



**ALZHEIMER TEDAVİSİNDE ETKİLİ OLAN KOLİNESTERAZ SINIFI
ENZİMLERİN İNHİBİSYONUNUN SÜLFONİL HİDRAZON BİLEŞİKLERİ
İLE İNCELENMESİ**

Esra BİLEN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

MAYIS 2019

Esra BİLEN tarafından hazırlanan “ALZHEIMER TEDAVİSİNDE ETKİLİ OLAN KOLİNESTERAZ SINIFI ENZİMLERİN İNHİBİSYONUNUN SÜLFONİL HİDRAZON BİLEŞİKLERİ İLE İNCELENMESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Kimya Ana Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Ahmet YAŞAR

Kimya Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Başkan: Doç. Dr. Zülfikar TEMOÇİN

Kimya Ana Bilim Dalı, Kırıkkale Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Üye: Doç. Dr. Servet ÇETE

Kimya Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Tez Savunma Tarihi: 31 / 05 / 2019

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Prof. Dr. Sena YAŞYERLİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

.....
Esra BİLEN

31 / 05 / 2019

ALZHEIMER TEDAVİSİNDE ETKİLİ OLAN KOLİNESTERAZ SINIFI ENZİMLERİN İNHİBİSYONUNUN SÜLFONİL HİDRAZON BİLEŞİKLERİ İLE İNCELENMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Esra BİLEN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mayıs 2019

ÖZET

Bu tez çalışmasında asetilkolinesteraz ve bütrilkolinesteraza (AChE, BChE) karşı inhibisyon etkisi gösteren sülfonamid grubu içeren yeni bileşikler sentezlenmiş ve onların biyolojik aktiviteleri (IC_{50}) in vitro olarak belirlenmiştir. Çalışma iki aşamada tasarlanmıştır; ilk aşamada, önemli farmakolojik özelliğe sahip hem sülfonamid hem de hidrazin grubu içeren bileşiklerle, farklı substitue grubu içeren çeşitli aldehit ve keton bileşikleri kullanılarak daha kısa sürede ve daha çevreci bir yöntem ile bir seri alkil sülfonil hidrazon bileşikleri sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin yapıları, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR ve FT-IR yöntemleriyle karakterize edilmiştir. İkinci aşamada ise, sentezlenen alkil sülfonil hidrazon bileşiklerinin asetilkolinesteraz ve bütrilkolinesteraz enzimlerine karşı inhibisyon etkileri incelenmiştir. İnhibisyon etkilerinin belirlenmesinde Ellman Metodundan yararlanılmıştır. Bu metod, absorbans ölçümüne dayanan spektrofotometrik bir yöntemdir. Yapılan ölçümlerin sonuçları 'GraphPad Prism 6' programı kullanılarak IC_{50} değerleri hesaplanmıştır. Sonuçlara göre sentezlenen bileşiklerin hepsi AChE ve BChE enzimleri üzerinde inhibisyon etkisi göstermiştir. IC_{50} değerleri kıyaslandığında en iyi sonuçlar AChE enzimi için SH-2.3 bileşiği ($IC_{50} = 5,27 \pm 0,05 \mu M$), BChE enzimi için ise SH-3.3 bileşiği ($IC_{50} = 12,29 \pm 1,47 \mu M$) olduğu görülmektedir.

Bilim Kodu : 20104

Anahtar Kelimeler : Alzheimer hastalığı, kolinesteraz enzimleri, inhibisyon, sülfonil hidrazon, yeşil kimya, tek-kaplı sentez

Sayfa Adedi : 87

Danışman : Prof. Dr. Ahmet YAŞAR

INVESTIGATION OF INHIBITION OF CHOLINESTERASE CLASS ENZYMES
EFFECTIVE FOR ALZHEIMER'S TREATMENT WITH SULFONYL HYDRAZONE
COMPOUNDS

(M. Sc. Thesis)

Esra BİLEN

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

May 2019

ABSTRACT

In this thesis work, novel sulfonamide group containing compounds which show inhibition effects on acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase (AChE, BChE) were synthesized and their biological activities (IC_{50}) were determined in vitro. This work was designed in two stages; in the first stage, with using compounds that contain both sulfonamide and hydrazine groups which have important pharmacological properties, a series of alkyl sulfonyl hydrazone compounds were synthesized with a method that is less time consuming and more environmentalist by using different substitute groups containing aldehyde and ketone compounds. The structures of the synthesized compounds were characterized by ^1H -NMR, ^{13}C -NMR and FT-IR methods. In the second stage, the effects of the synthesized alkyl sulfonyl hydrazone compounds on acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase enzymes were examined. Ellman Method was followed for determination of inhibition effects. This is a spectrophotometric method that is based on absorbance measurement. IC_{50} amounts are calculated by processing the results of the absorbance measurements in 'GraphPad Prism 6' program. According to results, all of the synthesized compounds were showing inhibition effect on AChE and BChE enzymes. When IC_{50} amounts are compared, the best results are the compound of SH-2.3 for the AChE enzyme ($IC_{50} = 5,27 \pm 0,05 \mu M$) and the compound SH-3.3 for the BChE enzyme ($IC_{50} = 12,29 \pm 1,47 \mu M$) showed the best inhibition effect among all the synthesized compounds.

Science Code : 20104

Key Words : Alzheimer's disease, cholinesterase enzymes, inhibition, sulfonyl hydrazone, green chemistry, one-pot synthesis

Page Number : 87

Supervisor : Prof. Dr. Ahmet YAŞAR

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarım boyunca değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren, her türlü hayat tecrübesi kazanmamı sağlayan danışman hocam Prof. Dr. Ahmet YAŞAR'a teşekkürlerimi sunarım. Yüksek lisans tezimin her aşamasında bana yol gösteren, kendisi ile çalışma imkanını veren, her konuda ilgisini, bilgisini ve manevi desteğini benden esirgemeyen canım hocam Prof. Dr. Ümmühan ÖZDEMİR ÖZMEN'e en içten teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmalarına sağladıkları değerli bilgi, katkı ve desteklerinden dolayı Prof. Dr. Fatma ARSLAN'a ve Doç. Dr. Servet ÇETE'ye teşekkürlerimi sunarım. Sentez çalışmalarım da her türlü bilgi ve tecrübesini benimle paylaşan ve yol gösteren Ömer ŞAHİN'e teşekkürlerimi sunarım. Öğrencilik hayatım ve laboratuvar çalışmalarım boyunca desteğini, sevgisini ve kardeşliğini hiçbir zaman esirgemeyen ve her durumda yanımda olan çalışma arkadaşlarım Meryem ÇAT'a, Merve Asena ÖNCÜL'e ve Tuğba CENGİZ'e en içten teşekkürlerimi sunarım. Bugüne kadar hep yanımda olan beni yetiştirip bugünlere gelmemi sağlayan sevgili annem Mihriban BİLEN'e, sevgili babam Mehmet BİLEN'e ve canım kardeşim Muhammed Yusuf BİLEN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Kendimi bildim bileli, her zaman yan yana olamasak da her daim bir olduğumuz, hayallerimizi birlikte büyüttüğümüz ve dahi gerçekleştirdiğimiz can yoldaşım, biricik dostum, canım kuzenim Şeyma Nur ERKAN'a sonsuz sevgilerimle teşekkürlerimi sunarım. Yaşamım boyunca manevi desteklerini her zaman üzerimde hissettiğim, hayatıma amaç ve anlam katan yol göstericim, çok değerli büyüğüm Abdülbaki ELHÜSEYNİ'ye sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xiiv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Enzimler	3
2.2. Enzim İnhibisyonunun Farmasötik Önemi	4
2.2.1. Enzim inhibitörlerinin tasarım yolları	4
2.2.2. Enzim inhibitörlerinin kullanım alanlarına örnekler.....	5
2.3. Alzheimer Hastalığı (AH)	5
2.3.1. Amiloid (A β) hipotezi.....	5
2.3.2. Kolinergik kayıp hipotezi.....	6
2.4. Kolinesteraz Enzimleri.....	8
2.4.1. Kolinesterazların aktif bölgesi	10
2.4.2. Kolinesterazlar ve Alzheimer hastalığı	12
2.5. Sülfonamidler ve Sülfonil Hidrazonlar	13
2.5.1. Alzheimer hastalığı tedavisinde sülfonamidler ve sülfonil hidrazonlar....	14
2.6. Kaynak Araştırması.....	15
3. ARAÇ-GEREÇ VE DENEYSEL YÖNTEMLER.....	21
3.1. Sentez ve Enzim Çalışmalarında Kullanılan Kimyasal Maddeler	21

	Sayfa
3.2. Analizlerde Kullanılan Cihazlar	21
3.3. Sülfonil Hidrazonların Sentez Yöntemi	22
3.3.1. 4-Nitrobenzaldehit etansülfonilhidrazon (SH-1.1).....	24
3.3.2. 4-Nitrobenzaldehit propansülfonilhidrazon (SH-1.2)	25
3.3.3. 4-Nitrobenzaldehit bütansülfonilhidrazon (SH-1.3)	25
3.3.4. 4-Dimetilaminobenzaldehit etansülfonilhidrazon (SH-2.1).....	26
3.3.5. 4-Dimetilaminobenzaldehit propansülfonilhidrazon (SH-2.2)	26
3.3.6. 4-Dimetilaminobenzaldehit bütansülfonilhidrazon (SH-2.3).....	27
3.3.7. 5-Kloro-2-hidroksiasetofenon etansülfonilhidrazon (SH-3.1)	27
3.3.8. 5-Kloro-2-hidroksiasetofenon propansülfonilhidrazon (SH-3.2).....	28
3.3.9. 5-Kloro-2-hidroksiasetofenon bütansülfonilhidrazon (SH-3.3).....	28
3.3.10. 4-Metoksisalisilaldehit etansülfonilhidrazon (SH-4.1)	29
3.3.11. 4-Metoksisalisilaldehit propansülfonilhidrazon (SH-4.2).....	30
3.3.12. 4-Metoksisalisilaldehit bütansülfonilhidrazon (SH-4.3).....	30
3.4. Enzim İnhibisyon Çalışmalarında Kullanılan Çözeltiler	31
3.4.1. 0,1M Fosfat tamponları	31
3.4.2. 0,01M DTNB çözeltisi	31
3.4.3. 0,01M Substrat çözeltileri (Asetiltiyokolin iyodür ve S-Bütiriltiyokolin iyodür)	31
3.4.5. İnhibitör çözeltileri.....	32
3.5. Asetilkolinesteraz ve Bütirilkolinesteraz Enzimlerinin İnhibisyon Çalışma Yöntemi.....	32
3.6. Graphad Prism Programı ile IC ₅₀ Hesaplaması	34
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI.....	37
4.1. Sentezlenen Sülfonilhidrazonların NMR ve IR Yorumları.....	37
4.1.1. 4-Nitrobenzaldehit etansülfonilhidrazon (SH-1.1).....	37
4.1.2. 4-Nitrobenzaldehit propansülfonilhidrazon (SH-1.2)	40

Sayfa

4.1.3. 4-Nitrobenzaldehit bütansülfonilhidrazon (SH-1.3)	43
4.1.4. 4-Dimetilaminobenzaldehit etansülfonilhidrazon (SH-2.1).....	46
4.1.5. 4-Dimetilaminobenzaldehit propansülfonilhidrazon (SH-2.2)	48
4.1.6. 4-Dimetilaminobenzaldehit bütansülfonilhidrazon (SH-2.3).....	51
4.1.7. 5-Kloro-2-hidroksiasetofenon etansülfonilhidrazon (SH-3.1).....	53
4.1.8. 5-Kloro-2-hidroksiasetofenon propansülfonilhidrazon (SH-3.2).....	55
4.1.9. 5-Kloro-2-hidroksiasetofenon bütansülfonilhidrazon (SH-3.3).....	57
4.1.10. 4-Metoksisalisilaldehit etansülfonilhidrazon (SH-4.1)	60
4.1.11. 4-Metoksisalisilaldehit propansülfonilhidrazon (SH-4.2).....	63
4.1.12. 4-Metoksisalisilaldehit bütansülfonilhidrazon (SH-4.3).....	65
4.2. Sentezlenen Sülfonilhidrazonların AChE ve BChE Enzim Aktivite Sonuçları ...	68
4.2.1. 4-Nitrobenzaldehit etansülfonilhidrazon (SH-1.1).....	68
4.2.2. 4-Nitrobenzaldehit propansülfonilhidrazon (SH-1.2)	68
4.2.3. 4-Nitrobenzaldehit bütansülfonilhidrazon (SH-1.3)	69
4.2.4. 4-Dimetilaminobenzaldehit etansülfonilhidrazon (SH-2.1).....	70
4.2.5. 4-Dimetilaminobenzaldehit propansülfonilhidrazon (SH-2.2)	70
4.2.6. 4-Dimetilaminobenzaldehit bütansülfonilhidrazon (SH-2.3).....	71
4.2.7. 5-Kloro-2-hidroksiasetofenon etansülfonilhidrazon (SH-3.1).....	72
4.2.8. 5-Kloro-2-hidroksiasetofenon propansülfonilhidrazon (SH-3.2).....	72
4.2.9. 5-Kloro-2-hidroksiasetofenon bütansülfonilhidrazon (SH-3.3).....	73
4.2.10. 4-Metoksisalisilaldehit etansülfonilhidrazon (SH-4.1)	74
4.2.11. 4-Metoksisalisilaldehit propansülfonilhidrazon (SH-4.2).....	74
4.2.12. 4-Metoksisalisilaldehit bütansülfonilhidrazon (SH-4.3).....	75
4.2.13. Donepezil.HCl Standartı	76
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	79
KAYNAKLAR	81

ÖZGEÇMİŞ	86
----------------	----



ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Takrin'in molekül yapısı.....	6
Şekil 2.2. Donepezil'in molekül yapısı.....	7
Şekil 2.3. Rivastigmin'in molekül yapısı.....	7
Şekil 2.4. Galantamin'in molekül yapısı.....	7
Şekil 2.5. Asetilkolin'in hidroliz tepkimesi	8
Şekil 2.6. AChE'nin protein yapısının üç boyutlu gösterimi.....	9
Şekil 2.7. AChE enziminin aktif merkez bölgesi.....	9
Şekil 2.8. BChE enziminin aktif merkez bölgesi.....	10
Şekil 2.9. AChE'nin aktif merkez cebi	11
Şekil 2.10. BChE'nin aktif merkez cebi	11
Şekil 2.11. Asetilkolin molekül şekli.....	12
Şekil 2.12. AChE-Asetilkolin metabolizması.....	13
Şekil 2.13. Para-aminobenzen-sülfonamid.....	13
Şekil 2.14. Sülfonil hidrazon sentezi	14
Şekil 2.15. Sülfonil hidrazonların biyolojik özellikleri	15
Şekil 2.16. β -Benzilfenetilamin bazlı sülfonamid türevleri.....	16
Şekil 2.17. Hidrazid bazlı schiff bazları kolinesteraz inhibitörleri	16
Şekil 2.18. Piperidin sülfonamid türevi AChE inhibitörleri	17
Şekil 2.19. Piperidin bazlı BChE inhibitörleri	17
Şekil 2.20. Bisfenil katkılı piridiniliden hidrazon türevi kolinesteraz inhibitörleri.....	18
Şekil 2.21. Fenil hidrazon türevleri inhibitörler.....	18
Şekil 2.22. Sülfonil hidrazon türevleri AChE ve BChE inhibitörleri	18
Şekil 2.23. Sülfonamid türevleri kolinesteraz inhibitörleri.....	19
Şekil 2.24. Bifenil bis-sülfonamid türevi kolinesteraz inhibitörleri	19
Şekil 2.25. Piridin sülfonamid türevi kolinesteraz inhibitörleri.....	20

Şekil	Sayfa
Şekil 3.1. Sülfonilhidrazon bileşiklerinin tek kapta sentez şeması.....	23
Şekil 3.2. Sülfonilhidrazon bileşiklerinin sentez yöntemi	23
Şekil 3.3. SH-1.1 bileşiğinin sentez yöntemi	24
Şekil 3.4. SH-1.2 bileşiğinin sentez yöntemi	25
Şekil 3.5. SH-1.3 bileşiğinin sentez yöntemi	25
Şekil 3.6. SH-2.1 bileşiğinin sentez yöntemi	26
Şekil 3.7. SH-2.2 bileşiğinin sentez yöntemi	27
Şekil 3.8. SH-2.3 bileşiğinin sentez yöntemi	27
Şekil 3.9. SH-3.1 bileşiğinin sentez yöntemi	28
Şekil 3.10. SH-3.2 bileşiğinin sentez yöntemi	28
Şekil 3.11. SH-3.3 bileşiğinin sentez yöntemi	29
Şekil 3.12. SH-4.1 bileşiğinin sentez yöntemi	29
Şekil 3.13. SH-4.2 bileşiğinin sentez yöntemi	30
Şekil 3.14. SH-4.3 bileşiğinin sentez yöntemi	31
Şekil 3.15. Ellman yönteminde gerçekleşen tepkimeler	33
Şekil 3.16. IC ₅₀ hesaplaması için kullanılan sigmodial eğri	35
Şekil 4.1. SH-1.1 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.....	37
Şekil 4.2. SH-1.1 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu	38
Şekil 4.3. SH-1.1 bileşiğinin FT-IR spektrumu	39
Şekil 4.4. SH-1.2 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.....	40
Şekil 4.5. SH-1.2 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu	41
Şekil 4.6. SH-1.2 bileşiğinin FT-IR spektrumu	42
Şekil 4.7. SH-1.3 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.....	43
Şekil 4.8. SH-1.3 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu	44
Şekil 4.9. SH-1.3 bileşiğinin FT-IR spektrumu	45
Şekil 4.10. SH-2.1 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.....	46

Şekil	Sayfa
Şekil 4.11. SH-2.1 bileşiğinin FT-IR spektrumu	47
Şekil 4.12. SH-2.2 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu	48
Şekil 4.13. SH-2.2 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu	49
Şekil 4.14. SH-2.2 bileşiğinin FT-IR spektrumu	50
Şekil 4.15. SH-2.3 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu	51
Şekil 4.16. SH-2.3 bileşiğinin FT-IR spektrumu	52
Şekil 4.17. SH-3.1 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu	53
Şekil 4.18. SH-3.1 bileşiğinin FT-IR spektrumu	54
Şekil 4.19. SH-3.2 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu	55
Şekil 4.20. SH-3.2 bileşiğinin FT-IR spektrumu	56
Şekil 4.21. SH-3.3 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu	57
Şekil 4.22. SH-3.3 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu	58
Şekil 4.23. SH-3.3 bileşiğinin FT-IR spektrumu	59
Şekil 4.24. SH-4.1 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu	60
Şekil 4.25. SH-4.1 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu	61
Şekil 4.26. SH-4.1 bileşiğinin FT-IR spektrumu	62
Şekil 4.27. SH-4.2 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu	63
Şekil 4.28. SH-4.2 bileşiğinin FT-IR spektrumu	64
Şekil 4.29. SH-4.3 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu	65
Şekil 4.30. SH-4.3 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu	66
Şekil 4.31. SH-4.3 bileşiğinin FT-IR spektrumu	67
Şekil 4.32. SH-1.1 bileşiğinin AChE ve BChE enzimlerine ait IC_{50} grafikleri	68
Şekil 4.33. SH-1.2 bileşiğinin AChE ve BChE enzimlerine ait IC_{50} grafikleri	68
Şekil 4.34. SH-1.3 bileşiğinin AChE ve BChE enzimlerine ait IC_{50} grafikleri	69
Şekil 4.35. SH-2.1 bileşiğinin AChE ve BChE enzimlerine ait IC_{50} grafikleri	70
Şekil 4.36. SH-2.2 bileşiğinin AChE ve BChE enzimlerine ait IC_{50} grafikleri	70

Şekil	Sayfa
Şekil 4.37. SH-2.3 bileşiğinin AChE ve BChE enzimlerine ait IC ₅₀ grafikleri	71
Şekil 4.38. SH-3.1 bileşiğinin AChE ve BChE enzimlerine ait IC ₅₀ grafikleri	72
Şekil 4.39. SH-3.2 bileşiğinin AChE ve BChE enzimlerine ait IC ₅₀ grafikleri	72
Şekil 4.40. SH-3.3 bileşiğinin AChE ve BChE enzimlerine ait IC ₅₀ grafikleri	73
Şekil 4.41. SH-4.1 bileşiğinin AChE ve BChE enzimlerine ait IC ₅₀ grafikleri	74
Şekil 4.42. SH-4.2 bileşiğinin AChE ve BChE enzimlerine ait IC ₅₀ grafikleri	74
Şekil 4.43. SH-4.3 bileşiğinin AChE ve BChE enzimlerine ait IC ₅₀ grafikleri	75
Şekil 4.44. Donepezil.HCl standartının AChE ve BChE enzimlerine ait IC ₅₀ grafikleri.....	76
Şekil 4.45. Sülfonilhidrazonların AChE ait IC ₅₀ değerleri	78
Şekil 4.46. Sülfonilhidrazonların BChE ait IC ₅₀ değerleri	78

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Sentezlenen sülfonilhidrazon bileşiklerinin moleküler yapıları	22
Çizelge 3.2. Antikolinesteraz aktivite ölçümü yöntem tablosu	34
Çizelge 4.1. Sülfonilhidrazon bileşiklerinin kolinesterazlara karşı elde edilen IC ₅₀ değerleri	74



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
°C	Derece Celcius
g	Gram
mg	Miligram
M	Molar derişim
mM	Milimolar derişim
mL	Mililitre
MHz	Megahertz
nm	Nanometre
s	Saniye
µL	Mikrolitre
µM	Mikromolar derişim
v	Gerilme titreşimi

Kısaltmalar	Açıklamalar
Aβ	Beta-amiloid
ACh	Asetilkolin
AChE	Asetilkolin esteraz
AH	Alzheimer Hastalığı
ATCh	Asetil tiyokolin
ATP	Adenozin trifosfat
BChE	Bütiril kolin esteraz
CA	Karbonik anhidraz enzimi
Ch	Kolin
ChAT	Kolin asetiltransferaz

Kısaltmalar	Açıklamalar
ChE	Kolin esteraz
ChO	Kolin oksidaz
DMSO-d6	Dötorodimetilsülfoksit
DMSO	Dimetilsülfoksit
DTNB	5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit)
E	Enzim
E.A	Enzim Aktivitesi
EC	Enzim Kodu
EI	Enzim-inhibitör kompleksi
EIS	Enzim-inhibitör-substrat kompleksi
ES	Enzim-substrat ara kompleksi
Et₃N	Trietilamin
EtOH	Etanol
FT-IR	Fourier Transform Infrared Spektroskopisi
HCl	Hidroklorik Asit
I	İnhibitör
IC₅₀	E.A'nın % 50'sini inhibe etmesi için gerekli inhibitör derişim
K_i	İnhibisyon sabiti
K_m	Michealis-Menten sabiti
NMR	Nükleer Magnetik RezonansSpektroskopisi
TAC	Takrin
UV-GB	Ultraviyole Görünür Bölge Spektroskopisi

1. GİRİŞ

Dünyada insan nüfusunun ortalama yaşam süresinin artması ile birlikte pek çok sağlık problemi de ortaya çıkmıştır. Bunlar arasında Alzheimer Hastalığı (AH) önemli bir yer tutmaktadır. Hastaların yaşam kalitelerinin büyük ölçüde azalmasına ve sonunda ölümüne neden olan AH'nin sıklığı giderek artmaktadır. Dünyada 25 milyondan daha fazla Alzheimer hastasının olduğu ve her yıl beş milyon yeni hastanın eklendiği düşünülmektedir [1-3]. 2050 yılında bu hastalığa yakalananların sayısının dört katına çıkarak 106,8 milyona ulaşacağı düşünülmektedir. İnsanoğlu henüz Alzheimer Hastalığının patolojisini tam olarak aydınlatamamıştır. Dolayısıyla hastalığın tam olarak tedavisi günümüzde mevcut değildir. Bununla birlikte tedavi için çalışmalar sürmekte olup önemli gelişmeler kaydedilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucu semptomatik tedavi için kullanılacak çeşitli ilaçlar geliştirilmiş ve etki mekanizması birden fazla olan ilaçların önemi ortaya çıkmıştır [3].

AH'de en fazla fayda sağlayan ve üzerinde çalışılan ilaçlar kolinerjik ilaçlardır. Kolinerjik ilaçlardan en fazla kullanılan ya da denenilen ilaçlar ise kolinesteraz inhibitörleridir. AH'nin tedavisi için onaylanmış kolinesteraz inhibitörleri takrin, donepezil, rivastigmin, galantamin ve memantin gibi ilaçlardır. Bu ilaçlar, asetilkolinesterazın (AChE) inhibe edilmesi ile nörotransmitterdeki asetilkolin seviyesini artırmayı ya da N-metil-D-aspartik asit (NMDA) antagonize etmeyi hedeflemektedir [4].

Son zamanlarda, AH tedavisinde etkin olarak kullanılan sülfonamid türevlerinin kolinesteraz önleyici özellikleri belirlenmiştir [5]. Sülfonamidler, tıp endüstrisi için önemli bir bileşik ailesidir ve günümüzde farklı hastalıkların tedavisinde veya korunmasında yaygın olarak kullanılmaktadır [6]. Klinik tıpta antikanser [7], antimikrobiyal [8], antiobezite [9], anti karbonik anhidraz [10] ve Alzheimer Hastalığı için antikolinesteraz inhibitörü ajanları olarak faydalanılmaktadır [11,12].

Bu çalışmada kolinesterazlara (ChE) karşı inhibisyon etkisi gösteren sülfonamid grubu içeren yeni bileşikler sentezlemeyi ve bu bileşiklerin kolinesterazlar üzerindeki inhibisyon etkilerinin belirlemesi ve bunun yanı sıra bileşiklerdeki farklı substitue gruplarının enzim inhibisyonuna ne ölçüde etki ettiklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Elde edilen sonuçlar ışığında bileşiklerdeki substitue grupların biyolojik aktiviteye etkisinin belirlenmesi de etkili türevlerin hazırlanmasında ve yeni verimli ilaçların tasarımında kolaylık sağlayacaktır.

Çalışmamızın amacı, literatürde ilaç olarak önemi vurgulanmış olan sülfonamid ve hidrazin gruplarını farklı aromatik aldehit/ketonlarla kondenzasyon tepkimesi sonucunda önceden sentezlenmemiş olan yeni farmakolojik özelliğe sahip türler elde edilmesi ve bu türlerin Alzheimer hastalığı tedavisinde inhibitör olarak kullanılma potansiyellerinin araştırılarak yeni nesil ilaç adayı olup olamayacağının belirlenmesidir.

Bu çalışma kapsamında, Alzheimer hastalığında kullanılma potansiyeline sahip olabilecek, farklı substitue grupları içeren [-MeO, -NO₂, -OH, -Cl, -CH₃, -N(CH₃)₂] çevre dostu yeni on iki adet alkil sülfonil hidrazon bileşiklerinin sentezlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Enzimler

Enzimler, birkaç katalitik RNA molekülleri (ribozimler) dışında tamamı protein yapısında olan biyolojik katalizörlerdir. Canlılardaki kimyasal tüm reaksiyonların ılımlı koşullarda gerçekleşmesini ve hiçbir yan ürün meydana getirmeksizin %100 verimle ürün oluşumunu sağlarlar. Enzimlerin varlığında biyokimyasal dönüşümlerin gerçekleşmesi kolay ve hızlı olurken, enzimlerin yokluğunda bu dönüşümler ya gerçekleşmez ya da gerçekleşmesi çok uzun sürer. Bu nedenle enzimler yaşamın devamlılığı için vazgeçilmez biyomoleküllerdir [13].

Enzimler çoğunlukla sentetik ve anorganik katalizörlerden kat be kat fazla katalitik özellik gösterirler. Katalizör olarak etki ettikleri maddelere substrat denilmektedir. Substratlarına karşı yüksek spesifiklik gösterirler, katalizlediği tepkimeleri son derecede hızlı gerçekleştirmelerini sağlarlar [14].

Enzimler aktif bölge olarak bilinen cep şeklindeki merkezlerden substratlara bağlanırlar. Bir enzimin aktif bölgesi 2 anahtar bölge içerir. Birincisi tepkime süresince substrat ile etkileşim içinde olan katalitik bölge, ikincisi enzimin fonksiyonel gruplarının substratla etkileşmesini sağlayan bağlanma bölgesidir [15].

Kimyasal ve fiziksel birçok değişken enzimin katalizleme miktarı üzerinde etkilidir. Bu değişikliğin nedeni enzimin protein yapısının etkilenmesidir. Aktif bölgedeki amino asitlerin pH'sı, polaritesi ve hidrofobik durumu enzim aktivitesini etkileyen faktörlerdir. Enzimler optimum sıcaklıktaki sıvı ortamında ve sahip oldukları fizyolojik pH'da oldukça aktiftirler [16].

Enzim çalışmaları günlük yaşantımızdaki birçok problemin aydınlatılmasında da büyük önem arz etmektedir. Bazı hastalıklarda, özellikle kalıtsal yollarla nesilden nesile aktarılan genetik rahatsızlıkların bir veya daha fazla enzimin eksikliği ya da tamamen yokluğundan kaynaklandığı bilinmektedir. Enzim aktivitesinin normal değerinden yüksek olduğu

durumlarda da bazı hastalıkların ortaya çıktığı tespit edilmektedir. Bu nedenle çoğu ilaç etken maddesi enzimlerle etkileşimleri sağlanacak şekilde tasarlanmaktadır. [13].

2.2. Enzim İnhibisyonunun Farmasötik Önemi

Enzim inhibitörleri, enzimin katalizlediği reaksiyonu durduran ya da yavaşlatan moleküllerdir. Enzimlerin katalizleri hücrel faaliyetlerin yerine getirilmesinde çok önemli yere sahiptir. Bu nedenle enzim inhibitörlerinin farmasötik açıdan önem arz etmeleri beklenmedik bir durum değildir. Enzim inhibisyon çalışmaları, enzim mekanizmaları hakkında değerli bilgiler sağladığı gibi bize bazı metabolik yolları aydınlatmamız konusunda da yardımcı olmuştur [17].

Enzim aktivitesinin engellenmesi, bir metabolik bozukluğu düzeltebildiği ya da bir patojenin ölmesini sağladığından, ilaç moleküllerinin birçoğu aslında enzim inhibitörüdür. Biyokimya ve farmakoloji alanlarındaki araştırmaların çoğu bu konu üzerinde yoğunlaşmıştır. Enzim inhibitörü olması düşünülen ilaçların, enzime yüksek spesifite göstermesi ve düşük konsantrasyonlarında bile etki edebilmesi önemlidir. Bu sayede ilacın yan etkisi az, toksisitesi ise düşük olacaktır [18].

2.2.1. Enzim inhibitörlerinin tasarım yolları

Yeni enzim inhibitörlerinin keşfi ilaç tasarlamadaki ilk adımdır. Keşif yollarından biri ve günümüzde de hala kullanılan ve başarı kaydedilen bir yol olan deneme ve yanılma yoludur. Bu yöntemde hedef enzime etki edeceği düşünülen ilaç adayı bileşikler enzim ile etkileştirilerek en uygun ilacın bulunup onun üzerinden daha iyi türevlerinin geliştirilmesi sağlanmaktadır [19].

Son günlerde alternatif olarak geliştirilen dokingleme (moleküler yavaşlatma) yöntemi de kullanılmaktadır. Bu yöntemde inhibitör potansiyeli araştırılmak istenen molekül hedef enzimin aktif bölgesindeki üç boyutlu yapısı kullanılarak bu molekülün aktif bölgeye bağlanma miktarı teorik olarak öngörülmektedir. Bunun sonucunda olumlu veriler elde edilen moleküller deneysel olarak da o enzim üzerinde test edilir. Testler sonucunda inhibitör olabilme potansiyeli yüksek olan molekülde yapısal değişiklikler yapılarak enzimin

aktif bölgesine göre optimize edilir. Böylelikle enzime daha spesifik olan güçlü inhibitörler sentezlenebilmektedir [20].

2.2.2. Enzim inhibitörlerinin kullanım alanlarına örnekler

Yapay ve doğal olmak üzere temelde iki tip enzim inhibitörleri bulunmaktadır. Doğal inhibitörler genellikle bitki ve hayvanların savunma mekanizması dahilinde kendilerini korumak için ürettikleri toksik zehirlerdir. Yapay inhibitörler ise ilaç olarak kullanılmak üzere sentezlenen bileşiklerdir. Örneğin aspirin prostaglandin sentezindeki ilk basamağı katalizleyen enzimi baskılar. Prostaglandinler ağrı oluşumunda dahil olmak üzere birçok işlem ile de ilişkilidir. Penisilin ve vankomisin gibi birçok antibiyotik bakterilerin hücre duvarı sentezinden sorumlu enzimlerini inhibe ederek bakterilerin çoğalmasını önlerler [21]. Çoğu pestisit, insektisit ve herbisit ilaçlarda enzim inhibitörüdür. Bu ilaçların çoğu AChE enzimine karşı inhibisyon etkisi gösterirler [22].

2.3. Alzheimer Hastalığı (AH)

Günümüzde yaşlılarımızın ve ailelerinin korkulu rüyası haline gelen Alzheimer Hastalığı (AH) yaklaşık bir asır önce Dr. Alois Alzheimer tarafından tanımlanmıştır. Hastalıkla ilgili temel bilgilerin büyük çoğunluğu son 20 yılda keşfedilmiştir fakat günümüzde hala tedavi edilebilir ve önlenabilir bir hastalık değildir. Alzheimer hastalığının nedenleri birçok sebebe dayandırılmaktadır [23]; Alzheimer hastalığının moleküler mekanizmasının açıklanmasında ileri sürülen hipotezlerden en kabul gören iki temel hipotez, amiloid ve kolinergik kayıp hipotezleridir [24].

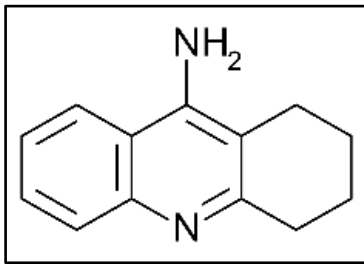
2.3.1. Amiloid (A β) hipotezi

Alzheimer hastalarında, beta-amiloid (A β) adındaki proteinin beynin belli bölgelerinde birikmesiyle çözünmez fibriller meydana gelir. Daha sonra bu fibriller senil plaklar oluşturarak sinir hücrelerini hasara uğrattığı, bu hücrelerin birbirleri ile olan bağlantılarını koparıp nörotransmitter miktarını azalttığını öne süren bir hipotezdir [25].

2.3.2. Kolinergik kayıp hipotezi

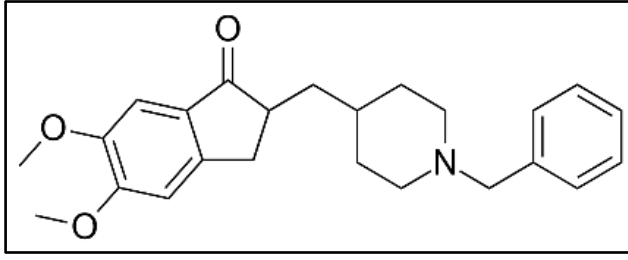
AH'li hastaların beyinlerinde belirgin şekilde kolinergik aktivite kaybının gözlenmesi ile dikkatler uzun süre kolinergik mekanizmalar üzerinde yoğunlaşmıştır [26]. Bu mekanizmada Kolinergik sinapslardan salınan asetilkolin miktarının Alzheimer hastalarında azaldığının saptanması ile 1970'lerde asetilkolini hidroliz yoluyla parçalayan bir enzim olan asetilkolinesterazın inhibe edilerek asetilkolin miktarının artırılması şeklinde bir yaklaşım ortaya çıkmıştır [27,28]. 1940'larda, asetilkolinesteraz ve bütirikolinesteraz olmak üzere iki tip kolinesteraz enzimi olduğu keşfedilmiştir. Bunlardan asetilkolinesteraz enzimi, vücutta merkezi ve periferik, kolinergik ve adrenerjik, sinir ve kas dokusunda, eritrositlerde ve plasental dokuda; bütirikolinesteraz ise karaciğer ve plazma dâhil birçok doku ile merkezi ve periferik sinir sisteminde daha yaygın olarak bulunmaktadır [28]. Son zamanlarda yapılan araştırmalarda, bütirikolinesteraz miktarının, Alzheimer hastalarının beyinlerinde normal bireylerin beyinlerden daha fazla olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla, bütirikolinesteraz inhibisyonunun da asetilkolinesteraz inhibe eden ilaçlarla doğrudan ilgili olabileceği düşünülmektedir [29].

Günümüzde Alzheimer Hastalığının tedavisinde asetilkolinesteraz inhibitörleri, belirli bir başarı oranının elde edildiği tek ilaç grubudur. Alzheimer Hastalığı tedavisinde ilk geliştirilen inhibitör takrindir. Ancak hepatotoksisite oluşturabilmesi ve serum alanin aminotransferaz miktarını arttırması sebebiyle kullanımı sınırlandırılmıştır [30].



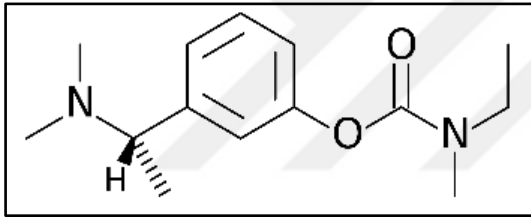
Şekil 2.1. Takrin'in molekül yapısı

Piperidin sınıfı bir ilaç olan donepezil, enzimatik tepkimeyi geri dönüşümlü (reversible) ve nonkompetatif yolla inhibe eden asetilkolinesteraz inhibitörüdür. Takrin, bütirikolinesterazı (BChE) ve asetilkolinesterazı (AChE) aynı derecede inhibe ederken donepezil AChE'yi daha fazla inhibe eder [31]. Klinik uygulamada, hafif-orta evre AH tedavisinin yanı sıra ileri evre AH'de de etkinlik gösterdiği kanıtlanmıştır [32].



