



**SÜLFONAMİT İÇEREN YENİ SCHİFF BAZLARININ SENTEZLENMESİ
VE ASETİLKOLİNESTERAZ İLE BÜTİRİLKOLİNESTERAZ ENZİM
İNHİBİSYONU ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

SAMARA OMER ABDULKAREEM ABDULKAREEM

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ARALIK 2024

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.

SAMARA OMER ABDULKAREEM ABDULKAREEM

18/12/2024

SÜLFONAMİT İÇEREN YENİ SCHİFF BAZLARININ SENTEZLENMESİ VE
ASETİLKOLİNESTERAZ İLE BÜTİRİLKOLİNESTERAZ ENZİM İNHİBİSYONU
ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)

SAMARA OMER ABDULKAREEM ABDULKAREEM

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Aralık 2024

ÖZET

Bu tez çalışmasının amacı, sülfonamid içeren bileşiklerin (sülfaguanidin, sülfathiazol ve sülfadiazin), aromatik yapılu aldehitlerle (4-(Metiltiyo) benzaldehit, 3,4,5-trimetoksibenzaldehit ve 4-fenoksibenzaldehit) tepkimesi sonucunda yeni Schiff bazı inhibitörlerinin sentezi ve bunların biyolojik özelliklerinin araştırılmasıdır. Araştırma dört ana kısma ayrılmıştır. Schiff bazı inhibitörlerinin senteziyle başlayarak; bu inhibitörlerin Asetilkolinesteraz (AChE) ve Bütirilkolinesteraz (BChE) üzerindeki inhibisyon etkinlikleri değerlendirilmiş; sitotoksik ve antibakteriyel özelliklerinin incelenmiş, son olarak ise moleküler modelleme çalışmaları yapılmıştır. Gaussian 16 ile DFT/B3LYP/6-31+G (d,p) programı kullanılarak Schiff bazlarının ideal yapıları belirlenmiştir. Aynı zamanda sınır moleküler orbitaller (HOMO ve LUMO), kimyasal reaktivite parametreleri ve moleküler elektrostatik potansiyel (MEP) haritaları oluşturulmuştur. AutoDock Vina ile yapılan moleküler kenetlenme çalışmaları ardından Biodiscovery yazılımıyla yapılan analizler ile AChE ve BChE için bağlanma eğilimleri tMEPit edilmiştir. Sentezlenen Schiff bazlarının karakterizasyon çalışmaları ¹H-NMR, ¹³C-NMR, GC-MASS ve FT-İR yöntemler ile değerlendirilmiştir. İnhibitörlerin asetilkolinesteraz ve Bütirilkolinesteraz enzimleri üzerine olan IC₅₀ ve Ki değerleri hesaplanarak inhibisyon türleri belirlenmiştir. Bu değerler kıyaslandığında en iyi sonuçlar AChE enzimi için K2 inhibitörü (IC₅₀ = 2,6742±0,4421 µM), BChE enzimi için ise K2 (IC₅₀ = 2,9442±0,336376 µM) olarak bulunmuştur. Daha sonra bileşiklerin kırmızı kan hücreleri üzerine olan hemoliz aktivitesini değerlendirmek için in vitro sitotoksikite testleri yapılmıştır. Son olarak inhibitörlerin, iki Gram-negatif suş (Escherichia coli ATCC 25922 ve Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853), iki Gram-pozitif suş (Staphylococcus aureus ATCC 25923 ve Enterococcus faecalis ATCC 29212), ve üç maya suşu (Candida albicans ATCC 10231, Candida krusei ATCC 6258 ve Candida glabrata ATCC 90030) üzerinde antimikrobiyal aktiviteleri in vitro olarak değerlendirilmiştir.

Bilim Kodu : 20104

Anahtar Kelimeler : Kolinesteraz enzimleri, sülf ilaçları, IC₅₀, hemoliz, moleküler docking, teorik hesaplamalar, antimikrobiyal aktivite.

Sayfa Adedi : 157

Danışman : Prof. Dr. Servet ÇETE

SYNTHESIS OF NOVEL SULFONAMIDE-CONTAINING SCHIFF BASES AND
INVESTIGATION OF THEIR EFFECTS ON ACETYLCHOLINESTERASE AND
BUTYRYLCHOLINESTERASE ENZYME INHIBITION

(M. Sc. Thesis)

SAMARA OMER ABDULKAREEM ABDULKAREEM

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

December 2024

ABSTRACT

In this study, A new Schiff base inhibitors were produced by reacting sulfonamide-containing compounds (sulfaguanidine, sulfathiazole, and sulfadiazine) with aromatic aldehydes and their biological characteristics were investigated. The study was divided into four stages: the synthesis of Schiff base inhibitors, the assessment of their inhibitory effects on Acetylcholinesterase (AChE) and Butyrylcholinesterase (BChE), the evaluation of their cytotoxic and antibacterial properties, and molecular modeling investigations. Theoretical research with DFT/B3LYP/6-31+G(d,p) in Gaussian 16 yielded optimal structures, frontier molecular orbitals (HOMO and LUMO), chemical reactivity parameters, and molecular electrostatic potential (MEP) maps. Molecular docking using AutoDock Vina and subsequent analysis using Biodescovery software revealed binding affinities for AChE and BChE. The produced inhibitors were evaluated using ¹H-NMR, ¹³C-NMR, GC-MS, and FT-IR. Compound K2 showed the highest inhibition of AChE ($IC_{50} = 2.6742 \pm 0.4421 \mu M$) and BChE ($IC_{50} = 2.9442 \pm 0.3364 \mu M$). development. Compounds S2, S3, and C2 have lesser cytotoxicity due to decreased hemolytic activity. Antimicrobial testing showed that the inhibitors were effective against Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis, Candida albicans, Candida krusei, and Candida glabrata. These findings imply that sulfonamide-based Schiff base inhibitors are interesting options for future medication.

Science Code : 20104

Key Words : Cholinesterase enzymes, sulfa drugs, IC_{50} , hemolysis, molecular docking, theoretical calculations, antimicrobial activity.

Page Number : 157

Supervisor : Prof. Dr. Servet ÇETE

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans sürecimde rehberliği, engin bilgi birikimi ve desteğiyle her zaman yanımda olan danışman hocam Prof. Dr. Servet ÇETE'ye en içten teşekkürlerimi sunarım. Hocamın uzmanlığı, teşvik edici yaklaşımı ve yol gösterici önerileri, tezimin başarıyla tamamlanmasında önemli bir rol oynamıştır.

Araştırmamın laboratuvar çalışmalarında bana önemli katkılar sağlayan, sürecin her aşamasında maddi ve manevi olarak yanımda olan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Arş. Gör. Nada ABDULKAREEM'e en derin teşekkürlerimi ifade etmek isterim. Ayrıca, laboratuvar çalışmalarına olan desteği ve yardımları için Arş. Gör. Deniz AKIN ANAKÖK'e teşekkürlerimi sunarım. 220 nolu biyokimya araştırma laboratuvarında bütün arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu sürecin her aşamasında yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman eksik etmeyen KOCAMAN AİLEM, özellikle eğitim hayatım boyunca bana her daim destek olan değerli aile büyüklerime, en derin minnet ve teşekkürlerimi sunarım. Bununla birlikte, süreç boyunca teşvik edici sözleri ve samimi destekleriyle yanımda olan tüm arkadaşlarıma, özellikle Fatimah ALBAYATI ve Ecenur BİNİCİ'ye, içten teşekkürlerimi iletirim. Onların ve diğer arkadaşlarımin varlığı, bu yolculuğu hem daha anlamlı hem de daha dayanılabilir kılmıştır.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xx
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Enzimler	5
2.1.1. Enzimler ve canlılık süreçleri.....	5
2.1.2. Enzimlerin kimyasal yapısı	5
2.1.3. Enzim Katalizli Kimyasal Tepkime	6
2.1.4. Enzime-substrat kompleksinin oluşumu modelleri.....	6
2.1.5. Enzim türleri ve işlevleri	7
2.1.6. Enzim aktivitesi tayin yöntemleri	8
2.1.8. Enzim inhibitörleri ve enzim inhibisyonu.....	8
2.1.9. Enzim inhibisyon türleri.....	9
2.1.10. Enzim inhibisyonunu etkileyen faktörler	11
2.1.11. Lineweaver-Burk grafiği.....	12
2.1.12. Lineweaver-Burk grafiğinin kullanım alanları.....	12
2.2. Kolinesteraz.....	13
2.2.1. AChE.....	14
2.2.2. Asetilkolinesteraz (AChE) yapısı ve işlevi [51].....	15

	Sayfa
2.2.3. Bütirilkolinesteraz (BChE).....	16
2.2.4. Sentetik Asetilkolinesteraz (AChE) inhibitörleri ve kaynakları	18
2.3. Alzheimer	18
2.3.1. Alzheimer hastalığının tanı ve tedavisi	19
2.3.2. Alzheimer hastalığında biyobelirteçler	19
2.3.3. Alzheimer hastalığının nöropatolojisi	21
2.3.4. Alzheimer hastalığının aşamaları	21
2.3.5. Patofizyolojisi	22
2.3.6. Alzheimer hastalığı için risk faktörleri	23
2.4. Schiff Bazları	24
2.4.1. Schiff bazlarının oluşum mekanizması	25
2.4.2. Schiff bazlarının fiziksel özellikleri	25
2.4.3. Schiff bazlarının kimyasal özellikleri	26
2.4.4. Schiff bazlarının önemi ve kullanım alanları	26
2.5. Sülfonamidler	27
2.5.1. Sülfonamidlerin kimyasal yapısı	28
2.5.2. Sülfonamidlerin sınıflandırılması	28
2.6. Kaynak Araştırması	29
3. ARAÇLAR VE DENEYSEL YÖNTEMLER	35
3.1. Kullanılan Ekipman ve Kimyasal maddeler	35
3.2. Analizlerde Kullanılan Cihazlar	35
3.3. Deneysel Yöntemler	36
3.3.1. $C_{17}H_{15}N_3O_2S_3$ (C1) Schiff bazının sentez yöntemi	37
3.3.2. $C_{15}H_{16}N_4O_2S_2$ (C2) Schiff bazının sentez yöntemi	38
3.3.3. $C_{18}H_{16}N_4O_2S_2$ (C3) Schiff bazının sentez yöntemi	38
3.3.4. $C_{19}H_{19}N_3O_5S_2$ (S1) Schiff bazının sentez yöntemi	39

	Sayfa
3.3.5. C ₂₀ H ₂₀ N ₄ O ₅ S (S2) Schiff bazının sentez yöntemi.....	40
3.3.6. C ₁₇ H ₂₀ N ₄ O ₅ S (S3) Schiff bazının sentez yöntemi.....	40
3.3.7. C ₂₂ H ₁₇ N ₃ O ₃ S ₂ (K1) Schiff bazının sentez yöntemi.....	41
3.3.8. C ₂₀ H ₁₈ N ₄ O ₃ S (K2) Schiff bazının sentez yöntemi	41
3.4. Asetilkolinesteraz (AChE) Aktivite Ölçümleri İçin Gerekli Çözeltiler	42
3.5. Bütirikolinesteraz (BChE) Aktivite Ölçümleri İçin Gerekli Çözeltiler	43
3.6. Kolinesteraz Enzimlerinin İnhibisyon Çalışma Yöntemi.....	43
3.7. In vitro Biyolojik Aktivite Testleri	45
3.7.1. İnhibitörlerin antimikrobiyal aktivitelerinin tayini	45
3.7.2. İnhibitörlerin sitotoksik aktivitelerinin tayini	46
3.8. Teorik Hesaplamalar	46
3.9. Moleküler Docking Çalışmaları.....	47
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI	49
4.1. Bileşik Karakterizasyonu	49
4.1.1. 4-((4-(metiltiyo)benziliden)amino)-N-(tiyazol-2-il) benzensülfonamid (C1)	49
4.1.2. 4-((4-(Metiltiyo) benzilidene) amino)-N-(tiyazol-2-il) benzenesülfonamid (C2)	52
4.1.3. 4-((4-(Metiltiyo) benizliden) amino)-N-(pyrimidin-2-yl) benzensülfonamid	56
4.1.4. N-(tiyazol-2-il)-4-((3,4,5-trimetoksibenzilidene) amino) benzensülfonamid	60
4.1.5. N-(pirimidin-2-il)-4-((3,4,5-trimetoksibenzilidene)amino) benzensülfonamid	64
4.1.6. N-karbaminodoyl-4-((3,4,5-trimethoxybenziliden) amino) benzensülfonamid	68
4.1.7. 4-((4-fenoksi-benzilidene) amino)-N-(tiyazol-2-il) benzensülfonamid	72
4.1.8. N-karbamimidoyl-4-((4-fenoksi-benzilidene)amino)benzensülfonamid..	76

	Sayfa
4.2. Sentezlenen Bileşiklerin Kolinesteraz (AChE ve BChE) Enzim Aktiviteleri	80
4.2.1. AChE enzim inhibisyon sonuçları	80
4.2.2. BChE enzim inhibisyon sonuçları.....	84
4.3. In Vitro Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları	88
4.4. Bileşiklerin Sitotoksik Aktivite Sonuçları	93
5. HESAPLAMA YÖNTEMLERİ	97
5.1. Bileşiklerin Geometri Optimizasyonları	97
5.2. Bileşiklerin Sınır Moleküler Orbitalleri (FMO'lar) ve Global Reaktivite Parametreleri	98
5.3. Moleküler Elektrostatik Potansiyel (MEP) Haritası	103
5.4. Bileşiklerin Moleküler Doking Sonuçları	105
5.5. AChE Enzimi Üzerindeki Moleküler Doking Sonuçları	108
5.5.1. C1 bileşiğinin AChE enzimi ile moleküler doking sonuçları	108
5.5.2. C2 molekülünün AChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonuçları ..	109
5.5.3. C3 molekülünün AChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonuçları ..	109
5.5.4. S1 molekülünün AChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonuçları...	113
5.5.5. S2 molekülünün AChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonuçları...	113
5.5.6. S3 molekülünün AChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonuçları...	114
5.5.7. K1 bileşiğinin AChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonuçları	118
5.5.8. K2 bileşiğinin AChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonuçları	118
5.5.9. Donepezil AChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonuçları.....	118
5.6. Bileşenlerin BChE Enzimi Üzerindeki Moleküler Doking Sonuçları	125
5.6.1. C1 bileşiğinin BChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonuçları.125	
5.6.2. C2 bileşiğinin BChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonuçları.....	125
5.6.3. C3 bileşiğinin BChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonuçları.....	125
5.6.4. S1 bileşiğinin BChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonuçları	129

Sayfa

5.6.5. S2 bileşiğinin BChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonuçları	129
5.6.6. S3 bileşiğinin BChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonuçları	130
5.6.7. K1 bileşiğinin BChE enzimiyle moleküler doking sonuçları	134
5.6.8. K2 bileşiğinin BChE enzimiyle moleküler doking sonuçları	134
5.6.9. Donepezil BChE enzimiyle moleküler doking sonuçları	134
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	139
KAYNAKLAR	145
ÖZGEÇMİŞ	157

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Deney esnasında kullanılan kimyasal maddelerin isimler, saflık dereceleri ve temin edilen üretici firma adı	35
Çizelge 3.2. Bileşiklerin adları.....	36
Çizelge 3.3. Sentezlenen bileşiklerin molekül yapıları.....	37
Çizelge 3.4. Asetilkolinesteraz ve Bütirilkolinesteraz aktivite ölçümü yöntem tablosu	45
Çizelge 4.1. C1 bileşiğinin yapısı ve fiziksel özellikleri	49
Çizelge 4.2. C1 bileşiğinin önerilen parçalanma modeli	50
Çizelge 4.3. C2 bileşiğinin yapısı ve fiziksel özellikleri	52
Çizelge 4.4. C2 bileşiğinin önerilen parçalanma modeli	54
Çizelge 4.5. C3 bileşiğinin yapısı ve fiziksel özellikleri	56
Çizelge 4.6. C3 bileşiğinin önerilen parçalanma modeli	58
Çizelge 4.7. S1 bileşiğinin yapısı ve fiziksel özellikleri.....	60
Çizelge 4.8. S1 bileşiğinin önerilen parçalanma modeli.....	62
Çizelge 4.9. S2 bileşiğinin yapısı ve fiziksel özellikleri.....	64
Çizelge 4.10. S2 bileşiğinin önerilen parçalanma modeli.....	66
Çizelge 4.11. S3 bileşiğinin yapısı ve fiziksel özellikleri.....	68
Çizelge 4.12. S3 bileşiğinin önerilen parçalanma modeli.....	70
Çizelge 4.13. K1 bileşiğinin yapısı ve fiziksel özellikleri	72
Çizelge 4.14. K1 bileşiğinin önerilen parçalanma modeli	74
Çizelge 4.15. K2 bileşiğinin yapısı ve fiziksel özellikleri	76
Çizelge 4.16. K2 bileşiğinin önerilen parçalanma modeli	77
Çizelge 4.17. Sentezlenen Schiff bazları ve bazı fiziksel özellikleri	79
Çizelge 4.18. Asetilkolinesteraz enzimi inhibisyon hesaplanan K_i ve IC_{50} değerleri	88
Çizelge 4.19. Bütirilkolinesteraz enzimi inhibisyon hesaplanan K_i ve IC_{50} değerleri ...	88

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.20. Sentezlenmiş bileşiklerin antibakteriyel etkilerinin agar difüzyon ile belirlenen aktivite değeri.....	90
Çizelge 4.21. Sentezlenmiş bileşiklerin antifungal etkilerinin agar difüzyon ile belirlenen aktivite değeri.....	91
Çizelge 5.1. Bileşiklerin optimize edilmiş yapıları.....	97
Çizelge 5.2. Global reaktivite parametreleri	98
Çizelge 5.3. Bileşiklerin kuantum fiziksel özelliklerini temsil eden EHOMO ve ELUMO enerjilerinin hesaplanan verileri	99
Çizelge 5.4. Grid parametreleri.....	105
Çizelge 5.5. Bileşiklerin AChE (1eea) proteini ile moleküler doking çalışmaları sonucu	106
Çizelge 5.6. Bileşiklerin BChE (4tpk) proteini ile moleküler doking çalışmaları sonucu	123

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1.Enzim substrat kompleksi.....	5
Şekil 2.2. Enzim-Substrat etkileşimi.....	6
Şekil 2.3. a) Anahtar-kilit modeli b) İndüklenmiş uyum modeli	7
Şekil 2.4. Yarışmalı (competitive) inhibisyon	9
Şekil 2.5. Allosterik Yarışmalı inhibisyon.....	10
Şekil 2.6. Yarışmasız (noncompetitive) inhibisyon.....	10
Şekil 2.7. Yarı yarışmalı (uncompetitive) inhibisyon.....	11
Şekil 2.8. Geri dönüşümlü inhibisyon.....	11
Şekil 2.9. Enzim inhibisyonu türlerinin görsel incelemesi (Lineweaver-Burk grafiği)..	13
Şekil 2.10. Asetilkolinin (ACh) asetilkolinesteraz (AChE) ve Bütilkolinesteraz (BChE) tarafından hidrolizi	14
Şekil 2.11. AChE'nin protein yapısının üç boyutlu gösterimi.....	15
Şekil 2.12. AChE'nin aktif merkezi.....	16
Şekil 2.13. BChE'nin protein yapısının üç boyutlu gösterimi	17
Şekil 2.14. BChE'nin aktif merkezi	17
Şekil 2.15. Ticari olarak temin edilebilen AChE enzim inhibitörleri	18
Şekil 2.16. Beyin ve nöronların fizyolojik yapısı a) Sağlıklı beyinde b) Alzheimer hastalığında	19
Şekil 2.17. Alzheimer hastalığının sıvı biyobelirteçleri.....	20
Şekil 2.18. AH risk faktörleri.....	23
Şekil 2.19. Schiff bazı oluşumunun mekanizması	25
Şekil 2.20. Sülfonamidlerin kimyasal yapısı	28
Şekil 3.1. C1'in sentez yöntemi.....	38
Şekil 3.2. C2'nin sentez yöntemi.....	38
Şekil 3.3. C3'ün sentez yöntemi.....	39
Şekil 3.4. S1'in sentez yöntemi	40

Şekil	Sayfa
Şekil 3.5. S2'nin sentez yöntemi	40
Şekil 3.6. S3'ün sentez yöntemi	41
Şekil 3.7. K1'in sentez yöntemi	41
Şekil 3.8. K2'nin sentez yöntemi	42
Şekil 3.9. Elman tepkimesinin mekanizması	44
Şekil 4.1. C1 bileşiğinin FT-IR spektrumu	49
Şekil 4.2. C1 bileşiğinin GC-MS spektrumu	50
Şekil 4.3. C1 bileşiğinin H-NMR spektrumu	51
Şekil 4.4. C1 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu	51
Şekil 4.5. C2 bileşiğinin FT-IR spektrumu	53
Şekil 4.6. C2 bileşiğinin GC-MS spektrumu	54
Şekil 4.7. C2 bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	55
Şekil 4.8. C2 Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu.....	56
Şekil 4.9. C3 bileşiğinin FT-IR spektrumu	57
Şekil 4.10. C3 bileşiğinin GC-MS spektrumu	58
Şekil 4.11. C3 bileşiğinin H-NMR spektrumu	59
Şekil 4.12. C3 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu	60
Şekil 4.13. S1 bileşiğinin FT-IR spektrumu	60
Şekil 4.14. S1 bileşiğinin GC-MS spektrumu.....	61
Şekil 4.15. S1 bileşiğinin H-NMR spektrumu	63
Şekil 4.16. S1 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu.....	64
Şekil 4.17. S2 bileşiğinin FT-IR spektrumu	65
Şekil 4.18. S2 bileşiğinin GC-MS spektrumu.....	66
Şekil 4.19. S2 bileşiğinin H-NMR spektrumu	67
Şekil 4.20. S2 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu.....	68
Şekil 4.21. S3 bileşiğinin FT-IR spektrumu	69

Şekil	Sayfa
Şekil 4.22. S3 bileşiğinin GC-MS spektrumu.....	70
Şekil 4.23. S3 bileşiğinin H-NMR spektrumu	70
Şekil 4.24. S3 Bileşiğinin ¹³ C-NMR Spektrumu	70
Şekil 4.25. K1 bileşiğinin FT-IR spektrumu.....	732
Şekil 4.26. K1 bileşiğinin GC-MS spektrumu	74
Şekil 4.27. K1 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu.....	75
Şekil 4.28. K1 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu.....	75
Şekil 4.29. K2 bileşiğinin FT-IR spektrumu.....	76
Şekil 4.30. K2 bileşiğinin GC-MS spektrumu	77
Şekil 4.31. K2 bileşiğinin H-NMR spektrumu	78
Şekil 4.32. K2 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu.....	79
Şekil 4.33. a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (C1) derişiminde çizilen % aktivite grafiğı b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (C1) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	80
Şekil 4.34. a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (C2) derişiminde çizilen % aktivite grafiğı b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (C2) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	80
Şekil 4.35. a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (C3) derişiminde çizilen % aktivite grafiğı b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (C3) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	81
Şekil 4.36. a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (S1) derişiminde çizilen % aktivite grafiğı b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (S1) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	81
Şekil 4.37. a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (S2) derişiminde çizilen % aktivite grafiğı b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (S2) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	82

Şekil	Sayfa
Şekil 4.38. a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (S3) derişiminde çizilen % aktivite grafiğı b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (S3) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	82
Şekil 4.39. a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (K1) derişiminde çizilen % aktivite grafiğı b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (K1) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	83
Şekil 4.40. a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (K2) derişiminde çizilen % aktivite grafiğı b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (K2) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	83
Şekil 4.41. a) Bütirilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (C1) derişiminde çizilen % aktivite grafiğı b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (C1) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	84
Şekil 4.42. a) Bütirilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (C2) derişiminde çizilen % aktivite grafiğı b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (C2) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	84
Şekil 4.43. a) Bütirilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (C3) derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (C3) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	85
Şekil 4.44. a) Bütirilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (S1) derişiminde çizilen % aktivite grafiğı b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (S1) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	85
Şekil 4.45. a) Bütirilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (S2) derişiminde çizilen % aktivite grafiğı b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (S2) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	86
Şekil 4.46. a) Bütirilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (S3) derişiminde çizilen % aktivite grafiğı b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (S3) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	86
Şekil 4.47. a) Bütirilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (K1) derişiminde çizilen % aktivite grafiğı b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (K1) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	87

Şekil	Sayfa
Şekil 4.48. a) Bütirilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (K2) derişiminde çizilen % aktivite grafiğı b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (K2) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	87
Şekil 4.49. Sentezlenen bileşiklerin antibakteriyel aktiviteleri.....	92
Şekil 4.50. Sentezlenen bileşiklerin antifungal aktivite grafiğı	93
Şekil 4.51. Bileşiklerin sitotoksik aktivitelerinin grafikleri.....	96
Şekil 5.1. C1, C2 ve C3 bileşiklerin LUMO, HOMO orbital şekilleri ve (ΔE) değeri...	100
Şekil 5.2. S1, S2 ve S3 bileşiklerin LUMO, HOMO orbital şekilleri ve (ΔE) değeri	101
Şekil 5.3. K1 ve K2 bileşiklerin LUMO, HOMO orbital şekilleri ve (ΔE) değeri	103
Şekil 5.4. K1, K2, C1, C2, C3, S1, S2 ve S3 bileşiklerin moleküler elektrostatik potansiyel (MEP) haritaları.....	104
Şekil 5.5. a) Bileşiğın (C1) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) AChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğın yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü	110
Şekil 5.6. a) Bileşiğın (C2) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) AChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğın yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü.....	111
Şekil 5.7. a) Bileşiğın (C3) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) AChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğın yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü.....	112
Şekil 5.8. a) Bileşiğın (S1) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) AChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğın yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü.....	115
Şekil 5.9. a) Bileşiğın (S2) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) AChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğın yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü.....	116
Şekil 5.10. a) Bileşiğın (S3) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) AChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğın yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü.....	117
Şekil 5.11. a) Bileşiğın (K1) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) AChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğın yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü.....	120

Şekil	Sayfa
Şekil 5.12. a) Bileşiğin (K2) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) AChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğin yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü.....	121
Şekil 5.13. a) Donepezilin üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) AChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğin yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü.....	122
Şekil 5.14. a) Bileşiğin (C1) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) BChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğin yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü.....	126
Şekil 5.15. a) Bileşiğin (C2) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) BChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğin yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü.....	127
Şekil 5.16. a) Bileşiğin (C3) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) BChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğin yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü.....	128
Şekil 5.17. a) Bileşiğin (S1) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) BChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğin yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü.....	131
Şekil 5.18. a) Bileşiğin (S2) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) BChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğin yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü.....	132
Şekil 5.19. a) Bileşiğin (S3) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) BChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğin yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü.....	133
Şekil 5.20. a) Bileşiğin (K1) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) BChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğin yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü.....	135
Şekil 5.21. a) Bileşiğin (K2) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) BChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğin yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü.....	136
Şekil 5.22. a) Donepezilin üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) BChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğin yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü.....	137

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler	Açıklamalar
°C	Derece Celcius
g	Gram
M	Molar derişim
m ³	Metre Küp
mg	Miligram
MHz	Megahertz
mL	Mililitre
mM	Milimolar derişim
nm	Nanometre
s	Saniye
µL	Mikrolitre
µM	Mikromolar derişim
v	Gerilme titreşimi

Kısaltmalar	Açıklamalar
ACh	Asetilkolin
AChE	Asetilkolinesteraz
ACHE	Bütirilkolinesteraz
AD	Alzheimer Hastalığı
APP	Amiloid Öncü Proteini
AZA	Asetazolamid
Aβ	Amiloid-β Proteini
B3LYP	Becke-3-Lee-Yang-Parr fonksiyoneli
BACE	β-site APP Parçalayıcı Enzim
C13-NMR	Karbon-13 Nükleer Manyetik Rezonans
CFU	Koloni Oluşturan Birim

Kısaltmalar**Açıklamalar**

CNS	Merkezi Sinir Sistemi
CSF	Beyin Omurilik Sıvısı
Da	Dalton
DFT	Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi
DHPS	Dihidropteroat Sentetaz
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DTNB	5,5-Ditiyobis(2-Nitrobenzoik Asit)
ELUMO	En Düşük Boşluklu Moleküler Orbital Enerjisi
MEP	Elektrostatik Potansiyel
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FDG	Florodeoksiglukoz
FMO	Sınır Moleküler Orbitaler
FTIR	Fourier Dönüşüm İnfrared Spektroskopisi
GC-MS	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
HBB	Hafif Bilişsel Bozukluk
H-NMR	Proton Nükleer Manyetik Rezonans
HOMO	En Yüksek Doluluklu Moleküler Orbital
IC50	Yarı Maksimal İnhibitör Derişimu
IUBMB	Uluslararası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Birliği
Ki	İnhibisyon Sabiti
Km	Michaelis-Menten Sabiti
LUMO	En Düşük Boşluklu Moleküler Orbital
MEP	Moleküler Elektrostatik Potansiyel
MRI	Manyetik Rezonans Görüntüleme
Na₂HPO₄	Disodyum Hidrojen Fosfat
NaH₂PO₄	Monosodyum Dihidrojen Fosfat
NMDA	N-metil-D-aspartik asit
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
Nrf2	Nükleer Faktör Eritroid 2 ile İlişkili Faktör 2
Nrf2-ARE	Nükleer Faktör E2 İlgili Faktör 2 – Antioksidan Yanıt Elemanı
O.D.	Optik Yoğunluk

Kısaltmalar**Açıklamalar****PABA**

p-Amino Benzoik Asit

PDB

Protein Veri Bankası

PET

Pozitron Emisyon Tomografisi

PNS

Periferik Sinir Sistemi

PSEN-1

Presenilin-1

PSEN-2

Presenilin-2

RPM

Dakikadaki Devir Sayısı

SO₂NH₂

Sülfonamid fonksiyonel grubu

TLC

İnce Tabaka Kromatografisi

UV

Ultraviyole

V_{max}

Maksimum Reaksiyon Hızı

ZİÇ

Zona İnhibisyon Çapı

ΔE_{gap}

Enerji Band Aralığı

η

Sertlik

μ

Kimyasal Potansiyel

σ

Yumuşaklık

χ

Elektronegatiflik İndeksi

ω

Elektrofilik İndeks

1. GİRİŞ

Dünya çapında günümüzde yaklaşık 50 milyon Alzheimer hastası bulunmaktadır ve bu sayının her beş yılda bir iki katına çıkması ve 2050 yılına kadar 152 milyona ulaşması beklenmektedir. Alzheimer hastalığının etkileri bireyleri, aileleri ve ekonomiyi ciddi şekilde etkilerken, yıllık tahmini küresel maliyeti bir trilyon ABD dolarıdır [1]. Halen Alzheimer hastalığı için kesin bir tedavi yöntemi bulunmamakla birlikte, mevcut tedaviler sadece semptomları hafifletmeye yardımcı olabilmektedir [2].

FDA (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi), Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılan çeşitli ilaçlar ve inhibitörleri onaylamıştır. Kolinesteraz inhibitörleri olan Donepezil, Rivastigmin ve Galantamin ile N-metil-D-aspartik asit reseptör antagonisti Memantin, Alzheimer tedavisinde onaylanmış ilaçlar arasındadır [3]. Ayrıca, amiloid- β 'yi hedefleyen Aducanumab, Lecanemab ve Donanemab gibi monoklonal antikorlar FDA onaylı veya bekleyen ilaçlardır. Bu ilaçlar Alzheimer tedavisinde önemli bir adım olarak kabul edilmektedir [4]. Amiloid- β 'yi hedefleyen bazı ilaçlar sınırlı etki gösterse de anti-A β aşılı, BACE inhibitörleri ve anti-nöroenflamasyon ilaçları gibi diğer yaklaşımlar klinik deneylerde umut verici sonuçlar sağlamıştır [5]. Alzheimer hastalığının karmaşıklığı nedeniyle çok faktörlü doğasını ele almak için çeşitli farmakolojik hedeflerin araştırılması gerekmektedir [6].

Sülfonamidler, Alzheimer hastalığının tedavisinde büyük umut vaat eden çok yönlü faydaları nedeniyle dikkat çekmektedir. Araştırmalar, sülfonamid-dihidropiridin hibritlerinin Kolinesteraz inhibisyonu, kalsiyum kanal blokajı, antioksidan kapasitesi ve Nrf2-ARE aktivasyonu gibi özellikleri ile öne çıktığını göstermiştir ve bu özellikler onları Alzheimer hastalığı tedavisi için umut verici adaylar haline getirmektedir [7]. Ayrıca, tiyazol içeren Sülfonamid analogları güçlü anti-Alzheimer etkilere sahip olmuş ve analog 1'in referans ilaç Donepezil göre daha güçlü bir inhibitör potansiyele sahip olduğu belirlenmiştir [8].

Sülfanegen adı verilen 3-merkaptopirüvat öncül maddesi, Alzheimer hastalığında oksidatif stresi ve nöroinflamasyonu azaltma yeteneğine sahip olduğu için önemli bir rol oynamaktadır. Bu durum, sülfanegenin Alzheimer hastalığı için umut verici bir tedavi seçeneği olabileceğini göstermektedir [9]. Ayrıca, Nrf2'yi aktive eden sülforafan gibi

antioksidan enzimleri artıran ve A β içeriğini azaltarak Alzheimer semptomlarında iyileşme sağlayabilen bileşikler de dikkate değerdir. Bu bulgular, Nrf2 aktivasyonunun Alzheimer tedavisindeki önemini vurgulamaktadır. Sülfonamid türevlerinin Alzheimer patolojisine karşı sunduğu çeşitli faydalar, gelecekte ilaç geliştirme alanında değerli adaylar olarak kabul edilmektedir [10].

Son dönemde, Alzheimer tedavisinde sülfonamid yapılı bileşiklerin kullanımı araştırmacılar tarafından sıklıkla incelenmektedir. Ancak, diğer ilaç etken maddelerinde olduğu gibi, sülfonamid grubu ilaçların da bazı olumsuz etkileri bulunmaktadır. Gelecekte, bu yan etkileri azaltıcı modifiye edilmiş sülfonamid yapılı bileşiklerin sentezlenmesi ve Alzheimer tedavisinde yeni nesil ilaç etken maddesi olarak kullanılma potansiyellerinin araştırılması amaçlanmaktadır. Moleküler modelleme gibi moleküllerin yapılarını, fiziksel özelliklerini ve spektroskopik özelliklerini inceleyen bir hesaplama yöntemi kullanılarak teorik çalışmaları yapılabilir. Bu yöntem genellikle matematiksel formüller kullanılarak gerçekleştirilir. Ancak, bu hesaplamaların uygulanması oldukça karmaşıktır ve zaman alıcıdır, bu yüzden genellikle bilgisayar programlarına başvurulur. Bu hesaplamaları bilgisayar programları aracılığıyla gerçekleştirmek için ilk adım olarak enerji ifadesinin doğru şekilde tanımlanması gerekmektedir.

Bu tez çalışmasında, Sülfonamid grubu içeren yeni Schiff bazları sentezlenerek asetilkolinesteraz ve bütrilkolinesteraz enzim inhibisyonu üzerine etkileri incelenmiştir. Elde edilen bulgular, çeşitli grupların biyolojik aktivite üzerindeki etkilerini belirleyerek etkili ilaçların tasarımına katkı sağlayabileceğini göstermektedir.

Bu çalışmanın amacı, sülfonamid grubu ilaç maddelerinin aromatik aldehytlerle kondenzasyon tepkimeleri sonucunda yeni farmakolojik özelliklere sahip bileşikler elde etmek ve Alzheimer hastalığının tedavisinde Kolinesteraz inhibitörü olarak potansiyel kullanımını araştırmaktır. Bu bağlamda, bu türlerin potansiyel olarak yeni nesil ilaç adayları olup olamayacaklarının belirlenmesi hedeflenmektedir. Çalışma kapsamında, Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılabilme potansiyeline sahip olan 8 yeni bileşik için moleküler modelleme çalışmaları gerçekleştirilmiş ve HOMO ile LUMO enerji profilleri incelenmiştir. Moleküler modelleme çalışmalarına dayanarak önemli farmakolojik özelliklere sahip olduğu düşünülen bu bileşiklerin sentezleri yapılmıştır. Ardından, sentezlenen bileşiklerin

Kolinesteraz inhibitörü olma potansiyelleri deneysel olarak değerlendirilmiştir. Bu amaçla, her bir bileşiğin IC_{50} ve K_i değerleri hesaplanmış ve inhibisyon tipleri belirlenmiştir.





2. GENEL BİLGİLER

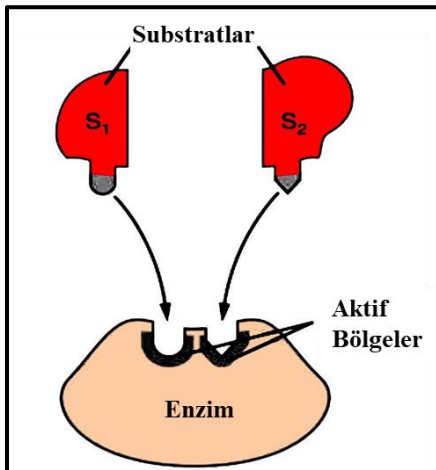
2.1. Enzimler

2.1.1. Enzimler ve canlılık süreçleri

Enzimler, metabolizmada biyokimyasal faaliyetlerde önemli bir rol oynamaktadır; bu süreç, canlı organizmalarda devam eden kimyasal ve fiziksel değişimlerin tümüdür. Enzimler, yağ asitlerinin karbondioksit ve suya oksidasyonu gibi canlılık süreçleri için gerekli biyokimyasal tepkimeleri hızlandırır. Bu tepkimeler vücutta dar bir pH ve sıcaklık aralığında sorunsuzca ve hızla gerçekleşir, böylece maddeler daha verimli bir şekilde parçalanabilir. Enzimatik katalizörlerin anlaşılması tıpta ve yaşam bilimlerinde ilerlemelere yol açmış olup, canlı organizmalarda maddelerin hızlı ve etkili şekilde parçalanmasını mümkün kılar [11].

2.1.2. Enzimlerin kimyasal yapısı

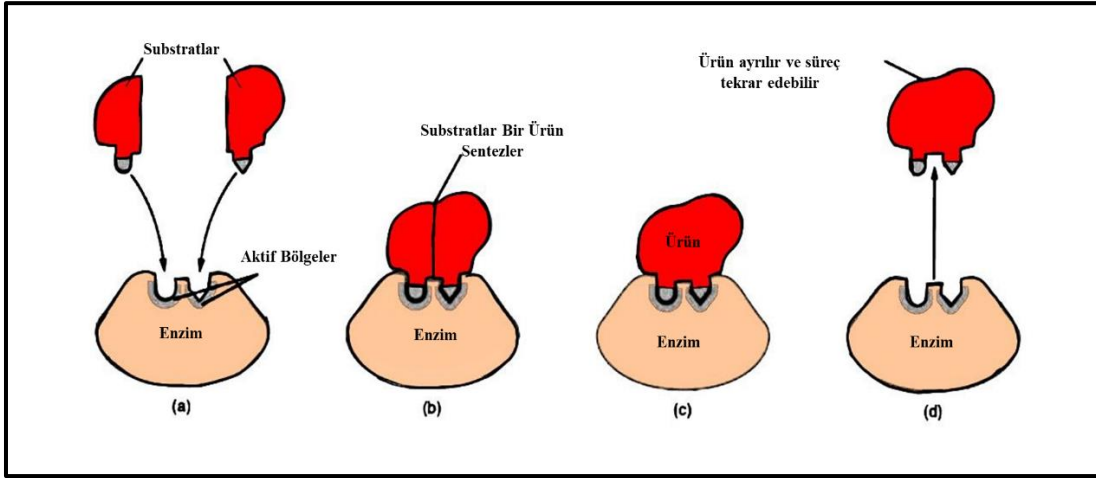
Enzimler ilk olarak 1878'de Wilhelm Kühne tarafından isimlendirilmiştir. Genellikle peptit bağlarıyla bağlanmış amino asit zincirleri içeren yüksek moleküler ağırlıklı bileşiklerdir. İsmi Yunanca en (içinde) ve zyme (maya) kelimelerinden türemiştir. Enzimlere yönelik saflaştırma, karakterize etme ve ticari amaçlarla kullanma çalışmaları 19. yüzyılın sonları ile 20. yüzyılın başlarında ilerleme kaydetmiştir. Enzimler tuzlar, çözücüler ve diğer reaktif maddeler kullanılarak denatüre edilebilir veya çöktürülebilir; moleküler ağırlıkları ise 10k Da ila 2000 kDa arasında değişebilir [12].



Şekil 2.1. Enzim substrat kompleksi

2.1.3. Enzim Katalizli Kimyasal Tepkime

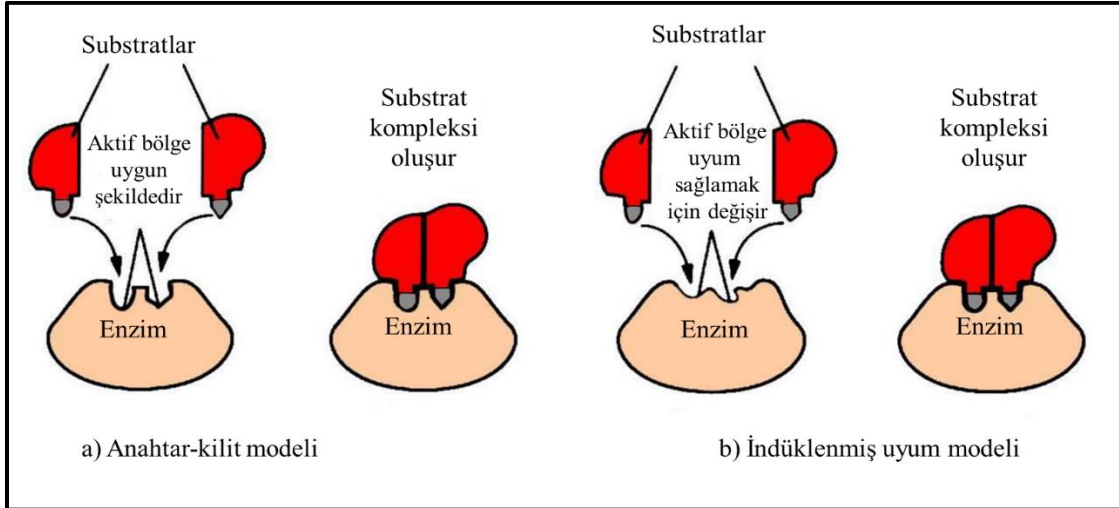
Bir enzim katalizli kimyasal tepkime sırasında, sulu bir ortamda, substrat (S) enzime (E) aktif bölgeye yaklaşır. Substratın bağlandığı yer onu tanımlar ve kimyasal bağları geliştirerek enzime bağlanmasına yardım eder, böylece enzim-substrat kompleksi (ES kompleksi) oluşur. Substratın doğru şekilde bağlanması ve enzim-substrat kompleksinin oluşturulmasının ardından, katalitik bölgeler bu kompleksi ürünlere (P) dönüştürür. Enzim, ürünlerden ayrılır ve başka bir tepkime için hazır hale gelir. Bu süreç Şekil 2.2.de gösterilmiştir [13].



Şekil 2.3. Enzim-Substrat etkileşimi

2.1.4. Enzime-substrat kompleksinin oluşumu modelleri

1. Anahtar-Kilit modeli: Bu teori ilk kez 1894 yılında Alman kimyager Emil Fischer tarafından öne sürülmüştür. Fischer'in "anahtar-kilit teorisine" göre, enzim spesifikliği substrat ve aktif bölgenin tamamlayıcı doğasından kaynaklanır [14]. Bu modelde, yalnızca doğru boyut ve şekle sahip bir substrat (anahtar), enzimin aktif bölgesine (kilit) uyum sağlar. Bu teori, proteinlerin enzim olduğunun belirlenmediği dönemde bile önerilmiştir [15].
2. İndüklenmiş Uyum modeli: Bu teori 1958 yılında Daniel Koshland tarafından öne sürülmüş ve anahtar-kilit teorisinin bir değişikliği olarak kabul edilir. İndüklenmiş uyum teorisine göre, Akife merkezi sabit değildir. Dolayısıyla, substrat ile temas enzimin aktif bölgesinde yapısal değişikliklere neden olur ve bu sayede substrat ile daha etkin bir şekilde bağlanabilir [16].



Şekil 2.4. a) Anahtar-kilit modeli b) İndüklenmiş uyum modeli [17].

2.1.5. Enzim türleri ve işlevleri

Enzimler, katalizledikleri tepkimelere göre altı farklı gruba ayrılabilir [18]. Bu gruplar, Uluslararası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Birliği (IUBMB) tarafından tanımlanmıştır ve aşağıda sıralanmıştır [19]:

1. Oksidoredüktazlar: bir elektronun bir molekülden (indirgenden) bir diğerine (yükseltgene veya oksidana) aktarılmasını katalizleyen enzimdir [20].
2. Transferazlar: Hidrojen haricinde bir atomun, bir molekülden diğer bir moleküle transferini gerçekleştiren enzim grubudur. Karboksilik asit metabolizmasında, polipeptit zincirlerinin N-glikozilasyonunda, biyosentetik yollarda taşıyıcı protein aktivasyonunda ve hücrel detoksifikasyonda yer alırlar [21].
3. Hidrolazlar: Bu enzimler kimyasal bağların su molekülleri eklenerek parçalanmasında önemli rol oynarlar [22]. Çeşitli biyolojik süreçlerde hayati bir işleve sahiptirler [23].
4. Liyazlar: Kimyasal bağları parçalayarak ürünler oluşturan enzimler olarak adlandırılır. Bu enzimler genellikle C-C, C-O, C-N ve diğer bağları parçalayarak çift bağ, halka veya diğer yapılar oluşturabilir ya da çift bağlara gruplar ekleyebilirler [24].
5. İzomerazlar: Bu enzim türleri, bir molekül içinde geometrik veya yapısal değişiklikleri katalizleyen enzimlerdir. Örnek Rasemazlar ve Epimerazlar bu gruba verilebilir. Rasemaz; L-Alanini, D-Alanine, UDP epimeraz; Alanin UDP Glukozu, UDP Galaktoza dönüştürmektedir [25].

6. Ligazlar: Yüksek enerjili fosfatların hidrolizi (ATP-ADP gibi) ile birlikte yürüten, C ile C,O,S, ve N arasında kovalent bağ oluşturmaya sağlayan tepkimeleri katalizler. [26].

2.1.6. Enzim aktivitesi tayin yöntemleri

Enzim aktivitesini ölçmek için kullanılan analitik yaklaşımlar şunları içerebilir;

1. Optik Teknikler: Enzim aktivitesinin değerlendirilmesinde optik özellikleri kullanır. Absorpsiyon, floresans ve luminesans gibi teknikler bu grup içerisine dahildir.
2. Manyetik Rezonans Teknikleri: NMR (nükleer manyetik rezonans) gibi yöntemler, enzimlerin ve substratların yapılarını ve dinamiklerini analiz eder.
3. Kütle Spektrometrisi: Enzimlerin ve ürünlerinin kütleleri ile yapılarını belirlemek amacıyla kullanılır.
4. Fiziksel Numune Yaklaşımları: Enzim aktivitelerini değerlendirmek için Fiziksel numuneler ve metotlar kullanılır; bu da çeşitli analiz teknikleri içermektedir [27].

Biyolojik yöntemler, tepkime oluşturmak amacıyla iç standartları kullanır ve her bir tepkime için standart eğriler geliştirir [28]. Bu teknikler, metabolik ağların incelenmesi ve enzim parametrelerinin değerlendirilmesi için faydalıdır [29]. Enzimlerin katalitik aktivitesi, kimyasal ve fiziksel özelliklerden etkilenir. Enzimler, bir tepkimen geçiş durumunu bağlama konusunda belirli bir özellik gösterir; bu durum protein ile geçiş durumu arasında güçlü stabilize edici etkileşimlerle sağlanır [30]. Ligandın bağlanması sonucu yapı değişiklikleri, katalitik hızları artırabilir ve etkin difüzyonlarını geliştirebilir [31]. Enzim immobilizasyonu, esneklik ve sertlik düzeylerini değiştirebilir, bu da substrat özgüllüğünü ve stereokimyasını etkileyebilir [32].

2.1.8. Enzim inhibitörleri ve enzim inhibisyonu

Enzim İnhibitörleri: Enzim inhibitörleri, enzimin aktif bölgesine veya başka bölge bağlanarak substratın bağlanmasını engelleyen kimyasal maddelerdir ve böylece enzim aktivitesini durduran maddelerdir. Bu inhibitörler, substratlara dönüşmezler ve aktif bölgeyi geçici veya kalıcı olarak engelleyebilirler [33].

Enzim İnhibisyonu: Enzim inhibisyonu, inhibitörlerin enzimin katalitik işlevini yavaşlatma veya durdurma yeteneğidir. Zehirler, anti-metabolitler, antibiyotikler ve bazı ilaçlar gibi

çeşitli maddeler belirli enzimlere karşı inhibisyon gösterebilir ve böylelikle enzim aktivitesini durdurabilirler. Bu tür inhibisyon, terapötik kullanımlarda ve biyolojik sistemlerde önemli bir rol oynamaktadır [34].

2.1.9. Enzim inhibisyon türleri

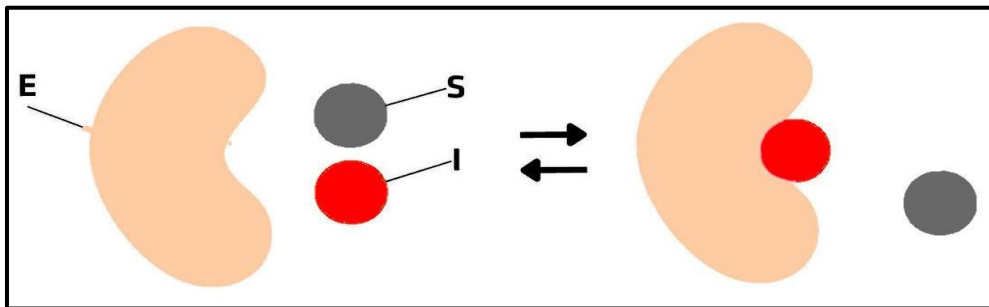
Enzim inhibitörleri etki mekanizmalarına göre iki temel gruba ayrılabilir:

1. **Dönüşümsüz inhibisyonu:** Bu tür inhibisyonda, inhibitör enzimin üzerinde kalıcı veya önemli değişikliklere neden olur. Aktif bölgedeki amino asitlerle kovalent bağ oluşturabilir veya enzimin globüler yapısını bozmak gibi işlemleri içerebilir. Geri dönüşümsüz inhibitörler etkin bir şekilde aktif bölgeyi bloke eder, substrat bağlanmasını engeller ve enzimin katalizini durdurur.
2. **Dönüşümlü İnhibisyon:** Geri dönüşümlü inhibitörler geçici olarak enzime bağlanır ancak sonra enzim-substrat kompleksinden ayrılabilir. Bu tip inhibisyonlar genellikle hidrojen bağları veya Van der Waals kuvvetleri gibi zayıf etkileşmeler ile gerçekleştirilir; bu da enzim aktivitesini yavaşlatır ya da tamamen durdurur. yarışmalı inhibisyonun etkisi genellikle, substrat derişiminin artırılmasıyla aşılabilmektedir çünkü daha fazla substrat molekölü enzim aktif bölgeleriyle rekabet eder.

Dönüşümlü enzim inhibisyon türleri

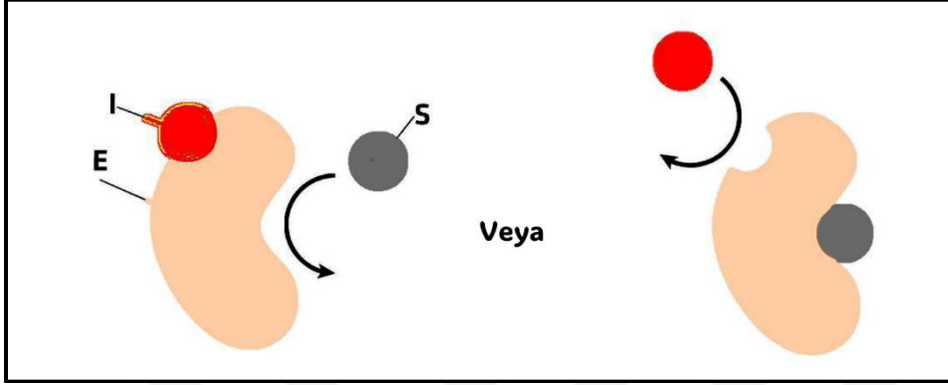
Dört temel geri dönüşümlü inhibisyon türü vardır:

1. **Yarışmalı (competitive) inhibisyon:** Bu tip inhibisyonda, inhibitör substratın bağlanmasını engelleyerek enzimin aktif bölgesine bağlanır [35].



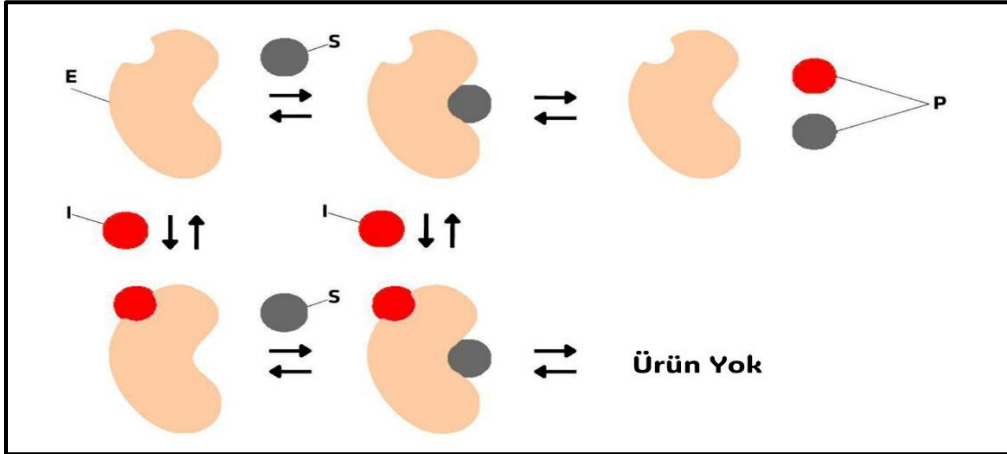
Şekil 2.5. Yarışmalı (competitive) inhibisyon [36].

Ancak, tüm yarışmalı inhibitörler sadece aktif bölgeye bağlanmazlar. Bazıları, substratın bağlanmasını engelleyen ek bir bağlanma bölgesi olan allosterik bir bölgeye bağlanarak aktif bölgenin yapısını değiştirir. Bu tür inhibisyona allosterik yarışmalı inhibisyon adı verilir [37].



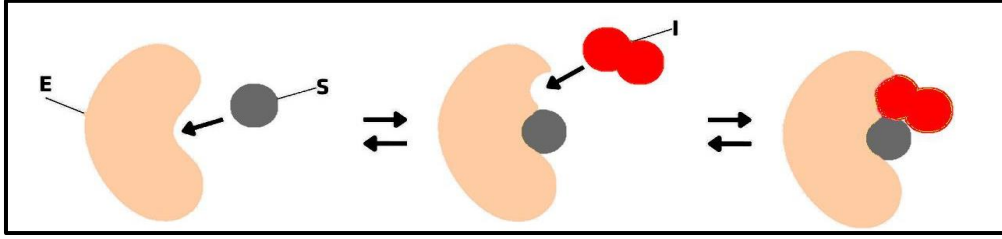
Şekil 2.6. Allosterik Yarışmalı inhibisyon

2. Yarışmasız (noncompetitive) inhibisyon: İnhibitörün, enzimin konformasyonunda değişikliklere neden olarak aktivitesini azaltmak için aktif bölgenin dışında bir yere bağlandığında ortaya çıkar [38].



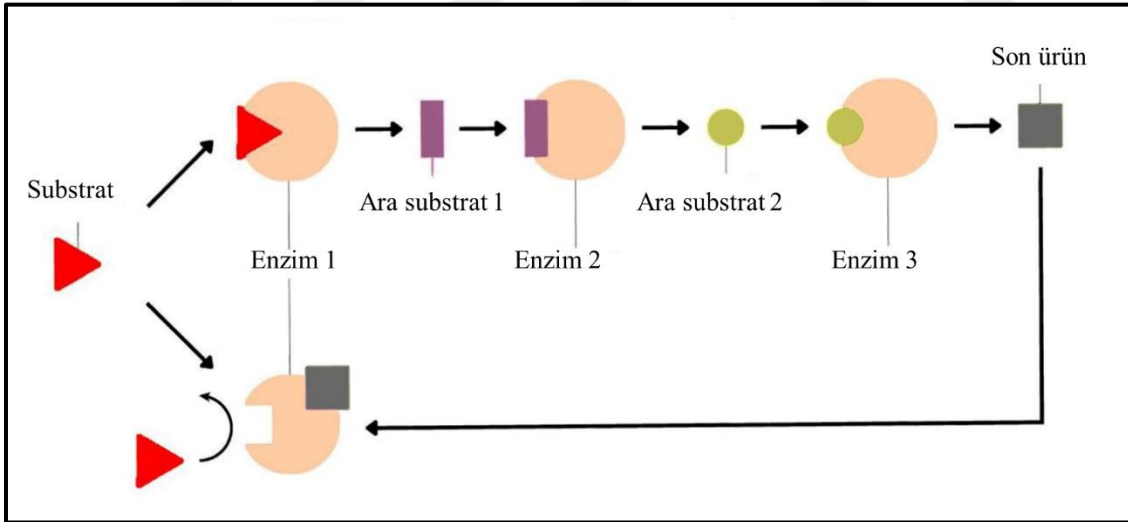
Şekil 2.7. Yarışmasız (noncompetitive) inhibisyon

3. Yarı yarışmalı (uncompetitive) İnhibisyon: Bu tip inhibisyonda, inhibitör enzim-substrat kompleksine bağlanarak ürünün serbest kalmasını engeller. Bu durum enzim-substrat kompleksi oluşumunu ve ürün üretimini engelleyebilir [39].



Şekil 2.8. Yarı yarışmalı (uncompetitive) inhibisyon

4. Feed-Back inhibisyon: Genellikle diğer organizmaları zarara uğratmak için geri dönüşmez inhibisyon kullanılırken, geri dönüşümlü inhibisyon metabolik yolları etkili bir şekilde kontrol etmek için faydalıdır, böylece hücreler her zaman uygun ürün derişime sahip olabilirler. Örneğin, çok adımlı tepkimelerin sonunda genellikle son ürün ilk adımın tepkimesini inhibe eder. Bu durumda enzimler üretim için etkin şekilde çalışırken ve fazla miktarda son ürün varsa ekstra son ürünlerin sentezini engellediği anlamına gelir [40]. Bu çeşitli inhibisyon türleri, enzim fonksiyonlarını farklı şekillerde etkileyebilir. Örneğin, pestisit karışımlarında, “etkisiz” bileşenlerin bulunması, pestisitlerin inhibe edici etkisini önemli ölçüde artırabilir [41].



Şekil 2.9. Geri dönüşümlü inhibisyon

2.1.10. Enzim inhibisyonunu etkileyen faktörler

1. Çevresel Etkenler: Sıcaklık, pH, substrat derişimi, enzim derişimi ılık ve nem gibi çevresel etkenler enzim inhibisyonunu etkileyebilir [42].

2. Fizyolojik Etkenler: Bitkilerde herbisitleri temizleyen ve oksidatif stresle mücadele eden enzimlerin aktivitesi gibi fizyolojik etkenler de enzim inhibisyonunda rol oynayabilir [43].
3. Substrat İnhibisyonu: Substrat inhibitörü, hedeflenmiş amino asit değişiklikleri ile kontrol edilebilir [44].

2.1.11. Lineweaver-Burk grafiği

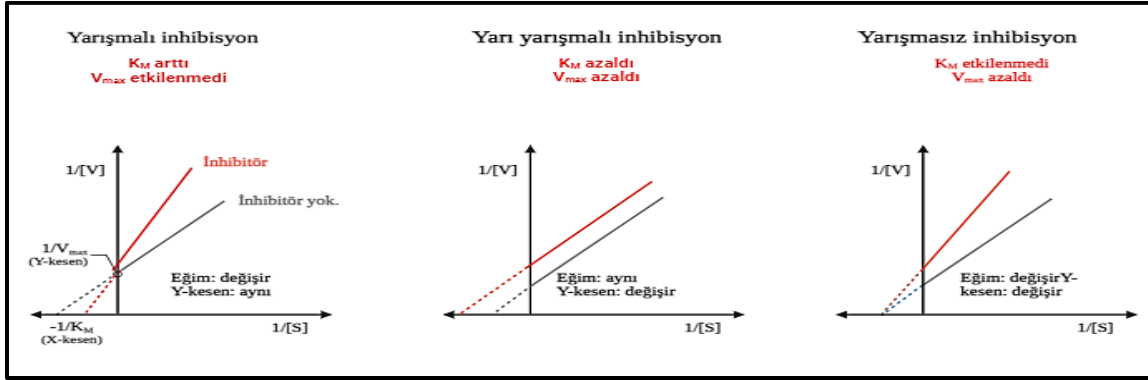
Michaelis-Menten denklemi, Lineweaver ve Burk tarafından doğrusal bir denklem haline getirilmiştir. Lineweaver-Burk grafiği, enzim kinetiğinin grafiksel temsidir ve 1934 yılında Hans Lineweaver ve Dean Burk tarafından tanımlanmıştır [45]. Bu grafik, Michaelis-Menten denkleminin bir türevidir ve şu şekilde ifade edilir [46].

$$\frac{1}{V_o} = \frac{K_m}{V_{max}[S]} + \frac{1}{V_{max}} \quad (2.1)$$

- V tepkime hızı
- Km (Michaelis-Menten sabiti)
- Vmax (maksimum tepkime hızı)
- [S] substrat derişim

2.1.12. Lineweaver-Burk grafiğinin kullanım alanları

1. Enzim Kinetiği Terimlerinin Belirlenmesi: Bilgisayarlar ve doğrusal olmayan regresyon yazılımlarının yaygın olarak kullanılmasından önce, Lineweaver-Burk grafiği, enzim kinetiğinde önemli terimler olan Km (Michaelis-Menten sabiti) ve Vmax (maksimum tepkime hızı) değerlerini belirlemek için kullanılmıştır [47].
2. Enzim İnhibisyonu Türlerinin Görsel İncelemesi: Lineweaver-Burk grafiği, farklı enzim inhibisyonu türlerini hızlı ve görsel bir şekilde inceleme imkânı sağlar. Yarışmalı (competitive) inhibisyon, Yarışmasız (noncompetitive) inhibisyon, Yarı yarışmalı (uncompetitive) inhibisyon türlerinin etkilerini net bir şekilde ortaya koyarak, inhibisyon mekanizmalarının anlaşılmasına yardımcı olur [48].



Şekil 2.10. Enzim inhibisyonu türlerinin grafik üzeri (Lineweaver-Burk grafiği)

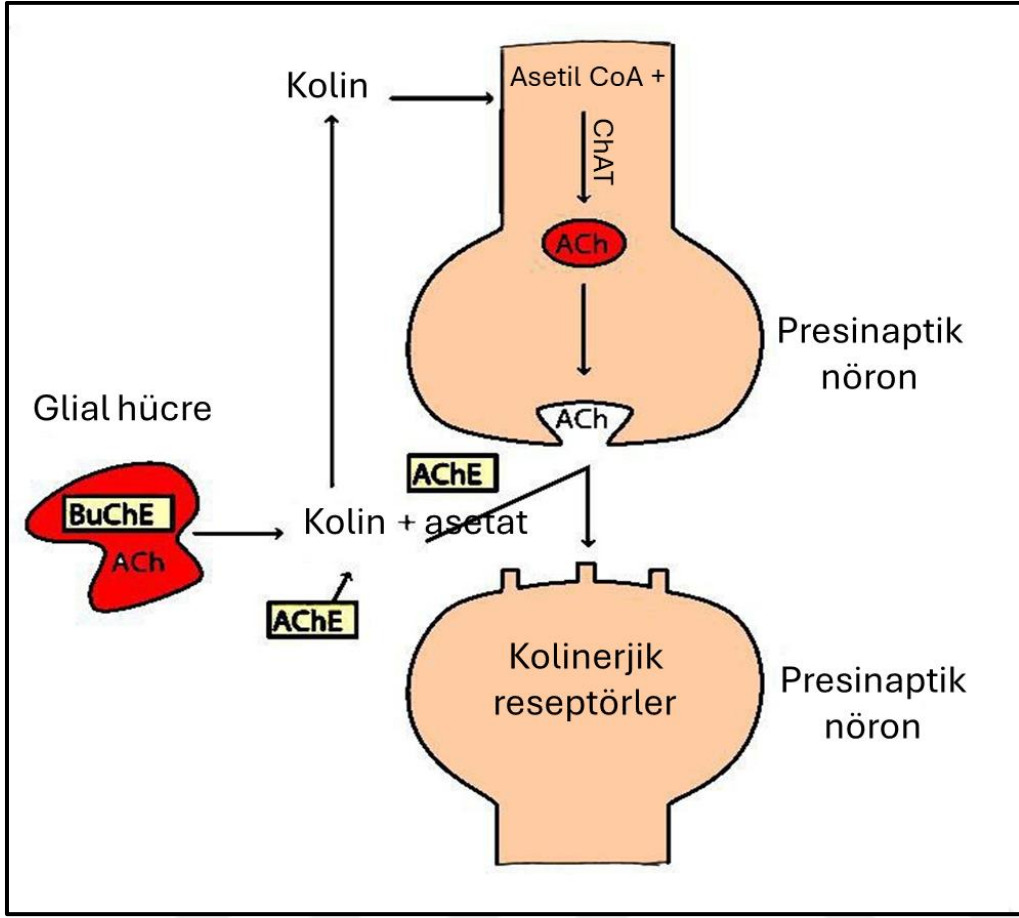
2.2. Kolinesteraz

Kolinesterazlar, kolin esterlerinin hidrolizini gerçekleştiren hidrolaz sınıfı enzimlerdir.

