



**SÜLFO GRUBU İÇEREN YENİ HİBRİT BİLEŞİKLERİN SENTEZLENMESİ, IN
VİTRO ÇALIŞMALARLA ANTİMİKROBİYAL, ANTİKANSER VE
KOLİNESTERAZ ENZİM İNHİBİSYON AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ VE
TEORİK HESAPLAMALARLA DESTEKLENMESİ**

Nurana İBRAHİMOVA

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

HAZİRAN 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.

Nurana IBRAHIMOVA

13/06/2024

SÜLFO GRUBU İÇEREN YENİ HİBRİT BİLEŞİKLERİN SENTEZLENMESİ, IN
VİTRO ÇALIŞMALARLA ANTİMİKROBİYAL, ANTİKANSER VE KOLİNESTERAZ
ENZİM İNHİBİSYON AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ VE TEORİK
HESAPLAMALARLA DESTEKLENMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Nurana İBRAHİMOVA

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Haziran 2024

ÖZET

Bu tez çalışmasında, Sülfametoksazol, Sülfizoksazol, Sülfametazin ve Sülfapiridin gibi sülfonamid grubu içeren bileşiklerin aromatik aldehitlerle tepkimesi sonucu yeni inhibitörler sentezlenmiş ve bazı biyolojik özellikleri incelenmiştir. Çalışma dört aşamalı olarak tasarlanmıştır. İlk aşamada önemli farmakolojik özelliğe sahip olduğu düşünülen bir seri sülfonamid yapıları inhibitör sentezlenmiştir. İkinci aşamada, inhibitörlerin Kolinesteraz (asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz) enzim aktiviteleri üzerine inhibisyon etkileri incelenmiştir. Üçüncü aşamada, inhibitörlerin sitotoksik aktiviteleri ile antimikrobiyal özellikleri belirlenmiştir. Son aşamada ise sentezlenen sülfonamid grubu içeren inhibitörlerin molekül modelleme çalışmaları yapılmış ve ayrıca HOMO ve LUMO enerji profilleri incelenmiştir. Teorik çalışmalarda, Gaussian 09 paket programı kullanılarak DFT/B3LYP/6-31+G (d,p) temel seti ile yeni sülfonamid ilaç adaylarının optimize yapıları belirlenmiştir. Elde edilen en düşük enerjili ve kararlı konformasyonların sınır moleküler orbitalleri (FMOs: HOMO ve LUMO), kimyasal reaktivite parametreleri ve moleküler elektrostatik potansiyel (MEP) haritaları incelenmiştir. Sentezlenen inhibitörlerin yapıları, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, LC-MS ve FT-IR yöntemleriyle karakterize edilmiştir. Sonra inhibitörlerin asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz enzimleri üzerine olan IC₅₀ ve K_i değerleri hesaplanarak inhibisyon türleri belirlenmiştir. Bu değerler kıyaslandığında en iyi sonuçlar AChE enzimi için L8 inhibitörü (IC₅₀ = 3,16±0,45 µM), BChE enzimi için ise L10 (IC₅₀ = 1,85±1,04 µM) olarak bulunmuştur. Daha sonra inhibitörlerin MTT (3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromürün) yöntemi ile Caco-2 insan kolon kanseri, MCF-7 insan meme kanseri ve SH-SY5Y insan nöroblastoma hattı üzerine antikanser aktivitesi belirlenmiş ve antikanser aktivite sonuçları elde edilmiştir. İnhibitörlerin kanserli doku hücreleri üzerine gösterdikleri aktivite dikkate alındığında ve Doxorubicin ile kıyaslandığında her üç kanserli doku hücresi üzerine en iyi aktivite L5 için gözlenmiştir. Bu değerler 24 saatlik inkübasyon sonunda Caco-2, MCF-7 ve SH-SY5Y için sırasıyla 25, 28 ve 25 µM olarak bulunmuştur. Bu değerler Doxorubicin için ise sırasıyla 12,17 ve 15 µM'dır. Değerler dikkate alındığında standart madde Doxorubicin'e karşı inhibitör L5'in iyi aktivite gösterdiği söylenebilir. Son olarak inhibitörlerin çeşitli bakteri (Staphylococcus aureus ATCC 29213, Staphylococcus epidermidis ATCC 35984, Escherichia coli ATCC 25922, Pseudomonas aeruginosa ATCC 22853) ve maya suşları (Candida albicans ATCC 10231, Candida parapsilosis ATCC 22019, Candida auris CDC B11903) üzerinde antimikrobiyal aktiviteleri in vitro olarak değerlendirilmiştir.

Bilim Kodu : 20104

Anahtar Kelimeler : Sülfonamidler, Kolinesteraz enzimleri, IC₅₀, antikanser aktivite, moleküler docking, teorik hesaplamalar, antimikrobiyal aktivite.

Sayfa Adedi : 157

Danışman : Prof. Dr. Servet ÇETE

SYNTHESIS OF NEW HYBRID COMPOUNDS CONTAINING SULFO GROUP,
INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL, ANTICANCER AND CHOLINESTERASE
ENZYME INHIBITION ACTIVITIES WITH IN VITRO STUDIES AND SUPPORTING
WITH THEORETICAL CALCULATIONS

(M. Sc. Thesis)

Nurana IBRAHIMOVA

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

June 2024

ABSTRACT

In this thesis study, new inhibitors were synthesized as a result of the reaction of compounds containing sulfonamide groups such as Sulfamethoxazole, Sulfisoxazole, Sulfamethazine and Sulfapyridine with aromatic aldehydes and some of their biological properties were examined. The study was designed in four stages. In the first stage, a series of sulfonamide inhibitors, which are thought to have important pharmacological properties, were synthesized. In the second stage, the inhibition effects of inhibitors on Cholinesterase (acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase) enzyme activities were examined. In the third stage, the cytotoxic activities and antimicrobial properties of the inhibitors were determined. In the last stage, molecular modeling studies of the synthesized sulfonamide group-containing inhibitors were carried out and HOMO and LUMO energy profiles were also examined. In theoretical studies, optimized structures of new sulfa drug candidates were determined with the DFT/B3LYP/6-31+G(d,p) basis set using the Gaussian 09 package program. Frontier molecular orbitals (FMOs: HOMO and LUMO), chemical reactivity parameters and molecular electrostatic potential (MEP) maps of the lowest energy and stable conformations obtained were examined. The structures of the synthesized inhibitors were characterized by ¹H-NMR, ¹³C-NMR, LC-MS and FT-IR methods. Then, the types of inhibition were determined by calculating the IC₅₀ and K_i values of the inhibitors on the acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase enzymes. When these values were compared, the best results were found to be L8 (IC₅₀=3.16±0.45 μM) for the AChE enzyme and L10 (IC₅₀=1.85±1.04 μM) for the BChE enzyme. Then, the inhibitors were used to produce anticancer effects on Caco-2 human colon cancer, MCF-7 human breast cancer and SH-SY5Y human neuroblastoma line by the MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) method. Activity was determined and anticancer activity results were obtained. Considering the activity of the inhibitors on cancerous tissue cells and compared to Doxorubicin, the best activity on all three cancerous tissue cells was observed for L5. These values were found to be 25, 28 and 25 μM for Caco-2, MCF-7 and SH-SY5Y, respectively, after 24 hours of incubation. These values for Doxorubicin are 12, 17 and 15 μM, respectively. Considering the values, it can be said that inhibitor L5 shows good activity against the standard substance Doxorubicin. Finally, inhibitors are effective against various bacteria (Staphylococcus aureus ATCC 29213, Staphylococcus epidermidis ATCC 35984, Escherichia coli ATCC 25922, Pseudomonas aeruginosa ATCC 22853) and yeast strains (Candida albicans ATCC 10231, Candida parapsilosis ATCC 22019, Candida auris CDC B11 903) in vitro.

Science Code : 20104

Key Words : Sulfa drugs, Cholinesterase enzymes, IC₅₀, antimicrobial activity, anticancer activity, molecular docking, theoretical calculations

Page Number : 157

Supervisor : Prof. Dr. Servet CETE

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans çalışmalarım boyunca sağladığı değerli yardım ve destekleri ile beni yönlendiren sayın danışman hocam Prof. Dr. Servet ÇETE'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Hem laboratuvar hem teorik bilgilerini herdaim benimle paylaşan, her konuda desteğini gördüğüm ve üzerimde çok büyük emeği ve katkısı olan, sevgili hocam Prof. Dr. Ümmühan ÖZDEMİR ÖZMEN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Teorik çalışmalarda değerli katkılarından dolayı sayın hocalarım Prof.Dr. Ayla BALABAN GÜNDÜZALP ve Prof. Dr. Ebru AKTAN'a, moleküler kenetlenme (docking) çalışmalarında ise yardımlarından dolayı Dr. Öğr. Üyesi Nuri YORULMAZ'a teşekkürlerimi sunarım. Antimikrobiyal ve antikanser aktivite çalışmalarında değerli yardımlarından dolayı sayın hocamlarım Doç.Dr.Ali ÖZTÜRK'e ve Doç.Dr. Işıl AYDEMİR'e sonsuz teşekkürlerimi bildiririm. Laboratuvar çalışmalarına yardımlarından dolayı sayın Arş. Gör. Deniz AKIN ANAKÖK'e teşekkürlerimi sunarım. Tüm hayatım boyunca beni destekleyen ve bugünlere gelmemi sağlayan KOCAMAN AİLEM'e özellikle eğitim almamda her daim beni destekleyen canım ANAM'a sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım. Hayatımın bu kadar güzel ve zorlu sürecinde bana eşlik eden, her zaman benim yanımda olan ve beni destekleyen sevgili eşim İsmayil İBRAHİMOV'a ve hayattaki en değerli varlığım, bir gülüşü ile her zaman yoluma ışık olan canım kızım İpek İBRAHİMOVA'ya sonsuz teşekkürlerimi bildiririm.

*Bu tez çalışması FGA-2024-9117 nolu BAP projesi ile Gazi Üniversitesi tarafından desteklenmiştir ve bu desteğinden dolayı Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xxi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Sülfonamitler.....	5
2.1.1. Sülfonamitlerin etki mekanizması	6
2.1.2. Sülf ilaçlarının uygulama alanları.....	8
2.2. Enzimler Hakkında Genel Bilgiler	9
2.2.1. Farmasötik kimyada enzim inhibisyonunun önemi	10
2.2.2. Enzim kinetiği.....	11
2.3. Alzheimer Hastalığı (AH)	13
2.3.1. Alzheimer hastalığının risk faktörleri.....	13
2.3.2. Patofizyolojisi	13
2.3.3. Kolinergik hipotez	13
2.3.4. Amiloid hipotez	14
2.3.5. Nörodejeneratif taupatiler.....	14
2.3.6. Oksidatif stres hipotezi	14
2.3.7. Alzheimer hastalığının tedavisi	15
2.4. Kolinesteraz Enzimleri.....	15

	Sayfa
2.5. Kanser	17
2.6. Moleküler Kenetlenme (Docking)	17
2.7. Teorik Hesaplamalar	18
2.8. Literatür Çalışmaları	19
3. ARAÇ-GEREÇ VE DENEYSEL YÖNTEMLER	29
3.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasal Maddeler	29
3.2. Analizlerde Kullanılan Cihazlar	29
3.3. Deneysel Yöntemler	30
3.3.1. Sülfametoksazol-9-antrasenkarboksialdehit (L1)	31
3.3.2. Sülfametoksazol-4-metoksisinnamaldehit (L2)	32
3.3.3. Sülfametoksazol-2-hidroksi-5-metoksibenzaldehit (L3)	32
3.3.4. Sülfizoksazol-9-antrasenkarboksilaldehit (L4)	33
3.3.5. Sülfizoksazol-4-metoksisinnamaldehit (L5)	33
3.3.6. Sülfizoksazol-2-hidroksi-5-metoksibenzaldehit (L6)	34
3.3.7. Sülfametazin-9-antrasenkarboksialdehit (L7)	34
3.3.8. Sülfametazin-4-metoksisinnamaldehit (L8)	35
3.3.9. Sülfametazin-2-hidroksi-5-metoksibenzaldehit (L9)	36
3.3.10. Sülfapiridin-9-antrasenkarboksialdehit (L10)	36
3.3.11. Sülfapiridin-4-metoksisinnamaldehit (L11)	37
3.3.12. Sülfapiridin-2-hidroksi-5-metoksibenzaldehit (L12)	37
3.4. Kolinesteraz (AChE ve BChE) Enzimlerinin İnhibisyon Çalışması	38
3.4.1. Asetilkolinesteraz enzim aktivite ölçümleri için gerekli olan çözeltiler ..	38
3.4.2. Bütirilkolinesteraz enzim aktivite ölçümleri için gerekli olan çözeltiler .	39
3.5. Kolinesteraz Enzimlerinin İnhibisyon Çalışma Yöntemi	39
3.6. In vitro Biyolojik Aktivite Testleri	40
3.6.1. İnhibitörlerin antimikrobiyal aktivitelerinin tayini	40

	Sayfa
3.6.2. İnhibitörlerin antikanser aktivite tayini	41
3.6.3. Teorik hesaplamalar	42
3.7. Moleküler Kenetlenme (Docking) Çalışmaları	42
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI	45
4.1. İnhibitörlerin Yapı Tayini	45
4.1.1. Sülfametoksazol-9-antrasenkarboksialdehit (L1).....	45
4.1.2. Sülfametoksazol-4-metoksisinnamaldehit (L2).....	48
4.1.3. Sülfametoksazol-2-hidroksi-5-metoksibenzaldehit (L3).....	51
4.1.4. Sülfizoksazol-9-antrasenkarboksialdehit (L4).....	54
4.1.5. Sülfizoksazol-4-metoksisinnamaldehit (L5).....	56
4.1.6. Sülfizoksazol-2-hidroksi-5-metoksibenzaldehit (L6).....	59
4.1.7. Sülfametazin-9-antrasenkarboksialdehit (L7)	62
4.1.8. Sülfametazin-4-metoksisinnamaldehit (L8)	65
4.1.9. Sülfametazin-2-hidroksi-5-metoksibenzaldehit (L9)	68
4.1.10. Sülfapiridin-9-antrasenkarboksialdehit (L10)	71
4.1.11. Sülfapiridin-4-metoksisinnamaldehit (L11)	74
4.1.12. Sülfapiridin-2-hidroksi-5-metoksibenzaldehit (L12)	77
4.2. Sentezlenen İnhibitörlerin Kolinesteraz (AChE ve BChE) Enzim Aktivite Sonuçları.....	81
4.2.1. AChE enzim inhibisyon sonuçları.....	81
4.2.2. BChE enzim inhibisyon sonuçları:	89
4.3. İnhibitörlerin <i>In Vitro</i> Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları.....	96
4.4. İnhibitörlerin Antikanser Aktivite Sonuçları	102
5. HESAPLAMALI YÖNTEMLER.....	107
5.1. İnhibitörlerin Geometri Optimizasyonları.....	107
5.2. İnhibitörlerin Sınır Moleküler Orbitaleri (FMO'lar) ve Global Reaktivite Parametreleri.....	108

	Sayfa
5.3. Moleküler Elektrostatik Potansiyel (MEP)Yüzey Haritası	115
5.4. İnhibitörlerin Moleküler Kenetlenme (Docking) Sonuçları.....	119
5.4.1. İnhibitörlerin AChE enzimi üzerinde moleküler kenetlenme (docking) sonuçları	121
5.4.2. İnhibitörlerin BChE enzimi üzerinde moleküler kenetlenme (docking) sonuçları	132
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	145
KAYNAKLAR	151
ÖZGEÇMİŞ	157

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Deney sırasında kullanılan kimyasal maddelerin adları, saflık dereceleri ve temin edildiği firmalar.....	29
Çizelge 3.2. Sentezlenen inhibitörlerin molekül yapıları.....	31
Çizelge 3.3. Asetilkolinesteraz ve Bütirikolinesteraz aktivite ölçümü yöntem tablosu	40
Çizelge 4.1. Sentezlenen inhibitörlerin molekül kütlesi ve erime noktaları	80
Çizelge 4.2. İnhibitörlerin Asetilkolinesteraz enzimi üzerine gösterdikleri inhibisyon etkileri sonunda hesaplanan K_i ve IC_{50} değerleri çizelgesi	96
Çizelge 4.3. İnhibitörlerin Bütirikolinesteraz enzimi üzerine gösterdikleri inhibisyon etkileri sonunda hesaplanan K_i ve IC_{50} değerleri çizelgesi.....	96
Çizelge 4.4. İnhibitörlerin bakteri türü üzerine olan MİK değerleri (mg/mL)	97
Çizelge 4.5. İnhibitörlerin maya türü üzerine olan MİK değerleri (mg/mL).....	97
Çizelge 4.6. İnhibitörlerin antikanser aktivite sonuçları.....	103
Çizelge 5.1. İnhibitörlerin B3LYP/6-31+G (d,p) yöntemiyle elde edilen sınır moleküler orbitallerinin enerjileri, band aralığı (ΔE) ve global reaktivlik parametreleri.	109
Çizelge 5.2. Grid Parametreleri	119
Çizelge 5.3. İnhibitörlerin AChE (4ey7) proteini ile kenetlenme (docking) çalışmaları sonucu.....	120
Çizelge 5.4. İnhibitörlerin BChE (4bds) proteini ile kenetlenme (docking) çalışmaları sonucu.....	121

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Prontosilin canlılarda parçalanma tepkimesi sonunda Sülfanilamid oluşumu.....	5
Şekil 2.2. Sülfonamitlerin genel molekül yapısı.....	6
Şekil 2.3. Sülfonamitlerin a) primer, b) sekonder ve c) tersiyer yapısı görülmektedir...	6
Şekil 2.4. Folik asit'in molekül yapısı	7
Şekil 2.5. Sülfonamitlerin ve PABA'nın molekül yapısı.....	7
Şekil 2.6. Sülfonamitlerin etki mekanizması	8
Şekil 2.7. Enzim-Substrat etkileşimi.....	9
Şekil 2.8. (a) Anahtar-kilit modeli, (b) İndüklenmiş uyum modeli	10
Şekil 2.9. E-Enzim, S-Substrat, ES- Enzim-Substrat kompleksi ve P-Ürünü ifade eder.....	11
Şekil 2.10. V-Hız, V_{max} - Tepkimenin maksimum hız değeri (Michaelis-Menten sabiti), (S)-Substrat derişimi	12
Şekil 2.11. Lineweaver-Burk grafiğı (Roskoski, 2015).....	12
Şekil 2.12. AChE inhibitörleri	15
Şekil 2.14. AChE enziminin aktif merkezinin amino asit profili	16
Şekil 2.15. BChE enziminin aktif merkezinin amino asit profili.....	17
Şekil 2.16. A-ligand, B-Reseptör, C- Ligand ve reseptörün bağlanması, D- molekül arası etkileşimin olması	18
Şekil 2.17. Ligandların sentez basamakları	19
Şekil 2.18. Sülfonil hidrazon serisinin iki aşamada ve tek kap yöntemiyle hazırlanması	20
Şekil 2.19. Alkil Sülfonik asit hidrazitlerin Ag(I) iyonu ile sentez reaksiyonu ve molekül yapıları	21
Şekil 2.20. MM131 ligandının sentez aşamaları ve molekül yapısı	23
Şekil 2.21. Akridin turuncu andetidyum brömür ile boyanmış MM131 ligandı ve 5-floroasilin A) DLD-1 B) HT-29 kanser hücrelerinin morfolojik özgülüğünün görselleştirilmiş hali.	23

Şekil	Sayfa
Şekil 2.22. a) Pd(II) b) Pt(II) komplekslerinin optimize yapıları	25
Şekil 3.1. L1'in sentez yöntemi	31
Şekil 3.2. L2'nin sentez yöntemi	32
Şekil 3.3. L3'nin sentez yöntemi	33
Şekil 3.4. L4'nin sentez yöntemi	33
Şekil 3.5. L5'nin sentez yöntemi	34
Şekil 3.6. L6'nın sentez yöntemi	34
Şekil 3.7. L7'nin sentez yöntemi	35
Şekil 3.8. L8'in sentez yöntemi	35
Şekil 3.9. L9'un sentez yöntemi	36
Şekil 3.10. L10'nun sentez yöntemi	37
Şekil 3.11. L11'in sentez yöntemi	37
Şekil 3.12. L12'nin sentez yöntemi	38
Şekil 3.13. Elmann tepkimesinin mekanizması	40
Şekil 4.1. L1 inhibitörünün FT-IR spektrumu	45
Şekil 4.2. L1 inhibitörünün ¹ H-NMR spektrumu.....	46
Şekil 4.3. L1 inhibitörünün ¹³ C-NMR spektrumu	47
Şekil 4.4. L1 inhibitörünün LC-MS spektrumu	47
Şekil 4.5. L2 inhibitörünün FT-IR spektrumu	48
Şekil 4.6. L2 inhibitörünün ¹ H-NMR spektrumu.....	49
Şekil 4.7. L2 inhibitörünün ¹³ C-NMR spektrumu	50
Şekil 4.8. L2 inhibitörünün LC-MS spektrumu	50
Şekil 4.9. L3 inhibitörünün FT-IR spektrumu	51
Şekil 4.10. L3 inhibitörünün ¹ H-NMR spektrumu.....	52
Şekil 4.11. L3 inhibitörünün ¹³ C-NMR spektrumu	53
Şekil 4.12. L3 inhibitörünün LC-MS spektrumu	53

Şekil	Sayfa
Şekil 4.13. L4 inhibitörünün FT-IR spektrumu	54
Şekil 4.14. L4 inhibitörünün ^1H -NMR spektrumu.....	55
Şekil 4.15. L4 inhibitörünün ^{13}C -NMR spektrumu	55
Şekil 4.16. L4 inhibitörünün LC-MS spektrumu	56
Şekil 4.17. L5 inhibitörünün FT-IR spektrumu	57
Şekil 4.18. L5 inhibitörünün ^1H -NMR spektrumu.....	57
Şekil 4.19. L5 inhibitörünün ^{13}C -NMR spektrumu	58
Şekil 4.20. L5 inhibitörünün LC-MS spektrumu	59
Şekil 4.21. L6 inhibitörünün FT-IR spektrumu	60
Şekil 4.22. L6 inhibitörünün ^1H -NMR spektrumu.....	60
Şekil 4.23. L6 inhibitörünün ^{13}C -APT spektrumu	61
Şekil 4.24. L6 inhibitörünün LC-MS spektrumu	62
Şekil 4.25. L7 inhibitörünün FT-IR spektrumu	63
Şekil 4.26. L7 inhibitörünün ^1H -NMR spektrumu.....	63
Şekil 4.27. L7 inhibitörünün ^{13}C -NMR spektrumu	64
Şekil 4.28. L7 inhibitörünün LC-MS spektrumu	65
Şekil 4.29. L8 inhibitörünün FT-IR spektrumu	66
Şekil 4.30. L8 inhibitörünün ^1H -NMR spektrumu.....	66
Şekil 4.31. L8 inhibitörünün ^{13}C -NMR spektrumu	67
Şekil 4.33. L9 inhibitörünün FT-IR spektrumu	69
Şekil 4.34. L9 inhibitörünün ^1H -NMR spektrumu.....	69
Şekil 4.35. L9 inhibitörünün ^{13}C -NMR spektrumu	70
Şekil 4.36. L9 inhibitörünün LC-MS spektrumu	71
Şekil 4.37. L10 inhibitörünün FT-IR spektrumu	72
Şekil 4.38. L10 inhibitörünün ^1H -NMR spektrumu.....	72
Şekil 4.39. L10 inhibitörünün ^{13}C -NMR spektrumu	73

Şekil	Sayfa
Şekil 4.40. L10 inhibitörünün LC-MS spektrumu	74
Şekil 4.41. L11 inhibitörünün FT-IR spektrumu	75
Şekil 4.42. L11 inhibitörünün ^1H -NMR spektrumu.....	75
Şekil 4.43. L11 inhibitörünün ^{13}C -NMR spektrumu	76
Şekil 4.44. L11 inhibitörünün LC-MS spektrumu	77
Şekil 4.45. L12 inhibitörünün FT-IR spektrumu	78
Şekil 4.46. L12 inhibitörünün ^1H -NMR spektrumu.....	78
Şekil 4.47. L12 inhibitörünün ^{13}C -NMR spektrumu	79
Şekil 4.48. L12 inhibitörünün LC-MS spektrumu	80
Şekil 4.49. (a) L1 inhibitörünün Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.	81
Şekil 4.50. (a) L2 inhibitörünün Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.	82
Şekil 4.51. (a) L3 inhibitörünün Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.	82
Şekil 4.52. (a) L4 inhibitörünün Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.	83
Şekil 4.53. (a) L5 inhibitörünün Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.	83
Şekil 4.54. (a) L6 inhibitörünün Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.	84

Şekil	Sayfa
Şekil 4.55. (a) L7 inhibitörünün Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.	84
Şekil 4.56. (a) L8 inhibitörünün Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.	85
Şekil 4.57. (a) L9 inhibitörünün Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.	86
Şekil 4.58. (a) L10 inhibitörünün Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.	86
Şekil 4.59. (a) L11 inhibitörünün Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.	87
Şekil 4.60. (a) L12 inhibitörünün Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.	88
Şekil 4.61. (a) Donepezil standart etken maddesinin Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı	88
Şekil 4.62. (a) L1 inhibitörünün Bütirilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı	89
Şekil 4.63. (a) L2 inhibitörünün Bütirilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı	90
Şekil 4.64. (a) L3 inhibitörünün Bütirilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı	90

Şekil	Sayfa
Şekil 4.65. (a) L4 inhibitörünün Bütirilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı	91
Şekil 4.66. (a) L5 inhibitörünün Bütirilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı	91
Şekil 4.67. (a) L6 inhibitörünün Bütirilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı	92
Şekil 4.68. (a) L7 inhibitörünün Bütirilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı	92
Şekil 4.69. (a) L8 inhibitörünün Bütirilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı	93
Şekil 4.70. (a) L9 inhibitörünün Bütirilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı	93
Şekil 4.71. (a) L10 inhibitörünün Bütirilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı	94
Şekil 4.72. (a) L11 inhibitörünün Bütirilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı	94
Şekil 4.73. (a) L12 inhibitörünün Bütirilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı	95
Şekil 4.74. (a) Donepezil standart etken maddesinin Bütirilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı	95

Şekil	Sayfa
Şekil 4.75. L1 inhibitörünün a) antibakteriyal b) antifungal aktivite grafiği.....	98
Şekil 4.76. L2 inhibitörünün a) antibakteriyal b) antifungal aktivite grafiği.....	98
Şekil 4.77. L3 inhibitörünün a) antibakteriyal b) antifungal aktivite grafiği.....	98
Şekil 4.81. L7 inhibitörünün a) antibakteriyal b) antifungal aktivite grafiği.....	100
Şekil 4.82. L8 inhibitörünün a) antibakteriyal b) antifungal aktivite grafiği.....	101
Şekil 4.83. L9 inhibitörünün a) antibakteriyal b) antifungal aktivite grafiği.....	101
Şekil 4.84. L10 inhibitörünün a) antibakteriyal b) antifungal aktivite grafiği.....	101
Şekil 4.85. L11 inhibitörünün a) antibakteriyal b) antifungal aktivite grafiği.....	102
Şekil 4.86. L12 inhibitörünün a) antibakteriyal b) antifungal aktivite grafiği.....	102
Şekil 4.87. Sentezlenen inhibitörlerin kolon kanser (Caco-2) hücrelerinde hücre canlılığına etkisi	104
Şekil 4.88. Sentezlenen inhibitörlerin meme kanser (MCF-7) hücrelerinde hücre canlılığına etkisi	105
Şekil 4.89. Sentezlenen inhibitörlerin nöroblastoma kanser (SH-SY5Y) hücrelerinde hücre canlılığına etkisi	106
Şekil 5.1. İnhibitörlerin optimize edilmiş 3D yapıları	107
Şekil 5.2. L1 inhibitörünün HOMO, LUMO orbital şekilleri ve (ΔE) değeri	109
Şekil 5.3. L2 inhibitörünün HOMO, LUMO orbital şekilleri ve (ΔE) değeri	110
Şekil 5.4. L3 inhibitörünün HOMO, LUMO orbital şekilleri ve (ΔE) değeri	110
Şekil 5.5. L4 inhibitörünün HOMO, LUMO orbital şekilleri ve (ΔE) değeri	111
Şekil 5.6. L5 inhibitörünün HOMO, LUMO orbital şekilleri ve (ΔE) değeri	111
Şekil 5.7. L6 inhibitörünün HOMO, LUMO orbital şekilleri ve (ΔE) değeri	112
Şekil 5.8. L7 inhibitörünün HOMO, LUMO orbital şekilleri ve (ΔE) değeri	112
Şekil 5.9. L8 inhibitörünün HOMO, LUMO orbital şekilleri ve (ΔE) değeri	113
Şekil 5.10. L9 inhibitörünün HOMO, LUMO orbital şekilleri ve (ΔE) değeri	113
Şekil 5.11. L10 inhibitörünün HOMO, LUMO orbital şekilleri ve (ΔE) değeri	114
Şekil 5.12. L11 inhibitörünün HOMO, LUMO orbital şekilleri ve (ΔE) değeri	114
Şekil 5.13. L12 inhibitörünün HOMO, LUMO orbital şekilleri ve (ΔE) değeri	115

Şekil	Sayfa
Şekil 5.14. İnhibitörlerin optimize edilmiş 3D yapıları	116
Şekil 5.15. L1 inhibitörünün AChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi	122
Şekil 5.16. L2 inhibitörünün AChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi	123
Şekil 5.17. L3 inhibitörünün AChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi	124
Şekil 5.18. L4 inhibitörünün AChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi	125
Şekil 5.19. L5 inhibitörünün AChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi	126
Şekil 5.20. L6 inhibitörünün AChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi	126
Şekil 5.21. L7 inhibitörünün AChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi	127
Şekil 5.22. L8 inhibitörünün AChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi	128
Şekil 5.23. L9 inhibitörünün AChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi	129
Şekil 5.24. L10 inhibitörünün AChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi	130
Şekil 5.25. L11 inhibitörünün AChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi	131
Şekil 5.26. L12 inhibitörünün AChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi	131
Şekil 5.27. Donepezil'in AChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi	132
Şekil 5.28. L1 inhibitörünün BChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi	133
Şekil 5.29. L2 inhibitörünün BChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi	134
Şekil 5.30. L3 inhibitörünün BChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi	135
Şekil 5.31. L4 inhibitörünün BChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi	135
Şekil 5.32. L5 inhibitörünün BChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi	136
Şekil 5.33. L6 inhibitörünün BChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi	137
Şekil 5.34. L7 inhibitörünün BChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi	138
Şekil 5.35. L8 inhibitörünün BChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi	139
Şekil 5.36. L9 inhibitörünün BChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi	140
Şekil 5.37. L10 inhibitörünün BChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi	140
Şekil 5.38. L11 inhibitörünün BChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi	141
Şekil 5.39. L12 inhibitörünün BChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi	142

Şekil**Sayfa**

Şekil 5.40. Donepezil'in BChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi 143



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
nM	Nanomolar derişim
mL	Mililitre
MHz	Megahertz
nm	Nanometre
s	Saniye
µL	Mikrolitre
µM	Mikromolar derişim
v	Gerilme titreşimi

Kısaltmalar	Açıklamalar
ACh	Asetilkolin
AChE	Asetilkolin esterase
AH	Alzheimer Hastalığı
BCh	Bütirilkolin
BChE	Bütiril kolin esterase
Caco-2	Kolon kanser hücre hattı
Ch	Kolin
ChAT	Kolin asetiltransferaz
ChE	Kolin esterase
DMSO	Dimetilsülfoksit
DMSO-d6	Dötorodimetilsülfoksit

Kısaltmalar	Açıklamalar
DNA	Deoksiribonükleik asit
DTNB	5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit)
E.A	Enzim Aktivitesi
EC	Enzim Kodu
EI	Enzim-inhibitör kompleksi
EIS	Enzim-inhibitör-substrat kompleksi
ES	Enzim-substrat ara kompleksi
Et3N	Trietilamin
EtOH	Etanol
FDA	ABD Gıda ve İlaç İdaresi
FT-IR	Fourier Transform Infrared Spektroskopisi
HCl	Hidroklorik Asit
I	İnhibitör
IC₅₀	E.A'nın % 50'sini inhibe eden inhibitör derişim
Ki	İnhibisyon sabiti
Km	Michealis-Menten sabiti
MCF -7	Meme Kanseri Hücresi
MİK	Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
MTT	3- (4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
NMR	Nükleer Magnetik Rezonans Spektroskopisi
PABA	Para amino benzoik asit
RNA	Ribonükleik asid
SH-SY5Y	Nöroblastoma kanseri
TLC	İnce tabaka kromatografisi
UV-GB	Ultraviyole Görünür Bölge Spektroskopisi

1. GİRİŞ

Yirmi birinci yüzyılın en önemli ve yaygın hastalıklarından biri Alzheimer hastalığıdır. Dünyada yaşayan insanların yaklaşık 55 milyonu bu hastalıktan önemli derecede zarar görmüştür. 2050 yılına gelindiğinde bu sayının iki katından daha fazla olacağı tahmin edilmektedir. Türkiye'de ise 70 yaş üzeri 1019 kişi üzerinde yapılan bir çalışmada hastalığın görülme sıklığı AH için %11 iken demans için yaklaşık %20 olarak belirlenmiştir (Akyar, 2011; Stevenson-Hoare ve diğerleri, 2023). Hastalığın tedavi süreci henüz tam olarak belli değildir, ama ilerlemesini önlemek için günümüzde yaygın olarak kullanılan bir çok kolinesteraz inhibitörü olan ilaçlar kullanılmaktadır. Bu ilaçlar, hastalığın ilerleme hızını azaltırken aynı zamanda günlük yaşam kalitesinde artırmaktadır. FDA tarafından onay verilen ilaçlardan en öne çıkanlar Donepezil, Rivastigmin, Galantamin ve Memantindir. Bu ilaçlardan hiç birisi bu hastalığın gerilemesinde kesin çözüm olmamıştır. Ancak bu ilaçlar hastalığın ilerleme hızını geçici olarak yavaşlatmıştır. 2016 yılında takrinin FDA tarafından yasaklanması sonunda Donepezil ile birlikte bazı ilaçlar kullanılmaya devam etmiştir. Yeni ilaç üretim çalışmaları son hızla devam etmektedir. Şu sıralarda Alzheimer hastalığının çok yavaşlatacağı düşünülen Donanemab ve Lecanemab adlı iki ilaç FDA tarafından onay beklemektedir (Stevenson-Hoare ve diğerleri, 2023).

Alternatif olarak Alzheimer tedavisinde sülfonamid haplı bileşiklerin kullanım potansiyelleri bilim insanları tarafından son yıllarda araştırılmaktadır. Ancak bütün ilaç etken maddelerinde olduğu gibi sülfonamid grubu ilaç etken maddelerinin kullanımında da bazı yan etkiler olmaktadır. Günümüzde bu yan etkilerin azaltıldığı, modifiye sülfonamid yapıları bileşiklerin sentezlenmesi ve Alzheimer tedavisinde yeni nesil ilaç etken maddesi olarak kullanılabilme potansiyelleri araştırılmaktadır.

Kanser hücredeki DNA'nın zarar görmesi neticesinde hücrelerin hızlı ve denetimsiz çoğalmaya başlayıp büyümesi sonrasında ortaya çıkar. Bu hastalık 21. Yüzyılın en önemli ölüm sebeplerinden bir tanesidir.

Klinikte kullanılan ilaçların kanser hücrelerine karşı seçicilik göstermemesi ve bunun sonucunda ciddi yan etkilere neden olması, ilaçlara karşı direnç gelişimi gibi dezavantajlara sahip olması nedeniyle yeni ve seçici antikanser ilaç arayışları devam etmektedir.

Sitotoksosite bir maddenin organizmayı oluşturan hücreler için ne kadar toksik olacağını gösteren bir olgudur. Bu tanım hücrenin canlılığını etkileyen mutasyon ve malign gibi durumlar için sıklıkla kullanılmaktadır. Sitotoksik etki sonrasında hücrenin yaşamı son bulabilir yada kısılabılır. Hücre ölümü, nekroz, apoptoz ve otofaji olmak üzere üç şekilde meydana gelebilir

Moleküler modelleme; bir molekülün yapısını, fiziksel özelliklerini ve spektroskopik büyüklüklerini inceleyen hesaplama (computational) yöntemidir. Bu yöntemlerde matematiksel ifadeler sıklıkla kullanılır. Fakat hesapların moleküle uygulanması zaman alıcı ve çok zor olduğundan bilgisayar programlarından yararlanılır. Hesaplamaları bilgisayar programına dahil edebilmek için öncelikle enerji ifadesini tanımlamak gerekir.

Geniş bir biyolojik etkiye sahip olan sülfonamidlerin, günümüzde farklı hastalıkların tedavisinde veya durdurulmasında potansiyel ilaç olarak kullanımı üzerine yapılan araştırmalar devam etmektedir (Bilen ve diğerleri, 2022). Sülfonamid moleküllerinden türetilen sülfonil hidrazonlar antimikrobiyal (Özdemir ve diğerleri, 2010), (Hamurcu ve diğerleri, 2016), antiviral (Ren ve diğerleri, 2020), anti-obezite (Şahin ve diğerleri, 2016), antiglokom, MAO ve karbonik anhidraz (Gündüzalp ve diğerleri, 2016) olmak üzere metabolik enzim inhibisyonu gibi bazı biyolojik özelliklere de sahiptir. Özellikle son zamanlarda sülfonamid türevleri, kanser tedavileri için geliştirilen ilaç etken maddeleri olarak etkin biçimde kullanılmaktadır (Alaoui ve diğerleri, 2017; Özdemir ve diğerleri, 2015; Ozdemir ve diğerleri, 2017). Araştırmalar; sülfonil hidrazon türevi bileşiklerin de antikanser etki gösterdiği ve kanser tedavisinde kullanılabileceğini kanıtlamıştır (Celebioglu ve diğerleri, 2020).

Bu çalışmada kolinesterazlara (ChE) karşı inhibisyon etkisi gösteren sülfonamid temelli yeni inhibitörlerin sentezlemesi ve bunların kolinesterazlar üzerindeki inhibisyon özellikleri ile birlikte molekülü oluşturan farklı substitüe grupların enzim inhibisyonuna ne ölçüde etki edeceğinin incelenmesi amaçlanmıştır. Elde edilen sonuçlar ışığında bileşiklerdeki substitue grupların biyolojik aktiviteye etkisinin belirlenmesi de etkili türevlerin hazırlanmasında ve yeni verimli ilaçların tasarımında kolaylık sağlayacaktır. Çalışmamızın amacı, literatürde ilaç olarak önemi vurgulanmış olan sülfon grubu ilaç etken maddeleri ile farklı aromatik aldehitlerin kondenzasyon tepkimesi sonucunda yeni farmakolojik özelliğe sahip inhibitörler elde edilmesi ve bunların Alzheimer hastalığı tedavisinde kolinesteraz inhibitörü

olarak kullanılma potansiyellerinin araştırılarak yeni nesil ilaç adayı olup olamayacağının belirlenmesidir. Bu çalışma kapsamında, Alzheimer hastalığında kullanılma potansiyeline sahip olabilecek, sülfonamid esaslı yeni 12 adet inhibitör için molekül modelleme çalışmaları yapılmış. Ayrıca HOMO ve LUMO enerji profilleri incelenmiştir. Sonra molekül modelleme çalışmaları ve HOMO-LUMO enerji verileri tarafından desteklenen ve önemli farmakolojik özelliğe sahip olduğu düşünülen bu bileşiklerin sentezleri gerçekleştirilmiştir. Sonra bu inhibitörlerin FTIR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR ve LC-MS gibi tekniklerle moleküler yapıları aydınlatılmıştır. Daha sonra sentezlenen bu inhibitörlerin kolinesteraz inhibitörü olma potansiyelleri deneysel olarak incelenmiştir. Bu amaçla her bir bileşiğin IC_{50} ve K_i değerleri hesaplanmış ve inhibisyon türleri belirlenmiştir. Son olarak ise bileşiklerin sitotoksik aktiviteleri ile antimikrobiyal özellikleri belirlenmiştir.

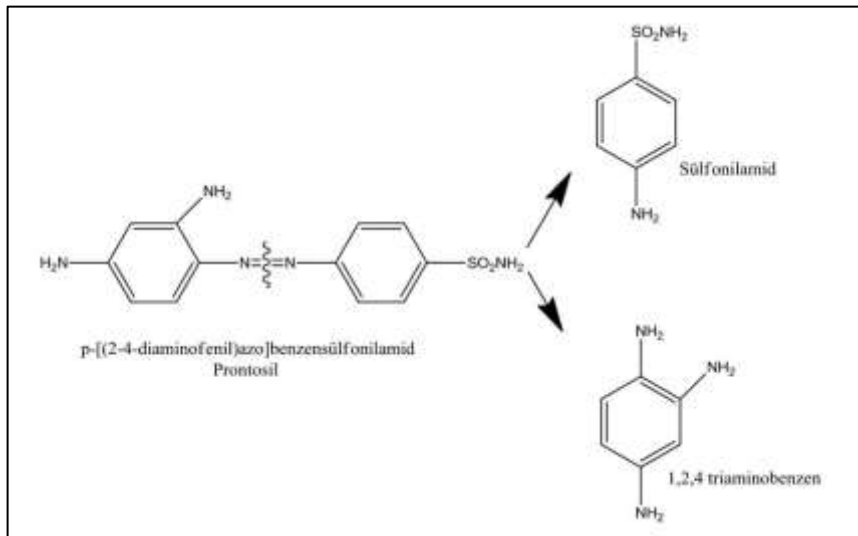
Sülfonil fonksiyonel grupları, sülfonamid içeren antimikrobiyal sülfon ilaçlarının erken keşfinden beri tıbbi biyokimya da önemli hale gelmiştir (Bilen ve diğerleri, 2022; Meanwell, 2011). Sülfon ilaçları; akciğer, idrar yolu, mesane, kulak vb. enfeksiyonların tedavisinde geniş kullanımının yanı sıra kanser, Alzheimer, göz tansiyonu (glokom), sıtma, HIV/AIDS gibi birçok hastalığın tedavisinde başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (Fahad ve diğerleri, 2021; Finlay ve diğerleri, 1990; Plumpe, 1996; Jensen ve diğerleri, 1990).

Süreç içerisinde sülfonamidlere karşı mikrororganizmaların dayanıklılık geliştirmesi nedeniyle bu bileşiklerin alternatif türevlerinin hazırlanması bu bileşiklere ilgiyi artırmıştır. Bu bileşiklerle yeni aktif grupların birleştirilmesi klinik biyokimya ve organik kimyacılar için yeni alanlar açmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sülfonamitler

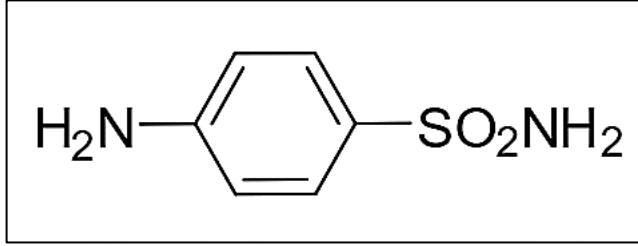
Sülfonamitler ilk bilinen antibakteriyal ilaç grubudur. 1932’de Gerhard Domakh ve diğerleri, tarafından azo boyar maddesi olarak bilinen “prontosil” molekülü keşf edilmiştir. Yapılan deneyler sırasında bu ilacın farelerdeki *Streptococcus* bakteri hücrelerine in vitro ortamda hiçbir aktivite göstermezken, in vivo ortamda bakteri hücrelerine etki ettiği görülmüştür. Bu keşfinden dolayı 1939 yılında Nobel ödülüne layık görülmüştür. Daha sonra bu inhibitörlerin tek başına aktiflikleri az olduğu için sülfonilamidleri süstitüe grup gibi kullanılarak türevleri sentezlenmiştir. Bu çalışmalar günümüzde de halen devam etmektedir (Alyar ve diğerleri, 2019). Örneğin trimetoprim, metoprim, ormetoprim gibi pirimidin grubu içeren inhibitörlerin tek başına enfeksiyona sebep olan bakteri hücrelerine karşı etkisi az olduğu görülmüştür (Lavanya, 2017). Lakin bu ligandları sülfonamid grubu içeren aminlerle (sulfametoksazol, sülfadiazin, sülfadimetoksin) sentezlediklerinde bakterilere karşı daha yüksek etki gösterdiği deneyler ile tespit edilmiştir. Bu ligandlara örnek olarak, ko-trimoksazol (trimetoprim/sulfametoksazol), ko-trimoksin (trimetoprim/süldadimetoksin), ormetoprim/sülfadimetoksim (Özbek ve diğerleri, 2012).



Şekil 2.1. Prontosilin canlılarda parçalanma tepkimesi sonunda Sülfanilamid oluşumu

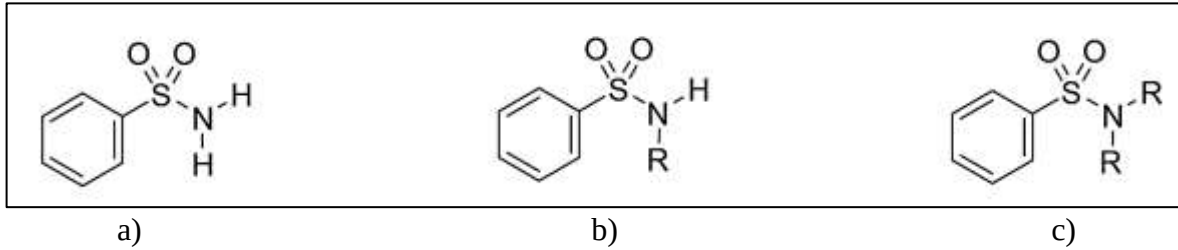
2.1.1. Sülfonamidlerin etki mekanizması

Sülfonamidler SO_2NH_2 fonksiyonel grubu içeren moleküllerdir. Genel yapıları ise RSO_2NH_2 formundadır. Sülfonamidlerin kimyasal formülü aşağıda gösterilmektedir (Kolaczek ve diğerleri, 2014).



Şekil 2.2. Sülfonamidlerin genel molekül yapısı

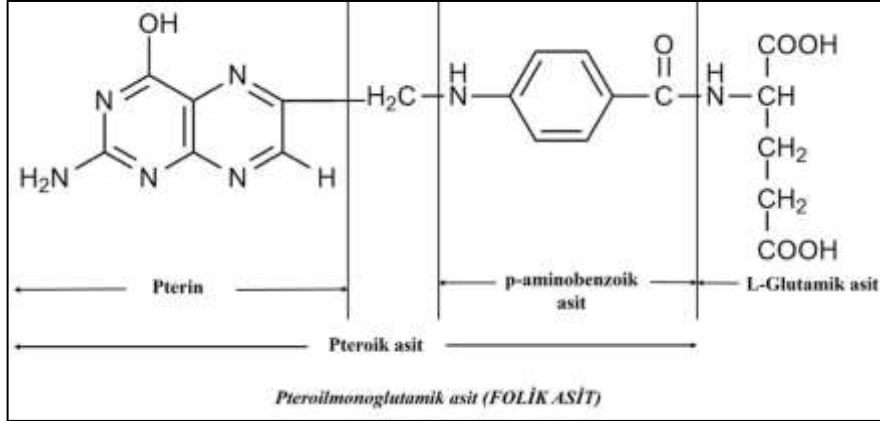
Sülfonamid'in molekül yapısını incelediğimizde benzen halkasına bağlanan sülfonil grubu ve amino grubunun birbirine para konumunda bağlandığı görülmektedir. Bu bağlanma orta veya meta konumunda olursa sülfonamid molekülünün bakterilere karşı olan aktivitesi azalacaktır veya hiç etki göstermeyecektir. Ayrıca yapıdaki aromatik halka yerine başka alifatik halkalar olursa molekülün aktivitesi yine azalacaktır. Sülfonamid molekülünde azot atomuna iki hidrojenin bağlı olması durumunda primer, bir hidrojeni bulunması durumunda sekonder ve hiç hidrojen atomu bulunmuyorsa tersiyer amin olarak adlandırılırlar. Primer ve sekonder sülfonamidler yapılarında hidrojen atomu bulundurmalarından dolayı asit özelliği taşırken, tersiyer sülfonamidler ise hidrojen atomu bulundurmadıklarından asidik özellikleri yoktur (Lavanya, 2017).



Şekil 2.3. Sülfonamidlerin a) primer, b) sekonder ve c) tersiyer yapısı görülmektedir

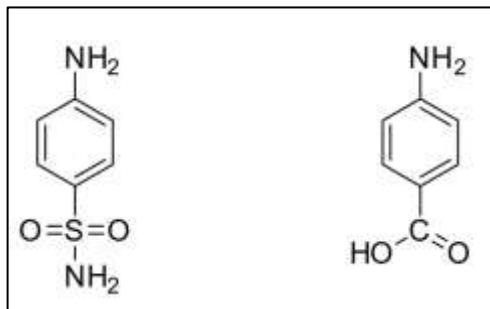
İnsanlar folik asiti yiyecekler ve ilaçlar ile temin ederken, bakteriler folik asiti kendileri sentezler. Bakteriler folik asiti, hücre duvarlarının biyosentezinde kullanırlar. Folik asitin yapısı aşağıda verilmektedir. Folik asitin yapısını incelediğimizde hetero-bisiklik pteridin

halkası, para-aminobenzoik asit (PABA) ve glutamik asit olmak üzere üç kısımdan oluştuğu görülmektedir (Droy ve diğerleri, 1990).



Şekil 2.4. Folik asit'in molekül yapısı

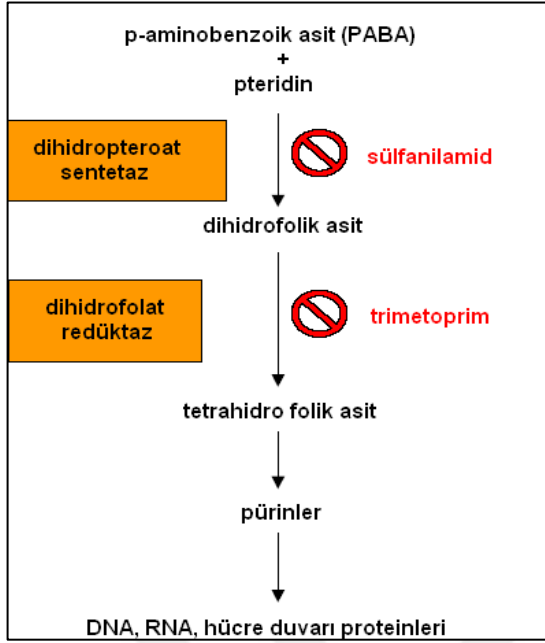
Bakterilerin folik asiti sentezleyebilmeleri için PABA'a ihtiyaçları vardır. PABA'nın kimyasal yapısı ile sülfonamidlerin yapısı benzer olduğundan, sülfonamidler PABA'nın yerine geçerek folik asit sentezini inhibe ederler. Yani PABA pteridin ile dihidropteroat sentetaz enziminin etkisi ile dihidropteroat molekülüne, daha sonra da dihidrofolat redüktaz enziminin varlığında tetrahidrofolik asite dönüşür. Tetrahidrofolik asit pürin bazlarına da proteinlere dönüşerek bakteri hücre duvarını oluştururlar. Sülfonamidler dihidro pteroat sentetaz enzimini inhibe eder ve böylece bakteriler hücre duvarını sentezleyemezler. Bu nedenle hücrelerin büyümesi durur ve bu ise sülfonamidlerin bakteristatik etkisinin olduğunu gösterir (Ball, 2005).



Sülfonamid

PABA

Şekil 2.5. Sülfonamidlerin ve PABA'nın molekül yapısı



Şekil 2.6. Sülfonamitlerin etki mekanizması

2.1.2. Sülf ilaçlarının uygulama alanları

Günümüzde sülf ilaçları bakteriyel hastalıkların tedavisinde yoğun bir şekilde kullanılır. Sülf ilaçları canlı organizmalardaki birçok bakteri enfeksiyonunu tedavi ederken bazı bakterilere karşı daha az etki gösterirler (Shntaif ve diğerleri, 2021). Sülfonamitler etki sürelerine göre üç gruba ayrılır (Baykan, 2019).

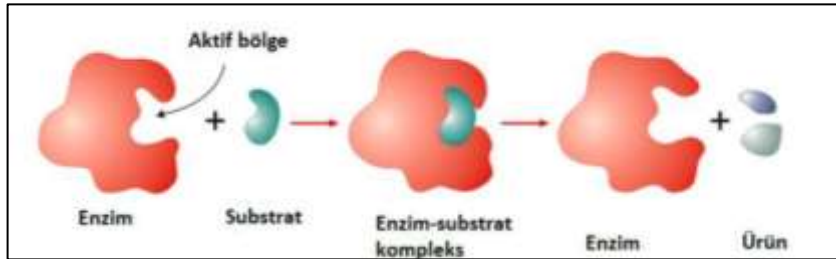
- Kısa etki süreli ilaçlar:** Bu grup ilaçlar hızlı emiliyorlar ve yarılanma ömürleri 4-7 saattir. Özellikle sistemik enfeksiyonun sebep olduğu hastalıklarda kullanılırlar. Bu gruba Sülfizoksazol, Sülfamoksol, Sülfasitin örnek verilebilir.
- Orta etki süreli ilaçlar:** Bu grup ilaçlar kısa süreli etki gösteren ilaçlara oranla daha geç emilirler ve vücuttan atılımları daha yavaştır. Yarılanma ömürleri 10-12 saattir. Bu ilaçlar özellikle üriner sistem enfeksiyonlarında kullanılırlar. Bu gruba Sülfadiazin, Sülfapiridin ve Sülfometaksazol örnek verilebilir.
- Uzun etki süreli ilaçlar:** Bu grubu içeren ilaçların absorplanması hızlıdır ve vücuttan atılımları daha yavaştır. Yarılanma ömürleri 30-150 saat aralığında değişebilir. Bu gruba Sülfametoksin ve Sülfadoksin gibi ilaç etken maddeleri örnek verilebilir (Baykan, 2019).

2.2. Enzimler Hakkında Genel Bilgiler

Enzimler, genellikle protein yapısında olan ve biyokimyasal tepkimelerde katalizör görevi gören biyomoleküllerdir. Bu moleküller, süreç içinde harcanmadan veya değişmeden kimyasal reaksiyonların hızını artırırlar (Binici ve diğerleri, 2023). Ayrıca enzimatik tepkimeler sonunda %100'e yakın ana ürün oluşur. Canlı organizmalarda enzimatik tepkimeler son derece hızlı gerçekleşirken, enzimler olmadığında tepkimeler ya gerçekleşmez yada çok yavaş meydana gelirler. Literatür bilgilerine göre yaklaşık olarak 5500 tane enzimin varlığı bilinmektedir. (Keha ve Küvrevioğlu 2009). Enzimlerin büyük çoğunluğu substratına karşı yüzde yüz spesifik davranırken bir kısım enzimler birden çok substrata etkiyebilirler (Jegannathan ve Nielsen 2013). Enzimlerin tepkimelerinde en önemli iki büyük avantajı vardır. 1) Yüksek substrat özgüllüğü 2) Nispeten ılımlı koşullar altında çok yüksek katalitik aktiviteye sahip olmasıdır.

İlk defa “Enzim” kelimesi Alman bilim insanı Wilhelm Kühne tarafından 1878 yılında maya hücreleri tarafından şekerden alkol üretimi için kullanılmıştır. Enzim kelimesi yunanca bir kelime olup en (“içeride” anlamına gelir) ve zume (“maya” anlamına gelir) kelimelerinden oluşmuştur (Jegannathan ve Nielsen 2013).

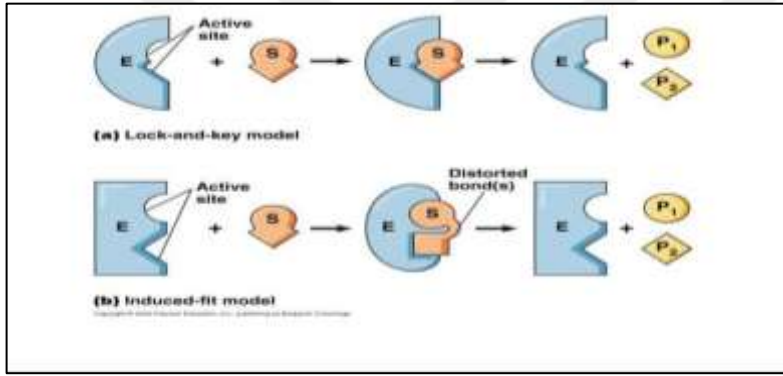
Substrat enzime aktif bölge üzerinden bağlanır. Bu bağlanma iyonik, hidrojen bağları, hidrofobik ve Van der Waals gibi farklı etkileşimler vasıtasıyla gerçekleşir (Bennett ve Frieden 1969). Tepkime başlangıcında enzim substratı ile birleşerek enzim-substrat kompleksini oluşturur. Sonra bu kompleks ürüne dönüşür ve aynı zamanda enzim tekrar açığa çıkar (Robinson 2015). Substratın enzime bağlandığı yer olan aktif merkez iki kısımdan oluşur. Bunlardan birisi bağlanma bölgesi diğeri ise katalitik aktivitenin gerçekleştiği yerdir.



Şekil 2.7. Enzim-Substrat etkileşimi

Enzim ve substratın etkileşiminde iki farklı model ileri sürülmüştür. 1) Anahtar-kilit modeli ve 2) İndüklenmiş uyum modeli. Fisher'in Anahtar-kilit modelinde, enzimin aktif merkezi substratın yerleşeceği şekilde düzenlenmiştir. Koshland'ın indüklenmiş uyum modelinde ise enzimin aktif bölgesi esnek yapıdadır. Enzim substratı ile birleşme sırasında aktif merkezini substrata göre uyarlar (Robinson, 2015).

Enzimler çok yüksek hızda çalışan biyomoleküllerdir. Tepkime hızını 10^6 - 10^{16} kat aralığında arttırabilme yeteneğine sahiptirler. Bir mol enzim tarafından birim zamanda ürüne dönüştürülen substrat molekül sayısı “turnover sayısı” olarak isimlendirilir. En yüksek turnover sayısına sahip enzim katalaz enzimi ($40.000.000 \text{ s}^{-1}$) iken ikinci yüksek turnover sayısına sahip enzim karbonik anhidraz ($10.000.000 \text{ s}^{-1}$) enzimidir (Binici ve diğerleri, 2023).



Şekil 2.8. (a) Anahtar-kilit modeli, (b) İndüklenmiş uyum modeli

Enzimler, yalnızca hücre içinde (in-vivo) değil, aynı zamanda hücre dışında (in-vitro)-da katalitik aktivite gösterirler. Bu özelliğinden dolayı enzimler ilaç ve kimya endüstrisi dahil birçok endüstri alanında yaygın olarak kullanılırlar (Binici ve diğerleri, 2023).

2.2.1. Farmasötik kimyada enzim inhibisyonunun önemi

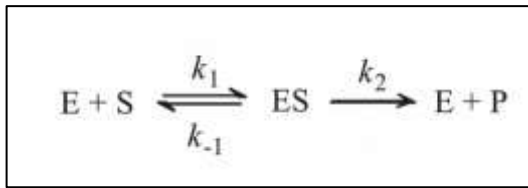
Enzim inhibitörleri enzimatik reaksiyonların hızını durduran veya yavaşlatan moleküllerdir. İnhibitörler, hücredeki olayların meydana gelmesinde önemli bir yere sahiptirler. Bu nedenle de enzim katalizleri farmasötik kimya açısından oldukça önemlidir (Tan, Evans, Singh 2006).

Enzim inhibitörleri hem bir metabolik bozukluğu düzenlediği hem de bir patojen bakterinin yok edilmesini sağladığı için, ilaç moleküllerinin çoğu aslında enzim inhibitörleridir (Katz ve Caufield 2003).

2.2.2. Enzim kinetiği

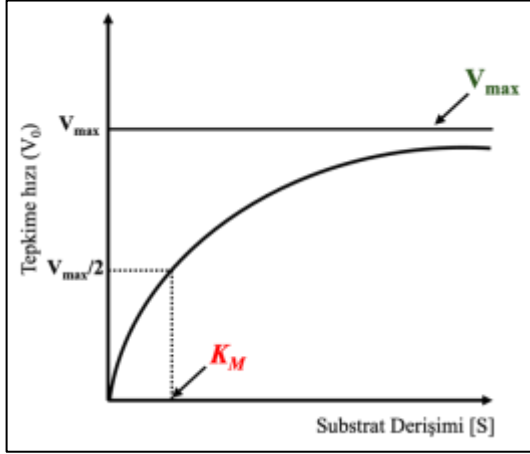
Enzimatik tepkimelerde enzim substratla tepkimeye girerek ürün oluşturur. Bu tepkimede enzim, substrat ve ürünün derişimi değışkendirler. Enzim substratıyla tersinir bir tepkime sonucunda enzim substrat (E-S) kompleksini oluşturur. Sonrasında ES kompleksi yavaş basamak içeren ve hemen hemen tersinmez bir tepkime ile ürüne dönüşür. Tersinir ve tersinmez olan bu tepkimeler k_{-1} , k_1 ve k_2 hız sabitiyle gerçekleşir. Bahsedilen bu tepkimeler belli bir kinetik mekanizma üzerinden yürür. Enzim kinetiği enzimin her aşamada substratla olan etkileşimini anlamak için kullanılır. Bu kinetik sonrasında enzimin substratına karşı davranışına ait bazı bilgiler elde edilir. Özellikle enzim sabitleri olan K_m ve V_{max} kinetik mekanizma sonunda elde edilen verilerden en önemlisidir (Özata ve Kutlu 2000).

Enzim kinetiği çalışmaları ilk olarak 1913 yılında Michaelis-Menten tarafından yapılmıştır. Burada enzim substrat ile tepkimeye girerek önce enzim-substrat kompleksini meydana getirir ve sonra oluşan bu kompleks ürüne dönüşürken serbest enzim tekrar açığa çıkar (Tüzün, 2005).



Şekil 2.9. E-Enzim, S-Substrat, ES- Enzim-Substrat kompleksi ve P-Ürünü ifade eder

Yukarıdaki denklemde k_1 ES kompleksinin oluşma hız sabiti iken, k_{-1} ES kompleksinin enzim ve substrata olan geri dönüşüm hız sabiti, k_2 ise yavaş basamağın hız sabiti olup ES kompleksinin ürüne ve serbest enzime dönüşüm hız sabitini gösterir. Michaelis-Menten kinetiğine göre enzim derişimi sabit alınarak, substratın derişimine bağlı tepkime hızı incelenir. Aşağıda verilen grafik Michaelis-Menten hiperbolik eğrisine aittir (Tüzün, 2005).



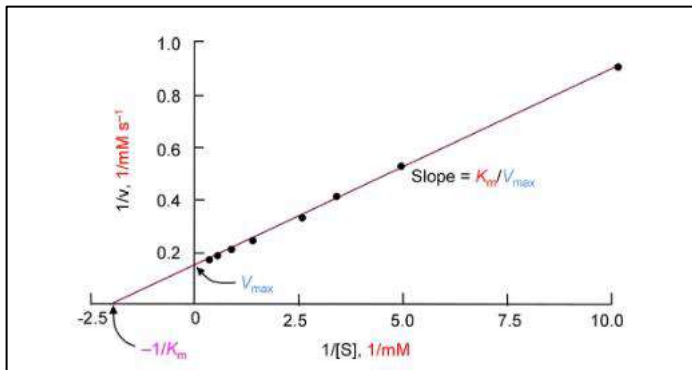
$$V = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]}$$

Şekil 2.10. V-Hız, V_{max}- Tepkimenin maksimum hız değeri (Michaelis-Menten sabiti), (S)- Substrat derişimi

K_m- Enzimin substrata olan ilgisini gösterir (Michaelis-Menten sabiti)

Enzim aktivitesi, K_m ve V_{max}'ın enzim sabitlerinin oranlanması ile belirlenir. K_m maksimum hızın yarısına karşılık gelen substrat derişimidir.

Enzim sabitleri K_m ve V_{max} Michaelis-Menten hiperbolik eğrisinden hesaplanması zordur ve hata getirir. Bu hatalardan kurtulmak için hiperbolik eğrinin doğrusal eğriye dönüştürülmesiyle elde edilen bu grafiğe Lineweaver-Burk grafiği adı verilir (Roskoski, 2015). Bu dönüşüm Michaelis-Menten eşitliğinin tersi alınarak gerçekleştirilir.



Şekil 2.11. Lineweaver-Burk grafiği (Roskoski, 2015)

2.3. Alzheimer Hastalığı (AH)

Alzheimer nörodejeneratif bir hastalık olup, düşünme, hafıza kaybı ve konuşma yetilerini doğrudan etkiler. İlk defa Alois Alzheimer 1901 yılında Frankfurt'ta bir akıl hastanesinde 51 yaşındaki Auguste Deter isimli bir kadın hastada rastlamıştır ve 1906 yılında ise bu hastalığın literatüre girmesini sağlamıştır. Dr. Alzheimer'ın bu keşfinden sonra meslektaşları Dr. Emil Kraepelin, "Psikiyatri" adlı kitabında Dr. Alzheimer'ın bu hastasına atıfta bulunarak ilk kez "Alzheimer hastalığı" terminini kullanmıştır (Lambracht-Washington ve Rosenberg 2013). 2021 yılında Dünya Sağlık Örgütü'nün verdiği bilgiye göre 2050 yılında AH kökenli hastalıklar başta olmakla 139 milyon demans hastası sayısına ulaşılacağı tahmin edilmektedir. 2022 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde 65 yaş üstü hasta insanlarda AH oranı yaklaşık %10,7 olarak görülmüştür. Aynı zamanda bu hastalık en çok ölüme sebep olan nörodejeneratif hastalıklar sıralamasında ilk başlardadır. Bu hastalık Türkiye'de de çok yaygın olan bir hastalık grubudur ve her yıl 10.000'den fazla 65 yaş üstü bireyin ölümüne sebep olmaktadır (Ahmet ve Anderson 2021).

2.3.1. Alzheimer hastalığının risk faktörleri

Alzheimer hastalığı 1., 14. ve 21. kromozomlarda meydana gelen mutasyonlar sonucu oluşmaktadır. Genetik faktörler kadar dış etkenlerde AH'nın oluşmasında büyük öneme sahiptir (Borenstein, Copenhaver ve Mortimer 2006).

2.3.2. Patofizyolojisi

Alzheimer hastalığının patofizyolojisi şimdiye kadar tam olarak açıklanmamıştır, ama hastalıkla ilgili kolinerjik hipotez, β -amiloid hipotezi, nörodejeneratif taupatiler ve oksidatif stres hipotezi gibi kabul gören yaklaşımlar mevcuttur (Borenstein, Copenhaver ve Mortimer 2006).

2.3.3. Kolinerjik hipotez

Bu hastalığa sahip olan kişilerin beyinlerinde kolinerjik aktivite kaybının gözlenmesi ile uzun süre bilim insanları bu mekanizmanın üzerinde çalışmışlardır. Kolinerjik mekanizmada Kolinerjik sinaplardan salınan Asetilkolin miktarının AH'lı hastalarda azaldığı görülmüştür. Bu sebeple 1970'lerde bu aktiviteyi yükseltmek için asetilkolinin miktarını artırmak çözüm

olarak düşünölmüştür ve aktivitede önemli rolü olan asetilkolinesteraz enziminin inhibe edilerek asetilkolin miktarının artırılması şeklinde bir yaklaşım ortaya çıkmıştır (Bartus ve diğlerleri, 1982).

2.3.4. Amiloid hipotez

AH'deki ikinci değışiklik olan amiloid hipotez, amiloid plaklardaki amiloid beta proteinin (A β) birikmesini açıklar. A β amiloidi yaklaşık 40-42 arası aminoasitten oluşan bir protein grubudur. Bu hipotezde temel olarak A β amiloid proteini beynin belli bölgelerinde birikerek fibriller oluşur ve bu fibriller daha sonra senil plaklara dönüşür. Oluşan senil plaklar, sinir hücrelerini hasara uğratarak beyinde sinir hücreleri arasındaki bağlantıyı oluşturan nörotransmitter miktarını azaltır. Norötransmitter miktarı azaldığı için sinir hücreleri arasındaki iletimde kayıplar yaşanır. Aynı zamanda bu proteinin serebral arteriollerde birikmesi, beyinde kanamalara sebep olabilir (Hardy ve Higgins 1992).

