

**TC.
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI İLAÇ ETKEN MADDELERİNİN LİPAZ
ENZİMİ ÜZERİNE İNHİBİSYON ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Öğrencinin Adı SOYADI : Doğan Can AKTAŞ

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 23/09/2021

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA

Tez Danışmanı : Bahar BİLGİN SÖKMEN

Eylül 2021

GİRESUN

**T.C.
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI İLAÇ ETKEN MADDELERİNİN LİPAZ
ENZİMİ ÜZERİNE İNHİBİSYON ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Doğan Can AKTAŞ

Enstitü Anabilim Dalı : Fen Bilimleri Enstitüsü

Bu tez 06.09.2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

**Prof. Dr.
Nurhan
GÜMRÜKÇÜOĞLU
Jüri Başkanı**

**Prof. Dr.
Bahar BİLGİN
SÖKMEN
Üye**

**Prof.Dr.
Hakan BEKTAŞ
Üye**

**Doç. Dr.
Bahadır KOZ
Enstitü Müdürü**

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Doğın Can AKTAŞ

23/09/2021

TEŐEKKÖR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca, tez çalışmalarımın yürütölmesi ve değeriendirilmesinde yardım ve desteğini hiç esirgemeyen çok değerieli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Bahar BİLGİN SÖKMEN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, her zaman yanımda olan ve bugünlere gelmemi sağlayan aileme ve desteklerinden dolayı eşim Dilem ŞEN AKTAŞ'a teşekkürlerimi sunarım.

Giresun Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyon Başkanlığına (Proje No: FEN-BAP-A- 150219-18) teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ	VII
TABLolar LİSTESİ	IX
BÖLÜM 1. GİRİŞ	1
1.1. Enzimler	1
1.2. Enzimlerin Genel Özellikleri.....	2
1.3. Enzimlerin Yapısı.....	3
1.4. Enzimlerin Aktivitesi.....	5
1.4.1. Enzim Derişimi	5
1.4.2. Substrat Derişimi.....	6
1.4.3. pH Değişimi ve Sıcaklık	6
1.4.4. İnhibitör Etkisi	7
1.4.5. Reaksiyon Ürünü.....	8
1.4.6. Zaman.....	8
1.5. Enzim Aktivite Birimleri	8
1.6. Enzimlerin Sınıflandırılması.....	9
1.7. Enzim İnhibisyonu.....	11
1.7.1. Dönüşümlü İnhibisyon	11
1.7.1.1.Yarışmalı (Kompetitif) İnhibisyon.....	11
1.7.1.2.Yarışmasız (Nonkompetitif) İnhibisyon	13
1.7.1.3.Yarı Yarışmalı (Unkompetitif) İnhibisyon.....	14
1.7.3. Dönüşümsüz İnhibisyon	14
1.8. Lipaz Enzimi.....	15
1.8.1. Lipaz Enzimi Kullanım Alanları.....	16
1.8.2. Kaynaklarına Göre Lipazlar.....	16
1.8.2.1. Bakteriyel Lipazlar.....	16
1.8.2.2. Fungal Lipazlar	16
1.8.2.3. Bitkisel Lipazlar	17
1.9. İlaç Etken Maddeler.....	18
1.9.1. Chlorzoxazone.....	18
1.9.2. Levodropropizine	18
1.9.3. Etofenamat	19
1.9.4. Tiyokolşikosid.....	20
1.9.5. Ephedrine Hidroklorür	20
1.9.6. Parasetamol	21
1.9.7. Paraoksanaz-I	21
BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	23

BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	25
3.1. Materyal.....	25
3.1.1. Deneylerde Kullanılan Cihazlar.....	25
3.1.2. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	25
3.1.4. İlaç Etken Maddelerin Lipaz İnhibitör Aktivitesinin Tayini	25
BÖLÜM 4. BULGULAR	28
BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ	30
KAYNAKLAR.....	32
EKLER.....	37



SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

kDa	:	Kilo Dalton
μmol	:	Mikromol
μg	:	Mikrogram
μg/mL	:	Mikrogram / Mililitre
μL	:	Mikrolitre
mM	:	Milimolar
mg/mL	:	Miligram/Mililitre
mL	:	Mililitre
M	:	Molar
Nm	:	Nanometre
°C	:	Santigrat Derece
%	:	Yüzde
ATP	:	Adenozin Trifosfat
BHT	:	Bütıl Hidroksitoluen
DNA	:	Deoksiribo Nükleik Asit
FMO	:	Flavin Monooksijenaz
PG	:	Propil Gallat
RAT	:	Reaktif Azot Türleri
ROT	:	Reaktif Oksijen Türleri
UV	:	Ultraviyole

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Enzimatik Reaksiyon [9].....	3
Şekil 1.2. Anahtar-Kilit Modeli [10].....	3
Şekil 1.3. Enzimlerin Birincil, İkincil, Üçüncül ve Dördüncül Yapıları [11, 12].....	4
Şekil 1.4. Enzim ve Substrat Derişiminin Tepkime Hızına Etkisi.....	5
Şekil 1.5. Substrat Miktarının Reaksiyon Hızına Etkisi [15].....	6
Şekil 1.6. Optimum pH ve Sıcaklık.....	7
Şekil 1.7. İnhibitörün Reaksiyon Hızına Etkisi [15].....	7
Şekil 1.8. Yarışmalı İnhibisyon [1].....	12
Şekil 1.9. Yarışmalı İnhibisyonda İnhibitörün Enzime Bağlanması ve Lineweaver Burk Grafiği [21].....	12
Şekil 1.10. Yarışmasız İnhibisyon [1].....	13
Şekil 1.11. Yarışmasız İnhibisyonda İnhibitörün Enzime Bağlanması ve Lineweaver Burk Grafiği.....	13
Şekil 1.12. Yarı Yarışmalı İnhibisyon [1].....	14
Şekil 1.13. Yarı Yarışmalı İnhibisyonda İnhibitörün Enzime Bağlanması ve Lineweaver Burk Grafiği [19].....	14
Şekil 1.14. Lipazların Katalitik Aktivasyonu.....	15
Şekil 1.15. Endüstride Kullanılan Lipazların Biyoçeşitliliği.....	17
Şekil 1.16. Levodropropizine Formülü.....	19
Şekil 1.17.Ephedrine Formülü.....	20
Şekil 1.18. Parasetamol Formülü.....	21

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 3.1. Lipaz İnhibisyon Aktivitesi Tayini	27
Tablo 4.1. İlaç Etken Maddelerin Lipaz Enzimi Üzerindeki % İnhibisyonu ve IC ₅₀ Değerleri.....	29



Bazı İlaç Etken Maddelerinin Lipaz Enzimi Üzerine İnhibisyon Etkisinin İncelenmesi

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, lipaz enzimi aktivitesine bazı ilaç etken maddelerinin inhibitör ve aktivatör etkisinin olup olmadığının incelenmesidir.

Lipazlar (Triaçilgliserol açilhidrolaz; EC 3.1.1.3), triaçilgliserollerin hidrolizini katalizleyerek di- ve monoaçilgliserollere ve gliserole dönüştürme, lipid-su ara yüzeyinde triaçilgliserolleri hidrolizleme, susuz ortamda ise ester bağlarını sentezleme yeteneğine sahiptirler. Lipaz enziminin lipolitik aktivitesinin enzim lipid ara yüzeyinde gerçekleştiği bilinmektedir.

Son yıllarda dünya genelinde ve ülkemizde ciddi bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkan obezite hipertansiyon, şeker hastalığı (Tip II -diabetes mellitus), safra kesesi taşları, solunum fonksiyon bozuklukları ve kanser gibi birçok hastalığın oluşumuna öncü olduğu bilinmektedir. Obezite, beslenme şekli ve egzersize bağlı klasik yöntemlerle tedavi edilmeye çalışılmaktadır. Fakat kaybedilen kilolar bir süre sonra tekrar geri alınmaktadır. Bundan dolayı diyet, hayat tarzı değişiklikleri ile verilen kiloların uzun sürede korunmasına yönelik farmakolojik tedaviler önerilmektedir. Bu sebeple kullanılan orlistat, gastrointestinal lipazları inhibe eder ve yağ asitlerinin ince bağırsaktaki emilimini azaltarak kalın bağırsak yolu ile vücuttan atılımını sağlamaktadır. Bu mekanizma ile beraber pankreatik lipaz inhibitörleri vücutta yağların depolanmasını engelleyerek ve kilo kaybını gerçekleştirmektedir. En önemli lipaz inhibitörleri orlistat ve onun hidrojenlenmiş türevi olan lipstatindir. Yapılan bazı çalışmalarda flavonoid, hesperedin, stilben, kateşin ve terpenoid türevleri gibi doğal kaynaklı bileşenlerin de lipaz inhibitörü olarak kullanılabileceği görülmüştür. Bunun yanında, doğal kaynaklı lipaz inhibitörlerinin hızlıca taranması amacıyla kromatografik tekniklerle birleştirilmiş biyootografik yöntemler, çok sayıda bileşenden oluşmuş doğal kaynaklı ekstraktların her bir bileşeni için pankreatik lipaz aktivitesini kalitatif olarak gösterebilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Lipaz Enzimi, Enzim İnhibisyonu, İnhibitör

Investigation of Inhibition Effects of Some Pharmaceutical Substances on Lipase Enzyme

SUMMARY

The aim of this study is to examine whether some drug active ingredients have inhibitory and activator effects on lipase enzyme activity.

Lipases (Triacylglycerol acylhydrolase; EC 3.1.1.3) are capable of converting to di- and monoacylglycerols and glycerol by catalyzing the hydrolysis of triacylglycerols, hydrolyzing triacylglycerols at the lipid-water interface, and synthesizing ester bonds in anhydrous medium. It is known that the lipolytic activity of the lipase enzyme takes place at the enzyme lipid interface.

It is known that obesity, which has been a serious health problem throughout the world and in our country in recent years, is a pioneer in the formation of many diseases such as hypertension, diabetes (Type II-diabetes mellitus), gallstones, respiratory dysfunction and cancer. Obesity is tried to be treated with classical methods depending on diet and exercise. However, the lost weight is regained after a while. Therefore, pharmacological treatments are recommended for long-term preservation of weight loss with diet, lifestyle changes. For this reason, orlistat used inhibits gastrointestinal lipases and reduces the absorption of fatty acids in the small intestine and ensures their excretion from the body through the large intestine. Along with this mechanism, pancreatic lipase inhibitors prevent the storage of fat in the body and cause weight loss. The most important lipase inhibitors are orlistat and its hydrogenated derivative, lipstatin. In some studies, it has been observed that naturally sourced ingredients such as flavonoid, hesperedin, stilben, catechin and terpenoid derivatives can also be used as lipase inhibitors. In addition, bioautographic methods combined with chromatographic techniques to quickly screen naturally sourced lipase inhibitors can qualitatively show pancreatic lipase activity for each component of naturally sourced extracts composed of multiple components.