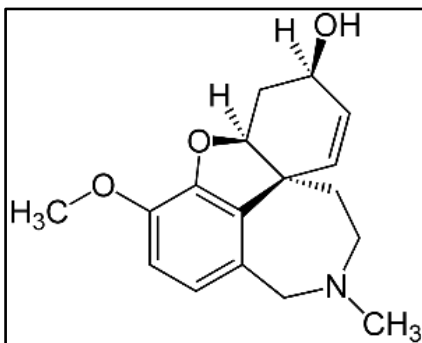
Şekil 2.2. Donepezil'in molekül yapısı

Rivastigmin, prelinik biyokimyasal çalışmalarda belirgin merkezi sinir sistemi seçiciliği gösterilmiş, kısmi geri dönüşümlü bir AChE inhibitörüdür. Aynı zamanda BChE enzimini de inhibe eder. Klinik uygulamalar; günde 6-12 mg rivastigmin ilacının alınması sonucunda hafif-orta şiddetteki Alzheimer hastalarında, günlük aktiviteleri ve kişilik özelliklerinde iyileşme görülmüştür. Daha yüksek dozlar verildiğinde daha iyi sonuçlar gözlenmiştir [33, 34].



Şekil 2.3. Rivastigmin'in molekül yapısı

Alzheimer hastalığının tedavisinde son zamanlarda kullanıma giren galantamin ise, AChE inhibitörü olmanın yanısıra beyinde nikotinik asetilkolin reseptör agonisti olarak da etki etmektedir. Bu etkileri ile kolinerjik işlevleri arttırmaktadır. Günde 16 ve 24 mg galantamin alan hastalar arasında bilişsel fonksiyonların düzelmesinde anlamlı bir fark gözlenmiştir [35].

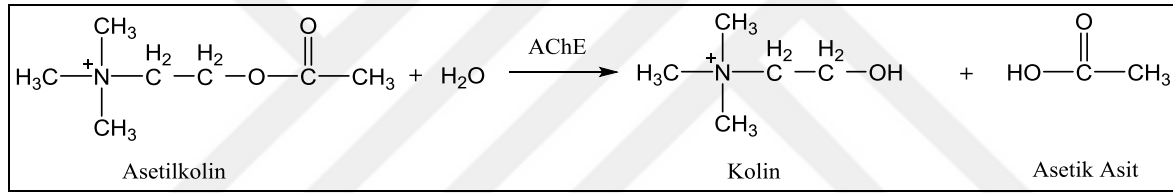


Şekil 2.4. Galantamin'in molekül yapısı

2.4. Kolinesteraz Enzimleri

Yaşamımız boyunca, sürekli enzimlere ihtiyacımız vardır. Metabolik faaliyetler, en küçük yaşamsal bir aktivitede bile meydana gelmektedir. Bunu sağlayan enzimlerdir ve her biri canlılar için oldukça önemlidir. Kolinesterazlar enzimleri de enzimler sınıfında önemli bir yer tutmaktadır. Kolinesterazlar, kolin esterlerinin hidrolizini gerçekleştiren hidrolaz sınıfı enzimlerdir. Asetilkolinesterazlar (AChE; EC.:3.1.1.7) ise kolinesterazlar içinde en bilinenidir. AChE, sinir ucunda biriken kimyasal molekülleri parçalayarak uzaklaştırır. Bu sayede, elektron taşıyıcılarına uygun ortam oluşturularak sinir iletiminde herhangi bir aksaklık meydana gelmemesini sağlarlar [36].

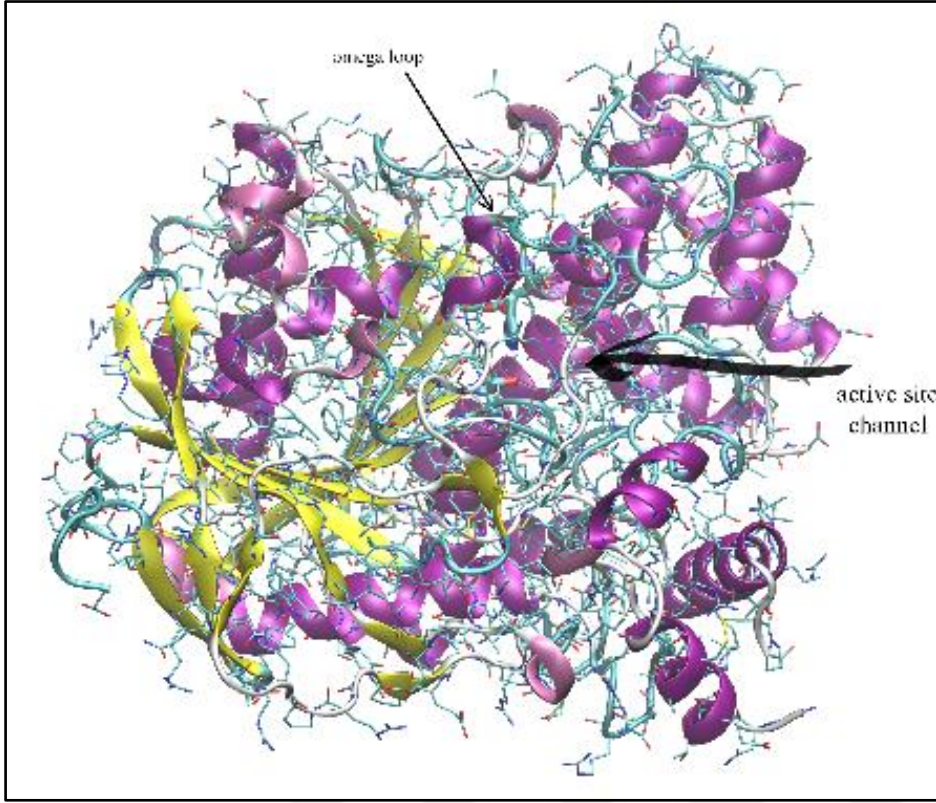
AChE enzimi, Asetilkolin (ACh) nörotransmitter maddesinin hidrolizleme işleminin katalizinde görev alır ve biyolojik açıdan önemi büyüktür [37].



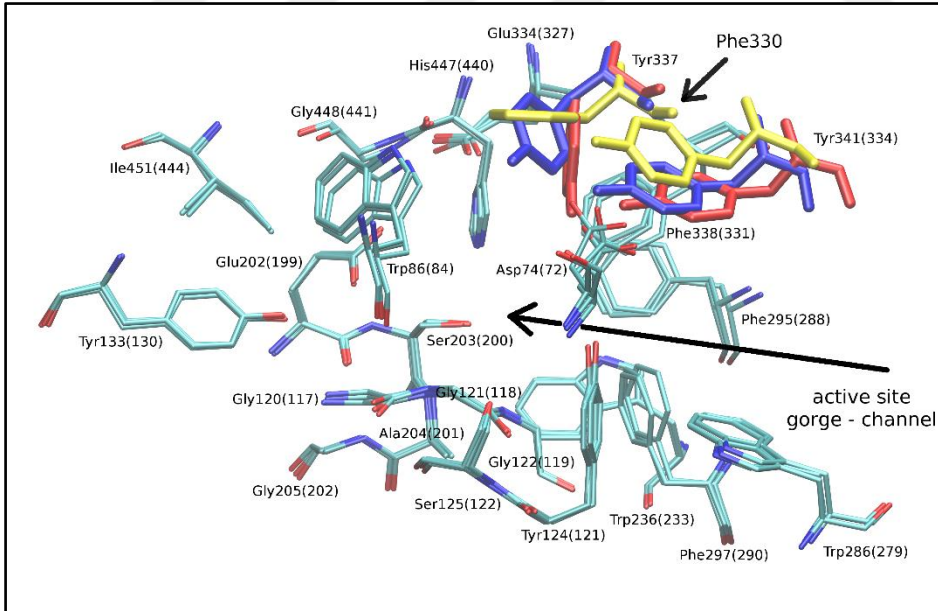
Şekil 2.5. Asetilkolin'in hidroliz tepkimesi

ACh'nin iki sinir hücresi arasındaki sinir impulsu taşıma görevi sağlayan nörotransmitter madde görevi gördüğü bilinmektedir. Yapılan son çalışmalarda taşıma görevinin yanı sıra sinir hücreleri ve kas lifleri boyunca biyoelektriksel akımın oluşmasında da görevli olduğu ortaya çıkmıştır [38,39].

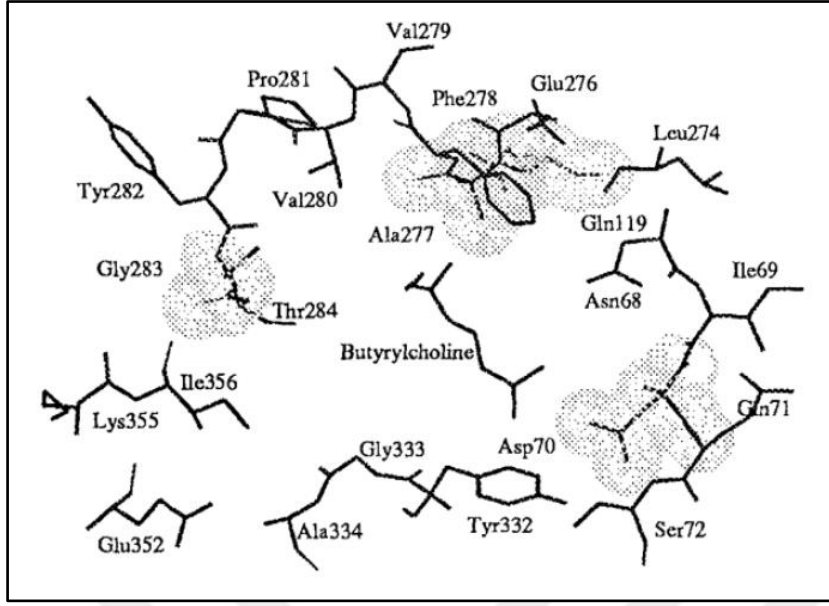
Kolinesterazlar asetilkolin ve bütirilkoline olan substrat seçicilikleri nedeniyle 2 gruba ayrılır. Asetilkolinesteraz (AChE, asetilkolinasetilhidrolaz, EC 3.1.1.7) gerçek kolinesteraz; Bütirilkolinesteraz ise (BChE, açilkolinaçilhidrolaz, EC 3.1.1.8) psödokolinesteraz, serum kolinesterazı ya da nonspesifik kolinesterazı olarak bilinir. AChE ile BChE'ı birbirinden ayıran diğer bir önemli özellik de yüksek substrat derişimlerinde AChE'in inhibe olması, BChE'in ise aktive olmasıdır [40]. AChE; beyin, sinir hücrelerinde, kasta ve eritrositlerde yüksek yoğunlukta bulunurken, BChE ise; serum, pankreas, karaciğer ve santral sinir sisteminde bulunur özellikle bu enzimler hayvanlar âleminde de oldukça yaygındır [40,41]. AChE'in temel işlevi kolinerjik nörotransmisyonu sonlandırmaktır fakat BChE'in gerçek fizyolojik işlevi henüz tam bilinmemektedir [42].



Şekil 2.6. AChE'nin protein yapısının üç boyutlu gösterimi



Şekil 2.7. AChE enziminin aktif merkez bölgesi



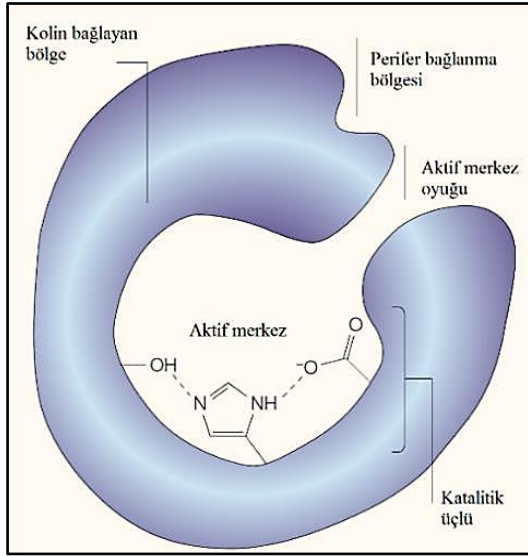
Şekil 2.8. BChE enziminin aktif merkez bölgesi

Kolinesterazlar aynı zamanda hücre yenilenmesi, farklılaşması, çeşitli etkenler sonucunda oluşan strese yanıt ve amiloid oluşumunda da rol oynarlar [43].

2.4.1. Kolinesterazların aktif bölgesi

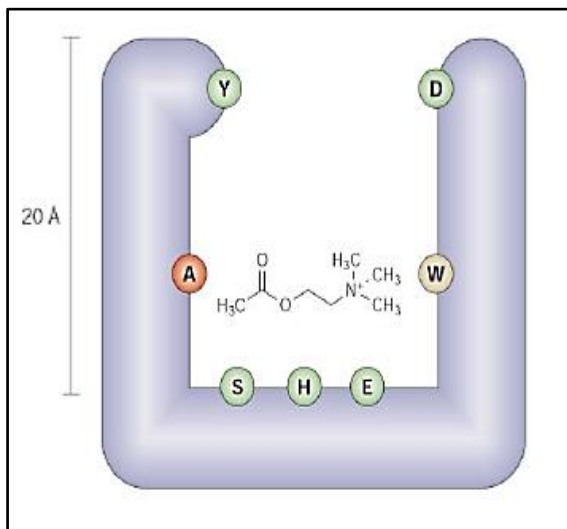
Kolinesteraz enzimlerinin aktif merkezini oluşturan amino asitler katalitik üçlü olarak adlandırılırlar. C uç kısmında bulunan amino asitler çeşitlilik göstermektedirler.

Her asetilkolinesterazın, merkezdeki esteratik bölge ve perifer anyonik bölge olarak adlandırılan iki ana aktif merkez bölgesi bulunmaktadır (Şekil 2.9). Esteratik bölgede imidazol halkası ve serin amino asidine ait -OH grubu bulunmaktadır. Esteratik bölgeye ek olarak aktif merkezde kolin bağlama alt bölgesi ve açıl bölgesi bulunmaktadır [44].



Şekil 2.9. AChE'nin aktif merkez cebi

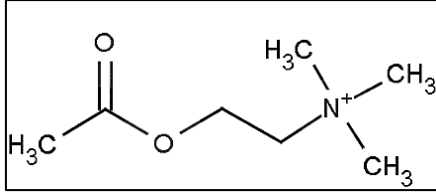
BChE'nin aktif merkezinde ise serin (S), histidin (H) ve glutamik asit (E) katalitik üçlünün olduğu ve enzimin temel aktivitesini sağladıkları bilinmektedir. Şekil 2.10'da asetilkolin substratının BChE'nin aktif merkezi ile etkileşimi görülmektedir. Aktif merkezin girişindeki tirozin (Y) ve aspartik asit (D) substratların aktif merkezle etkileşime geçmesine yardımcı olur ve aktif merkeze doğru yönlendirir. Substratta bulunan azot atomu triptofan (W) amino asiti tarafından oluşturulan anyonik bölge ile etkileşime geçer. Substrattaki açıl grubu ise aktif merkezdeki açıl cep (A) ile uyumlu olduğu görülmektedir [44].



Şekil 2.10. BChE'nin aktif merkez cebi [45]

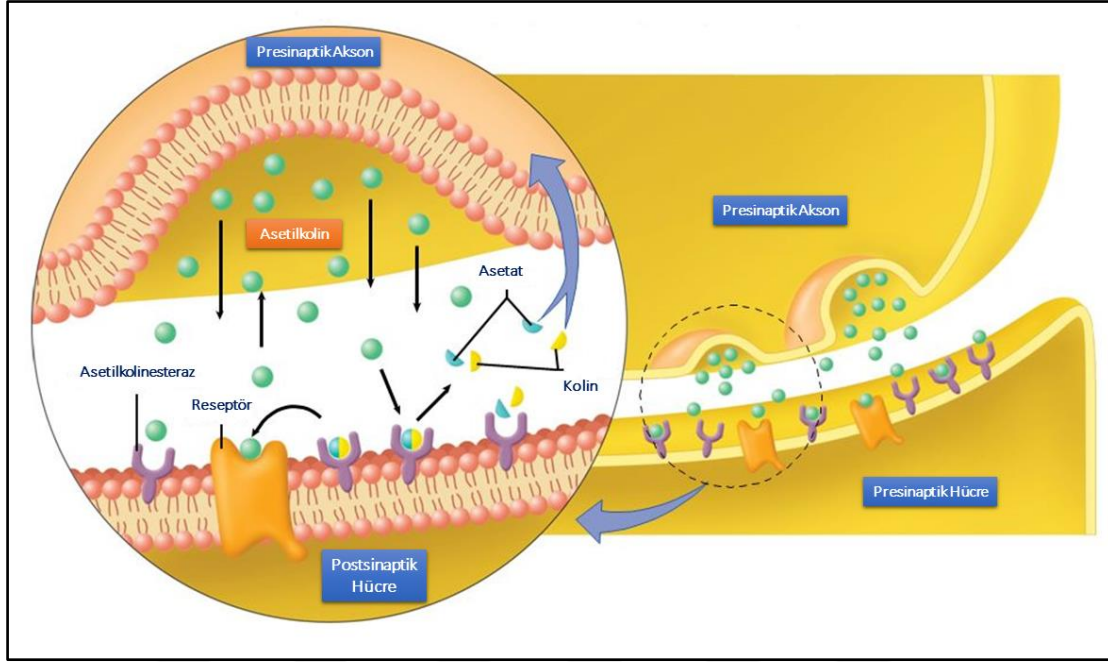
2.4.2. Kolinesterazlar ve Alzheimer hastalığı

Alzheimer Hastalığı beyindeki nörotransmitterlerin azalması sonucu ortaya çıkmaktadır ve bu hastalıkta en fazla azalma gösteren nörotransmitter ise asetilkolin (ACh) dir (Şekil 2.11) [42].



Şekil 2.11. Asetilkolin molekül şekli

ACh; Kolin asetiltransferaz (ChAT) enzimi tarafından kolinerjik nöronlarda asetilkoenzim A (CoA)'dan gelen asetil ve kolin'in birleştirilmesi ile oluşur. Asetil CoA glikolizde meydana gelen piruvatın beş farklı metabolik akıbetlerinden birinde oluşan metabolik bir üründür. Kolin'in ise besinler ve hücre membranındaki fosfolipidlerden elde edilmesinin yanı sıra, AChE'nin ACh'yi hidrolizlemesi sonucu tekrar oluşan kolinden de elde edilir ki bu kolin eldesinin en önemli kaynağı hidroliz sonucu açığa çıkan ve yeniden asetilkolin sentezinde kullanılan kolindir. ACh'in sinaptaki varlığı, miktarı, çokluğu ya da eksikliği ChAT ve AChE enzimlerine bağlıdır. Üretilen ACh presinaptik nöronlardaki veziküllerde depolanır ve nörona sinir uyarısı geldiğinde sinaptik aralığa dökülür. Sinaptik aralığa salınan ACh moleküllerinin çoğu postsinaptik reseptörlere bağlanırlar. Reseptörlere bağlanmayanlar ise AChE tarafından yıkılır. Postsinaptik nörona bağlanan ACh molekülleri, sinir uyarısının diğer nörona iletilmesinin ardından reseptörden ayrılır, AChE tarafından yıkılır ve açığa çıkan kolin yeniden kullanılmak üzere presinaptik nörona gönderilir (Şekil 2.12) [46].

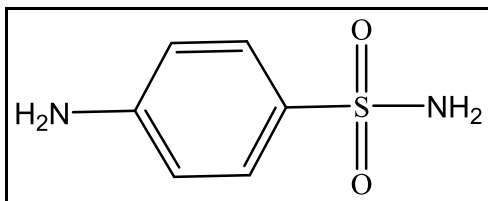


Şekil 2.12. AChE-Asetilkolin metabolizması

2.5. Sülfonamidler ve Sülfonil Hidrazonlar

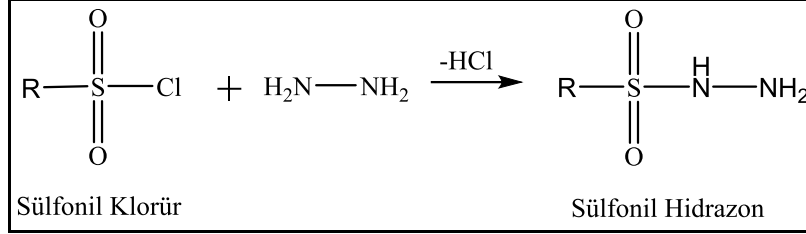
Sülfonamidler çoğunlukla beyaz renkli kristal bileşiklerdir. Normalde suda çözünmezken sodyum tuzu formunda çözünürlükleri fazladır. Kimyasal olarak kararlıdır. Sülfonamidlerin asit-baz karakterleri, farmakokinetik ve antibakteriyel özelliklerini ve pH'a bağlı çözünürlüğünü etkilemektedir.

Sülfonamidler, sülfü grubu ilaçlarının temeli olan fonksiyonel grubudur. Para-aminobenzen-sülfonamid (Şekil 2.13) (diğer adıyla sülfanilamid) bileşiğinin türevlendirilmesiyle sentezlenirler. Bu bileşiğin sülfü (-SO₂NH₂) grubundaki azota bağlı hidrojenlerin yerine uygun radikaller bağlanarak farklı sülfonamid türevleri elde edilmektedir [47].



Şekil 2.13. Para-aminobenzen-sülfonamid

Sülfonil hidrazonlar ise genellikle sülfonil klorürlerin hidrazin hidrat ile tepkimelerinden elde edilirler (Şekil 2.14).



Şekil 2.14. Sülfonil hidrazon sentezi

Hidrazonlar, yapısındaki azot atomları sayesinde farmakofor özellik gösterirler. Biyolojik açıdan aktifliklerinin keşfedilmesi bu özelliklerini destekler niteliktedir. Misal, antifungal, antibakteriyel, tüberküloztatik, monoamin oksidaz inhibitör aktiflikleri bilinmektedir [48].

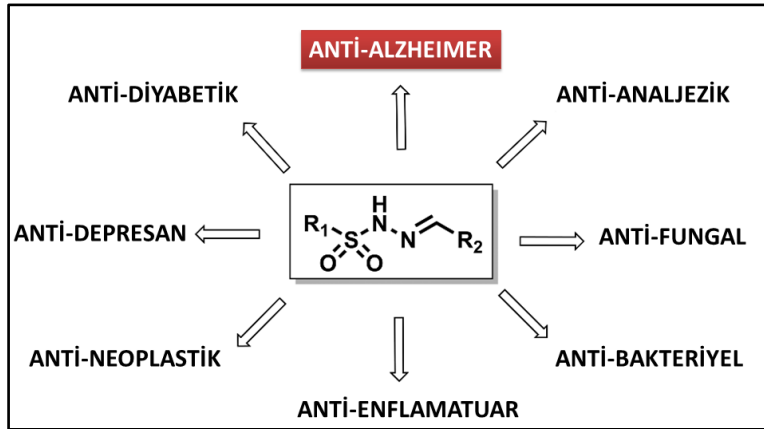
Sülfonamidler, son yıllarda en etkili etken madde sınıflarından birisi olarak kabul görmektedir. İnhibe edebilme kabiliyetlerindeki çeşitlilikleri keşfedildikçe farklı terapötik hedefler üzerinde uygulanmak üzere yeni ilaç tasarımlarındaki kullanımları artmıştır. Sülfonamidler ilk kez antibiyotik olarak kullanılmışlardır. Daha sonra karbonik anhidraz inhibisyonu ile kalp yetmezliği, glokom ve epilepsi gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadırlar. Son yapılan araştırmalar göstermektedir ki kanser ve Alzheimer Hastalığı için de potansiyel bir tedavi çeşidi olarak kullanımları artmaktadır [49].

2.5.1. Alzheimer hastalığı tedavisinde sülfonamidler ve sülfonil hidrazonlar

Son zamanlarda AH tedavisinde etkin olarak kullanılan sülfonamid ve sülfonil hidrazon türevlerinin AChE ve BChE enzimlerini inhibe edici özellikleri belirlenmiştir. Geniş bir biyolojik etkiye sahip olan sülfonamidler, günümüzde farklı hastalıkların tedavisinde veya korunmasında yaygın olarak kullanılmasının yanı sıra sakkarin gibi en çok satılan suni tatlandırıcılarda da kullanılmaktadır [50]. Klinik tıpta antikanser [7], antimikrobiyal [8], antiobezite [9] ve antiglokom [10] olarak kullanılırlar. Son zamanlarda, sülfonamid türevleri AH tedavisinde kolinesteraz inhibitörü olarak etkin biçimde rol almaktadırlar [5].

Son yıllarda AH için farklı inhibitörlerin sentezlendiği ve bunların arasında hidrazon grubu içeren bileşiklerinde AChE ve BChE enzimlerinin inhibisyonu üzerinde oldukça aktif

oldukları bilinmektedir. Aktivlik hidrazon grubuna bağlı subsütientlerin değişmesiyle (-MeO, -Cl, -CH₃, -OH, -NO₂) farklılık göstermektedir [51]. Ayrıca Sülfonil hidrazonların analjezik, antifungal ve antibakteriyel antinosiseptif, antidepresan, antineoplastik antidiyabet aktivitelerinin yanı sıra anti-Alzheimer etki göstermesi bu bileşiklerin farmakolojik açıdan önemli olduğunu göstermektedir (Şekil 2.15).



Şekil 2.15. Sülfonil hidrazonların biyolojik özellikleri

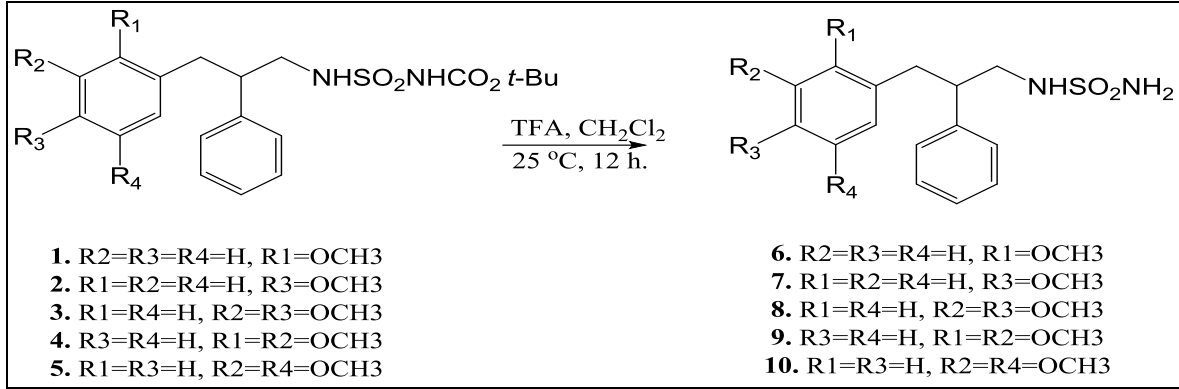
Sülfonil hidrazondaki sülfon grubu çözünürlüğü artıran bir grup olup oldukça tercih edilir [52].

Aşağıda bununla ilgili kaynak araştırmaları verilmektedir.

2.6. Kaynak Araştırması

Akıncıoğlu vd. (2017), β -Benzilfenetilaminlerden yeni sülfonamid türevleri sentezleyerek bu bileşiklerin asetilkolinesteraz (AChE), bütirikolinesteraz (BChE) ve karbonik anhidraz (CA) enzimleri üzerindeki inhibisyon aktivitelerini incelemişler ve inhibitör olma potansiyellerini araştırmışlardır. Bu amaçla sentezledikleri 10 adet sülfonamid türevleri aşağıdaki gibidir.

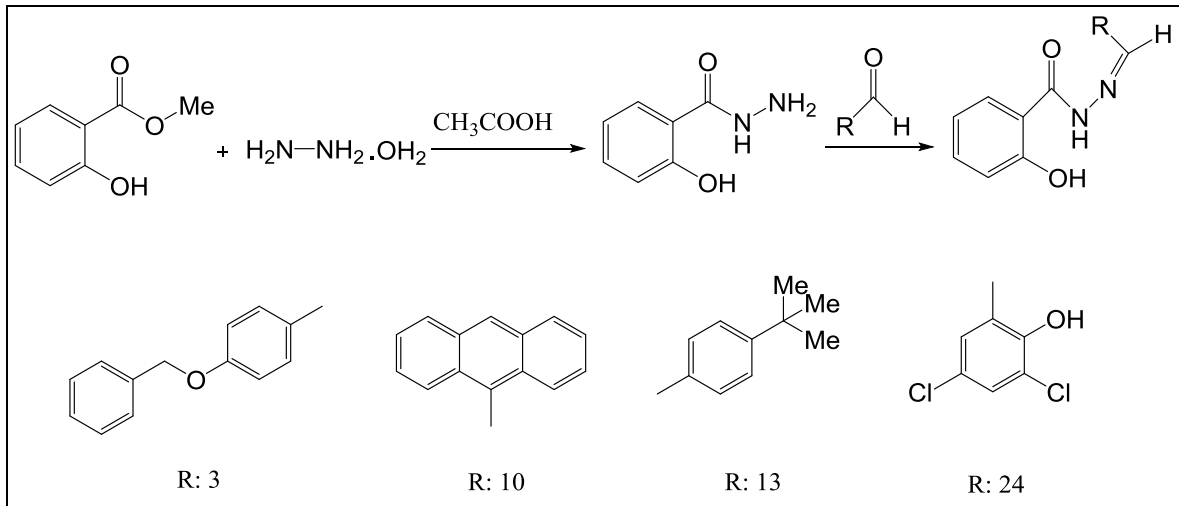
Enzimlerin aktiviteleri için IC₅₀ ve K_i değerleri ölçülmüş ve standart inhibitör olarak takrin (TAC) ile karşılaştırmışlardır. 4 ve 6 numaralı bileşiklerin AChE için takrine göre çok daha iyi inhibitör aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir [53].



Şekil 2.16. β -Benzilfenetilamin bazlı sülfonamid türevleri

Rahim vd. (2016), asetil ve bütirilkolinesteraz inhibitörü olma potansiyeli gösteren hidrazid bazlı schiff bazları elde etmişler ve inhibisyon etkilerini in vitro olarak test etmişlerdir. Bu amaçla aşağıdaki yöntem ile 28 adet türev bileşik sentezlenmiştir.

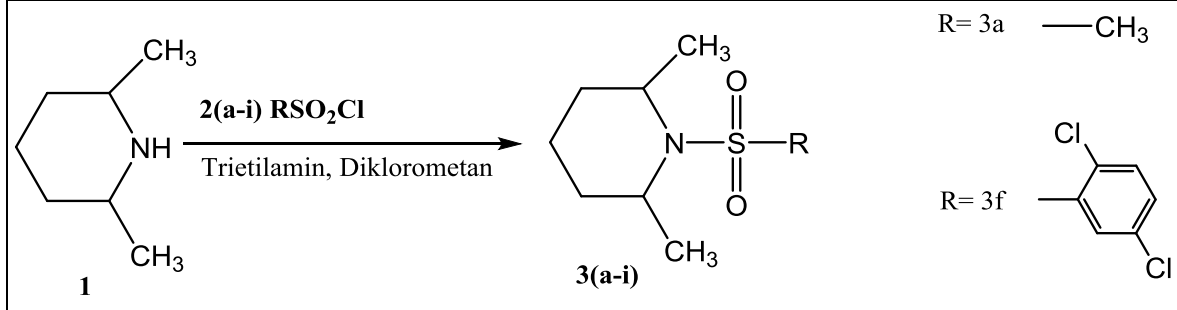
Bu bileşiklerin AChE ve BChE karşı aktiviteleri IC_{50} değerleri ile belirlenmiştir. 3, 10, 13 ve 24 numaralı türevleri standart inhibitör olan eserin maddesine göre kıyaslanarak eserine yakın inhibisyon etkisi gösterdiğini belirlenmiştir [54].



Şekil 2.17. Hidrazid bazlı schiff bazları kolinesteraz inhibitörleri

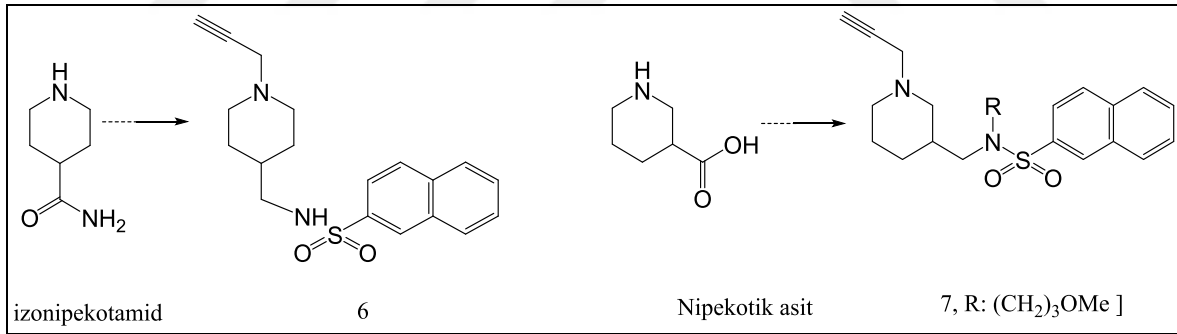
Girisha vd. (2009), piperidin sülfonamid türevleri sentezleyerek bunların anti-asetilkolinesteraz etkilerini 3 farklı metaryalde (Fare, insan serumu ve electric eel.) incelemişler ve AChE üzerinde inhibisyon etkilerini belirlemişlerdir. Ölçümler sonucunda bulunan IC_{50} değerleri neostigmine standartına karşı kıyaslanmıştır. Bulunan sonuçlara göre

test edilen 9 türevden (3a-i) 3a ve 3f inhibitörlerinin standarda yakın değerler gösterdiği saptanmıştır [5].



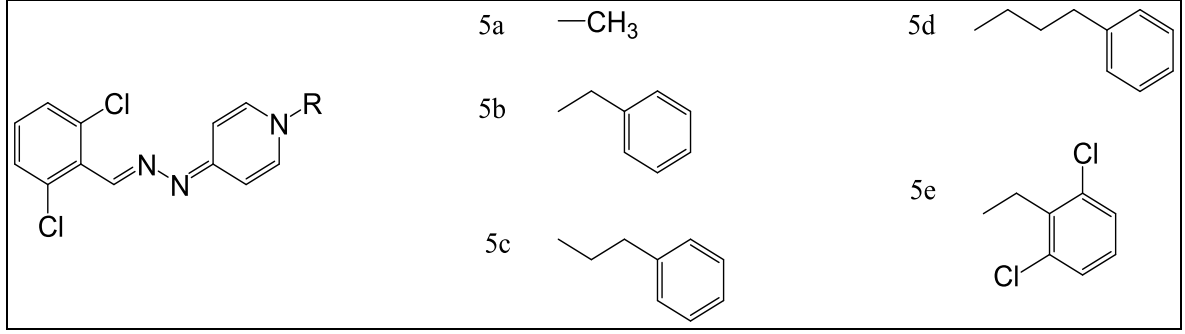
Şekil 2.18. Piperidin sülfonamid türevi AChE inhibitörleri

Koşak vd. (2017), bütrilkolinesteraz için piperidin bazlı, monoamine oksidaz B enzim için de propargilamin bazlı bileşikler içeren bir seri N-propargil piperidin sentezleyerek bu bileşiklerin iki enzim üzerindeki inhibitör etkilerini incelemişlerdir. Standart madde olarak takrin kullanılmış ve sentezlenen serilerden 6 ve 7 numaralı bileşiklerin, takrine yakın IC_{50} değerlerine sahip olduklarını saptamışlardır [55].



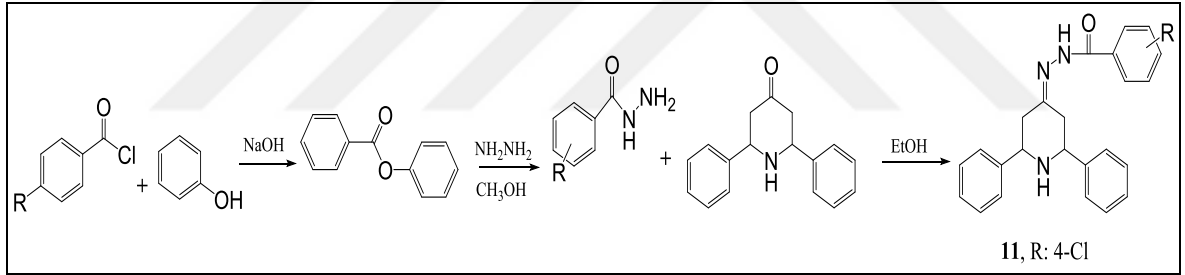
Şekil 2.19. Piperidin bazlı BChE inhibitörleri

Alptüzün vd. (2010), AChE ve BChE inhibisyonu için etkili olduğu bilinen bispidinyum tipi bileşiklerin bisbenzileter özellikteki homodimer DUO 3 bileşiğini türevlendirerek, umut vaad eden yeni bisfenil katkılı piridiniliden hidrazonlar sentezlemişlerdir. Bu bileşikler içinde hem AChE hem de BChE inhibisyonu için en umut vaad eden bileşik 5d türevidir [56].



