



**YENİ SENTEZLENEN BAZI BİS-ÜRE TÜREVİ SÜLFONAMİTLERİN
KOLİNESTERAZ, KARBONİK ANHİDRAZ ENZİM İNHİBİSYON
ETKİLERİNİN VE SİTOTOKSİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

Tuba TEKELİ

**DOKTORA TEZİ
KİMYA ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

OCAK 2024

ETİK BEYAN

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

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

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

Tuba
TEKELİ
24/01/2024

YENİ SENTEZLENEN BAZI BİS-ÜRE TÜREVİ SÜLFONAMİTLERİN
KOLİNESTERAZ, KARBONİK ANHİDRAZ ENZİM İNHİBİSYON ETKİLERİNİN
VE SİTOTOKSİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

(Doktora Tezi)

Tuba TEKELİ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2024

ÖZET

Yapısında sülfonamid bulunduran aromatik ve heterosiklik birçok bileşik, 19. yüzyılın sonlarından itibaren çalışılmış ve ilaç dizaynı için vazgeçilemez guruplardan biri olmuştur. Son yıllarda yapılan çalışmalar ile hücre membranında bulunan karbonik anhidraz izoenzimlerden CA IX ve CA XII birçok hipoksik kanser türevlerinde aktif hale gelerek miktarlarının önemli ölçüde arttığı gösterilmiş ve bu alanda yapılan çalışmalar büyük önem kazanmıştır. Bu yüzden CA IX ve CA XII izoenzimlerinin kanser hastalığı teşhis ve tedavisinde seçici olarak inhibe edilmesi enzim inhibisyonuna dayalı yeni ilaç tasarımı son derece önem arz etmektedir. Ayrıca sülfonamidler insanlar ve hayvanlarda bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılan ilk bileşiklerden biridir. Günümüzde yapısında sülfonamid bulunduran aromatik ve heterosiklik birçok ilaç halen kullanılmakta ve yeni ilaçlar için çalışmalar hala devam etmektedir. Özellikle enzim inhibisyonuna bağlı ilaç tasarımı bu grubun yerine geçebilecek alternatifler aranmakta, fakat gözle görülür bir sonuç elde edilememektedir. Karbonik anhidraz enzimi bunlardan bir tanesidir ve aktif bölgesinde bulunan ve enzimi koordine eden çinko (Zn) iyonuna inhibitörün bağlanmasını sağlayan grup yine sülfonamittir. Bu çalışmada benzen sülfonamitin üç farklı çeşidinden yola çıkılarak farklı süstitüe sahip bis-üre türevi bileşikler kimyasal türevlendirme (modifikasyon) yöntemi kullanılarak sentez edilmiş, sentezlerin karakterizasyonu yapılmıştır. Bileşiklerin tasarlandığı gibi sentezlendiği görülmüştür. Bileşiklerin CA(I,IX,XII) izoenzimleri ile asetilkolinesteraz(AChE) ve bütirilkolinesteraz(BChE) enzimleri üzerine inhibisyonu belirlenmiş, bazı bileşiklerin iyi bir inhibitör olduğu anlaşılmıştır. Asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirilkolinesteraz (BChE) enzimlerinin IC₅₀ ve Ki değerleri hesaplanarak inhibisyon mekanizması türleri belirlendi. Bulunan değerler standart madde olan donepezil ile karşılaştırıldı. Aynı zamanda akciğer, prostat ve meme kanser hücre hatlarında sitotoksik etkileri de tespit edilmiştir. Sülfonamidler sülfonamid antibiyotikler ve antibiyotik olmayan sülfonamidler olarak iki grupta toplanabilir. Bu nedenle sentezlenen sülfonamidler antimikrobiyal etkisini belirlemek için iki Gram (+) ve iki Gram (-) bakteri suşları ile test edilmişlerdir.

Bilim Kodu : 20104
Anahtar Kelimeler : Sülfonamid, karbonikanhidraz, asetilkolinesteraz (AChE),
bütirilkolinesteraz (BChE), inhibisyon, IC₅₀
Sayfa Adedi : 116
Danışman : Prof. Dr. Servet ÇETE
İkinci Danışman : Dr.Öğr. Üyesi Süleyman AKOCAK

INVESTIGATION OF THE CHOLINESTERASE, CARBONIC ANHYDRASE
ENZYME INHIBITION EFFECTS AND CYTOTOXIC PROPERTIES OF SOME NEWLY
SYNTHESIS BIS-UREA DERIVATIVE SULPHONAMIDES

(Ph.D. Thesis)

Tuba TEKELİ

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

January 2024

ABSTRACT

Many aromatic and heterocyclic compounds containing sulfonamides have been studied since the late 19th century and have become one of the indispensable groups for drug design. Recent studies have shown that CA IX and CA XII, which are carbonic anhydrase isoenzymes found in the cell membrane, are activated in many hypoxic cancer derivatives and their amounts are significantly increased and studies in this field have gained great importance. Therefore, selective inhibition of CA IX and CA XII isoenzymes in the diagnosis and treatment of cancer is of utmost importance in the design of new drugs based on enzyme inhibition. Sulfonamides were also one of the first compounds used in the treatment of bacterial infections in humans and animals. Today, many aromatic and heterocyclic drugs containing sulfonamides are still in use and studies for new drugs are still ongoing. Especially in drug design based on enzyme inhibition, alternatives that can replace this group are being sought, but no visible results have been obtained. The enzyme carbonic anhydrase is one of them and the group that enables the inhibitor to bind to the zinc (Zn) ion in the active site, which coordinates the enzyme, is also a sulfonamide. In this study, based on three different variants of benzene sulfonamide, bis-urea derivative compounds with different substituents were synthesized using chemical derivatization (modification) method and the syntheses were characterized. It was observed that the compounds were synthesized as designed. The inhibition of the compounds on CA(I,II,IX,XII) isoenzymes and acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE) enzymes was determined and some of the compounds were found to be good inhibitors. The types of inhibition mechanisms were determined by calculating the IC_{50} and K_i values of acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE) enzymes. The values found were compared with the standard substance donepezil. Cytotoxic effects on lung, prostate and breast cancer cell lines were also detected. Sulfonamides can be categorized into two groups as sulfonamide antibiotics and non-antibiotic sulfonamides. Therefore, the synthesized sulfonamides were tested with two Gram(+) and two Gram(-) bacterial strains to determine their antimicrobial effect.

Science Code : 20104

Key Words : Sulfonamide, carbonicanhydrase, acetylcholinesterase (AChE)
butyrylcholinesterase (BChE), inhibition, IC_{50}

Page Number : 116

Supervisor : Prof. Dr. Servet ÇETE

Co-Supervisor : Assist. Prof. Dr. Süleyman AKOCAK

TEŞEKKÜR

Doktora çalışmalarım boyunca değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren, akademik kazanımlarım ötesinde hayat tecrübesi kazanmamı sağlayan, tüm imkânlarını benden esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Servet ÇETE'ye teşekkürlerimi borç bilirim. Doktora tezimin her aşamasında bana yol gösteren, kendisi ile çalışma imkânı veren, laboratuvar çalışmalarım boyunca desteğini, her konuda ilgisini, bilgisini ve maddi manevi desteğini benden esirgemeyen eş danışman hocam Adıyaman Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğretim üyesi Dr. Öğretim Üyesi Süleyman AKOCAK'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Doktora çalışmalarım boyunca sağladığı akademik açıdan verdiği bilgi, katkı ve tavsiyelerinden dolayı Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Fatma ARSLAN hocama, Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyesi sayın Prof. Dr. İlhami GÜLÇİN'e, Adıyaman Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğretim üyesi Doç. Dr. Nebih LOLAK'a, Adıyaman Üniversitesi Sağlık Hizmetleri MYO öğretim üyesi Doç. Dr. Esra Bozgeyik'e ve Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Arş. Gör. Deniz AKIN ANAKÖK'e teşekkürlerimi sunarım. Doktora sürecim boyunca hem bilgisinden hem de tecrübesinden faydalandığım aynı zamanda hayatımı da paylaştığım değerli eşim Doç. Dr. Yener TEKELİ'ye de ayrıca teşekkür ederim. Akademik hayatım süresince yer yer ihmal ettiğim sevgili kızım Zeynep Ebrar TEKELİ 'ye, beni yetiştirip bugünlere gelmemi sağlayan annem merhum Zekiye Belkıs ÜNEŞ'e, sevgili babam Yusuf ÜNEŞ'e ve kardeşim Kezban ÇABUKOL'a da teşekkürlerimi sunarım. Bu Doktora Tezi FDK-2022-7551 Kodlu Doktora tez Projesi Olarak Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Tarafından Desteklenmiştir Desteklerinden Dolayı Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine Teşekkürlerimi Sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvii
1.GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Sülfonamidler.....	5
2.1.1. Sülfonamidin yapısı	5
2.1.2. Yapı -aktivite ilişkisi	6
2.1.3. Sülfonamidlerin sınıflandırılması	7
2.2. Enzimler	8
2.2.1. Enzim inhibisyonu ve farmasötik önemi.....	9
2.3. Kolinesteraz Enzimleri.....	9
2.4. Alzheimer Hastalığı (AH)	12
2.5. Kanser	12
2.6. Karbonik Anhidraz Enzimi	17
2.6.1. Karbonik anhidrazın yapısı ve katalitik mekanizması	17
2.6.2. Karbonik anhidraz izoenzimleri	18
2.6.3. Karbonik anhidrazın lokasyonu ve katalitik aktivitesi.....	19
2.6.4. Karbonik anhidraz izoenzimlerinin fizyolojik rolleri	20
2.6.5. Karbonik anhidraz inhibitörleri.....	20

	Sayfa
2.7. Kaynak Araştırması.....	21
3. ARAÇ GEREÇ VE DENEYSEL YÖNTEMLER.....	35
3.1. Sentez Çalışmalarında Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar	35
3.2. Asetilkolinesteraz Enzim Aktivite Çalışmalarında Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar	35
3.3. Bütirilkolinesteraz Enzim Aktivite Çalışmalarında Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar	35
3.4. Karbonik Anhidraz Enzim Aktivite Çalışmalarında Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar	36
3.5. Antikanser Aktivite Çalışmalarında Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar	36
3.6. Bis-Üre Türevi Primer Benzensülfonamitlerin Genel Sentez Yöntemi	36
3.6.1. X1Y1 bileşiği sentez metodu	37
3.6.2. X1Y2 bileşiği sentez metodu	38
3.6.3. X1Y3 bileşiği sentez metodu	38
3.6.4. X1Y4 bileşiği sentez metodu	39
3.6.5. X2Y1 bileşiği sentez metodu	39
3.6.6. X2Y2 bileşiği sentez metodu	40
3.6.7. X2Y3 bileşiği sentez metodu	40
3.6.8. X2Y4 bileşiği sentez metodu	41
3.6.9. X3Y1 bileşiği sentez metodu	41
3.6.10. X3Y2 bileşiği sentez metodu	42
3.6.11. X3Y3 bileşiği sentez metodu	43
3.6.12. X3Y4 bileşiği sentez metodu	43
3.7. Asetilkolinesteraz ve Bütirilkolinesteraz Enzimlerinin İnhibisyon Çalışma Yöntemi.....	44
3.7.1. İnhibitör çözeltileri.....	44
3.7.2. Asetilkolinesteraz enziminin aktivite ölçümlerinde kullanılan çözeltiler.....	44

Sayfa

3.7.3. Bütirilkolinesteraz enziminin aktivite ölçümlerinde kullanılan çözeltiler.....	44
3.7.4. Asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz enzimlerinin İnhibisyon çalışma yöntemi	45
3.8. Karbonikanhidraz (CA) Enzim İnhibisyon Tayin Yöntemi	46
3.8.1. İnhibitörlerin stok çözeltilerinin hazırlanması:	46
3.9. Antikanser Aktivite Çalışma Yöntemi	47
3.9.1. Hücrelerin kültür ve canlılık analizi.....	47
3.10. Antibakteriyel Aktivite.....	47
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI	49
4.1. Sentezlenen Bis-Üre Türevi Primer Benzensülfonamidlerin NMR Sonuçları	49
4.2. Sentezlenen Primer Benzensülfonamid Türevi Bileşiklerin Asetilkolinesteraz (AChE) ve Butirilkolinesteraz (BChE) Enzim Aktivite Sonuçları	73
4.2.1. Sülfonamid türevlerinin (XnYm) asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE) enzim inhibisyon sonuçları.....	73
4.3. Karbonikanhidraz (CA I, II, IX, XII) İnhibisyonu.....	87
4.4. Sentezlenen Primer Benzensülfonamid Türevi Bileşiklerin Antikanser (Sitotoksitite) Aktivite Çalışmaları	90
4.4.1. Hücrelerin kültür ve canlılık analizi.....	90
4.4.2. Sitotoksitite aktivite çalışma sonuçları.....	91
4.5. Antibakteriyel Aktivite Çalışma Sonuçları	99
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	101
KAYNAKLAR	107
ÖZGEÇMİŞ	115

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Karbonik anhidraz izoenzimlerinin fizyolojik rolleri ve sebep olduğu hastalıklar.....	20
Çizelge 3.1. Asetilkolinesteraz aktivite tayininde küvet içeriği	45
Çizelge 3.2. Butirilkolinesteraz aktivite tayininde küvet içeriği.....	45
Çizelge 4.1. X1Y1 bileşiğinin NMR spektrum sinyalleri.....	49
Çizelge 4.2. X1Y2 bileşiğinin NMR spektrum sinyalleri.....	51
Çizelge 4.3. X1Y3 bileşiğinin NMR spektrum sinyalleri.....	53
Çizelge 4.4. X1Y4 bileşiğinin NMR spektrum sinyalleri.....	55
Çizelge 4.5. X2Y1 bileşiğinin NMR spektrum sinyalleri.....	57
Çizelge 4.6. X2Y2 bileşiğinin NMR spektrum sinyalleri.....	59
Çizelge 4.7. X2Y3 bileşiğinin NMR spektrum sinyalleri.....	61
Çizelge 4.8. X2Y4 bileşiğinin NMR spektrum sinyalleri.....	63
Çizelge 4.9. X3Y1 bileşiğinin NMR spektrum sinyalleri.....	65
Çizelge 4.10. X3Y2 bileşiğinin NMR spektrum sinyalleri.....	67
Çizelge 4.11. X3Y3 bileşiğinin NMR spektrum sinyalleri.....	69
Çizelge 4.12. X3Y4 bileşiğinin NMR spektrum sinyalleri.....	71
Çizelge 4.13. Sentezlenen bileşikler ve molekül kütlesi.....	73
Çizelge 4.14. Asetilkolinesteraz enzimi inhibisyon çizelgesi.....	86
Çizelge 4.15. Butirilkolinesteraz enzimi inhibisyon çizelgesi.....	87
Çizelge 4.16. Sentezlenen bis-üreido-süstitüe primer benzensülfonamid türevlerine standart sülfonamid inhibitörü Asetazolamid (AAZ)'in insan CA izoformları CAI, CAII, CAIX ve CA XII üzerine durdurulmuş akış CO2 hidraz deneyi ile inhibisyon verileri.....	89
Çizelge 4.17. Bis-üreido-süstitüe edilmiş sülfonamid türevlerinin gram-pozitif ve gram- negatif bakteri suşlarına karşı antibakteriyel etkinliği	99

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Prontosil'in sülfonamid'e dönüşümü.....	5
Şekil 2.2. Sülfonamidlerin genel yapısı	6
Şekil 2.3. Sülfonamidlerin sınıflandırılması	6
Şekil 2.4. Para-aminobenzen-sülfonamid.....	6
Şekil 2.5. Enzimin ürüne dönüşme tepkimesi.....	9
Şekil 2.6. Asetilkolin'in hidroliz tepkimesi	10
Şekil 2.7. AChE'nin protein yapısının üç boyutlu gösterimi.....	10
Şekil 2.8. AChE enziminin aktif merkezi	11
Şekil 2.9. Nekrotik ve apoptotik hücre ölümü aşamaları.....	15
Şekil 2.10. Karbonikanhidrazın yapısı.....	17
Şekil 2.11. Karbonikanhidrazın CO ₂ hidratasyon tepkimesinin kataliz mekanizması ...	18
Şekil 2.12. İnsandaki α-CAs'ın hücredeki lokalizasyonu, doku dağılımı ve enzim aktivitelerinin (aktivite yok (-), düşük (-,+), orta (+), yüksek (++) aktivite) şematik gösterimi	19
Şekil 3.1. Bis-üre türevi primer benzen-sülfonamidlerin genel sentez yöntemi	37
Şekil 3.2. (X1Y1) bileşiğinin sentez yöntemi	37
Şekil 3.3. (X1Y2) bileşiğinin sentez yöntemi	38
Şekil 3.4. (X1Y3) bileşiğinin sentez yöntemi	38
Şekil 3.5. (X1Y4) bileşiğinin sentez yöntemi	39
Şekil 3.6. (X2Y1) bileşiğinin sentez yöntemi	40
Şekil 3.7. (X2Y2) bileşiğinin sentez yöntemi	40
Şekil 3.8. (X2Y3) bileşiğinin sentez yöntemi	41
Şekil 3.9. (X2Y4) bileşiğinin sentez yöntemi	41
Şekil 3.10. (X3Y1) bileşiğinin sentez yöntemi	42
Şekil 3.11. (X3Y2) bileşiğinin sentez yöntemi	42
Şekil 3.12. (X3Y3) bileşiğinin sentez yöntemi	43

Şekil	Sayfa
Şekil 3.13. (X3Y4) bileşiğinin sentez yöntemi.....	44
Şekil 4.1. X1Y1 bileşiğinin FT-IR spektrumu.....	49
Şekil 4.2. X1Y1 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.....	50
Şekil 4.3. X1Y1 bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu.....	50
Şekil 4.4. X1Y2 bileşiğinin FT-IR spektrumu.....	51
Şekil 4.5. X1Y2 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.....	52
Şekil 4.6. X1Y2 bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu.....	52
Şekil 4.7. X1Y3 bileşiğinin FT-IR spektrumu.....	53
Şekil 4.8. X1Y3 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.....	54
Şekil 4.9. X1Y3 bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu.....	54
Şekil 4.10. X1Y4 bileşiğinin FT-IR spektrumu.....	55
Şekil 4.11. X1Y3 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.....	56
Şekil 4.12. X1Y3 bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu.....	56
Şekil 4.13. X2Y1 bileşiğinin FT-IR spektrumu.....	57
Şekil 4.14. X2Y1 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.....	58
Şekil 4.15. X2Y1 bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu.....	58
Şekil 4.16. X2Y2 bileşiğinin FT-IR spektrumu.....	59
Şekil 4.17. 17 X2Y2 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.....	60
Şekil 4.18. X2Y2 bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu.....	60
Şekil 4.19. X2Y3 bileşiğinin FT-IR spektrumu.....	61
Şekil 4.20. X2Y3 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.....	62
Şekil 4.21. X2Y3 bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu.....	62
Şekil 4.22. X2Y4 bileşiğinin FT-IR spektrumu.....	63
Şekil 4.23. X2Y4 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.....	64
Şekil 4.24. X2Y4 bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu.....	64
Şekil 4.25. X3Y1 bileşiğinin FT-IR spektrumu.....	65

Şekil	Sayfa
Şekil 4.26. X3Y1 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu	66
Şekil 4.27. X3Y1 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu	66
Şekil 4.28. X3Y2 bileşiğinin FT-IR spektrumu.....	67
Şekil 4.29. X3Y2 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu	68
Şekil 4.30. X3Y2 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu	68
Şekil 4.31. X3Y3 bileşiğinin FT-IR spektrumu.....	69
Şekil 4.32. X3Y3 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu	70
Şekil 4.33. X3Y3 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu	70
Şekil 4.34. X3Y4 bileşiğinin FT-IR spektrumu.....	71
Şekil 4.35. X3Y4 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu	72
Şekil 4.36. X3Y4 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu	72
Şekil 4.37. (a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör X1Y1 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X1Y1 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	73
Şekil 4.38. (a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör X1Y2 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X1Y2 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	74
Şekil 4.39. (a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör X1Y3 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X1Y3 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	74
Şekil 4.40. (a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör X1Y4 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X1Y4 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	75
Şekil 4.41. (a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör X2Y1 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X2Y1 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	75

Şekil	Sayfa
Şekil 4.42. (a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör X2Y2 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X2Y2 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	76
Şekil 4.43. (a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör X2Y3 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X2Y3 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	76
Şekil 4.44. (a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör X2Y4 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X2Y4 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	77
Şekil 4.45. (a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör X3Y1 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X3Y1 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	77
Şekil 4.46. (a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör X3Y2 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X3Y2 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	78
Şekil 4.47. (a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör X3Y3 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X3Y3 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	78
Şekil 4.48. (a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör X3Y4 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X3Y4 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	79
Şekil 4.49. (a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı donepezil derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı donepezil derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	79
Şekil 4.50. (a) Butirilkolinesteraz enziminin 5 farklı X1Y1 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Butirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X1Y1 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	80
Şekil 4.51. (a) Butirilkolinesteraz enziminin 5 farklı X1Y2 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Butirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X1Y2 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	80

Şekil	Sayfa
Şekil 4.52. (a) Butirilkolinesteraz enziminin 5 farklı X1Y3 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Butirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X1Y3 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	81
Şekil 4.53. (a) Butirilkolinesteraz enziminin 5 farklı X1Y4 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Butirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X1Y4 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	81
Şekil 4.54. (a) Butirilkolinesteraz enziminin 5 farklı X2Y1 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Butirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X2Y1 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	82
Şekil 4.55. (a) Butirilkolinesteraz enziminin 5 farklı X2Y2 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Butirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X2Y2 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	82
Şekil 4.56. (a) Butirilkolinesteraz enziminin 5 farklı X2Y3 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Butirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X2Y3 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	83
Şekil 4.57. (a) Butirilkolinesteraz enziminin 5 farklı X2Y4 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Butirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X2Y4 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	83
Şekil 4.58. (a) Butirilkolinesteraz enziminin 5 farklı X3Y1 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Butirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X3Y1 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	84
Şekil 4.59. (a) Butirilkolinesteraz enziminin 5 farklı X3Y2 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Butirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X3Y2 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	84
Şekil 4.60. (a) Butirilkolinesteraz enziminin 5 farklı X3Y3 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Butirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X3Y3 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	85
Şekil 4.61. (a) Butirilkolinesteraz enziminin 5 farklı X3Y4 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Butirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X3Y4 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	85
Şekil 4.62. (a) Butirilkolinesteraz enziminin 5 farklı Donepezil derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Butirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı Donepezil derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.....	86

Şekil	Sayfa
Şekil 4.63. Sentezlenen bileşiklerin meme kanser (MDA-MB-231) hücrelerinde hücre canlılığına etkisi	91
Şekil 4.64. Sentezlenen bileşiklerin normal meme (CRL-4010) hücrelerinde hücre canlılığına etkisi	92
Şekil 4.65. Sentezlenen bileşiklerin meme kanser (MDA-MB-231) hücrelerinde hücre canlılığına etkisi	93
Şekil 4.66. Sentezlenen bileşiklerin meme kanser (MCF-7) hücrelerinde hücre canlılığına etkisi	94
Şekil 4.67. Sentezlenen bileşiklerin normal akciğer (BEAS-2B) hücrelerinde hücre canlılığına etkisi	95
Şekil 4.68. Sentezlenen bileşiklerin akciğer kanser (A549) hücrelerinde hücre canlılığına etkisi	96
Şekil 4.69. Sentezlenen bileşiklerin normal prostat (PNT-1A) hücrelerinde hücre canlılığına etkisi	97
Şekil 4.70. Sentezlenen bileşiklerin prostat kanser (PC-3) hücrelerinde hücre canlılığına etkisi	98
Şekil 4.71. Sentezlenen bileşiklerin prostat kanser (PC-3) hücrelerinde hücre canlılığına etkisi	99

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

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

Kısaltmalar	Açıklamalar
A549	Akciğer Kanseri Hücresi
AAZ	Asetazolamid
ACh	Asetilkolin
AChE	Asetilkolin esteraz
AH	Alzheimer Hastalığı
ATCh	Asetil tiyokolin
ATP	Adenozin trifosfat
BChE	Bütiril kolin esteraz
BEAS-2B	Akciğer Epitel Hücresi
CA	Karbonik anhidraz enzimi
Ch	Kolin
ChAT	Kolin asetiltransferaz

Kısaltmalar**Açıklamalar**

ChE	Kolin esteraz
ChO	Kolin oksidaz
CRL-4010	Normal meme hücresi
DMSO	Dimetilsülfoksit
DMSO-d6	Dötorodimetilsülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
DTNB	5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit)
E.A	Enzim Aktivitesi
EC	Enzim Kodu
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
EI	Enzim-inhibitör kompleksi
EIS	Enzim-inhibitör-substrat kompleksi
ES	Enzim-substrat ara kompleksi
Et3N	Trietilamin
EtOH	Etanol
FDA	ABD Gıda ve İlaç İdaresi
FT-IR	Fourier Transform Infrared Spektroskopisi
HCl	Hidroklorik Asit
HEPES	((4-(2-hidroksietil)-1-piperazineetansulfonik asit))
I	İnhibitör
IC₅₀	E.A'nın % 50'sini inhibe eden inhibitör derişim
Ki	İnhibisyon sabiti
Km	Michealis-Menten sabiti
MCF -7	Meme Kanser Hücresi
MDA-MB-231	Meme Kanser Hücre Hattı
MIK	Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
MTT	3- (4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
NMR	Nükleer Magnetik Rezonans Spektroskopisi
PABA	Para amino benzoik asit
PC-3	Prostat Kanser Hücresi
PNT-1A	Normal Prostat Hücrelesi
PSA	Prostat-Spesifik Antijen

Kısaltmalar**Açıklamalar****RNA**

Ribonükleik asid

TAC

Takrin

TLC

İnce tabaka kromatografisi

TMS

Tetrametilsilan

Tris

(Hidroksimetil) Aminometan

UV-GB

Ultraviyole Görünür Bölge Spektroskopisi



1.GİRİŞ

Yaşlılık ya da bunama terimlerini kullanırken ileri yaştan söz edilir ancak tıbbi açıdan bakıldığında bir insanın kaç yıl yaşadığının anatomik ve fizyolojik açıdan çoğu zaman pek bir önemi yoktur; çünkü kırk beş ile altmış yaş arasındaki pek çok kişi dejenerasyon ya da presenilite (gerilik) belirtileri gösterir; bu değişiklikler normalde yaşamın yedinci on yılı civarında ortaya çıkar ve tüm vücut beynin fonksiyonel aktivitesinin kaybı ile başlar. Demans zihin kaybı anlamına gelmektedir ve Latince'den "Mens" kelimesinden türetilmiştir. Demans Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından 1980'lerin başında "sessiz salgın" olarak tanımlanan ve daha yüksek oranda yaşlılarda görülen, halk arasında "bunama" olarak da bilinen bir yaşlılık hastalığıdır (Akyar, 2011; Stevenson-Hoare vd., 2023). Öncelikle yaşamın ilerleyen dönemlerinde ortaya çıkar, 60 yaşında yaklaşık %1 olan görülme olasılığı her 5 yılda bir ikiye katlanır ve 85 yaşına gelindiğinde %30 ila 50'ye ulaşır. Demansın çoğu Alzheimer hastalığı gibi beynin birincil dejeneratif hastalıklarından kaynaklanır. Tek başına ya da diğer hastalıklarla birlikte görülen demans, günümüzde sanayileşmiş ülkelerin çoğunda daha sık görülmektedir (Geldmacher ve Whitehouse, 1997). Demansın en yaygın şekli Alzheimer hastalığıdır. Vakaların yaklaşık %62'sini oluşturmaktadır. İkinci en yaygın olanı ise vasküler bunamadır ki bu da yaklaşık %17'e tekabül eder (Stevenson-Hoare vd., 2023). Alzheimer hastalığı merkezi sinir sisteminin çeşitli bölgelerinde bilinen bir neden olmaksızın ortaya çıkan, nöronların kademeli olarak ilerleyen bozulması ve kaybı ile karakterize edilen çok sayıda nörodejeneratif hastalıktan biridir. İlerleyici bilişsel bozukluğun yanı sıra çeşitli nöropsikiyatrik ve davranışsal bozukluklara ve günlük yaşam aktivitelerinde kısıtlamalara yol açan yaşa bağlı nörodejeneratif bir hastalıktır ve en sık görülen bir demans türüdür. 1907 yılında Alois Alzheimer hastalıkla ilgili ilk klinik ve nöropatolojik bulguları tanımlayarak yayımladığı raporunda daha sonra ismiyle anılacak olan Alzheimer hastalığının yeni bir hastalık olduğunu ifade edecekti. Çünkü hastalığın henüz yaşlılık öncesinde daha genç dönemlerde de görülebildiğini 51 yaşındaki bir hastanın üzerindeki bulgulara ortaya çıkarmıştı (Lleó vd., 2006; Gilman, 1997).

Bu çalışmanın önemli bir kısmını ve amacını da oluşturan kolinesteraz enzimleri (AChE ve BChE'ler) kaslarda ve kolinerjik nöronlarda bulunur ve membrana bağlı bir enzimdir. Bu nedenle Alzheimer hastalığının (AH) tedavisinde temel dayanak noktasıdır ve standart tedavinin bir parçası haline gelmiştir. Günümüzde ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA)

tarafından onaylanmış dört AChEI ilacı mevcuttur. Bunlar takrin, donepezil, rivastigmin ve galantamin. Takrin artık nadiren kullanılmaktadır çünkü diğer üçünde görülmeyen hepatotoksisite bu ilaçta görülmüştür. Kolinergik eksiklik sadece AH'nin erken evrelerinde beliren bilişsel semptomlara sebep olmamakta aynı zamanda AH'de gözlenen davranışsal değişikliklere de sebep olmaktadır (Lleó vd., 2006). Tez kapsamında sentezlediğimiz 12 adet sülfonamid bileşiklerinin kolinesteraz inhibitörü olarak kullanılıp kullanılmayacağı deneysel çalışmalarla incelenerek kanıtlanmıştır.

Enzimler, canlı hücreler aracılığıyla sentezlenen ve canlı organizmalarda metabolizma ile birlikte kimyasal tepkimeleri hızlandıran birçok metabolik süreçten sorumlu biyolojik moleküllerdir. CA izoenzimleri α -, β -, γ -, δ -, δ -, n- ve θ -CAs olmak üzere bağımsız yedi farklı gen ailesi tarafından kodlanır. CA, bitkisel ve hayvansal organizmalarda bulunan bir metaloenzim ailesidir ancak fungal CA' a henüz rastlanmamıştır. Önemli patolojik ve fizyolojik rolleri vardır sıvı dengesi, solunum, kalsifikasyon, tümörijenite, karbondioksit (CO_2) ve iyon transport, karboksilasyon tepkimeleri, pH ayarlaması, asit-baz dengesi, lipogenez gibi birçok patofizyolojik süreçlerde rol oynar (Karakaya vd., 2021). İnsanlarda, hücre altı lokalizasyonlarına, katalitik aktivitelerine ve organ/doku dağılımlarına göre hepsi α -CA'lara olmak üzere 15 farklı izozim keşfedilmiştir. Bu izoformlardan, beş tanesi sitoplazmik (CA I, II, III, VII ve XIII), dört tanesi membrana bağlı olanlar (CA IV, IX, XII, XIV ve XV), iki tanesi mitokondriyal (CAVA ve CAVB, Şekil.2.12), biri tükürük ve sütte salgılanan (CA VI) ve üç tanesi nonkatalitik (VIII, X, XI) olmak üzere lokalizasyonlarına göre sınıflandırılmıştır (Tekeli vd., 2023). Sülfonamidlerin antikanser aktivitesi birçok durumda karbonik anhidraz enzimlerinin inhibisyonuna bağlanmıştır. Karbonik anhidraz izozim IX'un (CA IX), normal dokularda sınırlı ekspresyona sahip iken hipoksik hücrelerde yüksek oranda aşırı eksprese olarak tümör oluşumunu artırır. CA IX inhibitörlerinin, diğer antikanser ilaçlara kıyasla daha az yan etkiye sahip olmalarının yanı sıra umut verici antikanser aktivite sergiledikleri literatürlerle sabittir. Birçok araştırma sülfonamid taşıyan moleküllerin karbonik anhidraz inhibisyonu yoluyla önemli bir antikanser ajanı olduğunu göstermişlerdir (Bashandy vd., 2014). Bu tez çalışmasında sentezlenen sülfonamid bileşiklerinin seçilen karbonik anhidrazlar üzerinde inhibisyon etkileri çalışılmıştır. Literatürdeki benzer çalışmalara bakıldığında hedef dışı sitozolik izoformlar (CAI ve II) ile hedeflenen tümörde aşırı eksprese edilen membrana bağlı izoformlar (CAIX ve XII) üzerindeki inhibisyon profilini inceleyen ilk bis-üreido-süstitüe primer benzensülfonamid çalışması olması bakımından önemlidir.

Yaşlılığın getirdiği dezavantajların dışında endüstriyel çağın en önemli hastalıklarında birisi de şüphesiz kanserdir. Kanser, günümüz dünyasında insan sağlığı üzerinde çarpıcı etkileri olan bir hastalıktır. Dünyada kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci ölüm nedenidir. Kanserler anormal hücrelerin kontrolsüz büyümesi ve yayılması ile karakterize edilen bir grup hastalıktır. Kanser hücrelerinin yayılımı yani metastaz olarak bilinen aşama kontrol altına alınmazsa ölümle sonuçlanabilmektedir ; Ghorab vd. 2014), Akciğer kanseri, erkeklerde tanısı konulan en sık görülen bir kanser türüdür. Bunun yanında prostat kanseri de erkeklerde en fazla tanı konulan ve mortalite oranı yüksek önemli bir hastalıktır. Meme kanseri ise kadınlarda en sık görülen kötü huylu tümör olmaya devam etmektedir ve kadınlarda kansere bağlı ölümlerin önde gelen nedenlerinden birisidir (Yildirim vd., 2009; Benson vd., 2009). Güçlü, seçici ve daha az toksik antikanser ajanları olarak potansiyel kullanışlılığa sahip yeni, küçük moleküllerin keşfi, farmakolojik araştırmalar için hala büyük bir zorluktur.

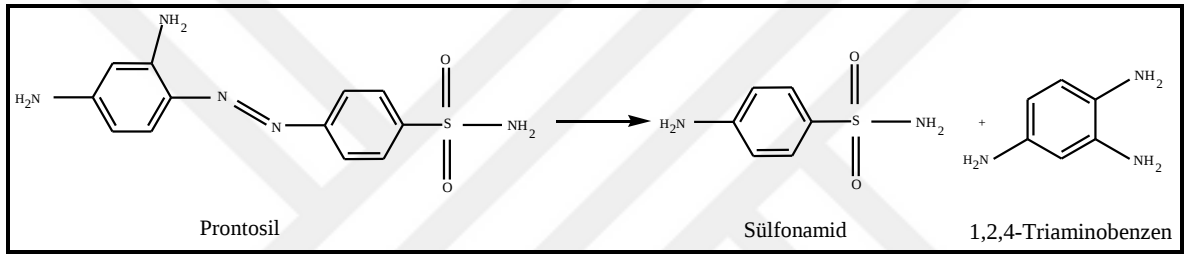
Kanser tedavisinde kullanılacak ilaçların araştırılması ve geliştirilmesinde son yıllarda elde edilen önemli ilerlemelere rağmen, mevcut antitümör kemoterapisi hala iki ana sınırlamadan muzdariptir; bunlardan ilki, istenmeyen yan etkilere neden olan geleneksel kemoterapötik ajanların kanser dokuları için seçiciliğinin olmaması ikincisi ise kanser hücrelerinin çoklu ilaç direnci kazanması ve onları geleneksel kemoterapötik ajanlara tepkisiz hale getirmesidir. Sülfonamidler ve farklı türevleri, antibakteriyel ajanlar ve diüretikler olarak biyoaktiviteleri nedeniyle tıpta yaygın olarak kullanılmakla beraber sülfonamidlerin çeşitli kanser türlerine karşı in vitro ve in vivo güçlü antitümör aktivitesi olduğu literatürlerde rapor edilmiştir (Ghorab vd., 2014). Bu çalışmada da sentezlenen sülfonamid türevlerinin sitotoksik etkisi meme, prostat ve akciğer kanseri hücre kültürleri üzerine etkisi araştırılmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sülfonamidler

Sülfonamidler prontosil olarak adlandırılan bir boya üzerinde 1932 yılında yapılan çalışmalar ile sentezlenip patenti alındıktan sonra üzerinde yapılan çeşitli türevlendirmeler sonucunda bu tür bileşiklerin streptokoklara karşı etkili olduğu ve fareler üzerinde yapılan araştırmalar sonucunda streptokok kaynaklı enfeksiyonlara karşı etkili olduğu anlaşılmıştır. (I. H. El-Qalie vd. 2020). İnsan vücudunda prontosil hücresel etki altında sülfanilamide (Şekil 2.1) metabolize olduğu bilinmektedir (Tacic vd., 2017).

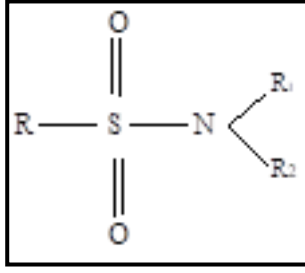


Şekil 2.1. Prontosil'in sülfonamid'e dönüşümü

Sülfonamidler, sülfanilamid olarak da bilinen para-aminobenzenesülfonamid türevleridir. Bu maddenin sülfonamid (-SO₂NH₂) grubundaki azot atomundaki hidrojen atomlarından birinin yerine uygun gruplar bağlanarak farklı türevlerde sülfonamid bileşikleri sentezlenmiştir. Bu sülfonamid türevi bileşikler solunum yolu enfeksiyonlarında ve üriner kanal hastalıklarında ve bağışıklık sisteminin korunmasında yaygın olarak kullanılırlar (Demir, 2013).

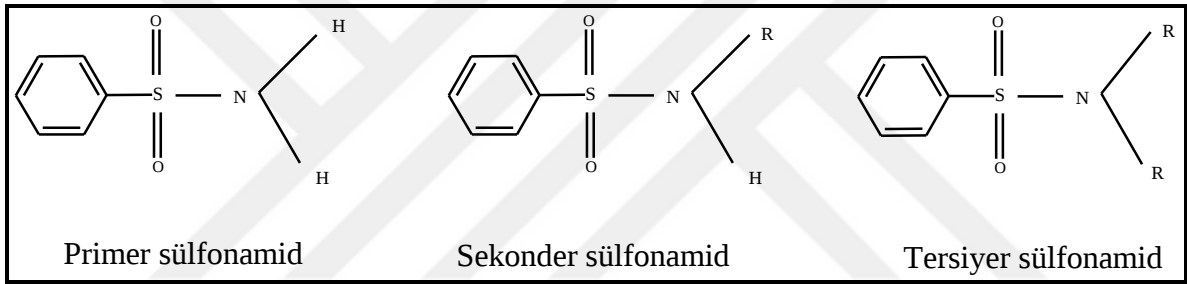
2.1.1. Sülfonamidin yapısı

Sülfonamidler aşağıdaki genel yapıya sahiptir (Şekil 2.2) R alkil, aril veya hetero aril grupları olabileceği ve R1/R2 ayrıca hidrojen, alkil ve aril veya hetero olabileceği literatürde kabul görmüştür. Spesifik yapısal özellikler arasındaki korelasyon ve yeni antimikrobiyal moleküllerin sentezlenme isteği sebebiyle çok çeşitli sülfonamid türevleri sentezlenmiştir (I. H. El-Qalie vd. 2020).



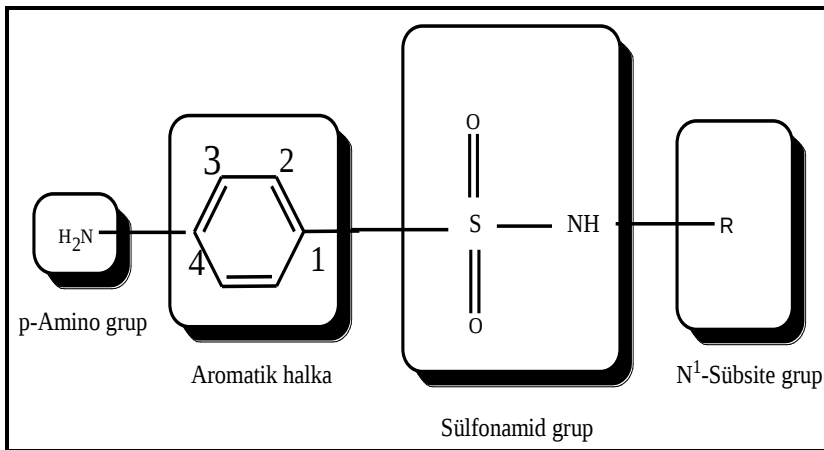
Şekil 2.2. Sülfonamidlerin genel yapısı

Sülfonamidlerin azot atomu 3 sübstitüent içerdiğinden dolayı, sülfonamidler azottaki sübstitüentin derecesine göre primer, sekonder ve tersiyer olarak sınıflandırılır (Şekil 2.3). Primer sülfonamidler ve izoesterleri (sülfamidler, sülfamatlar) farmakolojik uygulamalarda geniş bir çeşitliliğe sahip önemli bir ilaç sınıfını oluşturmaktadır (Canakci vd., 2019).



Şekil 2.3. Sülfonamidlerin sınıflandırılması (Efe, 2017)

2.1.2. Yapı -aktivite ilişkisi



Şekil 2.4. Para-aminobenzensülfonamid (Sülfanilamid)

Aromatik halka yerine heterosiklik yapılar veya biyoizosteri eklenmesi durumunda aktivite kaybolmaktadır. Aktivite için 4 numaralı konumdaki primer aromatik aminin bulunması

olmazsa olmazdır. Ancak, bu konumda bulunan grupların yerine sadece (-NH-COCH₃) gibi, organizmada serbest amin grubuna dönüşebilen bir yapı getirilebilir. Aril halkanın 1 ve 4 numaralı konumlarındaki grupların birbirlerine göre orto- veya meta-pozisyonunda olması durumunda ise aktivite kaybolur. Aynı şekilde aromatik halkaya başka sübstituentlerin bağlandığı takdirde de aktivite kaybolacaktır. Para-aminobenzen-sülfonamidler -N-asetilli türevler olarak sentezlendiği durumda barsak enfeksiyonlarında lokal etkili bir ilaç olarak kullanılırlar. Bu durum, barsaklarda R-grubunun ayrılmasıyla birlikte aromatik amin grubunun serbest hale geçmesinden kaynaklanmaktadır. Bileşiğin 1 numaralı konumundaki sulfamoil grubuna bağlı hidrojenler yerine farklı gruplar eklenirse, antibakteriyel etki gösteren çeşitli bileşiklere ulaşmak mümkündür. Bu bileşikler, kullanılabilir antibiyotik ilaçları temsil eder (Mondal, 2017).

2.1.3. Sülfonamidlerin sınıflandırılması

Sülfonamidler çeşitli şekillerde sınıflandırılabilir:

Etkili olduğu yer bazında

- Genel enfeksiyon sülfonamidleri: Sulphanilamide, Sulphapyridine, Sulphadiazine, Sulphamethoxacine, Sulphamethoxazole.
- İdrar yolu enfeksiyonları için Sülfonamidler: Sülfaisoksazol, Sülfathiazol.
- Bağırsak enfeksiyonları için sülfonamidler: Ftalilsülfatiazol, Süksinil sülfatiazol, Sülfasalazin.
- Lokal enfeksiyonlar için sülfonamidler: Sülpahasetamid, Mafenamid, Gümüş sülfadiazin.
- Dermatit için sülfonamidler: Dapsone, Solapsone.
- Kombinasyon halinde sülfonamidler: Trimethoprim with Sulphamethoxazole.

Farmakokinetik özelliklerine göre

- Lokal etkili sülfonamidler (Zayıf emilen sülfonamidler): Sülfasalazin, Ftalilsülfatiazol, Sülfaguanidin, Salisilazo sülfapiridin, Süksinil sülfatiazol.

- Sistemik sülfanamidler (Hızla emilir ve hızla atılır sülfonamidler): Sülfametoksazol, Sülfaisoksazol, Sülfadiazin, Sülfadimidin, Sülfafurazol, Sülfasomidin, Sülfametiyoazol, Sülfasetamid Sülfaklorpiridazin.
- Topikal olarak kullanılan sülfonamidler: Sülfasetamid, Mafenid, Sülfathiazol, Gümüş sülfadiazin

Farmakolojik aktiviteye göre

- Antibakteriyel ajanlar: Sulphadiazine, Sulfi soxazole.
- Dermatitte kullanılan ilaçlar: Dapsone.

Etki süresine göre

- Ekstra uzun etkili sülfonamidler (yarı ömrü 50 saatten fazla): Sülfasalazin, Sülfaklomid, Sülfalen
- Uzun etkili sülfonamidler (yarılanma ömrü 24 saatten fazla): Sülfadoksin, Sülfadimetoksin, Sülfametoksi piridazin, Sülfametoksidiyazin, Sülfafenazol, Sülfametoksin
- Orta etkili sülfonamidler (yarılanma ömrü 10-24 saat arasında): Sülfasomizol, Sülfametoksazol
- Enjekte edilebilir (çözünebilir sülf ilaçlar): Sülfafurazol, Sülfadiazin, Sülfametoksin

Kimyasal yapısına göre

- N-1 sübstitüe sülfonamid: Sülfadiazin, Sülfasetamid, Sülfadimidin
- N-4 sübstitüe sülfonamidler (ön ilaçlar): Prontosil.
- Hem N-1 hem de N-4 sübstitüe sülfonamidler: Süksinil sülfathiazol, Ftalilsülfathiazol
- Çeşitli: Mefenid sodyum (Mondal, 2017)

2.2. Enzimler

Enzimler, organizmalardaki biyokimyasal tepkimeleri hızlandıran ve herhangi bir yan ürün oluşmadan %100 ürün verimini sağlayan, protein yapılı biyolojik katalizörlerdir (ribonükleik asit molekülü olan ribozimler hariç). Biyokimyasal tepkimeler, enzimlerin varlığında daha kolay ve hızlı bir şekilde gerçekleşirken, enzimlerin yokluğunda bu

tepkimler ya gerçekleşmez ya da gerçekleşmesi çok daha uzun sürer. Bu nedenle enzimler, organizmanın canlılığının devamı için vazgeçilmez biyomoleküllerdir. Enzimlerin biyokimyasal tepkimelerde etki ettiği maddelere ise substrat denir (Bilen, 2019). Substrat enzimin sınırlı bir alanına etki eder ve bu alan aktif bölge olarak adlandırılır. Bu aktif bölgeler genellikle enzimdeki yarıklar veya multienzimlerdeki arakesit yüzeyleridir. Substrat enzimin geçici olarak aktif bölgesine bağlanır ve ES kompleksine yani enzim-substrat bileşiğine dönüşür. Sonrasında substrat ürüne veya ürünlere dönüşürken (Şekil 2.5) enzimler ise tepkime sonunda değişmeden çıkarlar ve tekrar kullanılabilirler (Demir, 2013).



Şekil 2.5. Enzimin ürüne dönüşme tepkimesi

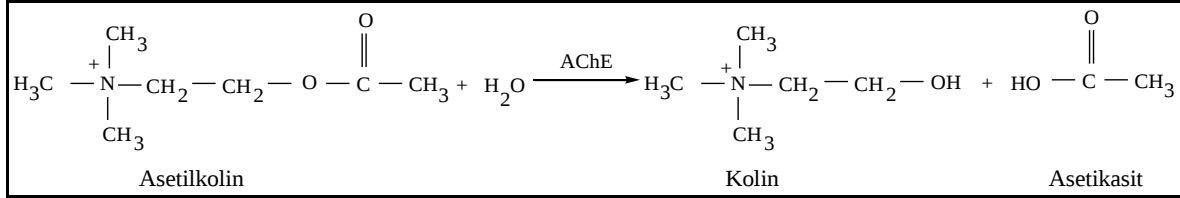
2.2.1. Enzim inhibisyonu ve farmasötik önemi

Enzim inhibitörleri, enzimin katalizlediği tepkimeyi yavaşlatan veya durduran moleküllerdir. Enzim inhibitörlerinin farmasötik açıdan önemi de tam da bu yönde ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle enzim inhibisyon çalışmaları, enzim mekanizmaları hakkında önemli bilgiler sağladığı gibi bazı metabolik yolların aydınlatılması konusunda da yardımcı olmaktadır (Lehninger vd., 2013). Asetilkolinesteraz, karbonik anhidraz, tirozinaz, ksantin oksidaz, alkalın fosfataz ve glukozidaz dahil olmak üzere klinik olarak ilgili çeşitli enzimlerin inhibitörlerinin geliştirilmesi, çeşitli hastalıkların tedavisinde umut verici bir yaklaşım olarak ortaya çıkmıştır (Li vd., 2023). İlaç moleküllerinin pek çoğu enzim inhibitörüdür aslında. İlacın inhibitör özelliği enzim aktivitesini engelleyebilmesi, bir metabolik bozukluğun düzeltilmesini ya da bir patojenin ölmesini sağlar. İnhibitörlerin bu özelliğinden dolayı özellikle farmakoloji alanlarındaki araştırmalar bunun üzerine yoğunlaşmıştır. Enzim inhibitörü olarak tasarlanan ilaçların, enzime yüksek spesifite göstermesi ve düşük derişimlerde bile etki edebilmesi önemlidir (Bilen, 2019).

2.3. Kolinesteraz Enzimleri

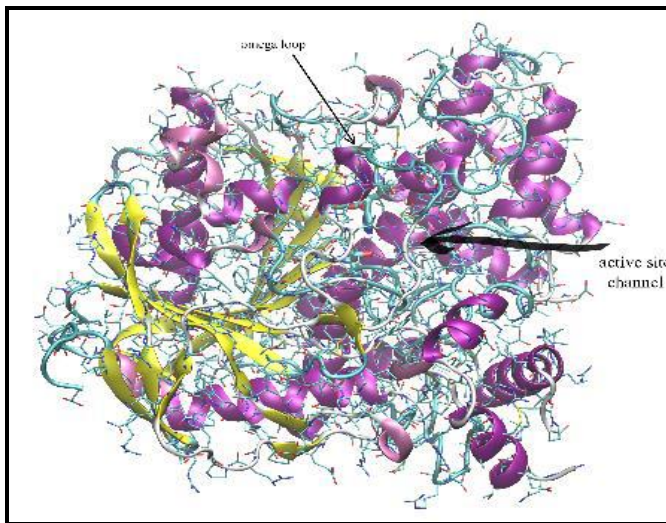
Kolinesterazlar, asetilkolini kolin ve asetik aside parçalayan, böylece de sinapsa salınmış olan asetilkolini etkisiz hale getiren hidrolaz sınıfı enzimlerdir. Kısaca kolinesterazlar,

kolin esterlerinin hidrolizini gerçekleştiren enzimlerdir (Şekil 2.6). Omurgalılar iki kolinesteraza sahiptir: Asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirilkolinesteraz (BChE) (Massoulié vd., 1993).