Keywords: Lipase Enzyme, Enzyme Inhibition, Inhibitor

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Canlılığın devam ettirilebilmesinde önemli katalizörler olan enzimler oldukça önemlidir [1]. Proteinlerin özelleşmiş grubu olan aynı zamanda katalizör görevi gören enzimler, yan ürün oluşturmada organizmada reaksiyonları hızlandırır [2].

Hücrelerde bulunan kimyasal olayların hepsi neredeyse enzimler yoluyla gerçekleşir. Eğer hücre içerisinde enzim bulunmuyorsa tepkimenin kendiliğinden gerçekleşmesi oldukça zordur [3]. Enzimler aynı zamanda hücresel fonksiyonların gerçekleşmesini sağlar. Enerji dönüşümü, hücrelerin yenilenmesi ve çoğalması, besin-enerjinin çevreden alınması gibi [4].

Kendilerine özgü üç boyutlu yapıya sahip olan enzimler, protein sınıfının en büyük yapısıdır. Aminoasitlerden ve peptit zincirlerinden oluşurlar [3, 4]. Molekülleri bağlayan aynı zamanda katalitik etki gösteren bölgelerine substrat denir [4]. Enzim aktivitesini etkileyen diğer etkenler ise inhibitörler, sıcaklık, substrat konsantrasyonu ve pH'dır [5].

Enzim aktivitesinin, hızını azaltan ya da tamamen durmasına sebep olan maddelerde vardır. Bunlara inhibitör denir. İnhibitör etkisi ile enzim aktivitesindeki azalmaya ise inhibisyon denir [4]. Farmasötik alandaki araştırmaların önemli kısmını enzim inhibisyonu oluşturmaktadır. Böylece çokça hastalığın tedavisinde kullanılabilen ilaçlar ortaya çıkmıştır [6].

1.1. Enzimler

Enzimler üzerine yapılan çalışmalar ve araştırmalar biyokimya tarihinin büyük bir bölümünü oluşturmaktadır. Louis Pasteur, fermantasyonun enzimlerce yürütüldüğünü 1860 yılında kanıtlamıştır. “Ferment” terimini enzimler için

kullanmıştır. Bu fermentlerin sadece canlı maya hücrelerinde görev yaptığını savunmuştur [3].

Jön Jacob Berzelius, buğday familyasından elde ettiği karışımı nişastayı parçalamak için kullanmıştır. Enzimlerin çok daha hızlı parçalama yaptığını ortaya koymuştur. Birçok alanda kullanılan enzimler insanlar tarafından peynir, bira, ekmek gibi yiyeceklerin yapımında kullanılmaktadır [7,8].

Enzim alanında birçok çalışma yapılmış ancak ilk başarı 1926 yılında James Sumner'e aittir. James Sumner'in çalışması üreaz enziminin saflaştırılması ve kristallendirilmesidir. Bu çalışma ile enzimlerin protein yapıda olduğunu ortaya koymuştur. John Northrop ve Moses Kunitz ise 1930'larda pepsin, tripsin ve diğer sindirim enzimlerini kristallendirmiştir. Böylece enzimlerin protein yapıda olduğunu doğrulamıştır [1].

1.2. Enzimlerin Genel Özellikleri

Birçok yaşamsal faaliyette rol oynayan enzimler seçici protein sınıfını oluşturmaktadır. Enzimler canlılığın devam ettirilebilmesi için çok sayıda biyokimyasal tepkimeyi hızlandıran biyolojik katalizörlerdir. Hiçbir değişikliğe uğramazlar ve hiçbir yan ürün oluşturmada n %100 ürün verimi sağlarlar [3,5].

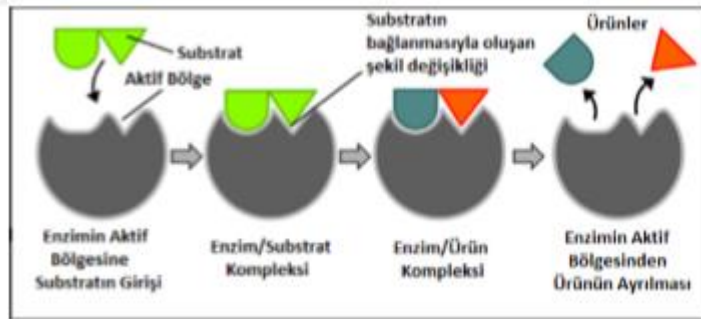
Enzimler çoğunlukla sentetik ve anorganik katalizörlerden büyük, beklenilenden çok daha büyük kataliz gücüne sahiptir [1,5]. Enzimle katalize edilen bir kimyasal tepkimenin hızı, katalize edilmeyen tepkimeye göre 10^3 - 10^{17} kat daha hızlıdır [5].

Enzimler, biyolojik şartlarda canlı hücreler ile sentez edilmektedir. Ancak aktive olabilmeleri için hücre içinde olmaları şart değildir. Enzimlerin temel yapısı peptit zinciri şeklindeki aminoasitlerden oluşmaktadır. Kendilerine özgü üç boyutlu yapıya sahiptir. Birden çok alt birimli yani kuaterner yapıya sahip enzimler de vardır [4].

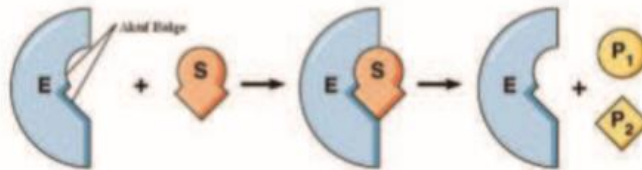
1.3. Enzimlerin Yapısı

Enzimlerde protein kısmı meydana getiren aminoasitlerin dizilişı, sayısı, moleküllerinin konformasyonu düzen içerisinde. Enzimlerin tepkimelere özgü olmasını sağlayan bu düzendir [7].

Enzimlerin tamamı protein yapıdadır. Ribozimler yani katalitik RNA moleküllerinin bir kısmı hariç. Enzimler DNA tarafından şifrelenirler [3]. Enzimlerin kendilerine has üç boyutlu yapıları üzerinde molekülleri bağlayan ve katalitik etkinlik gösteren substrat adı verilen bölgeler vardır. Substratla polipeptit zincirinin elverişli bir şekilde katlanmasıyla enzim yüzeyine yakın bölgede etkinlik gösterebilir. Tepkimenin gerçekleşeceği aktif bölgeye bağlanır. Enzim tepkimelerinde bu etkileşim sonrasında substratlardaki bağlar kırılır ve yapılır. Bundan dolayı enzim kilide, substrat anahtara ve aktif bölge kilit üzerindeki anahtar deliğine benzetilir [4].

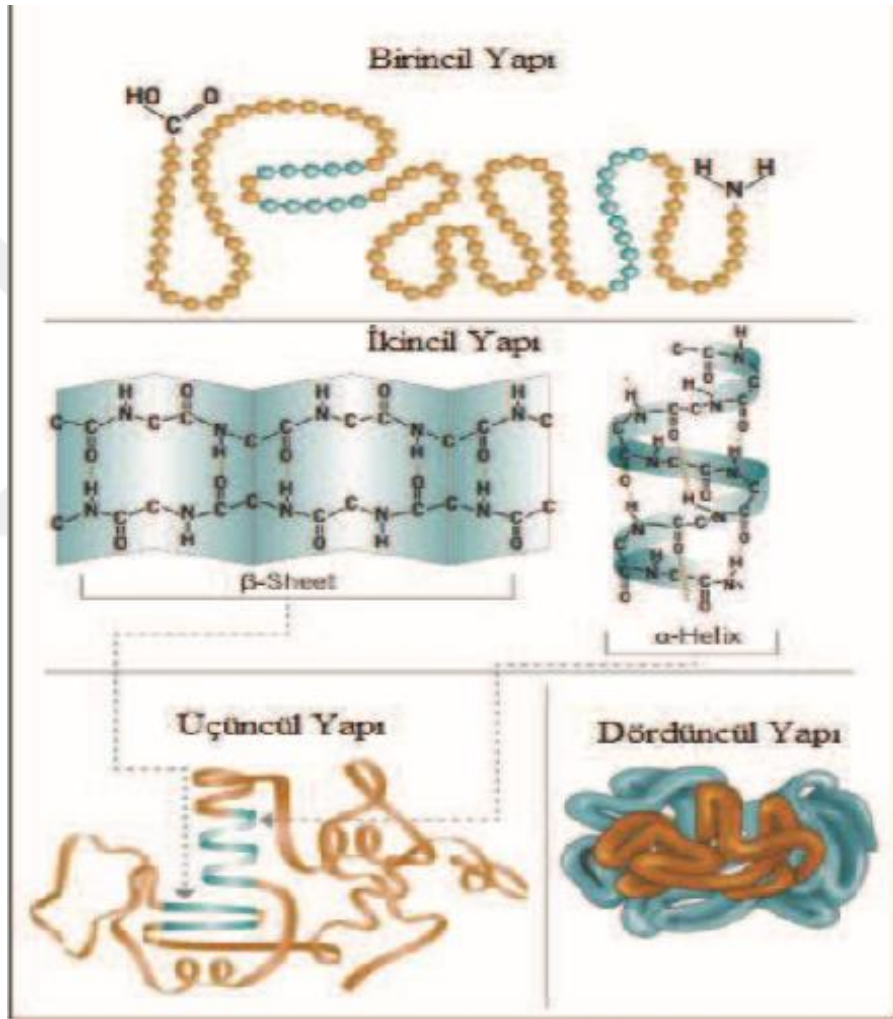


Şekil 1.1. Enzimatik Reaksiyon [9].



Şekil 2.2. Anahtar-Kilit Modeli [10].

Enzimlerin katalitik aktivitelerini protein konformasyonunun bütünlüğü belirlemektedir. Enzimleri denatüre olması ya da alt birimlere ayrışması sonucu bu katalitik aktivite genellikle kaybolmaktadır. Enzimlerin aminoasitlerine parçalanması ile katalitik aktivite kesinlikle kaybolur. Birincil, ikincil, üçüncül, dördüncül enzimlerin katalitik aktiflik temelini oluşturmaktadır [1].



Şekil 3.3. Enzimlerin Birincil, İkincil, Üçüncül ve Dördüncül Yapıları [11,12].

Bazı enzimler aktiflik için protein yapısında olmayan kofaktör adı verilen gruplara ihtiyaç duyarlar [1, 3]. Kofaktör, metal iyonu olabilir. Bunun yanında organik bir kompleks bileşik olan koenzimde olabilir. Kofaktörler ısıya oldukça dayanıklıdır. Ancak enzimler sıcaklıkla denatüre olabilir. Holoenzim ise, katalitik olarak aktif olan

enzim-kofaktör kompleksidir. Bu şekildeki enzimlerin protein kısmına ise apoenzim denilmektedir [3].