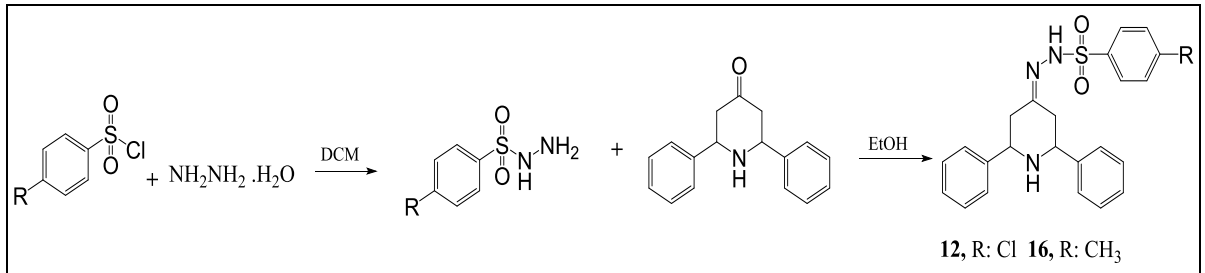
Şekil 2.20. Bisfenil katkılı piridiniliden hidrazon türevi kolinesteraz inhibitörleri

Karaman vd. (2016) bir çalışmada, yeni fenil hidrazon türevleri sentezlenmiş ve kolinesterazlar üzerindeki inhibisyon etkileri incelenmiştir. Sentezlenen bu 18 yeni türevden 10 tanesini AChE ve BChE üzerine inhibitör aktivitelerine bakılmış ve IC_{50} değerleri saptanmıştır. 11 numaralı bileşiğin BChE üzerinde etkinliği standart olarak kullanılan Galantamin'e göre daha iyi sonuç vermiş, AChE üzerindeki etkinliği ise diğer sentezlenen türevlerde daha başarılı bir sonuç göstermiştir [57].



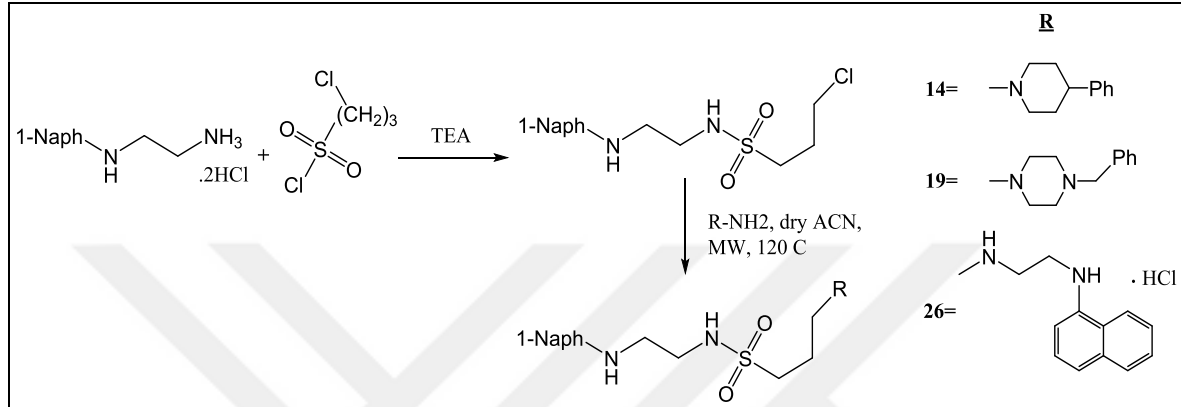
Şekil 2.21. Fenil hidrazon türevleri inhibitörler

Karaman vd. (2016), diğer bir çalışmada iki seri sülfonil hidrazon türevleri sentezlenerek kolinesterazlar üzerinde aktiviteleri incelenmiştir. Sentezlenen bu 17 türevin galantamin standartına göre IC_{50} değerleri karşılaştırıldığında, 12 numaralı bileşiğin AChE için ve 16 numaralı bileşiğin de BChE için standarta yakın değerler gösterdiği belirlenmiştir [58].



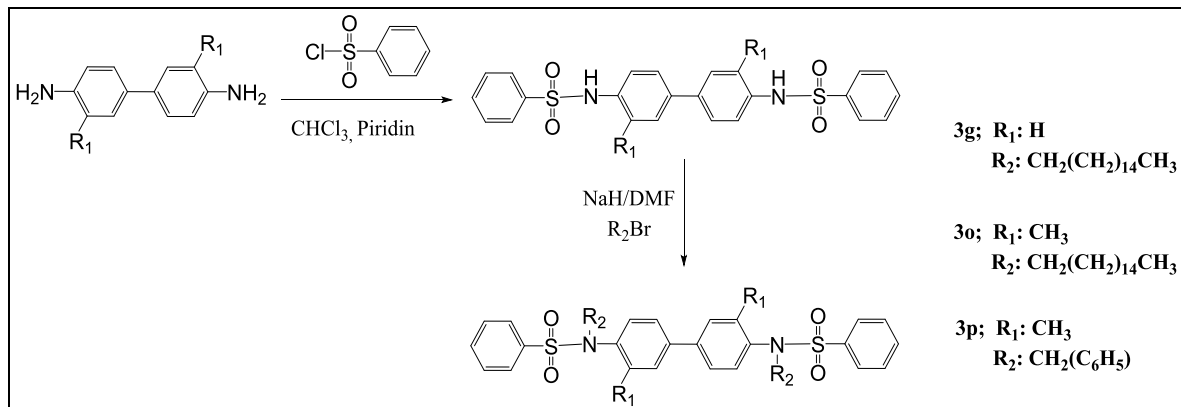
Şekil 2.22. Sülfonil hidrazon türevleri AChE ve BChE inhibitörleri

Bag vd. (2015), AChE ve BChE karşı aktivitesini belirleyebilmek amacıyla yeni sülfonamid türevleri geliştirmişlerdir. Bu bağlamda birbirini takip eden sentez yolları ile 28 adet türev bileşik sentezlemişlerdir. Bu türevlerden 14,19 ve 26 kodlu bileşikler standart bileşiğinin IC_{50} değerleri ile kıyaslandığında bileşiklerin inhibitör olarak umut verici oldukları görülmüştür [11].



Şekil 2.23. Sülfonamid türevleri kolinesteraz inhibitörleri

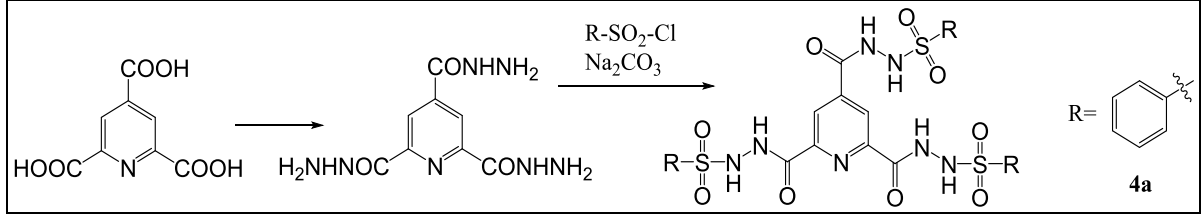
Mutahir vd. (2016), asetil ve bütirikolinesteraz inhibitörleri olarak kullanılmak üzere, yeni bifenil bis-sülfonamid türevleri sentezlemişlerdir. Bu amaçla 18 adet türev sentezlenmiş ve eserin standartına karşı IC_{50} değerleri kıyaslanmıştır. Buna göre AChE için en yüksek aktiviteyi 3p ve 3o bileşikler, BChE için ise en etkili bileşiğin 3g bileşiği olduğu görülmüştür [59].



Şekil 2.24. Bifenil bis-sülfonamid türevi kolinesteraz inhibitörleri

Riaz vd. (2015), yeni piridin sülfonamid türevleri sentezleyerek, α -glukozidaz, asetil ve bütirikolinesteraz enzimlerinin inhibisyonuna yönelik *in-vitro* çalışma yapmışlardır. Bu üç

enzime karşı sentezlenen bileşiklerin inhibisyon potansiyellerini yaptıkları analizler ile göstermişlerdir. Sentezlenen bu türevlerden 4a bileşiğinin bu 3 enzime karşı önemli derecede aktif olduğu, IC_{50} değerlerinin standart bileşikler ile kıyaslanmasıyla saptanmıştır [60].



Şekil 2.25. Piridin sülfonamid türevi kolinesteraz inhibitörleri

3. ARAÇ-GEREÇ VE DENEYSEL YÖNTEMLER

3.1. Sentez ve Enzim Çalışmalarında Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Sigma-Aldrich; 4-Nitrobenzaldehit, 4-Dimetilaminobenzaldehyt, 5-Kloro-2-hidroksiasetofenon, 4-Metoksisalisilaldehit, Hidrazin hidrat, Etan sülfonil klorür, Porpan sülfonil klorür, Bütan sülfonil klorür, Trietil amin, DTNB (5,5-Ditiyobis (2-Nitrobenzoik asit)), Asetilkolinesteraz, Bütirilkolinesteraz, Asetiltiyokolin iyodür, S-Butiriltiyokolin iyodür, DMSO (Dimetil sülfoksit)
- Merck; Disodyumfosfat, Sodyumdihidrojenfosfatdihidrat, Etanol, Hidroklorik asit.
- Riedel-de Haen; Sodyumbikarbonat
- Carlo Erba; Sodyum hidroksit
- TCl: Donepezil.HCl

3.2. Analizlerde Kullanılan Cihazlar

- Sentezlenen bileşiklerin yapı analizleri için kullanılan FT-IR spektrumları Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya bölümünde Mattson-1000 Model FT-IR spektrofotometresi ile 4000-400 cm^{-1} aralığında,
- Sentezlenen bileşiklerin yapı analizleri için kullanılan ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları DMSO ortamında Bruker Ultrashield 300 MHz sıvı NMR spektrometresi kullanılarak Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya bölümünde alınmıştır.
- Bileşiklerin sentezi için Heidolph marka manyetik karıştırıcılar kullanılmıştır.
- Sentezlenen bileşiklerin saflaştırılması aşamasında Büchi marka Evaporatör kullanılmıştır.
- Ligandların erime noktası tayini SRS Optimelt erime noktası cihazı ile yapılmıştır.
- Enzim çalışmalarında absorbands ölçümleri için PG T80/T80+ model UV-GB spektrofotometresi ile 412 nm de çalışılmıştır.
- Enzim çalışmalarında pipetlemeler için BRAND® marka Transferpette® S model, 5-20 μM , 10-100 μM , 100-1000 μM aralıklı mikropipetler kullanılmıştır.
- Kimyasal maddeler 0,1 miligrama duyarlı Shimadzu marka AUX120 model hassas terazi ile tartılmıştır.
- Tampon çözeltilerinin pH'sı HANNA Marka pH Metre ile ölçülmüştür.

- Enzim çalışmalarındaki karıştırma işlemleri için DragonLab marka Vortex kullanılmıştır.

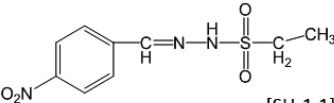
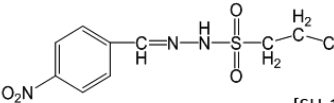
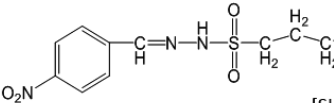
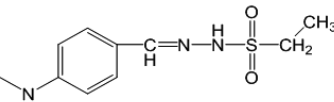
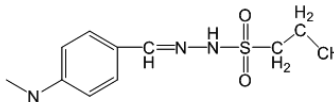
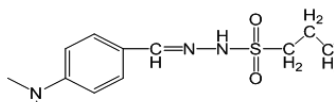
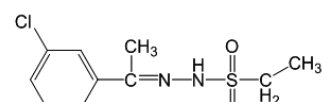
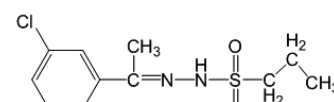
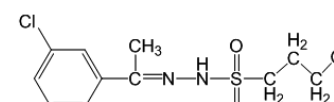
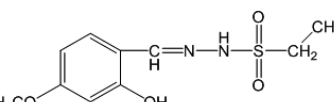
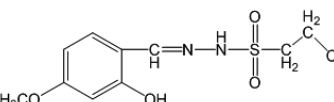
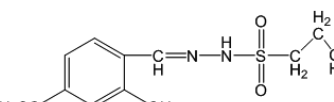
3.3. Sülfonil Hidrazonların Sentez Yöntemi

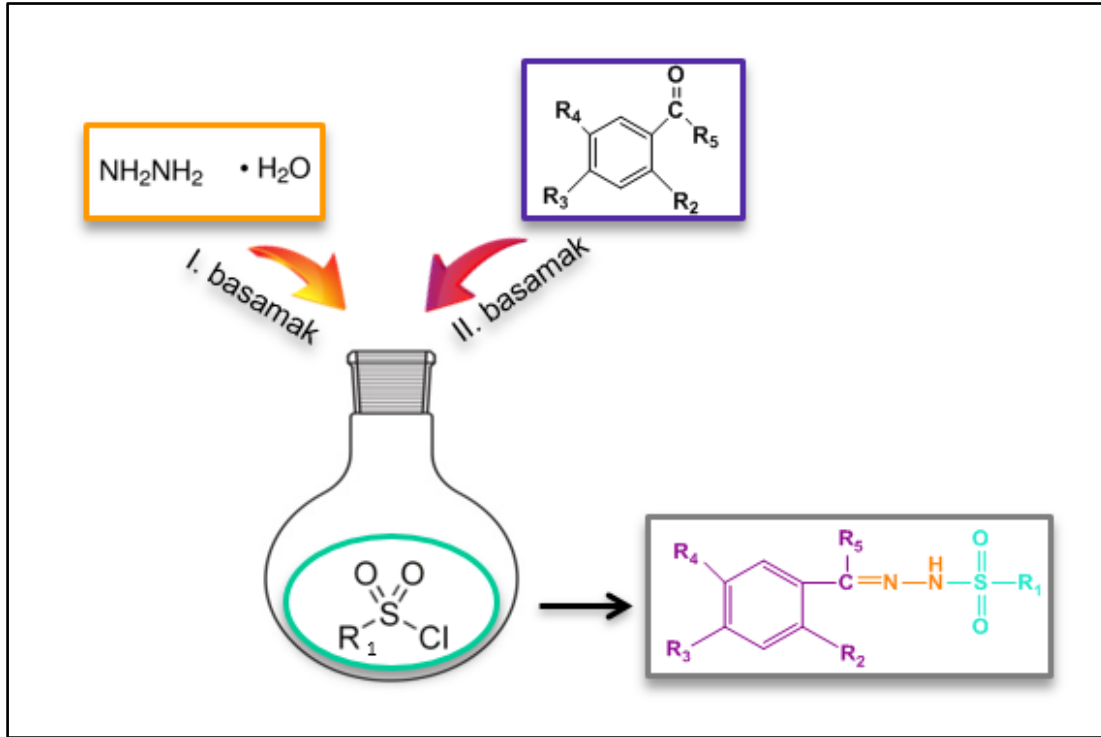
Hedeflenen ligandların sentezi iki basamakta ve tek kapta gerçekleştirilmiştir.

Birinci basamakta 0°C’ deki (1,0 mmol) sülfonil klorürlerin (etan, propan veya butan) etanollü çözeltisine, (1,2 mmol) hidrazin hidratın soğuk etanollü çözeltisi ilave edildi. (2,0 mmol) Trietil amin katalizörlüğünde 1 saat oda sıcaklığında karıştırılarak tepkimeye girmesi sağlandı ve alkil sülfonil hidrazon bileşikler sentezlendi. İkinci basamakta ise, elde edilen çözelti ortamındaki alkil sülfonilhidrazon bileşiğine HCl katalizörlüğünde (pH~4) farklı (1,44mmol) aldehit / keton bileşiklerinin etanoldeki çözeltileri eklenerek 55-60 °C de 9-12 saat geri soğutucu altında karıştırılarak yeni sülfonilhidrazon türevleri sentezlendi [61]. İnce tabaka kromatografisi ile reaksiyon takibi yapılarak sentez süreleri belirlendi. Sentezlenen bileşikler etanol-saf su çözücü karışımında kristallendirilerek saflaştırıldı.

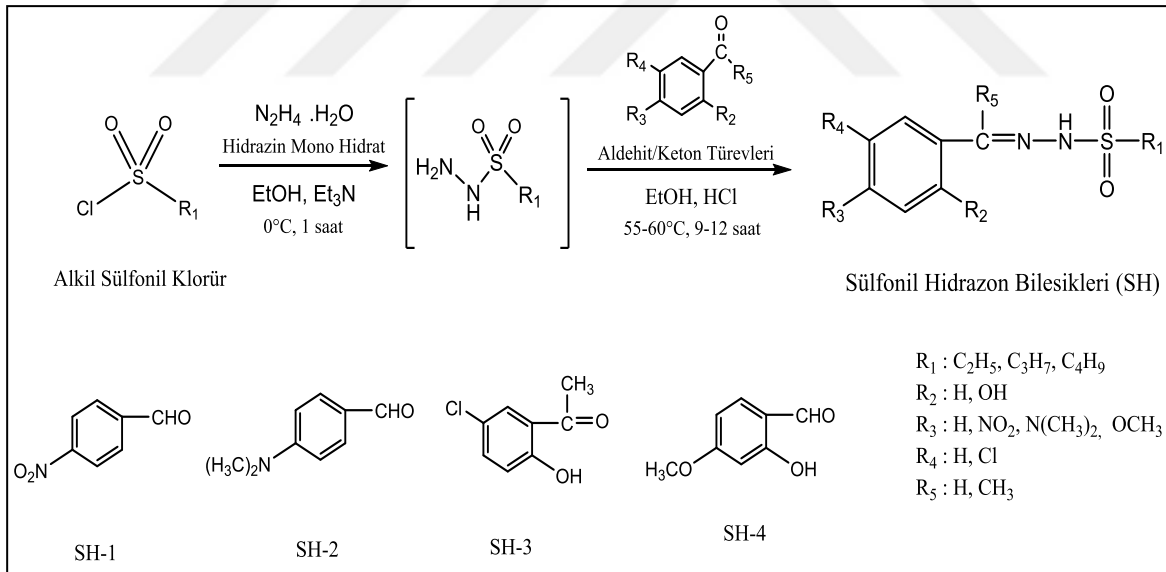
Her aldehit veya keton türevi (toplamda 4 adet) ile 3 ayrı alkil grubu içeren (C₂H₅, C₃H₇, C₄H₉) 3’lü seriler halinde toplamda 12 adet yeni bileşik sentezlenmiştir (Çizelge 3.1). Aşağıda bu bileşikler için hem tek kaplı sentez şeması hem de reaksiyon yöntemi verilmektedir (Şekil 3.1 ve Şekil 3.2).

Çizelge 3.1. Sentezlenen Sülfonilhidrazon Bileşiklerinin Moleküler Yapıları

SH-1	 [SH-1.1]	 [SH-1.2]	 [SH-1.3]
SH-2	 [SH-2.1]	 [SH-2.2]	 [SH-2.3]
SH-3	 [SH-3.1]	 [SH-3.2]	 [SH-3.3]
SH-4	 [SH-4.1]	 [SH-4.2]	 [SH-4.3]



Şekil 3.1. Sülfonilhidrazon bileşiklerinin tek kaptaki sentez şeması



Şekil 3.2. Sülfonilhidrazon Bileşiklerinin Sentez Yöntemi

Sülfonil hidrazonlar için kullanılan tek-kap (one-pod) sentez yöntemi, sentez sonucu oluşan kimyasal atıkları azaltan, sentez maliyetini ve süresini düşüren, verimliliği arttıran bir sentez yöntemidir. Bunları şu şekilde sağlamaktadır:

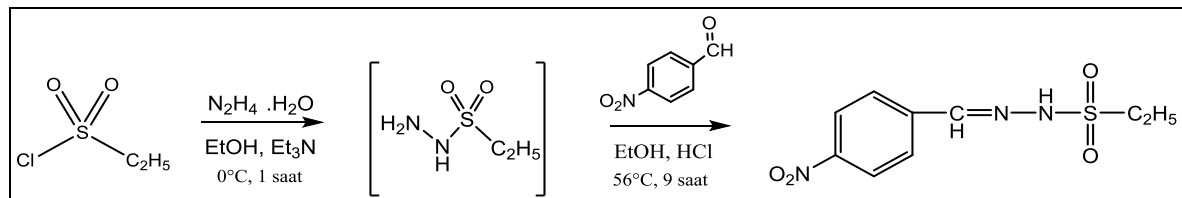
- Daha az çözücü kullanıldığı için maliyet düşürülmüş ve kimyasal atık miktarı azaltılmıştır.
- İki basamaklı sentez işlemi tek kapta ve aynı gün içinde gerçekleştirilebildiğinden sentez için kullanılan süre azaltılmıştır.
- Sentez işlemi tek kapta yapıldığı ve ayrı saflaştırma yöntemleri uygulanmadığı için verim kaybı aza indirilmiştir ve saflaştırma için kullanılan çözücü miktarı da tek basamak için uygulandığından kimyasal atık miktarı azaltılmıştır.

Bu sebeplerle tek-kap (one-pod) sentez yöntemi çevreci ve yeşil kimya uygulamalarına hizmet eden bir sentez yöntemidir.

3.3.1. 4-Nitrobenzaldehit etansülfonilhidrazon (SH-1.1)

Birinci basamak: 1,0 mmol etan sülfonil klorürün 4 ml etanoldeki çözeltisi buz banyosu içinde bekletilerek sıcaklığı 0°C olduktan sonra 1,2 mmol hidrazin hidratın 4 ml etanoldeki çözeltisi ilave edildi. 2,0 mmol trietil amin katalizörlüğünde 1 saat oda sıcaklığında karıştırılarak etansülfonilhidrazon bileşiği sentezlendi.

İkinci basamak: Elde edilen çözelti ortamındaki etansülfonilhidrazon bileşiğine 1,44 mmol 4-nitrobenzaldehit 5ml etanolde çözülerek eklendi ve çözelti pH'sı yaklaşık 4 olana kadar damla damla HCl ilave edildi. 56 °C de 9 saat geri soğutucu altında karıştırılarak 4-nitrobenzaldehit etansülfonilhidrazon türevi sentezlendi. (Ma: 257,26 g/mol, E.N: 123,2 °C)

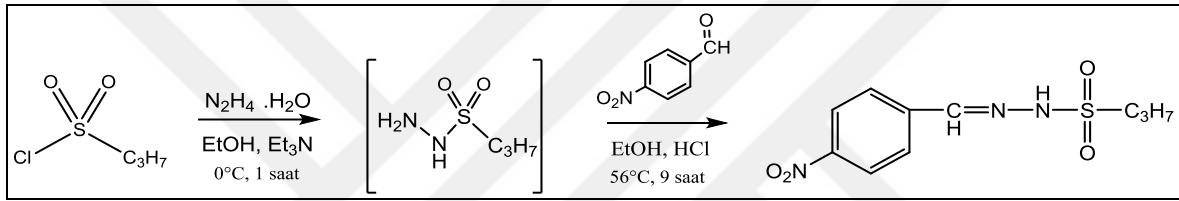


Şekil 3.3. SH-1.1 bileşiğinin sentez yöntemi

3.3.2. 4-Nitrobenzaldehit propansülfonilhidrazon (SH-1.2)

Birinci basamak: 1,0 mmol propan sülfonil klorürün 4 ml etanoldeki çözeltisi buz banyosu içinde bekletilerek sıcaklığı 0°C olduktan sonra 1,2 mmol hidrazin hidratın 4 ml etanoldeki çözeltisi ilave edildi. 2,0 mmol trietil amin katalizörlüğünde 1 saat oda sıcaklığında karıştırılarak propansülfonilhidrazon bileşiği sentezlendi.

İkinci basamak: Elde edilen çözelti ortamındaki propansülfonilhidrazon bileşiğine 1,44 mmol 4-nitrobenzaldehit 5ml etanolde çözülerek eklendi ve çözelti pH'sı yaklaşık 4 olana kadar damla damla HCl ilave edildi. 56 °C de 9 saat geri soğutucu altında karıştırılarak 4-nitrobenzaldehit propansülfonilhidrazon türevi sentezlendi. (Ma:271,29 g/mol, E.N:99,0 °C)

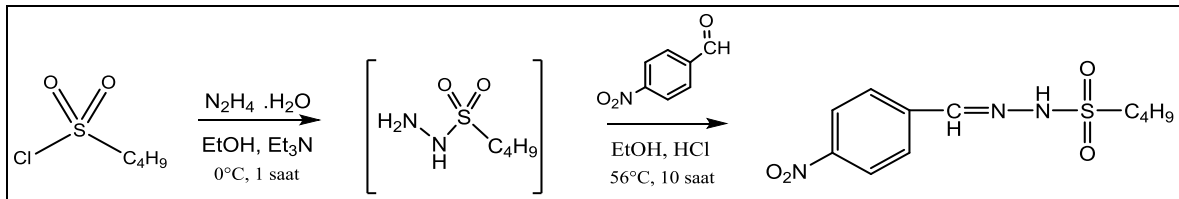


Şekil 3.4. SH-1.2 bileşiğinin sentez yöntemi

3.3.3. 4-Nitrobenzaldehit bütansülfonilhidrazon (SH-1.3)

Birinci basamak: 1,0 mmol bütan sülfonil klorürün 4 ml etanoldeki çözeltisi buz banyosu içinde bekletilerek sıcaklığı 0°C olduktan sonra 1,2 mmol hidrazin hidratın 4 ml etanoldeki çözeltisi ilave edildi. 2,0 mmol trietil amin katalizörlüğünde 1 saat oda sıcaklığında karıştırılarak bütansülfonilhidrazon bileşiği sentezlendi.

İkinci basamak: Elde edilen çözelti ortamındaki bütansülfonilhidrazon bileşiğine 1,44 mmol 4-nitrobenzaldehit 5ml etanolde çözülerek eklendi ve çözelti pH'sı yaklaşık 4 olana kadar damla damla HCl ilave edildi. 56 °C de 10 saat geri soğutucu altında karıştırılarak 4-nitrobenzaldehit bütansülfonilhidrazon türevi sentezlendi. (Ma:285,32 g/mol, E.N: 96,0 °C)

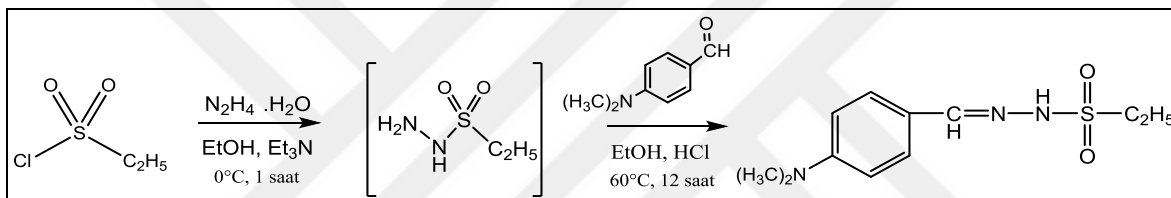


Şekil 3.5. SH-1.3 bileşiğinin sentez yöntemi

3.3.4. 4-Dimetilaminobenzaldehyt etansülfonilhidrazon (SH-2.1)

Birinci basamak: 1,0 mmol etan sülfonil klorürün 4 ml etanoldeki çözeltisi buz banyosu içinde bekletilerek sıcaklığı 0°C olduktan sonra 1,2 mmol hidrazin hidratın 4 ml etanoldeki çözeltisi ilave edildi. 2,0 mmol trietil amin katalizörlüğünde 1 saat oda sıcaklığında karıştırılarak etansülfonilhidrazon bileşiği sentezlendi.

İkinci basamak: Elde edilen çözelti ortamındaki etansülfonilhidrazon bileşiğine 1,44 mmol 4-dimetilaminobenzaldehyt 6ml etanolde çözülerek eklendi ve çözelti pH'sı yaklaşık 4 olana kadar damla damla HCl ilave edildi. 60 °C de 12 saat geri soğutucu altında karıştırılarak 4-dimetilaminobenzaldehyt etansülfonilhidrazon türevi sentezlendi. (Ma:255,34 g/mol, E.N: 196 °C)

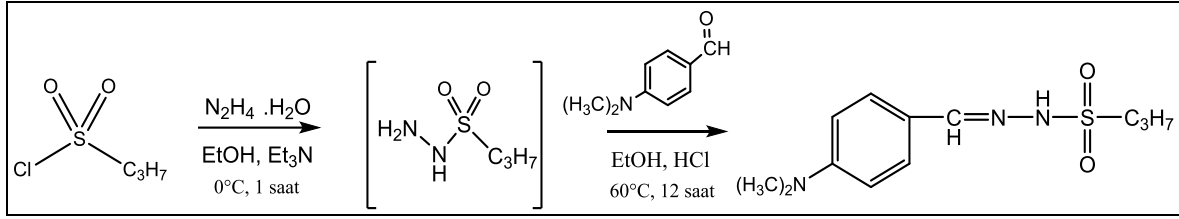


Şekil 3.6. SH-2.1 bileşiğinin sentez yöntemi

3.3.5. 4-Dimetilaminobenzaldehyt propansülfonilhidrazon (SH-2.2)

Birinci basamak: 1,0 mmol propan sülfonil klorürün 4 ml etanoldeki çözeltisi buz banyosu içinde bekletilerek sıcaklığı 0°C olduktan sonra 1,2 mmol hidrazin hidratın 4 ml etanoldeki çözeltisi ilave edildi. 2,0 mmol trietil amin katalizörlüğünde 1 saat oda sıcaklığında karıştırılarak propansülfonilhidrazon bileşiği sentezlendi.

İkinci basamak: Elde edilen çözelti ortamındaki propansülfonilhidrazon bileşiğine 1,44 mmol 4-dimetilaminobenzaldehyt 6ml etanolde çözülerek eklendi ve çözelti pH'sı yaklaşık 4 olana kadar damla damla HCl ilave edildi. 60 °C de 12 saat geri soğutucu altında karıştırılarak 4-dimetilaminobenzaldehyt propansülfonilhidrazon türevi sentezlendi. (Ma:269,36 g/mol, E.N: 132 °C)

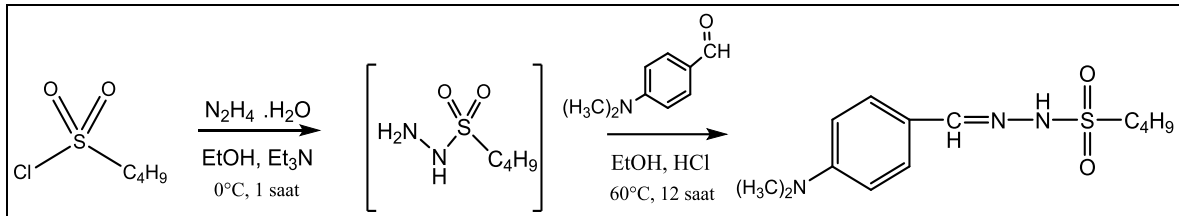


Şekil 3.7. SH-2.2 bileşiğinin sentez yöntemi

3.3.6. 4-Dimetilaminobenzaldehit bütansülfonilhidrazon (SH-2.3)

Birinci basamak: 1,0 mmol bütan sülfonil klorürün 4 ml etanoldeki çözeltisi buz banyosu içinde bekletilerek sıcaklığı 0°C olduktan sonra 1,2 mmol hidrazin hidratın 4 ml etanoldeki çözeltisi ilave edildi. 2,0 mmol trietil amin katalizörlüğünde 1 saat oda sıcaklığında karıştırılarak bütansülfonilhidrazon bileşiği sentezlendi.

İkinci basamak: Elde edilen çözelti ortamındaki bütansülfonilhidrazon bileşiğine 1,44 mmol 4-dimetilaminobenzaldehit 6ml etanolde çözülerek eklendi ve çözelti pH'sı yaklaşık 4 olana kadar damla damla HCl ilave edildi. 60 °C de 12 saat geri soğutucu altında karıştırılarak 4-dimetilaminobenzaldehit bütansülfonilhidrazon türevi sentezlendi. (Ma:283,39 g/mol E.N: 90,1 °C)



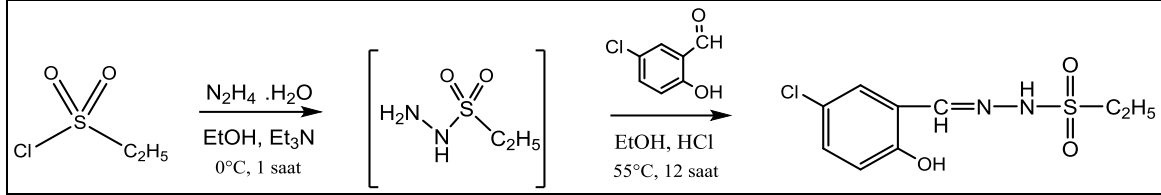
Şekil 3.8. SH-2.3 bileşiğinin sentez yöntemi

3.3.7. 5-Kloro-2-hidroksiasetofenon etansülfonilhidrazon (SH-3.1)

Birinci basamak: 1,0 mmol etan sülfonil klorürün 4 ml etanoldeki çözeltisi buz banyosu içinde bekletilerek sıcaklığı 0°C olduktan sonra 1,2 mmol hidrazin hidratın 4 ml etanoldeki çözeltisi ilave edildi. 2,0 mmol trietil amin katalizörlüğünde 1 saat oda sıcaklığında karıştırılarak etansülfonilhidrazon bileşiği sentezlendi.

İkinci basamak: Elde edilen çözelti ortamındaki etansülfonilhidrazon bileşiğine 1,44 mmol 5-kloro-2-hidroksiasetofenon 6ml etanolde çözülerek eklendi ve çözelti pH'sı yaklaşık 4

olana kadar damla damla HCl ilave edildi. 55 °C de 12 saat geri soğutucu altında karıştırılarak 5-kloro-2-hidroksiasetofenon etansülfonilhidrazon türevi sentezlendi. (Ma:276,74 g/mol E.N: 160-165 °C)

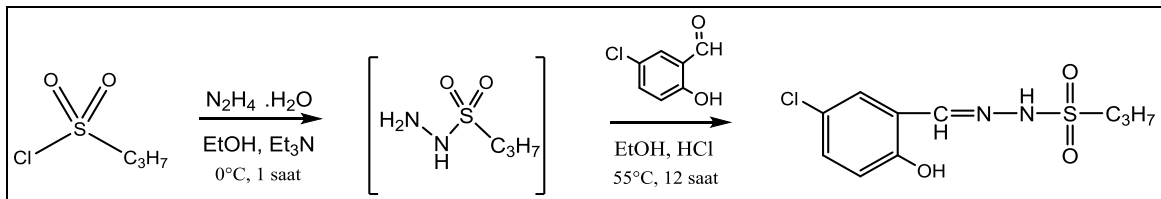


Şekil 3.9. SH-3.1 bileşiğinin sentez yöntemi

3.3.8. 5-Kloro-2-hidroksiasetofenon propansülfonilhidrazon (SH-3.2)

Birinci basamak: 1,0 mmol propan sülfonil klorürün 4 ml etanoldeki çözeltisi buz banyosu içinde bekletilerek sıcaklığı 0°C olduktan sonra 1,2 mmol hidrazin hidratın 4 ml etanoldeki çözeltisi ilave edildi. 2,0 mmol trietil amin katalizörlüğünde 1 saat oda sıcaklığında karıştırılarak propansülfonilhidrazon bileşiği sentezlendi.

İkinci basamak: Elde edilen çözelti ortamındaki propansülfonilhidrazon bileşiğine 1,44 mmol 5-kloro-2-hidroksiasetofenon 6ml etanolde çözülerek eklendi ve çözelti pH'sı yaklaşık 4 olana kadar damla damla HCl ilave edildi. 55 °C de 12 saat geri soğutucu altında karıştırılarak 5-kloro-2-hidroksiasetofenon propansülfonilhidrazon türevi sentezlendi. (Ma:290,76 g/mol, E.N: 150,5 °C)

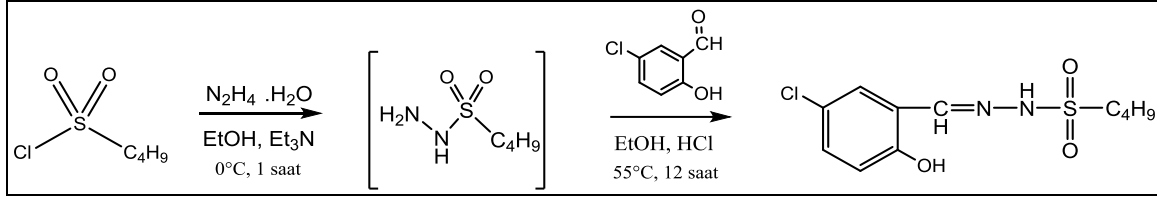


Şekil 3.10. SH-3.2 bileşiğinin sentez yöntemi

3.3.9. 5-Kloro-2-hidroksiasetofenon bütansülfonilhidrazon (SH-3.3)

Birinci basamak: 1,0 mmol bütan sülfonil klorürün 4 ml etanoldeki çözeltisi buz banyosu içinde bekletilerek sıcaklığı 0°C olduktan sonra 1,2 mmol hidrazin hidratın 4 ml etanoldeki çözeltisi ilave edildi. 2,0 mmol trietil amin katalizörlüğünde 1 saat oda sıcaklığında karıştırılarak bütansülfonilhidrazon bileşiği sentezlendi.