2.3.5. Nörodejeneratif taupatiler

Alzheimer hastalığı başta olmak üzere bir çok nörodejeneratif hastalıklarda Tau proteinlerin miktarının azaldığı görölmektedir. Tau proteinleri merkezi sinir sisteminde en çokta nöronların aksonlarında olan mikrotübüller ile ilişkilidir. Bu proteinler fosforilasyona maruz kalarak hiperfosforillenmiş tau proteinini oluşturur ve diğler tau iplikçileri ile etkileşime girerek nörofibriler yumakların oluşmasına sebep olurlar. Oluşan bu nörofibriler yumaklar mikrotübüllerin kararlılığını bozarak AH gibi hastalıkların ortaya çıkmasına neden olurlar. (Bartus ve diğlerleri, 1982).

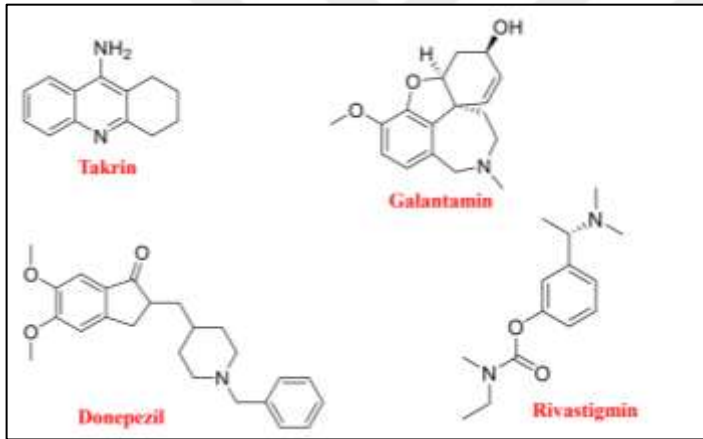
2.3.6. Oksidatif stres hipotezi

Oksidatif stres, vücuttaki oksitleyici madde düzeyinin artması veya antioksidan düzeyinin azalması sonucu oksidatif dengenin bozulması ile ortaya çıkmaktadır. Oksitleyici maddeler hücrenin önemli organelleri olan mitokondri, çekirdek ve membranlar üzerinde hasar oluştururlar. Özellikle de DNA'yı etkileyen serbest radikaller vücutta geri dönüşümü olmayan hasarlara sebep olurlar. Bu radikallerin sebep olduğu bir çok nörodejeneratif hastalıklarla ilgili araştırmalar devam etmektedir. Bu araştırmaların sonucu, antioksidan

seviyesinin artması nörodejeneratif hastalıkların hem tedavisinde hem de erken dönemde teşhisinde kullanılabileceğini göstermektedir (Kılıç ve diğerleri, 2015).

2.3.7. Alzheimer hastalığının tedavisi

Alzheimer hastalığının tedavisinde ilk kullanılan FDA onaylı ilaç takrin'dir. Daha sonra bu ilacın hepatotoksik olması ve serum alanin aminotransferaz miktarını artırması nedeniyle kullanımı sınırlandırılmıştır. Halihazırda bu hastalığın tedavisinde, donepezil, rivastigmin ve galatamin kolinesteraz inhibitörleri (ChEI'ler) olarak kullanılırken, Memantin (N-metil-D-aspartat) kanal bloke edici, donepezil ise her iki mekanizmanın kombinasyonunu gösteren ilaçlar grubuna girmektedir. Ancak bu ilaçların asıl hedefi hastalığın semptomlarını azaltmaktır (Sano, 1997). Bu beş ilacın molekül yapısı aşağıda Şekil 2.10'da verilmiştir.



Şekil 2.12. AChE inhibitörleri

2.4. Kolinesteraz Enzimleri

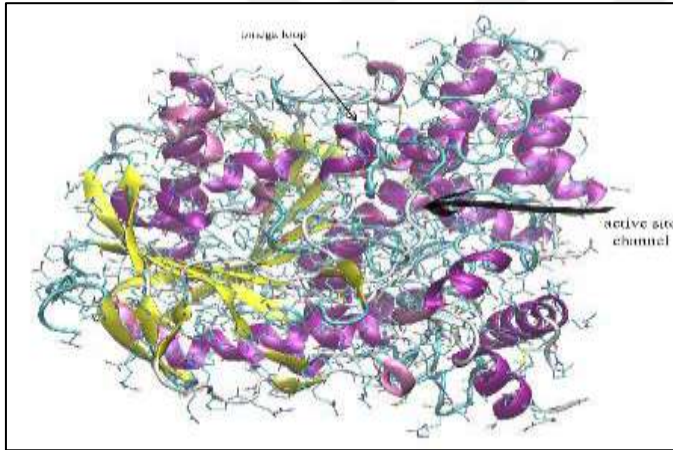
Kolinesterazlar, vücudun her yerinde bulunan ve kolin esterlerini hidroliz eden, hücre farklılaşması ile yenilenmesini düzenlemekten sorumlu olan ve kolinerjik nöron fonksiyonu için çok önemli hidrolaz sınıfı enzimlerdir. Kolinerjik nöronların düzenlenmesi için gerekli olan asetilkolinin kolin ve asetik asite hidrolizini katalize eden enzim grubudur (Binici ve diğerleri, 2023).

Kolinesteraz enzimleri omurgalı canlılarda AChE (E.C:3.1.1.7.) ve BChE (E.C:3.1.1.8.) olmak üzere iki farklı gen tarafından kodlanır. AChE insan vücudunda özellikle sinir sisteminde, eritrositlerde, plasental dokuda, sinir ve kas dokusunda bulunmaktadır. BChE

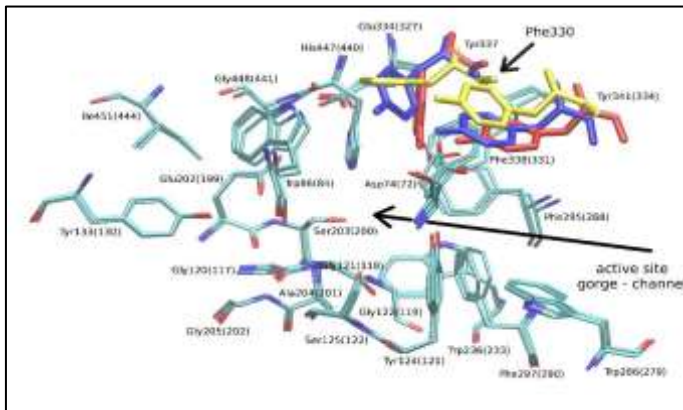
ise yaygın olarak sinir sisteminde, karaciğer ve plazma sıvısında bulunmaktadır (Horton ve diğerleri, 2006).

AChE'nin canlılardaki görevi, sinir ucunda toplanan kimyasal molekülleri parçalayarak uzaklaştırmak ve böylece elektron taşıyıcılarına uygun ortam sağlayarak sinir iletiminde herhangi bir aksaklığın oluşmasını önlemektir. BChE'nin gerçek fizyolojik özellikleri henüz tam olarak bilinmemektedir (Özata ve Kutlu 2000).

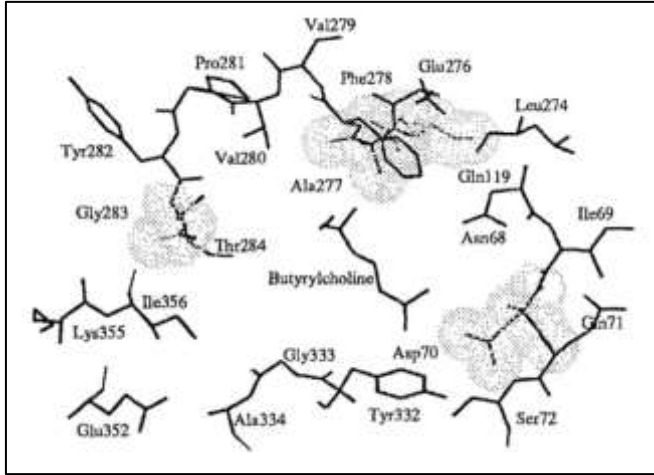
AH'nın beyin dokusunda AChE, BChE'den daha fazladır ve bu durum hipokampus ve serebral korteksde ACh'nin bozulmasına neden olur. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde, AChE aktivitesinin normal seviyelere göre %67 oranında azaldığı, buna karşın BChE aktivitesinin ise, normal seviyelerin %165'ne varan bir artış gösterdiği görülmüştür (Borenstein, Copenhaver ve Mortimer 2006).



Şekil 2.13. AChE'nin protein yapısının üç boyutlu gösterimi



Şekil 2.14. AChE enziminin aktif merkezinin amino asit profili



Şekil 2.15. BChE enziminin aktif merkezinin amino asit profili

2.5. Kanser

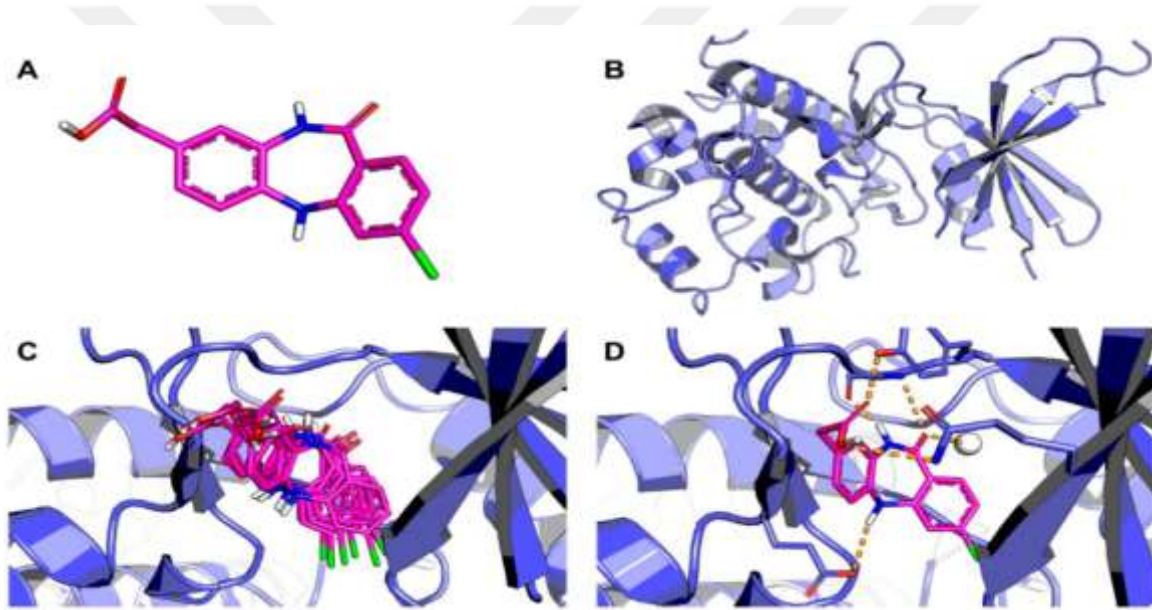
Kanser kontrolsüz bir şekilde çoğalan, invazif nitelik kazanan ve çoğu zaman metastaz yaparak kendini gösteren ve halen gelişmiş ülkelerin de ölüm istatistiklerinde kalp-damar hastalıklarından sonra ikinci sırada yer alan öldürücü bir hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) 2020 yılında verilen son bilgiye göre dünya çapında kanserden 10 milyon ölüm gerçekleşmiş ve bu ölüm oranının 2,26 milyonu meme kanseri olarak bildirilmiştir. 2020'de dünya çapında tahminen 19,3 milyon yeni kanser vakası ve yaklaşık 10 milyon kanser ölümü gerçekleşmiştir (Tokem, 2022). Antikanser ilaçların pratikte düşük seçiciliği, ilaca olan direnci ve birçok olumsuz yan etkisi nedeniyle kanser hastaları için güvenli ve yan etkileri minimum olan yeni kemoterapötik ajanların geliştirilmesi en önemli hedeflerden biri olmuştur (Bilginer ve diğerleri, 2022).

2.6. Moleküler Kenetlenme (Docking)

Günümüzde teknolojinin gelişmesi ile bilgisayar ortamında yeni terapötik ilaç tasarımında birçok deneysel ve yüksek verimli simülasyon yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden en sık kullanılanlardan biri ise moleküler kenetlenme (docking) yöntemidir. Moleküler kenetlenme (docking) yöntemi bir ligandın ilaç etken maddesi olabilme potansiyelini belirlemek için kullanılır. Bu yöntemle sentezlenmesi hedeflenen inhibitörlerin önce kenetlenme (docking) çalışması yapılarak ilaç etken maddesi olup olmadığı belirlenir. Sonra Moleküler kenetlenme (docking) çalışması verileri ile laboratuvar ortamında elde edilen deneysel veriler karşılaştırılarak teorik verilerin deneysel verilere ne kadar uyum

sağladığı tespit edilir. Bu da bilim insanlarına hem zaman hem de maliyet açısından büyük katkı sağlar (Huang ve Zou, 2010).

Moleküler kenetlenme (docking) yöntemi, sentezlenmesi hedeflenen ligandın bir protein veya başka bir biyomolekül ile nasıl etkileşime girdiğini anlamaya yönelik bir teknik olarak kullanılır. Bu yöntemde bağlanma noktaları üç boyutlu olarak görülür. Aynı zamanda etkileşim sırasında açığa çıkan enerji seviyeleri ile birlikte kimyasal etkileşim türünü de belirler. Bu özelliklerinden dolayı Moleküler kenetlenme (docking) günümüzde ilaç tasarımı ve geliştirme aşamalarında sıkça kullanılan bir yöntem haline gelmiştir (Lopez-Vallejo ve diğerleri, 2011).



Şekil 2.16. A-ligand, B-Reseptör, C- Ligand ve reseptörün bağlanması, D- moleküller arası etkileşimin olması

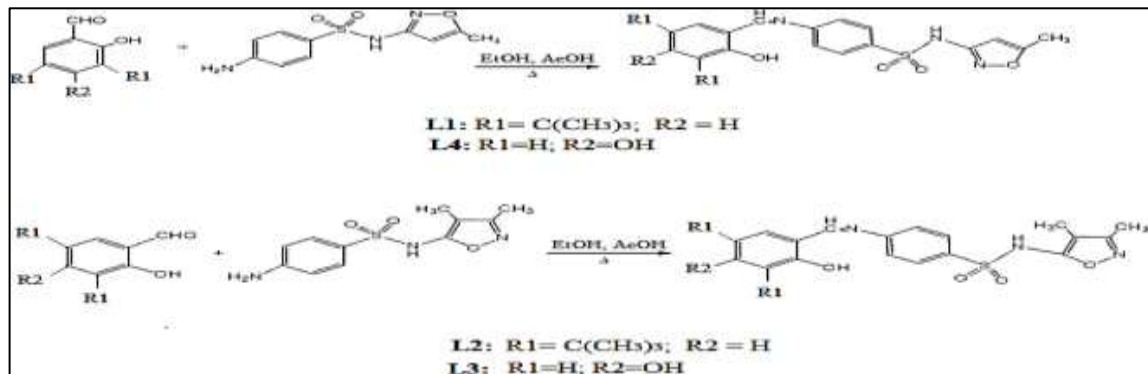
2.7. Teorik Hesaplamalar

Teorik çalışmalar, protein-ligant kenetlenmelerinin tanımlanmasında uygun ligantların tahmin edilmesine yardımcı olacak bağlanma verilerinin analizi için sunduğu istatistiksel yöntemler ve modeller ile yeni ligantların tasarlanmasını kolaylaştırmaktadır. Moleküler modelleme ile bir molekülün kimyasal ve fiziksel özellikleri arasındaki temel ilişkinin kurulması sağlanabilmektedir. Bu teorik yaklaşım; moleküler yapıların kimyasal, katalitik veya biyolojik fonksiyonları ile ilişkilendirilmesine ve en önemlisi de fonksiyonel grupların değişimiyle moleküllerin rasyonel olarak tasarlanmasına olanak sağlamaktadır. Kimyasal

yapı ve fonksiyonlar arasındaki bu bağlantıyı kurmak; moleküler biyoloji, protein yapıları, ilaç tasarımı, kimyasal kataliz ve polimer bilimi gibi birçok alan için gereksinimdir. Deneysel bir sistemi veya sonuçlarını anlamak, planlanan bir deneyden türetilen olan bilginin optimizasyonunu sağlamak ve bilimsel bir probleme teorik veya yapısal bilgi birikimini uygulamak amacıyla modelleme çalışmaları yürütülmektedir. Farmakolojik çalışmalarda, ilaç-reseptör etkileşimlerini kavramak için biyoajanların moleküler ve elektronik özelliklerinin bilinmesi büyük önem taşımaktadır. İnhibitörlerin düşük enerjili kararlı konformasyonlarına ait elektronik yoğunluk haritaları, kimyasal aktiviteyi temsil eden moleküler sınır orbitalleri (FMOs:HOMO ve LUMO) ve elektronik parametreleri teorik hesaplamalar ile belirlenebilmektedir (Mumit ve diğerleri, 2020).

2.8. Literatür Çalışmaları

Saliha Akyar ve diğerlerinin 2023 yılında yaptığı çalışmada, FDA onaylı *Sülfimetoksazol* ve *Sülfizoksazol* ilaç etken maddelerinin farklı aldehitler (3,5 di-t-bütil-2hidroksi benzaldehit ve 2,4-dimetoksi benzaldehit) ile tepkime sonunda dört yeni ligand (L1-L4) elde edilmiştir (L1- 3,5 di-t-bütil-2-hidroksibenzaldehit sülfometoksazol, L2-3,5 di-t-bütil-2-hidroksibenzaldehit sülfizoksazol, L3-2,4-dimetoksi benzaldehit sülfometoksazol ve L4-2,4-dimetoksi benzaldehit sülfizoksazol). Aşağıda bu inhibitörlerin sentez aşamaları ve molekül yapıları verilmektedir.

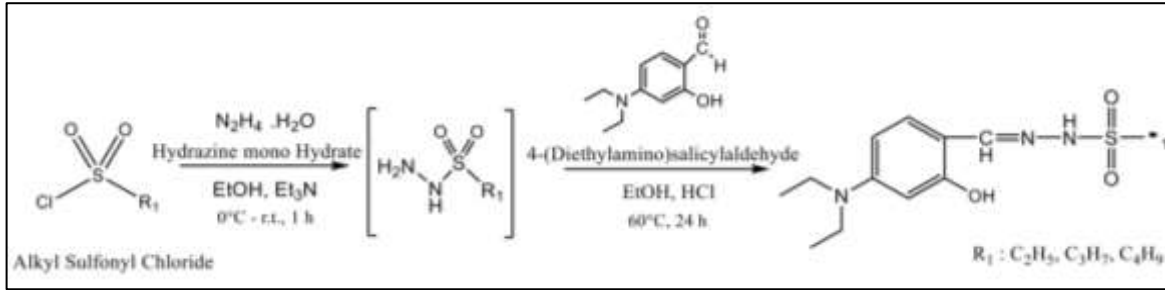


Şekil 2.17. Ligandların sentez basamakları

Sentezlenen bu ligandların karakterizasyon çalışmaları, FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve LC-MS ile yapılmıştır. Elde edilen inhibitörlerin Moleküler kenetlenme (docking) değerleri incelenmiş ve farklı kanser hücrelerinde (Huh7, MCF-7 ve HCT116) antikanser aktiviteleri incelenmiştir. Sonuç olarak, L1 ligandı, MCF-7 ve HCT116 kanser hücre hatlarına karşı en

yüksek inhibitör aktiviteyi göstermiştir. Moleküler kenetlenme (docking) çalışmaları sonucunda yine L1 ligandının enzim ile en uygun etkileşime girdiği ifade edilmektedir (Alyar ve diğerleri, 2023).

Ümmühan Özdemir Özmen ve diğerleri, 2023 yılında yaptıkları çalışmada bir grup çevre dostu sülfonamid grubu ligandlar sentezlemişler ve bunların kolinesteraz enzimleri (AChE, BChE) üzerine yüksek inhibisyon etkisi gösterdiğini ifade etmişlerdir. Bu amaçla, alkilsülfonik asit hidrazit ve N'-(4-dietilamino) salisilaldehit kullanarak üç farklı sülfonilhidrazon türevi sentezlenmiş ve karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır.



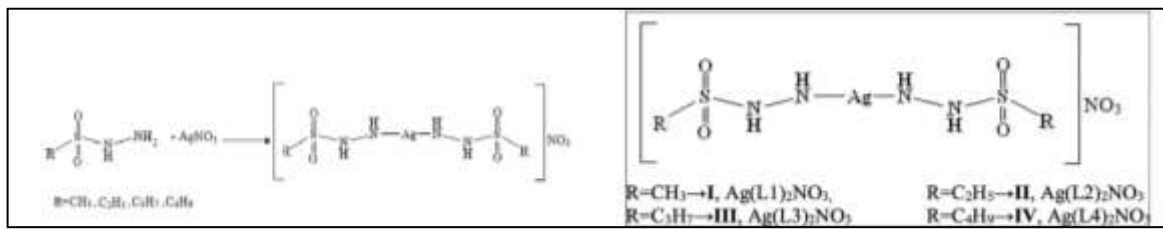
Şekil 2.18. Sülfonil hidrazon serisinin iki aşamada ve tek kap yöntemiyle hazırlanması

Sentezlenen sülfonilhidrazon türevlerinin (4-Dea-salesh, 4-Dea-salpsb, 4-Dea-salbsh) asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz enzimleri üzerine olan inhibisyon etkileri araştırılmıştır. Sonuçlara göre sentezlenen tüm inhibitörlerin AChE ve BChE enzimleri üzerine inhibitör etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Özellikle 4Dea-salbsh'in, AChE üzerinde $9,549 \pm 0,75 \mu\text{M}$ IC₅₀ değeriyle en iyi inhibisyon etkisi gösterdiğini ifade etmişlerdir (Ozdemir ve diğerleri, 2023).

Sumrra Sajjad ve diğerleri, yaptıkları bir çalışmada, 4-amino-N-(pirimidin-2-il)benzen-1-sülfonamid'i kullanarak yeni ligandlar sentezlemişlerdir. Elde edilen inhibitörlerin Fe(II), Cu(II), Zn(II), Ni(II) ve Co(II) gibi metallerle komplekslerini yapmışlardır. İnhibitörlerin ve metal komplekslerin karakterizasyon çalışmaları ¹H ve ¹³C- NMR, LC-MS, FT-IR, UV-Vis gibi kullanılarak yapıları aydınlatılmıştır. Bu inhibitörlerin geometri optimizasyonu M06/6-11+G(d,p) ile yapılmıştır. Teorik hesaplamalar ile inhibitörlerin HOMO-LUMO, global reaktivite parametreleri hesaplanmıştır. Ayrıca inhibitörlerin *Streptococcus aureus*'a karşı antibakteriyal ve *Aspergillus niger*e karşı ise antifungal aktiviteleri incelenmiştir. Alfa-amilaz, proteaz, AChE ve BChE 'a karşı inhibisyon aktiviteleri enzim inhibisyon aktivitesi

sırasıyla en yüksekten en düşüğe doğru verilmiştir ($75 \pm 0,11$; IC_{50} : $66 \pm 0,11 \mu M$, $73 \pm 0,11$; IC_{50} : $68 \pm 0,10$) (16), (18), (17) ligandları için sırasıyla, $75 \pm 0,12$; IC_{50} : $66 \pm 0,11 \mu M$ ve $71 \pm 0,12$; IC_{50} : $70 \pm 0,08 \mu M$) aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Sonuç olarak sentezlenen tüm inhibitörlerin bahsedilen enzimler üzerine inhibisyon etkilerinin serbest ligandlardan daha fazla olduğunu ispatlamışlardır. (L1-4- $\{[(2,4\text{-Dihidroksifenil})\text{metiliden}]\text{imino}\}$ -N-(pirimidin-2-il)benzen-1-sülfonamid, L2-4- $\{[1-(2\text{-Hidroksifenil})\text{etiliden}]\text{imino}\}$ -N-(pirimidin-2-il)benzen-1-sülfonamid, L3-4- $\{[1-(5\text{-Bromo-2-hidroksifenil})\text{etiliden}]\text{imino}\}$ -N-(pirimidin-2-il)benzen-1-sülfonamid) (Sumrra ve diğerleri, 2022).

Ümmühan Özdemir Özmen ve diğerleri, 2017 yılında yaptıkları çalışmada alkil sülfonik asit hidazitlerinin Ag(I) ile homolog serilerini içeren ligandlar sentezlemişlerdir. Ag(I) iyonlarıyla kompleks oluşturmak için metansülfonik asit hidrazit (L1), etansülfonik asit hidrazit (L2), propansülfonik asit hidrazit (L3) ve bütansülfonik asit hidrazit (L4) kullanılmıştır. Elde edilen Ag(I) komplekslerinin karakterizasyon çalışmaları, element analizi, FT-IR, LC-MS, manyetik duyarlılık ve iletkenlik ölçümleri ile gerçekleştirilmiştir. Komplekslerin teorik çalışmaları, Gaussian 09 program paketi kullanılarak DFT yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Elde edilen liganların MCF-7 kanser hücreleri üzerine gösterdikleri IC_{50} değerleri hesaplanmıştır. Aynı zamanda bu inhibitörlerin bir çok farklı bakteri hücreleri (Gram pozitif; *S. aureus* ATCC 6538, *B. subtilis* ATCC 6633, *B. cereus* NRRL-B-3711, *E. faecalis* ATCC 29212 ve Gram negatif; *E. coli* ATCC 11230, *P. aeruginosa* ATCC 15442, *K. pneumonia* ATCC 70063) üzerine antibakteriyel aktiviteleri incelenmiştir.



Şekil 2.19. Alkil Sülfonik asit hidrazitlerin Ag(I) iyonu ile sentez reaksiyonu ve molekül yapıları

Sonuç olarak, L4 ligandının test edilen kanser hücre hattına (IC_{50} : $5,10 \pm 1,0 \mu mol/L$), Gram pozitif/Gram negatif bakteriler (11-16 mm çap oranı ve karbonik anhidraz II (hCA II) izoenzimine (IC_{50} : $1,91 \times 10^{-4} M$) karşı en yüksek aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Ozdemir ve diğerleri, 2017).

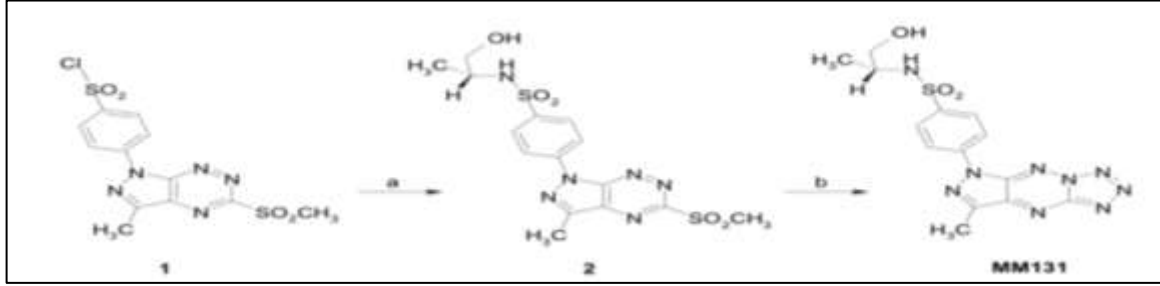
Govindaraj ve diğerkleri, 2021 yılında yaptıkları çalışmada Sulfametoksazol, Sulfatiazol ve Sulfapiridin aminlerinin 2-hidroksi benzaldehit ile olan Schiff bazlarını sentezlemişlerdir. Elde edilen bu inhibitörlerin karakterizasyon çalışmaları FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, elektronik spektrum, EI-MASS spektrum ve elementel analiz yöntemleri ile yapılmıştır.

Bu inhibitörlerin, MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattı üzerindeki sitotoksik aktiviteleri MTT yöntemi ile incelenmiştir. Sitotoksik aktivite sıralaması; Ligand(L1) = Ligand (L3) > Ligand (L2) şeklindedir. L1 ve L3'ten türetilen inhibitörlerin aktivitesi, sentezlenen ligandlardaki oksazol ve tiyazol grublarının varlığından kaynaklanmaktadır. Ligandlar meme kanseri hücresi [MDA MB-231] hattı üzerine yüksek derecede sitotoksik aktivite göstermişlerdir (Govindaraj ve diğerkleri, 2021).

Bourouai ve diğerkleri, 2023 yılında yaptıkları bir çalışmada, Sülfametaksazol ilaç etken maddesini kullanarak üç farklı benzaldehit ile yeni Schiff bazlarını elde etmişlerdir. Sonra elde edilen Schiff bazlarının Ni(II) ve Pd(II) komplekslerini sentezlemişlerdir. Tüm sentezlenen inhibitörlerin karakterizasyon çalışmaları, koordinasyon modu geometrisi, elemental analiz, kütle spektroskopisi, emisyon atomik spektroskopisi, iletkenlik ölçümleri, manyetik duyarlılık, FT-IR, TGA, H-NMR, elektronik absorpsiyon spektroskopisi ve SEM-EDX DFT gerçekleştirilmiştir. Spektral veri ve manyetik ölçümler sonucunda, Ni(II) komplekslerinin oktahedral geometriye, Pd(II) komplekslerinin ise kare düzlem geometriye sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

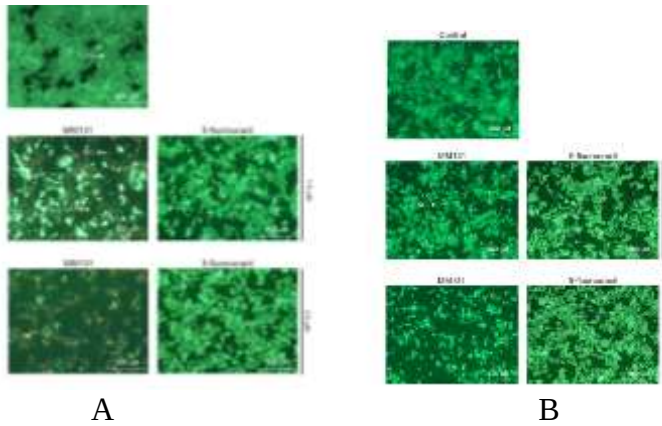
Bu çalışmada, sentezi yapılmış bileşiklerin *in vitro* antimikrobiyal ve antioksidan deneyleri ile antikanser özellikleri incelenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde yeni metal komplekslerin bir çok bakterilere karşı olağanüstü antimikrobiyal aktivite gösterdiği deneyler vasıtasıyla belirlenmiştir. Komplekslerin gösterdiği yüksek sitotoksik aktivitenin, kronik miyeloid lösemi tedavisinde etkili olacağı düşünülmektedir (Bourouai ve diğerkleri, 2023).

Gornowicz ve diğerkleri, 2021 yılında yaptıkları bir çalışmada, 1,2,4-triazin sülfonamitin bir türevi olan 7-metil-5-fenil-pirazol (4,3-e)tetrazol(1,5-b)(1,2,4) tirazin (MM131) molekülünü sentezlemişlerdir.



Şekil 2.20. MM131 ligandının sentez aşamaları ve molekül yapısı

Sentezlenen ligandın sitotoksik aktivitesi MTT testi ile değerlendirilmiştir. Kanser hücrelerine karşı MM131 ligandının etkisini incelemek için 5-florourasil kullanılmıştır. Test edilen ligandları (MM131 ve 5-florourasil) iki farklı insan kolon kanseri hücre dizisine (DLD-1 ve HT-29) ve insan derisi fibroblastlarına karşı sitotoksitesisi 24 saat boyunca değerlendirilmiştir. 24 saatlik maruziyetin ardından, DLD-1 (Şekil 15) ve HT-29 hücrelerinin %50'nin sırasıyla 3,4 μ M ve 3,9 μ M (Şekil 15) derişimlerde öldürücü etki gösterdiği belirlenmiştir. IC₅₀ değerleri, DLD-1 için 151 μ M iken HT-29 hücrelerinde 150 μ M olarak bulunmuştur. MM131'in insan derisi fibroblastlarının canlılığını azaltmada, kolon kanseri hücresine kıyasla çok fazla etkili olmadığı görülmüştür (IC₅₀'si 5,65 μ M) (Gornowicz ve diğerleri, 2021).



Şekil 2.21. Akridin turuncu andetidyum brömür ile boyanmış MM131 ligandı ve 5-floroasilin A) DLD-1 B) HT-29 kanser hücrelerinin morfolojik özgülüğünün görselleştirilmiş hali.

Saliha Aylar ve diğerleri, 2021 yılında yaptıkları bir çalışmada, Sülfizoksazol ve Sülfametoksazol ilaç etken maddelerinin 2-hidroksi 5-metilbenzaldehit ile yeni Schiff bazlarını sentezlemişlerdir. Sonra elde edilen Schiff bazlarının farklı metallerle

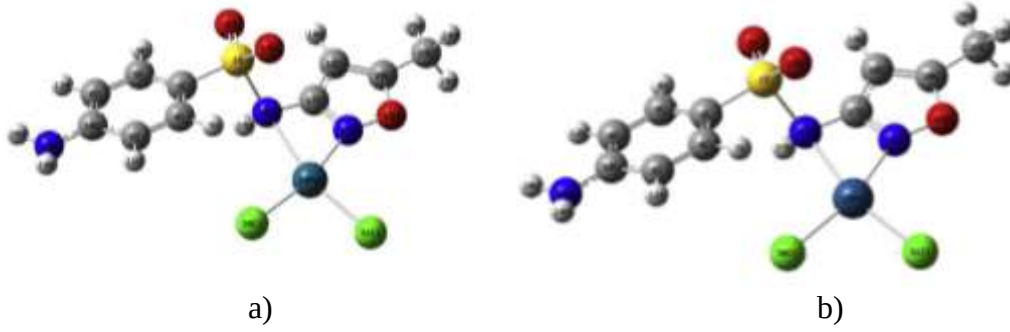
(Pd(II),Cu(II)) komplekslerini hazırlamışlardır. Daha sonra bu kompleksleri IR, NMR gibi spektroskopik yöntemlerle karakterize etmişlerdir. İnhibitörlerin Huh7, MCF7 ve HCT116 kanser hücrelerine karşı sitotoksik aktivitelerini incelemişlerdir. Aynı zamanda bu inhibitörlerin moleküler docking çalışmalarını yapmışlardır.

Sonuç olarak, Schiff bazlarının Cu(II) ile olan metal komplekslerinin MCF-7 meme kanserine karşı daha iyi sitotoksik aktivite gösterdiğini söylemişlerdir. Sentezlenen inhibitörlerin kanser tedavisinde kullanılmak üzere yeni inhibitörlerin tasarlanmasında referans olacağı söylenebilir (Alyar ve diğerleri, 2021).

Bouchoucha ve arkadaşlarının 2018 yılında yaptığı bir çalışmada Sülfametoksazol ile Platin (II), Paladyum(II) ve Nikel (II) 'in kompleks ligandları sentezlenmiştir. Bu komplekslerin elemental analiz, FT-IR,1H-NMR, UV-Visible spektrum ölçümleri alınmıştır. Bu komplekslerden sadece Ni(II) kristalinin X-ray görüntüsü alınmıştır.

Pd(II) ve Pt(II) komplekslerinin geometrik yapısını optimize etmek için DFT yöntemi kullanılmıştır. Ligand ve komplekslerin *E.coli*, *P.aeruginosa*, *S.aureus*, *B. subtilis* türlerine karşı antibakteriyel aktivitesi incelenmiştir. Aynı zamanda kronik miyeloid lösemi K562, insan kolon kanseri türü olan adenokarsinomu HT-29 ve MCF-7 kanser hattına karşı sitotoksiste deneyleri yapılmıştır.

DFT çalışmaları sonucunda, platin kompleksinin enerji açısından palladyum komplekslerinden daha kararlı olduğu ortaya çıkmıştır. Pd(II) (6,25 mg/mL) ve Pt(II) (12,5 mg/mL) komplekslerinin antibakteriyel aktiviteleri Ampisilin ve Ofloksasin ile karşılaştırılmış ve daha etkili oldukları görülmüştür.. Pd(II) ve Pt(II) komplekslerinin kanser hücre hatlarına karşı etkilerinin sisplatin'den daha iyi olduğu gözlenmiştir. Gözlemlenen sonuçlar palladyum ve platin komplekslerinin gelecek için umut verici olduğunu göstermektedir (Bouchoucha ve diğerleri, 2018).



Şekil 2.22. a) Pd(II) b) Pt(II) komplekslerinin optimize yapıları

Marzano ve diğerleri, 2013 yılında yaptığı çalışmada FDA onaylı Sulfapiridin ilaç etken maddesini kullanarak, kompleks $[\text{BiCl}_3(\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_2\text{S})_3]$ ligandını sentezlemişlerdir. Elde edilen ligand farklı karakterizasyon yöntemleri ile (elemental analiz, kütle spektroskopisi, FT-IR, X-ray difraksiyonu) karakterize edilmiştir. Elde edilen metal kompleksinin, çeşitli bakteri (*S.typhimuriuma*, *S.aureus*, *S.dysenteriae* ve *S. sonnei*, *P. aeruginosa* ve *E. coli*) ve kanser (kronik myeloid lösemi K562) hücrelerine karşı aktivitesi incelenmiştir. Metal kompleksin *S.typhimuriuma*'a karşı liganddan 3 kat, *S.aureus*, *S.dysenteriae* ve *S.sonnei*'ye karşı 4 kat ve *P. aeruginosa* ve *E. coli*'ye karşı 8 kat daha güçlü etki gösterdiği görülmüştür. Elde edilen $[\text{BiCl}_3(\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_2\text{S})_3]$ kompleksinin 72 saatlik sitotoksik aktivite sonucu IC_{50} cinsinden hesaplanmış ve $44 \mu\text{M}$ olarak bulunmuştur. Sonuç olarak bizmut kompleksinin hem antibakteriyal hem de sitotoksik aktiviteyi önemli derece de artırdığı görülmüştür (Marzano ve diğerleri, 2013).

Mustafa Durgun ve diğerleri, 2020 yılında yaptıkları çalışmada, sülfonamid grubu içeren (3-aminobenzenesülfonamid, 4-aminobenzenesülfonamid) aminler ile farklı aldehitler kullanarak sekiz tane ligand sentezlemişlerdir. Sentezlenen sülfonamid türevi ligandlar, FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, LC-MS gibi karakterizasyon yöntemleri ile karakterize edilmiştir. İnhibitörlerin AChE, CA I ve II enzim aktiviteleri üzerine gösterdikleri inhibitör etkileri araştırılmıştır. Aynı zamanda inhibitörlerin antioksidan aktiviteleri CUPRAC yöntemi ile incelenmiştir. Genel olarak tüm ligandlar, $16,05 \pm 0,47$ ila $29,66 \pm 0,50$ nM arasında değişen KI değerleri ile hCA I'e karşı güçlü inhibisyon potansiyeli göstermişlerdir. 4-((3-bromo-2-hidroksibenzil)amiino)benzenesülfonamid'in ligandlar içinde en güçlü inhibisyon etkisine sahip olduğu gözlenmiştir (KI: $10,14 \pm 0,03$ nM). Mevcut çalışmadan elde edilen bir diğer ilginç sonuç ise, sentezlenen tüm inhibitörlerin, KI ($20,98 \pm 0,89$ ile $77,02 \pm 9,34$ nM)

değerlerinin AChE'ye karşı Takrin'den (K_i : $109,75 \pm 2,39$) daha iyi bir inhibisyon etkisine sahip olmasıdır (Durgun ve diğerleri, 2020).

Hasan Ufuk Çelebioğlu ve diğerleri, 2020 yılında yaptıkları çalışmada, sülfonil hidrazon inhibitörlerini sentezlemişlerdir. Bu inhibitörlerin çeşitli karakterizasyon yöntemleri ile yapıları aydınlatılmıştır. Elde edilen inhibitörlerin MCF-7 meme kanseri ve PC-3 prostat kanseri hücre hatlarına karşı IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Aynı zamanda bu inhibitörlerin karbonik anhidraz I ve II, AChE ile alfa-glukozoksidad enzimleri üzerinde inhibisyon etkileri araştırılmıştır. Sonuç olarak, inhibitörlerin, en iyi K_i ($1,14 \pm 0,14$ – $3,63 \pm 0,26$ nM, $66,05 \pm 9,21$ – $125,45 \pm 1$) değerleri α -glukozidaz için bulunmuştur. Diğer enzimler için ise sırasıyla (hCA I, hCA II ve AChE) $89,14 \pm 10,43$ – $170,22 \pm 26,05$ nM, $754,03 \pm 73,22$ – $943,92 \pm 58,15$ nM olarak bulunmuştur. Elde edilen enzim inhibisyon sonuçları moleküler kenetlenme (docking) çalışmaları ile desteklenmiştir. (Celebioğlu ve diğerleri, 2020).

Demet Uzun ve diğerleri, 2021 yılında yaptıkları çalışmada, Cu(II) içeren sülfonamit türevi metal kompleksler sentezlemişlerdir. Sentezlenen metal komplekslerin yapıları LC-MS, FTIR, UV-Vis spektroskopik yöntemleri ile yapıları aydınlatılmıştır. Elde edilen bu inhibitörlerin teorik hesaplamaları DFT yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Metal komplekslerin karbonik anhidraz I üzerine inhibisyon etkisi çalışmaları yapılmış ve K_m , K_i ve IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Test edilen ligandlar arasında bis-(5-nitro-2-furaldehitmetansülfonilhidrazon) bakır(II) klorürün, ($7,03 \times 10^{-2}$ mM IC₅₀ değeri) CA I izoenzimi üzerine etki gösteren en aktif kompleks olduğu gözlenmiştir. Ayrıca elde edilen bakır komplekslerinin CA I izoenzimi üzerine etkisi elektrokimyasal bir teknik olan CV ve diferansiyel puls voltametrisi (DPV) ile incelenmiştir (Uzun ve diğerleri, 2021).

Muhammad Taha ve arkadaşları 2021 yılında yaptıkları bir çalışmada, indol esaslı sülfonamit yapıda ligandlar sentezlemişlerdir. Bütün inhibitörlerin yapıları HR-EI-MS, FT-IR ve NMR (¹H ve ¹³C) gibi spektroskopik yöntemler ile aydınlatılmıştır. Daha sonra elde edilen inhibitörlerin asetilkolinesteraz enzimine karşı inhibisyon kinetiği, standart madde olan donepezil ile karşılaştırılmıştır. Neredeyse tüm ligandlar standart ilaç olan donepezilden daha yüksek inhibisyon etkisi göstermiştir. Moleküler kenetlenme (docking) çalışmaları sonucunda ligandlar ile enzim arasında güçlü bir etkileşim olduğu görülmüştür (Taha ve diğerleri, 2021).

Eun-Ju ve diğerkleri, 2019 yılında yaptıkları bir çalışmada, FDA onaylı sülfizoksazol ve türevlerinin, faredeki meme kanseri hücrelerine karşı anti-kanser ve anti-metastatik etki gösterdiğini açıklamışlardır. Günümüzde yaygın olan kanser hastalarında temel ölüm nedeni kanser hücrelerinin metastaz yapmasıdır. Bu sebepten dolayı kanser hastalarına cerrahi işlemler ile birlikte kemoterapi ve radyoterapi tedavileri de uygulanmaktadır. Bu çalışma sonucunda, sülfizoksazol ve türevlerinin meme kanseri tedavisindeki küçük hücresel salgıların hücre dışına yayılmasını inhibe ederek anti-kanser ve anti-metastatik etki gösterdiği ispatlanmıştır (Eun Ju ve diğerkleri, 2019).





3. ARAÇ-GEREÇ VE DENEYSEL YÖNTEMLER

3.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasal Maddeler

Deney süresince kullanılan kimyasal malzemelerin isimleri, saflık dereceleri ve tedarik edilen firmalar ile birlikte aşağıdaki çizelgede verilmiştir.

Çizelge 3.1. Deney sırasında kullanılan kimyasal maddelerin adları, saflık dereceleri ve temin edildiği firmalar.

Kimyasal maddelerin adları	Maddelerin saflık derecesi	Maddelerin temin edildiği firmalar
Sülfametaksazol	-	Sigma-Aldrich
Sülfizoksazol	≥99,0%	Sigma-Aldrich
Sülfametazin	99,0-101,0%	Sigma-Aldrich
Sülfapiridin	≥99,0%	Sigma-Aldrich
9-antrasenkarboksialdehit	97%	Sigma-Aldrich
2-hidroksi 5-metoksibenzaldehit	98%	Sigma-Aldrich
4-metoksisinnamaldehit	98%	Sigma-Aldrich
Asetilkolinesteraz	-	Sigma-Aldrich
Bütirikolinesteraz	-	Sigma-Aldrich
Asetiyokolin iyodür	-	Sigma-Aldrich
S-Butiriltiyokolin iyodür	-	Sigma-Aldrich
DTNB (5,5-Ditiyobis(2-Nitrobenzoik asit))	≥98%	Sigma-Aldrich
Metanol	≥99,7%	Merck
Diklorometan	≥99,5	Merck
Etanol	≥99,9%	Merck
Hidroklorik asit	≥37%	Merck
Asetik asit	100%	Merck
Aseton	≥99,5%	Merck
n-Hekzan	≥95%	Merck

3.2. Analizlerde Kullanılan Cihazlar

- Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) spektrumları Thermo Nicolet 6700 ATR ve Mattson-1000 FT-IR (First v1.60, 1992 Mattson Instruments, Inc.) cihazı ile Gazi Üniversitesi Fen Fakültesinde alınmıştır.
- ¹H-NMR spektrumları Bruker 500 MHz NMR Spektrometresi ile Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesinde ve Gazi Üniversitesi Temel ve Mühendislik Bilimleri Merkez Laboratuvarında alınmıştır.
- ¹³C-NMR (APT) spektrumları Bruker Avance Neo 500 MHz NMR spektrometresi ile Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi ve Gazi Üniversitesi Temel ve Mühendislik Bilimleri Merkez Laboratuvarında alınmıştır.

- d) LC-MS spektrumları Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden alınmıştır.
- e) İnhibitörlerin erime noktası tayini için SRS Optimelt erime noktası cihazı kullanılmıştır.
- f) Hassas terazi (Shimadzu marka AUX120)
- g) Tampon çözeltilerinin pH'sı Mettler Toledo SevenCompact pH Metre ile ölçülmüştür.
- h) Enzim çalışmalarında absorbans ölçümleri PG T80/T80+ model UV-GB spektrofotometresi kullanılmıştır.

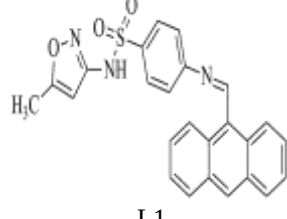
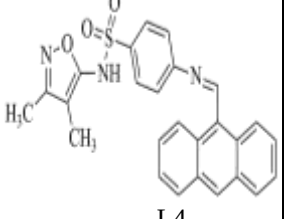
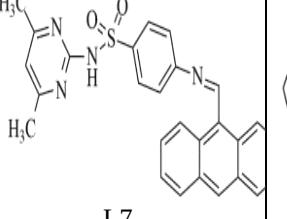
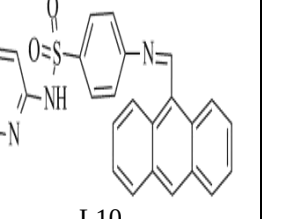
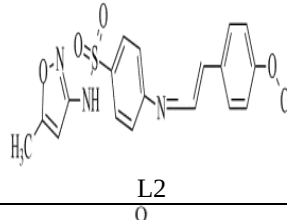
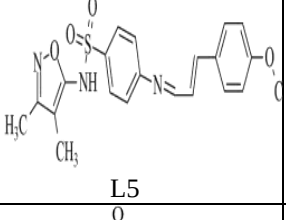
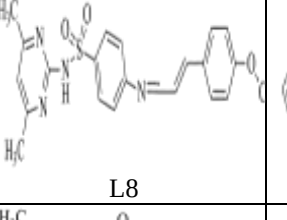
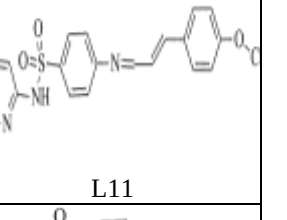
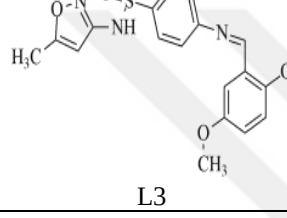
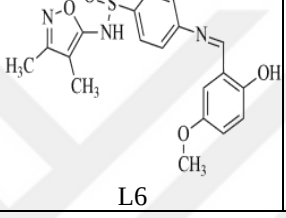
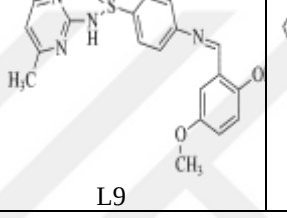
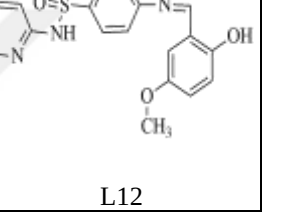
3.3. Deneysel Yöntemler

Bu çalışmada, sülf ilaçların farklı aldehitler kullanılarak yeni hibrit inhibitörleri sentezlenmiştir. Her bir inhibitör için kullanılan sentez yöntemi aşağıda açıklamalar kısmında gösterilmektedir. Aynı zamanda sentezlenen hibrid inhibitörlerin antimikrobiyal, anti-kanser ve kolinesteraz enzim inhibisyon derecelerini incelemek için kullanılan yöntemler aşağıda verilmiştir.

Sülf ilaçlarından türetilen yeni inhibitörlerin adları ve açık moleküler yapıları Çizelge 2'de verilmektedir.

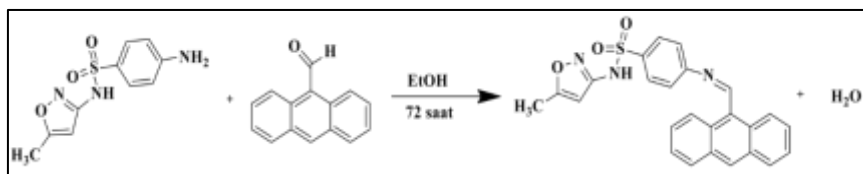
1. Sülfametoksazol-9-antrasenkarboksialdehit (L1)
2. Sülfametoksazol-4-metoksisinnamaldehit (L2)
3. Sülfametoksazol-2-hidroksi-5-metoksibenzaldehit (L3)
4. Sülfizoksazol-9-antrasenkarboksilaldehit (L4)
5. Sülfizoksazol-4-metoksisinnamaldehit (L5)
6. Sülfizoksazol-2-hidroksi-5-metoksibenzaldehit (L6)
7. Sülfametazin-9-antrasenkarboksialdehit (L7)
8. Sülfametazin-4-metoksisinnamaldehit (L8)
9. Sülfametazin-2-hidroksi-5-metoksibenzaldehit (L9)
10. Sülfapiridin-9-antrasenkarboksialdehit (L10)
11. Sülfapiridin-4-metoksisinnamaldehit (L11)
12. Sülfapiridin-2-hidroksi-5-metoksibenzaldehit (L12)

Çizelge 3.2. Sentezlenen inhibitörlerin molekül yapıları

			
L1	L4	L7	L10
			
L2	L5	L8	L11
			
L3	L6	L9	L12

3.3.1. Sülfametoksazol-9-antrasenkarboksialdehit (L1)

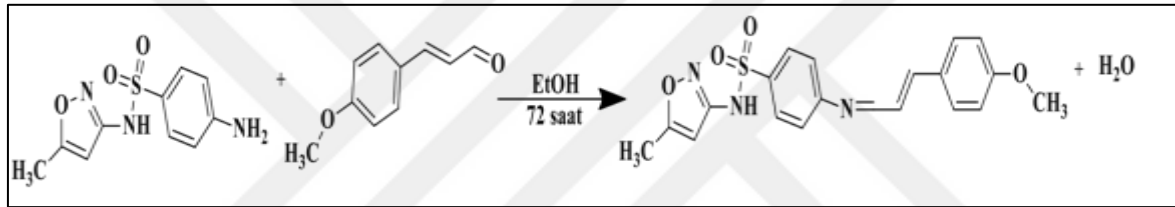
25 mL sıcak etanol içeren 2 boyunlu kuru ve temiz 50 mL'lik bir balona 1mmol Sülfometoksazol eklendikten sonra karıştırılarak çözünme işlemi gerçekleştirildi. Üzerine sıcak etanolde çözünmüş 1 mmol 9-antrasenkarboksialdehitin çözeltisi damla damla ilave edildi. Manyetik karıştırıcıda 70°C sıcaklıkta 72 saat boyunca geri soğutucu altında karışmaya bırakıldı. Ürünün takibi heksan/kloroform/etil asetat (1:2:1) çözücü karışımı kullanılarak ince tabaka kromatografisi (TLC) ile yapıldı. Ürün oluşumu tamamlandıktan sonra meydana gelen sarı-turuncu renkli katı ürün süzüldü. Elde edilen ürünün saflaştırması için aseton/heksan karışımı kullanıldı. Oluşan kristaller süzüldü ve 58 °C'da etüvde kurumaya bırakıldı. İnhibitörlerin yapıları, FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve LC-MS spektroskopik yöntemleri ile yapıları aydınlatılmıştır. Oluşan ürün katı ve sarı renklidir. (E.N. 246,7°C)



Şekil 3.1. L1'in sentez yöntemi

3.3.2. Sülfametoksazol-4-metoksisinnamaldehit (L2)

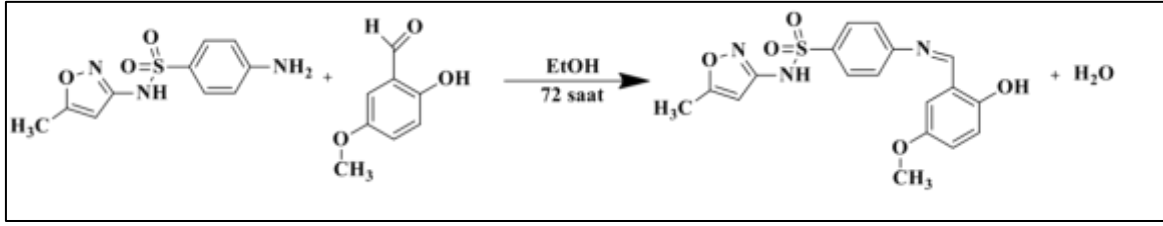
15 mL etanol içeren 2 boyunlu kuru ve temiz 50 mL'lik bir balona 1mmol Sülfametoksazol eklendikten sonra karıştırılarak çözünme işlemi gerçekleştirildi. Üzerine sıcak etanolde çözülmüş 1 mmol 4-metoksisinnamaldehitin çözeltisi damla damla ilave edildi. Çözelti pH'sı 4'e ayarlandı. Manyetik karıştırıcıda 150°C sıcaklıkta 72 saat boyunca geri soğutucu altında karışmaya bırakıldı. Ürünün takibi heksan/etil asetat (1:1) çözücü çifti kullanılarak ince tabaka kromatografisi (TLC) ile yapıldı. Ürün oluşumu tamamlandıktan sonra oluşan renkli katı madde süzüldü. Oluşan ürün aseton/heksan karışımı ile kristallendirilerek saflaştırıldı. Oluşan kristaller süzüldü ve 58 °C'da etüvde kurumaya bırakıldı. Oluşan ürün katı ve sarı-turuncu renklidir. (E.N. 169,8°C)



Şekil 3.2. L2'nin sentez yöntemi

3.3.3. Sülfametoksazol-2-hidroksi-5-metoksibenzaldehit (L3)

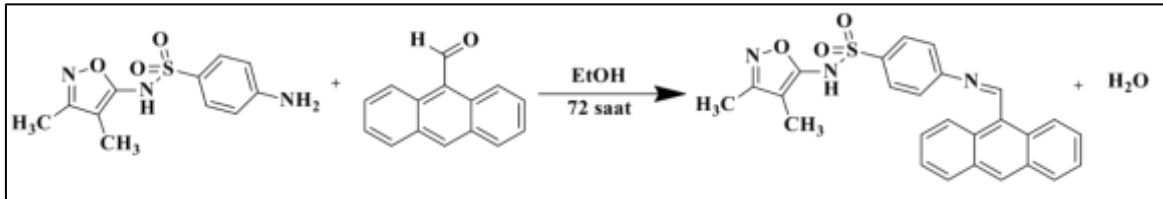
25 mL etanol içeren 2 boyunlu kuru ve temiz 50 mL'lik bir balona 1mmol Sülfametoksazol eklendikten sonra karıştırılarak çözünme işlemi gerçekleştirildi. Üzerine sıcak etanolde çözülmüş 1 mmol 2-hidroksi 5-metoksibenzaldehitin çözeltisi damla damla ilave edildi. Çözelti pH'sı 4'e ayarlandı. Manyetik karıştırıcıda 150°C sıcaklıkta 72 saat boyunca geri soğutucu altında karışmaya bırakıldı. Ürünün takibi heksan/etil asetat (8:2) çözücü çifti kullanılarak ince tabaka kromatografisi (TLC) ile yapıldı. Ürün oluşumu tamamlandıktan sonra oluşan katı ürün süzüldü. Elde edilen bu ürün aseton/heksan karışımı ile kristallendirilerek saflaştırıldı. Oluşan kristaller süzüldü ve 58 °C'da etüvde kurumaya bırakıldı. Oluşan ürün katı ve sarı renklidir. (E.N. 191,8°C)



Şekil 3.3. L3'nin sentez yöntemi

3.3.4. Sülfizoksazol-9-antrasenkarboksilaldehit (L4)

20 mL etanol içeren 2 boyunlu kuru ve temiz 50 mL'lik bir balona 1mmol Sülfizoksazol eklendikten sonra karıştırılarak çözünme işlemi gerçekleştirildi. Üzerine sıcak etanolde çözülmüş 1 mmol 9-antrasenkarboksialdehitin çözeltisi damla damla ilave edildi. Çözelti pH'sı 4'e ayarlandı. Manyetik karıştırıcıda 150°C sıcaklıkta 72 saat boyunca geri soğutucu altında karışmaya bırakıldı. Ürünün takibi heksan/etil asetat (1:1) çözücü çifti kullanılarak ince tabaka kromatografisi (TLC) ile yapıldı. Ürün oluşumu tamamlandıktan sonra oluşan renkli katı süzüldü. Elde edilen ürün etanol/heksan karışımı ile kristallendirilerek saflaştırıldı. Oluşan kristaller süzüldü ve 58 °C'da etüvde kurumaya bırakıldı. Oluşan ürün katı ve kırmızı renklidir. (E.N. 204°C)

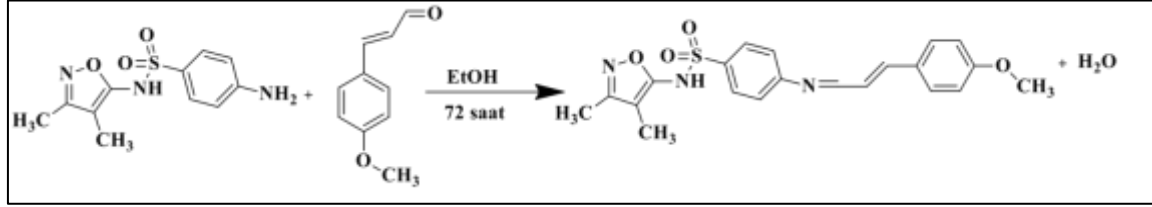


Şekil 3.4. L4'nin sentez yöntemi

3.3.5. Sülfizoksazol-4-metoksisinnamalaldehit (L5)

20 mL etanol içeren 2 boyunlu kuru ve temiz 50 mL'lik bir balona 1mmol Sülfizoksazol eklendikten sonra karıştırılarak çözünme işlemi gerçekleştirildi. Üzerine sıcak etanolde çözülmüş 1 mmol 4-metoksisinnamalaldehitin çözeltisi damla damla ilave edildi. Çözelti pH'sı 4'e ayarlandı. Manyetik karıştırıcıda 150°C sıcaklıkta 72 saat boyunca geri soğutucu altında karışmaya bırakıldı. Ürünün takibi DCM/metanol (8:2) çözücü çifti kullanılarak ince tabaka kromatografisi (TLC) ile yapıldı. Ürün oluşumu tamamlandıktan sonra oluşan renkli katı ürün süzüldü. Elde edilen ürün heksan/metanol karışımı ile kristallendirilerek

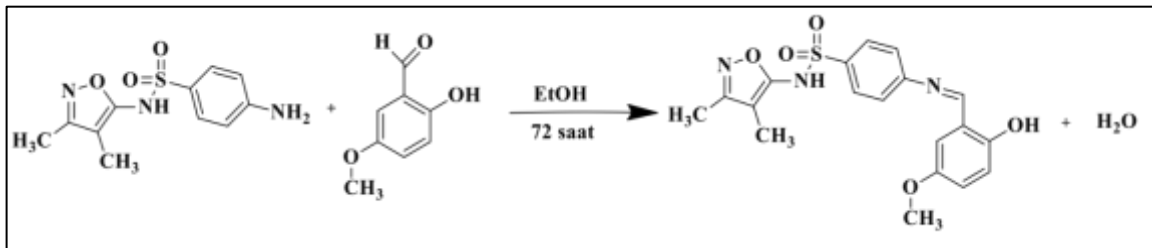
saflaştırıldı. Oluşan kristaller süzüldü ve 58 °C’da etüvde kurumaya bırakıldı. Oluşan ürün katı ve açık kırmızı renklidir. (E.N. 189,7°C)



Şekil 3.5. L5’nin sentez yöntemi

3.3.6. Sülfizoksazol-2-hidroksi-5-metoksibenzaldehit (L6)

20 mL etanol içeren 2 boyunlu kuru ve temiz 50 mL’lik bir balona 1mmol Sülfizoksazol eklendikten sonra karıştırılarak çözünme işlemi gerçekleştirildi. Üzerine sıcak etanolde çözünmüş 1 mmol 2-hidroksi 5-metoksibenzaldehitin çözeltisi damla damla ilave edildi. Çözelti pH’sı 4’e ayarlandı. Manyetik karıştırıcıda 150°C sıcaklıkta 72 saat boyunca geri soğutucu altında karışmaya bırakıldı. Ürünün takibi heksan/etil asetat (5:5 oranında) çözücü çifti kullanılarak ince tabaka kromatografisi (TLC) ile yapıldı. Ürün oluşumu tamamlandıktan sonra oluşan renkli katı ürün süzüldü. Elde edilen ürün aseton/heksan karışımı ile kristallendirilerek saflaştırıldı. Oluşan kristaller süzüldü ve 58 °C’da etüvde kurumaya bırakıldı. Oluşan ürün katı ve kırmızı renklidir. (E.N. 190,6°C)

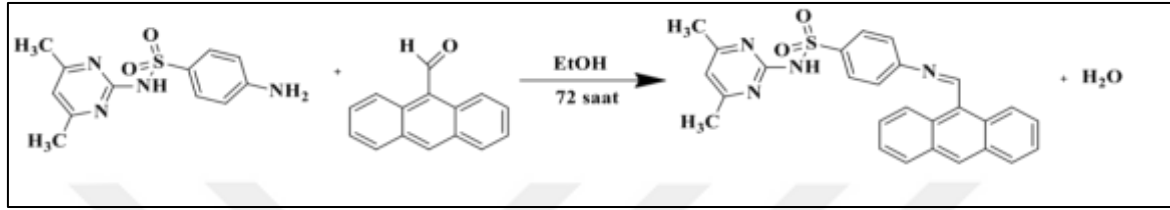


Şekil 3.6. L6’nın sentez yöntemi

3.3.7. Sülfametazin-9-antrasenkarboksialdehit (L7)

20 mL etanol içeren 2 boyunlu kuru ve temiz 50 mL’lik bir balona 1mmol Sülfametazin eklendikten sonra karıştırılarak çözünme işlemi gerçekleştirildi. Üzerine sıcak etanolde çözünmüş 1 mmol 9-antrasenkarboksialdehitin çözeltisi damla damla ilave edildi. Çözelti

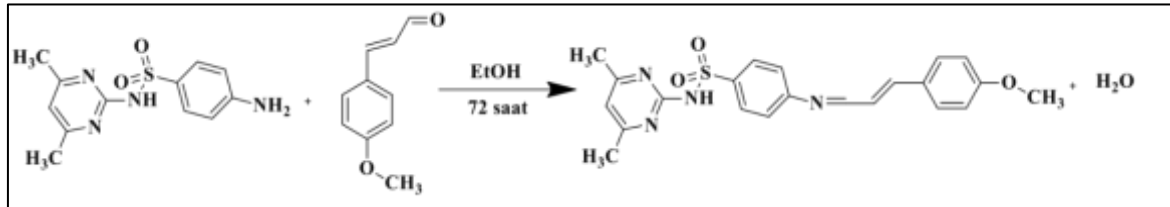
pH'sı 4'e ayarlandı. Manyetik karıştırıcıda 150°C sıcaklıkta 72 saat boyunca geri soğutucu altında karışmaya bırakıldı. Ürünün takibi DCM/metanol (5:5 oranında) çözücü çifti kullanılarak ince tabaka kromatografisi (TLC) ile yapıldı. Ürün oluşumu tamamlandıktan sonra oluşan renkli katı ürün süzüldü. Elde edilen ürün etanol ile kristallendirilerek saflaştırıldı. Oluşan kristaller süzüldü ve 58 °C'da etüvde kurumaya bırakıldı. Oluşan ürün katı ve sarı renklidir. (E.N. 222,6°C)



Şekil 3.7. L7'nin sentez yöntemi

3.3.8. Sülfametazin-4-metoksisinnamaldehit (L8)

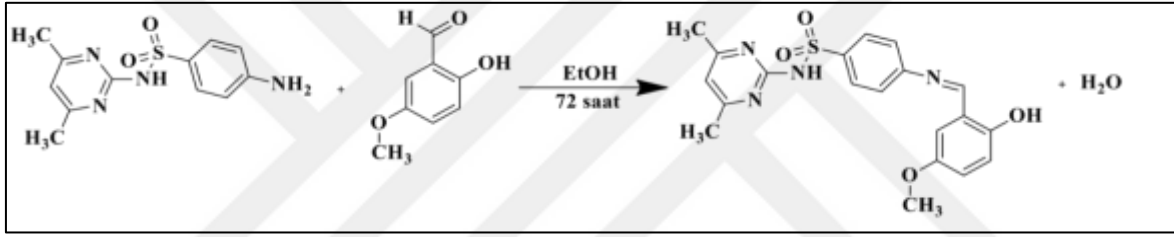
20 mL etanol içeren 2 boyunlu kuru ve temiz 50 mL'lik bir balona 1mmol Sülfametazin eklendikten sonra karıştırılarak çözünme işlemi gerçekleştirildi. Üzerine sıcak etanolde çözünmüş 1 mmol 4-metoksisinnamaldehitin çözeltisi damla damla ilave edildi. Çözelti pH'sı 4'e ayarlandı. Manyetik karıştırıcıda 150°C sıcaklıkta 72 saat boyunca geri soğutucu altında karışmaya bırakıldı. Ürünün oluşumu heksan/etil asetat (2:8) çözücü çifti kullanılarak ince tabaka kromatografisi (TLC) ile yapıldı. Ürün oluşumu tamamlandıktan sonra oluşan renkli katı ürün süzüldü. Elde edilen ürün aseton/heksan karışımı ile kristallendirilerek saflaştırıldı. Oluşan kristaller süzüldü ve 58°C'da etüvde kurumaya bırakıldı. Oluşan ürün katı ve sarı renklidir. (E.N. 208,7°C)



Şekil 3.8. L8'in sentez yöntemi

3.3.9. Sülfametazin-2-hidroksi-5-metoksibenzaldehit (L9)

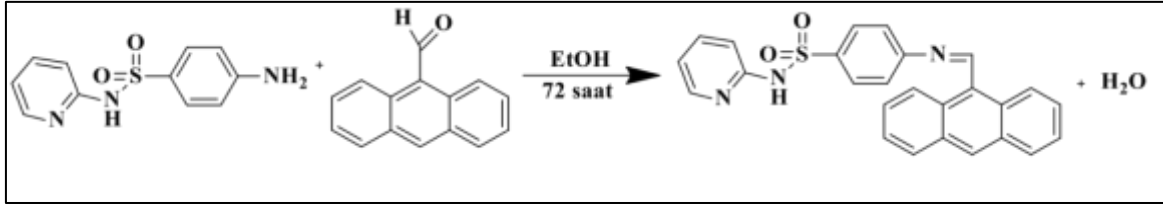
20 mL etanol içeren 2 boyunlu kuru ve temiz 50 mL'lik bir balona 1mmol Sülfametazin eklendikten sonra karıştırılarak çözünme işlemi gerçekleştirildi. Üzerine sıcak etanolde çözülmüş 1 mmol 2-hidroksi-5-metoksibenzaldehitin çözeltisi damla damla ilave edildi. Çözelti pH'sı 4'e ayarlandı. Manyetik karıştırıcıda 150°C sıcaklıkta 72 saat boyunca geri soğutucu altında karışmaya bırakıldı. Ürünün takibi heksan/etil asetat (2:8) çözücü çifti kullanılarak ince tabaka kromatografisi (TLC) ile yapıldı. Ürün oluşumu tamamlandıktan sonra oluşan renkli katı ürün süzüldü. Elde edilen ürün etanol ile kristallendirilerek saflaştırıldı. Oluşan kristaller süzüldü ve 58°C'da etüvde kurumaya bırakıldı. Oluşan ürün katı ve sarı-turuncu renklidir. (E.N 230,2°C)



Şekil 3.9. L9'un sentez yöntemi

3.3.10. Sülfapiridin-9-antrasenkarboksialdehit (L10)

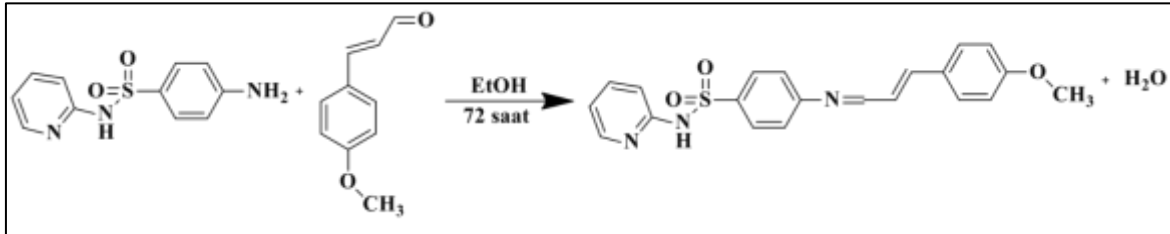
20 mL etanol içeren 2 boyunlu kuru ve temiz 50 mL'lik bir balona 1mmol Sülfapiridin eklendikten sonra karıştırılarak çözünme işlemi gerçekleştirildi. Üzerine sıcak etanolde çözülmüş 1 mmol 9-antrasenkarboksialdehitin çözeltisi damla damla ilave edildi. Çözelti pH'sı 4'e ayarlandı. Manyetik karıştırıcıda 150°C sıcaklıkta 72 saat boyunca geri soğutucu altında karışmaya bırakıldı. Ürünün oluşumu heksan/etil asetat (2:8) çözücü çifti kullanılarak ince tabaka kromatografisi (TLC) ile takip edildi. Ürün oluşumu tamamlandıktan sonra oluşan renkli katı ürün süzüldü. Elde edilen ürün aseton/heksan karışımı ile kristallendirilerek saflaştırıldı. Oluşan kristaller süzüldü ve 58°C'da etüvde kurumaya bırakıldı. Oluşan ürün katı ve sarı renklidir. (E.N. 274,3°C)



Şekil 3.10. L10'nun sentez yöntemi

3.3.11. Sülfapiridin-4-metoksisinnamaldehit (L11)

20 mL etanol içeren 2 boyunlu kuru ve temiz 50 mL'lik bir balona 1mmol Sülfapiridin eklendikten sonra karıştırılarak çözünme işlemi gerçekleştirildi. Üzerine sıcak etanolde çözülmüş 1 mmol 4-metoksisinnamaldehitin çözeltisi damla damla ilave edildi. Çözelti pH'sı 4'e ayarlandı. Manyetik karıştırıcıda 150°C sıcaklıkta 72 saat boyunca geri soğutucu altında karışmaya bırakıldı. Ürünün oluşumu heksan/etil asetat (1:2) çözücü çifti kullanılarak ince tabaka kromatografisi (TLC) ile takip edildi. Ürün oluşumu tamamlandıktan sonra oluşan renkli katı ürün süzüldü. Elde edilen ürün aseton/heksan karışımı ile kristallendirilerek saflaştırıldı. Oluşan kristaller süzüldü ve 58°C'da etüvde kurumaya bırakıldı. Oluşan ürün katı ve sarı renklidir. (E.N. 215,8°C)

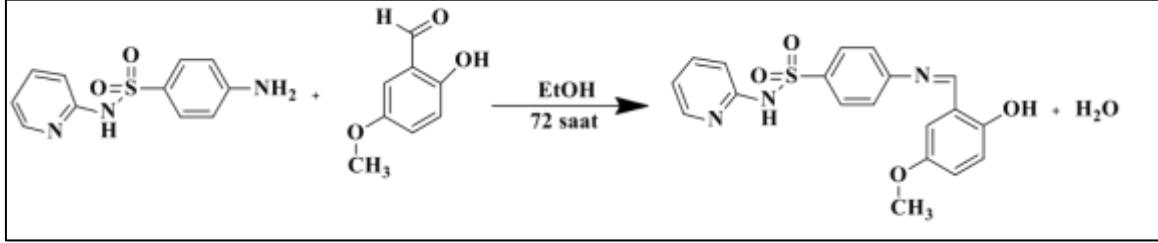


Şekil 3.11. L11'in sentez yöntemi

3.3.12. Sülfapiridin-2-hidroksi-5-metoksibenzaldehit (L12)

20 mL etanol içeren 2 boyunlu kuru ve temiz 50 mL'lik bir balona 1mmol Sülfapiridin eklendikten sonra karıştırılarak çözünme işlemi gerçekleştirildi. Üzerine sıcak etanolde çözülmüş 1 mmol 2-hidroksi 5-metoksibenzaldehitin çözeltisi damla damla ilave edildi. Çözelti pH'sı 4'e ayarlandı. Manyetik karıştırıcıda 150°C sıcaklıkta 72 saat boyunca geri soğutucu altında karışmaya bırakıldı. Ürünün oluşumu heksan/etil asetat (7:3) çözücü çifti kullanılarak ince tabaka kromatografisi (TLC) ile takip edildi. Ürün oluşumu

tamamlandıktan sonra oluşan renkli katı ürün süzüldü. Elde edilen ürün etanol karışımı ile kristallendirilerek saflaştırıldı. Oluşan kristaller süzüldü ve 58 °C’da etüvde kurumaya bırakıldı. Oluşan ürün katı ve sarı-turuncu renklidir. (E.N 219,1°C)



Şekil 3.12. L12’nin sentez yöntemi

3.4. Kolinesteraz (AChE ve BChE) Enzimlerinin İnhibisyon Çalışması

3.4.1. Asetilkolinesteraz enzim aktivite ölçümleri için gerekli olan çözeltiler

- Asetilkolinesteraz enzim çözeltisi: 3,6 mg asetilkolinesteraz katısından alınarak 10 mL pH=8 fosfat tamponunda çözüldü. 10 mL’lik enzim çözeltisi eppendorf tüplere 500 µL olacak şekilde ayrıldı ve bu çözeltiler -20°C de saklandı. Çalışmadan önce enzim çözeltisi +4°C de buzdolabına alınarak çözünmesi sağlandı.
- Fosfat tampon: pH=8 olan fosfat tampon hazırlamak için 1,1 g NaH₂PO₄.2H₂O ve 6,1 g Na₂HPO₄ hassas terazide tartıldı ve beher içerisinde saf suda çözüldü. Sonra 500 mL’lik balon jojeye alınarak saf su ile hacmi tamamlandı. pH metre ile çözelti pH=8’e ayarlandı.
- Asetiltiyokolin Çözeltisi: 10 mM’lık substrat çözeltisi hazırlamak için 0,2 g asetiltiyokolin tartıldı ve 50 mL olacak şekilde pH=8 fosfat tamponunda çözüldü.
- DTNB (5,5’-Ditiyo-bis(2-Nitrobenzoik Asit) çözeltisi: 10 mM’lık DTNB çözeltisi için 0,2 g katı DTNB’den tartıldı ve 50mL’lik pH=8 olan fosfat tamponunda çözüldü.
- İnhibitör Çözeltisi: Kullanılan inhibitörlerin derişimi 10⁻² M olacak şekilde stok çözeltileri hazırlandı. Stok çözelti kullanılarak saf suyla seyreltilerek 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶ ve 10⁻⁷ M’lık inhibitör çalışma çözeltileri hazırlandı.

