



**BAZI AROMATİK SÜLFONİLHİDRAZONLARIN VE Cu(II)
KOMPLEKSLERİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU, KARBONİK
ANHİDRAZ I İZOENZİMİNE (hCA I) KARŞI İNHİBİSYON
AKTİVİTESİNİN TAYİNİ**

Ebru ERDOĞDU

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

MART 2015

Ebru ERDOĞDU tarafından hazırlanan “BAZI AROMATİK SÜLFONİLHİDRAZONLARIN VE Cu(II) KOMPLEKSLERİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU, KARBONİK ANHİDRAZ I İZOENZİMİNE (hCA I) KARŞI İNHİBİSYON AKTİVİTESİNİN TAYİNİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Kimya Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Ayla Balaban GÜNDÜZALP
Kimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

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

.....

Başkan: Prof. Dr. Perihan GÜRKAN
Kimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

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

.....

Üye: Prof. Dr. Bülent DÜZ
Kimya Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

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

.....

Tez Savunma Tarihi: 16/03/2015

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

.....

Prof. Dr. Şeref SAĞIROĞLU
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

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

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

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

Ebru ERDOĞDU
16.03.2015

BAZI AROMATİK SÜLFONİLHİDRAZONLARIN VE Cu(II) KOMPLEKSLERİNİN
SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU, KARBONİK ANHİDRAZ I İZOENZİMİNE
(hCA I) KARŞI İNHİBİSYON AKTİVİTESİNİN TAYİNİ
(Yüksek Lisans Tezi)

Ebru ERDOĞDU

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mart 2015

ÖZET

Bu çalışmada, metansülfonik asit hidrazit (msh)'den çıkılarak yeni aromatik sülfonilhidrazon bileşikleri; 3,5-ditersiyebutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon (3,5-tbsalmsh), 3-tersiyebutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon (3-tbsalmsh), 5-bromosalisilaldehitmetansülfonilhidrazon (5-Brsalmsh) sentezlendi. Aromatik sülfonilhidrazonların yapı tayininde element analizi, FT-IR, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumları kullanıldı. 5-Brsalmsh'ın yapısı X-ışını kırınımı ile desteklendi. Aromatik sülfonilhidrazonların Cu(II) kompleksleri sentezlendi ve yapıları spektroskopik metotlar (FT-IR, LC-MS ve UV-vis), termal çalışmalar, iletkenlik ve manyetik duyarlık ölçümleri ile aydınlatıldı. Aromatik ligandların ve Cu(II) komplekslerinin karbonik anhidraz I izoenzimine (hCA I) karşı inhibisyon aktivitesi spektrofotometrik yöntemle incelendi ve inhibisyon parametreleri (IC₅₀ ve K_i) hesaplandı. Enzim inhibisyon sonuçları, Cu(II) komplekslerinin özellikle de 5-BrsalmshCu'ın hCA I izoenzimine karşı yüksek aktiviteye sahip olduğunu gösterdi. Ayrıca dönüşümlü voltametri (CV) ve diferansiyel puls voltametri (DPV) yöntemleri ile bileşiklerin hCA I izoenzimi üzerine inhibisyon etkisi incelendi.

Bilim Kodu : 201.1.005
Anahtar Kelimeler : Aromatik sülfonilhidrazonlar, Cu(II) kompleksi, karbonik anhidraz I izoenzimi (hCA I), dönüşümlü voltametri, diferansiyel puls voltametri
Sayfa Adedi :111
Danışman : Doç. Dr. Ayla BALABAN GÜNDÜZALP

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION, DETERMINATION OF INHIBITION
ACTIVITY ON CARBONIC ANHYDRASE I ISOENZYME (hCA I) OF AROMATIC
SULFONYLHYDRAZONES AND THEIR Cu(II) COMPLEXES

(MSc Thesis)

Ebru ERDOĞDU

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

March 2015

ABSTRACT

In this work, new aromatic sulfonylhydrazones derived from methane sulfonik acid hydrazide (msh); 3,5-ditertbutylsalicylaldehydemethanesulfonylhydrazone (3,5-tbsalmsh), 3-tertbutylsalicylaldehydemethanesulfonylhydrazone (3-tbsalmsh), 5-bromosalicylaldehydemethanesulfonylhydrazone (5-Brsalmsh) were synthesized. The structures of aromatic sulfonyl hydrazones were determined by using elemental analysis, FT-IR, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spectrum. The structure of 5-Brsalmsh was also supported with X-ray diffraction. Cu(II) complexes of aromatic sulfonylhydrazones were synthesized and their structures were characterized with spectroscopic methods (FT-IR, LC-MS and UV-vis), thermal studies, conductivity and magnetic susceptibility measurements. The inhibition effects of sulfonylhydrazones and their Cu(II) complexes on carbonic anhydrase I isoenzyme (hCA I) were investigated by using UV-vis spectrophotometer method and the activity parameters (IC₅₀ and Ki) were calculated. Biological activity results showed that, Cu(II) complexes especially 5-BrsalmshCu had high inhibition effects on hCA I isoenzyme. Also, the inhibition effects of the compounds on hCA I isoenzyme were investigated by cyclic voltammetry (CV) and differantial pulse voltammetry (DPV) methods.

Science Code : 201.1.005

Key Words : Aromatic sulfonylhydrazones, Cu(II) complex, carbonic anhydrase I
isoenzyme (hCA I), cyclic voltammetry, differantial pulse voltammetry

Page Number :111

Supervisor : Assoc. Prof.Dr. Ayla BALABAN GÜNDÜZALP

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren sayın hocam Doç. Dr. Ayla Balaban GÜNDÜZALP'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım süresince her zaman bana yol gösteren, değerli vaktini ayırıp bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan sayın hocam Doç. Dr.Ümmühan Özdemir ÖZMEN'e, çalışmalarım boyunca değerli görüş ve yardımlarıyla katkıda bulunan hocalarım Doç.Dr. Neslihan ÖZBEK'e ve Arş. Gör. Dr. Demet UZUN'a çok teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi bu zor dönemlerimde de maddi manevi hiçbir yardımı esirgmeden sabır ve hoşgörüyle yanımda olan, bıkmadan beni teşvik eden, her yaşımda kendilerinden çok şey öğrendiğim canım anneme ve canım babama yaptıkları fedakarlıklardan ötürü tüm kalbimle teşekkür ederim, sonsuz sevgilerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
SİMGE VE KISALTMALAR	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	5
2.1. Sülfonamidler.....	5
2.1.1. Sistemik sülfonamidler.....	8
2.1.2. Gastrointestinal enfeksiyonlarda kullanılan sülfonamidler.....	13
2.1.3. Oftalmik enfeksiyonlarda kullanılan sülfonamidler.....	14
2.1.4. Üriner enfeksiyonlarda kullanılan sülfonamidler.....	15
2.1.5. Yanık tedavisinde kullanılan sülfonamidler.....	15
2.1.6. Vajinal enfeksiyonların tedavisinde kullanılan sülfonamidler.....	15
2.2. Karbonik Anhidraz Enzimi	15
2.2.1. Sınıflandırılması, dağılımı ve fizyolojik önemi	15
2.2.2. Karbonik anhidraz enziminin özellikleri.....	18
2.2.3. Kataliz reaksiyonları	21
2.2.4. Karbonik anhidraz enziminin metabolizmadaki yeri	22
2.2.5. Karbonik anhidraz inhibitörleri.....	23
2.2.6. Karbonik anhidraz inhibitörlerinin kullanım alanları	29
2.2.7. Karbonik Anhidraz İnhibitörlerinin Yan Etkileri.....	30

	Sayfa
2.3. Kaynak Araştırması.....	31
3. MATERYAL VE METOTLAR.....	39
3.1. Kimyasal Maddeler	39
3.2. Yapı Analizlerinde Kullanılan Cihazlar.....	39
4. DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMA.....	41
4.1. Metan Sülfonik Asit Hidrazit (msh) Sentezi.....	41
4.2. Ligandların Sentezi	41
4.2.1. 3,5-Ditersiyebutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon (3,5-tbsalmsh) sentezi.....	42
4.2.2. 3-Tersiyebutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon (3-tbsalmsh)	42
4.2.3. 5-Bromosalisilaldehitmetansülfonilhidrazon (5-Brsalmsh).....	43
4.3. Komplekslerin Sentezi	43
4.3.1. Sodyum bis (3,5-ditersiyebutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon) klorobakır (II) monohidrat (3,5-tbsalmshCu) sentezi	44
4.3.2. Sodyum bis(3-tersiyebutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon) klorobakır (II) (3-tbsalmshCu) sentezi	44
4.3.3. Sodyum bis (5-bromosalisilaldehitmetansülfonilhidrazon) klorobakır (II) trihidrat (5-BrsalmshCu) sentezi	45
4.4. Karbonik Anhidraz I (CA I) Enzim Aktivitesinin Spektrofotometrik Tayini....	46
4.4.1. Esteraz aktivitesi	46
4.4.2. Tris-SO ₄ hazırlanması	47
4.4.3. Karbonik anhidraz I (hCA I) için IC ₅₀ değerin belirlenmesi.....	47
4.4.4. Karbonik anhidraz I (hCA I) için K _i değerin belirlenmesi	47
4.5. Karbonik Anhidraz I (CA I) Enzim Aktivitesinin Elektrokimyasal Tayini	47
5. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	49
5.1. Amin ve Ligandların Deneysel Verileri	49
5.1.1. Metan sülfonik asit hidrazit (msh)	49
5.1.2. 3,5-ditersiyebutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon (3,5-tbsalmsh).....	52

	Sayfa
5.1.3. 3-Tersiyerbutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon (3-tbsalmsh)	56
5.1.4. 5-Bromosalisilaldehitmetansülfonilhidrazon (5-Brsalmsh)	59
5.2. Komplekslerin Deneysel Verileri	66
5.2.1. Sodyum bis(3,5dtersiyerbutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon) bakır (II) monohidrat (3,5-tbsalmshCu)	66
5.2.2. Sodyum bis(3-dtersiyerbutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon) bakır(II) (3-tbsalmshCu)	71
5.2.3. Sodyum bis(5-bromosalisilaldehitmetansülfonilhidrazon) klorobakır (II) trihidrat (5-BrsalmshCu)	75
5.3. Karbonik Anhidraz I (hCA I) İzoenziminin Aktivite Sonuçları	80
5.3.1. Km grafikleri	81
5.3.2. IC ₅₀ grafikleri	84
5.4. Elektrokimyasal Çalışmalar	87
5.4.1. Dönüşümlü voltametri (CV)	87
5.4.2. Elektrokimyasal olarak karbonikanhidraz i izoenzimi (hca i)'nin inhibisyonu	91
5.4.3. Substrat ile enzim etkileşimi üzerine süre etkisi	91
5.4.4. Substrat miktarının enzim üzerine etkisi	92
5.4.5. Enzim üzerine inhibitör derişimi etkisi	93
6. SONUÇLAR	103
KAYNAKLAR	105
ÖZGEÇMİŞ	110

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Yüksek omurgalılarda α -CA izoenzimleri, onların nispi CO ₂ hidrataz aktiviteleri, sülfonamid inhibitörlerine karşı afiniteleri ve hücre içindeki yerleşimleri	17
Çizelge 2.2. Göz’de bulunan karbonik anhidraz izoenzimlerinin dağılımı	23
Çizelge 4.1. Bileşiklere ait deneysel sonuçlar	48
Çizelge 5.1. msh’a ait ¹ H NMR kimyasal kayma değerleri	50
Çizelge 5.2. 3,5-tbsalmsh’ın ¹ H- ¹³ C NMR kimyasal kayma değerleri (δ , ppm)	55
Çizelge 5.3. 3-tbsalmsh ¹ H- ¹³ C NMR kimyasal kayma değerleri (δ , ppm).....	58
Çizelge 5.4. 5-Brsalmsh’a ait kristal verileri	61
Çizelge 5.5. 5-Brsalmsh a ait bağ uzunlukları	61
Çizelge 5.6. 5-Brsalmsh bileşiğine ait bağ açıları.....	62
Çizelge 5.7. 5-Brsalmsh bileşiğinin torsiyon açıları.....	62
Çizelge 5.8. Hidrojen bağ uzunluğu ($\text{\AA}$) ve açısı ($^{\circ}$).....	62
Çizelge 5.9. 5-Brsalmsh bileşiğinin ¹ H- ¹³ C NMR kimyasal kayma değerleri (δ , ppm)	64
Çizelge 5.10. Metan sülfonik hidrazit, aromatik sülfonilhidrazon ve Cu(II) komplekslerinin seçilmiş titreşim dalga sayıları (cm^{-1})	68
Çizelge 5.11. Komplekslerin molar iletkenlik değerleri	70
Çizelge 5.12. Cu(II) komplekslerinin LC-MS verileri.....	77
Çizelge 5.13. Standart (AAZ), ligand ve komplekslerin hCA I izoenzimi üzerine aktivite sonuçları.....	80
Çizelge 5.14. Amin, ligand, Cu(II) kompleksleri ve standartın farklı derişimlerinin ilavesiyle ürün pik akımlarındaki değişimler	94

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Prontosil (a) ve 4-aminobenzenşülfonamid (b) moleküllerinin yapısı	1
Şekil 1.2. Asetazolamid (AZM), Metazolamid (MZM) ve Amsulf (AMS)'un kristal yapıları	2
Şekil 1.3. Sentezlenen bileşiklerin tahmini açık yapısı.....	4
Şekil 4.1. 3,5-tbsalmsh bileşiğinin sentezi.....	42
Şekil 4.2. 3-tbsalmsh bileşiğinin sentezi.....	43
Şekil 4.3. 5-Brsalmsh bileşiğinin sentezi	43
Şekil 4.4. 3,5-tbsalmshCu bileşiğinin sentezi	44
Şekil 4.5. 3-tbsalmshCu bileşiğinin sentezi	45
Şekil 4.6. 5-BrsalmshCu bileşiğinin sentezi	46
Şekil 5.1. msh ın 3D-yapısı.....	49
Şekil 5.2. msh bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu	50
Şekil 5.3. msh bileşiğinin D ₂ O değişim spektrumu	51
Şekil 5.4. msh bileşiğinin FT-IR spektrumu.....	52
Şekil 5.5. 3,5-tbsalmsh bileşiğinin açık yapısı.....	52
Şekil 5.6. 3,5-tbsalmsh bileşiğinin ¹ H-NMR spektrumu.....	53
Şekil 5.7. 3,5-tbsalmsh bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu.....	54
Şekil 5.8. 3,5-tbsalmsh bileşiğinin FT-IR spektrumu	56
Şekil 5.9. 3-tbsalmsh bileşiğinin açık yapısı.....	56
Şekil 5.10. 3-tbsalmsh bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu	57
Şekil 5.11. 3-tbsalmsh bileşiğine ait ¹³ C-NMR spektrumu	58
Şekil 5.12. 3-tbsalmsh bileşiğinin FT-IR spektrumu	59
Şekil 5.13. 5-Brsalmsh bileşiğine ait kristal yapı	60
Şekil 5.14. 5-Brsalmsh bileşiğinin 3D paket görünüşü	60
Şekil 5.15. 5-Brsalmsh molekülleri arasındaki H bağlanmasını gösteren kristal yapı ..	61

Şekil	Sayfa
Şekil 5.16. 5-Brsalmsh bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu	63
Şekil 5.17. 5-Brsalmsh bileşiğine ait ¹³ C NMR spektrumu.....	64
Şekil 5.18. 5-Brsalmsh bileşiğine ait FT-IR Spektrumu.....	65
Şekil 5.19. Na[Cu(3,5-tbsalmsh)2Cl]xH ₂ O bileşiğinin tahmini açık yapısı.....	66
Şekil 5.20. Na[Cu(3,5-tbsalmsh)2Cl]xH ₂ O bileşiğine ait LC-MS spektrumu.....	67
Şekil 5.21. 3,5-tbsalmshCu kompleksine ait FT-IR spektrumu.....	68
Şekil 5.22. 3,5-tbsalmshCu kompleksine ait TGA eğrisi.....	69
Şekil 5.23. 3,5-tbsalmsh ve 3,5-tbsalmshCu bileşiklerinin 200-900 nm aralığında seyreltik MeOH çözeltisinde alınan UV-vis spektrumları	70
Şekil 5.24. Na[Cu(3-tbsalmsh)2Cl] bileşiğinin tahmini açık yapısı	71
Şekil 5.25. Na[Cu(3-tbsalmsh)2Cl] kompleksine ait LC-MS spektrumu.....	72
Şekil 5.26. 3-tbsalmshCu kompleksine ait FT-IR spektrumu.....	73
Şekil 5.27. 3-tbsalmshCu kompleksine ait TGA eğrisi.....	73
Şekil 5.28. 3-tbsalmsh ve 3-tbsalmshCu bileşiklerinin 200-900 nm aralığında seyreltik MeOH çözeltisinde alınan UV-vis spektrumları	74
Şekil 5.29. Na[Cu(5-Brsalmsh)2Cl]x3H ₂ O bileşiğinin tahmini açık yapısı	75
Şekil 5.30. Na[Cu(5-Brsalmsh)2Cl]x3H ₂ O kompleksine ait LC-MS spektrumu	76
Şekil 5.31. 5-BrsalmshCu kompleksine ait FT-IR spektrumu.....	78
Şekil 5.32. 5-BrsalmshCu kompleksine ait TGA eğrisi.....	78
Şekil 5.33. 5-Brsalmsh ve 5-BrsalmshCu bileşiklerinin 200-900 nm aralığında seyreltik MeOH çözeltisinde alınan UV-vis spektrumları	79
Şekil 5.34. 3,5-tbsalmsh bileşiğine ait Lineweaver-Burk grafiği	81
Şekil 5.35. 3-tbsalmsh bileşiğine ait Lineweaver-Burk grafiği	82
Şekil 5.36. 5-Brsalmsh bileşiğine ait Lineweaver-Burk grafiği	82
Şekil 5.37. 3,5-tbsalmshCu bileşiğine ait Lineweaver-Burk grafiği.....	82
Şekil 5.38. 3-tbsalmshCu bileşiğine ait Lineweaver-Burk grafiği.....	83
Şekil 5.39. 5-BrsalmshCu bileşiğine ait Lineweaver-Burk grafiği.....	83

Şekil	Sayfa
Şekil 5.40. AAZ'nin Lineweaver-Burk grafiği.....	84
Şekil 5.41. 3,5-tbsalmsh bileşiğine ait % Aktivite-Derişim grafiği.....	84
Şekil 5.42. 3-tbsalmsh bileşiğine ait % Aktivite-Derişim grafiği.....	85
Şekil 5.43. 5-Brsalmsh bileşiğine ait % Aktivite-Derişim grafiği.....	85
Şekil 5. 44. 3,5-tbsalmshCu bileşiğine ait % Aktivite-Derişim grafiği	86
Şekil 5.45. 3-tbsalmshCu bileşiğine ait % Aktivite-Derişim grafiği	86
Şekil 5.46. 5-BrsalmshCu bileşiğine ait % Aktivite-Derişim grafiği	87
Şekil 5.47. AAZ'nın derişime karşı % Aktivite-Derişim grafiği.....	87
Şekil 5.48. GC elektrot ile 0,1 M TBATFB içeren asetonitril ortamında 1mM (a) 3,5-tbsalmsh (b) 3-tbsalmsh (c) 5-Brsalmsh bileşiklerine ait dönüşümlü voltamogramlar	89
Şekil 5.49. GC elektrot ile 0,1 M TBATFB içeren asetonitril ortamında 1mM msh, 3,5-tbsalmsh ve 3,5-tbsalmshCu bileşiklerine ait dönüşümlü voltamogramlar	90
Şekil 5.50. GC elektrot ile 0,1 M TBATFB içeren asetonitril ortamında 1mM 1mM msh, 3-tbsalmsh ve 3-tbsalmshCu bileşiklerine ait dönüşümlü voltamogramlar	90
Şekil 5.51. GC elektrot ile 0,1 M TBATFB içeren asetonitril ortamında 1mM msh, 5-Brsalmsh ve 5-BrsalmshCu bileşiklerine ait dönüşümlü voltamogramlar	91
Şekil 5.52. GC elektrot ile pH 7,4 Tris tamponu ortamında 5 µL CA I varlığında PNFA	92
Şekil 5.53. GC elektrot ile pH 7,4 Tris tamponu ortamında 5 µL CA I varlığında PNFA (25, 50, 100, 150, 200 ve 250 µL) ilavesiyle elde edilen dönüşümlü voltamogramlar	92
Şekil 5.54. GC elektrot ile pH 7,4 Tris tamponunda PNFA, PNFA + CA I ve PNFA + CA I +msh (1×10^{-4} M) için elde edilen dönüşümlü voltamogramlar (Ag/AgCl elektroda karşı)	93
Şekil 5.55. GC elektrodu ile (a) standart (AAZ) (b) msh (c) 3,5-tbsalmsh (d) 3-tbsalmsh (e) 5-Brsalmsh (f) 3,5-tbsalmsh Cu (g) 3-tbsalmshCu (h) 5-BrsalmshCu inhibitörlerinin farklı derişimlerinde ürünün indirgenme piklerine ait diferansiyel puls voltamogramları (DPV). (pH 7,4 Tris tamponu ortamında 3×10^{-3} PNFA, 5 µL CA I ve inhibitörler (1×10^{-7} , 5×10^{-7} , 1×10^{-6} , 5×10^{-6} ve 1×10^{-5} M) varlığında) ...	97

SİMGE VE KISALTMALAR

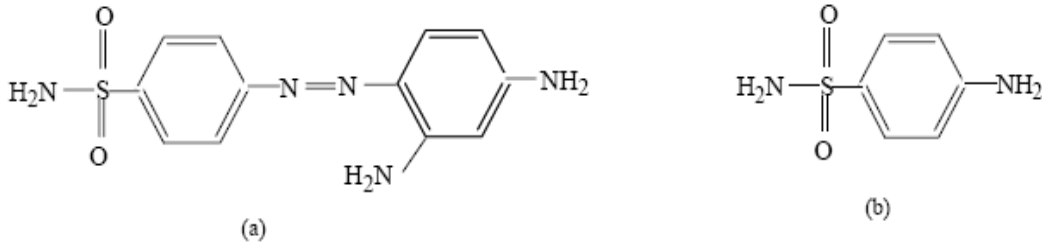
Bu çalışmada kullanılan bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda verildi.

Simge	Açıklama
ν	Gerilme titreşimi
δ	Düzlem içi bükülme
γ	Düzlem dışı bükülme
s	Şiddetli band
m	Orta şiddetli band
w	Zayıf şiddetli band
br	Yayvan band
d₆-DMSO	Dötörodimetilsülfoksit
CA I	Karbonik Anhidraz I

Kısaltma	Açıklama
CV	Dönüşümlü Voltametre
DPV	Diferansiyel Puls Voltametre
FT-IR	Fourier Transform Infrared Spektroskopisi
LC-MS	Likid Kromatografi Kütle Spektroskopisi
NMR	Nükleer Magnetik Rezonans Spektroskopisi
UV-vis	Ultraviyole Görünür Bölge Spektroskopisi

1. GİRİŞ

1932’de Alman kimyacılar, Klarer ve Mietzch sülfonamid türevi olan prontosil adlı bileşiği sentezlemiş, 1935’de Gerhard Domagk ve arkadaşları bu bileşiği hasta fareler üzerinde deneyerek *Streptococcus*’lardan ileri gelen enfeksiyonların tedavisinde kullanılacağını göstermiştir. Kemoterapide ilk adım olarak kabul edilen bu keşfinden dolayı Domagk Nobel Tıp ödülünü almıştır. 1936 yılında Fransa’da Jacques ve Thérèse Trefouel ekibi Pastör Enstitüsü’nde Prontosilin sülfanilamide metabolize olduğunu bulmuştur. Bundan sonra antimikrobiyal aktivite özelliğinin iyileştirilmesi amacıyla yönelik olarak, sülfonilamiddeki SO₂ grubuna bağlı primer amine çeşitli süstitüentler takılarak binlerce türev sentezlenmiştir [1].

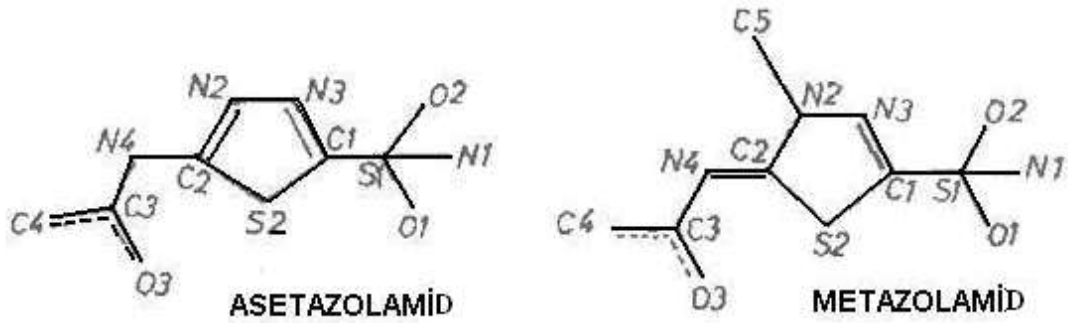


Şekil 1.1. Prontosil (a) ve 4-aminobenzenesülfonamid (b) moleküllerinin yapısı

Organik ve tıbbi kimyada çok karşılaşılan sülfonamid grubu bileşiklerin kemoterapik önemi gittikçe artmaktadır. Metan sülfonamidler (CH₃SO₂NH₂) ilaç yapımında en çok kullanılan fonksiyonel grup olarak bilinmektedir. Hidrazin grubu içeren bileşiklerin pek çok biyolojik aktifliğe sahip oldukları ve sitostatik aktivite gösterdiği, bazı sülfonilhidrazinlerin de antineoplastik etkisi (habis hücrelerin büyümesini ve yayılmasını önleme etkisi) olduğu bilinmektedir.

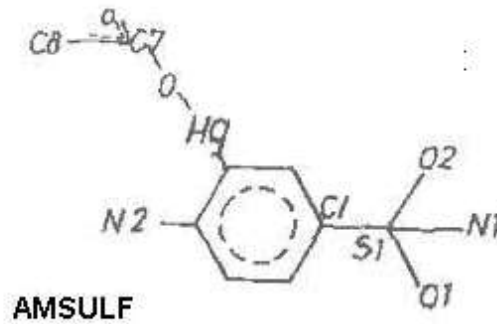
Aromatik ve heteroaromatik sülfonamidler, karbonik anhidrazın (Karbonat Hidroliyaz E.C.4.2.1.1) en güçlü inhibitörleridir. 1940’da Mann ve Keilin aromatik sülfonamidlerin bu enzimi inhibe ettiğini göstermiştir. Bu enzim, tüm vücutta yaygın olarak bulunan ve fizyolojik öneme sahip olan Zn⁺² merkez iyonu içeren bir metaloenzimidir. Bu enzim canlılarda CO₂ molekülünün hidratasyonunu ve HCO₃⁻ iyonunun dehidratasyonunu katalizlemektedir.

Farklı insan karbonik anhidraz izoenzimleriyle kompleks oluşturan bu ilaçların kristal yapıları, hem moleküler seviyede karbonik anhidrazın inhibisyon mekanizmasını anlamak hem de yan etkisi en az olan ilaçlar tasarlamak için oldukça önemlidir. Karbonik anhidraz enzimi ile kompleks oluşturan bazı sülfonamid ilaçların; asetazolamid (5-asetamit-1,3,4-tiadiazol-2-sülfonamid; AZM), methazolamid (5-asetilamino-4-1,3,4-tiodozalin-2-sulfonamid; MZM) ve amsulf (3-asetoksiciva -4-aminobenzen sülfonamid; AMS) kristal yapıları şu şekildedir.



5-asetamit-1, 3, 4-tiadiazol-2-sülfonamid

5-asetilamino-4-1, 3, 4-tiodozalin-2-sulfonamid



3-asetoksiciva-4-aminobenzen sülfonamid

Şekil 1.2. Asetazolamid (AZM), Metazolamid (MZM) ve Amsulf (AMS)'un kristal yapıları

CA enzimi vücuttaki birçok bölgede H^+ ve HCO_3^- iyonlarının birikimi sağlayarak akışkan dengesi kurulur. Göz içi sıvısı, yüksek miktarda Na^+ , Cl^- , laktat ve askorbat ile birlikte HCO_3^- iyonlarını içerir. Göz içi sıvısının salgılanmasında CA enzimi, HCO_3^- iyonu birikimini sağladığından uyarıcı bir etki oluşturur. Bu enzimin inhibisyonu sonucu göz içi sıvısının salgılanma oranı yaklaşık yarı yarıya azalmaktadır. Bu enzim göz tansiyonu (glokom) durumunda göz içi basıncını düşürmektedir [2].

Glukom hastalığı tedavisi için CA enzimi üzerinde yapılan inhibisyon çalışmaları sayesinde hastalıkların tedavi ve teşhisinde CA inhibitörlerinin önemi ortaya çıkarılmıştır. Böylece, CA enziminin kataliz mekanizmalarının aydınlatılmasının yanı sıra bu enzimin dokulara dağılımı ve bu dokulardaki hayati fonksiyonları anlaşılmış, bunun sonucunda da CA enziminin inhibitörleri ve aktivatörlerinin sentezlenmesine hız verilmiştir. Bu çalışmalarda çok çeşitli CA enzimi inhibitörleri sentezlenmiş, bu inhibitörler başta glukom tedavisinde, epilepsi ve nörolojik rahatsızlıklarda, antitümör ve ağrı kesici ilaçlarda, pozitron emisyon tomografisi (PET) ve manyetik rezonans (MRI) belirlenmesinde diagnostik teşhis materyali olarak, antiülser ilaçların geliştirilmesinde yol gösterici olarak kullanılmaktadır.

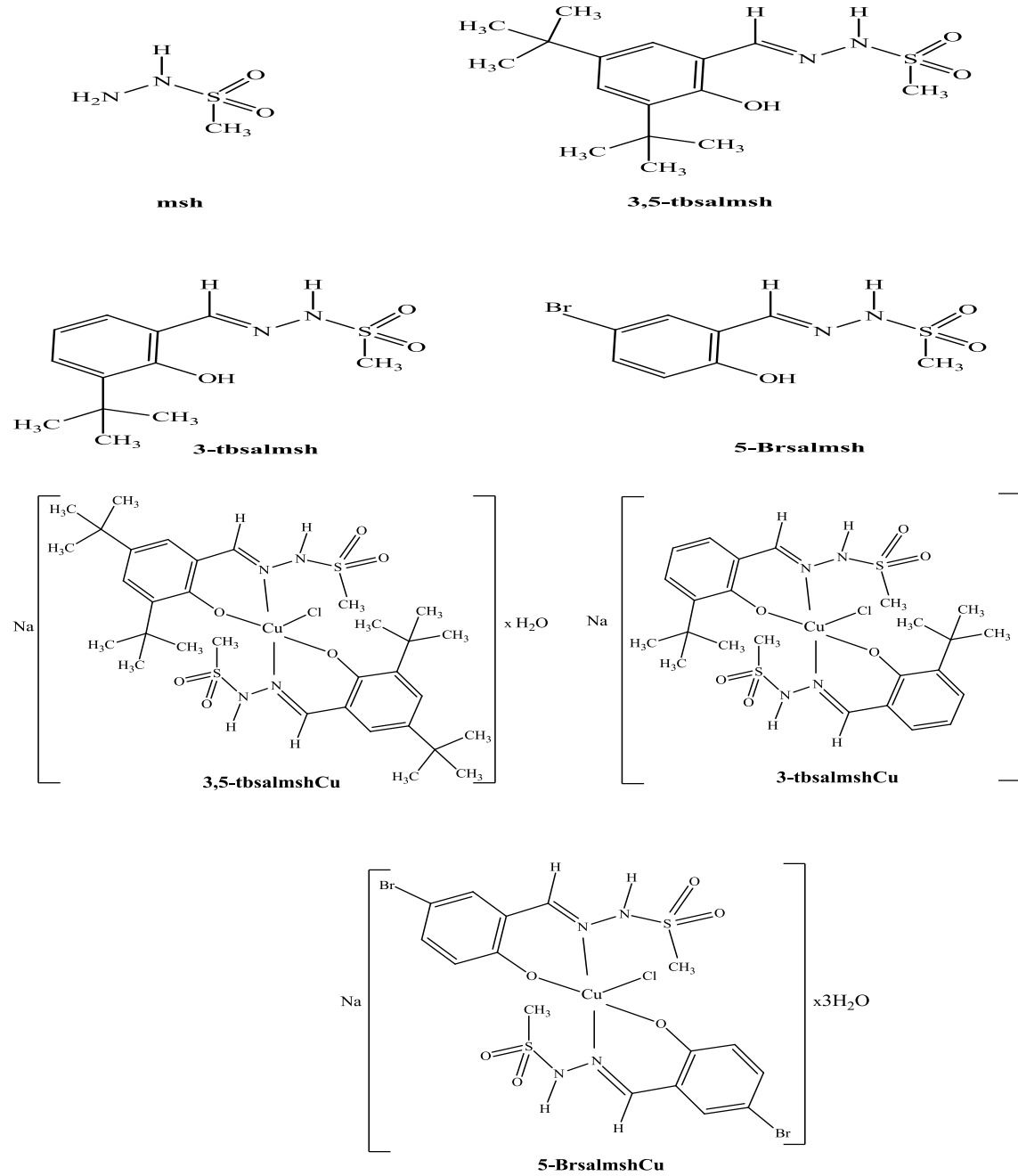
Karbonik anhidraz inhibitörleri diüretik etkisinden dolayı önemli kullanıma sahiptir. Böbrek, alkalileri tutarak asidik idrar çıkarılmasını sağlayarak ekstrasellüler sıvının asit-baz dengesini korur. Aril hidrazonların metal kompleksleri, tümör, tüberküloz, lepra ve zihin bozuklukları gibi hastalıklarda tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Hidrazon türevlerinin iyi bir şelat oluşturabilmeleri nedeniyle geçiş metalleri ile kararlı bileşikler oluşturduğu görülmektedir.

Bu çalışmada, metan sülfonik asit hidrazit (msh: $\text{NH}_2\text{-NH-SO}_2\text{-CH}_3$) bileşiği sentezlenmiş ve bu bileşikten yola çıkılarak yeni aromatik metansülfonilhidrazon bileşikleri ve Cu(II) kompleksleri elde edilmiştir. Bileşiklerin yapıları, elementel analiz, spektroskopik yöntemler (^1H - ^{13}C NMR, LC-MS, FT-IR, UV-vis), TGA eğrileri, molar iletkenlik ve manyetik duyarlık ölçümleri kullanılarak aydınlatılmıştır. Bileşiklerin karbonik anhidraz I (hCA I) izoenzimi üzerine inhibisyon etkisi spektrofotometrik ve elektrokimyasal yöntemlerle incelenmiştir. Cu(II) komplekslerinin enzim inhibisyon etkisinin ligandlardan daha iyi olduğu, elektron çekici Br atomunun varlığının aktiviteyi artırdığı gözlenmiştir. Standart inhibitör olarak bir sülfonamid bileşiği olan asetozalamid kullanılmıştır. Sentezlenen bileşiklerin adları ve sembolleri aşağıda verilmiştir:

- 1- Metan sülfonik asit hidrazit (msh)
- 2- 3,5-Ditersiyebutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon (3,5-tbsalmsh)
- 3- 3-Tersiyebutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon (3-tbsalmsh)
- 4- 5-Bromosalisilaldehitmetansülfonilhidrazon (5-Brsalmsh)

- 5- Sodyum bis(3,5-ditersiyebutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon)bakır(II) monohidrat (3,5-tbsalmshCu)
- 6- Sodyum bis(3-ditersiyebutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon)bakır(II) (3-tbsalmshCu)
- 7- Sodyum bis(5-bromosalisilaldehit metansülfonilhidrazon)bakır(II) trihidrat (5-BrsalmshCu)

Sentezlenen bileşiklerin tahmini açık yapısı aşağıda verilmiştir:

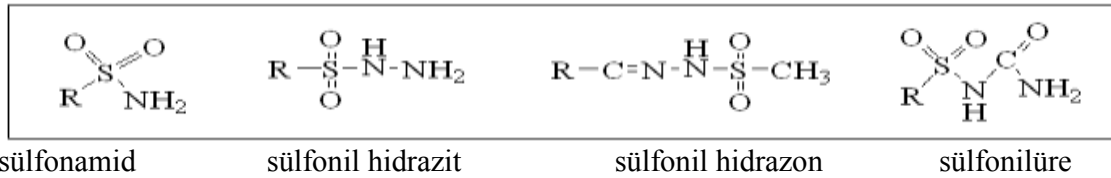


Şekil 1.3. Sentezlenen bileşiklerin tahmini açık yapısı

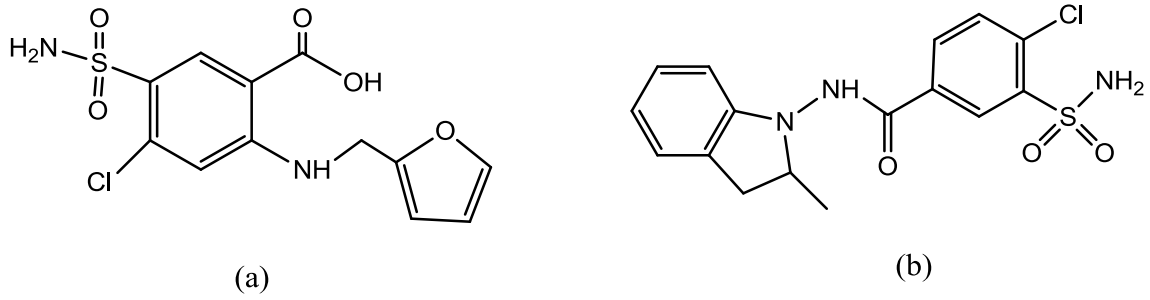
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Sülfonamidler

Tüm sülfonamidlerde ana yapı Sülfanilamid⁺ yapısıdır. Azoboyar maddelerden biri olan Prontosil 1935 yılında sentezlenmiştir. Sülfonamid grubu ($R-SO_2-NR_1R_2$) ve türevlerini (sülfonil hidrazit, sülfonil hidrazon, sülfonil üre v.s.) içeren ilaçlara kısaca SÜLFA ilaçları adı verilmektedir. Sülfä ilaçları antibiyotik olarak kullanılabildikleri gibi, şeker hastalığı (oral antidyabetikler), idrar söktürücü (diüretik), göz içi tansiyonu (glokom) ve antiinflamatuvar (anti-romatizmal) tedavilerinde de kullanılmaktadır. Sülfonamid'den türetilen sülfonilhidrazon bileşikleri de çeşitli tıbbi uygulamalarda kullanılmaktadır. Aşağıda bazı sülfonamid grubu ve türevleri verilmektedir.

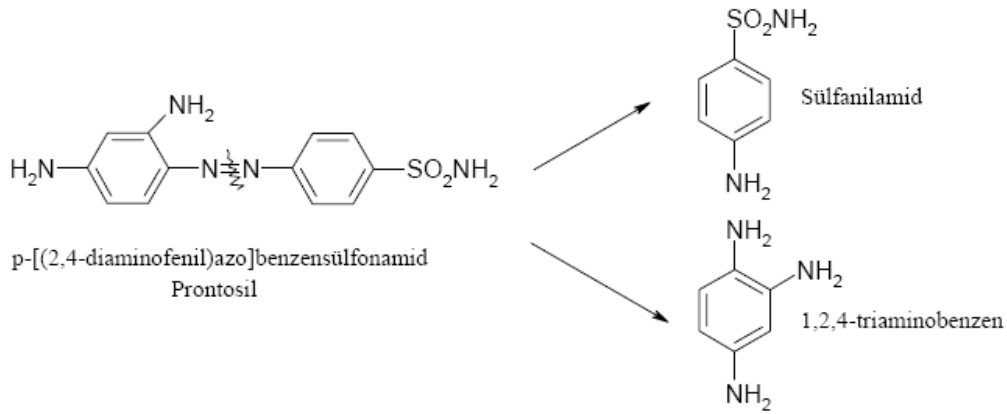


1980'de glioksilik asit ile RSO_2NHNH_2 nin tepkimesinden elde edilen neoplazma inhibitörü olan alkilsülfonil hidrazonlar, $RSO_2NHN:CHCO_2H$ ($R=Ph$, stiril, Me, Bu, etc.) *leukemia P-388* kanserine karşı etkilidir. 4-(Arilsülfonilhidrazino) kinaldinler antibakteriyal aktiflik göstermektedir. Aromatik aldehytlerin pirazolil ve tienil sülfonilhidrazonları sitotoksik etki göstermektedir. Ftalimidoasetaldehytlerin sülfonilhidrazonları Ehrlich Ascites karsinom hücreleri üzerinde etkindir. Aril hidrazonların metal kompleksleri, tümör, tüberküloz, lepra ve zihin bozuklukları gibi hastalıklarda tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Hidrazon türevlerinin iyi bir şelat oluşturabilmeleri nedeniyle geçiş metalleri ile kararlı bileşikler oluşturduğu görülmektedir. $-SO_2NH_2$ fonksiyonel grubuna farklı grup ve sübstitüentler takılarak elde edilen yeni nesil sülfonamidler farklı enzim inhibitör özelliği göstermektedirler. Örnek olarak diüretik etki ve göz içi basıncının düzenlenmesinde kullanılan furosemid ve indipamid ilaçları verilebilir (Şekil 2.1) [3].



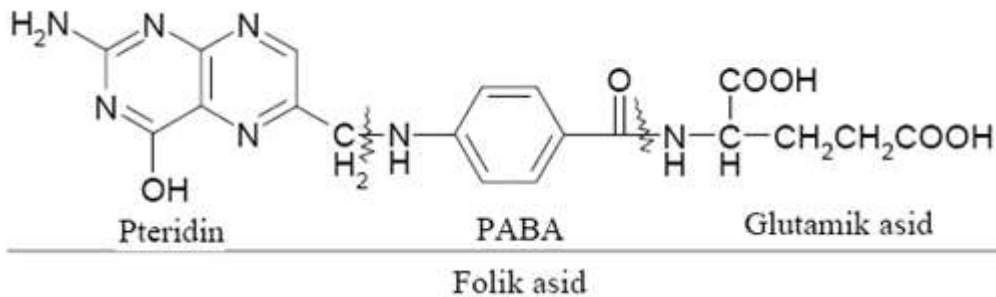
Şekil 2.1. Bazı yeni nesil Sülfam ilaçları (a) Furosemid®, (b)İndipamid®

Yapılan çalışmalarda prontosilin streptokok enfeksiyonunu önlediği görülmüştür. Etki mekanizması 10 yıl sonra açıklanabilmiştir. *In vitro* ortamda etkisiz olan Prontosil'in organizmada parçalanarak metabolize olduğu ve iki metabolitten birinin (Sülfanilamid) aktif olması nedeni ile etkili olduğu düşünülmüştür.



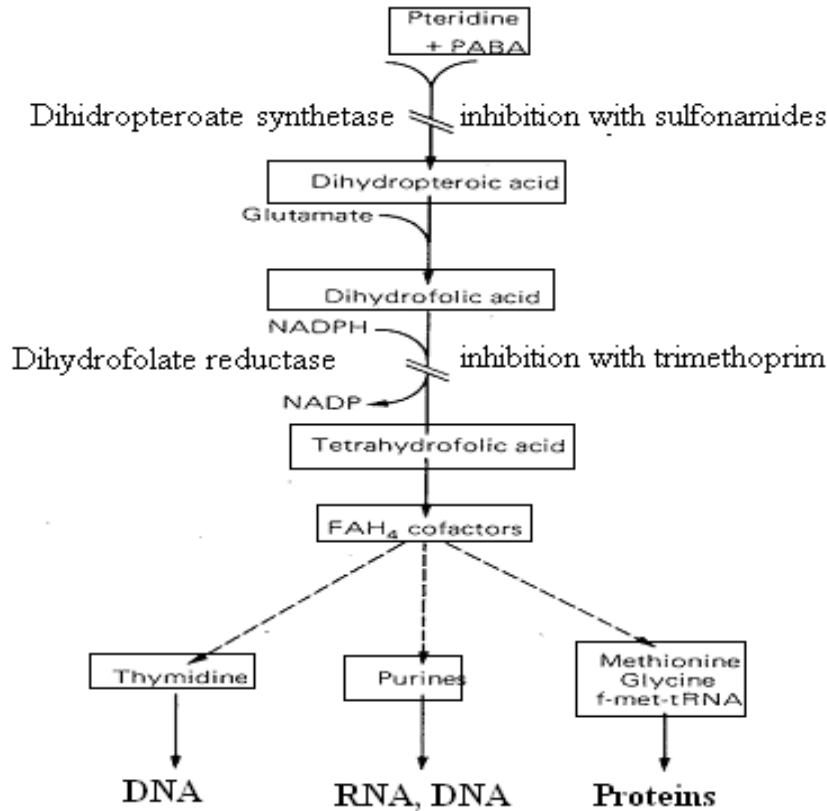
Şekil 2.2. Prontosil'in metabolize yapıları

Sülfonamidlerin mikroorganizmaya olan etkileri antimetabolit etkidir. Bakteri hücre duvarını yapabilmek için folik asite ihtiyaç duyar. Folik asit sentetaz enzimi folik asit sentezini gerçekleştirir. Folik asidin yapısında PABA bulunur.



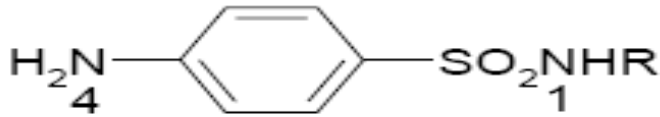
Şekil 2.3. Folik asit sentezi

Eğer bakteri, organizmaya verilen sülfonamid ile karşılaşırsa bunu kimyasal bakımdan birbirine benzeyen PABA yerine koymaya çalışır. Ancak molekül uzunlukları, genişliği, şekli ve elektronik nedenlerle bu olay gerçekleşemez. Hücre duvarı için folik asid oluşmazsa pürin bazlarının sentezi de engellenmiş olur. Pürin bazlarının sentezlenememesi bakteri hücresinde RNA ve DNA sentezini de bozar [4].



* Gerhard Domagk(1895-1964); 1932 yılında sülfonamidlerin streptokok enfeksiyonundaki küratif etkisini göstermiştir. Bu çalışmasıyla Nobel Ödülü almıştır.

Şekil 2.4. Antimetabolit Etki Mekanizması



1. Bileşiğin aktivite gösterebilmesi için amino grubunun 4 nolu konumda bulunması gerekir. Yani amino ve sülfonil grupları birbirlerine göre para konumunda olmalıdırlar.
2. 4 nolu konumdaki $-\text{NH}_2$ grubunun, bileşiğin aktivite gösterebilmesi için serbest veya vücutta kolaylıkla serbest $-\text{NH}_2$ grubuna dönüşebilmesi gerekir.

3. Para konumundaki $-\text{NH}_2$ grubu yerine $-\text{NO}$, $-\text{NHOH}$ ve $-\text{N}=\text{N}-$ grupları gelebilir. Bunlar organizmada redüksiyona uğrayıp serbest amino haline dönüşebilen gruplardır.
4. Benzen halkası yerine yapıya diğer bir halkanın girmesi veya benzen halkası üzerine başka grupların süstitüsüyonu aktiviteyi azaltır veya yok eder.
5. N^1 -monosüstitüsüyonla aktif bileşikler, N^1 -disüstitüsüyonla ise genellikle inaktif bileşikler oluşur.

Sülfonamidlerin sınıflandırılması:

1. Sistemik sülfonamidler

a) *Kısa etki süreli*

b) *Orta etki süreli*

c) *Uzun etki süreli*

2. Gastrointestinal enfeksiyonlarda kullanılan sülfonamidler

3. Oftalmik enfeksiyonlarda kullanılan sülfonamidler

4. Üriner enfeksiyonlarda kullanılan sülfonamidler

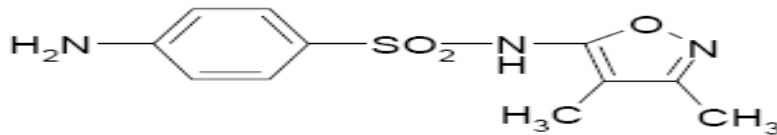
5. Yanık tedavisinde kullanılan sülfonamidler

6. Vajinal enfeksiyonların tedavisinde kullanılan sülfonamidler

2.1.1. Sistemik sülfonamidler

- a) *Kısa etki süreli*: Hızla absorblanır ve atılır. Yarı ömürleri 4-7 saattir. Bunlar sistemik enfeksiyonlarda tercih edilirler.

Sulfizoksazol⁺



Şekil 2.5. Sulfizoksazol⁺ yapısı

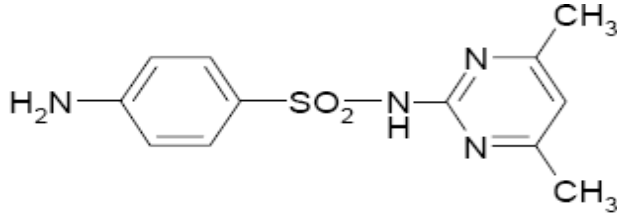
“4-amino-N-(3,4-dimetil-5izoksazoili)benzen sulfonamid”

“3,4-Dimetil-5-sulfonilamidoizoksazol”

“ N^1 -(3,4-Dimetil-5-izoksazolil)sulfonilamid”

Sistemik enfeksiyonların (sulfadiazinin tercih edildiği özel durumlar hariç) ve idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisinde en fazla tercih edilen sulfonamiddir.

Sülfametasin⁺ (Sülfadimidin⁺)

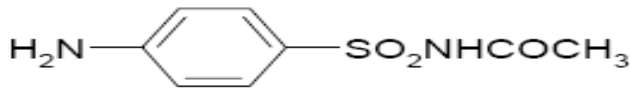


Şekil 2.6. Sülfametasin⁺ (Sülfadimidin⁺) yapısı

“N-(4,6-Dimetil-2-pirimidinil)sülfanilamid”

Çeşitli bakteri enfeksiyonlarına karşı ağız yoluyla kullanılan, toksik etkisi düşük, sülfonamid grubu bir sülfonamiddir.

Sülfaasetamid⁺

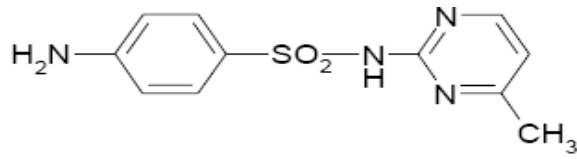


Şekil 2.7. Sülfaasetamid⁺ yapısı

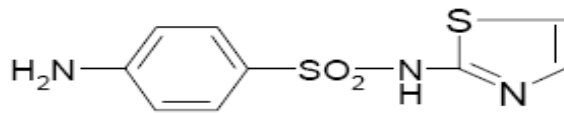
“N-[(4-Aminofenil)sülfonil]asetamid”

“N1-Asetilsülfonilamid”

Sodyum tuzunun %30'luk solüsyonu veya %10'luk merhemi göze lokal olarak uygulanabilir.

Sülfamerazin⁺Şekil 2.8. Sülfamerazin⁺ yapısı

“N¹-(4-Metil-2-primidinil)sülfanilamid”

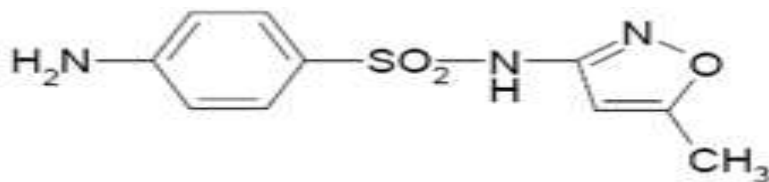
Sülfatiazol⁺Şekil 2.9. Sülfatiazol⁺ yapısı

“N¹-(2-Tiyazolil)sülfanilamid”

Önemli antibiyotik ve antifungal özelliklere sahip bir sulfonamiddir.

b) *Orta etki süreli:* Bunlar kısa etki süreli olanlara kıyasla daha yavaş absorblanırlar ve atılırlar.