Kolinesterazlar, substrat ve inhibitör özgüllüklerine bağlı olarak iki farklı gruba ayrılır: asetilkolinesteraz (AChE) (EC 3.1.1.7.) ve Bütilkolinesteraz (BChE) (EC 3.1.1.8.).

Asetilkolinesteraz (AChE): AChE, sinaptik yarıktaki ve nöromüsküler kavşaktaki salınan asetilkolini parçalayarak sinirsel aktivite potansiyeline tepki verir. AChE'nin katalitik mekanizması oldukça etkili bir şekilde difüzyon hızına yaklaşır [49].

Bütilkolinesteraz (BChE): BChE, asetilkolinden farklı diğer maddeleri parçalama yeteneğine sahiptir ve BChE'nin yanı sıra BChE'nin katalitik aktivitelerinin dışında bağımsız roller üstlendiği gözlemlenmektedir.



Şekil 2.11. Asetilkolinin (ACh) asetilkolinesteraz (AChE) ve Bütirilkolinesteraz (BChE) tarafından hidrolizi

2.2.1. AChE

Asetilkolinesteraz (AChE), özellikle kaslar ve sinirlerde bulunan kolinerjik bir enzimdir. Doğal olarak oluşan bir nörotransmitter olan asetilkolini (ACh) hızla parçalayarak asetik asit ve kolin oluşturur. AChE'nin ana görevi, sinapslar arasındaki nöronal iletimi düzenleyerek AChE'nin etkisini sınırlamaktır ve yakındaki reseptörlerin uyarılmasını engellemektir. Organofosfatlar, AChE'nin etkisiz hale getirir. Bu maddeler, pestisitler ve sinir gazları için önemli bir bileşen oluşturur [50].



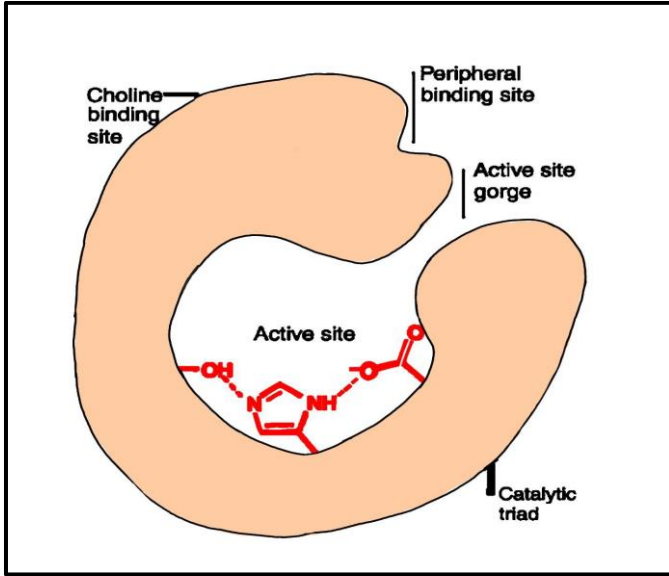
Şekil 2.12. AChE'nin protein yapısının üç boyutlu gösterimi.

2.2.2. Asetilkolinesteraz (AChE) yapısı ve işlevi [51].

AChE, memelilerde genellikle dört alt birimden oluşan bir serin hidrolaz enzimidir. Enzimatik işlevi için kritik olan bağlanma bölgelerinin karmaşık düzenlemelerine sahip alt birimlerden oluşur:

- Katalitik Anyonik Bölge: Asetilkolinin (ACh) hidroliz edildiği Serin 200, Glutamat 334 ve Histidin 440 gibi amino asit kalıntılarından oluşur.
- Aromatik Bölge: ACh moleküllerinin aktif bölgeye girişini ve bağlanmasını kolaylaştırır.
- Periferik Anyonik Bölge: Tyr70, Asp72, Tyr121, Trp279 ve Tyr334 gibi kalıntıları içerir ve inhibitör moleküllerle etkileşimlerde rol oynar ve enzim aktivitesinin modülasyonunu sağlar [52].

Asetilkolinesteraz aktif bölge boğazı, periferik ve katalitik bölgelerin konumlarını gösterirken katalitik serin kalıntısı ile klorpirifosun konjugasyonunu da belirtir. Aktif alan olarak adlandırılan AChE'nin bileşenleri şunları içermektedir Sterik alan- Periferik anyonik alan- Katalizör anyonik alan - Oksianyon cepler - Açılma cepler Bu yapı elemanları içinde Ser (Serine), His (Histidin), Glu (Glutamat), Phe (phenyllenn), Asp (Aspartat), Ala (Alanin), Trp (Triptofan), Tyr (Tirozin)'yi barındırır [53].

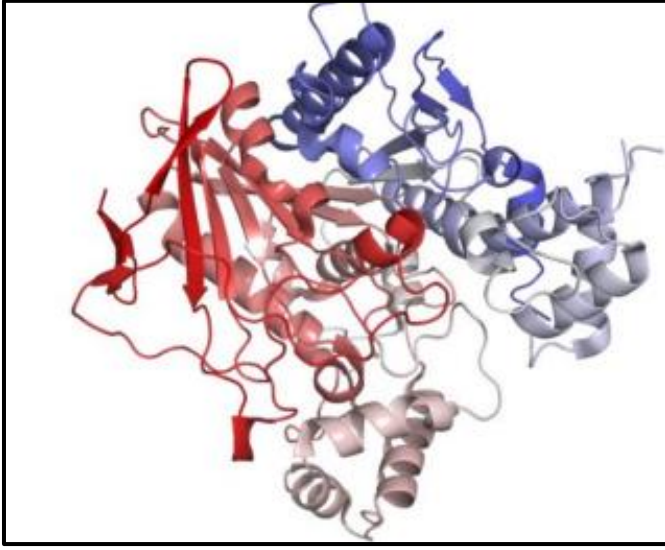


Şekil 2.13. AChE'nin aktif merkez yapısı

AChE, temel olarak merkezi sinir sisteminde (CNS) kolin içeren sinapslarda ve periferik sinir sisteminde (PNS) nöromüsküler kavşaklarda bulunur. Ayrıca, kırmızı kan hücre zarlarında da yer alır ve burada asetilkolinin metabolizmasında rol oynar [54].

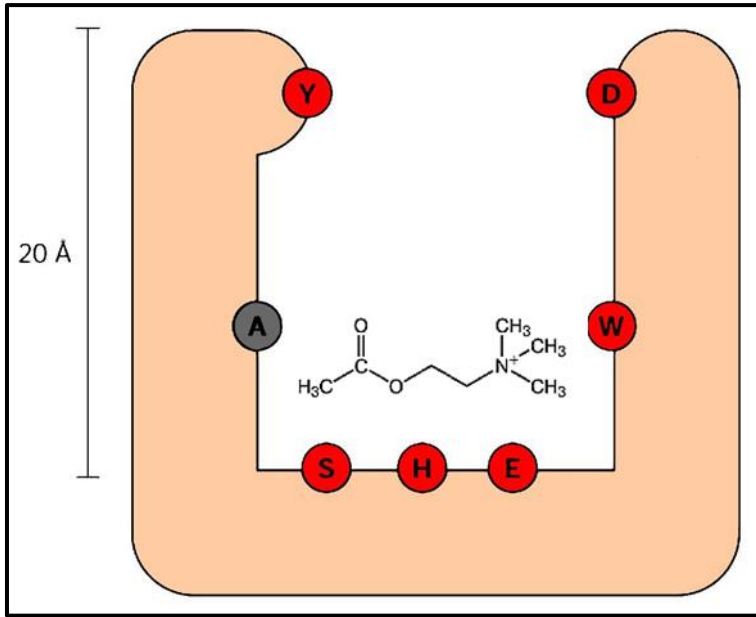
2.2.3. Bütilkolinesteraz (BChE)

BChE, farklı organlarda, özellikle karaciğerde bulunur ve buradan üretilir ve kana salınır. BChE, merkezi sinir sisteminde (CNS) sınırlı bir nöronal dağılıma sahip olan bir kolinesterazdır [55]. İnsan serebral korteksinde, BChE açısından zengin nöron sayısı, BChE açısından zengin nöron sayısının yaklaşık iki katı kadar daha düşüktür. En yaygın olanları Glial kökenli nöronlardır [56]. BChE 'nin normal koşullardaki rolü tam olarak bilinmemekle birlikte, lipoproteinlerle, ilaçlarla ve detoksifikasyon metabolizmasıyla ilişkilendirilmiştir [57].



Şekil 2.14. BChE'nin protein yapısının üç boyutlu gösterimi

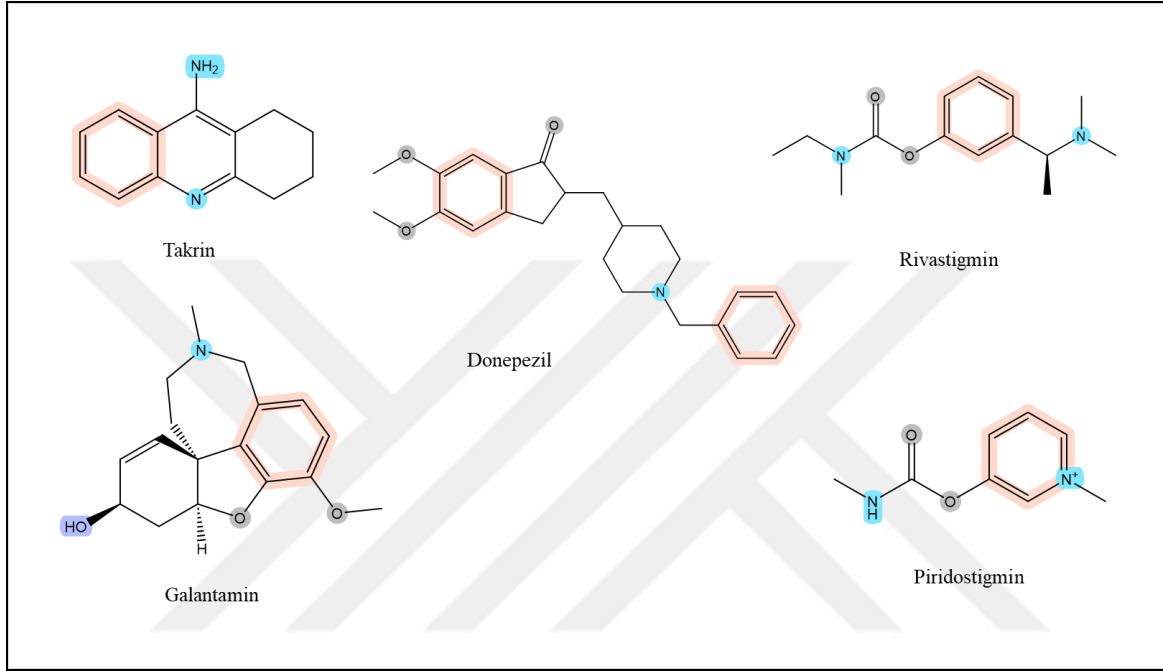
BChE 'nin etkin bölgesindeki kataliz üçü serin (S), histidin (H), ve glutamik asit (E)'dir ve bu yapı enzimin temel aktivitesini sağlar. Girişte yer alan tirozin (Y)'ın ve aspartik asit (D)'nin substratların etkin bölgeye bağlanması ve doğru şekilde yönlendirilmesine yardımcı olur. Substratın azot atomu triptofan (W)'a oluşturulmuş anyonik bölge ile etkişime geçer. Buna ek olarak substratın asil grubunun aktif bölgedeki asil cep (Bölge A)'na uyum sağladığı bilinmektedir [58].



Şekil 2.15. BChE'nin aktif merkez yapısı

2.2.4. Sentetik Asetilkolinesteraz (AChE) inhibitörleri ve kaynakları

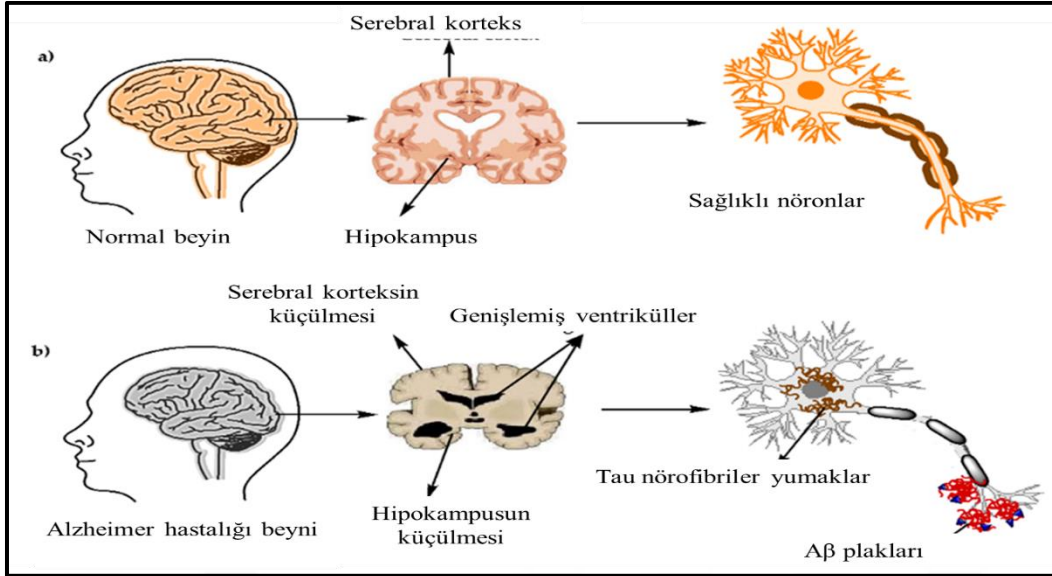
AChE inhibitörleri, farklı farmakolojik yapılar kullanılarak geliştirilmiştir. FDA, nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde kullanılan fizostigmin, rivastigmin, takrin ve Donepezil gibi AChE inhibitörlerini onaylamıştır [59].



Şekil 2.16. Ticari olarak temin edilebilen AChE enzim inhibitörleri

2.3. Alzheimer

Alzheimer nörodejeneratif bir hastalık olup, düşünme, hafıza kaybı ve konuşma yetilerini doğrudan etkiler. İlk defa Alois Alzheimer, 1901 yılında Frankfurt'ta bir akıl hastanesinde 51 yaşındaki Auguste Deter isimli bir kadın hastada rastlamış ve 1906 yılında ise bu hastalığın literatüre girmesini sağlamıştır. Dr. Alzheimer'ın bu keşfinden sonra meslektaşları Dr. Emil Kraepelin, "Psikiyatr" adlı kitabında Dr. Alzheimer'ın bu hastasına atıfta bulunarak ilk kez "Alzheimer hastalığı" teriminini kullanmıştır (Lambracht-Washington ve Rosenberg [60]).



Şekil 2.17. Beyin ve nöronların fizyolojik yapısı a) Sağlıklı beyinde b) Alzheimer hastalığında [61].

2.3.1. Alzheimer hastalığının tanı ve tedavisi

Yeni önerilen kriterler, klinik ortamlarda kullanılmak üzere muhtemel ve olası Alzheimer hastalığı demansını ve araştırma amaçları için patofizyolojik kanıtlarla birlikte muhtemel veya olası Alzheimer hastalığı demansını içermektedir. Ayrıca, klinik biyobelirteçler de değerlendirilmektedir. Alzheimer hastalığı biyobelirteçleri iki gruba ayrılır [60]:

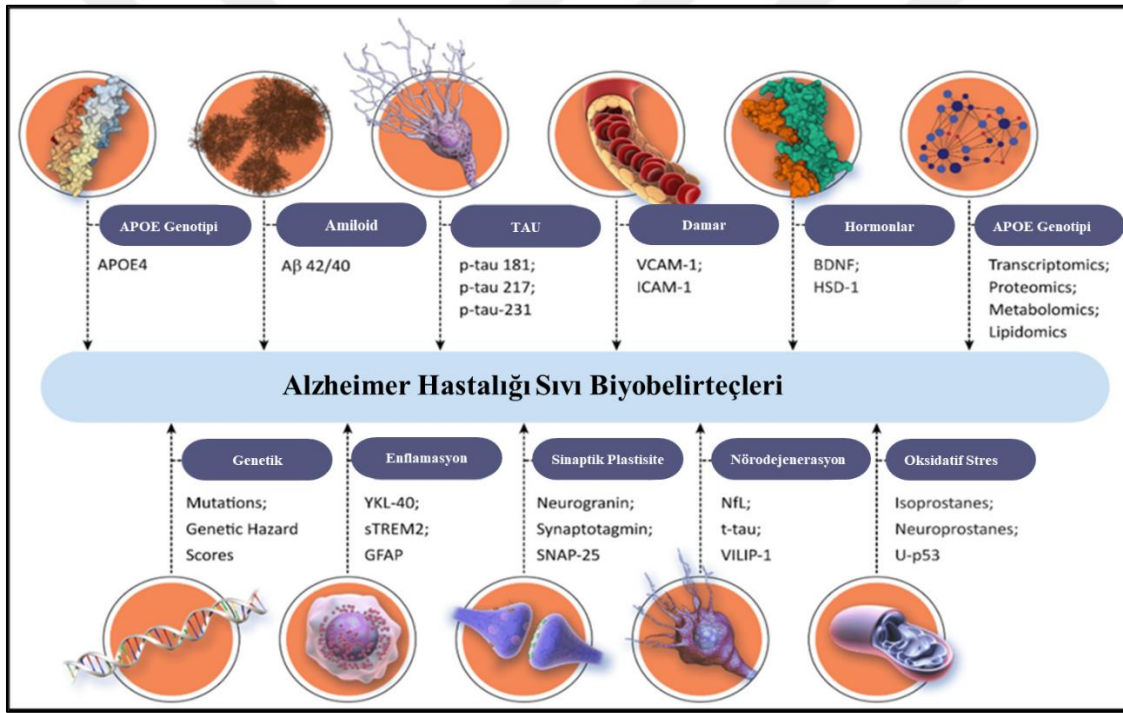
- Beyin Amiloid Belirteçleri: Pozitron emisyon tomografisi (PET) ve beyin omurilik sıvısı (CSF) gibi yöntemlerle belirlenmektedir [62].
- Nöron Hasar Belirteçleri: Beyin omurilik sıvısı Tau, metabolik aktivite için Florodeoksiglukoz (FDG) ve atrofi ölçümü için manyetik rezonans görüntüleme (MRI) gibi yöntemlerle değerlendirilmektedir [63].

2.3.2. Alzheimer hastalığında biyobelirteçler

Alzheimer hastalığının biyolojisini anlamak ve Alzheimer ilaçlarını geliştirmek için mevcut biyobelirteçlerin çeşitli kategorilerini temsil eden bir liste oluşturulmuştur. Bir biyobelirtecin kullanım bağlamı bir deneme yapmadan önce belirlenmelidir. Bazı biyobelirteçler, klinik denemelerde farklı amaçlarla kullanılabilir. Örneğin, amiloid pozitron emisyon tomografisi (PET) Alzheimer tanısını doğrulamak için bir teşhis biyobelirteci olarak, anti-amiloid

monoklonal antikorların denemelerinde izleme biyobelirteci olarak ve hastalığı modifiye edici bir sonuç olarak farmakodinamik biyobelirteci olarak kullanılabilir [64].

En yaygın faktörler arasında amiloid plaklar ve hiperfosforile tau bulunmaktadır. Senil plaklar, ekstraselüler amiloid birikimi nedeniyle oluşur. Hiperfosforile tau, mikrotübüllerin parçalanmasına ve nöronal hücrelerdeki sitoskeleton ile sinyal iletim sistemlerine zarar verir [65]. Hastalığın ilerlemesine katkıda bulunan diğer faktörler arasında kolinerjik yetersizlik, oksidatif stres, mitokondri fonksiyon bozukluğu, nöroinflamasyon ve otofaji disfonksiyonu yer almaktadır. Makrofajların ve monositlerin serebral korteks içinde bulunması mikrogial hücre aktivasyonuna yol açar [66].



Şekil 2.18. Alzheimer hastalığının sıvı biyobelirteçleri

Alzheimer ilaç geliştirme sürecinde kullanılabilecek mevcut sıvı biyobelirteçlerinin güncel durumunu göstermektedir (liste kapsamlı değildir; yeni belirteçler hızla gelişmektedir, gösterilen tüm belirteçler aynı gelişim aşamasında değildir ve bazıları için daha fazla destekleyici veriye sahiptir) [67].

2.3.3. Alzheimer hastalığının nöropatolojisi

Alzheimer hastalığında (AH), hastalığın ilerlemesi ve belirtileri hakkında bilgi veren iki tür nöropatolojik değişiklik bulunmaktadır:

1. Pozitif lezyonlar (Birikim Nedeniyle): Bu lezyonlar, Alzheimer hastalarının beyinlerinde bulunan nörofibriller, amiloid plaklar, distrofik nöritler, nöropil iplikleri ve diğer birikimlerle tanımlanır [68].
2. Negatif lezyonlar (Kayıplar Nedeniyle): Bu lezyonlar, büyük atrofi ile karakterize edilen nöral, nöropil ve sinaptik kayıptan kaynaklanır. Ayrıca, başka faktörler de nörodejenerasyonu tetikleyebilir; bu faktörler arasında nöroinflamasyon, oksidatif stres ve kolinerjik nöron hasarı da yer alabilir [69].

2.3.4. Alzheimer hastalığının aşamaları

Alzheimer hastalığı, beyin kan akışı ve beslenmesindeki eksikliklerden kaynaklanan demanstan ziyade, temelde bir nörodejeneratif demans olarak kabul edilir. Yavaşça ilerleyen bir hastalıktır; beyindeki temel değişiklikler, hafıza, düşünme ve davranışta herhangi bir fark edilebilir değişiklik olmadan uzun bir süre- yıllar ve hatta on yıllar- boyunca ilerler. Araştırmacılar bugün Alzheimer'ın kesintisiz bir süreç olduğunu kabul etmekte ve bu süreci üç ana aşama olarak tanımlamaktadır.

Alzheimer hastalığı (AH) çeşitli aşamalara bölünebilir:

1. Öznel Hafızada Endişe (ÖHE): ÖHE, normal bilişi olan kişilerde önceki işlev düzeylerine göre bilişsel gerilemenin öznel algısı olarak tanımlanır [70]. ÖHE yaşayan kişiler genellikle subjektif sorunlar veya değişiklikler yaşarlar ancak bu durum geleneksel bilişsel testlerle nadiren ölçülebilen hafızayla ilgili şikayetleri içerir. Bu tür şikayetlere sahip kişiler genellikle daha belirgin nesnel hafızaya sahiptirken daha düşük genel bilişi gösterebilir ve sağlık durumları hakkında endişeleri olabilir. ÖHE ile gerçek hafızasını kapsayan fonksiyon arasındaki ilişki net olmayabilir her zaman. Bu durum, ÖHE'nin standart bilişi değerlendirmelerle tMEPit edilemeyecek kadar küçük ince bilişsel değişimleri ifade etmesinden kaynaklanabilir [71]. ÖHE, yaşlı yetişkinler arasında oldukça yaygın olup yaş ilerledikçe sayısı ve şiddeti artma eğilimindedir

2. Hafif Bilişsel Bozukluk (HBB): (HBB) bilişi sağlam olan yaşlılarda ve demansı olan yaşlılarda görülebilir ve genellikle orta derecede bir evrede bulunur [72]. Bu aşama, özellikle medikal temporal lob bölgelerinde, hipokampus ve entorhinal bölgelerde ve posterior singulat kortekste atrofi; temporoparietal ve posterior singulat kortekslerde metabolizma düşüklüğü. Parietal kortekslerde ve hipokampusta kan akımının azalması gibi değişiklikler ile karakterizedir [73].
3. Geç Dönem Hafif Bilişsel Bozukluk: Normal yaşlanma ile demans arasında bir geçiş durumu olarak kabul edilir. Orijinal Mayo (HBB) kriterleri şunlardır: hafıza sorunu ile ilgili subjektif bir rapor, nesnel hafıza performansında bozulma, günlük yaşam aktivitelerinde işlevsellikte koruma (AH), genellikle normal bilişsel işlevsellik düzeyi ve demans belirtisi olmaması. Bu şekilde tanımlanan MCI, öğrenme ve hafızada bozulma, hipokampal atrofi, normalden daha yüksek bilişsel düşüş oranı, ölüm riski ve Alzheimer hastalığı (AH) riskinin artmasıyla ilişkilidir [74].
4. Alzheimer Hastalığı (AH): Alzheimer hastalığı; yaygın ve ölümcül bir nörodejeneratif bozukluğun ilerleyici olduğu yaşamın son dönemlerinde ortaya çıkabilir [75]. Erkeklerin kadınlardan daha kısa bir yaşam beklentisi vardır ancak bu durumun altında yatan faktörler tam olarak net değildir [76]. AH'te hastalık ilerlemesi Beklenen Klinik Başlangıç Yılı adını taşıyan bir zaman ölçeği kullanarak değerlendirilebilir. Bu zaman aralığı, bilişsel performans, beyin omurilik sıvısı biyobelirteçleri ve pozitron emisyon tomografisi biyobelirteçleri kullanılarak doğrulanmıştır [77]. Geç başlangıçlı AH, parietal neokorteksin baskın tutulumu ve atipik klinik karakterize edilmiştir [78]. Geç başlangıçlı sporadik AH'nin genetik temeli hala tam olarak anlaşılamamış olsa da son çalışmalar hastalıkla ilişkili yaygın genetik varyantların yanı sıra nadir varyantları ve epistatik gen etkileşimlerini de tanımlamıştır [79].

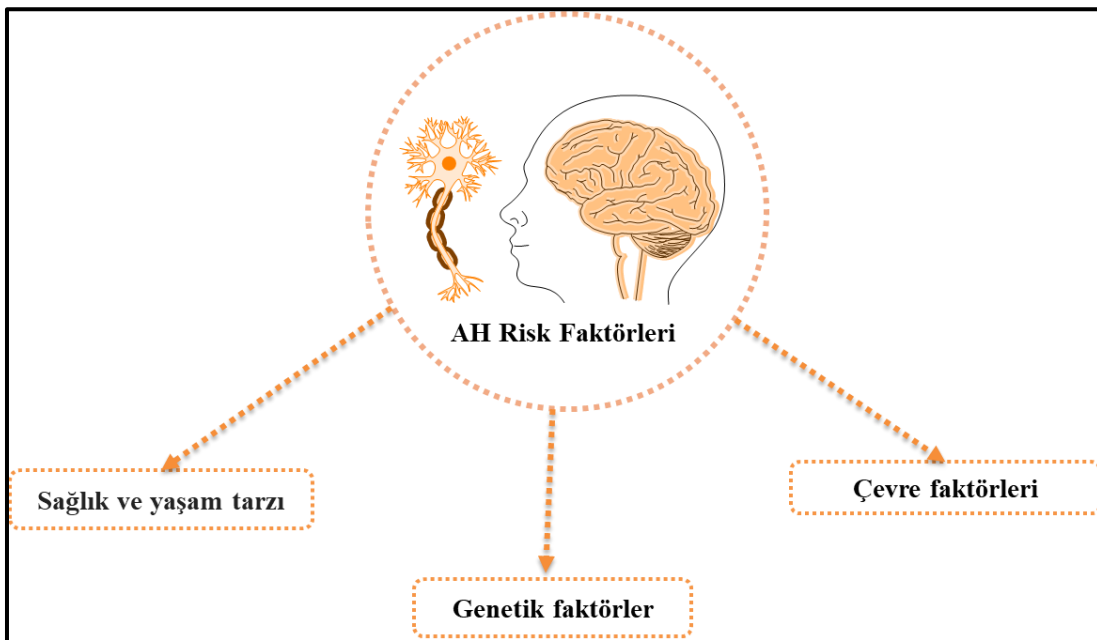
2.3.5. Patofizyolojisi

Hippokampus, temporal, frontal ve parietal korteksler arasındaki kortikal ilişki bölgeleri, entorhinal korteks ve amigdala gibi bölgelerde nöron kaybı veya patolojik değişiklikler gösterir. Trans-entorhinal yumaklar, entorhinal kortekse, hipokampusun CA1 bölgesine ve sonrasında frontal, parietal ve temporal lobların kortikal ilişki alanlarına yayılır. Yumak oluşumu, demansın şiddetiyle bağlantılıdır ve Alzheimer hastalığının ilerlemesinden sorumlu birçok faktör bulunmaktadır [48].

1. Tau Proteini Hiperfosforilasyonu ve A β Teorisi: Amiloid öncü proteinden türeyen A β peptidlerinin birikmesi ve agregasyonu Alzheimer Hastalığının belirgin bir özelliğidir. Bu zararlı oligomerler yaşlı plakların oluşmasına yol açabilir. Tau adlı protein mikrotübüllerle ilişkilidir ve Alzheimer hastalığındaki hiper fosforilasyonu mikrotübül çözülmesine ve sinaptik işlev bozukluğuna sebep olabilir [80].
2. Oksidatif Stres Koşulları: Beyin oksijen tüketimi yüksek olduğundan oksidatif strese karşı hassas olabilir çünkü reaktif oksijen ve azot türleri hücresel hasara yol açabilir. Bu durum glutasyon seviyelerinin azaltılmasıyla daha da kötüleşebilir [81].
3. Metal İyon Dengesizliği: Özellikle bakır ve demir gibi metallerde meydana gelen dengesizlik nörodejeneratif hastalıkların patofizyolojisi ile ilişkilendirilmiştir. Redoks-aktif geçiş metalleriyle birlikte diğer iz elementler beyin fizyolojisini etkileyebilir [82].
4. Kolinerjik teori, Alzheimer hastalığında bilişsel bozukluklara katkıda bulunan nöronlardan asetilkolin üretiminin azaldığını öne sürerken genetik çalışmalarla desteklenen amiloid kaskat hipotezi hala baskın bir model olarak kabul edilmektedir [83].

2.3.6. Alzheimer hastalığı için risk faktörleri

Hastalığın tam nedeni henüz net değil, ancak genellikle birden fazla faktörün etkili olduğu düşünülmektedir [84].



Şekil 2.19. Alzheimer hastalığının risk faktörleri

Sağlık ve Yaşam Tarzı Faktörleri: Yüksek kolesterol, yüksek tansiyon, obezite ve diyabet gibi kardiyovasküler hastalıklarla ilişkilendirilen durumlar, Alzheimer hastalığı (AH) riskini artırabilir. Kardiyovasküler hastalık ile demans arasındaki kesin ilişki hakkında tam bir bilgi olmasa da genetik ve ortak risk faktörlerinin demansa yol açabileceği düşünülmektedir [85]. Bu risk faktörlerinden kaçınmak için sağlıklı bir yaş am tarzını benimsemek önemlidir (örneğin sigarayı bırakmak, alkol tüketimini azaltmak, dengeli beslenmek ve düzenli egzersiz yapmak) [86].

Genetik Faktörler: Yıllar içinde genetik faktörlerin Alzheimer Hastalığının (AH) gelişiminde önemli rol oynadığı anlaşılmıştır. AH vakalarının büyük bir kısmının genetik faktörlere bağlı olduğu bilinmektedir [87]. Erken başlangıçlı AH (EOAD) vakalarının çoğu Amiloid Prekürsör Protein (APP), Presenilin-1 (PSEN-1), Presenilin-2 (PSEN-2) ve Apolipoprotein E (ApoE) gibi belirleyici gen mutasyonlarıyla ilişkilidir [88].

Çevresel Faktörler: Düşük seviyede kronik ağır metal ve pestisit maruziyeti; örneğin alüminyum ve kurşun, zihinsel işlevlerde kademeli bozulma ve nörodejeneratif hastalık riskinin artmasıyla bağlantılıdır [89]. Ayrıca maya lar ve kirleticilerle ilgili olarak (AH) gelişimiyle ilişkilendirildiği kanıtlar mevcuttur [90].

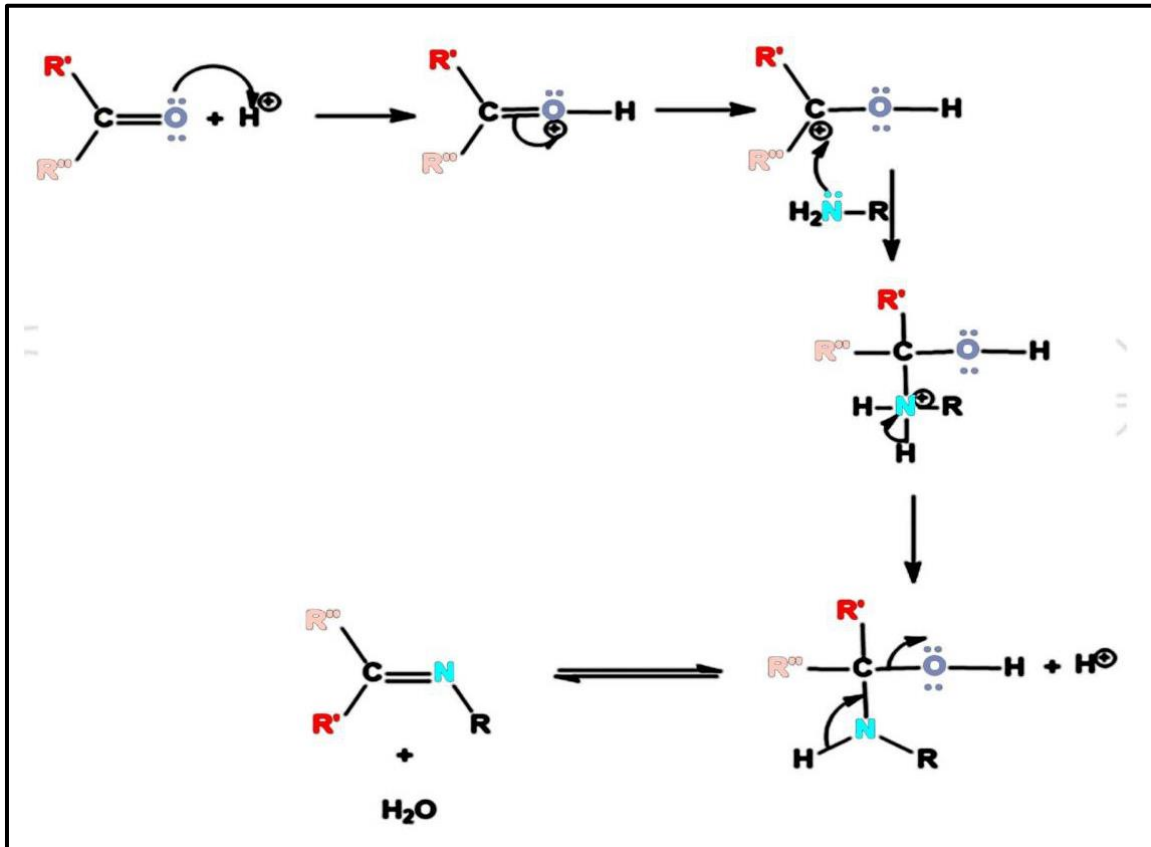
Bu unsurlar, Alzheimer hastalığının belirtileri arasında yüksek oksidatif stres, unfolded protein birikimi, mitokondriyal işlev bozukluğu, apoptotik sinyalleşme ve kalsiyum dengesiyle ilişkilidir. Alzheimer hastalığı ile en önemli çevresel faktörler ve ilişkileri burada rapor edilmektedir.

2.4. Schiff Bazları

Schiff bazları, aldehitler ve ketonların birincil aminlerle tepkime sonucu oluşun ve karbon-azot çift bağlarına ($\text{CH}=\text{N}$) sahip bileşiklerdir. H. Schiff tarafından 1864 yılında keşfedilen Schiff bazları, ligand olarak kullanılmaya başlanmıştır. Aldehitlerin birincil aminlerle kolayca Schiff bazları oluştururken, ketonlardan elde etmek daha zorlayıcı olabilir. Ketonlardan Schiff bazı elde etmek için katalizör seçimi, uygun pH aralığı, tepkimede su ile azeotrop karışım oluşturacak çözücünün seçimi ve uygun sıcaklık gibi faktörlere dikkat edilmelidir [91].

2.4.1. Schiff bazlarının oluşum mekanizması

Schiff bazları, alifatik veya aromatik aldehytlerin veya ketonların alifatik veya aromatik birincil aminlerle tepkimesiyle sentezlenir. Karbonil bileşiklerin birincil aminlerle tepkimesinden elde edilen Schiff bazlarının sentezi iki ana aşamada gerçekleşir. İlk aşamada, karbonil grubunun birincil aminle kondenzasyonu sonucu karbinolamin ara ürünü oluşur ve ikinci aşamada bu ara ürünün dehidrasyonu Schiff bazı meydana gelir [92].



Şekil 2.20. Schiff bazı oluşumunun mekanizması

24.2. Schiff bazlarının fiziksel özellikleri

Schiff bazları katılardır ve metal tMEPiti ile karbonil bileşenlerinin tanımlanmasında kullanılırlar. Karbon-azot çift bağları stereoisomer dönüşümüne izin veren esnekliğe sahiptir ancak küçük enerji farklılıkları nedeniyle izole edilemez stereoisomerlerdir [93]. Azometin bileşiklerinde azometin bağı, dönme kolaylığını azaltır ve kovalent çift bağ karakterini artırır. Schiff bazları, sp³ ve sp² hibridizasyonları nedeniyle aminlere göre daha zayıf bazik özelliklere sahiptir. C=N sistemi, ultraviyole bölgesinde emilim yapan zayıf bir kromofordur

[94]. Aryllalil ketimlerinin, dialkil ve diaryl ketimler arasında IR uzama bandları genellikle $1610-1635\text{ cm}^{-1}$ ve $1665-1690\text{ cm}^{-1}$ arasında gözlemlenir [95].

2.4.3. Schiff bazlarının kimyasal özellikleri

Schiff bazlarının kimyasal özellikleri, azometin grubuna eklenen değişken substitüentlere bağlı olarak farklılık gösterir. Azometin bileşiklerinin kararlılığı, azot atomuna eklenen elektron çeken bir grubun varlığıyla artar. Nitrojen atomundaki hidroksil grupları, fenilhidrazonlar ve semikarbazonlara kıyasla alkil veya aril substitüentlere daha dayanıklıdır [96]. Asidik ortamlarda Schiff bazları amin ve karbonil bileşenlerine ayrılabilir. Oluşum tepkimesi tersine dönebilir ve genellikle düz olmayan yapı tercih edilen konformasyondur [97].

2.4.4. Schiff bazlarının önemi ve kullanım alanları

Schiff bazları, özellikleri sayesinde çok yönlü bir kullanım alanına sahip olan bileşiklerdir. Şablon etkisi kullanarak sentezlenebilirler ve neredeyse tüm metallerle stabil kompleksler oluşturabilirler [98].

1. Boya Endüstrisi: Renklerin ve boyaların sentezinde Schiff bazları önemli bir bileşen olup tekstil ve diğer yüzeylerin boyanmasında da kullanılır [96].
2. Analitik Kimya: Organik bileşiklerin tanımlanması ve belirlenmesi için analitik yöntemlerde reaktif olarak kullanılır [99].
3. Kataliz: Kimyasal tepkimelerin hızlandırılması amacıyla kullanılır, özellikle organik sentezde katalizör görevi görür [100].
4. Çevresel Uygulamalar: Kirleticilerin tMEPiti ve temizlenmesinde çevresel analizlerde etkilidir [101] .
5. Biyosensörler: Biyomoleküllerin veya diğer analitlerin tMEPiti için biyosensör uygulamalarında kullanılır, özellikle tıbbi ve çevresel analiz alanlarında sıkça karşılaşırlar [102].
6. Nanoteknoloji ve Biyomedikal Uygulamalar: Nanoteknolojiye yönelik çalışmalarda yeni uygulama alanları keşfedilmektedir [103].

7. Gıda Endüstrisi: Schiff bazları, gıda katkı maddeleri ve tatlandırıcıların üretiminde kullanılabılırken aynı zamanda gıdaların kalite kontrolü ve analizinde de önemli bir rol oynamaktadır [104].
8. Tarım Kimyasalları Sektörü: Pesticidler ve diğer tarım kimyasallarının formülasyonunda kullanılır ve özellikle bitki koruma ürünlerinin geliştirilmesinde kritik bir rol oynar [105].

2.5. Sülfonamidler

Domagk, 1932 yılında Prontosil ve diğer azo boyalarının sülfonamid yapısını keşfetti ve patente aldı. Bu bileşikler fareler üzerinde streptokokal ve diğer enfeksiyonlarla mücadelede etkili olduğunu kanıtlayan çalışmalara sahiptir. Foerster ise 1933 yılında Prontosil'in stafilokokal septisemi tedavisinde önemli bir rol oynadığını gösteren tıbbi bir vaka raporu yayınladı. Bu durum antibakteriyel kemoterapi alanında ilerlemelere yol açtı ve sülfonilüre hipoglisemik ajanların geliştirilmesinde etkili oldu. Domagk, Prontosil'in terapötik değerini keşfettiği için 1938'de Nobel Tıp Ödülü'nü kazandı [106]. Sülfonamidler genellikle sülfonik asidin amide türevleri olarak bilinir ve bu yapı genellikle aminosu sülfonik asit hidrojeninin yerine geçirilerek sentezlenir. "Sülfonamid" adını alan bu tür bileşikler, genel formülünde RSO_2NH_2 bulunan para amino benzen türevleri olarak da bilinir ve genellikle antimikrobiyal kapsüller, antitiroid ajanlar, antitümör ilaçlar gibi biyolojik olarak aktif bileşenler içermektedir [107].

Sülfonamidler sentetiktir ve dihidropteroat sentetaz (DHPS) enzimini güçlü bir şekilde inhibe ederek antimikrobiyal etki gösterir. Temel sülfonamid yapısı olan SO_2NH_2 değişken biyolojik aktiviteye sahiptir ve bu tip bileşenler antibiyotiklerden karbon anhidraz inhibitörleri gibi çeşitli alanlarda kullanılır [108]. Klinik uygulamada, Sülfonamidler sıkça idrar yolu enfeksiyonları gibi farklı enfeksiyonların tedavisinde kullanılırken; aromatize veya heteroaromatize sülfonamidler ise antitümör etkisiyle karbon anhidraz inhibisyonunda tercih edilmektedir [109]. Sülfonamidler p-amino benzoik aside (PABA) oldukça benzer yapıya sahip olmalarından dolayı bakterilerin B6 vitamini sentezi için gereken bir koenzim olduğu rekabet edebilmektedir. Sülfonamid antibiyotikleri genellikle hayvan enfeksiyonlarının tedavisinde veteriner ilaçları olarak kullanılır [110]. Ayrıca, Sülfonamidler çok çeşitli biyolojik etkinlik gösteren, antikanser, anti-inflamatuar ve antiviral aktivite gibi son derece yararlı farmasötik bileşenlerdir [111]. Aminlerin sülfonil klorürlerle

baz varlığında sülfolanması edilmesi tercih edilen bir yöntemdir. Çünkü yüksek verimlilik ve kolaylık sağlar Sülfonamidlerin OH veya NH fonksiyonelliklerini koruyan gruplar olarak kullanılması, bu grupların kolayca çıkarılabilmesini sağlar. Şimdiye kadar birçok sülfonamid türevi ilaç geliştirilmiştir bunlar arasında antibakteriyel aktiviteye sahip olan sülfanilamid, sülfametoksazol, sülfafurazol/sülfisoksazol, sülfadimetoksin, sülfamerazin ve sülfadiazin gibi ilaçlar ile antimalaryal aktivite için kullanılan sülfadoxine bulunmaktadır [112].

2.5.1. Sülfonamidlerin kimyasal yapısı

Sülfonamidlerin, kimyasal yapısında SO_2NH_2 fonksiyonel grubunu içeren bileşiklerdir ve genel formülü RSO_2NH_2 şeklindedir. Sülfonamidlerin kimyasal yapısı aşağıda açıklanan gibidir [113].



Şekil 2.21. Sülfonamidlerin kimyasal yapısı

2.5.2. Sülfonamidlerin sınıflandırılması

1. Sülfonamidler genellikle N1 türevleri olarak adlandırılır ve yapısal farklılıklara göre sınıflandırılırlar. Sülfonamidler genellikle üç ana gruba ayrılır [114]:
 - a) Aril Türevleri: Sülfametoksazol, hidroklorotiyazid, sülfanilamid
 - b) Altı Üyeli Halkalı Heterosiklik Bileşenler: Piridin, pirimidinler, piridazinler ve pirazinler
 - c) Beş Üyeli Halkalı Heterosiklik Bileşenler: Tiyazol, oksazol, izoksazol, 1,3,4-tiyadiazol ve pirozol
2. Klinik Sınıflandırılması: Sülfonamid ilaçlarının klinik açıdan önemi emilim hızı ve yarı ömür süreleri dikkate alınarak belirlenmektedir [115].
 - a) Kısa Etkili İlaçlar:
 - Etki Süresi: 10 saatten az
 - Örnekler: Sülfametizol, sülfisoksazol, sülfanilamid
 - Kullanım Alanları: İdrar yolu enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılırlar
 - b) Orta vadeli:

- Etki Süresi: 10-24 saat arasında
 - Örnekler: Sülfametoksazol, sülfasetamid, sülfadiazin
 - Kullanımı: Farklı enfeksiyonlarda kullanılır, özellikle AIDS hastalarında invaziv aspergillozise karşı etkilidir
- c) Uzun vadeli:
- Etki Süresi: 24 saatten fazla
 - Örnekler: Sülfadimetoksin, sülfadoxine
 - Kullanımı: Ülseratif kolit tedavisinde kullanılır

2.6. Kaynak Araştırması

Tuba Tekeli ve çalışma arkadaşları On iki aromatik bisüreido-substitüe benzensülfonamidin sentezlenmesi yapmıştır. Bunun için aromatik aminobenzen-sülfonamidlerin ile aromatik bisizosiyanatların tepkimesini esas almıştır. Elde edilen bisüreido-substitüe türevler seçilen dört insan karbonik anhidraz izoformuna (hCA Iha II, hCA IX ve hCA XII) karşı test edilmiştir. Yeni bileşiklerin çoğunluğunun hCA IX ve hCA XII izoformlarına karşı etkili bir inhibitör profili gösterdiği görülürken aynı zamanda hCA I ve hCA II'ye görece daha seçici olduğuna da dikkat çekilmiştir. Bu bileşiklerin hCA IX ve hCA XII izoformlarına karşı inhibisyon sabiti sırasıyla 6,73 ile 835 ve 5,02 ila 429 nM arasında değişmektedir. hCA IX ve hCA XII enzimleri anti-kanser / anti-metastatik ilaçlar için önemli bir hedef olduğundan bu etkin inhibitörlerin kansere ilişkin çalışmalar için ilgi çekici olduğunu göz önünde bulundurmanız gerektiğini söylemişlerdir [116].

Ümmühan Özdemir Özmen ve çalışma arkadaşları, gerçekleştirdikleri bir çalışmada çevre dostu bir grup sülfonamid türevi sentezlemiş ve bu bileşiklerin kolinesteraz enzimleri (AChE, BChE) üzerinde yüksek inhibisyon etkisi gösterdiğini rapor etmişlerdir. Bu amaç doğrultusunda, alkilsülfonik asit hidrazit ile N'-(4-dietilamino) salisilaldehit kullanılarak üç farklı sülfonilhidrazon türevi sentezlenmiş ve karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen sülfonilhidrazon türevleri (4-Dea-salesh, 4-Dea-salpsb, 4-Dea-salbsh), asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirilkolinesteraz (BChE) enzimleri üzerindeki inhibitör etkileri açısından değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, sentezlenen tüm bileşiklerin AChE ve BChE enzimleri üzerinde anlamlı inhibitör etki gösterdiği belirlenmiştir. Özellikle, 4-Dea-salbsh'in AChE üzerinde $9,549 \pm 0,75 \mu\text{M}$ IC₅₀ değeri ile en güçlü inhibisyon etkisini sergilediği ifade edilmiştir [117].

Esra Bilen ve çalışma arkadaşları, araştırmalarında alkil gruplu yeni sülfonilhidrazon bileşiklerini yeni bir yöntemle sentezlemiş ve asetilkolinesteraz ile bütirilkolinesteraz üzerindeki inhibisyon etkilerini araştırmışlardır. İlk önce sülfonamid ve hidrazin gruplarını içeren bileşikler kullanılarak alkil grubu içeren sülfonilhidrazonlar çevreci bir yaklaşımla sentezlenerek yapıları NMR ve FT-IR gibi spektroskopik yöntemlerle karakterize edilmiştir. Ardından bu bileşiklerin AChE ve BChE enzimleri üzerindeki inhibisyon etkileri incelenmiştir. SH21 ve SH31 bileşikler sırasıyla AChE ($IC_{50} = 5,27 \mu M$) ve BChE ($IC_{50} = 12,29 \mu M$) üzerinde en güçlü inhibisyon etkiyi göstermiştir. İnsiliko ADME tahminleri ve moleküler docking çalışmaları, bu iki bileşiğin güçlü inhibitörler olabileceğini göstermiştir [118].

Muhammet Gürkan Kurban ve çalışma arkadaşları, bu çalışmada, yeni sülfonamid türevlerinin (6-10) sentezlendiği ve bu türevlerin insan karbonik anhidraz izoenzimleri (hCAII ve hCAI), asetilkolinesteraz (AChE) ve Bütirilkolinesteraz (BChE) üzerinde düşük nanomolar seviyesinde inhibisyon gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Bileşiklerin, asetazolamid (AZA) ve neostigmin gibi inhibitör maddelerden daha etkili olduğu görülmüştür. Bileşiklerin biyolojik etkileri hesaplama çalışmalarıyla değerlendirilmiştir [119].

Hayat Ullah ve çalışma arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, kolinesteraz inhibitörleri olarak yeni bir tiyofen içeren Sülfonamid analoglarını sentezlemişler ve bu analogların Donepezil etken maddesi ile karşılaştırıldığında yüksek ile orta düzeyde inhibisyon potansiyeline sahip olduğunu belirlemişlerdir. Bu analogların bağlanma etkileşim enerjileri moleküler docking çalışmalarıyla doğrulanmıştır. Tüm bileşikler, 3T3 fare fibroblast hücre hattında sitotoksosite açısından test edilmiş ve toksik olmadığı kanıtlanmıştır [120].

Şule Gürsoy ve çalışma arkadaşları, yaptıkları bir çalışmada, Alzheimer, Parkinson ve Glokom gibi hastalıkların tedavisinde kolinesterazlar (AChE ve BChE) ile insan karbonik anhidraz izoformları (CAI ve CAII) gibi sitozolik enzimlerin inhibisyonunu araştırmışlardır. İki yeni benzotiyofen Schiff bazını in vitro ve in siliko olarak test etmişler ve benzotiyofen türevlerinin bu enzimleri önemli ölçüde inhibe ettiğini göstermişlerdir. Bileşik 1b, CAI ve CAII üzerinde Asetazolamid kontrol Bileşiğinden daha güçlü bir inhibisyon etkisi göstermiştir. Her iki bileşiğin de kolinesterazlar üzerinde Takrin'den daha güçlü inhibisyon etkisine sahip olduğu görülmüştür [121].

Imen Dakhlaoui ve çalışma arkadaşları tarafından kalsiyum kanal blokajı, Kolinesteraz inhibisyonu ve antioksidan aktiviteyi hedefleyen basit ve maliyeti etkin yöntemlerle üç adımda yeni bileşikler tasarlanmışlardır. Bu çalışmada elde edilen biyolojik ve fiziko-kimyasal sonuçlar, Alzheimer hastalığının tedavisi için daha fazla incelenmesi gereken iki sülfonamid-dihidropiridin hibritinin aynı anda kolinesteraz inhibisyonu, kalsiyum kanal blokajı, antioksidan kapasite ve Nrf2-ARE aktive edici etkilerini göstermiştir [7].

Shoaib Khan ve çalışma arkadaşları tarafından yeni tiyazol içeren sülfonamid analogları sentezlenmiş ve biyolojik aktiviteleri değerlendirilmiş ve güçlü anti-Alzheimer ajanları olarak kabul edilmiştir. Uygun karakterizasyon teknikleri kullanılırken yoğunluk fonksiyonel teorisi (DFT) hesaplamalarına dayanan in-siliko moleküler modelleme yaklaşımından yararlanılmıştır; böylece analogların elektronik özellikleri ve anti-Alzheimer potansiyeli değerlendirilmiştir. Analoglar arasında farklı derecelerde inhibisyon potansiyeli gösterilmiş olmasına rağmen, analog 1, referans ilaç Donepezil ile karşılaştırıldığında oldukça güçlü bir potansiyele sahip olduğu görülmüştür (AChE için $IC_{50} = 0,10 \pm 0,05 \mu M$ ve BChE için $IC_{50} = 0,20 \pm 0,050 \mu M$). Yapılan etkinlik ilişkisi çalışmalarının, fenil halkasındaki grupların türüne, konumuna, sayısına ve elektron verici/çekici gruplara bağlı olduğu görülmüştür [8].

Alkahtani ve çalışma arkadaşları. Schiff bazları ve pirazol iskeletinin biyolojik etkilerini ele alarak yeni olan Schiff bazı-pirazol bileşiklerinin (22'a, b ve 23'a, b), antioksidan özellikleriyle birlikte anti-diyabetiklerin yanı sıra anti-Alzheimer ve antioksidan özelliklerini değerlendirmişlerdir. Elde edilen sonuçlar göstermiştir ki; 22b bileşiği güçlü bir antioksidan olup aynı zamanda anti-diyabetik (α -amylase % inhibisyon), ve anti-Alzheimer (AChE % inhibisyon) aktivitesine sahipken; 23b bileşiği belirgin bir anti-arthritis aktivitesine sahiptir. Ayrıca bu bileşenlerin in-siliko biyo-informatik analizleri de yapılmış olup fiziko-kimyasal özellikleri ile ilgili bilgi alınabilmektedir [122].

Muhammet Gürkan Kurban ve çalışma arkadaşları tarafından Alzheimer hastalığının, demansın en sık görülen nedeni olup, özellikle yaşlı popülasyonda yaygın bir nörodejeneratif bozukluk olduğu ifade edilmiştir. Prevalansının artması nedeniyle Dünya Sağlık Örgütü tarafından ciddi bir sağlık problemi olarak belirtilmiştir. Kolinerjik hipoteze göre, Alzheimer tedavisinde asetilkolin düzeyini artırmak amacıyla asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz inhibitörleri kullanılmaktadır. Rivastigmin, galantamin ve donepezil bu amaçla kullanılan

ilaçlardır, ancak sınırlı etkinlikleri ve yan etkileri yeni tedaviler gerektirmektedir. Bu derleme, kolinesteraz inhibitörlerinin Alzheimer tedavisindeki rolü ve yeni ilaç geliştirme süreçlerine odaklanmaktadır [123].

Derya Osmaniye ve çalışma arkadaşları. Tiyazol-piperazin hibritlerinden oluşan yeni bir seri tiyazolilhidrazon türevlerini sentezlemiş ve bu bileşiklerin yapısal özelliklerini ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve LCMS-MS gibi ileri spektroskopik yöntemlerle karakterize etmişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin kolinesteraz enzimleri üzerindeki inhibitör etkilerini değerlendirmek amacıyla Ellman yöntemi kullanılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre, 3a, 3c ve 3i kodlu bileşiklerin asetilkolinesteraz (AChE) enzimi üzerinde anlamlı inhibitör aktivite sergilediği, ancak sentezlenen bileşiklerin Bütirilkolinesteraz (BChE) üzerinde kayda değer bir inhibitör etkisi olmadığı rapor edilmiştir. Enzim aktivite testlerine ek olarak gerçekleştirilen moleküler kenetlenme (docking) analizleri, özellikle 3c kodlu bileşiğin potansiyel olarak çift bağlanma bölgesine sahip olduğunu ve etkili bir AChE inhibitörü olarak işlev görebileceğini ortaya koymuştur [124].

Süleyman Akocak ve çalışma arkadaşları, altı adet N-karbamimidoil-4-(3-süstitüe fenilüreido) benzensülfonamid türevini, sülfaguanidinin aromatik izosiyanatlarla tepkimesi sonucu sentezlemişlerdir. Sentezlenen yeni üreido-süstitüe sülfaguanidin türevlerinin in vitro ve in silico inhibitör etkileri, diabetes mellitus (DM) ve Alzheimer hastalığı (AH) ile ilişkili olan α -glukozidaz (α -GLY), Asetilkolinesteraz (AChE) ve Bütirilkolinesteraz (BChE) enzimleri üzerinde spektrofotometrik yöntemler kullanılarak araştırılmıştır. Yapılan çalışmada, N-karbamimidoil-4-[(3,4-diklorofenil) karbamoil] amino benzen-1-sülfonamid (2f kodlu bileşik), AChE ve BChE enzimleri üzerindeki inhibitör etkileri açısından değerlendirildiğinde, Ki değerleri sırasıyla AChE için $515,98 \pm 45,03$ nM ve BChE için $598,47 \pm 59,18$ nM olarak bulunmuştur. Ayrıca, N-karbamimidoil-4-[(3-klorofenil) karbamoil] amino benzen-1-sülfonamid (2e kodlu bileşik), $103,94 \pm 13,06$ nM KI değeri ile güçlü bir α -GLY inhibitör etkisi göstermiştir. Çalışma sonucunda, yeni sentezlenen bileşiklerin antidiyabetik etkilerinin anti-Alzheimer etkilerinden daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. Bu durum, bileşiklerin diyabetle ilişkili α -GLY enzimi üzerindeki inhibitör etkilerinin esteraz enzimleri üzerindeki etkilerinden daha güçlü olmasına bağlanmıştır [125].

Tuğba Cengiz (2019), tez çalışmasında yeni sentezlenmiş kumarin tiyazol türevlerinin Asetilkolinesteraz (AChE) ve Bütirilkolinesteraz (BChE) enzimleri üzerindeki inhibisyon

etkilerini (IC_{50}) incelemiştir. Bu incelemede, inhibisyon etkilerini belirlemek için Ellman yöntemi kullanılmıştır. Araştırmacı, elde edilen IC_{50} değerlerini kontrol bileşiği olan Donepezil ile karşılaştırmış ve sentezlenen bileşiklerin oldukça iyi inhibisyon etkileri sergilediğini ortaya koymuştur. Her iki enzim için en iyi inhibisyon etkisinin, Naf-CTS (2-Hidroksi-1-naftaldehitkumarintiyazol) bileşiğine ait olduğu belirlenmiştir. IC_{50} değerleri değerlendirildiğinde hem AChE hem de BChE enzimleri üzerinde en güçlü inhibitör etkinin Naf-CTS bileşiği ile sağlandığı ifade edilmiştir. Buna ek olarak, bu bileşiklerin seçilen bazı bakteri ve maya hücreleri üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri de araştırılmıştır. Çalışmada, yeni sentezlenmiş bileşiklerin minimum inhibitör derişimi (MİK), minimum bakterisidal derişimi (MBK) ve minimum fungisidal derişimi (MFK) değerleri mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Sonuç olarak, sentezlenen bileşiklerin kolinesteraz enzimlerine karşı güçlü inhibitör özelliklerinin yanı sıra, güçlü antimikrobiyal ve antifungal etkiler sergilediği rapor edilmiştir.

Mustafa Durgun ve çalışma arkadaşları, düşük toksisiteye ve çeşitli biyoaktivitelerle ilişkili olduğu bilinen sülfonamid yapısına sahip sekiz sülfonamid türevini sentezlemiş ve bu bileşikler LC-MS, element analizi, FT-IR, ^{13}C -NMR ve ^1H -NMR yöntemleriyle karakterize etmişlerdir. Çalışmada, sentezlenen bileşiklerin asetilkolinesteraz (AChE) ve karbonik anhidraz I ve II (CA I ve II) enzimleri üzerindeki inhibitör etkileri araştırılmıştır. Ayrıca, bileşiklerin antioksidan aktiviteleri, CUPRAC, FRAP, ABTS, DPPH ve metal indirgeme deneyleri gibi çeşitli biyoanalitik testlerle değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler, tüm bileşiklerin AChE ve CA izoformları üzerinde nanomolar düzeyde tatmin edici inhibitör etkinlik gösterdiğini ortaya koymuştur. Araştırmacılar, bileşiklerin antioksidan aktiviteleri ve AChE üzerindeki inhibitör etkilerini göz önüne alarak, bu yeni bileşiklerin nörodejeneratif hastalıklar üzerine yapılacak araştırmalar için potansiyel öncü moleküller olarak değerlendirilebileceğini belirtmişlerdir [126].



3. ARAÇLAR VE DENEYSEL YÖNTEMLER

3.1. Kullanılan Ekipman ve Kimyasal maddeler

Deney süresince kullanılan kimyasal maddelerin temin edildiği firmalar, saflık dereceleri ve isimleri aşağıdaki Çizelgede sunulmuştur.

Çizelge 3.1. Deney esnasında kullanılan kimyasal maddelerin isimler, saflık dereceleri ve temin edilen üretici firma adı

Kimyasal Madde	Maddelerin saflık derecesi	Temin Edilen Üretici Firma
Sülfaguanidin	98%	Merck
Sülfatiazol	99,80%	Merck
Sülfadiazin	99,80%	Merck
4-(Metiltiy)benzaldehit	95%	Sigma-Aldrich
3,4,5-trimetoksibenzaldehit	98%	Sigma-Aldrich
4-fenoksibenzaldehit	98%	Sigma-Aldrich
Asetilkolinesteraz	-	Sigma-Aldrich
Bütirilkolinesteraz	-	Sigma-Aldrich
Asetiltiyokolin iyodür	-	Sigma-Aldrich
S-Bütiriltiyokolin iyodür	-	Sigma-Aldrich
DTNB (5,5-Ditiyobis (2- Nitrobenzoik asit)	≥98%	Sigma-Aldrich
Etanol	≥99,9%	Merck
Hidroklorik asit	≥37%	Merck
Dietil eter	≥99,7%	Sigma-Aldrich
Disodyum hidrojen fosfat (Na ₂ HPO ₄)	99,50%	Sigma-Aldrich
Monosodyum dihidrojen fosfat (NaH ₂ PO ₄)	99,50%	Sigma-Aldrich
DMSO	≥99,8%	Merck

3.2. Analizlerde Kullanılan Cihazlar

1. FT-IR spektrumları, Samarra Üniversitesi Uygulamalı Bilimler, Uygulamalı Kimya Bölümü'nde Shimadzu FT-IR 8400 Spektrofotometresi kullanılarak yapılmış, GC-MS analizleri ise Shimadzu GCMS-QP2010 SE cihazı ile aynı laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.
2. Gazi Üniversitesindeki Temel ve Mühendislik Bilimleri Merkezi Laboratuvarı'nda Bruker 500 MHz NMR Spektrometrisinin ve Basra Üniversitesinden Bilimler Merkezi

Laboratuvarı'nda kullanılan Bruker 400 MHz NMR Spektrometrenin ile ^1H -NMR spektrumları yapılmıştır.

3. ^{13}C - NMR spektrometreleri Basra Üniversitesinin Temel Bilimler Eğitim Fakültesinde Kimya Bölümünde bulunan Bilim Merkezi Laboratuvarı'nda Bruker Avance Neo 400 MHz NMR Spektrometre yapılmıştır.
4. Stuart Erime Nokta Cihazı SMP 30 kullanılarak bileşiklerin erime noktası belirlenmiştir.
5. Tampon çözeltilerin pH değerleri, Metler Fisherbrand FE150 Benchtop pH metre kullanılarak ölçülmüştür.
6. Enzim çalışmasında absorbanları belirlemek için Shimadzu UV-1800 Çift Işın UV/Görünür Taraflı Spektrofotometre kullanılmıştır.

