 0000-0002-5313-7807

^c Sinop Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Fizik Bölümü, Sinop/Türkiye
ORCID ID: 0000-0001-9538-9140

^d Sinop Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Fizik Bölümü, Sinop/Türkiye
ORCID ID: 0000-0002-8113-5091

Abstract

The theoretical chemical activity parameters of the compound Ethyl 4-chloro-2-[(4-nitrophenyl)hydrazono]-3-oxobutrate, which had previously been synthesized and crystallographically studied, were determined using Density Functional Theory (DFT). With Hirshfeld surface analysis, the effects of molecular interactions on the surface were defined with surface maps and the percentage contribution of the interactions of atoms with each other was determined. In addition, second-order nonlinear optical properties (NLO) and thermodynamic parameters were examined at temperatures between 100 and 1000 K. In addition, molecular docking study was carried out by downloading structure of a B-DNA dodecamer (PDB ID: 1BNA) from PDB (Protein Data Bank). ADME and toxicology properties were examined using the complex, *in-silico* method and it was discussed whether it had drug properties.

Keywords: “Quantum mechanical calculations, Hirshfeld surface analysis, molecular docking, ADME, toxicology.”

1. Giriş

Hidrazonlar azo şelat bileşiklerinin bir örneğidir. Hidrazon bileşiklerinin koordinasyon kimyası ilginç bir araştırma alanı olmaya devam etmektedir. Hidrazon, katalizörler [1, 2], moleküler sensörler [3] ve aynı zamanda terapötik ajanlar [4] olarak potansiyel uygulamalara sahip olan bir bileşik sınıfıdır. Bu tür bileşiklerin biyolojik özellikleri ve bağlanma modlarının çeşitliliği, bize koordinasyonun doğasını ve özelliklerini keşfetme konusunda ilham vermektedir. Moleküler modelleme yöntemi ile bu ligantların kimyasal ve fiziksel özellikleri aydınlatılabilir. Bilgisayar tabanlı bazı yaklaşımlar yaparak moleküler ve biyolojik özellikler belirlenebilir. Bilgisayar destekli ilaç keşfi ve geliştirme, aktif ilaç adaylarını belirlemek için büyük olasılıklı adaylar seçmek ve büyük olasılıklı adayları optimize etmek gerekmektedir. Yani biyolojik olarak aktif bileşikler fizikokimyasal, farmasötik, zayıf aktivite ve/veya zayıf absorpsiyon, dağılım, metabolizma, atılım ve toksisite farmakokinetik özellikleri geliştirilerek uygun ilaçlara dönüştürmek için kullanılmaktadır [5]. YFK, daha kısa sürede ve yüksek doğrulukla hesaplama yapma olanağı sağladığı için oldukça kullanışlıdır [6].

Etil 4-kloro-2-[(4-nitrofenil)hidrazono]-3-oksobütirat bileşiğinin deneysel çalışması Odabaşoğlu, et al. [7] tarafından yapılmıştır [7]. Bileşiğin kuramsal kimyasal aktivite parametreleri Yoğunluk Fonksiyonel Kuramı (YFK) kullanılarak belirlendi. Hirshfeld yüzey analizi ile moleküler etkileşimlerin yüzeye olan etkileri yüzey haritaları ile tanımlandı ve atomların birbirleriyle etkileşimlerinin yüzde katkısı belirlendi. Bunların yanı sıra ikinci dereceden lineer olmayan optik özellikleri (NLO) ve termodinamik parametreleri 100 ile 1000 K arasındaki sıcaklıklarda incelendi. B-DNA dodekamer yapısı Protein Data Bank'tan indirilerek, AutoDockVina yazılımı ile bileşik-DNA kenetleme çalışması yapıldı. İlaç-benzeri karakterlerini en iyi şekilde tahmin etmek için ilaç-benzerlik testi, ADME ve toksikolojisi *in-silico* yöntemlerle araştırıldı.

¹ Corresponding Author
E-mail Address: taycan@sinop.edu.tr

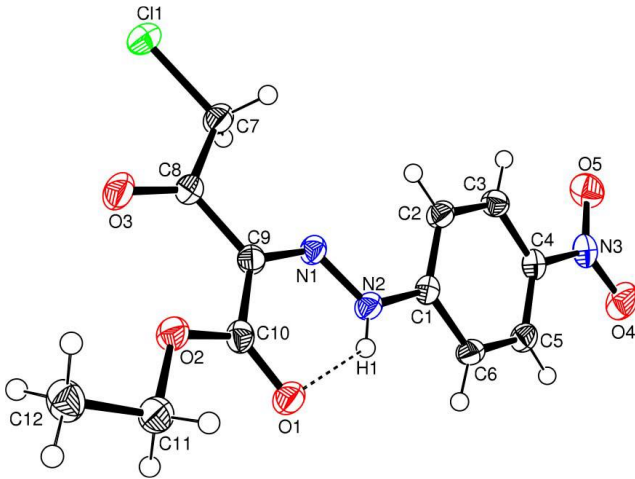
2. Materyal ve Metot

Kuramsal hesaplamalar yeni materyallerin sentezi için araştırmacılara öngörü kolaylığı sağlamaktadır. Bu organik molekül grupları için tercih edilen yöntem YFK'dır. Etil 4-kloro-2-[(4-nitrofenil)hidrazono]-3-oksobütirat bileşiminin hesaplamaları için Gaussian 09 [8] programı kullanıldı ve YFK/B3LYP/6-311G(d,p) baz seti seçildi. Tek kristalin cif uzantılı dosyası ile Hirshfeld yüzey analizi yapıldı. Bu analiz için Crystal Explorer 17.5 yazılımı kullanıldı [9]. B-DNA dodekamer PDB'dan (Protein Veri Bankası) indirildi (PDB ID:1BNA <http://www.rcsb.org/pdb>). Moleküler modelleme çalışmaları AutoDock Tool (ADT) v1.5.6 ve AutoDock Vina kenetleme yazılımı ile gerçekleştirildi [10]. ADT yazılımı ile enzimlerin suları ihmal edilerek polar hidrojen atomları eklendi. Grid ızgarası 1Å aralıklı olarak oluşturuldu. DNA ve bileşik arasındaki etkileşimler DS (Discovery Studio) yazılımı kullanılarak listelendi ve görselleştirildi [11]. Bileşiklerin ilaç-benzerlik özellikleri, SwissADME web sunucusu tarafından gerçekleştirildi. ADME parametrelerinin [Adsorpsiyon (A), dağılım (D), metabolizma (M), atılım (E)] yanı sıra küçük bileşiklerin farmakokinetik özellikleri, ilaca-benzerlik doğası, etkin ilaç araştırmaları için çalışıldı [12]. Bileşiklerin farmakokinetik özelliklerini incelemek için OpenBabelGui ve SwissADME çevrimiçi yazılımı kullanıldı [13]. Ayrıca, bu kimyasal bileşiklerin çeşitli toksikolojik özelliklerini tahmin etmek için ücretsiz web sunucusu ProTox-II (https://tox-new.charite.de/protox_II/) kullanıldı [14-16].

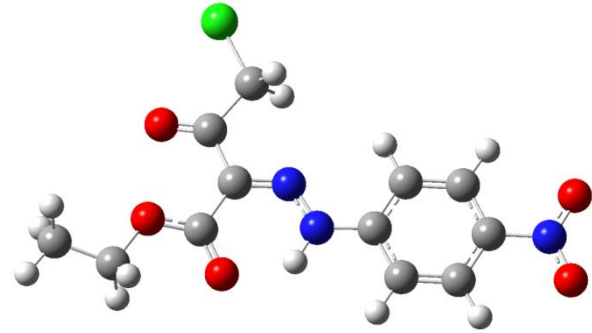
3. Bulgular ve Tartışmalar

3.1. Optimize Moleküler Yapı

Etil 4-kloro-2-[(4-nitrofenil)hidrazono]-3-oksobütirat kristalinin sentezi ve X-ışını kırınımı kullanılarak yapı tayini Odabaşoğlu ve arkadaşları tarafından yapılmıştır [7]. İncelenen kristal triklinik kristal sisteminde $P\bar{1}$ uzay grubunda olup, birim hücrelerinde 2 moleküle sahiptir. $C_{12}H_{12}ClN_3O_5$ kristali N1-N2 ve C1-N2 bağ uzunluğu değerleriyle (Tablo 1) keto-hidrazo formundadır. Bu yapıda imino grup, (Z) konfigürasyonunda olup, bağ uzunluğu değerleri C9-N1 1.306 (2) Å, C1-N2 1.396 (2) Å ve N1-N2 1.315 (2) Å olarak Odabaşoğlu, et al. [7] tarafından X-ışınları yöntemi ile belirlenmiştir. Kristal yapıda N-H...O molekül içi hidrojen bağı mevcuttur. Kristalin paket yapısı C-H...O, C-H... π ve π ... π etkileşimleri ile meydana gelmiştir [7]. Moleküle ait X-ışını kırınımı [7] ve YFK/B3LYP/6-311G(d,p) baz setine ait seçilmiş geometrik parametreler Tablo 1'de karşılaştırılmalı olarak verilmiştir. İncelenen molekülün X-ışını kırınımına ait [7] ve optimize yapı görünümü Şekil 1'de verilmiştir. Kuramsal hesaplamalar sonucunda elde edilen geometrik parametrelerin ve X-ışını kırınımına ait verilerin iyi uyum içinde olduğu görülmüştür.