Yarı ömürleri 10-12 saattir. Günde iki defa verilirler. Uzun süreli tedavi gerektiren enfeksiyonlarda (özellikle üriner enfeksiyonlar) kullanılırlar.

Sülfametoksazol⁺Şekil 2.10. Sülfametoksazol⁺ yapısı

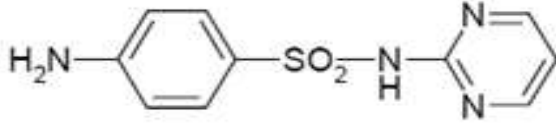
“4-Amino-N-5-metil-3-izoksazolilbenzensülfonamid”

“5-metil-3-sülfanilamidoizoksazol”

“N¹-(5-Metil-3-izoksazolil)sülfanilamid”

Sülfametoksazol bir antibiyotiktir ve bakterilerin sebep olduğu farklı türdeki enfeksiyonların tedavisinde kullanılır. Kulak enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, bronşit, zaturre tedavisinde kullanılır.

Sülfadiazin⁺



Şekil 2.11. Sülfadiazin⁺ yapısı

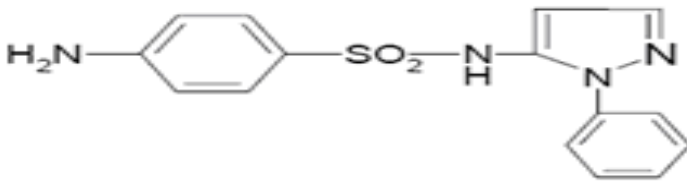
“4-amino-N-2-pirimidinil-benzensülfonamid”

“N¹-(2-pirimidinil)sulfanilamide”

Silvadiazin, Sulfadiazin, Silverdın, Tradiazin, Pedidiazin, Sulfatryl, Sulfatrim

Gümüş sülfadiazinin %1’lik merhemleri (SSD) yanık tedavisinde halen en sık kullanılan topikal ajandır. Akut eklem romatizma tedavisinde ise penisiline allerjisi olanlarda sülfadiazin kullanılır.

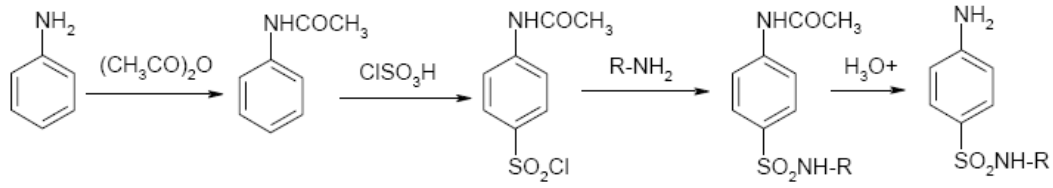
Sülfafenazol⁺



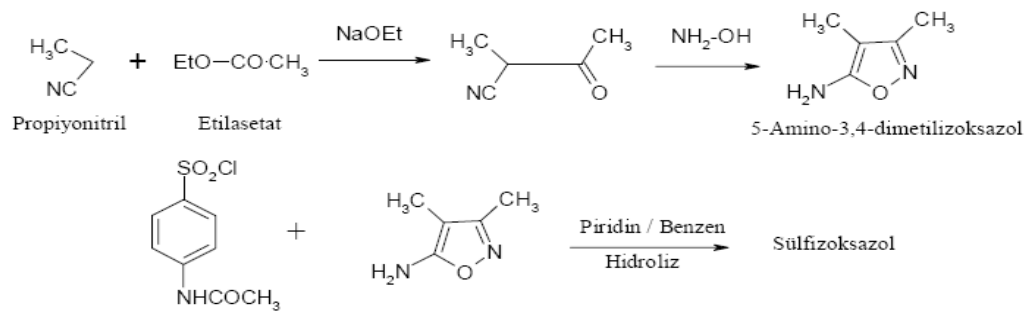
Şekil 2.12. Sülfafenazol⁺ yapısı

“N¹-(1-Fenilpirazol-5-il)sulfanilamid”

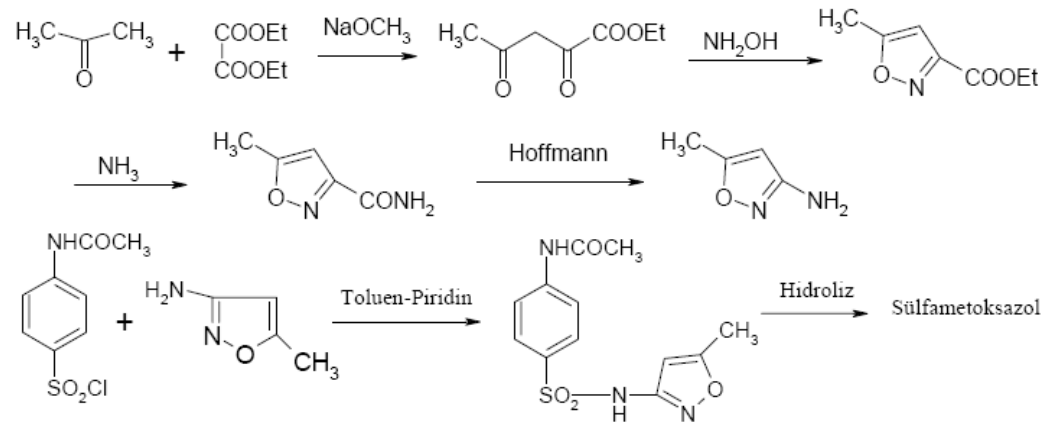
Bakteriyel enfeksiyonlara karşı antibiyotik olarak kullanımı bilinmektedir.

Genel Sentez Yöntemi

Şekil 2.13. Genel Sentez Yöntemi

Sülfizoksazol¹⁺

Şekil 2.14. Sülfizoksazol Genel Sentez Yöntemi

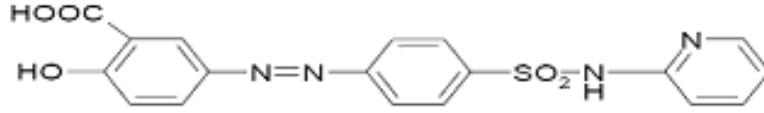
Sülfametoksazol¹⁺

Şekil 2.15. Sülfametoksazol Genel Sentez Yöntemi

c) *Uzun etki süreli:* Bu türevlerin absorpsiyonları hızlı olup atılımları yavaştır. Yarı ömürleri 35-40 saattir.

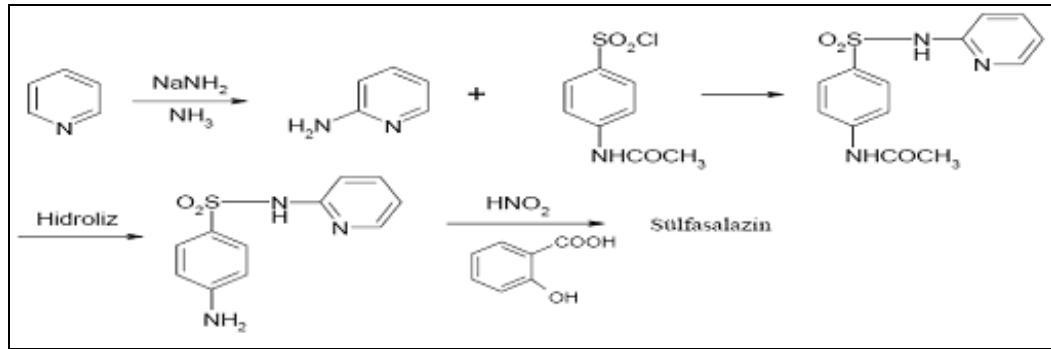
2.1.2. Gastrointestinal enfeksiyonlarda kullanılan sülfonamidler

Sülfasalazin⁺



Şekil 2. 16. Sülfasalazin Yapısı

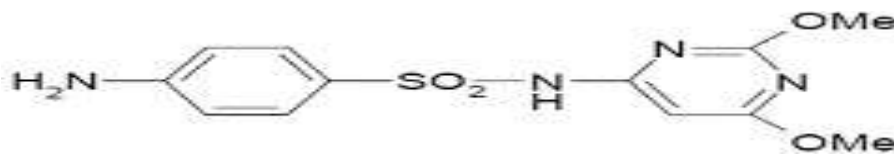
“5-[4-(2-Pridilsülfamoil)fenilazo]salisilik asit”



Şekil 2.17. Sülfasalazin Genel Sentez Yöntemi

Salisilazosülfapiridin (sülfasalazin), sülfapiridin ve salisilik asidin bir asit-azo bileşiğidir. İltihaplı barsak hastalıkları ve aktif romatoid artrit tedavisinde kullanılır. Salisilazosülfapiridin ve metabolitlerinin antienflamatuvar ve antibakteriyel etkileri vardır.

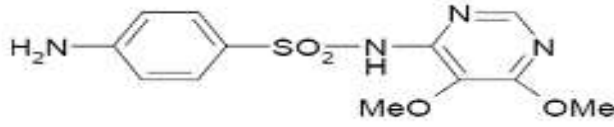
Sülfadimetoksin⁺



Şekil 2.18. Sülfadimetoksin⁺ Yapısı

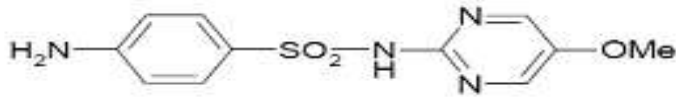
“N¹-(2,6-Dimetoksi-4-pirimidinil)sülfanilamid”

Sülfadimetoksin uzun süreli etkili bir sülfonamiddir. Etkisini bakteri hücresinde metabolizmayı bozmak suretiyle (bakteriyel antimetabolit) gösterir.

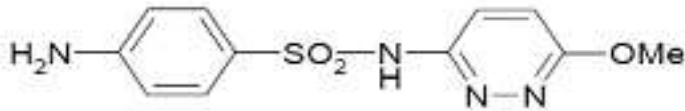
Sülfadoksin⁺Şekil 2.19. Sülfadoksin⁺ Yapısı

“N¹-(5,6-Dimeoksi-4-pirimidinil)sülfanilamid”

Sıtma hastalığına karşı kullanılan uzun süreli etkili sulfonamiddir.

Sülfametoksidadzin⁺ (Sülfameter⁺)Şekil 2.20. Sülfametoksidadzin⁺ (Sülfameter⁺) Yapısı

“N¹-(5-metoksi-2-pirimidinil)sülfanilamid”

Sülfametoksipridazin⁺Şekil 2.21. Sülfametoksipridazin⁺ Yapısı

“N¹-(6-Metoksi-3-pirimidinil)sülfanilamid “

“Metamit (Depo-Sulfon)”

Antimikrobiyal etkisi olan bir sulfonamiddir.

2.1.3. Oftalmik enfeksiyonlarda kullanılan sulfonamidler

En çok kullanılanlar; sülfadikramid, sülfasetamid sodyum, pürulan ve sülfizoksazoldür.

Tedavi edilmemiş enfeksiyonların, vaksinia varisella ile kornea ve konjunktivitenin diğer

birçok viral rahatsızlıkların, oküler tüberküloz ve göze ait mantar hastalıklarının tedavisinde kontrendikedir [5].

2.1.4. Üriner enfeksiyonlarda kullanılan sülfonamidler

En çok kullanılanlar; sülfakarbamid, sülfasetamid, sülfasitin, sülfadiazin, sülfadimetoksin, sülfacetidol, sülfameter, sülfametazin, sülfametizol, sülfametoksazol, sülfametoksipiridazin, sülfafenazol, sülfisomidin ve sülfizoksazol'dür.

2.1.5. Yanık tedavisinde kullanılan sülfonamidler

Mafenit⁺ (Sülfatolamit⁺)



Şekil 2.22. Mafenit⁺ (Sülfatolamit⁺) Yapısı

“4-(Aminometil)benzensülfonamid”

2.1.6. Vajinal enfeksiyonların tedavisinde kullanılan sülfonamidler

En çok kullanılanlar; sülfabenzamid, sülfasetamid ve sülfanilamid olup sıklıkla karışım halinde kullanılırlar [6].

2.2. Karbonik Anhidraz Enzimi

2.2.1. Sınıflandırılması, dağılımı ve fizyolojik önemi

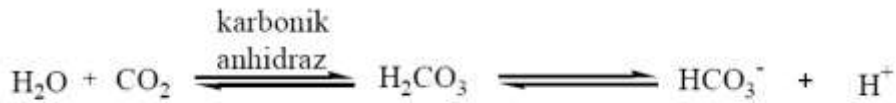
Karbonik anhidraz (CA, karbonat hidroliyz E.C.4.2.1.1), ilk olarak 1933 yılında sığır eritrositlerinde tanımlanmıştır. Bu tarihten sonra tüm memeli dokularında, prokaryot, ökaryot ve archaeada yaygın olarak bulunduğu tespit edilen ve yapısında Zn^{2+} iyonu bulunduran bir metaloenzimdir.

CA'nın, beş adet sitozolik izoenzimi (CA I, CA II, CA III, CA VII, CA XIII), beş adet hücre membranına bağlı izoenzimi (CA IV, CA IX, CA XII, CA XIV, CA XV), iki tane

mitokondriyal izoenzimi (CA VA, CA VB) ve bir adet salgılanan CA izoenzimi (CA VI) vardır (Çizelge 2.1.). Bu enzim ilk olarak Meldrum ve Roughton tarafından 1933 yılında eritrositlerde bulunmuştur. Aktivitesi sonradan renal korteks, gastrik mukoza, pankreas, göz merkezi, sinir sistemini içine alan birçok yerde saptanmıştır. Ayrıca bu enzim başka eritrositlerde, mide, göz ve beyinde de bulunur [7,8].

Karbonik anhidrazın değişik izoenzimleri farklı bir şekilde dokulara dağılmış haldedir. Bazı izoenzimler aynı dokularda birlikte bulunduğu gibi, diğer bazı dokularda tek bir izoenzim bulunmaktadır. Eritrositlerde bol miktarda bulunan CA I izoenzimi yanında, CA II değişik dokulara H^+ ve HCO_3^- salgılamaktadır. Ayrıca böbrek kortekslerinden izole edilen CA II'nin bütün özelliklerinin tamamen aynı olduğu bulunmuştur. Diğer dokularda ise CA II izoenzimi eser miktarda bulunmaktadır. Membrana bağlı bir izoenzim olan CA IV ise insan böbreği ve akciğerlerinden izole edilmiştir. Epitelyum hücrelerde CA IV izoenziminin CA II ile birlikte bulunduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalar, CA IV'ün yetişkin kişilerin dokularının büyük bir bölümünde ve bazı fetal dokularda bulunduğu belirlenmiştir. CA V'in belirli dokuların mitokondrilerinde, CAVI tükürük bezlerinde ve CA VII ise sitozolde bulunan izoenzimleridir [9].

Eritrosit CA'sının en önemli fonksiyonu, doku kılcal damarlarında, metabolizma ürünü olan CO_2 'i H_2CO_3 'e, akciğer pulmoner kapilerde ise H_2CO_3 'in CO_2 'e dönüşmesi reaksiyonunu katalizleyerek solunum olayında yer almaktadır. Katalizleme reaksiyonu şöyledir:



Çizelge 2.1. Yüksek omurgalılarda α -CA izoenzimleri, onların nispi CO_2 hidrataz aktiviteleri, sülfonamid inhibitörlerine karşı afiniteleri ve hücre içindeki yerleşimleri

İzoenzim	Katalitik aktivite (CO_2 hidrasyonu)	Sülfonamidlere karşı afinite	Hücre içi yerleşme
CA I	Düşük(CA II'nin %10'u)	Orta	Sitoplazma
CA II	Yüksek	Çok yüksek	Sitoplazma
CA III	Çok düşük	Çok düşük	Sitoplazma
CA IV	Yüksek	Yüksek	Membrana bağlı
CA VA	Orta derece – Yüksek*	Yüksek	Mitokondri
CA VB	Yüksek	Yüksek	Mitokondri
CA VI	Orta derece	Yüksek	Tükrük/süt'te salgı
CA VII	Yüksek	Çok yüksek	Sitoplazma
CARP VIII	Akatalitik	—	Sitoplazma
CA IX	Orta derece	Yüksek	Transmembran
CARP X	Akatalitik	—	Sitoplazma
CARP XI	Akatalitik	—	Sitoplazma
CA XII	Düşük	Yüksek	Transmembran
CA XIII	Orta derece	Orta - Yüksek	Sitoplazma
CA XIV	Düşük	Yüksek	Transmembran
CA XV	Düşük	Bilinmiyor	Membrana bağlı

* pH 7,4'te orta derece, pH 8,2 veya daha yüksekte yüksek aktivite. _ doğal CARP proteinleri Zn(II) içermezler, bundan dolayı onların sülfonamidlere karşı afiniteleri ölçülememiştir.

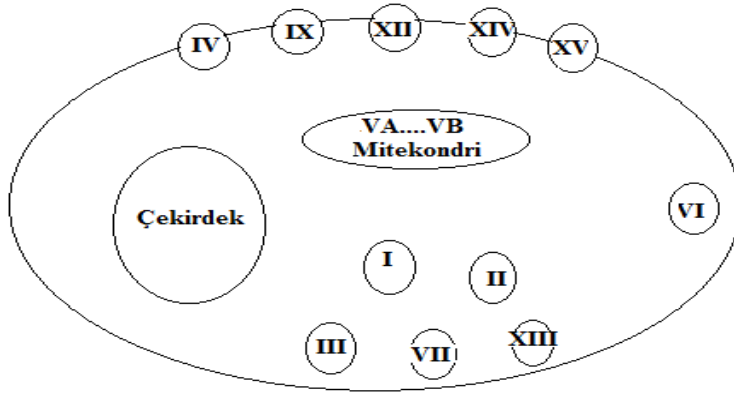
Böbrek tubüllerinde ise aynı reaksiyonla Na^+ ve H_2O geri Emilimini sağlamaktadır. Diğer dokularda, yine yukarıdaki reaksiyonda belirtildiği gibi CO_2 transferini ya da H^+ iyonu birikimini temin ederek hücre için gerekli ortamı meydana getirir. Nitekim omurgalıların kan ve hücreler arası sıvısındaki en önemli bikarbonat tampon sistemidir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda sülfonamid inhibitörlerinin üre sentezini azalttığı gösterilmiştir. Bu durum, mitokondriyel CA enziminin (CA IV) sitrulin sentezi için gerekli olan HCO_3^- iyonunu sitrik asit devrinden gelen CO_2 'den sağlayarak üre devrinin ilerlemesinde büyük role sahip olmasıyla açıklanabilir.

Yine iskelet kasında CA, laktik asit-laktat dengesinde çok önemli bir role sahip olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir [10]. Bitki kloroplastlarındaki CA enziminin rolü, atmosferden gelen CO_2 'nin yapraklarda HCO_3^- halinde taşınması ve daha sonra tekrar CO_2 'ye dönüştürülerek fotosentezde kullanılması şeklinde ifade edilmektedir [11]. CA'nın

kuvvetli bir inhibitörü olan asetazolamidin (2-asetilamino-1,3,4-tiyadiazol-5-sülfonamid) fotosentez olayını inhibe etmesi bu ifadeyi doğrulamaktadır [12].

Sekil.2.23.' de CA ailesinin değişik izoenzimlerinin farklı dokulara dağılmış olarak bulunduğu görülmektedir. Bazı izoenzimler aynı dokuda birlikte bulunduğu gibi (eritrosit CA I ve CA II), diğer bazı dokularda tek bir izoenzim bulunmaktadır (membrana bağlı CA IV).

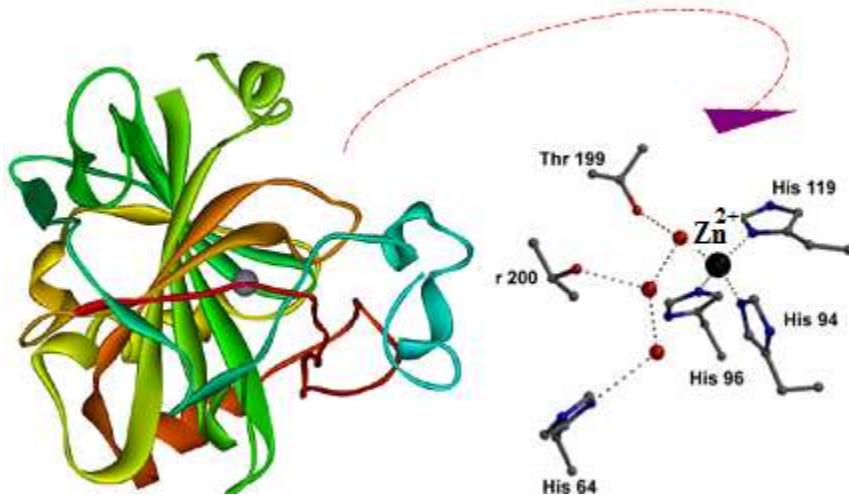


Şekil 2.23. CA izoenzimlerinin dokulara dağılımı

Solunum ve akciğerler ile metabolize dokular arasındaki $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ dönüşümü, pH ve CO_2 hemeostasi, çeşitli doku ve organlarda elektrolit salgılanması, glukoneogenez ve üre sentezi (hayvanlarda), CO_2 bağımlılığı (bazı bitkilerde ve alglerde) gibi biosentetik reaksiyonlar bu fonksiyonlar arasındadır. Bu özellikleri CA enzimlerini, biyomedikal uygulamaları olan inhibitör ve aktivatörlerin tasarımında etkili kılmaktadır.

2.2.2. Karbonik anhidraz enziminin özellikleri

Karbonik anhidraz, 260 alt birimden (aminoasitler) oluşan ve doğal hali kürecik şeklinde kıvrılmış bir protein zinciridir. Yapısında, aktif bölge denilen reaktantların orada ürünlere dönüştüğü bir yarık veya cep bulunmaktadır. Karbonik anhidraz izoenzimlerinin üç boyutlu yapılarında büyük farklılıklar gözlenmektedir. İzoenzimlerinin üç boyutlu yapılarındaki farkın çok belirgin olmasına karşın, aktif bölgelerindeki katalitik grupların hemen hemen aynı olması dikkat çekicidir. Şekil 2.24.'de gösterildiği gibi her bir izoenzimin aktif bölgesi, yaklaşık tetrahedral geometriye sahip kompleks yapıdaki Zn^{2+} iyonun kataliz olayındaki fonksiyonu vazgeçilmez olup, uzaklaştırılmasıyla elde edilen apo-CA enzimleri tam anlamıyla aktiviteden yoksundurlar.



Şekil 2.24. Karbonik anhidraz izoenzimlerinin katalitik bölgeleri (His 94, His 96, His

119) (Zn^{2+} iyonunun etrafındaki küçük küreler kristal yapıda immobilize olmuş su moleküllerini belirtmektedir.)

İnsan eritrosit CA I ve CA II (hCA I ve hCA II) izoenzimlerinin aminoasit dizilişlerinin tespiti, bu konudaki çalışmaların başlangıcı olmuştur. Daha sonraki yıllarda sığır, at, şempanze ve rhesus maymunlarına ait CA I izoenzimleri, yine sığır, at, koyun ve tavşan kaynaklı CA II izoenzimlerinin aminoasit dizilişleri tam olarak tayin edilmiştir. Kas izoenzimi olarak da bilinen CA III izoenziminin 8 aminoasit dizilişi ise insan için belirlendiği gibi sığır ve atlarda da araştırılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda, üç izoenzimin aminoasit dizilişleri ve üç boyutlu yapıları yönünden büyük ölçüde benzerliğe sahip olduğu gösterilmiştir [13].

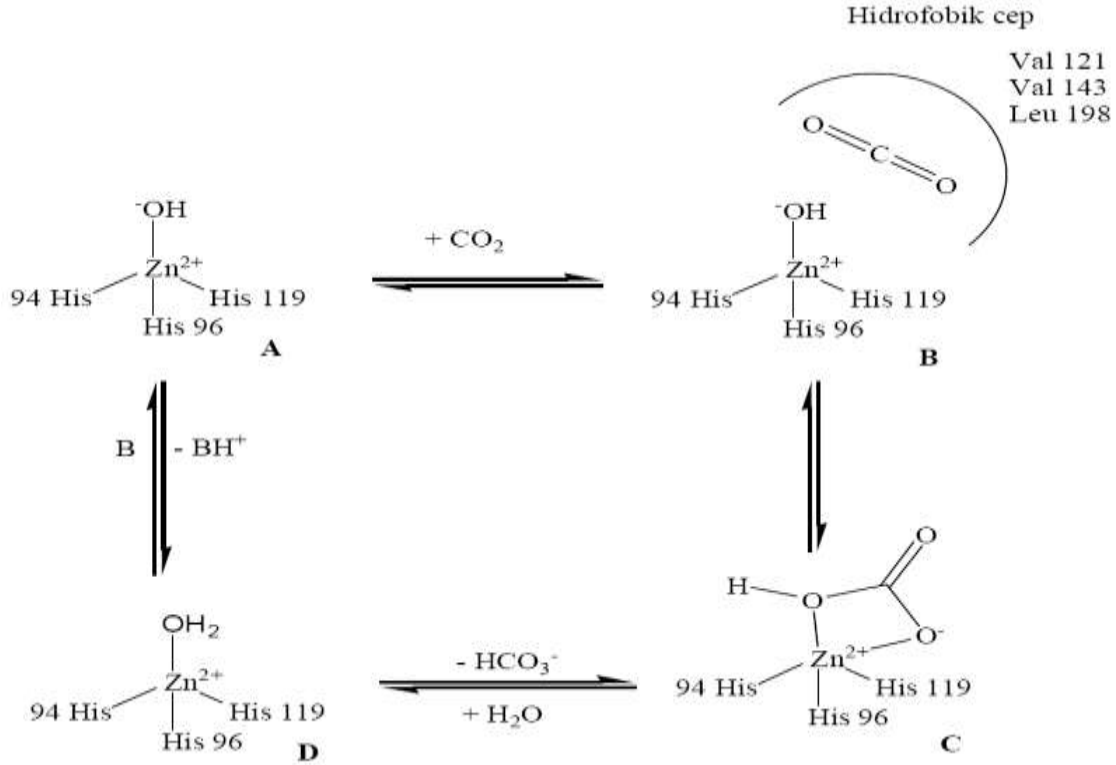
Karbonik anhidrazın sözü edilen üç izoenzimi, yapıları yönünden çok benzemesine rağmen aktiviteleri açısından farklılık göstermektedir. CA II izoenzimi, CA I izoenziminden 60 ile 100 kat daha fazla aktif olup, bilinen enzimler arasında katalitik aktivitesi en yüksek olanıdır. CA III ise en az aktif olan izoenzimdir ve CO_2 -hidrataz aktivitesi CA I izoenziminin %5'i kadardır.

Karbonik anhidraz izoenzimlerinin memelilerdeki molekül ağırlıkları 28.000 D, bitki kloroplastlarından elde edilen ve hegzamerik bir yapıya sahip olan CA'nın ise 180.000 dalton olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra, insan böbreğinde hücre zarına bağlı 66.000 dalton molekül ağırlığında ve yine tavşan eritrositlerinde 54.000 dalton molekül ağırlığında karbonik anhidraz aktivitesine sahip proteinlere rastlanmıştır.

Son 20 yıldır CA enzimini katalitik mekanizmasını aydınlatmayı amaçlayan çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda elde edilen sonuçlara göre, CA enziminin çözelti ortamında kararlı olması ve uygun şartlar altında aktivitesini kaybetmeden uzun süre saklanabilmesi gibi avantajlı özelliklere sahip olduğu anlaşılmıştır. Aktif bölgede Zn^{2+} iyonu ve ona bağlı bir hidroksil grubu ihtiva etmektedir. Aktif bölge yakınındaki aminoasitler, proton verici ve proton gradienti oluşturacak şekilde düzenlenmiştir.

Karbonik anhidraz enzimi, genel olarak metabolik CO_2 transportunu sağlamanın yanı sıra birçok dokularda H^+ ve HCO_3^- birikimini sağlayarak akışkan dengelerinin kurulmasında önemli rol oynamaktadır.

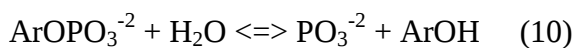
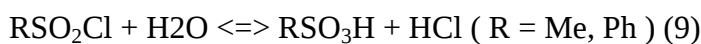
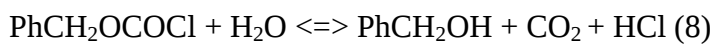
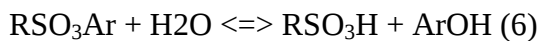
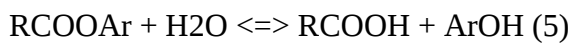
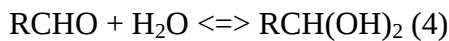
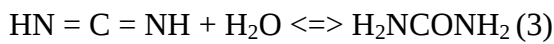
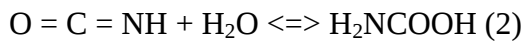
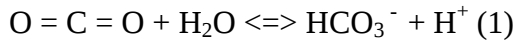
CA enziminin aktivitesinde, Zn^{2+} iyonunun büyük önemi vardır. Yapılan X ışını kristalografi sonuçları, α CA'larda metal iyonunun bir H_2O veya OH^- ve üç histidin rezidüsü (His 94, His 96, His 119) tarafından koordine edilen, aktif bölgedeki $15 \text{ \AA}$ derinliğindeki bir yarığın tabanında olduğunu göstermektedir. Çinko bağlı H_2O , Thr199'un hidroksil grubuyla hidrojen bağı etkileşimleri sonucu tutunmaktadır. Bu etkileşimler, çinko bağlı su molekülünün nükleofililiğini artırmakta ve molekül nükleofilik atak için uygun yerdeki CO_2 ' e doğru hareket etmektedir. Zn^{2+} iyonuna hidroksil grubunun bağlanmasıyla enzimin aktif formu oluşur (Şekil 2.25 A). Enzimin aktif formu, güçlü nükleofilik yapısıyla CO_2 molekülüne atak yapar (Şekil 2.25 B). Bu etkileşim, Zn^{2+} iyonuna bağlanmış bikarbonat iyonunun oluşmasını sağlar (Şekil 2.25 C). Daha sonra, HCO_3^- iyonu bir su molekülüyle yer değiştirir ve çözeltiye geçer. Zn^{2+} iyonuna su molekülü bağlanır. Bu durum Şekil 2.25 D'de görüldüğü gibi enzimin katalitik olarak inaktif asit formuna dönüşmesini sağlar. Temel formu elde etmek için aktif bölgedeki rezidüler ve/veya tamponda bulunan iyonların etkisi ile aktif bölgeden çevreye bir H^+ transferi gerçekleşir. Enzimin temel hale dönmesi hız belirleyici basamak olduğu için son derece önemlidir [14].



Şekil 2.25. Karbonik Anhidraz Enziminin CO₂-Hidrataz Mekanizması

2.2.3. Kataliz reaksiyonları

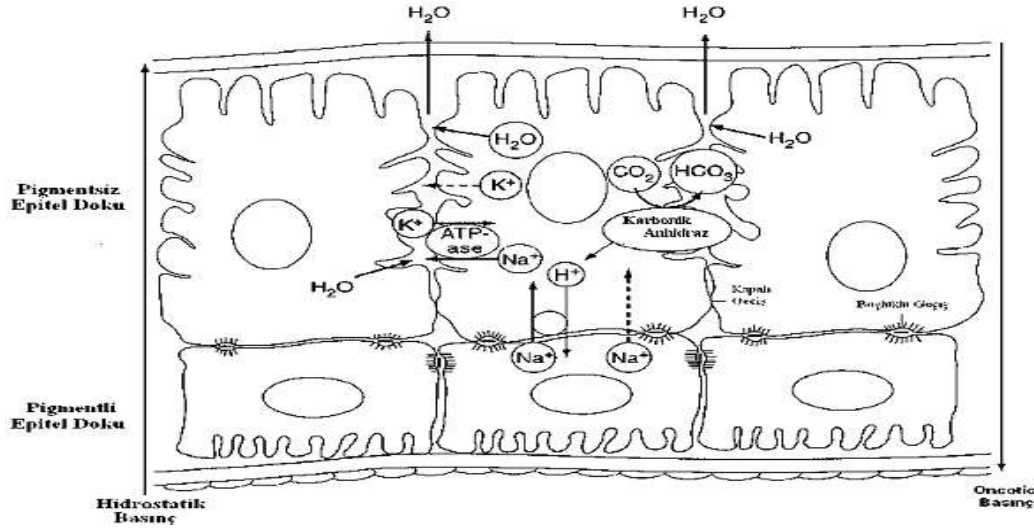
Karboksilik, sülfonik ve fosforik asit esterlerinin hidrolizleri CA enzimi tarafından katalizlenmektedir. Ancak CA enziminin hidrataz aktivitesi dışında (1), aşağıda gösterildiği gibi elektrofilik bir merkeze nükleofilik ataklar içeren aldehit, pirüvat ve alkil piruvatların hidrasyonu, pirüvik sülfonik ve fosforik esterlerinin hidroliz reaksiyonlarını katalizlemektedir.



Karbonik anhidraz izoenzimleri CO_2 'nin HCO_3^- a (1. reaksiyon), siyanatın karbamik asite ve siyanamidin üreye, (2.ve 3. reaksiyonlar), aldehitlerin gem-diollere hidratasyonunu (4. reaksiyon) geri dönüşümlü olarak katalizler. Ayrıca karboksilik, sülfonik ve fosforik asit esterlerinin hidrolizini ve hidrolitik reaksiyonlarını geri dönüşümlü olarak katalizler (5-10. reaksiyonlar).

2.2.4. Karbonik anhidraz enziminin metabolizmadaki yeri

Karbonik anhidraz enzimi, CO_2 'in su ile birleşmesini katalize eden enzimdir [15]. Oluşan H_2CO_3 kararlı bir bileşik olmadığından tamamen yakın bir kısmı iyonize olur. Enzim, H^+ ve HCO_3^- ın böbrekte, midede, kırmızı kan hücrelerinde, akciğerde ve pankreasta geçişini gerçekleştirir. Vücudun bazı bölgelerinde gerçekleşen bu olay göz içinde retinada, göz hücrelerinde ve iristeki epitel dokularda da gerçekleşir. Aynı proses göz içindeki korpus siliare cisminde görülmektedir. Gözdeki hücrelerden Na^+ , HCO_3^- iyonlarıyla humor aköze taşınır. Bu olay ozmotik basınçla olmaktadır. Ozmotik basıncın dengesini sağlamak için su molekülleri de hücrelerden humor aköze geçerler. Bu iki bölge arasında humor aköz tarafında üretime dayalı yükselişten kaynaklanan dengesizlik olursa (yaklaşık $0.2 \text{ mikrolitre.dak}^{-1}.\text{mmHg}$) göz içi basıncında (GİB) bir yükselme olmaktadır. Yüksek göz içi basıncı ile ortaya çıkan glokom en ciddi göz hastalıklarından biridir ve % 15 – 20 oranında körlüğe neden olur [2]. Bu enzim böbrek korteksinde proksimal ve distal tübül hücrelerinin, toplayıcı tübül hücrelerinin lümene bakan kısımlarında konsantre olmuştur. Böbreğin alkalileri tasarruf etmesini ve idrar söktürücü etkisiyle ekstraselüler sıvının asit-baz dengesinin korunmasını sağlar. Ayrıca eritrositlerde, mide mukozasında ve beyinde bulunur [2].



Şekil 2.26. Kan, hücre ve lümende iyon transferi

2.2.5. Karbonik anhidraz inhibitörleri

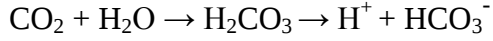
Enzim inhibisyonu, enzimatik bir tepkimenin hızının inhibitör adı verilen bazı maddeler tarafından azaltılması veya tamamen durdurulmasıdır. Bazı hastalıkların nedeni, bir enzimin işlevini yerine getirmemesi olabilir, herhangi bir etken bir enzimi inhibe ederek enzimin katalize ettiği kimyasal olayı bozabilir veya bir farmakolojik ajan bir hastalığı enzim inhibisyonu üzerinden tedavi edebilir. Karbonik anhidrazlar (CA) tüm vücutta yaygın olarak bulunan ve fizyolojik öneme sahip bir grup enzimdir. İnsanda CA'nın 14 izoenzimi olduğu gösterilmiştir. Tip I, II ve IV gözde tespit edilmiştir. Tip I ve Tip II hücrelerde intrastoplazmik yerleşim gösterirken Tip IV hücre membranlarına bağlı olarak bulunur [8]. Göz'de bulunan CA izoenzimlerinin dağılımı Çizelge 2.2'de verimiştir.

Çizelge 2.2. Göz'de bulunan karbonik anhidraz izoenzimlerinin dağılımı

Kornea endoteli	CA-I , CA-II
Lens	CA-I, CA-II, CA-IV
Siliyer cisim	CA-II, CA-IV
Retina pigment epitelyumi	CA-II, CA-IV
Parafoveal konlar	CA-II
Müler hücreleri	CA-II
Koryokapilleris	CA-II

Karbonik anhidraz (CA) inhibitörleri, göz hastalıkları alanında kullanılan göz içi basıncını (GİB) düşürücü etkisi en kuvvetli ilaçlar arasındadır. Göz içi sıvısı siliyer epitelde devamlı surette yapılmaktadır. Yapım hızı 1.8-3.4 ml/dak'dır. 1918'de Seidel aksini ispatlayana kadar, göz içi sıvısının durgun bir sıvı olduğu kabul edilirdi. Göz içi sıvısının yapımı ve

kimyasal kompozisyonu difüzyon, ultrafiltrasyon ve aktif transportla gerçekleşir. HCO_3^- iyonu göz içi sıvısını aktif transportu için gereklidir. CA ve HCO_3^- rolleri henüz tam olarak bilinmese de HCO_3^- yapımının bloke edilmesi göz içi sıvısı yapımının bloke olmasına neden olur [2]. CA enzimi aşağıdaki reaksiyonun birinci basamağını katalizler, ikinci basamak spontan iyon disosiasyonu ile gerçekleşir.



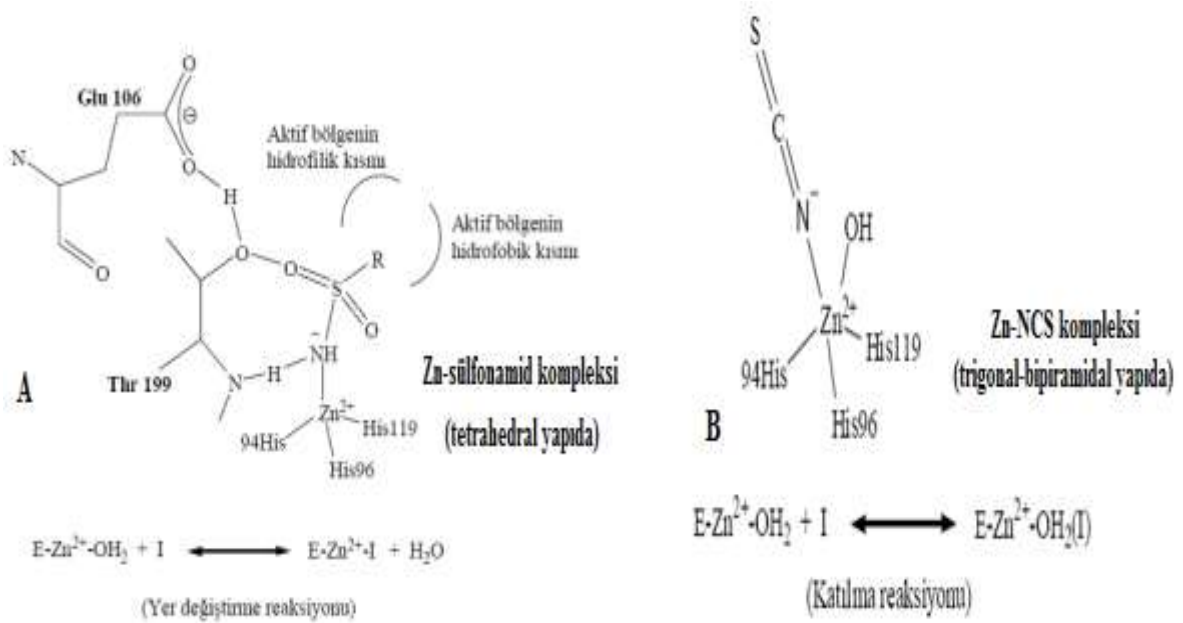
Günümüzde GİB'ni düşürmek için topikal ve sistemik olmak üzere iki formda kullanılmaktadır. Bir sistemik CA inhibitörü olan asetozolamid, ilk olarak 1954 yılında Becker, Grant, Trotter, Breinin ve Gürtz tarafından glokomlu olgularda GİB'ni düşürmek amacı ile kullanılmıştır. 1995 yılında ise topikal formu olan dorzolamidin GİB'ni düşürmek için kullanımı FDA (Food and Drug Administration of United States) tarafından onaylanmıştır. Bunu takiben, 1998 yılında bir başka topikal CA inhibitörü olan brinzolamid kullanım alanına girmiştir. Avrupa Glokom Cemiyeti, topikal CA inhibitörlerini glokomun 1. basamak tedavisinde kullanılabilecek ilaçlar arasında göstermektedir [16,17].

CA enziminin katalizlediği mekanizmaların aydınlatılmasının yanı sıra bu enzimin dokulara dağılımı ve bu dokulardaki hayati fonksiyonları araştırılmış, daha sonra CA enziminin inhibitörleri ve aktivatörlerinin sentezlenmesine hız verilmiştir. Bu çalışmalarda çok çeşitli CA enzimi için inhibitörler sentezlenmiş ve bu inhibitörler başta glokom, antitümör, ağrı kesici, epilepsi ve nörolojik hastalıklar, pozitron emisyon tomografisi (PET) ve manyetik rezonans (MRI) belirlenmesinde diagnostik teşhis materyali, antiülser ve diüretik ilaçların geliştirilmesinde yol gösterici olarak kullanılmaktadır. Bu sebeple, CA enziminin inhibisyon mekanizmasının bilinmesi ve yeni bileşiklerin sentezlenmesi çok büyük önem kazanmaktadır.

CA inhibitörlerinin iki ana sınıfı bilinmektedir: Metal ile kompleks oluşturan ligandlar aromatik/ heteroaromatik sülfonamidler (Şekil 2.27 A) ve anyonlardır (Şekil 2.27 B) En önemli CA inhibitörü olan sülfonamidler, çinko iyonuna tetrahedral geometride bağlanır ve sülfonamidin azot atomu Zn^{2+} iyonu ile koordine olur. Ayrıca Thr 199 ve Glu 106 rezidüleri hidrojen bağları ile inhibitörün metal iyonuna bağlanmasına katılırlar. İnhibitörün bağlanmasına bir diğer katkı, aromatik/heteroaromatik kısmın aktif bölgenin

hidrofilik ve hidrofobik rezidüleri ile etkileşimi sonucu sağlanır. Anyonlar metal iyonunun hem terahedral geometrisinde hem de trigonal-bipiramidal şekilde bağlanabilirler (Şekil 2.27 B) [18].

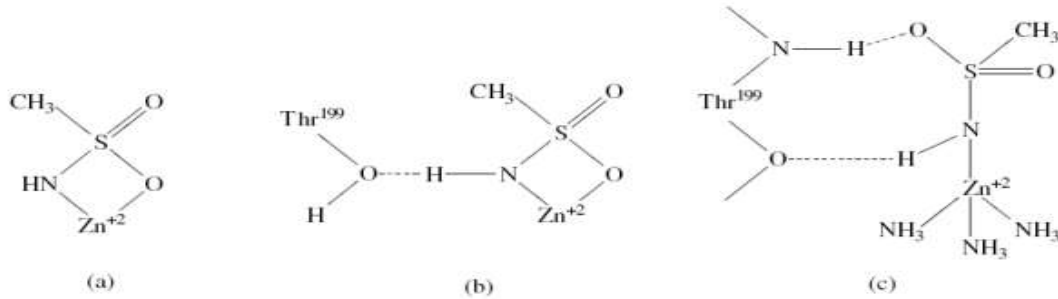
İnorganik anyonlarda yalnızca hidrofilik bağlanma söz konusu olduğundan CA enzimi üzerine sülfonamidler kadar güçlü inhibitör görevi üstlenemezler. Karbonik anhidrazın en güçlü inhibitörleri aromatik ve heteroaromatik sülfonamidlerdir. Sülfonamidler $R-SO_2NH_2$ kimyasal yapısına sahiptir. Bu formüldeki R grubu, genellikle aromatik veya heteroaromatik halka sistemidir.



Şekil 2.27. CA inhibisyon mekanizması (A-sülfonamid ile, B-SCN⁻ ile)

Sülfonamidlerin CA enzime bağlanması konusundaki teorik bir çalışmada, ilk olarak Zn^{2+} tek başına azot ve oksijen atomların ile koordine olabildiğini gösterilmektedir (Şekil 2.28 a). İkinci olarak, aktif bölgede bulunan tirozin (Thr-199) ile sülfonamid molekülündeki $-NH$ grubu arasında oluşan hidrojen bağı yapıyı daha kararlı hale getirmektedir (Şekil 2.28 b). Üçüncü olarak sülfonamidin oksijeni, Thr-199'un $-NH$ grubu ile hidrojen bağı yaparak yapıyı en kararlı hale getirmektedir (Şekil 2.28 c). Elde edilen sonuçlar, sülfonamid türevlerinin enzim ile farklı bir şekilde Van der Waals etkileşimlerinden dolayı K_i değerlerinde önemli fark oluşturduğunu göstermiştir. Zn^{2+} iyonuna koordine olmuş sülfonamid bileşiğinin N atomuyla, protonu ayrılmış Zn^{2+}

iyonunun etrafında bulunan His94, His96, His119 rezidülerinin tetrahedral bir yapıda bağlanması sülfonamidler için çok önemlidir (Şekil 2.28) [19].



Şekil 2.28. Sülfonamidlerin Karbonik Anhidraz Enzimine Bağlanması

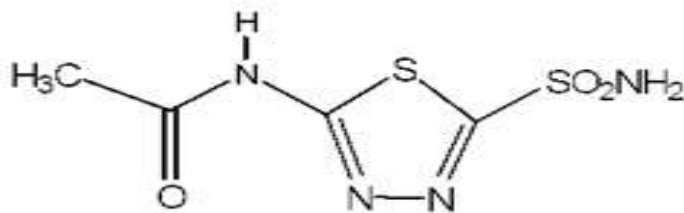
Sistemik Karbonik Anhidraz İnhibitörleri

Sistemik karbonik anhidraz inhibitörler aşağıda verilmiştir [20,21].

- Asetazolamid
- Metazolamid
- Diklorfenamid

Asetazolamid

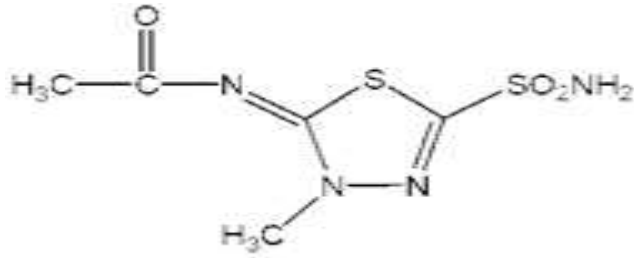
Sekonder glokom tedavisinde kullanılan güçlü karbonik anhidraz inhibitörüdür. Konjestif kalp yetersizliği, epilepsi ve ilaçlarla oluşan sekonder ödemlerin tedavisinde diğer ajanlarla birlikte yardımcı olarak kullanılır. Akut yükseklik hastalığında semptomların önlenmesi ve iyileştirilmesinde endikedir. Aynı zamanda diüretik olarak da kullanılmaktadır. Asetazolamid sülfonamid grubu içeren bir ilaçtır ve ağızdan alınır. Ancak hematolojik bozukluklar, döküntü ve sülfonamidlere bağlı başka yan etkiler ortaya çıkabilir. Genellikle uzun süre kullanılması tavsiye edilmez.



Şekil 2.29. Asetazolamid (5-asetamit-1,3,4-tiadiazol-2-sülfonamid)

Metazolomid

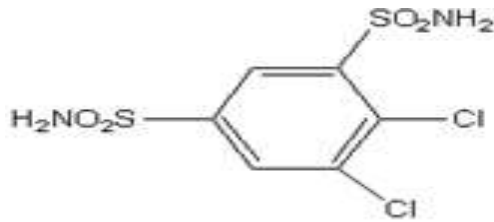
Böbrek taşları ve kan diskrazilerine neden olabilir. Doz, 50-100 mg ve günde 2 kez olarak kullanılır. Etkisi 3 saatte başlar, 6 saatte maksimum olur ve 10-18 saat sürer. Bu ajan, asetozolamide iyi bir alternatiftir ve daha uzun etki süresine sahiptir. Bir sülfonamid türevidir ve muhtemel antineoplastik aktiviteye sahip karbonikanhidraz inhibitörüdür. Suyun bikarbonat ve protona hızlıca dönüşmesini katalizler ve bikarbonat iyonları, tümör mikro çevresinin asitleştirmesini sürdürmek için yardım eder ve bazı hipoksiya tümörlerinde sitotoksik tedavilere karşı direnç geliştirir.



Şekil 2.30. Metazolamid (5-asetilamino-4-1,3,4-tiozalin-2-sülfonamid)

Diklorfenamid

Bir sülfonamid ve karbonik anhidraz inhibitörüdür. Etkisi 1 saat içinde başlar, 3 saatte maksimum olur ve 6-12 saat sürer. Klinik çalışmalar ilacın asetazolamiddan daha etkili olmadığını ve yan etkiler açısından da farkının bulunmadığını göstermiştir.



Şekil 2.31. Diklorfenamid (4,5-diklorobenzen-1,3-disülfonamid)

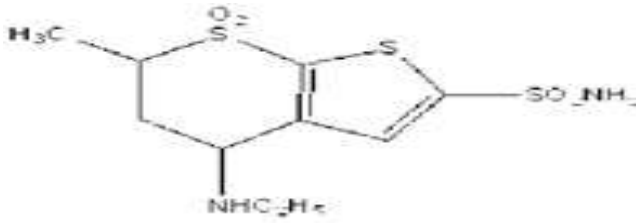
Topikal karbonik anhidraz inhibitörleri

Topikal karbonik anhidraz inhibitörler aşağıda verilmiştir [24].

- Dorzolamid
- Brinzolamid

Dorzolamid

Topikal bir karbonik anhidraz inhibitörü olan dorzolamid, beta blokerlere dirençli ya da beta blokerlerin kontraendike olduğu hastalarda kullanılmak üzere onaylanmıştır. Tek başına veya topikal bir blokerin yanında kullanılır. Karaciğer bozukluğu olanlarda dikkatli kullanılmalıdır. Ağır böbrek yetmezliği, gebelik, emzirenlerde ve hiperkloremik asidozu olanlarda kontraendikedir. Gözde yanma, batma, kasıntı, ağızda acı tad, bulanık görme, gözlerde yaşarma, konjonktivit, yüzeysel punktat keratit, blefarit, anterior üveit, geçici miyopi, baş ağrısı, sersemlik, parestezi, asteni, bulantı, döküntü ve allerjik reaksiyonlar (ürtiker, anjio ödem, bronkospazm dahil), üriner sistem taşları yapma gibi yan etkilere sahiptir. Tek basına uygulanırsa günde üç kez, beta blokerle uygulanırsa günde iki kez damlatılır.