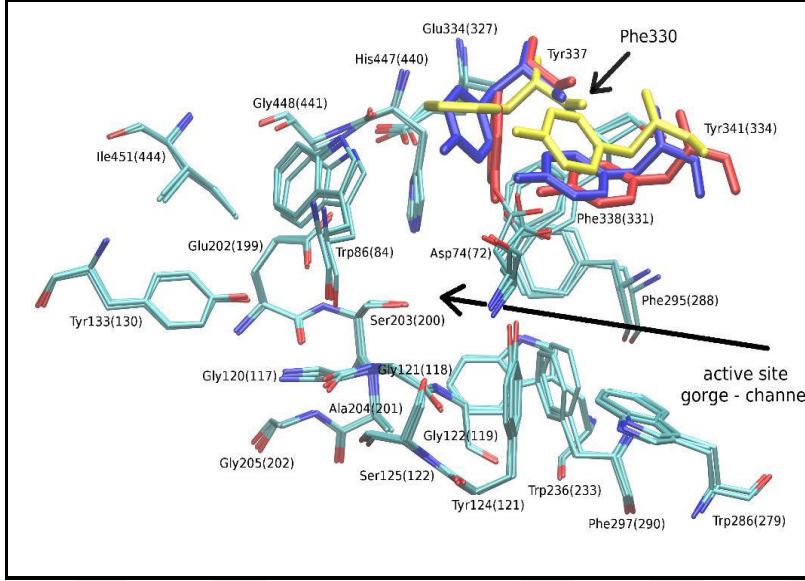


Şekil 2.6. Asetilkolin'in hidroliz tepkimesi

AChE 7. kromozomda BChE ise 3. kromozomda kodlanmış enzimlerdir. Amino asit dizilimleri büyük oranda benzeyen (%65) bu enzimlerin vücutta bulunma oranları farklıdır. AChE, BChE ye göre insan vücudunda daha fazla bulunur ve sinaptik aralıktaki asetilkolin metabolizmasından sorumludur. BChE'nin ise böyle bir fonksiyonu yoktur. Aslında işlevinin tam olarak aydınlatılamadığı da bilinmektedir (Sağlık vd., 2016). AChE bilinen en hızlı enzimlerden biridir (saniyede 250,000 asetilkolin molekülünü hidrolize edebilir.) ve 537 aminoasit uzunluğunda bir molekül yapısına sahiptir (Şekil 2.7). AChE, sinir ucu boyunca biriken kimyasal molekülleri parçalayarak uzaklaştırarak elektron taşıyıcıları için uygun bir ortam oluşturur. Böylece sinir iletiminde herhangi bir aksaklık meydana gelmesini engeller. AChE enzimi, Asetilkolin (ACh) adlı nörotransmitter maddesinin hidrolizleme işleminde kataliz görevi üstlenir ve biyolojik açıdan büyük bir öneme sahiptir. (Massoulié vd., 1993).



Şekil 2.7. AChE'nin protein yapısının üç boyutlu gösterimi



Şekil 2.8. AChE enziminin aktif merkezi

AChE beyinde, kaslarda ve kolinerjik nöronlarda bulunur. Membrana bağlı bir enzimdir ve birden fazla alt birimden oluşur. Memeli beyinde AChE'nin çoğu membrana bağlı G4 formunda bulunur, ancak nöronlar dejenere oldukça seviyesi düşer. AChE, kolinerjik sinapslarda nörotransmitter ACh'yi hidrolize ederek çeşitli fizyolojik tepkimelerin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Öte yandan, BChE sinir dokusu hücrelerinden olan nöroglia da eksprese edilir ve barsak, karaciğer, kalp, böbrek, akciğer ve serumda bulunur. Ester içeren bileşiklerin metabolizması, hayati bir işlevi yerine getirir. Bu bileşikler, ACh'yi parçalayarak seviyelerini azaltabilir ve hatta AH'de artırabilir. Normalde, beyinde AChE baskındır, ancak AH hastalarının beyinde AChE aktivitesi değişmeyebilir veya azalırken BChE aktivitesi artabilir. Her iki enzim de ACh'yi hidrolize ederek kolinerjik sinyal sonlandırır. Bu nedenle hem AChE hem de BChE'yi inhibe eden bir ilaç, seçici AChE veya BChE inhibitörlerine tercih edilebilir. Son birkaç yıldır, donepezil, galantamin, rivastigmin ve takrin dahil olmak üzere sentetik ChE inhibitörleri (ChEI'ler) AH'nin klinik tedavisinde kullanılmaktadır. Ancak, bu ilaçların kullanımı yetersiz aktivite ve gastrointestinal rahatsızlık ve hepatotoksikite gibi yan etkiler nedeniyle kısıtlanmıştır. Yukarıdaki ilaç sınıfının AH tedavisi için kullanımı ciddi yan etkileri nedeniyle sınırlı kalmıştır. Sentetik ChEI'lerin olumsuz yan etkileri nedeniyle, sentetik ilaçlara alternatif olarak toksik olmayan ChEI'lerin geliştirilmesi araştırmacılar arasında büyük ilgi görmektedir ve birçok doğal AChE inhibitörü izole edilmiş veya sentezlenmiştir. Bu nedenle, yeni bileşiklerin araştırılması AH tedavisi için önemini korumaktadır (Akıncıoğlu vd., 2017).

2.4. Alzheimer Hastalığı (AH)

Alzheimer hastalığı (AH), çoğunlukla yaşlı insanları etkileyen en yaygın bunama biçimlerinden biridir. Erken evrelerde AH tanımlaması tıbbi uygulamada zor bir görevdir ve AH 'nin erken evrelerde saptanmasında kesin olduğu bilinen bir biyobelirteç henüz yoktur. Ayrıca, AH şu anda tedavi edilebilir bir hastalık değildir ve AH ilaçları için yapılan klinik çalışmalarda yüksek bir başarısızlık oranı vardır. Araştırmacılar, ilerlemesini yavaşlatmaya yardımcı olmak için AH'nin erken teşhisinde yollar bulmak için çaba sarf etmektedir (Mirzaei ve Adeli, 2022). AH 'nin ilerlemesinde en yaygın kabul gören hipotez, amiloid- β peptidin ($A\beta$) hastalık gelişimi ve ilerlemesinde kilit bir oyuncu olduğunu düşünülmektedir. Diğer kabul gören hipotez ise kolinerjik kayıptır. (Benek vd., 2020).

2.5. Kanser

Kanser, tek bir hücrenin kontrolünü kaybederek normal büyüme ve replikasyon süreçlerinin bozulmasıyla ortaya çıkan ölümcül bir hastalıktır ve bu duruma karsinogenez denir. Beslenme ve çevresel etkenler gibi faktörler, birçok hücrel süreci etkileyerek karsinogenezle ilişkilidir. Kanserın başlangıcı, ilerlemesi ve gelişimi olmak üzere üç evrede gerçekleşir. Başlangıç evresinde hücre, bir ajana maruz kalır ve genetik bir mutasyon meydana gelir, ancak bu durum kanserin gelişimi için yeterli değildir. Bu aşamada erken teşhis ile hastalığın ortaya çıkması engellenebilir. İlerleme evresi olarak adlandırılan ve proliferasyon dediğimiz evrede hücreler artmaya veya bölünerek çoğalmaya devam eder. Gelişme evresinde, başlangıç ve ilerleme evrelerinde oluşan hücreler, tümör dokusunu meydana getirir (Açıkgöz ve Yıldız, 2017, Yüncü 2023). Tümör dokusu, halk arasında iyi huylu olarak adlandırılan benign veya kötü huylu olarak bilinen malign özellikte olabilir. İyi huylu tümör dokusu kanser değildir ve bu hücreler vücudun diğer bölgelerine yayılmaz (Öztad, 2020).

Hastalığın ortaya çıkmasında kontrolsüz çoğalmanın yanı sıra, bu hücrelerin sağlıklı diğer dokulara invazyon yapma (istila) ve bu dokulara ulaşmak için dolaşıma geçme (metastaz) gibi malign özelliklere de sahiptir (Çelik, 2022; Ekrek, 2022).

Sebebi tam olarak bilinmemesine rağmen kanser gelişmesindeki başlıca değiştirebilir risk faktörleri;

- Alkol-sigara tüketimi
- Radyasyon, aşırı dozda röntgen ışınına maruz kalma
- Virüsler,
- Beslenme alışkanlığı,
- Gıda katkı maddeleri,
- Güneş ışığı
- Çeşitli kimyasal maddelere maruz kalma
- Hava kirliliği

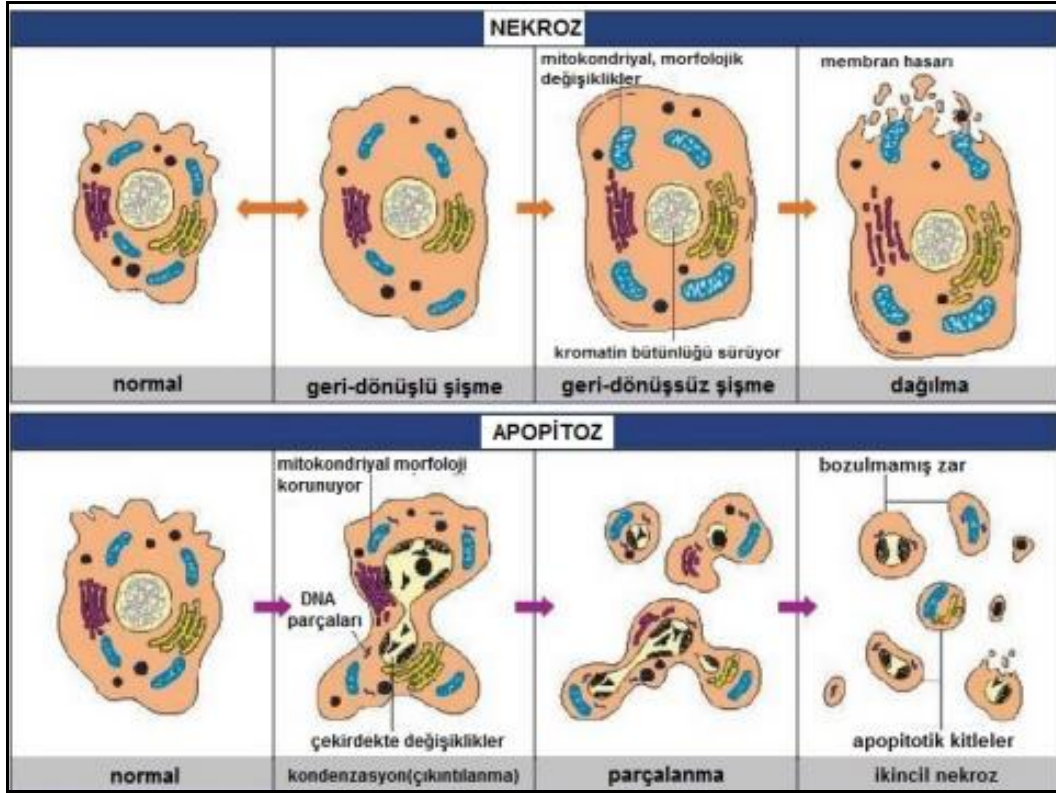
Yaş, cinsiyet ve aile öyküsü değiştirilemeyen faktörler arasında sayılabilirler (Aydın, 2022). Sürekli hücre bölünmesi dışında meydana gelen bazı işaretlerde kanserli hücre tanısının konulmasında önemlidir. Kanserli hücre rutin testlerle rastgele fark edilebileceği gibi bazı semptomlarla da tanı konulabilir. Kanserli hücreler yaklaşık 1 cm büyüklüktedir. Bundan sonra tespit edilen hücre grupları kitle, tümör, lezyon veya nodül olarak adlandırılırlar. Kanser tedavisinde kullanılan ilaçlar, sağlıklı hücelere zarar vermeden hızla büyüyen kanser hücrelerini yok etmeyi hedeflemekte ve gelişmekte olan bilim ve teknoloji ile kanser ilaçlarının daha az yan etkili, tümör hücrelerinde daha yüksek başarı oranları amaçlanmaktadır (Gökmen, 2022). Bu çalışmamızda sentezlenen bileşiklerin akciğer, meme, prostat kanseri hücreleri üzerine sitotoksik etkileri incelenmiştir.

Sitotoksiste: Kısaca bir maddenin hücreler için ne kadar toksik veya toksik olabileceğini tanımlayan maddeler anlamına gelir. Hücre canlılığını etkileyen mutasyon, malignite ya da geri dönüşü olmayan hücre ölümü gibi durumlar için kullanılan genel bir terimdir. Sitotoksik etki sonucunda hücre ölümü gözlenebilir. Hücre ölümü, nekroz, apoptoz ve otofaji olmak üzere üç şekilde meydana gelebilir (Aytaç, 2015).

Nekroz: Latince "ölmek" ya da "öldürmek" anlamına gelir. Bir veya daha fazla doku hücresinin, dokunun ya da organın geri dönüşü olmayan bir şekilde hasar görmesi sonucu ortaya çıkan patolojik ölümdür. Nekroz, tesadüfi gelişen ve genetik kontrol altında olmayan düzensiz bir süreçtir. ATP'den bağımsız olarak, bir travma ya da yaralanma sonucunda meydana gelir. Hücre zarı bütünlüğünün bozulması ile zarın geçirgenliği artar, mitokondri başta olmak üzere organeller işlevlerini yitirir ve şişer. Sonrasında hücre parçalanır ve böylece hücre içeriği ekstraselüler alana dağılır. Nekroz, hücre ölümü

sonucunda inflamasyonu tetikleyip doku hasarına neden olduğu bilinmektedir.(Aytaç, 2015; Samali vd., 1999).

Apoptosis veya Apoptoz (Programlanmış hücre ölümü): Apoptoz terimi, 1972 yılında Kerr, Wyllie ve Currie tarafından bir makalede hücre ölümünün morfolojik olarak farklı bir formunu tanımlamak amacıyla ilk defa kullanıldı. Bu otonom süreç, çeşitli genlerin aktivasyonunu, ekspresyonunu ve düzenlenmesini içerir; istenmeyen veya anormal hücreleri uzaklaştırmayı ve kararlı bir iç ortamı sürdürmeyi hedefler. Apoptoz, normal olarak gelişim ve yaşlanma süreçlerinde ortaya çıkar ve dokulardaki hücre popülasyonlarını korumak için homeostatik bir mekanizma sağlar. Aynı zamanda, apoptoz, aynı hücrelerin hastalık veya zararlı ajanlar tarafından hasar gördüğü durumda bir savunma mekanizması olarak da ortaya çıkar. Apoptozu tetikleyebilen patolojik bir durum olsa da, tüm hücrelerin aynı uyarıya yanıt olarak ölmesi gerekli değildir. Kanser kemoterapisi için kullanılan ışınlama veya ilaçlar, DNA hasarına neden olabilir. Apoptozun olmaması gereken bir durumda gerçekleşmesi ya da apoptozun olması gereken bir durumda gerçekleşmemesi, organizma için ciddi bir tehlike oluşturabilir. Örneğin, gelişen bir embriyoda, insan parmakları arasındaki hücrelerin apoptoz başlatması gereklidir ki sonradan parmaklar birbirinden ayrılabilir. DNA hasarı almış hücreler genellikle apoptoz yoluyla kendilerini öldürürler. Apoptoza geçemeyen ve genetik olarak değişmiş hücreler, ilerleyen aşamalarda kanser gelişimine yol açabilirler.(Ekrek, 2022; Elmore, 2007).



Şekil 2.9. Nekrotik ve apoptotik hücre ölümü aşamaları (Aytaç, 2015)

Otofaji: Otofaji, Latince'de "kendini yeme" anlamına gelir ve vücudun hasarlı hücrelerini temizleme amacıyla gerçekleşen bir mekanizma olarak tanımlanır. Otofaji, uzun ömürlü proteinlerin, fonksiyonu bozulmuş organellerin, sitozolik parçaların, hasarlı makromoleküllerin ve patojenlerin yok edilmesinde görevli fizyolojik bir süreci ifade eden kalite kontrol sistemi olarak işlev görür (Aynur, 2016). Antikanser ilaç adaylarının belirlenmesi hücre ölümüne sebep olan mekanizmaların doğru bir şekilde tanımlanabilmesine bağlıdır. Bu da bir takım in vitro sitotoksik etki tarama testlerinin yapılmasını gerektirir.

Bu testler şunları içerir:

1. Hücrede meydana gelen morfolojik değişimlere bağlı olarak hücre ölümünün sebeplerini belirleme ve sınıflandırılması.
2. Hücre zarındaki bütünlüğün ve yapısının değişimine bağlı testleri belirleme
3. Metabolik işlevselliği tespit etmeye yönelik testler
4. DNA sentezi ve bütünlüğünü değerlendiren protokoller
5. Hücre çoğalmasını (proliferasyonu) belirlemeye yönelik testler

Bu in vitro sitotoksosite testleri, antikanser ilaç sentezi ve geliştirilmesindeki ilk aşamalardır. Bu testlerin sonuçlarına göre, sitotoksik etkinliği önemli bulunan bileşikler, tümör hacmi/büyükülüğü üzerindeki in vivo etkilerini ölçmek amacıyla gelişmiş hayvan deneylerine tabi tutulur (Aytaç, 2015).

Meme kanseri

Meme kanseri, dünya genelinde en sık görülen kanser türlerinden biridir, özellikle kadınlarda (%22) ve kadınlarda kansere bağlı ölümler arasında akciğer kanserinden sonra ikinci sıradadır. Ancak, son 10-15 yılda meme kanseri ölümleri, kanser taramalarındaki yeni gelişmeler ve daha etkili tedavi yöntemleri gibi birçok faktöre bağlı olarak yılda ortalama %2-3 oranında azalma göstermiştir (Dumitrescu ve Cotarla, 2005; Stewart, 2004).

Prostat kanseri

Prostat erkeklere mahsus sekonder cinsiyet organıdır ve ergenliğe kadar boyutları değişmeden kalır. Ergenlikle birlikte androjenlerin etkisi ile gelişimini tamamlayarak hacmini ikiye katlar. Ortalama 45-50 yaşlarından sonra tüm erkeklerde tekrar büyümeye başlar (Şimşek, 1989). Prostat kanseri, dünya genelinde erkeklerde akciğer kanserinden sonra en sık ölüme yol açan ikinci kanser türüdür. En önemli risk faktörleri yaş, etnik köken, genetik faktörler ve diyet olarak sıralanabilir. Prostat kanseri, 40 yaş öncesi nadir görülse de bilinen diğer kanser türlerine göre yaşla kuvvetli bir ilişki gösterir. Prostat kanserinin teşhisi için kullanılan belirleyici bir gösterge, serumda bulunan prostat-spesifik antijen (PSA) adlı bir belirteçtir. PSA, FDA tarafından kanser erken tanısı için onaylanan ilk tümör belirleyicisidir (Ertunç ve Tuna, 2022; Hoffman, 2011).

Akciğer kanseri

Akciğer kanseri, dünya genelinde hem erkeklerde en sık görülen kanser hem de görülme sıklığı ve ölüm oranı açısından birinci sıradadır. Kadınlar arasında ise en sık görülen üçüncü kanser türüdür ve meme kanserinden sonra ikinci sıradadır. Akciğer kanserine yakalanma olasılığı en yüksek olan kesim, sigara içen ve 50 yaş üstü kişilerdir (Mustafa vd., 2016). Sigara içmeyenlerle karşılaştırıldığında akciğer kanseri için en önemli risk faktörüdür. Sigara kullanmak kadınların %90'ında, erkeklerin %79'unda akciğer kanseriyle

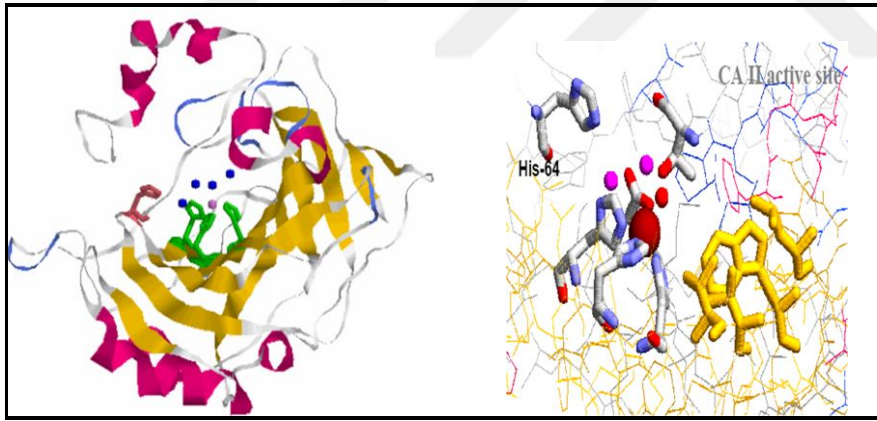
doğrudan bağlantılıdır. Dumanına maruz kalma ya da pasif içicilik de bir risk faktörüdür (Collins, 2007). Akciğer kanseri her organa metastaz yapabilir. Metastaz olan olgularda iştahsızlık, zayıflama, halsizlik gibi semptomlar sıklıkla gözlenir. En sık metastaz olan organlar kemik, karaciğer, beyin ve surrenallerdir (Erturan, 2016).

2.6. Karbonik Anhidraz Enzimi

Karbonik anhidraz (CA), çinko (Zn^{2+}) iyonunu içeren bir metaloenzim olup, tüm organizmalarda bulunmaktadır (Efe, 2017). Karbonat dehidrataz olarak bilinen bu enzim, karbondioksit (CO_2) ve suyun (H_2O) geri dönüşümlü hidratasyonunu, bikarbonat (HCO_3^-) ve bir protona (H^+) katalizler (Terzi, 2021; Topal vd., 2017).

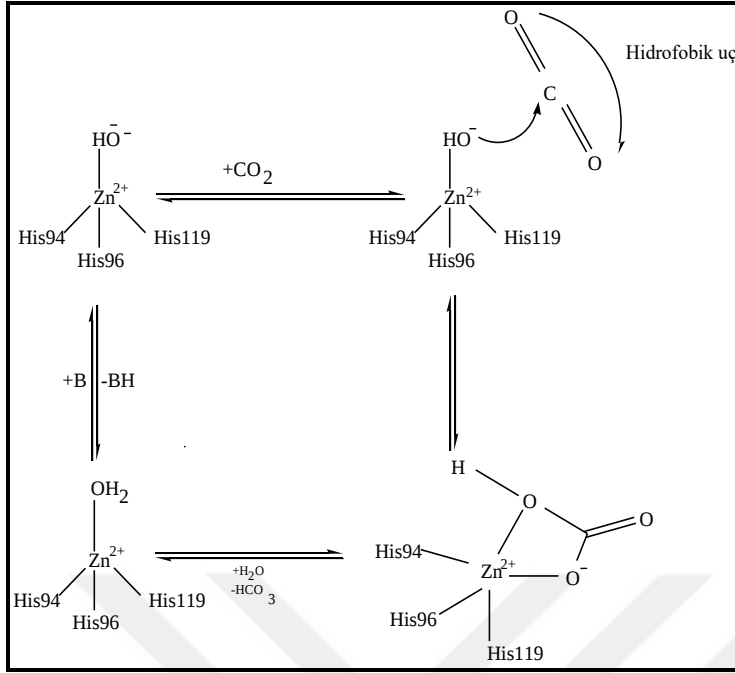


2.6.1. Karbonik anhidrazın yapısı ve katalitik mekanizması



Şekil 2.10. Karbonikanhidrazın yapısı (Supuran, 2008)

Karbonik anhidrazın katalitik etkisi, aktif bölgesinde Zn^{2+} iyonu ve ona bağlı bir hidroksil grubu içermesinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca, aktif bölge yakınındaki amino asitler, proton gradiyenti oluşturabilme kapasitesine sahiptirler. Yapısal olarak, bir Zn^{2+} iyonu, bir OH^- iyonu ve üç histidin kalıntısı (His-94, His-96, His-119) ile bağ yapmıştır. Karbonik anhidraz, yapısındaki Zn^{2+} iyonuna bağlı OH^- iyonu sayesinde nükleofilik olarak CO_2 molekülüne saldırır ve böylece Zn^{2+} iyonuna bağlı HCO_3^- iyonunun oluşumunu sağlar. Daha sonra HCO_3^- iyonu bir su molekülüyle yer değiştirir ve çözeltiye geçer (Şekil.2.11). Böylece CO_2 molekülünün HCO_3^- iyonuna dönüşümü gerçekleşmiş olur (Uğurlu, 2012).



Şekil 2.11. Karbonikanhidrazın CO₂ hidratasyon tepkimesinin kataliz mekanizması (Supuran, 2008)

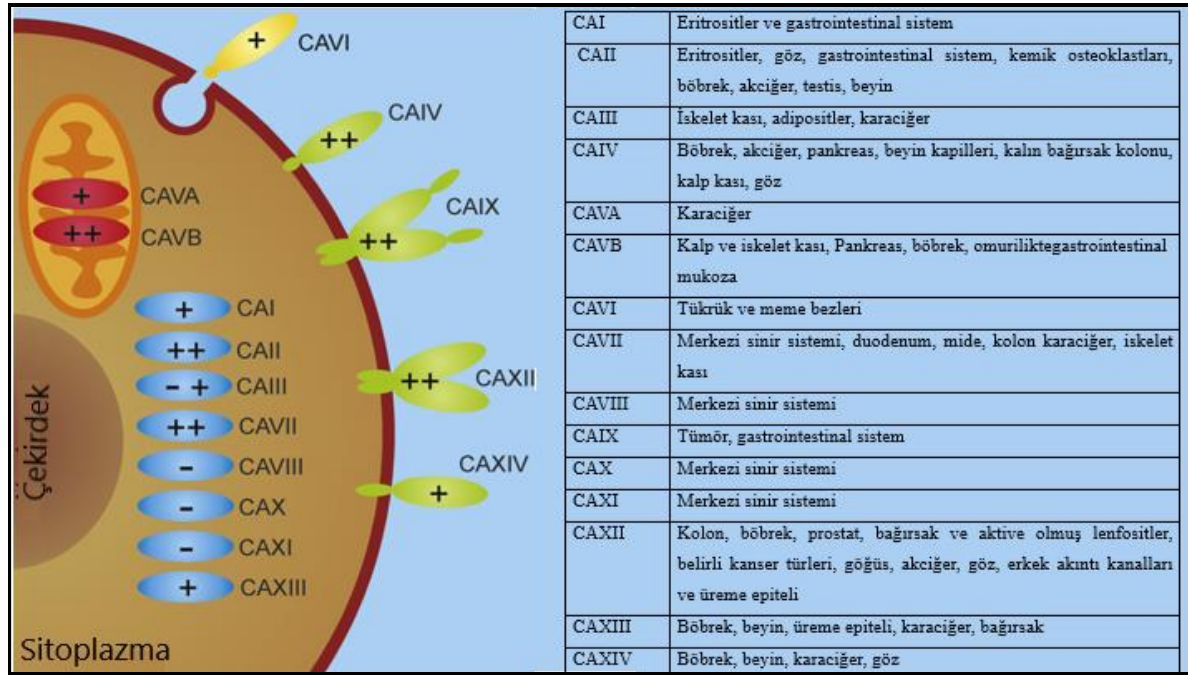
2.6.2. Karbonik anhidraz izoenzimleri



Bu tepkime birçok biyolojik sistemde ciddi bir fizyolojik rol oynar. (Topal vd., 2017) CO₂'nin dokular ve solunum yüzeyleri arasında HCO₃⁻ a taşınması: pH homeostazı, çeşitli kemik rezorpsiyonlarında elektrolit taşınması, epitel, kalsifikasyon ve glukoneogenez, lipogenez ve üreogenez gibi biyosentetik tepkimeler bu fizyolojik ve biyolojik süreçlerden bazılarıdır. CA izoenzimleri α-, β-, γ-, δ-, ε-, n- ve θ-CAs olmak üzere birbirinden bağımsız yedi farklı gen ailesi tarafından kodlanır. Hepsi aynı CO₂ hidratasyon tepkimesini katalize eder ama her aile birincil amino asit dizisine uygun spesifik özellikler gösterir. α-CA'lar ağırlıklı olarak omurgalılarda eksprese edilir ve insanlarda gözlenen tek sınıftır. Ayrıca, α-CA'lar konum ve doku dağılımı bakımından farklılık gösterirler; α-CA enziminin beş tanesi sitoplazmik (CA I, II, III, VII ve XIII), iki tanesi mitokondriyal (CA VA, VB), bir izozimi salgısal (CA VI), dördü membrana bağlı (CA IV, IX, XII ve XIV) ve üçü de nonkatalitik (VIII, X, XI) olmak üzere 15 izoenzimi tanımlanmıştır (Şekil 2.12). CA IX, XII izoenzimleri membran CA'ları olarak bilinir ve iyi bilinen onkogenik hedeflerdir. Bu izoenzimler gastrointestinal mukoza gibi çok sınırlı sayıda normal dokuda

da bulunmuştur. Son yıllarda bu izoformların inhibisyonu/aktivasyonu glokom, ödem, obezite, nöropatik ağrı, artrit, osteoporoz, Alzheimer Hastalığı ve son zamanlarda ise kanser olmak üzere çeşitli hastalıklarda kullanılmaktadır. Genetik araştırmalarda, CA IX ve XII'nin başlıca tümör prosurvival pH düzenleyici enzimler olarak önemli bir role sahip olduğu düşünülmektedir. (Akıncıoğlu vd., 2017; Akocak vd., 2018; Lolak vd., 2018).

2.6.3. Karbonik anhidrazın lokasyonu ve katalitik aktivitesi



Şekil 2.12. İnsandaki α -CAs'ın hücredeki lokalizasyonu, doku dağılımı ve enzim aktivitelerinin (aktivite yok (-), düşük (-,+), orta (+), yüksek (++) aktivite) şematik gösterimi. Sitolitik CA'lar ve mitokondriyal CA VA ve VB sadece CA alanından oluşur; membranla ilişkili CA IV, IX, XII ve XIV bir transmembrana sahiptir ve CA IV dışında sitoplazmik bir kuyruk içerirken, CA IX N-terminal proteoglikan benzeri alana sahip tek izozimdir (Truppo vd., 2012)

2.6.4. Karbonik anhidraz izoenzimlerinin fizyolojik rolleri

Çizelge 2.1. Karbonik anhidraz izoenzimlerinin fizyolojik rolleri ve sebep olduğu hastalıklar (Supuran, 2008)

İzozim	Fizyolojik rol	Disfonksiyonlar/Hastalıklar
I, II, IV, IX	CO ₂ /HCO ₃ 'ün taşınması	Solunum/dolaşım bozuklukları
II, IV	hümör aköz göz salgısı	Glokom (göz tansiyonu)
II, IV	Kemik dokusundan Ca ²⁺ salınımı	Osteoporoz
I-IV, IX, XII	pH homeostazisi	Metabolik işlev bozuklukları, Kanser
II	Mide ve pankreas suyu salgısı	Mide ülseri, Sindirim hastalığı, Diyabet
I, II	Beyin omurilik sıvısı salgısı	Serebral ödem, İdiyopatik intrakraniyal hipertansiyon
VA, VB	Glukoneogenez için HCO ₃ ⁻ sağlar	Obezite

2.6.5. Karbonik anhidraz inhibitörleri

Karbonikanhidraz inhibitörlerinin (CAI'ler) iki ana sınıfı bilinmektedir: metal kompleksleştirici anyonlar ve ikame edilmemiş sülfonamidler ve bunların biyoizosterleri (sülfamatlar ve sülfamid bileşikleri gibi). Bu inhibitörler Zn²⁺ iyonuna bağlanır. Klinik olarak kullanılan en az 25 ilaç CA inhibitör özelliklerine sahip olduğu bildirilmiştir (Supuran 2008). CA izoenzimlerinden bazıları (CA I, CA II ve CA IV), insan gözünde bulunur. Glokom, göz tansiyonu nedeniyle oluşan göz siniri hasarı olarak tanımlanan bir hastalıktır. Karbonik anhidraz inhibitörleri yıllardır glokom tedavisinde kullanılmaktadır ve klinik tıpta glokom tedavisi için bilinen en etkili inhibitörlerdir. Bu inhibitörler, artmış göz içi basıncını azaltarak hastalığı tedavi ederler (Efe, 2017). Özellikle birincil sülfonamidler ve bunların izoesterleri (sülfamidler, sülfamatlar) son yıllardan beri üzerinde en çok çalışılan CA inhibitörleridir. Yakın zamanlarda, sülfonamid bazlı CA inhibitörlerinden (CAI), üreido sülfonamid türevleri kanser hastalığında oldukça etkili olup Faz I/II klinik deneylerine ulaşmıştır (Akocak vd., 2018). CA izoenzimleri yapısal olarak birbirine benzerdir. Bu nedenle izoenzime seçici inhibitör geliştirmek klinik açıdan önem arz etmektedir. Kanser hastalığına sebep olduğu bilinen CA IX ve XII izozimleri hücre membranında dimerik yapıya sahip enzimlerdir (Şekil 2.8). Ayrıca sağlıklı hücrelerde bu enzimlere rastlanmamıştır. Bu nedenle bis-üre türevi Sülfonamidlerin bu izoenzimler için iyi bir inhibitör olduğu düşünülmektedir (Akocak vd., 2017).

2.7. Kaynak Araştırması

Hachiro Sugimoto ve arkadaşları (2002) donepezil, takrin ve fizostigmin gibi kolinesteraz (ChE) inhibitörlerinin alzheimer hastalığının (AH) ilerlemesini çok önemli ölçüde olmamakla beraber durdurduğunu ifade etmişler, AH hastalarının bilişsel işlevlerinde önemli bir iyileşme gösterdiğini ifade ederek donepezil üzerinde yaptıkları klinik araştırmada donepezilin diğerlerine kıyasla yeni bir yapıya sahip olduğunu ve güçlü bir AChE inhibitörü olduğunu bütirilkolinesteraz ile karşılaştırıldığında AChE nin oldukça seçici ve uzun süreli etkinliğe sahip olduğunu göstermişlerdir (Sugimoto vd., 2002).

Derya Osmaniye ve arkadaşları (2019) tarafından tiyazol-piperazin hibritlerinden oluşan yeni bir seri tiazolilhidrazon türevlerini sentezlenmiş, sentezlenen bileşiklerin yapı tanımlaması $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ ve LCMS-MS spektroskopik yöntemlerle aydınlatılmış ve sentezlenen bileşiklerin inhibitör potansiyelini belirlemek için kolinesteraz enzimleri üzerindeki etkisi Ellman yöntemiyle araştırılmıştır. 3a, 3c ve 3i kodlu bileşiklerin asetilkolinesteraz (AChE) enzimi üzerinde önemli inhibitör aktivite gösterdiği, diğer yandan sentezlenen bileşiklerin hiçbirisi bütirilkolinesteraz üzerinde önemli bir inhibitör etki göstermediği ifade edilmiştir. Enzim aktivite testlerinin yanında ek olarak yapılan docking sonucunda 3c kodlu bileşiğin potansiyel olarak bir çift bağlanma bölgesi içerdiğini ve etkin bir AChE inhibitörü olduğunu göstermişlerdir (Osmaniye vd., 2019).

Mahmut Onur Karaytuğ ve arkadaşları (2022) biyolojik süreçte birçok rolü olan Piperazin türevleri üzerine yaptıkları çalışmada, sentezlerin AChE, BChE ve GST ye (Glutasyon S-transferazlar) karşı inhibisyon etkilerini araştırmış IC_{50} olarak da tanımlanan yarı inhibisyon derişimleri AChE için 4,59-6,48 μM , BChE için 4,85-8,35 μM ve GST için 3,94-8,66 μM aralığında bulmuşlardır. Ayrıca, piperazin türevlerinin AChE, BChE ve GST'ye karşı sırasıyla $8,04 \pm 5,73$ - $61,94 \pm 54,56$ - $0,24 \pm 0,03$ - $32,14 \pm 16,20$ ve $7,73 \pm 1,13$ - $22,97 \pm 9,10$ μM Ki değerlerine sahip olduklarını tespit etmişlerdir. Sonuç olarak, AChE/BChE ve GST (Glutasyon S-transferazlar) enzimlerine karşı inhibitör özellikleri Tacrine (AChE ve BChE için) ve Etakrinik asit (GST için) ile karşılaştırılmıştır (Karaytuğ vd., 2023).

İlkay Orhan ve arkadaşları (2007), in vitro olarak, bir dizi fenolik asidin (klorojenik, kafeik, gallik ve kinik asit) ve çeşitli flavonoid türevlerinin (genistein, biochanin A,

naringin, apigenin, quercetin, luteolin-7-O-rutinoside, kaempferol-3-O-galactoside, diosmin, silibinin ve silymarin) AChE ve BChE'ye karşı inhibitör aktivitelerini Elman yöntemi belirlemişlerdir. Test numuneleri arasında sadece quercetin AChE'ye karşı önemli bir inhibisyon etkisi (%76,2), gösterdiği bunun yanında genistein %65,7, luteolin-7-O-rutinoside %54,9 ve silibinin ise (%51,4) oranında inhibisyon etkisi gösterdiği gözlemlenmiştir. Moleküllerin BChE üzerinde ise orta düzeyde bir inhibisyon etkisi gösterdiklerini rapor etmişlerdir. (Orhan vd., 2007).

Mehmet Koca (2022), 5-formilfuran- metil 4-nitro benzoat ve yeni tasarlanan (5-formilfuran-2-metil 3,4-dimetoksibenzoat bileşiklerini sentezlemiş, sentezlenen bileşiklerin kimyasal yapılarını HRMS, ¹H NMR ve ¹³C NMR ile karakterize etmiştir. Bileşiklerin AChE inhibitör etkisi in vitro kolorimetrik Ellman yöntemi ile belirlenmiştir. Bileşik 1 ve Bileşik 2 için IC₅₀ değerleri sırasıyla 3.25 µM ve 8.45 µM olarak bulmuş ve AChE'ye karşı inhibitör etkisi sergilediğini ifade etmiştir. Bileşik 1 ve Bileşik 2 nin BChE'ye karşı inhibitör etkisini belirlemek amacıyla bulunan IC₅₀ değerleri ise sırasıyla 8,45 µM ve 14,44 µM olarak bulmuştur. Bileşiklerin moleküler docking testlerinde 1EVE ve 1P0I ile yapılan kenetlenme simülasyonlarında, Bileşik 1'in bağlanma serbest enerji skorlarının Bileşik 2'nin bağlanma serbest enerji skorlarından daha yüksek olduğunu bulmuştur. Bu bakımdan, bu türevlerin kolinesteraz inhibitörü olarak yeni ilaçların geliştirilmesinde kullanılabileceğini rapor etmiştir (Koca, 2022).

Esra Bilen (2019) çalışmasında, asetilkolinesteraz ve bütirikolinesterazı (AChE, BChE) inhibe eden yeni bir sülfonamid grubu içeren bileşikler sentezlemiştir ve bu bileşiklerin biyoenzimlere karşı gösterdiği yarı derişim inhibisyon etkilerini (IC₅₀) in vitro olarak belirlemiştir. Hem sülfonamid hem de hidrazin grubu içeren farmakolojik özelliklere sahip bileşiklerle, çeşitli aldehit ve keton bileşiklerini içeren farklı substituent grupları kullanarak bir dizi alkil sülfonil hidrazon bileşiklerini sentezlemiştir. Bileşiklerin yapıları ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve FT-IR yöntemleriyle karakterize edildikten sonra, alkil sülfonil hidrazon bileşiklerinin asetilkolinesteraz ve bütirikolinesteraz enzimlerine karşı inhibisyon etkileri Ellman Metodu kullanılarak incelenmiştir. Yapılan ölçümlerin sonuçları, 'GraphPad Prism 6' programı kullanılarak IC₅₀ değerleri hesaplanarak elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, sentezlenen bileşiklerin tümünün AChE ve BChE enzimleri üzerinde inhibisyon etkisi gösterdiği, IC₅₀ değerleri kıyaslandığında en iyi sonucun AChE enzimi için SH-2.3

kodlu bileşiğin ($IC_{50} = 5,27 \pm 0,05 \mu M$) ve BChE enzimi için ise SH-3.3 kodlu bileşiğin ($IC_{50} = 12,29 \pm 1,47 \mu M$) olduğu rapor edilmiştir. (Bilen, 2019).

Süleyman Akocak ve arkadaşları (2021) altı adet N-karbamimidoyl-4-(3-süstitüe fenilüreido) benzensülfonamid türevi serisi, sülfaguanidinin aromatik izosiyanatlarla tepkimesi ile sentezlemişlerdir. Yeni üreido-süstitüe sülfaguanidin türevlerinin in vitro ve in silico inhibitör etkileri, diabetes mellitus (DM) ve Alzheimer hastalığı (AH) ile ilişkili α -glikozidaz (α -GLY), asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirilkolinesteraz (BChE) enzimleri için spektrofotometrik yöntemlerle araştırılmıştır. N-Karbamimidol-4-[(3,4-diklorofenil) karbamoil] amino} benzen-1-sülfonamidin (2f kodlu bileşik), AChE ve BChE inhibitör etkisi incelendiğinde KI değerleri sırasıyla AChE için $515,98 \pm 45,03$ nM ve BChE için ise $598,47 \pm 59,18$ nM olarak bulmuşlardır. N-karbamimidoyl-4-[(3-klorofenil) karbamoil] amino} benzen-1-sülfonamid (2e kodlu bileşik), $103,94 \pm 13,06$ nM KI değeri ile güçlü α -GLY inhibitör etkisi göstermiştir. Yeni sentezlenen bileşiklerin antidiyabetik etkilerinin anti-Alzheimer etkilerinden daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Bunun sebebinin bileşiklerin diyabetik enzim ile α -GLY üzerindeki inhibisyon etkisinin esteraz enzimleri üzerindeki etkisinden daha büyük olmasına bağlamışlardır (Akocak vd., 2021).

Alena Komersova ve arkadaşları (2007), kolinesteraz aktivitesi tayinlerinde sıklıkla başvurulmuş Ellman spektrofotometrik yöntemi için bazı detayları rapor etmişlerdir. Bu metotda kromojen olarak 5,5-ditiyobis-2-nitrobenzoik asit (DTNB, Ellman reaktifi) kullanması gerektiğini ve kolinesteraz aktivite seviyesini 412 nm'de absorbanstır artışı olarak karşımıza çıkacağını ifade etmişlerdir. Bu prosedürün genellikle sorunla karşılaşılmayacağını ama DTNB derişiminin asetiltiyokolin (ATCH) derişiminden yüksek olduğu durumlarda istisnalar ortaya çıkabileceğini ifade etmişlerdir. DTNB/ATCH derişim oranı ATCH hidrolizi için önemli bir parametre olduğunu DTNB fazlalığının enzimatik hidroliz oranını azaltarak daha düşük bir enzim aktivitesi bulunacağını rapor etmişlerdir (Komersová vd., 2007).

Tuğba Cengiz (2019) tez çalışmasında, yeni sentezlenmiş kumarin tiyazol türevlerinin asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirilkolinesteraza (BChE) karşı inhibisyon etkilerini (IC_{50}) incelemiş, bileşiklerin inhibisyon etkilerini belirlemek için Ellman yöntemini kullanmıştır. Elde edilen IC_{50} değerlerini kontrol bileşiği olan Donepezil ile karşılaştıran araştırmacı, bileşiklerin oldukça iyi inhibisyon etkileri sergilediğini kanıtlamıştır. Her iki enzim için en

iyi inhibisyon etkisinin Naf-CTS (2-Hidroksi-1-naftaldehitkumarintiyazol) bileşiğine ait olduğu gözlemlenmiştir. IC_{50} değerleri kıyaslandığında, en iyi sonuçların AChE enzimi için Naf-CTS bileşiği ve BChE enzimi için de Naf-CTS bileşiği olduğunu ifade etmiştir. Ayrıca, bu bileşiklerin seçilen bazı bakteri ve maya hücreleri üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri de araştırılmış, yeni sentezlenmiş bileşiklerin minimum inhibitör derişimi (MİK), minimum bakterisidal derişimi (MBK) ve minimum fungisidal derişimi (MFK) mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Sonuç olarak, sentezlenen bileşiklerin kolinesteraz enzimlerine karşı güçlü bir inhibitör olmanın yanı sıra güçlü antimikrobiyal ve güçlü antifungal etkilere sahip olduğunu belirtmiştir (Cengiz, 2019).

İlçim Ceyhun (2022) yapmış olduğu tez çalışmasında şalkon türevi 12 bileşik sentezlemiş elde edilen bileşiklerin yapısı IR, 1H -NMR, ^{13}C -NMR ve Kütle spektroskopisi ile aydınlatılmıştır. Sentezlenen şalkon türevlerinin kolinesteraz enzimleri üzerindeki inhibisyon etkisini araştırmış bileşiklerin hiçbirisinin BChE enzimi üzerinde önemli bir inhibisyon etki göstermediğini belirtmiş ancak 2d, 2f, 2j ve 2l kodlu bileşiklerin AChE üzerinde kayda değer bir etki gösterdiğini ifade etmiştir. Aynı zamanda yüksek inhibisyon aktivitesi gösteren bileşikler üzerinde enzim-kinetik çalışması ile substrat-enzim ilişkisindeki etkinliğini de araştırmıştır. Bunun yanında AChE enzim aktif bölgesinin belirlenmesi için moleküler docking çalışması da yapılmak suretiyle enzim aktif bölgesi ile bağlanma noktaları tespit etmiştir. Bu bağlamda AChE enzim aktif bölgeleri ile en güçlü etkileşimin 2f kodlu bileşik olduğunu rapor etmiştir (Ceyhun, 2022).

Gözde Sayar Gümüş (2017), yürüttüğü tez çalışmasında, 4-(1H-benzimidazol/benzoksazol/benzotiyazol-2-il) benzohidrazit-hidrazon türevi olan 39 bileşiği tasarlayarak sentezlemiştir. Bu bileşikler, hem benzimidazol, benzoksazol veya benzotiyazol iskeletini hem de hidrazon yapısını içermektedir. Sentezlenen ve saflaştırılan bileşiklerin yapılarını IR, 1H NMR, kütle spektrumları ve elementel analiz kullanarak belirlemiştir. Bileşiklerin AChE/BChE üzerindeki inhibitör etkilerini modifiye edilmiş Ellman testi ile değerlendirmiştir. Tüm bileşikler, AChE enzimine karşı 1.0-10.7 μM aralığında bir inhibisyon etkisi göstermiştir. Seri içinde AH-9 bileşiğinin, referans bileşiği galantamine'e yakın bir AChE inhibisyonu sergileyerek en etkili bileşik olduğunu belirtmiş, aynı zamanda CH-6 bileşiğinin sadece AChE'ye değil, aynı zamanda BChE'ye karşı da iyi bir inhibisyon gösterdiğini rapor etmiştir. (Gümüş, 2017).

Aziz-ur-Rehman ve arkadaşları (2012), 2-feniletilamin formundan türetilmiş bir dizi Sülfonamidler sentezlemişler ve türevleri IR, ¹H-NMR ve EI-MS ile karakterize etmişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin asetil kolinesteraz (AChE), bütiril kolinesteraz (BChE) ve lipoksijenaz enzimine (LOX) karşı inhibisyon kabiliyetlerini incelemişler ve sadece bütiril kolinesteraz üzerine güçlü inhibitör olduklarını tespit etmişlerdir (Afroz vd., 2012).

Maryam Mohammadi-Khanaposhtani ve diğerleri (2015) çalışmalarında, yeni akridon-1,2,4-oksadiazol-1,2,3-triazol hibritleri sentezlemişler ve asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz enzimlerine karşı inhibisyon çalışmaları yapmışlardır. Sentezlenen bileşikler arasında 10-((1-((3-(4-metoksifenil)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)methyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl) akridin-9(10H)-on en güçlü antiasetilkolinesteraz inhibitörü olduğunu göstermişlerdir. (IC₅₀ = 11.55 μ M) Aynı zamanda kontrol numunesi olarak test edilen rivastigmin kadar güçlü bir inhibisyon etkisine sahip olduklarını da rapor etmişlerdir. Çalışma aynı zamanda moleküler doking ile desteklenmiştir (Khanaposhtani vd., 2015).

Akocak ve arkadaşları (2019) sentezledikleri bir dizi Histamin Schiff bazlarının antioksidan aktivitelerinin yanısıra asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz inhibisyon etkilerini de test etmişlerdir. Sentezlenen Histamin Schiff bazları H(1-20) üzerine DPPH ABTS (CUPRAC) ve metal şelatlama gibi antioksidan testleri uygulanmış, ayrıca asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirilkolinesteraz (BChE) inhibisyon profilleri de değerlendirilmiştir. Genel olarak, sentezlenen bileşikler test edilen tüm yöntemlere karşı zayıf antioksidan aktivite göstermiş iken bileşiklerin bazıları AChE ve BChE enzimlerine karşı büyük inhibisyon potansiyeli gösterdiğini rapor etmişlerdir. Özellikle, H9 bileşiği sırasıyla %97.03 ve %93.64 inhibisyon yüzdesi ile her iki enzime karşı etkili bir inhibisyon potansiyeli gösterdiğini ifade etmişlerdir (Akocak vd., 2019).

Nabih Lolak ve diğerleri (2020), aromatik halka ile sübstitüe edilmiş 1,3,5-triazin türevleri içeren 16 yeni benzensülfonamid serisi sentezlemişler ve bu bileşiklerin antioksidan özellikleri (DPPH), (ABTS) ve metal şelatlama yöntemleri ile belirlenmiştir. Ayrıca asetilkolinesteraz (AChE), bütirilkolinesteraz (BChE) enzimlerine karşı inhibitör etkilerini de araştırmışlardır. Sentezlenen benzensülfonamidler orta düzeyde DPPH radikal süpürücü ve metal şelatlayıcı özellik göstermiş iken düşük ABTS katyon radikal süpürme aktivitesi göstermiştir. Ayrıca sentezlenen bileşikler arasında b, 3d ve 3h bileşikleri AChE ve BChE

ye karşı inhibisyon etkisinin gösterdiğini ifade etmişlerdir. Özellikle AChE'ye karşı %90 inhibisyon yüzdesine sahip olduklarını rapor etmişlerdir (Lolak vd., 2020).

Mustafa Durgun ve arkadaşları (2020) tarafından düşük toksisiteye ve birçok biyoaktivitesi olduğu bilinen Sülfonamid yapısına sahip sekiz sülfonamid türevi sentezlemiş ve LC-MS, element analizi, FT-IR, ^{13}C NMR, ^1H NMR ile karakterize etmişlerdir. AChE ve karbonik anhidraz I ve II enzimleri üzerindeki inhibitör etkileri de araştırılmış, aynı zamanda antioksidan aktiviteleri de farklı biyoanalitik testler (CUPRAC ve FRAP deneyleri ABTS ve DPPH ve metal indirgeme) kullanılarak belirlenmiştir. AChE ve CA izoformlarına karşı tüm bileşikler nanomolar değerlerde tatmin edici inhibitör gücü göstermiştir. Antioksidan aktiviteleri ve AChE inhibisyonları göz önüne alındığında bu yeni bileşiklerin nörodejeneratif hastalıklardaki araştırmalar için öncü olarak kabul edilebileceğini bildirmişlerdir (Durgun vd., 2020).