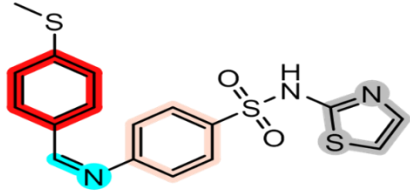
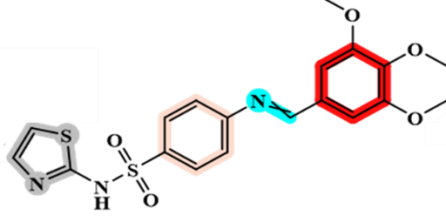
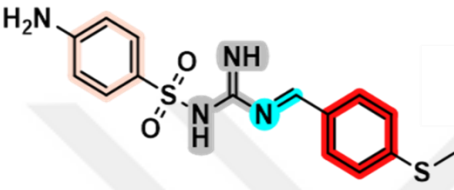
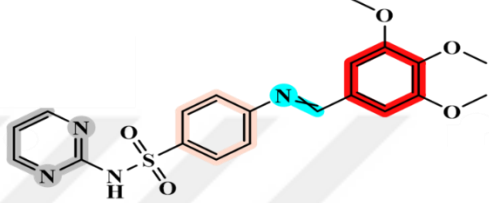
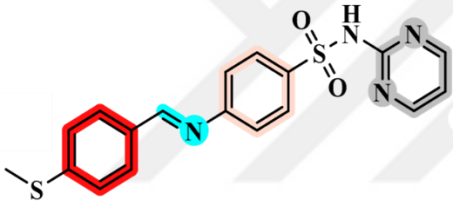
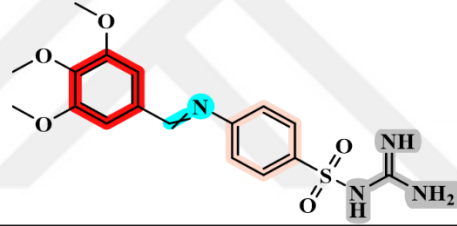
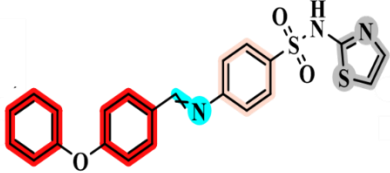
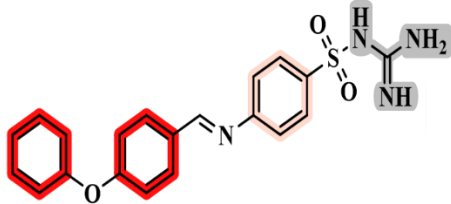
3.3. Deneysel Yöntemler

Bu çalışmada, sülfü ilaçları kullanılarak farklı aldehitlerle yeni Schiff bazları sentezlenmiştir. Her bir bileşik için sentez yöntemleri uygulanmış ve detaylı olarak açıklanmıştır. Ayrıca, sentezlenen bileşiklerin sitotoksik aktiviteleri ile antimikrobiyal özellikleri ve Kolinesteraz enzim inhibisyon derecelerini incelemek için kullanılan yöntemler de ayrıca sunulmuştur. Yeni Sentezlenen Bileşiklerin adları ve açık moleküler yapıları Çizelge 3.2'de verilmektedir.

Çizelge 3.2. Bileşiklerin adları

Symb.	Bileşiklerin adları
C1	4-((4-(Metiltiyo)benziliden)amino)-N-(tiyazol-2-il)benzensülfonamid
C2	4-amino-N-(N-(4-(Metiltiyo)benziliden)karbamimidoyl)benzensülfonamid
C3	4-((4-(Metiltiyo)benziliden)amino)-N-(pirimidin-2-il)benzensülfonamid
S1	N-(tiyazol-2-il)-4-((3,4,5-trimetoksibenziliden)amino)benzensülfonamid
S2	N-(pirimidin-2-il)-4-((3,4,5-trimetoksibenziliden)amino)benzensülfonamid
S3	N-karbamimidoyl-4-((3,4,5-trimetoksibenziliden)amino)benzensülfonamid
K1	4-((4-fenoksibenziliden)amino)-N-(tiyazol-2-il)benzensülfonamid
K2	N-karbamimidoyl-4-((4-fenoksibenziliden)amino)benzensülfonamid

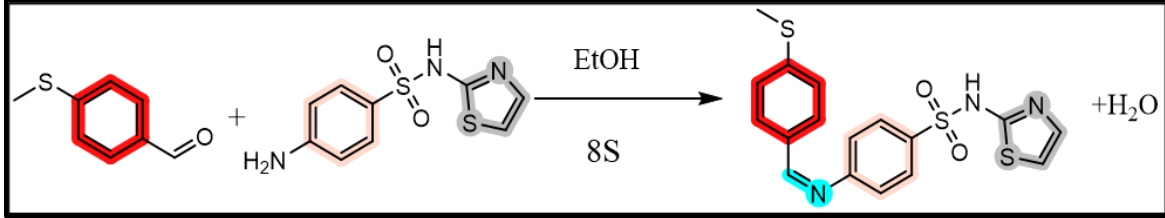
Çizelge 3.3. Sentezlenen bileşiklerin molekül yapıları

C1	S1
	
C2	S2
	
C3	S3
	
K1	K2
	

3.3.1.C₁₇H₁₅N₃O₂S₃ (C1) Schiff bazının sentez yöntemi

Şekil 3.1. 'de gösterildiği gibi, 10 mL etanol içerisinde çözünen 4-(Metiltiyo)benzaldehit çözeltisi(596 mg, 3,915 mmol) bir balona ilave edilir ve üzerine katalizör olarak HCl eklenir. 20 mL mutlak etanol içinde çözünen amin (sülfatiazol)çözeltisi (500 mg, 1,958 mmol) balondaki çözelti üzerine damla damla ilave edilirve manyetik karıştırıcı ile 70°C sıcaklıkta, geri soğutucu altında yaklaşık 8 saat boyunca karıştırılır. Elde edilen ürün İTK ile kontrol edilir ve oluşumu tamamlanan ürün süzülerek etanol kullanılarak kristallendirme yöntemi ile saflaştırılır. Kristaller her seferinde 5mL EtOH ile üç kez yıkanır. Elde edilen 4-((4-

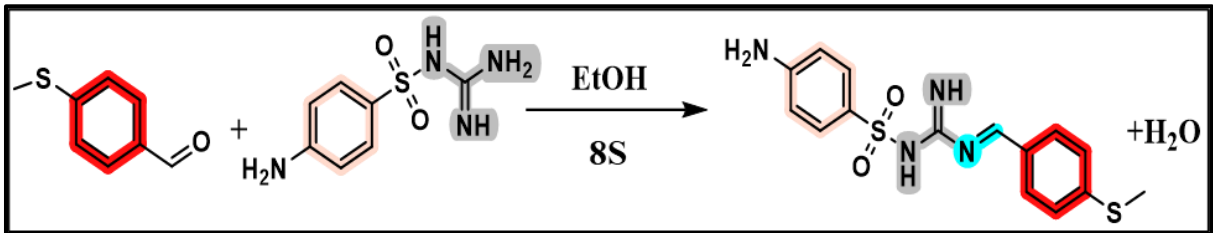
(metiltiyo)benziliden)amino)-N-(tiyazol-2-il)benzensülfonamid bileşiği etüvde 24 saat boyunca kurutulur. Oluşan ürünün yapı analizi FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR ve GC-MS gibi spektroskopik yöntemlerle karakterize edilir.



Şekil 3.1. C1'in sentez yöntemi

3.3.2. $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2$ (C2) Schiff bazının sentez yöntemi

Şekil 3.2.'de gösterildiği gibi, 10 mL etanol içerisinde çözünen 4-(Metiltiyo)benzaldehit çözeltisi (355 mg, 2,332 mmol) bir balona ilave edilir ve üzerine katalizör olarak HCl eklenir. 20 mL mutlak etanol içinde çözünen amin (Sülfaguanidin) çözeltisi (500 mg, 2,335 mmol) balondaki çözelti üzerine damla damla ilave edilir ve manyetik karıştırıcı ile 70°C sıcaklıkta, geri soğutucu altında yaklaşık 8 saat boyunca karıştırılır. Elde edilen ürün İTK ile kontrol edilir ve oluşumu tamamlanan ürün süzülerek etanol kullanılarak kristallendirme yöntemi ile saflaştırılır. Kristaller her seferinde 5 mL EtOH ile üç kez yıkanır. Elde edilen 4-amino-N-(N-(4-(metiltiyo)benziliden)-karbamimidoyl)-benzensülfonamid bileşiği etüvde 24 saat boyunca kurutulur. Oluşan ürünün yapı analizi FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR ve GC-MS gibi spektroskopik yöntemlerle karakterize edilir.

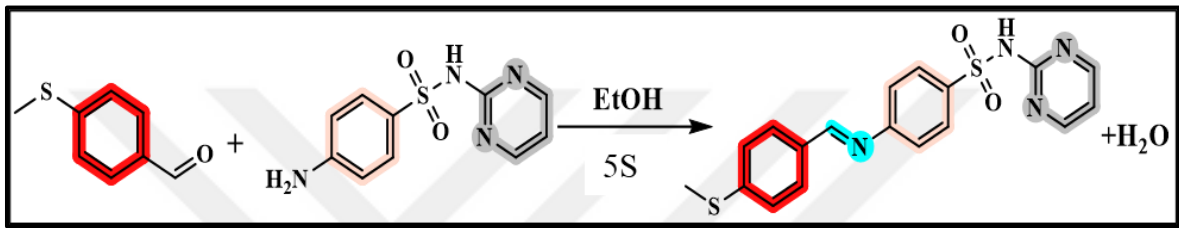


Şekil 3.2. C2'nin sentez yöntemi

3.3.3. $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2$ (C3) Schiff bazının sentez yöntemi

Şekil 3.3.'te gösterildiği gibi, 10 mL etanol içerisinde çözünen 4-(Metiltiyo)benzaldehit çözeltisi (300 mg, 1,970 mmol) bir balona ilave edilir ve üzerine katalizör olarak HCl eklenir.

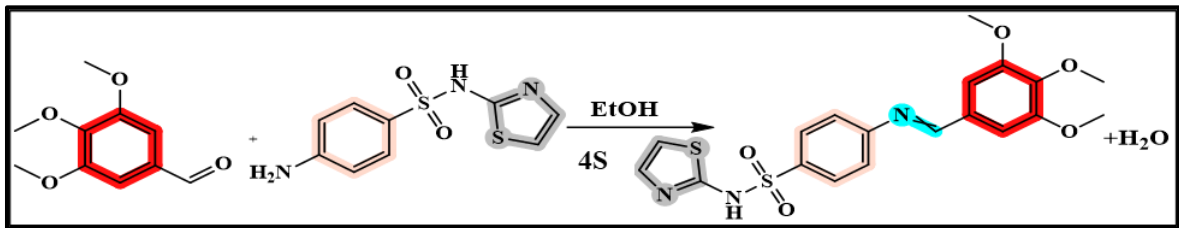
20 mL mutlak etanol içinde çözünen amin (sülfadiazin)çözeltisi (500 mg, 1,997 mmol) balondaki çözelti üzerine damla damla ilave edilirve manyetik karıştırıcı ile 70°C sıcaklıkta, geri soğutucu altında yaklaşık 5 saat boyunca karıştırılır. Elde edilen ürün İTK ile kontrol edilir ve oluşumu tamamlanan ürün süzülerek etanol kullanılarak kristallendirme yöntemi ile saflaştırılır. Kristaller her seferinde 5mL EtOH ile üç kez yıkanır. Elde edilen 4-((4-(metiltiyo)benziliden)-amino)-N-(pirimidin-2-il)-benzensülfonamid bileşiği etüvde 24 saat boyunca kurutulur. Oluşan ürünün yapı analizi FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve GC-MS gibi spektroskopik yöntemlerle karakterize edilir.



Şekil 3.3. C3'ün sentez yöntemi

3.3.4. C₁₉H₁₉N₃O₅S₂ (S1) Schiff bazının sentez yöntemi

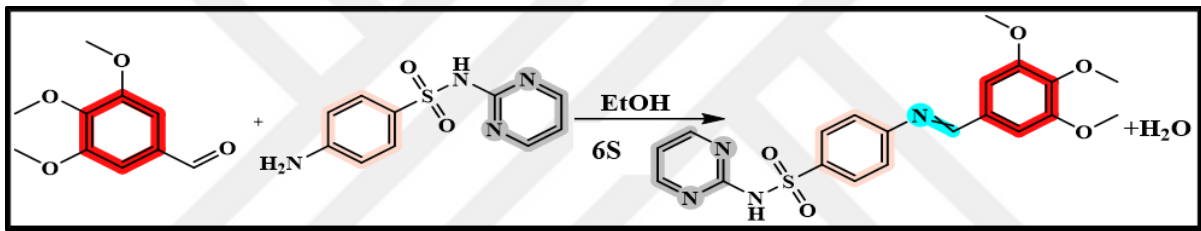
Şekil 3.4.'te gösterildiği gibi, 10 mL etanol içerisinde çözünen 3,4,5-trimetoksibenzaldehyt çözeltisi(500 mg, 2,548 mmol) bir balona ilave edilir ve üzerine katalizör olarak HCl eklenir. 20 mL mutlak etanol içinde çözünen amin (sülfatiazol)çözeltisi (650 mg, 2,548 mmol) balondaki çözelti üzerine damla damla ilave edilirve manyetik karıştırıcı ile 70°C sıcaklıkta, geri soğutucu altında yaklaşık 4 saat boyunca karıştırılır. Elde edilen ürün İTK ile kontrol edilir ve oluşumu tamamlanan ürün süzülerek etanol kullanılarak kristallendirme yöntemi ile saflaştırılır. Kristaller her seferinde 5mL EtOH ile üç kez yıkanır. Elde edilen N-(tiyazol-2-il)-4-((3,4,5-trimetoksibenziliden)amino)benzensülfonamid bileşiği etüvde 24 saat boyunca kurutulur. Oluşan ürünün yapı analizi FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve GC-MS gibi spektroskopik yöntemlerle karakterize edilir.



Şekil 3.4. S1'in sentez yöntemi

3.3.5. C₂₀H₂₀N₄O₅S (S2) Schiff bazının sentez yöntemi

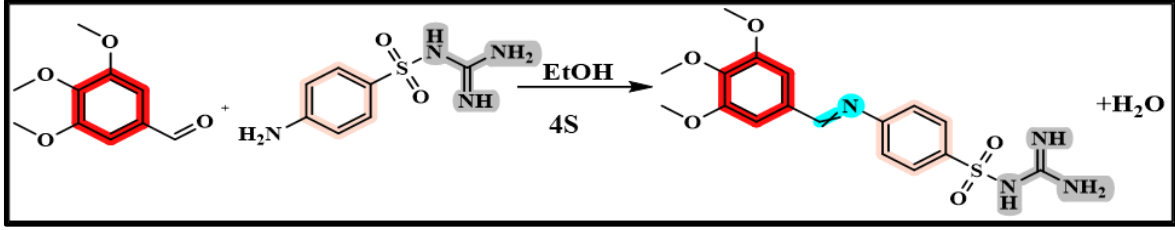
Şekil 3.5.'te gösterildiği gibi, 10 mL etanol içerisinde çözünen 3,4,5-trimetoksibenzaldehyt çözeltisi (500 mg, 2,548 mmol) bir balona ilave edilir ve üzerine katalizör olarak HCl eklenir. 20 mL mutlak etanol içinde çözünen amin (sülfadiazin) çözeltisi (637 mg, 2,545 mmol) balondaki çözelti üzerine damla damla ilave edilir ve manyetik karıştırıcı ile 70°C sıcaklıkta, geri soğutucu altında yaklaşık 4 saat boyunca karıştırılır. Elde edilen ürün İTK ile kontrol edilir ve oluşumu tamamlanan ürün süzülerek etanol kullanılarak kristallendirme yöntemi ile saflaştırılır. Kristaller her seferinde 5mL EtOH ile üç kez yıkanır. Elde edilen N-(pirimidin-2-il)-4-((3,4,5-trimetoksibenziliden)amino)benzensülfonamid bileşiği etüvde 24 saat boyunca kurutulur. Oluşan ürünün yapı analizi FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve GC-MS gibi spektroskopik yöntemlerle karakterize edilir.



Şekil 3.5. S2'nin sentez yöntemi

3.3.6. C₁₇H₂₀N₄O₅S (S3) Schiff bazının sentez yöntemi

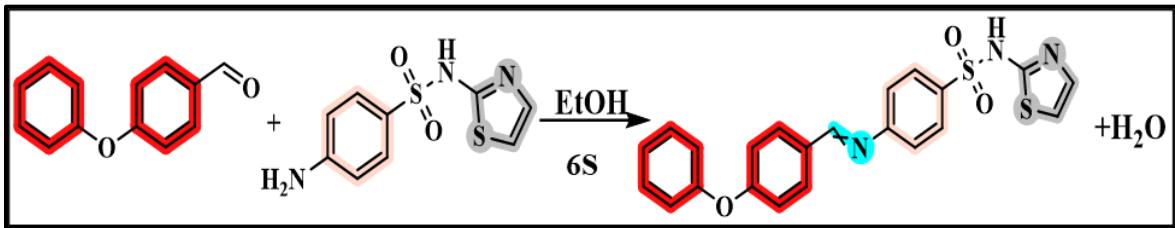
Şekil 3.6.'da gösterildiği gibi, 10 mL etanol içerisinde çözünen 3,4,5-trimetoksibenzaldehyt çözeltisi (500 mg, 2,548 mmol) bir balona ilave edilir ve üzerine katalizör olarak HCl eklenir. 20 mL mutlak etanol içinde çözünen amin (sülfaguanidin) çözeltisi (545 mg, 2,546 mmol) balondaki çözelti üzerine damla damla ilave edilir ve manyetik karıştırıcı ile 70°C sıcaklıkta, geri soğutucu altında yaklaşık 4 saat boyunca karıştırılır. Elde edilen ürün İTK ile kontrol edilir ve oluşumu tamamlanan ürün süzülerek etanol kullanılarak kristallendirme yöntemi ile saflaştırılır. Kristaller her seferinde 5mL EtOH ile üç kez yıkanır. Elde edilen N-karbamimidoyl-4-((3,4,5-trimetoksibenziliden)amino)benzensülfonamid bileşiği etüvde 24 saat boyunca kurutulur. Oluşan ürünün yapı analizi FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve GC-MS gibi spektroskopik yöntemlerle karakterize edilir.



Şekil 3.6. S3'ün sentez yöntemi

3.3.7. $C_{22}H_{17}N_3O_3S_2$ (K1) Schiff bazının sentez yöntemi

Şekil 3.7.'da gösterildiği gibi, 10 mL etanol içerisinde çözünen 4-fenoksibenzaldehit çözeltisi (500 mg, 2,522 mmol) bir balona ilave edilir ve üzerine katalizör olarak HCl eklenir. 20 mL mutlak etanol içinde çözünen amin (sülfatiazol) çözeltisi (644 mg, 2,522 mmol) balondaki çözelti üzerine damla damla ilave edilir ve manyetik karıştırıcı ile 70°C sıcaklıkta, geri soğutucu altında yaklaşık 6 saat boyunca karıştırılır. Elde edilen ürün İTK ile kontrol edilir ve oluşumu tamamlanan ürün süzülerek etanol kullanılarak kristallendirme yöntemi ile saflaştırılır. Kristaller her seferinde 5mL EtOH ile üç kez yıkanır. Elde edilen 4-((4-fenoksibenziliden) amino)-N-(tiyazol-2-il) benzensülfonamid bileşiği etüvde 24 saat boyunca kurutulur. Oluşan ürünün yapı analizi FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR ve GC-MS gibi spektroskopik yöntemlerle karakterize edilir.

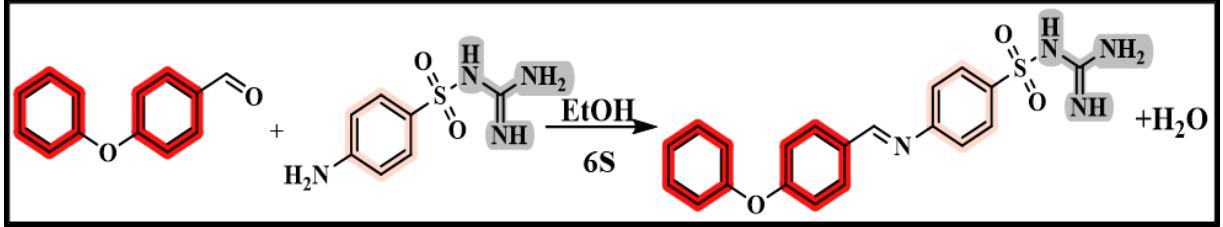


Şekil 3.7. K1'in sentez yöntemi

3.3.8. $C_{20}H_{18}N_4O_3S$ (K2) Schiff bazının sentez yöntemi

Şekil 3.8.'da gösterildiği gibi, 10 mL etanol içerisinde çözünen 4-fenoksibenzaldehit çözeltisi (500 mg, 2,522 mmol) bir balona ilave edilir ve üzerine katalizör olarak HCl eklenir. 20 mL mutlak etanol içinde çözünen amin (sülfaguanidin) çözeltisi (539 mg, 2,518 mmol) balondaki çözelti üzerine damla damla ilave edilir ve manyetik karıştırıcı ile 70°C sıcaklıkta, geri soğutucu altında yaklaşık 6 saat boyunca karıştırılır. Elde edilen ürün İTK ile kontrol edilir ve oluşumu tamamlanan ürün süzülerek etanol kullanılarak kristallendirme

yöntemi ile saflaştırılır. Kristaller her seferinde 5mL EtOH ile üç kez yıkanır. Elde edilen N-karbamimidoyl-4-((4-fenoksibenziliden) amino) benzensülfonamid bileşiği etüvde 24 saat boyunca kurutulur. Oluşan ürünün yapı analizi FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR ve GC-MS gibi spektroskopik yöntemlerle karakterize edilir.



Şekil 3.8. K2'nin sentez yöntemi

3.4. Asetilkolinesteraz (AChE) Aktivite Ölçümleri İçin Gerekli Çözeltiler

Asetilkolinesteraz Enzim Çözeltisi: 3,6 mg asetilkolinesteraz, 10 mL pH 8 fosfat tamponunda çözülerek hazırlandı. Bu karışımdan 500 μL 'lik miktarlar Eppendorf tüplerine aktarıldı ve -20°C 'de muhafaza edildi. Kullanmadan önce Çözeltin çözünmesi için $+4^\circ\text{C}$ 'de buzdolabında saklandı.

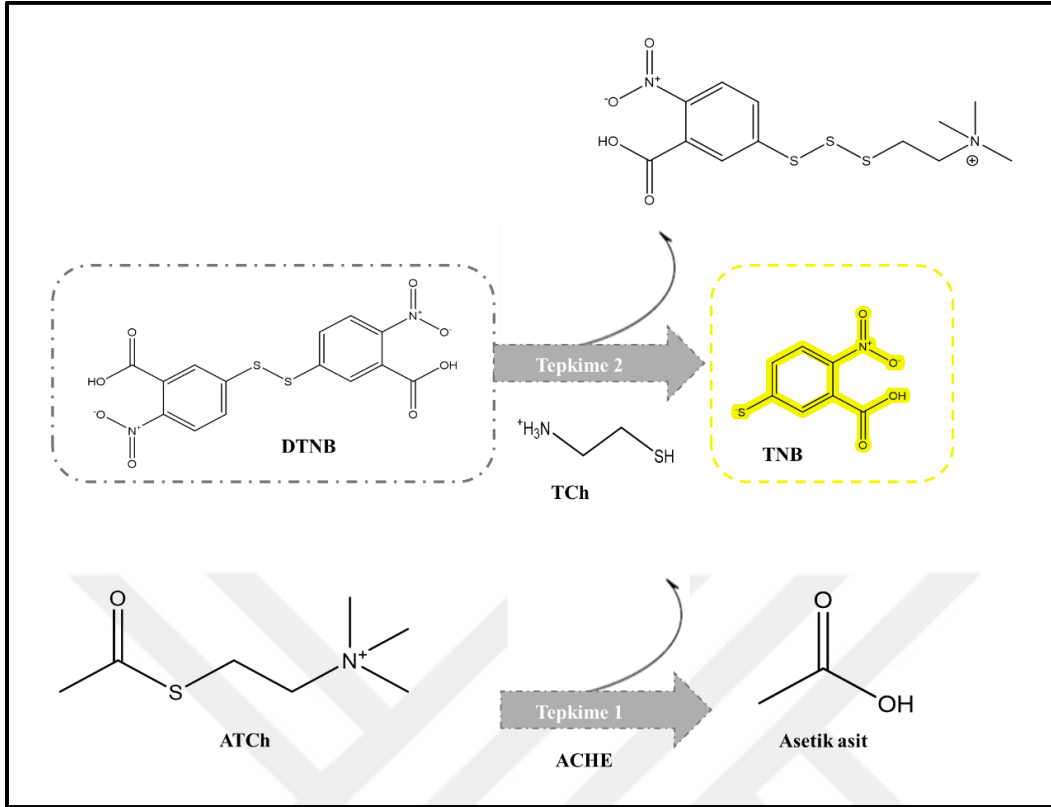
- Fosfat Tamponu (pH 8): Fosfat tamponu yapmak için 1,069 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve 6,13 g Na_2HPO_4 hassas bir şekilde tartılıp saf suda çözündü. Hazırlanan karışım, 500 mL'lik bir balon jöjeye aktararak hacmi saf su ile tamamlandı ve pH değeri pH metre ile kontrol edilerek (pH 8) ayarlandı.
- Asetiltiyokolin Çözeltisi: Substrat Çözeltini hazırlamak için 0,145 g asetiltiyokolin, 50 mL pH 8 fosfat tamponunda çözülerek elde edildi.
- DTNB (5,5'-Ditiyo-bis (2-Nitrobenzoik Asit)) Çözeltisi: DTNB hazırlamak için 0,198 g DTNB, 50 mL pH 8 fosfat tamponunda çözerek hazırlandı.
- İnhibitör Çözeltisi: İnhibitörlerin stok çözeltileri başlangıçta 10^{-2} M derişiminde hazırlandığından emin olunur. Bu stok çözeltiler daha sonra saf su ile seyreltilerek çalışma derişimleri olan 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} ve 10^{-8} M'lık seyreltildi.

3.5. Bütirilkolinesteraz (BChE) Aktivite Ölçümleri İçin Gerekli Çözeltiler

- Bütirilkolinesteraz Enzim Çözeltisi: Bütirilkolinesteraz miktar olarak hesaplanarak uygun miktarda kullanılır ve pH değeri olarak da uygun bir şekilde ayarlanmaya dikkat edilir. Hazır hale getirilen bu Çözeltisinden belirlenen miktarda alınarak Eppendorf tüplerine konulur ve -20°C'de depolanır. Kullanımdan önce çözelti, +4°C'de buzdolabında bekletilerek çözülmesi sağlanır.
- Fosfat Tamponu (pH 8): Fosfat tamponunu hazırlamak için 1,069 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve 6,13 g Na_2HPO_4 hassas bir şekilde tartılır ve saf su içinde eritilir. Karışım, 500 mL'lik bir balon içine aktarılır ve hacmi saf su ile 500 mL olacak şekilde tamamlanır. Çözeltinin pH değeri pH metre ile 8 olarak ayarlanır.
- Bütiriltiyokoliniyodür Çözeltisi: Substrat çözeltisini hazırlamak için 0,0159 g bütiriltiyokoliniyodür, 50 mL pH 8 fosfat tamponunda çözülür.
- DTNB (5,5'-Ditiyo-bis (2-Nitrobenzoik Asit)) Çözeltisi: DTNB çözeltisini hazırlamak için 0,198 g DTNB, 50 mL pH 8 fosfat tamponunda çözülür.
- İnhibitör Çözelti: İnhibitörlerin stok çözeltileri başlangıçta 10^{-2} M derişiminde hazırlandı. Bu stok çözeltiler daha sonra saf su ile seyreltilerek çalışma derişimleri olan 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} ve 10^{-8} M'lık seyreltildi [127].

3.6. Kolinesteraz Enzimlerinin İnhibisyon Çalışma Yöntemi

Asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz enzimlerinin inhibisyon aktivitelerini belirlemek için Ellman yöntemi kullanılmıştır. Bu teknikte, asetilkolinesteraz enzimi asetiltiyokolini hidroliz edilir, bu süreçte asetiltiyokolini tiyokoline ve asetata dönüşür. Tiyokolini, DTNB (5,5'-ditiyo-bis (2-nitrobenzoik asit)) ile tepkimeye girerek sarı renkli bir kompleks oluşturur. Bu kompleksin 412 nm dalga boyunda ölçülen absorbansı ile enzim aktivitesi arasındaki doğru orantılı ilişki kullanılarak aktivite belirlenir. Benzer şekilde, bütirilkolinesteraz bütiriltiyokolini hidrolize eder ve DTNB ile tepkimeye giren bütiriltiyokolini tiyokoline dönüşür. Oluşan sarı renkli kompleksin absorbansı da 412 nm dalga boyunda ölçülür. Bu absorbans ölçümleri hem asetilkolinesteraz hem de bütirilkolinesteraz enzimlerinin aktivitesini ve inhibisyonunu değerlendirmenin temel yoludur [128].



Şekil 3.9. Elman tepkimesinin mekanizması

Enzim aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan çözeltiler ve miktarları Çizelge 3.3.'te verilmiştir. İnhibitörlü çözeltilerinin hücre içi derişimi (10^{-2} - 10^2) μ M olacak şekilde hazırlandı. Elde edilen sonuçlar kullanılarak Microsoft Excel programı yardımı ile IC_{50} değerleri hesaplandı. İnhibitörlerin IC_{50} değerlerini kıyaslamak için standart madde olan Donepezil kullanıldı.

Çizelge 3.4. Asetilkolinesteraz ve Bütilkolinesteraz aktivite ölçümü yöntem tablosu

Çözeltiler	Kontrol Tüpü (µL)	İnhibitörlü (µL)
Fosfat Tampon (0,1 M, pH 8)	1070	1058
DTNB Çözeltisi (0,01 M)	60	60
İnhibitör Çözeltileri	-	12
Enzim Çözeltisi (AChE, BChE)	10	10
25 °C sıcaklıkta 10 dakika ilk inkübasyon süresi		
Substrat Çözeltisi (0,01 M)	60	60
25 °C sıcaklıkta 20 dakika inkübasyon süresi		
Toplam Hacim	1200	1200

3.7. In vitro Biyolojik Aktivite Testleri

3.7.1. İnhibitörlerin antimikrobiyal aktivitelerinin tayini

Aktivite çalışmalarının ilk aşamasında. Bu çalışmaya, Gram-pozitif bakterilerden *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) ve *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), Gram-negatif bakterilerden *Escherichia coli* (ATCC 25922) ve *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), ayrıca maya suşları olarak *Candida albicans* (ATCC 10231), *Candida krusei* (ATCC 6258) ve *Candida glabrata* (ATCC 90030) olmak üzere toplam yedi referans suş dahil çalışmıştır. Bileşiklerin mikrobiyal ve maya aktivitesini test etmek için agar difüzyon yöntemi kullanıldı. Mayalanmış maya lar için kullanılan Sabouraud dekstrozu besiyeri ve bakteriyel suşlar için Mueller Hinton agar petri kaplarında kullanıldığı bu yöntemde besiyeri test edilen bakteriler ve maya ların taze kültürlerinden hazırlanan 10^6 CFU/mL süspansiyonu ile steril bir şekilde çoğaltıldı. Antibakteriyel ve antifungal aktivite testleri için standart ilaçlar olarak sırasıyla sülfaguanidin ve flukonazol kullanıldı. Sentezlenen bileşikler DMSO içinde farklı derişimlerde (25, 50 ve 100 µg/mL), steril kâğıt disklerin üzerine uygulanacak şekilde hazırlandı. Plakalar bakteriyel suşlar için 37°C derecede 24 saat boyunca ve fungal suşlar için ise 30 derecede 48 saat boyunca bekletildikten sonra incelendi. Yaşanan kuyucuk etrafındaki inhibisyon zon çapı ölçülerek inhibitör etkiyi değerlendirmek amaçlandı.

Antimikrobiyal aktivite tayinlerinde, Samarra Üniversitesi Uygulamalı Bilimler Fakültesi Patolojik Analiz Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda bulunan referans bakteri ve maya suşları kullanılmıştır. Mikroorganizma suşları, çalışma tarihine kadar -80°C'de muhafaza edilmek üzere mikro bank saklama tüplerine alınmıştır. Çalışma öncesinde, saklanan mikroorganizmalar uygun besiyerlerine aktararak pasajlama işlemleri gerçekleştirilmiştir [129].

3.7.2. İnhibitörlerin sitotoksik aktivitelerinin tayini

Bu çalışmada sentezlenen bileşiklerin kan hücreleri hemoliz edilen Schiff' bazlarının insan eriyik hücrelerinde (KHK'lerinde) parçalanmayı içeren hemoliz aktivitesini değerlendirmek için in vitro olarak yapılan sitotoksikite test edildi ve bu test için sigara içmeyen sağlıklı bireylerden alınan kan kullanıldı ve literatürde tanımlanan yöntem belirlendi [130]. Her bir Schiff bazları verilen bileşik; 100µM, 200µM ve 300µM derişimlerinde hazırlandı. Her bir bileşikten alınan 30µL hacmi kan içeren 0,2 mL'lik bir karışıma eklenerek dikkatçe çalkalandı ve ardından hemolizi önlemek için karışıma 20 mL serum fizyolojisi ilave edildikten sonra 3000 RPM'de 10 dakika boyunca santrifüj yapıldı. Süpernatantın optik yoğunluğu (O.D.) 540 nm'deki ölçüldü.

Schiff bazı bileşiklerin yol açtığı hemoliz yüzdesinin tam hemolize (100%) göre ölçülmesine hemolitik aktivite denir. Saf suyla 100 kat seyreltilmiş kanın santrifüje edilerek ve 540 nm'deki O.D.'nin ölçülmesinden sonra tam hemoliz elde edilir. Hemoliz yüzdesi şu formül kullanılarak hesaplanır

$$\text{Hemoliz Oranı \%} = (A_T - A_S) / (A_{100\%H} - A_S) \times 100\%$$

- A_T : Test çözeltisinin ışık absorbans değeri.
- A_S : Serum fizyolojik kontrolünün ışık absorbans değeri.
- $A_{100\%H}$: tam hemolizin absorbans değerini temsil eder

3.8. Teorik Hesaplamalar

Teorik çalışmalarda bileşiklerin kararlı moleküler yapılarına ulaşmak için Gaussian 0.16 programı kullanılarak yoğunluk fonksiyonel teorisi (DFT)'nde B3LYP/6-31+G (d, p)' temel

set ile geometri optimizasyonları yapılmıştır. Optimizasyon işleminden sonra bileşiklerin en yüksek dolu moleküler orbital (HOMO) ve en düşük boş moleküler orbital (LUMO) arasındaki enerji band aralığı (ΔE) hesaplanmıştır. Bu HOMO-LUMO enerji band aralığı molekül içinde ve molekül arasında elektronik geçişler hakkında önemli bilgiler sağlamaktadır [131]. Geniş bir enerji seviyesindeki bandı aralığı bileşiğin daha yüksek kinetik stabiliteye sahip olduğunu ve redoks tepkimelere karşı daha dirençli olduğunu gösterir çünkü daha düşük kimyasal reaktiviteye sahip olur [132].

Moleküler elektrostatik potansiyel veya MEP olarak bilinen terim, bir moleküldeki elektrik yüklerinin yayılımını tanımlar ve kimyasal tepkimelerin çeşitli yönlerini anlamak için önemli bir araç olarak kabul edilir. MEP'nin amacı moleküler bölgelerin göreceli reaktivitesini tahmin etmek ve iyonik mi yoksa kompleksleşme mi olduğunu belirlemek için kullanılmasıdır. Bu nedenle molekül arasındaki etkileşimlerin doğasıyla ilgili öngörüler sağlar; tepkimse davranışları nükleofilik veya elektrofilik olup olmadığına dair ipucular sunar ve genetik ya da yapısal etkileşimlerin çeşitli tiplerini kapsar [133]. MEP hesaplama yöntemiyle molekül içindeki etkin bölgeleri tMEPit etmek mümkündür. Negatif MEP değerine sahip alanlar nükleofilik etkin bölgeleri temsil ederken pozitif MEP değerine sahip alanlar elektrofilik etkin bölgeleri temsil eder. Bu çeviri bilimsel terimlerin doğru kullanılmasını sağlayacak şekilde yapılmış olup akademik düzeyde yazılmış metinleri taklit etmektedir [134].

3.9. Moleküler Docking Çalışmaları

Sentezlenen bileşiklerin çizimleri Chem Draw programı kullanılarak yapıldı ve enerji minimizasyonu için 3Dchem programından yararlanıldı. Bağlanma işlemi AutoDock Vina programıyla gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Biodescovery programında analiz edilmiştir. AChE enzimi için 1EEA kodlu yapı ve AChE enzimi için 4TPK kodlu yapı, PDB veri bankasından PDB formatında temin edildi



4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI

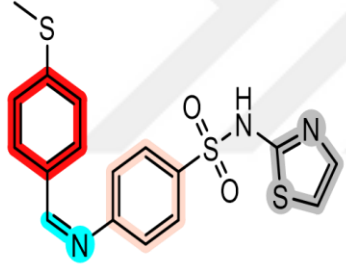
4.1. Bileşik Karakterizasyonu

Sentezlenen bileşiklerin kimyasal yapıları çeşitli spektroskopik yöntemler kullanılarak doğrulanmıştır.

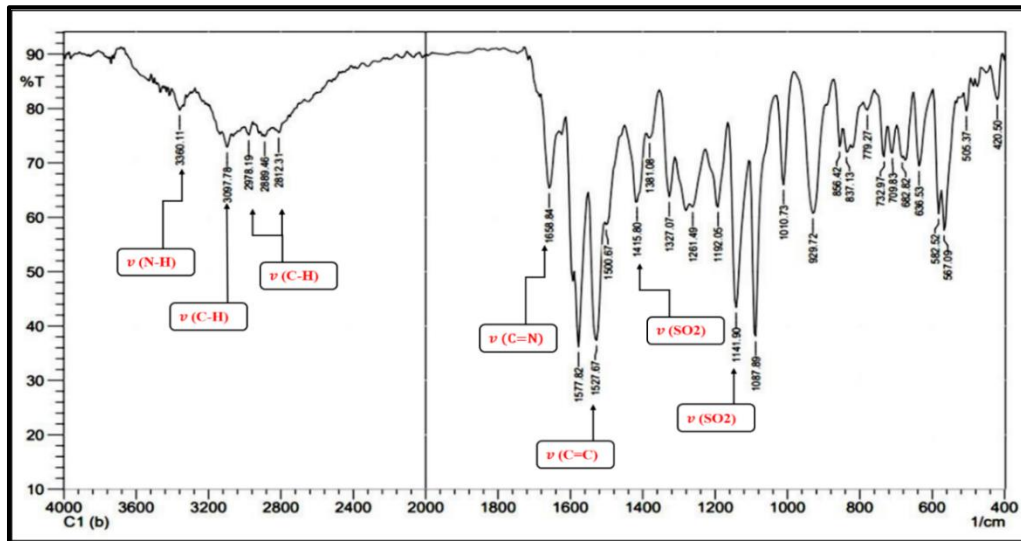
- FT-IR spektrumu: Fonksiyonel grupların varlığı ve konumları belirlenmiştir.
- NMR Spektroskopisi: Proton ve karbon sinyalleri incelenmiştir.
- Kütle Spektrometrisi: Moleküler kütle doğrulanmıştır.

4.1.1. 4-((4-(metiltiyo)benziliden)amino)-N-(tiyazol-2-il)benzensülfonamid (C1)

Çizelge 4.1. C1 bileşiğinin yapısı ve fiziksel özellikleri

	Bileşik	C1
	Schiff baz	C ₁₇ H ₁₅ N ₃ O ₂ S ₃
	M.K. (g/mol)	389,51
	E.N.°C	115-117
	Renk	Turuncu-kahverengi 
	%verim	33,76

FT-IR spektrumu

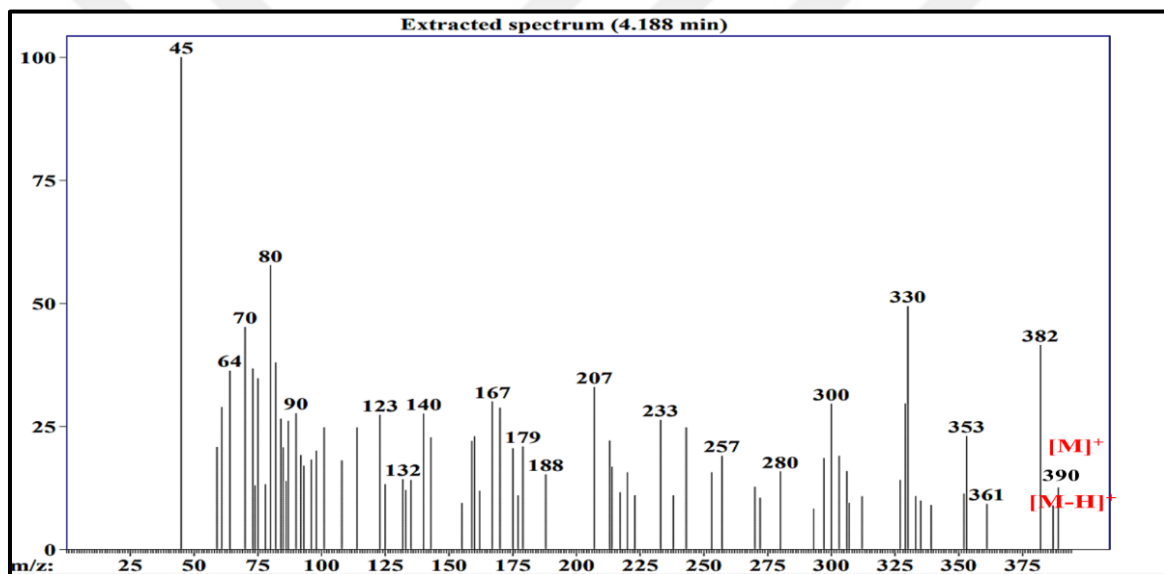


Şekil 4.1. C1 bileşiğinin FT-IR spektrumu

Şekil 4.1. 'de C1 Bileşiğinin FT-IR Spektrumu sunulmuştur.

FT-IR spektrumu incelendiğinde, 3360 cm^{-1} civarında gözlenen bandın ikincil amine (NH) ait olduğunu gösterilmektedir. 3097 cm^{-1} civarında aromatik (C-H) bağlarına ait bandlar bulunmaktadır. $2978\text{-}2889\text{ cm}^{-1}$ arasındaki pikler ise alifatik (C-H) bağlarına aittir. 1658 cm^{-1} 'deki keskin pik ise imin (C=N) bağına karşılık gelmektedir. Aynı zamanda, $1577\text{-}1527\text{ cm}^{-1}$ aralığındaki pikler aromatik (C=C) titreşimlerini temsil etmektedir. Son olarak, 1415 cm^{-1} 'deki pik asimetrik (SO_2), 1141 cm^{-1} 'deki band ise simetrik (SO_2)'ye ait piklerdir.

GC-MS sonucu



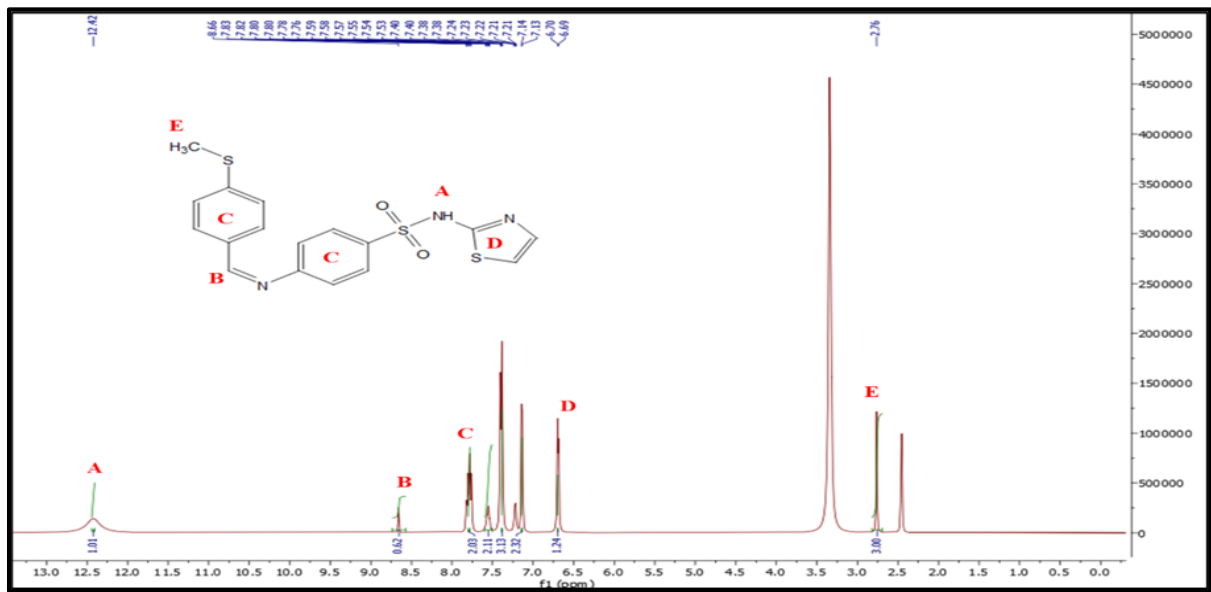
Şekil 4.2. C1 bileşiğinin GC-MS spektrumu

Çizelge 4.2. C1 bileşiğinin önerilen parçalanma modeli

m/z	Önerilen Parçalanma Modelini
45	$\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}_3^+ \rightarrow \text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}_2 + \text{CHO}^+$
64	$\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}_3^+ \rightarrow \text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{OS}_2 + \text{SO}_2$
70	$\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}_3^+ \rightarrow \text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}_2 + \text{C}_3\text{H}_4\text{S}$
207	$\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}_3^+ \rightarrow \text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{S} + \text{C}_7\text{H}_7\text{OS}^+$
300	$\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}_3^+ \rightarrow \text{C}_8\text{H}_5\text{O}_2\text{S} + \text{C}_9\text{H}_{10}\text{N}_3\text{S}_2^+$
330	$\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}_3^+ \rightarrow \text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{S} + \text{C}_6\text{H}_4\text{OS}_2^+$
382	$\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}_3^+ \rightarrow \text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}_3 + \text{H}$
389	$[\text{M}-\text{H}]^+ : \text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}_3^+ \rightarrow \text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}_3^+$
390	Moleküler İyon $[\text{M}]^+ : \text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}_3^+$

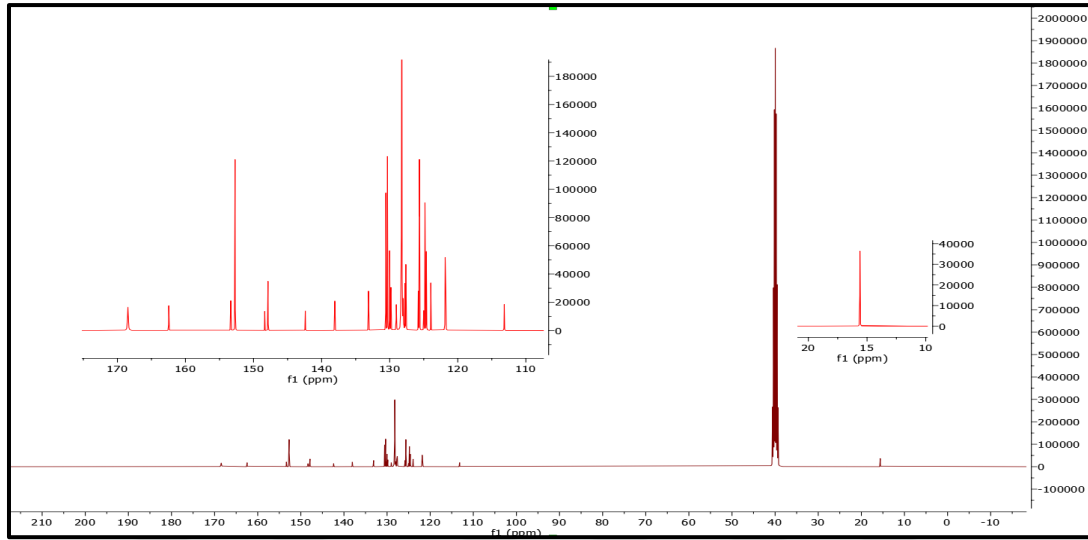
C1'nin Moleküler ağırlığı 389,51g/mol dür. GC-MS spektrumu analizi sonucunda m/z 390'da gözlenen ve moleküler iyon pikine $[M]^+ = 390$ karşılık gelen pik, C1'nin önerilen yapısını doğrulamaktadır. m/z 45, 64, 70, 207, 300, 330, 382 ve 390'taki gözlenen piklerin, Çizelge 1'de belirtilen bileşiğin önerilen parçalanma modeli ile uyumlu olduğu görülmüştür. Bu bulgular, Schiff bazı bileşiğinin başarılı bir şekilde sentezlendiğine dair güçlü kanıtlar sunmakta ve önerilen yapıyı desteklemektedir.

^1H -NMR sonucu



Şekil 4.3. C1 bileşiğinin H-NMR spektrumu

C1 bileşiğinin ^1H -NMR analizi DMSO- d_6 ile yapılmıştır. Spektrum incelendiğinde (-NH) (A)'ya ait tekli pik 12,42 ppm'de; imin grubuna bağlı olan (-N=CH) (B) piki ise 8,66 ppm'de görülmektedir. 7,80 ile 7,18 ppm arasında, yapıda bulunan iki aromatik halkaya ait sekiz protona karşılık gelen ve çoklu yarılmış pikler görülmektedir. Tiyazole ait pik (D) 6,69 ppm'de görülmüştür. Son olarak 2,76 ppm'de görülen ve üç protona karşılık gelen tekli pik (-SCH3) protonlarına aittir [134].

^{13}C -NMR sonucuŞekil 4.4. C1 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu

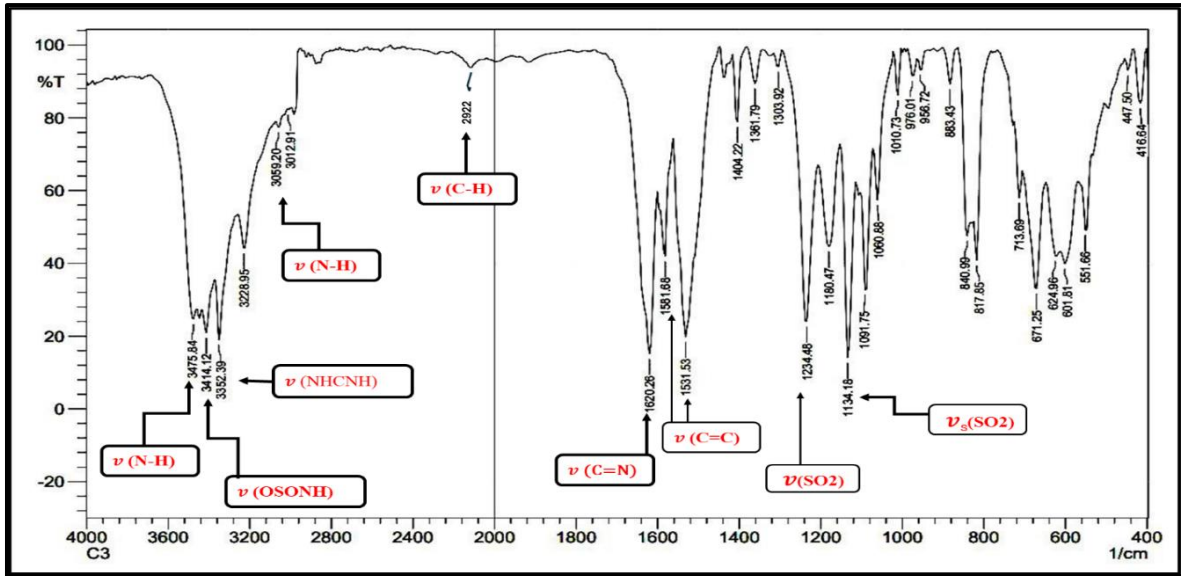
^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ , ppm): Bileşik C1'in ^{13}C NMR spektrumu incelendiğinde, kükürte bağlı ($-\text{CH}_3$) karbonu 15,61 ppm, imin karbonu ($-\text{N}=\text{CH}-$) 162,45 ppm, tiyazol halkasındaki ($-\text{C}=\text{N}$) 168 ppm ve ($\text{C}-\text{N}=\text{}$) karbonu 156 ppm'de görülmüştür. Aromatik halkalardaki diğer karbon atomlarına ait pikler ise genellikle 121,85-155 ppm aralığında görülmüştür.

4.1.2. 4-((4-(Metiltiyo) benzilidene) amino)-N-(tiyazol-2-il) benzenesülfonamid (C2)

Çizelge 4.3. C2 bileşiğinin yapısı ve fiziksel özellikleri

	Bileşik	C2
	Schiff baz	$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2$
	M.K. (g/mol)	348,44
	E.N.°C	242-244
	Renk	Açık sarı
	%verim	62,5

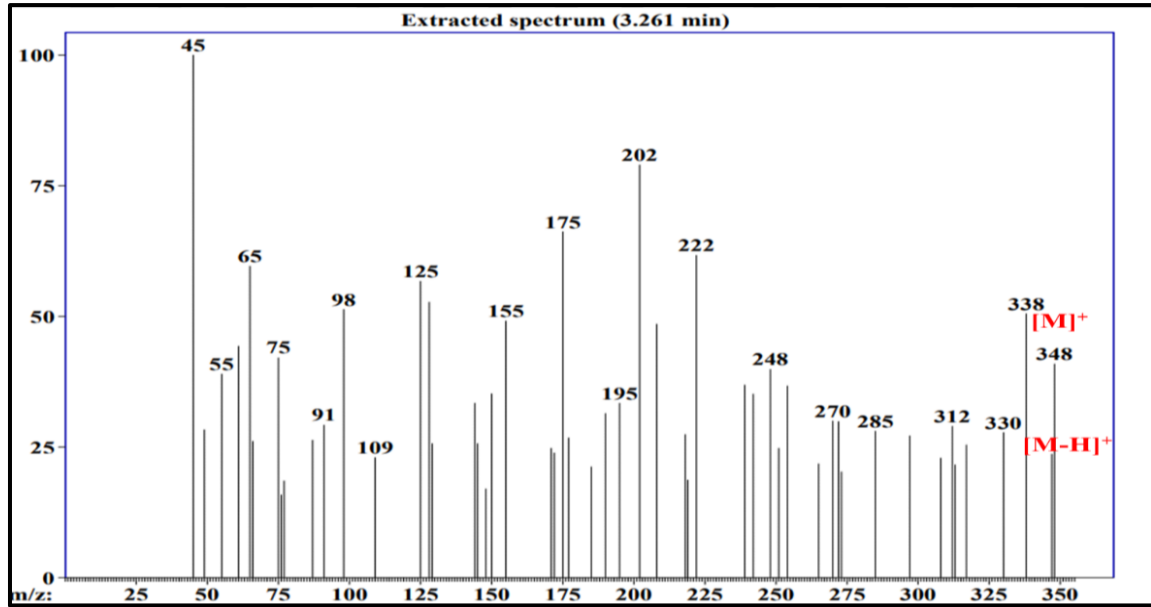
FT-IR sonucu



Şekil 4.5. C2 bileşiğinin FT-IR spektrumu

FT-IR spektrumu incelendiğinde, 3475 ve 3059 cm^{-1} civarında gözlenen bandların birincil amin (NH) ait olduğunu göstermektedir. 3414 cm^{-1} 'deki band, (OSONH) ikincil amin (NH) titreşimine ait olduğunu göstermektedir. 3352 cm^{-1} 'deki band ise (NHCNH) ikincil amin (NH) titreşimine ait olduğunu göstermektedir. 2922-2887 cm^{-1} arasındaki pikler ise alifatik (C-H) bağlarına aittir. 1620 cm^{-1} 'deki keskin pik ise imin (C=N) bağına karşılık gelmektedir. Aynı zamanda, 1581-1531 cm^{-1} aralığındaki pikler aromatik (C=C) titreşimlerini temsil etmektedir. Son olarak, 1234 cm^{-1} 'deki pik asimetric (SO₂), 1134 cm^{-1} 'deki band ise simetric (SO₂) 'ye ait piklerdir.

GC-MS sonucu



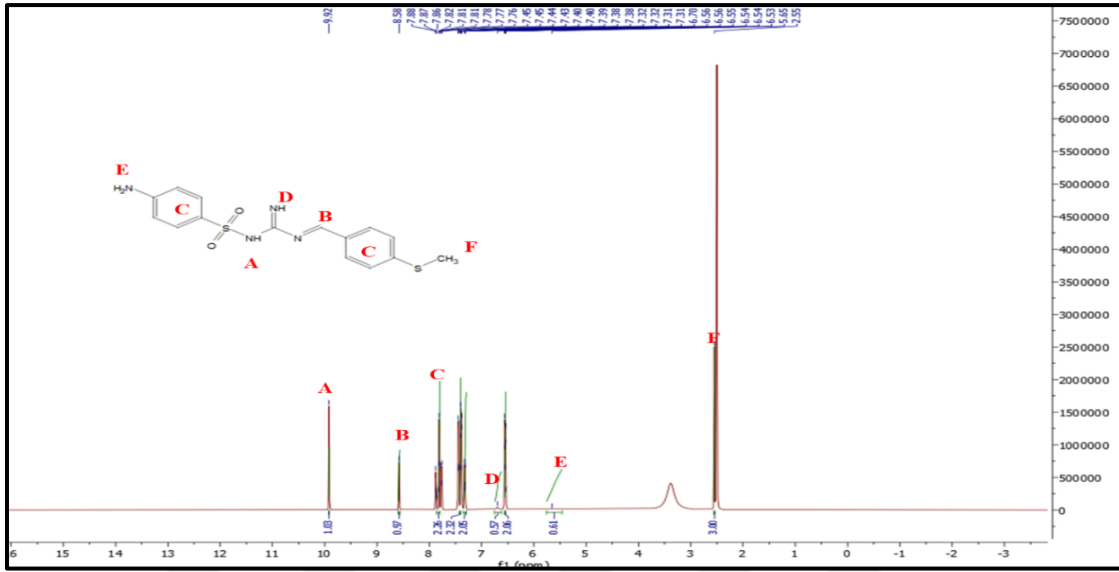
Şekil 4.6. C2 bileşiğinin GC-MS spektrumu

Çizelge 4.4. C2 bileşiğinin önerilen parçalanma modeli

m/z	Önerilen Parçalanma Modelini
45	$C_{15}H_{16}N_4O_2S_2^+ \rightarrow C_{14}H_{15}N_4O_2S_2^+ + CHO^+$
65	$C_{15}H_{16}N_4O_2S_2^+ \rightarrow C_{10}H_{10}N_4O_2S_2^+ + C_5H_5^+$
175	$C_{15}H_{16}N_4O_2S_2^+ \rightarrow C_6H_5N_3OS^+ + C_9H_{11}NSO^+$
202	$C_{15}H_{16}N_4O_2S_2^+ \rightarrow C_8H_6N_2OS^+ + C_7H_{10}N_2OS_2^+$
222	$C_{15}H_{16}N_4O_2S_2^+ \rightarrow C_5H_2N_2O_2S^+ + C_{10}H_{14}N_2OS^+$
312	$C_{15}H_{16}N_4O_2S_2^+ \rightarrow C_{13}H_{16}N_4O_2S^+ + S^+$
338	$C_{15}H_{16}N_4O_2S_2^+ \rightarrow C_{15}H_{16}N_4O_2S^+ + S^+$
347	$[M-H]^+ : C_{15}H_{16}N_4O_2S_2^+ \rightarrow C_{15}H_{15}N_4O_2S_2^+ + H^+$
348	Moleküler İyon $[M]^+ : C_{15}H_{16}N_4O_2S_2^+$

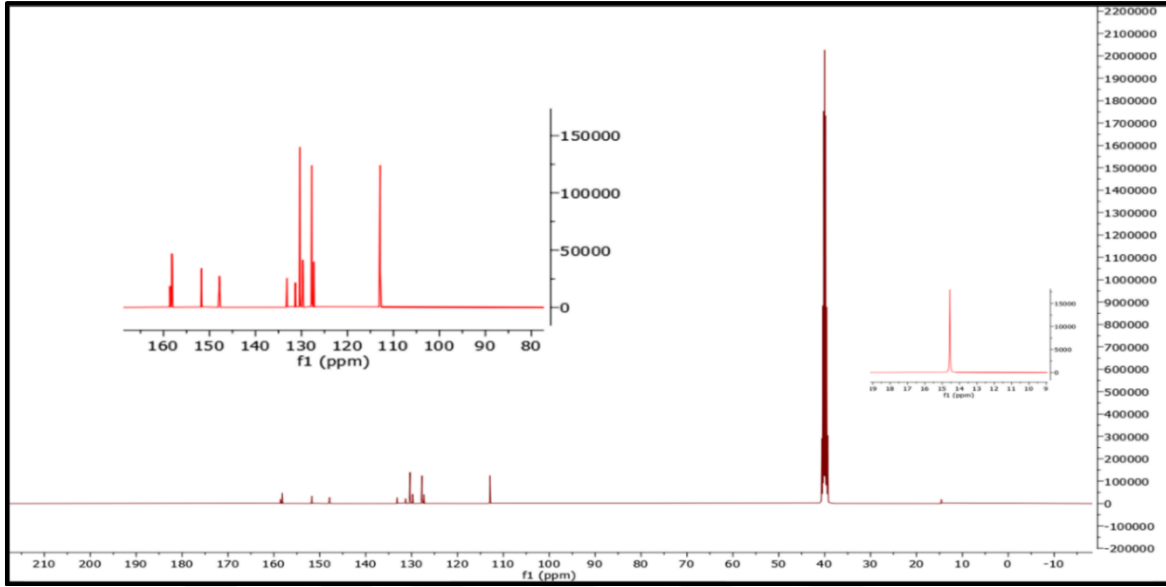
C2'nin Moleküler ağırlığı 348,44 g/mol dür. GC-MS spektrumu analizi sonucunda m/z 390'da gözlenen ve moleküler iyon pikine $[M-H]^+ = 347$ karşılık gelen pik, C2'nin önerilen yapısını doğrulamaktadır. m/z 45, 65, 175, 202, 222, 312 ve 338'teki gözlenen piklerin, Çizelge 1'de belirtilen bileşiğin önerilen parçalanma modeli ile uyumlu olduğu görülmüştür. Bu bulgular, Schiff bazı bileşiğinin başarılı bir şekilde sentezlendiğine dair güçlü kanıtlar sunmakta ve önerilen yapıyı desteklemektedir.