Şekil 2.32. Dorzolamid

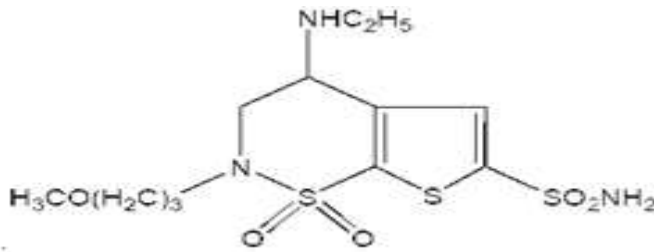
Strahlman ve arkadaşları Ağustos 1995’de yayımladıkları çalışmalarında, dorzolamidi timolol ve betaxolol ile etki ve güvenilirlik açısından karşılaştırmışlardır. Bu karşılaştırma sonucunda tek ilaç olarak kullanıldıklarında dorzolamid ve betaxolol göz içi basıncını düşürmede benzer etkiye sahip ancak bu etki timololden daha az olduğu görülmüştür. Aynı çalışmada hastalarda gelişen yan etkiler değerlendirilmiş ve dorzolamidi alan hastalarda en sık şikayet edilen semptom %27’lik oranla ağızda acı tad hissi vermesidir. Dorzolamidin timolol ile kombine kullanılması sonucu göz içi basıncında ortalama 4,2 mmHg ek düşüş olmaktadır. Dorzolamid timolol ile kombine kullanılmasında oldukça aditif bir etkinin gözlenmesi bu iki ilacın birleştirilerek kullanılması düşüncesini doğurmuş ve timolol %0,5 ile dorzolamid %2’nin kombinasyonu 1998’de tedaviye sunulmuştur [22].

Topikal karbonik anhidraz inhibitörlerinin sistemik karbonik anhidraz inhibitörleriyle beraber kullanılması önerilmiştir. Rosenberg ve arkadaşları 1998’de yayınladıkları çalışmalarında sistemik asetazolamid ve topikal dorzolamid kombinasyonunun göz içi basıncı azalması ve hümeör aköz formasyonu üzerindeki aditif etkilerini araştırmışlardır. Bu

araştırma sonucunda topikal dorzolamid ve sistemik karbonik anhidraz inhibitörleri aditif bulunmamıştır ve beraber kullanımları önerilmemiştir [23].

Brinzolamid

1998’de %1’lik konsantrasyonda Azopt ticari adıyla tedaviye sunulmuş bir topikal karbonik anhidraz inhibitörüdür. Silver, Eylül 1998’de yayınladıkları çalışmalarında PAAG ve oküler hipertansiyon tanılı 572 hastada günde 2 ve 3 kez uygulanan %1’lik Brinzolamid, günde 3 kez uygulanan %2’lik Dorzolamid ve günde 2 kez uygulanan %0,5’lik Timolol ile karşılaştırılmıştır. Hastaların bazal ve 3 aylık tedavisi sonrasındaki göz içi basınçları ölçülmüştür. Ortalama göz içi basıncındaki azalma günde 2 kez Brinzolamid uygulanan hastalarda 3,8-5,6 mmHg bulunmuştur. Dorzolamid uygulananlarda 4,3-5,9 mmHg’lik ortalama bir düşüş kaydedilmiştir. Bu üç sonuç arasında istatistiksel olarak bir fark saptanmamıştır. Ancak Timolol uygulanan grupta, göz içi basıncındaki düşüş 5,2-6,3 mmHg olarak ölçülmüştür. Bu düşüşün diğer uygulamalardan istatistiksel olarak daha fazla olduğu görülmüştür [24].



Şekil 2. 33. Brinzolamid

2.2.6. Karbonik anhidraz inhibitörlerinin kullanım alanları

Karbonik anhidraz inhibitörlerinin kullanım alanları şu şekilde özetlenebilir:

1. Karbonik anhidraz inhibisyonu aköz humörün formasyonunu azaltır ve göz içi basıncını düşürür. Glokomun kronik tedavisinde kullanılır.
2. İdrarın alkalileştirilmesi amacıyla kullanılır. Bu da asidik ilaçlarla gelişen zehirlenmelerin tedavisinde kullanılır.
3. Epilepsi tedavisinde yardımcı ilaç olarak kullanılır.

4. Kronik metabolik alkalozda bikarbonat tüketimini sağlayarak asit-baz dengesini sağlar.
5. Belirli bir yükseklikte ortaya çıkan uykusuzluk, baş ağrısı, bulantı, halsizlik, solunum bozuklukları gibi bulgulara (akut dağ hastalığı) karşı profilaktik olarak kullanılır.
6. Hiperkalemik periodik paralizde üriner yolla PO_4^{3-} atılımını sağlarlar.
7. Siroz hastalığında kullanılmamalıdır [25].

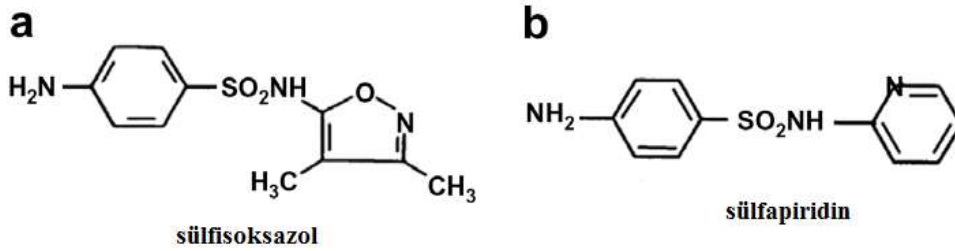
2.2.7. Karbonik Anhidraz İnhibitörlerinin Yan Etkileri

Karbonik anhidraz inhibitörlerinin uzun süreli uygulamalardaki faydaları, sistemik yan etkileri ve zayıf uyum nedeniyle sınırlanmaktadır. Çoğu vakada yan etkilerin şiddeti doza bağlıdır ve doz azaltılarak, başka bir ilaç kullanımına geçilerek ya da yavaş salınan bir preparat kullanılarak önlenabilmektedir [20].

1. Parmaklarda, ellerde ve ayaklarda karıncalanma hissi olur.
2. Yorgunluk, kırıklık, depresyon, kilo kaybı ve libido azalması gibi semptomlar görülebilir. Bu yüksek serum düzeyleri ve ilaca bağlı metabolik asidoz nedeniyledir. Hastaların % 50 sinde 2 haftalık sodyum asetat uygulaması semptomların gerilemesini sağlamıştır.
3. Gastrointestinal semptomlar, gastrik irritasyon, abdominal kramplar, diyare, bulantı ve kusma ile karakterizedir.
4. Renal taşlar, steven jhonsen sendromu, kemik iliği depresyonu ve geçici miyopi gibi çeşitli yan etkileri vardır.
5. Kanda CO_2 birikimini artırdığından dolayı kullanımına dikkat edilmelidir.
6. Sistemik olarak verildiklerinde akut glokomların kısa süreli tedavisinde fayda sağlasalar da uzun süreli kullanımı uygun değildir. Uzun süreli kullanım genellikle yüksek görme kaybı riski taşıyan hastalar içindir. Miyotiklerle kombine edildiklerinde gayet iyi ilave etki oluşturmurlar [26].

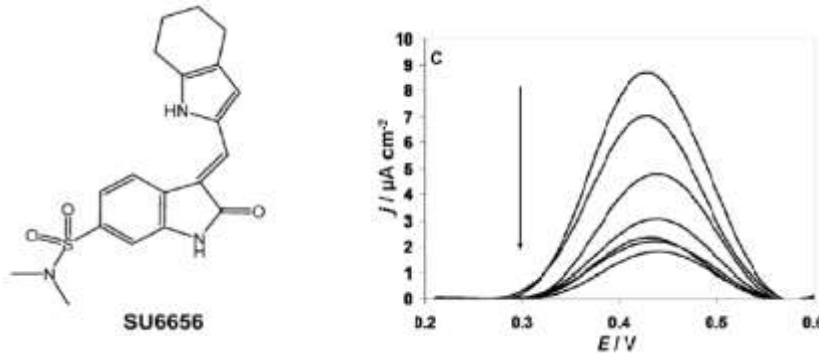
2.3. Kaynak Araştırması

Melina Mondelli ve arkadaşları, sülfonamid türevi olan sülfisoksazol ve sülfapiridin Ni(II) komplekslerinin *S. aureus* ve *E. Coli*’ye karşı aktif, *M. Tuberculosis*’e karşı aktif olmadığını belirtmiştir [27].

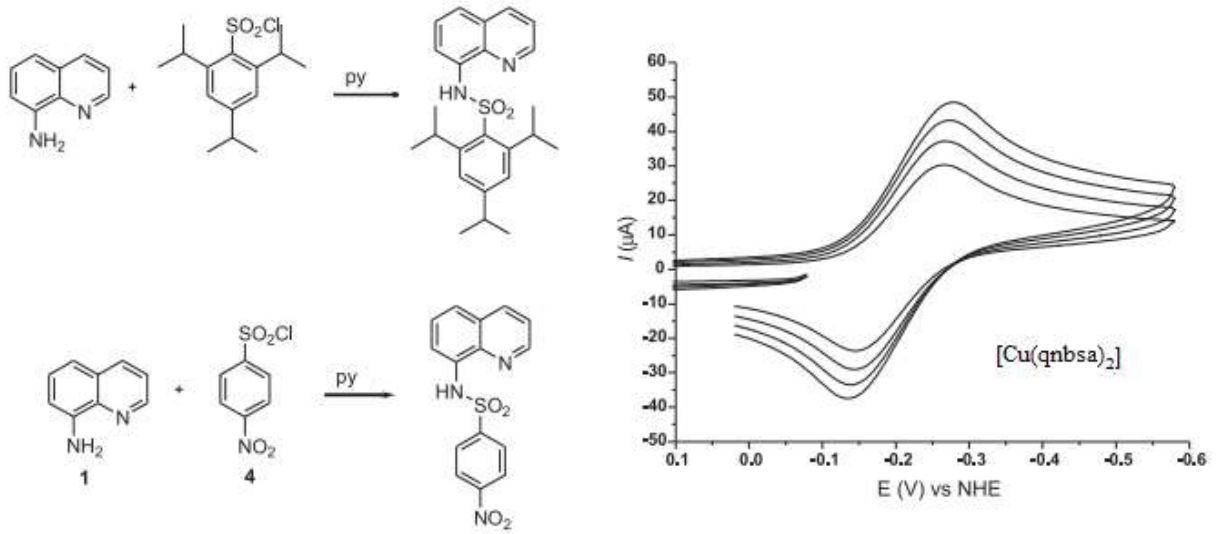


Şekil 2.34. Sülfisoksazol ve sülfapiridin Yapısı

Kraatz ve arkadaşları, sülfonamid türevi bileşiğin (SU6656) protein kinaz enzimine karşı inhibisyon etkisini elektrokimyasal yöntemlerle incelemiş ve bazı aromatik bileşiklerin enzim aktivitesi ile karşılaştırmıştır.

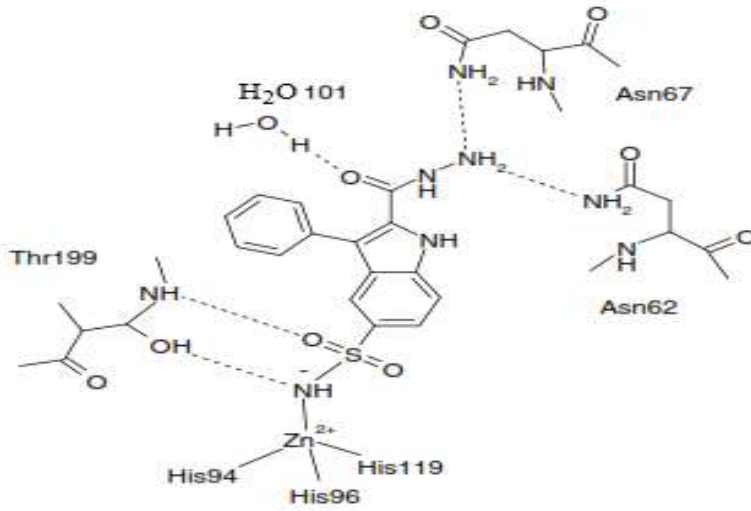


Silva ve arkadaşları, sülfonamidlerin SOD mimetik aktivitesinden dolayı koordinasyon kimyasındaki önemini arttığını belirtmiştir. SOD aktivitesi, reaktif oksijen türlerine (hidroksil, singlet oksijen, süperoksit anyonu gibi) karşı sülfonamid-metal komplekslerinin terapetik ajan olarak kullanımını mümkün kılmıştır. Bu gruba giren metaloproteazların (MMPs) antitümör özelliği bilinmektedir. Çok sayıdaki sülfonamid-MMPs inhibitörleri, antitümör ve enzim inhibitör özelliğinin yanı sıra kuvvetli inflamatuvar olarak da kullanılmaktadır. Bakır komplekslerinin kanserli hücrelerde seçici proteazom inhibitörleri olarak biyolojik etkinlik gösterdiği belirtilmiştir [28].



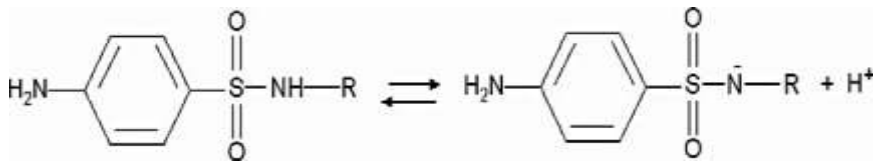
Güzel ve arkadaşları, 2-(hydrazinocarbonyl)-3-substitutedphenyl-1H-indole-5-sulfonamid türevi bileşikleri sentezlemiş ve insan karbonik anhidraz izoenzimleri (hCA) üzerindeki inhibisyon etkilerini incelemiştir. Bileşikler içerisinde 2-(hydrazinocarbonyl)-3-phenyl-1H-indole-5-sulfonamidin düşük derişimlerde (7.2-7.5 nM) hCA I ve hCA II' ye karşı oldukça iyi, CA VII, CA IX, CA XII ve CA XIV'ye karşı orta ve diğer izoenzimlere karşı zayıf inhibitör etki göstermesi, klinik çalışmalarda CA I ve CA II'ye karşı seçiciliğini sağlamıştır.

X ışını kırınımı yöntemine göre sülfonamid (R:-H) bileşiğinin hCA II izoenziminin aktif bölgeleri ile şelatasyonu Şekil 2.35'de verilmektedir. Sülfonamid ligandının NH-SO₂ grubu Thr99 daki NH ve OH aktif uçları ile H bağı yaparak bağlanmaktadır. Benzer şekilde ligandın C=O ve NH₂ grubu enzimin amino asit yapısındaki aktif bölgelere (Asn62 ve Asn67) H bağı ile bağlanmaktadır. Moleküller arasındaki van der waals etkileşimleri sülfonamidlerin enzim çukurlarına kuvvetlice bağlanmasını sağlamaktadır. İlaç tasarımı, enzim aktif bölgesinin hidrofobik kısmına ligandın fenil grubu sübstütientleriyle birlikte yerleşmesi yapı-aktivite ilişkisini ilginç kılmaktadır. [29].



Şekil 2.35. X ışını kırınımı yöntemine göre sülfonamid (R:-H) bileşiğinin hCA II izoenzimine karşı aktif bağlanma bölgeleri

Kremer ve arkadaşları, heterosiklik sülfonamid ve Cu(II) komplekslerinin süperoksit dismutaz (SOD) enzimine karşı inhibisyon etkisini incelemiştir. Serbest sülfonamidlerin özellikle de iyonik formlarının pKa'sı ve lipofilik özellikleri biyolojik aktiviteyi etkilemektedir.

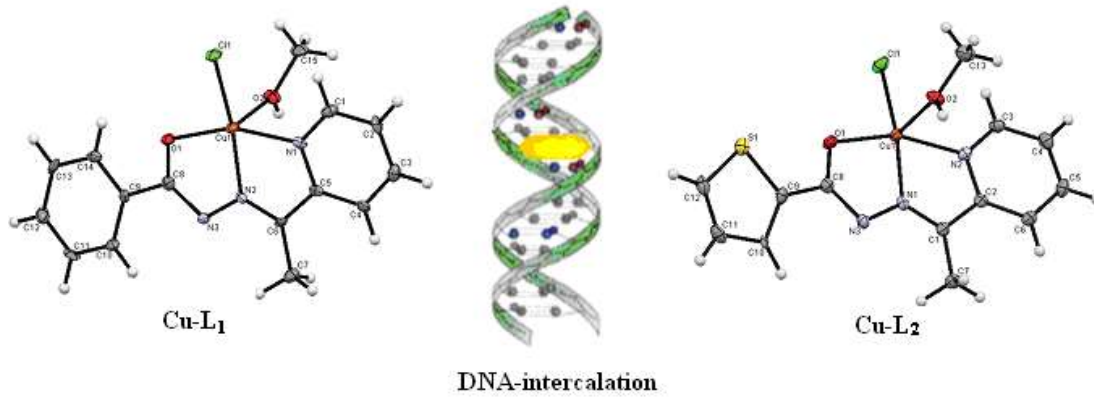


Sülfonamidlerin iyonik formları aktif antibakteriyel türlerdir. İyonik sülfonamid hücre zarından girmesine rağmen düşük yağ çözünürlüğünden dolayı yağ tabakasından hücre içine etkili bir şekilde geçemez. Diğer taraftan moleküler formu yüksek yağ çözünürlüğüne sahiptir, fakat hücre içinde iyonlaştığı için yüksek aktivite gösteremez. Cowles ve Brueckner sülfonamidlerin bakteri içerisine moleküler formda girdiğini, ancak hücre içerisindeki antibakteriyel aktifliği iyonik formun sağladığını belirtmiştir [30].

Bulut ve arkadaşları; asetazolamidin Cu(II), Ni(II) ve V(V) komplekslerinin karbonik anhidraz I (CA I) e karşı inhibisyon etkisini kare dalga ve dönüşümlü voltametri yöntemi ile incelemiştir. Asetazolamid, göz tansiyonu ve epilepsi tedavisinde kullanımının yanı sıra diüretik olarak da kullanılmaktadır. Metal iyonlarının sülfonamid içerikli ilaçların biyokimyasal aktivitesinde önemli rolü vardır. Kemoterapik ajan olarak kullanımı ve düşük

toksitiye sahip olması yeni kullanım alanları doğurmuştur. Metal iyonlarının bağlanma türleri ilaçların redoks özellikleri üzerinde önemli etkiye sahiptir. Bu çalışmada da metal komplekslerinin ligandlarından daha aktif olduğunu belirlemişlerdir. Cu(II) komplekslerinin dönüşümlü voltamogramlarında Cu(II) ye ait indirgenme pikleri -0,262 V ve -0,434 V da gözlenmiştir [31].

Alagesan ve arkadaşları, 2-asetilpiridinbenzilhidrazon (L₁) ve 2-asetilpiridintiyofen-2-karboksilikasithidrazon (L₂) un [CuCl₂(DMSO)₂] ile metal komplekslerini sentezlemiş ve yapılarını X-ışını kırınımı yöntemi ile aydınlatmıştır. Cu(II) komplekslerinin kare piramit geometriye sahip olduğu belirtilmiştir. Ligandların ve Cu(II) komplekslerinin DNA sarmalının arasına girerek (interkalasyon) DNA yı etkilediği, bakır komplekslerinin serbest liganda göre sıgır serum albuminine daha kuvvetli bağlandığı belirtilmiştir [32].



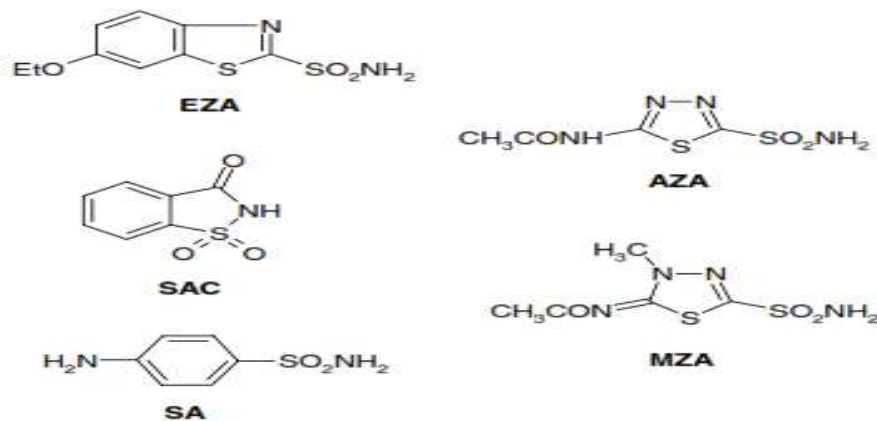
Şekil 2.36. Cu(II) komplekslerinin DNA İle Etkileşimi

Kanser ilaçlarına karşı ilaç direncinin artması veya yan etkilerin fazla olması tedavi sürecine rağmen dünyada büyük miktarda ölümlere neden olmaktadır. Metal içerikli yeni ilaçların bulunması ilaç sanayinde gelişmeler sağlamıştır. Çünkü metal kompleksleri etkin bir şekilde DNA ya bağlanmakta ve sarmalı açmaktadır. Cis-platin kompleksi dünyada bilinen en başarılı ilaçlardan biridir. Ancak yan etkilerinin çok fazla olması nedeniyle minimum doz içerikli protokoller hazırlanmakta, bu durumda ise kanserli hücrelere karşı aktifliği kaybolmakta ve ikincil kanser (metastaz) oluşmaktadır [33]. Cis-platin komplekslerinin yerine alternatif yeni komplekslerin keşfi için çeşitli metal kompleksleri sentezlenmiş ve antikanser aktiviteleri incelenmiştir. Bakır komplekslerinin kanserli hücre zarından seçimli geçişi [34] ve DNA sarmalının açılımındaki aktif rolü kanser kemoterapisinde yeni metal içerikli ilaçların önemini fark edilmesini sağlamıştır [35-37].

Diğer taraftan, proteinler de antikanser ajanların etkinliğini gösterdiği hedef moleküllerden biridir. Aromatik halka içeren bileşiklerin etkileşimleri protein stabilizasyonu ve çeşitli düzenleyici işlemler için oldukça önemlidir. Son yıllarda, aromatik halkanın çeşitliliği ve düzlemselliği, DNA veya proteine bağlanma ve geçiş metali komplekslerinin sitotostik etkisi gibi konulara yoğun bir şekilde ilgi duyulmaktadır [38-42].

Rahim kanseri dünyada kadınlar arasında en yaygın ikinci kanser türüdür. Her yıl yaklaşık 500 000 kişi tedavi görmekte ve cis-platinin yan etkilerinden dolayı kanserli hücreleri öldüren yeni hidrazon metal komplekslerinin sentezine ihtiyaç duyulmuştur. Biyolojik aktif olan kare piramidal geometriye sahip Cu-hidrazon komplekslerinin sübstütie grupları değıştikçe kanserli hücrelere bağlanması da değışmekte ve yüksek sitotostik etki göstermektedir. Cu(II) komplekslerinin HeLa, PANC1, EAC ve DAL kanser hücre türlerine karşı cis-platinden daha iyi antikanser aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur [43].

Rami ve Arkadaşları; klinik kullanımı olan CA I inhibitörlerinin (asetazolamid AZA, metazolamid MZA, etokzolamid EZA ve sakarin SAC) metal komplekslerinin sülfonamid ligandlarından 10-100 katı daha aktif olduğunu belirtmiştir. Metal kompleksleri sulu çözeltide kararlı değildir ve iyonlarına ayırır. Oluşan sülfonamidat anyonu enzim çukurundaki aktif bölgeler ile birlikte enzim yapısındaki Zn(II) ya bağlanırken metal katyonu enzimin aktif bölgelerinin yanı sıra His 64 (CA II de) ve His 200 (CA I de) ucuna bağlanır.



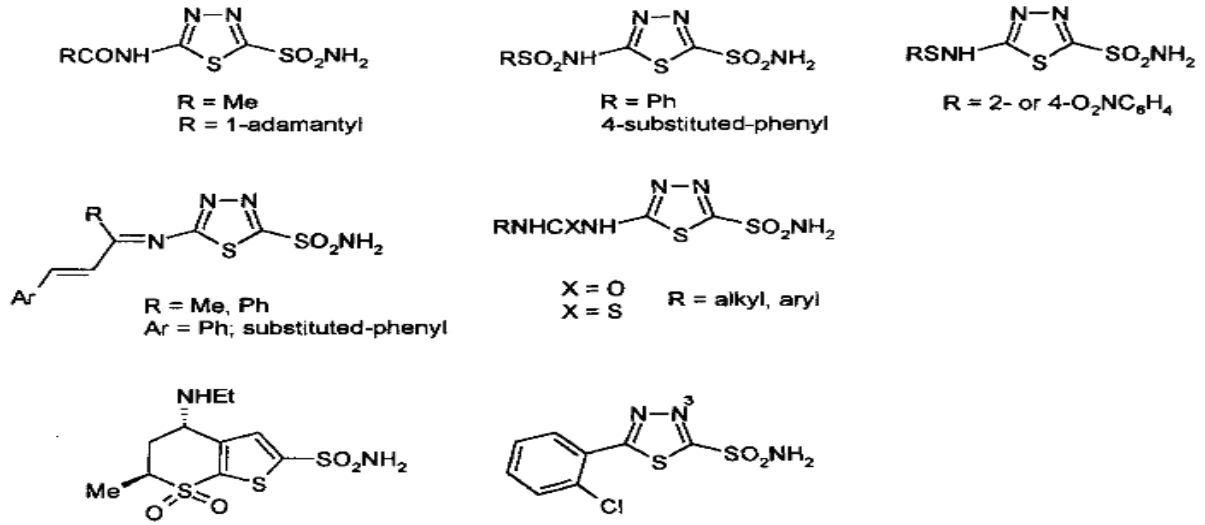
Şekil 2.37. Asetazolamid, Metazolamid, Etokzolamid, Sakarin Yapıları

Aynı çalışmada, poliamino-polikarboksilamido aromatik/heterosiklik sülfonamid bileşiklerini ve Cu(II) kompleksleri sentezlenmiş, CA I, CA II, CA IX ve CA XII

izoenzimlerine karşı inhibisyon etkileri incelenmiştir. Cu(II) kompleksleri sitosolik CA I ve CA II inhibitörü, ayrıca transmembran CA IX ve CA XII inhibitörü olarak davranmaktadır. Bazı Cu(II) komplekslerinin çok düşük derişimlerde CA IX, CA XII izoenzimlerine karşı duyarlılığı ve seçiciliğinden dolayı PET tümör belirteci olarak kullanılabileceğı öngörölmüştür [44-47].

Ilies ve arkadaşları, sülfonamidlerin metal komplekslerinin aşırı gastrik asit salgılanmasında önleyici etkisi olduğunu ve tedavi edici farmokolojik ajan olarak kullanılabileceğini ileri sürmüştür. Bu çalışmada asetazolamid, metazolamid, ethoxzalamid ve benzolamid gibi bazı ticari CA inhibitörleri antasit olarak deney hayvanları üzerinde denenmiştir. Klinik olarak kullanılan sülfonamid türevi karbonik anhidraz (CA) inhibitörlerinin çinko, magnezyum, alüminyum ve bakır kompleksleri üç gün boyunca günde 2x2500 mg verildiğinde kronik mide fistülü olan köpeklerde mide asidi ve gastrik asit salgılama parametrelerinin büyük ölçüde azaldığı gözlenmiştir. Gastrik asit salgılama dengesizlikleri için tedavi seçenekleri olarak (tek başına veya diğer ilaçlarla birlikte kombine halinde) sülfonamidlerin metal kompleksleri umut vaad eden sonuçlar göstermiştir [48].

Briganti ve arkadaşları; asetazolamid, metazolamid, ethokzalamid, benzolamid, dorzolamid ve klorozolamid inhibitörlerinin ve bazı geçiş metali komplekslerinin CA I, CA II, CA IV izoenzimlerine karşı enzim inhibisyon özelliklerini incelemiştir. Klorazolamidin %1-2 oranında farelerin göz tansiyonunu düşürmesine karşın metal komplekslerinin çok daha etkili olduğunu özellikle de Mg(II), Zn(II), Mn(I), Cu(II) komplekslerinin CA II enzimini % 99.5-99.9 oranında inhibe ettiğı belirlemiştir.



Şekil 2.38. CA I, CA II, CA IV izoenzimlerine karşı enzim inhibisyon özellikleri incelenen bazı geçiş metali kompleksleri

1,4,4-thiadiazole-2-sulfonamid türevlerinin göz tansiyonuna karşı (antiglukom) kullanımının yanı sıra diüretik etkilerinin olduğu da bilinmektedir. Bu ilaçların öncüsü olan asetazolamid diüretik, antiglukom, antiepileptik ve antiülser olarak klinik tıpta 45 yıldan daha uzun bir süredir etkin olarak kullanılmaktadır. Asetazolamid ve aromatik/heteroaromatik sülfonamidler biyolojik etkinliklerinden dolayı çeşitli fizyolojik çalışmalarda tanı amaçlı NMR görüntüleme ve pozitron emisyon tomografi (PET) de kullanılmaktadır. Sülfonamidlerin metal komplekslerinin sülfonamidat ve metal iyonlarına ayrışmasının CA inhibitör özelliğini artırdığı belirtilmiştir [49].

Hassan ve Arkadaşları, bazı aromatik ve heteroaromatik sülfonamidlerin ve metal komplekslerinin CA I, CA II ve CA IV izoenzimlerine karşı enzim aktivitesini incelemiştir. Cu(II) ve Co(II) kompleksleri CA II ve CA IV e karşı yüksek aktivite göstermiş ve IC₅₀ değerleri 15-108 nM olarak hesaplanmıştır. Bu tür bileşiklerin karbonik anhidraz enzimine karşı inhibisyon aktivitesinin yanı sıra antibakteriyel, diüretik, hipoglisemik ve antikanser aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca, AIDS ve HIV enfeksiyonlarına karşı aspartik HIV proteaz enzim inhibitörü olarak da kullanılabileceği belirtilmiştir [50-52].

3. MATERYAL VE METOTLAR

3.1. Kimyasal Maddeler

Bu çalışmada, hidrazin monohidrat, metansülfoniklorür, 2-asetilfuran, 2-furfural, 5-nitro-furfural ve bakır(II) klorür kimyasalları Aldrich marka, çözücüler ise analitik saflıkta olmak üzere Merck marka olarak temin edilmiştir.

3.2. Yapı Analizlerinde Kullanılan Cihazlar

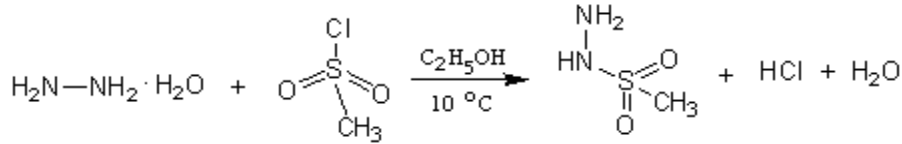
Element analizi Leco CHNS-932 cihazı ile Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarlarından alınmıştır. ^1H - ^{13}C NMR spektrumları bölümümüzdeki 400 MHz lik Bruker-Spectrospin Avance DPX - 400 Ultra-Shield cihazları ile alınmıştır. LC-MS(ES) spektrumları Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde LCT Premier XE UPLC/MS-TOF sistemi ile yapılmıştır. FT-IR spektrumları bölümümüzdeki Mattson-1000 Model FT-IR spektrofotometresi ile $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ aralığında, UV-vis spektrumları UNICAM-UV 2-100 model spektrofotometresi ile $200\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$ aralığında alınmıştır. 5-Brsalmsh bileşiğine ait $0,100\text{ mm} \times 0,100\text{ mm} \times 0,300\text{ mm}$ boyutlarıdaki parlak dikdörtgen kristalin X-ışını kristalografik analizi, grafit monokromatör bağlı Bruker D8 Venture sistemi ile yapılmıştır. Komplekslerin iletkenlikleri bölümümüzde bulunan Orion 5 Star marka multimeter cihazı ile metanolde hazırlanan ($20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de) $1 \times 10^{-3}\text{ M}$ lık 25 mL çözeltileri kullanılarak yapılmıştır. Komplekslerin TGA eğrileri Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Fizik bölümünde bulunan Perkin Elmer Pyrisi 6 cihazı ile alınmıştır. Termal çalışmada, azot atmosferi kullanılmış ve eğriler $25\text{-}300\text{ }^{\circ}\text{C}$ aralığında alınmıştır. Ayrıca Cu(II) komplekslerinin manyetik duyarlılık ölçümlerinin alınmasında bölümümüzde bulunan Sherwood Scientific MKI model Evans terazisi kullanılmıştır. Ligandların ve komplekslerin erime noktası bölümümüzdeki Electrothermal IA marka erime noktası tayin cihazı ile ölçülmüştür. Bütün dönüşümlü voltametri (CV) ve diferansiyel puls voltametri (DPV) çalışmalarında, bölümümüzde bulunan üç elektrot sistemli hücre standına sahip CHI 660B elektrokimyasal analiz cihazı kullanılmıştır.

4. DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Metan Sülfonik Asit Hidrazit (msh) Sentezi

Metan sülfonil hidrazit (msh) bilinen yöntemlerle sentezlenmiştir [53]. 22,5 g (0,45 mol) hidrazin mono hidrat 11mL etanolde çözülerek su banyosunda 10 °C de karıştırılır ve üzerine 20,6 g (0,18 mol) metan sülfonik klorürün 11mL etanoldeki çözeltisi 1,5 saat boyunca damla damla ilave edilir. Metil sülfonil hidrazit (msh) oluşum tepkimesi ekzotermiktir ve tepkime sırasında buz ilavesi yapılarak sıcaklığın yaklaşık 10 °C de kalması sağlanır.

Tepkime denklemi şöyledir:



Tepkime tamamlandıktan sonra yarım saat daha karıştırılır ve viskos bir çözelti elde edilir. Etanolün fazlası homojen bir çözelti elde edilinceye kadar döner buharlaştırıcı kullanılarak geri alınır. Tepkimeye girmemiş hidrazin hidratın fazlasını su fazına almak için çözeltinin pH sı 5 oluncaya kadar % 50'lik fosforik asit ilave edilir. Suda çözünmüş olarak bulunan ürünü eter fazına almak için 7 gün boyunca sürekli ekstraksiyon yapılır. Ürün içeren eter çözeltisindeki eterin fazlası döner buharlaştırıcıda geri alınır. Elde edilen sarı renkli viskos çözelti derin dondurucuda üç gün bekletilir ve çöken ham ürün etilasetattan iki kez kristallendirilir. Oluşan iğne şeklindeki renksiz kristaller etil asetat ve eter ile yıkanarak vakum desikatöründe kurutulur.

Erime Noktası: 35-37 °C, Verim: %50

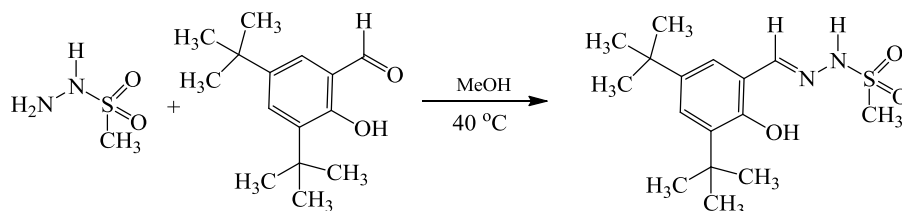
Bileşiğin kapalı formülü: C₁H₆N₂O₂S (M_A= 110,13 g/mol)

4.2. Ligandların Sentezi

Bazı yeni aromatik sülfonilhidrazonlar; 3,5dtersiyerbutilsalisilaldehitmetansülfonil hidrazon (3,5-tbsalmsh), 3-tersiyerbutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon (3-tbsalmsh) ve 5-bromo salisilaldehitmetansülfonilhidrazon (5-Brsalmsh) sentezlenmiştir.

4.2.1. 3,5-Diterbutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon (3,5-tbsalmsh) sentezi

100 mL' lik tek boyunlu balon içerisindeki 2.5 g (23 mmol) metan sulfonik asit hidrazit (msh) bileşiği 50 mL metanolde çözülür. Çözelti ısıtılarak karıştırılırken 30 mL metanolde çözünmüş 7,98 g (34 mmol) 3,5-diterbutilsalisilaldehit çözeltisi damla damla ilave edilir. Yaklaşık 40 °C sıcaklıkta geri soğutucu altında gün boyunca karıştırmaya devam edilir. Çözelti behere alınır, hacmi yarıya inene kadar ısıtılır ve kristallenmeye bırakılır. Yaklaşık bir hafta içerisinde oluşan sarı renkli kristaller 30 mL etilasetat içerisinde ısıtılarak çözülür, sıcak sıcak süzülür ve yeniden kristallendirilir. Oluşan renkli kristaller etil asetat ve eter ile yıkanarak 50 °C de etüvde kurutulur. Tepkime denklemi aşağıda verilmektedir:



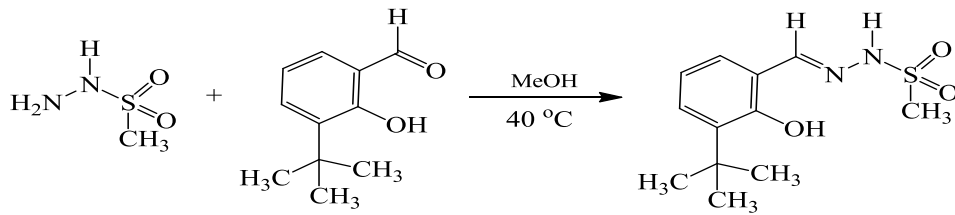
Şekil 4.1. 3,5-tbsalmsh bileşiğinin sentezi

Erime Noktası: 148 °C, Verim; % 78, λ =240 nm, 345 nm

Bileşiğin kapalı formülü: $C_{16}H_{26}N_2O_3S$ ($M_A=326$ g/mol)

4.2.2. 3-Tersiyebutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon (3-tbsalmsh)

100 mL' lik tek boyunlu balon içerisindeki 2.5 g (23 mmol) metan sulfonik asit hidrazit (msh) bileşiği 50 mL metanolde çözülür. Çözelti ısıtılarak karıştırılırken 30 mL metanolde çözünmüş 6.06 g (34 mmol) 3-tertbutilsalisilaldehit çözeltisi damla damla ilave edilir. Yaklaşık 40 °C sıcaklıkta geri soğutucu altında gün boyunca karıştırmaya devam edilir. Çözelti behere alınır, hacmi yarıya inene kadar ısıtılır ve kristallenmeye bırakılır. Yaklaşık bir hafta içerisinde oluşan sarı renkli kristaller 30 mL etilasetat içerisinde ısıtılarak çözülür, sıcak sıcak süzülür ve yeniden kristallendirilir. Oluşan beyaz-krem renkli kristaller etil asetat ve eter ile yıkanarak 50 °C de etüvde kurutulur. Tepkime denklemi aşağıda verilmektedir:



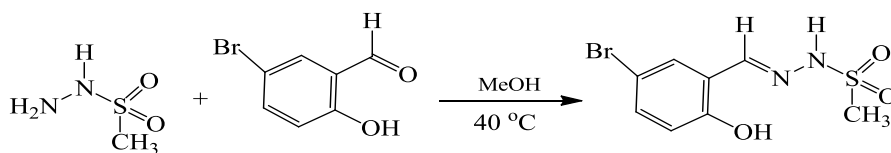
Şekil 4.2. 3-tbsalmsh bileşiğinin sentezi

Erime Noktası: 175-176 °C, Verim; % 72, λ =245 nm, 315 nm

Bileşiğin kapalı formülü: : C₁₂H₁₈N₂O₃S (M_A=270 g/mol)

4.2.3. 5-Bromosalisilaldehitmetansülfonilhidrazon (5-Brsalmsh)

100 mL' lik tek boyunlu balon içerisindeki 2.5 g (0,023 mol) metan sulfonik asit hidrazit (msh) bileşiği 50 mL metanolde çözülür. Çözelti ısıtılarak karıştırılırken 30 mL metanolde çözünmüş 6,85 g (0.034 mol) 5-bromosalisilaldehit çözeltisi damla damla ilave edilir. Yaklaşık 40 °C sıcaklıkta geri soğutucu altında gün boyunca karıştırmaya devam edilir. Çözelti behere alınır, hacmi yarıya inene kadar ısıtılır ve kristallenmeye bırakılır. Yaklaşık bir hafta içerisinde oluşan sarı renkli kristaller 30 mL etilasetat içerisinde ısıtılarak çözülür, sıcak sıcak süzülür ve yeniden kristallendirilir. Oluşan sarı renkli kristaller etil asetat ve eter ile yıkanarak 50 °C de etüvde kurutulur. Tepkime denklemi aşağıda verilmektedir:



Şekil 4.3. 5-Brsalmsh bileşiğinin sentezi

Erime Noktası: 184 °C, Verim; % 67, λ =245 nm, 310 nm

Bileşiğin kapalı formülü: C₈H₉N₂O₃SBr (M_A=293 g/mol)

Teorik (%) : C 32.60; H 3.06; N 9.52; S 10.88

Deneyisel (%) : C 32.00; H 2.97; N 9.34; S 9.30

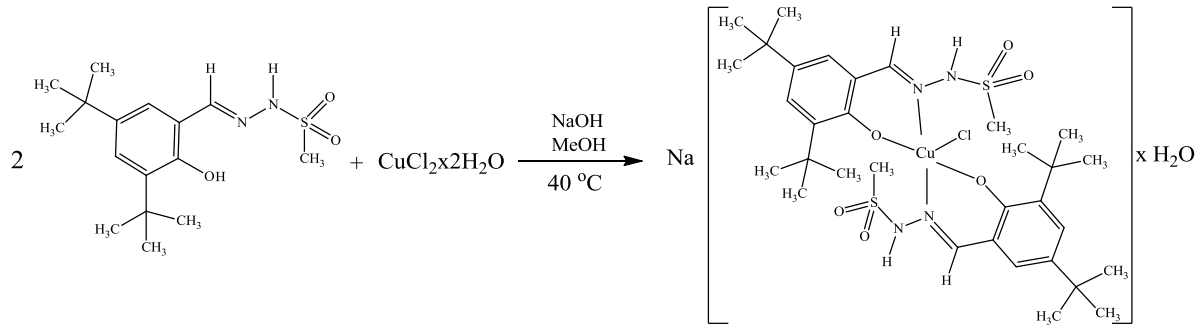
4.3. Komplekslerin Sentezi

Bazı yeni aromatik sülfonilhidrazon bakır(II) kompleksleri; Sodyum bis(3,5-ditersiyebutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon)bakır(II) monohidrat (3,5-tbsalmshCu),

sodyum bis(3-ditersiyebutilsalisilaldehit metansülfonil hidrazon) bakır(II) (3-tbsalmshCu) ve sodyum bis(5-bromosalisilaldehitmetansülfonilhidrazon)bakır(II) trihidrat (5-BrsalmshCu) sentezlenmiştir [54-55].

4.3.1. Sodyum bis (3,5-ditersiyebutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon)klorobakır (II) monohidrat (3,5-tbsalmshCu) sentezi

100 mL'lik bir balon içerisindeki 0,350 g (1.074 mmol) 3,5-ditersiyebutilsalisilaldehit metansülfonilhidrazon (3,5-tbsalmsh) ligandı 50 mL metanolde ısıtılarak çözülür ve üzerine 10 mL metanolde çözünmüş 0.043 g (1.070 mmol) NaOH ilave edilerek karıştırmaya devam edilir. Daha sonra 10 mL metanolde çözünmüş yeşil renkli 0,092 g (0.534 mmol) $\text{CuCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ çözeltisi damla damla ilave edilerek yaklaşık 40 °C sıcaklıkta geri soğutucu altında 2 gün boyunca karıştırmaya devam edilir. Çözelti behere alınır, hacmi yarıya inene kadar ısıtılır ve kristallenmeye bırakılır. Oluşan renkli kristaller 30 mL metil alkol içerisinde ısıtılarak çözülür, sıcak sıcak süzülür ve içerisine yaklaşık 10 mL etil asetat ilave edilerek oda koşullarında yeniden kristallendirilir, eter ile yıkanır ve 50 °C de etüvde kurutulur.



Şekil 4.4. 3,5-tbsalmshCu bileşiğinin sentezi

Erime Noktası = 104-106 °C, Verim; %63

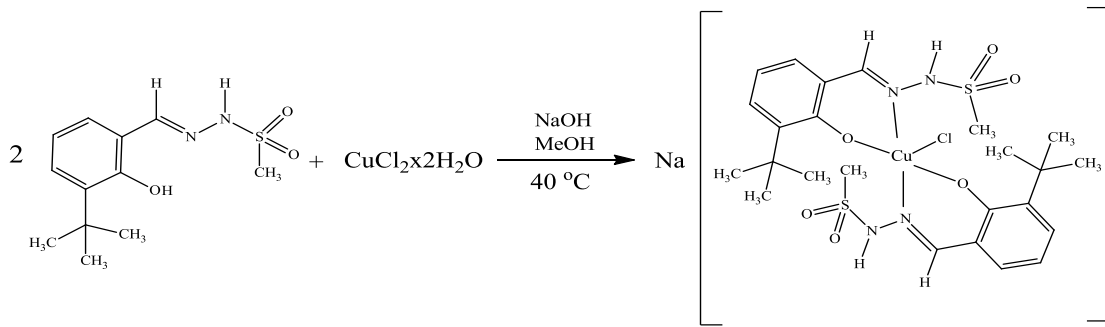
Bileşiğin kapalı formülü: $\text{Na}[\text{Cu}(\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3\text{S})_2\text{Cl}] \cdot \text{xH}_2\text{O}$ (M_A : 792 g/mol)

$\mu_{\text{et}} = 1.96 \text{ BM}$; $\lambda = 245 \text{ nm}, 385 \text{ nm}$; $\wedge_M = 80,3 \text{ ohm}^{-1} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$ (1:1 elektrolit)

4.3.2. Sodyum bis(3-tertiyebutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon)klorobakır (II) (3-tbsalmshCu) sentezi

100 mL'lik bir balon içerisindeki 0,35 g (1.296 mmol) 3-tertiyebutilsalisilaldehit metansülfonilhidrazon (3-tbsalmsh) ligandı 50 mL metanolde ısıtılarak çözülür ve üzerine

10 mL metanolde çözülmüş 0.043 g (1.070 mmol) NaOH ilave edilerek karıştırmaya devam edilir. Daha sonra 10 mL metanolde çözülmüş yeşil renkli 0,110 g (0.648 mmol) $\text{CuCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ çözeltisi damla damla ilave edilerek yaklaşık 40 °C sıcaklıkta geri soğutucu altında 2 gün boyunca karıştırmaya devam edilir. Çözelti behere alınır, hacmi yarıya inene kadar ısıtılır ve kristallenmeye bırakılır. Oluşan renkli kristaller 30 mL metil alkol içerisinde ısıtılarak çözülür, sıcak sıcak süzülür ve içerisine yaklaşık 10 mL etil asetat ilave edilerek oda koşullarında yeniden kristallendirilir, eter ile yıkanır ve 50 °C de etüvde kurutulur.



Şekil 4.5. 3-tbsalmshCu bileşiğinin sentezi

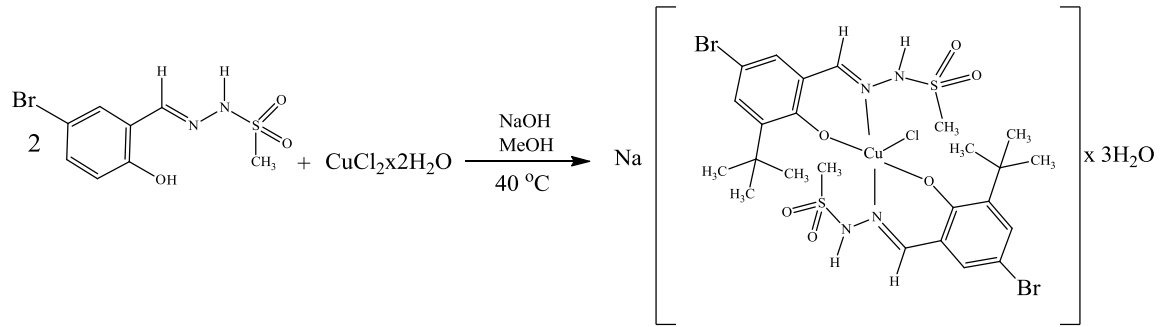
Erime Noktası = > 300 °C, Verim; %55

Bileşiğin kapalı formülü: $\text{Na}[\text{Cu}(\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3\text{S})_2\text{Cl}]$ (M_A : 662 g/mol)

$\mu_{\text{et}} = 1.87 \text{ BM}$; $\lambda = 240 \text{ nm}, 375 \text{ nm}$; $\wedge_M = 71.4 \text{ ohm}^{-1} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$ (1:1 elektrolit)

4.3.3. Sodyum bis (5-bromosalisilaldehitmetansülfonilhidrazon)klorobakır(II) trihidrat (5-BrsalmshCu) sentezi

100 mL'lik bir balon içerisindeki 0,35 g (1.195 mmol) 5-bromosalisilaldehitmetansülfonil hidrazon (5-Brsalmsh) ligandı 50 mL metanolde ısıtılarak çözülür ve üzerine 10 mL metanolde çözülmüş 0,043 g (1,070 mmol) NaOH ilave edilerek karıştırmaya devam edilir. Daha sonra 10 mL metanolde çözülmüş yeşil renkli 0,102 g (0,598 mmol) $\text{CuCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ çözeltisi damla damla ilave edilerek yaklaşık 40 °C sıcaklıkta geri soğutucu altında 2 gün boyunca karıştırmaya devam edilir. Çözelti behere alınır, hacmi yarıya inene kadar ısıtılır ve kristallenmeye bırakılır. Oluşan renkli kristaller 30 mL metil alkol içerisinde ısıtılarak çözülür, sıcak sıcak süzülür ve içerisine yaklaşık 10 mL etil asetat ilave edilerek oda koşullarında yeniden kristallendirilir, eter ile yıkanır ve 50 °C de etüvde kurutulur.



Şekil 4.6. 5-BrsalmshCu bileşiğinin sentezi

Erime Noktası = 254-256 °C, Verim; %58

Bileşiğin kapalı formülü: $\text{Na}[\text{Cu}(\text{C}_8\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_3\text{SBr})_2\text{Cl}] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (M_A : 762 g/mol)

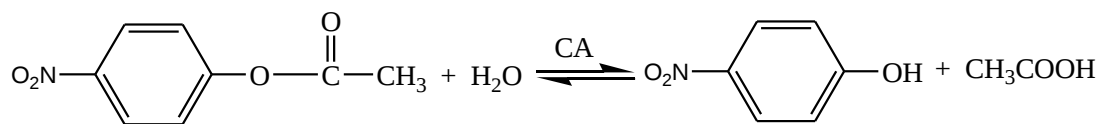
$\mu_{\text{et}} = 1.79 \text{ BM}$; $\lambda = 245 \text{ nm}, 370 \text{ nm}, 745 \text{ nm}$; $\Lambda_M = 58.6 \text{ ohm}^{-1} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$ (1:1 elektrolit)

4.4. Karbonik Anhidraz I (CA I) Enzim Aktivitesinin Spektrofotometrik Tayini

Yeni aromatik sülfonilhidrazonların (3,5-tbsalmsh, 3-tbsalmsh, 5-Brsalmsh) ve Cu(II) komplekslerinin (3,5-tbsalmshCu, 3-tbsalmshCu, 5-BrsalmshCu) karbonik anhidraz I izoenzimine (hCA I) karşı inhibitör etkisi spektrofotometrik yöntemle incelenmiştir.