Karaman ve ekibi (2016), ilaç tasarımında önemli substratlar olarak kabul edilen hidrazonlar ve piperidin halkası içeren bileşikler tasarlayarak, etil 4-okso piperidin-1-karboksilat ve 2,6-difenilpiperidin-4-on'dan türetilen yeni benzoil hidrazonların sentezini amaçlamıştır. Elde edilen bileşiklerin antioksidan, antikolinesteraz ve antikanser aktiviteleri değerlendirilmiştir. İncelenen 19 bileşik arasında, en yüksek antikolinesteraz aktivitesine sahip olanın N'-(2,6-difenilpiperidin-4-il)-4 klorobenzohidrazid olduğu gözlemlenmiştir. Diğer bileşiklerin AChE enzimi için 50-100 mM arasında, BChE ise 50,00-155,57 mM IC_{50} değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu bileşiğin IC_{50} değerleri sırasıyla 41,19 mM ve 31,30 mM olarak bulunmuştur. Ayrıca, bu bileşiğin BChE enzimi için kullanılan standart galantaminden daha iyi bir inhibitör olduğu gözlemlenmiştir (Karaman vd., 2016).

Akıncıoğlu (2023) 1-brom-2,4-dimetoksibenzen ve 1-brom-3,5-dimetoksibenzen'den türetilen benzersiz benzensülfonamid ve benzamid türevleri sentezlemiş ve bu bileşiklerin CA-I, CA-II, AChE ve BChE enzimleri üzerindeki inhibisyon aktivitelerini incelemiştir. Yeni amit türevleri olan 9 ve 11'in sentezi, çıkış bileşikleri 8 ve 10'un sülfonil klorür ile reaksiyonuyla gerçekleştirilmiştir. Metoksi substitue benzenlerin aşırı HSO_3Cl ile muamelesi, ardından elde edilen benzen sülfonil klorürlerin amonyak ile reaksiyonu sülfonamidleri 16 ve 17'ye dönüştürmüştür. Sentezi tamamlanan sülfonamid ve benzamid

türevlerinin CA-I, CA-II, AChE ve BChE enzimleri üzerinde mikromolar seviyede inhibisyon etkisi gösterdiği tespit edilmiştir (Akıncıoğlu vd., 2017).

Pratibha Magar ve arkadaşları (2021) tarafından 14 adet tasarlanmış benzil [2-(arilsülfamoil)-1-süstitüe-etil] karbamattan oluşan bir seri hazırlanmış, çok aşamalı sentezle üretilmiş ve karakterize edilmiştir. Elde edilen tüm bileşikler asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirikolinesteraz (BChE) inhibisyon testlerine tabi tutmuşlardır. Üç bileşik dışında, tüm bileşikler güçlü BChE'nin inhibisyonu göstermiş bunlardan dokuz bileşiğin klinik olarak kullanılan rivastigminde bile daha aktif olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca bu bileşiklerin hem BChE'nin aktif bölgesine bağlanma şekli hem de AChE arasındaki ilişki bir moleküler modelleme çalışması ile modellenmiştir (Magar vd., 2021).

Damla Demir (2013) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, yeni sentezlenen akrinin sülfaguanidin türevi bileşiklerin CAI ve CAII karbonik anhidraz izoenzimleri üzerindeki inhibisyon etkisini incelemiş, insan eritrositlerinden CAI ve CAII izoenzimlerini ayrı ayrı saflaştırmış ve SDS-PAGE elektroforezi ile enzimlerin saflığı kontrol edildikten sonra bileşiklerin CAI ve CAII izoenzimleri üzerindeki inhibisyon etkilerini değerlendirmiştir. Bileşiklerin inhibisyon etkisini belirlemek amacıyla karbonik anhidraz enziminin esteraz ve hidrataz aktivitelerini ölçmüş, % Aktivite-[I] grafikleri çizerek IC₅₀ değerlerini belirlemiştir. Elde edilen sonuçlara göre, bileşiklerin CAI ve CAII izoenzimlerinin hidrataz aktiviteleri üzerinde inhibisyon etkisi göstermediği, ancak esteraz aktiviteleri üzerinde inhibisyon etkisi gösterdiği rapor edilmiştir. Bu çalışmada, esteraz IC₅₀ değerleri CAI için 118,4-257,5 µM arasında, CAII için ise 86,7-177,2 µM arasında değişmiştir (Demir, 2013).

Pınar Güllü 2021 çalışmasında sentezlenen 4-etilrezorsinol ve 5-metilrezorsinol'ün insan eritrositlerinde ve gastrointestinal sistemde en çok bulunan CA izozimi olan ve insan eritrositlerinden afinite kromatografisi ile izole edilen Karbonik Anhidraz-I (CA-I), üzerindeki primer etkilerini analiz etmiş ve bileşiklerin in vitro inhibisyon çalışmalarını yapmış ve bileşikler ile enzim arasındaki etkileşimler moleküler doking çalışması ile açıklanmıştır. Hem 4-etilresorsinol hem de 5-metilresorsinolün, enzimi $0,81 \pm 0,23$ ve $0,79 \pm 0,14$ µM Ki sabiti ile yarışmalı olarak inhibe ettiği görülmüştür. Moleküler doking analizine göre bileşiklerin tahmini bağlanma serbest enerjisi sırasıyla -4.81 ve -4.51 kcal.mol⁻¹ olarak tahmin edilmiştir (Güller, 2021).

Nabih Lolak ve arkadaşları (2019) 4-izosiyanato-benzensülfonamidin 2-amino-4,6-dikoloro-1,3,5-triazin (4) ile tepkimeye sokulmasıyla sentezlenen 1,3,5-triazin parçalarını içeren bir dizi yeni üreido benzensülfonamid bileşiklerinin, glokom, epilepsi gibi çeşitli hastalıklarda rol oynayan insan kaynaklı karbonik anhidraz (CA, EC 4.2.1.1) izoformunun, yani CAI, II, IX ve XII'nin üzerine inhibitör etkilerini araştırmıştır. İzofom CAIX, 0.91-126.2nM aralığında Ki içeren bu bileşiklerle güçlü bir şekilde inhibe edildiği görülmüştür. Spesifik olarak da bileşik 7j, 0.91 nM'lik alt nanomolar Ki ile CAIX'a karşı büyük bir etki gösterdiğini CAIX, antikanser ajanlar için onaylanmış bir ilaç hedefi olduğundan, bu izoform seçici ve güçlü inhibitörlerden daha ileri tıbbi/farmakolojik çalışmalar için ilgi çekici olduğu düşünülebileceğini rapor etmişlerdir (Lolak vd., 2019).

Claudiu T. Supuran (2010), yazmış olduğu derleme çalışmasında Karbonik anhidrazlar hakkında bilinenler ve metabolik önemi hakkında detaylı bilgiler vermiştir. Buna göre karbonik anhidraz tüm organizmalarda yaygın olarak bulunan enzimlerdir ve CO₂ hidrasyonunu bikarbonat ve protonlara katalize ederler. Bunların inhibisyonu, çeşitli diüretik sınıfları ve sistemik etkili antiglokom ajanları için onlarca yıldır klinik olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda CA inhibitörlerinin (CAI'ler) topikal etkili antiglokom, antikonvülzanlar, antiobezite, antiagrı ve antitümör ajanları/tanı araçları gibi yeni uygulamaları ortaya çıkmıştır. Bu CAI'ler, memelilerde bulunan 13 katalitik olarak aktif alfa-CA izoformunun çeşitli izozimlerini hedefler. Alfa, beta, gama, delta ve zeta familyalarına ait CA'lar filogenetik ağacın her yerindeki birçok organizmada bulunur ve bunların inhibisyonu sonuçta bazı patojenik protozoalar (*Plasmodium falciparum*), mantarlar (*Cryptococcus neoformans*) için incelenmiştir (Supuran, 2010).

Claudia Temperini (2008) yaptıkları çalışmalarında hidroklorotiyazid, hidroflumetiyazid, kinetazon, metolazon, klortalidon, indapamid, furosemid ve bumetanid gibi sülfonamid diüretikleri karbonik anhidrazların inhibitörleri olarak test etmişlerdir. Sonuçlarda CA II'nin orta ila zayıf inhibitör olarak davranmalarına rağmen, tüm bu ilaçların, omurgalı canlılarda bulunan 16 karbonik anhidraz izozimleri arasında önemli ölçüde inhibe ettiklerini rapor etmişler. CA VII, XII ve XIII'e karşı metolazon, CA VB, VII, IX, XII ve XIII'e karşı klortalidon, CA VII, IX, XII ve XIII'e karşı indapamid, furosemid gibi bu tür izoformlara karşı bazı düşük inhibitörler olduklarını belirlenmişlerdir (belirlemişlerdir olacak)(Temperini vd., 2008).

Chandra Bhushan Mishra ve arkadaşları (2018), yaptıkları çalışmada iki dizi yeni benzensülfonamid türevi sentezlemiş ve dört izoforma (CAI, CAII, CA VII ve CAIX) karşı insan kanından izole edilen karbonikanhidraz enzimlerinin inhibisyon etkilerini analiz etmişlerdir. Her iki serinin bileşiklerinin, tüm izoformlara karşı düşük veya orta nanomolar engelleme potansiyeli gösterdiğini bulmuşlardır. Bu türevlerin bazıları, nanomolar derişimlerde epileptogenezle ilişkili CAII ve VII izoformlarına karşı seçici inhibisyon sergilemiş bu güçlü CAII ve VII inhibitörlerin MES ve sc-PTZ'nin neden olduğu istemsiz kasılmalara karşı antiepileptik ajanlar olarak değerlendirmişlerdir. Sentezlenen sülfonamidlerin her iki modelde de tetiklenen nöbetleri etkili bir şekilde ortadan kaldırdığı rapor edilmiştir (Mishra vd., 2018).

Mostafa M. Elbadawi ve arkadaşları (2022) çalışmalarında sentezlenen bir dizi benzensülfonamid türevleri, CA (CAI, II, IX ve XII) izoformlarına karşı önleyici etkilerini, incelenen izoformları Ki aralıklarıyla (CA I için 49,3–6459 nM, CA II için 5,1–4171 nM, CA IX için 9,4–945,1 nM ve CA XII için 5,2–1159 nM) değişken derecelerde etkileme yeteneklerini test etmişlerdir. Ayrıca SAR analizi, sülfamoil işlevselliğinin parapozisyonunda aşılmasının yanı sıra CA inhibitör aktivitesi için hacimli bir hidrofobik kuyruğun dahil edilmesinin önemine işaret etmiştir. En güçlü CA IX inhibitörleri 6f ve 16 bileşiklerinin meme kanseri hücre dizilerine karşı etkili hücre büyümesini önleyici aktivite sergiledikleri rapor edilmiştir (Elbadawi vd., 2022).

Fatma Yaylacı Karahalil ve arkadaşları (2021) sentezledikleri dört farklı bileşikte insan karbonik anhidraz (CAI) enzimi üzerine inhibisyon etkisini incelemişlerdir. Bu bileşikler şunlardır: (4-amino-3-fenil-5-p-tolil-4H-1,2,4-triazol), (2,5-difenil-1,3,4-oksadiazol), (4-metil-N-(1-tosil-1H-1,2,4-triazol-3yl) benzen sülfonamid) ve (4-((5-) bromo-2-hidroksi beniliden) amino)-5-(4-klorofenil)-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-on. CAI esteraz aktivitesi ile ölçülen IC50 değerleri CAI için 0,023 ila 0,095 mM arasında bulunmuştur. 4 numaralı bileşik en yüksek inhibisyon değerini göstererek CAI için Ki değerleri 0,046 ile 0,056 mM arasında değişmiş, en yüksek Ki değeri yine 4 numaralı bileşik için ölçülmüştür. (Karahalil vd., 2021).

Pervaiz Ali Channar ve arkadaşları (2022) Bir seri hidrazin-1-karbotiyoamid türevi (3a-3j) sentezlemişler ve sığır kanından elde edilen karbonik anhidraz II (b-CA II) ve 15-lipoksijenaza (15-LOX) karşı inhibitör potansiyeli açısından analiz etmişlerdir.

Sentezlenen dört türevin de (3b, 3d, 3g ve 3j), CA II'nin seçici inhibitörleri olduğu belirlenmiş, diğerleri ise CA II ve 15-LOX inhibisyonu sergilediklerini belirtmişlerdir. Bileşiklerin aktif bölgelerinde olası bağlanma modunu bulmak için hem b-CA II hem de 15-LOX'un en güçlü inhibitörlerinin silico çalışmaları yapılmış, ayrıca moleküler doking simülasyonu bu ligandların iki hedefe kararlı bir şekilde bağlandığını ve bağlanma enerjisi de 3h bileşiğinin önleyici etkilerini doğruladığını rapor etmişlerdir (Channar vd., 2022).

Buse Gökmen (2022) çalışmasında sentezlenen yeni triazol bileşiklerinin, in vitro sitotoksik etkisinin belirlenmesi için MTT (metabolik aktivitenin ölçümüne dayalı hücre ölümü/proliferasyonu) testi, Flow sitometri ile apoptoz analizi, için AMES (genotoksik potansiyel) testi ve HET-CAM testi (anjiyogenik/antianjiyogenik etki) yapmıştır. MTT testi sonrasında IC_{50} değerleri hesaplanan bileşiklerin pozitif kontrole göre daha düşük sitotoksik etkiye sahip olduğunu rapor etmiş, bu test sonucunda elde edilen değerler ile bileşiklerin $1xIC_{50}$ ve $2xIC_{50}$ değerlerini hesaplayarak apoptotik aktivitesine bakmış, sonuçlarda apoptoz ve nekroz tespiti yapmıştır. AMES testi sonucunda bileşiklerde herhangi bir genotoksik etki gözlemlenmiş, HET-CAM testi bileşiklerin anti-anjiyogenik etki gösterdiklerini belirlemiştir (Gökmen, 2022).

Pınar Erkekoğlu ve Terken Baydar (2021) derleme çalışmalarında, sitotoksitenin veya hücre canlılığının belirlenmesi için başvurulmuş yöntemler hakkında kapsamlı bilgiler sunmuşlardır. Bu yöntemleri, boyama yöntemleri, kolorimetrik yöntemler, florometrik yöntemler, luminometrik yöntemler, apoptozun belirlenmesi için kullanılan çeşitli teknikler ve otofajinin belirlenmesi için kullanılan farklı teknikler olarak sınıflandırmışlardır. Araştırmacıların, kullanacakları yöntemi seçerken maddenin hangi mekanizma ile hücre ölümüne neden olduğunu, yöntemin özgünlüğünü ve hassasiyetini dikkate almalarının önemli olduğunu vurgulamışlardır. (Erkekoğlu ve Baydar, 2021).

Wu ve arkadaşları (2014) tarafından, bir dizi 2,3-diaril-4-tiazolidinon türevini, iyi bilinen iki kanser hücre hattına (insan akciğer kanseri olarak A549 ve insan meme kanseri olarak MDAMB- 231) karşı çoğalma önleyici özellikleri açısından sentezlemiştir. Bileşik 6a ve 6b'nin, tümör büyümesini ve metastazı baskıladığı ve aynı zamanda hayatta kalma oranını arttırdığını rapor etmişlerdir (Wu vd., 2014).

Bilgesu Onur SUCU ve Elif Beyza KOÇ (2022) çalışmalarında hibrit sentezlenmiş dokuz adet ferulik ve kafeik asit bazlı 1,2,4- ve 1,3,4-oksadiazol bileşiklerinin sitotoksik aktivitesini esas olarak glioblastoma (GBM) hücre hatlarına karşı değerlendirmişlerdir. 1 ve 5 numaralı bileşiklerin sağlıklı insan mezenkimal kök hücrelerine (hMSC'ler) toksisite olmaksızın üç farklı GBM hücre hattına (LN229, T98G ve U87) karşı en yüksek inhibitör aktiviteye sahip olduğunu, ayrıca sitotoksiteleri diğer üç kanser hücre hattına karşı da değerlendirilmiş ve inhibitör etkinin daha fazla gözlemlendiğini göstermişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin kanser tedavisi için yeni ilaç adaylarının geliştirilmesinde öncü çalışmalar için büyük bir potansiyele sahip olduklarını rapor etmişlerdir (Sucu ve Koç, 2022).

Panneer Selvam T ve Vijayaraj Kumar P (2010), anti-kanser özelliklerini belirlemek amacıyla bir dizi 6,7,8,9 Tetra hidro-5H-5-fenil-2-benzilidin-3-sübstitüe hidrazino tiyazolo (2, 3-b) kinazolin (6a-o) sentezlemişlerdir. Anti-kanser aktiviteleri için sitotoksiteyi veya hücre canlılığını değerlendirmek için en sık kullanılan kolorimetrik testlerden biri olan MTT (3- (4,5-dimetiltiyazol-2-il) -2-5-difeniltetrazolyum bromür) testi ile değerlendirmişlerdir. 6,7,8,9 Tetra hidro-5H-5-fenil-2-benzilidin-3-(N'-3-pentilidenhidrazino) tiyazolo (2, 3-b) kinazolin (6b) ve 6,7,8,9 Tetra hidro-5H-5-fenil-2-benzilidin-3-(N'-2-pentilidenhidrazino) tiyazolo (2, 3-b) kinazolin (6c) en güçlü anti-kanser aktivitesini sergilediklerini göstermişlerdir (Panneer ve Kumar, 2010).

Yasir Almusawı (2019) tarafından üç aşamaya bölünmüş olan araştırmasında, yeni sentezlenen yedi isoindol türevinin biyolojik aktivitelerini detaylı bir şekilde araştırmıştır. Bu bileşiklerin antikanser aktivitelerini, HeLa (Yumurtalık kanseri) ve A549 kanser hücre hatlarına (Akciğer kanseri) karşı test etmiştir. (Henrietta Lacks isimli kadından alınan rahim ağzı dokusundan dolayı HeLa ismi verilmiş) Başlangıçta, her bir bileşiğin HeLa ve A549 hücre hatları üzerindeki sitotoksik aktivitesini belirlemek amacıyla hücre canlılığını (MTT analizi) değerlendirmiştir. Yani, her bir bileşiğin IC₅₀ değerini ölçerek, hücrelerin en az yarısını öldürmek için en etkili bileşiği belirlemiştir. İkinci olarak, Annexin V-FITC kullanarak Flow sitometrisinde programlanmış hücre ölümünün etkisi ve hücre döngüsü üzerindeki etkileri en iyi IC₅₀'ye sahip bileşikler için her hücre hattı için araştırmıştır. Son olarak, bu yeni isoindol türevlerinin hücre göçü üzerindeki etkisini incelemek üzere yara iyileşmesi testi olarak da bilinen kazıma testi uygulanmıştır (Almusavi, 2019).

Keyvan Pedrood ve diğerkleri (2023) Triazol-asetamid içeren kinazolin bazlı yeni bir serisi tasarlamış ve sentezlemişlerdir. Elde edilen tüm bileşikler, HCT-116, MCF-7 ve HepG2 adlı insan kanser hücre hatlarının yanı sıra normal bir hücre hattı olan WRL-68 e karşı in vitro sitotoksik aktiviteler için test edilmiştir. Sonuç olarak, kinazolin-oksimetiltriazol bileşiklerinin 48 ve 72 saat sonra orta ila iyi antikanser potansiyeli gösterdiklerini, HCT-116'ya karşı en güçlü türev 8a bileşiğinin gösterdiğini rapor etmişlerdir. Tüm türevlerin normal hücre hattına karşı sınırlı toksisite göstermesi dikkat çekici bulunmakla beraber ayrıca bu yeni türevlerle olası hedefler arasındaki etkileşimleri anlamak için kenetlenme çalışmaları da sunmuşlardır (Pedrood vd., 2023).

İffet Şakiyan ve diğerkleri (2015), Alzheimer hastalığının tedavisi için yeni etkili asetilkolinesteraz inhibitörü olarak tasarlanan bir dizi hidroksikinolin ester içeren yeni aminoasit yapıli bileşikler sentezlemişlerdir. Moleküllerin antibakteriyel aktiviteleri *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* H, *Brucella abortus*'a karşı, iyi difüzyon yöntemi ile çalışmışlar. Aynı zamanda *Staphylococcus epidermis* sp., *Micrococcus luteus*, *Shigella dysenteria* tip 10, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas putida* ve *Candida albicans*'a karşı antifungal aktivite testlerine tabi tutmuşlardır. Bileşiklerin AChE üzerinde inhibisyon potansiyeli Ki'ye göre sırasıyla MetEs>CysEs>GlyEs>HisEs sırasıyla tespit etmişler, aynı zamanda MetEs, HisEs, CysEs bileşiklerinin gram (+), gram (-) ve antifungalleri incelenmiş ve GlyEs, Sh.dys. typ 7'ye karşı inaktif, *L.monocytogenes*, *B.cereus* ve *E.coli* ye karşı da aktif olduğu görülmüştür (Şakiyan vd., 2015).

Elif Koyuncu, Ahmet Yaşar, Fatma Arslan ve Nurşen Sari (2019), takrinin (9-amino-1,2,3,4-tetrahidroakridin) bazı yeni Schiff bazı türevlerinin asetilkolinesterazı (AChE) inhibisyon potansiyelleriini araştırmışlardır. Takrinin yeni Schiff bazı türevlerini (3a-g) sentezlemişler ve çeşitli yöntemlerle (FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, vb.) karakterize etmişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin AChE üzerindeki inhibisyon etkilerini spektrofotometrik Ellman yöntemi ile araştırmışlar, IC₅₀, Ki, KM ve Vmax değerleri ve inhibisyon tiplerini belirlemişlerdir. Tüm bileşiklerin tersinir olarak AChE inhibitörü özelliğine sahip olduğu görülmüştür. Takrinin IC₅₀ değeri 34.1 nM olarak hesaplanmış 3a bileşiğinin IC₅₀ değeri 22,1 ± 1,11 nM ile en güçlü inhibitör olarak bulunmuştur (Koyuncu vd., 2019).

Kalin ve diğerkleri (2020) yaptıkları çalışmada, karbamat içeren bir dizi yeni anandamid birimi tasarlamışlar ve sentezlemişlerdir. Sentezlenen tüm türevler, elektrikli yılan balığı asetilkolinesteraz enzimine (AChE) karşı inhibitör potansiyelleri açısından in vitro olarak değerlendirilmiş ve tersinir inhibisyonlar göstermiştir. 7a, 7d, 7e ve 7f bileşikleri AChE'nin karışık inhibisyon göstermişler, 7b, 7c ve 7g bileşikleri yarışmalı inhibisyon göstermemişlerdir. (K_i aralığında 0,93-8,86 µM) Kinetik çalışmalar sonucunda 7b, 7c, 7f ve 7g bileşiklerinin önemli ölçüde AChE aktivitesi göstermiştir. Moleküler doking analizleri, AChE aktivitesini değerlendirmek için yapılmış, bağlanma tipi ve sentezlenen bileşiklerin enzime ligand-bağlama ile etkileşimleri belirlenmiştir. AChE inhibitörleri Alzheimer tedavisi için yararlı öncü bileşikler olabilir (Kalin vd., 2020)

Ümmühan Özmen Özdemir, Aysegül Altuntas, Ayla Balaban Gündüzalp, Arslan ve Hamurcu (2014), bazı yeni aromatik/heteroaromatik propanesülfonilhidrazon türevleri sentezlemişler ve elementel analizler, FT-IR, ¹H NMR, ¹³C NMR, LC/MS ile sentezlenen bileşiklerin kontrolü yapılmıştır. Sentezlenen bileşiklerin karbonik anhidraz II üzerindeki inhibisyon aktiviteleri (CAII) izoenzimi IC₅₀ değerleri karşılaştırılarak araştırılmıştır. Asetazolamid (5-asetamido-1,3,4- CAII inhibisyonunda klinik olarak kullanılan AAZ (tiyadiazol-2-sülfonamid) standart inhibitör madde olarak seçilmiştir. Bu izoformun aromatik/heteroaromatik propanesülfonilhidrazon inhibitörlerinin o-aminobenzaldehitpropansülfonilhidrazon ve tiyofenikarboksialdehit propansülfonilhidrazon ile aynı IC₅₀ (0,55 mM) değerine sahip olduğu görülmüştür (Özmen Özdemir vd. 2014).

Özdemir ve diğerkleri (2014), Etan sülfonik asit hidrazid türevleri olarak 5-metilsalisilaldehitetansülfonilhidrazon (5msalesh), 5-metil-2-hidroksiasetofenonetan sülfonilhidrazon (5mafesh) ve bunların Ni(II), Co(II) kompleksleri ilk kez sentezlenmişler ve bileşiklerin yapısı elementel analiz, FT-IR, ¹H NMR, ¹³C NMR, LC/MS ile yapılmıştır. Sentezlenen bileşiklerin antibakteriyel aktiviteleri Gram (+) bakterilere (Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Bacillus magaterium) ve Gram (-) bakterilere (Salmonella enteritidis, Escherichia coli) 'ye karşı mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Biyolojik aktivite taraması ligandların test edilen bakterilere karşı komplekslerden daha fazla aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. İnhibisyon özelliği bu bileşiklerin karbonikanhidraz II (CA II) üzerindeki aktiviteleri karşılaştırılarak araştırılmıştır. IC₅₀ ve

Ki değerleri hesaplanmış ve komplekslerin enzim inhibisyonuna sahip olduğu bulunmuştur (Özdemir vd., 2014).



3. ARAÇ GEREÇ VE DENEYSEL YÖNTEMLER

3.1. Sentez Çalışmalarında Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar

Tüm kimyasal maddeler ve susuz çözücüler, Sigma-Aldrich, Merck, Alfa Aesar ve TCI'dan satın alınmış ve daha fazla saflaştırılmadan kullanılmıştır. Erime noktaları (mp), SMP20 erime noktası cihazı ile belirlenmiş ve okunan değerler düzeltilmeden aynen kaydedilmiştir. FT-IR spektrumları, Perkin Elmer Spectrum 100 FT-IR spektrometresi kullanılarak elde edilmiştir. Bileşiklerin Nükleer Manyetik Rezonans (^1H -NMR ve ^{13}C -NMR) spektrumları, çözücü olarak DMSO- d_6 içinde, Bruker Advance III 300 Mhz spektrometre ve iç standart olarak ^1H -NMR için 300 Mhz ve ^{13}C -NMR için 75 Mhz'de çalışan TMS kullanılarak kaydedilmiştir. Kimyasal kaymalar TMS'ye göre ppm cinsinden ifade edilmiştir. Bölünme desenleri singlet (s), doublet (d), triplet (t), quartet (q) ve multipl (m) olarak belirtilmiştir. İnce tabaka kromatografisi (TLC), Merck silika jel 60 F254 plakaları üzerinde gerçekleştirilmiştir.

3.2. Asetilkolinesteraz Enzim Aktivite Çalışmalarında Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar

Tüm kimyasal maddeler ve susuz çözücüler Sigma-Aldrich, Merck, Alfa Aesar ve TCI'dan satın alınıp kullanılmıştır. Asetilkolinesteraz, Asetil Kolin İyodür, DMSO (Dimetil sülfoksit), DTNB (5,5-Ditiyobis (2-Nitro-benzoik asit)), sodyum sitrat, Tris-HCl (Tampon Çözelti), Donepezil.

Kullanılan cihazlar: Ohaus Corporation, 8-14,5 V-50/60 Hz 4VA Max. Cap:210 g marka hassas terazi, IKA C-MAG HS7-WİSD MSH-20A marka karıştırıcı, Starter 3100 Ohaus marka pH metre, UVMINI-1240 Shimadzu marka Spektrofotometre, CalPro Otomatik Pipet 10 - 100 μL / 100-1000 μL .

3.3. Bütirilkolinesteraz Enzim Aktivite Çalışmalarında Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar

Tüm kimyasal maddeler ve susuz çözücüler Sigma-Aldrich, Merck, Alfa Aesar ve TCI'dan satın alınıp kullanılmıştır. Bütirilkolinesteraz, S-Butiriltiyokolin iyodür, DMSO (Dimetil

sülfoksit), DTNB (5,5-Ditiyobis (2-Nitro-benzoik asit)), sodyum sitrat, Tris-HCl (Tampon Çözelti), Donepezil.

Kullanılan cihazlar: Ohaus Corporation, 8-14,5 V-50/60 Hz. 4VA Max. Cap:210 g marka hassas terazi, IKA C-MAG HS7-Wisd MSH-20A marka karıştırıcı, STARTER 3100 OHAUS marka pH metre, UV Mini-1240 Shimadzu marka Spektrofotometre, CalPro Otomatik Pipet 10- 100 µL/ 100-1000 µL

3.4. Karbonik Anhidraz Enzim Aktivite Çalışmalarında Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar

Tüm kimyasal maddeler ve susuz çözücüler Sigma-Aldrich, Merck, Alfa Aesar ve TCI'dan satın alınıp kullanılmıştır. İndikatör olarak Fenol kırmızısı, tampon olarak Na₂SO₄ /NaClO₄, substrat olarak 25 °C 'de doygün CO₂ çözeltisi, çözücü olarak DMSO, kullanılan tüm, CA izozimleri önceden elde edilen rekombinant proteinlerdir.

Kullanılan cihazlar; SX.18MV-R Applied Photophysics (Oxford, UK) durdurulmuş akış cihazı çeşitli CA izozimlerinin katalitik/inhibisyonunu test etmek için kullanılmıştır. Cesna Marka İnkübatör cihazı kullanılmıştır.

3.5. Antikanser Aktivite Çalışmalarında Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar

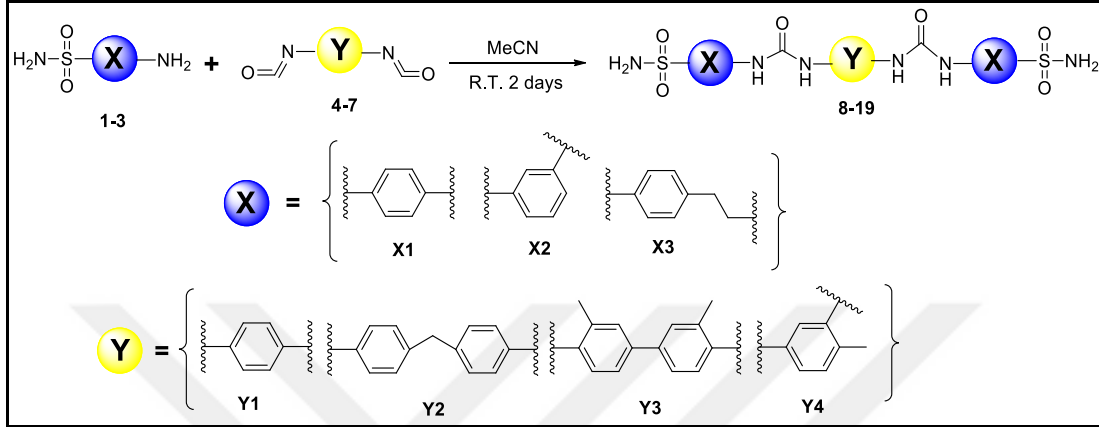
DMSO, 3- (4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT)

Kullanılan cihazlar: İnkübatör, ELİSA (mikroplaka okuyucu).

3.6. Bis-Üre Türevi Primer Benzensülfonamidlerin Genel Sentez Yöntemi

Moleküllerin sentezinde aşağıda tepkime şemasında gösterilen metod kullanılmıştır (Şekil 3.1.). Tepkime kısaca şu şekilde yapılmıştır, 2 mmol sülfonamid yapılı molekül 5 mL asetonitril içerisinde çözülmüştür. Diğer taraftan 1 mmol bis-izosiyanat 2-3 mL asetonitrilde çözülerek ilk çözelti üzerine damla damla oda sıcaklığında ve karıştırmak suretiyle ilave edilmiştir. (Y₁ için 1,4-Fenilen diizosiyanür, Y₂ için 4,4 -Metilenbis (fenil izosiyanat), Y₃ için 3,3 -Dimetil-4,4 -bifenilen izosiyanat Y₄ için 4-Metil-1,3-fenilen diizosiyanat) Sonrasında, karıştırma işlemine oda sıcaklığı altında 2 gün boyunca devam

edilmiştir. Tepkime kontrolü ve takibi İTK (ince tabaka kromatografisi) ve FT-IR ile yapılmıştır. Tepkime tamamlandıktan sonra oluşan beyaz renkli katı süzölmüş ve birkaç kez dietil eter ile yıkanarak kurumaya bırakılmıştır. Daha sonrasında elde edilen ürünlerin yapı karakterizasyonları ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR ile yapılmıştır.

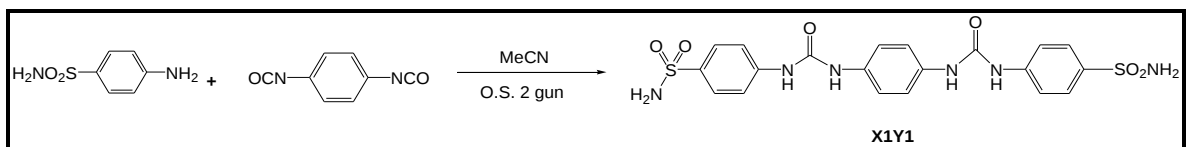


Şekil 3.1. Bis-üre türevi primer benzensülfonamidlerin genel sentez yöntemi

3.6.1. X1Y1 bileşiği sentez metodu

4,4'-(((1,4-Fenilenebis(azanedil))) bis(karbonil))bis(azanedil)) dibenzenesülfonamid

2 mmol 4-aminobenzensülfonamid 5 mL asetonitril içerisinde çözülmüştür. Diğer taraftan 1 mmol 1,4-diizosiyanatbenzen 2-3 mL asetonitrilde çözülerek ilk çözelti üzerine damla damla oda sıcaklığında ve karıştırmak suretiyle ilave edilmiştir. Sonrasında, karıştırma işlemine oda sıcaklığı altında 2 gün boyunca devam edilmiştir. Tepkime kontrolü ve takibi İTK (ince tabaka kromatografisi) ve FT-IR ile yapılmıştır. Tepkime tamamlandıktan sonra oluşan beyaz renkli katı süzölmüş ve birkaç kez dietil eter ile yıkanarak kurumaya bırakılmıştır. Daha sonrasında elde edilen ürünün yapı karakterizasyonu ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR ile yapılmış ve istenilen bileşiğin elde edildiği ispatlanmıştır.

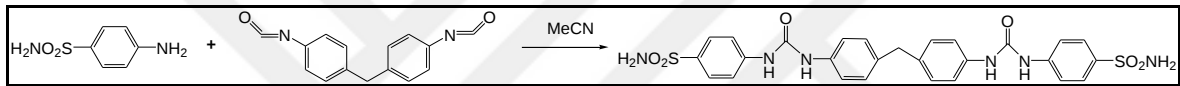


Şekil 3.2. (X1Y1) bileşiğinin sentez yöntemi

3.6.2. X1Y2 bileşiği sentez metodu

4,4'-((((Metilenbis(4,1-fenilene))bis(azanedil))bis(karbonil))bis(azanedil))dibenzensülfonamid.

2 mmol 4-aminobenzensülfonamid 5 mL asetonitril içerisinde çözülmüştür. Diğer taraftan 1 mmol bis(4-izosiyanatfenil)metan 2-3 mL asetonitrilde çözülerek ilk çözelti üzerine damla damla oda sıcaklığında ve karıştırılmak suretiyle ilave edilmiştir. Sonrasında, karıştırma işlemine oda sıcaklığı altında 2 gün boyunca devam edilmiştir. Tepkime kontrolü ve takibi İTK (ince tabaka kromatografisi) ve FT-IR ile yapılmıştır. Tepkime tamamlandıktan sonra oluşan beyaz renkli katı süzölmüş ve birkaç kez dietil eter ile yıkanarak kurumaya bırakılmıştır. Daha sonrasında elde edilen ürünün yapı karakterizasyonu ¹H-NMR ve ¹³C-NMR ile yapılmış ve istenilen bileşiğin elde edildiği ispatlanmıştır.

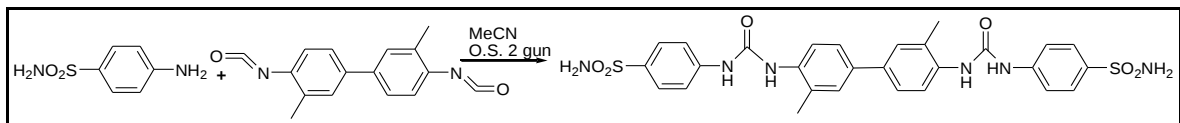


Şekil 3.3. (X1Y2) bileşiğinin sentez yöntemi

3.6.3. X1Y3 bileşiği sentez metodu

4,4'-((((3,3'-dimetil-[1,1'-bifenil]-4,4'dil))bis(azanedil))bis(karbonil))bis(azanedil))dibenzensülfonamid.

2 mmol 4-aminobenzensülfonamid 5 mL asetonitril içerisinde çözülmüştür. Diğer taraftan 1 mmol 4,4'-diizosiyanato-3,3'-dimetil-1,1'-bifenil 2-3 mL asetonitrilde çözülerek ilk çözelti üzerine damla damla oda sıcaklığında ve karıştırmak suretiyle ilave edilmiştir. Sonrasında, karıştırma işlemine oda sıcaklığında 2 gün boyunca devam edilmiştir. Tepkime kontrolü ve takibi İTK (ince tabaka kromatografisi) ve FT-IR ile yapılmıştır. Tepkime tamamlandıktan sonra oluşan beyaz renkli katı süzölmüş ve birkaç kez dietil eter ile yıkanarak kurumaya bırakılmıştır. Daha sonrasında elde edilen ürünün yapı karakterizasyonu ¹H-NMR ve ¹³C-NMR ile yapılmış ve istenilen bileşiğin elde edildiği ispatlanmıştır.

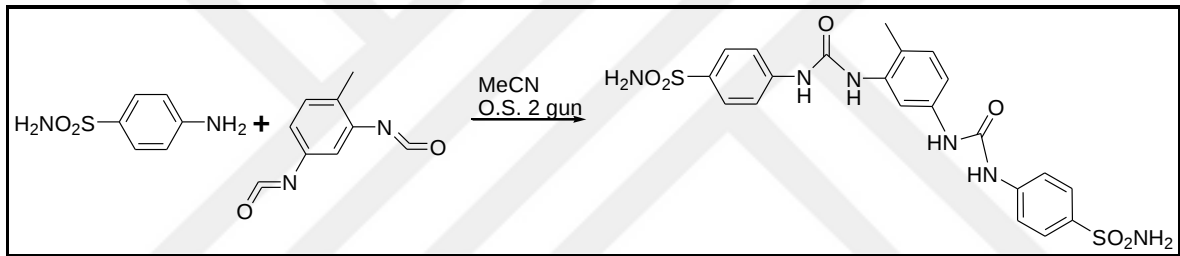


Şekil 3.4. (X1Y3) bileşiğinin sentez yöntemi

3.6.4. X1Y4 bileşiği sentez metodu

4,4'-((((4-metil-1,3-fenilen)bis(azaneditil))bis(karbonil))bis(azaneditil))dibenzenesülfonamid.

2 mmol 4-aminobenzensülfonamid 5 mL asetonitril içerisinde çözülmüştür. Diğer taraftan 1 mmol 2,4-diizosiyanato-1-metilbenzen 2-3 mL asetonitrilde çözülerek ilk çözelti üzerine damla damla oda sıcaklığında ve karıştırmak suretiyle ilave edilmiştir. Sonrasında, karıştırma işlemine oda sıcaklığında 2 gün boyunca devam edilmiştir. Tepkime kontrolü ve takibi İTK (ince tabaka kromatografisi) ve FT-IR ile yapılmıştır. Tepkime tamamlandıktan sonra oluşan beyaz renkli katı süzölmüş ve birkaç kez dietil eter ile yıkanarak kurumaya bırakılmıştır. Daha sonrasında elde edilen ürünün yapı karakterizasyonu ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR ile yapılmış ve istenilen bileşiğin elde edildiği ispatlanmıştır.



Şekil 3.5. (X1Y4) bileşiğinin sentez yöntemi

3.6.5. X2Y1 bileşiği sentez metodu

3,3'-((((1,4-fenilene(bis(azaneditil))bis(karbonil))bis(azaneditil))dibenzenesülfonamid.

2 mmol 3-aminobenzensülfonamid 5 mL asetonitril içerisinde çözülmüştür. Diğer taraftan 1 mmol 1,4-diizosiyanatbenzen 2-3 mL asetonitrilde çözülerek ilk çözelti üzerine damla damla oda sıcaklığında ve karıştırmak suretiyle ilave edilmiştir. Sonrasında, karıştırma işlemine oda sıcaklığı altında 2 gün boyunca devam edilmiştir. Tepkime kontrolü ve takibi İTK (ince tabaka kromatografisi) ve FT-IR ile yapılmıştır. Tepkime tamamlandıktan sonra oluşan beyaz renkli katı süzölmüş ve birkaç kez dietil eter ile yıkanarak kurumaya bırakılmıştır. Daha sonrasında elde edilen ürünün yapı karakterizasyonu ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR ile yapılmış ve istenilen bileşiğin elde edildiği ispatlanmıştır.

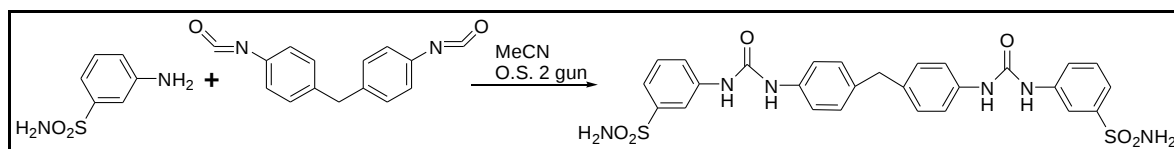


Şekil 3.6. (X2Y1) bileşiğinin sentez yöntemi

3.6.6. X2Y2 bileşiği sentez metodu

3,3'-((((Metilenebis(4,1-fenilene))bis(azanediyl))bis(karbonil))bis(azanediyl))dibenzenesulfonamid.

2 mmol 3-aminobenzenesulfonamid 5 mL asetonitril içerisinde çözülmüştür. Diğer taraftan 1 mmol bis(4-izosiyanatfenil) metan 2-3 mL asetonitrilde çözülerek ilk çözelti üzerine damla damla oda sıcaklığında ve karıştırmak suretiyle ilave edilmiştir. Sonrasında, karıştırma işlemine oda sıcaklığında 2 gün boyunca devam edilmiştir. Tepkime kontrolü ve takibi İTK (ince tabaka kromatografisi) ve FT-IR ile yapılmıştır. Tepkime tamamlandıktan sonra oluşan beyaz renkli katı süzölmüş ve birkaç kez dietil eter ile yıkanarak kurumaya bırakılmıştır. Daha sonrasında elde edilen ürünün yapı karakterizasyonu $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ ile yapılmış ve istenilen bileşiğin elde edildiği ispatlanmıştır.



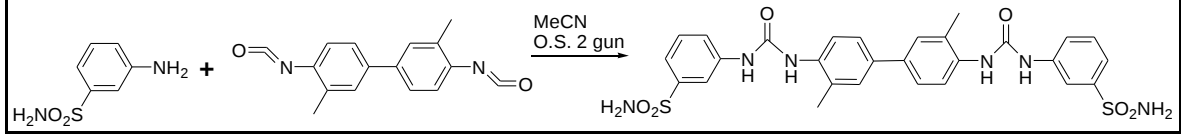
Şekil 3.7. (X2Y2) bileşiğinin sentez yöntemi

3.6.7. X2Y3 bileşiği sentez metodu

3,3'-(((3,3'-dimetil-[1,1'-bifenil]4,4'dil))bis(azanediyl))bis(karbonil))bis(azanediyl)dibenzenesulfonamid.

2 mmol 3-aminobenzenesulfonamid 5 mL asetonitril içerisinde çözülmüştür. Diğer taraftan 1 mmol 4,4'-diizosiyanato-3,3'-dimetil-1,1'-bifenil 2-3 mL asetonitrilde çözülerek ilk çözelti üzerine damla damla oda sıcaklığında ve karıştırmak suretiyle ilave edilmiştir. Sonrasında, karıştırma işlemine oda sıcaklığında 2 gün boyunca devam edilmiştir. Tepkime kontrolü ve takibi İTK (ince tabaka kromatografisi) ve FT-IR ile yapılmıştır. Tepkime tamamlandıktan sonra oluşan beyaz renkli katı süzölmüş ve birkaç kez dietil eter ile yıkanarak kurumaya

bırakılmıştır. Daha sonrasında elde edilen ürünün yapı karakterizasyonu ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR ile yapılmış ve istenilen bileşiğin elde edildiği ispatlanmıştır.

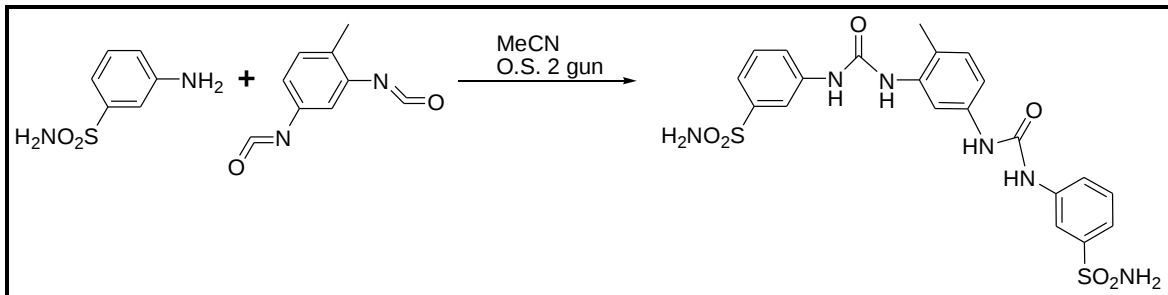


Şekil 3.8. (X2Y3) bileşiğinin sentez yöntemi

3.6.8. X2Y4 bileşiği sentez metodu

3,3'-((((4-metil-1,3-fenilene)bis(azaneditil))bis(carbonil))bis(azaneditil))dibenzenesülfonamid

2 mmol 3-aminobenzenesülfonamid 5 mL asetonitril içerisinde çözülmüştür. Diğer taraftan 1 mmol 2,4-diizosiyanato-1-metilbenzen 2-3 mL asetonitrilde çözülerek ilk çözelti üzerine damla damla oda sıcaklığında ve karıştırmak suretiyle ilave edilmiştir. Sonrasında, karıştırma işlemine oda sıcaklığında 2 gün boyunca devam edilmiştir. Tepkime kontrolü ve takibi İTK (ince tabaka kromatografisi) ve FT-IR ile yapılmıştır. Tepkime tamamlandıktan sonra oluşan beyaz renkli katı süzölmüş ve birkaç kez dietil eter ile yıkanarak kurumaya bırakılmıştır. Daha sonrasında elde edilen ürünün yapı karakterizasyonu ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR ile yapılmış ve istenilen bileşiğin elde edildiği ispatlanmıştır.



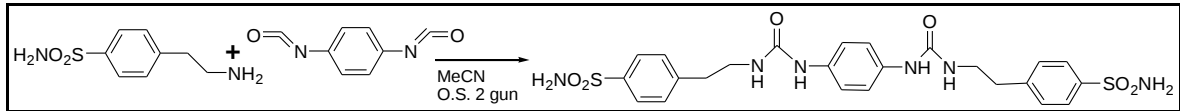
Şekil 3.9. (X2Y4) bileşiğinin sentez yöntemi

3.6.9. X3Y1 bileşiği sentez metodu

4,4'-((((1,4-Fenylenebis(azaneditil))bis(karbonil))bis(azaneditil))bis(etan-2,1dil))dibenzenesülfonamid.

2 mmol mmol 4-(2-aminoetil) benzenesülfonamid 5 mL asetonitril içerisinde çözülmüştür. Diğer taraftan 1 mmol 1,4-diizosiyanatbenzen 2-3 mL asetonitrilde çözülerek ilk çözelti

üzerine damla damla oda sıcaklığında ve karıştırmak suretiyle ilave edilmiştir. Sonrasında, karıştırma işlemine oda sıcaklığında 2 gün boyunca devam edilmiştir. Tepkime kontrolü ve takibi İTK (ince tabaka kromatografisi) ve FT-IR ile yapılmıştır. Tepkime tamamlandıktan sonra oluşan beyaz renkli katı süzölmüş ve birkaç kez dietil eter ile yıkanarak kurumaya bırakılmıştır. Daha sonrasında elde edilen ürünün yapı karakterizasyonu ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR ile yapılmış ve istenilen bileşiğin elde edildiği ispatlanmıştır.

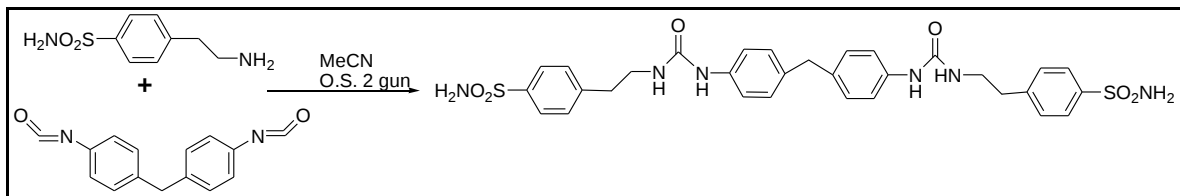


Şekil 3.10. (X3Y1) bileşiğinin sentez yöntemi

3.6.10. X3Y2 bileşiği sentez metodu

4,4'-((((metilenebis(4,1fenilene))bis(azaneditil))bis(karbonil))bis(azaneditil))bis(etan-2,1-diyl))dibenzenesulfonamid

2 mmol 4-(2-aminoetil)benzenesulfonamid 5 mL asetonitril içerisinde çözülmüştür. Diğer taraftan 1 mmol bis(4-izosiyanatfenil)metan 2-3 mL asetonirilde çözülerek ilk çözelti üzerine damla damla oda sıcaklığında ve karıştırmak suretiyle ilave edilmiştir. Sonrasında, karıştırma işlemine oda sıcaklığında 2 gün boyunca devam edilmiştir. Tepkime kontrolü ve takibi İTK (ince tabaka kromatografisi) ve FT-IR ile yapılmıştır. Tepkime tamamlandıktan sonra oluşan beyaz renkli katı süzölmüş ve birkaç kez dietil eter ile yıkanarak kurumaya bırakılmıştır. Daha sonrasında elde edilen ürünün yapı karakterizasyonu ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR ile yapılmış ve istenilen bileşiğin elde edildiği ispatlanmıştır.