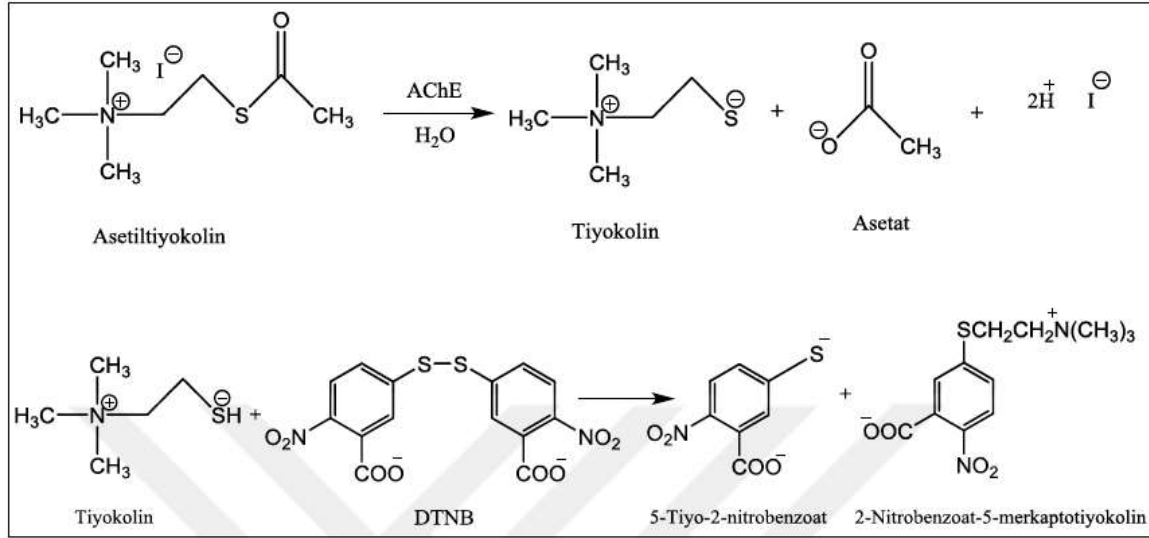
3.4.2. Bütirilkolinesteraz enzim aktivite ölçümleri için gerekli olan çözeltiler

- Bütirilkolinesteraz enzim çözeltisi: 8,4 mg bütirilkolinesteraz katısından alınarak 10 mL pH=8 fosfat tamponunda çözöldü. 10 mL'lik enzim çözeltisi eppendorf tüplere 500 µL olacak şekilde ayrıldı ve bu çözeltiler -20°C de saklandı. Çalışmadan önce enzim çözeltisi +4°C de buzdolabına alınarak çözünmesi sağlandı.
- Fosfat tampon: pH=8 olan fosfat tampon hazırlamak için 1,1 g NaH₂PO₄.2H₂O ve 6,1 g Na₂HPO₄ hassas terazide tartıldı ve beher içerisinde saf suda çözöldü. Sonra 500 mL'lik balon jøjeye alınarak saf su ile hacmi 500 ml' ye tamamlandı. pH metre ile çözelti pH=8'e ayarlandı.
- Bütiriltiyokoliniyodür Çözeltisi: 10 mM'lık substrat çözeltisi için 0,1 g bütiriltiyokoliniyodür tartıldı ve 50 mL olacak şekilde pH=8 fosfat tamponunda çözöldü.
- DTNB (5,5'-Ditiyo-bis(2-Nitrobenzoik Asit) çözeltisi: 10 mM'lık DNTB çözeltisi için 0,2 g katı DTNB'den tartıldı ve 50 mL'lik pH=8 olan fosfat tamponunda çözöldü.
- İnhibitör Çözeltisi: Kullanılan inhibitörlerin derişimi 10⁻² M olacak şekilde stok çözeltileri hazırlandı. Stok çözelti kullanılarak saf su ile seyreltilerek 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶ ve 10⁻⁷ M'lık inhibitör çalışma çözeltileri hazırlandı (Akocak ve diğerleri, 2021).

3.5. Kolinesteraz Enzimlerinin İnhibisyon Çalışma Yöntemi

Asetilkolinesteraz ve Bütirilkolinesteraz enzimlerinin inhibisyon aktiviteleri Ellman metodu ile yapıldı.

Asetilkolinesteraz substratı olan asetiltiyokolini, bütirilkolinesteraz ise substratı olan bütiriltiyokolini hidroliz eder. AChE enziminin varlığında Asetiltiyokolin, tiyokolin ve asetata hidroliz olur. Oluşan tiyokolin DTNB ile tepkimeye girerek sarı renkli kompleks birleşik oluşturur. Oluşan bu renkli kompleksin 412 nm'de absorbands okuması gerçekleştirilir.



Şekil 3.13. Ellman tepkimesinin mekanizması

Enzim aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan çözeltiler ve miktarları Çizelge 3.3’de verilmiştir. İnhibitörlü çözeltilerinin hücre içi derişimi 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} ve 10^{-9} olacak şekilde hazırlandı. Elde edilen sonuçlar kullanılarak Microsoft Excel programı yardımı ile IC₅₀ değerleri hesaplandı. İnhibitörlerin IC₅₀ değerlerini kıyaslamak için standart madde olan Donepezil kullanıldı.

Çizelge 3.3. Asetilkolinesteraz ve Bütırilkolinesteraz aktivite ölçümü yöntem tablosu

Çözeltiler	İnhibitörsüz (µL)	İnhibitörlü µL
Fosfat tampon (0,1M ph 8)	2675	2645
DTNB çözeltisi (0,01M)	150	150
İnhibitör çözeltileri	-	30
Enzim çözeltisi (AChE, BchE)	25	25
25 °C sıcaklıkta 10 dakika ilk inkübasyon süresi		
Substrat çözeltisi (0,01 M)	150	150
25 °C sıcaklıkta 20 dakika inkübasyon süresi		
Toplam hacim	3000	3000

3.6. In vitro Biyolojik Aktivite Testleri

3.6.1. İnhibitörlerin antimikrobiyal aktivitelerinin tayini

Aktivite çalışmalarının ilk basamağında duyarlılık testleri yapıldı. Çalışmaya Gram-pozitif bakteriler (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus epidermidis* ATCC

35984), Gram-negatif bakteriler (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 22853) ve mantar suşları (*Candida albicans* ATCC 10231, *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Candida auris* CDC B11903) olmak üzere toplam yedi suş dahil edildi. Her inhibitör için test edilen inhibitörlere karşı minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından bakteri ve mayalar için standardize edilen buyyon mikrodilüsyon (BMD) yöntemi kullanılarak belirlendi (Wayne, 2008).

Antimikrobiyal aktivite tayinlerinde Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nın kültür koleksiyonunda bulunan referans bakteri ve maya suşları kullanıldı. Mikroorganizma suşları saklama tüplerine (mikrobank) alınarak çalışmanın yapılacağı güne kadar -80°C'de muhafaza edildi. Saklanan mikroorganizmalar uygun besiyerlerine alınarak pasajlama işlemi gerçekleştirildi (Wayne, 2009).

3.6.2. İnhibitörlerin antikanser aktivite tayini

Hücre kültürü

Dondurucudan çıkarılan tüm hücrelerin 37 °C'de çözünmesi sağlandı. Sonra hücreler uygun besiyeri içerisine alınarak kültürleri çoğaltıldı. Caco-2 insan kolon kanseri, MCF-7 insan meme kanseri ve SH-SY5Y insan nöroblastoma dizin hücrelerinin çoğalması ve konfluent olması için %10 fetal sığır serumu (FBS), 2mM L-glutamin, 104UI/mL penisilin/streptomisin ve esansiyel olmayan amino asit içeren RPMI-1640 besiyerinde 37 °C' de ve %5 CO₂ atmosferinde inkübe edildi. Besiyeri değişimleri iki gün arayla yapılarak hücreler çoğaltıldı. Daha sonra çoğalan hücrelerin bir kısmı deney için ayrılarak, diğer kısmı ise yedek amaçlı -80 °C'de tripsin/EDTA içerisinde dondurularak saklandı.

Sitotoksikite deneyleri

Elde edilen inhibitörlerin kanser hücrelerindeki sitotoksik etkisini belirlemek amacıyla (3-(4,5-dimetiltiazol-2-y1)-2,5-difeniltetrazolium bromide (MTT) testi yapıldı. Hücreler, 96 kuyucuklu kültür kaplarına 45.000 hücre/kuyucuk olacak şekilde ekildi. Hazırlanan ve farklı şekilde seyreltilen inhibitörler ve Doxorubicin (0 mg/mL, 0,1 mg/mL, 1 mg/mL, 10 mg/mL, 100 mg/mL ve 1000 mg/mL) ile ayrı ayrı 24, 48 ve 72 saat muamele edildi. Doxorubicin,

antineoplastic bir ilaç olup, deneyde pozitif kontrol olarak kullanıldı. Süre sonunda hücreler steril PBS ile yıkandı. Daha sonra, her bir kuyucuğa 100 µL taze kültür besiyeri eklendi ve üzerine 10 µL 12 mM MTT stok çözeltisinden ilave edildi. 37 °C’de 4 saatlik inkübasyonun ardından MTT içeren besiyeri pipetle çekilerek uzaklaştırıldı. Hücrelere 50 µL dimetil sülfoksit (DMSO) eklenerek oda sıcaklığında 10 dk süreyle bekletildi ve 570 nm’e dalga boyunda absorbanları ölçüldü. Her deney 3 kez tekrarlandı. MTT testi sonucunda her bir inhibitörün IC₅₀ değerleri hesaplandı ve hücre canlılığını gösteren değerler grafiğe alındı (Aydemir, 2021).

3.6.3. Teorik hesaplamalar

Teorik çalışmalarda, öncelikle Gaussian 09 programındaki DFT yöntemi ile /B3LYP/6-31+G (d,p) temel seti vasıtasıyla geometri optimizasyonu ile kararlı moleküler yapılar elde edildi. Daha sonra, inhibitörlerin en yüksek dolu moleküler orbital (HOMO) ve en düşük dolu olmayan moleküler orbital (LUMO) arasındaki enerji band aralığı (ΔE) hesaplandı. Sınır orbitallerinin (FMOs) enerji değerleri ve band aralığı molekül içi/moleküller arası elektronik geçişler hakkında önemli bilgi vermektedir. Yüksek HOMO–LUMO band aralığı yüksek kinetik kararlılık ve düşük kimyasal reaktivite (redoks tepkimelerine karşı kararlı) anlamına gelmektedir. HOMO enerjisi iyonlaşma enerjisine ($I = -E_{\text{HOMO}}$) ve LUMO enerjisi elektron ilgisine ($A = -E_{\text{LUMO}}$) karşı gelmektedir (Aben Ovung ve Jhimli Bhattacharyya, 2021). Sınır moleküler orbital (FMOs:HOMO ve LUMO) enerjileri kullanılarak Global reaktiflik parametreleri olan sertlik ($\eta = (I-A)/2$), yumuşaklık ($S = 1/2\eta$), elektronegativite ($\chi = (I+A)/2$), kimyasal potansiyel ($\mu = -\chi$), elektrofilik indeks ($\omega = \mu^2/2\eta$) ve nükleofilik indeks ($\varepsilon = 1/\omega$) hesaplandı. Ayrıca, moleküler elektrostatik potansiyel (MEP) haritaları üzerinde kontör eğrileri çizilerek biyolojik yapılarla etkileşim sırasında atak yapabilecek elektrofilik bölgeler tespit edildi (Adeeb Al Sheikh Aki ve diğerleri, 2021).

3.7. Moleküler Kenetlenme (Docking) Çalışmaları

İnhibitörlerin Moleküler Kenetlenme (Docking) çalışmaları Autodock 4 Programı ile yapılmıştır. İnhibitörlerin üç boyutlu yapılarını elde edilmesi ve geometri optimizasyonun yapılp minimum enerjili yapılarının elde edilmesi için Gaussian 09 program paketi kullanılmıştır. İnhibitörlerin kenetlenme (docking) işleminin gerçekleştirebileceği hedef reseptör olarak seçilen Asetilkolinesteraz ve Bütilkolinesteraz proteinlerinin kristal şekli

(PDB kodu: 4ey7 (AchE) ve 4bds (BchE) , Resolution 0,375Å)Protein Veri Bankası (PDB) web sitesinden pdb formatında elde edilmiştir.

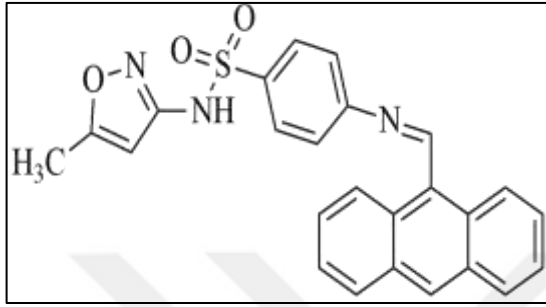




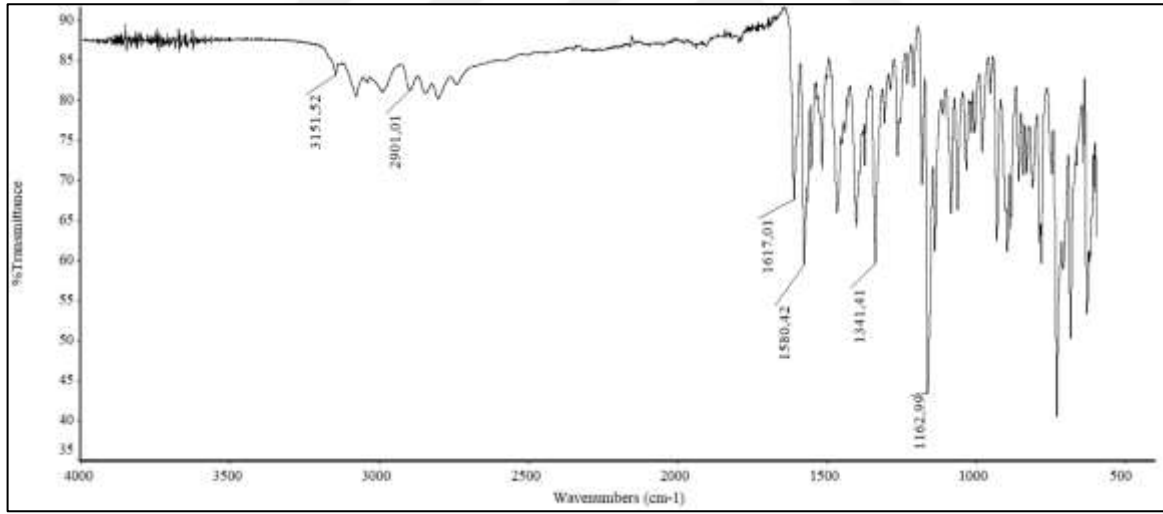
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI

4.1. İnhibitörlerin Yapı Tayini

4.1.1. Sülfametoksazol-9-antrasenkarboksialdehit (L1)

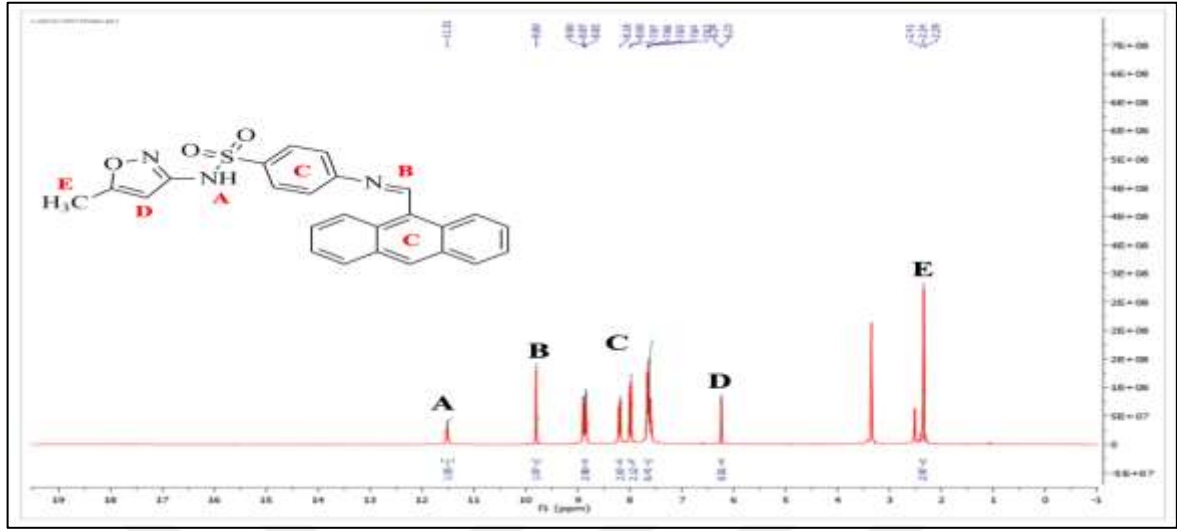


FT-IR sonucu;



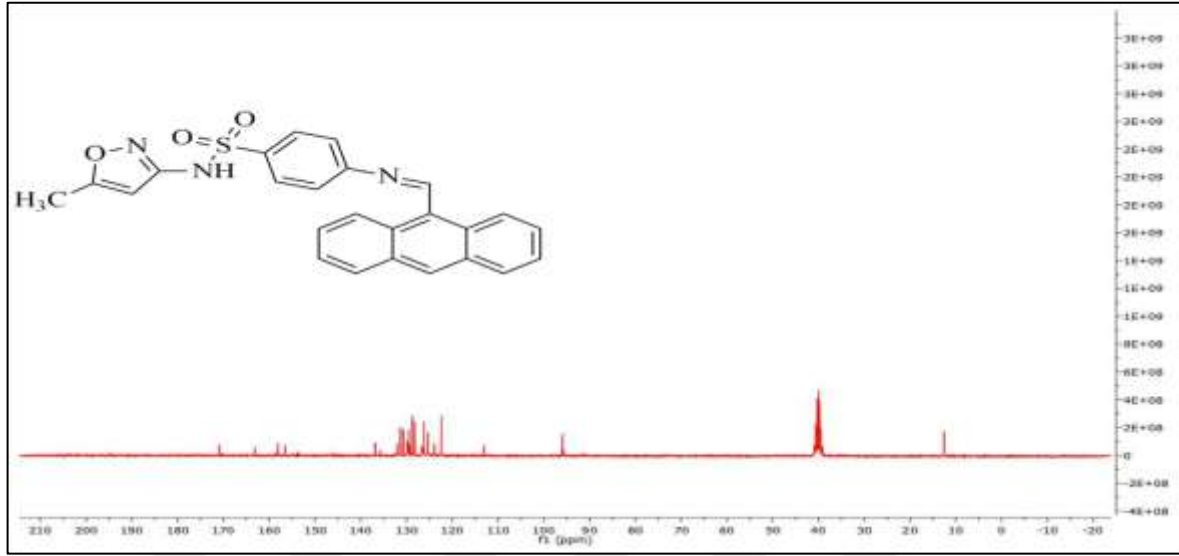
Şekil 4.1. L1 inhibitörünün FT-IR spektrumu

L1 inhibitörüne ait FT-IR spektrumu verilmiştir. Spektrum incelendiğinde 3151 cm^{-1} civarında gözlenen bant ikincil amin $\nu(\text{NH})$ gerilme, 1617 cm^{-1} civarında görülen bant imin $\nu(\text{C}=\text{N})$ gerilme, $2993\text{--}2839\text{ cm}^{-1}$ civarında görülen bant $\nu(\text{C-H})$ gerilme, 1341 cm^{-1} civarında gözlenen pik $\nu_{\text{as}}(\text{SO}_2)$ asimetrik gerilme, 1162 cm^{-1} de $\nu_{\text{s}}(\text{SO}_2)$ simetrik gerilme ve son olarak $1580\text{--}1266\text{ cm}^{-1}$ aralığında gözlenen bantlar ise aromatik $\nu(\text{C}=\text{C})$ gerilme titreşimlerine aittir.

^1H -NMR sonucu;Şekil 4.2. L1 inhibitörünün ^1H -NMR spektrumu

L1 inhibitörünün DMSO- d_6 içindeki ^1H -NMR spektrumunda, -NH (A) protonuna ait tekli pik 11,51 ppm de, imin grubuna bağlı hidrojene ait (-N=CH) (B) bir protona karşılık gelen tekli pik 9,77 ppm de, antrasen halkasındaki (C) üç protona karşılık gelen çoklu pik 8,87 ppm de ve altı protona karşılık gelen çoklu pikler 7,63 ppm de gözlenmektedir. Aromatik halkadaki (C') iki farklı elektronik çevreye sahip olan dört protona karşılık gelen çoklu pikler 8,20 ppm ve 7,97 ppm de, izoksazol halkasındaki hidrojen atomuna ait tekli pik (D) 6,24 ppm de ve aynı halkaya bağlı -CH₃ E protonlarına ait olan üç protona karşılık gelen şiddetli tekli pik 2,25 ppm de gözlenmiştir.

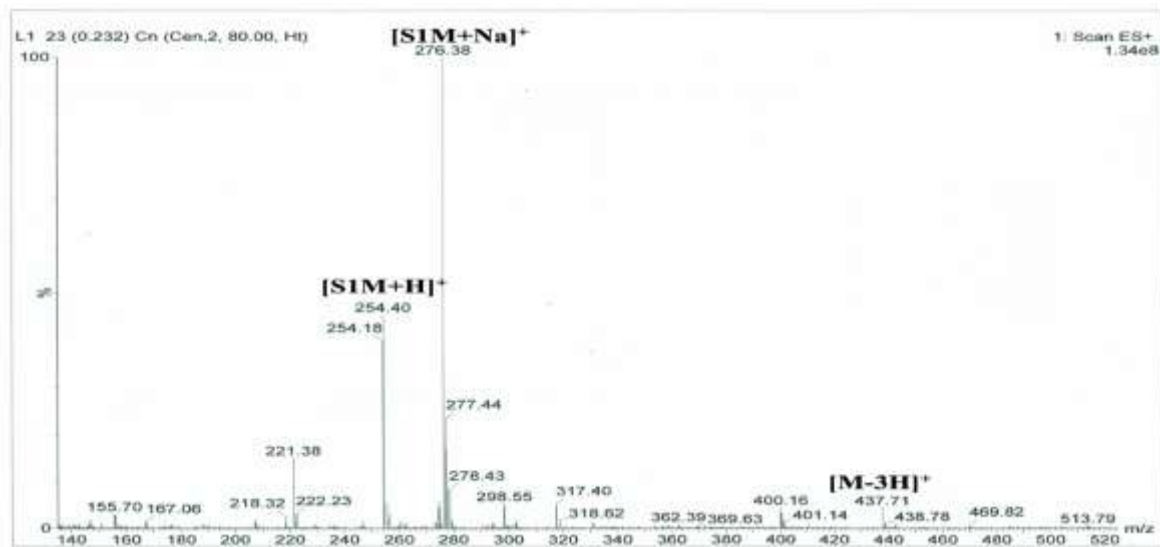
^{13}C -NMR sonucu;



Şekil 4.3. L1 inhibitörünün ^{13}C -NMR spektrumu

L1 inhibitörünün ^{13}C -NMR spektrumu için DMSO- d_6 çözücüsü kullanıldı. İnhibitördeki imin ($\text{CH}=\text{N}$) karbonuna ait pik 162 ppm'de, imin protonuna bağlı ($=\text{N}-\text{CH}$) karbon atomuna ait pik 158 ppm'de izoksazol halkasına bağlı metil karbonuna ($\text{O}-\text{C}-\text{CH}_3$) ait pik ise 12,5 ppm'de görülmüştür. Son olarak aromatik halkalara ait pikler 97, 115, 138 ve 169 ppm de gözlenmiştir.

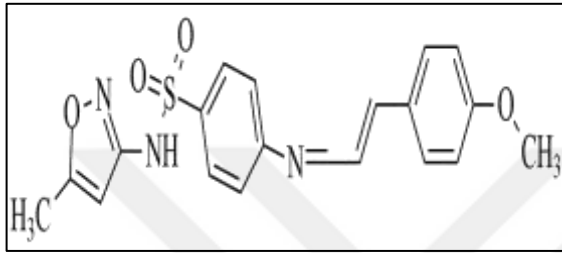
LC-MS sonucu



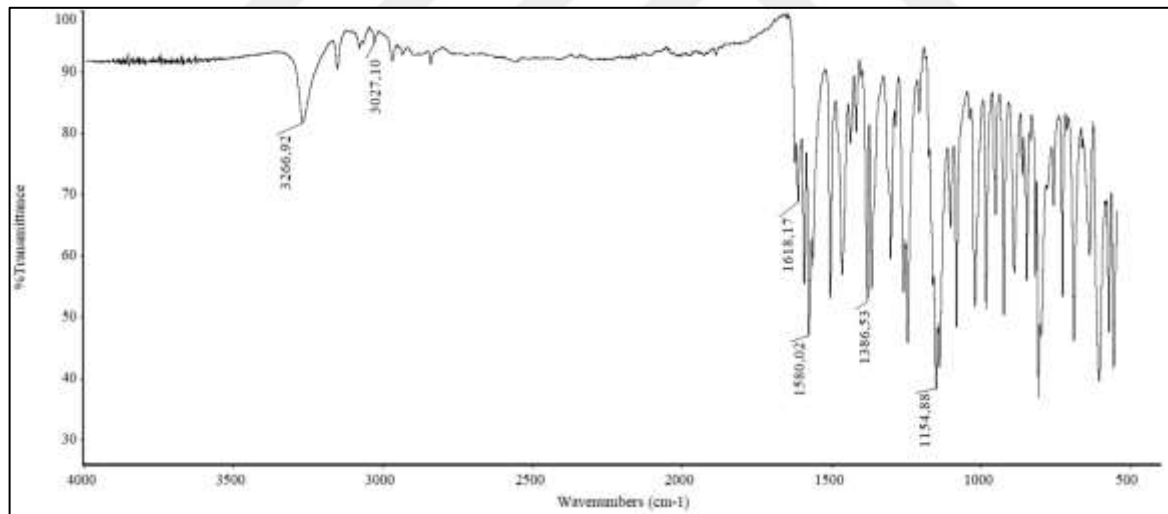
Şekil 4.4. L1 inhibitörünün LC-MS spektrumu

L1 inhibitörüne ait teorik olarak hesaplanan moleküler ağırlığı $441,50 \text{ g mol}^{-1}$ ’dür. $437,71$ de gözlenen $[M-3H]^+$ pik, moleküler iyon pikine aittir. Başlangıç ürünü olan Sülfametoksazol (S1M) bileşiğine ait moleküler ağırlığı 253 g/mol ’dür ve $[S1M+H]^+ = 254,40 \text{ m/z}$ de gözlenmiştir. Sülfametoksazol (S1M) bileşiğinin sodyum iyonu ile oluşturduğu moleküler iyon piki $[S1M+Na]^+ = 276,65 \text{ m/z}$ temel pik olarak düşünülmektedir.

4.1.2. Sülfametoksazol-4-metoksisinnamaldehit (L2)



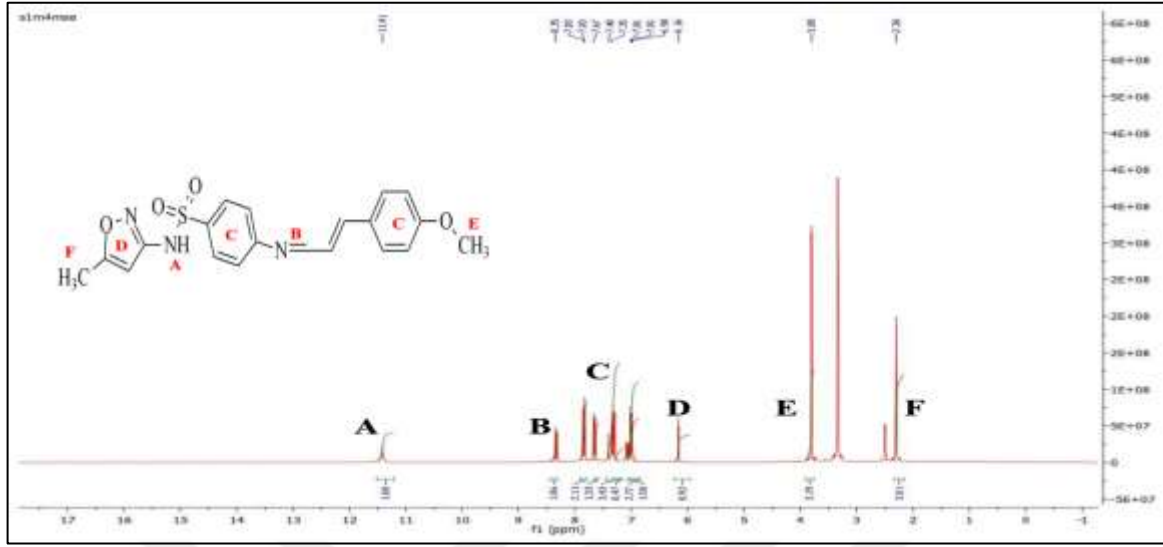
FT-IR sonucu;



Şekil 4.5. L2 inhibitörünün FT-IR spektrumu

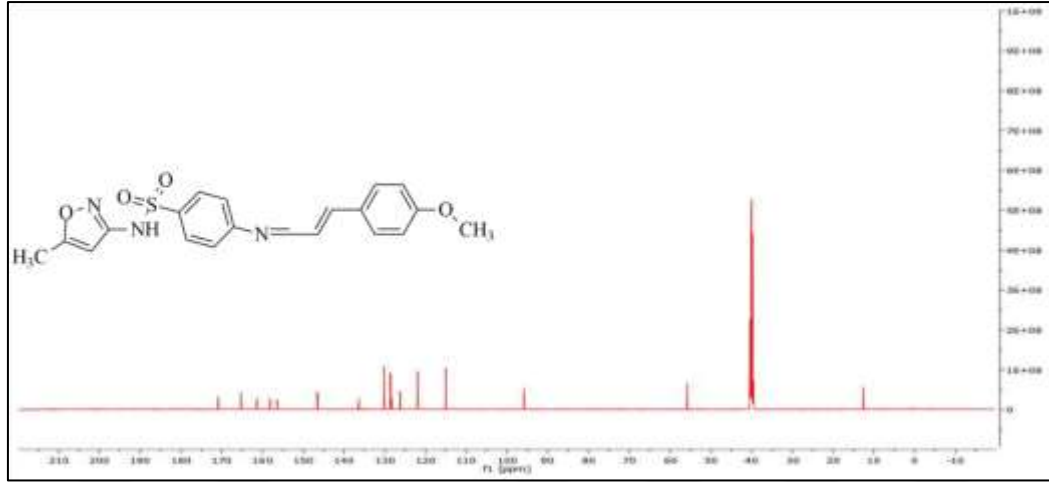
L2 inhibitörüne ait FT-IR spektrumu verilmiştir. Spektrum incelendiğinde 3266 cm^{-1} civarında gözlenen bant ikincil amin $\nu(\text{NH})$ gerilme, 1618 cm^{-1} civarında görülen bant imin $\nu(\text{C}=\text{N})$ gerilme, $3155\text{-}2559 \text{ cm}^{-1}$ civarında görülen bant $\nu(\text{C}-\text{H})$ gerilme, 1386 cm^{-1} civarında gözlenen pik $\nu_{\text{as}}(\text{SO}_2)$ asimetric gerilme, 1154 cm^{-1} de $\nu_{\text{s}}(\text{SO}_2)$ simetrik gerilme ve son olarak $1579\text{-}1249 \text{ cm}^{-1}$ aralığında gözlenen bantlar ise aromatik $\nu(\text{C}=\text{C})$ gerilme titreşimlerine aittir.

¹H-NMR sonucu;

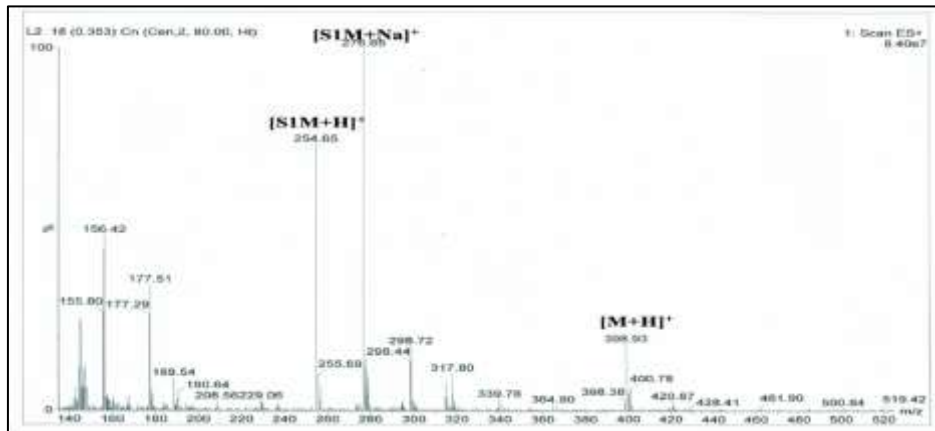


Şekil 4.6. L2 inhibitörünün ¹H-NMR spektrumu

L2 inhibitörünün DMSO-d₆ içindeki ¹H-NMR spektrumunda, -NH (A) protonuna ait tekli pik 11,41 ppmde, imin grubuna bağlı hidrojene ait (-N=CH) (B) bir protona karşılık gelen tekli pik 8,35 ppm de, iki aromatik halkaya ait (C) sekiz protona karşılık gelen çoklu pikler 7,83 – 7,01 ppm aralığında gözlenmektedir. Aromatik halkaya bağlı (C') trans hidrojen protonuna ait ikili pik 7,01ppm ve 6,98 ppm de, izoksazol halkasındaki (D) hidrojen atomuna ait tekli pik 6,16 ppm de, aynı halkaya bağlı -CH₃ (F) protonlarına ait olan üç protona karşılık gelen şiddetli pik 2,30 ppm de ve son olarak aromatik halkaya bağlı (C') -OCH₃ protonlarına ait tekli pik (E) 3,80 ppm de gözlenmiştir.

¹³C-NMR sonucu;Şekil 4.7. L2 inhibitörünün ¹³C-NMR spektrumu

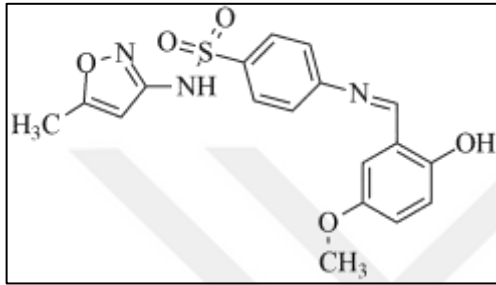
L2 inhibitörünün ¹³C-NMR spektrumu için DMSO-d₆ çözücüsü kullanıldı. İnhibitördeki imin ($\text{CH}=\text{N}$) karbonuna ait pik 165 ppm’de, imin protonuna bağlı ($=\text{N}-\text{CH}$) karbon atomuna ait pik 161 ppm’de, 4-metoksisinnamaldehyde ait aromatik halkaya bağlı metoksi grubu ($-\text{C}-\text{O}-\text{CH}_3$) 56 ppm’de ve izoksazol halkasına bağlı metil karbonuna ($\text{O}-\text{C}-\text{CH}_3$) ait pik ise 12,4 ppm’de görülmüştür. Son olarak 4-metoksisinnamaldehyde ait trans karbon atomları 138 ppm ve 121 ppm’de ve aromatik halkalardaki karbon atomlarına ait pikler 97, 115, 130, 138, 159, 171 ppm de gözlenmiştir.

LC-MS sonucu;

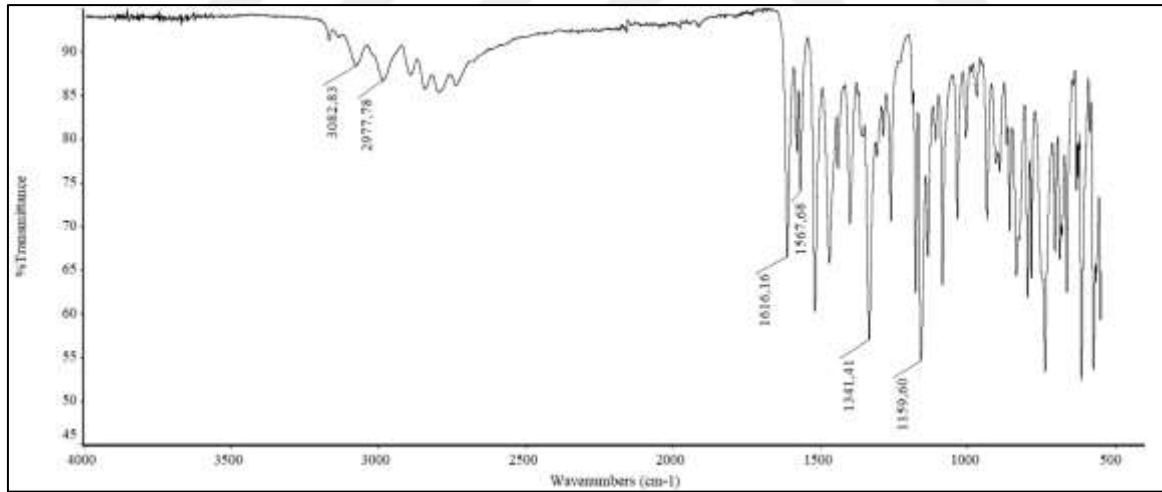
Şekil 4.8. L2 inhibitörünün LC-MS spektrumu

L2 inhibitörüne ait teorik olarak hesaplanan moleküler ağırlığı $397,45 \text{ g mol}^{-1}$ ’dir. İnhibitöre ait moleküler iyon piki $[M+H]^+ = 398,93 \text{ m/z}$ de gözlenmiştir. Başlangıç ürünü olan S1M bileşiğine ait moleküler ağırlığı 253 g/mol ’dür ve $[S1M+H]^+ = 254,40 \text{ m/z}$ de gözlenmiştir. Sülfametoksazol (S1M) bileşiğinin sodyum iyonu ile oluşturduğu moleküler iyon piki $[S1M+Na]^+ = 276,65 \text{ m/z}$ temel pik olarak düşünülmektedir.

4.1.3. Sülfametoksazol-2-hidroksi-5-metoksibenzaldehit (L3)

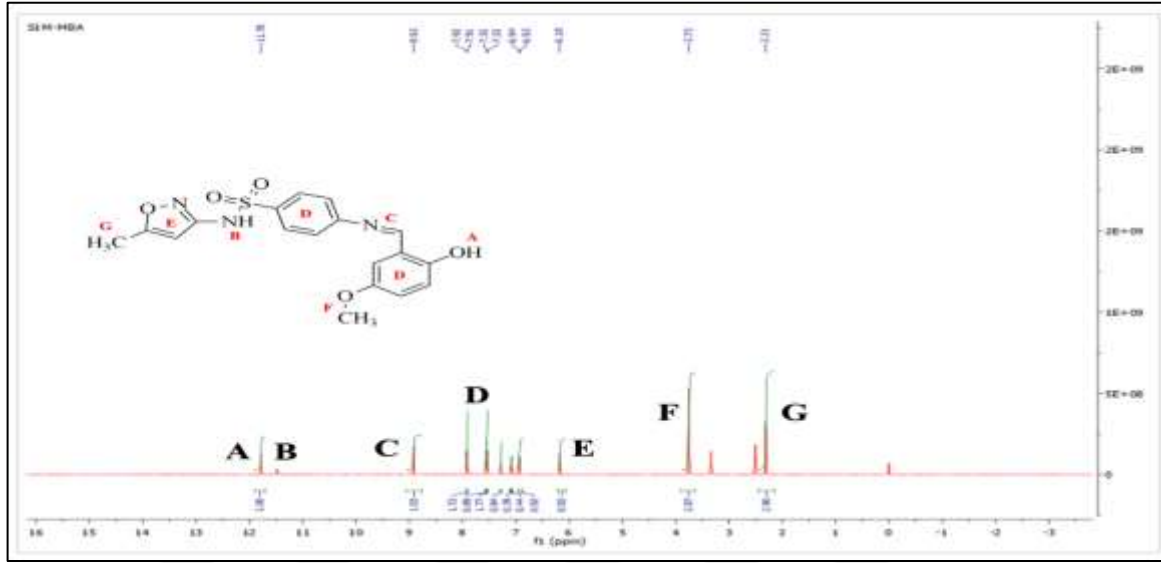


FT-IR sonucu;



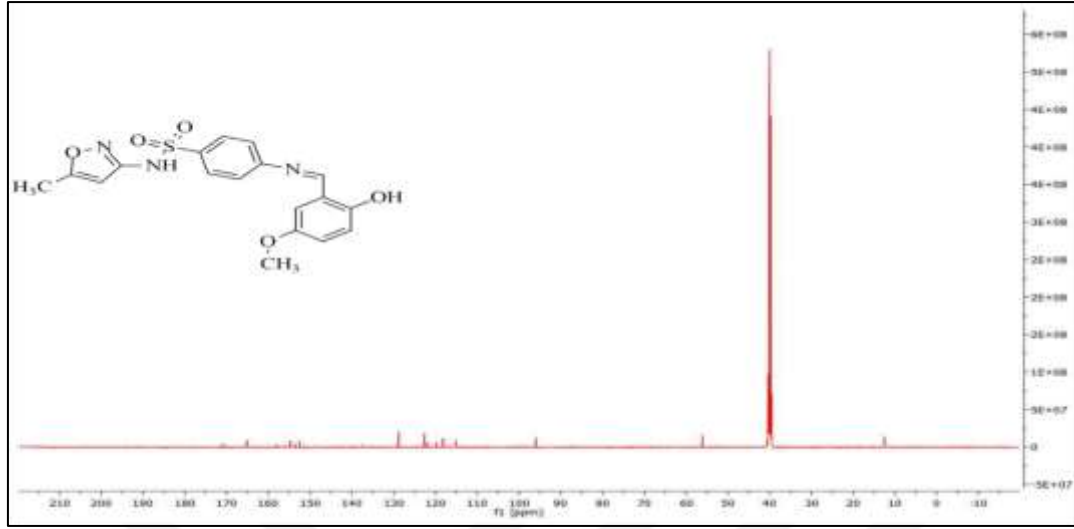
Şekil 4.9. L3 inhibitörünün FT-IR spektrumu

L3 inhibitörüne ait FT-IR spektrumu verilmiştir. Spektrum incelendiğinde 3082 cm^{-1} civarında gözlenen bant ikincil amin $\nu(\text{NH})$ gerilme, 1616 cm^{-1} civarında görülen bant imin $\nu(\text{C}=\text{N})$ gerilme, $2977\text{-}2839 \text{ cm}^{-1}$ civarında görülen bant $\nu(\text{C-H})$ gerilme, 1341 cm^{-1} civarında gözlenen pik $\nu_{\text{as}}(\text{SO}_2)$ asimetrik gerilme, 1159 cm^{-1} de $\nu_{\text{s}}(\text{SO}_2)$ simetrik gerilme ve son olarak $1567\text{-}1266 \text{ cm}^{-1}$ aralığında gözlenen bantlar ise aromatik $\nu(\text{C}=\text{C})$ gerilme titreşimlerine aittir.

¹H-NMR sonucu:Şekil 4.10. L3 inhibitörünün ¹H-NMR spektrumu

L3 inhibitörünün DMSO-d₆ içindeki ¹H-NMR spektrumunda, Fenol halkasındaki (D) -OH protununa ait tekli pik (A) 11,78 ppm de, -NH protonuna ait tek pik (B) 11,51 ppm de, imin grubuna bağlı hidrojene ait (-N=CH) bir protona karşılık gelen tekli pik (C) 8,92 ppm de, iki aromatik halkaya ait (D ve D') yedi protona karşılık gelen çoklu pikler 7,93 – 6,92 ppm aralığında gözlenmektedir. İzoksazol halkasındaki hidrojen atomuna ait tekli pik (E) 6,18 ppm de, aromatik halkaya bağlı (D) üç protonuna karşılık gelen -OCH₃ (F) protonlarına ait pik 3,75 ppm ve izoksazol halkasında üç protona karşılık gelen -CH₃ (G) protonlarına ait olan şiddetli pik 2,31 ppm de gözlenmiştir.

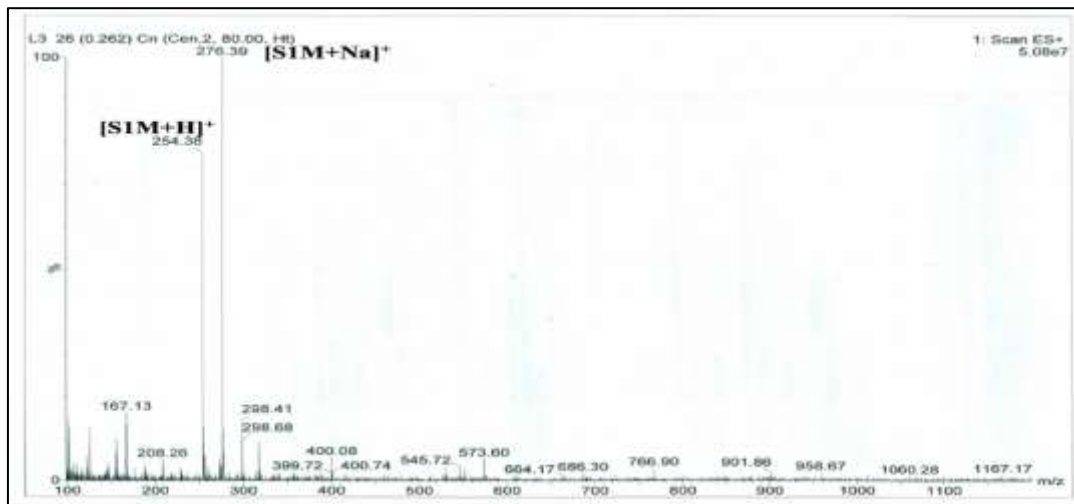
^{13}C -NMR sonucu;



Şekil 4.11. L3 inhibitörünün ^{13}C -NMR spektrumu

L3 inhibitörünün ^{13}C -NMR spektrumu için DMSO- d_6 çözücüsü kullanıldı. İnhibitördeki imin ($\text{CH}=\text{N}$) karbonuna ait pik 165 ppm’de, imin protonuna bağlı ($=\text{N}-\text{CH}$) karbon atomuna ait pik 155 ppm’de, 2-hidroks-5-metoksibenzaldehite bağlı metoksi grubuna ait pik 57 ppm de ve izoksazol halkasına bağlı metil grubundaki karbona ($\text{O}-\text{C}-\text{CH}_3$) ait pik ise 12 ppm’de görülmüştür. Son olarak aromatik halkadaki karbonlara ait pikler ise 154 ppm ve 95 ppm aralığında gözlenmiştir.

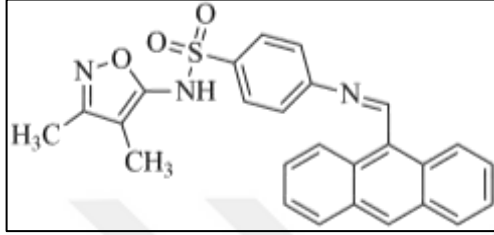
LC-MS sonucu;



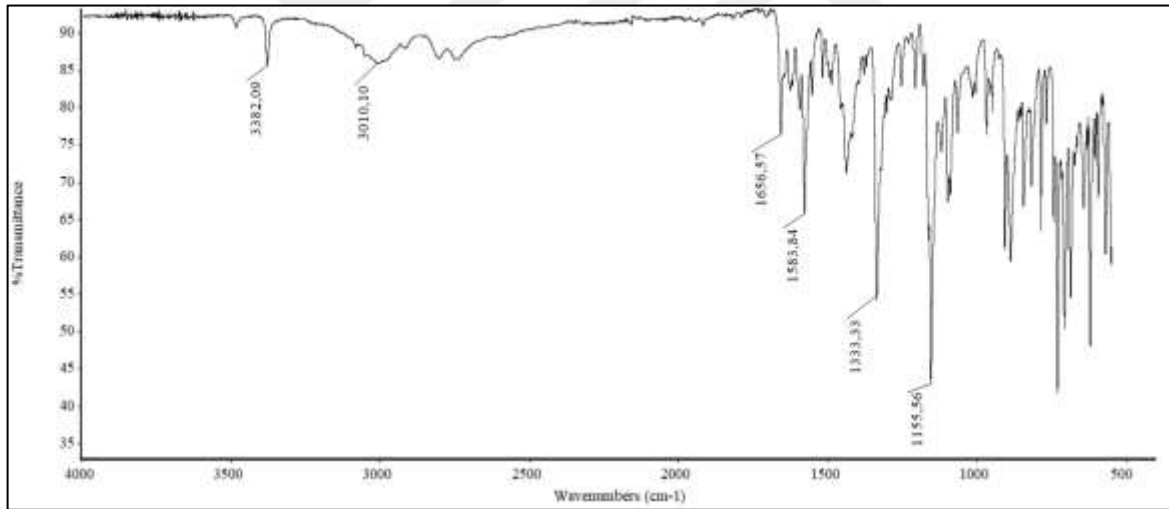
Şekil 4.12. L3 inhibitörünün LC-MS spektrumu

L3 inhibitörüne ait teorik olarak hesaplanan moleküler ağırlığı 387,41 g/mol⁻¹dür. Başlangıç ürünü olan S1M bileşiğine ait moleküler ağırlığı 253 g/mol'dür ve [S1M+H]⁺= 254,40 m/z de gözlenmiştir. Sülfametoksazol (S1M) bileşiğinin sodyum iyonu ile oluşturduğu moleküler iyon piki [S1M+Na]⁺= 276,65 m/z temel pik olarak düşünülmektedir.

4.1.4. Sülfizoksazol-9-antrasenkarboksialdehit (L4)



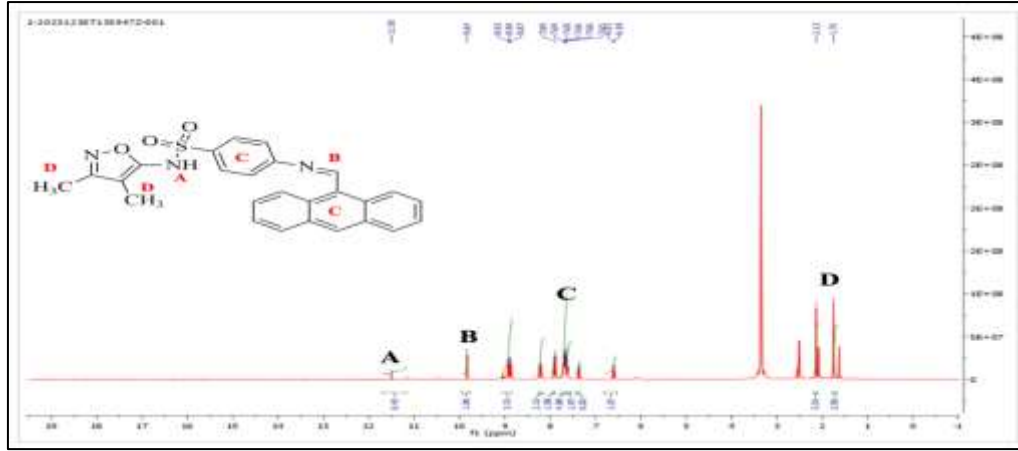
FT-IR sonucu;



Şekil 4.13. L4 inhibitörünün FT-IR spektrumu

L4 inhibitörüne ait FT-IR spektrumu verilmiştir. Spektrum incelendiğinde 3382 cm⁻¹ civarında gözlenen bant ikincil amin ν (NH) gerilme, 1656 cm⁻¹ civarında görülen bant imin ν (C=N) gerilme, 3010-2743 cm⁻¹ civarında görülen bant ν (C-H) gerilme, 1333 cm⁻¹ civarında gözlenen pik ν_{as} (SO₂) asimetrik gerilme, 1155 cm⁻¹ de ν_s (SO₂) simetrik gerilme ve son olarak 1583-1256 cm⁻¹ aralığında gözlenen bantlar ise aromatik ν (C=C) gerilme titreşimlerine aittir.

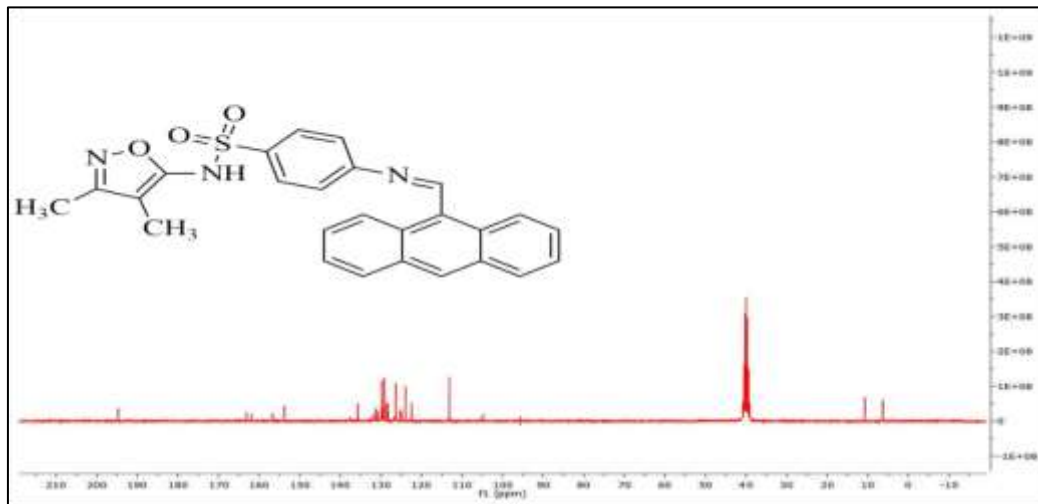
^1H -NMR sonucu;



Şekil 4.14. L4 inhibitörünün ^1H -NMR spektrumu

L4 inhibitörünün DMSO- d_6 içindeki ^1H -NMR spektrumunda, -NH (A) protonuna ait tekli pik 11,50 ppmde, imin grubuna bağlı hidrojene ait (-N=CH) (B) bir protona karşılık gelen tekli pik 9,84 ppm de, antrasen halkasındaki (C) üç protona karşılık gelen çoklu pik 8,93 ppm de ve altı protona karşılık gelen çoklu pikler 7,66 ppm de gözlenmektedir. Aromatik halkadaki (C) ikişer protona ait olan dört protona karşılık gelen çoklu pikler 7,89 ve 7,66 ppm de ve izoksazol halkasına bağlı iki adet -CH $_3$ protonlarına ait olan 3 protona karşılık gelen şiddetli pikler (D) 2,13 ppm ve (D) 1,75 ppm de gözlenmiştir.

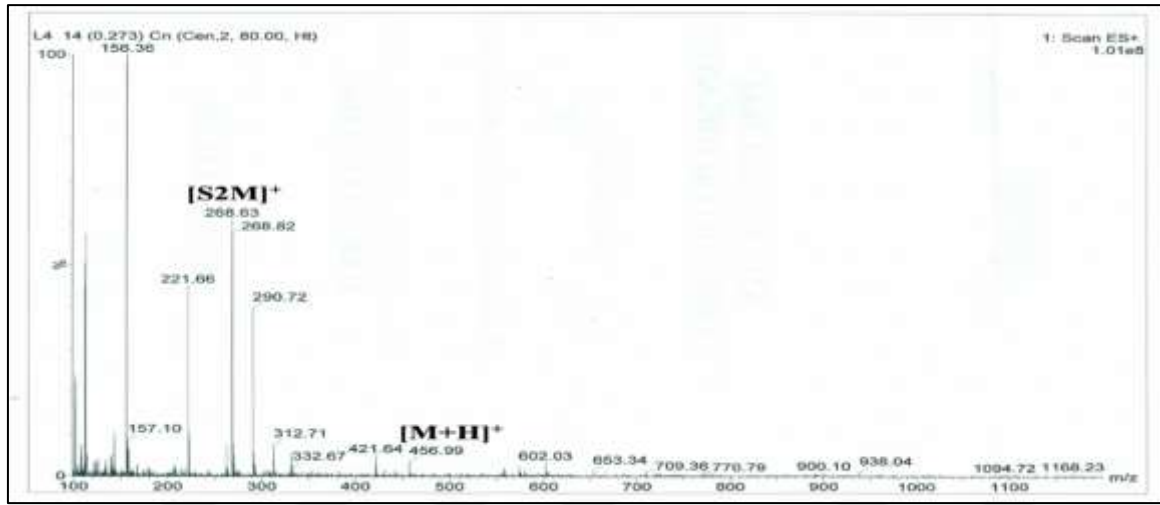
^{13}C -NMR sonucu;



Şekil 4.15. L4 inhibitörünün ^{13}C -NMR spektrumu

L4 inhibitörünün ^{13}C -NMR spektrumu için DMSO- d_6 çözücüsü kullanıldı. İnhibitördeki imin ($\text{CH}=\text{N}$) karbonuna ait pik 164 ppm'de, imin protonuna bağlı ($=\text{N}-\text{CH}$) karbon atomuna ait pik 153 ppm'de, izoksazol halkasına bağlı iki metil grubuna ait karbonlara ($-\text{C}-\text{CH}_3$) ait pikler ise 6,5 ve 11 ppm'de görülmüştür. Son olarak aromatik halkadaki karbonlara ait pikler ise 162 ppm ve 110 ppm aralığında gözlenmiştir.

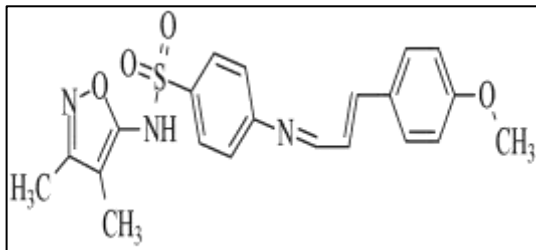
LC-MS sonucu;



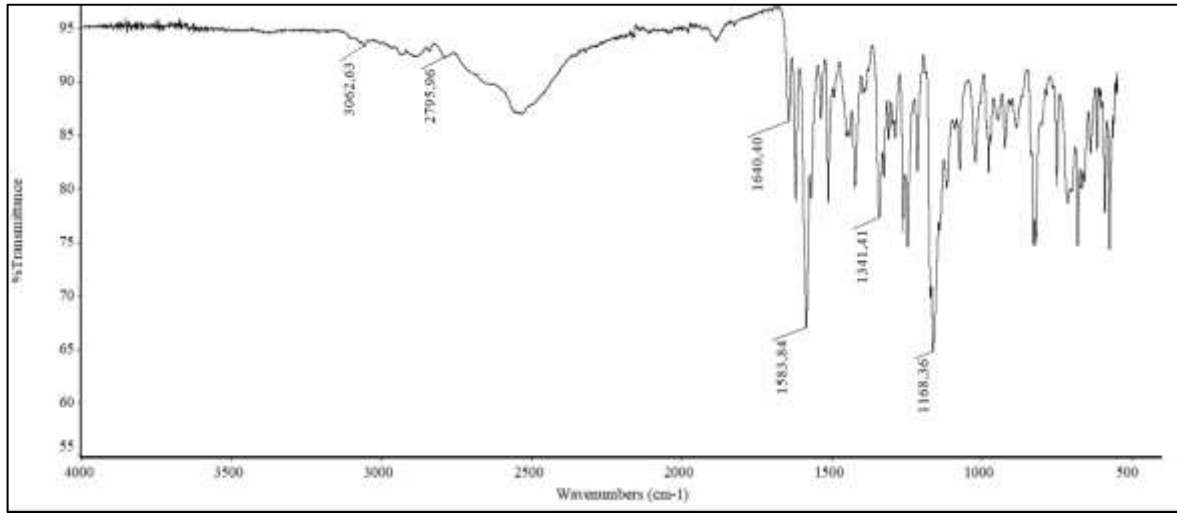
Şekil 4.16. *L4* inhibitörünün LC-MS spektrumu

L4 inhibitörüne ait teorik olarak hesaplanan molekül ağırlığı $455,53 \text{ gmol}^{-1}$ dür. İnhibitöre ait molekül iyon piki $[\text{M}+\text{H}]^+ = 456,99 \text{ m/z}$ de gözlenmiştir. Sülfizoksazol (S2M) bileşiğine ait iyon piki $[\text{S2M}]^+ = 268,63 \text{ m/z}$ de gözlenmiştir.