4.4.1. Esteraz aktivitesi

Bu yöntem, karbonik anhidraz I izoenzimi (hCA I)'nin esteraz aktivitesine sahip olması esasına dayanmaktadır. Karbonik anhidraz substrat olarak kullanılan p-nitrofenilasetatı, p-nitrofenolat'a hidroliz etmekte ve UV-vis spektrofotometresinde 400 nm dalga boyunda absorpsiyon bandı vermektedir. Hidroliz tepkimesi aşağıda verilmiştir.



p-Nitrofenil asetat (substrat)'ın 3 mM stok çözeltisi kullanılarak 0,3 mM; 0,6 mM; 1,0 mM ve 3,0 mM'lık 4 farklı derişimdeki günlük çözeltileri hazırlanır, her bir substrat çözeltisi içine pH=7,4 ayarlı 0,05 M Tris-SO₄ tamponu eklenir ve absorbans 400 nm olarak belirlenir. Daha sonra çözeltinin içerisine 0,1 mL enzim ilavesiyle tepkime başlatılır ve tekrar absorbansı ölçülür. Son olarak sentezlenen sülfonilhidrazonların ve Cu(II) komplekslerinin ortama ilavesiyle absorbans değişimleri gözlenir. Sülfonilhidrazon

inhibitörlerinin hCA I izoenzimi üzerindeki inhibisyon etkilerini belirlemek için 1 mM substrat derişimlerinde IC_{50} (%50 inhibisyona neden olan inhibitör derişimi) ve K_i değerleri hesaplanır. Referans inhibitör olarak Asetazolamid (N-(5-(aminosulfonyl)-1,3,4-tiadiazol-2-il)-asetamid) kullanılmış ve benzer ölçümler yapılmıştır [56].

4.4.2. Tris-SO₄ hazırlanması

6,055 g tris 950 mL destile suda çözülür, 1M H₂SO₄ ile pH=7,4 e kadar titre edilir ve toplam hacim 1 L'ye tamamlanır.

4.4.3. Karbonik anhidraz I (hCA I) için IC_{50} değerinin belirlenmesi

Substrat (p-nitrofenilasetat) derişimi sabit tutularak (3mM), 4 farklı inhibitör derişimi (1×10^{-2} , 1×10^{-3} , 1×10^{-4} , 1×10^{-5} M) için yüzde aktivite grafiğı çizilir ve %50 inhibisyona sebep olan inhibitör derişimi (IC_{50}) hesaplanır [57].

4.4.4. Karbonik anhidraz I (hCA I) için K_i değerinin belirlenmesi

İnhibitörsüz ve inhibitörlü (sülfonilhidrazonlar ve Cu(II) kompleksleri) ortamda 4 farklı substrat derişiminde aktiviteler belirlenir. Bu amaçla, 3 mM p-nitrofenilasetat stok çözeltisinden kuartz küvetlere 4 farklı derişim için substrat ilavesi yapılır. Küvetlerdeki çözeltinin toplam hacmi 3 ml olacak şekilde inhibitör çözeltisi, 0,05 M Tris-SO₄ (pH=7,4) tampon çözeltisi ve tamponlanmış enzim çözeltisi ilave edilir. Daha sonra 400 nm de her bir küvet için köre (inhibitörsüz ortam) karşı absorbans değerleri ölçülür. Absorbans değerleri kullanılan aktivite birimi (reaksiyon hızı) L.s/mol cinsinden hesaplanır. Bütün inhibitörler için 4 farklı inhibitör ve substrat derişiminde elde edilen aktivite sonuçları kullanılarak $1/V - 1/S$ değerleri hesaplanır. Lineweaver Burk grafiğı çizilerek K_m değeri tespit edilir. K_m ve IC_{50} değerlerinden yola çıkılarak Cheng-Prusoff eşitliğıyle K_i değerleri hesaplanır [58].

4.5. Karbonik Anhidraz I (CA I) Enzim Aktivitesinin Elektrokimyasal Tayini

Yeni aromatik sülfonilhidrazonların (3,5-tbsalmsh, 3-tbsalmsh, 5-Brsalmsh) ve Cu(II) komplekslerinin (3,5-tbsalmshCu, 3-tbsalmshCu, 5-BrsalmshCu) karbonik anhidraz I

izoenzimine (hCA I) karşı inhibitör etkisi dönüşümlü voltametri (CV) ve diferansiyel puls voltametri (DPV) yöntemleri ile elektrokimyasal olarak incelenmiştir.

Çalışma elektrodu olarak 3 mm çapında BAS MF-2012 model GC elektrodu, referans elektrot olarak sulu ortamlarda Ag/AgCl/KCl (doy.) referans elektrodu kullanılırken, susuz ortamlarda Ag/AgNO₃ (0,01 M olacak şekilde, 0,1 M TBATFB/MeCN içerisinde hazırlanmış) elektrodu ve karşıt elektrot olarak da Pt tel kullanılmıştır. Elektrotların temizliği ve parlatma işleminde, ilk olarak GC elektrodun yüzeyi P-4000 zımpara kağıdı ile zımparalanmış, daha sonra 0,05 µm tanecik boyutuna sahip alümina süspansiyonları ile elektrot dairesel hareketlerle temizlenmiştir. Yüzeyi parlatılmış GC elektrot, ultra saf su ve izopropil alkol/asetonitril çözeltilerinin 1:1 (v/v) karışımında ultrasonik banyoda 10'ar dakika bekletilmiş ve tekrar asetonitril çözeltisinden geçirilerek kullanılmıştır. İnhibitörler 0,1 M tetrabütilamonyum tetrafloroborat (TBATFB) içeren asetonitril çözeltisinde 1x10⁻² M stok çözelti olacak şekilde hazırlanmıştır. Diğer derişimlerdeki inhibitör çözeltileri stok çözeltiden seyreltilerek hazırlanmıştır.

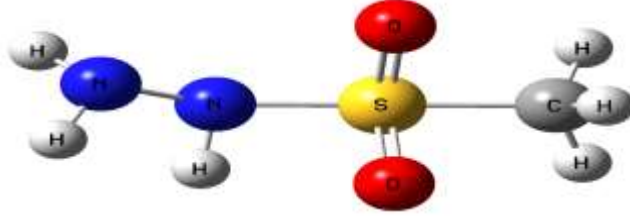
Çizelge 4.1. Bileşiklere ait deneysel sonuçlar

Sembol	Kapalı Formül	% Verim	e.n. (°C)	µ _{et} (BM)	λ (nm)	Λ _M (ohm ⁻¹ .cm ² .mol ⁻¹) (Elektrolit tipi)
msh	CH ₆ N ₂ O ₂ S	50	35-37	-	240 370	-
3,5-tbsalmsh	C ₁₆ H ₂₆ N ₂ O ₃ S	78	148	-	240 345	-
3-tbsalmsh	C ₁₂ H ₁₈ N ₂ O ₃ S	72	175- 176	-	245 315	-
5-Brsalmsh	C ₈ H ₉ N ₂ O ₃ SBr	67	184	-	245 310	-
3,5-tbsalmshCu	Na[Cu(C ₁₆ H ₂₆ N ₂ O ₃ S) ₂ Cl]xH ₂ O	63	104- 106	1.96	245 385	80.3 (1:1)
3-tbsalmshCu	Na[Cu(C ₁₂ H ₁₈ N ₂ O ₃ S) ₂ Cl]	55	>300	1.87	240 375	71.4 (1:1)
5-BrsalmshCu	Na[Cu(C ₈ H ₉ N ₂ O ₃ SBr) ₂ Cl]x3H ₂ O	58	254- 256	1.79	245 370 745	58.6 (1:1)

5. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

5.1. Amin ve Ligandların Deneysel Verileri

5.1.1. Metan sülfonik asit hidrazit (msh)



Şekil 5.1. msh ın 3D-yapısı

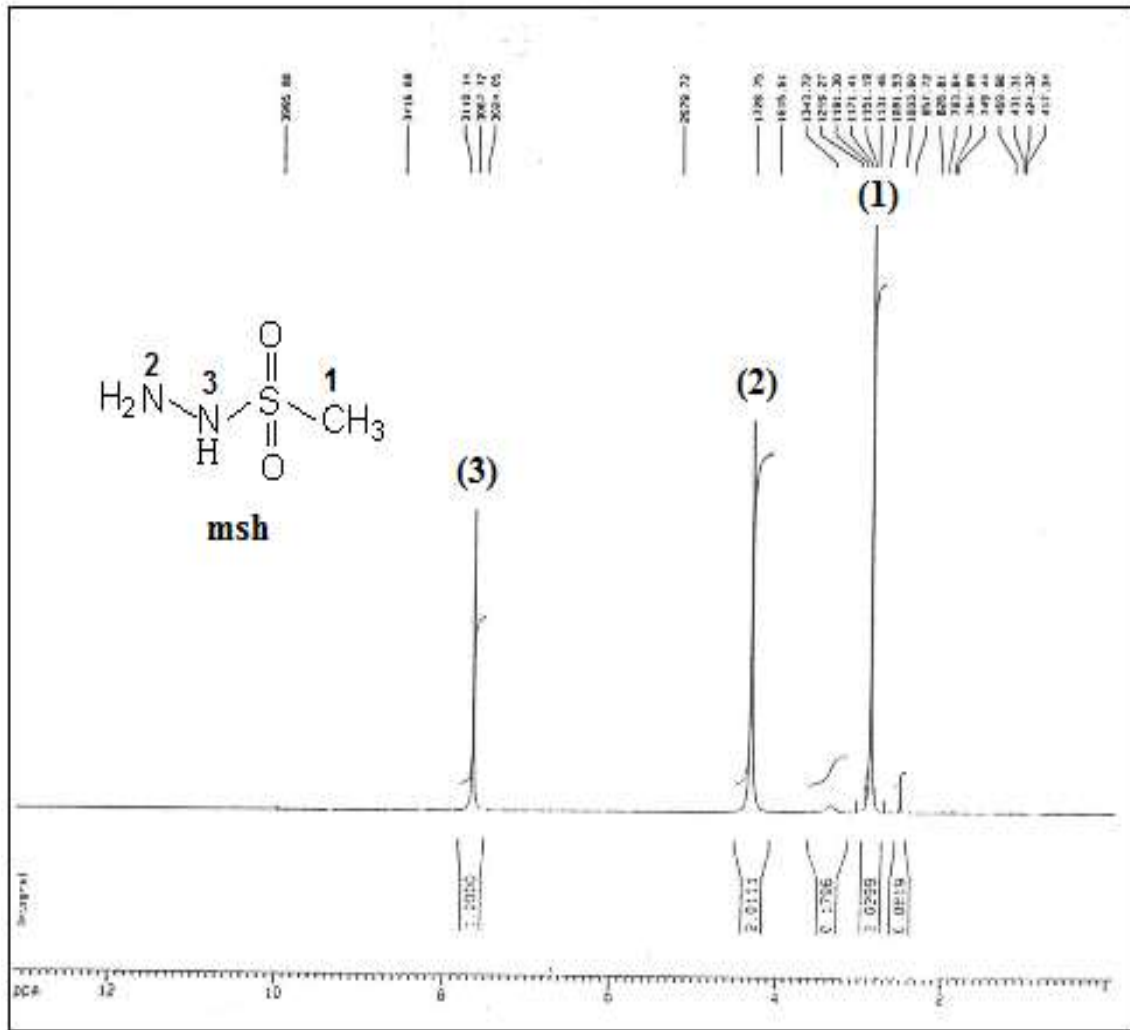
Metan sülfonik asit hidrazit (msh) bileşiğinin DMSO-d₆ içindeki ¹H-NMR spektrumu Şekil 5.2 de ve D₂O-değişimi Şekil 5.3 de, ¹H NMR kimyasal kayma değerleri Çizelge 5.1. de, IR spektrumu Şekil 5.4. de ve seçilmiş dalga sayıları Çizelge 5.10'da verilmektedir [59].

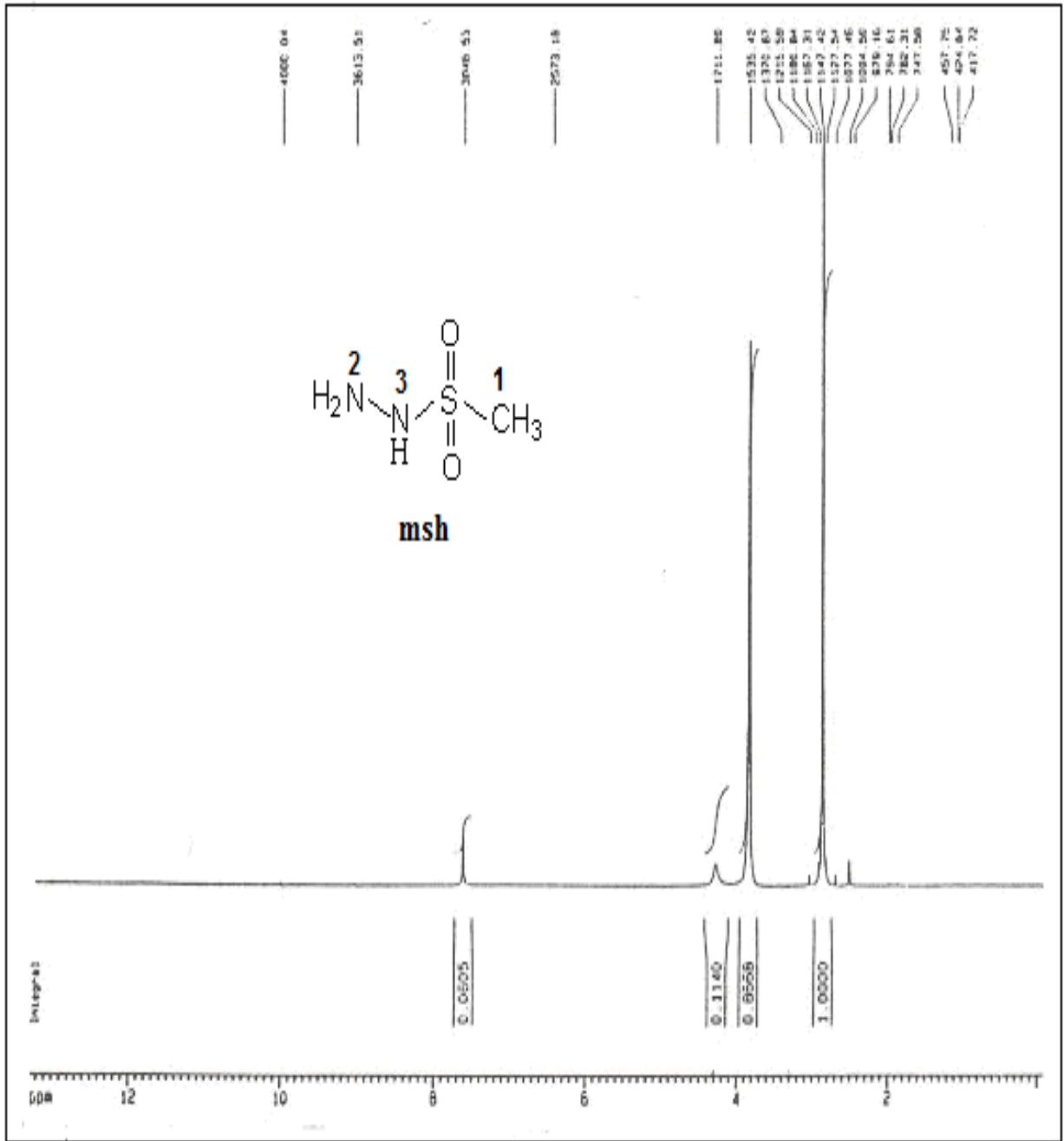
a) NMR yorumu

DMSO-d₆ içindeki ¹H-NMR spektrumunda, 2,88 ppm deki pik CH₃ (1) protonlarına, 4,32 ppm deki pik (NH₂) (2) primer amine, 7,67 ppm deki pik ise (NH) (3) sekonder amine aittir. Sekonder amin protonu hem NH₂ hem de SO₂ ile komşu olduğundan primer amin protonuna oranla daha asidiktir ve daha yüksek kimyasal kayma değeri gösterir [60]. D₂O-değişim ¹H-NMR spektrumunda CH₃ protonlarına ait 2,88 ppm pikinde bir değişim gözlenmezken, azota bağlı hidrojen ile döteryum izotopu kısmen yer değiştirdiğinden primer ve sekonder amin protonlarına ait piklerin şiddeti azalmıştır. DMSO-d₆ içindeki spektrumların hepsinde 2,5 ppm de görülen pik çözücüye 3,35 ppm deki ise DMSO-d₆ içindeki H₂O' ya aittir [61].

Çizelge 5.1. msh'a ait ^1H NMR kimyasal kayma değerleri

İşaretleme	msh
CH_3	2,88 (s,3H)
$\text{CH}_2\text{-CH}_3$	-
$\text{-CH}_2\text{-}$	-
$\text{SO}_2\text{-CH}_2$	-
NH_2	4,32 (s,2H)
NH	7,67 (s,1H)
NH-C=O	-
O=C-CH_3	-

Şekil 5.2. msh bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu

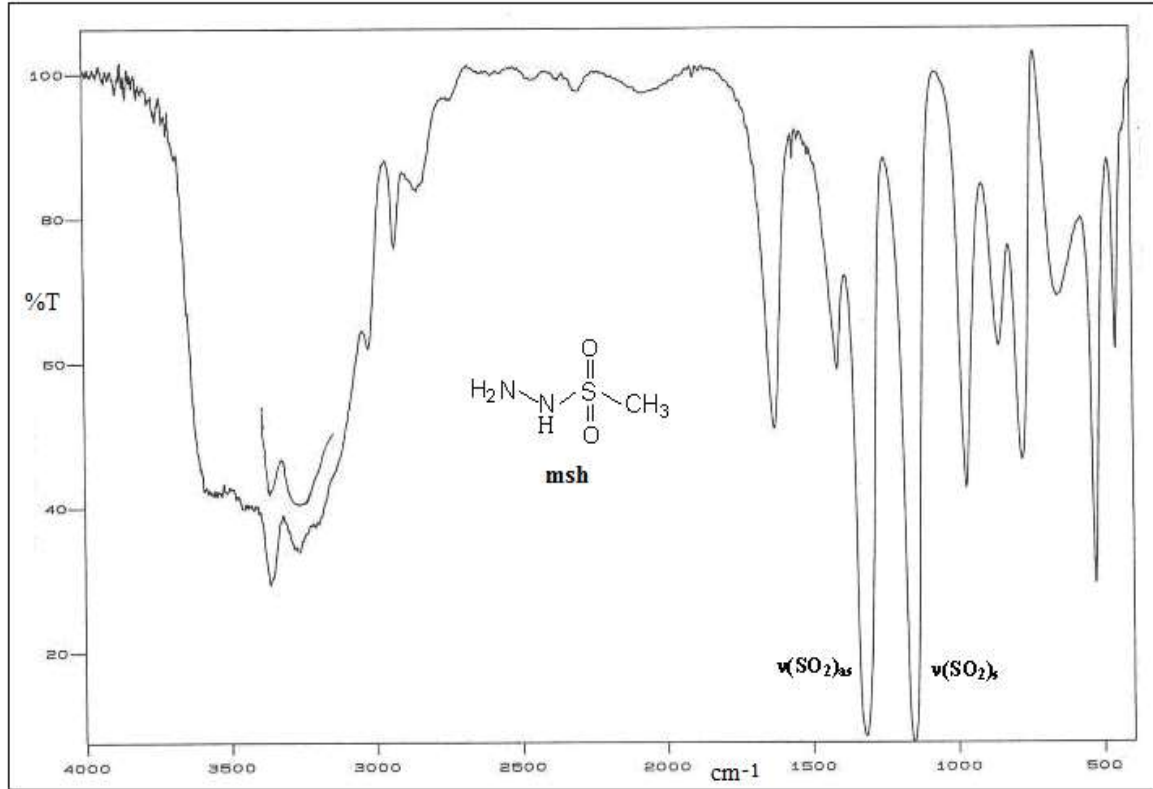


Şekil 5.3. msh bileşiğinin D₂O değişim spektrumu

b) IR yorumu

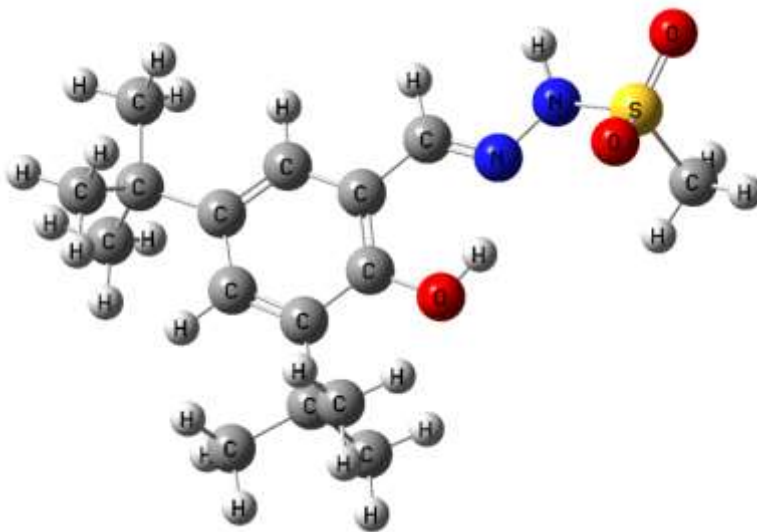
msh bileşiğinin FT-IR spektrumunda Şekil 5.4.'da verilmiştir. Amin bileşiğindeki asimetrik NH₂ gerilme titreşimi, $\delta_{as}(\text{NH}_2)$ 3360 cm⁻¹ de, simetrik NH₂ gerilme titreşimi, $\delta_s(\text{NH}_2)$ ise 3300 cm⁻¹ de gözlenmiştir [53]. Asimetrik SO₂ gerilme titreşimi, $\nu_{as}(\text{SO}_2)$ 1320 cm⁻¹ arasında, simetrik SO₂ gerilme titreşimi, $\nu_s(\text{SO}_2)$ ise 1156 cm⁻¹ de gözlenmiştir.

SO₂ simetrik bükülme titreşimi, $\delta_{(\text{SO}_2)}$ 526 cm⁻¹ de gözlenmiştir. Bileşiklerin IR titreşim frekansları Çizelge 5.10.'da verilmiştir.



Şekil 5.4. msh bileşiğinin FT-IR spektrumu

5.1.2. 3,5-ditersiyerbutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon (3,5-tbsalmsh)

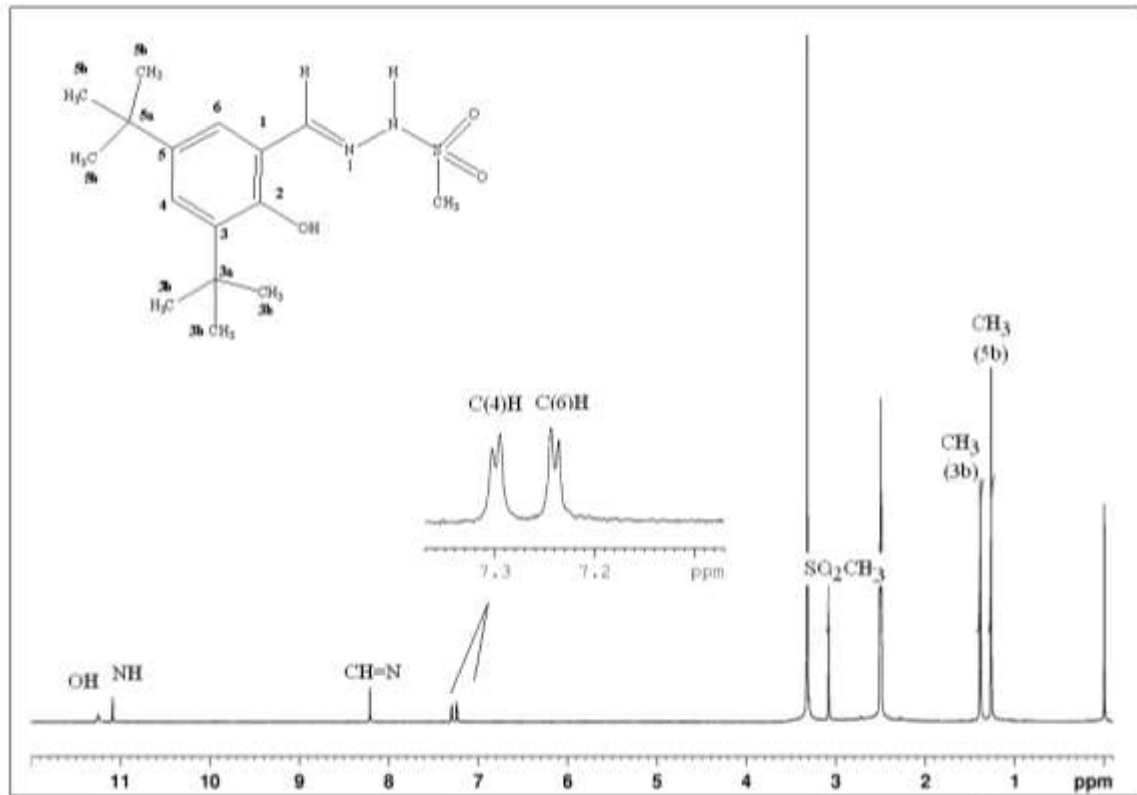


Şekil 5.5. 3,5-tbsalmsh bileşiğinin açık yapısı

3,5-ditersiyerbutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon (3,5-tbsalmsh) bileşiğinin DMSO-d₆ içindeki ¹H-NMR spektrumu Şekil.5.6'da, ¹³C-NMR spektrumu Şekil 5.7'de ve kimyasal kayma değerleri Çizelge 5.2 'de, IR spektrumu Şekil 5.8'de ve seçilmiş titreşim dalga sayıları Çizelge 5.10'da verilmiştir.

a) NMR yorumu

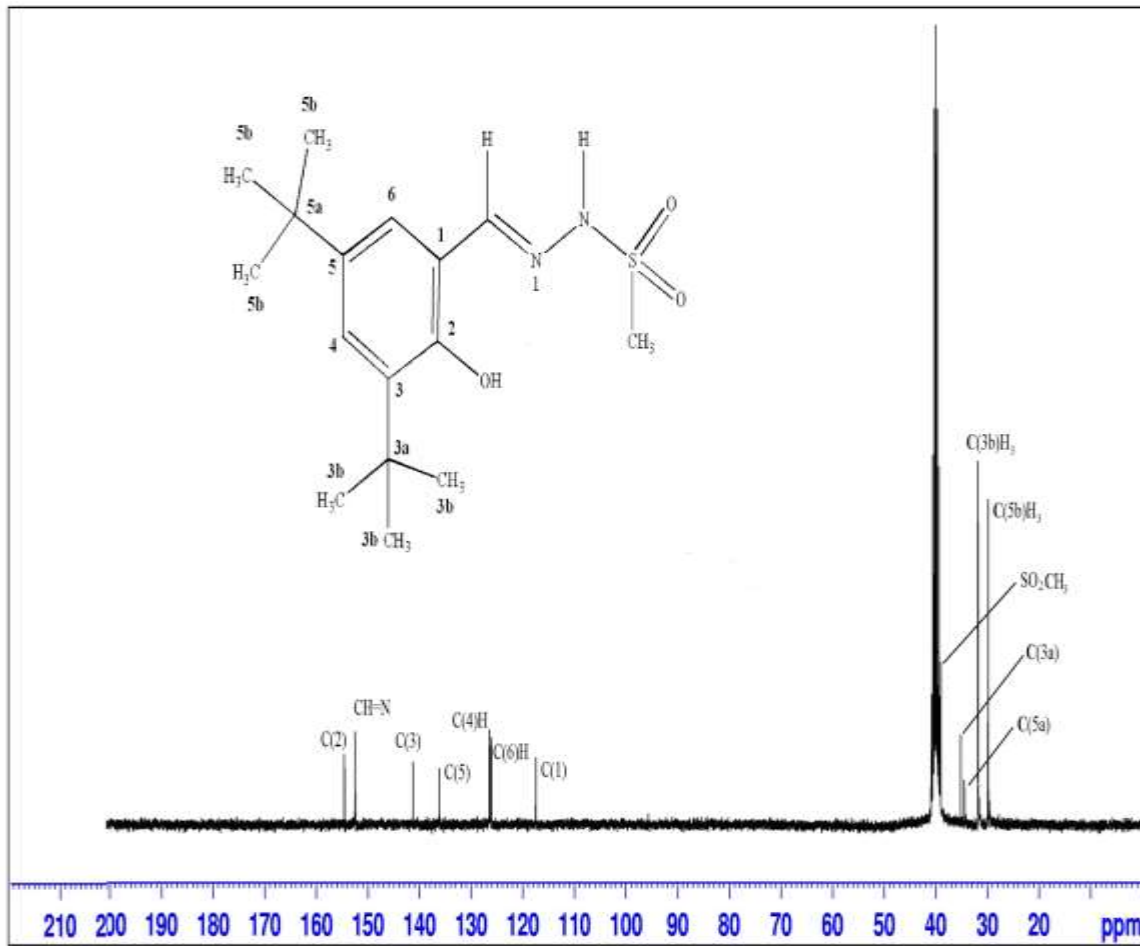
3,5-Ditersiyerbutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon (3,5-tbsalmsh) bileşiğinin ¹H-NMR spektrumunda (Şekil.5.6), fenolik OH protonu 11.27 ppm de ve msh'a ait NH protonu 11.13 ppm de tekli pik olarak gözlenmiştir. Schiff bazı oluşumunu gösteren azometin C(7)H=N protonu 8.21 ppm de gözlenmiştir. Fenil halkasına ait C(4)H ve C(6)H protonları 7.36 ppm ve 7.29 ppm de ikili pik olarak gözlenmiştir. Alifatik SO₂-CH₃ protonları 3.16 ppm de [21], fenil halkasına 3 konumunda bağlı tersiyer bütıl grubuna ait C(3b)H₃ protonları 1.45 ppm'de ve fenil halkasına 5 konumunda bağlı tersiyer bütıl grubuna ait diğer C(5b)H₃ protonları 1.21 ppm'de tekli pik olarak gözlenmiştir [21].



Şekil 5.6. 3,5-tbsalmsh bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu

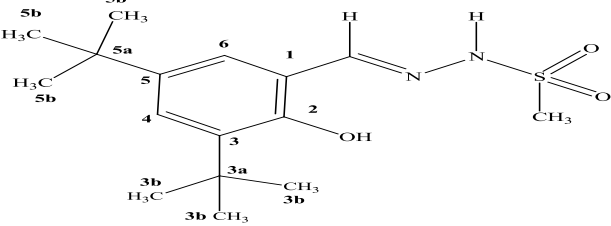
3,5-Tersiyerbutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon (3,5-tbsalmsh) bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumunda (Şekil 5.7), Schiff bazı oluşumunu gösteren azometin karbonu, $\text{CH}=\text{N}$ 152.43 ppm de gözlenmiştir. Fenil karbonları, C(1)-C(6) 154.53-117.43 ppm aralığında gözlenmiştir. msh grubundaki alifatik CH_3 'e ait SO_2CH_3 karbonu 39.04 ppm'de gözlenmiştir. Fenil halkasına 3 konumunda bağlı tersiyer bütıl grubuna ait C(3a) karbonu 35.09 ppm'de, bağlı CH_3 gruplarına ait C(3b) H_3 karbonları 31.71 ppm'de gözlenmiştir.

Fenil halkasına 5 konumunda bağlı tersiyer bütıl grubuna ait C(5a) karbonu 34.36 ppm'de ve bağlı CH_3 grubuna ait C(5b) karbonları 29.77 ppm de gözlenmiştir.



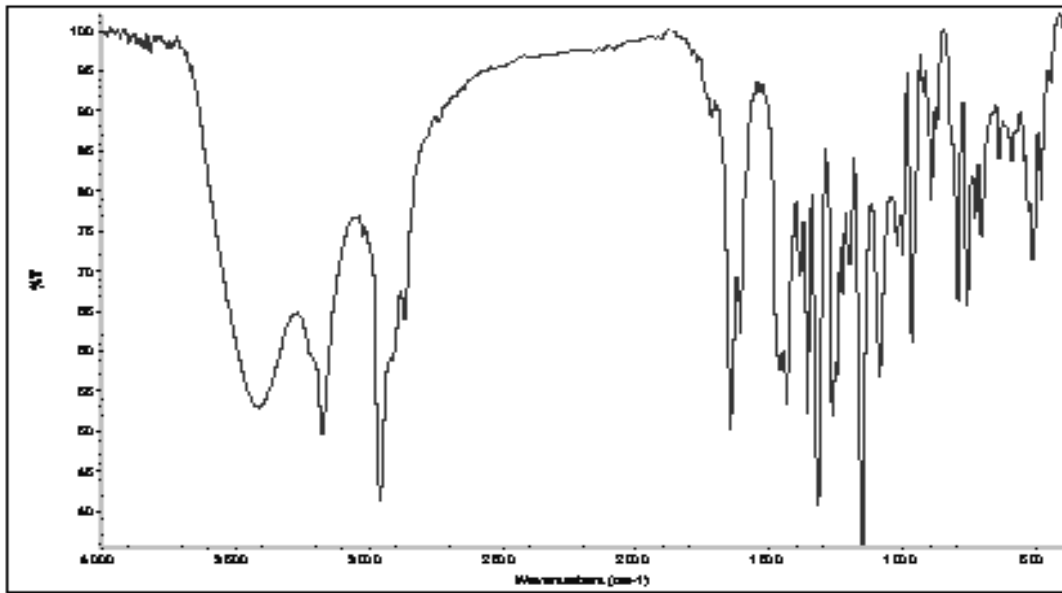
Şekil 5.7. 3,5-tbsalmsh bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu

Çizelge 5.2. 3,5-tbsalmsh'n ^1H - ^{13}C NMR kimyasal kayma değerleri (δ , ppm)

			
^1H -NMR		^{13}C -NMR	
OH (br,1H)	11,27	C(2)	154.53
NH (s,1H)	11,13	CH=N	152.43
CH=N (s,1H)	8,21	C(3)	141.27
C(4)H (d,1H)	7,36	C(5)	136.10
C(6)H (d,1H)	7,29	C(4)H	126.39
SO ₂ -CH ₃ (s,3H)	3,16	C(6)H	126.11
C(3b)H ₃ (s, 9H)	1,45	C(1)	117.43
C(5b)H ₃ (s, 9H)	1,21	SO ₂ -CH ₃	39.04
		C(3a)	35.09
		C(5a)	34.36
		C(3b)H ₃	31.71
		C(5b)H ₃	29.77
s:singlet(tekli), d:dublet(ikili), t:triplet(üçlü), br:broad(geniş)			

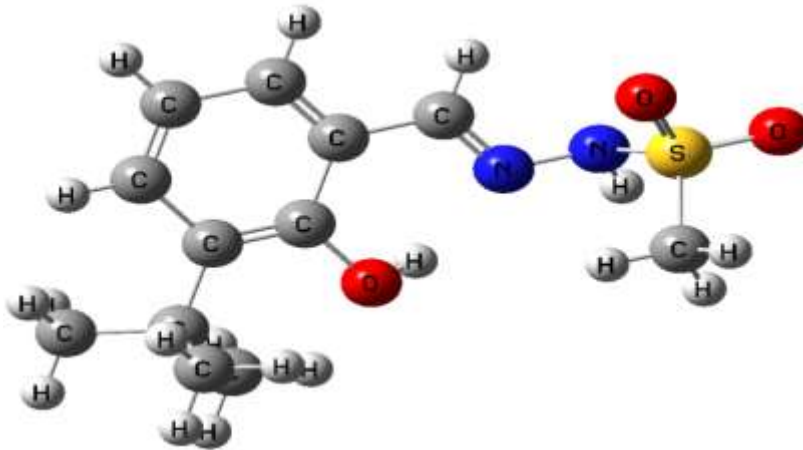
b) IR yorumu

3,5-Ditersiyebutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon (3,5-tbsalmsh) bileşiğinin FT-IR spektrumunda (Şekil 5.8.) Schiff bazı oluşumunu gösteren azometin (CH=N) grubuna ait gerilme titreşimi, $\nu_{\text{C=N}}$ 1652 cm^{-1} de şiddetli bir band olarak gözlenmiştir. msh grubundaki sekonder amine ait gerilme titreşimi, ν_{NH} , 3176 cm^{-1} de; alifatik CH a ait asimetric gerilme titreşim bandı, $\nu_{\text{as(CH)}}$ 2957 cm^{-1} de; SO₂ ye ait asimetric gerilme titreşimi, $\nu_{\text{as(SO}_2)}$ 1327 cm^{-1} de ve simetrik SO₂ gerilme titreşimi, $\nu_{\text{s(SO}_2)}$ 1060 cm^{-1} de kuvvetli; simetrik SO₂ eğilme titreşimi, $\delta_{\text{(SO}_2)}$ ise 517 cm^{-1} de zayıf bir band olarak gözlenmiştir. Aromatik halkadaki fenolik C-O gerilme titreşimi, $\nu_{\text{(CO)}}$ 1262 cm^{-1} de orta şiddette; OH gerilme titreşim bandı 3421 cm^{-1} de şiddetli ve yayvan bir band olarak gözlenmiştir. 3,5-tbsalmsh' a ait karakteristik titreşim bandları Çizelge 5.10 'da verilmiştir.



Şekil 5.8. 3,5-tbsalmsh bileşiğinin FT-IR spektrumu

5.1.3. 3-Tersiyerbutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon (3-tbsalmsh)



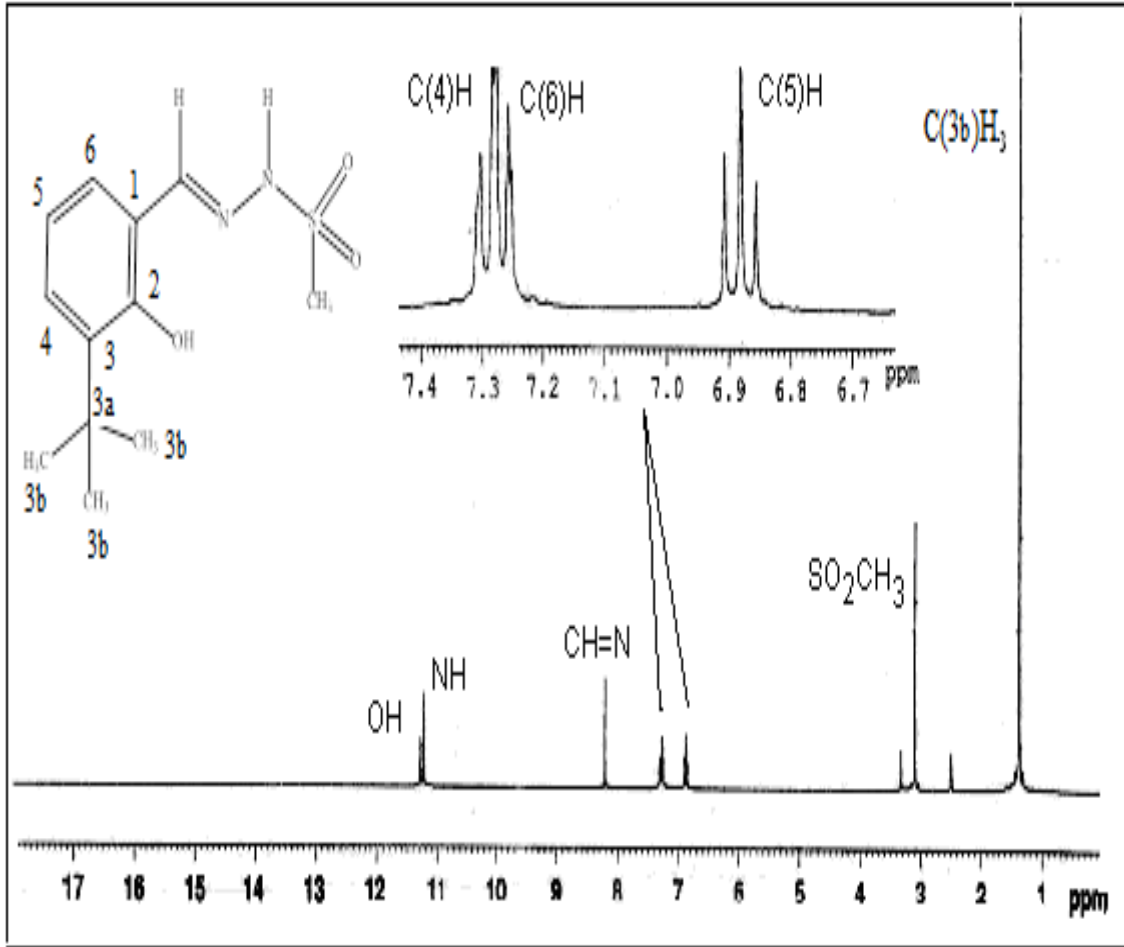
Şekil 5.9. 3-tbsalmsh bileşiğinin açık yapısı

3-Tersiyerbutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon (3-tbsalmsh) bileşiğin DMSO- d_6 içindeki ^1H -NMR spektrumu Şekil.5.10 da, ^{13}C -NMR spektrumları Şekil 5.11 de ve kimyasal kayma değerleri Çizelge 5.3 de, IR spektrumu Şekil 5.12 de ve seçilmiş titreşim dalga sayıları Çizelge 5.10'da verilmiştir.

a) NMR yorumu

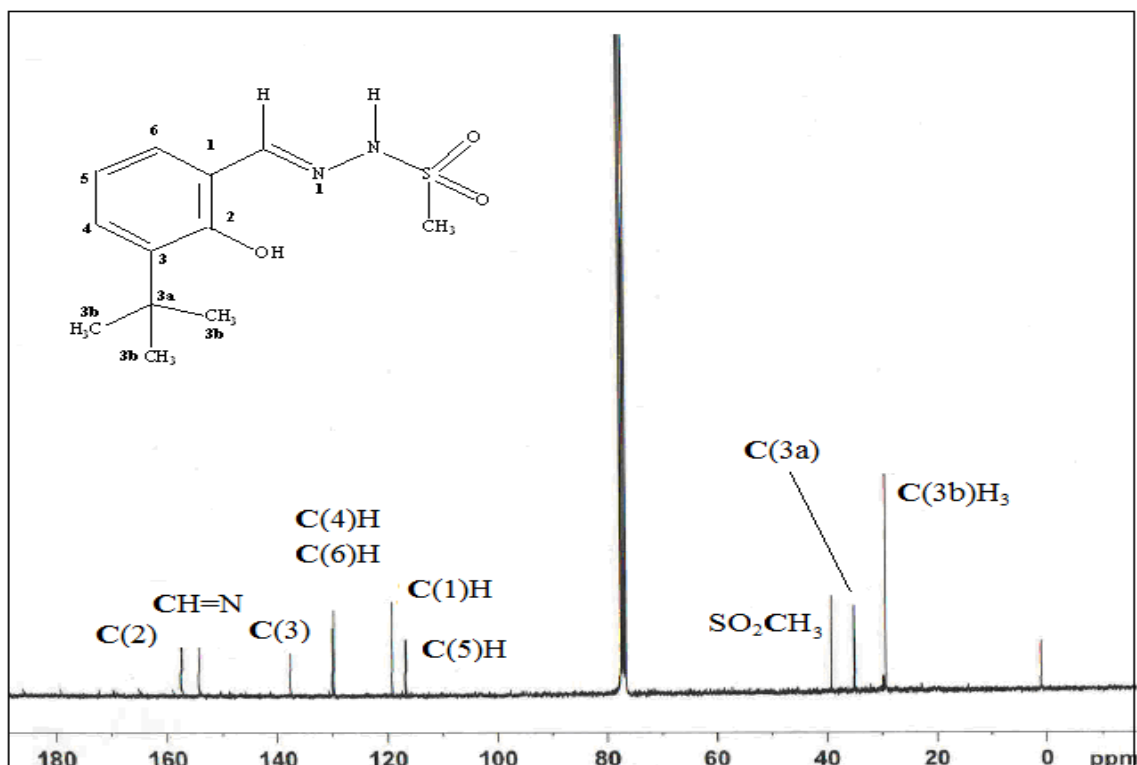
3-Tersiyerbutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon (3-tbsalmsh) bileşiğinin ^1H -NMR spektrumunda (Şekil 5.10), fenolik OH protonu 11.27 ppm de ve msh'a ait NH protonu

11.20 ppm de tekli pik olarak gözlenmiştir. Schiff bazı oluşumunu gösteren azometin $\text{CH}=\text{N}$ protonu 8.19 ppm de gözlenmiştir. Fenil halkasına ait $\text{C}(4)\text{H}-\text{C}(6)\text{H}$ protonları 7,28-6,87 ppm de çoklu pik olarak olarak gözlenmiştir. Alifatik SO_2CH_3 protonları 3.09 ppm de ve fenil halkasına bağlı tersiyer bütıl gurubuna ait $\text{C}(3\text{b})\text{H}_3$ protonları ise 1.35 ppm de kuvvetli alanda gözlenmiştir.



Şekil 5.10. 3-tbsalmsh bileşiğine ait ^1H -NMR spektrumu

3-Tersiyerbutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon (3-tbsalmsh) bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumunda (Şekil 5.11), Schiff bazı oluşumunu gösteren azometin karbonu, $\text{CH}=\text{N}$ 154,29 ppm de gözlenmiştir. Fenil karbonları, $\text{C}(1)-\text{C}(6)$ 157,44-116.72 ppm aralığında, msh daki alifatik CH_3 grubuna ait SO_2CH_3 karbonu 39.04 ppm'de, tersiyer bütıl grubuna ait $\text{C}(3\text{a})$ karbonu 34.96 ppm de ve $\text{C}(3\text{b})\text{H}_3$ karbonu 29.71 ppm de gözlenmiştir.



Şekil 5.11. 3-tbsalmsh bileşiğine ait ^{13}C -NMR spektrumu

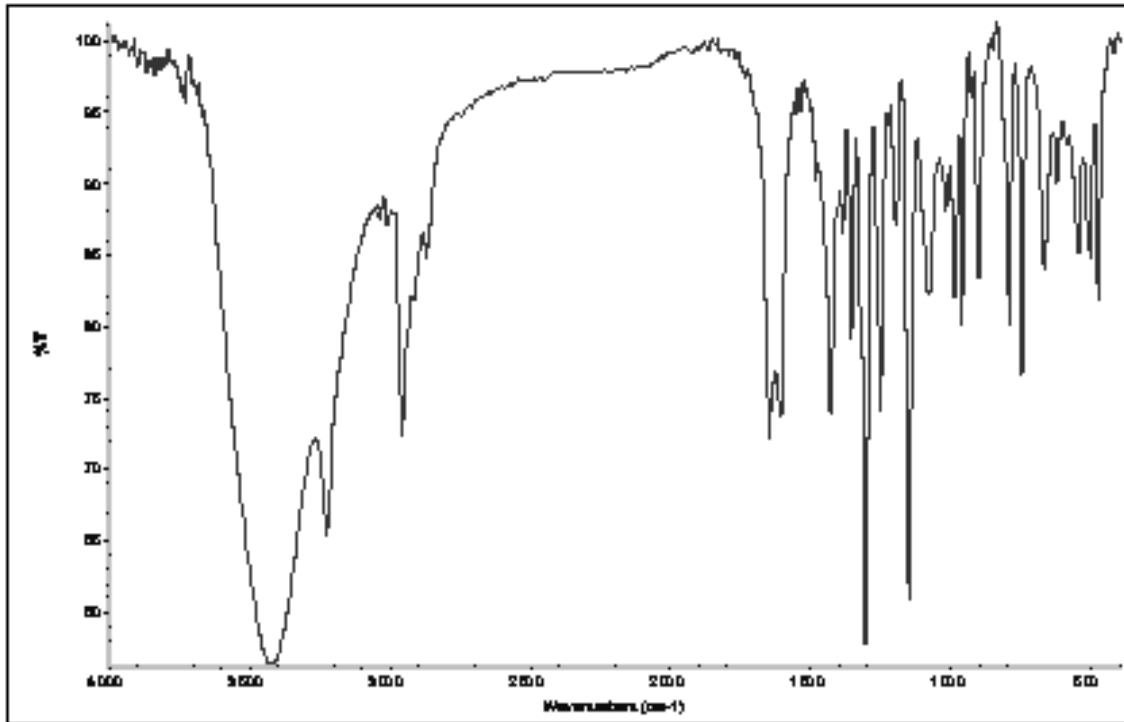
Çizelge 5.3. 3-tbsalmsh ^1H - ^{13}C NMR kimyasal kayma değerleri (δ , ppm)

^1H -NMR		^{13}C -NMR	
NH (s,1H)	11,20	C(2)	157,44
OH (s,1H)	11,27	CH=N	154,29
CH=N (s,1H)	8,19	C(3)	137,74
C(4)H, C(6)H (m,2H)	7,28	C(4), C(6)H	130,06
C(5)H (t,1H)	6,87	C(1)H	119,14
SO ₂ CH ₃ (m,3H)	3,09	C(5)H	116,72
C(3b)H ₃ (m, 9H)	1,35	SO ₂ CH ₃	39,10
		C(3a)	34,96
		C(3b)H ₃	29,71

s:singlet(tekli), d:dublet(ikili), m:multiplet (çoklu)

b) IR yorumu

3-Tersiyebutilsalisilaldehit metansülfonil hidrazon (3-tbsalmsh) bileşiğinin FT-IR spektrumunda (Şekil 5.12) Schiff bazı oluşumunu gösteren azometin (CH=N) grubuna ait gerilme titreşimi, $\nu_{(C=N)}$ 1649 cm^{-1} de şiddetli bir band olarak gözlenmiştir. msh grubundaki sekonder amine ait gerilme titreşimi, $\nu_{(NH)}$, 3226 cm^{-1} de; alifatik CH a ait asimetrik gerilme titreşimi, $\nu_{as(CH)}$ 2961 cm^{-1} de, SO_2 ye ait asimetrik gerilme titreşimi, $\nu_{as(\text{SO}_2)}$ 1313 cm^{-1} de; simetrik SO_2 gerilme titreşimi, $\nu_{s(\text{SO}_2)}$ 1155 cm^{-1} de kuvvetli bir band ve simetrik SO_2 eğilme titreşimi, $\delta_{(\text{SO}_2)}$ ise 514 cm^{-1} de orta şiddette bir band olarak gözlenmiştir. Aromatik halkadaki fenolik C-O gerilme titreşimi, $\nu_{(CO)}$ 1251 cm^{-1} de orta şiddette; OH gerilme titreşim bandı 3429 cm^{-1} de şiddetli ve yayvan bir band olarak gözlenmiştir. 3-tbsalmsh a ait karakteristik titreşim bandları Çizelge 5.10 'da verilmiştir.