1.4. Enzimlerin Aktivitesi

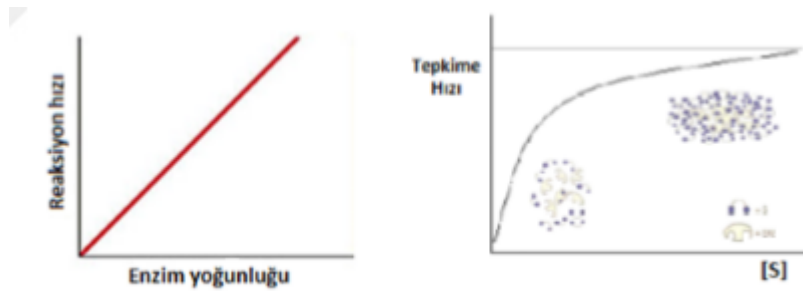
Enzim ile gerçekleşen bir tepkimedeki başlıca faktörler şunlardır:

- Enzim Derişimi
- Substrat Derişimi
- pH
- Sıcaklık
- Zaman
- İnhibitör Etkisi

Bu unsurların enzim tepkimelerine olan tesirleri ile farklı koşullar altında enzim tepkime hızı hesaplanarak bulunabilir.

1.4.1. Enzim Derişimi

Enzimin aktive edebileceği substrat miktarı arttıkça enzimatik tepkimenin hızı da artar. Enzim derişimi de doğru orantılı olarak artar. Yani enzim ne kadar çok ise oluşacak ürün de o kadar çok olacaktır. Enzim molekülünün yapısı bozulana kadar substratı aktive etmeye devam eder (Şekil 1.4) [7].

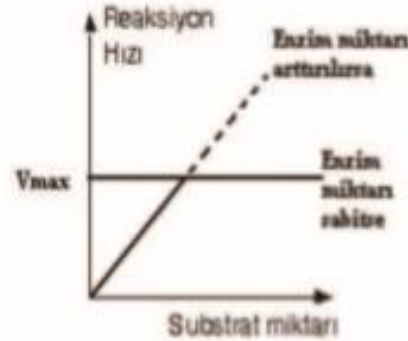


Şekil 4.4. Enzim ve Substrat Derişiminin Tepkime Hızına Etkisi

1.4.2. Substrat Derişimi

Substrat miktarı arttıkça tepkime hızı da artar. Yani düşük substrat derişiminde enzimatik tepkime hızlı gerçekleşirken, yüksek substrat derişiminde hızındaki artış oldukça düşüktür [4].

Bu doğru orantılı artış enzimin substrata doymasına kadar devam eder. Doyma noktasından sonra sustrat derişimi arttırılrsa da tepkime hızı değişmez (şelik 1.4). Bu aşamadan sonra enzim tepkime hızı maksimum hıza (V_{max}) ulaşmaktadır. Enzim moleküllerinin yarısı enzim-substrat kompleksi halindeyken gözlemlenen tepkime hızı, maksimum tepkime hızının yarısı olacaktır. Bu maksimum hızın yarısını veren substrat derişimine *Michaelis-Menten sabiti* (K_m) denmektedir. K_m değeri enzimin substrata olan afinitesini göstermektedir. K_m değeri ile afinite ters orantılı olarak değişim gösterir [7].

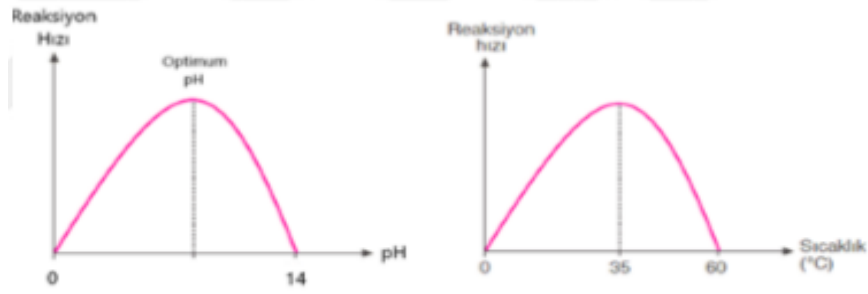


şekil 5.5. Substrat Miktarının Reaksiyon Hızına Etkisi [15].

1.4.3. pH Değişimi ve Sıcaklık

Enzimatik tepkimelerde hız sıcaklık artışı ile bir noktaya kadar ilerler. Bu sıcaklık noktası aşıldıktan sonra proteinler gibi enzimler de denatüre olurlar. Etkilerini kaybederler. Her enzimin aktive gösterdiği belirli bir pH aralığı vardır. Enzimin maksimum aktive gösterdiği pH'a enzimin optimum noktası denir (şekil 1.6).

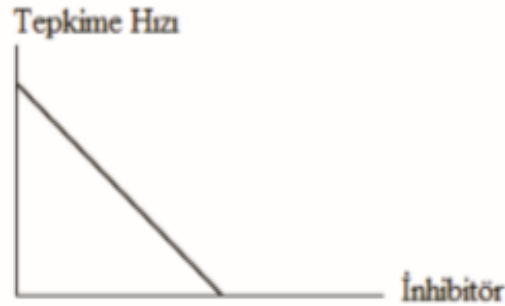
Bitkisel kaynaklı enzimler 50-60 °C’de optimum sıcaklığa ulaşırlar. Hayvansal kaynaklı enzimler ise 40-50 °C arasında optimum sıcaklığa ulaşır [7-13].



Şekil 6.6. Optimum pH ve Sıcaklık

1.4.4. İnhibitör Etkisi

Tepkime hızına olumsuz etki eden maddelere *inhibitör* denmektedir. Tersinir ve tersinmez olarak ikiye ayrılırlar. Enzim aktif noktasına direk bağlanarak aktif bölgeyi bozan veya enzim molekülünün konformasyonunu değiştiren tersinmez inhibitörlerdir. Enzim ile ara bileşik oluşturarak Michaelis-Menten sabitini veya maksimum tepkime hızını azaltıcı etki gösteren tersinir inhibitörlerdir [14].



Şekil 7.7. İnhibitörün Reaksiyon Hızına Etkisi [15].

1.4.5. Reaksiyon Ürünü

Ürün derişiminin kademeli artması ile bir noktadan sonra geriye dönük kontrol mekanizmasıyla tepkimenin durdurulmasına sebep olur. Tepkime hızını düşürücü etki yapar.

1.4.6. Zaman

Enzimatik tepkimelerde hız, zaman ilerledikçe azalmaktadır. Zamanın ilerlemesi tepkime esnasında oluşan maddelerin ters yönde tepkimeye girmesine ve bu şekilde enzimin inaktive olmasına bunu yanında substratın azalmasına ve reaksiyon hızının düşmesine neden olmaktadır [5].

1.5. Enzim Aktivite Birimleri

Enzim aktivitesi sabit sıcaklık ve pH’da, belirli bir zaman aralığında belirli bir miktar substratı ürüne dönüştüren enzim miktarı olarak tanımlanmaktadır. Ürünün oluşma hızının veya substratın tükenme hızının ölçülmesiyle enzim aktivitesi tayin edilebilmektedir. Oluşan ürünün renkli olması ve spektrumun görünür bölgesindeki ışığı absorbe edebilmesi durumunda, ürünün oluşma hızının ölçülmesi daha uygun olmaktadır. Bu amaçla spektrofotometreye yerleştirilen substrat ve enzim karışımının absorbansındaki değişiklikler belli bir dalga boyunda ölçülmektedir [4]. Spektrofotometrik yöntem enzim aktivite tayinlerinde sıklıkla kullanılan bir yöntemdir [12].

Enzim Ünitesi: Optimum koşullarda 25 °C’de 1 mikromol (10^{-6} mol) substratı bir dakikada ürüne dönüştürebilen enzim miktarına bir enzim ünitesi denmektedir. “EU” veya “U” şeklinde gösterilmektedir [3].

Katal: Bir saniyede bir mol substratın ürüne çevrilmesi katal olarak tanımlanmaktadır [3].

Turnover sayısı: Birim zamanda bir mol enzim tarafından ürüne dönüştürülen substratın mol sayısı turnover sayısı olarak tanımlanmaktadır. Enzimin ne kadar hızlı çalışabileceğinin bir göstergesi olarak ifade edilmektedir [3,4].

Özgül (spesifik) aktivite: Mg (miligram) protein başına düşen enzim aktivitesi olarak tanımlanmaktadır. İzole edilen enzimin saflığını kontrolünde kullanılmaktadır.

Dönüşüm sayısı (k_{kat}): Her bir enzim molekülü tarafından ürüne dönüştürülen substrat moleküllerinin sayısı olarak tanımlanmaktadır [4].

1.6. Enzimlerin Sınıflandırılması

Önceden enzimler genel olarak substrat isimlerine, etkinliklerini tanımlayan bir ifadeye “az” eki ilave edilerek isimlendirilmekteydi. İlerleyen zamanlarda keşfedilen enzimlerin sayılarının artması, bazen de iki farklı enzimin isimlerinin aynı olması gibi belirsizlikler ortaya çıkmıştır. Bu nedenlerden dolayı sistematik bir adlandırmaya gerek duyulmuştur [1].

Bu sebeplerden dolayı enzimleri adlandırmak ve sınıflandırmak için; Uluslararası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Birliği (IUBMB)’nin enzim komisyonu tarafından enzimler, katalizledikleri tepkimenin türüne göre 6 ana gruba ayrılmıştır [16].

Örneğin, resmi sistematik adı ATP glukoz fosfotransferaz olan enzimin, enzim komisyon numarası **E.C.2.7.1.1**’dir [1].

Burada;

- 1** : Enzimin bağlı olduğu gruptur. Yani bu enzim bir transferaz grubudur.
- 7** : Alt sınıfı ifade eder. Bu enzim fosfotransferaz’dır.
- 1** : Alt alt grubu ifade eder. Fosfotransferazın alıcı grup olarak hidroksil grubunu kullandığını anlaşılmaktadır.
- 1** : Fosforil grubu alıcısının bir D-glukoz olduğunu göstermektedir [1,3].

Enzimler; oksidoredüktazlar, transferazlar, hidrolazlar, liyazlar, izomerazlar ve ligazlar olmak üzere 6 ana sınıfa ayrılmışlardır.

1-Oksidoredüktazlar: Hidrojen veya oksijen atomlarını ya da elektronları bir substrattan diğerine transfer edilmesini sağlayan enzimlerdir [5]. Bu enzimler iki substrat arasındaki redoks tepkimelerini katalizlemektedir.



Substratlara S ve S' olarak ifade edilirse yukarıdaki tepkime gibi gösterilebilir.

2-Transferazlar: İki substrat arasında hidrojen dışındaki bir atom veya atom grubunun transferini katalize eden enzim grubu olarak ifade edilmektedir [3].