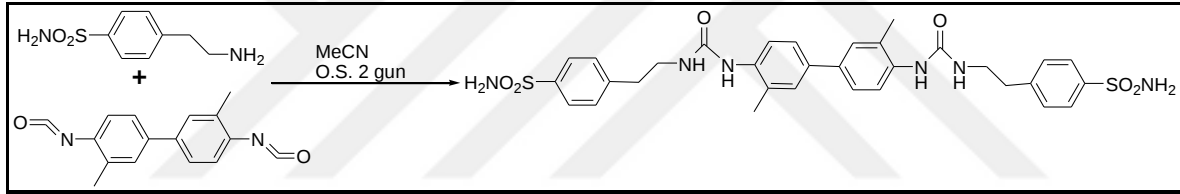


Şekil 3.11. (X3Y2) bileşiğinin sentez yöntemi

3.6.11. X3Y3 bileşiği sentez metodu

4,4'-((((3,3'-dimethyl-[1,1'-bifenil]-4,4'-diyl)bis(azaneditil))bis(karbonil))bis(azaneditil))bis(ethane-2,1 diyl))dibenzenesulfonamide.

2 mmol 4-(2-aminoetil)benzensulfonamit 5 mL asetonitril içerisinde çözülmüştür. Diğer taraftan 1 mmol 4,4'-diizosiyanato-3,3'-dimetil-1,1'-bifenil 2-3 mL asetonitrilde çözülerek ilk çözelti üzerine damla damla oda sıcaklığında ve karıştırmak suretiyle ilave edilmiştir. Sonrasında, karıştırma işlemine oda sıcaklığında 2 gün boyunca devam edilmiştir. Tepkime kontrolü ve takibi İTK (ince tabaka kromatografisi) ve FT-IR ile yapılmıştır. Tepkime tamamlandıktan sonra oluşan beyaz renkli katı süzölmüş ve birkaç kez dietil eter ile yıkanarak kurumaya bırakılmıştır. Daha sonrasında elde edilen ürünün yapı karakterizasyonu ¹H-NMR ve ¹³C-NMR ile yapılmış ve istenilen bileşiğin elde edildiği ispatlanmıştır

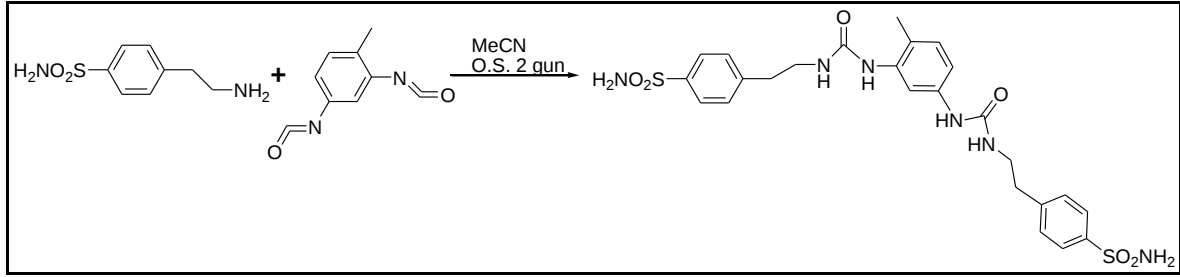


Şekil 3.12. (X3Y3) bileşiğinin sentez yöntemi

3.6.12. X3Y4 bileşiği sentez metodu

4,4'-((((4-methyl-1,3-fenilene)bis(azaneditil))bis(karbonil))bis(azaneditil))bis(ethane-2,1-diyl))dibenzenesulfonamide.

2 mmol 4-(2-aminoetil) benzensulfonamit 5 mL asetonitril içerisinde çözülmüştür. Diğer taraftan 1 mmol 2,4-diizosiyanato-1-metilbenzen 2-3 mL asetonitrilde çözülerek ilk çözelti üzerine damla damla oda sıcaklığında ve karıştırmak suretiyle ilave edilmiştir. Sonrasında, karıştırma işlemine oda sıcaklığında 2 gün boyunca devam edilmiştir. Tepkime kontrolü ve takibi İTK (ince tabaka kromatografisi) ve FT-IR ile yapılmıştır. Tepkime tamamlandıktan sonra oluşan beyaz renkli katı süzölmüş ve birkaç kez dietil eter ile yıkanarak kurumaya bırakılmıştır. Daha sonrasında elde edilen ürünün yapı karakterizasyonu ¹H-NMR ve ¹³C-NMR ile yapılmış ve istenilen bileşiğin elde edildiği ispatlanmıştır.



Şekil 3.13. (X3Y4) bileşiğinin sentez yöntemi

3.7. Asetilkolinesteraz ve Bütirilkolinesteraz Enzimlerinin İnhibisyon Çalışma Yöntemi

3.7.1. İnhibitör çözeltileri

Kullanılan inhibitörlerin derişimi 2 mM (2000 µM) olacak şekilde uygun miktarlarda tartılarak %10'luk DMSO içinde 5mL'lik çözeltileri hazırlanmıştır. Bu çözeltilerin her biri önce 100 kat, sonra tekrar 100 çözücü ile seyreltilerek toplamda 10⁴ kat seyreltilmiş ve 0,2 µM stok çözeltileri hazırlanmıştır.

3.7.2. Asetilkolinesteraz enziminin aktivite ölçümlerinde kullanılan çözeltiler

- -1 M'lık Tris-HCl Tamponunun Çözeltisi: 30,27 g Tris alındı ve 200 mL 5 mM EDTA içerisinde çözüldü. pH metre kullanılarak pH'sı 8'e ayarlandı ve toplam hacim 250 mL'ye tamamlandı.
- 10 mM'lık Asetilkolin İyodat Çözeltisi: 0,145 g Asetilkolin iyodat alındı ve 50 mL destile suda çözüldü.
- 10 mM'lık DTNB (5,5'-Ditiyo-bis (2-Nitrobenzoik Asit) Çözeltisi: 0,01 g DTNB ve 0,5 g sodyum sitrat alındı 50 mL destile suda çözüldü.

3.7.3. Bütirilkolinesteraz enziminin ektivite ölçümlerinde kullanılan çözeltiler

- 1 M'lık Tris-HCl Tampon Çözelti: 30,27 g Tris alındı ve 5mM'lık 0,370 g EDTA 200 mL distile suda çözüldü. pH'sı 8'e ayarlandı. Toplam hacim 250 mL distile suya tamamlandı.
- 5 mM'lık Bütirilkolinyodat Çözeltisinin Hazırlanması: 0,07 g Bütirilkolinyodat 50 mL distile suda çözülmüştür.

- 10 mM'lık DTNB (5,5'-Ditiyo-bis (2-nitrobenzoik Asit)) Çözeltisi: 0,0034 g DTNB 25 mL distile suda çözüldü.

Çizelge 3.1. Asetilkolinesteraz aktivite tayininde küvet içeriği

Kullanılan Maddeler	Kontrol Tüpü (µL)	Numune Tüpü (µL)
Tris-HCl	100	100
Saf su	790	780
Örnek	-	10
DTNB	50	50
Enzim Çözeltisi	10	10
Asetilkolintiyoyodür	50	50
Toplam küvet hacmi	1000	1000

Çizelge 3.2. Butirilkolinesteraz aktivite tayininde küvet içeriği

Kullanılan Maddeler	Kontrol Tüpü (µL)	Numune Tüpü (µL)
Tris-HCl	100	100
Saf su	790	780
Örnek	-	10
DTNB	50	50
Enzim Çözeltisi	10	10
Bütirilkolintiyoyodür	50	50
Toplam küvet hacmi	1000	1000

3.7.4. Asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz enzimlerinin İnhibisyon çalışma yöntemi

Asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirilkolinesteraz (BChE) inhibisyon aktiviteleri, Ellman metodu olarak bilinen spektrofotometrik bir yöntemle ölçüldü. AChE enzimi, asetilkolinyodürü substrat olarak kullanırken, BChE enzimi bütirilkolinyodürün hidrolizini katalizler. Aktivite ölçümü için sarı renkli 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) kullanıldı. DTNB bileşiği, hidroliz tepkimesi sonucunda açığa çıkan tiyokolin yapısı ile sarı renkli bir kompleks oluşturur ve bu kompleksin maksimum absorbanısı 412 nm'de ölçüldü (Bilen, 2019). Enzim aktivitesinin belirleneceği inhibitörsüz ve inhibitörlü çözeltiler ile bunlara ait kör çözeltiler, yukarıda verilen çizelgeye göre hazırlandı (Çizelge 3.1 ve Çizelge 3.2). Küvet hacmi toplamda 1000 µL olacak şekilde saf su, pH=8 olan Tris-HCl tamponu sonra sırayla DTNB, enzim, inhibitör çözeltileri eklenip karıştırılarak

25°C’de 10 dk boyunca ön inkübasyona bırakıldı. Daha sonra substrat çözeltisi küvetlere ilave edilip karıştırılır ve her bir inhibitör derişimi için 25°C’de 412 nm’de, her 30s de bir 3 absorbans ölçümü alındı. Ara ara enzim aktivite kontrolü yapılarak deneyler yapılmıştır. Bu işlem küvet içi derişimi 1nM, 2 nM, 3nM, 4nM ve 5 nM olacak şekilde inhibitör çözeltileri için de yapıldı. Bu işlem 3 tekrar olarak yapıldı. Elde edilen absorbans değerlerinden IC₅₀ ve Ki değerleri belirlendi. Aynı yöntem kontrol numunesi olarak Donepezil için de uygulanmıştır.

3.8. Karbonikanhidraz (CA) Enzim İnhibisyon Tayin Yöntemi

Durdurulmuş akış cihazı, (SX.18 MV-R Applied Photophysics stopped-flow spectrophotometer) CA izozimlerinin katalitik inhibisyonunu test etmek için kullanılmıştır. Fenol Kırmızısı (0,2 mM derişimde) maksimum absorbans değerinde çalışan bir indikatör olarak kullanılmıştır, max 557 nm absorbans değerinde çalışılmıştır, tampon olarak pH 7.4 de 10 mM HEPES ((4-(2-hidroksietil)-1-piperazineetansulfonik asit)) tampon çözeltisi ile 0,1M Na₂SO₄ veya NaClO₄ (iyonik gücü sabit tutmak için; bu anyonlar kullanılan derişimde inhibe edici değildir), takiben 5–10 saniyelik bir süre boyunca CA ile katalize edilen CO₂ hidrasyon tepkime. Substrat olarak 25°C’de suda doymuş CO₂ çözeltileri kullanılmıştır.

3.8.1. İnhibitörlerin stok çözeltilerinin hazırlanması:

10 mM (DMSO-su içinde 1:1, v/v) ve 0,01 nM’ye kadar yukarıda belirtilen tampon ile seyreltilmiştir. İnhibisyon sabitini ölçmek için en az 7 farklı inhibitör derişimi kullanılmıştır. E-I kompleksinin oluşumuna izin vermek için; İnhibitör ve enzim çözeltileri önceden inkübe edilmiştir, testten önce oda sıcaklığında 10 dakika birlikte bekletildi. Üç tekrarlı deneyler her inhibitör derişimi için yapıldı ve değerler, çalışma boyunca elde edilen, bu sonuçların ortalamasıdır. İnhibisyon sabitleri, daha önce bildirildiği gibi Cheng-Prusoff denklemi kullanılarak doğrusal olmayan en küçük kareler yöntemleriyle elde edilmiştir (Akocak vd., 2018; Akocak vd., 2019; Lolak vd., 2019) ve sonuçlar en az 3 tekrarlı deney sonuçlarıdır(38-45). Burada kullanılan tüm CA izozimleri rekombinanttır. (Elde edilen proteinler ve derişimleri 6-14nM aralığındadır) (Akocak vd., 2018; Durgun vd., 2020; Ilies vd., 2003; Küçükbaş vd., 2021; Küçükbaş vd., 2021; Lolak vd., 2018; Onyıılmaz vd., 2022).

3.9. Antikanser Aktivite Çalışma Yöntemi

Sentezlenen bileşiklerin hücre kültürleri üzerindeki antikanser aktivite çalışmaları Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı hücre kültürü laboratuvarında yürütülmüştür.

3.9.1. Hücrelerin kültür ve canlılık analizi

Bu çalışma için A549 akciğer kanseri, BEAS-2B normal akciğer epitel hücreleri, MCF-7 ve MDA-MB-231 meme kanseri hücreleri, CRL-4010 normal meme hücresi, PC-3 prostat kanseri ve PNT-1A normal prostat hücreleri kullanılmıştır. Hücreler %10 FCS ve %5 penisilin-streptomisin ile desteklenmiş DMEM içinde %5 CO₂ içeren inkübatörde 37°C'de büyütülmüştür. Sentezlenen bileşiklerin sitotoksik etkisini belirlemek için MTT testi yapıldı. Kısaca, hücreler 96 kuyulu plakalara ekilmiş ve gece boyunca inkübe edilmiş ve ardından 24 saat boyunca farklı derişimlerde sentezlenen bileşiklere maruz bırakılmıştır. Maruziyetin ardından, süpernatantlar atılmış ve hücreler 37°C'de 45-60 dakika boyunca 1 mg/mL MTT çözeltisi ile muamele edilmiştir. İnkübasyondan sonra süpernatant uzaklaştırılmış ve formazan partikülleri DMSO ile çözülmüş ve bir mikrolaka okuyucuda 570 nm'de okunmuştur. Hücre canlılığı ölçülen absorbans değerlerinden hesaplanmıştır (Canakci vd., 2019; Tuluçe vd., 2018).

3.10. Antibakteriyel Aktivite

Antibakteriyel analizler, Tekeli ve ark 2022 tarafından yapılan bir çalışmadan modifiye edilerek yapılmıştır. Çalışmada iki Gram(+) (*Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus faecalis*) ve iki Gram (-) (*Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli*) bakterileri kullanılmıştır. Kısaca, sentezlenen bileşikler 2 mg/mL'lik bir stok çözeltisi hazırlamak için DMSO içerisinde çözülmüştür ve mikrolaka kuyucukları üzerinde yedi kez seyreltilmiş sekiz farklı derişimde hazırlanmıştır. Bir McFarland yoğunlukölçer kullanılarak yaklaşık 10⁶ CFU/mL yoğunluğa ayarlanan bakteri suşları, bir mikrolakanın her kuyucuğuna 100 µL halinde ilave edilmiştir. Kontrol olarak seftriakson ve ampisilin antibiyotik ajanları standart olarak kullanıldı (kullanılmıştır). Mikrolakalar 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir ve ardından bir Thermo 3001 ELISA mikrolaka okuyucu kullanılarak 600 nm'de absorbanslar okundu. MİK değerlendirmesi her mikroorganizma ve her bileşik için üç kez

tekrarlandı. 24 saatlik inkübasyon süresinin sonunda minimal inhibitör derişimler (MIC'ler) belirlendi (Tekeli vd., 2022).



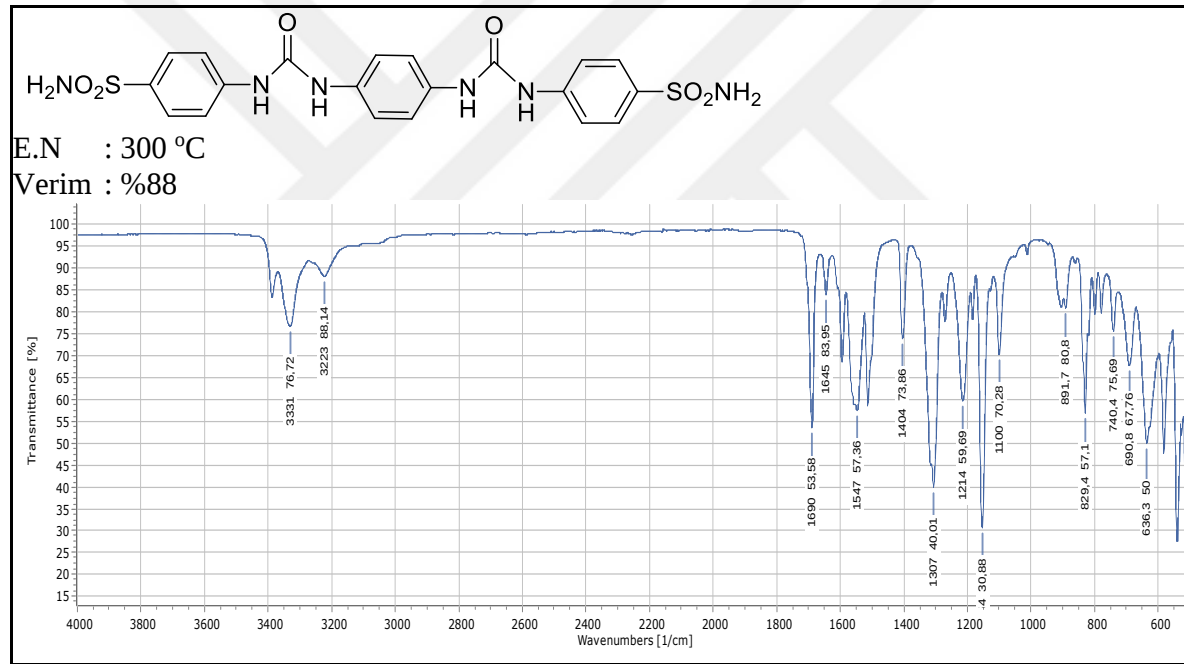
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI

4.1. Sentezlenen Bis-Üre Türevi Primer Benzensülfonamidlerin NMR Sonuçları

Sentezi gerçekleştirilen 12 bileşiğin yapısal karakterizasyonları ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR ile yapılmıştır. Hedeflenen bileşikler başarı ile sentezlenmiştir. Aşağıda bileşiklerin spektrumları aşağıda verilmiştir.

X1Y1 bileşiğine ait NMR sonuçları

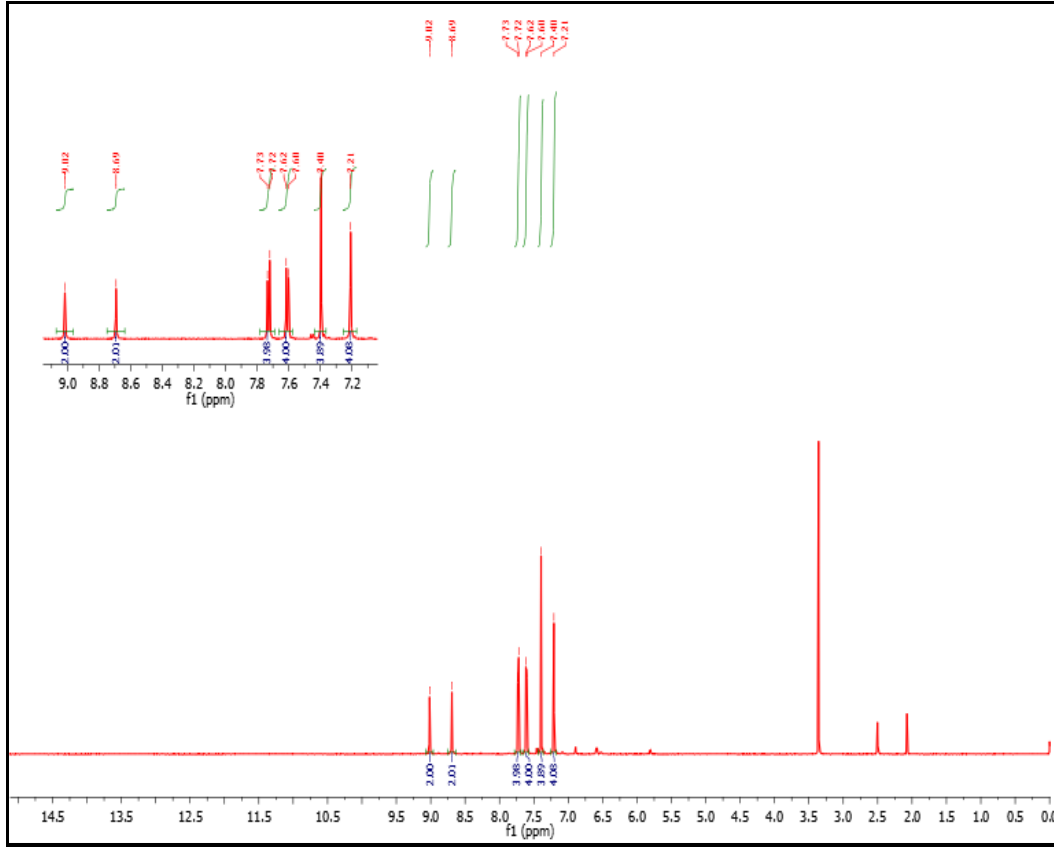
4,4'-(((1,4-fenilenebis(azanedil))bis(karbonil))bis(azanedil))dibenzenesulfonamide



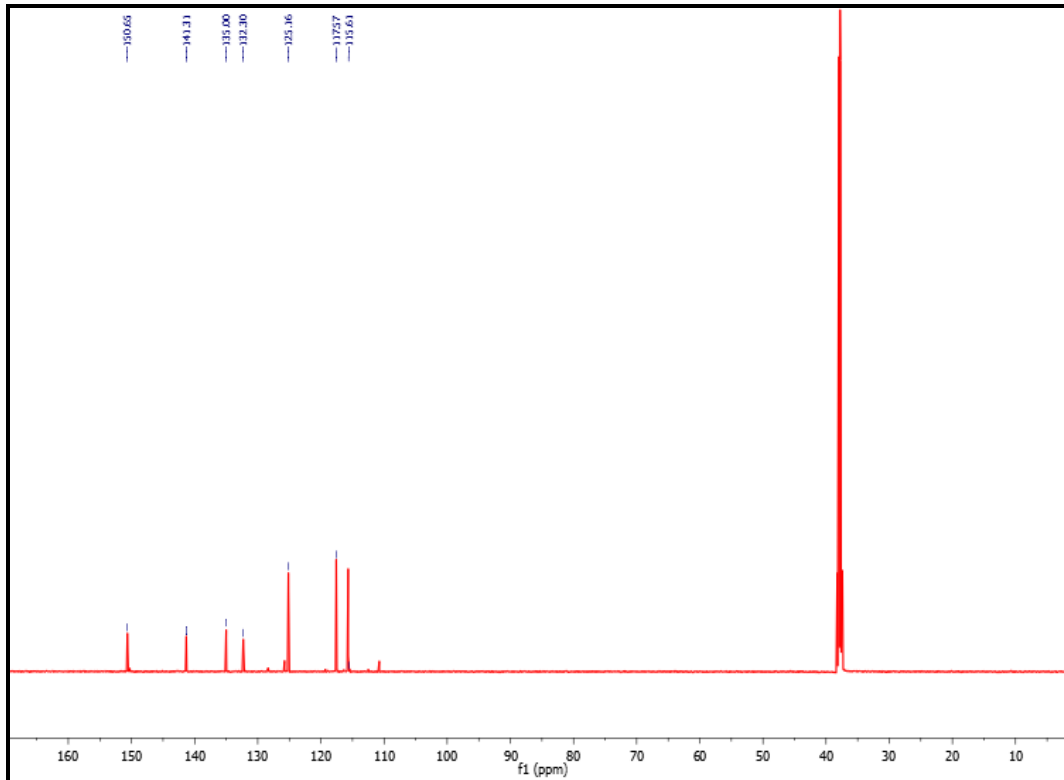
Şekil 4.1. X1Y1 bileşiğinin FT-IR spektrumu

Çizelge 4.1. X1Y1 bileşiğinin NMR spektrum sinyalleri

^1H -NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz, δ ppm)	9.02 (s, 2H, -NH-), 8.69 (s, 2H, -NH-), 7.73 (d, $J = 7.5$ Hz, 4H, Ar-H), 7.61 (d, $J = 7.5$ Hz, 4H, Ar-H), 7.40 (s, 4H, -SO ₂ NH ₂), 7.21 (s, 4H, Ar-H)
^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz, δ ppm)	150.65, 141.31, 135.00, 132.30, 125.16, 117.57, 115.61



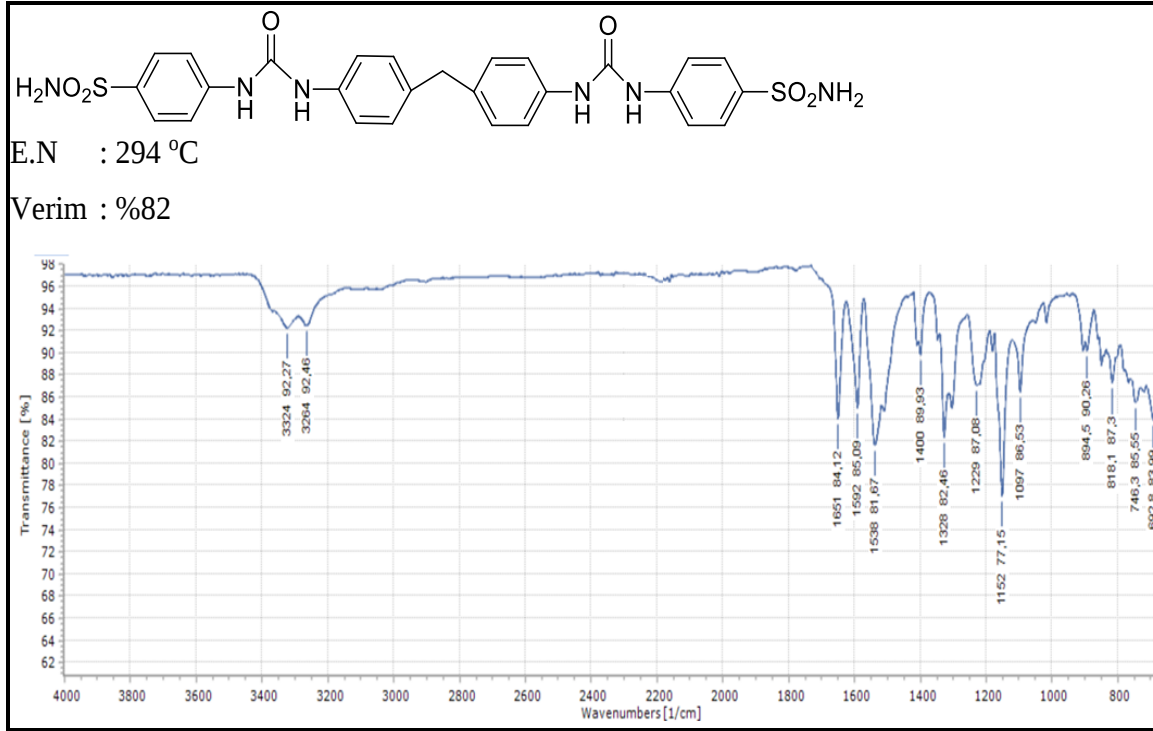
Şekil 4.2. X1Y1 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (500 MHz, in DMSO-d₆).



Şekil 4.3. X1Y1 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu (125 MHz, in DMSO-d₆).

X1Y2 bileşiğine ait NMR sonuçları

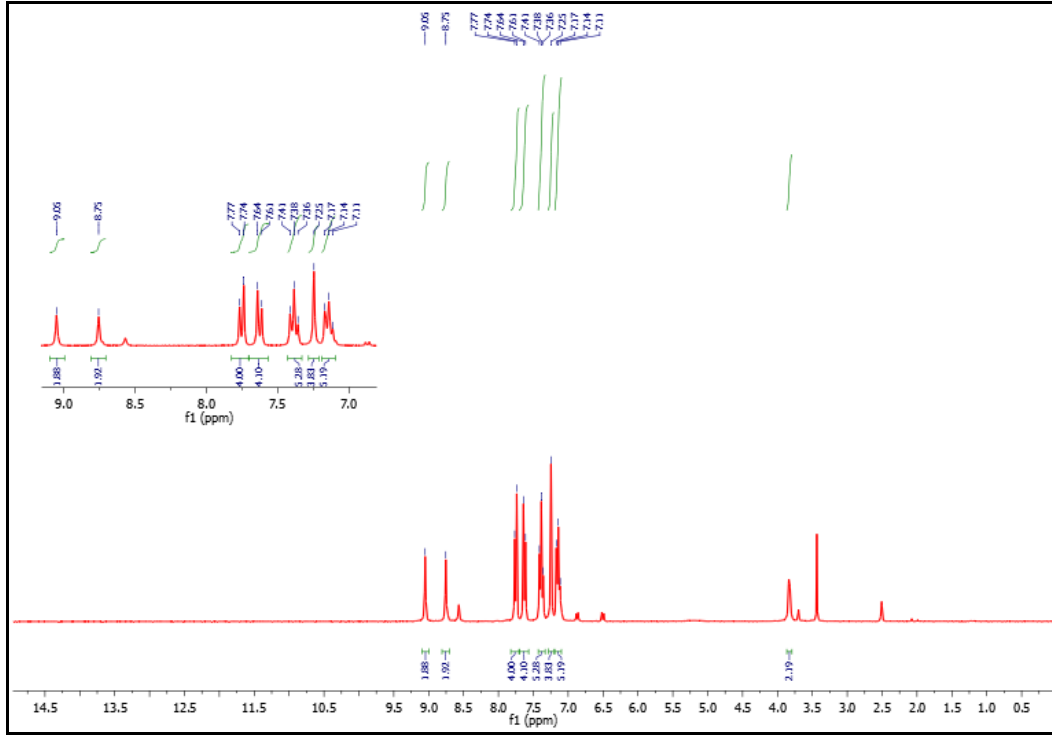
4,4'-((((methylenebis(4,1-fenilene)))bis(azanedil)))bis(karbonil)))bis(azanedil))dibenzenesulfonamide.



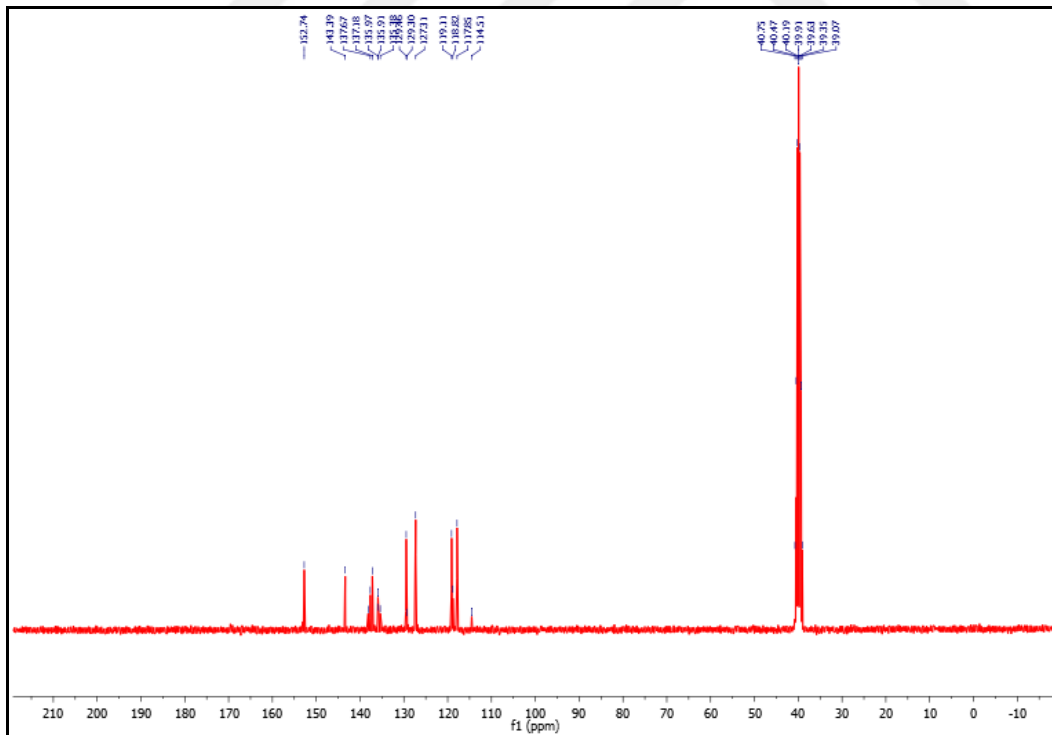
Şekil 4.4. X1Y2 bileşiğinin FT-IR spektrumu

Çizelge 4.2. X1Y2 bileşiğinin NMR spektrum sinyalleri

¹ H-NMR (DMSO-d ₆ , 300 MHz, δ ppm)	9.05 (s, 2H, -NH-), 8.76 (s, 2H, -NH-), 7.75 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 4H, Ar-H), 7.63 (d, <i>J</i> = 8.7 Hz, 4H, Ar-H), 7.40 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 4H, Ar-H), 7.25 (s, 4H, -SO ₂ NH ₂), 7.15 (d, <i>J</i> = 8.7 Hz, 4H, Ar-H), 3.84 (s, 2H, Ph-CH ₂ -Ph)
¹³ C-NMR (DMSO-d ₆ , 75 MHz, δ ppm)	152.74, 143.39, 137.64, 137.18, 135.87, 129.46, 127.31, 119.11, 118.82, 117.85;



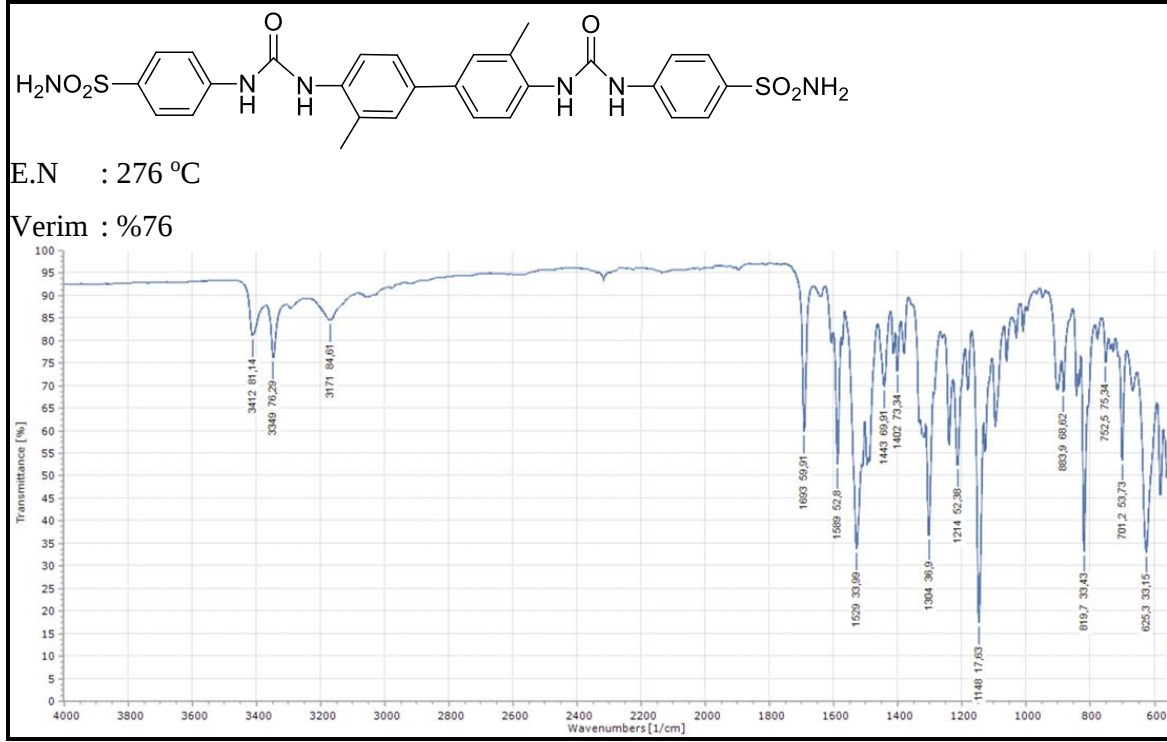
Şekil 4.5. X1Y2 bileşiğinin 1H NMR spektrumu (500 MHz, in DMSO-d6).



Şekil 4.6. X1Y2 bileşiğinin 13C NMR spektrumu (125 MHz, in DMSO-d6).

X1Y3 bileşiğine ait NMR sonuçları

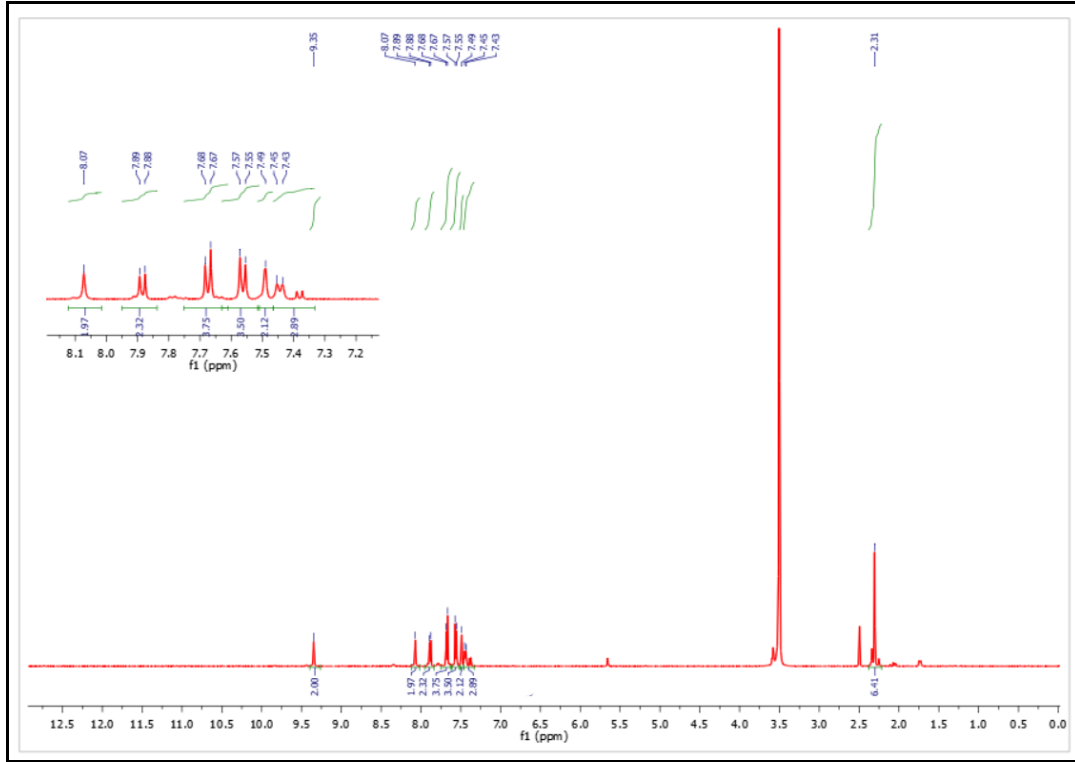
4,4'-((((3,3'-dimethyl-[1,1'-bifenil]-4,4'-diyl)bis(azanedil))bis(karbonil))bis(azanedil))dibenzenesulfonamide.



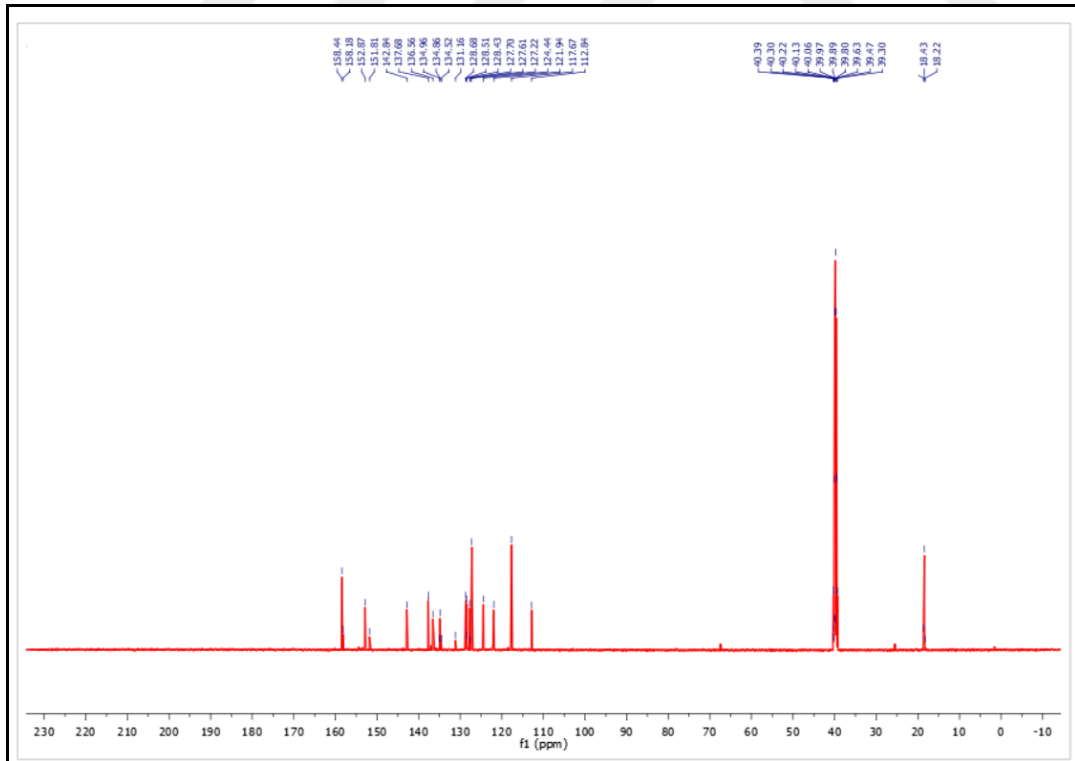
Şekil 4.7. X1Y3 bileşiğinin FT-IR spektrumu

Çizelge 4.3. X1Y3 bileşiğinin NMR spektrum sinyalleri

^1H -NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz, δ ppm)	9.45 (s, 2H, -NH-), 8.13 (s, 2H, -NH-), 7.99-7.95 (m, 4H, Ar-H), 7.77 (d, J = 8.4 Hz, 4H, Ar-H), 7.66 (d, J = 8.4 Hz, 4H, Ar-H), 7.52-7.45 (m, 4H, Ar-H), 7.25 (s, 4H, -SO ₂ NH ₂), 2.30 (s, 6H, -CH ₃)
^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz, δ ppm)	152.76, 146.07, 143.43, 137.11, 136.16, 134.18, 128.56, 127.60, 124.20, 121.99, 117.31, 18.61



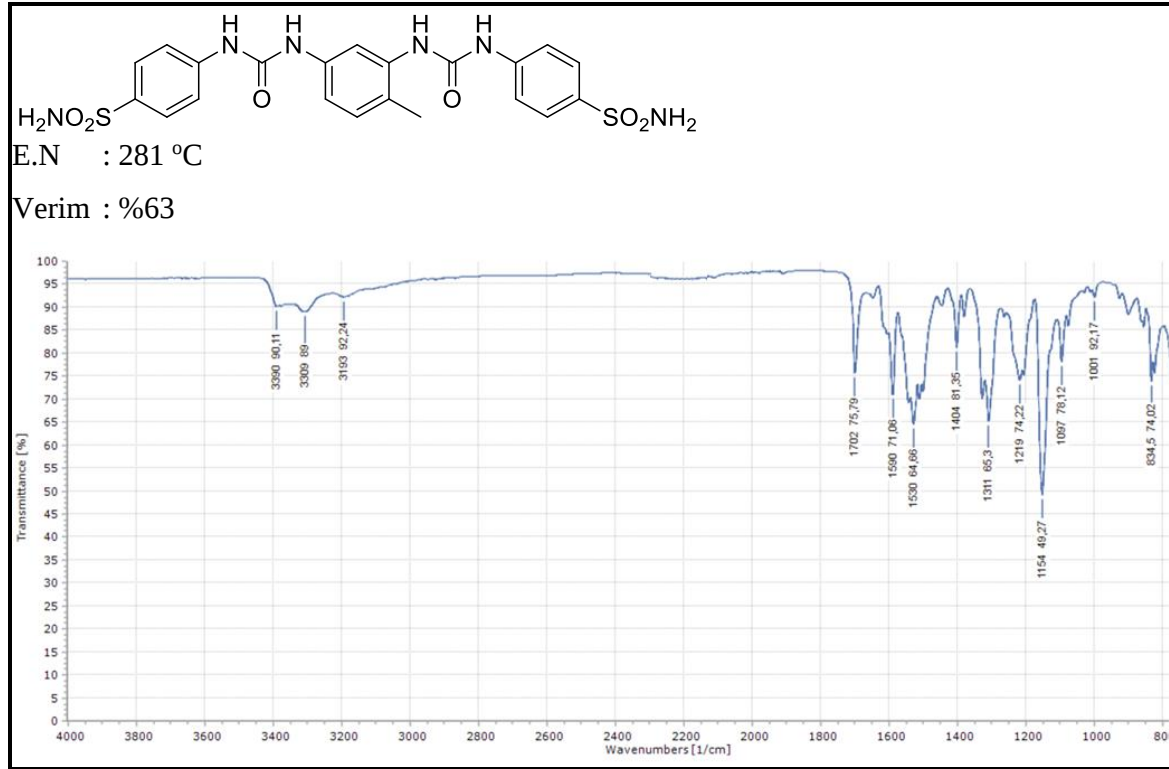
Şekil 4.8. X1Y3 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (500 MHz, in DMSO-d₆)



Şekil 4.9. X1Y3 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu (125 MHz, in DMSO-d₆).

X1Y4 bileşiğine ait NMR sonuçları

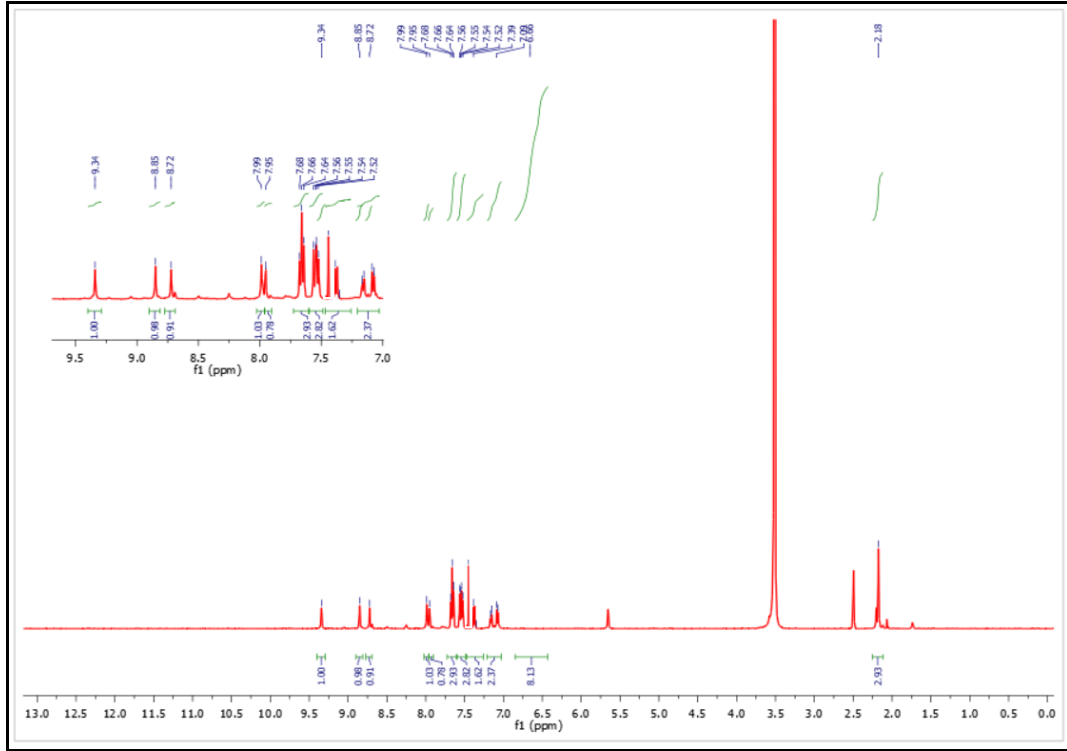
4,4'-((((4-methyl-1,3-fenilene)bis(azanedil))bis(karbonil))bis(azanedil))dibenzenesulfonamide.



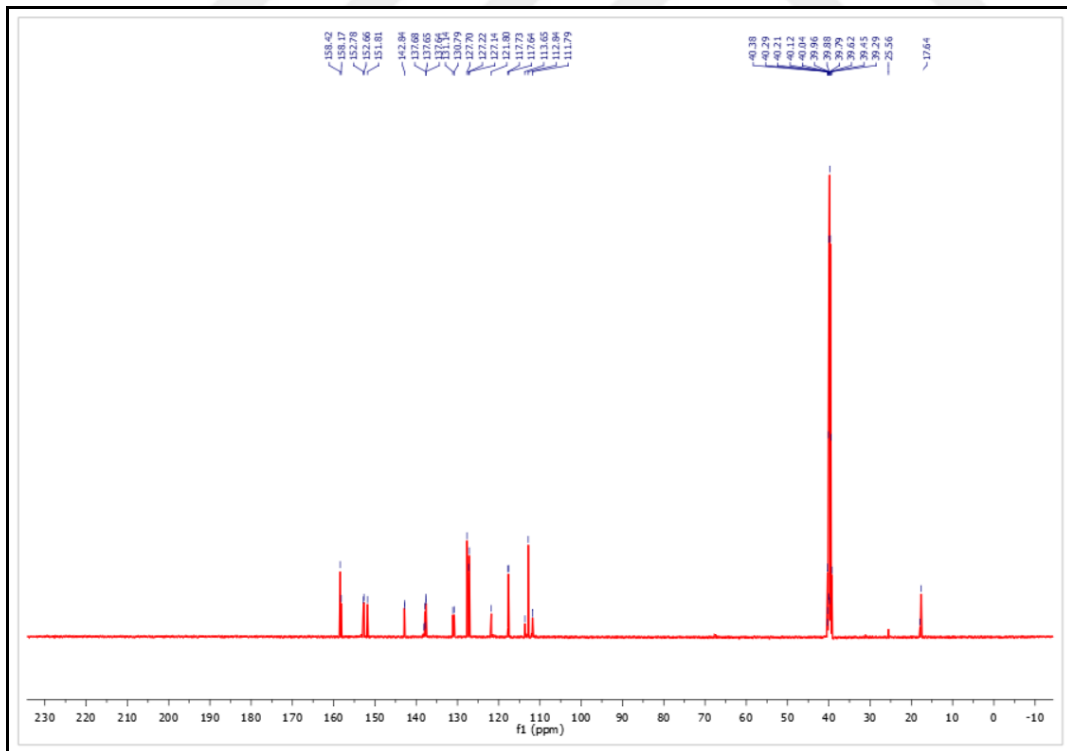
Şekil 4.10. X1Y4 bileşiğinin FT-IR spektrumu

Çizelge 4.4. X1Y4 bileşiğinin NMR spektrum sinyalleri

¹ H-NMR (DMSO-d ₆ , 300 MHz, δ ppm)	9.45 (s, 1H, -NH-), 8.94 (s, 1H, -NH-), 8.80 (d, <i>J</i> = 7.5 Hz, 2H, Ar-H), 8.44 (s, 1H, -NH-), 8.29 (s, 1H, -NH-), 8.04 (s, 2H, Ar-H), 7.78-7.59 (m, 5H, Ar-H), 7.23 (s, 4H, -SO ₂ NH ₂), 7.18-7.08 (m, 2H, Ar-H), 2.21 (s, 3H, -CH ₃);
¹³ C-NMR (DMSO-d ₆ , 75 MHz, δ ppm)	152.74, 152.38, 147.11, 143.42, 138.20, 137.83, 137.40, 130.61, 127.21, 121.89, 117.63, 115.96, 111.67, 104.71, 17.63.