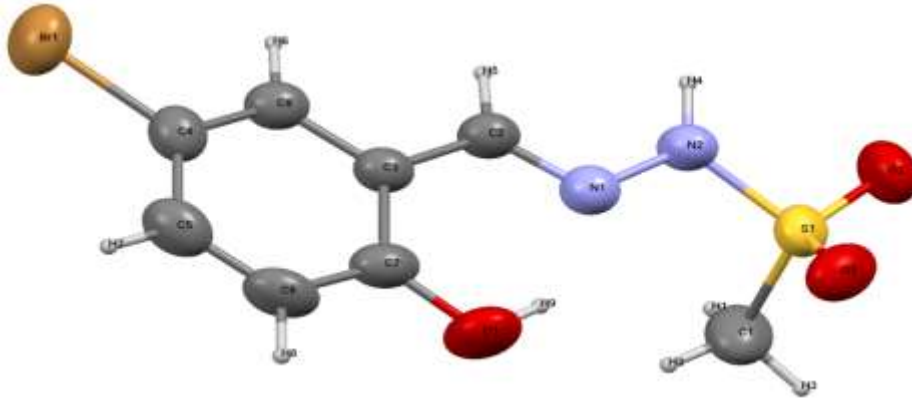
Şekil 5.12. 3-tbsalmsh bileşiğinin FT-IR spektrumu

5.1.4. 5-Bromosalisilaldehitmetansülfonilhidrazon (5-Brsalmsh)

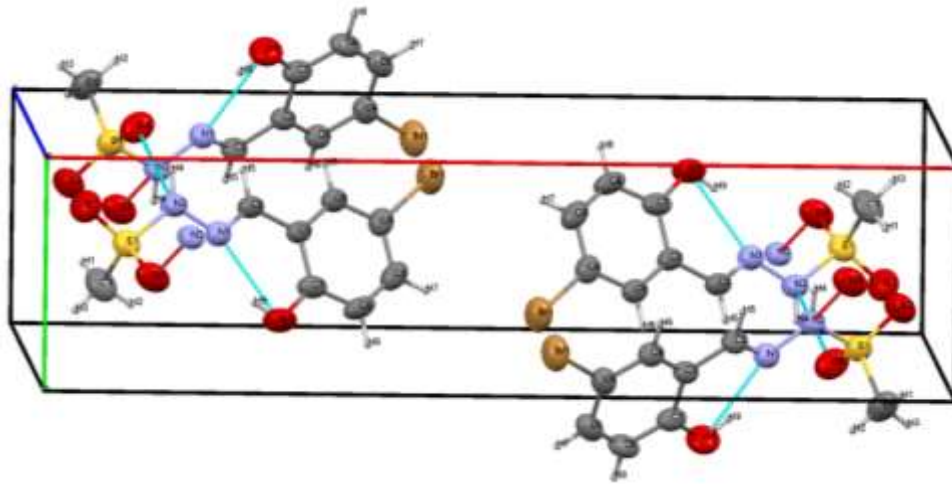
5-Brsalmsh bileşiğinin X-ışını kırınım yöntemi ile aydınlatılan kristal yapısı Şekil 5.13 de, 3D paket görünümü Şekil. 5.14 de ve H bağlanması Şekil.5.15 da, ^1H -NMR spektrumu

Şekil.5.16 de, ^{13}C -NMR spektrumu Şekil 5.17 de ve kimyasal kayma değerleri Çizelge 5.9 'da, FT-IR spektrumu Şekil 5.18 de ve titreşim dalga sayıları Çizelge 5.10 'da verilmiştir.

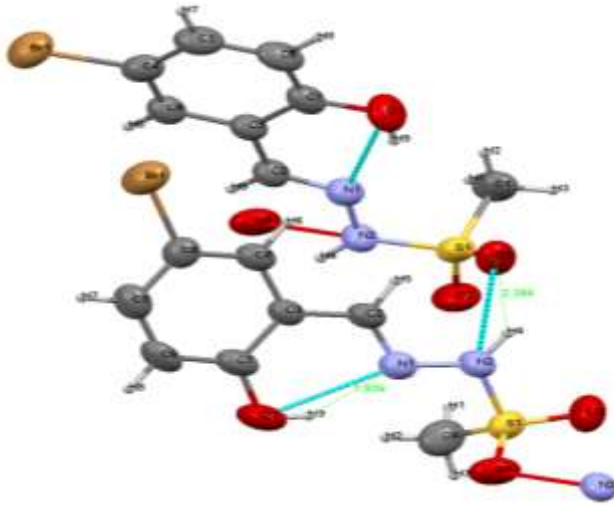
5-Brsalmsh bileşiğine ait 0.100 mm x 0.100 mm x 0.300 mm boyutlarındaki parlak dikdörtgen kristalinin X-ışını kristalografik analizi grafit monokromatör bağlı Bruker D8 Venture sistemi ile yapılmıştır. Deneysel sonuçların değerlendirilmesine Bruker SAINT paket programı, yapı çözümlemesinde ise Bruker SHELXTL paket programı kullanılmıştır. Bileşiğin ($\text{C}_8\text{H}_9\text{BrN}_2\text{O}_3\text{S}$) monoklinik kristal verileri 22.444(3) Å, 5.8589(8) Å, c = 8.5426(11) Å; $\alpha=90^\circ$, $\beta=95.776(4)^\circ$, $\gamma=90^\circ$; $V=1117.6(3)$ Å³ ve Z=4 dir.



Şekil 5.13. 5-Brsalmsh bileşiğine ait kristal yapı



Şekil 5.14. 5-Brsalmsh bileşiğinin 3D paket görünüşü



Şekil 5.15. 5-Brsalmsh molekülleri arasındaki H bağlanmasını gösteren kristal yapı

Çizelge 5.4. 5-Brsalmsh'a ait kristal verileri

Kimyasal formülü	$C_8H_9BrN_2O_3S$		
Moleküler kütle	293.14 akb		
Sıcaklık	296(2) K		
Dalga boyu	0.71073 Å		
Kristal boyutu	0.100 x 0.100 x 0.300 mm		
Kristal şekli	parlak dikdörtgen		
Kristal sistemi	monoklinik		
Birim hücre boyutu	$a = 22.444(3)$ Å	$b = 5.8589(8)$ Å	$\alpha = 90^\circ$
	$c = 8.5426(11)$ Å		$\beta = 95.776(4)^\circ$
			$\gamma = 90^\circ$
Hacim	$1117.6(3)$ Å ³		
Yoğunluk(hesaplanan)	1.742 g/cm ³		
Absorpsiyon sabiti	584		
F(000)	4		

Çizelge 5.5. 5-Brsalmsh a ait bağ uzunlukları

İşaretleme	Bağ uzunluğu (Å)	İşaretleme	Bağ uzunluğu (Å)	İşaretleme	Bağ uzunluğu (Å)
Br1-C5	1,897(6)	C4-C5	1,363(7)	C2-H6	0,93
S1-O2	1,426(4)	C5-C6	1,382(8)	C3-C4	1,407(7)
S1-C1	1,738(6)	C6-H2	0,93	C1-H9	0,96
O3-H3	0,8201	C7-H4	0,93	N1-N2	1,389(6)
C2-C3	1,445(7)	S1-O1	1,423(4)	N2-H7	0,86
C3-C8	1,404(7)	S1-N1	1,637(5)	C4-H5	0,93
C1-H1	0,96	O3-C8	1,348(7)	C6-C7	1,381(9)
C1-H3	0,96	C2-N2	1,276(7)	C7-C8	1,383(8)
N1-H8	0,86				

Çizelge 5.6. 5-Brsalmsh bileşiğine ait bağ açıları

İşaretleme	Bağ açısı (°)	İşaretleme	Bağ açısı (°)	İşaretleme	Bağ açısı (°)	İşaretleme	Bağ açısı (°)
O1-S1-O2	118,5(3)	N2-N1-H8	122,5	O1-S1-N1	106,6(2)	S1-N1-H8	122,5
O2-S1-N1	105,2(3)	C2-N2-N1	117,6(4)	O1-S1-C1	108,1(3)	C2-N2-H7	121,2
O2-S1-C1	110,0(3)	N1-N2-H7	121,2	N1-S1-C1	107,9(3)	C5-C4-C3	120,1(5)
C8-O3-H3	109,5	C5-C4-H5	119,9	N2-C2-C3	121,6(5)	C3-C4-H5	119,9
N2-C2-H6	119,2	C4-C5-C6	121,4(5)	C3-C2-H6	119,2	C4-C5-Br1	119,2(4)
C8-C3-C4	118,7(5)	C6-C5-Br1	119,4(4)	C8-C3-C2	122,6(5)	C7-C6-C5	119,0(5)
C4-C3-C2	118,6(4)	C7-C6-H2	120,5	S1-C1-H1	109,5	C5-C6-H2	120,5
S1-C1-H9	109,5	C6-C7-C8	121,2(5)	H1-C1-H9	109,5	C6-C7-H4	119,4
S1-C1-H3	109,5	C8-C7-H4	119,4	H1-C1-H3	109,5	O3-C8-C7	118,2(5)
H9-C1-H3	109,5	O3-C8-C3	122,3(5)	N2-N1-S1	115,0(3)	C7-C8-C3	119,5(5)

Çizelge 5.7. 5-Brsalmsh bileşiğinin torsiyon açıları

İşaretleme	Torsiyon açısı (°)	İşaretleme	Torsiyon açısı (°)
N2-C2-C3-C8	-2,2(8)	N2-C2-C3-C4	177,9(5)
O1-S1-N1-N2	-54,4(4)	O2-S1-N1-N2	178,9(4)
C1-S1-N1-N2	61,6(5)	C3-C2-N2-N1	-177,3(4)
S1-N1-N2-C2	-166,1(4)	C8-C3-C4-C5	2,5(7)
C2-C3-C4-C5	-177,6(5)	C3-C4-C5-C6	-2,7(8)
C3-C4-C5-Br1	175,2(4)	C4-C5-C6-C7	1,3(8)
Br1-C5-C6-C7	-176,7(4)	C5-C6-C7-C8	0,4(9)
C6-C7-C8-O3	-179,9(5)	C6-C7-C8-C3	-0,6(8)
C4-C3-C8-O3	178,4(5)	C2-C3-C8-O3	-1,5(8)
C4-C3-C8-C7	-0,8(7)	C2-C3-C8-C7	179,2(5)

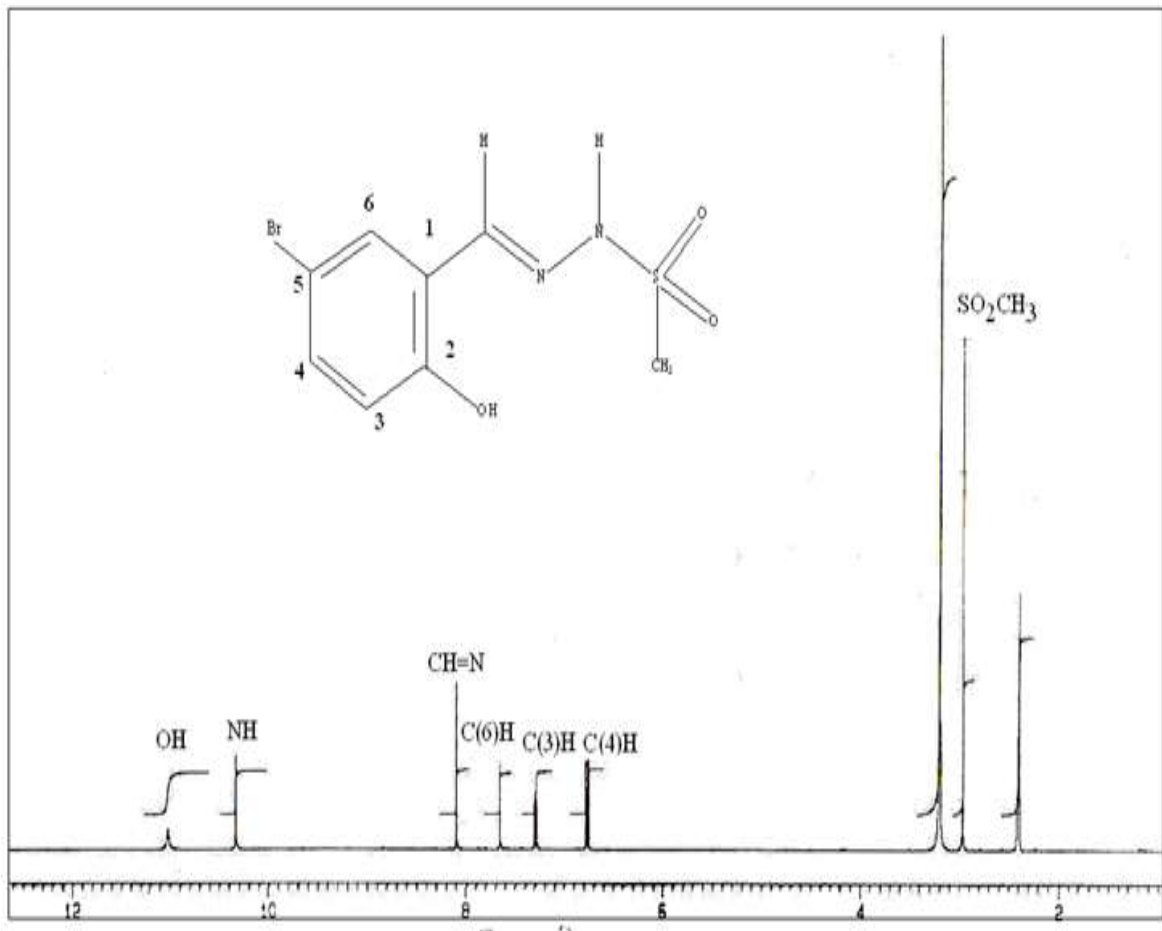
Çizelge 5.8. Hidrojen bağ uzunluğu (Å) ve açısı (°)

İşaretleme	Verici-H (Å)	Alıcı-H (Å)	Verici-Alıcı (Å)
C2-H6...O1	0,93	2,87	3,491(6)
C1-H3...O1	0,96	2,53	3,249(7)
C1-H1...O2	0,96	2,61	3,498(8)

5-Bromosalisilaldehit metansülfonilhidrazon (5-Brsalmsh) bileşiğinin DMSO-d₆ içindeki ¹H-NMR spektrumu Şekil 5.16 de, ¹³C-NMR spektrumları Şekil 5.17 ve kimyasal kayma değerleri Çizelge 5.9 de, IR spektrumu Şekil 5.18 de ve seçilmiş titreşim dalga sayıları Çizelge 5.10 'da verilmiştir.

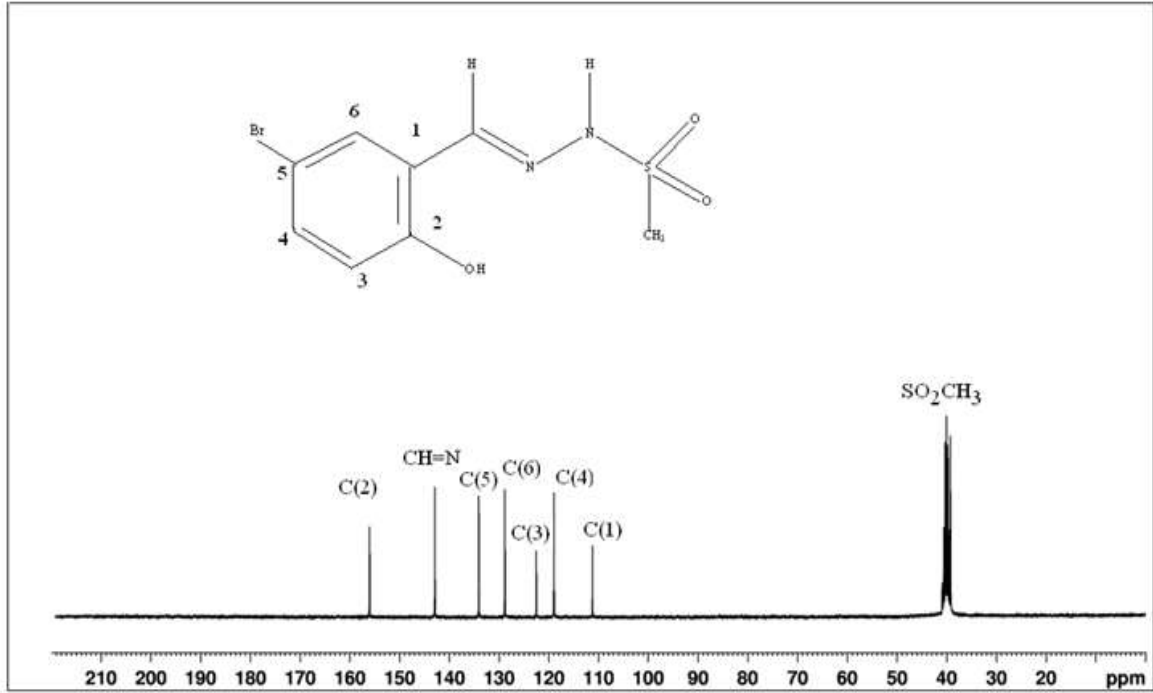
a) NMR yorumu

5-Bromosalisilaldehitmetansülfonilhidrazon (5-Brsalmsh) bileşiğinin ¹H-NMR spektrumunda (Şekil 5.16), fenolik OH protonu 11.06 ppm de ve msh'a ait NH protonu 10.35 ppm de tekli pik olarak gözlenmiştir. Schiff bazı oluşumunu gösteren azometin CH=N protonu 8.29 ppm de gözlenmiştir. Fenil halkasına ait C(3)H-C(6)H protonları 7.41-7.76 pm de çoklu pik olarak olarak gözlenmiştir. Alifatik SO₂-CH₃ protonları 2.92 ppm de kuvvetli alanda gözlenmiştir.



Şekil 5.16. 5-Brsalmsh bileşiğine ait ¹H-NMR spektrumu

5-Bromosalisilaldehitmetansülfonilhidrazon (5-Brsalmsh) bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumunda (Şekil 5.17), Schiff bazı oluşumunu gösteren azometin karbonu, $\text{CH}=\text{N}$ 144.61 ppm de gözlenmiştir. Fenil karbonları, C(1)-C(6) 111.53-154,72 ppm aralığında, msh'daki alifatik CH_3 grubuna ait SO_2CH_3 karbonu 40.16 ppm de gözlenmiştir.



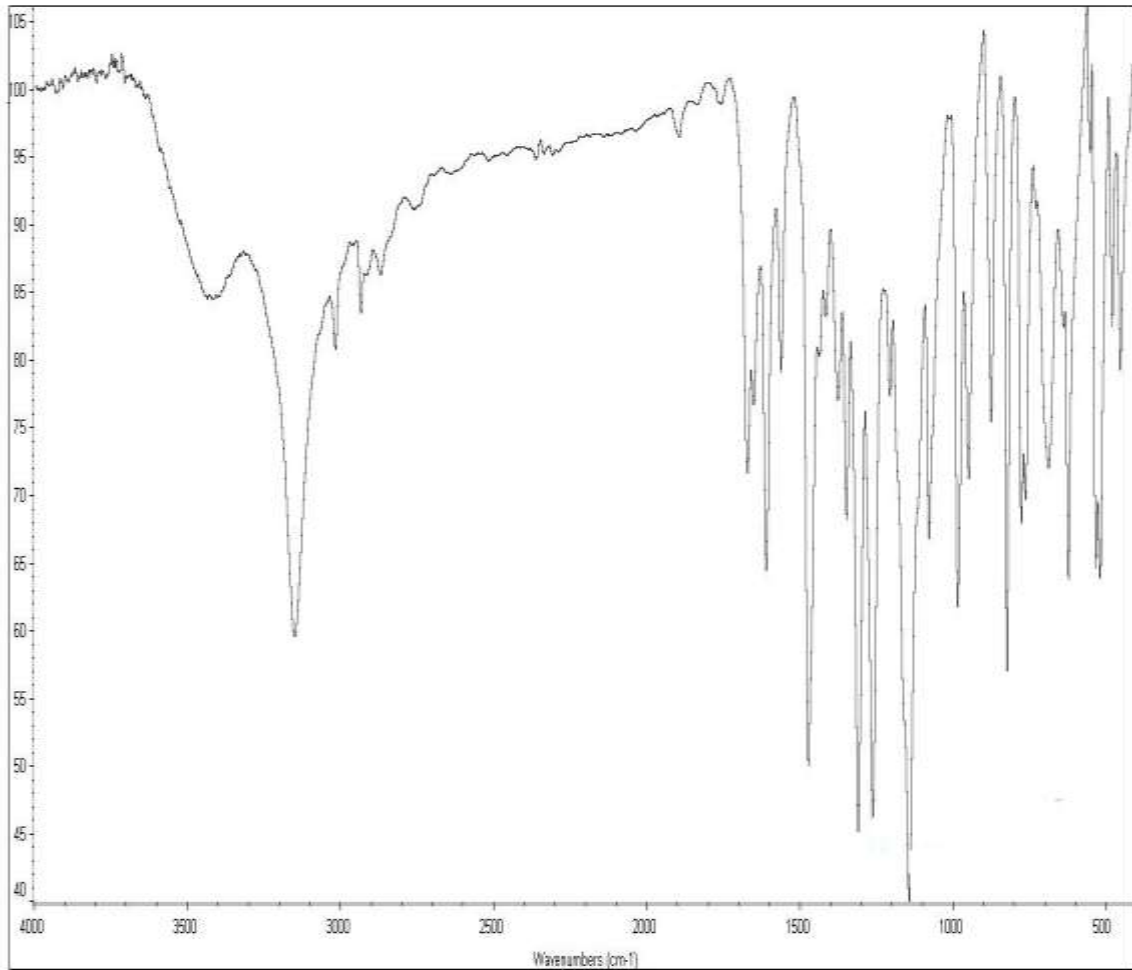
Şekil 5.17. 5-Brsalmsh bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu

Çizelge 5.9. 5-Brsalmsh bileşiğinin ^1H - ^{13}C NMR kimyasal kayma değerleri (δ , ppm)

^1H -NMR		^{13}C -NMR	
OH (br,1H)	11,06	C(2)	154,72
NH (s,1H)	10,35	CH=N	144,61
CH=N (s,1H)	8,29	C(5)H	134,12
C(6)H (d,1H)	7,76	C(6)	128,71
C(3)H (d,1H)	7,41	C(3)H	121,54
C(4)H (d,1H)	6,88	C(4)H	118,92
SO ₂ -CH ₃ (s,3H)	2,92	C(1)	111,53
		SO ₂ -CH ₃	40,16

s:singlet(tekli), d:dublet(ikili), t:triplet(üçlü), br:broad(geniş)

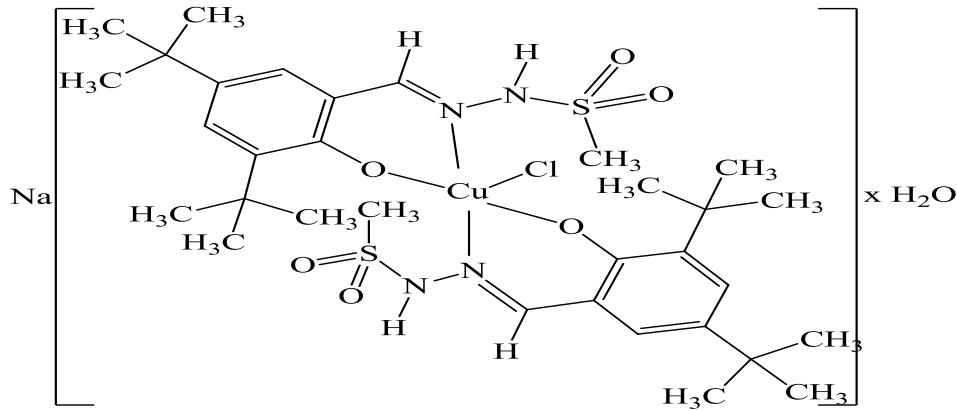
5-Bromosalisilaldehitmetansülfonilhidrazon (5-Brsalmsh) bileşiğinin FT-IR spektrumunda (Şekil 5.18.) Schiff bazı oluşumunu gösteren azometin ($\text{CH}=\text{N}$) grubuna ait gerilme titreşimi, $\nu_{\text{C}=\text{N}}$ 1666 cm^{-1} de orta şiddetli bir band olarak gözlenmiştir. msh grubundaki sekonder amine ait gerilme titreşimi, ν_{NH} , 3154 cm^{-1} de şiddetli; alifatik CH a ait asimetrik gerilme titreşim bandı, $\nu_{\text{as}(\text{CH})}$ 2937 cm^{-1} de zayıf şiddette; SO_2 ye ait asimetrik gerilme titreşimi, $\nu_{\text{as}(\text{SO}_2)}$ 1317 cm^{-1} de kuvvetli; simetrik SO_2 gerilme titreşimi, $\nu_{\text{s}(\text{SO}_2)}$ 1156 cm^{-1} de şiddetli ve keskin bir band ve simetrik SO_2 eğilme titreşimi, $\delta_{(\text{SO}_2)}$ ise 542 cm^{-1} de şiddetli bir band olarak gözlenmiştir. Aromatik halkadaki fenolik C-O gerilme titreşimi, ν_{CO} 1269 cm^{-1} de orta kuvvetli, OH gerilme titreşim bandı 3421 cm^{-1} de zayıf ve yayvan bir band olarak gözlenmiştir. 5-Brsalmsh a ait karakteristik titreşim bandları Çizelge 5.9.'da verilmiştir.



Şekil 5.18. 5-Brsalmsh bileşiğine ait FT-IR Spektrumu

5.2. Komplekslerin Deneyisel Verileri

5.2.1. Sodyum bis(3,5diter-siyerbutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon)bakır(II) monohidrat (3,5-tbsalmshCu)

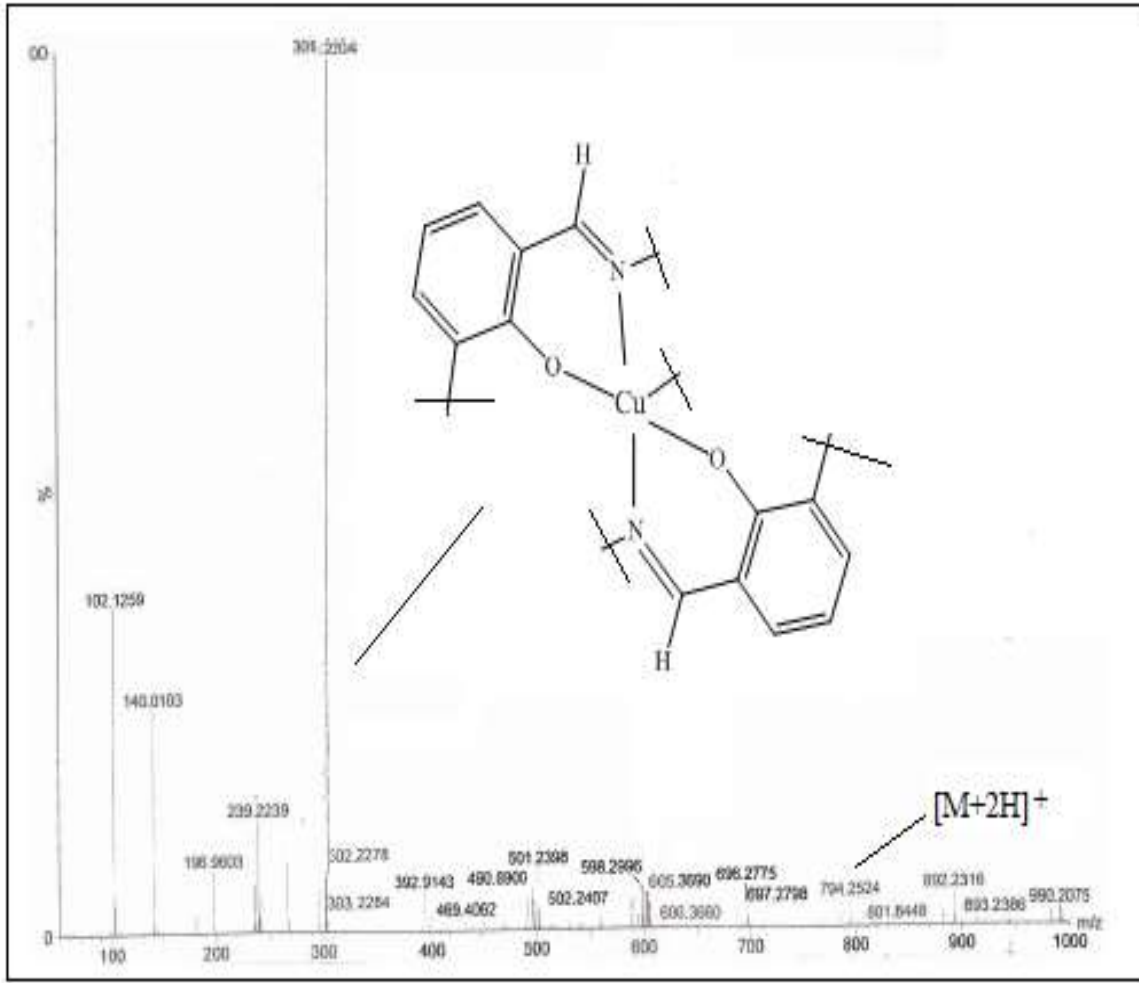


Şekil 5.19. Na[Cu(3,5-tbsalmsh)₂Cl]·xH₂O bileşiğinin tahmini açık yapısı

Na[Cu(3,5-tbsalmsh)₂Cl]·xH₂O bileşiğinin LC-MS spektrumu Şekil 5.20’de, FT-IR spektrumu Şekil 5.21 de ve bu spektruma ait titreşim dalga sayıları Çizelge 5.10 da, TGA eğrisi Şekil 5.22 de, UV-GB spektrumları Şekil 5.23 de ve $\lambda_{\max}$ değerleri Çizelge 4.1’de verilmiştir. Na[Cu(3,5-tbsalmsh)₂Cl]·xH₂O bileşiğine ait etkin manyetik moment (μ_{et}) ve molar iletkenlik değerleri Çizelge 5.11 de verilmiştir.

a) LC-MS yorumu

Na[Cu(3,5-tbsalmsh)₂Cl]·xH₂O (M_A : 792 g/mol) kompleksine ait LC-MS spektrumunda (Şekil.5.20) moleküler iyon piki, $[M+2H]^+$ 794.25 de %4 bollukta gözlenmiştir. Anyonik kompleksten klor ve metil grubunun ayrılmasıyla 696.28 de yaklaşık %6 bollukta parçalanma ürünü gözlenmiştir. Bakırın fenolik O ve azometin N dan koordinasyonu ile oluşan şelatasyon grubu (ter-butil grupları hariç) 301.22 de %100 bollukta temel pik olarak gözlenmiştir (Çizelge 5.12)

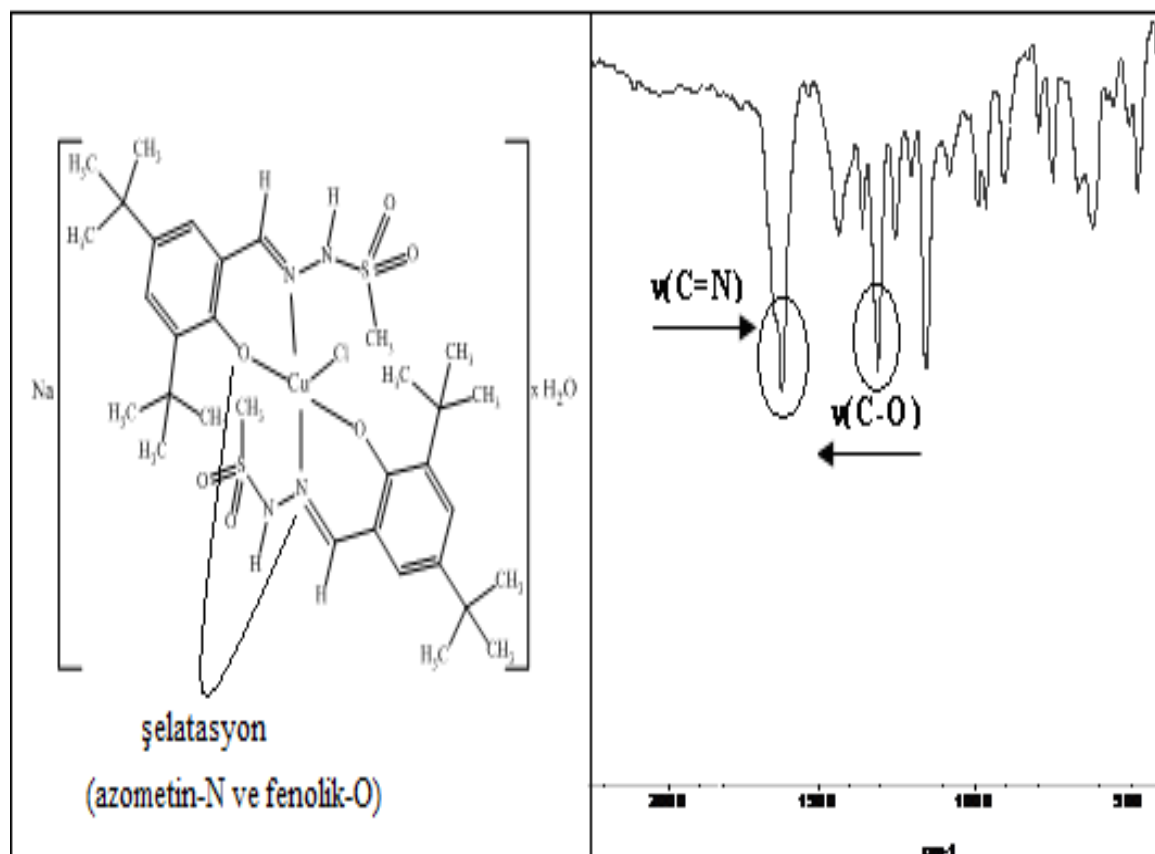


Şekil 5.20. Na[Cu(3,5-tbsalmsh)₂Cl]xH₂O bileşiğine ait LC-MS spektrumu

b.) IR yorumu

Sodyum bis(3,5-ditersiyebutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon)bakır(II) monohidrat (3,5-tbsalmshCu) kompleksinin FT-IR spektrumu Şekil 5.21 'de verilmiştir. 3,5-tbsalmsh ligandında 1648 cm⁻¹ de gözlenen şiddetli $\nu_{(C=N)}$ bandı, Cu(II) kompleksinde azometin-N'dan koordinasyon nedeniyle düşük frekansa kayarak $\nu_{(C=N)}$ 1617 cm⁻¹ de orta şiddette bir band olarak gözlenmiştir [62]. 3,5-tbsalmsh' da 1262 cm⁻¹ de gözlenen $\nu_{(C-O)}$ gerilme titreşim bandının kompleks oluşumu ile yüksek frekansa kayarak 1273 cm⁻¹ de gözlenmesi fenolik oksijen atomunun metal katyonuna bağlandığını göstermektedir.

Na[Cu(3,5-tbsalmsh)₂Cl]xH₂O kompleksine ait karakteristik titreşim bandları Çizelge 5.10.'da verilmiştir.



Şekil 5.21. 3,5-tbsalmshCu kompleksine ait FT-IR spektrumu

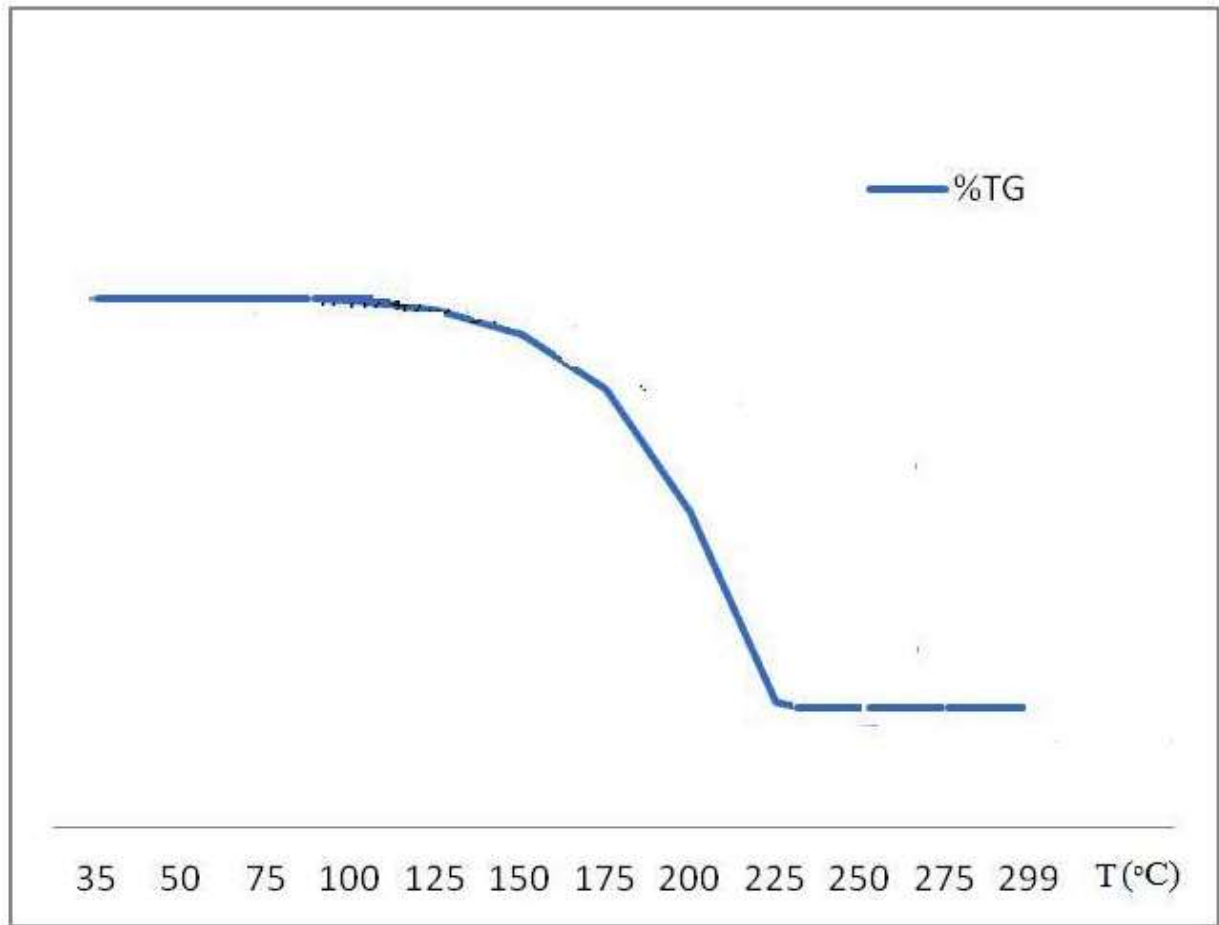
Çizelge 5.10. Metan sülfonik hidrazit, aromatik sülfonilhidrazon ve Cu(II) komplekslerinin seçilmiş titreşim dalga sayıları (cm^{-1})

Bileşik	$\nu(\text{NH})$	$\nu(\text{CH})_{\text{ar}}$	$\nu(\text{CH})_{\text{as}}$	$\nu(\text{C}=\text{N})$	$\nu(\text{SO}_2)_{\text{as}}$	$\nu(\text{CO})$	$\nu(\text{SO}_2)_{\text{s}}$	$\delta(\text{NH})$	δ_{SO_2}
3,5-tbsalmsh	3176s	3029w	2957s	1652s	1327s	1262m	1060sh	652w	517m
3-tbsalmsh	3226s	3038 w	2960s	1649s	1313sh	1251m	1155sh	675 m	514m
5-Brsalmsh	3154s	3021w	2937w	1666m	1317s	1269s	1156sh	626s	542s
3,5-tbsalmshCu	3232m	3037w	2956w	1617m	1318m	1273w	1159s	663w	513w
3-tbsalmshCu	3230m	3044w	2957w	1614s	1315m	1258w	1159m	673w	517w
5-BrsalmshCu	3147m	3028w	2940w	1616s	1321sh	1304s	1160sh	617 m	544w

w:weak (zayıf), m:medium (orta), s:strong (kuvvetli), sh:sharp (keskin)

c.) TGA Yorumu

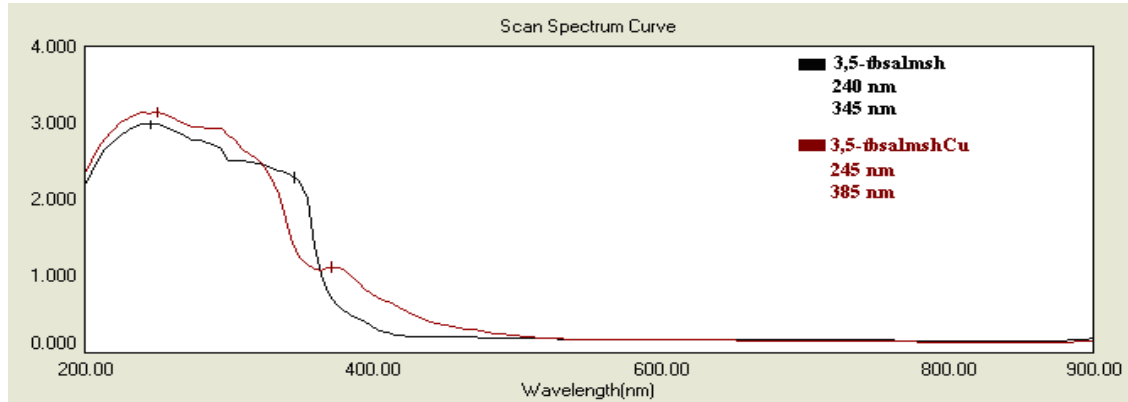
$\text{Na}[\text{Cu}(\text{3,5-tbsalmsh})_2\text{Cl}]_x\text{H}_2\text{O}$ ($M_A:792 \text{ g/mol}$) kompleksinin TGA eğrisi (Şekil.5.22), N_2 atmosferinde ve $35\text{-}300^\circ\text{C}$ aralığında alınmıştır. TGA eğrisinde 125°C ye kadar gözlenen % 2.361 lük kütle kaybı 1 mol kristal suyunun uzaklaşmasına aittir. Devamında kompleksin yapısındaki organik kısmın bozunmasına ait büyük kütle kaybı gözlenmiştir.



Şekil 5.22. 3,5-tbsalmshCu kompleksine ait TGA eğrisi

d) UV-vis yorumu

3,5-tbsalmsh ve 3,5-tbsalmshCu bileşiklerinin $200\text{-}900 \text{ nm}$ aralığında seyreltik MeOH çözeltisinde alınan UV-vis spektrumları Şekil 5.23 'de verilmiştir. 3,5-tbsalmshCu kompleksine ait bazı elektronik geçişler 245 ve 385 nm de gözlenmiştir.



Şekil 5.23. 3,5-tbsalmsh ve 3,5-tbsalmshCu bileşiklerinin 200-900 nm aralığında seyreltik MeOH çözeltisinde alınan UV-vis spektrumları

$\text{Na}[\text{Cu}(\text{3,5-tbsalmsh})_2]\text{Cl}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ kompleksinin molar iletkenlik değeri $80.3 \text{ ohm}^{-1} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$ olarak bulunmuş ve beklendiği gibi iletken (1:1 iyonik) olduğu belirlenmiştir (Çizelge 5.11). Anyonik metal kompleksine 1 tane Na^+ katyonu karşıt iyon olarak bağlanmıştır.

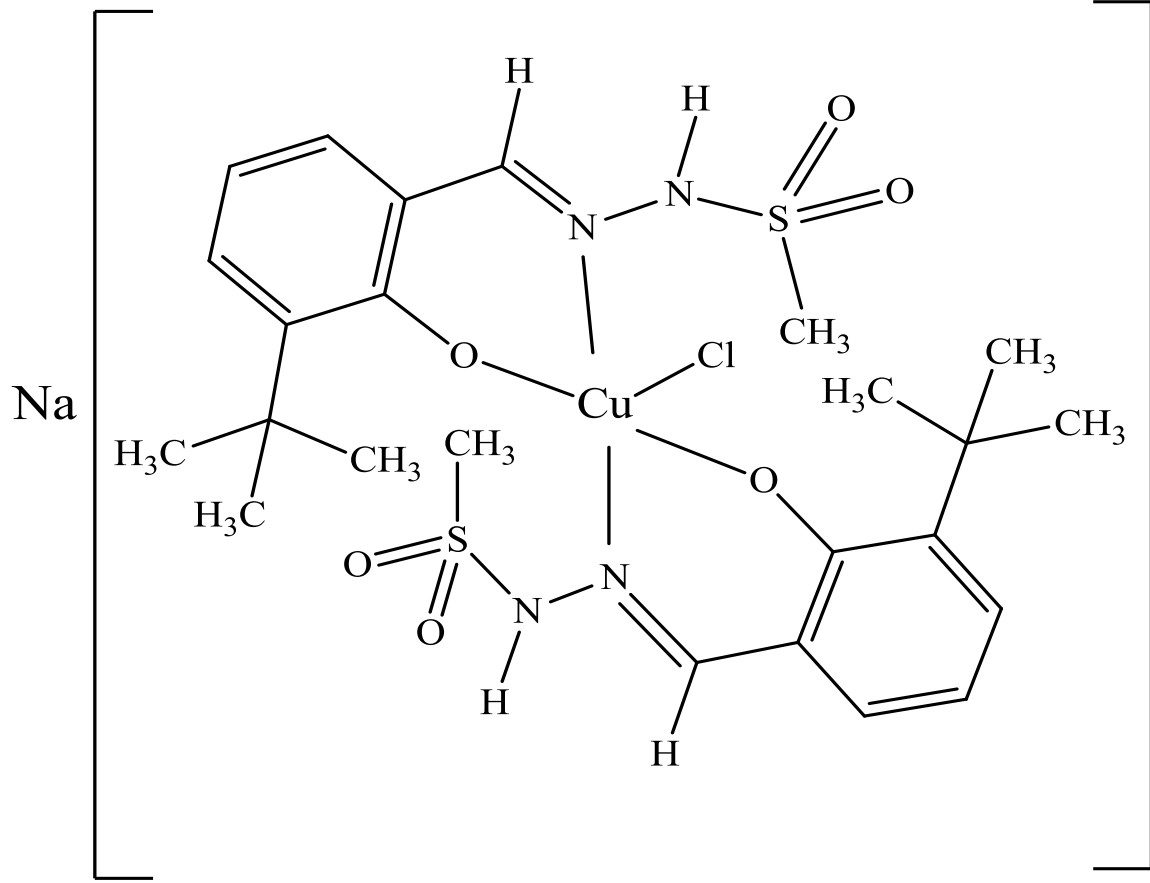
Manyetik duyarlılık ölçümüne göre kompleks paramanyetizma göstermektedir ve etkin manyetik moment $(\mu_{\text{eff}}) = 1.96 \text{ BM}$ olarak hesaplanmıştır.

Bütün veriler ışığında 3,5-ditersiyebutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazonun iki dişli ligand olarak davrandığı ve Cu(II) iyonuna imin-N dan ve fenolik-OH dan bağlandığı düşünülmektedir. TGA, kütle, iletkenlik, manyetizma ölçümleri sonucu 1 tane Cl^- iyonunun ligand olarak metale bağlandığı, 5'li koordinasyon olduğu ve 1 mol kristal suyu içerdiği belirlenmiştir. Pentagonal geometriye sahip $\text{Na}[\text{Cu}(\text{3,5-tbsalmsh})_2\text{Cl}] \cdot x\text{H}_2\text{O}$ kompleksinin tahmini açık yapısı Şekil 5.19.'da verilmiştir.

Çizelge 5.11. Komplekslerin molar iletkenlik değerleri

Kompleksler	$\Lambda_M (\text{ohm}^{-1} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1})$ (iyon tipi)
$\text{Na}[\text{Cu}(\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3\text{S})_2\text{Cl}] \cdot x\text{H}_2\text{O}$	80.3 (1:1)
$\text{Na}[\text{Cu}(\text{C}_{12}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3\text{S})_2\text{Cl}]$	71.4 (1:1)
$\text{Na}[\text{Cu}(\text{C}_8\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_3\text{SBr})_2\text{Cl}] \cdot x\text{H}_2\text{O}$	58.6 (1:1)

5.2.2. Sodyum bis(3-ditersiyebutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon)bakır(II) (3-tbsalmshCu)

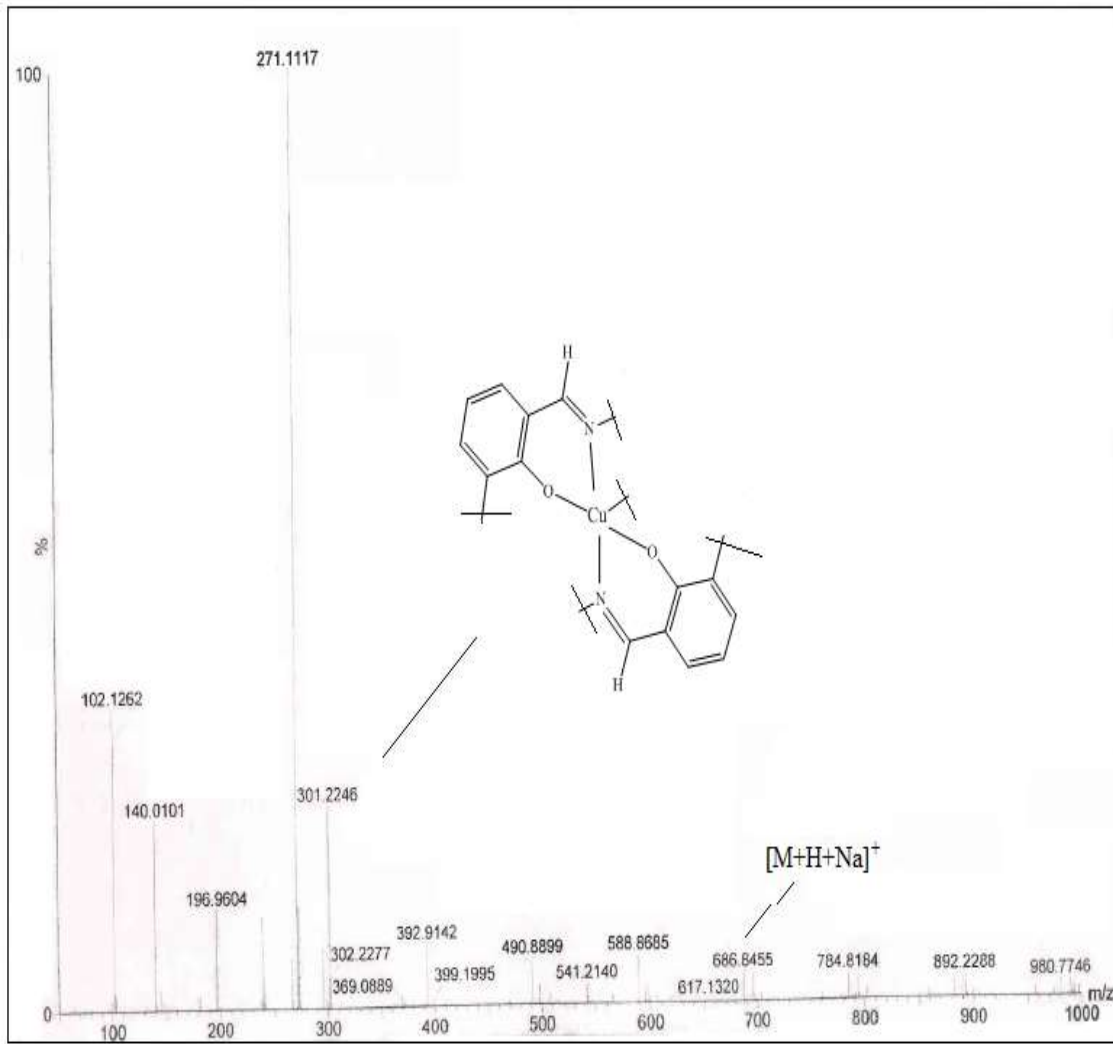


Şekil 5.24. Na[Cu(3-tbsalmsh)₂Cl] bileşiğinin tahmini açık yapısı

Na[Cu(3-tbsalmsh)₂Cl] bileşiğinin LC-MS kütle spektrumu Şekil 5.25 'de ve bu spektruma ait LC-MS verileri Çizelge 5.12. de, FT-IR spektrumu Şekil 5.26'da ve bu spektruma ait dalga sayıları Çizelge 5.10.'da, Na[Cu(3-tbsalmsh)₂Cl] bileşiğinin 1x10⁻³ M lık 25 mL MeOH ortamında ölçülen molar iletkenlik değerleri Çizelge 5.11.'de verilmiştir.

a) LC-MS yorumu

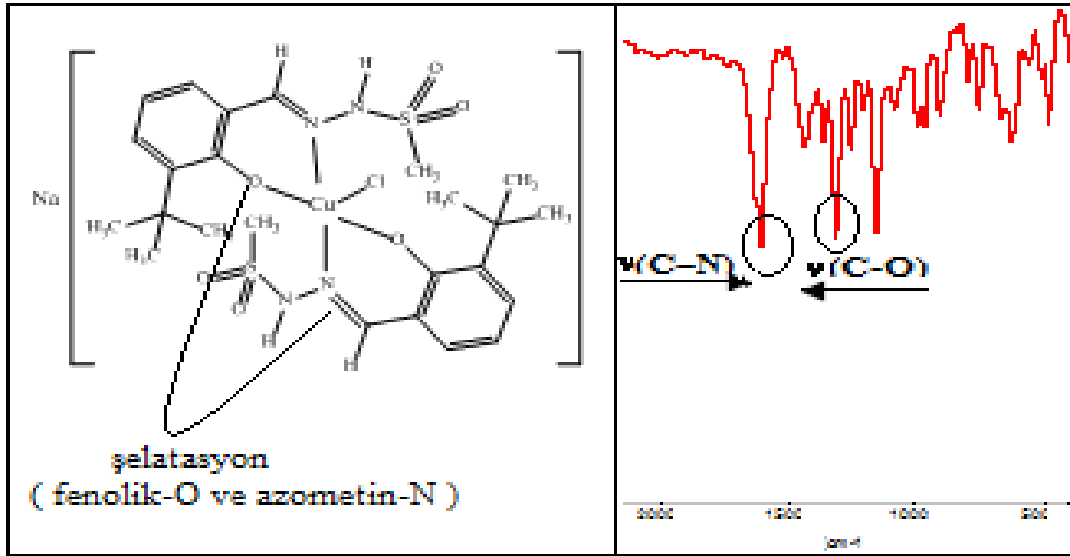
Na[Cu(3-tbsalmsh)₂Cl] (MA: 662 g/mol) kompleksine ait LC-MS spektrumunda (Şekil 5.25) moleküler iyon piki, [M+H+Na]⁺ 686.85 de %3 bollukta gözlenmiştir. Bakırın fenolik O ve azometin N dan koordinasyonu ile oluşan şelatasyon grubu (ter-butil grubu hariç) 301.22 de %24 bollukta gözlenmiştir.