4.1.5. Sülfizoksazol-4-metoksisinnamaldehit (L5)



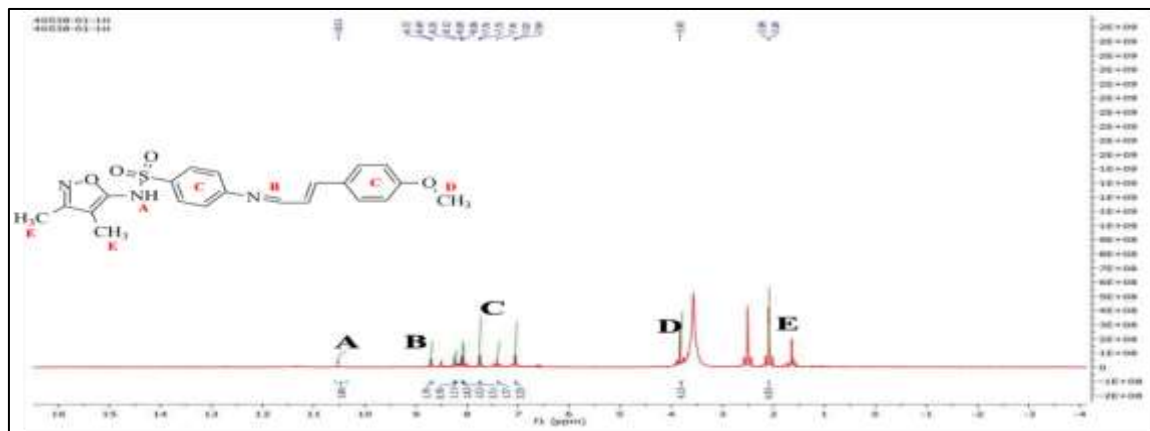
FT-IR sonucu;



Şekil 4.17. L5 inhibitörünün FT-IR spektrumu

L5 inhibitörüne ait FT-IR spektrumu verilmiştir. Spektrum incelendiğinde 3062 cm^{-1} civarında gözlenen bant ikincil amin $\nu(\text{NH})$ gerilme, 1640 cm^{-1} civarında görülen bant imin $\nu(\text{C}=\text{N})$ gerilme, $2795\text{--}2542\text{ cm}^{-1}$ civarında görülen bant $\nu(\text{C-H})$ gerilme, 1341 cm^{-1} civarında gözlenen pik $\nu_{\text{as}}(\text{SO}_2)$ asimetric gerilme, 1168 cm^{-1} de $\nu_{\text{s}}(\text{SO}_2)$ simetrik gerilme ve son olarak $1583\text{--}1249\text{ cm}^{-1}$ aralığında gözlenen bantlar ise aromatik $\nu(\text{C}=\text{C})$ gerilme titreşimlerine aittir.

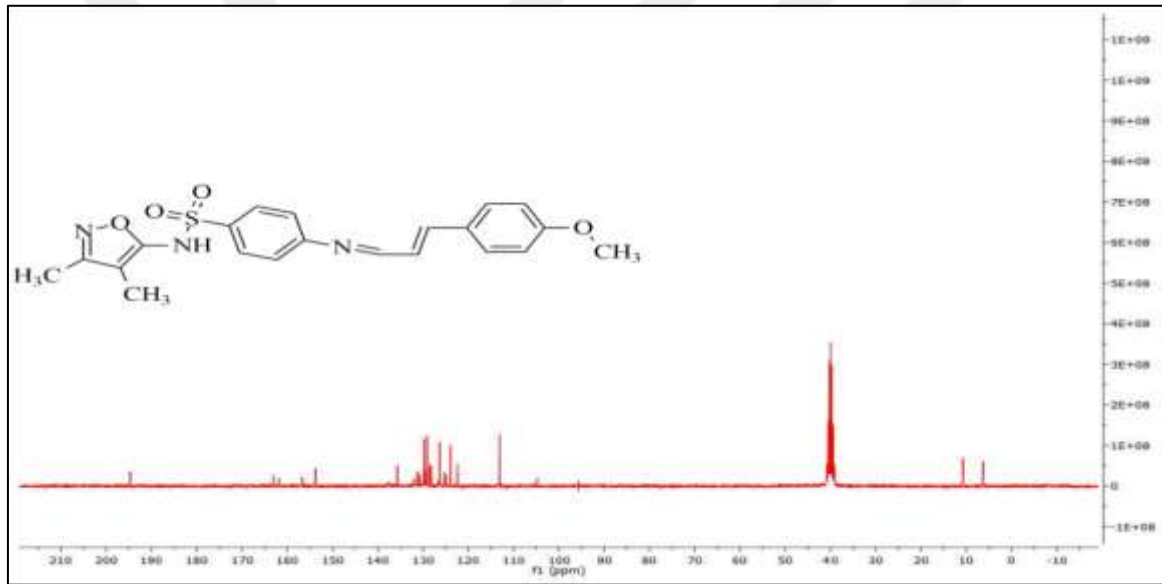
$^1\text{H-NMR}$ sonucu;



Şekil 4.18. L5 inhibitörünün $^1\text{H-NMR}$ spektrumu

L5 inhibitörünün DMSO-d₆ içindeki ¹H-NMR spektrumunda, -NH (A) protonuna ait tekli pik 10,51 ppm'de, imin grubuna bağlı hidrojene ait (-N=CH) (B) bir protona karşılık gelen tekli pik 8,72 ppm'de. İki aromatik halkaya ait (C ve C') sekiz protona karşılık gelen çoklu pikler 8,25 ve 7,07 ppm aralığında gözlenmektedir ve aynı zamanda aromatik halkaya bağlı (C') trans hidrojen protonuna ait ikili pik 7,41 ve 7,04 ppm'de, aromatik halkaya bağlı -OCH₃ (D) pikine ait 3,83 ppm'de üç hidrojen protonuna karşılık gelmektedir. Son olarak izoksazol halkasına bağlı iki -CH₃ protonlarına ait olan altı protona karşılık gelen şiddetli pikler (E) 2,09 ppm'de gözlenmiştir.

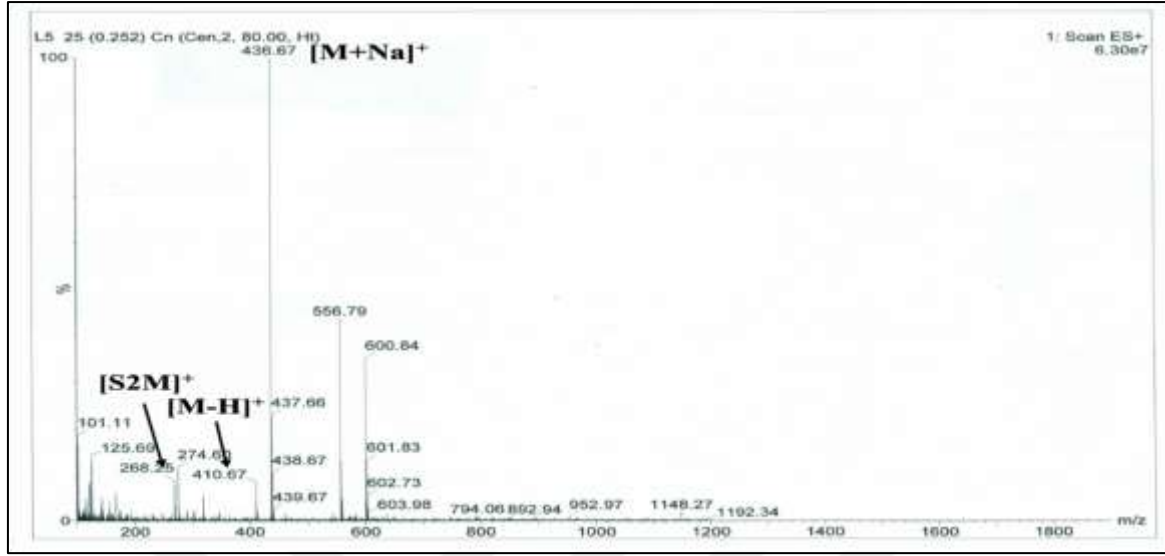
¹³C-NMR sonucu;



Şekil 4.19. *L5 inhibitörünün* ¹³C-NMR spektrumu

L5 inhibitörünün ¹³C-NMR spektrumu için DMSO-d₆ çözücüsü kullanıldı. İnhibitördeki imin (C=CH=N) karbonuna ait pik 166 ppm'de, imin protonuna bağlı (=N-CH) karbon atomuna ait pik 158 ppm'de, 4-metoksissinnamaldehyde bağlı metoksi grubuna ait pik 57 ppm'de ve pirimidin halkasına bağlı iki metil grubuna ait karbonlara (-C-CH₃) ait pikler ise 23 ve 19 ppm'de görülmüştür. Son olarak aromatik halkadaki karbonlara ait pikler ise 157 ve 109 ppm aralığında gözlenmiştir.

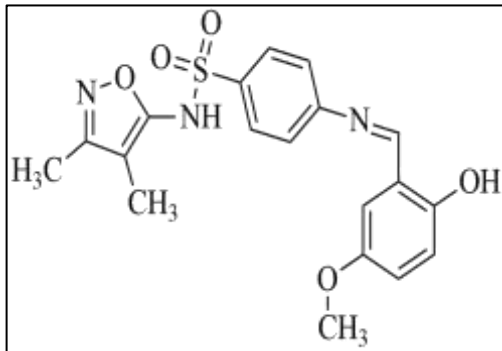
LC-MS sonucu;

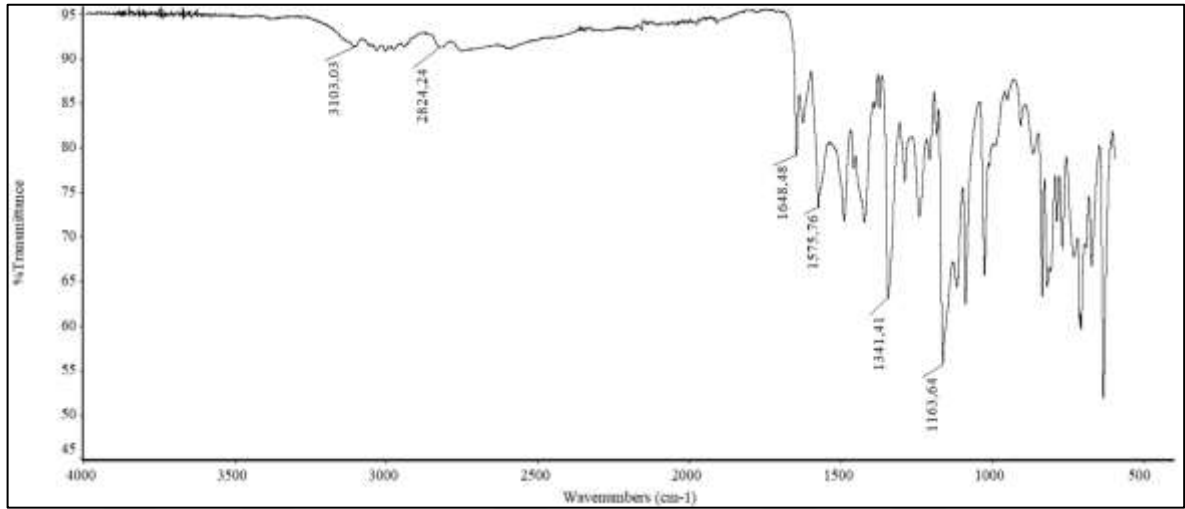


Şekil 4.20. L5 inhibitörünün LC-MS spektrumu

L5 inhibitörüne ait teorik olarak hesaplanan moleküler ağırlığı $411,47 \text{ g mol}^{-1}$ dir. İnhibitöre ait molekül iyon piki $[M-H]^+ = 410,67 \text{ m/z}$ de gözlenmiştir. Sülfizoksazol (S2M) molekülüne ait iyon piki $[S2M]^+ = 268,25 \text{ m/z}$ de gözlenmiştir. İnhibitörün sodyum iyonu ile oluşturduğu moleküler iyon piki ise $[M+Na]^+ = 436,67 \text{ m/z}$ de temel pik olarak gözlenmiştir.

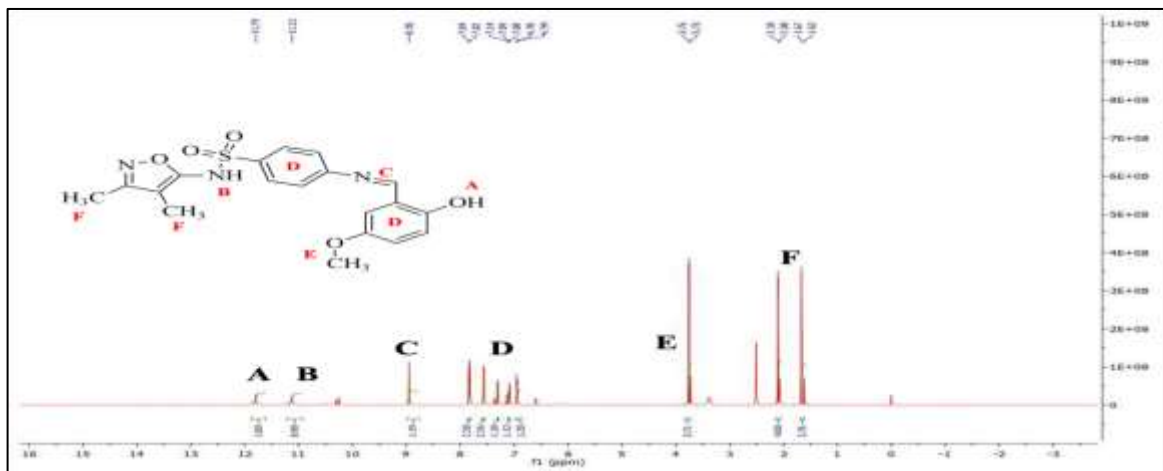
4.1.6. Sülfizoksazol-2-hidroksi-5-metoksibenzaldehit (L6)



FT-IR sonucu;

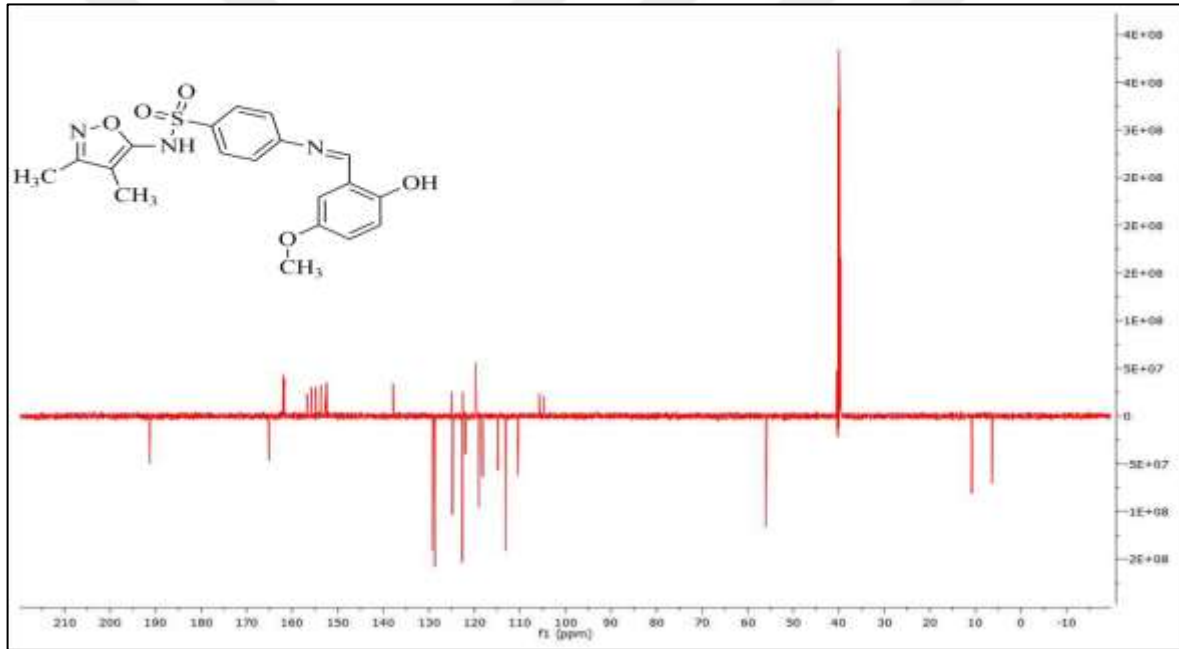
Şekil 4.21. L6 inhibitörünün FT-IR spektrumu

L6 inhibitörüne ait FT-IR spektrumu verilmiştir. Spektrum incelendiğinde 3103 cm^{-1} civarında gözlenen bant ikincil amin $\nu(\text{NH})$ gerilme, 1648 cm^{-1} civarında görülen bant imin $\nu(\text{C}=\text{N})$ gerilme, 2824 cm^{-1} civarında görülen bant $\nu(\text{C}-\text{H})$ gerilme, 1341 cm^{-1} civarında gözlenen pik $\nu_{\text{as}}(\text{SO}_2)$ asimetrik gerilme, 1163 cm^{-1} de $\nu_{\text{s}}(\text{SO}_2)$ simetrik gerilme ve son olarak $1575\text{-}1244\text{ cm}^{-1}$ aralığında gözlenen bantlar ise aromatik $\nu(\text{C}=\text{C})$ gerilme titreşimlerine aittir.

 ^1H -NMR sonucu;Şekil 4.22. L6 inhibitörünün ^1H -NMR spektrumu

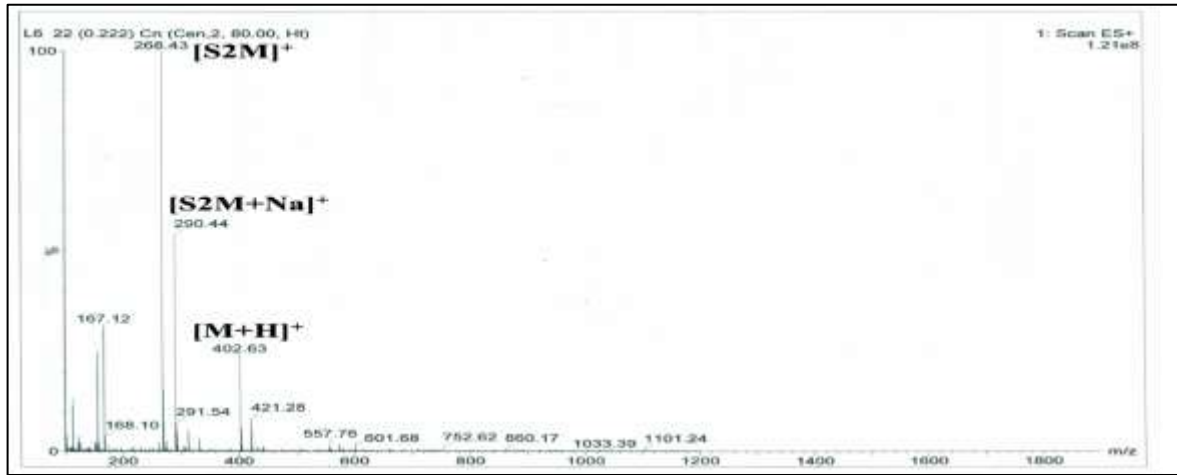
L6 inhibitörünün DMSO-d₆ içindeki ¹H-NMR spektrumunda, -OH (A) protonuna ait tekli pik 11,79 ppm'de, -NH (B) protonuna ait tekli pik ise 11,12 ppm'de ve imin grubuna bağlı hidrojene ait (-N=CH) (C) bir protona karşılık gelen tekli pik 8,95 ppm'de gözlenmektedir. İki aromatik halkaya ait (D ve D') sekiz protona karşılık gelen çoklu pikler 7,84 ve 6,94 ppm aralığında ve aromatik halkaya bağlı -OCH₃ (E) pikine ait 3,76 ppm'de üç hidrojen protonuna karşılık gelmektedir. Son olarak izoksazol halkasına bağlı iki -CH₃ protonlarına ait olan altı protona karşılık gelen şiddetli pikler (F) 2,10 ppm ve (F) 1,67 ppm'de gözlenmiştir.

¹³C-NMR(APT) sonucu;



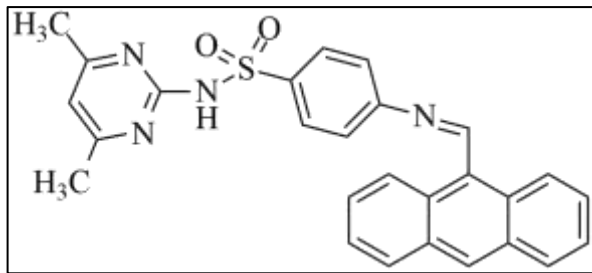
Şekil 4.23. *L6 inhibitörünün* ¹³C-APT spektrumu

L6 inhibitörünün ¹³C-APT spektrumu için DMSO-d₆ çözücüsü kullanıldı. Spektrum incelendiğinde piklerin pozitif veya negatif genlikte olduğu görülmektedir. İnhibitördeki imin (CH=N) karbonuna ait pik 165 ppm'de, imin protonuna bağlı (N=CH) karbon atomuna ait pik 156 ppm'de, 2-hidroksi-5-metoksibenzaldehite bağlı metoksi grubuna ait pik 57 ppm ve hidroksi grubuna bağlı karbon atomuna ait pik ise 155 ppm'de görülmüştür. İzoksazol halkasına bağlı iki metil grubu karbonlarına (-C-CH₃) ait pikler ise 10,5 ppm ve 6,5 ppm'de görülmüştür. Son olarak aromatik halkadaki karbonlara ait pikler ise 154 ppm ve 105 ppm aralığında gözlenmiştir.

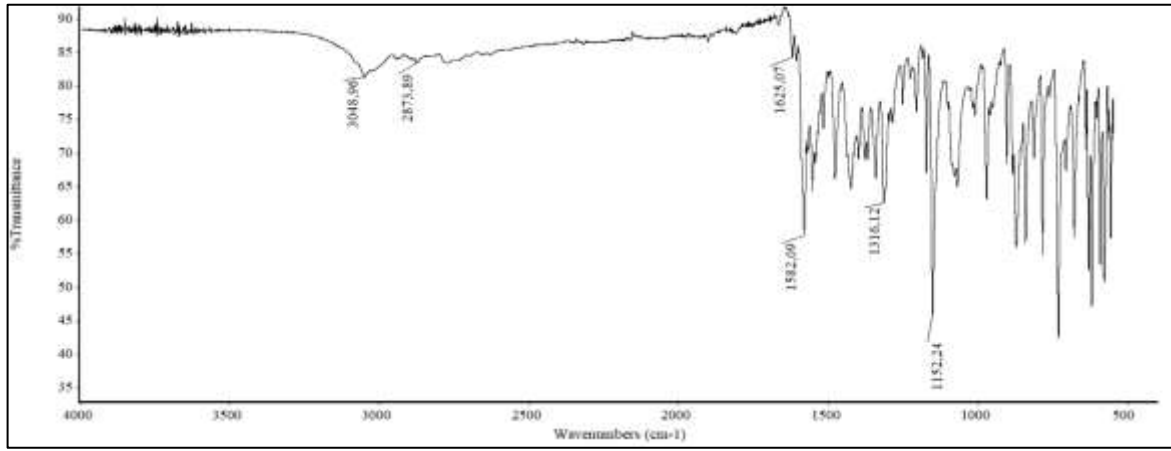
LC-MS sonucu;

Şekil 4.24. L6 inhibitörünün LC-MS spektrumu

L6 inhibitörüne ait teorik olarak hesaplanan moleküler ağırlığı 401,44 g mol⁻¹’dür. İnhibitöre ait moleküler iyon piki [M+H]⁺= 402,63 m/z de gözlenmiştir. Sülfizoksazol (S2M) molekülüne ait iyon piki [S2M]⁺= 268,43 m/z de temel pik olarak gözlenmiştir. S2M sodyum tuzu ile oluşturduğu iyon piki ise [S2M+Na]⁺=290,44 m/z de gözlenmiştir.

4.1.7. Sülfametazin-9-antrasenkarboksialdehit (L7)

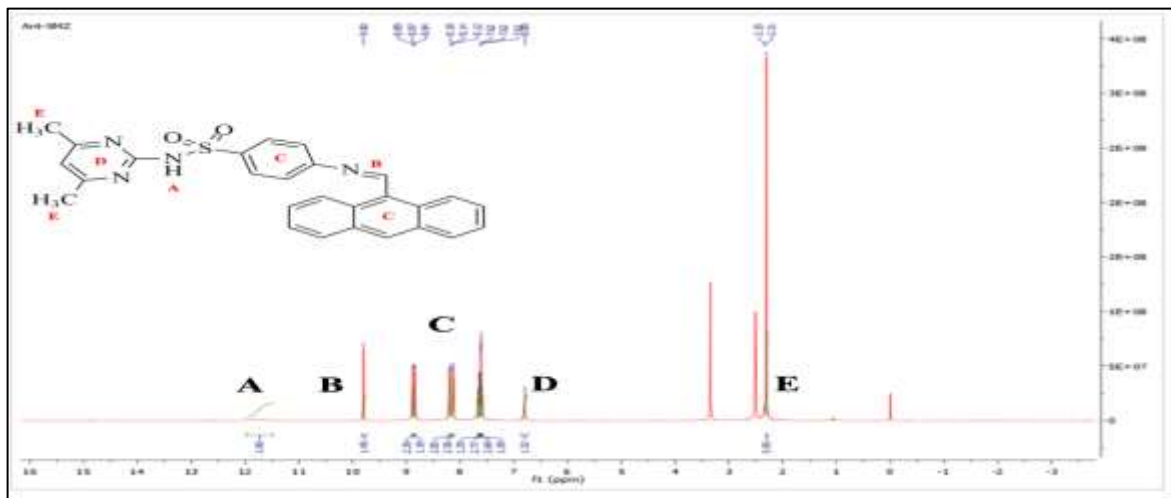
FT-IR sonucu;



Şekil 4.25. L7 inhibitörünün FT-IR spektrumu

L7 inhibitörüne ait FT-IR spektrumu verilmiştir. Spektrum incelendiğinde 3048 cm^{-1} civarında gözlenen bant ikincil amin $\nu(\text{NH})$ gerilme, 1625 cm^{-1} civarında görülen bant imin $\nu(\text{C}=\text{N})$ gerilme, 2873 cm^{-1} civarında görülen bant $\nu(\text{C}-\text{H})$ gerilme, 1316 cm^{-1} civarında gözlenen pik $\nu_{\text{as}}(\text{SO}_2)$ asimetrik gerilme, 1152 cm^{-1} de $\nu_{\text{s}}(\text{SO}_2)$ simetrik gerilme ve son olarak $1582\text{-}1280\text{ cm}^{-1}$ aralığında gözlenen bantlar ise aromatik $\nu(\text{C}=\text{C})$ gerilme titreşimlerine aittir.

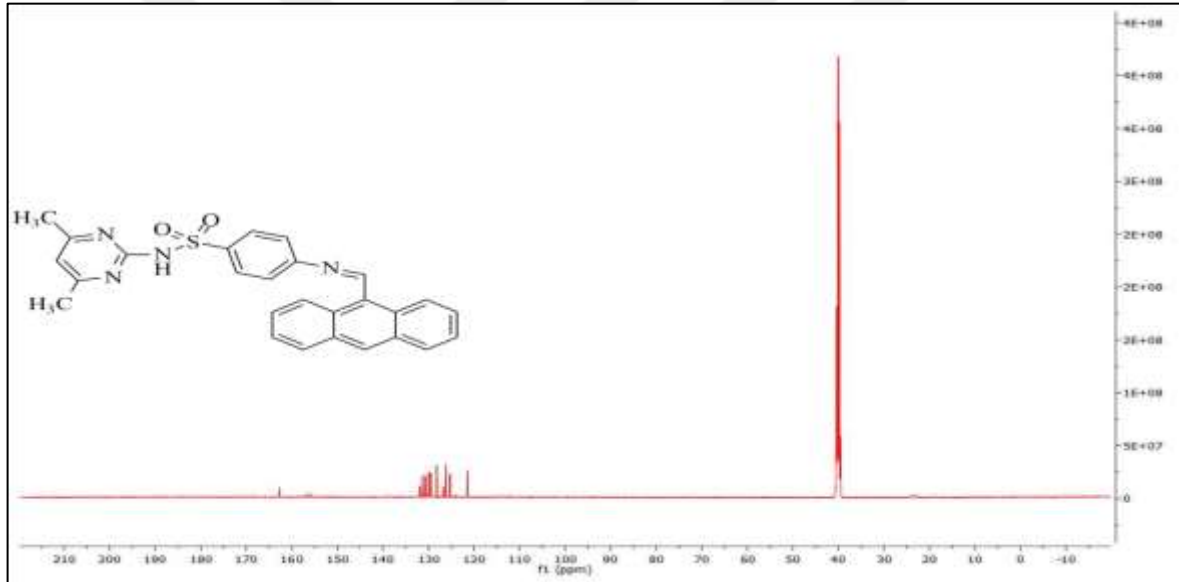
^1H -NMR sonucu;



Şekil 4.26. L7 inhibitörünün ^1H -NMR spektrumu

L7 inhibitörünün DMSO-d₆ içindeki ¹H-NMR spektrumunda, -NH (A) protonuna ait tekli pik 11,83 ppm de ve imin grubuna bağlı hidrojene ait (-N=CH) (B) bir protona karşılık gelen tekli pik 9,80 ppm de gözlenmektedir. 8,89 ppmde gözlenen (C) üç protona karşılık gelen ve 7,62 ppmde gözlenen altı protona karşılık gelen pikler ise antrasen halkasındaki toplam dokuz protonuna eşdeğerdir. Aromatik halkadaki (C') ikişer protona karşılık gelen çoklu pikler 8,18 ppm ve 7,62 ppmde dört protonu karşılamaktadır. Pirimidin halkasındaki hidrojen protonuna (D) karşılık gelen tekli pik 6,90 ppm de ve son olarak bu halkaya bağlı iki adet -CH₃ protonlarına ait olan altı protona karşılık gelen şiddetli pikler (E) 2,35 ppm ve (E) 2,31 ppm de gözlenmiştir.

¹³C-NMR sonucu;



Şekil 4.27. *L7 inhibitörünün* ¹³C-NMR spektrumu

L7 inhibitörünün ¹³C-NMR spektrumu için DMSO-d₆ çözücüsü kullanıldı. İnhibitördeki imin (CH=N) karbonuna ait pik 163 ppm'de, imin protonuna bağlı (=N-CH) karbon atomuna ait pik 156 ppm'de, pirimidin halkasına bağlı iki metil grubuna ait karbonlara (-C-CH₃) ait pikler ise 38 ppm ve 23 ppm'de görülmüştür. Son olarak aromatik halkadaki karbonlara ait pikler ise 152 ppm ve 122 ppm aralığında gözlenmiştir.

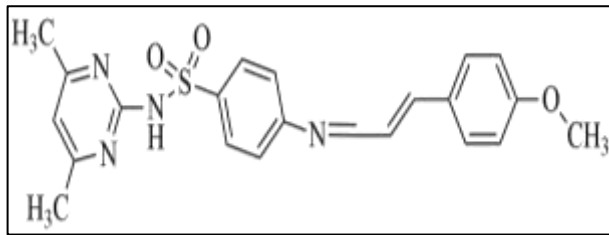
LC-MS sonucu;

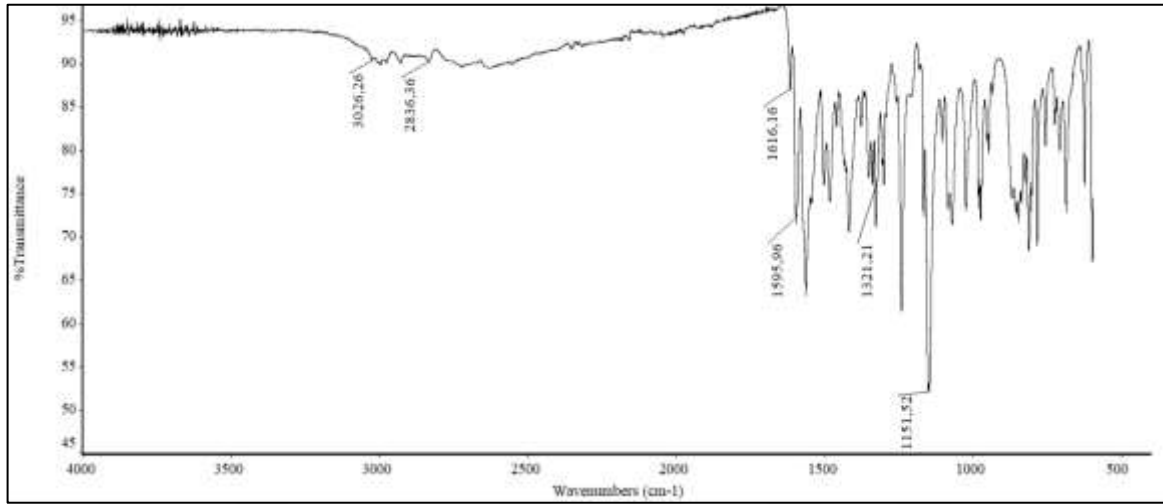


Şekil 4.28. L7 inhibitörünün LC-MS spektrumu

L7 inhibitörüne ait teorik olarak hesaplanan molekül ağırlığı 466,55 g mol⁻¹dür. Sülfametazin (SMZ) bileşiğine ait iyon piki [SMZ]⁺= 279,46 m/z de temel pik olarak gözlenmiştir.

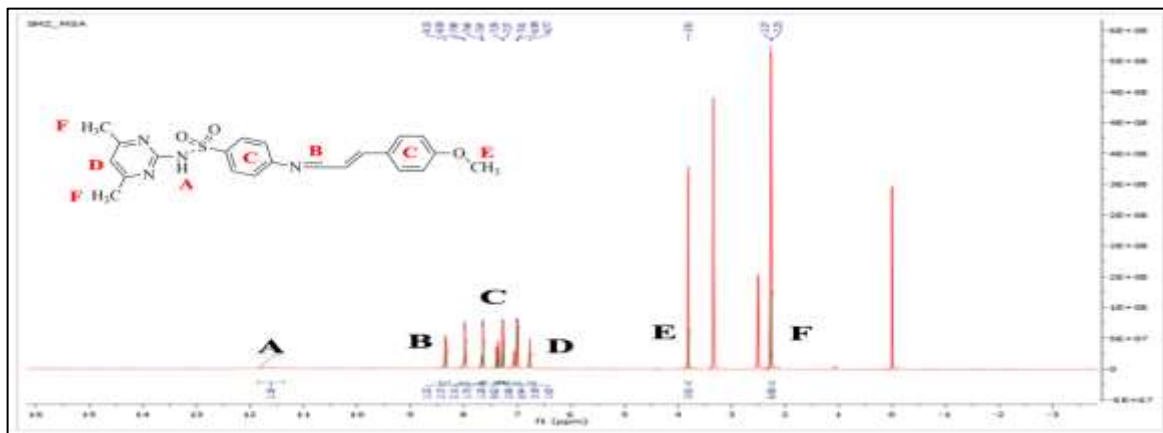
4.1.8. Sülfametazin-4-metoksisinnamaldehit (L8)



FT-IR sonucu;

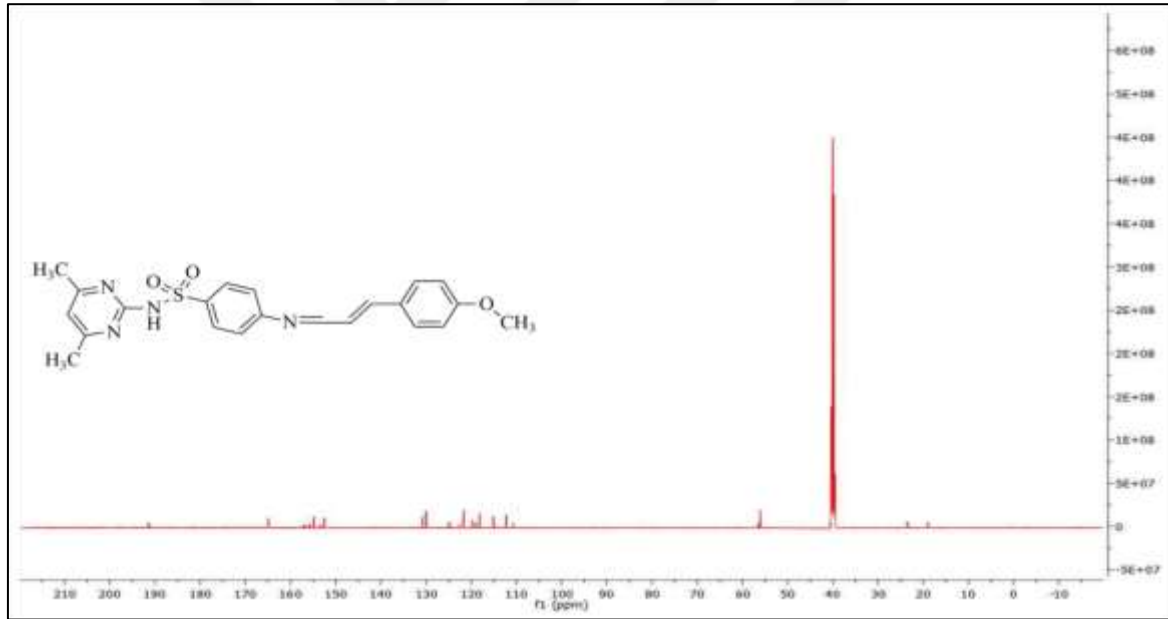
Şekil 4.29. L8 inhibitörünün FT-IR spektrumu

L8 inhibitörüne ait FT-IR spektrumu verilmiştir. Spektrum incelendiğinde 3026 cm^{-1} civarında gözlenen bant ikincil amin $\nu(\text{NH})$ gerilme, 1616 cm^{-1} civarında görülen bant imin $\nu(\text{C}=\text{N})$ gerilme, 2836 cm^{-1} civarında görülen bant $\nu(\text{C}-\text{H})$ gerilme, 1321 cm^{-1} civarında gözlenen pik $\nu_{\text{as}}(\text{SO}_2)$ asimetrik gerilme, 1151 cm^{-1} de $\nu_{\text{s}}(\text{SO}_2)$ simetrik gerilme ve son olarak $1595\text{-}1246\text{ cm}^{-1}$ aralığında gözlenen bantlar ise aromatik $\nu(\text{C}=\text{C})$ gerilme titreşimlerine aittir.

 ^1H -NMR sonucu;Şekil 4.30. L8 inhibitörünün ^1H -NMR spektrumu

L8 inhibitörünün DMSO-d₆ içindeki ¹H-NMR spektrumunda, -NH (A) protonuna ait tekli pik 11,67 ppm'de, imin grubuna bağlı hidrojene ait (-N=CH) (B) bir protona karşılık gelen tekli pik 8,35 ppm'de. İki aromatik halkaya ait (C) sekiz protona karşılık gelen çoklu pikler 8,00 ppm ve 7,27 ppm aralığında gözlenmektedir ve aynı zamanda aromatik halkaya bağlı (C') trans hidrojen protonuna ait ikili pik 6,99 ppm ve 7,01 ppm'de, 6,77 ppm aralığında gözlenen ve bir protona karşılık gelen tekli yarılmış pik pirimidin halkasındaki (D) tekli hidrojen atomuna ve aromatik halkaya bağlı -OCH₃ (E) pikine ait 3,81 ppm'de üç hidrojen protonuna karşılık gelmektedir. Son olarak pirimidin halkasına bağlı iki -CH₃ protonlarına ait olan altı protona karşılık gelen şiddetli pikler (F) 2,27 ppm ve (F) 2,25 ppm'de gözlenmiştir.

¹³C-NMR sonucu;



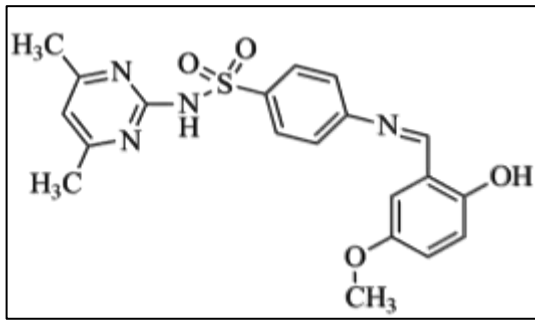
Şekil 4.31. *L8 inhibitörünün* ¹³C-NMR spektrumu

L8 inhibitörünün ¹³C-NMR spektrumu için DMSO-d₆ çözücüsü kullanıldı. İnhibitördeki imin (C=CH=N) karbonuna ait pik 165 ppm'de, imin protonuna bağlı (=N-CH) karbon atomuna ait pik 156 ppm'de, 4-metoksisinnamaldehyde bağlı metoksi grubuna ait pik 57 ppm'de ve pirimidin halkasına bağlı iki metil grubuna ait karbonlara (-C-CH₃) ait pikler ise 24 ppm ve 20 ppm'de görülmüştür. Son olarak aromatik halkadaki karbonlara ait pikler ise 155 ppm ve 110 ppm aralığında gözlenmiştir.

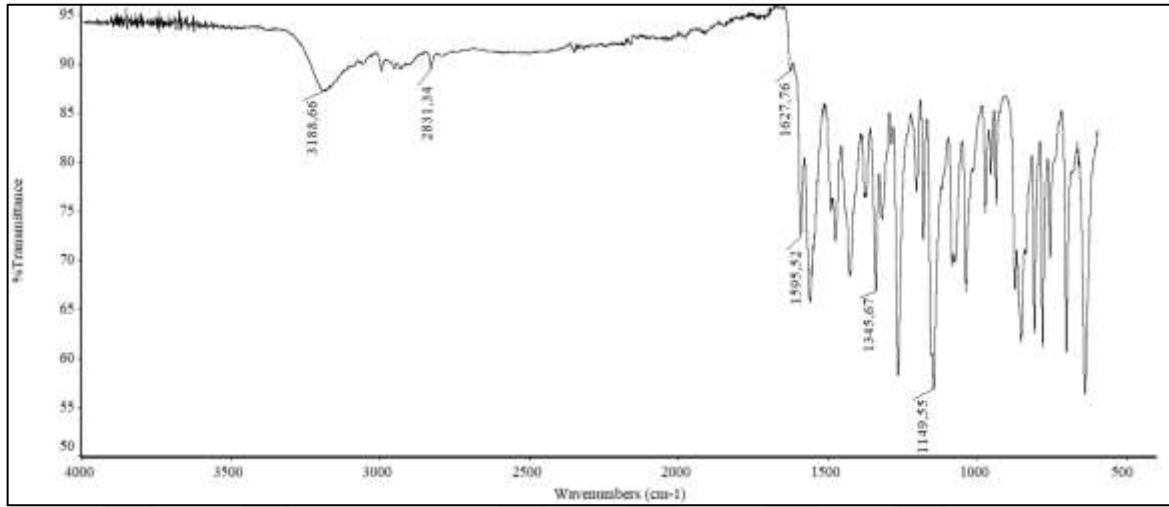
LC-MS sonucu;

Şekil 4.32. L8 inhibitörünün LC-MS spektrumu

L8 inhibitörüne ait teorik olarak hesaplanan moleküler ağırlığı $422,50 \text{ g mol}^{-1}$ ’dür. İnhibitörün hidrojen ile oluşturduğu molekül iyon piki $[M+H]^+ = 423,74 \text{ m/z}$ de gözlenmiştir. Sülfametazin (SMZ) molekülüne ait iyon piki $[SMZ]^+ = 279,45 \text{ m/z}$ de gözlenmiştir. SMZ sodyum tuzu ile oluşturduğu iyon piki ise $[SMZ+Na]^+ = 301,46 \text{ m/z}$ de gözlenmiştir.

4.1.9. Sülfametazin-2-hidroksi-5-metoksibenzaldehit (L9)

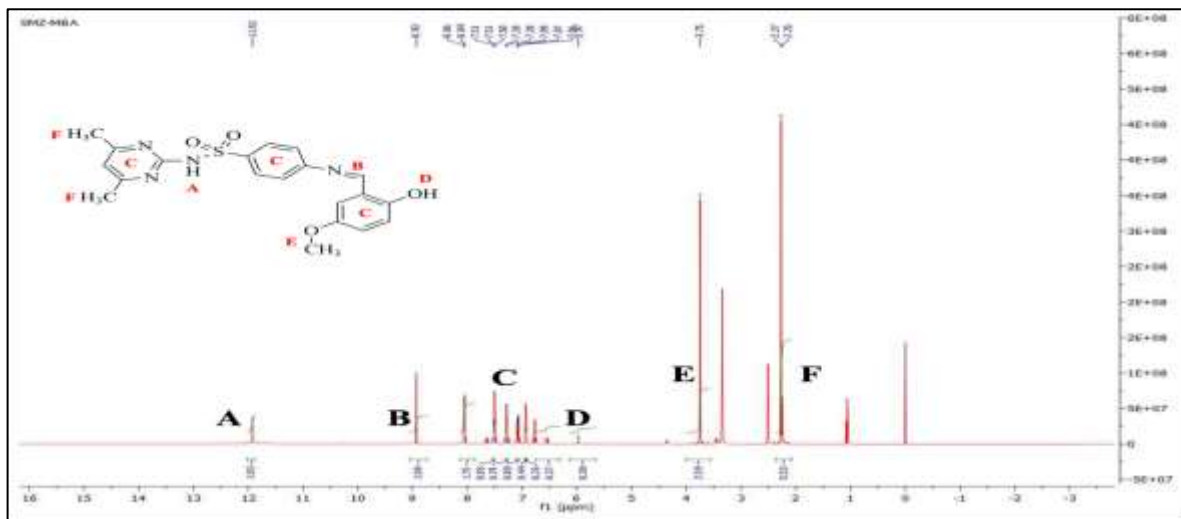
FT-IR sonucu;



Şekil 4.33. L9 inhibitörünün FT-IR spektrumu

L9 inhibitörüne ait FT-IR spektrumu verilmiştir. Spektrum incelendiğinde 3188 cm^{-1} civarında gözlenen bant ikincil amin $\nu(\text{NH})$ gerilme, 1627 cm^{-1} civarında görülen bant imin $\nu(\text{C}=\text{N})$ gerilme, $2998\text{--}2832\text{ cm}^{-1}$ civarında görülen bant $\nu(\text{C-H})$ gerilme, 1345 cm^{-1} civarında gözlenen pik $\nu_{\text{as}}(\text{SO}_2)$ asimetrik gerilme, 1149 cm^{-1} de $\nu_{\text{s}}(\text{SO}_2)$ simetrik gerilme ve son olarak $1595\text{--}1269\text{ cm}^{-1}$ aralığında gözlenen bantlar ise aromatik $\nu(\text{C}=\text{C})$ gerilme titreşimlerine aittir.

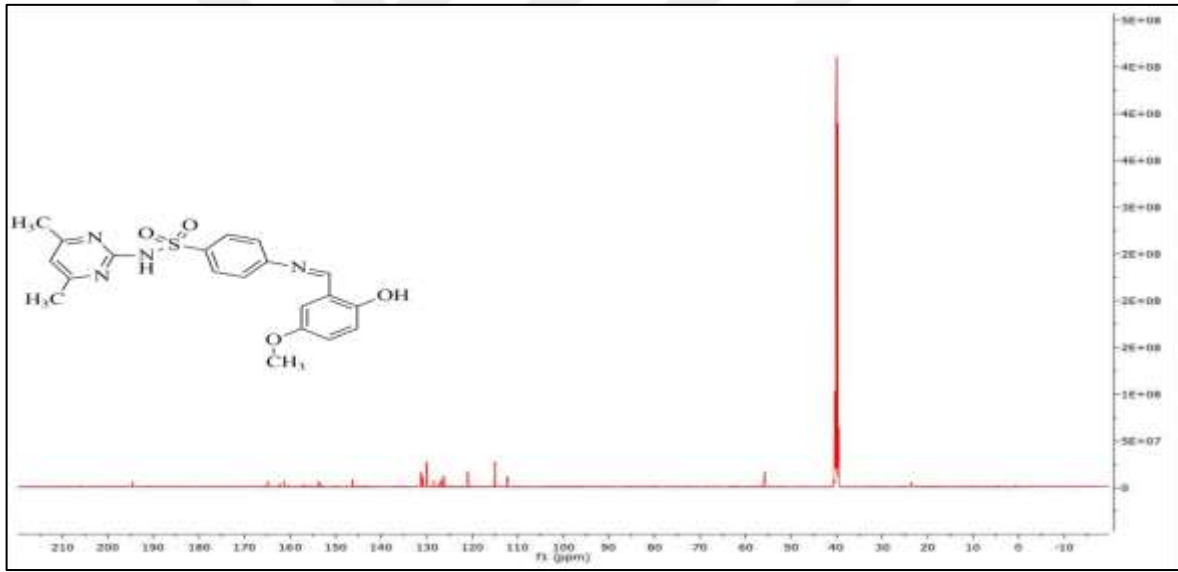
$^1\text{H-NMR}$ sonucu;



Şekil 4.34. L9 inhibitörünün $^1\text{H-NMR}$ spektrumu

L9 inhibitörünün DMSO-d₆ içindeki ¹H-NMR spektrumunda, -NH (A) protonuna ait tekli pik 11,92 ppm de, imin grubuna bağlı hidrojene ait (-N=CH) (B) bir protona karşılık gelen tekli pik 8,93 ppm de gözlenmiştir. İki aromatik halkaya ait (C ve C') sekiz protona karşılık gelen çoklu pikler 8,06 ppm - 7,09 ppm aralığında gözlenmektedir. 7,06 ppm aralığında gözlenen ve bir protona karşılık gelen tekli yarılmış pik pirimidin halkasındaki (C'') hidrojen atomuna karşılık gelmektedir. Fenol halkasındaki (C) -OH protonuna ait tekli pik (D) 5,97 ppm de ve aynı zamanda aromatik halkaya bağlı -OCH₃ (E) pikine ait pik 3,75 ppm de üç hidrojen protonuna karşılık gelmektedir. Son olarak pirimidin halkasına bağlı iki -CH₃ (F) protonlarına ait olan altı protona karşılık gelen şiddetli pikler 2,27 ppm ve 2,25 ppm de gözlenmiştir.

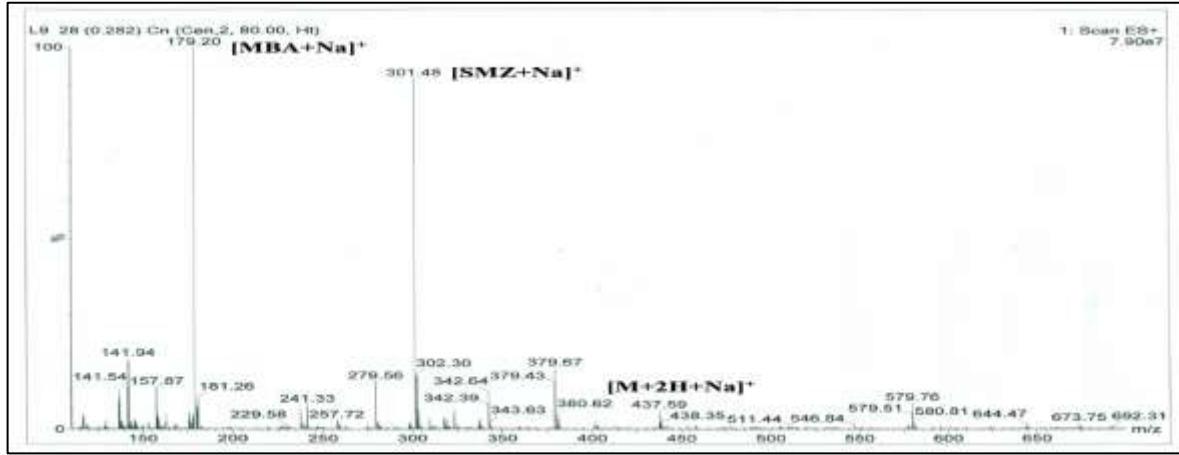
¹³C-NMR sonucu;



Şekil 4.35. *L9 inhibitörünün* ¹³C-NMR spektrumu

L9 inhibitörünün ¹³C-NMR spektrumu için DMSO-d₆ çözücüsü kullanıldı. İnhibitördeki imin (C=CH=N) karbonuna ait pik 166 ppm'de, imin protonuna bağlı (=N-CH) karbon atomuna ait pik 162 ppm'de, 2-hidroksi-5-metoksibenzaldehite bağlı metoksi grubuna ait pik 57 ppm de ve pirimidin halkasına bağlı iki metil grubuna ait karbonlara (-C-CH₃) ait pikler ise 24 ppm'de görülmüştür. Son olarak aromatik halkadaki karbonlara ait pikler ise 155 ve 112 ppm aralığında gözlenmiştir.

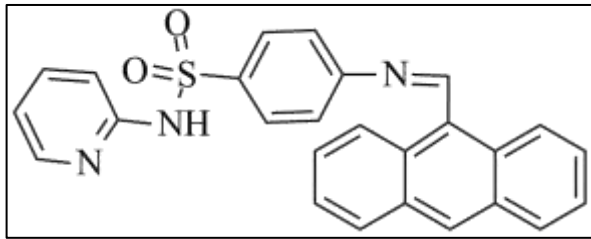
LC-MS sonucu;

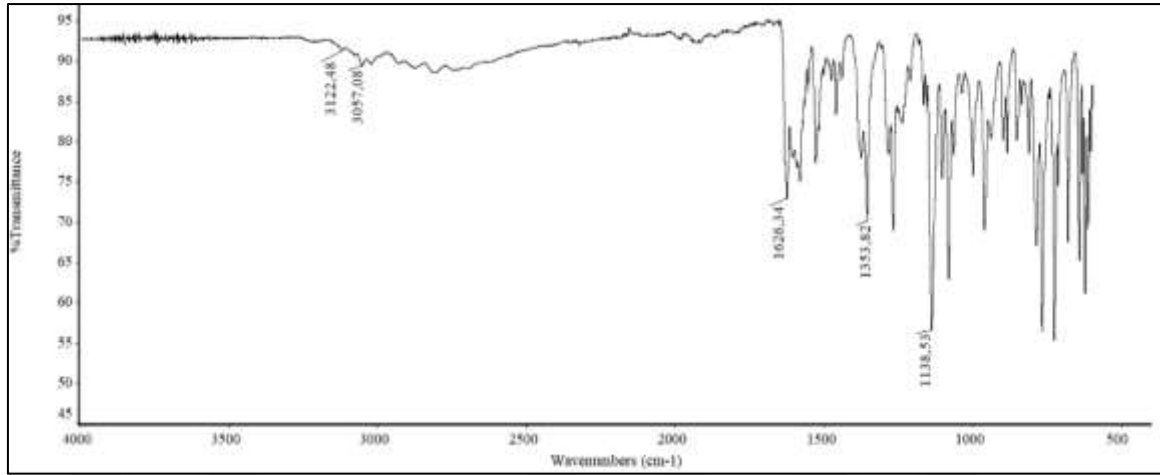


Şekil 4.36. L9 inhibitörünün LC-MS spektrumu

L9 inhibitörüne ait teorik olarak hesaplanan moleküler ağırlığı 412,46 gmol^{-1} dir. İnhibitörün iki proton ve sodyum iyonu ile oluşturduğu moleküler iyon piki $[M+2H+Na]^+ = 437,59 \text{ m/z}$ de gözlenmiştir. 2-hidroksi-5-metoksibenzaldehitin sodyum tuzu ile oluşturduğu $[MBA+Na] = 179,20 \text{ m/z}$ de temel pik olarak gözlenmiştir Sulfametazin (SMZ) bileşiğinin sodyum tuzu ile oluşturduğu iyon piki ise $[SMZ+Na]^+ = 301,48 \text{ m/z}$ de gözlenmiştir.

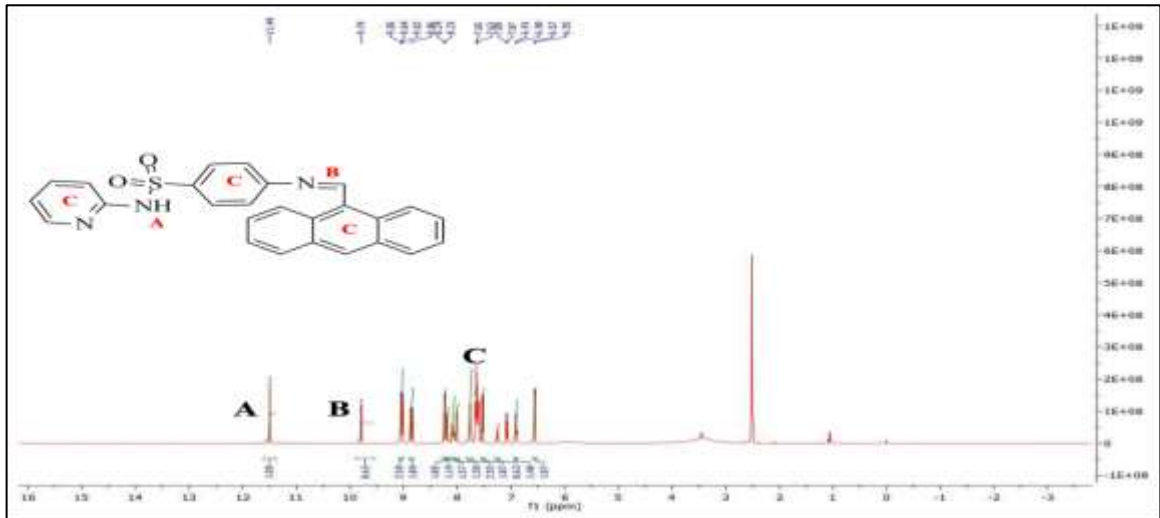
4.1.10. Sülfapiridin-9-antrasenkarboksialdehit (L10)



FT-IR sonucu;

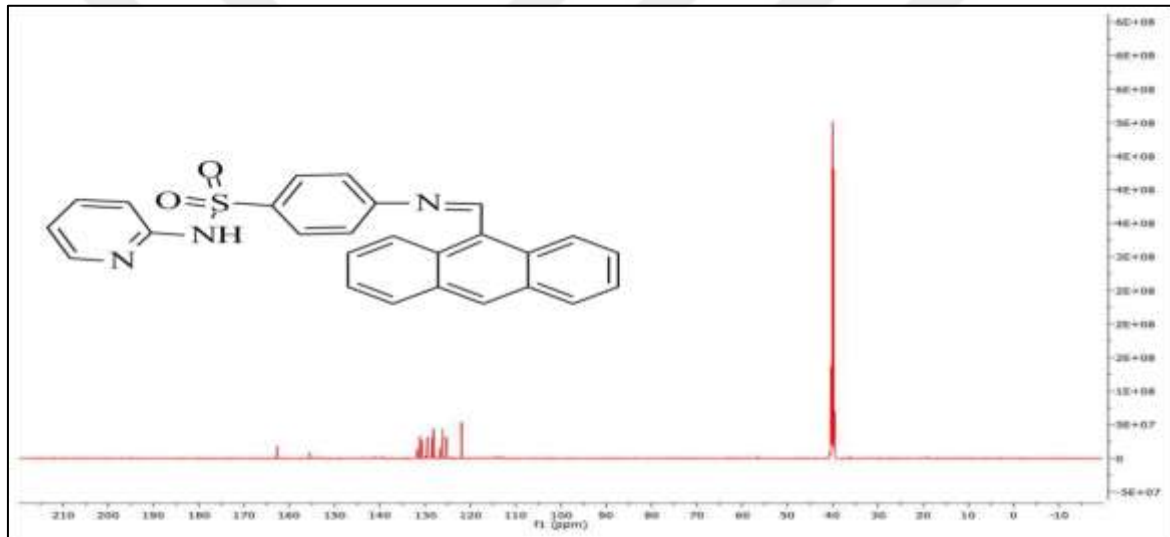
Şekil 4.37. L10 inhibitörünün FT-IR spektrumu

L10 inhibitörüne ait FT-IR spektrumu verilmiştir. Spektrum incelendiğinde 3122 cm^{-1} civarında gözlenen bant ikincil amin $\nu(\text{NH})$ gerilme, 1626 cm^{-1} civarında görülen bant imin $\nu(\text{C}=\text{N})$ gerilme, $3057\text{-}2832\text{ cm}^{-1}$ civarında görülen bant $\nu(\text{C-H})$ gerilme, 1353 cm^{-1} civarında gözlenen pik $\nu_{\text{as}}(\text{SO}_2)$ asimetrik gerilme, 1138 cm^{-1} de $\nu_{\text{s}}(\text{SO}_2)$ simetrik gerilme ve son olarak $1595\text{-}1269\text{ cm}^{-1}$ aralığında gözlenen bantlar ise aromatik $\nu(\text{C}=\text{C})$ gerilme titreşimlerine aittir.

 $^1\text{H-NMR}$ sonucu;Şekil 4.38. L10 inhibitörünün $^1\text{H-NMR}$ spektrumu

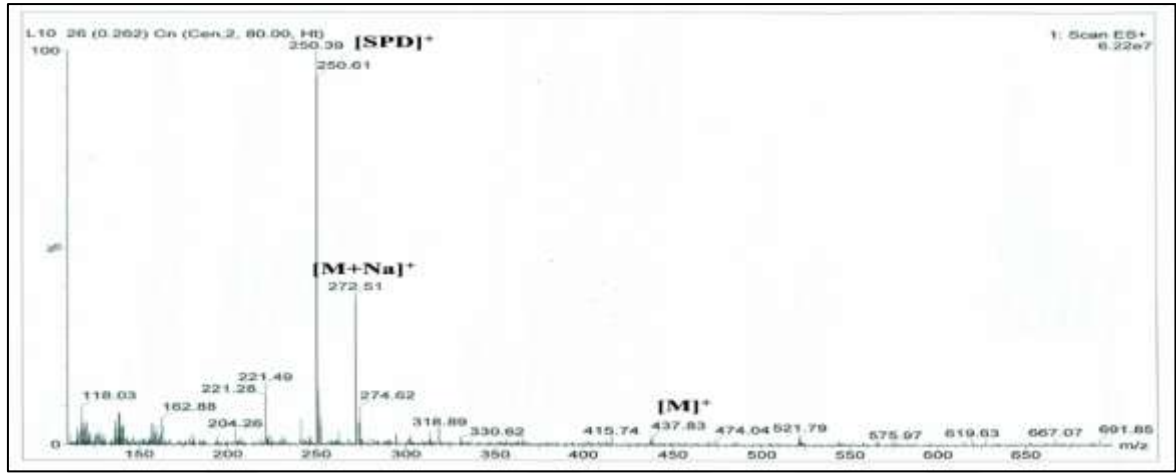
L10 inhibitörünün DMSO-d₆ içindeki ¹H-NMR spektrumunda, -NH (A) protununa ait tekli pik 11,49 ppm de, imin grubuna bağlı hidrojene ait (-N=CH) (B) bir protona karşılık gelen tekli pik 9,39 ppm de görülmüştür. 9,05 ppmde gözlenen (C) üç protona karşılık gelen ve 7,65 ppmde gözlenen altı protona karşılık gelen pikler ise antrasen halkasındaki toplam dokuz protona eşdeğerdir. 8,24 ppm ve 7,63 ppmde ikiye yarılmış ve ikişer protona karşılık gelen protonlar, aromatik halkadaki (C') dört protonu ve son olarak 8,06 ppm ve 6,55 ppm de gözlenen toplam 4 protona karşılık gelen pikler piridin halkasındaki (C'') protonları gözlenmiştir.

¹³C-NMR sonucu;



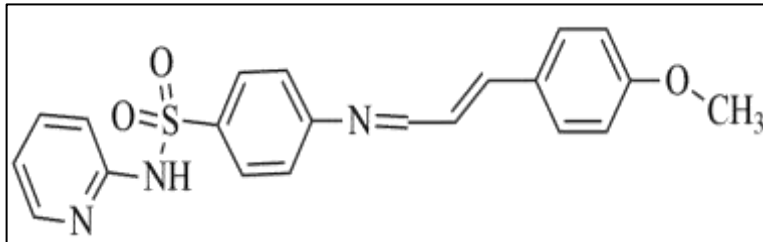
Şekil 4.39. L10 inhibitörünün ¹³C-NMR spektrumu

L10 inhibitörünün ¹³C-NMR spektrumu için DMSO-d₆ çözücüsü kullanıldı. İnhibitördeki imin (CH=N) karbonuna ait pik 164 ppm'de, imin protonuna bağlı (=N-CH) karbon atomuna ait pik 157 ppm'de görülmüştür. Son olarak aromatik halkadaki karbonlara ait pikler ise 135 ppm ve 120 ppm aralığında gözlenmiştir.

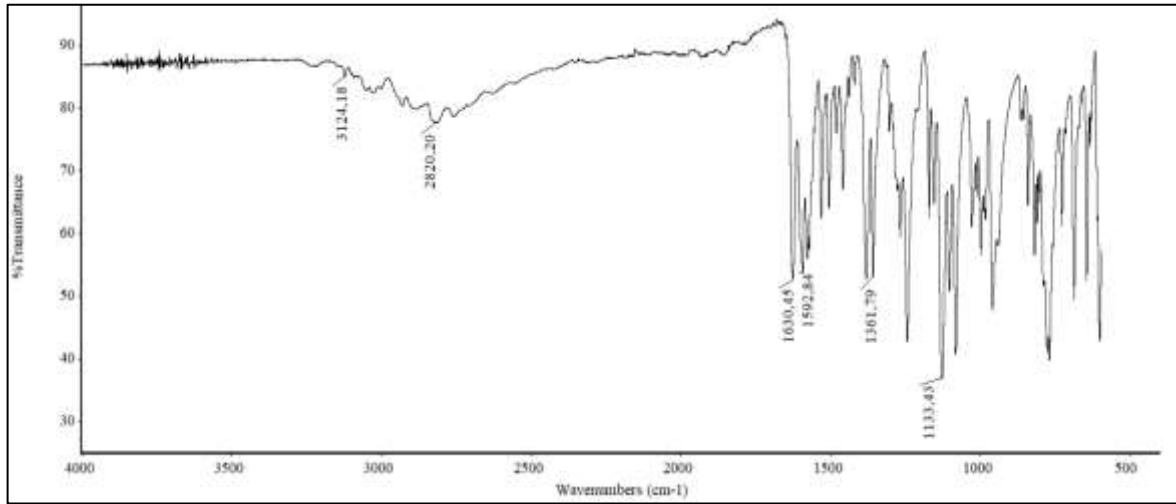
LC-MS sonucu;

Şekil 4.40. L10 inhibitörünün LC-MS spektrumu

L10 inhibitörüne ait teorik olarak hesaplanan moleküler ağırlığı 437,51 gmol^{-1} dür. İnhibitöre ait molekül iyon piki $[\text{M}]^+ = 437,83 \text{ m/z}$ de gözlenmiştir. Sülfapiridin (SPD) bileşiğine ait iyon piki $[\text{SPD}]^+ = 250,39 \text{ m/z}$ de temel pik olarak gözlenmiştir. SPD sodyum tuzu ile oluşturduğu iyon piki ise $[\text{SPD}+\text{Na}]^+ = 272,51 \text{ m/z}$ de gözlenmiştir.