Taşınan grup, G olarak belirtilirse yukarıdaki tepkime yazılabilir.

3-Hidrolazlar: Bu enzimler hidroliz reaksiyonlarını katalizlemektedir [4]. Glikozid, ester, eter, peptit ve anhidrit bağlarına etki etmektedir. Glikozidaz, esteraz, nükleaz, fosfataz, lipaz ve bütün proteolitik enzimlerde bu grup içerisinde yer almaktadır.

4-Liyazlar: Hidrolizden farklı bir mekanizmaya sahiptir. Substratlardan çeşitli grupların uzaklaşmasını ve molekülde çift bağların oluşumunu veya bu çift bağlara grupların katılmasını katalizlemektedirler. Dehidratasyon ve hidratasyon reaksiyonlarını katalizleyen enzimler bu gruptandır.

5-İzomerazlar: Bir molekül içindeki geometrik, optik ya da yapısal izomerlerin birbirlerine dönüşümlerini katalizlemektedir [3,5].

6-Ligazlar: İki molekülün birbirine bağlanması tepkimelerini katalizleyen reaksiyonlardır [3].

1.7. Enzim İnhibisyonu

Enzimlerin bazı bileşikler aracılığı ile hem *in vivo* hem de *in vitro* aktivitelerinin azaltılması ya da aksatılması olayına inhibiyon, bunu gerçekleştiren bileşiklere ise inhibitor adı verilmektedir [2]. Enzim inhibitörleri negative katalizörler olarak da bilinmektedir. Bunlar düşük molekül ağırlığına sahip bileşik veya iyonlar olup oldukça önemli farmasötik maddelerdir [1,3]. Enzim inhibisyonu biyolojik sistemlerde control mekanizması oluşturması açısından çok önemlidir. Çok sayıda Örneğin, HIV hastalığı tedavisi için proteaz inhibitörleri kullanılabilirken, antikanser ilacı olarak topoizomeraaz inhibitörleri geliştirilmektedir. Enzim inhibitörleri dönüşümlü ve dönüşümsüz olarak ikiye ayrılmaktadır [1].

1.7.1. Dönüşümlü İnhibisyon

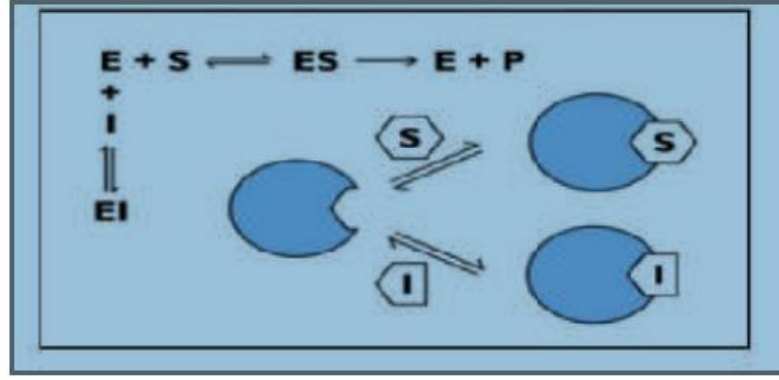
Bu inhibitörler kovalent olmayan bağlarla enzime bağlanmaktadır [4].

Dönüşümlü inhibisyon, yarışmalı (kompetitif), yarışmasız (nonkompetitif) ve yarı yarışmalı (unkompetitif) olarak üçe ayrılmaktadır [3].

1.7.1.1. Yarışmalı (Kompetitif) İnhibisyon

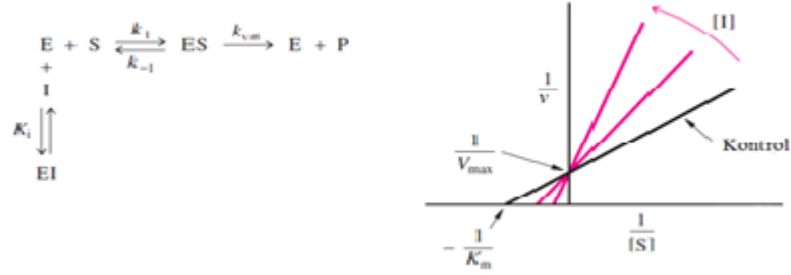
Bu inhibitörler yapısal olarak çoğunlukla substrata benzemektedirler. Aktif bölgeye bağlanabilen inhibitörlerdir [1,4].

Bu inhibitörler enzimin aktif bölgesi için substratla yarışmaktadır. Substratın enzime bağlanmasını aktif bölgeye yerleşerek engellemektedir. Bu şekilde enzimin etkinliği azalmakta veya durmaktadır [1].



Şekil 8.8. Yarışmalı İnhibisyon [1].

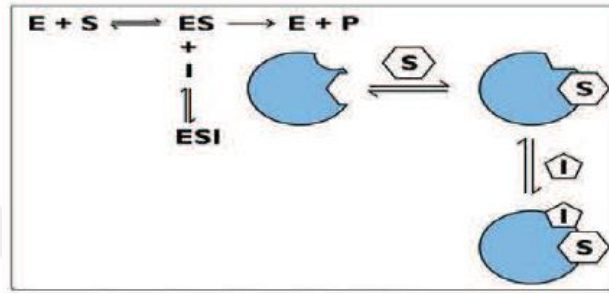
Yarışmalı enzim inhibisyonunda inhibitör madde, enzimin substratına olan ilgisini azaltmaktadır. Böylece K_m değerinde artış meydana gelir. Enzim-inhibitör (EI) kompleksi oluşturmak üzere enzim ile tersinir olarak birleşmektedir [17]. Süksinat dehidrojenazın malonik asitle inhibisyonu buna örnek oluşturmaktadır. Süksinik asit, sitrik asit siklusu sırasında süksinat dehidrojenaz enziminin katalitik etkisi sebebiyefumarik aside dönüşebilmektedir. Fakat ortamda malonik asidin bulunması formül yapı benzerliği sebebi ile bu dönüşüm yavaşlatmaktadır [18].



Şekil 9.9. Yarışmalı İnhibisyonunda İnhibitörün Enzime Bağlanması ve Lineweaver Burk Grafiği [21].

1.7.1.2. Yarışmasız (Nonkompetitif) İnhibisyon

Bu inhibisyonda, substrat ve inhibitör aynı anda enzim moleküllerine bağlanabilmektedir [3]. İnhibitör ve substrat arasında bir yarış gerçekleşmez. Substrat derişimi arttıkça da inhibisyon ortadan kalkmaz [4]. Bu inhibitörler enzimin katalitik etkisini düşürerek etki göstermektedir [3].



Şekil 10.10. Yarışmasız İnhibisyon [1].

Bazı enzimler, yapılarında fonksiyonları için asıl olan sülfhidril (-SH) grupları taşımaktadırlar. Enzimin normal şekilde görev yapması için -SH grupların bozulmadan korunması gerekmektedir. Bu -SH gruplarının metal iyonları tarafından yarışmasız bir şekilde inhibe edilerek enzimin normal katalitik etkisini sürdürmesine engel olur. Bu çeşit ağır metallere örnek olarak Ag^+ , Hg^{+2} ve Pb^{2+} gösterilebilir [20].

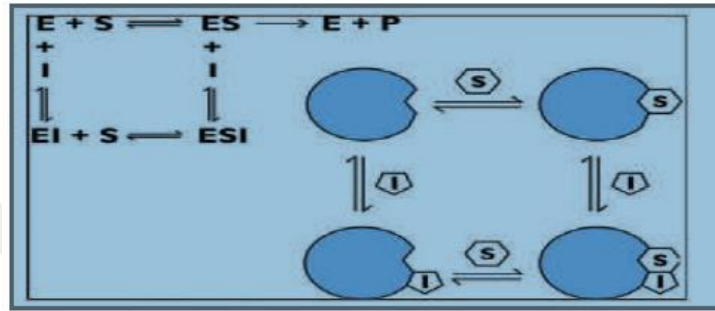
Bu tür inhibisyon ile, tepkimenin V_{max} değeri azalır, fakat K_m değeri değişmez [17].



Şekil 11.11. Yarışmasız İnhibisyonda İnhibitörün Enzime Bağlanması ve Lineweaver Burk Grafiği [19].

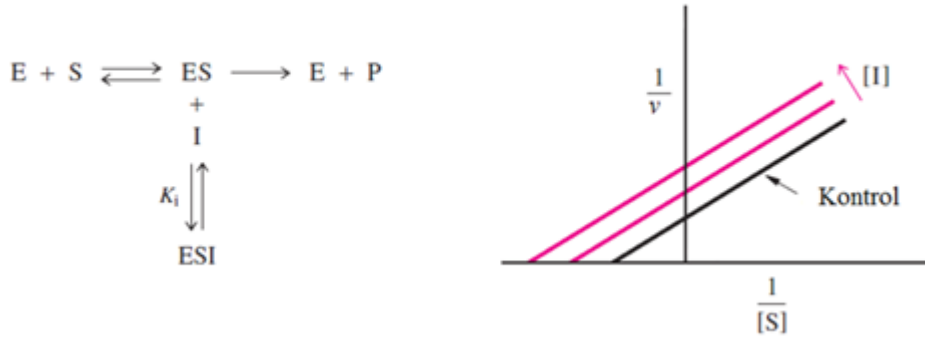
1.7.1.3. Yarı Yarışmalı (Unkompetitif) İnhibisyon

Bu inhibisyonda, inhibitor serbest haldeki enzime bağlanmaz. Sadece ES kompleksine bağlanır. Tek substratlı tepkimelerde yarı yarışmalı inhibisyon görülebilir ancak iki substratlı tepkimelerde daha yaygındır [3].



Şekil 12.12. Yarı Yarışmalı İnhibisyon [1].

Unkompetitif inhibisyon sonucu V_{max} değeri azalır ve K_m değeri küçülür [17].



Şekil 13.13 Yarı Yarışmalı İnhibisyonda İnhibitörün Enzime Bağlanması ve Lineweaver Burk Grafiği [19].

1.7.3. Dönüşümsüz İnhibisyon

Enzim aktivitesini inhibe ederek enzimin kataliz yeteneğini ortadan kaldıran inhibitörlerdir [4].

1.8. Lipaz Enzimi

Lipazlar (E.C.3.1.1.3, triaçil ester hidrolaz) triaçilgliserolleri su/yağ ara yüzeyinde yağ asitleri ve gliserole hidroliz eden enzimlerdir [21,22]. Lipazlar hayvanlarda, bitkilerde ve mikroorganizmalarda bulunurlar [23].