a) Odabaşoğlu ve arkadaşlarının yapmış olduğu Etil 4-kloro-2-[(4-nitrofenil)hidrazono]-3-oksobütirat kristalinin X-ışını çalışmasının ORTEP-3görünümü [7]



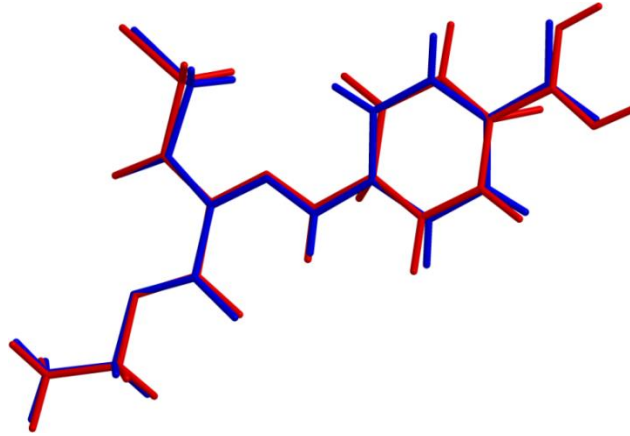
b) Optimize yapı görünümü

Şekil 1. (a) İncelenen yapının ORTEP-3; (b) optimize yapı görünümü.

YFK hesaplamaları moleküller arası etkileşimleri dikkate almaz ve gaz fazında tek bir molekül üzerinden hesaplamaları yapar. Bu sebeple parametrelerde gözlenen ufak farklılıklar beklenen bir sonuçtur. Bunu gösteren çizim ise çalışılan kristalin X-ışını saçılmasından kaynaklanan geometri (mavi) ile YFK yöntemi kullanılarak belirlenen optimize geometrinin (kırmızı) üst üste örtüşmesi (RMSE = 0,200 Å) ile Şekil 2'de gösterilmektedir.

Tablo 1. Odabaşoğlu ve arkadaşlarının çalışmış olduğu Etil 4-kloro-2-[(4-nitrofenil)hidrazono]-3-oksobütirat molekülüne ait YFK/B3LYP/6-311G(d,p) ve X-ışını kırınımı [7] yöntemine ait geometrik parametre verileri.

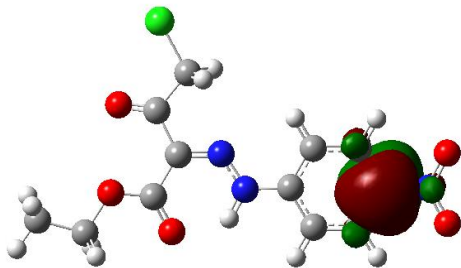
Bağ Uzunluğu (Å), Bağ Açısı (°)	X-ışını [7]	YFK/B3LYP/6-311G(d,p)
C1-N2	1.396 (2)	1.4017
C4-N3	1.460 (2)	1.4729
C7-C8	1.515 (2)	1.5385
C7-C11	1.773 (1)	1.7933
C8-O3	1.203 (2)	1.2044
C8-C9	1.491 (2)	1.4999
C9-N1	1.306 (2)	1.3100
C9-C10	1.481 (2)	1.4930
C10-O1	1.223 (2)	1.2259
N1-N2	1.315 (2)	1.3100
O3-C8-C9	123.11 (13)	123.0995
C8-C9-C10	123.84 (12)	123.2001
O1-C10-C9	121.80 (13)	121.9012
N2-N1-C9	122.43 (13)	122.5870
C1-N2-N1	118.68 (12)	121.4811



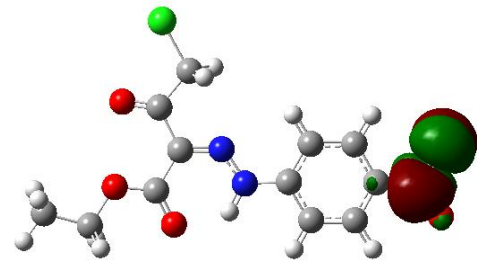
Şekil 2. İncelenen kristalin X-ışını saçılmasından kaynaklanan geometri (mavi) ile YFK yöntemi kullanılarak belirlenen optimize geometrinin (kırmızı) üst üste örtüşmesini gösteren çizim (RMSE = 0,200 Å).

3.2. Sınır Moleküler Orbitaleri

Optimize yapıya ait HOMO, LUMO enerjisi ve enerji aralığı sırasıyla -6.991 eV, -3.158 eV ve 3.833 eV olarak hesaplanmıştır. İncelenen molekülün HOMO ve LUMO orbitalleri Şekil 3'te verilmiştir. Elektrofilik indeksi 6.718 eV, elektron çekme gücü 5.075 eV iken maksimum yük transfer parametresi ise 1.324 olarak hesaplanmıştır. Yüksek enerji aralığı yapının yüksek sertlik 1.917 eV ve düşük yumuşaklık 0.261 (eV)^{-1} verilerine sahip olması ile düşük kimyasal aktivite ve yüksek kinetik kararlılık ile kimyasal aktiviteye yatkın olmayan ve oldukça kararlı bir yapı olduğu öngörülmektedir.



(a) Optimize yapının HOMO görünümü



(b) Optimize yapının LUMO görünümü

Şekil 3. İncelenen moleküle ait HOMO LUMO yüzey görünümü.

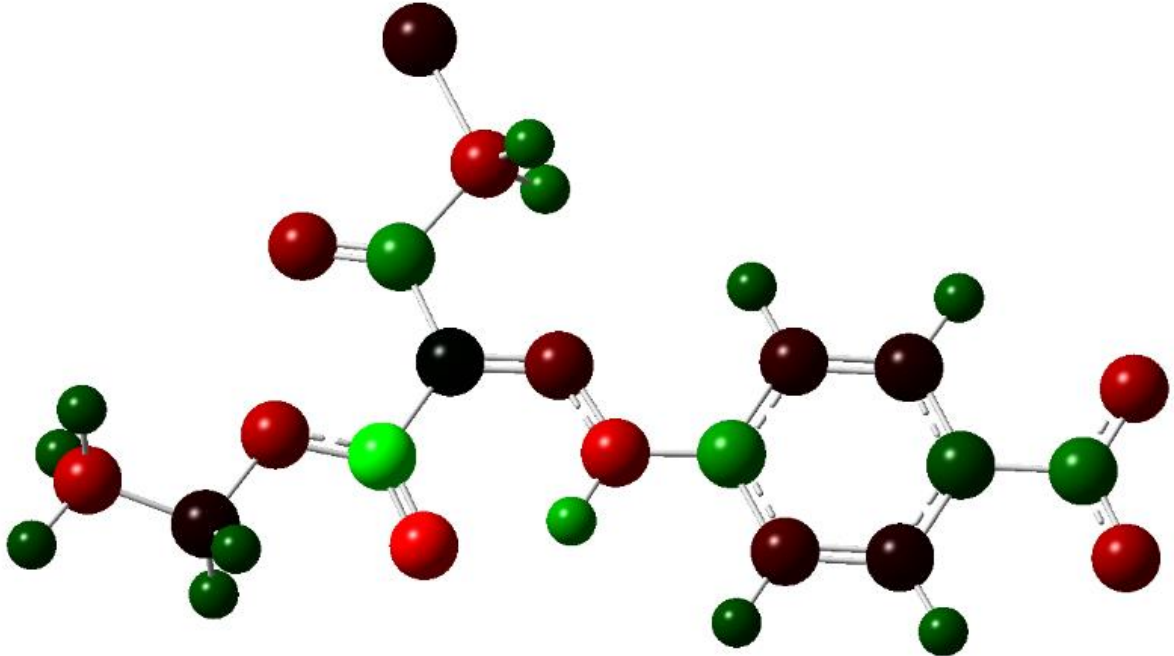
3.3. Mulliken Popülasyon (MP) Analizi

İncelenen moleküle ait her bir atomun net yükleri Tablo 2’de verilmiştir. En pozitif yükler C1, C6, C8, C9, C10, N3 ve tüm hidrojen atomları üzerinde, en negatif yükler ise C2, C3, C4, C5, C7, C11, C12, C11, N1, N2, O1, O2, O3, O4 ve O5 atomları üzerinde yerleşmişlerdir. Elde edilen atomik yükler arasında, H1 atomunun diğer hidrojen atomlarından daha büyük bir pozitif atom yüküne sahip olduğu gözlenmiştir ($0.242014e$). Bu analiz sonuçlarına göre çalışılan molekülün elektrofilik doğası, nükleofilik ve nötr doğaya karşı daha baskın olduğu görülmektedir.