Şekil 5.25. Na[Cu(3-tbsalmsh)₂Cl] kompleksine ait LC-MS spektrumu

b) IR yorumu

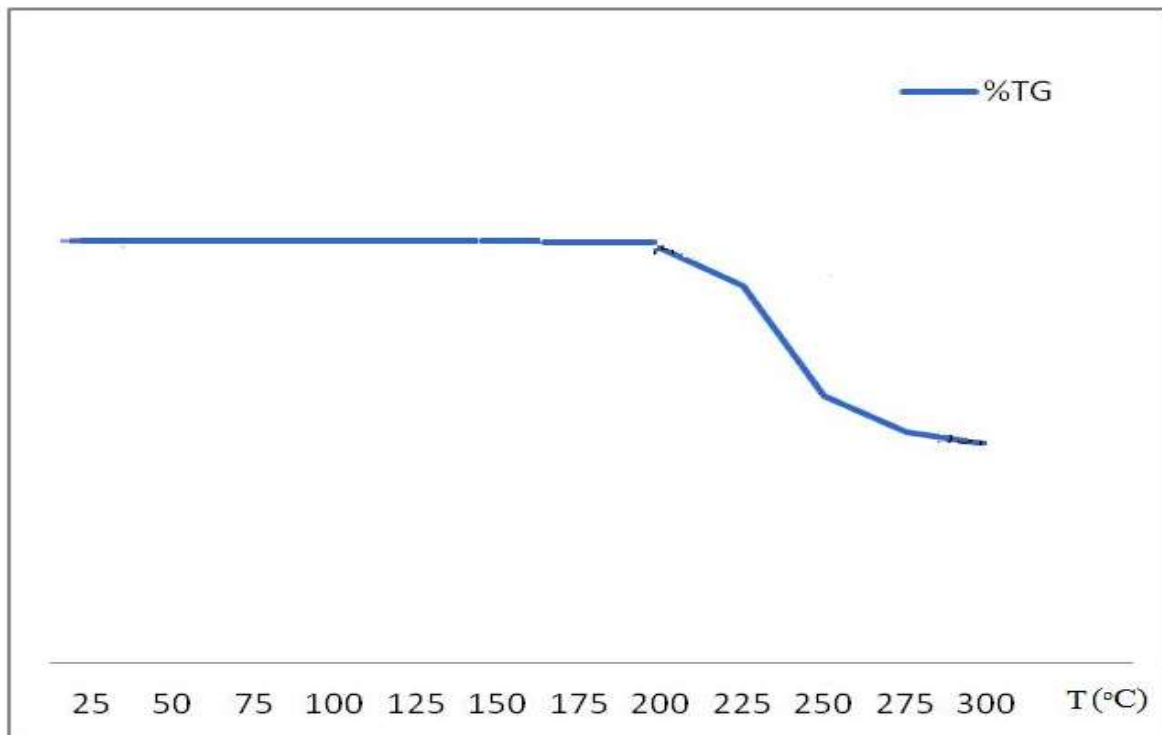
Sodyum bis(3-ditersiyeerbutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazon)bakır(II) (3-tbsalmshCu) kompleksinin FT-IR spektrumu Şekil 5.26. de verilmiştir. 3-tbsalmsh ligandında 1649 cm^{-1} de gözlenen şiddetli $\nu_{\text{C=N}}$ bandı, Cu(II) kompleksinde azometin-N'dan koordinasyon nedeniyle düşük frekansa kayarak $\nu_{\text{C=N}}$ 1614 cm^{-1} de orta şiddette bir band olarak gözlenmiştir. 3-tbsalmsh' da 1251 cm^{-1} de gözlenen $\nu_{\text{C-O}}$ gerilme titreşim bandının kompleks oluşumu ile yüksek frekansa kayarak 1258 cm^{-1} de gözlenmesi fenolik oksijen atomunun metal katyonuna bağlandığını göstermektedir. Na[Cu(3-tbsalmsh)₂Cl] kompleksine ait karakteristik titreşim bandları Çizelge 5.11.'de verilmiştir.



Şekil 5.26. 3-tbsalmshCu kompleksine ait FT-IR spektrumu

c) TGA yorumu

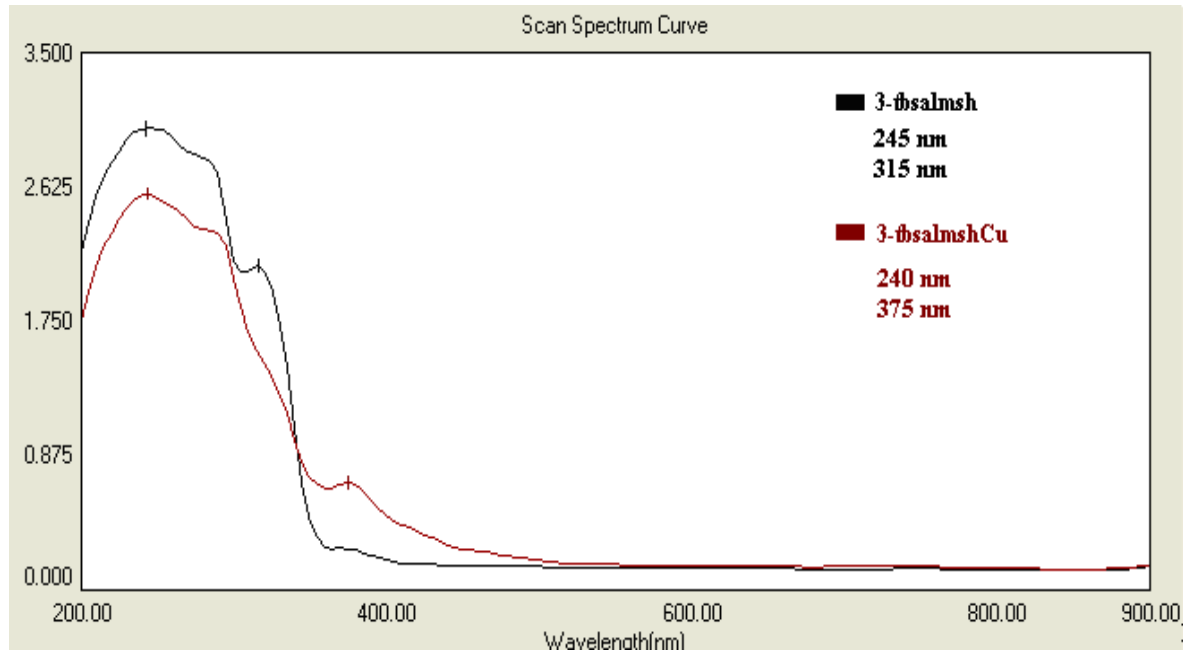
Na[Cu(3-tbsalmsh)₂Cl] (M_A :662 g/mol) kompleksinin TGA eğrisi N₂ atmosferinde ve 25-300 °C aralığında alınmıştır. Kompleksin TGA eğrisinde yaklaşık 200 °C ye kadar kristal ve koordinasyon suyunun uzaklaşmasına ait herhangi bir kütle kaybı gözlenmezken devamında organik kısmın bozunmasına ait büyük kütle kaybı oluşmuştur (Şekil 5.27).



Şekil 5.27. 3-tbsalmshCu kompleksine ait TGA eğrisi

d) UV-vis yorumu

3-tbsalmsh ve 3-tbsalmshCu bileşiklerinin 200-900 nm aralığında seyreltik MeOH çözeltisinde alınan UV-vis spektrumları Şekil 5.28. de verilmiştir. 3-tbsalmshCu kompleksine ait bazı elektronik geçişler 240 nm ve 375 nm de gözlenmiştir.



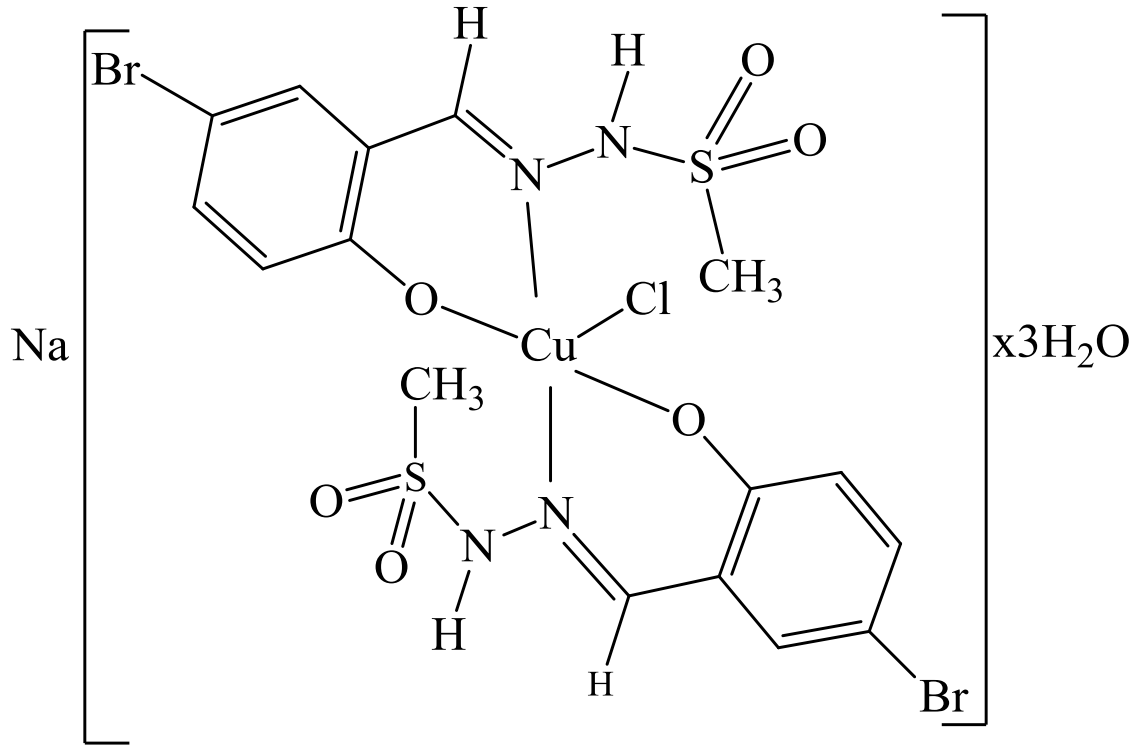
Şekil 5.28. 3-tbsalmsh ve 3-tbsalmshCu bileşiklerinin 200-900 nm aralığında seyreltik MeOH çözeltisinde alınan UV-vis spektrumları

$\text{Na}[\text{Cu}(\text{C}_{12}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3\text{S})_2\text{Cl}]$ kompleksinin molar iletkenlik değeri $71.4 \text{ ohm}^{-1}.\text{cm}^2.\text{mol}^{-1}$ olarak bulunmuş ve beklendiği gibi iletken (1:1 iyonik) olduğu belirlenmiştir (Çizelge 5.11). Anyonik metal kompleksine 1 tane Na^+ katyonu karşıt iyon olarak bağlanmıştır.

Manyetik duyarlılık ölçümüne göre kompleks paramanyetizma göstermektedir ve etkin manyetik momenti (μ_{eff})=1.87 BM olarak hesaplanmıştır.

Bütün veriler ışığında 3-tertiyerbutilsalisilaldehitmetansülfonilhidrazonun iki dişli ligand olarak davrandığı ve Cu(II) iyonuna imin-N dan ve fenolik-OH dan bağlandığı düşünülmektedir. TGA, kütle, iletkenlik, manyetizma ölçümleri sonucu 1 tane Cl^- iyonunun ligand olarak metale bağlandığı ve 5'li koordinasyon oluştuğu belirlenmiştir. Pentagonal geometriye sahip $\text{Na}[\text{Cu}(3\text{-tbsalmsh})_2\text{Cl}]$ kompleksinin tahmini açık yapısı Şekil 5.24.'de verilmektedir.

5.2.3. Sodyum bis(5-bromosalisilaldehitmetansülfonilhidrazon)klorobakır(II) trihidrat (5-BrsalmshCu)

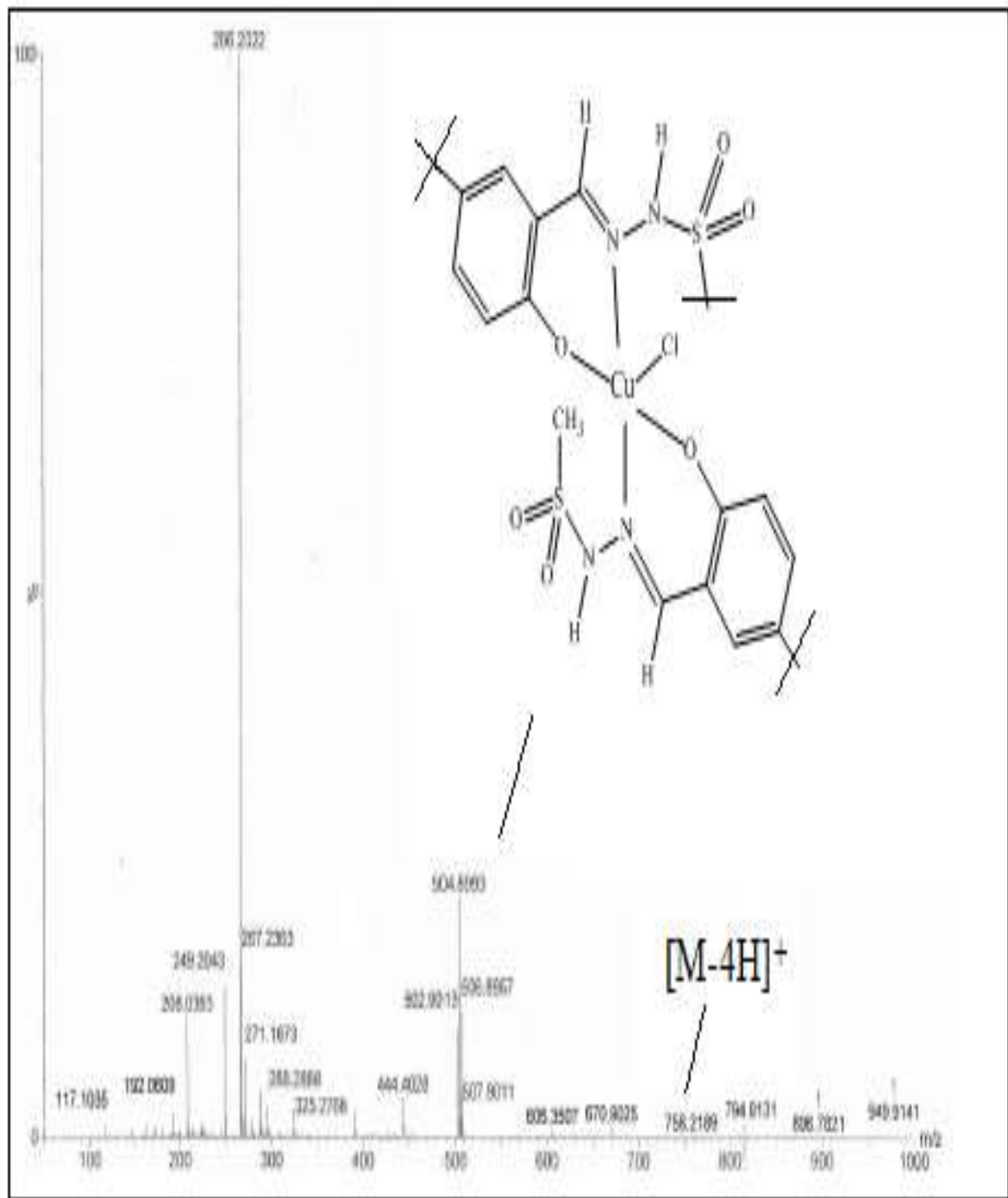


Şekil 5.29. $\text{Na}[\text{Cu}(\text{5-Brsalmsh})_2\text{Cl}]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ bileşiğinin tahmini açık yapısı

$\text{Na}[\text{Cu}(\text{5-Brsalmsh})_2\text{Cl}]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ bileşiğinin LC-MS spektrumu Şekil 5.29’da, bu spektruma ait LC-MS verileri Çizelge 5.12. de ve FT-IR spektrumu Şekil 5.31’de, bu spektruma ait titreşim dalga sayıları Çizelge 5.10’da, $\text{Na}[\text{Cu}(\text{5-Brsalmsh})_2\text{Cl}]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ bileşiğinin 1×10^{-3} M lık 25 mL MeOH ortamında ölçülen molar iletkenlik değerleri Çizelge 5.11’de verilmiştir.

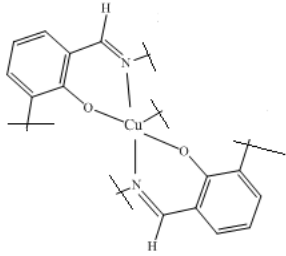
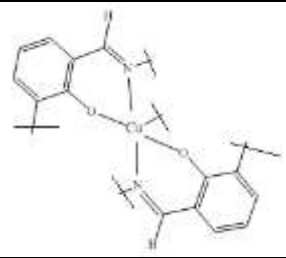
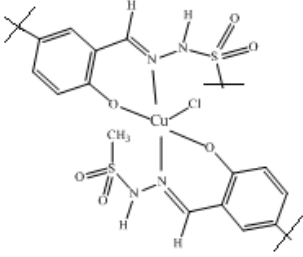
a) LC-MS yorumu

$\text{Na}[\text{Cu}(\text{5-Brsalmsh})_2\text{Cl}]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (M_A : 762 g/mol) kompleksine ait LC-MS spektrumunda (Şekil 5.30) moleküler iyon piki 758.22 de çok düşük bollukta gözlenmiştir. $[\text{Cu}(\text{5-Brsalmsh})_2\text{Cl}-\text{CH}_3]^-$ anyonik kompleksine ait parçalanma ürünü 670.90 da %1 bollukta ve bu gruptan Br atomlarının ayrılmasıyla 504.86 da %23 bollukta gözlenmiştir.



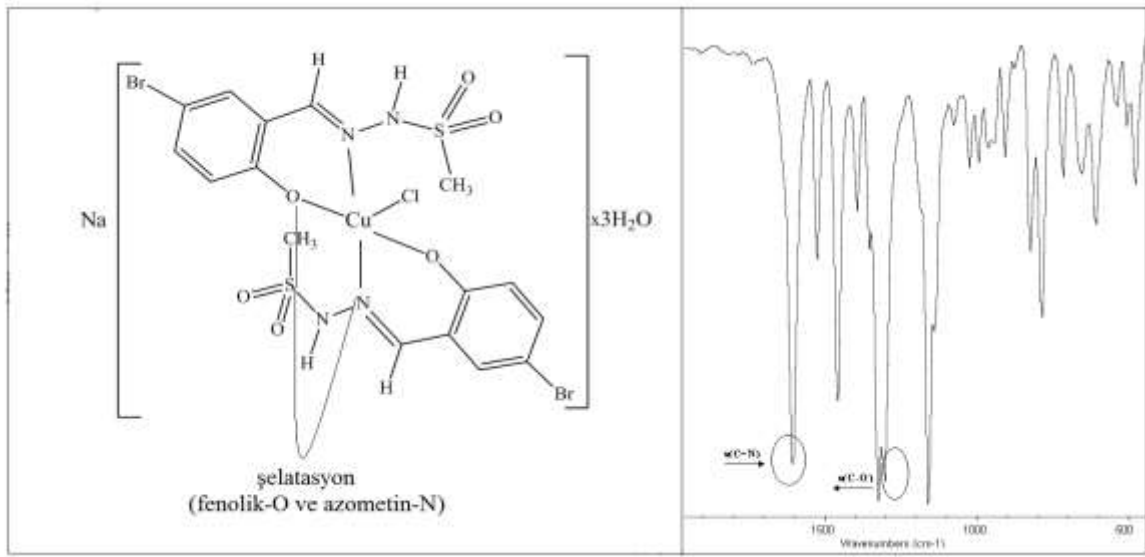
Şekil 5.30. $\text{Na}[\text{Cu}(\text{5-Brsalmsh})_2\text{Cl}] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ kompleksine ait LC-MS spektrumu

Çizelge 5.12. Cu(II) komplekslerinin LC-MS verileri

Bileşikler	Fragment	m/z(%)
Na[Cu(3,5-tbsalmsh) ₂ Cl]x1H ₂ O [M] ⁺	[M+2H] ⁺	794.25 (%4)
		301.22(%100)
Na[Cu(3-tbsalmsh) ₂ Cl] [M] ⁺	[M+H+Na] ⁺	686.85(%3)
		301.22(%24)
Na[Cu(5-Brsalmsh) ₂ Cl]x3H ₂ O [M] ⁺	[M-4H] ⁺	758.22(düşük bollukta)
		504.86(%23)

b) IR yorumu

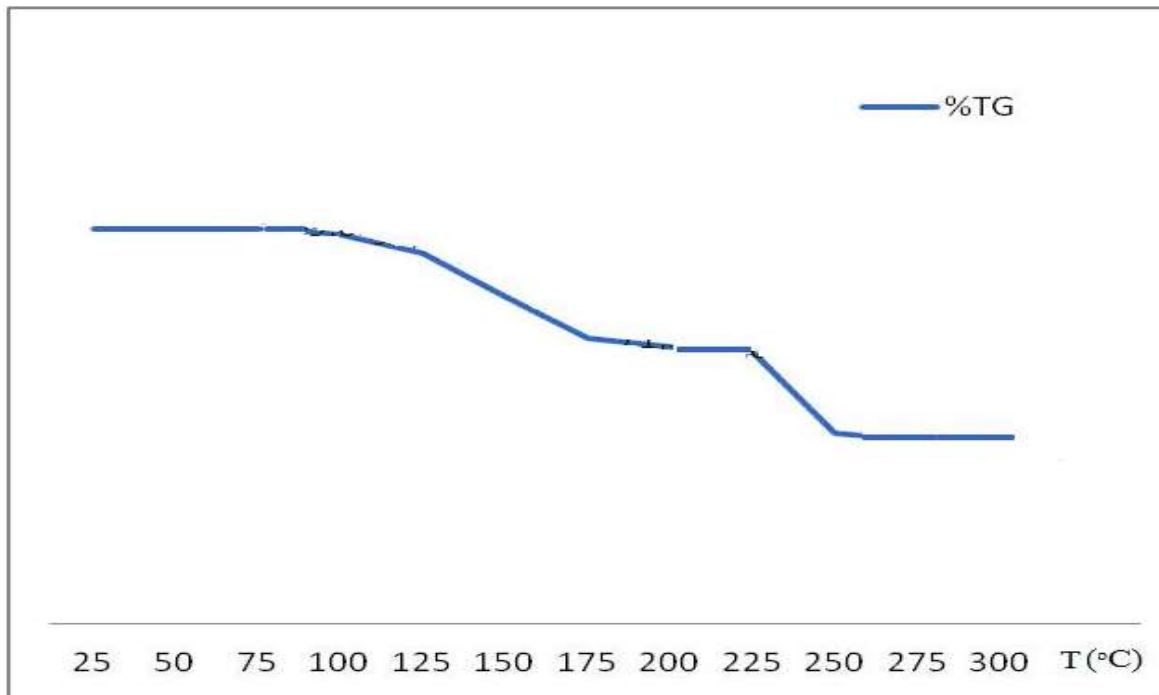
Sodyum bis(5-bromosalisilaldehitmetansülfonilhidrazon)bakır(II) trihidrat (5-BrsalmshCu) bileşiğinin FT-IR spektrumu Şekil 5.31'verilmiştir. 5-Brsalmsh ligandında 1666 cm⁻¹ de gözlenen şiddetli $\nu_{(C=N)}$ bandı, Cu(II) kompleksinde azometin-N'dan koordinasyon nedeniyle düşük frekansa kayarak $\nu_{(C=N)}$ 1616 cm⁻¹ de şiddetli ve keskin bir band olarak gözlenmiştir. 5-Brsalmsh' da 1269 cm⁻¹ de gözlenen $\nu_{(C-O)}$ gerilme titreşim bandının kompleks oluşumu ile yüksek frekansa kayarak 1304 cm⁻¹ çok şiddetli bir band olarak gözlenmesi fenolik oksijen atomunun metal katyonuna bağlandığını göstermektedir. Na[Cu(5-Brsalmsh)₂Cl]x3H₂O nun titreşim bandları Çizelge 5.10 'da verilmiştir.



Şekil 5.31. 5-BrsalmshCu kompleksine ait FT-IR spektrumu

c) TGA yorumu

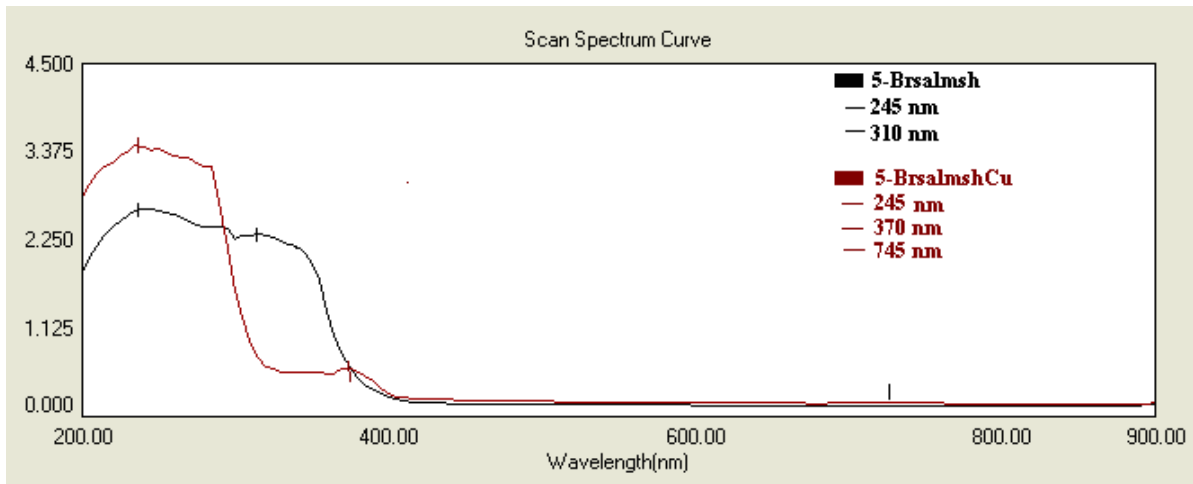
$\text{Na}[\text{Cu}(\text{5-Brsalmsh})_2\text{Cl}] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ($M_A: 762 \text{ g/mol}$) kompleksinin TGA eğrisi, N_2 atmosferinde ve $25\text{-}300^\circ\text{C}$ aralığında alınmıştır. $25\text{-}125^\circ\text{C}$ aralığındaki % 7,191lik kütle kaybı 3 mol kristal suyunun uzaklaşmasına karşı gelir. Devamında organik kısmın bozunmasına ait büyük kütle kayıpları gözlenmiştir.



Şekil 5.32. 5-BrsalmshCu kompleksine ait TGA eğrisi

d) UV-vis yorumu

5-Brsalmsh ve 5-BrsalmshCu bileşiklerinin 200-900 nm aralığında seyreltik MeOH çözeltisinde alınan UV-vis spektrumları Şekil 5.33 'de verilmiştir. 5-BrsalmshCu kompleksine ait bazı elektronik geçişler 245 nm, 370 nm ve 745 nm de gözlenmiştir. 745 nm de gözlenen çok düşük şiddetteki band d^9 elektronik dizilişe sahip Cu(II) iyonunun d-d geçişine aittir.



Şekil 5.33. 5-Brsalmsh ve 5-BrsalmshCu bileşiklerinin 200-900 nm aralığında seyreltik MeOH çözeltisinde alınan UV-vis spektrumları

$\text{Na}[\text{Cu}(\text{3,5-tbsalmsh})_2\text{Cl}]\cdot\text{xH}_2\text{O}$ kompleksinin molar iletkenlik değeri $58.6 \text{ ohm}^{-1}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1}$ olarak bulunmuş ve beklendiği gibi iletken (1:1 iyonik) olduğu belirlenmiştir (Çizelge 5.11). Anyonik metal kompleksine 1 tane Na^+ katyonu karşıt iyon olarak bağlanmıştır.

Manyetik duyarlılık ölçümüne göre komoleks paramanyetizma göstermektedir ve etkin manyetik momenti (μ_{eff})=1.79 BM olarak hesaplanmıştır.

Bütün veriler ışığında 5-bromosalisilaldehitmetansülfonilhidrazonun iki dişli ligand olarak davrandığı ve Cu(II) iyonuna imin-N dan ve fenolik-OH dan bağlandığı düşünülmektedir. TGA, kütle, iletkenlik, manyetizma ölçümleri sonucu 1 tane Cl^- iyonunun ligand olarak metale bağlandığı, 5'li koordinasyon olduğu ve 3 mol kristal suyu içerdiği belirlenmiştir. Pentagonal geometriye sahip $\text{Na}[\text{Cu}(\text{5-Brsalmsh})_2\text{Cl}]\cdot\text{xH}_2\text{O}$ kompleksinin tahmini açık yapısı Şekil 5.29 'de verilmiştir.

5.3. Karbonik Anhidraz I (hCA I) İzoenziminin Aktivite Sonuçları

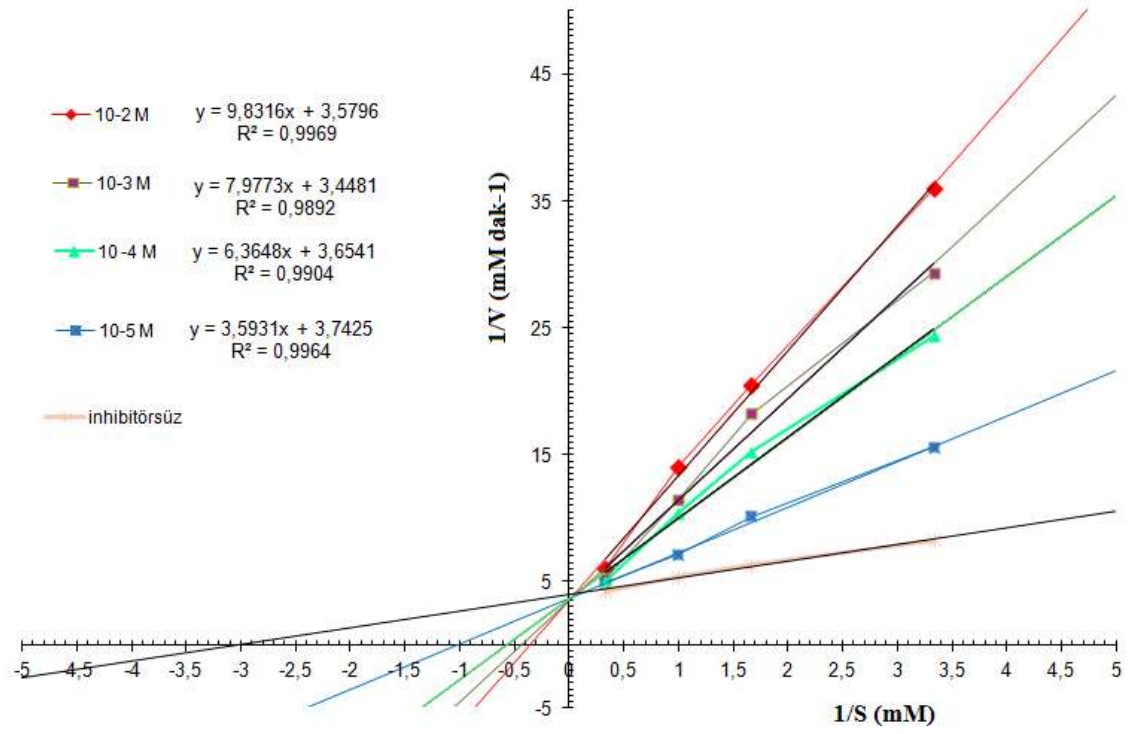
Bu çalışmada amaç, yeni aromatik sülfonilhidrazon ligandlarının ve Cu(II) komplekslerinin karbonik anhidraz I izoenzimi (hCA I) üzerindeki inhibisyon kinetiğinin spektrofotometrik yöntemle (400 nm’de) incelenmesidir. İnhibisyon parametrelerinin (IC_{50} ve K_i) belirlenmesinde % aktivite-derişim grafiği, Lineweaver-Burk yöntemiyle elde edilen K_m grafiği ve Cheng-Prusoff eşitliği kullanılmıştır. Çizelge 5.13’ de hem IC_{50} (%50 inhibisyona neden olan inhibitör derişimi) hem de K_i (inhibitor-enzim ayrışma sabiti) değerleri verilmiştir [63]. K_i sabitinin belirlenmesi için en az dört sabit inhibitör konsantrasyonunda (1×10^{-2} M, 1×10^{-3} M, 1×10^{-4} M ve 1×10^{-5} M) çalışmalar yapılmıştır. Ayrıca her bir inhibitör konsantrasyonu için dört farklı substrat konsantrasyonunda (0,3mM; 0,6mM; 1mM ve 3mM) aktivite tayinleri yapılmıştır. Her bir bileşik için dört farklı K_m değeri (Şekil 5.34-5.40) ve bu K_m değerlerinden de 4 farklı K_i ($2,89 \cdot 10^{-7}$ - $9,9 \cdot 10^{-5}$) değeri hesaplanarak ortalaması alınmıştır (Çizelge 5.13). IC_{50} değerleri ise substrat derişimleri sabit tutularak (1mM), inhibitörlerin belirli derişimlerinde % aktiviteleri belirlenerek (Şekil 5.41-5.47) ve daha sonra grafik yolu ile %50 inhibisyona sebep olan inhibitör derişimi bulunmuştur (Çizelge 5.13). Belirlenen IC_{50} ($1,156 \cdot 10^{-6}$ - $3,96 \cdot 10^{-4}$) değerleri, aromatik sülfonilhidrazonların ve Cu(II) komplekslerinin karbonik anhidraz I izoenzimini (hCA I) daha iyi inhibe ettiğini göstermiştir. Referans madde olarak klinik ilaç olan Asetazolamid kullanılmıştır.

Çizelge 5.13. Standart (AAZ), ligand ve komplekslerin hCA I izoenzimi üzerine aktivite sonuçları

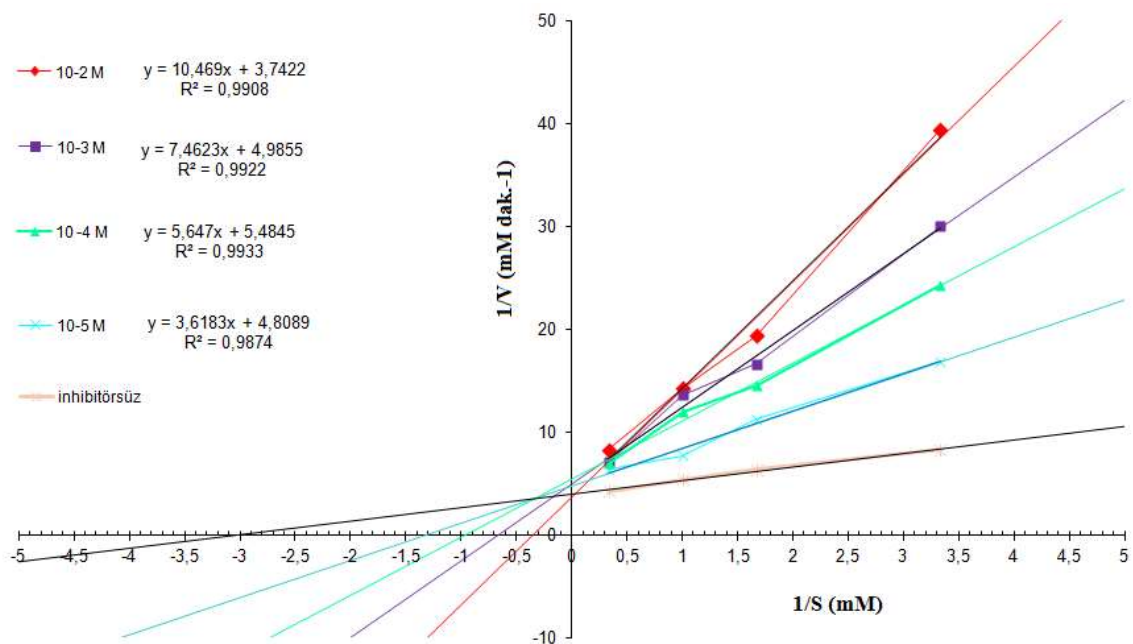
Bileşikler	IC_{50} (M)	K_i (M)	İnhibisyon türü
3,5 tbsalmsh	$3,96 \cdot 10^{-4}$	$9,90 \cdot 10^{-5}$	Yarışmalı
3,5-salmsh Cu	$3,56 \cdot 10^{-5}$	$8,9 \cdot 10^{-6}$	Yarışmalı
3-tbsalmsh	$5,58 \cdot 10^{-5}$	$1,395 \cdot 10^{-5}$	Yarışmalı
3-tbsalmshCu	$2,64 \cdot 10^{-6}$	$6,6 \cdot 10^{-6}$	Yarışmalı
5-Brsalmsh	$4,86 \cdot 10^{-6}$	$1,215 \cdot 10^{-6}$	Yarışmalı
5-Brsalmsh Cu	$1,156 \cdot 10^{-6}$	$2,89 \cdot 10^{-7}$	Yarışmalı
AAZ	$2,85 \times 10^{-7}$	$1,42 \times 10^{-7}$	Yarışmalı

5.3.1. Km grafikleri

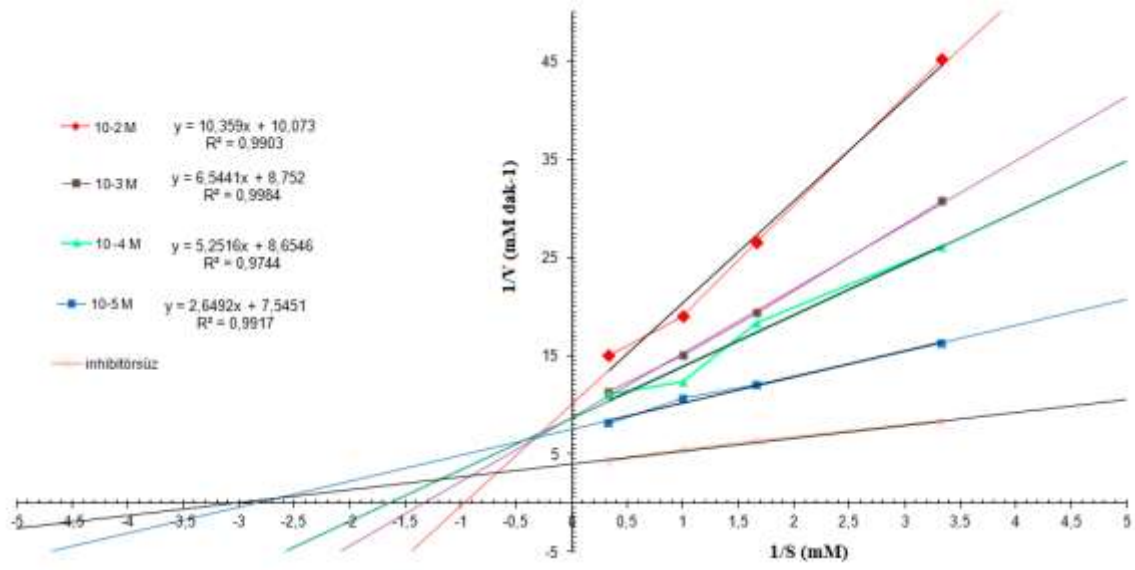
Bileşiklere ait Lineweaver-Burk grafikleri Şekil 5.34-Şekil 5.40 'de verilmiştir.



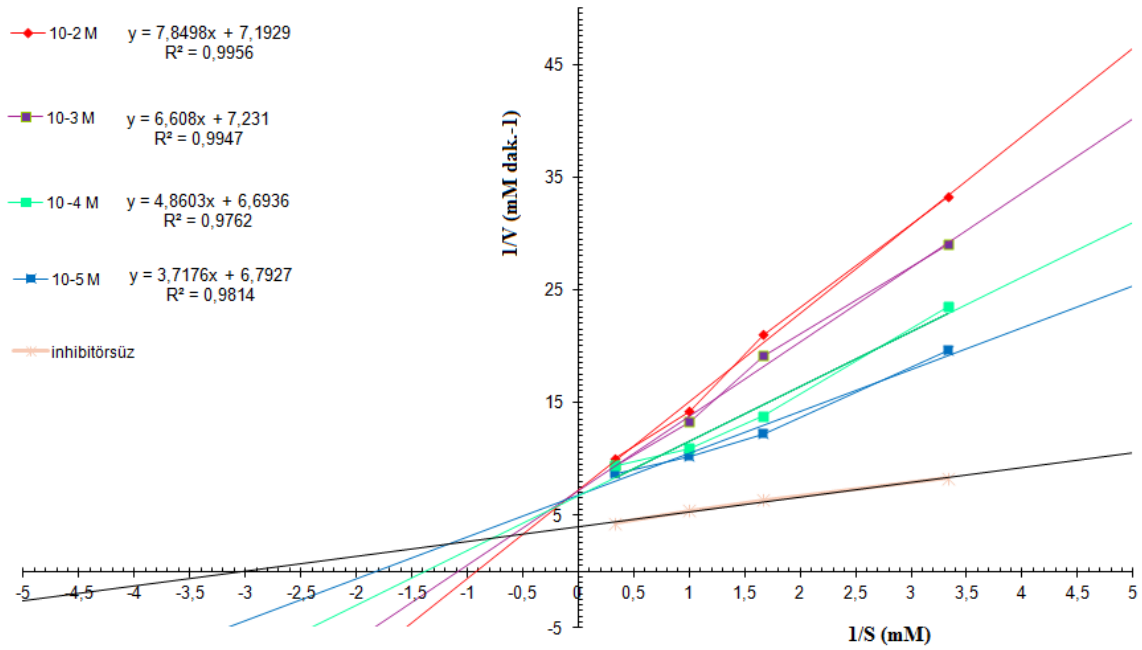
Şekil 5.34. 3,5-tbsalmsh bileşiğine ait Lineweaver-Burk grafiği



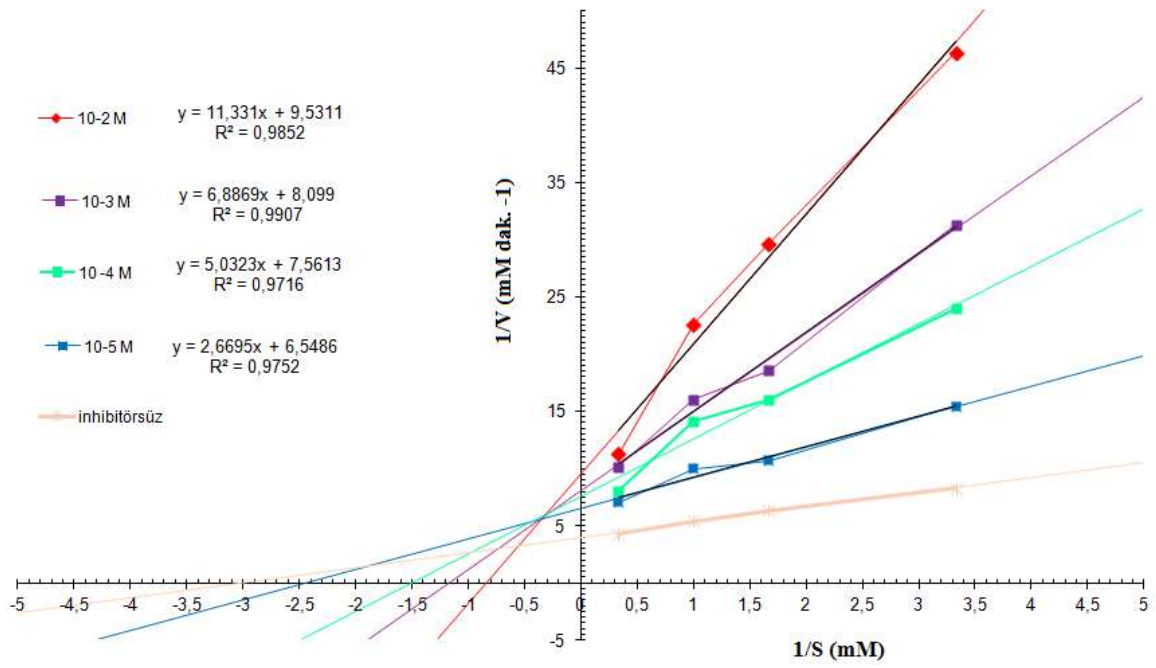
Şekil 5.35. 3-tbsalmsh bileşiğine ait Lineweaver-Burk grafiği



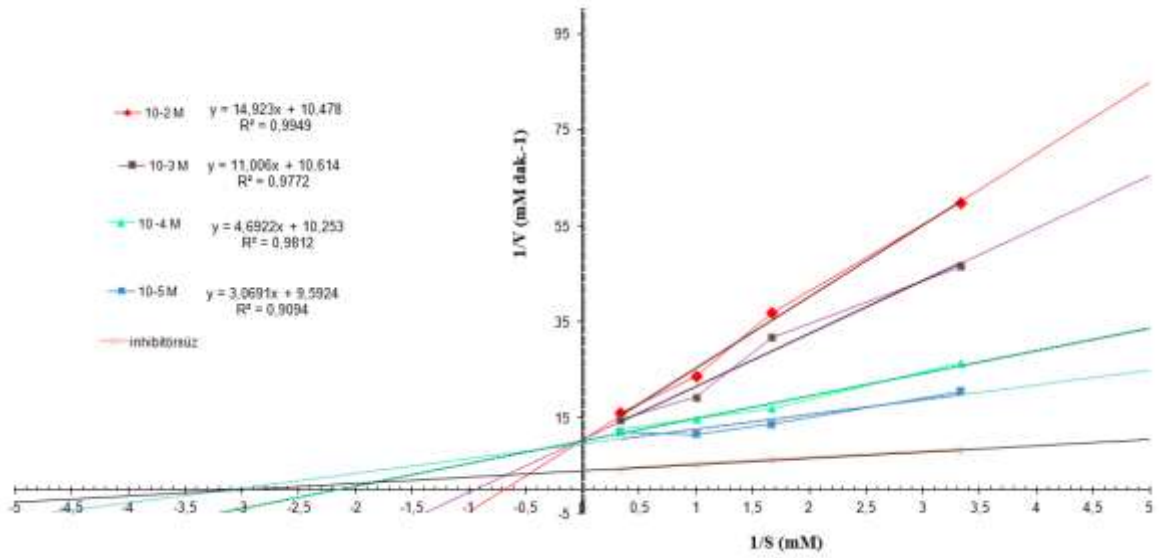
Şekil 5.36. 5-Brsalmsh bileşiğine ait Lineweaver-Burk grafiği



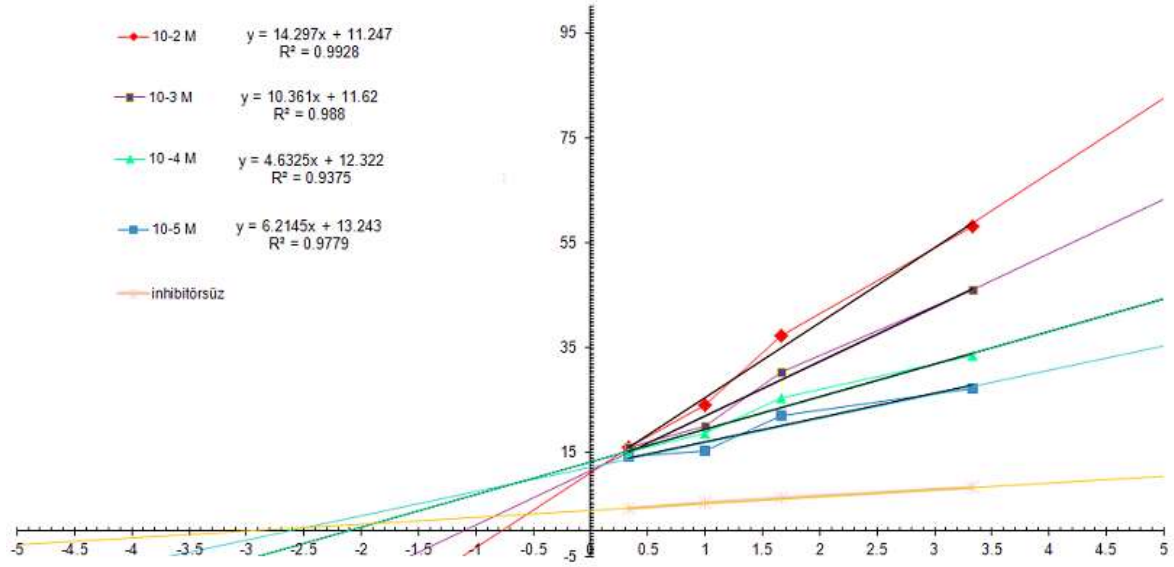
Şekil 5.37. 3,5-tbsalmshCu bileşiğine ait Lineweaver-Burk grafiği



Şekil 5.38. 3-tbsalmshCu bileşiğine ait Lineweaver-Burk grafiği



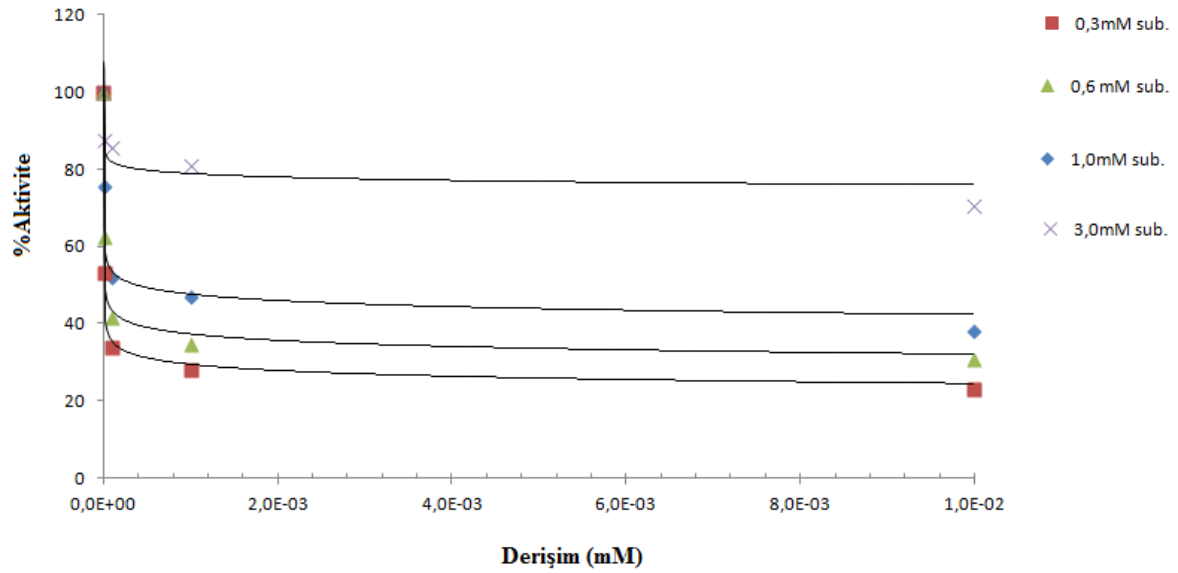
Şekil 5.39. 5-BrsalmshCu bileşiğine ait Lineweaver-Burk grafiği



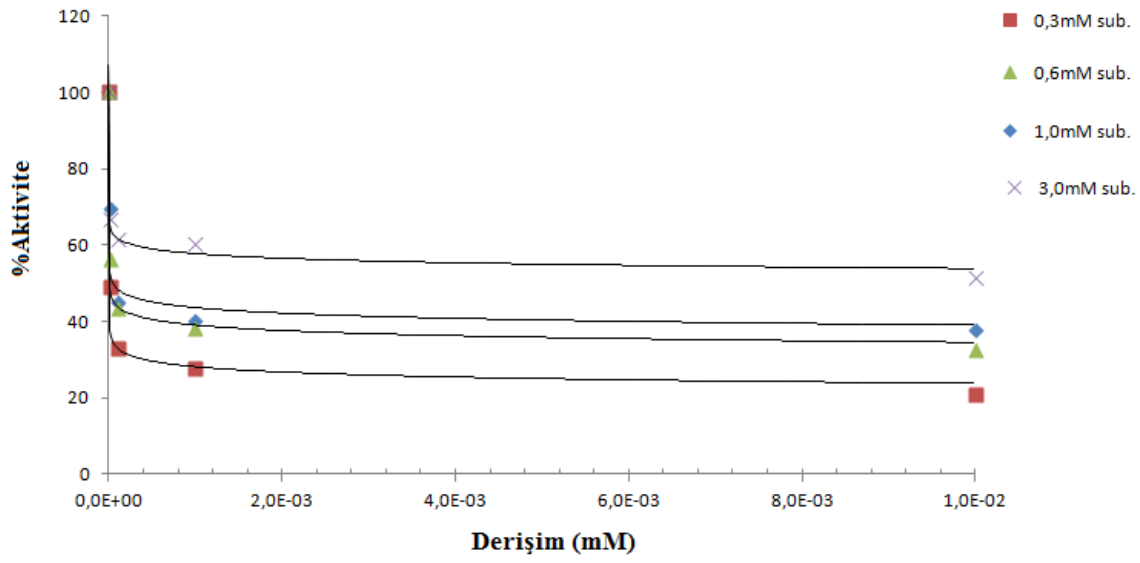
Şekil 5.40. AAZ'nin Lineweaver-Burk grafiği

5.3.2. IC_{50} grafikleri

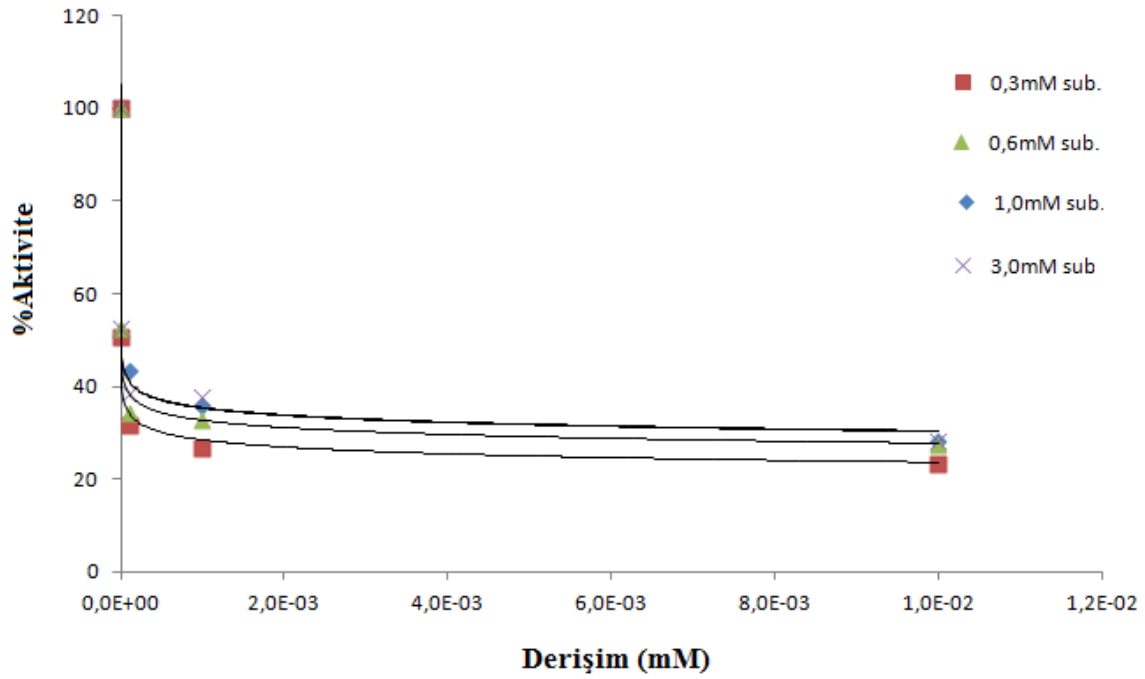
Bileşiklere ait IC_{50} grafikleri Şekil 5.41-Şekil 5.47'de verilmiştir.