İkinci basamak: Elde edilen çözelti ortamındaki bütansülfonilhidrazon bileşiğine 1,44 mmol 5-kloro-2-hidroksiasetofenon 6ml etanolde çözülerek eklendi ve çözelti pH'sı yaklaşık 4 olana kadar damla damla HCl ilave edildi. 55 °C de 12 saat geri soğutucu altında karıştırılarak 5-kloro-2-hidroksiasetofenon bütansülfonilhidrazon türevi sentezlendi. (Ma:304,79 g/mol E.N: 107,7 °C)

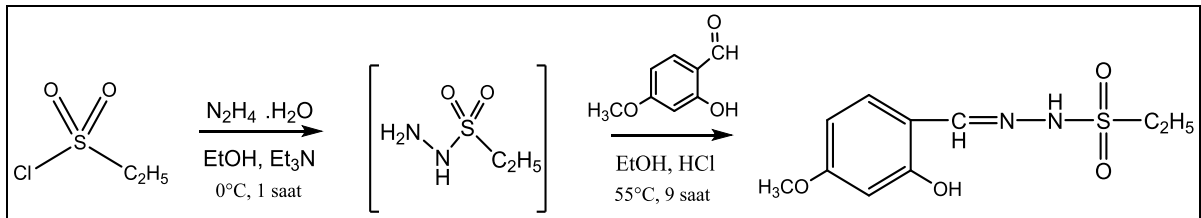


Şekil 3.11. SH-3.3 bileşiğinin sentez yöntemi

3.3.10. 4-Metoksisalisilaldehit etansülfonilhidrazon (SH-4.1)

Birinci basamak: 1,0 mmol etan sülfonil klorürün 4 ml etanoldeki çözeltisi buz banyosu içinde bekletilerek sıcaklığı 0°C olduktan sonra 1,2 mmol hidrazin hidratın 4 ml etanoldeki çözeltisi ilave edildi. 2,0 mmol trietil amin katalizörlüğünde 1 saat oda sıcaklığında karıştırılarak etansülfonilhidrazon bileşiği sentezlendi.

İkinci basamak: Elde edilen çözelti ortamındaki etansülfonilhidrazon bileşiğine 1,44 mmol 4-metoksisalisilaldehit 7ml etanolde çözülerek eklendi ve çözelti pH'sı yaklaşık 4 olana kadar damla damla HCl ilave edildi. 55 °C de 9 saat geri soğutucu altında karıştırılarak 4-metoksisalisilaldehit etansülfonilhidrazon türevi sentezlendi. (Ma:258,29 g/mol E.N: 142,9 °C)

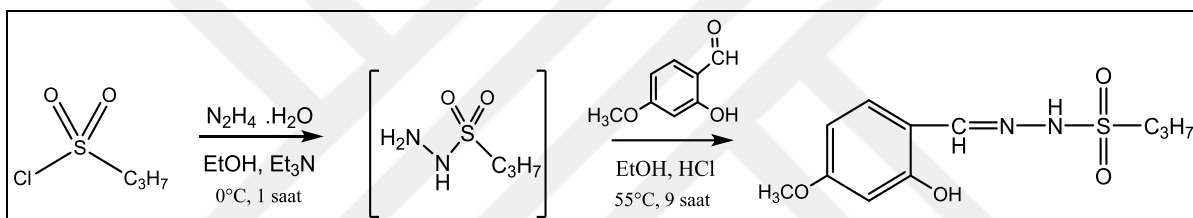


Şekil 3.12. SH-4.1 bileşiğinin sentez yöntemi

3.3.1.1 4-Metoksisalisilaldehit propansülfonilhidrazon (SH-4.2)

Birinci basamak: 1,0 mmol propan sülfonil klorürün 4 ml etanoldeki çözeltisi buz banyosu içinde bekletilerek sıcaklığı 0°C olduktan sonra 1,2 mmol hidrazin hidratın 4 ml etanoldeki çözeltisi ilave edildi. 2,0 mmol tri etil amin katalizörlüğünde 1 saat oda sıcaklığında karıştırılarak propansülfonilhidrazon bileşiği sentezlendi.

İkinci basamak: Elde edilen çözelti ortamındaki propansülfonilhidrazon bileşiğine 1,44 mmol 4-metoksisalisilaldehit 7ml etanolde çözülerek eklendi ve çözelti pH'sı yaklaşık 4 olana kadar damla damla HCl ilave edildi. 55 °C de 9 saat geri soğutucu altında karıştırılarak 4-metoksisalisilaldehit propansülfonilhidrazon türevi sentezlendi. (Ma:272,32 g/mol E.N:108,1 °C)

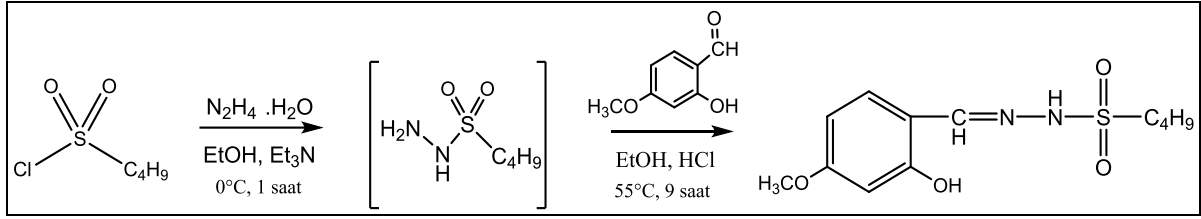


Şekil 3.13. SH-4.2 bileşiğinin sentez yöntemi

3.3.12. 4-Metoksisalisilaldehit bütansülfonilhidrazon (SH-4.3)

Birinci basamak: 1,0 mmol bütan sülfonil klorürün 4 ml etanoldeki çözeltisi buz banyosu içinde bekletilerek sıcaklığı 0°C olduktan sonra 1,2 mmol hidrazin hidratın 4 ml etanoldeki çözeltisi ilave edildi. 2,0 mmol trietil amin katalizörlüğünde 1 saat oda sıcaklığında karıştırılarak bütansülfonilhidrazon bileşiği sentezlendi.

İkinci basamak: Elde edilen çözelti ortamındaki bütansülfonilhidrazon bileşiğine 1,44 mmol 4-metoksisalisilaldehit 7ml etanolde çözülerek eklendi ve çözelti pH'sı yaklaşık 4 olana kadar damla damla HCl ilave edildi. 55 °C de 9 saat geri soğutucu altında karıştırılarak 4-metoksisalisilaldehit bütansülfonilhidrazon türevi sentezlendi. (Ma:286,35 g/mol, E.N:75,5 °C)



Şekil 3.14. SH-4.3 bileşiğinin sentez yöntemi

3.4. Enzim İnhibisyon Çalışmalarında Kullanılan Çözeltiler

Enzim çalışmaları için kullanılan tüm çözeltiler aşağıda anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır.

3.4.1. 0,1M Fosfat tamponları

Disodyummonohidrojenfosfat (Na_2HPO_4), sodyumdihidrojenfosfatdihidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) uygun miktarlarda alınarak 0,1 M NaOH çözeltisi ile pH=7; 7,4 ve 8 olacak şekilde pH metre yardımıyla ayarlanarak hazırlanmıştır.

3.4.2. 0,01M DTNB çözeltisi

0,0198 g DTNB bileşiğinden tartılır. Bir miktar pH=7 tamponunda çözüldükten sonra çözelti 5mL lik balon jöjeye aktarılır ve boyun çizgisine kadar pH=7 tampon ile tamamlanır. Daha sonra çözelti ağzı kapaklı bir tüp içine alınıp 7,5 mg sodyumbikarbonat eklenip çözünmesi sağlanır. Hazırlanan çözelti buzdolabında saklanır. Enzim çalışması sırasında çözeltinin oda sıcaklığına gelmesi beklendikten sonra çalışmaya başlanmıştır. DTNB çözeltisi pH=7 içerisinde daha kararlı şekilde 1 aya kadar buzdolabında saklanabilmektedir [62].

3.4.3. 0,01M Substrat çözeltileri (Asetiltiyokolin iyodür ve S-Bütiriltiyokolin iyodür)

0,01M ACh Çözeltisi: 0,0145 g ACh behere alınır ve bir miktar pH=8 tamponunda çözüldükten sonra 5ml lik balon jöjeye aktarılır. Çözelti balon jöjenin boyun çizgisine kadar pH=8 tamponu ile tamamlanır. Hazırlanan çözelti ağzı kapaklı bir cam tüpe aktarıldıktan sonra buzdolabında saklanır. Bu şekilde 10-15 güne kadar tazeliğini korumaktadır [62]. Substrat çözeltisi, oda sıcaklığına gelmesi sağlandıktan sonra enzim çalışmalarında kullanılmıştır.

0,01M BCh Çözeltisi: 0,0159 g BCh behere alınır ve bir miktar pH=8 tamponunda çözüldükten sonra 5ml lik balon jöjeye aktarılır. Çözelti balon jöjenin boyun çizgisine kadar

pH=8 tamponu ile tamamlanır. Hazırlanan çözelti vida kapaklı bir cam tüpe aktarıldıktan sonra buzdolabında saklanır. Bu şekilde 10-15 güne kadar tazeliğini korumaktadır [62]. Substrat çözeltisi, oda sıcaklığına gelmesi sağlandıktan sonra enzim çalışmalarında kullanılmıştır.

3.4.4. Kolinesteraz (AChE ve BChE) enzim çözeltileri

AChE Enzim Çözeltisi: 3,6 mg AChE enzimi alınarak 10 ml pH=7,4 tamponunda çözülür (50 U/mL). Enzim çözeltisi 500 μ L'lik çözeltiler halinde tüplere ayrıldı ve bu çözeltiler -20°C de dondurularak saklandı. Enzim çözeltileri, inhibisyon çalışmalarından 1 gece önce +4°C de buzdolabına alınarak çözünmesi sağlandı. Enzim çalışması esnasında son enzim miktarı 0,015U/mL olacak şekilde distile su ile seyreltilip, oda sıcaklığına gelmesi sağlanarak çalışılmıştır.

BChE Enzim Çözeltisi: 8,4 mg BChE enzimi alınarak 10 ml pH=7,4 tamponunda çözülür (100 U/mL). Enzim çözeltisi 500 μ L'lik çözeltiler halinde tüplere ayrıldı ve bu çözeltiler -20°C de dondurularak saklandı. Enzim çözeltileri, inhibisyon çalışmalarından 1 gece önce +4°C de buzdolabına alınarak çözünmesi sağlandı. Enzim çalışması esnasında son enzim miktarı 0,010U/mL olacak şekilde distile su ile seyreltilip, oda sıcaklığına gelmesi sağlanarak çalışılmıştır.

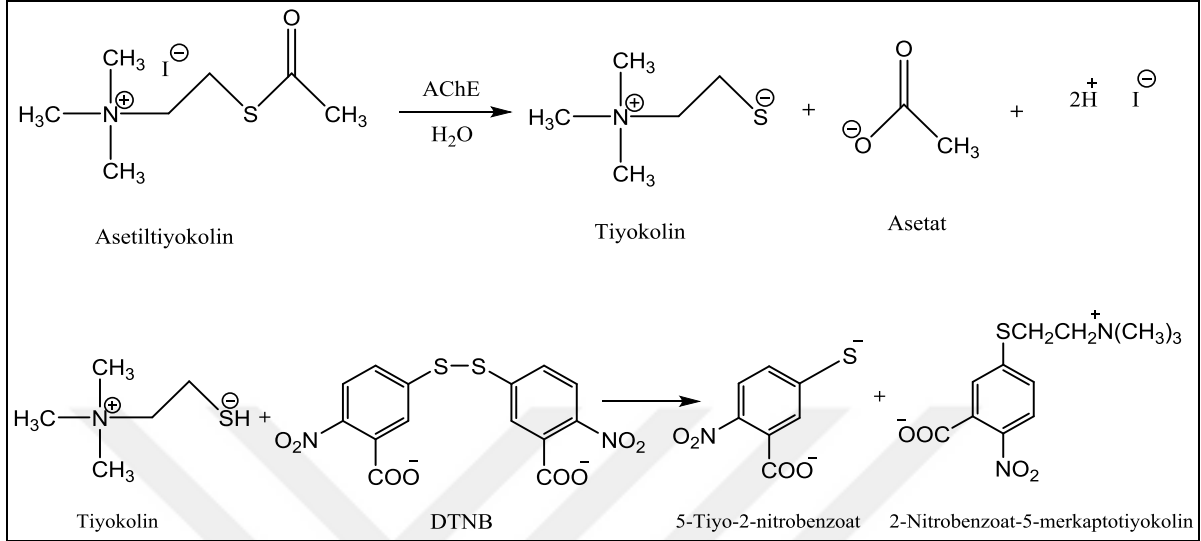
3.4.5. İnhibitör çözeltileri

Kullanılan inhibitörlerin derişimi 0,01M olacak şekilde uygun miktarlarda tartılarak %10'luk DMSO içinde 5mL'lik stok çözeltileri hazırlanır. Bu stok çözeltilerinden distile su ile seyreltilerek 1×10^{-6} M, 1×10^{-5} M, 1×10^{-4} M, 1×10^{-3} M ve 1×10^{-2} M'lik çalışma çözeltileri hazırlandı.

3.5. Asetilkolinesteraz ve Bütirilkolinesteraz Enzimlerinin İnhibisyon Çalışma Yöntemi

Asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirilkolinesteraz (BChE) inhibisyon aktiviteleri Ellman metodu olarak bilinen spektrofotometrik yöntem temel alınarak ölçüldü [62]. AChE enzimi substrat olarak asetilkolin iyodür ve BChE enzimi bütirilkolin iyodürün hidrolizini katalizler. Aktivite ölçümü için sarı renkli 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) kullanıldı. DTNB bileşiğı, hidroliz reaksiyonu sonucunda açığa çıkan tiyokolin yapısı ile

sarı renkli bir kompleks oluşturur ve bu kompleksin maksimum absorbands yaptığı 412 nm’de ölçümler alındı.



Şekil 3.15. Ellman yönteminde gerçekleşen tepkimeler

Enzim aktivitesinin belirleneceği inhibitörsüz ve inhibitörlü çözeltiler ve onlara ait kör çözeltileri aşağıdaki çizelgeye göre hazırlandı (Çizelge 3.2). Herbir küvete önce 0,1 M pH=8 olan fosfat tamponu eklendi daha sonra sırasıyla DTNB, inhibitör ve enzim çözeltileri de eklenip karıştırılarak 25°C de 10 dakika boyunca ön-inkübasyon yapıldı. İnkübasyon işlemi tamamlandıktan sonra subsrat çözeltisi küvetlere ilave edilip karıştırılarak 25°C’de 30 dakika tekrar inkübasyon gerçekleştirildi. Süre sonunda 412 nm’de her bir inhibitör derişimi için 30s de bir 3 absorbands ölçümü alındı.

Çizelge 3.2. Antikolinesteraz aktivite ölçümü yöntem tablosu

Stok çözeltiler	İnhibitörsüz Kör (µl)	İnhibitörsüz Enzim Aktivitesi (µl)	İnhibitörlü Kör (µl)	İnhibitörlü Enzim Aktivitesi (µl)
0,1 M Fosfat Tamponu (pH=8)	2940	2915	2910	2885
İnhibitör çözeltisi (her ölçüm için farklı derişimlerde)	-	-	30	30
0,01 M DTNB Çözeltisi	30	30	30	30
Enzim Çözeltisi AChE(500U/10ml) - BChE(1000U/10ml)	-	25	25	25
	25°C'de 10 dakika ön-inkübasyon			
0,01 M Substrat Çözeltisi	30	30	30	30
	25°C'de 30 dakika inkübasyon			
Toplam hacim	3000	3000	3000	3000

Bu işlem kuvvet içi derişimi 1×10^{-8} M, 1×10^{-7} M, 1×10^{-6} M, 1×10^{-5} M ve 1×10^{-4} M arası değişen inhibitör çözeltisi için tekrarlandı. Her bir inhibitör içinde aynı işlem 3 kere tekrarlandı. Alınan sonuçların üçerli seriler halinde Graphad Prism programı kullanılarak IC_{50} değerleri tayin edildi . Maddelerin inhibisyon etkisini kıyaslamak için, standart madde olarak donepezil kullanılmıştır.

3.6. Graphad Prism Programı ile IC_{50} Hesaplaması

İnkübasyon süresi tamamlanan çözeltinin tanık çözeltisi UV cihazının tanık yuvasına, aktivite ölçümü yapılacak çözelti UV cihazının absorbans ölçümü yapılan yuvasına yerleştirildi. Tanık farkı alındıktan sonra analiz çözeltisinin absorbans değeri okutulur. Aynı işlem yukarıda belirtilen inhibitör çözeltileri için de tekrarlanır. Bu ölçümler her bir inhibitör için 3 kere tekrarlanır.

Alınan absorbans sonuçları ile Graphad Prism programında bir XY veri tablosu oluşturuldu. İnhibitör konsantrasyonlarının logaritması X sütununa girildi. Bu konsantrasyonlarda 412 nm de alınan absorbans değerleri Y'ye üçlü tekrarlar şeklinde girilir. Veri tablosundan Analiz Et'e tıklanır, doğrusal olmayan regresyon seçilir, "Doz-cevap eğrileri - İnhibisyon" denklemlerinin paneli seçilir ve sonra "log (inhibitör) - yanıt - Değişken eğim" denklemi seçilir. “ $Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{((\text{LogIC}_{50} - X) * \text{HillSlope}))})$ ” denkleme göre simetrik sigmodial bir doz-cevap eğrisi oluşturulur ve inhibitörlerin IC_{50} değerleri hesaplanır. Bu denkleme;

X= ölçümü yapılan çözelti konsantrasyonunun 10 tabanındaki logaritmik değeri

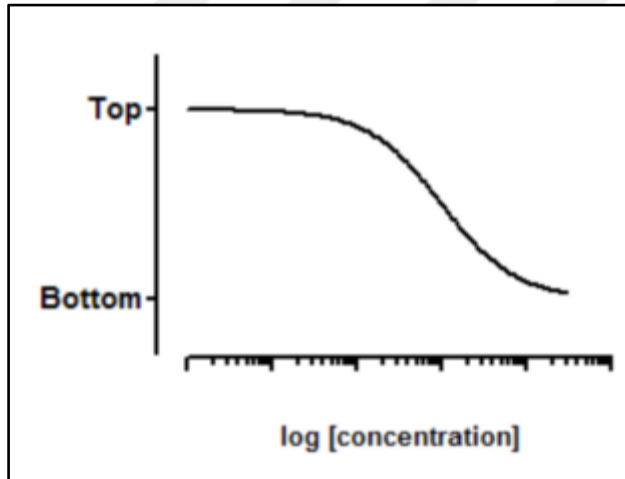
Y= inhibitör konsantrasyonlarının artışı ile düşen absorbans değerleri

Top and Bottom: Y'nin en yüksek ve en düşük değerleri

logIC_{50} = X ile aynı log birimleri

HillSlope= Eğim faktörü yada Tepe eğimi (birimsizdir)

şeklinde tanımlanır. Bu parametreler sonucunda elde edilen sigmodial eğri Şekil 3.16'daki gibidir. Bu eğrinin dönüm noktası bize IC_{50} değerini vermektedir.



Şekil 3.16. IC_{50} hesaplaması için kullanılan sigmodial eğri



4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI

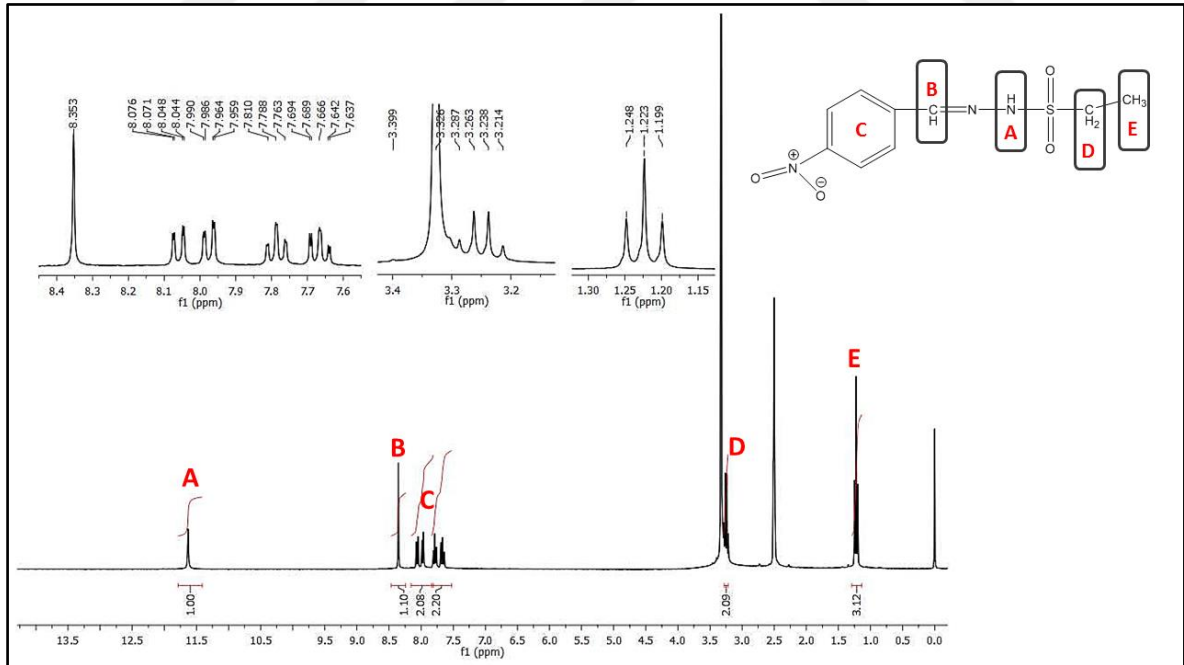
Bu bölümde sentezlenen sülfonil hidrazon bileşiklerinin deneysel verileri incelenecektir. Bileşiklerin yapılarının aydınlatılmasında kullanılan ^1H -NMR, ^{13}C -NMR ve FT-IR spektrumlarının sonuçları ve bu bileşiklerin Asetilkolinesteraz ve Bütirikolinesteraz enzimlerine karşı göstermiş oldukları inhibisyon sonuçlarını gösteren IC_{50} değerleri verilecektir.

4.1. Sentezlenen Sülfonilhidrazonların NMR ve IR yorumları

Bu çalışmada farklı aldehit / keton türevleri kullanılarak 3 ayrı alkil grubu içeren (C_2H_5 , C_3H_7 , C_4H_9) 3'lü sülfonilhidrazon serileri şeklinde toplamda 12 adet yeni bileşik sentezlenmiştir.

4.1.1. 4-Nitrobenzaldehit etansülfonilhidrazon (SH-1.1)

^1H -NMR Spektrum yorumu

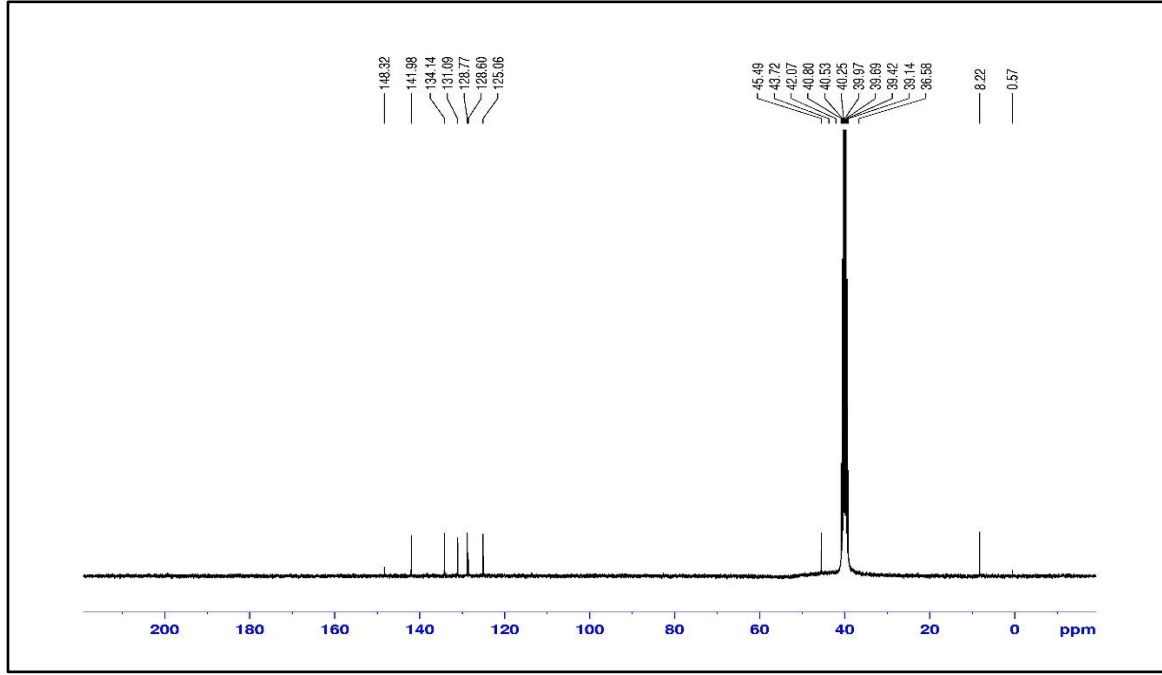


Şekil 4. 1. SH-1.1 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu

SH-1.1 bileşiğinin DMSO- d_6 içindeki ^1H -NMR spektrumunda, sekonder amindeki 1 protona karşılık gelen -NH (A) ait tekli pik 11,6 ppm de, $\text{HC}=\text{N}$ (B) imin grubuna bağlı hidrojene ait pik 8,35 ppm de, aromatik halkaya ait protonlara karşılık gelen çoklu pikler (C)

7,64-8,08 ppm aralığında, 2 protona karşılık gelen SO_2 'ye bağlı $-\text{CH}_2$ (D) ait multiplet pik 3,24 ppm, 3 protona karşılık gelen CH_2-CH_3 (E) ait şiddetli triplet pik 1,22 ppm de gözlenmektedir.

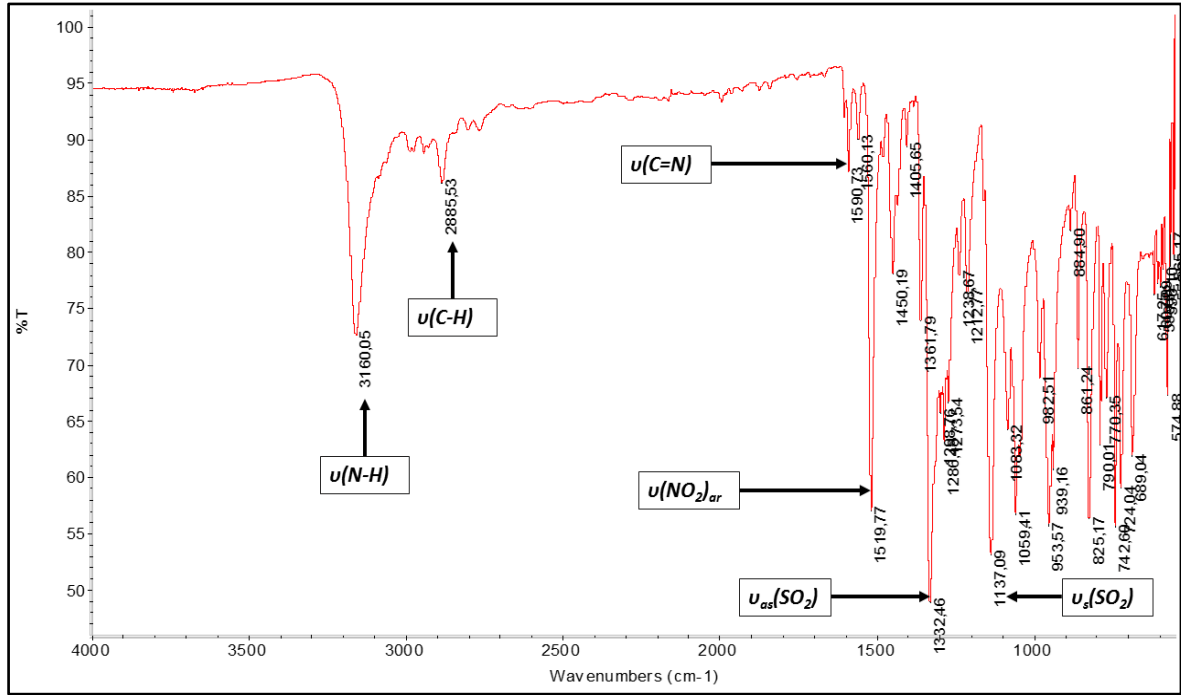
^{13}C -NMR Spektrum yorumu



Şekil 4. 2. SH-1.1 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu

SH-1.1 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu için çözücü olarak DMSO- d_6 kullanıldı. Bileşikteki sülf grubuna bağlı CH_2-CH_3 karbonuna ait pik 8,22 ppm de, SO_2 'ye bağlı $-\text{CH}_2$ karbonuna ait pik 45,49 ppm de, aromatik halkadaki karbon atomları 125,06; 128,60; 128,77; 131,09; 134,14 ve 141,98 ppm de ve $\text{HC}=\text{N}$ imin karbonuna ait pik 148,32 ppm de gözlenmiştir.

FT-IR Spektrum yorumu

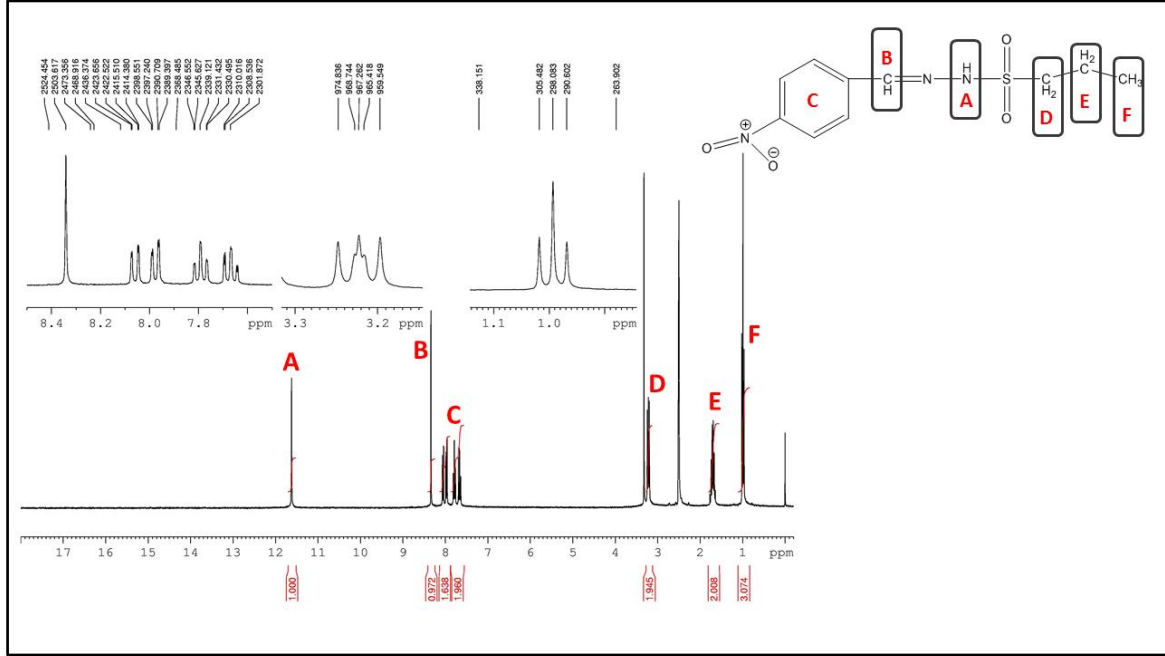


Şekil 4. 3. SH-1.1 bileşiğinin FT-IR spektrumu

SH-1.1 bileşiğinin FT-IR spektrumuna bakıldığında; 3160 cm⁻¹ de $\nu(\text{N-H})$ gerilme, 2885 cm⁻¹ de $\nu(\text{C-H})$ alifatik gerilme, 1590 cm⁻¹ de $\nu(\text{C=N})$ imin gerilme, 1519 cm⁻¹ de $\nu(\text{NO}_2)$ aromatik bağ gerilmesi, 1332 cm⁻¹ de $\nu(\text{SO}_2)$ asimetrik gerilme ve 1137 cm⁻¹ de $\nu(\text{SO}_2)$ simetrik gerilmesine ait pikler görülmektedir.

4.1.2. 4-Nitrobenzalhit propansülfonilhidrazon (SH-1.2)

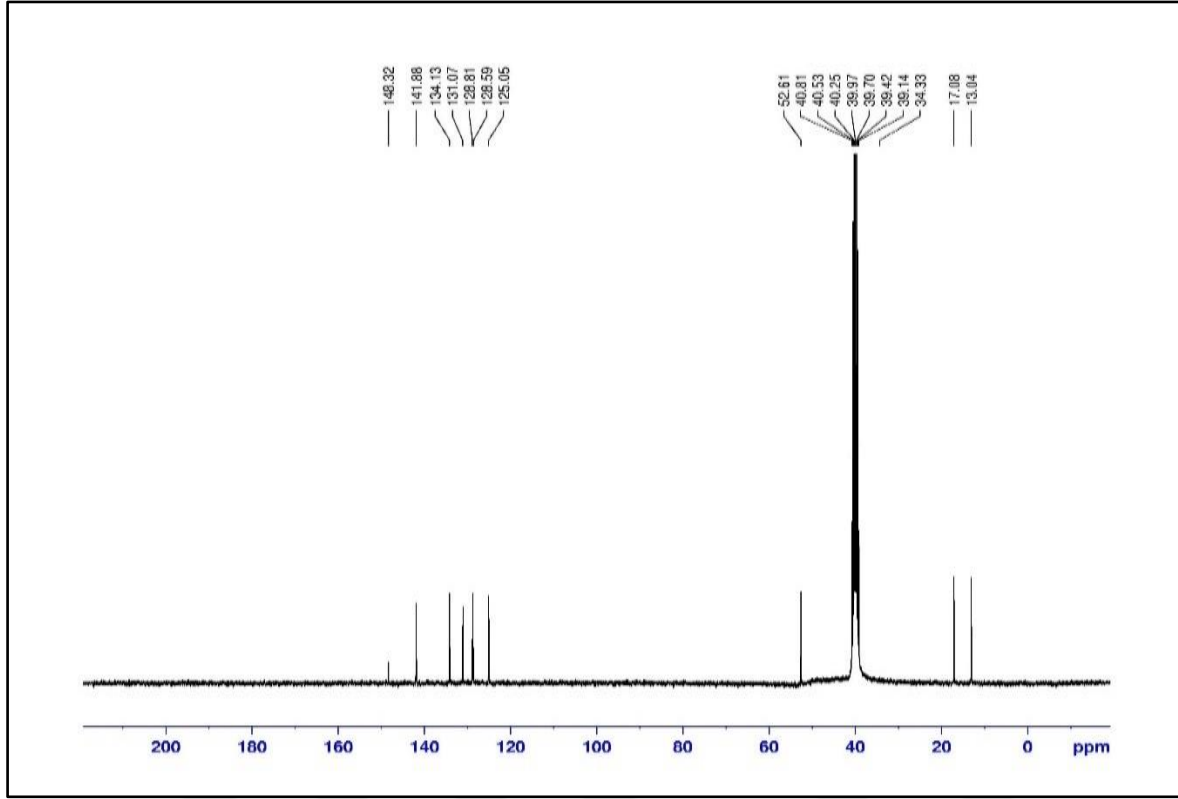
^1H -NMR Spektrum yorumu



Şekil 4. 4. SH-1.2 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu

SH-1.2 bileşiğinin DMSO- d_6 içindeki ^1H -NMR spektrumunda, sekonder amindeki 1 protona karşılık gelen -NH (A) ait tekli pik 11,65 ppm de, $\text{HC}=\text{N}$ (B) imin grubuna bağlı hidrojene ait pik 8,35 ppm de, aromatik halkaya ait protonlara karşılık gelen çoklu pikler (C) 7,65-8,09 ppm aralığında, SO_2 'ye bağlı 2 protona karşılık gelen -CH₂ (D) ait multipler pik 3,24 ppm, 2 protona karşılık gelen CH₂-CH₂-CH₃ (E) ait multipler pik 1,69 ppm, 3 protona karşılık gelen CH₂-CH₃ (F) ait şiddetli triplet pik 0,93 ppm de gözlenmektedir.