Tablo 2. Mulliken popülasyon yükleri.

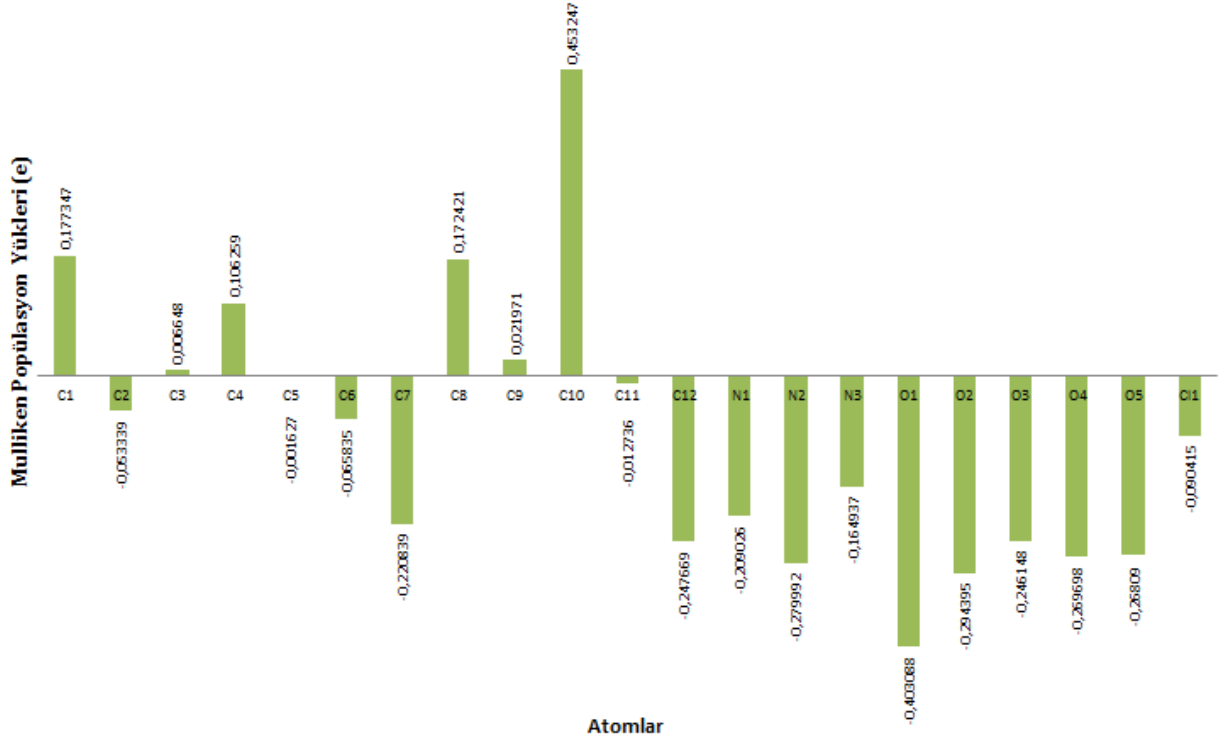
Atomlar	MP Yükleri (e)	Atomlar	MP Yükleri (e)
C1	0.249183	O3	-0.250360
C2	-0.088261	O4	-0.298934
C3	-0.069735	O5	-0.259568
C4	-0.087131	C11	-0.078325
C5	-0.063722	H1	0.242014
C6	0.124147	H2	0.112658
C7	-0.296187	H3	0.092597
C8	0.222102	H5	0.110485
C9	0.032118	H6	0.095528
C10	0.447111	H7A	0.172980
C11	-0.049785	H7B	0.172647
C12	-0.311229	H11A	0.118702
N1	-0.184300	H11B	0.122773
N2	-0.351554	H12A	0.108957
N3	0.180687	H12B	0.113287
O1	-0.380385	H12C	0.097437
O2	-0.300715		

En negatif yükün O1 atomu üzerinde olması yapının N-H...O hidrojen bağı yaptığını öngörmektedir. Atomların Mulliken yük renk dağılım görünümü Şekil 4’de verilmiştir.



Şekil 4. Optimize yapının Mulliken yük renk dağılım görünümü.

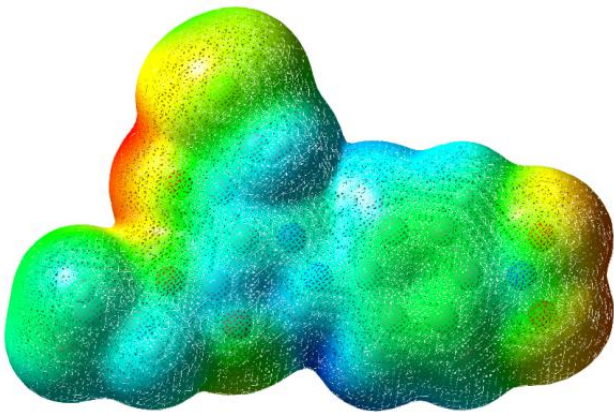
Hidrojen atomları hariç diğer atomlara karşılık gelen Mülliken popülasyon yük değerleri grafiği Şekil 5’de verilmiştir.



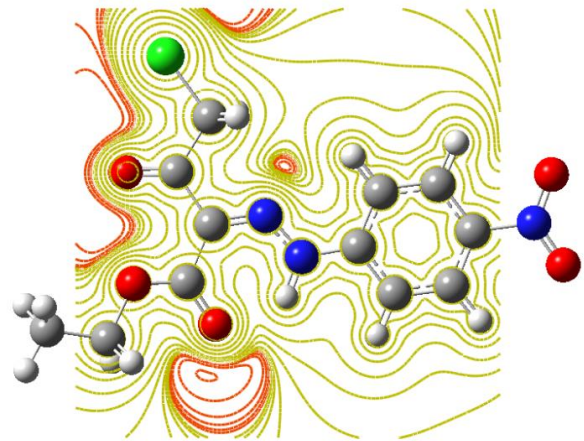
Şekil 5. Hidrojenler hariç molekülün Mulliken populasyon yükleri (e).

3.4. Moleküler Elektrostatik Potansiyel (MEP)

Kırmızı ile kodlanmış olarak görülen ve en yoğun oksijen atomlarının çevresinde yerleşmiş olan bölgeler hidrojen bağlarının oluşumunda aktif olan ve elektrofilik yatkınlığı fazla olan bölgeleri temsil etmektedir. Bu bölge moleküller arası bağların güçlü olduğu paketlenmede etkin bölgeleri gösterdiği öngörülmektedir. Nükleofilik doğanın baskın olduğu bölgeler ise hidrojen atomlarının yoğun olduğu bölgelerde yerleşmiş konumda bulunmaktadır. Sarıya yakın renkte olan kısımlarda ise benzen halkası ve Cl atomunun elektrofilik bölgeyi baskılamasından kaynaklanan bir kayma olarak gözlenmiştir. Moleküle ait MEP ve MEP kontör yüzeyi Şekil 6'da verilmiştir. MEP kontör yüzeyinde ise elektron yoğunluğunun iki boyutlu yüzey eğrileri şeklinde verilmiş gösterimi mevcuttur. MEP kontör haritaları elektrostatik potansiyeller gibi sabit yoğunluk veya parlaklık çizgilerini göstermek için kullanılır ve moleküler düzlemde çizilir. Elektron açısından zengin bölgeler genellikle kırmızı çizgilerle temsil edilirken, oksijen atomları etrafında ve zayıf molekül içi bağların olduğu azot atomları çevresinde lokalize olurlar. Elektron eksikliği olan bölgeler ise hidrojen atomlarının yoğun olduğu bölgelerde yeşilimsi sarı çizgilerle gösterilir.