Lipazın yapısındaki yer alan en önemli pentapeptit GX SXG'dir. Burada;

G: glisin,

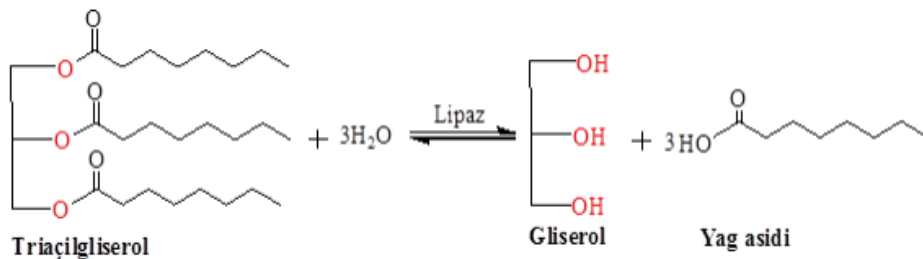
S: serin,

X: herhangi bir aminoasiti göstermektedir.

Bu sıra bütün lipazlarda bulunmaktadır [24].

Lipazlar fazla türde reaksiyon ortamında dayanıklılık gösterebilirler. Bu sebeple hem biyoteknolojide hem endüstride biyokatalizör olarak kullanılabilirler. Aynı zamanda iyonik sıvılar, organik çözücüler ve süperkritik akışkanlara uygulanabilmektedirler. Çok sayıda tepkimeyi katalizleyebilirler (esterleşme gibi) [25].

Lipazlar esteraz enzimlerinin özel bir sınıfı olduğu gibi yağlar üzerindeki etkisi oldukça fazladır. Yağları hidroliz etmektedir. Bu hidroliz neticesinde onları gliserol ve yağ asitlerine parçalamaktadır. Esterazların tersine lipazlar yalnızca su/yağ ara yüzeylerinde aktive olmaktadır [26].



Şekil 14.14. Lipazların Katalitik Aktivasyonu

Tüm bunların yanında lipazların önemli özelliklerinden birisi de sulu ve susuz ara yüzeylerde reaksiyon göstermesidir. Esterazlardan bu özelliği ile ayrılmaktadır.

1.8.1. Lipaz Enzimi Kullanım Alanları

Özellikle son zamanlarda işlem görmüş, kimyasal ürünlere olan talebin azalması bunlar yerine doğal ürünlere olan ilginin artmasıyla beraber enzim kullanımı gündeme gelmektedir. Çevreye zararı olmaması, kimyasal yapısının uygun olması ve yüksek katalitik etkisi sebebiyle sanayide kullanılan bir enzim olmuştur. Lipazlar günümüzde daha çok gıda sektöründe; tereyağ, sos, peynir... gibi ürünlerin üretiminde yerini almaktadır. Kahve beyazlatıcıları, kremalar, şekerlemeler, unlu mamüllere süt tadı vermesi amacıyla eklenmektedir.

Süt sanayinde lipaz enziminin katkısı ve önemi fazladır. Süt yağlarının hidrolizini yine lipaz enzimi kontrol etmektedir. Geleneksel kimyasal interesterifikasyon işlemi ile spesifik yağ asitlerinin kontrollü salınması sağlanamazken, lipaz enzimi ile enzimin pH, sıcaklık, konsantrasyon ve emülsiyon miktarı belirli değerde ayarlanabilmektedir. Böylece spesifik yağ asitlerinin kontrollü salınması sağlanabilmektedir. Böylece kötü tat oluşumuna sebep olan spesifik yağ asitleri de minimuma indirgenmektedir [27].

1.8.2. Kaynaklarına Göre Lipazlar

1.8.2.1. Bakteriyel Lipazlar

Endüstride kullanılan lipazın yaklaşık %13'ü bakteriyel kaynaklıdır [28]. Bunların bir bölümü glikoprotein bir bölümü de lipoprotein yapısındadır. Çalışılan bakteriyel lipazların fazlaca bir bölümü basit yapılıdır. Substratlarına karşı spesifiklerdir. Küçük bir bölümünün sıcaklığa dayanıklı olduğu saptanmıştır [29].

1.8.2.2. Fungal Lipazlar

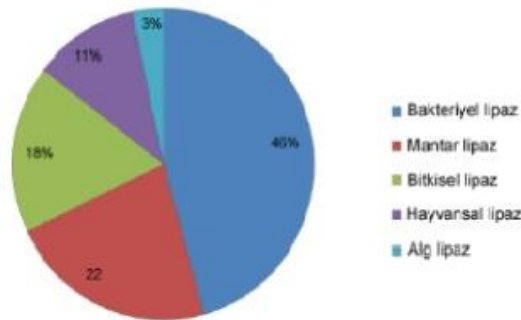
Lipaz üreten funguslar; bitkisel yağ atıklarından, süt ürünleri sanayinden, yağlar ile kirlenmiş topraklardan, bozulan gıdalardan ve tohumlar gibi çeşitli habitatlardan izole edilebilmektedir. Yüksek verimli lipazlar, moleküler biyolojide ortaya çıkan gelişmeler sayesinde elde edilebilmektedir.

Rhizopus, Mucor, Geotrichum, Rhizomucor, Candida, Aspergillus, Humicola ve Penicillium genel fungal lipaz kaynakları örneklerindendir. *Mucor pusillus*, *Rhizopus homothallicus* ve *Aspergillus terreus*, başlıca thermophilic lipaz üreticisi olarak bilinmektedir [27].

1.8.2.3. Bitkisel Lipazlar

Mikrobiyal lipazlar endüstriyel uygulamalar için oldukça önemli olduğu tespit edilmiştir. Ancak bitki lipazlarının belirlenmesine ve bunları endüstride biyokatalizör olarak kullanmaya olan ilgisinin arttığı gözlenmiştir [30].

Bitki lipazlarıyla kıyaslandığında daha basit metotlarla izole edilebilmektedir. Bu sebeple ticari ilgi alanlarında bitki lipazlarını daha avantajlıdır [31].



Şekil 15.15. Endüstride Kullanılan Lipazların Biyoçeşitliliği

1.9. İlaç Etken Maddeler

1.9.1. Chlorzoxazone

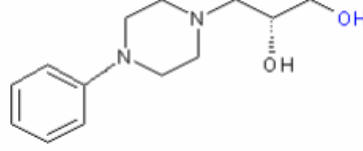
İnsanlar hayatlarında en az bir kez kas spazmlarına maruz kalabilirler. Kaslar yağ dokularıyla iç içe çalışmaktadır ve vücuttaki yağ dokularının ısındığında kas lifleri laktik asit, protein ve enerji veren vitaminleri kas dokularından toplar, bu şekilde güç üretilir. Beyinden gelen ani bir mesaj harekete hazır olmayan kasların kâfi miktarda laktik asit, protein ve diğer vitaminleri toplamaya fırsat bulamamasına ve böylece sinirler, kaslara striknin gibi uyarıcıların salgılanmasına neden olur.

Striknin vücudun dış ortama karşı verdiği tepkinin ürünüdür. Gereken miktardan fazla salgılandığında kaslarda spazm oluşur ve bu spazm vücutta şiddetli ağrılara neden olur. Bu tür spazmlar bazı insanlarda sık sık tekrarlanabilir, bu durumda doktorlar tarafından kas gevşetici ilaçların kullanılması önerilir. Chlorzoxazone kas spazmı tedavisi ve ağrı kesici olarak 1950’li yıllarından beri insanlar tarafından kullanılmaktadır. ticari olarak Lorzone, Paraflex ve Muscol isimleri ile piyasadadır [32,33]. Chlorzoxazone’un kullanımı baş dönme, mide bulantısı, kusma ve karaciğer fonksiyonel bozuklukları gibi yan etkiler gösterebilir. Chlorzoxazone, asetaminofen ile birlikte kullanılması doktorlar tarafından yasaklanmıştır zira Hepatotoksisite’ye neden olur. Bugüne kadar Chlorzoxazone’un santral sinir sistemi üzerindeki etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir ancak merkezi sinir sistemi çökmesine karşı etkili olduğu kabul edilmektedir [34].

1.9.2. Levodropropizine

Levodropropizine periferik etkili antitussif etkili bir ilaçtır. Öksürük semptomatik tedavisinde kullanılmaktadır [35]. Ayrıca sinir sistemleri tedavisinde de kullanılmaktadır [36]. Şekil 1.16’da açık yapısı görülen Levodropropizine molekül formülü $C_{13}H_{20}N_2O_2$ olup, Molekül ağırlığı 236,31 g/mol’dür. Levodropropizinin hava yolu mukozasında afferent karbon sinir lifi ucundan nöromodülatörlerin

salınımını inhibe eder. Bu şekilde sinaptik aşırımı engelleyerek etkisini göstermektedir. [37].



Şekil 1.16. Levodropropizine Formülü

Oral alımdan sonra biyoyararlanım %75'ten yüksek olarak bulunmuştur. Plazma proteinlerine bağlanma oranı düşüktür. (%11 – 14) Levodropropizine oral yoldan verilir. İnsanlarda oral alımdan sonra hızla emilmekte ve vücutta hızla dağılmaktadır. Yarılanma ömrü 1-2 saat civarındadır. Atılım, temel olarak idrar yoluyla olmaktadır. Etkin madde vücuttan hem değişmemiş hem de konjuge veya serbest Levodropropizine ve konjuge p-hidroksilevodropropizine metabolitleri şeklinde atılmaktadır. 48 saat içinde bu madde ve metabolitlerinin üriner atılımı verilen dozun yaklaşık %35' i kadardır. Tekrarlayan doz çalışmalarının sonuçları ise 8 günlük bir tedavinin (günde üç doz) ilacın emilim ve atılma özelliklerini değiştirmediğini ve buna bağlı olarak vücutta birikme veya metabolik otoindüksiyondan söz edilemeyeceğini göstermiştir. Çocuklarda, yaşlılarda ve orta veya ileri derecede böbrek yetmezliği olan vakalarda da farmakokinetik profilde anlamlı bir farklılık söz konusu değildir [38]. Dünyada 19 muhtazarı bulunmaktadır. Ülkemizde Abdi İbrahim firması tarafından üretilen Levopront şurupta (30 mg/5 mL, 150 mL) etkin madde olarak kullanılmaktadır. Literatür çalışmalarında levodropropizine'in asitlik sabitinin belirlenmesine dair bir çalışmaya rastlanmamıştır.

1.9.3. Etofenamat

Etofenamat formülü $C_{18}H_{18}F_3NO_4$ şeklinde olup molekül kütlesi 369 g/mol'dür. Eklem ve kas ağrısının tedavisinde kullanılan steroid olmayan bir anti-enflamatuar ilaçtır. Krem, jel veya sprey olarak topikal uygulama için mevcuttur. Etofenamat yutulması halinde akut toksiktir; Uzun süreli etkilerle sudaki yaşam için de çok toksiktir.