4.1.11. Sülfapiridin-4-metoksisinnamaldehit (L11)

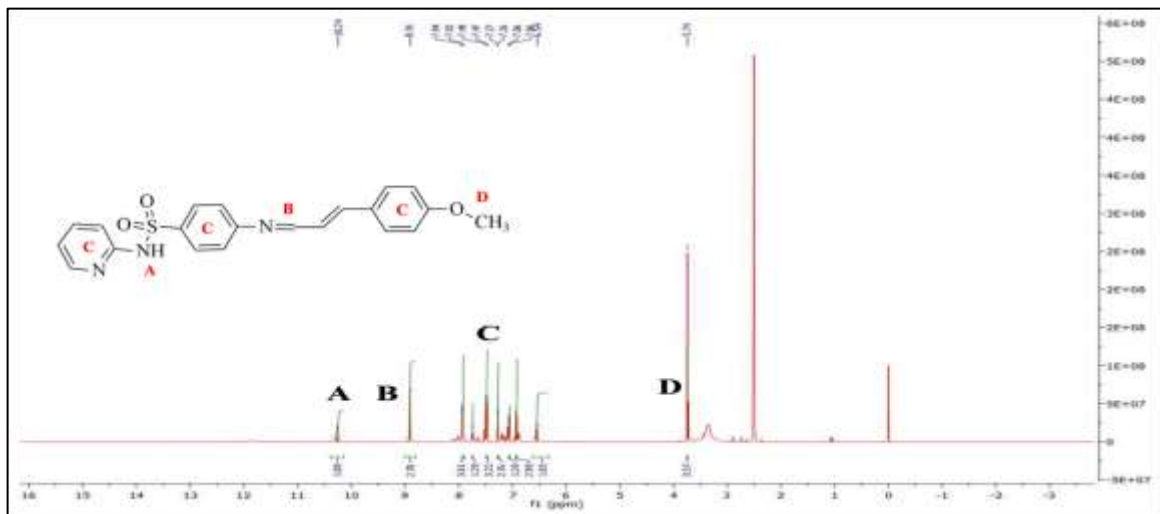
FT-IR sonucu;



Şekil 4.41. L11 inhibitörünün FT-IR spektrumu

L11 inhibitörüne ait FT-IR spektrumu verilmiştir. Spektrum incelendiğinde 3124 cm⁻¹ civarında gözlenen bant ikincil amin $\nu(\text{NH})$ gerilme, 1630 cm⁻¹ civarında görülen bant imin $\nu(\text{C}=\text{N})$ gerilme, 2820 cm⁻¹ civarında görülen bant $\nu(\text{C}-\text{H})$ gerilme, 1361 cm⁻¹ civarında gözlenen pik $\nu_{\text{as}}(\text{SO}_2)$ asimetrik gerilme, 1133 cm⁻¹ de $\nu_{\text{s}}(\text{SO}_2)$ simetrik gerilme ve son olarak 1592-1247 cm⁻¹ aralığında gözlenen bantlar ise aromatik $\nu(\text{C}=\text{C})$ gerilme titreşimlerine aittir.

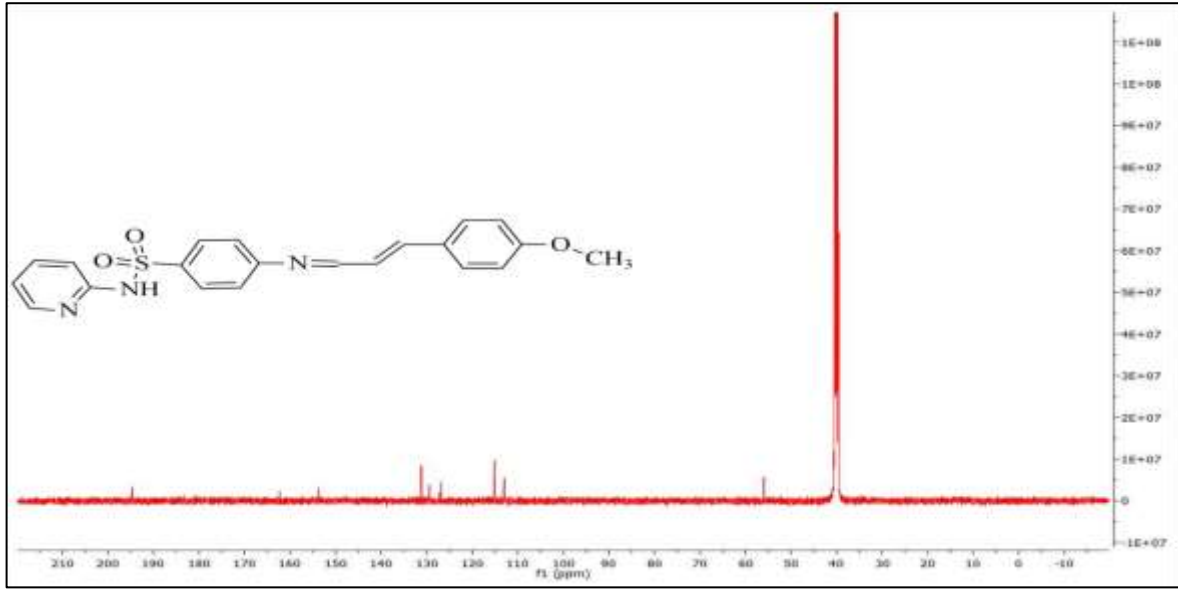
¹H-NMR sonucu;



Şekil 4.42. L11 inhibitörünün ¹H-NMR spektrumu

L11 inhibitörünün DMSO-d₆ içindeki ¹H-NMR spektrumunda, -NH (A) protonuna ait tekli pik 10,24 ppm de, imin grubuna bağlı hidrojene ait (-N=CH) (B) bir protona karşılık gelen tekli pik 8,91 ppm de görülmüştür. İki aromatik halkaya ait (C ve C') sekiz protona karşılık gelen çoklu pikler 7,92 ppm ve 7,27 ppm aralığında gözlenmektedir ve aynı zamanda aromatik halkaya bağlı trans hidrojen protonuna ait ikili pik 7,26 ppm ve 7,06 ppm de, pirimidin halkasına (C'') ait pikler 7,94 ppm ve 7,06 ppm de ve aromatik halkaya bağlı -OCH₃ (D) pikine ait 3,74 ppm de üç hidrojen protonuna karşılık geldiği gözlenmiştir.

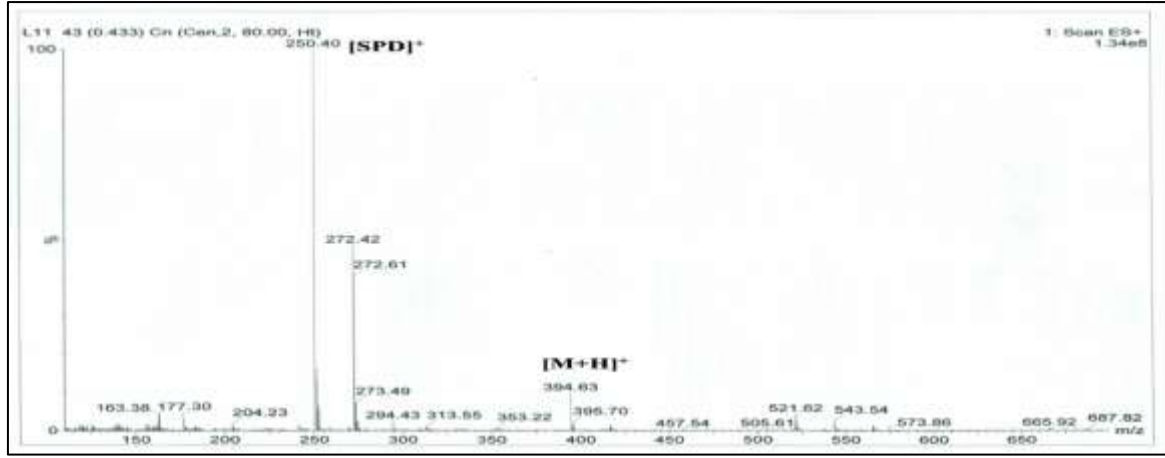
¹³C-NMR sonucu;



Şekil 4.43. *L11 inhibitörünün* ¹³C-NMR spektrumu

L11 inhibitörünün ¹³C-NMR spektrumu için DMSO-d₆ çözücüsü kullanıldı. İnhibitördeki imin (CH=N) karbonuna ait pik 163 ppm'de, imin protonuna bağlı (=N-CH) karbon atomuna ait pik 161 ppm'de, 4-metoksisinnamaldehyde'e bağlı metoksi grubuna ait pik 56 ppm de görülmüştür. Son olarak aromatik halkadaki karbonlara ait pikler ise 154 ppm ve 110 ppm aralığında gözlenmiştir.

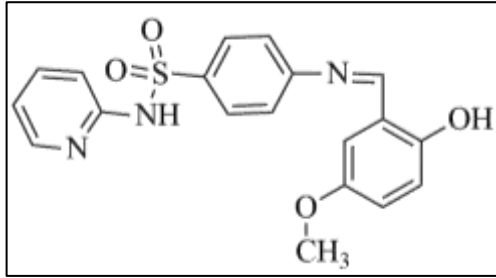
LC- MS sonucu;

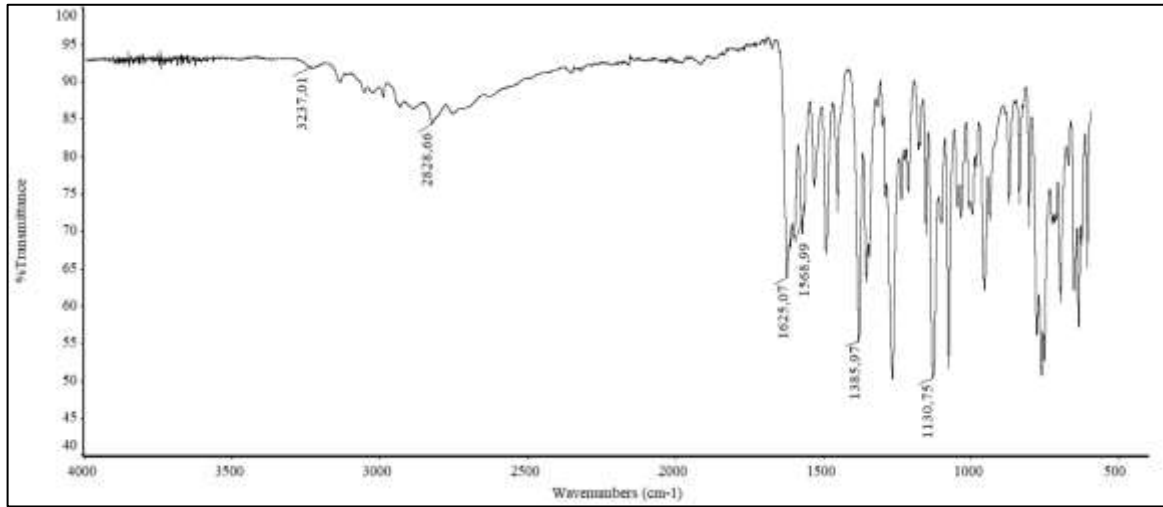


Şekil 4.44. L11 inhibitörünün LC-MS spektrumu

L11 inhibitörüne ait teorik olarak hesaplanan moleküler ağırlığı $393,46 \text{ g mol}^{-1}$ dur. İnhibitörün moleküler iyon piki $[M+H]^+ = 394,63 \text{ m/z}$ de gözlenmiştir. Sülfapiridin (SPD) bileşiğine ait iyon piki $[SPD]^+ = 250,40 \text{ m/z}$ de temel pik olarak gözlenmiştir.

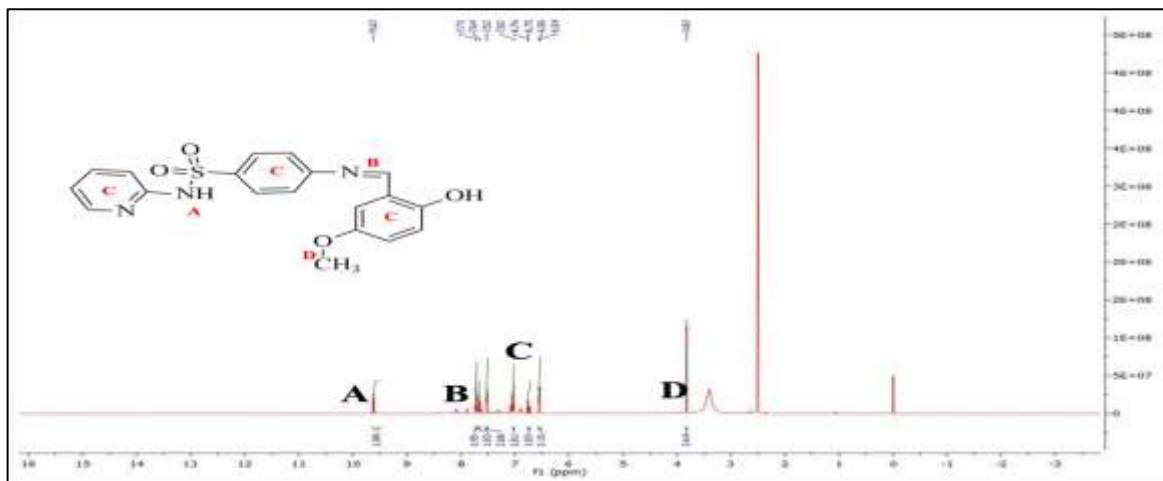
4.1.12. Sülfapiridin-2-hidroksi-5-metoksibenzaldehit (L12)



FT-IR sonucu;

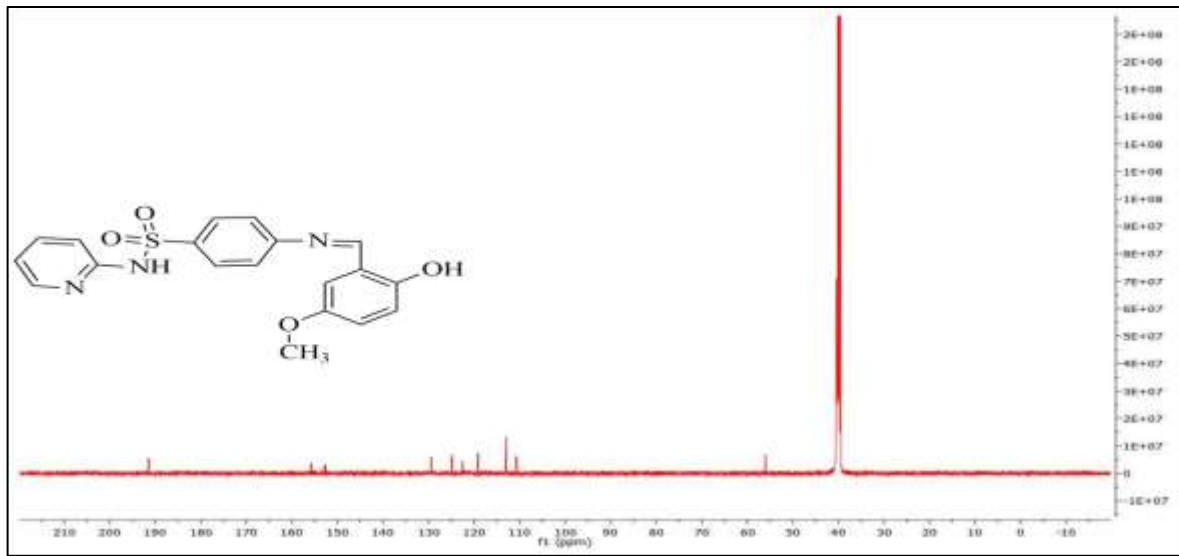
Şekil 4.45. L12 inhibitörünün FT-IR spektrumu

L12 inhibitörüne ait FT-IR spektrumu verilmiştir. Spektrum incelendiğinde 3237 cm⁻¹ civarında gözlenen bant ikincil amin $\nu(\text{NH})$ gerilme, 1625 cm⁻¹ civarında görülen bant imin $\nu(\text{C}=\text{N})$ gerilme, 2828 cm⁻¹ civarında görülen bant $\nu(\text{C}-\text{H})$ gerilme, 1385 cm⁻¹ civarında gözlenen pik $\nu_{\text{as}}(\text{SO}_2)$ asimetrik gerilme, 1130 cm⁻¹ de $\nu_{\text{s}}(\text{SO}_2)$ simetrik gerilme ve son olarak 1568-1270 cm⁻¹ aralığında gözlenen bantlar ise aromatik $\nu(\text{C}=\text{C})$ gerilme titreşimlerine aittir.

¹H-NMR sonucu;Şekil 4.46. L12 inhibitörünün ¹H-NMR spektrumu

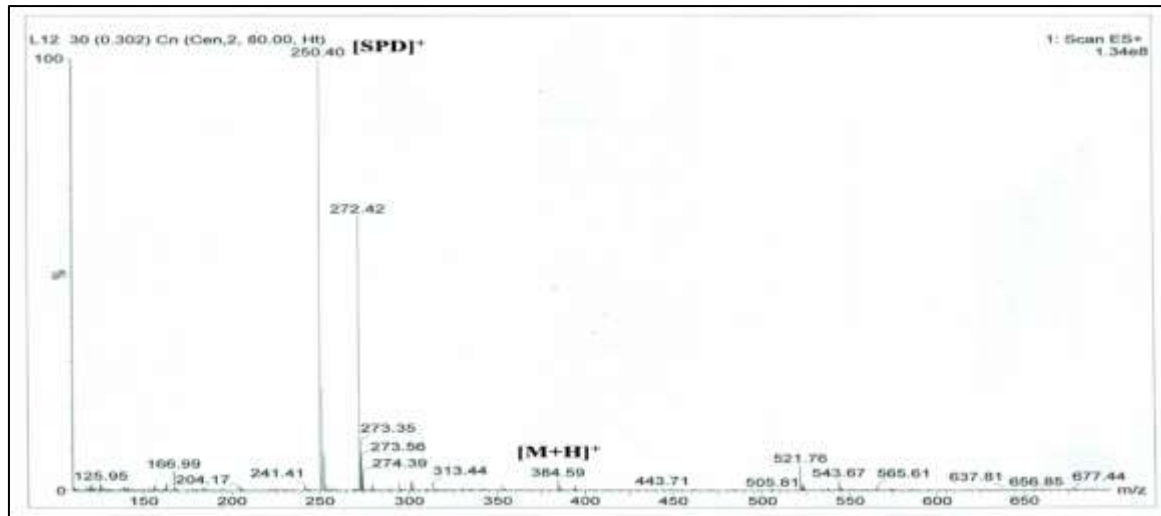
L12 inhibitörünün DMSO-d₆ içindeki ¹H-NMR spektrumunda, -NH (A) protonuna ait tekli pik 9,62 ppm'de, imin grubuna bağlı hidrojene ait (-N=CH) (B) bir protona karşılık gelen tekli pik 8,73 ppm'de. İki aromatik halkaya ait (C ve C') sekiz protona karşılık gelen çoklu pikler 7,73 ppm- 6,75 ppm aralığında gözlenmektedir. Piridin halkasına (C'') bağlı dört proton ise 7,64 ve 6,54 ppm'de gözlenmektedir. Aynı zamanda aromatik halkaya bağlı (C') -OCH₃ pikine ait (D) 3,82 ppm'de üç hidrojen protonuna karşılık geldiği gözlenmiştir.

¹³C-NMR sonucu;



Şekil 4.47. *L12 inhibitörünün* ¹³C-NMR spektrumu

L12 inhibitörünün ¹³C-NMR spektrumu için DMSO-d₆ çözücüsü kullanıldı. İnhibitördeki imin (CH=N) karbonuna ait pik 158 ppm'de, imin protonuna bağlı (=N-CH) karbon atomuna ait pik 155 ppm'de, 2-hidroksi-5-metoksibenzaldehite bağlı hidroksi grubuna ait karbona pik 153 ppm'de ve metoksi grubuna ait pik 56 ppm'de görülmüştür. Son olarak aromatik halkadaki karbonlara ait pikler ise 130 ve 110 ppm aralığında gözlenmiştir.

LC-MS sonucu;

Şekil 4.48. L12 inhibitörünün LC-MS spektrumu

L12 inhibitörüne ait teorik olarak hesaplanan moleküler ağırlığı 383,42 g·mol⁻¹dür. İnhibitörün moleküler iyon piki [M+H]⁺= 384,59 m/z de gözlenmiştir. Sülfapiridin (SPD) bileşiğine ait iyon piki [SPD]⁺= 250,40 m/z de gözlenmiştir.

Çizelge 4.1. Sentezlenen inhibitörlerin molekül kütlesi ve erime noktaları

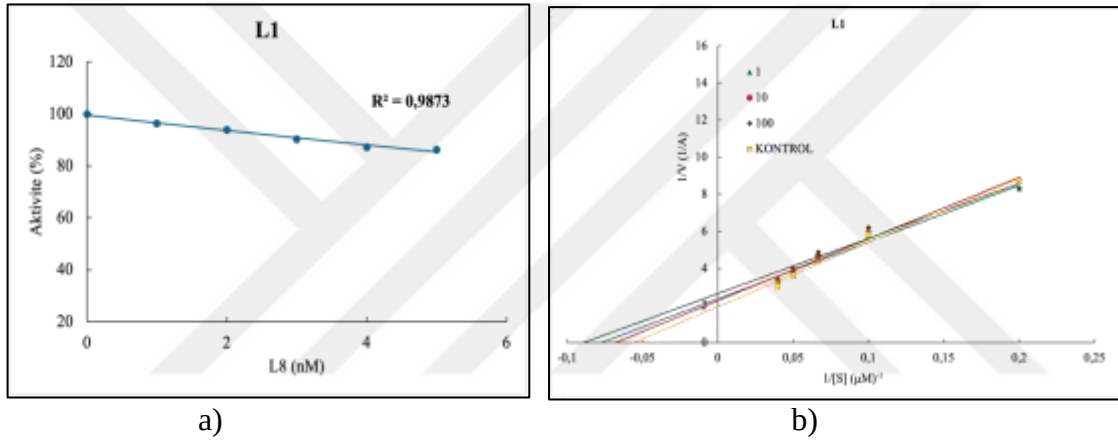
İnhibitörler	M.K. (g/mol)	E.N. (°C)
L1	441,50	246,7
L2	397,45	169,8
L3	387,41	191,8
L4	455,53	204
L5	411,47	202,9
L6	401,44	190,6
L7	466,55	222,6
L8	422,50	208,7
L9	412,46	230,2
L10	437,51	274,3
L11	393,46	215,8
L12	383,42	219,1

4.2. Sentezlenen İnhibitörlerin Kolinesteraz (AChE ve BChE) Enzim Aktivite Sonuçları

4.2.1. AChE enzim inhibisyon sonuçları

L1 inhibitörünün AChE üzerine inhibisyon sonuçları

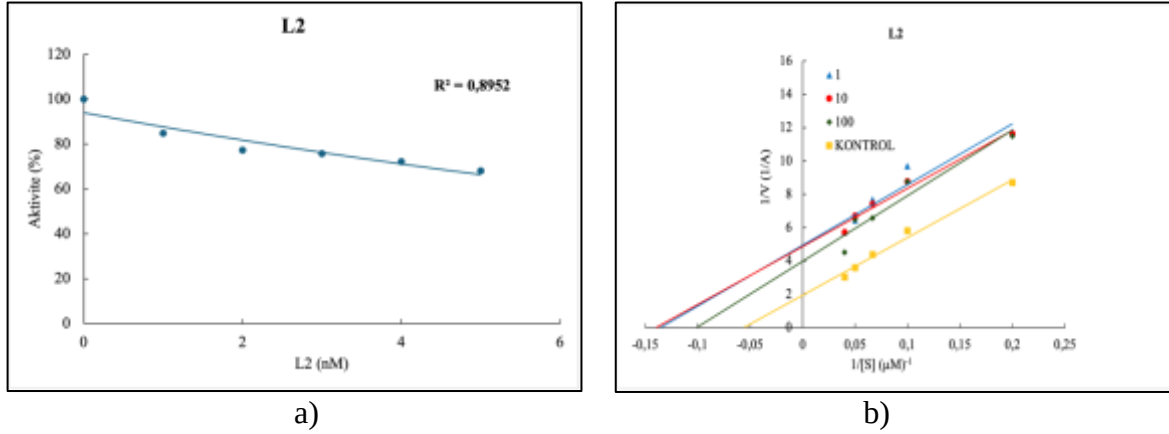
L1 inhibitörünün AChE enzimi için IC_{50} değeri $22,23 \pm 1,00$ nM ve K_i değeri ise $12,91 \pm 0,46$ μ M olarak bulunmuştur. Bu inhibitörün AChE enzimi üzerine gösterdiği inhibisyon türü yarı yarışmalı olarak bulunmuştur.



Şekil 4.49. (a) L1 inhibitörünün Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.

L2 inhibitörünün AChE üzerine inhibisyon sonuçları

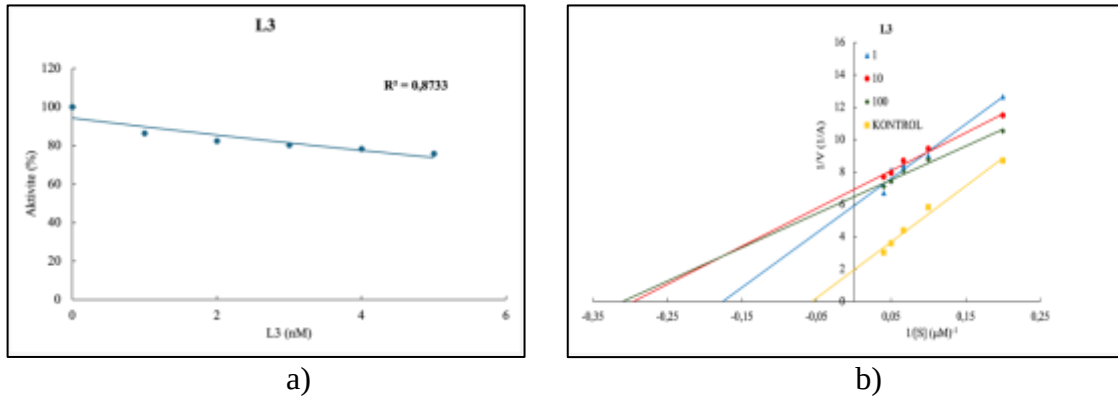
L2 inhibitörünün AChE enzimi için IC_{50} değeri $9,01 \pm 0,98$ nM ve K_i değeri ise $8,14 \pm 1,02$ μ M olarak bulunmuştur. Bu inhibitörün AChE enzimi üzerine gösterdiği inhibisyon türü yarı yarışmalı olarak bulunmuştur.



Şekil 4.50. (a) L2 inhibitörünün Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.

L3 inhibitörünün AChE üzerine inhibisyon sonuçları

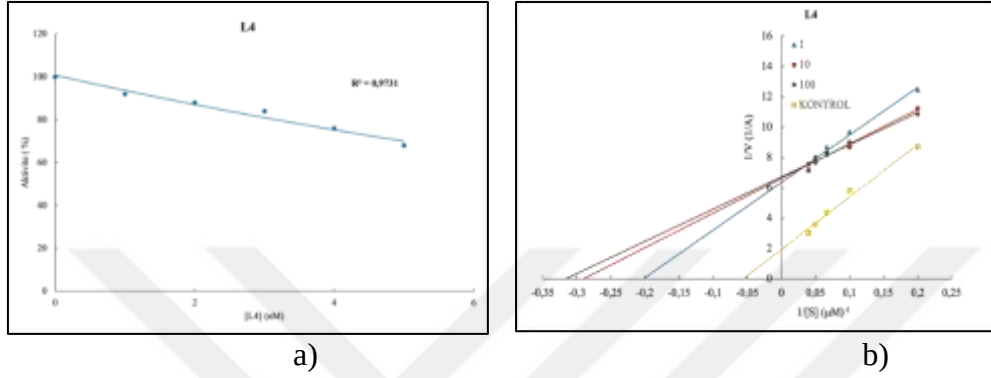
L3 inhibitörünün AChE enzimi için IC_{50} değeri $12,94 \pm 0,78$ nM ve K_i değeri ise $4,11 \pm 1,39$ μM olarak bulunmuştur. Bu inhibitörün AChE enzimi üzerine gösterdiği inhibisyon türü yarı yarışmalı olarak bulunmuştur.



Şekil 4.51. (a) L3 inhibitörünün Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.

L4 inhibitörünün AChE üzerine inhibisyon sonuçları

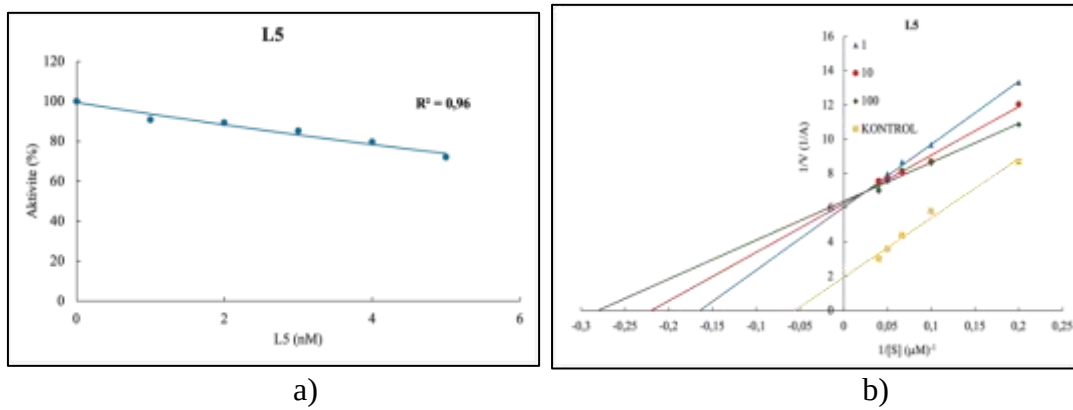
L4 inhibitörünün AChE enzimi için IC_{50} değeri $9,60 \pm 0,62$ nM ve K_i değeri ise $3,84 \pm 0,93$ μ M olarak bulunmuştur. Bu inhibitörün AChE enzimi üzerine gösterdiği inhibisyon türü yarı yarışmalı olarak bulunmuştur.



Şekil 4.52. (a) L4 inhibitörünün Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiği, (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiği.

L5 inhibitörünün AChE üzerine inhibisyon sonuçları

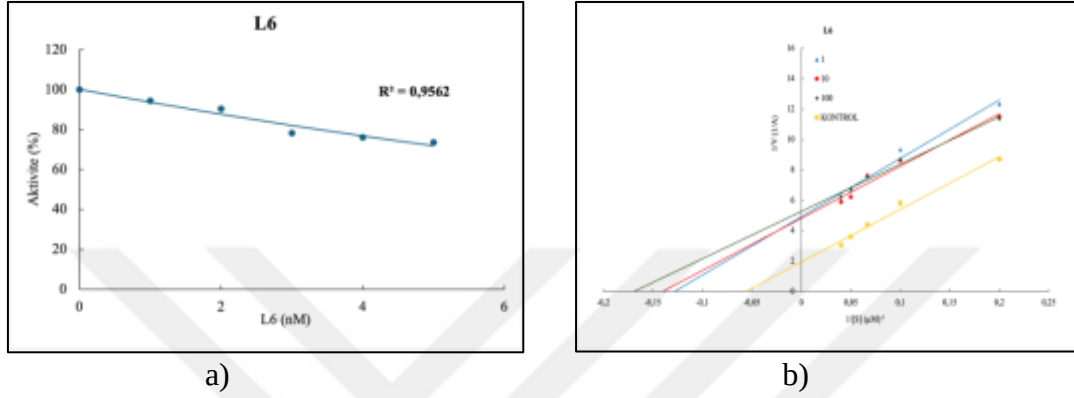
L5 inhibitörünün AChE enzimi için IC_{50} değeri $11,65 \pm 1,10$ nM ve K_i değeri ise $4,49 \pm 1,51$ μ M olarak bulunmuştur. Bu inhibitörün AChE enzimi üzerine gösterdiği inhibisyon türü yarı yarışmalı olarak bulunmuştur.



Şekil 4.53. (a) L5 inhibitörünün Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiği, (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiği.

L6 inhibitörünün AChE üzerine inhibisyon sonuçları

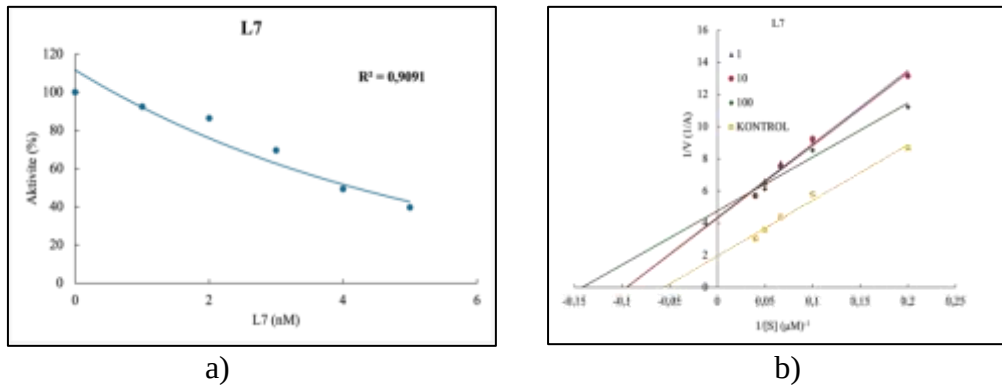
L6 inhibitörünün AChE enzimi için IC_{50} değeri $10,53 \pm 0,72$ nM ve K_i değeri ise $4,40 \pm 0,91$ μ M olarak bulunmuştur. Bu inhibitörün AChE enzimi üzerine gösterdiği inhibisyon türü yarı yarışmalı olarak bulunmuştur.



Şekil 4.54. (a) L6 inhibitörünün Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.

L7 inhibitörünün AChE üzerine inhibisyon sonuçları

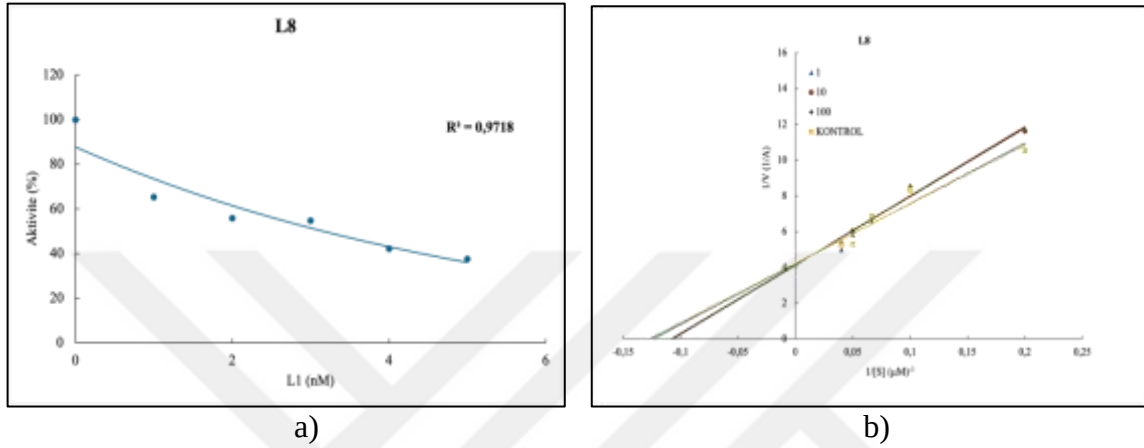
L7 inhibitörünün AChE enzimi için IC_{50} değeri $4,18 \pm 1,60$ nM ve K_i değeri ise $9,31 \pm 1,97$ μ M olarak bulunmuştur. Bu inhibitörün AChE enzimi üzerine gösterdiği inhibisyon türü yarı yarışmalı olarak bulunmuştur.



Şekil 4.55. (a) L7 inhibitörünün Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.

L8 inhibitörünün AChE üzerine inhibisyon sonuçları

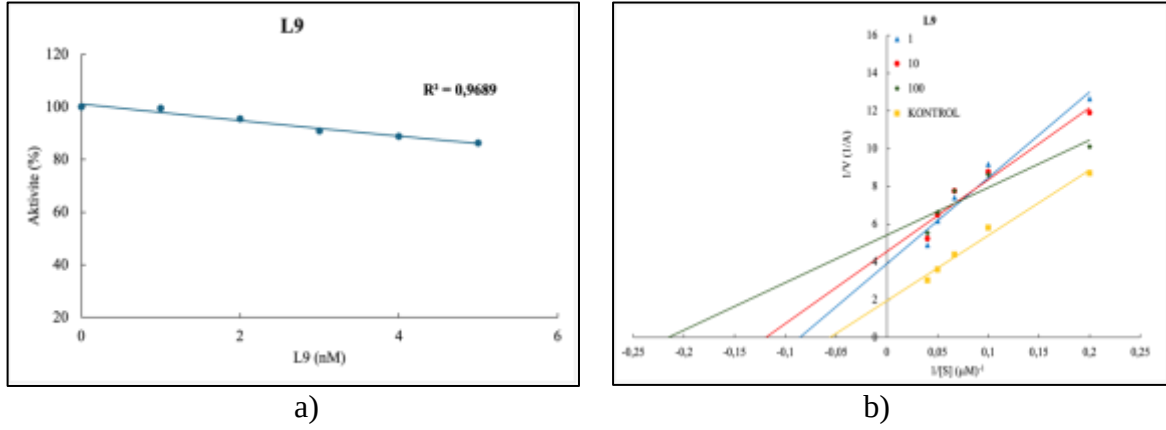
L8 inhibitörünün AChE enzimi için IC_{50} değeri $3,16 \pm 0,45$ nM ve K_i değeri ise $8,85 \pm 0,66$ μ M olarak bulunmuştur. Bu inhibitörün AChE enzimi üzerine gösterdiği inhibisyon türü yarışmalı olarak bulunmuştur.



Şekil 4.56. (a) L8 inhibitörünün Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.

L9 inhibitörünün AChE üzerine inhibisyon sonuçları

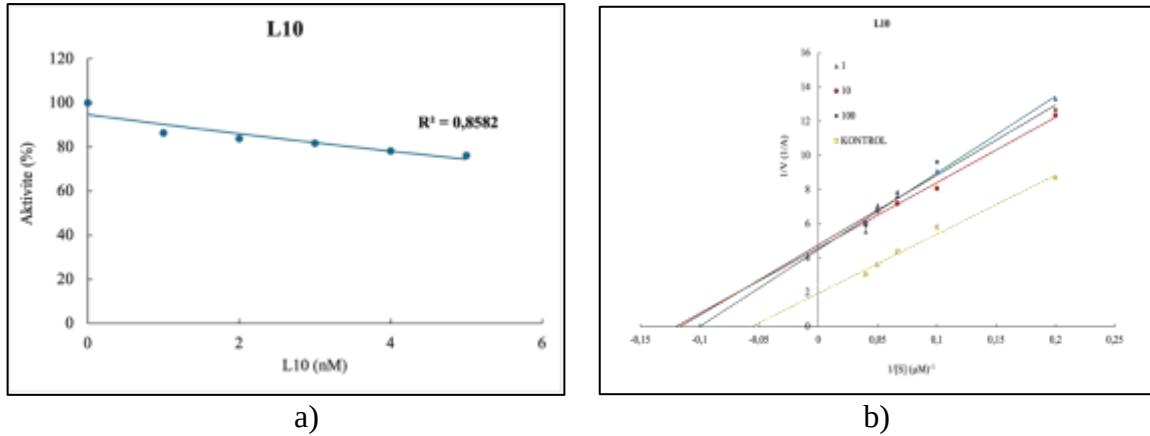
L9 inhibitörünün AChE enzimi için IC_{50} değeri $22,02 \pm 0,96$ nM ve K_i değeri ise $8,15 \pm 1,23$ μ M olarak bulunmuştur. Bu inhibitörün AChE enzimi üzerine gösterdiği inhibisyon türü yarı yarışmalı olarak bulunmuştur.



Şekil 4.57. (a) L9 inhibitörünün Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.

L10 inhibitörünün AChE üzerine inhibisyon sonuçları

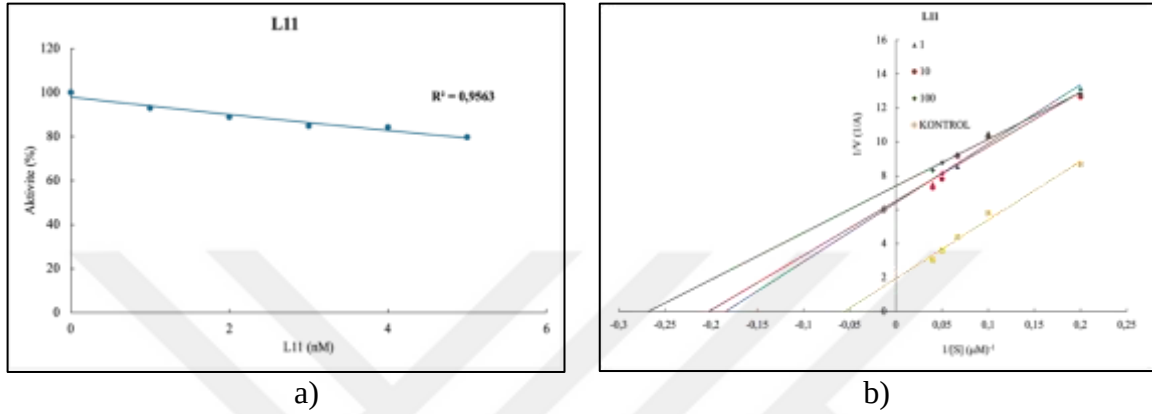
L10 inhibitörünün AChE enzimi için IC_{50} değeri $13,31 \pm 0,89$ nM ve K_i değeri ise $8,95 \pm 0,79$ μ M olarak bulunmuştur. Bu inhibitörün AChE enzimi üzerine gösterdiği inhibisyon türü yarı yarışmalı olarak bulunmuştur.



Şekil 4.58. (a) L10 inhibitörünün Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.

L11 inhibitörünün AChE üzerine inhibisyon sonuçları

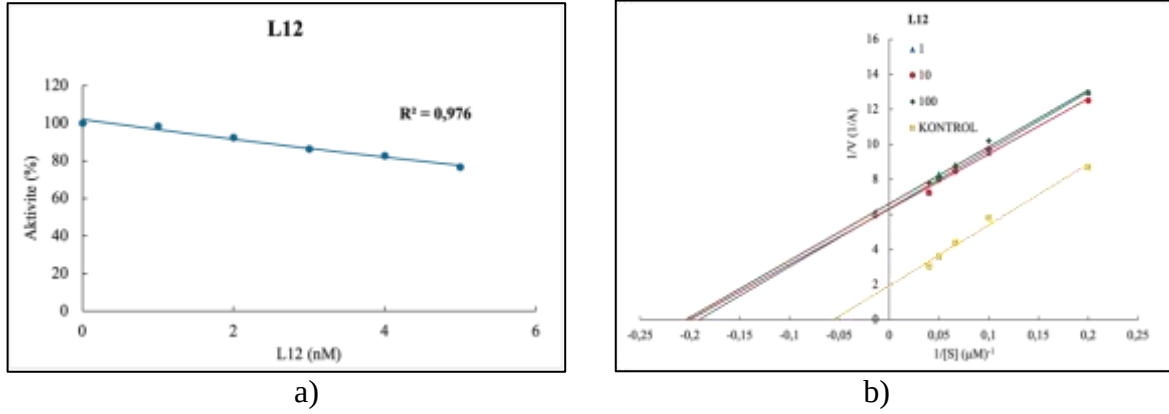
L11 inhibitörünün AChE enzimi için IC_{50} değeri $16,01 \pm 0,86$ nM ve K_i değeri ise $4,74 \pm 0,85$ μ M olarak bulunmuştur. Bu inhibitörün AChE enzimi üzerine gösterdiği inhibisyon türü yarı yarışmalı olarak bulunmuştur.



Şekil 4.59. (a) L11 inhibitörünün Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.

L12 inhibitörünün AChE üzerine inhibisyon sonuçları

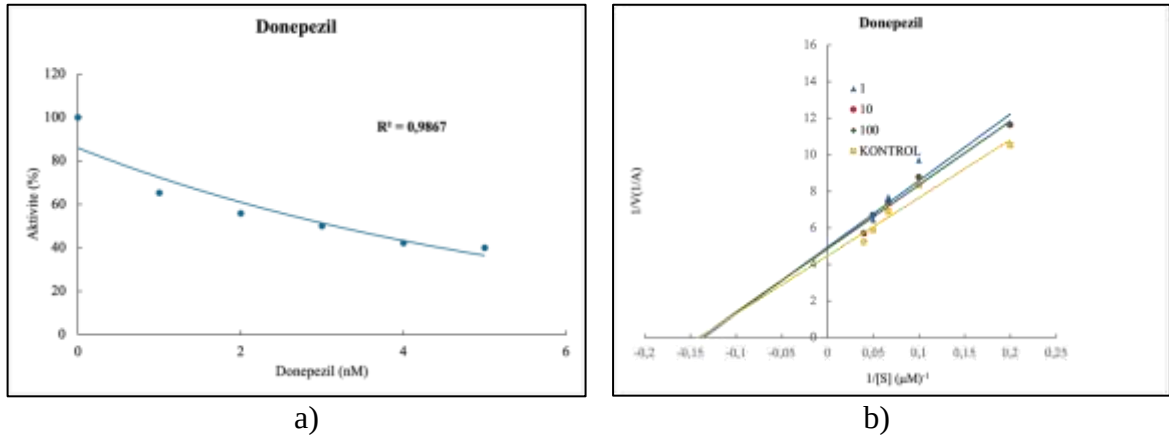
L12 inhibitörünün AChE enzimi için IC_{50} değeri $12,98 \pm 0,11$ nM ve K_i değeri ise $5,06 \pm 0,22$ μ M olarak bulunmuştur. Bu inhibitörün AChE enzimi üzerine gösterdiği inhibisyon türü yarı yarışmalı olarak bulunmuştur.



Şekil 4.60. (a) L12 inhibitörünün Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı.

Donepezil standart etken maddesinin AChE üzerine inhibisyon sonuçları

Referans ilaç olan Donepezil'in AChE enzimi için IC_{50} değeri $3,78 \pm 0,11 \text{ nM}$ ve K_i değeri ise $2,5 \pm 0,20 \mu\text{M}$ olarak bulunmuştur. Bu inhibitörün AChE enzimi üzerine gösterdiği inhibisyon türü yarı yarışmalı olarak bulunmuştur.

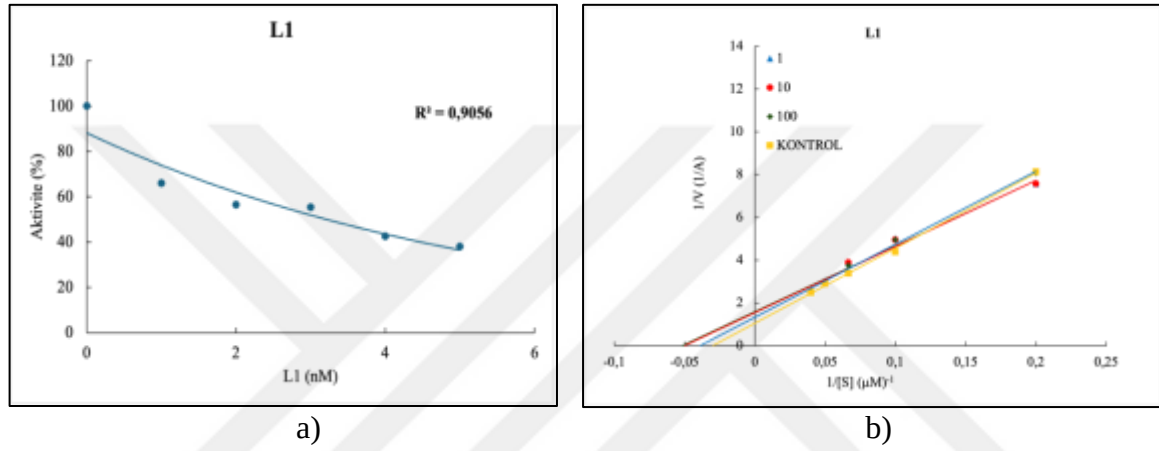


Şekil 4.61. (a) Donepezil standart etken maddesinin Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Asetilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

4.2.2. BChE enzim inhibisyon sonuçları:

L1 inhibitörünün BChE üzerine inhibisyon sonuçları

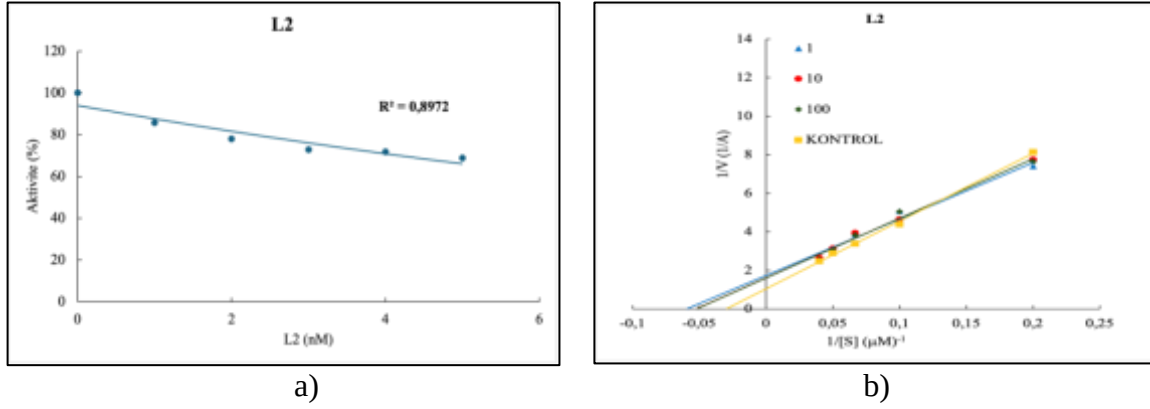
L1 inhibitörünün BChE enzimi için IC_{50} değeri $3,20 \pm 0,85$ nM ve K_i değeri ise $21,7 \pm 1,04$ μ M olarak bulunmuştur. Bu inhibitörün BChE enzimi üzerine gösterdiği inhibisyon türü yarı yarışmalı olarak bulunmuştur.



Şekil 4.62. (a) L1 inhibitörünün Bütirilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

L2 inhibitörünün BChE üzerine inhibisyon sonuçları

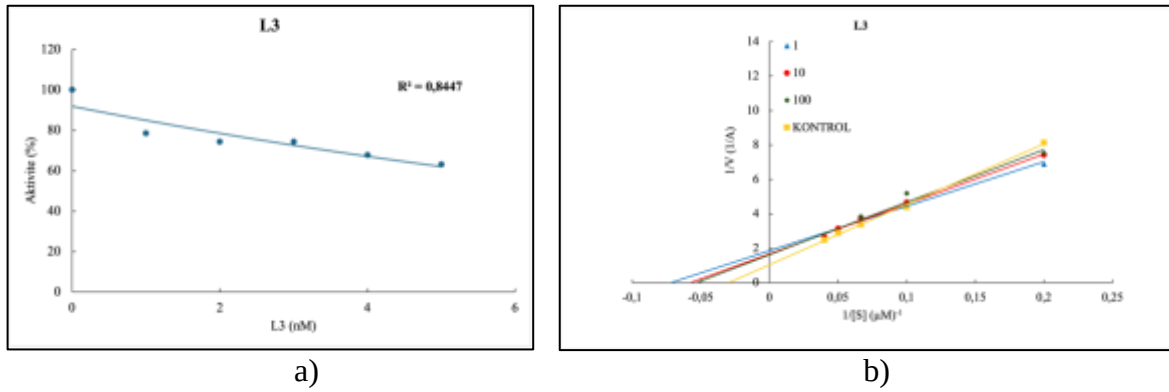
L2 inhibitörünün BChE enzimi için IC_{50} değeri $8,89 \pm 1,03$ nM ve K_i değeri ise $16,7 \pm 2,00$ μ M olarak bulunmuştur. Bu inhibitörün BChE enzimi üzerine gösterdiği inhibisyon türü yarı yarışmalı olarak bulunmuştur.



Şekil 4.63. (a) L2 inhibitörünün Bütirilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

L3 inhibitörünün BChE üzerine inhibisyon sonuçları

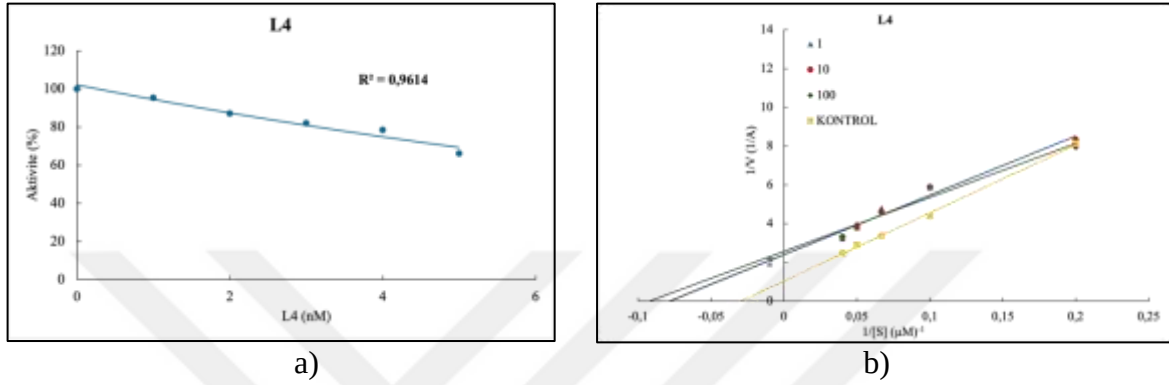
L3 inhibitörünün BChE enzimi için IC_{50} değeri $7,79 \pm 1,67$ nM ve K_i değeri ise $16,7 \pm 2,51$ μM olarak bulunmuştur. Bu inhibitörün BChE enzimi üzerine gösterdiği inhibisyon türü yarı yarışmalı olarak bulunmuştur.



Şekil 4.64. (a) L3 inhibitörünün Bütirilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

L4 inhibitörünün BChE üzerine inhibisyon sonuçları

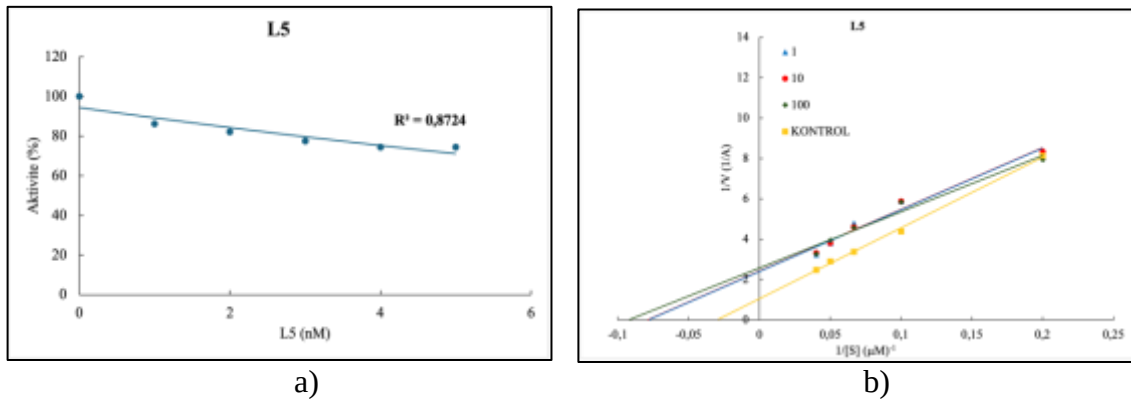
L4 inhibitörünün BChE enzimi için IC_{50} değeri $9,27 \pm 0,98$ nM ve K_i değeri ise $12,1 \pm 1,05$ μ M olarak bulunmuştur. Bu inhibitörün BChE enzimi üzerine gösterdiği inhibisyon türü yarı yarışmalı olarak bulunmuştur.



Şekil 4.65. (a) L4 inhibitörünün Bütirilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiği, (b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiği

L5 inhibitörünün BChE üzerine inhibisyon sonuçları

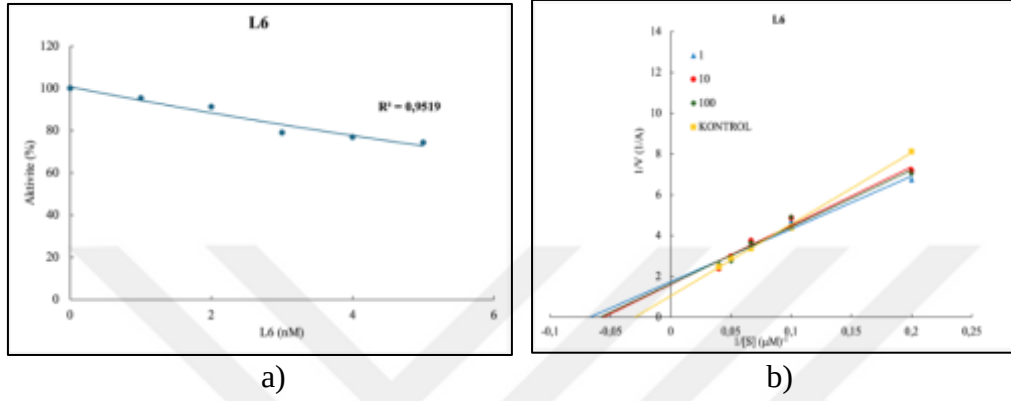
L5 inhibitörünün BChE enzimi için IC_{50} değeri $11,1 \pm 0,67$ nM ve K_i değeri ise $12,0 \pm 1,24$ μ M olarak bulunmuştur. Bu inhibitörün BChE enzimi üzerine gösterdiği inhibisyon türü yarı yarışmalı olarak bulunmuştur.



Şekil 4.66. (a) L5 inhibitörünün Bütirilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiği, (b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiği

L6 inhibitörünün BChE üzerine inhibisyon sonuçları

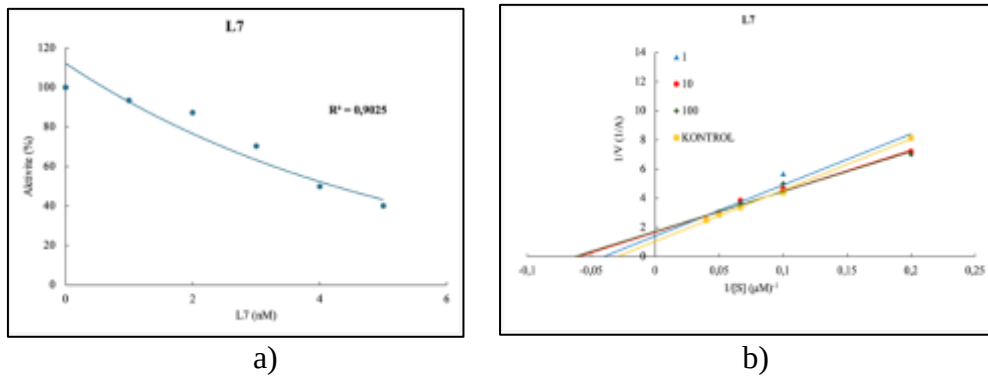
L6 inhibitörünün BChE enzimi için IC_{50} değeri $10,7 \pm 1,64$ nM ve K_i değeri ise $16,6 \pm 1,60$ μ M olarak bulunmuştur. Bu inhibitörün BChE enzimi üzerine gösterdiği inhibisyon türü yarı yarışmalı olarak bulunmuştur.



Şekil 4.67. (a) L6 inhibitörünün Bütirilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

L7 inhibitörünün BChE üzerine inhibisyon sonuçları

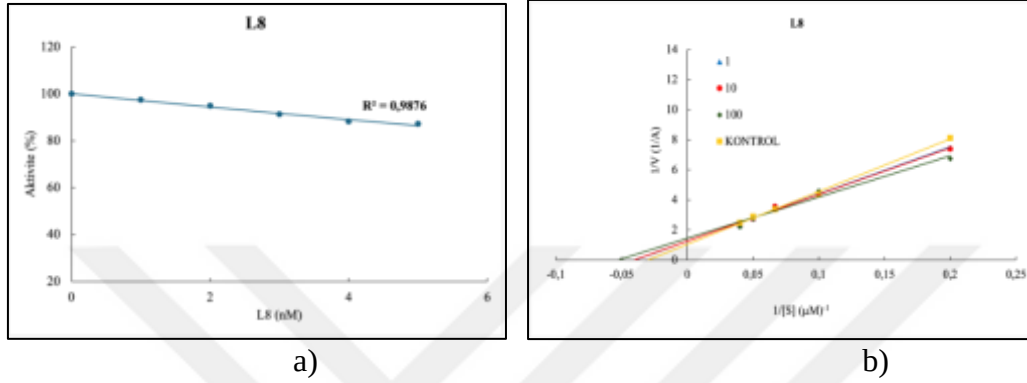
L7 inhibitörünün BChE enzimi için IC_{50} değeri $4,23 \pm 1,21$ nM ve K_i değeri ise $19,1 \pm 1,06$ μ M olarak bulunmuştur. Bu inhibitörün BChE enzimi üzerine gösterdiği inhibisyon türü yarı yarışmalı olarak bulunmuştur.



Şekil 4.68. (a) L7 inhibitörünün Bütirilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

L8 inhibitörünün BChE üzerine inhibisyon sonuçları

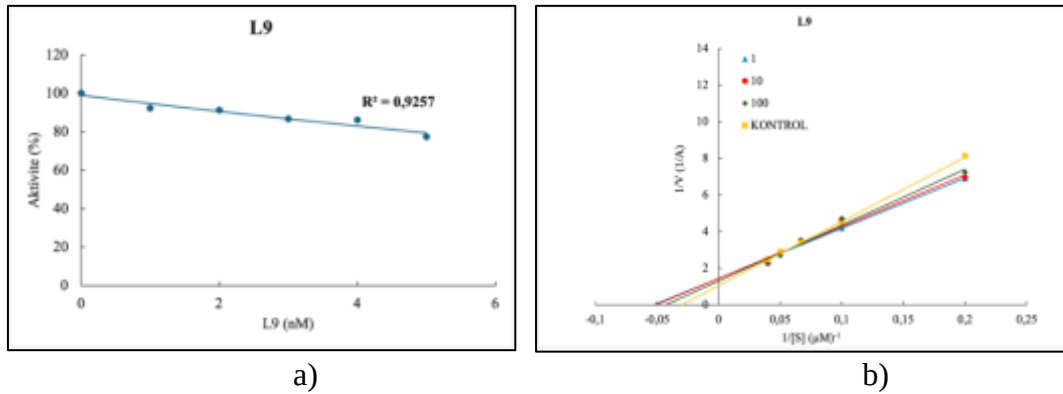
L8 inhibitörünün BChE enzimi için IC_{50} değeri $23,9 \pm 0,50$ nM ve K_i değeri ise $22,7 \pm 0,79$ μ M olarak bulunmuştur. Bu inhibitörün BChE enzimi üzerine gösterdiği inhibisyon türü yarı yarışmalı olarak bulunmuştur.



Şekil 4.69. (a) L8 inhibitörünün Bütirilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiği, (b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiği

L9 inhibitörünün BChE üzerine inhibisyon sonuçları

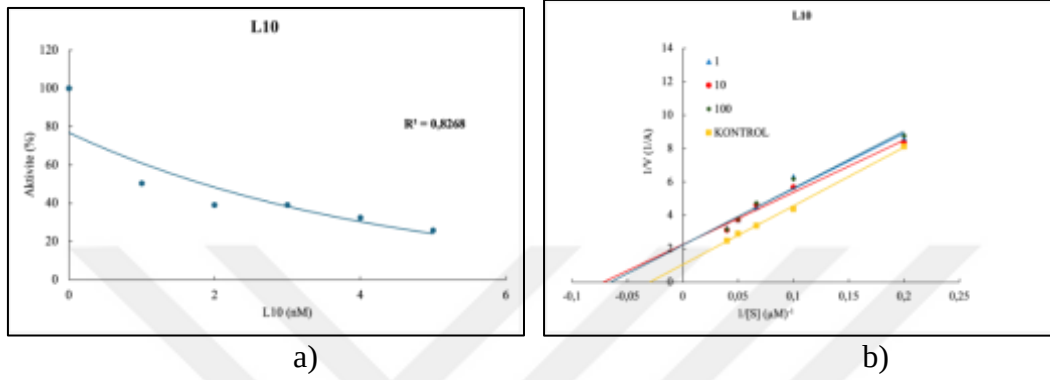
L9 inhibitörünün BChE enzimi için IC_{50} değeri $15,5 \pm 0,67$ nM ve K_i değeri ise $20,5 \pm 0,89$ μ M olarak bulunmuştur. Bu inhibitörün BChE enzimi üzerine gösterdiği inhibisyon türü yarı yarışmalı olarak bulunmuştur.



Şekil 4.70. (a) L9 inhibitörünün Bütirilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiği, (b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiği

L10 inhibitörünün BChE üzerine inhibisyon sonuçları

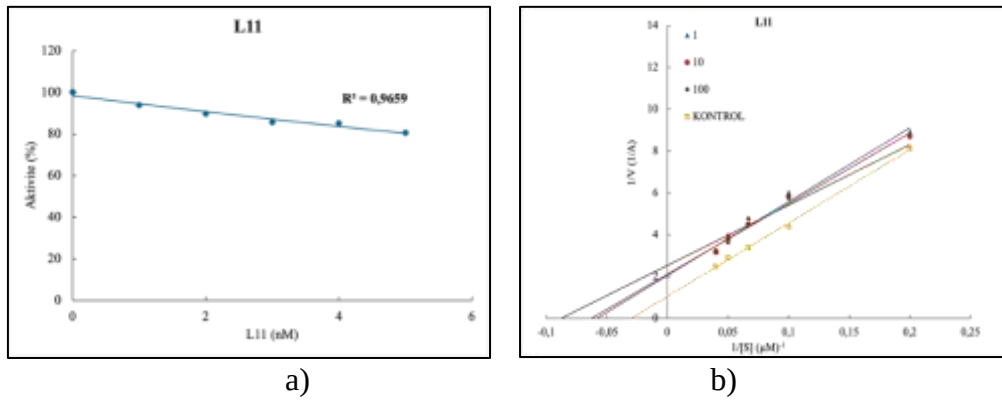
L10 inhibitörünün BChE enzimi için IC_{50} değeri $1,85 \pm 1,04$ nM ve K_i değeri ise $14,2 \pm 1,01$ μ M olarak bulunmuştur. Bu inhibitörün BChE enzimi üzerine gösterdiği inhibisyon türü yarı yarışmalı olarak bulunmuştur.



Şekil 4.71. (a) L10 inhibitörünün Bütirilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

L11 inhibitörünün BChE üzerine inhibisyon sonuçları

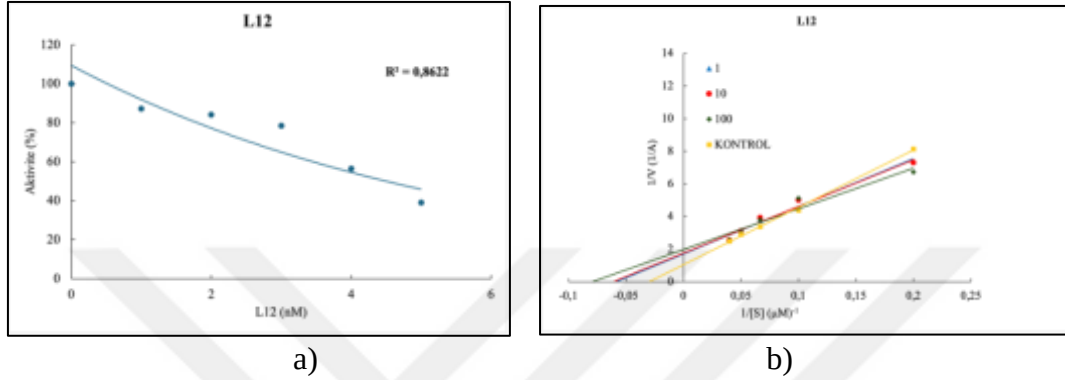
L11 inhibitörünün BChE enzimi için IC_{50} değeri $16,5 \pm 2,13$ nM ve K_i değeri ise $14,8 \pm 3,12$ μ M olarak bulunmuştur. Bu inhibitörün BChE enzimi üzerine gösterdiği inhibisyon türü yarı yarışmalı olarak bulunmuştur.



Şekil 4.72. (a) L11 inhibitörünün Bütirilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

L12 inhibitörünün BChE üzerine inhibisyon sonuçları

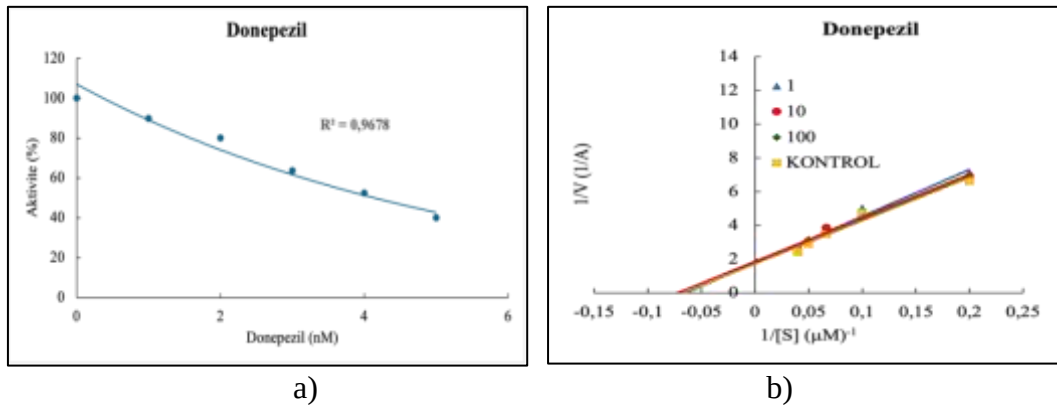
L12 inhibitörünün BChE enzimi için IC_{50} değeri $4,50 \pm 1,87$ nM ve K_i değeri ise $15,4 \pm 2,01$ μ M olarak bulunmuştur. Bu inhibitörün BChE enzimi üzerine gösterdiği inhibisyon türü yarı yarışmalı olarak bulunmuştur.