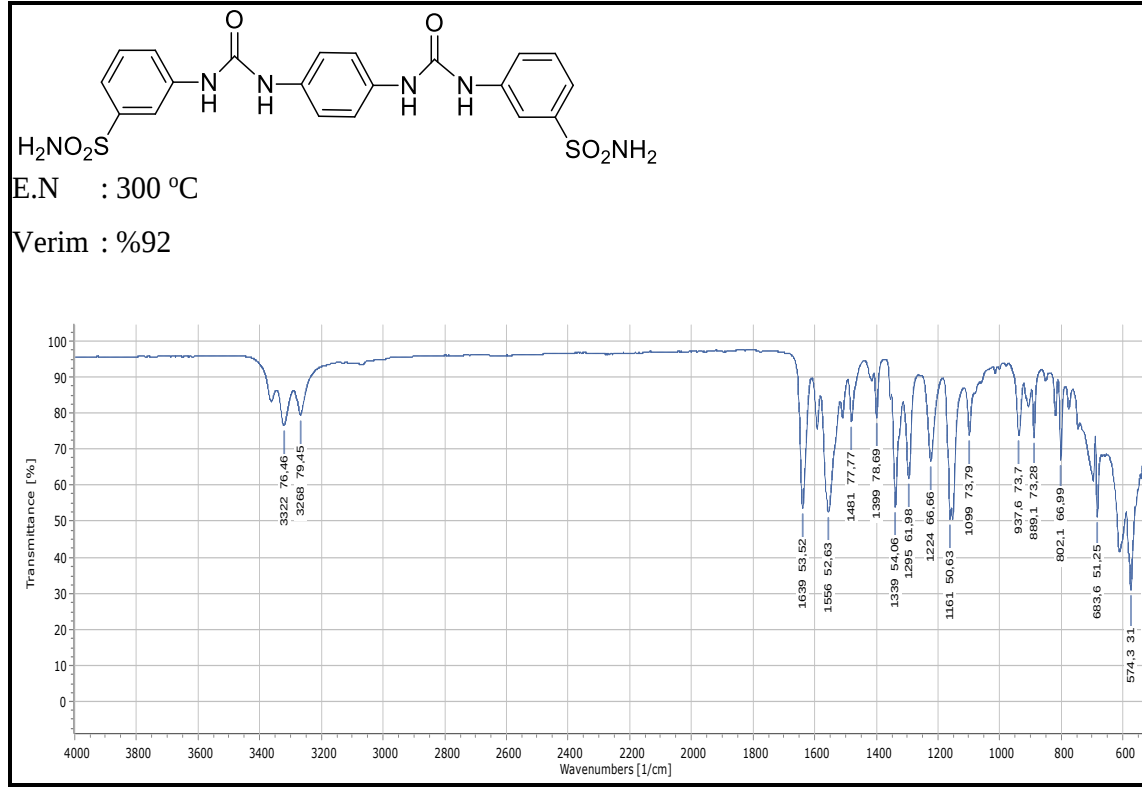
Şekil 4.11. X1Y3 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (500 MHz, in DMSO-d₆).



Şekil 4.12. X1Y3 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu (125 MHz, in DMSO-d₆).

X2Y1 bileşiğine ait NMR sonuçları

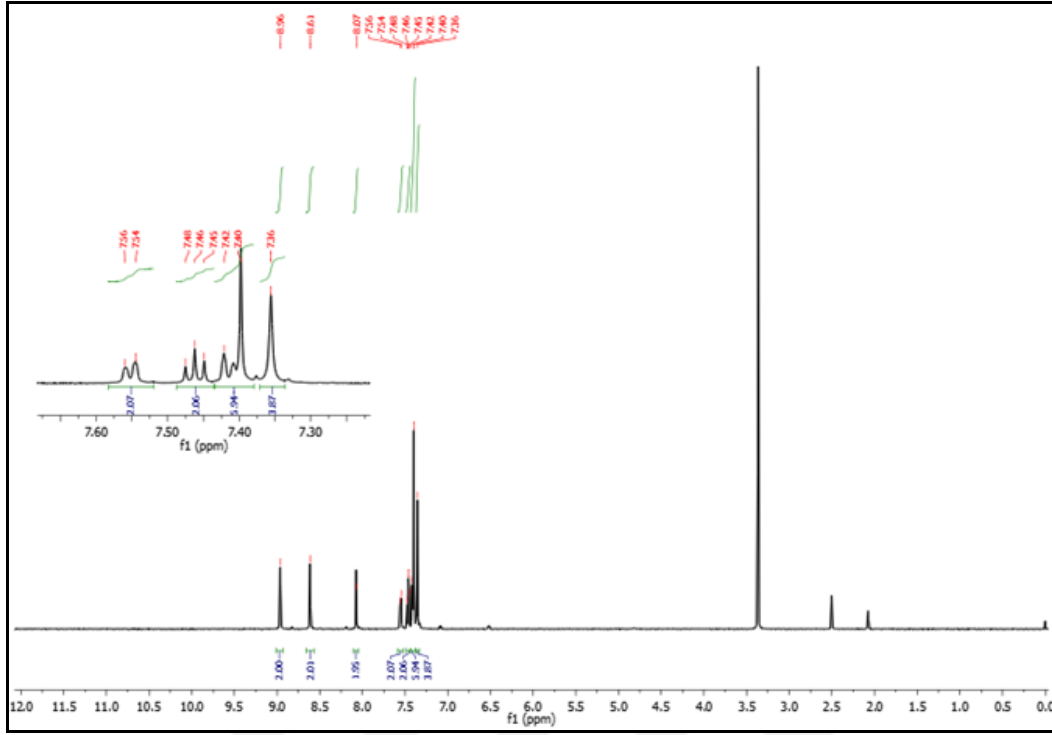
3,3'-(((1,4-fenilenebis(azanedil))bis(karbonil))bis(azanedil))dibenzenesulfonamide.



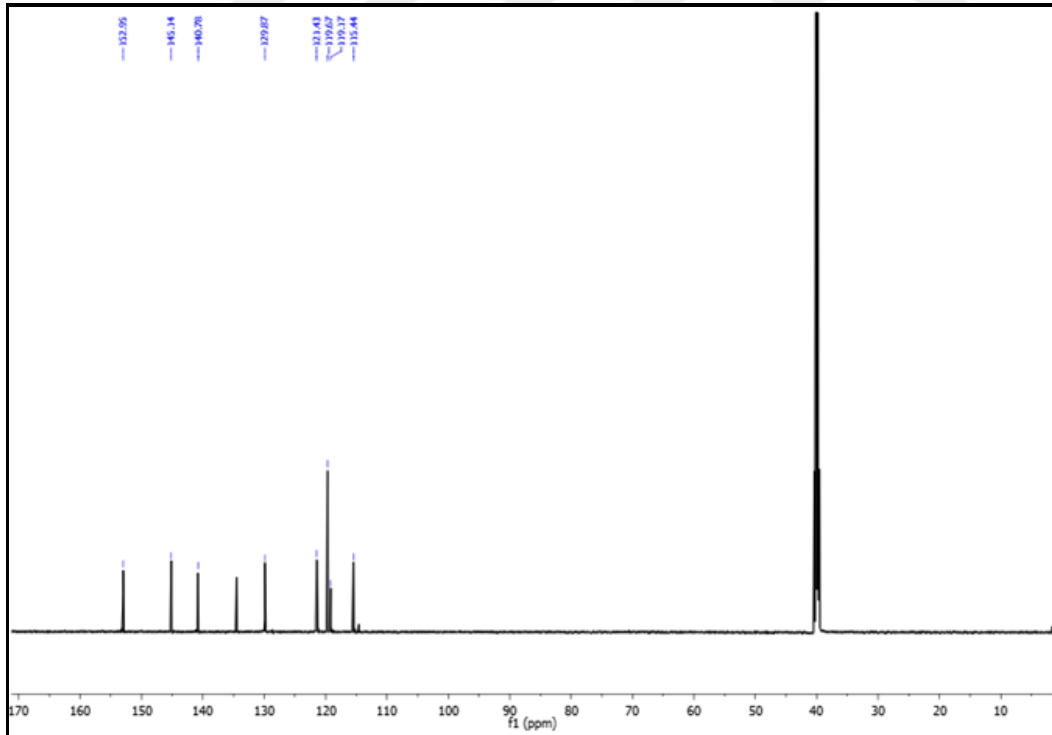
Şekil 4.13. X2Y1 bileşiğinin FT-IR spektrumu

Çizelge 4.5. X2Y1 bileşiğinin NMR spektrum sinyalleri

¹ H-NMR (DMSO-d ₆ , 300 MHz, δ ppm)	: 8.96 (s, 2H, -NH-), 8.61 (s, 2H, -NH-), 8.07 (s, 2H, Ar-H), 7.55 (d, <i>J</i> = 7.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.46 (t, 2H, Ar-H), 7.42-7.40 (m, 6H, Ar-H and -SO ₂ NH ₂), 7.36 (s, 4H, Ar-H)
¹³ C-NMR (DMSO-d ₆ , 75 MHz, δ ppm)	152.96, 145.43, 140.78, 134.47, 129.87, 121.43, 119.67, 119.17, 115.44



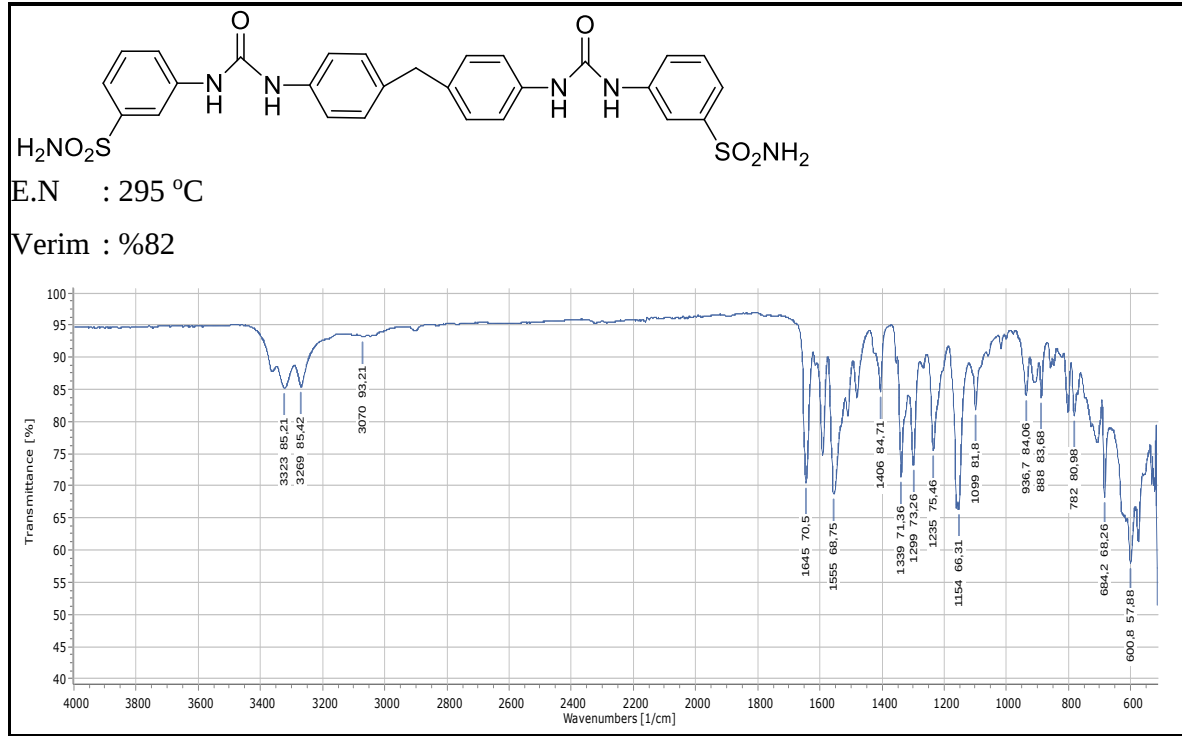
Şekil 4.14. X2Y1 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (500 MHz, in DMSO-d₆).



Şekil 4.15. X2Y1 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu (125 MHz, in DMSO-d₆).

X2Y2 bileşiğine ait NMR sonuçları

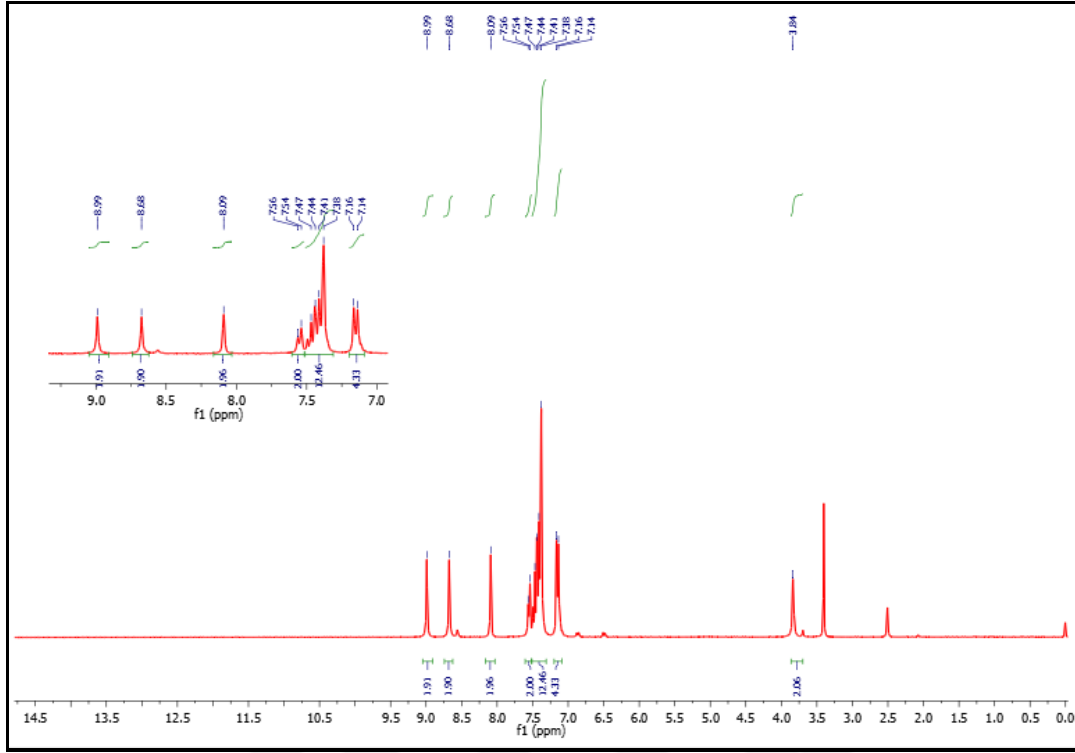
3,3'-((((methylenebis(4,1-fenilene))bis(azanedil))bis(karbonil))bis(azanedil))dibenzenesulfonamide.



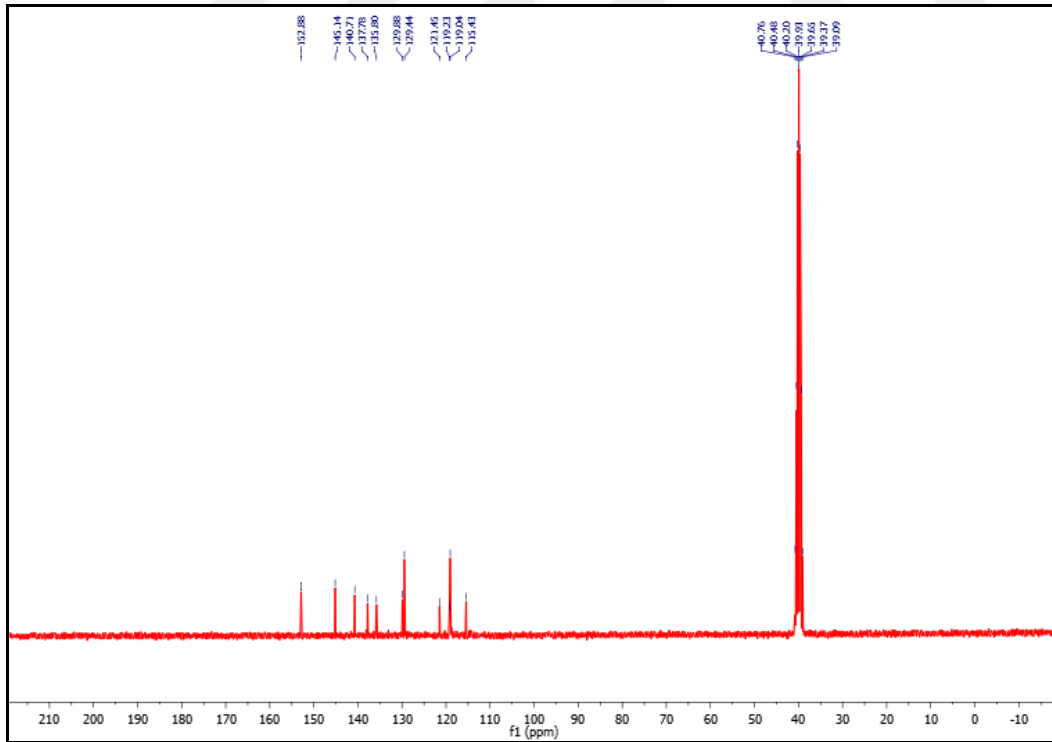
Şekil 4.16. X2Y2 bileşiğinin FT-IR spektrumu

Çizelge 4.6. X2Y2 bileşiğinin NMR spektrum sinyalleri

¹ H-NMR (DMSO-d ₆ , 300 MHz, δ ppm)	8.99 (s, 2H, -NH-), 8.68 (s, 2H, -NH-), 8.09 (s, 2H, Ar-H), 7.54 (d, <i>J</i> = 7.5 Hz, 2H, Ar-H), 7.50-7.41 (m, 8H, Ar-H), 7.38 (s, 4H, -SO ₂ NH ₂), 7.15 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 4H, Ar-H), 3.84 (s, 2H, Ph-CH ₂ -Ph)
¹³ C-NMR (DMSO-d ₆ , 75 MHz, δ ppm)	¹³ C-NMR (DMSO-d ₆ , 75 MHz, δ ppm): 152.88, 145.14, 140.71, 137.78, 135.80, 129.88, 129.44, 121.46, 119.23, 119.04, 115.43



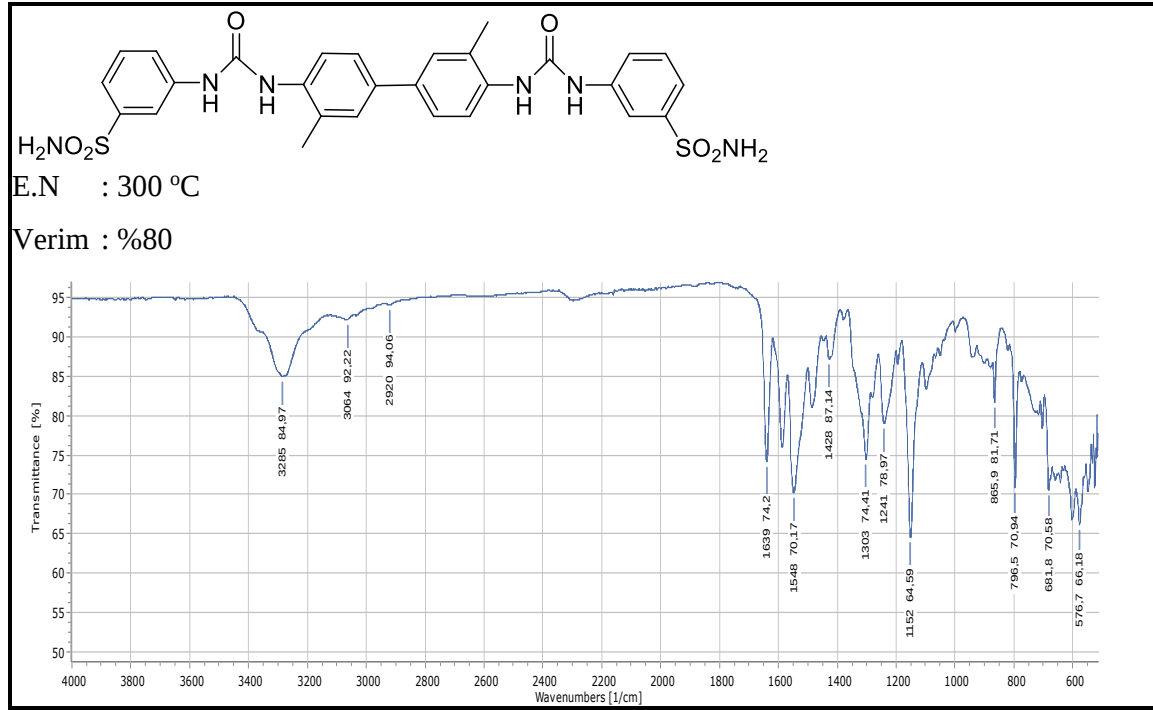
Şekil 4.17. 17 X2Y2 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (500 MHz, in DMSO-d₆)



Şekil 4.18. X2Y2 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu (125 MHz, in DMSO-d₆)

X2Y3 bileşiğine ait NMR sonuçları

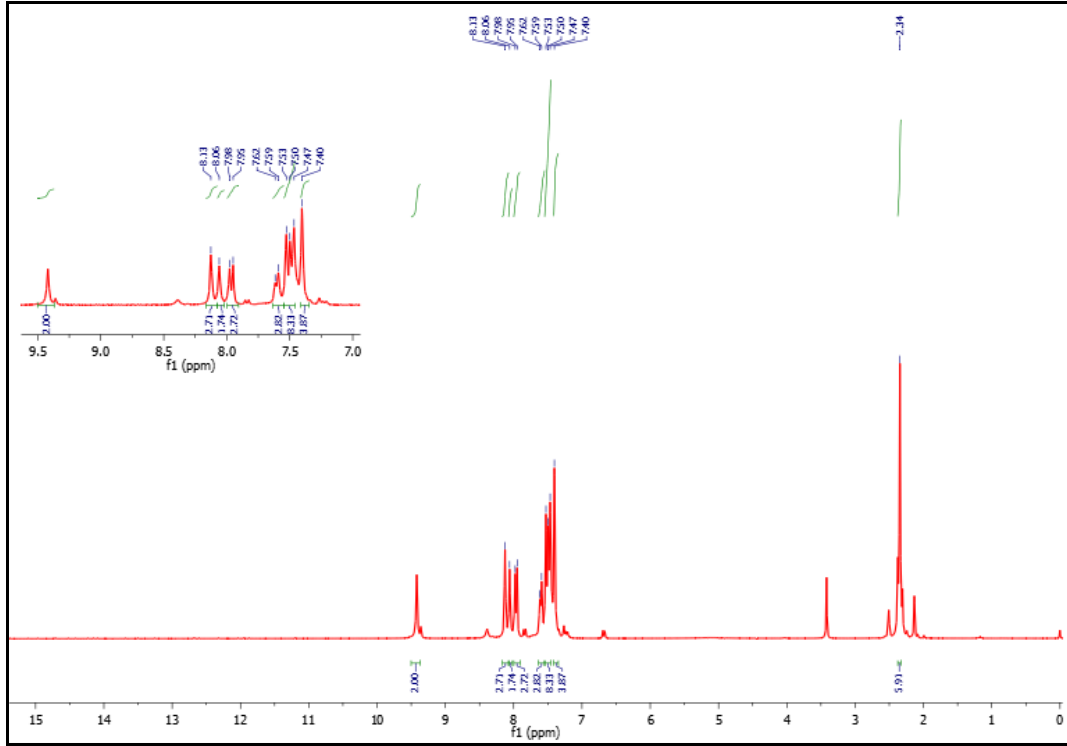
3,3'-((((3,3'-dimethyl-[1,1'-bifenil]-4,4'-diyl)bis(azanedil))bis(karbonil))bis(azanedil)dibenzenesulfonamide



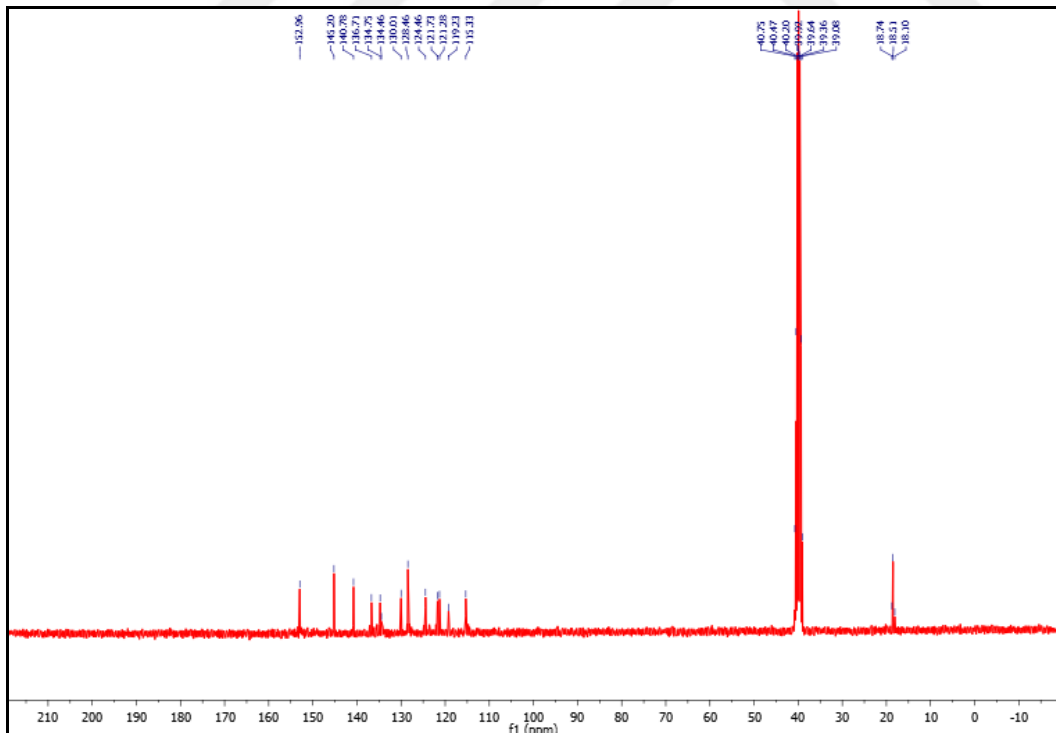
Şekil 4.19. X2Y3 bileşiğinin FT-IR spektrumu

Çizelge 4.7. X2Y3 bileşiğinin NMR spektrum sinyalleri

¹ H-NMR (DMSO-d ₆ , 300 MHz, δ ppm)	9.42 (s, 2H, -NH-), 8.13 (s, 2H, -NH-), 8.06 (s, 2H, Ar-H), 7.96 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 2H, Ar-H), 7.60 (d, <i>J</i> = 7.5 Hz, 2H, Ar-H), 7.52-7.46 (m, 8H, Ar-H), 7.40 (s, 4H, -SO ₂ NH ₂), 2.34 (s, 3H, -CH ₃);
¹³ C-NMR (DMSO-d ₆ , 75 MHz, δ ppm)	153.04, 145.20, 140.78, 136.71, 134.75, 130.01, 128.46, 124.47, 121.73, 121.28, 119.24, 115.27, 18.51;



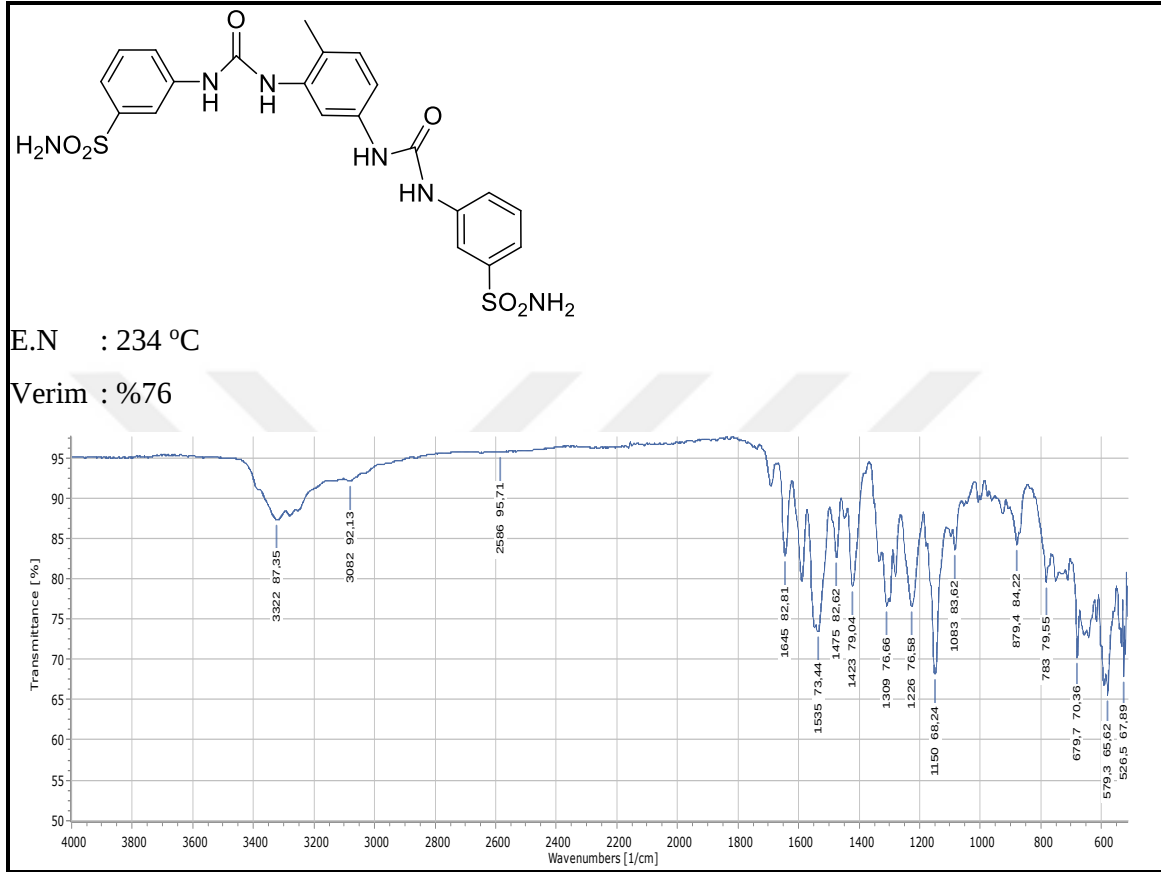
Şekil 4.20. X2Y3 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (500 MHz, in DMSO-d₆)



Şekil 4.21. X2Y3 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu (125 MHz, in DMSO-d₆)

X2Y4 bileşiğine ait NMR sonuçları

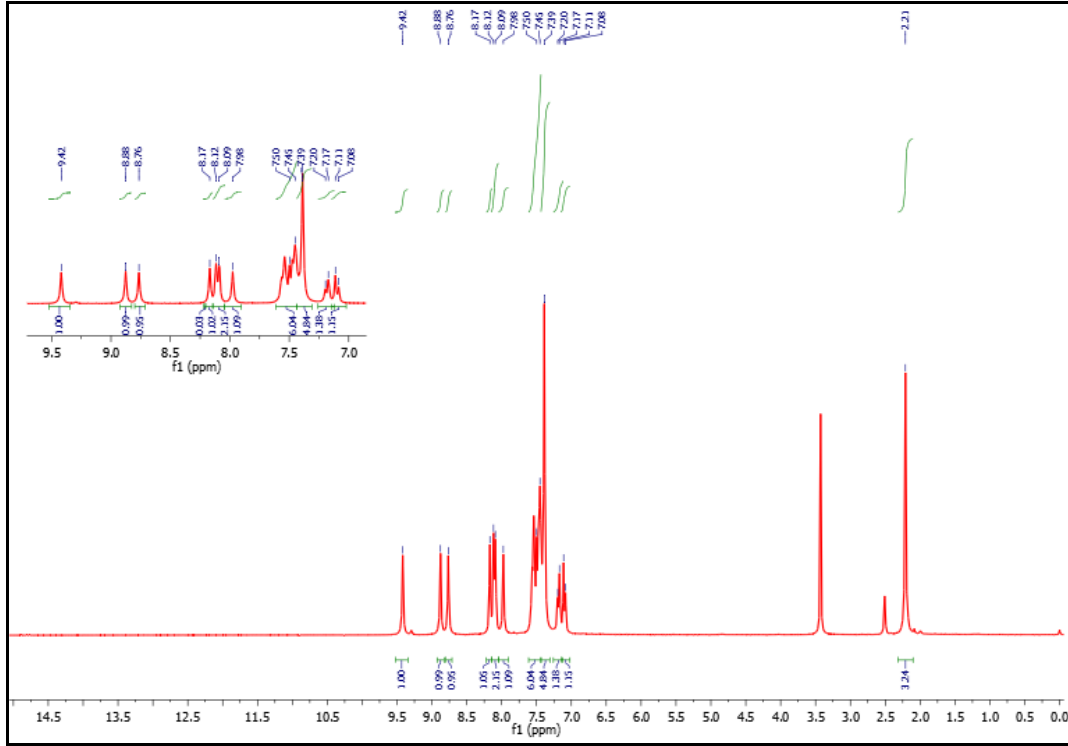
3,3'-((((4-methyl-1,3-fenilene)bis(azanedil))bis(karbonil))bis(azanedil))dibenzenesulfonamide



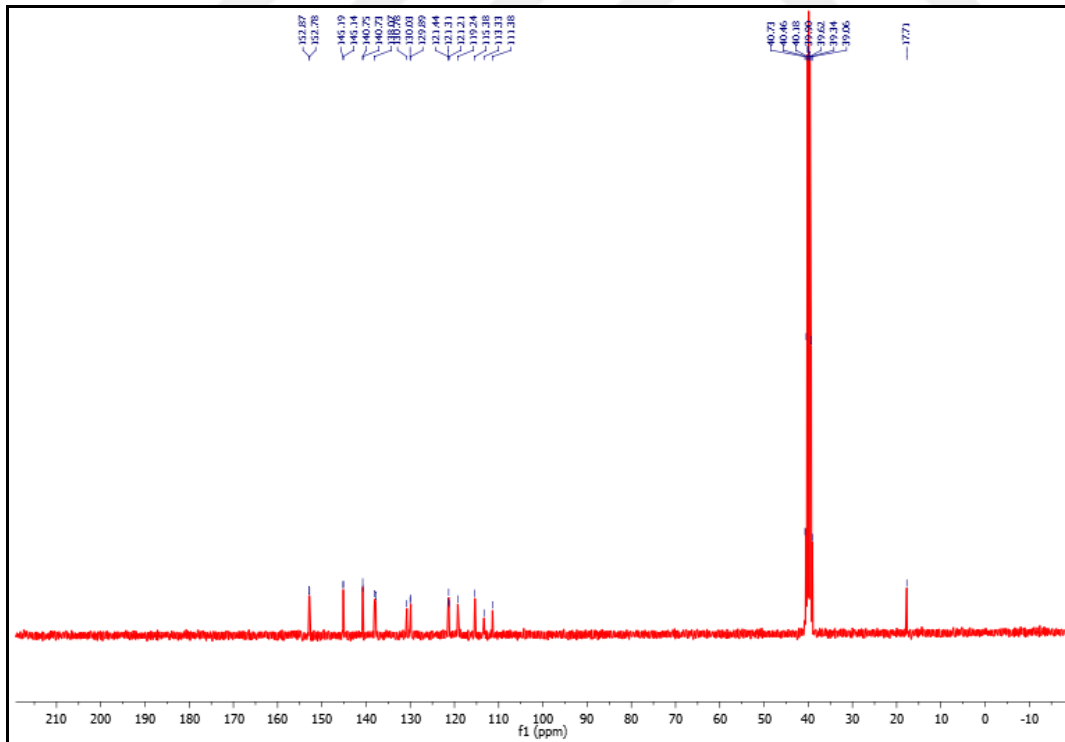
Şekil 4.22. X2Y4 bileşiğinin FT-IR spektrumu

Çizelge 4.8. X2Y4 bileşiğinin NMR spektrum sinyalleri

¹ H-NMR (DMSO-d ₆ , 300 MHz, δ ppm)	9.42 (s, 1H, -NH-), 8.88 (s, 1H, -NH-), 8.77 (s, 1H, -NH-), 8.17 (s, 1H, Ar-H), 8.10 (d, <i>J</i> = 7.8 Hz, 2H, Ar-H), 7.98 (s, 1H, Ar-H), 7.56-7.45 (m, 6H, Ar-H), 7.39 (s, 4H, -SO ₂ NH ₂), 7.18 (d, <i>J</i> = 7.2 Hz, 1H, Ar-H), 7.10 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 2.21 (s, 3H, -CH ₃)
¹³ C-NMR (DMSO-d ₆ , 75 MHz, δ ppm)	152.87, 152.78, 145.19, 140.76, 138.07, 137.83, 130.79, 130.03, 129.89, 121.44, 121.31, 121.21, 119.21, 115.33, 113.53, 111.38, 17.71



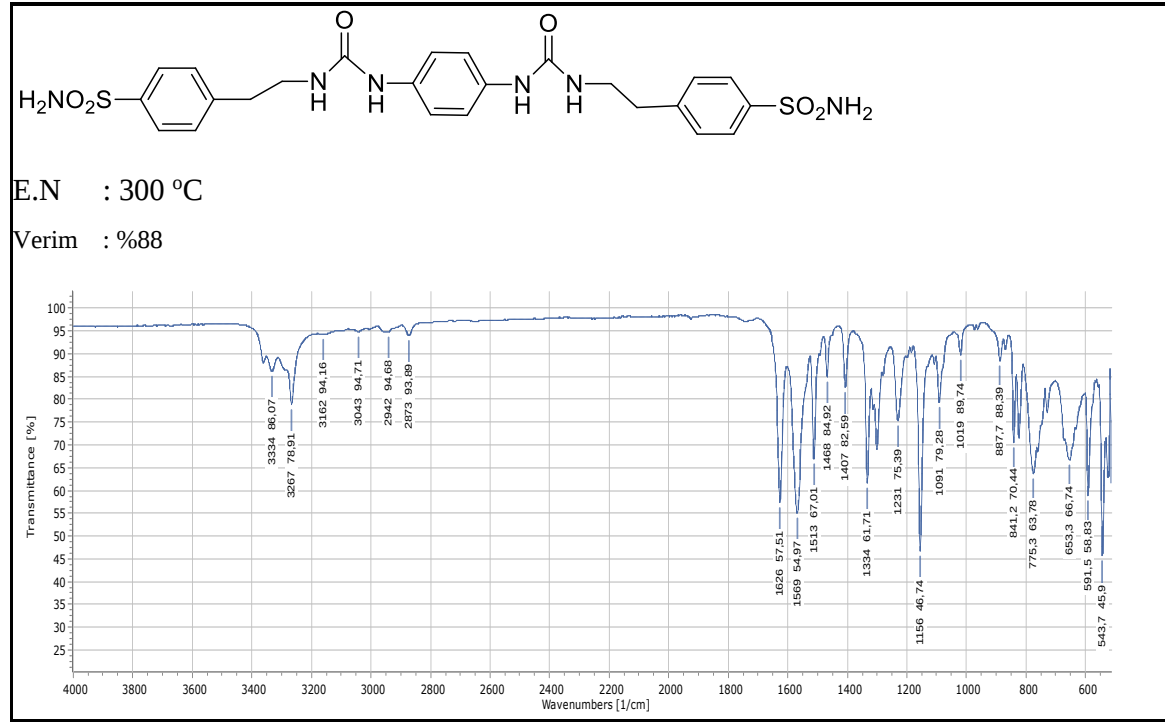
Şekil 4.23. X2Y4 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (500 MHz, in DMSO-d₆)



Şekil 4.24. X2Y4 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu (125 MHz, in DMSO-d₆)

X3Y1 bileşiğine ait NMR sonuçları

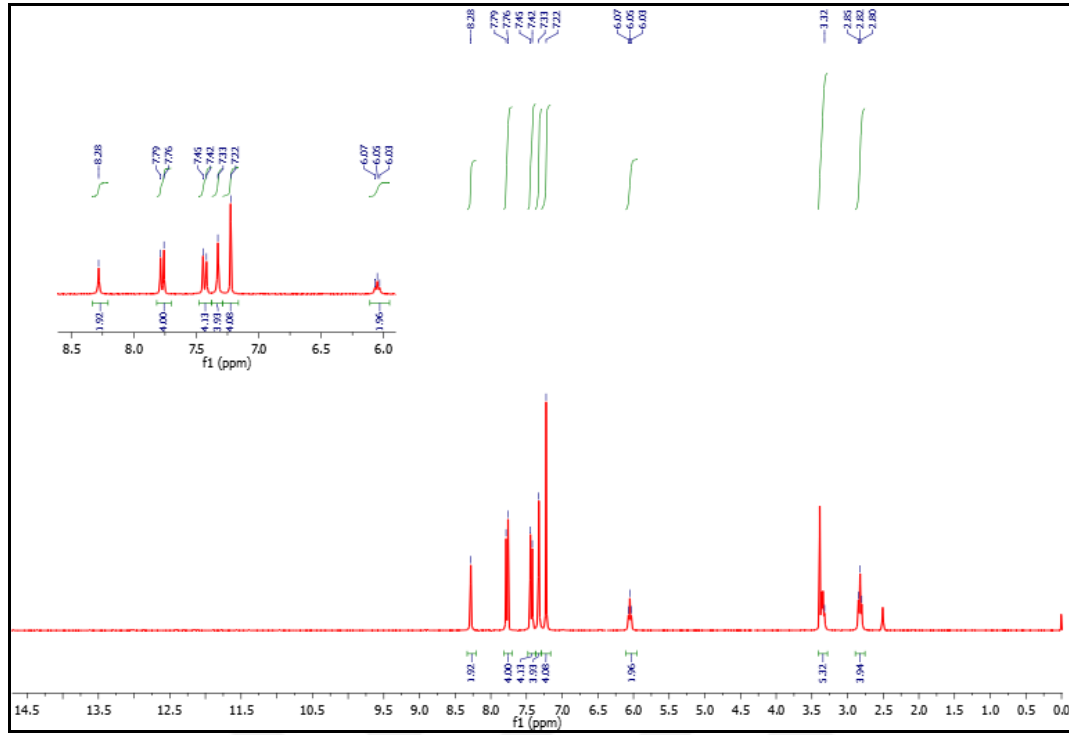
4,4'-((((1,4-fenilenebis(azanedil))bis(karbonil))bis(azanedil))bis(ethane-2,1-diyl))dibenzenesulfonamide



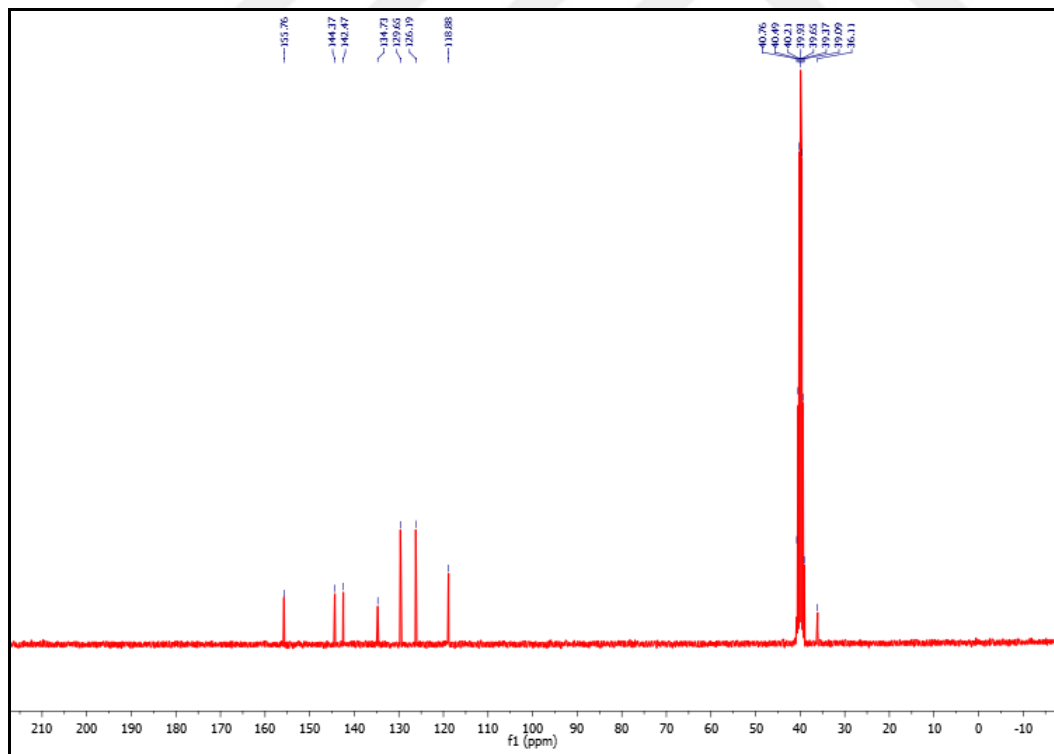
Şekil 4.25. X3Y1 bileşiğinin FT-IR spektrumu

Çizelge 4.9. X3Y1 bileşiğinin NMR spektrum sinyalleri

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz, δ ppm)	8.28 (s, 2H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH-CO-NH-}$), 7.77 (d, $J = 8.4$ Hz, 4H, Ar-H), 7.43 (d, $J = 8.4$ Hz, 4H, Ar-H), 7.33 (s, 4H, $-\text{SO}_2\text{NH}_2$), 7.23 (s, 4H, Ar-H), 6.05 (t, 2H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH-CO-NH-}$), 3.35 (q, 4H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH-CO-NH-}$), 2.82 (t, 4H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH-CO-NH-}$)
$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 75 MHz, δ ppm)	155.76, 144.37, 142.47, 134.73, 129.65, 126.19, 118.88, 40.76, 36.11



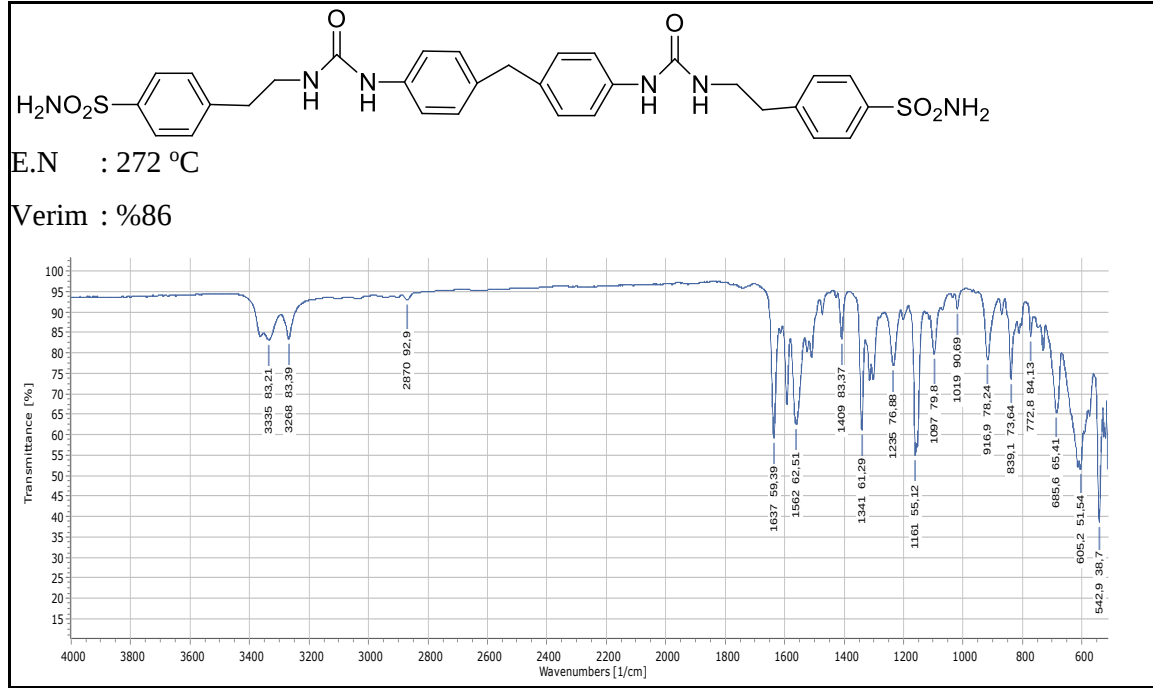
Şekil 4.26. X3Y1 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (500 MHz, in DMSO-d₆)



Şekil 4.27. X3Y1 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu (125 MHz, in DMSO-d₆)

X3Y2 bileşiğine ait NMR sonuçları

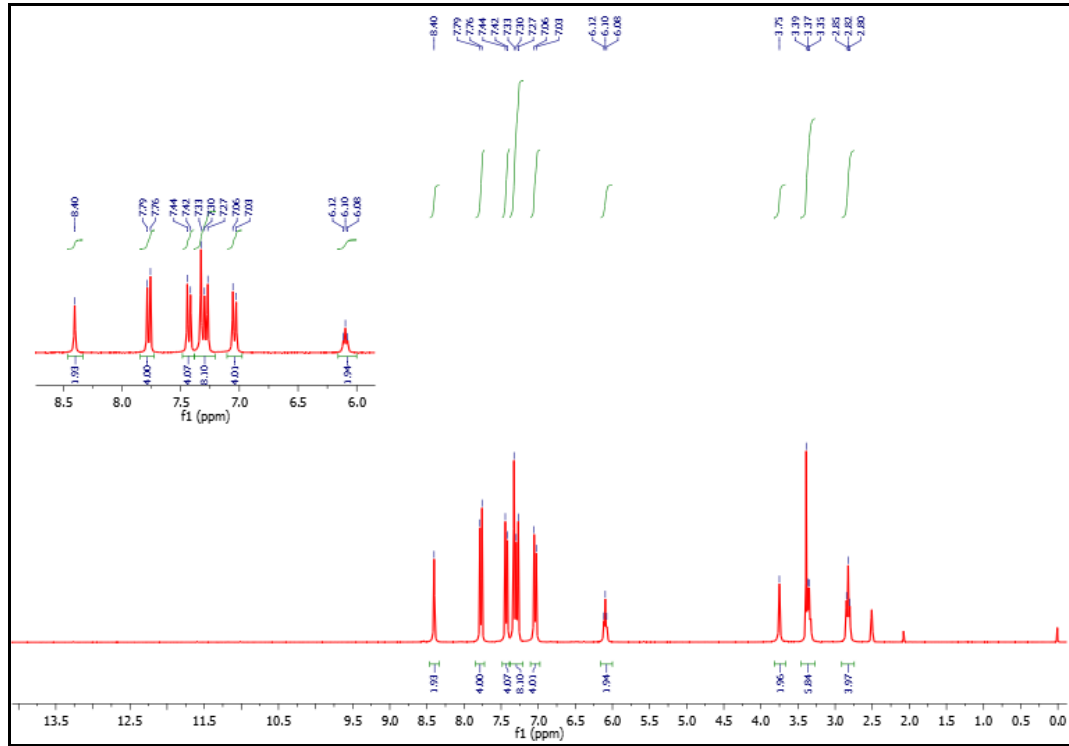
4,4'-((((methylenebis(4,1-fenilene))bis(azanedil))bis(karbonil))bis(azanedil))bis(ethane-2,1-diyl)dibenzenesulfonamide



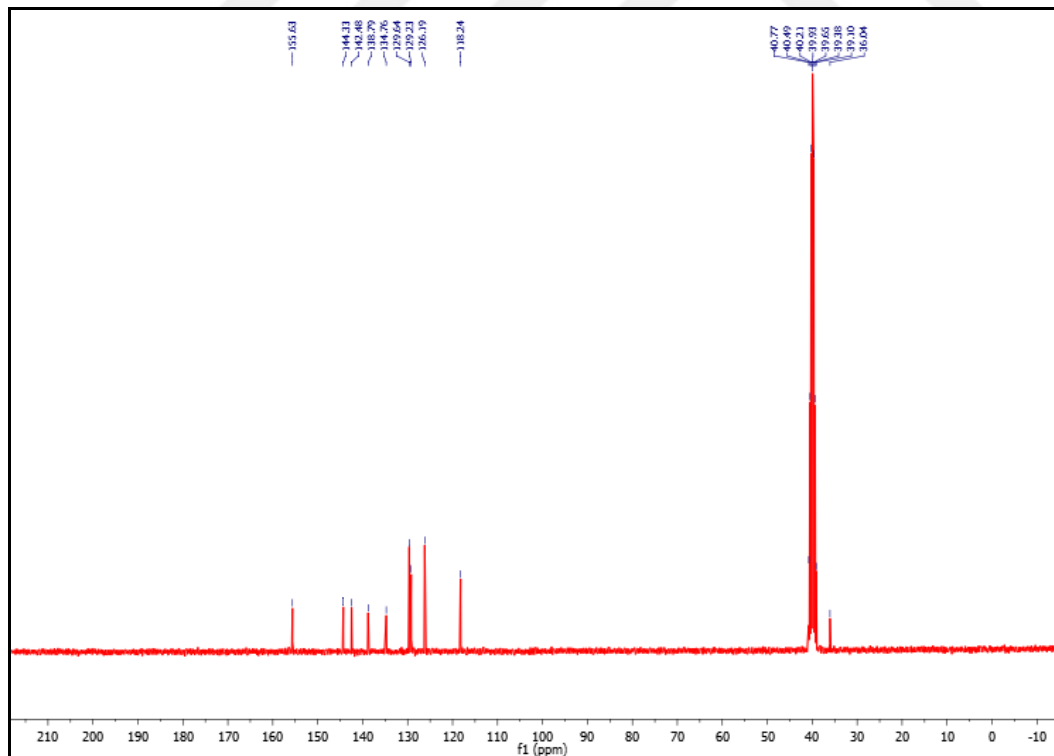
Şekil 4.28. X3Y2 bileşiğinin FT-IR spektrumu

Çizelge 4.10. X3Y2 bileşiğinin NMR spektrum sinyalleri

¹ H-NMR (DMSO-d ₆ , 300 MHz, δ ppm)	8.40 (s, 2H, -CH ₂ CH ₂ NH-CO-NH-), 7.78 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 4H, Ar-H), 7.42 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 4H, Ar-H), 7.33 (s, 4H, -SO ₂ NH ₂), 7.28 (d, <i>J</i> = 8.7 Hz, 4H, Ar-H), 7.04 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 4H, Ar-H), 6.10 (t, 2H, -CH ₂ CH ₂ NH-CO-NH-), 3.75 (s, 2H, Ph-CH ₂ -Ph), 3.35 (q, 4H, -CH ₂ CH ₂ NH-CO-NH-), 2.83 (t, 4H, -CH ₂ CH ₂ NH-CO-NH-)
¹³ C-NMR (DMSO-d ₆ , 75 MHz, δ ppm)	155.63, 144.53, 142.53, 138.79, 134.76, 129.64, 129.23, 126.19, 118.24, 40.70, 36.04.