(a) Optimize yapısının MEP görünümü

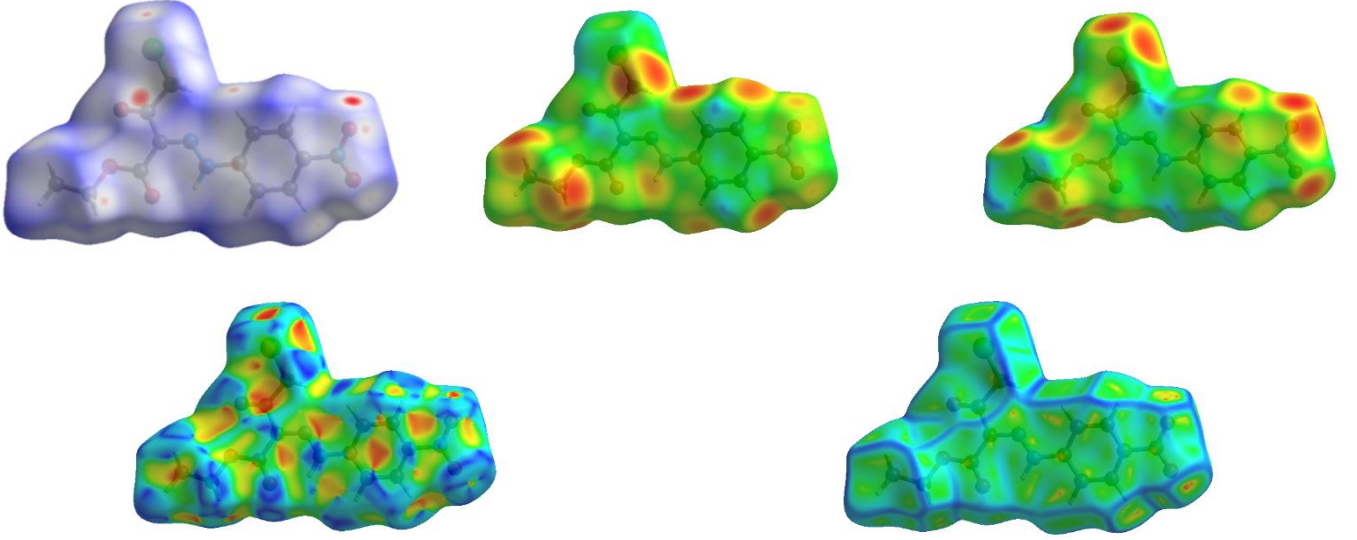


(b) Optimize yapısının MEP kontör görünümü

Şekil 6. İncelenen moleküle ait MEP VE MEP kontör görünümü.

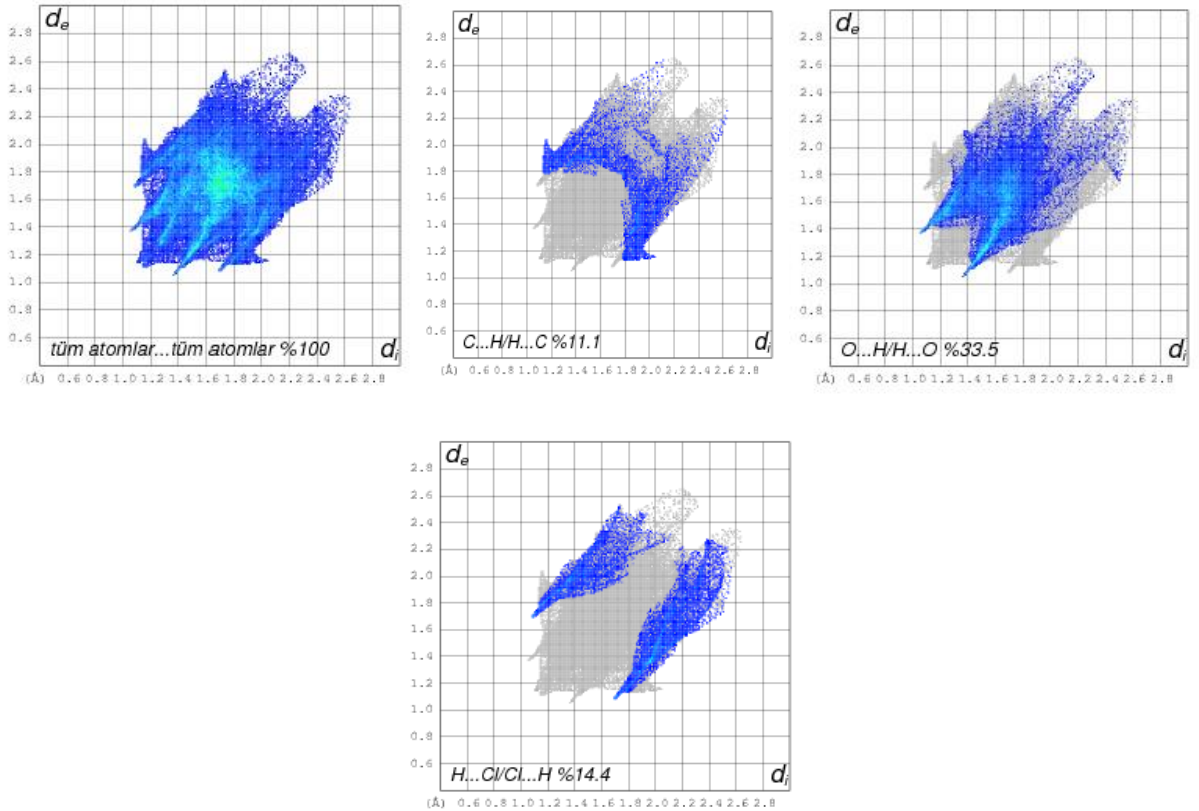
3.5. Hirshfeld YüzeY Analizi

Çalışılan moleküle ait d_{norm} , d_i , d_e , yüzeY indeks ve eğrilik indeksine ait haritalar Şekil 7’de verilmiştir. d_{norm} , d_i , d_e yüzeYlerine ait indisler sırasıyla -0.1302 ile 1.4650, 1.0551 ile 2.6395 ve 1.0582 ile 2.6584 aralığında elde edilmiştir. Şekil indeksi ve eğrilik indeksi ise sırasıyla -1 ile 1 ve -4 ile 4 aralığında gözlenmiştir (Şekil 7).



Şekil 7. İncelenen moleküle ait sırasıyla d_{norm} , d_i , d_e , yüzeY ve eğrilik indeksi Hirshfeld yüzeY haritaları görünümü.

Şekil indeksi ise moleküller arasında düzlemsel olarak meydana gelen $\pi \cdots \pi$ etkileşmelerini betimler. Bu etkileşimler, Hirshfeld yüzeyinin şekil indeksinde kırmızı ve mavi renkli birbirine bitişik üçgenler ile temsil edilir. İncelenen yapıya ait 2-boyutlu parmak izi bölgesi haritası Şekil 8’de görülmektedir. Toplam Hirshfeld yüzeyine ait en büyük katkılar $O \cdots H/H \cdots O$ (%33.5), $C \cdots H/H \cdots C$ (%11.1) ve $Cl \cdots H/H \cdots Cl$ (%14.4) etkileşimlerine aittir. Bu etkileşimler atom-atom arası yüzde etkileşimlerini temsil etmektedir.



Şekil 8. İncelenen molekülün atomlar arası etkileşimlerini gösteren 2D-parmak izi görünümü.

3.6. Nonlineer optik (NLO) Özellikleri

NLO özelliklere sahip bileşikler, sinyal işleme, optik bağlantı malzemeleri ve telekomünikasyon gibi birçok alanda uygulama potansiyeline sahip olmaları nedeniyle, kuantum tabanlı araştırmaların büyük önem taşıdığı kabul edilmektedir [17]. Dipol momenti (μ_d), ortalama polarizebilite (α) ve birim hacim başına düşen ikinci dereceden elektriksel duyarlılığı ifade eden birinci dereceden statik toplam moleküler hiperpolarizebilite (β) ifadeleri aşağıda verildi:

$$\mu_d = (\mu_x^2 + \mu_y^2 + \mu_z^2)^{1/2} \quad (1)$$

$$\alpha = \frac{1}{3}(\alpha_{xx} + \alpha_{yy} + \alpha_{zz}) \quad (2)$$

$$\beta = (\beta_x^2 + \beta_y^2 + \beta_z^2)^{1/2} \quad (3)$$

Doğrusal olmayan optik özellikler, moleküller arasında gerçekleşen yük transferinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca, hidrojen bağları molekülün doğrusal olmayan optik özelliklerinin ayarlanmasında önemli bir role sahiptir. Polarizabilite ve hiperpolarizabilite tensörleri ($\alpha_{xx}, \alpha_{xy}, \alpha_{yy}, \alpha_{xz}, \alpha_{yz}, \alpha_{zz}$ ve $\beta_{xxx}, \beta_{xxy}, \beta_{xyy}, \beta_{yyy}, \beta_{xxz}, \beta_{xyz}, \beta_{yyz}, \beta_{xzz}, \beta_{yzz}, \beta_{zzz}$), Gaussian'ın frekans işlemi çıktısı dosyası kullanılarak elde edilebilir (Tablo 3).