Şekil 4.73. (a) L12 inhibitörünün Bütirilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

Donepezil standart etken maddesinin BChE üzerine inhibisyon sonuçları

Referans ilaç olan Donepezil'in BChE enzimi için IC_{50} değeri $4,12 \pm 0,18$ nM ve K_i değeri ise $15 \pm 0,98$ μ M olarak bulunmuştur. Bu referans ilacın BChE enzimi üzerine gösterdiği inhibisyon türü yarı yarışmalı olarak bulunmuştur.



Şekil 4.74. (a) Donepezil standart etken maddesinin Bütirilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine 5 farklı inhibitör derişiminde çizilen % Aktivite grafiğı, (b) Bütirilkolinesteraz enzimi üzerine 5 farklı substrat derişimi ve 3 farklı inhibitör derişiminde çizilen Lineweaver-Burk grafiğı

Çizelge 4.2. İnhibitörlerin Asetilkolinesteraz enzimi üzerine gösterdikleri inhibisyon etkileri sonunda hesaplanan K_i ve IC_{50} değerleri çizelgesi

İnhibitörler	IC_{50} (nM)	K_i (μ M)	R^2	İnhibisyon türü
L1	22,23±1,00	12,91±0,46	0,9873	Yarı yarışmalı
L2	9,01±0,98	8,14±1,02	0,8952	Yarı yarışmalı
L3-	12,94±0,78	4,11±1,39	0,8733	Yarı yarışmalı
L4	9,60±0,62	3,84±0,93	0,9731	Yarı yarışmalı
L5	11,65±1,10	4,49±1,51	0,96	Yarı yarışmalı
L6	10,53±0,72	4,40±0,91	0,9562	Yarı yarışmalı
L7	4,18±1,60	9,31±1,97	0,9091	Yarı yarışmalı
L8	3,16±0,45	8,85±0,66	0,9718	Yarışmalı
L9	22,02±0,96	8,15±1,23	0,9689	Yarı yarışmalı
L10	13,31±0,89	8,95±0,79	0,8582	Yarı yarışmalı
L11	16,01±0,86	4,74±0,85	0,9563	Yarı yarışmalı
L12	12,98±0,11	5,06±0,22	0,976	Yarı yarışmalı
Donepezil	3,78±0,11	2,5±0,20	0,9867	Yarışmasız

Çizelge 4.3. İnhibitörlerin Bütirikolinesteraz enzimi üzerine gösterdikleri inhibisyon etkileri sonunda hesaplanan K_i ve IC_{50} değerleri çizelgesi

İnhibitörler	IC_{50} (nM)	K_i (μ M)	R^2	İnhibisyon türü
L1	3,20±0,85	21,7±1,04	0,9056	Yarı yarışmalı
L2	8,89±1,03	16,7±2,00	0,8972	Yarı yarışmalı
L3	7,79±1,67	16,7±2,51	0,8447	Yarı yarışmalı
L4	9,27±0,98	12,1±1,05	0,9614	Yarı yarışmalı
L5	11,1±0,67	12,0±1,24	0,8724	Yarı yarışmalı
L6	10,7±1,64	16,6±1,60	0,9519	Yarı yarışmalı
L7	4,23±1,21	19,1±1,06	0,9025	Yarı yarışmalı
L8	23,9±0,50	22,7±0,79	0,9876	Yarı yarışmalı
L9	15,5±0,67	20,5±0,89	0,9257	Yarı yarışmalı
L10	1,85±1,04	14,2±1,01	0,8268	Yarı yarışmalı
L11	16,5±2,13	14,8±3,12	0,9659	Yarı yarışmalı
L12	4,50±1,87	15,4±2,01	0,8622	Yarı yarışmalı
Donepezil	4,12±0,18	15±0,98	0,967	Yarışmasız

4.3. İnhibitörlerin *In Vitro* Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Sentezlenen yeni hibrit bileşiklerin iki tane Gram-negatif (*E.coli* ATCC 25922, *P.aeruginosa* ATCC 22853), iki tane Gram-pozitif (*S.aureus* ATCC 29213, *S.epidermidis* ATCC 35984) ile üç *Candida* suşu (*C.albicans* ATCC 90028, *C.parapsilosis* ATCC 22019 ve *C.auris* CDC B11903) üzerinde antibakteriyal ve antifungal aktivitesi *in vitro* olarak belirlenmiştir. Bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesini ölçmek için Broth Mikrodilüsyon (BMD) yöntemi kullanılmıştır. Referans ilaç olarak bakteriler için Sülfizoksazol ve Sülfmetoksazol, maya mantarı türleri için ise Flukonazol kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.4-4.5 ve Şekil 4.75-4.86 da verilmektedir.

Antimikrobiyal aktivite deneyi sonuçlarına göre sentezlenen inhibitörlerin test edilen mikroorganizmalara karşı 2,5 ila 0,156 mg/mL arasında değişen değerlerde bakteriyostatik ve fungistatik aktivite (MİK) göstermiştir. Sülfizoksazol ve sülfametoksazol ilaçları 5,0 ila 0,312 mg/mL MİK aralığında bakterilere karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. Sentezlenen bileşiklerin *Candida* türlerine karşı ise 0,312 ila 0,156 mg/mL arasında antifungal aktivitesi saptanmıştır. İnhibitörlerin antibakteriyel ve antifungal aktivite sonuçları Çizelge 4.4 ve 4.5’de verilmiştir. Daha sonra tüm inhibitörlerin MİK değerleri grafikler halinde Şekil 4.75-4.86’da verilmiştir.

*Bu çalışmada kullanılan bakteri ve mantar suşları standart suşlardır.

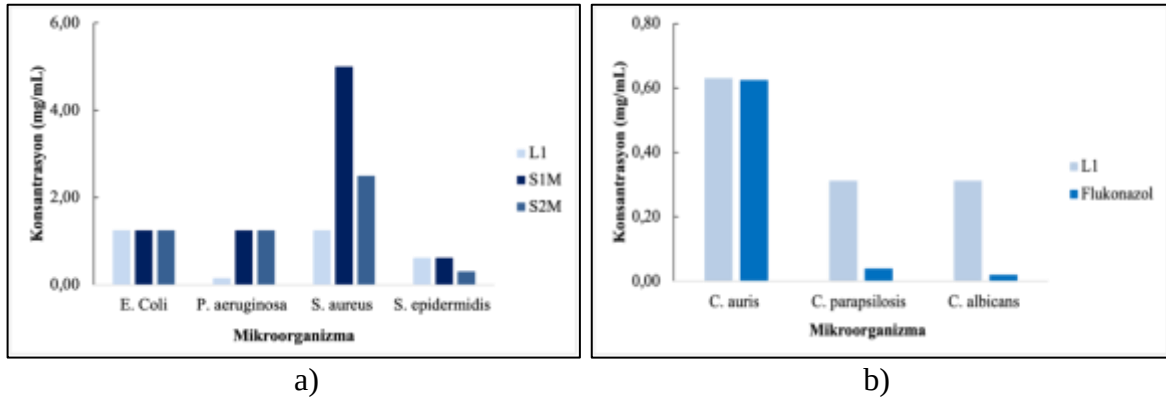
Çizelge 4.4. İnhibitörlerin bakteri türü üzerine olan MİK değerleri (mg/mL)

İnhibitörler	Antibakteriyel Aktivite (MİK, mg/mL)			
	Gram negatif bakteriler		Gram pozitif bakteriler	
	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 22853	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>S. epidermidis</i> ATCC 35984
L1	1,250	0,156	1,250	0,625
L2	0,625	0,625	0,625	0,312
L3	0,312	0,625	0,625	0,625
L4	0,625	0,625	0,625	0,312
L5	0,625	0,312	1,250	0,625
L6	0,625	0,625	0,625	0,312
L7	2,500	1,250	1,250	0,625
L8	1,250	1,250	2,500	1,250
L9	1,250	0,625	0,125	0,312
L10	1,250	0,625	0,625	0,312
L11	0,625	0,312	0,625	0,312
L12	0,625	0,312	0,625	0,312
Sülfizoksazol (S2M)	1,250	1,250	2,500	0,312
Sülfometoksazol (S1M)	1,250	1,250	5,000	0,625

Çizelge 4.5. İnhibitörlerin maya türü üzerine olan MİK değerleri (mg/mL)

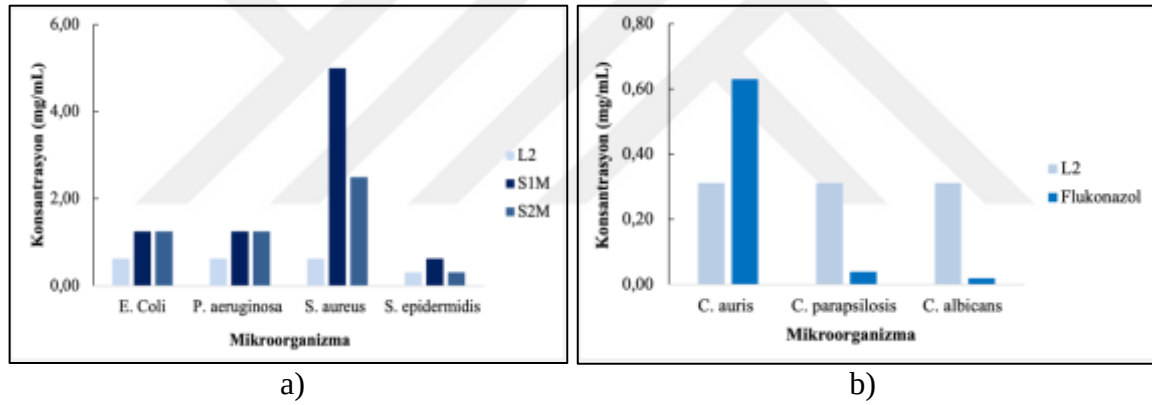
İnhibitörler	Antifungal Aktivite (MİK, mg/mL)		
	<i>Candida</i> maya suşları		
	<i>C. albicans</i> ATCC 90028	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	<i>C. auris</i> CDC B11903
L1	0,312	0,312	0,625
L2	0,312	0,312	0,312
L3	0,156	0,156	0,078
L4	0,312	0,078	0,078
L5	0,312	0,156	0,078
L6	0,312	0,312	0,078
L7	0,312	0,312	0,625
L8	0,156	0,312	0,312
L9	0,312	0,312	0,312
L10	0,312	0,312	0,312
L11	0,625	0,312	0,312
L12	0,312	0,312	0,312
Flukonazol	0,020	0,039	0,625

L1 inhibitörünün Antimikrobiyal aktivite grafikleri



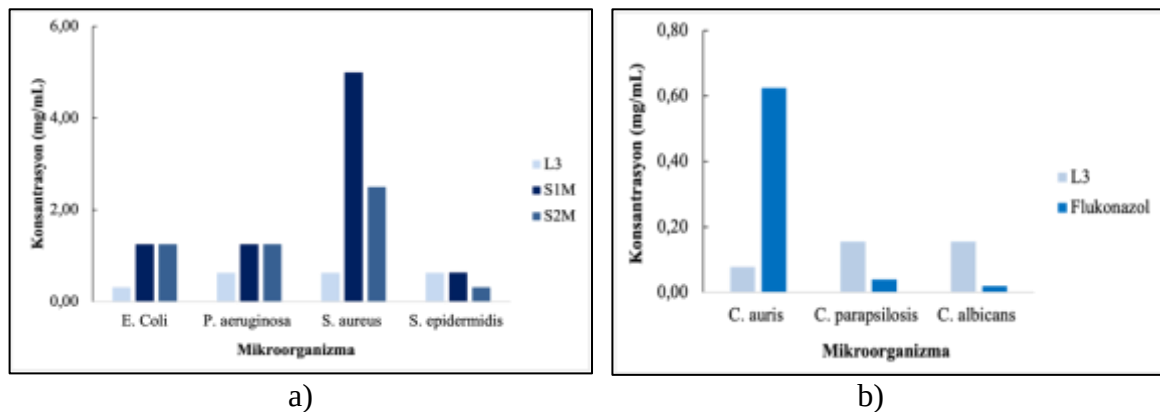
Şekil 4.75. L1 inhibitörünün a) antibakteriyel b) antifungal aktivite grafiği

L2 inhibitörünün Antimikrobiyal aktivite grafikleri



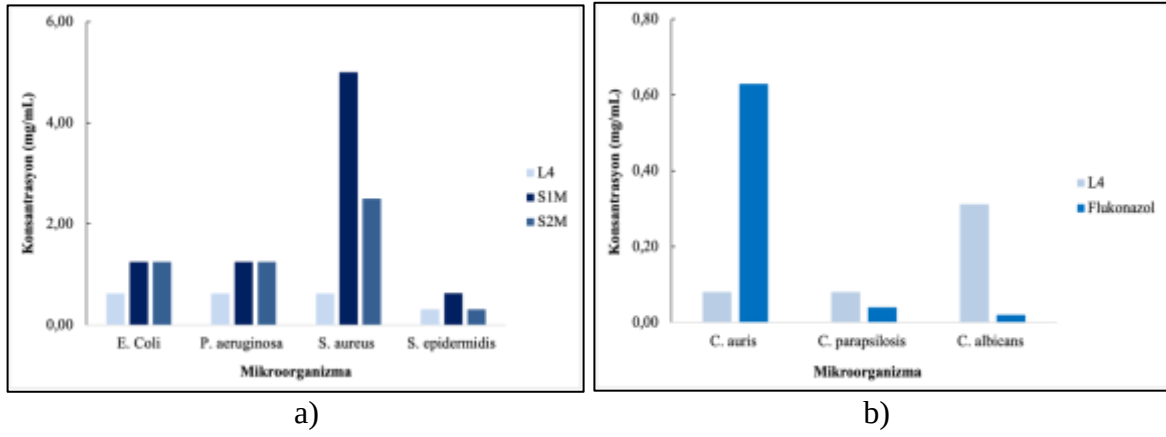
Şekil 4.76. L2 inhibitörünün a) antibakteriyel b) antifungal aktivite grafiği

L3 inhibitörünün Antimikrobiyal aktivite grafikleri



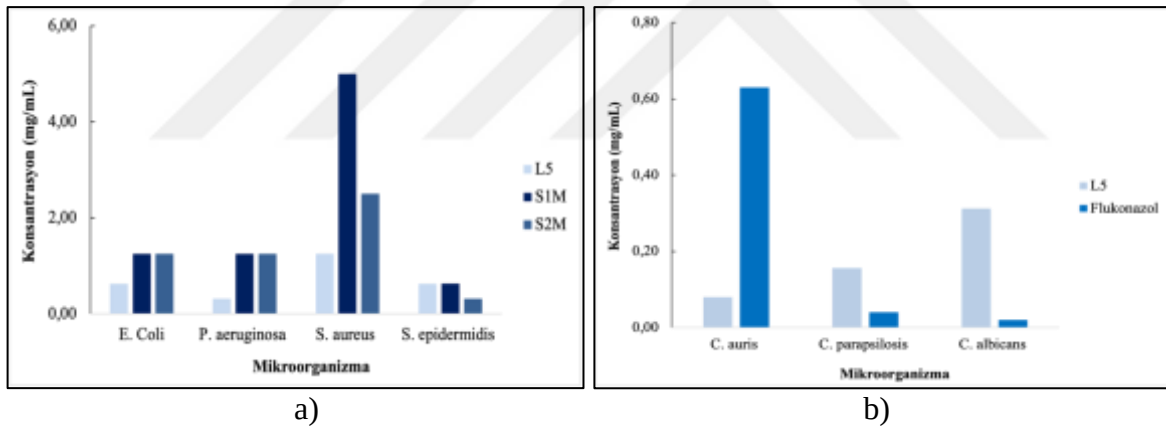
Şekil 4.77. L3 inhibitörünün a) antibakteriyel b) antifungal aktivite grafiği

L4 inhibitörünün Antimikrobiyal aktivite grafikleri



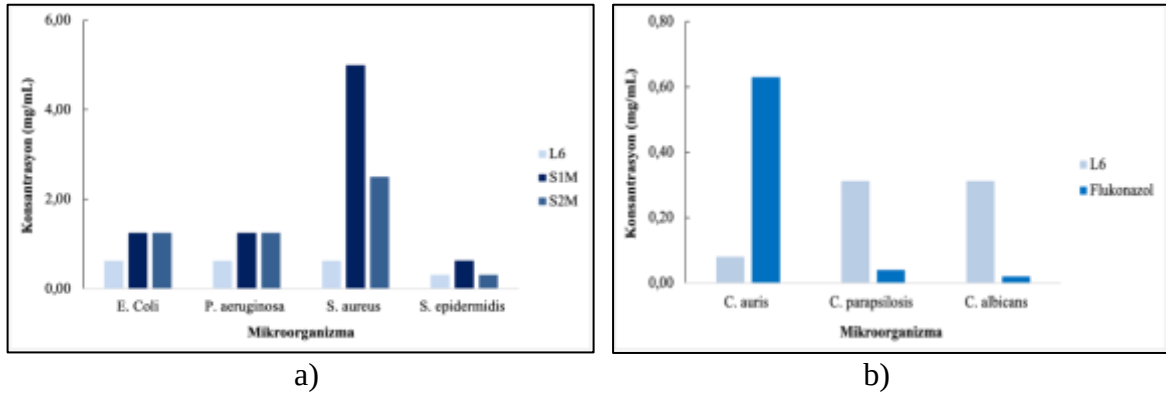
Şekil 4.78. L4 inhibitörünün a) antibakteriyel b) antifungal aktivite grafiği

L5 inhibitörünün Antimikrobiyal aktivite grafikleri



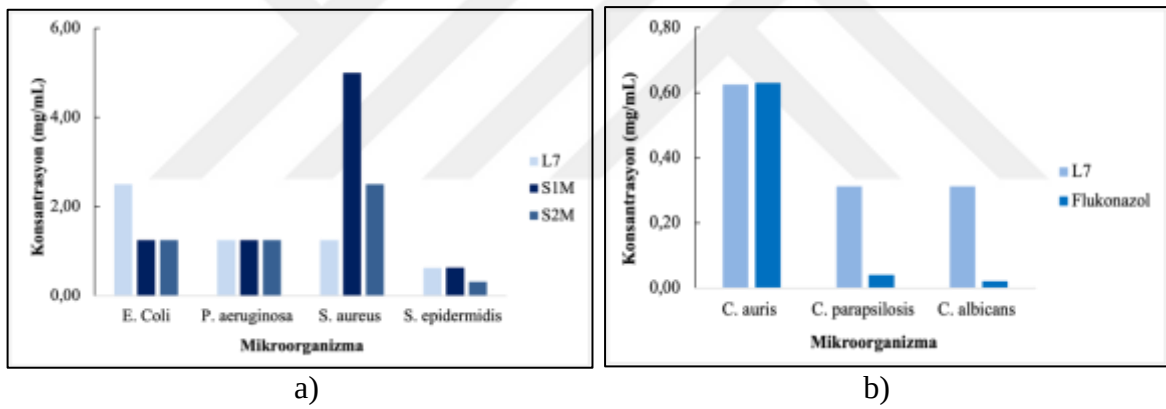
Şekil 4.79. L5 inhibitörünün a) antibakteriyel b) antifungal aktivite grafiği

L6 inhibitörünün Antimikrobiyal aktivite grafikleri



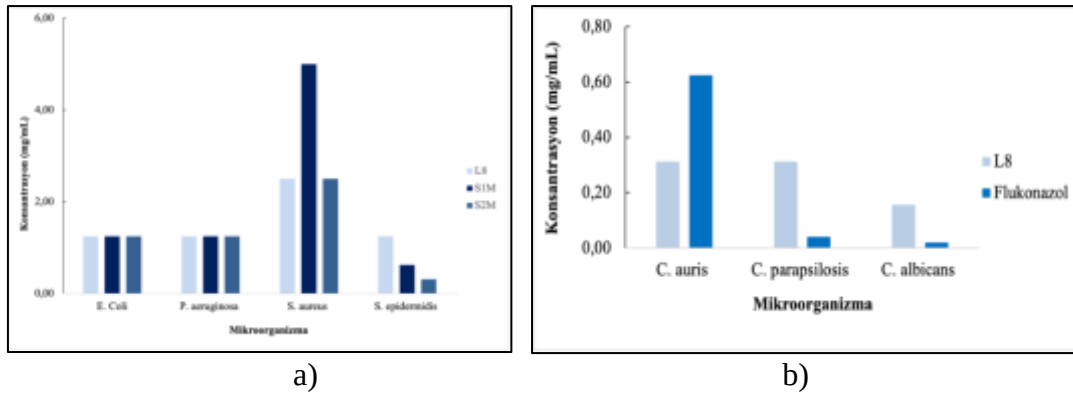
Şekil 4.80. L6 inhibitörünün a) antibakteriyal b) antifungal aktivite grafiği

L7 inhibitörünün Antimikrobiyal aktivite grafikleri



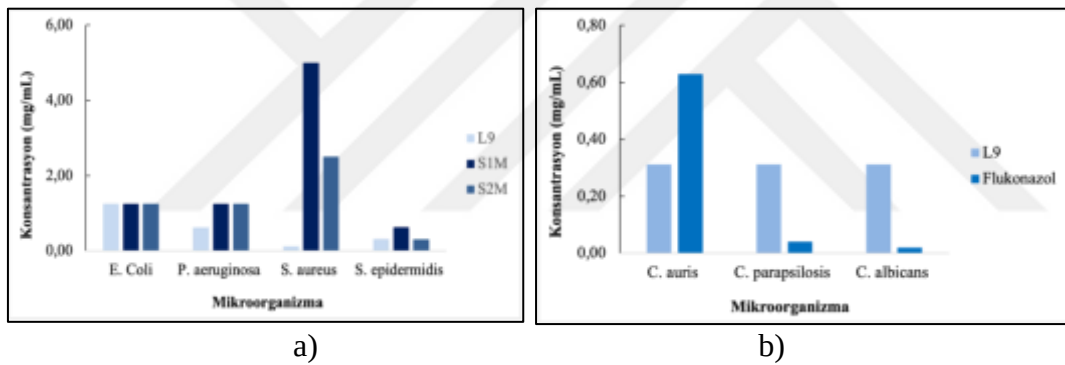
Şekil 4.81. L7 inhibitörünün a) antibakteriyal b) antifungal aktivite grafiği

L8 inhibitörünün Antimikrobiyal aktivite grafikleri



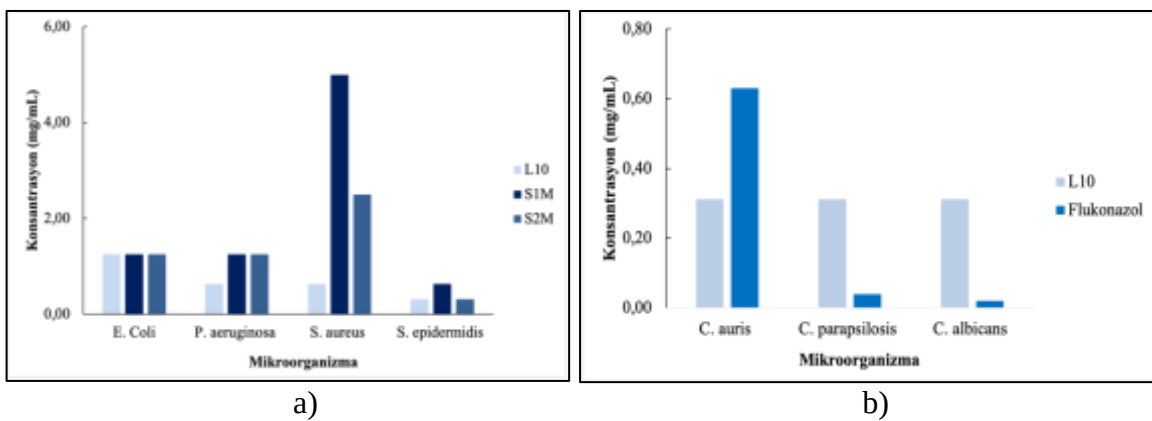
Şekil 4.82. L8 inhibitörünün a) antibakteriyal b) antifungal aktivite grafiği

L9 inhibitörünün Antimikrobiyal aktivite grafikleri



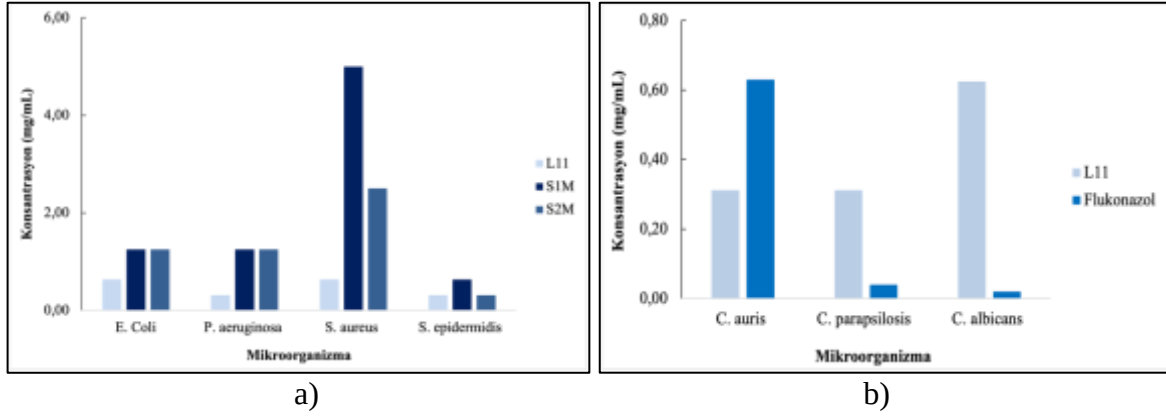
Şekil 4.83. L9 inhibitörünün a) antibakteriyal b) antifungal aktivite grafiği

L10 inhibitörünün Antimikrobiyal aktivite grafikleri



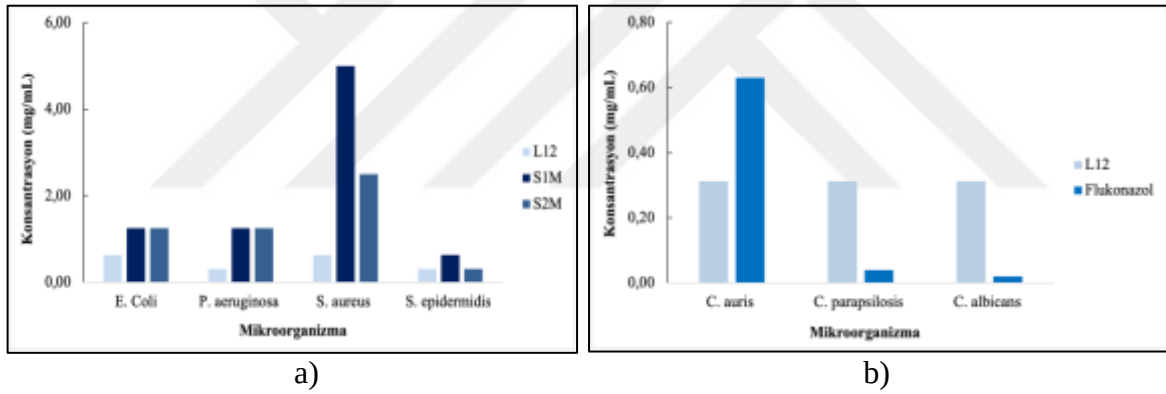
Şekil 4.84. L10 inhibitörünün a) antibakteriyal b) antifungal aktivite grafiği

L11 inhibitörünün Antimikrobiyal aktivite grafikleri



Şekil 4.85. L11 inhibitörünün a) antibakteriyal b) antifungal aktivite grafiği

L12 inhibitörünün Antimikrobiyal aktivite grafikleri



Şekil 4.86. L12 inhibitörünün a) antibakteriyal b) antifungal aktivite grafiği

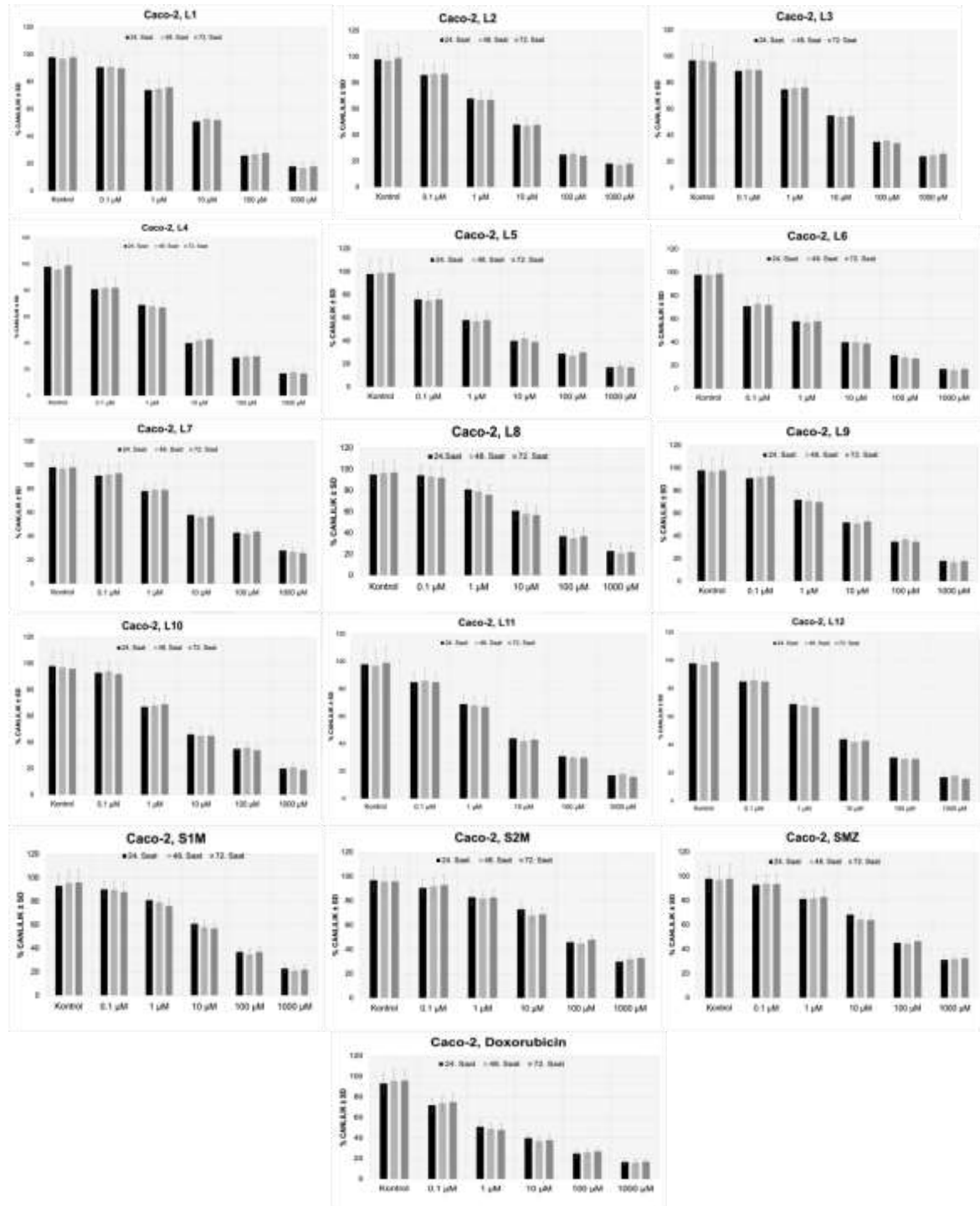
4.4. İnhibitörlerin Antikanser Aktivite Sonuçları

Antikanser aktivite çalışmaları için Caco-2 insan kolon karsinoma, MCF-7 insan meme karsinoma ve SH-SY5Y insan nöroblastoma hücreleri seçilmiştir. Bu amaçla IC₅₀ değeri hesaplanmıştır. Öncelikle kanser hücreleri uygun *in vitro* laboratuvar ve besiyeri ortamında çoğaltılarak referans madde Doxorubicin ve 15 adet bileşiğin anti-proliferatif ve sitotoksik etkileri MTT analizi ile tespit edilmiştir. Çalışmada pozitif kontrol olarak kullanılan Doxorubicin, anti-proliferatif ve sitotoksik etkileri bilinen anti-neoplastik bir ajandır. Referans madde Doxorubicin her üç hücreye 5 farklı derişimde uygulanmıştır ve 24, 48 ve 72 saat sonra MTT analizi sonucu sitotoksik etkileri saptanmıştır. Doxorubicin, 0,1 µM

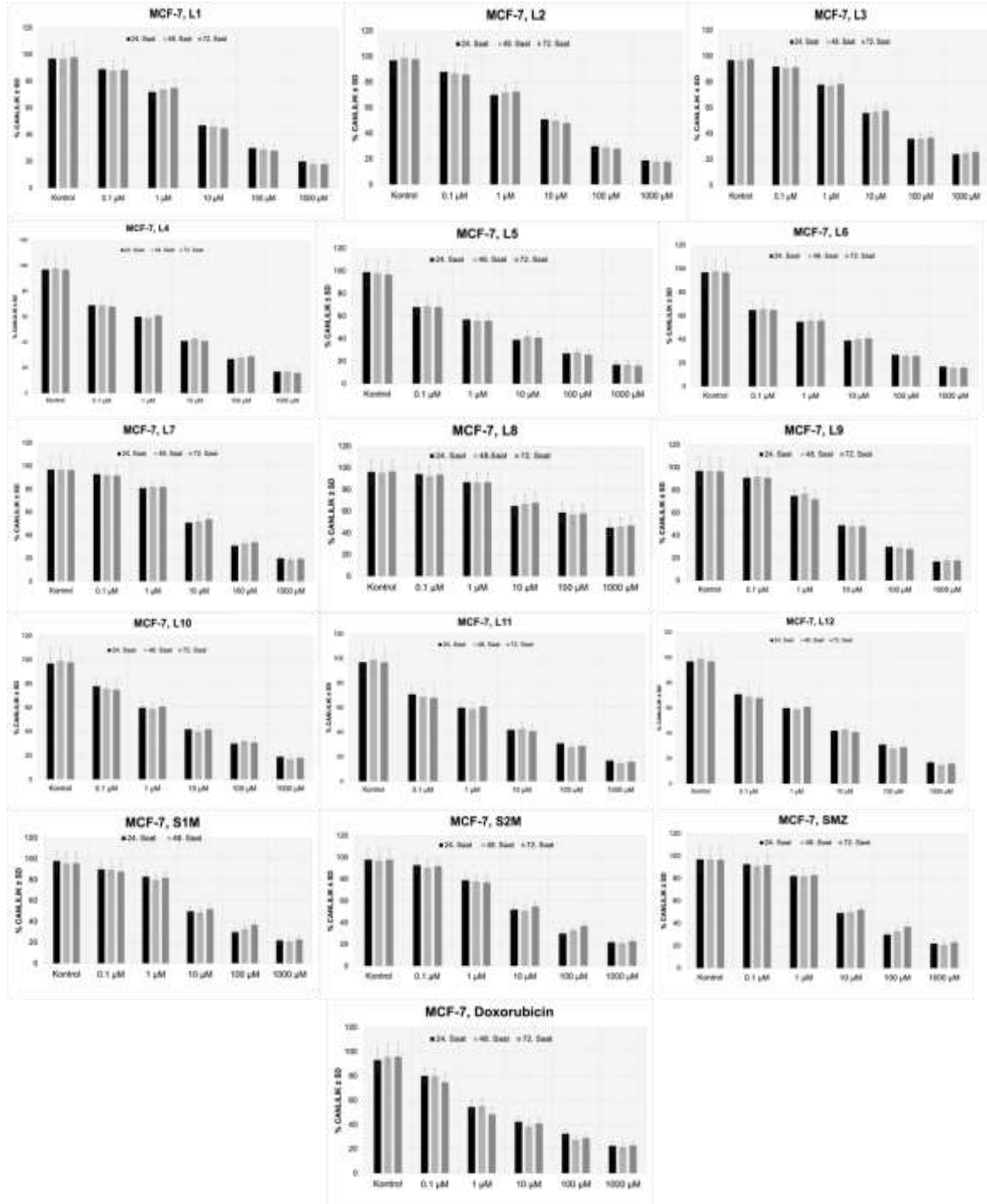
konsantrasyondan (**p<0,01) itibaren üç hücrede de sitotoksik etki göstermeye başladığı, bu etkinin 10 µM, 100 µM ve 1000 µM en yüksek seviye olduğu belirlenmiştir (***p<0,001). İnhibitörlerin 24., 48. ve 72. saatlerdeki sitotoksik etkileri karşılaştırıldığında bu üç zaman arasında bir fark görülmüştür. Doxorubicin ve inhibitörlerin IC₅₀ değerleri Çizelge 4.6’da verilmiştir. Çalışmada 15 adet bileşiğin kanser hücre hattına sitotoksik etki gösterdiği ve bu etkinin konsantrasyon artışı ile doğru orantılı olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.6. İnhibitörlerin antikanser aktivite sonuçları

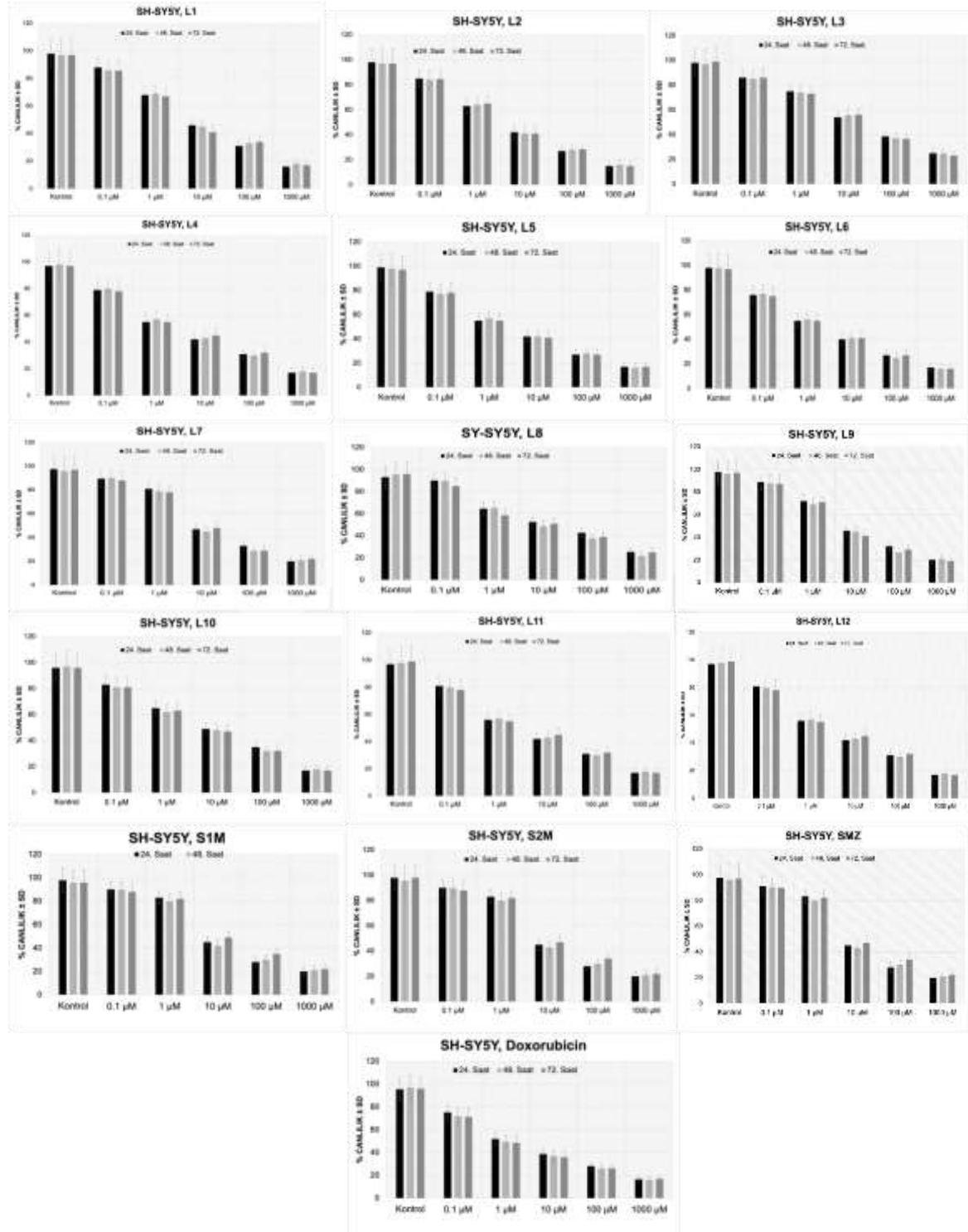
İnhibitörler	Antikanser Aktivite (IC ₅₀ , µM)								
	Caco-2			MCF-7			SH-SY5Y		
	24saat	48saat	72saat	24saat	48saat	72saat	24saat	48saat	72saat
L1	40	45	45	25	30	30	30	35	35
L2	45	45	45	30	35	35	30	30	35
L3	45	45	45	40	40	45	35	40	45
L4	35	35	35	30	30	30	30	30	35
L5	25	30	30	28	30	30	25	25	30
L6	27	30	36	25	28	30	30	30	30
L7	25	30	35	30	30	35	30	35	35
L8	35	38	40	45	48	50	30	35	35
L9	30	30	35	30	35	35	30	30	35
L10	40	45	45	35	30	40	30	30	30
L11	35	35	35	30	30	35	26	30	35
L12	30	30	30	25	25	30	28	28	30
Sülfametoksazol (S1M)	38	40	40	45	50	50	25	25	30
Sülfizoksazol (S2M)	45	45	45	40	45	45	25	30	30
Sulfametazin (SMZ)	50	55	55	35	35	35	30	30	35
Doxorubicin	12	15	15	17	20	22	15	20	20



Şekil 4.87. Sentezlenen inhibitörlerin kolon kanser (Caco-2) hücrelerinde hücre canlılığına etkisi



Şekil 4.88. Sentezlenen inhibitörlerin meme kanser (MCF-7) hücrelerinde hücre canlılığına etkisi

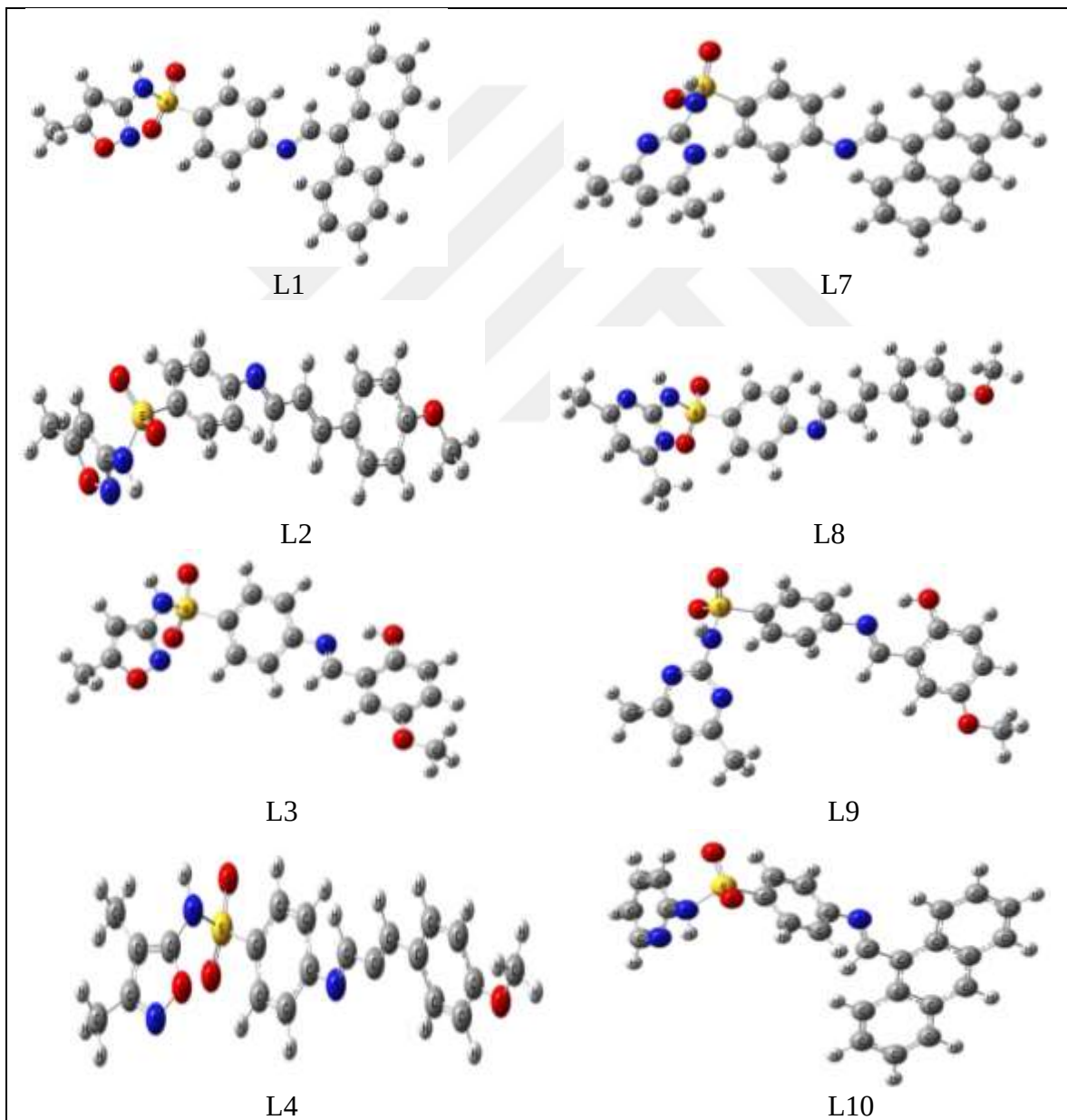


Şekil 4.89. Sentezlenen inhibitörlerin nöroblastoma kanser (SH-SY5Y) hücrelerinde hücre canlılığına etkisi

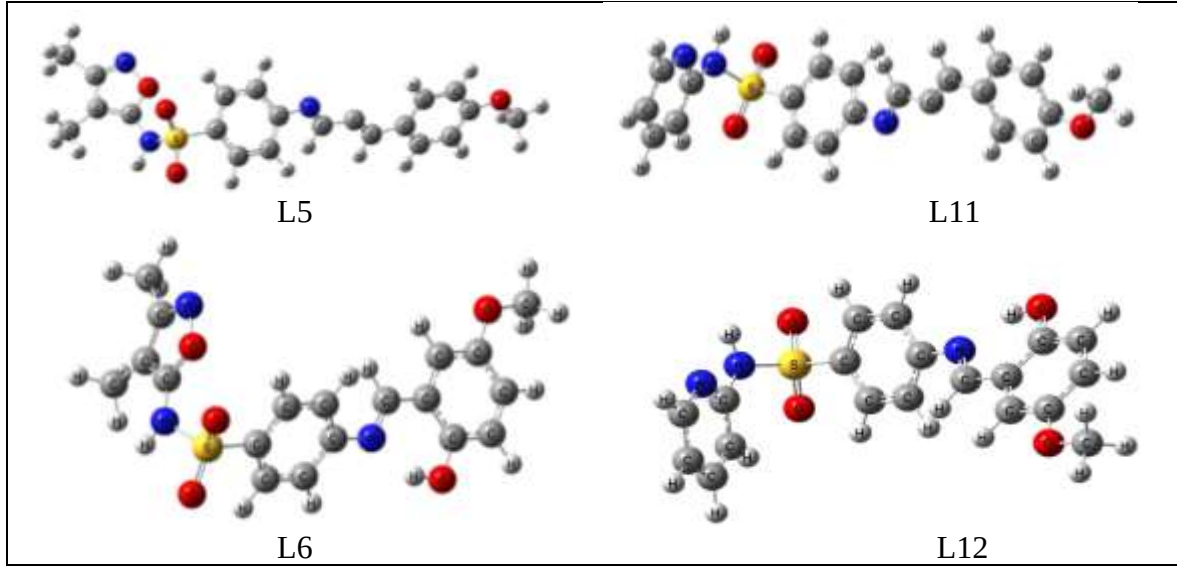
5. HESAPLAMALI YÖNTEMLER

5.1. İnhibitörlerin Geometri Optimizasyonları

Sentezlenen inhibitörlerin teorik hesaplamalarını DFT (Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi, 6-31+G(d,p) temel seti ile desteklenen B3LYP (Becke-3-Lee-Yang-Parr) fonksiyoneli kullanılarak en düşük enerjili ve kararlı yapıları elde edilmiştir. İnhibitörlerin optimize yapıları Şekil 5.1’de verilmiştir.



Şekil 5.1. İnhibitörlerin optimize edilmiş 3D yapıları



Şekil 5.1. (devam) İnhibitörlerin optimize edilmiş 3D yapıları

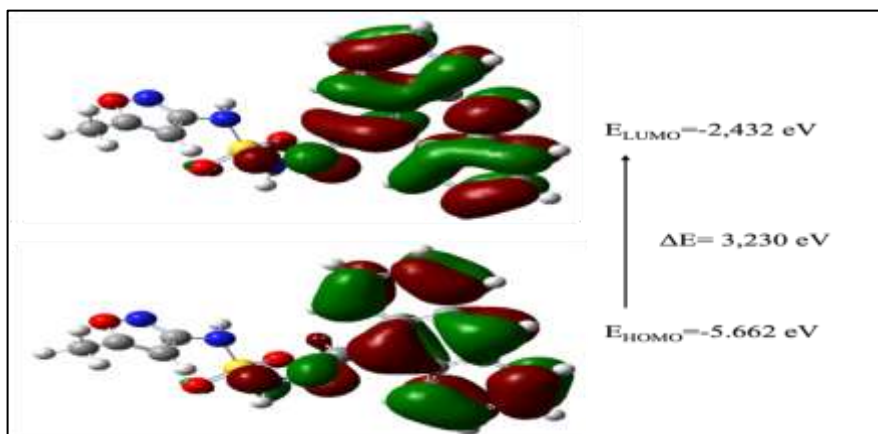
5.2. İnhibitörlerin Sınır Moleküler Orbitalleri (FMO'lar) ve Global Reaktivite Parametreleri

İnhibitörlerin elektronik özellikleri hakkında daha fazla bilgi edinebilmek için sınır molekül orbitalleri (FMO'lar:HOMO ve LUMO) ve MEP haritaları incelenmiştir. Hesaplamalar Gaussian 09 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Bir molekülün elektron verme yeteneği HOMO ile, elektron kabul etme yeteneği ise LUMO ile belirlenir. HOMO ve LUMO enerjileri arasındaki farkın ($\Delta E = E_{LUMO} - E_{HOMO}$) büyüklüğü molekülün kimyasal reaktivitesi hakkında bilgi edinmemizi sağlar. Sentezlenen inhibitörlerin HOMO ve LUMO enerjileri, band aralıkları (ΔE) ve global reaktivite parametreleri olan elektronegatiflik (χ), kimyasal potansiyel (μ), sertlik (η), yumuşaklık (S) ve elektrofilik indeks (ω) değerleri eV olarak Çizelge 9'da verilmiştir. HOMO, LUMO orbital şekilleri ve band aralıkları (ΔE) değerleri Şekil 5.2-5.13'de görülmektedir.

Çizelge 5.1. İnhibitörlerin B3LYP/6-31+G (d,p) yöntemiyle elde edilen sınır moleküler orbitallerinin enerjileri, band aralığı (ΔE) ve global reaktivlik parametreleri.

İnhibitör	LUMO (eV)	HOMO (eV)	$A = -E_L$ (eV)	$I = -E_H$ (eV)	$\Delta E = E_L - E_H$ (eV)	$\chi = (I+A)/2$ (eV)	$\mu = -\chi$ (eV)	$\eta = (I-A)/2$ (eV)	$S = 1/\eta$ (eV)	$\omega = \mu^2/2\eta$ (eV)
L1	-2,432	-5,662	2,431	5,661	3,23	4,046	-4,046	1,615	0,619	13,225
L2	-2,389	-6,065	2,389	6,065	3,676	4,227	-4,227	1,838	0,544	16,425
L3	-2,286	-5,789	2,286	5,789	3,502	4,037	-4,037	1,751	0,570	14,277
L4	-2,689	-5,761	2,689	5,761	3,072	4,225	-4,225	1,536	0,650	13,714
L5	-2,302	-6,002	2,302	6,002	3,700	4,152	-4,15	1,850	0,540	15,950
L6	-2,449	-5,898	2,449	5,898	3,448	4,173	-4,173	1,724	0,580	15,018
L7	-2,677	-5,744	2,677	5,744	3,066	4,211	-4,211	1,533	0,652	13,596
L8	-2,278	-5,969	2,278	5,969	3,691	4,124	-4,124	1,845	0,541	15,696
L9	-5,546	-7,987	5,546	7,987	2,441	6,766	-6,766	1,220	0,819	27,944
L10	-2,759	-5,829	2,759	5,829	3,070	4,294	-4,294	1,535	0,651	14,157
L11	-2,371	-6,039	2,371	6,039	3,668	4,205	-4,205	1,834	0,545	16,216
L12	-2,424	-5,894	2,424	5,894	3,470	4,159	-4,159	1,735	0,576	15,007

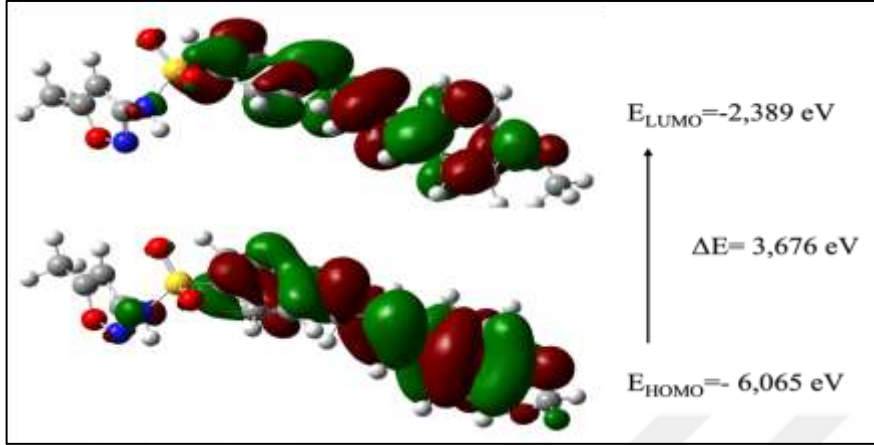
L1 inhibitörünün HOMO ve LUMO enerjileri sırasıyla -5,662 eV ve -2,432 eV'dur. HOMO'dan LUMO'ya elektronik geçişte band aralığı (ΔE) 3,230 eV olarak hesaplanmıştır ve bu enerji aralığı λ_{maks} 'a karşı gelen enerji seviyesidir. L1 inhibitöründe HOMO ve LUMO orbitalleri ağırlıklı olarak molekülün sülfonamit ve metil bağlı izoksazol halkası dışındaki bölgelerde lokalizedir (Şekil 5.2).



Şekil 5.2. L1 inhibitörünün HOMO, LUMO orbital şekilleri ve (ΔE) değeri

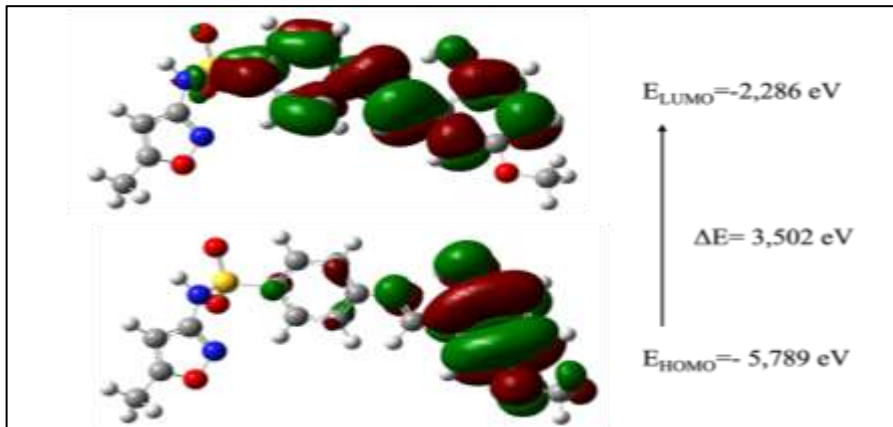
L2 inhibitörünün HOMO ve LUMO enerjileri sırasıyla -6,065 eV ve -2,389 eV'dur. HOMO'dan LUMO'ya elektronik geçişte band aralığı (ΔE) ise 3,676 eV olarak hesaplanmıştır ve bu enerji aralığı λ_{maks} 'a karşı gelen enerji seviyesidir. L2 inhibitöründe

HOMO ve LUMO orbitalleri ağırlıklı olarak molekülün sülfonamit ve metil bağlı izoksazol halkası dışındaki bölgelerde lokalizedir (Şekil 5.3).



Şekil 5.3. L2 inhibitörünün HOMO, LUMO orbital şekilleri ve (ΔE) değeri

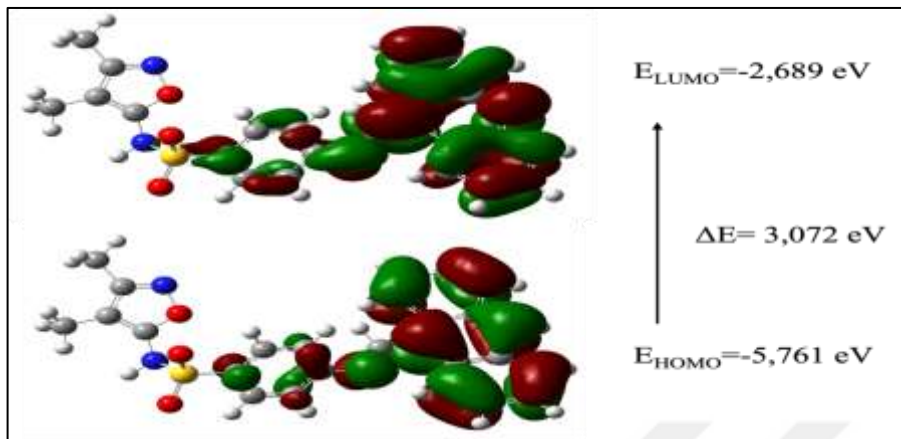
L3 inhibitörünün HOMO ve LUMO enerjileri sırasıyla -5,789 eV ve -2,286 eV'dur. HOMO'dan LUMO'ya elektronik geçişte band aralığı (ΔE) ise 3,502 eV olarak hesaplanmıştır ve bu enerji aralığı λ_{maks} 'a karşı gelen enerji seviyesidir. L3 inhibitöründe HOMO orbitali ağırlıklı olarak molekülün 2-hidroksi-5-metoksi-benzaldehit grubu ve imin azotu üzerinde lokalizedir. LUMO orbitali ise ağırlıklı olarak molekülün sülfonamit ve metil bağlı izoksazol halkası dışındaki bölgelerde lokalizedir (Şekil 5.4).



Şekil 5.4. L3 inhibitörünün HOMO, LUMO orbital şekilleri ve (ΔE) değeri

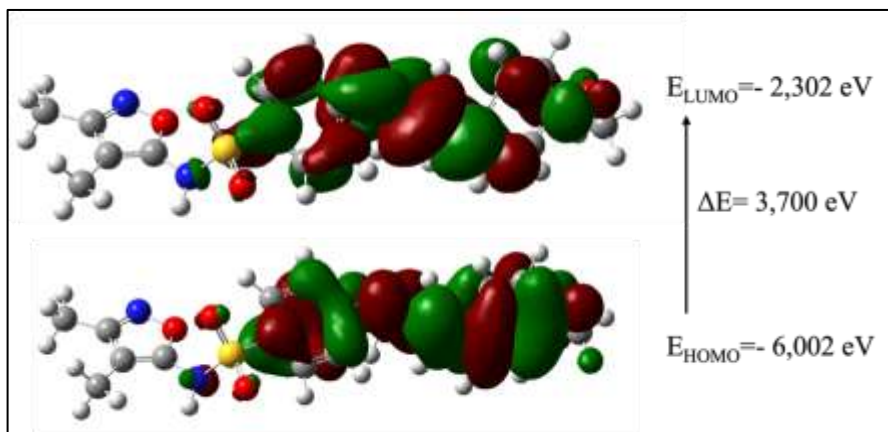
L4 inhibitörünün HOMO ve LUMO enerjileri sırasıyla -5,761eV ve -2,689 eV'dur. HOMO'dan LUMO'ya elektronik geçişte band aralığı (ΔE) ise 3,072 eV olarak hesaplanmıştır ve bu enerji aralığı (ΔE), λ_{maks} 'a karşı gelen enerji seviyesidir. L4

inhibitöründe LUMO ve HOMO ağırlıklı olarak molekülün sülfonamid ve metil bağlı izoksazol halkası dışındaki bölgelerde lokalizedir (Şekil 5.5).



Şekil 5.5. L4 inhibitörünün HOMO, LUMO orbital şekilleri ve (ΔE) değeri

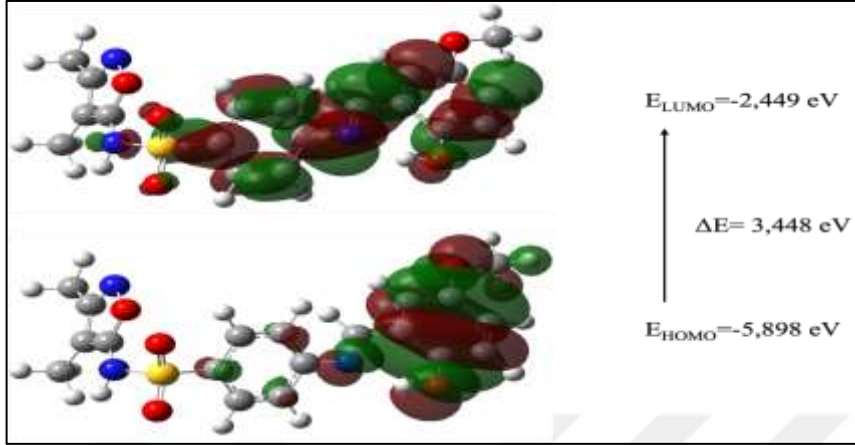
L5 inhibitörünün HOMO ve LUMO enerjileri sırasıyla $-6,002 \text{ eV}$ ve $-2,302 \text{ eV}$ 'dur. HOMO'dan LUMO'ya elektronik geçişte band aralığı (ΔE) ise $3,700 \text{ eV}$ olarak hesaplanmıştır ve bu enerji aralığı λ_{maks} 'a karşı gelen enerji seviyesidir. L5 inhibitöründe LUMO ve HOMO ağırlıklı olarak molekülün sülfonamid ve metil bağlı izoksazol halkası dışında ki bölgelerde lokalizedir (Şekil 5.6).



Şekil 5.6. L5 inhibitörünün HOMO, LUMO orbital şekilleri ve (ΔE) değeri

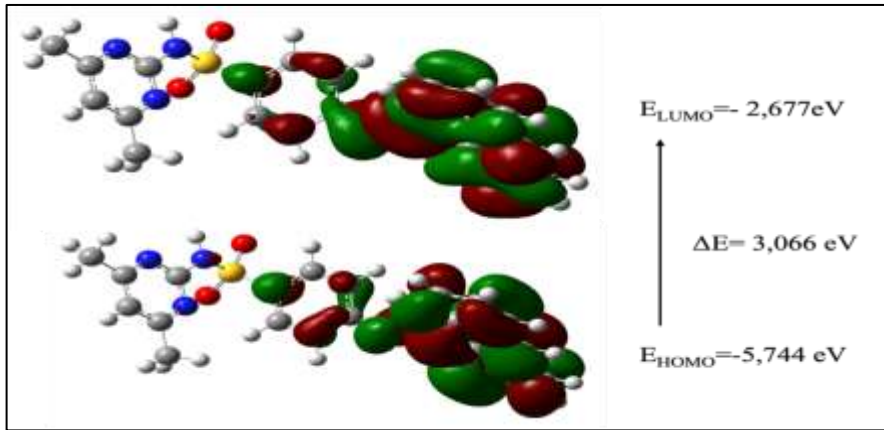
L6 inhibitörünün HOMO ve LUMO enerjileri sırasıyla $-5,898 \text{ eV}$ ve $-2,449 \text{ eV}$ 'dur. HOMO'dan LUMO'ya elektronik geçişte band aralığı (ΔE) ise $3,448 \text{ eV}$ olarak hesaplanmıştır ve bu enerji aralığı λ_{maks} 'a karşı gelen enerji seviyesidir. L6 inhibitöründe HOMO orbitali ağırlıklı olarak molekülün 2-hidroksi-5-metoksibenzaldimin grubu üzerinde

lokalizedir. LUMO orbitali ise sülfonamit ve metil bağlı izoksazol grubu dışındaki bölgelerde lokalizedir (Şekil 5.7).



Şekil 5.7. L6 inhibitörünün HOMO, LUMO orbital şekilleri ve (ΔE) değeri

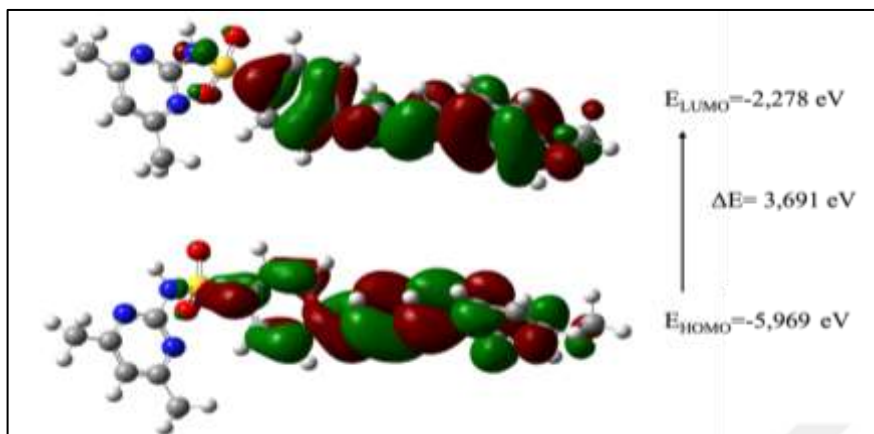
L7 inhibitörünün HOMO ve LUMO enerjileri sırasıyla -5,744 eV ve -2,677 eV'dur. HOMO'dan LUMO'ya elektronik geçişte band aralığı (ΔE) 3,066 eV olarak hesaplanmıştır ve bu enerji aralığı λ_{maks} 'a karşı gelen enerji seviyesidir. L7 inhibitöründe HOMO ve LUMO orbitalleri ağırlıklı olarak molekülün antrasen halkası ve imin grubu üzerinde, ayrıca benzen halka üzerinde kısmen lokalizedir (Şekil 5.8).