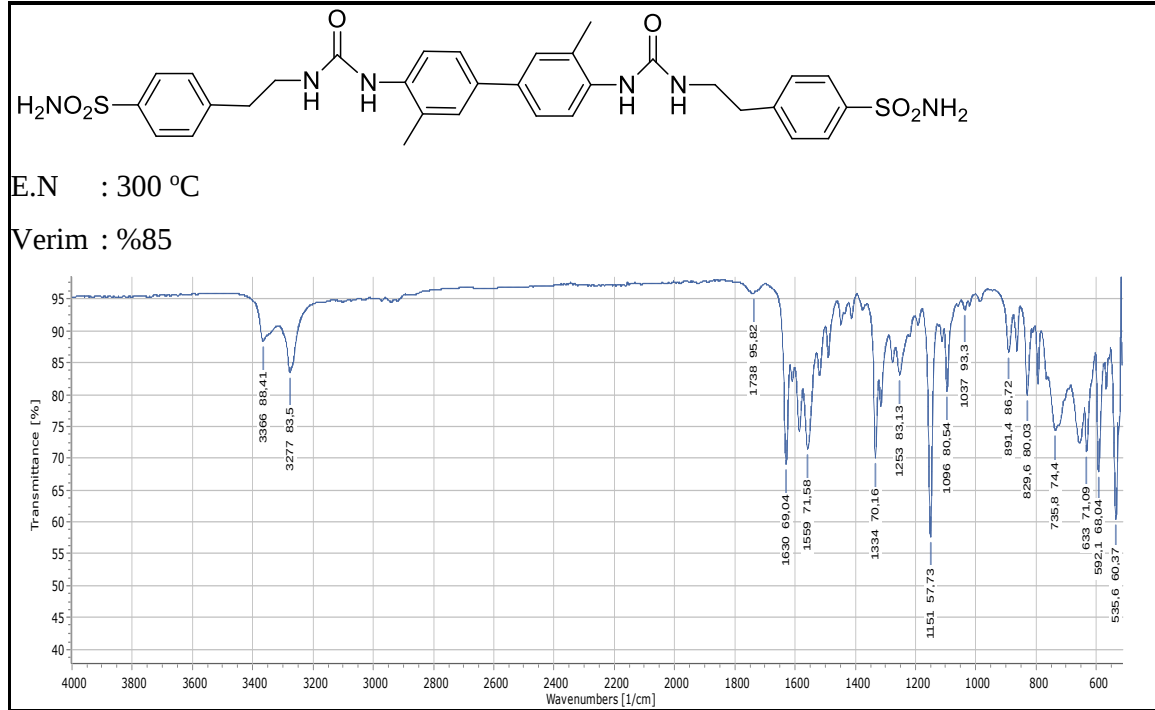
Şekil 4.29. X3Y2 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (500 MHz, in DMSO-d₆)



Şekil 4.30. X3Y2 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu (125 MHz, in DMSO-d₆)

X3Y3 bileşiğine ait NMR sonuçları

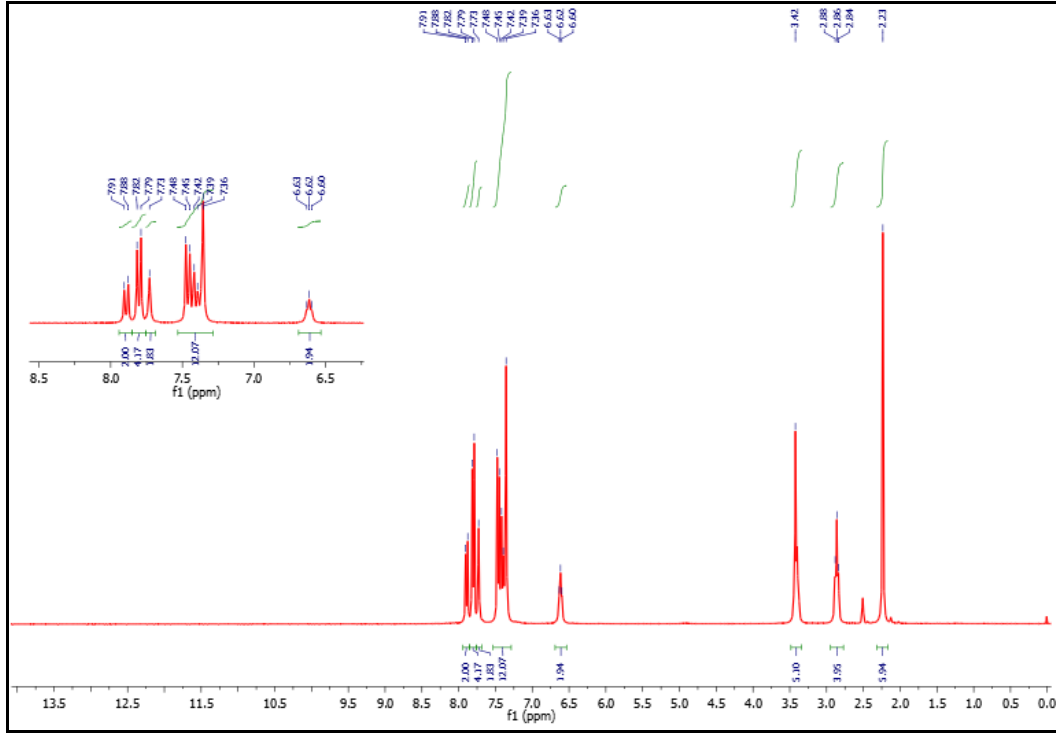
4,4'-((((3,3'-dimethyl-[1,1'-bifenil]-4,4'-diyl)bis(azanedil))bis(karbonil))bis(azanedil))bis(ethane-2,1-diyl)dibenzenesulfonamide



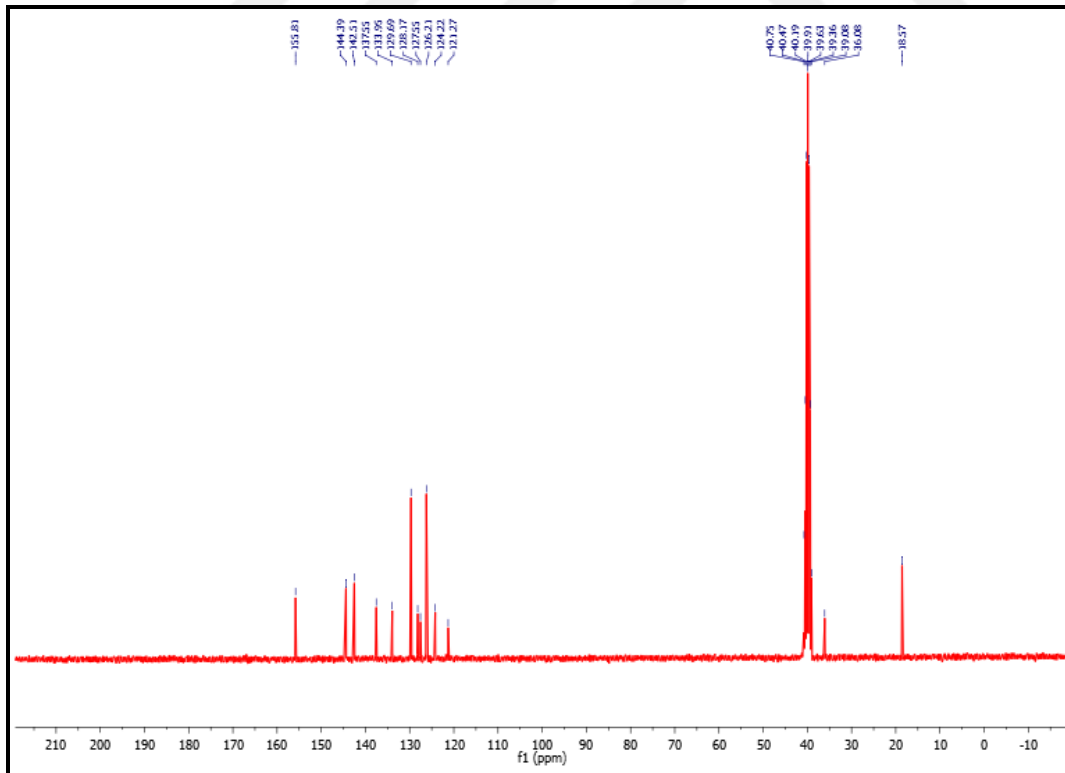
Şekil 4.31. X3Y3 bileşiğinin FT-IR spektrumu

Çizelge 4.11. X3Y3 bileşiğinin NMR spektrum sinyalleri

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz, δ ppm)	7.89 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, Ar-H), 7.80 (d, $J = 8.1$ Hz, 4H, Ar-H), 7.46 (d, $J = 8.4$ Hz, 4H, Ar-H), 7.40-7.35 (m, 8H, Ar-H and $-\text{SO}_2\text{NH}_2$), 6.62 (t, 2H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH-CO-NH-}$), 3.40 (q, 4H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH-CO-NH-}$), 2.86 (t, 4H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH-CO-NH-}$), 2.24 (s, 3H, $-\text{CH}_3$);
$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 75 MHz, δ ppm)	155.82, 144.40, 142.51, 137.55, 133.95, 129.69, 128.17, 127.55, 126.21, 124.22, 121.27, 40.75, 36.08, 18.57;



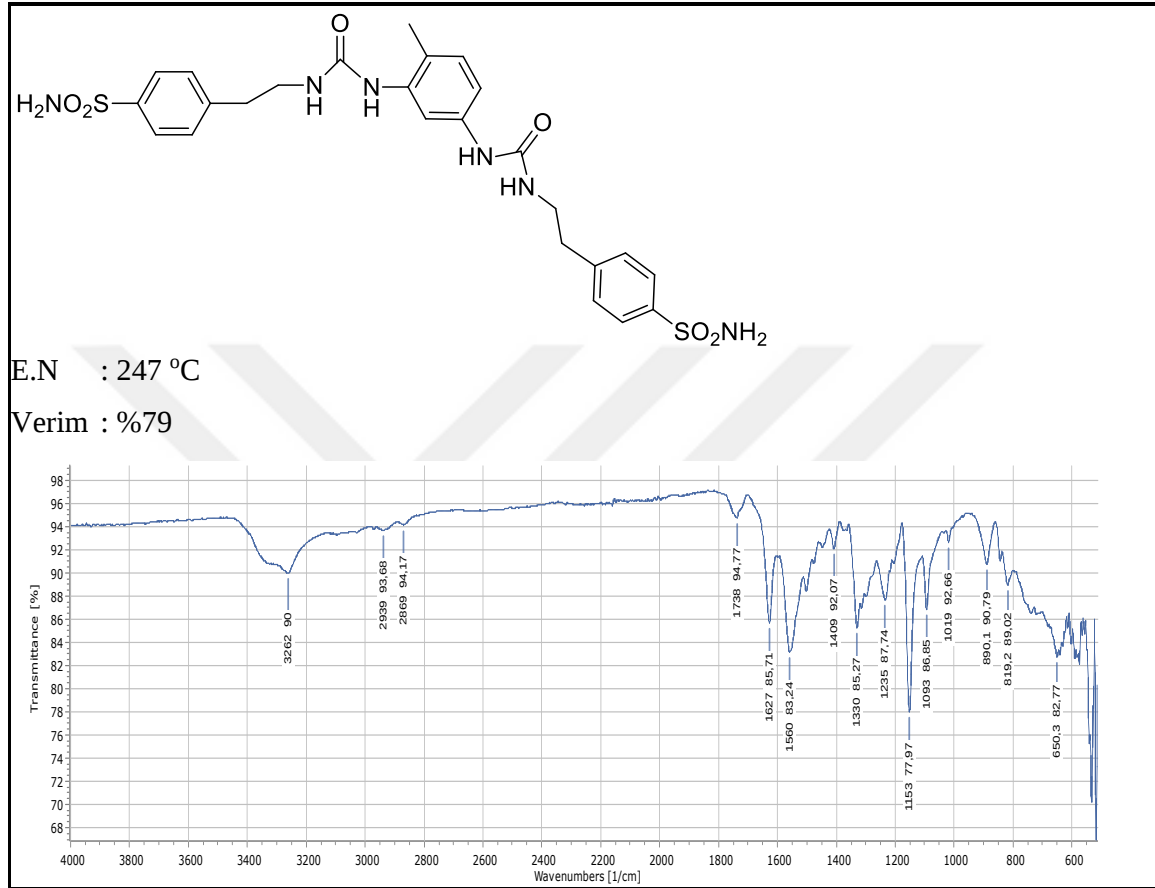
Şekil 4.32. X3Y3 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (500 MHz, in DMSO-d₆).



Şekil 4.33. X3Y3 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu (125 MHz, in DMSO-d₆).

X3Y4 bileşiğine ait NMR sonuçları

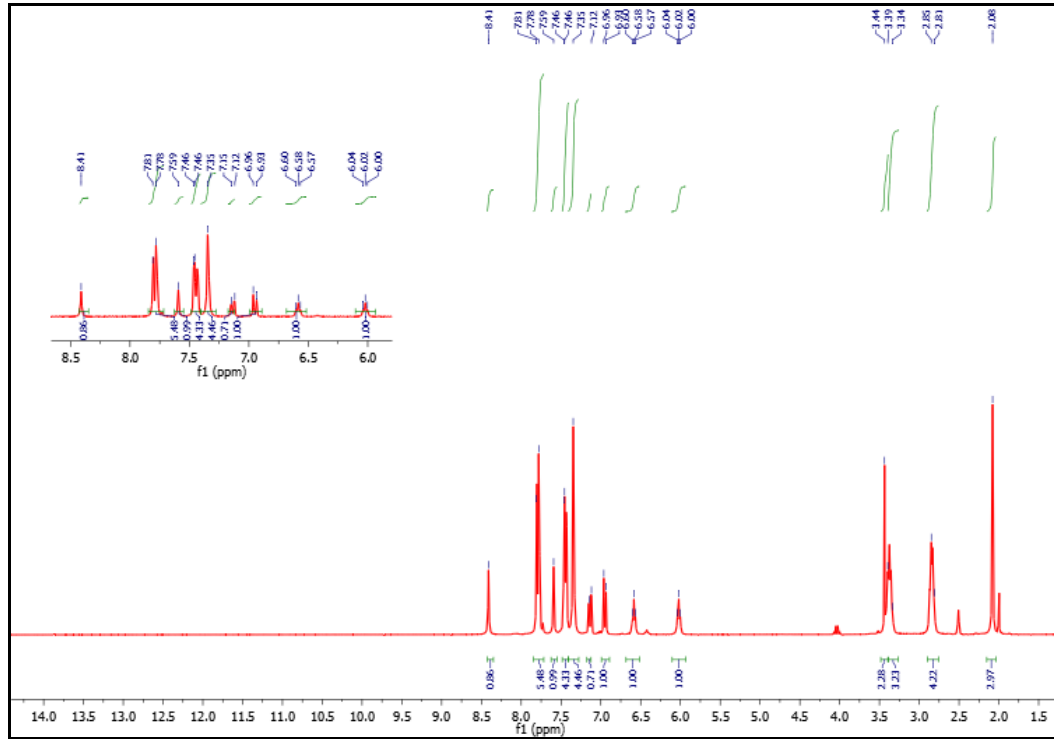
4,4'-((((4-methyl-1,3-fenilene)bis(azanedil))bis(karbonil))bis(azanedil))bis(ethane-2,1-diyl)dibenzenesulfonamide (X3Y4).



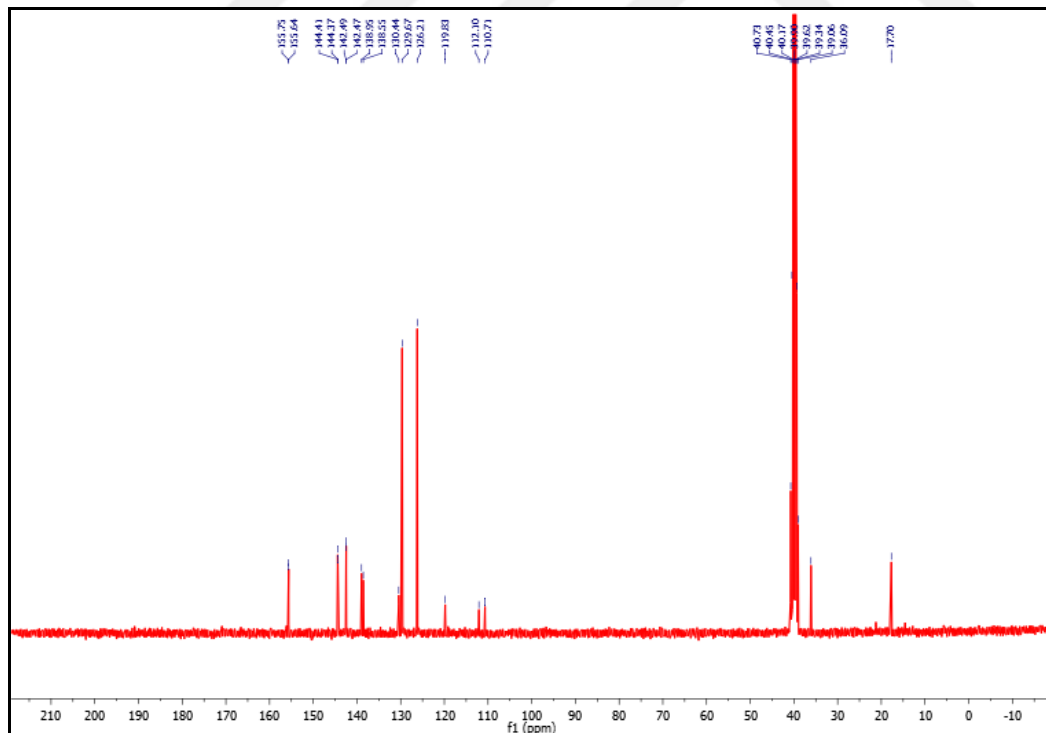
Şekil 4.34. X3Y4 bileşiğinin FT-IR spektrumu

Çizelge 4.12. X3Y4 bileşiğinin NMR spektrum sinyalleri

¹ H-NMR (DMSO-d ₆ , 300 MHz, δ ppm)	8.41 (s, 1H, -CH ₂ CH ₂ NH-CO-NH-), 7.78 (dd, <i>J</i> ₁ = 8.4 Hz, <i>J</i> ₂ = 1.5 Hz, 5H, Ar-H), 7.59 (s, 1H, Ar-H), 7.43 (dd, <i>J</i> ₁ = 8.4 Hz, <i>J</i> ₂ = 2.4 Hz, 4H, Ar-H), 7.34 (s, 4H, -SO ₂ NH ₂), 7.13 (d, <i>J</i> = 8.7 Hz, 1H, Ar-H), 6.95 (d, <i>J</i> = 8.7 Hz, 1H, Ar-H), 6.59 (t, 1H, -CH ₂ CH ₂ NH-CO-NH-), 6.02 (t, 1H, -CH ₂ CH ₂ NH-CO-NH-), 3.38(q, 4H, -CH ₂ CH ₂ NH-CO-NH-), 2.85 (t, 4H, -CH ₂ CH ₂ NH-CO-NH-), 2.01 (s, 3H, -CH ₃)
¹³ C-NMR (DMSO-d ₆ , 75 MHz, δ ppm)	155.75, 155.64, 144.37, 142.45, 138.95, 138.55, 130.44, 129.67, 126.21, 119.83, 112.10, 110.70, 40.73, 36.10, 17.70;



Şekil 4.35. X3Y4 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (500 MHz, in DMSO-d₆).



Şekil 4.36. X3Y4 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu (125 MHz, in DMSO-d₆).

4.2. Sentezlenen Primer Benzensülfonamid Türevi Bileşiklerin Asetilkolinesteraz (AChE) ve Butirilkolinesteraz (BChE) Enzim Aktivite Sonuçları

Çizelge 4.13. Sentezlenen bileşikler ve molekül kütlesi

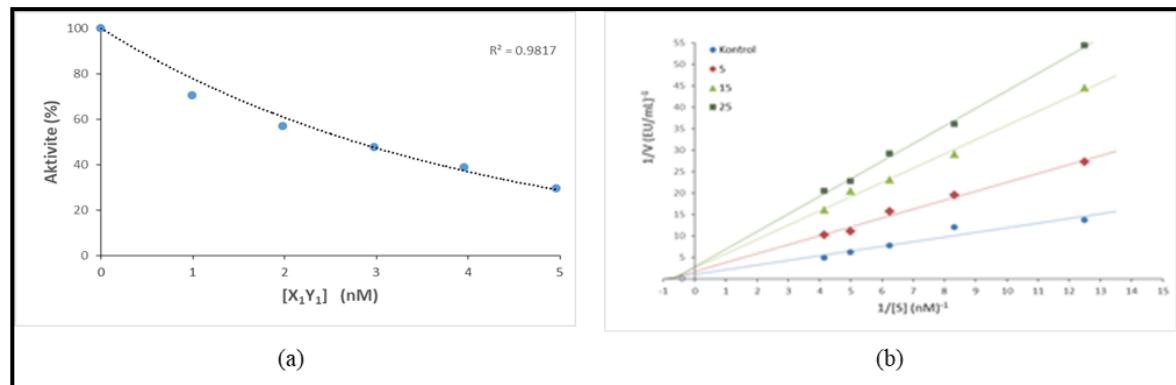
Bileşik	M. K. (g/mol)	Verim %	E.N. °C	Bileşik	M. K. (g/mol)	Verim %	E.N. °C	Bileşik	M. K. (g/mol)	Verim %	E.N. °C
X1Y1	504	88	300	X2Y1	504	92	300	X3Y1	560	88	300
X1Y2	594	82	294	X2Y2	594	82	295	X3Y2	650	86	272
X1Y3	608	76	300	X2Y3	608	80	300	X3Y3	664	85	300
X1Y4	518	63	281	X2Y4	518	76	234	X3Y4	574	79	247

4.2.1. Sülfonamid türevlerinin (X_nY_m) asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE) enzim inhibisyon sonuçları

Kolinesteraz aktivitesi Ellman yöntemiyle yapılmıştır. Bu yöntemde tiyokolin esterlerinin substrat olarak kolinesterazlar üzerine etkisi sonucu ortaya çıkması ve DTNB'ye bağlanması (Ellman reaktifi) sonucu oluşan bileşiğin kolorimetrik olarak ölçülmesi esasına dayanır. Substrat derişiminde asetilkolin enzimi üzerine X_nY_m türevlerinin inhibisyon etkileri araştırıldı. İnhibisyon etki gösteren X_nY_m bileşikleri için Absorbans-[I] ve K_i grafikleri çizildi. IC_{50} değerleri hesaplandı ve çizilen grafiklerden her bir madde için K_i değerleri hesaplandı.

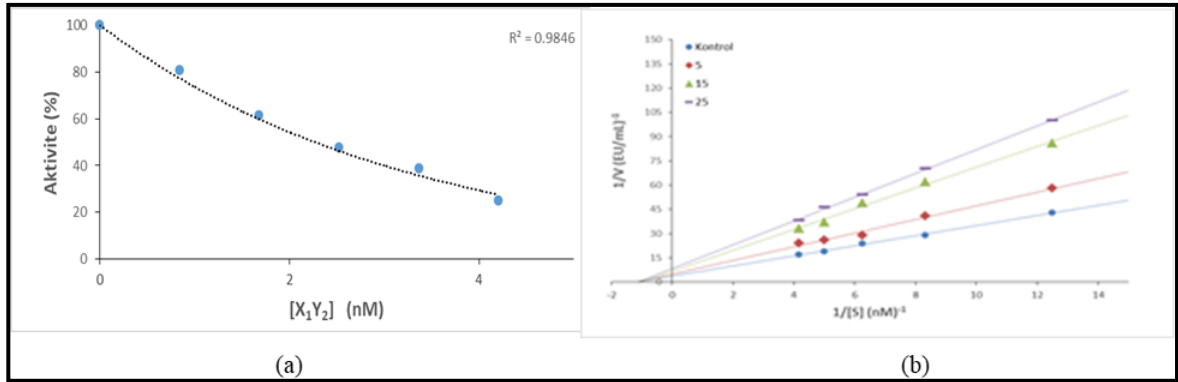
Asetilkolinesteraz (AChE) enzim aktivitesi inhibisyon sonuçları

X1Y1 bileşiğinin AChE üzerine inhibisyon çalışmaları



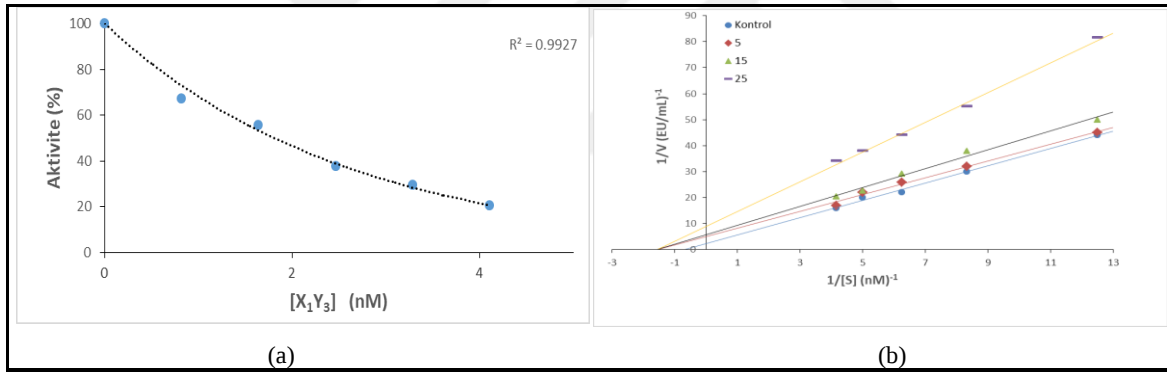
Şekil 4.37. (a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör X1Y1 derişiminde çizilen % Aktivite grafiği (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X1Y1 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiği

X1Y2 bileşiğinin AChE üzerine inhibisyon çalışmaları



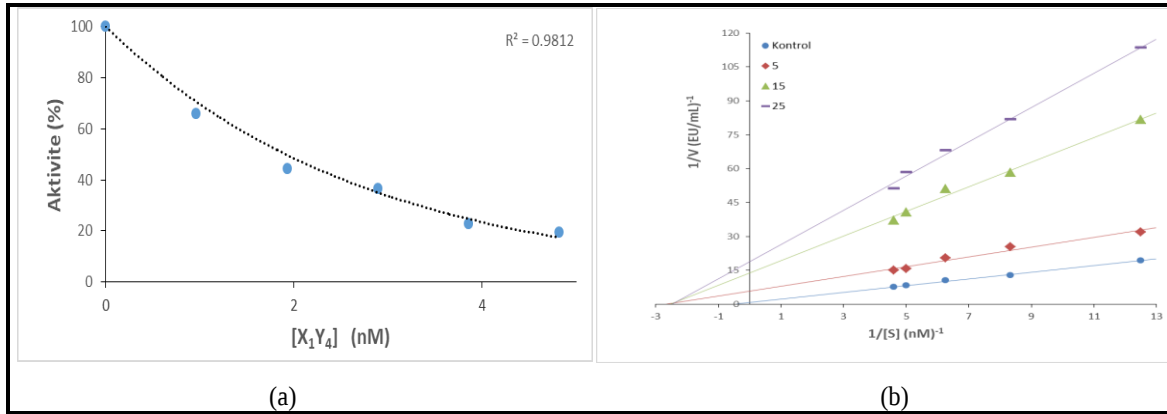
Şekil 4.38. (a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör X1Y2 derişiminde çizilen % Aktivite grafiği (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X1Y2 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiği

X1Y3 bileşiğinin AChE üzerine inhibisyon çalışmaları



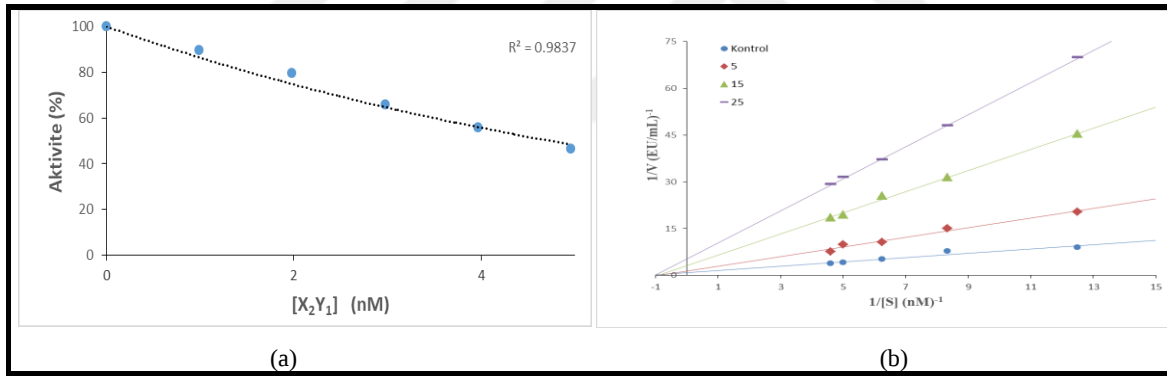
Şekil 4.39. (a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör X1Y3 derişiminde çizilen % Aktivite grafiği (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X1Y3 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiği

X1Y4 bileşiğinin AChE üzerine inhibisyon çalışmaları



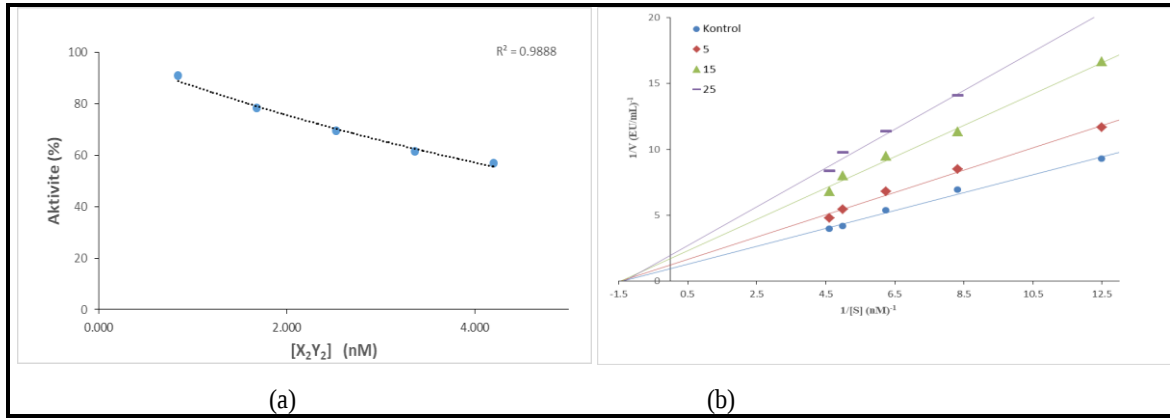
Şekil 4.40. (a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör X1Y4 derişiminde çizilen % Aktivite grafiği (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X1Y4 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiği

X2Y1 bileşiğinin AChE üzerine inhibisyon çalışmaları



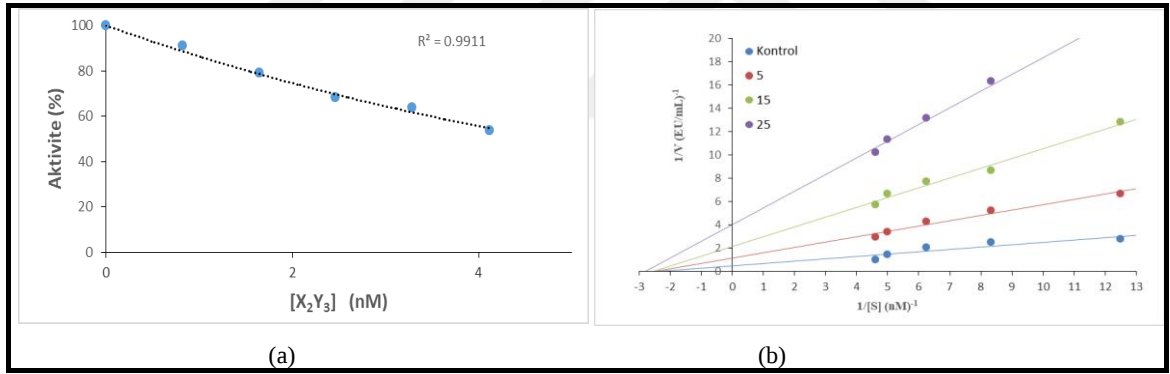
Şekil 4.41. (a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör X2Y1 derişiminde çizilen % Aktivite grafiği (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X2Y1 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiği

X2Y2 bileşiğinin AChE üzerine inhibisyon çalışmaları



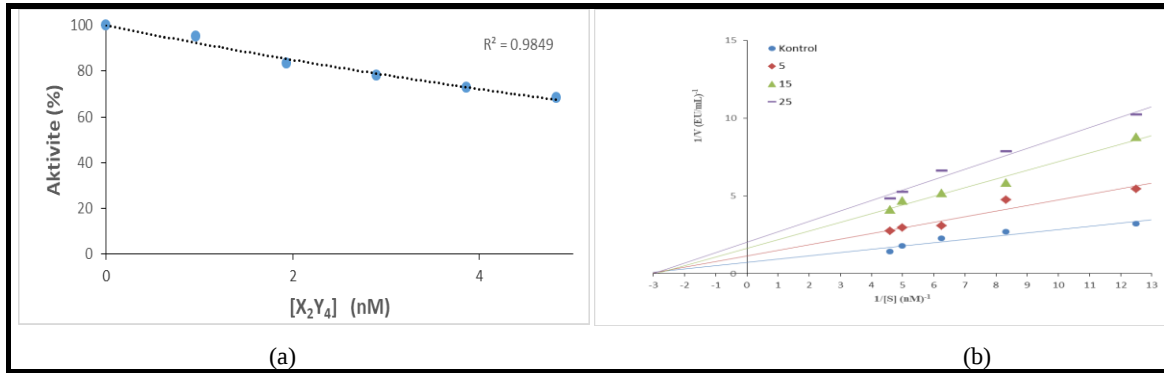
Şekil 4.42. (a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör X_2Y_2 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X_2Y_2 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

X2Y3 bileşiğinin AChE üzerine inhibisyon çalışmaları



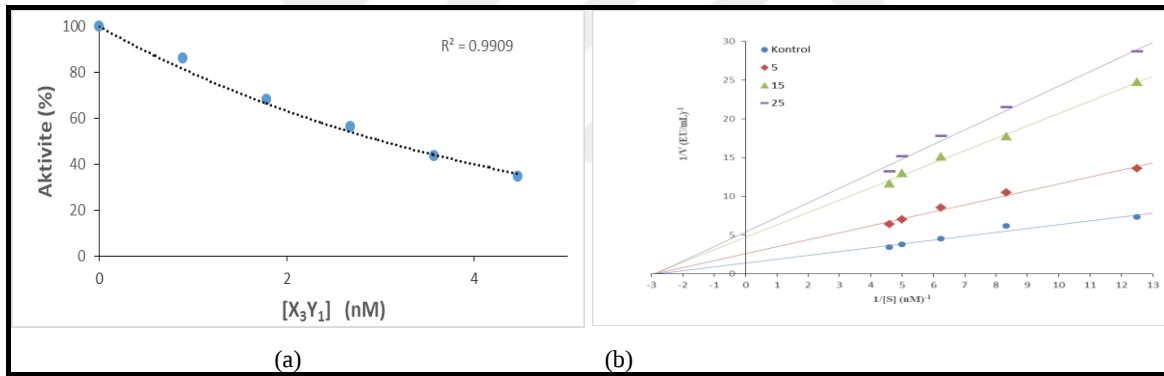
Şekil 4.43. (a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör X_2Y_3 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X_2Y_3 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

X2Y4 bileşiğinin AChE üzerine inhibisyon çalışmaları



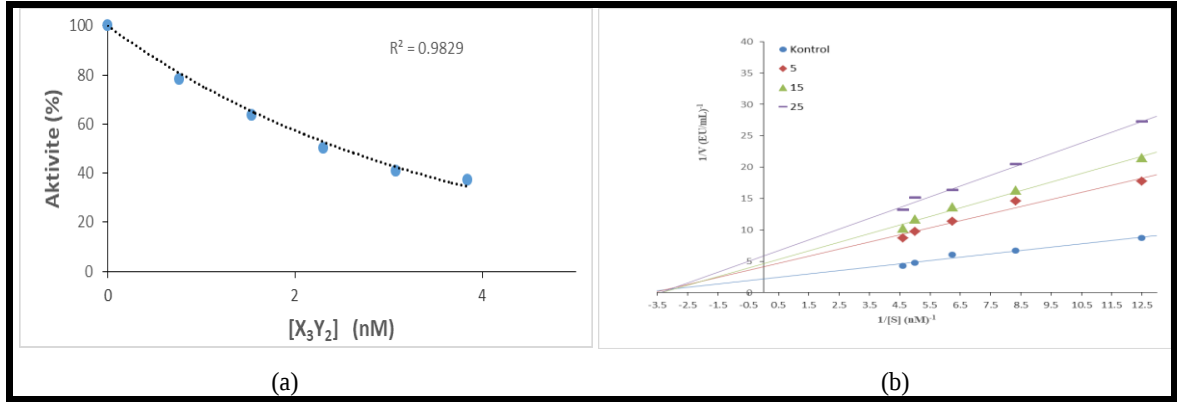
Şekil 4.44. (a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör X2Y4 derişiminde çizilen % Aktivite grafiği (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X2Y4 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiği

X3Y1 bileşiğinin AChE üzerine inhibisyon çalışmaları



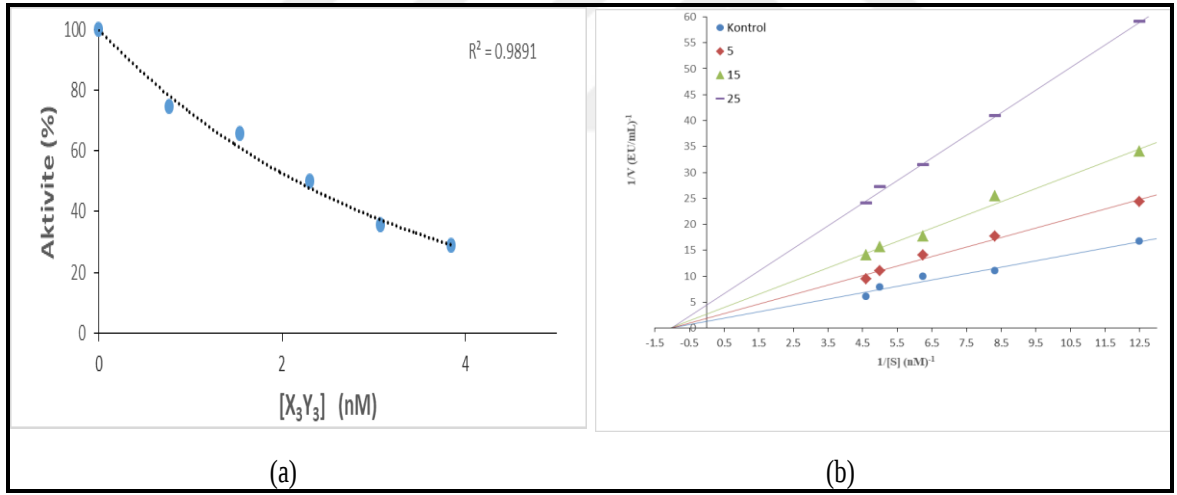
Şekil 4.45. (a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör X3Y1 derişiminde çizilen % Aktivite grafiği (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X3Y1 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiği

X3Y2 bileşiğinin AChE üzerine inhibisyon çalışmaları



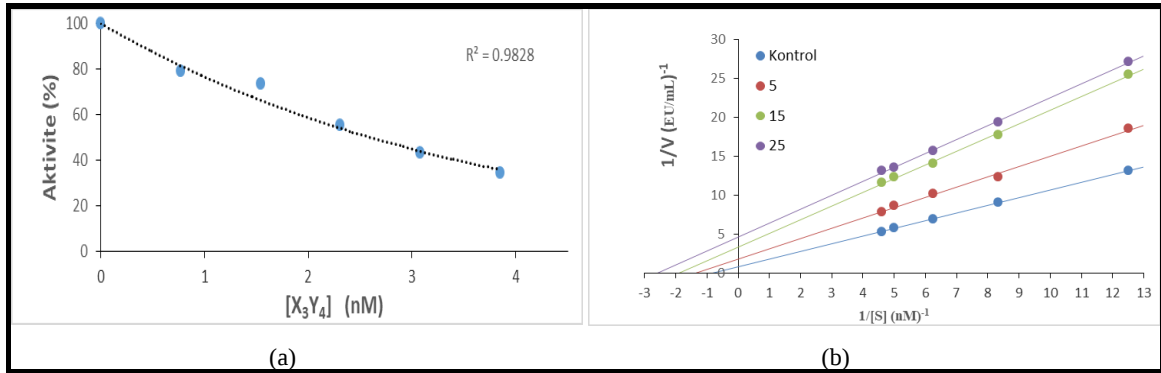
Şekil 4.46. (a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör X3Y2 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X3Y2 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

X3Y3 bileşiğinin AChE üzerine inhibisyon çalışmaları



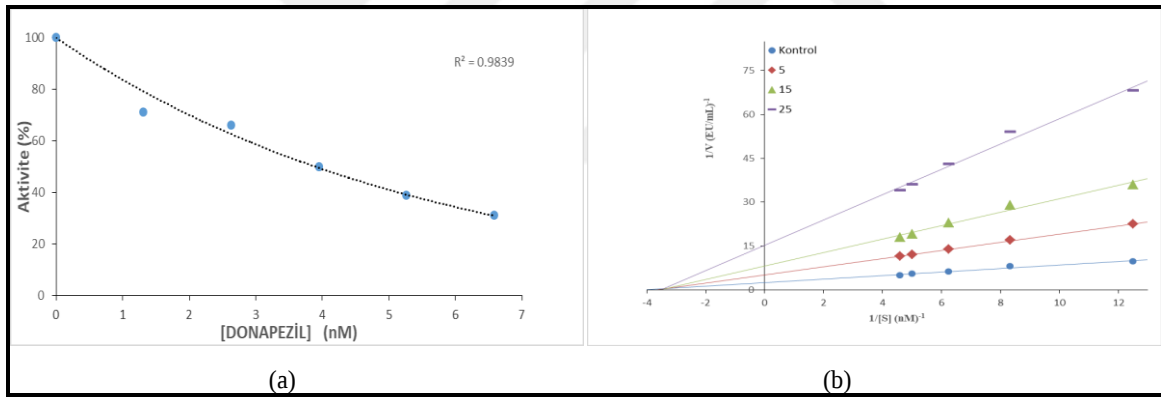
Şekil 4.47. (a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör X3Y3 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı. (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X3Y3 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.