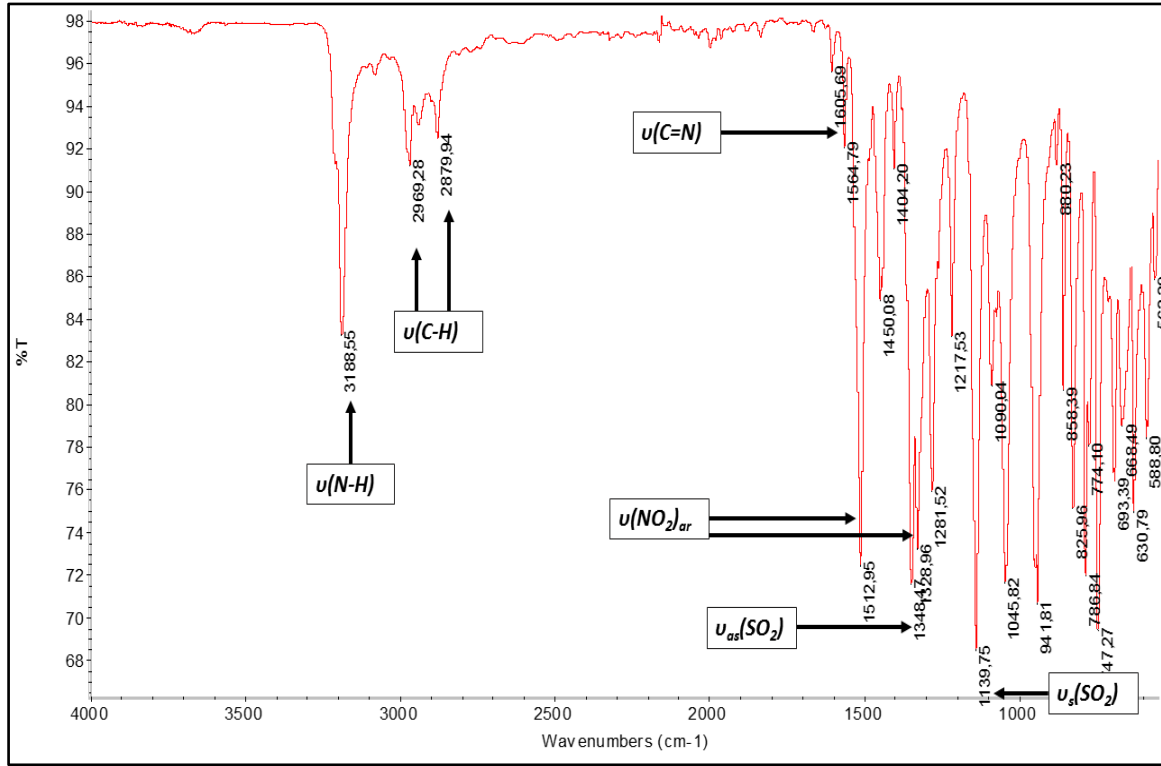
^{13}C -NMR Spektrum yorumu



Şekil 4. 5. SH-1.2 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu

SH-1.2 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu için çözücü olarak DMSO- d_6 kullanıldı. Bileşikteki sülfü grubuna bağlı $\text{CH}_2\text{-CH}_3$ karbonuna ait pik 13,04 ppm de, sülfü grubuna bağlı $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$ karbonuna ait pik 17,08 ppm de, SO_2 'ye bağlı -CH_2 karbonuna ait pik 52,61 ppm de, aromatik halkadaki karbon atomları 125,05; 128,59; 128,81; 131,07; 134,13 ve 141,88 ppm de ve HC=N imin karbonuna ait pik 148,32 ppm de gözlenmiştir.

FT-IR Spektrum yorumu

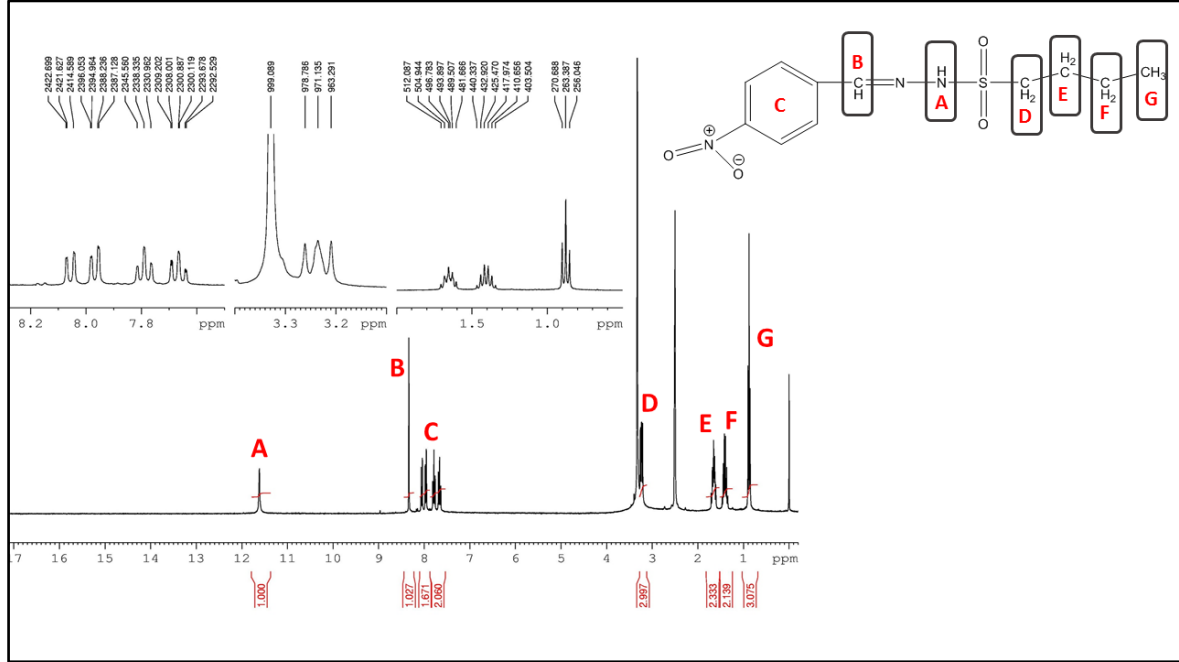


Şekil 4. 6. SH-1.2 bileşiğinin FT-IR spektrumu

SH-1.2 bileşiğinin FT-IR spektrumunda; 3188 cm^{-1} de gözlenen kuvvetli band sekonder amin $\nu(N-H)$ gerilmesi, 2969 cm^{-1} de $\nu_{as}(CH_3)$ asimetrik gerilme, 2879 cm^{-1} $\nu_s(CH_3)$ simetrik gerilme, 1605 cm^{-1} de $\nu(C=N)$ imin gerilme, 1512 ve 1328 cm^{-1} de aromatik halkaya bağlı $\nu(NO_2)$ gerilmeleri, 1348 cm^{-1} de $\nu_{as}(SO_2)$ asimetrik gerilme ve 1139 cm^{-1} de $\nu_s(SO_2)$ simetrik gerilme titreşimlerine ait pikler gözlenmektedir.

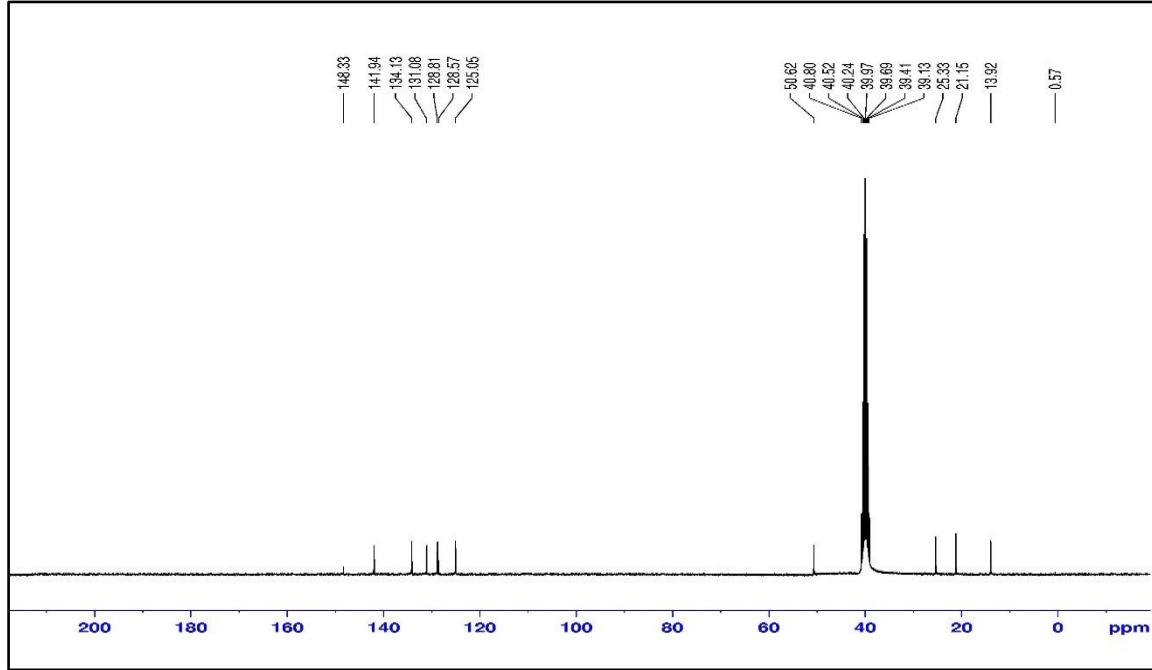
4.1.3. 4-Nitrobenzaldehyt bütansülfonilhidrazon (SH-1.3)

^1H -NMR Spektrum yorumu



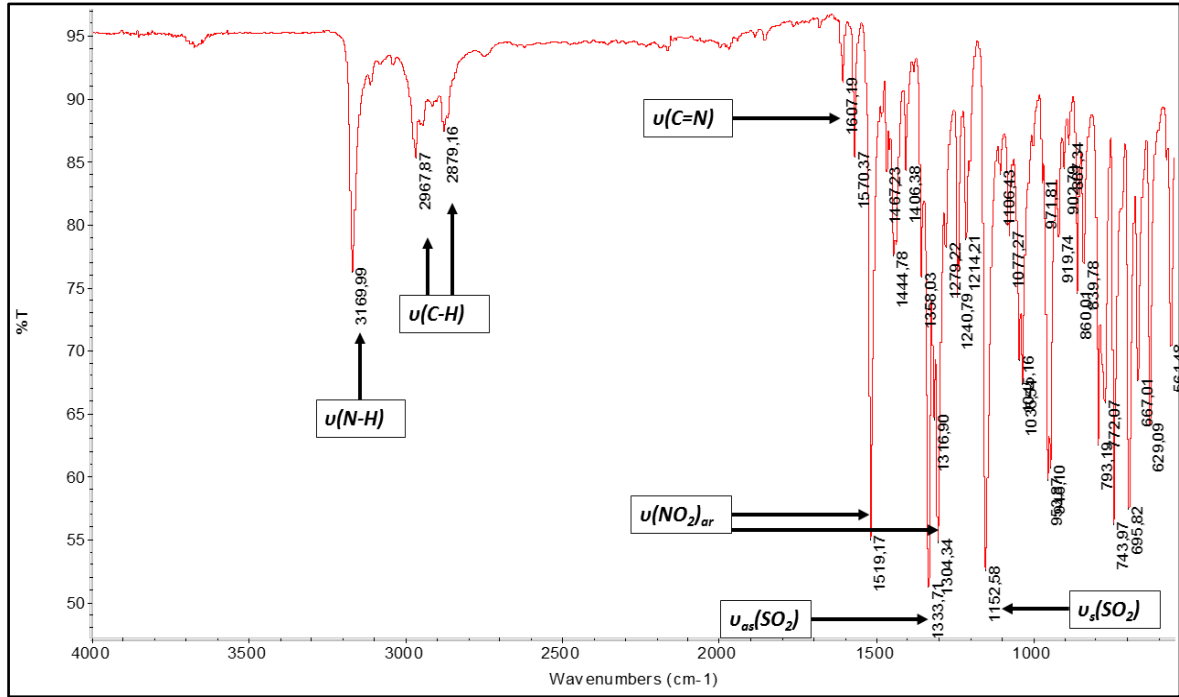
Şekil 4. 7. SH-1.3 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu

SH-1.3 bileşiğinin DMSO- d_6 içindeki ^1H -NMR spektrumunda, sekonder amindeki 1 protona karşılık gelen -NH (A) ait tekli pik 11,59 ppm de, $\text{HC}=\text{N}$ (B) imin grubuna bağlı hidrojene ait pik 8,35 ppm de, aromatik halkaya ait protonlara karşılık gelen çoklu pikler (C) 7,63-8,09 ppm aralığında, SO_2 'ye bağlı 2 protona karşılık gelen $-\text{CH}_2$ (D) ait multipler pik 3,24 ppm, 2 protona karşılık gelen $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$ (E) ait multipler pik 1,63 ppm, 2 protona karşılık gelen $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$ (F) ait multipler pik 1,36 ppm, 3 protona karşılık gelen $\text{CH}_2\text{-CH}_3$ (G) ait şiddetli tripler pik 0,86 ppm de gözlenmektedir.

^{13}C -NMR Spektrum yorumuŞekil 4. 8. SH-1.3 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu

SH-1.3 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu için çözücü olarak DMSO-d₆ kullanıldı. Bileşikteki sülfü grubuna bağlı $\text{CH}_2\text{-CH}_3$ karbonuna ait pik 13,92 ppm de, sülfü grubuna bağlı $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$ karbonuna ait pik 21,15 ppm de, sülfü grubuna bağlı $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{CH}_3$ karbonuna ait pik 25,33 ppm de, SO_2 'ye bağlı -CH_2 karbonuna ait pik 50,62 ppm de, aromatik halkadaki karbon atomları 125,05; 128,57; 128,81; 131,08; 134,13 ve 141,94 ppm de ve HC=N imin karbonuna ait pik 148,33 ppm de gözlenmiştir.

FT-IR Spektrum yorum

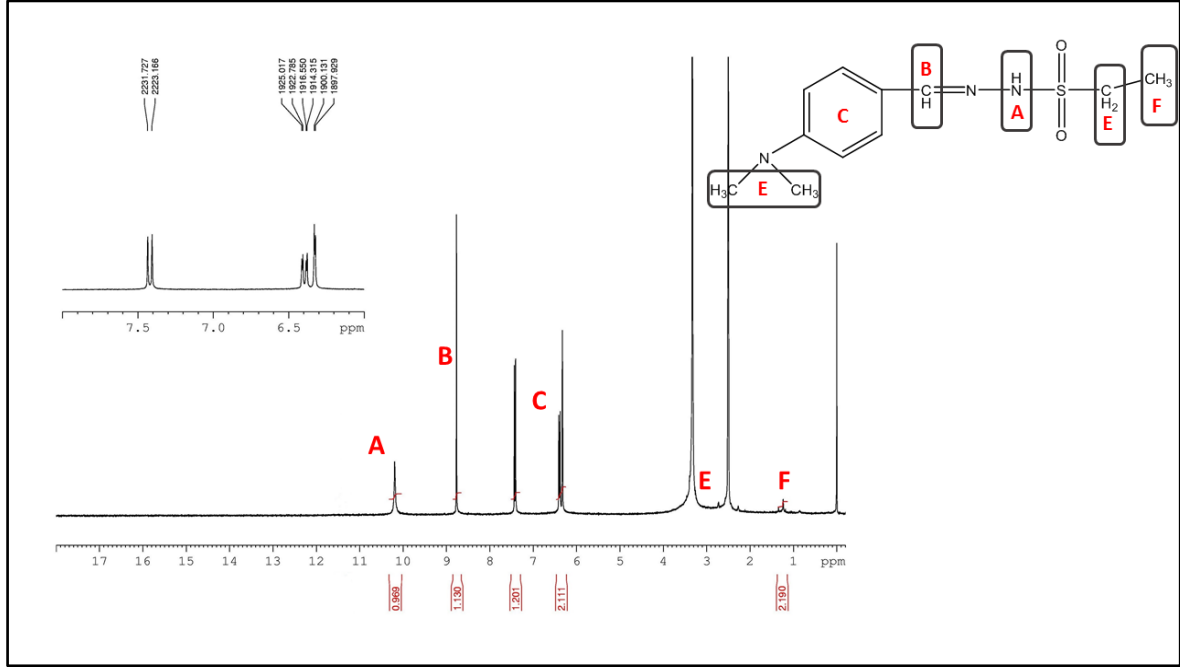


Şekil 4. 9. SH-1.3 bileşiğinin FT-IR spektrumu

SH-1.3 bileşiğinin FT-IR spektrumunda; 3170 cm^{-1} de gözlenen kuvvetli band sekonder amin $\nu(\text{N-H})$ gerilmesi, 2968 cm^{-1} de $\nu_{as}(\text{CH}_3)$ asimetrik gerilme, 2879 cm^{-1} $\nu_s(\text{CH}_3)$ simetrik gerilme, 1607 cm^{-1} de $\nu(\text{C=N})$ imin gerilme, 1519 ve 1304 cm^{-1} de aromatik halkaya bağlı $\nu(\text{NO}_2)$ gerilmeleri, 1334 cm^{-1} de $\nu_{as}(\text{SO}_2)$ asimetrik gerilme ve 1153 cm^{-1} de $\nu_s(\text{SO}_2)$ simetrik gerilme titreşimlerine ait pikler gözlenmektedir.

4.1.4. 4-Dimetilaminobenzaldehyt etansülfonilhidrazon (SH-2.1)

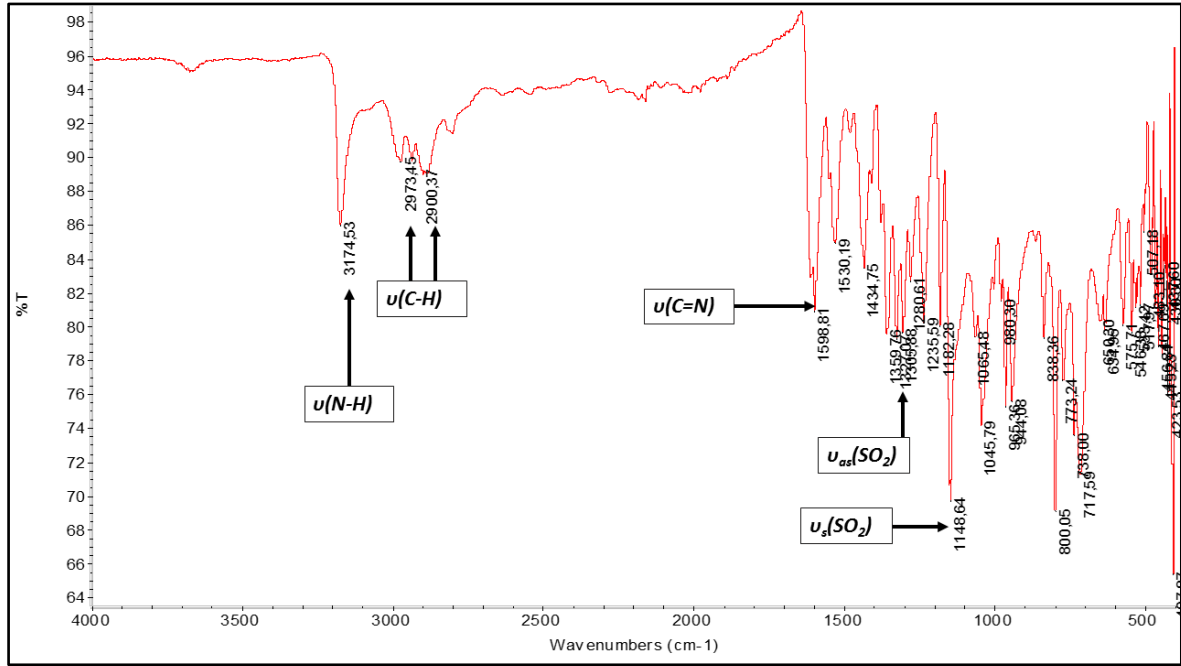
^1H -NMR Spektrum yorumu



Şekil 4. 10. SH-2.1 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu

SH-2.1 bileşiğinin DMSO- d_6 içindeki ^1H -NMR spektrumunda, sekonder amindeki 1 protona karşılık gelen -NH (A) ait tekli pik 10,22 ppm de, $\text{HC}=\text{N}$ (B) imin grubuna bağlı hidrojene ait pik 8,85 ppm de, aromatik halkaya ait protonlara karşılık gelen çoklu pikler (C) 6,35-7,45 ppm aralığında, SO₂'ye bağlı 2 protona karşılık gelen -CH₂ (E) ait pik ve 6 protona karşılık gelen N(CH₃)₂ (E) ait pikler DMSO piki kapatmıştır, 3 protona karşılık gelen CH₂-CH₃ (F) ait triplet pik 1,25 ppm de gözlenmektedir.

FT-IR Spektrum yorumu

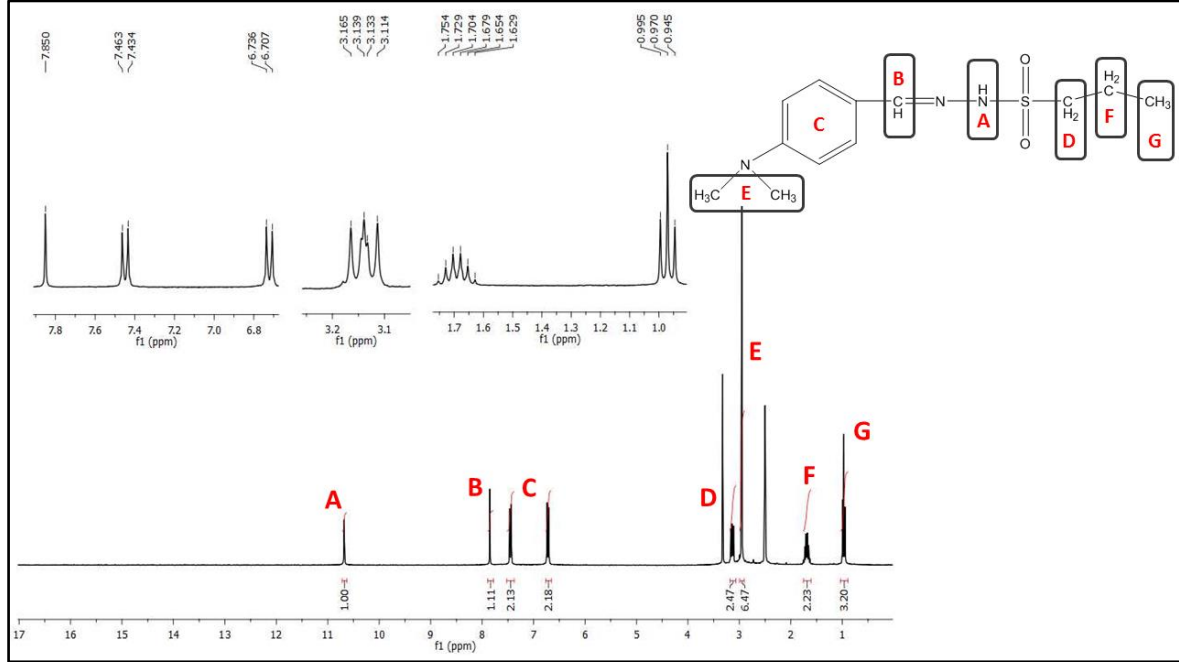


Şekil 4. 11. SH-2.1 bileşiğinin FT-IR spektrumu

SH-2.1 bileşiğinin FT-IR spektrumunda; 3175 cm^{-1} de gözlenen kuvvetli band sekonder amin $\nu(\text{N-H})$ gerilmesi, 2973 cm^{-1} de $\nu_{\text{as}}(\text{CH}_3)$ asimetrik gerilme, 2900 cm^{-1} $\nu_{\text{s}}(\text{CH}_3)$ simetrik gerilme, 1599 cm^{-1} de $\nu(\text{C=N})$ imin gerilme, 1327 cm^{-1} de $\nu_{\text{as}}(\text{SO}_2)$ asimetrik gerilme ve 1149 cm^{-1} de $\nu_{\text{s}}(\text{SO}_2)$ simetrik gerilme titreşimlerine ait pikler gözlenmektedir.

4.1.5. 4-Dimetilaminobenzaldehit propansülfonilhidrazon (SH-2.2)

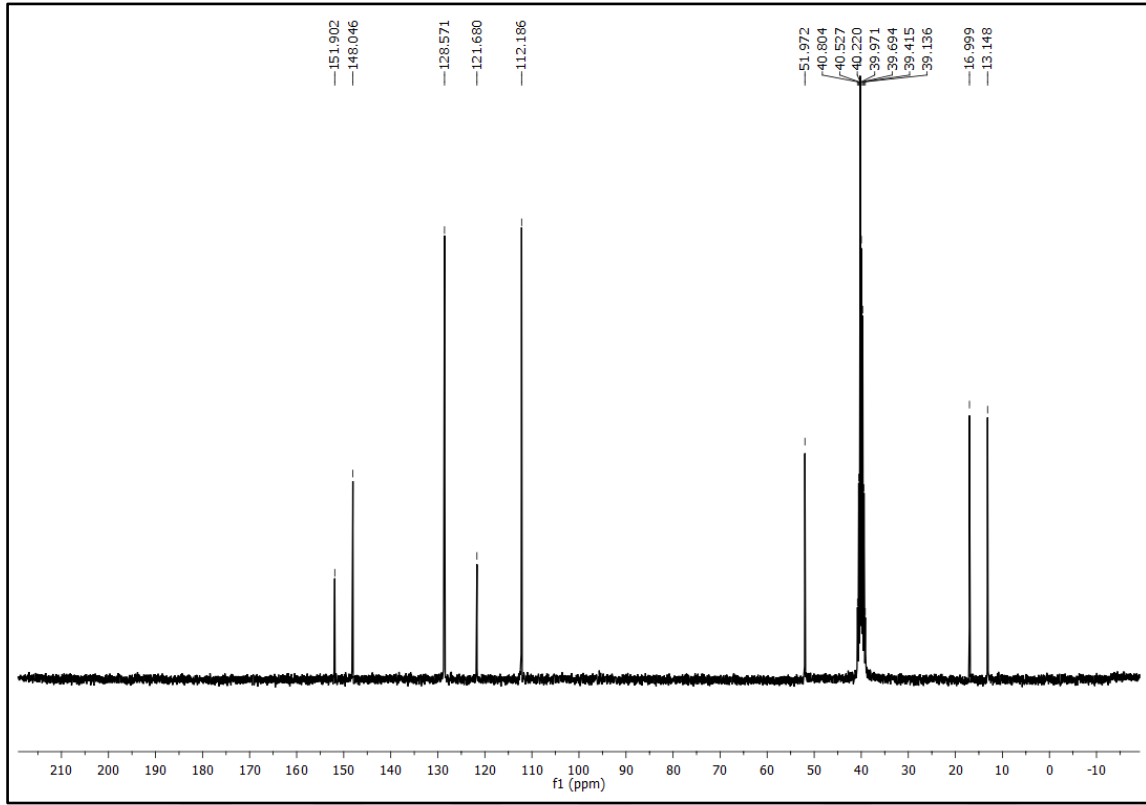
^1H -NMR Spektrum yorumu



Şekil 4. 12. SH-2.2 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu

SH-2.2 bileşiğinin DMSO- d_6 içindeki ^1H -NMR spektrumunda, sekonder amindeki 1 protona karşılık gelen $-\text{NH}$ (A) ait tekli pik 11,71 ppm de, $\text{HC}=\text{N}$ (B) imin grubuna bağlı hidrojene ait pik 7,85 ppm de, aromatik halkaya ait protonlara karşılık gelen çoklu pikler (C) 6,71-7,45 ppm aralığında, SO_2 'ye bağlı 2 protona karşılık gelen $-\text{CH}_2$ (D) ait multipler pik 3,14 ppm, 6 protona karşılık gelen $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ (E) ait şiddetli tekli pik 2,97 ppm, 2 protona karşılık gelen $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ (F) ait multipler pik 1,70 ppm, 3 protona karşılık gelen CH_2-CH_3 (G) ait triplet pik 0,97 ppm de gözlenmektedir.

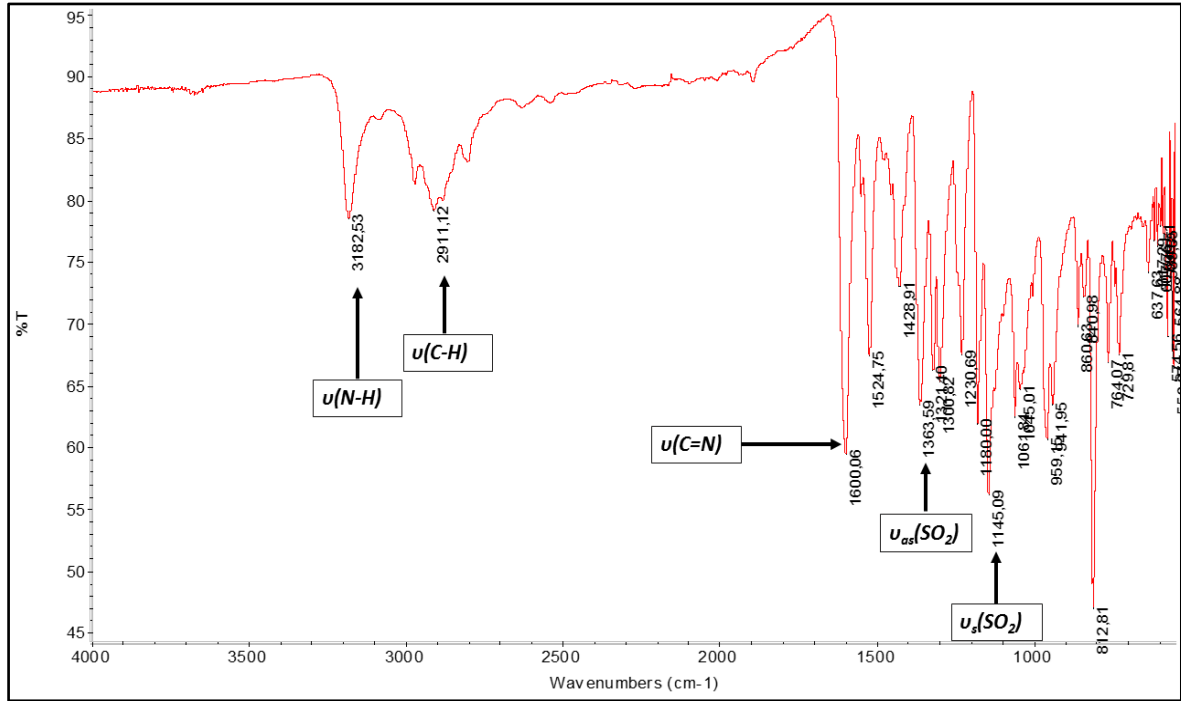
^{13}C -NMR Spektrum yorumu



Şekil 4.13. SH-2.2 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu

SH-2.2 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu için çözücü olarak DMSO- d_6 kullanıldı. Bileşikteki sülfö grubuna bağlı $\text{CH}_2\text{-CH}_3$ karbonuna ait pik 13,14 ppm de, sülfö grubuna bağlı $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$ karbonuna ait pik 16,99 ppm de, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ grubundaki karbonlara ait pik 40,22 ppm de, SO_2 'ye bağlı -CH_2 karbonuna ait pik 51,97 ppm de, aromatik halkadaki karbon atomları 112,2; 121,6; 128,57; ve 151,90 ppm de ve HC=N imin karbonuna ait pik 148,05 ppm de gözlenmiştir.

FT-IR Spektrum yorumu

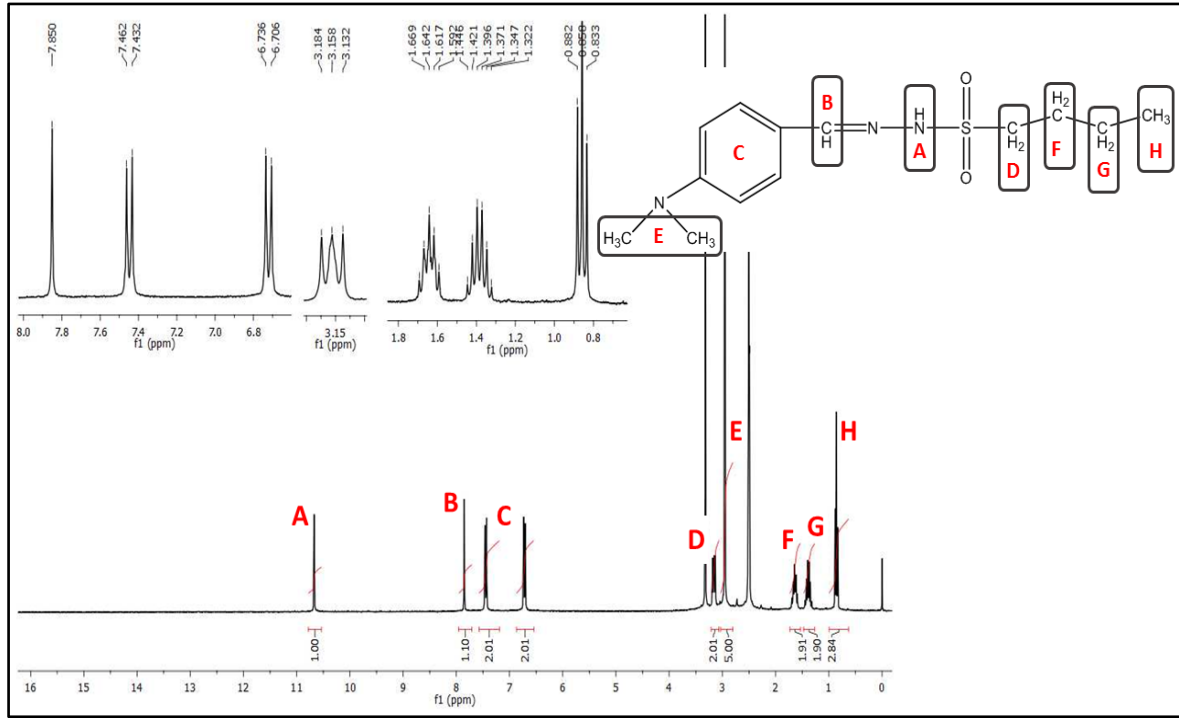


Şekil 4. 14. SH-2.2 bileşiğinin FT-IR spektrumu

SH-2.2 bileşiğinin FT-IR spektrumunda; 3183 cm^{-1} de gözlenen kuvvetli band sekonder amin $\nu(\text{N-H})$ gerilmesi, 2911 cm^{-1} de $\nu(\text{C-H})$ alifatik gerilme, 1600 cm^{-1} deki kuvvetli band $\nu(\text{C=N})$ imin gerilme, 1364 cm^{-1} de $\nu_{\text{as}}(\text{SO}_2)$ asimetrik gerilme ve 1145 cm^{-1} de $\nu_{\text{s}}(\text{SO}_2)$ simetrik gerilme titreşimlerine ait pikler gözlenmektedir.

4.1.6. 4-Dimetilaminobenzaldehyt bütansülfonilhidrazon (SH-2.3)

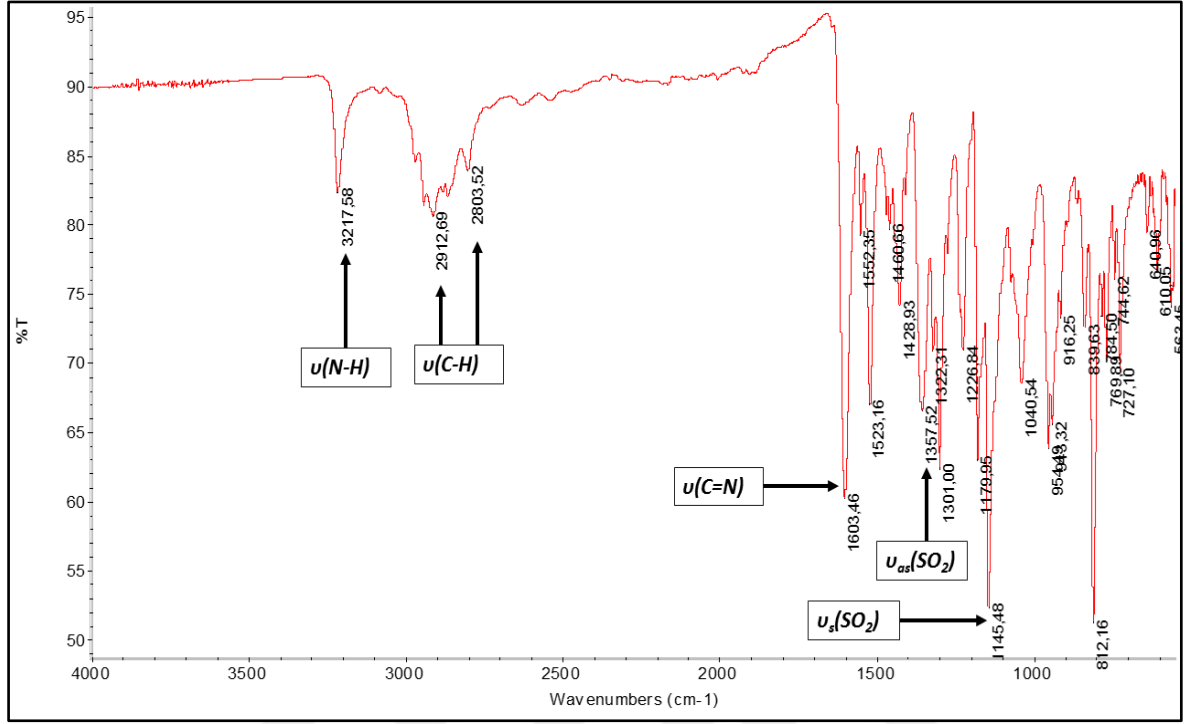
^1H -NMR Spektrum yorumu



Şekil 4. 15. SH-2.3 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu

SH-2.3 bileşiğinin DMSO- d_6 içindeki ^1H -NMR spektrumunda, sekonder amindeki 1 protona karşılık gelen -NH (A) ait tekli pik 11,70 ppm de, $\text{HC}=\text{N}$ (B) imin grubuna bağlı hidrojene ait pik 7,85 ppm de, aromatik halkaya ait protonlara karşılık gelen çoklu pikler (C) 6,71-7,46 ppm aralığında, SO₂'ye bağlı 2 protona karşılık gelen -CH₂ (D) ait multipliket pik 3,16 ppm, 6 protona karşılık gelen N(CH₃)₂ (E) ait şiddetli tekli pik 2,96 ppm, 2 protona karşılık gelen CH₂-CH₂-CH₂CH₃ (F) ait multipliket pik 1,64 ppm, 2 protona karşılık gelen CH₂CH₂-CH₂-CH₃ (G) ait multipliket pik 1,41 ppm, 3 protona karşılık gelen CH₂-CH₃ (H) ait tripliket pik 0,86 ppm de gözlenmektedir.