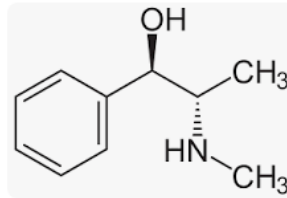
Gelişmiş ülkelerde romatizmal hastalıkların giderek artan yaygınlığı ve artan yaşam beklentisi nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçların reçetelenmesinde ciddi bir artışa yol açmıştır. Bu ilaçların gastrointestinal sistem, karaciğer, böbrek, kalp ve damar sistemi, cilt gibi organlardaki yan etkileri daha sıklıkla bilinmesine rağmen işitme kaybı yapıcı etkileri çok bilinmemektedir. Elli beş yaşında bayan hasta lomber diskopati nedeniyle intramüsküler etofenamat uygulamasından sonra sağ kulağında ani gelişen çınlama ve işitme kaybı şikayetleri ile başvurduğu tespit edilip çalışmalar yapılmıştır [39].

1.9.4. Tiyokolşikosid

Tiyokolşikosid, Anadolu kökenli *Colchicum Autumnale* (Çiğdem Çiçeği)'nin naturel bir glikozit olan kolşikosidden yarı sentetik bir sülfür derivesidir. Bu doğal glikosid kas gevşetici, antienflamatuvar, analjezik özelliklere sahiptir. Tiyokolşikosid, GABA ve Glisin reseptörlerini spinal seviyede aktive ederek miyorelaksan etkisini gösterir. Bunun yanında tiyokolşikosidin glisinomimetik etkileri sinir sisteminin değişik seviyelerinde görülür. Motor plak paralizisine neden olmaz, solunumla ilgili problem görülmez. Ayrıca kardiyovasküler sistem üzerine etkisi de yoktur [40].

1.9.5. Ephedrine Hidroklorür

Ephedrine, Ephedraceae familyasından *Ephedra* adlı bir cins bitkinin çeşitli türlerinden elde edilen bir alkaloiddir. Yapısı görseldeki gibidir.



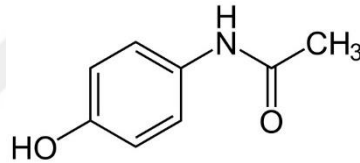
Şekil 1.17. Ephedrine Formülü

Ephedrine hidroklorür sempatomimetik etkileri nedeniyle çok sayıda farmasötik preparatın içerisinde hidroklorür tuzu halinde tek olarak veya diğer etken maddeler

ile birlikte yer alan fenilizopropilamin türevi bir bileşiktir. Bu preparatlardaki miktar tayini için günümüze kadar değişik yöntemlerin kullanıldığı literatürlerde belirtilmektedir [41].

1.9.6. Parasetamol

Parasetamol fenasetinin aktif bir metabolitidir. Güçlü bir analjezik ve antipiretik etkiye sahiptir. Sentetik non-opioid olan p-aminofenol türevi bir ilaçtır. Parasetamolün kimyasal adı N-(4-hidroksifenil) asetamidtir. Moleküler formülü ise $C_8H_9NO_2$ ’ dir. Moleküler ağırlığı 151,17 g/mol, erime noktası 169 °C, yoğunluğu 1.263 gr/cm³, sudaki çözünürlüğü 1,4 gr/100 ml (20 °C)’dir [42]. Yapısı, şekildeki gibidir.



Şekil 1.18. Parasetamol Formülü

Parasetamol aspirine eşit derecede analjezik ve antipiretik etki gösterir. Pediatrie aspirine alternatif olarak kullanılmaktadır. Fakat anti-inflamatuar etkinliği aspirin kadar güçlü değildir. Parasetamol inflamasyona bağlı endikasyonlarda kullanılmaz. Ancak nonsteroid anti-inflamatuar ilaçlarla birlikte kullanımında analjezik etkinliği artar [43].

1.9.7. Paraoksanaz-I

Paraoksanaz-I, insektisit olan paratiyonun aktif metaboliti paraoksonu hidroliz etme yeteneğine sahip A-esterazlar grubundan bir enzimdir. PON1 enziminin aktivitesinin azalması bazı durumlarda hayati tehlike doğuran sonuçlara neden olabilir. Özellikle organofosfatlara maruz kalan insanlarda ve vasküler hastalık riski olan insanlarda bu enzimin aktivitesinin değişmemesi gerekmektedir. Özellikle kanda HDL’ye bağlı bir şekilde serbest halde bulunduğu için damardan uygulanan bazı ilaçlarla etkileşime

girebilmektedir. Bu nedenle bu enzimin hangi maddeler tarafından inhibe edildiğinin araştırılması önemlidir [44].



BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Ekanem ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, *Fromomum meleguetta* (Güney Afrika'da timsah biberi olarak bilinen bir baharat) tohumları ve *Splilanthos acmella* (tıbbi amaçlar için ve baharat olarak kullanılmaktadır) çiçek tomurcuklarının %70'lik etanolle sonikatörde 80 °C'de 3 saat tutularak hazırlanan özütlerine, antilipaz aktivite testi uygulamış ve özütlerin doz bağımlı antipankreatik lipaz aktivitesi gösterdiği saptanmıştır. Çalışmada, özütlerin 2 mg/mL'lik konsantrasyonları test edilmiştir. *A. meleguetta* ve *S. acmella* için lipaz inhibitör aktiviteleri sırasıyla %90 ve %40 olarak gözlemlenmiştir. Bu bitkilerin, kilo azaltıcı ve obezite kontrolünde kullanılabilme potansiyeline sahip oldukları bildirilmiştir [45].

Özçelik ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada sıklıkla kullanılan antibiyotik ilaçların sultamisilin, sefdinir, vankomisin hidroklorür ve kolistimetat sodyum etken maddelerinin insan serumunda bulunan PON1 enzim aktivitesi üzerine in vitro etkileri araştırılmıştır. Etken maddelerin inhibisyon etkilerini incelemek üzere enzimin 412 nm'deki paraoksonaz aktivitesine bakılmıştır. Yapılan çalışmaya göre enzim aktivitesi üzerine etki gösteren ilaç etken maddelerinin içinde, enzim aktivitesini düşük konsantrasyonda %50 azaltması ile PON1 enzimi üzerinde en kuvvetli inhibitör kolistimetat sodyum (IC50: 13.59 µM) olarak tespit edilmiştir. [46].

Ertürk ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada ilaç etken maddelerinden başlanarak parasetamolasetohidroksamik asit, potasyum barbitaldiasetohidroksamat ve geçiş metal kompleksleri sentezlenerek bu bileşiklerin manyetik, spektroskopik ve termik özellikleri ile bazı biyolojik aktiviteleri incelenmiştir. Çalışmada sentezlenen bileşiklerin, pankreatik lipaz ve üreaz enzimine karşı inhibisyon etkileri tayin edilmiştir. Parasetamolasetohidroksamik asit yüksek seviyede, Potasyum barbitaldiasetohidroksamat ise orta seviyede üreaz inhibisyonuna sebep olduğu

anlaşılmıştır. Parasetamolasetohidroksamik asit'in Co(II), Ni(II) ve Zn(II) kompleksleri ile barbitaldiasetohidroksamik asit'in Co(II), Zn(II) ve Cd(II) kompleksleri yüksek seviyede pankreatik lipaz inhibisyonuna neden olduğu saptanmıştır [47].

Literatür araştırmalarına göre lipaz enzimi çeşitli kaynaklardan saflaştırılarak daha çok bitki kaynaklı lipaz üzerine az sayıda inhibisyon incelenmiştir. Literatürdeki bu boşluğu doldurabilmek için yeni lipaz kaynaklarının araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu boşluğu doldurabilmek için yapılan çalışmada, Giresun Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Biyokimya Anabilim Dalında çeşitli ilaç etken maddelerin % inhibisyon değerleri konsantrasyona bağlı olarak incelenmiş olup böylece literatüre bir katkı sağlanması hedeflenmiştir.

Lipazların mekanistik ve yapısal özelliklerinin incelenmesinde lipaz inhibitörleri kullanılmaktadır. Lipaz inhibitörlerinin araştırılmasının ilaç kimyası yönünden oldukça önemlidir. Daha çok akne problemleri, obezite ile ilgili ilaçların hazırlanmasında lipaz inhibitörlerinin kullanıldığı literatürde belirtilmektedir.

Bu çalışmada bazı ilaç etken maddelerin lipaz enzimi üzerine inhibisyon etkisi incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla yüksek oranda lipaz inhibisyon etkisi gösteren ilaç etken maddeler, obezite ve diğer hastalıkların tedavisinde kullanılabilirler. Bunun için lipaz enzim inhibisyonlarının *in vivo* deneylerle de ispatlanabilmesi için daha ileri düzeyde klinik çalışmaların yapılması gerekmektedir

.

BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Deneylerde Kullanılan Cihazlar

Buzdolabı	: Arçelik
Destile Su Cihazı	: Nüve-NS-108
Etüv	: Binder
pH Metre	: Butech
UV-VIS Spektrofotometre	: T80+PG Instruments
Terazi	: Shimadzu AUx220
Vorteks	: Velp Scientifica
Hassas Terazi	: Sartorius
Su Banyosu	: Memmert
Otomatik Pipetler	: Brand Pipetleri

3.1.2. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

Tüm deneylerde, MERCK veya SIGMA ürünler kullanıldı.

3.1.3. Deneylerde Kullanılan İlaç Etken Maddeler

Chlorzoxazone, Paraoksanaz-I, Tiyokolşikosid, Levodropropizine, Etofenamat, Tiyokolşikosid, Ephedrine Hidroklorür, Parasetamol

3.1.4. İlaç Etken Maddelerin Lipaz İnhibitör Aktivitesinin Tayini

Lipaz enziminin inhibisyon aktivitesi, Tablo 3.1.'de gösterildiği gibi çalışılmıştır.

Tablo 3.1. Lipaz İnhibisyonu Aktivitesi Tayini [45].

.....	Kör	Kontrol	Örnek
İnhibitör	-	-	25 µL
Çözücü	50 µL	-	-
Lipaz	-	50 µL	50 µL
Tris-HCl			
pH= 8.5	1000 µL	1000 µL	975 µL
(0,1M)			

37 °C’de 25’ inkübasyon yapıldı.

Substrat	25 µL	25 µL	25 µL
(5 mM)			

**37 °C’de 15’ inkübasyon
412 nm de köre karşı okundu.**

Yapılan çalışmada farklı konsantrasyonlarda hazırlanan örneklerin lipaz enziminin inhibisyon aktivitesi aşağıdaki denkleme göre hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(A_{412 \text{ kontrol}} - A_{412 \text{ örnek}}) / A_{412 \text{ kontrol}}] \times 100$$

A_{kontrol}: Kontrol çözeltisinin 412 nm’de köre karşı absorbans değeri.

A_{örnek}: Örnek çözeltisinin 412 nm’de köre karşı absorbans değeri.

Bu işlemler 3 kez tekrar edilerek sonuçlar ortalama ve standart sapma şeklinde ifade edildi. Pozitif kontrol olarak farklı konsantrasyonlardaki (dimetil sülfoksit içinde hazırlanan) orlistat çözeltisi kullanıldı.