^1H -NMR sonucu



Şekil 4.7. C2 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu

C2 bileşiğinin ^1H -NMR analizi DMSO- d_6 ile yapılmıştır. Spektrum incelendiğinde (-NH) (A)'ya ait tekli pik 9,92 ppm'de; imin grubuna bağlı olan (-N=CH) (B) piki ise 8,58 ppm'de görülmektedir. 7,82 ile 7,32 ppm arasında, yapıda bulunan iki aromatik halkaya ait sekiz protona karşılık gelen ve çoklu yarılmış pikler görülmektedir. (-NH) (D)'ya ait tekli pik 6,70 ppm iken -NH₂ (E)'ye ait tekli pik 5,65 ppm'de görülmektedir. Son olarak 2,55 ppm'de görülen ve üç protona karşılık gelen tekli pik (-SCH₃) protonlarına aittir

^{13}C -NMR sonucuŞekil 4.8. C2 Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu

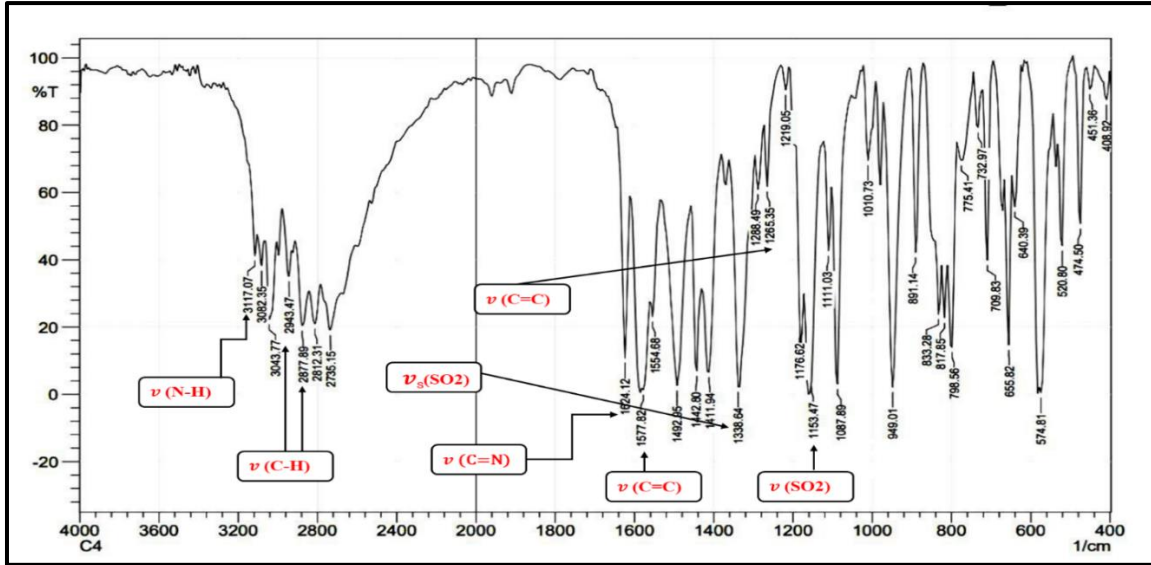
^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ , ppm): Bileşik C2'in ^{13}C NMR spektrumu incelendiğinde, spektrumda, kükürtte bağlı ($-\text{CH}_3$) karbonu 14,56 ppm, imin karbonu ($-\text{N}=\text{CH}-$) 158,57 ppm, NH 'ye bağlı ($-\text{C}=\text{NH}$) karbonu 158,18 ppm ve NH_2 'ye bağlı benzen karbonları 151,73 ppm'de görülmüştür. Aromatik halkalardaki diğer karbon atomlarına ait pikler ise genellikle 112,89-147 ppm aralığında görülmüştür.

4.1.3. 4-((4-(Metiltiyo) benizliden) amino)-N-(pyrimidin-2-yl) benzensülfonamid

Çizelge 4.5. C3 bileşiğinin yapısı ve fiziksel özellikleri

	Bileşik	C3
	Schiff baz	$\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2$
	M.K. (g/mol)	384,47
	E.N.°C	280-282
	Renk	Açık sarı
	%verim	94,25

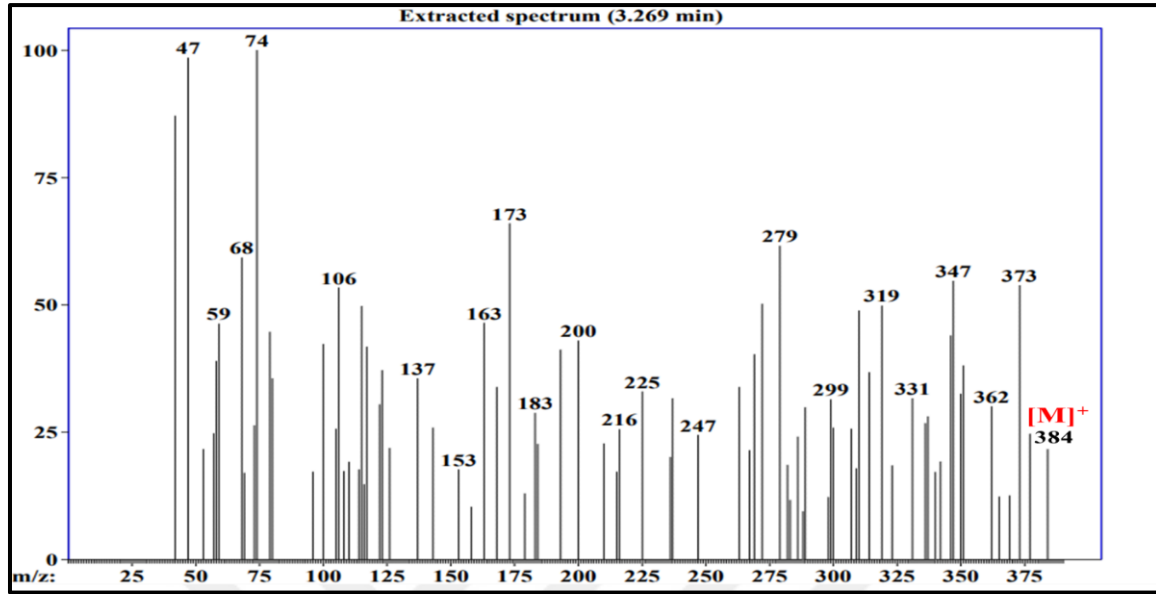
FT-IR sonucu;



Şekil 4.9. C3 bileşiğinin FT-IR spektrumu

FT-IR spektrumu incelendiğinde, 3117 cm^{-1} civarında gözlenen bandın ise ikincil amine (NH) ait olduğunu gösterilmektedir. $2943\text{--}2877\text{ cm}^{-1}$ arasındaki pikler ise alifatik (C-H) bağlarına aittir. 1624 cm^{-1} 'deki keskin pik ise imin (C=N) bağına karşılık gelmektedir. Aynı zamanda, $1577\text{--}1265\text{ cm}^{-1}$ aralığındaki pikler aromatik (C=C) titreşimlerini temsil etmektedir. Son olarak, 1338 cm^{-1} 'deki pik asimetrik (SO_2), 1153 cm^{-1} 'deki band ise simetrik (SO_2)'ye ait piklerdir.

GC-MS sonucu



Şekil 4.10. C3 bileşiğinin GC-MS spektrumu

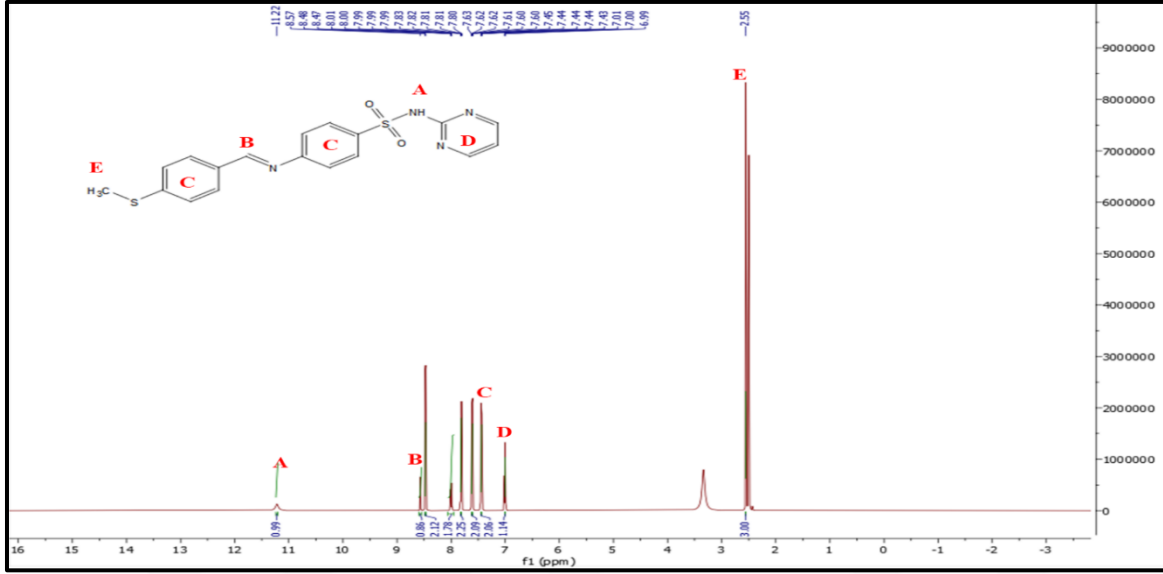
Çizelge 4.6. C3 bileşiğinin önerilen parçalanma modeli

m/z	Önerilen Parçalanma Modelini
47	$C_{18}H_{16}N_4O_2S_2^+ \rightarrow C_{17}H_{15}N_4O_2S_2^+ + CHO^+$
74	$C_{18}H_{16}N_4O_2S_2^+ \rightarrow C_{15}H_{10}N_4O_2S_2^+ + C_3H_6O^+$ Potansiyel Parçalanma: $C_3H_6O^+$ (Aseton iyon) veya $C_3H_8N^+$ (propil amine)
106	$C_{18}H_{16}N_4O_2S_2^+ \rightarrow C_{14}H_{10}N_4O_2S_2^+ + C_4H_6NO^+$ Potansiyel Parçalanma: $C_4H_6NO_2^+$ veya $C_6H_{12}N^+$ (Hegzilamine)
173	$C_{18}H_{16}N_4O_2S_2^+ \rightarrow C_9H_9N_4O_2S_2^+ + C_9H_7O^+$ Potansiyel Parçalanma: $C_9H_{13}NO_2^+$ veya $C_8H_9O_4^+$
200	$C_{18}H_{16}N_4O_2S_2^+ \rightarrow C_8H_6N_4O_2S_2^+ + C_{10}H_{10}O^+$
279	$C_{18}H_{16}N_4O_2S_2^+ \rightarrow C_8H_6N_2O_2S_2^+ + C_{10}H_{10}N_2^+$
319	$C_{18}H_{16}N_4O_2S_2^+ \rightarrow C_8H_6N_4O_2S^+ + C_{10}H_{10}S^+$ $C_{18}H_{21}NO_4^+$ veya $C_{16}H_{19}N_3O_3^+$
347	$C_{18}H_{16}N_4O_2S_2^+ \rightarrow C_8H_6N_2O_2S^+ + C_{10}H_{10}N_2S^+$
373	$C_{18}H_{16}N_4O_2S_2^+ \rightarrow C_8H_6N_2O_2S_2^+ + C_{10}H_{10}N_2S^+$
384	Moleküler İyon $[M]^+$: $C_{18}H_{16}N_4O_2S_2^+$

C3'ün Moleküler ağırlığı 384,47g/mol dür. GC-MS spektrumu analizi sonucunda m/z 390'da gözlenen ve moleküler iyon pikine $[M]^+ = 384$ karşılık gelen pik, C3'ün önerilen yapısını

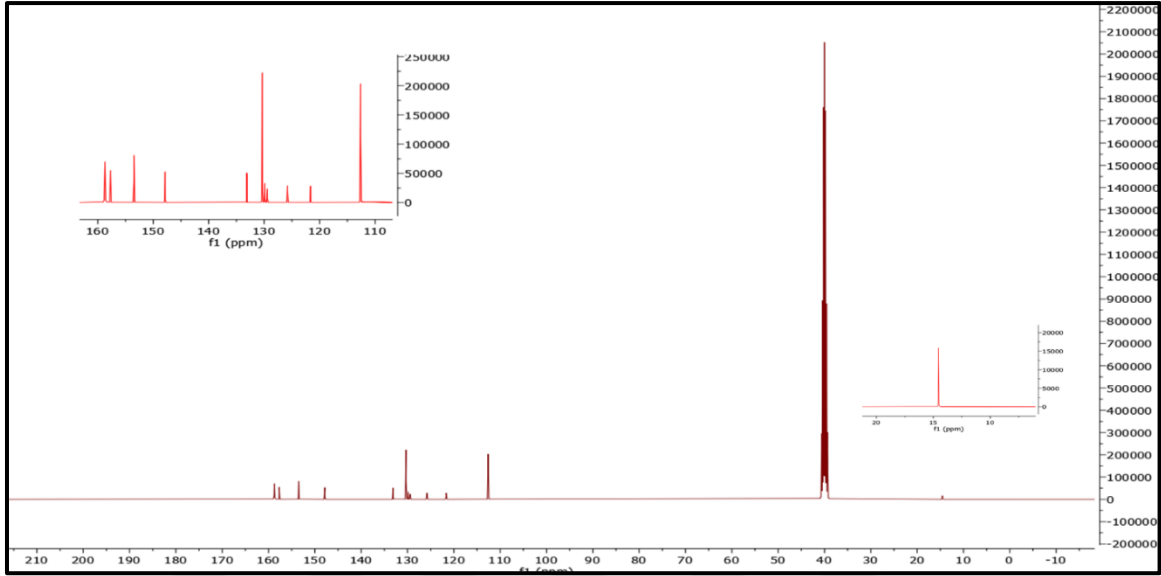
doğrulamaktadır. m/z 47, 74, 106, 173, 200, 279, 319, 347 ve 373'teki gözlenen piklerin, Çizelge 1'de belirtilen bileşiğin önerilen parçalanma modeli ile uyumlu olduğu görülmüştür. Bu bulgular, Schiff bazı bileşiğinin başarılı bir şekilde sentezlendiğine dair güçlü kanıtlar sunmakta ve önerilen yapıyı desteklemektedir.

^1H -NMR sonucu:



Şekil 4.11. C3 bileşiğinin H-NMR spektrumu

C3 bileşiğinin ^1H -NMR analizi DMSO- d_6 ile yapılmıştır. Spektrum incelendiğinde, (-NH) (A) protonuna ait tekli pik 11,22 ppm'dir. İmin grubuna bağlı olan (- N=CH) (B) piki ise 8,57 ppm'de görülmektedir. 8,47 – 7,44 ppm arasında, yapıda bulunan iki aromatik halkaya ait sekiz protona karşılık gelen ve çoklu yarılmış pikler görülmektedir. Pirimidin halkaya ait üç protona karşılı gelen ve iki pik sırasıyla tripleti ve dublet olarak sırasıyla 6,99 ve 8,47 ppm'de yarılmış pikler görülmektedir. Son olarak 2,55 ppm'de görülen ve üç protona karşılık gelen tekli pik (-SCH₃) protonlarına aittir [136].

¹³C-NMR sonucuŞekil 4.12. C3 bileşiğinin ¹³C-NMR spektrumu

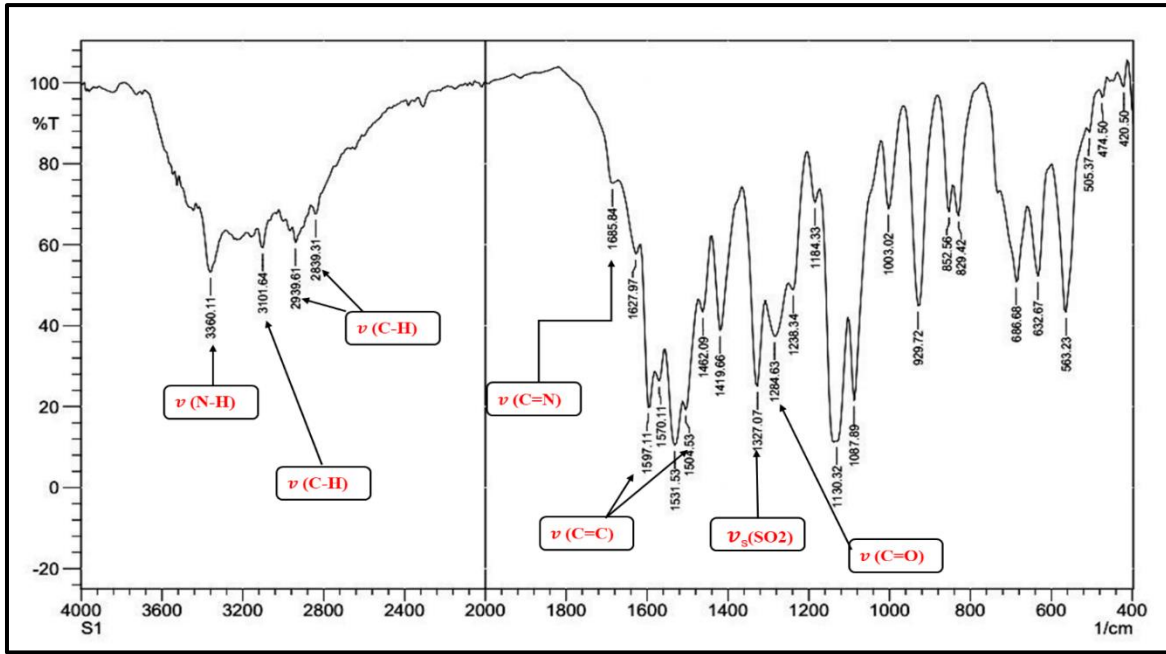
¹³C NMR (DMSO-*d*₆, δ, ppm): Bileşik C3'ün ¹³C NMR spektrumu incelendiğinde, Kükürtle bağlı (CH₃) karbonu 14,54 ppm, imin karbonu (–N=CH–) 157,70 ppm, pirimidin grubu (–C=NH) 158,72 ppm ve pirimidin grubu (C–H) 153,49 ppm'de görülmüştür. Aromatik halkalardaki diğer karbon atomlarına ait pikler ise genellikle 112,63-147,86 ppm aralığında görülmüştür

4.1.4. N-(tiyazol-2-il)-4-((3,4,5-trimetoksibenzilidene) amino) benzensülfonamid

Çizelge 4.7. S1 bileşiğinin yapısı ve fiziksel özellikleri

	Bileşik	S1
	Schiff baz	C ₁₉ H ₁₉ N ₃ O ₅ S ₂
	M.K. (g/mol)	433,50
	E.N.°C	104-105
	Renk	Karamel kahve
	%verim	53,91

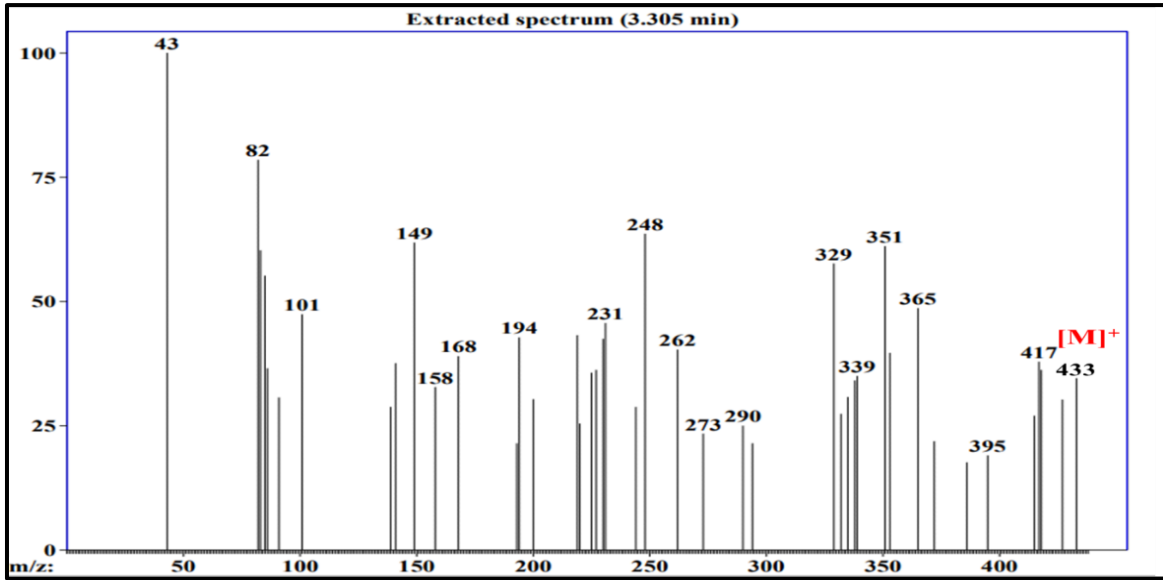
FT-IR sonucu



Şekil 4.13. S1 bileşiğinin FT-IR spektrumu

FT-IR spektrumu incelendiğinde, 3360cm^{-1} civarında gözlenen band İkincil amin (NH) gruplarına ait N-H gerilme titreşimleri olduğunu göstermektedir. 3101cm^{-1} civarında aromatik (C-H) bağlarına ait bandlar bulunmaktadır. $2939\text{-}2839\text{ cm}^{-1}$ arasındaki pikler ise alifatik (C-H) bağlarına aittir. 1685 cm^{-1} 'deki keskin pik ise imin (C=N) bağına karşılık gelmektedir. Aynı zamanda, $1597\text{-}1504\text{ cm}^{-1}$ aralığındaki pikler aromatik (C=C) titreşimlerini temsil etmektedir. Son olarak, 1327 cm^{-1} 'deki pik asimetric (SO₂), 1130 cm^{-1} 'deki band ise simetrik (SO₂) 1284 pik ise (C-O) 'ye ait piklerdir.

GC-MS sonucu



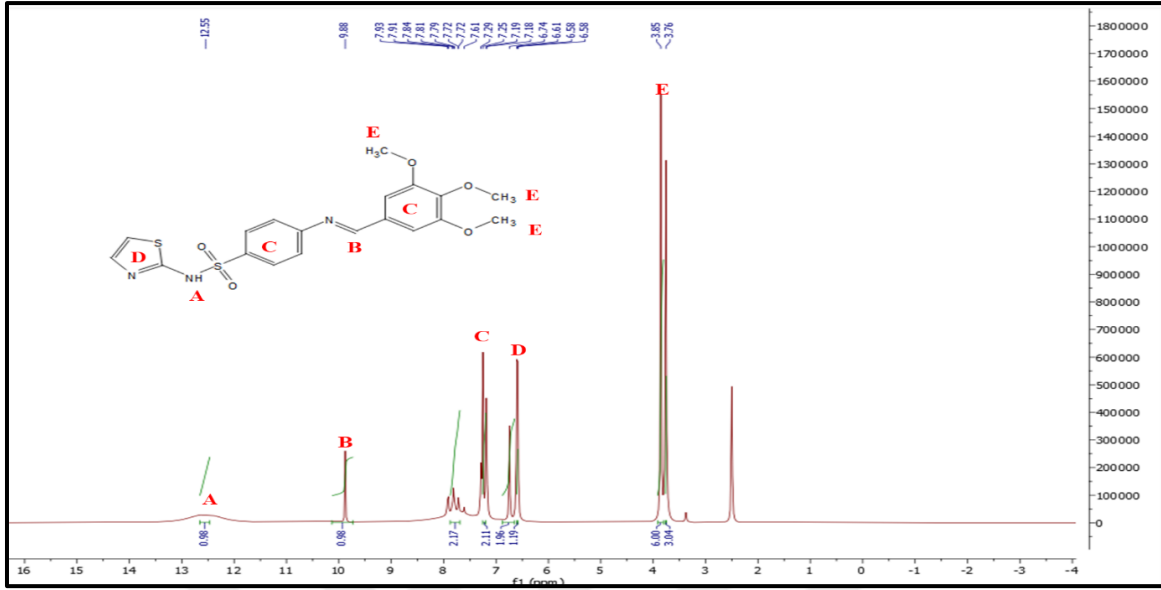
Şekil 4.14. S1 bileşiğinin GC-MS spektrumu

Çizelge 4.8. S1 bileşiğinin önerilen parçalanma modeli

m/z	Önerilen Parçalanma Modelini
149	$C_{19}H_{19}N_3O_5S_2^+ \rightarrow C_8H_7NO_2 + C_{11}H_{12}N_2O_3S_2$
248	$C_{19}H_{19}N_3O_5S_2^+ \rightarrow C_{14}H_{10}N_2O^+ + C_5H_9N_1O_4S_2$
329	$C_{19}H_{19}N_3O_5S_2^+ \rightarrow C_{16}H_{17}N_2O_5S^+ + C_3H_2NS$
351	$C_{17}H_{17}N_3O_4S^+ \rightarrow C_{16}H_{15}N_3O_3S^+ + CH_3O$
365	$C_{19}H_{19}N_3O_5S_2^+ \rightarrow C_{17}H_{17}N_3O_4S^+ + SO_2NH_2$
395	$C_{19}H_{19}N_3O_5S_2^+ \rightarrow C_{18}H_{19}N_3O_3S_2^+ + CO_2$
417	$C_{19}H_{19}N_3O_5S_2^+ \rightarrow C_{19}H_{16}N_2O_5S_2^+ + NH_3$
433	Moleküler İyon $[M]^+$: $C_{19}H_{19}N_3O_5S_2^+$

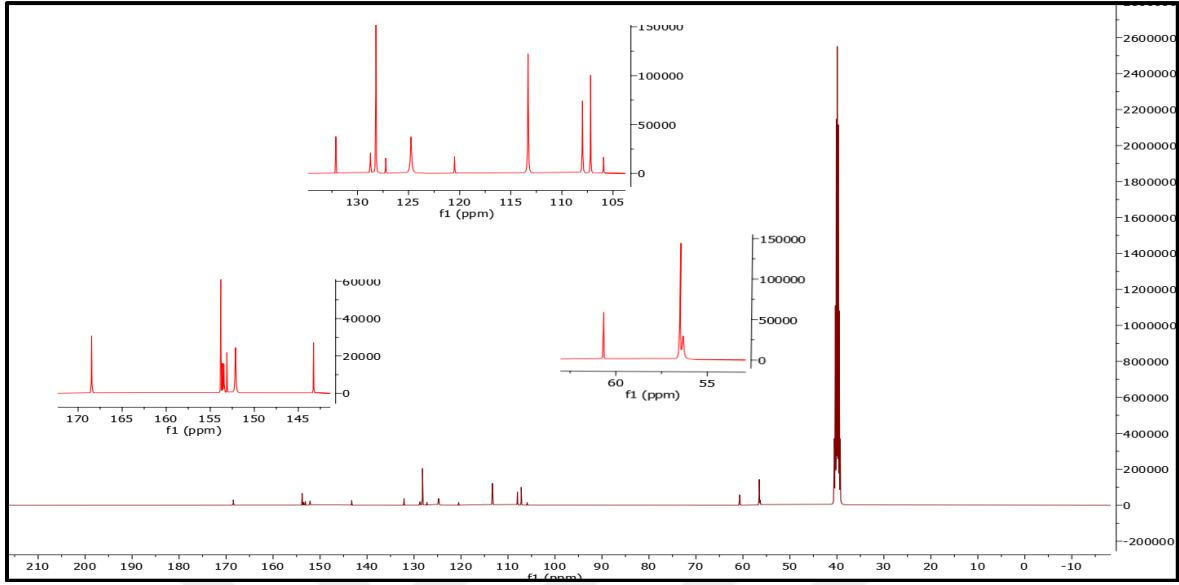
S1'in Moleküler ağırlığı 433,50 g/mol dür. GC-MS spektrumu analizi sonucunda m/z 390'da gözlenen ve moleküler iyon pikine $[M]^+ = 433$ karşılık gelen pik, C1'nin önerilen yapısını doğrulamaktadır. m/z 149, 248, 329, 351, 365, 395 ve 417'daki gözlenen piklerin, Çizelge 1'de belirtilen bileşiğin önerilen parçalanma modeli ile uyumlu olduğu görülmüştür. Bu bulgular, Schiff bazı bileşiğinin başarılı bir şekilde sentezlendiğine dair güçlü kanıtlar sunmakta ve önerilen yapıyı desteklemektedir.

¹H-NMR sonucu:



Şekil 4.15. S1 bileşiğinin H-NMR spektrumu

S1 bileşiğinin ¹H-NMR analizi DMSO-*d*₆ ile yapılmıştır. Spektrum incelendiğinde, (-NH) (A)'ya ait tek pik 12,55 ppm'de; imin grubuna bağlı olan (- N=CH) (B) piki ise 9,88 ppm'de görülmektedir. 7,80 ile 7,18 ppm arasında, yapıda bulunan iki aromatik halkaya ait altı protona karşılık gelen ve çoklu yarılmış pikler görülmektedir. Tiyazol halkasındaki hidrojen atomuna çift pik (C) 6,58 ppm'de görülmektedir. Son olarak, aromatik halkaya bağlı (-OCH₃) protonlarına ait pik 3,85-3,76 ppm' aralığında görülmektedir [136]

^{13}C -NMR sonucuŞekil 4.16. S1 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu

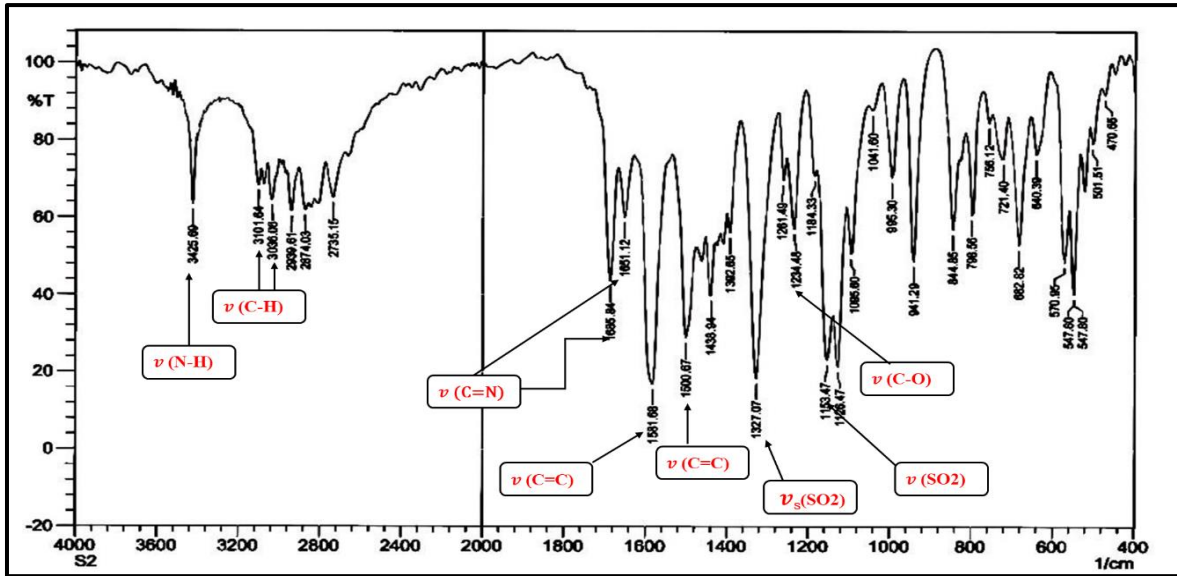
^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ , ppm): Bileşik S1'in ^{13}C NMR spektrumu incelendiğinde, oksijene bağlı (CH_3) karbonu 56, 60 ppm, tiyazol grubu ($=\text{N}-\text{CH}$) 168,4 ppm, imin karbonu ($-\text{C}=\text{N}$) 153,80 ppm, ($-\text{C}-\text{N}=\text{}$) karbonu 153,11 ppm ve ($-\text{C}-\text{O}$) karbonu 152,13 ppm'de görülmüştür. Aromatik halkalardaki diğer karbon atomlarına ait pikler ise genellikle 107-143,27 ppm aralığında görülmüştür.

4.1.5. N-(pirimidin-2-il)-4-((3,4,5-trimetoksibenzilidene)amino)benzensülfonamid

Çizelge 4.9. S2 bileşiğinin yapısı ve fiziksel özellikleri

	Bileşik	S2
	Schiff baz	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$
	M.K(g/mol)	428,46
	E.N.°C	236-238
	Renk	Tuğla rengi
	%verim	27,26

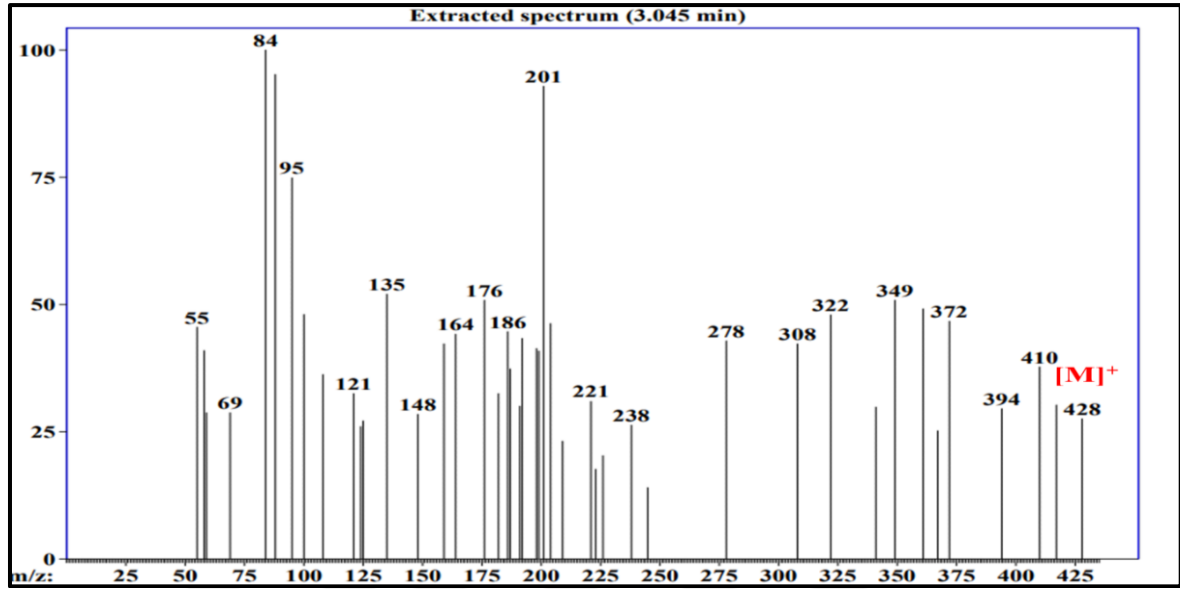
FT-IR sonucu



Şekil 4.17. S2 bileşiğinin FT-IR spektrumu

FT-IR spektrumu incelendiğinde, 3425 cm^{-1} civarında gözlenen bandın ise ikincil amine (NH) ait olduğu görülmektedir. $3101\text{-}3036 \text{ cm}^{-1}$ civarında aromatik (C-H) bağlarına ait bandlar bulunmaktadır. $2939\text{-}2874 \text{ cm}^{-1}$ arasındaki pikler ise alifatik (C-H) bağlarına aittir. 1685 cm^{-1} 'deki keskin pik ise imin (C=N) bağına karşılık gelmektedir. 1651 cm^{-1} 'deki hegzagonal halkadaki imin (C=N) bağına karşılık gelmektedir. Aynı zamanda, $1581\text{-}1500 \text{ cm}^{-1}$ aralığındaki pikler aromatik (C=C) titreşimlerini temsil etmektedir. Son olarak, 1327 cm^{-1} 'deki pik asimetrik (SO_2), 1155 cm^{-1} 'deki band ise simetrik (SO_2) ve 1234 cm^{-1} 'deki band ise (C-O)'ye ait piklerdir.

GC-MS sonucu



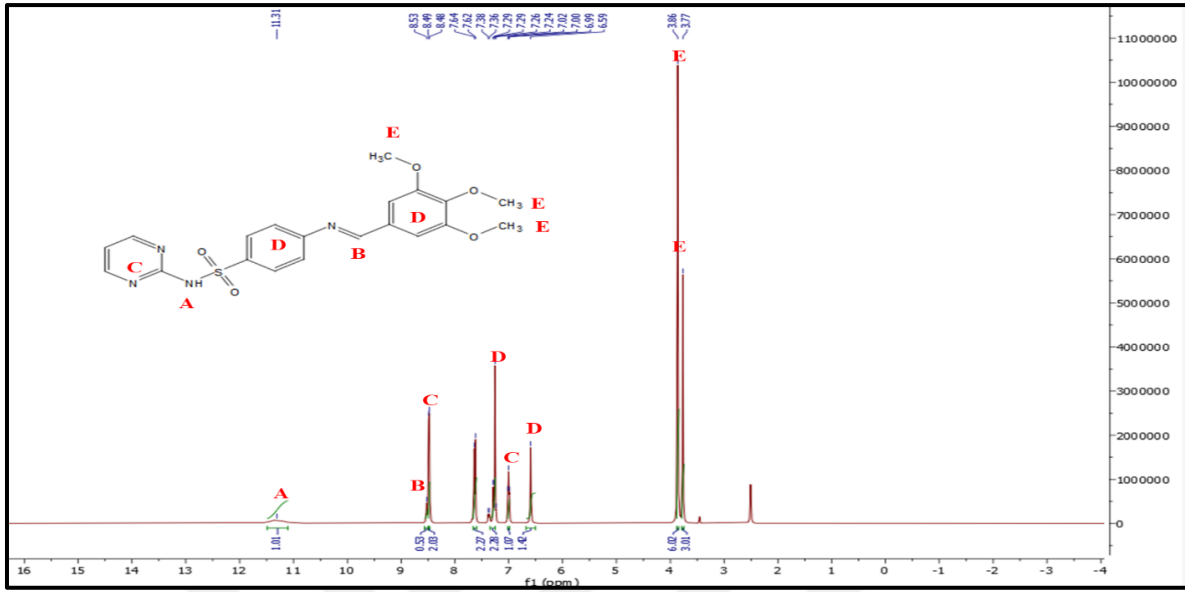
Şekil 4.18. S2 bileşiğinin GC-MS spektrumu

Çizelge 4.10. S2 bileşiğinin önerilen parçalanma modeli

m/z	Önerilen Parçalanma Modelini
55	$C_{20}H_{20}N_4O_5S^+ \rightarrow C_4H_7^+ + C_{16}H_{13}N_4O_5S$
84	$C_{20}H_{20}N_4O_5S^+ \rightarrow C_5H_6N^+ + C_{15}H_{14}N_3O_5S$
95	$C_{20}H_{20}N_4O_5S^+ \rightarrow C_5H_5N_2^+ + C_{15}H_{15}N_2O_5S$
135	$C_{20}H_{20}N_4O_5S^+ \rightarrow C_8H_7NO_2^+ + C_{12}H_{13}N_3O_3S$
201	$C_{20}H_{20}N_4O_5S^+ \rightarrow C_{11}H_9NO_3^+ + SO_2NH_2 + \text{pyrimidin-2-yl}$
349	$C_{20}H_{20}N_4O_5S^+ \rightarrow C_{11}H_{11}N_4O_2S^+ + C_9H_9O_3$
410	$C_{20}H_{20}N_4O_5S^+ \rightarrow C_{20}H_{18}N_4O_4S^+ + H_2O$
428	Moleküler İyon $[M]^+$: $C_{20}H_{20}N_4O_5S^+$

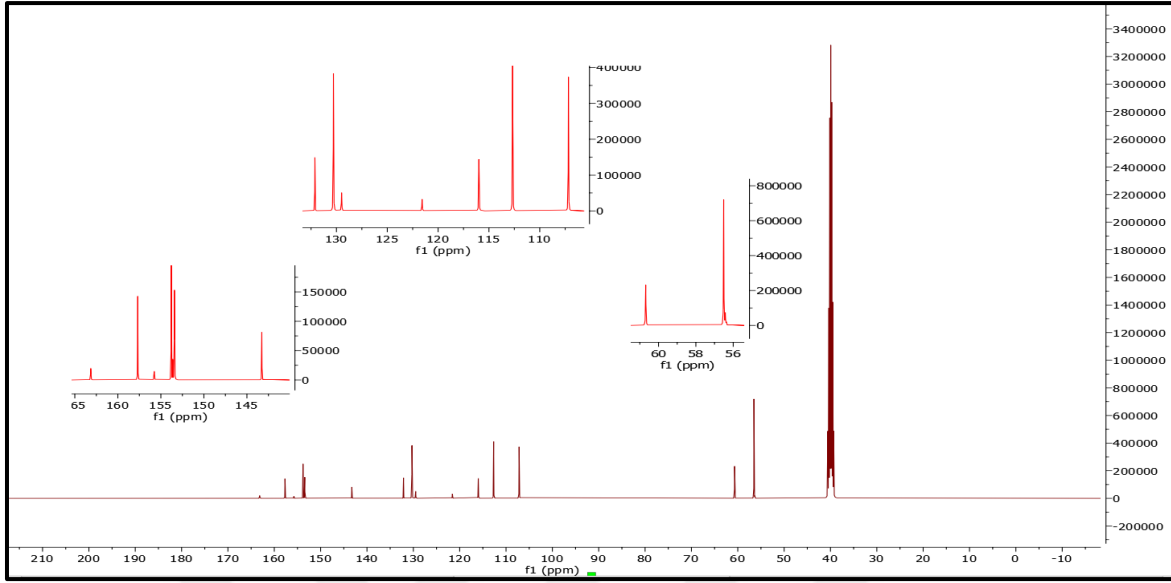
S2'nin Moleküler ağırlığı 428,46 g/mol dür. GC-MS spektrumu analizi sonucunda m/z 390'da gözlenen ve moleküler iyon pikine $[M]^+ = 428$ karşılık gelen pik, S2'nin önerilen yapısını doğrulamaktadır. m/z 55, 84, 95, 135, 201, 349 ve 410'daki gözlenen piklerin, Çizelge 1'de belirtilen bileşiğin önerilen parçalanma modeli ile uyumlu olduğu görülmüştür. Bu bulgular, Schiff bazı bileşiğinin başarılı bir şekilde sentezlendiğine dair güçlü kanıtlar sunmakta ve önerilen yapıyı desteklemektedir.

^1H -NMR sonucu



Şekil 4.19. S2 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu

S2 bileşiğine ^1H -NMR analizi DMSO- d_6 ile yapılmıştır. Spektrum incelendiğinde, (-NH) (A) protonuna ait tekli bir pik 11,31 ppm'de; imin grubuna bağlı olan (-N=CH) (B) piki ise 8,53ppm'de görülmektedir. Pirimidin halkasındaki üç protona karşılık gelen iki farklı pik olarak sırasıyla tripleti ve dublet 7 ve 8,48 ppm'de yarılmış pikler görülmektedir. 7,63 - 6,59 ppm arasında, yapıda bulunan iki aromatik halkaya ait altı protona karşılık gelen ve çoklu yarılmış pikler görülmektedir. Son olarak, aromatik halkaya bağlı (-OCH₃) protonlarına ait pik 3,86-3,77 ppm' arasında görülmektedir [137].

^{13}C -NMR sonucuŞekil 4.20. S2 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu

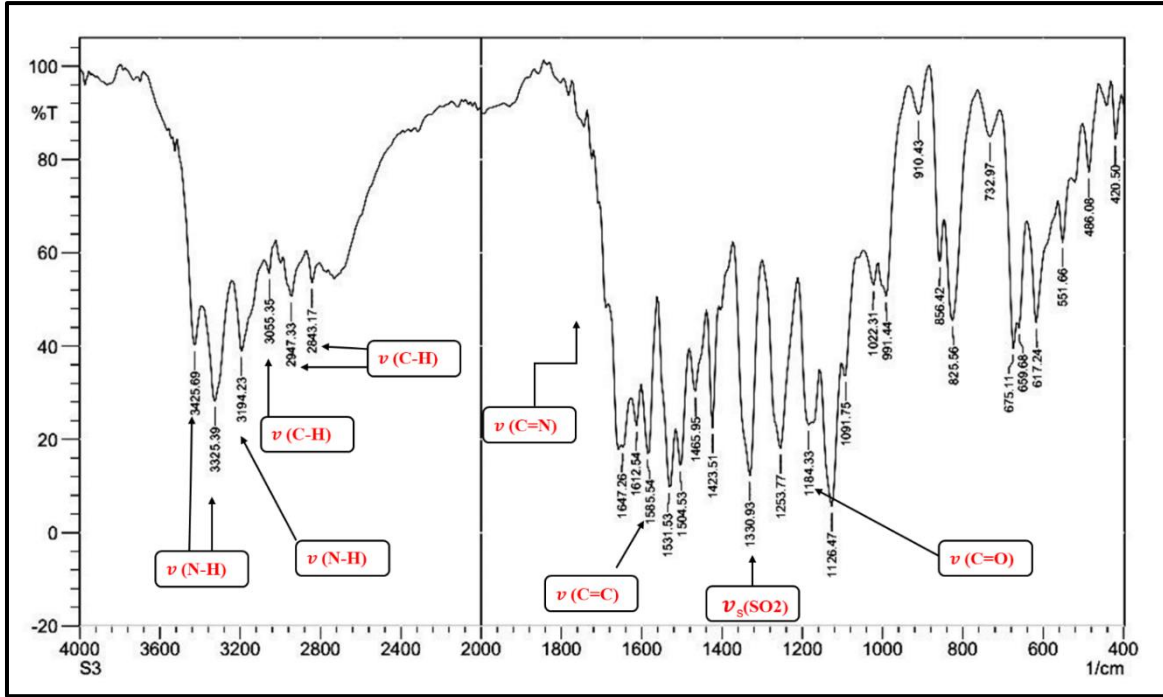
^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ , ppm): Bileşik S1'in ^{13}C NMR spektrumu incelendiğinde, Oksijene bağlı (CH_3) karbonu 56,42 ve 60,69 ppm, pirimidin grubu ($-\text{C}=\text{N}$ ve $-\text{NH}$ 'ye bağlı) 158,68 ppm, imin karbonu ($-\text{C}=\text{N}$) 156,89 ppm, pirimidin grubu ($\text{C}=\text{N}$) 153,9 ppm, ($\text{C}-\text{N}=\text{C}$) karbonu ve ($-\text{C}-\text{O}$) karbonu 153 ppm'de görülmüştür. Aromatik halkalardaki diğer karbon atomlarına ait pikler ise genellikle 107-143 ppm aralığında görülmüştür.

4.1.6. N-karbaminodoyil-4-((3,4,5-trimethoxybenziden) amino) benzensülfonamid

Çizelge 4.11. S3 bileşiğinin yapısı ve fiziksel özellikleri

	Bileşik	S3
	Schiff baz	$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$
	M.K(g/mol)	392,43
	E.N.°C	84-86
	Renk	Pembe-tuğla
	%verim	50,90

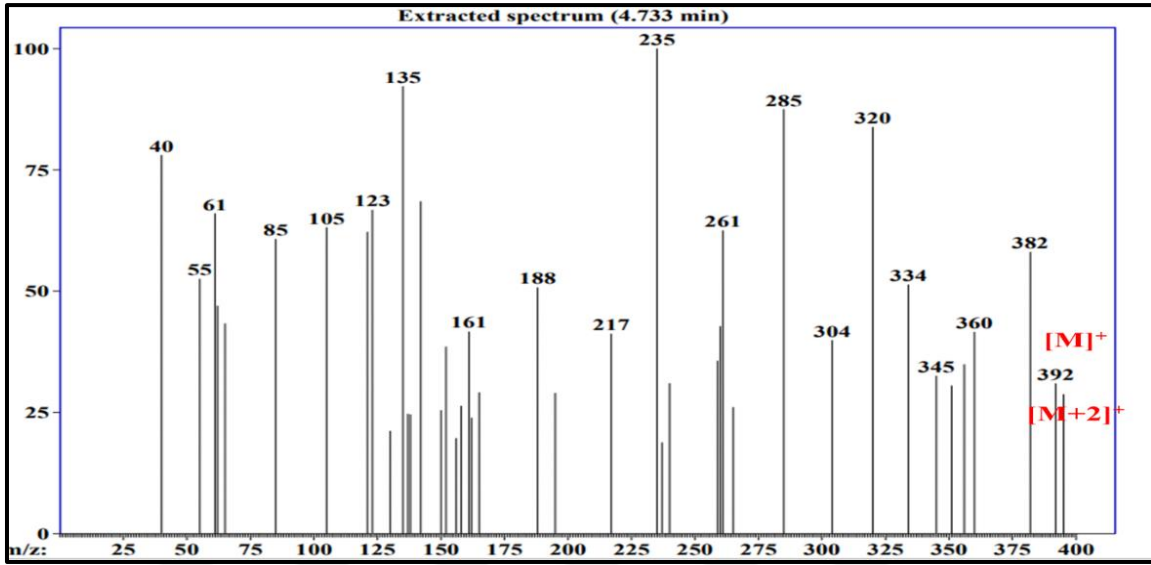
FT-IR sonucu



Şekil 4.21. S3 bileşiğinin FT-IR spektrumu

FT-IR spektrumu incelendiğinde, 3425 cm⁻¹'de cm⁻¹ civarında gözlenen bandın birincil amin (NH) ait olduğunu göstermektedir. 3325 cm⁻¹'deki band, (OSONH) ikincil amin (NH) titreşimine ait olduğunu göstermektedir. 3194 cm⁻¹'deki band ise ikincil amin (NH) titreşimine ait olduğunu göstermektedir. 3055 cm⁻¹ civarında aromatik (C-H) bağlarına ait bandlar bulunmaktadır. 2947-2843 cm⁻¹ arasındaki pikler ise alifatik (C-H) bağlarına aittir. 1612 cm⁻¹'deki keskin pik ise imin (C=N) bağına karşılık gelmektedir. Aynı zamanda, 1585-1504 cm⁻¹ aralığındaki pikler aromatik (C=C) titreşimlerini temsil etmektedir. Son olarak, 1330 cm⁻¹'deki pik asimetrik (SO₂), 1126 cm⁻¹'deki band ise simetrik (SO₂) ve 1253 cm⁻¹'deki band ise (C-O)'ye ait piklerdir.

GC-MS sonucu



Şekil 4.22. S3 bileşiğinin GC-MS spektrumu

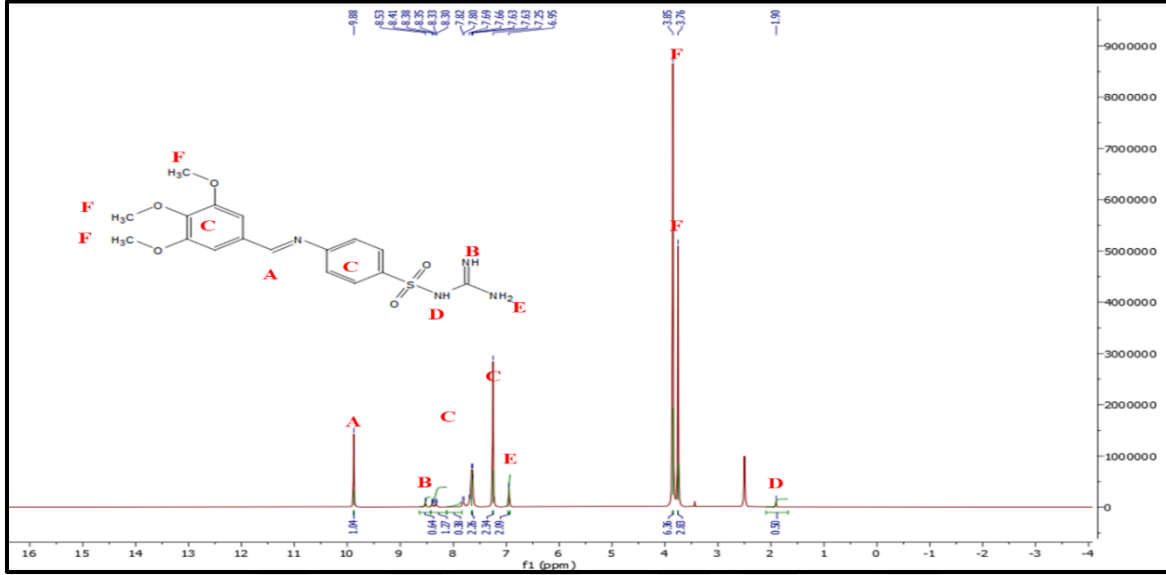
Çizelge 4.12. S3 bileşiğinin önerilen parçalanma modeli

m/z	Önerilen Parçalanma Modelini
40	$C_{17}H_{20}N_4O_5S^+ \rightarrow C_3H_4^+ + C_{14}H_{16}N_4O_5S$
135	$C_{17}H_{20}N_4O_5S^+ \rightarrow C_8H_7NO_2^+ + C_9H_{13}N_3O_3S$
235	$C_{17}H_{20}N_4O_5S^+ \rightarrow C_{12}H_{12}NO_2S^+ + CN_3H_3$
285	$C_{17}H_{20}N_4O_5S^+ \rightarrow C_{17}H_{18}N_3O_3^+ + SO_2NH_2$
320	$C_{17}H_{20}N_4O_5S^+ \rightarrow C_8H_{11}N_4O_2S^+ + C_9H_9O_3$
382	$C_{17}H_{20}N_4O_5S^+ \rightarrow C_{17}H_{18}N_4O_4S^+ + H_2O$
392	Moleküler İyon $[M]^+$: $C_{17}H_{20}N_4O_5S^+$
394	Protonlanmış Moleküler İyon veya izotopik pik $[M+2]$: $C_{17}H_{20}N_4O_5S^+ + H^+$

S3'ün Moleküler ağırlığı 392,43 g/mol dür. GC-MS spektrumu analizi sonucunda m/z 390'da gözlenen ve moleküler iyon pikine $[M+2] = 392$ karşılık gelen pik, S3'ün önerilen yapısını doğrulamaktadır. m/z 40, 135, 235, 285, 320 ve 382'daki gözlenen piklerin, Çizelge 1'de belirtilen bileşiğin önerilen parçalanma modeli ile uyumlu olduğu görülmüştür. Bu bulgular,

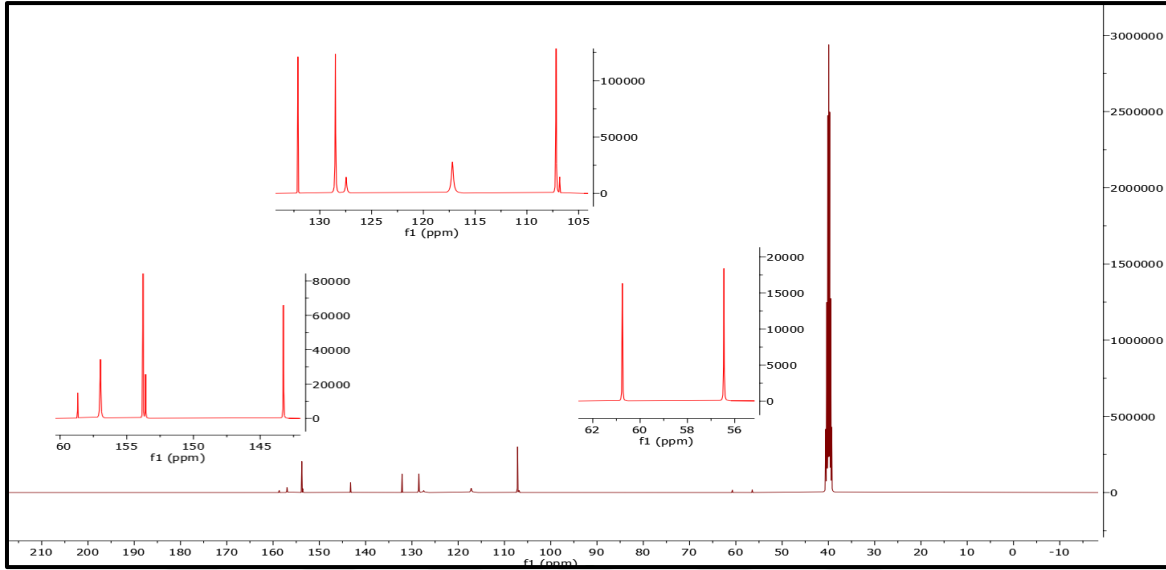
Schiff bazı bileşiğinin başarılı bir şekilde sentezlendiğine dair güçlü kanıtlar sunmakta ve önerilen yapıyı desteklemektedir.

¹H-NMR sonucu



Şekil 4.23. S3 bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu

S3 bileşiğinin ¹H-NMR analizi DMSO-*d*₆ ile yapılmıştır. Spektrum incelendiğinde, imin grubuna bağlı olan (-N=CH) (A) piki 9,88 ppm’de görülmektedir. NH₂’ye bağlı imin bağlı olan (-C=NH) (B) pik ise 8,53 ppm’de görülmektedir. 8,35 – 7,25 ppm iki aromatik halkaya ait altı protona karşılık gelen ve çoklu yarılmış pikler görülmektedir. (-NH) (D)’ya ait tek pik 1,90 ppm ve -NH₂(E) piki ise 6,95 ppm’de görülmektedir. Son olarak, aromatik halkaya bağlı (-OCH₃) protonlarına ait pik 3,82 ppm’ arasında görülmektedir [138].

^{13}C -NMR sonucuŞekil 4.24. S3 Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spektrumu

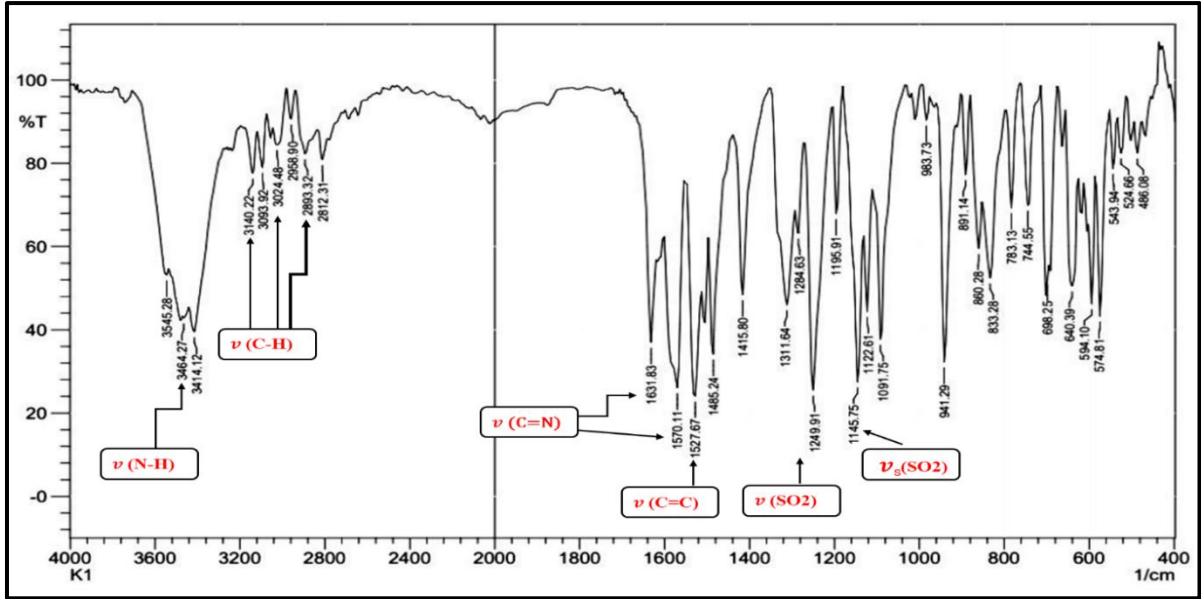
^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ , ppm): Bileşik S3'ün ^{13}C NMR spektrumu incelendiğinde, Oksijene bağlı (CH_3) karbonu 56,46, 60 ve 60,75 ppm, imin karbonu ($-\text{C}=\text{N}$) 158,68 ppm, NH_2 'ye bağlı ($-\text{C}=\text{NH}$) karbonu 156,89 ppm, ($=\text{N}-\text{C}=\text{C}$) karbonu 153,59 ppm ve ($-\text{C}-\text{O}$) karbonu 153,79 ppm'de görülmüştür. Aromatik halkalardaki diğer karbon atomlarına ait pikler ise genellikle 107-143 ppm aralığında görülmüştür.

4.1.7. 4-((4-fenoksi-benzilidene) amino)-N-(tiyazol-2-il)benzensülfonamid

Çizelge 4.13. K1 bileşiğinin yapısı ve fiziksel özellikleri

	Bileşik	K1
	Schiff baz	$\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}_2$
	M.K(g/mol)	435,52
	E.N.°C	124-126
	Renk	Turuncu
	%verim	27,44

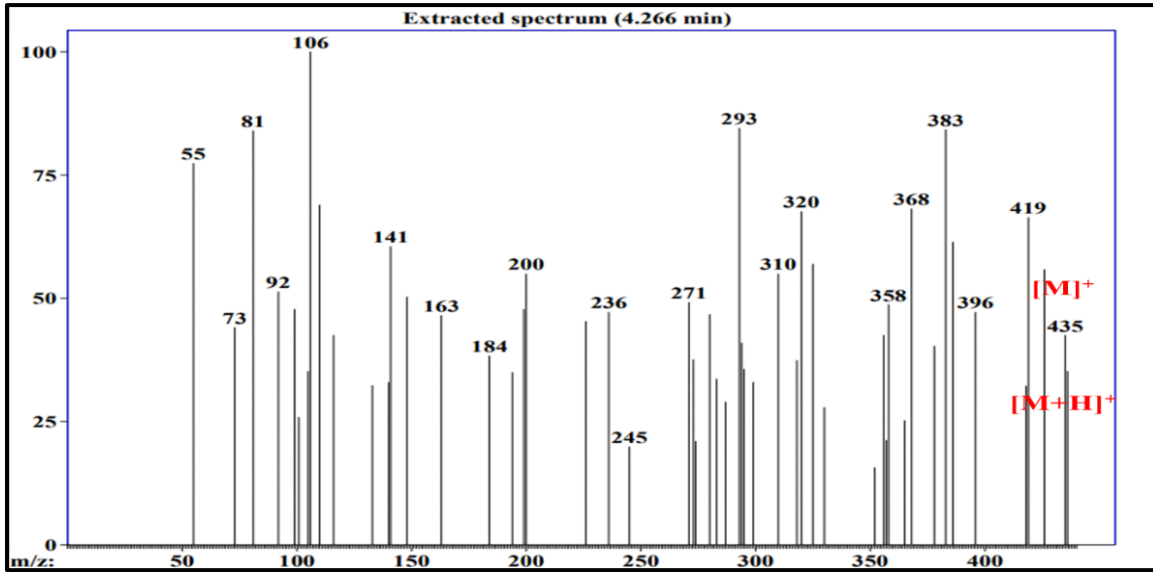
FT-IR sonucu



Şekil 4.25. K1 bileşiğinin FT-IR spektrumu

FT-IR spektrumu incelendiğinde, 3464 cm^{-1} 'deki band ise ikincil amin (NH) gerilmesine ait olduğunu göstermektedir. $3024\text{--}3140\text{ cm}^{-1}$ civarında aromatik (C-H) bağlarına ait bandlar bulunmaktadır. $2958\text{--}2893\text{ cm}^{-1}$ arasındaki pikler ise alifatik (C-H) bağlarına aittir. 1631 cm^{-1} 'deki pik ise imin (C=N) bağına karşılık gelmektedir. 1570 cm^{-1} , pentagonal halka içinde kükürtle bağlı olan imin (C=N) bağlarının gerilme titreşimine karşılık gelir. Aynı zamanda, $1527\text{--}1510\text{ cm}^{-1}$ aralığındaki pikler aromatik (C=C) titreşimlerini temsil etmektedir. Son olarak, 1311 cm^{-1} 'deki pik asimetrik (SO_2), 1249 cm^{-1} 'deki band ise simetrik (SO_2) ve 1145 cm^{-1} 'deki band ise (C-O) 'ye ait piklerdir.

GC-MS sonucu:



Şekil 4.26. K1 bileşiğinin GC-MS spektrumu

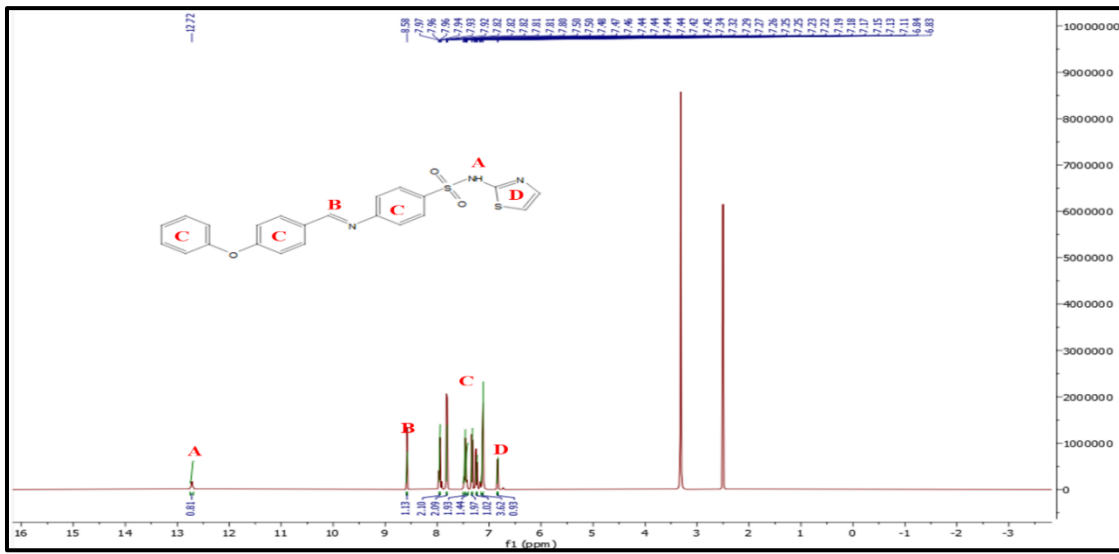
Çizelge 4.14. K1 bileşiğinin önerilen parçalanma modeli

m/z	Önerilen Parçalanma Modelini
55	$C_{22}H_{17}N_3O_3S_2^+ \rightarrow C_{18}H_{10}N_3O_3S_2^+ + C_4H_7^+$
81	$C_{22}H_{17}N_3O_3S_2^+ \rightarrow C_{16}H_{12}N_2O_3S_2^+ + C_6H_5N^+$
106	$C_{22}H_{17}N_3O_3S_2^+ \rightarrow C_{16}H_7N_2O_3S_2^+ + C_6H_{10}N^+$ Fragment: $C_6H_{12}N^+$ or $C_4H_6NO^+$
293	$C_{22}H_{17}N_3O_3S_2^+ \rightarrow C_{15}H_{13}N_3O_2S^+ + C_7H_4O$
368	$C_{22}H_{17}N_3O_3S_2^+ \rightarrow C_{21}H_{14}N_3O_2S^+ + CH_3$
383	$C_{22}H_{17}N_3O_3S_2^+ \rightarrow C_{22}H_{15}N_3O_2S^+ + NH_3$
419	$C_{22}H_{17}N_3O_3S_2^+ \rightarrow C_{22}H_{16}N_3O_3S^+ + H$
435	Moleküler İyon [M] ⁺ : $C_{22}H_{17}N_3O_3S_2^+$
436	Potansiyel Parçalanma: $C_{22}H_{18}N_3O_3S_2^+$ Bu, Moleküler İyon artı bir protonu temsil eder. [M+H] ⁺ .