FT-IR Spektrum yorumu

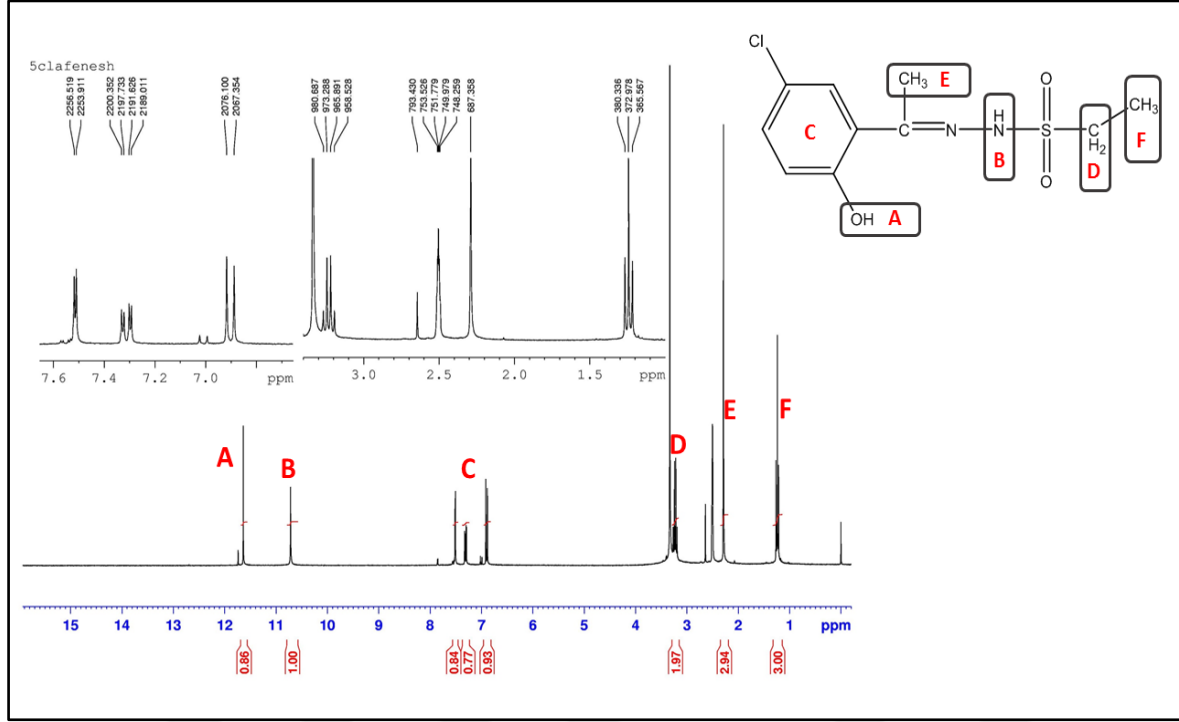


Şekil 4. 16. SH-2.3 bileşiğinin FT-IR spektrumu

SH-2.3 bileşiğinin FT-IR spektrumunda; 3218 cm⁻¹ de gözlenen kuvvetli band sekonder amin $\nu(\text{N-H})$ gerilmesi, 2911 cm⁻¹ de $\nu(\text{C-H})$ alifatik gerilme, 1600 cm⁻¹ deki kuvvetli band $\nu(\text{C=N})$ imin gerilme, 1364 cm⁻¹ de $\nu_{\text{as}}(\text{SO}_2)$ asimetrik gerilme ve 1145 cm⁻¹ de $\nu_{\text{s}}(\text{SO}_2)$ simetrik gerilme titreşimlerine ait pikler gözlenmektedir.

4.1.7. 5-Kloro-2-hidroksiasetofenon etansülfonilhidrazon (SH-3.1)

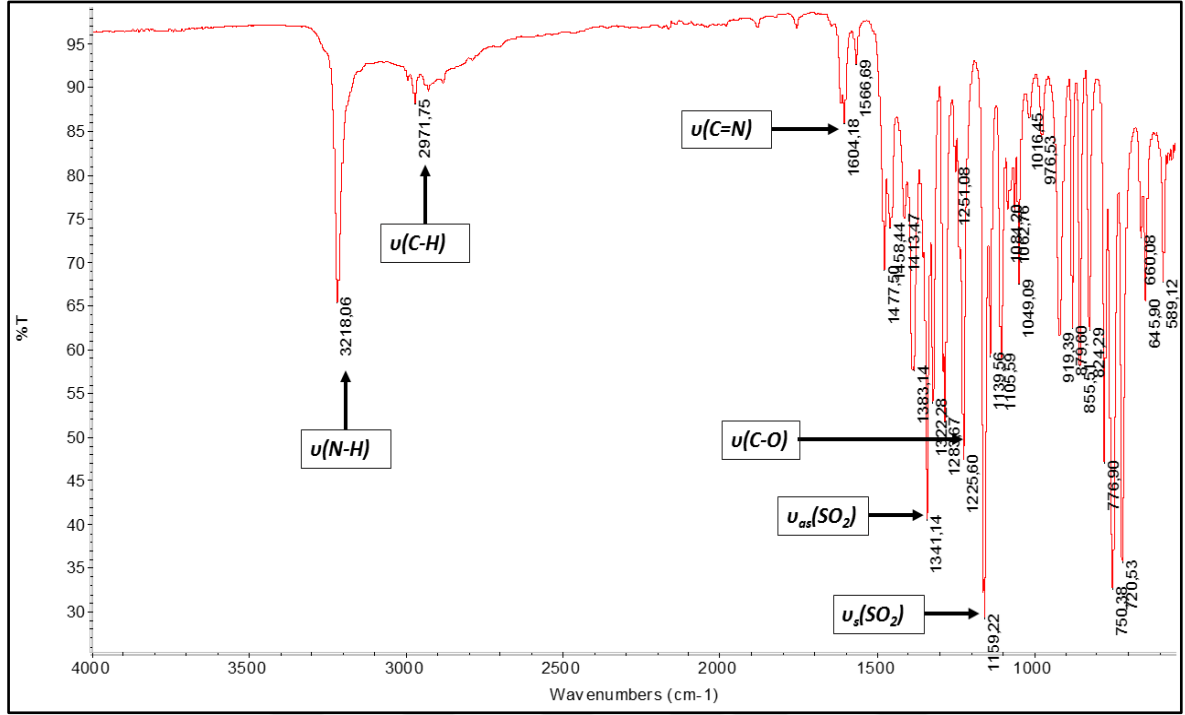
^1H -NMR Spektrum yorumu



Şekil 4. 17. SH-3.1 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu

SH-3.1 bileşiğinin DMSO- d_6 içindeki ^1H -NMR spektrumunda, fenolik $-\text{OH}$ (A) protona ait tekli pik 11,65 ppm de, sekonder amindeki 1 protona karşılık gelen $-\text{NH}$ (B) ait tekli pik 10,73 ppm de, aromatik halkaya ait protonlara karşılık gelen çoklu pikler (C) 6,87 - 7,51 ppm aralığında, 2 protona karşılık gelen SO_2 'ye bağlı $-\text{CH}_2$ (D) ait multiplet pik 3,24 ppm, imin karbonuna bağlı 3 protona karşılık gelen $\text{CH}_3\text{C}=\text{N}$ (E) ait şiddetli tekli pik 2,96 ppm, CH_2-CH_3 (F) ait şiddetli triplet pik 1,25 ppm de gözlenmektedir.

FT-IR Spektrum yorumu

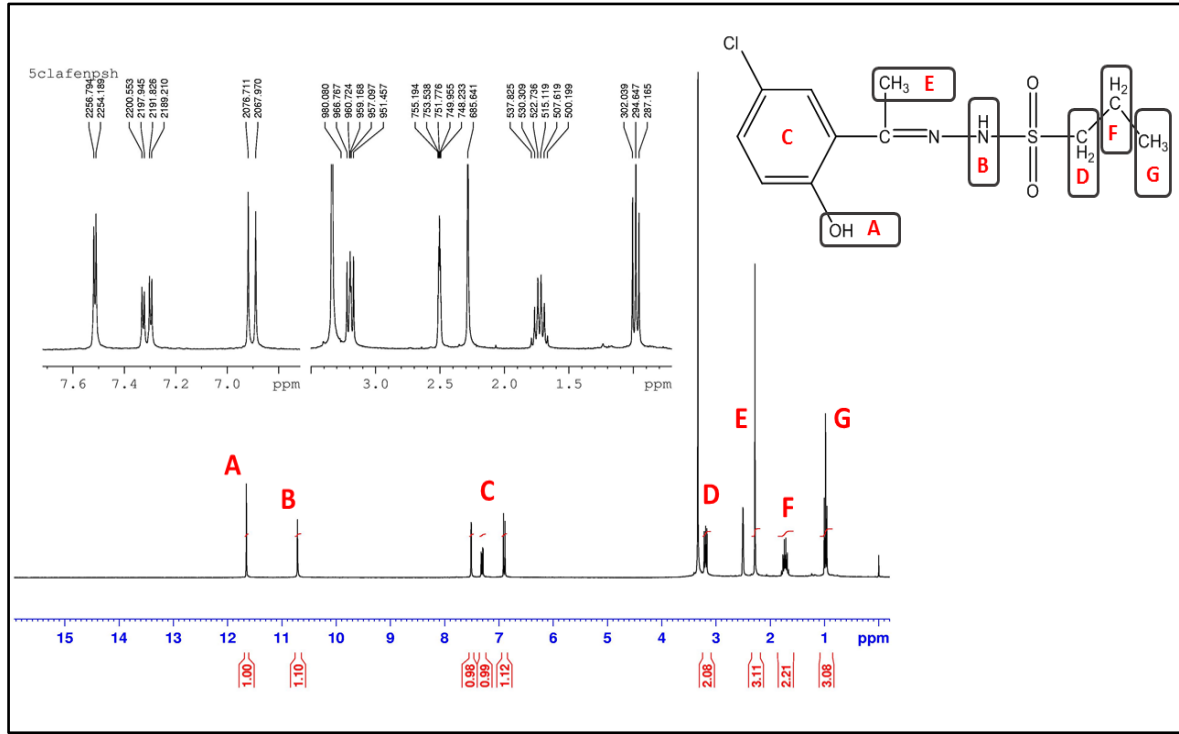


Şekil 4. 18. SH-3.1 bileşiğinin FT-IR spektrumu

SH-3.1 bileşiğinin FT-IR spektrumunda; 3218 cm⁻¹ de gözlenen kuvvetli band sekonder amin $\nu(\text{N-H})$ gerilmesi, 2973 cm⁻¹ de alifatik $\nu(\text{C-H})$ gerilme, 1604 cm⁻¹ de imin $\nu(\text{C=N})$ gerilmesi, 1226 cm⁻¹ de $\nu(\text{C-O})$ gerilmesi, 1341 cm⁻¹ de $\nu_{\text{as}}(\text{SO}_2)$ asimetrik gerilme ve 1159 cm⁻¹ de $\nu_{\text{s}}(\text{SO}_2)$ simetrik gerilme titreşimlerine ait pikler gözlenmektedir.

4.1.8. 5-Kloro-2-hidroksiasetofenon propansülfonilhidrazon (SH-3.2)

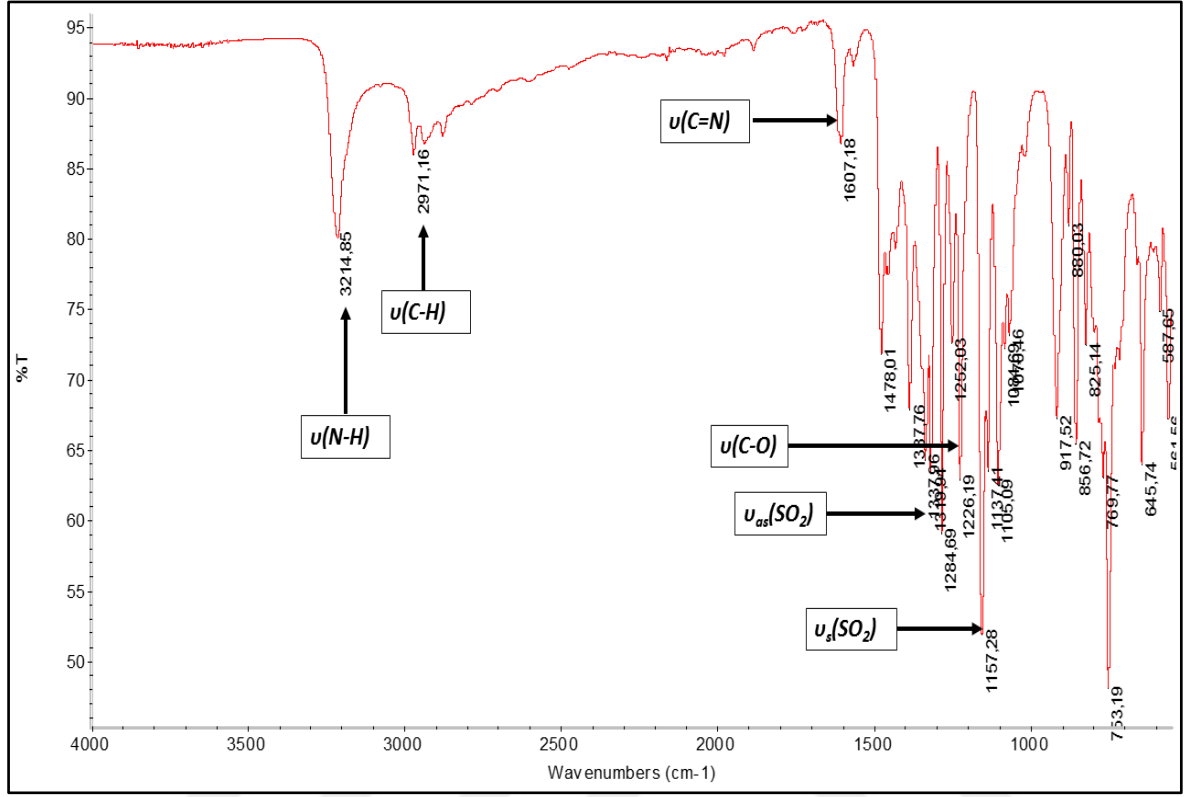
^1H -NMR Spektrum yorumu



Şekil 4. 19. SH-3.2 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu

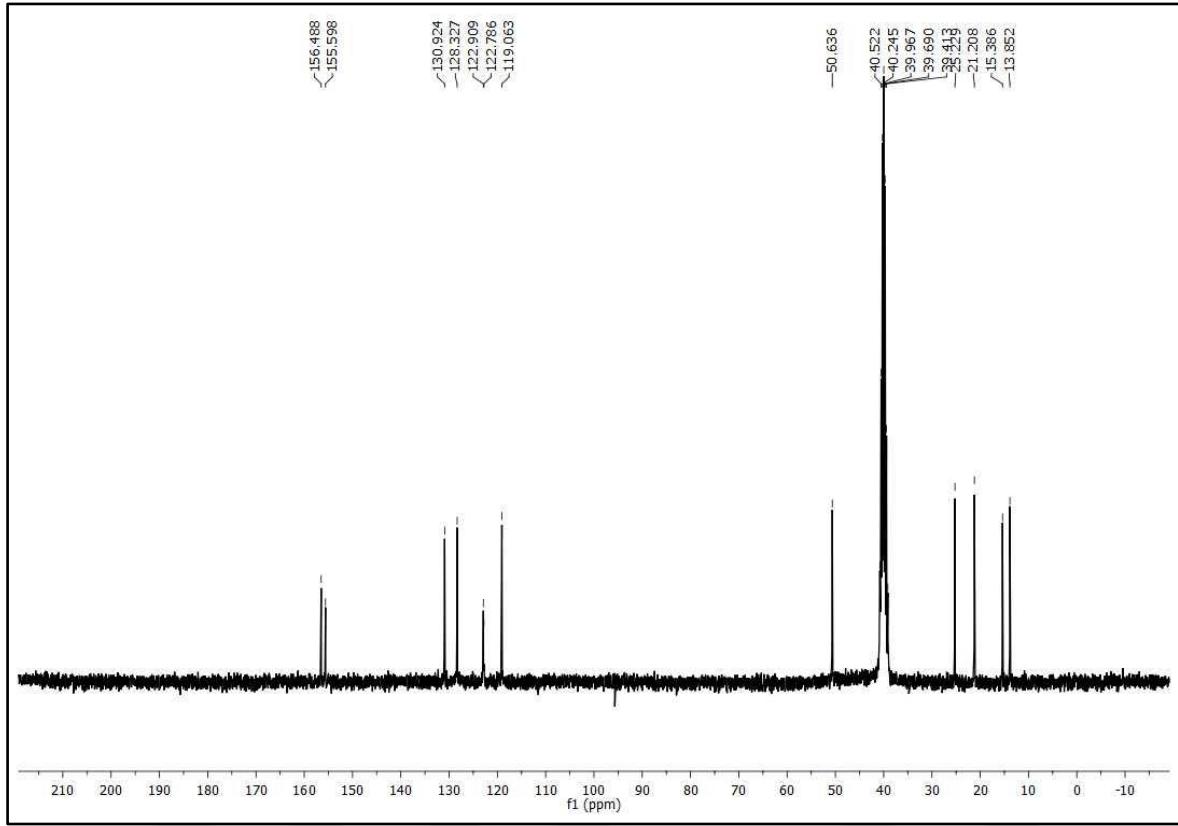
SH-3.2 bileşiğinin $\text{DMSO}-d_6$ içindeki ^1H -NMR spektrumunda, fenolik $-\text{OH}$ (A) protona ait tekli pik 11,65 ppm de, sekonder amindeki 1 protona karşılık gelen $-\text{NH}$ (B) ait tekli pik 10,74 ppm de, aromatik halkaya ait protonlara karşılık gelen çoklu pikler (C) 6,90-7,52 ppm aralığında, 2 protona karşılık gelen SO_2 'ye bağlı $-\text{CH}_2$ (D) ait multiyet pik 3,20 ppm, imin karbonuna bağlı 3 protona karşılık gelen $\text{CH}_3\text{C}=\text{N}$ (E) ait şiddetli tekli pik 2,97 ppm, 2 protona karşılık gelen $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ (F) ait multiyet pik 1,72 ppm, 3 protona karşılık gelen CH_2-CH_3 (G) ait şiddetli triplet pik 0,97 ppm de gözlenmektedir.

FT-IR Spektrum yorumu



Şekil 4. 20. SH-3.2 bileşiğinin FT-IR spektrumu

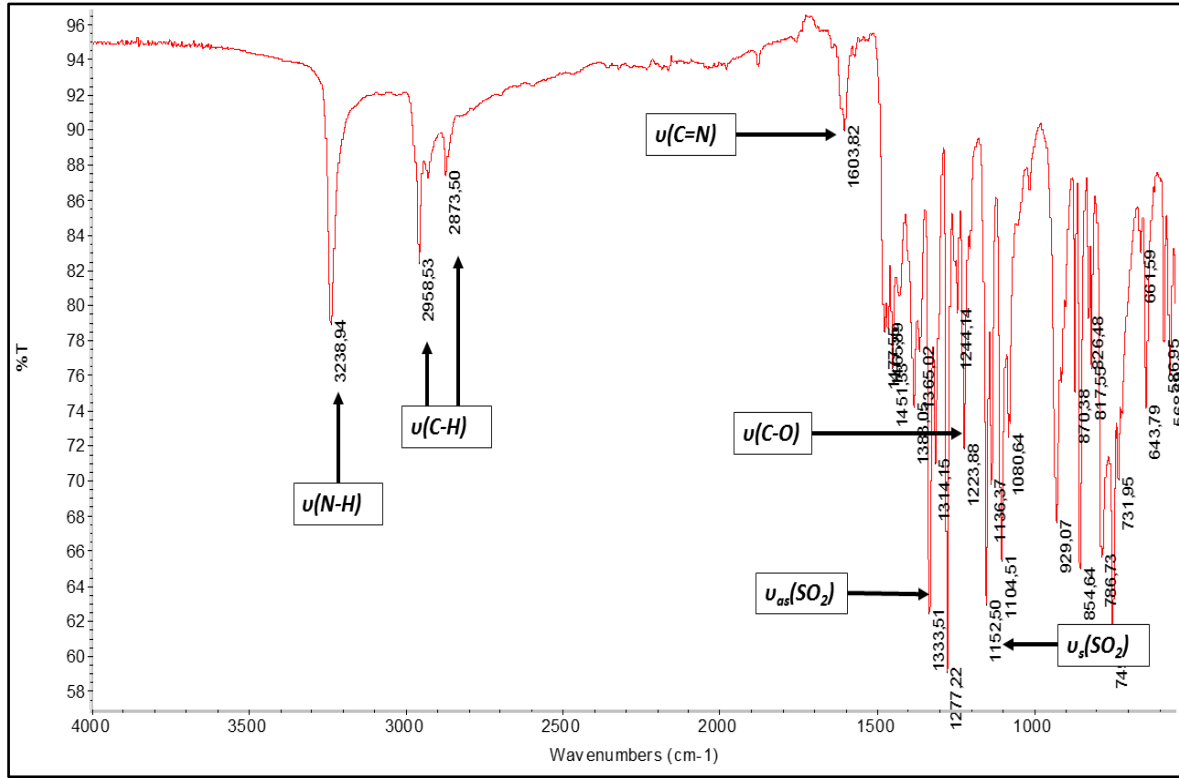
SH-3.2 bileşiğinin FT-IR spektrumunda; 3215 cm^{-1} de gözlenen kuvvetli band sekonder amin $\nu(\text{N-H})$ gerilmesi, 2971 cm^{-1} de alifatik $\nu(\text{C-H})$ gerilme, 1607 cm^{-1} de imin $\nu(\text{C=N})$ gerilmesi, 1226 cm^{-1} de $\nu(\text{C-O})$ gerilmesi, 1337 cm^{-1} de $\nu_{\text{as}}(\text{SO}_2)$ asimetrik gerilme ve 1157 cm^{-1} de $\nu_s(\text{SO}_2)$ simetrik gerilme titreşimlerine ait pikler gözlenmektedir.

^{13}C -NMR Spektrum yorumu

Şekil 4. 22. SH-3.3 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu

SH-3.3 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu için çözücü olarak DMSO- d_6 kullanıldı. Bileşikteki sülfü grubuna bağlı $\text{CH}_2\text{-CH}_3$ karbonuna ait pik 13,85 ppm de, $\text{N=C(CH}_3\text{)}$ grubundaki karbona ait pik 15,38 ppm de, sülfü grubuna bağlı $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$ karbonuna ait pik 21,20 ppm de, sülfü grubuna bağlı $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{CH}_3$ karbonuna ait pik 25,22 ppm de, SO_2 'ye bağlı -CH_2 karbonuna ait pik 50,63 ppm de, aromatik halkadaki karbon atomları 119,06; 122,78; 122,90; 128,32; 130,92 ve 155,59 ppm de, ve HC=N imin karbonuna ait pik 156,48 ppm de gözlenmiştir.

FT-IR Spektrum yorumu

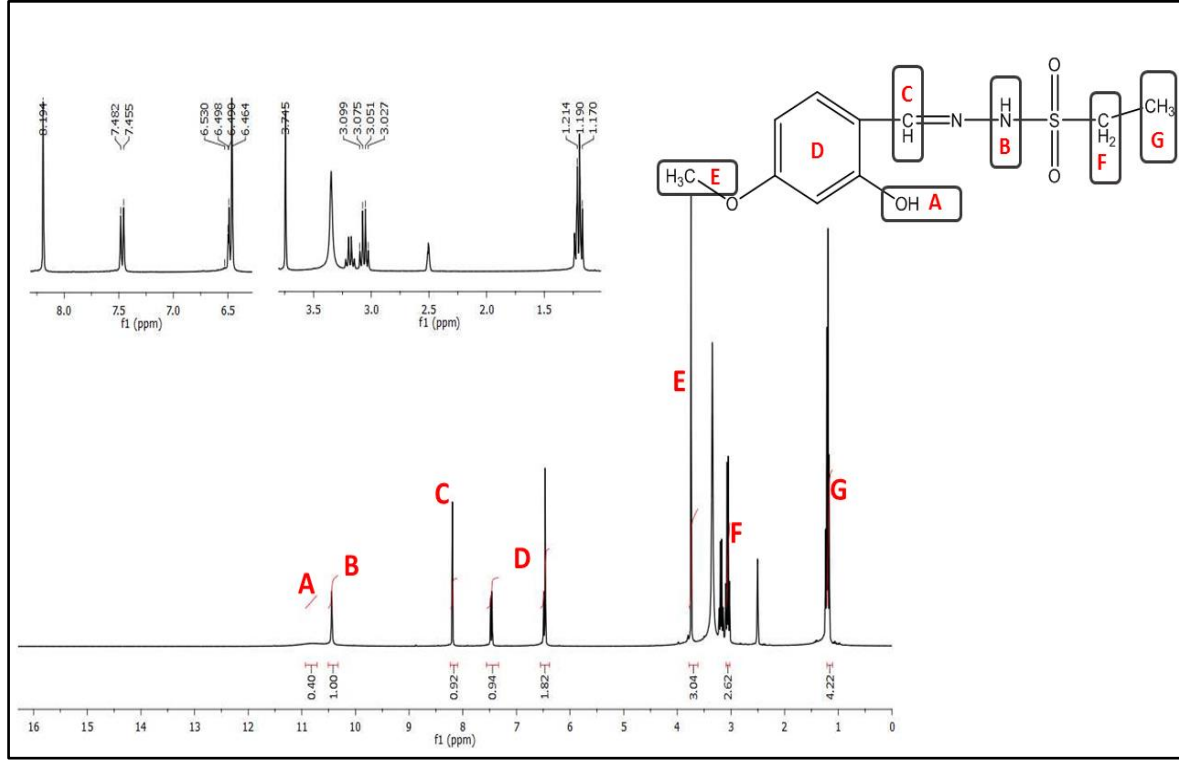


Şekil 4. 23. SH-3.3 bileşiğinin FT-IR spektrumu

SH-3.3 bileşiğinin FT-IR spektrumunda; 3238 cm⁻¹ de gözlenen kuvvetli band sekonder amin $\nu(\text{N-H})$ gerilmesi, 2958 cm⁻¹ ve 2873 cm⁻¹ de alifatik $\nu(\text{C-H})$ gerilme, 1603 cm⁻¹ de imin $\nu(\text{C=N})$ gerilmesi, 1223 cm⁻¹ de $\nu(\text{C-O})$ gerilmesi, 1333 cm⁻¹ de $\nu_{\text{as}}(\text{SO}_2)$ asimetrik gerilme ve 1152 cm⁻¹ de $\nu_{\text{s}}(\text{SO}_2)$ simetrik gerilme titreşimlerine ait pikler gözlenmektedir.

4.1.10. 4-Metoksisalisilaldehit etansülfonilhidrazon (SH-4.1)

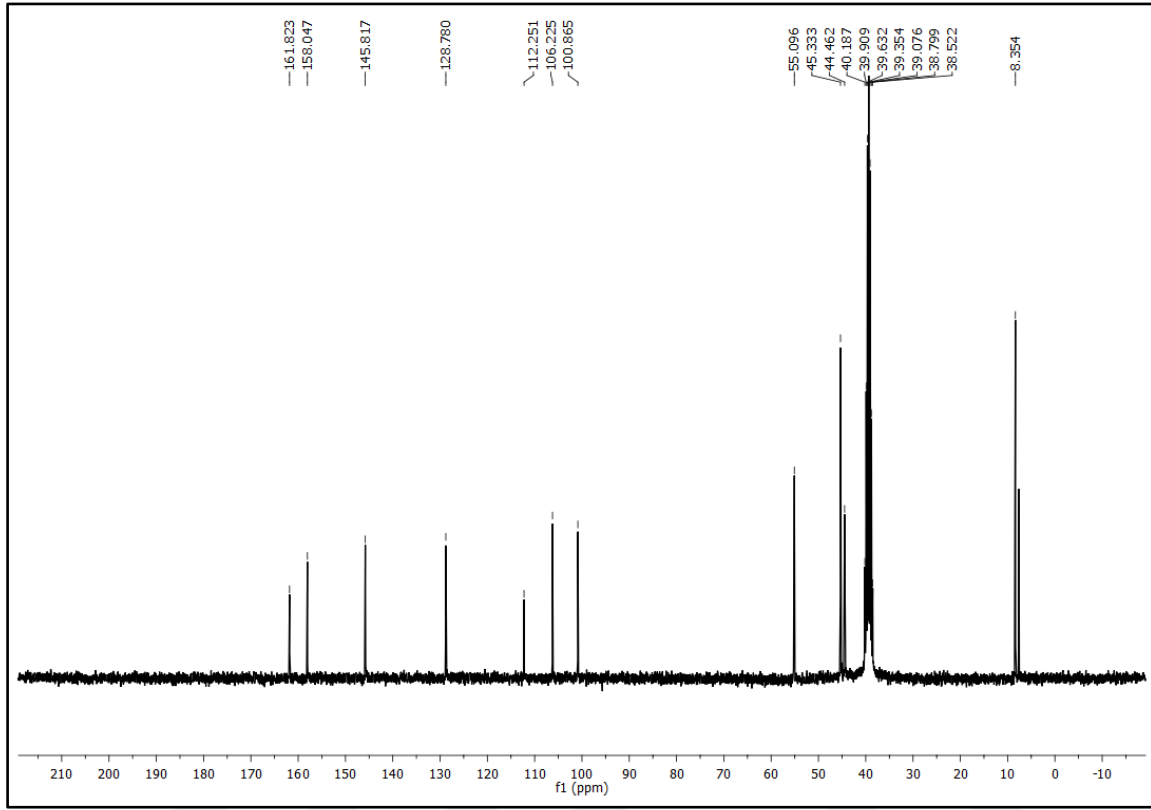
^1H -NMR Spektrum yorumu



Şekil 4. 24. SH-4.1 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu

SH-4.1 bileşiğinin DMSO- d_6 içindeki ^1H -NMR spektrumunda, fenolik -OH (A) protona ait tekli pik 10,98 ppm de, sekonder amindeki 1 protona karşılık gelen -NH (B) ait tekli pik 10,40 ppm de, $\text{HC}=\text{N}$ (C) imin grubuna bağlı hidrojene ait pik 8,25 ppm de, aromatik halkaya ait protonlara karşılık gelen çoklu pikler (D) 6,45-7,49 ppm aralığında, metoksi grubundaki 3 protona karşılık gelen -OCH₃ (E) ait şiddetli tekli pik 3,75 ppm de, 2 protona karşılık gelen SO₂'ye bağlı -CH₂ (F) ait multiplik pik 3,15 ppm, 3 protona karşılık gelen CH₂-CH₃ ait şiddetli triplik pik (G) 1,25 ppm de gözlenmektedir.

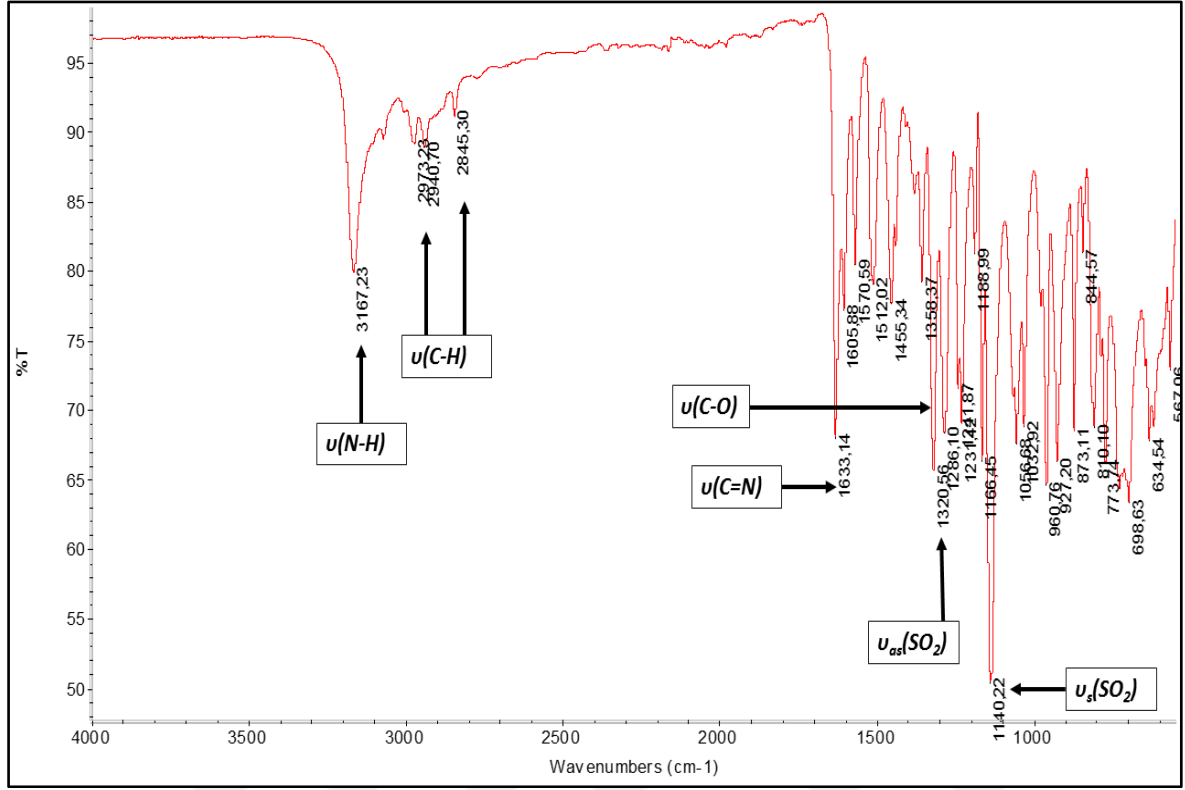
^{13}C -NMR Spektrum yorumu



Şekil 4.25.SH-4.1 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu

SH-4.1 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu için çözücü olarak DMSO- d_6 kullanıldı. Bileşikteki sülfü grubuna bağlı $\text{CH}_2\text{-CH}_3$ karbonuna ait pik 8,35 ppm de, SO_2 'ye bağlı -CH_2 karbonuna ait pik 45,33 ppm de, OCH_3 grubundaki karbona ait pik 55,09 da, aromatik halkadaki karbon atomları 100,88; 106,22; 128,78; 131,09; 158,4 ve 161,82 ppm de ve HC=N imin karbonuna ait pik 145,82 ppm de gözlenmiştir.

FT-IR Spektrum yorumu

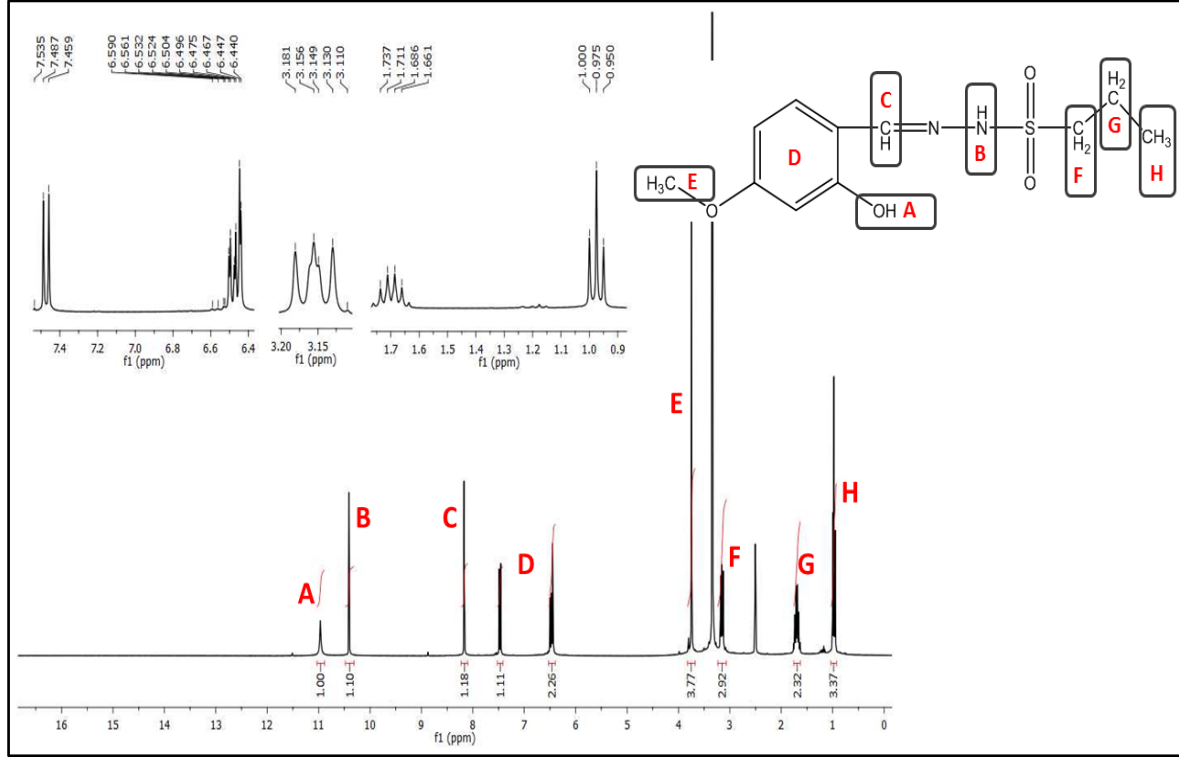


Şekil 4. 26. SH-4.1 bileşiğinin FT-IR spektrumu

SH-4.1 bileşiğinin FT-IR spektrumunda; 3238 cm^{-1} de gözlenen kuvvetli band sekonder amin $\nu(\text{N-H})$ gerilmesi, 2958 cm^{-1} ve 2873 cm^{-1} de alifatik $\nu(\text{C-H})$ gerilme, 1603 cm^{-1} de imin $\nu(\text{C=N})$ gerilmesi, 1223 cm^{-1} de $\nu(\text{C-O})$ gerilmesi, 1333 cm^{-1} de $\nu_{\text{as}}(\text{SO}_2)$ asimetrik gerilme ve 1152 cm^{-1} de $\nu_{\text{s}}(\text{SO}_2)$ simetrik gerilme titreşimlerine ait pikler gözlenmektedir.