Lipaz enziminin IC_{50} değeri (Aktivitenin %50'sini inhibe eden konsantrasyon değeri), absise konsantrasyon, ordinata % lipaz inhibisyon verilerinin uygulanması ile çizilen eğrinin lineer kesiminden elde edilen regresyon denkleminde hesaplandı.



BÖLÜM 4. BULGULAR

Çalışmamızda altı adet ilaç etken maddenin farklı konsantrasyonları için hesaplanan inhibisyon değerleri ve lipaz inhibisyon aktiviteleri incelendi ve konsantrasyon-% lipaz inhibisyon grafikleri yardımı ile belirlenen IC₅₀ değerleri Tablo 4.1’de verildi.

Tablo 4.1. İlaç Etken Maddelerin Lipaz Enzimi Üzerindeki % İnhibisyonu ve IC₅₀ Değerleri

İlaç etken madde	Konsantrasyon (µg/mL)	% İnhibisyon*	IC ₅₀ (µg/mL)*
Chlorzoxazone	0,00001	5,66 ± 0,771	0,361 ± 0,071
	0,0001	14,44 ± 0,792	
	0,001	18,19 ± 1,252	
	0,01	23,17 ± 2,638	
	0,00001	6,26 ± 1,471	
Tiyokolşikosid	0,0001	12,54 ± 0,933	0,289 ± 0,009
	0,001	18,11 ± 1,117	
	0,01	24,52 ± 0,262	
	0,00001	4,67 ± 0,757	
	0,0001	11,48 ± 2,15	
Levodropropizine	0,001	15,64 ± 0,898	0,392 ± 0,038
	0,01	20,35 ± 0,976	
	0,00001	2,89 ± 1,252	
	0,0001	7,22 ± 1,301	
	0,001	12,1 ± 1,266	
Etofenamat	0,01	18,69 ± 1,11	0,353 ± 0,005
	0,00001	4,275 ± 1,167	
	0,0001	10,61 ± 0,834	
	0,001	15,22 ± 0,735	
	0,01	20,44 ± 2,036	

	0,00001	8,115 ± 1,421	
Parasetamol	0,0001	16,83 ± 2,121	0,127 ± 0,009
	0,001	26,37 ± 2,793	
	0,01	42,07 ± 3,09	
	0,00001	22,63 ± 4,9709	
Orlistat	0,0001	32,33 ± 5,6569	0,0094±0,0016
	0,001	42,4 ± 4,6103	
	0,01	49,83 ± 3,0618	

*Standart sapma.

Tablo 4.1. incelendiğinde; lipaz enzim aktivitesine ilaç etken maddelerin inhibitor aktivitelerinin büyükten küçüğe sırasıyla parasetamol, tiyokolşikosid, etofenamat, chlorzonoxazone, ephedrine hidroklorür, levodropropizine şeklinde sıralandığı görülmektedir. Lipaz enzimini en yüksek oranda inhibe eden ilaç etken maddenin en düşük IC₅₀ değerine sahip olması nedeniyle, parasetamol (IC₅₀= 0,127 ± 0,009 µg/mL) olduğu görülmektedir. Parasetamolü takiben tiyokolşikosid (IC₅₀= 0,289 ± 0,009 µg/mL), etofenamat (IC₅₀= 0,353 ± 0,005 µg/mL), chlorzonoxazone (IC₅₀= 0,361 ± 0,071 µg/mL) ephedrine Hidroklorür (IC₅₀= 0,382 ± 0,066 µg/mL) ve levodropropizine (IC₅₀= 0,392 ± 0,038 µg/mL)'nin lipazı inhibe ettiği görülmektedir. Pozitif kontrol olarak kullanılan orlistatın IC₅₀ değeri, 0,0094 ± 0,0016 µg/mL olarak bulunmuştur.

BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Obezite, tüm dünyada toplum sağlığına yönelik en büyük tehditlerden biri haline gelen; önlenabilir erken ölümlerin en önemli nedenlerinden biri olan; çok sayıda kronik semptoma yol açan; vücut yağ kitlesinin yağsız vücut kitlesine oranla artması ile tanımlanan kronik bir hastalıktır. Obezite, başta kardiovasküler ve endokrin sistem olmak üzere vücudun tüm organ ve sistemlerini etkileyerek çeşitli bozukluklara ve hatta ölümlere yol açabilen önemli bir sağlık problemidir. Obezitenin tip 2 diabetes mellitus, insülin direnci, solunum fonksiyon bozuklukları, hipertansiyon, iskemik kalp hastalığı, serebrovasküler hastalık, safra kesesi taşları ve kanser gibi çeşitli hastalıklarla sıkı sıkıya bağlantılı olduğu bildirilmiştir. Özellikle obezitenin neden olduğu kardiyovasküler hastalıklar, dünya çapında ciddi bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından en riskli 10 hastalıktan biri olarak kabul edilen obezitenin, yine aynı örgüt tarafından yürütülen son araştırmalarda kanserle yakın ilgisi olduğu da belirlenmiştir [46,47].

Geçtiğimiz birkaç on yıl içinde, obezitenin önlenmesi ve tedavisi için çok sayıda terapötik hedef araştırılmıştır [48,49]. Bunların arasında, diyet trigliseridlerinin (TAG) mide-bağırsak sistemindeki yağ asitlerine ve gliserole hidrolizinden sorumlu önemli bir enzim olan pankreatik lipaz (PL), obezite veya obezite ile ilgili bozuklukları önlemek ve tedavi etmek için ana hedef olarak doğrulanmıştır [50,51]. Trigliseritler yüksek kaloriye sahip başlıca enerji kaynaklarından biridir. Trigliseritlerin emiliminin engellenmesi obezite ve obezite ile ilişkili hastalıkların önlenmesi ile doğrudan ilişkilidir [52]. Pankreatik lipaz, ince bağırsakta trigliseritlerin emilimi için anahtar enzimdir [53]. Lipaz inhibisyonu ile trigliseritlerin absorpsiyonunun engellenmesi obezitenin önlenmesi için önemli bir yaklaşımdır [54].

Hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak güçlü lipaz inhibisyon aktivitesine sahip FDA onaylı oral yoldan uygulanan bir anti-obezite ilacı olan Orlistat, klinik ortamlarda diyet lipidlerinin emilimini azaltmak için yaygın olarak kullanılmaktadır [55].

Bununla birlikte, istenmeyen gastrointestinal yan etkiler (Bağırsak sıkışması, akıntı ve karın ağrısı, yağlı lekelenme, yağlı dışkı sızıntısı gibi) hastalarda, özellikle kırılgan popülasyonlarda (yaşlılar ve küçük çocuklar) [56,57]. Bu nedenle, iyi güvenlik profilleri olan daha etkili oral yoldan uygulanan PL inhibitörlerinin geliştirilmesi oldukça arzu edilir. Geçtiğimiz birkaç on yılda, pentasiklik triterpenoidler, flavonoidler ve kalkonlar gibi güçlü PL inhibisyon aktivitelerine sahip çok çeşitli doğal ürünler veya bitkisel bileşenler bulunmuştur [58,59]. Sentetik PL inhibitörlerinin (orlistat gibi) aksine, doğal PL inhibitörleri nispeten yüksek güvenlik profillerine sahiptir. Ancak çoğu durumda, doğal olarak oluşan PL inhibitörlerinin PL inhibisyon gücü, kimyasal stabilitesi, oral biyoyararlanımı ve metabolik stabilitesi, sentetik PL inhibitörlerinininkinden çok uzaktır [60,61]. Bu gibi durumlarda, metabolik stabiliteye sahip düşük toksisiteli yeni PL inhibitörleri olarak yarı sentetik bileşikler veya doğal PL inhibitörlerinin türevleri geliştirmek gerekmektedir.

Çalışmamızda kullandığımız ilaç etken maddelerin % İnhibisyon sonuçlarına bakıldığında, en yüksek inhibisyon değerine sahip parasetamolün (%42) en iyi lipaz inhibitörü olabileceği görülmektedir. Çalışmada kullanılan diğer ilaç etken maddelerin daha düşük lipaz inhibitör aktivitesine sahip olduğu söylenebilir.

Yüksek oranda lipaz inhibisyon etkisi gösteren ilaç etken maddeler, obezite ve diğer hastalıkların tedavisinde kullanılabilirler. Bunun için lipaz enzim inhibisyonlarının *in vivo* deneylerle de ispatlanabilmesi için daha ileri düzeyde klinik çalışmaların yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Nelson, D.L., Cox, M.M. Lehninger Biyokimyanın İlkeleri, 5. Baskıdan Çeviri, Palme Yayıncılık, Ankara, 25, 183-233, 960-961, 2013.
- [2] Kührevioğlu, İ. Ö., Keha, E. E., Biyokimya. Aktif Yayınevi, İstanbul, 2009.
- [3] Keha, E., Küfrevioğlu, İ. Biyokimya., 10. Baskı, Aktif Yayınevi, İstanbul, 89-137, 2014.
- [4] Güner, S., Biyokimya-I. Karadeniz Teknik Üniversitesi Matbaası, Trabzon, 107, 141-166, 2007.
- [5] Kalaycıoğlu, L., Serpek, B., Nizamlioğlu, M., Başpınar, N., Tiftik, A.M. Biyokimya, 5. Baskı, Nobel Akademik Yayıncılık, Ankara, 213-246, 2013.
- [6] Amtul, Z., Atta-ur-Rahman, Siddiqui, R. A., Choudhury, M. I. Chemistry and mechanism of urease inhibition, *Current Medicinal Chemistry*, 9(14), 1323-1348, 2002.
- [7] Palmer, T., "Enzymes", Horwood Publishing, London, 70, 107, 113-114, 361-366, 2007.
- [8] Özata, A., "Enzimoloji ders notları", Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi, 117, 2000.
- [9] Česko, C., Paulowma townfosa'dan Polifenol Oksidaz Enziminin Saflaştırılması ve Çeşitli Bitki Özüleri ile İnhibisyonu, Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2018.
- [10] Erenler, A., Biyoenzimler ve Biyoenzimlerin Örne Kumaş Özelliklerine Etkisi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2009.
- [11] Particle Sciencecz – Technical Brief, Protein Structure, PA-USA, 8, 2009.
- [12] Yaman, M., Peroksidazın Üç Fazlı Ayırma Yöntemi ile Pazıdan (*Beta vulgaris* L. var. cicla) Saflaştırılması. İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2018.
- [13] Garret, R. H., "Biochemistry", Thomson, Australia, 420-425, 2005.
- [14] Başçı, N. E., "Sakkarozun invertaz ile hidroliz kinetiğinin ve invertaz deaktivasyonunun incelenmesi", Yüksek Mühendislik Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 15-34, 1985.