X3Y4 bileşiğinin AChE üzerine inhibisyon çalışmaları



Şekil 4.48. (a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı inhibitör X3Y4 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X3Y4 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

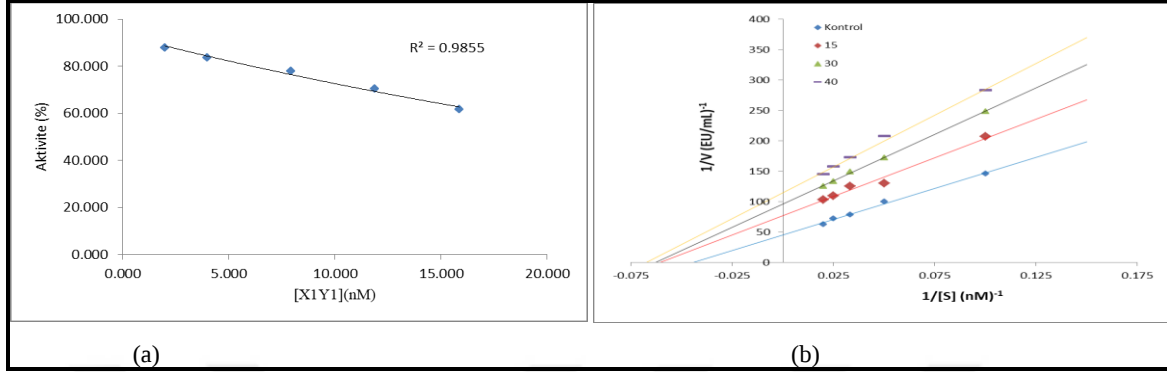
Donepezil bileşiğı üzerine çalışmalar



Şekil 4.49. (a) Asetilkolinesteraz enziminin 5 farklı donepezil derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı donepezil derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

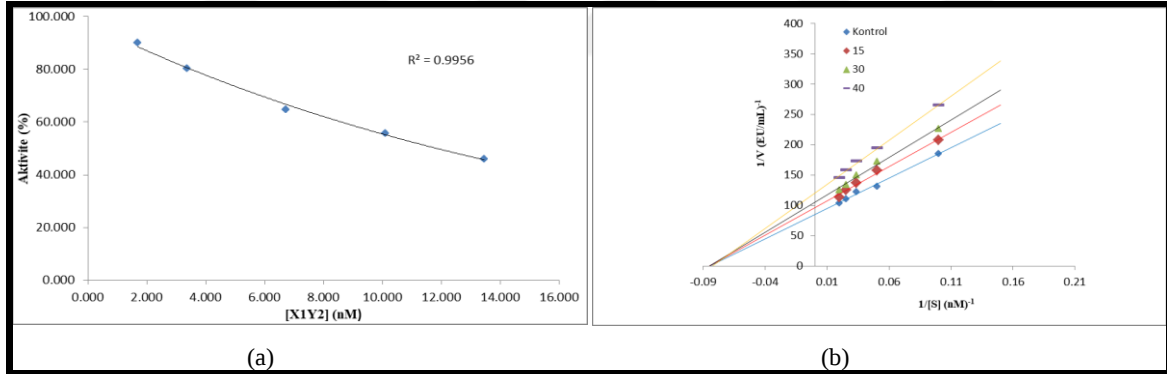
Butirilkolinesteraz enzim aktivitesi inhibisyon sonuçları

X1Y1 bileşiğinin BChE üzerine inhibisyon çalışmaları



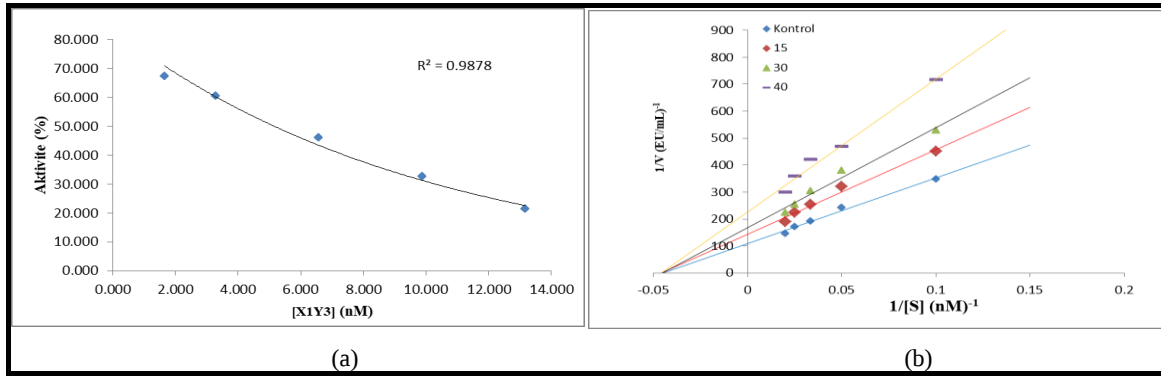
Şekil 4.50. (a) Butirilkolinesteraz enziminin 5 farklı X1Y1 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Butirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X1Y1 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

X1Y2 bileşiğinin BChE üzerine inhibisyon çalışmaları



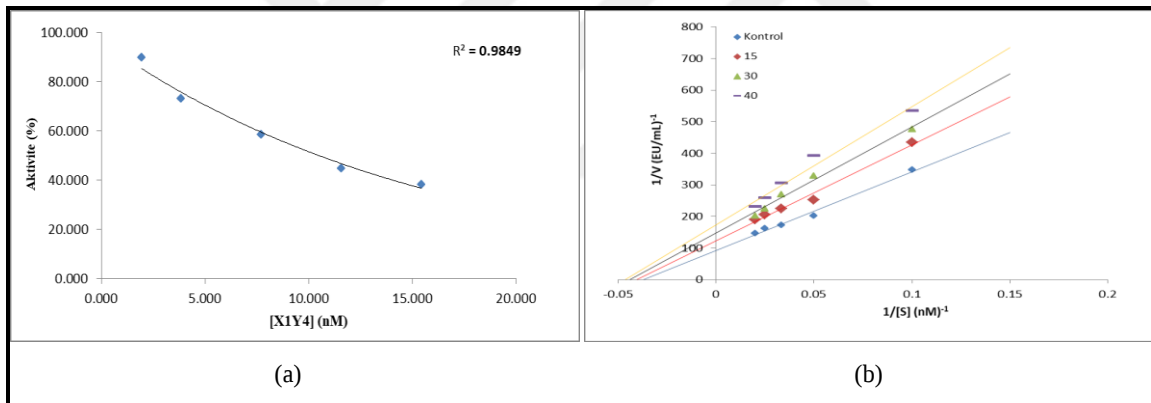
Şekil 4.51. (a) Butirilkolinesteraz enziminin 5 farklı X1Y2 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Butirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X1Y2 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

X1Y3 bileşiğinin BChE üzerine inhibisyon çalışmaları



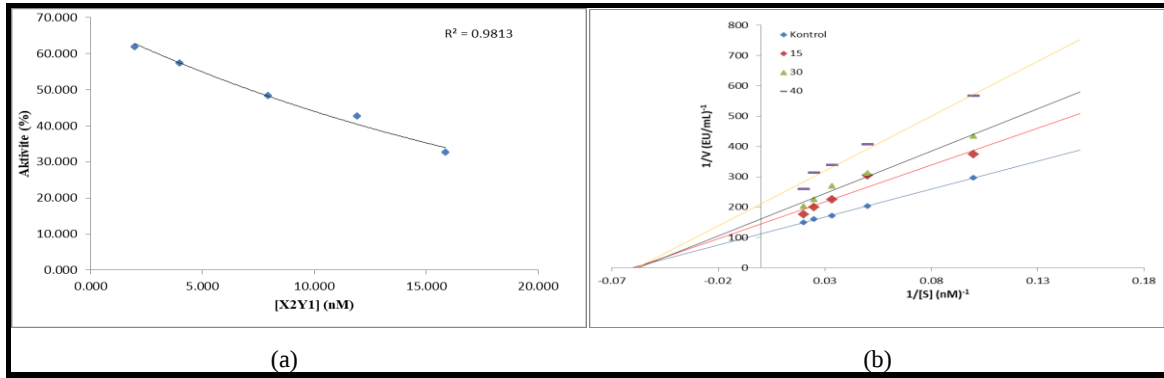
Şekil 4.52. (a) Butirilkolinesteraz enziminin 5 farklı X1Y3 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı. (b) Butirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X1Y3 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

X1Y4 bileşiğinin BChE üzerine inhibisyon çalışmaları



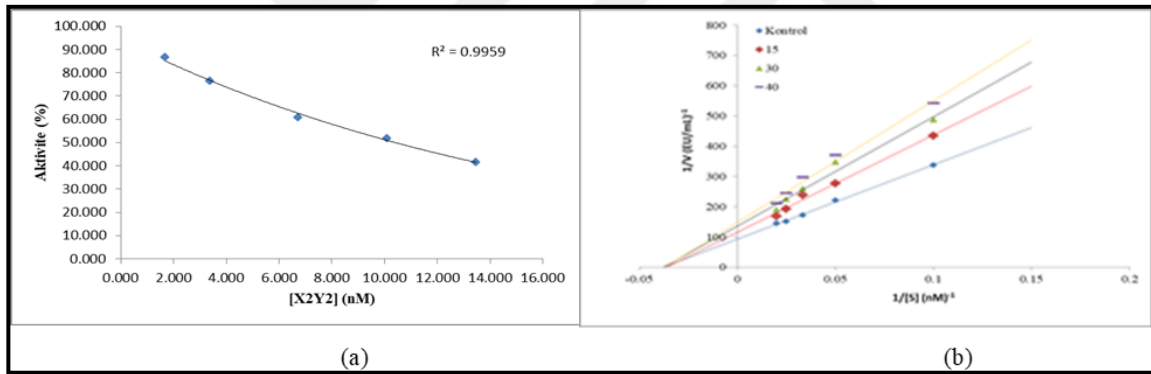
Şekil 4.53. (a) Butirilkolinesteraz enziminin 5 farklı X1Y4 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Butirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X1Y4 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

X2Y1 bileşiğinin BChE üzerine inhibisyon çalışmaları



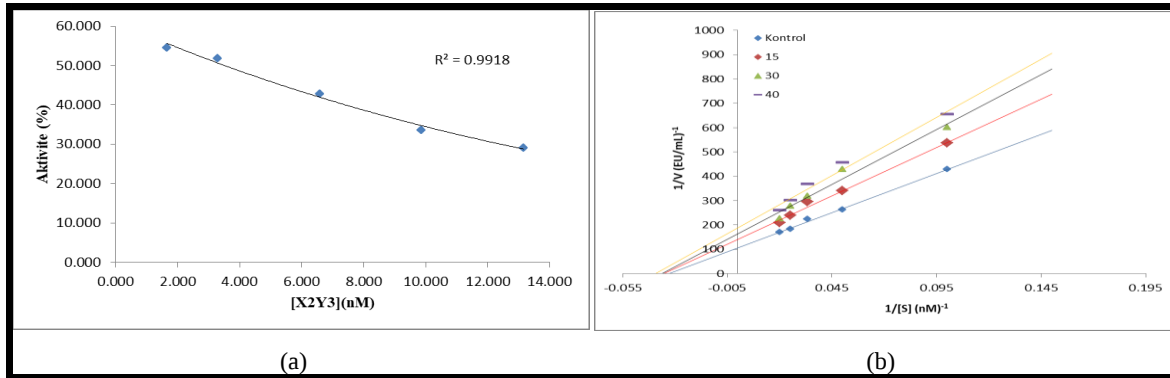
Şekil 4.54. (a) Butirilkolinesteraz enziminin 5 farklı X2Y1 derişiminde çizilen % Aktivite grafiği (b) Butirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X2Y1 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiği

X2Y2 bileşiğinin BChE üzerine inhibisyon çalışmaları



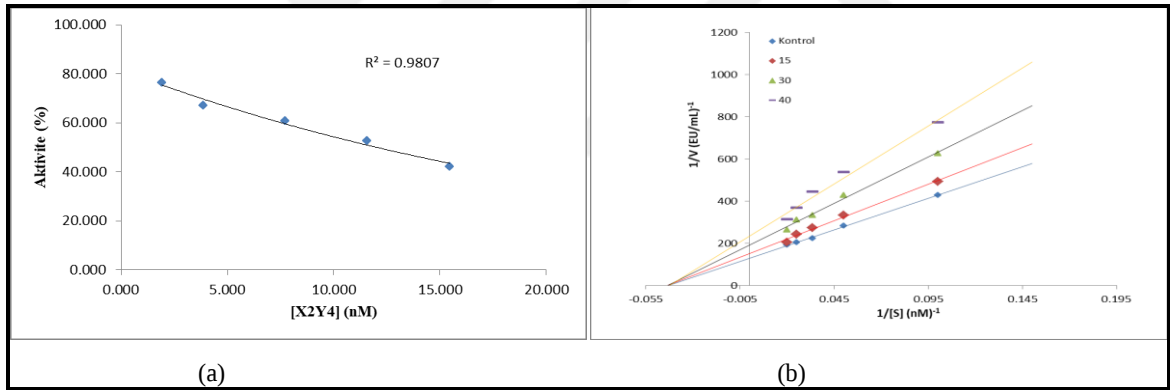
Şekil 4.55. (a) Butirilkolinesteraz enziminin 5 farklı X2Y2 derişiminde çizilen % Aktivite grafiği (b) Butirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X2Y2 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiği

X2Y3 bileşiğinin BChE üzerine inhibisyon çalışmaları



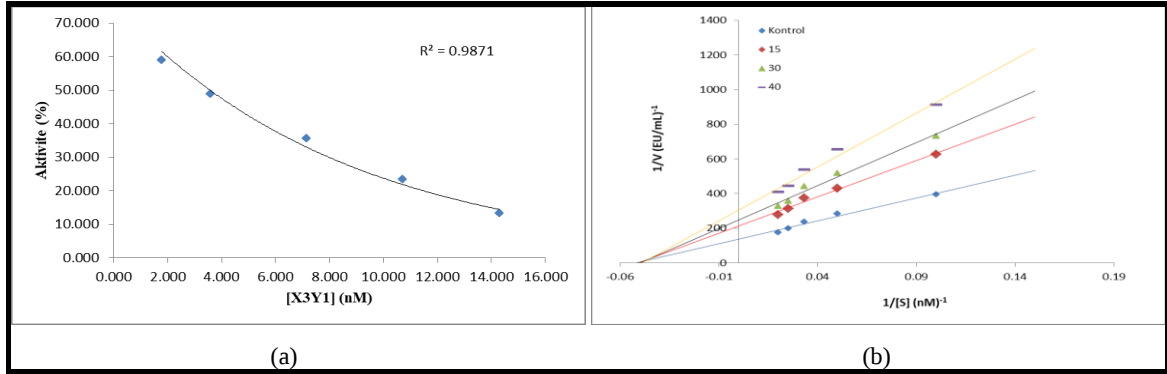
Şekil 4.56. (a) Butirilkolinesteraz enziminin 5 farklı X2Y3 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Butirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X2Y3 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

X2Y4 bileşiğinin BChE üzerine inhibisyon çalışmaları



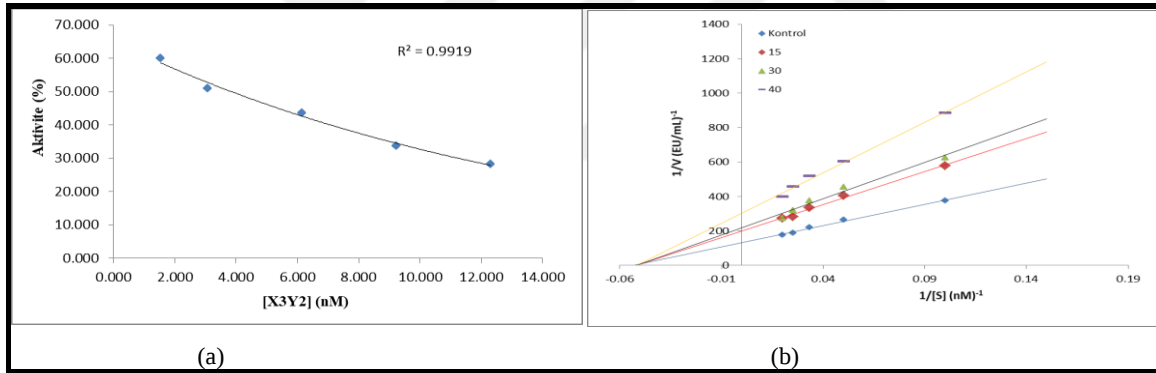
Şekil 4.57. (a) Butirilkolinesteraz enziminin 5 farklı X2Y4 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Butirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X2Y4 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

X3Y1 bileşiğinin BChE üzerine inhibisyon çalışmaları



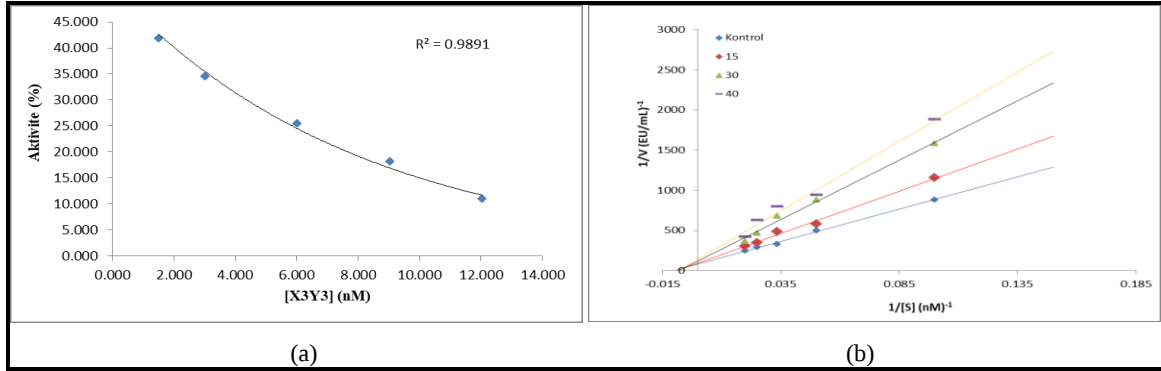
Şekil 4.58. (a) Butirilkolinesteraz enziminin 5 farklı X3Y1 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Butirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X3Y1 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

X3Y2 bileşiğinin BChE üzerine inhibisyon çalışmaları



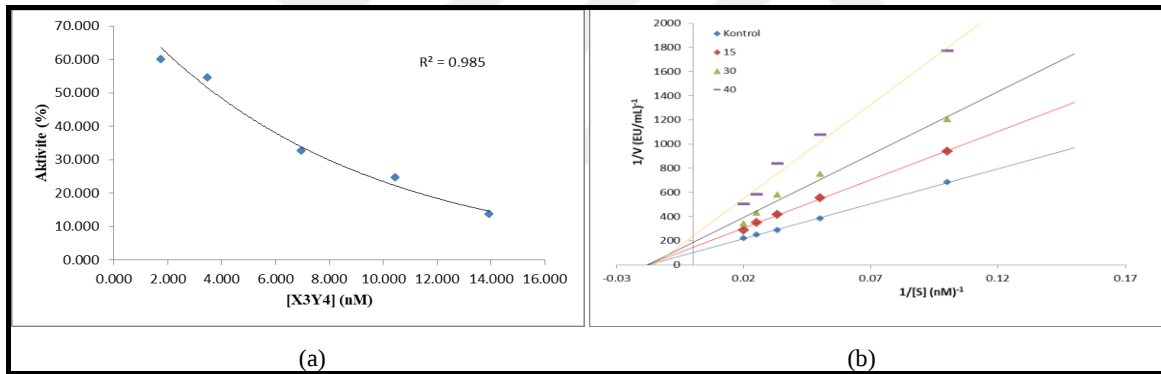
Şekil 4.59. (a) Butirilkolinesteraz enziminin 5 farklı X3Y2 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Butirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X3Y2 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

X3Y3 bileşiğinin BChE üzerine inhibisyon çalışmaları



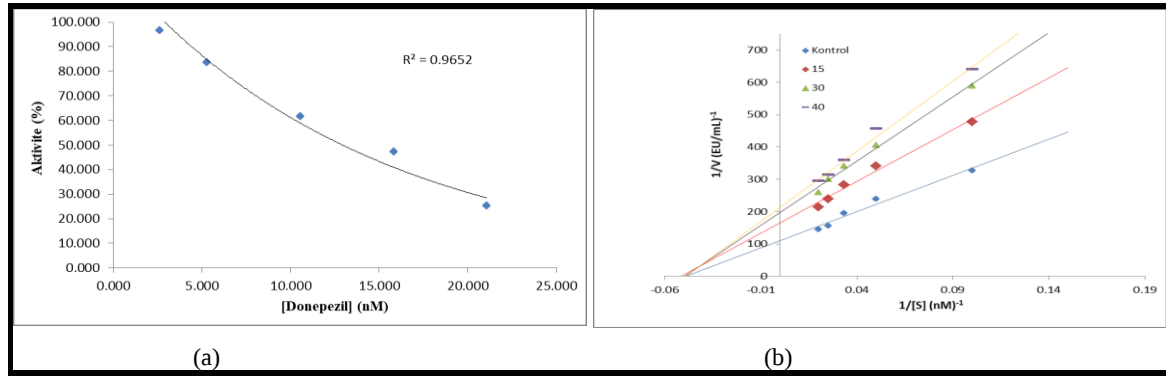
Şekil 4.60. (a) Butirilkolinesteraz enziminin 5 farklı X3Y3 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Butirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X3Y3 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

X3Y4 bileşiğinin BChE üzerine inhibisyon çalışmaları



Şekil 4.61. (a) Butirilkolinesteraz enziminin 5 farklı X3Y4 derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Butirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı X3Y4 derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

Donepezil'in BChE üzerine inhibisyon çalışmaları



Şekil 4.62. (a) Butirilkolinesteraz enziminin 5 farklı donepezil derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı (b) Butirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı donepezil derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

Çizelge 4.14. Asetilkolinesteraz enzimi inhibisyon çizelgesi (Ki değerleri ortalama olarak verilmiştir)

	X1Y1	X1Y2	X1Y3	X1Y4	X2Y1	X2Y2	X2Y3
IC ₅₀ (nM)	2.48±0,21	2.295±0,36	1.653±0,49	1.645±0,61	4.589±0,95	4,95±0,73	4.74±0,48
Ki (nM)	2.5996±0.49	2.77±1.027	1.2687±0.49	0.2160±0.09	0.6828±0.23	3.3802±0.53	0.7807±0.64
R ²	0,9817	0,9846	0,9927	0,9812	0,9837	0,9716	0,9911
İnhibisyon	Yarışmasız	Yarışmasız	Yarı yarışmalı	Yarı yarışmalı	Yarışmasız	Yarışmasız	Yarışmasız
	X2Y4	X3Y1	X3Y2	X3Y3	X3Y4	Donepezil	
IC ₅₀ (nM)	9.079±0,96	3.021±0,15	2.36±0,73	2.124±0,69	2.611±0,88	3,711±0,64	
Ki (nM)	2.2418±0.56	1.2382±0.27	1.7248±0.75	1.7621±0.32	0.7522±0.09	0.099±0.03	
R ²	0,9849	0,9909	0,9829	0,9891	0,9828	0,9839	
İnhibisyon	Yarışmasız	Yarışmasız	Yarışmasız	Yarışmasız	Yarı yarışmalı	Yarışmasız	

Çizelge 4.15. Butirilkolinesteraz enzimi inhibisyon çizelgesi (Ki değerleri ortalama olarak verilmiştir)

	X1Y1	X1Y2	X1Y3	X1Y4	X2Y1	X2Y2	X2Y3
IC ₅₀ (nM)	24.87±0.44	11.89±1.018	5.14±0.42	10.5755±0.52	7.15±0.51	10.396±0.73	3.5454±0.21
K _i (nM)	4.9440±0.59	18.33±2.42	7.57±1.44	15.63±1.56	10.74±2.30	13.04±0.42	22.24±2.15
R ²	0.9855	0.9956	0.9878	0.9849	0.9813	0.9959	0.9918
İnhibisyon	Yarı yarışmalı	Yarışmasız	Yarışmasız	Yarı yarışmalı	Yarışmasız	Yarışmasız	Yarı yarışmalı
	X2Y4	X3Y1	X3Y2	X3Y3	X3Y4	Donepezil	
IC ₅₀ (nM)	11.94±0.32	3.569±0.21	3.8486±0.24	0.2257±0.06	3.7315±0.93	12.94±1.29	
K _i (nM)	13.25±4.17	5.86±0.86	5.47±1.44	10.54±3.09	5.83±0.62	9.772±1.64	
R ²	0.9807	0.9871	0.9919	0.9891	0.9850	0.9702	
İnhibisyon	Yarışmasız	Yarışmasız	Yarışmasız	Yarışmasız	Yarışmasız	Yarışmasız	

4.3. Karbonik anhidraz (CA I, II, IX, XII) İnhibisyonu

Yeni sentezlenen tüm bis-üreido-süstitüe primer benzensülfonamid türevleri, durdurulmuş akış yöntemi kullanılarak iki sitozolik hedef dışı izoform (CA I ve II) ve iki hedeflenmiş membrana bağlı izoform (CA IX ve XII) karşısında karbonik anhidraz (CA) inhibisyon özellikleri açısından değerlendirilmiştir. Sonuçlar iyi bir karbonik anhidraz inhibitörü olarak bilinen asetazolamid (AAZ) ile karşılaştırılmıştır. Ayrıca karbonik anhidraz inhibisyonu ile yapı-aktivite ilişkisi (SAR) yine Çizelge 4. 16 da verilmiştir.

Genel olarak, tasarladığımız bileşikler 68,11a 9174 nM Ki değerlerine sahip olarak sitozolik hedef dışı izoform CAI' ye daha az duyarlı olduğu tespit edilmiştir. En güçlü bileşik, fenil halkasında 1,3- pozisyonunda süstitüsyona sahip olmasıyla diğer bağlayıcılardan yapısal olarak farklı olan (X1Y4) bileşigidir. Ayrıca, (X3Y4) bileşiği 95,4 nM Ki değerine sahip olarak bileşik (X1Y4) ile aynı bağlayıcıya sahip iyi bir inhibisyon etkisi göstermiştir. Bir diğer hedef dışı izoform olan CAII, sentezlenen tüm bis-üreido-süstitüe primer benzensülfonamidler tarafından genel olarak orta derecede inhibe edilmiştir. İlginç bir şekilde, CAII'ye karşı en güçlü bileşik, CAI inhibisyonunda olduğu gibi, sırasıyla 4,42 ve 25,8 nM Ki değerleri ile yine (X1Y4) ve (X3Y4) olmuştur. Ayrıca (X1Y4) bileşiği 4,4 nM Ki değeri ile CAII'ye karşı mevcut çalışmada gözlemlenen en iyi inhibisyon değerini göstermiştir.

Tümör tarafından aşırı baskılanan CAIX ve XII izoformları genel olarak sentezlediğimiz bileşikler tarafından etkili bir şekilde inhibe edilmiştir. Daha spesifik olarak, (X1Y4) bileşiği, sırasıyla 6,73 ve 7,39 nM Ki değerleri ile bu izoformlara karşı büyük bir afinite göstermiştir. Öte yandan, aynı bağlayıcı serisinden başka bir bileşik olan (X3Y4) bileşiği de sırasıyla 8,92 ve 5,02 nM Ki değerleri ile büyük inhibisyon gücü göstermiştir. Bununla birlikte, (X3Y4) ile hedef dışı izoformlar CAI ve CAII'ye karşı daha fazla seçicilik gözlenmiştir. Mevcut serideki diğer bileşikler de CAIX için 57,5 ila 835 nM ve CA XII için 27,7 ila 429 nM arasında değişen Ki değerleri ile önemli ölçüde inhibisyon özellikleri sergilemiştir.

Genel olarak SAR sonuçları, 4-aminobenzen-sülfonamid omurgasının, diğerlerinin yanı sıra 1,3-sübstitüsyona sahip bis-izosiyanat (Y4) ile kombinasyon halinde diğer muadillerine kıyasla daha iyi bir primer sülfonamid olduğunu göstermektedir.

Özetlemek gerekirse daha güçlü ve seçici inhibitörler elde etmek için üreido bağlayıcı kullanılarak çok fonksiyonlu karbonik anhidraz inhibitörü tasarım stratejisi, uygulanmıştır. Elde edilen bileşiklerin inhibisyon özellikleri, sitozolik olanlar (CA I ve II) ve tümörle ilişkili membrana bağlı izoformlar (CA IX ve XII) dahil olmak üzere seçilen dört karbonik anhidraz izoformuna karşı değerlendirilmiştir. Genel olarak, bu analoglar 68,1 ila 9174 nM arasında değişen K_i değerleri ile zayıf CAI inhibisyonu ve 4,4 ila 792 nM K_i ile başka bir sitozolik izoform CAII'ye karşı orta derecede inhibisyon göstermiştir. Buna ilaveten sentezlenen bileşiklerin tamamı tümörle ilişkili membrana bağlı izoformlara (CA IX ve XII) sırasıyla 6,73- 835 ve 5,02- 429 nM aralığında K_i inhibisyonu ile güçlü bir şekilde inhibe ettiği anlaşılmıştır. Aynı üreido bağlayıcıya sahip (Y4; 1,3-süstitüe fenil halkası) (X1Y4) ve (X3Y4) bileşikleri iki sitozolik hedef dışı izoform (CA I ve II) ve iki hedeflenmiş membrana bağlı izoform (CA IX ve XII) karşısında güçlü bir inhibisyon özelliği göstermiştir.

4.4. Sentezlenen Primer Benzensülfonamid Türevi Bileşiklerin Antikanser (Sitotoksitite) Aktivite Çalışmaları

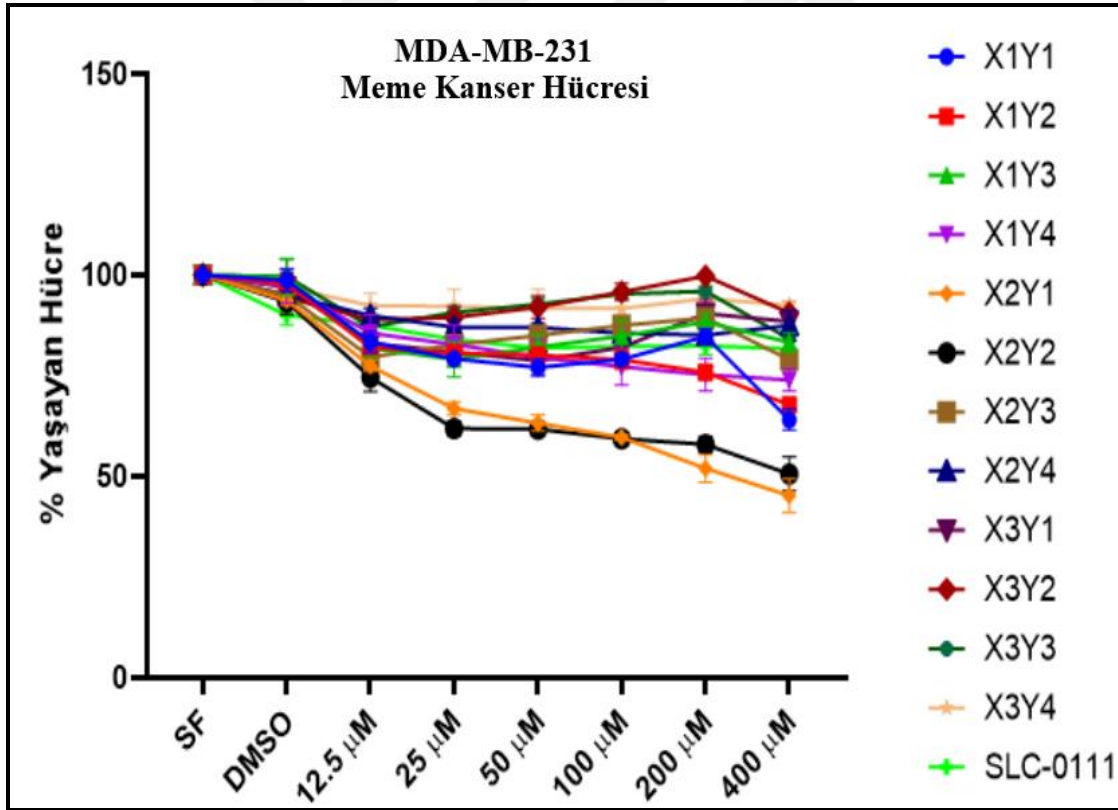
Sentezlenen bileşiklerin hücre kültürleri üzerindeki antikanser aktivite çalışmaları Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Hücre kültürü laboratuvarında yapılmıştır.

4.4.1. Hücrelerin kültür ve canlılık analizi

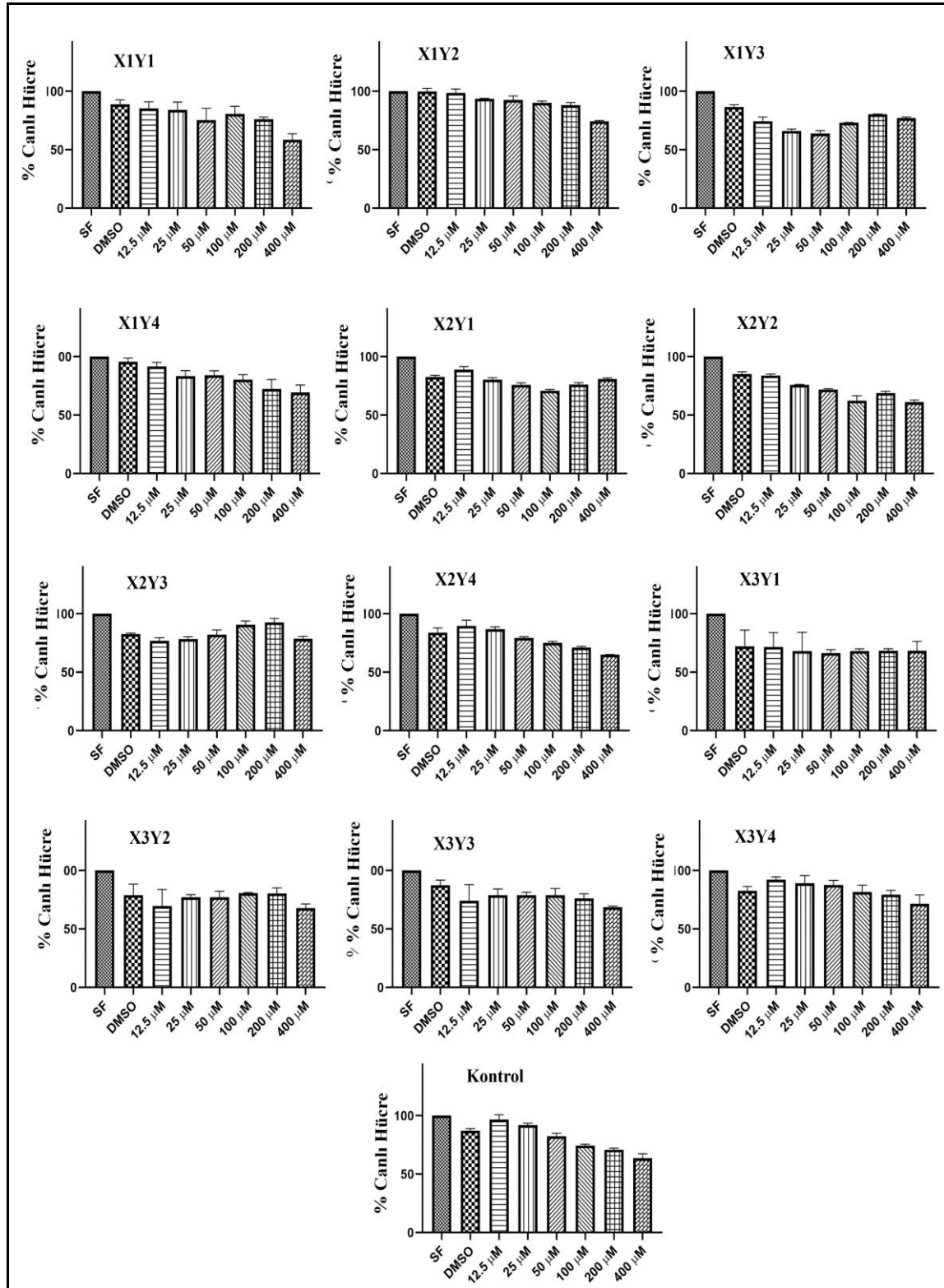
Bu çalışma için *A549 akciğer kanseri*, *BEAS-2B normal akciğer epitel hücreleri*, *MCF-7 ve MDA-MB-231 meme kanseri hücreleri*, *CRL-4010 normal meme hücresi*, *PC-3 prostat kanseri* ve *PNT-1A normal prostat hücreleri* kullanılmıştır. Hücreler %10 FCS ve %5 penisilin-streptomisin ile desteklenmiş DMEM içinde %5 CO₂ içeren inkübatörde 37°C'de büyütülmüştür. Sentezlenen bileşiklerin sitotoksik etkisini belirlemek için MTT testi yapıldı. Kısaca, hücreler 96 kuyulu plakalara ekilmiş ve gece boyunca inkübe edilmiş ve ardından 24 saat boyunca farklı derişimlerde bileşiklere maruz bırakılmıştır. Maruziyetin ardından, süpernatantlar atılmış ve hücreler 37°C'de 45-60 dakika boyunca 1 mg/mL MTT çözeltisi ile muamele edilmiştir. İnkübasyondan sonra süpernatant uzaklaştırılmış ve formazan partikülleri DMSO ile çözülmüş ve bir mikropilaya okuyucuda 570 nm'de okunmuştur. Hücre canlılığı ölçülen absorbans değerlerinden hesaplanmıştır.

4.4.2. Sitotoksitite aktivite çalışma sonuçları

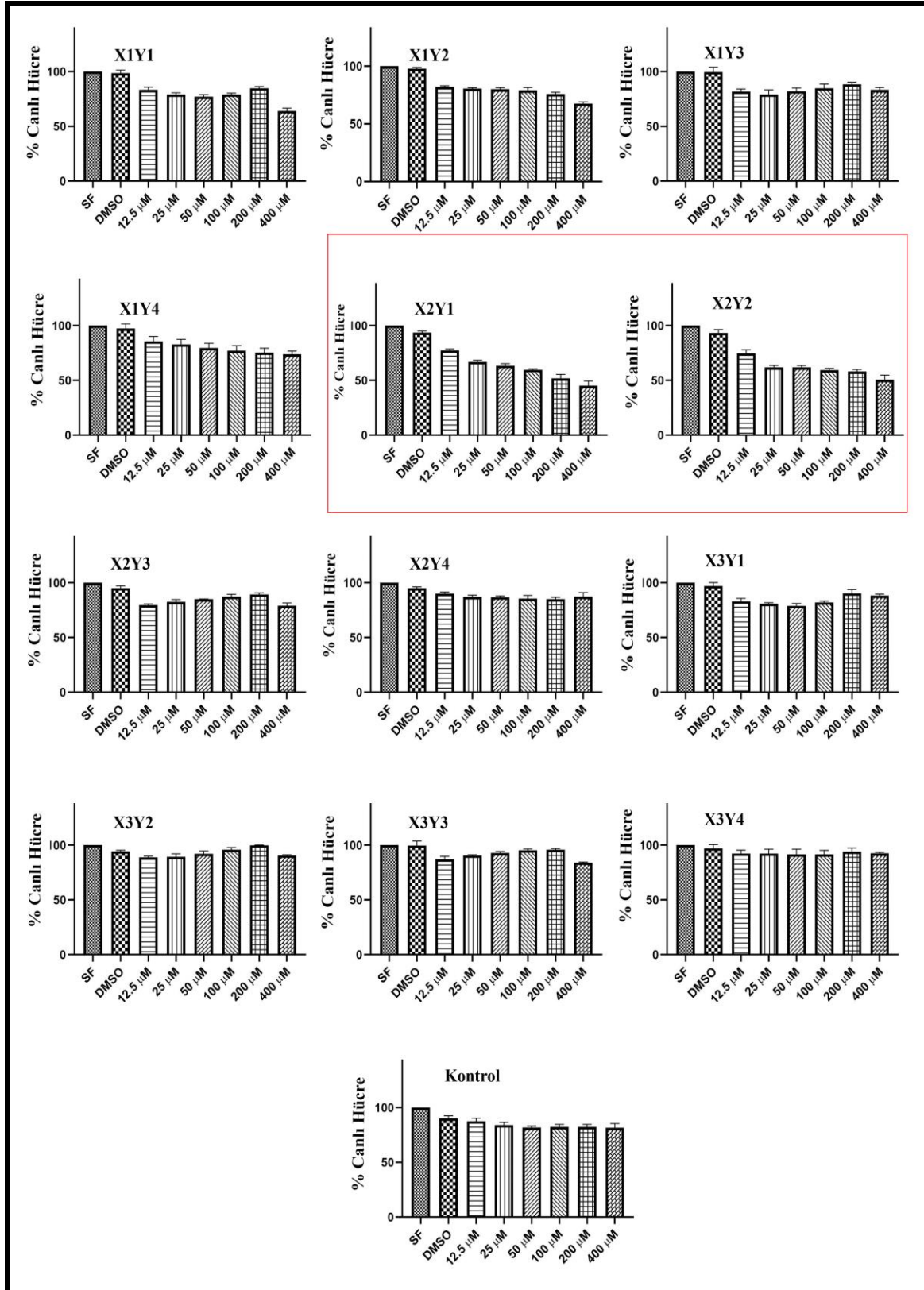
Meme kanseri hücrelerinden MDA-MB-231 hücrelerinde X2Y1 ve X2Y2 numaralı maddelerin anti kanser aktivite gösterdiği (Şekil 4.63, Şekil 4.65), buna karşın CRL-4010 hücrelerinde bu maddelerin sitotoksik olarak anlamlı bir etki sağlamadığı gösterildi (Şekil 4.64). X2Y1 numaralı bileşik MDA-MB-231 hücrelerindeki etkin dozu 200 μ M, X2Y2 numaralı bileşiğin ise 400 μ M olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra, bir diğer meme kanseri MCF-7 hücrelerinde ise X1Y1 ve X2Y1 numaralı maddelerin aktivite gösterdiği bulundu (Şekil 4.66) ve bu bileşiklerin CRL-4010 normal meme hücrelerinde ilgili derişimlerin hücrelere üzerine etki etmediği bulundu. X1Y1 numaralı bileşik MCF-7 hücrelerindeki etkin dozu 200 μ M, X2Y1 numaralı bileşiğin ise 50 μ M olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgular özellikle X2Y1 numaralı bileşiğin meme kanseri tedavisinde potansiyel bir anti-kanser ajanı olabileceğini göstermektedir.



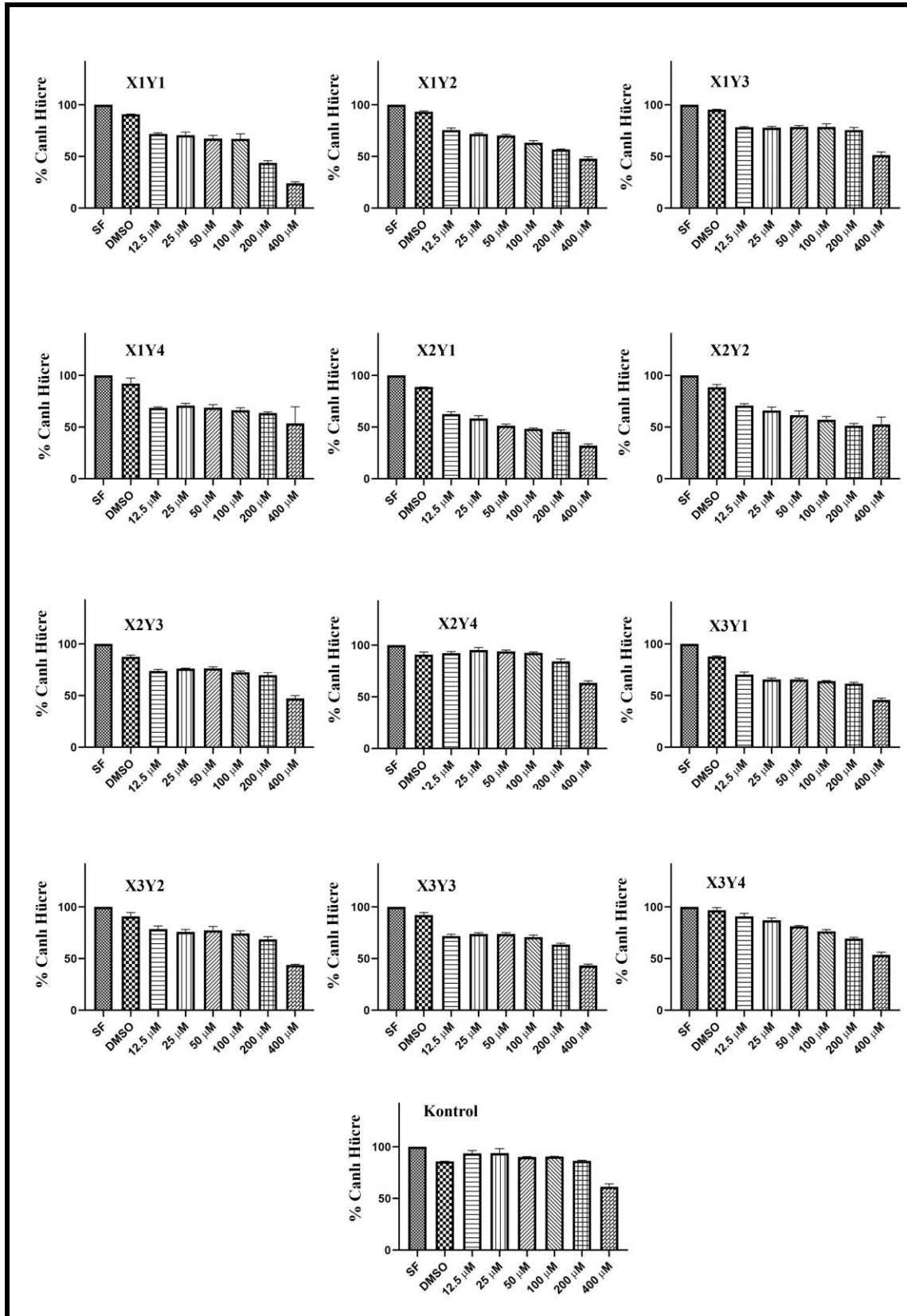
Şekil 4.63. Sentezlenen bileşiklerin meme kanser (MDA-MB-231) hücrelerinde hücre canlılığına etkisi



Şekil 4.64. Sentezlenen bileşiklerin normal meme (CRL-4010) hücrelerinde hücre canlılığına etkisi

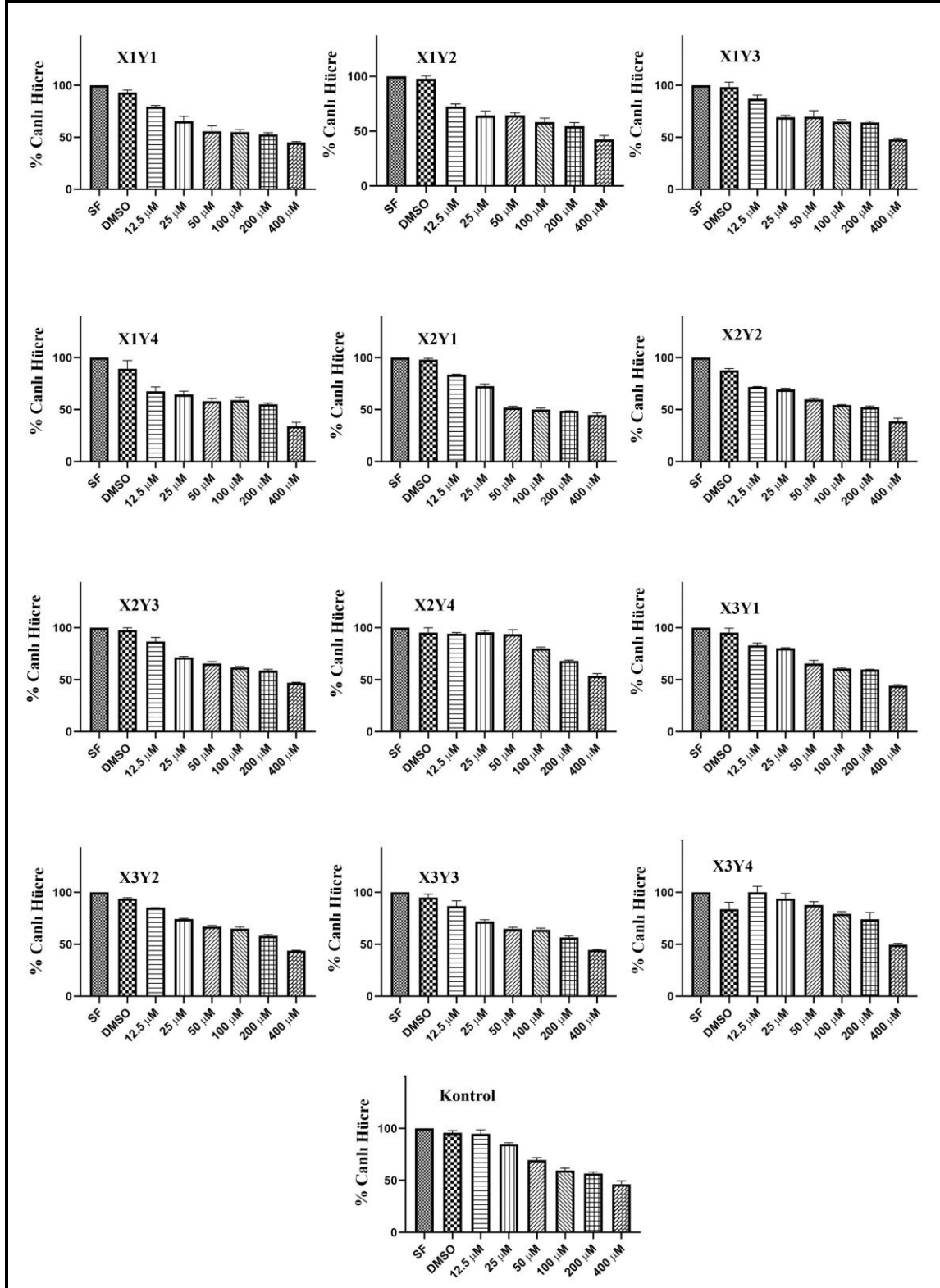


Şekil 4.65. Sentezlenen bileşiklerin meme kanser (MDA-MB-231) hücrelerinde hücre canlılığına etkisi. (Kırmızı çerçeve içerisindeki bileşikler etkin moleküller)

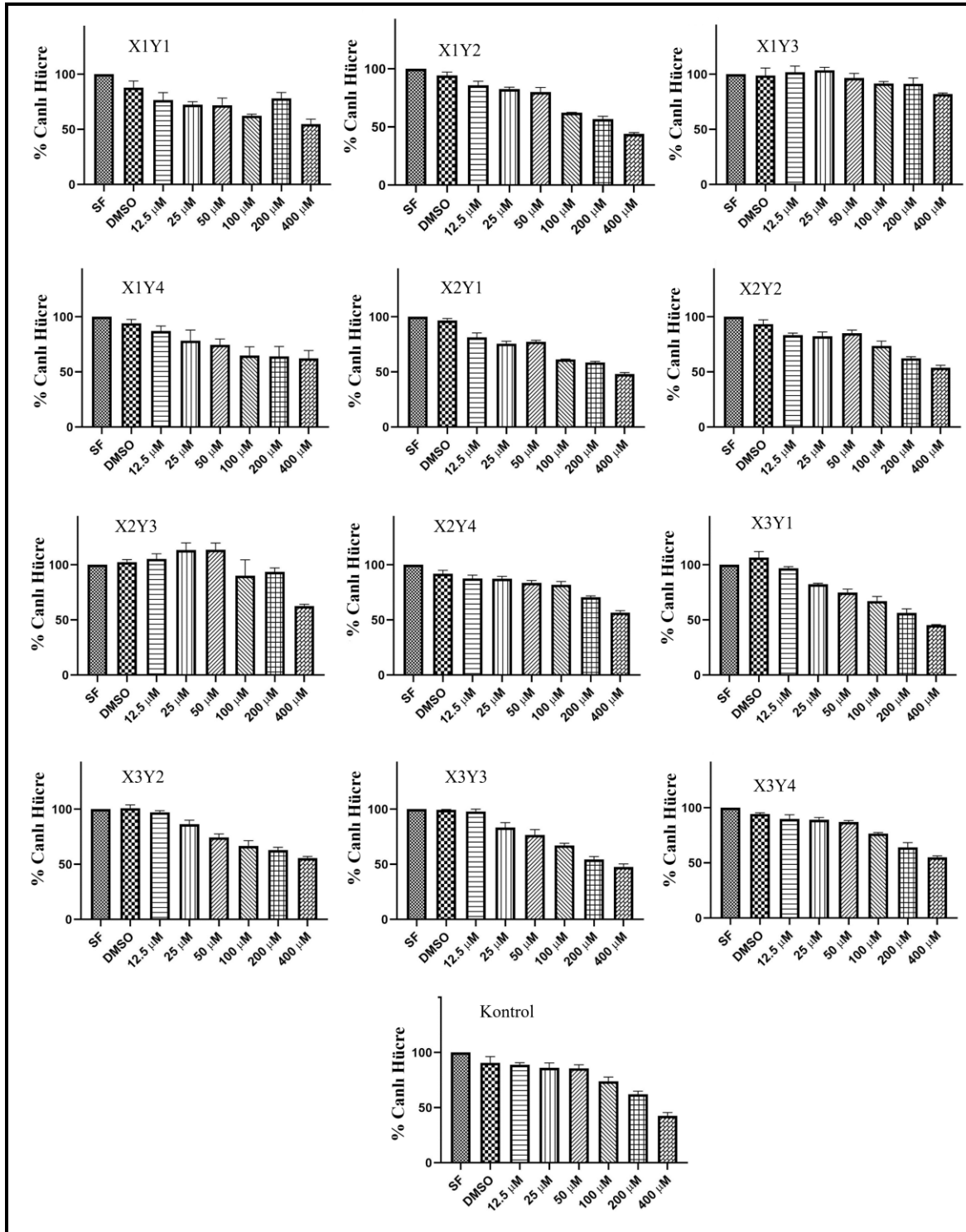


Şekil 4.66. Sentezlenen bileşiklerin meme kanser (MCF-7) hücrelerinde hücre canlılığına etkisi

Sentezlenen bileşiklerin BEAS-2B akciğer epitel hücresi ve A549 akciğer kanseri hücrelerinde bu maddelerin anlamlı bir etkisinin olmadığı anlaşıldı (Şekil 4.56).