4.1.11. 4-Metoksisalisilaldehit propansülfonilhidrazon (SH-4.2)

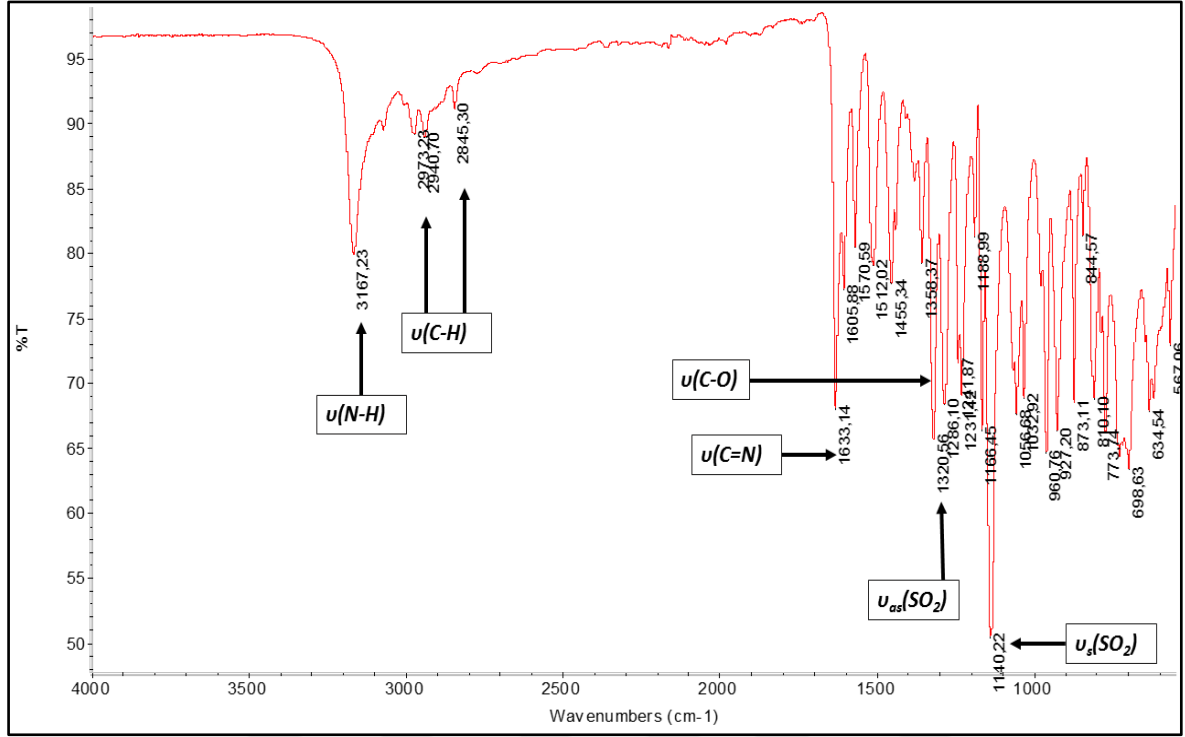
^1H -NMR Spektrum yorumu



Şekil 4. 27. SH-4.2 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu

SH-4.2 bileşiğinin DMSO- d_6 içindeki ^1H -NMR spektrumunda, fenolik -OH (A) protona ait tekli pik 10,98 ppm de, sekonder amindeki 1 protona karşılık gelen -NH (B) ait tekli pik 10,40 ppm de, $\text{HC}=\text{N}$ (C) imin grubuna bağlı hidrojene ait pik 8,25 ppm de, aromatik halkaya ait protonlara karşılık gelen çoklu pikler (D) 6,450-7,49 ppm aralığında, metoksi grubundaki 3 protona karşılık gelen -OCH₃ (E) ait şiddetli tekli pik 3,65 ppm de, 2 protona karşılık gelen SO₂'ye bağlı -CH₂ (F) ait multiyet pik 3,15 ppm, 2 protona karşılık gelen CH₂-CH₂-CH₃ (G) ait multiyet pik 1,70 ppm, 3 protona karşılık gelen CH₂-CH₃ ait şiddetli triplet pik (H) 0,98 ppm de gözlenmektedir.

FT-IR Spektrum yorumu

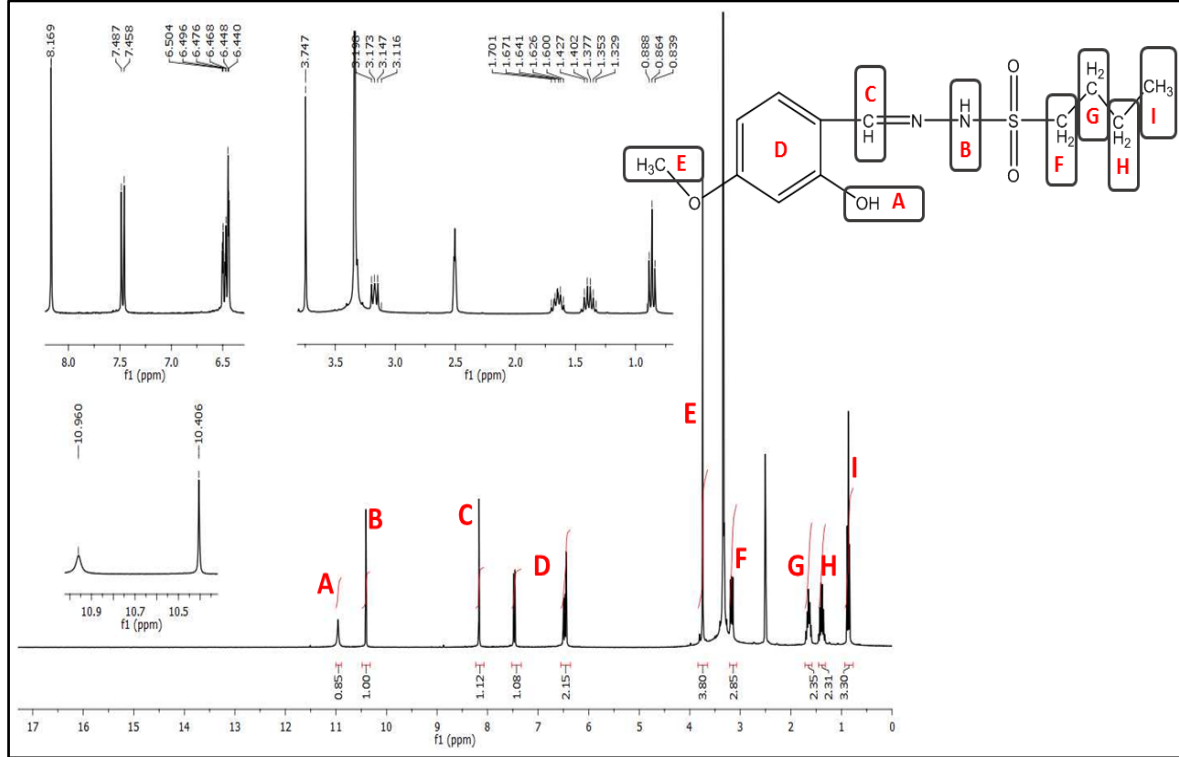


Şekil 4. 28. SH-4.2 bileşiğinin FT-IR spektrumu

SH-4.2 bileşiğinin FT-IR spektrumunda; 3167 cm⁻¹ de gözlenen kuvvetli band sekonder amin $\nu(\text{N-H})$ gerilmesi, 2973 cm⁻¹, 2940 cm⁻¹ ve 2854 cm⁻¹ de alifatik $\nu(\text{C-H})$ gerilme, 1633 cm⁻¹ de imin $\nu(\text{C=N})$ gerilmesi, 1286 cm⁻¹ de $\nu(\text{C-O})$ gerilmesi, 1320 cm⁻¹ de $\nu_{\text{as}}(\text{SO}_2)$ asimetrik gerilme ve 1140 cm⁻¹ de $\nu_{\text{s}}(\text{SO}_2)$ simetrik gerilme titreşimlerine ait pikler gözlenmektedir.

4.1.12. 4-Metoksisisililaldehit bütansülfonilhidrazon (SH-4.3)

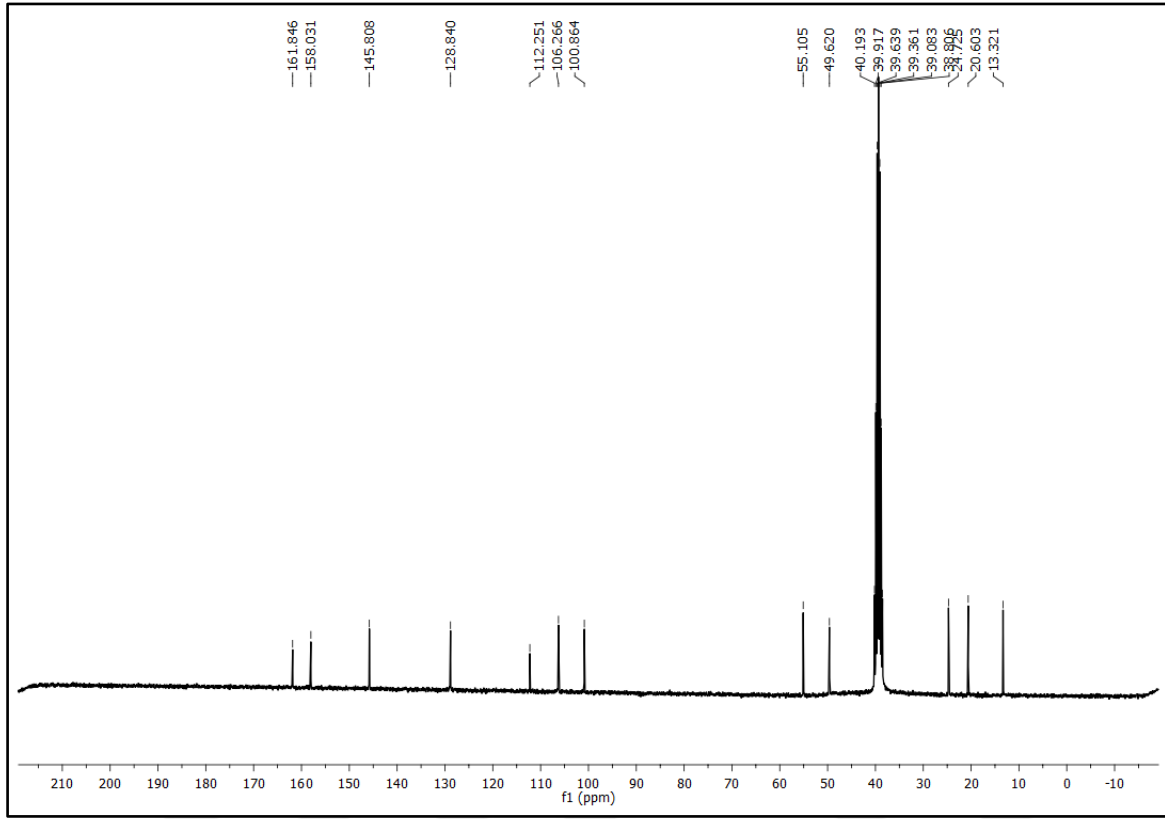
^1H -NMR Spektrum yorumu



Şekil 4. 29. SH-4.3 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu

SH-4.3 bileşiğinin DMSO- d_6 içindeki ^1H -NMR spektrumunda, fenolik -OH (A) protona ait tekli pik 10,98 ppm de, sekonder amindeki 1 protona karşılık gelen -NH (B) ait tekli pik 10,45 ppm de, $\text{HC}=\text{N}$ (C) imin grubuna bağlı hidrojene ait pik 8,15 ppm de, aromatik halkaya ait protonlara karşılık gelen çoklu pikler (D) 6,47-7,49 ppm aralığında, metoksi grubundaki 3 protona karşılık gelen -OCH₃ (E) ait şiddetli tekli pik 3,75 ppm de, 2 protona karşılık gelen SO₂'ye bağlı -CH₂ (F) ait multiyet pik 3,15 ppm, 2 protona karşılık gelen CH₂-CH₂-CH₂CH₃ (G) ait multiyet pik 1,64 ppm, 2 protona karşılık gelen CH₂CH₂-CH₂-CH₃ (H) ait multiyet pik 1,41 ppm, 3 protona karşılık gelen CH₂-CH₃ (I) ait triplet pik 0,86 ppm de gözlenmektedir.

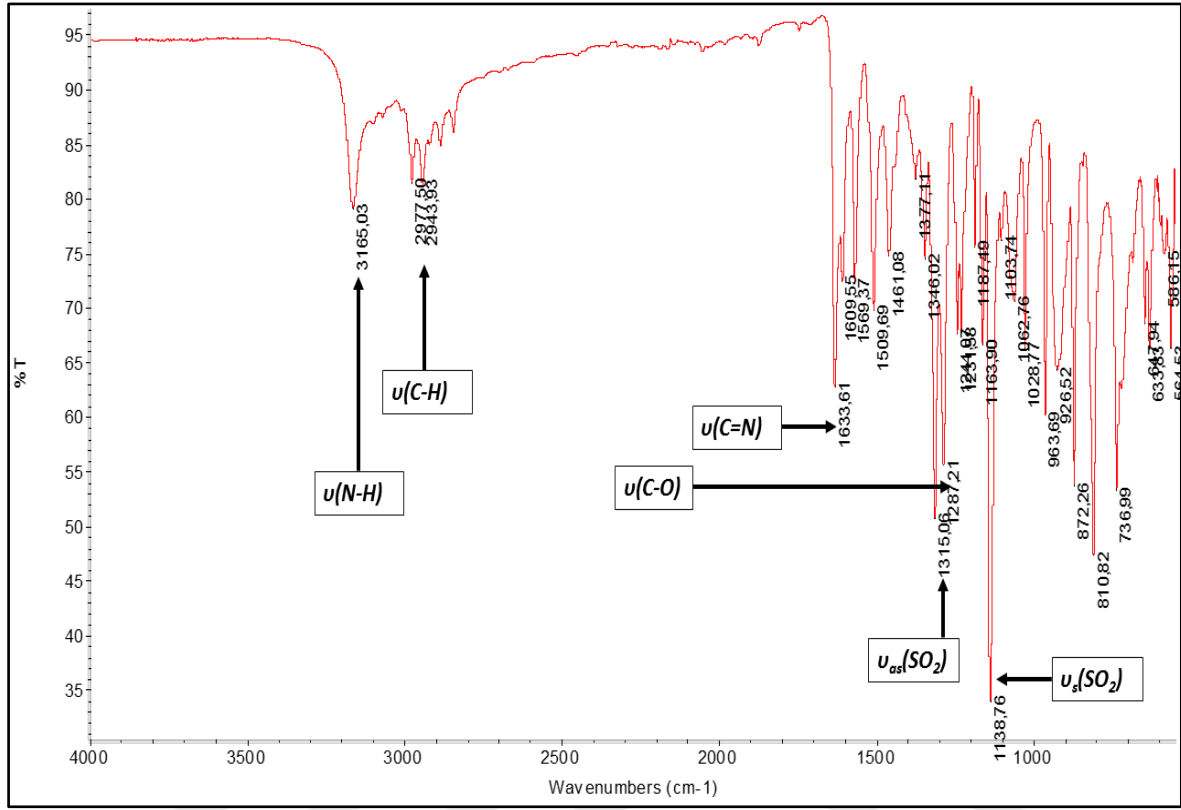
^{13}C -NMR Spektrum yorumu



Şekil 4. 30. SH-4.3 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu

SH-4.3 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu için çözücü olarak DMSO- d_6 kullanıldı. Bileşikteki sülf grubuna bağlı $\text{CH}_2\text{-CH}_3$ karbonuna ait pik 13,32 ppm de, sülf grubuna bağlı $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$ karbonuna ait pik 20,60 ppm de, sülf grubuna bağlı $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{CH}_3$ karbonuna ait pik 24,72 ppm de, SO_2 'ye bağlı -CH_2 karbonuna ait pik 49,62 ppm de, -OCH_3 grubundaki karbona ait pik 55,10 da, aromatik halkadaki karbon atomları 100,86; 106,26; 112,25; 128,84; 158,31 ve 161,84 ppm de ve HC=N imin karbonuna ait pik 145,81 ppm de gözlenmiştir.

FT-IR Spektrum yorumu



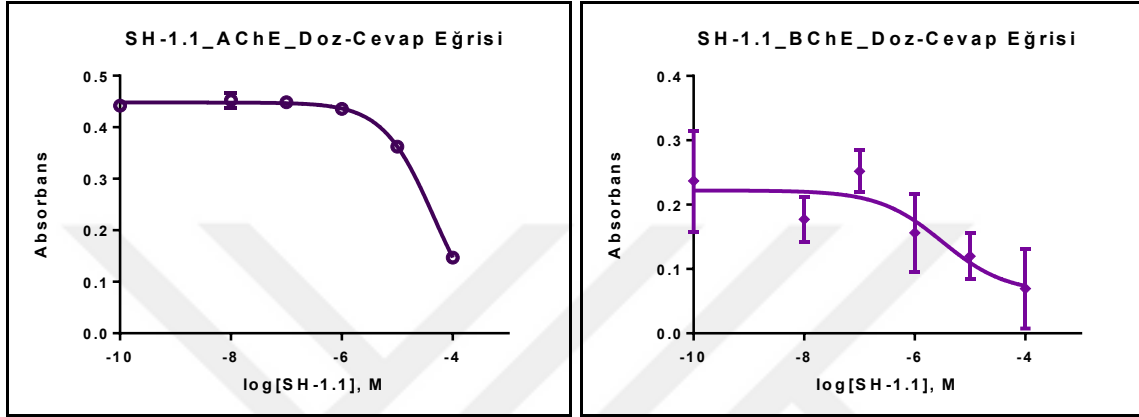
Şekil 4.31. SH-4.3 bileşiğinin FT-IR spektrumu

SH-4.3 bileşiğinin FT-IR spektrumunda; 3165 cm^{-1} de gözlenen kuvvetli band sekonder amin $\nu(\text{N-H})$ gerilmesi, 2977 cm^{-1} ve 2843 cm^{-1} de alifatik $\nu(\text{C-H})$ gerilme, 1633 cm^{-1} de imin $\nu(\text{C=N})$ gerilmesi, 1287 cm^{-1} de $\nu(\text{C-O})$ gerilmesi, 1315 cm^{-1} de $\nu_{\text{as}}(\text{SO}_2)$ asimetrik gerilme ve 1138 cm^{-1} de $\nu_{\text{s}}(\text{SO}_2)$ simetrik gerilme titreşimlerine ait pikler gözlenmektedir.

4.2. Sentezlenen Sülfonilhidrazonların AChE ve BChE Enzim Aktivite Sonuçları

4.2.1. 4-Nitrobenzaldehit etansülfonilhidrazon (SH-1.1)

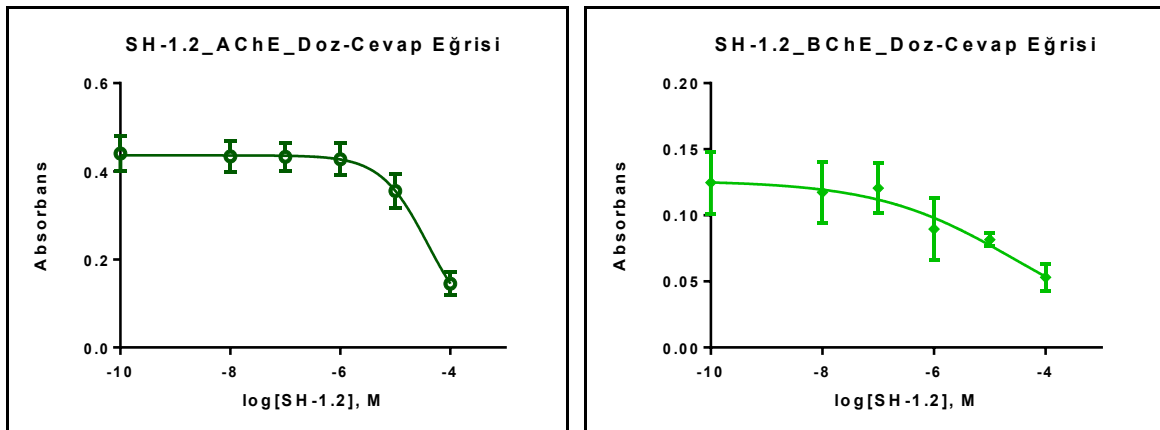
SH-1.1 bileşiğinin AChE enzimi için IC_{50} değeri $45,02 \pm 0,42 \mu M$, BChE enzimi için IC_{50} değeri $31,31 \pm 0,76 \mu M$ olarak bulunmuştur.



Şekil 4.32. SH-1.1 bileşiğinin AChE ve BChE enzimlerine ait IC_{50} grafikleri

4.2.2. 4-Nitrobenzaldehit propansülfonilhidrazon (SH-1.2)

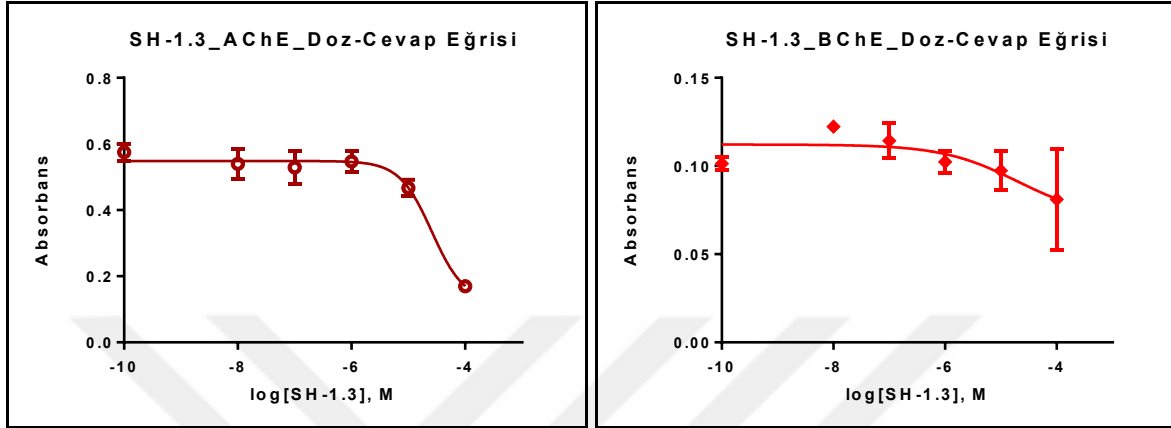
SH-1.2 bileşiğinin AChE enzimi için IC_{50} değeri $38,19 \pm 2,16 \mu M$, BChE enzimi için IC_{50} değeri $26,95 \pm 4,01 \mu M$ olarak bulunmuştur.



Şekil 4.33. SH-1.2 bileşiğinin AChE ve BChE enzimlerine ait IC_{50} grafikleri

4.2.3. 4-Nitrobenzaldehyt bütansülfonilhidrazon (SH-1.3)

SH-1.3 bileşiğinin AChE enzimi için IC_{50} değeri $25,71 \pm 2,12 \mu M$, BChE enzimi için IC_{50} değeri $19,64 \pm 1,58 \mu M$ olarak bulunmuştur.



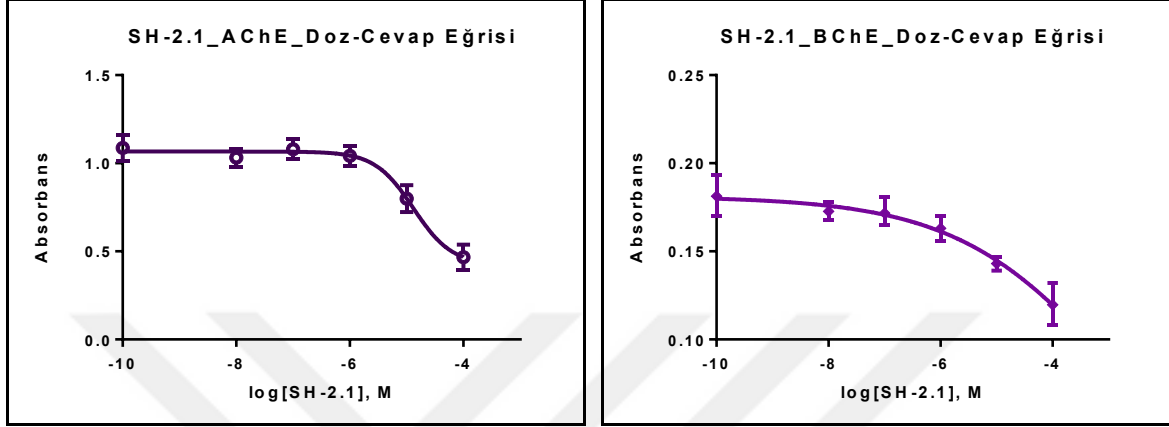
Şekil 4.34. SH-1.3 bileşiğinin AChE ve BChE enzimlerine ait IC_{50} Grafikleri

SH-1 Türevlerinin inhibisyon sonuç değerlendirmesi

SH-1 türevlerinin IC_{50} sonuçları ve grafikleri yukardaki gibidir. Bu sonuçlara göre bileşik yapısındaki alifatik zincir uzadıkça enzim inhibisyonunda da bir artış olduğu gözlemlenmektedir. Alptüzün vd. (2010) hidrazon türevi bileşiklerle yaptığı bir çalışmada da AChE ve BChE enzim inhibisyonunun çalışıldığı bileşiklerde de benzer sonuçlar elde etmişlerdir [56].

4.2.4. 4-Dimetilaminobenzaldehit etansülfonilhidrazon (SH-2.1)

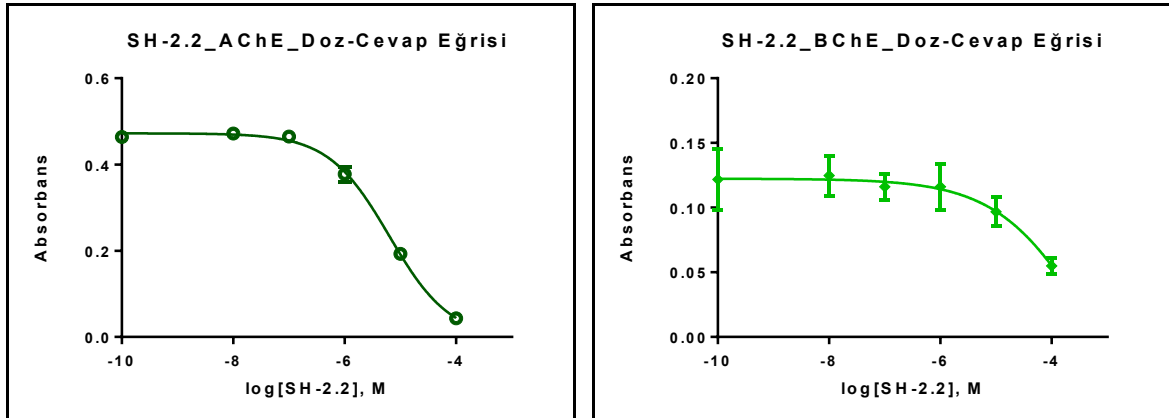
SH-2.1 bileşiğinin AChE enzimi için IC_{50} değeri $13,08 \pm 0,19 \mu M$, BChE enzimi için IC_{50} değeri $148,1 \pm 7,93 \mu M$ olarak bulunmuştur.



Şekil 4.35. SH-2.1 bileşiğinin AChE ve BChE enzimlerine ait IC_{50} grafikleri

4.2.5. 4-Dimetilaminobenzaldehit propansülfonilhidrazon (SH-2.2)

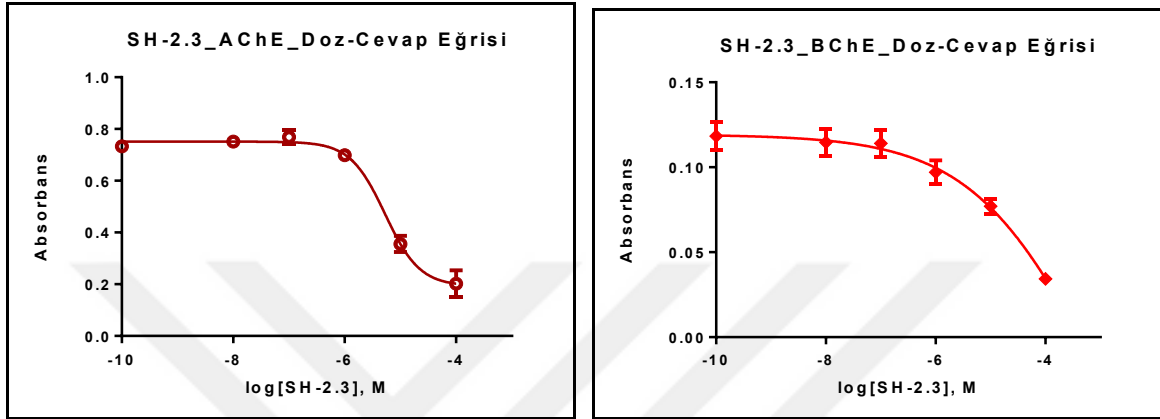
SH-2.2 bileşiğinin AChE enzimi için IC_{50} değeri $6,29 \pm 0,07 \mu M$, BChE enzimi için IC_{50} değeri $443,3 \pm 13,3 \mu M$ olarak bulunmuştur.



Şekil 4.36. SH-2.2 bileşiğinin AChE ve BChE enzimlerine ait IC_{50} grafikleri

4.2.6. 4-Dimetilaminobenzaldehit bütansülfonilhidrazon (SH-2.3)

SH-2.3 bileşiğinin AChE enzimi için IC_{50} değeri $5,27 \pm 0,05 \mu M$, BChE enzimi için IC_{50} değeri $669,3 \pm 5,01 \mu M$ olarak bulunmuştur. Bu bileşiğe ait doz-cevap eğrileri aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.37. SH-2.3 bileşiğinin AChE ve BChE enzimlerine ait IC_{50} grafikleri

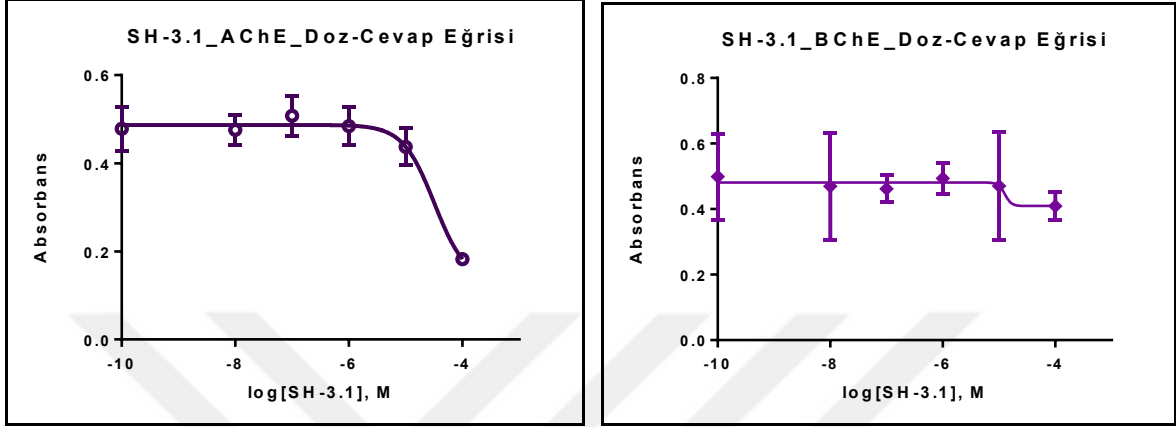
SH-2 Türevlerinin inhibisyon sonuç değerlendirmesi

SH-2 türevlerinin IC_{50} sonuçları ve grafikleri yukardaki gibidir. Bu sonuçlara göre bileşik yapısındaki alifatik zincir uzadıkça enzim inhibisyonunda da bir artış olduğu gözlemlenmektedir. Alptüzün vd. (2010) hidrazon türevi bileşiklerle yaptığı bir çalışmada da AChE ve BChE enzim inhibisyonunun çalışıldığı bileşiklerde de benzer sonuçlar elde etmişlerdir [56].

SH-2.3 türevi diğer sülfonilhidrazon türevlerine göre AChE enzimini en çok inhibe eden türevidir. Zincir uzamasının yanı sıra bileşiğin yapısındaki aromatik halkaya elektron sağlayıcı bir grup olan $-N(CH_3)_2$ fonksiyonel grubu bu durumu sağlamış olabilir. Elde edilen toplu sonuçlara göre de AChE enziminin inhibisyonu bileşiklerin yapısındaki elektronegatif atomların azalmasıyla inhibisyonda bir artışa neden olduğu düşünülmektedir.

4.2.7. 5-Kloro-2-hidroksiasetofenon etansülfonilhidrazon (SH-3.1)

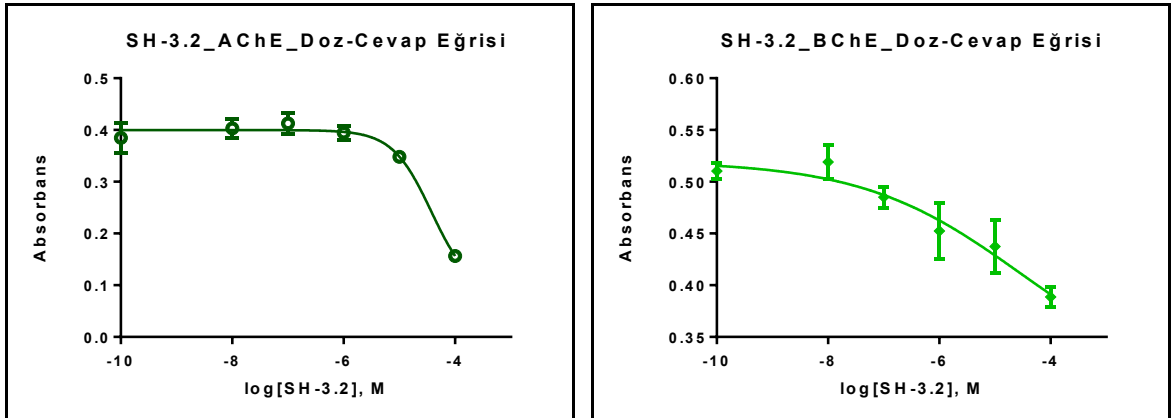
SH-3.1 bileşiğinin AChE enzimi için IC_{50} değeri $31,90 \pm 5,51 \mu M$, BChE enzimi için IC_{50} değeri $12,66 \pm 3,18 \mu M$ olarak bulunmuştur.



Şekil 4.38. SH-3.1 bileşiğinin AChE ve BChE enzimlerine ait IC_{50} grafikleri

4.2.8. 5-Kloro-2-hidroksiasetofenon propansülfonilhidrazon (SH-3.2)

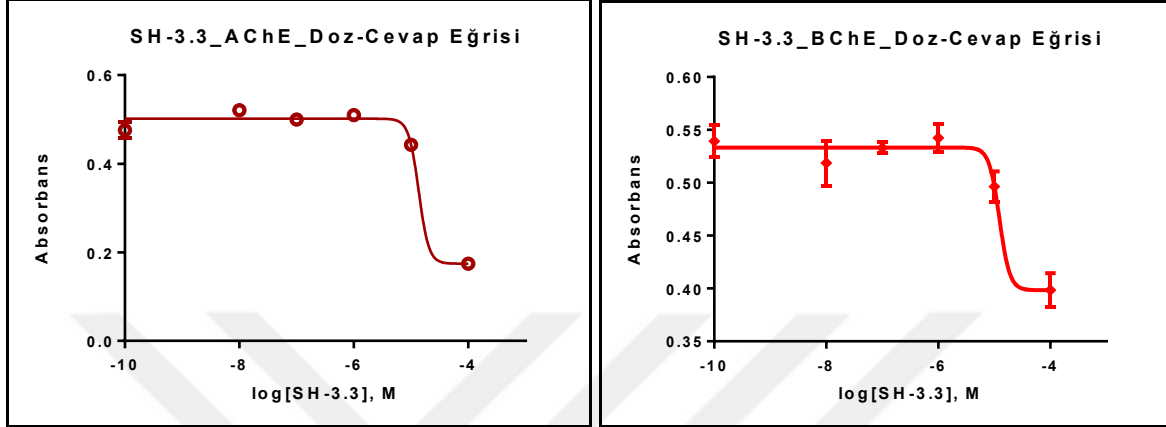
SH-3.2 bileşiğinin AChE enzimi için IC_{50} değeri $37,33 \pm 2,03 \mu M$, BChE enzimi için IC_{50} değeri $28,21 \pm 4,31 \mu M$ olarak bulunmuştur.



Şekil 4.39. SH-3.2 bileşiğinin AChE ve BChE enzimlerine ait IC_{50} grafikleri

4.2.9. 5-Kloro-2-hidroksiasetofenon bütansülfonilhidrazon (SH-3.3)

SH-3.3 bileşiğinin AChE enzimi için IC_{50} değeri $13,59 \pm 2,34 \mu M$, BChE enzimi için IC_{50} değeri $12,29 \pm 1,47 \mu M$ olarak bulunmuştur.