- [15] İlğün, R., Kestane (*Castanea sativa*) Tohumundan Lipaz Enziminin Saflaştırılması ve Kinetik Özelliklerinin İncelenmesi, Giresun Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Giresun, 2016.
- [16] Göktaş, H., Elastaz Enzim İnhibitörleri. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2012.
- [17] Sağkal, Y., Giresun Yöresindeki Bazı Yenilebilir Bitkilerin Farklı Çözücülerdeki Ekstrelerinin Anti-Elastaz Aktivitelerinin İncelenmesi, Giresun Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 92, Giresun, 2013.
- [18] Tekman, Ş., Öner, N., Genel Biyokimya Üçüncü Baskı, Fatih Yayınevi, İstanbul, 1981.
- [19] Horton, H., Moran L., Scrimgeour, K., Perry, M., Rawn, D., *Principles of Biochemistry*, 4 th Edition., Carlson, G (ed), Pearson Education, Inc, New York, USA, 2006.
- [20] Bingöl, G., *Vitaminler ve Enzimler*, Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Yayınları Ders Kitabı Serisi, Ankara, 1977.
- [21] Cardenas, F., Sde Castro, M., Sanchez-Mantero, J., Sinister, V., Novel microbial lipases, catalytic activity in reactions in organic, *Enzyme and Microbial Technology*, 28, 145-15, 2001.
- [22] Verger, R., Interfacial Activation of Lipases: Facts and Antifacts. *Trends in Bioscience and Technology*, 15, 32-37, 1997.
- [23] Cardenas, J., Alvarez, E., de Castro-Alvarez, M.S., Sanchez-Montero, J.M., Valmaseda, M., Elson, S.W., Sinisterra, J.V., Screening and catalytic activity in organic synthesis of novel fungal and yeast lipases, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 14, 111–23, 2001.
- [24] Brady, L., Brzozowski, A.M., Derewenda, Z.S., Dodson, E., Dodson, G., Tolley, S., Turkenburg, J.P., Christiansen, L., Jensen, B.H., Norskov, L., Thim, L., Merge, U., A serine protease triad forms the catalytic center of a triacylglycerol lipase, *Letter to Nature*, 343, 767-770, 1990.
- [25] Garcia-Galan, C., Santos, J.C.S., Barbosa, O., Torres, R., Pereira, E.B., Gonçalves, L.R.B., Fernandez-Lafuente, R. Tuning of Lecitase features via solid-phase chemical modification: Effect of the immobilization protocol, *Process Biochemistry*, 49, 604- 616.
- [26] Saxena, R.K., Ghosh, P.K., Gupta, R., Davidson, W.S., Bradoo, S. and Gulati, R. Microbial Lipases: Potential Biocatalysts for The Future Industry, *Current Science*, 77, 101-115, 1999.

- [27] Akyl, H., M., Lipazın *Trichoderma citrinoviride*'den Üretimi ve Enzimin Bazı Kinetik Özelliklerinin Saptanması, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 61, Ankara, 2014.
- [28] Marul, B. Fabrika Atıklarından İzole Edilen *Bacillus Sp.*'den Aktif ve Kararlı Lipaz Üretim Koşullarının ve Üretilen Enzimin Deterjan Endüstrisinde Kullanımının Araştırılması, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 119, Ankara, 2007.
- [29] Saxena, R.K., Sheoran, A., Giri, B., Davidson, S.W., Purification Strategies Formicrobial Lipases, *Journal of Microbiological Methods*, 52, 1-18, 2003.
- [30] Huang, A. H. C., Lin, Y.H. and Wang, S.M., Characteristics and biosynthesis of seed lipases in maize and other plant species, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 65, 897-899, 1988.
- [31] Gondoin, A., Grussu, D., Stewart, D., Mc Dougall, G. J., White and green tea polyphenols inhibit pancreatic lipase in vitro, *Food Research International*, 43, 1537-1544, 2010.
- [32] Hamilton, R., Tarascon Pocket Pharmacopoeia, 16th Edition, Frankfurt, Germany, 2015.
- [33] Park, J., Kim, K., Park, P., Ha, J. Effect of high-dose aspirin on CYP2E1 activity in healthy subjects measured using chlorzoxazone as a probe, *Journal of Clinical Pharmacology*, 46, 109-14, 2006.
- [34] Wan, J., Ernstgard, L., Song, B., Shoaf, S. Chlorzoxazone metabolism is increased in fasted Sprague-Dawley rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 58, 51–61, 2006.
- [35] Caselli, E., Tosi, G., Forni, A., Bucciarelli, M., Prati, F. Chemo-enzymatic synthesis of levodropropizine Dipartimento di Chimica, Università di Modena e Reggio Emilia, Via Campi, 183, 2003.
- [36] Tang, Y., Zhaob, L., Wang, Y., Fawcett, J.P., Gua, J. Rapid and sensitive liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the quantitation of levodropropizine in human plasma a Research Center for Drug Metabolism, *Journal of Chromatography B*, 819: 185–189, 2005.
- [37] Cankara, F.N. Fenilefrin ile Kasılan İzole Tavşan Aortası Üzerine Levodropropizin'in Etkisi ve Bunun Kalsiyum ile İlişkisi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2011.
- [38] Dompe International S.A.-İsviçre lisansı ile Abdi İbrahim İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş., Zincirlikuyu, İstanbul.

- [39] Onat, Ş. Ş., Selçuk, Ö. T., Delialioğlu S.Ü., Sudden Hearing Loss Due to Etofenamate: A Case Report, 17, 51-54, 2014.
- [40] Weinling, E., Sandouk, P., Debray, M., Singleand Repeated Dose Pharmacokinetics of Intramescular Thicolchicoside in Healthy Volunteers, *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 37:503-509, 1999.
- [41] Ming-lien, L., “Direct amperometric titration of amines with Na-tetraphenylborate solution”, *Acta Pharmaceutica Sinica*, 127-139, 1965.
- [42] Lee, 2004, Madenoğlu ve Bozoğlu, 2009, Akçam ve Çalışkan, 2014.
- [43] Taşlı Yeşilçayır, G. “Parasetamol ile İndüklenmiş Deneysel Akut Karaciğer Toksisitesi Üzerine İncir (*Ficus carica*) Çekirdeği Yağının Koruyucu Etkilerinin Araştırılması”, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 113, Aydın, 2021.
- [44] Keha, M., Alimgereyev, Z., UMTEB IV. Uluslararası Mesleki ve Teknik Bilimler Kongresi, İksad Uluslararası Yayınevi, 12018, 978-605-7923-39-4, Erzurum, 2018.
- [45] Ekanem, A. P., Wang, M., Simon, J. E., Moreno, D. A., Antiobesity Properties of two African Plants (*Afromomum meleguetta* and *Spilanthes acmella*) by Pancreatic Lipase Inhibition, *Phytotherapy Research*, 21, 1253–1255, 2007.
- [46] Özçelik, M.B, Yıldırım, S., Dilek, E., Antibiyotik Olarak Kullanılan Sultamisilin, Sefdinir, Vankomisin Hidroklorür ve Kolistimetat Sodyum Etken Maddelerinin İnsan Serum Paraoksonaz-I Enzim Aktivitesi Üzerine *in vitro* Etkilerinin İncelenmesi, 12(1), 349-357, 2019.
- [47] Ertürk, A., İlaç Etken Maddesi İçeren Yeni Hidroksamik Asitlerin ve Metal Komplekslerinin Sentezi, Karakterizasyonu ve Bazı Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Rize, 2013.
- [48] Bendicho, S., Trigueros, M.C., Hernández, T., Martín, O. Validation and Comparison of Analytical Methods Based on the Release of p-nitrophenol to Determine Lipase Activity in Milk, *Journal of Dairy Science*, 84, 1590–1596, 2001.
- [49] Prevention and Management of the Global Epidemic of Obesity, Report of The WHO Consultation on Obesity (Geneva, June, 3–5), Geneva: WHO, 1997.
- [50] Tanakol, R., Obezite Tedavisinde Orlistat, *Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism*, (Suppl. 2): 87-97, 2003.
- [51] Xu, C., He, J., Jiang, H., et al. Direct Effect of Glucocorticoids on Lipolysis in Adipocytes, *Molecular Endocrinology*, 23, 1161–1170, 2009.

- [52] Colon-Gonzalez, F., Kim, G.W., Lin, J.E., Valentino, M.A., Waldman, S.A. Obesity Pharmacotherapy: What is next? *Molecular Aspects of Medicine*, 34, 71–83, 2013.
- [53] Birari, R.B., Bhutani, K.K. Pancreatic Lipase Inhibitors From Natural Sources: Unexplored Potential, *Drug Discovery Today*, 12, 879–889, 2007.
- [54] Buchholz, T., Melzig, M. F. Polyphenolic Compounds as Pancreatic Lipase Inhibitors, *Planta Medica*, 81, 771–783, 2015.
- [55] Carek, P.J., Dickerson, L.M., Current Concepts in the Pharmacological Management of Obesity, *Drugs*, 57, 883–904, 1999.
- [56] Lowe, M.E., Pancreatic Triglyceride Lipase And Colipase: Insights into Dietary Fat Digestion, *Gastroenterology*, 107, 1524–1536, 1994.
- [57] Chiasson, J.L., Acarbose For The Prevention Of Diabetes, Hypertension, and Cardiovascular Disease in Subjects with Impaired Glucose Tolerance: The Study to Prevent Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus (STOP-NIDDM) Trial, Ace/Aace Diabetes Recommendations Implementation Conference, 1, 25-30, 2006.
- [58] Hauptman, J., Orlistat, *Endocrine*, 13, 201–206, 2000.
- [59] Sridhar, S. N. C., Palawat, S., Paul, A.T. Design, synthesis, biological evaluation and molecular modelling studies of indole glyoxylamides as a new class of potential pancreatic lipase inhibitors, *Bioorganic Chemistry*, 85, 373–381, 2019.
- [60] Mamdooh, N., Kasabri, V., Al-Hiari, Y., Almasri, I., Al-Alawi, S., Bustanji, Y., Evaluation Of Selected Commercial Pharmacotherapeutic Drugs as Potential Pancreatic Lipase Inhibitors And Antiproliferative Compounds, *Drug Development Research*, 80, 310–324, 2019.
- [61] Hou, X. D., Song, L. L., Cao, Y. F., Wang, Y. N., Hou, J.. Pancreatic Lipase Inhibitory Constituents From Fructus Psoraleae, *Chinese Journal of Natural Medicines*, 18, 369–378, 2020.

ÖZGEÇMİŞ

İlkokulu Kıranyağmur İlköğretim okulunda, Orta okulu Güzelyurt İlköğretim okulunda; liseyi Ulubey Lisesinde tamamladı. 2011 yılında girdiği Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünden 2016 yılında mezun oldu. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Eğitim Fakültesi'nde pedagojik formasyon eğitimini tamamlayarak Kimya Öğretmenliği unvanını aldı. Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Yüksek Lisans programına halen devam etmektedir.