Şekil 5.8. L7 inhibitörünün HOMO, LUMO orbital şekilleri ve (ΔE) değeri

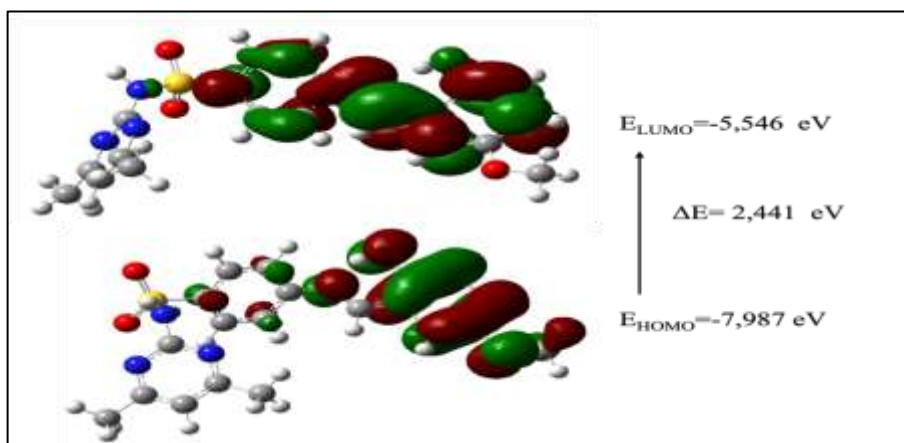
L8 inhibitörünün HOMO ve LUMO enerjileri sırasıyla -5,969 eV ve -2,278 eV'dur. HOMO'dan LUMO'ya elektronik geçişte band aralığı (ΔE) 3,691 eV olarak hesaplanmıştır ve bu enerji aralığı λ_{maks} 'a karşı gelen enerji seviyesidir. L8 inhibitöründe HOMO ve LUMO

orbitaleri ağırlıklı olarak molekülün sülfonamit ve metil bağlı pirimidin halkası dışındaki bölgelerde lokalizedir (Şekil 5.9).



Şekil 5.9. L8 inhibitörünün HOMO, LUMO orbital şekilleri ve (ΔE) değeri

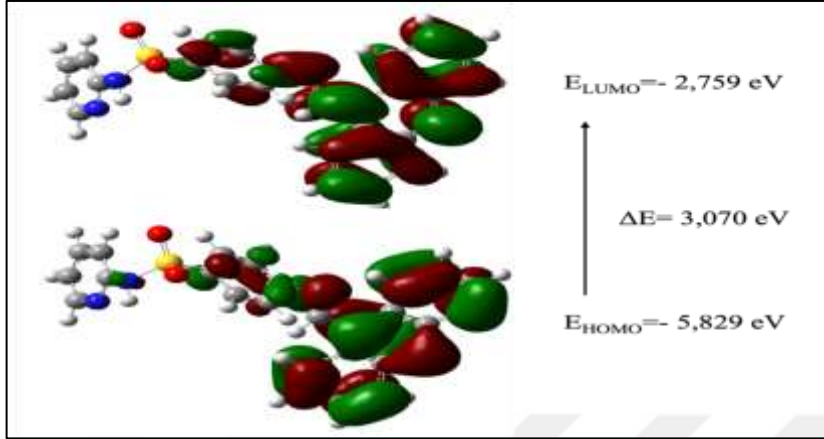
L9 inhibitörünün HOMO ve LUMO enerjileri sırasıyla -7.987 eV ve -5.546 eV 'dur. HOMO'dan LUMO'ya elektronik geçişte band aralığı (ΔE) 2.441 eV olarak hesaplanmıştır ve bu enerji aralığı λ_{maks} 'a karşı gelen enerji seviyesidir. L9 inhibitöründe HOMO orbitali ağırlıklı olarak 2-hidroksi-5-metoksibenzaldehit halkası ve imin azotu üzerinde lokalizedir. LUMO orbitali ise ağırlıklı olarak sülfonamit ve metil bağlı pirimidin halkası dışındaki bölgelerde lokalizedir (Şekil 5.10).



Şekil 5.10. L9 inhibitörünün HOMO, LUMO orbital şekilleri ve (ΔE) değeri

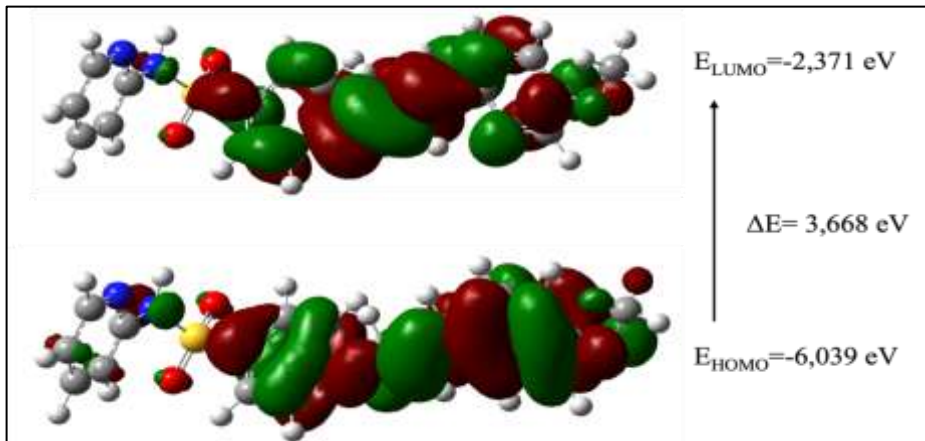
L10 inhibitörünün HOMO ve LUMO enerjileri sırasıyla -5.829 eV ve -2.759 eV 'dur. HOMO'dan LUMO'ya elektronik geçişte band aralığı (ΔE) ise 3.070 eV olarak hesaplanmıştır ve bu enerji aralığı λ_{maks} 'a karşı gelen enerji seviyesidir. L10 inhibitöründe

LUMO ve HOMO orbitalleri ağırlıklı olarak molekülün sülfonamit ve piridin halkası dışındaki bölgelerde lokalizedir (Şekil 5.11).



Şekil 5.11. L10 inhibitörünün HOMO, LUMO orbital şekilleri ve (ΔE) değeri

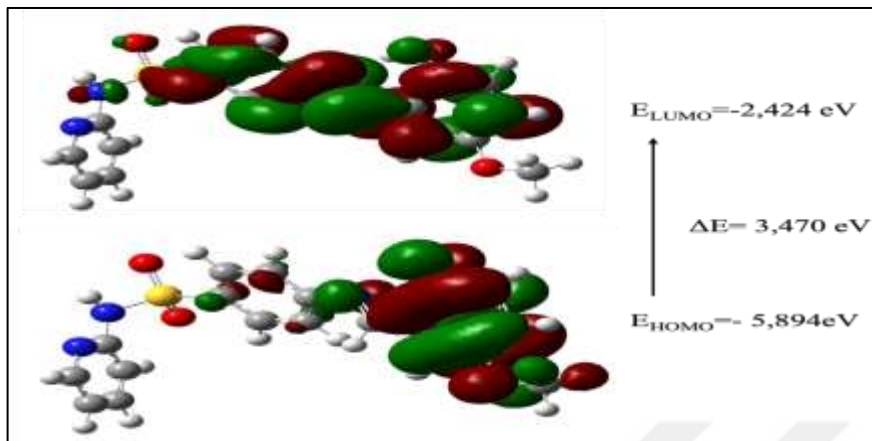
L11 inhibitörünün HOMO ve LUMO enerjileri sırasıyla $-6,039 \text{ eV}$ ve $-2,371 \text{ eV}$ 'dur. HOMO'dan LUMO'ya elektronik geçişte band aralığı (ΔE) ise $3,668 \text{ eV}$ olarak hesaplanmıştır ve bu enerji aralığı λ_{maks} 'a karşılık gelen enerji seviyesidir. L11 inhibitöründe LUMO ve HOMO ağırlıklı olarak molekülün sülfonamid ve piridin halkası dışında lokalizedir (Şekil 5.12).



Şekil 5.12. L11 inhibitörünün HOMO, LUMO orbital şekilleri ve (ΔE) değeri

L12 inhibitörünün HOMO ve LUMO enerjileri sırasıyla $-5,894 \text{ eV}$ ve $-2,424 \text{ eV}$ 'dur. HOMO'dan LUMO'ya elektronik geçişte band aralığı (ΔE) ise $3,470 \text{ eV}$ olarak hesaplanmıştır ve bu enerji aralığı λ_{maks} 'a karşı gelen enerji seviyesidir. L12 inhibitöründe HOMO orbitali ağırlıklı olarak molekülün 2-hidroksi-5-metoksibenzaldimin grubu üzerinde

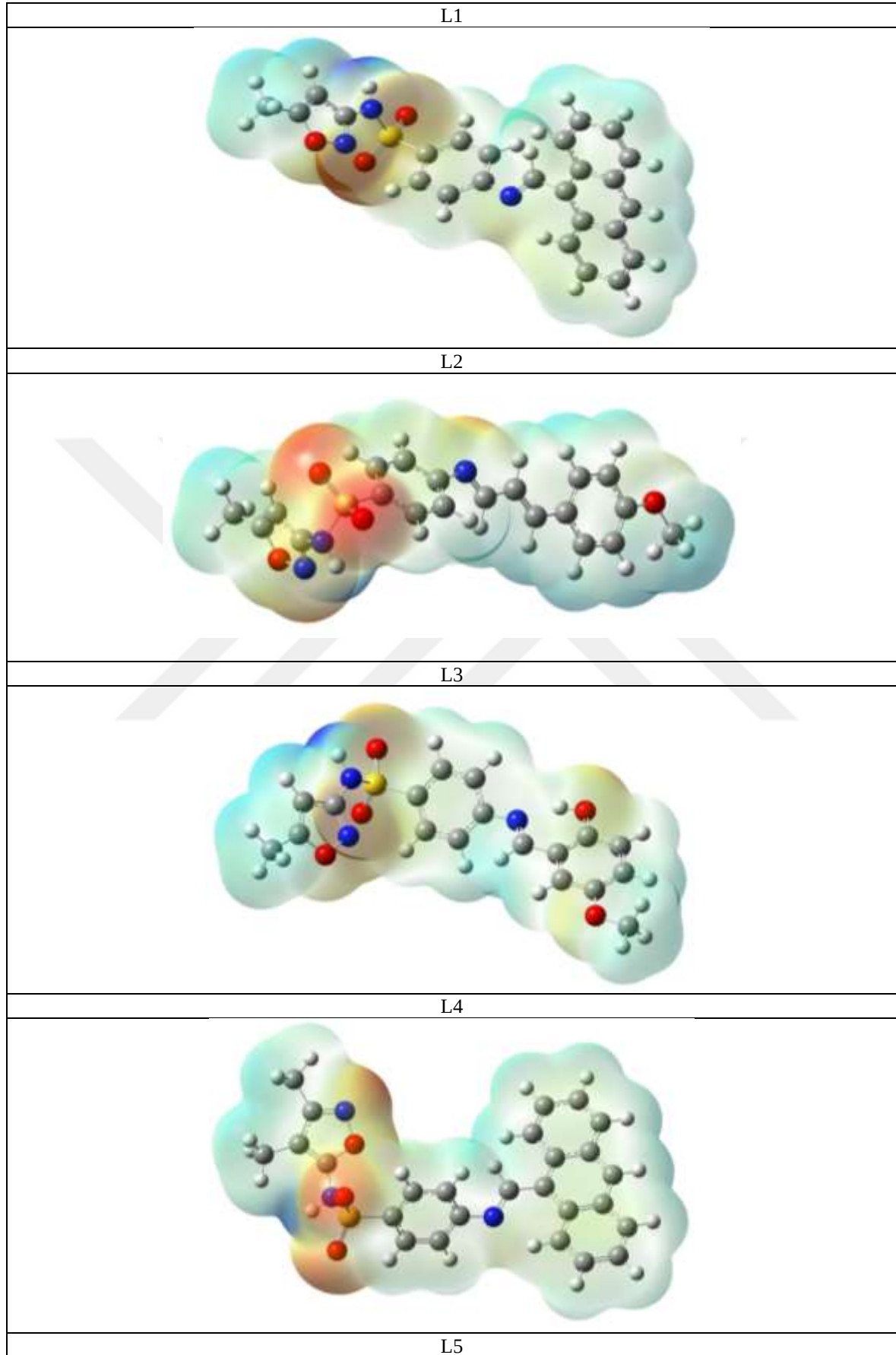
lokalizedir. LUMO orbitali ise ağırlıklı olarak sülfonamit ve piridin halkası dışındaki bölgelerde lokalizedir (Şekil 5.13).



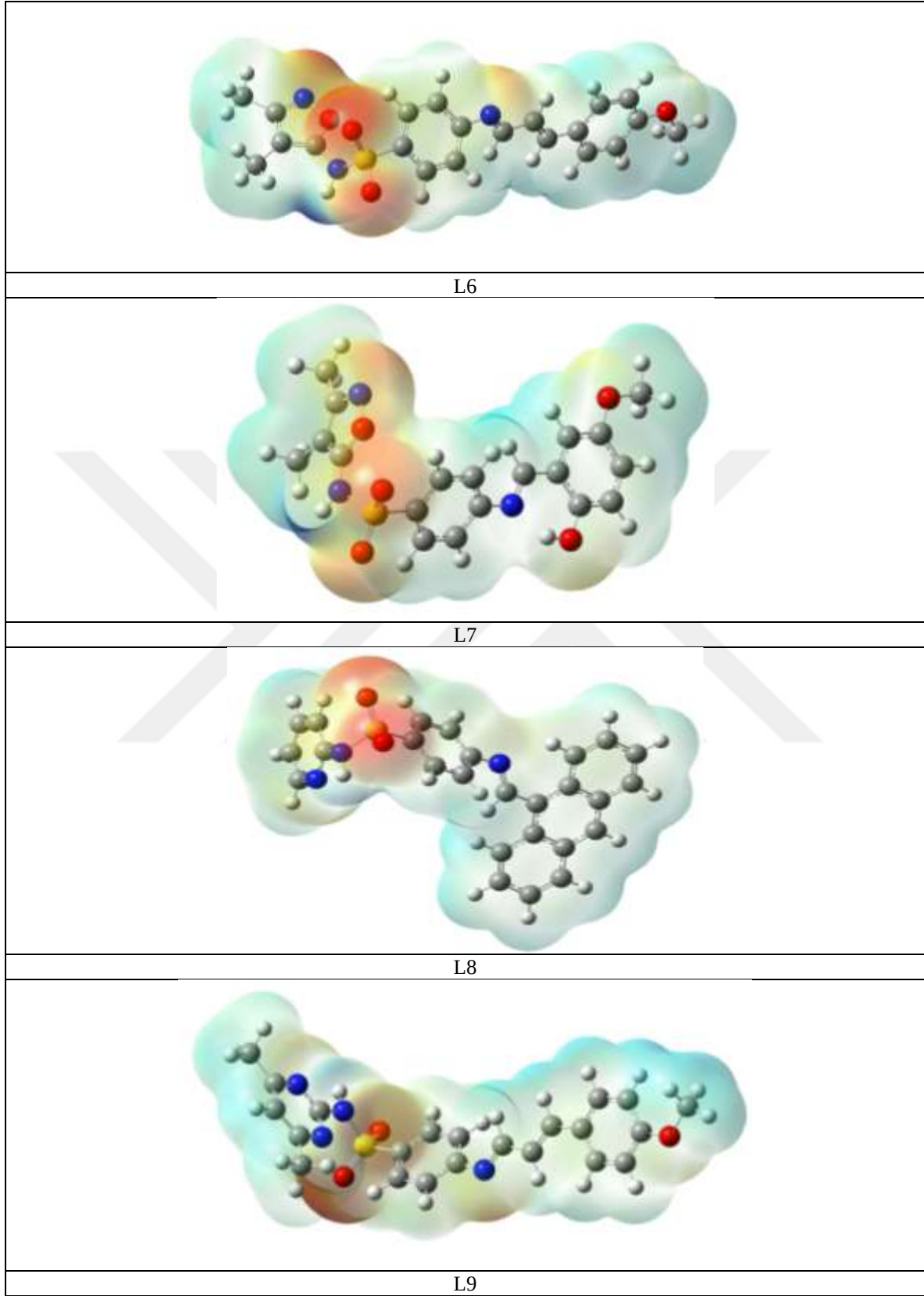
Şekil 5.13. L12 inhibitörünün HOMO, LUMO orbital şekilleri ve (ΔE) değeri

5.3. Moleküler Elektrostatik Potansiyel (MEP)Yüzey Haritası

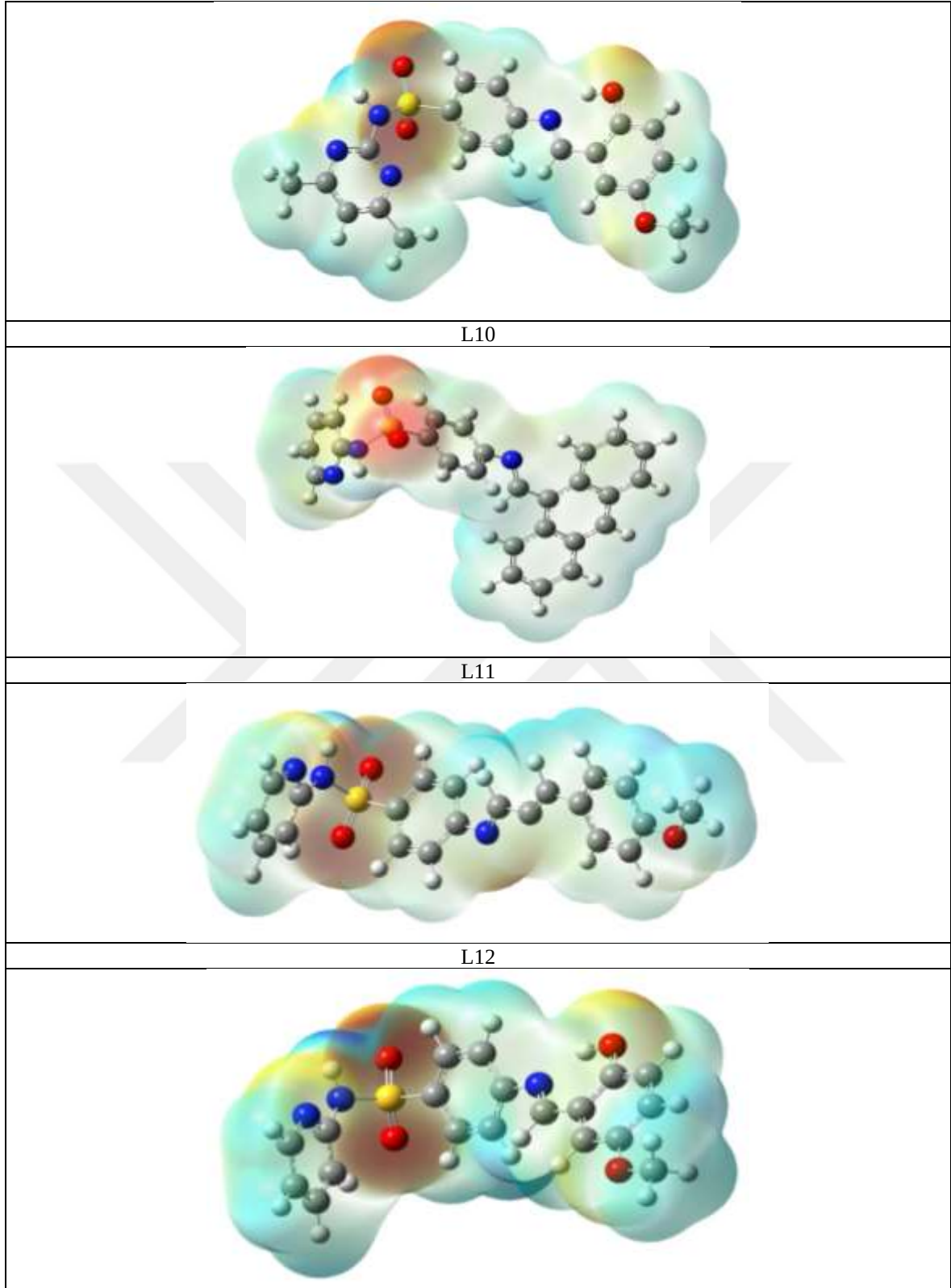
Moleküler Elektrostatik Potansiyel (MEP) haritaları inhibitörlerin elektrofilik ve nükleofilik atak bölgelerini belirleyerek kimyasal reaktivitelerini göreceli olarak tahmin etmemizi sağlamaktadır. MEP haritalarında elektrofilik bölgeler kırmızı renk, nükleofilik bölgeler ise mavi renk ile gösterilir. Sentezlediğimiz inhibitörlerin MEP haritaları kullandığımız B3LYP temel seti ile elde edilmiştir ve Şekil 5.14’de verilmiştir. İnhibitörlerin MEP analizi, negatif potansiyelleri gösteren kırmızı renk ve tonlarının genellikle sülfonamit ($\text{SO}_2\text{-NH}$) grubu üzerinde yoğunlaştığını bunun yanı sıra izoksazol, piridin, pirimidin ve benzen halkasına bağlı gruplardaki oksijen ve azot atomları üzerinde de elektrofilik atak bölgelerinin kısmen bulunduğunu göstermiştir.



Şekil 5.14. İnhibitörlerin optimize edilmiş 3D yapıları



Şekil 5.14. (devam) İnhibitörlerin optimize edilmiş 3D yapıları



Şekil 5.14. (devam) İnhibitörlerin optimize edilmiş 3D yapıları

5.4. İnhibitörlerin Moleküler Kenetlenme (Docking) Sonuçları

Bu çalışmada 12 farklı inhibitör için hem asetilkolinesteraz (AChE) hem de butirilkolenesteraz (BChE) enzimleri için moleküler kenetlenme (docking) çalışması gerçekleştirilmiştir. Hem sentezlenen moleküller hem de seçilen enzimler moleküler kenetlenme çalışması öncesi bir hazırlık aşamasından geçmiştir. Sentezlenen 12 adet inhibitörün Chem Draw programı ile 2D yapıları çizilmiş ve Avagadro 1.2 programı ile MMFF9 kuvvet alanı seçilerek optimize edilmiştir (Yorulmaz, Öztürk ve Durgun, 2022). Moleküllerin optimize edilmiş yapıları pdb formatında kaydedilmiştir. Uluslararası bir enzim veri kütüphanesi olan PDB veri bankasından AChE enzimi için çözünürlüğü 2,35 Å olan 4EY7, BChE için çözünürlüğü 2,10 Å olan 4BDS kodlu enzim yapıları pdb formatında elde edilmiştir (Ali ve diğerleri, 2017). Enzim yapılarından tüm su molekülleri ve heteroatomlar çıkarılarak kenetlenme çalışmasına uygun saf enzim yapısı elde edilmiştir. Her iki enzimde A ve B olarak tanımlanan polipeptit zincir yapılarından A polipeptiti seçilerek kenetlenme olayı incelenmiştir. Kenetlenme (docking) çalışması sırasında enzim yapısına sadece proton ve Kolmann yükleri eklenmiştir. Enzimlerimizin aktif bölgeleri ise baz alınarak tespit edilmiştir (Larik ve diğerleri, 2018, Ali ve diğerleri, 2017). Buna göre seçilen grid parametreleri aşağıdaki tabloda verilmiştir. Geniş bir hacmi içine alan bu grid parametrelerine karşılık; yapılan kenetlenme (docking) çalışmasında tüm moleküllerimiz enzimin aktif bölgesinde en iyi bağlanma konformasyonunu gerçekleştirmiştir (Larik ve diğerleri, 2018).

Çizelge 5.2. Grid Parametreleri

Enzim ID	Enzim Zinciri	Grid boyutları	Birim uzunluk (Å)	Grid merkezinin koordinatları
4EY7	A zincir	70 70 70	0,375	-10,53 -40,109 25,62
4BDS	A zincir	80 80 80	0,375	137,395 119,188 42,906

Gerçekleştirilen moleküler kenetlenme (docking) simülasyonlarının sonuçlarının kıyaslanması için referans molekül olarak Donepezil ilaç etken maddesi seçilmiştir (Larik ve diğerleri, 2018). Hazırlık aşaması tamamlanan referans molekül aynı aktif bölgeye aynı şartlar ile kenetlenme (docking) simülasyonları gerçekleştirilerek sonuçları elde edilmiştir. 12 adet inhibitörün ve referans molekülün her iki enzim için elde edilen en iyi bağlanma şekline karşılık elde edilen sonuçlar aşağıdaki tablolarda verilmiştir. Genel olarak tüm moleküler kenetlenme (docking) sonuçlarımızın bağlanma enerji sonuçları standart ilaç için kabul gören -7 kcal/mol değerinden daha büyüktür (Yorulmaz, Öztürk ve Durgun, 2022).

Çizelge 5.1’de verilen AChE enzimi için 12 adet inhibitör ve referans molekülün en iyi bağlanma şekillerine karşılık gelen kenetlenme (docking) sonuçları incelendiğinde; tüm moleküller için bağlanma enerji sonuçlarının yüksek olduğu görülmektedir. Antrasen halkası içeren inhibitörler daha yüksek bağlanma enerjisine sahip olmakla birlikte, özellikle L10 kodlu inhibitörü hem bağlanma enerjisi en yüksek hem de fenilalanin (Phe 295) aminoasidi ile yaptığı hidrojen bağı donepezil referans molekülü ile benzerlik göstermiş olup en iyi kenetlenme sonucuna sahip olduğu söylenebilir. 2D ligant-enzim etkileşmelerine bakıldığında da L10 inhibitörünün, referans molekül olan Donepezil ile benzer etkileşimler yaptığı görülmektedir. Benzer şekilde çizelge 5.2’de verilen BChE enzimi ile etkileşen 12 adet inhibitörün ve referans molekül Donepezil’in kenetlenme (docking) sonuçlarına bakıldığında yine antrasen halkası içeren inhibitörlerin diğerlerine göre daha iyi bir bağlanma enerjisine sahip olduğu görülmektedir. Her ne kadar L1, L4, L7 kodlu inhibitörler en yüksek bağlanma enerjisine sahip olsalarda, referans molekül Donepezil ile kıyaslama yapıldığında en iyi kenetlenmenin L10 kodlu inhibitöre ait olduğunu söyleyebiliriz. Her ne kadar bir moleküler kenetlenme (docking) çalışmasında ilk aranacak olan bağlanma enerjisinin yüksek oluşu olsa da, hidrojen bağı oluşumu ve sayısı ligant-enzim kompleksinin kararlılığını doğrudan etkilemektedir.

Çizelge 5.3. İnhibitörlerin AChE (4ey7) proteini ile kenetlenme (docking) çalışmaları sonucu

İnhibitör	Bağlanma Enerjisi (kcal/mol)	İnhibisyon sabiti, K_i (nM)	Hidrojen Bağları	Hidrojen Bağ uzunluğu (Å)
L1	-13,17	0,227	GLY122:N – O SER203:OG – O	2,94 2,46
L2	-11,80	2,24	GLY122:N – O SER203:OG – O	3,12 2,63
L3	-11,29	5,30	SER293:OG – O PHE295:N – N PHE295:N – O	3,38 2,89 3,09
L4	-13,35	0,164	GLY121:N – N	2,77
L5	-11,12	7,06	SER293:N – O	3,17
L6	-11,98	1,65	TYR341:OH – N H - TYR124:OH PHE295:N – O SER293:OG – N	2,98 2,07 2,75 3,39
L7	-13,13	0,236	-	-
L8	-11,84	2,09	-	-
L9	-11,04	8,02	SER203:OG – O GLY121:N – O H - TYR124:OH ARG296:N – O	2,72 3,18 2,31 3,15
L10	-13,54	0,119	PHE295:N – N TYR124:OH – O	2,87 3,10
L11	-10,82	11,73	-	-
L12	-10,33	26,93	PHE295:N – N PHE295:N – O ARG296:N – O	3,37 3,08 2,72
Donepezil	-11,43	4,15	PHE295:N – O	2,89

Çizelge 5.4. İnhibitörlerin BChE (4bds) proteini ile kenetlenme (docking) çalışmaları sonucu

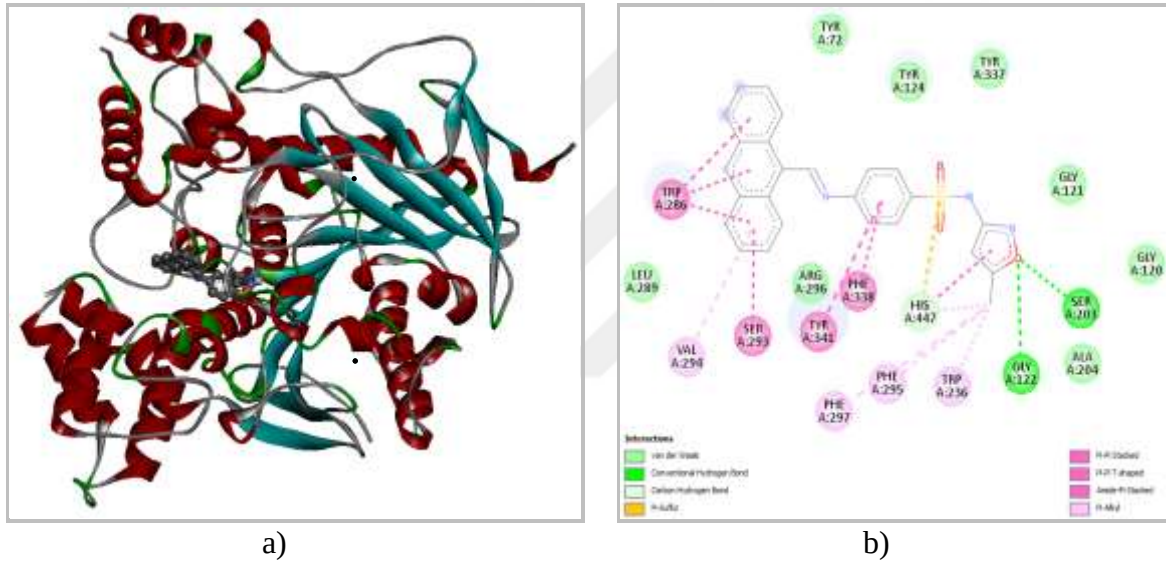
İnhibitör	Bağlanma Enerjisi (kcal/mol)	İnhibisyon sabiti, K_i (nM)	Hidrojen Bağları	Hidrojen Bağ uzunluğu (Å)
L1	-11,07	7,64	H – HIS438:O TRP82:NE1 – O	2,15 3,01
L2	-9,04	234,67	H – HIS438:O TYR440:OH – O TRP82:NE1 – O	2,08 2,95 2,78
L3	-9,02	246,53	H – HIS438:O TRP82:NE1 – O TYR440:OH – O TRP430:NE1 – O	2,10 2,83 2,92 3,15
L4	-11,11	7,19	-	-
L5	-9,34	141,92	TRP82:NE1 – O TYR440:OH – O TRP430:NE1 – O	2,85 2,94 3,34
L6	-9,73	73,81	TRP82:NE1 – O TYR440:OH – O TRP430:NE1 – O H – GLY78:O TYR128:OH – O H – GLU197:OE1	2,85 2,81 3,00 2,76 2,85 2,12
L7	-11,25	5,71	-	-
L8	-9,56	98,11	TRP82:NE1 – O TYR440:OH – O H – HIS438:O	2,79 3,12 2,10
L9	-9,43	123,03	H – SER198:OG:B SER198:OG:B – N H – SER287:O	2,22 2,63 2,16
L10	-10,36	25,42	TRP82:NE1 – O TYR440:OH – O TRP430:NE1 – O H – GLY78:O	2,95 2,68 3,07 2,34
L11	-9,63	87,01	TRP82:NE1 – O TYR440:OH – O TRP430:NE1 – O	2,78 3,01 3,14
L12	-9,54	100,84	TRP82:NE1 – O TYR440:OH – O TRP430:NE1 – O H – GLY78:O SER198:OG – O	2,73 2,56 3,11 2,25 2,71
Donepezil	-9,30	152,35	SER198:OG – O	2,91

5.4.1. İnhibitörlerin AChE enzimi üzerinde moleküler kenetlenme (docking) sonuçları

L1 inhibitörünün kenetlenme (docking) sonuçları;

L1 inhibitörünün AChE enzimi ile arasında gerçekleşen moleküler kenetlenme (docking) sonuçlarına göre inhibitör ve inhibitörün enzimle etkileştiği bölgedeki amino asitler arasında başlıca hidrojen bağı, Van der Waals etkileşimi, π - π etkileşimi, π -Kükürd etkileşimi ve π -

amit bağı ve π -alkil etkileşimleri olabilir. L1 inhibitörü ile asetilkolinesteraz enziminin etkileşimi incelendiğinde Ser203 ile Gly122 L1 inhibitörünün halkadaki oksijen atomu arasında hidrojen bağı gerçekleşir. Trp286 ile inhibitörün halka yapıları arasında üç tane π - π etkileşimi meydana gelir. Aynı şekilde Phe295, Phe297, Trp 236 ve His447'nin aromatik halkasındaki π bağları ile halkadaki alkil grubu arasında π -alkil etkileşimleri oluşur. Yine Phe338 , Tyr341 ve His447 pozisyonundaki amino asitler ile halkadaki π elektronları arasında π - π etkileşimi gerçekleşir. His447 ile kükürd atomu arasında ise π -kükürd etkileşimi söz konusudur. Ayrıca Val 294 teki yan alkil grubu ile inhibitörün yapısındaki aromatik halka arasında π -alkil etkileşimi meydana gelir.

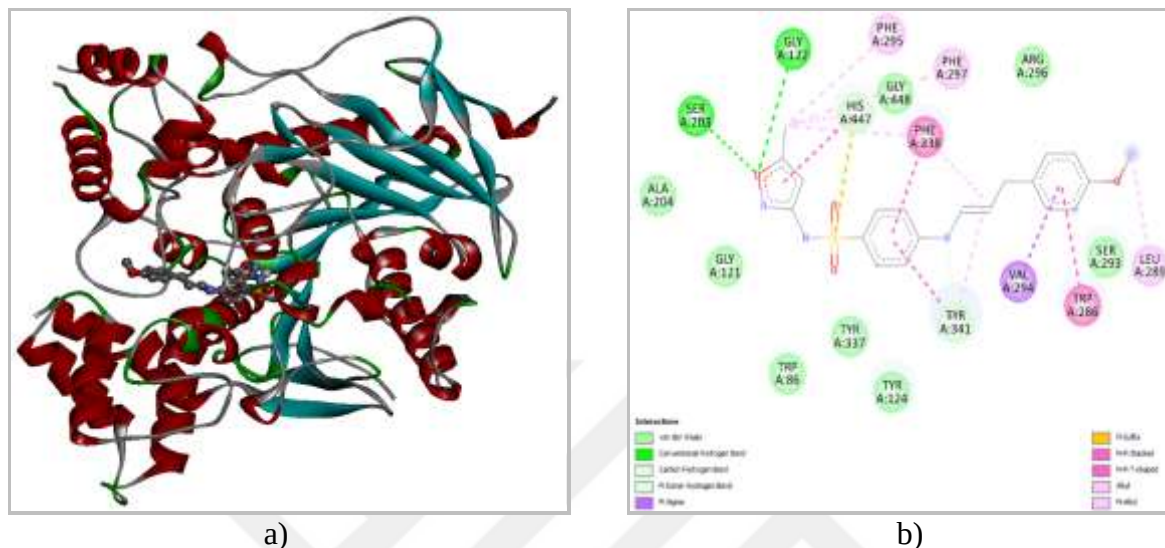


Şekil 5.15. L1 inhibitörünün AChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi

L2 inhibitörünün kenetlenme (docking) sonuçları;

L2 inhibitörünün AChE enzimi ile arasında gerçekleşen moleküler kenetlenme (docking) sonuçlarına göre inhibitör ve inhibitörün enzimle etkileştiği bölgedeki amino asitler arasında başlıca hidrojen bağı, Van der Waals etkileşimi, π - π etkileşimi, π -Kükürd etkileşimi ve π -amit bağı ve π -alkil etkileşimi, π -sigma etkileşimleri olabilir. L2 inhibitörü ile asetilkolinesteraz enziminin etkileşimi incelendiğinde Ser203 ile Gly122 L2 inhibitörünün halkadaki oksijen atomu arasında hidrojen bağı gerçekleşir. Phe295, Phe297, Phe338 ve His447'nin aromatik halkasındaki π bağları ile inhibitörün halkadaki alkil grubu arasında π -alkil etkileşimleri olur. Yine Phe338 , Tyr341, His447 ve Trp286 pozisyonundaki amino asitlerin halkasındaki π bağları ile inhibitörün halkadaki π elektronları arasında π - π

etkileşimi gerçekleşir. Ayrıca His447 ile kükürd atomu arasında ise π -kükürd etkileşimi söz konusudur. Yine inhibitörün aromatik halkası ile Val294 arasında π -sigma etkileşimi meydana gelir.

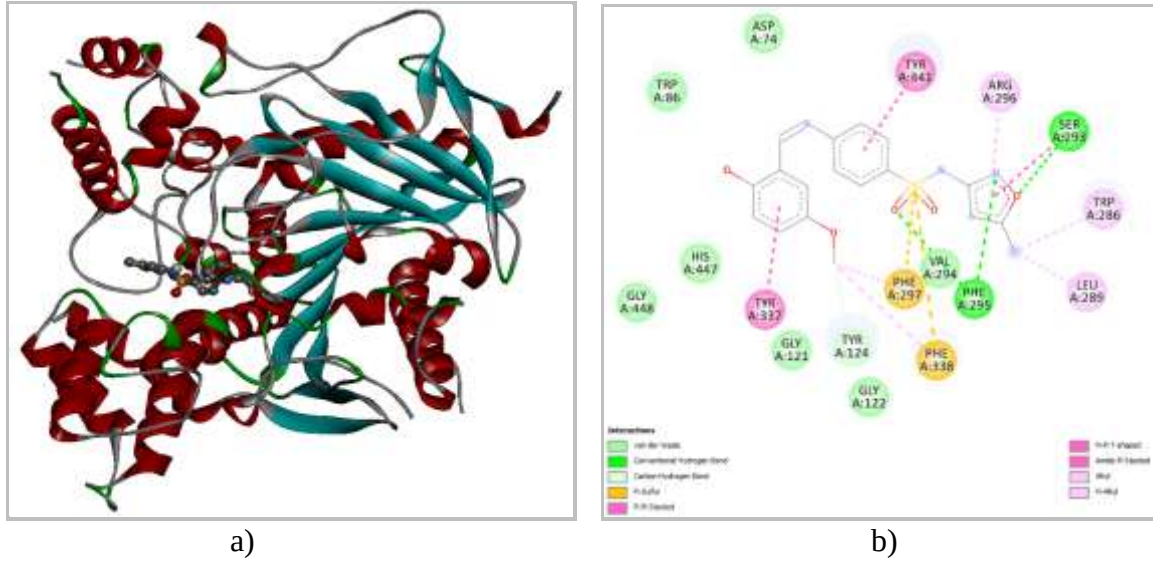


Şekil 5.16. L2 inhibitörünün AChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi

L3 inhibitörünün kenetlenme (docking) sonuçları;

L3 inhibitörünün AChE enzimi ile arasında gerçekleşen moleküler kenetlenme (docking) sonuçlarına göre inhibitör ve inhibitörün enzimle etkileştiği bölgedeki amino asitler arasında başlıca hidrojen bağı, Van der Waals etkileşimi, π -etkileşimi, π -Kükürd etkileşimi ve π -amit bağı ve π -alkil etkileşimleri olabilir. Trp286 'nın aromatik halkadaki π bağlarının elektronları ile inhibitörün halka yapısındaki alkil grubu arasında π -alkil etkileşimi meydana gelir. Yine Val 294 ile kükürte bağlı oksijen atomu arasında hidrojen bağı mevcuttur.

Phe295, Ser293 ile inhibitörün halkadaki oksijen ve azot atomları hidrojen bağı etkileşimine katılır. Yine Tyr337 , Tyr341 pozisyonundaki amino asitlerin halkasındaki π bağları ile inhibitörün halkadaki π elektronları arasında π - π etkileşimi gerçekleşir. Ayrıca Phe297 ile Phe338'in aromatik halkadaki π bağı elektronları kükürd atomu arasında ise π -kükürd etkileşimi söz konusudur. Yine Leu289'in yan zincirindeki, alkil grubu ile inhibitörün halkadaki alkil grubu arasında etkileşim söz konusudur.

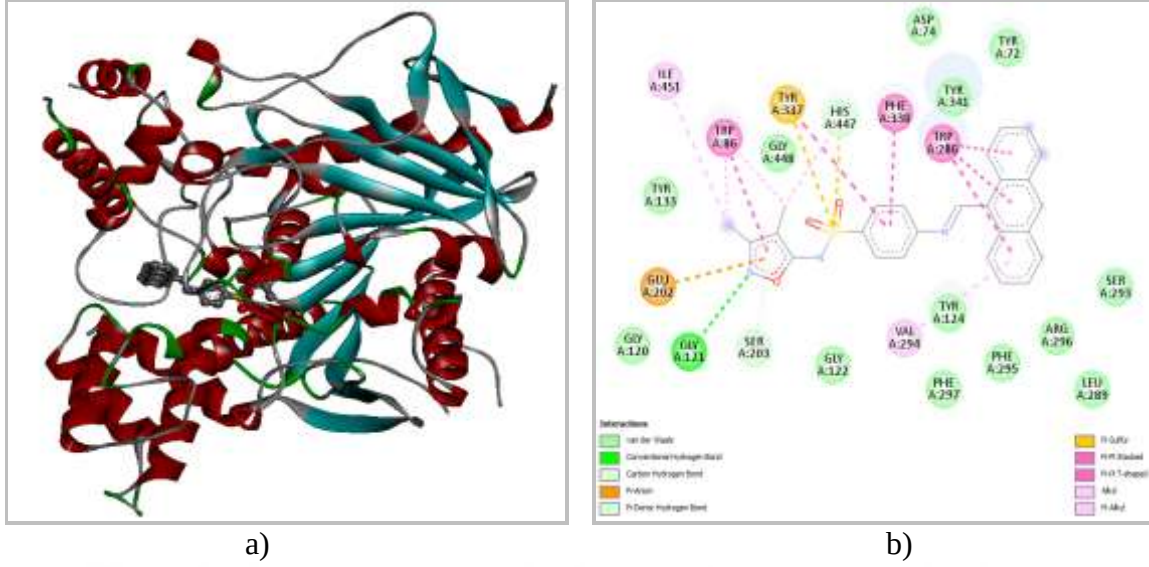


Şekil 5.17. L3 inhibitörünün AChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi

L4 inhibitörünün kenetlenme (docking) sonuçları:

L4 inhibitörünün AChE enzimi ile arasında gerçekleşen moleküler kenetlenme (docking) sonuçlarına göre inhibitör ve inhibitörün enzimle etkileştiği bölgedeki amino asitler arasında başlıca hidrojen bağı, Van der Waals etkileşimi, π - π etkileşimi, π -Kükürd etkileşimi ve π -amit bağı, π -anyon ve π -alkil etkileşimleri olabilir. Trp286 'nın aromatik halkadaki π bağlarının elektronları ile inhibitörün halka yapısındaki alkil grubu arasında π -alkil etkileşimi meydana gelir. Yine Val 294 ile kükürte bağlı oksijen atomu arasında hidrojen bağı mevcuttur.

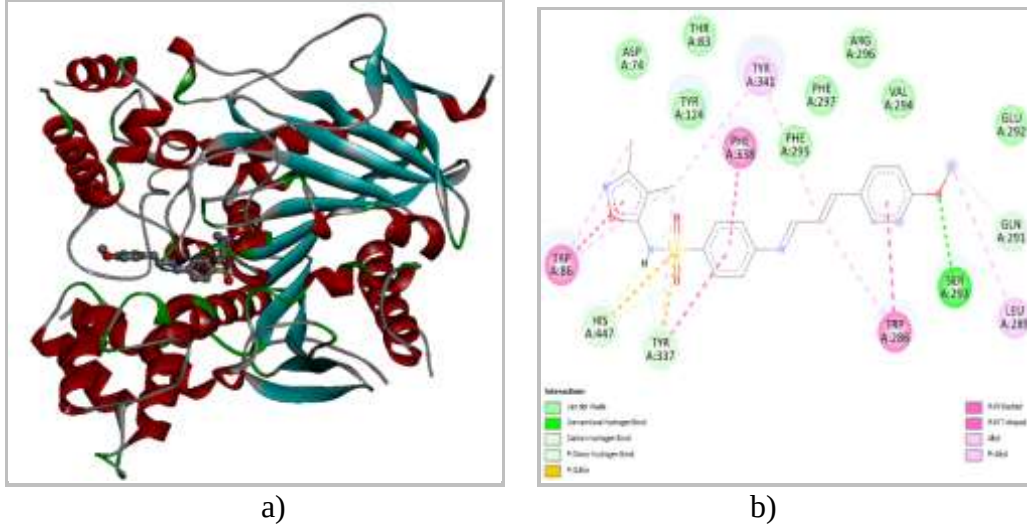
Trp286'nın aromatik halkadaki π bağı elektronları ile inhibitör yapıdaki birbirine kondanse olmuş üç tane halkanın π elektronları arasında ayrıca Phe338, Tyr337, Tyr124 ve Trp86'daki amino asitlerin aromatik halka yapılarındaki π elektronları ile inhibitör yapıdaki halkadaki π bağı elektronları arasında π - π etkileşimleri meydana gelir. Gly121 ile inhibitörün halka yapısında bulunan azot atomları arasında hidrojen bağı oluşur. Tyr337 ve His447'nin halka yapısındaki π bağı elektronları ile inhibitörün kükürt atomu arasında π -kükürt etkileşimi meydana gelir. Ayrıca Trp86 ve His447'nin aromatik halkasındaki π bağı elektronları ile inhibitörün halkaya bağlı alkil grupları arasında π -alkil etkileşimi meydana gelir. Ile451 ile inhibitör yapısında halkaya bağlı alkin fonksiyonel grubu arasında bir etkileşim meydana gelir. Glu202'nin anyon yapıdaki R grubu ile inhibitörün halka yapısında π bağı elektronları arasında π -anyon etkileşimi söz konusudur.



Şekil 5.18. L4 inhibitörünün AChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi

L5 inhibitörünün kenetlenme (docking) sonuçları;

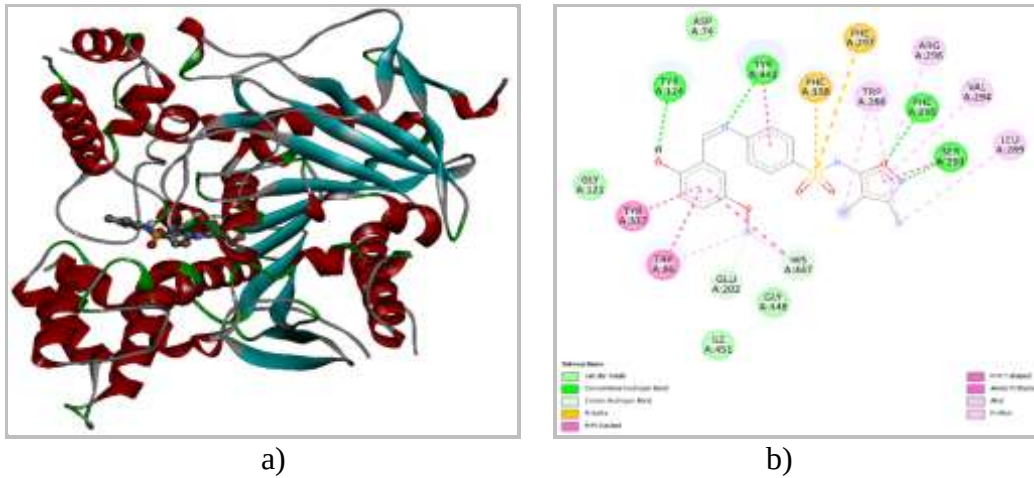
L5 inhibitörünün AChE proteini ile gerçekleşen moleküler kenetlenme (docking) sonuçlarına göre inhibitör ve inhibitörün enzimle etkileştiği bölgedeki amino asitler arasında başlıca hidrojen bağı, Van der Waals etkileşimi, π - π etkileşimi, π -Kükürd etkileşimi ve π -alkil etkileşimleri olabilir. L5 inhibitörü ile asetilkolinesteraz enziminin etkileşimi incelendiğinde Ser293 ile metoksi grubuna ait oksijen atomu arasında hidrojen bağı gerçekleşir. Trp286, Phe338 ve Trp86 ile inhibitörün aromatik halka yapıları arasında üç tane π - π etkileşimi meydana gelir. Yine aynı şekilde Tyr341, Trp 286, Trp86 ve Leu289'un aromatik halkasındaki π bağları ile halkadaki alkil grubu arasında dört adet π -alkil etkileşimleri oluşur. Trp86 ile izoksazol halkasındaki metil grupları, Leu289 ile metoksi grubuna ait olan metil grubu arasında π -alkil etkileşimleri oluşturur. Yine aynı şekilde Trp286 ve Trp341 ile 4-metoksisinnamaldehyde ait olan trans hidrojen atomu arasında π -alkil etkileşimi gerçekleşir. Tyr337 ve His447'nin sülfür atomu arasında ise π -kükürd etkileşimi söz konusudur.



Şekil 5.19. L5 inhibitörünün AChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi

L6 inhibitörünün kenetlenme (docking) sonuçları;

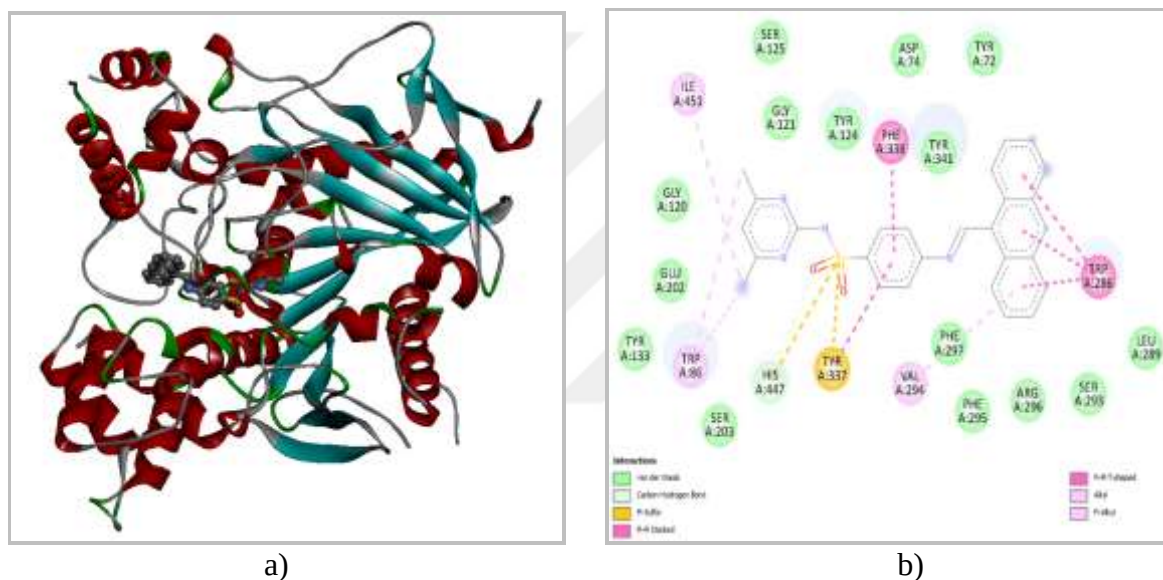
L6 inhibitörünün AChE proteini ile gerçekleşen moleküler kenetlenme (docking) sonuçlarına göre inhibitör ve inhibitörün enzimle etkileştiği bölgedeki amino asitler arasında başlıca hidrojen bağı, Van der Waals etkileşimi, π - π etkileşimi, π -Kükürd etkileşimi ve π -alkil etkileşimleri olabilir. L6 inhibitörü ile asetilkolinesteraz enziminin etkileşimi incelendiğinde Tyr124, Tyr341, Phe295 ve Ser293 ile molekül arasında hidrojen bağı gerçekleşir. Yine aynı şekilde Tyr337, Trp86 ve His447 ile aromatik halka arasında üç tane π - π etkileşimi meydana gelir. Phe338 ve Phe297 ile kükürd atomu arasında ise π -kükürd etkileşimi söz konusudur.



Şekil 5.20. L6 inhibitörünün AChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi

L7 inhibitörünün kenetlenme (docking) sonuçları

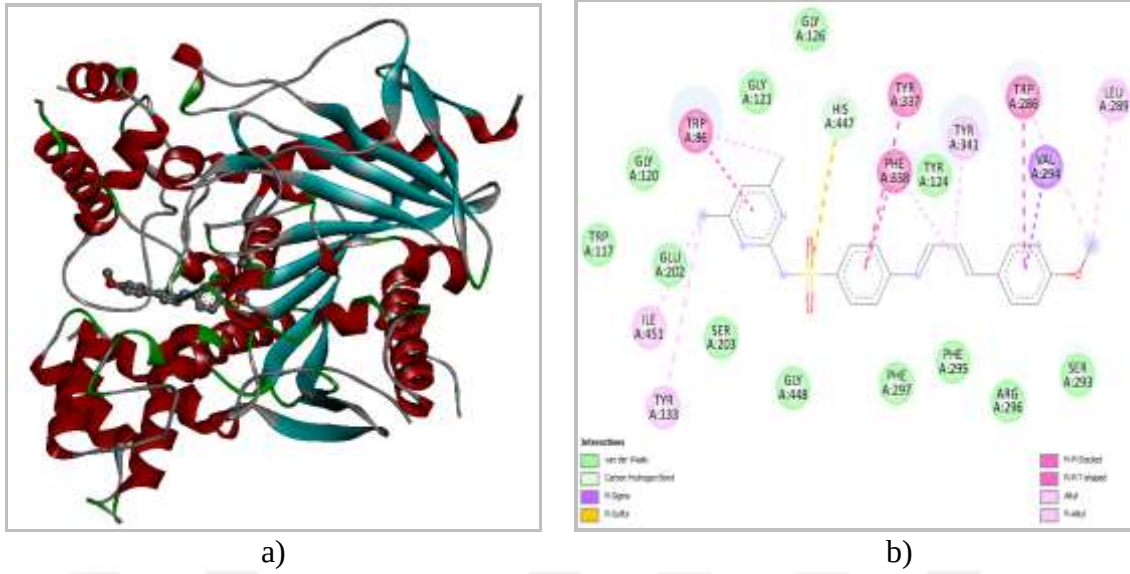
L7 inhibitörünün AChE proteini ile gerçekleşen moleküler kenetlenme (docking) sonuçlarına göre inhibitör ve inhibitörün enzimle etkileştiği bölgedeki amino asitler arasında Van der Waals etkileşimi, π - π etkileşimi, π -Kükürd etkileşimi ve π -alkil etkileşimleri olabilir. L7 inhibitörü ile asetilkolinesteraz enziminin etkileşimi incelendiğinde Tyr337 ve His447 ile kükürd atomu arasında π -kükürd etkileşimi söz konusudur. Yine aynı şekilde Tyr337, Trp286 ve Phe338 ile aromatik halka arasında toplam beş adet π - π etkileşimi meydana gelir.



Şekil 5.21. L7 inhibitörünün AChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi

L8 inhibitörünün kenetlenme (docking) sonuçları:

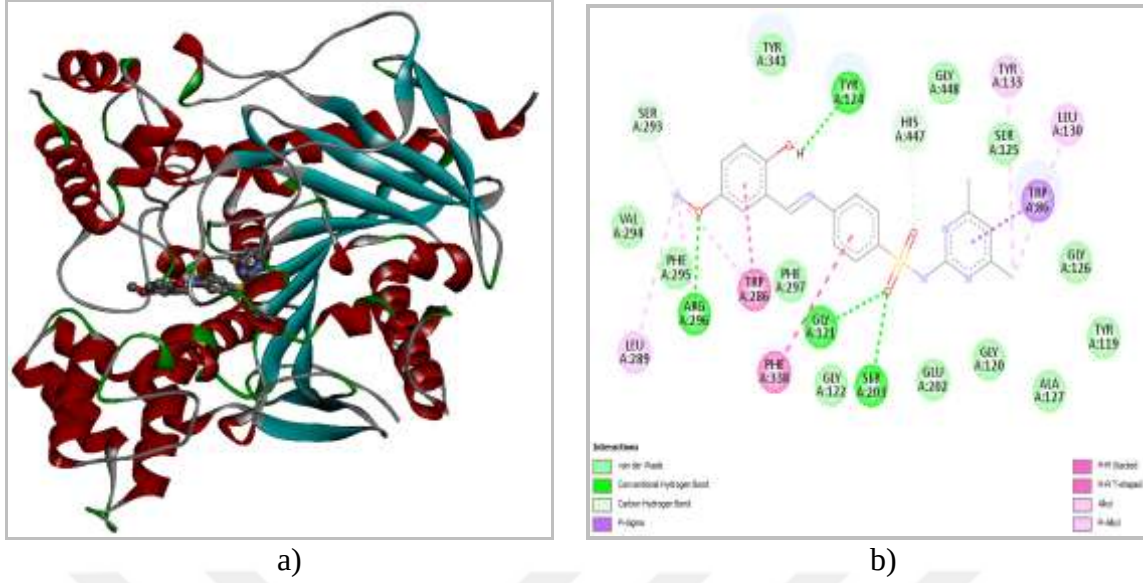
L8 inhibitörünün AChE proteini ile gerçekleşen moleküler kenetlenme (docking) sonuçlarına göre inhibitör ve inhibitörün enzimle etkileştiği bölgedeki amino asitler arasında Van der Waals etkileşimi, π - π etkileşimi, π -Kükürd etkileşimi, π - σ ve π -alkil etkileşimleri olabilir. L8 inhibitörü ile asetilkolinesteraz enziminin etkileşimi incelendiğinde His447 ile sülfür atomu arasında π -kükürd etkileşimi gerçekleşir. Yine aynı şekilde Trp86, Tyr337, Phe338 ve Trp286 ile aromatik halkalar arasında dört tane π - π etkileşimleri oluşur. Val294 aminoasiti ile sinnamaldehite ait aromatik halka arasında π - σ etkileşimi gerçekleşir. Leu289, Phe338, Trp286, Trp86, Ile451 ve Tyr133 ile metil grupları ve trans-hidrojen atomları arasında π -alkil etkileşimi meydana gelir.



Şekil 5.22. L8 inhibitörünün AChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi

L9 inhibitörünün kenetlenme (docking) sonuçları;

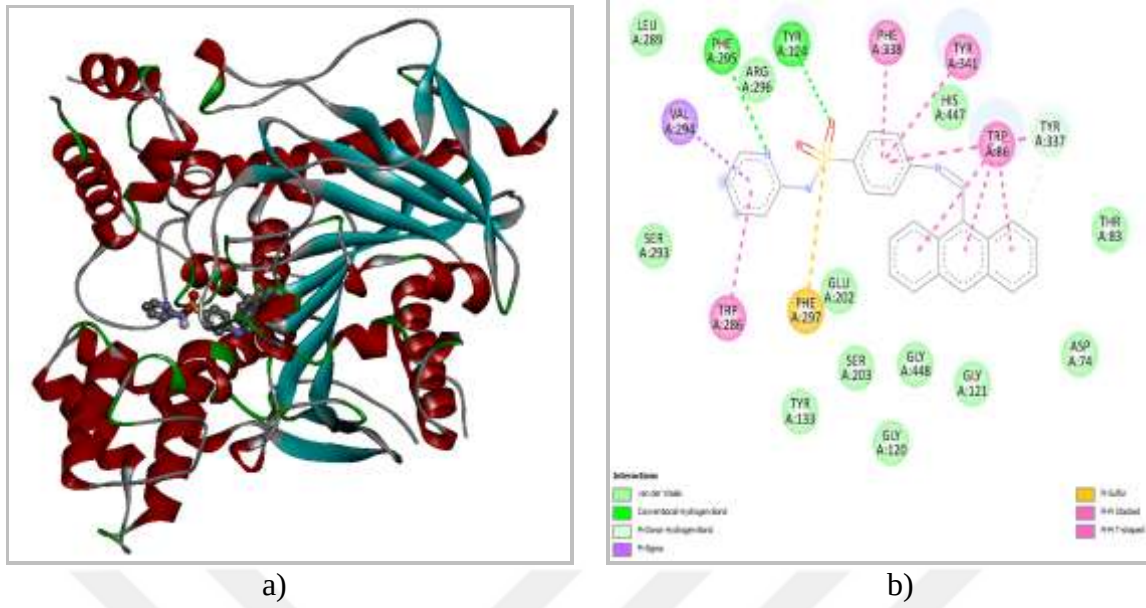
L9 inhibitörünün AChE proteini ile gerçekleşen moleküler kenetlenme (docking) sonuçlarına göre inhibitör ve inhibitörün enzimle etkileştiği bölgedeki amino asitler arasında başlıca hidrojen bağı, Van der Waals etkileşimi, π - π etkileşimi, π - σ ve π -alkil etkileşimleri olabilir. L9 inhibitörü ile asetilkolinesteraz enziminin etkileşimi incelendiğinde Ser203, Gly121, Arg296 ve Tyr124 ile oksijen atomları arasında hidrojen bağı oluşur. Yine aynı şekilde Trp86 pirimidin halkası ile π - σ etkileşimi gerçekleşir. Trp286 ve Phe338 ile aromatik halkalar arasında iki tane π - π etkileşimleri oluşur. Son olarak ise Leu289, Leu130, Tyr133, Arg296 ve Trp286 aminoasitleri ile metil grupları arasında π -alkil etkileşimi meydana gelir.



Şekil 5.23. L9 inhibitörünün AChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi

L10 inhibitörünün kenetlenme (docking) sonuçları;

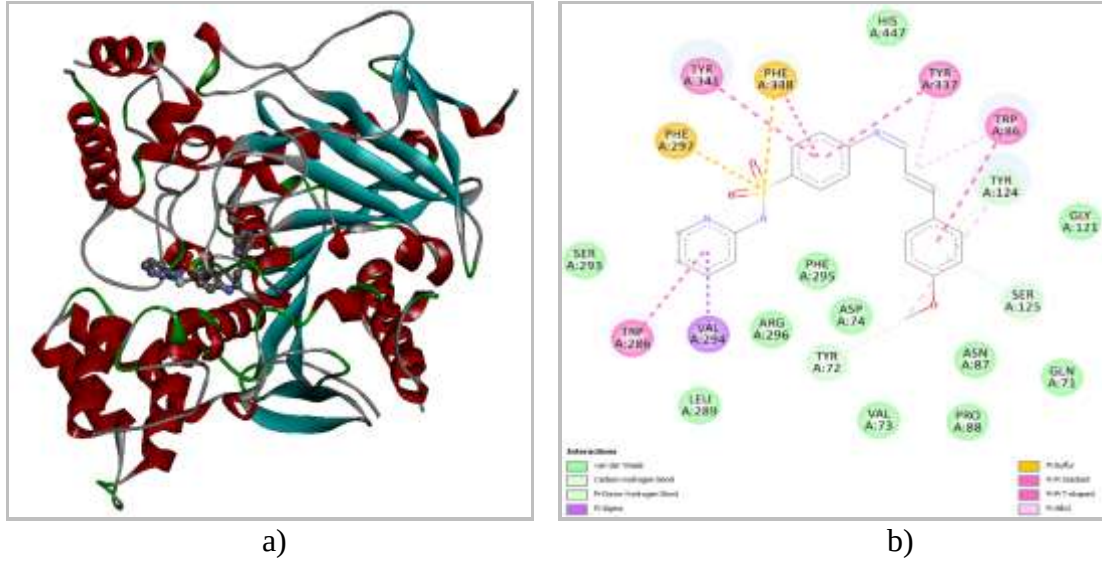
L10 inhibitörünün AChE proteini ile gerçekleşen moleküler kenetlenme (docking) sonuçlarına göre inhibitör ve inhibitörün enzimle etkileştiği bölgedeki amino asitler arasında başlıca hidrojen bağı, Van der Waals etkileşimi, π - π etkileşimi, π -Kükürd ve π - σ etkileşimleri olabilir. L10 inhibitörü ile asetilkolinesteraz enziminin etkileşimi incelendiğinde Phe295 ve Tyr124 ile inhibitör arasında hidrojen bağı oluşur. Yine aynı şekilde Phe297 ile kükürd atomu arasında π -kükürd etkileşimi gerçekleşir. Aynı zamanda Phe338, Tyr341, Trp286 ve trp86 ile aromatik halkalar arasında toplam yedi tane π - π etkileşimi gerçekleşir. Val294 aminoasiti ile piridin halkası arasında π - σ etkileşimi meydana gelir.



Şekil 5.24. L10 inhibitörünün AChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi

L11 inhibitörünün kenetlenme (docking) sonuçları;

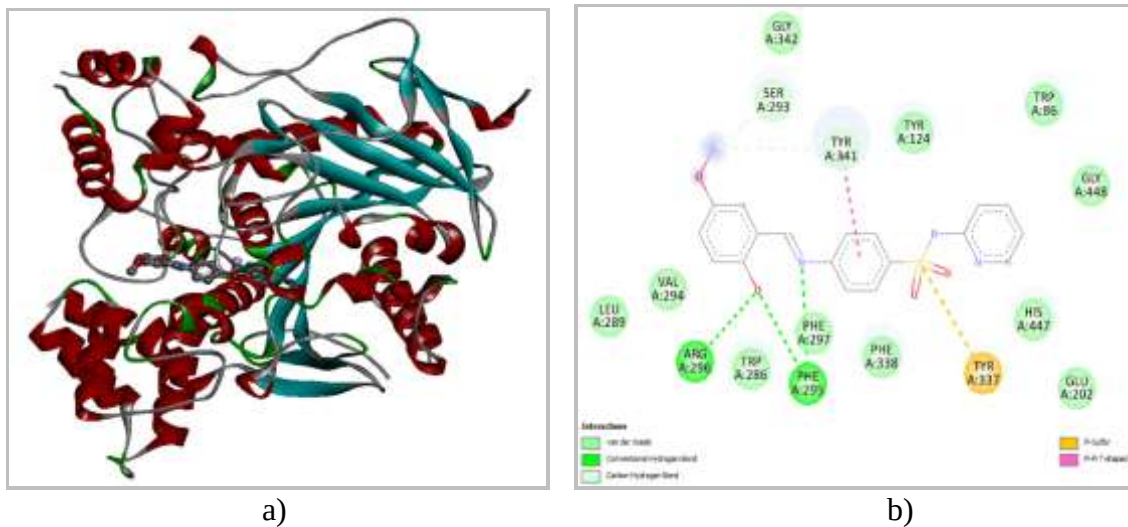
L11 inhibitörünün AChE proteini ile gerçekleşen moleküler kenetlenme (docking) sonuçlarına göre inhibitör ve inhibitörün enzimle etkileştiği bölgedeki amino asitler arasında Van der Waals etkileşimi, π - π etkileşimi, π -Kükürd, π - σ ve π -alkil etkileşimleri olabilir. L11 inhibitörü ile asetilkolinesteraz enziminin etkileşimi incelendiğinde Trp86, Tyr337, Trp286 ve Tyr341 aromatik halkalar ile π - π etkileşimi oluşur. Yine aynı şekilde Val294 piridin halkası ile π - σ etkileşimi gerçekleşir. Phe297 ve Phe338 ise kükürd atomu ile π -kükürd etkileşimi gerçekleşir. Trp86 ve Tyr337 metil grubu ve trans-hidrojen atomları arasında π -alkil etkileşimi meydana gelir.



Şekil 5.25. L11 inhibitörünün AChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi

L12 inhibitörünün kenetlenme (docking) sonuçları;

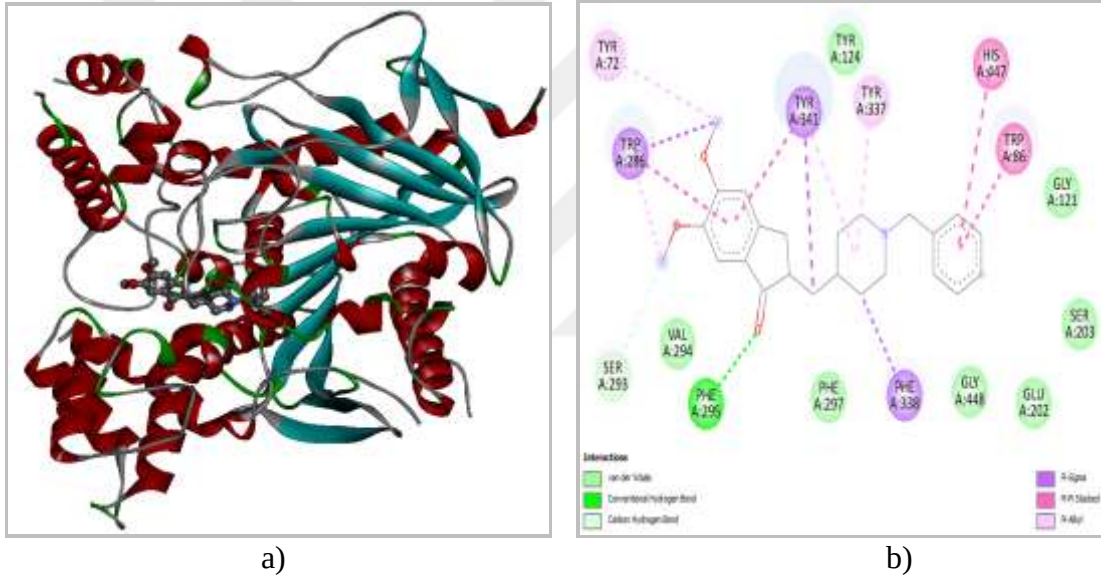
L12 inhibitörünün AChE proteini ile gerçekleşen moleküler kenetlenme (docking) sonuçlarına göre inhibitör ve inhibitörün enzimle etkileştiği bölgedeki amino asitler arasında başlıca hidrojen bağı, Van der Waals etkileşimi, π - π etkileşimi ve π -Kükürd etkileşimleri olabilir. L12 inhibitörü ile asetilkolinesteraz enziminin etkileşimi incelendiğinde Phe295, Arg296, Phe297 ile inhibitör arasında hidrojen bağı gerçekleşir. Yine aynı şekilde Tyr337 ile kükürd atomu arasında π -kükürd etkileşimi gerçekleşir. Tyr341 aminoasiti ile aromatik halka arasında π - π etkileşimi meydana gelir.