K1'in Moleküler ağırlığı 435,52 g/mol dür. GC-MS spektrumu analizi sonucunda m/z 390'da gözlenen ve moleküler iyon pikine $[M+H]^+ = 436$ karşılık gelen pik, C3'ün önerilen yapısını doğrulamaktadır. m/z 55, 81, 106, 293, 368, 383 ve 419'daki gözlenen piklerin, Çizelge 1'de belirtilen bileşiğin önerilen parçalanma modeli ile uyumlu olduğu görülmüştür. Bu bulgular, Schiff bazı bileşiğinin başarılı bir şekilde sentezlendiğine dair güçlü kanıtlar sunmakta ve önerilen yapıyı desteklemektedir.

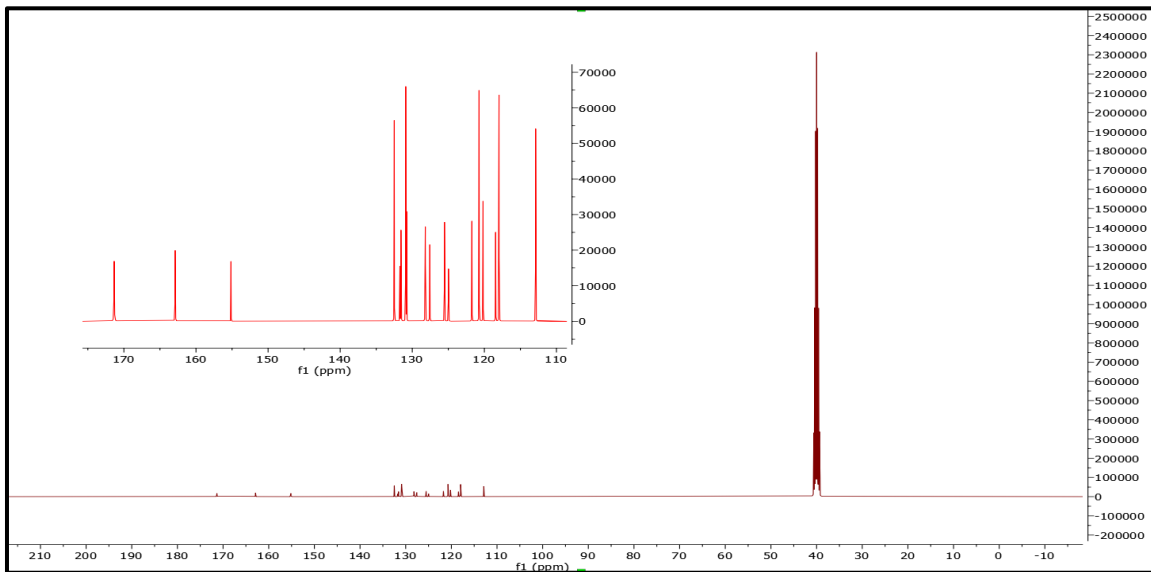
^1H -NMR sonucu

K1 bileşiğinin ^1H -NMR analizi DMSO- d_6 ile yapılmıştır. Spektrum incelendiğinde, (-NH) (A)'ye ait tek pik 12,72 ppm'de; imin grubuna bağlı olan (-N=CH) (B) piki ise 8,58 ppm'de görülmektedir. 7,95 – 7,14 ppm arasında, yapıda bulunan üç aromatik halkaya ait on üç protona karşılık gelen ve çoklu yarılmış pikler görülmektedir. Son olarak tiyazol halkadaki (D) 'ya ait çiftlik pik 6,83 ppm'de görülmektedir [135].



Şekil 4.27. K1 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu

^{13}C -NMR sonucu;

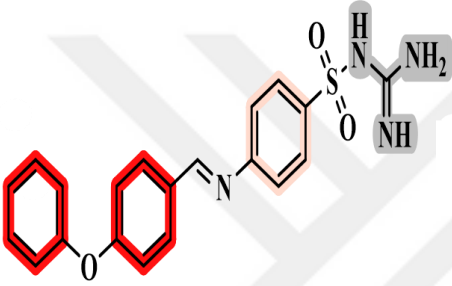


Şekil 4.28. K1 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu

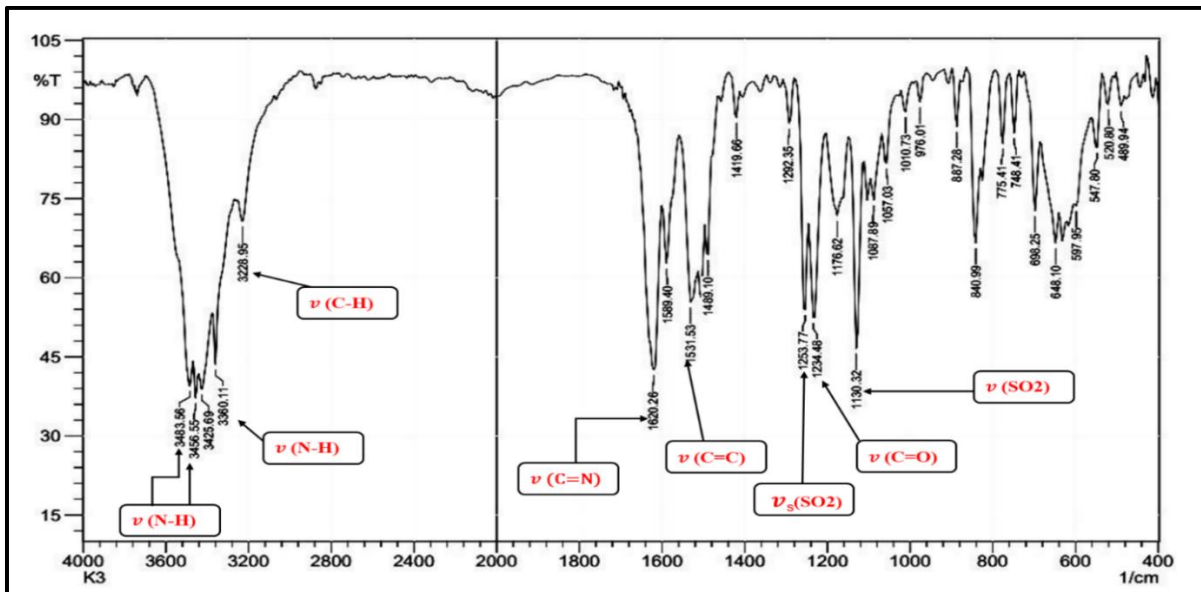
^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ , ppm): Bileşik K1'in ^{13}C NMR spektrumu incelendiğinde, tiyazol grubu ($-\text{C}=\text{N}$) 171,35 ppm, imin karbonu ($-\text{N}=\text{CH}-$) 162,85 ppm, oksidibenzen grubu ($-\text{C}-\text{O}$) 155,15 ppm, benzen grubu ($-\text{C}-\text{N}-$) 152,86 ppm, SO_2 ile bağlı ($-\text{C}=\text{C}$) karbonu 132,50 ppm'de görülmüştür. Aromatik halkalardaki diğer karbon atomlarına ait pikler ise genellikle 112-131,71 ppm aralığında görülmüştür.

4.1.8. N-karbamimidoyl-4-((4-fenoksi-benzilidene)amino)benzensülfonamid

Çizelge 4.15. K2 bileşiğinin yapısı ve fiziksel özellikleri

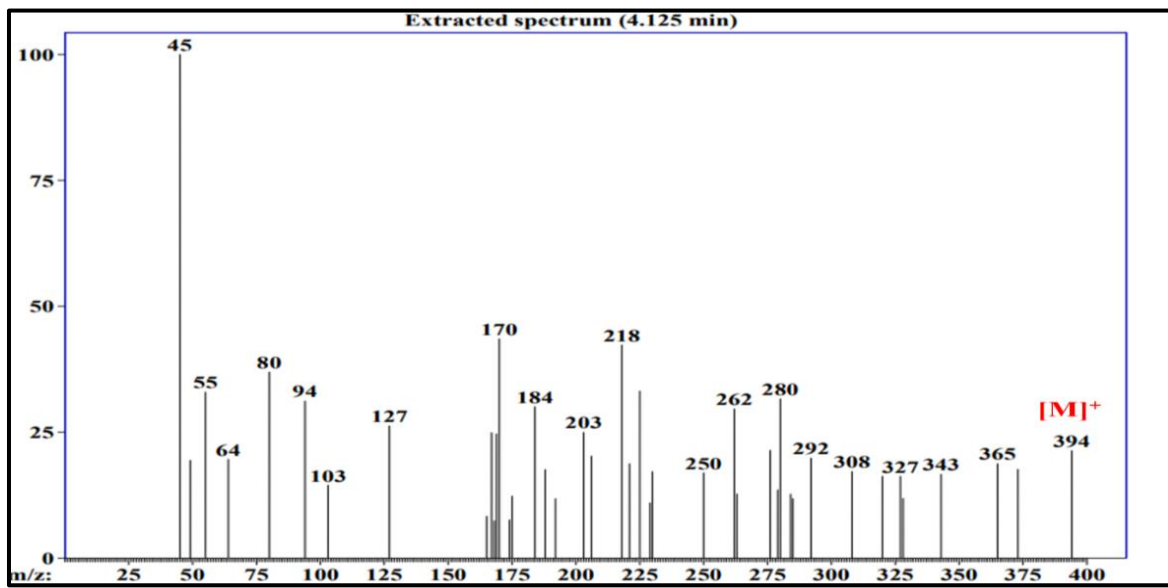
	Bileşik	K2
	Schiff baz	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$
	M.K(g/mol)	394,45
	E.N.°C	175-176
	Renk	Kirli beyaz 
	%verim	27,27

FT-IR sonucu



Şekil 4.29. K2 bileşiğinin FT-IR spektrumu

FT-IR spektrumu incelendiğinde, 3456 ve 3483 cm^{-1} 'deki band ise birincil amin (NH) gerilme ait olduğunu göstermektedir. 3425 cm^{-1} 'deki (OSO) yanındaki ikincil amin (NH) titreşimine ait olduğunu göstermektedir. 3360 cm^{-1} 'deki band ise ikincil amin (NH) titreşimine ait olduğunu göstermektedir. 3228 cm^{-1} civarında aromatik (C-H) bağlarına ait bandlar bulunmaktadır. 1620 cm^{-1} 'deki pik ise imin (C=N) bağına karşılık gelmektedir. Aynı zamanda, 1589-1531 cm^{-1} aralığındaki pikler aromatik (C=C) titreşimlerini temsil etmektedir. Son olarak, 1253 cm^{-1} 'deki pik asimetrik (SO_2), 1130 cm^{-1} 'deki band ise simetrik (SO_2) ve 1234 cm^{-1} 'deki band ise (C-O) 'ye ait piklerdir.



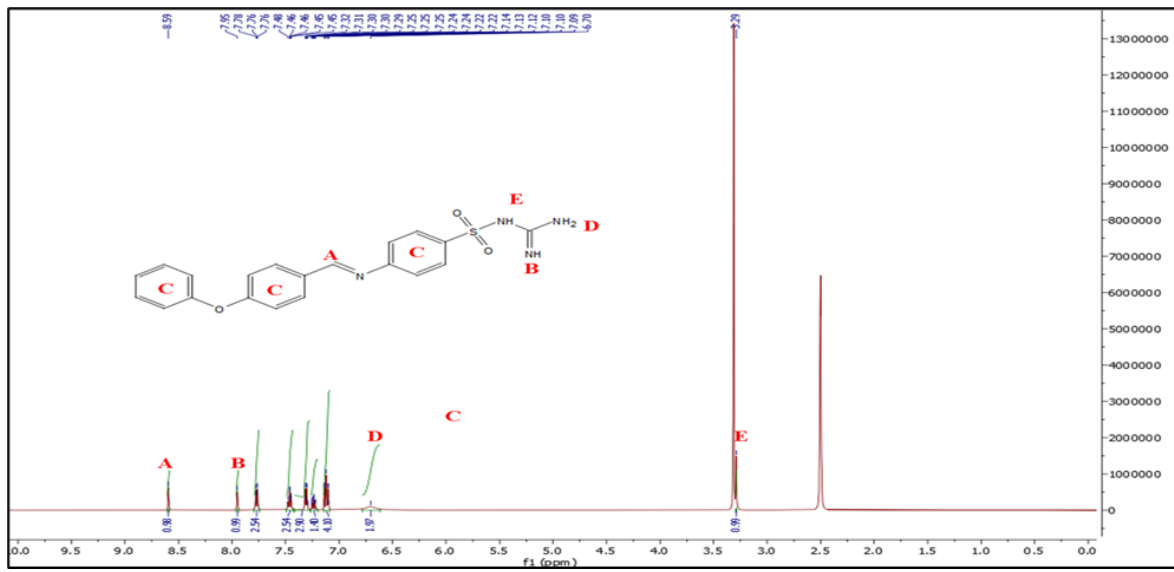
Şekil 4.30. K2 bileşiğinin GC-MS spektrumu

Çizelge 4.16. K2 bileşiğinin önerilen parçalanma modeli

m/z	Önerilen Parçalanma Modelini
45	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}^+ \rightarrow \text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{N}_4\text{O}_3\text{S} + [\text{CH}_3]^+$
80	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}^+ \rightarrow \text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{O}_3\text{S} + [\text{C}_6\text{H}_5\text{SO}_2]^+$
170	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}^+ \rightarrow \text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_2\text{S} + [\text{C}_6\text{H}_5\text{SO}_2\text{NH}]^+$
218	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}^+ \rightarrow \text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_3\text{S} + [\text{C}_6\text{H}_5\text{SO}_2\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}]^+$
262	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}^+ \rightarrow \text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3\text{S} + [\text{C}_6\text{H}_5\text{SO}_2\text{NHC}(\text{NH})\text{NHC}_6\text{H}_5]^+$
280	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}^+ \rightarrow \text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}_2\text{S} + [\text{C}_6\text{H}_5\text{SO}_2\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2]$
365	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}^+ \rightarrow [\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}]^+ + \text{C}_6\text{H}_6\text{SO}_2$
494	Moleküler İyon $[\text{M}]^+$: $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}^+$

K2'in Moleküler ağırlığı 394,47 g/mol dür. GC-MS spektrumu analizi sonucunda m/z 390'da gözlenen ve moleküler iyon pikine $[M]^+ = 394$ karşılık gelen pik, K2'in önerilen yapısını doğrulamaktadır. m/z 45, 80, 170, 218, 262, 280 ve 365'taki gözlenen piklerin, Çizelge 1'de belirtilen bileşiğin önerilen parçalanma modeli ile uyumlu olduğu görülmüştür. Bu bulgular, Schiff bazı bileşiğinin başarılı bir şekilde sentezlendiğine dair güçlü kanıtlar sunmakta ve önerilen yapıyı desteklemektedir.

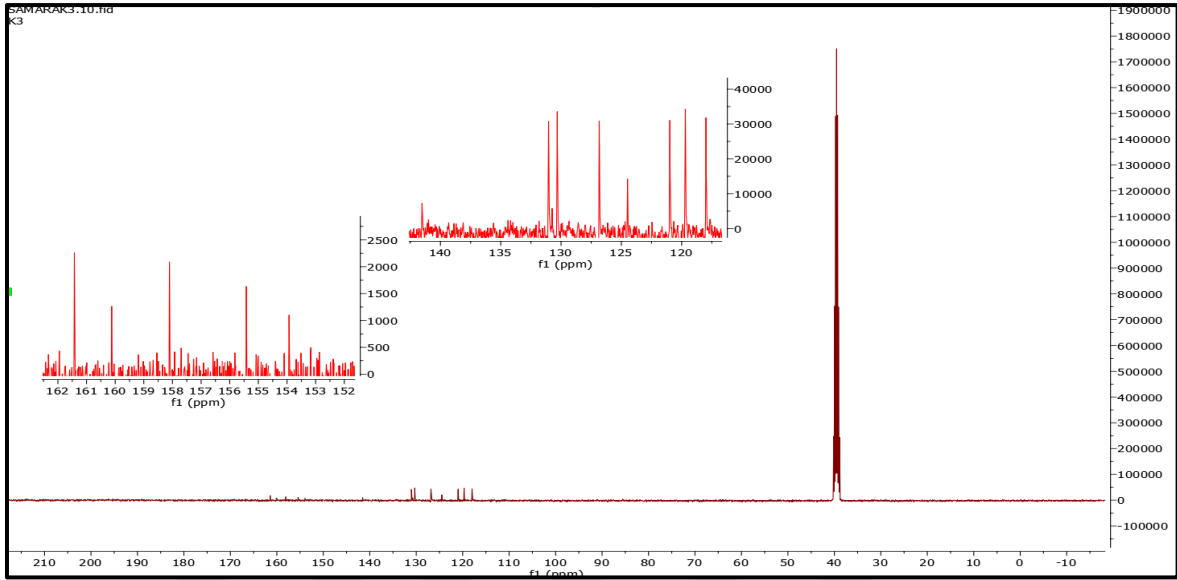
^1H -NMR sonucu



Şekil 4.31. K2 bileşiğinin H-NMR spektrumu

K2 bileşiğinin ^1H -NMR analizi DMSO- d_6 ile yapılmıştır. Spektrum incelendiğinde, imin grubuna bağlı olan ($-\text{N}=\text{CH}$) (B) piki ise 8,59 ppm'de görülmektedir. NH_2 'ye bağlı imin grubu bağlı olan ($-\text{C}=\text{NH}$) 'ya ait tek pik 7,96 ppm'de görülmektedir. 7,77-7,12 ppm arasında, yapıda bulunan üç aromatik halkaya ait on üç protona karşılık gelen ve çoklu yarılmış pikler görülmektedir. Son olarak ($-\text{NH}_2$) (E)'ya ait tek pik 6,70 ppm'da ve ($-\text{NH}$) (F)'ye ait tek pik ise 3,29 ppm'de görülmektedir.

^{13}C -NMR sonucu



Şekil 4.32. K2 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , δ , ppm): Bileşik K2'nin ^{13}C NMR spektrumu incelendiğinde, imin karbonu ($-\text{N}=\text{CH}-$) 161,89 ppm, NH_2 'ye bağlı ($-\text{C}=\text{NH}$) karbonu 160,59 ppm, oksidibenzen grubu ($-\text{C}-\text{O}$) 158,57 ppm, benzen grubu ($-\text{C}-\text{N}-$) 155,89 ppm ve imine bağlı ($-\text{C}=\text{C}$) karbonu 154,40 ppm'de görülmüştür. Aromatik halkalardaki diğer karbon atomlarına ait pikler ise genellikle 118-140,99 ppm aralığında görülmüştür.

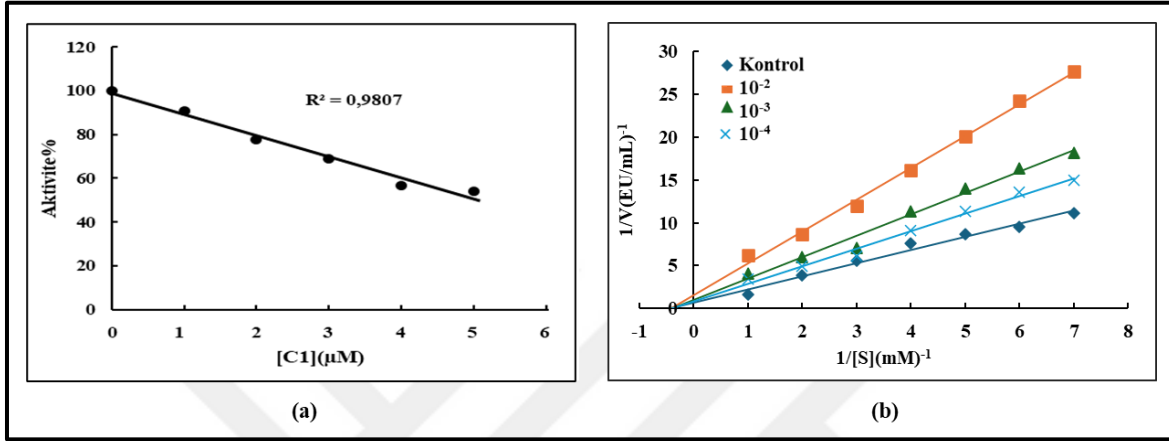
Çizelge 4.17. Sentezlenen Schiff bazları ve bazı fiziksel özellikleri

Kod.	Schiff baz	M.K(g/mol)	E.N.°C	Renk	%verim
C1	$\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}_3$	389,51	115-117	Turuncu-kahverengi	33,76
C2	$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2$	348,44	242-244	Açık sarı	62,5
C3	$\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2$	384,47	280-282	Açık sarı	94,25
S1	$\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}_2$	433,50	104-105	Karamel kahve	53,91
S2	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$	428,46	236-238	Tuğla rengi	27,26
S3	$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$	392,43	84-86	Pembe-tuğla	50,90
K1	$\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}_2$	435,52	124	Turuncu	27,44
K2	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$	394,45	175-176	Kirli beyaz	27,27

4.2. Sentezlenen Bileşiklerin Kolinesteraz (AChE ve BChE) Enzim Aktiviteleri

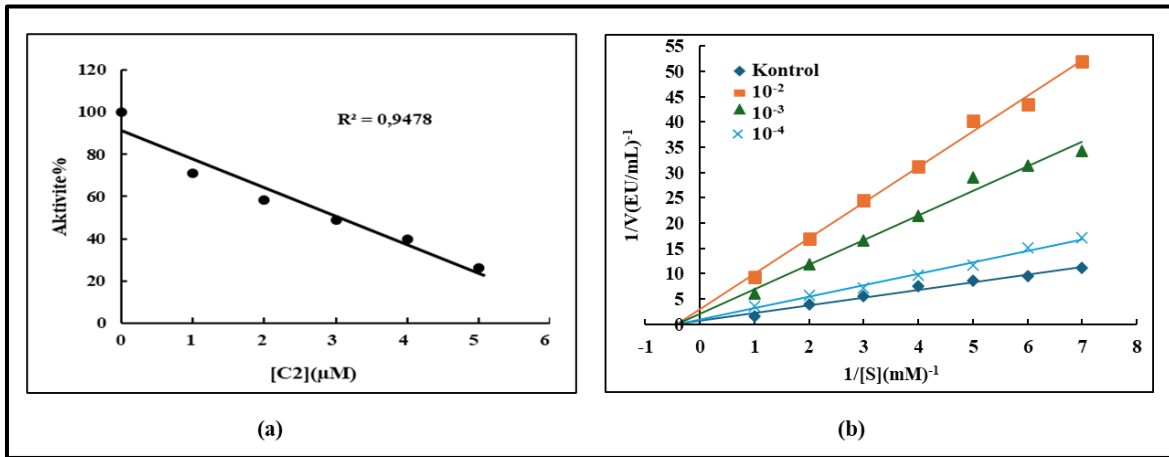
4.2.1. AChE enzim inhibisyon sonuçları

C1 bileşiğinin AChE üzerine inhibisyon çalışmaları



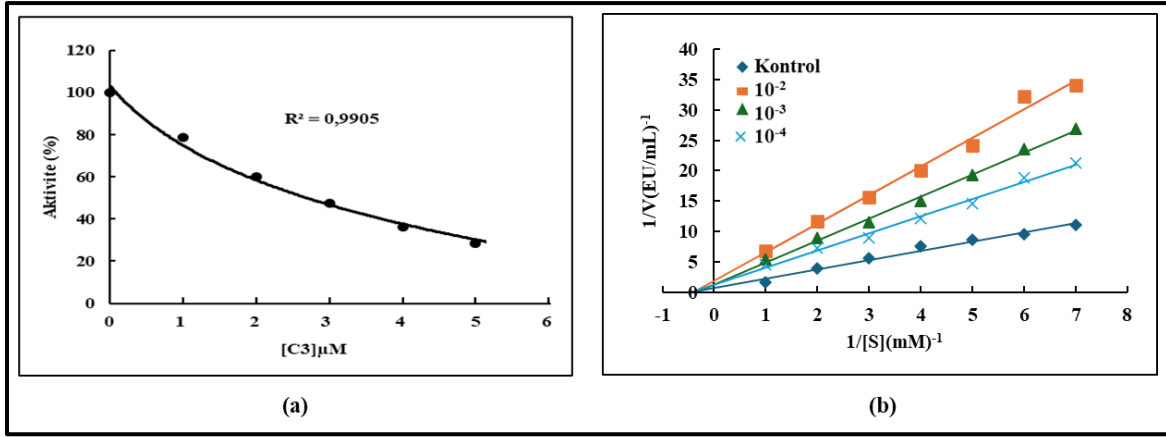
Şekil 4.33. a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (C1) derişiminde çizilen % aktivite grafiğı b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (C1) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

C2 bileşiğinin AChE üzerine inhibisyon çalışmaları



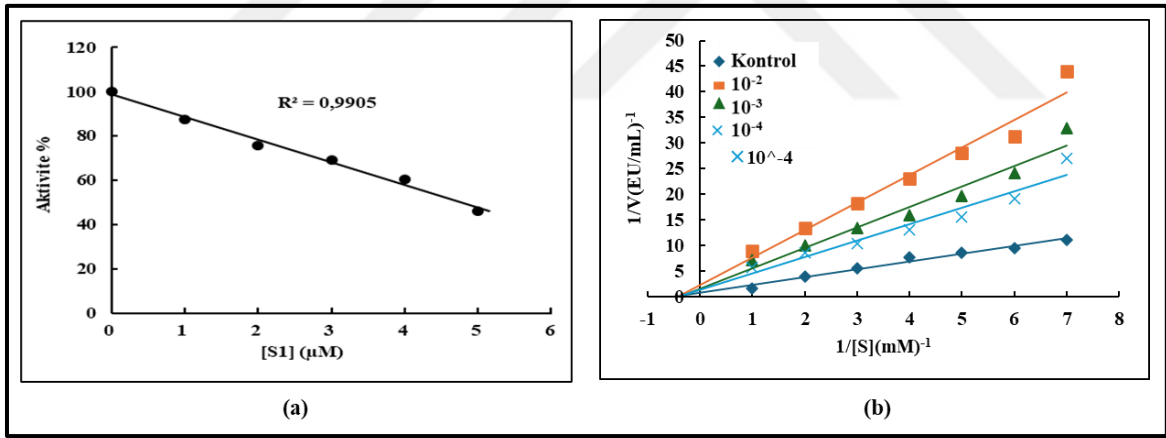
Şekil 4.34. a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (C2) derişiminde çizilen % aktivite grafiğı b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (C2) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

C3 bileşiğinin AChE üzerine inhibisyon çalışmaları



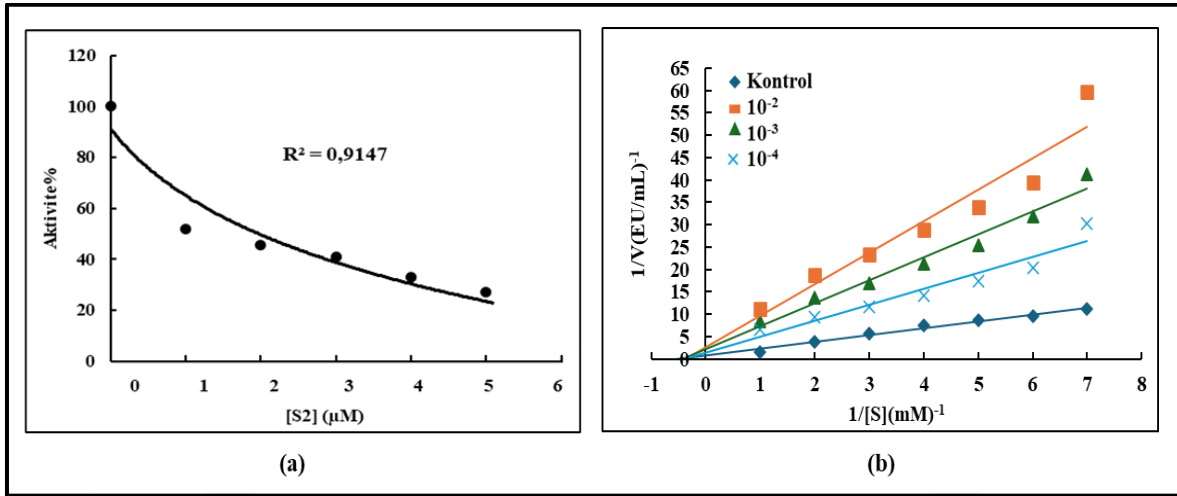
Şekil 4.35. a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (C3) derişiminde çizilen % aktivite grafiği b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (C3) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiği

S1 bileşiğinin AChE üzerine inhibisyon çalışmaları



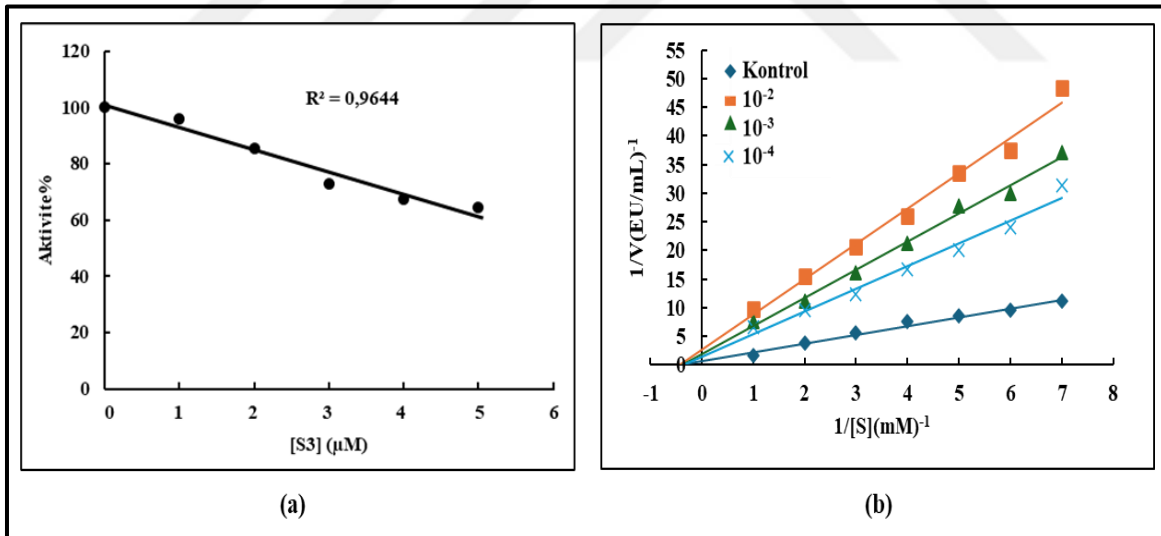
Şekil 4.36. a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (S1) derişiminde çizilen % Aktivite grafiği b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (S1) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiği

S2 bileşiğinin AChE üzerine inhibisyon çalışmaları



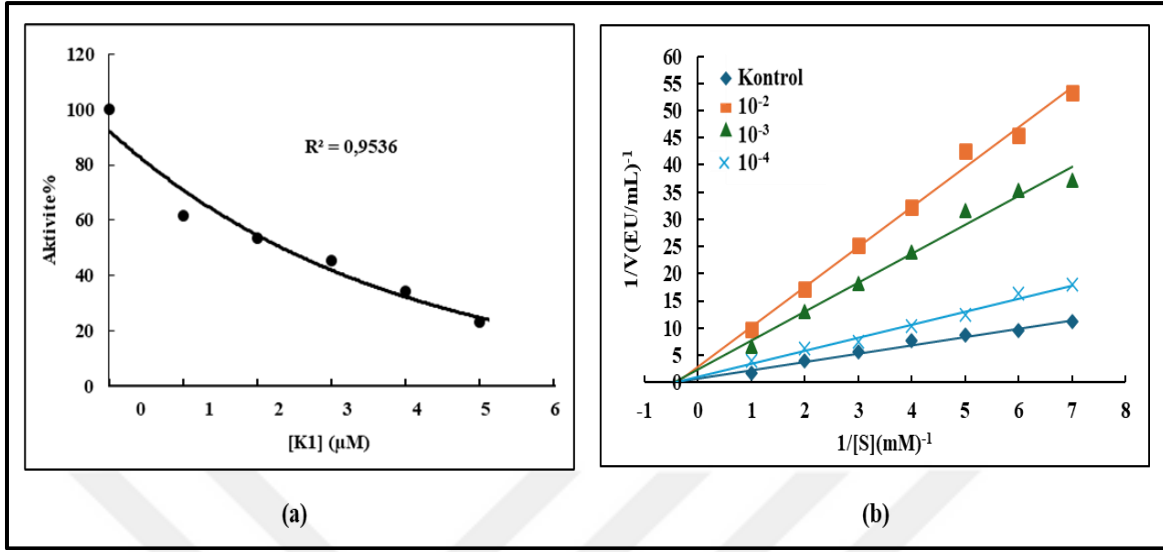
Şekil 4.37. a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (S2) derişiminde çizilen % aktivite grafiği b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (S2) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiği

S3 bileşiğinin AChE üzerine inhibisyon çalışmaları



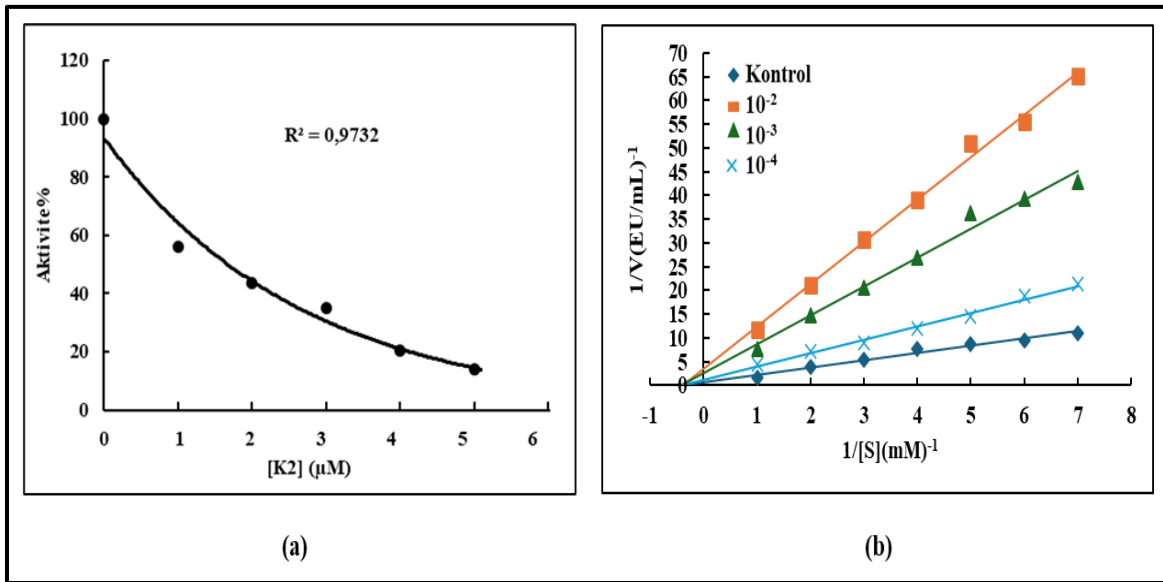
Şekil 4.38. a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (S3) derişiminde çizilen % aktivite grafiği b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (S3) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiği

K1 bileşiminin AChE üzerine inhibisyon çalışmaları



Şekil 4.39. a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (K1) derişiminde çizilen % aktivite grafiğı b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (K1) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

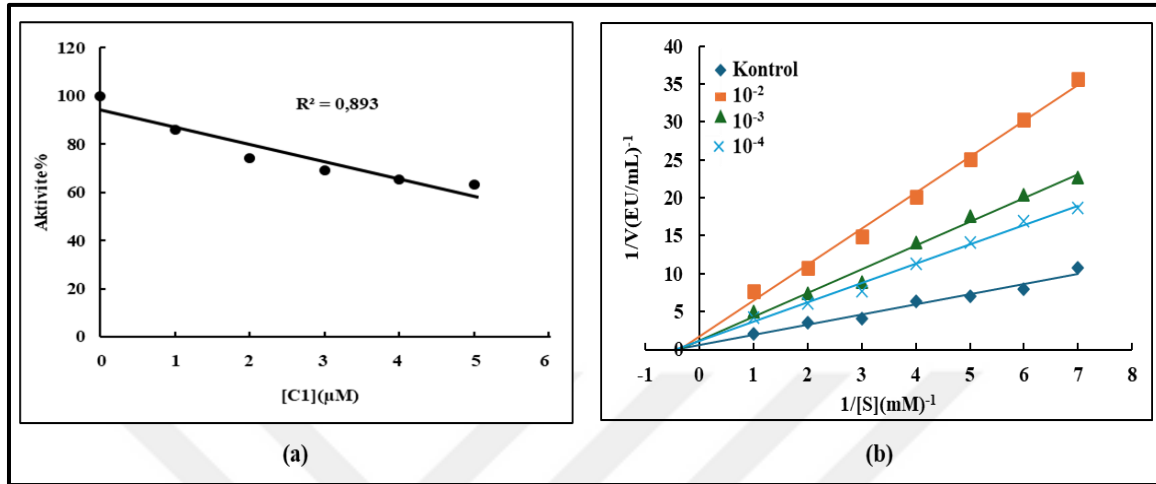
K2 bileşiminin AChE üzerine inhibisyon çalışmaları



Şekil 4.40. a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (K2) derişiminde çizilen % aktivite grafiğı b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (K2) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

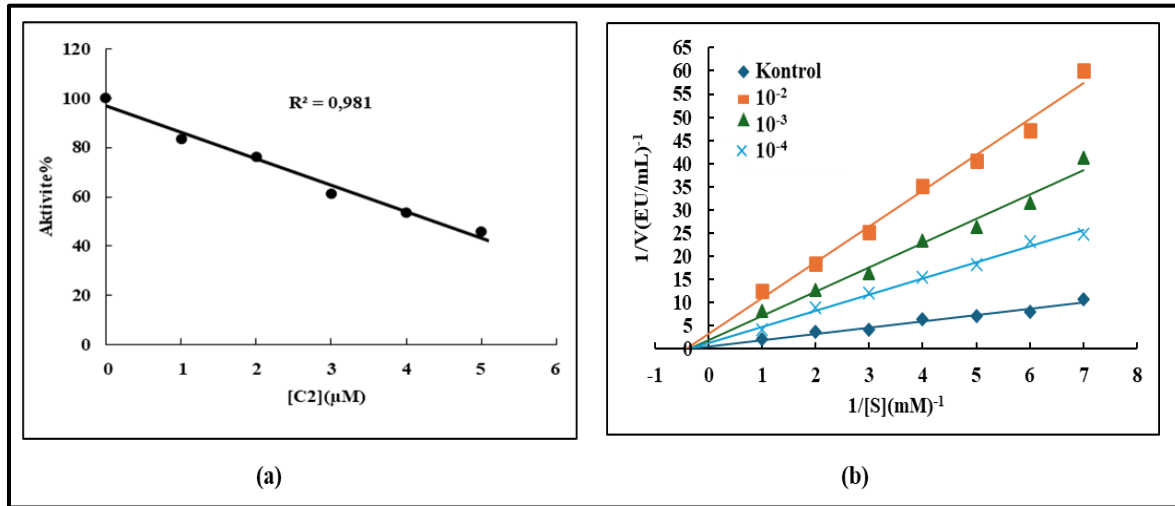
4.2.2. BChE enzim inhibisyon sonuçları

C1 bileşiğinin BChE üzerine inhibisyon çalışmaları



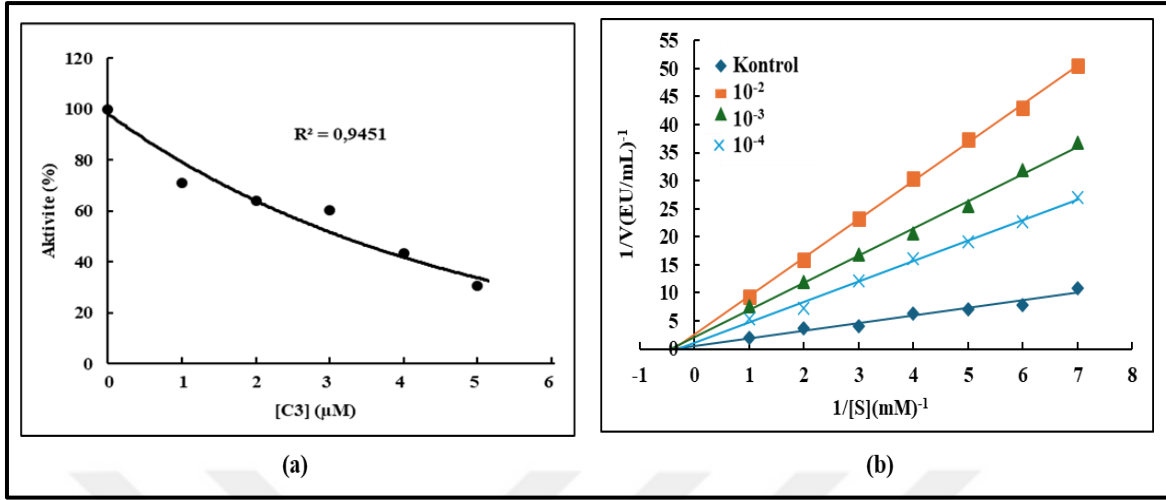
Şekil 4.41. a) Bütirilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (C1) derişiminde çizilen % aktivite grafiğı b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (C1) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.

C2 bileşiğinin BChE üzerine inhibisyon çalışmaları



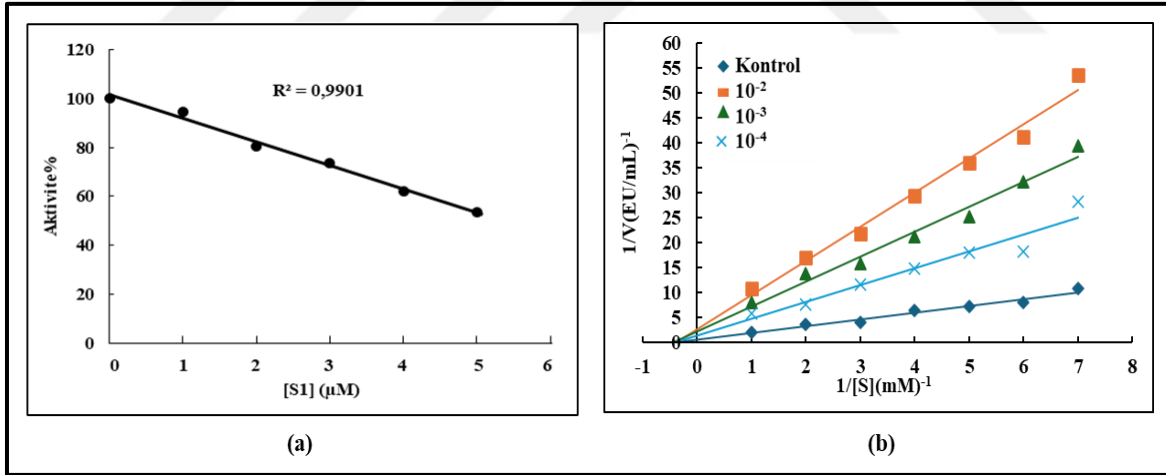
Şekil 4.42. a) Bütirilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (C2) derişiminde çizilen % aktivite grafiğı b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (C2) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

C3 bileşiğinin BChE üzerine inhibisyon çalışmaları



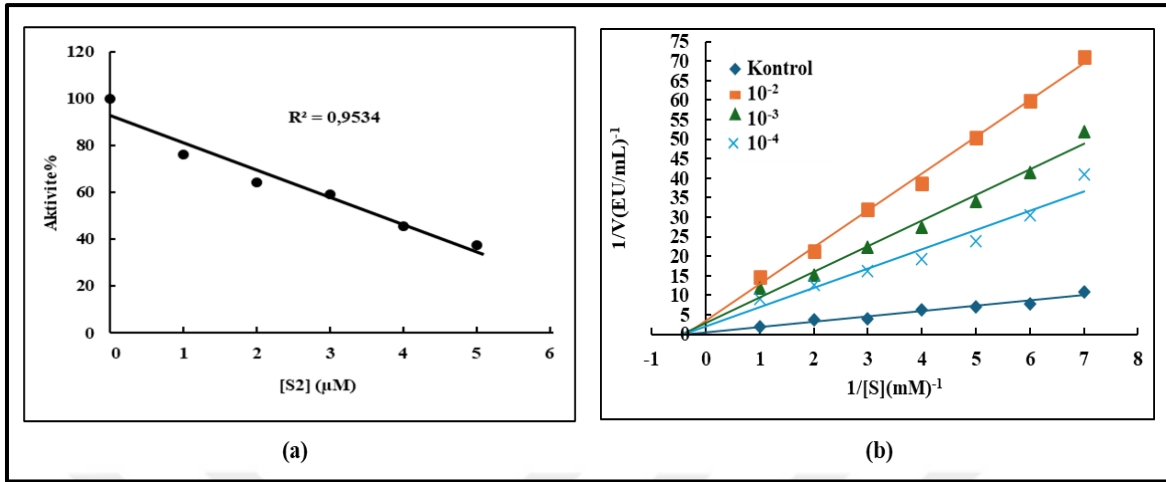
Şekil 4.43. a) Bütirilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (C3) derişiminde çizilen % aktivite grafiği b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (C3) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiği

S1 bileşiğinin BChE üzerine inhibisyon çalışmaları



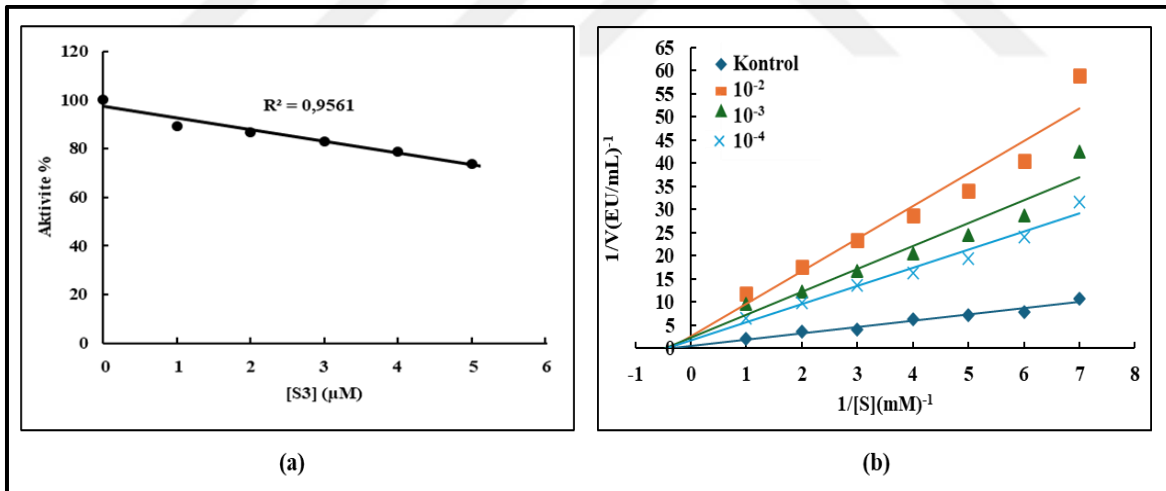
Şekil 4.44. a) Bütirilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (S1) derişiminde çizilen % aktivite grafiği b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (S1) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiği

S2 bileşiğinin BChE üzerine inhibisyon çalışmaları



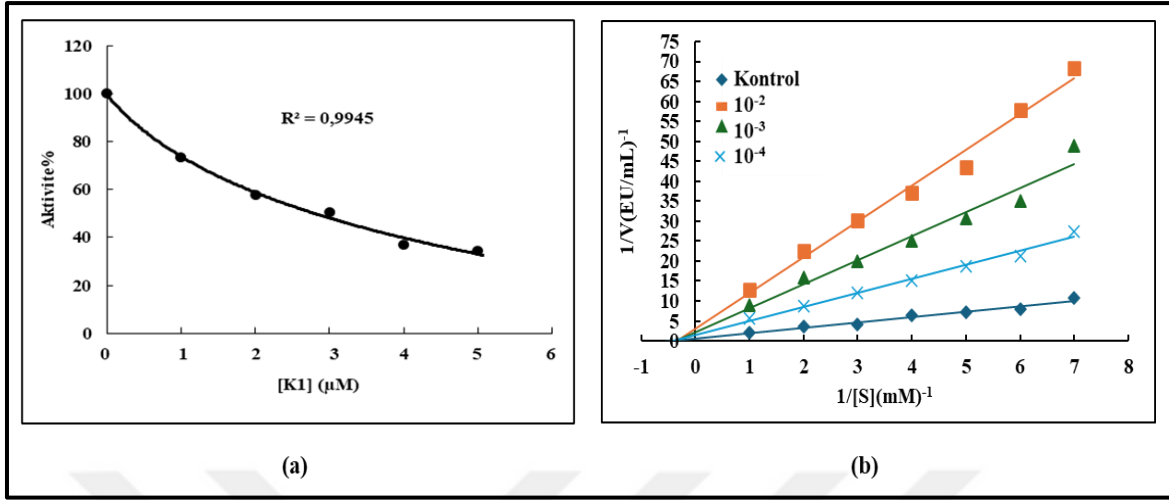
Şekil 4.45. a) Bütirilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (S2) derişiminde çizilen % aktivite grafiğı b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (S2) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

S3 bileşiğinin AChE üzerine inhibisyon çalışmaları



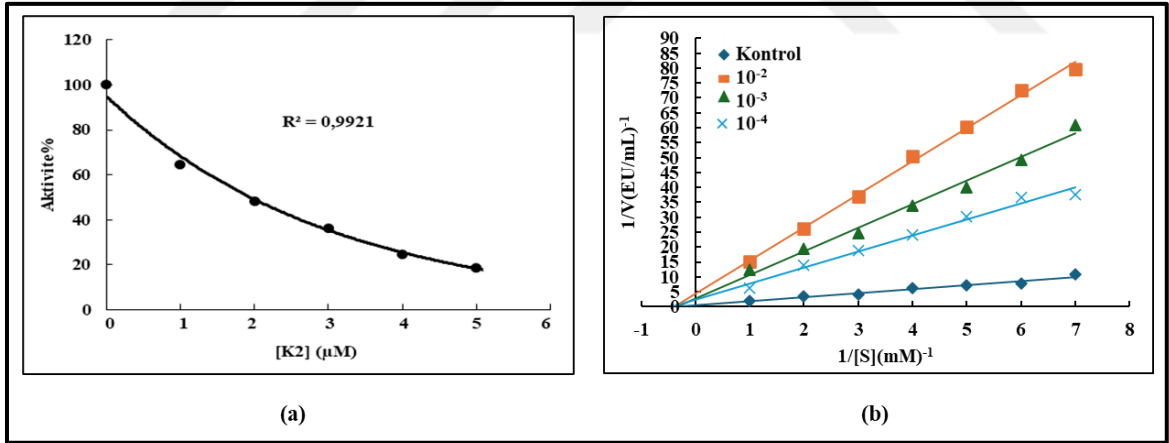
Şekil 4.46. a) Bütirilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (S3) derişiminde çizilen % aktivite grafiğı b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (S3) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

K1 bileşiğinin BChE üzerine inhibisyon çalışmaları



Şekil 4.47. a) Bütirilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (K1) derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (K1) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

K2 bileşiğinin BChE üzerine inhibisyon çalışmaları



Şekil 4.48. a) Bütirilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör (K2) derişiminde çizilen % aktivite grafiğı b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 7 farklı substrat derişimi ve 3 farklı (K2) derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

Çizelge 4.18. Asetilkolinesteraz enzimi inhibisyon hesaplanan Ki ve IC₅₀ değerleri (Ki değerleri ortalama olarak verilmiştir)

Asetilkolinesteraz					
	C1	C2	C3	S1	S2
IC ₅₀ (μM)	6,0597±0,2608	4,0397±0,3697	3,6913±0,38590	5,7720±0,2734	2,9713±0,3726
R ²	0,9807	0,9478	0,9905	0,9905	0,9147
Ki (μM)	2,3789 ±0,1049	2,3560 ±0,0525	2,5378 ± 0,1588	2,3861± 0,0551	2,5019±0,2076
İnhibisyon	Yarışmasız	Yarışmasız	Yarışmasız	Yarışmasız	Yarışmasız
	S3	K1	K2	Donepezil.HCl	
IC ₅₀ (μM)	7,4365±0,2139	3,3262±0,3806	2,6742±0,4421	0,0107±0,025 [118]	
R ²	0,9644	0,9536	0,9732		
Ki (μM)	2,5238± 0,2992	2,3681±0,1290	2,3882 ± 0,0900		
İnhibisyon	Yarışmasız	Yarışmasız	Yarışmasız		

Çizelge 4.19. Bütirilkolinesteraz enzimi inhibisyon hesaplanan Ki ve IC₅₀ değerleri (Ki değerleri ortalama olarak verilmiştir)

Bütirilkolinesteraz					
	C1	C2	C3	S1	S2
IC ₅₀ (μM)	7,1770±0,1583	5,3694±0,2270	4,1501±0,3801	6,3405±0,2029	4,6797±0,2507
R ²	0,8930	0,9810	0,9451	0,9901	0,9534
Ki (μM)	2,5337±0,2523	2,5660±0,2076	2,7709±0,6103	2,4879±0,1532	2,5060±0,2582
İnhibisyon	Yarışmasız	Yarışmasız	Yarışmasız	Yarışmasız	Yarışmasız
	S3	K1	K2	Donepezil.HCl	
IC ₅₀ (μM)	10,8658±0,10263	3,8037±0,2690	2,9442±0,336376	2,55±0,10 [118]	
R ²	0,9561	0,9945	0,9921		
Ki (mM)	2,4601±0,3112	2,5561±0,3527	2,4312±0,2421		
İnhibisyon	Yarışmasız	Yarışmasız	Yarışmasız		

4.3. In Vitro Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Sentezlenen bileşiklerin antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri laboratuvar ortamında iki Gram-negatif suş (*Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853), iki Gram-pozitif suş (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Enterococcus faecalis* ATCC 29212), ve üç *Candida* maya suşuna (*Candida albicans* ATCC 10231, *Candida*

kruseiat ATCC 6258 ve *Candida glabrata* ATCC 90030) karşı ölçüldü. Bileşiklerin antimikrobiyal ve antifungal aktivitesini test etmek için agar difüzyon yöntemi kullanıldı. İnhibisyon zon çapı ölçülerek bileşiklerin antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri değerlendirildi. Bileşiklerin antibakteriyel ve antifungal aktivite sonuçları Çizelge (4.20 ve 4.21)'de verilmiştir. Daha sonra tüm bileşiklerin ZİÇ (Zona İnhibisyon Çapı) değerleri grafikler halinde Şekil (4.49 ve 4.50)'da verilmiştir.

Antibakteriyel aktivite çalışmalarında Agar Difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Kullanılan bileşikler arasında K2 en güçlü antibakteriyel madde olarak ön plana çıkmış ve hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakterilerle mükemmel bir şekilde etki göstermiştir. K2'nin etkinliği özellikle daha yüksek derişimlerde referans ilaç sülfaguanidine göre eşdeğer veya daha iyi olduğu gözlenmiştir. C1-C3 ve S1-S3 bileşikler ise özellikle Gram-negatif suşlar olan *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli*'ye karşı iyi ve orta düzeyde antibakteriyel aktivite göstermiştir. Sonuçlar, özellikle K2 bileşiği ile bu yeni sentezlenmiş bileşiklerin etkin antibakteriyel ajanlar olarak geliştirilme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Sentezlenmiş bileşikler genel olarak Gram-negatif bakterilere (örneğin *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli*), Gram-pozitif bakterilere (*Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus faecalis*'e kıyasla daha yüksek bir etkinlik Göstermiştir.

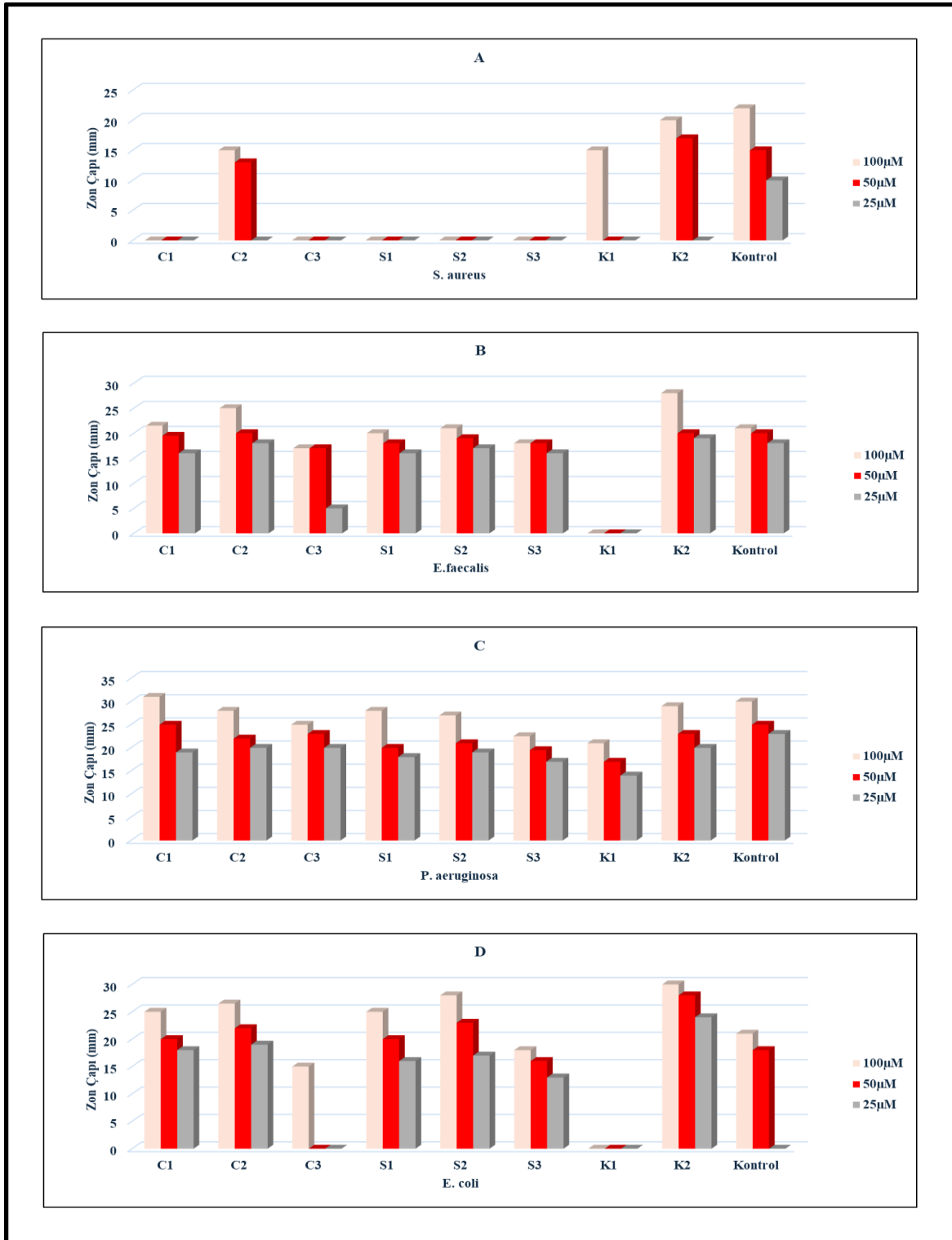
Flukonazol standart ilaç olarak çoğu *Candida* türüne karşı en yüksek inhibitör kapasitesine sahip standart bir ilaç olmasına rağmen K2 ve K1 bazı durumlarda benzer veya daha iyi sonuçlar vermiştir. Bu durum özellikle *Candida albicans* ve *Candida glabrata* için geçerlidir ve K2'nin flukonazolden daha iyi performans göstermesi önemli bir bulgu olarak öne çıkarılmış bulunmaktadır. K1 ve K2 geniş bir antifungal aktiviteye sahip en güçlü adaylar olarak değer görürken S2 ise daha düşük seviyede olmasına rağmen dikkate değer bir inhibisyon potansiyeli göstermiş ve ek araştırmalar gerektiren bir bileşik olarak değerlendirilmiştir. Ancak C1, C2, C3, S1 ve S3, zayıf etkinlikleri nedeniyle antifungal ilaç geliştirme süreçlerinde daha az ilgi çekici adaylar olarak düşünülmektedir.