Tablo 3. Bileşiğin gaz fazında hesaplanan dipol moment (D) değeri ve polarizebilite ile hiperpolarizebilite bileşenleri (a.u.).

μ_x	-1.1717702	β_{xxx}	1885.1599596
μ_y	-1.659038	β_{xxy}	440.5445522
μ_z	0.4773463	β_{xyy}	-453.8806217
		β_{yyy}	-46.696185
α_{xx}	362.2451541	β_{xxz}	28.0864525
α_{xy}	-5.6438095	β_{xyz}	12.6825027
α_{yy}	195.6667178	β_{yyz}	-9.3290855
α_{xz}	5.3916331	β_{xzz}	-21.3247955
α_{yz}	3.7419512	β_{yzz}	-13.655867
α_{zz}	90.1549421	β_{zzz}	44.0132908

Çalışılan molekül için dipol momenti 5.3026 D, ortalama doğrusal polarizebilite 27.7425066 Å³ ve hiperpolarizebilite değeri 12.62270 x 10⁻³⁰ cm⁵.e.s.u.⁻¹ olarak hesaplanmıştır (Tablo 4). Üre, NLO özelliklerinin çalışılmasında yaygın olarak kullanılan bir referans moleküldür ve karşılaştırmalı amaçlar için genellikle bir eşik değeri olarak kullanılır. Bu çalışmada; Sun ve arkadaşları (2009) tarafından B3LYP/6-31G(d) yöntemiyle elde edilen üre değerleri ($\mu_d = 1.3732$ D, $\alpha = 3.8312$ Å³ ve $\beta = 3.7289 \times 10^{-31}$ cm⁵.e.s.u.⁻¹) ile karşılaştırma yapılmıştır [18]. Hesaplanan dipol moment, ortalama doğrusal polarizebilite ve hiperpolarizebilite değerleri üre değerlerinden sırasıyla 3.86, 7.24 ve 33.85 kat daha büyük bulunmuştur. Bu da bu molekül grubunun NLO malzemesi için etkili bir aday olabileceğini öngörmektedir.

Tablo 4. Bileşiğin gaz fazında hesaplanan toplam dipol moment, ortalama doğrusal polarizebilite ve hiperpolarizebilite değerleri.

Toplam Dipol Moment (μ_{tot}), (D)	5.3026
Ortalama Doğrusal Polarizebilite (α), (Å ³)	27.7425066
Hiperpolarizebilite (β), (cm ⁵ .e.s.u. ⁻¹)	12.62270 x 10 ⁻³⁰

3.7. Termodinamik Özellikleri

YFK, termodinamik özelliklerin tahmininde kullanılan bir yöntemdir ve bu özellikler arasında entalpi, entropi ve ısı kapasitesi gibi değerler yer almaktadır. Bu özellikler, kimyasal reaksiyonların oluşumu, termodinamik kararlılık ve reaksiyonun çevresel koşullara duyarlılığı hakkında önemli bilgiler sağlar. Farklı sıcaklık aralıklarında bu değerlerin incelenmesinin amacı, molekülün o sıcaklık aralığında nasıl davrandığını anlamaktır. Özellikle, düşük sıcaklıklarda molekülün hareketinin dönme ve translasyona bağlı olduğu, yüksek sıcaklıklarda ise titreşimlere bağlı olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, molekülün termodinamik davranışını farklı sıcaklıklarda anlamak için ısı kapasitesi, entalpi ve entropi değerlerinin sıcaklığa bağlı değişimlerinin incelenmesi önemlidir.

Bu çalışmada titreşim analiziyle elde edilen teorik harmonik frekanslar kullanılarak ısı kapasitesi [Cv(T)], entropi [S(T)] ve entalpi değişimi [H(T)] gibi statik termodinamik fonksiyonlar hesaplanmış ve bu değerler Tablo 5'de listelenmiştir. Tablodan

açıkça görülmektedir ki, standart termodinamik fonksiyonlar, moleküler titreşim yoğunluğunun sıcaklık artışıyla birlikte artmasından dolayı, 100 ile 1000 K arasındaki herhangi bir sıcaklıkta artış göstermektedir.

Tablo 5. İncelenen bileşiğin 100 ile 1000 K arasındaki termodinamik parametreleri.

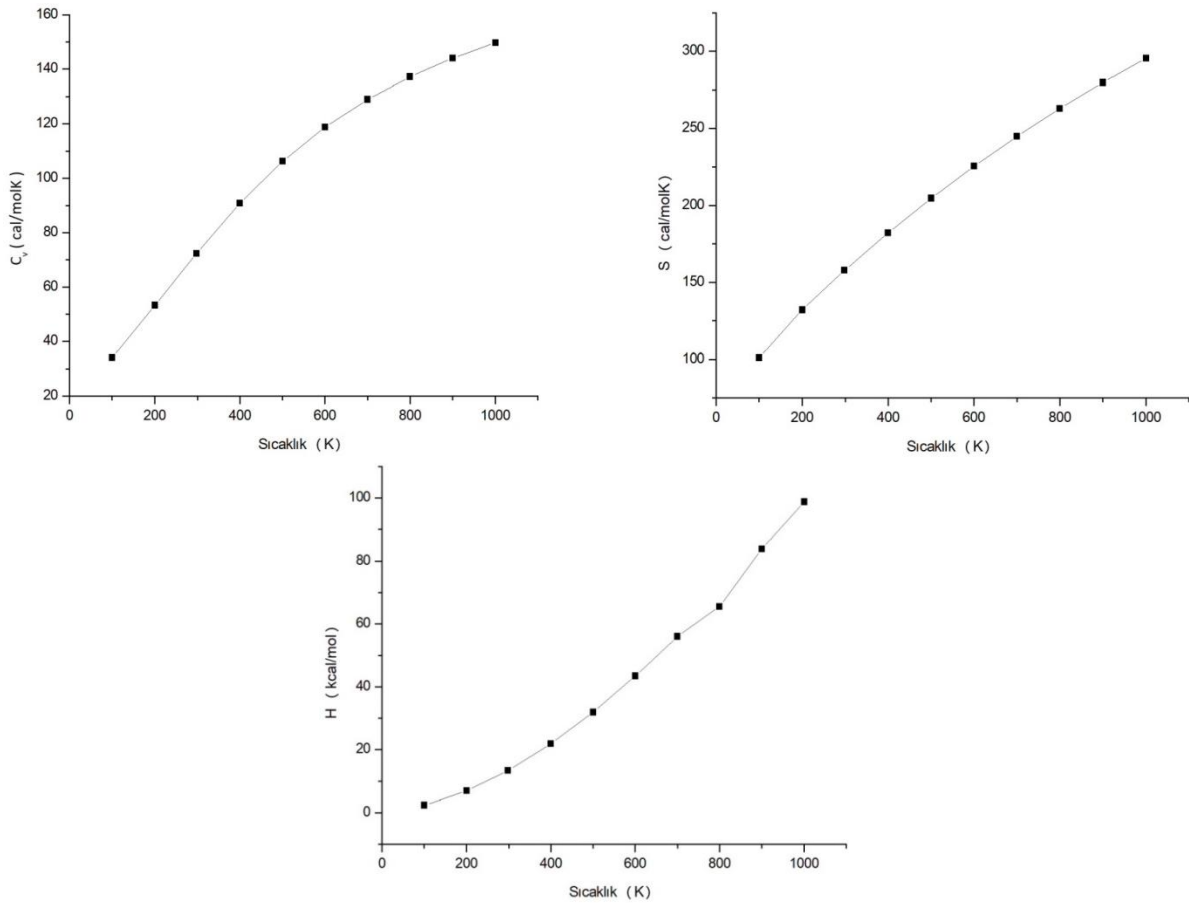
Sıcaklık (K)	C_v (cal/molK)	S (cal/molK)	H (kcal/mol)
100	34.170	101.110	2.394
200	53.312	132.076	6.971
298.15	72.305	157.696	13.330
400	90.837	182.174	21.861
500	106.285	204.603	31.940
600	118.831	225.493	43.418
700	128.957	244.905	56.024
800	137.211	262.947	65.545
900	144.027	279.748	83.815
1000	149.7720	295.436	98.710

Isı sığası, entropi, entalpi ve sıcaklık arasındaki ilişkilerin belirlenmesi için kuadratik formüller kullanılarak korelasyon denklemleri elde edildi. Bu termodinamik özellikler için uyum faktörleri (R^2) sırasıyla 0.99966, 0.99979 ve 0.99886 olarak bulundu. Elde edilen korelasyon grafikleri Şekil 9'da görselleştirildi.

$$C_v(T) = 10.13078 + 0.24199T - 1.02923 \times 10^{-4}T^2 \quad R^2 = 0.99966 \quad (4)$$

$$S(T) = 73.16666 + 0.30463T - 8.32425 \times 10^{-5}T^2 \quad R^2 = 0.99979 \quad (5)$$

$$H(T) = -2.38424 + 0.0353T + 6.59336 \times 10^{-5}T^2 \quad R^2 = 0.99886 \quad (6)$$



Şekil 9. İncelenen moleküle ait teorik olarak hesaplanan termodinamik özelliklerinin sıcaklıkla değişimi.