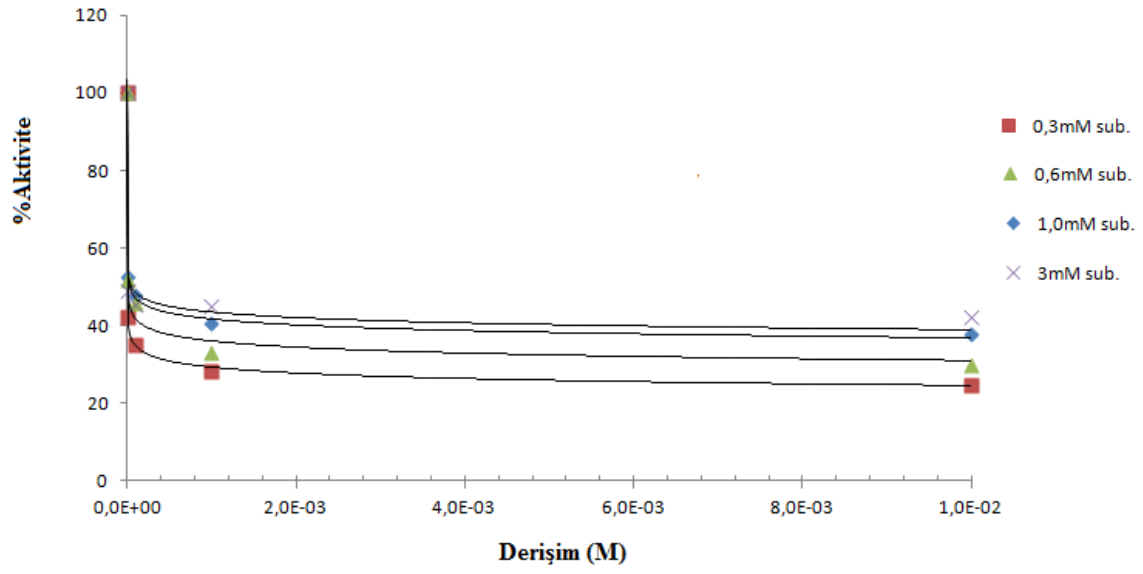
Şekil 5.41. 3,5-tbsalmsh bileşiğine ait % Aktivite-Derişim grafiği



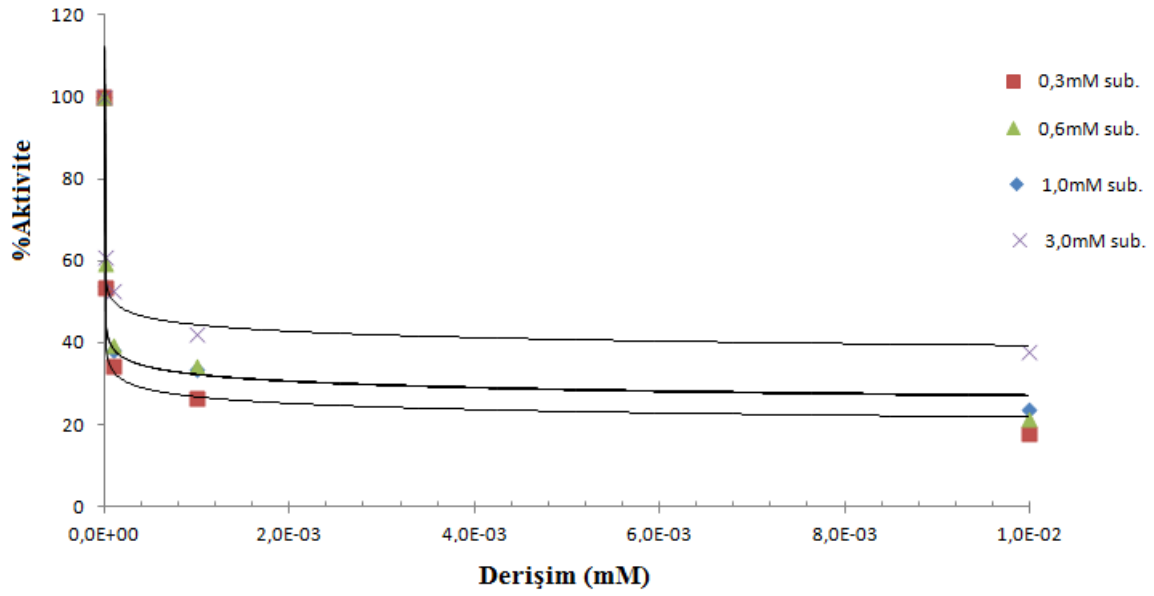
Şekil 5.42. 3-tbsalmsh bileşigine ait % Aktivite-Derişim grafiğı



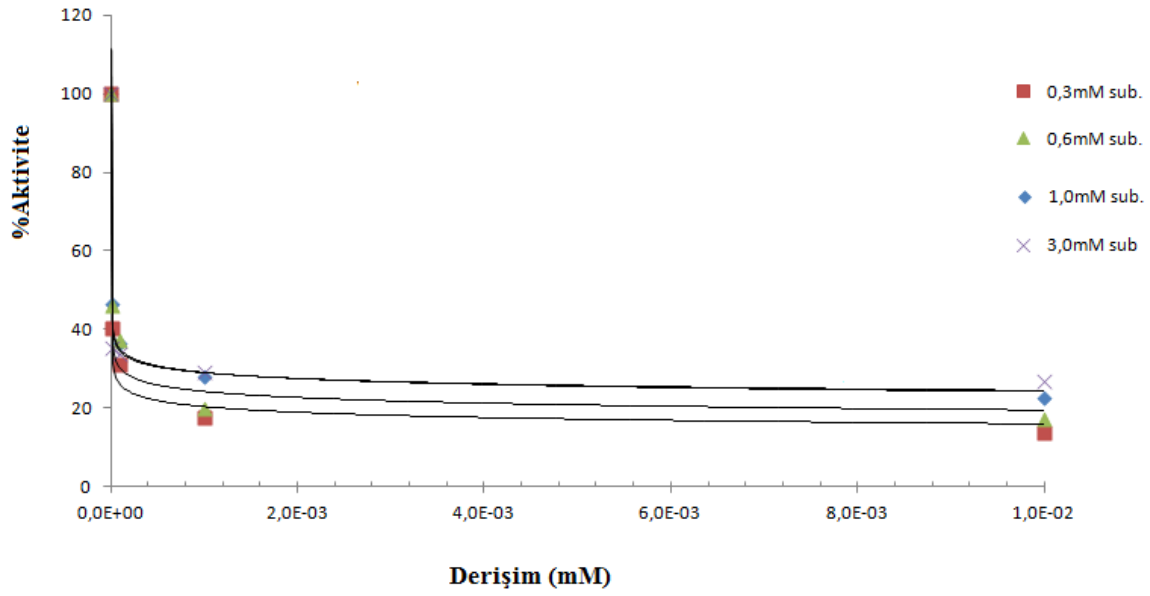
Şekil 5.43. 5-Brsalmsh bileşigine ait % Aktivite-Derişim grafiğı



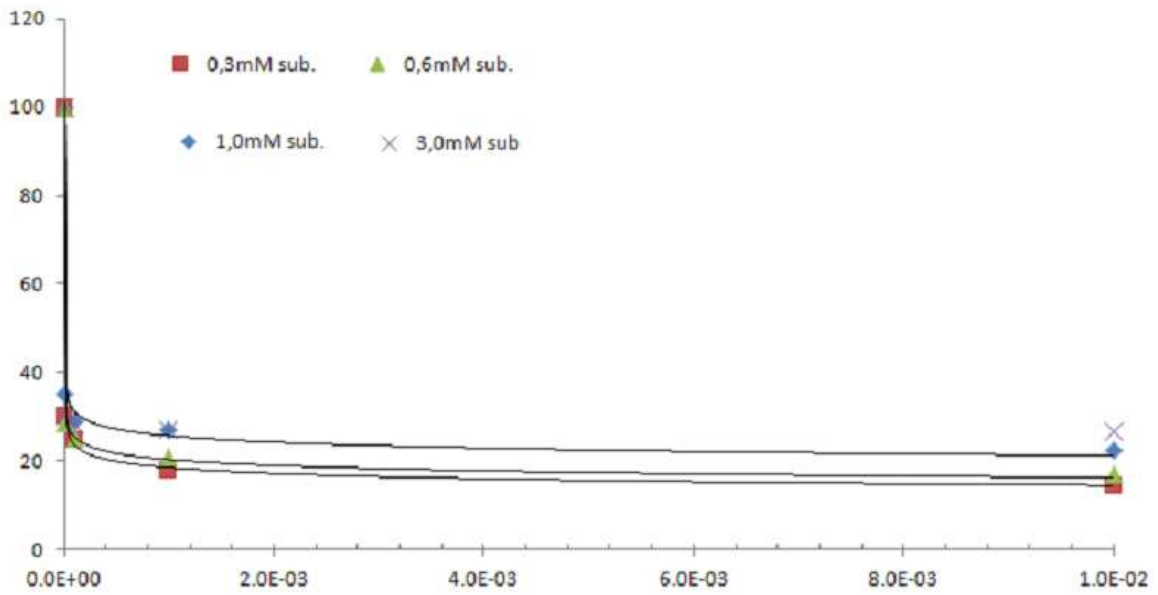
Şekil 5. 44. 3,5-tbsalmshCu bileşiğine ait % Aktivite-Derişim grafiği



Şekil 5.45. 3-tbsalmshCu bileşiğine ait % Aktivite-Derişim grafiği



Şekil 5.46. 5-BrsalmshCu bileşiğine ait % Aktivite-Derişim grafiği



Şekil 5.47. AAZ'nın derişime karşı % Aktivite-Derişim grafiği

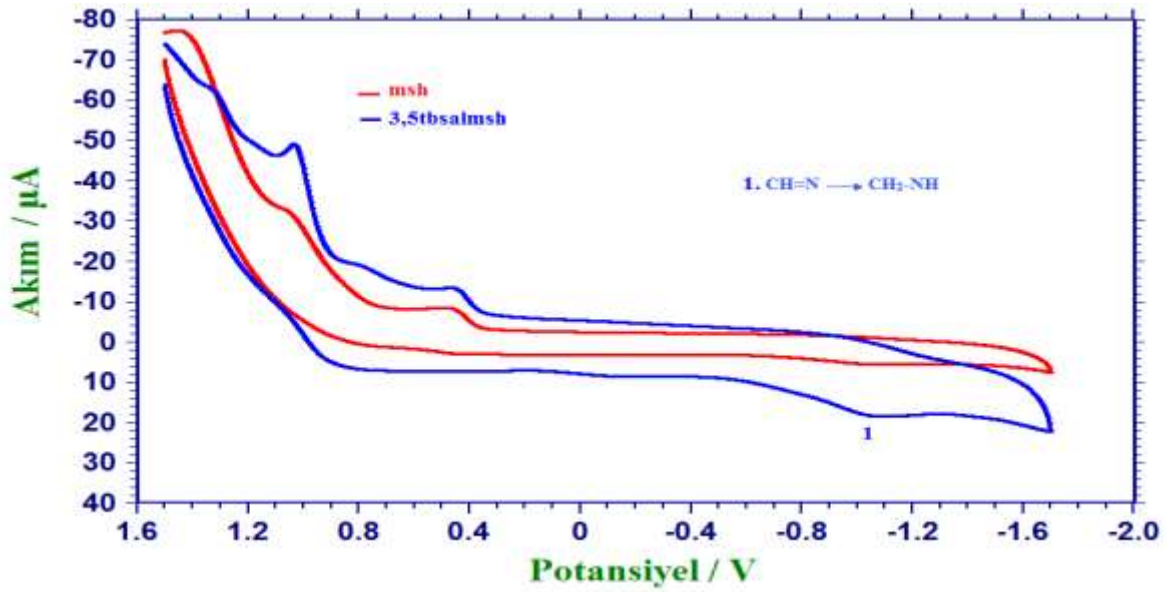
5.4. Elektrokimyasal Çalışmalar

5.4.1. Dönüşümlü voltametri (CV)

1 mM'lık amin, ligand ve bakır(II) komplekslerinin susuz ortam olan 0,1 M tetrabütülamonyum tetrafloroborat (TBATFB) içeren asetonitril ortamında dönüşümlü

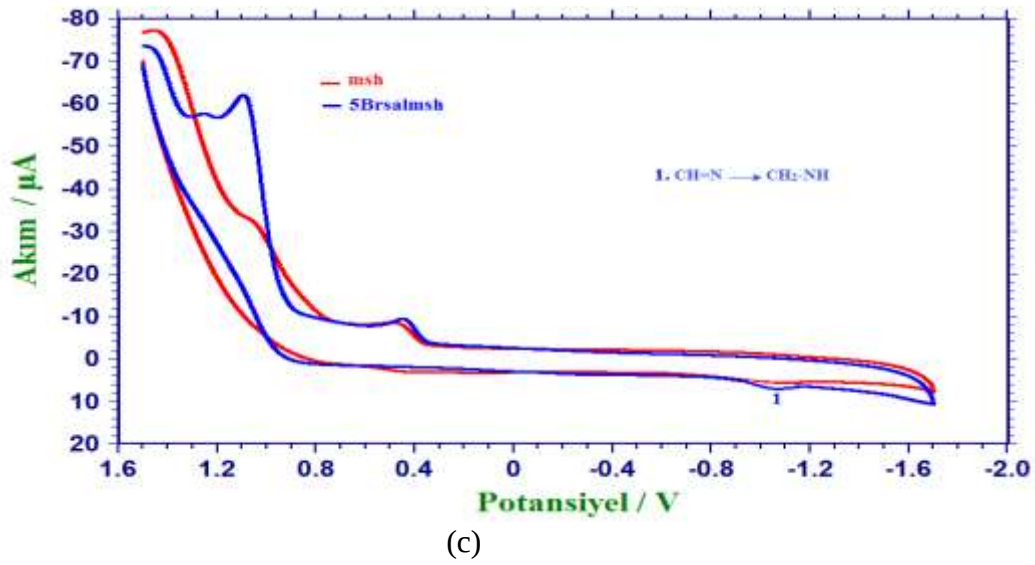
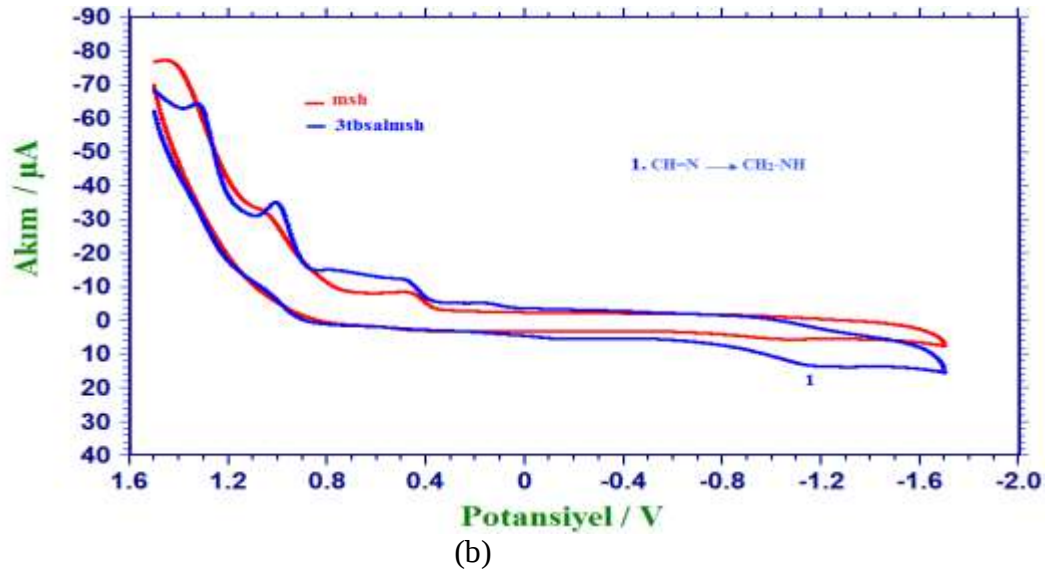
voltamogramları (CV) alınmıştır. Camı karbon (GC) elektrot ile 1,5-(-1,7) volt potansiyel aralıklarında Ag/Ag^+ susuz ortam referansına karşı yapılan çalışmalarda, bu bileşiklere ait bazı karakteristik indirgenme piklerine rastlanmıştır. Voltamogramlardan görüldüğü üzere 3,5tbsalmsh, 3tbsalmsh ve 5Brsalmsh bileşiklerinde bulunan azometin grubuna ait $\text{CH}=\text{N} \rightarrow \text{CH}_2\text{-NH}$ indirgenme pikleri yaklaşık olarak sırasıyla -1,09 V; -1,169 V ve -1,05 V potansiyellerinde gözlenmiştir. Bu ligandların Cu(II) komplekslerindeki $\text{C}=\text{N}$ grubuna ait indirgenme pikleri biraz daha negatif potansiyellerde gözlenmiştir.

$\text{Cu(II)} \rightarrow \text{Cu(I)}$ 'e indirgenmesine ait pikler ise 3,5tbsalmshCu, 3tbsalmshCu ve 5-BrsalmshCu komplekslerinde sırasıyla 0,462 V; 0,496 V ve 0,494 V; $\text{Cu(I)} \rightarrow \text{Cu(0)}$ 'a indirgenmesine ait pikler ise sırasıyla 0,188 V; 0,217 V ve 0,239 V potansiyellerinde gözlenmiştir.

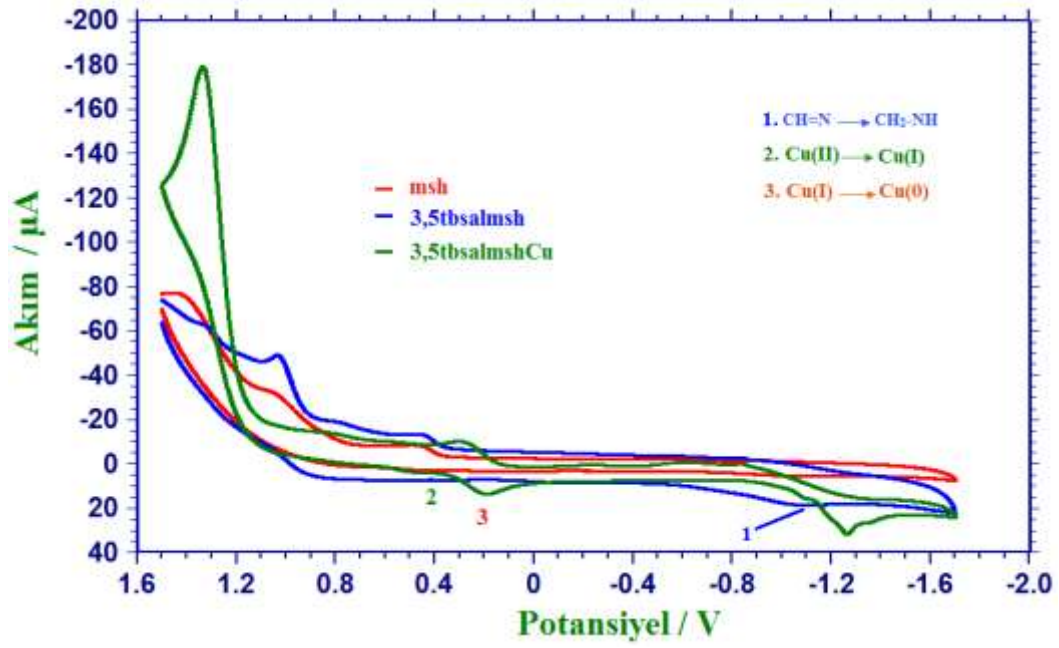


(a)

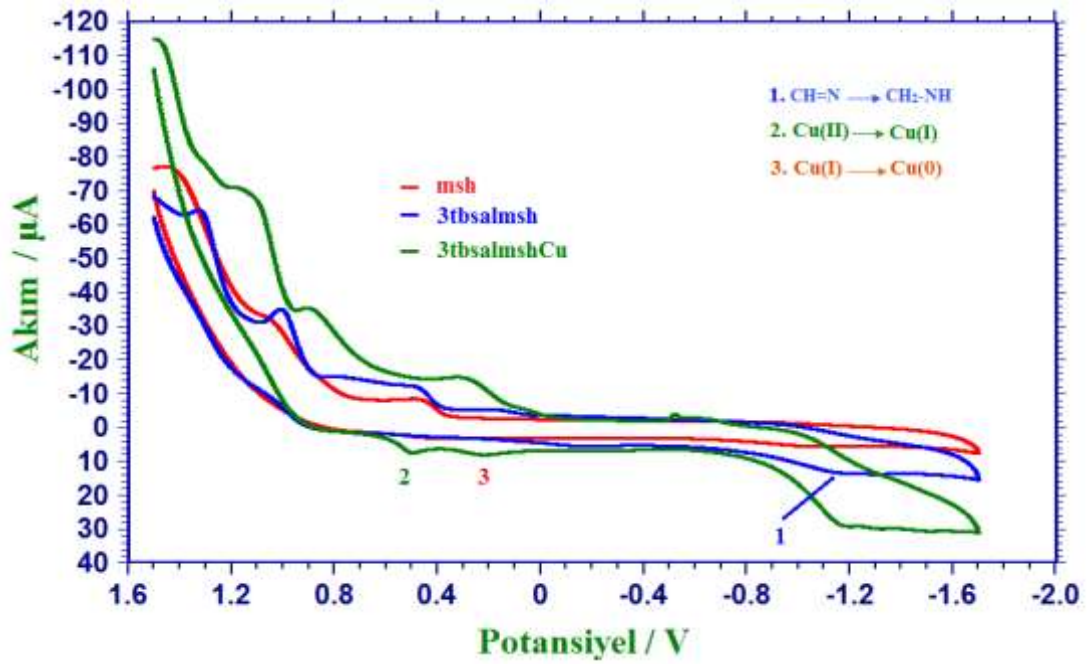
Şekil 5.48. GC elektrot ile 0,1 M TBATFB içeren asetonitril ortamında 1mM (a) 3,5-tbsalmsh (b) 3-tbsalmsh (c) 5-Brsalmsh bileşiklerine ait dönüşümlü voltamogramlar



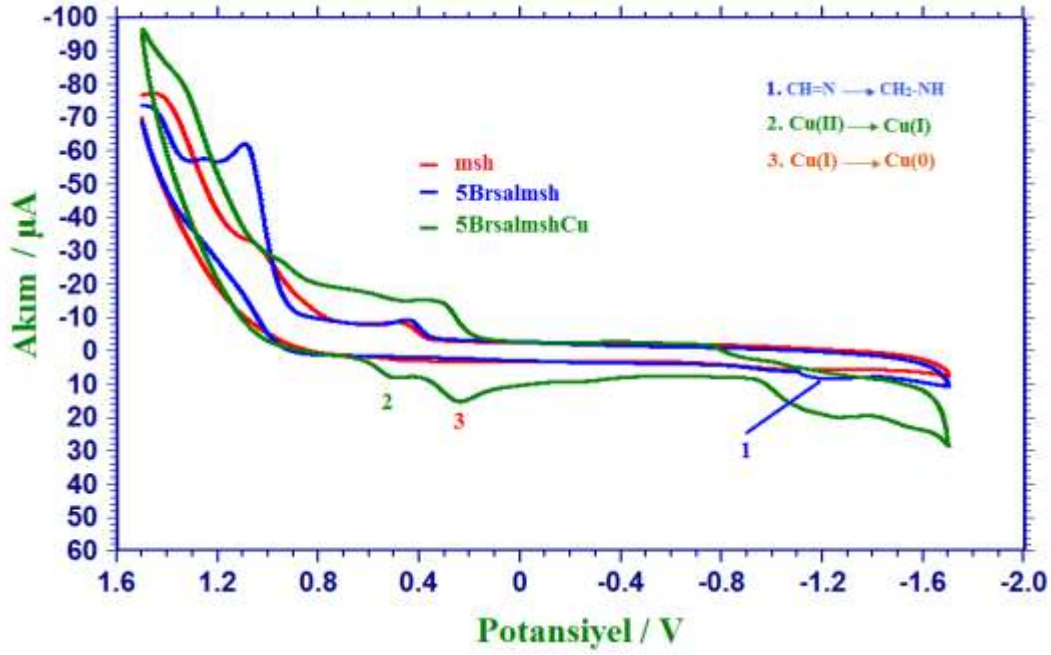
Şekil 5.48. (devam). GC elektrot ile 0,1 M TBATFB içeren asetonitril ortamında 1mM (a) 3,5-tbalmsh (b) 3-tbalmsh (c) 5-Brsalmsh bileşiklerine ait dönüşümlü voltamogramlar



Şekil 5.49. GC elektrot ile 0,1 M TBATFB içeren asetonitril ortamında 1mM msh, 3,5-tbsalmsh ve 3,5-tbsalmshCu bileşiklerine ait dönüşümlü voltamogramlar



Şekil 5.50. GC elektrot ile 0,1 M TBATFB içeren asetonitril ortamında 1mM 1mM msh, 3-tbsalmsh ve 3-tbsalmshCu bileşiklerine ait dönüşümlü voltamogramlar



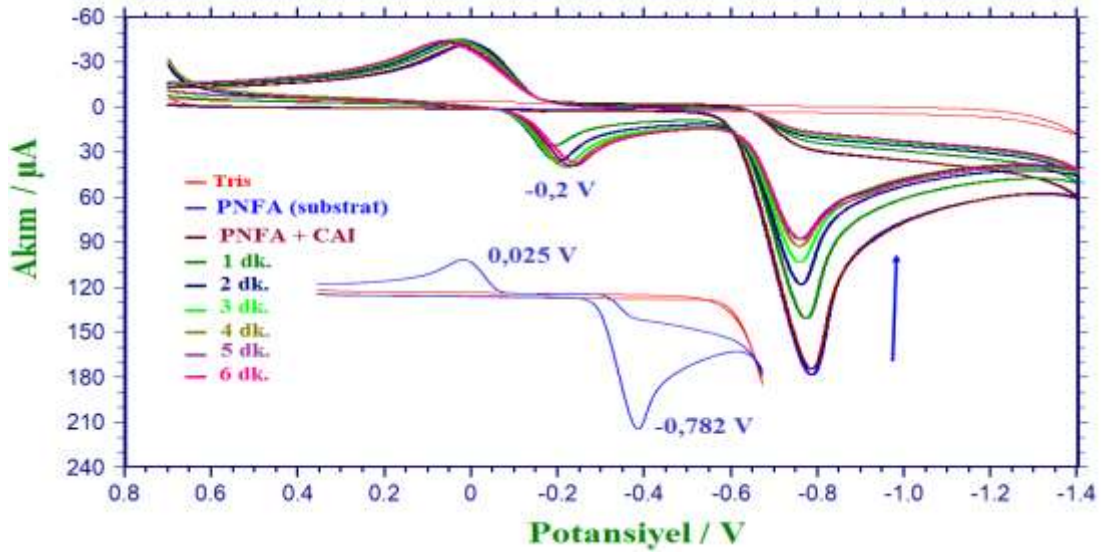
Şekil 5.51. GC elektrot ile 0,1 M TBATFB içeren asetonitril ortamında 1mM msh, 5-Brsalmsh ve 5-BrsalmshCu bileşiklerine ait dönüşümlü voltamogramlar

5.4.2. Elektrokimyasal olarak karbonikanhidraz i izoenzimi (hca i)'nin inhibisyonu

İnhibisyon çalışmalarında substrat ile enzim arasında gerçekleşen tepkime sonucu oluşan ürün üzerine inhibitörlerin etkisi elektrokimyasal yöntemle incelenmiştir. Bu amaçla pH 7,4 tamponu ortamında 3×10^{-3} M olacak şekilde substrat (PNFA) ilave edilmiş ve dönüşümlü voltamogramı (CV) alınmıştır. Bu ortama 5 µL enzim ilavesiyle tekrar CV alınmış ve oluşan ürün piki üzerine inhibitörlerin derişim etkisi incelenmiştir.

5.4.3. Substrat ile enzim etkileşimi üzerine süre etkisi

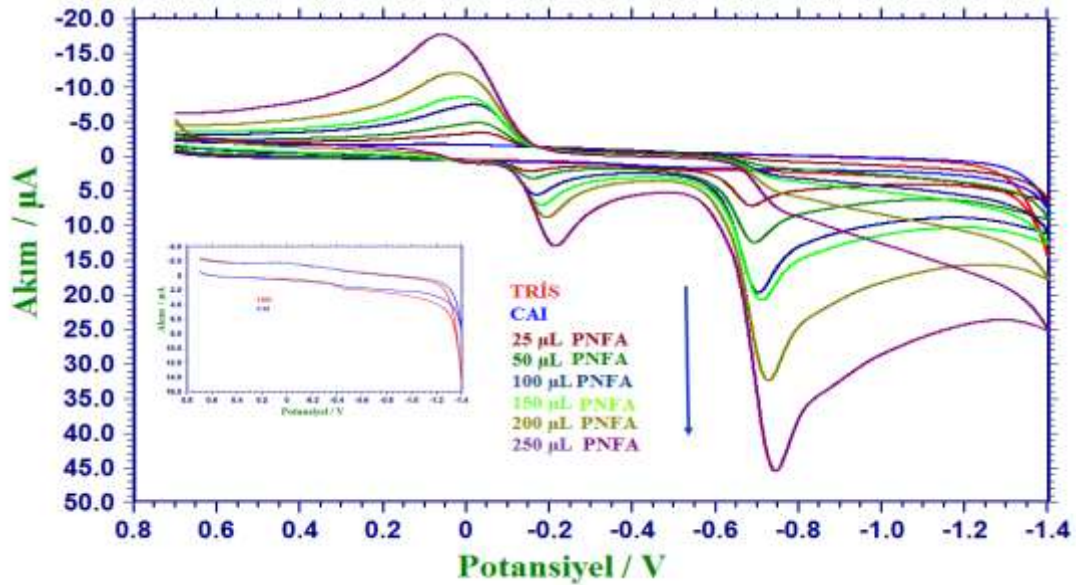
Şekil 5.52. de görüldüğü üzere substratın pH 7,4 Tris tamponu ortamında biri indirgenme (-0,782 V) ve biri yükseltgenme (0,025 V) olmak üzere 2 piki gözlenmiştir. Ortama enzim ilavesiyle oluşan ürün (p-nitrofenolat) elektroaktiftir ve -0,2 V civarında indirgenme piki vermiştir. Zamanla ürün oluşumu artarken substratın piklerinde beklenildiği üzere azalma gözlenmiştir. 5. ve 6. dakikalarda çok fazla bir değişim gözlenmemiştir.



Şekil 5.52. GC elektrot ile pH 7,4 Tris tamponu ortamında 5 μL CA I varlığında PNFA (3×10^{-3} M) pik akımlarının üzerine süre etkisini gösteren dönüşümlü voltamogramlar

5.4.4. Substrat miktarının enzim üzerine etkisi

Bu çalışmada sabit miktardaki enzim üzerine PNFA'dan farklı miktarlarda ilave edilerek voltamogramlar alınmıştır. Şekil 5.53'de görüldüğü üzere enzimin çalışılan potansiyel aralığında herhangi bir piki gözlenmemiştir. Bu ortama artan miktarlarda PNFA ilave edildiğinde oluşan ürün pik akımlarında da artış gözlenmiştir.

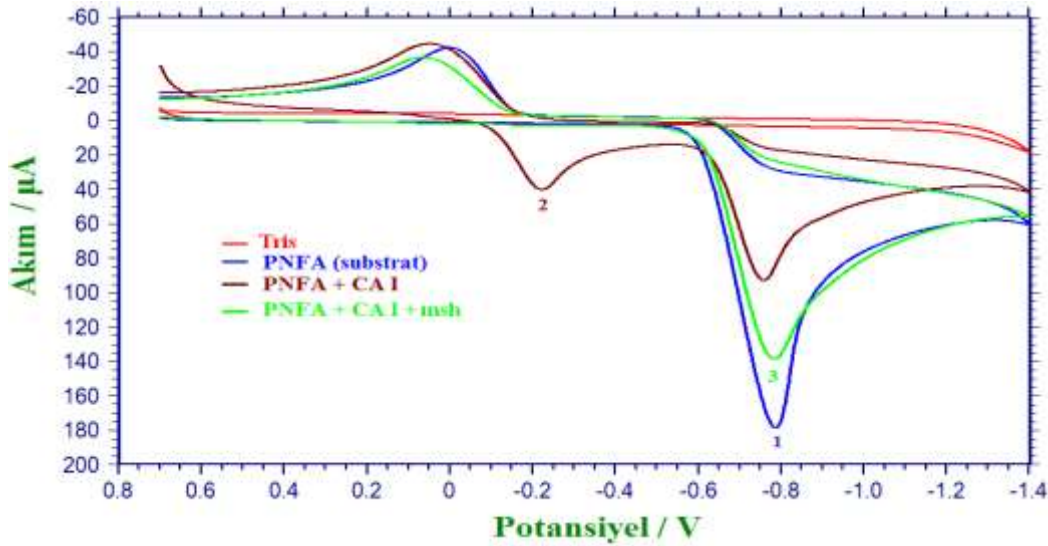


Şekil 5.53. GC elektrot ile pH 7,4 Tris tamponu ortamında 5 μL CA I varlığında PNFA (25, 50, 100, 150, 200 ve 250 μL) ilavesiyle elde edilen dönüşümlü voltamogramlar

5.4.5. Enzim üzerine inhibitör derişimi etkisi

Enzim ile substratın etkileşimi ile oluşan ürünün piki üzerine (6. dakika sonunda) amin, ligand ve komplekslerin farklı derişimlerdeki (1×10^{-7} - 1×10^{-5} M) etkileri diferansiyel puls voltametrisi (DPV) yöntemi kullanılarak incelenmiştir.

Şekil 5.54, CV yöntemi ile msh bileşiğinin belirli bir derişimde ürün piki üzerine etkisini göstermektedir. Voltamogramdan görüldüğü gibi substrat üzerine enzim ilavesiyle oluşan ürün pik akımı (2), 1×10^{-4} M msh inhibitörü varlığında oldukça azalmıştır. Enzimin etkisini kaybetmesiyle birlikte substrat pik akımında (3) yeniden bir artış olmuştur. Ancak bu artış ortamda sadece substrat varken elde edilen pik akımından (1) daha düşüktür.

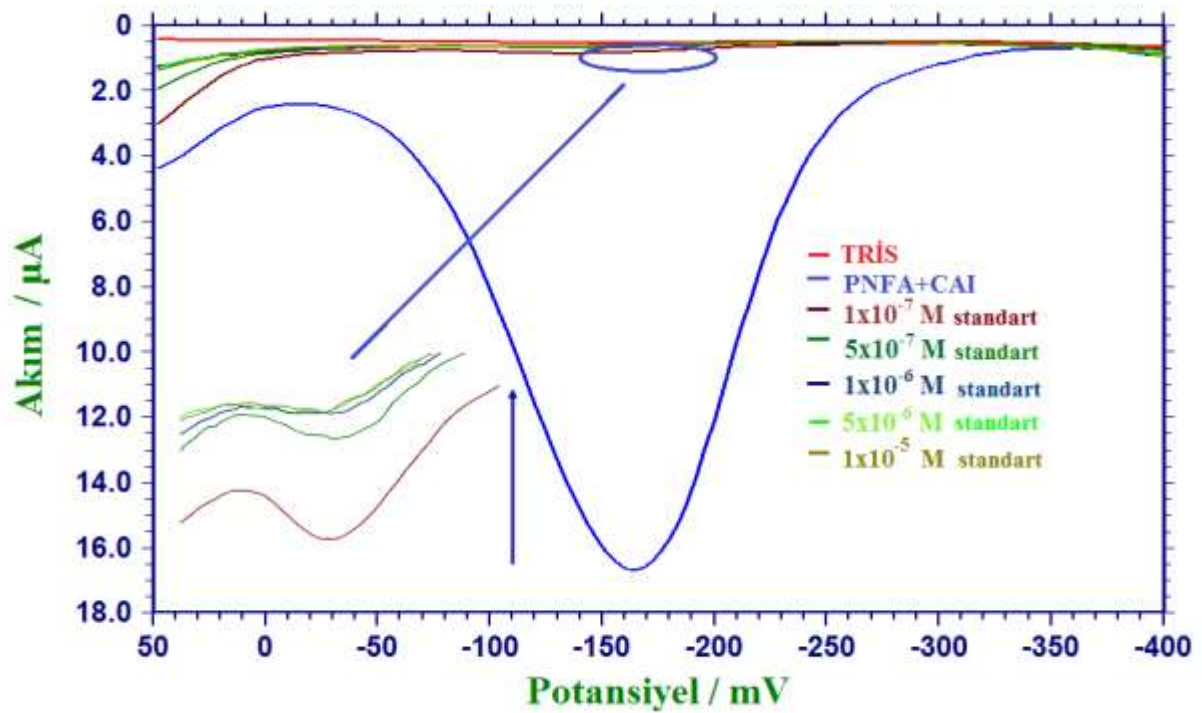


Şekil 5.54. GC elektrot ile pH 7,4 Tris tamponunda PNFA, PNFA + CA I ve PNFA + CA I +msh (1×10^{-4} M) için elde edilen dönüşümlü voltamogramlar (Ag/AgCl elektroda karşı)

İnhibitör derişimi arttıkça (Şekil 5.55) ürün pikinde gözlenen azalma, substrat-enzim etkileşiminin azaldığını yani hCA I inhibisyonunun arttığını göstermiştir. İnhibitörler düşük derişimlerde bile yüksek inhibisyon özelliği göstermiştir. Standart madde ile kıyaslandığında bileşikler içerisinde 5-BrsalmshCu daha iyi inhibitör özelliği gösterdiği gözlenmiştir [66].