Çizelge 4.20. Sentezlenmiş bileşiklerin antibakteriyel etkilerinin agar difüzyon ile belirlenen aktivite değeri (mm cinsinden ZİÇ değeri)

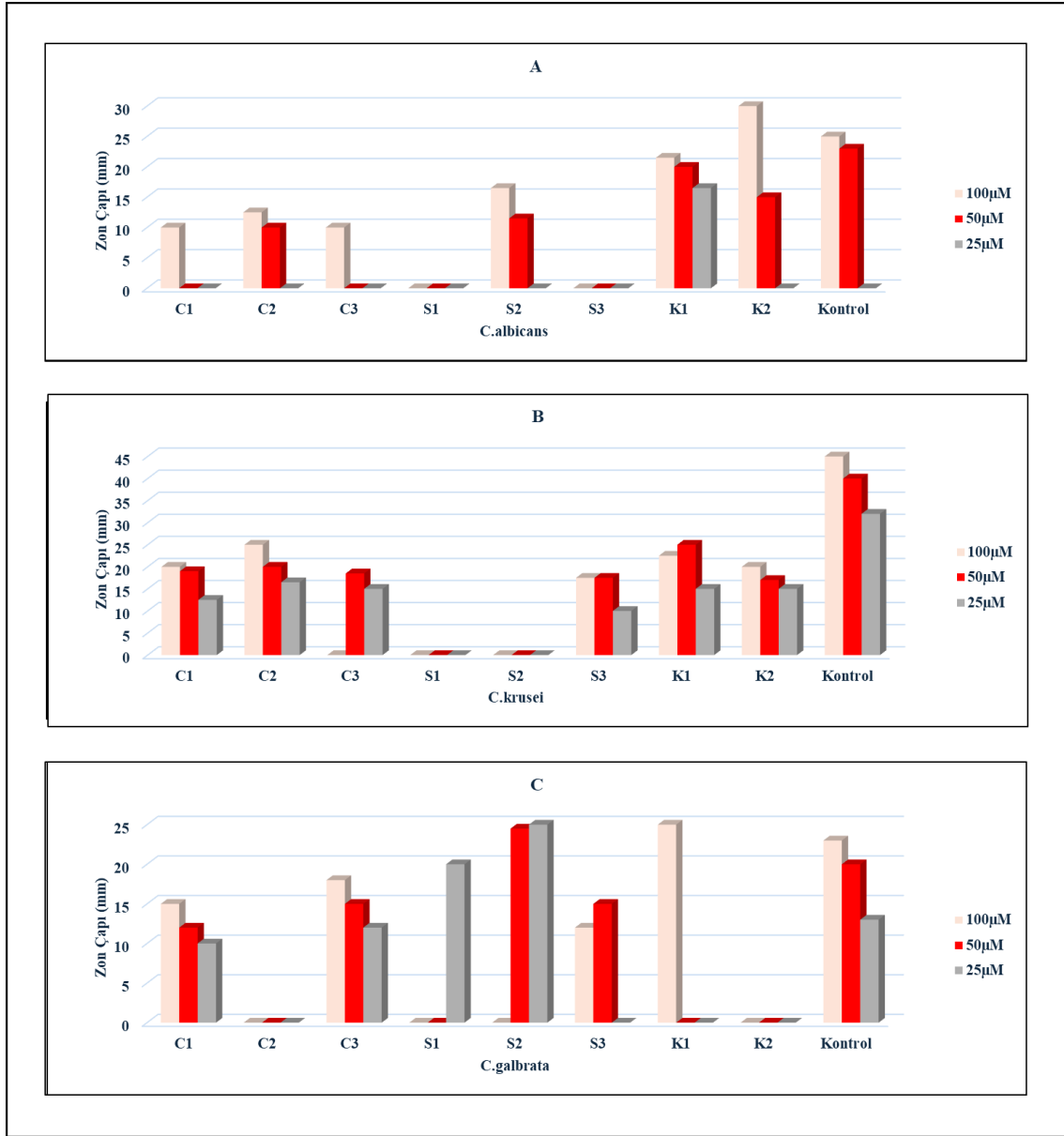
Bileşikler	Antibakteriyel Aktivite (ZİÇ, mm)					
	Gram pozitif bakteriler					
	S. aureus			E. faecail		
	100µM	50µM	25µM	100µM	50µM	25µM
C1	0	0	0	21,5	19,5	16
C2	15	13	0	25	20	18
C3	0	0	0	17	14	5
S1	0	0	0	20	18	16
S2	0	0	0	21	19	17
S3	0	0	0	18	18	16
K1	15	0	0	0	0	0
K2	20	17	0	28	20	19
Kontrol	22	15	10	21	20	18
Bileşikler	Gram negatif bakteriler					
	P. Aeruginosa			E. coli		
	100µM	50µM	25µM	100µM	50µM	25µM
C1	31	25	19	25	20	18
C2	28	22	20	26,5	22	19
C3	25	23	20	15	0	0
S1	28	20	18	25	20	16
S2	27	21	19	28	23	17
S3	22,5	19,5	17	18	16	13
K1	21	17	14	0	0	0
K2	29	23	20	30	28	24
Kontrol	30	25	23	21	18	0

Çizelge 4.21. Sentezlenmiş bileşiklerin antifungal etkilerinin agar difüzyon ile belirlenen aktivite değeri (mm cinsinden ZİÇ değeri)

Bileşiklerin	Antifungal Aktivite (ZİÇ, mm)								
	Candida maya suşları								
	C. albicans (ATCC 10231)			C. krusei (ATCC 6258)			Candida glabrata (ATCC 90030)		
	100 μM	50 μM	25 μM	100 μM	50 μM	25 μM	100 μM	50 μM	25 μM
C1	10	0	0	20	19	12,5	15	12	10
C2	12,5	10	0	25	20	16,5	0	0	0
C3	10	0	0	0	18,5	15	18	15	12
S1	0	0	0	0	0	0	0	0	20
S2	16,5	11,5	0	0	0	0	0	24,5	25
S3	0	0	0	17,5	17,5	10	12	15	0
K1	21,5	20	16,5	22,5	25	15	25	0	0
K2	30	15	0	20	17	15	0	0	0
Kontrol	25	23	0	45	40	32	23	20	13



Şekil 4.49. Sentezlenen bileşiklerin antibakteriyel aktiviteleri



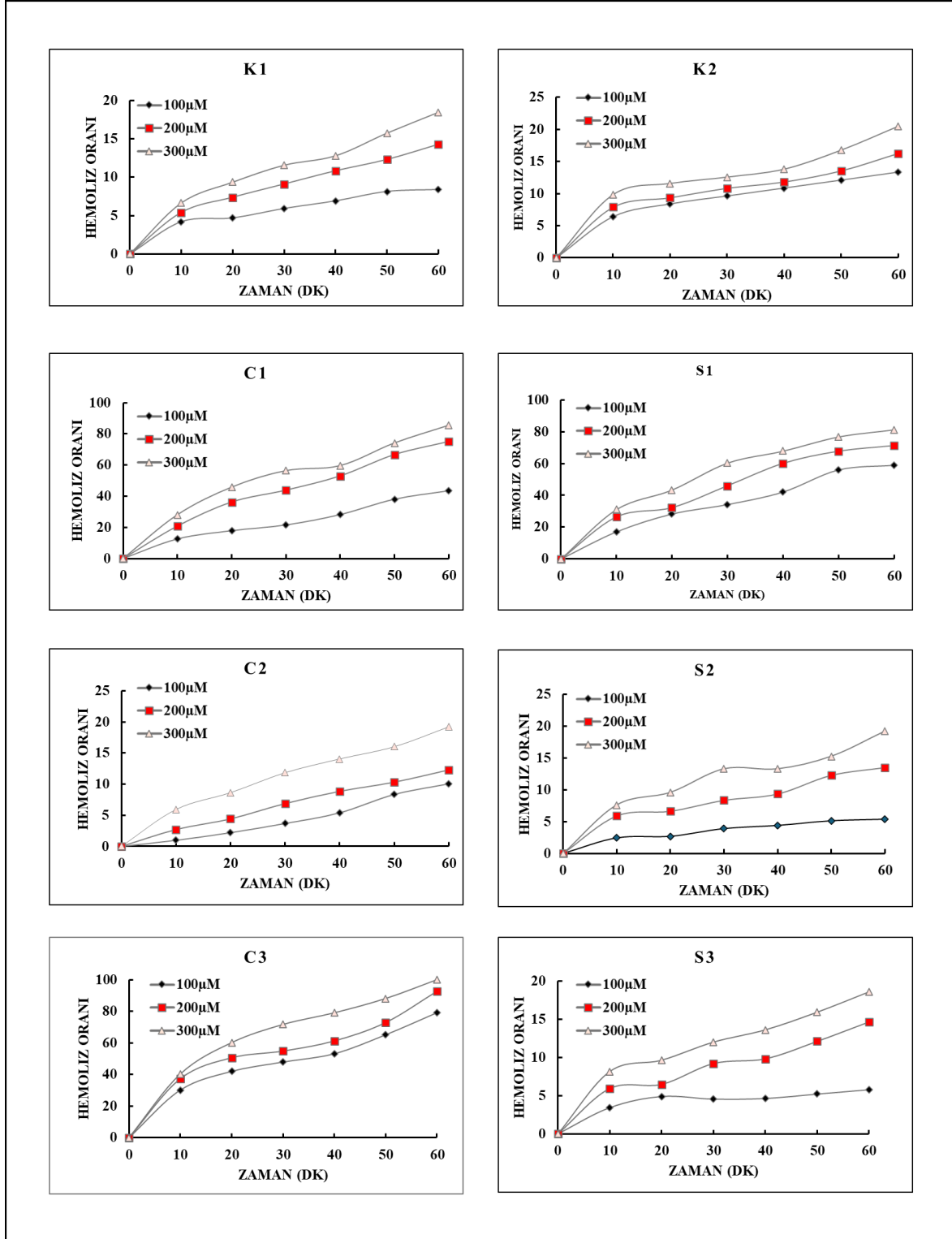
Şekil 4.50. Sentezlenen bileşiklerin antifungal aktiviteleri

4.4. Bileşiklerin Sitotoksik Aktivite Sonuçları

Şekil 4.51. de bileşiklerin (örneğin K1, K2, C1, C2, C3, S1, S2 ve S3), çeşitli derişimlerde (100 μM, 200 μM, 300 μM) 60 dakikalık süre boyunca hemoliz oranları görülmektedir. Her bileşiğin hemoliz oranları arasında belirgin sitotoksositeye ilişkin önemli farklılıklar gözlenmiştir

K1 bileşiğinde hemoliz oranları zamanla düzenli olarak artış göstermektedir; 100 μM derişimdeki hemoliz oranı 10 dakikada %4,19 iken 60 dakikada %8,37'ye çıkmaktadır. Benzer bir oran 200 μM derişimde de görülmekte olup hemoliz 60 dakikanın sonunda

sırasıyla %14,29 ve %18,47 çıkmaktadır. K2'nin hemoliz oranı K1'e göre yüksek başlangıç oranlarına sahiptir: 100 μ M'deki hemoliz oranı başlangıçta %6,40 olarak ölçülmüş ve 60 dakika sonra %13,30'e çıkarak devam etmiştir. Daha yüksek yoğunluklarda ise hemoliz oranları daha belirgin bir şekilde artış göstermektedir; 200 μ M'deki hemoliz oranı %16,26'yı aşarken 300 μ M'deki oran ise %20,44'ün üzerine çıkmıştır. C1 bileşiğinin hemolitik etkinliği oldukça hızlı bir şekilde artarak %12,56'dan 60 dakikalık süre sonunda %43,50'ye yükselir. 300 μ M derişiminde etki daha da belirgin hale gelir ve sonunda %85,47'ye ulaşır. Tersine C2'nin hemoliz oranı C1'e kıyasla daha düşüktür. 100 μ M'deki hemoliz %0,98 ile başlayıp 60 dakika sonra %10,10'a yükselir. Daha yüksek derişimlerle birlikte hemoliz oranları artar; 200 μ M'deki hemoliz oranı %12,32'ye, 300 μ M'deki oran ise %19,21'e ulaşır. C3 bileşiği tüm derişimlerde belirgin bir hemoliz göstermektedir. Hemoliz oranı 100 μ M'de %30,13 olarak başlamakta ve 60 dakika sonra %79,06'ya kadar keskin bir şekilde artış göstermektedir. 300 μ M'de hemoliz yüzdesinin %100'u aşması ise önemli bir sitotoksiste belirtisi olabilir. S1 bileşiği zamanla artan bir şekilde hemoliz artışı göstermektedir ve 100 μ M derişiminde hemoliz oranı %59,04'e ulaşır. Bu etki daha yüksek derişimlerde daha da artarak 300 μ M'de %81,03'e yükselir. Bileşik S2 daha hafif bir hemoliz artışı gösterirken en yüksek hemoliz yüzdesinin 300 μ M'de %19,21 olduğu gözlenmiştir. Son olarak bileşik S3'ün hemoliz seviyesi 60 dakikalık süre sonunda %18,57'ye ulaşarak 300 μ M'de hafif bir artış göstermiştir. Elde edilen veriler, aynı amin grubunun kullanımıyla sentezlenen bu bileşiklerin hemoliz aktivitesinde, kullanılan farklı aldehitlerin önemli değişikliklere yol açtığını ortaya koymaktadır. Özellikle, farklı aldehitler kullanılarak sentezlenen C1 ve C3 bileşiklerinin yüksek sitotoksik etki gösterdiği, buna karşın S2 ve S3 bileşiklerinin daha hafif etkiler sergilediği tMEPit edilmiştir. Bu bulgular, sentezde kullanılan aldehit bileşeninin hemoliz oranlarının belirlenmesinde kritik bir rol oynadığını ve hemoliz aktivitesini anlamada önemli bir faktör olduğunu göstermektedir. Schiff baz bileşikleri arasında değişken derecelerde hemoliz oranları görülmektedir. Hemoliz oranlarına ait değerler grafik halinde Şekil (4.51)'de verilmiştir.



Şekil 4.52. Bileşiklerin sitotoksik aktivitelerinin grafikleri

Şekil 4.51’de Bileşiklerin sitotoksik aktivitelerinin grafikleri yer almaktadır. Bileşikler (K1, K2, C1, C2, C3, S1, S2 ve S3), zamana bağlı olarak hemoliz oranının değişimini göstermektedir.

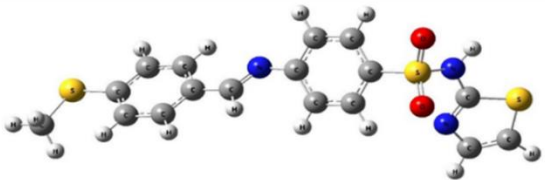
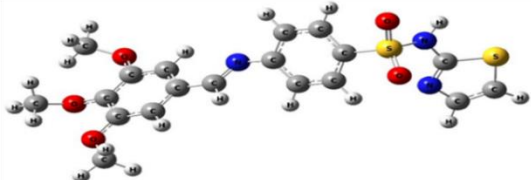
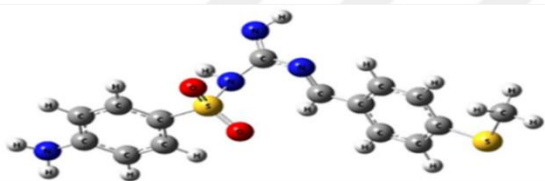
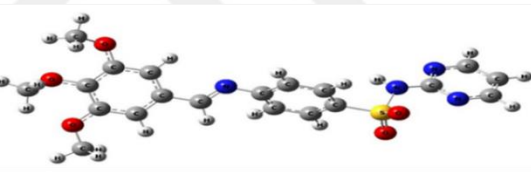
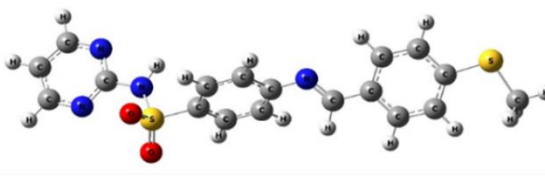
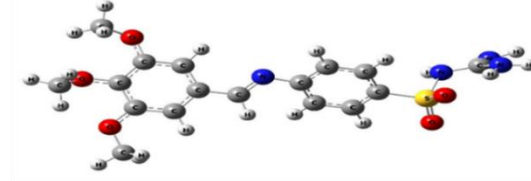
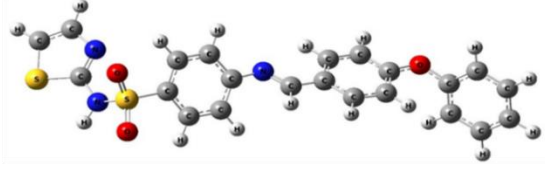
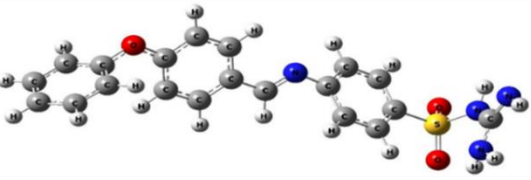


5. HESAPLAMA YÖNTEMLERİ

5.1. Bileşiklerin Geometri Optimizasyonları

Sentetik bileşiklerin teorik hesaplamaları, B3LYP (Becke-3-Lee-Yang-Parr) fonksiyoneli ve 6-31+G(d,p) temel seti kullanılarak Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi (DFT) çerçevesinde gerçekleştirilir. Bu yöntem, bileşiklerin en düşük enerji seviyesine ve en kararlı yapılarına ulaşmayı sağlamıştır. Optimize edilmiş bileşik yapıları Çizelge 5.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 5.1. Bileşiklerin optimize edilmiş yapıları

C1	S1
	
C2	S2
	
C3	S3
	
K1	K2
	

5.2. Bileşiklerin Sınır Moleküler Orbitalleri (FMO'lar) ve Global Reaktivite Parametreleri

Bileşiklerin elektronik özelliklerini daha iyi anlamak için sınır moleküler orbitalleri (FMO'lar: HOMO ve LUMO) ve Moleküler Elektrostatik Potansiyel (MEP) haritaları detaylı bir şekilde incelenmiştir. Bu hesaplamalar, Gaussian 016 yazılım paketi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bir molekülün elektron verme kapasitesi En Yüksek Dolu Moleküler Orbital (HOMO) ile belirlenirken, elektron kabul etme kapasitesi En Düşük Boş Moleküler Orbital (LUMO) ile tanımlanır. HOMO ve LUMO enerjileri arasındaki farkın büyüklüğü, molekülün kimyasal reaktivitesi hakkında önemli bilgiler sağlar.

DFT'deki kuantum kimyasal verilerin hesaplanmasında kullanılan matematiksel denklemler Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi (DFT) kapsamında sunulmaktadır. Bu denklemler, çeşitli global reaktivite parametrelerinin elde edilmesini içermektedir. Çizelge 5.2'de gösterilmiştir [139].

Çizelge 5.2. Global reaktivite parametreleri

Kuantum Kimyasal Verilerin	Matematiksel Denklemleri
Enerji Band Aralığı ΔE_{gap}	$\Delta E_{\text{gap}} = E_{\text{LUMO}} - E_{\text{HOMO}}$
Sertlik (η)	$\eta = \Delta E / 2$
Yumuşaklık (σ)	$\sigma = 1 / 2\eta$
Elektrofilik indeks (ω)	$\omega = (\mu)^2 / 2\eta$
Elektronegatif indeks (χ)	$\chi = -\mu$

Bu formüller, incelenen bileşiklerin elektronik özelliklerini ve reaktivitesini değerlendirmek için temel öneme sahiptir. E_{HOMO} ve E_{LUMO} enerjilerini temsil eden bileşiklerin kuantum fiziksel özellikleri için hesaplanan veriler Çizelge 5.3'te sunulmuştur. HOMO, LUMO orbital şekilleri ve band aralıkları (ΔE) değerleri Şekil 5.1, 5.2 ve 5.3'te gösterilmiştir

Çizelge 5.3. Bileşiklerin kuantum fiziksel özelliklerini temsil eden EHOMO ve ELUMO enerjilerinin hesaplanan verileri

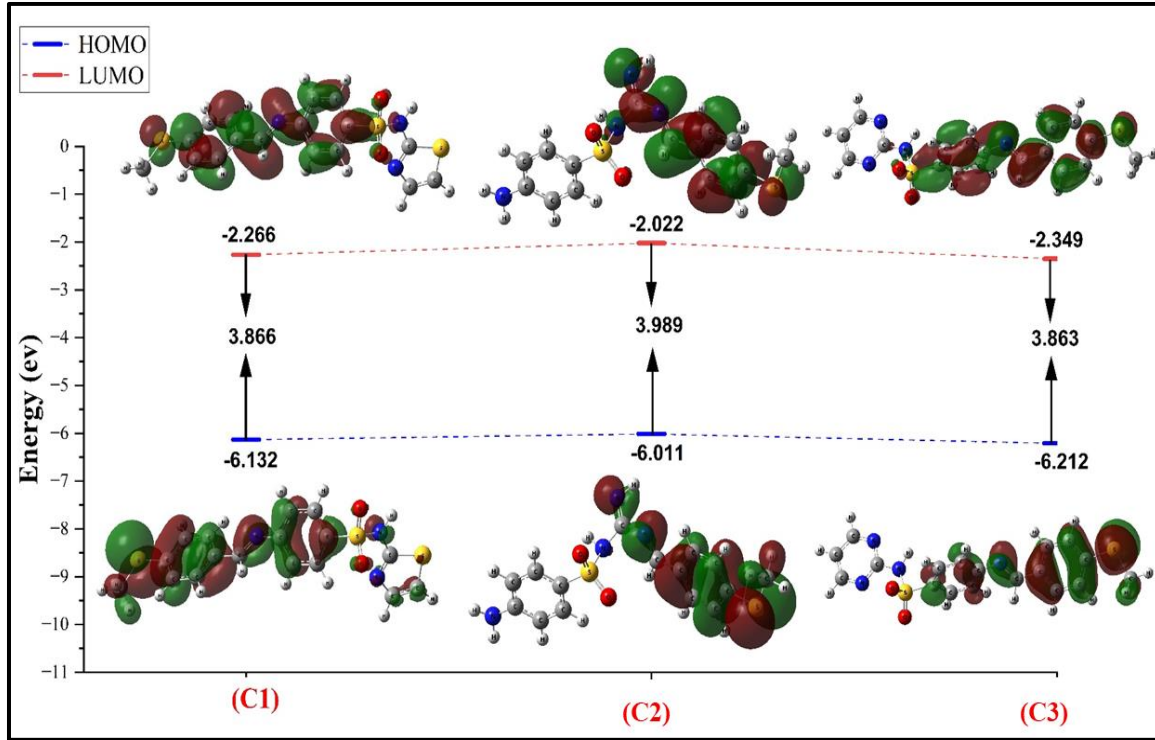
Bileşik	EHOMO (eV)	ELUMO (eV)	ΔE_{gap} (eV)	η (eV)	σ (eV)	Dipol momenti (debye)	μ (eV)	χ (eV)	ω (eV)	Toplam Enerji (Kcal/mol)
C1	-6,132	-2,266	3,866	1,933	0,259	5,758	-4,199	4,199	4,561	-1359236,01
C2	-6,011	-2,022	3,989	1,995	0,251	4,544	-4,017	4,017	4,044	-1096290,66
C3	-6,212	-2,349	3,863	1,932	0,259	5,985	-4,281	4,281	4,743	-1168027,56
S1	-6,227	-2,187	4,040	2,020	0,248	5,545	-4,207	4,207	4,381	-1300294,03
S2	-6,329	-2,266	4,063	2,032	0,246	6,002	-4,298	4,298	4,546	-1109085,58
S3	-6,351	-2,321	4,030	2,015	0,248	7,388	-4,336	4,336	4,665	-1037348,68
K1	-6,299	-2,170	4,129	2,065	0,242	5,974	-4,235	4,235	4,343	-1276894,20
K2	-6,406	-2,243	4,163	2,082	0,240	8,486	-4,325	4,325	4,492	-1013948,85

C1 bileşiğinde HOMO ve LUMO enerji seviyeleri sırasıyla -6,132 eV ve -2,266 eV olarak belirlendi. Elektronik geçişteki band aralığı (ΔE) HOMO'dan LUMO'ya 3,866 eV olarak hesaplandı ve bu değer λ_{max} 'e karşılık gelen enerji seviyesini temsil etmektedir. C1 bileşiğinde HOMO, özellikle tiyazol halkası ve imin grubu ($-\text{C}=\text{N}-$) üzerinde lokalizedir ve tiyazol halkasındaki kükürt atomundan önemli bir katkı alır. Kükürt atomunun elektron verme özelliği, HOMO'nun stabilizasyonuna yardımcı olur. LUMO ise ağırlıklı olarak nitrojen atomuna bağlı benzen halkası ve sülfonamid grubu ($-\text{SO}_2\text{NH}-$) üzerinde lokalizedir. Sülfonamid grubunun elektron çekici doğası, bu benzen halkasını elektron geçişlerinde elektron kabulü için uygun olmayan bir alan haline getirir.

C2 bileşiğindeki HOMO ve LUMO enerjileri sırasıyla -6,011 eV ve -2,022 eV olarak hesaplanmıştır. Elektronik geçişteki band aralığı (ΔE) HOMO'dan LUMO'ya 3,989 eV olarak hesaplanmıştır. Bu enerji aralığı (ΔE), λ_{max} 'e karşılık gelen enerji seviyesidir. C2 bileşiğinde, LUMO ve HOMO genellikle Sülfonamid grubu ($-\text{SO}_2\text{NH}-$) ve tiyofenol birimi (kükürt içeren benzen halkası) dışındaki bölgelerde yoğunlaşmıştır. İmin grubu ($-\text{C}=\text{N}-$) ve iki aromatik halkayı birbirine bağlayan azot atomlarında belirgin bir varlık göstermektedir.

C3 bileşiğindeki HOMO ve LUMO enerjileri sırasıyla -6,212 eV ve -2,349 eV olarak hesaplanmıştır. Elektronik geçişteki band aralığı (ΔE) HOMO'dan LUMO'ya 3,863 eV olarak hesaplanmıştır. Bu enerji aralığı (ΔE), λ_{max} 'e karşılık gelen enerji seviyesidir. C3 bileşiğinde HOMO orbitali ağırlıklı olarak tiyofenol birimi (kükürt içeren benzen halkası) ve imin grubu ($-\text{C}=\text{N}-$) üzerinde lokalize olmuştur. Tiyofenol halkasındaki kükürt atomu,

elektron verici özellikleri nedeniyle HOMO'ya önemli ölçüde katkıda bulunurken aromatik sistemdeki konjugasyon da HOMO'yu daha da stabilize eder. LUMO orbitali ise sülfonamid grubu ($-\text{SO}_2\text{NH}-$) ile pirimidin halkası dışındaki bölgelerde yoğunlaşmıştır. Azot atomuna bağlı benzen halkasında ve benzen ile pirimidin halkalarını bağlayan alifatik zincirde daha yoğun bulunur.

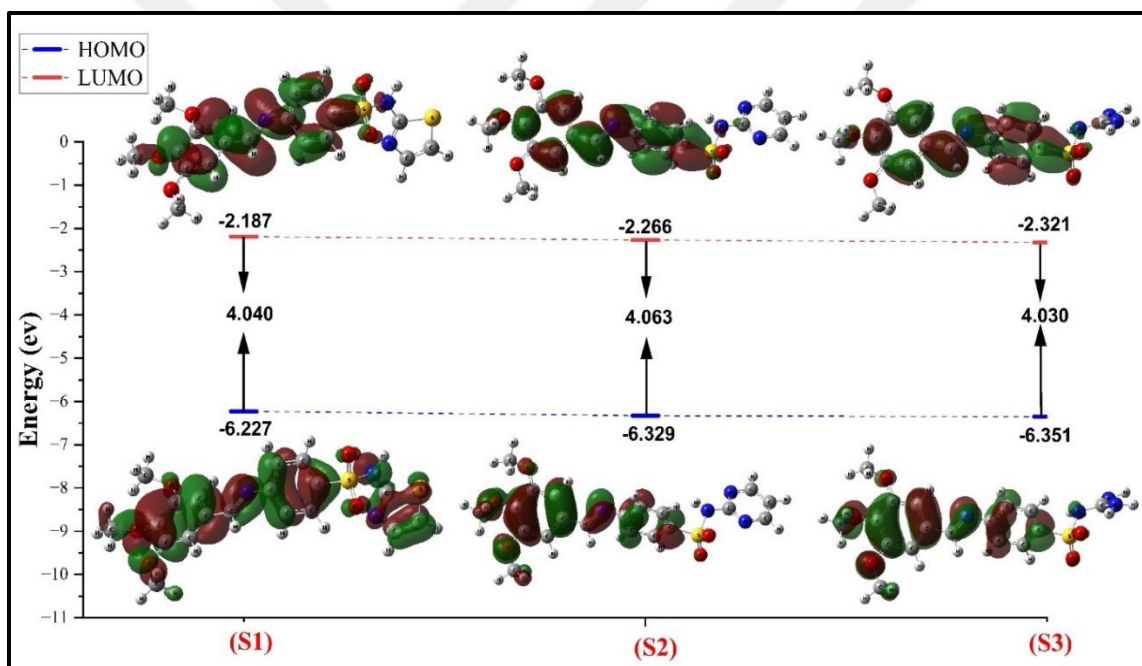


Şekil 5.1. C1, C2 ve C3 bileşiklerin LUMO, HOMO orbital şekilleri ve (ΔE) değeri

S1 bileşiğindeki HOMO ve LUMO enerji seviyeleri sırasıyla -6,227 eV ve -2,187 eV olarak hesaplanmıştır. Elektronik geçişteki band aralığı (ΔE) ise 4,040 eV olarak bulunmuştur. Bu enerji aralığı, λ_{max} 'e denk gelen enerji seviyesidir ve S1 bileşiğinde HOMO genellikle tiyazol halkasında bulunmaktadır (beş üyeli kükürt ve azot içeren halka). Tiyazol halkasındaki kükürt atomu, elektron verici özellikleri nedeniyle HOMO'ya önemli katkıda bulunur ve bu bölgedeki elektron yoğunluğunu artırır. Aromatik halkadaki konjugasyon, molekülün elektronik stabilitesine katkıda bulunarak HOMO enerji seviyesini daha da stabilize eder. S1 bileşiğindeki LUMO tiyazol halkası ve imin grubu dışındaki bölgelerde lokalize olmuştur. LUMO, sülfonamid grubuna bağlı benzen halkasında ve metoksi ile ikame edilmiş benzen halkasına bağlı alifatik zincirlerde daha yoğunlaşmıştır.

S2 bileşiğinin HOMO ve LUMO enerjileri sırasıyla -6,329 eV ve -2,226 eV olarak hesaplanmıştır. Elektronik geçişteki band aralığı (ΔE) 4,063 eV'dir ve λ_{max} 'e karşılık gelen bir enerji seviyesidir. S2 bileşiğindeki HOMO sülfonamid grubu (-SO₂NH-) ve benzen halkası üzerinde lokalize olmuştur. Sülfonamid grubundaki elektron bolluğu HOMO'ya önemli katkıda bulunurken aromatik halkadaki konjugasyon ek kararlılık sağlar.

S3 bileşiği için ise HOMO ve LUMO enerjileri sırasıyla -6,351 eV ve -2,321 eV olarak hesaplanmıştır. Elektronik geçişte band aralığı (ΔE) 4,030 eV'dir ki bu λ_{max} 'e karşılık gelir. S3 bileşiği içindeki HOMO sülfonamid grubu (-SO₂NH-) ve imin grubu üzerinde lokalize olmuştur. Metoksi gruplarına bağlı benzen halkası üzerinde yoğunlaşan LUMO'nun elektron yoğunluğu neden ile bölgeler elektron kabul etme eğilimindedir.



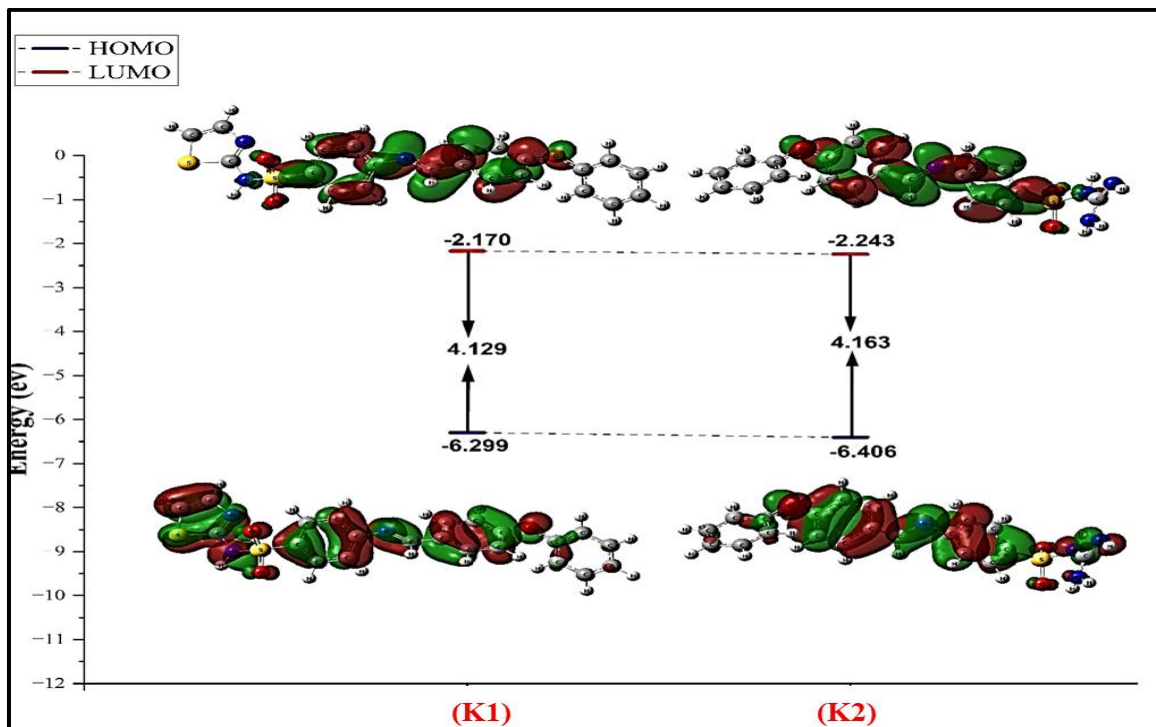
Şekil 5.2. S1, S2 ve S3 bileşiklerin LUMO, HOMO orbital şekilleri ve (ΔE) değeri

K1 bileşiğinin HOMO ve LUMO enerjileri sırasıyla -6,299 eV ve -2,170 eV olarak hesaplanmıştır. Elektronik geçişteki band aralığı (ΔE) 4,129 eV'dir ve bu enerji seviyesi λ_{max} 'e karşılık gelir. K1 bileşiğinde HOMO özellikle kükürt içeren birimde lokalize olmuş olup tiyazol halkası ve sülfonamid grubu (-SO₂NH-) üzerinde bulunur. Bu gruplar HOMO'ya önemli katkı sağlayan elektron bakımından zengin olmalarıyla dikkat çeker. Aromatik sistemdeki konjugasyon, HOMO'yu daha da stabilize ederek elektron yoğunluğunu delokalize eder. Tiyazol halkasındaki kükürt atomunun varlığı, bölgenin elektron verici

özelliklerini artırarak molekülün reaktivitesi ve stabilitesi için önemlidir. K1 bileşiğindeki LUMO ise esas olarak metoksi grubuna odaklanmıştır.

Benzen halkası ve imin grubu ($-C=N-$) üzerinde yer alan LUMO dağılımı, bu molekül bölgesinin daha az elektron yoğunluğuna sahip olduğunu ve bu nedenle elektron alımına daha yatkın olduğunu gösterir. Metoksi grubu, rezonans yoluyla elektron yoğunluğu sağlayarak LUMO'yu stabilize ederken, imin grubunun varlığı LUMO'nun konumunu etkileyerek elektron yoğunluğunu toplar ve LUMO'nun elektrofilik doğasını artırır.

K2 bileşiğinin HOMO ve LUMO enerjileri sırasıyla -6,406 eV ve -2,243 eV olarak hesaplanmıştır. HOMO'dan LUMO'ya geçişteki elektronik band aralığı (ΔE) 4,163 eV olarak hesaplanmış olup bu enerji aralığı λ_{max} 'e karşılık gelir. K2 bileşiğinde HOMO genellikle kükürt içeren birim, sülfonamid grubu ($-SO_2NH-$) ve bitişik aromatik halkalar üzerinde lokalize olmuştur. Tiyazol halkasındaki kükürt atomu ile aromatik halkalar arasındaki konjugasyon ise HOMO'yu stabilize ederek elektron yoğunluğunu delokalize eder. Sülfonamid grubu ile NH_2 grubunun elektron verici doğası önemli ölçüde katkıda bulunduğundan K2 bileşiği reaktivite ve stabilite açısından kritik bir rol oynar. K2 bileşiği içindeki LUMO ise genellikle metoksi grubuna bağlı olan benzen halkası ve imin grubunda lokalize olmuştur. Diğer amino grubu ($-NH_2$) LUMO'yu hafifçe etkileyebilir ancak ana lokalizasyon yine benzen halkasının ve imin grubundaki elektron eksikliği olan bölgelerde kalır.

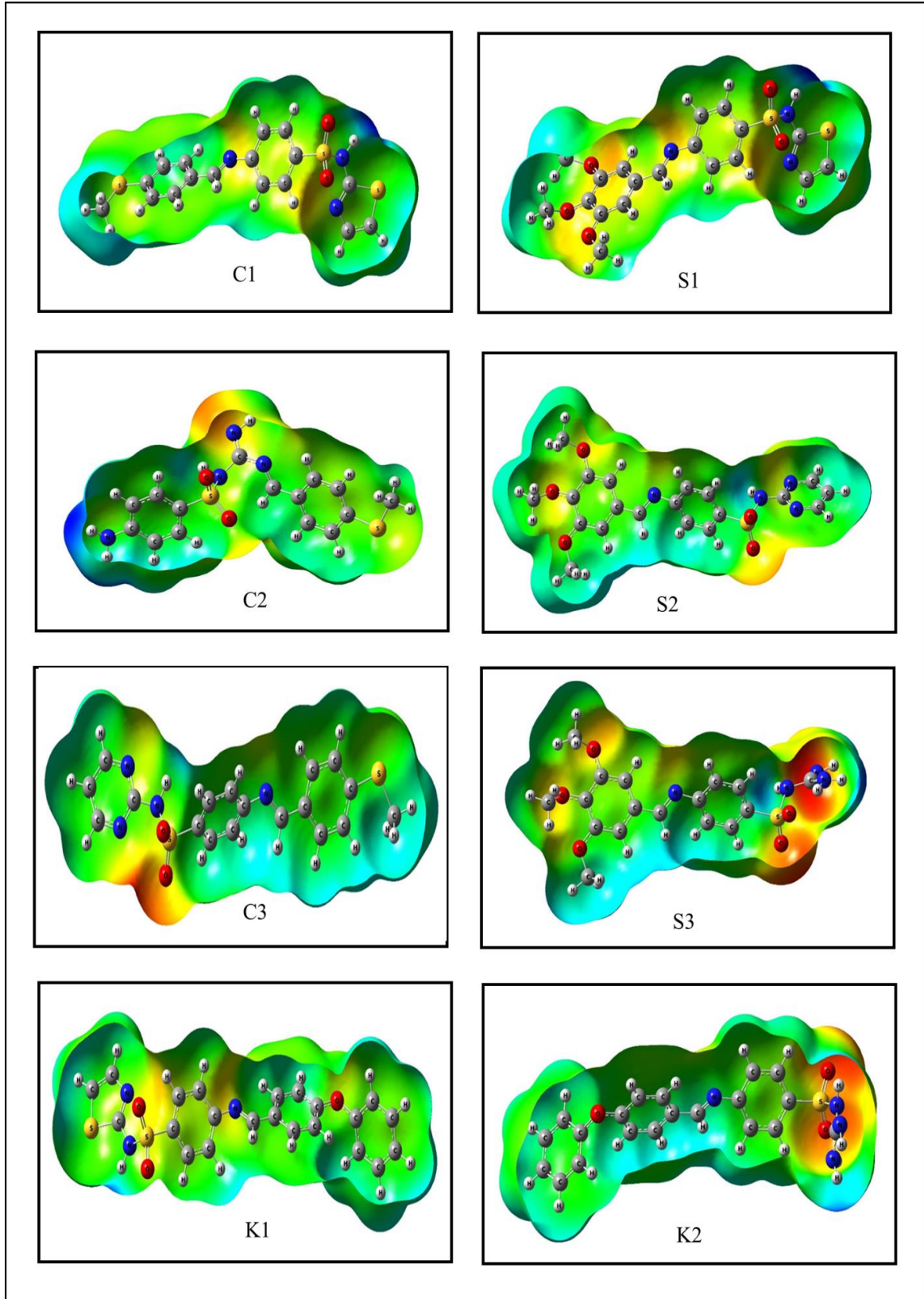


Şekil 5.3. K1ve K2 bileşiklerin LUMO, HOMO orbital şekilleri ve (ΔE) değeri

5.3. Moleküler Elektrostatik Potansiyel (MEP) Haritası

Moleküler Elektrostatik Potansiyel (MEP), bir molekül içindeki elektrik yüklerinin dağılımını tanımlayan önemli bir kuantum kimyasal özelliğidir. Moleküler davranışın ve moleküller arası etkileşimlerin çeşitli yönlerini anlamak için güçlü bir araçtır. MEP analizi, moleküller arasındaki etkileşimlerin kuvvetini, türünü ve süresini tahmin etmede yardımcı olur. Ayrıca, iki molekül arasındaki etkileşimin hidrojen bağları mı yoksa Van der Waals kuvvetleri mi içerdiğini belirlemeye de yardım eder. MEP analizi, bir molekül içindeki aktif bölgeleri tanımlar. Negatif MEP'ye sahip bölgeler nükleofilik saldırılara açık olma eğilimindedir, pozitif MEP'ye sahip bölgeler ise elektrofilik saldırılara karşı hassas hale gelir.

Bileşiklerin MEP'si, kırmızı, yeşil ve mavi renklendirme şekillini kullanarak görülebilir. Kırmızı renk yüksek elektron yoğunluğu ve saldırılara karşı hassasiyetle karakterize edilen elektrofilik bölgeyi temsil ederken; yeşil nötr elektrostatik potansiyele sahip bölgeleri gösterir ve dengeli bir elektron dağılımını ifade eder. Son olarak, mavi düşük elektron yoğunluğu ve saldırılara uygunlukla karakterize edilen nükleofilik bölgeyi ifade eder.



Şekil 5.4. K1, K2, C1, C2, C3, S1, S2 ve S3 bileşiklerin moleküler elektrostatik potansiyel (MEP) haritaları

5.4. Bileşiklerin Moleküler Doking Sonuçları

Bu çalışmada, 8 farklı bileşiğin (AChE) ve (BChE) enzimlerine olan moleküler bağlanma çalışmaları gerçekleştirildi. Sentezlenen bileşiklerin çizimleri Chem Draw programı kullanılarak yapıldı ve enerji minimizasyonu için 3Dchem programından yararlanıldı. Bağlanma işlemi AutoDock Vina programıyla gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Biodescovery programında analiz edilmiştir. AChE enzimi için 1eea kodlu yapı ve BChE enzimi için 4tpk kodlu yapı, PDB veri bankasından PDB formatında temin edildi. Elde edilen enzim yapılarından tüm su molekülleri ve hetero atomları çıkartarak saf enzim yapıları bağlanma çalışmalarına uygun hale getirildi [140]. Her iki enzimde de A ve B olarak adlandırılan polipeptit zincirlerinden A polipeptiti seçilerek bağlanma analizi gerçekleştirildi. Bağlanma çalışmaları sırasında yalnızca protonlar ve Kollman yükleri enzim yapılarına eklendi. Enzimlerin aktif bölgeleri belirlenerek bu bölgelere odaklanarak bağlanma işlemi gerçekleştirildi. Seçilen grid parametreleri aşağıdaki Çizelgede sunuldu. Bu geniş kapsamlı grid parametreleri kullanarak yapılan bağlanma çalışmalarında, tüm bileşikler en uygun şekilde enzimlerin aktif bölgelerine bağlama konformasyonlarını gerçekleştirdiler [141].

Çizelge 5.4. Grid parametreleri

Enzim ID	Enzim Zinciri	Grid boyutları	Birim uzunluk (Å)	Grid merkezinin koordinatları
1eea	A zincir	40 40 40	0,375 Å	11,244 Å 28,066 Å 37,217 Å
4tpk	A zincir	40 40 40	0,375 Å	-15,738 Å-11,638 Å 30,338 Å

Moleküler bağlanma simülasyonlarının karşılaştırması için referans molekül olarak Donepezil seçildi. Aynı aktif bölgede ve koşullarda, 8 bileşen ve referans molekül için iki enzim üzerinde yapılan bağlanma simülasyonlarının sonuçları aşağıdaki Çizelgelerde sunulmuştur. Genel olarak, moleküler bağlanma sonuçlarımızın enerjileri, kabul edilen standart ilaçlara ait olan -7 kcal/mol değerinden daha yüksektir.

Çizelge 5.5. Bileşiklerin AChE (1eea) proteini ile moleküler doking çalışmaları sonucu

Bileşik Sembolü	RMSD	Bağlanma Enerjisi (kcal/mol)	Etkileşimler	Bağ uzunluğu (Å)	Bağ Türleri	Hedef Bağlanma Bölgesi	Bileşik Bağlanma Bölgesi
S1	0,024	-9,3	A: GLY118: N- A: S1:O A: TYR121: OH- A: S1: N A: TYR130: OH- A: S1: N	3,13866	Konvansiyonel Hidrojen Bağı	A: GLY118: N A: TYR121: OH A: TYR130: OH	A: S1:O A: S1: N A: S1: N
			A: S1:S- A: HIS440	4,71917	π -Kükürt	A: S1:S	A: HIS440
			A: TRP84- A: S1 A: TYR334 – A: S1 A: S1- A: TRP84	4,88713 4,59252 4,75287	π - π Bağı	A: TRP84 A: TYR334 A: S1	A: S1 A: S1 A: TRP84 A: PHE330 A: S1
			A: S1:C- A: ILE287	4,51742	Alkil	A: S1:C	A: ILE287
			A: TYR70- A: S1:C A: PHE331- A: S1:C	4,33626 5,08962	π -Alkil	A: TYR70 A: PHE331	A: S1:C A: S1:C
S2	0,022	-9,6	A: GLY118: N- A: S2:O A: TYR121: OH- A: S2: N	3,15056 3,19004	Konvansiyonel Hidrojen Bağı	A: GLY118: N A: TYR121: OH	A: S2:O A: S2: N
			A: S2:C- A: GLY117:O	3,2979	Karbon-Hidrojen Bağı	A: S2:C	A: GLY117:O
			A: S2:S- A: HIS440	4,65844	π -Kükürt	A: S2:S	A: HIS440
			A: S2:C- A: ILE287	4,4716	Alkil	A: S2:C	A: ILE287
			A: TYR70- A: S2:C A: PHE331- A: S2:C	4,36871 5,18662	π -Alkil	A: TYR70 A: PHE331	A: S2:C A: S2:C
S3	0,023	-9,3	A: GLY118: N- A: S3:O A: S3:H- A: GLU199:OE1 A: S3:H- A: S2:O A: S3:H- A: TYR130: OH	3,10359 2,15974 2,24255 2,18353	Konvansiyonel Hidrojen Bağı	A: GLY118: N A: S3:H A: S3:H A: S3:H	A: S3:O A: GLU199:OE1 A: S3:O A: TYR130: OH
			A: HIS440:CD2- A: S3:O	3,69671	Karbon-Hidrojen Bağı	A: HIS440:CD2	A: S3:O
			A: S3: N- A: TRP84 A: S3: N- A: TRP84	4,80831 4,48628	π -Katyon	A: S3: N A: S3: N	A: TRP84 A: TRP84
			A: S3:S- A: HIS440	5,03956	π - Kükürt	A: S3:S	A: HIS440
			A: S3:C- A: ILE287	4,64478	Alkil	A: S3:C	A: ILE287

Çizelge 5.5. (devam) Bileşiklerin AChE (1eea) proteini ile moleküler doking çalışmaları sonucu

Bileşik Sembolü	RMSD	Bağlanma Enerjisi (kcal/mol)	Etkileşimler	Bağ uzunluğu (Å)	Bağ Türleri	Hedef Bağlanma Bölgesi	Bileşik Bağlanma Bölgesi
			A: TYR70- A: S3:C A: PHE331- A: S3:C	4,28627 5,11118	π -Alkil	A: TYR70 A: PHE331	A: S3:C A: S3:C
C1	0,021	-10,0	A: SER200: OG- A:C1: N A: C1:H- A: GLU199:OE1	3,01754 2,75309	Konvansiyonel Hidrojen Bağı	A: SER200: OG A: C1:H	A: C1: N A: GLU199: OE1
			A: C1:C- A: ASP72:OD2	3,33431	Karbon- Hidrojen Bağı	A: C1:C	A: ASP72: OD2
			A: C1:S- A: TRP84 A: C1:S- A: HIS440	4,21133 4,53801	π -Kükürt	A: C1:S A: C1:S	A: TRP84 A: HIS440
			A: PHE290- A: C1:C A: PHE331- A: C1:C	5,10301 5,0121	π -Alkil	A: PHE290 A: PHE331	A: C1:C A: C1:C
C2	0,022	-10,3	A: SER122: OG- A: C2:O A: C2:H- A: GLU199:OE1	3,06044 2,34418	Konvansiyonel Hidrojen Bağı	A: SER122: OG A: C2:H	A: C2:O A: GLU199:OE1
			A: C2:S- A: PHE33	5,87606	π -Kükürt	A: C2:S	A: PHE331
C3	0,023	-9,6	A: GLY118: N- A: C3:O A: TYR121: OH- A: C3: N	3,2121 3,27694	Konvansiyonel Hidrojen Bağı	A: GLY118: N A: TYR121: OH	A: C3:O A: C3: N
			A: HIS440:CD2- A: C3:O A: C3:C- A: GLY117:O	3,30652 3,31971	Karbon- Hidrojen Bağı	A: HIS440:CD2 A: C3:C	A: C3:O A: GLY117:O
			A: TRP84: CB- A: C3	3,86244	π -Sigma	A: TRP84: CB	A: C3
			A: C3:S- A: HIS440	4,87123	π -Kükürt	A: C3:S	A: HIS440

Çizelge 5.5. (devam) Bileşiklerin AChE (1eea) proteini ile moleküler doking çalışmaları sonucu

Bileşik Sembolü	RMSD	Bağlanma Enerjisi (kcal/mol)	Etkileşimler	Bağ uzunluğu (Å)	Bağ Türleri	Hedef Bağlanma Bölgesi	Bileşik Bağlanma Bölgesi
K1	0,018	-11,2	A: TYR121: OH- A: K1: N A: PHE288: N- A: K1:O A: ARG289: N- A: K1:O A: K1:H- A: SER286:O	2,91891 3,25286 3,23767 1,99137	Konvansiyonel Hidrojen Bağı	A: TYR121: OH A: PHE288: N A: ARG289: N A: K1:H	A: K1: N A: K1:O A: K1:O A: SER286:O
			A: K1:C – A: TYR334:O	3,43343	Karbon-Hidrojen Bağı	A: K1:C	A: TYR334:O
K2	0,017	-11,6	A: K2:H- A: K2:O A: K2:H- A: ARG289:O A: K2:H- A: SER286:O A: K2:H- A: SER286:O	2,11288 2,62672 2,49024 2,27411	Konvansiyonel Hidrojen Bağı	A: K2:H A: K2:H A: K2:H A: K2:H	A: K2:O A: ARG289:O A: SER286:O A: SER286:O
			A: GLY335:CA- A: K2:O	3,37296	Karbon-Hidrojen Bağı	A: GLY335:CA	A: K2:O
Donepezil	0,018	-11,2	A: TYR121: OH- A: Donepezil :O	2,90312	Konvansiyonel Hidrojen Bağı	A: TYR121: OH	A: Donepezil: O
			A: ILE287:CA – A: Donepezil: O	3,38889	Karbon-Hidrojen Bağı	A: ILE287:CA	A: Donepezil: O
			A: Donepezil: N- A: TRP84 A: Donepezil: N- A: PHE330	4,79196 4,15777	π -Katyon	A: Donepezil: N A: Donepezil: N	A: TRP84 A: PHE330
			A: Donepezil: C- A: PHE330	3,60335	π -Sigma	A: Donepezil: C	A: PHE330
			A: TRP279- A: Donepezil: C	4,2895	π -Alkyl	A: TRP279	A: Donepezil: C

5.5. AChE Enzimi Üzerindeki Moleküler Doking Sonuçları

5.5.1. C1 bileşiğinin AChE enzimi ile moleküler doking sonuçları

C1 bileşiği ile (AChE) enzimi arasındaki moleküler bağlanma sonuçlarına göre, C1 ile enzimin bir araya geldiği bölgedeki amino asitler arasında çeşitli etkileşimler bulunmaktadır. Bu etkileşimler hidrojen bağları, Van der Waals etkileşimleri, π -sülfür etkileşimleri ve π -alkil

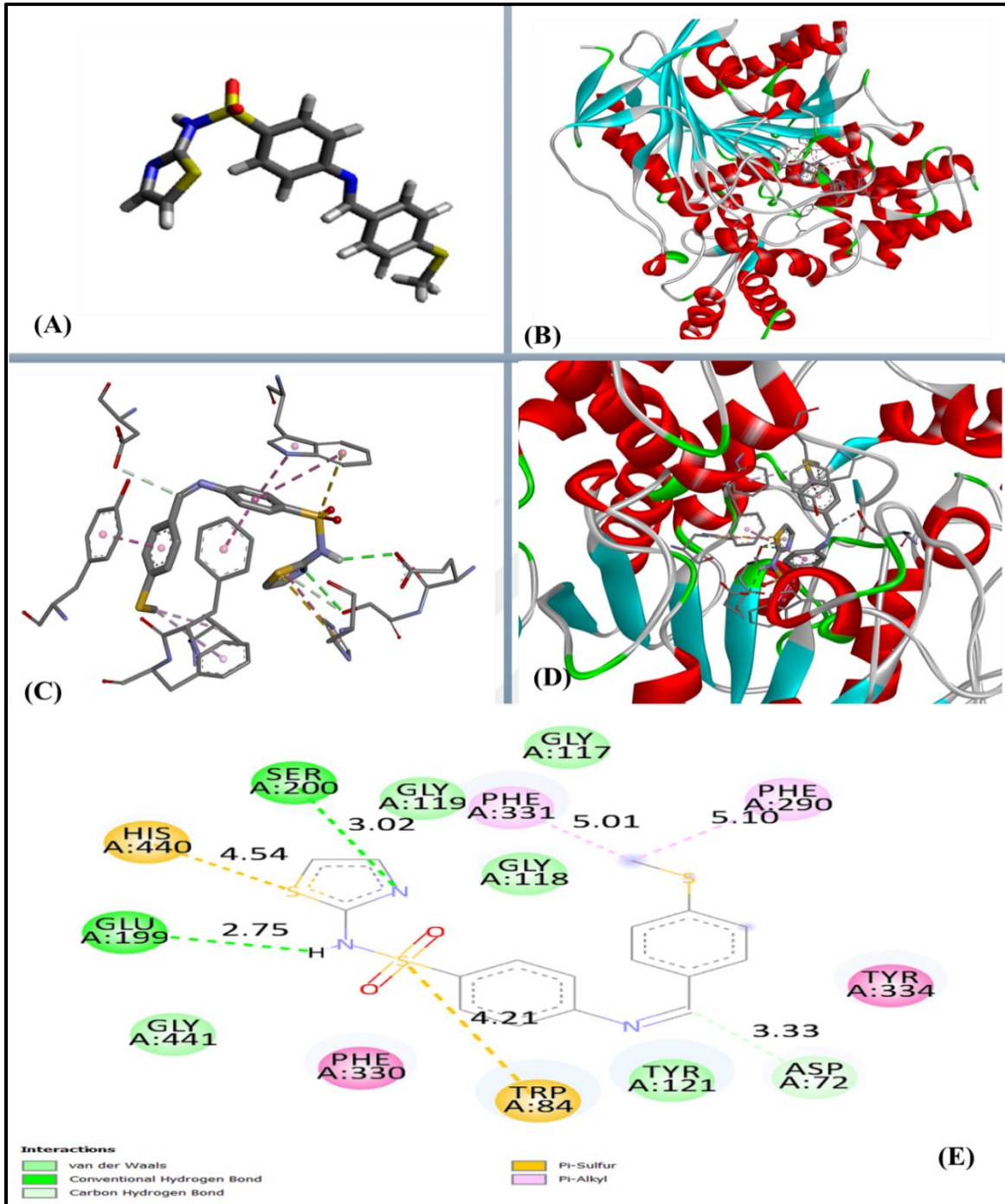
etkileşimlerini içermektedir. C1 bileşiği ile AChE enzimi arasındaki etkileşimlerin incelenmesi sonucunda üç adet hidrojen bağı tMEPit edilmiştir. SER200 (OG) oksijen atomu ile C1 (N) nitrojen atomu arasında bir konvansiyonel hidrojen bağı oluşmuştur. Ayrıca, C1 (H) hidrojen atomu ile GLU199 OE1 oksijen atomu arasında başka bir hidrojen bağı kurulmuştur. Bunun yanı sıra, C1 (C) karbon atomu ile ASP72 OD2 oksijen atomu arasında bir karbon-hidrojen bağı mevcuttur. Hidrojen bağı olmayan diğer etkileşimlere gelince, C1 (S) sülfür atomu ile TRP84 ve HIS440 artıkları arasında π -sülfür etkileşimleri gözlemlendi, Ayrıca, C1 (C) karbon atomları ile PHE290 ve PHE331 aromatik halkaları arasında π -alkil etkileşimleri meydana gelmiştir.

5.5.2. C2 molekülünün AChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonuçları

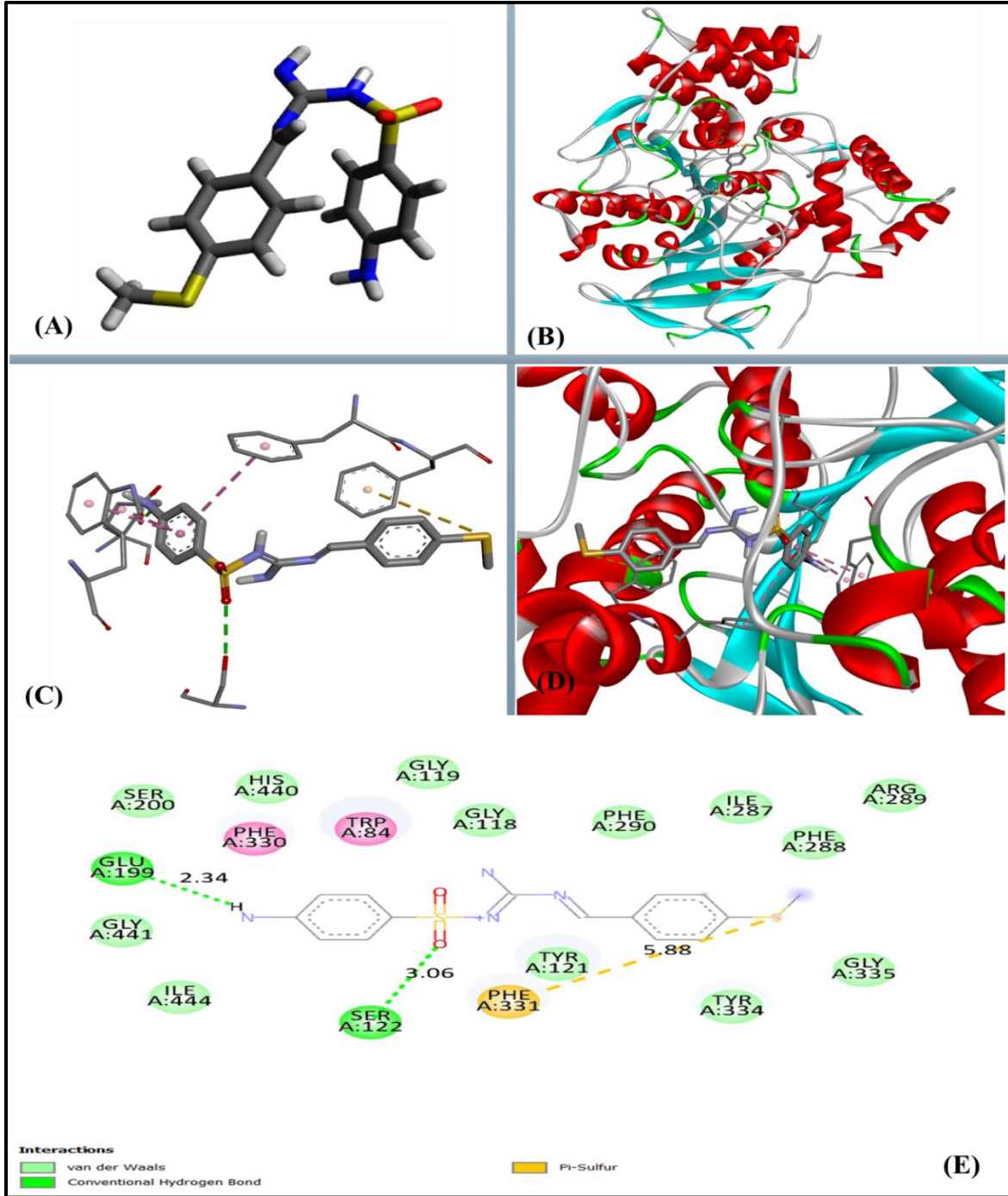
AChE enzimi ile C2 bileşiği arasındaki moleküler bağlanma sonuçlarına göre, C2 ile enzimin bağlandığı bölgedeki amino asitler arasında çeşitli etkileşimler tMEPit edildi. Bu etkileşimler hidrojen bağları, Van der Waals etkileşimleri ve π -sülfür etkileşimlerini içeriyordu. C2 bileşiği ile AChE enzimi arasındaki etkileşimler incelendiğinde iki hidrojen bağı etkileşiminin olduğu görüldü. SER122 (OG) oksijen atomu ile C2 (O) oksijen atomu arasında bir konvansiyonel hidrojen bağı oluştu. Ayrıca, C2 (H) hidrojen atomu ile GLU199 OE1 oksijen atomu arasında bir hidrojen bağı kuruldu. Dahası, C2 (S) sülfür atomu ile PHE331 aromatik halkası arasında π -sülfür etkileşimi gözlenmiştir.

5.5.3. C3 molekülünün AChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonuçları

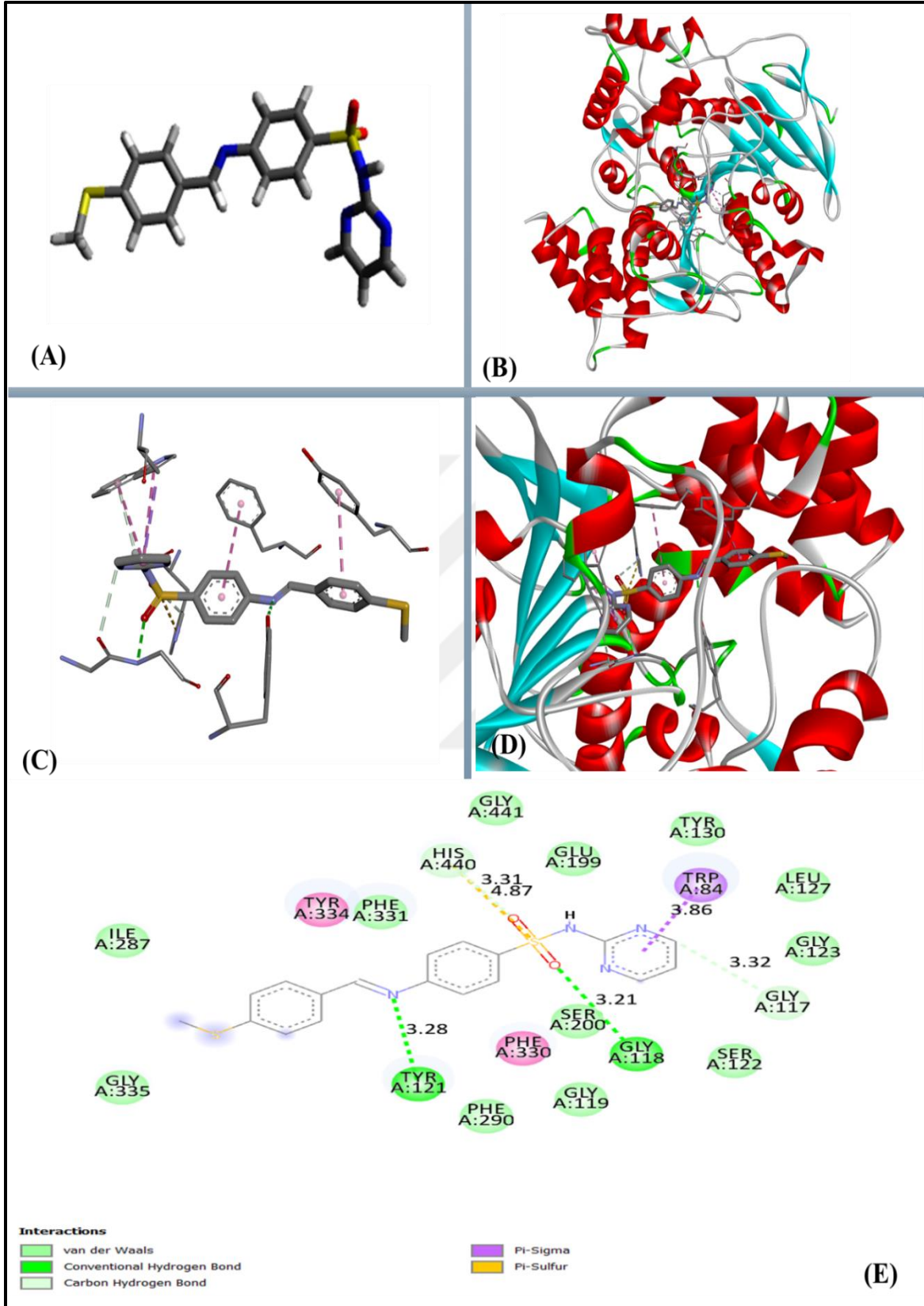
C3 bileşiğinin AChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonuçlarına göre, C3 ile enzimin bağlanma bölgesinde bulunan amino asitler arasında çeşitli etkileşimler ortaya çıkmıştır. Bu etkileşimler arasında hidrojen bağları, Van der Waals etkileşimleri, hidrofobik etkileşimler (π - σ) ve π -sülfür etkileşimleri yer almaktadır. C3 bileşiği ile AChE enzimi arasındaki etkileşimler detaylı bir şekilde incelendiğinde üç adet hidrojen bağı görülmüştür. GLY118 nitrojen atomu ile C3 oksijen atomu arasında geleneksel bir hidrojen bağı oluşmuştur. Ayrıca TYR121 hidroksil grubu ile C3 nitrojen atomu arasında bir hidrojen bağı kurulmuştur. Bunun yanı sıra, C3 karbon atomu ile GLY117 oksijen atomu arasında bir karbon-hidrojen bağı mevcuttur. Hidrojen bağı olmayan etkileşimler açısından ise TRP84 beta karbon atomu ile C3 arasında bir π - σ etkileşimi tMEPit edilmiştir ve ayrıca, C3 sülfür atomu ile HIS440 arasında bir π -sülfür etkileşimi gözlenmiştir.