Şekil 5.26. L12 inhibitörünün AChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi

Donepezil'in kenetlenme (docking) sonuçları;

Donepezil referans ilacının AChE proteini ile gerçekleşen moleküler kenetlenme (docking) sonuçlarına göre referans ilaç ve enzimin etkileştiği bölgedeki amoni asitler arasında başlıca hidrojen bağı, Van der Waals etkileşimi, π - π etkileşimi, π -alkil ve π - σ etkileşimleri olabilir. Donepezil ile asetilkolinesteraz enziminin etkileşimi incelendiğinde Phe295 ile oksijen atomu arasında hidrojen bağı gerçekleşir. Yine aynı şekilde Tyr341, Trp286, Phe338 ile molekül arasında π - σ etkileşimi oluşur. Trp86, Tyr341, Trp286 ve His447 amino asitleri ile aromatik halkalar arasında π - π etkileşimi meydana gelir. Yine aynı şekilde Tyr72, Tyr337, Trp286 ve Tyr341 ile halkalar arasında π -alkil bağı meydana gelir.



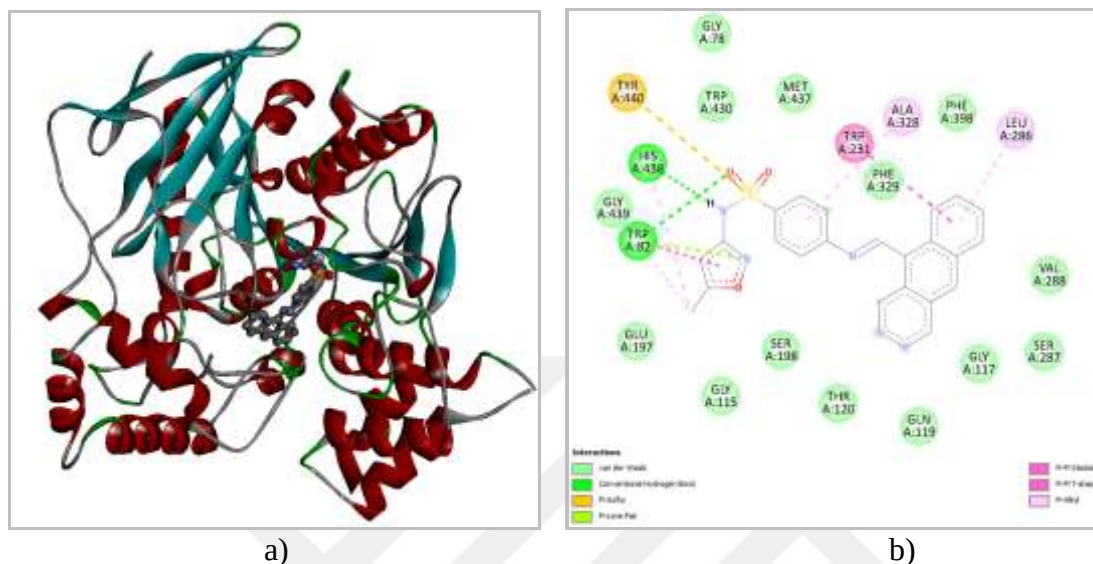
Şekil 5.27. Donepezil'in AChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi

5.4.2. İnhibitörlerin BChE enzimi üzerinde moleküler kenetlenme (docking) sonuçları

L1 inhibitörünün kenetlenme (docking) sonuçları

L1 inhibitörünün BChE proteini ile gerçekleşen moleküler kenetlenme (docking) sonuçlarına göre inhibitör ve inhibitörün enzimle etkileştiği bölgedeki amino asitler arasında başlıca hidrojen bağı, Van der Waals etkileşimi, π - π etkileşimi, π -kükürd etkileşimi, π -alkil etkileşimi ve π -yalın çifti olabilir. L1 inhibitörü ile bütirikolinesteraz enziminin etkileşimi incelendiğinde His438 ve Trp82 ile L1 inhibitörü kükürd atomuna bağlı olan oksijen atomu arasında hidrojen bağı gerçekleşir. Trp82 ile izoksazol halkasındaki azot atomu arasında π -

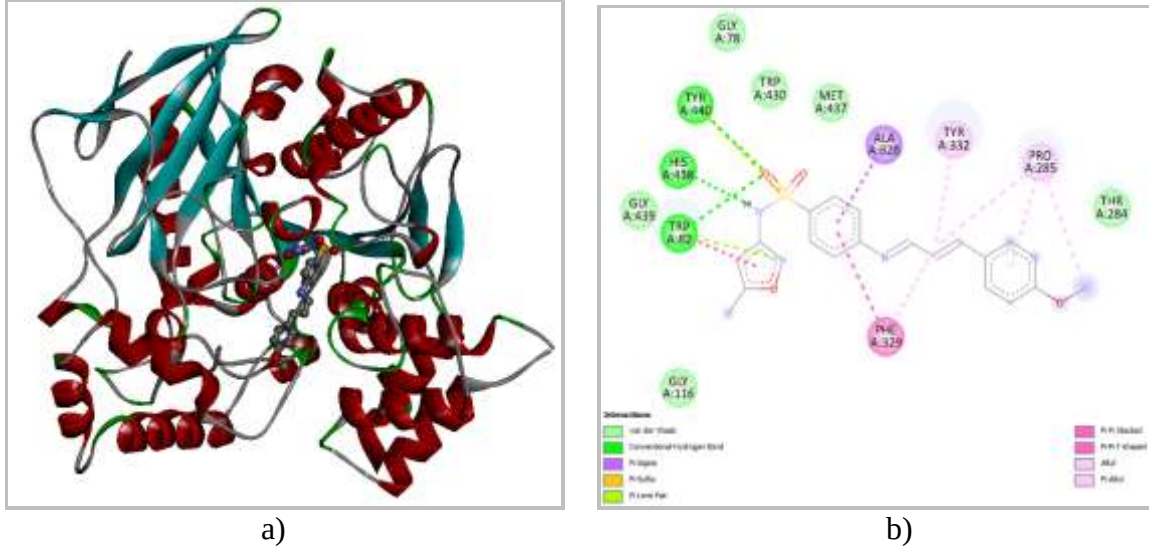
yalın çifti oluşur. Tyr440 ile kükürd atomu arasında ise π -kükürd etkileşimi söz konusudur. Yine aynı şekilde Trp231 ve Trp82 ile aromatik halkalar arasında π - π etkileşimi gerçekleşir. Leu286, Ala328, His438 ve Trp82 ile inhibitör arasında π -alkil etkileşimi meydana gelir.



Şekil 5.28. L1 inhibitörünün BChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi

L2 inhibitörünün kenetlenme (docking) sonuçları;

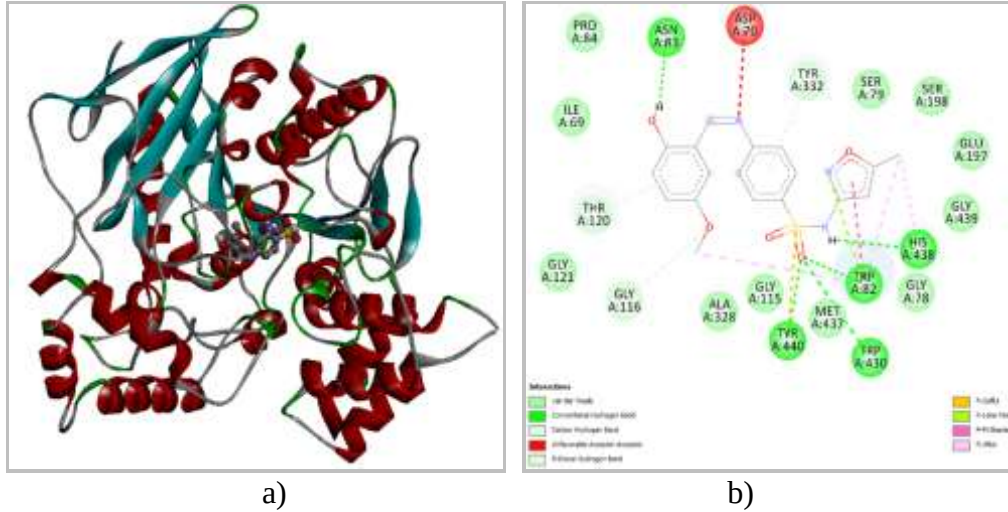
L2 inhibitörünün BChE proteini ile gerçekleşen moleküler kenetlenme (docking) sonuçlarına göre inhibitör ve inhibitörün enzimle etkileştiği bölgedeki amino asitler arasında başlıca hidrojen bağı, Van der Waals etkileşimi, π - π etkileşimi, π - σ , π -Kükürd etkileşimi, π -alkil etkileşimi ve π -yalın çifti olabilir. L2 inhibitörü ile bütirikolinesteraz enziminin etkileşimi incelendiğinde Trp82, Tyr440 ve His438 ile L2 inhibitörü arasında üç adet hidrojen bağı gerçekleşir. Trp82 ile izoksazol halkasındaki azot atomu arasında π -yalın çifti oluşur. Tyr440 ile kükürd atomu arasında ise π -kükürd etkileşimi söz konusudur. Ala328 ile sülfametoksazole ait aromatik halka arasında π - σ etkileşimi gerçekleşir. Yine aynı şekilde Phe329 ve Trp82 ile aromatik ve izoksazol halkaları arasında π - π etkileşimi gerçekleşir. Tyr332, Pro285 ve Phe329 ile inhibitör arasında π -alkil etkileşimi meydana gelir.



Şekil 5.29. L2 inhibitörünün BChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi

L3 inhibitörünün kenetlenme (docking) sonuçları;

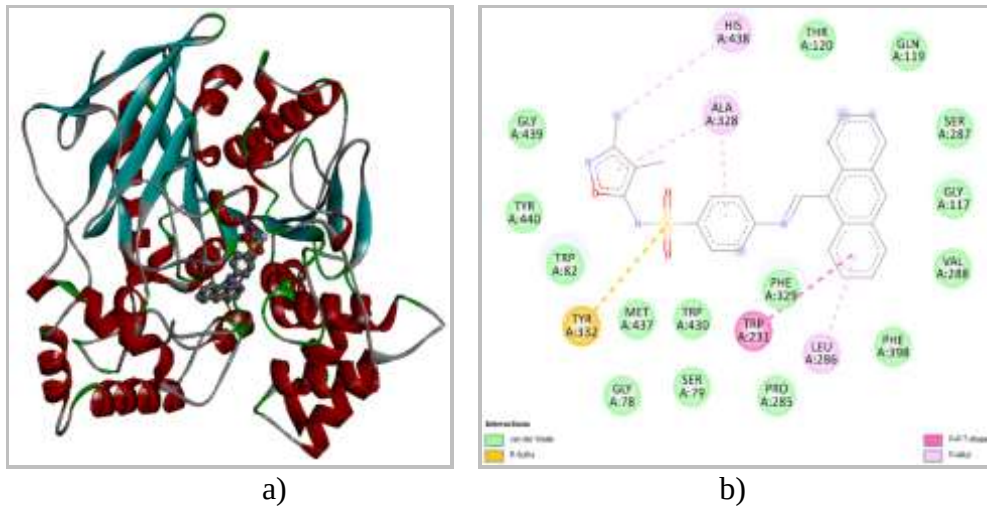
L3 inhibitörünün BChE proteini ile gerçekleşen moleküler kenetlenme (docking) sonuçlarına göre inhibitör ve inhibitörün enzimle etkileştiği bölgedeki amino asitler arasında başlıca hidrojen bağı, Van der Waals etkileşimi, π - π etkileşimi, π -Kükürd etkileşimi, π -alkil, akseptor-akseptor etkileşimi ve π -yalın çifti olabilir. L3 inhibitörü ile bütirilkolinesteraz enziminin etkileşimi incelendiğinde Asn83, Tyr440, Trp430, Trp82 ve His438 ile L3 inhibitörü arasında hidrojen bağı gerçekleşir. Trp82 ile izoksazol halkasındaki azot atomu arasında π -yalın çifti oluşur. Tyr440 ile kükürd atomu arasında ise π -kükürd etkileşimi söz konusudur. Asp70 ile imin grubuna ait azot atomu arasında akseptor-akseptor etkileşimi gerçekleşir. Yine aynı şekilde Trp82 ile izoksazol halkası arasında π - π etkileşimi gerçekleşir. Trp82 ve His438 ile metil grubları arasında π -alkil etkileşimi meydana gelir.



Şekil 5.30. L3 inhibitörünün BChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi

L4 inhibitörünün kenetlenme (docking) sonuçları;

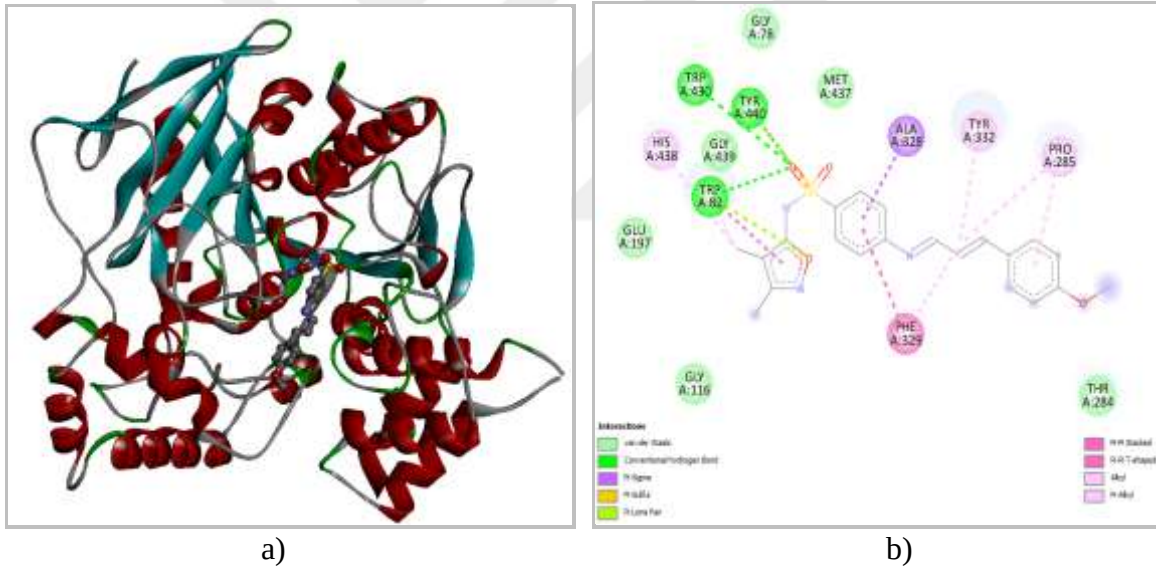
L4 inhibitörünün BChE proteini ile gerçekleşen moleküler kenetlenme (docking) sonuçlarına göre inhibitör ve inhibitörün enzimle etkileştiği bölgedeki amino asitler arasında Van der Waals etkileşimi, π - π etkileşimi, π -Kükürd etkileşimi, π -alkil etkileşimi olabilir. L4 inhibitörü ile bütirilkolinesteraz enziminin etkileşimi incelendiğinde Tyr332 ile kükürd atomu arasında π -kükürd etkileşimi söz konusudur. Trp231 ile aromatik halka arasında π - π etkileşimi gerçekleşir. Yine aynı şekilde Leu286, His438 ve Ala328 ile inhibitör arasında π - π etkileşimi meydana gelir.



Şekil 5.31. L4 inhibitörünün BChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi

L5 inhibitörünün kenetlenme (docking) sonuçları:

L5 inhibitörünün BChE proteini ile gerçekleşen moleküler kenetlenme (docking) sonuçlarına göre inhibitör ve inhibitörün enzimle etkileştiği bölgedeki amino asitler arasında başlıca hidrojen bağı, Van der Waals etkileşimi, π - π etkileşimi, π - σ , π -Kükürd etkileşimi, π -alkil etkileşimi ve π -yalın çifti olabilir. L5 inhibitörü ile bütirilkolinesteraz enziminin etkileşimi incelendiğinde Trp82, Trp430 ve Tyr440 ile kükürd atomuna bağlı olan oksijen atomu arasında hidrojen bağı gerçekleşir. Trp82 ile izoksazol halkasındaki oksijen atomu arasında π -yalın çifti oluşur. Tyr440 ile kükürd atomu arasında ise π -kükürd etkileşimi söz konusudur. Yine aynı şekilde Phe329 ile aromatik halka arasında π - π etkileşimi gerçekleşir. His438, Pro285, Phe329 ve Tyr332 kükürd arasında π -alkil etkileşimi oluşur. Son olarak ise Ala328 amino asiti aromatik halka ile π - σ etkileşimi meydana gelir.

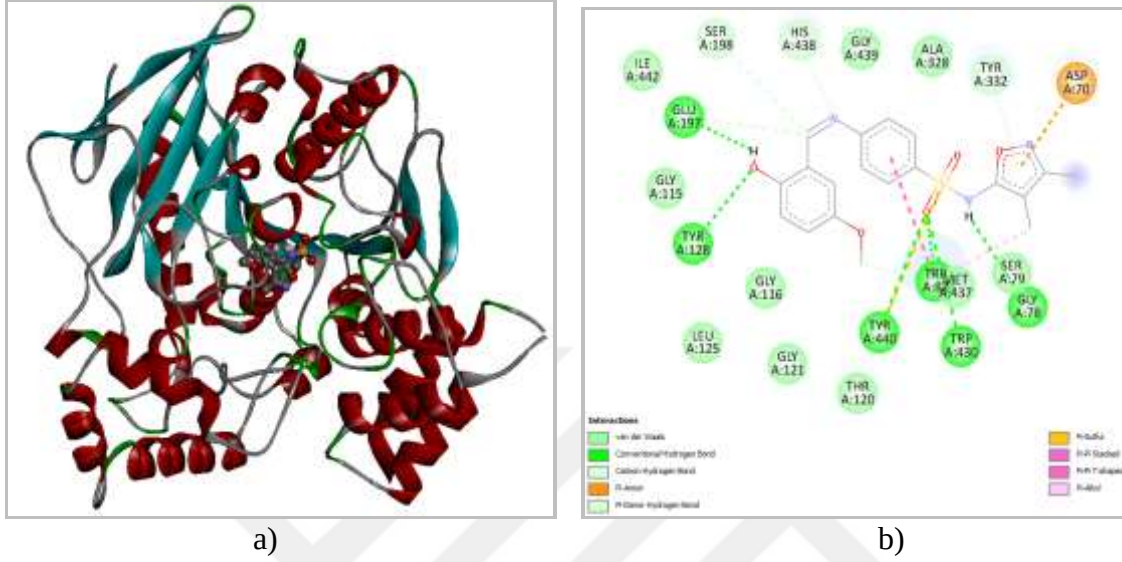


Şekil 5.32. L5 inhibitörünün BChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi

L6 inhibitörünün kenetlenme (docking) sonuçları:

L6 inhibitörünün BChE proteini ile gerçekleşen moleküler kenetlenme (docking) sonuçlarına göre inhibitör ve inhibitörün enzimle etkileştiği bölgedeki amino asitler arasında başlıca hidrojen bağı, Van der Waals etkileşimi, π - π etkileşimi, π -anion, π -Kükürd etkileşimi, π -alkil etkileşimi olabilir. L6 inhibitör ile bütirilkolinesteraz enziminin etkileşimi incelendiğinde Tyr128, Glu197, Tyr440, Trp430, Trp82 ve Gly78 ile inhibitör arasında hidrojen bağı gerçekleşir. Asp70 ile izoksazol halkası arasında π -anion etkileşimi oluşur.

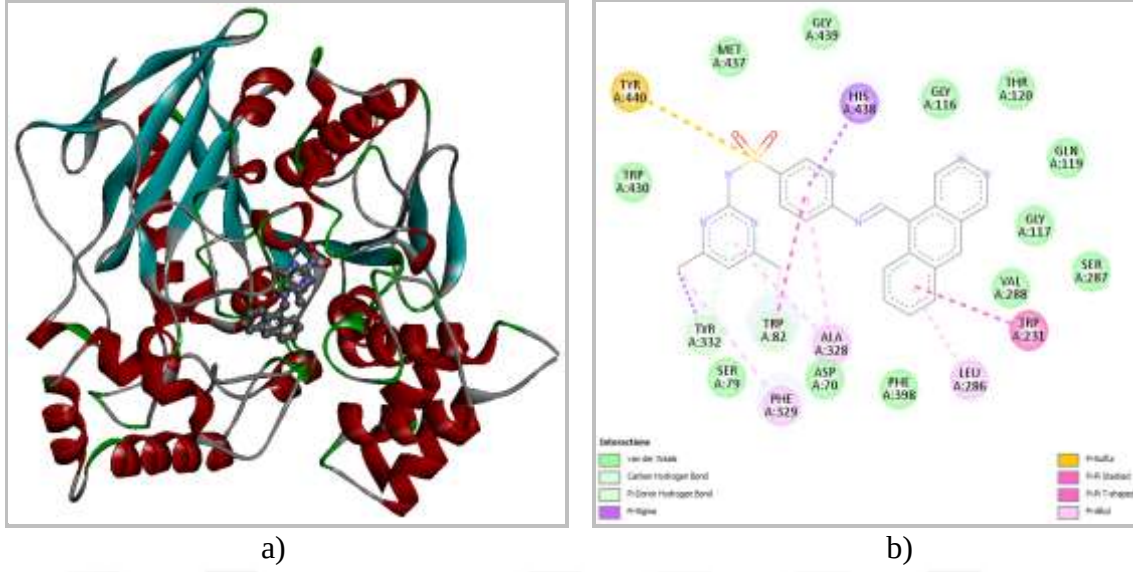
Tyr440 ile kükürd atomu arasında ise π -kükürd etkileşimi söz konusudur. Yine aynı şekilde Trp82 sülfazoksazola ait aromatik halka arasında π - π etkileşimi gerçekleşir. Trp82 ile inhibitör arasında π -alkil etkileşimi meydana gelir.



Şekil 5.33. L6 inhibitörünün BChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi

L7 inhibitörünün kenetlenme (docking) sonuçları;

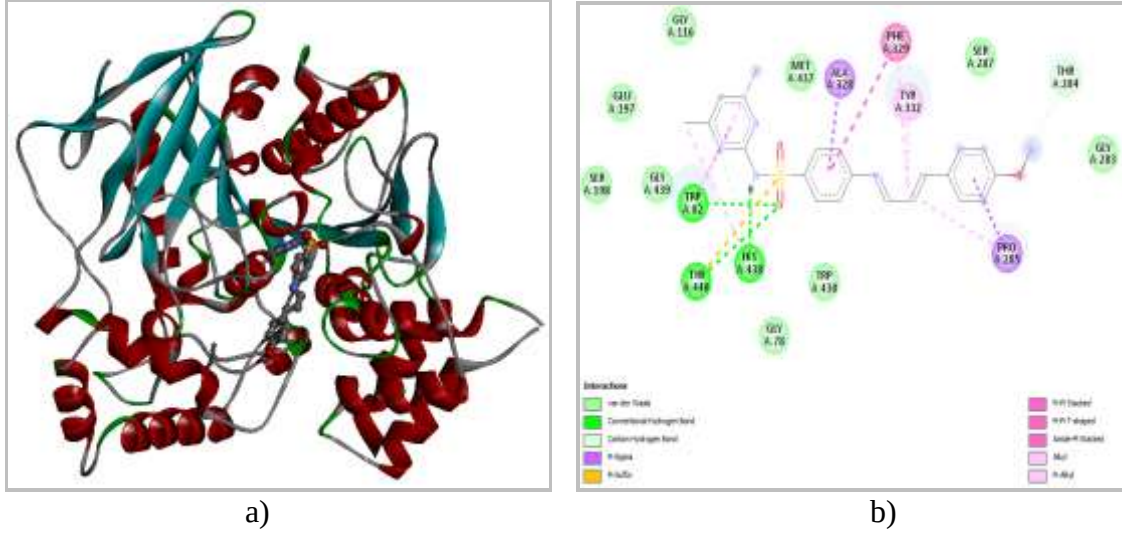
L7 inhibitörünün BChE proteini ile gerçekleşen moleküler kenetlenme (docking) sonuçlarına göre inhibitör ve inhibitörün enzimle etkileştiği bölgedeki amino asitler arasında Van der Waals etkileşimi, π - π etkileşimi, π - σ , π -Kükürd etkileşimi, π -alkil etkileşimi olabilir. L7 inhibitörü ile bütirilkolinesteraz enziminin etkileşimi incelendiğinde His438 ve Tyr332 ile sülfametazinin aromatik halkası ve metil grubu arasında π - σ etkileşimi gerçekleşir. Ala328, Leu286 ve Phe329 amoni asitleri ile inhibitör arasında π -alkil etkileşimi oluşur. Tyr440 ile kükürd atomu arasında ise π -kükürd etkileşimi söz konusudur. Yine aynı şekilde Trp231 ve Trp82 aromatik halkalar arasında π - π etkileşimi meydana gelir.



Şekil 5.34. L7 inhibitörünün BChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi

L8 inhibitörünün kenetlenme (docking) sonuçları;

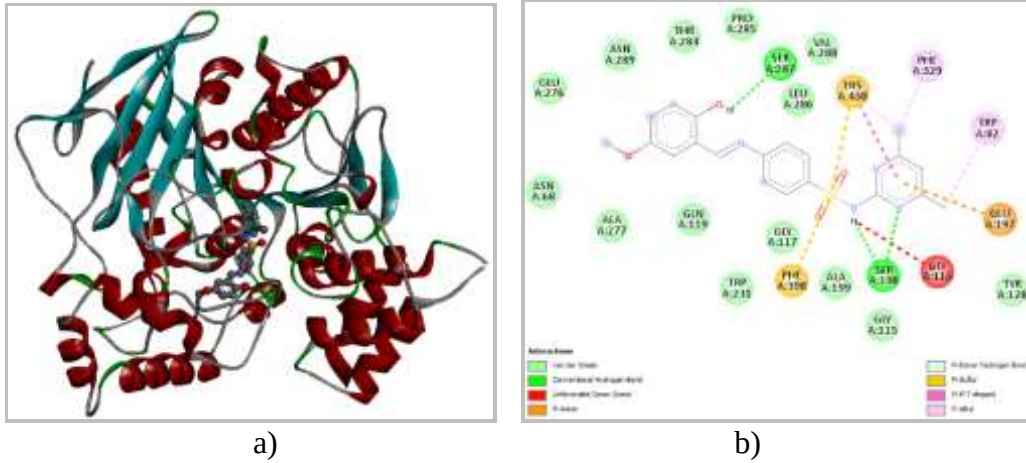
L8 inhibitörünün BChE proteini ile gerçekleşen moleküler kenetlenme (docking) sonuçlarına göre inhibitör ve inhibitörün enzimle etkileştiği bölgedeki amino asitler arasında başlıca olarak hidrojen bağı, Van der Waals etkileşimi, π - π etkileşimi, π - σ , π -Kükürd etkileşimi, π -alkil etkileşimi olabilir. L8 inhibitörü ile bütirilkolinesteraz enziminin etkileşimi incelendiğinde Trp82, Tyr440 ve His438 ile inhibitör arasında hidrojen bağı oluşur. Ala328 ve Pro285 ile aromatik halkalar arasında π - σ bağı gerçekleşir. Pro285, Phe329, Tyr332, His438 ve Trp 82 ile inhibitör arasında π -alkil etkileşimi oluşur. Tyr440 ile kükürd atomu arasında ise π -kükürd etkileşimi söz konusudur. Yine aynı şekilde Phe329 ve Trp82 aromatik halkalar arasında π - π etkileşimi meydana gelir.



Şekil 5.35. L8 inhibitörünün BChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi

L9 inhibitörünün kenetlenme (docking) sonuçları;

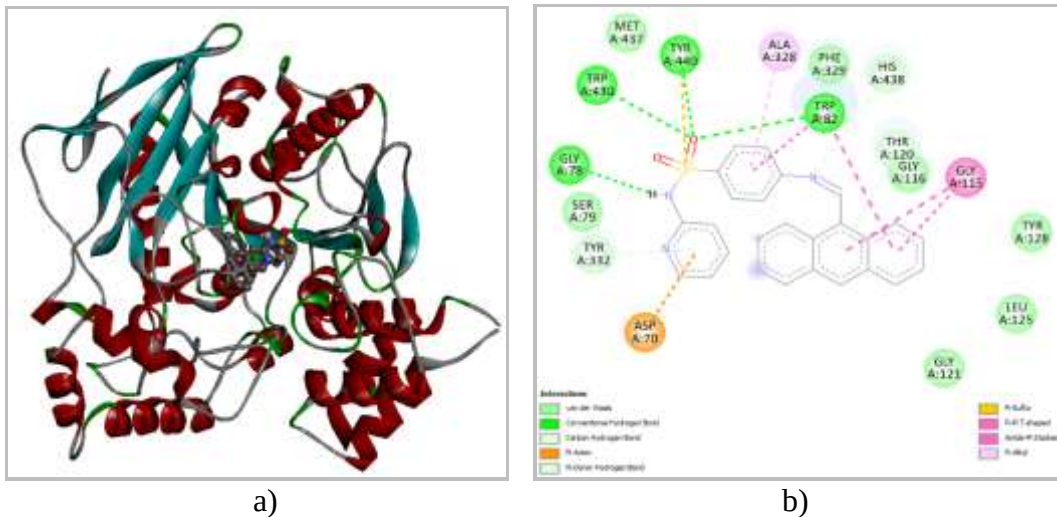
L9 inhibitörünün BChE proteini ile gerçekleşen moleküler kenetlenme (docking) sonuçlarına göre inhibitör ve inhibitörün enzimle etkileştiği bölgedeki amino asitler arasında başlıca olarak hidrojen bağı, Van der Waals etkileşimi, π - π etkileşimi, π -anion, π -Kükürd etkileşimi, donor-donor, π -alkil etkileşimi olabilir. L9 inhibitörü ile bütirilkolinesteraz enziminin etkileşimi incelendiğinde Ser198 ve Ser287 ile inhibitör arasında hidrojen bağı oluşur. Glu197 ile pirimidin halkası arasında π -anion bağı gerçekleşir. Trp82, Phe329 ve His438 ile pirimidin halkasına bağlı metil grubları arasında π -alkil etkileşimi oluşur. His438 ve Phe398 ile kükürd atomu arasında ise π -kükürd etkileşimi söz konusudur. Gly116 ile -NH bağı hidrojen atomu arasında donor-donor etkileşimi oluşur. Yine aynı şekilde His438 ile pirimidin halkası arasında π - π etkileşimi meydana gelir.



Şekil 5.36. L9 inhibitörünün BChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi

L10 inhibitörünün kenetlenme (docking) sonuçları:

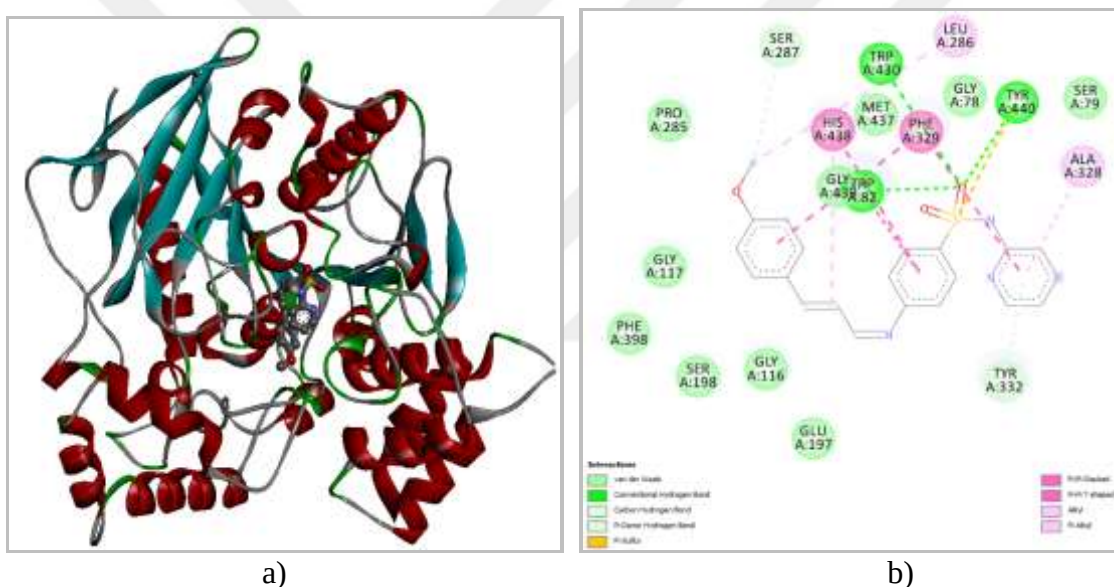
L10 inhibitörünün BChE proteini ile gerçekleşen moleküler kenetlenme (docking) sonuçlarına göre inhibitör ve inhibitörün enzimle etkileştiği bölgedeki amino asitler arasında başlıca olarak hidrojen bağı, Van der Waals etkileşimi, π - π etkileşimi, π -anion, π -Kükürd etkileşimi ve π -alkil etkileşimi olabilir. L10 inhibitörü ile bütirilkolinesteraz enziminin etkileşimi incelendiğinde Gly78, Trp430, Tyr440 ve Trp82 ile inhibitör arasında hidrojen bağı oluşur. Asp70 ile piridin halkası arasında π -anion etkileşimi gerçekleşir. Ala328 ile sülfapiridine bağlı aromatik halkası arasında π -alkil etkileşimi oluşur. Tyr440 ile kükürd atomu arasında ise π -kükürd etkileşimi söz konusudur. Yine aynı şekilde Trp82 ve Gly115 ile aromatik halkalar arasında π - π etkileşimi meydana gelir.



Şekil 5.37. L10 inhibitörünün BChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi

L11 inhibitörünün kenetlenme (docking) sonuçları;

L11 inhibitörünün BChE proteini ile gerçekleşen moleküler kenetlenme (docking) sonuçlarına göre inhibitör ve inhibitörün enzimle etkileştiği bölgedeki amino asitler arasında başlıca olarak hidrojen bağı, Van der Waals etkileşimi, π - π etkileşimi, π -Kükürd etkileşimi ve π -alkil etkileşimi olabilir. L11 inhibitörü ile bütirilkolinesteraz enziminin etkileşimi incelendiğinde Tyr440, Trp430 ve Gly439 ile inhibitör arasında hidrojen bağı oluşur. Ala328, Leu286 ve His438 ile inhibitör arasında π -alkil etkileşimi oluşur. Tyr440 ile kükürd atomu arasında ise π -kükürd etkileşimi söz konusudur. Yine aynı şekilde His438 ve Phe329 ile aromatik halkalar arasında π - π etkileşimi meydana gelir.

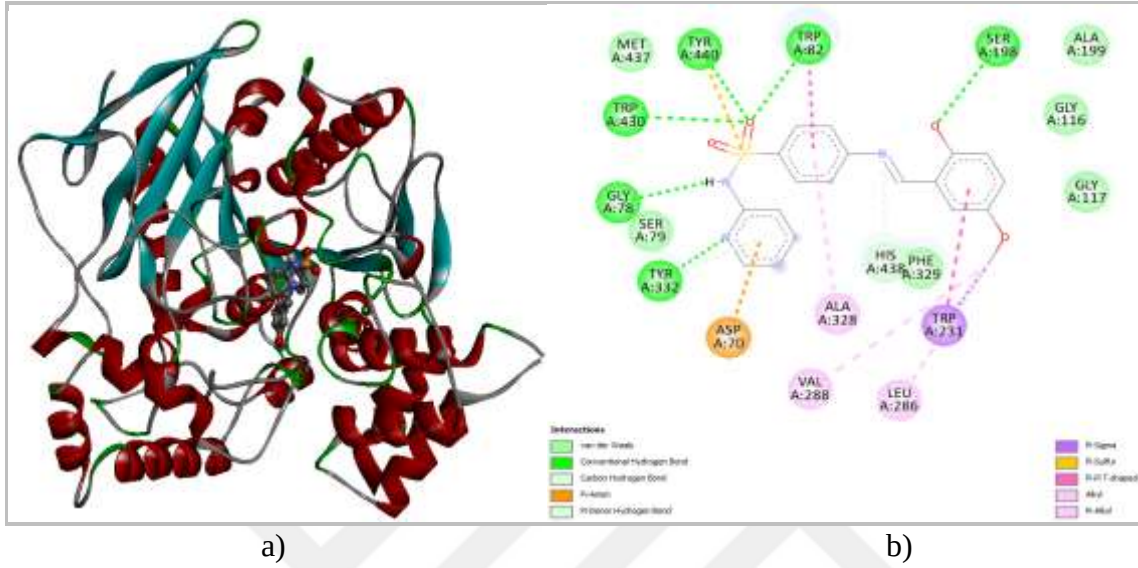


Şekil 5.38. L11 inhibitörünün BChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi

L12 inhibitörünün kenetlenme (docking) sonuçları;

L12 inhibitörünün BChE proteini ile gerçekleşen moleküler kenetlenme (docking) sonuçlarına göre inhibitör ve inhibitörün enzimle etkileştiği bölgedeki amino asitler arasında başlıca olarak hidrojen bağı, Van der Waals etkileşimi, π - π etkileşimi, π - σ , π -anion, π -Kükürd etkileşimi ve π -alkil etkileşimi olabilir. L12 inhibitörü ile bütirilkolinesteraz enziminin etkileşimi incelendiğinde Tyr440, Trp430, Trp82, Gly78, Ser198 ve Trp332 ile inhibitör arasında hidrojen bağı oluşur. Trp231 ile metoksi grubu arasında π - σ etkileşimi gerçekleşir. Val288, Leu286 ve Ala328 ile inhibitör arasında π -alkil etkileşimi oluşur.

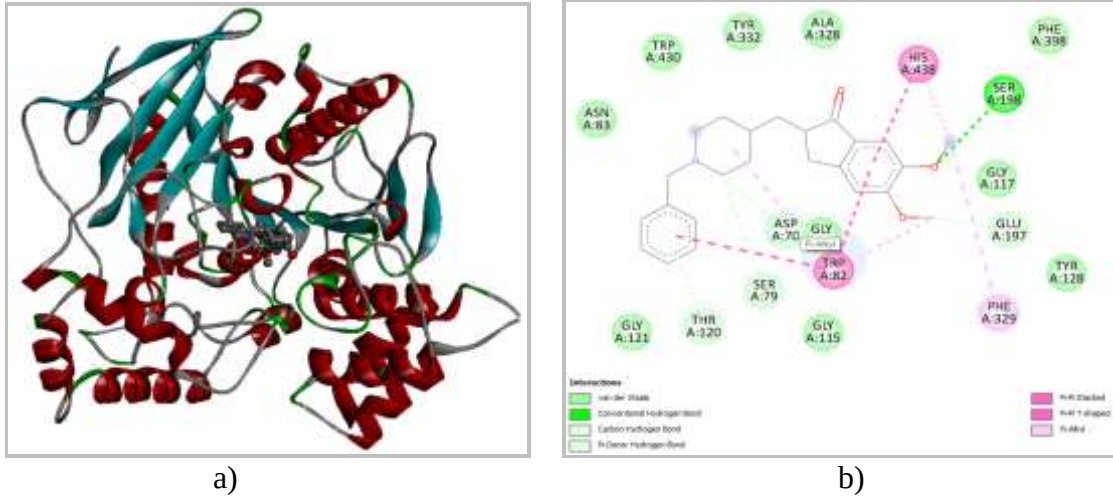
Tyr440 ile kükürd atomu arasında ise π -kükürd etkileşimi söz konusudur. Asp70 amino asiti piridin halkası ile π -anion etkileşimi gerçekleştirir. Yine aynı şekilde Trp231 ve Trp82 ile aromatik halkalar arasında π - π etkileşimi meydana gelir.



Şekil 5.39. L12 inhibitörünün BChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi

Donepezil'in kenetlenme (docking) sonuçları;

Donepezil referans ilacının BChE proteini ile gerçekleşen moleküler kenetlenme (docking) sonuçlarına göre referans ilaç enzimle etkileştiği bölgedeki amino asitler arasında başlıca olarak hidrojen bağı, Van der Waals etkileşimi, π - π etkileşimi ve π -alkil etkileşimi olabilir. Donepezil ile bütirilkolinesteraz enziminin etkileşimi incelendiğinde Ser198 ile ilaç arasında hidrojen bağı oluşur. Phe329, His438 ve Trp82 ile ilaç arasında π -alkil etkileşimi oluşur. Yine aynı şekilde His438 ve Trp82 ile aromatik halkalar arasında π - π etkileşimi meydana gelir.



Şekil 5.40. Donepezil'in BChE proteini ile a) 3D ve b) 2D etkileşimi



6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Enzim çalışmalarında, inhibitör olarak kullanılan sülfonamid yapılı inhibitörlerin IC_{50} ve K_i değerleri hesaplanmıştır. Bulunan sonuçlar üzerinden inhibitörlerin Asetilkolinesteraz ve Bütirilkolinesteraz enzimleri üzerine olan inhibisyon türleri belirlenmiştir. IC_{50} ve K_i değerleri enzim ile inhibitör arasında nasıl bir etkileşim olduğu ile ilgili bilgi vermektedir. IC_{50} değerleri ne kadar düşükse ve K_i değeri ne kadar büyükse enzimin düşük inhibitör derişimlerinde de inhibisyona uğradığı anlamına gelir. Özellikle nM ve daha düşük IC_{50} değerlerine sahip bileşikler oldukça iyi inhibitörler olarak değerlendirilebilirler. Yine bu değerlerin standart madde olan Donepezil ile kıyaslanması inhibitör bileşiklerin ilaç etken maddesi olabilme potansiyellerinin yüksek olduğu anlamına gelecektir. Aynı zamanda K_i değerleri ne kadar büyük ise enzim inhibitör ile o kadar güçlü bağlanıyor anlamına gelmektedir. IC_{50} ve K_i elde edilen sonuçlara göre, sentezlenen inhibitörlerin hepsi Asetilkolinesteraz ve Bütirilkolinesteraz enzimlerine karşı iyi bir inhibisyon etki gösterdiği belirlenmiştir. Sonuçlara bakıldığında AChE enzimine karşı en iyi inhibisyon etki gösteren L8 inhibitörünün ($IC_{50}=3,16\pm0,45nM$) ve BChE enzimi üzerine ise en iyi etki gösteren L10 inhibitörünün ($IC_{50}=1,85\pm1,04nM$) olduğu görülmüştür. Buradan bu inhibitörün asetilkolinesteraz enzimine karşı daha duyarlı olduğu görülmüştür. Bu bileşiklerin IC_{50} değerleri standart madde olan Donepezil için sırasıyla Asetilkoliesteraz ve Bütirilkolinesteraz için $3,78\pm0,11 nM$ ve $4,12\pm0,18 nM$ olarak bulunmuştur. Bizim inhibitörlerimizden sırasıyla Asetilkoliesteraz ve Bütirilkolinesteraz için L8 inhibitörü ($3,16\pm0,45nM$) ve L10 inhibitörü ($1,85\pm1,04nM$) için bulunan sonuçların standart madde olan Donepezilden daha iyi olduğu söylenebilir. Bu inhibitörler arasında en az inhibisyon etkisi gösteren bileşikler AChE için L1 ($22,23\pm1,00$) ve BChE enzimi için ise L8 ($23,9\pm0,50$) inhibitörünün olduğu görülmüştür.

Inhibitör bileşiklerin IC_{50} ve K_i değerlerini karşılaştırmak için bileşikleri kendi içinde gruplandırmak anlamlı olacaktır. Toplam 12 adet inhibitör kendi içinde sınıflandırıldığında sülfö temelli 4 ilaç etken maddesi olan Sülfametoksazol, Sülfizoksazol, Sülfametazin ve Sülfapiridin gibi sülfonamid grubu içeren bileşikler ile 9-antrasenkarboksialdehit, 4-metoksisinamaldehit, 2-hidroksi-5-metoksibenzaldehit gibi aromatik aldehitler kullanılması sonunda inhibitör bileşikler elde edilmiştir. Öncelikle sülfometoksazol sabit kalmak üzere aldehitler değiştirildiğinde elde edilen IC_{50} değerleri dikkate alındığında en iyi sonuç L2 inhibitörü için $9,01\pm0,98 nM$. Yine K_i değerleri dikkate alındığında ise en iyi

sonuç L1 inhibitörü için $12,91 \pm 0,46$ nM olarak bulunmuştur. Bu iki değer kıyaslandığında K_i değerinin daha etkin olduğu dikkate alınır. 9-antrasenkarboksialdehitin kullanıldığı sülfonamit bileşiğinin en etkili olduğu söylenebilir. Ancak K_i değerleri için bulunan standart sapma değerleri büyük olması IC_{50} değerine göre değerlendirmenin daha doğru olacağı söylenebilir. Yani 4-metoksisinamaldehitin kullanıldığı bileşiğin inhibitör olarak daha etkin olduğu söylenebilir. İkinci seri olan L4, L5 ve L6 bileşiklerinden Sülfizoksazol sabit kalmak üzere aldehitler değiştirildiğinde elde edilen IC_{50} değerleri dikkate alındığında en iyi sonuç L4 inhibitörü için $9,60 \pm 0,62$ nM. Yine K_i değerleri dikkate alındığında ise en iyi sonuç L5 inhibitörü için $4,49 \pm 1,51$ olarak bulunmuştur. Aynı zamanda her üç bileşik içinde K_i değerleri oldukça birbirine yakındır. K_i değerleri için bulunan standart sapma değerlerinin istenenden yüksek olması IC_{50} değerlerinin dikkate alınmasında daha doğru olacağını göstermektedir. Yani 4-antrasenkarboksialdehitin kullanıldığı bileşiğin inhibitör olarak daha etkin olduğu söylenebilir. Üçüncü seri olarak L7, L8 ve L9 bileşiklerinden Sülfametazin sabit kalmak üzere aldehitler değiştirildiğinde elde edilen IC_{50} değerleri dikkate alındığında en iyi sonuç L8 inhibitörü için $3,16 \pm 0,45$ nM. Yine K_i değerleri dikkate alındığında ise en iyi sonuç L7 inhibitörü için $9,31 \pm 1,97$ nM olarak bulunmuştur. Yine K_i değerleri için bulunan standart sapma değerlerinin istenenden yüksek olması IC_{50} değerlerinin dikkate alınmasında daha doğru olacağını göstermektedir. Yani 4-metoksisinamaldehitin kullanıldığı bileşiğin inhibitör olarak daha etkin olduğu söylenebilir. Tüm serinin son üç bileşiği olan L10, L11 ve L12 bileşiklerinden Sülfapiridin sabit kalmak üzere aldehitler değiştirildiğinde elde edilen IC_{50} değerleri dikkate alındığında en iyi sonuç L12 inhibitörü için $12,98 \pm 0,11$ nM. Yine K_i değerleri dikkate alındığında ise en iyi sonuç L10 inhibitörü için $8,95 \pm 0,79$ nM olarak bulunmuştur. Yine K_i değerleri için bulunan standart sapma değerlerinin istenenden yüksek olması IC_{50} değerlerinin dikkate alınmasında daha doğru olacağını göstermektedir. Yani 2-hidroksi-5-metoksibenzaldehit kullanıldığı bileşiğin inhibitör olarak daha etkin olduğu söylenebilir.

Çizelge 5 ve 6 da verilen veriler üç paralelli yapılmış sonucu olup, bu veriler üzerinden inhibitörlerin standart sapma değerleri hesaplanmıştır. Deneyler sonucunda elde edilen verilerin anlamlı olduğunu belirlemek için R^2 değerleri oldukça önemlidir. Sentezlenen inhibitörlerden R^2 değerlerinin genel olarak 0,95 üzerinde olduğu belirlenmiştir. Buda elde edilen sonuçların güvenilir olduğu söylenebilir.

İnhibitör bileşiklerin asetilkoliesteraz enzimi üzerine olan inhibisyon türleri incelendiğinde L8 inhibitörü yarışmalı mekanizma üzerinden yürürken diğer inhibitör maddelerin tamamı yarı yarışmalı mekanizma üzerinde yürümektedir. Aynı şekilde İnhibitör bileşiklerin bütirilkoliesteraz enzimi üzerine olan inhibisyon türleri incelendiğinde tüm inhibitör maddelerin tamamının yarı yarışmalı mekanizma üzerinde yürüdüğü görülmektedir. Aynı zamanda Donepezil standart maddesi için her iki enzim üzerine yarışmasız mekanizma üzerinden etki ettiği görülmektedir. Yarı yarışmalı inhibisyon türünde inhibitörün enzime aktif merkezin dışında bir başka bölgeden ve aynı zamanda ES kompleksi üzerinden bağlandığı, yarışmalı inhibisyonda ise yine aktif merkez üzerinden sadece serbest enzime bağlanacağı bilinmektedir. Bulunan sonuçlar İnhibitor bileşiklerin biri hariç tamamının enzim aktif merkezi dışından bir bölgeden bağlandığını 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.

Sentezlenen inhibitörler Gram-pozitif (*S. aureus* ATCC 29213, *S. epidermidis* ATCC 35984), Gram-negatif (*E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 22853) bakteriler ve mantar (*C. albicans* ATCC 1023, *C. parapsilosis* ATCC 22019 ve *C. auris* B11908) suşlarına karşı antimikrobiyal aktivite tayini yapılmıştır. Sonuçlar Çizelge 7 ve 8’de ve şekiller olarak 4.75 ile 4.86 arasında araştırma sonuçları kısmında verilmiştir. Referans ilaç olarak bakteriler için Sülfametoksazol ve Sülfizoksazol, mantarlar için ise Flukonazol kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite deneyi, sentezlenen inhibitörlerin test edilen mikroorganizmalara karşı 2,5 ile 0,125 mg/mL arasında değerlerde bakteriyostatik ve fungistatik aktivite (MİK) gösterdi. Candida türlerine karşı ise 0,625 ile 0,078 mg/mL arasında antifungal aktivite saptandı. Bakteri sonuçları incelendiğinde en iyi sonuç veren L9 inhibitörünün (0,125 mg/mL) *S. aureus* ATCC 29213 a karşı en düşük etki gösterdiği görülmüştür. Genel olarak incelendiğinde referans ilaçlara göre *E. coli* ATCC 25922 bakterisi için L3 inhibitörünün (0,312 mg/mL), *P. aeruginosa* ATCC 22853 bakterisi için L1 inhibitörünün (0,156 mg/mL), *S. aureus* ATCC 29213 L9 inhibitörünün (0,125 mg/mL), *S. epidermidis* ATCC 35984 bakterisi için ise bir çok inhibitörün L2, L4, L6, L9, L10, L11, L12 (0,312 mg/mL) iyi sonuçlar verdiği görülmüştür. Antifungal aktivite sonuçlarına bakıldığında ise *C. albicans* ATCC 1023 suşlarına karşı L3 inhibitörünün (0,156 mg/mL),

C. parapsilosis ATCC 22019 suşlarına karşı L4 inhibitörünün (0,08 mg/mL), *C. auris* B11908 suşlarına karşı ise en iyi sonuç verenin L3 inhibitörü olduğu görülmüştür. Sonuçlar referans ilaç olan Flukonazol ile karşılaştırıldığında en iyi sonuç verenin *C. auris* B11908'e karşı L3 inhibitörü olduğu sonucuna varılmıştır.

Tüm bakteri ve mantara karşı antimikrobiyal aktivite sonuçlarına bakıldığında inhibitörlerin en iyi bakterilerde *S. aureus*'a, mantarlarda ise *C. auris*'a karşı en etkili sonuç verdiği görülmüştür.

Sentezlenen 12 adet inhibitörün antikanser çalışmaları için MCF-7 meme kanser, SH-SY5Y nöroblastoma ve Caco-2 kolon kanser hücre hatları kullanılmıştır. Sonuç olarak, pozitif kontrol olan Doxorubicin ile karşılaştırıldığında 15 adet bileşiğin sitotoksik etkiye sahip olduğu saptandı. Hem Doxorubicin hem de 15 adet bileşiğin anti-proliferatif etkileri değerlendirildiğinde 24, 48 ve 72.saatlerde hücrelerin canlılık oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi. Bileşiklerden sadece S1M'in sitotoksik etkisinin 10 μM 'den itibaren başladığı, diğer 8 adet bileşiğin (S2M, SMZ, L7, L8, L9, L1, L2 ve L3) ise sitotoksik etkilerinin 1 μM 'den itibaren başladığı saptandı. L5 ve L6 bileşiklerinin sitotoksik etkileri, diğer bileşiklerden farklı olarak 0,1 μM 'den itibaren başlamaktadır. L10, L11, L12 ve L3 inhibitörlerinin sitotoksik etkileri, MCF-7 ve SH-SY5Y hücrelerinde 0,1 μM 'den, Caco-2 hücrelerinde ise 1 μM 'den itibaren görülmektedir.

Inhibitörlerin teorik çalışma sonuçlarına bakıldığında L9 inhibitörünün enerji farkının (ΔE) küçük olduğu için kinetik kararlılığı düşük, lakin kimyasal reaktivitesi yüksektir. O yüzden *S. aureus* bakterisine karşı aktifliği yüksektir ancak diğer bakterilere karşıda standart ilaçlar kadar yada daha aktif göstermiştir. Ayrıca L9 inhibitörü en düşük enerji farkına sahip olsada, L4, L7 ve L10 inhibitörleri de iyi sonuçlar vermiştir.

Moleküler kenetlenme (docking) sonuçlarını kıyasladığımızda standart ilaç olan Donepezil ile karşılaştırdığımızda bizim ligandlar donepezilden daha iyi sonuç vermiştir. En iyi sonuç veren ligandlar AChE ve BChE için L1, L4, L7 ve L10'dur.

Tüm yapılan çalışmalar sonucunda yaptığımız enzim ve biyolojik aktivite çalışmaları teorik çalışmalarla bir-birini desteklemektedir. En iyi sonuç veren inhibitörlerin molekül yapısını incelediğimizde 9-antrasenkarboksialdehite sahip inhibitörler (L1, L4, L7 ve L10) olduğu

görülmüştür. Bu da antrasen halkasında ki konjuge çift bağlar sonucu oluşan elektron yoğunluğundan kaynaklandığı düşünülmektedir (Zhao ve diğerleri, 2017, Beckford ve diğerleri, 2016).





KAYNAKLAR

- Aben, O., Bhattacharyya, J. (2021). Sulfonamide drugs: structure, antibacterial property, toxicity, and biophysical interactions. *Biophysical Reviews*, 13, 259–272.
- Ahmad, F. B., Anderson, R. N. (2021). The leading causes of death in the US for 2020. *JAMA*, 325(18), 1829–1830.
- 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 α -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.
- Ali, A. A., Khan, D., Naqvi, A., Al-blewi, F. F., Rezki, N., Aouad, M. R. and Hagar, M. (2021). Design, synthesis, molecular modeling, anticancer studies, and density functional theory calculations of 4 (1,2,4-Triazol-3-ylsulfanylmethyl)-1,2,3-triazole derivatives. *ACS Omega*, 6, 301–316.
- Ali, M. R., Sadoqi, M., Møller, S. G. and Boutajangout, A., Mezei, M. (2017). Assessing the binding of cholinesterase inhibitors by docking and molecular dynamics studies. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 76, 36-42.
- Alyar, S., Alyar, H., Özdemir Özmen, Ü., Aktaş, O. and Erdem, K. (2023). Biochemical properties of Schiff base derived from FDA-approved sulfa drugs: Synthesis, ADME/molecular docking studies, and anticancer activity. *Journal of Molecular Structure*, 1293, 136167.
- Alyar, S., Özmen, Ü. Ö., Adem, Ş., Alyar, H., Bilen, E. and Kaya, K. (2021). Synthesis, spectroscopic characterizations, carbonic anhydrase II inhibitory activity, anticancer activity, and docking studies of new Schiff bases of sulfa drugs. *Journal of Molecular Structure*, 1223, 128911.
- Alyar, S., Şen, T., Özdemir, Ü. Ö., Alyar, H., Adem, Ş. and Şen, C. (2019). Synthesis, spectroscopic characterizations, enzyme inhibition, molecular docking study, and DFT calculations of new Schiff bases of sulfa drugs. *Journal of Molecular Structure*, 185, 416-424.
- Aydemir, I. (2021). *The inhibition effect of curcumin on MCF-7 breast cancer cells*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 112-122.
- Aydemir, İ. (2021). The inhibition effect of curcumin on MCF-7 breast cancer cells via GSK-3 β and VEGF signals. *Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(2), 337-342.
- Ball, G. F. (2005). *Vitamins in foods: Analysis, bioavailability, and stability*. New York: CRC Press, 22-36.

- Bartus, R. T., Dean, R. L., Beer, B. and Lippa, A. S. (1982). The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science*, 217(4558), 408-414.
- Baykan, A. Z. (2019). *Dikarboksisulfonamid türevlerinin sentezi ve karbonik anhidraz (HCA1 ve HCA2) enzimleri üzerine etkisinin incelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ağrı, 98-103.
- Beckford, F. A., Brock, A., Gonzalez-Sarrias, A. and Seeram, N. P. (2016). Cytotoxic gallium complexes containing thiosemicarbazones derived from 9-anthraldehyde: Molecular docking with biomolecules. *Journal of Molecular Structure*, 1121, 156-166.
- Bennett, T. P., Frieden, E. (1969). *Modern topics in biochemistry*. New York: Macmillan, 45-52.
- Bilen, E. (2019). *Alzheimer tedavisinde etkili olan kolinesteraz sınıfı enzimlerin inhibisyonunun sülfonil hidrazon bileşikleri ile incelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 65-66.
- Bilginer, S., Bardaweel, S. K., Demir, Y., Gulcin, I. and Kazaz, C. (2022). Synthesis, cytotoxicities, and carbonic anhydrase inhibition activities of pyrazoline-benzenesulfonamide derivatives harboring phenol/polyphenol moieties. *Medicinal Chemistry Research*, 31(6), 925-935.
- Binici, E. E., Akıncioğlu, H. and Kılınç, N. (2023). Indole-3-carbinol (I3C): Inhibition effect on monoamine oxidase A (MAO-A), monoamine oxidase B (MAO-B) and cholinesterase enzymes, antioxidant capacity and molecular docking study. *ChemistrySelect*, 8(33), e202301727.
- Borenstein, A. R., Copenhaver, C. I. and Mortimer, J. A. (2006). Early-life risk factors for Alzheimer disease. *Alzheimer Disease & Associated Disorders*, 20(1), 63-72.
- Bouchoucha, A., Zaater, S., Bouacida, S., Merazig, H. and Djabbar, S. (2018). Synthesis and characterization of new complexes of nickel (II), palladium (II) and platinum (II) with derived sulfonamide ligand: Structure, DFT study, antibacterial and cytotoxicity activities. *Journal of Molecular Structure*, 1161, 345-355.
- Bourouai, M. A., Si Larbi, K., Bouchoucha, A., Terrachet-Bouaziz, S. and Djebbar, S. (2023). New Ni(II) and Pd(II) complexes bearing derived sulfa drug ligands: Synthesis, characterization, DFT calculations, and in silico and in vitro biological activity studies. *Biometals: An International Journal on the Role of Metal Ions in Biology, Biochemistry, and Medicine*, 36(1), 78-83.
- Celebioglu, H. U., Erden, Y., Hamurcu, F., Taslimi, P., Şentürk, O. S., Özmen, Ü. Ö. and Gulçin, İ. (2020). Cytotoxic effects, carbonic anhydrase isoenzymes, α -glycosidase and acetylcholinesterase inhibitory properties, and molecular docking studies of heteroatom-containing sulfonyl hydrazone derivatives. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1-12.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2008). *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: Approved standard* (3rd ed.). Document M27-A3. Wayne, PA: CLSI, 45-53.

- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2009). *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved standard* (8th ed.). Document M7-A8. Wayne, PA: CLSI, 65-73.
- Droy, B. F., Goodrich, M. S., Lech, J. J. and Kleinow, K. M. (1990). Bioavailability, disposition and pharmacokinetics of ¹⁴C-ormetoprim in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Xenobiotica*, 20(2), 147-157.
- 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.
- Gornowicz, A., Szymanowska, A., Mojzych, M., Czarnomysy, R., Bielawski, K. and Bielawska, A. (2021). The anticancer action of a novel 1,2,4-triazine sulfonamide derivative in colon cancer cells. *Molecules*, 26(7), 2045.
- Govindaraj, V., Ramanathan, S., Rajendran, N., Ragu, N., Balachandaran, S. and Elanchleiyar, A. (2021). Synthesis, spectral characterisation and cytotoxic evaluation of substituted sulfonamide Schiff bases. *Indian Journal of Science and Technology*, 14(34), 2731-2741.
- Hardy, J. A., Higgins, G. A. (1992). Alzheimer's disease: The amyloid cascade hypothesis. *Science*, 256(5054), 184-185.
- Horton, H. R., Moran, L. A., Scrimgeour, K. G., Perry, M. D. and Rawn, D. (2006). Properties of enzymes. In G. Carlson (Ed.), *Principles of biochemistry* (4th ed.). New York: Pearson Education Inc, 129-147.
- Huang, S. Y., Zou, X. (2010). Advances and challenges in protein-ligand docking. *International Journal of Molecular Sciences*, 11, 3016–3034.
- Jegannathan, R. K., Nielsen, H. P. (2013). Environmental assessment of enzyme use in industrial production: A literature review. *Journal of Cleaner Production*, 42, 228-240.
- Katz, A., Caufield, C. (2003). Structure-based design approaches to cell wall biosynthesis inhibitors. *Current Pharmaceutical Design*, 9(11), 857-866.
- Keha, E., Küvrevioğlu, Ö. İ. (2009). *Biyokimya*. Ankara: Aktif Yayınları, 75-83.
- Kolaczek, A., Fusiarz, I., Lawecka, J. and Branowska, D. (2014). Biological activity and synthesis of sulfonamide derivatives: A brief review. *Chemik*, 68(7), 620-628.
- Lambracht-Washington, D. and Rosenberg, R. N. (2013). Advances in the development of vaccines for Alzheimer's disease. *Discovery Medicine*, 15(84), 319–326.
- Larik, F. A., Shah, M. S., Saeed, A., Shah, H. S., Channar, P. A., Bolte, M. and Iqbal, J. (2018). New cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease: Structure-activity relationship, kinetics and molecular docking studies of 1-butanoyl-3-arylthiourea derivatives. *International Journal of Biological Macromolecules*, 116, 144-150.

- Lavanya, R. (2017). Sulphonamides: A pharmaceutical review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Inventions*, 6(2), 1-3.
- Lopez-Vallejo, F., Caulfield, T., Martínez-Mayorga, K., Giulianotti, M. A., Houghten, R. A., Nefzi, A. and Medina-Franco, J. L. (2011). Integrating virtual screening and combinatorial chemistry for accelerated drug discovery. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 14, 475–487.
- Marzano, I. M., Franco, M. S., Silva, P. P., Augusti, R., Santos, G. C., Fernandes, N. G. and Pereira-Maia, E. C. (2013). Crystal structure, antibacterial and cytotoxic activities of a new complex of bismuth(III) with sulfapyridine. *Molecules*, 18(2), 1464.
- Mumit, M. A., Pal, T. K., Alam, M. A., Islam, M. A.-A.-A.-A., Paul, S. and Sheikh, M. C. (2020). DFT studies on vibrational and electronic spectra, HOMO–LUMO, MEP, HOMA, NBO and molecular docking analysis of benzyl-3-N-(2,4,5-trimethoxyphenylmethylene)hydrazinecarbodithioate. *Journal of Molecular Structure*, 1210, 128715.
- Özata, A., Kutlu, M. (2000). *Enzimoloji ders notları*. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi, 85-93.
- Özbek, N., Alyar, S., Mamaş, S., Ertan, Ş. and Karacan, N. (2012). Synthesis crystal structure antibacterial activities and electrochemical studies of new N,N' polymethylene bis sulfonamides. *Journal of Molecular Structure*, 1010(0), 1-7.
- Özdemir Özmen, U., Tuzun, B., Ayan, E. B. and Cevrimli, B. S. (2023). Eco-friendly and potential cholinesterase enzyme inhibitor agent sulfonyl hydrazone series: Synthesis, bioactivity screening, DFT, ADME properties, and molecular docking study. *Journal of Molecular Structure*, 1286, 135514.
- Özdemir, Ü. O., Özbek, N., Genc, Z. K., İlbiz, F. and Gündüzalp, A. B. (2017). New bioactive silver(I) complexes: Synthesis, characterization, anticancer, antibacterial and antiepileptic anhydrase II activities. *Journal of Molecular Structure*, 1138, 55-63.
- Robinson, P. K. (2015). Enzymes: principles and biotechnological applications. *Essays in Biochemistry*, 59, 1–41.
- Roskoski, R. (2015). *Michaelis-Menten kinetics*. New York: Elsevier, 45-52.
- Sano, M. (1997). Update on treatment of cognitive symptoms in dementia. In *Dementia Update*. American Academy of Neurology 49th Annual Meeting, Boston: American Academy of Neurology Press, 65-93.
- Shntaif, A. H., Khan, S., Tapadiya, G., Chettupalli, A., Saboo, S., Shaikh, M. S., ... & Amara, R. (2021). Rational drug design, synthesis, and biological evaluation of novel N-(2-arylamino-phenyl)-2,3-diphenylquinoxaline-6-sulfonamides as potential antimalarial, antifungal, and antibacterial agents. *Digital Chinese Medicine*, 4(4), 290-304.
- 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.

- Sumrra, S. H., Hassan, A. U., Zafar, M. N., Shafqat, S. S., Mustafa, G., Zafar, M. N. and Imran, M. (2022). Metal incorporated sulfonamides as promising multidrug targets: Combined enzyme inhibitory, antimicrobial, antioxidant and theoretical exploration. *Journal of Molecular Structure*, 1250, 131710.
- Taha, M., Alshamrani, F. J., Rahim, F., Anouar, E. H., Uddin, N., Chigurupati, S., ... & Khan, K. M. (2021). Synthesis, characterization, biological evaluation, and kinetic study of indole base sulfonamide derivatives as acetylcholinesterase inhibitors in search of potent anti-Alzheimer agent. *Journal of King Saud University - Science*, 33(3), 101401.
- Tan, S., Evans, R. and Singh, B. (2006). Herbicidal inhibitors of amino acid biosynthesis and herbicide-tolerant crops. *Amino Acids*, 30(2), 195-204.
- Tokem, Y. (2022). Kanser hastalarının bakım gereksinimleri. *İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*, 7.
- Tüzün, C. (2005). *Biyokimya*. İstanbul: Palme Yayıncılık, 17-33.
- Uzun, D., Balaban Güzdüzalp, A., Parlakgümü, G., Özdemir Özmen, U., Özbek, N. and Aktan, E. (2021). Copper(II) sulfonamide complexes having enzyme inhibition activities on carbonic anhydrase I: Synthesis, characterization and inhibition studies. *Journal of Molecular Structure*, 3, 45-63.
- Yorulmaz, N., Öztürk, H. and Durgun, M. (2022). Evaluation of some sulfonamide derivatives as potential inhibitors of the carbonic anhydrase IX/XII by ADME and molecular docking method. *Adıyaman University Journal of Science*, 12(1), 88-105.
- Zhao, Y., Yan, L., Murtaza, I., Liang, X., Meng, H. and Huang, W. (2017). A thermally stable anthracene derivative for application in organic thin film transistors. *Organic Electronics*, 43, 105-111.





Gazili olmak ayrıcalıktır...