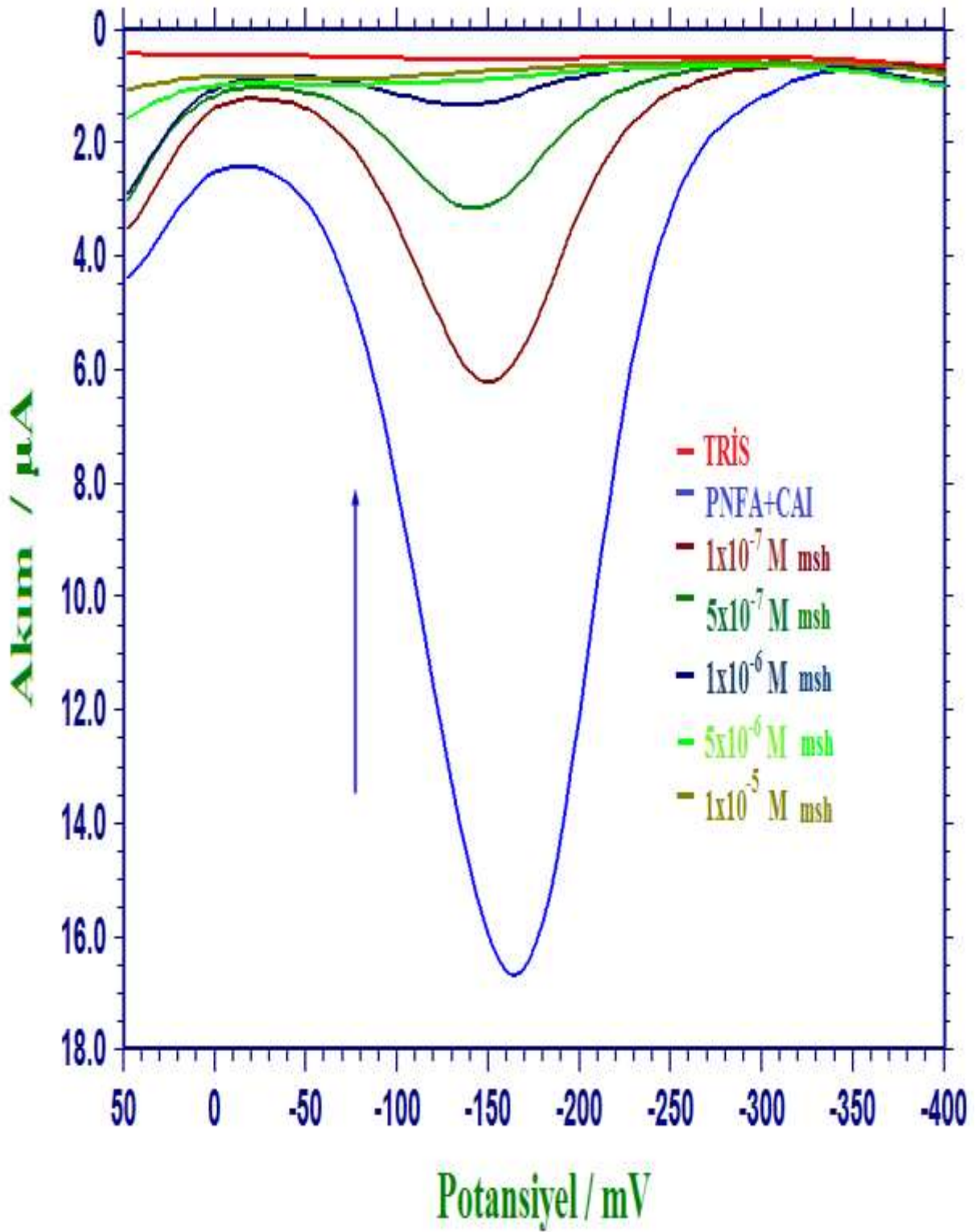
Çizelge 5.14. Amin, ligand, Cu(II) kompleksleri ve standartın farklı derişimlerinin ilavesiyle ürün pik akımlarındaki değışimler

İnhibitör Derişimleri	Ürün pik akımları (A)					
	-	1×10^{-7} M	5×10^{-7} M	1×10^{-6} M	5×10^{-6} M	1×10^{-5} M
msh	$1,503 \times 10^{-5}$	$5,218 \times 10^{-6}$	$2,309 \times 10^{-6}$	$3,522 \times 10^{-7}$	$8,647 \times 10^{-8}$	$6,430 \times 10^{-8}$
3,5-tbsalmsh	$1,482 \times 10^{-5}$	$4,089 \times 10^{-6}$	$1,181 \times 10^{-6}$	$1,622 \times 10^{-7}$	$7,519 \times 10^{-8}$	$6,367 \times 10^{-8}$
3-tbsalmsh	$1,645 \times 10^{-5}$	$4,004 \times 10^{-6}$	$7,121 \times 10^{-7}$	$1,128 \times 10^{-7}$	$6,971 \times 10^{-8}$	$5,891 \times 10^{-8}$
5-Brsalmsh	$1,597 \times 10^{-5}$	$3,335 \times 10^{-6}$	$2,864 \times 10^{-7}$	$8,449 \times 10^{-8}$	$6,066 \times 10^{-8}$	$4,962 \times 10^{-8}$
3,5-tbsalmshCu	$1,645 \times 10^{-5}$	$3,348 \times 10^{-6}$	$5,642 \times 10^{-7}$	$1,092 \times 10^{-7}$	$6,647 \times 10^{-8}$	$5,123 \times 10^{-8}$
3-tbsalmshCu	$1,588 \times 10^{-5}$	$2,587 \times 10^{-6}$	$9,362 \times 10^{-8}$	$8,137 \times 10^{-8}$	$5,480 \times 10^{-8}$	$3,985 \times 10^{-8}$
5-BrsalmshCu	$1,588 \times 10^{-5}$	$1,504 \times 10^{-7}$	$9,028 \times 10^{-7}$	$5,905 \times 10^{-8}$	$5,422 \times 10^{-8}$	$2,423 \times 10^{-8}$
Standart (AAZ)	$1,506 \times 10^{-5}$	$1,375 \times 10^{-7}$	$8,886 \times 10^{-8}$	$5,722 \times 10^{-8}$	$3,898 \times 10^{-8}$	$2,160 \times 10^{-8}$



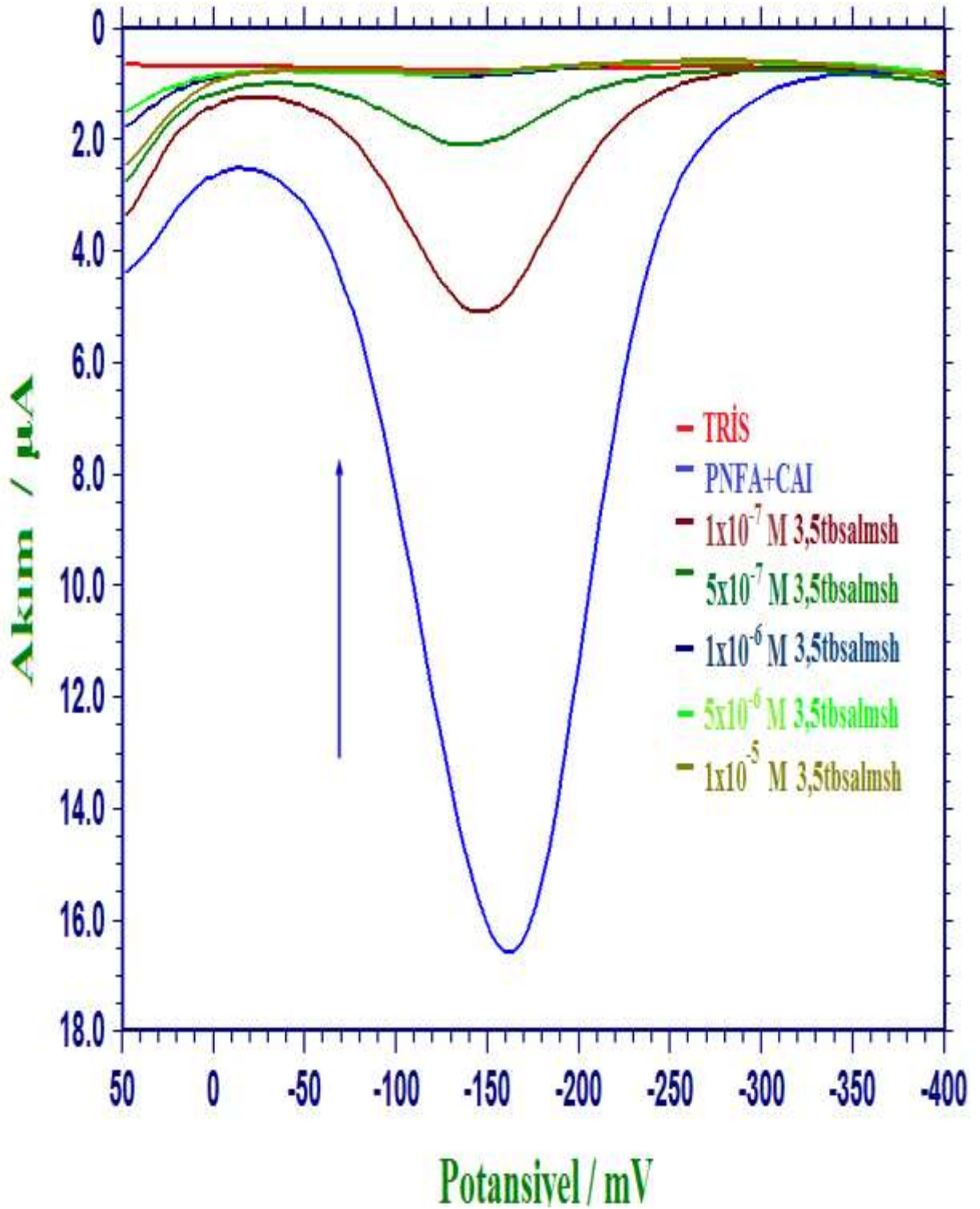
(a)

Şekil 5.55. GC elektrodu ile (a) standart (AAZ) (b) msh (c) 3,5-tbsalmsh (d) 3-tbsalmsh (e) 5-Brsalmsh (f) 3,5-tbsalmshCu (g) 3-tbsalmshCu (h) 5-BrsalmshCu inhibitörlerinin farklı derişimlerinde ürünün indirgenme piklerine ait diferansiyel puls voltamogramları (DPV). (pH 7,4 Tris tamponu ortamında 3×10^{-3} PNFA, 5 μ L CA I ve inhibitörler (1×10^{-7} , 5×10^{-7} , 1×10^{-6} , 5×10^{-6} ve 1×10^{-5} M) varlığında)



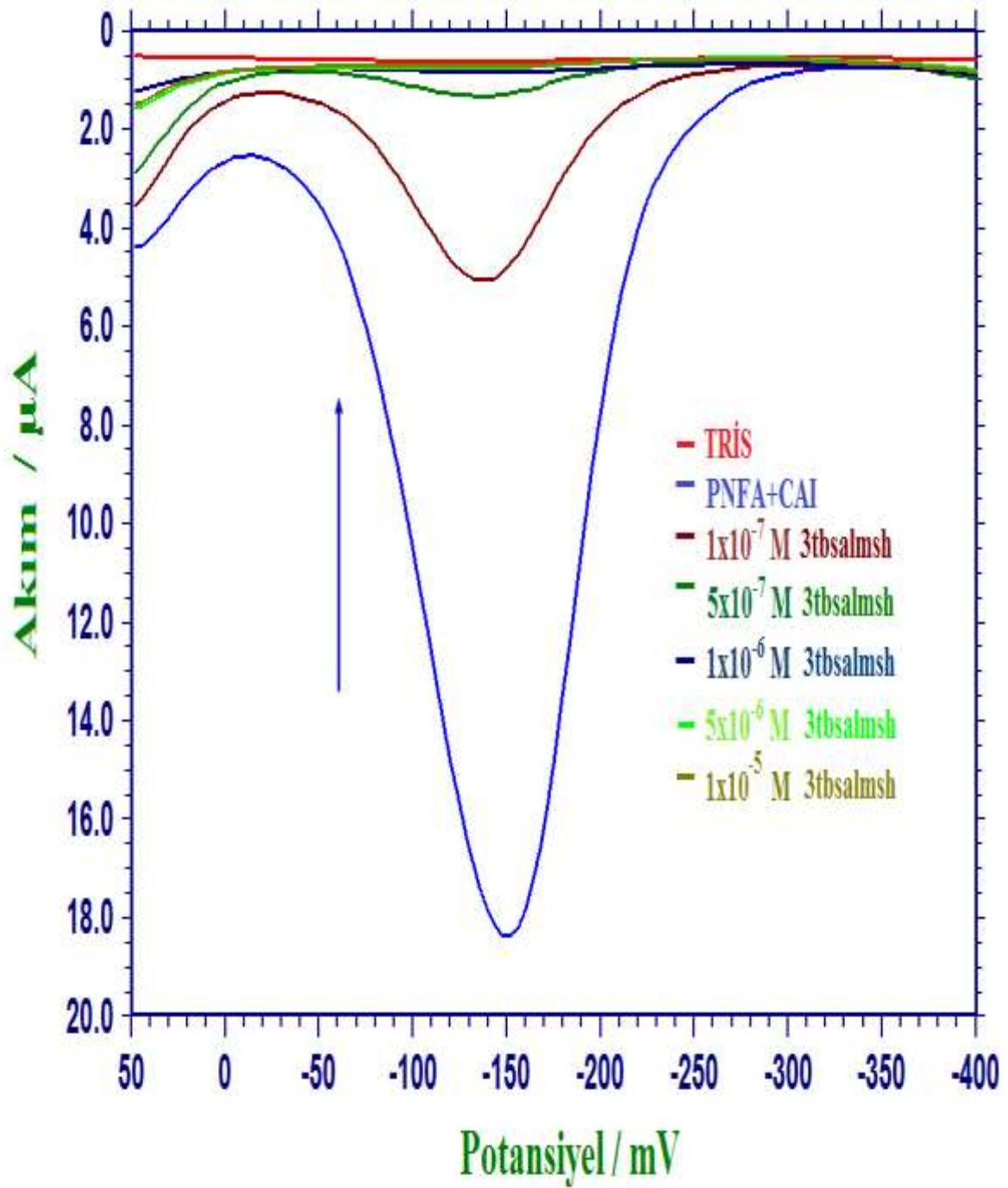
(b)

Şekil 5.55. (devam). GC elektrodu ile (a) standart (AAZ) (b) msh (c) 3,5-tbsalmsh (d) 3-tbsalmsh (e) 5-Brsalmsh (f) 3,5-tbsalmshCu (g) 3-tbsalmshCu (h) 5-BrsalmshCu inhibitörlerinin farklı derişimlerinde ürünün indirgenme piklerine ait diferansiyel puls voltamogramları (DPV). (pH 7,4 Tris tamponu ortamında 3×10^{-3} PNFA, 5 μL CA I ve inhibitörler (1×10^{-7} , 5×10^{-7} , 1×10^{-6} , 5×10^{-6} ve 1×10^{-5} M) varlığında)



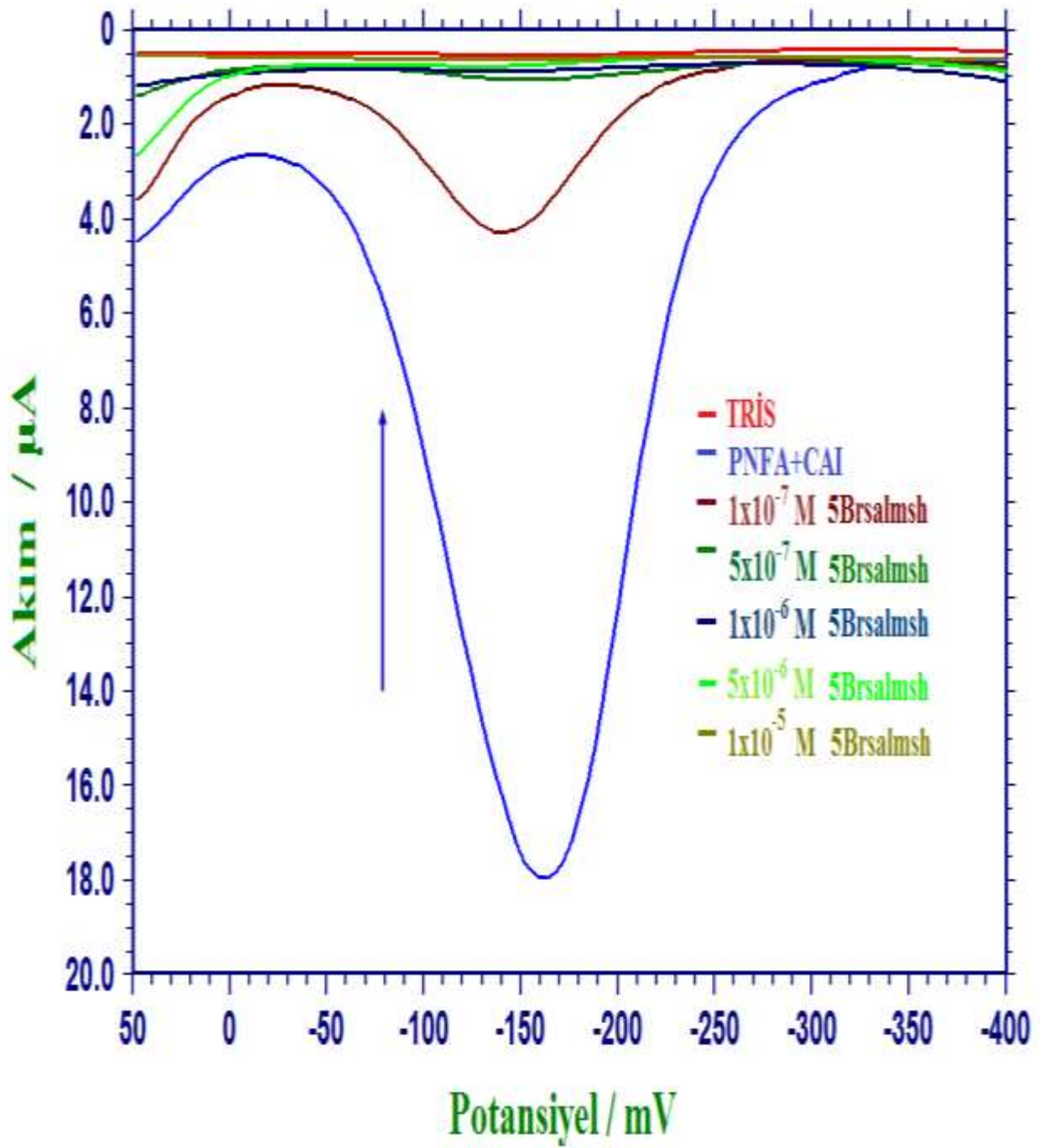
(c)

Şekil 5.55. (devam). GC elektrodu ile (a) standart (AAZ) (b) msh (c) 3,5-tbsalmsh (d) 3-tbsalmsh (e) 5-Brsalmsh (f) 3,5-tbsalmshCu (g) 3-tbsalmshCu (h) 5-BrsalmshCu inhibitörlerinin farklı derişimlerinde ürünün indirgenme piklerine ait diferansiyel puls voltamogramları (DPV). (pH 7,4 Tris tamponu ortamında 3×10^{-3} PNFA, $5 \mu\text{L}$ CA I ve inhibitörler (1×10^{-7} , 5×10^{-7} , 1×10^{-6} , 5×10^{-6} ve 1×10^{-5} M) varlığında)



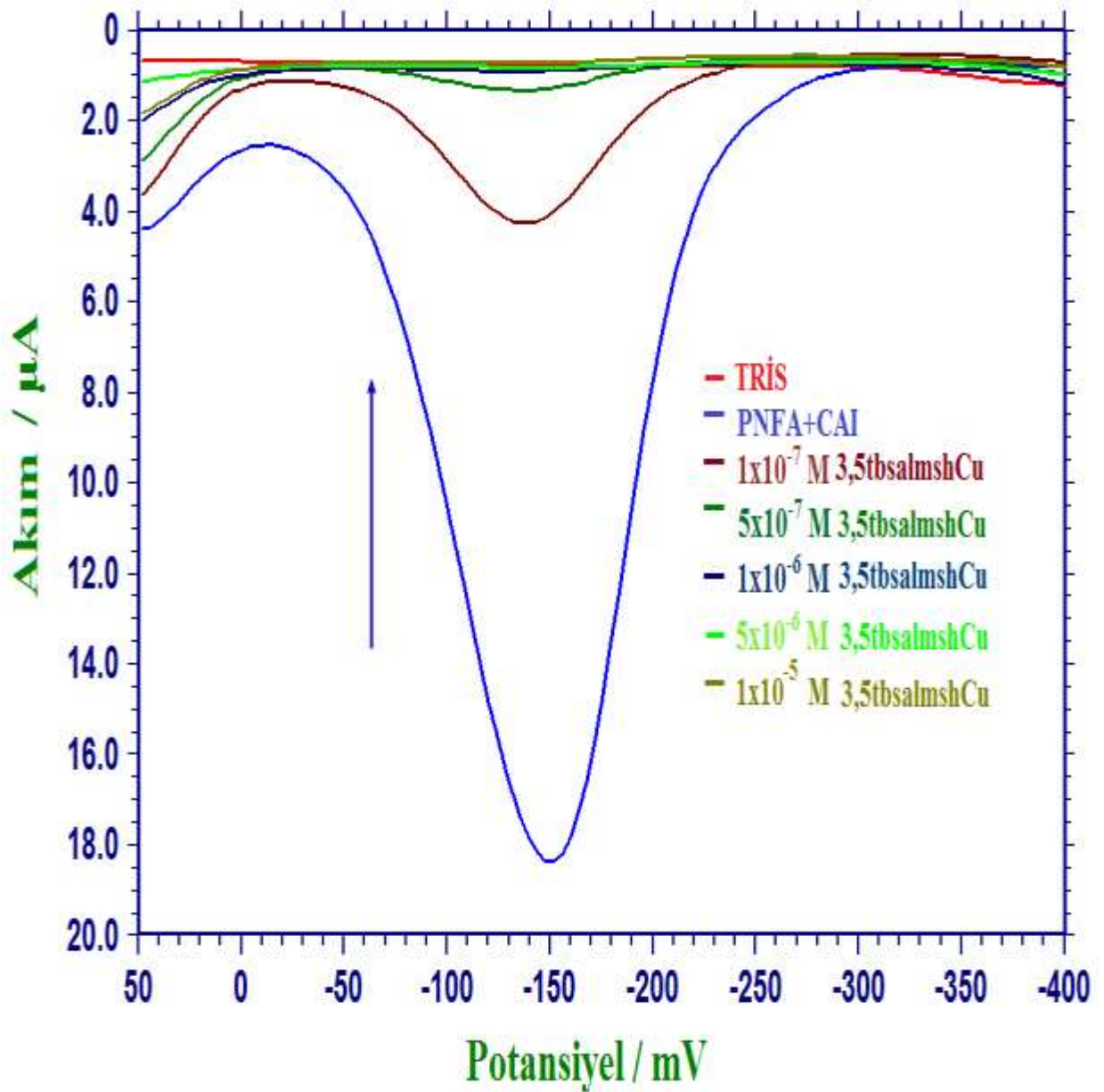
(d)

Şekil 5.55. (devam). GC elektrodu ile (a) standart (AAZ) (b) msh (c) 3,5-tbsalmsh (d) 3-tbsalmsh (e) 5-Brsalmsh (f) 3,5-tbsalmshCu (g) 3-tbsalmshCu (h) 5-BrsalmshCu inhibitörlerinin farklı derişimlerinde ürünün indirgenme piklerine ait diferansiyel puls voltamogramları (DPV). (pH 7,4 Tris tamponu ortamında 3×10^{-3} PNFA, 5 μ L CA I ve inhibitörler (1×10^{-7} , 5×10^{-7} , 1×10^{-6} , 5×10^{-6} ve 1×10^{-5} M) varlığında)



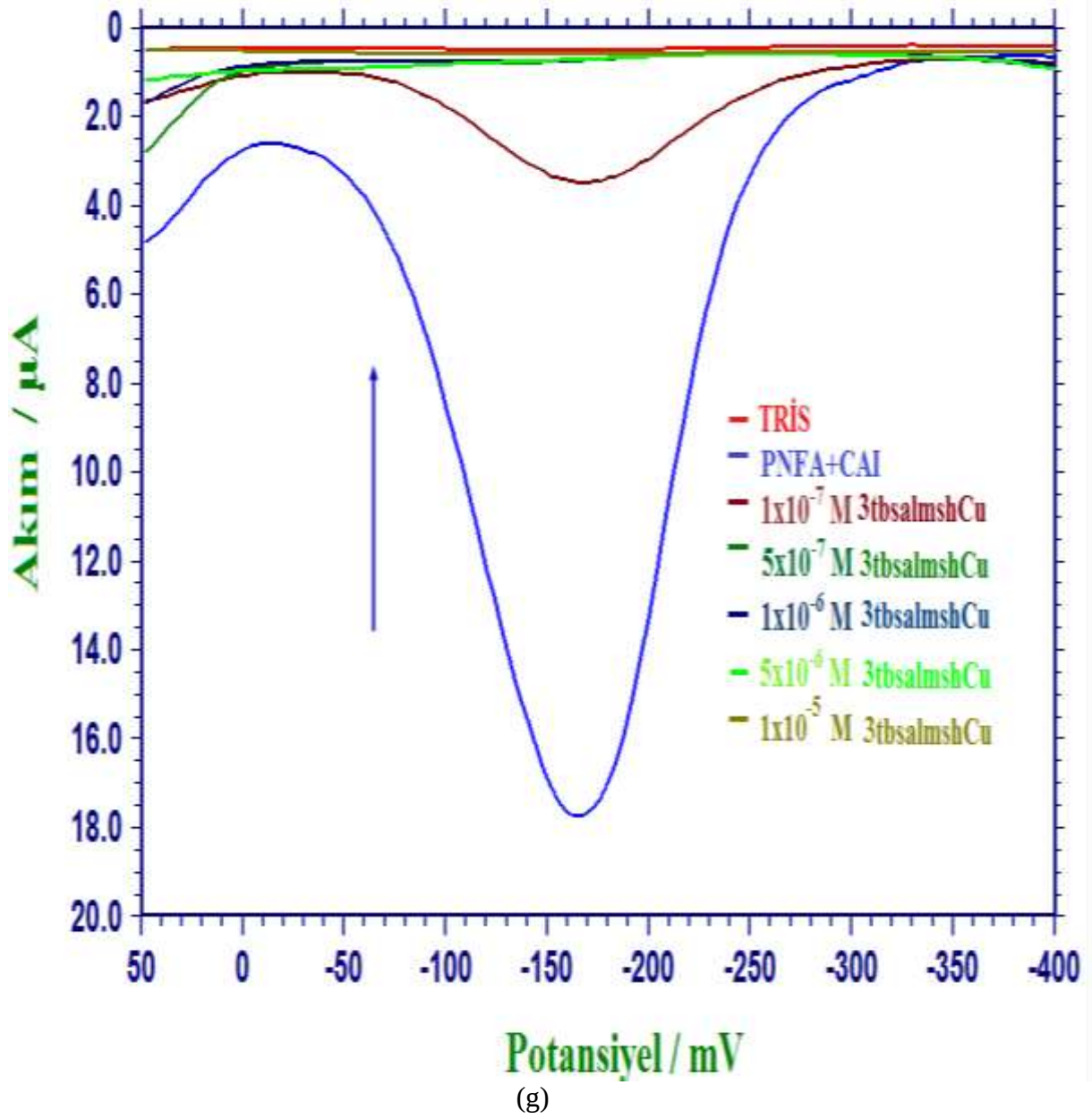
(e)

Şekil 5.55. (devam). GC elektrodu ile (a) standart (AAZ) (b) msh (c) 3,5-tbsalmsh (d) 3-tbsalmsh (e) 5-Brsalmsh (f) 3,5-tbsalmshCu (g) 3-tbsalmshCu (h) 5-BrsalmshCu inhibitörlerinin farklı derişimlerinde ürünün indirgenme piklerine ait diferansiyel puls voltamogramları (DPV). (pH 7,4 Tris tamponu ortamında 3x10⁻³ PNFA, 5 μL CA I ve inhibitörler (1x10⁻⁷, 5x10⁻⁷, 1x10⁻⁶, 5x10⁻⁶ ve 1x10⁻⁵ M) varlığında)

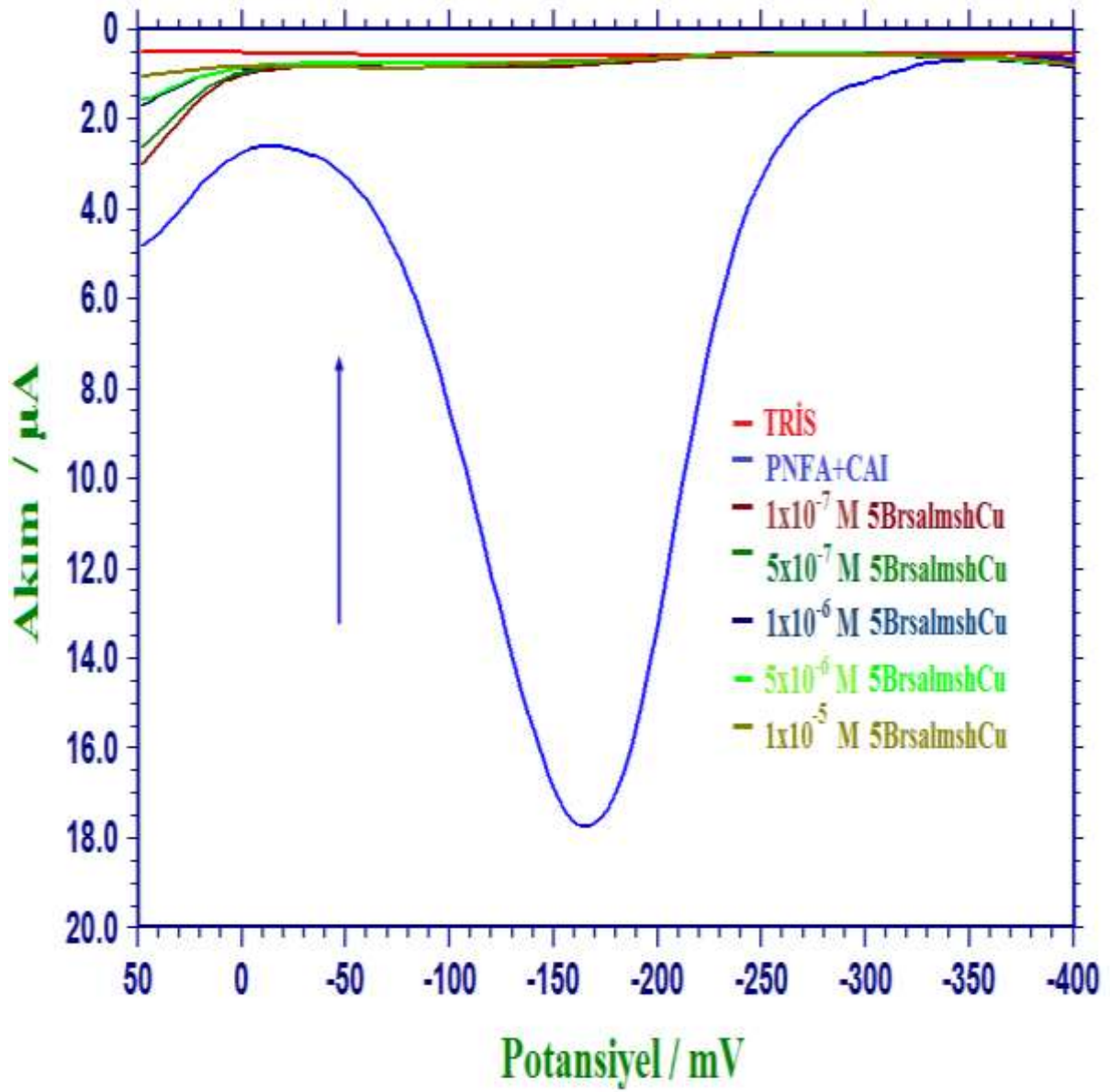


(f)

Şekil 5.55. (devam). GC elektrodu ile (a) standart (AAZ) (b) msh (c) 3,5-tbsalmsh (d) 3-tbsalmsh (e) 5-Brsalmsh (f) 3,5-tbsalmshCu (g) 3-tbsalmshCu (h) 5-BrsalmshCu inhibitörlerinin farklı derişimlerinde ürünün indirgenme piklerine ait diferansiyel puls voltamogramları (DPV). (pH 7,4 Tris tamponu ortamında 3×10^{-3} PNFA, $5 \mu\text{L}$ CA I ve inhibitörler (1×10^{-7} , 5×10^{-7} , 1×10^{-6} , 5×10^{-6} ve 1×10^{-5} M) varlığında)



Şekil 5.55. (devam). GC elektrodu ile (a) standart (AAZ) (b) msh (c) 3,5-tbsalmsh (d) 3-tbsalmsh (e) 5-Brsalmsh (f) 3,5-tbsalmshCu (g) 3-tbsalmshCu (h) 5-BrsalmshCu inhibitörlerinin farklı derişimlerinde ürünün indirgenme piklerine ait diferansiyel puls voltamogramları (DPV). (pH 7,4 Tris tamponu ortamında 3×10^{-3} PNFA, $5 \mu\text{L}$ CA I ve inhibitörler (1×10^{-7} , 5×10^{-7} , 1×10^{-6} , 5×10^{-6} ve 1×10^{-5} M) varlığında)

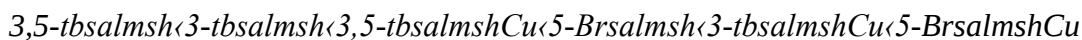


Şekil 5.55. (devam). GC elektrodu ile (a) standart (AAZ) (b) msh (c) 3,5-tbsalmsh (d) 3-tbsalmsh (e) 5-Brsalmsh (f) 3,5-tbsalmshCu (g) 3-tbsalmshCu (h) 5-BrsalmshCu inhibitörlerinin farklı derişimlerinde ürünün indirgenme piklerine ait diferansiyel puls voltamogramları (DPV). (pH 7,4 Tris tamponu ortamında 3×10^{-3} PNFA, 5 μ L CA I ve inhibitörler (1×10^{-7} , 5×10^{-7} , 1×10^{-6} , 5×10^{-6} ve 1×10^{-5} M) varlığında)

6. SONUÇLAR

Bu çalışmada, yeni aromatik sülfonilhidrazon ligandlarının ve Cu (II) komplekslerinin Karbonik anhidraz I izoenzimi (hCA I) üzerindeki inhibisyon kinetiği spektrofotometrik yöntemle (400 nm’de) incelenmiştir. İnhibisyon parametrelerinin (IC_{50} ve K_i) belirlenmesinde % aktivite-derişim grafiği, Lineweaver-Burk yöntemiyle elde edilen K_m grafiği ve Cheng-Prusoff eşitliği kullanılmıştır. Ayrıca, bileşiklerin hCAI üzerine inhibisyon aktivitesi dönüşümlü voltametri (CV) ve diferansiyel puls voltametri (DPV) yöntemleri ile elektrokimyasal olarak da incelenmiştir. Referans madde olarak bir klinik ilaç olan Asetazolamid kullanılmıştır.

Enzim inhibisyon sonuçlarına göre, aromatik sülfonilhidrazonlar ve Cu(II) kompleksleri içinde Br sübstitue bileşiklerin karbonik anhidraz I enzim aktivitesi daha yüksektir. Brom gibi elektron çekici grubun varlığı, sülfonamid protonunu daha da asidikleştirmekte ve ligandın enzimle etkileşimini dolayısıyla da enzim inhibisyonu artırmakta, CH_3 gibi elektron sağlayan grupların varlığı ise enzim inhibisyonunu azaltmaktadır [64]. 2 tane tersiyer bütıl grubu içeren 3,5-tbsalmsh bileşiğindeki CH_3 gruplarının elektron sağlama özelliği daha fazla olduğundan enzim inhibisyonu en düşüktür [65]. Cu(II) komplekslerinin hCA I izoenzimine karşı inhibisyon etkisi ligandlarından daha yüksektir. Metal kompleksleri sulu çözeltide çok kararlı değildir, kolaylıkla ayrışarak metal katyonu ve sülfonamidat anyonu oluşturur. Her iki iyonun enzimin çeşitli aktif uçlarına bağlanması komplekslerin neden ligandlarından daha kuvvetli enzim inhibisyonu gösterdiğini açıklamaktadır. Sonuç olarak, sentezlenen bileşiklerin inhibisyon artışı şöyledir;



Bileşiklerin hCA I inhibisyon aktivitesi standart madde (asetazolamid) ile kıyaslandığında Cu(II) komplekslerinin özellikle de 5-BrsalmshCu’ ın iyi inhibitör özelliğine sahip olduğu söylenebilir.

KAYNAKLAR

1. Işık, K. ve Ozdemir-Kocak, F. (2006). Antimicrobial activity screening of some sulfonamide derivatives on some *Nocardia* species and isolates. *Microbiological Research*, 10; 1016.
2. Drance, J.E., Neufeld, A.H. (1984). Glaucoma: Applied Pharmacology in Medical Treatment. *Grune&Stratton, Orlando*, 17; 395–428.
3. Demirci, F. (Eds.) (2010). *Pratik İlaç Bilgisi ve İlaç Şekilleri*, T.C. Anadolu Üniversitesi yayını; no. 2050. Açıköğretim Fakültesi yayını; no. 1084, Eskişehir, Uzaktan Eğitim Programları: Eczane Hizmetleri Önlisans Programı – Önlisans Programı.
4. Parlakgümüş, G. (2014). *Furan Sülfonilhidrazonların ve Cu(II) Komplekslerinin Sentezi, Yapılarının Aydınlatılması, Karbonik Anhidraz I İzoenzimi (hCA I) Üzerine İnhibisyon Etkisinin İncelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi.
5. Safrazbekyan, R.R., Sukasyan, R.S. and Arzanunts, E.M. (1979). Importance of the Initial Activity of Monoamine Oxidase in the Development of the Activating and Inhibiting Effect of Indiolyl Hydrazides. *Vopr. Med. Khim.*, 25(3); 311- 14.
6. Press, N., Chavez, V. M., Ticona, E., Calderon, M., Apolinario, I.S., Culotta, A., Arevalo, J. and Gilman, R. H. (2001). Screening for sexually transmitted diseases in human immunodeficiency virus-positive patients in Peru reveals an absence of *Chlamydia trachomatis* and identifies *Trichomonas vaginalis* in pharyngeal specimens, *Clinical Infectious Diseases*, 32; 808.
7. Dökmeci İ. (1985). *Farmakoloji*. Beta Basım ve Yayım, 2. baskı, 1136s, İstanbul.
8. Carter, M.J. (1972). Carbonic Anhydrase: Isoenzymes, Properties, Distribution and Functional Significance. *Biol. Rev.*, 42; 465-513.
9. Parkkila S, Parkkila A-K , Juvonen T, Rajaniemi H (1994). Distribution of the carbonic anhydrase isoenzymes I,II,and VI in the human alimentary. *Gut*,646-650.
10. Pocker, Y., and Joan, S.Y. (1973). Plant Carbonic Anhydrase. Properties and Carbondioxide Hydration Kinetics. *Biochem*, 12; 5127-5134.
11. Tobin, A.J. (1970). Carbonic Anhydrase From Parsley Leaves. *J. Biol. Chem.*, 245;2656- 2666.
12. Botre, F., Gros, G., and Storey, B.T. (1991). Carbonic Anhydrase From Biochemistry and Genetics To Physiology and Clinical Medicine. *VCH Publisher Inc*. New York, 95-110.
13. Carter, M.J. (1972). Carbonic Anhydrase: Isoenzymes, Properties, Distribution and Functional Significance. *Biol. Rev.*, 42; 465-513.

14. İnternet: Goodsell, D. S., and Dutta, S.,. PDP Molecule of the Month: Carbonic Anhydrase. www.rcsb.org/pdp/molecules/pdp49_1.html adresinden 25 Ocak 2015’de alınmıştır.
15. Maren, T.H. (2000). Carbonic anhydrase inhibition in ophthalmology: aqueous humor secretion and the development of sulfonamide inhibitors., in: W.R. Chegwidden, N.D. Carter, Y.H. Edwards (Eds.), *The Carbonic Anhydrases*, Birkhauser Verlag: Basel, *New Horizons*, 425–436.
16. Scozzafava, A., Mastrolorenzo, A. and Spuran, C.T. (2004). Modulation of carbonic anhydrase activity and its applications in therapy. *Expert Opin. Ther. Pat.* 14, 667–702.
17. Schering, A.G. (1968). Preparation of New Carboxylic Hydrazides and Seed Treatment. *Chem. Abstr.*, 68; 59334u.
18. Badger, M. R., and Price, G. D. (1994). The Role of Carbonic Anhydrase in Photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 45; 369-392.
19. Abbate, F., Coetzee, A., Casini, A., Ciattini, S., Scozzafava, A., and Supuran, C. T. (2004). Carbonic Anhydrase Inhibitors: X-Ray Crystallographic Structure Of The Adduct Of Human Isozyme II With The Antipsychotic Drug Sulpiride. *Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters*, 14; 337-341.
20. Özçetin, H. (2001). *Göz Tansiyonu ve Glokomlar*, İzmir Tıp Kitabevi, İzmir, 127.
21. Lbiz, F. (2014). *Farklı Alkil Sülfonil Hidrazitlerle Ag(I) Komplekslerinin Sentezi, Yapılarının Aydınlatılması, Antibakteriyel ve Karbonik Anhidraz Enzim Üzerine Aktiviteleri*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi.
22. Strahlman, E., Tipping, R. and Vogel, R. (1995,). *Arch Ophthalmol* A double-masked, randomized 1-year study comparing dorzolamide (Trusopt), *timolol*, and *betaxolol*. 113(8); 1009-16.
23. Rosenberg, L., Krupin, T., Tang, L., Hong, P.H. and Ruderman, J.M., (1998). *Ophthalmology, Combination of systemic acetazolamide and topical dorzolamide in reducing intraocular pressure and aqueous humor formation*, 105(1); 88-92.
24. Silver, LH. and Amj, O. (1998). Clinical efficacy and safety of brinzolamide (Azopt), *a new topical carbonic anhydrase inhibitor for primary open-angle glaucoma and ocular hypertension*, 126; 400–8.
25. Dökmeci, İ. (1992). *Farmakoloji*. Saray Kitabevleri, İstanbul, 925.
26. Orağlı, K. M. (2001). *Klinik Oftamoloji*. Nobel Tıp Kitap Evi, İstanbul, 65.
27. Melina, M. and Vero’nica B. (2008). Graciela Borthagaray, Javier Ellena, Otaciro R. Nascimento, Clarice Q. Leite, Alzir A. Batista, Mari’ H. Torre, *Journal of Inorganic Biochemistry* (102); 285–292.
28. Luiz-Everson, d. S. and Paulo, T. de S.. Jr., (2008). Antonio Carlos Joussef, Clóvis Piovezan and Ademir Neves, *Quim. Nova*, 31(5); 1161-1164.

29. Güzel, Ö., Alessio, I., Andrea, S., Aydın, S., Mika, H., Claudiu, T., Supuran, S. and Parkkila, B. (2008). *Medicinal Chemistry* (16); 9113–9120.
30. Kremer, E., Facchin, G., Estevez, E., Albores, P., Baran, E.J., Ellena, J. and Torre, M.H. (2006). *Journal of Inorganic Biochemistry* (100); 1167–1175.
31. Bulut, I. (2009). *Turk J Chem* (33); 507 – 520.
32. Alagesan, M, Bhuvanesh, N.S., Dharmaraj, N. and Dalton, T. (2013). *Potentially cytotoxic new copper(II) hydrazone complexes: synthesis, crystal structure and biological properties*, 42(19); 7210-23.
33. Wang, D. and Lippard, S. J. (2005). *Nat. Rev. Drug Discovery*, (4); 307–320.
34. Sangamitra, N. J. M., Adwankar, M. K., Juvekar, A. S., Khurajjam, V., Wycliff C. and Samuelson, A. G. (2011). *Indian J. Chem., Sect. A: Inorg., Bio-inorg., Phys., Theor. Anal. Chem.*, 50, 465–473.
35. Maheshwari, P. U., Ster, M. V. D., Smulders, S., Barendes, S. ven Wezel, G., Massera, C., Roy, S., Dulk, H. D., Gamez, P. and Reedjik, J. (2008). *Inorg. Chem.*, (47); 3719–3727.
36. Humphreys, K. J., Karlin, K. D. and Rokita, S. E. Am., J. (2002). *Chem. Soc.*, (124); 8055.
37. Dhara, K., Ratha, J., Manassero, M., Wang, X.-Y., Gao, S. and Banerjee, P. (2007). *J. Inorg. Biochem.*, (101); 95.
38. Krishnamoorthy, P., Sathyadevi, P., Butorac, R. R., Cowley, A. H., Bhuvanesh, N. S. P. and Dharmaraj, N. (2012). *Dalton Trans*, (41); 4423–4436.
39. Sathyadevi, P., Krishnamoorthy, P., Butorac, R. R., Cowley, A. H. and Dharmaraj, N. (2012). *Metallomics*, (4); 498–511.
40. Krishnamoorthy, P., Sathyadevi, P., Butorac, R. R., Cowley, A. H., Bhuvanesh, N. S. P. and Dharmaraj, N. (2012). *Dalton Trans*, (41); 6842–6854.
41. Sathyadevi, P., Krishnamoorthy, P., Butorac, R. R., Cowley, A. H., Bhuvanesh, N. S. P. and Dharmaraj, N. (2011). *Dalton Trans*, (40); 9690–9702.
42. Krishnamoorthy, P., Sathyadevi, P., Butorac, R. R., Cowley, A. H., Bhuvanesh, N. S. P. and Dharmaraj, N. (2011). *Eur. J. Med. Chem.*, (46); 3376–3387.
43. Alagesan, M., Bhuvanesh, N.S., Dharmaraj, N. and Dalton, T. (2012) “*Potentially cytotoxic new*.”
44. Copper(II) hydrazone complexes: synthesis, (2013). *Crystal structure and biological properties*. 42(19); 7210-23.

45. Borrás, J., Alzuet, G., Ferrer, S. and Supuran, C. T. (2004). Metal complexes of heterocyclic sulfonamides as carbonic anhydrase inhibitors. In *Carbonic Anhydrase—Its Inhibitors and Activators*; Supuran, C. T., Scozzafava, A., Conway, J., Eds.; CRC Press: Boca Raton, 183–207.
46. Alzuet, G., Casanova, J., Borrás, J., García-Granda, S., Gutiérrez-Rodríguez, A. and Supuran, C. T. (1995). *Inorg. Chim. Acta* 1998, 273, 334. C. T. *Metal Based Drugs*, (2); 331.
47. Supuran, C. T., Mincione, F., Scozzafava, A., Briganti, F., Mincione, G., Ilies, M. A. (1998). *Eur. J. Med. Chem.*, (33); 247.
48. Marouan, R., Jean-Louis, M., Jean-Yves, W., Andrea, S., Alessio, I. and Claudiu T. (2008). Supuran, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* (18); 836–841.
49. Ilies, M.A., Vullo, D., Pastorek, J., Scozzafava, A., Ilies, M., Caproiu, M.T., Pastorekova, S. and Supuran, C.T. J. (2003). *Med.Chem.*, (46); 2187-2196.
50. Fabrizio, B., Silvia, T., Giovanna, M., Francesco, M., Luca, M. and Claudiu, T. (2000). Supuran, *J Enzyme Inhibition*, (15); 185-200.
51. Scozzafava, A., Owa, T., Mastrolorenzo, A. and Supuran, C.T, (2003). *Curr. Med. Chem.* (10); 925–953.
52. Supuran, C.T. and Scozzafava, A. (2002). *Exp. Opin. Ther.Patents* (12); 217–242.
53. Mahmood-Ul-Hassan, Z., Chohan, H., Andrea, S. and Claudiu T. (2004). Supuran, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, June 19(3); 263–267.
54. Dodoff, N., Ozdemir, U., Karacan, N., Georgieva, M.C., Konstantinov, S.M. and Stefanova, M.E. . (1999). Schiff bases of methanesulfonylhydrazine. Synthesis, spectroscopic characterization, conformational analysis, and biological activity, *J. Chem. Sci.*, 54 (12); 1553-1562.
55. Özdemir, Ü., Karacan, N., Sanlı-Sentürk O., Sert, S. ve Ugur, F. (2003). Photochemical Reactions of Metal Carbonyls [M(CO)₆ (M=Cr, Mo,W), Re(CO)₅Br, Mn(CO)₃Cp] with 2- hydroxyacetophenonemethanesulfonylhydrazone, *Transition Metal Chemistry*, (28); 443-446.
56. Özdemir, Ü., Karacan, N., Sanlı-Sentürk, O., Sert, S. ve Ugur F. (2004). Synthesis and characterization of Metal Carbonyl Complexes of [M(CO)₆ (M= Cr,Mo and W),Re (CO)₅Br and Mn(CO)₃Cp] with Acetonemethanesulfonylhydrazone (amsh) and Methanesulfonylhydrazone (msh), *Synt. and React. in Inorg and Metal-Org. Chem.*, 34(5); 1057-1067.
57. Maren, T. H. (1967). Carbonic Anhydrase: Chemistry, Physiology and Inhibition, *Physiological Reviews*, (47); 595-781.
58. Arslan, O. (1994). *Glaucoma Hastalığı Tedavisinde Kullanılmaya Aday Karbonik Anhidraz İnhibitörlerinin Sentezi ve İnhibisyon Etkilerinin Araştırılması*, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

59. Pocker, Y., and Joan, S.Y. (1973). Plant Carbonic Anhydrase. Properties and Carbondioxide Hydration Kinetics. *Biochem*, (12); 5127-5134.
60. Özdemir, Ü. (2000). *Çeşitli Mangan ve Kobalt Komplekslerinin Sentezi, Yapılarının Aydınlatılması, ve Yeşil Bitkilerin Fotosentezindeki Katalizör Rollerinin İncelenmesi*. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi.
61. Lenco, A., Mealli, C., Paoli, P., Dodoff, N., Kantarcı, Z. ve Karacan, N. (1999). Structure and Vibrational Spectroscopy of Methanesulfonic Acid Hydrazide: an Experimental and Theoretical Study. *New J. Chem.*, (23); 1253.
62. Solomons, J.W., and Fryhle, C.B. (2002). *Organic Chemistry*. John Willey & Sons, USA, 1344.
63. Akitsu, T. and Einaga Y. (2005). Synthesis, crystal structures and electronic properties of a series of copper (II) complexes with 3,5-halogen-substituted Schiff base ligands and their solutions, *Polyhedron*, 24; 2933-2943.
64. Arslan, O. (1994). *Glaucoma Hastalığı Tedavisinde Kullanılmaya Aday Karbonik Anhidraz İnhibitörlerinin Sentezi ve İnhibisyon Etkilerinin Araştırılması*, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
65. Thu-Cuc, Ng T., Buu-Hoi, Ng. Ph. and Xuong, N. D., (1961). Potential Antifungal Benzhydrazides, *J. Med. Pharm. Chem.*, 3; 361.
66. Winum, J.Y., Pastorekova, S., Jakubickov, L., Montero, J.L., Scozzafava, A., Pastorek, J., Vullo, D., Innocentia, A. and Supurana, C.T. (2005). Carbonic anhydrase inhibitors: synthesis and inhibition of cytosolic/tumor-associated carbonic anhydrase isozymes I, II, and IX with bis-sulfamates, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, (15); 579–584.
67. Ul-Hassan, M., Chohan, Z.H. (2004). *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, (19); 263-267.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : Erdoğan Ebru
 Uyruğu : T.C.
 Medeni hali : Bekar
 Doğum tarihi ve yeri : 29.07.1988 Altındağ
 Cep Telefon : 0 (506) 301 08 02
 e-mail : ebruerdogdu@hotmail.com



Eğitim

Derece	Okul/Program	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi /Kimya Bölümü	2015
Lisans	Anadolu Üniversitesi İşletme Bölümü	*
Lisans	Gazi Üniversitesi /Kimya Bölümü	2011
Lise	Gazi Çiftliği Yabancı Dil Ağırlıklı Lise	2007

İş Deneyimi, Yıl

Çalıştığı Yer	Görev
2010 Ankara Su ve Kanalizasyon İdaresi (ASKİ)	Kimyager -Staj
2009 Türkiye Petrolleri Anonim Ortaklığı (TPAO)	Kimyager -Staj
2012 Ankara Keçiören Fatih Sultan Mehmet Lisesi	Kimya Öğretmeni- Staj

Yabancı Dili

İngilizce

Proje ve Bildiriler

- EBRU ERDOĞDU, Mustafa Bayrak (Danışman:Prof.Dr.A.Rehber TÜRKER)
Mangan ve Nikelin Nano ZrO_2/B_2O_3 kullanılarak zenginleştirilmesi ve FAAS İle Tayinleri, 2011-Lisans Araştırma Projesi,Gazi Üniversitesi 2011.
- EBRU ERDOĞDU, G., Parlakgümüş, A. Balaban Gündüzalp, U., Özdemir Özmen,N., Özbek, Yeni Arilsulfonil Hidrazon Türevlerinin Karbonik Anhidraz I enzimi Üzerine İnhibisyon Etkileri, 1. İlaç Kongresi, Antalya, 2013.

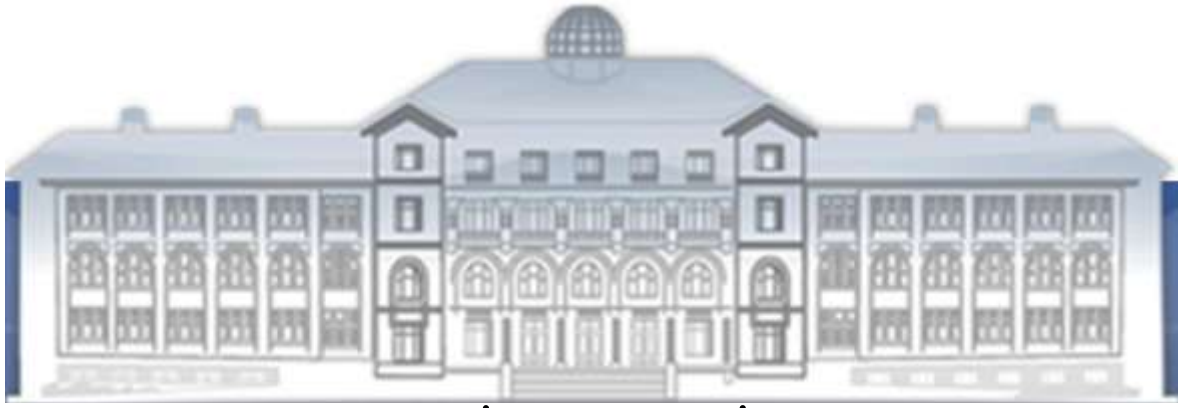
- G. Parlakgümüş, EBRU ERDOĞDU, A. Balaban Gündüzalp, Ü. Özdemir Özmen, N. Özbek ,Furan Türevi Bazı Sülfonilhidrazonların Sentezi, Yapılarının Aydınlatılması ve Karbonik Anhidraz I Enzimine Karşı İnhibisyonu, I. Ulusal Organik Kimya Kongresi, Sakarya Üniversitesi, 2013.
- A. Balaban Gündüzalp, EBRU ERDOĞDU, N. Özbek, Ü. Özdemir Özmen, Bazı Aromatik Sülfonilhidrazonların Cu(II) Komplekslerinin Karbonik Anhidraz I İzoenzimine Karşı İnhibisyon Aktivitesinin Spektrofotometrik Yöntemle Tayini, V.Ulusal Anorganik Kongresi, Mersin Üniversitesi, 2015.

Alınan Ödüller ve Belgeler

- ONUR BELGESİ 2008-2009 eğitim ve öğretim yılı (Gazi Üniversitesi)
- ONUR BELGESİ 2009-2010 eğitim ve öğretim yılı (Gazi Üniversitesi)
- TS EN ISO 9001 KALİTE YÖNETİM SİSTEMİ Temel Eğitimi (TSE)
- TS EN ISO 9001 KALİTE YÖNETİM SİSTEMİ İÇ KALİTE TETKİK Eğitimi (TSE)
- TS EN ISO 9001 KALİTE YÖNETİM SİSTEMİ Dokümantasyon Eğitimi (TSE)
- Liderlik Okulu DİKSİYON Uzmanlığı Sertifikası (Gazi Üniversitesi)
- KALİTE YÖNETİM SİSTEMİ Eğitim Programı Katılım Belgesi (TS EN ISO 9001 Kalite Yönetim Sistemi, TS EN ISO 14001 Çevre Yönetim Sistemi) (Prof. Dr. Ali Rehber TÜRKER)
- Gazi Üniversitesi Teorik ve Uygulamalı Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi Katılım Sertifikası (Gazi Üniversitesi)
- PEDAGOJİK FORMASYON Eğitimi Sertifikası Gazi Üniversitesi.-MEB (2 sene eğitim)
- KİMYAGERLER DERNEĞİ I. İLAÇ KİMYASI, ÜRETİMİ VE STANDARDİZASYONU Antalya Kongre Katılım Belgesi (Kimyagerler Derneği)
- MEB BİLGİSAYAR KULLANIMI kursu, kurs bitirme belgesi (3 Ay Eğitim)
- ONUR BELGESİ (Anadolu Üniversitesi İşletme Bölümü 2012-2013 yılı)
- YÜKSEK ONUR BELGESİ (Anadolu Üniversitesi İşletme Bölümü 2013-2014 Güz Dönemi)
- ONUR BELGESİ (Anadolu Üniversitesi İşletme Bölümü 2013-2014 Bahar Dönemi)
- ONUR BELGESİ (Anadolu Üniversitesi İşletme Bölümü 2014-2015 Güz Dönemi)

Hobiler

Buz pateni kaymak, puzzle çözmek, tiyatroya gitmek, kitap okumak, yüzmek.



GAZİ GELECEKTİR..