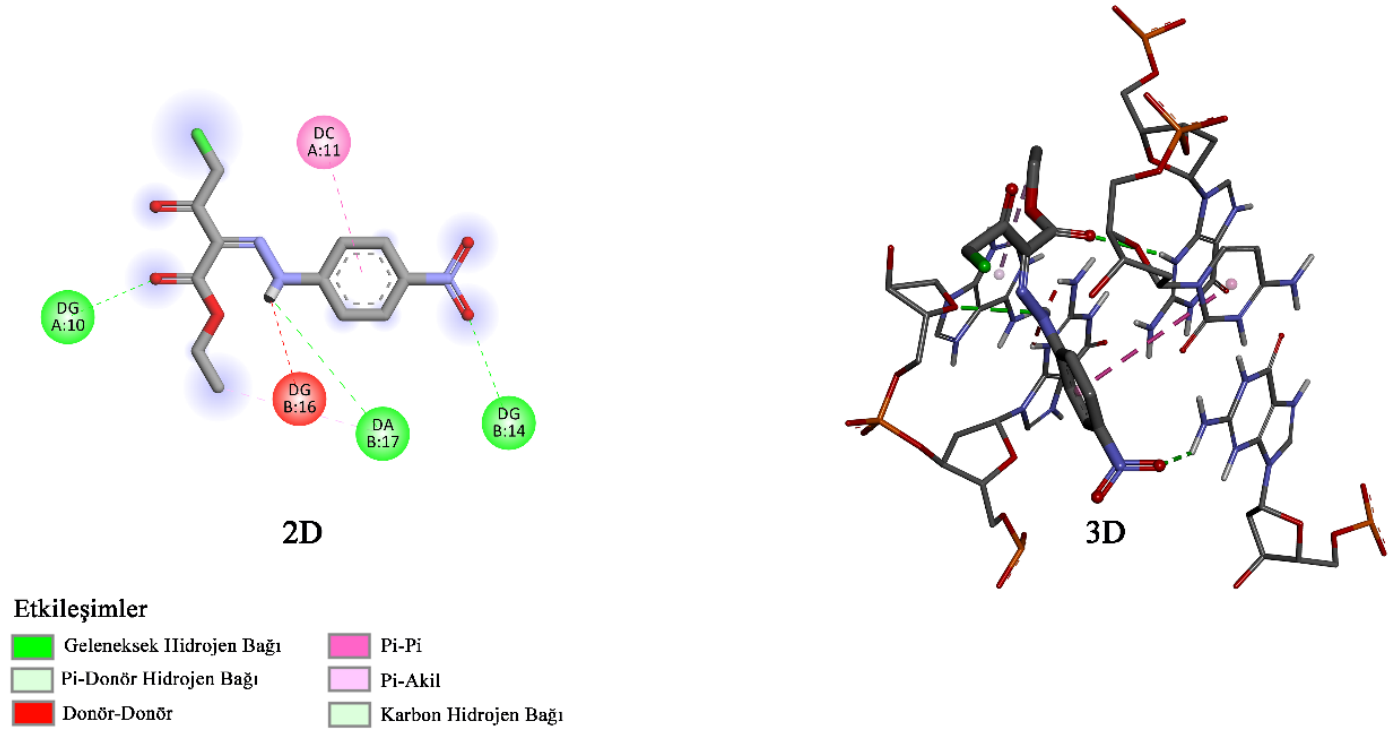
3.8. Moleküler Kenetleme Çalışması

DNA ve etil 4-kloro-2-[(4-nitrofenil)hidrazono]-3-oksobütirat bileşiğinin serbest bağlanma enerjisi hesaplanmıştır (Tablo 6). DNA ile bileşik arasında tahmin edilen serbest bağlanma enerjisi $-4.01 \text{ kcal.mol}^{-1}$ olarak bulunmuştur. İnhibisyon sabiti, (1.15 mM) olarak hesaplandı. İnhibisyon sabiti, bir bileşiğin bir enzimi nasıl inhibe edeceğini ve enzim için bir substrat ile nasıl etkileşime girebileceğini öngördüğü için çok önemlidir. İnhibisyon sabiti ne kadar düşükse, iyon ile reseptör antijeni arasında bir kimyasal reaksiyon olasılığı o kadar yüksektir. Bu nedenle enzim aktivitesini inhibe etmek için daha az ilaca ihtiyaç duyulur [19].

Tablo 6. Ligand-protein etkileşimi için moleküler yerleştirme enerji değerleri.

Afinite (kcal.mol^{-1})	-6.90
Tahmini serbest bağlanma enerjisi (kcal.mol^{-1})	-4.01
Tahmini inhibisyon sabiti, K_i (mM)	1.15
vdW+Hbağı+çözölmüş enerji (kcal.mol^{-1})	-6.01
Elektrostatik enerji (kcal.mol^{-1})	-0.39
Final toplam iç enerji (kcal.mol^{-1})	-0.99
Burulma serbest enerjisi (kcal.mol^{-1})	+2.39
Bağlanmamış sistemin enerjisi (kcal.mol^{-1})	-0.99

Bileşiğindeki karbonil ve nitrik oksit gruplarının O atomları, H-bağı etkileşimi yoluyla sırasıyla DNA'daki A:DG10 ve B:DG14 nükleotitleri ile etkileşime girer (Şekil 10).



Şekil 10. Etil 4-kloro-2-[(4-nitrofenil)hidrazono]-3-oksobütirat ve DNA boşluğuna en uygun bağlanmasının 2D ve 3D gösterim.

Ayrıca bileşik ile DNA arasında π -alkil ve π - π gibi kovalent olmayan etkileşimler bulunur (Tablo 7).

Tablo 7. En kararlı DNA (ID:1BNA) ile bileşiğin etkileşimlerinin ayrıntıları.

Uzaklık(Å)	Bağlanma Tipi	Alıcı Bağlanma Bölgesi	Bileşiğin Bağlanma Bölgesi	Bağlanma Modu
2.47412	H-Bağı	A:DG10:H3	:UNK0:O	H-Verici→ H-Alıcı
2.45780	H-Bağı	B:DG14:H22	:UNK0:O	H-Verici→ H-Alıcı
3.02046	H-Bağı	B:DA17:O4'	:UNK0:HN	H-Verici→ H-Alıcı
5.82812	Pi-Pi T-şekilli	A:DC11	:UNK0	π -Orbitalleri→ π -Orbitalleri
5.33310	Pi-Akil	B:DA17	:UNK0:C	π -Orbitalleri→ π -Akil

3.9. ADME ve Toksikoloji

İlacın insanlar üzerinde etki mekanizması ve farmakokinetik özelliklerini inceler. İlaç, düzgün dağılmalı, yavaş metabolize edilmeli ve doğru ve zararsız bir şekilde atılmalıdır. ADME özellikleri zayıfsa, o ilaç muhtemelen başarısız olmuştur [20]. Lipinski'nin beş kuralı ile ilaç benzeri özelliklere sahip olup ve olmadığını ayırt etmek için önemlidir [21]. Lipinski'nin beş kuralı şu şekildedir;

- (1) Molekül ağırlığı 500g/mol'den az olmalı,
- (2) LogP değeri 5'ten küçük olmalı,
- (3) H-bağı alıcı sayısı 5'ten az olmalı,
- (4) H-bağı verici sayısı 5' ten az olmalıdır 10,
- (5) Molar refraktivite 40 ile 130 arasında olmalıdır.

Bu kurallardan iki veya daha fazlasına uyan bileşikler yüksek ilaç benzerliğine sahiptir. İki'den az ise, daha az ilaç benzerliği gösterirler.