Şekil 4.40. SH-3.3 bileşiğinin AChE ve BChE enzimlerine ait IC_{50} grafikleri

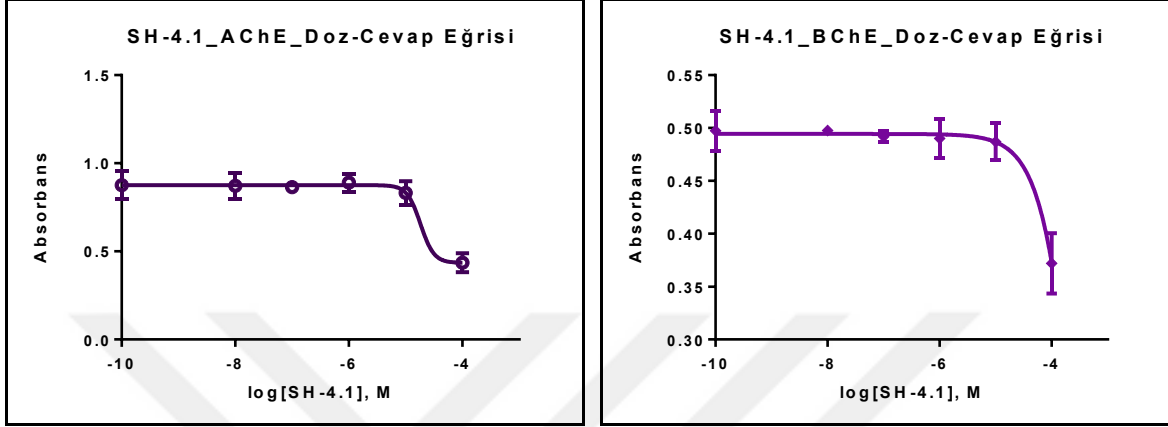
SH-3 Türevlerinin inhibisyon sonuç değerlendirmesi

SH-3 türevlerinin IC_{50} sonuçları ve grafikleri yukardaki gibidir. Bu sonuçlara göre bileşik yapısındaki alifatik zincir uzadıkça enzim inhibisyonunda bir artış olduğu gözlemlenmektedir. Mutahir vd. (2016) sülfonamid türevi bileşiklerle yaptığı bir çalışmada da AChE ve BChE enzim inhibisyonunun çalışıldığı bileşiklerde de benzer sonuçlar elde etmişlerdir [59]. İnhibitörlerin yapısındaki alifatik zincir uzadıkça inhibisyonda artış gözlenmiştir.

SH-3.3 türevi diğer sülfonilhidrazon türevlerine göre BChE enzimini en çok inhibe eden türevidir. Zincir uzamasının yanı sıra bileşiğin yapısındaki aromatik halkaya elektron çekici bir grup olan -Cl halojeni bu durumu sağlamış olabilir. Elde edilen toplu sonuçlara göre de BChE enziminin inhibisyonu bileşiklerin yapısındaki elektronegatif atomların azalmasıyla inhibisyonda bir artışa neden olduğu düşünülmektedir. Karaman vd. (2016) fenil hidrazon türevi bileşiklerle yaptıkları bir çalışmalarında sentezledikleri inhibitörler içinde BChE enzimine karşı aktifliği en çok olan türev, yapısında -Cl substituentini içeren bileşik olmuştur [57].

4.2.10. 4-Metoksisalisilaldehit etansülfonilhidrazon (SH-4.1)

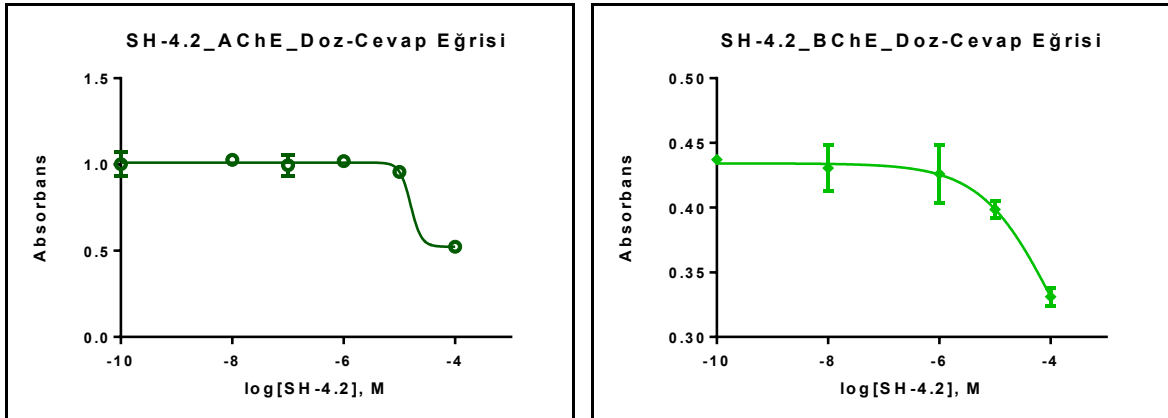
SH-4.1 bileşiğinin AChE enzimi için IC_{50} değeri $18,20 \pm 2,02 \mu M$, BChE enzimi için IC_{50} değeri $561,0 \pm 12,4 \mu M$ olarak bulunmuştur.



Şekil 4.41. SH-4.1 bileşiğinin AChE ve BChE enzimlerine ait IC_{50} grafikleri

4.2.11. 4-Metoksisalisilaldehit propansülfonilhidrazon (SH-4.2)

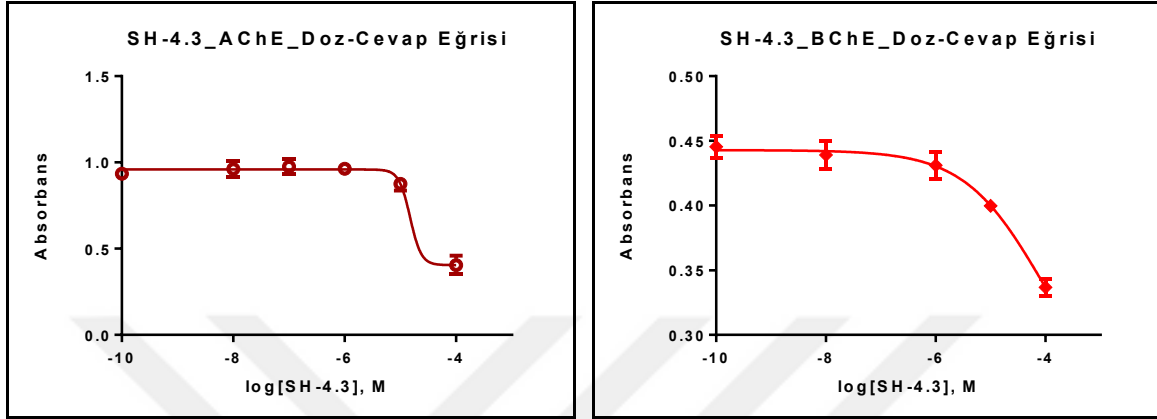
SH-4.2 bileşiğinin AChE enzimi için IC_{50} değeri $15,83 \pm 2,75 \mu M$, BChE enzimi için IC_{50} değeri $106,5 \pm 2,91 \mu M$ olarak bulunmuştur.



Şekil 4.42. SH-4.2 bileşiğinin AChE ve BChE enzimlerine ait IC_{50} grafikleri

4.2.12. 4-Metoksisalisilaldehit bütansülfonilhidrazon (SH-4.3)

SH-4.3 bileşiğinin AChE enzimi için IC_{50} değeri $14,88 \pm 1,02 \mu M$, BChE enzimi için IC_{50} değeri $84,79 \pm 2,10 \mu M$ olarak bulunmuştur.



Şekil 4.43. SH-4.3 bileşiğinin AChE ve BChE enzimlerine ait IC_{50} grafikleri

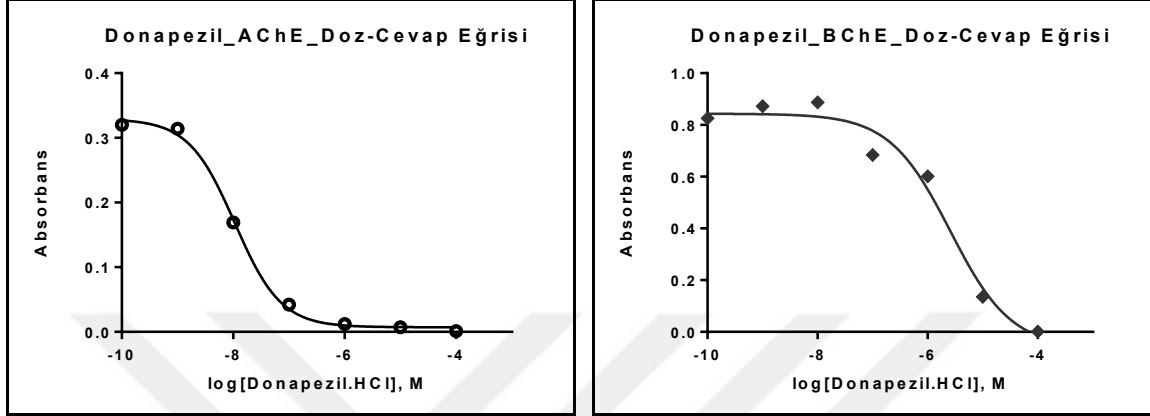
SH-4 Türevlerinin inhibisyon sonuç değerlendirmesi

SH-4 türevlerinin IC_{50} sonuçları ve grafikleri yukardaki gibidir. Bu sonuçlara göre bileşik yapısındaki alifatik zincir uzadıkça enzim inhibisyonunda bir artış olduğu gözlemlenmektedir. SH-4 türevleri içerisinde kolinesteraz enzimlerine karşı en çok inhibisyon etkisini zincir uzunluğu en fazla olan SH-4.3 bileşiği göstermiştir.

Mutahir vd. (2016) sülfonamid türevi bileşiklerle yaptığı bir çalışmada da AChE ve BChE enzim inhibisyonunun çalışıldığı bileşiklerde de benzer sonuçlar elde etmişlerdir [59]. İnhibitörlerin yapısındaki alifatik zincir uzadıkça inhibisyonda artış gözlenmiştir.

4.2.13. Donepezil.HCl Standartı

Donepezil.HCl standartına karşı AChE enziminin IC_{50} değeri $0,0107 \pm 0,025 \mu M$, BChE enzimi için IC_{50} değeri $2,55 \pm 0,10 \mu M$ olarak bulunmuştur.

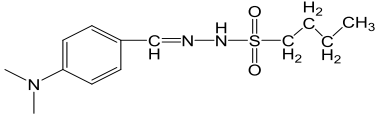
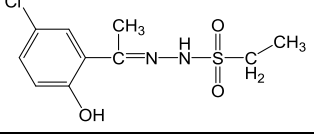
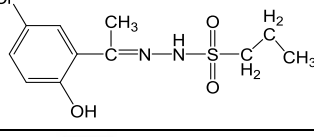
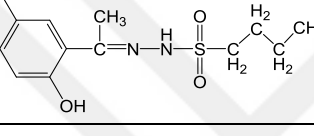
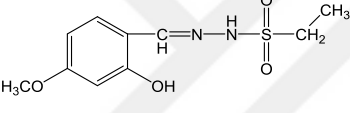
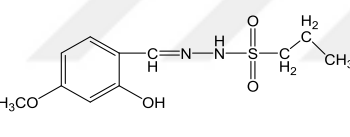
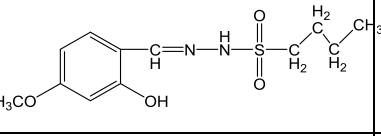
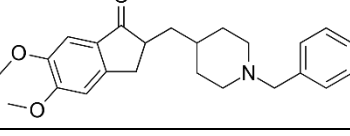


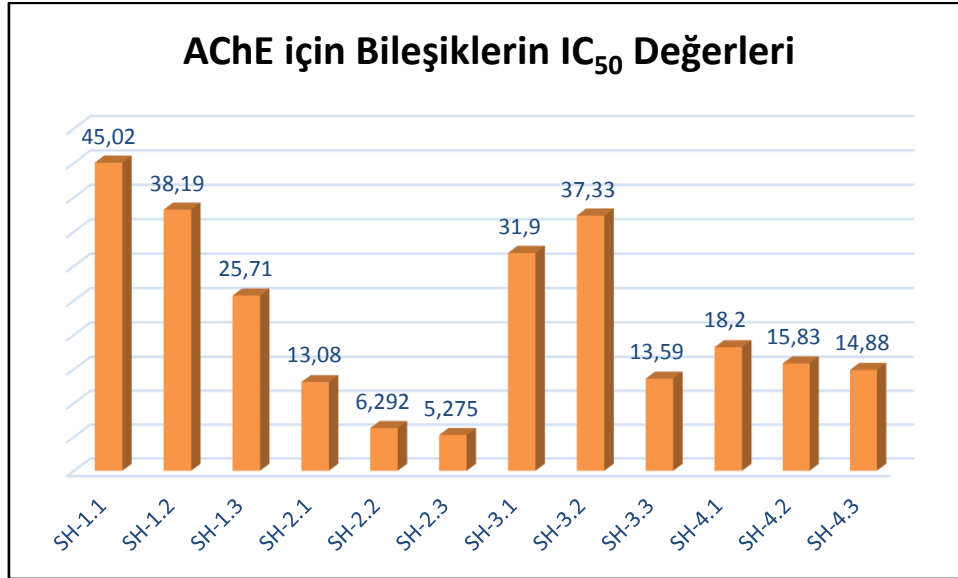
Şekil 4.44. Donepezil.HCl standartının AChE ve BChE enzimlerine ait IC_{50} grafikleri

Çizelge 4.1. Sülfonilhidrazon bileşiklerinin kolinesterazlara karşı elde edilen IC_{50} değerleri

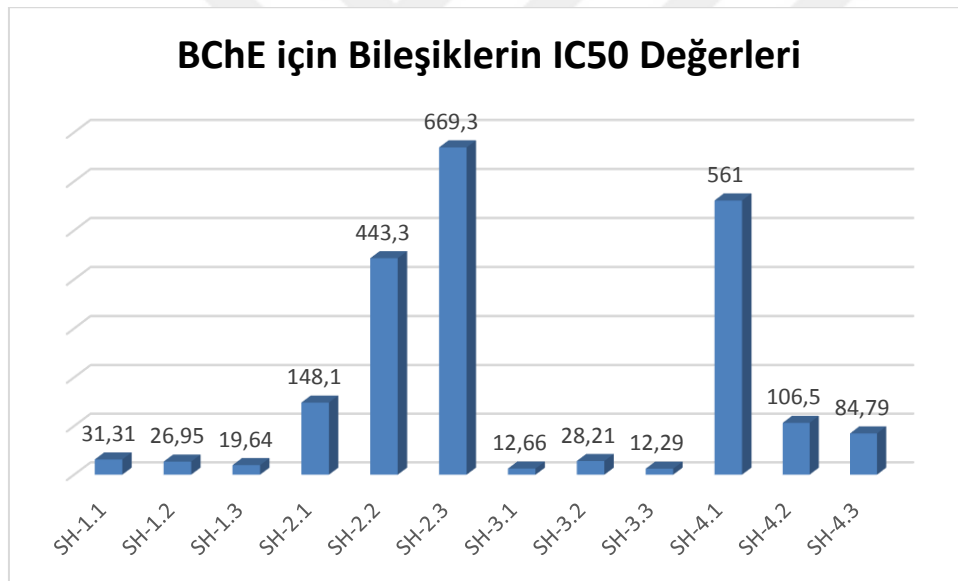
Sülfonil Hidrazon	Molekül Şekli	Moleküler Kütlesi (g/mol)	Erime Noktası (°C)	AChE IC_{50} (μM)	BChE IC_{50} (μM)
SH-1.1		257,26	123,2	$45,02 \pm 0,42$	$31,31 \pm 0,76$
SH-1.2		271,29	99,0	$38,19 \pm 2,16$	$26,95 \pm 4,01$
SH-1.3		285,32	96,0	$25,71 \pm 2,12$	$19,64 \pm 1,58$
SH-2.1		255,34	196	$13,08 \pm 0,19$	$148,1 \pm 7,93$
SH-2.2		269,36	132	$6,29 \pm 0,07$	$443,3 \pm 13,3$

Çizelge 4.1. (devam) Sülfonilhidrazon bileşiklerinin kolinesterazlara karşı elde edilen IC₅₀ değerleri

SH-2.3		283,39	90,1	5,27±0,05	669,3±5,01
SH-3.1		276,74	163	31,90±5,51	12,66±3,18
SH-3.2		290,76	150,5	37,33±2,03	28,21±4,31
SH-3.3		304,79	107,7	13,59±2,34	12,29±1,47
SH-4.1		258,29	142,9	18,20±2,02	561,0±12,4
SH-4.2		272,32	108,1	15,83±2,75	106,5±2,91
SH-4.3		286,35	75,5	14,88±1,02	84,79±2,10
Donepezil		415,96	-	0,0107±0,025	2,55±0,10



Şekil 4.45. Sülfonilhidrazonların AChE ait IC₅₀ değerleri



Şekil 4.46. Sülfonilhidrazonların BChE ait IC₅₀ değerleri

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Bu tez çalışması kapsamında sülfonamid grubu içeren 12 adet yeni sülfonilhidrazon bileşiği sentezlenmiş ve yapı aydınlatma çalışmaları ile sentezlenen bileşiklerin doğrulukları ispatlanmıştır.
- Sentezlenen bu bileşiklerin asetilkolinesteraz ve bütrilkolinesteraz (AChE, BChE) enzimlerine karşı inhibisyon etkileri incelenmiştir.
- Ellman metodu takip edilerek yapılan enzim aktivasyon çalışmalarında inhibitörlerin IC_{50} değerleri hesaplanmış ve inhibisyon etkileri belirlenmiştir.
- Alınan sonuçlara göre sentezlenen tüm bileşikler AChE ve BChE enzimine karşı inhibisyon etkisi göstermiştir.
- Elde edilen sonuçlara göre AChE enzimini en iyi inhibe eden SH-2.3 bileşiği ($IC_{50} = 5,27 \pm 0,05 \mu M$), BChE enzimini en iyi inhibe eden ise SH-3.3 bileşiği ($IC_{50} = 12,29 \pm 14,7 \mu M$) olmuştur.
- İnhibitörlerin enzimler üzerinde olan etkileri karşılaştırıldığında, AChE enzimi üzerinde olan inhibisyon etkileri BChE enzimi üzerine olan inhibisyon etkisinden daha fazla olduğu görülmüştür.
- Tüm sülfonil hidrazon türevlerinin inhibisyon sıralaması üçlü türevler halinde mukayese edildiğinde en çok bütansülfonilhidrazon türevlerinin inhibe ettiği, sonra propansülfonilhidrazon en sonda etansülfonilhidrazon yönünde genel bir eğilim olduğu görülmektedir. Bu duruma göre inhibitörlerin alkil grubunun artması ile alifatik zincirin uzaması enzim inhibisyonunu arttırdığını göstermektedir [56,59,63].
- AChE enzim inhibisyon sonuçları incelendiğinde inhibitörlerdeki aromatik halkaya bağlı elektron verici grupların artışı ile enzim inhibisyonunun arttığı düşünülmektedir. Yani elektronegatiflik azaldıkça inhibisyon etkisinin arttığı görülmüştür. Fonksiyonel grup inhibisyon sıralaması da şu şekildedir: $-N(CH_3)_2 > -OCH_3 > -NO_2 > -Cl$ [64].
- BChE enzim inhibisyon sonuçları incelendiğinde ise tam tersi bir durum gözlenmektedir. İnhibitörlerdeki aromatik halkaya bağlı elektron çekici grupların artışı ile enzim inhibisyonunun arttığı düşünülmektedir. Yani elektronegatiflik arttıkça inhibisyon artmıştır. Fonksiyonel grup inhibisyon sıralaması da şu şekildedir: $-Cl > -NO_2 > -OCH_3 > -N(CH_3)_2$
- Sülfonil hidrazonların iyi birer antibakteriyel, antikanser, antikarbonhidraz, antifungal antinosiseptif, antidepresan, antineoplastik, antidiyabet aktivitelerinin olduğu

literatür bilgilerince bilinmektedir [65]. Sentezlenen bileşiklerinde bu yönde çalışmaları yapıp etki mekanizmaları tespit edilebilir.

- Bundan sonraki çalışmalarda, sentezlenen bileşiklerin dokingleme çalışmaları yapılarak yapı-aktivite ilişkisi tespit edilip ilaç olarak kullanım potansiyelleri belirlenebilir.
- Yapılan bu çalışmada sentezlenen bileşiklerin AChE ve BChE enzimlerinin aktiviteleri üzerine inhibisyon etkileri *in-vitro* olarak ölçülmüştür. Bu bileşiklerin inhibitör etkileri *in-vivo* koşullarda da belirlenebilir.



KAYNAKLAR

1. Bloch, H. (1993). The history and effects of samllpox, inoculation and vaccination, *American Journal of Diseases of Children*, 147(7), 772-4.
2. Plotkin S. L, Plotkin S. A. (1999). *A short history of vaccination*. Editörler: Plotkin SA, Orenstein WA. Philadelphia: WB Saunders. 1-12.
3. Poltkin S. A. (1967). Vaccination against measles in the 18th century, *Clin Pediat Philadelphia*, 6(5), 312-5.
4. Sano M. (1997). Update on treatment of cognitive symptoms in dementia. In: Dementia Update. *American Academy of Neurology 49th Annual Meeting*, Boston: American Academy of Neurology Press, USA, 107-115.
5. Girisha, H., Narendra Sharath Chandra, J., Boppana, S., Malviya, M., Sadashiva, C., Rangappa, K. (2009). Active site directed docking studies: Synthesis and pharmacological evaluation of cis-2,6-dimethyl piperidine sulfonamides as inhibitors of acetylcholinesterase, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44(10), 4057-4062.
6. Supuran, C., Scozzafava, A. (2001). Carbonic Anhydrase Inhibitors, *Current Medicinal Chemistry-Immunology, Endocrine & Metabolic Agents*, 1(1), 61-97.
7. Monti, S., Supuran, C., De Simone, G. (2013). Anticancer carbonic anhydrase inhibitors: a patent review, *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 23(6), 737-749.
8. Kaya, M., Demir, E., Bekci, H. (2012). Synthesis, characterization and antimicrobial activity of novel xanthene sulfonamide and carboxamide derivatives, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 28(5), 885-893.
9. Scozzafava, A., Supuran, C., Carta, F. (2013). Antiobesity carbonic anhydrase inhibitors: a literature and patent review, *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 23(6), 725-735.
10. Ulus, R., Yeşildağ, İ., Tanç, M., Bülbül, M., Kaya, M., Supuran, C. (2013). Synthesis of novel acridine and bis acridine sulfonamides with effective inhibitory activity against the cytosolic carbonic anhydrase isoforms II and VII, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 21(18), 5799-5805.
11. Bag, S., Tulsan, R., Sood, A., Cho, H., Redjeb, H., Zhou, W., LeVine, H., Török, B., Török, M. (2015). Sulfonamides as multifunctional agents for Alzheimer's disease, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25(3), 626-630.
12. Chigurupati, S., Selvaraj, M., Mani, V., Selvarajan, K., Mohammad, J., Kaveti, B., Bera, H., Palanimuthu, V., Teh, L., Salleh, M. (2016). Identification of novel acetylcholinesterase inhibitors: Indolopyrazoline derivatives and molecular docking studies, *Bioorganic Chemistry*, 67, 9-17.
13. Price, N. ve Stevens, L. (1982). *Fundamentals of enzymology*. Oxford: Oxford University Press. 33.

14. Nelson, D.L. ve Cox, M.M. (2005). *Lehninger Biyokimyanın İlkeleri* (Üçüncü Baskıdan çeviri, Çeviri Editörü: Kılıç, N.), Türkiye: Palme Yayıncılık, 183.
15. Lerner, K. L. ve Lerner B. W. (2002). *World of microbiology and immunology. America*, 1-359.
16. Paulo, A. C. ve Gubitz, G. M., (2003). *Textile processing with enzymes*. England: CRC Press, 610.
17. Nelson, D.L. ve Cox, M.M. (2005). *Lehninger Biyokimyanın İlkeleri* (Üçüncü Baskıdan çeviri, Çeviri Editörü: Kılıç, N.), Türkiye: Palme Yayıncılık, 201.
18. Çolak, Ö. (2014). *Sakkaroz tayini için biyosensör hazırlanması*, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 58-60.
19. Koppitz, M. ve Eis, K. (2006). Automated medicinal chemistry. *Drug Discovery Today*, 11(11-12), 561-568.
20. Glen, R. ve Allen, S. (2003). Ligand-Protein Docking: Cancer Research at the Interface between Biology and Chemistry. *Current Medicinal Chemistry*, 10(9), 763-777.
21. Katz, A. ve Caufield, C. (2003). Structure-Based design approaches to cell wall biosynthesis inhibitors. *Current Pharmaceutical Design*, 9(11), 857-866.
22. Tan, S., Evans, R. ve Singh, B. (2006). Herbicidal inhibitors of amino acid biosynthesis and herbicide-tolerant crops. *Amino Acids*, 30(2), 195-204.
23. Işık, A. T. (2012). *Her Yönüyle Alzheimer Hastalığı*. Editör: Işık, A. T. İstanbul: Som Kitap, 213.
24. Parihar, M. S., Hemnani T. (2004). Alzheimer's disease pathogenesis and therapeutic interventions, *Journal of Clinical Neuroscience*. 11(5), 456-467.
25. Robinson, S., Bishop, G. (2002). A β as a bioflocculant: implications for the amyloid hypothesis of Alzheimer's disease, *Neurobiology of Aging*, 23(6), 1051-1072.
26. Işık, A. T. (2012). *Her Yönüyle Alzheimer Hastalığı*. Editör: Işık, A. T. İstanbul: Som Kitap. 234.
27. Francis, P. T., Palmer, A. M., Snape, M., Wilcock, G. K. (1999). The Cholinergic Hypothesis of Alzheimer's Disease: A Review of Progress, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 66, 137-47.
28. Quinn, D.M. (1987). Acetylcholinesterase: Enzyme structure, reaction dynamics and virtual transition states, *Chem. Rev.*, 87, 955-79.
29. Massoulie, J., Pezzementi, L., Bon, S., Krejci, E., Valette, F. M. (1993). Molecular and Cellular Biology of Cholinesterases, *Prog. Neurobiol.*, (41), 31-91.

30. Summers W. K. (2006). Tacrine and Alzheimer's treatments, *J. Alzheimer's Dis.* 9(3), 439-45.
31. Misson, J., Kendall, M. J. (1997). Therapeutic Advances: Donapezil for the Treatment of Alzheimer's Disease, *J. Clin. Pharm. Ther.*, 22, 251-255.
32. Işık, A. T., Bozoğlu E. (2009). *Geriatrici Pratiğinde Demans Sendromu*. Editör: Işık, A. İstanbul: Som Kitap. 447-80.
33. Jann, M. W., Shirley, K. L., Small, G. W., (2002). Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of cholinesterase inhibitors, *Clin Pharmacokinet.* 41(10), 719-739.
34. Racci, M., Mazzucchelli, M., Porello, E., Lanni, C., Govoni, S., (2004). "Acetylcholinesterase Inhibitors: Novel Activities of Old Molecules", *Pharm Res.*, 50, 441-451.
35. Loy C., Schneider L. (2006). Galantamine for Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment, *Cochrane Database Syst. Rev.*, 25(1), CD001747.
36. Göçer, H., Akıncıoğlu, A., Öztaşkın, N., Göksu, S., Gülçin İ., (2013). Synthesis, antioxidant, and antiacetylcholinesterase activities of sulfonamide derivatives of dopamine-related compounds, *Archiv der Pharmazie*, (346), 783-792.
37. Nachmansohn, D., (1952). *In Modern Trends in Physiology. Biochemistry*. New York: Academic Press. 76.
38. Wilson, I.B., Nachmansohn, D., (1954). *In Ion Transport Across Membranes*. New York: Academic Press. 94.
39. Carlson, P., (1992). *Tıp ve Fen Bilimleri için Biyokimya*. Editör: Telefoncu, A. Kırklareli: Arkadaş Tıp Kitapları. 420.
40. Çokuğraş, A.N. (2003). Butyrylcholinesterase: Structure and physiological importance, *Turkish Journal of Biochemistry*, 28, 54-61.
41. Allam, A.R., Sridhar, G.R., Das, U.N. (2007). Elevated butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase may predict the development of type 2 diabetes mellitus and Alzheimer's disease, *Medical Hypothesis*. 69(6), 1272-1276.
42. David, G., Wilkinson, P.T., Schwam, E., Parrish, J.P., (2004). Cholinesterase inhibitors used in the treatment of Alzheimer's disease. the relationship between pharmacological effects and clinical efficacy, *Drugs Aging*. 21(7), 453-478.
43. Grisaru, D., Sternfeld, M., Eldor, A., Glick, D., Soreq H., (1999). Structural roles of acetylcholinesterase variants in biology and pathology, *Eur J. Biochem*, 264, 672-686.
44. Atay, M. (2014). *İnsan serum bütirikolinesterazı ve eritrosit asetilkolinesterazının statin türevleri ile etkileşiminin incelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 13-15.

45. Darvesh, S., Hopkins, D.A., Geula, C. (2003). Neurobiology of butyrylcholinesterase. *Nature Reviews Neuroscience*, 4 (2), 131-138.
46. Nemukhin, A.V., Lushchekina, S.V., Bochenkova, A.V., Golubeva, A.A., and Varfolomeev, S.D., (2008). Characterization of a complete cycle of acetylcholinesterase catalysis by ab initio QM/MM modeling. *Journal of Molecular Modeling*, 14(5), 409-416.
47. Demir, D., (2013). *Karbonik anhidraz inhibitörleri olarak dioksoakridinin azotlu türevlerinin incelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kütahya, 15-16.
48. Güvenç, P. (2007). *Metan sülfonilhidrazon türevleri ile Ni(II) ve Co(II) komplekslerinin sentezi, yapılarının aydınlatılması ve antibakteriyel aktivitelerinin incelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 27.
49. Bush, H. D. (2005) *Investigation into the Reactivity of Pentafluorophenyl Vinylsulfonate in the Formation of Functionalized Sulfonamides of Biological Importance*, PhD Thesis, University College London, London, 8.
50. Moeker, J., Peat, T., Bornaghi, L., Vullo, D., Supuran, C. and Poulsen, S. (2014). Cyclic Secondary Sulfonamides: Unusually Good Inhibitors of Cancer-Related Carbonic Anhydrase Enzymes, *Journal of Medicinal Chemistry*, 57(8), 3522-3531.
51. Prinz, M., Parlar, S., Bayraktar, G., Alptüzün, V., Erciyas, E., Fallarero, A., Karlsson, D., Vuorela, P., Burek, M., Förster, C., Turunc, E., Armagan, G., Yalcin, A., Schiller, C., Leuner, K., Krug, M., Sotriffer, C. and Holzgrabe, U. (2013). 1,4-Substituted 4-(1H)-pyridylene-hydrazone-type inhibitors of AChE, BuChE, and amyloid- β aggregation crossing the blood-brain barrier, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 49(4), 603-613.
52. Liu, X., Wu, D., Sun, R., Yu, L., Jiang, J., Sheng, S. (2013). Synthesis and properties of novel soluble fluorinated polyamides containing pyridine and sulfone moieties, *Journal of Fluorine Chemistry*, 154, 16-22.
53. Akıncıoğlu, A., Kocaman, E., Akıncıoğlu, H., Ekhteiari Salmas, R., Durdagi, S., Gülçin, I., Supuran, C. T., Göksu, S. (2017). "The Synthesis of Novel Sulfamides Derived from β -Benzylphenethylamines as Acetylcholinesterase, Butyrylcholinesterase and Carbonic Anhydrase Enzymes Inhibitors", *Bioorganic Chemistry*, 74, 238-250.
54. Rahim, F., Ullah, H., Taha, M., Wadood, A., Javed, M., Rehman, W., Nawaz, M., Ashraf, M., Ali, M., Sajid, M., Ali, F., Khan, M. and Khan, K. (2016). "Synthesis and in vitro acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory potential of hydrazide based Schiff bases", *Bioorganic Chemistry*, 68, 30-40.
55. Koşak, U., Knez, D., Coquelle, N., Brus, B., Piřlar, A., Nachon, F., Brazzolotto, X., Kos, J., Colletier, J. and Gobec, S. (2017). "N-Propargylpiperidines with naphthalene-2-carboxamide or naphthalene-2-sulfonamide moieties: Potential multifunctional anti-Alzheimer's agents", *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 25(2), 633-645.

56. Alptüzün, V., Prinz, M., Hörr, V., Scheiber, J., Radacki, K., Fallarero, A., Vuorela, P., Engels, B., Braunschweig, H., Erciyas, E. and Holzgrabe, U. (2010). Interaction of (benzylidene-hydrazono)-1,4-dihydropyridines with β -amyloid, acetylcholine, and butyrylcholine esterases, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 18(5), 2049-2059.
57. Karaman, N., Sıcak, Y., Taşkın-Tok, T., Öztürk, M., Karaküçük-İyidoğan, A., Dikmen, M., Koçyiğit-Kaymakçioğlu, B. and Oruç-Emre, E. (2016). New piperidine-hydrazone derivatives: Synthesis, biological evaluations and molecular docking studies as AChE and BChE inhibitors, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 124, 270-283.
58. Karaman, N., Oruç-Emre, E., Sıcak, Y., Çatıkkaş, B., Karaküçük-İyidoğan, A. and Öztürk, M. (2016). Microwave-assisted synthesis of new sulfonyl hydrazones, screening of biological activities and investigation of structure–activity relationship, *Medicinal Chemistry Research*, 25(8), 1590-1607.
59. Mutahir, S., Jończyk, J., Bajda, M., Khan, I., Khan, M., Ullah, N., Ashraf, M., Qurat-ul-Ain, Riaz, S., Hussain, S. and Yar, M. (2016). Novel biphenyl bis-sulfonamides as acetyl and butyrylcholinesterase inhibitors: Synthesis, biological evaluation and molecular modeling studies, *Bioorganic Chemistry*, 64, 13-20.
60. Riaz, S., Khan, I., Bajda, M., Ashraf, M., Qurat-ul-Ain, Shaukat, A., Rehman, T., Mutahir, S., Hussain, S., Mustafa, G. and Yar, M. (2015). Pyridine sulfonamide as a small key organic molecule for the potential treatment of type-II diabetes mellitus and Alzheimer's disease: In vitro studies against yeast α -glucosidase, acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase, *Bioorganic Chemistry*, 63, 64-71.
61. Cunha, M., Tavares, M., Carvalho, C., Silva, N., Souza, A., Pereira, G., Ferreira, F., Parise-Filho, R. (2016). Environmentally Safe Condition for the Synthesis of Aryl and Alkyl Sulfonyl Hydrazones via One-Pot Reaction, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 4(4), 1899-1905.
62. Ellman, G., Courtney, K., Andres, V., Featherstone, R. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, *Biochemical Pharmacology*, 7(2), 88-95.
63. O. Ozdemir, U., İlbiz, F., Balaban Gunduzalp, A., Ozbek, N., Karagoz Genç, Z., Hamurcu, F. and Tekin, S. (2015). Alkyl sulfonic acide hydrazides: Synthesis, characterization, computational studies and anticancer, antibacterial, anticarbonic anhydrase II (hCA II) activities. *Journal of Molecular Structure*, 1100, 464-474.
64. Ö. Özdemir, Ü., Altuntaş, A., Gündüzalp, A., Arslan, F. and Hamurcu, F. (2014). New aromatic/heteroaromatic propanesulfonylhydrazone compounds: Synthesis, physical properties and inhibition studies against carbonic anhydrase II (CAII) enzyme. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 128, 452-460.
65. Zhao, C., Rakesh, K., Ravidar, L., Fang, W. and Qin, H. (2019). Pharmaceutical and medicinal significance of sulfur (SVI)-Containing motifs for drug discovery: A critical review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 162, 679-734.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : BİLEN, Esra
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 03.04.1989, Ankara
 Medeni hali : Bekar
 Telefon : 0 (537) 818 83 88
 e-mail : esra.bilen@gazi.edu.tr



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi / Kimya Bölümü	Devam ediyor
Lisans	Hacettepe Üniversitesi / Kimya Bölümü	2008-2013
Lise	Özel Ankara Aziziye Koleji	2003-2006

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2017-2018	Gazi Üniversitesi	Öğrenci Asistanlığı

Yayınlar

1. Bilen, E, (2018, 26-27 Nisan), *4-Nitro Benzaldehit Türevli Sülfonil Hidrazon Bileşiklerinin Sentezleri, Karakterizasyonları ve Ellman Metodu ile Asetilkolinesteraz Enzimine karşı İnhibitör özellikleri*, 1st International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences, Ankara.
2. Bilen, E, (2018, 26-27 Nisan), *Yeni Sentezlenen Sülfonil Hidrazon Bileşiklerinin Alzheimer Hastalığı Tedavisinde İnhibitör Olarak Kullanılma Potansiyelleri*, 1st International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences, Ankara.
3. Cengiz, T, (2018, 4-7 Ekim), *Synthesis of New Hybrid Molecules Based on Coumarin as Potential inhibitors for the treatment of Alzheimer's*, 4th Organic Chemistry Congress with International Participation, Antalya.

4. Cengiz, T, (2018, 4-7 Ekim), *Schiff Bases Containing Coumarin Thiazole Ring and Anti-Acetylcholinesterase Activities*, 4th Organic Chemistry Congress with International Participation, Antalya.

Projeler

Tübitak 3001 Projesi – Bursiyer – 2018

Bağımsız Bilimsel Araştırma Projesi (BAP) – Araştırmacı – 2019

Yabancı Dil

İngilizce

Hobiler

Basketbol, Bisiklet



GAZİ GELECEKTİR...