Şekil 5.5. a) Bileşiğin (C1) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) AChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğin yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü



Şekil 5.6. a) Bileşiğin (C2) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) AChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğin yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü



Şekil 5.7. a) Bileşiğin (C3) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) AChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğin yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü

5.5.4. S1 molekülünün AChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonuçları

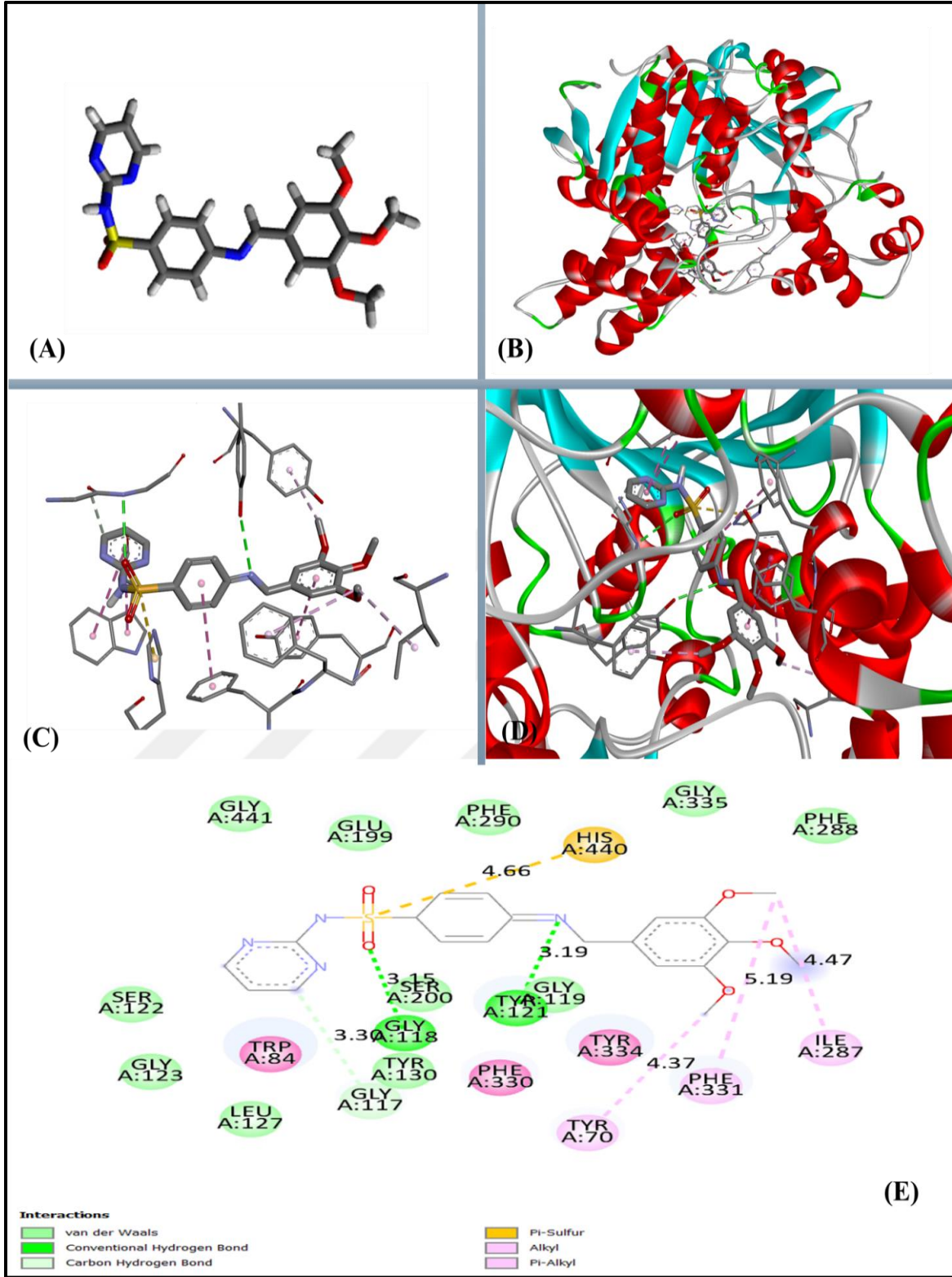
S1 bileşiğinin (AChE) enzimi ile olan moleküler bağlanma sonuçlarına göre, S1'in enzimin bağlanma bölgesindeki amino asitlerle çeşitli etkileşimler gösterdiği tMEPit edilmiştir. Bu etkileşimler arasında hidrojen bağları, Van der Waals etkileşimleri, π -sülfür etkileşimleri, π - π yığılma etkileşimleri, alkil etkileşimleri ve π -alkil etkileşimleri bulunmaktadır. Üç adet hidrojen bağı dikkat çekmektedir; GLY118 (N) nitrojen atomu ile S1 (O) oksijen atomu arasında bir hidrojen bağı oluşmuştur ve TYR121 (OH) hidroksil grubu ile S1 (N) nitrojen atomu arasında bir diğer hidrojen bağı mevcuttur. Ayrıca, TYR130 (OH) hidroksil grubunun da S1 (N) elementi ile nitrojen atomu arasında bir hidrojen bağı gözlemlendi. Hidrojen bağları olmayan etkileşimlerde, S1 (S) sülfür atomu ile HIS440 kalıntısı arasında π -sülfür etkileşimleri tMEPit edilmektedir. Ayrıca, S1 ile TRP84 ve TYR334 kalıntıları arasında aromatik halkaların üst üste binmesiyle oluşan π - π yığılma etkileşimleri mevcuttu. S1 (C) karbon atomu ile ILE287 arasında bir alkil etkileşimi gözlenmektedir. Bunun yanı sıra, S1 (C) karbon atomları ile TYR70 ve PHE331 aromatik halkaları arasında π -alkil etkileşimleri meydana gelmektedir.

5.5.5. S2 molekülünün AChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonuçları

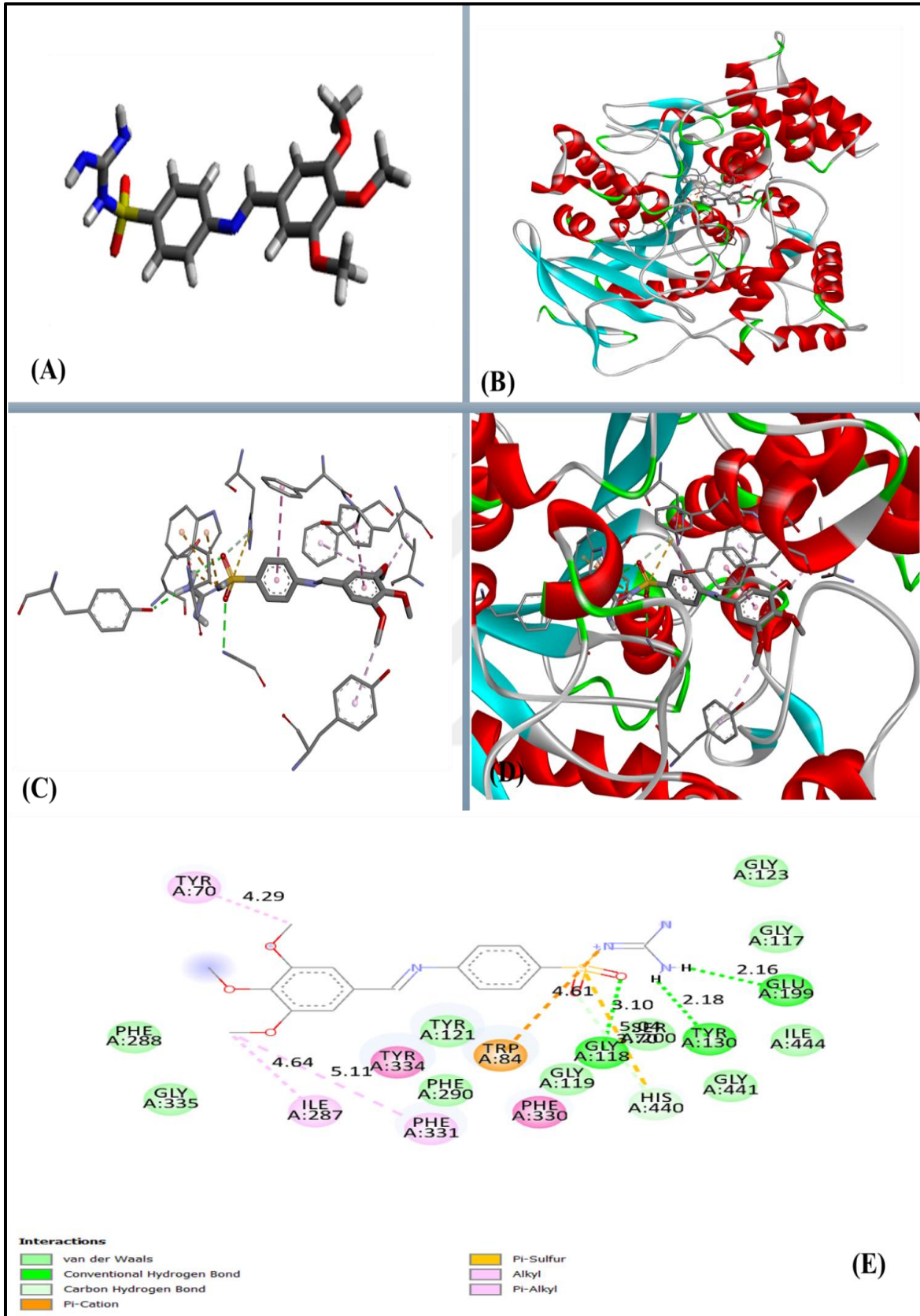
S2 bileşiğinin AChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonuçları incelendiğinde, S2'nin enzimin bağlanma bölgesindeki amino asitlerle çeşitli etkileşimler gösterdiği görüldü. Bu etkileşimler; hidrojen bağları, Van der Waals etkileşimleri, π -sülfür etkileşimleri, π - π yığılma etkileşimleri, alkil etkileşimleri ve π -alkil etkileşimlerini içermekteydi. Ayrıca, S2 bileşiği ile AChE enzimi arasındaki incelemelerde üç adet hidrojen bağı tMEPit edildi. GLY118 (N) nitrojen atomu ile S2 (O) oksijen atomu arasında bir hidrojen bağı kuruldu ve TYR121'in hidroksil grubuyla S2'nin nitrojen atomu arasında başka bir hidrojen bağı oluştu. Son olarak da S2'nin karbon atomunun GLY117 Oksijen atomu ile karbon-hidrojen bağı oluşmuş durumda, Hidrojen bağları dışındaki etkileşimler açısından, S2 sülfür atomu ile HIS440 kalıntısı arasında bir π -sülfür etkileşimi gözlemlendi. Ayrıca, S2 karbon atomu ile ILE287 arasında bir alkil etkileşimi mevcuttur. S2 karbon atomları ile TYR70 ve PHE331 aromatik halkaları arasında π -alkil etkileşimleri gerçekleşmiştir.

5.5.6. S3 molekülünün AChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonuçları

S3 bileşiği ile (AChE) enzimi arasındaki moleküler bağlanma sonuçlarına göre, S3 ve enzimin bağlanma bölgesindeki amino asitler arasında çeşitli etkileşimler belirlenmiştir. Bu etkileşimler hidrojen bağları, van der Waals etkileşimleri, π -sülfür etkileşimleri, π -katyon etkileşimleri, alkil etkileşimleri ve π -alkil etkileşimlerini içermektedir. S3 bileşiği ile AChE enzimi arasındaki bu etkileşimlere dair yapılan incelemede dört hidrojen bağı tMEPit edildi. GLY118 nitrojen atomu ile S3 oksijen atomu arasında bir konvansiyonel hidrojen bağı oluşmuştur. Ayrıca, S3 hidrojen atomu ile GLU199 oksijen atomu arasında başka bir hidrojen bağı kurulmuştur. Bunun yanı sıra, S3 hidrojen atomunun başka bir S3 molekülünün oksijen atomuna olan hidrojen bağı da gözlemlendi. Ayrıca, S3 hidrojen atomunun TYR130'da bulunan OH grubuna olan bir hidrojen bağı mevcuttur. Hidrojen bağı olmayan etkil. Sülfür atomu ve HIS440 kalıntısı arasında bir π -sülfür etkileşimi gerçekleşti, S3 (C) karbon atomu ile ILE287 arasında bir alkil etkileşimi görüldü. Ayrıca, S3 (C) karbon atomları ile TYR70 ve PHE331 aromatik halkaları arasında π -alkil etkileşimi gözlemlendi.



Şekil 5.9. a) Bileşiğin (S2) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) AChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğin yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü



Şekil 5.10. a) Bileşiğin (S3) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) AChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğin yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü

5.5.7. K1 bileşiğinin AChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonuçları

K1 bileşiği ile (AChE) enzimi arasındaki moleküler doking sonuçlarına göre, K1 ile enzimin bağlanma bölgesindeki amino asitler arasında çeşitli etkileşimler tMEPit edilmiştir. Bu etkileşimler arasında hidrojen bağları, Van der Waals etkileşimleri ve karbon-hidrojen bağları bulunmaktadır. TYR121'deki hidroksil grubu ve K1'in nitrojen atomu arasında bir konvansiyonel hidrojen bağı oluşmuştur. PHE288'deki nitrojen atomu ile K1'in oksijen atomu arasında başka bir hidrojen bağı kurulmuştur. Ayrıca, ARG289'daki nitrojen atomu ile K1'in oksijen atomu arasında bir hidrojen bağı gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra, K1'in hidrojen atomu ve SER286'daki oksijen atomu arasında bir hidrojen bağı oluşmuştur. Hidrojen bağı olmayan etkileşimler açısından, K1'in karbon atomu ile TYR334'teki oksijen atomu arasında bir karbon-hidrojen bağı gözlenmiştir.

5.5.8. K2 bileşiğinin AChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonuçları

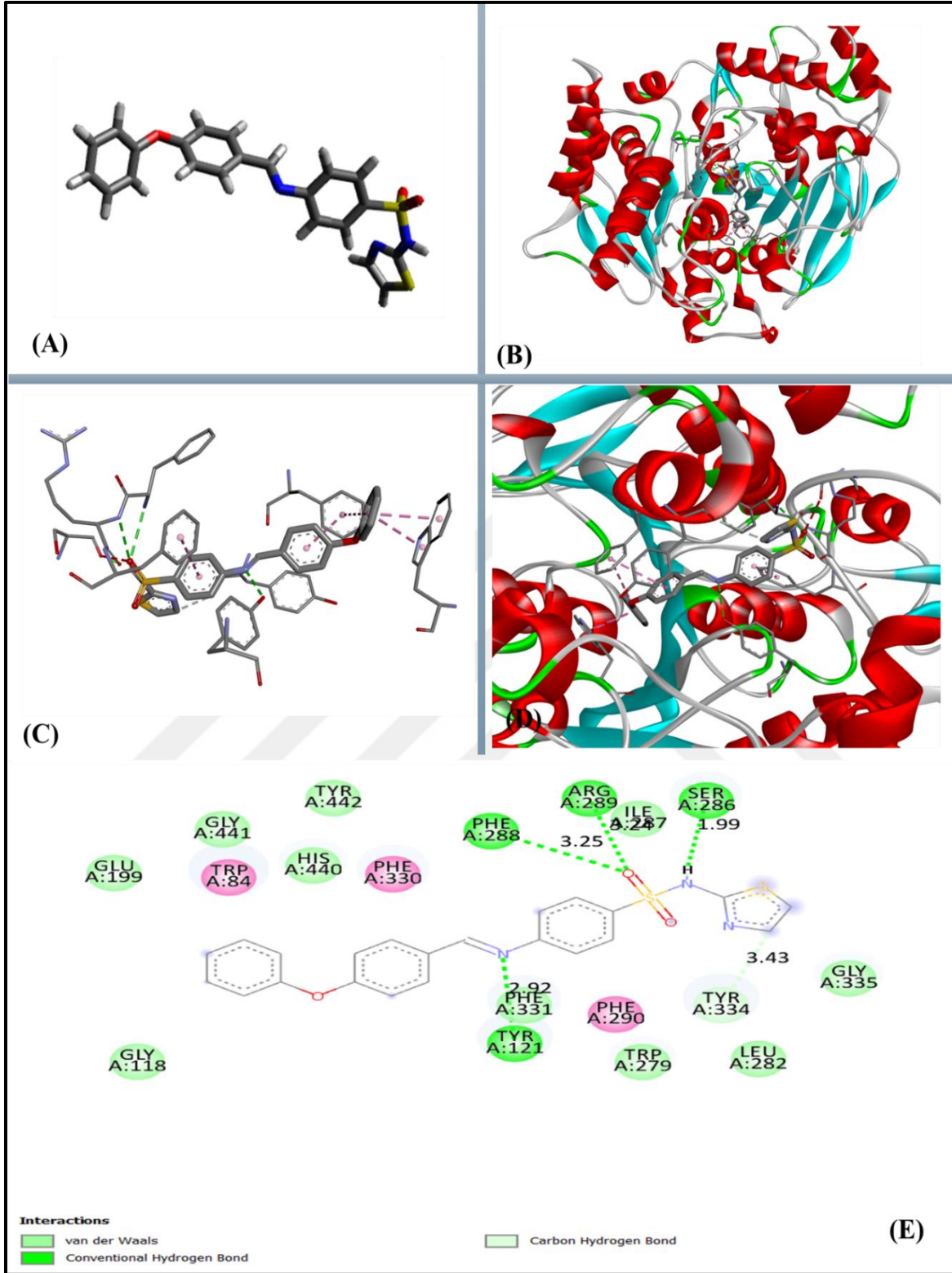
K2 bileşiği ile (AChE) enzimi arasındaki moleküler doking sonucuna göre, K2'nin enzimin bağlanma bölgesindeki amino asitlerle çeşitli etkileşimleri olduğunu belirlemiştir. Bu etkileşimler içerisinde hidrojen bağları ve karbon-hidrojen bağları bulunmaktadır. K2'nin hidrojen atomunun ve oksijen atomı arasındaki konvansiyonel bir hidrojen bağına içeren bir başka örnek de bulunmaktadır. K2'nin Hidrojen-atomlarının ARG289'un nitrojen-atomlarının üzerine düştüğünü ifade etmektedir. Oksijen atomu arasında bir başka hidrojen bağı olmuştur. Ayrıca, K2 bileşiğinin hidrojen atomu ile SER286 oksijen atomu arasında üçüncü bir hidrojen bağı tMEPit edilmiştir. Bununla birlikte, K2 bileşiğinin hidrojen atomu ile SER286'nın ikinci oksijen atomu arasında bir hidrojen bağı oluşmuştur. Hidrojen bağı olmayan etkileşimler açısından, K2 bileşiğinin karbon atomu ile GLY335 oksijen atomu arasında bir karbon-hidrojen bağı gözlenmiştir.

5.5.9. Donepezil AChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonuçları

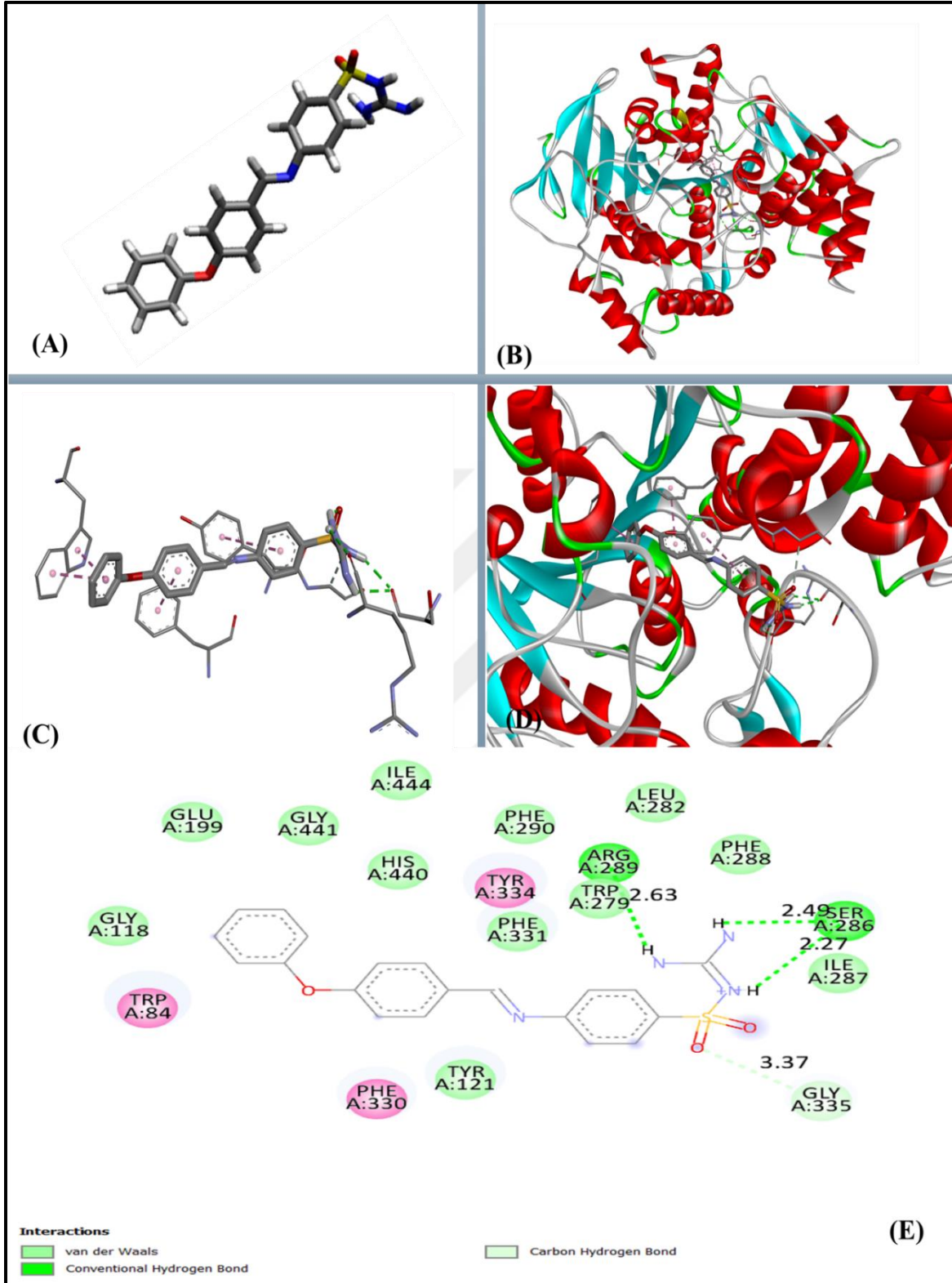
Donepezil ile (AChE) enzimi arasındaki moleküler etkileşimler incelendiğinde, Donepezil ile enzimin bağlanma bölgesindeki amino asitler arasında çeşitli etkileşim türleri belirlenmiştir. Bu etkileşimler arasında hidrojen bağları, elektrostatik etkileşimler ve hidrofobik etkileşimler bulunmaktadır. Dört adet hidrojen bağı gözlemlenmiştir. TYR121'in hidroksil grubu (OH) ile Donepezil'in oksijen atomu (O) arasında geleneksel bir hidrojen

bağı oluşmuştur. ILE287'nin alfa karbonu (CA) ile Donepezil'in oksijen atomu (O) arasındaki diğer bir hidrojen bağı ise karbon-hidrojen bağı olarak sınıflandırılmıştır. Ayrıca, Donepezil'in azot atomu (N) ile TRP84 ve PHE330'un aromatik halkaları arasında Pi-Katyon adı verilen elektrostatik etkileşimler yapılmıştır. Bunun yanı sıra, Donepezil'in karbon atomu (C) ile PHE330'un aromatik halkası arasında hidrofobik bir Pi-Sigma etkileşimi meydana gelmiştir. TRP279'un aromatik halkası ile Donepezil'in karbon atomu (C) arasındaki başka bir hidrofobik etkileşim ise özellikle Pi-Alkil etkisi olarak gözlenmiştir. Bu tür moleküler etkileşimler, Donepezil'in AChE enziminin aktif bölgesine olan bağlanmasının stabilitesine katkıda bulunarak enzimin aktivitesini inhibe edici etkinliği sağlamaktadır.

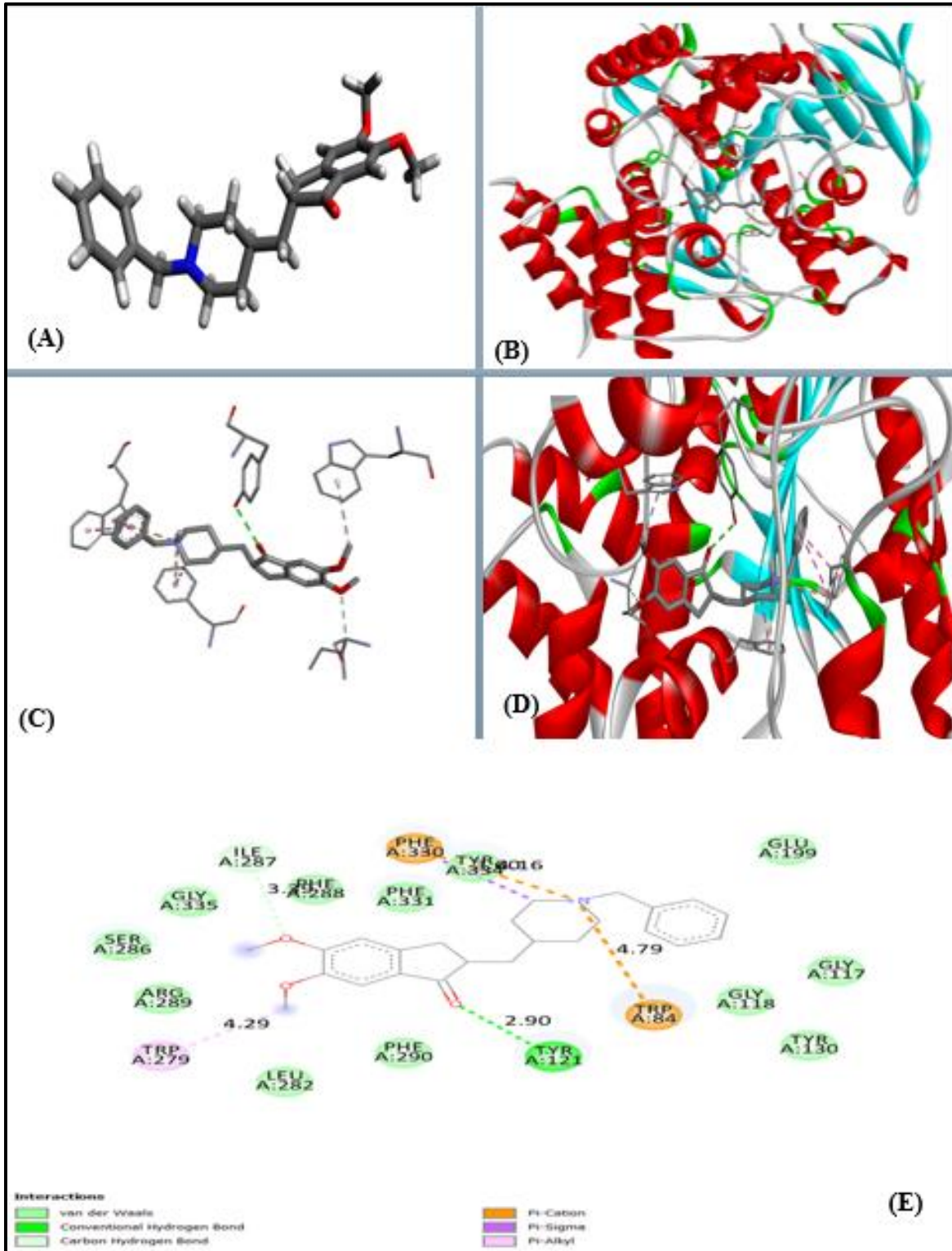




Şekil 5.11. a) Bileşiğin (K1) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) AChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğin yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü



Şekil 5.12. a) Bileşiğin (K2) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) AChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğin yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü



Şekil 5.13. a) Donepezilin üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) AChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğin yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü

Çizelge 5.6. Bileşiklerin BChE (4tpk) proteini ile moleküler doking çalışmaları sonucu

Bileşik Sembolü	RMS D	Bağlanma Enerjisi (kcal/mol)	Etkileşimler	Bağ uzunluğu (Å)	Bağ Türleri	Hedef Bağlanma Bölgesi	Bileşik Bağlanma Bölgesi
S1	0,035	-7,8	A: SER489: OG- A: S1:O B: LEU88: N- A: S1:O A: S1:H- B: ASP87:OD1	2,78706 3,05144 2,29401	Konvansiyonel Hidrojen Bağı	A: SER489: OG B: LEU88: N A: S1:H	A: S1:O A: S1:O B: ASP87:OD1
			B:ASP87:CA- A: S1:O A: S1:C- B: ILE69:O A: S1:C- A: TRP490:O A: S1:C- A: ASN479:OD1	3,32454 3,54575 2,96159 3,58287	Karbon- Hidrojen Bağı	B:ASP87:CA A: S1:C A: S1:C A: S1:C	A: S1:O B: ILE69:O A: TRP490:O A: ASN479:OD1
			A: ASN479:ND2- A: S1 A: ASN481:ND2- A: S1	3,95174 4,12905	II-Donor Hidrojen Bağı	A: ASN479:ND2 A: ASN481:ND2	A: S1 A: S1
			B: LEU88:CD1 – A: S1 A: S1:C- B: LEU274	3,79351 4,29912	π -Sigma Alkil	B: LEU88:CD1 A: S1:C	A: S1 B: LEU274
			A: S2:C- A: TYR332:O A: S2:C- A: THR284:O A: S2:C- A: SER287:O	3,34974 3,54763 3,53449	Karbon- Hidrojen Bağı	A: S2:C A: S2:C A: S2:C	A: TYR332:O A: THR284:O A: SER287:O
S2	0,032	-8,1	A:PRO285:CA- A: S2 A: S2:C- A:PRO285	3,72433 3,87773	π -Sigma Alkil	A:PRO285:CA A: S2:C	A: S2 A:PRO285
			A: GLY116: N- A: S3:O A: ASN289:ND2- A: S3:O A: ASN289:ND2- A: S3:O A: S3:H- A: S3:O A: S3:H- A: GLU197:OE1 A: S3:H- A: GLY115:O	3,14433 2,89726 3,08063 2,15854 2,74163 2,53543	Konvansiyonel Hidrojen Bağı	A: GLY116: N A: ASN289:ND2 A: ASN289:ND2 A: S3:H A: S3:H A: S3:H	A:1:O A: 1:O A: 1:O A: 1:O A: GLU197:OE1 A: GLY115:O
S3	0,034	-7,9	A: HIS438:CD2- A: S3:O A: S3: N- A: TRP82 A: S3:S- A: HIS438	3,47176 4,75094 5,07944	Karbon- Hidrojen Bağı π -Cation π -Sülfür	A: HIS438:CD2 A: S3: N A: S3:S	A: S3:O A: TRP82 A: HIS438
			A: ALA277- A: S3:C	4,07007	Alkil	A: ALA277	A: S3:C

Çizelge 5.6. (devam) Bileşiklerin BChE (4tpk) proteini ile moleküler doking çalışmaları sonucu

Bileşik Sembolü	RMS D	Bağlanma Enerjisi (kcal/mol)	Etkileşimler	Bağ uzunluğu (Å)	Bağ Türleri	Hedef Bağlanma Bölgesi	Bileşik Bağlanma Bölgesi
C1	0,030	-8,6	A: C1:H- A: PRO285:O	2,74959	Konvansiyonel Hidrojen Bağı	A: C1:H	A: PRO285:O
			A: C1:S- A: TYR332	4,02223	π -Kükürt	A: C1:S	A: TYR332
			A: TRP82- A: C1:C	4,92725	π - Alkil	A: TRP82	A: C1:C
			A: TRP82- A: C1:C	4,6444		A: TRP82	A: C1:C
			A: C1- A: ALA328	5,04536		A: C1	A: ALA328
C2	0,028	-9,3	A: TRP82:NE1- A: C2:O	2,8815	Konvansiyonel Hydrogen Bon	A: TRP82:NE1	A: C2:O
			A: C2:H- A: C2:O	2,10698		A: C2:H	A: C2:O
			A: C3:H- A: GLY115:O	2,77542		A: C2:H	A: GLY115:O
			A: HIS438:CD2- A: C2:O	3,51652	Karbon- Hidrojen Bağı	A: HIS438:CD2	A: C2:O
			A: C2: N- A: TRP82	4,40835	π -katyon	A: C2: N	A: TRP82
			A: C2:S- A: HIS438	5,61196	π -Kükürt	A: C2:S	A: HIS438
C3	0,031	-8,5	A: PRO285:CA- A: C3	3,4632	π -Sigma	A: PRO285:CA	A: C3
			A: C3:C- A: PRO285	4,49041	Alkil	A: C3:C	A: PRO285
			A: C3- A: ALA328	5,35984	π -Alkil	A: C3	A: ALA328
K1	0,030	-8,9	A: K1:H- A: THR284:O	2,44006	Konvansiyonel Hidrojen Bağı	A: K1:H	A: THR284:O
			A: K1:C- A: PRO285:O	3,72927	Karbon- Hidrojen Bağı	A: K1:C	A: PRO285:O
			A: K1- A: PRO285	4,95116	π - Alkil	A: K1	A: PRO285
			A: K1- A: ALA328	5,06127		A: K1	A: ALA328
			A: K1- A: PRO285	4,7121		A: K1	A: PRO285
K2	0,026	-9,4	A: K2:H- A: K2:O	2,25013	Konvansiyonel Hidrojen Bağı	A: K2:H	A: K2:O
			A: K2:H- A: THR284:O	2,75134		A: K2:H	A: THR284:O
			A: K2:C- A: PRO285:O	3,64842	Karbon- Hidrojen Bağı	A: K2:C	A: PRO285:O
			A: K2- A: PRO285	4,86231	π - Alkil	A: K2	A: PRO285
			A: K2- A: ALA328	5,06124		A: K2	A: ALA328
Donepezil	0,026	-9,7	A: Donepezil: C- B: TYR332:O	3,60403	Karbon- Hidrojen Bağı	A: Donepezil: C	B: TYR332:O
			A: Donepezil: C- B: ASP70:OD1	3,64323		A: Donepezil: C	B: ASP70:OD1
			A: Donepezil: C- B: SER72: OG	3,70195		A: Donepezil: C	B: SER72: OG
			A: Donepezil: N- B: TRP82	4,55665	π -katyon	A: Donepezil: N	B: TRP82

5.6. Bileşenlerin BChE Enzimi Üzerindeki Moleküler Doking Sonuçları

5.6.1. C1 bileşiğinin BChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonuçları

C1 bileşiği ile Bütirilkolinesteraz (BChE) enzimi arasındaki moleküler doking çalışmasının sonuçlarına göre, C1 ve enzimin bağlanma bölgesinde bulunan amino asitler arasında çeşitli etkileşimler tMEPit edilmiştir. Bu etkileşimler arasında hidrojen bağları, π -kükürt etkileşimleri ve hidrofobik etkileşimler yer almaktadır. C1 bileşiği ile BChE enzimi arasındaki etkileşimleri incelendiğinde, C1'in hidrojen atomunun (H) PRO285'in oksijen atomu (O) ile bir hidrojen bağı oluşturduğunu görülmüştür. Hidrojen bağı olmayan diğer bir etkileşimde ise, C1'in kükürt atomu (S) TYR332'nin aromatik halkası ile bir π -kükürt etkileşimi Göstermiştir. Ayrıca, TRP82'nin aromatik halkası ile C1'in karbon atomu (C) arasında iki π -alkil etkileşimi ve C1'in karbon atomu ile ALA328 arasında başka bir π -alkil etkileşimi belirlenmiştir.

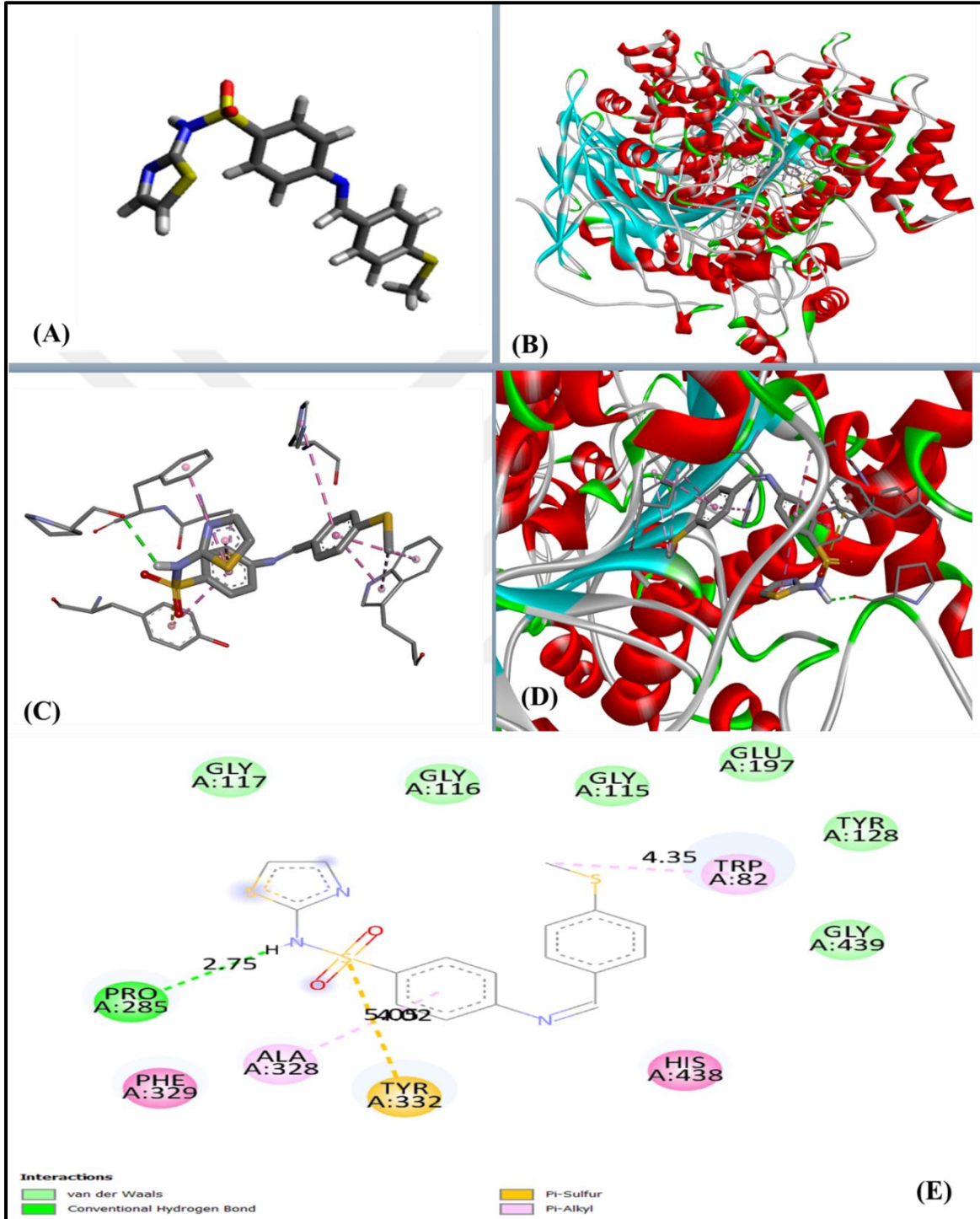
5.6.2. C2 bileşiğinin BChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonuçları

C2 bileşiği ile Bütirilkolinesteraz (BChE) enzimi arasındaki moleküler doking çalışmasının sonuçlarına göre, C2 ve enzimin bağlanma bölgesinde bulunan amino asitler arasında çeşitli etkileşimler ortaya çıkmıştır. Bu etkileşimler; hidrojen bağları, elektrostatik etkileşimler ve π -kükürt etkileşimlerini içermektedir. C2 bileşiği ile BChE enzimi arasındaki ilişkilere bakıldığında üç adet hidrojen bağı görülmektedir. Bu hidrojen bağlarının bir tanesi TRP82'nin azot atomunun (NE1), diğer ise C2'nin oksijen atomuna olan uzaklığıyla oluşmuştur. Oksijen atomu (O) arasında üçüncü bir hidrojen bağı gözlemlenmiştir, C2'nin hidrojen atomu (H) ile GLY115'in oksijen atomu (O) arasında bulundu. Ayrıca, HIS438'in karbon atomu (CD2) ile C2 arasında bir karbon-hidrojen bağı tMEPit edilmiştir. Hidrojen bağı olmayan etkileşimlerde, C2'nin azot atomu (N) ile TRP82'nin aromatik halkası arasında bir elektrostatik π -katyon etkileşimi ve C2'nin kükürt atomu (S) ile HIS438'in aromatik halkası arasında bir π -kükürt etkileşimi gözlemlenmiştir.

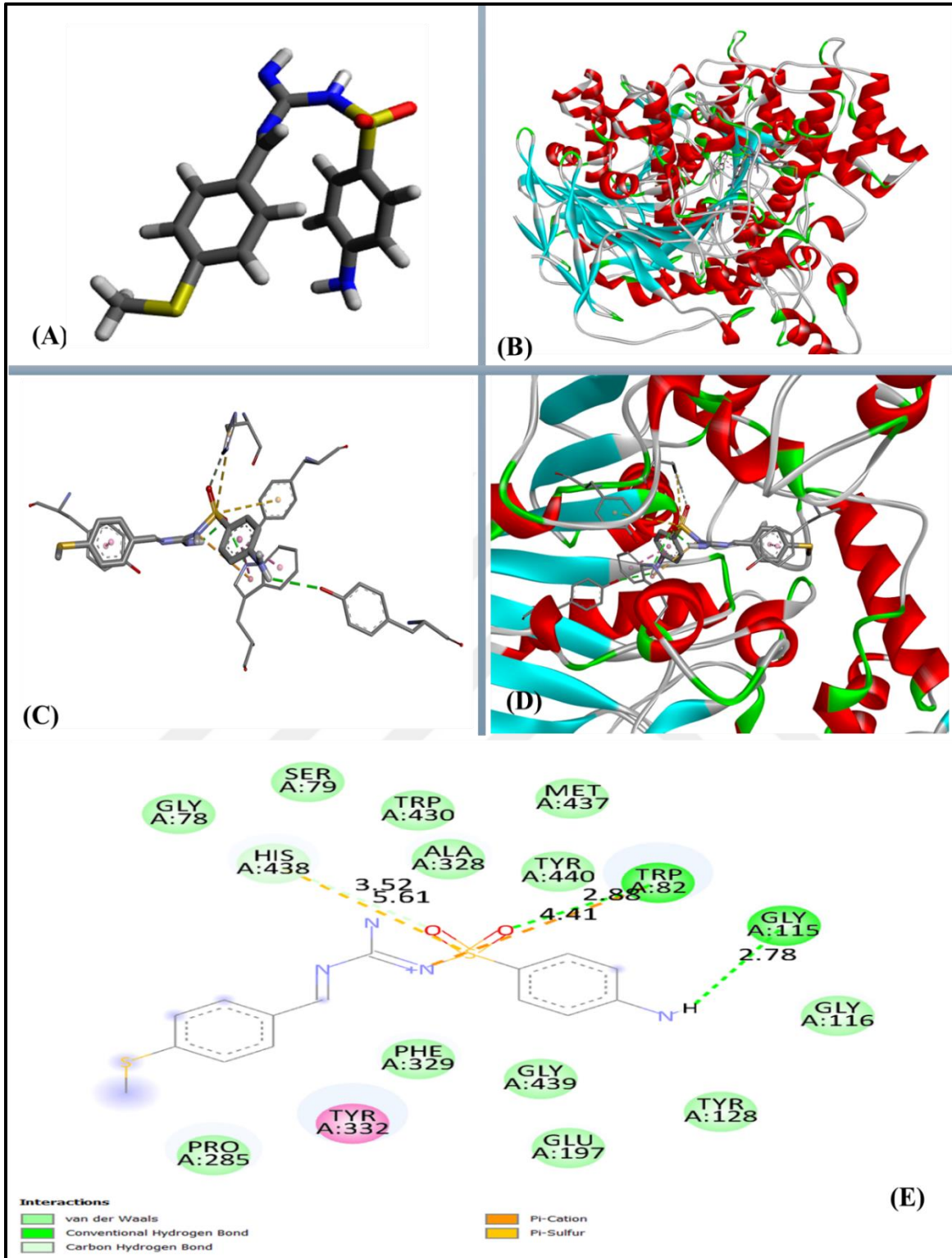
5.6.3. C3 bileşiğinin BChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonuçları

BChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonucuna göre, bileşen C3 ile Bütirilkolinesteraz (BChE) enzimi arasındaki etkileşimler incelenmiştir. Bu etkileşimler π -sigma etkileşimi, alkil etkileşimi ve π -alkil etkileşimini içeriyor. Bileşen C3 ile BChE enzimi arasındaki

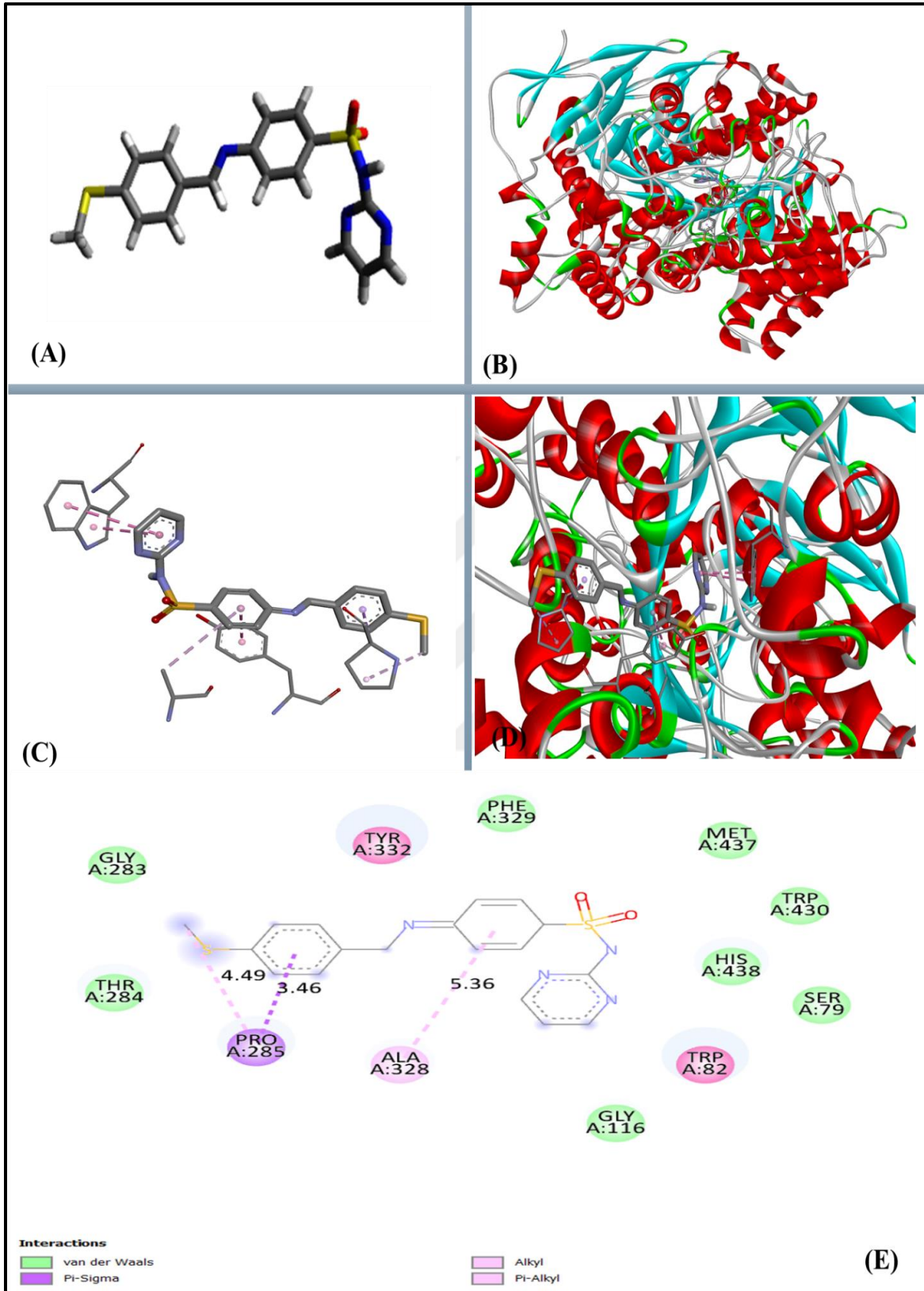
PRO285'in alfa karbon atomu (CA) ile C3 arasındaki π -sigma etkileşiminin de gözlemlendiği belirlenmiştir.



Şekil 5.14. a) Bileşiğin (C1) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) BChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğin yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü



Şekil 5.15. a) Bileşiğin (C2) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) BChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğin yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü



Şekil 5.16. a) Bileşiğin (C3) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) BChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğin yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü

5.6.4. S1 bileşiğinin BChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonuçları

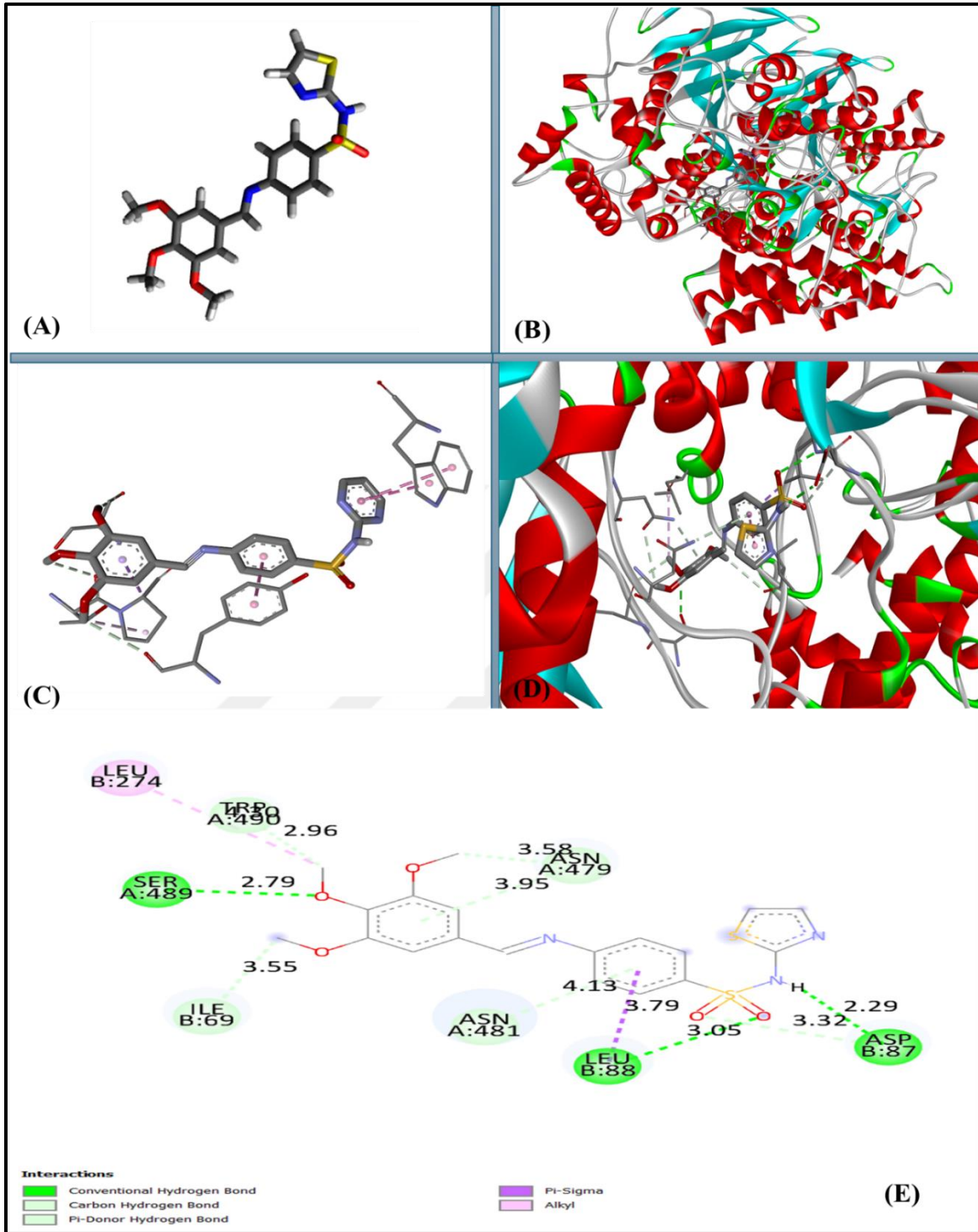
Bileşik S1 ile Bütirilkolinesteraz (BChE) enzimi arasındaki moleküler doking sonuçlarına göre, S1 ve enzimin bağlanma bölgesindeki amino asitler arasında birkaç etkileşim belirlenmiştir. Bu etkileşimler, Hidrojen Bağları, Karbon-Hidrojen Bağları, π -Donör Hidrojen Bağları, π -Sigma ve alkil etkileşimlerini içermektedir. Bileşen S1 ile BChE enzimi arasındaki etkileşimler incelendiğinde, üç hidrojen bağı gözlemlenmiştir. Bir konvansiyonel hidrojen bağı, S1'in oksijen atomu (O) ile SER489'un hidroksil grubu (OH) arasında oluşmuştur. Bir diğer hidrojen bağı, LEU88'in azot atomu (N) ile S1'in oksijen atomu (O) arasında kurulmuştur. Üçüncü hidrojen bağı, S1'in hidrojen atomu (H) ile ASP87'nin oksijen atomu (O) arasında yer almaktadır. Bir karbon-hidrojen bağı, ASP87'nin alfa karbonu (CA) ile S1'in oksijen atomu (O) arasında tMEPit edilmiştir. Bir başka karbon-hidrojen bağı, S1'in karbon atomu (C) ile ILE69'un oksijen atomu (O) arasında gözlemlenmiştir. Benzer bir etkileşim, S1'in karbon atomu (C) ile TRP490'ın oksijen atomu (O) arasında da görülmektedir. Ayrıca, S1'in karbon atomu (C) ile ASN479'un oksijen atomu (O) arasında bir karbon-hidrojen bağı tMEPit edilmiştir. Ayrıca, ASN479'un azot atomu (ND2) ile S1 arasında bir π -donör hidrojen bağı ve ASN481'in azot atomu (ND2) ile S1 arasında başka bir π -donör hidrojen bağı gözlemlenmiştir. Hidrojen bağı olmayan etkileşimlerde, LEU88'in karbon atomu (C) ile S1 arasında bir π -sigma etkileşimi ve S1'in karbon atomu (C) ile LEU274 arasında bir alkil etkileşimi görülmektedir.

5.6.5. S2 bileşiğinin BChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonuçları

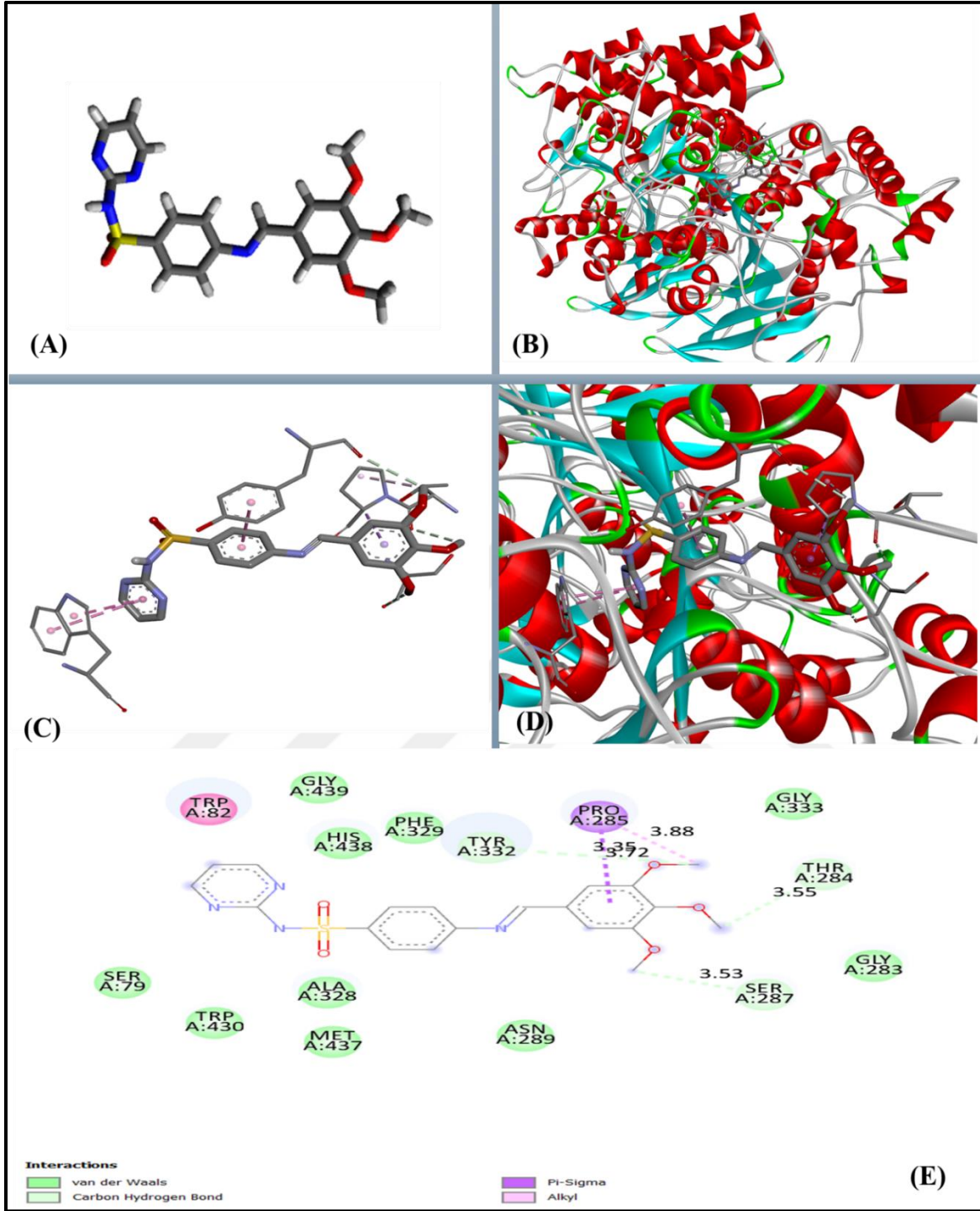
Bileşik S2 ile Bütirilkolinesteraz (BChE) enzimi arasındaki moleküler doking sonuçlarına göre, S2 ve enzimin bağlanma bölgesindeki amino asitler arasında birkaç etkileşim belirlenmiştir. Bu etkileşimler, Karbon-Hidrojen Bağları, π -Sigma ve alkil etkileşimlerini içermektedir. Bileşen S2 ile BChE enzimi arasındaki etkileşimler incelendiğinde, üç hidrojen bağı gözlemlenmiştir. Bir karbon-hidrojen bağı, S2'nin karbon atomu (C) ile TYR332'nin oksijen atomu (O) arasında oluşmuştur. Bir diğer karbon-hidrojen bağı, S2'nin karbon atomu (C) ile THR284'ün oksijen atomu (O) arasında tMEPit edilmiştir. Üçüncü karbon-hidrojen bağı ise S2'nin karbon atomu (C) ile SER287'nin oksijen atomu (O) arasında gözlemlenmiştir. Hidrojen bağı olmayan etkileşimlerde, PRO285'in alfa karbonu (CA) ile S2 arasında bir π -sigma etkileşimi ve S2'nin karbon atomu (C) ile PRO285 arasında bir alkil etkileşimi gözlemlenmiştir.

5.6.6. S3 bileşiğinin BChE enzimi üzerindeki moleküler doking sonuçları

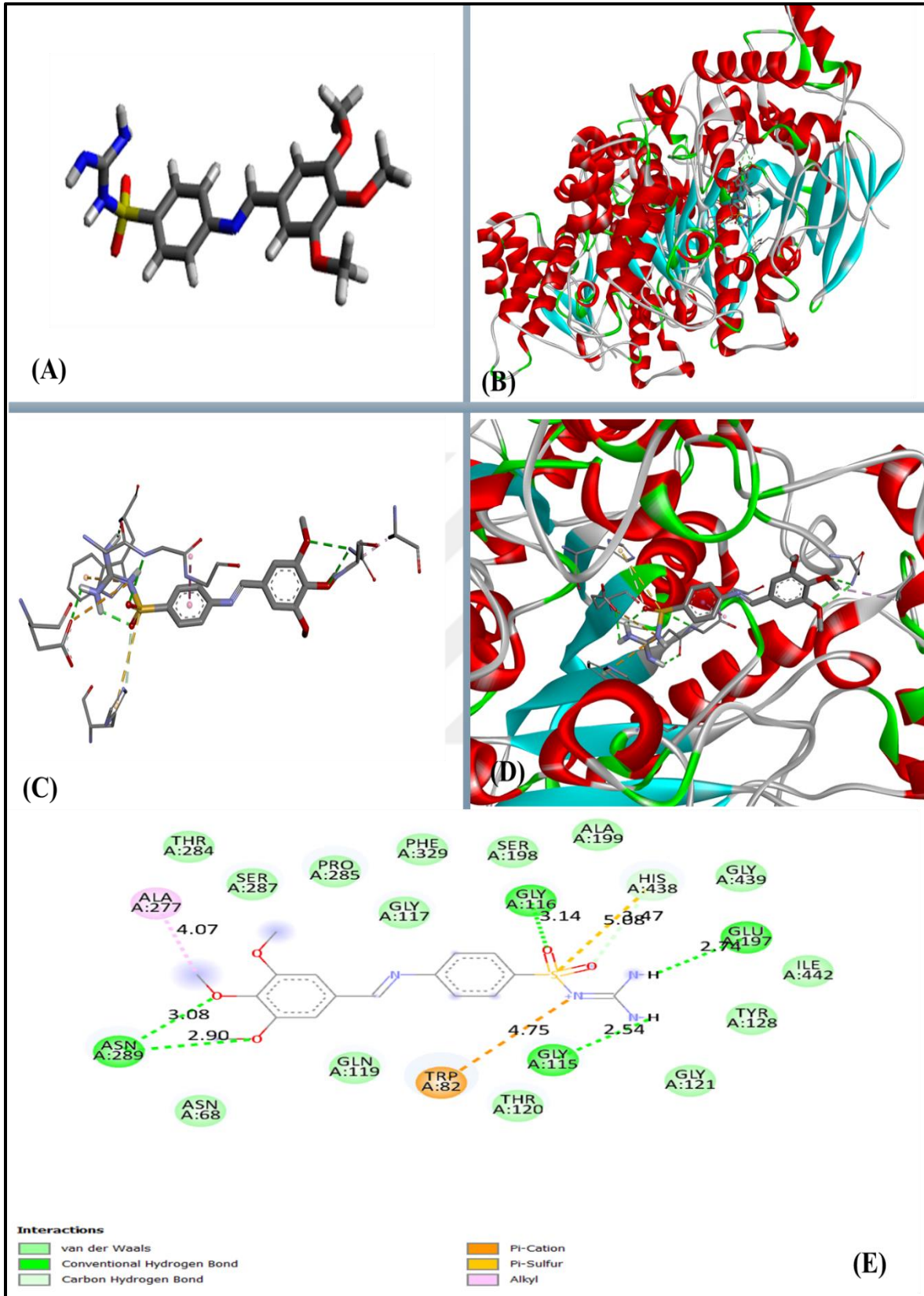
Bileşik S3 ile Bütirikolinesteraz (BChE) enzimi arasındaki moleküler doking sonuçlarına göre, S3 ve enzimin bağlanma bölgesindeki amino asitler arasında birkaç etkileşim belirlenmiştir. Bu etkileşimler, Hidrojen Bağları, Karbon-Hidrojen Bağları, π -Katyon Etkileşimi, π -Kükürt Etkileşimi ve alkil etkileşimlerini içermektedir. Bileşen S3 ile BChE enzimi arasındaki etkileşimler incelendiğinde, altı hidrojen bağı gözlemlenmiştir. Bir hidrojen bağı, GLY116'nın azot atomu (N) ile S3'ün oksijen atomu (O) arasında oluşmuştur. İki hidrojen bağı, ASN289'un azot atomu (ND2) ile S3'ün oksijen atomu (O) arasında tMEPit edilmiştir. Bir hidrojen bağı, S3'ün hidrojen atomu (H) ile S3'ün oksijen atomu (O) arasında bulunmuştur. Bir diğer hidrojen bağı, S3'ün hidrojen atomu (H) ile GLU197'nin oksijen atomu (OE1) arasında gözlemlenmiştir. Son bir hidrojen bağı ise S3'ün hidrojen atomu (H) ile GLY115'in oksijen atomu (O) arasında oluşmuştur. Ayrıca, HIS438'in karbon atomu (CD2) ile S3 arasında bir karbon-hidrojen bağı tMEPit edilmiştir. Hidrojen bağı olmayan etkileşimlerde, S3'ün azot atomu (N) ile TRP82'nin aromatik halkası arasında bir elektrostatik π -katyon etkileşimi ve S3'ün kükürt atomu (S) ile HIS438'in aromatik halkası arasında bir π -kükürt etkileşimi gözlemlenmiştir. Ayrıca, S3'ün karbon atomu (C) ile ALA277 arasında bir alkil etkileşimi bulunmuştur.