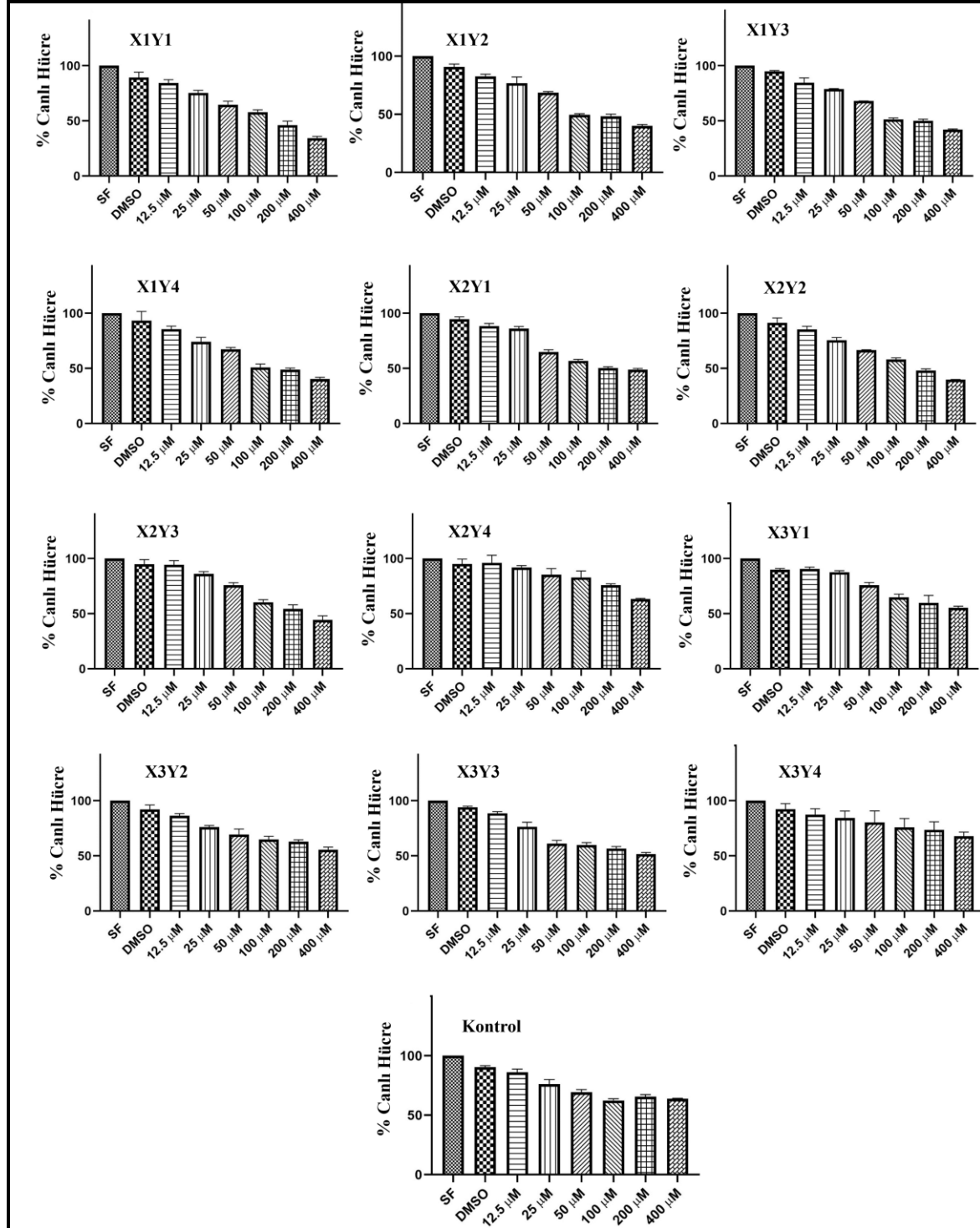
Şekil 4.67. Sentezlenen bileşiklerin normal akciğer (BEAS-2B) hücrelerinde hücre canlılığına etkisi



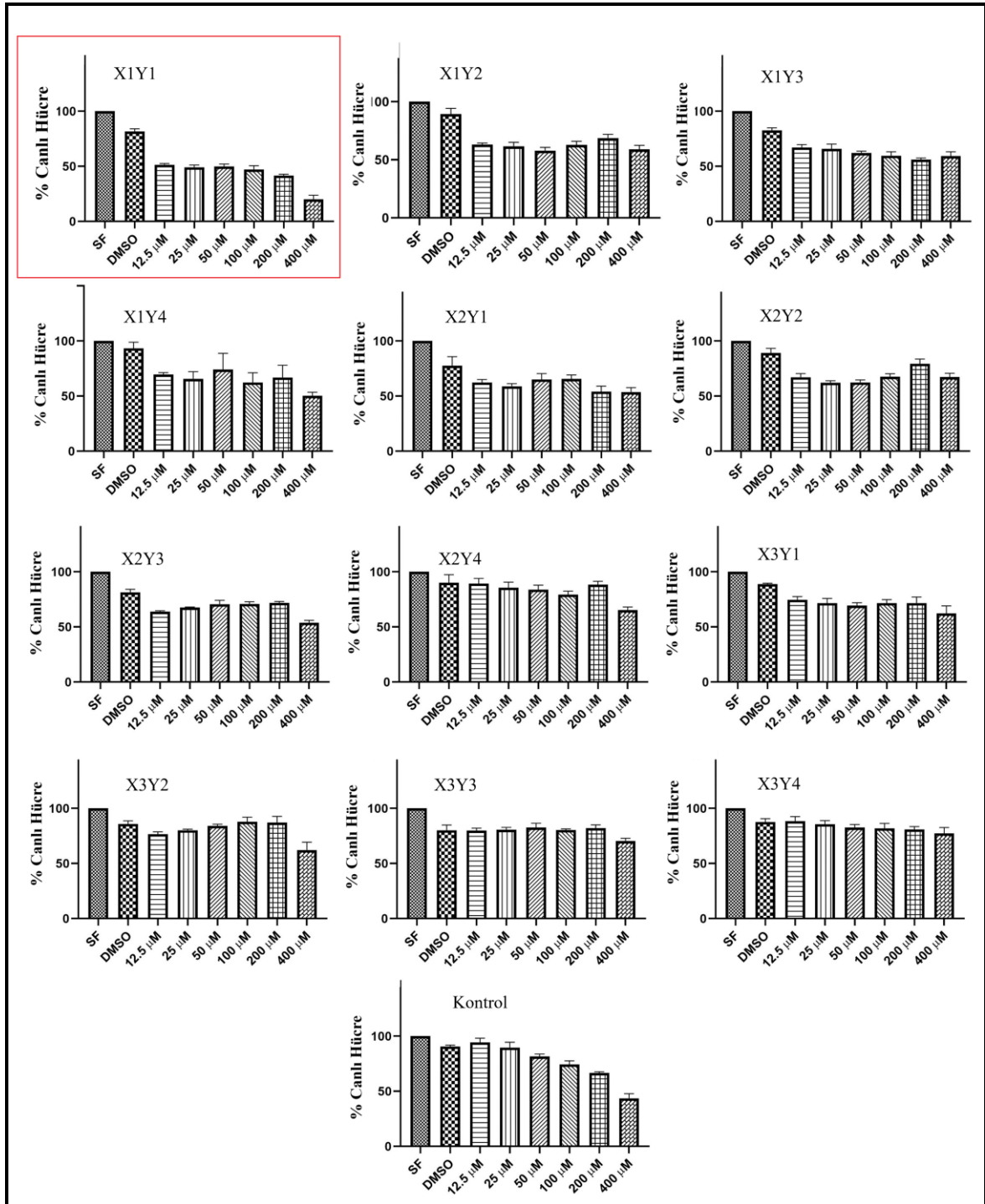
Şekil 4.68. Sentezlenen bileşiklerin akciğer kanser (A549) hücrelerinde hücre canlılığına etkisi

PC-3 prostat kanseri hücrelerinde X1Y1 bileşiğin 12,5 µM derişimde etki ettiğı ve aynı derişimde PNT-1A hücreleri üzerine toksik etkisinin olmadığı gösterilmiştir (Şekil 4.69 ve

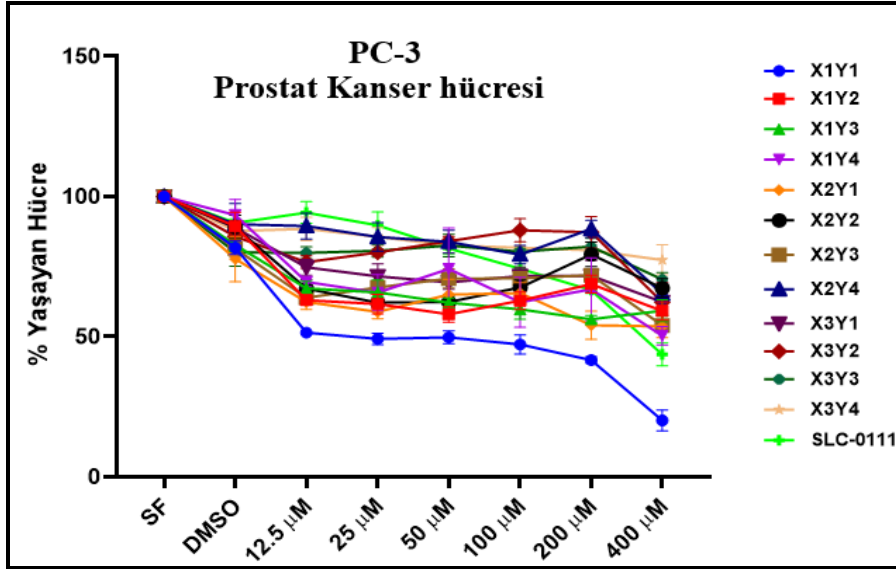
Şekil 4.70). Diğer bileşiklerin PC3 prostat kanseri hücrelerinde anlamlı bir etki göstermediği bulunmuştur.



Şekil 4.69. Sentezlenen bileşiklerin normal prostat (PNT-1A) hücrelerinde hücre canlılığına etkisi



Şekil 4.70. Sentezlenen bileşiklerin prostat kanser (PC-3) hücrelerinde hücre canlılığına etkisi



Şekil 4.71. Sentezlenen bileşiklerin prostat kanser (PC-3) hücrelerinde hücre canlılığına etkisi

Toplu olarak, bu bulgular daha detaylı in vitro ve in vivo çalışmalarla desteklenmeli ve antikanser aktivitelerini daha iyi anlamak için moleküler hedefleri belirlenmelidir.

4.5. Antibakteriyel Aktivite Çalışma Sonuçları

Çizelge 4.17. Bis-üreido-süstitüe edilmiş sülfonamid türevlerinin gram-pozitif ve gram-negatif bakteri suşlarına karşı antibakteriyel etkinliği (minimal inhibitör derişimi)

Bileşik	Antibakteriyel Aktivite (MIC, µg/mL)			
	Gram-(+) Bakteri suşları		Gram-(-) Bakteri suşları	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>
X1Y1	500	62,5	ND	15,6
X1Y2	125	31,25	ND	15,6
X1Y3	1000	125	ND	15,6
X1Y4	250	31.25	ND	15,6
X2Y1	500	250	250	250
X2Y2	500	500	125	250
X2Y3	500	62.5	62.5	62,5
X2Y4	250	500	31,25	1000
X3Y1	500	500	ND	500
X3Y2	250	250	31,25	ND
X3Y3	125	125	31,25	500
X3Y4	500	ND	62,5	15,6
Ampicillin	3,9	3,9	2,0	15,6
Ceftriaxon	31,3	2,0	15,6	2,0



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sentezlenen bis-üre türevi sülfonamit yapıları bileşiklerin, asetilkolinesteraz ve bütrilkolinesteraz (AChE, BChE) enzimlerine karşı inhibisyon etkileri araştırılmıştır. Ellman metodu kullanılarak yapılan enzim inhibisyon çalışmalarında, inhibitör olarak kullanılan sentezlenen sülfonamit yapıları bileşiklerin IC_{50} değerleri hesaplanmış ve inhibisyon tipleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, sentezlenen tüm bileşikler AChE ve BChE enzimlerine karşı belirli bir inhibisyon etkisi göstermiş, ayrıca bazı bileşiklerin önemli ölçüde inhibisyon gösterdiği tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre inhibitör maddeler kendi içinde incelendiğinde AChE enzimi üzerine en etkili inhibisyon etkisi gösteren X1Y4 bileşiği ($IC_{50} = 1,645 \pm 0,61$ nM), BChE enzimi üzerine en etkili inhibisyon gösteren X3Y3 bileşiği ($IC_{50} = 0,2257 \pm 0,06$ nM) olmuştur. Bu sonuçlar standart madde Donepezil ile karşılaştırıldığında, asetilkolinesteraz ve bütrilkolinesteraz (AChE, BChE) enzimleri için sırasıyla Donepezilin IC_{50} değeri $3,711 \pm 0,64$ nM ve $12,94 \pm 1,29$ nM olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar asetilkolinesteraz için bulunan IC_{50} değerlerinin en etkilisi olan X1Y4 bileşiği ($IC_{50} = 1,645 \pm 0,61$ nM) ile karşılaştırıldığında bileşiğimizin oldukça iyi bir değere sahip olduğu görülmektedir. Bu değer standart madde Donepezil için bulunan sonuçtan daha düşük bir değerdir. Bu değer bu bileşiklerin diğer biyolojik ve fizyolojik etkileri incelendikten sonra standart madde Donepezile alternatif ilaç etken maddesi olarak kullanılabilme potansiyeline sahip olduğu şeklinde değerlendirilebilir. Bileşiklerin bütrilkolinesteraz üzerine olan IC_{50} değerlerinin X1Y1 dışındaki tümünün, standart madde Donepezil için belirlenen $12,94 \pm 1,29$ nM değerinden daha etkili olduğu söylenebilir. Elde edilen sonuçlara göre, inhibitör maddeler içinde incelendiğinde, AChE enzimi üzerinde en az etkili inhibisyon gösteren X2Y4 bileşiği ($IC_{50} = 9,079 \pm 0,96$ nM), BChE enzimi üzerinde en az etkili inhibisyon gösteren X1Y1 bileşiği ($IC_{50} = 24,87 \pm 0,44$ nM) olmuştur. Kolinesteraz enzimler için en etkili IC_{50} değerlerine sahip olan X1Y4 ve X3Y3 bileşiklerinin diğer bileşiklerden temel farklılığı X1Y4 için 2,4-diizosiyanato-1-metilbenzen ve X3Y3 için ise 4-(2-aminoetil) benzenesülfonamit gruplarına sahip olmasıdır. Bu grupların her iki enzim içinde daha etkili inhibisyona sebep olduğu görülmektedir. Bu grupların oluşturduğu Bis-Üre türevi Primer Benzensülfonamit bileşiklerinin daha etkili olduğu görülmektedir. İnhibitör bileşiklerin yapıları incelendiğinde aromatik halka sayısının bazılarında üç bazı bileşiklerde ise dört tane olduğu görülmektedir. Aromatik halka sayısının farklılığı ve aromatik halkaya bağlı

grupların elektron verici veya alıcı olabilme özellikleri sonuçlardaki değişikliğe sebep olabilir. Ayrıca bu grupların enzime bağlandığı aktif merkez dışındaki amino asitlerle yaptığı düşünülen iyonik etkileşim, hidrofobik etkileşim ve adsorbsiyon gibi kimyasal etkileşimlerin daha etkili olduğu şeklinde yorumlanabilir. Sırayla en az etkili enzim IC_{50} değerlerine sahip olan X2Y4 ve X1Y1 bileşiklerinin diğer bileşiklerden temel farklılığı X2Y4 için 4-Metil-1,3-fenilen diizosiyanat ve X1Y1 için ise 1,4-Fenilendiizosiyantür gruplarına sahip olmasıdır. Bu grupların her iki enzim içinde daha etkili inhibisyona sebep olduğu görülmektedir. Bu grupların oluşturduğu Sülfonamit bileşiklerinin diğer inhibitörlere göre daha az etkili olduğu görülmektedir. Bu ise bu grupların enzime bağlandığı aktif merkez dışındaki amino asitlerle yaptığı düşünülen iyonik etkileşim, hidrofobik etkileşim ve adsorbsiyon gibi kimyasal etkileşimlerin daha etkili olduğu şeklinde yorumlanabilir.

Yarı yarışmalı inhibisyon türünde inhibitörün enzime aktif merkezin dışında bir başka bölgeden ve aynı zamanda ES kompleksi üzerinden bağlandığı, yarışmasız inhibisyonda ise yine aktif merkezin dışında başka bir bölgeden ve hem serbest enzime hem de ES kompleksi üzerinden bağlı olduğu dikkate alınırsa inhibitor bileşiklerin çoğunun yarışmasız mekanizma üzerinde yürüdüğü görülmektedir. Bu durum ise inhibitor bileşiklerin tamamının enzim aktif merkezinden bağlanmadığını göstermektedir. Bunun sebebi olarak inhibitörlerin aktif merkeze sterik engel sebebiyle bağlanamadığı şeklinde yorumlanabilir. Bir başka sebep olarak aktif merkezdeki amino asitlerin iyonize durumlarının inhibitörün bağlanmasına uygun olmadığı şeklinde yorumlanabilir. Aktif merkez dışında bir başka bölgeden bağlanma enzimin üç boyutlu yapısını bozarak ES kompleksinin daha az oluşmasına sebep olacak ve böylelikle maksimum hız (V_{max}) değişecektir. En iyi IC_{50} değerlerinin gözlendiği bileşikler için sırasıyla belirlenen K_i değerleri ise X1Y4 için $0,2160 \pm 0,09$ nM X3Y3 için ise $10,54 \pm 3,09$ nM olarak bulunmuştur. İnhibisyon türleri ise X1Y4 bileşiği için yarı yarışmalı iken X3Y3 bileşiği için yarışmasız olarak belirlenmiştir. Yine tablo incelendiğinde AChE enzimi üzerine en düşük inhibisyon etkisi gösteren bileşiğin IC_{50} değerleri, sırasıyla X2Y4 bileşiği için ($IC_{50} = 9,079 \pm 0,96$ nM), BChE enzimi üzerine en düşük inhibisyon etkisi göstern ise X1Y1 bileşiğidir ($IC_{50} = 24,87 \pm 0,44$ nM). En düşük IC_{50} değerinin gözlendiği bu bileşikler için sırasıyla belirlenen inhibisyon türleri ise X2Y4 bileşiği için yarışmasız, X1Y1 bileşiği için ise yarı yarışmalı inhibisyonudur.

İnhibitörlerin her iki enzim üzerindeki inhibisyon etkileri karşılaştırıldığında, AChE enzimi inhibisyon etkisinin BChE enzimi üzerine olan inhibisyon etkisine göre bütün bileşikler için daha etkili olduğu görülmüştür. Bu durum inhibitor bileşiklerin bağlanabileceği amino asit profilinin AChE enzimi için daha uygun olduğu şeklinde yorumlanabilir. Özellikle ES kompleksi üzerinden inhibitörlerin AChE enzimine daha etkili bağlanıp enzimi inhibe ettiği şeklinde yorumlanabilir.

İnhibitörlerin asetilkolinesteraz enzimi üzerine olan inhibisyon türleri incelendiğinde X1Y3, X1Y4 ve X3Y4 bileşikleri için yarı yarışmalı inhibisyon türü gözlenirken diğer dokuz bileşik için yarışmasız inhibisyon olduğu görülmüştür. İnhibitörlerin bütirilkolinesteraz enzimi üzerine olan inhibisyon türleri incelendiğinde X1Y1, X1Y4 ve X2Y3 bileşikleri için yarı yarışmalı inhibisyon türü gözlenirken diğer dokuz bileşik için yarışmasız inhibisyon olduğu görülmüştür. Toplamda oniki tane inhibitor maddenin iki enzim üzerine gösterdiği inhibisyonun türlerinin on sekiz tanesi yarışmasız mekanizma üzerinden yürürken altı tanesinin yarı yarışmalı mekanizma üzerinden yürüdüğü görülmüştür. Tüm bis-üre türevi primer benzensülfonamitlerin inhibisyon sıralaması üçlü türevler halinde (X1,X2,X3) mukayese edildiğinde asetilkolinesteraz için bulunan IC_{50} değerleri arasında anlamlı bir farklılık belirlenememiştir. Yine bütirilkolinesteraz için bulunan IC_{50} değerleri arasında X3Y1, X3Y2, X3Y3, X3Y4 bileşiklerinin olduğu son grubun diğer iki üçlü gruba göre daha düşük IC_{50} değerlerine sahip olduğu söylenebilir.

Tablolarda verilen deney sonuçları üç paralelli yapılmış ve bunların ortalamaları alınarak standart sapma değerleri verilmiştir. Deneylerde bulunan R^2 değerleri ortalama olarak 0,98 civarında olup bu değer deneylerde alınan sonuçların anlamlı olduğu aynı zamanda kesinliğin yüksek olduğu anlamına gelmektedir. Bulunan bu R^2 değerlerinin güvenilir sonuç olarak kabul edilebilir aralıkta olduğu söylenebilir.

Sentezlenen bileşiklerin CA inhibisyon özellikleri, sitozolik olanlar (CA I ve II) ve ayrıca tümörle ilişkili membrana bağlı izoformlar (CA IX ve XII) dahil olmak üzere seçilen dört CA izoformuna karşı değerlendirildi. Genel olarak bu bileşikler, 68,1 ila 9174 nM aralığında değişen K_i ile zayıf CAI inhibisyonu gösterdi ve 4,4 ila 792 nM K_i ile başka bir sitozolik izoform CA II'ye karşı etkili ila orta derecede inhibisyon gösterdi. Tümörle ilişkili membrana bağlı izoformlar CA IX ve XII, bu bileşiklerin bazıları tarafından sırasıyla 6,73-835 ve 5,02-429 nM aralığında K_i ile etkili bir şekilde inhibe edilmiştir. Sonuç olarak, bu

yeni bileşiklerin tümörle ilişkili CA IX ve XII izoformlarına karşı güçlü inhibisyon özellikleri, bu bis-üreido ikameli bileşikleri antimetastatik ilaç tasarımı araştırmaları için ilgi çekici hale getirebilir.

Sitotoksitite aktivite çalışma sonuçları ilgili tablo ve şekiller incelendiğinde MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerinde, X2Y1 ve X2Y2 olarak etiketlenen bileşiklerin, anti-kanser aktivitesi sergilediği açıkça görülmektedir. Yapısında 3-aminobenzen-sülfonamid bulunan her iki bileşiğin de (X2Y1 ve X2Y2) MDA-MB-231 hücrelerinde etkili dozu 200 µM olarak belirlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin BEAS-2B akciğer epitel hücreleri ve A549 akciğer kanseri hücreleri üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı gözlemlendi. X1Y1 bileşiğinin 12,5 uM derişimde PC-3 prostat kanseri hücreleri üzerinde etki gösterdiği ve aynı derişimde PNT-1A hücreleri üzerinde toksik etki göstermediği anlaşılmıştır. Diğer bileşiklerin PC3 prostat kanseri hücreleri üzerinde önemli bir etki sergilemediği de anlaşılmaktadır.

Bu bileşiklerin, hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakteri suşlarına karşı antibakteriyel etkinliğinin değerlendirilmesi yapılmış ve Tablo.4.17 de de kısaca özetlendiği gibi düşük ila orta düzey arası bir aktivite spektrumu sergiledikleri gözlenmiştir. Gram pozitif bakteri *S. Aureus*, 125 ila 1000 µg/mL arasında değişen MİK değerleri ile tüm bileşiklere karşı direnç sergilediği görülmektedir. X1Y2 ve X3Y3 bileşikleri en düşük MİK derişimine sahip (125 µg/mL) olduğu görülürken bir diğer Gram(+) bakteri olan *E. Faecalis* e karşı daha düşük MİK değerleri tespit edilmiştir. X1Y2 ve X1Y4, 31,25 µg/mL MİK değeriyle dikkat çekerken X1Y1 ve X2Y3 de 62,5 µg/mL ile kayda değer bir etki göstermiştir. Özellikle gram-negatif bakteri *P. Aeruginosa*'nın, 4-aminobenzen sülfonamid içeren bileşiklere karşı direnç gösterdiği görülmüştür. Buna karşılık, X2Y4 X3Y2 ve X3Y3 31,25 µg/mL'lik bir MIC değeri kaydederek orta derecede aktivite göstermiştir. En kayda değer sonuçlar gram negatif bir bakteri olan *E. coli*'ye karşı gözlemlendi. Spesifik olarak, 4-aminobenzen sülfonamid türeve sahip X1Y1 ve X1Y4 ve X3Y4 standart ilaç Ampisilin ile karşılaştırılabilir düzeyde bir MİK değerine sahip olduğu anlaşılmaktadır (15,6 µg/mL). Bu bulgular, bu bileşiklerin, özellikle stratejik kimyasal modifikasyonlarla, özellikle *E. Coli* türlerine karşı antibakteriyel etkinliği artırma potansiyelini ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak, çalışmamız bis-üreido ile ikame edilmiş benzensülfonamidlerin umut verici çok yönlülüğünü ortaya çıkararak çeşitli farmakolojik alanlardaki etkinliklerini ortaya koymaktadır. Bu bileşikler, dikkate değer antibakteriyel özellikler sergileyerek onları bakteriyel enfeksiyonlara karşı mücadelede umut verici rakipler olarak konumlandırıyor. Ek olarak, önemli antikolinesteraz aktiviteleri nörolojik bozuklukların, özellikle de Alzheimer hastalığının tedavisinde potansiyel uygulamalara işaret etmektedir. Hem kanserli hem de normal çeşitli hücre hatlarında gözlemlenen seçici sitotoksosite, bunların kanser tedavisindeki potansiyelini vurgulamaktadır. Özellikle bileşik X2Y1, meme kanseri tedavisinde potansiyel bir anti-kanser ajanı olabilir. Burada sunulan veriler yalnızca bu bileşiklerin geniş farmakolojik potansiyelini vurgulamakla kalmıyor, aynı zamanda antibakteriyel, antikolinesteraz ve sitotoksosite uygulamalarında ilaç araştırma ve geliştirmesi için yeni yollar da (alternatif tekniklerin geliştirilmesini de) sunmaktadır.



KAYNAKLAR

- Açıkgöz, A. ve Yıldız, E.A. (2017). Meme Kanseri Etiyolojisi ve Risk Faktörleri. *Ergoterapi ve Rehabilitasyon Dergisi*, 5(1), 45-56.
- Afroz, S., Abbasi, M., Tanveer, W., Khan, K.M. and Ashraf, M. (2012). Synthesis, Characterization and Biological Screening Of Sulfonamides Derived Form 2-Phenylethylamine. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 25(4), 809-814.
- Akıncıoğlu, A., Kocaman, E., Akıncıoğlu, H., Salmas, R.E. and Durdağı, S. (2017). The Synthesis of Novel Sulfamides Derived from B-Benzylphenethylamines as Acetylcholinesterase, Butyrylcholinesterase and Carbonic Anhydrase Enzymes Inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 74, 238-250.
- Akocak, S., Lolak, N., Bua, S. and Supuran, C.T. (2018). Discovery of Novel 1,3-Diaryltriazene Sulfonamides as Carbonic Anhydrase I, II, VII, and IX Inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 33(1), 1575-1580.
- Akocak, S., Lolak, N., Bua, S. and Turel, İ. (2018). Synthesis and Biological Evaluation of Novel N,N'-Diaryl Cyanoguanidines Acting as Potent and Selective Carbonic Anhydrase II Inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 7, 245-251.
- Akocak, S., Lolak, N., Bua, S., Nocentini, A. and Supuran C.T. (2019). Activation of Human A-Carbonic Anhydrase Isoforms I, I₁, I₄ And V₁₁ with Bis-Histamine Schiff Bases and Bis-Spinaceamine Substituted Derivatives. *Journal Of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 34(1), 1193-1198.
- Akocak, S., Lolak, N., Vulla, D., Durgun, M. ve Supuran, C.T. (2017). Synthesis and Biological Evaluation of Novel Aromatic and Heterocyclic Bis-Sulfonamide Schiff Bases as Carbonic Anhydrase I, I₁, V₁₁ and IX Inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 25(12), 3093-3097.
- Akocak, S., Taslimi, P., Lolak, N., Işık, M., Durgun, M., Budak, Y., Türkeş, C., Gülçin, İ. and Beydemir, Ş. (2021). Synthesis, Characterization and Inhibition Study of Novel Substituted Phenylureido Sulfaguanidine Derivatives as A-Glycosidase and Cholinesterase Inhibitors. *Chemistry and Biodiversity*, 18(4), E2000958.
- Akyar, İ. (2011). Demanslı Hasta Bakımı ve Bakım Modelleri. *Hacettepe University Faculty of Health Sciences Nursing Journal*, 1, 79-88.
- Alena, K., Komers, K. and Čegani A. (2007). New Findings About Ellman's Method to Determine Cholinesterase Activity. *Zeitschrift Für Naturforschung*, 62(1-2), 150-54.
- Almusavi, Y. (2019). *Investigation of Cytotoxic Properties of New Isoindol Derivatives in Lung and Cervical Cancers*. Master of Science, İzmir Institute of Technology, İzmir, 33-42.
- Aytaç, S.P. (2015). *Synthesis of Some Novel Triazole Derivatives and Their Anticancer Activities*. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 25-39.

- Bashandy, M.S., Alsaid, M.S., Arafa, R.K. and Ghorab, M.M. (2014). Design, Synthesis and Molecular Docking of Novel *N,N*-Dimethylbenzenesulfonamide Derivatives as Potential Antiproliferative Agents. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 29(5), 619-627.
- Benek, O., Korabecny, J. and Soukup, O. (2020). A Perspective on Multi-Target Drugs for Alzheimer's Disease. *Trends in Pharmacological Sciences*, 41(7), 434-445.
- Benson, J.R., Jatoi, İ., Keisch, M., Estava, F.J., Makris, A. and Jordan V.C. (2009). Early Breast Cancer. *The Lancet*, 373(1), 1463-1476.
- Bilen, E. (2019). *Alzheimer Tedavisinde Etkili Olan Kolinesteraz Sınıfı Enzimlerin İnhibisyonunun Sülfonil Hidrazon Bileşikleri ile İncelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 65-66.
- Buse, G. (2022). *Potential Anticancer Activity and Toxicity of Novel Triazole Compounds Containing 5- Fluorouracil Sugar Derivative*. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 41-47.
- Canakci D., Koyuncu, İ., Lolak, N., Durgun, M., Akocak S. and Supuran, C.T. (2019). Synthesis And Cytotoxic Activities of Novel Copper And Silver Complexes Of 1,3-Diaryltriazeno-Substituted Sulfonamides. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 34(1), 110-116.
- Channar, P.A. Alharthy, R.D., Ejaz, S.S., Saeed A. and İqbal, J. (2022). Synthesis, Biological Evaluation, and Molecular Dynamics of Carbothioamides Derivatives as Carbonic Anhydrase II and 15-Lipoxygenase Inhibitors. *Molecules*, 27(24), 877-890.
- Claudia, T., Cecchi, C., Scozzafava, A. and Supuran, C.T. (2008). Carbonic Anhydrase Inhibitors. Sulfonamide Diuretics Revisited Old Leads For New Applications? *Organic & Biomolecular Chemistry*, 6(14), 249-259.
- Collins, L.G., Haines, C., Perkel, R. And Enck, R. (2007). Lung Cancer, Diagnosis and Management. *Lung Cancer*, 75(1), 56-62.
- Çelik, E.S. (2022). *Bir Dizi Sülfonamido Benzoksazol Türevi Bileşiğın İn Vitro Antikanser Aktiviteleri ve Yapı - Aktivite İlişkilerinin Değerlendirilmesi*. Yüksek Lİsans Tezi, Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 14-19.
- Demir, D. (2013). *Karbonik Anhidraz İnhibitörleri Olarak Dioksoakridinin Azotlu Türevlerinin İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kütahya, 21-27.
- Dumitrescu, R. G. and Cotarla, I. (2005). Understanding Breast Cancer Risk - Where Do We Stand in 2005. *Journal of Cellular And Molecular Medicine*, 9(1), 208-221.
- Durgun, M., Türkeş, C., Işık, M., Demir, Y. and Saklı, A. (2020). Synthesis, Characterisation, Biological Evaluation and in Silico Studies of Sulphonamide Schiff Bases. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 35(1), 950-962.

- Efe, A. (2017). *İnsan Karbonik Anhidraz İzoenzimleri (CA I-II) Üzerine 4-Metilbenzensülfonamid Türevlerinin İnhibisyon Etkisinin İncelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ağrı, 33-36.
- Ekrek, S. (2022). *Antikanser Etki Göstermesi Olası Tiyazol ve Tiyadiazol İçeren Bileşiklerin Sentezi*. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 67-72.
- Elbadawi, M.M., Eldehna, W.M., Nocentini, A., Somaa, W.R., Al-Rashood, S.T., Elkaeed, E.B., El Hassab, M.A. Abdel-Aziz, H.A., Supuran, C.T. and Fares, M. (2022). Development of 4-((3-Oxo-3-Phenylpropyl) Amino) Benzenesulfonamide Derivatives Utilizing Tail/Dual-Tail Approaches As Novel Carbonic Anhydrase Inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 238, 114-412.
- El-Gabya, M.S.A., Ammar, Y.A., El-Qalieia, M.I.H., Alia, A.M., Husseina and M.F., Faraghally, F.A. (2020). Sulfonamides, Synthesis and the Recent Applications in Medicinal Chemistry. *Egyptian Journal of Chemistry*, 63(12), 5289-5327.
- Elmore, S. (2007). Apoptosis, A Review Of Programmed Cell Death. *Toxicol Pathol*, 35(4), 495-516.
- Erkekoğlu, P. ve Baydar, T. (2021). Güncel in Vitro Sitotoksikite Testleri. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, 1(1), 45-63.
- Ertunç, O. ve Burçin, T. (2022). Prostat Kanseri Moleküler Patogenezi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 29(4), 697-706.
- Erturan, S. (2016). Hangi Hastalarda Akciğer Kanserinden Şüphelenmeli. *Klinik Tıp Aile Hekimliği Dergisi*, 8(5), 36-37.
- Esranur, A. (2022). *Investigation of Anticancer Activities of Potentially Active Smallmolecule Drug Candidate Molecules*. Yüksek Lisans Tezi, Istanbul Medipol University Institute of Health Sciences, İstanbul, 26-29
- Geldmacher, D. S, and Whitehouse, P.J. (1997). Differential Diagnosis Of Alzheimer's Disease. *Neurology*, 48(6), 1-9.
- Ghorab, M.M., Ceruso M., Alsaid, M.S. Nissan, Y.M., Arafa, R.K. and Supuran, C.T. (2014). Novel Sulfonamides Bearing Pyrrole and Pyrrolopyrimidine Moieties as Carbonic Anhydrase Inhibitors, Synthesis, Cytotoxic Activity and Molecular Modeling. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 87, 186-96.
- Gilman, S. (1997). Alzheimer's Disease. *Perspectives in Biology and Medicine*, 40(2), 230-245.
- Golrokh, M. and Adeli, H. (2022). Machine Learning Techniques for Diagnosis of Alzheimer Disease, Mild Cognitive Disorder, and Other Types of Dementia. *Biomedical Signal Processing and Control*. 72, 103-293.
- Gümüş, G.S. (2017). *Potansiyel Anti-Alzheimer Heteroaromatik Hidrazit-Hidrazon Türevi Bileşikler Üzerinde Sentez ve Biyoaktivite Çalışmaları*. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 25-29

- Hoffman, R.M. (2011). Screening For Prostate Cancer. *New England Journal of Medicine*, 365(21), 201-319.
- Ilies, M.A., Vullo, D., Pastorek, J., Scozzafava, A., Ilies, M., Caproiu, M.T., Pastorekova, S. and Supuran, C.T. (2003). Carbonic Anhydrase Inhibitors. Inhibition of Tumor-Associated Isozyme IX By Halogenosulfanilamide and Halogenophenylaminobenzolamide Derivatives. *Journal of Medicinal Chemistry*, 46(11), 218-296.
- Ilkay, O., Kartal, M., Tosun, F. and Şener, B. (2007). Screening of Various Phenolic Acids and Flavonoid Derivatives for Their Anticholinesterase Potential. *Zeitschrift Für Naturforschung*, 62(11-12), 829-832.
- İlçim, C. (2022). *Asetilkolinesteraz İnhibitörü Olarak Yeni Şalkon Türevlerinin Sentezi ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları*. Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, 14-27.
- Jean, M., Sussman, J., Bon, S. and Silman, İ. (1993). Structure and Functions of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase. *Progress in Brain Research*, 139-146.
- Kalin, T.N., Kilic, D., Arslan, F., Colak, Ö. And Altundas, A. (2020). Synthesis, Molecular Modeling Studies, Adme Prediction of Arachidonic Acid Carbamate Derivatives and Evaluation of Their Acetylcholinesterase Activity. *Drug Development Research*, 81(2), 232-241.
- Karadağ, A. (2016). Otofaji, Programlı Hücre Ölümü. *Ankara Sağlık Hizmetleri Dergisi*, 15(2), 19-26.
- Karahalil, F.Y., Gümrükçüoğlu, N. And Aygül, İ. (2021). New Carbonic Anhydrase Inhibitors, Investigation of the Inhibition Effects of Some Synthesis Products on Human Carbonic Anhydrase-I. *Future Visions Journal*, 5(4), 44-49.
- Karakaya, S., Bingöl, Z., Gülçin, İ., Delimustafaoğlu, F., Duman, H. and Kılıç, C.S. (2021). Carbonic Anhydrase Isoenzymes I and II Inhibition Potentials of *Leiotulus Dasyanthus* (K. Koch) Pimenov&Ostr. and *Ferulago Pauciradiata* Boiss.&Heldr. (Apiaceae). *Bezmialem Science*, 9(2), 153-157.
- Karaman, N., Emre, E.E.O., Sıcak, Y., Catikkas, B., Iyidogan, A.K. and Ozturk, M. (2016). Microwave-Assisted Synthesis of New Sulfonyl Hydrazones, Screening of Biological Activities and Investigation of Structure–Activity Relationship. *Medicinal Chemistry Research*, 25(8), 1590-1607.
- Karaytuğ, M.O., Balcı, N., Türkan, F., Gürbüz, M., Demirkol, M.E. Namlı, Z., Tamam, L. and Gülçin, İ. 2023. Piperazine Derivatives with Potent Drug Moiety as Efficient Acetylcholinesterase, Butyrylcholinesterase and Glutathione S-Transferase Inhibitors. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 37(2), 232-259.

- Khanaposhtani, M.M., Mahdavi, M., Saeedi, M., Sabourian, R., Safavi, M., Khanavi, M., Foroumadi, A., Shafiee, A., and Akbarzadeh, T. (2015). Design, Synthesis, Biological Evaluation and Docking Study of Acetylcholinesterase Inhibitors, New Acridone-1,2,4-Oxadiazole-1,2,3-Triazole Hybrids. *Chemical Biology and Drug Design*, 86(6), 1425-1432.
- Koca, M. (2022). Synthesis and Cholinesterase Inhibitory Potentials of (5-Formylfuran-2-Yl) Methyl 3,4-Dimethoxy/Nitro Benzoates. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 12(3), 134-257.
- Koyuncu, E., Yaşar, A., Arslan, F. and Sari, N. (2019). Synthesis of Novel Schiff Base Derivatives of Tacrine and Investigation of Their Acetylcholinesterase Inhibition Potency. *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 38(1), 75.
- Küçükbaş, H., Gönül, Z., Küçükbaş, F., Tekin, Z., Angeli, A., Bartolucci, G., Supuran, C.T. Tatlıcı, E., Apohan, E. and Yeşilada, Ö. (2021). Synthesis of New 7-Amino-3,4-Dihydroquinolin-2(1 H)-One-Peptide Derivatives and Their Carbonic Anhydrase Enzyme Inhibition, Antioxidant and Cytotoxic Activities. *Archiv der Pharmazie-Chemistry in Life Sciences*, 354(11), 210-222.
- Küçükbaş, H., Parladi, F.M. and Küçükbaş, F.Z., Angeli, A., Bartolucci, G. and Supuran, C.T. (2021). Synthesis, Antioxidant and Carbonic Anhydrase Inhibitory Properties of Mono-peptide-Anthraquinone Conjugates. *Organic Communications*, 14(3), 255-269.
- Lehninger, A.L., Nelson, D.L. Cox, M.M. ve Elçin, Y.M. (2013). *Lehninger Biyokimyanın İlkeleri*. 5. Baskıdan Çeviri. Ankara, Palme Yayıncılık, 226-237.
- Li, J., Chang, H., Zhang, N., He, Y., Zhang, D., Liu, B. and Fang, Y., (2023). Recent Advances in Enzyme Inhibition Based-Electrochemical Biosensors for Pharmaceutical and Environmental Analysis. *Talanta*, 253, 124-130.
- Lleó, A., Greenberg, S.M. and Growdon, J.H. (2006). Current Pharmacotherapy for Alzheimer's Disease. *Annual Review of Medicine*, 57(1), 513-533.
- Lolak, N., Akocak, S., Bua, S., Koca, M. and Supuran, C.T. (2018). Design and Synthesis of Novel 1,3-Diaryltriazene-Substituted Sulfonamides as Potent and Selective Carbonic Anhydrase Ii Inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 77, 542-547.
- Lolak, N., Boga, M., Tuneg, M., Karakoc, G., Akocak, S. and Supuran, C.T. (2020). Sulphonamides Incorporating 1,3,5-Triazine Structural Motifs Show Antioxidant, Acetylcholinesterase, Butyrylcholinesterase and Tyrosinase Inhibitory Profile. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 35(1), 424-431.
- Mishra, C.B., Kumari, S., Angeli, A., Bua, S., Tiwari, M., and Supuran, C.T. 2018. Discovery of Benzenesulfonamide Derivatives as Carbonic Anhydrase Inhibitors with Effective Anticonvulsant Action, Design, Synthesis, and Pharmacological Evaluation. *Journal of Medicinal Chemistry*, 61(7), 3151-3165.
- Mondal, S. (2017). Sulfonamides. *Tetrahedron*, 73(17), 2504.

- Mustafa, M., JamalulAziz, A.R., IIIzam, E.L. Nazirah, A., Sharifa, A.M. and Abbas, S.A. (2016). Lung Cancer, Risk Factors, Management and Prognosis. *Iosr Journal of Dental and Medical Sciences*, 15(10), 94-101.
- Nabih, L., Akocak, S., Bua, S. and Supuran, C.T. (2019). Design, Synthesis and Biological Evaluation of Novel Ureido Benzenesulfonamides Incorporating 1,3,5-Triazine Moieties as Potent Carbonic Anhydrase Ix Inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 82, 117-122.
- Onur, S.B. ve Koç, E.B. (2022). Synthesis of Novel Oxadiazole Derivatives and Their Cytotoxic Activity Against Various Cancer Cell Lines. *Turkish Journal Of Chemistry*, 46(4), 1089-1096.
- Onyılmaz, M., Koca, M., Bonardic, A., Degirmenci, M. and Supuran, C.T. (2022). Isocoumarins, A New Class of Selective Carbonic Anhydrase IX and XII Inhibitors *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 37(1), 743-748.
- Osmaniye, D., Sağlık, N.B., Çevik, U.A., Levent, S., Çavuşoğlu, B.K., Özkay, Y., Kaplancıklı, Z.A. and Turan, G. (2019). Synthesis and Ache Inhibitory Activity of Novel Thiazolylhydrazone Derivatives. *Molecules*, 24(13), 239-242.
- Özdemir, Ü.Ö., Altuntaş, A., Gündüzalp, A.B., Arslan, F. and Hamurcu, F. (2014). New Aromatic/Heteroaromatic Propanesulfonylhydrazone Compounds, Synthesis, Physical Properties and Inhibition Studies Against Carbonic Anhydrase II (CaII) Enzyme. *Spectrochimica Acta Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 128, 452-460.
- Öztad, E. 2020. Meme Kanseri Tespitinde Sınıflandırma ve Sinir Ağları Yöntemlerinin Karşılaştırılması. *İleri Mühendislik Çalışmaları ve Teknolojileri Dergisi*, 1(1), 49-54.
- Pedrood, K., Taayoshi, F., Moazzam, A., Iraj, A., Yavari, A., Ansari, S., Sajjadi-Jazi, S.M., Mohajeri-Tehrani, M.R. Garmsiri, N., Haghpanah, V., Soleymanibadi, M., Larijani, B., Hamedifar, H., Adibpour, N. and Mahdavi, M. (2023). Design, Synthesis and Cytotoxic Evaluation of Quinazoline Derivatives Bearing Triazole-Acetamides. *Heliyon*, 9(2), 135-228.
- Pınar, G. (2021). Effects of 4-Ethyl Resorcinol and 5-Methylresorcinol on Human Carbonic Anhydrase-I and Molecular Docking Study. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 11(2), 1385-1392.
- Pratibha, M., Parravicini, O., Stepánková, S., Svrcková, K., Garro, A.D., Jendzejewska, J., Pauk, K., Hošek, J., Jampilek, J., Enriz, R.D. and Imramovský, A. (2021). Novel Sulfonamide-Based Carbamates as Selective Inhibitors of Bche. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(17), 9447.
- Sağlık, B.N., Ilgın, S. and Özkay, Y. (2016). Synthesis of New Donepezil Analogues and Investigation of Their Effects on Cholinesterase Enzymes. *European Journal Of Medicinal Chemistry*, 124, 1026-1040.
- Samali, A., Zhivotovsky, B. and Orrenius, S. (1999). Current Concepts in Cell Toxicity. *Current Protocols in Toxicology*, 1(4), 55-60.

- Stevenson-Hoare, J., Schalkamp, A.K., Sandor, C., Hardy, J. and Escott-Price, V. (2023). New Cases of Dementia are Rising in Elderly Populations in Wales, Uk. *Journal of the Neurological Sciences*, 451, 120-215.
- Stewart, S.L. (2004). Cancer Mortality Surveillance — United States, 1990–2000. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, (53)3, 1-5.
- Sugimoto, H., Ogura, H., Arai, Y., Iimura, Y. and Yamanishi, Y. (2002). Research and Development of Donepezil Hydrochloride, A New Type of Acetylcholinesterase Inhibitor. *Japanese Journal of Pharmacology*, 89(1),7-20.
- Supuran, C.T. (2008). Carbonic Anhydrases, Novel Therapeutic Applications for Inhibitors and Activators. *Nature Reviews Drug Discovery*, 7(2), 168-181.
- Supuran, C.T. (2010). Carbonic Anhydrase Inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 20(12), 3467-3474.
- Şakıyan, İ., Aynacı, Koyuncu, E.A., Arslan, F., Ögütçü, H. and Sarı, N. (2015). Some Novel Antimicrobial Therapeutic Agents for Acetylcholinesterase Inhibitors; Synthesis of Hydroxyquinoline Ester Involving Amino Acid. *Gazi University Journal of Science*, 28(1),11-19.
- Şimşek, Ö. (1989). *Klinigimizde Uygulanmakta Olan Prostatektomi Yöntemleri Arasında Karşılaştırmalı Bir Çalışma*. Uzmanlık Tezi, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Erzurum, 56-59.
- Tekeli, T., Akocak, S., Petreni, A., Lolak, N., Çete, S. and Supuran, C.T. (2023). Potent Carbonic Anhydrase I, II, IX and XII Inhibition Activity of Novel Primary Benzenesulfonamides Incorporating Bis-Ureido Moieties. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 38(1), 2185.
- Tekeli, Y., Lolak, N., Sonmez, G.D., Tekeli, T. and Akocak, S. (2022). Antibacterial, Antioxidant and Dna Cleavage Activity Evaluation of Substituted Phenylureido Sulfaguanidine and Sulfamethazine Derivatives. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 56(3), 345-349.
- Terzi, E. (2021). *Renal Kanser Hücre Hattında (Caki-2) Karbonik Anhidraz-Ix Enzim İnhibisyonunun Mtor Proteini Üzerine Etkilerinin Araştırılması*. Doktora tezi, Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 75-77.
- Topal, F., Gulcin, İ., Dastan, A. and Guney, M. (2017). Novel Eugenol Derivatives, Potent Acetylcholinesterase and Carbonic Anhydrase Inhibitors. *International Journal of Biological Macromolecules*, 94, 845-851.
- Truppo, E., Supuran, C.T., Sandomenico, A., Vullo, D., Innocenti, A., Di Fiore, A., Alterio, V., Simone, G. and Monti, S.M. (2012). Carbonic Anhydrase VII Is S-Glutathionylated Without Loss Of Catalytic Activity and Affinity for Sulfonamide Inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 22(4), 1560-1564.
- Tuğba, C. (2019). *Yeni Sentezlenen Kumarin Türevi ve Benzeri Bileşiklerin Asetilkolinesteraz ve Bütilkolinesteraz Aktivitesi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 48-51

- Tuluçe, Y., Gorgısen, G., Gulacar, İ.M., Koyuncu, İ., Durgun, M., Akocak, S., Ozkol, H. and Kaya, Z. (2018). Antiproliferative and Apoptotic Role of Novel Synthesized Cu(I) Complex with 3-(3-(4-Fluorophenyl)Triaz-1-En-1-Yl) Benzenesulfonamide in Common Cancer Models. *Anticancer Research*, 38(9), 5115-5120.
- Uğurlu, E. (2012). *Karbonik Anhidrazın İnhibisyonu*. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 15-30.
- Wu, J., Yu, L., Yang, F., Li, J., Wang, P., Zhou, W., Qin, L., Li, Y., Luo, J., Yi, Z., Liu, M and Chen, Y. (2014). Optimization of 2-(3-(Arylkyl Amino Carbonyl) Phenyl)-3-(2-Methoxyphenyl)-4-Thiazolidinone Derivatives as Potent Antitumor Growth and Metastasis Agents. *European Journal Of Medicinal Chemistry*, 80, 340-351.
- Yildirim, N. K. (2009). Meme Kanserli Hastaların Tedavi Öncesi ve Sonrası Anksiyete, Depresyon ve Yaşam Kalitesi, Bir Yıllık Prospektif Değerlendirme Sonuçları. *Archives of Neuropsychiatry*, 46: 175-181.
- Yüncü, N.Ş. (2023). *The Effect of Indolin-2-One Derivatives on Breast Cancer*. Master Of Science, Gebze Technical University Graduate School Of Natural And Applied Sciences, Gebze, 68-71.



Gazili olmak ayrıcalıktır