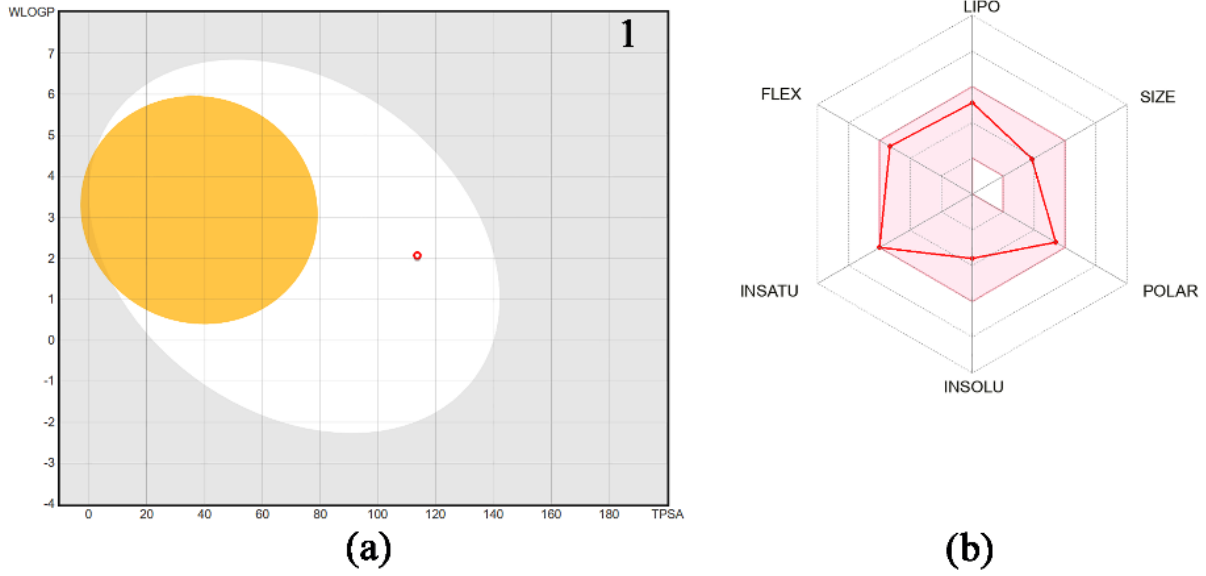
Bu çalışmadaki bileşik de Lipinski'nin beş kuralına göre değerlendirildiğinde, beş kurala uyar (ihlal yoktur). Bileşiğin fizikokimyasal özellikleri, ilaca benzerliği ve farmakokinetik özellikleri Tablo 8'de verilmiştir.

Tablo 8. Bileşiklerin SwissADME tahmini ile fizikokimyasal özellikleri, ilaca benzerliği ve farmakolojik özellikleri.

Fizikokimyasal Özellikler		İlaç Özellikleri		Farmokinetik Özellikler	
MA	313.69	WLogP	2.07	GI	yüksek
H-A	6	ILOGP	1.85	BBB	hayır
H-D	1	XLOGP3	3.40	P-gp substrat	hayır
TPSA	114	SA	2.97	CYP1A2	evet
Dönebilen bağlar	8	LogS	3.83	inhibitör	evet
MR	78.57			CYP2D6	hayır
Kırılma $C(sp^3)$	0.25			inhibitör	hayır
N(atomlar)	21			Log K_p	-5.80

MA=Moleküler ağırlık ($g.mol^{-1}$); H-A=H-bağı alıcı sayısı; H-D=H-bağı verici sayısı; LogS= Çözünürlük; TPSA=Toplam polar yüzey alanı; MR=Molar kırılma; N atoms=Atom sayısı; WLogP, ILOGP, XLOGP3=Lipofiliklik; SA=Sentetik erişilebilirlik; GI=Gastrointestinal; BBB=Kan beyin bariyeri; P-gp=P-glikoprotein; CYP1A2=Sitokrom P450 ailesi 1 alt aile A üyesi 2 (PDB: 2HI4); CYP2D6=Sitokrom P450 ailesi 2 alt aile D üyesi 6 (PDB:5TFT); Log K_p =Cilt geçirgenliği ($cm.s^{-1}$).

Bileşiğin kan-beyin penetrasyonu (BBB) ve gastrointestinal absorpsiyon (GI) özellikleri BOILED-Egg (The Brain Or Intestinal EstimateD) permeasyon yöntemi ile incelenmiştir. Bu yöntem, ilaç keşfi ve geliştirilmesinde önemlidir. Bileşiğin BOILED-Egg radarı Şekil 11.a'da gösterilmiştir. Sarı (sarı) bölge, gastrointestinal sistemin yüksek emilimini temsil ederken, beyaz bölge, kan-beyin bariyerine erişilebilirliği temsil eder. Nokta sarı bölgedeyse bileşik, merkezi sinir sistemine (CNS) ilaç taşınmasında sorun yaşayan kan beyin bariyerini (BBB) geçebilir [22]. Sarı bölgedeki kırmızı nokta, bileşiklerin beyinde p-glikoproteinden etkilenmeden kalabileceğini göstermektedir. Bileşiklerin P-gp (kırmızı nokta) olmayan bir substrat olduğu tahmin edilmektedir.



Şekil 11. Bileşiğin (a) BOILED-Egg radarı (b) Radar grafiği [LIPO: Lipofilite (WLogP), BOYUT: Moleküler Ağırlık (MW), POLAR: Polarite (TPSA), INSOLU: Çözünmezlik (LogS), INSATU: Doymunluk (Fraction Csp³), FLEX: Esneklik (Dönebilen bağlar)].

Bileşiklerin radar grafiği, molekülün çözünürlüğü, doymamışlığı, esnekliği, lipofilikliği, boyutu ve polaritesi makul sınırlar içinde olduğu için oral kullanıma uygun olduğunu göstermektedir (Şekil 11.b). Bileşiğin ILOGP değeri 1.85 olarak bulundu. Değer 5'ten küçük olduğu için bu bileşik lipofilik karaktere sahiptir, bu nedenle hücre zarından kolayca geçebilir ve yağda çözülerek kullanılabilir. Bileşik, yüksek bir GI emilimine sahiptir ve ayrıca kan beyin bariyerini geçebilir. Ayrıca sitokrom enzimlerinin hiçbirini inhibe etmeyeceği ve p-gp için bir substrat olmayacağı tahmin edilmiştir. Bileşik cilt yoluyla ortalama - 5.80 cm.s⁻¹ hızında emilebilir. TPSA değeri 114 Å² olarak bulunmuştur. Buna göre bileşiğin oldukça arzu edilen bir polar yüzey alanına sahip olduğu söylenebilir. Bu özellikler, bileşiğin yan etkiler açısından herhangi bir soruna yol açmayacağını göstermektedir. Yan etkilerinin araştırılması için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulsa da bu *in-silico* çalışmada, bileşiğin ADME sonuçları açısından daha az yan etkiye sahip ilaç olabileceği söylenebilir.

Bileşiğin LD₅₀ değeri, ProTox-II sunucusu kullanılarak 300 mg/kg olarak bulundu. LD₅₀ değeri ne kadar düşüğe öldürücü değer o kadar yüksektir. Bileşiğin yutulması halinde zararlı olabilecek sınıf 3'tedir (50<LD₅₀≤300). Bileşikte hepatotoksisite, kanserojenlik, immünotoksisitesi, hepatotoksisitesi ve sitotoksisitesi inaktif bulunurken, mutajenite aktif olduğu bulundu.

96h şişko-kafalı minnow LC₅₀ değerleri, sudaki kimyasal bileşiğin 96 saat sonra şişko-kafalı minnow'un %50'sini öldüreceği anlamına gelir. Oral sıçan LD₅₀ değeri (mg.kg⁻¹ vücut ağırlığı), oral alımdan sonra farelerin %50'sinin ölmesi için ne kadar kimyasal bileşik gerektiğini ifade eder. Bileşiğin bu değerleri, T.E.S.T yazılımı kullanılarak hesaplandı ve Tablo 9'da listelendi.

Tablo 9. T.E.S.T ve Pro-TOX II ile hesaplanan toksisite tahmin değerleri ve sonuçları.

Akut Toksiklik		Gelişmiş Toksiklik		Mutajenite	
Oral fare LD ₅₀ (mg.kg ⁻¹)	Şişko kafalı minnow LC ₅₀ (96 h) (mg.L ⁻¹)	Tahmini değer	Tahmini sonuçlar	Tahmini değer	Tahmini sonuçlar
1012.08	1.88	0.79	toksik	0.73	Pozitif
Organ Toksikitesi		Toksosite Bitiş Noktaları			
Hepatotoksisite	Kanserojenlik	İmmünotoksisite	Mutajenite	Sitotoksisite	LD ₅₀ (mg.kg ⁻¹)
İnaktif	İnaktif	İnaktif	Aktif	İnaktif	300

4. Sonuçlar

Bu çalışmada daha önceden sentezi yapılmış ve X-ışınları kırınımı analizi ile yapısı aydınlatılmış olan molekül grubunun kimyasal aktivite hesaplamaları yoğunluk fonksiyonel kuramını kullanılarak gerçekleştirildi. Bu kapsamda X-ışını kırınımı sonucunda elde edilen geometrik parametreler YFK/B3LYP/6-311G(d,p) baz seti kullanılarak elde edilen geometrik parametreler ile karşılaştırıldı. Hesaplamalar sonucunda kuramsal hesaplamalar sonucunda elde edilen geometrik parametrelerin X-ışını kırınımı ile elde edilen verileri başarılı bir şekilde temsil ettiği gözlemlendi.