Şekil 5.17. a) Bileşiğin (S1) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) BChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğin yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü



Şekil 5.18. a) Bileşiğin (S2) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) BChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğin yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü



Şekil 5.19. a) Bileşiğin (S3) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) BChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğin yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü

5.6.7. K1 bileşiğinin BChE enzimiyle moleküler doking sonuçları

Bileşik K1 ve Bütirilkolinesteraz (BChE) enzimi arasındaki moleküler doking sonuçlarına göre, K1 ve enzimin bağlanma bölgesindeki amino asitler arasında çeşitli etkileşimler tMEPit edilmiştir. Bu etkileşimler arasında hidrojen bağları, karbon-hidrojen bağları ve π -alkil etkileşimleri bulunmaktadır. K1 ile BChE enzimi arasındaki etkileşimler incelendiğinde, K1'in hidrojen atomu (H) ile THR284'ün oksijen atomu (O) arasında bir hidrojen bağı olduğu görülmüştür. Ayrıca, K1'in karbon atomu (C) ile PRO285'in oksijen atomu (O) arasında bir karbon-hidrojen bağı gözlemlenmiştir. Hidrojen bağı olmayan etkileşimlerde ise, K1 ile PRO285 arasında bir π -alkil etkileşimi meydana gelmiştir. Benzer şekilde, K1 ile ALA328 ve PRO285 arasında da π -alkil etkileşimleri gözlenmiştir.

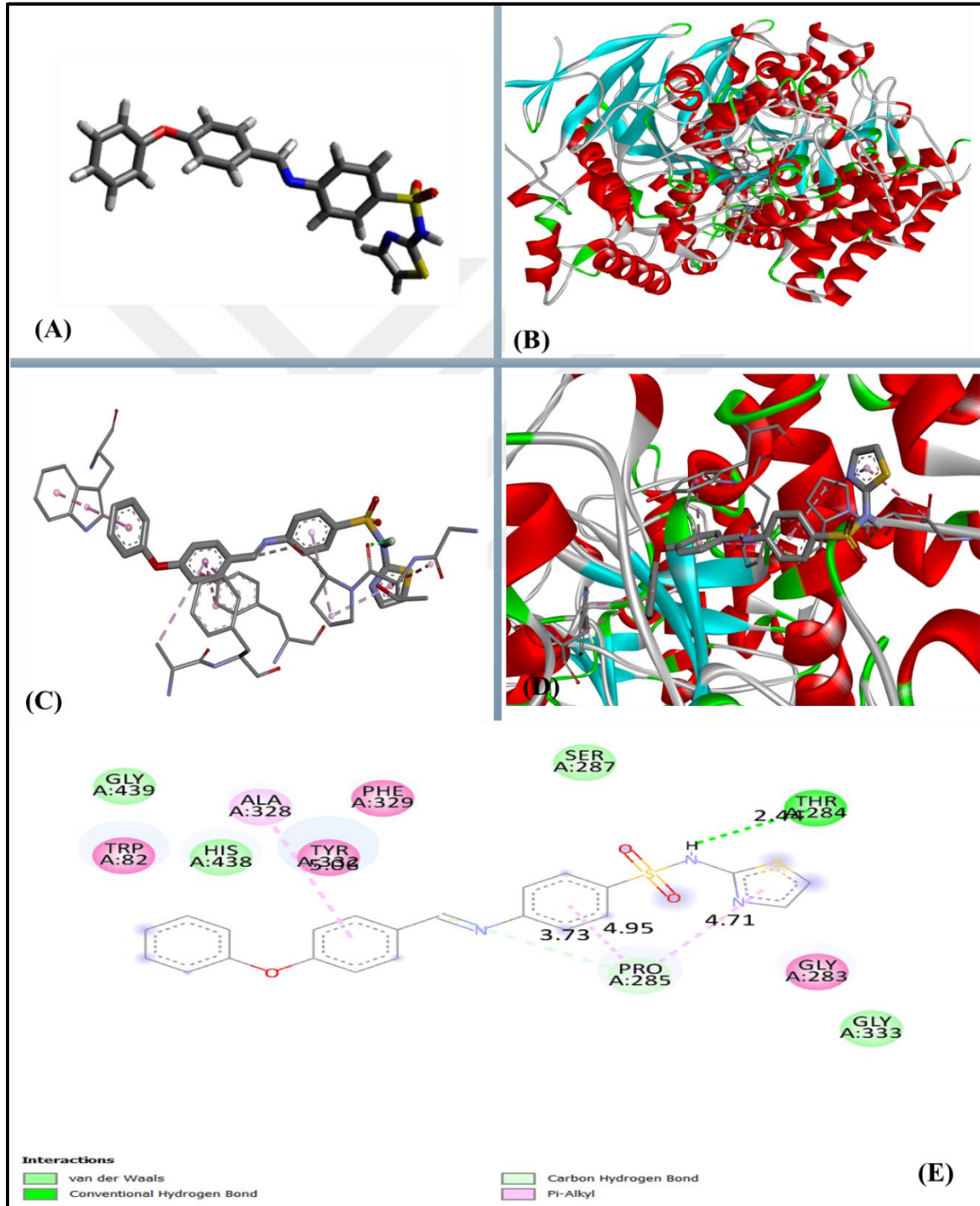
5.6.8. K2 bileşiğinin BChE enzimiyle moleküler doking sonuçları

Bileşik K2 ve Bütirilkolinesteraz (BChE) enzimi arasındaki moleküler doking sonucuna göre, K2 ve enzimin bağlanma bölgesindeki amino asitler arasında çeşitli etkilimler belirlenmiştir. Bu etkiler içerisinde hidrojen bağları, karbon-hidrojen bağları ve π -alkil etkilimleri yer almaktadır. İncelenen bu etkilimler neticesinde; K2'nin hidrogen atomunun(H) O2'nin oksijen atomuna (O)sadece hakiki bir bağı olduğu gorulmusturTHR284'ün oksijen atomu (O) arasında gözlemlendi. Ayrıca, K2'nin karbon atomu (C) ile PRO285'in oksijen atomu (O) arasında bir karbon-hidrojen bağı bulundu. Hidrojen bağı olmayan etkileşimlerde, K2 ile PRO285 arasında bir π -alkil etkileşimi ve K2 ile ALA328 arasında başka bir π -alkil etkileşimi gözlenmiştir.

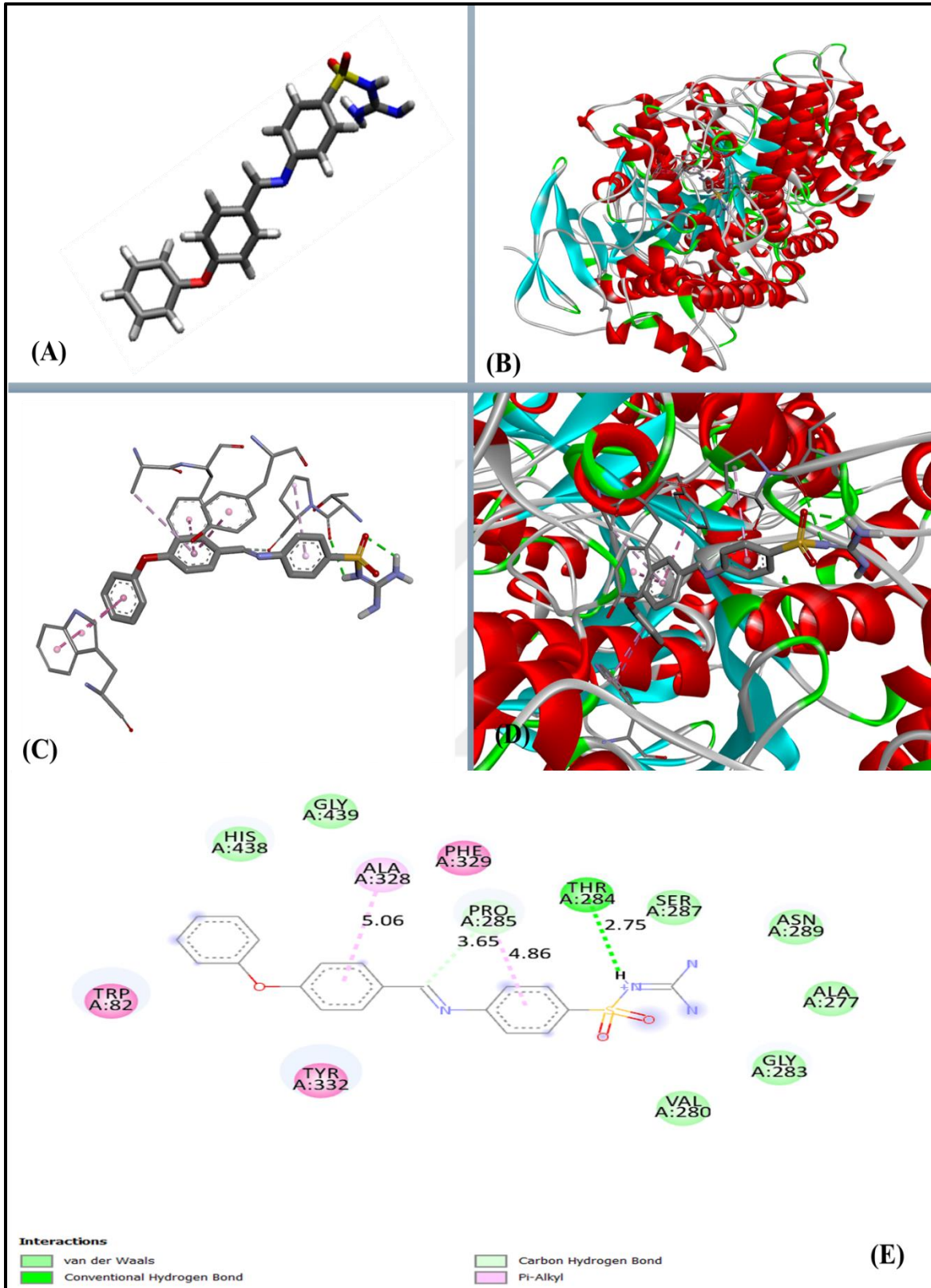
5.6.9. Donepezil BChE enzimiyle moleküler doking sonuçları

Donepezil ve Bütirilkolinesteraz (BChE) enzimi arasındaki moleküler etkileşim sonuçlarına göre, Donepezil ile enzimin bağlandığı bölgedeki amino asitler arasında çeşitli etkileşimler tanımlanmıştır. Bu etkileşimler arasında hidrojen bağları ve elektrostatik etkileşimler bulunmaktadır. Üç hidrojen bağı etkileşimi gözlemlenmiştir. Donepezil'in karbon atomu (C) ile TYR332'nin oksijen atomu (O) arasında bir karbon-hidrojen bağı oluşmuştur. Başka bir karbon-hidrojen bağı ise Donepezil'in karbon atomu (C) ile ASP70'in oksijen atomu (OD1) arasında tMEPit edilmiştir. Üçüncü bir karbon-hidrojen bağı ise Donepezil'in karbon atomu (C) ile SER72'nin oksijen atomu (OG) arasında kurulmuştur. Hidrojen bağı olmayan

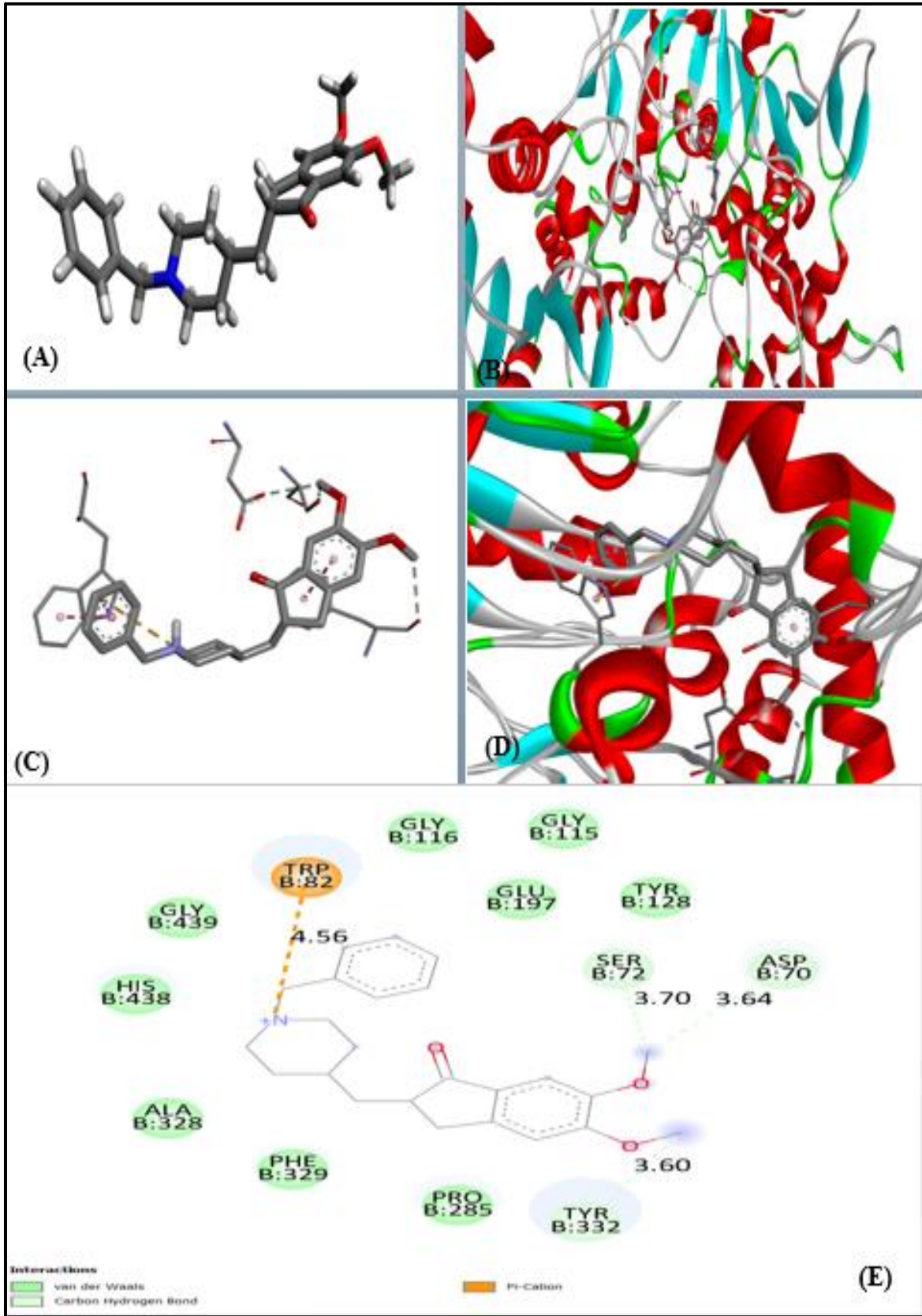
etkileşimler açısından, Donepezil'in azot atomu (N) ile TRP82'nin aromatik halkası arasında bir elektrostatik Pi-Katyon etkileşimi gözlenmiştir. Bu etkileşimler, Donepezil'in BChE enziminin aktif bölgesindeki bağlanma afinitesine katkıda bulunarak, enzimin fonksiyonunu inhibe etme potansiyelini artırmaktadır.



Şekil 5.20. a) Bileşiğin (K1) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) BChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğin yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü



Şekil 5.21.a) a) Bileşiğin (K2) üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) BChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğin yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü



Şekil 5.22. a) Donepezilin üç boyutlu yapısı b) Moleküler doking c) 3D etkileşim türü d) BChE'nin bağlanma bölgesi ve bileşiğin yerleştirilmiş pozisyonu e) 2D etkileşim türü



6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, Asetilkolinesteraz (AChE) ve Bütirilkolinesteraz (BChE) enzimleri üzerinde inhibisyon etkilerini belirlemek amacıyla yeni sekiz adet Schiff bazları sentezlenmiş, bu bileşiklerin biyokimyasal, antibakteriyel, antifungal, sitotoksik ve teorik özellikleri kapsamlı bir şekilde incelenmiştir[142] . Bu çalışmada test edilen bileşiklerin Asetilkolinesteraz (AChE) ve Bütirilkolinesteraz (BChE) inhibisyon potansiyelleri IC_{50} ve K_i değerleri üzerinden değerlendirilmiş ve sonuçlar Donepezil.HCl ile karşılaştırılmıştır [143] . Sentezlenen bileşikler arasında, K2 bileşiği, Donepezil.HCl'ye en yakın sonuçları vererek AChE için 2,67 μ M ve BChE için 2,94 μ M IC_{50} değerleriyle dikkat çekmiş ve umut verici bir alternatif inhibitör olarak değerlendirilmiştir. Buna karşın, S3 bileşiği her iki enzim üzerinde de en yüksek IC_{50} değerlerine (AChE: 7,43 μ M, BChE: 10,86 μ M) sahip olarak, en zayıf inhibitör etkinliği göstermiştir.

Inhibitör bileşiklerin IC_{50} değerlerini karşılaştırabilmek amacıyla, bileşiklerin kendi içinde gruplandırılması anlamlı bir yaklaşım olacaktır. Her aldehit grubu, üç amin ile reaksiyona girerek aynı aldehit kısmını içeren, ancak farklı amin gruplarına sahip bileşikler oluşturmuştur. Toplamda sekiz inhibitör bileşik, bu reaksiyonlar sonucunda elde edilmiştir. Bu sınıflandırma, inhibitörlerin etkinliğinin değerlendirilmesinde ve yapısal özelliklerinin biyolojik aktiviteleri üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılmasında kritik bir rol oynamaktadır.

Çalışmada, farklı aldehitlerin sabit bileşen olarak kullanılmasıyla sentezlenen sülfonamid temelli inhibitörlerin Asetilkolinesteraz (AChE) ve Bütirilkolinesteraz (BChE) enzimleri üzerindeki inhibisyon etkileri kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Bu doğrultuda, IC_{50} ve K_i değerleri detaylı bir şekilde analiz edilmiştir.

4-(Metiltiyo)benzaldehit sabit tutulmak suretiyle, sülfaguanidin, sülfatiazol ve sülfadiazin gibi sülfonamid grubu bileşiklerden türetilen inhibitörlerin her iki enzim üzerindeki IC_{50} değerleri ölçülmüştür. AChE için C1, C2 ve C3 bileşiklerinin IC_{50} değerleri sırasıyla $6,0597 \pm 0,2608$ nM, $4,0397 \pm 0,3697$ nM ve $3,6913 \pm 0,3859$ nM olarak tMEPit edilmiştir. Aynı bileşiklerin BChE üzerindeki IC_{50} değerleri ise sırasıyla $7,1770 \pm 0,1583$ nM, $5,3694 \pm 0,2270$ nM ve $4,1501 \pm 0,3801$ nM olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, IC_{50} değeri en düşük olan C3 bileşiğinin her iki enzim için de en güçlü inhibitör olduğunu göstermektedir. Bu

sonuçların farklılığı sulfadiazin yapısında bulunan pirimidin halkasının farklı biyolojik özellik göstermesine atfedilebilir.

3,4,5-Trimetoksibenzaldehit sabit grup olarak kullanılarak aynı sülfonamid grubu bileşiklerden sentezlenen inhibitörlerin IC_{50} değerleri analiz edilmiştir. AChE için S1, S2 ve S3 bileşiklerinin IC_{50} değerleri sırasıyla $5,7720 \pm 0,2734 \mu M$, $2,9713 \pm 0,3726 \mu M$ ve $7,4365 \pm 0,2139 \mu M$ olarak ölçülmüştür. BChE için ise aynı bileşiklerin IC_{50} değerleri sırasıyla $6,3405 \pm 0,2029 \mu M$, $4,6797 \pm 0,2507 \mu M$ ve $10,8658 \pm 0,1026 \mu M$ olarak tMEPit edilmiştir. Bu analizler, IC_{50} değeri en düşük olan S2 bileşiğinin her iki enzim için en güçlü inhibitör olduğunu ortaya koymaktadır. Bu sonuçların farklılığı sulfadiazin yapısında bulunan pirimidin halkasının farklı biyolojik özellik göstermesine atfedilebilir.

Son olarak, 4-fenoksibenzaldehit ve sülfaguanidin ve sülfatiazol gibi sülfonamid grubu bileşiklerden sentezlenen inhibitörlerin IC_{50} değerleri karşılaştırılmıştır. AChE için K1 ve K2 bileşiklerinin IC_{50} değerleri sırasıyla $3,3262 \pm 0,3806 \mu M$ ve $2,6742 \pm 0,4421 \mu M$ olarak belirlenmiştir. BChE için ise bu bileşiklerin IC_{50} değerleri sırasıyla $3,8037 \pm 0,2690 \mu M$ ve $2,9442 \pm 0,3364 \mu M$ olarak ölçülmüştür. Bu sonuçlar, IC_{50} değeri en düşük olan K2 bileşiğinin her iki enzim için de en etkili inhibitör olduğunu göstermektedir. Schiff bazlarının hem aldehit hem de amin gruplarının farklı olması bu sonuçların her iki fonksiyonel grubun farklı olmasından kaynaklanabileceğini gösterebilir.

Tüm elde edilen bulgular, tüm Schiff bazlarının inhibitör olarak hem AChE hem de BChE enzimleri üzerinde yüksek biyolojik aktivite sergileyebileceğini ve bu bileşiklerin inhibitör geliştirilmesinde güçlü adaylar olduğunu göstermektedir. Özellikle yeni ilaç etken maddesi olabilme potansiyeli ciddi olarak incelenmelidir. Farmakolojik özellikleri araştırıldıktan sonra ilaç faz çalışmalarının yapılması önemli olacaktır.

Bu bulgular, K2 bileşiğinin inhibitör potansiyelini artırmak ve terapötik etkinliğini değerlendirmek amacıyla ileri düzey yapı-aktivite ilişkisi (SAR) çalışmaları ve in vivo testlere tabi tutulması gerektiğini önermektedir. Öte yandan, S3'ün etkinliğinin artırılması için yapısal modifikasyon ve optimizasyon çalışmalarının gerekliliği vurgulanmaktadır. Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen veriler hem inhibitör etkinliğin geliştirilmesi hem de yeni inhibitörlerin tasarımı için önemli bir temel sağlamaktadır.

Deneyler sonucunda elde edilen verilerin istatistiksel olarak anlamlılığını değerlendirmek amacıyla R^2 değerleri önemli bir kriter olarak ele alınmıştır. Yapılan analizler sonucunda, sentezlenen inhibitörlere ait R^2 değerlerinin genel olarak 0,95'in üzerinde olduğu tMEPit edilmiştir. Bu durum, elde edilen sonuçların yüksek güvenilirlikte olduğunu ve deneysel verilerin doğruluğunu desteklediğini göstermektedir.

Hemoliz testleri sonucunda, hemoliz oranlarının hem derişim hem de maruz kalma süresine bağlı olarak belirgin şekilde arttığını ve Schiff baz bileşiklerinin sitotoksik etkiler açısından birbirinden farklı profillere sahip olduğunu ortaya koymuştur [144]. Özellikle C1 ve C3 bileşikleri, güçlü hemolitik aktivite sergileyerek yüksek sitotoksik potansiyel göstermiştir. C3, 300 μ M derişimde %100'u aşan hemoliz oranıyla, yüksek derişimlerde önemli bir toksisite riski taşıdığını göstermektedir. Buna karşın, S2 ve S3 gibi bileşikler, daha düşük hemoliz oranları sergileyerek hafif sitotoksik profilleriyle dikkat çekmiştir. Daha yüksek derişimlerde gözlemlenen hemoliz artışları, bileşiklerin biyolojik sistemlerle etkileşimlerinin doz bağımlı olduğunu ve bu etkileşimlerin yapısal özelliklerden önemli ölçüde etkilendiğini göstermektedir[145]. Özellikle C1 ve C3'ün hemoliz oranlarının zamanla keskin bir şekilde artması, bu bileşiklerin eritrosit zarları üzerindeki potansiyel zarar verici etkilerine işaret etmektedir. Buna karşın, K1, K2, ve S2 gibi bileşikler daha düşük hemoliz oranlarıyla daha sınırlı toksik etki göstermiştir [146].

Sentezlenmiş bileşiklerin farklı konsantrasyonlarda antibakteriyel aktivitelerinin değerlendirilmesi, özellikle K2 bileşiğinin hem Gram-pozitif (*Staphylococcus Aureus* ve *Enterococcus Faecalis*) hem de Gram-negatif (*Pseudomonas Aeruginosa* ve *Escherichia Coli*) bakterilere karşı en güçlü ve geniş spektrumlu antibakteriyel etkiyi gösterdiğini ortaya koymuştur. K2, 100 μ g/mL ve 50 μ g/mL konsantrasyonlarında referans ilaç sulfaguanidin ile karşılaştırıldığında daha üstün performans sergilerken, daha düşük konsantrasyonlarda (25 μ g/mL) daha az antibakteriyel etkinlik göstermiştir [147]. (C1 ve C2) bileşikleri de özellikle Gram-negatif bakterilere karşı farklı konsantrasyonlarda iyi ile orta düzeyde antibakteriyel aktivite göstermiştir. C1, 100 μ g/mL'de *Pseudomonas Aeruginosa* üzerinde 31 mm'lik inhibisyon zonu ile dikkat çekerken, bu etkisi düşük konsantrasyonlarda azalmıştır. Benzer şekilde, C2, farklı konsantrasyonlarda orta düzeyde etkinlik sergilemiştir. (S1–S3) bileşikleri de benzer şekilde daha yüksek konsantrasyonlarda orta düzeyde aktivite göstermiş ancak düşük konsantrasyonlarda inhibisyon etkinlikleri sınırlı kalmıştır. Diğer yandan, K1, test edilen tüm konsantrasyonlarda herhangi bir antibakteriyel etki göstermemiştir. Bu

sonuçlar, K2 bileşiğinin yüksek konsantrasyonlarda referans ilaç sulfaguanidin ile rekabet edebilecek düzeyde güçlü bir antibakteriyel ajan olduğunu ve diğer bileşiklerin özellikle Gram-negatif bakterilere karşı umut vaat eden etkiler sergilediğini göstermektedir. Ancak, düşük konsantrasyonlarda azalan etkiler, yapısal optimizasyon çalışmalarının gerekliliğini ortaya koymaktadır [148] .

Sentezlenmiş bileşiklerin *Candida albicans*, *Candida krusei* ve *Candida glabrata* üzerindeki antifungal etkileri değerlendirmiştir. K2, *C. albicans* üzerinde 100 µg/mL'de 30 mm'lik inhibisyon zon çapı ile flukonazolden daha güçlü bir etki göstermiştir. K1, hem *C. krusei* (22.5 mm, 100 µg/mL'de) hem de *C. glabrata* (25 mm, 100 µg/mL'de) üzerinde güçlü aktivite sergilemiştir. Diğer bileşikler, özellikle S2, orta düzeyde etkiler göstermiştir. Flukonazol, özellikle *Candida. krusei* ve *Candida. glabrata* için daha üstün etkinlik sergilemiş olsa da (K2 ve K1) özellikle *Candida. albicans* ve *Candida. krusei* için umut vaat eden antifungal adaylar olarak öne çıkmıştır. Bu sonuçlar, bileşiklerin Yapı-Aktivite İlişkisi (SAR) çalışmalarına tabi tutulmasının ve etkinliklerinin optimize edilmesinin önemini vurgulamaktadır [149].

Test edilen bileşiklerin (C1, C2, C3, S1, S2, S3, K1 ve K2) kuantum kimyasal parametreleri incelenmiştir. En yüksek ΔE_{gap} değerine sahip olan K2 (4,163 eV) ve K1 (4,129 eV) bileşikleri, yüksek kimyasal kararlılık ve düşük reaktivite göstermiştir; buna karşın, en düşük ΔE_{gap} değerleriyle C1 (3,866 eV) ve C3 (3,863 eV), daha yüksek reaktiviteye işaret etmektedir. K2 (2,082 eV) ve K1 (2,065 eV) en yüksek kimyasal sertlik, K2 (0,240 eV) ve K1 (0,242 eV) ise en düşük kimyasal yumuşaklık değerlerini sergilemiştir [150] Dipol moment açısından K2 (8,486 Debye) ve S3 (7,388 Debye), polarite ve çözünürlük potansiyelleriyle dikkat çekerken, C2 (4,544 Debye) en düşük dipol momentini göstermiştir [147] . Kimyasal potansiyel ve elektronegatiflik değerleri açısından K2 (-4,325 eV ve 4,325 eV) ve S3 (-4,336 eV ve 4,336 eV), elektron alma eğilimlerini öne çıkarmıştır. Ayrıca, yüksek elektrofilik değerleriyle C3 (4,743 eV) ve K2 (4,492 eV), elektrofilik reaksiyonlar için güçlü adaylardır. Bu sonuçlar, özellikle K2 ve K1'in kimyasal kararlılık açısından öne çıktığını, C1, C3 ve S3'ün ise yüksek reaktivite potansiyeli taşıdığını ortaya koymaktadır. Bileşiklerin kimyasal ve biyolojik sistemlerle etkileşim potansiyellerinin daha fazla araştırılması önerilmektedir [151] .

AChE ve BChE üzerindeki moleküler bağlanma enerjileri karşılaştırıldığında, K2 bileşiğinin Donepezil.HCl kıyasla daha yüksek bağlanma enerjisine sahip olduğu tMEPit edilmiştir. Özellikle, AChE üzerinde K2 bileşiğinin Donepezil'den daha güçlü bir bağlanma enerjisi gösterdiği, BChE üzerinde ise Donepezil'in K2'ye yakın bağlanma afinitesi gösterdiği belirlenmiştir. Bu sonuçlar, K2'nin güçlü bir inhibitör olarak ilaç geliştirme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Bu tez çalışmasında elde edilen bulgular, K2 bileşiğinin AChE ve BChE enzimleri üzerinde etkili bir inhibitör olduğunu, geniş spektrumlu antibakteriyel ve antifungal özellikler gösterdiğini ve biyokimyasal sistemlerle uyumlu bir profil çizdiğini ortaya koymuştur [152] . Teorik hesaplamalar, K2'nin kimyasal kararlılık ve reaktivite açısından ideal bir aday olduğunu desteklemektedir. İleriye dönük olarak, K2 bileşiğinin farmakokinetik ve farmakodinamik özelliklerinin detaylı olarak incelenmesi, klinik uygulamalarda kullanım potansiyelini daha iyi değerlendirmek için önem arz etmektedir. Ayrıca, moleküler mekanizmalarının daha derinlemesine araştırılması ve sentez protokollerinin optimize edilmesi, bu bileşiğin ilaç geliştirme süreçlerinde daha etkin bir şekilde değerlendirilmesini sağlayacaktır [153] .



KAYNAKLAR

1. Yiannopoulou, K. G. and Papageorgiou, S. G. (2020). Current and future treatments in Alzheimer disease: an update. *Journal of Central Nervous System Disease*, 12(1), 73-97.
2. Livingston, G., Huntley, J., Sommerlad, A., Ames, D., Ballard, C., Banerjee, S. and Mukadam, N. (2020). Dementia prevention, intervention, and care: 2020 report of the Lancet Commission. *The Lancet*, 396(10248), 413-446.
3. Beveridge, J., Kaniecki, E., Naidu, A., Silverglate, B. D. and Grossberg, G. (2024). How promising are the latest monoclonal antibodies targeting amyloid- β for the treatment of early Alzheimer's disease? *Expert Opinion on Emerging Drugs*, 29(1), 35-43.
4. Lozupone, M., Berardino, G., Mollica, A., Sardone, R., Dibello, V., Zupo, R., and Panza, F. (2022). ALZT-OP1: an experimental combination regimen for the treatment of Alzheimer's disease. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 31(8), 759-771.
5. Conti Filho, C. E., Loss, L. B., Marcolongo-Pereira, C., Rossoni Junior, J. V., Barcelos, R. M., Chiarelli-Neto, O. and Mezzomo, N. J. (2023). Advances in Alzheimer's disease's pharmacological treatment. *Frontiers in Pharmacology*, 14(1), 14-52.
6. Uddin, M. S., Al Mamun, A., Kabir, M. T., Ashraf, G. M., Bin-Jumah, M. N. and Abdel-Daim, M. M. (2021). Multi-target drug candidates for multifactorial Alzheimer's disease: AChE and NMDAR as molecular targets. *Molecular Neurobiology*, 58(1), 281-303.
7. Dakhlaoui, I., Bernard, P. J., Pietrzak, D., Simakov, A., Maj, M., Refouvelet, B. and Ismaili, L. (2023). Exploring the Potential of Sulfonamide-Dihydropyridine Hybrids as Multitargeted Ligands for Alzheimer's Disease Treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(11), 9742-9743.
8. Khan, S., Ullah, H., Taha, M., Rahim, F., Sarfraz, M., Iqbal, R. and Khan, K. M. (2023). Synthesis, DFT studies, molecular docking and biological activity evaluation of thiazole-sulfonamide derivatives as potent Alzheimer's inhibitors. *Molecules*, 28(2), 559-560.
9. Rao, S. P., Xie, W., Kwon, Y. I. C., Juckel, N., Xie, J., Dronamraju, V. R. and More, S. S. (2022). Sulfanegen stimulates 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase activity and ameliorates Alzheimer's disease pathology and oxidative stress in vivo. *Redox Biology*, 57(2), 74-84.
10. Zhang, S., Zhao, J., Bai, Z., Luo, L., Wu, F., Li, B. and Shan, Y. (2021). Sulforaphane inhibits the production of A β partially through the activation of Nrf2-regulated oxidative stress. *Food & Function*, 12(22), 11482-11490.
11. Nelson, D. L., Lehninger, A. L. and Cox, M. M. (2008). *Lehninger principles of biochemistry* (Third edition). London: Macmillan, 25-45.

12. Robinson, P. K. (2015). Enzymes: principles and biotechnological applications. *Essays in Biochemistry*, 59(2), 1-13.
13. Lewis, T. and Stone, W. L. (2020). Proteins enzymes, *Biochemistry*, 4(1), 45-71.
14. Singh, A. K. and Tiwari, I. (2020). Nanomaterial synthesis and mechanism for enzyme immobilization: part II. *Nanomaterials in Biofuels Research*, 4(2), 191-212.
15. Fischer, E. (1894). Einfluss der Configuration auf die Wirkung der Enzyme. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, 27(3), 2985-2993.
16. Schneider, H. J. (2015). Limitations and extensions of the lock-and-key principle: Differences between gas state, solution and solid state structures. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(4), 6694-6717.
17. Lehninger, A. L., Nelson, D. L. and Cox, M. M. (2005). *Lehninger principles of biochemistry* (Third edition). London: Macmillan, 41-62.
18. Morrison, H. (2020). *Enzyme active sites and their reaction mechanisms* (Third edition). Cambridge, Massachusetts: Academic Press, 4-19.
19. McDonald, A. G. and Tipton, K. F. (2014). Fifty-five years of enzyme classification: advances and difficulties. *The FEBS Journal*, 281(2), 583-592.
20. Faria, D., Ferreira, A. E. and Falcão, A. O. (2009). Enzyme classification with peptide programs: a comparative study. *BMC Bioinformatics*, 10(2), 1-9.
21. Dong, J., Fernández-Fueyo, E., Hollmann, F., Paul, C. E., Pesic, M., Schmidt, S. and Zhang, W. (2018). Biocatalytic oxidation reactions: a chemist's perspective. *Angewandte Chemie International Edition*, 57(30), 9238-9261.
22. Janczy-Cempa, E., Mazuryk, O., Kania, A. and Brindell, M. (2022). Significance of specific oxidoreductases in the design of hypoxia-activated prodrugs and fluorescent turn off-on probes for hypoxia imaging. *Cancers*, 14(11), 2686-2687.
23. Tabares, L. C., Gupta, A., Aartsma, T. J. and Canters, G. W. (2014). Tracking electrons in biological macromolecules: From ensemble to single molecule. *Molecules*, 19(8), 11660-11678.
24. Min, Z., Zhang, X., Wu, W., Xin, Y., Liu, M., Wang, K. and Xu, X. (2022). Crystal structure of an intramolecular mesaconyl-coenzyme A transferase from the 3-hydroxypropionic acid cycle of *Roseiflexus castenholzii*. *Frontiers in Microbiology*, 13(3), 92-117.
25. Haider, S., Haider, A., Catala, A. and Blumenberg, M. (2022). *Hydrolases* (Third edition). Norderstedt, Germany: BoD-Books on Demand, 4-19.
26. Distaso, M. A., Chernikova, T. N., Bargiela, R., Coscolín, C., Stogios, P., Gonzalez-Alfonso, J. L. and Golyshin, P. N. (2023). Thermophilic carboxylesterases from hydrothermal vents of the volcanic island of Ischia active on synthetic and biobased polymers and mycotoxins. *Applied and Environmental Microbiology*, 89(2), 17-22.

27. Almonacid, D. E., Yera, E. R., Mitchell, J. B. and Babbitt, P. C. (2010). Quantitative comparison of catalytic mechanisms and overall reactions in convergently evolved enzymes: implications for classification of enzyme function. *PLoS Computational Biology*, 6(3), 10-25.
28. Faria, D., Ferreira, A. E. and Falcão, A. O. (2009). Enzyme classification with peptide programs: a comparative study. *BMC Bioinformatics*, 10(3), 1-9.
29. Amidi, S., Amidi, A., Vlachakis, D., Paragios, N. and Zacharaki, E. I. (2017). Automatic single-and multi-label enzymatic function prediction by machine learning. *Peerj Journal*, 5(3), 30-95.
30. Ou, Y., Wilson, R. E. and Weber, S. G. (2018). Methods of measuring enzyme activity ex vivo and in vivo. *Annual Review of Analytical Chemistry*, 11(1), 509-533.
31. García-Meilán, I., Herrera-Muñoz, J. I., Ordóñez-Grande, B., Fontanillas, R. and Gallardo, Á. (2023). Growth performance, digestive enzyme activities, and oxidative stress markers in the proximal intestine of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed high starch or lipid diets. *Fishes*, 8(5), 223-224.
32. Sylvester, J. E. and Kron, S. J. (2019). *U.S. Patent No. 10,192,030*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
33. Zheng, C., Mao, Y., Kozuch, J., Atsango, A. O., Ji, Z., Markland, T. E. and Boxer, S. G. (2022). A two-directional vibrational probe reveals different electric field orientations in solution and an enzyme active site. *Nature Chemistry*, 14(8), 891-897.
34. Jee, A. Y., Cho, Y. K., Granick, S. and Tlusty, T. (2018). Catalytic enzymes are active matter. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(46), 812-821.
35. Coscolín, C., Beloqui, A., Martínez-Martínez, M., Bargiela, R., Santiago, G., Blanco, R. M. and Ferrer, M. (2018). Controlled manipulation of enzyme specificity through immobilization-induced flexibility constraints. *Applied Catalysis A: General*, 5(4), 59-67.
36. Swanson, T. A., Kim, S. I. and Glucksman, M. J. (2008). *Biochemistry* (Third edition). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 7-16.
37. Verma, G., Bhushan, B., Singh, G., Singh, K., Kumar, S., Garg, A. and Rajput, P. (2024). Pharmacological strategies for enzyme inhibition in disease therapeutics: A comprehensive review. *Current Enzyme Inhibition*, 20(2), 96-108.
38. Esimbekova, E. N., Kalyabina, V. P., Kopylova, K. V., Lonshakova-Mukina, V. I., Antashkevich, A. A., Torgashina, I. G. and Kratasyuk, V. A. (2023). Enzyme Inhibition-based assay to estimate the contribution of formulants to the effect of commercial pesticide formulations. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 2268-2269.
39. Khan, M. I., Begum, R. A., Franková, L. and Fry, S. C. (2024). Allelochemical root-growth inhibitors in low-molecular-weight cress-seed exudate. *Annals of Botany*, 133(3), 447-458.

40. Tucci, A. R., da Rosa, R. M., Rosa, A. S., Augusto Chaves, O., Ferreira, V. N. S., Oliveira, T. K. F. and Miranda, M. D. (2023). Antiviral effect of 5'-arylchalcogeno-3-aminothymidine derivatives in SARS-CoV-2 infection. *Molecules*, 28(18), 6696-6697.
41. Zhao, M., Chen, X., Chi, G., Shuai, D., Wang, L., Chen, B. and Li, J. (2020). Research progress on the inhibition of enzymes by polyoxometalates. *Inorganic Chemistry Frontiers*, 7(22), 4320-4332.
42. Yang, X., Wei, A., Cao, X., Wang, Z., Wan, H., Wang, B. and Peng, H. (2024). Identification and biological evaluation of a novel small-molecule inhibitor of ricin toxin. *Molecules*, 29(7), 1435-1436.
43. Ghorbania, F., Ghorbani, M. and Ghahghaee, A. (2020). The inhibitory effects of nucleosides, nicotinamide adenine dinucleotide, adenosine 5'-triphosphate, inosine, nicotinamide riboside and nicotinamide mononucleotide against α -amylase and α -glucosidase enzymes, *SDRP Journal of Food Science & Technology*, 5(3), 182–198.
44. Gumerova, N., Krivosudský, L., Fraqueza, G., Breibeck, J., Al-Sayed, E., Tanuhadi, E. and Rompel, A. (2018). The P-type ATPase inhibiting potential of polyoxotungstates. *Metallomics*, 10(2), 287-295.
45. Matzenbacher, F. D. O., Vidal, R. A., Merotto Jr, A. and Trezzi, M. M. (2014). Environmental and physiological factors that affect the efficacy of herbicides that inhibit the enzyme protoporphyrinogen oxidase: a literature review. *Planta Daninha*, 32(4), 457-463.
46. Kokkonen, P., Beier, A., Mazurenko, S., Damborsky, J., Bednar, D. and Prokop, Z. (2021). Substrate inhibition by the blockage of product release and its control by tunnel engineering. *RSC Chemical Biology*, 2(2), 645-655.
47. Scheerer, D., Adkar, B. V., Bhattacharyya, S., Levy, D., Iljina, M., Riven, I., and Shakhnovich, E. I. (2023). Allosteric communication between ligand binding domains modulates substrate inhibition in adenylate kinase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 120(18), 12-36.
48. Efimov, I., Basran, J., Sun, X., Chauhan, N., Chapman, S. K., Mowat, C. G. and Raven, E. L. (2012). The mechanism of substrate inhibition in human indoleamine 2, 3-dioxygenase. *Journal of the American Chemical Society*, 134(6), 3034-3041.
49. Kazemi, M., Himo, F. and Åqvist, J. (2016). Enzyme catalysis by entropy without Circe effect. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(9), 2406-2411.
50. Smith, C. M. (2005). *Marks' basic medical biochemistry: A clinical approach* (Third edition). Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 4-27.
51. Hames, B. D., Hooper, N. M. and Hames, B. D. (2005). *Biochemistry* (2. baskı). Ankara: Nobel Akademik, 110-125.
52. Massoulié, J., Sussman, J., Bon, S. and Silman, I. (1993). Structure and functions of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. *Progress in Brain Research*, 98(3), 139-146.

53. Nicolet, Y., Lockridge, O., Masson, P., Fontecilla-Camps, J. C. and Nachon, F. (2003). Crystal structure of human butyrylcholinesterase and of its complexes with substrate and products. *Journal of Biological Chemistry*, 278(42), 41141-41147.
54. Khan, H., Ali Khan, M. and Hussan, I. (2007). Enzyme inhibition activities of the extracts from rhizomes of *Gloriosa superba* Linn (Colchicaceae). *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 22(6), 722-725.
55. Khan, H., Amin, S., Kamal, M. A. and Patel, S. (2018). Flavonoids as acetylcholinesterase inhibitors: Current therapeutic standing and future prospects. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 101(4), 860-870.
56. De A. Cavalcante, S. F., Simas, A. B. and Kuča, K. (2019). Nerve agents' surrogates: invaluable tools for development of acetylcholinesterase reactivators. *Current Organic Chemistry*, 23(14), 1539-1559.
57. Ballinger, E. C., Ananth, M., Talmage, D. A. and Role, L. W. (2016). Basal forebrain cholinergic circuits and signaling in cognition and cognitive decline. *Neuron*, 91(6), 1199-1218.
58. Li, Q., He, S., Chen, Y., Feng, F., Qu, W. and Sun, H. (2018). Donepezil-based multi-functional cholinesterase inhibitors for treatment of Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 158(2), 463-477.
59. Mesulam, M. M., Guillozet, A., Shaw, P., Levey, A., Duysen, E. G. and Lockridge, O. (2002). Acetylcholinesterase knockouts establish central cholinergic pathways and can use butyrylcholinesterase to hydrolyze acetylcholine. *Neuroscience*, 110(4), 627-639.
60. Mack, A. and Robitzki, A. (2000). The key role of butyrylcholinesterase during neurogenesis and neural disorders: an antisense-5' butyrylcholinesterase-DNA study. *Progress in Neurobiology*, 60(6), 607-628.
61. Nordberg, A., Ballard, C., Bullock, R., Darreh-Shori, T. and Somogyi, M. (2013). A review of butyrylcholinesterase as a therapeutic target in the treatment of Alzheimer's disease. *The Primary Care Companion for CNS Disorders*, 15(2), 26-73.
62. Sramek, J. J., Hourani, J., Jhee, S. S. and Cutler, N. R. (1999). NXX-066 in patients with Alzheimer's Disease: A bridging study. *Life Sciences*, 64(14), 1215-1221.
63. Schachter, A. S. and Davis, K. L. (2000). Alzheimer's disease. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 2(2), 91-100.
64. Terry, R. D. and Davies, P. (1980). Dementia of the Alzheimer type. *Annual Review of Neuroscience*, 3(1), 77-95.
65. Palaniyandi, T., Kanagavalli, B., Prabhakaran, P., Viswanathan, S., Wahab, M. R. A., Natarajan, S. and Kumarasamy, S. (2023). Nanosensors for the diagnosis and therapy of neurodegenerative disorders and inflammatory bowel disease. *Acta Histochemica*, 125(2), 151-169.

66. Jatoi, S., Hafeez, A., Riaz, S. U., Ali, A., Ghauri, M. I. and Zehra, M. (2020). Low vitamin B12 levels: an underestimated cause of minimal cognitive impairment and dementia. *Cureus*, 12(2), 8-13.
67. Cho, H. S., Huang, L. K., Lee, Y. T., Chan, L. and Hong, C. T. (2018). Suboptimal baseline serum vitamin B12 is associated with cognitive decline in people with Alzheimer's disease undergoing cholinesterase inhibitor treatment. *Frontiers in Neurology*, 9(3), 325-326.
68. Chandra, A., Valkimadi, P. E., Pagano, G., Cousins, O., Dervenoulas, G., Politis, M. and Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. (2019). Applications of amyloid, tau, and neuroinflammation PET imaging to Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Human Brain Mapping*, 40(18), 5424-5442.
69. Matthews, D. C., Ritter, A., Thomas, R. G., Andrews, R. D., Lukic, A. S., Revta, C. and Cummings, J. (2021). Rasagiline effects on glucose metabolism, cognition, and tau in Alzheimer's dementia. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions*, 7(1), 21-46.
70. Jack Jr, C. R., Bennett, D. A., Blennow, K., Carrillo, M. C., Feldman, H. H., Frisoni, G. B. and Dubois, B. (2016). A/T/N: An unbiased descriptive classification scheme for Alzheimer disease biomarkers. *Neurology*, 87(5), 539-547.
71. Cummings, J. and Kinney, J. (2022). Biomarkers for Alzheimer's disease: context of use, qualification, and roadmap for clinical implementation. *Medicina*, 58(7), 952-953.
72. Serrano-Pozo, A., Frosch, M. P., Masliah, E. and Hyman, B. T. (2011). Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 1(1), 18-29.
73. Spires-Jones, T. L. and Hyman, B. T. (2014). The intersection of amyloid beta and tau at synapses in Alzheimer's disease. *Neuron*, 82(4), 756-771.
74. Parfenov, V. A., Zakharov, V. V., Kabaeva, A. R. and Vakhnina, N. V. (2020). Subjective cognitive decline as a predictor of future cognitive decline: a systematic review. *Dementia & Neuropsychologia*, 14(03), 248-257.
75. Warren, S. L., Reid, E., Whitfield, P. and Moustafa, A. A. (2022). Subjective memory complaints as a predictor of mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Discover Psychology*, 2(1), 13-14.
76. Stephan, B. C. M., Hunter, S., Harris, D., Llewellyn, D. J., Siervo, M., Matthews, F. E. and Brayne, C. (2012). The neuropathological profile of mild cognitive impairment (MCI): a systematic review. *Molecular Psychiatry*, 17(11), 1056-1076.
77. Habert, M. O., Horn, J. F., Sarazin, M., Lotterie, J. A., Puel, M., Onen, F. and Dubois, B. (2011). Brain perfusion SPECT with an automated quantitative tool can identify prodromal Alzheimer's disease among patients with mild cognitive impairment. *Neurobiology of Aging*, 32(1), 15-23.

78. Fennema-Notestine, C., McEvoy, L. K., Hagler Jr, D. J., Jacobson, M. W., Dale, A. M. and Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. (2009). Structural neuroimaging in the detection and prognosis of pre-clinical and early AD. *Behavioural Neurology*, 21(1-2), 3-12.
79. Shamrat, F. J. M., Akter, S., Azam, S., Karim, A., Ghosh, P., Tasnim, Z. and Ahmed, K. (2023). AlzheimerNet: An effective deep learning based proposition for alzheimer's disease stages classification from functional brain changes in magnetic resonance images. *IEEE Access*, 11(2), 16376-16395.
80. Dumanski, J. P., Lambert, J. C., Rasi, C., Giedraitis, V., Davies, H., Grenier-Boley, B. and Forsberg, L. A. (2016). Mosaic loss of chromosome Y in blood is associated with Alzheimer disease. *The American Journal of Human Genetics*, 98(6), 1208-1219.
81. Almkvist, O. and Nordberg, A. (2023). A biomarker-validated time scale in years of disease progression has identified early-and late-onset subgroups in sporadic Alzheimer's disease. *Alzheimer's Research & Therapy*, 15(1), 89-90.
82. Olivieri, P., Hamelin, L., Lagarde, J., Hahn, V., Guichart-Gomez, E., Roué-Jagot, C. and Sarazin, M. (2021). Characterization of the initial complaint and care pathways prior to diagnosis in very young sporadic Alzheimer's disease. *Alzheimer's Research & Therapy*, 13(1), 90-91.
83. Keogh, M. J., Steele, H., Douroudis, K., Pyle, A., Duff, J., Hussain, R. and Chinnery, P. F. (2015). Frequency of rare recessive mutations in unexplained late onset cerebellar ataxia. *Journal of Neurology*, 262(3), 1822-1827.
84. Kiss, M., Timári, I., Barna, T., Mészáros, Z., Slámová, K., Bojarová, P. and Somsák, L. (2022). 2-Acetamido-2-deoxy-d-glucono-1, 5-lactone sülfonylhydrazones: Synthesis and evaluation as inhibitors of human OGA and HexB enzymes. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3), 1037-1038.
85. Volcho, K. P. and Lavrik, O. I. (2023). Inhibition of DNA repair enzymes as a valuable pharmaceutical approach. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(9), 79-81.
86. Supuran, C. T. (2018). Carbonic anhydrase inhibitors and their potential in a range of therapeutic areas. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 28(10), 709-712.
87. Geronikaki, A. (2020). Recent trends in enzyme inhibition and activation in drug design. *Molecules*, 26(1), 17-18.
88. Bullain, S. and Doody, R. (2020). What works and what does not work in Alzheimer's disease? From interventions on risk factors to anti-amyloid trials. *Journal of Neurochemistry*, 155(2), 120-136.
89. Ezkurdia, A., Ramírez, M. J. and Solas, M. (2023). Metabolic syndrome as a risk factor for Alzheimer's disease: a focus on insulin resistance. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5), 4354-4355.
90. Athanasaki, A., Melanis, K., Tsantzali, I., Stefanou, M. I., Ntymenou, S., Paraskevas, S. G. and Paraskevas, G. P. (2022). Type 2 diabetes mellitus as a risk factor for Alzheimer's disease: Review and Meta-Analysis. *Biomedicines*, 10(4), 778-779.

91. Korologou-Linden, R., Bhatta, L., Brumpton, B. M., Howe, L. D., Millard, L. A., Kolaric, K. and Davies, N. M. (2022). The causes and consequences of Alzheimer's disease: phenome-wide evidence from Mendelian randomization. *Nature Communications*, 13(1), 1-14.
92. Holstege, H., Hulsman, M., Charbonnier, C., Grenier-Boley, B., Quenez, O., Grozeva, D. and Lambert, J. C. (2022). Exome sequencing identifies rare damaging variants in ATP8B4 and ABCA1 as risk factors for Alzheimer's disease. *Nature Genetics*, 54(12), 1786-1794.
93. Chandrashekar, D. V., Steinberg, R. A., Han, D. and Sumbria, R. K. (2023). Alcohol as a modifiable risk factor for Alzheimer's disease—Evidence from experimental studies. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(11), 9492-9493.
94. Wainaina, M. N., Chen, Z. and Zhong, C. (2014). Environmental factors in the development and progression of late-onset Alzheimer's disease. *Neuroscience Bulletin*, 30(2), 253-270.
95. Pfeiffer, P., Breith, E., Lubbe, E. and Tsumaki, T. (1932). Thcylische Orthokondesierte Nebenvalenzringe. *Annalen Der Chemie*, 492(2), 81-127.
96. Subasi, N. T. (2022). Overview of schiff bases. In *schiff base in organic, inorganic and physical chemistry* (Third edition). London: IntechOpen, 41-121.
97. Patai, S. (1973). The chemistry of the carbon-nitrogen double bond. (*No Title*).
98. Layer, R. W. (1963). The chemistry of Imines. *Chemical Reviews*, 63(5), 489-510.
99. Smith, P. A. S. (1965). The chemistry of open-chain organic nitrogen compounds. (*No Title*).
100. Kazemnejadi, M., Dehno Khalaji, A. and Mighani, H. (2017). Synthesis and characterization of Schiff-base polymer derived from 2, 5-dichloroaniline and 2-hydroxybenzaldehyde. *Iranian Chemical Communication*, 5(16), 237-241.
101. Cooper, A. J. and Meister, A. (1985). *Transaminases* (Third edition). New York: John Wiley and Sons, 41-114.
102. Yeap, G. Y., Ha, S. T., Ishizawa, N., Suda, K., Boey, P. L. and Mahmood, W. A. K. (2003). Synthesis, crystal structure and spectroscopic study of para substituted 2-hydroxy-3-methoxybenzalideneanilines. *Journal of Molecular Structure*, 658(2), 87-99.
103. Aksuner, N., Henden, E., Yilmaz, I. and Cukurovali, A. (2009). A highly sensitive and selective fluorescent sensor for the determination of copper (II) based on a schiff base. *Dyes and Pigments*, 83(2), 211-217.
104. Higuera, L., López-Carballo, G., Gavara, R. and Hernández-Muñoz, P. (2015). Reversible covalent immobilization of cinnamaldehyde on chitosan films via schiff base formation and their application in active food packaging. *Food and Bioprocess Technology*, 8(2), 526-538.

105. Yuan, C., Liu, X., Wu, Y., Lu, L. and Zhu, M. (2016). A triazole Schiff base-based selective and sensitive fluorescent probe for Zn^{2+} : A combined experimental and theoretical study. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 154(3), 215-219.
106. Abou-Omar, M. N., Attia, M. S., Afify, H. G., Amin, M. A., Boukherroub, R. and Mohamed, E. H. (2021). Novel optical biosensor based on a nano-gold coated by Schiff base doped in sol/gel matrix for sensitive screening of oncomarker CA-125. *ACS Omega*, 6(32), 20812-20821.
107. Sharma, S., Meena, R., Singh, R. V. and Fahmi, N. (2016). Synthesis, characterization, antimicrobial, and DNA cleavage evaluation of some organotin (IV) complexes derived from ligands containing the 1 H-indole-2, 3-dione moiety. *Main Group Metal Chemistry*, 39(1), 31-40.
108. Mr, S. N., Srinivasan, A. K., Keerthana, P. and Kumar, A. (2021). Schiff's base (SB) modified zirconium dioxide reinforced PLA bio-composite film for industrial packaging applications. *Composites Communications*, 25(3), 10-36.
109. Singh, S. (2021). Synthesis, spectroscopic studies and pesticidal activity of transition metal complexes with unsymmetrical schiff base. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics (IJBB)*, 58(6), 565-571.
110. Saikia, Q., Hazarika, A. and Mishra, R. (2022). A review on the pharmacological importance of PDE5 and its inhibition to manage biomedical conditions. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, 13(3), 246-257.
111. Bekdemir, Y., Kütük, H., Özkanca, R., Mara, F. Z., Darcan, C., Çelik, S. and Isik, K. (2004). Substituent effects on antimicrobial activities of some sülfonamides. In *The 15th International Symposium on Quantitive Structure-Activity Relationships&Molecular Modeling*. İstanbul, 174-175.
112. Remko, M. and von der Lieth, C. W. (2004). Theoretical study of gas-phase acidity, pKa, lipophilicity, and solubility of some biologically active sülfonamides. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 12(20), 5395-5403.
113. Gadad, A. K., Mahajanshetti, C. S., Nimbalkar, S. and Raichurkar, A. (2000). Synthesis and antibacterial activity of some 5-guanylhdyrazone/thiocyanato-6-arylimidazo [2, 1-b]-1, 3, 4-thiadiazole-2-sülfonamide derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 35(9), 853-857.
114. El-Sayed, N. S., El-Bendary, E. R., El-Ashry, S. M. and El-Kerdawy, M. M. (2011). Synthesis and antitumor activity of new sülfonamide derivatives of thiadiazolo [3, 2-a] pyrimidines. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46(9), 3714-3720.
115. Elgemeie, G. H., Azzam, R. A. and Elsayed, R. E. (2019). Sülfä drug analogs: new classes of N-sülfonyl aminated azines and their biological and preclinical importance in medicinal chemistry (2000–2018). *Medicinal Chemistry Research*, 28(3), 1099-1131.

116. Chandrasekhar, S. and Mohapatra, S. (1998). Neighbouring group assisted sulfonamide cleavage of Sharpless aminols under acetonation conditions. *Tetrahedron Letters*, 39(7), 695-698.
117. Pareek, A., Rani, P. and Kishore, D. (2013). A short review on: Sulphonamides. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 4(1), 812-820.
118. Locuson, C. W., Gannett, P. M., Ayscue, R. and Tracy, T. S. (2007). Use of simple docking methods to screen a virtual library for heteroactivators of cytochrome P450 2C9. *Journal of Medicinal Chemistry*, 50(6), 1158-1165.
119. Boison, J. O., Nachilobe, P., Cassidy, R., Keng, L., Thacker, P. A., Peacock, A. and Bulmer, W. S. (1996). Determination of trimethoprim and sulphadoxine residues in porcine tissues and plasma. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 60(4), 281-282.
120. Tekeli, T., Akocak, S., Petreni, A., Lolak, N., Çete, S. and Supuran, C. T. (2023). Potent carbonic anhydrase I, II, IX and XII inhibition activity of novel primary benzenesulfonamides incorporating bis-ureido moieties. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 38(1), 21-85.
121. Bilen, E., Özmen, Ü. Ö., Çete, S., Alyar, S. and Yaşar, A. (2022). Bioactive sülfonil hydrazones with alkyl derivative: Characterization, ADME properties, molecular docking studies and investigation of inhibition on choline esterase enzymes for the diagnosis of Alzheimer's disease. *Chemico-Biological Interactions*, 360(2), 99-156.
122. Kurban, M. G., Çakmak, R., Başaran, E., Türkmenoğlu, B. and Şentürk, M. (2024). Synthesis of new sülfonamide derivatives: Investigation of their interactions with carbonic anhydrase and cholinesterase enzymes by in vitro and in silico evaluations. *Journal of Molecular Structure*, 13(14), 13-87.
123. Hussain, R., Ullah, H., Rahim, F., Sarfraz, M., Taha, M., Iqbal, R. and Abdelaziz, M. A. (2022). Multipotent cholinesterase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease: Synthesis, biological analysis and molecular docking study of benzimidazole-based thiazole derivatives. *Molecules*, 27(18), 60-87.
124. Gürsoy, Ş., Çaka, Z., Faydalı, N., Sirinzade, H. and Dilek, E. (2024). Exploring novel schiff base compounds derived from benzothiophene-3-carboxaldehyde hydrazones: In vitro and in silico evaluation as potential inhibitors of cholinesterases and carbonic anhydrases I-II. *Erzincan University Journal of Science and Technology*, 17(1), 174-195.
125. Alkahtani, H. M., Almhizia, A. A., Al-Omar, M. A., Obaidullah, A. J., Zen, A. A., Hassan, A. S. and Aboulthana, W. M. (2023). In vitro evaluation and bioinformatics analysis of schiff bases bearing pyrazole scaffold as bioactive agents: antioxidant, anti-diabetic, anti-alzheimer, and anti-arthritic. *Molecules*, 28(20), 7125-7126.
126. Akocak, S., Taslimi, P., Lolak, N., Işık, M., Durgun, M., Budak, Y. and Beydemir, Ş. (2021). Synthesis, characterization, and inhibition study of novel substituted phenylureido sülfaguanidine derivatives as α -glycosidase and cholinesterase inhibitors. *Chemistry & Biodiversity*, 18(4), 20-45.

127. Gaudin, V. (2023). Recent developments on colorimetric and dual colorimetric/fluorimetric enzymatic biosensors for the detection of pesticides in food. *Preprints*, 1(07), 5-26.
128. Gönül, İ. (2022). Sülfonat grubu içeren schiff bazı ligandı ve geçiş metal kompleksleri: sentezi, yapısal karakterizasyonları ve antimikrobiyal aktivitelerinin incelenmesi. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 12(1), 352-364.
129. Mohammed, S. A., Mousa, H. M. and Alwan, A. H. (2019, July). Determination of hemolytic cytotoxicity and antibacterial activity of Conocarpus lancifolius aqueous leaves extract. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (Vol. 571, No. 1, p. 012045). Philadelphia: Institute of Physics Publishing.
130. Huang, J., He, C., Pan, G. and Tong, H. (2016). A theoretical research on pyrolysis reactions mechanism of coumarone-contained lignin model compound. *Computational and Theoretical Chemistry*, 1091(1), 92-98.
131. Moustafa, I. M., Mohamed, N. M. and Ibrahim, S. M. (2022). Molecular modeling and antimicrobial screening studies on some 3-aminopyridine transition metal complexes. *Open Journal of Inorganic Chemistry*, 12(3), 39-56.
132. Ford, K. A. (2013). Role of electrostatic potential in the in silico prediction of molecular bioactivation and mutagenesis. *Molecular Pharmaceutics*, 10(4), 1171-1182.
133. Chai, L. Q., Zhang, X. F., & Tang, L. J. (2021). Crystallographic, spectroscopic, TD/DFT calculations and Hirshfeld surface analysis of cadmium (II) coordination polymer containing pyridine ring. *Journal of Molecular Structure*, 1245(2), 13-28.
134. Elsamra, R. M., Masoud, M. S. and Ramadan, A. M. (2022). Designing metal chelates of halogenated sülfonamide Schiff bases as potent nonplatinum anticancer drugs using spectroscopic, molecular docking and biological studies. *Scientific Reports*, 12(1), 20-29.
135. Mondal, S., Mandal, S. M., Mondal, T. K. and Sinha, C. (2015). Structural characterization of new Schiff bases of sülfamethoxazole and sülfathiazole, their antibacterial activity and docking computation with DHPS protein structure. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 150(2), 268-279.
136. Krátký, M., Dzurková, M., Janoušek, J., Konečná, K., Trejtnar, F., Stolaříková, J. and Vinšová, J. (2017). Sülfadiazine salicylaldehyde-based Schiff bases: Synthesis, antimicrobial activity and cytotoxicity. *Molecules*, 22(9), 1573-1574.
137. Mondal, S., Mandal, S. M., Ojha, D., Chattopadhyay, D. and Sinha, C. (2019). Water soluble sülfaguanidine based Schiff base as a “Turn-on” fluorescent probe for intracellular recognition of Zn²⁺ in living cells and exploration for biological activities. *Polyhedron*, 172(1), 28-38.
138. Vibha, K., Prachalith, N. C., Reddy, R. A., Ravikantha, M. N. and Thipperudrappa, J. (2023). Computational studies on sülfonamide drug molecules by density functional theory. *Chemical Physics Impact*, 6(1), 147-148.

139. Babalola, I. T. and Suleiman, G. (2024). Design, synthesis, and molecular docking studies of N-substituted sulfonamides as potential anticancer therapeutics. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 19(1), 175-183.
140. Bayrak, B. B., Ertik, O., Onul, N., Mermer, N. S. and Yanardag, R. (2024). Synthesis novel N, S-substituted nitrobutadiene derivatives: some metabolic enzyme inhibition properties and antioxidant activities and in silico ADMET and molecular docking studies. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 21(5), 1299-1315.





Gazili olmak ayrıcalıktır