Molekülün düşük kimyasal aktivite ve yüksek kinetik kararlılık ile oldukça kararlı olduğunu öngörmektedir. Moleküler elektrostatik potansiyel haritası ve Mulliken yük analizi ile yapının elektrofilik ve nükleofilik doğası incelendi. Bu çalışma kapsamında incelenen molekül grubu için kimyasal aktivite parametre verileri ile elektrofilik ve nükleofilik doğasının hangi bölgelerde yoğunlaştığının incelenmesi açısından önemli olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmada, incelenen yapının dipol momenti, polarizabilite ve hiperpolarizabilite değerleri hesaplanmış ve bu değerler yüksek optik özelliklere sahip bir referans madde olan üre ile karşılaştırmıştır. Gaz fazında incelenen molekülün hiperpolarizabilite değeri, üre ile kıyaslandığında 33.85 kat daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bunlara ek olarak termodinamik parametreler, kimyasal süreçlerin anlaşılmasında büyük öneme sahiptir. Bu çalışmada, bileşik için 100 ila 1000 K arasındaki sıcaklıklarda ısı kapasitesi, entropi ve entalpi korelasyon denklemleri elde edilmiştir. Termodinamik parametre sonuçları, sıcaklığın artmasıyla birlikte moleküler titreşimlerin yoğunluğunun arttığını göstermektedir. İlaç benzeri sonuçlar, iyi bir fizikokimyasal profile sahip olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar, gelecekte ilaç geliştirme çalışmaları için kullanılabilir. Kimyasal aktivite hesaplamalarının tersine ilaç benzeri çalışmalarda bileşiğin aktif rol oynayacağı öngörüldü. Bu ise kimyasal etkileşimde tek etkenin bu parametre verilerinin olmadığını sonucuna götürmüştür. Bileşiğin toksikolojik değeri toksiklik sınırında kalmıştır. Toksiklik açısından bakıldığında ilaç için iyi bir aday olduğu söylenemez. Ancak bileşiğin hem DNA'ya bağlanma skoru hem de ilaç özellikleri makul sınırlardadır.

Bu çalışmanın sonuçlarının, ileriki araştırmalarda araştırmacılara yeni materyal tasarımı ve sentezleme süreçlerinde rehberlik edeceği öngörülmektedir.

Referanslar

- [1] J. Pisk *et al.*, "Pyridoxal hydrazonato molybdenum(vi) complexes: assembly, structure and epoxidation (pre)catalyst testing under solvent-free conditions," *Rsc Adv*, 10.1039/C4RA08179J vol. 4, no. 73, pp. 39000-39010, 2014, doi: <https://doi.org/10.1039/C4RA08179J>.
- [2] O. Pouralimardan, A.-C. Chamayou, C. Janiak, and H. Hosseini-Monfared, "Hydrazone Schiff base-manganese(II) complexes: Synthesis, crystal structure and catalytic reactivity," *Inorganica Chimica Acta*, vol. 360, no. 5, pp. 1599-1608, 2007/04/01/ 2007, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ica.2006.08.056>.
- [3] M. Bakir, O. Green, and W. H. Mulder, "Synthesis, characterization and molecular sensing behavior of [ZnCl₂(η³-N,N,O-dpkbh)] (dpkbh=di-2-pyridyl ketone benzoyl hydrazone)," *Journal of Molecular Structure*, vol. 873, no. 1, pp. 17-28, 2008/02/17/ 2008, doi: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2007.03.001>.
- [4] M. Alagesan, N. S. P. Bhuvanesh, and N. Dharmaraj, "Potentially cytotoxic new copper(ii) hydrazone complexes: synthesis, crystal structure and biological properties," *Dalton Transactions*, 10.1039/C3DT50371B vol. 42, no. 19, pp. 7210-7223, 2013, doi: <https://doi.org/10.1039/C3DT50371B>.
- [5] I. M. Kapetanovic, "Computer-aided drug discovery and development (CADD): In silico-chemico-biological approach," *Chemico-Biological Interactions*, vol. 171, no. 2, pp. 165-176, 2008/01/30/ 2008, doi: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2006.12.006>.
- [6] N. Aydin and E. K. DOĞAN, "Focusing on the Structural, Electronic, Optic and Elastic Behaviours of RhBiSe Compound by Ab initio Calculations," *International Scientific and Vocational Studies Journal*, vol. 6, no. 1, pp. 13-21, 2022.
- [7] M. Odabaşoğlu, Ö. Özdamar, and O. Büyükgüngör, "Ethyl 4-chloro-2-[(4-nitro-phen-yl)hydrazone]-3-oxobutyrate," *Acta Crystallographica Section E*, vol. 61, no. 7, pp. o2068-o2070, 2005/07/01 2005, doi: <https://doi.org/10.1107/S1600536805017629>.
- [8] *Gaussian 09, Revizyon A.02.* (2009). Wallingford CT. [Online]. Available: <https://gaussian.com/>
- [9] *CrystalExplorer17.* (2017). The University of Western Australia Perth, WA, Australia.
- [10] O. Trott and A. J. Olson, "AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading," *Journal of computational chemistry*, vol. 31, no. 2, pp. 455-461, 2010, doi: <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>.
- [11] D. S. BIOVIA, "BIOVIA Discovery Studio Visualizer, v16. 1.0. 15350, San Diego: Dassault Systemes; 2015 [cited: 2017 Mar 20]," ed.
- [12] A. Daina, O. Michielin, and V. Zoete, "SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules," *Sci Rep-Uk*, vol. 7, no. 1, p. 42717, 2017/03/03 2017, doi: <https://doi.org/10.1038/srep42717>.

- [13] U. Norinder and C. A. Bergström, "Prediction of ADMET properties," *ChemMedChem: Chemistry Enabling Drug Discovery*, vol. 1, no. 9, pp. 920-937, 2006, doi: <https://doi.org/10.1002/cmdc.200600155>.
- [14] P. Banerjee, A. O. Eckert, A. K. Schrey, and R. Preissner, "ProTox-II: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals," *Nucleic acids research*, vol. 46, no. W1, pp. W257-W263, 2018, doi: <https://doi.org/10.1093/nar/gky318>.
- [15] P. Banerjee, F. O. Dehnbostel, and R. Preissner, "Prediction Is a Balancing Act: Importance of Sampling Methods to Balance Sensitivity and Specificity of Predictive Models Based on Imbalanced Chemical Data Sets," (in English), *Frontiers in Chemistry, Original Research* vol. 6, 2018-August-28 2018, doi: <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00362>.
- [16] M. N. Drwal, P. Banerjee, M. Dunkel, M. R. Wettig, and R. Preissner, "ProTox: a web server for the in silico prediction of rodent oral toxicity," *Nucleic Acids Research*, vol. 42, no. W1, pp. W53-W58, 2014, doi: <https://doi.org/10.1093/nar/gku401>.
- [17] D. Sajan, H. Joe, V. S. Jayakumar, and J. Zaleski, "Structural and electronic contributions to hyperpolarizability in methyl p-hydroxy benzoate," *Journal of Molecular Structure*, vol. 785, no. 1, pp. 43-53, 2006/03/06/ 2006, doi: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2005.09.041>.
- [18] Y.-X. Sun *et al.*, "Experimental and density functional studies on 4-(3,4-dihydroxybenzylideneamino)antipyrine, and 4-(2,3,4-trihydroxybenzylideneamino)antipyrine," *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, vol. 904, no. 1, pp. 74-82, 2009/06/30/ 2009, doi: <https://doi.org/10.1016/j.theochem.2009.02.036>.
- [19] T. Aycan, F. Öztürk, T. Doruk, S. Demir, M. Fidan, and H. Paşaoğlu, "Synthesis, structural, spectral and antimicrobial activity studies of copper-nalidixic acid complex with 1,10-phenanthroline: DFT and molecular docking," *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 241, p. 118639, 2020/11/05/ 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118639>.
- [20] J. Hodgson, "ADMET—turning chemicals into drugs," *Nature biotechnology*, vol. 19, no. 8, pp. 722-726, 2001, doi: <https://doi.org/10.1038/90761>.
- [21] E. Lipiński, *Semitic languages: outline of a comparative grammar*. Peeters Publishers, 2001.
- [22] F. İslamoğlu and E. Hacızafloğlu, "Investigation of the Usability of Some Triazole Derivative Compounds as Drug Active Ingredients by ADME and Molecular Docking Properties," *Moroccan Journal of Chemistry*, vol. 10, no. 3, 2022, doi: <https://doi.org/10.48317/IMIST.PRSM/morjchem-v10i3.30855>.